

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-528960

(P2018-528960A)

(43) 公表日 平成30年10月4日(2018.10.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 Z	4 C 0 8 4
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	4 C 2 0 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 7	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 77 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-513440 (P2018-513440)	(71) 出願人	516365563
(86) (22) 出願日	平成28年9月16日 (2016.9.16)		ヘアレウ ホスピタル
(85) 翻訳文提出日	平成30年4月16日 (2018.4.16)		デンマーク国, ディケイ-2730 ヘア
(86) 国際出願番号	PCT/DK2016/050301		レウ, ヘアレウ リンベジ 75
(87) 国際公開番号	W02017/045691	(74) 代理人	100114775
(87) 国際公開日	平成29年3月23日 (2017.3.23)		弁理士 高岡 亮一
(31) 優先権主張番号	PA201570591	(74) 代理人	100121511
(32) 優先日	平成27年9月16日 (2015.9.16)		弁理士 小田 直
(33) 優先権主張国	デンマーク (DK)	(74) 代理人	100202751
			弁理士 岩堀 明代
		(74) 代理人	100191086
			弁理士 高橋 香元
		(72) 発明者	アンデルセン, マッズ ハルド
			デンマーク国, 2850 ネールム, ヘグ
			ンスヴェジ 61
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C-Cモチーフケモカイン22 (CCL22) またはこのフラグメントを含むワクチン組成物

(57) 【要約】

本開示は癌の免疫抑制におけるT細胞標的としてのCCL22に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

医薬品としての使用のための、

a) (i) SEQ ID NO: 12 もしくは SEQ ID NO: 15 の CCL22 または SEQ ID NO: 12 もしくは SEQ ID NO: 15 の CCL22 のアミノ酸の連続した配列を含む CCL22 の免疫原的に活性なペプチドフラグメント、

(ii) MHC クラス I 制限ペプチドフラグメントまたは MHC クラス II 制限ペプチドフラグメントである、CCL22 の免疫原的に活性なフラグメント、

(iii) (i) および (ii) に基づくポリペプチドの機能的ホモログであって、ここで前記機能的ホモログは SEQ ID NO: 12 もしくは SEQ ID NO: 15 と少なくとも 70% の配列同一性を共有し、および / または前記機能的ホモログは SEQ ID NO: 12 もしくは SEQ ID NO: 15 のアミノ酸の連続配列と同一の配列からなるが、ただし最大で 2 個のアミノ酸などの、最大で 1 個のアミノ酸などの、最大で 3 個のアミノ酸が置換されている免疫原的に活性なポリペプチドである機能的ホモログ

、

(iv) (i)、(ii) または (iii) に基づくポリペプチドのいずれかを含むポリペプチド、

(v) (i)、(ii) または (iii) に基づくポリペプチドのいずれかをコードする核酸、

の 1 つ以上、ならびに

b) アジュバント

を含む、ワクチン組成物。

【請求項 2】

前記免疫原的に活性なペプチドフラグメントが、SEQ ID NO: 12 もしくは SEQ ID NO: 15 の 5 ~ 24 個のアミノ酸の範囲で連続した配列、または SEQ ID NO: 12 もしくは SEQ ID NO: 15 と少なくとも 70% の配列同一性を共有する機能的ホモログからなる、請求項 1 に記載のワクチン組成物。

【請求項 3】

前記免疫原的に活性なペプチドフラグメントが、

a) SEQ ID NO: 12 または SEQ ID NO: 15 の 9 ~ 10 個のアミノ酸の連続した配列などの、SEQ ID NO: 12 または SEQ ID NO: 15 の 8 ~ 11 個のアミノ酸の範囲で連続した配列、または

b) SEQ ID NO: 12 または SEQ ID NO: 15 の 22 ~ 24 個のアミノ酸の連続した配列などの、SEQ ID NO: 12 の 20 ~ 25 個のアミノ酸の範囲で連続した配列、または

c) 最大で 2 個のアミノ酸が置換されている a) または b) の機能的ホモログ、を含むまたはこれらからなる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 4】

前記免疫原的に活性なペプチドが、配列 VXLVLLAVAY (SEQ ID NO: 16) を含み、ここで X はバリンおよびアラニンからなる群から選択され、かつ Y はイソロイシンおよびロイシンからなる群から選択される、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 5】

前記免疫原的に活性なペプチドが、表 1 に記載された配列を含むまたはこの配列からなり、ここで最大で 3 個、最大で 2 個などの、例えば最大で 1 個のアミノ酸が置換されている、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 6】

前記免疫原的に活性なペプチドが、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 および SEQ ID NO: 16 からなる群から選択される配

10

20

30

40

50

列を含むまたはこの配列からなる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 7】

前記免疫原的に活性なペプチドが、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCCL22の最大で100個の連続したアミノ酸またはその機能的ホモログからなり、ここでSEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15の最大で3個のアミノ酸が置換されている、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 8】

前記ワクチン組成物が、CCCL22の発現によって特徴付けられる臨床症状を有する個体に投与される場合、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCCL22またはそれらと少なくとも70%の同一性を共有する機能的ホモログを発現する癌および/または抗原提示細胞に対する免疫応答を誘発できる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

10

【請求項 9】

前記ワクチン組成物が、個体における細胞免疫応答を誘発できるおよび/またはTreg動員を抑制できる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 10】

前記細胞免疫応答が、CCCL22に対して特異的である、請求項9に記載のワクチン組成物。

【請求項 11】

前記医薬品が、癌の治療用である、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

20

【請求項 12】

前記医薬品が、感染症の治療用である、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 13】

以下の特性：

a) 臨床症状を有する個体のPBL集団におけるINF- γ 産生細胞を、ELISPOTアッセイによって測定されるときに 10^4 個のPBLあたり少なくとも1個の頻度で誘発できる、および/または

b) 腫瘍組織中でエピトープペプチドと反応性であるCTL(細胞毒性T細胞)のinsitu検出ができる、

30

c) インビボでCCCL22特異的T細胞の増殖を誘発できる、の少なくとも1つを有するMHCクラスI制限ペプチドを含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 14】

MHCクラスI分子によって制限されるペプチドフラグメントを含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 15】

MHCクラスII分子によって制限されるペプチドフラグメントを含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

40

【請求項 16】

10^4 個PBLあたり少なくとも10個の頻度で臨床症状を有する個体のPBL集団中でINF- γ 産生細胞を誘発できるペプチドフラグメントを含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 17】

SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCCL22またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%の同一性を共有するそれらの機能的ホモログが発現される臨床症状を有する個体のPBL集団中でINF- γ 産生細胞を誘発できるペプチドフラグメントを含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

50

【請求項 18】

前記癌が、腫瘍形成癌である、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 19】

前記ペプチドフラグメントが、最大で 50 個のアミノ酸残基からなり、例えば最大で 45 個のアミノ酸残基、最大で 40 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 35 個のアミノ酸残基、最大で 30 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 25 個のアミノ酸残基、最大で 20 ~ 25 個のアミノ酸残基など、最大で 24 個のアミノ酸残基など、最大で 22 個のアミノ酸残基など、最大で 20 個のアミノ酸残基など、最大で 15 個のアミノ酸残基など、最大で 10 個のアミノ酸残基など、最大で 9 個のアミノ酸残基などからなる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

10

【請求項 20】

前記ペプチドフラグメントが、最大で 24 個のアミノ酸残基からなり、最大で 22 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 21 個のアミノ酸残基、最大で 20 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 19 個のアミノ酸残基、最大で 18 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 17 個のアミノ酸残基、最大で 16 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 15 個のアミノ酸残基、最大で 14 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 13 個のアミノ酸残基、最大で 12 個のアミノ酸残基など、例えば最大で 11 個のアミノ酸残基、8 ~ 10 個のアミノ酸残基など、9 ~ 10 個のアミノ酸残基などからなる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

20

【請求項 21】

前記ペプチドフラグメントが、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16 および前記のいずれかの機能的ホモログからなる群から選択され、前記機能的ホモログは同一の配列のポリペプチドでありここで最大で 3 個のアミノ酸が置換されている、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 22】

前記ペプチドフラグメントが、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13 もしくは SEQ ID NO: 14 またはそれらの機能的ホモログである、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

30

【請求項 23】

前記ポリペプチドが、最大で 100 個の連続したアミノ酸のポリペプチドであり、最大で 90 個の連続したアミノ酸など、最大で 80 個の連続したアミノ酸など、例えば最大で 60 個の連続したアミノ酸、最大で 40 個の連続したアミノ酸など、例えば最大で 30 個の連続したアミノ酸、最大で 25 個の連続したアミノ酸など、例えば最大で 22 個の連続したアミノ酸、最大で 20 個の連続したアミノ酸など、例えば最大で 15 個の連続したアミノ酸、最大で 10 個の連続したアミノ酸など、例えば最大で 9 個の連続したアミノ酸のポリペプチドであり、SEQ ID NO: 12 または SEQ ID NO: 15 のアミノ酸の連続した配列を含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

40

【請求項 24】

前記ポリペプチドが、SEQ ID NO: 12 または SEQ ID NO: 15 のアミノ酸の連続した配列を含む最大で 24 個の連続したアミノ酸のポリペプチドであり、最大で 22 個の連続したアミノ酸など、例えば最大で 20 個の連続したアミノ酸、最大で 15 個の連続したアミノ酸などのポリペプチドである、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 25】

アミノ酸配列の前記連続した配列が、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO:

50

4、SEQ ID NO: 11およびSEQ ID NO: 14ならびに前記のいずれかの機能的ホモログからなる群から選択され、前記機能的ホモログは最大で3個のアミノ酸が置換または欠失されている以外は同一の配列のポリペプチドである、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項26】

前記ワクチンが、ワクチン接種された個体中でCCL22発現癌細胞および/またはCCL22抗原提示細胞に対する細胞毒性効果を有する調節T細胞の産生を誘発する、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項27】

前記ワクチン組成物が、被験体中で臨床応答を誘発でき、ここで前記臨床応答が安定な疾患、部分奏効または完全寛解によって特徴付けられる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項28】

CCL22ではないタンパク質またはペプチドフラグメントから選択される免疫原的に活性なタンパク質またはペプチドフラグメントをさらに含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項29】

前記アジュバントが、細菌DNAに基づくアジュバント、オイル/界面活性剤に基づくアジュバント、ウイルスdsRNAに基づくアジュバントおよびイミダゾチニリンからなる群から選択される、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項30】

前記アジュバントが、モンタナイドISAアジュバントである、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項31】

前記アジュバントが、モンタナイドISA 51またはISA 720である、請求項30に記載のワクチン組成物。

【請求項32】

前記アジュバントが、モンタナイドISA 51である、請求項31に記載のワクチン組成物。

【請求項33】

前記アジュバントが、GM-CSFである、請求項1～32のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項34】

前記ワクチン組成物が、前記免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたは前記免疫原的に活性なペプチドフラグメントをコードする核酸を含む抗原提示細胞を含む、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項35】

前記抗原提示細胞が、樹状細胞である、請求項34に記載のワクチン組成物。

【請求項36】

前記核酸が、先行請求項のいずれか一項に記載のペプチドをコードする、請求項1に記載のワクチン組成物。

【請求項37】

前記核酸が、ベクター内に含まれる、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項38】

前記ベクターが、ウイルスベクターおよび細菌ベクターからなる群から選択される、請求項37に記載のワクチン組成物。

【請求項39】

前記ベクターが、T細胞刺激ポリペプチドをコードする核酸をさらに含む、請求項37または38のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 4 0】

前記ワクチン組成物が、CCL22が発現される癌疾患の治療用である、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 4 1】

前記ワクチン組成物が、抗原提示細胞中でCCL22発現を生じる炎症の治療用である、先行請求項のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 4 2】

請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載のワクチン組成物、および第二有効成分を含む、構成要素からなるキット。

【請求項 4 3】

前記第二有効成分が、免疫刺激組成物である、請求項 4 2 に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 4 4】

前記さらなる免疫刺激組成物が、1種類以上のインターロイキンを含む、請求項 4 2 または 4 3 のいずれか一項に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 4 5】

前記インターロイキンが、IL-2 および / または IL-21 から選択される、請求項 4 2 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 4 6】

前記第二有効成分が、抗癌剤である、請求項 4 2 ~ 4 5 のいずれか一項に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 4 7】

前記抗癌剤が、化学療法剤である、請求項 4 6 に記載の構成要素からなるキット

【請求項 4 8】

前記化学療法剤が、アクチミド、アザシチジン、アザチオプリン、ブレオマイシン、カルボプラチン、カベシタビン、シスプラチン、クロラムブシル、シクロスポラミド、シタラビン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキシソルビシン、エリルピシン、エトポシド、フルダラビン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イリノテカン、レナリドマイド、ロイコボリン、メクロレタミン、メルファラン、メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ペメトレキセド、レプリミド、テモゾロミド、テニボシド、チオグアニン、バルルビシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレリピンから選択される、請求項 4 7 に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 4 9】

前記第二有効成分が、抗生物質である、請求項 4 2 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 5 0】

前記抗生物質が、アモキシリン、ペニシリン、アシクロビルおよび / またはピダラビンから選択される、請求項 4 9 に記載のワクチン組成物を含む構成要素からなるキット。

【請求項 5 1】

前記提供される組成物が、同時にまたは連続して投与される、請求項 4 2 ~ 5 0 のいずれか一項に記載の構成要素からなるキット。

【請求項 5 2】

請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項で定められるペプチドフラグメントおよびクラス I HLA もしくはクラス II HLA 分子またはそのような分子のフラグメントの複合体。

【請求項 5 3】

モノマーである、請求項 5 2 に記載の複合体。

【請求項 5 4】

マルチマーである、請求項 5 2 に記載の複合体。

【請求項 5 5】

10

20

30

40

50

臨床症状を有する個体においてＣＣＬ２２反応性Ｔ細胞の存在を検出する方法であって、腫瘍組織または血液サンプルを請求項４８～５０のいずれか一項の複合体と接触させること、および前記組織または前記血液細胞への前記複合体の結合を検出することを含む、方法。

【請求項５６】

請求項１～４１のいずれか一項で定められるペプチドフラグメントに特異的に結合できる分子。

【請求項５７】

抗体またはそのフラグメントである、請求項５６に記載の分子。

【請求項５８】

前記分子が、Ｔ細胞受容体である、請求項５６または５７のいずれか一項に記載の分子。

10

【請求項５９】

請求項５６～５８のいずれか一項の分子の結合をブロックできる分子。

【請求項６０】

ＣＣＬ２２の発現によって特徴付けられる臨床症状を治療するまたは予防する方法であって、前記臨床症状を有する個体に請求項１～４１のいずれか一項に記載の組成物、請求項５６～５８のいずれか一項に記載の分子または請求項４２～５１のいずれか一項に記載の構成要素からなるキットの効果的な量を投与することを含む、方法。

【請求項６１】

治療されるまたは予防される前記臨床症状が、ＣＣＬ２２が発現される癌疾患である、請求項６０に記載の方法。

20

【請求項６２】

さらなる癌治療と組み合わせられる、請求項６１に記載の方法。

【請求項６３】

前記さらなる治療が、化学療法、放射線療法、免疫刺激物質による治療、遺伝子療法、抗体による治療および樹状細胞を用いる治療からなる群から選択される、請求項６２に記載の方法。

【請求項６４】

治療されるまたは予防される前記臨床症状が、抗原提示細胞中でＣＣＬ２２発現を生じる感染症である、請求項６０～６３のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項６５】

前記感染症に対するさらなる治療と組み合わせられる、請求項６４に記載の方法。

【請求項６６】

前記さらなる治療が、化学療法、免疫刺激物質による治療、遺伝子療法、抗体による治療および樹状細胞を用いる治療からなる群から選択される、請求項６５に記載の方法。

【請求項６７】

前記ＣＣＬ２２またはＣＣＬ２２の前記免疫原性的に活性なペプチドフラグメントが、個体あたり５０～５００μgの範囲の投与量で投与され、例えば８０～３００μgの範囲で、１００～２５０μgの範囲などの投与量で投与され、ここで前記個体は好ましくはヒトである、請求項６０～６６のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項６８】

臨床症状の治療用または予防用の医薬品の製造における請求項１～４１のいずれか一項に記載のワクチン組成物、請求項４２～５１のいずれか一項に記載の構成要素からなるキットまたは請求項５６～５８のいずれか一項に記載の分子の使用。

【請求項６９】

治療されるまたは予防される前記疾患が、ＣＣＬ２２が発現される癌疾患である、請求項６８に記載の使用。

【請求項７０】

さらなる癌治療と組み合わせられる、請求項６８または６９のいずれか一項に記載の使用

50

。

【請求項 7 1】

前記さらなる治療が、化学療法、放射線療法、免疫刺激物質による治療、遺伝子療法、抗体による治療および樹状細胞を用いる治療からなる群から選択される、請求項 6 8 に記載の使用。

【請求項 7 2】

治療されるまたは予防される前記臨床症状が、抗原提示細胞中で C C L 2 2 発現を生じる感染症である、請求項 6 8 に記載の使用。

【請求項 7 3】

前記感染症に対するさらなる治療と組み合わせられる、請求項 7 2 に記載の使用。

10

【請求項 7 4】

前記さらなる治療が、化学療法、免疫刺激物質による治療、遺伝子療法、抗体による治療および樹状細胞を用いる治療からなる群から選択される、請求項 7 3 に記載の使用。

【請求項 7 5】

免疫付与をモニタリングする方法であって、

a) 個体からの血液サンプルを提供する、

b) S E Q I D N O : 1 2 もしくは S E Q I D N O : 1 5 の C C L 2 2、または S E Q I D N O : 1 2 もしくは S E Q I D N O : 1 5 の連続した配列を含む免疫原性的に活性なペプチドフラグメント、または S E Q I D N O : 1 2 もしくは S E Q I D N O : 1 5 と少なくとも 7 0 % の同一性を有するその機能的ホモログ、または前

20

記ペプチドフラグメントもしくは機能的ホモログをコードする核酸を提供する、

c) 前記血液サンプルがタンパク質またはペプチドを特異的に結合する抗体または T 細胞受容体を含む T 細胞を含むかどうか決定する

段階を含み、

これによって前記個体中で前記タンパク質またはペプチドに対する免疫応答が高められているか決定する、方法。

【請求項 7 6】

前記ペプチドフラグメントが、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項で定められるペプチドフラグメントである、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

癌および / または炎症などの、C C L 2 2 の発現と関連する臨床症状の治療または予防において使用するための S E Q I D N O : 1 2 もしくは S E Q I D N O : 1 5 の連続した配列またはその機能的フラグメント、または C C L 2 2 ペプチドフラグメントをコードする核酸を含む免疫原性的に活性な C C L 2 2 ペプチドフラグメントであって、前記機能的フラグメントが最大で 3 個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである、免疫原性的に活性なペプチドフラグメント。

30

【請求項 7 8】

前記ペプチドフラグメントが、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項で定められるものである、請求項 7 7 に記載のペプチドフラグメント。

【請求項 7 9】

癌の前記治療または予防における使用のための請求項 7 7 または 7 8 のいずれか一項に記載のペプチドフラグメント。

40

【請求項 8 0】

前記ペプチドフラグメントが、癌および / または炎症などの、C C L 2 2 の発現と関連する臨床症状の治療または予防において使用するための S E Q I D N O : 1、S E Q I D N O : 3、S E Q I D N O : 4、S E Q I D N O : 1 1、S E Q I D N O : 1 3 もしくは S E Q I D N O : 1 4、またはその機能的ホモログ、または前記 C C L 2 2 ペプチドフラグメントをコードする核酸を含むまたはそれからなり、前記機能的ホモログは最大で 3 個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである、請求項 7 7 ~ 7 9 のいずれか一項に記載にペプチドフラグメント。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌の予防および治療の分野に関する。特に、タンパク質 C - C モチーフ ケモカイン 2 2 (C C L 2 2) または抗癌免疫応答を誘発できるそのペプチドフラグメントが提供される。具体的には、本発明は癌治療のための C C L 2 2 またはこれに由来するペプチドあるいは C C L 2 2 特異的 T 細胞の使用に関する。このため、本発明は任意に他の免疫療法と組み合わせて使用され得る抗癌ワクチン、および癌治療としてワクチン接種によって養子移入またはインビボで誘発される C C L 2 2 特異的 T 細胞に関する。本明細書で提供される医薬品が癌化学療法と組み合わせて使用され得ることは本発明の態様である。さらなる態様は、上記と同じ手段による感染症の予防および治療に関する。

10

【0002】

癌および感染症の治療、診断および予後診断における C C L 2 2 およびその免疫原性ペプチドフラグメントの使用も提供される。

【背景技術】

【0003】

免疫系は、危険であると判断されるすべての成分の排除によって生物の完全性を維持する、細胞および分子の複合的なアレンジメントである。いくつかの調節機構が抗原に対する免疫応答を終結するように機能し、抗原が排除された後に免疫系を基底状態に戻し、かつ自己抗原に対する不応答性または寛容を維持する。残念なことに、自己免疫を防止する機構のいくつかは、癌によってハイジャックされて免疫回避に至る。実際に、H a n a h a n および W e i n b e r g による「H a l l m a r k o f c a n c e r (癌の特徴)」で、免疫破壊からの回避が、出現する特徴として現在示されている (N o m i ら , 2 0 0 7)。この免疫破壊からの回避は、いくつかの機構に基づいている。固形腫瘍は癌性細胞それ自体から、ならびに支持構造を提供するだけでなく免疫回避を可能にする間質細胞からなる。この目的のため、腫瘍は、免疫寛容微小環境を作り出し維持する免疫適格性細胞を誘引および / または変質させる。これらの免疫適格性細胞は、免疫恒常性を維持する中枢のおよび末梢の寛容機構の精巧なネットワークに通常含まれ、因子フォークヘッドボックス P 3 (F o x p 3) 陽性調節 T 細胞 (T r e g)、NK T 細胞、樹状細胞サブタイプ、骨髄由来抑制細胞 (M D S C)、M 2 (腫瘍関連としても知られている)、マクロファージ、および顆粒球を含む。C C L 2 2 が癌で作用すると考えられる機構を図 1 で説明する。

20

30

【0004】

この免疫回避は癌免疫療法の状況において有害である。このため、1 つ以上の免疫抑制経路の標的化は、抗癌免疫療法との組み合わせで非常に有用であり得、そこで免疫抑制機構は必要とされる効果に拮抗する。癌における免疫抑制を標的とするいくつかの異なる可能性のある治療方法、特にモノクローナル抗体を用いた阻害経路のブロックが、研究下にある。

【発明の概要】

【0005】

40

本発明は請求項で定められる通りである。

【0006】

C C L 2 2 の発現および起こり得る C C L 2 2 誘発性癌免疫抑制は、癌の治療における問題を提起する。

【0007】

癌免疫抑制の問題が本発明によって解決され、これは新規 T 細胞標的として C C L 2 2 を提供する。

【0008】

したがって、本発明は C C L 2 2 発現癌細胞を直接的に標的にすることによる、および C C L 2 2 発現癌細胞を殺すことによる癌疾患の治療のための材料および方法を提供する

50

。これはT細胞を、CCL22発現細胞を認識できるようにすることによってなされる。興味深いことに、本発明は、CCL22発現細胞が他の免疫療法の所望の効果と拮抗し得るときでさえ、CCL22発現細胞に対する細胞毒性免疫応答を高め得ることを開示する。したがって、CCL22がTregなどの免疫抑制細胞を誘引することによって腫瘍回避を可能にするという事実に関わらず、本発明は、免疫系がケモカインに対して反応でき、CCL22に対する特異的免疫応答を高めることができることを示す。これは、例えば腫瘍およびCCL22発現癌細胞への免疫抑制細胞の動員を阻害することによって癌を治療する新規機構を提供する。

【0009】

同様に、本発明は免疫応答を通常引き起こし得る他の疾患、例えば感染症の治療のための材料および方法を提供する。本発明の方法では、T細胞がCCL22を発現する抗原提示細胞(APC)および/または樹状細胞(DC)を殺すことができる。

【0010】

したがって、本発明は癌細胞中の免疫抑制ケモカインCCL22の発現を利用しこれらのCCL22発現細胞を標的にする。

【0011】

自己タンパク質CCL22に対する免疫応答を驚くべきことに生じる得るワクチン組成物を提供することが本発明の一つの態様である。

【0012】

本明細書では医薬品として使用するための、

a) (i) SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCL22、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCL22のアミノ酸の連続した配列を含むCCL22の免疫原的に活性なペプチドフラグメント、
(ii) MHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントである、CCL22の免疫原的に活性なフラグメント、
(iii) (i)および(ii)に基づくポリペプチドの機能的ホモログであって、ここで当該機能的ホモログはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%配列同一性を共有し、および/または当該機能的ホモログはSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 11もしくはSEQ ID NO: 14のアミノ酸の連続配列に同一な配列からなるが、ただし最大で2個のアミノ酸など、最大で1個のアミノ酸など、最大で3個のアミノ酸が置換されている免疫原的に活性なポリペプチドである機能的ホモログ、
(iv) (i)、(ii)、または(iii)に基づくポリペプチドのいずれかを含むポリペプチド、
(v) (i)、(ii)、または(iii)に基づくポリペプチドのいずれかをコードする核酸、

の1つ以上、ならびに

b) アジュバント

を含むワクチン組成物が提供される。

【0013】

ワクチン組成物は、医薬品として使用され得、および例えばCCL22が発現される癌疾患の治療のため、または抗原提示細胞(APC)中でCCL22発現を生じる感染症の治療のためのものであり得る。

【0014】

本発明はまた、ワクチン組成物および第二有効成分を含む構成要素からなるキットを提供する。

【0015】

本発明はまた、CCL22のペプチドフラグメント、およびクラスI HLAもしくはクラスII HLA分子、またはそのような分子のフラグメントの複合体を説明する。当該ペプチドフラグメントは、例えば、本明細書においてセクション「CCL22の免疫原

10

20

30

40

50

性的に活性なペプチドフラグメント」、「CCL22またはそのフラグメントを含むポリペプチド」および「MHC」で後述されるCCL22のペプチドフラグメントのいずれかであり得る。

【0016】

本発明はさらに、臨床症状を有する個体においてCCL22反応性T細胞の存在を検出する方法を開示し、当該方法は腫瘍組織または血液サンプルを、上記CCL22のペプチドフラグメントを含む複合体と接触させること、および複合体の当該組織または血液細胞への結合を検出することを含む。

【0017】

本発明はまた、例えば本明細書においてセクション「CCL22の免疫原的に活性なペプチドフラグメント」、「CCL22またはそのフラグメントを含むポリペプチド」および「MHC」で後述されるCCL22のペプチドフラグメントのいずれかである、CCL22のペプチドフラグメントに特異的に結合できる分子を開示する。

10

【0018】

本発明はまた、CCL22の発現によって特徴付けられる臨床症状を治療する方法を提供し、当該方法は、臨床症状を有する個体に、本発明のワクチン組成物の、本発明の構成要素からなるキットの、本発明の組成物の、および/または例えば本明細書においてセクション「CCL22の免疫原的に活性なペプチドフラグメント」、「CCL22またはそのフラグメントを含むポリペプチド」および「MHC」で後述されるCCL22のペプチドフラグメントのいずれかである、CCL22の免疫原的に活性なペプチドフラグメントの治療上効果的な量を投与することを含む。

20

【0019】

本発明はまた、臨床症状、例えば癌および/または炎症の治療または予防のための医薬品の製造における、本発明のワクチン組成物の使用を提供する。

【0020】

本発明はまた、免疫付与をモニタリングするための方法を提供し、本方法は、
 a) 個体からの血液サンプルを提供する、
 b) SEQ ID NO: 12の連続した配列を含む免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたはSEQ ID NO: 12と少なくとも70%同一性を有するその機能的ホモログ、または当該ペプチドフラグメントもしくは機能的ホモログをコードする核酸を提供する、
 c) 血液サンプルが当該タンパク質またはペプチドを特異的に結合する抗体またはT細胞受容体を含むT細胞を含むかどうか決定する
 段階を含み、
 これによって当該タンパク質またはペプチドに対する免疫応答が当該個体で上昇しているかどうか決定する。

30

【0021】

さらに、本発明は、癌および/または感染症などのCCL22の発現と関連する臨床症状の治療または予防に使用するための、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 4もしくはSEQ ID NO: 11のCCL22フラグメントの連続した配列を含む免疫原的に活性なCCL22ペプチドフラグメント、または最大3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドであるその機能的ホモログ、またはCCL22ポリペプチドフラグメントをコードする核酸を提供する。

40

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】癌におけるCCL22の作用を示す図である。

【図2】末梢血液に存在するCCL22特異的CD8+T細胞を示す図である。A: IFN γ およびTNF α 放出に関する細胞内染色は、CCL22-3ペプチドエピトープに対してCD8+ (左図) が反応し、CD4+ (右図) は反応しないことを示す。B: 左図: CCL22-3ペプチド反応性T細胞は、ペプチドパルスされた自家DCによる刺激によ

50

ってメラノーマ癌患者の末梢血液から豊富化され得る。右図：分離された四量体および迅速に増殖されたCCL22-3特異的T細胞培養。

【図3】CCL22反応性T細胞が細胞毒性であることを示す図である。A：CCL22-3パルスされたT2細胞はCCL22特異的T細胞によって溶解されるが、HIVパルスT2細胞は溶解されない。B：CCL22longペプチド(SEQ ID NO:1)はCCL22特異的T細胞によって認識される。従って、CCL22longおよびCCL22-3によってパルスされたT2細胞は認識され死滅させられる。コントロールペプチドでパルスされたT2細胞はCCL22特異的T細胞によって認識されない。C：CCL22特異的T細胞の細胞毒性活性はHLA依存性である。従って、HLA-A2でトランスフェクションされCCL22-3ペプチドでパルスされたK562細胞は認識されて死滅させられる。K562細胞、CCL22-3でパルスされたK562細胞、またはHLA-A2でトランスフェクションされたK562細胞は認識されない。D：CCL22-3ペプチドは9マーCCL22-2ペプチドよりもよく認識される。CCL22-3およびCCL22-2ペプチドのペプチド力価測定は、CCL22特異的T細胞は交差反応するが、CCL22-3をより高い結合活性で認識することを示した。

【図4】CCL22反応性T細胞がCCL22発現癌細胞株を認識し殺すことができることを示す図である。IFN γ 未処理または前処理した癌細胞株の⁵¹Cr放出アッセイ：SW480-結腸直腸腺癌(A)、MDA-MB-231-乳腺癌(B)、Uke-1-急性骨髄性白血病(C)、THP-1-急性単球性白血病(D)、RPMI6666-ホジキンリンパ腫(E)、Set2-本態性血小板血症(F)。エフェクター細胞として同じエフェクターCCL22特異的T細胞培養を使用した。G：CCL22 siRNAトランスフェクションまたは偽トランスフェクションされたIFN γ 誘発THP-1細胞の、CCL22特異的T細胞による溶解。アッセイはトランスフェクションの48時間後に実施された。H-エレクトロポレーションの48時間後に、偽コントロールでトランスフェクションされたTHP-1細胞と比較した、siRNAトランスフェクションしたTHP-1細胞からの上清中のCCL22発現のELISA分析。

【図5】CCL22特異的T細胞の細胞毒性がCCL22依存性であることを示す図である。A：CCL22特異的T細胞の細胞毒性はCCL22の発現の低下とともに減少する。このため、CCL22 siRNAトランスフェクションされたTHP-1細胞の溶解は、偽トランスフェクションされた細胞よりも低い。B：siRNAトランスフェクションの48時間後の、THP-1細胞の上清中のCCL22発現のELISA分析。C-CCL22特異的T細胞はCCL22依存的に樹状細胞を認識する。従って、フローサイトメトリーを用いて、CCL22特異的T細胞をCCL22 siRNAによるトランスフェクションを有または有さずに自家樹状細胞とともにインキュベーションした場合のTNF- α およびCD107 α の放出を試験した。

【図6】健常ドナーの末梢血液における自発的CCL22-3応答を示す図である。A：INF γ ELISPOTによって示される、CCL22-3ペプチドの有無における健常ドナーのPBMCから得られるELISPOT応答の例。B：CCL22-3ペプチドまたはHIVコントロールペプチドのいずれかを加えたIL-2による刺激後の同ドナーから得られるPBMCの上清中のCCL22発現。C：CCL22-3ペプチドまたはHIVコントロールペプチドのいずれかを加えたIL-2による刺激後の同ドナーから得られるPBMC由来の上清中のIL-6およびTNF α 。D：CCL22-3/HLA-A2四量体豊富化(左図)またはD-CCL22-3/HLA-A2四量体枯渇化(右図)のいずれかの後の、同ドナーからのPBMC由来のIL-2刺激したPBMC上清中のCCL22発現。

【図7】卵巣癌腹水細胞によるCCL22発現量はCCL22-3ペプチドの添加によって影響を受けることを示す図である。卵巣癌を有する患者から分離された腹水細胞の細胞培養を、IL2の添加とともにCCL22-3またはHIVペプチドで刺激した2日後(A)および7日後(B)の上清のELISA分析。

【図8A】CCL22₃₋₁₂反応性T細胞が健常ドナーおよび癌患者に存在することを

示す図である。A：メラノーマ患者（MM）3名および健常ドナー（HD）2名における p C C L 2 2₃ ~ 1 2 エピトープに対する T 細胞応答を示す I F N γ E L I S P O T 例。

【図 8 B】C C L 2 2₃ ~ 1 2 反応性 T 細胞が健常ドナーおよび癌患者に存在することを示す図である。B：癌患者および健常ドナーにおける p C C L 2 2₃ ~ 1 2 ペプチド特異的 I N F γ E L I S P O T 応答。p C C L 2 2₃ ~ 1 2 特異的スポットの平均数（添加ペプチドを有さないウェルにおけるスポットを減じた後）を、各ドナーについて 3×10^5 個 P B M C あたりで計算した。

【図 8 C】C C L 2 2₃ ~ 1 2 反応性 T 細胞が健常ドナーおよび癌患者に存在することを示す図である。C：P B M C における p C C L 2 2₃ ~ 1 2 特異的 T 細胞枯渇化 / 豊富化の実験的設定。健常ドナーからの P B M C を p C C L 2 2₃ ~ 1 2 ペプチドで 2 回刺激してから、抗 P E 磁性ビーズと組み合わせて p C C L 2 2₃ ~ 1 2 - P E - 四量体を用いて p C C L 2 2₃ ~ 1 2 特異的 T 細胞（抗 C C L 2 2 T 細胞）を分離した。残存する枯渇化 P B M C を 2 つの培養に分けてから、p C C L 2 2₃ ~ 1 2 - 四量体分離細胞をこれらの 1 つに加えて四量体豊富化培養を得た。四量体豊富化培養中の C C L 2 2 特異的 T 細胞は C C L 2 2 産生 T 細胞を標的にする（黒色矢印によって示される）。

【図 8 D】C C L 2 2₃ ~ 1 2 反応性 T 細胞が健常ドナーおよび癌患者に存在することを示す図である。D：経時間的に四量体枯渇化 P B M C 培養と比べた、p C C L 2 2₃ ~ 1 2 - 四量体豊富化 P B M C 培養由来の上清中の C C L 2 2 の E L I S A 分析。

【図 9 A】C C L 2 2 特異的 T 細胞の活性が微小環境中の C C L 2 2 量とともに低下することを示す図である。A：C C L 2 2 E L I S A によって測定された、p C C L 2 2₃ ~ 1 2 または H I V ペプチドのいずれかによる刺激後の健常ドナーから分離された P B M C 由来の上清中の C C L 2 2 量（*、P = 0.01、n s - 有意でない、t 検定）。実験は各ペプチドについて三重測定で実施した。

【図 9 B】C C L 2 2 特異的 T 細胞の活性が微小環境中の C C L 2 2 量とともに低下することを示す図である。B：7 日目に C C L 2 2 E L I S A によって測定された、H I V コントロールペプチドと比べた、p C C L 2 2₃ ~ 1 2 ペプチドによる刺激後の 11 名の健常ドナー P B M C から分離された P B M C 由来の上清中の C C L 2 2 量の変動。

【図 9 C】C C L 2 2 特異的 T 細胞の活性が微小環境中の C C L 2 2 量とともに低下することを示す図である。C：7 日目に C C L 2 2 E L I S A によって測定された、H I V コントロールペプチドと比べた、p C C L 2 2₃ ~ 1 2 ペプチドによる刺激後の癌患者 13 名から分離された P B M C 由来の上清中の C C L 2 2 量の変動。実験は各ペプチドについて三重または二重測定で実施した。

【図 9 D】C C L 2 2 特異的 T 細胞の活性が微小環境中の C C L 2 2 量とともに低下することを示す図である。D：C C L 2 2 E L I S A によって測定された、p C C L 2 2₃ ~ 1 2 ペプチドまたは H I V ペプチドのいずれかによる刺激後の卵巣癌患者 2 名から分離された卵巣癌復水から分離された細胞由来の上清中の C C L 2 2 量。

【図 10】C C L 2 2 特異的 T 細胞の刺激が P B M C サイトカインプロファイルに影響を及ぼすことを示す図である。A：H I V コントロールペプチド刺激と比較した p C C L 2 2₃ ~ 1 2 刺激後の癌患者 11 名（左図）または健常ドナー 10 名（右図）から分離された P B M C 由来の上清中の I L - 6 発現の全体的な変化（それぞれ P = 0.02 および P = 0.06、ペアード t 検定）。B：H I V コントロールペプチド刺激と比較した p C C L 2 2₃ ~ 1 2 刺激後の癌患者 11 名（左図）または健常ドナー 10 名（右図）から分離された P B M C 由来の上清中の T N F α 発現の全体的な変化（それぞれ P = 0.16 および P = 0.7、ペアード t 検定）。

【図 11】免疫応答がインビボで上昇され得ることを示す図である。上部パネルに示すように、マウスを m C C L 2 2 l o n g (S E Q I D N O : 13) または m C C L 2 2 s h o r t (S E Q I D N O : 14) のいずれかの皮下注射によって 3 週間にわたって 1 週間に 1 回ワクチン接種し、最後の接種 1 週後に屠殺した。屠殺したマウスの脾臓から調製した脾臓細胞で E L I S P O T アッセイを実施した。ネズミ C C L 2 2 ペプチドに

10

20

30

40

50

対する I F N γ 応答を試験するため、細胞をこのペプチド (5 μ M) またはコントロールとして R 1 0 とともに 3 7 ° C で 1 8 ~ 2 0 時間インキュベーションした。E L I S P O T を、緩衝液 (P B S 、 0 . 5 % B S A および N a N 3) 中の 1 μ g / m L 濃度のマウス I F N γ 特異的検出 A b (R 4 - 6 A 2 - ビオチン、M a b t e c h) で室温で 2 時間反応させ、続いて P B S で 6 回洗浄した。次に、緩衝液中にストレプトアビジン - A L P (1 : 1 0 0 0 、 M a b t e c h) を室温で 1 時間加えた。基質溶液 B C I P / N B T (M a b t e c h) を加えることによって S p o t を発色させ、水道水で洗浄して停止した。E L I S P O T を E L I S P O T リーダー (C T L - I m m u n o s p o t) によって分析した。結果は、ワクチン接種されたマウスが増加した免疫応答を現わすことを示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 3 】

定義

アジュバント：投与される免疫原性決定基 / 抗原 / 核酸構築体とのその混合が当該決定基に対する免疫応答を増加する、さもなければ改変する任意の物質。

【 0 0 2 4 】

抗原：クローン的に分布した免疫受容体 (T 細胞または B 細胞受容体) に結合できる任意の物質。通常はペプチド、ポリペプチドまたは多量体ポリペプチド。抗原は、好ましくは、免疫応答を誘発できる。

【 0 0 2 5 】

A P C : 抗原提示細胞。A P C は、その表面上に M H C と複合体化した抗原を提示する細胞である。T 細胞は、その T 細胞受容体 (T C R) を用いてこの複合体を認識できる。A P C はプロフェッショナル (樹状細胞、マクロファージおよび B 細胞の 3 つのタイプがある) またはノンプロフェッショナル (ナイブ T 細胞との相互作用に必要な主要組織適合性複合体タンパク質を構成的に発現せず、これらは I F N - γ などの特定のサイトカインによるノンプロフェッショナル A P C の刺激でのみ発現される) の 2 つのカテゴリーに分類される。

【 0 0 2 6 】

ブースト：ブースターショットまたは投与によってブーストすることは、ワクチンなどの免疫剤の追加用量を投与することであり、初期用量の後に投与されて同じ薬剤の以前の用量によって誘発された免疫応答を維持する。

【 0 0 2 7 】

キャリア：抗原が結合されて、免疫応答の誘発を補助する実体または化合物。

【 0 0 2 8 】

C C L : C - C モチーフケモカイン 2 2 。 C C L 2 2 の野生型ヒト配列は S E Q I D N O : 1 2 で示される。

【 0 0 2 9 】

C C L 2 2 $_{x x \sim y y}$: 本明細書で使用されるとき、この専門用語は、S E Q I D N O : 1 2 のアミノ酸 $x x \sim y y$ からなる C C L 2 2 のポリペプチドフラグメントを指す。m C C L 2 2 はネズミ C C L 2 2 を指し、m C C L 2 2 $_{x x \sim y y}$ は S E Q I D N O : 1 5 のアミノ酸 $x x \sim y y$ からなる m C C L 2 2 のポリペプチドフラグメントを指す。

【 0 0 3 0 】

キメラタンパク質：2 つ以上の完全なまたは部分的な遺伝子あるいは一連の (非) ランダムな核酸の継ぎ合わせによって作製されるヌクレオチド配列によってコードされる遺伝子工学処理されたタンパク質。

【 0 0 3 1 】

臨床症状：医学的配慮を必要とする症状、本明細書では特に、C C L 2 2 の発現と関連する症状。このような症状の例は、癌および感染症などの増殖性障害を含む。

【 0 0 3 2 】

補体：その作用が抗体の作業を「補う」、血液タンパク質の複雑な系。補体は細菌を破

10

20

30

40

50

壊し、炎症を生じ、免疫反応を調節する。

【0033】

C T L : 細胞毒性 T リンパ球。T 細胞受容体とともに C D 8 を発現する T 細胞のサブ群であり、従ってクラス I 分子によって提示される抗原に応答できる。

【0034】

送達ベヒクル : それによりヌクレオチド配列またはポリペプチドあるいは両方を少なくとも 1 つのメディアから他へ輸送できる実体。

【0035】

D C : 樹状細胞。D C は免疫細胞であり、哺乳動物の免疫系の一部を形成する。それらの主な機能は、抗原物質を処理してそれを表面で免疫系の他の細胞に提示することであり、これによって抗原提示細胞 (A P C) として機能する。

10

【0036】

フラグメント : 核酸またはポリペプチドの非全長部分を示すために使用される。したがって、フラグメントもそれ自体がそれぞれ核酸またはポリペプチドである。

【0037】

機能的ホモログ : 機能的ホモログはポリペプチドの野生型版と少なくともある程度の配列同一性を示し元の機能性の少なくとも 1 つの特性を維持している任意のポリペプチドであり得る。本明細書において、C C L 2 2 またはその免疫原性ペプチドフラグメントの機能的ホモログは、C C L 2 2 またはそのフラグメントと少なくともある程度配列同一性を共有するポリペプチドであり、それは C C L 2 2 を発現する細胞に対する免疫応答を誘発する能力を有する。

20

【0038】

免疫原的に活性なペプチド : 少なくとも 1 つの個体中で、当該個体に投与された後に免疫応答を誘発できるペプチド。

【0039】

個体 : 一般的に鳥類、哺乳動物、魚類、両生類、または爬虫類の任意の種または亜種、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒト。

【0040】

感染症 : 本明細書において、用語「感染」は、疾患原因となる媒介物による宿主生物への侵入を含む任意の種類の臨床症状に関連する。特に、感染症は、病原体による個体への侵入を含む臨床症状を指す。

30

【0041】

分離された : 本明細書で開示される核酸、ポリペプチド、および抗体に関連して使用され、「分離された」は、これらが、それらの本来の、一般的には細胞の環境の成分から特定されならびに分離されおよび / または回収されていることを意味する。本発明の核酸、ポリペプチド、および抗体は好ましくは分離されており、本発明のワクチンおよび他の組成物は分離された核酸、ポリペプチドまたは分離された抗体を好ましくは含む。

【0042】

M H C : 主要組織適合性複合体であり、M H C の 2 種の主なサブクラスであるクラス I およびクラス I I が存在する。

40

【0043】

核酸 : 遺伝情報を運ぶヌクレオチドの鎖または配列。本発明に関して、核酸は一般的にデオキシリボ核酸 (D N A) である。

【0044】

核酸構築体 : 遺伝子工学操作された核酸。一般的には、遺伝子またはそのフラグメント、c D N A、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター、ポリ A タイル、リンカー、ポリリンカー、操作リンカー、多クローニング部位 (M C S)、マーカー、ストップコドン、他の調節エレメント、内部リボソーム侵入部位 (I R E S) または他などのいくつかのエレメントを含む。

【0045】

50

操作リンカー：核酸構築体または（キメラ）ポリペプチドの２つの部分を、当該核酸またはポリペプチドの生物学的処理を確実にする方法で結合するヌクレオチドまたはアミノ酸残基の配列。

【００４６】

病原体：疾患の特定の原因となる媒介物、特に、ホストに疾患を引き起こすことができるウイルス、細菌、プリオン、または寄生虫などの生物学的媒体物であり、感染性媒介物とも呼ばれる。

【００４７】

P B L：末梢血細胞は、赤血球、白血球、および血小板からなる血液の細胞成分であり、血液の循環プール内で認められ、リンパ系、脾臓、肝臓、または骨髓内に隔離されない。

10

【００４８】

P B M C：末梢血単核球（P B M C）は、リンパ球または単球などの、球状核を有する血液細胞である。これらの血液細胞は、感染と戦い侵入物に適應するための免疫系における重要成分である。リンパ球集団はT細胞（C D 4 およびC D 8 陽性、約75%）、B細胞およびNK細胞（併せて約25%）からなる。

【００４９】

ポリペプチド：配列を定めかつアミド結合によって連結される複数の共有結合したアミノ酸残基。本用語はオリゴペプチドおよびペプチドと類似的に使用される。用語ポリペプチドはまた、従来技術で知られているように、化学的反応または酵素触媒反応によって導入される翻訳後修飾も包含する。本用語はポリペプチドの変異体またはフラグメントを指してもよい。

20

【００５０】

医薬品用担体：賦形剤または安定化剤とも呼ばれ、使用される投与量および濃度でこれらに暴露される細胞または個体に対して非毒性である。しばしば医薬品用担体は水性のpH緩衝化溶液である。医薬品用担体の例は、リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含むモノサッカライド、ジサッカライド、および他の炭水化物；E D T Aのようなキレート剤；マンニトールまたはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；および/またはT W E E N（商標）、ポリエチレングリコール（P E G）、およびP L U R O N I C S（商標）などの非イオン性界面活性剤を含む。

30

【００５１】

複数：少なくとも２つ。

【００５２】

増殖性障害：本明細書において、いかなる前新生物または新生物疾患、良性または悪性であろうと、ここでは「新生物」は細胞の異常な増殖を指す。増殖性障害の非限定例は癌である。

40

【００５３】

プロモーター：そこでR N Aポリメラーゼが結合して近辺の１つ以上の構造的遺伝子によるメッセンジャーR N Aの転写を開始する、D N A鎖中の結合部位。

【００５４】

シグナルペプチド：細胞中のタンパク質の最終的な位置を決定するアミノ酸の短い配列であり、仕分けペプチドとも呼ばれる。

【００５５】

界面活性剤：それが溶解される液体の表面張力を低減できる界面活性剤。界面活性剤は親水性である極性基、および疎水性でありしばしば脂肪鎖からなる非極性基を含む化合物である。

50

【 0 0 5 6 】

T r e g : 調 節 T 細 胞 / T リ ン パ 球。

【 0 0 5 7 】

治 療 : 本 明 細 書 で 使 用 さ れ る 用 語 「 治 療 」 は 、 根 治 的 治 療 お よ び / ま た は 改 善 的 治 療 お よ び / ま た は 疾 患 の 症 状 を 低 減 す る 治 療 お よ び / ま た は 疾 患 の 進 行 を 遅 延 す る 治 療 を 指 す 。

【 0 0 5 8 】

ワ ク チ ン : 個 体 に お い て 、 特 に 哺 乳 動 物 に お い て 、 好 ま し く は ヒ ト に お い て 免 疫 応 答 を 誘 発 で き る 物 質 ま た は 組 成 物 。 ま た 、 本 文 脈 中 で 免 疫 原 性 組 成 物 と も 呼 ば れ る 。 本 発 明 に よ る ワ ク チ ン は 、 し ば し ば 、 少 な く と も ア ジ ュ バ ン ト お よ び 免 疫 原 性 ペ プ チ ド を 含 む 組 成 物 で あ り 得 る 。 媒 介 物 に 対 す る 免 疫 応 答 は 、 生 物 に お け る 体 液 性 、 抗 体 お よ び / ま た は 細 胞 応 答 誘 発 性 記 憶 で あ り 、 そ の 結 果 当 該 媒 介 物 は 一 次 応 答 よ り も む し ろ 二 次 応 答 で 対 処 さ れ 、 こ の た め ホ ス ト 生 物 に 対 す る そ の 影 響 を 低 減 す る 。 こ の よ う な 媒 介 物 は 病 原 体 で あ り 得 る 。 本 発 明 の 文 脈 で は 、 媒 介 物 は 好 ま し く は 癌 細 胞 で あ る 。 本 発 明 の ワ ク チ ン は 、 臨 床 症 状 が 出 現 す る リ ス ク を 低 減 す る た め に 予 防 法 と し て 、 お よ び / ま た は 臨 床 症 状 の 治 療 の た め の 治 療 用 医 薬 品 と し て 与 え ら れ 得 る 。 組 成 物 は 、 抗 原 、 1 つ 以 上 の 抗 原 を コ ー ド す る 核 酸 構 築 体 、 キ ャ リ ア 、 ア ジ ュ バ ン ト お よ び 医 薬 品 用 担 体 の 1 種 類 以 上 を 含 む 得 る 。

10

【 0 0 5 9 】

変 異 体 : 所 定 の 対 照 核 酸 ま た は ポ リ ペ プ チ ド の 「 変 異 体 」 は 、 こ の 対 照 核 酸 ま た は ポ リ ペ プ チ ド に 対 し あ る 程 度 の 配 列 類 似 性 / 同 一 性 を 示 す が 、 こ の 対 照 核 酸 ま た は ポ リ ペ プ チ ド と は 同 一 で な い 核 酸 ま た は ポ リ ペ プ チ ド を 指 す 。

20

【 0 0 6 0 】

本 発 明 の 詳 細 な 説 明

本 開 示 は 医 薬 品 と し て 使 用 す る た め の 、

a) (i) S E Q I D N O : 1 2 も し く は S E Q I D N O : 1 5 の C C L 2 2 、
ま た は S E Q I D N O : 1 2 も し く は S E Q I D N O : 1 5 の C C L 2 2 の ア ミ
ノ 酸 の 連 続 し た 配 列 を 含 む C C L 2 2 の 免 疫 原 性 的 に 活 性 な ペ プ チ ド フ ラ グ メ ン ト 、
(i i) M H C ク ラ ス I 制 限 ペ プ チ ド フ ラ グ メ ン ト ま た は M H C ク ラ ス I I 制 限 ペ プ チ ド
フ ラ グ メ ン ト で あ る 、 C C L 2 2 の 免 疫 原 性 的 に 活 性 な フ ラ グ メ ン ト 、
(i i i) (i) お よ び (i i) に 基 づ く ポ リ ペ プ チ ド の 機 能 的 ホ モ ロ グ で あ っ て 、 こ こ
で 当 該 機 能 的 ホ モ ロ グ は S E Q I D N O : 1 2 も し く は S E Q I D N O : 1 5 と
少 な く と も 7 0 % 配 列 同 一 性 を 共 有 し 、 お よ び / ま た は 当 該 機 能 的 ホ モ ロ グ は S E Q I
D N O : 1 2 も し く は S E Q I D N O : 1 5 の ア ミ ノ 酸 の 連 続 配 列 に 同 一 な 配 列 か
ら な る が 、 た だ し 最 大 で 2 個 の ア ミ ノ 酸 な ど 、 最 大 で 1 個 の ア ミ ノ 酸 な ど 、 最 大 で 3 個 の
ア ミ ノ 酸 が 置 換 さ れ て い る 免 疫 原 性 的 に 活 性 な ポ リ ペ プ チ ド で あ る 機 能 的 ホ モ ロ グ 、
(i v) (i) 、 (i i) 、 ま た は (i i i) に 基 づ く ポ リ ペ プ チ ド の い ず れ か を 含 む ポ
リ ペ プ チ ド 、
(v) (i) 、 (i i) 、 ま た は (i i i) に 基 づ く ポ リ ペ プ チ ド の い ず れ か を コ ー ド す
る 核 酸 、

30

の 1 つ 以 上 、 な ら び に

40

b) ア ジ ュ バ ン ト

を 含 む ワ ク チ ン 組 成 物 に 関 す る 。

【 0 0 6 1 】

本 開 示 は ま た 、 本 明 細 書 で 説 明 さ れ る ワ ク チ ン 組 成 物 、 お よ び 第 二 有 効 成 分 を 含 む 構 成 要 素 か ら な る キ ャ ッ ト に 関 す る 。

【 0 0 6 2 】

さ ら に 別 の 態 様 で は 、 本 開 示 は 本 明 細 書 で 定 め ら れ る ペ プ チ ド フ ラ グ メ ン ト お よ び ク ラ ス I H L A も し く は ク ラ ス I I H L A 分 子 ま た は そ の よ う な 分 子 の フ ラ グ メ ン ト の 複 合 体 に 関 す る 。

【 0 0 6 3 】

50

さらに別の態様では、本開示は臨床症状を有する個体においてCCL22反応性T細胞の存在を検出する方法に関し、本方法は腫瘍組織または血液サンプルを本開示の複合体と接触させることおよび組織または血液細胞への複合体の結合を検出することを含む。

【0064】

さらに別の態様では、本明細書で定められるペプチドフラグメントに特異的に結合できる分子が開示される。

【0065】

さらに別の態様では、本明細書で定められるペプチドフラグメントに特異的に結合できる分子の結合をブロックできる分子が開示される。

【0066】

さらに別の態様では、CCL22の発現によって特徴付けられる臨床症状を治療または予防する方法であって、この臨床症状を有する個体に本明細書で説明される組成物、分子、または構成要素からなるキットの効果的な量を投与することを含む方法が開示される。

【0067】

さらに別の態様では、本開示は臨床症状の治療または予防のための医薬品の製造における、本明細書で説明されるワクチン組成物、構成要素からなるキットまたは分子の使用に関する。

【0068】

さらに別の態様では、本開示は免疫付与をモニタリングする方法に関し、本方法は、

a) 個体からの血液サンプルを提供する、

b) SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCL22、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15の連続した配列を含む免疫原性的に活性なペプチドフラグメント、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%同一性を有するその機能的ホモログ、または当該ペプチドフラグメントもしくは機能的ホモログをコードする核酸を提供する、

c) 当該血液サンプルが当該タンパク質またはペプチドを特異的に結合する抗体またはT細胞受容体を含むT細胞を含むかどうか決定する

段階を含み、

これによって当該タンパク質またはペプチドに対する免疫応答が当該個体で上昇されたか決定する。

【0069】

さらに別の態様では、本開示は、癌および/または炎症などの、CCL22の発現と関連する臨床症状の治療または予防に使用するための、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15の連続した配列を含む免疫原性的に活性なCCL22ペプチドフラグメント、または最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一配列のポリペプチドであるその機能的ホモログ、または当該CCL22ペプチドフラグメントをコードする核酸に関する。

【0070】

ワクチン組成物

下記の：

(i) SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCL22、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCL22のアミノ酸の連続した配列を含むCCL22の免疫原性的に活性なペプチドフラグメント、

(ii) MHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントである、CCL22の免疫原性的に活性なペプチドフラグメント、

(iii) (i) および (ii) に基づくポリペプチドの機能的ホモログであって、ここで当該機能的ホモログはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%配列同一性を共有し、および/または当該機能的ホモログはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のアミノ酸の連続した配列と同一な配列からなるが、ただし最大で2個のアミノ酸など、最大で1個のアミノ酸など、最大で3

10

20

30

40

50

個のアミノ酸が置換されている免疫原的に活性なポリペプチドである機能的ホモログ、
(i v) (i)、(I I)、または(i i i)に基づくポリペプチドのいずれかを含むポリペプチド、

(v) (i)、(i i)、または(i i i)に基づくポリペプチドのいずれかをコードする核酸、

の1つ以上を含むワクチン組成物を提供することが本発明の態様の一つである。

【 0 0 7 1 】

前述に加え、ワクチン組成物は好ましくはアジュバントも含み、それは例えば本明細書においてセクション「アジュバント」で後述されるアジュバントのいずれかであり得る。

【 0 0 7 2 】

本発明のワクチン組成物で使用され得る機能的ホモログは、本明細書においてセクション「C - Cモチーフケモカイン22」「CCL22の免疫原的に活性なペプチドフラグメント」、「機能的ホモログ」および「CCL22またはそのフラグメントを含むポリペプチド」で後述される。

【 0 0 7 3 】

C - Cモチーフケモカイン22 (C C L 2 2)

C - Cモチーフケモカイン22は、ヒトではCCL22遺伝子によってコードされるタンパク質である。ヒトCCL22のアミノ酸配列はSEQ ID NO: 12で示され、ネズミCCL22の配列はSEQ ID NO: 15で示される。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、樹状細胞およびマクロファージによって分泌され、その標的細胞に対するその効果を、CCR4などの細胞表面ケモカイン受容体と相互作用することによって誘発する。CCL22の遺伝子は、CX3CL1およびCCL17と呼ばれる他のケモカインを伴うクラスター中のヒト染色体16に位置する。CCL22はCCR4を発現するCD25 + CD4 + Tregを化学誘引し動員する。CCL22の発現は、卵巣、前立腺、食道、胃、および乳房の癌においてFoxp3 + Tregの蓄積を引き起こすことが既に示されている。

【 0 0 7 4 】

本開示によるCCL22は任意の有用なCCL22であり得る。本開示全体を通して、用語「CCL22」はSEQ ID NO: 12で示されるヒトCCL22またはSEQ ID NO: 15で示されるネズミCCL22などの、全長CCL22を指す。一般的に、CCL22は本開示のワクチン組成物による治療が意図される同じ種のものであることが好ましい。本開示の好ましい実施形態では、ワクチン組成物はヒトへの投与が意図されており、従ってCCL22はヒトCCL22であり得る。野生型ヒトCCL22のアミノ酸配列は、本明細書においてSEQ ID NO: 12として示される。他の実施形態では、CCL22はSEQ ID NO: 15で示されるネズミCCL22であり得る。

【 0 0 7 5 】

したがって、CCL22は好ましくはSEQ ID NO: 12のCCL22またはSEQ ID NO: 12のCCL22と少なくとも70%の配列同一性を共有するその機能的ホモログであり得、従って、機能的ホモログは好ましくはSEQ ID NO: 12のヒトCCL22と少なくとも75%の配列同一性を有し、例えば少なくとも80%の配列同一性、少なくとも85%の配列同一性など、例えば少なくとも90%の配列同一性、少なくとも91%の配列同一性など、例えば少なくとも91%の配列同一性、92%の配列同一性など、例えば少なくとも93%の配列同一性、少なくとも94%の配列同一性など、例えば少なくとも95%の配列同一性、少なくとも96%の配列同一性など、例えば少なくとも97%の配列同一性、少なくとも98%の配列同一性など、例えば99%の配列同一性を有する。

【 0 0 7 6 】

CCL22は、他の実施形態において、SEQ ID NO: 15のCCL22またはSEQ ID NO: 15のCCL22と少なくとも70%の配列同一性を共有するその機能的ホモログであり得、従って、機能的ホモログは好ましくはSEQ ID NO: 1

10

20

30

40

50

5 のヒト C C L 2 2 と少なくとも 7 5 % の配列同一性を有し、例えば少なくとも 8 0 % の配列同一性、少なくとも 8 5 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 0 % の配列同一性、少なくとも 9 1 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 1 % の配列同一性、9 2 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 3 % の配列同一性、少なくとも 9 4 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 5 % の配列同一性、少なくとも 9 6 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 7 % の配列同一性、少なくとも 9 8 % の配列同一性など、例えば 9 9 % の配列同一性を有する。

【 0 0 7 7 】

C C L 2 2 の機能的ホモログおよび配列同一性を決定するための方法は、本明細書において後述のセクション「機能的ホモログ」でさらに詳細に説明される。

10

【 0 0 7 8 】

C C L 2 2 は望ましくない活性を潜在的に有する可能性があるため、本開示の一つの実施形態では、ワクチン組成物は変異体 C C L 2 2 を含み、それは C C R 4 を発現する C D 2 5 + C D 4 + T r e g を化学誘引し動員できない、または S E Q I D N O : 1 2 の C C L 2 2 の最大で 1 0 % の活性でそれができるのみである。このような変異体 C C L 2 2 は特に S E Q I D N O : 1 2 の C C L 2 2 であり得、ここでアミノ酸の 1 つ以上が別のアミノ酸に変異されているか欠失されている。変異体 C C L 2 2 はまた、変異体 C C L 2 2 フラグメントであり得、例えば S E Q I D N O : 1、S E Q I D N O : 3、S E Q I D N O : 4、S E Q I D N O : 1 1、S E Q I D N O : 1 3、S E Q I D N O : 1 4 または S E Q I D N O : 1 6 の変異フラグメントであり得、ここでアミノ酸の 1 つ以上が別のアミノ酸に変異されているか欠失されている。本発明の文脈では、C C L 2 2 の「機能的フラグメント」は変異体 C C L 2 2 であり得、それは野生型 C C L 2 2 の触媒活性を有さないが、C C L 2 2 を発現する細胞に対する免疫応答を誘発する能力を有する。

20

【 0 0 7 9 】

C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメント

野生型ヒト C C L 2 2、すなわち自然に発生する非変異型のタンパク質は S E Q I D N O : 1 2 で特定される。野生型ネズミ C C L 2 2 は S E Q I D N O : 1 5 で特定される。本発明は、ヒトまたはネズミ C C L 2 2；ヒトまたはネズミ C C L 2 2 の免疫学的に活性なペプチドフラグメント；最大で 2 個のアミノ酸が置換されているヒトまたはネズミ C C L 2 2 のペプチドフラグメント；および / または S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を含むヒトまたはネズミ C C L 2 2 の機能的ホモログを含むワクチン組成物を網羅する。用語ペプチドフラグメントは、S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 の少なくとも一部から直接的に得られる、または同一であるように合成されるアミノ酸残基の任意の非全長の (S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 と比べて) 一連を定めるために本明細書で使用される。ペプチドフラグメントは、例えば S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 の 5 ~ 2 4 個のアミノ酸の範囲の連続配列であり、S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 の 5 ~ 2 2 個のアミノ酸など、例えば S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 の 8 ~ 2 2 個のアミノ酸であり得、例えばペプチドフラグメントは S E Q I D N O : 1、S E Q I D N O : 3、S E Q I D N O : 4、S E Q I D N O : 1 1、S E Q I D N O : 1 3、S E Q I D N O : 1 4 または S E Q I D N O : 1 6 を含み得る。

30

40

【 0 0 8 0 】

機能的ホモログは、野生型ヒトまたはネズミ C C L 2 2 などの野生型 C C L 2 2 とは配列が異なる C C L 2 2 の全長またはフラグメントとして定められてよいが、癌細胞および D C などの C C L 2 2 発現細胞に対する免疫応答を依然として誘発できる。これらの細胞中で発現される C C L 2 2 は、野生型であるか内因的に変異され得る (先天的変異体あるいは細胞分裂または他の際に誘発された変異など)。機能的ホモログは、野生型 C C L 2 2 の変異版または別のスプライス変異体であり得る。別の態様では、C C L 2 2 の機能的

50

ホモログは本明細書において後述されるように定められる。機能的ホモログは、限定されないが、1つ以上の変異および/または1つ以上の配列欠失および/または生体外で導入された付加を有する全長のまたはフラグメント化されたCCL22の組換え版であり得る。

【0081】

従って、特定の実施形態では、本発明の免疫原性的に活性なペプチドフラグメントは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15で特定されるCCL22の最大で90個の連続したアミノ酸残基からなり、最大で80個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で70個の連続したアミノ酸残基、最大で60個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で50個の連続したアミノ酸残基、最大で45個の連続したアミノ酸残基、最大で40個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で35個の連続したアミノ酸残基、最大で30個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で25個の連続したアミノ酸残基、18~25個の連続したアミノ酸残基など、あるいはそれらの機能的ホモログからなり；機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。免疫原性的に活性なペプチドフラグメントはまた、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15で特定されるCCL22の最大で80個の連続したアミノ酸残基からなり、例えば最大で70個の連続したアミノ酸残基、最大で60個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で50個の連続したアミノ酸残基、最大で45個の連続したアミノ酸残基、最大で40個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で35個の連続したアミノ酸残基、最大で30個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で25個の連続したアミノ酸残基、18~25個の連続したアミノ酸残基などからなり、ここで1つ以上のアミノ酸は別のアミノ酸に変異されるか欠失されている。

【0082】

本発明の一つの好ましい実施形態では、免疫原性的に活性なペプチドフラグメントは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15で特定されるCCL22の18~25個のアミノ酸、好ましくは22個の連続したアミノ酸、またはその機能的ホモログからなり、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。

【0083】

従って、別の特定の実施形態では、本発明の免疫原性的に活性なペプチドフラグメントは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCCL22からの最大で25個のアミノ酸残基からなり、最大で24個のアミノ酸残基など、最大で23個のアミノ酸残基など、最大で22個のアミノ酸残基など、最大で21個のアミノ酸残基など、最大で20個のアミノ酸残基など、例えば最大で19個のアミノ酸残基、最大で18個のアミノ酸残基など、例えば最大で17個のアミノ酸残基、最大で16個のアミノ酸残基など、例えば最大で15個のアミノ酸残基、最大で14個のアミノ酸残基など、例えば最大で13個のアミノ酸残基、最大で12個のアミノ酸残基など、例えば最大で11個のアミノ酸残基、8~10個の連続したアミノ酸など、あるいはそれらの機能的ホモログからなり、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。

【0084】

本発明の一つの好ましい実施形態では、免疫原性的に活性なペプチドは、CCL22からの最大で10個の連続したアミノ酸残基を含み、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15で特定されるCCL22からの最大で9個の連続したアミノ酸残基など、8個の連続したアミノ酸残基など、7個の連続したアミノ酸残基など、またはそれらの機能的ホモログを含み、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されてい

る以外は同一の配列のポリペプチドである。特に、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCCCL22からの10個の連続したアミノ酸残基からなり得、あるいは免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCCCL22からの9個の連続したアミノ酸残基からなり得る。

【0085】

本発明の別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 1のCCCL22ペプチドフラグメントから最大で11個の連続したアミノ酸残基を含み、SEQ ID NO: 1で特定されるCCCL22ペプチドフラグメントからの最大で10個の連続したアミノ酸残基など、最大で9個の連続したアミノ酸残基など、8個の連続したアミノ酸残基など、7個の連続したアミノ酸残基など、またはそれらの機能的ホモログを含み、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。特に、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 1のCCCL22ペプチドフラグメントからの10個の連続したアミノ酸残基からなり得、あるいは、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 1のCCCL22ペプチドフラグメントからの9個の連続したアミノ酸残基からなり得る。

10

【0086】

特に、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 3のCCCL22ペプチドフラグメントからの10個の連続したアミノ酸残基からなり得、あるいは、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 3のCCCL22ペプチドフラグメントからの9個の連続したアミノ酸残基からなり得る。

20

【0087】

本発明の別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 4のCCCL22ペプチドフラグメントからの最大で11個の連続したアミノ酸残基を含み、SEQ ID NO: 4で特定されるCCCL22ペプチドフラグメントからの最大で10個の連続したアミノ酸残基など、最大で9個の連続したアミノ酸残基など、8個の連続したアミノ酸残基など、7個の連続したアミノ酸残基など、またはそれらの機能的ホモログを含み、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。特に、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 4のCCCL22ペプチドフラグメントからの10個の連続したアミノ酸残基からなり得、あるいは、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 4のCCCL22ペプチドフラグメントからの9個の連続したアミノ酸残基からなり得る。

30

【0088】

本発明の別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 11のCCCL22ペプチドフラグメントからの最大で11個の連続したアミノ酸残基を含み、SEQ ID NO: 11で特定されるCCCL22ペプチドフラグメントからの最大で10個の連続したアミノ酸残基など、最大で9個の連続したアミノ酸残基など、8個の連続したアミノ酸残基など、7個の連続したアミノ酸残基など、またはこれらの機能的ホモログを含み、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。特に、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 11のCCCL22ペプチドフラグメントからの10個の連続したアミノ酸残基からなり得、あるいは、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 11のCCCL22ペプチドフラグメントからの9個の連続したアミノ酸残基からなり得る。

40

【0089】

いくつかの実施形態では、免疫原的に活性なペプチドフラグメントは、VXLVLLAVAY (SEQ ID NO: 16)を含む、またはこれからなり、特にペプチドフラグメントはSEQ ID NO: 16を含む、またはこれからなり、ここでXはバリン残

50

基またはアラニン残基であり、Yはロイシン残基またはイソロイシン残基である。したがっていくつかの実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 16を含む最大で11個の連続したアミノ酸残基を含み、SEQ ID NO: 16からなる最大で10個の連続したアミノ酸残基などを含む。

【0090】

本発明のいくつかの実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、表1に列挙されたペプチドまたはその機能的ホモログからなる群から選択され得、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。

【0091】

本発明のいくつかの実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、表1に列挙されたペプチドまたはその機能的ホモログからなる群から選択され得、機能的ホモログはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【0092】

従って、好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 1のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【0093】

別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 3のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【0094】

別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 4のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【0095】

別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 11のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 6 】

別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 13のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【 0 0 9 7 】

別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 14のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【 0 0 9 8 】

別の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、SEQ ID NO: 16のCCL22ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログであり得、機能的フラグメントはそれらと少なくとも70%の配列同一性のポリペプチドであり、それらと少なくとも75%の配列同一性など、少なくとも80%の配列同一性など、少なくとも85%の配列同一性など、少なくとも90%の配列同一性など、少なくとも95%の配列同一性など、少なくとも96%の配列同一性など、少なくとも97%の配列同一性など、少なくとも98%の配列同一性など、少なくとも99%の配列同一性などのポリペプチドである。

【表 1】

表 1 : 有用なCCL22ペプチド

SEQ ID NO	名称	SEQ ID NO:1中のアミノ酸番号	配列
SEQ ID NO: 1	CCL22LONG	CCL22 _{1~22}	MDRLQTALLVVLVLLAVALQAT
SEQ ID NO: 2	CCL22-1	CCL22 _{7~15}	ALLVVLVLL
SEQ ID NO: 3	CCL22-2	CCL22 _{3~11}	RLQTALLVV
SEQ ID NO: 4	CCL22-3	CCL22 _{3~12}	RLQTALLVVL
SEQ ID NO: 5	CCL22-4	CCL22 _{11~19}	VLVLLAVAL
SEQ ID NO: 6	CCL22-5	CCL22 _{5~13}	QTALLVVLV
SEQ ID NO: 7	CCL22-6	CCL22 _{14~22}	LLAVALQAT
SEQ ID NO: 8	CCL22-7	CCL22 _{8~17}	LLVVLVLLAV
SEQ ID NO: 9	CCL22-8	CCL22 _{9~17}	LVVLVLLAV
SEQ ID NO: 10	CCL22-9	CCL22 _{6~15}	TALLVVLVL
SEQ ID NO: 11	CCL22SIGNAL	CCL22 _{1~24}	MDRLQTALLVVLVL LAVALQATEA
SEQ ID NO	名称	SEQ ID NO:15中のアミノ酸番号	配列
SEQ ID NO: 13	mCCL22long	mCCL22 _{1~22}	MATLRVPLLVALVLLAVAIQTS
SEQ ID NO: 14	mCCL22short	mCCL22 _{10~19}	VALVLLAVAI
SEQ ID NO: 16	共通配列		VXLVLLAVAY

【 0 0 9 9 】

本発明の好ましい実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、

a) S E Q I D N O : 1 (C C L 2 2 _{1 ~ 2 2})、
 b) S E Q I D N O : 3 (C C L 2 2 _{3 ~ 1 1})、
 c) S E Q I D N O : 4 (C C L 2 2 _{3 ~ 1 2})、
 d) S E Q I D N O : 1 1 (C C L 2 2 _{1 ~ 2 4})、
 e) S E Q I D N O : 1 4 (C C L 2 2 _{1 0 ~ 1 9})、および
 f) a) ~ d) のいずれかによるポリペプチドの機能的ホモログ、
 からなる群から選択され；機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、
 最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている
 以外は同一の配列のポリペプチドである。

【0100】

10

本発明の他のペプチドは、S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5
 の C C L 2 2 の 4 ~ 9 0 個、好ましくは 5 ~ 8 0 個、より好ましくは 1 0 ~ 7 0 個、さら
 により好ましくは 1 2 ~ 6 0 個、さらにより好ましくは 1 5 ~ 4 0 個、例えば 1 8 ~ 2 5
 個などの連続したアミノ酸配列、あるいは、S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I
 D N O : 1 5 と少なくとも 7 0 %、好ましくは少なくとも 8 0 %、より好ましくは少な
 くとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、さらにより好ましくは少な
 くとも 9 8 %、例えば少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの機能的ホモログを含む
 (または好ましくは、これらからなる)。

【0101】

20

機能的ホモログ

C C L 2 2 またはその免疫原的に活性なフラグメントの機能的ホモログはポリペプ
 チドであり、それらはまた免疫原的に活性であり、かつ C C L 2 2、特に S E Q I D
 N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1 5 の C C L 2 2 と少なくともある程度の配列同
 一性を共有する。

【0102】

5 0 個のアミノ酸より短いポリペプチドなど、2 5 個のアミノ酸より短いなどの、より
 短いポリペプチドでは、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、
 最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以
 外は同一の配列の免疫原的に活性なポリペプチドであり得る。

【0103】

30

あるいは、機能的ホモログは S E Q I D N O : 1 2 または S E Q I D N O : 1
 5 の C C L 2 2 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を共有する免疫原的に活性なポリペ
 チドであり得、従って、機能的ホモログは S E Q I D N O : 1 2 のヒト C C L 2 2 ま
 たは S E Q I D N O : 1 5 と好ましくは少なくとも 7 5 % の配列同一性を有し、例え
 ば少なくとも 8 0 % の配列同一性、少なくとも 8 5 % の配列同一性など、例えば少な
 くとも 9 0 % の配列同一性、少なくとも 9 1 % の配列同一性など、例えば少な
 くとも 9 1 % の配列同一性、少なくとも 9 2 % の配列同一性など、例えば少な
 くとも 9 3 % の配列同一性、少なくとも 9 4 % の配列同一性など、例えば少な
 くとも 9 5 % の配列同一性、少な
 くとも 9 6 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 7 % の配列同一性、少な
 くとも 9 8 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 9 % の配列同一性などを有する。

40

【0104】

好ましい実施形態では、機能的ホモログは S E Q I D N O : 1 の C C L 2 2 ペプチ
 ドフラグメントと少なくとも 7 0 % の配列同一性を共有する免疫原的に活性なポリペ
 チドであり、従って、機能的ホモログは S E Q I D N O : 1 の C C L 2 2 ペプチ
 ドフラグメントと好ましくは少なくとも 7 5 % の配列同一性を有し、例えば少な
 くとも 8 0 % の配列同一性、少なくとも 8 5 % の配列同一性など、例えば少な
 くとも 9 0 % の配列同一
 性、少なくとも 9 1 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 1 % の配列同一性、少な
 くとも 9 2 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 3 % の配列同一性、少な
 くとも 9 4 % の配列同一性など、例えば少なくとも 9 5 % の配列同一性、少な
 くとも 9 6 % の配列同一
 性など、例えば少なくとも 9 7 % の配列同一性、少なくとも 9 8 % の配列同一性など、例

50

【 0 1 0 5 】

10

20

30

40

50

も 80 % の配列同一性、少なくとも 85 % の配列同一性など、例えば少なくとも 90 % の配列同一性、少なくとも 91 % の配列同一性など、例えば少なくとも 91 % の配列同一性、少なくとも 92 % の配列同一性など、例えば少なくとも 93 % の配列同一性、少なくとも 94 % の配列同一性など、例えば少なくとも 95 % の配列同一性、少なくとも 96 % の配列同一性など、例えば少なくとも 97 % の配列同一性、少なくとも 98 % の配列同一性など、例えば少なくとも 99 % の配列同一性などを有する。

【0110】

別の好ましい実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 16 の CCL22 ペプチドフラグメントと少なくとも 70 % の配列同一性を共有する免疫原的に活性なポリペプチドであり、従って、機能的ホモログは SEQ ID NO: 16 の CCL22 ペプチドフラグメントと好ましくは少なくとも 75 % の配列同一性を有し、例えば少なくとも 80 % の配列同一性、少なくとも 85 % の配列同一性など、例えば少なくとも 90 % の配列同一性、少なくとも 91 % の配列同一性など、例えば少なくとも 91 % の配列同一性、少なくとも 92 % の配列同一性など、例えば少なくとも 93 % の配列同一性、少なくとも 94 % の配列同一性など、例えば少なくとも 95 % の配列同一性、少なくとも 96 % の配列同一性など、例えば少なくとも 97 % の配列同一性、少なくとも 98 % の配列同一性など、例えば少なくとも 99 % の配列同一性などを有する。

10

【0111】

いくつかの実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 1 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

20

【0112】

いくつかの実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 3 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

【0113】

別の実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 4 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

30

【0114】

別の実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 11 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

【0115】

いくつかの実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 14 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

【0116】

いくつかの実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 14 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

40

【0117】

いくつかの実施形態では、機能的ホモログは SEQ ID NO: 16 の CCL22 ペプチドフラグメントと、少なくとも 2 個のアミノ酸など、少なくとも 3 個のアミノ酸など、少なくとも 1 個のアミノ酸だけ異なる免疫原的に活性なポリペプチドである。

【0118】

配列同一性は、多くの良く知られているアルゴリズムを用いて、多くの異なるギャップペナルティーを適用して計算できる。配列同一性は、例えば全長 SEQ ID NO: 1 に対してなど、全長対照配列に対して計算される。任意の配列アラインメントツールが、限定されないが FASTA、BLAST、または LALIGN などが、ホモログの探索お

50

よび配列同一性の計算に使用され得る。さらに、適切な場合、限定されないがP A M、B L O S S U M、またはP S S Mマトリックスなどの、いずれかの一般的に知られる置換マトリックスが探索アルゴリズムとともに適用され得る。例えば、P S S M（位置特異的スコア化マトリックス）がP S I - B L A S Tプログラムを介して適用され得る。さらに、配列アラインメントは、ギャップの開設および伸長に関する様々なペナルティを用いて実施され得る。例えば、B L A S Tアルゴリズムは5 ~ 12の範囲でのギャップ開設ペナルティ、および1 ~ 2の範囲でのギャップ伸長ペナルティとともに使用され得る。

【0119】

機能的ホモログは、ユビキチン化、標識（例えば、放射性核種、様々な酵素など）、ペグ化（ポリエチレングリコールによる誘導体化）、またはオルニチンなどのアミノ酸の挿入による（または化学合成による置換）などの化学的修飾をさらに含み得るが、これらはヒトタンパク質では通常発生しないが、機能的同等物は化学的修飾を含まないことが好ましい。

10

【0120】

S E Q I D N O : 12またはS E Q I D N O : 15のC C L 22と比べて、あるいはS E Q I D N O : 1、S E Q I D N O : 3、S E Q I D N O : 4、S E Q I D N O : 11、S E Q I D N O : 13またはS E Q I D N O : 14のC C L 22フラグメントと比べて、アミノ酸残基の配列になされるいずれかの変異は、好ましくは保存的置換である。従来技術の当業者は「保存的」アミノ酸置換を作製して評価する方法を理解しており、これによって1つのアミノ酸は1つ以上の共通の化学的特性および/または物理的特性を有する別のものに置換される。保存的アミノ酸置換はタンパク質の機能性に影響しにくい。アミノ酸は共通の特性に従ってグループ分けされ得る。保存的アミノ酸置換は、アミノ酸の所定グループ内の1つのアミノ酸の同一グループ内の他のアミノ酸への置換であり、ここで所定グループ内のアミノ酸は、類似のまたは実質的に類似の特性を示す。

20

【0121】

したがって、本発明の一つの実施形態では、ワクチン組成物は8 ~ 50個のアミノ酸の範囲で、好ましくは8 ~ 10または20 ~ 25個のアミノ酸の範囲でS E Q I D N O : 12またはS E Q I D N O : 15のC C L 22の保存配列からなるポリペプチドを含み、ここで最大で3個のアミノ酸が置換されており、置換は好ましくは保存的である。

30

【0122】

C C L 22を含むポリペプチドまたはそのフラグメント

本発明のワクチン組成物がC C L 22またはそのフラグメントのいずれかを含むポリペプチドを含み得ることも、本発明内に含まれる。したがって、C C L 22の免疫原的に活性なペプチドフラグメントは、例えば、本明細書において本セクションで説明されるポリペプチドのいずれかであるC C L 22フラグメントを含むポリペプチドであり得る。

【0123】

特に、このようなポリペプチドは、セクション「C - Cモチーフケモカイン22」で本明細書において前述されるC C L 22のいずれかなどの全長C C L 22を含み得る。例えば、ポリペプチドは、S E Q I D N O : 12またはS E Q I D N O : 15のC C L 22、あるいはそれと少なくとも70%、少なくとも80%など、例えば少なくとも90%、少なくとも95%などの配列同一性を共有する機能的ホモログを含み得る。特に、このようなポリペプチドは、S E Q I D N O : 12またはS E Q I D N O : 15のC C L 22に加えて、最大で90個、最大で50個など、例えば最大で25個、最大で10個などのアミノ酸などを含み得る。

40

【0124】

ワクチン組成物が、セクション「C C L 22の免疫原的に活性なペプチドフラグメント」で本明細書において前述されるフラグメントのいずれかなどの、C C L 22のフラグメントを含むポリペプチドを含み得ることも本発明内に含まれる。このポリペプチドはC C L 22の免疫原的に活性なペプチドフラグメントのいずれかも含み得、これはセクシ

50

ョン「MHC」で説明されるMHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントのいずれかなどの、MHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントである。

【0125】

したがって、当該ポリペプチドは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のアミノ酸の連続した配列を含む最大で400個のアミノ酸のポリペプチドであり得、最大で300個のアミノ酸など、例えば最大で200個のアミノ酸、最大で100個のアミノ酸など、例えば最大で50個のアミノ酸のポリペプチドであり、ここでSEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のアミノ酸のこの連続した配列は、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCCL22からの最大で50個のアミノ酸残基またはその機能的ホモログからなり、例えば最大で45個のアミノ酸残基、最大で40個のアミノ酸残基など、例えば最大で35個のアミノ酸残基、最大で30個のアミノ酸残基など、例えば最大で25個のアミノ酸残基、18~25個の範囲でなど、8~10個の範囲で連続したアミノ酸などからなる。

10

【0126】

特に、当該ポリペプチドは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15で特定されるCCL22の最大で100個のアミノ酸残基のポリペプチドであり得、最大で90個の連続したアミノ酸残基など、最大で80個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で70個の連続したアミノ酸残基、最大で60個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で50個の連続したアミノ酸残基、例えば45個の連続したアミノ酸残基、最大で40個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で35個の連続したアミノ酸残基、最大で30個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で25個の連続したアミノ酸残基、18~25個の連続したアミノ酸残基など、20個の連続したアミノ酸などのポリペプチドあるいはそれらの機能的ホモログであり得、

20

- a) SEQ ID NO: 1 (CCL22_{1~22})、
- b) SEQ ID NO: 3 (CCL22_{3~11})、
- c) SEQ ID NO: 4 (CCL22_{3~12})、
- d) SEQ ID NO: 11 (CCL22_{1~24})、
- e) SEQ ID NO: 14 (mCCL22_{10~19})、
- f) 表1に記載された配列のいずれか、および

30

g) a)~d)のいずれかによるポリペプチドの機能的ホモログ、
からなる群から選択される免疫原的に活性なペプチドを含み、
機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。

【0127】

いくつかの実施形態では、免疫原的に活性なペプチドはSEQ ID NO: 16に示される配列を含み、すなわち配列VXLVLLAVAY (SEQ ID NO: 16)を有し、ここでXはバリンおよびアラニンからなる群から選択され、Yはイソロイシンおよびロイシンからなる群から選択される。

40

【0128】

当該ポリペプチドはSEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15の連続配列を含む、最大で100個のアミノ酸のポリペプチドでもあり得、最大で50個のアミノ酸など、例えば最大で30個のアミノ酸、最大で20個のアミノ酸など、例えば最大で15個のアミノ酸のポリペプチドであり、ここでSEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のアミノ酸の当該連続配列は、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCCL22からの8~10個の範囲で、9または10個の連続したアミノ酸などからなり、またはこれらの機能的ホモログからなる。したがって、当該ポリペプチドは、

- a) SEQ ID NO: 1 (CCL22_{1~22})、

50

- b) SEQ ID NO: 3 (CCL22₃₋₁₁)、
 c) SEQ ID NO: 4 (CCL22₃₋₁₂)、
 d) SEQ ID NO: 11 (CCL22₁₋₂₄)、
 e) SEQ ID NO: 14 (mCCL22₁₀₋₁₉)、
 f) 表1に記載された配列のいずれか、および

g) a) ~ c) のいずれかによるポリペプチドの機能的ホモログ、
 からなる群から選択される免疫原的に活性なペプチドを含む、最大で100個のアミノ酸のポリペプチドであり得、最大で50個のアミノ酸など、例えば最大で30個のアミノ酸、最大で20個のアミノ酸など、例えば最大で15個のアミノ酸などのポリペプチドであり、機能的ホモログは最大で2個のアミノ酸が置換されているなど、最大で1個のアミノ酸が置換されているなど、最大で3個のアミノ酸が置換されている以外は同一の配列のポリペプチドである。

10

【0129】

いくつかの実施形態では、免疫原的に活性なペプチドは、VXLVLLAVAY (SEQ ID NO: 16) のアミノ酸配列を含む最大で100個のアミノ酸からなり、最大で50個のアミノ酸など、例えば最大で30個のアミノ酸、最大で20個のアミノ酸など、例えば最大で15個のアミノ酸からなる。特に、当該ポリペプチドは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15で特定されるCCL22の最大で100個の連続したアミノ酸残基のポリペプチドであり得、最大で90個の連続したアミノ酸残基など、最大で80個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で70個の連続したアミノ酸残基、最大で60個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で50個の連続したアミノ酸残基、例えば最大で45個の連続したアミノ酸残基、最大で40個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で35個の連続したアミノ酸残基、最大で30個の連続したアミノ酸残基など、例えば最大で25個の連続したアミノ酸残基、18~25個の連続したアミノ酸残基など、20個の連続したアミノ酸などのポリペプチドまたはその機能的ホモログであり得、ここで連続した配列はVXLVLLAVAY (SEQ ID NO: 16) を含む。SEQ ID NO: 16内で、Xはバリンおよびアラニンからなる群から選択され、Yはイソロイシンおよびロイシンからなる群から選択されることが好ましい。

20

【0130】

MHC

30

CCL22の免疫原的に活性なペプチドフラグメントが、本セクションで説明されるMHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントのいずれかなどの、MHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントであり得ることは、本発明内に含まれる。

【0131】

2つのタイプのMHC分子があり、MHCクラスI分子およびMHCクラスII分子である。MHCクラスI分子は、適応免疫反応の主要なエフェクター細胞であるCD8T細胞によって認識される。MHCクラスII分子は抗原提示細胞(APC)の表面で主に発現され、APCの最も重要なものは樹状細胞であると考えられる。APCはナイーブT細胞、ならびに免疫系における他の細胞を刺激する。それらはCD8T細胞およびCD4T細胞の両方を刺激する。

40

【0132】

一つの実施形態では、本発明は免疫原的に活性なCCL22ペプチド(より大きなペプチドおよび/またはワクチン組成物中に任意に含まれる)を提供し、ここで当該免疫原的に活性なCCL22ペプチドは、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCCL22由来の8~10個の連続したアミノ酸であるSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13またはSEQ ID NO: 14のペプチドフラグメントまたはその機能的フラグメントなどからなるMHCクラスI制限ペプチドフラグメントであり、ここで、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO

50

： 3、SEQ ID NO： 4またはSEQ ID NO： 11またはSEQ ID NO： 13またはSEQ ID NO： 14またはSEQ ID NO： 16の最大で2個のアミノ酸が置換されており、それらはいくつかの特性の少なくとも1つを有することによって特徴付けられ、その一つはクラスI HLA分子に結合する能力であり、この分子への結合は、クラスI HLA分子の最大量の半分を回収できるペプチド量（ C_{50} 値）によって測定されるようなアフィニティーで制限され、これは本明細書で説明されるアセンブリ結合アッセイによって測定される場合に最大50 μ Mである。このアセンブリアッセイは、ペプチドトランスポーター欠如細胞株T2へのペプチドの負荷後のHLA分子の安定化に基づく。続いて、正しく折り畳まれた安定なHLA重鎖が構造依存的抗体を用いて免疫沈澱され、ペプチド結合が定量される。この実施形態のペプチドは、SEQ ID NO： 1、SEQ ID NO： 3、SEQ ID NO： 4、SEQ ID NO： 11、SEQ ID NO： 13またはSEQ ID NO： 14のCC L22の最大で100個、好ましくは最大で50個、より好ましくは最大で25個、さらにより好ましくは最大で20個、さらになおより好ましくは最大で15個、最大で10個など、例えば8～10個の連続したアミノ酸あるいはそれらの機能的ホモログを含み（またはより好ましくは、これらからなる）、ここでSEQ ID NO： 12またはSEQ ID NO： 15の最大で2個のアミノ酸が置換されている。

10

【0133】

このアッセイは、候補ペプチドを上記アフィニティーで対象のHLA対立遺伝子分子に結合するそれらの能力についてスクリーニングする簡単な手段を提供する。好ましい実施形態では、本発明のペプチドフラグメントは、最大で30 μ Mである C_{50} 値、最大で10 μ M、最大で5 μ Mおよび最大で2 μ Mの C_{50} 値を含む最大で20 μ Mである C_{50} 値などを有するものである。

20

【0134】

別の好ましい実施形態では、SEQ ID NO： 1、SEQ ID NO： 3、SEQ ID NO： 4、SEQ ID NO： 11、SEQ ID NO： 13またはSEQ ID NO： 14などのSEQ ID NO： 12またはSEQ ID NO： 15のCC L22の新規MHCクラスII制限ペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログが提供され、ここでSEQ ID NO： 12またはSEQ ID NO： 15の最大で2個のアミノ酸が置換されており（「ペプチド」とも本明細書で呼ばれる）、それらは本明細書で後述されるいくつかの特性の少なくとも1つを有することによって特徴付けられる。この実施形態のペプチドは、SEQ ID NO： 12またはSEQ ID NO： 15のCC L22の4～93個、好ましくは8～90個、より好ましくは10～75個、なおより好ましくは12～60個、さらにより好ましくは15～40個、18～25個の連続したアミノ酸など、あるいはそれらのホモログを含み（またはより好ましくは、これらからなり）、ここでSEQ ID NO： 12またはSEQ ID NO： 15の最大で2個、好ましくは最大で1個のアミノ酸が置換されている。好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO： 1のCC L22ペプチドフラグメントの4～15個、好ましくは5～14個、より好ましくは6～13個、なおより好ましくは7～12個、さらにより好ましくは8～11個、8～10個など、9個などの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。別の好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO： 3のCC L22ペプチドフラグメントの4～9個、好ましくは5～9個、より好ましくは6～9個、なおより好ましくは7～8個、8または9個などの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。別の好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO： 4のCC L22ペプチドフラグメントの4～10個、好ましくは5～10個、より好ましくは6～10個、なおより好ましくは7～9個、9または10個などの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。なお別の好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO： 11のCC L22ペプチドフラグメントの4～15個、好ましくは5～14個、より好ましくは6～13個、なおより好ましくは7～12個、さらにより好ましくは8～11個、8～10個など、9個な

30

40

50

どの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO: 13のCC L22ペプチドフラグメントの4～15個、好ましくは5～14個、より好ましくは6～13個、なおより好ましくは7～12個、さらにより好ましくは8～11個、8～10個など、9個などの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。なお別の好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO: 14のCC L22ペプチドフラグメントの4～10個、好ましくは5～10個、より好ましくは6～10個、なおより好ましくは7～10個、8または9個などの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。なお別の好ましい実施形態では、ペプチドはSEQ ID NO: 16のCC L22ペプチドフラグメントの4～10個、好ましくは5～10個、より好ましくは6～10個、なおより好ましくは7～10個、8または9個などの連続したアミノ酸を含む（またはより好ましくは、これらからなる）。

10

20

30

40

50

【0135】

したがって、SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15のCC L22の8～10個のアミノ酸の新規MHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたは18～25個のアミノ酸の新規MHCクラスII制限ペプチドフラグメントあるいはそれらの機能的ホモログが提供され、ここでSEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15の最大で2個のアミノ酸が置換されており、それらは本明細書で後述されるいくつかの特性の少なくとも1つを有することによって特徴付けられ、その1つは、それが制限されるクラスIまたはクラスII HLA分子に結合する能力である。

【0136】

特定の実施形態では、ペプチドフラグメントが提供され、それは以下の特性：
(i) ELISPOTアッセイによって測定される場合、 10^4 個PBLあたり少なくとも1個の頻度で少なくとも1名の癌患者のPBL集団中のINF- γ 産生細胞を誘発できる、および/または
(ii) エピトープペプチドと反応性であるCTLの腫瘍組織中で*in situ*で検出できる、
(iii) *in vitro*でCC L22特異的T細胞の増殖を誘発できる、
の少なくとも1つを有するMHCクラスI制限ペプチドまたはMHCクラスII制限ペプチドである。

【0137】

本発明によるより好ましいペプチドは、ELISPOTアッセイ、例えば本明細書において例1で後述されるELISPOTアッセイによって測定されるように特異的T細胞反応を高めることができるペプチドである。いくつかのペプチドは、それらは高アフィニティーでMHCクラスIまたはクラスIIを結合しないが、ELISPOTによって測定されるときにT細胞反応を依然として上昇させ得る。高アフィニティーでMHCクラスIまたはクラスIIを結合できる他のペプチドも、ELISPOTによって測定されるときにT細胞反応を上昇させる。両種のペプチドは、本発明による好ましいペプチドである。

【0138】

従って、本発明による好ましいペプチドは、ELISPOTアッセイによって測定されるときに特異的T細胞反応を高めることができるペプチドであり、ここで、細胞 10^8 個あたり、より好ましくは 10^7 個あたり、さらにより好ましくは 10^6 個あたり、なおより好ましくは 10^5 個あたり、 10^4 個あたりなどで50個を超えるペプチド特異的スポットが測定される。

【0139】

本発明による最も好ましいペプチドは、CC L22の発現によって特徴付けられる臨床症状を有する個体における細胞免疫反応を誘発できるペプチドであり、臨床症状は好ましくは癌または感染症、最も好ましくは癌である。

【0140】

前述のように、HLA系はヒト主要組織適合性(MHC)系を表す。一般的に、MHC

系は様々な特性：移植抗原、胸腺依存性免疫反応、特定の補体因子および特定疾患における素因を制御する。より具体的には、MHCは異なる3種の分子、すなわちクラスI、IIおよびIII分子をコードし、それはMHCのより全般的な特性を決定する。これらの分子のうち、クラスI分子はいわゆるHLA-A、HLA-BおよびHLA-C分子であり、大部分の核化された細胞および血小板の表面に提示される。

【0141】

本発明のペプチドは、特定のMHCクラスI HLA分子に結合する（によって制限される）それらの能力によって特徴付けられる。したがって、一つの実施形態では、ペプチドは、HLA-A1、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A9、HLA-A10、HLA-A11、HLA-Aw19、HLA-A23(9)、HLA-A24(9)、HLA-A25(10)、HLA-A26(10)、HLA-A28、HLA-A29(w19)、HLA-A30(w19)、HLA-A31(w19)、HLA-A32(w19)、HLA-Aw33(w19)、HLA-Aw34(10)、HLA-Aw36、HLA-Aw43、HLA-Aw66(10)、HLA-Aw68(28)、HLA-A69(28)を含むMHCクラスI HLA-A分子によって制限されるものである。さらに簡単な呼称が文献全体を通して使用され、例えばHLA-Aw19およびHLA-A24(49)の代わりにそれぞれHLA-19またはHLA-A24のように、主たる数字指定のみが使用される。特定の実施形態では、本発明のペプチドはHLA-A1、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A11およびHLA-A24からなる群から選択されるMHCクラスI HLA種で制限される。特定の実施形態では、本発明のペプチドはMHCクラスI HLA種であるHLA-A2またはHLA-A3によって制限される。

10

20

【0142】

さらに有用な実施形態では、本発明のペプチドは、HLA-B5、HLA-B7、HLA-B8、HLA-B12、HLA-B13、HLA-B14、HLA-B15、HLA-B16、HLA-B17、HLA-B18、HLA-B21、HLA-Bw22、HLA-B27、HLA-B35、HLA-B37、HLA-B38、HLA-B39、HLA-B40、HLA-Bw41、HLA-Bw42、HLA-B44、HLA-B45、HLA-Bw46およびHLA-Bw47のいずれかを含むMHCクラスI HLA-B分子によって制限されるペプチドである。本発明の特定の実施形態では、本発明のペプチドが結合できるMHCクラスI HLA-B種は、HLA-B7、HLA-B35、HLA-B44、HLA-B8、HLA-B15、HLA-B27およびHLA-B51から選択される。

30

【0143】

さらに有用な実施形態では、本発明のペプチドは、HLA-Cw1、HLA-Cw2、HLA-Cw3、HLA-Cw4、HLA-Cw5、HLA-Cw6、HLA-Cw7およびHLA-Cw1のいずれかを含むが限定されないMHCクラスI HLA-C分子によって制限されるペプチドである。

【0144】

さらに有用な実施形態では、本発明のペプチドは、HLA-DPA-1、HLA-DPB-1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DRA、HLA-DRBおよびこれらの群におけるすべての対立遺伝子ならびにHLA-DM、HLA-DOのいずれかを含むが限定されないMHCクラスII HLA分子によって制限されるペプチドである。

40

【0145】

特定のHLA分子に結合する能力を有する可能性があるペプチドの選択は、対象の特定HLA分子に結合する既知配列のアラインメントによって行い、これによってペプチド中の特定位置でのいくつかの関連するアミノ酸の優位を明らかにできる。このような優位なアミノ酸残基は本明細書で、「アンカー残基」または「アンカー残基モチーフ」とも呼ばれる。利用可能なデータベースで見出される既知の配列データに基づくそのような比較的簡単な方法によって、特定のHLA分子に結合する可能性があるペプチドがCCL22か

50

ら導き出される。様々なHLA分子に関するこのような分析の代表的な例を下表に示す。

【表 2】

表 2

HLA 対 立 遺伝子	1位	2位	3位	5位	6位	7位	C-末端
HLA-A1		T, S	D, E			L	Y
HLA-A2		L, M			V		L, V
HLA-A3		L, V, M	F, Y				K, Y, F
HLA-A11		V, I, F, Y	M, L, F, Y, I				K, R
HLA-A23		I, Y					W, I
HLA-A24		Y		I, V	F		I, L, F
HLA-A25		M, A, T	I				W
HLA-A26	E, D	V, T, I, L, F			I, L, V		Y, F
HLA-A28	E, D	V, A, L					A, R
HLA-A29		E					Y, L
HLA-A30		Y, L, F, V					Y
HLA-A31			L, M, F, Y				R
HLA-A32		I, L					W
HLA-A33		Y, I, L, V					R
HLA-A34		V, L					R

10

20

HLA-A66	E, D	T, V				R, K	
HLA-A68	E, D	T, V				R, K	
HLA-A69		V, T, A				V, L	
HLA-A74		T				V, L	
HLA-B5		A, P	F, Y			I, L	
HLA-B7	*	P				L, F	
HLA-B8			K	K, R		L	
HLA-B14		R, K				L, V	
HLA-B15 (B62)		Q, L, K, P, H, V, I, M, S, T				F, Y, W	10
HLA-B17						L, V	
HLA-B27		R				Y, K, F, L	
HLA-B35		P				I, L, M, Y	
HLA-B37		D, E				I, L, M	
HLA-B38		H	D, E			F, L	
HLA-B39		R, H				L, F	
HLA-B40 (B60, 61)		E	F, I, V			L, V, A, W, M, T, R	
HLA-B42		L, P				Y, L	20
HLA-B44		E				F, Y, W	
HLA-B46		M, I, L, V				Y, F	
HLA-B48		Q, K				L	
HLA-B51		A, P, G				F, Y, I, V	
HLA-B52		Q	F, Y			I, V	
HLA-B53		P				W, F, L	
HLA-B54		P					
HLA-B55		P				A, V	
HLA-B56		P				A, V	
HLA-B57		A, T, S				F, W, Y	
HLA-B58		A, T, S				F, W, Y	30
HLA-B67		P				L	
HLA-B73		R				P	
HLA-Cw1		A, L				L	
HLA-Cw2		A, L				F, Y	
HLA-Cw3		A, L				L, M	
HLA-Cw4		Y, P, F				L, M, F, Y	
HLA-Cw6						L, I, V, Y	
HLA-Cw6		Y				L, Y, F	
HLA-Cw8		Y				L, I,	
HLA-Cw16		A, L				L, V	40

*一つの実施形態では、この位置に特定のアンカー残基はないが、好ましい実施形態では、アンカー残基はRまたはAである。

【 0 1 4 6 】

したがって、例として、HLA-A3に結合する能力を有する可能性があるナノペプチドは、Xaa-L-Y-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-K、Xaa-L-Y-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-Y、Xaa-L-Y-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-FまたはXaa-V-Y-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-Xaa-Kの配列の一つを有する(Xaaはいずれかのアミノ酸残基を示す)。同様な方法で、任意の他のHLA分子に結合する能力を有する可能性がある配列を設計できる。従来技術の当業者は、対象のHLA分子に関するさらなる「アンカー残基モチーフ」を特定できるものと認識されるであろう。

【0147】

本発明のペプチドは、それが由来するCCL22の天然の配列である配列を有し得る。しかし、いずれかの対象のHLA分子に高いアフィニティーを有するペプチドは、例えば前述の方法に基づいて、少なくとも1つのアミノ酸を置換する、欠失させるまたは付加することにより配列を改変することによってそのような天然の配列などから導き出され得、これによって、対象のHLA分子についてアンカー残基モチーフが特定される。

【0148】

したがって、有用な実施形態では、本発明のポリペプチドはペプチドを含み、その配列は表に列挙される特定のHLA対立遺伝子のそれぞれについて、表に示されるようなアミノ酸残基のいずれかを含む。

10

【0149】

したがって、本発明のペプチドは、CCL22の連続した配列を含む上記ペプチドのいずれかであり得、ここで、1~10個の範囲で、好ましくは1~5個の範囲で、より好ましくは1~3個の範囲で、さらにより好ましくは1~2個の範囲で、なおさらに好ましくは1個のアミノ酸が他のアミノ酸に、好ましくはペプチドが上の表で示される対象のHLA-A特異的ペプチドの1つ以上の、好ましくはすべてのアンカー残基を含むような方法で交換されている。

【0150】

本発明の好ましいペプチドが制限される好ましいHLA種の例は、HLA-A1、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A11およびHLA-A24からなる群から選択されるMHCクラスI HLA種を含み、より好ましくはペプチドはHLA-A3またはHLA-A2によって制限される。あるいは、好ましいHLA種はHLA-B7、HLA-B35、HLA-B44、HLA-B8、HLA-B15、HLA-B27およびHLA-B51からなる群から選択されるMHCクラスI HLA-B種を含む。

20

【0151】

本発明のポリペプチドを特定する方法は以下のステップ：特定のHLA分子、例えば対象集団中で高率で発生する分子を選択するステップ、前述のようにアラインメント分析を実施してCCL22タンパク質中の「アンカー残基モチーフ」を特定するステップ、特定されたアンカー残基の1つ以上を含む適切なサイズのペプチドを分離するまたは構築するステップおよび例1で説明されるELISPOTアッセイによって測定されるときに 10^4 個PBLあたり少なくとも1個の頻度で癌患者のPBL集団中でINF- γ 産生細胞を誘発するペプチドの能力について得られるペプチドを試験するステップ、を含む。例えば、癌患者のPBM C集団中でINF- γ 産生細胞を誘発するペプチドの能力は、 10^4 個のPBM Cあたり少なくとも1個の頻度を有する。

30

【0152】

本発明の一つの態様では、8~10個のアミノ酸残基よりも長いCCL22由来ペプチドが提供される。8~10個のアミノ酸よりも長いポリペプチドは、HLA分子への結合のためにより短い長さへとプロテアソームによって処理される。このため、8~10個のアミノ酸残基長よりも長いポリペプチドを投与するとき、CCL22の「長い」ポリペプチド/タンパク質/タンパク質フラグメント/変異体は、プロテアソームによってサイトゾル中の一連の小さいペプチドへとインビボで処理され得る。プロテアソームによって様々の異なるより短いペプチドへと処理され得る長いペプチドを用いることの利点は、特定のHLAクラスに制限される8~10個のアミノ酸の1つのペプチドよりも、より多くのHLAクラスが1つのペプチドによって標的化され得ることである。

40

【0153】

驚くべきことに、本発明のペプチドのいくつかは、置換を不必要にするのに十分高いアフィニティーでMHC分子に結合し、ここで提示されるようにそのまま抗原として使用される。好ましくは、本発明のワクチン組成物は、CCL22タンパク質(SEQ ID NO: 12またはSEQ ID NO: 15)、全長および部分長CCL22からのポリペプチドフラグメント、さらに変異体、機能的ホモログ、CCL22の連続したペプチド

50

およびこれらの機能的ホモログの1つ以上を含む。より好ましくは、ワクチン組成物は表1に列挙された配列のいずれかを含む。特に好ましくは、ワクチン組成物はペプチドであるSEQ ID NO: 1 (CCCL22₁ ~ 2₂)、SEQ ID NO: 3 (CCCL22₃ ~ 1₁)、SEQ ID NO: 4 (CCCL22₃ ~ 1₂)、SEQ ID NO: 11 (CCCL22₁ ~ 2₄)、SEQ ID NO: 13 (mCCCL22₁ ~ 2₂)またはSEQ ID NO: 14 (mCCCL22₁ ~ 2₄)を含む。

【0154】

本発明のペプチドの重要な特性は、癌および/または感染症(標的細胞)を有する個体のAPCまたは腫瘍/新生物細胞で、INF- γ 産生応答性T細胞、すなわち、PBL集団中の特定のペプチドを特異的に認識する細胞毒性T細胞(CTL)を認識または誘発するその能力である。この活性は個体由来のPBL、PBM C、APCまたは腫瘍細胞をELISPOTアッセイに供することによって容易に測定される。アッセイ前に、アッセイする細胞を試験するペプチドと接触させることにより細胞を刺激することは有効であり得る。好ましくは、本明細書で使用されるELISPOTアッセイによって測定されるときに10⁴個PBM Cあたり少なくとも1個の頻度などの10⁴個PBLあたり少なくとも1個の頻度で、ペプチドはINF- γ 産生T細胞を誘発または認識できる。より好ましくは、頻度は10⁴個PBLあたり少なくとも5個、最も好ましくは10⁴個PBLあたり少なくとも10個、10⁴個PBLあたり少なくとも50または100個などである。例えば、頻度は10⁴個PBM Cあたり少なくとも5個、最も好ましくは10⁴個PBM Cあたり少なくとも10個、10⁴個PBM Cあたり少なくとも50~100個などである。

10

20

【0155】

ELISPOTアッセイはCCCL22ペプチド特異的T細胞反応をモニタリングする強力なツールである。ここでの発見が主に意味することは、本発明のペプチドが癌細胞および/またはCCCL22発現APCで発現されHLA分子と複合体化されるということである。これは、これらの癌細胞をCTLによる破壊に対して感受性にし、癌および感染症と戦うためのCCCL22免疫の有用性を強調する。HLA制限CCCL22由来ペプチドエピトープに対するメラノーマ患者由来のPBL中の自発的CTL反応の存在は、CCCL22免疫原性ペプチドの免疫療法的可能性を示す。

【0156】

本発明の実施形態では、本発明のペプチドは、SEQ ID NO: 12のCCCL22またはSEQ ID NO: 12と少なくとも70%の同一性を有するその機能的ホモログが発現される臨床症状を有する個体のPBL集団中でINF- γ 産生細胞を誘発できる。臨床症状は、好ましくは癌および/または感染症、および最も好ましくは癌である。

30

【0157】

個体

本発明のワクチン組成物で治療されるべき個体は、臨床症状を有する個体である。個体は、好ましくは哺乳動物種、最も好ましくはヒトである。個体は任意の年齢であってよく、若年または老年であり得、雄または雌のいずれかであり得る。個体が有する臨床症状は、癌などの新生物疾患、あるいは微生物感染症またはウイルス感染症、例えばHIVなどの感染症であり得る。

40

【0158】

本発明の実施形態は、癌の治療、リスクの低下、安定化または予防のためのワクチンを提供する。別の実施形態では、本発明は微生物感染症またはウイルス感染症などの感染症に起因する疾患の治療、リスクの低下、安定化または予防のためのワクチンを提供する。

【0159】

癌

本発明のワクチン組成物は、臨床症状を予防する、そのリスクを低下する、または治療するために使用され得る。好ましくは、臨床症状はCCCL22の発現と関連するまたはこれによって特徴付けられる。CCCL22はSEQ ID NO: 12で特定されるCCCL

50

22であり得、または野生型のこれらと少なくとも70%の同一性を共有するホモログであり得るが、必ずしも機能的である必要はない。従って、CC22の発現量（発現は、例えばhnRNA、mRNA、前駆体タンパク質、完全に処理されたタンパク質の発現である）は、臨床症状を有さない個体と同等以上である。

【0160】

本発明の一つの実施形態では、臨床症状は、前新生物または新生物障害などの増殖性障害である。本発明の好ましい実施形態では、臨床症状は癌である。癌（悪性新生物）は、一群の細胞が制御不能な増殖（正常限度を超えた増殖および分裂）、浸潤（隣接細胞への進入およびその破壊）、および時には転移（リンパまたは血液を介した体の他の部位への拡散）の特徴を示す疾患のクラスである。癌のこれらの3種の悪性特質は、それらを良性腫瘍と区別し、良性腫瘍は自己限定的であり、侵入または転移しない。ほとんどの癌は腫瘍を形成するが、白血病などある種のものは形成しない。

10

【0161】

本発明のワクチンの投与によって治療され、管理されおよび/または予防され得る癌の例として示される癌の非限定的な群は、結腸癌、乳癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛上皮腫、精上皮腫、胚性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、グリア芽腫、ニューロノーマ、頭蓋咽頭腫、神経鞘腫、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、メラノーマ、神経芽腫、網膜芽腫、白血病およびリンパ腫、急性リンパ性白血病および急性骨髄球性真性赤血球増加症、多発性骨髄腫、ワルデンストレーママクログロブリン血症、および重鎖病、急性非リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、直腸癌、尿生殖器癌、子宮癌、口腔癌、皮膚癌、胃癌、脳腫瘍、肝臓癌、喉頭癌、食道癌、乳房腫瘍、小児無効急性リンパ性白血病（ALL）、胸腺ALL、B細胞ALL、急性骨髄性白血病、骨髄単球性白血病、急性巨核球性白血病、パーキットリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、T細胞白血病、小型および大型非小細胞肺癌、急性顆粒球性白血病、胚細胞腫瘍、子宮内膜癌、胃癌、頭頸部癌、慢性リンパ性白血病、有毛細胞性白血病ならびに甲状腺癌を含む。

20

30

【0162】

好ましい実施形態では、本発明によるワクチン組成物は被験体において臨床応答を誘発でき、ここで、臨床応答は安定型疾患によって特徴付けられ得、好ましい実施形態では、臨床応答は部分奏効によって特徴付けられ得、または好ましくは臨床応答は癌の完全寛解によって特徴付けられ得る。好ましくは、癌は、メラノーマ、乳癌、卵巣癌、肺癌、膵臓癌、血液癌（白血病など）、結腸癌および腎細胞癌からなる群から選択される。

【0163】

本発明の一つの態様では、ワクチン組成物は個体において臨床応答を誘発できる。一つの実施形態では、臨床応答は安定型疾患（さらに悪化または進行しない）によって特徴付けられ得、好ましい実施形態では、臨床応答は部分奏効によって特徴付けられ得、好ましくは臨床応答は癌または感染症の完全寛解によって特徴付けられ得る。臨床応答は本明細書において後述されるように測定され得る。

40

【0164】

本発明の別の態様では、ワクチン組成物は被験体において臨床応答を誘発でき、ここで臨床応答は最大標的病変の最長直径の合計の低下によって特徴付けられる。低下は本明細書において後述されるように測定され得る。

【0165】

すべての病変器官を代表する、器官あたり最大で5個の病変および合計で10個の病変までのすべての測定可能な病変が、標的病変として特定され、記録されベースラインで測

50

定されなければならない。

- ・標的病変はそれらのサイズ（最長直径を有する病変）および正確な反復測定（画像技術によるまたは臨床的にいずれか）に関するそれらの適合性に基づいて選択される。
- ・すべての標的の最長直径（LD）の合計が計算され、ベースライン合計LDとして報告される。ベースライン合計LDは対象腫瘍を特徴付けする対照として使用される。
- ・すべての他の病変（または疾患部位）が非標的病変として特定され、ベースラインとして記録もされる。これらの病変の測定は必要とされないが、それぞれの有無は経過観察を通して注意されるべきである。

【0166】

標的病変の評価

- ・完全奏効（CR）：すべての標的病変の消失
- ・部分奏効（PR）：ベースライン合計LDを対照としたとき、標的病変のLD合計における少なくとも30%の低下
- ・進行疾患（PD）：治療が開始されてから記録されたLDの最小合計を対照として、標的病変のLD合計における少なくとも20%の増加、または1つ以上の新規病変の出現
- ・安定疾患（SD）：治療が開始されてからLDの最小合計を対照として、PRとみなすには縮小が十分でなく、PDとみなすには増加が十分でない

【0167】

非標的病変の評価

- ・完全奏効（CR）：すべての非標的病変の消失および腫瘍マーカー量の正常化
- ・不完全奏効/安定疾患（SD）：1つ以上の非標的病変の持続、および/または正常限度を超える腫瘍マーカー量の維持
- ・進行疾患（PD）：1つ以上の新規病変の出現、および/または現存非標的病変の明白な進行

【0168】

本発明の一つの実施形態では、本明細書で言及されるタンパク質および/またはポリペプチドのいずれかを含むワクチン組成物は、被験体において臨床応答を誘発でき、ここで臨床応答は最大標的病変の最長直径の合計における低下によって特徴付けられる。

【0169】

本発明のワクチン組成物は、CCCL22を発現する癌を有する個体に投与された場合、SEQ ID NO: 12のCCCL22またはSEQ ID NO: 12と少なくとも70%の同一性を有するその機能的ホモログを発現する癌に対する免疫応答を誘発できると考えられる。本発明のワクチン組成物は、ワクチン接種された個体中で、癌細胞であるCCCL22発現APCに対する細胞毒性効果を有するエフェクターT細胞の産生を誘発でき、および/または被験体における腫瘍間質での抗原特異的T細胞の浸潤を誘発できる。

【0170】

PBL集団中の免疫応答を誘発するそれらの能力に加え、本発明のペプチドは*in situ*で、すなわち固形腫瘍組織中で細胞溶解性免疫応答を誘発することも考慮される。これは、例えば多量体化され検出可能な標識を備えたHLA-ペプチド複合体を調製すること、および免疫組織化学染色用のこのような複合体を用いて腫瘍組織中の本発明のエピトープペプチドと反応性であるCTLを検出することによって実証され得る。従って、本発明のペプチドのさらなる重要な特性は、エピトープペプチドと反応性であるCTLを腫瘍組織中で*in situ*検出できることである。

【0171】

本発明のペプチドが、HLA分子へ結合し細胞表面上でHLAとペプチドの複合体の提示をもたらし、この複合体が今度は細胞溶解性T細胞のエピトープまたは標的として作用する、それらの能力に加え、複合体に対する抗体の産生および/または遅延型過敏性（DTH）反応を生じるB細胞応答などの、他のタイプの免疫応答を誘発し得るということもまた考慮される。免疫応答の後者のタイプは、本発明のペプチドの注入部位での発赤および触知可能な硬化として特徴付けられる。

【 0 1 7 2 】

癌の予防、リスクの低下または治療のために、SEQ ID NO : 12またはSEQ ID NO : 15のC - Cモチーフケモカイン22、またはSEQ ID NO : 12またはSEQ ID NO : 15と少なくとも70%の同一性を有するそれらの機能的ホモログ、またはこのCCL22の連続した配列を含む免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたはそれらの機能的ホモログ、あるいはこのCCL22またはこのペプチドフラグメントをコードする核酸、ならびにアジュバントを含むワクチン組成物を提供することが本発明の目的である。

【 0 1 7 3 】

癌併用療法

いくつかの例では、本発明の治療方法を、化学療法、放射線療法、免疫刺激物質による治療、遺伝子療法、抗体による治療および樹状細胞を用いる治療などのさらなる癌治療と組み合わせることが適切である。

【 0 1 7 4 】

腫瘍細胞におけるCCL22の高発現は免疫系の阻害をもたらすため、本発明によって開示されるCCL22をベースとした免疫療法と細胞毒性化学療法および/または別の抗癌免疫療法治療との組み合わせは、癌を治療する効果的な方法である。これらの治療薬は本明細書において、「第二有効成分」とも呼ばれる。

【 0 1 7 5 】

本発明のワクチン組成物との併用投与（連続的または同時的）について関連する化学療法剤の例は、限定されないが、全トランスレチノイン酸、アクチミド、アザシチジン、アザチオプリン、プレオマイシン、カルボプラチン、カペシタビン、シスプラチン、クロラムブシル、シクロスポラミド、シタラビン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、エリルビシン、エトポシド、フルダラビン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イリノテカン、レナリドマイド、ロイコボリン、メクロレタミン、メルファラン、メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ペメトレキセド、レプリミド、テモゾロミド、テニポシド、チオグアニン、バルルビシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルビンを含む。一つの実施形態では、本薬剤の組み合わせで使用するための化学療法剤は、それ自体、異なる化学療法剤の組み合わせであり得る。適切な組み合わせは、FOLFEXおよびIFLを含む。FOLFEXは5 - フルオロウラシル（5 - FU）、ロイコボリン、およびオキサリプラチンを含む組み合わせである。IFL治療はイリノテカン、5 - FU、およびロイコボリンを含む。

【 0 1 7 6 】

別の第二有効成分は、腫瘍の治療における別々の、同時の、または組み合わせた使用のためのキナーゼ阻害剤であり得る。適切なキナーゼ阻害剤は、抗腫瘍活性を有することが認められているもの（ゲフィチニブ（イレッサ）およびエルロチニブ（タルセバ）など）およびペプチドと組み合わせ使用され得るものが含まれる。腎細胞癌の治療に効果的であることが認められているリンゴ酸スニチニブおよびソラフェニブなどの、受容体チロシンキナーゼ阻害剤も第二有効成分として使用されるのに適している。

【 0 1 7 7 】

第二有効成分のさらなる例は、サイトカインおよび抗体などの免疫刺激物質である。このようなサイトカインは、限定されないが、GM - CSF、I型IFN、インターロイキン21、インターロイキン2、インターロイキン12およびインターロイキン15からなる群から選択され得る。抗体は、好ましくは、抗CD40または抗CTLA - 4抗体などの免疫刺激抗体である。免疫刺激物質は、免疫阻害細胞（調節T細胞など）または因子を枯渇させることができる物質でもあり得、この物質は例えばE3ユビキチンリガーゼであり得る。E3ユビキチンリガーゼ（HECT、RINGおよびU - boxタンパク質）は、免疫細胞機能の主要分子調節因子として浮上しており、それぞれはタンパク質溶解性破壊のために特異的阻害分子を標的にすることによって感染の際に免疫応答の調節に含まれ

10

20

30

40

50

得る。

【 0 1 7 8 】

いくつかの H E C T および R I N G E 3 タンパク質は、免疫自己寛容の誘発および維持と現在結び付けられてもおり、c - C b l、C b l - b、G R A I L、I t c h および N e d d 4 はそれぞれ、T 細胞増殖因子の産生および増殖を負に調節する。

【 0 1 7 9 】

一つの実施形態では、C C L 2 2 由来ポリペプチドを含む本発明のワクチン組成物は、免疫刺激物質のような第二有効成分と組み合わせて投与される。免疫刺激物質は、好ましくは、I L - 2 1 または I L - 2 などのインターロイキンあるいは化学療法剤である。

【 0 1 8 0 】

本発明のワクチン組成物は、C C L 2 2 に加えてさらに 1 種類以上の追加抗原も含み得る。当該抗原は、例えば、癌関連タンパク質由来の免疫原的に活性なペプチドであり得る。

【 0 1 8 1 】

したがって、本発明のワクチン組成物は、C C L 2 2 および / またはその免疫原的に活性なペプチドフラグメントに加えて、

- 1) インドールアミン - 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ (I D O)
 - 2) I D O の免疫原的に活性なペプチドフラグメント
 - 3) 1) または 2) の機能的ホモログ
 - 4) 1) 、 2) または 3) を含むポリペプチド
 - 5) 1) 、 2) 、 3) または 4) のいずれかをコードする核酸
- の 1 つ以上も含み得る。

【 0 1 8 2 】

この I D O は、特に、W O 2 0 0 9 / 1 4 3 8 4 3 の S E Q I D N O : 1 の I D O 、W O 2 0 0 9 / 1 4 3 8 4 3 の S E Q I D N O : 1 3 の I D O 、W O 2 0 0 9 / 1 4 3 8 4 3 の S E Q I D N O : 1 4 の I D O 、W O 2 0 0 9 / 1 4 3 8 4 3 の S E Q I D N O : 1 5 の I D O または W O 2 0 0 9 / 1 4 3 8 4 3 の S E Q I D N O : 1 6 の I D O であり得る。I D O の有用な免疫原的に活性なペプチドフラグメントは、本発明のワクチン組成物中に含まれてよく、W O 2 0 0 9 / 1 4 3 8 4 3 に記載されている。

【 0 1 8 3 】

本発明のワクチン組成物は、C C L 2 2 および / またはこの免疫原的に活性なペプチドフラグメントに加えて、

- 1) P D - L 1
 - 2) P D - L 1 の免疫原的に活性なペプチドフラグメント
 - 3) 1) または 2) の機能的ホモログ
 - 4) 1) 、 2) または 3) を含むポリペプチド
 - 5) 1) 、 2) 、 3) または 4) のいずれかをコードする核酸
- の 1 つ以上も含み得る。

【 0 1 8 4 】

この P D - L 1 は、特に、W O 2 0 1 3 / 0 5 6 7 1 6 の S E Q I D N O : 1 の P D - L 1 であり得る。P D - L 1 の有用な免疫原的に活性なペプチドフラグメントは、本発明のワクチン組成物中に含まれてよく、W O 2 0 1 3 / 0 5 6 7 1 6 に記載されている。

【 0 1 8 5 】

本発明のワクチン組成物は、C C L 2 2 および / またはこの免疫原的に活性なペプチドフラグメントに加えて、

- 1) トリプトファン 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ (T D O)
- 2) T D O の免疫原的に活性なペプチドフラグメント
- 3) 1) または 2) の機能的ホモログ

4) 1)、2) または 3) を含むポリペプチド
5) 1)、2)、3) または 4) のいずれかをコードする核酸
の 1 つ以上も含み得る。

【0186】

この TDO は、特に、本発明者らによって出願された係属出願「Vaccine compositions comprising Tryptophan 2, 3-dioxygenase or fragments thereof (トリプトファン 2, 3 - ジオキシゲナーゼまたはこのフラグメントを含むワクチン組成物)」の SEQ ID NO: 1 の TDO であり得る。TDO の有用な免疫原的に活性なペプチドフラグメントは、本発明のワクチン組成物中に含まれてよく、当該係属出願に記載されている。

10

【0187】

感染症

本発明の別の実施形態では、本明細書で開示されるワクチン組成物は炎症性症状の治療または予防のためのものである。

【0188】

本明細書で使用される用語「炎症性症状」は、炎症などの、免疫応答を引き起こすあらゆる種類の臨床症状に関連し、従って感染性疾患、慢性感染症、自己免疫症状およびアレルギー性炎症を含む。このため、感染性疾患、慢性感染症、自己免疫症状およびアレルギー性炎症などの炎症性症状は、すべて本発明と関連する臨床症状であり、同様にこの記載に従って扱われる。

20

【0189】

炎症は病原体、損傷した細胞、または刺激物質などの有害な刺激に対する血管組織の複合的な生物学的応答である。それは、有害な刺激を取り除きかつ組織に関する治癒過程を開始するための、生物による防護的試みである。炎症は急性または慢性のいずれかに分類できる。急性炎症は有害な刺激に対する体の最初の応答であり、リンパ漿および白血球の血液から損傷組織への増加した移動によって達成される。生化学的事象のカスケードは、局所血管系、免疫系、および損傷組織内の様々な細胞を含む炎症応答を増加させ成熟させる。長期化した炎症は慢性炎症として知られ、炎症部位に存在するタイプの細胞に進行性変化をもたらし、かつ炎症過程からの組織の同時的な破壊および治癒によって特徴付けられる。いずれの場合でも、CC L 2 2 は APC などの免疫系の細胞によって発現され、従って感染症および炎症は、本発明のワクチン組成物の投与によって、治療され、予防され、またはそのリスクが低下され得る臨床症状である。ワクチン組成物は、好ましくは、CC L 2 2 タンパク質、それに由来するタンパク質フラグメント、ポリペプチドまたはペプチド、あるいはこれらのいずれかの機能的ホモログを含む。

30

【0190】

本発明と関連する炎症を伴う障害の例は、限定されないが、アレルギー性炎症、喘息、自己免疫疾患、慢性炎症、慢性前立腺炎、糸球体腎炎、過敏症、感染性疾患、炎症性大腸疾患、骨盤炎症性疾患、再灌流傷害、関節リウマチ、移植拒絶、および血管炎を含む。

【0191】

慢性炎症

40

慢性炎症は、本発明に特に関連するものである。慢性炎症は、同時的な活動性炎症、組織破壊、および修復の試みによって特徴付けられる病的状態である。慢性的に炎症化した組織は、単核免疫細胞（単球、マクロファージ、リンパ球、および形質細胞）の浸潤、組織破壊、および治癒の試みによって特徴付けられ、これは血管形成および線維化を含む。

【0192】

急性炎症では、刺激の除去が炎症化組織への単球（これは適切な活性化によってマクロファージになる）の動員を休止させ、現存するマクロファージがリンパ管を介して組織から出ていく。しかし慢性的な炎症化組織では、刺激が持続し、従って単球の動員が維持され、現存するマクロファージが所定の部位に係留され、かつマクロファージの増殖が刺激される（特にアテローム性プラークにおいて）。

50

【 0 1 9 3 】

慢性炎症の予防、リスクの低下または治療のために、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCC L 2 2、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%の同一性を有するそれらの機能的ホモログ、またはこのCC L 2 2の連続した配列を含む免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたはそれらの機能的ホモログ、またはこのCC L 2 2もしくはこのペプチドフラグメントをコードする核酸、ならびにアジュバントを含むワクチン組成物を提供することが本発明の目的である。

【 0 1 9 4 】

感染性疾患

本発明のワクチン組成物は、臨床症状を予防する、臨床症状からのリスクを低下するまたは臨床症状を治療するために使用され得る。本発明の好ましい実施形態では、臨床症状は感染性疾患である。感染性疾患は、感染性疾患を有する個体におけるCC L 2 2の発現増加を誘発できる細菌、ウイルス、寄生虫および/または真菌などのいずれかの感染性媒介物によって増進され得、好ましくは、感染性疾患は慢性疾患であり、あるいは慢性疾患になるリスクがある。本発明の背景で説明されたように、CC L 2 2の発現増加は、CC L 2 2を発現する生体の付近の微生物病原体に、それからトリプトファンを奪うことによって迅速な効果を有する。しかし、この方法は、CC L 2 2発現細胞がAPCである場合、増加したCC L 2 2発現がTreg細胞の活性阻害を誘発するので逆効果になる。従って、感染性病原体によって生じる疾患の治療、(重篤度を低下させる)安定化の改善および/または予防のために、CC L 2 2タンパク質、タンパク質フラグメント、ペプチドおよび/またはそれらのいずれかの変異体を含むワクチン組成物を提供することが本発明の一つの態様である。

10

20

【 0 1 9 5 】

感染性疾患はウイルスによって生じ得、本発明のワクチン組成物がその治療で投与され得るウイルス性疾患は、限定されないが以下のウイルス性疾患: HIV、AIDS、AIDS関連合併症、水痘(水疱瘡)、感冒、サイトメガロウイルス感染症、コロラドダニ熱、デング熱、エボラ出血性熱、手足口病、肝炎、単純疱疹、帯状疱疹、HPV(ヒトパピローマウイルス)、インフルエンザ(Flu)、ラッサ熱、はしか、マールブルグ出血熱、感染性単核症、おたふくかぜ、ノロウイルス、ポリオ、進行性多巣性白質脳症、狂犬病、風疹、SARS、天然痘(痘瘡)、ウイルス性脳炎、ウイルス性胃腸炎、ウイルス性髄膜炎、ウイルス性肺炎、西ナイル病、および黄熱病を含む。好ましくは、ワクチン組成物は、HIV/AIDSおよび癌を生じ得るウイルス性感染症を有する個体に投与される。ヒト癌と関連する主なウイルスは、ヒトパピローマウイルス、B型肝炎およびC型肝炎ウイルス、エプスタインバーウイルス、およびヒトTリンパ球向性ウイルスであり、このためこれらのウイルス感染症の治療または治療の一部として投与されることが本発明の目的である。

30

【 0 1 9 6 】

本発明と関連する細菌感染の例は、限定されないが、炭疽病、細菌性髄膜炎、ボツリヌス菌中毒、ブルセラ症、カンピロバクター感染症、猫スクラッチ病、コレラ、ジフテリア、流行性発疹チフス、淋病、膿疱疹、レジオネラ症、ライ病(ハンセン病)、レプトスピラ症、リステリア症、ライム病、類鼻疽、リューマチ熱、MRSA感染症、ノカルジア症、パータシス(百日咳)、ペスト、肺炎球菌肺炎、オウム病、Q熱、ロッキー山脈脳脊髄膜炎(RMSF)、サルモネラ症、猩紅熱、細菌性赤痢、梅毒、破傷風、トラコーマ、結核、野兔病、腸チフス、発疹チフス、および泌尿器管感染症を含む。細菌性感染症の治療および/または予防および/またはリスクの低下のためにワクチンを提供することが本発明の目的である。

40

【 0 1 9 7 】

限定されないが、アフリカトリパノソーマ症、アメーバ症、回虫病、バベシア症、シャガス病、肝吸虫症、クリプトスポリジウム症、囊虫症、裂頭条虫症、メジナ虫症、エキノ

50

コックス症、蟻虫症、肝蛭症、肥大吸虫症、フィラリア病、自由生活アメーバ感染症、ランブル鞭毛虫症、顎口虫症、膜様条虫症、イソスポーラ症、カラアザール、リーシュマニア症、マラリア、横川吸虫症、ハエウジ病、オンコケルカ症、シラミ寄生症、ギョウチュウ感染症、疥癬、住血吸虫病、条虫症、トキソカラ症、トキソプラズマ症、旋毛虫症、旋回虫病、鞭虫症、トリコモナス症、およびトリパノソーマ症などの寄生虫感染病；限定されないが、アスペルギルス症、分芽菌症、カンジダ症、コクシジオイデス、クリプトコッカス症、ヒストプラズマ症、足白癬などの真菌感染病；限定されないが、伝染性海綿状脳症、牛海綿状脳症、クロイツフェルト・ヤコブ病、クールー・家族性致死性不眠症、およびアルパーズ症候群などのプリオン伝染病の治療および／または予防および／またはリスクの低下のためにワクチン組成物を提供することが本発明のさらなる態様であり、このため、これらの寄生虫、真菌またはプリオンによって生じる感染症の治療または治療の一部として投与されることが本発明の目的である。

10

【0198】

感染性疾患併用療法

本発明に従うワクチン組成物の投与によるいずれかの感染性疾患の治療が、さらなる（第二）有効成分と併用して、あるいは抗生物質治療、化学療法、免疫刺激物質による治療、樹状細胞を用いる治療、抗ウイルス剤、抗寄生虫剤などのさらなる治療と組み合わせて与えられ得ることがさらに提供される。

【0199】

本発明のワクチンと組み合わせて感染性疾患の治療で使用され得る第二有効成分の例は、限定されないが、抗生物質を含む。本明細書において用語抗生物質は抗細菌、抗真菌、抗ウイルスおよび／または抗寄生虫活性を有する物質を指し、本発明と関連する例は、限定されないが、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルミシン、パロモマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、エルタペネム、イミペネム、メロペネム、クロラムフェニコール、フルオロキノロン、シプロフロキサシン、ガチフロキサシン、ゲミフロキサシン、グレパフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モルキシフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、トロパフロキサシン、グリコペプチド、バンコマイシン、リンコサミド、クリンダマイシン、マクロライド／ケトライド、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、セファドロキシム、セファゾリン、セファレキシン、セファロチン、セファピリン、セフラジン、セファクロール、セファマンドール、セフォニシド、セフォタニド、セホキシチン、セフプロジル、セフロキシム、ロラカルベフ、セフジニル、セフジトレム、セフィキシム、セホペラゾン、セフォタキシム、セフボドキシム、セフトラジウム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、モノバクタム、アズトレオナム、ニトロイミダゾール、メトロニダゾール、オキサゾリジノン、リネゾリド、ペニシリン、アモキシシリン、アモキシシリン／クラブラン酸、アンピシリン、スルバクタム、バカンピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、メチシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンG、ペニシリンV、ピペラシリン、ピペラシリン／タゾバクタム、チカルシリン、チカルシリン／クラブラン酸、ストレプトグラミン、キノブリスチン、ダルフォブリスチン、スルフォンアミド／スルファメトキサゾール、トリメトプリム、テトラサイクリン、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラサイクリン、アゾール抗真菌剤クロトリマゾールフルコナゾール、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ミコナゾール、ボリコナゾール、アンホテリシンB、ナイスタチン、エキノカンディン、カスポファンギン、ミカファンギン、シクロピロックス、フルシトシン、グリセオフルビン、およびテルビナフィンを含む。さらに関連するものは、ビダラビン、アシクロビル、ガンシクロビル、およびバルサイト（バルガンシクロビル）、ヌクレオシドアナログ逆転写酵素阻害剤（NRTI）であるAZT（ジドブジン）、ddI（ディダノシン）、ddC（ザルシタビン）、d4T（スタブジン）、3TC（ラミブジン）、非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤（NNRTI）であるネビラピン、デラビルジン、プロテアーゼ阻害剤であるサキナビル、リトナビル

20

30

40

50

、インジナビル、ネルフィナビル、リバビリン、アマンタジン／リマンタジン、リレンザおよびタミフル、プレコナリル、インターフェロンなどの抗ウイルス剤である。

【0200】

一つの実施形態では、本発明は少なくとも1種類の抗生物質と組み合わせた感染性疾患の治療のための、CC L22由来タンパク質、ポリペプチドおよび／またはそれらの機能的ホモログを含むワクチン組成物に関する。好ましくは、本発明のワクチン組成物はHIVなどの慢性感染症の治療のために使用され、従って抗ウイルス剤などの上に列挙した抗生物質のいずれかと組み合わせて使用される。

【0201】

自己免疫疾患

自己免疫疾患は、生物がそれ自体の構成部分（分子以下レベルまで）を自己として認識できない場合に起こり、これはそれ自体の細胞および組織に対する免疫応答をもたらす。このような異常な免疫応答から生じるあらゆる疾患は自己免疫疾患と呼ばれ、本発明と関連するものである。この例は、限定されないが、セリアック病、1型糖尿病（IDDM）、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群、多発性硬化症（MS）、橋本甲状腺炎、グレーブス病、特発性血小板減少症紫斑病、および関節リウマチ（RA）を含む。

10

【0202】

自己免疫疾患の予防、自己免疫疾患からのリスクの低下または自己免疫疾患の治療のために、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCC L22、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%の同一性を有するそれらの機能的ホモログ、またはこのCC L22の連続した配列を含む免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたはそれらの機能的ホモログ、またはこのCC L22もしくはこのペプチドフラグメントをコードする核酸、ならびにアジュバントを含むワクチン組成物を提供することが本発明の目的である。

20

【0203】

自己免疫疾患併用治療

自己免疫疾患の現在の治療は通常、免疫抑制、抗炎症、または緩和である。食事操作はセリアック病の重篤度を制限する。ステロイドまたはNSAID治療は多くの疾患の炎症徴候を制限する。免疫グロブリンの静脈内調製物（IVIG）は慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー（CIDP）およびギラン・バレー症候群（GBS）に使用される。TNF α 拮抗剤エタネルセプトなどの、より特定の免疫調節療法は、RAを治療するのに有用であることが示されている。これらの免疫療法は、感染に対する感受性などの、有害影響のリスク増加と関連し得る。

30

【0204】

寄生虫療法はこれらの観察に基づいて開発され、特定の腸管寄生線虫（蠕虫類）による個体の接種を含む。現在2種の密接に関連した利用可能な治療があり、鉤虫として一般的に知られているアメリカ鉤虫、またはブタ鞭中卵として一般的に知られているトリクリス・スイス卵のいずれかによる接種である。この方法がクローン病、潰瘍性大腸炎、喘息、アレルギー、多発性硬化症、および慢性炎症性障害を含む、様々な自己免疫障害を治療するのに非常に効果的であることを実証する調査が入手可能である。

40

【0205】

一つの実施形態では、本明細書で開示されるワクチンは、自己免疫疾患に対する上記薬剤および治療のいずれかなどの第二有効成分と組み合わせて使用される。

【0206】

アレルギー性炎症

アレルギーはしばしばアトピーとも呼ばれる免疫系の障害である。アレルギー反応はアレルゲンとして知られる環境物質に対して生じ、これらの反応は後天的で予測可能であり急激である。厳密には、アレルギーは過敏症の4つの型の一つであり、I型（または即時型）過敏症と呼ばれる。それは、IgEとして知られる抗体型による、マスト細胞および

50

好塩基球と呼ばれる特定の白血球細胞の過剰な活性化によって特徴付けられ、極度の炎症応答を生じる。一般的なアレルギー反応は、湿疹、じんま疹、花粉症、喘息、食物アレルギー、およびスズメバチおよびミツバチなどの刺咬昆虫の毒液に対する反応が含まれる。

【0207】

アレルギー性炎症は、アレルギー性喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎およびいくつかの眼のアレルギー疾患を含むいくつかの障害または医学的状态の重要な病態生理学的特性である。

【0208】

アレルギー性炎症の予防、アレルギー性炎症からのリスクの低下またはアレルギー性炎症の治療のために、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCCL22、またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%の同一性を有するそれらの機能的ホモログ、またはこのCCL22の連続した配列を含む免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたはそれらの機能的ホモログ、またはこのCCL22もしくはこのペプチドフラグメントをコードする核酸、ならびにアジュバントを含むワクチン組成物を提供することが本発明の目的である。

10

【0209】

アレルギー性炎症併用治療

2つのタイプの治療がアレルギー性炎症の治療に利用可能であり、薬物療法および免疫療法である。

【0210】

20

薬物療法は、アレルギーメディエーターの作用をブロックするため、または細胞の活性化および脱顆粒化過程の活性化を防止するための拮抗剤の利用である。これらは、抗ヒスタミン剤、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、エピネフリン（アドレナリン）、テオフェリン、クロモリンならびに、モンテルカスト（シングレア）またはザフィルルカスト（アコレート）などの抗ロイコトリエン剤を含み、抗コリン剤、充血緩和剤、マスト細胞安定化剤、および好酸球化学遊走を低下すると考えられる他の化合物も一般的に使用される。

【0211】

免疫療法は、個体が問題のアレルゲンを漸進的に増加する用量で徐々にワクチン接種される、脱感作化または減感作化治療である。免疫療法の第二のタイプは、モノクローナル抗IgE抗体の静脈内注入を含む。第三のタイプである舌下免疫療法は、食物および常在菌などの非病原性抗原に対する経口免疫寛容を利用する経口投与療法である。

30

【0212】

一つの実施形態では、本明細書で開示されるワクチンは、アレルギー性炎症に対する上記の薬剤または治療のいずれかなどの第二有効成分と組み合わせて使用される。

【0213】

医薬組成物

本発明は、個体においてCCL22と関連する臨床障害を治療、そのリスクを低下および/または予防できる医薬組成物に関する。当該医薬組成物は特にワクチン組成物であり得る。本発明のワクチン組成物はタンパク質、ポリペプチドおよび/または核酸分子などの抗原を含む「伝統的」ワクチン組成物であり得る。それらは、個体に由来し後に処理される改変細胞などの細胞を含む組成物、あるいは抗体またはTCRなどの複合体分子を含む組成物の形態であってもよい。

40

【0214】

一般的に、ワクチンは、個体中で免疫応答を誘発できる物質または組成物である。本組成物は以下の：抗原（例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、核酸など）などの「活性成分」、いくつかのエLEMENTの中で特に1種類以上の抗原を含む核酸構築体、細胞（例えば負荷APC、養子移入aso用のT細胞）、複合分子（抗体、TCRおよびMHC複合体など）、キャリア、アジュバントおよび医薬品用担体の1種類以上を含み得る。次に、本発明によるワクチン組成物の様々な成分がより詳細に開示される。

50

【0215】

本発明のワクチン組成物は、癌および/または感染症（CC L 2 2の発現をもたらす）を有する個体に投与された場合、SEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15のCC L 2 2またはSEQ ID NO: 12もしくはSEQ ID NO: 15と少なくとも70%の同一性を有するその機能的ホモログを発現する癌、DCまたはAPCに対する免疫応答を誘発できる。好ましい実施形態では、臨床症状は癌である。本発明のワクチン組成物は、ワクチン接種された個体において、癌細胞に対する細胞毒性効果を有するエフェクターT細胞、ならびにCC L 2 2を発現するAPCおよびDCの産生を誘発でき、および/または被験体中の腫瘍間質で抗原特異的T細胞浸潤を誘発できる。

【0216】

抗原および他の活性成分

タンパク質/ポリペプチドをベースとしたワクチン組成物

本発明のペプチドは、それらが本明細書で提示されるように抗原としてそのまま使用できる。好ましくは、本発明のワクチン組成物は以下の：

- 1) 本明細書においてセクション「C - Cモチーフケモカイン22」で説明されるCC L 2 2のいずれか、特にヒトまたはネズミCC L 2 2であり得るC - Cモチーフケモカイン22 (CC L 2 2)；
- 2) 本明細書において後述のセクション「CC L 2 2の免疫原的に活性なペプチドフラグメント」で説明されるペプチドのいずれかであり得る、CC L 2 2のアミノ酸の連続した配列を含むCC L 2 2の免疫原的に活性なペプチドフラグメント；
- 3) セクション「MHC」で説明されるMHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントのいずれかなどの、MHCクラスI制限ペプチドフラグメントまたはMHCクラスII制限ペプチドフラグメントである、CC L 2 2の免疫原的に活性なペプチドフラグメント；
- 4) 1)、2)および3)に基づくポリペプチドの機能的ホモログ；
- 5) 本明細書においてセクション「CC L 2 2またはこのフラグメントを含むポリペプチド」で後述されるポリペプチドのいずれかであり得る、1)、2)、3)および4)に基づくポリペプチドのいずれかを含むポリペプチド；
- 6) 1)、2)、3)および4)に基づくポリペプチドのいずれかをコードする核酸、の1種類以上を含む。

【0217】

本発明のワクチン組成物における抗原の選択は、従来技術の当業者によって測定可能なパラメータに依存する。言及されているように、本発明の異なるペプチドのそれぞれは、特定のHLA分子によって細胞表面に提示される。そのため、治療される被験体がHLA表現型に関してタイプ化されている場合、その特定のHLAに結合することが知られている1つのペプチド/複数のペプチドが選択される。あるいは、対象の抗原は所定の集団中の様々なHLA表現型の優勢度に基づいて選択される。例として、HLA - A2は白色人種集団中で最も優勢な表現型であり、従って、HLA - A2に結合するペプチドを含む組成物がこの集団の大部分で有効である。さらに、本発明の抗原/ペプチドは表2に示されるアンカー残基モチーフによって改変されて特定のHLA分子への結合を強化し得る。

【0218】

本発明の組成物は、例えば、セクション「CC L 2 2の免疫原的に活性なペプチドフラグメント」、「CC L 2 2またはこのフラグメントを含むポリペプチド」および「MHC」で説明されるペプチドのいずれかである、CC L 2 2の免疫原的に活性なペプチドフラグメントの2種類以上の組み合わせも含み得る。このCC L 2 2の免疫原的に活性なペプチドフラグメントは、標的集団の大部分を網羅するように異なるHLA分子とそれぞれ特異的に相互作用し得る。したがって、例として、本医薬組成物はHLA - A分子によって制限されるペプチドとHLA - B分子によって制限されるペプチドの組み合わせを含み得、例えば標的集団中のHLA表現型の優勢度と一致するこれらのHLA - AおよびHLA - B、例えばHLA - A2およびHLA - B35などを含む。さらに、本組成物は

H L A - C 分子によって制限されるペプチドを含み得る。

【 0 2 1 9 】

ペプチドをベースとしたワクチンの場合、エピトープは「M H C - r e a d y」型で投与でき、これは抗原取り込みの独立した外因性負荷による提示および宿主抗原提示細胞による処理を可能にする。本発明のペプチドは、短い「M H C - r e a d y」型およびプロテアソームによる処理を必要とするより長い型の両ペプチドを含み、したがって複数の腫瘍抗原を標的にできるより複雑なワクチン組成物を提供する。多くの異なるH L A 基がワクチンによって標的化され、より可能性の高いワクチンが多様な集団中で機能する。

【 0 2 2 0 】

マルチエピトープワクチン組成物

本発明は高度な免疫原性マルチエピトープワクチンにも関する。好ましくは、このようなワクチンは任意に他の適切なペプチドおよび/または後述されるアジュバントと組み合わせて、C C L 2 2 の最適な免疫原的に活性なペプチドフラグメントの同時送達を促進するように設計される。本発明は、C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメントを任意にC C L 2 2 に属さないまたはC C L 2 2 由来でないさらなるタンパク質またはペプチドおよび/または後述されるアジュバントと組み合わせて含むマルチエピトープワクチンなどを包含する。より複雑な組成物を有するワクチンの開発を駆り立てる重要な要因は、複数の腫瘍抗原を標的とする願望であり、例えば、注意深く選択されたC T L およびT_H細胞エピトープのコレクションを含むまたはコードするワクチンを設計することによる。本発明はしたがって一つの態様では、クラスI およびクラスII の両方で規定されるC C L 2 2 エピトープを含むワクチン組成物に関する。

【 0 2 2 1 】

本発明のペプチドはしたがって短い「M H C - r e a d y」型（クラスI 制限）、およびプロテアソームによる処理を必要とするより長い型（クラスII 制限）の両ペプチドを含む。したがって、本発明による組成物は、前述で定められるクラスI 拘束性エピトープおよび/またはクラスII 拘束性エピトープを含むマルチエピトープワクチンとして提供され得る。

【 0 2 2 2 】

核酸をベースとしたワクチン組成物

本発明によるワクチン組成物は、C C L 2 2 ポリペプチドまたはその免疫学的に活性なペプチドフラグメントをコードする核酸を含み得る。当該核酸はしたがって上記タンパク質およびペプチドフラグメントのいずれかをコードし得る。核酸は例えば、D N A、R N A、L N A、H N A、P N A であり得、好ましくは核酸はD N A またはR N A である。

【 0 2 2 3 】

本発明の核酸は、発現ベクターなどの任意の適切なベクター内に含まれ得る。多くのベクターが利用可能であり、従来技術の当業者は特定の目的のために有用なベクターを選択できる。ベクターは、例えば、プラスミド、コスミド、ウイルス粒子または人工染色体の形態であってよい。適切な核酸配列が様々な手順によってベクター中に挿入され得、例えば、D N A は従来技術で良く知られている技術を用いて適切な制限エンドヌクレアーゼ部位に挿入され得る。本発明による核酸配列とは別に、ベクターはさらにシグナル配列、複製の起点、1 種類以上のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写終結配列の1 つ以上を含み得る。ベクターは、エンハンサー、ポリ-A タイル、リンカー、ポリリンカー、操作リンカー、多重クロニング部位（M C S）、ストップコドン、内部リボソーム侵入部位（I R E S）および統合または他の所定のエレメントのための宿主相同配列などの追加配列も含み得る。核酸構築体を操作するための方法は、従来技術で良く知られている（例えば、M o l e c u l a r C l o n i n g : A L a b o r a t o r y M a n u a l（分子クローニング：検査室マニュアル）、S a m b r o o k e t a l., e d s., C o l d S p r i n g H a r b o r L a b o r a t o r y, 2 n d E d i t i o n, C o l d S p r i n g H a r b o r, N. Y., 1 9 8 9 を参照する）。ベクターは好ましくは発現ベクターであり、適切な細胞中でそ

これらの発現を指示する調節核酸配列に動作可能に連結された核酸を含む。本発明の範囲内で、この調節核酸配列は一般的に、哺乳動物細胞、好ましくはヒト細胞、より好ましくは抗原提示細胞中で発現を指示できる。

【0224】

一つの好ましい実施形態では、ベクターはウイルスベクターである。ベクターは、弱化細菌ベクターなどの、細菌ベクターであり得る。弱化細菌ベクターを使用して、感染および持続の部位での継続的な粘膜免疫応答を誘発し得る。異なる組換え細菌をベクターとして使用でき、例えば、細菌ベクターはサルモネラ、ラクトコッカス、およびリステリアからなる群から選択され得る。一般的に、異種抗原HPV16 L1またはE7に対する免疫の誘発は、マウス中で強いCTL誘発および腫瘍退縮を伴い、示され得た。ベクターはさらにT細胞刺激ポリペプチドをコードする核酸を含み得る。

10

【0225】

負荷APC

有用な実施形態では、癌疾患に対する免疫原性応答は、個体由来の抗原提示細胞(APC)上のMHCクラスIまたはクラスII分子を負荷することによって、個体からPBLを分離することおよび細胞をペプチドとインキュベーションしてから個体に細胞を注入して戻すことによって、または個体から前駆体APCを分離することおよびサイトカインおよび抗原を用いて細胞をプロフェッショナルAPCに分化させてから個体中に細胞を注入して戻すことによってのいずれかで本発明のペプチドを投与することにより誘発される。

【0226】

したがって、CCL22またはその免疫学的に活性なペプチドフラグメント、またはこのペプチドもしくはこの免疫学的に活性なペプチドフラグメントをコードする核酸を含む抗原提示細胞を含むワクチン組成物を提供することが本発明の一つの態様である。抗原提示細胞は抗原をT細胞に提示できる任意の細胞であり得る。好ましい抗原提示細胞は樹状細胞である。樹状細胞(DC)を調製して、例えば本明細書で後述されるように、いずれかの適切なプロトコルに従った治療方法で使用し得る。プロトコルが異なるHLA型および異なる疾患を有する個体で使用するために適応され得ることは、従来技術の当業者によって認識される。

20

【0227】

樹状細胞(DC)は50 μg/mLのHLA制限ペプチド(GMP品質で合成)で37にて1時間パルスされ得、 5×10^6 個の細胞を1日目および14日目、続いて4週毎に皮下投与し、5回のワクチン接種後にさらに白血球除去を行う。臨床使用および品質管理用のDC産生は、Nicolletteら(2007)で報告されているように実質的に実施できる。

30

【0228】

したがって、本発明の一つの実施形態では、CCL22の発現によって特徴付けられる臨床症状を有する、好ましくは臨床症状が癌または感染症である個体を治療するための方法は、ペプチドを体外で個体の抗原提示細胞(APC)に提示することにより、続いてこのように処理されたAPCを個体に注入して戻すことによりペプチドが投与される方法である。これを実施する少なくとも2つの別の方法がある。一つの選択肢は個体からAPCを分離して、MHCクラスI分子をペプチドとインキュベーション(負荷)することである。MHCクラスI分子を負荷することは、APCをペプチドとインキュベーションし、ペプチドに特異的なMHCクラスI分子を有するAPCがペプチドを結合してそれをT細胞に提示できるようにすることを意味する。続いて、APCを個体中に再注入する。別の選択肢となる方法は、樹状細胞生物学の分野でなされた最近の発見に基づく。この場合、単球(樹状細胞前駆体である)を個体から分離し、サイトカインおよび抗原を用いてプロフェッショナルAPC(または樹状細胞)へとインビトロで分化させる。続いて、インビトロで産生したDCをペプチドでパルスし、個体に注入する。

40

【0229】

養子免疫療法 / 養子移入

50

本発明の一つの重要な態様は、CCL22 特異的 T 細胞をインビトロで培養し、これらを個体に養子移入することに関する。養子移入は、特異的免疫応答を生じることがすでにできる免疫系の実際の成分を医師が個体に直接的に移入することを意味する。

【0230】

CCL22 特異的 T 細胞を提供することが本発明の一つの目的であり、それは例えば養子移入に有用であり得る。CCL22 ペプチド/MHC クラス I または CCL22 ペプチド/MHC クラス II 複合体に特異的に結合できる T 細胞受容体を含む分離された T 細胞は、個体に養子移入でき、この T 細胞は好ましくはインビトロで増殖されている T 細胞であり、ここで CCL22 ペプチドは本明細書で前述された CCL22 の免疫原的に活性なペプチドフラグメントのいずれかであってよい。T 細胞をインビトロで増殖する方法は、従来技術の当業者に良く知られている。本発明はまた、MHC 制限 CCL22 ペプチド複合体に特異的に結合できる T 細胞受容体を含む T 細胞を、癌疾患を有するヒトなどの個体に投与することを含む治療方法に関し、ここで CCL22 由来ペプチドは本明細書で前述された CCL22 ペプチドのいずれかであってよい。本発明はさらに、癌または感染症の治療用医薬品の調製のために、CCL22 またはそのペプチドフラグメントに特異的に結合できる T 細胞受容体を含む T 細胞の利用に関する。自家 T 細胞移入は実質的に Walter ら (1995) で報告されるように実施され得る。

10

【0231】

T CR 移入

さらに別の実施形態では、このような T 細胞を養子移入前に放射線照射して個体中での増殖を制御してよい。T CR 遺伝子移入によって T 細胞の特異性を遺伝子工学操作できる (Engels ら、2007)。これは CCL22 ペプチド特異性を有する T 細胞の個体中への移入を可能にする。一般的に、養子免疫療法のための T 細胞の使用は魅力的であり、なぜならそれは腫瘍またはウイルスが存在しない環境での T 細胞の増殖を可能にし、かつ注入前に T 細胞機能の分析を可能にするためである。

20

【0232】

養子移入における T CR 遺伝子改変 T 細胞 (異種 T CR の発現を指示する発現構築体で形質転換された T 細胞など) の適用は、T 細胞株の移入と比べていくつかの利点を有する: (i) 再指示された T 細胞の産生が一般的に適用可能である。(ii) 高いアフィニティーまたは非常に高いアフィニティー T CR が選択または作製でき、T 細胞を操作するために使用できる。(iii) コドンを最適化したまたはマウス化した T CR を用いて高結合活性 T 細胞を作製でき、安定化 T CR のよりよい表面発現を可能にする。T 細胞受容体 (T CR) 遺伝子移入による T 細胞特異性の遺伝子工学操作は、実質的に Morgan ら (2006) で報告されているように実施され得る。

30

【0233】

T CR トランスフェクション

既知の抗腫瘍活性を有する T CR は、初代ヒト T リンパ球中に遺伝子導入できる。腫瘍特異的 CTL クローン由来の T CR アルファおよびベータをコードする遺伝子は、初代 T 細胞にトランスフェクションでき、この方法で腫瘍抗原に対する特異性を有する T 細胞を再プログラミングする。T CR RNA はエレクトロポレーションによって PBL にトランスフェクションされる (Schaftr ら、2006)。あるいは、T 細胞はレトロウイルスベクターを用いる T CR 遺伝子移入によって新規特異性を与えられる (Morgan ら、2006)。しかし、レトロウイルスベクター由来のプロウイルスは、トランスフェクションされた細胞のゲノム中でランダムに統合し、続いて細胞増殖を妨害し得る。T CR コード RNA での T 細胞のエレクトロポレーションは、RNA がトランスフェクションされた細胞に一時的にのみ存在してゲノム中に統合されないため、この欠点を克服する (Schaftr ら、2006)。さらに、細胞のトランスフェクションは実験室で日常的に使用される。

40

【0234】

アジュバントおよびキャリア

50

本発明によるワクチン組成物は、好ましくはアジュバントおよび/またはキャリアを含む。有用なアジュバントおよびキャリアの例は、本明細書において後述される。したがってCC L 2 2 ポリペプチド、CC L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメントまたはその機能的ホモログ、これらを含むポリペプチドまたはこれらをコードする核酸は、本発明の組成物においてアジュバントおよび/またはキャリアと関連付けられる。

【0235】

アジュバントは、ワクチン組成物中へのその混合がCC L 2 2 またはCC L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメントに対する免疫応答を増加する、さもなければ改善する物質であり、下記をさらに参照されたい。キャリアは足場構造、例えばポリペプチドまたはポリサッカライドであり、これにCC L 2 2 またはそのペプチドフラグメントが結合でき、これは特に本発明のペプチドの提示に役立つ。

10

【0236】

本発明のペプチドの多くは比較的小分子であり、従って本明細書で説明される組成物中で、ペプチドをアジュバントおよび/またはキャリアなどの様々な物質と組み合わせてワクチン、免疫原性組成物などを調製することが必要とされ得る。アジュバントは、広い意味で、免疫応答を促進する物質である。アジュバントの一般的な議論は、Goding, Monoclonal Antibodies (モノクローナル抗体): Principles & Practice (原理と実際) (2nd edition, 1986) 61 - 63 ページで示される。Goding は、対象の抗原が小分子量である、または免疫原性に乏しい場合、免疫原性キャリアへの結合が推奨される、と記している。このようなキャリア分子の例は、キーホールリンペットヘモシアニン、ウシ血清アルブミン、オブアルブミンおよび家禽免疫グロブリンを含む。様々なサポニン抽出物も免疫原性組成物中のアジュバントとして有用であることが示唆されている。アジュバントとして、良く知られたサイトカインである顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を使用することが提唱されている (WO 97 / 28816)。

20

【0237】

キャリアはアジュバントとは独立して存在し得る。キャリアの機能は、例えば、特定のペプチドフラグメントの分子量を増加して、これらの活性または免疫原性を増加する、安定性を付与する、生物学的活性を増加する、または血清半減期を延長することによってよい。さらに、キャリアはCC L 2 2 タンパク質、ポリペプチド、機能的ホモログ、またはそれらのペプチドフラグメントをT細胞に提示するのに役立ち得る。キャリアは、従来技術の当業者によって知られている、例えばタンパク質または抗原提示細胞の任意の適切なキャリアであってよい。キャリアタンパク質は、限定されないが、キーホールリンペットヘモシアニン、血清タンパク質であるトランスフェリン、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、サイログロブリンまたはオブアルブミンなど、免疫グロブリン、あるいはインスリンまたはパルミチン酸などのホルモンであってよい。ヒトの免疫付与では、キャリアはヒトに容認できる生理学的に許容可能なキャリアであり、安全でなければならない。しかし、破傷風トキソイドおよび/またはジフテリアトキソイドは本発明の一つの実施形態で適切なキャリアである。あるいは、キャリアは、セファロースなどのデキストランであってよい。

30

40

【0238】

したがって本組成物中の本明細書から得られるCC L 2 2 タンパク質、ポリペプチドフラグメント、変異体またはペプチドが、前述のタンパク質などのキャリアまたは樹状細胞(DC)などの抗原提示細胞と関連付けられることは、本発明の一つの態様である。

【0239】

アジュバントは、例えばAlK(SO₄)₂、AlNa(SO₄)₂、AlNH₄(SO₄)、シリカ、ミョウバン、Al(OH)₃、Ca₃(PO₄)₂、カオリン、炭素、水酸化アルミニウム、ムラミルジペプチド、N-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン(thr-DMP)、N-アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン(CGP11687、nor-MDPとも呼ばれる)、N-アセチル

50

ムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミニル - N - アラニン - 2 - (1 ' 2 ' - ジバ
 ルミトイル - s n - グリセロ - 3 - ヒドロキシホスホリルオキシ) - エチルアミン (C G
 P 1 9 8 3 5 A、M T P - P E と呼ばれる)、2 % スクアレン / T w e e n - 8 0 (商
 標) エマルションにおける R I B I (M P L + T D M + C W S)、リピド A を含むリポ
 ポリサッカライドおよびその様々な誘導体、フロインド完全アジュバント (F C A)、フ
 ロイント不完全アジュバント、M e r c k A d j u b a n t 6 5、ポリヌクレオチド (例
 えば、ポリ I C およびポリ A U 酸)、結核菌由来のワックス D、結核、コリネバクテリ
 ウム・パルバム、ボルデテラ・ペルツシス、およびブルセラ属のメンバーで認められる物
 質、T i t e r m a x、I S C O M S、Q u i l A、A L U N (米国特許第 5 8 7 6 7 号
 および第 5 , 5 5 4 , 3 7 2 号を参照)、リピド A 誘導体、コレラトキシン誘導体、H S
 P 誘導体、L P S 誘導体、合成ペプチドマトリックスまたは G M D P、インターロイキン
 1、インターロイキン 2、モンタナイド I S A - 5 1 および Q S - 2 1 からなる群から選
 択できる。本発明で使用される好ましいアジュバントは、モンタナイドアジュバント (S
 e p p i c から入手可能、ベルギー)、好ましくはモンタナイド I S A - 5 1 などのオイル / 界面活性剤をベースとしたアジュバントを含む。他の好ましいアジュバントは細菌 D
 N A に基づくアジュバントであり、C p G オリゴヌクレオチド配列を含むアジュバントな
 どである。さらに他の好ましいアジュバントはウイルス d s R N A をベースとしたアジュ
 バントであり、ポリ I : C などである。イミダゾチニリンは好ましいアジュバントのさら
 に別の例である。最も好ましいアジュバントはヒト使用に適したアジュバントである。

10

20

30

40

【 0 2 4 0 】

モンタナイドアジュバント (S e p p i c からすべて入手可能、ベルギー) は、モンタ
 ナイド I S A - 5 1、モンタナイド I S A - 5 0、モンタナイド I S A - 7 0、モンタナ
 イド I S A - 2 0 6、モンタナイド I S A - 2 5、モンタナイド I S A - 7 2 0、モンタ
 ナイド I S A - 7 0 8、モンタナイド I S A - 7 6 3 A、モンタナイド I S A - 2 0 7、
 モンタナイド I S A - 2 6 4、モンタナイド I S A - 2 7、モンタナイド I S A - 3 5、
 モンタナイド I S A 5 1 F、モンタナイド I S A 0 1 6 D およびモンタナイド I M S
 からなる群から、好ましくはモンタナイド I S A - 5 1、モンタナイド I M S およびモン
 タナイド I S A - 7 2 0 からなる群から、より好ましくはモンタナイド I S A - 5 1 から
 なる群から選択され得る。モンタナイド I S A - 5 1 (S e p p i c , I n c) はオイル
 / 界面活性剤をベースとしたアジュバントであり、ここで異なる界面活性剤が非代謝性ミ
 ネラルオイル、代謝性オイル、またはこの 2 種の混合と組み合わせられる。これらは、C C
 L 2 2 またはそのペプチドフラグメントを含む水溶液とともにエマルションとして使用す
 るために調製される。界面活性剤はオレイン酸マンニドである。Q S - 2 1 (A n t i g
 e n i c s ; A q u i l a B i o p h a r m a c e u t i c a l s , フライミングハ
 ム , M A) は、水溶液として扱われる高度に精製された水溶性サポニンである。Q S - 2
 1 およびモンタナイド I S A - 5 1 アジュバントは、無菌の単回使用バイアル中で提供さ
 れ得る。

【 0 2 4 1 】

良く知られているサイトカイン G M - C S F は本発明の別のアジュバントである。G M
 - C S F は十年間アジュバントとして使用されており、好ましくは W O 9 7 / 2 8 8 1 6
 に記載されるような G M - C S F であり得る。

【 0 2 4 2 】

本発明に従って使用できるアジュバントの望ましい機能性を下表に列挙する。

【表 3】

表 3：アジュバント作用の方式

作用	アジュバントタイプ	利点
1. 免疫調節	サイトカインネットワークを改変する一般的に小分子またはタンパク質	免疫応答の上方調節。T h 1 または T h 2 の選択
2. 提示	その本来の構造で免疫原と相互作用する一般的に両親媒性分子または複合体	中和抗体応答の増加。応答期間の延長
3. C T L 誘発	- 免疫原を結合するまたは囲むことができ、細胞膜と融合できるまたは細胞膜を破壊できる粒子 - ペプチドの細胞膜 M H C - I への直接的結合のための w / o エマルション	正しいクラス I 制限ペプチドを生じるタンパク質のサイトゾル処理 プロミスカスペプチドが既知の場合に簡単な処理
4. 標的化	- 免疫原を結合する微粒子アジュバント。クッパー細胞を飽和するアジュバント - マクロファージおよび D C 上のレクチン受容体を標的にする炭水化物アジュバント	アジュバントおよび免疫原の効率的な使用 上記と同様。選択的に標的化する場合、応答のタイプも決定し得る
5. デポー産生	- 短期間用 w / o エマルション - 長期間用マクロスフェアまたはナノスフェア	効率的 単回用量ワクチンの可能性

10

20

出典：C o x , J . C . , and C o u l t e r , A . R . (1 9 9 7) . V a c c i n e 1 5 , 2 4 8 - 5 6 .

【 0 2 4 3 】

本発明によるワクチン組成物は、1種類以上のアジュバントを含み得る。さらに、本発明は、上記のいずれかまたはそれらの組み合わせを含む任意のアジュバント物質および/またはキャリアをさらに含む治療用組成物を包含する。C C L 2 2 タンパク質、それらの変異体またはペプチドフラグメント、およびアジュバントは任意の適切な順序で別々に投与できる。好ましくは、本発明のワクチン組成物は、モンタナイド I S A - 5 1 またはモンタナイド I S A - 7 2 0 などのモンタナイドアジュバントあるいは G M - C S F アジュバントを含む。

30

【 0 2 4 4 】

従って、本発明は、上記のいずれかまたはそれらの組み合わせを含むアジュバント物質をさらに含む治療用組成物を包含する。抗原、すなわち本発明のペプチドおよびアジュバントは、同時にまたは任意の適切な順序で別々に投与することも考慮される。

【 0 2 4 5 】

適用量および投与

40

ワクチン組成物中の本発明の C C L 2 2 または C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメントの量は、特定の適用に応じて変化し得る。しかし、ペプチド組成物の単回用量は、好ましくは約 1 0 ~ 約 5 0 0 0 μ g の範囲、より好ましくは約 1 0 0 ~ 約 1 0 0 0 μ g などの約 5 0 ~ 約 2 5 0 0 μ g である。特に、治療される個体がヒトである本発明の実施形態では、単回用量は、C C L 2 2 または C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメントの 5 0 ~ 5 0 0 μ g の範囲であり、例えば 8 0 ~ 3 0 0 μ g の範囲で、1 0 0 ~ 2 5 0 μ g の範囲などであり得る。しばしば、ワクチン組成物は経時的に繰り返し投与される。例えば、ワクチン組成物は少なくとも 2 回、好ましくは少なくとも 5 回、より好ましくは少なくとも 1 0 回、1 0 ~ 2 0 回の範囲などで投与され得る。ワクチン組成物は連続的にも投与され得る。投与は任意の有用な頻度で繰り返され得る。したがって、

50

例えば、ワクチン組成物は毎週 1 回、2 週に 1 回など、3 週に 1 回など、1 ヶ月に 1 回など、2 ヶ月に 1 回など、3 ヶ月に 1 回など、半年に 1 回など、1 年に 1 回などで投与され得る。特に、ワクチン組成物は連続的に投与され得る。投与の頻度は、この期間中に変わり得る。一つの実施形態では、ワクチン組成物は 1 ~ 3 ヶ月に 1 回、連続して投与される。投与方式は、皮内、皮下および静脈内投与、持続放出製剤の剤形での埋め込みなどを含む。従来技術で知られている投与のありとあらゆる剤形が本明細書で包含される。また、注射可能な免疫原性ペプチド組成物を製剤化するのに適していることが従来技術で知られているありとあらゆる従来の投与剤形が包含され、必要に応じて従来の医薬品として許容可能な担体、希釈剤、保存剤、アジュバント、緩衝成分などを含む、凍結乾燥剤形ならびに溶液、懸濁液またはエマルション剤形などが挙げられる。

10

【0246】

医薬組成物は従来技術の当業者によって知られているいずれかの従来のプロトコルを用いて調製および投与され得る。実施例 3 ~ 5 では、本発明によるワクチン組成物の調製の非限定例、ならびにワクチンなどの投与の非限定例が示される。プロトコルは本明細書で説明されるワクチン組成物のいずれかに容易に適応され得るということは、従来技術の当業者によって認識される。本発明のさらなる実施形態では、本発明の医薬組成物は、癌および感染症などの CCL22 の発現によって特徴付けられる臨床症状を有する個体を治療するのに有用である。

【0247】

本発明の組成物の免疫防御効果は、従来技術の当業者によって知られているいくつかの方法を用いて測定できる。うまくいった免疫応答も、ワクチン組成物のペプチドを特異的に認識する抗体の免疫および / または検出の後の DTH 反応の出現によって測定され得る。

20

【0248】

本発明によるワクチン組成物は、治療上効果的な量で個体に投与され得る。効果的な量は、個体の症状、体重、性別および年齢などの様々な要因に従って変わり得る。他の要因は投与方式を含む。

【0249】

本医薬組成物は、皮下、局所、経口および筋肉内などの様々な経路によって個体に与えられ得る。医薬組成物の投与は、経口または非経口によって達成される。非経口送達の方法は、局所、動脈内（組織に直接的）、筋肉内、皮下、髄内、髄腔内、脳室内、静脈内、腹腔内、または鼻腔内投与を含む。本発明はまた、ワクチン組成物による予防および治療の方法での使用のために適切な局所の、経口の、全身のおよび非経口の医薬組成物を提供する目的を有する。

30

【0250】

例えば、ワクチン組成物は錠剤、カプセル（それぞれ徐放および持続放出製剤を含む）、ピル、粉末、顆粒、エリキシル、チンキ、溶液、懸濁液、シロップおよびエマルションなどの経口投与剤形、または注射によって投与できる。同様に、それらは医薬品の従来技術における当業者に良く知られている剤形を用いてすべて、静脈内（ボラスおよび注入の両方）、腹腔内、皮下、閉塞を伴うもしくは伴わない局所、または筋肉内剤形で投与され得る。本明細書で説明される化合物のいずれかを含む、ワクチンの効果的であるが非毒性な量が、予防剤または治療剤として使用できる。また、注射可能な免疫原性ペプチド組成物を製剤化するのに適していることが従来技術で知られているありとあらゆる従来の投与剤形が包含され、必要に応じて従来の医薬品として許容可能な担体、希釈剤、保存剤、アジュバント、緩衝成分などを含む、凍結乾燥剤形ならびに溶液、懸濁液またはエマルション剤形などが挙げられる。

40

【0251】

本発明によるワクチン組成物の投与の好ましい方式は、限定されないが、全身投与を含み、静脈内または皮下投与、皮内投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、経口投与、直腸投与、膈投与、肺投与および粘膜投与の一般的な任意の剤形などが挙げられる。さらに、本明細

50

書で言及される投与剤形のいずれかのための手段が本発明に含まれることは、本発明の範囲内である。

【0252】

本発明によるワクチンは、1回、または2、3、4もしくは5回などのいずれかの回数で投与できる。1回を超えてワクチンを投与することは、得られる免疫応答をブーストする効果を有する。ワクチンは、前回の投与と異なる剤形または体の部分でワクチンを投与することによって、さらにブーストできる。ブースターショットは、同種または異種ブースターショットのいずれかである。同種ブースターショットは、初回およびその後のワクチン接種が同じ構築体およびより具体的には同じ送達ベヒクル、特に同じウイルスベクターを含む。異種ブースターショットは、同一構築体が異なるウイルスベクター内に含まれる。

10

【0253】

第二有効成分

本明細書で提供されるワクチン組成物が第二有効成分と組み合わせて使用されることは本発明の一つの態様である。ワクチン組成物および第二有効成分の投与は、連続的であるか組み合わされてよい。第二有効成分の例は癌および感染症の両方について前述されている。ワクチン組成物が治療される対象の臨床症状と関連する他の療法と組み合わせて使用され得ることはさらなる態様である。このような療法は、手術、化学療法、または遺伝子療法、免疫刺激物質あるいは抗体を含み得、従来技術の当業者は所定の計画のために適切な併用治療を決定できる。

20

【0254】

いくつかの例では、本発明の治療方法を、化学療法、放射線療法、免疫刺激物質による治療、遺伝子療法、抗体および/または抗生物質による治療ならびに樹状細胞を用いる治療などのさらなる医学的処置と組み合わせることが適切である。

【0255】

免疫付与のモニタリング

好ましい実施形態では、本発明の医薬組成物はワクチン組成物である。従って、本発明のワクチン組成物が投与された個体における免疫付与をモニタリングすることが、本発明の目的および一つの態様である。本医薬組成物はしたがって、癌および/または感染症に対する免疫応答を誘発できる免疫原性組成物またはワクチンであってよい。本明細書で使用されるとき、表現「免疫原性組成物またはワクチン」は癌細胞、APCまたはDCなどのCCl22発現細胞に対する免疫応答の少なくとも1つのタイプを誘発する組成物を指す。したがって、そのような免疫応答は以下の：細胞表面に提示されるHLA/ペプチド複合体を認識できるCTLが産生されその結果として細胞溶解を生じるCTL応答、すなわちワクチンが、ワクチン接種された被験体中で癌細胞に対する細胞毒性効果を有するエファクターT細胞の産生を誘発する；抗癌抗体の産生を高めるB細胞応答；および/またはDTHタイプの免疫応答のいずれかであり得る。本発明の組成物を個体に投与した後に上記反応のいずれかをモニタリングすることにより当該個体の免疫付与を監視することが本発明の目的である。

30

【0256】

一つの態様において、本発明は免疫付与をモニタリングする方法に関し、当該方法は、
i) 個体からの血液サンプルを供給するステップ、
ii) CCl22またはそのペプチドフラグメントを供給するステップであり、ここで当該タンパク質またはペプチドは本明細書で説明されるタンパク質またはペプチドのいずれかであり得るステップ、
iii) 当該血液サンプルがタンパク質またはペプチドを特異的に結合する抗体またはT細胞受容体を含むT細胞を含むかどうか測定するステップ、
iv) これによって当該個体中で当該タンパク質またはペプチドに対する免疫応答が上昇しているかどうか決定するステップ、
を含む。

40

50

【 0 2 5 7 】

個体は好ましくはヒトであり、例えば、C C L 2 2 または C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメント、または当該タンパク質もしくはペプチドをコードする核酸で免疫されているヒトである。

【 0 2 5 8 】

構成要素からなるキット

本発明はまた、

- ・ 本明細書で説明されるワクチン組成物のいずれか、ならびに / または
 - ・ C C L 2 2 タンパク質もしくはその機能的ホモログ、ならびに / または
 - ・ C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメント、その機能的ホモログ、および 10
 - ・ もしくは本明細書で説明されるものに由来するペプチド、ならびに / または
 - ・ 上記 2 項のタンパク質をコードする核酸のいずれか、
- ならびに構成要素からなるキットの使用方法に関する取扱説明書、
を含む構成要素からなるキットに関する。

【 0 2 5 9 】

本発明はまた、

- ・ 本明細書で説明されるワクチン組成物のいずれか、ならびに / または
 - ・ C C L 2 2 タンパク質もしくはその機能的ホモログ、ならびに / または
 - ・ C C L 2 2 の免疫原的に活性なペプチドフラグメント、その機能的ホモログ、および 20
 - ・ もしくは本明細書で説明されるものに由来するペプチド、ならびに / または
 - ・ 上記 2 項のタンパク質をコードする核酸のいずれか、
- ならびに第二有効成分、
を含む構成要素からなるキットに関する。

【 0 2 6 0 】

好ましくは、第二有効成分は治療すべき臨床症状に対応して選択され、癌が治療される場合、第二有効成分は、例えば、上記で挙げられた化学療法剤の中から選択される。同様に、微生物 / ウイルス感染症を治療する場合、第二有効成分は好ましくは、抗生物質および / または抗ウイルス剤である。

【 0 2 6 1 】

構成要素からなるキットの成分は、好ましくは個別の組成物中に含まれるが、構成要素 30
からなるキットの成分すべてが同一組成物内に含まれることも、本発明の範囲内である。
構成要素からなるキットの成分はしたがって、同時にまたは任意の順序で連続して投与され得る。

【表 4】

配列リスト

SEQ ID NO	内容
SEQ ID NO: 1	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{1~22}
SEQ ID NO: 2	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{7~15}
SEQ ID NO: 3	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{3~11}
SEQ ID NO: 4	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{3~12}
SEQ ID NO: 5	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{11~19}
SEQ ID NO: 6	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{5~13}
SEQ ID NO: 7	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{14~22}
SEQ ID NO: 8	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{8~17}
SEQ ID NO: 9	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{9~17}
SEQ ID NO: 10	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{6~15}
SEQ ID NO: 11	ヒトCCL22のポリペプチドフラグメント, CCL22 _{1~24}
SEQ ID NO: 12	ホモサピエンスのCCL22のアミノ酸配列
SEQ ID NO: 13	mCCL22long
SEQ ID NO: 14	mCCL22short
SEQ ID NO: 15	ネズミCCL22の全長アミノ酸配列, Uniprot登録番号088430
SEQ ID NO: 16	共通配列

10

20

【0262】

例

本発明は次の例によってさらに説明されるが、それらは本発明を限定するものと解釈されるべきではない。

【0263】

例1 - 方法

P B M C - 患者材料

30

末梢血単核球 (P B M C) を健常な個体および癌患者 (メラノーマ、腎細胞癌および乳癌の患者) から収集した。血液サンプルは、いずれかの種類の抗癌療法の終了後最低で4週間に採取した。P B M C を L y m p h o p r e p (商標) 分離を用いて分離し、H L A 型付けし、10% D M S O を添加した F C S 中で凍結した。新鮮な卵巣性復水を70 μ m フィルターでろ過し、細胞を遠心分離 (1 5 0 0 R P M I - 1 6 4 0 、 5 分) によって分離した。復水が多量の赤血球を含んだ場合、それらを、細胞に溶解緩衝液 (O r t h o - M u n e L y s i n g S o l u t i o n) を加えて3~5分インキュベーションすることにより取り除いた。溶解緩衝液を素早く洗い流し、細胞を、使用するまで10% D M S O を添加したヒト血清中で - 1 4 0 にて凍結保存した。プロトコルはデンマーク首都圏における科学倫理委員会 (t h e S c i e n t i f i c E t h i c s C o m m i t t e e f o r T h e C a p i t a l R e g i o n o f D e n m a r k) によって承認され、ヘルシンキ宣言の規定に従って実施した。試験登録前に患者からの文書によるインフォームドコンセントを得た。

40

【0264】

抗原特異的T細胞培養の確立

C C L 2 2 特異的T細胞培養を、放射線照射した p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチド負荷自家DCまたはP B M C による癌患者P B M C の刺激によって確立した。翌日に、I L - 7 およびI L - 1 2 (P e p r o T e c h 、 ロンドン、英国) を添加した。培養の刺激を、C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチド負荷した放射線照射自家DC、続いてp C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチド負荷した放射線照射自家P B M C によって8日毎に実施した。ペプチド刺激の翌

50

日に、IL-2 (PeproTech、ロンドン、英国) を添加した。合計で4回のDC刺激および1回のPBMC刺激を実施した。

【0265】

DCの産生

DCを、RPMI-1640中で37℃にて1~2時間の培養皿上の付着によってPBMCから産生した。付着単球をIL-4 (250 U/mL) およびGM-CSF (1000 U/mL) の存在下で10%ウシ胎児血清添加したRPMI-1640中で6日間培養した。DCをIL-β (1000 U/mL)、IL-6 (1000 U/mL)、TNF-α (1000 U/mL) およびPGE₂ (1 μg/mL) の添加によって成熟させた。

【0266】

細胞毒性アッセイ

CTL仲介細胞毒性についての従来の⁵¹Cr放出アッセイを、他 (Andersenら、1999) で報告されているように実施した。標的細胞はT2細胞 (ATCC)、HLA-A2⁺EBV形質転換B細胞株 (RPMI 16666)、AML細胞 (UKE-1 およびTHP1)、結腸癌細胞 (SW480)、メラノーマ細胞株 (FM55-M2)、乳癌細胞MDA-MB231であり、IFN-γ (100 U/mL) の添加または無添加で2日間の後に細胞毒性アッセイを実施した。

【0267】

ペプチド力価の細胞毒性アッセイでは、T2細胞を標的細胞として使用し、エフェクター対標的の一定の比3:1をすべてのペプチド濃度について使用した。pCCL22₃₋₁₂ およびpCCL22₃₋₁₁ の10⁻² ~ 10⁻⁹ mMの範囲でペプチドの10倍連続希釈物を調製した。

【0268】

siRNA仲介CCL22サイレンシング

CCL22の標的化サイレンシングのための一連の3種のStealth siRNA二本鎖 (HSS109578、HSS184551、HSS184552) をInvitrogen (Invitrogen、ペイズリー、英国) から得た。CCL22サイレンシング実験では、THP-1細胞を、既に報告されているように (Metら、2011、Hobora、2010) エレクトロポレーションパラメータを用いてCCL22 siRNAでトランスフェクションした。

【0269】

フローサイトメトリー分析

フローサイトメトリー分析をFACSCanto (商標) II (BD Biosciences, San Jose CA, USA) で実施し、細胞ソーティングをFACS Aria (商標) (BD Biosciences, San Jose CA, USA) で実施した。

【0270】

CCL22特異的T細胞培養の細胞内染色を、細胞をHIVまたはpCCL22₃₋₁₂ ペプチドで5時間刺激した後に実施した (BD GolgiPlug (商標) を最初の1時間後に加えた)。細胞を次いで表面マーカーについて染色し、ついで製造業者の取扱説明書に従って、Fixation (固定) / Permeabilization (透過) およびPermeabilization (透過化) 緩衝液 (eBioscience) を用いて洗浄し透過化した。使用した抗体: IFNγ-PE-Cy7、TNFα-APC、CD4-PerCP、CD8-FITC (すべてBD Bioscienceから入手)。死んだ細胞を、製造業者の取扱説明書に従ってLIVE/DEAD (登録商標) Fixable Near-IR Dead Cell Stain Kit (固定可能な近赤外死細胞染色キット) を用いて染色した。

【0271】

四量体染色およびソーティングのため、HIVまたはpCCL22₃₋₁₂ を添加したPEおよびAPC結合HLA-A2マルチマーを、CD4-PerCPおよびCD8-F

10

20

30

40

50

I T C (B D B i o s c i e n c e) に加えて使用した。H L A - A 2 マルチマーは、既に報告されているM H C ペプチド交換技術 (1 5) を用いて自家で調製した。

【 0 2 7 2 】

E L I S P O T アッセイ

本試験では、E L I S P O T を C I P によって提供されているガイドライン (http://cimt.eu/cimt/files/dl/cip_guidelines.pdf) に従って実施した。E L I S P O T アッセイを使用して、既に報告されているように (S o r e n s e n ら、2 0 1 2)、サイトカイン (I F N γ 、T N F α 、I L - 1 7 A または I L - 1 0) を放出するペプチドエピトープ特異的エファクター細胞を定量した。いくつかの実験では、分析の前にP B M C をペプチドによってインビトロで一度刺激した。いくつかの実験では、 10^4 個の自家D C を抗原提示細胞としてウェルに加えた。スポットを、ImmunoSpot Series 2.0 Analyzer (C . T . L . - E u r o p e , ボン , ドイツ) を用いて計数した。いくつかの実験では、C D 4 $^{+}$ 細胞を、製造業者の取扱説明書に従ってE a s y S e p ヒトC D 4 $^{+}$ T 細胞豊富化キット (S t e m C e l l t e c h n o l o g i e s , グレノーブル , フランス) によって分離した。これは高純度培養 (> 9 7 % C D 4 $^{+}$) を生じ、このことは細胞内サイトカイン染色 (I C S) およびフローサイトメトリー (F C M) に関して後述されるように表面抗体での染色によって確証された。

10

【 0 2 7 3 】

P B M C を、I F N - γ 捕捉 A b (M a b t e c h) でプレコーティングされたE L I S P O T プレート (M u l t i S c r e e n M A I P N 4 5、M i l l i p o r e によるニトロセルロース底96ウェルプレート) の底に置き、ペプチドを5 μ g / m L で加えた。各患者からのP B M C をペプチドおよびコントロール刺激について二重または三重測定で設定した。細胞を抗原の存在下でE L I S P O T プレート中で14 ~ 16 時間インキュベーションし、その後それらを洗い流し、二次ビオチニル化 A b (M a b t e c h) を加えた。2 時間のインキュベーション後に、未結合の二次抗体を洗い流し、ストレプトアビジン共役体化アルカリホスファターゼ (A P) (M a b t e c h) を1 時間加えた。次に、未結合の共役体化酵素を洗い流し、アッセイをB C I P / N B T 基質 (M a b t e c h) を加えることによって発色させた。発色したE L I S P O T プレートを、C T L I m m u n o S p o t S 6 U l t i m a t e - V 分析装置によって、I m m u n o s p o t ソフトウェア v 5 . 1 を用いて分析した。応答を、p C C L 2 2 $_{3-12}$ ペプチドで刺激されたウェルおよびコントロールウェル中のスポットの平均数の差として計算した。

20

30

【 0 2 7 4 】

C C L 2 2 発現の分析

P B M C、癌細胞株および復水細胞培養ならびにs i R N A トランスフェクションしたT H P - 1 細胞からの細胞培養上清を、製造業者の取扱説明書に従ってH u m a n C C L 2 2 / M D C D u o S e t E L I S A キット (R & D S y s t e m s) を用いて分析した。

【 0 2 7 5 】

P B M C および復水細胞のペプチド刺激

健常ドナーまたは癌患者由来のP B M C を解凍し、X - V I V O 1 5 (商標) (L o n z a) 中に4 時間置いてから、5 % ヒト血清を添加したX - V i v o 培地中で細胞を 2×10^6 個 / ウェルで24 ウェルプレートに準備した。D M S O 中のp C C L 2 2 $_{3-12}$ ペプチドまたは無菌水中のH I V ペプチドの20 μ g / m L を各ウェルに加えた。適量のD M S O をH I V コントロールウェルに加えてp C C L 2 2 $_{3-12}$ ペプチドの溶媒について調整した。翌日、I L - 2 を最終濃度の120 U / m L (腹水細胞刺激用に360 U) に加えた。上清サンプルを培養の2 ~ 7 日後に収集した。細胞を2 回刺激してからE L I S P O T アッセイで試験した。

40

【 0 2 7 6 】

50

サイトカイン発現 LUMINEX

CCL22-3またはHIVペプチドで刺激されたPBMCまたは復水細胞からの細胞培養上清を、Bio-RadのBio-Plex Pro (商標) ヒトケモカインアッセイキットを用いてIFN- γ 、TNF- α 、IL-6、IL-10およびIL-1 β について分析した。サンプルをBio-Plex 200システムで得て、Bio-Plex Manager (商標) v6を用いて分析した。

【0277】

統計学的分析

t検定を、pCCL22₃₋₁₂刺激をHIVコントロールと比較する際に癌患者および健常ドナーからのELISAサンプルの統計学的分析について使用した。同じ分析を使用して、pCCL22₃₋₁₂刺激後のIFN- γ 、TNF- α 、IL-6、IL-10発現をHIVコントロールと比較した。ウィルコクソンの符号付順位検定を、多重ゼロ値によるIL-10発現の統計学的分析のために使用した。

10

【0278】

例2 - 結果

CCL22由来HLA結合ペプチドのパネルをSYFPEITHIデータベース (www.syfpeithi.de) を用いて予測した：

【表5】

CCL22-1	ALLVVLVLL	(7~15)
CCL22-2	RLQTALLV	(3~11)
CCL22-3	RLQTALLVVL	(3~12)
CCL22-4	VLVLLAVAL	(11~19)
CCL22-5	QTALLVVLV	(5~13)
CCL22-6	LLAVALQAT	(14~22)
CCL22-7	LLVVLVLLAV	(8~17)
CCL22-8	LVVLVLLAV	(9~17)
CCL22-9	TALLVVLVL	(6~15)
CCL22LONG	MDRLQTALLVVLVLLAVALQAT	(1~22)
CCL22-SIGNAL	MDRLQTALLVVLVLLAVALQ ATEA	(1~24)

20

30

【0279】

癌患者からのPBMCを、これらのペプチドエピトープに対する応答についてIFN γ ELISPOTによってスクリーニングした。CCL22ペプチドCCL22-3 (SEQ ID NO: 4) に対する特異的応答の指標が多くのメラノーマ患者で認められた。

【0280】

メラノーマ患者からのPBMCを、CCL22-3ペプチドでパルスした自家DCによって刺激した。5回の刺激後、T細胞培養はCCL22-3パルスT2細胞を特異的に認識し溶解することが認められた (図3A)。

【0281】

CCL22特異的細胞を次いで四量体染色によって分離し増殖させ、CCL22-3：四量体陽性集団の明確な集団を得た (図2B)。

40

【0282】

CCL22特異的T細胞の性質および反応性を細胞内染色によって評価し、CD8+T細胞がCCL22-3ペプチド刺激に応答してIFN- γ およびTNF- α を分泌していたことが認められたが、一方CD4+T細胞からは反応性が認められなかった (図2A)。

【0283】

CCL22特異的T細胞のHLA-A2制限反応性が、クロム放出アッセイでの標的としてHLA-A2陰性で安定にトランスフェクションされたK562細胞を用いることに

50

よって示された（図3）。

【0284】

CCCL22特異的培養を、いくつかの異なる癌細胞、すなわち白血病細胞（THP-1、RPMI6666、UKE-1）、結腸癌（SW480）ならびに乳癌（MDA）に対する反応性について試験した。

【0285】

CCCL22-3に反応性であるT細胞は、クロム放出アッセイによって示されるように、CCCL22発現癌細胞株を認識し溶解することができた（図4）。また、CCCL22ペプチド特異的細胞が、IFN-γによる治療の有無に関わらず、様々な癌細胞株を溶解できたことを認めた（図4）。

10

【0286】

CCCL22特異的T細胞による標的細胞の死滅は、標的細胞によるCCCL22発現に依存した。したがって、THP-1細胞のsiRNAトランスフェクションによる低下したCCCL22発現は、T細胞仲介溶解を低下させた（図5）。

【0287】

例3 - CCCL22特異的T細胞

本発明者らは、www.syfpeithi.deで利用できるSYFPEITHIエピトープ予測アルゴリズムを用いて、HLA-A2が結合する可能性があるペプチドエピトープについてヒトCCCL22タンパク質のアミノ酸配列をスクリーニングした。興味深いことに、すべての高スコアのエピトープは、タンパク質が分泌される前に切断される、シグナルペプチド部分の配列に位置した。高スコアCCCL22由来ペプチドの一つは、以後pCCCL22₃₋₁₂と呼ばれるRLQTALLVVLだった。pCCCL22₃₋₁₂特異的T細胞を特徴付けするため、メラノーマ患者からPBMCを得、pCCCL22₃₋₁₂エピトープでパルスした自家DCまたはPBMCを用いてこれらの細胞を刺激した。5回の刺激後、pCCCL22₃₋₁₂四量体染色を実施し、これは、四量体陽性細胞の小さい異なる集団を示した（図2A、左図）。四量体陽性集団をうまく分離し、迅速増殖プロトコルを用いて増殖させた（図2B、右図）。増殖した培養で、ペプチド刺激に応答するINFγおよびTNFαについて細胞内染色を実施した。CD8⁺細胞の約30%がpCCCL22₃₋₁₂ペプチド刺激に応答してINFγおよびTNFαを分泌した（図2A）。CD8⁺T細胞のみがpCCCL22₃₋₁₂ペプチドに反応してINFγおよびTNFαを分泌し、CD4⁺T細胞から応答は検出されなかった。同様な結果が、四量体の分離および増殖の前の細胞内染色で認められた（データは示さず）。

20

30

【0288】

例4 - pCCCL22₃₋₁₂特異的T細胞はHLA-A2制限致死を示す

次に、CCCL22特異的T細胞の細胞毒性能力を試験した。pCCCL22₃₋₁₂特異的T細胞はpCCCL22₃₋₁₂パルスT2細胞を溶解できたが、HIVからの陰性コントロールペプチドによってパルスされたT2細胞を認識しなかった（図3A）。CCCL22特異的T細胞のHLA-A2制限反応性を確認するため、標的としてpCCCL22₃₋₁₂の添加または無添加でパルスしたHLA-A2トランスフェクションK562細胞を使用し（図3B）、T細胞がpCCCL22₃₋₁₂でパルスされたK562-A2細胞のみを認識したことを認めた。追加コントロールとして、非トランスフェクションHLA陰性K562細胞を試験し、これらの細胞はpCCCL22₃₋₁₂でパルスされた場合でさえ、pCCCL22₃₋₁₂特異的T細胞によって認識されなかったことを決定した。

40

【0289】

pCCCL22₃₋₁₂エピトープがCCCL22タンパク質の22マーシグナルペプチド配列（CCCL22シグナルペプチドと呼ばれる；MDRLQTALLVVLVLLAVALLQAT）から交差提示され得るかどうかさらに試験した。実際に、pCCCL22₃₋₁₂特異的T細胞はCCCL22シグナルペプチドでパルスされたT細胞を溶解し（図3C）、T2細胞が、これらの細胞中でTAP発現がたとえなくても、pCCCL22₃₋₁₂エピトープを交差提示できたことを示した。次に、pCCCL22₃₋₁₂よりもアミノ酸が

50

1つ短くコンピュータアルゴリズムによってHLA-A2に高いアフィニティーで結合することが予測されたpCCL22₃₋₁₁ペプチド(RLQTAALLVV)に対する、pCCL22₃₋₁₂特異的T細胞のT細胞結合活性を試験した。T細胞は両ペプチドに対して反応したが、これらはデカマーpCCL22₃₋₁₂エピトープに対して最も高い結合活性を示した(図3D)。

【0290】

例5 - CCL22発現癌細胞に対する細胞毒性

CCL22特異的細胞毒性T細胞リンパ球(CTL)培養を、白血病細胞株であるTHP-1、RPMI6666、UKE-1、およびSET-2；結腸癌細胞株であるSW480；乳癌細胞株であるMDA；およびメラノーマ細胞株であるFM55-M2に対する反応性について試験した。SET-2は弱いバンドのみ示したが、PCR分析は、FM55-M2以外のこれらの細胞株すべてにおけるCCL22発現を示した(データは示さず)。pCCL22₃₋₁₂特異的細胞は、インターフェロン-ガンマ(IFN-γ)による前処理の有無に関わらず、試験したほとんどの癌細胞株を溶解したことを認めた(図4A~E)。INF-γは報告によると、癌細胞株中でCCL22発現を誘発し、HLAの表面発現を増加する。クロム放出アッセイはSET-2細胞が死滅させられなかったことを示し、PCRでCCL22 mRNAについてわずかな弱い陽性だった(図4F)。さらに、メラノーマ細胞株FM55-M2はPCRでCCL22 mRNAを示さず、これらの細胞はCCL22特異的CTLによって溶解されなかった(データは示さず)。CCL22特異的CTLによる癌細胞の致死が実際にCCL22発現に依存したことを確認するため、siRNAトランスフェクションを使用してIFNγ前処理したTHP-1細胞中のCCL22発現を阻害した。このトランスフェクションはT細胞が仲介する溶解からこれらの細胞を救済した(図4G)。図4Hは、上清からのELISAによって測定した、siRNAトランスフェクション後のTHP-1細胞中のCCL22阻害を示す。

10

20

【0291】

例6 - CCL22に対する自発的なT細胞応答

次に癌患者13名および健常者10名からPBMCを得、これらの細胞を低用量IL-2の存在下でpCCL22₃₋₁₂で2週間刺激した。IFN-γ酵素結合ImmunoSpot(ELISPOT)アッセイを使用してpCCL22₃₋₁₂ペプチドに対する反応性を分析した。pCCL22₃₋₁₂に対する自発的な特異的T細胞反応性が多いメラノーマ患者および健常ドナーで検出された(図8A)。特に、総体的な応答は健常ドナーと癌患者で類似していると思われる(図8B)。

30

【0292】

例7 - 微小環境におけるCCL22量のT細胞仲介性低下

ELISPOTにおけるpCCL22₃₋₁₂応答を示したドナーPBMCを次にIL-2の存在下でpCCL22₃₋₁₂ペプチドで2回刺激した。次いで培養から、HLA-A2/pCCL22₃₋₁₂四量体および磁性粒子を用いてpCCL22₃₋₁₂反応性T細胞を枯渇させた。このT細胞枯渇化培養を2つに分け、HLA-A2/pCCL22₃₋₁₂四量体分離T細胞をこれらの1つに戻して加えた(図8C)。両培養の上清中のCCL22濃度を次いでモニタリングした。特に、CCL22量はわずか1日後にpCCL22₃₋₁₂特異的T細胞を添加した培養でより低く、この差は培養期間にわたって増加した。培養の9日後、CCL22濃度は、四量体豊富化培養と比べて四量体枯渇化培養でほぼ3倍高かった(図8D)。

40

【0293】

例8 - pCCL22₃₋₁₂刺激は微小環境においてCCL22量を低下した

癌患者がCCL22由来ペプチドでワクチン接種される設定を模倣するため、PBMCをインビトロでpCCL22₃₋₁₂ペプチドエピトープおよびIL-2で刺激した。pCCL22₃₋₁₂特異的T細胞のこの活性化がPBMCにおける全体的なCCL22濃度に影響したかどうか次いで検討した。最初に、ELISPOTでpCCL22₃₋₁₂応答を示したドナーPBMCをpCCL22₃₋₁₂ペプチドを用いて刺激し、上清中の

50

CC L 2 2 濃度を 1 週間にわたって測定した (図 9 A) 。 CC L 2 2 発現は、H I V コントロールペプチドで刺激された培養に比べて p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチドで刺激された培養で低かった。この差は培養の 2 日後で明らかであり、1 週間後に有意に達した (P = 0 . 0 1) 。

【 0 2 9 4 】

続いて、p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチドまたは H I V コントロールペプチドを使用して健常ドナー 1 1 名および癌患者 1 3 名からの P B M C を刺激し、刺激の 1 週間後に上清中の CC L 2 2 濃度を次いで測定した。健常者ドナー由来の P B M C 中で、CC L 2 2 濃度は p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチドによる刺激後に有意に低下した (P = 0 . 0 2) (図 9 B) 。他方で、癌患者由来の P B M C 中では、p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} による刺激後の CC L 2 2 濃度の総体的な低下は有意に至らなかった (P = 0 . 1 7) (図 9 C) 。癌患者由来の P B M C を低 CC L 2 2 発現 (2 0 0 0 p g / m L) および高 CC L 2 2 発現 (5 0 0 0 p g / m L) によって層別したとき (図 9 C) 、高発現群は p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} 刺激後に CC L 2 2 濃度の有意な低下を示した (P = 0 . 0 0 5) 。

10

20

【 0 2 9 5 】

卵巣性腹水液は報告によると、高量の CC L 2 2 とともに、癌細胞および免疫浸潤性細胞の混合物を含む。p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} 特異的 T 細胞が腫瘍微小環境において CC L 2 2 濃度に直接的に影響し得るかどうか試験するため、H L A - A 2 陽性上皮卵巣癌を有する患者 5 名から腹水液を収集し、腹水細胞を分離した。これらの患者 2 名からの腹水細胞は低い生存能力を示し、そのため、患者 3 名からの細胞のみ分析できた。これらの患者の 1 名からの腹水細胞はいずれの T リンパ球も含まなかった。残りの卵巣患者 2 名からの腹水細胞を p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチドで刺激し、これは刺激 1 週後に上清中の総体的な CC L 2 2 量の低下をもたらした (図 9 D) 。

【 0 2 9 6 】

例 8 - p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} 刺激はサイトカイン環境に影響した

癌患者 1 1 名および健常ドナー 1 0 名からの P B M C 上清を、p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチドによる刺激の 1 週後のサイトカイン量の変化について、H I V コントロールペプチドと比較してさらに試験した。CC L 2 2 ペプチドで刺激された癌患者由来の P B M C は I L - 6 量の有意な増加を示した (P = 0 . 0 2) 。同様な増加が健常ドナー由来の P M C の培養物中で認められたが、この変化は有意には至らなかった (P = 0 . 0 6) (図 1 0 A) 。健常ドナー (1 0 名中 7 名) および癌患者 (1 1 名中 7 名) 由来の P B M C の培養物中の T N F α 量の低下傾向も認められたが、これらの変化は有意には達しなかった (それぞれ P = 0 . 7 および P = 0 . 1 6) (図 1 0 B) 。培養上清中の I L - 1 β 、I L - 1 0 、および I F N - γ の濃度をさらに試験した。p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} ペプチド対コントロールペプチドで刺激された培養物間でこれらのサイトカインに明らかな差は検出されなかった。刺激後、I L - 1 0 は上清中でほとんど検出できず、I L - 1 β は p C C L 2 2 _{3 ~ 1 2} による刺激後に、癌患者 1 名および健常ドナー 2 名のみで誘発された (データは示さず) 。

30

【 0 2 9 7 】

例 9 - 結論

40

本発明者らの本結果は、特異的 T 細胞が CC L 2 2 発現細胞を標的にできたことを実証した。

【 0 2 9 8 】

本発明者らは T 細胞が H L A 制限 CC L 2 2 由来ペプチドエピトープを認識できたことを実証し、したがってインビトロで CC L 2 2 ペプチドによる P B M C の再刺激によって CC L 2 2 特異的 T 細胞を拡張できた。クロム放出細胞毒性アッセイの結果は CC L 2 2 発現癌細胞 (乳癌および結腸癌細胞、ならびに白血病細胞) の特異的認識および溶解をさらに実証した。さらに、s i R N A トランスフェクションによる CC L 2 2 ノックダウンは、細胞を CC L 2 2 特異的 T 細胞による致死から救済した。これらの結果は、CC L 2 2 発現細胞中で、シグナルペプチドが分解されエピトープが続いて処理され、H L A - A

50

2 分子に制限された細胞表面で提示されることを示唆する。CCL22 シグナルペプチドが取り上げられ非プロフェッショナル抗原提示細胞の表面で交差提示され得ることも認めた。

【0299】

本発明者らは、ELISPOT アッセイを使用して HLA-A2⁺ 癌患者および健常者からの PBMC を、CCL22 由来 T 細胞エピトープに対する反応性について試験し、T 細胞が CCL22 由来ペプチドに自発的に反応することを認めた。四量体豊富化 / 枯渇化実験は、PBMC への HLA-A2 制限 CCL22 特異的 T 細胞の添加が微小環境中で CCL22 量を低下させたことを示した。ペプチドエピトープによる刺激を介した CCL22 特異的 T 細胞の活性化が、健常ドナーおよび高い CCL22 産生を有する癌患者の両方からの PBMC で CCL22 を有意に低下させたことがさらに測定された。このような活性化は、卵巣癌患者から分離された腹水由来細胞の上清中の CCL22 低下ももたらした。これらの結果は、CCL22 特異的 T 細胞を使用して CCL22 発現細胞を標的にし、かつこれによって腫瘍微小環境への CCL22 仲介 Treg 移動を抑制し得ることを示す。

10

【0300】

興味深いことに、ペプチド刺激によって CCL22 特異的 T 細胞を活性化することは、PBMC 上清への IL-6 の放出増加をもたらし、CCL22 特異的 T 細胞が全体的な前炎症微小環境に影響を及ぼし得ることを示した。ELISPOT の結果は癌患者および健常ドナーの両方における自発的 CCL22 特異的 T 細胞応答を示し、CCL22 が正常免疫細胞中で多量に発現されているため、これは多少驚くべきことだった。

20

【0301】

結論として、本発明者らの本結果は、CD8⁺ T 細胞が HLA 制限 CCL22 ペプチドエピトープを認識できたことを示す。これらの T 細胞は CCL22 発現に依存する様式で様々な癌細胞株を認識し溶解し、かつ癌患者および健常者に自然に存在した。CCL22 特異的細胞の活性化は、微小環境中の CCL22 濃度に直接的に影響し得る。

【0302】

例 10 - C57BL/6 マウスのネズミ CCL22 ペプチドワクチン接種

マウス

C57BL/6 雌マウスを Taconic M&B (デンマーク) または Janvier (フランス) から入手した。すべてのマウスを各実験の開始前に少なくとも 1 週間順化した。マウスは約 8 ~ 14 週齢で実験に加えた。実験手順は実験動物福祉に関する国家倫理委員会 (the national ethics committee on experimental animal welfare) によって承認され、デンマークガイドラインに従って実施した。

30

【0303】

ペプチド

2 種の異なるネズミ CCL22 ペプチド: ここでは mCCL22 long と名付ける一つの長いペプチド (MATLRVPLLVALLVLLAVAIQTSS)、およびここでは mCCL22 short と名付ける一つの短いペプチド (VALLVLLAVAI、mCCL22 long の一部) を TAG Copenhagen (コペンハーゲン, デンマーク) によって合成した。

40

【0304】

ペプチドワクチン接種

10 mM (mCCL22 short) および 5 mM (mCCL22 long) のネズミ CCL22 ペプチド (TAG Copenhagen, デンマーク) ストックを DMSO 中に調製した。全容量 100 μ L 中の 1:1 (vol/vol) IFN- γ / PBS のエマルジョンで 100 μ g のペプチドによって、マウスを下背部で皮下 (s.c.) にワクチン接種した。マウスを週に 1 回、3 週間ワクチン接種し、最後のワクチン接種の 1 週後に屠殺した。

50

【0305】

脾臓細胞単一細胞溶液の調製

屠殺したマウスから脾臓を取り出し、細胞ストレーナー（ $0.7\mu\text{m}$ ）に通して粉碎し、 10% FCS（Life technologies（商標）によるGibco（登録商標））を添加したR10培地：PRMI1640（Life technologies（商標）によるGibco（登録商標））で洗浄した。2分間赤血球溶解緩衝液を加えることにより赤血球を溶解し、ついで10ウシ胎児血清を添加したR10で2回洗浄した。

【0306】

ELISPOTアッセイ

ELISPOTを製造業者の取扱説明書による説明に従って実施した。簡単に説明すると、96ウェルMSIPN4W ELISPOTプレート（Millipore）を、PBS中 $12\mu\text{g/mL}$ の濃度でマウスIFN γ 特異的捕捉Ab（AN18、Mabtech）を用いて4にて一昼夜コーティングした。 8×10^5 または 4×10^5 個の脾臓細胞/ウェルをプレート中に三重測定で播種した。ネズミCCL22ペプチドに対するIFN γ 応答を検討するため、細胞を異なるペプチド（ $5\mu\text{M}$ ）またはコントロールとしてR10とともに37で18～20時間インキュベーションした。ELISPOTを緩衝液（PBS、 0.5% BSAおよび NaN_3 ）中 $1\mu\text{g/mL}$ の濃度でマウスIFN γ 特異的検出Ab（R4-6A2-ビオチン、Mabtech）と室温で2時間反応させ、ついでPBSで6回洗浄した。次いで、緩衝液中のストレプトアビジン-ALP（1:1000、Mabtech）を室温で1時間加えた。スポットを、基質溶液BCIP/NBT（Mabtech）を加えることによって発色させ、水道水で洗浄することにより停止した。

【0307】

ELISPOTをELISPOTリーダー（CTL-Immunospot）によって分析した。結果は図11に示され、本開示のペプチドを用いて免疫応答をインビボで高めることができることを示した。

【0308】

参考文献

Andersen MH, Bonfill JE, Neisig A, Arsequell G, Sondergaard I, Valencia G, et al. Phosphorylated Peptides Can Be Transported by TAP Molecules, Presented by Class I MHC Molecules, and Recognized by Phosphopeptide-Specific CTL（リン酸化ペプチドはTAP分子によって輸送され、クラスI MHC分子によって提示され、およびホスホペプチド特異的CTLによって認識され得る）。J Immunol 1999; 163: 3812-8

Hobo W, Maas F, Adisty N, de WT, Schaap N, vand, V, et al. siRNA silencing of PD-L1 and PD-L2 on dendritic cells augments expansion and function of minor histocompatibility antigen-specific CD8+ T cells（樹状細胞上のPC-L1およびPD-L2のsiRNAサイレンシングは少量の組織適合性抗原特異的CD8+T細胞の増殖および機能を増加させる）。Blood 2010; 116: 4501-11

Met O, Balslev E, Flyger H, Svane IM. High immunogenic potential of p53 mRNA-transfected dendritic cells in patients with primary breast cancer（原発性乳癌を有する患者におけるp53 mRNAトランスフェクションされた樹状細胞の高免疫原性の可能性）。Breast

10

20

30

40

50

Cancer Res Treat 2011;125:395-406.

Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, Hughes MS, Yang JC, Sherry RM, Royal RE, Topalian SL, Kammula US, Restifo NP, Zheng Z, Nahvi A, de Vries CR, Rogers-Freezer LJ, Mavroukas SA, Rosenberg SA. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes (遺伝子工学処理されたリンパ球の移入後の患者における癌退縮). Science. 2006 Oct 6;314(5796):126-9. Epub 2006 Aug 31.

10

Nicolette CA, Healey D, Tcherepanova I, Whelton P, Monesmith T, Coombs L, Finke LH, Whiteside T, Miesowicz F, (2007). Dendritic cells for active immunotherapy: optimizing design and manufacture in order to develop commercially and clinically viable products (活性免疫療法のための樹状細胞: 商業的および臨床的に実行可能な製品を開発するための最適化設計および製造). Vaccine, Sep 27;25 Suppl 2:B47-60. Epub 2007

Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer (ヒト膵臓癌におけるプログラム死-1リガンド/プログラム死-1経路の臨床的重要性および治療可能性). Clin Cancer Res 2007;13:2151-2157.

20

Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, Colau D, Dolusic E, Frederick R, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase (トリプトファン2,3-ジオキシゲナーゼの阻害による腫瘍免疫寛容の反転). Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2012 [cited 2013 Apr 6];109:2497-502

30

Rammensee H, Bachmann J, Emmerich NP, Bachor OA, Stevanovic S. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs (SYFPEITHI: MHCリガンドおよびペプチドモチーフのためのデータベース). Immunogenetics [Internet]. 1999;50:213-9.

Sorensen RB, Berge-Hansen L, Junker N, Hansen CA, Hadrup SR, Schumacher TNM, et al. The immune system strikes back: cellular immune responses against indoleamine 2,3-dioxygenase (免疫系は反撃する: インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼに対する細胞免疫応答). PLoS One [Internet]. 2009 [cited 2012 Aug 15];4:e6910

40

Toebe M, Coccoris M, Bins A, Rodenko B, Gomez R, Nieuwkoop NJ, et al. Design and use of conditional MHC class I ligands (条件付きMHCクラスIリガンドの設計および利用). Nat Med. 2006;12:246

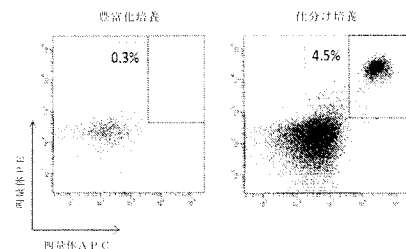
Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, Finch

50

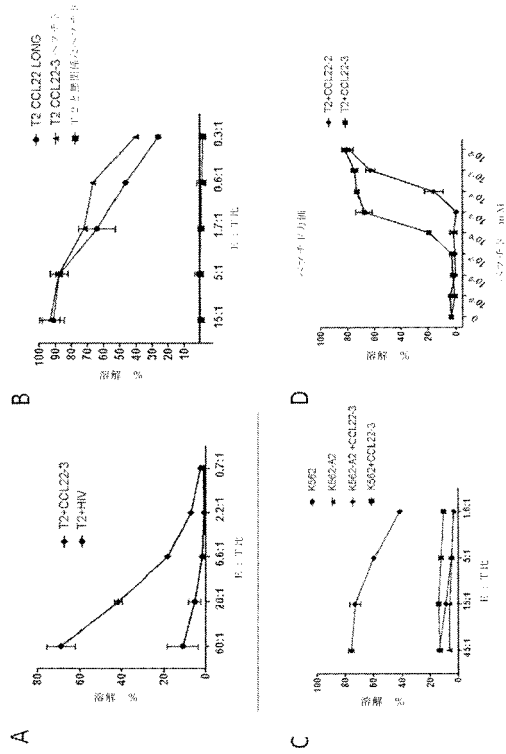
10

10

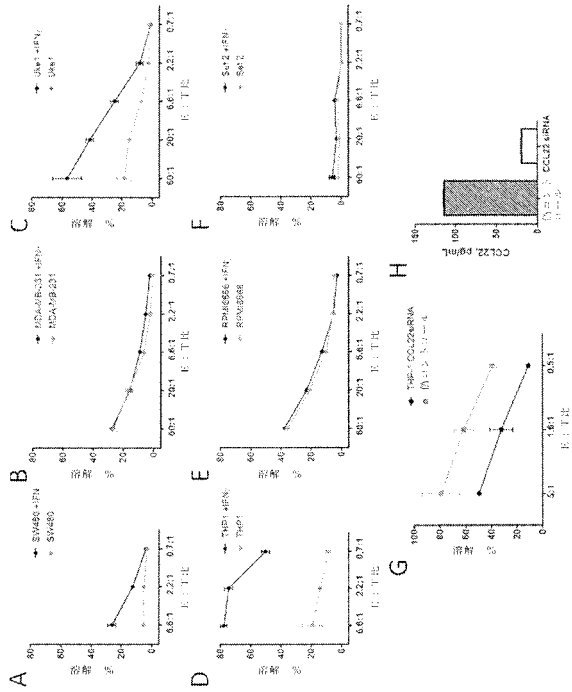
【 図 2 】



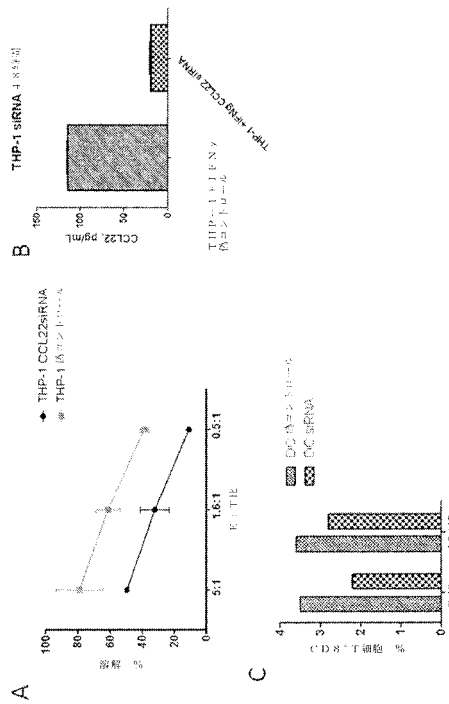
【図 3】



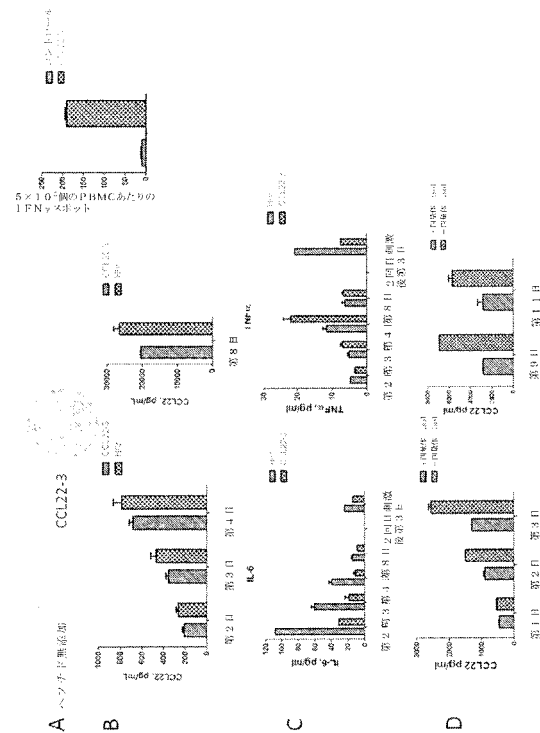
【図 4】



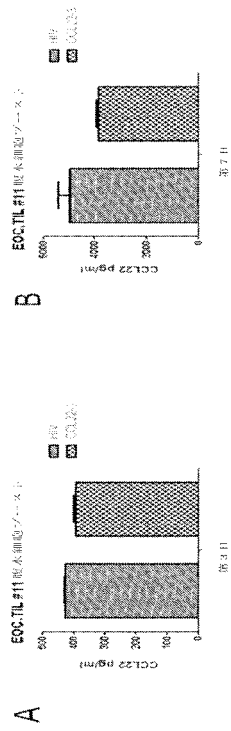
【図 5】



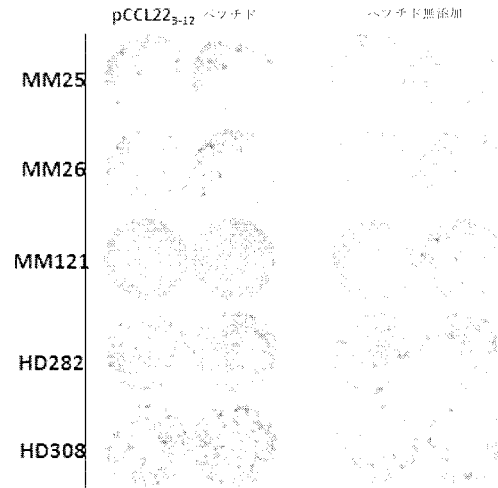
【図 6】



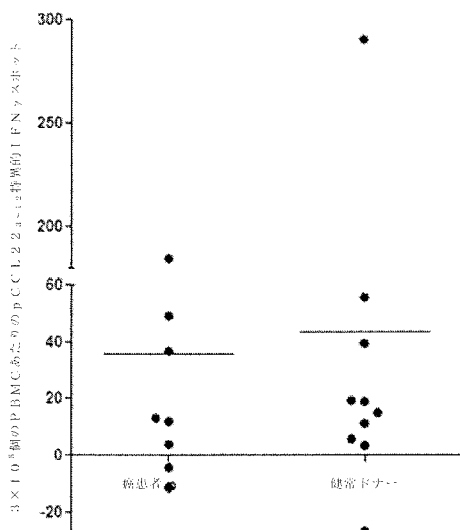
【図 7】



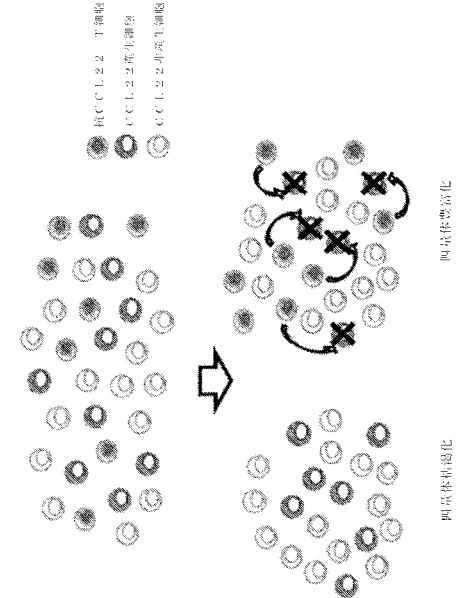
【図 8 A】



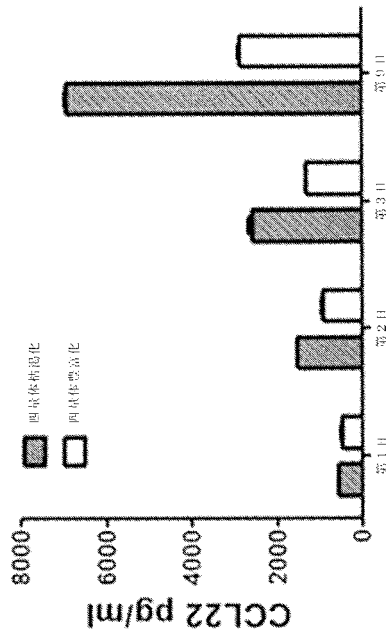
【図 8 B】



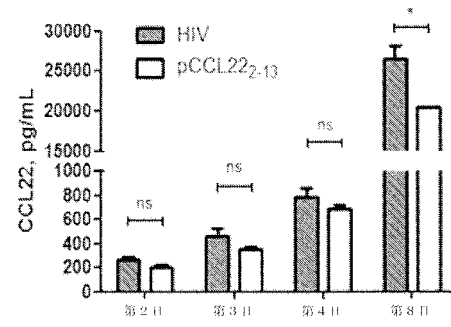
【図 8 C】



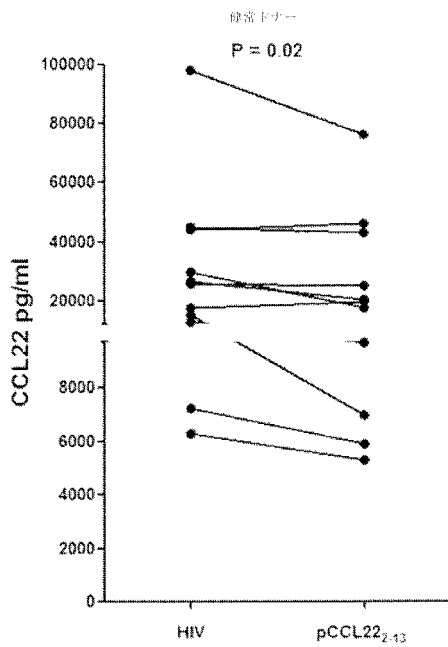
【図 8 D】



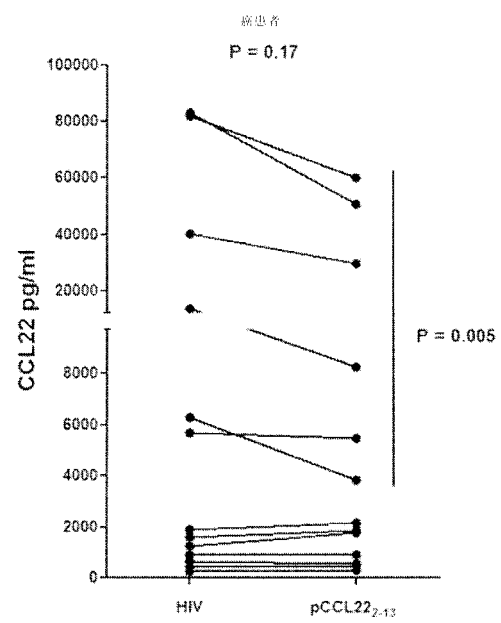
【図 9 A】



【図 9 B】

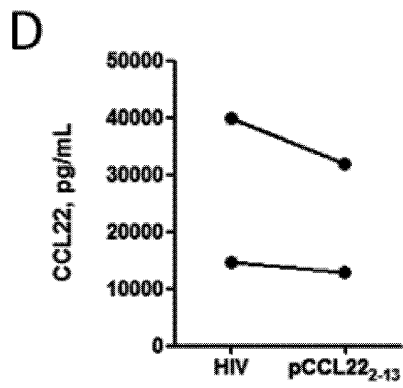


【図 9 C】

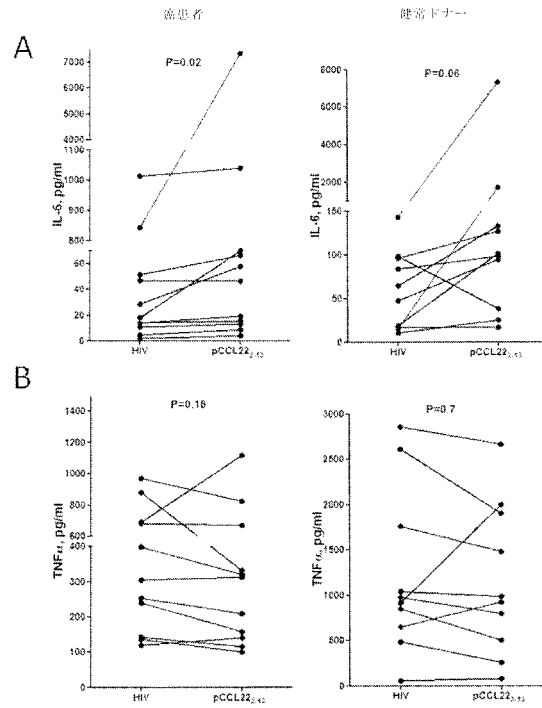


【図 9 D】

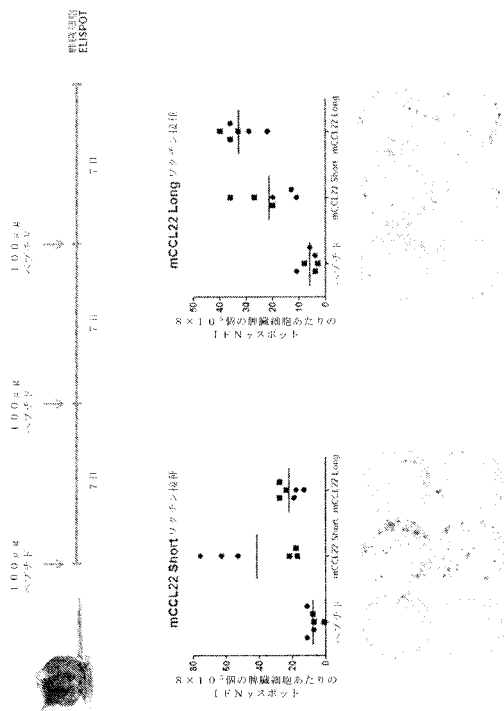
FIG. 9 (CONT.)



【図 10】



【図 11】



【手続補正書】

【提出日】平成30年5月17日(2018.5.17)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2018528960000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/DK2016/050301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/00
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/78334 A1 (UNIV MARYLAND BIOTECH INST [US]; INST OF MOLECUL & CELL BIOLOGY [SG];) 28 December 2000 (2000-12-28)	1,11,12, 18, 27-35, 42-51, 62,63, 65-68, 70,71, 73,74, 77-79
A	page 6, line 11 - page 821 page 12, line 6 - page 13, line 9 page 14, line 3 - line 20 page 46; example 3 page 46, line 26 - page 47, line 8 page 56; example 5 page 41, line 27 - page 42, line 9 ----- -/-	4-6,21, 22,25,80

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 January 2017

Date of mailing of the international search report

20/02/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Montero Lopez, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DK2016/050301

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DK2016/050301

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 7 018 627 B1 (GRAY PATRICK W [US] ET AL) 28 March 2006 (2006-03-28)	1-3,7, 19,20, 23,24, 42, 52-60, 64,68, 72,75-79
A	column 5, line 14 - line 53; figure 1 column 7, line 47 - line 67 column 8, line 10 - line 51 column 10, line 61 - column 13, line 6 page 20, line 5 - line 30 column 22, line 40 - line 61 column 40, line 4 - line 42; examples 14, 18, 20, 22, 33	4-6,21, 22,25,80
X	----- GUO J ET AL: "MACROPHAGE-DERIVED CHEMOKINE GENE TRANSFER RESULTS IN TUMOR REGRESSION IN MURINE LUNG CARCINOMA MODEL THROUGH EFFICIENT INDUCTION OF ANTITUMOR IMMUNITY", GENE THERAPY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 9, no. 12, 1 June 2002 (2002-06-01), pages 793-803, XP001087630, ISSN: 0969-7128, DOI: 10.1038/SJ.GT.3301688 abstract page 794, left-hand column, paragraph 3 - page 795, left-hand column, paragraph 1 page 799, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, paragraph 1 page 801, left-hand column, last paragraph -----	1,8-11, 13-18, 26,27, 36-42, 60,61, 68,69

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DK2016/050301

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0078334	A1	28-12-2000	AU 5617900 A WO 0078334 A1	09-01-2001 28-12-2000
US 7018627	B1	28-03-2006	US 7018627 B1 US 2006057112 A1	28-03-2006 16-03-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 K	39/39	(2006.01)	A 6 1 K	39/39	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	38/20	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	31/454	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	E
A 6 1 K	31/706	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	31/52	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 K	31/7064	(2006.01)	A 6 1 K	38/20	
A 6 1 K	31/7068	(2006.01)	A 6 1 K	31/454	
A 6 1 K	33/24	(2006.01)	A 6 1 K	31/706	
A 6 1 K	31/704	(2006.01)	A 6 1 K	31/52	
A 6 1 K	31/43	(2006.01)	A 6 1 K	31/7064	
A 6 1 K	31/522	(2006.01)	A 6 1 K	31/7068	
A 6 1 K	31/282	(2006.01)	A 6 1 K	33/24	
A 6 1 K	31/196	(2006.01)	A 6 1 K	31/704	
C 0 7 K	14/52	(2006.01)	A 6 1 K	31/43	
C 0 7 K	16/24	(2006.01)	A 6 1 K	31/522	
C 0 7 K	14/715	(2006.01)	A 6 1 K	31/282	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 K	31/196	
			C 0 7 K	14/52	Z N A
			C 0 7 K	16/24	
			C 0 7 K	14/715	
			G 0 1 N	33/53	Y

(81)指定国

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

F ターム(参考) 4C084 AA19 DA12 DA14 MA66 NA05 ZB091 ZB092 ZB111 ZB112 ZB221

ZB222 ZB261 ZB262 ZB311 ZB312 ZC751

4C085 AA03 AA13 AA14 AA38 BB01 BB11 BB36 CC02 CC22 CC23

DD62 DD63 EE03 EE06 FF13 FF14 FF19 GG02 GG03 GG04

GG06 GG08

4C086 AA01 AA02 BC22 CB07 CC04 EA07 EA10 EA16 GA07 GA16

HA12 HA24 HA26 HA28 MA03 MA04 MA66 NA05 ZB09 ZB11

ZB22 ZB26 ZB31 ZC75

4C206 AA01 AA02 FA31 JB16 KA01 KA12 KA15 MA03 MA04 MA86

NA05 ZB09 ZB11 ZB22 ZB26 ZB31 ZC75

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA01 DA50 DA86 EA20

FA72 FA74

专利名称(译)	C-C基序趋化因子22 (CCL 22) 或包含该片段的疫苗组合物		
公开(公告)号	JP2018528960A	公开(公告)日	2018-10-04
申请号	JP2018513440	申请日	2016-09-16
[标]申请(专利权)人(译)	海莱乌医院		
[标]发明人	アンデルセンマツズハルド		
发明人	アンデルセン,マツズ ハルド		
IPC分类号	A61K39/00 A61P37/04 A61P35/00 A61P31/00 A61P43/00 A61P29/00 A61K39/39 A61K45/00 A61K39/395 A61K38/20 A61K31/454 A61K31/706 A61K31/52 A61K31/7064 A61K31/7068 A61K33/24 A61K31/704 A61K31/43 A61K31/522 A61K31/282 A61K31/196 C07K14/52 C07K16/24 C07K14/715 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/0011 A61K2039/5158 A61P35/00 A61K39/001142 A61K45/06 C07K14/521		
FI分类号	A61K39/00.Z A61P37/04 A61P35/00 A61P31/00 A61P43/00.107 A61P29/00 A61K39/39 A61K45/00 A61P43/00.121 A61K39/395.D A61K39/395.E A61K39/395.T A61K39/395.U A61K38/20 A61K31/454 A61K31/706 A61K31/52 A61K31/7064 A61K31/7068 A61K33/24 A61K31/704 A61K31/43 A61K31/522 A61K31/282 A61K31/196 C07K14/52.ZNA C07K16/24 C07K14/715 G01N33/53.Y		
F-TERM分类号	4C084/AA19 4C084/DA12 4C084/DA14 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/ZB091 4C084/ZB092 4C084/ZB111 4C084/ZB112 4C084/ZB221 4C084/ZB222 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZB311 4C084/ZB312 4C084/ZC751 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA38 4C085/BB01 4C085/BB11 4C085/BB36 4C085/CC02 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE03 4C085/EE06 4C085/FF13 4C085/FF14 4C085/FF19 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG06 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC22 4C086/CB07 4C086/CC04 4C086/EA07 4C086/EA10 4C086/EA16 4C086/GA07 4C086/GA16 4C086/HA12 4C086/HA24 4C086/HA26 4C086/HA28 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/MA66 4C086/NA05 4C086/ZB09 4C086/ZB11 4C086/ZB22 4C086/ZB26 4C086/ZB31 4C086/ZC75 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/FA31 4C206/JB16 4C206/KA01 4C206/KA12 4C206/KA15 4C206/MA03 4C206/MA04 4C206/MA86 4C206/NA05 4C206/ZB09 4C206/ZB11 4C206/ZB22 4C206/ZB26 4C206/ZB31 4C206/ZC75 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA01 4H045/DA50 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	Iwahori明代		
优先权	201570591 2015-09-16 DK		
其他公开文献	JP2018528960A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本公开涉及作为癌症免疫抑制中的T细胞靶的CCL22。[选择图]无

(51) Int. Cl.			F 1		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/00	(2006. 01)	A 6 1 K	39/00	Z	4 C 0 8 4
A 6 1 P	37/04	(2006. 01)	A 6 1 P	37/04		4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00	(2006. 01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 6
A 6 1 P	31/00	(2006. 01)	A 6 1 P	31/00		4 C 2 0 6
A 6 1 P	43/00	(2006. 01)	A 6 1 P	43/00	I O 7	4 H O 4 5
			審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 77 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号			特願2018-513440 (P2018-513440)			
(86) (22) 出願日			平成28年9月16日 (2016. 9. 16)			
(85) 翻訳文提出日			平成30年4月16日 (2018. 4. 16)			
(86) 国際出願番号			PCT/DK2016/050301			
(87) 国際公開番号			W02017/045691			
(87) 国際公開日			平成28年3月23日 (2017. 3. 23)			
(31) 優先権主張番号			PA201570591			
(32) 優先日			平成27年9月16日 (2015. 9. 16)			
(33) 優先権主張国			デンマーク (DK)			
(71) 出願人			516365563 ヘアレウ ホスピタル デンマーク国、ダイケイー 2 7 3 0 ヘアレウ、ヘアレウ リンベジ 7 5			
(74) 代理人			100114775 弁理士 高岡 亮一			
(74) 代理人			100121511 弁理士 小田 直			
(74) 代理人			100202751 弁理士 岩堀 明代			
(74) 代理人			100191086 弁理士 高橋 香元			
(72) 発明者			アンデルセン、マツス ハルド デンマーク国、2 8 5 0 ネールム、ヘグンスヴェジ 6 1			
最終頁に続く						
(54) 【発明の名称】 C－Cモチーフケモカイン22 (C C L 2 2) またはこのフラグメントを含むワクチン組成物						