

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6030650号  
(P6030650)

(45) 発行日 平成28年11月24日(2016.11.24)

(24) 登録日 平成28年10月28日(2016.10.28)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A
C 1 2 N 7/00 (2006.01)	C 1 2 N 7/00
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12

請求項の数 45 (全 55 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-521716 (P2014-521716)  
 (86) (22) 出願日 平成24年7月17日(2012.7.17)  
 (65) 公表番号 特表2014-525911 (P2014-525911A)  
 (43) 公表日 平成26年10月2日(2014.10.2)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/047069  
 (87) 国際公開番号 W02013/012866  
 (87) 国際公開日 平成25年1月24日(2013.1.24)  
 審査請求日 平成27年4月20日(2015.4.20)  
 (31) 優先権主張番号 61/508,897  
 (32) 優先日 平成23年7月18日(2011.7.18)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 512024037  
 アメリカ合衆国  
 アメリカ合衆国 メリーランド州 ベセス  
 ダ エグゼクティブ プールバード 60  
 11 スイート 325 メール ストッ  
 プ コード 7660 ナショナル イン  
 スティテューツ オブ ヘルス オフィス  
 オブ テクノロジー トランスファー  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫  
 (74) 代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ポリオーマウウイルス関連病態を阻害するための方法および組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型I(BKV-I)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸;および

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸

を含む、対象においてBKポリオーマウウイルス(BKV)に対する免疫応答を誘発するための医薬であって、

該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドおよび該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドが異なる、医薬。

【請求項2】

少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドおよび少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドが、同時に、または連続して投与されるように用いられることを特徴とする、請求項1記載の医薬。

【請求項3】

少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子として含まれる、請求項1または請求項2記載の医薬。

【請求項4】

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドが、該少なくとも1種類の

BKV-IVキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子として含まれる、請求項1～3のいずれか一項記載の医薬。

【請求項5】

少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、BKV-I VP1、BKV-I VP2、BKV-I VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、請求項1～4のいずれか一項記載の医薬。

【請求項6】

BKV-I VP1ポリペプチドが、BKV-Ia VP1ポリペプチド、BKV-Ib1 VP1ポリペプチド、BKV-Ib2 VP1ポリペプチド、およびBKV-Ic VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、請求項5記載の医薬。

10

【請求項7】

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドが、BKV-IV VP1、BKV-IV VP2、BKV-IV VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、請求項1～6のいずれか一項記載の医薬。

【請求項8】

BKV-IV VP1ポリペプチドが、BKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよびBKV-IVc2 VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、請求項7記載の医薬。

【請求項9】

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドがSEQ ID NO:4～6、16、および110～125のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつ少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、SEQ ID NO:1～3、13～15、および52～103のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の医薬。

20

【請求項10】

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型II(BKV-II)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドをコードする核酸および/または少なくとも1種類の単離されたBKV血清型III(BKV-III)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドをコードする核酸をさらに含む、請求項1～9のいずれか一項記載の医薬であって、該BKV-IIキャプシドポリペプチドおよび該BKV-IIIキャプシドポリペプチドが異なる、医薬。

【請求項11】

30

少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチド、少なくとも1種類の単離されたBKV-IIIキャプシドポリペプチド、またはその両方が、該少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子、該少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子、またはその両方として含まれる、請求項10記載の医薬。

【請求項12】

少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチドが、BKV-II VP1、BKV-II VP2、BKV-II VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、請求項10または請求項11記載の医薬。

【請求項13】

40

少なくとも1種類の単離されたBKV-IIIキャプシドポリペプチドが、BKV-III VP1、BKV-III VP2、BKV-III VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、請求項10または請求項11記載の医薬。

【請求項14】

少なくとも1種類の単離されたJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードする核酸をさらに含む、請求項1～13のいずれか一項記載の医薬。

【請求項15】

アジュバントをさらに含む、請求項1～14のいずれか一項記載の医薬。

【請求項16】

50

対象が、免疫無防備状態の対象または免疫抑制剤で治療された対象もしくは免疫抑制剤による治療の候補である対象である、請求項1～15のいずれか一項記載の医薬。

【請求項17】

対象が、臓器移植を受けた対象または臓器移植の候補である対象である、請求項1～16のいずれか一項記載の医薬。

【請求項18】

対象が、腎臓移植もしくは骨髄移植を受けた、または腎臓移植もしくは骨髄移植の候補である、請求項17記載の医薬。

【請求項19】

対象がBKV-I中和抗体および/またはBKV-IV中和抗体を有さない、請求項1～18のいずれか一項記載の医薬。

10

【請求項20】

対象が、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象である、請求項1～19のいずれか一項記載の医薬。

【請求項21】

少なくとも1種類のBKV血清型IVキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；  
少なくとも1種類のBKV血清型Iキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；および  
薬学的に許容される担体  
を含む、多価BKポリオーマウイルス(BKV)免疫原性組成物。

【請求項22】

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドが、SEQ ID NO:4～6、16、および110～125のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつ少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、SEQ ID NO:1～3、13～15、および52～103のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、請求項21記載の免疫原性組成物。

20

【請求項23】

少なくとも1種類のBKV血清型IIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；  
少なくとも1種類のBKV血清型IIIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；または  
その組み合わせ

をさらに含む、請求項21または請求項22記載の免疫原性組成物。

【請求項24】

キャプシドポリペプチドがVP1、VP2、VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、請求項21～23のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

30

【請求項25】

少なくとも1種類のBKV血清型IVキャプシドポリペプチドが、BKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよびBKV-IVc2 VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、請求項21～24のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項26】

少なくとも1種類のBKV血清型Iキャプシドポリペプチドが、BKV-Ia VP1ポリペプチド、BKV-Ib1 VP1ポリペプチド、BKV-Ib2 VP1ポリペプチド、およびBKV-Ic VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、請求項21～25のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

40

【請求項27】

少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子が、BKV-IV VP1ポリペプチドを含み、かつ少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子が、BKV-Ia VP1ポリペプチドおよび/またはBKV-Ib2 VP1ポリペプチドを含む、請求項21～26のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項28】

アジュバントをさらに含む、請求項21～27のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項29】

少なくとも1種類の単離されたBKVキャプシドポリペプチドまたはBKVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を含む免疫原性組成物が投与された対象におけるBKVに対する免

50

疫応答の発生をモニタリングする方法であって、該対象に由来する試料におけるBKV-I血清型特異的中和抗体、BKV-II血清型特異的中和抗体、BKV-III血清型特異的中和抗体、またはBKV-IV血清型特異的中和抗体の存在を検出する工程を含む、方法。

【請求項30】

BKV-I特異的中和抗体が、BKV-Ia中和抗体、BKV-Ib2中和抗体、および/またはBKV-Ic中和抗体である、請求項29記載の方法。

【請求項31】

対象に由来する試料が血液試料または血清試料である、請求項29または30記載の方法。

【請求項32】

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を含む、対象においてBKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎を治療または阻害するための医薬。

10

【請求項33】

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型I(BKV-I)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸；

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型II(BKV-II)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドをコードする核酸；

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型III(BKV-III)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドをコードする核酸；

20

少なくとも1種類の単離されたJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードする核酸；または

その2つ以上の組み合わせ

をさらに含む、請求項32記載の医薬。

【請求項34】

アジュバントをさらに含む、請求項32または請求項33記載の医薬。

【請求項35】

対象が、免疫無防備状態の対象または免疫抑制剤で治療された対象もしくは免疫抑制剤による治療の候補である対象である、請求項32～34のいずれか一項記載の医薬。

30

【請求項36】

対象が、臓器移植を受けた対象または臓器移植の候補である対象である、請求項32～35のいずれか一項記載の医薬。

【請求項37】

対象が、腎臓移植もしくは骨髄移植を受けた、または腎臓移植もしくは骨髄移植の候補である、請求項36記載の医薬。

【請求項38】

対象が臓器移植の候補であり、少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸が、臓器移植前の、該対象において免疫応答を発生させるのに十分な時間に、該対象に投与されるように用いられることを特徴とする、請求項36または請求項37記載の医薬。

40

【請求項39】

対象がBKV-IV中和抗体を有さない、請求項32～38のいずれか一項記載の医薬。

【請求項40】

対象が、BKポリオーマウイルス関連腎症の治療または阻害を必要とする対象である、請求項32～39のいずれか一項記載の医薬。

【請求項41】

候補腎臓移植ドナーを選択するために、対象に由来する試料を分析する方法であって、該試料中のBKV-IV中和抗体の存在を検出する工程を含み、

BKV-IV中和抗体が該試料中に検出されない場合該対象が候補腎臓移植ドナーであること

50

を示す、方法。

【請求項42】

第2の対象に由来する試料中のBKV-IV中和抗体の存在を検出する工程をさらに含み、  
BKV-IV中和抗体が第2の対象に由来する該試料中に検出されない場合該第2の対象が候補  
腎臓移植レシピエントであることを示す、請求項41記載の方法。

【請求項43】

試料が血液試料または血清試料である、請求項41または42記載の方法。

【請求項44】

対象においてBKポリオーマウイルスに対する免疫応答を誘発するための医薬の製造にお  
ける、

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型I(BKV-I)キャプシドポリペプチドまたは該少な  
くとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸;および

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少  
なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸  
の使用。

【請求項45】

対象においてBKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀  
胱炎を治療または阻害するための医薬の製造における、

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少  
なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸  
の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2011年7月18日に出願された米国特許仮出願第61/508,897号の恩典を主張する。  
米国特許仮出願第61/508,897号はその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

分野

本開示は、免疫学の分野、より具体的には、ポリオーマウイルス、特に、BKポリオーマ  
ウイルスに対して免疫応答を発生させるための方法および組成物に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

腎臓移植が50年以上前に一卵性双生児において初めて成功してから臓器移植プロセスは  
激変した(Harrison et al., Surg. Forum 6:432-436, 1956(非特許文献1); Merrill et al.,  
J. Am. Med. Assoc. 160:277-282, 1956(非特許文献2))。それ以来、シクロスポリン  
などの免疫抑制剤の使用が移植結果を改善してきたが(Calne, Mt. Sinai J. Med. 54:465  
-466, 1987(非特許文献3))、このプロセスは依然として、慢性拒絶反応および急性拒絶反  
応の管理、免疫抑制剤および抗ウイルス薬による腎毒性、ならびに移植片を脅かし得る再  
活性化した(または新規の)感染因子の回避などの多くの難題に満ちている。これらのニー  
ズのバランスを取るために、腎臓移植の管理に関する臨床ガイドライン(Kasiske et al.,  
Am. J. Transpl. 9:S1-S155, 2009(非特許文献4))では、一般的に、プロセスの初期段階  
において免疫抑制剤および抗増殖剤を使用し、その後、急性拒絶反応がなければ免疫抑  
制剤の用量を少なくすることを提唱している。しかしながら、同種異系移植片機能の注意  
深いモニタリングが極めて重要である。タンパク尿の増加、血清クレアチニンレベルの上  
昇を検出する検査、および血漿中のウイルス核酸の検出も推奨される。

【0004】

腎臓同種異系移植片の生存を脅かす問題の1つはポリオーマウイルス関連腎症(PVAN)の  
発症である(Purighalla et al., Am. J. Kidney Dis. 26:671-673, 1995(非特許文献5);

10

20

30

40

50

BKV関連腎症(BKVN)とも知られる)。未処置のままにしておく、PVANが同種異系移植片の消失につながる可能性があるが、早期診断、モニタリング、および介入によって同種異系移植片の消失が阻止される可能性がある。腎臓移植レシピエントでは、現在のPVAN推定値は約1~10%であり(Ramos et al., Clin. Transpl. 2002:143-153(非特許文献6); Hirsch et al., Transplantation 79:1277-1286, 2005(非特許文献7))、移植片の消失は、実施される薬物レジメン、モニタリング、および介入に応じて10~100%である(Hirsch and Steiger, Lancet Inf. Dis. 3:611-623, 2003(非特許文献8))。PVANまたは進行性多病巣性白質脳症(PML)などのポリオマウイルス関連病態はまた、(例えば、自己免疫障害の)免疫抑制療法を受けている他の患者においても、かなりの罹患、さらには死亡の原因となる。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Harrison et al., Surg. Forum 6:432-436, 1956

【非特許文献2】Merrill et al., J. Am Med. Assoc. 160:277-282, 1956

【非特許文献3】Calne, Mt. Sinai J. Med. 54:465-466, 1987

【非特許文献4】Kasiske et al., Am. J. Transpl. 9:S1-S155, 2009

【非特許文献5】Purighalla et al., Am. J. Kidney Dis. 26:671-673, 1995

【非特許文献6】Ramos et al., Clin. Transpl. 2002:143-153

【非特許文献7】Hirsch et al., Transplantation 79:1277-1286, 2005

20

【非特許文献8】Hirsch and Steiger, Lancet Inf. Dis. 3:611-623, 2003

【発明の概要】

【0006】

概要

ポリオマウイルス(例えば、BKV血清型I(BKV-I)、BKV血清型II(BKV-II)、BKV血清型III(BKV-III)、および/またはBKV血清型IV(BKV-IV))に対する免疫応答を誘発する方法、ならびにポリオマウイルス関連病態(例えば、PVAN、BKV関連出血性膀胱炎、またはJCウイルス関連PML)を治療または阻害する方法が本明細書において開示される。開示された方法において使用される免疫原性組成物がさらに開示される。一部の態様において、免疫原性組成物は、2種類以上のBKV血清型に由来する少なくとも1種類のキャプシドポリペプチド(またはこのようなポリペプチドをコードする核酸)を含む(例えば、多価免疫原性組成物)。

30

【0007】

ドナーおよび/またはレシピエントとなり得る対象がBKV血清型特異的(例えば、BKV-IV特異的)中和抗体を有するかどうか検出する工程を含む、移植ドナーおよび/または移植レシピエント(例えば、腎臓移植ドナーまたはレシピエント)を選択する方法も開示される。

【0008】

[本発明1001]

BKVに対する増強された免疫を必要とする対象に、

治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型I(BKV-I)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸;および

40

治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸

を投与する工程を含む、対象においてBKポリオマウイルス(BKV)に対する免疫応答を誘発する方法であって、

該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドおよび該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドが異なり、前記工程によってBKVに対する免疫応答が誘発される、方法。

[本発明1002]

少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドおよび少なくとも1種類のBKV-IVキャ

50

プシドポリペプチドが、同時に、または連続して投与される、本発明1001の方法。

[本発明1003]

少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドを投与する工程が、該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子を投与する工程を含む、本発明1001または本発明1002の方法。

[本発明1004]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドを投与する工程が、該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子を投与する工程を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、BKV-I VP1、BKV-I VP2、BKV-I VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、本発明1001～1004のいずれかの方法。

[本発明1006]

BKV-I VP1ポリペプチドが、BKV-Ia VP1ポリペプチド、BKV-Ib1 VP1ポリペプチド、BKV-Ib2 VP1ポリペプチド、およびBKV-Ic VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、本発明1005の方法。

[本発明1007]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドが、BKV-IV VP1、BKV-IV VP2、BKV-IV VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、本発明1001～1006のいずれかの方法。

[本発明1008]

BKV-IV VP1ポリペプチドが、BKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよびBKV-IVc2 VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、本発明1007の方法。

[本発明1009]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドがSEQ ID NO:4～6、16、および110～125のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつ少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、SEQ ID NO:1～3、13～15、および52～103のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、本発明1001～1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型II(BKV-II)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドをコードする核酸を対象に投与する工程および/または治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型III(BKV-III)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドをコードする核酸を対象に投与する工程をさらに含む、本発明1001～1009のいずれかの方法であって、該BKV-IIキャプシドポリペプチドおよび該BKV-IIIキャプシドポリペプチドが異なる、方法。

[本発明1011]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチド、少なくとも1種類の単離されたBKV-IIIキャプシドポリペプチド、またはその両方を投与する工程が、該少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子を投与する工程、該少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子を投与する工程、またはその両方を含む、本発明1010の方法。

[本発明1012]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチドが、BKV-II VP1、BKV-II VP2、BKV-II VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、本発明1010または本発明1011の方法。

[本発明1013]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IIIキャプシドポリペプチドが、BKV-III VP1、BKV-II VP2、BKV-III VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、本発明1010または本発明

10

20

30

40

50

1011の方法。

[本発明1014]

治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードする核酸を対象に投与する工程をさらに含む、本発明1001～1013のいずれかの方法。

[本発明1015]

アジュバントを対象に投与する工程をさらに含む、本発明1001～1014のいずれかの方法。

[本発明1016]

対象が、免疫無防備状態の対象または免疫抑制剤で治療された対象もしくは免疫抑制剤による治療の候補である対象である、本発明1001～1015のいずれかの方法。

10

[本発明1017]

対象が、臓器移植を受けた対象または臓器移植の候補である対象である、本発明1001～1016のいずれかの方法。

[本発明1018]

対象が、腎臓移植もしくは骨髄移植を受けた、または腎臓移植もしくは骨髄移植の候補である、本発明1017の方法。

[本発明1019]

対象がBKV-I中和抗体および/またはBKV-IV中和抗体を有さない、本発明1001～1018のいずれかの方法。

20

[本発明1020]

BKVに対する増強された免疫を必要とする対象を選択する工程をさらに含む、本発明1001～1019のいずれかの方法。

[本発明1021]

少なくとも1種類のBKV血清型IVキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；  
少なくとも1種類のBKV血清型Iキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；および  
薬学的に許容される担体  
を含む、多価BKポリオーマウイルス(BKV)免疫原性組成物。

[本発明1022]

少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドが、SEQ ID NO:4～6、16、および110～125のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつ少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドが、SEQ ID NO:1～3、13～15、および52～103のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、本発明1021の方法。

30

[本発明1023]

少なくとも1種類のBKV血清型IIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；  
少なくとも1種類のBKV血清型IIIキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子；または  
その組み合わせ  
をさらに含む、本発明1021または本発明1022の免疫原性組成物。

[本発明1024]

キャプシドポリペプチドがVP1、VP2、VP3、またはその2つ以上の組み合わせを含む、本発明1021～1024のいずれかの免疫原性組成物。

40

[本発明1025]

少なくとも1種類のBKV血清型IVキャプシドポリペプチドが、BKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよびBKV-IVc2 VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、本発明1021～1024のいずれかの免疫原性組成物。

[本発明1026]

少なくとも1種類のBKV血清型Iキャプシドポリペプチドが、BKV-Ia VP1ポリペプチド、BKV-Ib1 VP1ポリペプチド、BKV-Ib2 VP1ポリペプチド、およびBKV-Ic VP1ポリペプチドの1つまたは複数を含む、本発明1021～1025のいずれかの免疫原性組成物。

[本発明1027]

50

少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子が、BKV-IV VP1ポリペプチドを含み、かつ少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドを含むウイルス様粒子が、BKV-Ia VP1ポリペプチドおよび/またはBKV-Ib2 VP1ポリペプチドを含む、本発明1021～1026のいずれかの免疫原性組成物。

[本発明1028]

アジュバントをさらに含む、本発明1021～1027いずれかの免疫原性組成物。

[本発明1029]

少なくとも1種類の単離されたBKVキャプシドポリペプチドまたはBKVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を含む免疫原性組成物が投与された対象においてBKVに対する免疫応答の発生をモニタリングする方法であって、該対象におけるBKポリオーマウイルス血清型特異的中和抗体の存在を検出する工程を含む、方法。

10

[本発明1030]

血清型特異的中和抗体が、BKV-I特異的中和抗体、BKV-II特異的中和抗体、BKV-III特異的中和抗体、またはBKV-IV特異的中和抗体である、本発明1029の方法。

[本発明1031]

BKV-I特異的中和抗体が、BKV-Ia中和抗体、BKV-Ib2中和抗体、および/またはBKV-Ic中和抗体である、本発明1030の方法。

[本発明1032]

対象に由来する試料において、BKポリオーマウイルス血清型特異的中和抗体の存在が検出される、本発明1029～1031のいずれかの方法。

20

[本発明1033]

対象に由来する試料が血液試料または血清試料である、本発明1032の方法。

[本発明1034]

対象においてBKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎を治療または阻害する方法であって、BKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎の治療または阻害を必要とする対象に、治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を投与し、それによって、BKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎を治療または阻害する工程を含む、方法。

30

[本発明1035]

治療的有効量の、

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型I(BKV-I)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸；

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型II(BKV-II)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドをコードする核酸；

少なくとも1種類の単離されたBKV血清型III(BKV-III)キャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドをコードする核酸；

少なくとも1種類の単離されたJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドもしくは該少なくとも1種類のJCポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードする核酸；または

40

その2つ以上の組み合わせ

を対象に投与する工程をさらに含む、本発明1034の方法。

[本発明1036]

アジュバントを対象に投与する工程をさらに含む、本発明1034または本発明1035の方法

。

[本発明1037]

対象が、免疫無防備状態の対象または免疫抑制剤で治療された対象もしくは免疫抑制剤による治療の候補である対象である、本発明1034～1036のいずれかの方法。

[本発明1038]

50

対象が、臓器移植を受けた対象または臓器移植の候補である対象である、本発明1034～1037のいずれかの方法。

[本発明1039]

対象が、腎臓移植もしくは骨髄移植を受けた、または腎臓移植もしくは骨髄移植の候補である、本発明1038の方法。

[本発明1040]

対象が臓器移植の候補であり、治療的有効量の少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸が、臓器移植前の、該対象において免疫応答を発生させるのに十分な時間に、該対象に投与される、本発明1038または本発明1039の方法。

10

[本発明1041]

対象がBKV-IV中和抗体を有さない、本発明1034～1040のいずれかの方法。

[本発明1042]

対象が、BKポリオーマウイルス関連腎症の治療または阻害を必要とする対象である、本発明1034～1041のいずれかの方法。

[本発明1043]

BKポリオーマウイルス関連腎症の治療または阻害を必要とする対象を選択する工程をさらに含む、本発明1042の方法。

[本発明1044]

BKV-IV中和抗体が対象に存在しない場合に該対象を腎臓移植ドナーとして選択する工程を含む、腎臓移植ドナーを選択する方法。

20

[本発明1045]

BKV-IV中和抗体が第2の対象に存在しない場合に該第2の対象を腎臓移植レシピエントとして選択する工程をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1046]

BKV-IV中和抗体の存在が、対象に由来する試料をスクリーニングすることによって判定される、本発明1044または本発明1045の方法。

[本発明1047]

対象に由来する試料が血液試料または血清試料である、本発明1046の方法。

[本発明1048]

対象においてBKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎を治療または阻害する方法であって、BKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎の治療または阻害を必要とする対象に、BKV-I中和抗体、BKV-II中和抗体、BKV-III中和抗体、およびBKV-IV中和抗体の1つまたは複数を含む治療的有効量の グロブリンを投与する工程を含む、方法。

30

[本発明1049]

治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型I(BKV-I)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸;および治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸

40

を含む組成物であって、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象に該組成物を投与することを含む、対象におけるBKポリオーマウイルスに対する免疫応答の誘発における使用のための、組成物。

[本発明1050]

治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV血清型IV(BKV-IV)キャプシドポリペプチドまたは該少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸

を含む組成物であって、BKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎の治療または阻害を必要とする対象に該組成物を投与することを含む、対象におけるBKポリオーマウイルス関連腎症またはBKポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎の治療または阻害における

50

### 使用のための、組成物。

本開示の前述の特徴および他の特徴は、添付の図面を参照にして進行する以下の詳細な説明から明らかになるだろう。

#### 【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】BKV-I分離株KOM-5(サブタイプBKV-Ib1)またはBKV-IV分離株A-66H(サブタイプBKV-IVc2)に由来する組換えVP1キャプシドタンパク質の発現によって形成されたウイルス様粒子(VLP)で免疫されたマウスにおけるELISAおよび中和抗体価を示した一連のグラフである。6匹のマウスをBKV-I(丸)またはBKV-IV(四角)VLPで免疫した。上パネルでは、別々のBKV-I(x軸)またはBKV-IV(y軸)VLP ELISAを用いて血清の力価を測定した。1匹の比較的非応答性の動物からのデータポイントを白丸として示した。中央のパネルは、同じ組のマウスのBKV遺伝子型特異的中和価を示す。下パネルは、個々の動物に対するワクチンとして投与されたBKV遺伝子型の中和価と異種BKV遺伝子型の中和価との比を示す。下パネルの分析から非応答性動物を排除した。上および中央のパネルの中にある対角線はBKV-I力価とBKV-IV力価との理論上の1:1関係を示す。

10

【図2】VLP免疫マウスにおけるBKV-IおよびBKV-IV ELISA対中和価を示した一連のグラフである。6匹のBKV-I(丸)またはBKV-IV(四角)VLP免疫マウスのELISA(x軸)または中和価(y軸)を示した。BKV-Iシュードウイルスに対する中和価を左パネルに示し、抗BKV-IV力価を右パネルに示した。比較的非応答性の動物からのデータポイント(図1)を白丸として示した。

20

【図3】健常成人におけるBKV-I血清学的力価およびBKV-IV血清学的力価を示した一連のグラフである。48人の健常成人に由来する血清をBKV型特異的血清学的力価について評価した。上パネルは、ELISAによって評価されたBKV-I力価およびBKV-IV力価を示す。下パネルは中和価を示す。対角線はBKV-I力価とBKV-IV力価との理論上の1:1関係を示す。

【図4】健常成人におけるBKV-IおよびBKV-IV ELISA対中和価を示した一連のグラフである。BKV-I(丸)またはBKV-IV(四角)のELISA(x軸)または中和価(y軸)を示した。BKV-Iシュードウイルスに対する中和価を左パネルに示し、抗BKV-IV力価を右パネルに示した。

【図5】個々の腎臓移植レシピエントに由来する血清中のBKV-I血清学的パターンおよびBKV-IV血清学的パターンを示した一連のグラフである。腎臓移植レシピエントに由来する血清を、BKV-I(丸)またはBKV-IV(四角)型特異的中和価の存在について測定した(y軸)。y軸に示した中和価カテゴリーを、1)1:100血清希釈度で<95%中和;2)1:100で≥95%中和;3)1:500で≥95%中和;4)1:5000で≥95%中和;および5)1:50,000で≥95%中和と定義した。A~Eと指定された、移植後およそ1週間、4週間、12週間、26週間、および52週間にわたる5つの異なる時点(x軸)で血清を収集した。各パネルの右下隅にある注釈は、患者の尿(上付き文字u)または血液(上付き文字b)において観察されたBKV遺伝子型(IまたはIV)を表す。I/IV<sup>U</sup>で示された対象は5週目にBKV-Iの尿中排出および16週目にBKV-IVの尿中排出を示した。12人の代表的な患者のパターンを示した。

30

【図6】分析した108人全員の腎臓移植患者におけるBKV-I血清学的プロファイルおよびBKV-IV血清学的プロファイルを示した一連のグラフである。中和価カテゴリー(y軸)および時点(x軸)は図5で説明した通りである。各グラフの上にある数字は、各時点におけるBKV尿ウイルスの定量(log<sub>10</sub> BKV DNAコピー/ml)を示す。ダッシュ記号は、BKV DNAが尿中に検出されなかったことを示す。記号「nr」は、その時点について結果がないことを示す。記号「utq」は、正確に定量するにはBKV尿ウイルスシグナルが低すぎたことを示す。星印は、BKVウイルス血症が定量された時点を示す。記号JC+は、JCウイルスDNAが検出されたことを示す。

40

【図7】治験登録時および治験終了時の腎臓移植レシピエントにおけるBKV-I中和価およびBKV-IV中和価を示した一連のグラフである。108人の腎臓移植レシピエントに由来する血清を、BKV-I(上パネル)またはBKV-IV(下パネル)型特異的中和抗体の存在について測定した。治験登録時(移植して1週間後)の特定の力価カットオフの患者パーセントを白色の棒として示したのに対して、治験終了時(移植して1年後)の特定の力価カットオフの患者

50

パーセントを黒色の棒として示した。

【図8】BKV VP1ポリペプチドの配列アラインメントである。VP1アミノ酸配列に基づいてIaサブタイプをIb1サブタイプと区別することはできないので、BKV-Iaは遺伝子型Ia/Ib1を示し、BKV-Ibは遺伝子型Ib2を示す。VP1アミノ酸配列に基づいてBKV-IVサブタイプを区別することも不可能である。従って、BKV-IVは遺伝子型IV-b1/IV-c2を示す。全てのBKV型の中で完全に保存されているアミノ酸を陰付きにした。アミノ酸配列の配列識別子を表5(下記)に示した。

【図9】さらなる部分的BKV VP1配列と、選択されたBKV-I ~ BKV-IV VP1配列との関係を示す系統樹である。

【図10】BKV部分的VP1ポリペプチド(SEQ ID NO:126 ~ 158)と、BKV-Ia(SEQ ID NO:52)、BKV-Ia(SEQ ID NO:75)、BKV-Ib2(SEQ ID NO:75)、BKV-Ic(SEQ ID NO:103)、BKV-II(SEQ ID NO:105)、BKV-III(SEQ ID NO:107)、BKV-IVb1(SEQ ID NO:125)、およびBKV-IVc2(SEQ ID NO:124)ポリペプチドのアミノ酸31 ~ 174との配列アラインメントである。

【発明を実施するための形態】

【0010】

配列表

本明細書または添付の配列表において列挙したいずれの核酸配列およびアミノ酸配列も、37C.F.R.1.822に定義されたようにヌクレオチド塩基およびアミノ酸の標準的な文字略語を用いて示した。少なくとも一部の場合では、各核酸配列の鎖は1本しか示さなかったが、表示された鎖を参照することによって相補鎖が含まれると理解される。

【0011】

SEQ ID NO:1 ~ 3は、それぞれ、例示的なBKV-Ib1 VP1、VP2、およびVP3タンパク質のアミノ酸配列である。

【0012】

SEQ ID NO:4 ~ 6は、それぞれ、例示的なBKV-IVc2 VP1、VP2、およびVP3タンパク質のアミノ酸配列である。

【0013】

SEQ ID NO:7 ~ 9は、それぞれ、例示的なBKV-II VP1、VP2、およびVP3タンパク質のアミノ酸配列である。

【0014】

SEQ ID NO:10 ~ 12は、それぞれ、例示的なBKV-III VP1、VP2、およびVP3タンパク質のアミノ酸配列である。

【0015】

SEQ ID NO:13は、例示的なBKV-Ia VP1アミノ酸配列である。

【0016】

SEQ ID NO:14は、例示的なBKV-Ib2 VP1アミノ酸配列である。

【0017】

SEQ ID NO:15は、例示的なBKV-Ic VP1アミノ酸配列である。

【0018】

SEQ ID NO:16は、例示的なBKV-IV-b1 VP1アミノ酸配列である。

【0019】

SEQ ID NO:17 ~ 19は、それぞれ、例示的なJCV-1A VP1、VP2、およびVP3タンパク質のアミノ酸配列である。

【0020】

SEQ ID NO:20は、例示的なJCV-2A VP1アミノ酸配列である。

【0021】

SEQ ID NO:21は、例示的なJCV-3B VP1アミノ酸配列である。

【0022】

SEQ ID NO:22 ~ 23は、それぞれ、例示的なJCVコンセンサスVP2およびVP3アミノ酸配列である。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 3 】

SEQ ID NO:24 ~ 26は、それぞれ、例示的なBKV-Ib1 VP1、VP2、およびVP3をコードする核酸配列である。

## 【 0 0 2 4 】

SEQ ID NO:27 ~ 29は、それぞれ、例示的なBKV-IVc2 VP1、VP2、およびVP3をコードする核酸配列である。

## 【 0 0 2 5 】

SEQ ID NO:30 ~ 32は、それぞれ、例示的なBKV-II VP1、VP2、およびVP3をコードする核酸配列である。

## 【 0 0 2 6 】

SEQ ID NO:33 ~ 35は、それぞれ、例示的なBKV-III VP1、VP2、およびVP3をコードする核酸配列である。

## 【 0 0 2 7 】

SEQ ID NO:36 ~ 38は、それぞれ、例示的なJCV-1A VP1、VP2、およびVP3をコードする核酸配列である。

## 【 0 0 2 8 】

SEQ ID NO:39 ~ 41は、それぞれ、例示的なコドン最適化されたBKV-IVc2 VP1、VP2、およびVP3ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 2 9 】

SEQ ID NO:42は、例示的なコドン最適化されたBKV-Ia VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 0 】

SEQ ID NO:43は、例示的なコドン最適化されたBKV-Ib2 VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 1 】

SEQ ID NO:44は、例示的なコドン最適化されたBKV-Ic VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 2 】

SEQ ID NO:45および46は、それぞれ、例示的なコドン最適化されたBKV-IIおよびBKV-II I VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 3 】

SEQ ID NO:47は、例示的なコドン最適化されたBKV-IVb1 VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 4 】

SEQ ID NO:48は、例示的なコドン最適化されたJCV-2A VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 5 】

SEQ ID NO:49は、例示的なコドン最適化されたJCV-3B VP1ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 6 】

SEQ ID NO:50および51は、それぞれ、例示的なコドン最適化されたJCVコンセンサスVP2およびVP3ポリペプチドをコードする核酸配列である。

## 【 0 0 3 7 】

SEQ ID NO:52 ~ 125は、例示的なBKV VP1ポリペプチドアミノ酸配列である。

## 【 0 0 3 8 】

SEQ ID NO:126 ~ 160は、例示的な部分的BVK VP1ポリペプチドアミノ酸配列である。

## 【 0 0 3 9 】

詳細な説明

BKVは、いたるところに存在するDNAウイルスであり、健常個体の90%までが血清陽性である。このウイルスは尿路において感染を開始し、次いで、宿主を妨害することなく潜伏

10

20

30

40

50

し、時々、少量のピリオンが尿中排出(尿ウイルス)される形で再活性化する。しかしながら、免疫無防備状態の個体では、BKV(および関連するJCポリオーマウイルス)はかなりの罹患、さらには死亡の原因となることがある。

#### 【0040】

小児腎臓移植において、処置前に血清学検査によってBKV血清陰性であることがPVAN発症と関連付けられてきた。成人腎臓移植レシピエントにおいて、ドナーBKV状態の役割はPVAN発症において役割を果たすことが示唆されてきた。しかしながら、ほぼ全ての成人がBKV血清陽性と考えられており、BKV血清陽性がPVAN発症からの保護と関連するという理由のために、通常、移植前のBKV血清学はモニタリングされない。さらに、PVAN治療における静脈内免疫グロブリン(IVIg)の役割は明らかにされていない。

10

#### 【0041】

BKVは、別々の血清型と等しく扱われてきた、かつ赤血球凝集阻害(HI)および中和アッセイによって測定された時に交差反応性が乏しい4つのサブグループ(または型;BKV-I、BKV-II、BKV-III、およびBKV-IV)からなる。しかしながら、ポリメラーゼ連鎖反応またはBKV血清陽性によって測定された時のヒトにおける高いBKV有病率は一般的に血清型Iにしか言及していない。白人における腎臓移植または骨髄移植前の患者の他のBKV型の発生率は、BKV-IIについては約3%、BKV-IVについては6~7%、BKV-IIIについては検出不可能と見積もられている。しかしながら、本発明者らは、48人の健常成人に由来する血清パネルが遺伝子型II、III、およびIVについて予想されたものよりかなり高いことを見出した。いくつかの場合において、本発明者らは、当初はBKV-I尿ウイルスしかなかった腎臓移植患者が後にBKV-IV尿ウイルスおよびウイルス血症(血流中のウイルスの存在)を発症したことを証明した。

20

#### 【0042】

型間の抗BKV抗体の交差反応性は1989年から再び取り上げられていない。型間の抗BKV抗体の交差反応性は、移植患者において、特に、臓器ドナーがあまりよく見られないBKV型について陽性である場合にPVAN発症において重要な意味を持っている可能性がある。本発明者らは、BKV-IV中和抗体が移植時に検出不可能なレベルであった腎臓移植患者の23~43%が、BKV-I血清状態に関係なく1年以内に血清転換した(血清学検査において陰性結果から陽性結果に変わった)ことを証明した。当初はBKV-I血清陰性であった少数の腎臓移植レシピエントは全員、BKV-IV血清状態に関係なくBKV-Iに血清転換した。

30

#### 【0043】

従って、本発明者らは、以前に考えられていたように、あるBKV血清型に対する中和抗体が存在しても、他のBKV血清型の感染から保護されないことを証明した。さらに、BKV-I b2に対する中和抗体の存在はBKV-Iaの中和をもたささない。このことから、全てのBKV-I中和抗体が全てのBKV-Iサブタイプからの保護をもたすことができるとは限らないことが証明される。このことから、個体(例えば、臓器移植レシピエントまたは他の免疫無防備状態の個体)に、1種類だけのBKV血清型またはサブタイプのワクチンを接種しても、全ての血清型またはサブタイプに対する免疫応答が効果的に誘発されない可能性があり、PVANまたはPMLなどのポリオーマウイルス関連病態から十分に保護されない可能性があることが分かる。さらに、このことから、一般集団においてBKV-Iが蔓延していても、リスクのある個体が他のBKV血清型(例えば、BKV-IV)の感染から保護されないことが分かる。

40

#### 【0044】

##### I. 略語

BKV BKポリオーマウイルス

BKV-I BKV血清型I

BKV-II BKV血清型II

BKV-III BKV血清型III

BKV-IV BKV血清型IV

ELISA 酵素結合免疫測定法

IVIg 静脈内免疫グロブリン

50

JCV JCポリオーマウイルス  
 PML 進行性多病巣性白質脳症  
 PVAN ポリオーマウイルス関連腎症  
 SV40 シミアンウイルス40  
 VLP ウイルス様粒子

【0045】

### II.用語

特記されない限り、技術用語は従来用法に従って用いられる。分子生物学における一般用語の定義は、Benjamin Lewin, Genes VII, 出版Oxford University Press, 2000 (ISBN 019879276X); Kendrew et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, 出版Blackwell Publishers, 1994 (ISBN 0632021829); Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, 出版Wiley, John & Sons, Inc., 1995 (ISBN 0471186341); およびGeorge P. Redei, Encyclopedic Dictionary of Genetics, Genomics, and Proteomics, 2nd Edition, 2003 (ISBN: 0-471-26821-6)において見出すことができる。

10

【0046】

以下の用語および方法の説明は、本開示をさらによく説明し、本開示の実施において当業者を教導するために提供される。単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、特に文脈によってはっきり規定されていない限り1つまたは複数を含む。例えば、「ポリペプチドを含む」という用語は1種類または複数種のポリペプチドを含み、「少なくとも1種類のポリペプチドを含む」という句と同等であるとみなされる。本明細書で使用する「含む(comprises)」は「含む(includes)」を意味する。従って、「AまたはBを含む(comprising A or B)」は、さらなる要素を排除することなく「A、B、またはAおよびBを含む(including A, B, or A and B)」を意味する。

20

【0047】

本明細書において言及される全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献はその全体が、全ての目的のために参照により組み入れられる。矛盾する場合は、定義を含む本明細書が優先される。

【0048】

開示された技術を実施または試験するために、本明細書に記載のものと類似のまたは同等の方法および材料を使用することができるが、適切な方法および材料を下記で説明する。材料、方法、および実施例は例示に過ぎず、限定を目的としない。

30

【0049】

本開示の様々な態様の概説を容易にするために、特定の用語の以下の説明が提供される。

【0050】

抗体:

免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子断片によって実質的にコードされる1種類または複数種のポリペプチドを含むタンパク質(またはタンパク質複合体)。認められている免疫グロブリン遺伝子には、 $\kappa$ 、 $\lambda$ 、 $\mu$ 、 $\delta$ 、および $\alpha$ 定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。軽鎖は  $\kappa$  または  $\lambda$  のいずれかとして分類される。重鎖は、 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\alpha$ 、または  $\gamma$  として分類され、これらは順に、それぞれ、免疫グロブリンクラスIgG、IgM、IgA、IgD、およびIgEを規定する。中和抗体は、同種の感染因子(例えば、ポリオーマウイルス)と混合された時に感染力価を低減する抗体である。一部の例では、中和抗体は、その抗原が生理学的機能を果たす能力をブロックする抗体である。

40

【0051】

基本的な免疫グロブリン(抗体)構造単位は一般的に四量体である。それぞれの四量体は同じ2対のポリペプチド鎖からなり、それぞれの対には1本の「軽」鎖(約25kDa)および1本の「重」鎖(約50~70kDa)がある。それぞれの鎖のN末端は、主に抗原認識を担う約100~1

50

10 またはそれより多いアミノ酸からなる可変領域を規定する。「可変領域軽鎖」( $V_L$ )および「可変領域重鎖」( $V_H$ )という用語は、それぞれ、これらの軽鎖および重鎖を指す。

【0052】

本明細書で使用する「抗体」という用語は、インタクトな免疫グロブリンならびに多数の十分に特徴付けられた断片を含む。例えば、標的タンパク質(またはタンパク質もしくは融合タンパク質の中のエピトープ)に結合するFab、Fv、および単鎖Fv(SCFv)もまた、そのタンパク質(またはエピトープ)の特異的な結合剤になるだろう。これらの抗体断片は以下の通り定義される。(1)Fab、インタクトな軽鎖および重鎖の一部を生じるように、抗体全体を酵素パインで消化することによって生成した、抗体分子の一価抗原結合断片を含有する断片;(2)Fab'、インタクトな軽鎖および重鎖の一部を生じるように、抗体全体をペプシンで処理し、その後還元することによって得られた抗体分子断片;抗体1分子当たり2つのFab'断片が得られる;(3)(Fab')<sub>2</sub>、後で還元を行うことなく、抗体全体を酵素ペプシンで処理することによって得られた抗体断片;(4)F(ab')<sub>2</sub>、2つのジスルフィド結合によって一緒になった、2つのFab'断片の二量体;(5)Fv、2本の鎖として発現された、軽鎖可変領域および重鎖可変領域を含有する遺伝子操作断片;ならびに(6)単鎖抗体、遺伝子融合した単鎖分子として、軽鎖可変領域と重鎖可変領域が適切なポリペプチドリンカーによって結合している遺伝子操作された分子。これらの断片を作成する方法は日常的な方法である(例えば、Harlow and Lane, Using Antibodies:A Laboratory Manual, CSHL, New York, 1999を参照されたい)。

10

【0053】

BKポリオーマウイルス(BKV):

腎臓移植後に患者B.K.から最初に単離されたポリオーマウイルス(Gardner et al., Lancet 1:1253-1257, 1971)。4種類のBKV血清型が公知である(血清型I-IV;例えば、Knowles et al., J. Med. Virol. 28:118-123, 1989)。BKVはほぼいたるところに存在し、健常個体の90%までがBKV血清陽性である。急性感染は一般的に無症候性であり、主として泌尿生殖路で潜伏感染に進行する。BKVは免疫無防備状態の個体において再活性化することがあり、特に、腎臓移植患者においてかなりの罹患の原因となることがある。

20

【0054】

BKVの核酸配列およびアミノ酸配列は公的に入手することができる。例えば、GenBankアクセッション番号AB211374、AB263920、AB211386、およびAB369093は、それぞれ、例示的なBKV-I、BKV-II、BKV-III、およびBKV-IV核酸配列を開示する。これらは全て、2011年7月15日にGenBankに存在するように参照により組み入れられる。

30

【0055】

キャプシドポリペプチド:

ポリオーマウイルスキャプシドを形成する3種類の構造タンパク質の1つ。ポリオーマウイルスキャプシドは、ウイルスタンパク質1(VP1)、ウイルスタンパク質2(VP2)、およびウイルスタンパク質3(VP3)から形成される。

【0056】

コドン最適化:

「コドン最適化」核酸とは、コドンが、ある特定の系(例えば、ある特定の種または種のグループ)にとって最適になるように変えられている核酸配列をいう。例えば、核酸配列は哺乳動物細胞、細菌、または酵母における発現に最適化することができる。コドン最適化は、コードされているタンパク質のアミノ酸配列を変えない。

40

【0057】

保存的変種:

あるアミノ酸残基から、類似した生化学的特性を有する別のアミノ酸残基への置換。「保存的」アミノ酸置換には、ポリペプチドの活性もしくは抗原性に実質的に影響しない、またはポリペプチドの活性もしくは抗原性を低減しない置換が含まれる。ペプチドには、1つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、1~10個の保存的置換、2~5個の保存的置換、4~9個の保存的置換、例えば、1、2、5、または10個の保存的置換が含まれ得る。保存的置

50

換の非限定的な具体例には以下の例(表1)が含まれる。

【0058】

(表1) 例示的な保存的アミノ酸置換

元のアミノ酸	保存的置換
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
His	Asn; Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile; Val
Lys	Arg; Gln; Glu
Met	Leu; Ile
Phe	Met; Leu; Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp; Phe
Val	Ile; Leu

10

20

【0059】

保存的变化という用語は、置換ポリペプチドに対して産生された抗体も非置換ポリペプチドと免疫反応するのであれば、または非置換ポリペプチドに対する免疫応答と類似する置換ポリペプチドに対する免疫応答を発生することができれば、非置換親アミノ酸の代わりに置換アミノ酸を使用することを含む。従って、1つの態様において、非保存的置換は活性または抗原性を低減する置換である。

【0060】

免疫応答:

抗原などの刺激に対する、B細胞、T細胞、マクロファージ、または多形核球(polymorphonucleocyte)などの免疫系の細胞の応答。免疫応答は、宿主防御応答に關与する任意の身体細胞、例えば、インターフェロンまたはサイトカインを分泌する上皮細胞を含んでもよい。免疫応答には自然免疫応答または炎症が含まれるが、これに限定されない。

30

【0061】

免疫無防備状態の:

免疫無防備状態の対象は、通常、疾患、栄養失調、または免疫抑制療法の結果として、強い免疫応答を発生することができない、または強い免疫応答を発生する可能性が低い対象である。免疫無防備状態の免疫系は、正常を下回って機能している免疫系である。免疫無防備状態の対象は、日和見感染、例えば、ウイルス感染、真菌感染、原生動物感染、または細菌感染、プリオン疾患、およびある特定の新生物に対する感受性が高い。

40

【0062】

免疫無防備状態とみなすことができる対象には、AIDSにかかっている対象(またはHIV陽性対象)、重症複合免疫不全症(SCID)にかかっている対象、糖尿病にかかっている対象、移植を受けた対象および免疫抑制剤を服用している対象、ならびに癌の化学療法を受けている対象が含まれるが、これに限定されない。免疫無防備状態の個体には、(皮膚癌以外の)ほとんどの種類の癌にかかっている対象、鎌状赤血球性貧血にかかっている対象、嚢胞性線維症にかかっている対象、脾臓のない対象、末期腎臓病にかかっている(透析を受けている)対象、および1年以内に頻繁にコルチコステロイドまたは他の免疫抑制療法を

50

服用してきた対象も含まれる。

【0063】

免疫抑制剤：

免疫系の1つまたは複数の局面、例えば、体液性免疫系もしくは細胞性免疫系または補体系の1成分の機能または活性を低減する任意の化合物。免疫抑制剤は「免疫抑制薬」または「免疫抑制療法」とも呼ばれる。

【0064】

一部の例では、免疫抑制剤には、(1)代謝拮抗物質、例えば、プリン合成阻害剤(例えば、イノシンーリン酸デヒドロゲナーゼ(IMPDH)阻害剤、例えば、アザチオプリン、ミコフェノール酸、およびミコフェノール酸モフェチル)、ピリミジン合成阻害剤(例えば、レフルノミドおよびテリフルノミド)、ならびに葉酸代謝拮抗剤(例えば、メトトレキセート); (2)カルシニューリン阻害剤、例えば、タクロリムス、シクロスポリンA、ピメクロリムス、およびバクロスポリン(voclosporin); (3)TNF- 阻害剤、例えば、サリドマイドおよびレナリドマイド; (4)IL-1受容体アンタゴニスト、例えば、アナキンラ; (5)哺乳動物ラパマイシン標的(mTOR)阻害剤、例えば、ラパマイシン(シロリムス)、デフォロリムス(deforolimus)、エベロリムス、テムシロリムス、ゾタロリムス、およびパイオリムスA9; (6)コルチコステロイド、例えば、プレドニゾン; ならびに(7)多数の細胞標的または血清標的のいずれか1つに対する抗体(抗リンパ球グロブリンおよび抗胸腺細胞グロブリンを含む)が含まれるが、これに限定されない。

【0065】

例示的な細胞標的およびそれぞれの阻害剤化合物には、補体成分5(例えば、エクリズマブ); 腫瘍壊死因子(TNF)(例えば、インフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブペゴル、アフエリモマブ、およびゴリムマブ); IL-5(例えば、メポリズマブ); IgE(例えば、オマリズマブ); BAYX(例えば、ネレリモマブ(nerelimomab)); インターフェロン(例えば、ファラリモマブ(faralimomab)); IL-6(例えば、エルシリモマブ(elsilimomab)); IL-12およびIL-13(例えば、レブリキズマブ(lebrikizumab)およびウステキヌマブ); CD3(例えば、ムロモナブ-CD3、オテリキシズマブ(otelixizumab)、テプリズマブ(teplizumab)、ビジリズマブ); CD4(例えば、クレノリキシマブ、ケリキシマブ、およびザノリムマブ(zanolimomab)); CD11a(例えば、エファリズマブ); CD18(例えば、エルリズマブ(erlizumab)); CD20(例えば、リツキシマブ、アフツズマブ、オクレリズマブ、パスコリズマブ(pascalizumab)); CD23(例えば、ルミリキシマブ); CD40(例えば、テネリキシマブ(teneliximab)、トラリズマブ(toralizumab)); CD52(例えば、アレムツズマブ); CD62L/L-セレクチン(例えば、アセリズマブ(aselizumab)); CD80(例えば、ガリキシマブ(galiximab)); CD147/ベイシジン(例えば、ガビリモマブ(gavilimomab)); CD154(例えば、ルプリズマブ(ruplizumab)); BLyS(例えば、ベリムマブ); CTLA-4(例えば、イピリムマブ、トレメリムマブ(tremelimomab)); CAT(例えば、ベルチリムマブ(bertilimomab)、レルデリムマブ(lerdelimomab)、メテリムマブ(metelimomab)); インテグリン(例えば、ナタリズマブ); IL-6受容体(例えば、トシリズマブ); LFA-1(例えば、オデュリモマブ(odulimomab)); ならびにIL-2受容体/CD25(例えば、バシリキシマブ、ダクリズマブ、イノリモマブ(inolimomab))が含まれるが、これに限定されない。

【0066】

疾患を阻害する、または治療する：

疾患を「阻害する」とは、疾患、例えば、PVAN、PML、またはBKV関連出血性膀胱炎の完全発症を阻害することをいう。疾患の阻害は、疾患の部分的な阻害から実質的に完全な阻害(例えば、予防を含むが、これに限定されない)までの範囲に及んでもよい。一部の例では、「阻害する」という用語は、疾患の発症または進行を軽減または遅延することをいう。治療的有効量の開示された免疫原性組成物が投与される対象は、このような障害の標準的な診断法によって、例えば、家族歴、または疾患もしくは障害を発症する危険因子に基づいて特定することができる。「治療」とは、疾患または病理学的状態が発症し始めた後に疾患または病理学的状態の徴候または症状を寛解させる治療介入をいう。

## 【0067】

単離された：

「単離された」または「精製された」生物学的成分(例えば、核酸、ペプチド、タンパク質、タンパク質複合体、またはウイルス様粒子)は、天然で生じる生物の細胞内にある他の生物学的成分、すなわち、他の染色体および染色体外のDNAおよびRNA、ならびにタンパク質である他の生物学的成分から離れて実質的に分離されている、生成されている、または精製されている。従って、「単離され」ているまたは「精製され」ている核酸、ペプチド、およびタンパク質には、標準的な精製方法によって精製された核酸およびタンパク質が含まれる。この用語はまた、宿主細胞において組換え発現によって調製された核酸、ペプチド、およびタンパク質、ならびに化学合成された核酸またはタンパク質を含む。

10

## 【0068】

「単離された」または「精製された」という用語は、絶対的な純度を必要としない。そうではなく、相対的な用語と意図される。従って、例えば、単離された生物学的成分は、細胞内の天然環境または他の製造容器にある時より濃縮されている生物学的成分である。好ましくは、調製物は、生物学的成分が、調製物の生物学的成分総含有量の少なくとも50%、例えば、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも95%、それより多くを占めるように精製される。

## 【0069】

JCポリオーマウイルス(JCV)：

進行性多病巣性白質脳症患者(J.C.)から最初に単離されたポリオーマウイルス(Padgett et al., Lancet 1:1257-1260, 1971)。JCVはBKVおよびシミアンウイルス40(SV40)に遺伝的に似ている。JCVは一般集団において非常によく見られ、個体の70~90%はJCV血清陽性である。初期感染部位は扁桃腺または胃腸管の場合がある。JC初期感染部位は、腎臓にある尿細管上皮細胞、尿管および膀胱の裏打ち、ならびに中枢神経系にあるオリゴデンドロサイトおよび星状細胞であると考えられている。

20

## 【0070】

JCVは免疫無防備状態の個体において再活性化し、JCV関連進行性多病巣性白質脳症(PML)を引き起こすことがある。PMLは通常、致死性である。PMLは、HIVによって引き起こされたAIDSに罹患している患者の約10%において発生し、リツキシマブ、ナタリズマブ、アレムツズマブ、またはエファリズマブで治療された患者を含むが、これに限定されない他の免疫抑制患者においても発生することがある。JCVは、一部の臓器移植レシピエントにおいて尿路病態も引き起こすことがある。

30

## 【0071】

JCVの核酸配列およびアミノ酸配列は公的に入手することができる。例えば、GenBankアクセッション番号NC\_001699、AB038251、およびAF281600は例示的なJCV核酸配列を開示する。これらは全て、2011年7月15日にGenBankに存在するように参照により組み入れられる。JCV分離株は、個々の分離株のVP1タンパク質のアミノ酸配列に一部基づいて8種類の特異な遺伝子型に分類されている(Cubitt et al., J. Neurovirol. 7:339-344, 2001)。

## 【0072】

薬学的に許容される担体：

本開示において有用な薬学的に許容される担体(ビヒクル)は従来のものである。Remington: The Science and Practice of Pharmacy, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA, 21<sup>st</sup> Edition (2005)は、1種類または複数の種類の治療用組成物、例えば、1種類または複数種のポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドまたはその断片およびさらなる薬学的薬剤の薬学的送達に適した組成物および製剤について述べている。

40

## 【0073】

一般的に、担体の種類は、使用されている特定の投与方法に左右されるだろう。例えば、非経口製剤は、通常、ビヒクルとして、水、生理食塩水、平衡塩類溶液、デキストロス水溶液、グリセロールなどの薬学的および生理学的に許容される液体を含む注射液を含

50

む。固体組成物(例えば、散剤、丸剤、錠剤、またはカプセルの形をしている)の場合、従来の無毒の固体担体には、例えば、薬学的グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムが含まれ得る。生物学的に中性の担体に加えて、投与される薬学的組成物は、微量の無毒の補助物質、例えば、湿潤剤または乳化剤、防腐剤、およびpH緩衝剤など、例えば、例えば、酢酸ナトリウムまたはソルビタンモノラウレートを含むしてもよい。

#### 【0074】

ポリオーマウイルス:

正二十面体キャプシドを有する無エンベロープウイルスの一属。ポリオーマウイルスゲノムは、非構造タンパク質(ラージT抗原およびスモールt抗原)、複製起点およびプロモーターを含む非コード領域、ならびに構造タンパク質(VP1、VP2、およびVP3)を含む。ポリオーマウイルスには、BKポリオーマウイルス、JCポリオーマウイルス、メルケル細胞ポリオーマウイルス、およびシミアンウイルス40(SV40)が含まれるが、これに限定されない。最近、関連するヒトポリオーマウイルスWUウイルス(Gaynor et al., PLoS Pathog. 3:e64, 2007)およびKIウイルス(Allander et al., J. Virol. 81:4130-4136, 2007)が臨床試料において報告されている。

10

#### 【0075】

一般的に、ポリオーマウイルス感染は健常対象において無症候性である。しかしながら、ポリオーマウイルス感染は免疫無防備状態の個体において発生または再活性化することがあり、かなりの罹患の原因となることがある。ポリオーマウイルス関連腎症(PVAN;BKポリオーマウイルス関連腎症またはBKウイルス腎炎とも呼ばれる)が腎臓移植レシピエントの10%までに発生し、BKV感染またはBKV潜伏感染の再活性化によって引き起こされると信じられている。これは腎臓同種異系移植片の機能不全を引き起こし、同種異系移植片の消失につながる場合がある。ポリオーマウイルス関連出血性膀胱炎は、排尿障害、血尿、および出血につながる膀胱炎症を特徴とする。これは、骨髄移植レシピエント、および免疫抑制剤または免疫系機能を弱める他の療法を受けている他の個体において発生することがある。

20

#### 【0076】

配列同一性:

2つの核酸配列間または2つのアミノ酸配列間の類似性は、これらの配列間の類似性によって表される。配列間の類似性は他に配列同一性と呼ばれる。配列同一性は、しばしば、パーセント同一性(または類似性または相同性)によって測定される。パーセントが高ければ高いほど、2つの配列間の類似性が高い。

30

#### 【0077】

比較のための配列アラインメント法は当技術分野において周知である。様々なプログラムおよびアラインメントアルゴリズムが、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482, 1981; Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970; Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444, 1988; Higgins & Sharp, Gene, 73:237-244, 1988; Higgins & Sharp, Comput. Appl. Biosci. 5:151-153, 1989; Corpet et al., Nucl. Acids Res. 16, 10881-90, 1988; Huang et al., Comput. Appl. Biosci. 8, 155-65, 1992; およびPearson, Methods Mol. Biol. 24:307-331, 1994に記載されている。Altschul et al. (J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990)は配列アラインメント法および相同性計算の詳細な検討を提示している。

40

#### 【0078】

配列分析プログラムblastp、blastn、blastx、tblastn、およびtblastxに関連して使用するために、NCBI Basic Local Alignment Search Tool(BLAST)(Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990)が、米国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI, Bethesda, MD)を含むいくつかの情報源から、およびインターネット上で入手可能である。例として、約30個を超えるアミノ酸のアミノ酸配列を比較するために、デフォルトパラメータ(ギャップエグジステンスコスト(gap existence cost)11、およびパーレジデュージャッ

50

ブコスト(per residue gap cost)<sup>1</sup>)に設定されたデフォルトBLOSUM62マトリックスを用いてBlast2配列機能が用いられる。(約30アミノ酸より少ない)短いペプチドをアラインメントする時には、アラインメントは、Blast2配列機能を使用し、デフォルトパラメータ(オープンギャップ(open gap)<sup>9</sup>、エクステンションギャップ(extension gap)<sup>1</sup>ペナルティ)に設定されたPAM30マトリックスを用いて行われる。

#### 【0079】

それにもかかわらず、高度の同一性を示さない核酸配列が、遺伝暗号の縮重のために類似したアミノ酸配列をコードすることがある。全て実質的に同じタンパク質をコードする複数の核酸分子を生成するように、この縮重を用いて核酸配列に変化を加えることができることが理解される。

#### 【0080】

対象:

ヒトおよび非ヒト哺乳動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ウマ、ウシ、および非ヒト霊長類)の両方を含む一カテゴリーである多細胞脊椎生物。

#### 【0081】

治療的有効量:

特定の薬剤による治療を受けている対象において望ましい効果を得るのに十分な、特定の薬剤の量。例えば、これは、対象において免疫応答を誘発するのに有用な、および/またはポリオーマウイルス(例えば、BKVもしくはJCV)による感染もしくは病態を阻害もしくは予防するのに有用なポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドまたは核酸(またはその断片)の量でもよい。理想的には、本開示の文脈において、ポリオーマウイルスポリペプチドまたは核酸(またはその断片)の治療的有効量は、対象において大幅な細胞傷害作用を引き起こすことなく、対象においてポリオーマウイルスに対する耐性を増大させて、ポリオーマウイルスによって引き起こされる感染を予防、寛解、および/または治療するのに十分な量である。対象における耐性の増大、感染の予防、寛解、および/または治療に有用なポリオーマウイルスポリペプチドまたは核酸(またはその断片)の有効量は、例えば、治療を受けている対象、治療用組成物の投与方法、および他の要因に左右される。

#### 【0082】

ウイルス様粒子(VLP):

数種類のウイルスのいずれかに由来する非複製性ウイルス外殻。VLPは、一般的に、キャプシド、外被、外殻、表面、および/もしくはエンベロープタンパク質と呼ばれるタンパク質、またはこれらのタンパク質に由来する粒子形成ポリペプチドなどがあるが、これに限定されない1種類または複数種のウイルスタンパク質からなる。このタンパク質が適切な発現系において組換え発現されると、VLPは自発的に形成することができる。特定のVLPを産生するための方法は当技術分野において公知である。ウイルスタンパク質の組換え発現後のVLPの存在は、当技術分野において公知の従来法を用いて、例えば、電子顕微鏡、生物物理学的特徴付けなどによって検出することができる。例えば、Baker et al. (1991) *Biophys. J.* 60:1445-1456; Hagensee et al. (1994) *J. Virol.* 68:4503-4505を参照されたい。例えば、VLPは密度勾配遠心分離法によって単離することができる、および/または特徴的な密度バンド形成によって特定することができる。または、問題となっているVLP調製物のガラス化した試料水溶液に対して低温電子顕微法を行い、適切な露出条件下で画像を記録することができる。

#### 【0083】

III. ポリオーマウイルスに対する免疫応答

ポリオーマウイルス(例えば、BKVまたはJCV)に対する免疫応答を誘発する方法が本明細書において開示される。開示された方法では、対象において免疫応答を誘発するためにポリオーマウイルスの1種類または複数種のキャプシドポリペプチド(またはその断片)を利用する。一部の例では、前記方法は、対象へのポリオーマウイルス感染を治療、阻害、さらには予防するために、またはポリオーマウイルス関連障害(例えば、PVAN、BKV関連出血性膀胱炎、および/もしくはJCV関連PML)を治療、阻害、さらには予防するために用いられ

10

20

30

40

50

る。一部の態様において、前記方法は、2種類以上のBKV血清型のそれぞれに由来する少なくとも1種類のキャプシドポリペプチド(またはその断片)(例えば、多価BKV血清型免疫原性組成物)を対象に投与する工程を含む。一部の態様において、多価免疫原性組成物は、2種類以上のBKV-Iサブタイプ(例えば、BKV-1a、BKV-1b1、BKV-1b2、および/またはBKV-1cサブタイプ)に由来する少なくとも1種類のキャプシドポリペプチド(またはその断片)を含む。さらなる態様において、前記方法は、少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチド(またはその断片)を対象に投与する工程をさらに含む。1種類または複数種のBKV血清型(例えば、BKV-IVまたはBKV-I)に対する抗体を有さない移植ドナーおよび/または移植レシピエント(例えば、腎臓移植ドナーまたはレシピエント)、例えば、1種類または複数種のBKV血清型(例えば、BKV-IまたはBKV-IV)を中和することができる検出可能なレベルの抗体を有さないドナーおよび/またはレシピエントを特定する方法も開示される。

10

## 【0084】

## A. BKVに対する免疫応答を誘発する方法

一部の態様において、前記方法は、対象においてBKVに対する免疫応答(例えば、1種類または複数種のBKV血清型)を誘発する工程を含む。前記方法は、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象に、治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチド(例えば、少なくとも1種類のBKV-1a VP1ポリペプチド、BKV-1b1 VP1ポリペプチド、BKV-1b2 VP1ポリペプチド、および/もしくはBKV-1c VP1ポリペプチド)をコードする核酸、ならびに治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチド(例えば、少なくとも1種類のBKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよび/もしくはBKV-IVc2 VP1ポリペプチド)をコードする核酸を投与する工程を含む。一部の例では、少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチド(またはその断片)および少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチド(またはその断片)は互いに異なる。BKV-IキャプシドポリペプチドおよびBKV-IVキャプシドポリペプチドは、VP1、VP2、およびVP3(例えば、SEQ ID NO:1~6および13~16)の1つまたは複数を含み、以下のセクションIVにおいて詳細に考察される。特定の例において、少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチドを投与する工程は、BKV-Iキャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含み、および/または少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドを投与する工程は、BKV-IVキャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含む。特定の例において、対象はBKV-IV中和抗体を有さない。他の例において、対象はBKV-I中和抗体を有さない。

20

30

## 【0085】

1つの非限定的な例において、前記方法は、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象に、治療的有効量の少なくとも1種類のBKV-1a VP1ポリペプチド、少なくとも1種類のBKV-1b2 VP1ポリペプチド、および少なくとも1種類のBKV-IV VP1ポリペプチド(例えば、少なくとも1種類のBKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよび/またはBKV-IVc2 VP1ポリペプチド)を投与する工程を含む。他の例において、前記方法はまた、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象に、治療的有効量の少なくとも1種類のBKV-1c VP1ポリペプチドを投与する工程を含んでもよい。一部の例では、BKV-1a/1b1 VP1ポリペプチドは、アミノ酸位置73にグルタミン酸および/またはアミノ酸位置82にグルタミン酸を含む(例えば、SEQ ID NO:1またはSEQ ID NO:13)。さらなる例において、BKV-1b2 VP1ポリペプチドは、アミノ酸位置73にリジン残基および/またはアミノ酸位置82にアスパラギン酸を含む(例えば、SEQ ID NO:14)。

40

## 【0086】

一部の例では、前記方法は、治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドをコードする核酸および/あるいは治療的有効量の少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドをコードする核酸を対象に投与する工程をさらに含む。一部の例では、BKV-II

50

キャプシドポリペプチド(またはその断片)およびBKV-IIIキャプシドポリペプチド(またはその断片)は互いに異なり、BKV-IキャプシドポリペプチドおよびBKV-IVキャプシドポリペプチド(またはその断片)とも異なる。BKV-IIキャプシドポリペプチドおよびBKV-IIIキャプシドポリペプチドは、VP1、VP2、およびVP3(例えば、SEQ ID NO:7~12)の1つまたは複数を含み、以下のセクションIVにおいて詳細に考察される。特定の例において、少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチドを投与する工程は、BKV-IIキャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含み、および/または少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドを投与する工程は、BKV-IIIキャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含む。

【0087】

一部の態様において、前記方法は、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象を選択する工程をさらに含む。一部の例では、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象は、BKV感染のリスクがある対象またはBKV関連障害、例えば、PVANもしくはBKV関連出血性膀胱炎のリスクがある対象である。BKVに対する増強された免疫を必要とする対象には、免疫無防備状態の対象、例えば、ヒト免疫不全症ウイルス(HIV)に感染している対象、SCIDにかかっている対象、糖尿病にかかっている対象、癌の化学療法を受けている対象、および免疫抑制療法(例えば、コルチコステロイド、カルシニューリン阻害剤、例えば、タクロリムス、シクロスポリン、もしくはピメクロリムス、または免疫系機能を弱める他の療法、例えば、リツキシマブ、ナタリズマブ、エファリズマブ、もしくはアレムツズマブ)を受けている対象が含まれる。一部の例では、免疫抑制療法を受けている対象には、臓器移植(例えば、腎臓移植もしくは他の実質臓器移植または骨髄移植)を受けた個体が含まれる。特定の例において、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象は腎臓移植レシピエントである。別の例において、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象は骨髄移植レシピエントである。他の例において、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象には、臓器移植もしくは骨髄移植の候補である対象または免疫抑制療法の候補である対象が含まれる。特定の例において、対象は腎不全を有するか、または他の場合では腎臓移植の候補である。さらなる例では、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象には、癌(例えば、前立腺癌もしくは膀胱癌腫)を有する対象または癌(例えば、前立腺癌もしくは膀胱癌腫)のリスクがある対象が含まれ得る。

【0088】

さらなる態様において、前記方法は、治療的有効量の少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を対象に投与する工程をさらに含む。JCVキャプシドポリペプチドは、VP1、VP2、およびVP3(例えば、SEQ ID NO:17~23)の1つまたは複数を含み、以下のセクションIVにおいて詳細に考察される。特定の例において、少なくとも1種類の単離されたJCVキャプシドポリペプチドを投与する工程は、JCVキャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含む。

【0089】

一部の例では、少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチドまたはJCVキャプシドポリペプチドをコードする核酸が投与される対象は、JCVに対する強い免疫を必要とする対象またはJCV関連障害(例えば、JCV関連PML)のリスクがある対象である。特定の例において、対象は、免疫無防備状態の対象、例えば、HIVに感染している対象、SCIDにかかっている対象、糖尿病の対象、癌の化学療法を受けている対象、あるいは免疫抑制療法(例えば、コルチコステロイド、カルシニューリン阻害剤、例えば、タクロリムス、シクロスポリン、もしくはピメクロリムス、または免疫系機能を弱める他の療法、例えば、リツキシマブ、ナタリズマブ、エファリズマブ、もしくはアレムツズマブ)を受けている対象である。一部の例では、免疫抑制療法を受けている対象には、臓器移植(例えば、腎臓移植もしくは他の実質臓器移植または骨髄移植)を受けた対象が含まれる。特定の例において、JCVに対する強い免疫を必要とする対象は腎臓移植レシピエントまたは骨髄移植レシピエントである。別の例において、JCVに対する強い免疫を必要とする対象は、リツキシマブ療

10

20

30

40

50

法を受けている対象(またはリツキシマブ療法を受ける予定の対象またはリツキシマブ療法を受けた対象)である。他の例において、JCVに対する増強された免疫を必要とする対象には、臓器移植もしくは骨髄移植の候補である対象または免疫抑制療法の候補である対象が含まれる。

【 0 0 9 0 】

B. ポリオーマウイルス関連障害を治療または阻害する方法

一部の態様において、前記方法は、ポリオーマウイルス関連障害、例えば、PVAN、BKV関連出血性膀胱炎、またはJCV関連PMLを治療または阻害する工程(または一部の例では予防さえする工程)を含む。一部の例では、前記方法は、ポリオーマウイルス関連障害の治療または阻害を必要とする対象に、選択された対象に、治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸(例えば、少なくとも1種類のBKV-IVb1 VP1ポリペプチドおよび/または少なくとも1種類のBKV-IVc2 VP1ポリペプチド)を投与する工程を含む。一部の例では、1種類または複数種のBKV-IVキャプシドポリペプチド(例えば、VP1、VP2、またはVP3、例えば、SEQ ID NO:4~6および/またはSEQ ID NO:16)を投与する工程は、キャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含む。

10

【 0 0 9 1 】

一部の態様において、前記方法は、ポリオーマウイルス関連障害を阻害するための治療を必要とする対象を選択する工程をさらに含む。一部の例では、対象は、PVANまたはBK関連出血性膀胱炎の治療または阻害を必要とする(例えば、臓器移植もしくは骨髄移植を受けた対象または臓器移植もしくは骨髄移植の候補)。一例では、対象は腎臓移植の候補である。他の例において、対象は骨髄移植の候補である。さらなる例では、対象は免疫無防備状態である(例えば、移植レシピエント、HIVに感染している対象、もしくは免疫抑制剤で治療された対象)、または免疫抑制剤による治療の候補(例えば、臓器移植候補もしくは骨髄移植候補)である。特定の例において、対象はBKV-IV中和抗体および/またはBKV-I中和抗体を有さない。

20

【 0 0 9 2 】

一部の例では、前記方法は、治療的有効量の少なくとも1種類の単離されたBKV-Iキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする核酸、少なくとも1種類の単離されたBKV-IIキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチドをコードする核酸、少なくとも1種類の単離されたBKV-IIIキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチドをコードする核酸、少なくとも1種類の単離されたJCVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)または少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチドをコードする核酸、あるいはその2つ以上の組み合わせ(例えば、SEQ ID NO:1~23の1つまたは複数)を対象に投与する工程をさらに含む。非限定的な具体例において、前記方法は、治療的有効量の少なくとも1種類のBKV-Ia VP1ポリペプチドおよび少なくとも1種類のBKV-Ib2 VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:1、14、または15)を対象に投与する工程を含む。一部の例では、1種類または複数種のBKVキャプシドポリペプチドおよび/またはJCVキャプシドポリペプチド(例えば、VP1、VP2、またはVP3)を投与する工程は、キャプシドポリペプチドを含むVLPを投与する工程を含む。

30

40

【 0 0 9 3 】

特定の例において、対象は臓器移植(例えば、腎臓移植または骨髄移植)の候補であり、治療的有効量のBKV-IVキャプシドポリペプチドまたはキャプシドポリペプチドをコードする核酸は、臓器移植前の、対象においてBKV-IVキャプシドポリペプチドに対する免疫応答を生じるのに十分な時間に、対象に投与される。当業者であれば、対象の健康の全身状態および対象の免疫系の頑強さなどの要因に基づいて対象において免疫応答を生じるのに必要な時間を特定することができる。一部の例では、少なくとも1種類の単離されたBKV-IVキャプシドポリペプチドまたはBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする核酸は、臓器移植の少なくとも約6ヶ月(例えば、少なくとも約6ヶ月、5ヶ月、4ヶ月、3ヶ月、2ヶ月間

50

、6週間、5週間、4週間、3週間、2週間、またはさらには1週間)前に対象に投与される。一部の例では、BKV-IVキャプシドポリペプチドは、臓器移植の少なくとも約2週間前に対象に投与される。他の例において、BKV-IVキャプシドポリペプチドは、臓器移植の少なくとも約6週間前に対象に投与され、追加免疫が移植の約2週間前に投与される。一部の例では、臓器移植前にBKV-Iキャプシドポリペプチド、BKV-IIキャプシドポリペプチド、BKV-IIIキャプシドポリペプチド、および/もしくはJCVキャプシドポリペプチド(またはその断片)が対象にさらに投与される。

【0094】

さらなる態様において、前記方法は、BKV-I、BKV-II、BKV-III、および/またはBKV-IVを中和することができる抗体を含有すると見出されている治療的有効量の精製されたヒトグロブリン調製物を対象に投与する工程を含む。対象には、前記の対象が含まれる。BKV-I中和抗体、BKV-II中和抗体、BKV-III中和抗体、および/またはBKV-IV中和抗体を含有する血清を特定する方法は当業者に公知であり、以下のセクションVIにおいて考察される方法を含む。一部の例では、使用され得るグロブリン調製物には、無傷のグロブリンの市販調製物、およびグロブリンのFc、F(ab')<sub>2</sub>断片の調製物、またはその組み合わせが含まれる。グロブリンを調製する方法、例えば、対象に投与するためにグロブリンを調製する方法は当業者に公知である。例えば、米国特許第5,177,194号;同第6,504,012号;および同第7,879,331号を参照されたい。

10

【0095】

グロブリンの投与量および投与方法は、重篤度および治療されている特定の状態の種類、治療期間、使用されている補助療法、治療対象の年齢および身体状態、ならびに類似する要因によって異なる。一部の例では、静脈内投与の投与量は、100mg/kg~2.5g/kg(例えば、約400mg/kg~2g/kgまたは1g/kg~2g/kg)である。投与量は、投与頻度に基づいて、例えば、1月に5日間連続して400mg/kg/dayまたは月1回、2g/kg/dayに変更することができる。別の例において、グロブリン調製物は皮下または筋肉内に投与される。一部の例では、皮下投与または筋肉内投与の投与量は、約1mg/kg~30mg/kg体重(例えば、約4mg/kg~20mg/kgまたは約10mg/kg~20mg/kg)である。

20

【0096】

グロブリンは、薬学的に許容される担体を含有する薬学的組成物として投与される。

グロブリン組成物のために用いられる薬学的に許容される担体は、以下のセクションVに記載の薬学的に許容される担体を含む。

30

【0097】

C. 腎臓移植ドナーおよび/またはレシピエントを選択する方法

さらなる態様において、前記方法は、候補臓器移植ドナーおよび/または臓器移植レシピエントを選択する工程を含む。一部の例では、候補ドナーは候補腎臓移植ドナーであり、候補移植レシピエントは候補腎臓移植レシピエントである。前記方法は、BKV血清型特異的抗体(BKV-IV特異的中和抗体を含むが、これに限定されない)の存在について候補ドナーおよび/または候補レシピエントをスクリーニングする工程を含む。

【0098】

一部の態様において、前記方法は、BKV血清型特異的(例えば、BKV-IVまたはBKV-I)中和抗体が対象に存在しない場合に、腎臓移植ドナーとして対象を選択する工程を含む。一部の例では、前記方法は、BKV血清型特異的(例えば、BKV-IVまたはBKV-I)中和抗体が、候補移植レシピエントである対象に存在しない場合に、腎臓移植レシピエントとして対象を選択する工程をさらに含む。一部の例では、前記方法は、対象(例えば、対象に由来する試料)においてBKV-IV中和抗体の存在を検出する工程、およびBKV-IV中和抗体が試料中に存在しない場合に移植ドナーまたは候補レシピエントとして対象を選択する工程を含む。試料は、血液試料または血清試料を含む対象に由来する任意の適切な生物学的試料を含んでもよい。

40

【0099】

対象(例えば、対象に由来する血液試料または血清試料)において中和抗体を検出する方

50

法は当業者に公知である。このような方法は以下のセクションVIにおいて考察される。

【0100】

IV. ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド

ポリオーマウイルスの核酸配列およびポリペプチド配列は公的に入手することができ、当業者によって特定することができる。例示的なBKVゲノムの核酸配列には、GenBankアクセス番号JF894228、AB211374、DQ989796、AB211377、AB263920、AB211386、AB211390、およびAB369093が含まれるが、これに限定されない。これらはそれぞれ、2011年7月15日にGenBankに存在するように参照により本明細書に組み入れられる。

【0101】

いくつかのBKVキャプシドポリペプチド(またはその断片)を用いて、BKVに対する免疫応答を誘発できることが本明細書において開示される。いくつかの態様において、BKVキャプシドポリペプチドは、SEQ ID NO:1~12として示されたアミノ酸配列を含む、またはSEQ ID NO:1~12として示されたアミノ酸配列からなる。さらなるBKV VP1ポリペプチド、例えば、さらなるBKVサブタイプに由来するBKV VP1ポリペプチドが本明細書において開示される。一部の態様において、BKV VP1ポリペプチドは、SEQ ID NO:13~16として示されたアミノ酸配列を含む、またはSEQ ID NO:13~16として示されたアミノ酸配列からなる。

10

【0102】

例示的なJCVゲノム核酸配列には、GenBankアクセス番号NC\_001699、AF300945、およびAY536541が含まれるが、これに限定されない。これらはそれぞれ、2011年7月15日にGenBankに存在するように参照により本明細書に組み入れられる。

20

【0103】

いくつかのJCVキャプシドポリペプチド(またはその断片)を用いて、JCVに対する免疫応答を、例えば、1種類または複数種のBKVキャプシドポリペプチドと組み合わせて誘発することも本明細書において開示される。いくつかの態様において、JCVキャプシドポリペプチドはSEQ ID NO:17~23として示されたアミノ酸配列を含む、またはSEQ ID NO:17~23として示されたアミノ酸配列からなる。

【0104】

一部の態様において、本明細書において開示された方法において使用されるポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(例えば、BKVキャプシドポリペプチドまたはJCVキャプシドポリペプチド)は、SEQ ID NO:1~23または52~125の1つに示されたアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%、例えば、100%同一の配列を有する。他の例において、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(例えば、BKV VP1ポリペプチド)は、SEQ ID NO:126~158の1つに示されたアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%、例えば、100%同一の配列を含む。一部の例では、前記ポリペプチドのBKVサブタイプまたは血清型は公知である。他の例において、前記ポリペプチドのBKVサブタイプまたは血清型は未知である。当業者であれば、未知のBKVキャプシドポリペプチドのBKVサブタイプまたは血清型を、例えば、配列分析およびELISAまたは中和アッセイ(例えば、以下の実施例1~3に記載のもの)によって決定することができる。インターネット上で容易に入手可能なコンピュータプログラムおよび本明細書において示されたアミノ酸配列を用いて例示的な配列を入手することができる。一例では、ポリペプチドは、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドの機能、例えば、ポリオーマウイルスエピトープに特異的に結合する抗体との結合を保持する。

30

40

【0105】

ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドの一次アミノ酸配列をわずかに改変することによって、本明細書に記載の非改変対応ポリペプチドと比較して、実質的に等価な活性を有するペプチドが得られることがある。このような改変は、部位特異的変異誘発による改変のように意図的に行われてもよく、自然発生したものでもよい。これらの改変によって産生されたポリペプチドは全て本明細書に含まれる。従って、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドの非限定的な具体例は、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド

50

の保存的変種(例えば、1個の保存的アミノ酸置換、例えば、1つまたは複数の保存的アミノ酸置換、例えば、1~10個の保存的置換、2~5個の保存的置換、4~9個の保存的置換、例えば、1個、2個、5個、または10個の保存的置換)である。保存的置換の表を本明細書に示した。この表に基づいて、SEQ ID NO:1~23または52~158に示したアミノ酸配列の置換を作製することができる。

#### 【0106】

「エピトープ」または「抗原決定基」とは、B細胞および/またはT細胞が反応する、抗原上の部位をいう。T細胞は、エピトープがMHC分子と一緒に提示された時にエピトープに反応することができる。エピトープは、連続アミノ酸(直鎖)または抗原性ポリペプチドの三次フォールディング(コンホメーション)によって近接する非連続アミノ酸の両方から形成することができる。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的には、変性溶媒に曝露されても保持されるのに対して、三次フォールディングによって形成されるエピトープは、典型的には、変性溶媒で処理されると失われる。通常、B細胞エピトープは少なくとも約5アミノ酸を含むが、3~4アミノ酸と小さくてもよい。CTLエピトープなどのT細胞エピトープは少なくとも約7~9アミノ酸を含み、ヘルパーT細胞エピトープは少なくとも約12~20アミノ酸を含む。通常、エピトープは、約5~15個のアミノ酸、例えば、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、または15個のアミノ酸を含む。一部の例では、本明細書において開示された免疫原性組成物は、ポリオーマウイルスキャプシドタンパク質の断片(例えば、免疫原性断片)または抗原決定基を含む。当業者であれば、例えば、HLAペプチド結合予測プログラム、例えば、BIMAS([www.bimas.cit.nih.gov/molbio/hla\\_bind/](http://www.bimas.cit.nih.gov/molbio/hla_bind/))またはIEDB分析リソース([immuneptiope.org](http://immuneptiope.org))を用いて推定抗原決定基を特定することができる。一部の例では、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドは、VP1 BCループの5個以上のアミノ酸(例えば、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、または23個のアミノ酸)(例えば、BKV VP1ポリペプチドのアミノ酸61~83;例えば、Tremolada et al., *Virus Res.* 149:190-196, 2010を参照されたい)を含む、これらから本質的になる、またはこれらからなる。

#### 【0107】

本明細書において開示されたポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドは標準的な方法によって化学合成されてもよく、組換えによって産生されてもよい。ポリペプチド産生のための例示的なプロセスは、Lu et al., *FEBS Lett.* 429:31-35, 1998に記載されている。ポリペプチドはまた、調製用クロマトグラフィーおよび免疫学的分離を含む方法によって単離することもできる。ポリペプチドはまた、分子遺伝学的技法を用いて、例えば、少なくとも1種類のポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドまたはそのエピトープをコードする核酸を発現ベクターに挿入し、発現ベクターを宿主細胞に導入し、ポリペプチドを単離することによって産生することもできる。開示されたポリペプチドを発現するために、細菌(例えば、大腸菌)、酵母、昆虫細胞(例えば、Sf9細胞)、または哺乳動物細胞(例えば、293細胞)を含む任意の適切な細胞を利用することができる。一部の例では、ポリペプチドは自発的に集合してウイルス様粒子(VLP)を構築する。

#### 【0108】

一部の例では、開示されたポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(またはその断片)、例えば、SEQ ID NO:1~23または52~125の1つまたは複数のアミノ酸配列を含むキャプシドポリペプチドは、VLPの一部、例えば、BKV-I VLP、BKV-II VLP、BKV-III VLP、BKV-IV VLP、またはJCV VLPである。免疫原は、典型的に、B細胞および抗原提示細胞などの免疫細胞に多量体で提示される(例えば、1個のVLP粒子につき約72個の五量体または約360個のキャプシドポリペプチド)。これによって、免疫原に対する免疫応答、特に、抗体応答が効果的に誘導される。一部の例では、VLPには、BKV-I(例えば、BKV-Ia、BKV-Ib1、BKV-Ib2、および/もしくはBKV-Ic)、BKV-II、BKV-III、BKV-IV(例えば、BKV-IVb1および/もしくはBKV-IVc2)、またはJCVに由来する、VP1、VP2、およびVP3の1つまたは複数(例えば、1、2、または3つ全て)が含まれる。

## 【 0 1 0 9 】

具体的な態様では、開示されたVLPの一部である抗原は、SEQ ID NO:1~23もしくは52~158(またはその断片)として示されたアミノ酸配列の1つまたは複数を含み、自発的に集合してVLPを構築する能力を有する。一部の例では、VLPには、BKV-I VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:1、13、14、もしくは15の1つ)およびBKV-I VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:2)および/またはBKV-I VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:3)が含まれる。他の例において、VLPには、BKV-I VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:1、13、14、もしくは15の1つ)およびBKV-IV VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:5)および/またはBKV-IV VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:6)が含まれる。他の例において、VLPには、BKV-II VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:7)およびBKV-II VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:8)および/またはBKV-II VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:9)が含まれる。他の例において、VLPには、BKV-II VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:7)およびBKV-IV VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:5)および/またはBKV-IV VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:6)が含まれる。さらなる例において、VLPには、BKV-III VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:10)およびBKV-III VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:11)および/またはBKV-III VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:12)が含まれる。他の例において、VLPには、BKV-III VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:10)およびBKV-IV VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:5)および/またはBKV-IV VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:6)が含まれる。なおさらなる例において、VLPには、BKV-IV VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:4および16の1つ)ならびにBKV-IV VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:5)ならびに/またはBKV-IV VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:6)が含まれる。別の例において、VLPには、JCV VP1ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:17、20、もしくは21の1つ)およびJCV VP2ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:22)および/またはJCV VP3ポリペプチド(例えば、SEQ ID NO:23)が含まれる。

10

20

## 【 0 1 1 0 】

さらなる例では、開示されたポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドの断片は、自発的に集合してVLPを構築する能力を保持する。断片(例えば、免疫原性断片)および変種は様々な長さのものでよい。例えば、断片は、ポリオーマウイルスキャプシドアミノ酸配列の6個以上、25個以上、50個以上、75個以上、100個以上、または200個以上のアミノ酸残基からなってもよい。これは、例えば、自発的に集合してVLPを構築することができる長さが6個以上のアミノ酸残基の任意のポリペプチドを含む。VLP形成をアッセイする方法およびVLPの単離は当技術分野において周知である(例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる、Pastrana et al., PLoS Pathogens 5(9):e1000578, 2009を参照されたい)。

30

## 【 0 1 1 1 】

本明細書において開示されたBKVキャプシドポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも開示される。例示的な核酸配列はSEQ ID NO:24~35として示される。本明細書において開示されたJCVキャプシドポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも開示される。例示的な核酸配列はSEQ ID NO:36~38として示される。

## 【 0 1 1 2 】

一部の態様において、BKVキャプシドポリペプチドをコードする核酸は、異種系(例えば、哺乳動物細胞、細菌、または酵母)における発現のためにコドン最適化される。哺乳動物細胞用にコドン最適化された例示的な核酸配列はSEQ ID NO:39~51として示した(が、このコドン最適化配列は細菌などの他の系でも発現することができる)。

40

## 【 0 1 1 3 】

一部の態様において、本明細書において開示された方法において使用されるポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(例えば、BKVキャプシドポリペプチドまたはJCVキャプシドポリペプチド)をコードする核酸配列は、SEQ ID NO:24~51の1つに示された核酸配列と少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%、例えば、100%同一の配列を有する。インターネット上で容易に入手可能なコンピュータプログラムおよび本明

50

細書において示されたアミノ酸配列を用いて例示的な配列を入手することができる。一例では、核酸配列によってコードされるポリペプチドは、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドの機能、例えば、ポリオーマウイルスエピトープに特異的に結合する抗体との結合を保持する。

【0114】

V. 薬学的組成物および投与方法

本明細書において開示されたポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(またはその断片)、またはポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードする核酸を用いて、対象において免疫応答を誘発することができる。いくつかの例では、対象は少なくとも1種類のBKV血清型に感染している、あるいはBKV血清型(例えば、BKV-I、BKV-II、BKV-III、もしくはBKV-IV)の1つまたは複数)および/またはJCVに感染するリスクがある。従って、いくつかの態様において、前記方法は、防御免疫応答などがあるが、これに限定されない免疫応答を誘発するために、治療的有効量の、本明細書において開示されたポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)(またはこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド)の1つまたは複数を対象に投与する工程を含む。

【0115】

開示された方法において、組成物は、ポリオーマウイルス(例えば、BKV)に対する免疫応答を生じるのに十分な量で対象に投与される。開示されたBKVポリペプチド、BKVポリペプチドを含むVLP、またはこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、対象においてBKV感染を阻害(さらには予防)するために、BKV潜伏感染を有する対象において疾患への進行を阻害(さらには予防)するために、またはBKVに感染した対象においてBKV関連障害(例えば、PVANもしくはBKV関連出血性膀胱炎)を阻害もしくは治療するために使用される。いくつかの例では、本明細書において開示された1種類または複数種のBKV血清型特異的キャプシドポリペプチド(もしくはその断片)(またはこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド)を含む治療的有効量の組成物の投与は、BKV感染による疾患の症状を軽減するのに十分な、BKVもしくはBKV関連障害の1つもしくは複数の症状の発症を阻害するのに十分な、またはBKV(例えば、BKV血清型、例えば、BKV-I、BKV-II、BKV-III、および/もしくはBKV-IV)による感染を阻害するのに十分な免疫応答を誘導する。

【0116】

一部の例では、前記組成物は、将来のBKV感染の阻害、さらには予防において使用される。従って、一部の例では、治療的有効量の組成物は、BKVに感染するリスクがある対象(例えば、免疫無防備状態の対象または臓器移植を受けた対象もしくは臓器移植の候補である対象)に投与される。前記組成物は、後にBKVに曝露された時に対象において、BKV発症、例えば、BKV潜伏感染もしくはBKV活動性感染、または既にあるBKV感染の免疫学的制御の喪失(例えば、潜伏感染の再活性化)を阻害する。

【0117】

一部の態様において、前記方法は、JCVに対する防御免疫応答などがあるが、これに限定されない免疫応答を誘発するために、治療的有効量の、本明細書において開示されたJCVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)(またはこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド)の1つまたは複数を対象に投与する工程をさらに含む。一部の例では、前記組成物は、将来のJCV感染を阻害する、さらには予防するために使用される。従って、一部の例では、治療的有効量の組成物は、JCVに感染するリスクがある対象(例えば、免疫無防備状態の対象または臓器移植を受けた対象もしくは臓器移植の候補である対象)に投与される。前記組成物は、後にJCVに曝露された時に対象において、JCVの発症、例えば、JCV潜伏感染もしくはJCV活動性感染、または既にあるJCV感染の免疫学的制御の喪失(例えば、潜伏感染の再活性化)を阻害または予防する。一部の例では、開示された方法および組成物は、JCVに感染している対象においてJCV関連障害(例えば、JCV関連PML)を阻害または治療する。特定の例において、対象は、HIVに感染している対象、免疫抑制療法(例えば、ミコフェノール酸、フルダラビン、メトトレキサート、リツキシマブ、ナタリズマブ、アレムツズマブ、もしくはエファリズマブ)を受けている対象、または臓器移植(例えば

10

20

30

40

50

、骨髄移植)を受けた対象もしくは臓器移植(例えば、骨髄移植)の候補である対象などJCV関連PMLを発症するリスクがある。

【0118】

これらの使用に有効な量は、疾患の重篤度、対象の健康の全身状態、および対象の免疫系の頑強さに左右される。一例では、化合物の治療的有効量は、症状の主観的軽減、または臨床家もしくは他の資格のある観察者によって認められるような客観的に特定可能な改善を提供する量である。他の例において、治療的有効量は、後に対象が1種類または複数種のBKV血清型に曝露された時に対象におけるBKV(例えば、BKV-I、BKV-II、BKV-III、および/またはBKV-IV)の感染を阻害するのに十分な量である。さらなる例において、治療的有効量は、BKVに感染している対象における1つまたは複数の症状(例えば、PVANまたはBKV関連出血性膀胱炎)の発症を阻害するのに十分な量である。

10

【0119】

さらなる例では、治療的有効量は、1種類または複数種のJCV血清型に対象が後に曝露された時に対象においてJCV感染を阻害するのに十分な量、または対象において無症候性潜伏感染からの既にあるJCV感染の発生を阻害するのに十分な量である。さらなる例において、治療的有効量は、JCV(例えば、JCV関連PML)に感染した対象において1つまたは複数の症状の発症を阻害するのに十分な量である。

【0120】

一部の例では、本明細書に記載の1種類または複数種のポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(例えば、BKVキャプシドポリペプチドもしくはJCVキャプシドポリペプチド)またはその断片は、少なくとも1種類の他の免疫原性タンパク質と共有結合されてもよい。ここで、結合体は、対象においてポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドに対する免疫応答を誘発する。他の免疫原性タンパク質(時として「担体」タンパク質と呼ばれる)は、理想的には、それ自体で免疫原性があり、対象において使用可能であり、容易に精製し、かつ少なくとも1種類の他のタンパク質またはペプチドと結合することができるサイズだという特性を有する。適切な担体タンパク質が当業者に公知である。特定の例において、他の免疫原性タンパク質(担体タンパク質)は、ウシ血清アルブミン(BSA)、オボアルブミン、破傷風トキシノイド、ジフテリアトキシノイド、コレラ毒素、クロストリジウム・ディフィシル(*Clostridium difficile*)毒素A、*C.ディフィシル*毒素B、志賀毒素、または緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)組換えエキソプロテイン(exoprotein)Aである。

20

30

【0121】

ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドは、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内注射、静脈内注射、経口投与、経鼻投与、経皮投与、さらには肛門投与などの当業者に公知の任意の手段によって局所投与または全身投与することができる(Banga, A., 「Parenteral Controlled Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins」, Therapeutic Peptides and Proteins, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, 1995を参照されたい)。一部の態様において、投与は経口投与、皮下注射、または筋肉内注射によるものである。

【0122】

1つの非限定的な具体例において、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドは、体液性(抗体)応答ではなく細胞応答に対する免疫応答(すなわち、ヘルパーT細胞または細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答))を誘導するやり方で投与される。

40

【0123】

ペプチドまたはタンパク質が応答を刺激するのに利用可能な時間を延ばすために、ペプチドまたはタンパク質は移植片として、油性注射剤として、または粒子系として提供することができる。粒子系は、微粒子、マイクロカプセル、マイクロスフェア、ナノカプセル、または同様の粒子(例えば、Banga, 前記を参照されたい)でもよい。合成ポリマーに基づく粒子担体は、徐放を行うことに加えて免疫応答を増強するアジュバントとして作用することが示されている。アルミニウム塩も免疫応答を発生させるためのアジュバントとして使用することができる。

50

## 【0124】

任意で、1種類もしくは複数種のサイトカイン、例えば、IL-2、IL-6、IL-12、RANTES、GM-CSF、TNF- $\alpha$ 、もしくはIFN- $\gamma$ 、1種類もしくは複数種の増殖因子、例えば、GM-CSFもしくはG-CSF;1種類もしくは複数種の分子、例えば、OX-40Lもしくは4-1 BBL、またはこれらの分子の組み合わせを生物学的アジュバントとして使用することができる(例えば、Salgaller et al., 1998, J. Surg. Oncol. 68(2):122-38; Lotze et al., 2000, Cancer J. Sci. Am. 6(Suppl 1):S61-6; Cao et al., 1998, Stem Cells 16(Suppl 1):251-60; Kuiper et al., 2000, Adv. Exp. Med. Biol. 465:381-90を参照されたい)。これらの分子を宿主に全身(または局所)投与することができる。いくつかの例では、IL-2、RANTES、GM-CSF、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、LFA-3、CD72、B7-1、B7-2、B7-1 B7-2、OX-40L、4-1 BBL、および/またはICAM-1が投与される。

10

## 【0125】

従って、1種類もしくは複数種のポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドを含む薬学的組成物が提供される。これらの組成物は、ポリオーマウイルスに対する免疫応答、例えば、BKV血清型特異的応答を促進するのに用いられる。一部の例では、開示された組成物は、BKV-IVキャプシドポリペプチド(またはその断片)、BKV-Iキャプシドポリペプチド(またはその断片)、および薬学的に許容される担体を含む。特定の例において、組成物は、少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドを含むVLP、少なくとも1種類のBKV-Iキャプシドポリペプチドを含むVLP、および薬学的に許容される担体を含む。他の例において、前記組成物は、少なくとも1種類のBKV-Iaキャプシドポリペプチドを含むVLP、少なくとも1種類のBKV-Ib2キャプシドポリペプチドを含むVLP、少なくとも1種類のBKV-IVキャプシドポリペプチドを含むVLP、および薬学的に許容される担体を含む。一部の例では、前記組成物は、少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチド、少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチド、および/または少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチド(例えば、少なくとも1種類のBKV-IIキャプシドポリペプチド、少なくとも1種類のBKV-IIIキャプシドポリペプチド、および/または少なくとも1種類のJCVキャプシドポリペプチドを含む1つまたは複数のVLP)をさらに含む。一部の態様において、前記組成物は1種類または複数種のアジュバントを含む。

20

## 【0126】

1つの態様において、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドは、安定化界面活性剤、ミセル形成剤、および油の2つ以上を含有するアジュバントと混合される。適切な安定化界面活性剤、ミセル形成剤、および油は、米国特許第5,585,103号;米国特許第5,709,860号;米国特許第5,270,202号;および米国特許第5,695,770号において詳述されている。これらは全て参照により組み入れられる。安定化界面活性剤は、エマルジョン成分が安定したエマルジョンとして留まるのを可能にする任意の界面活性剤である。このような界面活性剤には、ポリソルベート、80(TWEEN)(ソルビタン-モノ-9-オクタデセノエート-ポリ(オキシ-1,2-エタンジール;ICI Americas, Wilmington, DEにより製造)、TWEEN40(商標)、TWEEN20(商標)、TWEEN60(商標)、ZWITTERGENT(商標)3-12、TEEPOL HB7(商標)、およびSPAN85(商標)が含まれる。これらの界面活性剤は、通常、約0.05~0.5%、例えば、約0.2%の量で提供される。ミセル形成剤は、ミセル形成構造が形成するように、他の成分と形成したエマルジョンを安定化することができる薬剤である。このような薬剤は、一般的に、マクロファージを動員して細胞応答を増強するために注射部位で刺激を引き起こす。このような薬剤の例には、BASF Wyandotte刊行物、例えば、Schmolka, J. Am. Oil. Chem. Soc. 54:110, 1977;およびHunter et al., J. Immunol. 127:1244-1250, 1981に記載のポリマー界面活性剤、例えば、PLURONIC(商標)L62LF、L101、およびL64、PEG1000、ならびにTETRONIC(商標)1501、150R1、701、901、1301、および130R1が含まれる。このような薬剤の化学構造は当技術分野において周知である。1つの態様において、薬剤は、Hunter and Bennett, J. Immunol. 133:3167-3175, 1984により定義されるように0~2の親水性親油性バランス(HLB)を有するように選択される。薬剤は、有効量、例えば、0.5~10%で、または1.25~5%の量で提供することができる。

30

40

50

## 【 0 1 2 7 】

組成物に含まれる油は、水中油型エマルジョン中の抗原の保持を促進するように、例えば、望ましい抗原のためのビヒクルを提供するように選択され、好ましくは、室温(約20~25)で、またはエマルジョンの温度が室温まで下げられた時にエマルジョンが形成されるように65 未満の融解温度を有する。このような油の例には、スクアレン、スクワラン、EICOSANE(商標)、テトラテトラコンタン、グリセロール、およびピーナッツ油または他の植物油が含まれる。1つの非限定的な具体例において、油は1~10%または2.5~5%の量で提供される。身体が油をある期間にわたって分解できるように、および油を使用した時に肉芽腫などの有害作用が明らかにならないように、油は生分解性かつ生体適合性でなければならない。

10

## 【 0 1 2 8 】

1つの態様において、アジュバントは、PROVAX(登録商標)(IDEC Pharmaceuticals, San Diego, CA)の名前で入手可能な、安定化界面活性剤、ミセル形成剤、および油の混合物である。アジュバントは、免疫刺激核酸、例えば、CpGモチーフを含む核酸、または生物学的アジュバント(前記を参照されたい)でもよい。

## 【 0 1 2 9 】

徐放性非経口製剤は、移植片、油性注射剤、または粒子系として作られてもよい。タンパク質送達系の概要については、Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems, Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA, 1995を参照されたい。粒子系には、マイクロスフェア、微粒子、マイクロカプセル、ナノカプセル、ナノスフェア、およびナノ粒子が含まれる。マイクロカプセルは中心コアとして治療用タンパク質を含有する。マイクロスフェアでは治療剤は粒子全体に分散される。一般的に、約1 $\mu$ mより小さい粒子、マイクロスフェア、およびマイクロカプセルは、それぞれ、ナノ粒子、ナノスフェア、およびナノカプセルと呼ばれる。毛細血管の直径は約5 $\mu$ mであり、そのため、ナノ粒子しか静脈内に投与されない。微粒子は直径が典型的に100 $\mu$ mであり、皮下または筋肉内に投与される(Kreuter, Colloidal Drug Delivery Systems, J. Kreuter, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 219-342, 1994; Tice & Tabibi, Treatise on Controlled Drug Delivery, A. Kydonieus, ed., Marcel Dekker, Inc. New York, NY, pp. 315-339, 1992を参照されたい)。

20

## 【 0 1 3 0 】

徐放のためにポリマーを使用することができる。制御された薬物送達において使用するための様々な分解性ポリマーマトリックスおよび非分解性ポリマーマトリックスが当技術分野において公知である(Langer, Accounts Chem. Res. 26:537, 1993)。例えば、ブロック共重合体であるポラキサマー(polaxamer)407は、低温で粘度があるが可動性の液体として存在するが、体温では半固体ゲルを形成する。これは、組換えインターロイキン-2およびウレアゼの処方用および持効性送達用の有効なビヒクルであることが示されてる(Johnston et al., Pharm. Res. 9:425, 1992; Pec, J. Parent. Set Tech. 44(2):58, 1990)。または、タンパク質徐放用のマイクロキャリアとしてヒドロキシアパタイトが用いられている(Ijntema et al., Int. J. Pharm. 112:215, 1994)。さらに別の局面において、脂質でカプセル化された薬物の徐放ならびに薬物標的化のためにリポソームが用いられる(Betageri et al., Liposome Drug Delivery Systems, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, 1993)。治療用タンパク質を制御送達するための非常に多くのさらなる系が公知である(例えば、米国特許第5,055,303号;同第5,188,837号;同第4,235,871号;同第4,501,728号;同第4,837,028号;同第4,957,735号;および同第5,019,369号;同第5,055,303号;同第5,514,670号;同第5,413,797号;同第5,268,164号;同第5,004,697号;同第4,902,505号;同第5,506,206号;同第5,271,961号;同第5,254,342号;および同第5,534,496号)。

30

40

## 【 0 1 3 1 】

別の態様において、薬学的組成物は、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドまたはその断片(例えば、BKVキャプシドポリペプチドもしくはJCVキャプシドポリペプチドまたは断片)をコードする核酸を含む。免疫応答を発生させるために、治療的有効量のBKVキ

50

ャプシドポリヌクレオチドまたはJCVキャプシドポリヌクレオチドを対象に投与することができる。

【0132】

核酸を投与するアプローチの1つは、プラスミドDNA、例えば、哺乳動物発現プラスミドによる直接免疫である。例えば、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を、この分子の発現を高めるようにプロモーターの制御下に置くことができる。

【0133】

核酸構築物による免疫は当技術分野において周知であり、例えば、米国特許第5,643,578号(望ましい抗原をコードするDNAを導入して、細胞性応答または体液性応答を誘発することによって脊椎動物を免疫する方法について説明する)ならびに米国特許第5,593,972号および同第5,817,637号(抗原をコードする核酸配列と、発現を可能にする調節配列との機能的連結について説明する)において開示される。米国特許第5,880,103号は、免疫原性ペプチドまたは他の抗原をコードする核酸を生物に送達するいくつかの方法について説明する。前記方法は、核酸(または合成ペプチドそのもの)ならびに免疫刺激構築物またはISCOMS(商標)(コレステロールおよびサポニンの混合によって自発的に形成されるサイズが30~40nmの負に荷電したケージ状構造)のリポソーム送達を含む。抗原送達ビヒクルとしてISCOMS(商標)を用いて、トキソプラズマ症およびエプスタイン-バーウイルス誘導性腫瘍を含む様々な感染実験モデルにおいて防御免疫が発生されている(Mowat and Donachie, Immunol. Today 12:383, 1991)。ISCOMS(商標)の中に入れられた1 $\mu$ gと少ない用量の抗原がクラスI媒介性CTL応答を生じると見出されている(Takahashi et al., Nature 344:873, 1990)。

【0134】

任意で、1種類もしくは複数種のサイトカイン、例えば、IL-2、IL-6、IL-12、RANTES、GM-CSF、TNF- $\alpha$ 、もしくはIFN- $\gamma$ 、1種類または複数種の増殖因子、例えば、GM-CSFもしくはG-CSF、1種類または複数種の補助刺激分子、例えば、ICAM-1、LFA-3、CD72、B7-1、B7-2、もしくは他のB7関連分子;1種類もしくは複数種の分子、例えば、OX-40Lもしくは4-1BBL、またはこれらの分子の組み合わせを生物学的アジュバントとして使用することができる(例えば、Salgaller et al., 1998, J. Surg. Oncol. 68(2):122-38; Lotze et al., 2000, Cancer J. Sci. Am. 6(Suppl 1):S61-6; Cao et al., 1998, Stem Cells 16(Suppl 1):251-60; Kuiper et al., 2000, Adv. Exp. Med. Biol. 465:381-90を参照されたい)。これらの分子は宿主に全身投与することができる。これらの分子は、分子をコードする核酸をベクター、例えば、組換えポックスベクターに挿入することによって同時投与することに注目しなければならない(例えば、米国特許第6,045,802号を参照されたい)。様々な態様において、生物学的アジュバントをコードする核酸をBKVポリペプチドコード配列と同じベクターにクローニングしてもよく、同時投与のために1種類または複数種の別々のベクターにクローニングしてもよい。

【0135】

1つの態様において、ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドをコードする核酸は細胞に直接導入される。例えば、核酸を標準的な方法によって金マイクロスフェアに充填し、Helios(商標) Gene Gun(Bio-Rad, Hercules, CA)などの装置によって皮膚に導入することができる。核酸は、強力なプロモーターの制御下にあるプラスミドからなる「裸の」核酸でもよい。典型的に、DNAは筋肉に注射されるが、他の部位に直接注射されてもよい。注射のための投与量は、通常、約0.5 $\mu$ g/kg~約50mg/kgであり、典型的には、約0.005mg/kg~約5mg/kgである(例えば、米国特許第5,589,466号を参照されたい)。

【0136】

1つの非限定的な具体例において、静脈内投与用の薬学的組成物は、患者1人につき1日に約0.1 $\mu$ g~100mgの免疫原性ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(またはその断片)を含む。特に、薬剤が循環またはリンパ系に投与されるのではなく、体腔または臓器の内腔などの隔離された部位に投与されるのであれば、患者1人につき1日に0.1~約100mg

10

20

30

40

50

(例えば、約10mg～50mg)の投与量を使用することができる。他の非限定的な例において、薬学的組成物は、開示されたポリオーマウイルスキャプシドポリペプチドを含む1つまたは複数のVLP、例えば、約1～200 $\mu$ gのVLP(例えば、約10 $\mu$ g～200 $\mu$ g、約20 $\mu$ g～100 $\mu$ g、または約20 $\mu$ g～約40 $\mu$ g)を含む。

【0137】

一部の例では、前記組成物は、薬学的に許容される担体および/または1種類もしくは複数種のアジュバントを含む。投与可能な組成物を調製するための実際の方法は公知である、または当業者に明らかであり、Remington:The Science and Practice of Pharmacy, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA, 21<sup>st</sup> Edition (2005)のような刊行物に詳述されている。

10

【0138】

ポリオーマウイルスキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)、ポリペプチドを含むVLP、またはポリペプチドをコードする核酸の投与は連続してもよく、同時(同時発生)でもよく、実質的に同時でもよい。望ましい効果が得られる限り、連続投与は任意の時間で分けられてもよい。一部の例では、BKV-Iキャプシドポリペプチドまたはその断片およびBKV-IVキャプシドポリペプチドまたはその断片は対象に連続投与される。他の例において、BKV-Iキャプシドポリペプチドまたはその断片およびBKV-IVキャプシドポリペプチドまたはその断片は対象に同時投与される、または実質的に同時に投与される。

【0139】

一部の例では、治療介入または予防介入の有効性は、対象の血清抗体応答のBKV中和能力またはJCV中和能力を経時的に測定することによってモニタリングされる。BKVキャプシドタンパク質またはJCVキャプシドタンパク質による免疫などがあるが、これに限定されない初期治療介入に対する応答が十分でないことが見出された対象には、1つまたは複数の追加免疫量の治療介入が行われる。

20

【0140】

本明細書に記載の組成物の複数回投与も意図される。対象によって必要および許容される投与量および頻度に応じて、単回投与または複数回投与の組成物が投与される。1つの態様において、投与量はポラスとして1回投与されるが、別の態様では、治療結果が得られるまで定期的に適用することができる。1つの態様において、用量は、許容できない毒性を対象に生じることなくBKVおよび/またはJCVの症状または徴候を治療または寛解するのに十分である。別の態様において、用量は、後にBKVに曝露された時にBKV感染を阻害するのに十分である。他の態様において、用量は、後にJCVに曝露された時にJCV感染を阻害するのに十分である。さらなる態様において、用量は、BKV潜伏感染のある対象においてBKV症状を阻害するのに十分である。別の態様において、用量は、JCV潜伏感染のある対象においてJCV症状を阻害するのに十分である。全身投与または局所投与を利用することができる。

30

【0141】

VI. ポリオーマウイルスに対する免疫応答をモニタリングする方法

例えば、ポリオーマウイルスへの曝露(もしくは潜在的な曝露)の後に、またはポリオーマウイルスに対する免疫の後に、ポリオーマウイルスに対する免疫応答をモニタリングする方法も本明細書において開示される。一部の例では、前記方法は、少なくとも1種類の単離されたBKVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)またはBKVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を含む免疫原性組成物が投与された対象においてポリオーマウイルス抗体の存在を検出する工程を含む。他の例において、前記方法は、少なくとも1種類の単離されたJCVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)またはJCVキャプシドポリペプチドをコードする核酸を含む免疫原性組成物が投与された対象においてポリオーマウイルス抗体の存在を検出する工程を含む。

40

【0142】

一部の例では、前記方法は、対象に由来する試料(例えば、血液試料または血清試料)中のポリオーマウイルス抗体(例えば、中和抗体)の存在を検出する工程を含む。ポリオーマ

50

ウイルス抗体には、BKV-I抗体(例えば、BKV-Ia抗体、BKV-Ib2抗体、および/もしくはBKV-Ic抗体)、BKV-II抗体、BKV-III抗体、BKV-IV抗体(例えば、BKV-IVb1抗体および/もしくはBKV-IVc2抗体)、またはJCV抗体の1つまたは複数が含まれる。一部の例では、抗体は中和抗体である。一部の非限定的な例において、抗体は、BKV-Ia中和抗体、BKV-Ib2中和抗体、またはBKV-IV中和抗体である。ポリオーマウイルスに対する免疫応答のモニタリングによって、例えば、(例えば、前記のように)免疫原性組成物を投与した後に、1種類または複数種のポリオーマウイルスに対する免疫応答(例えば、防御免疫応答)を対象が発生したかどうか分かる。ポリオーマウイルスに対する免疫応答のモニタリングによって、臓器移植または免疫抑制療法後に1種類または複数種のポリオーマウイルス(例えば、BKV-Iおよび/またはBKV-IV)について対象が血清転換したかどうか分かる。一部の例では、対象に由来する複数の試料が、抗体の存在について、ある期間にわたって、例えば、免疫原性組成物の投与、臓器移植、または免疫抑制療法開始の前、およびこれらの後の時点で(例えば、1週間後、2週間後、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後、9ヶ月後、1年後、またはそれより後に)試験される。

10

## 【0143】

試料中の抗体を検出するための方法は当業者に公知である。このような方法には、ELISA、免疫蛍光アッセイ、ラジオイムノアッセイ、および微量定量凝集法(micro-agglutination test)が含まれるが、これに限定されない。一部の例では、前記方法は、対象に由来する試料中の中和抗体(例えば、BKV血清型特異的中和抗体)の存在を検出する工程を含む。一部の例では、中和抗体を検出するためのアッセイには、プラーク減少中和試験、細胞死滅、およびレポーターアッセイが含まれる。

20

## 【0144】

特定の例において、中和抗体がレポーターアッセイを用いて検出される。BKVレポーターベクターまたはJCVレポーターベクター(シュードビリオンとも知られる)は、レポータープラスミドを、BKV(例えば、BKV-I、BKV-II、BKV-III、もしくはBKV-IV)またはJCVキャプシドポリペプチド(例えば、VP1、VP2、および/またはVP3)を発現する細胞(例えば、293細胞、例えば、BKVの場合は293TT細胞もしくは293FT細胞またはJCVの場合はSVG細胞)にパッケージングすることによって生成される。次いで、レポーターベクター粒子は単離され、対象に由来する血清の段階希釈液(例えば、1:100~1:2.6x10<sup>7</sup>の一連の4倍希釈液または1:100~1x10<sup>7</sup>の一連の10倍希釈液)で処理される。次いで、血清/レポーターベクター混合物は、新鮮な細胞(例えば、BKVの場合、293細胞、またはJCVの場合、SVG細胞)に、ある期間(例えば、72時間)適用される。次いで、細胞培養物は、レポーターベクターにパッケージングされたレポータープラスミドによってコードされるレポータータンパク質の産生についてアッセイされる。(例えば、対照、例えば、血清のない対照と比較した)レポーターベクター活性の減少は試料中の中和抗体の存在を示す。一例では、レポータープラスミドは、標的細胞における形質導入されたプラスミドの複製増幅を媒介することができるSV40複製起点を有する。具体例では、レポーターベクターはphGluc(ヒト伸長因子1 プロモーターの制御下にあるガウシア・プリンセプス(Gaussia princeps)ルシフェラーゼ)であり、活性はガウシアルシフェラーゼ基質(New England Biolabs)を用いて検出される。Pastrana et al., PLoS Pathogens 5(9):e1000578, 2009を参照されたい(参照により本明細書に組み入れられる)。当業者であれば、緑色蛍光タンパク質、-ガラクトシダーゼ、アルカリホスファターゼなどの、中和抗体アッセイにおいて使用されるさらなるレポーターを選択することができる。

30

40

## 【0145】

本開示は以下の非限定的な例によって例示される。

## 【実施例】

## 【0146】

実施例1

材料および方法

マウス:

50

8週齢雌BALB/cAnNCrマウスの皮下に、完全フロイントアジュバント(CFA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)に溶解した5 $\mu$ gのBKV-IまたはBKV-IVウイルス様粒子(VLP)で1回、免疫した。免疫して4週間後に血清を入手した。米国立癌研究所の施設ガイドラインに従って動物を病原体フリー条件に保った。

【0147】

血清:

ワシントン大学医学部「成人腎臓移植レシピエントにおけるシクロスポリン対タクロリムスの無作為化前向き対照臨床試験および薬剤経済学試験(Randomized Prospective Controlled Clinical and Pharmacoeconomic Study of Cyclosporine vs. Tacrolimus in Adult Renal Transplant Recipients)」からの108人の腎臓移植対象に由来する試料を使用した。この試験からの患者および臨床プロトコルは以前に詳述されている(Bohl et al., Am. J. Transplant. 5:2213-2221; Randhawa et al., Clin. Vaccine Immunol. 15:1564-1571, 2008)。患者に免疫抑制レジメンを与えた。ウイルス血症が検出されれば免疫抑制レジメンを中断した。移植して約1週間後、4週間後、12週間後、26週間後、および52週間後に血清試料を収集した。収集期間の間に、どの患者もPVANに罹患していることが観察されなかった。米国血漿献血センター(plasma donation center)に来院した健常対象に由来する血清は以前に詳述されている(Pastrana et al., PLoS Pathog. 5:e1000578, 2009)。

【0148】

VLPおよびレポーターベクター(シュードビリオン):

以前に述べられたようにBKVレポーターベクターを作製した(Pastrana et al., PLoS Pathog. 5:e1000578, 2009)。BKV-Iレポーターベクターを、プラスミドpCAG-BKV(Nakanishi et al., Virology 379:110-117, 2008)を用いて生成した。プラスミドpCAG-BKVはBKV分離株KOM-5のキャプシドタンパク質(SEQ ID NO:1~3)をコードする。KOM-5はBKV I型サブタイプb-1(Ib-1)遺伝子型(Nishimoto et al., J. Mol. Evol. 63:341-352, 2006)として分類され、Lipofectamine 2000(Invitrogen, Carlsbad, CA)を用いて293TT細胞(Buck et al., J. Virol. 78:751-757, 2004)にトランスフェクトされた。次いで、トランスフェクションして48時間後に、細胞をダルベッコリン酸緩衝食塩水(DPBS)に $>1 \times 10^8$ 細胞/mlで懸濁し、0.5% Triton X-100、25mM硫酸アンモニウム(1Mストックから希釈し、pH9に調整した)、およびRNase A/TI カクテル(Ambion, Austin, TX)を添加することによって溶解した。キャプシドを成熟するために溶解産物を37 $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートし、次いで、5,000xgで10分間2回、回転させることによって清澄化した。回転の間に溶解産物を穏やかに攪拌した。清澄化された上清からレポーターベクター粒子を27-33-39%イオジキサノール(OptiPrep(登録商標), Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)段階勾配(Buck and Thompson, Curr. Protoc. Cell Biol. Chapter 26, Unit 26.21, 2007)に通して精製した。

【0149】

BKV-IV粒子の場合、BKV分離株A-66H(サブタイプIV-c2; Zhong et al., J. Gen. Virol. 90:144-152, 2009)の配列を用いて、VP1、VP2およびVP3遺伝子(SEQ ID NO:39~41)の合成コドン改変バージョンを設計した。このコドン改変遺伝子はBlue Heron Biotechnology (Bothell, WA)によって合成され、Gateway(Invitrogen)によって適合された哺乳動物発現プラスミドpGwf(VP1用)またはpGf(VP2およびVP3用)(Buck et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:1516-1521, 2006)にクローニングされた。さらなる一対のプラスミドpwB2bおよびpwB3bを、(それぞれ)BKV-IV VP2遺伝子またはVP3遺伝子をpwBのSV40プロモーターによって動く発現カセットに導入することによって作製した。BKV-IVレポーターベクターを生成するために、細胞をpwB2b、pwB3b、ph2b、ph3b、およびpGlucと2:2:1:1:1の比でコトランスフェクトした。コトランスフェクション混合物においてph2bもph3bもなく生成された最初の粒子ストックは、十分でないVP2/3占有率および比較的十分でない感染性を示すように見えた。BKV-IVレポーターベクターのトランスフェクション、収集、および精製はBKV-Iレポーターベクターの生成の場合と同じであった。

【0150】

VLPを作製するために、293TT細胞を、レポータープラスミドなしでpCAG-BKV(BKV-I)ま

10

20

30

40

50

たはpwB2bおよびpwB3bの混合物(BKV-IV)でトランスフェクトした。トランスフェクションして2日後に、細胞を、25mM硫酸アンモニウム、Benzonase(Sigma-Aldrich)、Plasmid Safe(Epicentre, Madison, WI)、および1.2U/mlノイラミニダーゼV(Sigma-Aldrich, カタログ番号N2876)を添加したDPBSに溶解した0.5% Triton X-100で溶解した。溶解産物を37で一晩インキュベートし、次いで、0.85M NaClに調整し、前記のように清澄化し、OptiPrep(登録商標)勾配による精製に供した。

#### 【 0 1 5 1 】

ELISA:

Immulon(商標)H2Bプレート(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)を、PBSに溶解した15ng/ウェルのVLPで一晩コーティングした。1%脱脂粉乳を含むPBS(プロット)を用いて、軌道回転(orbital rotation)しながら、コーティングされたプレートを室温で2時間ブロックした。マウスおよび健常ヒト対象に由来する血清をプロットで段階希釈し、軌道回転しながら、ブロックされたプレート上で室温で1時間インキュベートした。PBSで洗浄を行った。プロットで1:7500に希釈した西洋ワサビペルオキシダーゼ結合ヤギ抗マウスIgG(BioRad)またはロバ抗ヒトIgG(Jackson ImmunoResearch, Wes Grove, PA)を用いて、結合血清を検出した。プレートを、ABTS(2,2-アジノ-ジ-[3-エチルベンズチアゾリンスルホン酸)基質(Roche Applied Science, Indianapolis, IN)とインキュベートし、吸光度を405nmで読み取り、参照値を490nmで読み取った。有効濃度10%(EC<sub>10</sub>)を、Prism(登録商標)ソフトウェア(GraphPad Software, La Jolla, CA)を用いて計算して、それぞれの段階希釈血清試料のOD値に曲線をフィットさせた。それぞれの応答曲線の上部は、強力に反応した血清のプラトー最大(plateau maximum)(Bmax)計算値の平均に基づいて限定された。EC<sub>10</sub>値を0.2のODカットオフ値に匹敵すると考えることができるように、典型的に、Bmax値は約2.0のOD値であった。

#### 【 0 1 5 2 】

中和アッセイ:

以前に報告されたように中和アッセイを行った(Pastrana et al., PLoS Pathog. 5:e1000578, 2009)。簡単に述べると、293TT細胞を3x10<sup>4</sup>細胞/ウェルの密度で播種し、3~5時間、附着させた。マウスおよびヒト対象に由来する血清を段階希釈し、腎臓移植患者に由来する血清を4つの異なる希釈度:1:100、1:500、1:5,000、および1:50,000で別々のアッセイにおいて試験した。希釈は、細胞培地(25mM HEPES、10%熱失活胎仔ウシ血清、1%MEM非必須アミノ酸、1%Glutamax(商標)サプリメント、および1%抗生物質-抗真菌剤を添加した、フェノールレッドを含まないDMEM。全てInvitrogenから入手)に溶解して行った。次いで、24μlの希釈血清を96μlの希釈レポーターベクターストックと混合し、4で1時間、置いた。100μlのこの混合物と細胞を72時間インキュベートした。調整上清(conditioned supernatant)(25μl)を収集して、白色96ウェルルミノメトリー(luminometry)プレート(Perkin Elmer, Waltham, MA)に入れた。BMG Labtech Polarstar Optimalミノメーターを用いたルミノメトリーの直前にガウシアルシフェラーゼアッセイキット基質(50μl, New England Biolabs, Ipswich, MA)を注入した。

#### 【 0 1 5 3 】

マウスおよび健常個体に由来する血清の場合、50%中和価(EC<sub>50</sub>)を用量反応曲線に基づいて計算した。最大値は「血清のない」対照ウェルの平均値に限定された。最小値は「レポーターベクターのない」対照ウェルの平均値に限定された。移植患者の場合、血清陽性および血清陰性の以下の判定基準を採用した。1:100希釈液が、少なくとも、血清のない対照条件に対してガウシアルシフェラーゼ活性(相対発光量、RLUで測定した)の95%低下(レポーターベクターの>95%中和)を媒介しなかった場合に登録時に血清を陰性とみなした。血清転換とは、当初の時点で血清陰性であったが、その後の任意の時点で1:500希釈度で血清が>95%中和を示した対象をいう。可能性のある低レベル交差型中和を説明する、血清転換のさらに厳密な定義は、BKV-IVの95%中和価がBKV-I中和価と1,000倍未満、異なるという条件を加えた。

#### 【 0 1 5 4 】

## 配列分析:

表3(下記)に示したBKV株からのVP1配列を、GenBank(Pastrana et al., PLoS Pathogens 8:e1002650, 2012;その全体が参照により本明細書に組み入れられる)からダウンロードした。ClustalWアラインメントを、Macベクターソフトウェアバージョン11.1.2とGonnetシリーズマトリックスを用いて行った。BKV VP1アミノ酸変化の構造モデリングを、JCVまたはSV40 VP1の配列をBKVとアラインメントし、その後にJCVまたはSV40 VP1 X線結晶構造(それぞれ、PDB IDアクセッション番号3NXDおよび1SVA)の中の関心対象の相同位置を検査することによって行った。構造検査をSwiss PDB Viewerを用いて行った。

【 0 1 5 5 】

## 実施例2

## マウス血清におけるBKV交差中和応答

本実施例は、BKV-I血清型またはBKV-IV血清型に由来するVLPで免疫されたマウスにおける血清学的交差反応性について述べる。

【 0 1 5 6 】

あるBKV型に対する反応性が交差反応抗体を生じるかどうか判定するために、最もよく見られる2つの血清型:BKV-I(BKV-Ib1分離株KOM-5)またはBKV-IV(BKV-IVc2分離株A-66H)に由来するVP1キャプシドタンパク質、VP2キャプシドタンパク質、およびVP3キャプシドタンパク質を含有するVLPでマウスを免疫した。フロイントアジュバントの存在下での単回皮下投与によって高力価応答が発生した。ELISAによって測定された時に、1匹を除く全てのマウスが9000~110,000のBKV-Iに対する力価で応答した(図1、上パネル)。BKV-IV免疫マウスにおける応答も類似し、力価は13,000~130,000であった。血清は非コグネイトBKVに対して様々な量の交差反応性を示した。同種力価と異種力価との比の平均は、BKV-Iで免疫されたマウスについては21、BKV-IVで免疫されたマウスについては110であった(図1、下パネル)。この計算のために非応答マウスを排除した。この時、分母は真の力価ではなく、任意に25または最低試験濃度に設定された。

【 0 1 5 7 】

交差中和応答に関してより多くの情報を得るために、レポーターベクターベースの中和アッセイも利用した。これらの組換え産生系によって、他の方法では培養できない遺伝子型IおよびIVのBKV初代分離株のVP1/2/3キャプシドタンパク質からなる感染キャプシドを作製することが可能になった。レポーターベースアッセイを用いて、BKV-IまたはBKV-IVをワクチン接種したマウスに由来する血清の中和能力を測定した。中和アッセイBKV-IはELISAと比較した時に、血清力価の検出について広範囲の線形範囲を有することが示されている(Pastrana et al., PLoS Pathog. 5:e1000578, 2009)。パピローウイルスの状況でも同様の中和アッセイが、改善した特異性を示した(Pastrana et al., Virology 321:205-216, 2004)。中和アッセイは、ELISAと比較してかなり大きな程度のBKV型特異性を示した。BKV-I免疫マウスの場合、同種力価は1100~3,000,000であった(図1、中央パネル)。ELISAでは非反応性であったマウスが1100の力価を示し、これは、BKV-I力価が低い次のマウスの1/55であった。BKV-IVで免疫されたマウスの力価は17,000~600,000であった。同種力価と異種力価との比は、BKV-Iで免疫されたマウスについては910、BKV-IVで免疫されたマウスについては620であった。ELISA値と中和アッセイ値とを比較したものを図2に示した。

【 0 1 5 8 】

追加免疫ワクチン接種が2種類のBKV型の交差中和の程度を変え得る可能性を試験するために、初回刺激の1ヶ月後に、別の用量のコグネイトVLPを(不完全フロイントアジュバントに溶解して)マウスに投与した。初回刺激投与後、合計2ヶ月、血清学的検査を繰り返した。追加免疫された動物に由来する超免疫血清は最初の試験と同様の中和比を示した。

【 0 1 5 9 】

さらに、BKV-Ib2に基づくVLPでワクチン接種されたマウスは、コグネイトBKV-Ib2レポーターシュードウイルスを強く中和したが、BKV-Iaシュードウイルスを効果的に中和しな

10

20

30

40

50

い血清抗体応答があった(表2)。この結果から、遺伝子型BKV-IaおよびBKV-Ib2は別個の血清型であることが裏付けられる。

【0160】

(表2) BKV変種によるマウスの単回免疫

		中和価(log)						
		Ia	Ib2	Ic	II	III	IVb1	IVc2
免疫	Ia	6.6	3.9	3.6	2.7	陰性	2.6	2.0
	Ib2	陰性	4.5	3.6	陰性	陰性	2.3	陰性
	Ic	3.7	3.6	4.2	陰性	陰性	2.8	陰性
	II	2.1	3.5	3.2	4.5	3.5	3.6	3.1
	III	陰性	3.5	3.3	3.4	4.0	2.9	2.9
	IVb1	陰性	2.9	3.1	2.5	陰性	4.6	4.1
	IVc2	陰性	3.4	3.5	3.0	2.2	3.8	4.2
	7つ全ての型	4.0	3.9	4.1	4.6	4.0	4.7	4.7

【0161】

まとめると、データから、中和アッセイはELISAより大きな量的動的範囲を有し、BKV型特異的力価の識別において平均して約10倍優れていることが示唆される(図1、下パネル)。非中和性の交差反応抗BKV抗体がELISAアッセイにおいて検出されているが、中和アッセイにおいて検出されていない可能性がある。しかしながら、腎臓移植の状況では型特異的中和抗体の検出は意義深い。なぜなら、中和抗体しか新たな血清型の新規感染を阻害しない、または既にあるBKV血清型の潜伏感染を抑制しないからである。

【0162】

実施例3

健常成人におけるBKV力価

年齢中位数52.5歳の48人の健常成人に由来する血清のBKV-IおよびBKV-IVに対する反応性をELISAにおいて評価した。これらの個体における様々なBKV型の血清有病率を表3に示した。これらのうち83%がBKV-I血清陽性であった(図3、上パネル)。これは、文献において報告された数字と同様の数字である(Egli et al., J. Infect. Dis. 199:837-846, 2009; Knowles et al., J. Med. Virol. 71:115-123, 2003)。抗BKV-I血清の幾何平均力価は550であり、最低60~最高7100であった。対照的に、ボランティアの65%がBKV-IV血清陽性であったが、その幾何平均力価は範囲が似ている時でも(60~17,000)、150しかなかった。BKV-IV ELISAにおいて、500以上の力価を持つものは18%(9個の血清)しかなかったが、BKV-I ELISAでは54%(26個の血清)この力価に達した。BKV-I力価とBKV-IV力価との間には統計的に有意な相関関係もあった(スピアマン $r=0.69$ ,  $p<0.0001$ )。この相関関係と、低い幾何平均力価および以前の研究から6~7%のBKV-IV DNA有病率しか分かっていないという知識(Krumbholz et al., J. Med. Virol. 78:1588-1598, 2006)から、BKV-IV血清陽性の多くはELISAアッセイにおける交差反応性に起因することが分かる。従って、中和アッセイにおいて血清を評価した。

【0163】

(表3) 48人の健常個体におけるBKV型の血清有病率

	Ia	Ib2	Ic	II	III	IVb1	IVc2
有病率(%)	79	52	63	58	28	17	28

【0164】

中和アッセイのために、血清試料を1:100から始めて段階希釈した。これは、非特異的中和活性が一貫してない最も低いナイーブ(ウサギ)血清希釈度である(Pastrana et al., PLoS Pathog. 5:e1000578, 2009)。従って、この希釈度より低いEC<sub>50</sub>値は正確に計算することができず、EC<sub>50</sub>100を有すると任意に割り当てられた。3人のボランティア(6%)のみがBKV-I中和陰性であった。対照的に、37人(77%)がBKV-IV陰性であった(図3、下パネル)。BKV-Iの幾何平均EC<sub>50</sub>力価もBKV-IV力価(180)より有意に高かった(5100)。BKV-IV中和は完全に陰性であった、BKV-I力価が60,000を上回る個体が3人いた。ELISA結果とは対照的に、対象のBKV-I中和価とBKV-IV中和価との間には統計的に有意な相関関係がなかった。最低試験希釈度(1:100)でBKV-IVを検出可能に中和しなかった血清を有する、BKV-I中和価が>100,000の2人の個体があった。このことから、これらの個体は少なくとも1,000のBKV型特異性比を示したことが分かる。ELISA値と中和アッセイ値を比較したものを図4に示した。全体的に見て、ヒト血清結果はマウス血清を用いた観察を裏付けている。このことから、中和アッセイは、BKV-IおよびBKV-IVに対する曝露の血清学的分析のために有意に大きな程度感受性および特異性を提供することが示唆される。

10

【 0 1 6 5 】

実施例4

腎臓移植レシピエントにおけるBKV型特異的血清転換

108人の腎臓移植レシピエントの抗BKV-I力価および抗BKV-IV力価を求めた。移植して約1週間後、4週間後、12週間後、26週間後、および52週間後の時点で収集された保存された一組の血清を中和アッセイにおいて試験した。それぞれの試料を4つの希釈度:100、500、5,000、および50,000で試験した。この完全段階希釈の欠如のために、個々のデータポイントについて、さらに厳密な中和カットオフである95%を利用した。個々の対象の中和アッセイ結果を図5および図6に示した。登録時にBKV-I中和アッセイにおいて5人の患者(5%)が血清陰性であった(1:100血清希釈度で<95%中和)(表4)。対照的に、当初はBKV-IV血清陰性であった53人の対象(49%)があった。次いで、患者を血清転換について評価した。血清転換とは、当初の時点における血清陰性から、その後の任意の時点における1:500希釈度で少なくとも95%中和への変化と定義した。当初は血清陰性であった5人のうちBKV-I患者全員がBKV-Iに血清転換し、当初はBKV-IV血清陰性であった患者のうち23人(43%)がBKV-IVに血清転換した(表4)。

20

【 0 1 6 6 】

(表4) 腎臓移植レシピエントの血清転換

登録時に陰性 (全体に対する%)		血清転換 (当初陰性に対する%)		厳密な血清転換 (当初陰性に対する%)	
BKV-I	BKV-IV	BKV-I	BKV-IV	BKV-I	BKV-IV
5 (5%)	53 (49%)	5 (100%)	23 (43%)	5 (100%)	12 (23%)

30

【 0 1 6 7 】

免疫マウスに由来する血清のBKV型特異性比の平均は1359であった(図1)。同様に、2人のヒト対象は>1000の型特異性比を示した(図3)。BKV-IV中和が、BKV-Iによって誘発される高力価抗体応答の交差反応性に部分的に寄与している可能性を取り扱うために、血清転換のさらに厳密な定義を適用した。ここで、BKV-I力価とBKV-IV力価との比(または逆の場合も同様)は、明らかな型特異的血清転換事象とみなされるために少なくとも1つの時点で1000未満でなければならない。これらのさらに厳密な判定基準でも、BKV-IV陰性患者のうち12人(23%)が移植して1年以内に血清変換した(表2)。図1および図3に示した結果に基づいて、10以下のBKV型特異性比の出現は極めて希であるように思われる。BKV-I力価とBKV-IV力価との比が<10という極めて厳密な判定基準によって、5人の患者(5%)がBKV-IV特異的血清転換となった。

40

【 0 1 6 8 】

平均して患者のBKV-I中和価およびBKV-IV中和価はいずれも腎臓移植後1年までにかなり増加した(図7)。場合によっては、力価の増加は、治験登録時に中程度の中和抗体価を示

50

した患者でも発生した(図5および図6)。

【 0 1 6 9 】

#### 実施例5

##### BKV VP1タンパク質の配列分析

GenBankを介して入手した同一でない完全長BKV VP1ペプチド配列をアラインメントした(図8)。アラインメントを作成するために利用したGenBankアクセッション番号を表5に示した。VP1アミノ酸配列に基づいてIaサブタイプとIb1サブタイプを区別することは不可能なので、BKV-Iaは遺伝子型Ia/Ib1を示し、BKV-Ibは遺伝子型Ib2を示す。VP1アミノ酸配列に基づいてBKV-IVサブタイプを区別することも不可能である。従って、BKV-IVは遺伝子型IV-b1/IV-c2を示す。

【 0 1 7 0 】

(表5) アラインメントされたBKV VP1配列のGenBankアクセッション番号

BKVタイプ	GenBank アクセッション番号	SEQ ID NO:
Ia	BAE96059	52
Ia	CAA40239	53
Ia	BAF02957	54
Ia	AAT47395	55
Ia	AAT47401	56
Ia	BAF42979	57
Ia	ABI94689	58
Ia	ABI94671	59
Ia	AAT47365	60
Ia	AAT47389	61
Ia	YP_717939	62
Ia	AAT47371	63
Ia	CAA24307	64
Ia	AAT47413	65
Ia	AAT47419	66

10

20

30

<b>BKVタイプ</b>	<b>GenBank アクセション番号</b>	<b>SEQ ID NO:</b>
Ia	BAF42937	67
Ia	ABI94725	68
Ia	AFA41877	69
Ia	AFA41907	70
Ia	AAT47425	71
Ia	AAT47431	72
Ia	CAA40243	73
Ia	AEK21505	74
Ib	ABI94623	75
Ib	AFA41920	76
Ib	ABI94611	77
Ib	BAF42907	78
Ib	ABD04662	79
Ib	ABI94713	80
Ib	CBX88302	81
Ib	AFA41880	82
Ib	BAF93325	83
Ib	CAA40247	84
Ib	CBX88314	85
Ib	ABI94617	86
Ib	BAF93319	87
Ib	AAT47347	88
Ib	BAF93283	89
Ib	BAF03085	90
Ib	AFA41909	91
Ib	BAF03097	92
Ib	ABI94695	93
Ic	BAE53660	94
Ic	BAE53648	95

10

20

30

40

BKVタイプ	GenBank アクセション番号	SEQ ID NO:
Ic	CAA40235	96
Ic	BAI43588	97
Ic	BAE53642	98
Ic	BAG75361	99
Ic	BAG75283	100
Ic	BAF76196	101
Ic	ABI94635	102
Ic	BAF02975	103
II	BAF42901	104
II	BAF42925	105
II	CAA79596	106
III	BAF03017	107
III	P14996	108
III	AEO89615	109
IV	BAF03115	110
IV	BAE53654	111
IV	BAF75138	112
IV	BAE96077	113
IV	BAG75277	114
IV	BAF75102	115
IV	BAF03029	116
IV	BAF75180	117
IV	AFA41889	118
IV	BAF75096	119
IV	BAF75114	120
IV	AFA41881	121
IV	AFA41883	122
IV	AFA41885	123
IV	BAG84476	124
IV	BAF03035	125

10

20

30

40

## 【 0 1 7 1 】

BKV-I コンセンサスに関して、BKV-IV 分離株は、様々な置換: E61N、N62D、F66Y、K69R、S71T、N74T、D75A、S77D、E82D、Q117K、H139N、I178V、F225Y、A284P、R340Q、K353R、およびL362Vを有する傾向がある。JCV(Neu et al., Cell Host Microbe 8:309-319, 2010

50

)およびSV40(Stehle et al., Structure 4:165-182, 1996)のX線結晶構造における相同位置への、これらのBKV-I/BKV-IV変種残基のマッピングから、位置117、225、284、および340を除いて、これらのBKV-I/BKV-IV変種残基はそれぞれキャプシドの外面に露出している可能性が高いことが示唆された。キャプソメアノブ(knob)間にある峡谷(canyon)の底に沿って露出している残基353および362を除いて、露出している変化は全てキャプソメアノブの頂端表面および頂端周縁部にある部位に位置する。変化の多くは、BKV感染侵入の間に受容体として役立つ細胞糖脂質の結合に関与すると予測された残基に隣接する(Dugan et al., J. Virol. 81:11798-11808, 2007; Low et al., J. Virol. 80:1361-1366, 2006)。このことは、BKV-I/BKV-IV変化によって、受容体結合位置の立体閉塞を介して、感染を中和する抗体が認識するエピトープが変化するという考えと一致する。

10

## 【 0 1 7 2 】

BKV-IとBKV-IVとの相違に加えて、いくつかの位置はBKV-Iサブタイプ間で型どおりに異なる。例えば、BKVサブタイプIb-2分離株は、サブタイプIaおよびIb-1に対してV42L、E82D、D175E、V210I、R340K、およびL362Vの相違を有する傾向がある。同様に、サブタイプIc分離株はE20D、F225L、およびR340Kの相違を有することが多い。これらの遺伝子型内-I表面変化は化学的にわずかであるが、理論に拘束されないが、これらの相違は中和抗体を回避するための選択圧を反映している可能性がある。

## 【 0 1 7 3 】

ヒト対象において、BKV-Ia中和抗体を持つ48人の対象のうち6人がBKV-Ib2分離株(SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を有するVP1ポリペプチドを含む)を中和できないことが見出された。Ia型およびIb2型の組換えキメラである変異体シュードウィルスの分析によって、Ib2分離株がIa中和抗体応答から回避するのを可能にする重要なアミノ酸残基が特定された。この変化はVP1 BCループ内にあり、E73KおよびE82D(IaからIb2への変化)を含んだ。いくつかの他のIb2変種および遺伝子型Ic BCループ変化はIa中和ヒト血清に対して部分的に耐性があった。これらのさらなる変種はE73Q、S77N、E82Q、またはこれらの変化の組み合わせを含んだ。これらの結果から、最適なBKVワクチンは、全てのBKV-1変種を中和できる抗体を誘発するために少なくともBKV-IaおよびBKV-Ib2のVP1ポリペプチドを含まなければならないことが示唆される。さらに、候補ワクチンの検証は、複数のBKV-Iサブタイプ(例えば、少なくともBKV-IaおよびBKV-Ib2サブタイプ)の中和のためにワクチン接種対象に由来する血清のスクリーニングを含まなければならない。

20

30

## 【 0 1 7 4 】

## 実施例6

## さらなるBKV VP1ポリペプチド

さらなるBKV血清型がまだ発見されておらず、完全に配列決定されていない可能性がある。GenBankアクセス番号CCF70703~CCF70735は、BCループおよびEFループを含むVP1タンパク質の一部を報告する。これらの配列の一部は、以前は知られていなかったBCループ変化およびEFループ変化を含む。場合によっては、BKV-IがBKV-IVと異なる以上に、これらの配列断片は、公表された全てのBKV VP1配列と異なる(図9)。これらのさらなる配列とBKV-Ia、BKV-Ib、BKV-Ic、BKV-II、BKV-III、BKV-IVb1、およびBKV-IVc2 VP1配列とのアラインメントに基づいて(図10)、アクセス番号CCF70725(SEQ ID NO:154)、CCF 70727(SEQ ID NO:153)、CCF70729(SEQ ID NO:158)、およびCCF70730(SEQ ID NO:157)は特異なBKV血清型の一部であるように見える。アラインメントを作成するのに利用したGenBankアクセス番号を表6に示した。最近報告されたこれらの配列の血清学的特徴は、例えば、これらのVP1配列の残りを単離し、実施例1および実施例2に記載の方法を使用することによって決定することができる。これらのさらなるBKV VP1ポリペプチドを含むポリペプチドを、開示された方法および組成物において利用することができる。場合によっては、開示された方法および組成物にはSEQ ID NO:126~158の1つまたは複数が含まれる。

40

## 【 0 1 7 5 】

(表6)さらなる部分的BKV VP1配列のGenBankアクセス番号

50

GenBank アクセション番号	SEQ ID NO:
CCF70703	126
CCF70704	127
CCF70705	128
CCF70706	129
CCF70707	130
CCF70708	131
CCF70709	132
CCF70710	133
CCF70711	134
CCF70712	135
CCF70713	136
CCF70714	137
CCF70715	138
CCF70716	139
CCF70717	140
CCF70718	141
CCF70719	142
CCF70720	143
CCF70722	144
CCF70723	145
CCF70724	146
CCF70726	147
CCF70728	148
CCF70732	149
CCF70733	150
CCF70734	151
CCF70735	152
CCF70727	153

10

20

30

40

GenBankアクセッション番号	SEQ ID NO:
CCF70725	154
CCF70731	155
CCF70721	156
CCF70730	157
CCF70729	158

10

## 【 0 1 7 6 】

## 実施例7

## BKVに対する免疫応答を誘発する方法

本実施例は、対象において1種類または複数種のBKV血清型に対する免疫応答を誘発するための例示的な方法を提供する。しかしながら、当業者であれば、対象においてBKVに対する免疫応答を首尾良く誘発するために、これらの特定の方法から逸脱した方法も使用できることを認めるであろう。

## 【 0 1 7 7 】

特定の例において、前記方法は、BKVに対する増強された免疫を必要とする対象を選択する工程を含む。BKVに対する増強された免疫を必要とする対象には、免疫無防備状態の個体、および臓器移植、例えば、腎臓移植もしくは骨髄移植を受けた個体または臓器移植、例えば、腎臓移植もしくは骨髄移植の候補である個体が含まれる。BKVに対する増強された免疫を必要とする対象には、少なくとも1種類のBKV血清型が血清陰性の個体も含まれる。

20

## 【 0 1 7 8 】

治療のために選択された対象には、治療的有効量の開示された免疫原性組成物が投与される。一部の例では、治療的有効量の1種類もしくは複数種のBKV-Iキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)またはBKV-Iキャプシドポリペプチドをコードする1種類もしくは複数種のポリヌクレオチド、および治療的有効量の1種類もしくは複数種のBKV-IVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)またはBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードする1種類もしくは複数種のポリヌクレオチドは、約0.1 μg ~ 10mgのそれぞれのBKVキャプシドポリペプチドもしくは前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたは五量体の場合は1つの型につき約20 ~ 40 μgのVLPの用量で対象に投与される。しかしながら、当業者であれば特定の用量を求めることができる。開示されたBKVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)またはBKVキャプシドポリペプチドもしくはその断片をコードするポリヌクレオチドを、1用量またはいくつかの用量で、例えば、連続して、毎日、毎週、または毎月、投与することができる。連続投与された時に投与を隔てる時間は秒、分、時間、日、さらには週でもよい。

30

## 【 0 1 7 9 】

皮下投与または筋肉内投与を含むが、これに限定されない投与方法を当技術分野において使用することができる。対象に投与される薬剤の量は臨床家によって決定することができる。治療される特定の対象に左右され得る。例示的な具体例が本明細書において示される(が、本開示はこのような用量に限定されない)。

40

## 【 0 1 8 0 】

免疫原性組成物の投与後の時点において、対象における免疫応答の発生(例えば、中和抗体などの抗体の発生)がモニタリングされる。試料(例えば、血液試料または血清試料)の中の抗体を検出する方法には、当技術分野において公知の方法、例えば、ELISA法が含まれる。一部の例では、BKV-Iaおよび/またはBKV-Ib1サブタイプに対する中和抗体の発生ならびにBKV-Ib2サブタイプに対する中和抗体の発生がモニタリングされる。

## 【 0 1 8 1 】

50

## 実施例8

## PVANを治療または阻害する方法

本実施例は、対象においてPVANを治療または阻害するための例示的な方法を提供する。しかしながら、当業者であれば、対象においてPVANを首尾良く治療または阻害するために、これらの特定の方法から逸脱した方法も使用できることを認めるであろう。

## 【0182】

特定の例において、前記方法は、PVANを有する、PVANを有すると考えられる、またはPVANを有するリスクがある対象を選択する工程を含む。PVANを有する、またはPVANを有すると考えられる対象には、 $>10$ 個の尿試料中封入体上皮細胞(「おとり細胞」)/10個の高倍率視野、 $>10^7$ BKVコピー/10mLの尿、または腎臓生検材料におけるウイルス変化の病理組織学的特定の対象が含まれる。PVANのリスクがある対象には、臓器移植(例えば、腎臓移植もしくは骨髄移植)を受けた対象または臓器移植(例えば、腎臓移植もしくは骨髄移植)の候補である対象、ならびに免疫無防備状態の個体が含まれる。一部の例では、腎臓移植候補である対象が選択される。選択される対象は、BKV-IV中和抗体を有さない対象でもよい。

## 【0183】

治療のために選択される対象には、治療的有効量の開示された免疫原性組成物が投与される。一部の例では、治療的有効量の1種類または複数種のBKV-IVキャプシドポリペプチドまたはBKV-IVキャプシドポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、約 $0.1\mu\text{g}\sim 10\text{mg}$ のそれぞれのBKV-IVキャプシドポリペプチドもしくはこのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの用量で、または五量体の場合は1つの型につき約 $20\sim 40\mu\text{g}$ のVLPで対象に投与される。しかしながら、当業者は特定の用量を決定することができる。開示されたBKV-IVキャプシドポリペプチド(もしくはその断片)またはBKV-IVキャプシドポリペプチドもしくはその断片をコードするポリヌクレオチドを、1用量またはいくつかの用量で、例えば、連続して、毎日、毎週、または毎月、投与することができ、移植前に少なくとも2週間で少なくとも1用量が投与される。連続投与された時に投与を隔てる時間は秒、分、時間、日、さらには週でもよい。

## 【0184】

皮下投与または筋肉内投与を含むが、これに限定されない投与方法を当技術分野において使用することができる。対象に投与される薬剤の量は臨床家によって決定することができる、治療される特定の対象に左右され得る。例示的な特定の量が本明細書において示される(が、本開示はこのような用量に限定されない)。

## 【0185】

免疫原性組成物の投与後の時点において、対象における免疫応答の発生(例えば、中和抗体などの抗体の発生)がモニタリングされる。試料(例えば、血液試料または血清試料)の中の抗体を検出する方法には、当技術分野において公知の方法、例えば、ELISA法が含まれる。免疫応答が検出された後に腎臓移植が行われる。対象はまた、例えば、尿または腎臓生検材料中のウイルスの存在を検査することによって、PVANの発生についてもモニタリングされる。

## 【0186】

## 実施例9

## 腎臓移植ドナーを特定する方法

本実施例は、腎臓移植ドナー、例えば、1種類または複数種のBKV型を中和することができる血清抗体を有さない個体を特定するための例示的な方法を提供する。しかしながら、当業者であれば、腎臓移植ドナーを首尾良く特定するために、これらの特定の方法から逸脱した方法も使用できることを認めるであろう。

## 【0187】

可能性のある腎臓移植ドナーとみなされた対象から血液試料を収集する。試料から血清を調製し、血清の段階希釈液を調製する(例えば、10種類の4倍段階希釈液は $1:100\sim 2.6\times 10^7$ であった)。希釈した血清を、ヒト伸長因子1 プロモーターの制御下でガウシア・プリ

10

20

30

40

50

ンセプスルシフェラーゼをコードするレポータープラスミドを有する希釈BKVレポーターベクターと混合し、氷上または4℃で1時間インキュベートする。次いで、ウイルス/血清混合物を、96ウェルプレートに3x10<sup>4</sup>細胞/ウェルでプレートした293TT細胞に添加する。3日後に、25µlの条件培地を収集し、ルミノメトリープレートに移す。ガウシアルシフェラーゼ基質(50µlのNEBガウシアルシフェラーゼアッセイキット基質)を添加し、ルミノメーターを用いて発光を検出する。血清希釈シリーズの有効濃度50%(EC<sub>50</sub>)を計算する。10<sup>0</sup>未満のEC<sub>50</sub>は、対象がBKV-IV中和抗体を有さないことを示す。BKV-IV中和抗体を有さない対象を腎臓移植ドナーとして選択する。

【0188】

候補腎臓移植レシピエントも前記のようにBKV-IV中和抗体の存在についてスクリーニングすることができる。BKV-IV中和抗体陰性の候補腎臓移植レシピエントを、BKV-IV中和抗体陰性の腎臓移植ドナーからの腎臓を受け入れる優れた候補とみなす。

10

【0189】

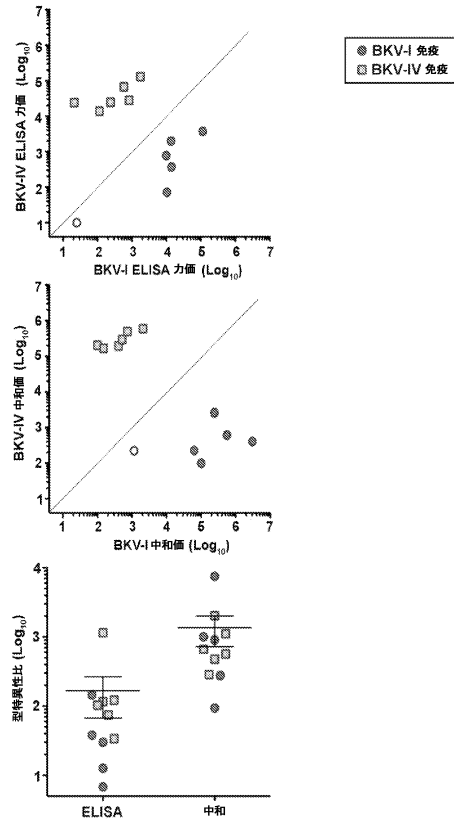
可能性のある腎臓移植ドナーおよび/またはレシピエントにおける他のBKV型特異的中和抗体の存在について同様のスクリーニングを行うことができる。特定の型特異的(例えば、BKV-I、BKV-II、またはBKV-III)中和抗体を有さない可能性のある腎臓移植ドナーを、腎臓移植ドナーとして、特に、同様に同じ型特異的中和抗体を有さない腎臓移植レシピエントのために特定および選択する。

【0190】

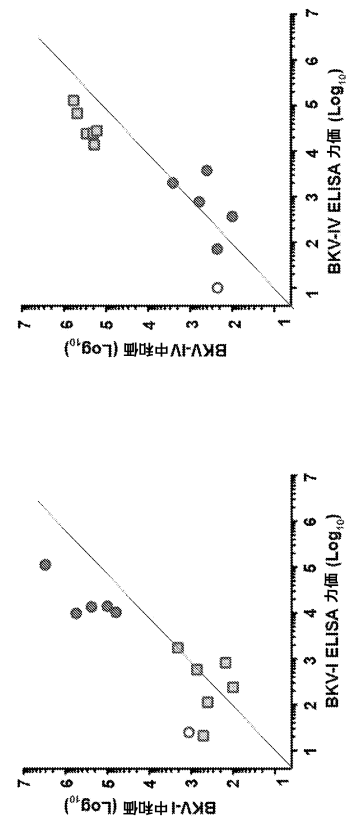
本開示の原理が適用され得る、可能性のある多くの態様を考慮すれば、例示された態様は例にすぎないことが認められるはずであり、本発明の範囲を限定するものとみなすべきではない。そうではなく、本発明の範囲は以下のクレームによって定義される。従って、本発明者らは、これらのクレームの範囲および精神の内にある全てを本発明者らの発明として主張する。

20

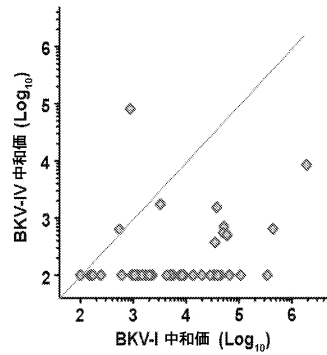
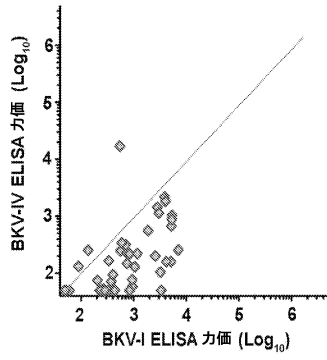
【図1】



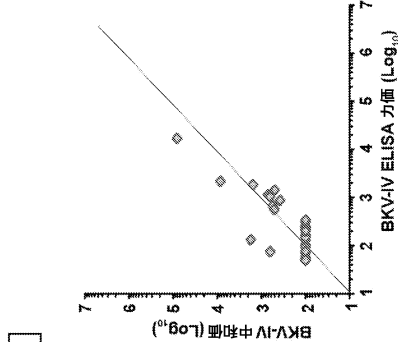
【図2】



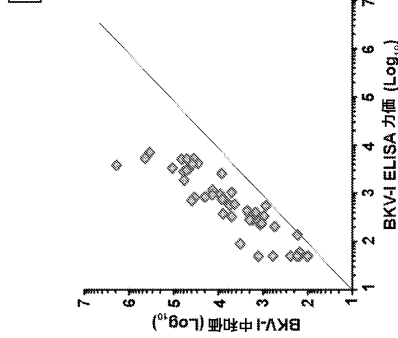
【 図 3 】



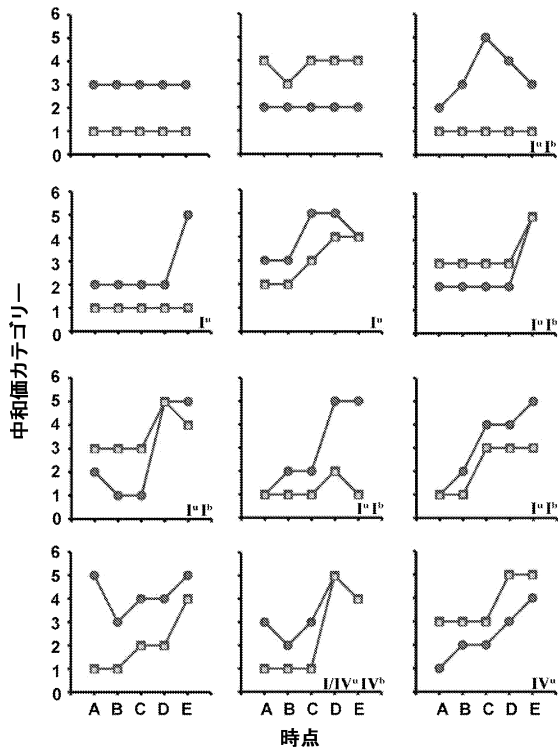
【 図 4 】



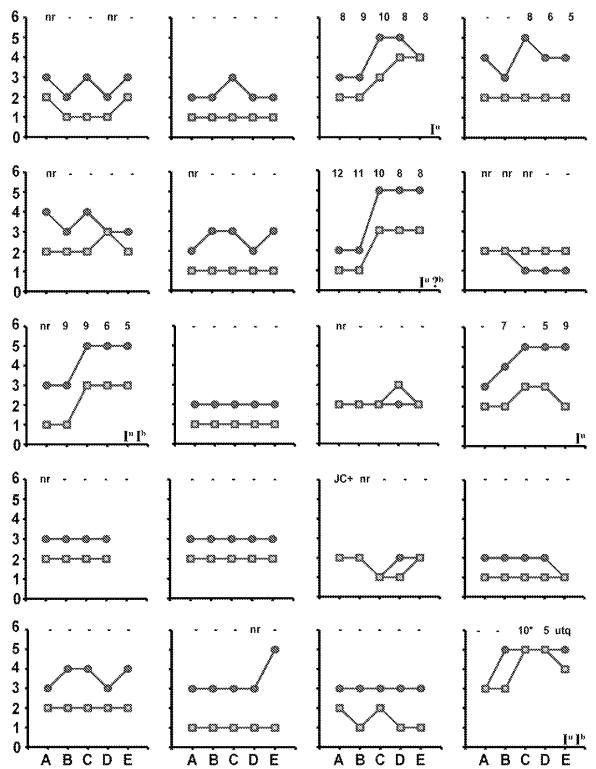
◆ 正常口上血清



【 図 5 】

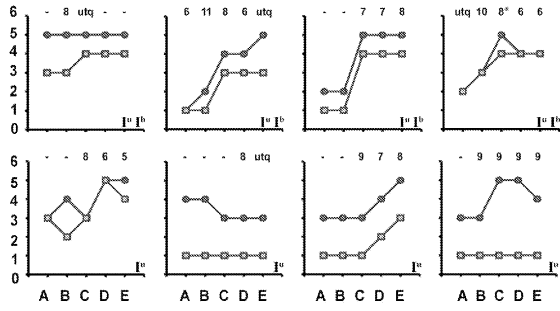


【 図 6 - 1 】

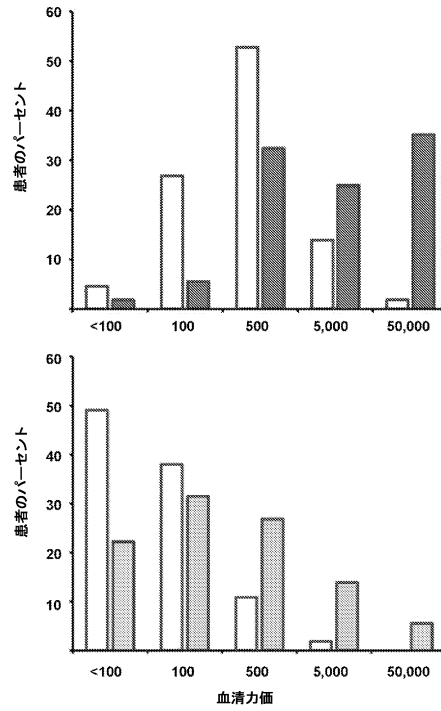




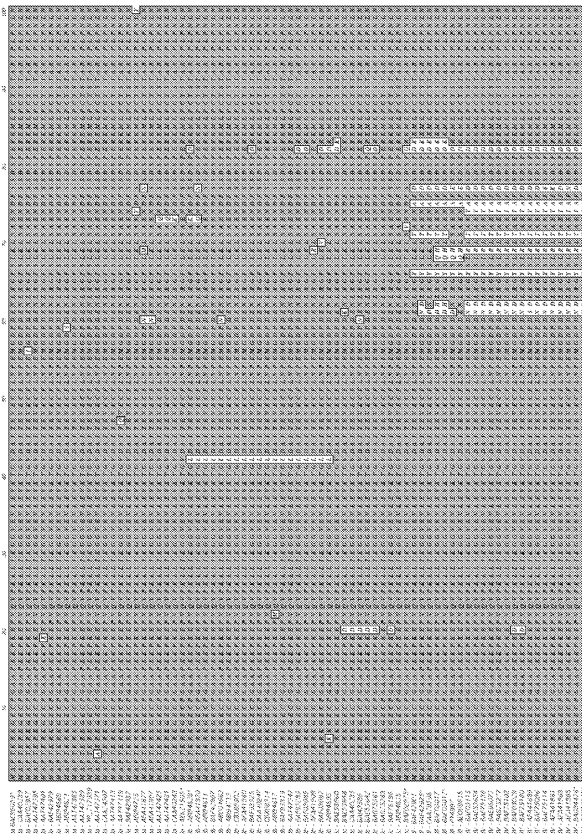
【図 6 - 6】



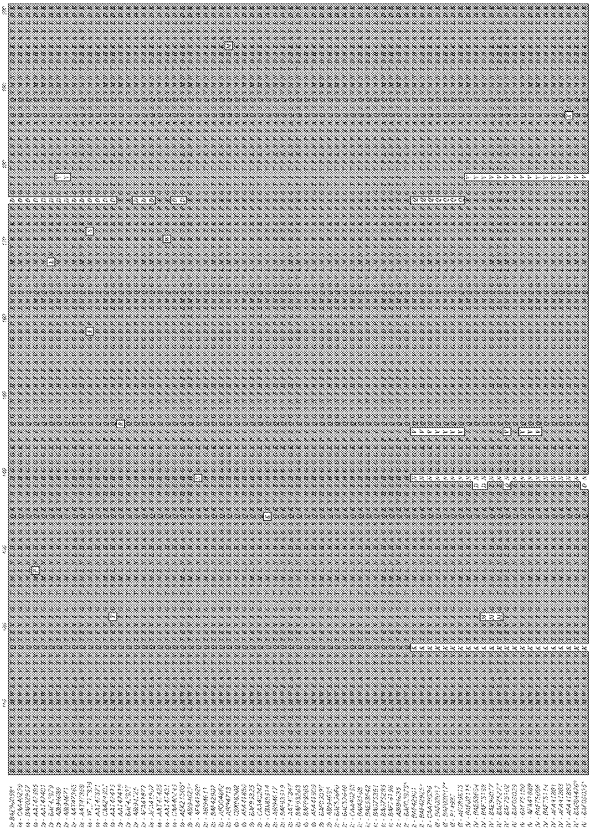
【図 7】



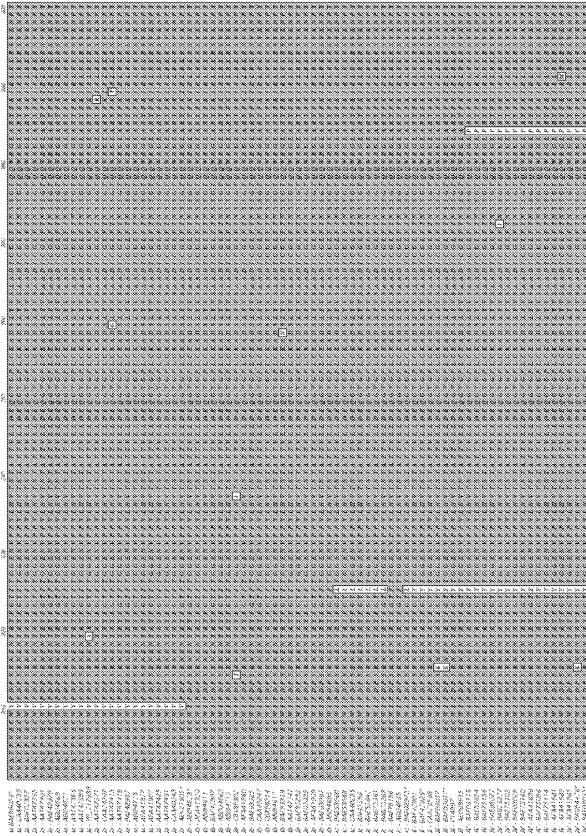
【図 8 - 1】



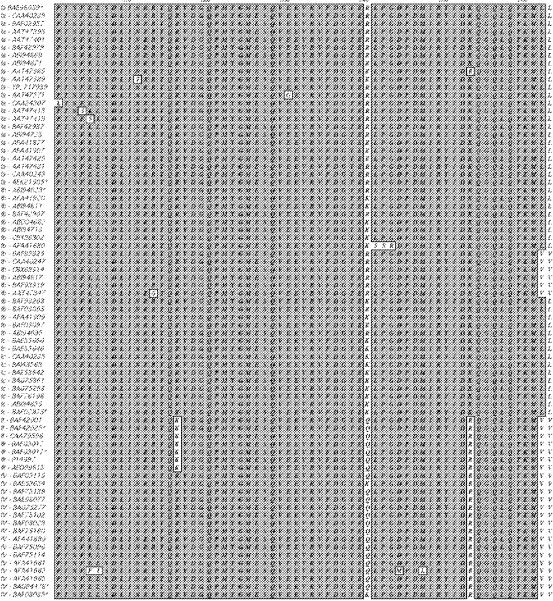
【図 8 - 2】



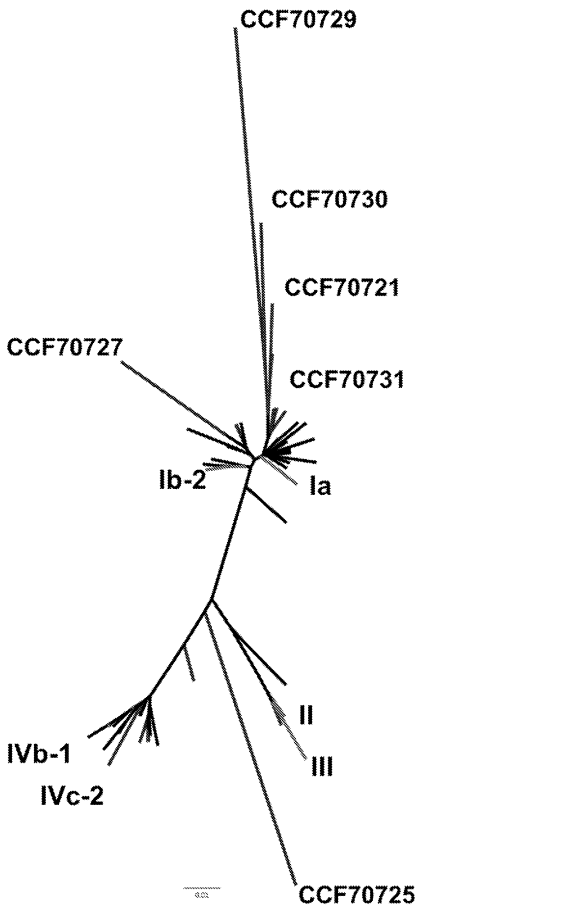
【 図 8 - 3 】



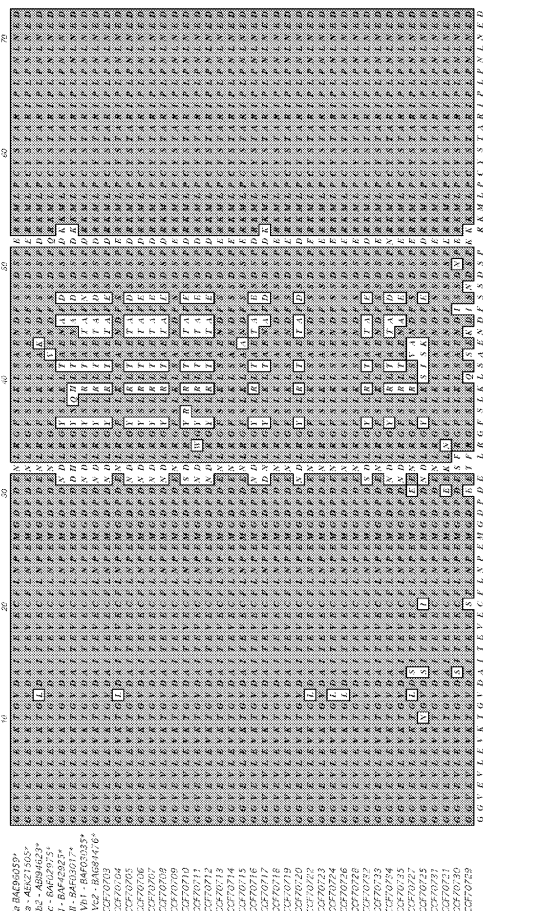
【 図 8 - 4 】



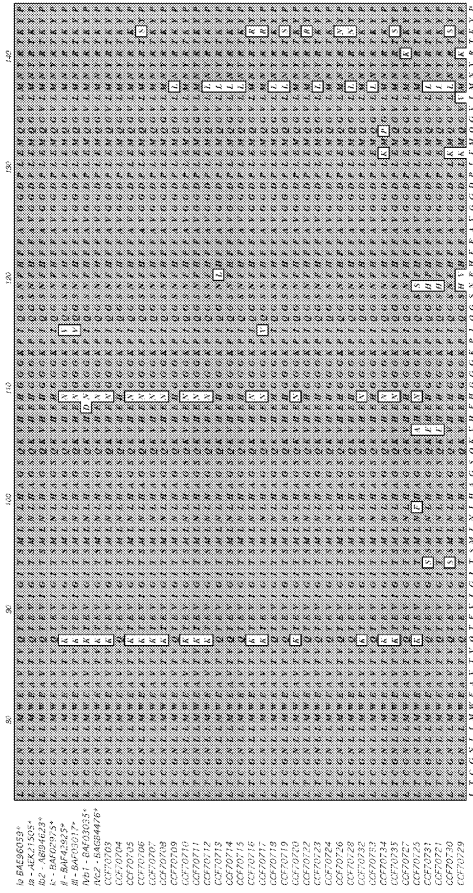
【 図 9 】



【 図 10 - 1 】



【 図 10 - 2 】



【 配列表 】

000603065000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 48/00 (2006.01)		A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)		A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 39/39 (2006.01)		A 6 1 K 39/39	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)		A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 13/10 (2006.01)		A 6 1 P 13/10	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/53	N
C 0 7 K 14/025 (2006.01)		C 0 7 K 14/025	
C 0 7 K 16/08 (2006.01)		C 0 7 K 16/08	

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 バック クリストファー ビー .

アメリカ合衆国 メリーランド州 ベセスダ リンデン アベニュー 9 6 1 7

(72)発明者 パストラナ ダイアナ ブイ .

アメリカ合衆国 バージニア州 アーリントン ノース リバー ストリート 4 0 1 9

審査官 近藤 政克

- (56)参考文献 RANDHAWA PARMJEET S , POLYOMAVIRUS BK NEUTRALIZING ACTIVITY IN HUMAN IMMUNOGLOBULIN PREPARATIONS , TRANSPLANTATION [ONLINE] , 2 0 1 0 年 6 月 2 7 日 , V89 N12 , U R L , <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3075564/pdf/nihms283075.pdf>
- SHARMA AJAY P , INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN AS RESCUE THERAPY FOR BK VIRUS NEPHROPATHY , PEDIATRIC TRANSPLANTATION , 2 0 0 9 年 2 月 , V13 N1 , P123-129
- Virus Research , 2 0 1 0 年 , 149(2) , p.190-196
- TROND FLAEGSTAD , NEUTRALIZATION TEST FOR BK VIRUS: PLAQUE REDUCTION DETECTED BY IMMUNO PEROXIDASE STAINING , JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY , 1 9 8 6 年 7 月 1 日 , V19 N3 , P287-296
- SHAH KEERTI , SEROLOGICAL INVESTIGATION OF BK PAPOVAVIRUS INFECTION IN PREGNANT WOMEN AND THEIR OFFSPRING , INFECTION AND IMMUNITY , 1 9 8 0 年 1 0 月 1 日 , V30 N1 , P29-35

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 7 0 8 8

A 6 1 K	3 8 / 0 0
A 6 1 K	3 9 / 3 9
A 6 1 K	4 8 / 0 0
A 6 1 P	1 3 / 1 0
A 6 1 P	1 3 / 1 2
A 6 1 P	3 1 / 1 2
A 6 1 P	3 7 / 0 4
A 6 1 P	4 3 / 0 0
C 1 2 N	7 / 0 0
C 1 2 N	1 5 / 0 9
G 0 1 N	3 3 / 5 3
C 0 7 K	1 4 / 0 2 5
C 0 7 K	1 6 / 0 8

专利名称(译)	用于抑制多瘤病毒相关病症的方法和组合物		
公开(公告)号	<a href="#">JP6030650B2</a>	公开(公告)日	2016-11-24
申请号	JP2014521716	申请日	2012-07-17
[标]申请(专利权)人(译)	美国政府		
申请(专利权)人(译)	美国		
当前申请(专利权)人(译)	美国		
[标]发明人	バッククリストファービー パストラナダイアナブイ		
发明人	バック クリストファー ビー. パストラナ ダイアナ ブイ.		
IPC分类号	A61K31/7088 C12N15/09 C12N7/00 A61P37/04 A61P31/12 A61P43/00 A61K48/00 A61K38/00 A61K39/39 A61P13/12 A61P13/10 G01N33/53 C07K14/025 C07K16/08		
CPC分类号	A61K39/12 A61K2039/5258 A61K2039/55566 A61K2039/70 A61P13/10 A61P13/12 A61P31/12 A61P37/04 A61P43/00 C12N7/00 C12N2710/22023 C12N2710/22034 G01N33/56983 G01N2333/025 G01N2469/20 G01N2800/347 Y02A50/467 C12Q1/70		
FI分类号	A61K31/7088 C12N15/00.ZNA.A C12N7/00 A61P37/04 A61P31/12 A61P43/00.121 A61K48/00 A61K37/02 A61K39/39 A61P13/12 A61P13/10 G01N33/53.N C07K14/025 C07K16/08		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/508897 2011-07-18 US		
其他公开文献	JP2014525911A5 JP2014525911A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本文公开了引发针对多瘤病毒（例如，BKV血清型I（BKV-I），BKV血清型II（BKV-II），BKV血清型III（BKV-III）和/或BKV血清型IV（BKV）的免疫应答的方法。-IV））和治疗或抑制多瘤病毒相关病理学的方法（如多瘤病毒相关性肾病，BKV相关性出血性膀胱炎或JC病毒相关的进行性多灶性白质脑病；PML）。进一步公开了用于所公开方法的免疫原性组合物。还公开了选择器官移植供体和/或受体的方法，包括检测预期供体和/或受体是否具有BKV血清型特异性（例如BKV血清型IV特异性）中和抗体。

元のアミノ酸	保存的置換
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
His	Asn; Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile; Val
Lys	Arg; Gln; Glu
Met	Leu; Ile
Phe	Met; Leu; Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp; Phe
Val	Ile; Leu