

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6692294号  
(P6692294)

(45) 発行日 令和2年5月13日(2020.5.13)

(24) 登録日 令和2年4月16日(2020.4.16)

(51) Int. Cl.

F 1

<b>A 6 1 K 39/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 39/00	Z N A H
<b>A 6 1 K 39/39</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 39/39	
<b>A 6 1 K 31/704</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/704	
<b>A 6 1 K 31/675</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/675	
<b>A 6 1 K 31/337</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/337	

請求項の数 9 (全 70 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-531920 (P2016-531920)  
 (86) (22) 出願日 平成26年7月31日 (2014.7.31)  
 (65) 公表番号 特表2016-531120 (P2016-531120A)  
 (43) 公表日 平成28年10月6日 (2016.10.6)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/049309  
 (87) 国際公開番号 W02015/017734  
 (87) 国際公開日 平成27年2月5日 (2015.2.5)  
 審査請求日 平成29年7月28日 (2017.7.28)  
 (31) 優先権主張番号 61/860,827  
 (32) 優先日 平成25年7月31日 (2013.7.31)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 米国 (US)

(73) 特許権者 517022555  
 バイオベンチャーズ・リミテッド・ライア  
 ビリティ・カンパニー  
 BioVentures, LLC  
 アメリカ合衆国72205-7199アー  
 カンソー州リトル・ロック、ウエスト・マ  
 ーカム・ストリート4301番、ナンバー  
 831  
 (74) 代理人 100127926  
 弁理士 結田 純次  
 (74) 代理人 100140132  
 弁理士 竹林 則幸  
 (72) 発明者 トーマス・キーパー・エモンズ  
 アメリカ合衆国アーカンソー州72212  
 ・リトルロック、イバーネス51  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腫瘍関連糖鎖抗原を標的として癌を治療及び予防するための組成物及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

乳癌を有すると診断されているヒトの前記乳癌の治療のための、CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10s (配列番号1) またはその変異体である化合物P10s - PADRE、およびMONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントを含む、医薬組成物であって、ここで、前記乳癌は、三重陰性乳癌またはHER2陽性乳癌であり、前記化合物は、構造：Trp - Arg - Tyr - Thr - Ala - Pro - Val - His - Leu - Gly - Asp - Gly - dAla - Lys - CHAla - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAla - NH<sub>2</sub> (ここで、Ala13及びAla25は、それぞれ、dAlaとして示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、CHAlaとして示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである) を有する、前記医薬組成物。

【請求項2】

P10s - PADREを少なくとも300 μg含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

P10s - PADREを少なくとも500 μg含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項4】

P10s - PADREを少なくとも1000 μg含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項5】

治療は医薬組成物をヒトに投与すること、そしてさらに1種または複数種の抗癌化学療

10

20

法薬、抗癌放射性薬、及び/または抗癌放射線療法で前記ヒトを治療することを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 6】

治療は医薬組成物をヒトに投与すること、そしてさらにドキソルビシン、シクロフォスファミド、ドセタキセル、シスプラチン、ピノレルピン、ボルテゾミブ、アドリアマイシン、トラスツズマブ、パクリタキセル、タモキシフェン、及びペルツズマブからなる群から選択される 1 種または複数種の抗癌化学療法薬で前記ヒトを治療することを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 7】

以下の：

請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の医薬組成物で免疫化されたヒトから得られた単離ヒト NK 細胞、及びその後代からなる群から選択される単離ヒト NK 細胞；

ナイーブなヒトから得られ、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の医薬組成物で *ex vivo* で活性化された単離ヒト NK 細胞、及びその後代からなる群から選択される単離ヒト NK 細胞；

請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の医薬組成物で免疫化されたヒトから得られた単離ヒト樹状細胞、及びその後代からなる群から選択される単離ヒト樹状細胞；または

ナイーブなヒトから得られ、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の医薬組成物で *ex vivo* で活性化された単離ヒト樹状細胞、及びその後代からなる群から選択される単離ヒト樹状細胞；

を含む細胞組成物の、乳癌を有すると診断されているヒトの前記乳癌の治療用の医薬の製造のための使用であって、ここで、前記乳癌は、三重陰性乳癌または HER2 陽性乳癌である、前記使用。

【請求項 8】

前記治療がさらに、1 種または複数種の抗癌化学療法薬、抗癌放射性薬、及び/または抗癌放射線療法で前記ヒトを処置することを含む、請求項 7 に記載の使用。

【請求項 9】

前記治療がさらに、ドキソルビシン、シクロフォスファミド、ドセタキセル、シスプラチン、ピノレルピン、ボルテゾミブ、アドリアマイシン、トラスツズマブ、パクリタキセル、タモキシフェン、及びペルツズマブからなる群から選択される 1 種または複数種の抗癌化学療法薬で前記ヒトを処置することを含む、請求項 7 または 8 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

政府の権利についての宣言

本発明は、US Army Breast Cancer Program (W81XWH-06-1-0542) による Clinical Translation Research Award を含めて、米国連邦政府による支援のもとに成された。米国政府は、本発明において一定の権利を有し得る。

【0002】

発明の分野

本発明は、乳癌を治療及び予防するためのワクチン、単離抗体、単離免疫細胞、ならびにそれらを製造及び使用する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

本出願は、参照により本明細書に組み込まれる 2013 年 7 月 31 日出願の米国特許仮出願第 61/860,827 号の優先権を主張する。

【0004】

抗腫瘍免疫応答は、組織特異的自己免疫現象の一局面である。したがって、組織拒絶抗

10

20

30

40

50

原に対する免疫応答の発生は、癌免疫療法における重要な概念的的手法である。腫瘍関連糖鎖抗原 (TACA) は、組織特異的变化を示す有望な組織拒絶抗原標的であり、T細胞及び抗体の両方が、TACAの単糖及び二糖構成成分を認識する。

#### 【0005】

糖鎖形成は、PI3K経路を経てNK細胞媒介性エフェクター機能を調節する。N-糖鎖形成の干渉は、MHCクラスIの膜発現を減少させ、かつNK細胞殺傷に対する腫瘍細胞の*in vitro*感受性を増大させることが示されている。早い時期に、糖鎖形成経路を阻害する化合物は、担腫瘍動物において、腫瘍細胞の成長に影響を及ぼし得ることが認識された。カスタノスペルミン、スワインソニン、及びツニカマイシンは、糖タンパク質プロセッシングの経路において異なるステップを遮断するが、それぞれ、腫瘍細胞の転移及び腫瘍のコロニー形成の強力な阻害薬である。このことは、少なくとも2ステップの一方での遮断が、腫瘍細胞の成長に対して有益な効果を有し得ることを示唆した。ツニカマイシンの抗転移効果は、腫瘍細胞-細胞外マトリックス相互作用における干渉に関連し得るのに対して、カスタノスペルミンまたはスワインソニンでの治療は、初期腫瘍細胞停止より遠位の段階で遮断すると考えられる。N-連結複合オリゴ糖の形成を阻害し、この阻害は、NK細胞の機能を用いた増強と相関するので、特にスワインソニンは興味深い。したがって、阻害薬が、腫瘍組織を特異的に標的とし得ると考えると、N-連結、さらにはO-連結糖鎖形成の阻害薬は、負のシグナルの攪乱によってNK機能活性を有効にリセットすることによって、癌を治療するために有用であるはずである。さらに最近では、プロテアソーム阻害薬としてのボルテゾミブ(ベルケイド)は、MHCクラスIの発現を下方調節することによって、NK活性に対する腫瘍細胞の感受性を増大させると主張されている。N-連結糖鎖形成は、プロテアソームの分解を損なうことはないが、クラスI MHC提示に影響を及ぼす。プロテアソーム分解生成物におけるグリコシル化Asn(N)からAsp(D)への変換は、PNGアーゼによって媒介される。PNGアーゼは、プロテアソーム分解の後に作用し得る。結果として、クラスIのMHC抗原提示は著しく低減される。

#### 【0006】

アノキスに対する感受性を再構成するための、膵臓癌細胞における腫瘍抑制因子p16<sup>INK4a</sup>によるグリカンリモデリング及びガレクチン-1の上方制御の協調は、このレクチンの潜在的かつ密な制御を強調している。抗グリカン抗体は、レクチンと同様に機能して、細胞死シグナル及び細胞成長シグナルを媒介し得る。他のガレクチンは、独特の表現型を拡張することによって、NK細胞媒介性抗腫瘍活性を促進し得る。ナイーブNK細胞を、Gal-9-処置マウス由来のマクロファージと共に同時培養すると、NK活性の増強が生じたが、Gal-9自体が、NK活性を増強することはなかった。抗体は、同じことができる。ガングリオシドGD2に対するIgM抗体についてトランスジェニックなマウスにおけるナチュラルキラー細胞の拡張は、同遺伝子型腫瘍細胞での攻撃後の生存を長くすることが実証された。抗アシアロGM1ウサギ血清でのNK細胞の除去は、観察される抗腫瘍効果を低減または排除し、これは、NK細胞が、腫瘍根絶または抑制において主要な役割を果たしていることを示唆している。これらの結果は、ワクチン接種後に、腫瘍についてNK活性を局所拡張するNK表現型をもたらすように、CMP特異的B細胞から、NK細胞応答が特異的に増強され得ることを示唆している。

#### 【0007】

特許文献1及び2はそれぞれ、糖鎖抗原のペプチドミモトープ及び癌の治療においてそのようなペプチドを使用する方法を開示している。糖鎖模倣ペプチド(CMP)は、癌のマウスモデルにおいて、腫瘍成長の阻害を有効に促進する、TACAを標的とする免疫応答を刺激する。CMPは、広域スペクトル免疫原であり、複数のTACAに対する応答を誘発し、したがって、多価糖鎖ベースワクチンの必要性を不要にする。CMPには、抗糖鎖抗体へのCMPの結合をモジュレートする重要な化学力として芳香族-芳香族及び疎水性相互作用を使用するものがある。Tyr-Arg-TyrまたはTrp-Arg-Tyrの中心モチーフを有するCMPでの免疫化で、腫瘍成長の阻害が観察されている。

10

20

30

40

50

## 【0008】

乳癌及び黒色腫のための糖鎖模倣ペプチドワクチンの前臨床研究は、非特許文献1において開示されている。免疫原は、P10s多重抗原ペプチド(MAP)形態、さらには、それぞれ、同じく、MAP形態として提供される3種の他のペプチド、すなわち、P10、CMP106、及びCMP107を含む。ペプチドのMAP形態は、ペプチドの複数の繰り返し配列を有するポリペプチドである。ペプチドのMAP形態は、典型的には、そのペプチドの2~10コピーを有する。

## 【0009】

非特許文献2は、糖鎖模倣ペプチドが、免疫病態が存在しない状態で、糖鎖反応性免疫応答を増強することを開示している。ペプチドP10、CMP106、及びCMP107が言及されており、データによって、CMPに対する免疫応答は、糖鎖を含有する正常細胞に対して有害な作用を有さないことが示されている。

10

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0010】

【特許文献1】米国特許出願公開第20030017497号

【特許文献2】米国特許出願公開第20050181987号

## 【非特許文献】

## 【0011】

【非特許文献1】Monzavi-Karbassi, B.ら(2007)、Vaccine 27:3022~3031

20

【非特許文献2】Henning, L.ら(2011)、Cancers 3:4151~4169

## 【発明の概要】

## 【課題を解決するための手段】

## 【0012】

CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10s(配列番号1)またはその変異体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、P10s-PADREを含み、この際、「P10s-PADRE」は、H-Trp-Arg-Tyr-Thr-Ala-Pro-Val-His-Leu-Gly-Asp-Gly-dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla-NH<sub>2</sub>を指し、ここで、Ala13及びAla25はそれぞれ、dAlaと示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、CHAlaと示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、PADREペプチドに連結したP10sを含み、PADREペプチドに連結した上記P10sは、アミノ酸配列Trp-Arg-Tyr-Thr-Ala-Pro-Val-His-Leu-Gly-Asp-Gly-dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAlaを含み、ここで、Ala13及びAla25はそれぞれ、dAlaとして示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、CHAlaとして示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、PADREペプチド(例えば、dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla、配列番号3、配列番号4もしくは配列番号5または別のPADREペプチド)に連結したP10sまたはその変異体を含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、PADRE以外のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sまたはその変異体を含む。いくつかの実施形態では、上記ペプチドのC末端は、アミド化されている。いくつかの実施形態では、上記組成物は、配列dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAlaを有するCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープPADREに連結したP10sを含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、配列dAla-Lys-CH

30

40

50

Ala - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAlaを有し、かつアミド化「C末端」を有するCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープPADREに連結したP10sを含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、配列番号3、配列番号4、配列番号5を有する包括的PADREまたは別のPADREペプチドに連結したP10sを含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、PADRE以外のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sを含む。

【0013】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、アジュバントをさらに含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバント及びQS21アジュバントからなる群から選択されるアジュバントをさらに含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバント及びQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択されるアジュバントをさらに含む。

10

【0014】

いくつかの実施形態では、上記組成物は、P10s - PADRE及びMONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバント及びQS21アジュバントを含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、P10s - PADRE、ならびにMONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバント及びQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択されるアジュバントを含む。そのような組成物は、少なくとも300µgのP10s - PADREを、いくつかの実施形態では、少なくとも500µgのP10s - PADREを、及びいくつかの実施形態では、少なくとも1000µgのP10s - PADREを含むことができる。

20

【0015】

複数の単離ヒト抗体を含む組成物を提供し、その際、上記単離ヒト抗体は、P10s - PADREに結合し、かついわゆるbase1-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2+細胞であり、いつかの選ばれた抗癌剤に対して新規の耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である。P10s - PADREに結合し、ヒト乳房細胞系MDA-231及びHCC1954細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である上記複数の単離ヒト抗体は、P10sもしくはその変異体、または例えば、PADREなどのCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sもしくはその変異体をワクチン接種された個体から単離することができる。

30

【0016】

複数の単離モノクローナル抗体を含む組成物を提供し、その際、上記単離ヒト抗体は、P10s - PADREに結合し、かついわゆるbase1-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2+細胞であり、幾つかの選ばれた抗癌剤に対して新規の耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である。P10s - PADREに結合し、ヒト乳房細胞系MDA-231及びHCC1954細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である上記複数の単離モノクローナル抗体は、P10sもしくはその変異体、または例えば、PADREなどのCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sもしくはその変異体をワクチン接種された個体から単離された1つまたは複数のB細胞に由来し得る。

40

【0017】

複数の単離ヒト抗体を含む組成物を提供し、その際、上記単離ヒト抗体は、P10s - PADREに結合し、かついわゆるbase1-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2+細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である。P10s - PADREに結合し、ヒト乳房細胞系MDA-231及びHCC1954細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である上記複

50

数の単離ヒト化抗体は、P10sもしくはその変異体、または例えば、PADREなどのCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sもしくはその変異体をワクチン接種された個体から単離された1つまたは複数のB細胞に由来し得る。

【0018】

本明細書に記載の組成物を含み、抗癌化学療法薬または抗癌放射性薬をさらに含む組成物を提供する。

【0019】

本明細書に記載の組成物を含む第1の容器、及び抗癌化学療法薬または抗癌放射性薬を含む第2の容器を含むキットを提供する。

【0020】

P10s及び/またはP10s - PADREに結合し、かつ培養癌細胞に対して細胞毒性であるヒト抗体を産生する複数の単離細胞を提供する。培養癌細胞は、いわゆるbasel-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2<sup>+</sup>細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表され得る。上記複数の単離細胞は、P10sもしくはその変異体、または例えば、PADREなどのCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sもしくはその変異体をワクチン接種された個体に、またはそのような個体に由来する遺伝物質に由来し得る。

10

【0021】

P10s及び/またはP10s - PADREに結合し、かつ培養癌細胞に対して細胞毒性であるモノクローナル抗体を産生する複数の単離細胞を提供する。培養癌細胞は、いわゆるbasel-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2<sup>+</sup>細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表され得る。上記複数の単離細胞は、P10sもしくはその変異体、または例えば、PADREなどのCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sもしくはその変異体をワクチン接種された個体に、またはそのような個体に由来する遺伝物質に由来し得る。

20

【0022】

P10s及び/またはP10s - PADREに結合し、かつ培養癌細胞に対して細胞毒性であるヒト化抗体を産生する複数の単離細胞を提供する。培養癌細胞は、いわゆるbasel-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2<sup>+</sup>細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表され得る。上記複数の単離細胞は、P10sもしくはその変異体、または例えば、PADREなどのCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープに連結したP10sもしくはその変異体をワクチン接種された個体に由来し得る。

30

【0023】

単離B細胞またはその後代を提供する。P10s及び/またはP10s - PADREに結合し、かついわゆるbasel-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231と、Her2<sup>+</sup>細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられるHCC1954細胞とによって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性であるヒト抗体を産生する単離B細胞を提供する。上記単離B細胞は、P10s、その変異体、または本明細書に記載の組成物で免疫化されたヒトから得ることができる。B細胞を免疫化されたヒトから単離し、P10s及び/またはP10s - PADREに結合し、かつMDA-231及びHCC1954細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性であるヒト抗体を産生する単離B細胞を特定する。上記B細胞を培養して、後代を生産し、かつ/またはその遺伝物質を処理して、上記抗体をコードする核酸配列を単離することができる。次いで、上記抗体をコードする核酸配列を発現ベクターに挿入し、その抗体を産生し得る細胞に導入することができる。P10s及び/またはP10s - PADREに結合し、かつMDA-231細胞及びHCC1954細胞に対して細胞毒性であるヒト抗体を産生する単離B細胞は、i) ナイーブなヒトからB細胞を単離し、ii) その

40

50

単離 B 細胞を P 1 0 s もしくはその変異体及び / または P 1 0 s - P A D R E または本明細書に記載の別の免疫化組成物に曝露し、i i i ) P 1 0 s 及び / または P 1 0 s - P A D R E に結合し、かつ M D A - 2 3 1 細胞及び H C C 1 9 5 4 細胞であるヒト抗体を産生する単離 B 細胞を特定し、かつ i v ) 抗 P 1 0 s / P 1 0 s - P A D R E 抗体を産生する単離 B 細胞の集団を拡張することによって得ることができる。上記 B 細胞を培養して、後代を生産し、かつ / またはその遺伝物質を処理して、上記抗体をコードする核酸配列を単離することができる。次いで、上記抗体をコードする核酸配列を発現ベクターに挿入し、その抗体を産生し得る細胞に導入することができる。抗 P 1 0 s / P 1 0 s - P A D R E 抗体を産生する B 細胞を、癌を有すると診断されているか、癌の高いリスクを有すると診断されている患者に投与することができる。

10

## 【 0 0 2 4 】

P 1 0 s 及び / または P 1 0 s - P A D R E に結合し、かついわゆる b a s e l - l i k e または三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系 M D A - 2 3 1 と、H e r 2 + 細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられる H C C 1 9 5 4 細胞とによって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である複数のヒト抗体は、動物を P 1 0 s - P A D R E に曝露し、その動物の細胞からハイブリドーマを調製し、P 1 0 s 及び / または P 1 0 s - P A D R E に結合し、かついわゆる b a s e l - l i k e または三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系 M D A - 2 3 1 と、H e r 2 + 細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられる H C C 1 9 5 4 細胞とによって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である抗体を産生するハイブリドーマを特定することによって生産することができる。上記ハイブリドーマを培養して、抗体を産生する後代を生産し、かつ / またはその遺伝物質を処理して、上記抗体をコードする核酸配列を単離することができる。次いで、上記抗体をコードする核酸配列を発現ベクターに挿入し、その抗体を産生し得る細胞に導入することができる。上記抗体をコードする核酸配列を使用して、ヒト化抗体をコードするヌクレオチド配列を生産することができ、次いで、そのようなヌクレオチド配列を、発現ベクターに挿入し、ヒト化抗体を産生し得る細胞に導入する。

20

## 【 0 0 2 5 】

単離ヒト N K 細胞を提供する。いくつかの実施形態では、上記単離ヒト N K 細胞は、本明細書に記載の組成物で免疫化されたヒトから得られた単離ヒト N K 細胞、及び本明細書に記載の組成物で免疫化されたヒトから得られた単離ヒト N K 細胞の後代からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ナイーブなヒトから得られ、本明細書に記載の組成物で e x v i v o で活性化された単離ヒト N K 細胞、及びナイーブなヒトから得られ、本明細書に記載の組成物で e x v i v o で活性化された単離ヒト N K 細胞の後代。

30

## 【 0 0 2 6 】

単離ヒト樹状細胞を提供する。いくつかの実施形態では、上記単離ヒト樹状細胞は、本明細書に記載の組成物で免疫化されたヒトから得られた単離ヒト樹状細胞、及び本明細書に記載の組成物で免疫化されたヒトから得られた単離ヒト樹状細胞の後代からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ナイーブなヒトから得られ、本明細書に記載の組成物で e x v i v o で活性化された単離ヒト樹状細胞、ナイーブなヒトから得られ、本明細書に記載の組成物で e x v i v o で活性化された単離ヒト樹状細胞の後代。

40

## 【 0 0 2 7 】

癌を有すると診断されているヒトを治療する方法を提供する。上記方法は、上記ヒトに、本明細書に記載の組成物を投与することを含む。

## 【 0 0 2 8 】

癌を有すると診断されているヒトを治療する方法を提供する。上記方法は、上記ヒトに、本明細書に記載の組成物を投与して、腫瘍細胞を化学療法増感させることと、上記ヒトに、化学療法薬を投与することを含む。

## 【 0 0 2 9 】

癌を有すると診断されているヒトを治療する方法を提供する。上記方法は、上記ヒトに

50

、本明細書に記載の組成物を投与して、腫瘍細胞を放射線増感させることと、上記ヒトを治療用放射線に曝露することを含む。

【0030】

癌を有すると診断されているヒトを治療する方法であって、本明細書に記載のヒト単離NK細胞を、本明細書に記載の組成物で治療されたヒトに投与する方法を提供する。

【0031】

癌を有すると診断されているヒトを治療する方法であって、本明細書に記載のヒト単離樹状細胞を、そのヒトに投与する方法を提供する。

【0032】

癌の高いリスクを有するヒトにおいて癌を予防する方法を提供する。上記方法は、上記ヒトに、本明細書に記載の組成物を投与することを含む。

10

【0033】

癌の高いリスクを有するヒトにおいて癌を予防する方法を提供する。上記方法は、上記ヒトに、本明細書に記載の組成物を投与して、腫瘍細胞を化学療法増感させることと、上記ヒトに、化学療法薬を投与することを含む。

【0034】

癌の高いリスクを有するヒトにおいて癌を予防する方法を提供する。上記方法は、上記ヒトに、本明細書に記載の組成物を投与して、腫瘍細胞を放射線増感させることと、上記ヒトを、治療用放射線に曝露することを含む。

【0035】

癌の高いリスクを有するヒトにおいて癌を予防する方法であって、本明細書に記載のヒト単離NK細胞を、本明細書に記載の組成物で治療されたヒトに投与する方法を提供する。

20

【0036】

癌の高いリスクを有するヒトにおいて癌を予防する方法であって、本明細書に記載のヒト単離樹状細胞をそのヒトに投与する方法を提供する。

【0037】

P10s及び/またはP10s-PADREに結合し、かつ培養癌細胞に対して細胞毒性であるヒト抗体を作製する方法を提供する。

【0038】

本明細書に記載の組成物で免疫化された個体において腫瘍細胞を死滅させることができる単離抗腫瘍ヒトNK細胞の集団を作製する方法を提供する。

30

【0039】

単離抗腫瘍ヒト樹状細胞の集団を作製する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】実施例1に記載のとおり、P10s-PADREでアフィニティー精製された静脈内免疫グロブリン(IVIg)からのIgG画分の多反応性のグリカンアレイ分析のデータを示している。

【図2】実施例1において記載されているとおり、IVIgにおけるデンプン分解活性が、@P10s画分において富化していることを示している。

40

【図3A】CD19発現(FL4)でゲートされたCD23<sup>+</sup>(FL2)及びCD23<sup>-</sup>BALB/cマウス脾細胞をP10s-量子ドットクラスター(525nm-FL1)で染色した実施例1において記載の実験の結果を示している。

【図3B】CD19発現(FL4)でゲートされたCD23<sup>+</sup>(FL2)及びCD23<sup>-</sup>BALB/cマウス脾細胞をP10s-量子ドットクラスター(525nm-FL1)で染色した実施例1において記載の実験の結果を示している。

【図4】P10s-PADREの第I相臨床試験においてP10s-PADREで免疫化されたステージIVの乳癌患者においてIgM抗体応答を測定する実験からの結果を示している。図4は、8つの時点を含み、各時点が、異なる希釈に対応する8本の棒を示す棒

50



グラフである。x軸において示されているとおり、データは、8時点、すなわち、免疫化前、1週目、2週目、3週目、4週目、5週目、6週目、及び7週目で提示されている。各時点について、データは、8つの希釈について示されている。各時点での左端の棒は、1:100に対応する。1:100の棒のすぐ右は、1:200の棒である。1:200の棒のすぐ右は、1:400の棒である。1:400の棒のすぐ右は、1:800の棒である。1:800の棒のすぐ右は、1:1600の棒である。1:1600の棒のすぐ右は、1:3200の棒である。1:3200の棒のすぐ右は、1:6400の棒である。1:6400の棒のすぐ右は、1:12800の棒である。図4は、64のデータポイントを示している。

【図5】P10s - PADREの第I相臨床試験においてP10s - PADREで免疫化されたステージIVの乳癌患者においてIgG抗体応答を測定する実験からの結果を示している。図4は、8つの時点を含み、各時点が、異なる希釈に対応する8本の棒を示す棒グラフである。x軸において示されているとおり、データは、8時点、すなわち、免疫化前、1週目、2週目、3週目、4週目、5週目、6週目、及び7週目で提示されている。各時点について、データは、8つの希釈について示されている。各時点での左端の棒は、1:100に対応する。1:100の棒のすぐ右は、1:200の棒である。1:200の棒のすぐ右は、1:400の棒である。1:400の棒のすぐ右は、1:800の棒である。1:800の棒のすぐ右は、1:1600の棒である。1:1600の棒のすぐ右は、1:3200の棒である。1:3200の棒のすぐ右は、1:6400の棒である。1:6400の棒のすぐ右は、1:12800の棒である。図4は、64のデータポイントを示している。

【図6】P10s - PADREの第I相臨床試験においてP10s - PADREで免疫化されたステージIVの乳癌患者において誘発された抗体は、細胞毒性活性を伴って、HCC1954細胞に対して交差反応性であったことを示すデータを含む。

【図7A】P10s - PADREの第I相臨床試験におけるP10s - PADREでの免疫化が、ヒトHCC1954癌細胞に結合し、それにおいて細胞毒性を誘発するP10sペプチドのMAP形態と反応性の抗体をもたらすことを示すデータを含む。図7A及び7Bはそれぞれ、8時点での4人の患者の測定からのデータを含む棒グラフである。各図においてグラフのx軸において示されているとおり、データは、4人の患者、すなわち、対象1、対象2、対象3、及び対象4について提示されている。各患者について、データを、8時点、すなわち、免疫化前、2週目、3週目、4週目、7週目、9週目、19週目、21週目で測定した。各患者について、データは、8時点について示されている。x軸上で、患者の左端の棒は、免疫化前に対応する。免疫化前の棒のすぐ右は、2週目の棒である。2週目の棒のすぐ右は、3週目の棒である。3週目の棒のすぐ右は、4週目の棒である。4週目の棒のすぐ右は、7週目の棒である。7週目の棒のすぐ右は、9週目の棒である。9週目の棒のすぐ右は、19週目の棒である。19週目の棒のすぐ右は、21週目の棒である。図7A及び7Bはそれぞれ、32のデータポイントを示している。

【図7B】図7Aの続き。

【図8A】HCC1954細胞及びMDA-MB-231細胞に対する、P10s - PADREの第I相臨床試験において4人の患者(対象1~4)から収集した免疫化前及び免疫化後血漿の細胞障害性効果を示すデータを含む。図8Aは、HCC1954及びMDA-MB-231細胞に対する、4人の患者からの免疫化前及び免疫化後血漿試料の効果を示している。そのデータは、その免疫化後血漿が、HCC1954細胞及びMDA-MB-231細胞の両方に対して細胞障害性効果を有することを示している。図8Bは、4人の患者からの免疫化前血漿のものと比較した、4人の患者からの免疫化後血漿の細胞毒性の定量化細胞毒性データの棒グラフを示している。各細胞系における細胞毒性は、3連のウェルにおいて生細胞を計数することによって定量化した。そのデータを、棒グラフで表示している。細胞を播種し、24時間後に、培地を、10%の免疫化前または免疫化後のいずれかの血漿試料を含有する培地で新しくした。10%血清を含有する培地を、対照として使用した。処理から24時間後に、その上清を除去し、ウェルを洗浄し、生細胞を固

10

20

30

40

50

定し、染色した。各ウェルについて、3つの顕微鏡視野を計数し、平均した。これらの視野での変化を使用して、エラーバーを計算した。毒性パーセントを、対照ウェルにおける細胞数に対して計算した。

【図8B】図8Aの続き。

【図9】ドセタキセル毒性に対する腫瘍細胞感受性に対する、P10s - PADREの第I相臨床試験中に1人の患者から収集された免疫化前血清及び免疫化後血清とのMDA - MB - 231細胞の予備インキュベーションの効果を比較するデータを含む。そのデータは、患者の免疫化後血清とのMDA - MB - 231細胞の予備インキュベーションが、ドセタキセル毒性に対して腫瘍細胞を増感させたことを示している。MDA - MB - 231細胞を、10% FBSを含むRPMI培地中で終夜培養した。次いで、培地を、免疫化前血清または免疫化後血清のいずれかを含有する培地と交換した。FBSを、対照として使用した。5時間のインキュベーションの後に、ドセタキセルを、ウェルに系列希釈法で添加した。24時間後に、ウェルを洗浄し、生細胞を固定し、染色し、計数した。生存パーセンテージを、「0」薬物用量での細胞数に対する所与の薬物用量での細胞数の比として計算した。Prism 5ソフトウェアを使用し、生存データを使用して、用量反応曲線を当てはめた。各曲線のIC<sub>50</sub>を計算した。免疫化後血清のIC<sub>50</sub>は、FBSのIC<sub>50</sub>及び免疫化前血清のIC<sub>50</sub>とは有意に異なり、P値は、それぞれ6.21E - 08及び0.002であった。

【図10】P10s - PADREの第I相臨床試験においてP10s - PADREワクチンによってヒト患者において誘発されたP10sに対する抗体の反応性を調査する実験からのデータを含む。ELISAプレートを、P10sのMAPバージョンでコーティングし、試験対象からの免疫化前血清及び免疫化後血清の2倍希釈系列の反応性を、HRP - コンジュゲートされた抗ヒトIgGによって検出した。ワクチン接種された対象での正規化血清終点力価を、各血液採取週について示している。免疫化は、正規化終点力価の有意な上昇をもたらし、より高いペプチド用量で免疫化された対象ほど、より高い力価を示した。正規化終点力価は、下記のとおり推定した。

【図11A】P10s - PADREワクチンによってP10s - PADREの第I相臨床試験において誘発された抗体の細胞毒性を示すデータを含む。図11Aは、1人の患者(対象6)から収集された免疫化前血漿及び免疫化後血漿の、HCC1954細胞及びMDA - MB - 231細胞に対する細胞毒性効果を示しており、これは、図8Aに示したデータの延長である。それぞれの場合に、血漿を、免疫化前及び免疫化後の試験対象から収集した。図8A、8B、11A、及び11Bのデータは、P10s - PADREワクチンのワクチン接種によって試験対象において誘発された抗体は、細胞毒性抗体であったことを示している。図11Aは、単一患者(対象6)でのHCC1954及びMDA - MB - 231細胞に対する免疫化前及び免疫化後血漿試料の効果を示している。図11Aでは、生細胞を固定し、染色し、その後、写真を撮った。図8Aにおいてと同様に、データは、免疫化後血漿が、HCC1954細胞及びMDA - MB - 231細胞の両方に対して細胞毒性効果を有することを示している。図11Bは、6人の患者(対象1~6)からのデータを使用して、免疫化前血漿の細胞毒性と比較した免疫化後血漿の細胞毒性を示すデータを含む。細胞毒性を、3連のウェルに残った生細胞を計数することによって定量化した。ラインプロットは、6人の対象での免疫化前及び免疫化後血漿の細胞毒性を示している。各対象での免疫化前と免疫化後との間の対応のある差異を計算し、その平均±標準偏差を示している。1標本t検定を各細胞系での2点差異で実行し、P値を示している。

【図11B】図11Aの続き。

【図12】P10s - PADREの第I相臨床試験において対象から収集された免疫化前及び免疫化後血漿をMCF - 10A細胞と接触させた場合に、細胞毒性効果は観察されなかったことを示すデータを含む。示されている対象の血漿10%と共に24時間インキュベーションした後に、写真を撮った。別の実験において72時間までインキュベーション時間を延長したが、細胞の生存率に影響は及ばなかった。

【図13】実施例5において検討するとおり、P10s - PADREワクチンでの患者の

ワクチン接種において誘発された I g M 及び I g G 抗体の反応性を示す P 1 0 s - P A D R E の第 I 相臨床試験からのデータを含む。免疫化患者からの血清抗体の I g M 及び I g G 画分は、E L I S A アッセイにおいて、P 1 0 s の M A P 形態に結合する。E L I S A プレートに、炭酸塩 - 炭酸水素塩緩衝液中の P 1 0 s M A P ペプチド  $1 \mu\text{g}$  / ウェルを終夜コーティングした。37 で1時間にわたって 0 . 5 % F B S 及び 0 . 2 % T w e e n 2 0 を含有する P B S 中でウェルをブロックした後に、系列希釈物を添加した。血清希釈物を 37 で2時間にわたってインキュベートした。洗浄した後に、ウェルを、37 で1時間にわたって、H R P - コンジュゲートされたマウス抗ヒト I g M 及び I g G と共にインキュベートし、次いで、基質を添加し、20分後に、その反応を停止させた。プレートに、450 nM で、E L I S A リーダーによって読み取った。線形回帰によって、吸光度対希釈曲線から力価を推定した。各対象の免疫化前血清での回帰線の遮断を、その対象での終点力価を決定するための吸光度カットオフと定義し、各試料の回帰線が対象の吸光度カットオフと交差する希釈度を、試料の終点力価であると定義した。最小の実際の希釈度を下回るか、または最大の実際の希釈度を上回る希釈度を超えての外挿は、許容されなかった。この手順で、各対象の免疫化前力価を 1 : 1 0 0 と正規化し、1 : 1 0 0 力価を上回る終点力価において 1 0 倍以上の増大を有する対象を、応答者と判断した。

【図 1 4】実施例 5 において検討するとおり、患者における P 1 0 s - P A D R E の第 I 相臨床試験において、P 1 0 s - P A D R E ワクチンによって誘発された抗体の細胞毒性を試験する実験からのデータを含む。そのデータは、実施例 5 において検討されている患者からの P 1 0 s - P A D R E 誘発性 I g G 血清抗体が、H C C 1 9 5 4 細胞に結合し、細胞死を刺激することを示している。H C C 1 9 5 4 細胞を、酵素非含有緩衝液で採取し、洗浄し、免疫化前血清または 7 週目の患者から収集された免疫化後血清と共にインキュベートした。H C C 1 9 5 4 細胞への、血清中の I g G 抗体の結合を、F I T C - コンジュゲートされたマウス抗ヒト I g G で可視化した。図 1 4 A では、中実のヒストグラムは、F I T C - コンジュゲートされたマウス抗ヒト I g G 抗体のみへの細胞の曝露を示している。破線ヒストグラムは、H C C 1 9 5 4 細胞への、免疫化前血清からの I g G の結合を示している。実線ヒストグラムは、H C C 1 9 5 4 細胞への、7 週目に収集された免疫化後血清からの I g G の結合を示している。血清の 1 : 1 0 0 希釈物を、反応性について使用した。図 1 4 B は、免疫化後 7 週目に収集された患者からの血清が *i n v i t r o* で H C C 1 9 5 4 乳癌細胞を死滅させることを示す棒グラフである。1 x 1 0 <sup>4</sup> 細胞を、F B S 1 0 % を含有する培地中で 9 6 ウェルプレートのウェル内に播種した。24時間後に、その培地を、免疫化前または免疫化後血清 1 0 % を含有する培地で新しくした。対照ウェル中の培地は、F B S 1 0 % を含有した。培地を、24時間後に新しくした。血清の添加から 48時間後に、上清を除去し、細胞を固定し、C r y s t a l ヴァイオレットで染色した。細胞毒性のパーセンテージを、対照ウェル中の細胞数に対して計算した。エラーバーは、3 回の反復に基づく標準偏差を表している。その実験を 3 回繰り返した。両側ステューデント t 検定を、平均値を比較するために使用した。

【図 1 5】実施例 5 において検討されたとおり、第 I 相臨床試験において、P 1 0 s - P A D R E 免疫化の前に患者から収集された血清と、P 1 0 s - P A D R E ワクチンでの 1 0 s - P A D R E 免疫化から 7 週後に収集された患者から収集された血清とによる H C C 1 9 5 4 細胞の遊走の阻害を比較する実験からのデータを含む。細胞を終夜欠乏させ、次いで、採取し、免疫化前血清または免疫化後血清のいずれかと混合した。細胞血清混合物を、20時間にわたってトランスウェル内でインキュベートした。次いで、その細胞を染色し、表面上にあるものを拭き取った。次いで、遊走細胞を、光学顕微鏡下で可視化し、計数した。3 回の反復での平均を、標準偏差と共に示している。

【図 1 6】M D A - M B - 2 3 1 細胞における免疫化前血清誘発性アポトーシス及び M D A - M B - 2 3 1 細胞における免疫化後血清誘発性アポトーシスを研究する実施例 5 において検討している実験からのデータを含む。細胞を、終夜、F B S 1 0 % ( 対照 )、または免疫化前もしくは免疫化後血清のいずれかと共にインキュベートし、次いで、採取し、アネキシン V - F I T C ( F L 1 ) 及びヨウ化プロピジウム ( F L 3 ) で染色した。4分

10

20

30

40

50

の1区であるJ4、P4、及びQ4が、それぞれ、対照、免疫化前血清処置細胞、及び免疫化後血清処置細胞におけるアポトーシス細胞を示している。

【発明を実施するための形態】

【0041】

実施形態の詳細な説明

本明細書では、新たなワクチン及び免疫調節手順を提供する。汎用エピトープ配列PADRE (dAla - Lys - CHAla - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAla) の1つのバージョンに連結した糖鎖模倣ペプチド (CMP、ミモトープとも呼ばれる) P10s (配列番号1) からの配列を含むペプチドを含むワクチン組成物を生産する。これらの配列を有し、「C末端」でアミド化されているペプチドは、P10s - PADREと称され、式H - Trp - Arg - Tyr - Thr - Ala - Pro - Val - His - Leu - Gly - Asp - Gly - dAla - Lys - CHAla - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAla - NH<sub>2</sub>を有する(ここで、Ala<sub>13</sub>及びAla<sub>25</sub>は、それぞれ、dAlaと示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、CHAlaと示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである)。上記ペプチドを、MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントと組み合わせて、TACAを標的とする免疫応答を誘発するワクチン組成物を生産する。上記ワクチン組成物は、ヒトに投与すると、糖鎖反応性抗体を含む幅広い抗腫瘍免疫応答及び他の免疫応答を誘発することができる。

【0042】

上記免疫応答は、例えば、腫瘍細胞に対する細胞毒性効果、またはNK細胞の抗腫瘍細胞活性を媒介する効果、または腫瘍細胞上でグリカン表面のリモデリングを生じさせる効果などの種々の機能性を有し得る。上記ワクチン組成物を使用する新たな免疫調節手順を使用して、癌と診断された患者において癌を治療するか、または高リスク個体群において癌の発生/再発を予防することができる。上記ワクチン組成物を使用する新たな免疫調節手順は、癌の治療、または癌の発生/再発の予防において、他の治療法と組み合わせて使用することができる。ワクチン組成物は、腫瘍の化学療法感受性及び/または放射線感受性を増大させ得る。この点において、腫瘍をより化学療法感受性または放射線感受性にすることによって、または化学療法薬または放射線の治療量をより少ない副作用で、より安全なレベルに低下させることによって、または化学療法耐性な腫瘍を化学療法感受性に、もしくは放射線耐性腫瘍を放射線感受性にするによって、以前は効果がないか、または最適以下であったかもしれない化学療法薬または放射線治療による治療が、より実行可能になり得る。ワクチン組成物は、高リスク個体における癌の発生率または再発を低下させ得る。

【0043】

上記ワクチン組成物及びそれを使用する方法は、ヒトにおいて、その抗体が腫瘍細胞に対して細胞毒性である免疫応答を誘発することができる。上記ワクチン組成物は、癌患者において、抗腫瘍免疫応答を含む体液免疫応答を誘発する。上記誘発抗体は、細胞毒性である。上記誘発抗体のこれらの直接的な細胞毒性効果は、上記ワクチン組成物及びそれを使用する方法を、癌の治療及び予防における特に有効な前進としている。免疫化されたヒトからの抗体は、ADCC、CDC、及びNK機構が存在しない状態で、細胞毒性であることが観察された。

【0044】

上記ワクチン組成物及びそれを使用する方法は、p46発現ナチュラルキラー(NK)細胞を活性化させ得る。上記NK細胞の表現型は、癌患者において、そのNK細胞が機能性となり、腫瘍に対して*in vivo*でそれが活性になるようにリセットされる。ワクチン、具体的にはP10s - PADREを投与されたヒト患者の免疫応答の分析は、NK細胞が活性化されたことを示した。これらのデータは、マウスにおけるデータがNK活性化を示さなかったため、予測されていなかった。

## 【0045】

より持続性で、より高いIgM応答をもたらす他のワクチン形態と比較して、かなり高く、持続性のIgG応答を提供するにも関わらず、上記P10s - PADREワクチンは、細胞毒性免疫応答を誘発する。

## 【0046】

上記ワクチン組成物を使用する方法によって産生されるヒト抗体は、上記糖鎖模倣ペプチドと反応性であり、腫瘍細胞の遊走を遮断し得る。上記糖鎖模倣ペプチドと反応性であるヒト抗体は、アミラーゼ様活性と共に、ある程度の触媒活性を示す。

## 【0047】

上記ワクチン組成物を使用する方法によって産生されたヒト抗体は、標的細胞上で糖鎖抗原パターンをリモデリングする。潜在的なAbzyme媒介性グリカンリモデリング機構は、広域反応性糖鎖模倣ペプチドにおける免疫治療抗腫瘍活性の基礎であり得る。同様の機構は、感染症の免疫療法において、新たな治療法を加え得る。P10s標的を使用し、様々なグリコシダーゼ様触媒抗体の急速な富化、及びそのような抗体を産生するB細胞クローンの単離は、この分野の開発を加速し、生物工学的工業及び医薬品工業、さらには基礎研究における他の実用的な用途のための可能性を広げるであろう。

## 【0048】

P10s

上記糖鎖模倣ペプチド(CMP)P10s(配列番号1)は、CMP P10(配列番号2)の短縮化バージョンである。P10は、抗ガングリオシド抗体ME361に結合するペプチドとして同定された。P10sは、P10の短縮バージョンであり、これは、P10の最初の3つのN末端残基が欠失して、P10sを形成していることにおいて、P10の配列とは異なる。

## 【0049】

DAla1、CHAla3、及びDAla13を有するPADRE

DAla1、CHAla3、及びDAla13を有するPADRE(「PADRE<sub>DAla1, CHAla3, DAla13</sub>」とも称される)は、Pan T細胞ペプチドPADREペプチドの好ましい形態である。PADRE<sub>DAla13, CHAla, DAla25</sub>は、1個の改変L型アミノ酸を含む11個のL型アミノ酸及び2個のD型アミノ酸を含む13アミノ酸ペプチドである。PADRE<sub>DAla13, CHAla, DAla25</sub>の配列は、dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAlaであり、ここで、Ala1及びAla13は、それぞれ、dAlaとして示されるD型アミノ酸であり、3位にあるAlaは、CHAlaとして示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである。

## 【0050】

アジュバント

注射用製剤中にアジュバントを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント(Seppic SA, Paris, France)である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、シャボンノキ(Quillaja saponaria)から精製されたサポニン植物抽出物アジュバントであるQS21アジュバント(Agenus, Lexington MA)である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントを、Montanide ISAアジュバント(Seppic SA, Paris, France)の群の別のアジュバントと共に配合する。Montanide ISAアジュバントは、代謝不可能な鉱油、代謝可能な油、またはそれら2種の混合物のいずれかと種々の界面活性剤が組み合わされている油/界面活性剤ベースのアジュバントの一群である。これらは、水性抗原溶液と共に乳剤として使用するために調製される。MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント(ISA=Incomplete Seppic Adjuvant)のための界面活性剤は、フロイントアジュバントにおける界面活性剤の主な構成要素であるオレイン酸マンニド(mannide oleate)である。アジュバントの様々

10

20

30

40

50

なMontanide ISA群が、油中水型乳剤、水中油型乳剤、または水中油中水型乳剤として使用される。本明細書において言及するMONTANIDE (商標) ISA 51VGアジュバントは、具体的な製品である。他のMontanide ISAアジュバントには、MONTANIDE (商標) ISA 730 VGアジュバント (商標) が含まれる。Seppic SAもまた、獣医学用ワクチンアジュバントの広範なラインを提供している。本明細書で使用する場合、「MONTANIDE (商標) ISA 51VG (商標) アジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント」に対する言及、及び他のアジュバントに対する言及は、限定ではないが、他のMontanide ISAアジュバントを含む他のMontanideアジュバントに言及することを意図している。

いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、代謝不可能な油 (鉱油)、界面活性剤 (Arlacel A)、及びマイコバクテリア (M. tuberculosisまたはM. butyricum) の混合物であるフロイント完全アジュバント (FCA) である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、FCAと同じ油/界面活性剤混合物を有するが、いずれのマイコバクテリアも含有しないフロイント不完全アジュバント (FIA) である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、代謝可能な油 (スクアレン) 及び改変された解毒細菌産物を含む油、界面活性剤、及び免疫促進剤 (複数可) の混合物であるRibiaアジュバント (Ribia ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, MT) である。トレハロースジミコレート (TDM) は、界面活性剤、免疫促進剤、及び油滴にタンパク質抗原を結合する際の接着因子として役立つマイコバクテリア構成要素である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、代謝可能な油 (スクアレン) 及び非イオン性界面活性剤を使用する油/界面活性剤ベースのアジュバントであるHunter's TiterMax (CytRx Corp., Norcross, GA) である。上記界面活性剤は、ポリオキシエチレン及びポリオキシプロピレンの合成非イオン性ブロックコポリマーを使用した。いくつかの実施形態では、アルミニウム塩アジュバントを、ミョウバン沈殿ワクチン及びミョウバン吸着ワクチンにおいて使用する。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、ニトロセルロース吸着タンパク質である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、例えば、非分解性エチレン-酢酸ビニルコポリマー封入抗原及び分解性ポリマー封入抗原などのリポソーム捕捉抗原である。生分解性、生体適合性の、例えばポリ (DL-ラクチド-コ-グリコリド) ポリマーが、カプセル封入のために使用される。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、亜鉛プロリンと組み合わせて免疫促進剤を利用するGerbu Adjuvant (Gerbu Biotechnik GmbH, Gaiberg, ドイツ/C-C Biotech, Poway, CA) である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、Invivogen (San Diego, California) によって販売されているアジュバントの群からの1種である。これらのアジュバントには、AddaVax (商標) アジュバント、Alhydrogel 12%、IFA、c-di-AMP VacciGrade (商標) アジュバント、c-di-GMP VacciGrade (商標) アジュバント、Flagellin FliC VacciGrade (商標) アジュバント、Gardiquimod VacciGrade (商標) アジュバント、Imiquimod VacciGrade (商標) アジュバント、MPLA-SM VacciGrade (商標) アジュバント、MPLA Synthetic VacciGrade (商標) アジュバント、N-Glycyl-1-MDP VacciGrade (商標) アジュバント、ODN1585 VacciGrade (商標) アジュバント、ODN1826 VacciGrade (商標) アジュバント、ODN2006 VacciGrade (商標) アジュバント、ODN2395 VacciGrade (商標) アジュバント、Pam3CSK4 VacciGrade (商標) アジュバント、Poly (I:C) (HMW) VacciGrade (商標) アジュバント、R848 VacciGrade (商標) アジュバント、及びTDB VacciGrade (商標) アジュバントが含まれる。

【0051】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、天然デポ効果を有するアジュバントを選択及び使用することができる。いくつかの実施形態では、天然デポ効果を有さないアジュバントを選択及び使用することができる。いくつかの実施形態では、デポ効果を生成または増大させるように、アジュバントを配合することができる。

#### 【0052】

##### P10s - PADRE

「P10s - PADRE」は、P10sペプチドが、DA1a1、CH1a3、及びDA1a13を有するPADREに共有結合により連結して、1個の改変L型アミノ酸を含む23個のL型アミノ酸及び2個のD型アミノ酸を含有する25アミノ酸ペプチドを形成しているペプチドである。P10s - PADRE（これは「PADRE<sub>DA1a13, CH1a15, DA1a25</sub>」とも称され得る）の配列は、Trp - Arg - Tyr - Thr - Ala - Pro - Val - His - Leu - Gly - Asp - Gly - dAla - Lys - CHAla - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAlaであり、ここで、Ala13及びAla25は、それぞれ、dAlaとして示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、CHAlaとして示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである。上記ペプチドは、N末端に水素を、かつC末端にNH<sub>2</sub>を有する。P10s - PADREの構造を表す式は、H - Trp - Arg - Tyr - Thr - Ala - Pro - Val - His - Leu - Gly - Asp - Gly - dAla - Lys - CHAla - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAla - NH<sub>2</sub>であり、ここで、Ala13及びAla25は、それぞれ、dAlaとして示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、CHAlaとして示される改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニンである。

#### 【0053】

##### P10s - PADRE + アジュバント

P10s - PADREを注射用製剤においてアジュバントと組み合わせた組成物を提供する。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントである。MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントは、ヒトにおいて使用した場合に、デポ効果を示す。いくつかの実施形態では、デポ効果を提供する他のアジュバントを使用する。いくつかの実施形態では、デポ効果を提供しない他のアジュバントを使用する。いくつかの実施形態では、上記アジュバントは、QS21アジュバント（Agenus、Lexington MA）である。いくつかの実施形態では、上記アジュバントを、Montanide ISAアジュバント（Seppic SA、Paris、France）の群から選択する。いくつかの実施形態では、上記アジュバントを、フロイント完全アジュバント（FCA）、フロイント不完全アジュバント（FIA）、Ribiaアジュバントの1種または複数種、Hunter's TiterMax、アルミニウム塩アジュバント、ニトロセルロース吸着タンパク質、非分解性エチレン - 酢酸ビニルコポリマー封入抗原、及び生分解性、生体適合性で、例えば、ポリ（DL - ラクチド - コ - グリコリド）ポリマーを使用するものを含む分解性ポリマー封入抗原などのリポソーム封入抗原、ならびにGerbuアジュバントからなる群から選択する。いくつかの実施形態では、上記アジュバントを、AddaVax（商標）アジュバント、Alhydrogel 2%、IFA、c-di-AMP VacciGrade（商標）アジュバント、c-di-GMP VacciGrade（商標）アジュバント、Flagellin FliC VacciGrade（商標）アジュバント、Gardiquimod VacciGrade（商標）アジュバント、Imiquimod VacciGrade（商標）アジュバント、MPLA - SM VacciGrade（商標）アジュバント、MPLA Synthetic VacciGrade（商標）アジュバント、N - Glycolyl - MDP VacciGrade（商標）アジュバント、ODN1585 VacciGrade（商標）アジュバント、ODN1826 VacciGrade（商標）アジュバント、ODN2006 Vaccigrade（商標）アジュバント、ODN2395 VacciGrade（商標）アジュバント、Pam3CSK4

10

20

30

40

50

Vaccigrade (商標) アジュバント、ポリ (I:C) (HMW) Vaccigrade (商標) アジュバント、R848 Vaccigrade (商標) アジュバント、及び TDB Vaccigrade (商標) アジュバントからなる群から選択する。

#### 【0054】

いくつかの実施形態では、天然デポ効果を有するアジュバントを選択及び使用することができる。いくつかの実施形態では、天然デポ効果を有さないアジュバントを選択及び使用することができる。いくつかの実施形態では、デポ効果を生成または増大させるように、アジュバントを配合することができる。

#### 【0055】

##### P10s 変異体

P10s の多重抗原ペプチド (MAP) 形態は、繰り返し P10s 単位、例えば、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上の P10s ペプチド繰り返しを有し得る。CMP のそのような MAP 形態は、IgM 免疫応答を誘発するために特に有用である。

#### 【0056】

P10s は、変異体として提供し得る。P10s の 12 アミノ酸配列を、P10s の断片を形成するように最後の 4 個の残基の 1 ~ 4 個を欠失させることによって改変することができる (P10s<sub>1~11</sub>、P10s<sub>1~10</sub>、P10s<sub>1~9</sub>、P10s<sub>1~8</sub>)。P10s の上記 12 アミノ酸配列を、N 末端側に延長した P10s 変異体を形成するように 1 ~ 3 個の N 末端残基を付加することによって改変することができる：P10s<sub>1+1~12</sub>、P10s<sub>2+1~12</sub>、及び P10s<sub>3+1~12</sub>。N 末端側に延長された P10s 変異体 (P10s<sub>1+1~12</sub>、P10s<sub>2+1~12</sub>、及び P10s<sub>3+1~12</sub>) を短縮化することができ、例えば、P10s<sub>1+1~12</sub> を、P10s<sub>1+1~11</sub>、P10s<sub>1+1~10</sub>、P10s<sub>1+1~9</sub>、P10s<sub>1+1~8</sub> が生じるように短縮化することができ；P10s<sub>2+1~12</sub> を、P10s<sub>2+1~11</sub>、P10s<sub>2+1~10</sub>、P10s<sub>2+1~9</sub>、P10s<sub>2+1~8</sub> が生じるように短縮化することができ；P10s<sub>3+1~12</sub> を、P10s<sub>3+1~11</sub>、P10s<sub>3+1~10</sub>、P10s<sub>3+1~9</sub>、及び P10s<sub>3+1~8</sub> が生じるように短縮化することができる。N 末端に単一の付加残基を有する N 末端側に延長された P10s 変異体は好ましくは、それらの N 末端にバリン残基を有する。N 末端に 2 個の付加残基を有する N 末端側に延長された P10s 変異体は好ましくは、それらの N 末端にバリン - バリン残基を有する。N 末端に 3 個の付加残基を有する N 末端側に延長された P10s 変異体は好ましくは、それらの N 末端にグリシン - バリン - バリン残基を有する。P10s 及びこれらの変異体のそれぞれは、P10s<sub>1~3</sub> で改変することができる。P10s は、1 ~ 3 位、すなわち、P10s<sub>1~3</sub> に、WRYモチーフを有する。一部の变異体では、P10s (P10s<sub>1~12</sub>) の P10s<sub>1~3</sub> は、YRY、YPY、または WPYモチーフで置換されて、P10s<sub>1~12Y1</sub>、P10s<sub>1~12Y1P2</sub>、P10s<sub>1~12P2</sub> を形成してよい。他の変異体は、P10s<sub>1~3</sub> に同様の改変を有してよい。例えば、P10s<sub>1~12</sub> 断片 (P10s<sub>1~11</sub>、P10s<sub>1~10</sub>、P10s<sub>1~9</sub>、P10s<sub>1~8</sub>) のように、断片は、1 ~ 3 位に YRY、YPY、または WPYモチーフを含んでよい。P10s<sub>1~12Y1</sub>、P10s<sub>1~12Y1P2</sub>、P10s<sub>1~12P2</sub> は、短縮化形態として、すなわち、P10s<sub>1~11Y1</sub>、P10s<sub>1~11Y1P2</sub>、P10s<sub>1~11P2</sub>、P10s<sub>1~10Y1</sub>、P10s<sub>1~10Y1P2</sub>、P10s<sub>1~10P2</sub>、P10s<sub>1~9Y1</sub>、P10s<sub>1~9Y1P2</sub>、P10s<sub>1~9P2</sub>、P10s<sub>1~8Y1</sub>、P10s<sub>1~8Y1P2</sub>、及び P10s<sub>1~8P2</sub> として提供し得る。P10s<sub>1~12Y1</sub>、P10s<sub>1~12Y1P2</sub>、P10s<sub>1~12P2</sub>、P10s<sub>1~11Y1</sub>、P10s<sub>1~11Y1P2</sub>、P10s<sub>1~11P2</sub>、P10s<sub>1~10Y1</sub>、P10s<sub>1~10Y1P2</sub>、P10s<sub>1~10P2</sub>、P10s<sub>1~9Y1</sub>、P10s<sub>1~9Y1P2</sub>、P10s<sub>1~9P2</sub>、P10s<sub>1~8Y1</sub>、P10s<sub>1~8Y1P2</sub>、及び P10s<sub>1~8P2</sub> は、その N 末端で、1、2 または 3 個の付加 N 末端残基で改変されていてもよい。P10s<sub>1~12</sub>、P10s<sub>1~11</sub>、P10s<sub>1~10</sub>、P10s<sub>1~9</sub>、P10s<sub>1~8</sub>、P10s<sub>1~12Y1</sub>、P10s<sub>1~12Y1P2</sub>、P10s<sub>1~12P2</sub>、P10s<sub>1~11Y1</sub>、P10s<sub>1~11Y1P2</sub>、P10s<sub>1~11P2</sub>、P10s<sub>1~10Y1</sub>、P10s<sub>1~10Y1P2</sub>、P10s<sub>1~10P2</sub>、P10s<sub>1~9Y1</sub>、P10s<sub>1~9Y1P2</sub>、P10s<sub>1~9P2</sub>、P10s<sub>1~8Y1</sub>、P10s<sub>1~8Y1P2</sub>、及び P10s<sub>1~8P2</sub>。P10s<sub>1~12Y1</sub>、P10s<sub>1~12Y1P2</sub>、P10s<sub>1~12P2</sub>、P10

10

20

30

40

50



$S_1 \sim 11Y1$ 、 $P10S_1 \sim 11Y1P2$ 、 $P10S_1 \sim 11P2$ 、 $P10S_1 \sim 10Y1$ 、 $P10S_1 \sim 10Y1P2$ 、 $P10S_1 \sim 10P2$ 、 $P10S_1 \sim 9Y1$ 、 $P10S_1 \sim 9Y1P2$ 、 $P10S_1 \sim 9P2$ 、 $P10S_1 \sim 8Y1$ 、 $P10S_1 \sim 8Y1P2$ 、及び $P10S_1 \sim 8P2$ は、そのN末端に1個のアミノ酸残基を付加することによって、 $P10S_{1+1} \sim 12$ 、 $P10S_{1+1} \sim 11$ 、 $P10S_{1+1} \sim 10$ 、 $P10S_{1+1} \sim 9$ 、 $P10S_{1+1} \sim 8$ 、 $P10S_{1+1} \sim 12Y1$ 、 $P10S_{1+1} \sim 12Y1P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 12P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 11Y1$ 、 $P10S_{1+1} \sim 11Y1P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 11P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 10Y1$ 、 $P10S_{1+1} \sim 10Y1P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 10P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 9Y1$ 、 $P10S_{1+1} \sim 9Y1P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 9P2$ 、 $P10S_{1+1} \sim 8Y1$ 、 $P10S_{1+1} \sim 8Y1P2$ 、及び $P10S_{1+1} \sim 8P2$ が生じるように改変することができる。いくつかの実施形態では、上記1個の残基は、バリンである。N末端に2個のアミノ酸残基を付加すると、 $P10S_{2+1} \sim 12$ 、 $P10S_{2+1} \sim 11$ 、 $P10S_{2+1} \sim 10$ 、 $P10S_{2+1} \sim 9$ 、 $P10S_{2+1} \sim 8$ 、 $P10S_{2+1} \sim 12Y1$ 、 $P10S_{2+1} \sim 12Y1P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 12P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 11Y1$ 、 $P10S_{2+1} \sim 11Y1P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 11P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 10Y1$ 、 $P10S_{2+1} \sim 10Y1P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 10P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 9Y1$ 、 $P10S_{2+1} \sim 9Y1P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 9P2$ 、 $P10S_{2+1} \sim 8Y1$ 、 $P10S_{2+1} \sim 8Y1P2$ 、及び $P10S_{2+1} \sim 8P2$ が生じる。いくつかの実施形態では、上記2個の残基は、バリン-バリンである。N末端に3個のアミノ酸残基を付加すると、 $P10S_{3+1} \sim 12$ 、 $P10S_{3+1} \sim 11$ 、 $P10S_{3+1} \sim 10$ 、 $P10S_{3+1} \sim 9$ 、 $P10S_{3+1} \sim 8$ 、 $P10S_{3+1} \sim 12Y1$ 、 $P10S_{3+1} \sim 12Y1P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 12P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 11Y1$ 、 $P10S_{3+1} \sim 11Y1P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 11P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 10Y1$ 、 $P10S_{3+1} \sim 10Y1P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 10P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 9Y1$ 、 $P10S_{3+1} \sim 9Y1P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 9P2$ 、 $P10S_{3+1} \sim 8Y1$ 、 $P10S_{3+1} \sim 8Y1P2$ 、及び $P10S_{3+1} \sim 8P2$ が生じる。いくつかの実施形態では、上記3個の残基は、グリシン-バリン-バリンである。P10sのN末端に連結したグリシン-バリン-バリンは、P10をもたず(配列番号2)。加えて、各P10s変異体を、追加のP10s変異体を生じさせるためにさらに改変することができる。P10s変異体は、残基4~12に1~4個の欠失を有する上述の残基4~12を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~11に1~4個の欠失を有する上述の残基4~11を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~10に1~4個の欠失を有する上述の残基4~10を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~9に1~4個の欠失を有する上述の残基4~9を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~8に1~4個の欠失を有する上述の残基4~8を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~12に1~4個の挿入を有する上述の残基4~12を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~11に1~4個の挿入を有する上述の残基4~11を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~10に1~4個の挿入を有する上述の残基4~10を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~9に1~4個の挿入を有する上述の残基4~9を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~8に1~4個の挿入を有する上述の残基4~8を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~12に1~4個の置換を有する上述の残基4~12を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~11に1~4個の置換を有する上述の残基4~11を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~10に1~4個の置換を有する上述の残基4~10を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~9に1~4個の置換を有する上述の残基4~9を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~8に1~4個の置換を有する上述の残基4~8を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~12に1~4個の欠失、挿入、及び置換の組合せを有する上述の残基4~12を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~11に1~4個の欠失、挿入、及び置換の組合せを有する上述の残基4~11を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~10に1~4個の欠失、挿入、及び置換の組合せを有する上述の残基4~10を有する変異体のいずれも含み得る。さらなる改変は、残基4~9に1~4個の欠失、挿入、及び置換の組合せを有する上述の残基4~9を有する変異体のいずれも含み得る。さ

10

20

30

40

50

らなる改変は、残基4～8に1～4個の欠失、挿入、及び置換の組合せを有する上述の残基4～8を有する変異体のいずれも含み得る。これらの構造的特徴に加えて、変異体は、P10sに結合する抗体を誘発する。P10s変異体の多重抗原ペプチド(MAP)形態は、繰り返しP10s変異体単位、例えば、4、5、6、7、8、9、10以上のP10s変異体ペプチドの繰り返しを有し得る。CMPのそのようなMAP形態は、IgM免疫応答を誘発するために特に有用である。

【0057】

CD4+ヘルパーエピトープに連結したP10sまたはP10s変異体

ペプチドは、MHCと複合体を形成し、この複合体は、特定のT細胞受容体によって認識され得る。MHC/ペプチドと上記T細胞受容体との間の相互作用は、MHCを発現する細胞とT細胞受容体を発現するT細胞との間でシグナルをもたらす。MHCクラスIIの場合には、ペプチド及びMHCクラスII複合体によって形成される複合体は、CD4+ヘルパーT細胞のT細胞受容体と相互作用する。したがって、CD4+ヘルパーT細胞のT細胞受容体によって複合体と認識され得るMHCクラスII分子と共に複合体を形成し得るペプチドは、CD4+ヘルパーエピトープである。

【0058】

P10s及びP10s変異体がCD4+ヘルパーエピトープに連結している組成物を提供する。

【0059】

いくつかの実施形態では、上記CD4+T細胞エピトープは、上記汎用HLA-DRエピトープPADREに由来する。PADREペプチドは、16種の最も一般的なタイプのHLA-DRのうちの少なくとも15種と複合体を形成する。上で論述したPADREペプチド:dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAlaは、汎用CD4+ヘルパーエピトープの一例である。ヒトは、少なくとも1種のDRを有し、PADREは、そのタイプの多くと結合するので、PADREは、多くのヒトにおいて有効である可能性が高い。PADREペプチドの別の例は、KXVAAWTLKAであり、ここで、Xはシクロヘキシルアラニンである(配列番号3)。PADREペプチドの別の例は、AKXVAAWTLKAAであり、ここで、Xはシクロヘキシルアラニンである(配列番号4)。PADREペプチドの別の例は、AKXVAAWTLKAAAであり、ここで、Xはシクロヘキシルアラニンである(配列番号5)。

【0060】

PADREペプチド及び他の汎用CD4+ヘルパーエピトープは、当業者によって広く言及されている(Alexander, J, delGuercio, M F, Mawal, A, Qiao L, Fikes Chestnut R W, Paulson J, Bundle D R, DeFrees S, 及びSette A, Linear PADRE T Helper Epitope and Carbohydrate B Cell Epitope Conjugates Induce Specific High Titer IgG Antibody Responses, J. Immunol, 2000年2月1日, 164(3): 1625~33; Wei J, Gao W, Wu J, Meng K, Zhang J, Chen J, Miao Y., Dendritic Cells Expressing a Combined PADRE/MUC4-Derived Polyepitope DNA Vaccine Induce Multiple Cytotoxic T-Cell Responses., Cancer Biother Radiopharm 2008, 23: 121~8; Bargieri D Y, Rosa D S, Lasaro M A, Ferreira L C, Soares I S, Rodrigues M M., Adjuvant requirement for successful immunization with recombinant derivatives of Plasmodium vivax merozoite surface protein

10

20

30

40

50

- 1 delivered via the intranasal route., M em Inst Oswaldo Cruz 2007, 102:313~7; Rosa D S, Iwai L K, Tzelepis F, Bargieri D Y, Me deiros M A, Soares I S, Sidney J, Sette A, K alil J, Mello L E, Cunha-Neto E, Rodrigues M M., Immunogenicity of a recombinant pro tein containing the Plasmodium vivax vac cine candidate MSP1(19) and two human CD 4+ T-cell epitopes administered to non-h uman primates (Callithrix jacchus jacchu s), Microbes Infect 2006, 8:2130~7; Zhang X, Issagholian A, Berg E A, Fishman J B, Nesb urn A B, BenMohamed L., Th-cytotoxic T-lym phocyte chimeric epitopes extended by Ne psilon-palmitoyl lysines induce herpes s implex virus type 1-specific effector CD 8+ T cell responses and protect against ocu lar infection., J Virol 2005; 79:15289~301、及び Agadjanyan M G, Ghochikyan A, Petrushin a I, Vasilevko V, Movsesyan N, Mkrtychyan M, Saing T, Cribbs D H., Prototype Alzheimer 's disease vaccine using the immunodomin ant B cell epitope from beta-amyloid and promiscuous T cell epitope pan HLA DR-b inding peptide., J Immunol 2005; 174:1580~6)。

PADREなどの汎用CD4+ヘルパーエピトープは、Setteらに1998年4月7日に付与された米国特許第5,736,142号; Setteらに2002年7月2日に付与された米国特許第6,413,935号; 及びSetteらに2007年4月10日に付与された米国特許第7,202,351号において開示されている。複数のDRタイプに結合すると報告されている他のペプチドには、Buschら、Int. Im munol. 2, 443~451(1990); Panina-Bordignonら、Eur. J. Immunol. 19, 2237~2242(1989); Sin igagliaら、Nature 336, 778~780(1988); O'Sull ivanら、J. Immunol. 147, 2663~2669(1991)、Ro acheら、J. Immunol. 144, 1849~1856(1991); 及び Hillら、J. Immunol. 147, 189~197(1991)において記 載されているものが含まれる。加えて、Setteらに2002年7月2日に付与された 米国特許第6,413,517号は、広域反応性DR制限エピトープの同定に関する。

【0061】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、CD4+T細胞エピトープキーホールリンペットヘモシアニン(hemocyananin)に連結させる。

【0062】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、破傷風毒素に由来するCD4+T細胞エピトープに連結させる(Renard V, Sonderbye L, E bbehøj K, Rasmussen P B, Gregorius K, Gotts chalk T, Mouritsen S, Gautam A, Leach DR., H ER-2 DNA and protein vaccines containing potent Th cell epitopes induce distinct protective and therapeutic antitumor re sponses in HER-2 transgenic mice., J Immu

nol 2003;171:1588~95;Moro M、Cecconi V、Martinoli C、Dallegno E、Giabbai B、Degano M、Glaichenhaus N、Protti M P、Dellabona P、Casorati G.、Generation of functional HLA-DR\*1101 tetramers receptive for loading with pathogen- or tumour-derived synthetic peptides.、BMC Immunol 2005;6:24;BenMohamed L、Krishnan R、Longmate J、Auge C、Low L、Primus J、Diamond D J.、Induction of CTL response by a minimal epitope vaccine in HLA A\*0201/DR1 transgenic mice: dependence on HLA class II restricted T(H) response.、Hum Immunol 2000;61:764~79;及びJames EA、Bui J、Berger D、Huston L、Roti M、Kwok WW.、Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition.、Int Immunol 2007;19:1291~301)。HLA-DRB1\*0401 - - 15種の異なる破傷風トキシイドペプチド (James E A、Bui J、Berger D、Huston L、Roti M、Kwok W W.、Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition.、Int Immunol 2007;19:1291~301)。HLA-DRB1\*0701 - - 9種の異なる破傷風トキシイドペプチド (James E A、Bui J、Berger D、Huston L、Roti M、Kwok W W.、Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition.、Int Immunol 2007;19:1291~301)。HLA-DRB1\*1501 - - 7種の異なる破傷風トキシイドペプチド (James E A、Bui J、Berger D、Huston L、Roti M、Kwok W W.、Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition.、Int Immunol 2007;19:1291~301)。HLA-DRB5\*0101 - - 8種の異なる破傷風トキシイドペプチド (James E A、Bui J、Berger D、Huston L、Roti M、Kwok W W.、Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition.、Int Immunol 2007;19:1291~301)。

【0063】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞

胞エピトープは、インフルエンザ赤血球凝集素に由来してよい(Mom M、Cecconi V、Martinoli C、Dallegno E、Giabbai B、Degano M、Glaichenhaus N、Protti M P、Dellabona P、Casorati G.、Generation of functional HLA-DR\*1101 tetramers receptive for loading with pathogen- or tumour-derived synthetic peptides.、BMC Immunol 2005;6:24)。

【0064】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、B型肝炎表面抗原(HBsAg)に由来してよい(Litjens N H、Huisman M、Baan C C、van Druningen C J、Betjes M G.、Hepatitis B vaccine-specific CD4(+) T cells can be detected and characterized at the single cell level: limited usefulness of dendritic cells as signal enhancers.、J Immunol Methods 2008;330:1~11)。

10

【0065】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、細菌性病原体(Anaplasma marginalsなど)の外膜タンパク質(OMP)に由来してよい(Macmillan H、Norimine J、Brayton K A、Palmer G H、Brown W C.、Physical linkage of naturally complexed bacterial outer membrane proteins enhances immunogenicity.、Infect Immun 2008;76:1223~9)。

いくつかの実施形態では、配列番号2を、細菌性病原体の外膜タンパク質(OMP)に由来するエピトープに連結させる。

20

【0066】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、エンテロウイルス71(EV71)株41からのVP1カプシドタンパク質に由来してよい(Wei Foo D G、Macary P A、Alonso S、Poh C L.、Identification of Human CD4(+) T-Cell Epitopes on the VPI Capsid Protein of Enterovirus 71.、Viral Immunol 2008)。

30

【0067】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、EBV BMLF1に由来してよい(Schlienger K、Craighead N、Lee K P、Levine B L、June C H.、Efficient priming of protein antigen-specific human CD4(+) T cells by monocyte-derived dendritic cells.、Blood 2000;96:3490~8;Neidhart J、Allen K O、Barlow D L、Carpenter M、Shaw D R、Trionzi PL、Conry R M.、Immunization of colorectal cancer patients with recombinant baculovirus-derived KSA (Ep-CAM) formulated with monophosphoryl lipid A in liposomal emulsion, with and without granulocyte-macrophage colony

40

50

- stimulating factor., Vaccine 2004; 22: 773 ~ 80; Piriou E R, van Dort K, Nanlohy N M, van Oers M H, Miedema F, van Baarle D., Novel method for detection of virus-specific CD4+ T cells indicates a decreased EBV-specific CD4+ T cell response in untreated HIV-infected subjects., Eur J Immunol 2005; 35: 796 ~ 805; Heller K N, Upshaw J, Seyoum B, Zebroski H, Munz C., Distinct memory CD4+ T-cell subsets mediate immune recognition of Epstein Barr virus nuclear antigen 1 in healthy virus carriers., Blood 2007; 109: 1138 ~ 46)。

10

## 【0068】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、EBV LMP1に由来してよい(Kobayashi H, Nagato T, Takahara M, Sato K, Kimura S, Aoki N, Azumi M, Tateno M, Harabuchi Y, Celis E., Induction of EBV-latent membrane protein 1-specific MHC class restricted T-cell responses against natural killer lymphoma cells., Cancer Res 2008; 68: 901 ~ 8)。

20

## 【0069】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、HIV p2437に由来してよい(Pajot A, Schnuriger A, Moris A, Rodallec A, Ojcius DM, Autran B, Lemonnier F A, Lone YC., The Th1 immune response against HIV-1 Gag p24-derived peptides in mice expressing HLA-A02.01 and HLA-DR1., Eur J Immunol 2007; 37: 2635 ~ 44)。

30

## 【0070】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体に連結した上記CD4+T細胞エピトープは、アデノウイルスヘキサタンパク質に由来してよい(Leen A M, Christin A, Khalil M, Weiss H, Gee A P, Brenner M K, Heslop H E, Rooney C M, Bollard C M., Identification of hexon-specific CD4 and CD8 T-cell epitopes for vaccine and immunotherapy., J Viral 2008; 82: 546 ~ 54)。

## 【0071】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、ワクシニアタンパク質に由来するエピトープに連結させる。多重MHC-IIハプロタイプ、ワクシニアウイルスタンパク質には、30種超の同定済みのCD4+T細胞エピトープがあり(Calvo-Calle J M, Strug I, Nastke M D, Baker S P, Stern L J., Human CD4+ T cell epitopes from vaccinia virus induced by vaccination or infection., PLoS Pathog 2007; 3: 1511 ~ 29)、かつ24種の異なるワクシニアタンパク質由来の多重MHC-IIハプロタイプには、25種超の同定済みのCD4+T細胞エピトープがある。

40

## 【0072】

50

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、熱ショックタンパク質に由来するエピトープに連結させる。熱ショックタンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープ(Liu D W、Tsao Y P、Kung J T、Ding Y A、Sytwu H K、Xiao X、Chen S L.、Recombinant adeno-associated virus expressing human papillomavirus type 16 E7 peptide DNA fused with heat shock protein DNA as a potential vaccine for cervical cancer.、J Virol 2000;74:2888~94)。

## 【0073】

10

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、IgGのFc部分に由来するエピトープに連結させる。いくつかの実施形態では、上記CD4+T細胞エピトープは、IgGのFc部分に由来する(You Z、Huang X F、Hester J、Rollins L、Rooney C、Chen S Y.、Induction of vigorous helper and cytotoxic T cell as well as B cell responses by dendritic cells expressing a modified antigen targeting receptor-mediated internalization pathway.、J Immunol 2000;165:4581~91)。

## 【0074】

20

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、リソソーム関連膜タンパク質に由来するエピトープに連結させる。いくつかの実施形態では、上記CD4+T細胞エピトープは、リソソーム関連膜タンパク質に由来する(Su Z、Vieweg J、Weizer A Z、Dahm P、Yancey D、Turaga V、Higgins J、Boczkowski D、Gilboa E、Dannull J.、Enhanced induction of telomerase-specific CD4(+) T cells using dendritic cells transfected with RNA encoding a chimeric gene product.、Cancer Res 2002;62:5041~8)。

## 【0075】

30

HLAハプロタイプの試料、さらには、示されているHLA分子に代表的なCD4+T細胞には、これらだけに限定されないが、以下が含まれる：

HLA-DR\*1101 - - 破傷風トキソイドペプチド残基829~844、血球凝集素ペプチド残基306~318(Moro M、Cecconi V、Martinoli C、Dallegno E、Giabbai B、Degano M、Glaichenhaus N、Protti M P、Dellabona P、Casorati G.、Generation of functional HLA-DR\*1101 tetramers receptive for loading with pathogen- or tumour-derived synthetic peptides.、BMC Immunol 2005;6:24)。いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、破傷風毒素ペプチド残基829~844または血球凝集素ペプチド残基306~318に連結させる。

40

## 【0076】

HLA-DRB1\*0101(DR1) - - 破傷風トキソイドペプチド残基639~652、830~843、または947~967、及び14種の他の破傷風トキソイドペプチド(BenMohamed L、Krishnan R、Longmate J、Auge C、Low L、Primus J、Diamond D J.、Induction of CTL response by a minimal epitope vaccine in HLA A\*0201/DR1 transgenic mice: dependence on HLA class II restricted

50

T(H) response., Hum Immunol 2000; 61: 764~79; 及び James E A, Bui J, Berger D, Huston L, Roti M, Kwok W W., Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition., Int Immunol 2007; 19: 1291~301)。いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、破傷風毒素ペプチド残基639~652、830~843、または947~967に連結させる。

10

## 【0077】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、EV71 VP1残基145~159または247~261に連結させる。HLA-DRB1\*0301--EV71 VP1残基145~159または247~261、及び5種の異なる破傷風トキソイドペプチド(Wei Foo D G, Macary P A, Alonso S, Poh C L., Identification of Human CD4(+) T-Cell Epitopes on the VP1 Capsid Protein of Enterovirus 71., Viral Immunol 2008; 及び James E A, Bui J, Berger D, Huston L, Roti M, Kwok W W., Tetramer-guided epitope mapping reveals broad, individualized repertoires of tetanus toxin-specific CD4+ T cells and suggests HLA-based differences in epitope recognition., Int Immunol 2007; 19: 1291~301)。HLA-DRB1\*0405--EV71 VP1残基145~159または247~261(Wei Foo D G, Macary P A, Alonso S, Poh C L., Identification of Human CD4(+) T-Cell Epitopes on the VP1 Capsid Protein of Enterovirus 71., Viral Immunol 2008)。HLA-DRB1\*1301--EV71 VP1残基145~159または247~261(Wei Foo D G, Macary P A, Alonso S, Poh C L., Identification of Human CD4(+) T-Cell Epitopes on the VP1 Capsid Protein of Enterovirus 71., Viral Immunol 2008)。

20

30

## 【0078】

いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、エプスタイン-バールウイルス(EBV)潜伏膜タンパク質1(LMP1)残基159~175に連結させる。HLA-DR9--エプスタイン-バールウイルス(EBV)潜伏膜タンパク質1(LMP1)残基159~175(Kobayashi H, Nagato T, Takahara M, Sato K, Kimura S, Aoki N, Azumi M, Taten M, Harabuchi Y, Celis E., Induction of EBV-latent membrane protein 1-specific MHC class II-restricted T-cell responses against natural killer lymphoma cells., Cancer Res 2008; 68: 901~8)。HLA-DR53 EBV LMP1残基159~175(Kobayashi H, Nagato T, Takahara M, Sato K, Kimura S, Aoki N, Azumi M, Taten M, Harabuchi Y, Celis E., Induction of EBV-latent membrane protein 1-specific MHC c

40

50



lass II-restricted T-cell responses against natural killer lymphoma cells., Cancer Res 2008;68:901~8)。HLA-DR15 EBV LMP1残基159~175(Kobayashi H、Nagato T、Takahara M、Sato K、Kimura S、Aoki N、Azumi M、Tatenno M、Harabuchi Y、Celis E.、Induction of EBV-latent membrane protein 1-specific MHC class II-restricted T-cell responses against natural killer lymphoma cells., Cancer Res 2008;68:901~8)。

10

【0079】

上記P10sまたはP10s変異体は、ペプチド結合によって、上記CD4+T細胞エピトープに連結させることができる。いくつかの実施形態では、P10sまたはP10s変異体を、非ペプチド結合によって、上記CD4+T細胞エピトープに共有結合により連結させる。

【0080】

いくつかの実施形態では、P10sが、dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla-NH<sub>2</sub>; dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla; dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端は改変されておらず、そのC末端は改変されている); dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端は、改変されておらず、そのC末端は改変されてない)、dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端は改変されておらず、そのC末端は改変されてない)、dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端は、アセチル化されていて、そのC末端はアミド化されている); dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端は、アセチル化されてなく、そのC末端はアミド化されている); dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端はアセチル化されてなく、そのC末端はアミド化されてない); 及びdAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla(ここで、そのN末端は、アセチル化されていて、そのC末端は、アミド化されている); 配列番号3; 配列番号4; 配列番号5の群から選択されるCD4+ヘルパーエピトープに連結されている組成物を提供する。いくつかの実施形態では、P10sが、キーホールリンベットヘモシアニン; 破傷風毒素に由来するCD4+T細胞エピトープ; インフルエンザ赤血球凝集素に由来するCD4+T細胞エピトープ; 肝炎B表面抗原(HBsAg)に由来するCD4+T細胞エピトープ; 細菌性病原体(Anaplasma marginalsなど)の外膜タンパク質(OMP)に由来するCD4+T細胞エピトープ; エンテロウイルス71(EV71)株41からのVP1カプシドタンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープ; EBV BMLF1に由来するCD4+T細胞エピトープ; EBV LMP1に由来するCD4+T細胞エピトープ; HIV p2437に由来するCD4+T細胞エピトープ; アデノウイルスヘキソタンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープ; ワクシニアタンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープ; 熱ショックタンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープ; IgGのFc部分に由来するCD4+T細胞エピトープ; リソソーム関連膜タンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープ; リソソーム関連膜タンパク質に由来するCD4+T細胞エピトープの群から選択されるCD4+ヘルパーエピトープに連結さ

20

30

40

50

れている組成物を提供する。いくつかの実施形態では、上記CD4+ヘルパーエпитープは、破傷風毒素ペプチド残基829~844；血球凝集素ペプチド残基306~318；破傷風毒素ペプチド残基639~652または830~843または947~967；EV71 VP1残基145~159または247~261；及びエプスタイン-バールウイルス（EBV）潜伏膜タンパク質1（LMP1）残基159~175の群から選択される。いくつかの実施形態では、P10sがそのようなCD4+ヘルパーエпитープに連結されているそのような組成物、結合したP10s及びCD4+ヘルパーエпитープ化合物を、注射用製剤においてアジュバントと組み合わせ、その際、そのアジュバントは、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバント、QS21アジュバント、別のMontanide ISAアジュバント；フロイント完全アジュバント（FCA）、フロイント不完全アジュバント（FIA）、1種または複数種のRibiaアジュバント、Hunter's TiterMax、アルミニウム塩アジュバント、ニトロセルロース吸着タンパク質、非分解性エチレン-酢酸ビニルコポリマー封入抗原などのリポソーム封入抗原、及び生分解性、生体適合性のポリ（DL-ラクチド-コ-グリコリド）ポリマーなどを使用するものを含む分解性ポリマー封入抗原；Gerbuアジュバント；AddaVax（商標）アジュバント、Alhydrogel 2%、IFA、c-di-AMP VacciGrade（商標）アジュバント、c-di-GMP VacciGrade（商標）アジュバント、Flagellin FliC VacciGrade（商標）アジュバント、Gardiquimod VacciGrade（商標）アジュバント、Imiquimod VacciGrade（商標）アジュバント、MPLA-SM VacciGrade（商標）アジュバント、MPLA Synthetic VacciGrade（商標）アジュバント、N-Glycolyl-MDP VacciGrade（商標）アジュバント、ODN1585 VacciGrade（商標）アジュバント、ODN1826 VacciGrade（商標）アジュバント、ODN2006 VacciGrade（商標）アジュバント、ODN2395 VacciGrade（商標）アジュバント、Pam3CSK4 VacciGrade（商標）アジュバント、Poly（I:C）（HMW）Vaccigrade（商標）アジュバント、R848 Vaccigrade（商標）アジュバント、及びTDB Vaccigrade（商標）アジュバントから選択される。

#### 【0081】

いくつかの実施形態では、P10s変異体が、dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla-NH<sub>2</sub>；dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla；dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端は改変されておらず、そのC末端は改変されている）；dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端は改変されておらず、そのC末端は改変されていない）、dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端は改変されておらず、そのC末端は改変されていない）、dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端はアセチル化されていて、そのC末端はアミド化されている）；dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端はアセチル化されてなく、そのC末端はアミド化されている）；dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端はアセチル化されてなく、そのC末端はアミド化されていない）；dAla-Lys-ChAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla（ここで、そのN末端はアセチル化されていて、そのC末端はアミド化されていない）；配列番号3；配列番号4；

10

20

30

40

50

及び配列番号5の群から選択されるCD4+ヘルパーエпитープに連結されている組成物を提供する。いくつかの実施形態では、P10sが、キーホールリンペットヘモシアニン；破傷風毒素に由来するCD4+T細胞エпитープ；インフルエンザ赤血球凝集素に由来するCD4+T細胞エпитープ；肝炎B表面抗原(HBsAg)に由来するCD4+T細胞エпитープ；細菌性病原体(*Anaplasma marginalis*など)の外膜タンパク質(OMP)に由来するCD4+T細胞エпитープ；エンテロウイルス71(EV71)株41からのVP1カプシドタンパク質に由来するCD4+T細胞エпитープ；EBV BMLF1に由来するCD4+T細胞エпитープ；EBV LMP1に由来するCD4+T細胞エпитープ；HIV p2437に由来するCD4+T細胞エпитープ；アデノウイルスヘキソタンパク質に由来するCD4+T細胞エпитープ；ワクシニアタンパク質に由来するCD4+T細胞エпитープ；熱ショックタンパク質に由来するCD4+T細胞エпитープ；IgGのFc部分に由来するCD4+T細胞エпитープ；リソソーム関連膜タンパク質に由来するCD4+T細胞エпитープ；リソソーム関連膜タンパク質に由来するCD4+T細胞エпитープの群から選択されるCD4+ヘルパーエпитープに連結されている組成物を提供する。いくつかの実施形態では、上記CD4+ヘルパーエピトープは、破傷風毒素ペプチド残基829~844；血球凝集素ペプチド残基306~318；破傷風毒素ペプチド残基639~652または830~843または947~967；EV71 VP1残基145~159または247~261；及びエプスタイン-バーウイルス(EBV)潜伏膜タンパク質1(LMP1)残基159~175の群から選択される。いくつかの実施形態では、P10s変異体がそのようなCD4+ヘルパーエピトープに連結されているそのような組成物、結合したP10s及びCD4+ヘルパーエピトープ化合物を、注射用製剤においてアジュバントと組み合わせ、その際、そのアジュバントは、MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、QS21アジュバント、別のMontanide ISAアジュバント；フロイント完全アジュバント(FCA)、フロイント不完全アジュバント(FIA)、1種または複数種のRibiaアジュバント、Hunter's TiterMax、アルミニウム塩アジュバント、ニトロセルロース吸着タンパク質、非分解性エチレン-酢酸ビニルコポリマー封入抗原などのリポソーム封入抗原、及び生分解性、生体適合性のポリ(DL-ラクチド-コ-グリコリド)ポリマーなどを使用するものを含む分解性ポリマー封入抗原；Gerbuアジュバント；AdDaVax(商標)アジュバント、Alhydrogel2%、IFA、c-di-AMP VacciGrade(商標)アジュバント、c-di-GMP VacciGrade(商標)アジュバント、Flagellin FliC VacciGrade(商標)アジュバント、Gardiquimod VacciGrade(商標)アジュバント、Imiquimod VacciGrade(商標)アジュバント、MPLA-SM VacciGrade(商標)アジュバント、MPLA Synthetic VacciGrade(商標)アジュバント、N-Glycyl-MDP VacciGrade(商標)アジュバント、ODN1585 VacciGrade(商標)アジュバント、ODN1826 VacciGrade(商標)アジュバント、ODN2006 Vaccigrade(商標)アジュバント、ODN2395 VacciGrade(商標)アジュバント、Pam3CSK4 VacciGrade(商標)アジュバント、Poly(I:C)(HMW) VacciGrade(商標)アジュバント、R848 VacciGrade(商標)アジュバント、及びTDB VacciGrade(商標)アジュバントから選択される。

#### 【0082】

##### 抗体

本発明のいくつかの実施形態は、P10s及び/またはP10s-PADREに結合する単離抗体に関する。そのような抗体は、ヒト抗体であり得る。そのような抗体は、いわゆるbase-likeまたは三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系MDA-231、及びHer2+細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられるHCC1954細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性であり得る。

## 【0083】

単離抗体は、i) アジュバントをさらに含む組成物中の P10s、P10s 変異体、P10s - PADRE、P10s + 他の CD4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープ、P10s + 他の CD4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープ、それらの組合せ、またはそのような免疫化ペプチドで、ヒトを免疫化し、ii) その免疫化個体から、ヒト B 細胞を単離し、iii) 腫瘍細胞に対して細胞毒性効果を有する抗体を産生する B 細胞を特定し、iv) その B 細胞から、その抗体をコードする遺伝子を単離 / クローニングし、v) その遺伝子を、腫瘍細胞に対して細胞毒性効果を有する抗体を産生する細胞に導入することによって、生産することができる。上記抗体産生細胞を、細胞培養から単離され得る抗体を産生する条件下で培養することができる。別法では、ステップ ii) で単離され、ステップ iii) においてのとおりに、腫瘍細胞に対して細胞毒性効果を有する抗体を産生するヒト B 細胞として特定された免疫化個体からの ii) ヒト B 細胞を培養して、腫瘍細胞に対して細胞毒性効果を有する抗体を産生する培養 B 細胞を産生する B 細胞の集団を拡張することができるか、またはそのような B 細胞を改変して、培養することができ、腫瘍細胞に対して細胞毒性効果を有する抗体を産生するであろう安定な細胞を形成することができる。上記抗体産生細胞を、細胞培養物から単離することができる抗体を産生する条件下で培養することができる。

10

## 【0084】

P10s 及び / または P10s - PADRE に結合し、かついわゆる basel-like または三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系 MDA - 231、及び Her2 + 細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられる HCC1954 細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である複数のヒト抗体は、i) アジュバントをさらに含む組成物中の P10s、P10s 変異体、P10s - PADRE、P10s + 他の CD4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープ、P10s + 他の CD4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープ、その組合せ、またはそのような免疫化に、動物を曝露し、ii) その動物の細胞からハイブリドーマを調製し、iii) P10s 及び / または P10s - PADRE に結合し、かついわゆる basel-like または三重陰性腫瘍細胞系であるヒト乳房細胞系 MDA - 231、及び Her2 + 細胞であり、いくつかの選ばれた抗癌剤に対して耐性があると考えられる HCC1954 細胞によって代表される培養癌細胞に対して細胞毒性である抗体を産生するハイブリドーマを特定することによって、生産することができる。選択されたハイブリドーマを培養して、抗体及び / またはその抗体をコードする核酸配列を単離するようにプロセシングされた遺伝物質を産生する後代を生産することができる。次いで、上記抗体をコードする核酸配列を、発現ベクターに挿入し、その抗体を産生し得る細胞に導入することができる。上記抗体をコードする核酸配列を使用して、ヒト化抗体をコードするヌクレオチド配列を生産することができ、次いで、そのようなヌクレオチド配列を発現ベクターに挿入し、そのヒト化抗体を産生し得る細胞に導入することができる。

20

30

## 【0085】

抗体は、P10s / P10s - PADRE に特異的に結合する、これだけに限定されないが、例えば、単鎖抗体、Fab 断片、及び Fab<sub>2</sub> 断片を含む抗体の断片を指す。抗体には、ポリクローナル及びモノクローナル抗体、さらには、Fab 断片、F(ab)<sub>2</sub> 断片、ならびに抗体工学の他の改変及び生成物が含まれる。免疫原性を低くするためのヒト化、霊長類化、及び改変型の抗体は、本発明による抗体であり、本発明の方法で使用することができる。当業者であれば、標準的な技術及び容易に利用可能な出発物質を使用して、P10s に特異的に結合するモノクローナル抗体を生産することができる。そのような抗体をスクリーニングして、それらが、本明細書において提供する抗体の特に有用な機能性を持つかどうかを決定することができる。モノクローナル抗体を生産するための技術は、参照により本明細書に組み込まれる Harlow, E. 及び D. Lane、(1988)、ANTIBODIES: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Ha

40

50

rbor N. Y. に概説されていて、これは、標的タンパク質に特異的に結合するハイブリドーム及びモノクローナル抗体の生産についての詳細な指針を提供している。簡略には、上記免疫原をマウスに注射する。上記マウスの脾臓を取り出し、脾臓細胞を単離し、不死化マウス細胞と融合させる。上記ハイブリッド細胞またはハイブリドームを培養し、抗体を分泌する細胞を選択する。上記抗体を分析し、当該のタンパク質に特異的に結合することが見出されたら、それを産生するハイブリドームを培養して、抗原特異的抗体を連続して供給する。抗体を操作する技術は、それぞれ参照によって本明細書に組み込まれる米国特許第5,530,101号、米国特許第5,585,089号、米国特許第5,225,539号、Winter及びMillstein(1991)、Nature 349:293、ならびにLarrich及びFry(1991)、Hum. Antibod. and Hybridomas 2:17に記載されている。

10

## 【0086】

抗体を、コンジュゲートされていない抗体として製剤化することもできるし、薬物、毒素、または放射性化合物にコンジュゲートすることもできる。抗体にコンジュゲートすることができる化学療法薬には、細胞毒性薬及び細胞増殖抑制薬が含まれる。化学療法薬の例には、例えば：メトトレキサート(アムトプテリン)、ドキソルビシン(アドリマイシン(adrimycin))、ダウノルビシン、シトシンアラビノシド、エトポシド、5-フルオロウラシル、メルファラン、クロラムブシル、及び他のナイトロジェンマスタード(例えば、シクロフォスファミド)、シスプラチナム、ビンデシン(及び他のピンカアルカロイド)、マイトマイシン、及びブレオマイシンなどの一般的な細胞毒性薬または細胞増殖抑制薬が含まれる。他の化学療法薬には、プロチオニン(大麦粉オリゴペプチド)、マクロモマイシン、1,4-ベンゾキノ誘導体、及びトレニモン、さらにはニトロイミダゾール、メトロニダゾール、及びミノニダゾールが含まれる。毒素の例には、これらだけに限定されないが：リシン、リシンA鎖(リシン毒素)、シュードモナス外毒素(PE)、ジフテリア毒素(DT)、クロストリジウム・パーフリングENS(Clostridium perfringens)ホスホリパーゼC(PLC)、ウシ膵臓リボヌクレアーゼ(BPR)、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質(PAP)、アプリン、アプリンA鎖(アプリン毒素)、コブラ毒因子(CVF)、ゲロニン(GEL)、サポリン(SAP)、モデシン、ビスキュミン、及びボルケンシンが含まれる。放射線療法において毒素として有用な放射性核種の例には、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、及び $^{212}\text{Bi}$ が含まれる。当業者によって使用されている他の放射性核種には、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{71}\text{Ge}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{103}\text{Pb}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{119}\text{Sb}$ 、 $^{121}\text{Sn}$ 、 $^{131}\text{Cs}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{191}\text{Os}$ 、 $^{193}\text{Mpt}$ 、 $^{197}\text{Hg}$ 、すべてのベータ陰性及び/またはオージェ放射体が含まれる。一部の好ましい放射性核種には、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、及び $^{212}\text{Pb}/^{212}\text{B}$ が含まれる。

20

30

## 【0087】

当業者であれば、周知の技術を使用して、抗体を化学療法薬、毒素、または放射性核種にコンジュゲートさせることができる。例えば、参照により本明細書に組み込まれるMagerstadt, M., Antibody Conjugates and Malignant Disease., (1991)、CRC Press、Boca Raton、USA、110~152頁)は、様々な細胞増殖抑制薬を抗体のアミノ酸にコンジュゲートすることを教示している。癌を治療する際に現在使用されている化学療法薬の多くは、タンパク質と直接的に化学的に架橋し得る官能基を持つ。例えば、メトトレキサート、ドキソルビシン、ダウノルビシン、シトシンアラビノシド、シスプラチン、ビンデシン、マイトマイシン、及びブレオマイシンでは、遊離アミノ基を利用することができ、メトトレキサート、メルファラン、及びクロラムブシルでは、遊離カルボン酸基を利用することができる。遊離アミノ及びカルボン酸であるこれらの官能基は、これらの薬物を抗体の単一の遊離アミノに直接、架橋させることができる様々なホモ二官能性及びヘテロ二官能性化学的架橋剤のための標的である。ジスクシンイミジルスベラート(Pierce

40

50

Co、Rockford、Ill.)などの、好ましくは炭素鎖スペーサーを含むホモ二官能性スクシンイミジルエステルを使用することができる。切断可能なコンジュゲート化合物が必要な場合には、3,3'-ジチオビス(スルホスクシンイミジルプロピオナート; Pierce Co.)を利用する同じプロトコルが使用されるであろう。

【0088】

組合せ製品及びキット

i) P10s - PADRE、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s - PADRE + QS21アジュバント、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s、P10s変異体、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」、PADREに連結したP10s変異体、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」、P10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s + QS21アジュバント、P10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」 + QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体 + QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」 + QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、コンジュゲートされていない細胞毒性抗P10s / P10s - PADRE抗体、化学療法薬にコンジュゲートされた抗P10s / P10s - PADRE抗体、及び放射性化合物にコンジュゲートされた抗P10s / P10s - PADRE抗体からなる群から選択される構成要素を含む組成物は、ii) 化学療法薬または放射線治療薬をさらに含んでよい。i) P10s - PADRE、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s - PADRE + QS21アジュバント、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s、P10s変異体、P10s - PADRE、PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s、PADREに連結したP10s変異体、PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体、P10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s + QS21アジュバント、P10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s変異体 + QS21アジュバント、P10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エ

10

20

30

40

50

ピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、コンジュゲートされていない細胞毒性抗P10s/P10s-PADRE抗体、化学療法薬にコンジュゲートされた抗P10s/P10s-PADRE抗体、及び放射性化合物にコンジュゲートされた抗P10s/P10s-PADRE抗体からなる群から選択される構成要素を含む組成物を含む第1の容器、ならびに化学療法薬または放射性治療薬を含む第2の容器を含むキットを提供することができる。

10

## 【0089】

## 単離NK細胞

P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s-PADRE+QS21アジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s+QS21アジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物によって活性化された単離NK細胞を、免疫化個体を治療するために使用することができる。

20

30

40

## 【0090】

単離NK細胞は、i)P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s-PADRE+QS21アジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s+QS21アジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21

50

アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物で免疫化されているヒトからNK細胞を単離し；ii) P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s+QS21アジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s-PADRE+QS21アジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物によって活性化されたNK細胞を特定し；iii) 特定されたNK細胞の集団を拡張することによって、調製することができる。

#### 【0091】

上記単離NK細胞は、i) 上記NK細胞を、P10s-PADRE+QS21アジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s+QS21アジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s



- PADRE + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、「他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、「他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s」+ QS 2 1 アジュバント、「他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、PADRE に連結した P 1 0 s 変異体 + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、PADRE に連結した P 1 0 s 変異体 + QS 2 1 アジュバント、PADRE に連結した P 1 0 s 変異体 + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「PADRE 以外の他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、「PADRE 以外の他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」+ QS 2 1 アジュバント、「PADRE 以外の他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物に曝露し； i i ) P 1 0 s + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、P 1 0 s + QS 2 1 アジュバント、P 1 0 s + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、P 1 0 s 変異体 + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、P 1 0 s 変異体 + QS 2 1 アジュバント、P 1 0 s 変異体 + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、P 1 0 s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、P 1 0 s - PADRE + QS 2 1 アジュバント、P 1 0 s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、「他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s」+ QS 2 1 アジュバント、「他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、PADRE に連結した P 1 0 s 変異体 + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、PADRE に連結した P 1 0 s 変異体 + QS 2 1 アジュバント、PADRE に連結した P 1 0 s 変異体 + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「PADRE 以外の他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、「PADRE 以外の他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」+ QS 2 1 アジュバント、「PADRE 以外の他の CD 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」+ MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物によって活性化された NK 細胞を特定し； i i i ) 特定された NK 細胞の集団を拡張することによって、ナイーブか、または免疫化されたヒトから NK 細胞を単離することによって調製することができる。

【 0 0 9 2 】

拡張した NK 細胞の集団を、癌を治療するか、または高いリスクを有すると同定されている個体において発生、再発を予防するために患者に投与することができる。

【 0 0 9 3 】

単離樹状細胞

P 1 0 s - PADRE、P 1 0 s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、P 1 0 s - PADRE + QS 2 1 アジュバント、P 1 0 s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバントまたは QS 2 1 アジュバント以外のアジュバント、P 1 0 s + MONTANIDE (商標) ISA 5 1 VG アジュバント、P 1 0 s + QS 2 1 アジュバント、P 1 0 s + MONTANIDE (商標) IS

10

20

30

40

50

A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P 1 0 s 変異体 + Q S 2 1 アジュバント、 P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、「他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + Q S 2 1 アジュバント、「他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P A D R E に連結した P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P A D R E に連結した P 1 0 s 変異体 + Q S 2 1 アジュバント、 P A D R E に連結した P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「 P A D R E 以外の他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、「 P A D R E 以外の他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + Q S 2 1 アジュバント、「 P A D R E 以外の他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物によって活性化された単離樹状細胞を提供するが、これは、癌を治療及び予防するために有用であり得る。

【 0 0 9 4 】

上記単離樹状細胞は、 i ) P 1 0 s - P A D R E 、 P 1 0 s - P A D R E + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P 1 0 s - P A D R E + Q S 2 1 アジュバント、 P 1 0 s - P A D R E + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P 1 0 s + Q S 2 1 アジュバント、 P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P 1 0 s 変異体 + Q S 2 1 アジュバント、 P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、「他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + Q S 2 1 アジュバント、「他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P A D R E に連結した P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P A D R E に連結した P 1 0 s 変異体 + Q S 2 1 アジュバント、 P A D R E に連結した P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、「 P A D R E 以外の他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、「 P A D R E 以外の他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + Q S 2 1 アジュバント、「 P A D R E 以外の他の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物で免疫化されているヒトから樹状細胞を単離し； i i ) P 1 0 s - P A D R E 、 P 1 0 s - P A D R E + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P 1 0 s - P A D R E + Q S 2 1 アジュバント、 P 1 0 s - P A D R E + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバント、 P 1 0 s + Q S 2 1 アジュバント、 P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G アジュバントまたは Q S 2 1 アジュバント以外のアジュバント、 P 1 0 s 変異体 + M O N T A N I D E ( 商

10

20

30

40

50

標) ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物によって活性化された樹状細胞を特定し；iii) 特定された樹状細胞の集団を拡張することによって調製することができる。

#### 【0095】

上記単離樹状細胞は、i) ナイーブなヒトから樹状細胞を単離し、ii) その樹状細胞を、P10s-PADRE、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s-PADRE+QS21アジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s+QS21アジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物に曝露し；iii) P10s-PADRE、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s-PADRE+QS21アジュバント、P10s-PADRE+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s+QS21アジュバント、P10s+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、P10s変異体+QS21

10

20

30

40

50

アジュバント、P10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体+QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される組成物によって活性化された樹状細胞特定し；iii) 特定された樹状細胞の集団を拡張することによって調製することができる。

10

【0096】

拡張した樹状細胞の集団を、癌を治療するか、または高いリスクを有すると同定されている個体において発生/再発を予防するために患者に投与することができる。

20

【0097】

癌

癌のアルファベット順のリストには、成人急性リンパ芽球性白血病；小児急性リンパ芽球性白血病；成人急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；小児副腎皮質癌；AIDS関連リンパ腫；AIDS関連悪性病変；肛門癌；小児小脳神経膠星状細胞腫；小児大脳神経膠星状細胞腫；肝外胆管癌；膀胱癌；小児膀胱癌；骨癌、骨肉腫/悪性線維性組織球腫；小児脳幹膠腫；成人脳腫瘍；小児脳腫瘍、脳幹膠腫；小児脳腫瘍、小脳神経膠星状細胞腫；小児脳腫瘍、大脳神経膠星状細胞腫/悪性膠腫；小児脳腫瘍、脳室上衣細胞腫；小児脳腫瘍、髄芽細胞腫；小児脳腫瘍、テント上原始神経外胚葉腫瘍；小児脳腫瘍、視路及び視床下部膠腫；小児(他の)脳腫瘍；乳癌；乳癌及び妊娠；小児乳癌；男性乳癌；小児気管支腺腫/類癌腫；小児類癌腫；胃腸類癌腫；副腎皮質癌腫；膵島細胞癌腫；原発不明の癌腫；原発性中枢神経系リンパ腫；小児小脳神経膠星状細胞腫；小児大脳神経膠星状細胞腫/悪性膠腫；子宮頸癌；小児癌；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性障害；腱鞘の明細胞肉腫；結腸癌；小児結腸直腸癌；皮膚T細胞リンパ腫；子宮内膜癌；小児脳室上衣細胞腫；上皮癌、卵巣；食道癌；小児食道癌；ユーイングファミリー腫瘍；小児頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；眼癌、眼内黒色腫；眼癌、網膜芽細胞腫；胆嚢癌；胃癌；小児胃癌；胃腸類癌腫；小児頭蓋外脳外生殖細胞腫瘍；生殖腺外生殖細胞腫瘍；卵巣生殖細胞腫瘍；妊娠性絨毛腫瘍；小児脳幹膠腫；小児視路及び視床下部膠腫；ヘアリーセル白血病；頭頸部癌；成人(原発性)肝細胞(肝臓)癌；小児(原発性)肝細胞(肝臓)癌；成人ホジキンリンパ腫；小児ホジキンリンパ腫；妊娠時ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；小児視床下部及び視路膠腫；眼内黒色腫；膵島細胞癌腫(内分泌膵臓)；カボジ肉腫；腎臓癌；喉頭癌；小児喉頭癌；成人急性リンパ芽球性白血病；小児急性リンパ芽球性白血病；成人急性骨髄性白血病；小児急性骨髄性白血病；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；ヘアリーセル白血病；口唇及び口腔癌；成人(原発性)肝臓癌；小児(原発性)肝臓癌；非小細胞肺癌；小細胞肺癌；成人急性リンパ芽球性白血病；小児急性リンパ芽球性白血病；慢性リンパ球性白血病；AIDS関連リンパ腫；中枢神経系リンパ腫(原発性)；皮膚T細胞リンパ腫；成人ホジキンリンパ腫；小児ホジキンリンパ腫；妊娠時ホジキンリンパ腫；成人非ホジキンリンパ腫；小児非ホジキンリンパ腫；妊娠時非ホジキンリンパ腫；原発性中枢神経系リンパ腫；ワルデンストロームマクログロブ

30

40

50

リン血症；男性乳癌；成人悪性中皮腫；小児悪性中皮腫；悪性胸腺腫；小児髓芽細胞腫；黒色腫；眼内黒色腫；メルケル細胞癌腫；悪性中皮腫；潜在性原発の転移性扁平上皮性頸部癌；小児多発性内分泌腺腫症；多発性骨髄腫／血漿細胞新生物；菌状息肉症；骨髄異形成症候群；慢性骨髄性白血病；小児急性骨髄性白血病；多発性骨髄腫；慢性骨髄増殖性障害；鼻腔及び副鼻腔癌；鼻咽頭癌；小児鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；成人非ホジキンリンパ腫；小児非ホジキンリンパ腫；妊娠時非ホジキンリンパ腫；非小細胞肺癌；小児口腔癌；口腔及び口唇癌；口咽頭癌；骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫；小児卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣生殖細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；小児膵臓癌；膵島細胞膵臓癌；副鼻腔及び鼻腔癌；副甲状腺癌；陰茎癌；褐色細胞種；小児松果体及びテント上原始神経外胚葉腫瘍；下垂体腫瘍；血漿細胞新生物／多発性骨髄腫；胸膜肺芽細胞腫；妊娠及び乳癌；妊娠及びホジキンリンパ腫；妊娠及び非ホジキンリンパ腫；原発性中枢神経系リンパ腫；成人原発性肝臓癌；小児原発性肝臓癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓細胞（腎臓）癌；小児腎臓細胞癌；腎盂及び尿管、転移性細胞癌；網膜芽細胞腫；小児横紋筋肉腫；唾液腺癌；小児唾液腺癌；ユーイング肉腫ファミリー腫瘍；カボジ肉腫；骨の肉腫（骨肉腫）／悪性線維性組織球腫；小児横紋筋肉腫；成人軟部組織肉腫；小児軟部組織肉腫；セザリー症候群；皮膚癌；小児皮膚癌；皮膚癌（黒色腫）；メルケル細胞皮膚癌腫、；小細胞肺癌；小腸癌；成人軟部組織肉腫；小児軟部組織肉腫；転移性潜在性原発を有する扁平上皮頸部癌；胃（胃）癌；小児胃（胃）癌；小児テント上原始神経外胚葉腫瘍；皮膚T細胞リンパ腫；睾丸癌；小児胸腺腫；悪性胸腺腫；甲状腺癌；小児甲状腺癌；腎盂及び尿管の転移性細胞癌；妊娠期栄養膜腫瘍；原発部位不明の小児癌；小児の稀な癌；尿管及び腎盂の転移性細胞癌；尿道癌；子宮肉腫；膣癌；小児視路及び視床下部膠腫；外陰部癌；ワルデンストロームマクログロブリン血症；ならびにウィルムス腫瘍が含まれる。本明細書に記載の組成物及び方法は、癌と診断された個体において癌のそのような種類を治療するために、または癌の高いリスクを有すると同定された個体において癌の発生／再発を予防するために有用であり得る。

10

20

#### 【0098】

治療及び予防プロトコルにおいて本発明を使用することができる癌の、本明細書において列挙した癌のうち、乳癌、黒色腫、卵巣癌、前立腺癌、膵臓癌、肺癌、結腸癌、口腔及び食道を含む頭頸部癌、肝臓癌、脳癌、ならびに骨癌は、米国における癌による死の大部分の原因である充実性腫瘍を有する癌の例である。乳癌を分析して、Her<sup>+</sup>、EGFR v I I I<sup>+</sup>、またはHer<sup>+</sup>及びEGFR v I I I<sup>+</sup>であるか決定することができる。いくつかの実施形態では、乳癌を、治療の前にHer<sup>+</sup>、EGFR v I I I<sup>+</sup>、またはHer<sup>+</sup>及びEGFR v I I I<sup>+</sup>と同定する。

30

#### 【0099】

転移性疾患、特に、疼痛及び／または生活の質の低下の原因となっているものの姑息的治療は、本明細書に記載の方法が特に有用な状態に含まれている。

#### 【0100】

患者

癌と診断されているヒトを、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して治療することができる。癌の高いリスクを有すると特定されているヒトを、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して処置して、癌の発生または再発を予防することができる。

40

#### 【0101】

標準的な技術及び方法によって、個体を、癌を有すると診断することができる。そのような個体は、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して治療することができる。癌を有すると診断された個体には、癌と初めて診断された個体と、外科手術及び／または化学療法で治療されていて、難治性疾患、治療に対して不完全な応答を有するか、または癌を有しないと考えられているか、及び癌の再発を有すると診断されている個体とが含まれる。

#### 【0102】

癌についての高リスク群である個体には、癌と診断されていて、その癌が外科手術によって除去されていて、現在は寛解している個体、及び／またはその疾患に遺伝的に関連し

50

ている個体、すなわち、遺伝子スクリーニング及び/または家族歴などによって、遺伝的に罹患しやすいと特定されている個体が含まれる。遺伝学の理解及び技術開発、さらには、疫学の進歩により、個体が胃癌または食道癌を発生する確率を決定し、リスクを評価することが可能である。家族の健康歴及び/または遺伝子スクリーニングを使用して、特定の個体が特定の種類の癌を発生する確立を推定することが可能である。特定の形態の癌を発生する素因を有すると特定されている個体を免疫化することができる。

【0103】

ステージⅠ、Ⅱ、またはⅢの癌を有する個体を治療することができる。ステージⅣの個体、すなわち、検出可能なリンパ節転移を有さない個体も、再発を予防するために処置することができる。いくつかの実施形態では、ステージⅣの癌を有する個体を治療

10

【0104】

免疫化によって癌を治療する方法

いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体を、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s - PADRE + QS21アジュバント、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、及びP10s - PADREからなる群から選択される構成要素を含む組成物で免疫化する。典型的には、1年以内に複数回の用量、例えば、初回の用量及び1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10回のブーストを投与する。いくつかの実施形態では、初回用量の後に、2、3、及び7週目、2、3、7、及び19週目、または2及び3週目に、次いで、1か月、2か月、4か月、5か月、または6ヶ月にわたって月1回、ブーストを投与する。

20

【0105】

いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s - PADRE + QS21アジュバント、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、及びP10s - PADREからなる群から選択される構成要素を含む組成物を使用する代わりに、癌を有すると診断されている個体を、P10s、P10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s + QS21アジュバント、P10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、P10s変異体、P10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s変異体 + QS21アジュバント、P10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s、PADREに連結したP10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s + QS21アジュバント、PADREに連結したP10s + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+ MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+ QS21アジュバント、「他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s」+ MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、PADREに連結したP10s変異体、PADREに連結したP10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、PADREに連結したP10s変異体 + QS21アジュバント、PADREに連結したP10s変異体 + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+ MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、「PADRE以外の他のCD4

30

40

50

+ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+QS21アジュバント、「PADRE以外の他のCD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドに連結したP10s変異体」+MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される構成要素を含む組成物で免疫化する。

【0106】

いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されていて、本明細書に記載のとおり免疫化されている個体に、化学療法及び/または放射線療法を、本明細書に記載の免疫化と組み合わせる。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、本明細書に記載の免疫化と同時に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、本明細書に記載のとおり初回の免疫化の後に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、本明細書に記載のとおり初回の免疫化の1週間以下、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、またはそれ以上の後に投与する。免疫化は、有効な治療に必要な化学療法及び/または放射線の用量を低下させ、それによって、化学療法及び/または放射線に起因する有害な副作用を低減することによって、上記化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。免疫化は、癌細胞を化学療法感受性及び/または放射線感受性にし、それによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にすることによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。

10

【0107】

いくつかの実施形態では、放射線耐性腫瘍を有する個体を、その癌を放射線感受性にする免疫化によって治療することができる。これは、癌幹細胞及び他の放射線耐性癌細胞を除去する際に特に有用である。いくつかの実施形態では、放射線耐性腫瘍は、罹患している個体の疼痛の原因であり得、放射線療法と組み合わせた免疫化は、腫瘍を最も縮小及び低減して、そのような腫瘍に起因する疼痛を低減もしくは除去するか、または生活の質にマイナスの影響を与えるそのような腫瘍に起因する他の状況を低減または除去する有効な手段を提供し得る。そのような治療は姑息的であり得るが、生活の質に対する効果は多大であり得る。放射線療法と組み合わせた免疫化プロトコルは、外科手術が適応とされない場合の腫瘍に罹患している個体を治療するために有用であり得る。放射線療法と組み合わせた免疫化プロトコルの後に、腫瘍サイズ及び数は低減して、外科手術が実行可能な治療選択肢となり得る。

20

30

【0108】

いくつかの実施形態では、化学療法耐性の腫瘍を有する個体を、その癌を化学療法感受性にする免疫化によって治療することができる。これは、癌幹細胞及び他の化学療法耐性癌細胞を除去する際に特に有用である。いくつかの実施形態では、化学療法耐性腫瘍は、罹患している個体の疼痛の原因であり得、化学療法と組み合わせた免疫化は、腫瘍を最も縮小及び低減して、そのような腫瘍に起因する疼痛を低減もしくは除去するか、または生活の質にマイナスの影響を与えるそのような腫瘍に起因する他の状況を低減または除去する有効な手段を提供し得る。そのような治療は姑息的であり得るが、生活の質に対する効果は多大であり得る。化学療法と組み合わせた免疫化プロトコルは、外科手術が適応とされない場合の腫瘍に罹患している個体を治療するために有用であり得る。化学療法と組み合わせた免疫化プロトコルの後に、腫瘍サイズ及び数は低減して、外科手術が実行可能な治療選択肢となり得る。

40

【0109】

いくつかの実施形態では、外科手術、緩解、または遺伝的素因による高リスク個体群への個体の特定の後に免疫化の治療を受けた個体を、癌の再発/発生の際により有効に処置することができる。上記免疫化は、その後の癌がより化学療法感受性または放射線感受性であるようにするか、または別段に、免疫化されていない個体の結果と比較すると、改善された結果をもたらし得る。

【0110】

50

### 抗体で癌を治療する方法

いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体に、本明細書に記載の単離ヒト抗体を投与する。典型的には、1年以内に複数回の用量、例えば、初回の用量及び1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10回のフォローアップ用量を投与する。いくつかの実施形態では、初回用量の後に、抗体を、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、または6ヶ月かけて投与する。

#### 【0111】

いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体に、本明細書に記載の単離ヒト抗体を化学療法及び/または放射線療法と組み合わせて投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離ヒト抗体の投与と同時に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離ヒト抗体の初回の投与の後に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離ヒト抗体の初回投与の1週間以下、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、またはそれ以上の後に投与する。単離ヒト抗体の投与は、有効な治療に必要な化学療法及び/または放射線の用量を低下させ、それによって、化学療法及び/または放射線に起因する有害な副作用を低減することによって、上記化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。単離ヒト抗体の投与は、癌細胞を化学療法感受性及び/または放射線感受性にし、それによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にすることによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。

#### 【0112】

いくつかの実施形態では、放射線耐性腫瘍を有する個体を、癌を放射線感受性にする単離抗体の投与によって治療することができる。これは、癌幹細胞及び他の放射線耐性癌細胞を除去する際に特に有用である。いくつかの実施形態では、放射線耐性腫瘍は、罹患している個体の疼痛の原因であり得、放射線療法と組み合わせた単離ヒト抗体の投与は、腫瘍を最も縮小及び低減して、そのような腫瘍に起因する疼痛を除去する有効な手段を提供し得る。そのような治療は姑息的であり得るが、生活の質に対する効果は多大であり得る。放射線療法と組み合わせた単離ヒト抗体の投与は、外科手術が適応とされない場合の腫瘍に罹患している個体を治療するために有用であり得る。放射線療法と組み合わせた単離ヒト抗体の投与の後に、腫瘍サイズ及び数は低減して、外科手術が実行可能な治療選択肢となり得る。

#### 【0113】

いくつかの実施形態では、化学療法耐性の腫瘍を有する個体を、その癌を化学療法感受性にする単離ヒト抗体の投与によって治療することができる。これは、癌幹細胞及び他の化学療法耐性癌細胞を除去する際に特に有用である。いくつかの実施形態では、化学療法耐性腫瘍は、罹患している個体の疼痛の原因であり得、化学療法と組み合わせた免疫化は、腫瘍を最も縮小及び低減して、そのような腫瘍に起因する疼痛を低減または除去する有効な手段を提供し得る。そのような治療は姑息的であり得るが、生活の質に対する効果は多大であり得る。化学療法と組み合わせた単離ヒト抗体の投与のプロトコルは、外科手術が適応とされない場合の腫瘍に罹患している個体を治療するために有用であり得る。化学療法と組み合わせた単離ヒト抗体の投与の後に、腫瘍サイズ及び数は低減して、外科手術が実行可能な治療選択肢となり得る。

#### 【0114】

いくつかの実施形態では、外科手術、緩解、または遺伝的素因による高リスク個体群への個体の同定の後に、単離ヒト抗体の投与による治療を受けた個体を、癌の再発/発生の際により有効に治療することができる。上記単離ヒト抗体の投与は、その後の癌がより化学療法感受性または放射線感受性であるようにするか、または別段に、免疫化されていない個体の結果と比較すると、改善された結果をもたらし得る。

#### 【0115】

単離NK細胞で癌を治療する方法



いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体に、本明細書に記載の単離NK細胞を投与する。そのような個体を免疫化しておく、そのワクチンによって活性化されたNK細胞の拡張集団の投与は、腫瘍を除去するために有用であり得る。

【0116】

いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体に、本明細書に記載の単離NK細胞を化学療法及び/または放射線療法と組み合わせて投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、NK細胞の投与と同時に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離NK細胞の初回の投与の後に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離NK細胞の初回投与の1週間以下、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、またはそれ以上の後に投与する。単離NK細胞の投与は、有効な治療に必要な化学療法及び/または放射線の用量を低下させ、それによって、化学療法及び/または放射線に起因する有害な副作用を低減することによって、上記化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。単離NK細胞の投与は、癌細胞を化学療法感受性及び/または放射線感受性にし、それによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にすることによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。

10

【0117】

単離NK細胞は、NK細胞に対して他では耐性の腫瘍細胞を、NK細胞に対して感受性があるようにする体液免疫応答を最大化する免疫化ブーストと協調して投与することができる。

20

【0118】

単離NK細胞は、NK細胞に対して他では耐性の腫瘍細胞を、NK細胞に対して感受性があるようにし得る抗体などの本明細書に記載の抗体の投与と協調して投与することができる。

【0119】

単離樹状細胞で癌を治療する方法

いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体に、本明細書に記載のとおり単離樹状細胞を投与する。いくつかの実施形態では、癌を有すると診断されている個体に、本明細書に記載の単離樹状細胞を化学療法及び/または放射線療法と組み合わせて投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、樹状細胞の投与と同時に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離樹状細胞の初回の投与の後に投与する。いくつかの実施形態では、上記化学療法及び/または放射線療法を、単離樹状細胞の初回投与の1週間以下、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、またはそれ以上の後に投与する。単離樹状細胞の投与は、有効な治療に必要な化学療法及び/または放射線の用量を低下させ、それによって、化学療法及び/または放射線に起因する有害な副作用を低減することによって、上記化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。単離樹状細胞の投与は、癌細胞を化学療法感受性及び/または放射線感受性にし、それによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にすることによって、化学療法及び/または放射線療法をより有効にするために有用であり得る。

30

40

【0120】

癌を予防する方法

いくつかの実施形態では、癌の高いリスクを有すると特定されている個体を、P10s - PADRE、P10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント、P10s - PADRE + QS21アジュバント、及びP10s - PADRE + MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントまたはQS21アジュバント以外のアジュバントからなる群から選択される構成要素を含む組成物で免疫化する。

【0121】

いくつかの実施形態では、P10s - PADRE、P10s - PADRE + MONTA

50

N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト、 P 1 0 s - P A D R E + Q S 2 1 ア ジ ュ  
 バ ン ト、 及 び P 1 0 s - P A D R E + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ  
 バ ン ト ま た は Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外 の ア ジ ュ バ ン ト か ら な る 群 か ら 選 択 さ れ る 構 成  
 要 素 を 含 む 組 成 物 を 使 用 す る 代 わ り に、 癌 を 有 す る と 診 断 さ れ て い る 個 体 を、 P 1 0 s、  
 P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト、 P 1 0 s + Q S 2  
 1 ア ジ ュ バ ン ト、 P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト ま  
 た は Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外 の ア ジ ュ バ ン ト、 P 1 0 s 変 異 体、 P 1 0 s 変 異 体 + M O  
 N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト、 P 1 0 s 変 異 体 + Q S 2 1 ア ジ ュ  
 バ ン ト、 P 1 0 s 変 異 体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト ま た  
 は Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外 の ア ジ ュ バ ン ト、 P A D R E に 連 結 し た P 1 0 s、 P A D R  
 E に 連 結 し た P 1 0 s + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト、 P A  
 D R E に 連 結 し た P 1 0 s + Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト、 P A D R E に 連 結 し た P 1 0 s + M  
 O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト ま た は Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外  
 の ア ジ ュ バ ン ト、 「 他 の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s  
 」、 「 他 の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + M O N T  
 A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト、 「 他 の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピト  
 ープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト、 「 他 の C D 4 + ヘルパー T  
 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 」 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1  
 V G ア ジ ュ バ ン ト ま た は Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外 の ア ジ ュ バ ン ト、 P 1 0 s 変 異 体、 P  
 A D R E に 連 結 し た P 1 0 s 変 異 体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ  
 バ ン ト、 P A D R E に 連 結 し た P 1 0 s 変 異 体 + Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト、 P A D R E に 連  
 結 し た P 1 0 s 変 異 体 + M O N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト ま た は  
 Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外 の ア ジ ュ バ ン ト、 「 P A D R E 以 外 の 他 の C D 4 + ヘルパー T  
 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」、 「 P A D R E 以 外 の 他 の C D 4 +  
 ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + M O N T A N I D E ( 商  
 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト、 「 P A D R E 以 外 の 他 の C D 4 + ヘルパー T 細胞エ  
 ピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト、 「 P A D R E 以  
 外 の 他 の C D 4 + ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに連結した P 1 0 s 変異体」 + M O  
 N T A N I D E ( 商 標 ) I S A 5 1 V G ア ジ ュ バ ン ト ま た は Q S 2 1 ア ジ ュ バ ン ト 以 外 の  
 ア ジ ュ バ ン ト か ら な る 群 か ら 選 択 さ れ る 構 成 要 素 を 含 む 組 成 物 で 免 疫 化 す る。

10

20

30

#### 【 0 1 2 2 】

いくつもの実施形態では、癌の高いリスクを有すると特定されている個体を、外科手術  
 及び/または化学療法及び/または放射線療法によって治療され、その後、その患者が、  
 検出可能な癌を有さないと考えられた後に免疫化する。典型的には、1年以内に複数回の  
 用量、例えば、初回の用量及び1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10回のブ  
 ーストを投与する。いくつもの実施形態では、初回用量の後に、2、3、及び7週目、2  
 、3、7、及び19週目、または2及び3週目に、次いで、1か月、2か月、4か月、5  
 か月、または6ヶ月にわたって月1回、ブーストを投与する。本明細書に記載の免疫化組  
 成物及び方法を、初めに、1年以内の初回用量+1、2、3、4、5、6、7、8、9、  
 または10回のフォローアップ用量として使用する。いくつもの実施形態では、年1回の  
 ブーストを投与する。

40

#### 【 0 1 2 3 】

いくつもの実施形態では、患者は、1つまたは複数のリンパ節に検出可能な癌細胞を有  
 すると考えられ得る。統計的に、どの患者が再発するかの特は未知であるか、予期する  
 のが困難であるが、そのような患者のうちの少数は、実際に再発し得る。免疫化は、再発  
 すると予測される少数者での再発を低減または除去するための有効な手段として使用する  
 ことができる。

#### 【 0 1 2 4 】

いくつもの実施形態では、癌の高いリスクを有すると特定されている個体に、本明細書  
 に記載の単離ヒト抗体を投与することができる。典型的には、1年以内に複数回の用量、

50

例えば、初回の用量及び1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10回のフォローアップ用量を投与する。いくつかの実施形態では、初回用量の後に、抗体を、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、または6ヶ月かけて投与する。いくつかの実施形態では、年1回の投与をその後に提供する。

【0125】

免疫化されていて、癌の高いリスクを有すると特定されている個体で、単離NK細胞を本明細書に記載のとおり調製することができ、それを、免疫化個体での発生または再発をさらに予防するために投与することができる。

【0126】

いくつかの実施形態では、癌の高いリスクを有する特定されている個体を、本明細書に記載のとおり調製された単離樹状細胞で処置することができる。

10

【0127】

組合せ療法

癌と診断された個体を治療する方法において使用するための、及び癌の高いリスクを有すると同定されている個体において癌を予防するための、論述したとおり本明細書に記載の免疫応答または抗体を誘発する組成物を使用する組合せ療法。いくつかの実施形態では、組合せ療法は、好ましくは、アジュバントと共に製剤化されている、CD4+T細胞エピトープに連結したP10sまたはその変異体を含む上記で論述した化合物を含むワクチンを投与することを含む。いくつかの実施形態では、上記組成物は、P10s-PADRE+例えば、MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントを含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、他の治療薬の投与及び/または放射線療法を含む治療レジメンの一部と組み合わせて、本明細書に記載のTACAに対する免疫応答または抗TACA抗体を誘発するために使用することができる本明細書において上記した別の組成物を投与することを含む。

20

【0128】

化学療法と組み合わせたワクチン接種は、患者を治療するために複数種の化学療法薬を使用するレジメンを含み得る。治療を受ける患者は、癌と診断されていて、腫瘍を除去するための外科手術を受けていてよい。いくつかの実施形態では、上記患者は、検出可能な癌を有さず；いくつかの実施形態では、上記患者は、転移性疾患を含む検出可能な疾患を有する。そのような疾患に限定されないが、いくつかの実施形態では、治療を受ける癌には、乳房、肺、黒色腫、膵臓、結腸直腸、神経芽細胞腫及び神経膠芽細胞腫などの脳の癌を含む頭頸部の癌、口腔癌、食道癌及び咽頭癌、卵巣癌、子宮頸癌、前立腺癌、甲状腺癌、肝臓癌、リンパ腫、骨髄腫、ならびに他の血液由来癌が含まれる。生じる免疫応答が、治療に対して耐性で、治療が困難な急速進行性の癌であると判断される細胞において細胞毒性であることをデータが示しているため、化学療法及び/または放射線療法と組み合わせたワクチン接種は、特に有用であり得る。例えば、basel-like癌腫は、アフリカ系米国人及びヒスパニック系アメリカ人などの特定の個体群において蔓延している。これらの侵襲性の癌には、不十分な結果が付き物である。化学療法及び/または放射線療法と組み合わせたワクチン接種によって、これらの難しい癌を治療する機会が得られる。

30

40

【0129】

患者が腫瘍を切除されていて、検出可能な癌を有さない場合に、化学療法及び/または放射線療法と組み合わせたワクチン接種を使用することができる。そのような術後治療は、再発の可能性を低減するであろう。患者が検出可能な癌を有する場合に、化学療法及び/または放射線療法と組み合わせたワクチン接種を使用することができる。ステージ0、I、II、III、またはIVのいずれかであると診断され得る癌を有する患者を、化学療法及び/または放射線療法と組み合わせたワクチン接種で治療することができる。

【0130】

そのような薬物及び薬物の組み合わせに限定されないが、いくつかの実施形態では、ドキソルビシン、シクロフォスファミド、ドセタキセル、シスプラチン、ビノレルビン、さ

50

らには、ボルテゾミブ、アドリアマイシン、トラスツズマブ、パクリタキセル、タモキシフェン、及びペルツズマブから選択される1種または複数種の化合物の組合せ。いくつかの実施形態では、P10s - PADREを、1種または複数種のそのような薬物の使用を含む組合せ治療において投与する。本明細書において提供するワクチン、特に、P10s - PADREとの組合せに含まれる他の化学療法薬の例には、アシピシン、アミノプテリン、アフディコリン、5 - アザシチジン、1 - アラノシン、クラドリピン、シクロシチジン、シタラピン、3 - デアザウリジン、2 - アザシチジン、ジグリコアルデヒド、フルダラピン、5 - フルオロウラシル、フトラフル、ヒドロキシ尿素、6 - メルカプトプリン、メトトレキサート、PALA、ペントスタチン、6 - チオグアニン、チミジンなどの代謝拮抗薬；ブスルファン、カルボプラチン、クロラムブシル、シクロフォスファミド、イホスファミド、ダカルバジン (DTIC)、メクロレタミン (ナイトロジェンマスタード)、メルファラン、4 - HC、J1、マイトマイシンC、P2、及びサルコリシンなどのアルキル化薬；カンプトテシン、SN - 38、及びトポテカンなどのトポイソメラーゼI - 阻害薬；アムサクリン、ピサントレン、ダウノルピシン、エピルピシン、エトポシド、イダルピシン、ミトキサントロン、及びテニポシドなどのトポイソメラーゼII - 阻害薬；ラクタシスチン、MG - 132、及びMG - 262などのプロテアソーム阻害薬；ならびにコルヒチン、メイタンシン、ポドフィロトキシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピンデシン、及びエストラムスチンなどのチューブリン活性薬が含まれる。本明細書において提供するワクチン、特に、P10s - PADREと組み合わせると特に有効であり得ることをデータが示している化学療法薬の他の例には、アクラルピシン、アングイジン、シクロヘキシミド、フラボンアセタート (Flavone acetate)、Hoechst 33342、MBGB、MIBG、スピロゲルマニウム、及びハーセプチンが含まれる。他の化学療法薬の例には、シトシンアラビノシド、プレオマイシン、プロチオニン (大麦粉オリゴペプチド)、マクロモマイシン、1, 4 - ベンゾキノ誘導体、トレニモン、カルムスチン (BCNU) ロムスチン (CCNU)、ダクチノマイシン、プレドニゾン、デキサメタゾン、タモキシフェン、フルベストラント、アナストロゾール、レトロゾール、酢酸メゲストロール、ピカルタミド、フルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン、アバスチン、L - アスパラギナーゼ、及びトレチノインが含まれる。いくつかの実施形態では、1種または複数種の抗癌化合物は、代謝拮抗薬、アルキル化薬；トポイソメラーゼI - 阻害薬、トポイソメラーゼII - 阻害薬、プロテオソーム阻害薬、抗体治療薬、及びチューブリン活性薬からなる群から選択される化合物の群からの化合物である。いくつかの実施形態では、1種または複数種の抗癌化合物は、ニトロソウレア；抗腫瘍抗生物質；コルチコステロイドホルモン；抗エストロゲン；アロマトラーゼ阻害薬；プロゲスチン；抗アンドロゲン；LHRHアゴニスト；及び他の抗癌治療薬からなる群から選択される化合物の群からの化合物である。

#### 【0131】

化学療法は、ワクチン接種に先行させ、かつ/または免疫治療の間に投与し、かつ/または免疫化の後に中断することができる。治療薬の同時投与は、順番または同時のいずれかで、連続し得る。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントもしくはQS21アジュバントなどのアジュバントを含む組成物、またはTACAに対する免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書において記載した別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物を、1種より多い追加の治療薬と共に同時投与する。

#### 【0132】

いくつかの実施形態では、化学療法薬の投与は、上記ワクチンに対する免疫応答の増強をもたらす。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、B細胞の抗原提示能を増強する。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、「抑制因子」T細胞を除去することによって、適応T細胞免疫を促進する。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、腫瘍浸潤マクロファージのサイトカイン産生をIL - 10からIFN -  $\gamma$ へとスイッチさせ、Th1/Th2応答を極性化する。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、エフェクターT細胞と調

10

20

30

40

50

節性T細胞（ $T_{reg}$ s）との間の比を増大させ、患者において後者の免疫抑制活性を低減させる。そのような研究は、癌腫患者において最も有益な臨床結果を達成するために、具体的な標準治療と組み合わせて活性免疫療法レジメンを選択的使用することについての理論的根拠を与えている。

【0133】

いくつかの実施形態では、ワクチンによって誘発された免疫応答は、化学療法薬によるより効率的な死滅のために、腫瘍細胞を増感させる。いくつかの実施形態では、免疫化と、その後の化学療法とは、腫瘍成長の阻害を促進する。いくつかの実施形態では、免疫化によって誘発された免疫応答は、化学療法薬のLC50値を低下させて、化学療法をより有効にする。そのような免疫化は、化学療法を増強する。

10

【0134】

いくつかの実施形態では、ワクチンによって誘発された免疫応答は、化学療法耐性の腫瘍細胞に対して細胞毒性である。本明細書に記載のとおり、免疫化個体からの血清は、化学療法耐性細胞を化学療法感受性にした。したがって、いくつかの実施形態では、その免疫化が、制癌薬が投与される時点で癌細胞を化学療法感受性にするために十分な時間にわたって生じている免疫応答を誘発するように、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントもしくはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物を、抗癌薬の投与を投与する前に投与する。いくつかの実施形態では、予め免疫化された個体を、化学療法を投与する72時間前またはそれ以前にブーストすることができる。

20

【0135】

同様に、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントもしくはQS21アジュバントなどのアジュバントを含む組成物、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物を、放射線療法と組み合わせて投与することができる。治療レジメンは、順番または同時のいずれかでの組成物の連続投与及び放射線療法の開始を含み得る。当業者であれば、適切な放射線治療レジメンを容易に処方することができる。参照により本明細書に組み込まれるCarlos A Perez & Luther W Brady: Principles and Practice of Radiation Oncology, 2nd Ed., JB Lippincott Co, Phila., 1992は、本発明において使用することができる放射線療法プロトコル及びパラメーターを記載している。

30

【0136】

GBM（神経膠芽細胞腫、最も悪性の神経膠脳腫瘍）について、参照により本明細書に組み込まれるSimpson W. J.ら: Influence of location and extent of surgical resection on survival of patients with glioblastoma multiforms: Results of three consecutive Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) clinical trials., Int J Radiat Oncol Biol Phys 26: 239~244, 1993は、本発明の方法において有用な臨床プロトコルを記載している。同様に、参照により本明細書に組み込まれるBorgeltら、The palliation of brain metastases: Final results of the first two studies of the Radiation Therapy Oncology Group., Int J Radiat Oncol Biol Phys 6: 1~9, 1980は、本発明の方法において有用な臨床プロトコルを記載している。一部の好ましい実施形態では、ガンマ放射線を使用する放射線療法を提供する。

40

【0137】

50

いくつかの実施形態では、その免疫化が、放射線を投与する時点で癌細胞に影響を及ぼすために十分な時間にわたって生じる免疫応答を誘発するように、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバント、または TACA に対する免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗 TACA 抗体を含む組成物を放射線療法の前に投与する。いくつかの実施形態では、予め免疫化された個体を、放射線療法の 72 時間前またはそれ以前にブーストすることができる。

【0138】

いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、ドキシソルピシン及び/またはシクロフォスファミド及び/またはドセタキセルの投与が含まれる。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、ドセタキセル治療が含まれる。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、3週毎に4サイクルにわたって同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、3週毎に4サイクルにわたるドセタキセル治療が含まれる。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、3週毎に4サイクルにわたって同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、3週毎に4週間にわたるドセタキセル治療が含まれ、その際、患者は、1週目に初回のワクチン注射と共に第1サイクルの化学療法、1週空けて(2及び3週目に)ワクチンの2回の後続の2回の注射、4週目に第2のサイクルの化学療法、及び21日毎に(7、10、13、16、19、22週目に)化学療法の後続のサイクルを受ける。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、3週毎に4サイクルにわたって同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、3週毎に4週間にわたるドセタキセル治療が含まれ、その際、患者は、1週目に化学療法の第1のサイクル、2週目に初回のワクチン注射、1週空けて(3及び4週目に)ワクチンの後続の2回の注射、4週目に化学療法の第2のサイクル(2回目のワクチン注射と共に)、及び21日毎に(7、10、13、16、19、22週目に)化学療法の後続のサイクルを受ける。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、3週毎に4サイクルにわたって同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、3週毎に4サイクルにわたるドセタキセル治療が含まれ、その際、患者は、週に1回で3回のワクチン注射(1、2、3週目)、次いで、第1のサイクルの化学療法(4週目)、及び21日毎の(7、10、13、16、19、22、25週目に)化学療法の後続のサイクルを受ける。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VG アジュバントまたは QS21 アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、3週毎に4サイクルにわたって同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、3週毎に4週間にわたるドセタキセル治療が含まれ、その際、患者は、1週目に初回のワクチン注射、1週空けて(2及び3週目に)ワクチンの後続の2回の注射

10

20

30

40

50

、2週目に第1のサイクルの化学療法（2回目のワクチン注射と共に）、及び21日毎の（5、8、11、14、17、20、23週目に）化学療法の後続のサイクルを受ける。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、3週毎に4サイクルにわたって同時に投与されるドキシソルピシン及びシクロフォスファミドの投与、続く、3週毎に4サイクルにわたるドセタキセル治療が含まれ、その際、患者は、1週目に初回のワクチン注射、1週空けて（2及び3週目に）ワクチンの後続の2回の注射、3週目に第1のサイクルの化学療法（3回目のワクチン注射と共に）、及び21日毎の（6、9、12、15、18、21、24週目に）化学療法の後続のサイクルを受ける。

10

## 【0139】

いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、免疫化前のドセタキセルの投与が含まれる。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、免疫化の完了と同時及び/またはその後のドセタキセルの投与が含まれる。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、免疫化の完了と同時及び/またはその後のドセタキセル、ペルツズマブ、及びトラスツズマブの投与が含まれる。

20

## 【0140】

いくつかの実施形態では、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバントなどの本明細書において提供する組成物での免疫化と併せて使用される化学療法には、免疫化の完了の前、及びそれと同時、及び/またはその後のアドリアマイシン、シクロフォスファミド、パクリタキセル、トラスツズマブ、及びビノレルピンの投与が含まれる。

30

## 【0141】

充実性腫瘍に限定されず、充実性腫瘍、さらにはリンパ腫、骨髄腫、及び他の血液由来癌であると特徴づけられるものを含む癌を、HLAクラスIの細胞表面発現を下方制御し、ナチュラルキラー細胞媒介性溶解を増強するベルケイド（ボルテゾミブ）または同様に作用する化合物と組み合わせたP10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物で治療することができる。P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物での治療は、ベルケイドをより有効にし、かつベルケイドは、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物での治療をより有効にする。いくつかの実施形態では、その免疫化が、ベルケイドが投与される時点で癌細胞に影響を及ぼすために十分な時間にわたって生じている免疫応答を誘発するように、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE（商標）ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成

40

50

物をベルケイドの前に投与する。いくつかの実施形態では、予め免疫化された個体を、ベルケイド療法の72時間前またはそれ以前にブーストすることができる。ベルケイドと、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物との組み合わせを使用して、充実性腫瘍または血液細胞の癌の形態を含む癌と診断された個体を治療することができる。ベルケイドと、P10s - PADRE + 例えば、MONTANIDE (商標) ISA51VGアジュバントまたはQS21アジュバントなどのアジュバント、またはTACAに対して免疫応答を誘発するために使用することができる本明細書に記載の別の組成物、または本明細書に記載の抗TACA抗体を含む組成物との組み合わせを使用して、癌の高いリスクを有すると特定されている個体における癌の発生/再発を予防することができる。

10

## 【0142】

一部の組合せ療法は、免疫化患者における免疫応答を増強するために、DNAワクチンなどの核酸ビヒクルによってタンパク質として送達されるか、コードされるとおりのIL-12の使用を含む。IL-12の送達は、免疫化方法におけるワクチンの投与の前、それと同時に、またはその後時間設定することができる。

## 【0143】

組成物の調製、製剤化、及び投与

上記組成物は、生理学的に許容される担体または希釈剤をさらに含んでよい。

20

## 【0144】

ペプチドは、当業者であれば、周知の技術及び容易に入手可能な出発物質を使用して合成することができる。ペプチドは、限定されないが、化学合成、さらには、真核または原核発現系における *in vitro* または *in vivo* での生物学的合成を含む当技術分野で公知の任意の方法を使用して生産することができる。例えば、本発明のペプチドは、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる Merryfield, (1963), J. Am. Chem. Soc., 15:2149~2154、ならびに J. Stuart 及び J. D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Company, Rockford, Ill. (1984) によって教示されているとおりの固相合成技術によって生産することができる。

30

## 【0145】

本発明のペプチド及び組換え抗体は、医薬投与の経口、腹腔内、筋肉内、及び他の従来の経路によって投与することができる。本発明の医薬組成物は、個別の治療/予防用薬剤として、または他の薬剤と組み合わせて投与することができる。これらは、単独で投与することができるが、一般には、選択された投与経路及び標準的な薬務に基づき選択された薬学的担体と共に投与される。

## 【0146】

投与される投薬量は、もちろん、特定の薬剤の薬力学的特徴、ならびにその投与様式及び経路; 受容者の年齢、健康、及び体重; 症状の性質及び規模、同時治療の種類、治療頻度、ならびに所望の効果などの既知の因子に応じて様々である。通常、活性成分の1日投薬量は、体重1キログラム当たり約0.0001~1グラム、いくつかの実施形態では、体重1キログラム当たり約0.1~100ミリグラムであり得る。普通、投薬量は、1日当たり体重1キログラム当たり0.5~50ミリグラムの範囲、好ましくは、1キログラム当たり1~10ミリグラムの範囲である。いくつかの実施形態では、上記医薬組成物を、所望の結果を得るために有効である1日1~6回に分割した用量で、または持続放出形態で投与する。内部投与に適した剤形(組成物)は一般に、1単位当たり活性成分約1ミリグラム~約500ミリグラムを含有する。これらの医薬組成物では、上記活性成分は、通常、組成物の全重量に対して約0.5~95重量の量で存在する。いくつかの実施形態では、P10s - PADRE 少なくとも300µg、いくつかの実施形態では、P10s

40

50



- P A D R E 少なくとも 5 0 0  $\mu$  g、及び P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 1 0 0 0  $\mu$  g 以上を含む注射用製剤において、P 1 0 s - P A D R E を、M O N T A N I D E (商標) I S A 5 1 V G アジュバントと組み合わせる。

【 0 1 4 7 】

いくつかの実施形態では、P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 3 0 0  $\mu$  g、いくつかの実施形態では、P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 5 0 0  $\mu$  g、及び P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 1 0 0 0  $\mu$  g 以上を含む注射用製剤において、P 1 0 s - P A D R E を、Q S 2 1 アジュバントと組み合わせる。

【 0 1 4 8 】

いくつかの実施形態では、P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 3 0 0  $\mu$  g、いくつかの実施形態では、P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 5 0 0  $\mu$  g、及び P 1 0 s - P A D R E 少なくとも 1 0 0 0  $\mu$  g 以上を含む注射用製剤において、P 1 0 s - P A D R E を、例えば、上記の 1 種などのアジュバントと組み合わせる。

10

【 0 1 4 9 】

いくつかの実施形態では、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s ペプチド少なくとも 3 0 0  $\mu$  g、いくつかの実施形態では、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s 少なくとも 5 0 0  $\mu$  g、及び C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s 少なくとも 1 0 0 0  $\mu$  g 以上を含む注射用製剤において、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s ペプチド、すなわち、例えば、上記のものなどの C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s を含む、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s を、例えば、上記の 1 種などのアジュバントと組み合わせる。

20

【 0 1 5 0 】

いくつかの実施形態では、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s 変異体少なくとも 3 0 0  $\mu$  g、いくつかの実施形態では、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s 変異体少なくとも 5 0 0  $\mu$  g、及び C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s 変異体少なくとも 1 0 0 0  $\mu$  g 以上を含む注射用製剤において、C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した P 1 0 s 変異体、すなわち、例えば、上記のものなどの C D 4<sup>+</sup>ヘルパー T 細胞エピトープに連結した上記のとおり P 1 0 s の変異体を、例えば、上記の 1 種などのアジュバントと組み合わせる。

30

【 0 1 5 1 】

非経口投与では、上記化合物を、薬学的に許容される非経口ビヒクルと共同して、液剤、懸濁剤、乳剤、または凍結乾燥散剤として製剤化することができる。そのようなビヒクルの例は、水、生理食塩水、リンゲル液、デキストロース液、及び 5 % ヒト血清アルブミンである。上記ビヒクルまたは凍結乾燥散剤は、等張性(例えば、塩化ナトリウム、マンニトール)及び化学的安定性(例えば、緩衝剤及び防腐剤)を維持する添加剤を含有してよい。上記製剤を、一般に使用される技術によって滅菌する。適切な医薬担体は、この分野の標準的な参考文献である Remington's Pharmaceutical Sciences、第 18 版、A. R. Gennaro 編、Mack Publishing Co.、Easton、Pa.、1990 の最新版に記載されている。

40

【 0 1 5 2 】

一般に、等張性のための添加剤には、塩化ナトリウム、デキストロース、マンニトール、ソルビトール、及びラクトースが含まれ得る。場合によっては、リン酸緩衝生理食塩水などの等張液を使用する。安定剤には、ゼラチン及びアルブミンが含まれる。いくつかの実施形態では、血管狭窄薬を、上記製剤に添加する。本発明による医薬製剤を好ましくは、滅菌で、かつ発熱物質非含有で提供する。

【 0 1 5 3 】

例えば、薬剤学または医薬科学において高度な学位を有する医薬製剤の当業者は、常套以下の実験で、本発明の組成物のための様々な適切な剤形及び製剤を調製することができる。本分野のいくつかの文献、例えば、Remington's Pharmaceut

50

ical Sciences and The U.S. Pharmacopoeia / National Formularyの最新版が、これに関して、重要な指針を提供している。

【0154】

薬学的に許容される製剤は、活性成分（複数可）を、製剤環境及び薬物送達システムにおいて、その剤形の性質及び組成、ならびに薬物成分（複数可）の特性に対して適切であるような賦形剤、希釈剤、安定剤、防腐剤、及び他の成分と一緒に適正な物理的形態で提供する。

【0155】

初回投与の後に、個体を、再投与によってブーストすることができる。一部の好ましい実施形態では、多数回の投与を行う。いくつかの実施形態では、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10回、またはそれ以上のブーストを、治療の最初の1年以内に投与する。いくつかの実施形態では、治療の最初の1年の後に、ブーストを、毎年、より頻繁に、または毎年よりも少ない頻度で投与することができる。

10

【0156】

DNAワクチン

MAPコンストラクトとしてか、またはCMP + CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープペプチドとして、上記P10s及び変異体をベースとするDNAワクチンを調製することができる。ワクチン開発における最近の進歩によって、操作されたDNAベクターの投与を介して、様々な病原体に対する防御免疫を誘発する実行可能性が実証されている。糖鎖ペプチド模倣物質の内因性発現をもたらすDNAワクチンの投与は、カプセル化された生体、他の病原体に対する、及び腫瘍細胞に対する防御免疫を誘発する。DNAをベースとするワクチンに関連する利点には、コンストラクション及び標準化の容易さ、安定性及び耐熱性、1つのベクターに複数の血清群の提示を導入することができること、CpGなどの強力な免疫原性モチーフを挿入することができること、Tヘルパー細胞1型（Th1）応答の誘導、ならびに極めて低い製造コストが含まれる。鼻腔内免疫化は、投与の容易さ、低いコストを促進することによって、かつ有効な粘膜免疫応答を刺激することによって、このワクチン製剤の利点を増強する可能性がある。全身免疫とは対照的に、生涯の最初の数か月以内に、粘膜免疫が成人レベルまで成熟するので、これは、乳児において特に有効な戦略であり得る。

20

30

【0157】

DNAワクチンによって、天然の多糖、さらにはコンジュゲート多糖ワクチンの両方に関する問題が場合によっては克服され得る。

【0158】

DNAワクチンは、米国特許第4,945,050号、同第5,036,006号、同第5,593,972号、同第5,739,118号、同第5,817,637号、同第5,830,876号、同第5,962,428号、同第5,981,505号、同第5,580,859号、同第5,703,055号、及び同第5,676,594号に記載されている。米国特許第5,273,525号、同第5,439,440号、同第5,702,359号、同第5,810,762号、同第5,993,434号、同第6,014,584号、同第6,055,453号、同第6,068,650号、同第6,110,161号、同第6,120,493号、同第6,135,990号、同第6,181,964号、同第6,216,034号、同第6,233,482号、同第6,241,701号、同第6,347,247号、同第6,418,341号、同第6,451,002号、同第6,516,223号、同第6,567,694号、同第6,569,149号、同第6,610,044号、同第6,654,636号、同第6,678,556号、同第6,697,669号、同第6,763,264号、同第6,778,853号、同第6,865,416号、同第6,939,862号、同第6,958,060号、及び同第7,245,963号において記載されているとおりの遺伝子コンストラクトを送達するための電気穿孔法の使用。

40

50

## 【0159】

本明細書において言及したすべての参照文献及び特許及び公開されている特許出願は、参照により本明細書に組み込まれる。

## 【実施例】

## 【0160】

## 実施例 1

P10s - ペプチドでアフィニティー精製した静脈内免疫グロブリン (IVIg) からの IgG 画分の多反応性のグリカンアレイ分析を行った。その結果を図 1 に示している。そのペプチドは、ガングリオシド GD2 / GD3 の模倣物質であるが、それを認識する既存のヒト IgG は、広範な他の糖に結合する。最も著しく富化される反応性には、デンプン、グリコーゲン、及びセルロース、さらには複数の乳糖の分解産物を表すオリゴ糖分子に対する反応性がある。両方の画分を、0.1 mg / ml で試験した。それぞれの軸において、個々の IgG 画分の反応性を、任意の蛍光単位で対数目盛において表している。図 1 は、最高の結合はセルロースとの結合であることを示している。1 回交差線のある網掛けの四角は、マルトースを表す。一様に濃色の四角は、グルコースであり、一様に影のない四角は、イソマルトトリオースグルコースを表し、薄く影があって点々が付されている単一の四角は、ラクトースである。

10

## 【0161】

図 2 において示されているとおり、IVIg におけるデンプン分解活性は、@ P10s 画分において富化している。40 mg / ml の透析 IVIg 溶液を、4 時間にわたってセファロースにカップリングさせた P10s と共にインキュベートした。その通過画分及び酸 / 塩基溶離画分を十分に透析し、室温で 2 時間にわたって可溶性デンプン溶液 0.05 mg / ml と共にインキュベートすることによって、デンプン分解活性について試験した。そのインキュベーションの終了時に、ヨウ素チンキ剤 0.08 % を添加し、色強度を 595 nm で測定した。グラフの上の曲線は、p10s である；下の曲線は、IVIg FT である。その値は、免疫グロブリンを含まないウエルの平均強度からの差の平均値及び標準偏差を表している。

20

## 【0162】

図 3 A は、CD19 発現 (FL4) でゲートされた CD23<sup>+</sup> (FL2) 及び CD23<sup>-</sup> 小 BALB / c マウス脾細胞の、P10s - 量子ドットクラスター (525 nm - FL1) での染色を示している。図 3 B は、CD19 発現 (FL4) でゲートされた CD23<sup>+</sup> (FL2) 及び CD23<sup>-</sup> 大 BALB / c マウス脾細胞の、P10s - 量子ドットクラスター (525 nm - FL1) での染色を示している。その染色は、P10s<sup>+</sup> B 細胞集団サイズが表現型分集団と抗原特異的細胞との間の広い範囲にあるので、多特異性反応性と一致する。多特異性及び糖鎖反応性細胞について予測されたとおり、p10s<sup>+</sup> B 細胞は、主に、CD23<sup>-</sup>、おそらく周辺帯域または脾臓 B1 細胞である。図 3 A のデータは、次のとおりである。D1 と指定された四分の一区分は、79.8 % を示している。D2 と指定された四分の一区分は、0.6 % を示している。D3 と指定された四分の一区分は、19.3 % を示している。D4 と指定された四分の一区分は、0.4 % を示している。図 3 B のデータは、次のとおりである。D1 と指定された四分の一区分は、34.6 % を示している。D2 と指定された四分の一区分は、0.8 % を示している。D3 と指定された四分の一区分は、62.6 % を示している。D4 と指定された四分の一区分は、2.0 % を示している。

30

40

## 【0163】

## 実施例 2

配列：H - Trp - Arg - Tyr - Thr - Ala - Pro - Val - His - Leu - Gly - Asp - Gly - dAla - Lys - CHAla - Val - Ala - Ala - Trp - Thr - Leu - Lys - Ala - Ala - dAla - NH<sub>2</sub> を有する P10s - PADRE を合成した。P10s - PADRE は、L 配置の 23 個のアミノ酸及び D 配置の 2 個のアミノ酸を含む 25 アミノ酸ペプチドである (Ala<sub>13</sub> 及び Ala<sub>25</sub> は

50

、それぞれ、dALaとして示されるD型アミノ酸である)。15位にあるAlaは、改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニン(CHAla、CHAla15、Cha、またはCha15)である。アミノ酸の一文字略語を使用すると、上記P10s-PADRE配列は、[水素]-W-R-Y-T-A-P-V-H-L-G-D-G-dA-K-Cha-V-A-A-W-T-L-K-A-A-dA-NH<sub>2</sub>である。上記P10s-PADREの分子式は、C<sub>128</sub>H<sub>197</sub>N<sub>35</sub>O<sub>30</sub>である。アセタートペプチドと対イオンとの比：86.6%対4.5%である。P10s-PADREは、酸性pHにおいて良好な水溶性性を有する陽イオン性、塩基性(計算等電点=9.7)ペプチドである。上記配列中に、アミド化アミノ酸またはシステインは存在しない。分子量：2706.9Da。糖鎖模倣ペプチド(CMP、ミモトープ；P10s-PADREとも呼ばれ、P10s-PADRE<sub>DAIa13,CHAla,DAIa25</sub>とも言及される)での免疫化を使用して、糖鎖反応性抗体を誘発する新たな免疫調節手順を記載する。

#### 【0164】

##### 実施例3

腫瘍細胞の適応及び生存に打ち勝つことは、治療の失敗を防止する際に重要であり、新たな免疫治療戦略の基礎として役立つ可能性がある。腫瘍成長を阻害する広域スペクトルの体液及び細胞応答を誘発する糖鎖模倣ペプチド(CMP)が開発されている。P10s(配列番号1)と呼ばれるこれらのCMPの1種は、P10s-PADRE(H-Trp-Arg-Tyr-Thr-Ala-Pro-Val-His-Leu-Gly-Asp-Gly-dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla-NH<sub>2</sub>(ここで、Ala13及びAla25は、それぞれ、dALaとして示されるD型アミノ酸であり、15位にあるAlaは、改変L配置アラニン、シクロヘキシルアラニン(CHAlaとして示される)である)を生じるように、汎用CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞エピトープPADRE(dAla-Lys-CHAla-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-dAla)を含むように改変されている。

#### 【0165】

ステージIVの乳癌患者におけるP10s-PADREの第I相ヒト初回用量漸増予備試験を開始した。免疫化対象は、抗P10s応答を展開し、免疫化後の対象の血清及び血漿抗体は、トラスツズマブに対する新規耐性を有する細胞系を含むヒト乳癌細胞系に対する細胞毒性を媒介した。P10sを、ネオラクトシリーズ抗原Lewis Y(LeY)及びガングリオシドGD2を含む複数のTACAに対する応答を誘発するように設計した。これらの抗原は、細胞死に関係する細胞シグナル伝達機構に密接に関係している。

#### 【0166】

ワクチンを製造し、ステージIVの転移性乳癌患者をワクチン接種するために使用して、その安全性及び耐容性を評価した。上記ワクチンは、抗GD2及び抗LeY抗体の結晶構造に基づくP10s配列(配列番号1を含む。P10sを、その親ペプチド(P10またはP10オリジナルと呼ばれ、配列番号2)よりも正確なTACAの模倣物質として開発した。

#### 【0167】

P10sを、GLP検証を使用して、改変された形態でPan T細胞ペプチドPADREと共に合成した。上記P10s-PADREワクチンを、疾患再発の高いリスクを有する乳癌患者を治療するために開発した。第I相臨床試験研究の参加者を、組織学的または細胞学的に確認されたステージIVの乳癌(新たに診断されたか、転移性か、または当初もしくは補助療法の後で再発し、2カ月にわたって、治療の変更が必要とされていない)を有するすべての人種の女性に限定した。3~6人のステージIVの乳癌患者からなる2つのコホートを登録することとした。

#### 【0168】

初めに、単一のコホートに、MONTANIDE(商標)ISA51VGアジュバント(商標)と共に製剤化したP10s-PADRE(300µg/mL)を投与した。MO

10

20

30

40

50

NTANIDE (商標) ISA51VGアジュバント (商標) アジュバントと混合した P10s - PADRE の用量を、腹部で注射部位を交替させて、対象に皮下投与した。現在、4人の対象が、23週間かけての5回の免疫化 (1~3週目での高度免疫、7週目及び19週目のブースト) からなるその免疫化コースを完了している。

【0169】

すべての対象が、上記ワクチンに対する IgG 及び IgM 応答を示した。図4は、免疫化個体における IgM 抗体応答を示している。図5は、免疫化個体における IgG 抗体応答を示している。図6は、免疫化個体から誘発された抗体が、細胞毒性活性を伴って、HCC1954細胞に対して交差反応性であったことを示している。

【0170】

最初の4人の対象において、用量限定性毒性 (DLT) は観察されなかったし、5人目の対象において、DLTは、今までのところ観察されていない。この情報は、P10s - PADRE 500  $\mu$ g の初回用量レベルでのワクチン接種は、安全かつ許容されるはずであることを示している。

【0171】

図7A及び7Bにおいて示されているとおり、P10sでの免疫化は、ヒトHCC1954癌細胞に結合し、細胞毒性を誘発するペプチドと反応性の抗体をもたらす。ELISAプレートをP10sのMAPバージョンでコーティングし、免疫化前及び免疫化後血清の2倍希釈系列の反応性を、HRP-コンジュゲートした抗ヒトIgG (図7A) 及びIgM (図7B) によって検出した。図7A及び図7Bにおいて示されている終点力価は、線形回帰によって吸光度-対-希釈曲線から推定した。各対象の免疫化前血清での回帰線の遮断は、その対象での終点力価を決定するための吸光度カットオフとして使用する値であり、各試料の回帰線が対象の吸光度カットオフと交差する希釈度を、試料の終点力価であると定義した。最小の実際の希釈度を下回るか、または最大の実際の希釈度を上回る希釈度を超えての外挿は、許容されなかった。この手順で、各対象の免疫化前力価を1:100と正規化した。

【0172】

図8A及び8Bは、HCC1954及びMDA-MB-231細胞に対する、4患者から収集された免疫化前及び免疫化後血漿の細胞毒性効果を示している。図8Aは、その免疫化対象が、P10sに対して免疫応答を生じること、及びその誘発された血清及び血漿抗体は、MDA-MB-231及び新規トラスツズマブ耐性HCC1954細胞系に結合し、それらに対して細胞毒性であることを示している。各細胞系における細胞毒性をまた、3連ウェルにおいて残った細胞を計数することによって定量化し、図8Bにおいて棒グラフで示した。

【0173】

図9においてデータによって示したとおり、予備研究は、誘発された抗体が、腫瘍細胞をドセタキセル治療に対して増感させ得ることを示唆している。図9は、対象の血清とのプレインキュベーションが、腫瘍細胞をドセタキセル毒性に対して増感させることを示している。MDA-MB-231細胞を、終夜、10% FBSを含有するRPMI培地中で培養した。次いで、培地を、免疫化前または免疫化後血清を含有する培地に交換した。FBSを、対照として使用した。5時間のインキュベーションの後に、ドセタキセルをウェルに、系列希釈法で添加した。24時間後に、ウェルを洗浄し、生細胞を固定し、染色し、計数した。生存パーセンテージを、「0」薬物用量での細胞数に対する所与の薬物用量での細胞数の比として計算した。Prism 5ソフトウェアを使用し、生存データを使用して、用量反応曲線をフィットさせた。各曲線のIC<sub>50</sub>を計算した。免疫化後のIC<sub>50</sub>は、FBSのIC<sub>50</sub>及び免疫化前血清のIC<sub>50</sub>とは有意に異なり、P値は、それぞれ6.21E-08及び0.002であった。

【0174】

5人目の対象は、500  $\mu$ g用量でのその女性の免疫化スキームをほぼ完了しており、6人目の対象は、500  $\mu$ gで2回の免疫化を受けていて、500  $\mu$ g コホートを完了す

10

20

30

40

50

る過程にある。

【0175】

#### 実施例4

ステージIVの乳癌患者においてP10s - PADREを試験する第I相ヒト初回用量漸増試験は、成功裏に完了した。P10s - PADREを、MONTANIDE（商標）ISA51VGと共に製剤化した。試験したP10s - PADREの用量は、300 $\mu$ g / 注射及び500 $\mu$ g / 注射であった。

【0176】

#### 方法

##### 研究の設計及び統計学的検討

第I相用量漸増試験を、ステージIVの乳癌の対象においてワクチン、P10s - PADREの安全性及び耐容性を評価するために行った。従来の3+3コホート設計（Rosenberger, W.F.及びHaines, L.M., Competing designs for phase I clinical trials: a review. Stat Med. 21, 2757~2770 (2002)）を利用したこの試験は、Institutional Review Board (IRB) of the University of Arkansas for Medical Sciences (UAMS)によって許可され、US FDA clinical trials [dot] govウェブサイトにおいてNIH臨床試験登録で登録された。

【0177】

試験を、「標準」または「従来の」方法と呼ばれているものを使用して、用量漸増研究として設計した（前出のRosenberger, W.F.及びHaines, L.M. (2002)）。対象を、3つの群で処置し、第1の群は、注射1回当たりP10s - PADRE300 $\mu$ gの投与用量であった。この第1の群において用量限定毒性（DLT）が存在しなかったならば、最終用量を、注射1回当たりP10s - PADRE500 $\mu$ gまで上昇させ、次の群を、この最終用量で処置することとした。第1の群において、2つまたは3つのDLTが存在したならば、用量を1回の注射当たり100 $\mu$ gの安全用量まで低下させ、3人の患者をこの安全用量で処置することとした。第1の群においてちょうど1つのDLTが存在したならば、さらに3人の患者を当初の用量でワクチン接種し、追加のDLTが観察されなかった場合にのみ、最終用量を上昇させることとした。この手法での安全性の評価が、一次的な結果であった。他の終点はすべて、二次的であり、それらの分析は、調査のためのものであり、仮説を生じさせるものと考えた。すべての患者が、安全性及び有効性分析に含まれた。

【0178】

Brunnerらのノンパラメトリック繰り返し測定法（Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments. (John Wiley & Sons, Inc., New York, NY.; 2002)）を使用して、特に、この方法から推奨されるANOVA型統計を使用して、抗P10s抗体の終点力価を、時間、用量コホート、及びそれらの相互作用に関する変化について分析した。細胞系への血漿細胞毒性に対するワクチン接種の効果を、対応のある差異について1標本t検定によって評価した。すべての統計検定は、両側であり、 $P < 0.05$ 有意水準を使用した。SASバージョン9.3（the SAS Institute, Cary, NC）を、ノンパラメトリック繰り返し測定分析のために使用し、GraphPad Prism5（GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA）を、1試料t検定及びすべてのグラフのために使用した。

【0179】

#### 参加者

上記P10s - PADREワクチンを、特に、疾患再発の高いリスクを有する乳癌患者

10

20

30

40

50

を治療するために開発した。第I相臨床試験において、研究参加者は、組織学的または細胞学的に確認されたステージIVの乳癌を有する女性に限定した。組織学的または細胞学的に確認されたステージIVの乳癌を有するすべての人種の18歳以上の女性が適格であり、対象は、文書によるインフォームドコンセントの提供の後に登録された。American Joint Commission on Cancer (AJCC) 第6版によって、疾患病期分類を行った。次の適格性基準を使用した：その癌は、新たに診断されたか、再発か、または当初もしくは補助療法の後で再発してよく、2カ月にわたって、治療の変更が必要とされていない。抗エストロゲン療法または化学療法での治療は許容された。上記化学療法レジメンは、支持療法前またはその後の薬物療法において、ステロイドを含有することはできなかった。追加の適格性基準には、0~1のEastern Cooperative Oncology Groupパフォーマンスステータス及び適切な臓器機能（登録前の2週間以内に白血球数  $3,000/mm^3$ 、ヘモグロビン  $8.0g/dL$ 、血小板  $100,000/mm^3$ 、総ビリルビン  $3.0mg/dL$ 、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ  $200IU/L$ 、アラニンアミノトランスフェラーゼ  $200IU/L$ 、及び血清クレアチニン  $1.5-/dL$ )が含まれる。対象は、皮膚試験によって、2種のリコール抗原に対する応答性によって測定した場合に、免疫適格性であるべきであった。次の除外基準を適用した：既知の脳転移；妊娠または授乳；既知のHIV感染履歴；临床上重大な感染；重症の心不全；他の活発な悪性疾患；臓器同種移植の履歴；免疫不全または脾臓摘出の履歴；ステロイドまたは免疫抑制薬との同時治療；及び臨床的判断に基づく治験での不適切性。

10

20

## 【0180】

手順

P10s-PADREワクチンを、次のとおりに生産した。ペプチドP10s (WRYTAPVHLGDG、配列番号1)を、Pan T細胞ペプチドPADREの1バージョン (dAKchAVAAWTLKAAdA: AmbioPharm, Inc., North Augusta, SC, USA) に共有結合により結合させた。上記ペプチドは、Good Manufacturing Practiceガイドラインに従って合成した。上記ペプチドワクチンを、アジュバントMontanide ISA-51VG (SEPPIC, Inc., Fairfield, NJ, USA) と共に乳化した。

## 【0181】

ワクチンを、1、2、3、7、及び19週の間5回の別々の機会に、皮下 (SC) 注射によって、液体の形態で投与した。3人の患者への各用量の投与を計画した。初めは、単一のコホートに、MONTANIDE (商標) ISA51VGと共に製剤化されたP10s-PADRE ( $300\mu g/mL$ ) を投与した。MONTANIDE (商標) ISA51VGと混合したP10s-PADREの用量を、腹部で注射部位を交替させて、対象に皮下投与した。

30

## 【0182】

一次終点は、ペプチドワクチン接種の安全性であった。二次終点は、抗P10s抗体力価、乳房癌細胞への抗体結合、及び乳房癌細胞に対する試料細胞毒性であった。

## 【0183】

ワクチン接種の前後での患者の血清中の抗P10s抗体の存在を、ELISAで評価した。ELISAプレートを、終夜、炭酸塩-炭酸水素塩緩衝液 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 中のP10sの多重抗原ペプチド (MAP) バージョン  $1\mu g$  / ウェルでコーティングした。37 で1時間にわたって0.5% FBS及び0.2% Tween 20を含有するPBS (ブロック緩衝液) でウェルをブロックした後、1:100 (希釈ステップ0) から1:12800 (希釈ステップ7) の最終希釈までの血漿及び血清試料の連続2倍希釈液を添加した。ブロック緩衝液中の血清希釈液を37 で2時間にわたってインキュベートした。洗浄した後に、ウェルを、37 で1時間にわたって、HRP-コンジュゲートされたマウス抗ヒトIgM及びIgG (Sigma-Aldrich) と共にインキュベートした。次いで、テトラメチルベンジジン基質 (

40

50

Sigma - Aldrich) を添加し、その反応を 20 分後に停止した。プレートを、450 nm で ELISA リーダーを使用して読み取った。

#### 【0184】

得られた吸光度 - 対 - 希釈曲線を使用して、次のとおりに正規化終点力価を推定した。  
 (1) 吸光度対希釈ステップの線形回帰を、各対象からの各試料の系列希釈で行ったが、その際、希釈ステップを、上記のとおりナンバリングした。(2) 各対象の免疫化前試料での回帰線の切片は、その対象から収集されたすべての試料の終点力価を決定するための吸光度カットオフとして使用する値である。(3) 各試料の回帰線が対象の吸光度カットオフと交差する希釈ステップを、決定し、 $X(c)$  と呼び、正規化終点力価を、力価 =  $1 : (100 * 2^{X(c)})$  として  $X(c)$  から推定した。この手順によって、 $1 : 100$  であるように各対象の免疫化前力価を正規化した。外挿が希釈ステップの範囲外へと離れすぎること防ぐために、 $-1$  未満または  $+8$  超の  $X(c)$  の値は、それぞれ  $-1$  及び  $+8$  に等しいと設定したが、これは、正規化終点力価が最低  $1 : 50$  及び最大  $1 : 25600$  を有する原因となった。

10

#### 【0185】

ワクチン接種前後でのヒト乳癌細胞系に対する対象の抗体の機能性を評価した。ヒト乳癌細胞系は、ATCC (Manassas, VA) から購入した。細胞を、10% 熱不活化ウシ胎児血清 (Life Technologies)、50 単位/mL ペニシリン、及び  $50 \mu\text{g}/\text{mL}$  ストレプトマイシンを補充された基本培地中で培養した。MDA - MB - 231 及び HCC 1954 のための基本培地は、それぞれ、DMEM 及び RPMI (両方とも、Fisher Scientific 製、Pittsburgh, PA) であった。上記細胞系に対する対象の試料の細胞毒性を評価するために、個々の細胞  $5 \times 10^4$  (24 ウェルプレート) を、10% FBS を含有する培地に播種した。24 時間後に、上記培地を、10% の免疫化前または免疫化後の血漿を含有する培地で新しくした。対照ウェル中の培地は、10% FBS を含有した。血漿の添加から 24 時間後に、上清を除去し、生細胞を固定し、Crystal ヴァイオレットで染色した。細胞毒性のパーセンテージを、100% から、対照ウェルでの細胞数に対する生存細胞のパーセントを引いて計算した。すべての試料を、3 連でアッセイし、その 3 連の平均を、試料の測定細胞毒性として採用した。

20

#### 【0186】

結果

患者の特徴

研究は、従来の  $3 + 3$  設計によって必要とされるならば、18 人の対象からなる登録目標を許容するように、24 人のヒト対象についてスクリーニングを調整した。この設計では、毒性が生じなければ、最低 6 人の対象が必要とされたであろう。表 1 は、研究に同意した 16 人の対象が、年齢及び人種によって作表されて列挙されている。6 人の対象 (37.5%) は、リコール抗原トリコフィトン及びカンジダ抗原に対する遅延型過敏性 (DTH) 応答の欠如により、スクリーニングで落ちた。1 人の対象 (39610) のみが、上記研究の継続を辞退し、適格性を決定するための予備研究 / スクリーニングを完了することはなかった。3 ~ 6 人のステージ IV の乳癌患者からなる 2 つのコホートが成功裏に登録され、23 週間にわたる 5 回の免疫化 (1、2、3 週目での高度免疫、7 週目での別の免疫化、及び 19 週目でのブースト免疫化) からなるその免疫化コースを完了した。上記 P10s - PADRE ワクチン接種に対する対象の状態及び臨床応答の概要を表 2 に列挙する。

30

40

#### 【0187】

P10s - PADRE での免疫化は、抗 P10s 応答を誘発する

上記 P10s - PADRE ワクチンは、安全かつ許容されることが判明し、その免疫化スケジュールは実現可能であった。P10s - PADRE ワクチン免疫化対象は、P10s の MAP 形態に対して免疫応答を生じ、上記 P10s - PADRE ワクチン製剤を投与された 6 人の対象はすべて、ELISA アッセイによって測定したところ、免疫化の後に

50



、 P 1 0 s M A P ペプチド形態に対して持続性 I g G 応答を示した（図 1 0）。上記 M A P ペプチドに対する同様の結合パターンが、血漿試料を使用して観察された。4 週目にすでに上昇していた対象 # 6 を除いて、多くの対象において、抗ペプチド血清反応性が、研究の 4 週目から 7 週目に劇的に上昇した。免疫化前と比較した 7 週目での上昇は、3 1 倍（対象 # 2 において）から 2 5 6 倍（対象 # 5 及び # 6 において）の範囲であり、後続の週における力価は、その 7 週目の値からほとんど変化を示さなかった。より多い用量のワクチンで免疫化されたコホートは、より高い正規化終点力価を示した（図 1 0）。非パラメトリック繰り返し測定分析において、用量及び週の主な効果は、統計的に有意であったが（両方とも  $P < 0.0001$ ）、その用量 × 週交互作用は、有意ではなかった（ $P = 0.40$ ）（表 3）。3 人の対象における免疫応答のさらなる評価は、上記抗 P 1 0 s 力

10

#### 【 0 1 8 8 】

P 1 0 s - P A D R E 免疫化は、ヒト乳癌細胞系に対して細胞毒性効果を有する

ワクチン誘発抗体は、細胞毒性において有意な平均上昇を示した。P 1 0 s - P A D R E での免疫化は、全身療法に対して耐性の 2 種のヒト乳癌細胞系に対する細胞毒性活性をもたらした。M D A - M B - 2 3 1 細胞は、b a s a l - l i k e 型癌腫の代表であるのに対して、H C C 1 9 5 4 細胞は H E R 2 を発現するが、それにもかかわらず、トラスツズマブに対する新規の耐性を有する（図 8 A 及び 1 1 A）。両方の細胞系に対する細胞毒性が、それらの免疫化前血漿と比較して、6 人の対象のうちの 5 人の対象からの免疫化後血漿において高かった。6 人の対象での細胞毒性の免疫化後上昇は、H C C 1 9 5 4 に対しては 2 6 %（2 4 %）、及び M D A - M B - 2 3 1 に対しては 3 0 %（2 8 %）の平均（標準偏差）を有し、両方の上昇が、1 標本 t 検定によると統計的に有意であった（それぞれ  $P = 0.047$  及び  $P = 0.044$ ）（図 1 1 B）。非腫瘍発生性ヒト乳房上皮細胞系である M C F - 1 0 A では、毒性は観察されなかった（図 1 2）。他の実験では、M C F - 7 細胞に対しては、毒性は観察されなかったが、M C F - 7 と同様の低成長 E R + 細胞系であるが、しかしながら、M C F - 7 と異なりインタクトなカスパーゼ - 3 官能性を有すると考えられている Z R - 7 5 - 1 の細胞に対しては、毒性が観察された。

20

#### 【 0 1 8 9 】

考察

この研究において、用量限定性の毒性は観察されなかった。アジュバントの性質による肉芽腫の形成の可能性によって、ペプチドの最大許容用量の決定は妨害された。

30

#### 【 0 1 9 0 】

上記ワクチンを、皮膚試験による 2 種のリコール抗原に対する応答を展開する可能性を含むすべての適格性基準を満たす患者に投与した。この後者の基準についての理論的根拠は、抗原攻撃に反応し得る活発な免疫系を有する患者を選択することであった。スクリーニングした 1 6 人のうち 6 人の患者が、すべての基準を満たしたが（3 7 . 5 %）、残りの患者は、多くは陰性のリコール抗原皮膚試験によって、スクリーニングに落ちたと判断された。研究に登録されたすべての患者が、乳癌の種類に関わらず、上記 P 1 0 s - P A D R E ワクチンに対する反応性の証拠を示し、このことは、このワクチンの将来の開発が、すべての種類の乳癌において追及され得ることを示唆している。

40

#### 【 0 1 9 1 】

この研究の一次終点は、ワクチン接種の実行可能性及び安全性の評価であったが、P 1 0 s - P A D R E での免疫化によって生じる免疫応答を、免疫療法に関連する特徴について分析した。上記 P 1 0 s - P A D R E ワクチンは、すべての対象において、P 1 0 s - 反応性抗体を誘発した。観察によって、スケジュール上の 5 回の免疫化をすべて受けた対象の割合によって定義した場合、P 1 0 s - P A D R E での免疫化は、1 0 0 % 実行可能であることが確認された。P 1 0 s に対する抗体応答の評価は、5 0 0  $\mu$ g 用量が、3 0 0  $\mu$ g 用量よりも高い抗 P 1 0 s I g G 力価をもたらし得るが、小さいコホートサイズ及びランダム化の欠如が、用量効果についてのより確固とした結論を不可能にしているこ

50

とを示唆している。力価分析はさらに、7週目から持続するIgG力価で、有効な免疫応答をもたらすために、わずか3回の免疫化で十分であることを示唆している。さらに、500 $\mu$ g用量では対象において毒性は見られなかったが、より高い用量では、過剰なアジュバントに関連する皮膚反応について懸念が存在するので、将来の研究では、1回の注射当たり、500 $\mu$ gを推奨することが賢明と考えられる。

#### 【0192】

上記6人の対象のうちの5人からのP10s - 生成抗体は、標準的な全身療法に対する重大な耐性を代表すると考えられる2種のヒト乳癌細胞系に対して細胞毒性であることが判明した。正常な上皮細胞系MCF10Aでは、細胞毒性は観察されず、これは、生成抗体の、癌細胞に対する特異性を示している。1,6 - 分岐の増大、及び細胞表面上でのそれらのクラスター化を含むTACA発現の増大が、腫瘍細胞を正常細胞から区別している。正常な組織とは異なり、通常観察される癌腫細胞のN - 連結及びO - 連結グリカンの発現プロファイルは、不十分な予後と関連している。マウス研究における免疫病理の欠及及びMCF10A細胞に対する非細胞毒性効果から証拠づけられるとおり、P10s - PADREをワクチン接種されたヒトからの誘発抗体は、この示差発現を識別する(Monzavi - Karbassi, B.ら(2007)前出; Hennings, L.ら(2011)前出)。

10

#### 【0193】

腫瘍細胞死をもたらす免疫応答の誘発は、癌 - 細胞伝播を標的とする免疫療法において有用である。加えて、TACA発現プロファイルに関連したシグナル伝達機構を妨害する免疫応答の誘発は、腫瘍の成長を停止させ、転移の発生を予防し得る。さらに、抗糖鎖抗体は、細胞増殖抑制性または細胞毒性である免疫 - サーベイランス機構の一部であることが仮定される(Vollmers, HP及びS Brandlein, Natural antibodies and cancer., N Biotechnol 25, 294~298., Epub 2009 Apr 2011. (2009))。したがって、免疫応答の誘発は、悪性疾患の経過及び長期の患者の生存に対して有益効果を有し得る。

20

#### 【0194】

血清及び血漿中のP10s - PADRE誘発抗体は、治療耐性の極値を表すヒト乳癌細胞系と反応し、それに対して細胞毒性である。ZR - 75 - 1細胞も、毒性に対して感受性であったが、MCF - 7細胞は、カスパーゼ - 3経路を含み得る機構を示していなかった。血清中の抗TACA抗体は、ポリクローナルであり、in vitroで細胞毒性効果を発揮することが示された。抗TACA抗体は、腫瘍細胞に対する免疫系の効果を増強し得る。さらに、抗TACA抗体は、組合せ細胞毒性薬物または放射線療法のより有効な活性のために、例えば、病巣接着 - キナーゼ経路などのシグナル伝達経路を中断することによって、腫瘍細胞を増感させ得る。

30

#### 【0195】

【表 1】

表 1. 研究登録の概要

対象	スクリーニングで失格した理由	年齢	人種
39601	N/A	77	白人
39602	高SGOT	61	白人
39603	N/A	46	白人
39604	N/A	50	白人
39605	DTH皮膚試験に無反応	67	白人
39606	DTH皮膚試験に無反応	62	白人
39607	DTH皮膚試験に無反応	54	白人
39608	N/A	50	白人
39609	N/A	67	アフリカ系米国人
39610	必要な訪問回数により、患者が辞退	44	白人
39611	DTH皮膚試験に無反応	67	白人
39612	DTH皮膚試験に無反応	62	未知
39613	治療の変化を伴う進行性疾患	44	白人
39614	DTH皮膚試験に無反応	73	白人
39615	登録前のPIによって撤退	65	白人
39616	N/A	51	白人

10

20

【 0 1 9 6 】

【表 2】

表 2. 患者の特徴、化学療法薬、ならびに免疫及び臨床応答

ワクチン 接種 1 回 当たりの ペプチド の用量 ( $\mu$ g)	対象	ER/ PR/ Her 2 状況	PS*	化学療法 (用量)	疾患の 進行	免疫応答	
						MAPへの 免疫化血漿 の結合 (ELISA)	癌細胞に対 する免疫化 血漿毒性
300	39601(#1)	+/+	0	デノスマブ (120mg)	安定	あり	あり
	39603(#2)	+/-	0	カルボプラチン (423mg) 及び ゲムシタピン (1395mg)	進行性	あり	あり
	39604(#3)	+/-+	0	ビノレルビン (43mg) 及び トラスツズマブ (141mg)	安定	あり	あり
500	39608(#4)	+/+	1	ゾメタ (4mg)	安定	あり	あり
	39609(#5)	+/-	0	フェソロデック ス (500mg)	安定	あり	なし†
	39616(#6)	+/-+	0	トラスツズマブ (346mg)	安定な	あり	あり

† この対象からの免疫化前血漿における高い背景毒性により、血漿毒性の有意な上昇は観察されなかった。対象のカレンダーの綿密調査によって、その免疫血液採取の2日前に、フェソロデックス投与が適用されていたことが示された。

\*パフォーマンスステータス (ECOG)

10

20

30

【0197】

【表 3】

表 3. 終点力価の非パラメトリック繰り返し測定分析、ならびに対象間効果としての用量、及び対象内効果としての週			
源	DF†	F‡	P値
用量	1	38.9	<0.0001
週	2.93	27.22	<0.0001
用量×週	2.93	0.98	0.40

†: †の自由度、‡: 中央F (DF,  $\infty$ ) 分布にほぼ従う、BrunnerらのANOVA型統計

40

【0198】

## 実施例 5

ミモトープをベースとする免疫療法後の乳癌患者の臨床応答

次の開示は、第 I 相臨床試験に参加し、P10s - PADRE ワクチン製剤をワクチン接種された転移性 HER2 + 乳癌の患者による治療に対する稀な疾患経過及び応答に関する。

50

## 【0199】

## 方法及び結果

上記患者は、常套的なマンモグラムが左乳房上に石灰化の疑いを示し、コア生検によって侵襲性腺管癌と確認された45歳で、乳癌と初めに診断された。

## 【0200】

0時点で、上記患者は、前哨リンパ節生検（SLNB）を伴う両側皮膚温存乳房切除術を、続いて、両側生理食塩水移植再建を施された。最終病態は、右乳房には癌を示さず、左乳房にはグレードIIIで、リンパ管浸潤のある4cmの侵襲性腺管癌を示した。断端は陰性であった。エストロゲン受容体（ER）は弱陽性であり、プロゲステロン受容体（PR）は陰性であった。HER2を、FISHによって増幅した。左SLNBは陰性であった。PETスキャンは、全身転位については陰性であったが、傍気管、傍食道、及び肺門リンパ節は顕著であった。これらは、転移性疾患に関連しないが、その領域に石灰化リンパ節が存在するためであると考えられた。

10

## 【0201】

2カ月目の時点で（0時点から2カ月後）、上記患者は、2週毎で4サイクルにわたる投与集中アドリマイシン/シクロフォスファミド（60/600mg/m<sup>2</sup>、続く、2週毎で4サイクルにわたるパクリタキセル（175mg/m<sup>2</sup>）でのアジュバント化学療法を開始した。週1回のトラスツズマブ治療が、パクリタキセルと同時に開始され、これは合計1年間にわたって継続した。上記患者はまた、上記化学療法の完了後に、トラスツズマブを受けながら、タモキシフェンで治療された。肥大リンパ節をチェックするために、年1回のPETスキャンが行われ、完全な退縮が示された。

20

## 【0202】

34か月時点で、上記患者は、インプラントに近い左胸壁上に1cmの腫瘤を伴う局所再発を有した。これは、陰性断端まで切除された。その腫瘤は、ER陽性、PR陰性、及びHER2陽性で、CEP17/HER2比は1.5であった。上記患者は、その領域への放射線療法で治療された。病期分類スキャンによって、転移性疾患の証拠は示されなかった。

## 【0203】

52か月時点で、PETスキャンによって、両方の野に散乱する新たな小さい肺小結節及び生検陽性左胸筋下リンパ節が示された。上記患者は、ビンレルビン及びトラスツズマブ（VT）で治療され、その後のPETスキャンによって、肺における部分的な応答、胸筋下リンパ節の完全な消失が示された。その時点で、その疾患が安定していると判断されたので、上記患者に、上記P10s-PADREワクチン試験への参加が提案された。上記患者は評価を受け、上記ワクチン研究への参加に適格であると考えられた。

30

## 【0204】

58か月時点で、上記患者は、VTの標準的な治療を継続しながら、その初回のワクチン300mcgの皮下注射、続いて、プロトコルに従って8、15、43、及び126日に同様の用量を投与された。

## 【0205】

P10s-PADREワクチンに対する免疫応答

40

上記患者は、P10s多重抗原ペプチド（MAP）に対して免疫応答を生じた。免疫化後に、MAPペプチドに結合するIgM及びIgGの両方の増大が、ELISAアッセイによって観察された（図13）。抗ペプチドIgM及びIgGは両方とも、研究の7週目にピークとなった。IgMは、短命で、19週目までに基線に戻ったが、上記IgG部分の活性は高いままであった。

## 【0206】

HCC1954細胞系に結合したP10s-PADREワクチン誘発血清（図14A）及び7週目に収集された免疫化後血清とのHCC1954細胞のインキュベーションは、細胞死の有意な刺激をもたらした（図14B）。免疫化前血清とのHCC1954細胞のインキュベーションは、免疫化前血清が、対応する細胞毒性効果を有しないことを示した

50

## 【 0 2 0 7 】

P 1 0 s - P A D R E ワクチン誘発血清はまた、H C C 1 9 5 4 細胞の遊走を阻害した ( 図 1 5 ) 。後で、血漿を結合において試験すると、非常に似た反応性パターンが観察された。免疫化後血漿は、H C C 1 9 5 4 及び M D A - M B - 2 3 1 細胞系の両方に対して細胞毒性であった ( 図 8 A 及び 8 B の対象 3 についてのデータを参照されたい ) 。別の実験では、血清との終夜インキュベーションの後に、生細胞を採取し、アネキシン発現を検出することによって、アポトーシスの誘導を検査した。結果は、上記抗 P 1 0 s 血清が、M D A - M B - 2 3 1 細胞においてアポトーシスを誘発したことを示している ( 図 1 6 ) 。攻撃性三種陰性 M D A - M B - 2 3 1 及び新規のトラスツズマブ耐性 H C C 1 9 5 4 細胞系に対する血清及び血漿の結合及び細胞毒性効果は、このワクチンについて、明らかに臨床上有望である。特に、H C C 1 9 5 4 に対して観察された細胞毒性は、試験された患者でプラスの結果の可能性を示唆している。さらに、研究は、誘発された抗体が、腫瘍細胞をドセタキセル治療に対して増感させ得たことを示唆した ( 図 9 ) 。

10

## 【 0 2 0 8 】

患者の臨床状態

肺転移の退縮。注射部位での硬変を伴う局所反応以外に、上記ワクチンは、何ら副作用を示さなかった。ワクチン接種の開始後に、連続 P E T スキャンは、初めは、それらのサイズまたは数の増大を伴うことなく、既に既知の肺転移におけるフルオロデオキシグルコース ( F D G ) 活性の上昇を示し、次いで、その全身治療が同じままである間に、F D G 活性の低下を示した。

20

## 【 0 2 0 9 】

脳病変。6 6 カ月時点で、その女性は、左腕の衰弱及び運動失調を訴えた。脳の M R I によって、脳実質中に 3 個の十分に画定される複雑な嚢胞性腫瘍が示され、その際、その周囲に、血管原性浮腫はなかった。6 8 カ月時点で、その女性は、左小脳半球病変を切除するための左後頭下開頭術、及び左下側頭骨病変を切除するための左前頭側頭骨開頭術、続いて、嚢胞性病変への分割定位的放射線療法、続いて、全脳放射線療法を施された。

## 【 0 2 1 0 】

上記脳病変の切除部からの標本は、主に表在する皮質断片を示し、散乱した白質断片を伴った。両方の標本部分で行ったサイトケラチン ( A E 1 / A E 3 ) 及び C A M 5 . 2 免疫組織化学は、上皮細胞について陰性である。両方の標本部分で得られた多数の追加の切片 ( レベル x 3 ) は、他の所見を示さなかった。散乱した C D 3 + T - 細胞は主に、実質中に存在する血管腔及び出血領域と関連しているが、その重要性は明瞭ではなかったものの、重大な炎症性 / 感染性プロセスを示していなかった可能性がある。血管中に時々あるものを除いて、C D 2 0 + 細胞は観察されなかった。カッパ及びラムダ軽鎖は、高い背景を有するが、おそらく通常予測されるように、血漿と関連しているらしく、血管においてより強い染色が存在したようである。C D 2 0 + 細胞が実質的に存在しないことと合わせて、細胞の染色は、実質中で識別されなかった。任意のおそらくはナチュラルキラー細胞集団を識別するために、C D 5 6 を試験したところ、神経組織において拡散して陽性であり、解釈が非常に困難となったが、この抗体に陽性である重要な細胞は同定されなかった。加えて、この新たな情報をかながみて、スライドを再調査した後に、炎症性、感染性、または反応性変化は識別されなかった。具体的には、ウイルスの封入、小グリア細胞の増殖、または小結節、マクロファージ、反応性星状細胞、または壊死細胞は同定されなかった。したがって、所見は、X 線診断によって表されたこれらの嚢胞性病変の性質を説明しなかった。

30

40

## 【 0 2 1 1 】

その女性の神経学的欠損は、大部分について回復したが、その女性にはまだ、左腕の協調運動の多少の不足、及び喚語困難があった。その他では、その女性は、フルタイムで職場に戻ることができ、その女性の最新の M R I は、その女性の病変サイズの継続した減少を示した。その女性は、肺における疾患の進行により、7 0 か月時点で、ドセタキセル、

50

ペルツズマブ、及びトラスツズマブに切り替えられた。76か月時点でのその女性のPETスキャンは、肺及びリンパ節における完全な応答を示した。

【0212】

考察

誘発された免疫応答は、他の療法による腫瘍細胞死に対しては耐性である腫瘍細胞での腫瘍細胞死を含む腫瘍細胞死をもたらす得る。腫瘍細胞死に対する耐性は、治療が失敗する重大な原因であり、再発及び転移性疾患の源となり得る。

【0213】

上記P10s - PADREワクチンを、TACAに対する応答を誘発する広域スペクトル免疫原として開発した。上記ワクチンは、そのワクチンで免疫化された対象においてP10sに対する抗体を誘発することが示されており、誘発された抗体は、不同性の代表的なヒト乳癌細胞系に結合して、遊走を阻害し、細胞毒性を媒介する。

10

【0214】

上記P10s - PADREワクチン研究の参加者には、稀な疾患経過を示した参加者がいた。その女性が上記ワクチンを投与されてから14週間後に、そのPETスキャンは、そのサイズを増大させることなく肺病変での取り込みの増大を示した。この後、6ヶ月後に、その女性が複数の脳病変を有すると診断された時には、その肺病変は改善した。肺病変をターゲティングし、かつ抗P10力価の上昇と同時に起こる炎症応答が、その領域におけるPETスキャンでの取り込みの上昇の原因となり得ている。

20

【0215】

抗P10IgM及びIgG抗体力価は、ワクチン接種後7週目にピークとなり、IgGについては高いままであったが、IgM力価は、19週目にはその基線に低下した。脳病変を有すると診断された時、その女性の肺転移は、その基線に戻っていた。脳病変の2つの切除物は、癌の証拠を示さなかった。第3の病変は小さく、より充実性であり、ガンマナイフによって治療された。その時のその女性の肺病変の変化は、そのサイズが変化していなかったため、進行と一致しないと解釈された。上記脳病変は、悪性疾患の何らかの証拠も示さず、炎症の証拠も示さなかった。上記研究における他の対象をすべて、脳のMRIで評価したが、いずれも、同様の病変を示さなかった。

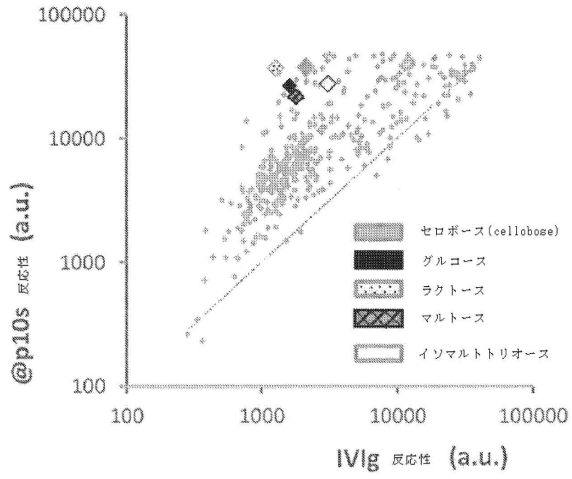
【0216】

上記IgG抗体などの、上記P10s - PADREワクチンによって誘発された免疫応答は、ドセタキセル及び/またはペルツズマブ及び/またはトラスツズマブに対する感受性を増大させることによって、ドセタキセル、ペルツズマブ、及びトラスツズマブ(DPT)療法のより有効な活性のために腫瘍細胞を増感させ得る。DPT活性は、接着斑キナーゼ(FAK)経路のリン酸化状態に感受性であることが公知である。P10s反応性抗体は、タキサン感受性及びタキサン耐性細胞系の両方においてドセタキセルの*in vitro*有効性を促進することが公知のFAKサイレンシングに寄与し得、かつ新規の治療手法として役立ち得る。同じことが、ペルツズマブ及びトラスツズマブについて観察されている。有効な治療には、P10s - PADREワクチンまたはP10s - PADREによって誘発された抗体と、ドセタキセル及び/またはペルツズマブ及び/またはトラスツズマブ及び/または接着斑キナーゼ(FAK)経路のリン酸化状態に感受性であるものなどの他の薬物との組合せが含まれ得る。

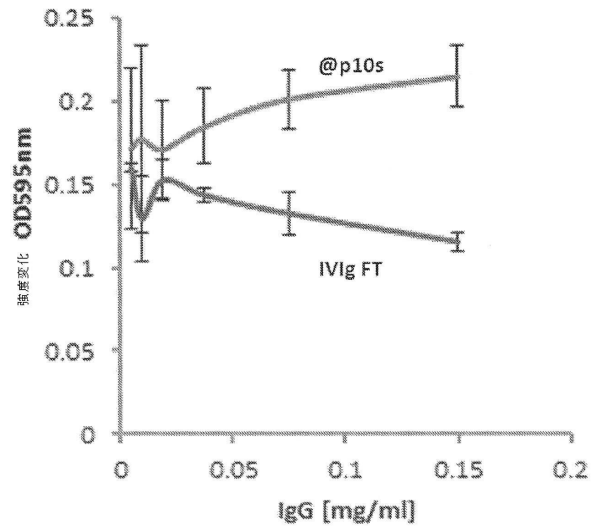
30

40

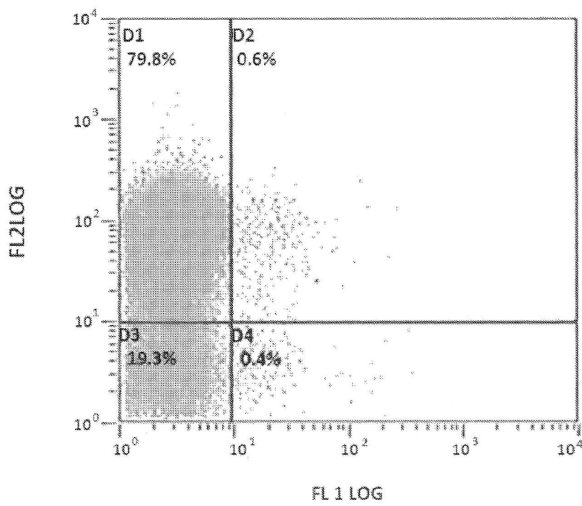
【 図 1 】



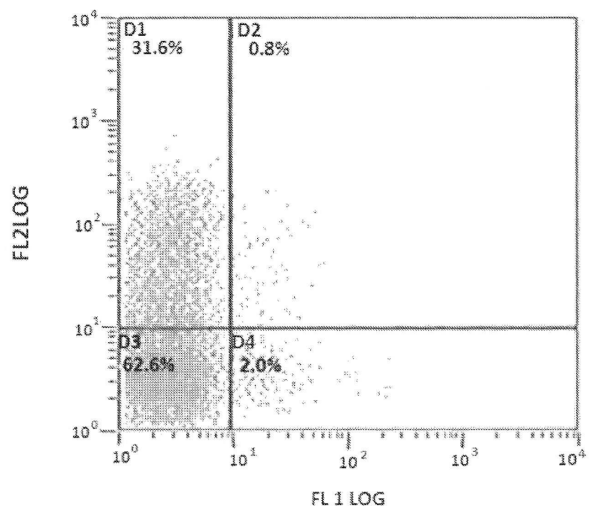
【 図 2 】



【 図 3 A 】

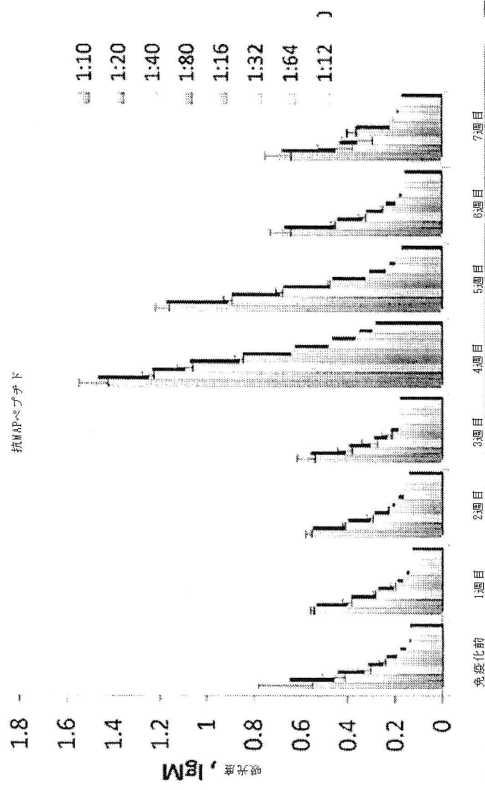


【 図 3 B 】

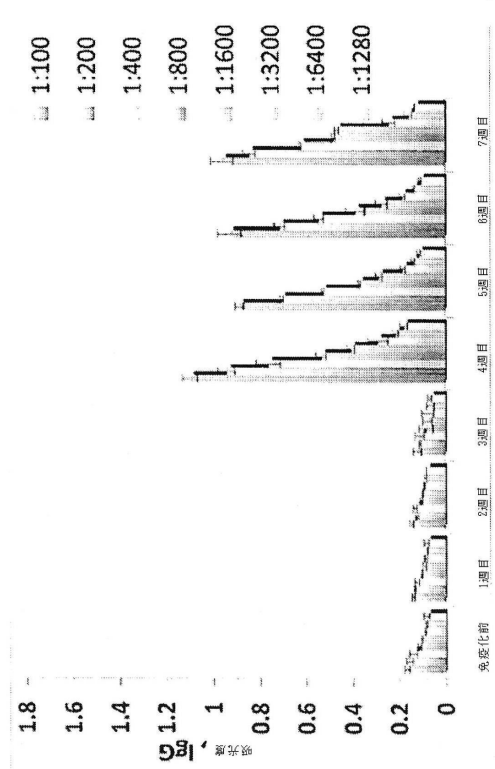




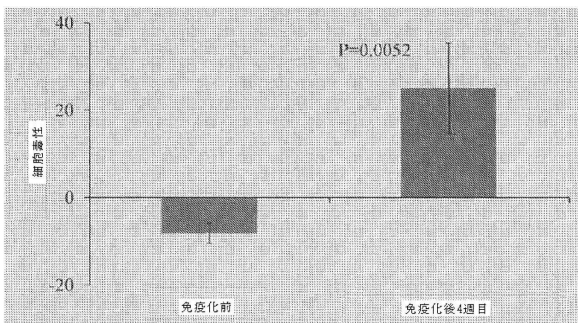
【図4】



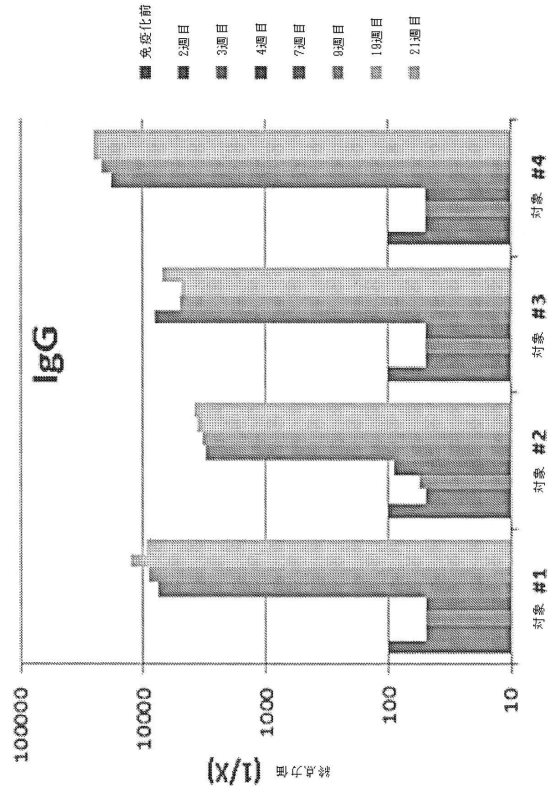
【図5】



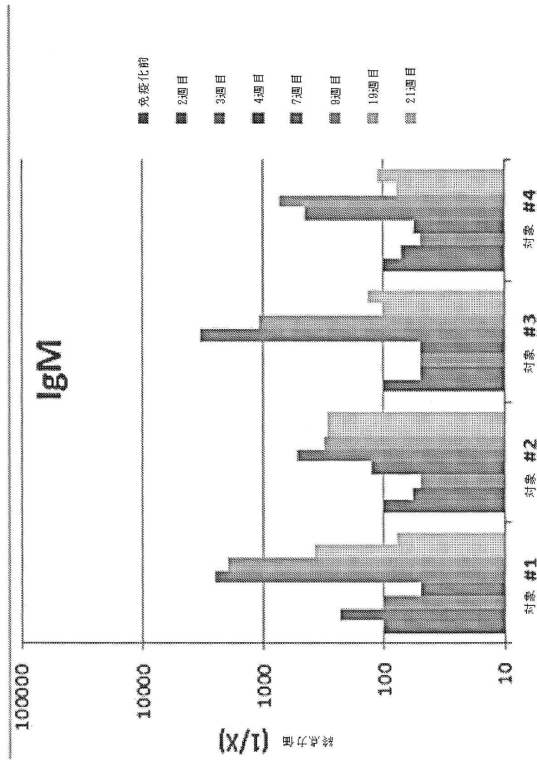
【図6】



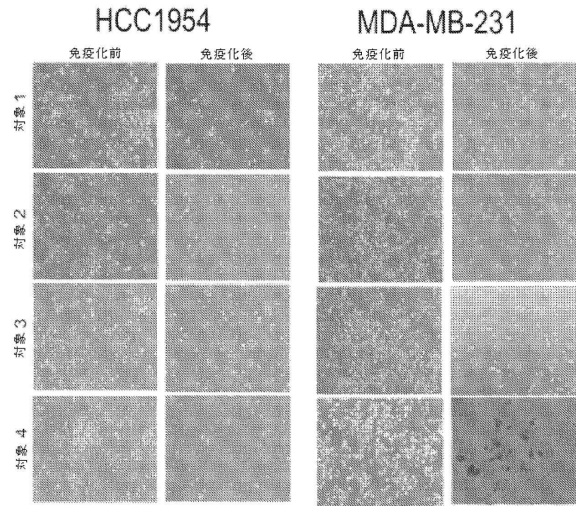
【図7A】



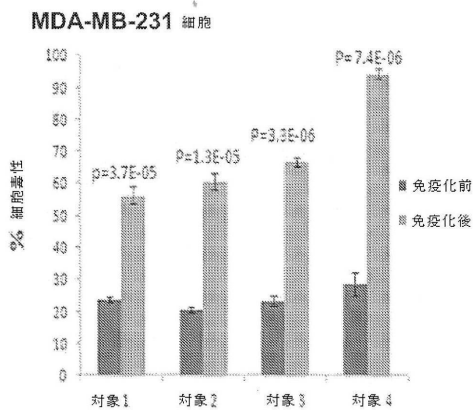
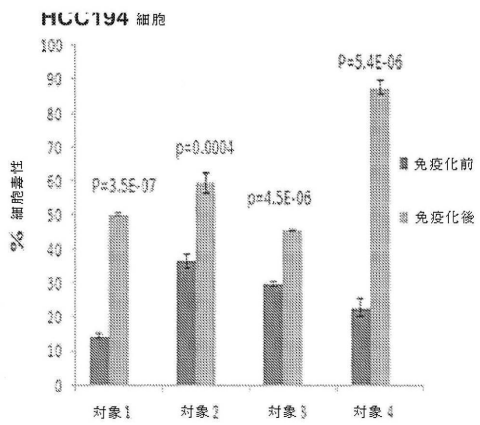
【 図 7 B 】



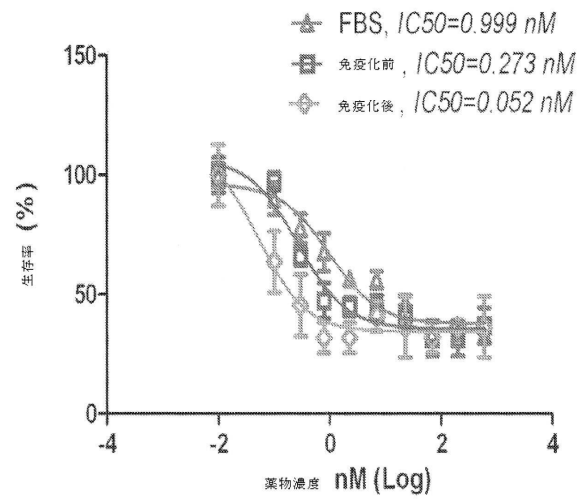
【 図 8 A 】



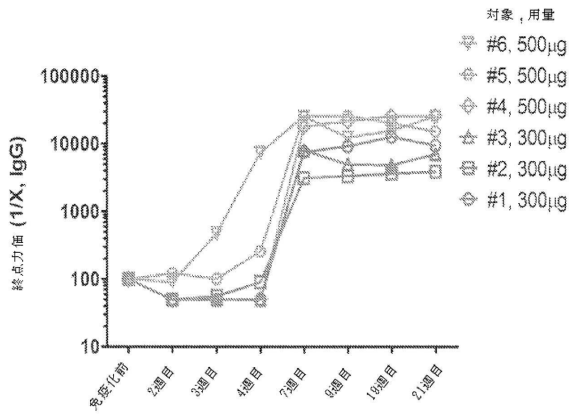
【 図 8 B 】



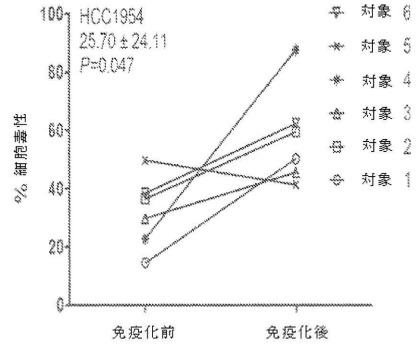
【 図 9 】



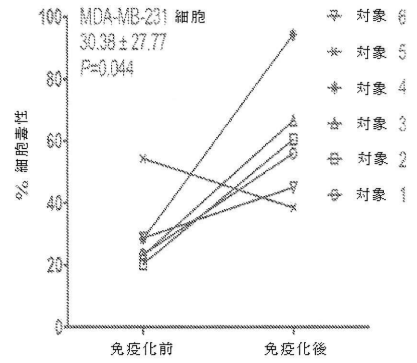
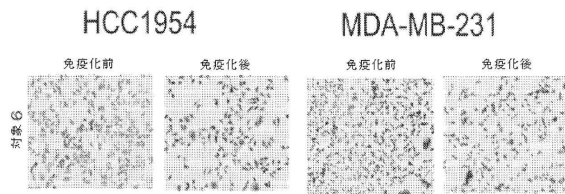
【 図 1 0 】



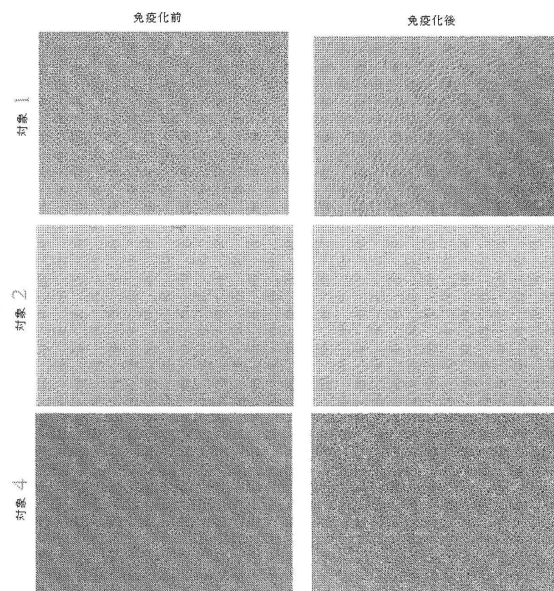
【 図 1 1 B 】



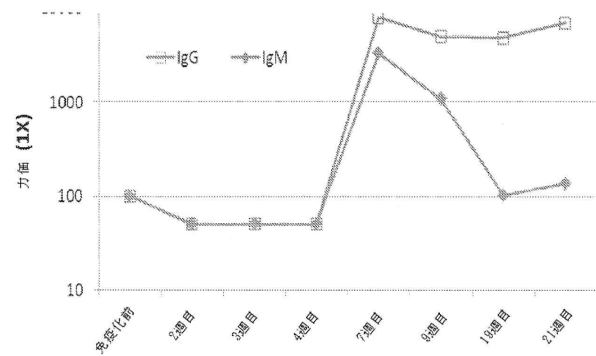
【 図 1 1 A 】



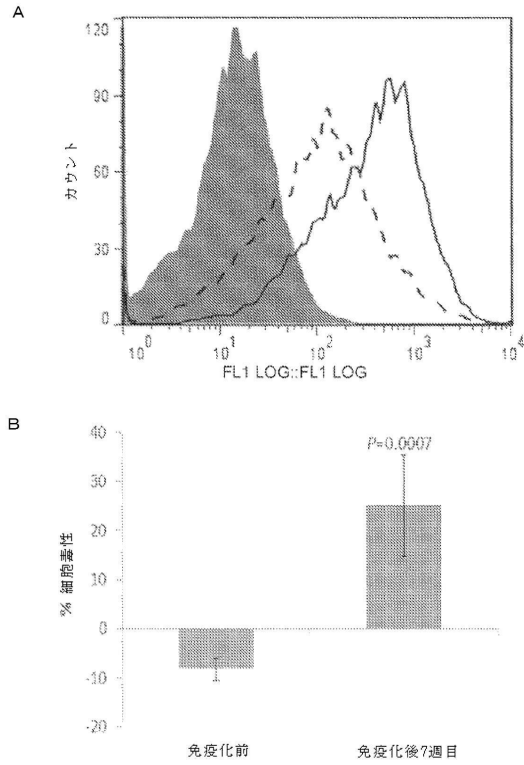
【 図 1 2 】



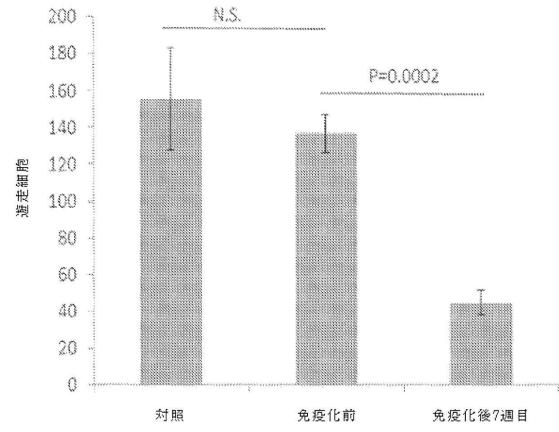
【 図 1 3 】



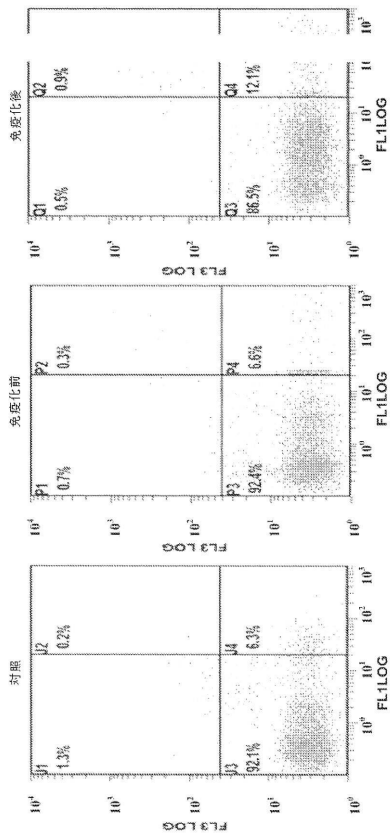
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【配列表】

0006692294000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K	33/243 (2019.01)	A 6 1 K	33/243
A 6 1 K	31/475 (2006.01)	A 6 1 K	31/475
A 6 1 K	31/138 (2006.01)	A 6 1 K	31/138
A 6 1 K	31/69 (2006.01)	A 6 1 K	31/69
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395 T
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17 Z
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
C 0 7 K	14/00 (2006.01)	C 0 7 K	14/00
C 1 2 N	5/0784 (2010.01)	C 1 2 N	5/0784
C 1 2 N	5/0783 (2010.01)	C 1 2 N	5/0783

(72)発明者 アナスタス・パーショヴ  
 アメリカ合衆国アーカンソー州72211・リトルロック・ナババレードライブ501・アパートメント1318

(72)発明者 ベジャトーラ・カーバッシ  
 アメリカ合衆国アーカンソー州72211・リトルロック・パーラメントストリート605

審査官 小森 潔

(56)参考文献 Technical Reports (TRs), Defense Technical Information Center (アメリカ国防技術情報センター), 2009年 5月, [online], [平成30年3月19日検索], Accession No. ADA508503, URL, <http://www.dtic.mil/docs/citations/ADA508503>  
 Journal of Clinical Oncology, 2011年, Vol. 29, No. 21, p2924 - 2932  
 Journal of Immunotherapy, 2010年, Vol. 33, No. 6, p630 - 638  
 Journal of Translational Medicine, 2012年, Vol. 10, Article No. 156, p1 - 12  
 Cancer Research, 2008年, Vol. 68, No. 9 Suppl., Abstract No. 4648, URL, [http://cancerres.aacrjournals.org/content/68/9\\_Supplement/4648](http://cancerres.aacrjournals.org/content/68/9_Supplement/4648)  
 Study NCT01390064, 2013年 2月19日, [online], [平成31年3月12日検索], Retrieved from the internet:, URL, [https://clinicaltrials.gov/ct2/history/NCT01390064?V\\_6=View#StudyPageTop](https://clinicaltrials.gov/ct2/history/NCT01390064?V_6=View#StudyPageTop)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 9 / 0 0  
 JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)  
 CAPLUS / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)