

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016年6月16日(16.06.2016)



(10) 国際公開番号
WO 2016/093326 A1

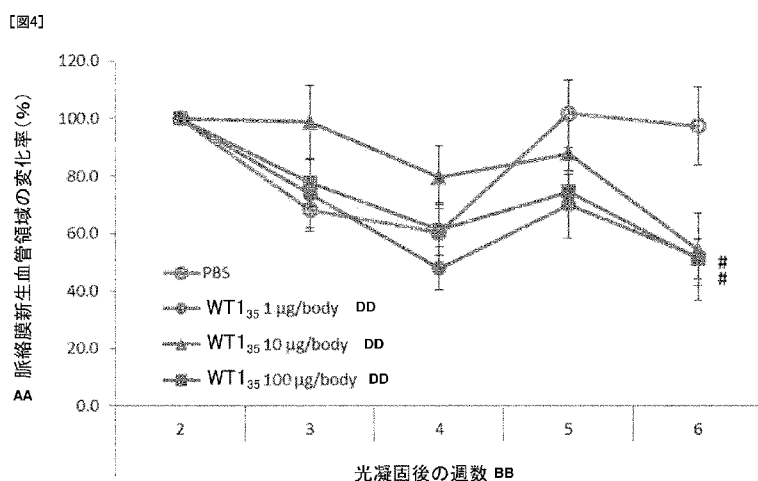
- (51) 国際特許分類:

A61K 38/00 (2006.01)	A61P 17/12 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)	A61P 19/02 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)	A61P 27/02 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)	A61P 27/06 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)	A61P 29/00 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)	A61P 35/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)	A61P 37/04 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)	C07K 7/06 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)	
- (72) 発明者: 杉山 治夫 (SUGIYAMA, Haruo); 〒5620036 大阪府箕面市船場西2-19-30 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 鮫島 睦, 外 (SAMEJIMA, Mutsumi et al.); 〒5300017 大阪府大阪市北区角田町8番1号梅田阪急ビルオフィスタワー青山特許事務所 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, 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, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/084709
- (22) 国際出願日: 2015年12月10日(10.12.2015)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2014-251208 2014年12月11日(11.12.2014) JP
- (71) 出願人: 株式会社癌免疫研究所 (INTERNATIONAL INSTITUTE OF CANCER IMMUNOLOGY, INC.) [JP/JP]; 〒5640053 大阪府吹田市江の木町13番9号 Osaka (JP).

[続葉有]

(54) Title: IMMUNOTHERAPY FOR ANGIOGENIC DISEASE

(54) 発明の名称: 血管新生病の免疫療法



#: p<0.05 vs PBS group (Dunnett's multiple comparison test). CC

FIG. 4:
AA Change (%) in choroidal neovascularization area
BB Time (weeks) after photocoagulation
CC p<0.05 vs PBS group (Dunnett's multiple comparison test)
DD body

(57) Abstract: Provided is a medicinal composition for treating and preventing an angiogenic disease, said medicinal composition comprising a cancer antigen peptide.

(57) 要約: 本発明は、癌抗原ペプチドを含む、血管新生病の治療及び予防のための医薬組成物を提供する。



WO 2016/093326 A1

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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称：血管新生病の免疫療法

技術分野

[0001] 本発明は、血管新生病の免疫療法に関する。

背景技術

[0002] 様々な癌、多発性骨髄腫、関節リウマチ、乾癬、滲出型加齢黄斑変性などの眼内血管新生病、アテローム硬化型プラーク、血管奇形、血管膠着、卵巣肥大症候群、多嚢胞卵巣、肉芽腫、血管腫、肥大性痕、ケロイド、強皮症、いぼなどの血管新生病に対して、プロタミン、ステロイドとヘパリンの併用、ステロイドとヘキサロニル・ヘキソサミノグリカン・サルフェートの併用、ミトキサントロン、エンドスタチン、フィブロネクチンのヘパリン結合断片、プロスタグランジン・シンセターゼ阻害剤、 γ -インターフェロン、金化合物、リンホトキシン、D-ペニシラミン、ステロイドと β -サイクロデキストリン・テトライカサルフェートの併用、プロテアーゼ阻害剤、メソトレキセート、インターフェロン $\alpha 2 a$ 、抗VEGF薬等を用いた治療が行われている。

[0003] 血管新生病のなかでも典型的なものとして、滲出型加齢黄斑変性などの眼内血管新生病が挙げられる。眼内血管新生病の治療法としては、抗VEGF薬を眼内に注射して用いる方法が一般的である。しかし、抗VEGF薬を用いる治療法では、高額のコストがかかるうえに一定間隔での反復注射が必要であり、眼に注射針を刺されることに対する患者の心理的恐怖感は非常に大きく、さらには、注射によって、対処が非常に困難な眼内感染症や注射の刺激等による眼内炎や網膜剥離等を引き起こすなど、重篤な合併症を発するリスクも大きい。また、抗VEGF薬による治療により一定期間は視力の改善が見られることが多いが、治療を継続していても長期的には視力は再び悪化してしまうとの報告もある。すなわち、現行の治療で用いられる抗VEGF薬は高コストであるにもかかわらず、危険性もあり、その効果に鑑みると必ず

しも十分な治療満足度が得られているわけではない。他の治療法としては、光線力学的療法、レーザー光凝固術、新生血管除去術などの外科的方法があるが、これらの方法も費用や治療満足度の点で問題があり、侵襲性が高く、入院が必要な場合もある。結局のところ、これまで眼内血管新生病の治療法として満足なものはなく、現行の治療は、克服すべき課題が多く残されているといえる。

[0004] 最近、癌抗原蛋白であるWT 1 蛋白が癌組織血管にも発現しているという報告がなされた（非特許文献1）。

[0005] これまで癌抗原ペプチドを癌ワクチンとして用いる例についての報告は多いが、癌抗原ペプチドをワクチンとして用いて血管新生病を治療および予防することについては報告がなかった。

[0006] かかる状況下において、血管新生病の新たな根治療法の開発が望まれている。

先行技術文献

非特許文献

[0007] 非特許文献1：N. Wagner et al. Oncogene (2008) 27, 3662-3672

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 血管新生病の治療及び予防のための新たな製剤を提供することが本発明の課題であった。また、比較的 low cost で、患者自身による自己投与可能な低侵襲製剤を提供することも本発明の課題であった。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決せんと鋭意研究を重ね、癌抗原ペプチドをワクチンとして用いることにより血管新生病を治療または予防できることを見いだした。さらに本発明者らは、WT 1 ペプチドを全身投与することにより血管新生病を治療できることも見いだした。これらの知見に基づいて、本発明者らは本発明を完成させるに至った。

[0010] すなわち本発明は、以下のものを提供する。

(1) 癌抗原ペプチドを含む、血管新生の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物。

(2) 癌抗原ペプチドにより誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を含む、血管新生の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物。

(3) 癌抗原ペプチドがWT1ペプチドまたは変異型WT1ペプチドである、(1)または(2)に記載の医薬組成物。

(4) WT1ペプチドまたは変異型WT1ペプチドがHLA分子との結合能を有するものである、(3)に記載の医薬組成物。

(5) WT1ペプチドまたは変異型WT1ペプチドがキラーT細胞またはヘルパーT細胞を活性化するものである、(3)または(4)に記載の医薬組成物。

(6) WT1ペプチドの長さが7～30アミノ酸である、(3)～(5)のいずれかに記載の医薬組成物。

(7) WT1ペプチドが以下のアミノ酸配列：

(a) 配列番号：1～配列番号：39で示されるいずれかのアミノ酸配列、または

(b) 上記(a)のアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含むものである、(3)～(6)のいずれかに記載の医薬組成物。

(8) WT1ペプチドが以下のアミノ酸配列：

(a) Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：1)、

(b) Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：19)

(c) Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser

Leu Gly (配列番号：27)

(d) Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His
Leu Gln Met His Ser Arg Lys His

(配列番号：32)、または

(e) (a) ~ (d) のいずれかのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含むものである、(3) ~ (7) のいずれかに記載の医薬組成物。

(9) 血管新生病が眼内血管新生病である、(1) ~ (8) のいずれかに記載の医薬組成物。

(10) 眼内血管新生病が、滲出型加齢黄斑変性、近視性黄斑変性、網膜色素線条症、中心性漿液性脈絡網膜症、種々の網膜色素上皮症、脈絡膜萎縮症、コロイデミア、脈絡膜骨腫、糖尿病網膜症、未熟児網膜症、血管新生緑内障および角膜血管新生からなる群より選択される疾患である、(9) に記載の医薬組成物。

(11) 皮内投与、経皮投与または経粘膜投与により投与される、(1) ~ (10) のいずれかに記載の医薬組成物。

(12) 血管新生病の治療および予防のいずれかまたは両方に用いられる医薬と併用される、(1) ~ (11) のいずれかに記載の医薬組成物。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、癌抗原ペプチドを含む、血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物が提供される。さらに本発明によれば、癌抗原ペプチドにより誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を含む、血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物が提供される。本発明の医薬組成物は、局所投与のみならず皮内投与、皮下投与、経皮投与や経粘膜投与などの全身投与が可能であるため低侵襲性である。さらに本発明の医薬組成物は、患者自身による自己投与も可能である。また、本発明の医薬組成物の治療効果は高く、患者の治療満足度も高い。さらに、本発明の医薬組成物を用いて眼内血管新生

病を治療または予防する場合には、対側眼の治療または予防についても効果が期待できる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図1は、動物実験における観察、測定、検査項目等のまとめを示すスキームである。

[図2]図2は、WT1ペプチドワクチンの眼底血管新生抑制効果を示す典型フルオレセイン蛍光眼底像である。左の2つの写真はPBS皮内投与の結果であり（コントロール）、右の2つの写真はWT1ペプチド（WT1₁₂₆: Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu（配列番号: 1））を皮内投与した場合の結果である。

[図3]図3は、WT1ペプチド（WT1₁₂₆: Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu（配列番号: 1））を1 μ g/body、10 μ g/body、100 μ g/body皮内投与して、脈絡膜新生血管領域の変化を経時的に調べた結果を示すグラフである。

[図4]図4は、WT1ペプチド（WT1₃₅: Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly（配列番号: 27））を1 μ g/body、10 μ g/body、100 μ g/body皮内投与して、脈絡膜新生血管領域の変化を経時的に調べた結果を示すグラフである。

[図5]図5は、WT1ペプチド（WT1_{235m}: Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu（配列番号: 19）およびWT1₃₃₂: Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His（配列番号: 32））を200 μ g/body皮内投与して、脈絡膜新生血管領域の変化を経時的に調べた結果を示すグラフである。

[図6]図6は、WT1ペプチド（WT1₁₂₆、WT1_{235m}およびWT1₃₃₂）とアフリベルセプトを併用した場合の脈絡膜新生血管領域の変化を経時的に調べた結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

- [0013] 本発明は、1つの態様において、癌抗原ペプチドを含む、血管新生の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物に関する。癌抗原ペプチドは癌抗原蛋白の一部である。WT1をはじめとする様々な癌抗原蛋白が知られている。本発明の医薬組成物に使用する癌抗原ペプチドは1種類であってもよく、あるいは複数種類であってもよい。癌抗原WT1ペプチドが対象において血管新生の治療効果を発揮するかどうかは、癌抗原ペプチドが対象のHLA型に対応するかどうかによる。現在、多くの癌抗原ペプチドに関して、どのHLA型に適合するのか知られているので、本発明に用いる癌抗原ペプチドを、対象のHLA型に応じて選択することができる。したがって、本発明の医薬組成物に複数種類の癌抗原ペプチドを使用して、幅広い対象に対応するようにしてもよい。血管新生も様々なものが知られている。血管新生の例としては、様々な癌、多発性骨髄腫、関節リウマチ、乾癬、滲出型加齢黄斑変性などの眼内血管新生、アテローム硬化型プラーク、血管奇形、血管膠着、卵巣肥大症候群、多嚢胞卵巣、肉芽腫、血管腫、肥大性痕、ケロイド、強皮症、いぼなどが挙げられるが、これらに限らない。
- [0014] 癌抗原ペプチドを対象に投与する、あるいは対象から得た血液などのサンプルに添加することにより、当該癌抗原ペプチドを提示する抗原提示細胞を得ることができる。癌抗原を提示する抗原提示細胞がリンパ球を刺激して、キラーT細胞やヘルパーT細胞が誘導または活性化される。癌抗原ペプチドの作用は、それにより誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞によるものである。したがって、本発明は、もう1つの態様において、癌抗原ペプチドにより誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を含む、血管新生の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物に関する。上記医薬組成物に用いる抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞は、いずれの癌抗原ペプチドを用いて誘導または活性化されたものであってもよく、例えばWT1ペプチドを用いて誘導または活性化されたものであってもよい。

- [0015] 血管新生病のなかでも典型的なものとして眼内血管新生病が挙げられる。また、癌抗原ペプチドのなかでも広く用いられているものとしてWT 1 ペプチドが挙げられる。したがって、本発明は、さらなる態様において、WT 1 ペプチドまたは変異型WT 1 ペプチドを含む、眼内血管新生病の治療のための医薬組成物に関するものである。
- [0016] 本明細書において、WT 1 ペプチドは、WT 1 遺伝子 (Wilms' tumor gene 1) によりコードされている癌抗原蛋白WT 1 の部分ペプチドをいう。癌抗原蛋白WT 1 のアミノ酸配列を配列番号: 40に示す。したがって、WT 1 ペプチドは、癌抗原蛋白WT 1 に含まれる連続したアミノ酸配列からなるペプチドである。WT 1 ペプチドは当業者によく知られており、特に癌の免疫療法に関する報告が多数ある。WT 1 ペプチドは、公知の方法、例えば遺伝子工学的な方法や化学合成法によって製造することができる。なお、特に断らない限り、本明細書においてWT 1 ペプチドという場合は、ヒトの癌抗原蛋白WT 1 に由来するペプチドをいうものとする。
- [0017] 本発明に用いるWT 1 ペプチドは、WT 1 ペプチドのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列からなる、変異型WT 1 ペプチドであってもよい。変異型WT 1 ペプチドは、人工的にアミノ酸配列を変更したWT 1 ペプチド (改変型WT 1 ペプチドともいう) であってもよく、自然変異によって得られるWT 1 ペプチドであってもよく、あるいは由来する動物種によるアミノ酸配列の相違を含むWT 1 ペプチドであってもよい。本発明において、変異型WT 1 ペプチドは、天然型のWT 1 ペプチドと同様の眼内血管新生病の治療効果を有するものである。アミノ酸配列の置換、欠失または付加方法としては遺伝子工学的な方法や化学的方法が当業者に公知であり、当業者は所望のアミノ酸配列を容易に得ることができる。ここで、1個ないし数個とは、例えば1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個または10個であり、好ましくは1個、2個、3個、4個または5個であり、より好ましくは1個、2個または3個である。さらに好ましくは1個または2個である。

[0018] また、WT 1 ペプチド中のアミノ酸残基が修飾されたペプチドも変異型WT 1 ペプチドに含まれる。ペプチド中のアミノ酸残基の修飾の種類および修飾方法は当業者に公知である。修飾の具体例として、WT 1 ペプチドのN末端および／またはC末端にアミノ酸、ペプチド、またはそれらのアナログ等の種々の物質を結合させてもよい。上記の種々の物質は、本発明のWT 1 ペプチドの溶解性を調節するもの、耐プロテアーゼ作用等その安定性を向上させるもの、所定の組織・器官に特異的に本発明のWT 1 ペプチドをデリバリーするもの、抗原提示細胞の取り込み効率を増強させるものであってもよい。あるいは上記の種々の物質が生体内で除去されてWT 1 ペプチドを生じるようにしてもよい。

[0019] 本明細書において、特に断らないかぎり、WT 1 ペプチドという場合には、変異型WT 1 ペプチドを包含するものとする。

[0020] 本発明に用いられるWT 1 ペプチドの長さは特に限定されないが、約7個～約30個のアミノ酸からなるものが好ましい。好ましいWT 1 ペプチドは、HLA分子に結合して提示される抗原ペプチドの配列の規則性（モチーフ）を有し、HLA分子との結合能を有するものである。HLA分子との結合能は、当該技術分野において既知の方法により調べることができる。かかる方法として、例えば、Rank pep、BIMAS、SYFPEITHIなどのコンピューターベースの方法、HLA分子に対する結合能を有する既知のWT 1 ペプチドとの競合的結合試験などがある。また、好ましいWT 1 ペプチドは、キラーT細胞またはヘルパーT細胞を活性化するものである。

[0021] キラーT細胞を活性化するWT 1 ペプチド（本明細書においてキラーWT 1 ペプチドと称する）は、多くのものが公知である。一般に、好ましいキラーWT 1 ペプチドは7～12個のアミノ酸からなるアミノ酸配列を有する。より好ましいキラーWT 1 ペプチドは9個のアミノ酸からなるアミノ酸配列を有する。本発明に使用可能なキラーWT 1 ペプチドの例としては、下記アミノ酸配列：Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu（配列番号：1）、Arg Tyr Pro Ser C

ys Gln Lys Lys Phe (配列番号:2)、Arg Tyr
r Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番
号:3)、Ala Tyr Leu Pro Ala Val Pro S
er Leu (配列番号:4)、Asn Tyr Met Asn Le
u Gly Ala Thr Leu (配列番号:5)、Asp Gln
Leu Lys Arg His Gln Arg Arg (配列番号
:6)、Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Se
r Tyr (配列番号:7)、Gln Gly Ser Leu Gly
Glu Gln Gln Tyr (配列番号:8)、Cys Met
Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号:
9)、Leu Ser His Leu Gln Met His Ser
Arg (配列番号:10)、Phe Ser Arg Ser Asp
Gln Leu Lys Arg (配列番号:11)、Ser Asp
Gln Leu Lys Arg His Gln Arg (配列番号
:12)、Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser C
ys Arg (配列番号:13)、Pro Ile Leu Cys G
ly Ala Gln Tyr Arg (配列番号:14)、Ser A
la Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg (配列
番号:15)、Ser His Leu Gln Met His Ser
Arg Lys (配列番号:16)、Thr Gly Val Lys
Pro Phe Gln Cys Lys (配列番号:17)、Ser
Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配
列番号:18)、Cys Tyr Thr Trp Asn Gln M
et Asn Leu (配列番号:19)、Phe Leu Gly G
lu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号:20)、S
er Met Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val
(配列番号:21)、Ser Leu Met Glu Gln Gln
Tyr Ser Val (配列番号:22)、Phe Met Phe

Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号: 23)、Arg Leu Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号: 24)、Arg Met Met Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号: 25)、またはArg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Val (配列番号: 26)を含む、あるいはからなるペプチド、およびこれらの変異型WT1ペプチドなどが挙げられるが、これらに限定されない。その他のキラーWT1ペプチドの例としては、国際出願公開公報WO2000/018795 (出典明示によりその全内容を本明細書に取り入れる)に記載されたものが挙げられるが、これらに限定されない。

[0022] ヘルパーT細胞を活性化するWT1ペプチド (本発明においてヘルパーWT1ペプチドと称する) は、多くのものが公知である。一般に、好ましいヘルパーWT1ペプチドは10~25個のアミノ酸からなるアミノ酸配列を有する。より好ましいヘルパーWT1ペプチドは13~20個のアミノ酸からなるアミノ酸配列を有する。本発明に使用可能なヘルパーWT1ペプチドの例としては、下記アミノ酸配列: Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (配列番号: 27)、Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe Ser Gly Gln Phe Thr Gly (配列番号: 28)、Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly (配列番号: 29)、Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号: 30)、Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg (配列番号: 31)、またはLys Arg Tyr Phe Lys Le

u Ser His Leu Gln Met His Ser Arg
Lys His (配列番号: 32) を含む、あるいはからなるペプチド、
およびこれらの変異型WT1ペプチドが例示されるが、これらに限定されな
い。

[0023] 本発明の医薬組成物に使用するWT1ペプチドは1種類であってもよく、
複数種類であってもよい。また、本発明の医薬組成物に使用するWT1ペプ
チドはキラーWT1ペプチドであってもよく、あるいはヘルパーWT1ペプ
チドであってもよく、これらを混合して用いてもよい。

[0024] 本発明においてWT1ペプチドの二量体を用いてもよい。WT1ペプチド
の二量体は、システイン残基を有する2つのWT1ペプチド間にジスルフィ
ド結合を形成させることによって得てもよい。

[0025] 本発明の医薬組成物に使用するWT1ペプチドは1種類であってもよく、
あるいは複数種類であってもよい。WT1ペプチドが対象において眼内血管
新生病の治療効果を発揮するかどうかは、WT1ペプチドが対象のHLA型
に対応するかどうかによる。現在、多くのWT1ペプチドに関して、どのH
LA型に適合するのか知られているので、本発明に用いるWT1ペプチドを
、対象のHLA型に応じて選択することができる。また、本発明の医薬組成
物に複数種類のWT1ペプチドを使用して、幅広い対象に対応するようにし
てもよい。

[0026] 例えば、対象がHLA-A*0201陽性である場合は、本発明の医薬組成
物に用いられる好ましいWT1ペプチドとしては、下記アミノ酸配列: Asp
Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
(配列番号: 33)、Arg Met Phe Pro Asn Ala
Pro Tyr Leu (配列番号: 1)、またはSer Leu Gl
y Glu Gln Gln Tyr Ser Val (配列番号: 18
) を含む、あるいはからなるペプチド、および上記アミノ酸配列において1
個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を
含む、あるいはからなるペプチドなどが例示されるが、これらに限定されな

い。

[0027] 例えば、対象がHLA-A*2601陽性である場合には、下記アミノ酸配列：Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr（配列番号：7）、Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr（配列番号：8）、またはAsp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg（配列番号：34）を含む、あるいはからなるペプチド、および上記アミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドなどが例示されるが、これらに限定されない。

[0028] 例えば、対象がHLA-A*3303陽性である場合には、下記アミノ酸配列：Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg（配列番号：10）、Phe Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg（配列番号：11）、Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg（配列番号：12）、またはThr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys Arg（配列番号：13）を含む、あるいはからなるペプチド、および上記アミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドなどが例示されるが、これらに限定されない。

[0029] 例えば、対象がHLA-A*1101陽性である場合には、下記アミノ酸配列：Ala Ala Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys（配列番号：35）、Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg（配列番号：14）、Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys（配列番号：36）、Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg（配列番号：15）、Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys（配列番号：16）、Thr Gl

y Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys (配列番号: 17)、Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg (配列番号: 37)、Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys (配列番号: 38)、またはAsn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys (配列番号: 39)を含む、あるいはからなるペプチド、および上記アミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドなどが例示されるが、これらに限定されない。

[0030] 例えば、対象がHLA-A*2402陽性である場合には、下記アミノ酸配列: Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号: 9)、またはCys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号: 19)を含む、あるいはからなるペプチド、配列番号: 9のアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドの二量体、配列番号: 9のアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドのシスチン体、および上記アミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドなどが例示されるが、これらに限定されない。

[0031] 例えば、対象がHLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5、HLA-DPB1、またはHLA-DQB1陽性である場合には、下記アミノ酸配列: Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (配列番号: 27)、Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe Ser Gly Gln Phe Thr Gly (配列番号: 28)、Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly (配列番号: 29)、Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser

G l n L e u G l u C y s M e t T h r T r p A s n G
l n M e t A s n L e u (配列番号: 30)、P h e A r g G
l y l l e G l n A s p V a l A r g A r g V a l P r o
G l y V a l A l a P r o T h r L e u V a l A r g (配列番号: 31)、またはL y s A r g T y r P h e L y s L e
u S e r H i s L e u G l n M e t H i s S e r A r g
L y s H i s (配列番号: 32)を含む、あるいはからなるペプチド、
および上記アミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含む、あるいはからなるペプチドなどが例示されるが、これらに限定されない。

[0032] 本発明の医薬組成物中の有効成分として、WT1ペプチドをコードするポリヌクレオチドを用いてもよい。ポリヌクレオチドの塩基配列は、WT1ペプチドのアミノ酸配列に基づき決定できる。ポリヌクレオチドは、例えば、化学合成法などの公知のDNAまたはRNA合成方法、PCR法などにより製造することができる。

[0033] 本発明の医薬組成物を、血管新生病の治療および予防のいずれかまたは両方に用いられる医薬と併用してもよい。血管新生病の治療および予防のいずれかまたは両方に用いられる医薬としては、ベバシズマブ、セツキシマブ、パニツムマブなどが挙げられるが、これらに限定されない。眼内血管新生病の治療および予防のいずれかまたは両方に用いられる医薬としては、アフリベルセプト、ペガプタニブナトリウム、ラニビズマブなどの血管内皮細胞増殖因子阻害剤などが挙げられるが、これらに限定されない。

[0034] 本発明の医薬組成物により治療されうる眼内血管新生病としては、眼内血管新生病が、滲出型加齢黄斑変性、近視性黄斑変性、網膜色素線条症、中心性漿液性脈絡網膜症、種々の網膜色素上皮症、脈絡膜萎縮症、コロイデレミア、脈絡膜骨腫、糖尿病網膜症、未熟児網膜症、血管新生緑内障および角膜血管新生などが挙げられるがこれらに限定されない。

[0035] 本発明の医薬組成物の投与経路は特に限定されないが、好ましい投与経路

の例として皮内投与、皮下投与、経皮投与、点眼、点鼻、舌下などの経粘膜投与が挙げられる。

[0036] 本発明の医薬組成物の剤形は特に限定されず、例えば注射用液剤、点眼用液剤、点鼻用液剤、ローション剤、クリーム剤、パッチ剤、舌下錠、トローチなどの剤形であってもよい。これらの剤形は当業者によく知られた方法により製造することができ、投与することができる。

[0037] 本発明の医薬組成物を用いる場合のWT1ペプチドの投与量は、WT1ペプチドの種類、投与経路、剤形、疾患の種類、疾患の程度、対象の健康状態などを考慮して、適宜変更することができる。一般的には、WT1ペプチドの投与量は成人1日当たり0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 1 mg/kg である。WT1ペプチドの種類、投与経路、剤形についても同様に適宜変更することができる。本発明の医薬組成物は、医薬上許容される担体や賦形剤のほかに、例えば水酸化アルミニウムのごとき適当なアジュバントを含んでいてもよい。あるいは本発明の医薬組成物は、リポソーム中に封入されたWT1ペプチドを含むものであってもよい。

[0038] もう一つの態様において、本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のためのWT1ペプチドの使用に関する。さらなる態様において、本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬の製造のためのWT1ペプチドの使用に関する。さらにもう一つの態様において、本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方を必要とする対象にWT1ペプチドを投与することを特徴とする、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための方法も関する。これらの態様においても、上記の説明が当てはまる。

[0039] さらなる態様において、本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のためのWT1ペプチドによって誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を含む医薬組成物に関する。さらに本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のためのWT1ペプチドによって誘導または活性化された抗原提示細胞または

キラーT細胞またはヘルパーT細胞の使用に関する。また本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬の製造のためのWT1ペプチドによって誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞の使用に関する。さらにもう1つの態様において、本発明は、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方を必要とする対象にWT1ペプチドによって誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を投与することを特徴とする、眼内血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための方法にも関する。これらの態様においても、上記の説明が当てはまる。

[0040] 抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞の誘導または活性化方法は当業者に公知である。インビボでは、WT1ペプチドを対象に投与することにより、これらの細胞を誘導または活性化することができる。インビトロにおいては、例えば、対象由来のリンパ球を含む試料と、WT1ペプチドとHLA分子との複合体とを反応させることにより、キラーT細胞を得てもよい。また例えば、対象由来の末梢血単核球をWT1ペプチドの存在下で培養し、該末梢血単核球からWT1特異的CTLを誘導してもよい。また例えば、対象由来の未熟抗原提示細胞をWT1ペプチドの存在下で培養することにより、HLA分子を介してWT1ペプチドを提示する抗原提示細胞を誘導してもよい。未熟抗原提示細胞は、成熟して抗原提示細胞となり得る細胞をいい、未熟樹状細胞などが例示される。また例えば、WT1ペプチドを抗原提示細胞に添加して、ヘルパーT細胞を活性化してもよい。本発明の医薬組成物に使用する抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞は、いずれのWT1ペプチドを用いて誘導または活性化されたものであってもよい。このようにして誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を対象に、好ましくはこれらの細胞を得た対象に投与して、眼内血管新生病の治療及び予防を行うことができる。

[0041] 以上の説明において、主に眼内血管新生病の治療および／または予防に関するものであるが、以上の説明は、他の血管新生病についても当てはまる。

[0042] 以下に実施例を示して本発明をより詳細かつ具体的に説明するが、実施例は本発明を限定するものと解してはならない。

実施例 1

[0043] 実施例 1 : マウスレーザー惹起脈絡膜血管新生モデルを用いた WT 1 ペプチドワクチンの治療効果の実証

1. 実験方法

1-1. 被験物質

被験物質として 2 種の WT 1 ペプチド : WT 1₁₂₆ (A r g M e t P h e P r o A s n A l a P r o T y r L e u (配列番号 : 1)) および WT 1₃₅ (A l a P r o V a l L e u A s p P h e A l a P r o P r o G l y A l a S e r A l a T y r G l y S e r L e u G l y (配列番号 : 2 7)) を用いた。

1-2. 使用動物

雄の C 5 7 B L / 6 J マウス (日本クレアから供給) を用いた。試験開始時においてマウスは 8 週齢 (体重約 2 0 ~ 2 5 g) であった。飼育飼料 (オリエント酵母社製) および水道水をマウスに自由摂取させた。各投与群につき 6 匹のマウスを用いた。

1-3. 投与量および投与方法

WT 1 ペプチドとし、WT 1₁₂₆あるいはWT 1₃₅を 2 2 . 7 m g / m L となるよう滅菌済み P B S に溶解した。これを滅菌済み P B S にて 0 . 2 2 7 および 2 . 2 7 m g / m L に希釈した。これら WT 1 溶液と M o n t a n i d e I S A 5 1 V G を体積比 1 : 1 . 2 7 となるよう混合し、0 . 1 μ l / μ L、1 μ l / μ L、1 0 μ l / μ L のエマルジョンを調製した。それぞれ 1 0 μ L / b o d y として皮内投与した。投与用量は 1 μ g / b o d y、1 0 μ g / b o d y、1 0 0 μ g / b o d y であった。投与時期は、光凝固から 1 5、2 2、2 9 および 3 6 日後とした。

[0046] 具体的には、被験物質 (WT 1 ペプチド) 投与群 (1 ~ 4 群) のマウスには、以下の手順により投与を行った。

(1) 14日後の蛍光漏出面積から群分けを行った。

(2) 光凝固15、22、29、36日後に、体重測定および一般症状観察を行った。

(3) バリカンにて腹部の毛刈りを行い、30G針を用いて皮内投与した。

[0047] 試験群（各6匹）の構成を表1にまとめた。

[表1]

群番号	被験物質	投与経路
1	PBS	皮内
2	1 μ g/body WT1 ₁₂₆ or WT1 ₃₅	
3	10 μ g/body WT1 ₁₂₆ or WT1 ₃₅	
4	100 μ g/body WT1 ₁₂₆ or WT1 ₃₅	

[0048] 1-4. 光凝固および眼底撮影

以下の手順にて行った。

(1) 体重測定および一般症状観察を行った。

(2) ミドリンP（参天製薬社製）により散瞳させたのち、ケタラール注射液およびセラクター注射液の混合液（7：1）を1mL/kg筋肉内投与することにより全身麻酔を行った。

(3) 光凝固は、マルチカラーレーザー光凝固装置（赤色）（NIDEK社製）を使用し、スポットサイズ50 μ m、出力60mW、凝固時間0.1秒の凝固条件で行った。

(4) 組織観察用カバーガラスをコンタクトレンズとして、眼底後極部に散在性に太い網膜血管を避けて、4個の光凝固を行った。

(5) 光凝固後速やかに、Micron III（Phenix Research社製）にて眼底撮影を行った。

(6) ヒアレイン点眼液を両眼に点眼した。

[0049] 1-5. 蛍光眼底造影

以下の手順にて行った。

(1) 光凝固後14、21、28、35、42日後に、体重測定および一般

症状観察を行った。

(2) ミドリンPにより散瞳させたのち、ケタラール注射液（第一三共社製）およびセラクター注射液（バイエル社製）の混合液（7：1）を1 mL/kg 筋肉内投与することにより全身麻酔を行った。

(3) フルオレサイト0.1 mL/kg（Alcon社製）を尾静脈から注入して、
Micron IIIにて蛍光眼底造影を行った。

(4) 画像解析ソフトを用いて、蛍光漏出面積を求めた。

[0050] 1-6. 観察、測定、検査項目等のまとめ

これらを図1にまとめた。

[0051] 1-7. データ解析

データ解析には、Microsoft EXCELを用いた結果を平均値±標準偏差で表した。統計解析には、EXSUS version 8.0.0（SAS ver.9.3 株式会社CACエクスケア）を用い、多群比較（1群 vs 2、3、4群）はDunnett typeを選択し多重比較検定を行った。有意水準はいずれも5%未満とした。

[0052] 2. 実験結果

光凝固から2週間後および6週間後に蛍光眼底造影を行って血管新生を調べた結果を図2に示す。光凝固から6週間後のWT1ペプチド（WT1₁₂₆）を投与したマウスの眼底の血管新生は、PBS投与群のマウスを投与したマウスと比較して、著しく抑制されていた。

[0053] 光凝固から2、3、4および6週間後に蛍光眼底造影を行って、脈絡膜新生血管領域の経時変化を調べた。WT1₁₂₆を投与したマウスのデータを図3に、WT1₃₅を投与したマウスのデータを図4に示す。いずれのWT1ペプチドを用いたマウスにおいても、WT1ペプチド投与による脈絡膜新生血管領域の減少が見られた。

WT1₁₂₆投与群では、1 μg/body、10 μg/body、100 μg/bodyのいずれの投与量であってもPBS投与群と比較して脈絡膜新生血管領域が減少した。特に、WT1₁₂₆を100 μg/body投与した群

では有意な減少効果が見られ、光凝固から6週間後において脈絡膜新生血管領域は、光凝固から2週間後の約50%にまで減少した。一方、PBS投与群では、光凝固から6週間後において脈絡膜新生血管領域は、光凝固から2週間後の約230%に増加した。

WT1₃₅投与群においても、1 μg/body、10 μg/body、100 μg/bodyのいずれの投与量であっても脈絡膜新生血管領域の減少傾向が見られた。光凝固から6週間後において脈絡膜新生血管領域は、光凝固から2週間後の約50%にまで減少した。

実施例 2

[0054] 被験物質として2種のWT1ペプチド：WT1_{235m} (Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：19)) およびWT1₃₃₂ (Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (配列番号：32)) を用い、以下のように投与群を設定して、実施例1と同様の方法・手順にて実験を行った。なお、WT1_{235m}は、WT1₂₃₅ (配列番号：9) の2位のメチオニンをチロシンに置換したペプチドである。

[表2]

群番号	被験物質	投与用量	投与容量	投与回数	マウス種例数
1	PBS	-	10 μL/body	1回 (皮内)	C57BL6 12匹
2	WT1 _{235m}	200 μg/body	10 μL/body	4回 (皮内)	CBF-1 12匹
3	WT1 ₃₃₂	200 μg/body	10 μL/body	4回 (皮内)	CBF-1 12匹

[0055] 光凝固から2、3、4、5および6週間後に蛍光眼底造影を行って、脈絡膜新生血管領域の経時変化を調べた。結果を図5に示す。WT1_{235m}、WT1₃₃₂いずれのWT1ペプチドを投与したマウスにおいても、PBS投与群と比較して、WT1ペプチド投与による脈絡膜新生血管領域の減少が見られた

。WT 1₃₃₂投与群においては、光凝固から6週間後において脈絡膜新生血管領域は、光凝固から2週間後の約70%にまで減少した。WT 1_{235m}投与群においては、光凝固から6週間後において脈絡膜新生血管領域は、光凝固から2週間後と変わらず、増加が抑制されていた。

実施例 3

[0056] WT 1ペプチド (WT 1₁₂₆、WT 1_{235m}およびWT 1₃₃₂) とアフリベルセプトを併用した場合の脈絡膜新生血管領域の変化を経時的に調べた。投与群を以下のように設定した (併用群は3、4および5)。アフリベルセプトの投与は、レーザー投与日にマウスの右目に硝子体内投与した。

[表3]

群番号	投与物質	投与用量	投与容量	投与回数	マウス種例数
1	PBS	—	10μL/body	1回	C57BL6 12匹
2	アフリベルセプト	40 μg/eye	1 μL/eye	1回	C57BL6 12匹
3	アフリベルセプト	40 μg/eye	1 μL/eye	1回	C57BL6 12匹
	WT1 ₁₂₆	100 μg/body	10 μL/body	4回	
4	アフリベルセプト	40 μg/eye	1 μL/eye	1回	CBF-1 12匹
	WT1 _{235m}	200 μg/body	10 μL/body	4回	
5	アフリベルセプト	40 μg/eye	1 μL/eye	1回	CBF-1 12匹
	WT1 ₃₃₂	200 μg/body	10 μL/body	4回	

[0057] 結果を図6に示す。WT 1ペプチドをアフリベルセプトと併用した場合にも、脈絡膜新生血管領域の減少または増加抑制が確認され、併用効果が確認された。

[0058] 以上の実験結果から、癌抗原ペプチドであるWT 1ペプチドが血管新生の治療に有効であることが確認された。

産業上の利用可能性

[0059] 本発明は、癌抗原ペプチドを含む血管新生の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物を提供するものであるから、特に医薬品の分野において利用可能である。

請求の範囲

- [請求項1] WT 1 ペプチドまたは変異型WT 1 ペプチドを含む、血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物。
- [請求項2] WT 1 ペプチドまたは変異型WT 1 ペプチドにより誘導または活性化された抗原提示細胞またはキラーT細胞またはヘルパーT細胞を含む、血管新生病の治療及び予防のいずれか又は両方のための医薬組成物。
- [請求項3] WT 1 ペプチドまたは変異型WT 1 ペプチドがHLA分子との結合能を有するものである、請求項1または2のいずれか1項に記載の医薬組成物。
- [請求項4] WT 1 ペプチドまたは変異型WT 1 ペプチドがキラーT細胞またはヘルパーT細胞を活性化するものである、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬組成物。
- [請求項5] WT 1 ペプチドの長さが7～30アミノ酸である、請求項1～4のいずれか1項に記載の医薬組成物。
- [請求項6] WT 1 ペプチドが以下のアミノ酸配列：
(a) 配列番号：1～配列番号：39で示されるいずれかのアミノ酸配列、または
(b) 上記(a)のアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含むものである、請求項1～5のいずれか1項に記載の医薬組成物。
- [請求項7] WT 1 ペプチドが以下のアミノ酸配列：
(a) Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号：1)、
(b) Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号：19)
(c) Ala Pro Val Leu Asp Phe Al

a P r o P r o G l y A l a S e r A l a T y r G
l y S e r L e u G l y (配列番号: 27)

(d) L y s A r g T y r P h e L y s L e u S e
r H i s L e u G l n M e t H i s S e r A r g L
y s H i s (配列番号: 32)、または

(e) (a) ~ (e) のいずれかのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されているアミノ酸配列を含むものである、請求項1~6のいずれか1項に記載の医薬組成物。

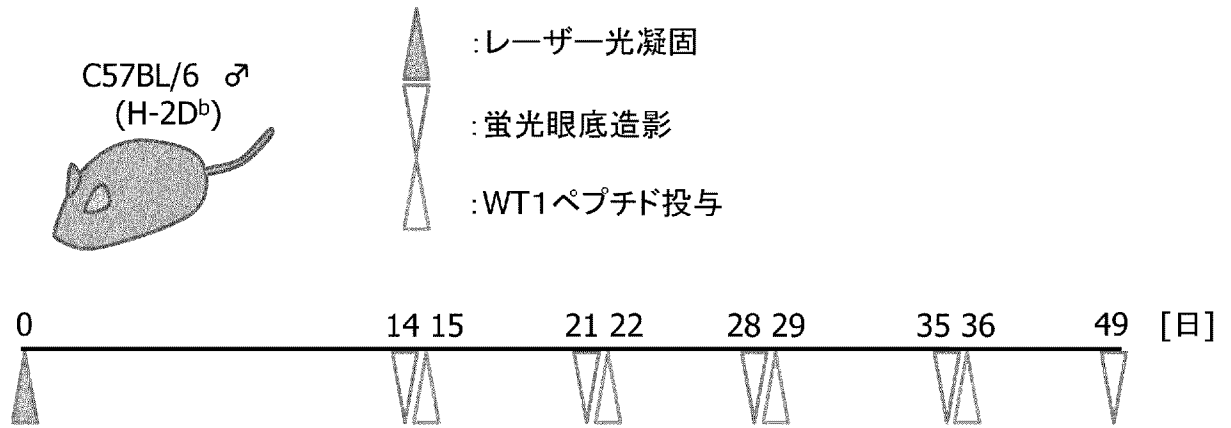
[請求項8] 血管新生病が眼内血管新生病である、請求項1~7のいずれか1項に記載の医薬組成物。

[請求項9] 眼内血管新生病が、滲出型加齢黄斑変性、近視性黄斑変性、網膜色素線条症、中心性漿液性脈絡網膜症、種々の網膜色素上皮症、脈絡膜萎縮症、コロイデミア、脈絡膜骨腫、糖尿病網膜症、未熟児網膜症、血管新生緑内障および角膜血管新生からなる群より選択される疾患である、請求項8に記載の医薬組成物。

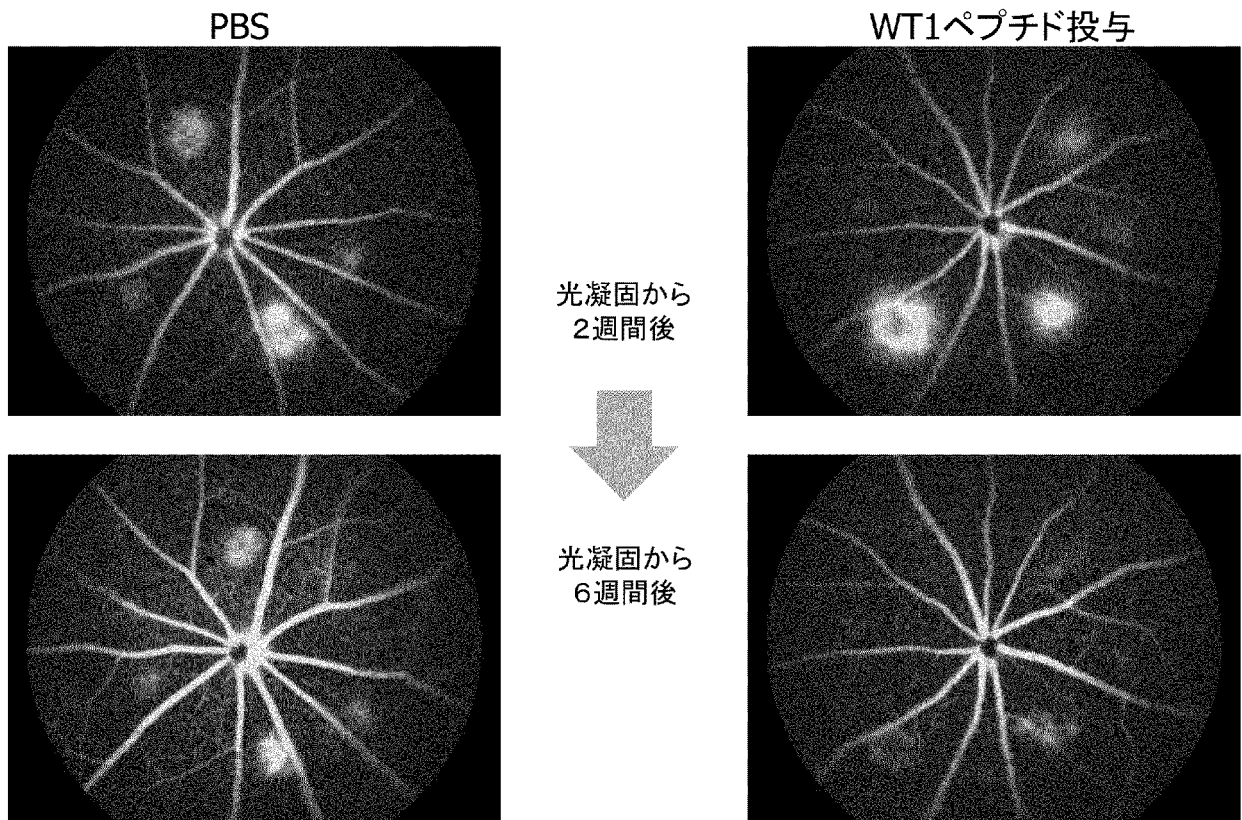
[請求項10] 皮内投与、皮下投与、経皮投与または経粘膜投与により投与される、請求項1~9のいずれか1項に記載の医薬組成物。

[請求項11] 血管新生病の治療および予防のいずれかまたは両方に用いられる医薬と併用される、請求項1~10のいずれか1項に記載の医薬組成物。

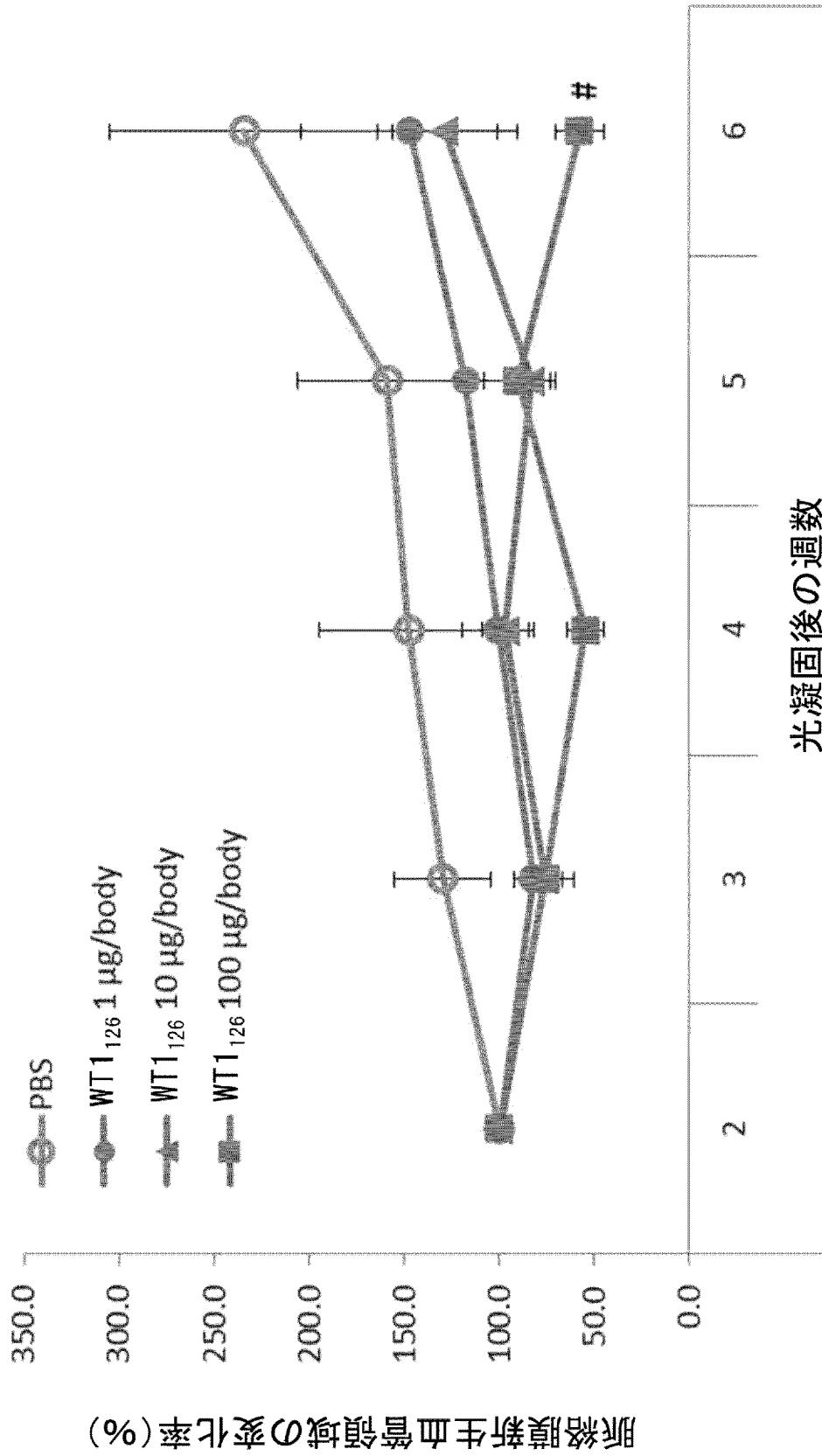
[図1]



[図2]

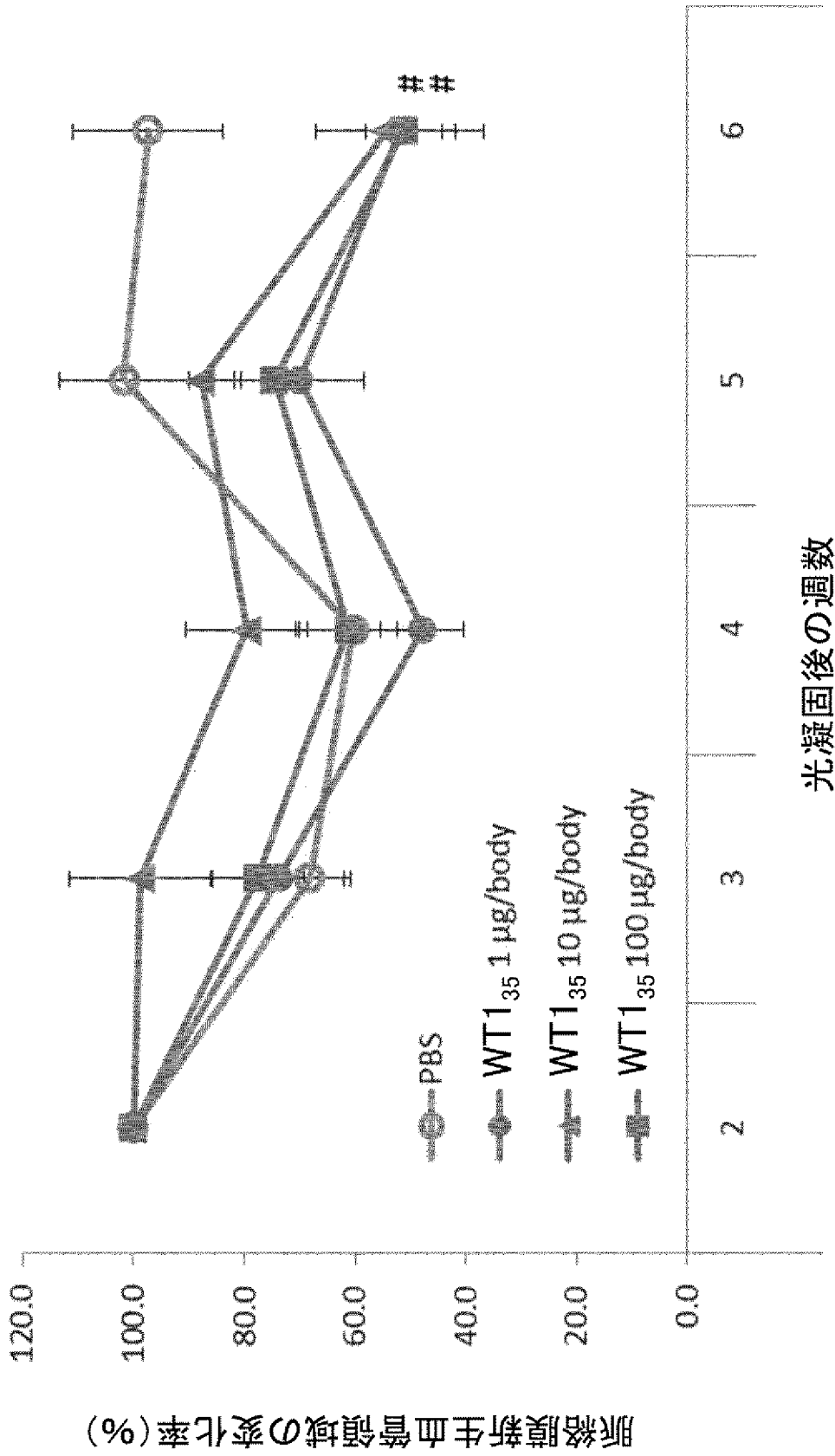


[図3]



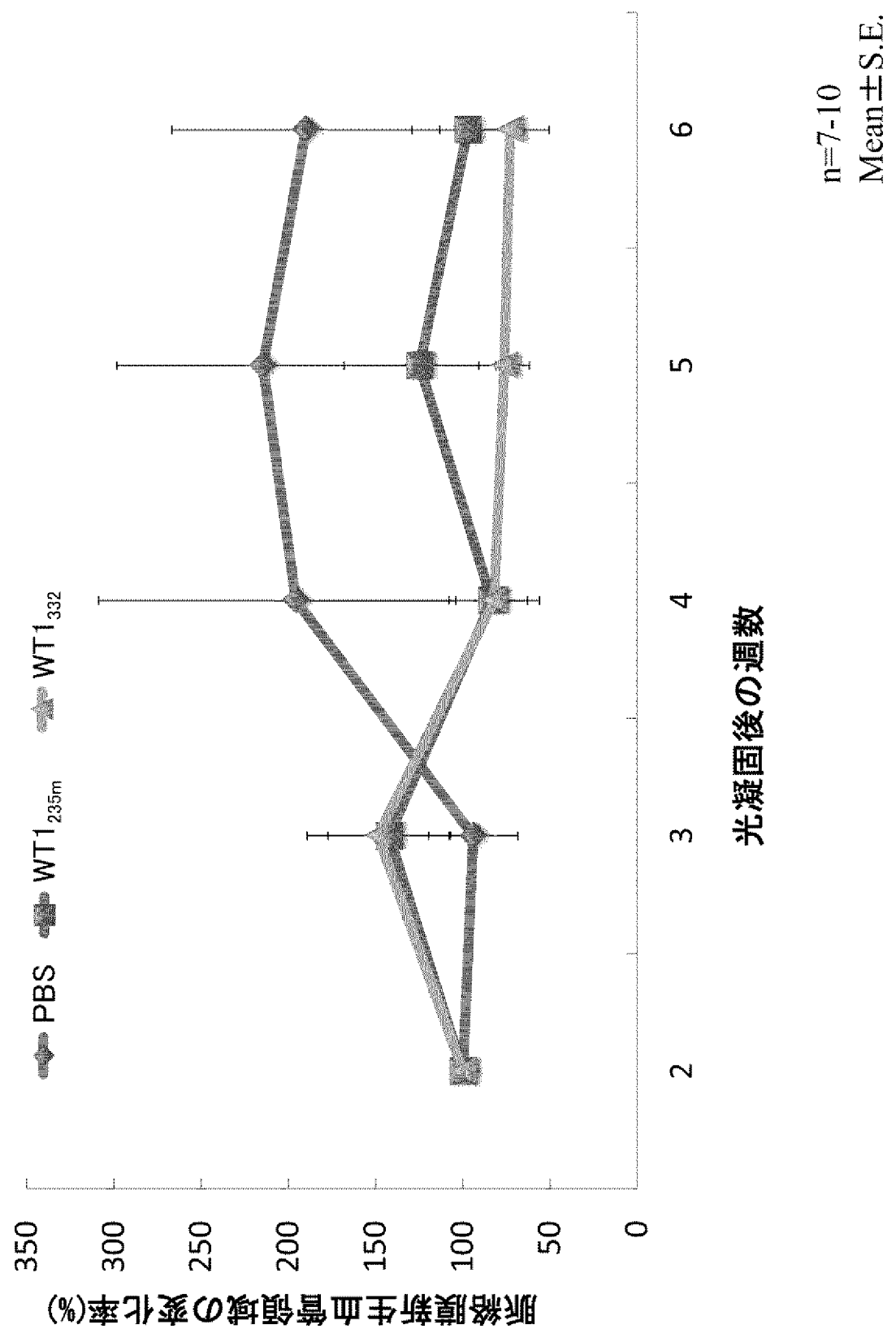
#: p<0.05 vs PBS group (Dunnett's multiple comparison test).

[図4]

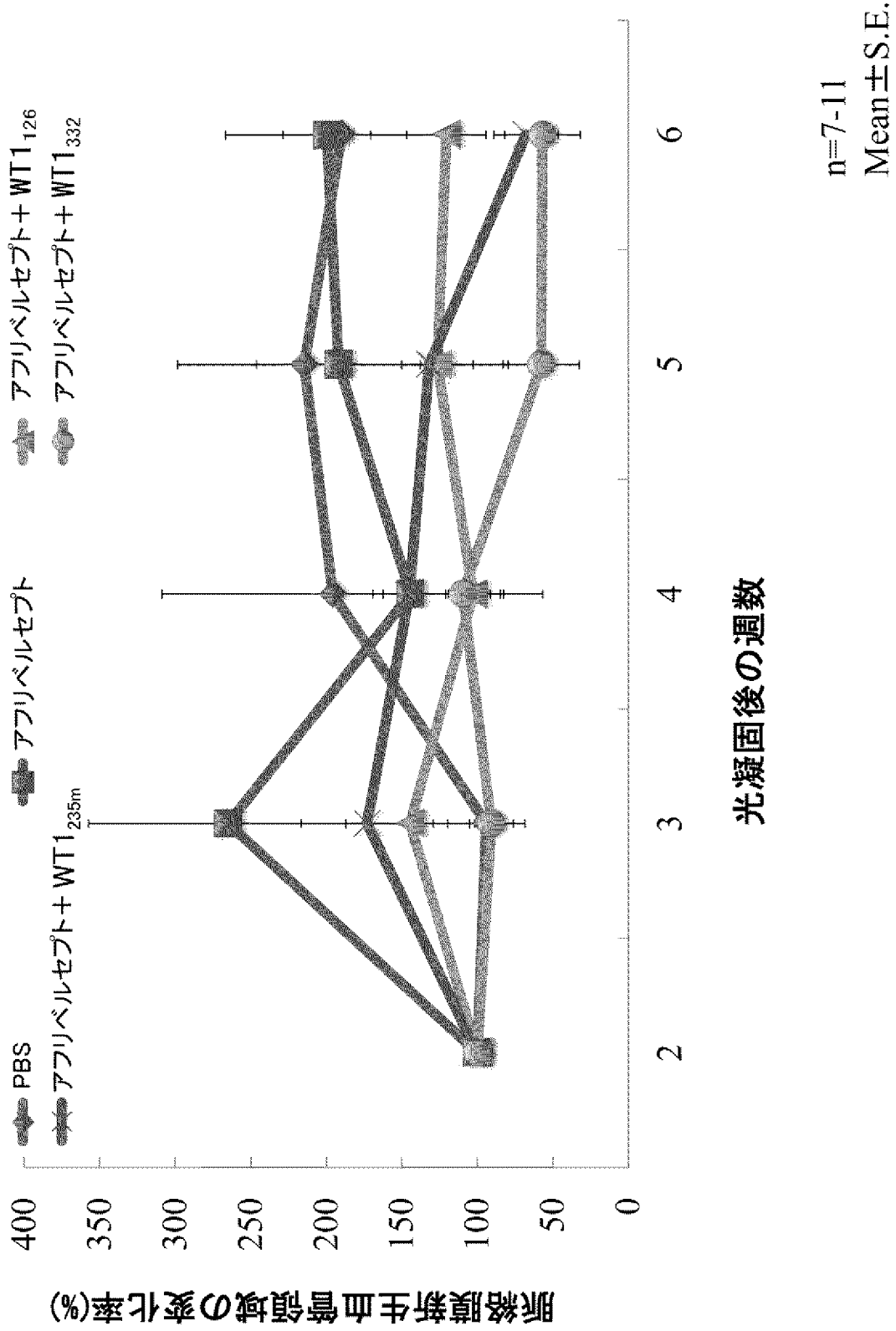


#: p<0.05 vs PBS group (Dunnett's multiple comparison test).

[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/084709

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K38/00(2006.01)i, A61K39/00(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P9/00(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P15/00(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P17/02(2006.01)i, A61P17/06(2006.01)i, A61P17/12(2006.01)i,
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)
A61K38/00, A61K39/00, A61P3/10, A61P9/00, A61P9/10, A61P15/00, A61P17/00, A61P17/02, A61P17/06, A61P17/12, A61P19/02, A61P27/02, A61P27/06, A61P29/00, A61P35/00, A61P37/04, C07K7/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2005/045027 A1 (Haruo SUGIYAMA), 19 May 2005 (19.05.2005), entire text; particularly, paragraphs [0002], [0032], [0033], [0035], [0061], [0075] & US 2008/0070835 A1 paragraphs [0002], [0112], [0115] to [0117], [0151] to [0156], [0180] & EP 1696027 A1	1-7, 10, 11 8, 9
X Y	WO 2010/123065 A1 (International Institute of Cancer Immunology, Inc.), 28 October 2010 (28.10.2010), entire text; particularly, paragraphs [0027], [0028], [0055] & US 2012/0045465 A1 paragraphs [0085], [0028], [0126] & EP 2423310 A1	1-7, 10, 11 8, 9

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 18 February 2016 (18.02.16)	Date of mailing of the international search report 01 March 2016 (01.03.16)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/084709

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2014/098012 A1 (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), 26 June 2014 (26.06.2014), entire text; particularly, paragraph [0049] & US 2015/0328278 A1 paragraph [0079] & EP 2933261 A1	1-7, 10, 11 8, 9
X Y	JP 2002-525099 A (Corixa Corp.), 13 August 2002 (13.08.2002), entire text; particularly, tables 2, 3, 7, 9, 10, 18, 19, 25, 34 & US 7063854 B tables II, III, VII, IX, X, XVIII, XIX, XXV, XXXIV & EP 1117687 A1	1-7, 10, 11 8, 9
X Y	WO 2009/072610 A1 (International Institute of Cancer Immunology, Inc.), 11 June 2009 (11.06.2009), entire text; particularly, paragraphs [0024], [0032] & US 2011/0070251 A1 paragraphs [0125], [0129] & EP 2228072 A1	1-7, 10, 11 8, 9
X Y	WO 2007/097358 A1 (Osaka University), 30 August 2007 (30.08.2007), entire text; particularly, paragraph [0045] & US 2010/0292160 A1 paragraph [0096] & EP 1988163 A1	1-6, 10, 11 8, 9
X Y	WO 2008/081701 A1 (International Institute of Cancer Immunology, Inc.), 10 July 2008 (10.07.2008), entire text; particularly, paragraph [0049] & US 2011/0098233 A1 paragraph [0100] & EP 2098595 A1	1-6, 10, 11 8, 9
X Y	JP 2014-169282 A (Nitto Denko Corp.), 18 September 2014 (18.09.2014), entire text; particularly, paragraphs [0018], [0021], [0023], [0046]; examples 71, 72 & US 2014/0220059 A1 paragraphs [0026], [0029], [0033], [0057]; examples 71, 72 & EP 2762160 A1	1, 3-7, 10, 11 8, 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/084709

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2014-169276 A (Nitto Denko Corp.), 18 September 2014 (18.09.2014), entire text; particularly, paragraphs [0014], [0018], [0020], [0043]; example 145 & US 2014/0220057 A1 paragraphs [0022], [0027], [0031], [0054]; example 145 & EP 2762152 A1	1, 3-7, 10, 11 8, 9
Y	WAGNER N. et al., The Wilms' tumour suppressor WT1 is involved in endothelial cell proliferation and migration: expression in tumour vessels in vivo., <i>Oncogene</i> , 2008, Vol.27, No.26, pages 3662 to 3672, ISSN: 0950-9232 page 3663, right column, line 1 to page 3665, left column, line 25, page 3666, right column, line 1 to page 3667, left column, line 13, Table 1, Figure 4E	8, 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/084709

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

A61P19/02(2006.01)i, A61P27/02(2006.01)i,

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

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. A61K38/00(2006.01)i, A61K39/00(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P9/00(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P15/00(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P17/02(2006.01)i, A61P17/06(2006.01)i, A61P17/12(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i, A61P27/02(2006.01)i,</p>											
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. A61K38/00, A61K39/00, A61P3/10, A61P9/00, A61P9/10, A61P15/00, A61P17/00, A61P17/02, A61P17/06, A61P17/12, A61P19/02, A61P27/02, A61P27/06, A61P29/00, A61P35/00, A61P37/04, C07K7/06</p>											
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2016年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2016年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2016年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2016年	日本国実用新案登録公報	1996-2016年	日本国登録実用新案公報	1994-2016年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2016年										
日本国実用新案登録公報	1996-2016年										
日本国登録実用新案公報	1994-2016年										
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>											
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">引用文献の カテゴリー*</th> <th style="width:70%;">引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th style="width:20%;">関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align:center;">X ----- Y</td> <td> WO 2005/045027 A1 (杉山治夫) 2005.05.19, 文献全体、特に、[0002]、[0032]、[0033]、[0035]、 [0061]、[0075] & US 2008/0070835 A1, [0002], [0112], [0115]-[0117], [0151]-[0156], [0180] & EP 1696027 A1 </td> <td style="text-align:center;"> 1-7, 10, 11 ----- 8, 9 </td> </tr> </tbody> </table>				引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X ----- Y	WO 2005/045027 A1 (杉山治夫) 2005.05.19, 文献全体、特に、[0002]、[0032]、[0033]、[0035]、 [0061]、[0075] & US 2008/0070835 A1, [0002], [0112], [0115]-[0117], [0151]-[0156], [0180] & EP 1696027 A1	1-7, 10, 11 ----- 8, 9		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
X ----- Y	WO 2005/045027 A1 (杉山治夫) 2005.05.19, 文献全体、特に、[0002]、[0032]、[0033]、[0035]、 [0061]、[0075] & US 2008/0070835 A1, [0002], [0112], [0115]-[0117], [0151]-[0156], [0180] & EP 1696027 A1	1-7, 10, 11 ----- 8, 9									
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。</p>		<p><input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>									
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>		<p>の日の後に公表された文献</p> <p>「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&」 同一パテントファミリー文献</p>									
<p>国際調査を完了した日</p> <p style="text-align:center;">18.02.2016</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p style="text-align:center;">01.03.2016</p>									
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p style="text-align:center;">日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p style="text-align:center;">小森 潔</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3439</p>									

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X ----- Y	WO 2010/123065 A1 (株式会社癌免疫研究所) 2010. 10. 28, 文献全体、特に、[0027]、[0028]、[0055] & US 2012/0045465 A1, [0085], [0028], [0126] & EP 2423310 A1	1-7, 10, 11 ----- 8, 9
X ----- Y	WO 2014/098012 A1 (大塚製薬株式会社) 2014. 06. 26, 文献全体、特に、[0049] & US 2015/0328278 A1, [0079] & EP 2933261 A1	1-7, 10, 11 ----- 8, 9
X ----- Y	JP 2002-525099 A (コリクサ コーポレイション) 2002. 08. 13, 文献全体、特に、【表2】、【表3】、【表7】、【表9】、【表10】、 【表18】、【表19】、【表25】、【表34】 & US 7063854 B, TABLE II, III, VII, IX, X, XVIII, XIX, XXV, XXXIV & EP 1117687 A1	1-7, 10, 11 ----- 8, 9
X ----- Y	WO 2009/072610 A1 (株式会社癌免疫研究所) 2009. 06. 11, 文献全体、特に、[0024]、[0032] & US 2011/0070251 A1, [0125], [0129] & EP 2228072 A1	1-7, 10, 11 ----- 8, 9
X ----- Y	WO 2007/097358 A1 (国立大学法人大阪大学) 2007. 08. 30, 文献全体、特に、[0045] & US 2010/0292160 A1, [0096] & EP 1988163 A1	1-6, 10, 11 ----- 8, 9
X ----- Y	WO 2008/081701 A1 (株式会社癌免疫研究所) 2008. 07. 10, 文献全体、特に、[0049] & US 2011/0098233 A1, [0100] & EP 2098595 A1	1-6, 10, 11 ----- 8, 9

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X ----- Y	JP 2014-169282 A (日東電工株式会社) 2014.09.18, 文献全体、特に、【0018】、【0021】、【0023】、【0046】、 実施例71、72 & US 2014/0220059 A1, [0026], [0029], [0033], [0057], Example 71, 72 & EP 2762160 A1	1, 3-7, 10, 11 ----- 8, 9
X ----- Y	JP 2014-169276 A (日東電工株式会社) 2014.09.18, 文献全体、特に、【0014】、【0018】、【0020】、【0043】、 実施例145 & US 2014/0220057 A1, [0022], [0027], [0031], [0054], Example 145 & EP 2762152 A1	1, 3-7, 10, 11 ----- 8, 9
Y	WAGNER N. et al., The Wilms' tumour suppressor WT1 is involved in endothelial cell proliferation and migration: expression in tumour vessels in vivo., Oncogene, 2008, Vol.27, No.26, pages 3662 to 3672, ISSN: 0950-9232 3663 ページ右欄1行目～3665 ページ左欄25行目、 3666 ページ右欄1行目～3667 ページ左欄13行目、 Table 1、Figure 4E	8, 9