

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7489193号
(P7489193)

(45)発行日 令和6年5月23日(2024.5.23)

(24)登録日 令和6年5月15日(2024.5.15)

(51)国際特許分類	F I	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H Z N A
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	

請求項の数 9 外国語出願 (全178頁)

(21)出願番号	特願2020-367(P2020-367)	(73)特許権者	515236259
(22)出願日	令和2年1月6日(2020.1.6)		ザ・ブロード・インスティテュート・インコーポレイテッド
(62)分割の表示	特願2016-507587(P2016-507587)の分割		アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02142・ケンブリッジ・メイン・ストリート・415
原出願日	平成26年4月7日(2014.4.7)	(73)特許権者	399052796
(65)公開番号	特開2020-73553(P2020-73553A)		ダイナファーマー・キャンサー・インスティテュート、インコーポレイテッド
(43)公開日	令和2年5月14日(2020.5.14)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0215, ボストン, ブルックライン アベニュー 450
審査請求日	令和2年2月5日(2020.2.5)	(73)特許権者	592017633
審査番号	不服2022-6047(P2022-6047/J1)		ザ ジェネラル ホスピタル コーポレイション
審査請求日	令和4年4月21日(2022.4.21)		
(31)優先権主張番号	61/869,721		
(32)優先日	平成25年8月25日(2013.8.25)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	61/809,406		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 個別化された新生物ワクチンの組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

新生物を有すると診断された対象に特異的な新生物ワクチンを作製する方法であって、

(a) 前記新生物において、ミスセンス突然変異及び/又はネオORF突然変異を含むネオ抗原突然変異を含む複数の配列を同定し、ここで、同定することは前記新生物のゲノム、トランスクリプトーム、又はプロテオームをシーケンシングすることを含み、

(b) 前記複数の配列にコードされる少なくとも20のネオ抗原ポリペプチドを、下記(i)から(v)の順の優先順位でランク付けし、前記優先順位は：

(i) ネオORF突然変異を含む配列にコードされ、 $K_d < 500 \text{ nM}$ の K_d で対象のHLAに結合するネオORFポリペプチド；

(ii) ミスセンス突然変異を含む配列にコードされ、 $K_d < 150 \text{ nM}$ の K_d で対象のHLAに結合するポリペプチド、ここで、その天然コグネイトタンパク質は $K_d < 1000 \text{ nM}$ の K_d を有する；

(iii) ミスセンス突然変異を含む配列にコードされ、 $K_d < 150 \text{ nM}$ の K_d で対象のHLAに結合するポリペプチド、ここで、その天然コグネイトタンパク質は $K_d < 150 \text{ nM}$ の K_d を有する；

(iv) ネオORF突然変異を含む配列にコードされ、 $K_d > 500 \text{ nM}$ の K_d で対象のHLAに結合するネオORFポリペプチド；

(v) ミスセンス突然変異を含む配列にコードされ、 $150 \text{ nM} < K_d < 500 \text{ nM}$ の K_d で対象のHLAに結合するポリペプチド、ここで、その天然コグネイトタンパク質は

150 nM < Kd 500 nMのKdを有する、
を含み、そして

(c) 前記ランク付けに基づき、(A)前記複数の配列にコードされる、上位5位までにランク付けされたネオ抗原ポリペプチドの少なくとも2つを含む複数のポリペプチドを含むか、又は(B)(A)の複数のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、対象に特異的な新生物ワクチンを作製する、
ことを含む、前記方法。

【請求項2】

対象に特異的な新生物ワクチンが、前記複数の配列にコードされる少なくとも10のネオ抗原ポリペプチドを含む複数のポリペプチド、又は前記複数の配列にコードされる少なくとも10のネオ抗原ポリペプチドを含む複数のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、請求項1に記載の方法。

10

【請求項3】

対象に特異的な新生物ワクチンが、(B)のポリヌクレオチドを含み、ポリヌクレオチドがRNAである、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

複数のポリペプチドのそれぞれが、ネオ抗原ポリペプチドを含み、20~50アミノ酸長である、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

複数のポリペプチドのそれぞれが、ネオ抗原ポリペプチドを含み、15~35アミノ酸長である、請求項1に記載の方法。

20

【請求項6】

対象に特異的な新生物ワクチンを作製することが、2以上のサブプールを作製することを含み、各々のサブプールが、1~5つのネオ抗原ポリペプチドを含有する、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

各サブプールが、少なくとも2つのネオ抗原ポリペプチドを含む、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記対象に特異的な新生物ワクチンがアジュバントをさらに含む、請求項1に記載の方法。

30

【請求項9】

前記アジュバントが、ポリICLC、1018 ISS、アルミニウム塩、Amplivax(登録商標)、AS15、BCG、CP-870, 893、CpG7909、CyaA、dSLIM(登録商標)、GM-CSF、IC30、IC31、イミキモド、ImuFact IMP321、ISパッチ、ISS、ISCOMATRIX(登録商標)、JuvImmune、LipoVac、MF59(登録商標)、モノホスホリルリピドA、Montanide(登録商標) IMS 1312、Montanide(登録商標) ISA 206、Montanide(登録商標) ISA 50V、Montanide(登録商標) ISA-51、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK(登録商標)、PepTel(登録商標)、ベクター系、PLGAマイクロパーティクル、SRL172、ピロソーム及び他のウイルス様粒子、YF-17D、VEGFトラップ、R848(レシキモド)、グルカン、Pam3Cys、及びAsA404(DMXAA、バジメザン)からなる群から選択される、請求項8に記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

連邦政府支援研究に基づき行われた発明に対する権利に関する記載

本研究は、国立衛生研究所(National Institutes of Health)からの以下の助成、助成番号：NIH/NCI-1R01CA155010-02及びNHLBI-5R01H

50

L 1 0 3 5 3 2 - 0 3 による支援を受けた。連邦政府は本発明に一定の権利を有する。

【 0 0 0 2 】

関連出願の相互参照

本願は、2013年4月7日に出願された米国仮特許出願第61/809,406号明細書及び2013年8月25日に出願された米国仮特許出願第61/869,721号明細書の利益及びそれに対する優先権を主張し、これらの仮特許出願の内容は参照により本明細書に援用される。

【 0 0 0 3 】

本発明は、新生物を治療するための個別化戦略に関する。より詳細には、本発明は、対象を治療するための個別化された腫瘍ワクチンにおける腫瘍特異的ネオ抗原の患者特異的プールの同定及び使用に関する。

10

【背景技術】

【 0 0 0 4 】

毎年約160万人の米国人が新生物と診断され、2013年には米国内で約58万人がこの疾患により死亡することが予想される。ここ数十年で新生物の検出、診断、及び治療は著しく向上しており、それにより多くの種類の新生物に関して生存率が著しく上昇している。しかしながら、新生物と診断された人のうち、治療開始後5年でなおも生存している者は約60%に過ぎず、そのため新生物は米国における主な死亡原因の第2位となっている。

【 0 0 0 5 】

20

現在、種々の既存の癌療法が、アブレーション技法（例えば、外科手技、極低温/熱処置、超音波、高周波、及び放射線）及び化学的技法（例えば、医薬品、細胞傷害剤/化学療法剤、モノクローナル抗体、及びそれらの様々な組み合わせ）を含め、いくつも存在している。残念ながら、かかる治療法は多くの場合に深刻なリスク、毒性の副作用、及び極めて高いコストを伴うことに加え、有効性も不確かである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 0 6 】

【文献】米国仮特許出願第61/809,406号明細書

【文献】米国仮特許出願第61/869,721号明細書

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

患者自身の免疫系によって癌性細胞を標的化しようとする癌療法（例えば、癌ワクチン）について、かかる治療法は上述の欠点のいくつかを軽減/解消し得るため、関心が高まっている。癌ワクチンは、典型的には腫瘍抗原及び免疫刺激性分子（例えば、サイトカイン又はTLRリガンド）で構成され、これらが一緒になって働き抗原特異的細胞傷害性T細胞を誘導することで、T細胞が腫瘍細胞を標的化して破壊する。現在の癌ワクチンは、典型的には共通腫瘍抗原を含有し、これは多くの個体に見られる腫瘍で選択的に発現又は過剰発現する天然タンパク質（即ち、-個体における全ての正常細胞のDNAによりコードされるタンパク質）である。かかる共通腫瘍抗原は特定の種類の腫瘍を同定するには有用であるが、特定の腫瘍型に対するT細胞応答を標的化する免疫原としては、免疫を弱める自己トレランス効果に供されるため理想的でない。従って、新生物ワクチンに用い得るより効果的な腫瘍抗原を同定する方法が必要とされている。

40

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8 】

本発明は、個別化された新生物治療のための戦略に関し、より詳細には、対象の腫瘍を治療するための腫瘍特異的且つ患者特異的ネオ抗原のプールから本質的になる個別化された癌ワクチンの同定及び使用に関する。以下に記載するとおり、本発明は、少なくとも一部には、全ゲノム/エクソームシーケンシングを用いることにより個々の患者の新生物/

50

腫瘍にユニークに存在する全ての又はほぼ全ての突然変異ネオ抗原を同定し得るとともに、この一群の突然変異ネオ抗原を分析することにより、患者の新生物/腫瘍を治療するための個別化された新生物ワクチンとして使用されるネオ抗原の特定の最適化されたサブセットを同定し得るといふ発見に基づく。

【0009】

一態様において、本発明は、新生物を有すると診断された対象用の個別化された新生物ワクチンを製造する方法を提供し、この方法は、新生物における複数の突然変異を同定するステップと、複数の突然変異を分析するステップにより、ネオ抗原ペプチドをコードすると予測される少なくとも5つのネオ抗原突然変異のサブセットを同定するステップであって、ネオ抗原突然変異が、ミスセンス突然変異、ネオORF突然変異、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、ステップと、同定されたサブセットに基づき、個別化された新生物ワクチンを作製するステップとを含む。

10

【0010】

ある実施形態では、本発明は、同定するステップが、新生物のゲノム、トランスクリプトーム、又はプロテオームをシーケンシングするステップをさらに含むことを提供する。

別の実施形態では、分析するステップが、ネオ抗原ペプチドをコードすると予測される少なくとも5つのネオ抗原突然変異のサブセットと関連付けられる1つ以上の特徴を決定するステップであって、特徴が、分子量、システイン含量、親水性、疎水性、電荷、及び結合親和性からなる群から選択される、ステップと；決定された特徴に基づき、少なくとも5つのネオ抗原突然変異の同定されたサブセット内のネオ抗原突然変異の各々をランク付けするステップとをさらに含む。ある実施形態では、上位5位まで～上位30位までにランク付けされたネオ抗原突然変異を、個別化された新生物ワクチンに含める。別の実施形態では、ネオ抗原突然変異は、図8に示す順序に従いランク付けされる。

20

【0011】

一実施形態において、個別化された新生物ワクチンは、ネオ抗原突然変異に対応する少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドを含む。

別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、ネオ抗原突然変異に対応する少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドの発現能を有する1つ以上のDNA分子を含む。別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、ネオ抗原突然変異に対応する少なくとも20個のネオ抗原ペプチドの発現能を有する1つ以上のRNA分子を含む。

30

【0012】

実施形態において、個別化された新生物ワクチンは、 K_d 500 nMのネオORFポリペプチドをコードすると予測されるネオORF突然変異を含む。

別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、 K_d 150 nMのポリペプチドをコードすると予測されるミスセンス突然変異を含み、その天然コグネイトタンパク質は K_d 1000 nM又は150 nMである。

【0013】

別の実施形態では、少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドは約5～約50アミノ酸長の範囲である。別の実施形態では、少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドは約15～約35アミノ酸長の範囲である。別の実施形態では、少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドは約18～約30アミノ酸長の範囲である。別の実施形態では、少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドは約6～約15アミノ酸長の範囲である。さらに別の実施形態では、少なくとも約20個のネオ抗原ペプチドは、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は25アミノ酸長である。

40

【0014】

一実施形態において、個別化された新生物ワクチンはアジュバントをさらに含む。他の実施形態では、アジュバントは、ポリICLC、1018 ISS、アルミニウム塩、Amplivax、AS15、BCG、CP-870、893、CpG7909、CyaA、dSLIM、GM-CSF、IC30、IC31、イミキモド、ImuFact IMP321、ISパッチ、ISS、ISCOMATRIX、JuvImmune、LipoVa

50

c、MF59、モノホスホリルリピドA、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、Peptel.RTM、ベクター系、PLGAマイクロパーティクル、レシキモド、SR L172、ピロソーム及び他のウイルス様粒子、YF-17D、VEGFトラップ、R848、グルカン、Pam3Cys、Aquila社のQS21 stimulon、バジメザン、及び/又はAsA404(DMXAA)からなる群から選択される。好ましい実施形態において、アジュバントはポリICLCである。

【0015】

別の態様において、本発明は、新生物を有すると診断された対象を個別化された新生物ワクチンによって治療する方法を含み、この方法は、新生物における複数の突然変異を同定するステップと；複数の突然変異を分析するステップにより、発現ネオ抗原ペプチドをコードすると予測される少なくとも5つのネオ抗原突然変異のサブセットを同定するステップであって、ネオ抗原突然変異が、ミスセンス突然変異、ネオORF突然変異、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、ステップと；同定されたサブセットに基づき、個別化された新生物ワクチンを作製するステップと；個別化された新生物ワクチンを対象に投与するステップであって、それにより新生物を治療するステップとを含む。

10

【0016】

別の実施形態では、同定するステップは、新生物のゲノム、トランスクリプトーム、又はプロテオームをシーケンシングするステップをさらに含み得る。

20

さらに別の実施形態では、分析するステップは、発現ネオ抗原ペプチドをコードすると予測される少なくとも5つのネオ抗原突然変異のサブセットと関連付けられる1つ以上の特徴を決定するステップであって、特徴が、分子量、システイン含量、親水性、疎水性、電荷、及び結合親和性からなる群から選択される、ステップと；決定された特徴に基づき、少なくとも5つのネオ抗原突然変異の同定されたサブセット内のネオ抗原突然変異の各々をランク付けするステップとをさらに含み得る。

【0017】

一実施形態において、上位5位まで～上位30位までにランク付けされたネオ抗原突然変異を、個別化された新生物ワクチンに含める。別の実施形態では、ネオ抗原突然変異は、図8に示す順序に従いランク付けされる。

30

【0018】

一実施形態において、個別化された新生物ワクチンは、ネオ抗原突然変異に対応する少なくとも20個のネオ抗原ペプチドを含む。

別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、ネオ抗原突然変異に対応する少なくとも20個のネオ抗原ペプチドの発現能を有する1つ以上のDNA分子を含む。

【0019】

一実施形態において、個別化された新生物ワクチンは、ネオ抗原突然変異に対応する少なくとも20個のネオ抗原ペプチドの発現能を有する1つ以上のRNA分子を含む。

一実施形態において、個別化された新生物ワクチンは、 K_d 500 nMのネオORFポリペプチドをコードすると予測されるネオORF突然変異を含む。

40

【0020】

別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、 K_d 150 nMのポリペプチドをコードすると予測されるミスセンス突然変異を含み、ここで天然コグネイトタンパク質は K_d 1000 nM又は 150 nMである。

【0021】

一実施形態において、少なくとも20個のネオ抗原ペプチドは約5～約50アミノ酸長の範囲である。一実施形態において、少なくとも20個のネオ抗原ペプチドは約15～約35アミノ酸長の範囲である。一実施形態において、少なくとも20個のネオ抗原ペプチドは約18～約30アミノ酸長の範囲である。一実施形態において、少なくとも20個のネオ抗原ペプチドは約6～約15アミノ酸長の範囲である。一実施形態において、少なく

50

とも20個のネオ抗原ペプチドは、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は25アミノ酸長である。

【0022】

一実施形態において、投与するステップは、作製されたワクチンを2つ以上のサブプールに分割するステップと；サブプールの各々を患者の異なる部位に注入するステップとをさらに含む。一実施形態において、異なる部位に注入されるサブプールの各々は、任意の単一の患者HLAを標的化するサブプール中の個々のペプチドの数が1個であるか、又は2個以上で可能な限り少ない個数となるようにネオ抗原ペプチドを含む。

【0023】

一実施形態において、投与するステップは、作製されたワクチンを2つ以上のサブプールに分割するステップをさらに含み、各サブプールは、プール内相互作用を最適化するように選択された少なくとも5個のネオ抗原ペプチドを含む。

10

【0024】

一実施形態において、最適化は、同じプールのネオ抗原ペプチド間における負の相互作用を低減することを含む。

別の態様において、本発明は、上述の方法により調製される個別化された新生物ワクチンを含む。

【0025】

定義

本発明の理解を助けるため、以下にいくつかの用語及び語句を定義する：

20

具体的に記載されるか又は文脈から明らかである場合を除き、本明細書で使用されるとき、用語「約」は、当該技術分野における通常の許容差の範囲内、例えば平均値の2標準偏差以内であると理解される。約は、記載される値の50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、又は0.01%以内と理解することができる。文脈から別段明らかでない限り、本明細書に提供される全ての数値が約の用語によって修飾されている。

【0026】

「薬剤」とは、任意の小分子化学的化合物、抗体、核酸分子、又はポリペプチド、又はそれらの断片が意味される。

30

「改善する」とは、疾患（例えば、新生物、腫瘍等）の発症又は進行を低下させ、抑制し、減弱させ、減少させ、停止させ、又は安定化させることが意味される。

【0027】

「改変」とは、本明細書に記載されるような当該技術分野で公知の標準的な方法により検出するときの遺伝子又はポリペプチドの発現レベル又は活性の変化（増加又は減少）が意味される。本明細書で使用されるとき、改変には、発現レベルの10%の変化、好ましくは発現レベルの25%の変化、より好ましくは40%の変化、及び最も好ましくは50%又はそれ以上の変化が含まれる。

【0028】

「類似体」とは、同一ではないが、類似の機能的又は構造的な特徴を有する分子が意味される。例えば、腫瘍特異的ネオ抗原ポリペプチド類似体は、対応する天然に存在する腫瘍特異的ネオ抗原ポリペプチドの生物学的活性を保持する一方で、天然に存在するポリペプチドと比べて類似体の機能を増強する特定の生化学的修飾を有する。かかる生化学的修飾は、類似体のプロテアーゼ耐性、膜透過性、又は半減期を、例えばリガンド結合を変えることなしに増加させ得る。類似体には非天然アミノ酸が含まれ得る。

40

【0029】

語句「併用療法」は、治療剤の共作用から有益な（相加的又は相乗的な）効果をもたらすことが意図される特定の治療レジメンの一部としての、新生物/腫瘍特異的ネオ抗原のプール試料と1つ以上のさらなる治療剤との投与を包含する。併用の有益な効果には、限定はされないが、治療剤の併用によって生じる薬物動態学的又は薬力学的共作用が含まれ

50

る。これらの治療剤の併用での投与は、典型的には定義された期間（通常、選択された組み合わせに応じて数分、数時間、数日、又は数週間）にわたって実施される。「併用療法」は、これらの治療剤の逐次的な投与（即ち、各治療剤が異なる時点で投与される）、並びにこれらの治療剤、又は治療剤のうちの少なくとも2つの、実質的に同時の投与を包含することが意図される。実質的に同時の投与は、対象に、例えば一定比率の各治療剤を有する単一のカプセルを投与するか又は複数の治療剤毎の単一カプセルで投与することにより達成し得る。例えば、本発明の一つの組み合わせは、同じ又は異なる時点における腫瘍特異的ネオ抗原のプール試料と少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、化学療法剤、抗血管新生剤、免疫抑制剤、抗炎症剤など）とを含んでもよく、又はそれらは2つの化合物を含む単一の共製剤化医薬組成物として製剤化することができる。別の例として、本発明の組み合わせ（例えば、腫瘍特異的ネオ抗原のプール試料と少なくとも1つのさらなる治療剤）は、同じ又は異なる時点で投与し得る別個の医薬組成物として製剤化されてもよい。各治療剤の逐次的な投与又は実質的に同時の投与は、限定はされないが、経口経路、静脈内経路、皮下経路、筋肉内経路、粘膜組織（例えば、鼻、口、膣、及び直腸）を介した直接吸収、及び眼球経路（例えば、硝子体内、眼球内等）を含む任意の適切な経路によって達成することができる。治療剤は同じ経路によっても、又は異なる経路によっても投与することができる。例えば、特定の組み合わせの一つの成分が静脈内注射で投与されてもよく、一方でその組み合わせの他の1つ又は複数の成分が経口投与されてもよい。これらの成分は、治療上有効な任意の順序で投与されてもよい。

10

【0030】

20

語句「併用」は、併用療法の一部として有用な一群の化合物又は非薬物療法を包含する。本開示において、「～を含む (comprises)」、「含んでいる (comprising)」、「含有している (containing)」及び「有している (having)」などは、米国特許法においてそれらに割り当てられた意味を有することができ、「～を包含する (includes)」、「包含している (including)」などを意味し得る；「～から本質的になる (consisting essentially of)」又は「本質的になる (consists essentially)」も同様に、米国特許法において割り当てられた意味を有し、この用語はオープンエンドであり、記載されているもの以外の存在によって記載されているものの基本的な又は新規の特徴が変わらない限り記載されているもの以外の存在を許容するが、但し先行技術の実施形態は除外する。

【0031】

30

「対照」とは、標準又は参照条件が意味される。

「疾患」とは、細胞、組織、又は器官の正常機能に損傷を与え又はそれを妨げる任意の病態又は障害が意味される。

【0032】

「有効量」とは、疾患（例えば、新生物/腫瘍）の症状を未治療の患者と比べて改善するために必要な量が意味される。疾患の治療処置のため本発明の実施に用いられる1つ又は複数の活性化化合物の有効量は、投与方法、対象の年齢、体重、及び全般的な健康に応じて異なる。最終的には、担当の医師又は獣医師が適切な量及び投薬量レジメンを決定することになる。かかる量は、「有効」量と称される。

【0033】

40

「断片」とは、ポリペプチド又は核酸分子の一部が意味される。この一部分は、好ましくは、参照核酸分子又はポリペプチドの全長の少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、又は90%を含有する。断片は、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、又は100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000個又はそれ以上のヌクレオチド又はアミノ酸を含有し得る。

【0034】

「ハイブリダイゼーション」は、相補的な核酸塩基の間における、ワトソン・クリック、フーグスティーン又は逆フーグスティーン水素結合であってもよい水素結合を意味する。例えば、アデニンとチミンは、水素結合の形成によって対合する相補的な核酸塩基であ

50

る。

【0035】

「阻害性核酸」とは、哺乳類細胞に投与されると標的遺伝子の発現の（例えば、10%、25%、50%、75%、又はさらには90~100%の）低下をもたらす二本鎖RNA、siRNA、shRNA、又はアンチセンスRNA、又はそれらの一部分、又はそれらの模倣体が意味される。典型的には、核酸阻害薬は、標的核酸分子、又はそのオルソログの少なくとも一部分を含むか、又は標的核酸分子の相補鎖の少なくとも一部分を含む。例えば、阻害性核酸分子は、本明細書で詳説する核酸の一部又は全ての少なくとも一部分を含む。

【0036】

「単離ポリヌクレオチド」とは、生物の天然に存在するゲノムにおいて - 又は生物に由来する新生物/腫瘍のゲノムDNAにおいて - 本発明の核酸分子が由来する遺伝子を含まない核酸（例えば、DNA）が意味される。従ってこの用語には、例えば、ベクターに取り込まれた；自己複製プラスミド又はウイルスに取り込まれた；又は原核生物又は真核生物のゲノムDNAに取り込まれた組換えDNA（例えば、患者の腫瘍に同定されるネオORF、リードスルー、又はインデル由来ポリペプチドをコードするDNA）；又は他の配列と独立した別個の分子（例えば、PCR又は制限エンドヌクレアーゼ消化によって産生されるcDNA又はゲノム若しくはcDNA断片）として存在する組換えDNAが含まれる。加えて、この用語には、DNA分子から転写されたRNA分子、並びにさらなるポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部である組換えDNAが含まれる。

【0037】

「単離ポリペプチド」とは、天然でそれに付随する成分から分離されている本発明のポリペプチドが意味される。典型的には、ポリペプチドが天然でそれと結び付いているタンパク質及び天然に存在する有機分子の少なくとも60重量%を含まないとき、そのポリペプチドは単離されている。好ましくは、この調製物は、少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも90重量%、及び最も好ましくは少なくとも99重量%が本発明のポリペプチドである。本発明の単離ポリペプチドは、例えば、天然の供給源から抽出することによるか、かかるポリペプチドをコードする組換え核酸を発現させることによるか；又はタンパク質を化学的に合成することによって入手し得る。純度は、任意の適切な方法、例えば、カラムクロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるか、又はHPLC分析によって計測することができる。

【0038】

「リガンド」は、受容体の構造に相補的な構造を有し且つその受容体との複合体形成能を有する分子を意味すると理解されるべきである。本発明によれば、リガンドは、そのアミノ酸配列に好適な長さ及び好適な結合モチーフを有するペプチド又はペプチド断片を意味し、従ってこのペプチド又はペプチド断片はMHCクラスI又はMHCクラスIIのタンパク質との複合体形成能を有すると理解されるべきである。

【0039】

「突然変異」は、本稿の目的上、患者の腫瘍DNA試料に見られ、当該の同じ患者の対応する正常DNA試料には見られないDNA配列を意味する。「突然変異」はまた、個々の遺伝子に関する既知の情報に基づく予想される変異に帰することのできない、且つ例えば患者の腫瘍細胞で特異的に改変されている1つ以上の遺伝子のスプライシングパターンにおける新規の変異であると合理的に考えられる患者のRNAの配列パターンも指し得る。

【0040】

「ネオ抗原」又は「ネオ抗原性の」は、ゲノムによりコードされるタンパク質のアミノ酸配列を改変する1つ又は複数の腫瘍特異的突然変異によって生じる腫瘍抗原クラスを意味する。

【0041】

「新生物」とは、不適切に高いレベルの細胞分裂、不適切に低いレベルのアポトーシス、又はその両方によって引き起こされるか又はそれをもたらす任意の疾患が意味される。

10

20

30

40

50

例えば癌は、新生物の例である。癌の例としては、限定なしに、白血病（例えば、急性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性単球性白血病、急性赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病）、真性赤血球増加症、リンパ腫（例えば、ホジキン病、非ホジキン病）、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、重鎖病、及び固形腫瘍、例えば肉腫及び癌腫（例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、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、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、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、髓様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管（bile duct）癌、絨毛癌、セミノーマ、胚性癌腫、

10

【0042】

具体的に記載されるか又は文脈から明らかである場合を除き、本明細書で使用されるとき、用語「又は」は、包含的であるものと理解される。具体的に記載されるか又は文脈から明らかである場合を除き、本明細書で使用されるとき、用語「a」、「an」、及び「the」は、単数形又は複数形であるものと理解される。

【0043】

用語「患者」又は「対象」は、治療、観察、又は実験の対象となる動物を指す。単に例として、対象には、限定はされないが、哺乳動物、例えば限定はされないがヒト又は非ヒト哺乳動物、例えば非ヒト霊長類、ウシ、ウマ、イヌ、ヒツジ、又はネコが含まれる。

20

【0044】

「薬学的に許容可能な」は、ヒトを含む動物での使用について連邦若しくは州政府の規制当局によって承認済み若しくは承認見込みであるか、又は米国薬局方若しくは他の一般に認められている薬局方に収載されていることを指す。

【0045】

「薬学的に許容可能な賦形剤、担体又は希釈剤」は、対象に薬剤と共に投与することのできる、且つ治療量の薬剤を送達するのに十分な用量で投与したときにも薬剤の薬理活性を損なわず非毒性である賦形剤、担体又は希釈剤を指す。

30

【0046】

本明細書に記載されるとおりのプールされた腫瘍特異的ネオ抗原の「薬学的に許容可能な塩」は、ヒト又は動物の組織と接触して使用しても過度の毒性、刺激作用、アレルギー反応、又は他の問題又は合併症なしに好適であると当該技術分野で一般に考えられている酸性塩又は塩基性塩であってもよい。かかる塩としては、アミンなどの塩基性残基の無機塩類及び有機酸塩類、並びにカルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩類又は有機塩類が挙げられる。具体的な薬学的塩としては、限定はされないが、塩酸、リン酸、臭化水素酸、リンゴ酸、グリコール酸、フマル酸、硫酸、スルファミン酸、スルファニル酸、ギ酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、エタンジスルホン酸、2-ヒドロキシエチルスルホン酸、硝酸、安息香酸、2-アセトキシ安息香酸、クエン酸、酒石酸、乳酸、ステアリン酸、サリチル酸、グルタミン酸、アスコルビン酸、パモン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、プロピオン酸、ヒドロキシマレイン酸、ヨウ化水素酸、フェニル酢酸、アルカン酸、例えば、酢酸、 $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$ （式中、 n は0～4である）などの酸の塩が挙げられる。同様に、薬学的に許容可能なカチオンとしては、限定はされないが、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アルミニウム、リチウム及びアンモニウムが挙げられる。当業者は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418 (1985)に掲載されるものを含め、本明細書に提供されるプールされた腫瘍特異的ネオ抗原のさらなる薬学的に許容可能な塩を認識するであろう。一般に、薬学的に許容可能な酸性塩又は塩基性塩は、任

40

50

意の従来の化学的方法により、塩基部分又は酸部分を含有する親化合物から合成することができる。簡潔に言えば、かかる塩は、遊離酸又は遊離塩基の形態のこれらの化合物を適切な溶媒中で化学量論量の適切な塩基又は酸と反応させることにより調製し得る。

【 0 0 4 7 】

本明細書で使用されるとき、用語「予防する」、「予防している」、「予防」、「予防的治療」などは、疾患又は病態に罹っていないが、それを発症するリスクがある又はそれを発症し易い対象において疾患又は病態が発症する可能性を低減することを指す。

【 0 0 4 8 】

「プライマーセット」は、例えばPCRに用いられ得るオリゴヌクレオチドのセットを意味する。プライマーセットは、少なくとも2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、30、40、50、60、80、100、200、250、300、400、500、600個、又はそれ以上のプライマーからなり得る。

10

【 0 0 4 9 】

「主要組織適合遺伝子複合体(MHC)のタンパク質又は分子」、「MHC分子」、「MHCタンパク質」又は「HLAタンパク質」は、詳細には、タンパク質抗原のタンパク質分解切断によって生じるペプチドであって、且つ潜在的なT細胞エピトープに相当するペプチドを結合し、それらのペプチドを細胞表面に輸送してそこで特定の細胞、詳細にはナイーブT細胞、細胞傷害性Tリンパ球又はTヘルパー細胞に提示する能力を有するタンパク質を意味すると理解されるべきである。ゲノム中の主要組織適合遺伝子複合体は、遺伝子産物が細胞表面で発現する遺伝領域であって、内因性及び/又は外来性抗原の結合及び提示、ひいては免疫学的過程の調節に重要な遺伝領域を含む。主要組織適合遺伝子複合体は、異なるタンパク質をコードする2つの遺伝子群：MHCクラスI及びMHCクラスIIの分子に分類される。これらの2つのMHCクラスの分子は異なる抗原源に特化している。MHCクラスIの分子は、典型的には内因性に合成された抗原、例えばウイルスタンパク質及び腫瘍抗原を提示し、しかしそれに限定されているわけではない。MHCクラスIIの分子は、外来性供給源、例えば細菌産物に由来するタンパク質抗原を提示する。これらの2つのMHCクラスの細胞生物学及び発現パターンは、これらの異なる役割に適合している。

20

【 0 0 5 0 】

クラスIのMHC分子は重鎖と軽鎖とからなり、約8~11アミノ酸の、しかし通常は9又は10アミノ酸のペプチドを、そのペプチドが好適な結合モチーフを有する場合には結合し、それをナイーブ及び細胞傷害性Tリンパ球に提示する能力を有する。クラスIのMHC分子が結合するペプチドは、典型的には、限定はされないが、内因性タンパク質抗原に由来する。クラスIのMHC分子の重鎖は好ましくはHLA-A、HLA-B又はHLA-C単量体であり、軽鎖はβ-2-ミクログロブリンである。

30

【 0 0 5 1 】

クラスIIのMHC分子はα鎖とβ鎖とからなり、約15~24アミノ酸のペプチドを、そのペプチドが好適な結合モチーフを有する場合には結合し、それをTヘルパー細胞に提示する能力を有する。クラスIIのMHC分子が結合するペプチドは、通常、細胞外又は外来性タンパク質抗原に由来する。α鎖及びβ鎖は、詳細にはHLA-DR、HLA-DQ及びHLA-DP単量体である。

40

【 0 0 5 2 】

本明細書に提供される範囲は、その範囲内の全ての値の省略表現であると理解される。例えば、1~50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、又は50からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、又は部分範囲、並びに前述の整数の間に介在する全ての小数値、例えば、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、及び1.9などを含むものと理解される。部分範囲に関して、その範囲のいずれかの端

50

点から延びる「入れ子の部分範囲」が特に企図される。例えば、1～50の例示的範囲の入れ子の部分範囲は、一方の向きに1～10、1～20、1～30、及び1～40、又は他方の向きに50～40、50～30、50～20、及び50～10を含み得る。

【0053】

「受容体」は、リガンド結合能を有する生体分子又は分子分類を意味すると理解されるべきである。受容体は、細胞、細胞形成又は生物において情報を伝達する働きをし得る。受容体は少なくとも1つの受容体単位を含み、2つ以上の受容体単位を含むことが多く、ここで各受容体単位は、タンパク質分子、詳細には糖タンパク質分子からなり得る。受容体はリガンドの構造を補完する構造を有し、リガンドを結合パートナーとして複合体を形成し得る。細胞の表面上でリガンドと結合した後、受容体の立体構造が変化することによってシグナル情報が伝達され得る。本発明によれば、受容体は、リガンド、詳細には好適な長さのペプチド又はペプチド断片と受容体/リガンド複合体を形成する能力を有するMHCクラスI及びIIの特定のタンパク質を指し得る。

10

【0054】

「受容体/リガンド複合体」はまた、「受容体/ペプチド複合体」又は「受容体/ペプチド断片複合体」、詳細にはクラスI又はクラスIIのペプチド提示又はペプチド断片提示MHC分子も意味すると理解されるべきである。

【0055】

「低減する」とは、少なくとも10%、25%、50%、75%、又は100%の負の変化が意味される。

20

「参照」とは、標準又は対照条件が意味される。

【0056】

「参照配列」は、配列比較の基礎として用いられる定義された配列である。参照配列は、特定の配列のサブセット、又はその全体；例えば、完全長cDNA又はゲノム配列のセグメント、又は完全なcDNA又はゲノム配列であってもよい。ポリペプチドに関しては、参照ポリペプチド配列の長さは概して少なくとも約10～2,000アミノ酸、10～1,500、10～1,000、10～500、又は10～100であり得る。好ましくは、参照ポリペプチド配列の長さは少なくとも約10～50アミノ酸、より好ましくは少なくとも約10～40アミノ酸、さらにより好ましくは約10～30アミノ酸、約10～20アミノ酸、約15～25アミノ酸、又は約20アミノ酸であり得る。核酸に関しては、参照核酸配列の長さは概して少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約60ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも約75ヌクレオチド、及びさらにより好ましくは約100ヌクレオチド又は約300ヌクレオチド又はそれに近い若しくはそれらの間にある任意の整数であり得る。

30

【0057】

「特異的に結合する」とは、本発明のポリペプチドを認識及び結合するが、試料中、例えば生体試料中の他の分子は実質的に認識及び結合しない化合物又は抗体が意味される。

本発明の方法において有用な核酸分子には、本発明のポリペプチド又はその断片をコードする任意の核酸分子が含まれる。かかる核酸分子は、内在性核酸配列と100%同一である必要はないが、典型的には実質的な同一性を呈し得る。内在性配列と「実質的な同一性」を有するポリヌクレオチドは、典型的には二本鎖核酸分子の少なくとも一方の鎖とのハイブリダイズ能を有する。「ハイブリダイズする」とは、様々なストリンジェンシー条件下において相補的なポリヌクレオチド配列（例えば、本明細書に記載される遺伝子）、又はその一部分の間で対合して二本鎖分子を形成することが意味される（例えば、Wahl, G. M. and S. L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152: 399; Kimmel, A. R. (1987) *Methods Enzymol.* 152: 507を参照）。

40

【0058】

例えば、ストリンジェントな塩濃度は、通常、約750mM NaCl及び75mM クエン酸三ナトリウム未満、好ましくは約500mM NaCl及び50mM クエン酸三ナトリウム未満、より好ましくは約250mM NaCl及び25mM クエン酸三ナトリウ

50

ム未満であり得る。低ストリンジエンシーハイブリダイゼーションは、有機溶媒、例えばホルムアミドが存在しないときに達成することができ、一方、高ストリンジエンシーハイブリダイゼーションは、少なくとも約35%のホルムアミド、より好ましくは少なくとも約50%のホルムアミドの存在下で達成することができる。ストリンジエントな温度条件としては、通常、少なくとも約30℃、より好ましくは少なくとも約37℃、最も好ましくは少なくとも約42℃の温度を上げることができる。種々のさらなるパラメータ、例えばハイブリダイゼーション時間、デタージェント、例えばドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の濃度、及び担体DNAを含めるか又は含めないかは、当業者に周知されている。これらの様々な条件を必要に応じて組み合わせることにより、様々なストリンジエンシーレベルが実現する。好ましい実施形態では、ハイブリダイゼーションは、750 mM NaCl、75 mM クエン酸三ナトリウム、及び1% SDS中30℃で行われ得る。より好ましい実施形態において、ハイブリダイゼーションは、500 mM NaCl、50 mM クエン酸三ナトリウム、1% SDS、35%ホルムアミド、及び100 µg/ml 変性サケ精子DNA(ssDNA)中37℃で行われ得る。最も好ましい実施形態において、ハイブリダイゼーションは、250 mM NaCl、25 mM クエン酸三ナトリウム、1% SDS、50%ホルムアミド、及び200 µg/ml ssDNA中42℃で行われ得る。これらの条件に関する有用な変形例は、当業者には容易に明らかであろう。

【0059】

多くの適用について、ハイブリダイゼーションに続く洗浄ステップもまたストリンジエンシーの点で異なり得る。洗浄ストリンジエンシー条件は塩濃度及び温度によって規定され得る。上記のとおり、洗浄ストリンジエンシーは、塩濃度を低下させるか、又は温度を上昇させることにより増加させることができる。例えば、洗浄ステップに関するストリンジエントな塩濃度は、好ましくは約30 mM NaCl及び3 mM クエン酸三ナトリウム未満、最も好ましくは約15 mM NaCl及び1.5 mM クエン酸三ナトリウム未満であり得る。洗浄ステップに関するストリンジエントな温度条件としては、通常、少なくとも約25℃、より好ましくは少なくとも約42℃、さらにより好ましくは少なくとも約68℃の温度を上げることができる。好ましい実施形態において、洗浄ステップは、30 mM NaCl、3 mM クエン酸三ナトリウム、及び0.1% SDS中25℃で行われ得る。より好ましい実施形態において、洗浄ステップは、15 mM NaCl、1.5 mM クエン酸三ナトリウム、及び0.1% SDS中42℃で行われ得る。より好ましい実施形態において、洗浄ステップは、15 mM NaCl、1.5 mM クエン酸三ナトリウム、及び0.1% SDS中68℃で行われ得る。これらの条件に関するさらなる変形例は、当業者には容易に明らかであろう。ハイブリダイゼーション技法は当業者に周知されており、例えば、Benton and Davis (Science 196: 180, 1977); Grunstein and Hogness (Proc. Natl. Acad. Sci., USA 72: 3961, 1975); Ausubel et al. (Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience, New York, 2001); Berger and Kimmel (Guide to Molecular Cloning Techniques, 1987, Academic Press, New York); 及び Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New Yorkに記載されている。

【0060】

「実質的に同一」とは、参照アミノ酸配列(例えば、本明細書に記載されるアミノ酸配列のいずれか一つ)又は核酸配列(例えば、本明細書に記載される核酸配列のいずれか一つ)と少なくとも50%の同一性を呈するポリペプチド又は核酸分子が意味される。好ましくは、かかる配列は、比較に使用される配列とアミノ酸又は核酸レベルで少なくとも60%、より好ましくは80%又は85%、及びより好ましくは90%、95%又はさらには99%同一である。

【0061】

配列同一性は、典型的には配列解析ソフトウェア(例えば、ジェネティクス・コンピューター・グループ(Genetics Computer Group)、ウイスコンシン大学バイオテクノロジーセンター(University of Wisconsin Biotechnology Center)、1710 Uni

10

20

30

40

50

versity Avenue, Madison, Wis. 53705の配列解析ソフトウェアパッケージ、BLAST、BESTFIT、GAP、又はPILEUP/PRETTYBOXプログラム)を使用して測られる。かかるソフトウェアは、様々な置換、欠失、及び/又は他の修飾に相同性の程度を割り当てることにより、同一の又は類似した配列をマッチさせる。保存的置換は、典型的には以下のグループ内での置換を含む：グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン；セリン、スレオニン；リジン、アルギニン；及びフェニルアラニン、チロシン。同一性の程度を決定する例示的手法では、BLASTプログラムが、近縁の配列を示す $e^{-3} \sim e^{-100}$ の確率スコアで用いられ得る。

【0062】

「T細胞エピトープ」は、クラスI又はIIのMHC分子によってペプチド提示MHC分子又はMHC複合体の形態で結合され得るとともに、次にこの形態でナイーブT細胞、細胞傷害性Tリンパ球又はTヘルパー細胞によって認識及び結合され得るペプチド配列を意味すると理解されるべきである。

【0063】

本明細書で使用されるとき、用語「治療する」、「治療された」、「治療している」、「治療」などは、それ(例えば、新生物又は腫瘍)に関連する障害及び/又は症状を低減し又は改善することを指す。除外されるわけではないが、障害又は病態を治療するとは、それに関連する障害、病態、又は症状の完全な消失を要するものではないことは理解されるであろう。

【0064】

用語「治療効果」は、障害(例えば、新生物又は腫瘍)の症状の1つ以上又はそれに関連する病理の何らかの軽減程度を指す。「治療有効量」は、本明細書で使用されるとき、かかる治療がない場合に予想される以上に、かかる障害を有する患者の生存を延ばし、障害の1つ以上の徴候又は症状を低減し、予防し又は遅延させるなどにおいて細胞又は対象への単回又は頻回用量投与時に有効となる薬剤の量を指す。「治療有効量」は、治療効果を実現するために必要な量の適格性を決めることが意図される。当該技術分野の通常の技術を有する医師又は獣医師は、必要な医薬組成物の「治療有効量」(例えば、ED₅₀)を容易に決定し及び処方することができる。例えば、医師又は獣医師は、医薬組成物中に用いられる本発明の化合物の用量を、所望の治療効果を実現するために必要な用量より低いレベルで開始し、所望の効果が実現するまで投薬量を徐々に増加させてもよい。

【0065】

医薬組成物は、典型的には1日体重1kg当たり約0.0001mg~約200mgの化合物の投薬量を提供しなければならない。例えば、ヒト患者に対する全身投与の投薬量は、0.01~10µg/kg、20~80µg/kg、5~50µg/kg、75~150µg/kg、100~500µg/kg、250~750µg/kg、500~1000µg/kg、1~10mg/kg、5~50mg/kg、25~75mg/kg、50~100mg/kg、100~250mg/kg、50~100mg/kg、250~500mg/kg、500~750mg/kg、750~1000mg/kg、1000~1500mg/kg、1500~2000mg/kg、5mg/kg、20mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、200mg/kgの範囲であり得る。医薬投薬量単位剤形は、投薬量単位剤形当たり約0.001mg~約5000mg、例えば約100~約2500mgの化合物又は必須成分の組み合わせを提供するように調製される。

【0066】

「ワクチン」は、疾患(例えば、新生物/腫瘍)の予防及び/又は治療のための免疫を生じさせる組成物を意味すると理解されるべきである。従って、ワクチンは、抗原を含み、且つヒト又は動物においてワクチン接種により特定の防御及び保護物質を生じさせるために使用されることが意図される薬剤である。

【0067】

本明細書の可変基の任意の定義における化学基のリストの記載には、列挙される基の任

10

20

30

40

50

意の単一の基又は組み合わせとしての当該可変基の定義が含まれる。本明細書における可変基又は態様に関する実施形態の記載には、任意の単一の実施形態としての実施形態又は任意の他の実施形態若しくはその一部と組み合わせた実施形態が含まれる。

【 0 0 6 8 】

本明細書に提供される任意の組成物又は方法は、本明細書に提供される他の組成物及び方法のいずれかの1つ以上と組み合わせることができる。

以下の詳細な説明を以下の図面と併せて読むと、本開示の上述の及び他の特徴及び利点がさらに良く理解されるであろう：

【図面の簡単な説明】

【 0 0 6 9 】

【図1】図1は、本発明の例示的实施形態に係る、個別化された癌ワクチンを作製するフロープロセスを示す。

【図2】図2は、本発明の例示的实施形態に係る、メラノーマ患者用の癌ワクチンを作成するための治療前ステップのフロープロセスを示す。

【図3】図3は、本発明の例示的实施形態に係る、初期患者集団試験の取り組み手法を示すフローチャートである。第1コホートにおいて5人の患者が予想される安全用量レベルで治療され得る。これらの5人の患者のうち一次安全エンドポイントで又はそれより前に用量制限毒性を生じた患者が2人より少ない場合、当該の用量レベルにさらに10人の患者をリクルートして患者集団の分析を拡大し得る（例えば、それにより有効性、安全性等を評価し得る）。2人以上に用量制限毒性（DLT）が観察された場合、ポリICLCの用量を50%減らすことができ、5人のさらなる患者を治療し得る。これらの5人の患者のうち用量制限毒性を生じた患者が2人より少ない場合、当該の用量レベルにさらに10人の患者をリクルートし得る。しかしながら、低下させたポリICLCレベルで2人以上の患者がDLTを生じた場合、試験は中止となる。

【図4】図4A及び図4Bは、それぞれ、様々なタイプの個別的な突然変異及びネオORFの例を示す。

【図5】図5は、本発明の例示的实施形態に係る、ブライムブースト法に基づく免疫スケジュールを示す。最初の約3週間にわたって頻回の免疫化が行われ、免疫応答のブライミング期の間における初期の高い抗原曝露が維持され得る。次に患者を8週間休ませることにより記憶T細胞を生じさせ、次にそれらのT細胞をブーストすることにより、強力な継続的応答が維持される。

【図6】図6は、本発明の例示的態様に係る、一次免疫学的エンドポイントを指示するタイムラインを示す。

【図7】図7は、本発明の例示的实施形態に係る、局所免疫抑制の解除を新規免疫の刺激と併せ用いる組み合わせを評価するためのチェックポイント遮断抗体との共治療薬投与に関するタイムラインを示す。このスキームに示されるとおり、チェックポイント遮断治療薬、例えばここで示されるとおりの抗PD-L1に適切な候補として登録する患者を組み入れ、直ちに抗体で治療してもよく、その間にワクチンが調製され得る。次に患者をワクチン接種し得る。チェックポイント遮断抗体の投与は継続してもよく、又はワクチン接種のブライミング期が行われている間は場合により保留されてもよい。

【図8】図8は、本発明の例示的实施形態に係る、種々のネオ抗原突然変異に関するランクの割当てを示す表である。

【図9】図9は、本発明の例示的实施形態に係る、個々のネオ抗原ペプチドを4つのサブグループのプールにする製剤工程処理を示す略図を示す。

【図10】図10は、本発明の例示的实施形態に係る、腫瘍ネオ抗原を体系的に発見する戦略の概略図を示す。癌試料中の腫瘍特異的突然変異は全エクソーム（WES）又は全ゲノムシーケンシング（WGS）を用いて検出し、変異コールアルゴリズム（例えば、Mutect）を適用することにより同定し得る。続いて、十分に検証されているアルゴリズム（例えば、NetMHCpan）を使用して候補ネオエピトープを予測し、それらの同定を、ペプチド-HLA結合に関する実験的検証及びRNAレベルでの遺伝子発現の確認

10

20

30

40

50

によって精緻化し得る。続いてこれらの候補ネオ抗原を、腫瘍特異的T細胞応答を刺激するその能力について試験し得る。

【図11A】図11A～図11Cは、慢性リンパ性白血病(CLL)においてネオ抗原を生じる可能性のある点突然変異クラスの頻度を示す。91例のCLL症例から作成したWES及びWGSデータの分析は、(A)ミスセンス突然変異は、ネオエピトープを生じる可能性のある体細胞性変化の最も高頻度のクラスであることを明らかにする。

【図11B】図11A～図11Cは、慢性リンパ性白血病(CLL)においてネオ抗原を生じる可能性のある点突然変異クラスの頻度を示す。91例のCLL症例から作成したWES及びWGSデータの分析は、(B)フレームシフト挿入及び欠失突然変異はそれほど多く見られないイベントに相当することを明らかにする。

【図11C】図11A～図11Cは、慢性リンパ性白血病(CLL)においてネオ抗原を生じる可能性のある点突然変異クラスの頻度を示す。91例のCLL症例から作成したWES及びWGSデータの分析は、(C)スプライス部位突然変異はそれほど多く見られないイベントに相当することを明らかにする。

【図12AB】図12A～図12Dは、機能的に定義されたネオエピトープ及びCLL症例に対するNetMHCpan予測アルゴリズムの適用を示す。図12Aは、予測結合親和性に基づきソートした、NetMHCpanにより試験された文献に報告されている33個の機能的に同定された癌ネオエピトープの、その既知の制限的HLA対立遺伝子との予測結合(IC₅₀)を示す。図12Bは、利用可能なHLAタイピング情報を有する31人のCLL患者にわたるHLA結合親和性<150nM(黒色)及び150～500nM(灰色)の予測ペプチドの数の分布を示す。

【図12CD】図12A～図12Dは、機能的に定義されたネオエピトープ及びCLL症例に対するNetMHCpan予測アルゴリズムの適用を示す。図12Cは、合成ペプチドとの競合的MHC I対立遺伝子結合アッセイを用いて4人の患者のペプチドの予測結合(NetMHCpanによりIC₅₀<500nM)を、実験的に決定された結合親和性とを比較するグラフを示す。実験的結合のエビデンス(IC₅₀<500nM)を有する予測ペプチドの%を示す。図12Dは、HLAタイピング及びAffymetrix U133 2.0+遺伝子発現データが利用可能であった26人のCLL患者から、全ての体細胞性変異遺伝子(n=347)、及びIC₅₀<500nMの予測HLA結合スコアを有するネオエピトープをコードする遺伝子突然変異のサブセット(n=180)について遺伝子発現の分布を調べたことを示す。無し乃至低い：最も低い四分位の発現の範囲内にある遺伝子；中間：中央2つの四分位の発現の範囲内にある遺伝子；及び高い：最も高い四分位の発現の範囲内にある遺伝子。

【図13】図13A～図13Bは、図12Dと同じデータを示すが、9merペプチド(図13A)及び10merペプチド(図13B)を別個に示す。いずれの場合も、予測IC₅₀<150nM及び150～500nMのペプチドのパーセンテージを、実験的結合のエビデンスと共に示す。

【図14AB】図14A～図14Cは、患者1におけるALMS1及びC6ORF89の突然変異が免疫原性ペプチドを生じさせることを示す。図14Aは、患者1のCLL細胞において25個のミスセンス突然変異が同定され、そのうち13個の突然変異からの30個のペプチドが患者1のMHCクラスI対立遺伝子と結合すると予測されたことを示す。9個の突然変異からの合計14個のペプチドがHLA結合性と実験的に確認された。患者1の移植後T細胞(7年)を、プール当たり、同様の予測HLA結合性を有する6個の突然変異ペプチドの5つのプールによってエキソピボで4週間にわたり毎週刺激し、続いてIFN-ELISPOTアッセイにより試験した。図14Bは、プール2のペプチドに対してT細胞によるIFN-分泌の増加が検出されたことを示す。陰性対照：無関係のTaxペプチド；陽性対照：PHA。

【図14C】図14A～図14Cは、患者1におけるALMS1及びC6ORF89の突然変異が免疫原性ペプチドを生じさせることを示す。図14Cは、プール2のペプチドのうち、患者1のT細胞が突然変異ALMS1及びC6ORF89ペプチドに应答性を有し

10

20

30

40

50

たことを示す（右側のパネル：デュプリケートウェルからの平均結果を表示する）。左側のパネル：突然変異型及び野生型 A L M S 1 及び C 6 O R F 8 9 ペプチドの予測及び実験 I C₅₀スコア（nM）。

【図15】図15は、F N D C 3 B、C 6 o r f 8 9 及び A L M S 1 における突然変異部位付近の配列コンテキストに進化的保存が欠損していることを示す。これらの遺伝子の各々から生じるネオエピトープを枠で囲む。赤色：4種全てにおける保存アミノ酸（aa）；青色：4種のうち少なくとも2種で保存されているaa；黒色：種間での保存の欠如。

【図16】図16は、F N D C 3 B、C 6 o r f 8 9 及び A L M S 1 遺伝子に報告される体細胞突然変異の局在を示す。C L L 患者1及び2のF N D C 3 B、C 6 o r f 8 9 及び A L M S 1 に同定されたミスセンス突然変異を、諸癌にわたるこれらの遺伝子の既報告の体細胞突然変異（C O S M I C データベース）と比較したもの。

10

【図17A B】図17は、突然変異F N D C 3 B が患者2において天然で免疫原性のネオエピトープを生じることを示す。図17Aは、患者2のC L L 細胞に26個のミスセンス突然変異が同定され、そのうち16個の突然変異からの37個のペプチドが患者2のM H C クラスI 対立遺伝子と結合すると予測されたことを示す。合計で12個の突然変異からの18個のペプチドが結合することが実験的に確認された。患者2の移植後T細胞（約3年）を、エキソピボで2週間、実験的に検証済みの結合性突然変異ペプチド（合計18個のペプチド）の3個のプールでパルスした自己D C 又はB細胞によって刺激した（表S6を参照）。図17Bは、プール1のペプチドで刺激したT細胞においてE L I S P O T アッセイによりI F N - 分泌の増加が検出されたことを示す。

20

【図17C】図17は、突然変異F N D C 3 B が患者2において天然で免疫原性のネオエピトープを生じることを示す。図17Cは、プール1のペプチドのうち、mut : F N D C 3 B ペプチドに対してI F N - 分泌の増加が検出されたことを示す（下パネル：デュプリケートウェルからの平均結果が表示される）。上パネル：mut - 及びwt - F N D C 3 B ペプチドの予測及び実験I C₅₀スコア。

【図17D】図17は、突然変異F N D C 3 B が患者2において天然で免疫原性のネオエピトープを生じることを示す。図17Dは、mut - F N D C 3 B に応答するT細胞が突然変異エピトープに対して特異性を示すが、対応する野生型ペプチドに対しては示さず（濃度：0.1 ~ 10 μg/ml）、多機能性の分泌I F N - 、G M - C S F 及びI L - 2であることを示す（mutペプチド対wtペプチドに対するT細胞応答性の間を比較するための二元配置ANOVAモデリングからのチューキー事後検定）。

30

【図17E F】図17は、突然変異F N D C 3 B が患者2において天然で免疫原性のネオエピトープを生じることを示す。図17Eは、Mut - F N D C 3 B 特異的T細胞がクラスI 制限的に応答し（左）、F N D C 3 B 突然変異を包含する300bpのミニ遺伝子をコードするプラスミドがトランスフェクトされたH L A - A 2 A P C を認識したため（右）（両側t検定）、内因的にプロセシングされて提示された形態の突然変異F N D C 3 B を認識することを示す。右上：ウエスタンブロット分析。mut - 及びwt - F N D C 3 B をコードするミニ遺伝子の発現が確認される。図17Fは、H L A - A 2 + / mut F N D C 3 B 四量体によって検出するときmut - F N D C 3 B エピトープを認識するT細胞が、健常ドナー由来のT細胞と比較して患者2のT細胞により高頻度で検出されることを示す。

40

【図17G】図17は、突然変異F N D C 3 B が患者2において天然で免疫原性のネオエピトープを生じることを示す。図17Gは、患者2（三角形）、C L L - B細胞（n = 182）及び健康成人ボランティア由来の正常C D 19 + B細胞（n = 24）におけるF N D C 3 B の発現（A f f y m e t r i x U 1 3 3 P l u s 2 アレイデータに基づく）を示す。

【図18】図18は、移植経過に対するmut - F N D C 3 B 特異的T細胞応答の動態を示す。図18は、患者2において、H S C T 前後の一連の時間点におけるクロノタイプI g H 配列に基づき患者腫瘍特異的T a q m a n P C R アッセイを用いて分子腫瘍負荷が計測されたことを示す（上パネル）。中央のパネル：ペプチドでパルスした自己B細胞で刺

50

激した後のIFN- γ ELISPOTによる同種HSC T前後のwt-FNDC3B又は無関係の末梢血由来ペプチドと比較したmut-FNDC3B応答性T細胞の検出。各時点における細胞当たりのIFN- γ 分泌スポットの数をトリPLICATEで計測した(ウェルチt検定: mut対wt)。挿入図: 0.1~10 μ g/ml (対数目盛) mut-FNDC3BペプチドでパルスしたAPCに曝露した後のHSC T後32ヶ月(赤色)と比較したHSC T後6ヶ月(紫色)のT細胞のIFN- γ 分泌。下パネル: 患者2の末梢血におけるHSC T前後のネステッドクローン特異的CDR3 PCRによるmut-FNDC3B特異的TCR V β 11細胞の検出(補足方法を参照)。三角形: 試料を調べた時間点; NA: 増幅なし; 黒色: 増幅が検出された、ここで「+」は、クローン特異的V β 11配列の検出可能な発現を有する全ての試料の中央値レベルと比べて2倍までの検出可能な増幅を示し、「++」は2倍を超える増幅を示す。

10

【図19ABC】図19A~図19Dは、患者2におけるmut-FNDC3B特異的TCR V β 特異的プライマーの設計を示す。図19Aは、IFN- γ 捕捉アッセイを用いてHSC T後6ヶ月の患者2のPBMCから検出及び単離されたmut-FNDC3B特異的T細胞を示す。図19Bは、350bp長のアンプリコンを生じる、FNDC3B応答性T細胞によって発現されるTCR V β 11のRNAを示す。図19Cは、V β 11特異的リアルタイムプライマーがmut-FNDC3Bクローン特異的CDR3再配列の配列に基づき、定量的PCRプローブが接合部多様性の領域(オレンジ色)に位置するように設計されたことを示す。

【図19D】図19A~図19Dは、患者2におけるmut-FNDC3B特異的TCR V β 特異的プライマーの設計を示す。図19Dは、スペクトルタイピングによって検出するとき、FNDC3B応答性T細胞がV β 11についてモノクローナルであったことを示す。

20

【図20A】図20A~図20Gは、癌間をわたるネオ抗原発見パイプラインの適用を示す。図20Aは、超並列シーケンシングによって癌間をわたり検出された全体的な体細胞突然変異率の比較を示す。赤色: CLL、青色: 腎明細胞癌(RCC)、及び緑色: メラノーマ。LSCC: 肺扁平上皮癌、肺AdCa: 肺腺癌、ESO AdCa: 食道腺癌、DLBCL: びまん性ラージB細胞リンパ腫、GBM: 膠芽腫、乳頭状RCC: 乳頭状腎細胞癌、明細胞RCC: 腎明細胞癌、CLL: 慢性リンパ性白血病、AML: 急性骨髄性白血病。

30

【図20B】図20A~図20Gは、癌間をわたるネオ抗原発見パイプラインの適用を示す。図20Bの分布は、メラノーマ、明細胞RCC及びCLLにおける症例当たりのミスセンス、フレームシフト及びスプライス部位突然変異の数を示す。

【図20CD】図20A~図20Gは、癌間をわたるネオ抗原発見パイプラインの適用を示す。図20Cは、試料当たりに生じた平均ネオORF長さを示し、図20Dは、ミスセンス及びフレームシフト突然変異から生じたIC $_{50}$ < 150 nM(破線)及び< 500 nM(実線)の予測ネオペプチドを示す。

【図20E】図20A~図20Gは、癌間をわたるネオ抗原発見パイプラインの適用を示す。図20Eは、13種の癌にわたる症例当たりのミスセンス、フレームシフト及びスプライス部位突然変異の数の分布(箱ひげ図によって示される)を示す。全ての箱ひげ図について、箱の左端部及び右端部がそれぞれ第25百分位数値及び第75百分位数値を表し、一方、中央のセグメントが中央値である。ひげの左端及び右端が最小値及び最大値まで延びる。

40

【図20FG】図20A~図20Gは、癌間をわたるネオ抗原発見パイプラインの適用を示す。図20Fは、試料当たりに生じた合計ネオORF長さを示す。図20Gは、ミスセンス及びフレームシフト突然変異から生じたIC $_{50}$ < 150 nM及び< 500 nMの予測ネオペプチドを示す。全ての箱ひげ図について、箱の左端部及び右端部がそれぞれ第25百分位数値及び第75百分位数値を表し、一方、中央のセグメントが中央値である。ひげの左端及び右端が最小値及び最大値まで延びる。

【発明を実施するための形態】

50

【 0 0 7 0 】

本発明は、複数の新生物/腫瘍特異的ネオ抗原を含む医薬組成物（例えば、癌ワクチン）の治療有効量を対象（例えば、ヒトなどの哺乳動物）に投与することによる、新生物、より詳細には腫瘍を治療するための個別化戦略に関する。以下にさらに詳細に記載するとおり、本発明は、少なくとも一部には、全ゲノム/エクソームシーケンシングを用いることにより個々の患者の新生物/腫瘍にユニークに存在する全ての又はほぼ全ての突然変異ネオ抗原を同定し得るとともに、この一群の突然変異ネオ抗原を分析することにより、患者の新生物/腫瘍を治療するための個別化された癌ワクチンとして使用される特異的な最適化されたネオ抗原サブセットを同定し得るという発見に基づく。例えば、図1に示されるとおり、各患者の新生物/腫瘍DNA及び正常DNAをシーケンシングして腫瘍特異的突然変異を同定し、且つ患者のHLAアロタイプを決定することにより、新生物/腫瘍特異的ネオ抗原の集団を同定し得る。新生物/腫瘍特異的ネオ抗原及びそれらのコグネイト天然抗原の集団は、次に検証済みのアルゴリズムを用いたバイオインフォマティクス解析に供され、どの腫瘍特異的突然変異が患者のHLAアロタイプに結合し得るエピトープを作り出すか、詳細にはどの腫瘍特異的突然変異がコグネイト天然抗原と比べてより有効に患者のHLAアロタイプに結合し得るエピトープを作り出すかが予測され得る。この解析に基づき、患者毎にそれらの突然変異のサブセットに対応する複数のペプチドが設計及び合成され、患者を免疫する際の癌ワクチンとして使用するためまとめてプールされ得る。このネオ抗原であるペプチドは、アジュバント（例えば、ポリICLC）又は別の抗新生物剤と組み合わせられてもよい。理論によって拘束されるものではないが、これらのネオ抗原は中枢性胸腺トレランスを回避し（従ってより強力な抗腫瘍T細胞応答が可能となる）、一方で自己免疫の可能性を（例えば、正常な自己抗原の標的化を回避することにより）低下させるものと予想される。

10

20

【 0 0 7 1 】

免疫系は、2つの機能的サブシステムに分類することができる：自然免疫系及び獲得免疫系。自然免疫系は感染に対する防御の最前線であり、最も潜在的な能力のある病原体が、例えば認識し得る感染を引き起こし得る前にこの系によって速やかに中和される。獲得免疫系は、抗原と称される、侵入生物の分子構造に応答する。獲得免疫応答には、体液性免疫応答及び細胞媒介性免疫応答を含む2種類がある。体液性免疫応答では、B細胞によって体液中に分泌される抗体が病原体由来抗原に結合し、種々の機序、例えば補体媒介性溶解を介した病原体の排除をもたらす。細胞媒介性免疫応答では、他の細胞を破壊する能力を有するT細胞が活性化される。例えば、疾患に関連するタンパク質が細胞中に存在する場合、それらのタンパク質が細胞内でタンパク質分解によってペプチドに断片化される。次にこのように形成された抗原又はペプチドに特定の細胞タンパク質が付着してそれらを細胞の表面に輸送し、そこでそれらの抗原又はペプチドが身体の分子防御機構、詳細にはT細胞に提示される。細胞傷害性T細胞はこれらの抗原を認識し、そうした抗原を有する細胞を死滅させる。

30

【 0 0 7 2 】

ペプチドを細胞表面に輸送して提示する分子は、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）のタンパク質と称される。MHCタンパク質は、MHCクラスI及びMHCクラスIIと称される2種類に分類される。これらの2つのMHCクラスのタンパク質の構造は極めて類似している；しかしながら、これらは非常に異なる機能を有する。MHCクラスIのタンパク質は、多くの腫瘍細胞を含め、体のほぼ全ての細胞の表面上に存在する。MHCクラスIタンパク質には、通常、内因性タンパク質由来又は細胞内に存在する病原体由来の抗原が負荷され、次にそれがナイーブ又は細胞傷害性Tリンパ球（CTL）に提示される。MHCクラスIIタンパク質は、樹状細胞、Bリンパ球、マクロファージ及び他の抗原提示細胞上に存在する。MHCクラスIIタンパク質は主に、外部抗原供給源から、即ち細胞の外側でプロセッシングされるペプチドをTヘルパー（Th）細胞に提示する。MHCクラスIタンパク質が結合するペプチドのほとんどは、生物自身の健常宿主細胞に生じる細胞質タンパク質に由来し、通常は免疫応答を刺激しない。従って、クラスIのかかる自

40

50

己ペプチド提示MHC分子を認識する細胞傷害性Tリンパ球は胸腺（中枢性トレランス）で除去されるか、又は胸腺から放出された後に除去又は不活性化され、即ち寛容化される（末梢性トレランス）。MHC分子は、非寛容化Tリンパ球にペプチドを提示するとき、免疫応答を刺激する能力を有する。細胞傷害性Tリンパ球は、その表面にT細胞受容体（TCR）及びCD8分子の両方を有する。T細胞受容体は、MHCクラスIの分子と複合体化したペプチドを認識及び結合する能力を有する。各細胞傷害性Tリンパ球は、特異的なMHC/ペプチド複合体との結合能を有するユニークなT細胞受容体を発現する。

【0073】

ペプチド抗原は、細胞表面に提示される前に、小胞体内で競合的親和性結合によってMHCクラスIの分子に付着する。ここで、個々のペプチド抗原の親和性は、そのアミノ酸配列及びアミノ酸配列内の定義された位置における特異的結合モチーフの存在に直接関係する。かかるペプチドの配列が分かっている場合、罹患細胞に対する免疫系を、例えばペプチドワクチンを使用して操作することが可能である。

10

【0074】

治癒的且つ腫瘍特異的な免疫療法薬の開発を妨げる重大な障害の一つは、自己免疫を回避するための高度に特異的且つ制限的な腫瘍抗原の同定及び選択である。悪性細胞内での遺伝子変化（例えば、逆位、転座、欠失、ミスセンス突然変異、スプライス部位突然変異等）の結果として生じる腫瘍ネオ抗原は、最も腫瘍特異的な抗原クラスに相当する。ネオ抗原は、その同定、最適化されたネオ抗原の選択、及びワクチンに使用されるネオ抗原の作製が技術的に困難であるため、癌ワクチンに使用されることはほとんどなかった。本発明によれば、これらの問題は以下によって対処され得る：

20

- ・各患者の対応する生殖系列試料に対する腫瘍の全ゲノム、全エクソーム（例えば、捕捉されたエクソンのみ）、又はRNAシーケンシングを用いてDNAレベルで新生物/腫瘍における全ての又はほぼ全ての突然変異を同定すること；
- ・同定された突然変異を1つ以上のペプチド-MHC結合予測アルゴリズムで解析し、新生物/腫瘍内で発現する、且つ患者HLA対立遺伝子と結合し得る複数の候補ネオ抗原T細胞エピトープを作成すること；及び
- ・全てのネオORFペプチド及び予測結合ペプチドのセットから選択された複数の候補ネオ抗原ペプチドを癌ワクチンで使用するために合成すること。

【0075】

例えば、シーケンシング情報を治療ワクチンに変えるには、以下が含まれる：

30

(1) 個体のHLA分子に結合することのできる個人的突然変異ペプチドの予測。どの特定の突然変異を免疫原として利用すべきかを効率的に選択するには、患者HLA型の同定と、どの突然変異ペプチドが患者のHLA対立遺伝子に効率的に結合し得るかを予測する能力とが必要である。近年、検証済みの結合及び非結合ペプチドによるニューラルネットワークベースの学習手法では、主要なHLA-A及び-B対立遺伝子に関する予測アルゴリズムの精度が進歩している。

【0076】

(2) 薬物をロングペプチドの多重エピトープワクチンとして製剤化すること。実際に可能な限り多くの突然変異エピトープを標的にすることにより、免疫系の多大な能力が活用され、特定の免疫標的化遺伝子産物の下方制御によって免疫エスケープの機会が阻止され、及びエピトープ予測手法の既知の不正確さが補償される。合成ペプチドは、複数の免疫原を効率的に調製し且つ突然変異体エピトープの同定を有効なワクチンに迅速に変えるための特に有用な手段を提供する。ペプチドは夾雑細菌又は動物性物質を含有しない試薬を利用して容易に化学的に合成し、簡単に精製することができる。サイズが小さいため、タンパク質の突然変異領域に明確に焦点を合わせることが可能であり、また、他の成分（非突然変異タンパク質又はウイルスベクター抗原）からの無関係の抗原競合も低下する。

40

【0077】

(3) 強力なワクチンアジュバントとの併用。有効なワクチンには、強力なアジュバントが免疫応答を惹起することが必要である。以下に記載するとおり、TLR3アゴニスト

50

並びにMDA5及びRIG3のRNAヘリカーゼドメインであるポリICLCが、ワクチンアジュバントに望ましいいくつかの特性を示している。それらの特性には、インビボでの免疫細胞の局所及び全身活性化の誘導、刺激ケモカイン及びサイトカインの産生、並びにDCによる抗原提示の刺激が含まれる。さらに、ポリICLCは、ヒトにおいて耐久性のあるCD4⁺及びCD8⁺応答を誘導することができる。重要なことに、ポリICLCをワクチン接種した対象及び極めて有効性の高い複製コンピテント黄熱病ワクチンの投与を受けたことがあったボランティアには、転写経路及びシグナル伝達経路の上方制御の点で顕著な類似性が認められた。さらに、最近の第1相研究では、ポリICLCを(Montanideに加えて)NY-ESO-1ペプチドワクチンと組み合わせて免疫した卵巣癌患者の90%超がCD4⁺及びCD8⁺T細胞の誘導並びにペプチドに対する抗体反応を示した。同時に、ポリICLCは現在までに25件を上回る臨床試験で広範に試験されており、比較的安全な毒性プロファイルを呈している。

10

【0078】

本発明の上述の利点を以下にさらに詳細に記載する。

腫瘍特異的ネオ抗原突然変異の同定

本発明は、少なくとも一部には、新生物/腫瘍内の全ての又はほぼ全ての突然変異(例えば、転座、逆位、大きい及び小さい欠失及び挿入、ミスセンス突然変異、スプライス部位突然変異等)を同定する能力に基づく。詳細には、これらの突然変異は対象の新生物/腫瘍細胞のゲノムに存在し、しかし対象由来の正常組織には存在しない。かかる突然変異は、それが、患者の新生物/腫瘍にユニークな改変アミノ酸配列を有するタンパク質(例えば、ネオ抗原)を生じさせる変化をもたらす場合には、特に興味深い。例えば、有用な突然変異には、(1)タンパク質中の異なるアミノ酸をもたらす非同義突然変異;(2)終止コドンが修飾されるか又は欠失し、C末端に新規の腫瘍特異的配列を有する長くなったタンパク質の翻訳をもたらすリードスルー突然変異;(3)成熟mRNAにイントロンが入り込み、ひいてはユニークな腫瘍特異的タンパク質配列をもたらすスプライス部位突然変異;(4)2つのタンパク質の接合部に腫瘍特異的配列を有するキメラタンパク質を生じる染色体再配列(即ち、遺伝子融合);(5)新規腫瘍特異的タンパク質配列を有する新規オープンリーディングフレームをもたらすフレームシフト突然変異又は欠失などが含まれ得る。腫瘍細胞において例えばスプライス部位、フレームシフト、リードスルー、又は遺伝子融合突然変異によって生じる突然変異を有するペプチド又は突然変異型ポリペプチドは、正常細胞に対して腫瘍のDNA、RNA又はタンパク質をシーケンシングすることにより同定し得る。

20

30

【0079】

また、本発明の範囲内には、共通の腫瘍ドライバー遺伝子に由来する個人的ネオ抗原ペプチドもあり、既に同定されている腫瘍特異的突然変異がさらに含まれ得る。例えば、既知の共通の腫瘍ドライバー遺伝子及び共通の腫瘍ドライバー遺伝子における腫瘍突然変異は、ワールドワイドウェブ上の(www)sanger.ac.uk/cosmicで参照することができる。

【0080】

現在、いくつかの構想によって、DNA又はRNAの何百万個もの個々の分子から並行して直接配列情報が入手されているところである。リアルタイム単一分子シーケンシング・バイ・シンセシス技術は、シーケンシングする鋳型に相補的なDNAの新生鎖に蛍光ヌクレオチドが取り込まれるときのその検出に頼る。一つの方法では、30~50塩基長のオリゴヌクレオチドが5'末端でグラスカバースリップに共有結合的に固定化される。これらの固定化された鎖は2つの機能を果たす。第一に、表面に結合したオリゴヌクレオチドに相補的な捕捉テールを有する構成の鋳型である場合、これらの鎖が標的鋳型鎖の捕捉部位として働く。これらの鎖はまた、配列読み取りの基礎をなす鋳型誘導プライマー伸長のプライマーとしても働く。捕捉プライマーは、複数回の色素-リンカーの合成、検出、及び色素を取り除く化学的開裂のサイクルを用いる配列決定の定位置部位として機能する。各サイクルは、ポリメラーゼ/標識ヌクレオチド混合物の添加、リンス、イメージング及

40

50

び色素の開裂からなる。代替的方法では、ポリメラーゼが蛍光ドナー分子で修飾され、スライドガラス上に固定化される一方で、各ヌクレオチドが - リン酸塩に結合したアクセプター蛍光部分で色分けされる。このシステムは、ヌクレオチドが新規鎖に取り込まれることに伴う蛍光タグ標識ポリメラーゼと蛍光修飾ヌクレオチドとの間の相互作用を検出する。他のシーケンシング・パイ・シンテシス技術もまた存在する。

【0081】

好ましくは、任意の好適なシーケンシング・パイ・シンテシスプラットフォームを使用して突然変異を同定することができる。現在、4つの主要なシーケンシング・パイ・シンテシスプラットフォーム：Roche / 454 Life Sciencesのゲノムシーケンサー、Illumina / SolexaのHiSeqアナライザー、Applied BiosystemsのSOLiDシステム、及びHelicos BiosciencesのHeliscopeシステムが利用可能である。シーケンシング・パイ・シンテシスプラットフォームはまた、Pacific Biosciences及びVisiGen Biotechnologiesによっても記載されている。これらのプラットフォームの各々を本発明の方法で使用することができる。一部の実施形態では、シーケンシングされる複数の核酸分子を支持体（例えば、固体支持体）に結合させる。核酸を支持体上に固定化するため、鋳型の3'及び/又は5'末端に捕捉配列/ユニバーサルプライミング部位を付加することができる。核酸は、捕捉配列を支持体に共有結合的に結合した相補配列とハイブリダイズすることにより支持体に結合させてもよい。捕捉配列（ユニバーサル捕捉配列とも称される）は、支持体に結合した配列に相補的な、ユニバーサルプライマーとして二重の働きをし得る核酸配列である。

【0082】

捕捉配列の代替例として、カップリング対（例えば、米国特許出願公開第2006/0252077号明細書に例えば記載されるとおりの抗体/抗原、受容体/リガンド、又はアビジン-ビオチン対など）のメンバーを、当該のカップリング対のそれぞれの第2のメンバーでコーティングされた表面に捕捉されることになる各断片に連結してもよい。捕捉後、配列を、例えば、鋳型依存性のシーケンシング・パイ・シンテシスを含め、実施例及び米国特許第7,283,337号明細書に例えば記載されるとおりの単一分子検出/シーケンシングによって解析し得る。シーケンシング・パイ・シンテシスでは、表面に結合した分子がポリメラーゼの存在下で複数の標識ヌクレオチド三リン酸に曝露される。鋳型の配列は、成長する鎖の3'末端に取り込まれる標識ヌクレオチドの順序により決定される。これはリアルタイムで又はステップ・アンド・リピート方式で行うことができる。リアルタイム解析については、各ヌクレオチドに異なる光学的標識が取り込まれ、取り込まれたヌクレオチドが複数のレーザーを利用して刺激され得る。

【0083】

本明細書に記載されるシーケンシング方法に使用される核酸試料を入手するために、任意の細胞型又は組織を利用し得る。好ましい実施形態において、DNA又はRNA試料は、新生物/腫瘍又は公知の技術（例えば静脈穿刺）によって得られる体液、例えば血液又は唾液から入手される。或いは、核酸検査は乾燥試料（例えば毛髪又は皮膚）で実施することができる。

【0084】

個体のDNA又はRNA中の特定の突然変異又は対立遺伝子の存在を検出するために、種々の方法が利用可能である。この分野の進歩により、正確で簡単且つ安価な大規模SNP遺伝子タイピングがもたらされている。最近では、例えば、動的対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション(DASH)、マイクロプレートアレイダイアゴナルゲル電気泳動(MADGE)、パイロシーケンシング、オリゴヌクレオチド特異的ライゲーション、TagManシステム並びにAffymetrix SNPチップなどの様々なDNA「チップ」技術を含め、いくつかの新技术が記載されている。これらの方法は標的遺伝領域の、典型的にはPCRによる増幅を必要とする。侵入的な開裂による小型シグナル分子の作成と、続く質量分析法又は固定化パッドロックプローブ及びローリングサークル増幅に基づく

10

20

30

40

50

さらに他の新規に開発された方法によれば、最終的にはPCRの必要性がなくなり得る。特定の一塩基変異多型を検出するための当該技術分野において公知の方法のいくつかを以下に要約する。本発明の方法はあらゆる利用可能な方法を含むことが理解される。

【0085】

PCRベースの検出手段は、複数のマーカの同時の多重増幅を含み得る。例えば、当該技術分野では、サイズが重複しない、且つ同時に分析することのできるPCR産物が生じるようにPCRプライマーを選択することが周知されている。

【0086】

或いは、別様に標識した、従って各々を別様に検出することのできるプライマーで異なるマーカを増幅することが可能である。当然ながら、ハイブリダイゼーションベースの検出手段では、試料中の複数のPCR産物の示差的検出が可能である。複数のマーカの多重分析を可能にする他の技術が当該技術分野において公知である。

【0087】

ゲノムDNA又は細胞RNAにおける一塩基変異多型の分析を促進するいくつかの方法が開発されている。一実施形態において、一塩基多型は、例えば米国特許第4,656,127号明細書に開示されるとおりの特別なエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを使用して検出することができる。この方法によれば、多型部位の直ちに3'側にある対立遺伝子配列に相補的なプライマーが、特定の動物又はヒトから得られた標的分子とハイブリダイズ可能にされる。標的分子上の多型部位が、存在する特定のエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチド誘導体に相補的なヌクレオチドを含む場合、当該の誘導体が、ハイブリダイズしたプライマーの末端に取り込まれることになる。かかる取り込みにより、プライマーはエキソヌクレアーゼに対して耐性となり、従ってその検出が可能となる。試料のエキソヌクレアーゼ耐性誘導体のアイデンティティが分かっているため、プライマーがエキソヌクレアーゼ耐性になっているという知見により、標的分子の多型部位に存在するヌクレオチドが反応に使用されたヌクレオチド誘導体のものと相補的であったことが明らかとなる。この方法には、大量の無関係な配列データを決定する必要がないという利点がある。

【0088】

本発明の別の実施形態では、多型部位のヌクレオチドのアイデンティティの決定に溶液ベースの方法が用いられる。Cohen et al. (仏国特許第2,650,840号明細書; 国際公開第1991/02087号パンフレット)。米国特許第4,656,127号明細書の方法にあるとおり、多型部位の直ちに3'側にある対立遺伝子配列に相補的なプライマーが用いられ得る。この方法は、標識ジデオキシヌクレオチド誘導体を使用して当該部位のヌクレオチドのアイデンティティを決定し、誘導体は多型部位のヌクレオチドに相補的な場合に、プライマーの末端に取り込まれることになる。

【0089】

Genetic Bit Analysis又はGBA(登録商標)として知られる代替的方法が、国際公開第1992/15712号パンフレット)に記載されている。GBA(登録商標)は、標識ターミネーターと、多型部位の3'側にある配列と相補的なプライマーとの混合物を使用する。従って取り込まれる標識ターミネーターは、評価する標的分子の多型部位に存在するヌクレオチドによって決まり、且つそれと相補的である。Cohen et al. (仏国特許第2,650,840号明細書; 国際公開第1991/02087号パンフレット)の方法と対照的に、GBA(登録商標)方法は好ましくは不均一相アッセイであり、プライマー又は標的分子が固相に固定化される。

【0090】

近年、DNAの多型部位をアッセイするためのいくつかのプライマー誘導ヌクレオチド取り込み手順が記載されている(Komher, J. S. et al., Nucl. Acids. Res. 17: 7779-7784 (1989); Sokolov, B. P., Nucl. Acids Res. 18: 3671 (1990); Syvanen, A.-C, et al., Genomics 8: 684-692 (1990); Kuppaswamy, M. N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88: 1143-1147 (1991); Prezant, T. R. et al., Hum. Mutat. 1: 159-164 (1992); Ugozzoli, L. et al., GATA 9: 107-112 (1992); Nyren, P. et al., A

10

20

30

40

50

nal. Biochem. 208: 171-175 (1993))。これらの方法は、いずれも多型部位の塩基間の区別に標識デオキシヌクレオチドの取り込みに頼る点でG B A (登録商標)と異なる。かかるフォーマットでは、シグナルは取り込まれたデオキシヌクレオチドの数に比例するため、同じヌクレオチドのランで現れる多型は、ランの長さ按比例するシグナルを生じ得る (Syvanen, A.-C, et al., Amer. J. Hum. Genet. 52: 46-59 (1993))。

【0091】

腫瘍特異的ネオ抗原を同定する代替的方法是、直接のタンパク質シーケンシングである。タンデム質量分析法 (MS/MS) を含めた多次元MS技法 (MS_n) を用いる酵素消化物のタンパク質シーケンシングもまた、本発明のネオ抗原の同定に用いることができる。かかるプロテオミクス手法は、迅速で高度に自動的な解析を可能にする (例えば、K. Gevaert and J. Vandekerckhove, Electrophoresis 21: 1145-1154 (2000)を参照)。本発明の範囲内で、未知のタンパク質のハイスループットなデノボシーケンシング方法を用いて患者の腫瘍のプロテオームを解析し、発現したネオ抗原を同定し得ることがさらに企図される。例えば、メタショットガンタンパク質シーケンシングを用いて発現したネオ抗原を同定し得る (例えば、Guthals et al. (2012)「メタコンティグアSEMBリによるショットガンタンパク質シーケンシング (Shotgun Protein Sequencing with Meta-contig Assembly)」, Molecular and Cellular Proteomics 11 (10): 1084-96を参照)。

【0092】

腫瘍特異的ネオ抗原はまた、MHC多量体を使用してネオ抗原特異的T細胞応答を同定して同定することもできる。例えば、患者試料中のネオ抗原特異的T細胞応答のハイスループット解析を、MHC四量体ベースのスクリーニング技法を用いて実施してもよい (例えば、Hombrink et al. (2011)「MHC四量体ベースのスクリーニングによる潜在的マイナー組織適合抗原のハイスループット同定：実現可能性と限界 (High-Throughput Identification of Potential Minor Histocompatibility Antigens by MHC Tetramer-Based Screening: Feasibility and Limitations)」6(8): 1-11; Hadrup et al. (2009)「MHC多量体の多次元コーディングによる抗原特異的T細胞応答の並列検出 (Parallel detection of antigen-specific T-cell responses by multidimensional encoding of MHC multimers)」, Nature Methods, 6(7): 520-26; van Rooij et al. (2013)「腫瘍エクソーム解析がイピリムマブ応答性メラノーマにおけるネオ抗原特異的T細胞応答性を明らかにする (Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an Ipilimumab-responsive melanoma)」, Journal of Clinical Oncology, 31: 1-4; 及びHeemskerk et al. (2013)「癌アンチゲノム (The cancer antigenome)」, EMBO Journal, 32(2): 194-203を参照)。本発明の範囲内で、かかる四量体ベースのスクリーニング技法は腫瘍特異的ネオ抗原の初期同定に用いられ得るか、或いは患者がどのようなネオ抗原に既に曝露されたことがあるかを評価するための、従って本発明のワクチン用の候補ネオ抗原の選択を促進する二次スクリーニングプロトコルとして用いられ得ることが企図される。

【0093】

腫瘍特異的ネオ抗原の設計

本発明は、単離ペプチド (例えば、本発明の方法によって同定される腫瘍特異的突然変異を含むネオ抗原ペプチド、既知の腫瘍特異的突然変異を含むペプチド、及び本発明の方法によって同定される突然変異体ポリペプチド又はその断片) をさらに含む。これらのペプチド及びポリペプチドは、本明細書では「ネオ抗原ペプチド」又は「ネオ抗原ポリペプチド」と称される。用語「ペプチド」は、本明細書では、典型的には隣接するアミノ酸の - アミノ基と - カルボキシル基との間のペプチド結合によって互いにつながる一続きの残基、典型的にはL - アミノ酸を指して、「突然変異体ペプチド」及び「ネオ抗原ペプチド」及び「野生型ペプチド」と同義的に使用される。ポリペプチド又はペプチドは種々の長さであってよく、最低でも、患者のHLA分子に結合すると予測される小さい領域 («エピトープ») 並びにN末端方向及びC末端方向の両方に伸長するさらなる隣接アミノ

10

20

30

40

50

酸を含み得る。ポリペプチド又はペプチドは、その中性（非荷電）形態であっても、或いは塩である形態であってもよく、及びグリコシル化、側鎖酸化、又はリン酸化などの修飾を含まなくてもよく、或いは修飾が本明細書に記載されるとおりのポリペプチドの生物学的活性を破壊しないことを条件として、それらの修飾を含んでもよい。

【0094】

特定の実施形態において、少なくとも1つのネオ抗原ペプチド分子のサイズは、限定はされないが、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、約25、約26、約27、約28、約29、約30、約31、約32、約33、約34、約35、約36、約37、約38、約39、約40、約41、約42、約43、約44、約45、約46、約47、約48、約49、約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120個又はそれ以上のアミノ分子残基、及びこれらにおいて導き出し得る任意の範囲を含み得る。具体的な実施形態において、ネオ抗原ペプチド分子は50アミノ酸以下である。好ましい実施形態において、ネオ抗原ペプチド分子は約20～約30アミノ酸に等しい。

10

【0095】

より長いペプチドをいくつかの方法で設計し得る。例えば、HLA結合領域（例えば「エピトープ」）が予測されるか又は分かっている場合、より長いペプチドは以下のいずれかからなり得る：各対応する遺伝子産物のN末端及びC末端に向かって0～10アミノ酸の伸長を有する個々の結合ペプチド。より長いペプチドはまた、各々伸長配列を有する結合ペプチドの一部又は全ての連続からなってもよい。別の例では、長い（10残基を上回る）ネオエピトープ配列が（例えば新規ペプチド配列をもたらすフレームシフト、リードスルー又はイントロン導入に起因して）腫瘍に存在することがシーケンシングによって明らかになった場合、より長いペプチドは、新規腫瘍特異的アミノ酸のストレッチ全体からなり得る。いずれの例も、より長いペプチドの使用は、樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞による内因性プロセッシングを必要とし、より効果的な抗原提示及びT細胞応答の誘導をもたらし得る。ある場合には、ポリペプチドの生化学的特性（溶解度又は安定性などの特性）が向上するように、又はペプチドの効率的なプロテアソームプロセッシングの可能性が向上するように、伸長配列を改変することが望ましい又は好ましい（Zhang et al (2012)「アミノペプチダーゼ基質優先性はHIVエピトープ提示に影響を与え、及びHIV感染個体における免疫エスケープパターンを予測する（Aminopeptidase substrate preference affects HIV epitope presentation and predicts immune escape patterns in HIV-infected individuals）」. J. Immunol 188: 5924-34; Hearn et al (2010)「MHCクラスI抗原提示中のサイトゾル及びERにおけるアミノペプチダーゼの特異性及び協働の特徴付け（Characterizing the specificity and co-operation of aminopeptidases in the cytosol and ER during MHC Class I antigen presentation）」. J. Immunol 184(9): 4725-32; Wiemerhaus et al (2012)「MHCクラスIリガンドをトリムするペプチダーゼ（Peptidases trimming MHC Class I ligands）」. Curr Opin Immunol 25: 1-7）。

20

30

【0096】

ネオ抗原ペプチド及びポリペプチドはHLAタンパク質と結合し得る。好ましい態様において、ネオ抗原ペプチド及びポリペプチドは、対応する天然/野生型ペプチドと比べてより高い親和性でHLAタンパク質と結合し得る。ネオ抗原ペプチド又はポリペプチドは約1000nM未満、約500nM未満、約250nM未満、約200nM未満、約150nM未満、約100nM未満、又は約50nM未満のIC₅₀を有し得る。

40

【0097】

好ましい実施形態において、本発明のネオ抗原ペプチド及びポリペプチドは対象への投与時に自己免疫応答を誘導せず及び/又は免疫トレランスを誘起しない。

本発明はまた、複数のネオ抗原ペプチドを含む組成物も提供する。一部の実施形態では、この組成物は、少なくとも5個又はそれ以上のネオ抗原ペプチドを含む。一部の実施形

50

態では、この組成物は、少なくとも約 6、約 8、約 10、約 12、約 14、約 16、約 18、又は約 20 個の別個のペプチドを含有する。一部の実施形態では、この組成物は少なくとも 20 個の別個のペプチドを含有する。本発明によれば、別個のペプチドのうち 2 個又はそれ以上が同じポリペプチドに由来し得る。例えば、好ましいネオ抗原突然変異がネオ ORF ポリペプチドをコードする場合、ネオ抗原ペプチドの 2 個以上がそのネオ ORF ポリペプチドに由来し得る。一実施形態において、ネオ ORF ポリペプチドに由来する 2 個以上のネオ抗原ペプチドは、ポリペプチドにわたってタイリングされたアレイを含み得る（例えば、ネオ抗原ペプチドは、ネオ ORF ポリペプチドの一部又は全てにわたる一連のオーバーラップするネオ抗原ペプチドを含み得る）。理論によって拘束されるものではないが、各ペプチドがその独自のエピトープを有すると考えられる；従って、1 つのネオ ORF ポリペプチドにわたるタイリングアレイが、異なる HLA 分子に標的化されるポリペプチドを生じ得る。ネオ抗原ペプチドは任意のタンパク質コード遺伝子に由来し得る。ネオ抗原ペプチドが由来し得る例示的ポリペプチドは、例えば COSMIC データベースを（ワールドワイドウェブ上の（www）sanger.ac.uk/cosmicで）参照することができる。COSMIC はヒト癌の体細胞突然変異に関する包括的な情報をキュレートする。ペプチドは腫瘍特異的突然変異を含有し得る。一部の態様において腫瘍特異的突然変異は共通のドライバー遺伝子にあるか、又は特定の癌タイプに共通のドライバー突然変異である。例えば、共通のドライバー突然変異ペプチドとしては、限定はされないが、以下を挙げることができる：SF3B1 ポリペプチド、MYD88 ポリペプチド、TP53 ポリペプチド、ATM ポリペプチド、Abl ポリペプチド、FBXW7 ポリペプチド、DDX3X ポリペプチド、MAPK1 ポリペプチド、又は GNB1 ポリペプチド。

【0098】

ネオ抗原ペプチド、ポリペプチド、及び類似体は、通常はそのタンパク質の一部でないさらなる化学的部分を含むようにさらに修飾することができる。そのような誘導体化部分は、タンパク質の溶解度、生物学的半減期、吸収、又は結合親和性を改善し得る。そのような部分はまた、タンパク質等の任意の望ましい副作用を低減し又は消失させることもできる。これらの部分に関する概要は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 2nd ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000) を参照することができる。

【0099】

例えば、所望の活性を有するネオ抗原ペプチド及びポリペプチドが、必要に応じて特定の所望の属性、例えば向上した薬理学的特性を提供する一方で、所望の MHC 分子を結合し且つ適切な T 細胞を活性化させる非修飾ペプチドの生物学的活性の実質的に全てを増加させるか又は少なくとも維持するように修飾されてもよい。例えば、ネオ抗原ペプチド及びポリペプチドが保存的置換或いは非保存的置換などの種々の変化に供されてもよく、ここでかかる変化は、MHC 結合性の向上など、その使用上の特定の利点を提供し得る。かかる保存的置換には、あるアミノ酸残基を生物学的及び/又は化学的に類似した別のアミノ酸残基によって置き換えること、例えばある疎水性残基を別の疎水性残基の代わりに、又はある極性残基を別の極性残基の代わりに置き換えることが包含され得る。単一アミノ酸置換の効果はまた、D-アミノ酸を使用して探ることもできる。かかる修飾は、例えば、Merrifield, Science 232: 341-347 (1986); Barany & Merrifield, The Peptides, Gross & Meienhofer, eds. (N.Y., Academic Press), pp. 1-284 (1979); 及び Stewart & Young, Solid Phase Peptide Synthesis, (Rockford, Ill., Pierce), 2nd Ed. (1984) に記載されるとおりの、周知のペプチド合成手順を用いて作製し得る。

【0100】

ネオ抗原ペプチド及びポリペプチドはまた、化合物のアミノ酸配列を伸長又は短縮すること、例えば、アミノ酸の付加又は欠失により修飾されてもよい。ネオ抗原ペプチド、ポリペプチド、又は類似体はまた、特定の残基の順序又は組成を改変することによっても修飾し得る。当業者には、生物学的活性に必須の特定のアミノ酸残基、例えば重要な接触部位にあるもの又は保存残基は、概して生物学的活性に有害作用を及ぼすことなしには改変

10

20

30

40

50

できないことが理解されるであろう。重要でないアミノ酸は、L - a - アミノ酸、又はそれらのD - 異性体など、タンパク質中に天然に存在するものに限定される必要はなく、
- - - アミノ酸などの非天然アミノ酸、並びにL - a - アミノ酸の多くの誘導体を同様に含み得る。

【0101】

典型的には、ネオ抗原ポリペプチド又はペプチドは、単一アミノ酸置換を有する一連のペプチドを使用してMHC結合に対する帯電、疎水性等の効果を決定することにより最適化され得る。例えば、一連の正電荷（例えば、L y s又はA r g）又は負電荷（例えば、G l u）アミノ酸置換をペプチドの長さに沿って作製してもよく、様々なMHC分子及びT細胞受容体に対する種々の感受性パターンが現れる。加えて、A l a、G l y、P r o、又は同様の残基など、小型の比較的中性の部分を使用した複数の置換が用いられてもよい。このような置換はホモオリゴマー又はヘテロオリゴマーであってもよい。置換又は付加される残基の数及び種類は、必須の接触点の間に必要な間隔及び求められる特定の機能的属性（例えば、疎水性と親水性）に依存する。親ペプチドの親和性と比較して、MHC分子又はT細胞受容体に対する結合親和性の増加もまた、かかる置換によって実現し得る。いずれにしても、かかる置換は、例えば、結合を阻害し得る立体障害及び電荷障害を回避するように選択されたアミノ酸残基又は他の分子断片を用いなければならない。

10

【0102】

アミノ酸置換は、典型的には単一残基の置換である。置換、欠失、挿入又はそれらの任意の組み合わせを併用して最終的なペプチドに至らせてもよい。置換変異体は、ペプチドの少なくとも1つの残基が取り除かれ、その代わりに異なる残基が挿入されているものである。

20

【0103】

ネオ抗原ペプチド及びポリペプチドは、所望の属性を提供するように修飾されてもよい。例えば、Tヘルパー細胞応答の誘導能を有する少なくとも1つのエピトープを含有する配列との連結により、ペプチドがCTL活性を誘導する能力を増強することができる。特に好ましい免疫原性ペプチド/Tヘルパーコンジュゲートはスペーサー分子によって連結される。スペーサーは典型的には、生理学的条件下で実質的に非荷電であるアミノ酸又はアミノ酸模倣体などの比較的小型の中性分子で構成される。スペーサーは典型的には、例えば、A l a、G l y、又はその他の、非極性アミノ酸若しくは中性極性アミノ酸の中性スペーサーから選択される。場合により本スペーサーは同じ残基で構成される必要はなく、従ってヘテロ又はホモオリゴマーであってもよいことは理解されるであろう。存在する場合、スペーサーは通例少なくとも1個又は2個の残基であり、より通例では3～6個の残基であり得る。或いは、ペプチドはスペーサーなしにTヘルパーペプチドに連結されてもよい。

30

【0104】

ネオ抗原ペプチドはTヘルパーペプチドに直接か、或いはスペーサーを介して、ペプチドのアミノ末端又はカルボキシ末端のいずれかで連結し得る。ネオ抗原ペプチド又はTヘルパーペプチドのいずれかのアミノ末端がアシル化されてもよい。例示的Tヘルパーペプチドには、破傷風トキシイド830～843、インフルエンザ307～319、マラリアスポロゾイト周囲382～398及び378～389が含まれる。

40

【0105】

腫瘍特異的ネオ抗原の産生

本発明は、少なくとも一部には、患者の免疫系に腫瘍特異的ネオ抗原のプールを提示する能力に基づく。当業者は、かかる腫瘍特異的ネオ抗原を産生する種々の方法があることを理解するであろう。一般に、かかる腫瘍特異的ネオ抗原は、インビトロ又はインビボのいずれかで産生され得る。腫瘍特異的ネオ抗原はインビトロでペプチド又はポリペプチドとして産生されてもよく、次にそれが個別化された新生物ワクチンに製剤化され、対象に投与されてもよい。以下にさらに詳細に記載するとおり、かかるインビトロ産生は、例えば、種々の細菌、真核生物、又はウイルス組換え発現系のいずれかにおけるDNA又はR

50

NA分子からのペプチド/ポリペプチドのペプチド合成又は発現と、続く発現したペプチド/ポリペプチドの精製など、当業者に公知の種々の方法によって行われ得る。或いは、腫瘍特異的ネオ抗原は、腫瘍特異的ネオ抗原をコードする分子（例えば、DNA、RNA、ウイルス発現系など）を対象に導入し、導入後にコードされた腫瘍特異的ネオ抗原が発現することによりインビボで産生されてもよい。

インビトロペプチド/ポリペプチド合成

タンパク質又はペプチドは、標準的な分子生物学的技法によるタンパク質、ポリペプチド又はペプチドの発現、天然供給源からのタンパク質又はペプチドの単離、又はタンパク質又はペプチドの化学合成を含め、当業者に公知の任意の技法によって作製することができる。様々な遺伝子に対応するヌクレオチド及びタンパク質、ポリペプチド及びペプチド配列は既に開示されており、当業者に公知のコンピュータ化されたデータベースを参照することができる。一つのかかるデータベースは、国立衛生研究所（National Institutes of Health）ウェブサイトにある国立バイオテクノロジー情報センター（National Center for Biotechnology Information）のGenbank及びGenPeptデータベースである。既知の遺伝子のコード領域は、本明細書に開示される技法を用いて、又は当業者に公知であろうとおり増幅し及び/又は発現させることができる。或いは、様々な市販のタンパク質、ポリペプチド及びペプチド調製物が当業者に公知である。

【0106】

ペプチドは、夾雑細菌又は動物性物質を含有しない試薬を利用して容易に化学的に合成することができる（Merrifield RB:「固相ペプチド合成I. テトラペプチドの合成（Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide）」. J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-54, 1963）。

【0107】

本発明のさらなる態様は、本発明のネオ抗原ペプチドをコードする核酸（例えば、ポリヌクレオチド）を提供し、これは、ネオ抗原ペプチドをインビトロで産生するために用いられ得る。ポリヌクレオチドは、例えば、DNA、cDNA、PNA、CNA、RNA、一本鎖及び/又は二本鎖のいずれかの、又は天然の若しくは安定化した形態のポリヌクレオチド、例えばホスホロチオエート（phosphorothiate）骨格を有するポリヌクレオチドなど、又はそれらの組み合わせであってよく、それがペプチドをコードする限りはイントロンを含んでも、又は含まなくてもよい。本発明のさらに別の態様は、本発明に係るポリペプチドの発現能を有する発現ベクターを提供する。種々の細胞型に対する発現ベクターは当該技術分野において周知されており、必要以上に実験を行うことなく選択することができる。概して、DNAが、発現に適切な向き及び正しいリーディングフレームでプラスミドなどの発現ベクターに挿入される。必要であれば、DNAは、所望の宿主（例えば、細菌）によって認識される適切な転写及び翻訳調節制御ヌクレオチド配列に連結されてもよく、しかしかかる制御は概して発現ベクターにおいて利用可能である。次にベクターは、標準的な技法を用いてクローニング用の宿主細菌に導入される（例えば、Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.を参照）。

【0108】

本発明は、本明細書に記載される同定された腫瘍特異的ネオ抗原と実質的に相同な変異体及び等価物をさらに包含する。これらは、例えば、保存的置換突然変異、即ち、同様のアミノ酸による1つ以上のアミノ酸の置換を含有し得る。例えば、保存的置換とは、あるアミノ酸を同じ一般的クラス内の別のアミノ酸で、例えば、ある酸性アミノ酸を別の酸性アミノ酸で、ある塩基性アミノ酸を別の塩基性アミノ酸で、又はある中性アミノ酸を別の中性アミノ酸により置換することを指す。保存的アミノ酸置換の意図するところは当該技術分野において周知されている。

【0109】

本発明はまた、単離ポリヌクレオチドを含む発現ベクター、並びにその発現ベクターを含む宿主細胞も含む。また、本発明の範囲内で、所望のネオ抗原ペプチドをコードするR

10

20

30

40

50

NA又はcDNA分子の形態のネオ抗原ペプチドが提供され得ることも企図される。本発明はまた、本発明の1つ以上のネオ抗原ペプチドが単一の発現ベクターによりコードされ得ることも提供する。本発明はまた、本発明の1つ以上のネオ抗原ペプチドがウイルスベースのシステム(例えば、アデノウイルスシステム)を使用してインビボでコードされ及び発現し得ることも提供する。

【0110】

用語「ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド」は、ポリペプチドのコード配列のみを含むポリヌクレオチド並びにさらなるコード配列及び/又は非コード配列を含むポリヌクレオチドを包含する。本発明のポリヌクレオチドはRNAの形態又はDNAの形態であってもよい。DNAにはcDNA、ゲノムDNA、及び合成DNAが含まれ;二本鎖又は一本鎖であってもよく、一本鎖の場合にはコード鎖又は非コード鎖(アンチセンス鎖)であってもよい。

10

【0111】

実施形態において、ポリヌクレオチドは、例えば宿主細胞からのポリペプチドの発現及び/又は分泌を助けるポリヌクレオチド(例えば、細胞からのポリペプチドの輸送を制御するための分泌配列として機能するリーダー配列)と同じリーディングフレームで融合した腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドのコード配列を含み得る。リーダー配列を有するポリペプチドはプレタンパク質であり、成熟形態のポリペプチドを形成するため宿主細胞によって切断されるリーダー配列を有し得る。

【0112】

実施形態において、ポリヌクレオチドは、例えばコードされたポリペプチドの精製を可能にして、次にそれが個別化された新生物ワクチンに組み込まれ得るようにするマーカー配列と同じリーディングフレームで融合した腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドのコード配列を含み得る。例えば、マーカー配列は、細菌宿主の場合には、マーカーと融合した成熟ポリペプチドの精製を提供するpQE-9ベクターにより供給されるヘキサヒスチジンタグであってもよく、又はマーカー配列は、哺乳類宿主(例えば、COS-7細胞)が使用される時、インフルエンザヘマグルチニンタンパク質に由来するヘマグルチニン(HA)タグであってもよい。さらなるタグとしては、限定はされないが、カルモジュリンタグ、FLAGタグ、Mycタグ、Sタグ、SBPタグ、Softag1、Softag3、V5タグ、Xpressタグ、イソペプチド(Isopeptide tag)、SpyTag、ピオチンカルボキシルキャリアータンパク質(BCCP)タグ、GSTタグ、蛍光タンパク質タグ(例えば、緑色蛍光タンパク質タグ)、マルトース結合タンパク質タグ、Nusタグ、Streptタグ、チオレドキシントグ、TCタグ、Tyタグなどが挙げられる。

20

30

【0113】

実施形態において、ポリヌクレオチドは、複数のネオ抗原ペプチドの産生能を有する単一のコンカテマー化したネオ抗原ペプチドコンストラクトを作成するため同じリーディングフレームで融合した腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドの1つ以上のコード配列を含み得る。

【0114】

実施形態において、本発明は、本発明の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドをコードするポリヌクレオチドと少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、又は少なくとも96%、97%、98%又は99%同一のヌクレオチド配列を有する単離核酸分子を提供する。

40

【0115】

参照ヌクレオチド配列と少なくとも例えば95%「同一」のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドとは、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が参照配列に対して、ポリヌクレオチド配列に参照ヌクレオチド配列の100ヌクレオチドにつき最大5個の点突然変異が含まれ得ることを除き同一であることが意図される。換言すれば、参照ヌクレオチド配列と少なくとも95%同一のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るには、参照配列中のヌクレオチドの最大5%が欠失しているか又は別のヌクレオチドに置換さ

50

れていてもよく、又は参照配列中の全ヌクレオチドの最大5%の数のヌクレオチドが参照配列に挿入されていてもよい。参照配列のこれらの突然変異は参照ヌクレオチド配列のアミノ末端又はカルボキシ末端位置又はそれらの末端位置の間のどこかに、参照配列中のヌクレオチド間に個々に散在して、或いは参照配列内で1つ以上の隣接するまとまりとして存在し得る。

【0116】

実際問題として、任意の特定の核酸分子が参照配列と少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、及び一部の実施形態では、少なくとも95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるかどうかは、Bestfitプログラム(ウィスコンシン配列解析パッケージ(Wisconsin Sequence Analysis Package)、バージョン8 Unix(登録商標)版、Genetics Computer Group、University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)などの公知のコンピュータプログラムを使用して従来法で決定することができる。Bestfitは、Smith and Waterman, Advances in Applied Mathematics 2: 482-489 (1981)の局所的相同性アルゴリズムを使用して2つの配列間における最良の相同性セグメントを見付け出す。Bestfit又は任意の他の配列アラインメントプログラムを使用して特定の配列が本発明に係る参照配列と例えば95%同一であるかどうかを決定するとき、パラメータの設定は、参照ヌクレオチド配列の全長にわたって同一性のパーセンテージが計算され、且つ参照配列中のヌクレオチド総数の最大5%の相同性のギャップが許容されるように行われる。

【0117】

本明細書に記載される単離された腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、当該技術分野において公知の任意の好適な方法によりインビトロで(例えば実験室で)産生することができる。かかる方法は、直接のタンパク質合成方法から、単離ポリペプチド配列をコードするDNA配列を構築し且つそれらの配列を好適な形質転換宿主において発現させるにまでに及ぶ。一部の実施形態では、DNA配列は組換え技術を用いて、目的の野生型タンパク質をコードするDNA配列を単離又は合成することにより構築される。場合により、部位特異的突然変異誘発によって配列に突然変異を誘発し、その機能性類似体を提供し得る。例えば、Zoeller et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 81: 5662-5066 (1984)及び米国特許第4,588,585号明細書を参照のこと。

【0118】

実施形態において、目的のポリペプチドをコードするDNA配列は、オリゴヌクレオチドシンセサイザーを使用した化学合成によって構築され得る。かかるオリゴヌクレオチドは、所望のポリペプチドのアミノ酸配列に基づき、且つ目的の組換えポリペプチドを産生する宿主細胞に好ましいコドンを選択して設計することができる。目的の単離ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチド配列の合成には、標準方法を適用し得る。例えば、完全なアミノ酸配列を使用して逆翻訳された遺伝子を構築することができる。さらに、特定の単離ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むDNAオリゴマーを合成することができる。例えば、所望のポリペプチドの一部をコードするいくつかの小型オリゴヌクレオチドを合成し、次にライゲートすることができる。個々のオリゴヌクレオチドは、典型的には相補的アセンブリのための5'又は3'オーバーハングを含む。

【0119】

アセンブリ(例えば、合成、部位特異的突然変異誘発、又は別の方法による)の後、目的とする特定の単離ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を発現ベクターに挿入し、場合により所望の宿主でのタンパク質の発現に適切な発現制御配列に動作可能に連結し得る。アセンブリが適切であることは、ヌクレオチドシーケンシング、制限酵素マッピング、及び好適な宿主における生物学的に活性なポリペプチドの発現によって確認することができる。当該技術分野において周知のとおり、宿主においてトランスフェクト遺伝子の高い発現レベルを達成するため、選択の発現宿主で機能する転写及び翻訳発現制御配列に動作可能を遺伝子に連結することができる。

【0120】

10

20

30

40

50

組換え発現ベクターを使用して、腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドをコードするDNAを増幅し及び発現させてもよい。組換え発現ベクターは複製可能なDNAコンストラクトであり、哺乳類、微生物、ウイルス又は昆虫遺伝子に由来する好適な転写又は翻訳調節エレメントに動作可能に連結された腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド又は生物学的に同等な類似体をコードする合成の又はcDNA由来のDNA断片を有する。転写単位は概して、以下にさらに詳細に記載するとおり、(1) 遺伝子発現において調節的役割を有する1つ又は複数の遺伝子エレメント、例えば転写プロモーター又はエンハンサーと、(2) mRNAに転写され且つタンパク質に翻訳される構造配列又はコード配列と、(3) 適切な転写及び翻訳開始及び終結配列とのアセンブリを含む。かかる調節エレメントは、転写を制御するオペレーター配列を含み得る。宿主での複製能(通常は複製起点によって付与される)、及び形質転換体の認識を促進するための選択遺伝子が、さらに組み込まれ得る。DNA領域は、それらが互いに機能的に関係しているとき、動作可能に連結されている。例えば、シグナルペプチド(分泌リーダー)のDNAは、それがポリペプチドの分泌に關与する前駆体として発現する場合には、ポリペプチドのDNAに動作可能に連結されている; プロモーターは、それが配列の転写を制御する場合には、コード配列に動作可能に連結されている; 又はリボソーム結合部位は、それが翻訳を可能にする位置にある場合には、コード配列に動作可能に連結されている。概して、動作可能に連結されているとは、隣接することを意味し、分泌リーダーの場合には、隣接すること及びリーディングフレームにあることを意味する。酵母発現系での使用が意図される構造エレメントは、宿主細胞による翻訳タンパク質の細胞外分泌を可能にするリーダー配列を含む。或いは、組換えタンパク質がリーダー配列又は輸送配列なしに発現する場合、それはN末端メチオニン残基を含み得る。場合により、発現した組換えタンパク質からこの残基が続いて切断されることで、最終産物がもたらされ得る。

【0121】

発現制御配列及び発現ベクターの選択は、宿主の選択に依存し得る。多種多様な発現宿主/ベクターの組み合わせを用いることができる。真核生物宿主に有用な発現ベクターとしては、例えば、SV40、ウシパピローマウイルス、アデノウイルス及びサイトメガロウイルス由来の発現制御配列を含むベクターが挙げられる。細菌宿主に有用な発現ベクターとしては、公知の細菌プラスミド、例えば、pCR1、pBR322、pMB9を含む大腸菌(*Escherichia coli*)由来のプラスミド及びそれらの誘導體、より広い宿主域のプラスミド、例えばM13及び繊維状一本鎖DNAファージが挙げられる。

【0122】

ポリペプチドの発現に好適な宿主細胞としては、適切なプロモーターの制御下にある原核細胞、酵母細胞、昆虫細胞又は高等真核細胞が挙げられる。原核生物には、グラム陰性生物又はグラム陽性生物、例えば大腸菌(*E. coli*)又はバチルス属(*Bacilli*)が含まれる。高等真核細胞には、哺乳類起源の樹立細胞株が含まれる。無細胞翻訳系もまた用いることができる。細菌、真菌、酵母、及び哺乳類細胞宿主での使用に適切なクロニング及び発現ベクターは、当該技術分野において周知されている(Pouwels et al., *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, N.Y., 1985を参照)。

【0123】

様々な哺乳類又は昆虫細胞培養系もまた、有利には組換えタンパク質を発現させるために用いられる。哺乳類細胞における組換えタンパク質の発現は、かかるタンパク質が概して正しく折り畳まれ、適切に修飾され、且つ完全に機能性であるため、実施することができる。好適な哺乳類宿主細胞系の例としては、Gluzman(*Cell* 23: 175, 1981)によって記載されるサル腎細胞のCOS-7系、並びに適切なベクターの発現能を有する他の細胞系、例えば、L細胞、C127、3T3、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)、HeLa及びBHK細胞系が挙げられる。哺乳類発現ベクターは非転写エレメント、例えば、複製起点、発現させる遺伝子に連結される好適なプロモーター及びエンハンサー、並びに他の5'又は3'フランキング非転写配列、及び5'又は3'非翻訳配列、例えば必須リボソーム結合部位、ポリアデニル化部位、スプライス供与・受容部位、及び転写終結配列を含

10

20

30

40

50

み得る。昆虫細胞において異種タンパク質を産生するためのバキュロウイルスシステムが、Luckow and Summers, Bio/Technology 6: 47 (1988)によってレビューされている。

【0124】

形質転換宿主により産生されたタンパク質は、任意の好適な方法により精製することができる。かかる標準方法には、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、アフィニティー及びサイズ排除カラムクロマトグラフィーなど）、遠心、溶解度差、又は任意の他の標準的なタンパク質精製技法によることが含まれる。アフィニティータグ、例えば、ヘキサヒスチジン、マルトース結合ドメイン、インフルエンザコート配列、グルタチオン-S-トランスフェラーゼなどをタンパク質に結合させると、適切なアフィニティーカラムに通すことによる容易な精製が可能となり得る。単離されたタンパク質はまた、タンパク質分解、核磁気共鳴及びX線結晶学などの技法を用いて物理的に特徴付けることができる。

10

【0125】

例えば、組換えタンパク質を培養培地中に分泌するシステムからの上清を、初めに、市販のタンパク質濃縮フィルタ、例えばAmicon又はMillipore Pellicon限外ろ過ユニットを使用して濃縮することができる。濃縮ステップの後、濃縮物を好適な精製マトリックスに加えることができる。或いは、陰イオン交換樹脂、例えばペンダントジエチルアミノエチル（DEAE）基を有するマトリックス又は基質を用いることができる。マトリックスは、アクリルアミド、アガロース、デキストラン、セルロース又はタンパク質精製において一般的に用いられる他の種類であってもよい。或いは、陽イオン交換ステップを用いることができる。好適な陽イオン交換体としては、スルホプロピル基又はカルボキシメチル基を含む様々な不溶性マトリックスが挙げられる。最後に、疎水性RP-HPLC媒体、例えばペンダントメチル基又は他の脂肪族基を有するシリカゲルを用いる1つ以上の逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）ステップを用いて癌幹細胞タンパク質-Fc組成物をさらに精製することができる。前述の精製ステップの一部又は全てを様々な組み合わせで用いて均一な組換えタンパク質を提供することもできる。

20

【0126】

細菌培養物において産生された組換えタンパク質は、例えば、初めに細胞ペレットから抽出し、続いて1回以上濃縮し、塩析し、水溶性イオン交換又はサイズ排除クロマトグラフィーステップを行うことにより単離し得る。最終的な精製ステップには高速液体クロマトグラフィー（HPLC）が用いられてもよい。組換えタンパク質の発現に用いられる微生物細胞は、凍結融解サイクリング、音波処理、機械的破壊、又は細胞溶解剤の使用を含む任意の好都合な方法によって破壊することができる。

30

【0127】

インビボペプチド/ポリペプチド合成

本発明はまた、ネオ抗原ペプチド/ポリペプチドを例えばDNA/RNAワクチンの形態でインビボで対象に送達するための媒体としての核酸分子の使用も企図する（例えば、本明細書によって全体として参照により援用される国際公開第2012/159643号パンフレット、及び国際公開第2012/159754号パンフレットを参照）。

【0128】

一実施形態において、個別化された新生物ワクチンは、例えば本発明に従い同定されたとおりの1つ以上のネオ抗原ペプチド/ポリペプチドをコードする別個のDNAプラスミドを含み得る。上記で考察したとおり、発現ベクターの正確な選択は、発現させるペプチド/ポリペプチドに依存することになり、十分に当業者の技術の範囲内である。DNAコンストラクト（例えば、筋細胞におけるエピソーム性、非複製、非組込み形態のもの）の予想される持続性が、防御期間の増加をもたらすと予想される。

40

【0129】

別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、本発明のネオ抗原ペプチド/ポリペプチドをコードするRNA又はcDNA分子を含み得る。

別の実施形態では、個別化された新生物ワクチンは、例えばアデノウイルスシステムな

50

ど、ヒト患者で使用されるウイルスベースのベクターを含み得る（例えば、本明細書によって全体として参照により援用されるBaden et al.「組換えアデノウイルス血清型 26 型 HIV-1 Env ワクチン (IPCAVD 001) の安全性及び免疫原性のファースト・イン・ヒューマン評価 (First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine (IPCAVD 001))」. J Infect Dis. 2013 Jan 15; 207(2): 240-7を参照)。

【0130】

医薬組成物 / 送達方法

本発明はまた、本発明に係る 1 つ以上の化合物（その薬学的に許容可能な塩を含む）の有効量を、場合により薬学的に許容可能な担体、賦形剤又は添加剤との組み合わせで含む医薬組成物にも関する。

10

【0131】

「薬学的に許容可能な誘導体又はプロドラッグ」は、レシピエントへの投与時に本発明の化合物を（直接的又は間接的に）提供する能力を有する本発明の化合物の任意の薬学的に許容可能な塩、エステル、エステルの塩、又は他の誘導体を意味する。特に好ましい誘導体及びプロドラッグは、かかる化合物が哺乳動物に投与されたときに（例えば、経口投与又は眼球投与された化合物の血中へのより容易な吸収を可能にすることによって）本発明の化合物のバイオアベイラビリティを増加させるもの、又は親種と比べて生体コンパートメント（例えば網膜）への親化合物の送達を増強するものである。

【0132】

本発明の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは単独の医薬活性薬剤として投与することができるが、また 1 つ以上の他の薬剤及び / 又は補助剤と組み合わせて使用されてもよい。組み合わせとして投与される場合、治療剤は、同じ又は異なる時点で投与される別個の組成物として製剤化されてもよく、又は治療剤は単一の組成物として投与されてもよい。

20

【0133】

本発明の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、従来の薬学的に許容可能な担体、補助剤、及び媒体を含有する投薬量単位製剤で、注入により、経口的に、非経口的に、吸入スプレーにより、経直腸的に、経腔的に、又は局所的に投与されてもよい。用語の非経口とは、本明細書で使用される時、1 つ又は複数のリンパ節内、皮下、静脈内、筋肉内、胸骨内、輸液法、腹腔内、眼又は眼球、硝子体内、頬内、経皮、鼻腔内、頭蓋内及び硬膜内を含む脳内、足首関節、膝関節、股関節、肩関節、肘関節、手首関節を含む関節内、腫瘍内に直接など、及び坐薬形態を含む。

30

【0134】

本発明の薬学的に活性な化合物は、ヒト及び他の哺乳動物を含めた患者への投与用医薬剤を作製するための従来の薬学方法に従い処理することができる。

活性化合物の修飾は活性種の溶解度、バイオアベイラビリティ及び代謝速度に影響を及ぼし、従って活性種の送達の制御をもたらし得る。これは、十分に当業者の技術の範囲内にある公知の方法によって誘導体を調製し、且つその活性を試験することにより、容易に評価し得る。

【0135】

これらの化学的化合物をベースとする医薬組成物は、上述の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドを、本明細書に記載されている疾患及び病態（例えば、新生物 / 腫瘍）の治療に治療上有効な量で、場合により薬学的に許容可能な添加剤、担体及び / 又は賦形剤と組み合わせて含む。当業者は、本発明に係る 1 つ以上の化合物の治療有効量が、治療しようとする感染症又は病態、その重症度、用いられる治療レジメン、使用する薬剤の薬物動態学、並びに治療される患者（動物又はヒト）によって異なり得ることを認識するであろう。

40

【0136】

本発明に係る医薬組成物を調製するため、本発明に係る化合物の 1 つ以上の治療有効量は、好ましくは、用量が作製されるように従来の医薬配合技法に従い薬学的に許容可能な担体と徹底的に混合される。担体は、例えば、数ある中でもとりわけ、眼球、経口、局所

50

又は非経口、例えば、ゲル、クリーム、軟膏、ローション及び時限放出植込み型製剤など、投与に望ましい調製形態に応じて多種多様な形態をとり得る。経口剤形として医薬組成物を調製する際には、任意の通常の医薬媒体が用いられ得る。従って、懸濁液、エリキシル剤及び溶液などの液体経口製剤には、水、グリコール、油、アルコール、香味剤、保存剤、着色剤などを含めた好適な担体及び添加剤が用いられ得る。散剤、錠剤、カプセルなどの固形経口製剤には、及び坐薬などの固形製剤には、デンプン、糖担体、例えばデキストロース、マンニトール、ラクトース及び関連する担体、希釈剤、造粒剤、潤滑剤、結合剤、崩壊剤などを含めた好適な担体及び添加剤が用いられ得る。必要であれば、錠剤又はカプセルは腸溶性コーティングされてもよく、又は標準的な技法によって徐放性であってもよい。

10

【0137】

活性化合物は、薬学的に許容可能な担体又は希釈剤中に、治療される患者に重大な毒性作用を引き起こすことなしに所望の徴候に治療上有効な量を患者に送達するのに十分な量で含まれる。

【0138】

経口組成物は、概して不活性希釈剤又は食用担体を含み得る。経口組成物はゼラチンカプセルに封入されるか又は錠剤に圧縮され得る。経口治療薬投与の目的上、活性化合物又はそのプロドラッグ誘導体は賦形剤と添合され、錠剤、トローチ、又はカプセルの形態で使用され得る。薬剤適合性を有する結合剤、及び/又は補助剤材料が組成物の一部として含まれてもよい。

20

【0139】

錠剤、丸薬、カプセル、トローチなどは、以下の成分、又は類似した性質の化合物のいずれかを含むし得る：微結晶性セルロース、トラガカントゴム又はゼラチンなどの結合剤；デンプン又はラクトースなどの賦形剤、アルギン酸又はコーンスターチなどの分散剤；ステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤；コロイド状二酸化ケイ素などの滑剤；スクロース又はサッカリンなどの甘味剤；又はペパーミント、サリチル酸メチル、又はオレンジ香味料などの香味剤。投薬量単位剤形がカプセルである場合、それは、上記のタイプの材料に加えて、脂肪油などの液体担体を含むし得る。加えて、投薬量単位剤形は、投薬量単位の物理的形態を修飾する様々な他の材料、例えば、糖、シエラック、又は腸溶剤のコーティングを含むし得る。

30

【0140】

経口投与に好適な本発明の製剤は、カプセル、カシェ剤又は錠剤など、各々が所定量の活性成分を含む個別的な単位として；散剤又は顆粒として；水性液体又は非水性液体中の溶液又は懸濁液として；又は水中油型液体エマルジョン又は油中水型エマルジョンとして及びポーラスとして等、提供されてもよい。

【0141】

錠剤は、圧縮又は成形によって、場合により1つ以上の補助成分を伴い作製されてもよい。圧縮錠剤は、散剤又は顆粒などの自由流動形態の活性成分を、場合により結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、保存剤、表面活性剤又は分散剤と混合して、好適な機械で圧縮することにより調製し得る。成形錠剤は、不活性な液体希釈剤で湿らせた粉末状化合物の混合物を好適な機械で成形することにより作製し得る。錠剤は場合によりコーティングされるか又は割線が入れられてもよく、中の活性成分の持続放出又は制御放出を提供するように製剤化されてもよい。

40

【0142】

薬学的に活性な成分のかかる持続放出又は制御放出組成物を製剤化する方法は当該技術分野において公知であり、いくつかの交付済み米国特許に記載されており、その一部としては、限定はされないが、米国特許第3,870,790号明細書；同第4,226,859号明細書；同第4,369,172号明細書；同第4,842,866号明細書及び同第5,705,190号明細書（これらの開示は全体として参照により本明細書に援用される）が挙げられる。コーティングは、化合物を腸に送達するために使用することがで

50

きる（例えば、米国特許第 6, 638, 534 号明細書、同第 5, 541, 171 号明細書、同第 5, 217, 720 号明細書、及び同第 6, 569, 457 号明細書、及びこれらに引用される文献を参照のこと）。

【0143】

活性化化合物又はその薬学的に許容可能な塩はまた、エリキシル剤、懸濁液、シロップ、オブラート、チューインガムなどの構成成分として投与されてもよい。シロップは、活性化化合物に加えて、甘味剤としてのスクロース又はフルクトース及び特定の保存剤、色素並びに着色料及び香味料を含有し得る。

【0144】

眼球、非経口、皮内、皮下、又は局所適用に使用される溶液又は懸濁液は以下の構成成分を含み得る：滅菌希釈剤、例えば注入用水、生理食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒；抗細菌剤、例えばベンジルアルコール又はメチルパラベン；抗酸化剤、例えばアスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えばエチレンジアミン四酢酸；緩衝剤、例えば酢酸塩、クエン酸塩又はリン酸塩及び塩化ナトリウム又はデキストロースなどの張性を調整する薬剤。

10

【0145】

一実施形態において、活性化化合物は、インプラント及びマイクロカプセル化されたデリバリーシステムを含め、制御放出製剤など、化合物を体内からの急速な排出から保護し得る担体と共に調製される。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、ポリ乳酸、及びポリ乳酸-co-グリコール酸（PLGA）などの生分解性生体適合性ポリマーが用いられてもよい。かかる製剤の調製方法は当業者に明らかであろう。

20

【0146】

当業者は、錠剤に加えて、活性成分の持続放出又は制御放出を提供するため他の剤形を製剤化し得ることを認識するであろう。かかる剤形としては、限定はされないが、カプセル、顆粒及びジェルキャップが挙げられる。

【0147】

リポソーム懸濁液もまた薬学的に許容可能な担体であり得る。これは当業者に公知の方法により調製することができる。例えば、リポソーム製剤は、適切な 1 つ又は複数の脂質を無機溶媒中に溶解し、次に溶媒を蒸発させて、容器の表面に乾燥した脂質の薄膜を残すことにより調製し得る。次に容器に活性化化合物の水溶液が導入される。次に容器を手で旋回させて容器の側面から脂質材料を遊離させ、脂質凝集物を分散させると、それによりリポソーム懸濁液が形成される。当業者に周知されている他の調製方法もまた、本発明のこの態様で用いることができる。

30

【0148】

製剤は、好都合には単位投薬量剤形で提供されてもよく、従来の製薬技法によって調製されてもよい。かかる技法は、活性成分と 1 つ又は複数の医薬担体又は 1 つ又は複数の賦形剤とを会合させるステップを含む。一般に、製剤は、活性成分を液体担体と一様に且つ徹底的に会合させることによるか、又は固体担体を微粉化することによるか又は両方により、及び次に、必要であれば生成物を成形することにより調製される。

40

【0149】

口内における局所投与に好適な製剤及び組成物には、香味付けされた基剤、通常スクロース及びアカシア又はトラガカント中に成分を含むロゼンジ；ゼラチン及びグリセリンなどの不活性基剤、又はスクロース及びアカシア中に活性成分を含むトローチ；及び投与しようとする成分を好適な液体担体中に含む洗口剤が含まれる。

【0150】

皮膚への局所投与に好適な製剤は、投与しようとする成分を薬学的に許容可能な担体中に含む軟膏、クリーム、ゲル及びペーストとして提供され得る。好ましい局所デリバリーシステムは、投与しようとする成分を含有する経皮パッチである。

【0151】

50

直腸投与用の製剤は、例えばカカオ脂又はサリチル酸塩を含む好適な基剤を伴う坐薬として提供され得る。

担体が固体である場合の経鼻投与に好適な製剤は、例えば20～500ミクロンの範囲の粒度を有する粗末を含み、これは、嗅薬の投与方法で、即ち鼻に当てるように保持された粉末の容器から鼻道を通じて急速吸入することにより投与される。担体が液体である場合の好適な製剤は、例えば鼻腔内スプレーとして又は点鼻液としての投与用液体であり、活性成分の水性又は油性溶液を含む。

【0152】

腔内投与に好適な製剤は、活性成分に加えて、当該技術分野において適切であることが知られているおりの担体を含むベッセラー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、泡又はスプレー製剤として提供され得る。

10

【0153】

非経口製剤は、ガラス製又はプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ又は頻回用量バイアルに封入され得る。静脈内投与される場合、好ましい担体としては、例えば生理食塩水又はリン酸緩衝生理食塩水(PBS)が挙げられる。

【0154】

非経口製剤については、担体は通常、滅菌水又は塩化ナトリウム水溶液を含み得るが、分散を助けるものを含めた他の成分が含まれてもよい。当然ながら、滅菌水が使用され、且つ無菌のまま維持される場合、組成物及び担体もまた滅菌されることになる。また注射用懸濁液が調製されてもよく、この場合、適切な液体担体、懸濁剤などが用いられ得る。

20

【0155】

非経口投与に好適な製剤は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤及び製剤を意図されるレシピエントの血液と等張性にする溶質を含む水性及び非水性滅菌注射溶液；並びに懸濁剤及び増粘剤を含む水性及び非水性滅菌懸濁液を含む。これらの製剤は、単用量又は複数用量容器、例えば密閉されたアンプル及びバイアルで提供されてもよく、使用直前に滅菌液体担体、例えば注射用水の添加のみを必要とするフリーズドライ(凍結乾燥)状態で保存され得る。即時調合注射溶液及び懸濁液は、これまでに記載されている種類の滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製され得る。

【0156】

活性化合物の投与は連続投与(静脈内点滴)から1日数回の経口投与(例えば、Q.I.D.)にまで及び得るとともに、眼内又は眼球経路を含め、数ある投与経路の中でもとりわけ、経口、局所、眼内又は眼球、非経口、筋肉内、静脈内、皮下、経皮(浸透促進剤を含み得る)、頬側及び坐薬投与を含み得る。

30

【0157】

主題の治療薬の適用は局所的であってもよく、従って目的の部位に投与され得る。目的の部位に主題の組成物を提供するため、注入、カテーテルの使用、トロカール、プロジェクトイル、プルロニックゲル、ステント、持続性薬物放出ポリマー又は内部アクセスを提供する他の装置など、様々な技法を用いることができる。患者から摘出したため臓器又は組織にアクセス可能である場合、かかる臓器又は組織が主題の組成物を含む媒体浴中に入れられてもよく、主題の組成物が臓器に塗布されてもよく、又は任意の好都合な方法で適用されてもよい。

40

【0158】

腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、所望の局所的又は全身性生理又は薬理効果の達成において有効な組成物の制御及び持続放出に好適な装置によって投与され得る。この方法は、薬剤の放出が所望される領域に持続放出型薬物送達システムを位置決めするステップと、薬剤を装置から所望の治療領域へと移動させるステップとを含む。

【0159】

腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、少なくとも1つの公知の他の治療剤、又は前記薬剤の薬学的に許容可能な塩と併用して利用されてもよい。併用療法に用いることのできる公知の治療剤の例としては、限定はされないが、コルチコステロイド(例えば、コルチゾン、

50

プレドニゾン、デキサメタゾン)、非ステロイド系抗炎症薬(NSAIDs)(例えば、イブプロフェン、セレコキシブ、アスピリン、インドメタシン(indomethacin)、ナプロキセン)、アルキル化剤、例えば、ブスルファン、シスプラチン、マイトマイシンC、及びカルボプラチン;抗有糸分裂剤、例えば、コルヒチン、ビンブラスチン、パクリタキセル、及びドセタキセル;トポI阻害薬、例えば、カンプトテシン及びトポテカン;トポII阻害薬、例えば、ドキシソルピシン及びエトポシド;及び/又はRNA/DNA代謝拮抗薬、例えば、5-アザチジン、5-フルオロウラシル及びメトトレキサート;DNA代謝拮抗薬、例えば、5-フルオロ-2'-デオキシ-ウリジン、ara-C、ヒドロキシウレア及びチオグアニン;抗体、例えば、Herceptin(登録商標)及びRituxan(登録商標)が挙げられる。

10

【0160】

上記に詳細に挙げた成分に加えて、本発明の製剤は、問題の製剤タイプを考慮した当該技術分野における従来の他の薬剤を含み得ることが理解されなければならない、例えば、経口投与に好適なものが香味剤を含み得る。

【0161】

特定の医薬剤形では、プロドラッグ形態の化合物が好ましいこともある。当業者は、本化合物をプロドラッグ形態となるよう容易に修飾し、宿主生物又は患者体内の標的部位への活性化化合物の送達を促進するにはどのようにすればよいかを認識しているであろう。当業者はまた、本化合物を宿主生物又は患者体内の標的部位に送達して、化合物の意図された効果を最大化するにおいて、適用可能な場合には、プロドラッグ形態の好ましい薬物動態パラメータを利用し得るであろう。

20

【0162】

好ましいプロドラッグには、水溶解度又は腸膜を介した能動輸送を増強する基が本明細書に記載される製剤の構造に付加されている誘導体が含まれる。例えば、Alexander, J. et al. *Journal of Medicinal Chemistry* 1988, 31, 318-322; Bundgaard, H. *Design of Prodrugs*; Elsevier: Amsterdam, 1985; pp 1-92; Bundgaard, H.; Nielsen, N. M. *Journal of Medicinal Chemistry* 1987, 30, 451-454; Bundgaard, H. *A Textbook of Drug Design and Development*; Harwood Academic Publ.: Switzerland, 1991; pp 113-191; Digenis, G. A. et al. *Handbook of Experimental Pharmacology* 1975, 28, 86-112; Friis, G. J.; Bundgaard, H. *A Textbook of Drug Design and Development*; 2 ed.; Overseas Publ.: Amsterdam, 1996; pp 351-385; Pitman, I. H. *Medicinal Research Reviews* 1981, 1, 189-214を参照のこと。プロドラッグ形態はそれ自体活性であってもよく、又は投与後代謝されると生体内で活性治療剤を提供するようなものであってもよい。

30

【0163】

薬学的に許容可能な塩の形態は、本発明に係る医薬組成物に含めるのに好ましい化学的形態の本発明に係る化合物であり得る。

本化合物又はその誘導体は、これらの薬剤のプロドラッグ形態を含め、薬学的に許容可能な塩の形態で提供されてもよい。本明細書で使用されるとき、用語の薬学的に許容可能な塩又は複合体とは、親化合物の所望の生物学的活性を保持し且つ正常細胞に対して限られた毒性効果を呈する本発明に係る活性化化合物の適切な塩又は複合体を指す。かかる塩の非限定的な例は、とりわけ、(a)無機酸(例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸など)と形成される酸付加塩、及び酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パモン酸、アルギン酸、及びポリグルタミン酸などの有機酸と形成される塩; (b)数ある中でもとりわけ、亜鉛、カルシウム、ナトリウム、カリウムなどの金属カチオンと形成される塩基付加塩などである。

40

【0164】

本明細書における化合物は市販されており、又は合成することができる。当業者は理解し得るとおり、本明細書の式の化合物を合成するさらなる方法が当業者には明らかであろう。加えて、様々な合成のステップを別の順番又は順序で実施して所望の化合物を得ても

50

よい。本明細書に記載される化合物の合成において有用な合成化学変換及び保護基の方法論（保護及び脱保護）は当該技術分野において公知であり、例えば、R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, 2nd. Ed., Wiley-VCH Publishers (1999); T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd. Ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1999); 及びL. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995)、及びこれらの続版に記載されるものが含まれる。

【0165】

本発明の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドと共に含まれ得るさらなる薬剤は、1つ以上の不斉中心を含有してもよく、従ってラセミ体及びラセミ混合物、単一エナンチオマー、個々のジアステレオマー及びジアステレオマー混合物として存在し得る。これらの化合物のかかる異性体形態は全て、本発明に明示的に含まれる。本発明の化合物はまた、複数の互変異性型で表されてもよく、そのような場合、本発明は、本明細書に記載される化合物の全ての互変異性型を明示的に含む（例えば、環系のアルキル化は複数の部位のアルキル化をもたらすことができ、本発明はかかる反応生成物の全てのを明示的に含む）。かかる化合物の全てのかかる異性体形態が、本発明に明示的に含まれる。本明細書に記載される化合物の全ての結晶形態が、本発明に明示的に含まれる。

10

【0166】

好ましい単位投薬量製剤は、投与される成分の1日用量又は単位、以上に記載されるとおりの、1日サブ用量、又はそれらの適切な割合を含有するものである。

20

本発明の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド及び/又は本発明の組成物で障害又は疾患を治療するための投薬量レジメンは、疾患のタイプ、患者の年齢、体重、性別、医学的状態、病態の重症度、投与経路、及び用いられる詳細な化合物を含めた種々の要因に基づく。従って、投薬量レジメンは幅広く異なり得るが、標準方法を用いて常法で決定することができる。

【0167】

対象に投与される量及び投薬量レジメンは、投与方法、治療される病態の性質、治療される対象の体重及び処方医師の判断など、多くの要因に依存し得る。

本発明に係る治療活性を有する製剤中に含まれる化合物の量は、疾患又は病態の治療に有効な量である。一般に、剤形中における好ましい本化合物の治療有効量は、通常、使用される化合物、治療される病態又は感染及び投与経路に応じて、患者の約0.025 mg/kg/日弱～約2.5 mg/kg/日、好ましくは約0.1 mg/kg/日～約100 mg/kg/日又はそれよりかなり多い範囲であるが、この投薬量範囲の例外が本発明により企図され得る。その最も好ましい形態では、本発明に係る化合物は約1 mg/kg/日～約100 mg/kg/日の範囲の量で投与される。化合物の投薬量は、治療される病態、詳細な化合物、及び他の臨床学的因子、例えば患者の体重及び状態並びに化合物の投与経路に依存し得る。本発明はヒト及び家畜の両方への使用に適用を有することが理解されるべきである。

30

【0168】

ヒトへの経口投与について、約0.1～100 mg/kg/日、好ましくは約1～100 mg/kg/日の投薬量が概して十分である。

40

薬物送達が局所的ではなく全身性である場合、この投薬量範囲は、概して患者において約0.04未満～約400 µg/cc血液又はそれ以上の範囲の活性化合物の有効血中レベル濃度を生じる。

【0169】

化合物は、好都合には、限定はされないが、単位投薬量剤形当たり0.001～3000 mg、好ましくは0.05～5000 mgの活性成分を含有するものを含め、任意の好適な単位投薬量剤形で投与される。10～250 mgの経口投薬量が通常好都合である。

【0170】

50

薬物組成物中の活性化化合物の濃度は、薬物の吸収、分布、不活性化、及び排泄率並びに当業者に公知の他の要因に依存し得る。投薬量の値はまた、軽減しようとする病態の重症度によっても変わり得ることに留意すべきである。さらに、任意の特定の対象について、具体的な投薬量レジメンは個別の必要性及び組成物投与の投与者又は監督者の専門的な判断に従い時間とともに調整されなければならないこと、及び本明細書に示す濃度範囲は例示に過ぎず、特許請求される組成物の範囲又は実施を限定する意図はないことが理解されるべきである。活性成分は一度に投与されてもよく、又は複数の少量の用量に分割して種々の時間間隔で投与されてもよい。

【0171】

特定の実施形態において、化合物は1日1回投与される；他の実施形態では、化合物は1日2回投与される；さらに他の実施形態において、化合物は、2日に1回、3日に1回、4日に1回、5日に1回、6日に1回、7日に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、2ヶ月に1回、6ヶ月に1回、又は1年に1回投与される。投与間隔は、個々の患者の必要性に従い調整され得る。長い投与間隔には徐放製剤又はデポ製剤が用いられ得る。

10

【0172】

本発明の化合物は急性の疾患及び疾患状態の治療に使用することができ、また慢性病態の治療に使用されてもよい。特定の実施形態において、本発明の化合物は、2週間、3週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年、2年、3年、4年、又は5年、10年、又は15年を超える期間；又は例えば、範囲の下端が14日～15年の間の任意の期間であり、且つ範囲の上端が15日～20年の間である日単位、月単位又は年単位の任意の期間範囲（例えば、4週間～15年、6ヶ月～20年）にわたり投与される。ある場合には、患者の生涯にわたり本発明の化合物が投与されることが有利であり得る。好ましい実施形態において、患者は疾患又は障害の進行を確認するためモニタされ、それに従い用量が調整される。好ましい実施形態において、本発明に係る治療は、少なくとも2週間、3週間、1ヶ月間、2ヶ月間、3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、6ヶ月間、1年間、2年間、3年間、4年間、又は5年間、10年間、15年間、20年間、又は対象の生涯にわたり有効である。

20

【0173】

本発明は、本明細書に記載される少なくとも1つの腫瘍特異的ネオ抗原を含有する医薬組成物を提供する。実施形態において、この医薬組成物は、薬学的に許容可能な担体、賦形剤、又は希釈剤を含有し、これには、それ自体は組成物の投与を受ける対象に有害な免疫応答の発生を引き起こさない、且つ過度の毒性なしに投与され得る任意の医薬品が含まれる。本明細書で使用されるとき、用語「薬学的に許容可能」は、哺乳動物、より詳細にはヒトでの使用について連邦政府若しくは州政府の規制当局によって承認済みであるか、又は米国薬局方、欧州薬局方若しくは他の一般に認められている薬局方に収載されていることを意味する。これらの組成物はウイルス感染症及び/又は自己免疫疾患の治療及び/又は予防に有用であり得る。

30

【0174】

薬学的に許容可能な担体、希釈剤、及び他の賦形剤に関する周到な考察が、Remington's Pharmaceutical Sciences (17th ed., Mack Publishing Company)及びRemington: The Science and Practice of Pharmacy (21st ed., Lippincott Williams & Wilkins)（これらは本明細書によって参照により援用される）に提供されている。医薬組成物の配合は投与方法に適していなければならない。実施形態において、医薬組成物はヒトへの投与に好適であり、無菌、粒子状物質不含及び/又は非発熱性であり得る。

40

【0175】

薬学的に許容可能な担体、賦形剤、又は希釈剤としては、限定されないが、生理食塩水、緩衝生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、滅菌等張緩衝水溶液、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0176】

50

湿潤剤、乳化剤及び潤滑剤、例えばラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウム、並びに着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤及び芳香剤、保存剤、及び抗酸化剤もまた組成物中に存在し得る。

【 0 1 7 7 】

薬学的に許容可能な抗酸化剤の例としては、限定はされないが、以下が挙げられる：（ 1 ）水溶性抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸、塩酸システイン、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど；（ 2 ）油溶性抗酸化剤、例えば、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（ B H A ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ B H T ）、レシチン、没食子酸プロピル、 α -トコフェロールなど；及び（ 3 ）金属キレート剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ E D T A ）、ソルビトール、酒石酸、リン酸など。

10

【 0 1 7 8 】

実施形態において、医薬組成物は、再構成に好適な凍結乾燥粉末などの固体形態、液体溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、丸薬、カプセル、持続放出製剤、又は散剤で提供される。

【 0 1 7 9 】

実施形態において、医薬組成物は液体形態で、例えば、医薬組成物中の活性成分の分量及び濃度を指示する密閉容器内に提供される。関連する実施形態では、液体形態の医薬組成物がハームチックシール容器に提供される。

【 0 1 8 0 】

本発明の医薬組成物を製剤化する方法は従来どおりであり、当該技術分野において周知されている（ Remington 及び Remington ' s を参照）。当業者は、所望の特性（例えば、投与経路、バイオセーフティ、及び放出プロファイル）を有する医薬組成物を容易に製剤化することができる。

20

【 0 1 8 1 】

医薬組成物の調製方法は、活性成分と薬学的に許容可能な担体、及び場合により 1 つ以上の補助成分とを会合させるステップを含む。医薬組成物は、活性成分を液体担体と一様に且つ徹底的に会合させることによるか、又は固体担体を微粉化することによるか、又は両方により、及び次に、必要であれば生成物を成形することにより調製し得る。医薬組成物の調製に関するさらなる方法論が、多層剤形の調製を含め、Ansel ' s Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (9th ed., Lippincott Williams & Wilkins) (本明細書によって参照により援用される)に記載されている。

30

【 0 1 8 2 】

経口投与に好適な医薬組成物は、カプセル、カシェ剤、丸薬、錠剤、ロゼンジ（香味付けされた基剤、通常スクロース及びアカシア又はトラガカントを使用する）、散剤、顆粒の形態であっても、或いは水性又は非水性液体中の溶液又は懸濁液として、或いは水中油型又は油中水型液体エマルジョンとして、又はエリキシル剤又はシロップとして、又はトローチとして（ゼラチン及びグリセリンなどの不活性基剤、又はスクロース及びアカシアを使用する）及び/又は洗口剤としての形態などであってもよく、各々が、1つ又は複数の活性成分として本明細書に記載される1つ又は複数の化合物、その誘導體、又はその薬学的に許容可能な塩又はプロドラッグの所定量を含有する。活性成分はまた、ポーラス、舐剤、又はペーストとして投与されてもよい。

40

【 0 1 8 3 】

経口投与用の固形剤形（例えば、カプセル、錠剤、丸薬、糖衣剤、散剤、顆粒など）では、活性成分は、1つ以上の薬学的に許容可能な担体、賦形剤、又は希釈剤、例えば、クエン酸ナトリウム又はリン酸二カルシウム、及び/又は以下のいずれかと混合される：（ 1 ）充填剤又は増量剤、例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、及び/又はケイ酸；（ 2 ）結合剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース及び/又はアカシアなど；（ 3 ）保湿剤、例えば、グリセロール；（ 4 ）崩壊剤、例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジ

50

ヤガイモ又はタピオカデンプン、アルギン酸、ある種のケイ酸塩、及び炭酸ナトリウム；(5)溶解抑制剤、例えば、パラフィン；(6)吸収促進剤、例えば、第4級アンモニウム化合物；(7)湿潤剤、例えば、アセチルアルコール及びモノステアリン酸グリセロール；(8)吸収剤、例えば、カオリン及びベントナイト粘土；(9)潤滑剤、例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、及びそれらの混合物；及び(10)着色剤。カプセル、錠剤、及び丸薬の場合、医薬組成物は緩衝剤も含み得る。同様のタイプの固体組成物はまた、ソフト及びハード充填ゼラチンカプセル中における充填剤、及び賦形剤、例えばラクトース又は乳糖、並びに高分子量ポリエチレングリコールなどを使用して調製することもできる。

10

【0184】

錠剤は、圧縮又は成形によって、場合により1つ以上の補助成分を伴い作製されてもよい。圧縮錠剤は、結合剤(例えば、ゼラチン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース)、潤滑剤、不活性希釈剤、保存剤、崩壊剤(例えば、デンプングリコール酸ナトリウム又は架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム)、表面活性剤、及び/又は分散剤を使用して調製することができる。成形錠剤は、不活性な液体希釈剤で湿らせた粉末状活性成分の混合物を好適な機械で成形することにより作製し得る。

【0185】

錠剤、並びに糖衣剤、カプセル、丸薬、及び顆粒などの他の固形剤形は、場合により割線が入れられてもよく、又は腸溶性コーティング及び当該技術分野において周知されている他のコーティングなどのコーティング及びシェルを伴い調製されてもよい。

20

【0186】

一部の実施形態では、活性成分の効果を延ばすため、皮下又は筋肉内注射からの化合物の吸収を遅延させることが望ましい。これは、難水溶性である結晶性又は非晶質物質の液体懸濁物を使用することにより達成し得る。このとき活性成分の吸収速度はその溶解速度に依存し、次に溶解速度は結晶の大きさ及び結晶形に依存し得る。或いは、非経口投与される活性成分の吸収遅延は、化合物を油媒体中に溶解又は懸濁することにより達成される。加えて、注射用医薬剤形の持続的吸収は、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤を取り入れることによりもたらされ得る。

【0187】

制御放出非経口組成物は、水性懸濁液、マイクロスフェア、マイクロカプセル、磁性マイクロスフェア、油剤、油懸濁液、エマルションの形態であってもよく、又は活性成分が1つ又は複数の生体適合性担体、リポソーム、ナノ粒子、インプラント又は輸液用器具に組み込まれてもよい。

30

【0188】

マイクロスフェア及び/又はマイクロカプセルの調製に使用される材料には、生分解性/生体内侵食性ポリマー、例えば、ポリグラクチン、ポリ-(イソブチルシアノアクリレート)、ポリ(2-ヒドロキシエチル-L-グルタミン)及びポリ(乳酸)が含まれる。

【0189】

制御放出非経口製剤を製剤化する際に用い得る生体適合性担体には、デキストランなどの炭水化物、アルブミン、リポタンパク質又は抗体などのタンパク質が含まれる。

40

インプラントに使用される材料は、非生分解性、例えば、ポリジメチルシロキサンであるか、又は生分解性、例えば、ポリ(カプロラクトン)、ポリ(乳酸)、ポリ(グリコール酸)又はポリ(オルトエステル)などであり得る。

【0190】

実施形態において、1つ又は複数の活性成分はエアロゾルによって投与される。これは、化合物を含有する水性エアロゾル、リポソーム製剤、又は固体粒子を調製することにより達成される。非水性(例えば、フルオロカーボン噴射剤)懸濁液が用いられてもよい。医薬組成物はまた、化合物の分解をもたらし得る剪断に薬剤が曝露されることを最小限に抑え得る音波ネブライザーを使用して投与することもできる。

50

【 0 1 9 1 】

通常、水性エアロゾルは、1つ又は複数の活性成分の水溶液又は水性懸濁液を従来の薬学的に許容可能な担体及び安定剤と共に配合することにより作製される。担体及び安定剤は特定の化合物の要件によって異なるが、典型的には、非イオン性界面活性剤（T w e e n、P l u r o n i c、又はポリエチレングリコール）、無害のタンパク質、例えば、血清アルブミン、ソルビタンエステル、オレイン酸、レシチン、グリシンなどのアミノ酸、緩衝剤、塩類、糖類又は糖アルコール類を含む。エアロゾルは概して等張液から調製される。

【 0 1 9 2 】

1つ又は複数の活性成分の局所投与又は経皮投与用剤形には、散剤、スプレー、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチ及び吸入薬が含まれる。1つ又は複数の活性成分は、無菌条件下で薬学的に許容可能な担体と、及び適宜、任意の保存剤、緩衝剤、又は噴射剤と混合することができる。

10

【 0 1 9 3 】

本発明での使用に好適な経皮パッチが、Transdermal Drug Delivery:Developmental Issues and Research Initiatives (Marcel Dekker Inc., 1989)及び米国特許第4,743,249号明細書、同第4,906,169号明細書、同第5,198,223号明細書、同第4,816,540号明細書、同第5,422,119号明細書、同第5,023,084号明細書（これらは本明細書によって参照により援用される）に開示されている。経皮パッチはまた、経陰嚢パッチを含め、当該技術分野において周知されている任意の経皮パッチであってよい。かかる経皮パッチ中の医薬組成物は、当該技術分野において周知の1つ以上の吸収促進剤又は皮膚透過促進剤を含有し得る（例えば、米国特許第4,379,454号明細書及び同第4,973,468号明細書（これらは本明細書によって参照により援用される）を参照）。本発明で使用される経皮的治療薬システムは、イオントフォレシス、拡散、又はこれらの2つの効果の併用に基つき得る。

20

【 0 1 9 4 】

経皮パッチは、身体への1つ又は複数の活性成分の制御送達を提供するというさらなる利点を有する。かかる剤形は、1つ又は複数の活性成分を適切な媒体中に溶解又は分散させることにより作製し得る。吸収促進剤を使用して、皮膚を通じた活性成分のフラックスを増加させることもできる。かかるフラックスの速度は、律速膜を提供するか、或いは1つ又は複数の活性成分をポリマーマトリックス又はゲル中に分散させるかのいずれかによって制御し得る。

30

【 0 1 9 5 】

かかる医薬組成物は、クリーム、軟膏、ローション、リニメント剤、ゲル、ハイドロゲル、溶液、懸濁液、スティック、スプレー、ペースト、硬膏及び他の種類の経皮薬物デリバリーシステムの形態であってもよい。この組成物はまた、薬学的に許容可能な担体又は賦形剤、例えば、乳化剤、抗酸化剤、緩衝剤、保存剤、保湿剤、浸透促進剤、キレート剤、ゲル形成剤、軟膏基剤、香料、及び皮膚保護剤も含み得る。

【 0 1 9 6 】

乳化剤の例としては、限定はされないが、天然に存在するゴム、例えばアカシアゴム又はトラガカントゴム、天然に存在するホスファチド、例えば大豆レシチン及びモノオレイン酸ソルビタン誘導体が挙げられる。

40

【 0 1 9 7 】

抗酸化剤の例としては、限定はされないが、ブチル化ヒドロキシアニソール（B H A）、アスコルビン酸及びその誘導体、トコフェロール及びその誘導体、及びシステインが挙げられる。

【 0 1 9 8 】

保存剤の例としては、限定はされないが、パラベン、例えばp-ヒドロキシ安息香酸メチル又はプロピル及び塩化ベンザルコニウムが挙げられる。

保湿剤の例としては、限定はされないが、グリセリン、プロピレングリコール、ソルビ

50

トール及び尿素が挙げられる。

【0199】

浸透促進剤の例としては、限定はされないが、プロピレングリコール、DMSO、トリエタノールアミン、N,N-ジメチルアセトアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、2-ピロリドン及びその誘導体、テトラヒドロフルフリルアルコール、プロピレングリコール、モノラウリン酸プロピレングリコール又はラウリン酸メチルを含むジエチレングリコールモノエチル又はモノメチルエーテル、ユーカリプトール、レシチン、Transcutol（登録商標）、及びAzone（登録商標）が挙げられる。

【0200】

キレート剤の例としては、限定はされないが、EDTAナトリウム、クエン酸及びリン酸が挙げられる。

10

ゲル形成剤の例としては、限定はされないが、カルボポール、セルロース誘導体、ベントナイト、アルギン酸塩、ゼラチン及びポリビニルピロリドンが挙げられる。

【0201】

1つ又は複数の活性成分に加えて、本発明の軟膏、ペースト、クリーム、及びゲルは、賦形剤、例えば、動物性及び植物性脂肪、油、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベントナイト、ケイ酸、タルク及び酸化亜鉛、又はこれらの混合物を含有し得る。

【0202】

散剤及びスプレーは、賦形剤、例えば、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム及びポリアミド粉末、又はこれらの物質の混合物を含有し得る。スプレーは、従来の噴射剤、例えばクロロフルオロ炭化水素、及び揮発性非置換炭化水素、例えばブタン及びプロパンをさらに含有し得る。

20

【0203】

注射用デポー形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中に本発明の1つ又は複数の化合物のマイクロカプセルマトリックスを形成することにより作製される。化合物とポリマーの比率、及び用いられる特定のポリマーの性質に応じて、化合物の放出速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ(オルトエステル)及びポリ(無水物)が挙げられる。デポー注射用製剤はまた、生体組織と適合性のあるリポソーム又はマイクロエマルジョン中に薬物を封入することによっても調製される。

30

【0204】

皮下インプラントは当該技術分野において周知されており、本発明での使用に好適である。皮下植え込み方法は、好ましくは非刺激性で、機械的に弾性がある。インプラントは、マトリックスタイプ、リザーバタイプ、又はそれらのハイブリッドであってもよい。マトリックスタイプの装置において、担体材料は多孔質又は非多孔質、固体又は半固体、及び1つ又は複数の活性化合物に対して透過性又は不透過性であってもよい。担体材料は生分解性であってもよく、又は投与後にゆっくりと侵食し得る。場合によっては、マトリックスは非分解性であって、しかし代わりに担体材料が分解するマトリックスを通じた活性化合物の拡散に頼る。代替的な皮下インプラント方法はリザーバ装置を利用し、ここでは1つ又は複数の活性化合物が律速膜、例えば、成分濃度と無関係なく(ゼロ次動態を有する)膜に取り囲まれている。律速膜に取り囲まれたマトリックスからなる装置もまた使用に好適である。

40

【0205】

リザーバタイプ及びマトリックスタイプの両方の装置とも、ポリジメチルシロキサン、例えばSilastic（商標）、又は他のシリコーンゴムなどを含有し得る。マトリックス材料は、不溶性ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、エチルビニルアセテート、ポリスチレン及びポリメタクリレート、並びにパルミトステアリン酸グリセロール、ステアリン酸グリセロール、及びベヘン酸グリセロールタイプのグリセロールエステルであってもよい。材料は疎水性又は親水性ポリマーであってもよく、場合により可溶化

50

剤を含有する。

【0206】

皮下インプラント装置は、例えば米国特許第5,035,891号明細書及び同第4,210,644号明細書（これらは本明細書によって参照により援用される）に記載されるとおりの、任意の好適なポリマーで作製された遅延放出カプセルであってもよい。

【0207】

一般には、放出の律速及び薬物化合物の皮膚透過を提供するために、少なくとも4つの異なる手法を適用することが可能である。これらの手法は以下である：膜による抑制システム、接着拡散制御システム、マトリックス分散型システム及びマイクロリザーバシステム。制御放出性の経皮及び/又は局所組成物は、これらの手法を好適に取り合わせるにより達成し得ることが理解される。

10

【0208】

膜による抑制システムでは、活性成分は、金属プラスチックラミネートなどの薬物不透過性ラミネートから成形された浅いコンパートメントと、微孔性又は非多孔質高分子膜、例えばエチレン-酢酸ビニル共重合体などの律速高分子膜とに完全にカプセル化されたりリザーバ中に存在する。活性成分は律速高分子膜を通して放出される。薬物リザーバでは、活性成分は固体ポリマーマトリックス中に分散しているか、又はシリコン液などの浸出不可能な粘稠液体媒体中に懸濁されているかのいずれかであり得る。高分子膜の外表面に接着性ポリマーの薄層が貼り付けられており、この経皮システムと皮膚表面との密着した接触を実現する。接着性ポリマーは、好ましくは、低アレルギー性で且つ活性薬物物質と適合性を有するポリマーである。

20

【0209】

接着拡散制御システムでは、活性成分のリザーバは、活性成分を接着性ポリマー中に直接分散させて、次に、例えば溶媒キャストイングにより、活性成分を含有する接着剤を実質的に薬物不透過性の金属プラスチック裏当てのフラットシート上に塗布して薄い薬物リザーバ層を形成することにより形成される。

【0210】

マトリックス分散型システムは、活性成分を親水性又は親油性ポリマーマトリックス中に実質的に均一に分散させることにより活性成分のリザーバが形成されることを特徴とする。次に薬物含有ポリマーが、実質的に十分に定義された表面積及び制御された厚さを有する円板に成形される。接着性ポリマーが周囲に沿って塗布され、円板の周りに接着剤のストリップが形成される。

30

【0211】

マイクロリザーバシステムは、リザーバシステムとマトリックス分散型システムとの組み合わせと考えることができる。この場合、活性物質のリザーバは、初めに薬物固体を水溶性ポリマーの水溶液中に懸濁し、次にこの薬物懸濁液を親油性ポリマー中に分散させて、非常に多数の浸出不可能な微小球体の薬物リザーバを形成することにより形成される。

【0212】

上述の制御放出、長期放出、及び持続放出組成物のいずれも、約30分～約1週間、約30分～約72時間、約30分～24時間、約30分～12時間、約30分～6時間、約30分～4時間、及び約3時間～10時間で活性成分を放出するように製剤化することができる。実施形態において、1つ又は複数の活性成分の有効濃度は、医薬組成物を対象に投与した後、対象体内で4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、又はそれ以上持続する。

40

【0213】

投薬量

本明細書に記載される薬剤が医薬品としてヒト又は動物に投与されるとき、それらはそれ自体で投与することも、又は薬学的に許容可能な担体、賦形剤、若しくは希釈剤と組み合わせた活性成分を含有する医薬組成物として投与することもできる。

【0214】

50

本発明の医薬組成物中の活性成分の実際の投薬量レベル及び投与の時間経過は、特定の患者、組成物、及び投与方法に対して、患者に毒性となることなく所望の治療応答を実現するのに有効な活性成分の量が達成されるように変えることができる。概して、本発明の薬剤又は医薬組成物は、ウイルス感染症及び/又は自己免疫疾患に関連する症状を軽減し又は消失させるのに十分な量で投与される。

【0215】

例示的用量範囲としては、1日0.01mg~250mg、1日0.01mg~100mg、1日1mg~100mg、1日10mg~100mg、1日1mg~10mg、及び1日0.01mg~10mgが挙げられる。薬剤の好ましい用量は、患者が耐容し得る、且つ重篤な又は許容できない副作用を生じない最大量である。実施形態において、薬剤は、1日体重1kg当たり約10µg~約100mg、1日約0.1~約10mg/kg、又は1日約1.0mg~約10mg/kg体重の濃度で投与される。

10

【0216】

実施形態において、医薬組成物は、1~10mgの範囲の量、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10mgの薬剤を含む。

実施形態において、治療上有効な投薬量は、約0.1ng/ml乃至約50~100µg/mlの血清中薬剤濃度を生じる。医薬組成物は、典型的には1日体重1kg当たり約0.001mg~約2000mgの化合物の投薬量を提供しなければならない。例えば、ヒト患者に対する全身投与の投薬量は、1~10µg/kg、20~80µg/kg、5~50µg/kg、75~150µg/kg、100~500µg/kg、250~750µg/kg、500~1000µg/kg、1~10mg/kg、5~50mg/kg、25~75mg/kg、50~100mg/kg、100~250mg/kg、50~1000mg/kg、250~500mg/kg、500~750mg/kg、750~1000mg/kg、1000~1500mg/kg、1500~2000mg/kgの範囲、5mg/kg、20mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、500mg/kg、1000mg/kg、1500mg/kg、又は2000mg/kgであり得る。医薬投薬量単位剤形は、投薬量単位剤形当たり約1mg~約5000mg、例えば約100~約2500mgの化合物又は必須成分の組み合わせを提供するように調製される。

20

【0217】

実施形態において、約50nM~約1µMの薬剤が対象に投与される。関連する実施形態では、約50~100nM、50~250nM、100~500nM、250~500nM、250~750nM、500~750nM、500nM~1µM、又は750nM~1µMの薬剤が対象に投与される。

30

【0218】

有効量の決定は、特に本明細書に提供される詳細な開示を踏まえると、十分に当業者の能力の範囲内にある。概して、薬剤の効果のある又は有効な量は、初めに低用量の薬剤を投与し、次に治療対象において所望の効果(例えば、ウイルス感染症又は自己免疫疾患に関連する症状の軽減又は消失)が最小の又は許容される毒性の副作用で観察されるまで投与用量又は投薬量を漸増させることにより決定される。本発明の医薬組成物の投与に適切な用量及び投薬スケジュールを決定するために適用可能な方法は、例えば、Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Goodman et al., eds., 11th Edition, McGraw-Hill 2005、及びRemington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th and 21st Editions, Gennaro and University of the Sciences in Philadelphia, Eds., Lippencott Williams & Wilkins (2003及び2005)(これらの各々が本明細書によって参照により援用される)に記載されている。

40

併用療法

本明細書に記載される腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド及び医薬組成物はまた、別の治療用分子と併用して投与することもできる。治療用分子は、新生物又はその症状を軽減する任意の化合物であり得る。かかる化合物の例としては、限定はされないが、化学療法剤、抗血管新生剤、チェックポイント遮断抗体又は免疫抑制を低減する他の分子などが挙げられ

50

る。

【0219】

腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、さらなる治療剤の投与前、投与中、又は投与後に投与することができる。実施形態において、腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、さらなる治療剤の初回投与前に投与される。実施形態において、腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、さらなる治療剤の初回投与後（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14日又はそれ以上）に投与される。実施形態において、腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドは、さらなる治療剤の初回投与と同時に投与される。

【0220】

ワクチン

例示的实施形態において、本発明は、免疫原性組成物、例えば、特異的T細胞応答を生じさせる能力を有するワクチン組成物に関する。ワクチン組成物は、本明細書に記載される方法によって同定される腫瘍特異的ネオ抗原に対応する突然変異体ネオ抗原ペプチド及び突然変異体ネオ抗原ポリペプチドを含む。

【0221】

好適なワクチンは、好ましくは複数の腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドを含有し得る。ある実施形態では、ワクチンは、1～100セットのペプチド、より好ましくは1～50のかかるペプチド、さらにより好ましくは10～30セットのペプチド、さらにより好ましくは15～25のペプチドを含み得る。別の好ましい実施形態によれば、ワクチンは、約20個のペプチド、より好ましくは5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、又は30個の異なるペプチド、さらにより好ましくは6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は25個の異なるペプチド、及び最も好ましくは18、19、20、21、22、23、24、又は25個の異なるペプチドを含み得る。

【0222】

本発明の一実施形態において、異なる腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド及び/又はポリペプチドは、新生物ワクチン中に使用するために、患者の新生物/腫瘍に対する免疫攻撃が生じる可能性が最大となるように選択される。理論によって拘束されるものではないが、多様な腫瘍特異的ネオ抗原ペプチドを含めると、新生物/腫瘍に対して幅広いスケールの免疫攻撃が生じ得ると考えられる。一実施形態において、選択された腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド/ポリペプチドはミスセンス突然変異によりコードされる。第2の実施形態において、選択された腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド/ポリペプチドはミスセンス突然変異とネオORF突然変異との組み合わせによりコードされる。第3の実施形態において、選択された腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド/ポリペプチドはネオORF突然変異によりコードされる。

【0223】

選択された腫瘍特異的ネオ抗原ペプチド/ポリペプチドがミスセンス突然変異によりコードされる一実施形態において、ペプチド及び/又はポリペプチドは、患者の特定のMHC分子と会合するその能力に基づき選択される。ネオORF突然変異から誘導されるペプチド/ポリペプチドもまた、患者の特定のMHC分子と会合するその能力に基づき選択され得るが、また患者の特定のMHC分子と会合しないと予測される場合であっても選択することができる。

【0224】

ワクチン組成物は、特異的な細胞傷害性T細胞応答及び/又は特異的なヘルパーT細胞応答を生じさせる能力を有する。

ワクチン組成物はアジュバント及び/又は担体をさらに含み得る。有用なアジュバント及び担体の例を以下に提供する。組成物中のペプチド及び/又はポリペプチドは、担体、例えば、ペプチドをT細胞に提示する能力を有するタンパク質又は例えば樹状細胞(DC)などの抗原提示細胞と会合することができる。

【0225】

10

20

30

40

50

アジュバントは、ワクチン組成物に混合すると突然変異体ペプチドに対する免疫応答が増加するか又は他の形で修飾される任意の物質である。担体は、ネオ抗原ペプチドを会合させることが可能な足場構造、例えばポリペプチド又は多糖である。場合により、アジュバントは本発明のペプチド又はポリペプチドと共有結合的又は非共有結合的にコンジュゲートする。

【0226】

抗原に対する免疫応答を増加させるアジュバントの能力は、典型的には免疫介在性応答の顕著な増加、又は疾患症状の低減に現れる。例えば、体液性免疫の増加は、典型的には抗原に対して生じる抗体の力価の顕著な増加に現れ、T細胞活性の増加は、典型的には細胞増殖、又は細胞傷害性、又はサイトカイン分泌の増加に現れる。アジュバントはまた、例えば、一次体液性応答又はTh2応答を一次細胞性応答又はTh1応答に変化させることにより免疫応答も変え得る。

10

【0227】

好適なアジュバントとしては、限定はされないが、1018 ISS、アルミニウム塩、Amplivax、AS15、BCG、CP-870、893、CpG7909、CyaA、dSLIM、GM-CSF、IC30、IC31、イミキモド、ImuFact IMP321、ISパッチ、ISS、ISCOMATRIX、JuvImmune、LipoVac、MF59、モノホスホリルリピドA、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、Peptel.RTM.ベクター系、PLGマイクロパーティクル、レシキモド、SRL172、ピロソーム及び他のウイルス様粒子、YF-17D、VEGFトラップ、R848、グルカン、Pam3Cys、サポニンに由来するAquila社のQS21stimulon (Aquila Biotech, Worcester, Mass., 米国)、マイコバクテリア抽出物及び合成細菌細胞壁模倣体、及び他の専売アジュバント、例えば、RibbiのDetox、Quil又はSuperfosが挙げられる。樹状細胞に特異的ないくつかの免疫学的アジュバント(例えば、MF59)及びそれらの製剤が以前記載されている(Dupuis M, et al., Cell Immunol. 1998; 186(1): 18-27; Allison AC; Dev Biol Stand. 1998; 92: 3-11)。また、サイトカインを使用してもよい。いくつかのサイトカインが、リンパ組織への樹状細胞遊走に影響を及ぼすこと(例えば、TNF-)、Tリンパ球に効率的な抗原提示細胞への樹状細胞の成熟を加速させること(例えば、GM-CSF、IL-1及びIL-4)(米国特許第5,849,589号明細書(具体的に全体として参照により本明細書に援用される))及び免疫アジュバントとして働くこと(例えば、IL-12)と直接関係付けられている(Gabrilovich DI, et al., J Immunother Emphasis Tumor Immunol. 1996 (6): 414-418)。

20

30

【0228】

トール様受容体(TLR)もまたアジュバントとして使用することができ、これは、「病原体関連分子パターン」(PAMPs)と称される多くの微生物が共有する保存モチーフを認識するパターン認識受容体(PRR)のファミリーの重要なメンバーである。これらの「危険シグナル」の認識により、自然及び適応免疫系の複数の要素が活性化する。TLRは、樹状細胞(DC)、マクロファージ、T及びB細胞、マスト細胞、及び顆粒球などの自然及び適応免疫系の細胞により発現され、細胞膜、リソソーム、エンドソーム、及びエンドリソソームなどの種々の細胞内コンパートメントに局在する。異なるTLRは別のPAMPsを認識する。例えば、TLR4は、細菌細胞壁に含まれるLPSによって活性化され、TLR9は、非メチル化細菌又はウイルスCpGDNAによって活性化され、及びTLR3は、二本鎖RNAによって活性化される。TLRリガンド結合は1つ以上の細胞内シグナル伝達経路の活性化を引き起こし、最終的に炎症及び免疫に関連する多くの主要分子(特に転写因子NF- B及びI型インターフェロン)の産生をもたらす。TLR介在性DC活性化は、DC活性化の増進、食作用、活性化及び共刺激マーカー、例えばCD80、CD83、及びCD86の上方制御、流入領域リンパ節へのDCの遊走を可能

40

50

にし且つT細胞に対する抗原提示を促進するCCR7の発現、並びにI型インターフェロン、IL-12、及びIL-6などのサイトカインの分泌増加を引き起こす。これらの下流イベントは全て、適応免疫応答の誘導に決定的に重要である。

【0229】

現在臨床開発中の最も有望な癌ワクチンアジュバントの中には、TLR9アゴニストCpG及び合成二本鎖RNA(dsRNA)TLR3リガンドポリICLCがある。前臨床試験では、ポリICLCが、LPS及びCpGと比較したとき、炎症誘発性サイトカインのその誘導及びIL-10の刺激の欠如、並びにDCにおける高レベルの共刺激分子の維持に起因して最も効力のあるTLRアジュバントであるものと見られる。さらに、ポリICLCは、最近、ヒトパピローマウイルス(HPV)16カプソマーからなるタンパク質ワクチンのアジュバントとして非ヒト霊長類(アカゲザル)においてCpGと直接比較された(Stahl-Hennig C, Eisenblatter M, Jasny E, et al. 「合成二本鎖RNAはアカゲザルにおいてヒトパピローマウイルスに対するTヘルパー1及び体液性免疫応答を誘導するためのアジュバントである(Synthetic double-stranded RNAs are adjuvants for the induction of T helper 1 and humoral immune responses to human papillomavirus in rhesus macaques)」. PLoS pathogens. Apr 2009; 5(4))。

【0230】

CpG免疫刺激オリゴヌクレオチドもまた、ワクチンセッティングでアジュバントの効果を増強することが報告されている。理論によって拘束されるものではないが、CpGオリゴヌクレオチドは、Toll様受容体(TLR)、主としてTLR9を介して自然(非適応)免疫系を活性化させることにより作用する。CpGにより惹起されたTLR9活性化は、ペプチド又はタンパク質抗原、生ウイルス又は死滅ウイルス、樹状細胞ワクチン、自己細胞ワクチン、並びに予防ワクチン及び治療ワクチンの両方の中の多糖コンジュゲートを含めた多様な抗原に対する抗原特異的体液性及び細胞性応答を増強する。さらに重要なことには、これは樹状細胞成熟及び分化を増強し、CD4 T細胞ヘルプがない場合であっても、Th1細胞の活性化の増進及び強力な細胞傷害性Tリンパ球(CTL)生成をもたらす。TLR9刺激によって誘導されるTh1バイアスは、通常Th2バイアスを促進するミョウバン又は不完全フロイントアジュバント(IFA)などのワクチンアジュバントの存在下であっても維持される。CpGオリゴヌクレオチドは、他のアジュバントと共に、又は抗原が比較的弱い場合に強力な応答を誘導するために特に必要な製剤、例えばマイクロパーティクル、ナノ粒子、脂質エマルジョン又は同様の製剤中において製剤化又は共投与されるとき、さらに高いアジュバント活性を示す。CpGオリゴヌクレオチドはまた、免疫応答を加速させ、いくつかの実験におけるCpGを含まない完全用量ワクチンに対する応答と同等の抗体応答で、抗原用量を約2桁低減することも可能にする(Arthur M. Krieg, Nature Reviews, Drug Discovery, 5, Jun. 2006, 471-484)。米国特許第6,406,705 B1号明細書は、CpGオリゴヌクレオチド、非核酸アジュバント及び抗原の併用により抗原特異的免疫応答が誘導されることを記載している。市販のCpG TLR9アンタゴニストはMologen(Berlin, 独国)によるdSLIM(double Stem Loop Immunomodulator: 二重ステムループ免疫調節薬)であり、これは本発明の医薬組成物の好ましい成分である。他のTLR結合分子、例えば、RNA結合TLR7、TLR8及び/又はTLR9もまた用いられ得る。

【0231】

キサントノン誘導體、例えば、バジメザン又はASA404(5,6-ジメチルキサントノン(dimethylaxanthenone)-4-酢酸(DMXAA)としても知られる)などもまた、本発明の実施形態に係るアジュバントとして用いられ得る。或いは、本発明のワクチンと並行してかかる誘導體もまた例えば全身性又は腫瘍内送達を介して投与されてもよく、腫瘍部位で免疫を刺激し得る。理論によって拘束されるものではないが、かかるキサントノン誘導體は、IFN遺伝子(STING)受容体の刺激によってインターフェロン(IFN)産生を刺激することにより作用すると考えられる(例えば、Conlon et al. (2013)「マウスSTINGは血管破裂剤5,6-ジメチルキサントノン-4-酢酸に応答し

10

20

30

40

50

て結合し及びシグナル伝達するが、ヒト STING はこれを行わない (Mouse, but not Human STING, Binds and Signals in Response to the Vascular Disrupting Agent 5,6-Dimethylxanthenone-4-Acetic Acid) , Journal of Immunology, 190: 5216-25 及び Kim et al. (2013) 「抗癌フラボノイドはマウス選択的 STING アゴニストである (Anticancer Flavonoids are Mouse-Selective STING Agonists) 」 , 8: 1396-1401) を参照) 。

【 0 2 3 2 】

有用なアジュバントの他の例としては、限定はされないが、化学的に修飾された CpG (例えば CpR、I d e r a)、ポリ (I : C) (例えばポリ i : C I 2 U)、非 CpG 細菌 DNA 又は RNA 並びに免疫活性小分子及び抗体、例えば、シクロホスファミド、スニチニブ、ベバシズマブ、セレブレックス、NCX - 4 0 1 6、シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、ソラフィニブ (sorafinib)、XL - 9 9 9、CP - 5 4 7 6 3 2、パゾパニブ、ZD 2 1 7 1、AZD 2 1 7 1、イピリムマブ、トレメリムマブ、及び SC 5 8 1 7 5 が挙げられ、これらは治療的に及び / 又はアジュバントとして作用し得る。本発明との関連において有用なアジュバント及び添加剤の量及び濃度は、当業者により必要以上に実験を行うことなく容易に決定され得る。さらなるアジュバントとしては、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM - C S F、サルグラモスチム) などのコロニー刺激因子が挙げられる。

10

【 0 2 3 3 】

ポリ I C L C は、約 5 0 0 0 ヌクレオチドの平均長さのポリ I 鎖とポリ C 鎖とからなる合成的に調製された二本鎖 RNA であり、ポリリジン及びカルボキシメチルセルロースを添加することにより熱変性及び血清ヌクレアーゼによる加水分解に対して安定化されている。この化合物は、いずれも P A M P s ファミリーのメンバーである T L R 3 及び M D A 5 の RNA ヘリカーゼドメインを活性化し、DC 及びナチュラルキラー (NK) 細胞の活性化並びに I 型インターフェロン、サイトカイン、及びケモカインの「天然混合物」の産生を引き起こす。さらには、ポリ I C L C は、2 つの I F N 誘導性核酵素系 2 ' 5 ' - O A S 及び P 1 / e I F 2 a キナーゼ (P K R (4 - 6)) としても知られる)、並びに R I G - I ヘリカーゼ及び M D A 5 によって媒介されるより直接的な、広域宿主が標的化される抗感染効果、及び場合により抗腫瘍効果を及ぼす。

20

【 0 2 3 4 】

げっ歯類及び非ヒト霊長類において、ポリ I C L C は、ウイルス抗原に対する T 細胞応答、交差プライミング、並びに腫瘍特異的、ウイルス特異的、及び自己抗原特異的 C D 8 + T 細胞の誘導を増強することが示された。非ヒト霊長類における最近の研究では、ポリ I C L C は、DC 標的化又は非標的化 H I V G a g p 2 4 タンパク質に対する抗体反応及び T 細胞免疫の発生に必須であることが分かっており、ワクチンアジュバントとしてのその有効性が強調される。

30

【 0 2 3 5 】

ヒト対象では、連続全血試料の転写解析により、ポリ I C L C の 1 回の単回皮下投与を受けた 8 人の健常ヒトボランティア間で遺伝子発現プロファイルが同様であり、プラセボを受ける 4 人の対象に対してこれらの 8 人の対象間に最大 2 1 2 個の遺伝子の発現差異があることが明らかになった。顕著なことに、ポリ I C L C 遺伝子発現データを、極めて有効性の高い黄熱病ワクチン Y F 1 7 D で免疫されたボランティアからの先行データと比較すると、多数のカノニカルな転写及びシグナル伝達経路が、自然免疫系のものを含め、同じようにピーク時点で上方制御されたことが示された。

40

【 0 2 3 6 】

つい最近、癌精巣抗原 NY - E S O - 1 由来の合成オーバーラップロングペプチド (O L P) 単独によるか又は M o n t a n i d e - I S A - 5 1 との併用、又は 1 . 4 m g のポリ I C L C 及び M o n t a n i d e との併用による皮下ワクチン接種の第 1 相研究で治療された 2 回目又は 3 回目の完全臨床寛解中の卵巣癌、卵管癌、及び原発性腹膜癌患者に関する免疫学的分析が報告された。ポリ I C L C 及び M o n t a n i d e を加えると、O

50

L P単独又はO L P及びM o n t a n i d eと比較してN Y - E S O - 1特異的C D 4 +及びC D 8 + T細胞の生成及び抗体反応が顕著に増強された。

【 0 2 3 7 】

本発明に係るワクチン組成物は2つ以上の異なるアジュバントを含み得る。さらに、本発明は、上記のいずれか又はそれらの組み合わせを含めた任意のアジュバント物質を含む治療組成物を包含する。また、ペプチド又はポリペプチドとアジュバントとを任意の適切な順番で別個に投与し得ることも企図される。

【 0 2 3 8 】

担体は、アジュバントと独立して存在し得る。担体の機能は、例えば、安定性を付与すること、生物学的活性を増加させること、又は血清中半減期を増加させることであり得る。さらに、担体は、T細胞に対するペプチドの提示を助け得る。担体は、当業者に公知の任意の好適な担体、例えばタンパク質又は抗原提示細胞であってよい。担体タンパク質は、限定はされないが、キーホールリンペットヘモシアニン、血清タンパク質、例えば、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、チログロブリン又はオポアルブミン、免疫グロブリン、又はホルモン、例えば、インスリン又はパルミチン酸であってもよい。ヒトの免疫化には、担体は、ヒトにとって許容可能且つ安全な生理学的に許容可能な担体であってもよい。しかしながら、破傷風トキソイド及びノ又はジフテリア(diphtheria)トキソイドが、本発明の一実施形態において好適な担体である。或いは、担体はデキストラン、例えばセファロースであってもよい。

【 0 2 3 9 】

細胞傷害性T細胞(C T L)は、インタクトな外来抗原それ自体というよりむしろ、M H C分子に結合したペプチドの形態の抗原を認識する。M H C分子それ自体は抗原提示細胞の細胞表面に位置する。従って、C T Lの活性化は、ペプチド抗原、M H C分子、及びA P Cの三量体複合体が存在する場合に限り可能である。それに対応して、C T Lは、C T Lの活性化にペプチドのみが用いられる場合でなく、さらにそれぞれのM H C分子を有するA P Cが加わる場合に免疫応答が増強され得る。従って、一部の実施形態では、本発明に係るワクチン組成物は少なくとも1つの抗原提示細胞をさらに含有する。

【 0 2 4 0 】

抗原提示細胞(又は刺激細胞)は、典型的にはその表面上にM H CクラスI又はI I分子を有し、一実施形態では、それ自体はM H CクラスI又はI I分子に選択の抗原を負荷する能力を実質的に有しない。以下にさらに詳細に記載するとおり、M H CクラスI又はI I分子にインビトロで選択の抗原を容易に負荷し得る。

【 0 2 4 1 】

好ましくは、抗原提示細胞は樹状細胞である。好適には、樹状細胞は、ネオ抗原ペプチドでパルスした自己樹状細胞である。このペプチドは、適切なT細胞応答を生じさせる任意の好適なペプチドであってもよい。腫瘍関連抗原由来のペプチドでパルスした自己樹状細胞を使用するT細胞療法が、Murphy et al. (1996) The Prostate 29, 371-380及びTjua et al. (1997) The Prostate 32, 272-278に開示されている。

【 0 2 4 2 】

従って、本発明の一実施形態では、少なくとも1つの抗原提示細胞を含有するワクチン組成物が本発明の1つ以上のペプチドでパルスされるか又はそれを負荷される。或いは、患者から単離された末梢血単核細胞(P B M C)がエキソビボでペプチドを負荷され、患者に注入し戻されてもよい。代替例として、抗原提示細胞が、本発明のペプチドをコードする発現コンストラクトを含む。ポリヌクレオチドは任意の好適なポリヌクレオチドであってもよく、樹状細胞を形質導入する能力を有し、従ってペプチドの提示及び免疫の誘導をもたらすことが好ましい。

治療法

本発明はさらに、対象において新生物/腫瘍特異的免疫応答を誘導する方法、新生物/腫瘍に対するワクチンを接種する方法、本発明のネオ抗原ペプチド又はワクチン組成物を対象に投与することにより対象における癌の症状を治療及び/又は軽減する方法を提供す

10

20

30

40

50

る。

【0243】

本発明によれば、上述の癌ワクチンは、癌に罹っている、又は癌を発症するリスクがあると診断された患者に用いられ得る。一実施形態において、患者は、固形腫瘍、例えば、乳房、卵巣、前立腺、肺、腎臓、胃、結腸、精巣、頭頸部、膵臓、脳、メラノーマ、及び組織器官の他の腫瘍及び血液腫瘍、例えばリンパ腫及び白血病、例えば、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、T細胞リンパ性白血病、及びB細胞リンパ腫を有し得る。

【0244】

本発明のペプチド又は組成物は、CTL応答を誘導するのに十分な量で投与される。

10

本発明のネオ抗原ペプチド、ポリペプチド又はワクチン組成物は、単独で、又は他の治療剤との組み合わせで投与することができる。治療剤は、例えば、化学療法剤又は生物療法剤、放射線、又は免疫療法である。特定の癌について任意の好適な治療処置が投与され得る。化学療法剤又は生物療法剤の例としては、限定はされないが、アルデスロイキン、アルトレタミン、アミホスチン、アスパラギナーゼ、ブレオマイシン、カペシタビン、カルボプラチン、カルムスチン、クラドリピン、シサプリド、シスプラチン、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン(DTIC)、ダクチノマイシン、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ドロナビノール、エポエチンアルファ、エトポシド、フィルグラスチム、フルダラビン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、グラニセトロン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イホスファミド、インターフェロン、イリノテカン、ランソブラゾール、レバミゾール、ロイコポリン、メゲストロール、メスナ、メトトレキサート、メトクロプラミド、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、オメブラゾール、オンダンセトロン、パクリタキセル(Taxol(登録商標))、ピロカルピン、プロクロロペラジン(prochloroperazine)、リツキシマブ、タモキシフェン、タキソール、塩酸トポテカン、トラスツズマブ、ピンブラスチン、ピンクリスチン及び酒石酸ビノレルピンが挙げられる。前立腺癌治療について、抗CTLA-4を併用し得る好ましい化学療法剤は、パクリタキセル(Taxol(登録商標))である。

20

【0245】

加えて、対象に免疫抑制剤又は免疫刺激剤がさらに投与されてもよい。例えば、対象に抗CTLA抗体又は抗PD-1又は抗PD-L1がさらに投与される。抗体によるCTLA-4又はPD-1/PD-L1の遮断は患者における癌性細胞に対する免疫応答を増強し得る。詳細には、CTLA-4遮断はワクチン接種プロトコルに従うとき有効であることが示されている(Hodi et al 2005)。

30

【0246】

ワクチン組成物に含める各ペプチドの最適投与レジメンは、当業者により必要以上に実験を行うことなく決定され得る。例えば、ペプチド又はその変異体は、静脈内(i.v.)注射、皮下(s.c.)注射、皮内(i.d.)注射、腹腔内(i.p.)注射、筋肉内(i.m.)注射用に調製され得る。ペプチド注入の好ましい方法には、s.c.、i.d.、i.p.、i.m.、及びi.v.が含まれる。DNA注入の好ましい方法には、i.d.、i.m.、s.c.、i.p.及びi.v.が含まれる。例えば、1~500mg、50µg~1.5mg、好ましくは10µg~500µgのペプチド又はDNAの用量が投与されてもよく、それぞれのペプチド又はDNAに依存し得る。この範囲の用量は、過去の試験で使用が成功した(Brunsvig P F, et al., Cancer Immunol Immunother. 2006; 55(12): 1553-1564; M. Staehler, et al., ASCO meeting 2007; Abstract No 3017)。ワクチン組成物の他の投与方法は当業者に公知である。

40

【0247】

本発明の医薬組成物は、組成物中に存在するペプチドの選択、数及び/又は量が組織、癌、及び/又は患者特異的となるように作ることができる。例えば、ペプチドの正確な選択は、副作用を回避するように所与の組織における親タンパク質の発現パターンを指針とし得る。選択は、癌の具体的なタイプ、疾患の状態、以前の治療レジメン、患者の免疫状

50

態、及び当然ながら、患者のHLA - ハプロタイプに依存し得る。さらに、本発明に係るワクチンは、特定の患者の個人的な必要性に従い、個人に合わせた成分を含有し得る。例として、特定の患者における関連するネオ抗原の発現、個人的なアレルギー又は他の治療に起因する望ましくない副作用、及び初回治療ラウンド又はスキーム後の二次治療の調整に従いペプチドの量を変えることが挙げられる。

【0248】

本発明のペプチドを含む医薬組成物は、既に癌に罹患している個体に投与され得る。治療上の適用では、組成物は、腫瘍抗原に対する有効なCTL応答を誘発し且つ症状及び/又は合併症を治癒し又は少なくとも部分的に止めるのに十分な量で患者に投与される。これを達成するのに十分な量は、「治療有効用量」として定義される。この用途に有効な量は、例えば、ペプチド組成物、投与方法、治療される疾患の病期及び重症度、患者の体重及び全般的な健康状態、並びに処方医師の判断に依存し得るが、概して（治療的又は予防的投与のための）初回免疫化について、70kgの患者に対し約1.0µg～約50,000µgのペプチドの範囲であり、ブースト投薬量が続き、又は約1.0µg～約10,000µgのペプチドの範囲であり、患者の反応及び状態に応じて、及び場合により患者の血中の特定のCTL活性を計測することにより、数週間乃至数ヶ月間にわたりブーストレジメンが続く。本発明のペプチド及び組成物は、概して重篤な病状、即ち生命を脅かす又は潜在的に生命を脅かす状況、特に癌が転移している場合に用いられ得ることに留意しなければならない。治療用途では、腫瘍の検出又は外科的切除後可能な限り早期に投与を開始しなければならない。この後、少なくとも症状が実質的に寛解するまで、及びその後の期間にわたり、ブースト用量が続く。

10

20

【0249】

治療処置用の医薬組成物（例えば、ワクチン組成物）は、非経口、局所、経鼻、経口又は局所投与用であることが意図される。好ましくは、医薬組成物は非経口的に、例えば、静脈内、皮下、皮内、又は筋肉内に投与される。組成物は、腫瘍に対する局所的免疫応答を誘導するため外科的切除部位に投与されてもよい。本発明は、ペプチドの溶液を含む非経口投与用の組成物を提供し、ワクチン組成物は、許容可能な担体、好ましくは水性担体中に溶解又は懸濁される。種々の水性担体、例えば、水、緩衝用水、0.9%生理食塩水、0.3%グリシン、ヒアルロン酸などを使用し得る。これらの組成物は、従来の周知されている滅菌技法により滅菌され得るか、又は滅菌ろ過され得る。得られた水溶液はそのまま使用するために包装されるか、又は凍結乾燥されてもよく、凍結乾燥製剤は投与前に滅菌溶液と組み合わせられる。組成物は、生理学的条件を近似するため必要に応じて薬学的に許容可能な補助物質、例えば、pH調整剤及び緩衝剤、等張化剤、湿潤剤など、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、ソルビタンモノラウレート、オレイン酸トリエタノールアミン等を含有し得る。

30

【0250】

医薬製剤中における本発明のペプチドの濃度は幅広く異なり、即ち、重量単位で通常約0.1%未満から少なくとも約2%乃至20%～50%又はそれ以上にまで至り、選択される詳細な投与方法に従い、主として流体容積、粘度等により選択され得る。

【0251】

ペプチドを含有するリポソーム懸濁液は、とりわけ、投与方法、送達されるペプチド、及び治療される疾患ステージにより異なる用量で、静脈内投与、局所（locally）投与、局所（topically）投与等され得る。免疫細胞に標的化するため、リガンド、例えば所望の免疫系細胞の細胞表面決定基に特異的な抗体又はその断片などをリポソームに組み込むことができる。

40

【0252】

固体組成物には、例えば、医薬品グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、滑石、セルロース、グルコース、スクロース、炭酸マグネシウムなどを含む従来の又はナノ粒子の非毒性固体担体を使用することができる。経口投与に関して、薬学的に許容可能な非毒性組成物は、通常用いられる賦

50

形剤、例えば既に列挙した担体のいずれか、及び略10～95%の活性成分、即ち本発明の1つ以上のペプチドを、より好ましくは25%～75%の濃度で添合することにより形成される。

【0253】

エアロゾル投与には、免疫原性ペプチドは好ましくは界面活性剤及び噴射剤と共に微粉化した形態で提供される。ペプチドの典型的な割合は重量単位で0.01%～20%、好ましくは1%～10%である。界面活性剤は当然ながら非毒性であり、好ましくは噴射剤に対して可溶性である。かかる薬剤の代表例は、6～22個の炭素原子を含有する脂肪酸、例えば、カプロン酸、オクタン酸、ラウリン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、オレステリック酸(olesteric)及びオレイン酸などと脂肪族多価アルコール又はその環状無水物とのエステル又は部分エステルである。混合エステル、例えば混合又は天然グリセリドが用いられてもよい。界面活性剤は重量単位で組成物の0.1%～20%、好ましくは0.25～5%を占め得る。組成物の残りは通常の噴射剤である。例えば鼻腔内送達に対するレシチンのように、担体もまた必要に応じて含まれ得る。

【0254】

本発明のペプチド及びポリペプチドは、細菌又は動物性物質を含有しない試薬を利用して容易に化学的に合成することができる(Merrifield RB:「固相ペプチド合成I. テトラペプチドの合成(Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide)」. J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-54, 1963)。

【0255】

治療又は免疫化のため、本発明のペプチドをコードする核酸及び場合により本明細書に記載されるペプチドの1つ以上が患者に投与されてもまたよい。核酸を患者に送達するため、多くの方法が好都合に用いられている。例えば、核酸を「ネイキッドDNA」として直接送達することができる。この手法は、例えば、Wolff et al., Science 247: 1465-1468 (1990)並びに米国特許第5,580,859号明細書及び同第5,589,466号明細書に記載されている。核酸はまた、例えば米国特許第5,204,253号明細書に記載されるとおりのポリスティックデリバリーを用いて投与されてもよい。DNA単独で構成される粒子が投与されてもよい。或いは、DNAは、金粒子などの粒子に接着させてもよい。

【0256】

また、カチオン性化合物、例えばカチオン性脂質に複合体化した核酸を送達することもできる。脂質媒介性遺伝子デリバリー方法が、例えば、国際公開第1996/18372号パンフレット；国際公開第1993/24640号パンフレット；Mannino & Gould-Fogerite, BioTechniques 6(7): 682-691 (1988)；米国特許第5,279,833号明細書；国際公開第1991/06309号パンフレット；及びFeigner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 7413-7414 (1987)に記載されている。

【0257】

目的のペプチドをコードするRNAもまた送達に使用することができる(例えば、Kiken et al, 2011; Su et al, 2011を参照)。

本発明のペプチド及びポリペプチドはまた、ワクシニア又は鶏痘などの弱毒化ウイルス宿主により発現させることもできる。この手法には、本発明のペプチドをコードするヌクレオチド配列を発現させるためのベクターとしてのワクシニアウイルスの使用が関わる。急性的又は慢性的に感染させた宿主又は非感染宿主に導入すると、組換えワクシニアウイルスが免疫原性ペプチドを発現し、従って宿主CTL応答を誘発する。免疫化プロトコルにおいて有用なワクシニアベクター及び方法が、例えば米国特許第4,722,848号明細書に記載される。別のベクターはBCG(カルメット・ゲラン桿菌)である。BCGベクターは、Stover et al. (Nature 351: 456-460 (1991))に記載されている。本発明のペプチドの治療投与又は免疫化に有用な多種多様な他のベクター、例えばサルモネラ・チフィ(Salmonella typhi)ベクターなどが、当業者には本明細書の記載から明らかであろう。

10

20

30

40

50

【0258】

本発明のペプチドをコードする核酸を投与する好ましい手段では、複数のエピトープをコードするミニ遺伝子コンストラクトが用いられる。ヒト細胞での発現用に選択されたCTLエピトープをコードするDNA配列(ミニ遺伝子)を作成するため、エピトープのアミノ酸配列が逆翻訳される。各アミノ酸のコドン選択の指針とするためヒトコドン使用頻度表を使用する。エピトープをコードするこれらのDNA配列は直接隣接しており、連続的なポリペプチド配列を作り出す。発現及び/又は免疫原性を最適化するため、ミニ遺伝子設計にさらなるエレメントを組み込んでよい。逆翻訳され、且つミニ遺伝子配列に含めることのできるアミノ酸配列の例としては、以下が挙げられる：ヘルパーTリンパ球、

10

【0259】

ミニ遺伝子配列は、ミニ遺伝子のプラス鎖及びマイナス鎖をコードするオリゴヌクレオチドをアSEMBLすることによりDNAに変換される。オーバーラップオリゴヌクレオチド(30~100塩基長)が、周知の技法を用いて適切な条件下で合成され、リン酸化され、精製され及びアニールされる。オリゴヌクレオチドの末端は、T4 DNAリガーゼを使用してつなぎ合わされる。CTLエピトープポリペプチドをコードするこの合成ミニ遺伝子は、次に所望の発現ベクターにクローニングされ得る。

20

【0260】

標的細胞における発現を確実にするため、当業者に周知の標準的な調節配列がベクターに含められる。いくつかのベクターエレメントが必要である：ミニ遺伝子挿入のための下流クローニング部位を含むプロモーター；効率的な転写終結のためのポリアデニル化シグナル；大腸菌(E. coli)複製起点；及び大腸菌(E. coli)選択可能マーカー(例えばアンピシリン又はカナマイシン耐性)。この目的のため数多くのプロモーター、例えばヒトサイトメガロウイルス(hCMV)プロモーターを使用することができる。他の好適なプロモーター配列に関しては、米国特許第5,580,859号明細書及び同第5,589,466号明細書を参照のこと。

30

【0261】

ミニ遺伝子発現及び免疫原性を最適化するため、さらなるベクター修飾が望ましいこともある。ある場合には、効率的な遺伝子発現のためイントロンが必要であり、1つ以上の合成の又は天然に存在するイントロンがミニ遺伝子の転写領域に組み込まれ得る。ミニ遺伝子発現を増加させるため、mRNA安定化配列を含めることもまた考えられ得る。最近、免疫刺激配列(ISS又はCpG)がDNAワクチンの免疫原性において役割を果たすことが提唱されている。これらの配列は、免疫原性を増強させることが見出された場合には、ベクター中、ミニ遺伝子コード配列の外側に含められ得る。

40

【0262】

一部の実施形態では、ミニ遺伝子によりコードされるエピトープと、免疫原性を増強又は低下させるために含められる第2のタンパク質との産生を可能にするバイシストロニック発現ベクターを使用することができる。有利には共発現した場合に免疫応答を増強し得るタンパク質又はポリペプチドの例には、サイトカイン(例えば、IL2、IL12、GM-CSF)、サイトカイン誘導分子(例えばLEIF)又は副刺激分子が含まれる。ヘルパー(HTL)エピトープを細胞内標的シグナルにつなぎ合わせ、CTLエピトープと別個に発現させてもよい。これは、CTLエピトープと異なる細胞コンパートメントへのHTLエピトープの誘導を可能にし得る。必要であれば、これはMHCクラスII経路へのHTLエピトープのより効率的な侵入、従ってCTL誘導の向上を促進し得る。CTL誘導と対照的に、免疫抑制分子(例えばTGF-)の共発現により免疫応答を特に低下させることが、特定の疾患においては有益であり得る。

50

【0263】

発現ベクターが選択された後、ミニ遺伝子はプロモーターの下流のポリリンカー領域に

50

クローニングされる。このプラスミドは適切な大腸菌 (*E. coli*) 株に形質転換され、標準的な技法を用いて DNA が調製される。ミニ遺伝子並びにベクター中に含まれる他の全てのエレメントの向き及び DNA 配列は、制限酵素マッピング及び DNA 配列解析を用いて確認される。正しいプラスミドを有する細菌細胞をマスターセルバンク及びワーキングセルバンクとして保存することができる。

【0264】

精製プラスミド DNA は、種々の製剤を使用して注射用に調製することができる。それらのうち最も単純なものは、滅菌リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中での凍結乾燥 DNA の再構成である。種々方法が記載されており、新技術が利用可能になり得る。上述のとおり、核酸は好都合にはカチオン性脂質と製剤化される。加えて、糖脂質、融合性リポソーム、ペプチド及び保護性相互作用性非縮合性 (protective, interactive, non-condensing: PINC) と総称される化合物を複合体化してプラスミド DNA を精製し、安定性、筋内分散、又は特定の臓器若しくは細胞型への輸送などの変数に影響を与えることもできる。

10

【0265】

標的細胞感作を、ミニ遺伝子によりコードされる CTL エピトープの発現及び MHC クラス I 提示に関する機能アッセイとして用いることができる。プラスミド DNA が、標準的な CTL クロム遊離アッセイの標的として好適な哺乳類細胞系に導入される。使用されるトランスフェクション方法は最終的な製剤に依存し得る。「ネイキッド」DNA には電気穿孔が使用されてもよく、一方、カチオン性脂質は直接的なインビトロトランスフェクションを可能にする。緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現するプラスミドをコトランスフェクトして、蛍光活性化細胞選別 (FACS) を用いたトランスフェクト細胞のエンリッチメントを可能にし得る。これらの細胞は、次にクロム - 51 標識され、エピトープ特異的 CTL 系の標的細胞として用いられる。⁵¹Cr 遊離によって検出される細胞溶解が、ミニ遺伝子によりコードされる CTL エピトープの MHC 提示が生じたことを示す。

20

【0266】

生体内免疫原性は、ミニ遺伝子 DNA 製剤の機能を試験する第 2 の手法である。適切なヒト MHC 分子を発現するトランスジェニックマウスを DNA 製剤で免疫する。用量及び投与経路は製剤に依存する (例えば PBS 中 DNA には IM、脂質複合体化 DNA には IP)。免疫化の 21 日後、脾細胞を回収し、各被験エピトープをコードするペプチドの存在下で 1 週間にわたり再刺激する。これらのエフェクター細胞 (CTL) を、ペプチドが負荷されたクロム - 51 標識標的細胞の細胞溶解に関して標準的な技法を用いてアッセイする。ミニ遺伝子によりコードされるエピトープに対応するペプチドの MHC 負荷により感作された標的細胞の溶解が、CTL の生体内誘導に関する DNA ワクチン機能を実証する。

30

【0267】

ペプチドは、エキソビボで CTL を誘発するためにも用いられ得る。得られた CTL を使用して、他の従来型の治療法に应答しないか又はペプチドワクチン治療手法に应答しないであろう患者の慢性腫瘍を治療することができる。特定の腫瘍抗原に対するエキソビボ CTL 応答は、組織培養で患者の CTL 前駆細胞 (CTLp) を抗原提示細胞 (APC) 供給源及び適切なペプチドと共にインキュベートすることにより誘導される。適切なインキュベーション時間 (典型的には 1 ~ 4 週間) の間に CTLp が活性化され、エフェクター CTL に成熟して拡大した後、細胞が患者に注入し戻され、そこでそれらがその特異的標的細胞 (即ち、腫瘍細胞) を破壊する。特定の細胞傷害性 T 細胞の生成にインビトロ条件を最適化するため、刺激細胞の培養物は適切な無血清培地中に維持される。

40

【0268】

活性化させる細胞、例えば前駆 CD8⁺ 細胞と刺激細胞をインキュベートする前、刺激細胞の表面上で発現するヒトクラス I 分子に負荷された状態となるのに十分な分量の、ある量の抗原ペプチドが刺激細胞培養物に加えられる。本発明では、ペプチドの十分な量とは、ペプチドが負荷された約 200 個、及び好ましくは 200 個以上のヒトクラス I MHC

50

分子を各刺激細胞の表面上で発現させることが可能な量である。好ましくは、刺激細胞は、 $> 2 \mu\text{g} / \text{ml}$ のペプチドとインキュベートされる。例えば、刺激細胞は、 > 3 、 4 、 5 、 10 、 $15 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、又はそれ以上のペプチドとインキュベートされる。

【0269】

次に静止細胞又は前駆CD8⁺細胞は、培養下で、CD8⁺細胞を活性化するのに十分な期間にわたり適切な刺激細胞と共にインキュベートされる。好ましくは、CD8⁺細胞は抗原特異的様式で活性化される。静止細胞又は前駆CD8⁺（エフェクター）細胞と刺激細胞との比は個体毎に異なり得るとともに、さらに、培養条件に対する個体のリンパ球の従順さ並びに疾患状態の性質及び重症度又は記載の範囲内の治療様式が用いられる他の条件などの変数に依存し得る。しかしながら、好ましくは、リンパ球：刺激細胞比は約30：1～300：1の範囲である。エフェクター／刺激培養物は、治療上使用可能な又は有効な数のCD8⁺細胞を刺激するのに必要な時間にわたり維持され得る。

10

【0270】

インビトロでのCTL誘導には、APC上の対立遺伝子特異的MHCクラスI分子に結合しているペプチドの特異的認識が必要である。CTLの、特に一次免疫応答における刺激には、APC当たりの特異的MHC／ペプチド複合体の数が決定的に重要である。細胞当たりのペプチド／MHC複合体は少量であっても、CTLによる溶解を受け易い細胞にしたり、又は二次CTL応答を刺激したりするには十分であるが、一次応答中のCTL前駆体（pCTL）の活性化を成功させるには、大幅に多い数のMHC／ペプチド複合体が必要である。細胞上の空の主要組織適合性複合体分子にペプチドを負荷することにより、一次細胞傷害性Tリンパ球応答の誘導が可能となる。

20

【0271】

ヒトMHC対立遺伝子毎に変異細胞系が存在するわけではないため、APCの表面から内因性MHC関連ペプチドを取り除き、次に得られた空のMHC分子に目的の免疫原性ペプチドを負荷する技法を用いることが有利である。形質転換されていない（非腫瘍形成性の）非感染細胞、好ましくは患者の自己細胞をAPCとして使用することが、エキソビボCTL療法の開発に向けたCTL誘導プロトコルの設計に望ましい。本願は、APCの表面から内因性MHC関連ペプチドをストリッピングし、続いて所望のペプチドを負荷する方法を開示する。

【0272】

安定したMHCクラスI分子は、以下のエレメントで形成される三量体複合体である：1）通常8～10残基のペプチド、2）そのa1及びa2ドメインにペプチド結合部位を有する膜貫通重鎖多型タンパク質鎖、及び3）非共有結合的に会合した非多型軽鎖、p2ミクログロブリン（p2microglobulin）。複合体から結合したペプチドを取り除き及び／又はp2ミクログロブリンを解離させるとMHCクラスI分子が非機能性になって不安定化し、急速な分解がもたらされる。PBM Cから単離される全てのMHCクラスI分子が、それらに結合する内因性ペプチドを有する。従って、第1のステップは、APC上のMHCクラスI分子に結合する全ての内因性ペプチドを、その分解を引き起こすことなく取り除くことであり、その後それらに外来性ペプチドを加えることができる。

30

【0273】

MHCクラスI分子から結合したペプチドを取り除く2つの可能な方法として、培養温度を37 から26 に一晩下げてp2ミクログロブリンを不安定化させること、及び弱酸処理を用いて細胞から内因性ペプチドをストリッピングすることが挙げられる。これらの方法により、それまで結合していたペプチドが細胞外環境に遊離し、新しい外来性ペプチドが空のクラスI分子に結合することが可能になる。低温インキュベーション方法は、外来性ペプチドをMHC複合体に効率的に結合させることが可能であるが、26 で一晩インキュベートする必要があり、これが細胞の代謝速度を減速させ得る。また、MHC分子を能動的に合成しない細胞（例えば、静止PBM C）は、低温手順によっては多量の空の表面MHC分子を生じない可能性もある。

40

【0274】

50

苛酷な酸ストリッピングには、トリフルオロ酢酸、pH 2によるペプチドの抽出、又はイムノアフィニティー精製クラスI - ペプチド複合体の酸変性が関わる。APCのバイアピリティー及び抗原提示にとって決定的に重要な最適な代謝状態を維持しながら内因性ペプチドを取り除くことが重要であるため、これらの方法はCTL誘導には実現不可能である。グリシン又はクエン酸リン酸緩衝液などのpH 3の弱酸性溶液が、内因性ペプチドの同定及び腫瘍関連T細胞エピトープの同定に用いられている。この処理は、MHCクラスI分子のみが不安定化する（及び関連ペプチドが遊離する）一方、MHCクラスII分子を含め、他の表面抗原はインタクトなままである点で特に有効である。最も重要なことに、弱酸性溶液による細胞の処理は細胞のバイアピリティー又は代謝状態に影響を及ぼさない。内因性ペプチドのストリッピングは4、2分間で行われ、且つAPCは適切なペプチドが負荷された後直ちにその機能を果たすことのできる状態にあるため、弱酸処理は迅速である。この技法は、本明細書では、一次抗原特異的CTLを生じさせるペプチド特異的APCの作製に利用される。得られるAPCは、ペプチド特異的CD8⁺CTLの誘導において効率が良い。

10

【0275】

活性化CD8⁺細胞は、種々の公知の方法の一つを用いて刺激細胞と効果的に分離し得る。例えば、刺激細胞、刺激細胞に負荷されたペプチド、又はCD8⁺細胞（又はそのセグメント）に特異的なモノクローナル抗体を利用して、その適切な相補リガンドに結合させ得る。次に抗体タグ標識分子を適切な手段、例えば周知されている免疫沈降又はイムノアッセイ方法で刺激エフェクター細胞混合物から抽出し得る。

20

【0276】

活性化CD8⁺細胞の細胞傷害性の有効量は、インビトロ使用とインビボ使用との間で、並びにこれらのキラー細胞の最終的な標的である細胞の量及びタイプによって異なり得る。量はまた、患者の状態に応じて異なり、専門家によりあらゆる適切な要因を考慮して決定されなければならない。しかしながら、好ましくは、マウスで使用される約 $5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7$ 細胞と比較して、成人ヒトに対して約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{12}$ 、より好ましくは約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{11}$ 、さらにより好ましくは約 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ の活性化CD8⁺細胞が利用される。

【0277】

好ましくは、上記で考察したとおり、活性化CD8⁺細胞は、治療しようとする個体にCD8⁺細胞を投与する前に細胞培養物から回収される。しかしながら、他の現行の提案される治療様式とは異なり、本方法は、非腫瘍形成性の細胞培養系を使用する点に留意することが重要である。従って、刺激細胞及び活性化CD8⁺細胞の完全な分離が実現される場合、少数の刺激細胞の投与に関連することが知られる固有の危険性はなく、一方、哺乳類腫瘍促進細胞の投与は極めて危険であり得る。

30

【0278】

細胞成分を再導入する方法は当該技術分野において公知であり、Honsikらに対する米国特許第4,844,893号明細書及びRosenbergに対する米国特許第4,690,915号明細書に例示されるような手順が挙げられる。例えば、静脈内注入による活性化CD8⁺細胞の投与が適切である。

40

【0279】

CD8⁺細胞活性は、CD4⁺細胞を使用して増進させてもよい。多くの免疫ベースの抗癌療法が、CD8⁺及びCD4⁺Tリンパ球の両方を使用して患者の腫瘍を標的化する場合に有効性が高まり得るため、腫瘍抗原に対するCD4⁺T細胞エピトープの同定が関心を集めている。CD4⁺細胞はCD8⁺T細胞応答を増強する能力を有する。動物モデルにおける多くの研究で、CD4⁺及びCD8⁺T細胞の両方が抗腫瘍応答に関与するとき結果が良好になることが明確に実証されている（例えば、Nishimura et al. (1999)「生体内での腫瘍根絶における抗原特異的Tヘルパー1型（TH1）及びTh2細胞の個別的な役割（Distinct role of antigen-specific T helper type 1 (TH1) and Th2 cells in tumor eradication in vivo）」. J Ex Med 190: 617-27を参照）。異なる種類の

50

癌に対する治療法の開発に適用可能な普遍的なCD4⁺T細胞エピトープが同定されている（例えば、Kobayashi et al. (2008) *Current Opinion in Immunology* 20: 221-27を参照）。例えば、破傷風トキソイド由来のHLA-D R制限ヘルパーペプチドをメラノーマワクチンに使用して、CD4⁺T細胞が非特異的に活性化された（例えば、Slingluff et al. (2007) 「アジュバントセッティングにおけるメラノーマに対する2つの多ペプチドワクチンの無作為化第II相試験の免疫学的及び臨床的結果 (Immunologic and Clinical Outcomes of a Randomized Phase II Trial of Two Multi-peptide Vaccines for Melanoma in the Adjuvant Setting)」, *Clinical Cancer Research* 13(21): 6386-95を参照）。本発明の範囲内で、かかるCD4⁺細胞は、その腫瘍特異性が異なる3つのレベルで適用可能であり得ることが企図される：1) 普遍的CD4⁺エピトープ（例えば、破傷風トキソイド）を使用してCD8⁺細胞を増進し得る広域レベル；2) 天然の腫瘍関連CD4⁺エピトープを使用してCD8⁺細胞を増進し得る中間的レベル；及び3) ネオ抗原CD4⁺エピトープを使用してCD8⁺細胞を患者特異的に増進し得る患者特異的レベル。

【0280】

CD8⁺細胞免疫はまた、ネオ抗原負荷樹状細胞(DC)ワクチンによっても生じさせ得る。DCはT細胞免疫を惹起する強力な抗原提示細胞であり、目的の1つ以上のペプチドを例えば直接的なペプチド注入により負荷すると、癌ワクチンとして使用することができる。例えば、新しく転移性メラノーマと診断された患者が、3つのHLA-A*0201制限gp100メラノーマ抗原由来ペプチドに対し、IL-12p70産生患者DCワクチンを用いて、自己ペプチドでパルスしたCD40L/IFN- γ 活性化成熟DCにより免疫化されることが示された（例えば、Carreno et al (2013) 「L-12p70産生患者DCワクチンはTc1分極免疫を誘発する (L-12p70-producing patient DC vaccine elicits Tc1-polarized immunity)」, *Journal of Clinical Investigation*, 123(8): 3383-94及びAli et al. (2009) 「DCサブセット及びT細胞のインサイチュ調節がマウスにおいて腫瘍退縮を媒介する (In situ regulation of DC subsets and T cells mediates tumor regression in mice)」, *Cancer Immunotherapy*, 1(8): 1-10を参照）。本発明の範囲内で、ネオ抗原負荷DCは、合成TLR3アゴニストのポリイノシン・ポリシチジン酸-ポリ-L-リジンカルボキシメチルセルロース(ポリICLC)を使用してDCを刺激することで調製され得ることが企図される。ポリICLCは、CD83及びCD86の上方制御、インターロイキン-12(IL-12)、腫瘍壊死因子(TNF)、インターフェロン誘導タンパク質10(IP-10)、インターロイキン1(IL-1)、及びI型インターフェロン(IFN)の誘導、及び最小限のインターロイキン10(IL-10)産生によって評価するとき、ヒトDCに対する強力な個々の成熟刺激である。DCは、白血球アフェレーシスによって得られる凍結末梢血単核細胞(PBMC)と区別することができ、PBMCはFicoll勾配遠心法によって単離し、アリコートで凍結し得る。

【0281】

例示として、以下の7日間活性化プロトコルを使用し得る。1日目-PBMCを解凍して組織培養フラスコにプレティングし、組織培養インキュベーターにおいて37°Cで1~2時間インキュベートした後、プラスチック表面に接着する単球を選択する。インキュベーション後、リンパ球を洗い流し、接着した単球をインターロイキン-4(IL-4)及び顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)の存在下で5日間培養して未熟DCに分化させる。6日目、未熟DCを、ワクチンの品質に関する対照として働き、且つワクチンの免疫原性をブーストし得るキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)タンパク質でパルスする。DCは刺激されると成熟し、それにペプチド抗原を負荷して一晩インキュベートする。7日目、細胞を洗浄し、4~20 \times 10⁶個の細胞を含む1mlアリコートで速度制御フリーザーを使用して凍結する。DCを患者に注入する前に、最小限の規格に適合するようにDCのバッチに対するロットリリース試験を実施し得る（例えば、Sabado et al. (2013) 「免疫療法のための腫瘍抗原を負荷した成熟樹状細胞の調製 (

10

20

30

40

50

Preparation of tumor antigen-loaded mature dendritic cells for immunotherapy)」、J. Vis Exp. Aug 1; (78). doi: 10.3791/50085を参照のこと。

【0282】

DCワクチンを足場システムに組み込み、患者への送達を促進し得る。DCワクチンによる患者の新生物の治療処置は、宿主樹状細胞を動員する因子を装置内に放出し、抗原が放出される間にアジュバント（例えば、危険シグナル）を局所的に提供することにより常在性の未熟DCを分化させ、且つ活性化された抗原負荷DCのリンパ節（又は所望の作用部位）への放出を促進し、そこでDCがT細胞と相互作用して癌ネオ抗原に対する強力な細胞傷害性Tリンパ球応答を生じ得る生体材料システムを利用し得る。植込み型生体材料を使用して、新生物に対する強力な細胞傷害性Tリンパ球応答を患者特異的に生じさせてもよい。次にこの生体材料常在性樹状細胞が、生体材料からの抗原の放出に合わせた、感染を模倣する危険シグナルへのそれらの曝露により活性化され得る。活性化された樹状細胞は、次に生体材料からリンパ節に遊走し、細胞傷害性Tエフェクター応答を誘導する。この手法は、以前、腫瘍生検から調製したライセートを使用した前臨床試験において樹立メラノーマの退縮を引き起こすことが実証されており（例えば、Ali et al. (2209)「DCサブセット及びT細胞のインサイチュ調節がマウスにおいて腫瘍退縮を媒介する（In situ regulation of DC subsets and T cells mediates tumor regression in mice）」、Cancer Immunotherapy 1(8): 1-10；Ali et al. (2009)「インサイチュで樹状細胞をプログラムする感染模倣材料（Infection-mimicking materials to program dendritic cells in situ）」、Nat Mater 8: 151-8）、かかるワクチンは現在、ダナ・ファーマー癌研究所（Dana-Farber Cancer Institute）で最近開始された第I相臨床試験で試験されているところである。この手法はまた、C6ラット神経膠腫モデルを使用して、膠芽腫の退縮、並びに再燃を予防する強力な記憶応答の誘導をもたらすことも示されている。24。現在の提言では、かかる植込み型のバイオマトリックスワクチンデリバリー足場が腫瘍特異的樹状細胞活性化を増幅し及び維持する能力は、従来の皮下又は節内ワクチン投与により達成され得るものと比べてよりロバストな抗腫瘍免疫感作をもたらし得る。

【0283】

本発明の実施には、特に指示されない限り、分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学及び免疫学の従来技法を使用し、これらは十分に当業者の範囲内である。かかる技法は、“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, second edition (Sambrook, 1989)；“Oligonucleotide Synthesis” (Gait, 1984)；“Animal Cell Culture” (Freshney, 1987)；“Methods in Enzymology” “Handbook of Experimental Immunology” (Wei, 1996)；“Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells” (Miller and Calos, 1987)；“Current Protocols in Molecular Biology” (Ausubel, 1987)；“PCR: The Polymerase Chain Reaction”, (Mullis, 1994)；“Current Protocols in Immunology” (Coligan, 1991)などの文献中に詳しく説明されている。これらの技法は本発明のポリヌクレオチド及びポリペプチドの産生に適用可能であり、従って、本発明の作製及び実施において考慮され得る。詳細な実施形態に特に有用な技法を次節で考察する。

【実施例】

【0284】

以下の例は、本発明のアクセシ、スクリーニング、及び治療方法をどのように作製及び使用するかに関する完全な開示及び説明を当業者に提供するため提示され、本発明者らが自らの発明と見なすものの範囲を限定することは意図していない。

【0285】

実施例1：癌ワクチン試験プロトコル

上述の組成物及び方法は、図2に示す一般的なフロープロセスに従い高リスクメラノーマ（完全切除ステージIIIB、IIIC及びIVM1a, b）の15人の患者で試験され得る。患者は、個別化された腫瘍特異的ペプチドとポリICLCとの混合物による一連のプライミングワクチン接種を4週間の期間にわたり受け、続いて維持期の間に2回のブーストを受け得る。ワクチン接種は全て皮下送達され得る。ワクチンは、患者における安

10

20

30

40

50

全性、忍容性、免疫応答及び臨床効果に関して、並びにワクチン作製及び適切な時間フレーム内におけるワクチン接種開始の成功の実現可能性に関して評価され得る。第1コホートは5人の患者からなり、安全性が十分に実証された後、10人の患者のさらなるコホートが登録され得る（例えば、初回集団研究の手法を示す図3を参照）。ペプチド特異的T細胞応答に関して末梢血が広範にモニタされ、疾患再発を評価するため患者は最長2年間にわたり追跡され得る。

【0286】

上記に記載したとおり、動物及びヒトの両方において、免疫応答の誘導において突然変異エピトープが有効であること及び自発的腫瘍退縮又は長期生存の症例が突然変異エピトープに対するCD8⁺T細胞応答と相関することのエビデンスが多数ある（Buckwalter and Srivastava PK, 「それが抗原である、ばかっている」及びヒト癌のワクチン療法の10年にわたる他のレッスン（“It is the antigen(s), stupid” and other lessons from over a decade of vaccitherapy of human cancer）」. *Seminars in immunology* 20: 296-300 (2008); Karanikas et al, 「長期生存肺癌患者の血中においてHLA四量体で検出可能な腫瘍特異的突然変異抗原に対する細胞溶解性Tリンパ球の高頻度」. *Cancer Res.* 61: 3718-3724 (2001); Lennerz et al, 「ヒトメラノーマに対する自己T細胞の応答は突然変異ネオ抗原によって支配される（The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neo-antigens）」. *Proc Natl Acad Sci USA.* 102: 16013 (2005)）及びマウス及びヒトにおける優勢な突然変異抗原の発現の改変に対して「免疫編集」を追跡し得ること（Matsushita et al, 「癌エクソーム解析は癌免疫編集のT細胞依存性機序を明らかにする（Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoeediting）」. *Nature* 482: 400 (2012); DuPage et al, 「腫瘍特異的抗原の発現が癌免疫編集の根底にある（Expression of tumor-specific antigens underlies cancer immunoeediting）」. *Nature* 482: 405 (2012); 及びSampson et al, 「新しく診断された膠芽腫患者の上皮成長因子受容体変異体IIIペプチドワクチン接種に伴う長期無進行生存後の免疫エスケープ（Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma）」. *J Clin Oncol.* 28: 4722-4729 (2010)）。

【0287】

次世代シーケンシングは、現在、個々の腫瘍におけるコード突然変異、最も一般的には単一アミノ酸変化（例えばミスセンス突然変異；図4A）及び頻度は低い、フレームシフト挿入/欠失/遺伝子融合、終止コドンにおけるリードスルー突然変異、及び不適切にスプライスされたイントロンの翻訳（例えば、ネオORF；図4B）により生成されるアミノ酸の新規ストレッチなど、個別的な突然変異の存在を迅速に明らかにすることができる。ネオORFは、その配列の全体が免疫系にとって完全に新規であり、従ってウイルス性又は細菌性の外来抗原に類似しているため、免疫原として特に有益である。従って、ネオORFは：（1）腫瘍に対して高度に特異的である（即ちいかなる正常細胞においても発現がない）；（2）中枢性トレランスを迂回し、それによりネオ抗原特異的CTLの前駆体頻度を増加させることができる。例えば、最近、ヒトパピローマウイルス（HPV）に由来するペプチドで、治療的抗癌ワクチンにおいて類似の外来配列を利用する力が実証された。ウイルス性癌遺伝子E6及びE7に由来するHPVペプチド混合物のワクチン接種を3～4回受けた新生物発生前のウイルス誘導性疾患を有する19人の患者の約50%が、完全寛解を24ヶ月以上維持した（Kenter et al, 「外陰上皮内新生物に関するHPV-16オンコプロテインに対するワクチン接種（Vaccination against HPV-16 Oncoproteins for Vulvar Intraepithelial Neoplasia）」. *NEJM* 361: 1838 (2009)）。

【0288】

シーケンシング技術により、各腫瘍が、遺伝子のタンパク質コード内容を改変する複数の患者特異的突然変異を含むことが明らかになっている。かかる突然変異は、単一アミノ酸変化（ミスセンス突然変異によって引き起こされる）から、フレームシフト、終止コド

ンのリードスルー又はイントロン領域の翻訳（新規オープンリーディングフレーム突然変異；ネオORF）に起因する新規アミノ酸配列の長い領域の付加にまで及ぶ改変タンパク質を作り出す。これらの突然変異タンパク質は、天然タンパク質と異なり自己トレランスの免疫抑制効果に供されないため、腫瘍に対する宿主の免疫応答にとって有用な標的である。従って、突然変異タンパク質は免疫原性である可能性が一層高く、また患者の正常細胞と比較して腫瘍細胞に対する特異性もより高い。

【0289】

どのミスセンス突然変異が患者のコグネイトMHC分子との強力な結合ペプチドを生じるかを予測する近年改良されたアルゴリズムを利用して、各患者に最適な突然変異エピトープ（ネオORF及びミスセンスの両方）を代表する一組のペプチドを同定し、優先順位を付け、及び最大20個又はそれ以上のペプチドを免疫化用に調製し得る（Zhang et al, 「免疫学における機械学習競争 - HLAクラスI結合ペプチドの予測（Machine learning competition in immunology-Prediction of HLA class I binding peptides）」J Immunol Methods 374: 1 (2011); Lundegaard et al 「ニューラルネットワークベースの方法を用いたエピトープの予測（Prediction of epitopes using neural network based methods）」J Immunol Methods 374: 26 (2011)）。約20～35アミノ酸長のペプチドが合成され、なぜならこのような「長い」ペプチドは樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞において効率的なインターナリゼーション、プロセッシング及び交差提示を受け、且つヒトにおいてCTLを誘導することが示されているためである（Melief and van der Burg, 「合成ロングペプチドワクチンによる樹立された（前）悪性疾患の免疫療法（Immunotherapy of established (pre)malignant disease by synthetic long peptide vaccines）」Nature Rev Cancer 8: 351 (2008)）。

【0290】

強力且つ特異的な免疫原に加え、有効な免疫応答は免疫系を活性化させるために強力なアジュバントを必要とする（Speiser and Romero, 「癌免疫療法のための分子的に定義されたワクチン、及び防御T細胞免疫（Molecularly defined vaccines for cancer immunotherapy, and protective T cell immunity）」Seminars in Immunol 22: 144 (2010)）。例えば、Toll様受容体（TLR）が、自然免疫系、次には適応免疫系を有効に誘導する、微生物性及びウイルス性病原体「危険シグナル」の強力なセンサーとして登場している（Bhardwaj and Gnjatic, 「TLRアゴニスト：それは良好なアジュバントか？（TLR AGONISTS: Are They Good Adjuvants?）」Cancer J. 16: 382-391 (2010)）。TLRアゴニストの中でも、ポリICLC（合成二本鎖RNA模倣体）は、骨髄由来樹状細胞の最も強力なアクチベータの一つである。ヒトボランティア試験において、ポリICLCは安全で、且つ末梢血細胞において、最も強力な弱毒生ウイルスワクチンの一つである黄熱病ワクチンYF-17Dにより誘導されるものと同等の遺伝子発現プロファイルを誘導することが示されている（Caskey et al, 「合成二本鎖RNAはヒトにおいて生菌ウイルスワクチンと同様の自然免疫応答を誘導する（Synthetic double-stranded RNA induces innate immune responses similar to a live viral vaccine in humans）」J Exp Med 208: 2357 (2011)）。Oncovir, Incにより調製されるポリICLCのGMP製剤であるHiltonol（登録商標）をアジュバントとして利用し得る。

【0291】

実施例2：標的患者集団

ステージIIIB、IIIC及びIVM1a, bのメラノーマを有する患者は、疾患を完全に外科的に切除したとしても、疾患再発及び死亡のリスクが著しく高い（Balch et al, 「2009年AJCCメラノーマ病期診断及び分類の最終版（Final Version of 2009 AJCC Melanoma Staging and Classification）」J Clin Oncol 27: 6199-6206 (2009)）。この患者集団に利用可能な全身アジュバント療法はインターフェロン-（IFN）であり、これは測定可能な、しかし最低限度の利益を提供し、顕著な、多くの場合に用量制限となる毒性を伴う（Kirkwood et al, 「高リスク切除皮膚メラノーマのインターフェロン-2bアジュバント療法：米国東海岸癌臨床試験グループ試験EST 168

10

20

30

40

50

4 (Interferon alfa-2b Adjuvant Therapy of High-Risk Resected Cutaneous Melanoma: The Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684) 」 J Clin Oncol 14: 7-17 (1996) ; Kirkwood et al, 「高リスクメラノーマにおける高用量及び低用量インターフェロン - 2b : 群間比較試験 E 1690 / S 9111 / C 9190 の初回分析 (High- and Low-dose Interferon Alpha-2b in High-Risk Melanoma: First Analysis of Intergroup Trial E1690/S9111/C9190) 」 J Clin Oncol 18: 2444-2458 (2000))。これらの患者は、過去の癌を標的化した治療法によるか又は活動中の癌により免疫無防備状態ではなく、従ってワクチンの安全性及び免疫学的影響を評価するための優れた患者集団に相当する。最後に、これらの患者に対する現行の標準治療は、手術後にいかなる治療も指示しないため、ワクチン製剤について 8 ~ 10 週間のウィンドウが可能となる。

10

【0292】

標的集団は、完全に切除されていて発病していない、臨床的に検出可能な組織学的に確認されたリンパ節（局所又は遠隔）又はイントランジット転移を有する皮膚メラノーマ患者であり得る（ステージ III B の多く（シーケンシング及び細胞系発生に十分な腫瘍組織を有するため、潰瘍化した原発腫瘍であって但し微小転移リンパ節を有する患者（T 1 - 4 b、N 1 a 又は N 2 a）は除外され得る）、ステージ III C の全て、及びステージ IV M 1 a、b）。これらは、初期ステージのメラノーマの初回診断患者又は前回の診断後の疾患再発患者であり得る。

【0293】

腫瘍摘出：患者をメラノーマに罹患していない状態にする目的で、患者がその原発性メラノーマ（まだ取り除かれていない場合）及び全ての局所転移性疾患の完全切除を受け得る。病理学的評価に十分な腫瘍が摘出された後、残りの腫瘍組織を滅菌容器内の滅菌媒体中に置き、脱凝集用に調製する。腫瘍組織の一部を使用して全エクソーム及びトランスクリプトームシーケンシング及び細胞株作成を行い、残った腫瘍は凍結し得る。

20

【0294】

正常組織摘出：全エクソームシーケンシング用に正常組織試料（血液又は喀痰試料）を採取し得る。

臨床的に明らかな局所領域の転移性疾患又は完全に切除可能な遠隔リンパ節、皮膚又は肺転移性疾患を有する（しかし切除不能な遠隔又は内臓転移性疾患はない）患者を同定し、試験に組み入れ得る。メラノーマ細胞系樹立用の新鮮な腫瘍組織を得るため（それにより免疫モニタリング計画の一環としてのインビトロ細胞傷害性アッセイ用の標的細胞を作成するため）、手術前の患者の登録が必要である。

30

【0295】

実施例 3：用量及びスケジュール

全ての治療前基準を満たした患者について、試験薬が到着し、受入規格に適合した後、可能な限り速やかにワクチン投与を開始し得る。各患者につき 4 つの別個の試験薬があり、各々が 20 個の患者特異的ペプチドのうちの 5 個を含有し得る。免疫化は、概して図 5 に示すスケジュールに従い進め得る。

【0296】

患者は外来患者診療部で治療され得る。各治療日の免疫化は 4 回の 1 ml 皮下注射からなり、リンパ系の異なる領域を標的化して抗原競合を低減するため、各注射を別々の四肢に行い得る。患者が完全腋窩又は鼠径リンパ節郭清を受けたことがある場合、ワクチンは代替として右又は左横隔膜に投与され得る。各注射は、当該患者用の 4 つの試験薬のうちの 1 つからなり、各サイクルについて同じ試験薬を同じ四肢に注射し得る。各 1 ml 注射の組成は以下である：

40

5 個の患者特異的ペプチドを各 300 µg ずつ含有する 0.75 ml 試験薬
0.25 ml (0.5 mg) の 2 mg/ml ポリ I C L C (H i l t o n o l (登録商標))

誘導期 / プライミング期の間、患者は 1、4、8、15 及び 22 日目に免疫され得る。

50

維持期には、患者は12及び24週目にブースター用量を受け得る。

【0297】

血液試料を複数の時点で採取し得る：前（ベースライン；異なる日の2つの試料）；プライミングワクチン接種の間の15日目；誘導/プライミングワクチン接種後4週間（8週目）；初回ブーストの前（12週目）及び後（16週目）；2回目のブーストの前（24週目）及び後（28週目）に、各試料につき50～150mlの血液を採取し得る（16週目を除く）。一次免疫学的エンドポイントは16週目であり、従って患者は（患者及び医師の評価に基づき特に指示されない限り）白血球アフェレーシスを受け得る。

【0298】

実施例4：免疫モニタリング

免疫戦略は、免疫応答を誘導するための初期の一連の密な間隔の免疫化と、続く記憶T細胞を樹立させるための休止期間とを含む「プライム-ブースト」手法である。これにブースター免疫化が続き、このブーストの4週間後のT細胞応答が最も強い応答を生じるものと予想され、一次免疫学的エンドポイントとなり得る。初めに大域的免疫応答が末梢血単核細胞を使用してこの時点から18時間エキソピボELISPOTアッセイにおいて、全ての免疫エピトープを含むオーバーラップ15merペプチド（11aaオーバーラップ）のプールで刺激してモニタされ得る。このペプチドプールに対するベースライン応答を確立するため、ワクチン接種前試料を評価し得る。必要に応じてさらなるPBMC試料を評価し、全ペプチド混合物に対する免疫応答の動態を調べ得る。ベースラインを有意に上回る応答を示す患者については、全15merのプールをデコンボリューションして、

どの特定の免疫ペプチドが免疫原性であったかを決定し得る。加えて、適切な試料に関して個別の場合に応じていくつかのさらなるアッセイを行い得る：

- ・全15merプール又はサブプールを細胞内サイトカイン染色アッセイの刺激ペプチドとして使用して、抗原特異的CD4⁺、CD8⁺、中枢記憶及びエフェクター記憶集団を同定及び定量化し得る

- ・同様に、これらのプールを使用してこれらの細胞により分泌されるサイトカインのパターンを評価し、T_H1対T_H2表現型を決定し得る

- ・未刺激細胞の細胞外サイトカイン染色及びフローサイトメトリーを使用してTreg及び骨髄由来サブレッサー細胞（MDS-C）を定量化し得る

- ・応答した患者からのメラノーマ細胞系の樹立に成功し、且つ活性化エピトープを同定することができた場合、突然変異ペプチド及び対応する野生型ペプチドを使用してT細胞の細胞傷害性アッセイを行い得る

- ・一次免疫学的エンドポイントのPBMCを、図6に示されるとおり、既知のメラノーマ腫瘍関連抗原を刺激剤として使用し、且つ免疫原の中には選択されなかったいくつかのさらなる同定済みの突然変異エピトープを使用することにより、「エピトープの広がり」に関して評価し得る。

腫瘍試料の免疫組織化学を行い、CD4⁺、CD8⁺、MDS-C、及びTreg浸潤集団を定量化し得る。

【0299】

実施例5：転移性疾患患者における臨床的有効性

転移性疾患患者のワクチン治療は、活動中の癌に有効な治療法が必要であること、及び結果としてワクチン調製のための治療休止時間ウィンドウがなくなることによって複雑化する。さらに、これらの癌治療は、患者の免疫系を損ない、場合により免疫応答の誘導を妨げ得る。これらの考慮点を念頭に置き、ワクチン調製のタイミングが時間的に特定の患者集団に対する他の標準治療手法と適合するセッティング及び/又はかかる標準治療が確実に免疫療法手法と両立し得るセッティングが選択され得る。探究され得るセッティングには2つのタイプがある：

1. チェックポイント遮断との併用：転移性メラノーマの有効な免疫療法としてチェックポイント遮断抗体が登場しており（Hodi et al, 「転移性メラノーマ患者におけるイピリムマブによる生存率の改善（Improved Survival with Ipilimumab in Patients wit

10

20

30

40

50

h Metastatic Melanoma)」NEJM 363: 711-723 (2010))、非小細胞肺癌 (NSCLC) 及び腎細胞癌 (Topalian et al, 「癌における抗 PD-1 抗体の安全性、活性、及び免疫関連要因 (Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer)」NEJM 366: 2443-2454 (2012); Brahmer et al, 「進行癌患者における抗 PD-L1 抗体の安全性及び活性 (Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer)」NEJM 366: 2455-2465 (2012)) を含めた他の疾患セッティングにおいて積極的に探究されている。作用機序は明らかになっていないが、局所免疫抑制の解除の逆転及び免疫応答の増強の両方ともに、可能な説明である。強力なワクチンを統合してチェックポイント遮断抗体による免疫応答を惹起すると、複数の動物試験で観察されているとおり、相乗作用がもたらされ得る (van Elsas et al 「抗細胞傷害性 T リンパ球関連抗原 4 (CTLA-4) 及び顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 産生ワクチンを使用した B16 メラノーマの併用免疫療法は、自己免疫性色素脱失を伴う皮下腫瘍及び転移性腫瘍の拒絶を誘導する」J Exp Med 190: 35-366 (1999); Li et al, 「抗プログラム死 1 は、樹立腫瘍を有するマウスに治療利益を提供する顆粒球マクロファージコロニー刺激因子分泌腫瘍細胞免疫療法と相乗作用を及ぼす (Anti-programmed death-1 synergizes with granulocyte macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor cell immunotherapy providing therapeutic benefit to mice with established tumors)」Clin Cancer Res 15: 1623-1634 (2009); Pardoll, D. M. 「癌免疫療法における免疫チェックポイントの遮断 (The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy)」Nature Reviews Cancer 12: 252-264 (2012); Curran et al. 「PD-1 及び CTLA-4 併用遮断は B16 メラノーマ腫瘍内の浸潤性 T 細胞を拡大し、調節性 T 細胞及び骨髄性細胞を減少させる (PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors)」. Proc Natl Acad Sci USA. 2010 Mar 2; 107(9): 4275-80; Curran et al. 「flt3 リガンドを発現する腫瘍ワクチンは ctla-4 遮断と相乗作用を及ぼして予め移植された腫瘍を拒絶する (Tumor vaccines expressing flt3 ligand synergize with ctla-4 blockade to reject preimplanted tumors)」. Cancer Res. 2009 Oct 1; 69(19): 7747-55)。図 7 に示すとおり、ワクチンが調製されている間に患者は直ちにチェックポイント遮断治療薬を開始することができ、調製後、ワクチン投与が抗体療法と統合される；及び

2. 有益な免疫特性を呈する標準治療レジメンとの併用

a) 転移性疾患を示す腎細胞癌 (RCC) 患者は、典型的には外科的な減量術を受け、続いて、一般的にはスニチニブ、パゾパニブ及びソラフェニブなどの承認済みのチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の一つによる全身治療を受ける。承認済み TKI の中でスニチニブは、TH1 応答性を増加させ、Treg 及び骨髄由来サプレッサー細胞を減少させることが示されている (Finke et al, 「スニチニブは腎細胞癌患者において 1 型免疫抑制を逆転させ、T 調節性細胞を減少させる (Sunitinib reverses Type-1 immune suppression and decreases T-regulatory cells in renal cell carcinoma patients)」Clin Can Res 14: 6674-6682 (2008); Terme et al, 「VEGFA-VEGFR 経路遮断は結腸直腸癌における腫瘍誘導性調節 T 細胞増殖を阻害する (VEGFA-VEGFR pathway blockade inhibits tumor-induced regulatory T cell proliferation in colorectal cancer)」(Cancer Research Author Manuscript published Online(2102))。免疫系を損なわない承認済み治療薬で患者を直ちに治療可能であることにより、ワクチンの調製に必要なウィンドウが提供され、ワクチン治療薬との相乗作用がもたらされ得る。加えて、複数の動物及びヒト試験においてシクロホスファミド (CTX) が Treg 細胞に阻害効果を及ぼすことが示されており、且つ最近になってワクチン前の単回用量の CTX が、ワクチンに应答した RCC 患者の生存を改善することが示されている (Walter et al, 「単回用量シクロホスファミド後の癌ワクチン IMA901 に対する多ペプチド免疫応答は、より長い患者生存に関連する」Nature Medicine 18: 1254-1260 (2012))。これらの免疫相乗作用手法は両方とも、RCC 中の天然ペプチドワクチンの最近完了した第

10

20

30

40

50

3相試験において利用されている (Clinical Trials. gov, 進行性 / 転移性腎細胞癌に対するスニチニブの投与を受けている患者における NCT01265901 IMA901 (NCT01265901 IMA901 in Patients Receiving Sunitinib for Advanced/Metastatic Renal Cell Carcinoma)) ;

b) 或いは、膠芽腫 (GBM) の標準治療には、手術、回復及びフォローアップ放射線及び低用量テモゾロミド (TMZ)、続いて4週間の休止期間の後、標準用量 TMZ の開始が関わる。この標準治療はワクチン調製のためのウィンドウを提供し、それにワクチン接種の開始と、その後に標準用量 TMZ の開始が続く。興味深いことに、転移性メラノーマにおける試験では、標準用量 TMZ 治療中のペプチドワクチン接種により、ワクチン接種単独と比較して計測される免疫応答性が増加したことから、さらなる相乗的利益が示唆される (Kyte et al, 「テロメラーゼペプチドワクチン接種のテモゾロミドとの併用: ステージ IV メラノーマ患者における臨床試験 (Telomerase peptide vaccination combined with temozolomide: a clinical trial in stage IV melanoma patients)」 Clin Cancer Res 17: 4568 (2011))。

10

【0300】

実施例6: ワクチン調製

患者腫瘍組織を外科的に切除し、腫瘍組織を脱凝集して、DNA及びRNA抽出並びに患者特異的メラノーマ細胞系の樹立に使用される一部を分離し得る。腫瘍組織から抽出されたDNA及び/又はRNAを使用して全エクソームシーケンシング (例えば、Illumina HiSeqプラットフォームを使用することによる) を行い、HLAタイピング情報を決定し得る。本発明の範囲内で、タンパク質ベースの技術 (例えば、質量分析法) により、ミスセンス又はネオORFネオ抗原ペプチドを直接同定し得ることが企図される。

20

【0301】

バイオインフォマティクス解析は以下のとおり行われ得る。エクソーム及びRNA-SEQ fast Qファイルの配列解析は、多くの患者試料に関するTCGAなどの大規模プロジェクトで広範に使用され及び検証されている既存のバイオインフォマティクスパイプラインを利用し得る (例えば、Chapman et al, 2011; Stransky et al, 2011; Berger et al, 2012)。2つの連続的な解析カテゴリー: データ処理及び癌ゲノム解析がある。

【0302】

データ処理パイプライン: Picardデータ処理パイプライン (picard.sourceforge.net/) はシーケンシングプラットフォームにより開発された。各腫瘍及び正常試料について (例えば、Illumina) シーケンサーから抽出された生データがPicardパイプラインの様々なモジュールを使用して以下の処理に供される:

30

(i) クオリティリキャリブレーション: Illuminaパイプラインにより報告される元の塩基クオリティスコアが、リードサイクル、レーン、フローセルタイル、問題の塩基、及び先行する塩基に基づきリキャリブレーションされ得る。

【0303】

(ii) アラインメント: BWA (Li and Durbin, 2009) を使用してリードペアがヒトゲノム (hg19) に対してアラインメントされ得る。

40

(iii) デュプリケートのマーキング: PCR及び光学的デュプリケートがリードペアマッピング位置に基づき同定され、最終的なbamファイルにマーキングされ得る。

【0304】

Picardの出力はbamファイルであり (Li et al, 2009) (samtools.sourceforge.net/SAM1.pdf)、これは所与の試料に関する全てのリードの塩基配列、クオリティスコア、及びアラインメントの詳細を保存する。

【0305】

癌突然変異検出パイプライン: Picardパイプラインからの腫瘍bamファイル及び対応する正常bamファイルは以下に記載するとおり解析され得る:

50

1. クオリティコントロール

(i) 試料に関して数十個の部位で行われる最初のSNPフィンガープリンティングを、それらの部位におけるエクソームシーケンシングのピルアップと比較することにより、シーケンシング中に試料のミックスアップを行い得る。

【0306】

(ii) 初めに腫瘍試料及び正常試料の両方について同じライブラリに対応するレーンの挿入サイズ分布を比較し、且つ異なる分布を有するレーンを捨てることにより、試料内腫瘍/正常ミックスアップを確認し得る。バイオインフォマティクス解析を腫瘍及び対応する正常エクソーム試料に適用すると、DNAコピー数プロファイルが得られ得る。腫瘍試料はまた、対応する正常試料と比べて多いコピー数変異も有するはずである。フラットなプロファイルを有しない正常試料に対応するレーンを切り捨て、これは同じ腫瘍試料由来の他のレーンと一致するプロファイルを有しない腫瘍レーンを切り捨てるのと同様である。

【0307】

(iii) バイオインフォマティクスにより作成されたコピー数プロファイルに基づき腫瘍純度及び倍数性を推定し得る。

(iv) ContEst (Cibulskis et al, 2011) を使用して試料の交差試料汚染レベルを決定し得る。

【0308】

2. 推定インデルの周りの局所的リアライメント

参照ゲノムに関する真の体細胞及び生殖系列小インデルは、多くの場合にミスアライメント並びにミスセンス突然変異及びインデルのミスコールをもたらす。これは、GATK IndelRealignerモジュール(ワールドワイドウェブ上の(www) broadinstitute.org/gatkにある)を使用して(McKenna et al, 2010; DePristo et al, 2011)、推定インデルの周辺にマッピングされる全てのリードの局所的リアライメントを行い、それらを網羅的に評価してインデルコールの一貫性及び正しさを確保することにより修正し得る。

【0309】

3. 体細胞性単一ヌクレオチド変異(SSNV)の同定

mutectと称されるベイズ統計のフレームワークを使用して患者の腫瘍及び対応する正常試料を分析することにより、体細胞性塩基対置換を同定し得る(Cibulskis et al, 2013)。前処理ステップにおいて、圧倒的多数の低クオリティ塩基又はゲノムとの mismatchesを有するリードがフィルタリングで除かれる。次にMutectは2つの対数オッズ(LOD)スコアを計算し、これは、それぞれ腫瘍試料及び正常試料中における変異体の存在及び非存在の信頼度を包含(encapsulate)する。処理後段階では、候補突然変異が、キャプチャー、シーケンシング及びアライメントのアーチファクトを説明するため様々な基準によって実験的にフィルタリングされる。例えば、かかるフィルタの一つは、突然変異を有するリードの向きの分布と遺伝子座にマッピングされるリードの全体的な向きの分布との間の一致を試験し、ストランドバイアスがないことを確実にする。次に最終的な突然変異セットを、Oncotatorツールで、ゲノム領域、コドン、cDNA及びタンパク質変化を含むいくつかのフィールドによってアノテーションする。

【0310】

4. 体細胞性の小さい挿入及び欠失の同定

セクション2.2からの局所的リアライメント出力を使用して、それぞれ腫瘍bam単独又は腫瘍及び正常の両方のbamにおける変異体を裏付けるリードの評価に基づき候補体細胞及び生殖系列インデルを予測し得る。 mismatchesの数及び分布並びに塩基クオリティスコアに基づくさらなるフィルタリングが行われ得る(McKenna et al, 2010, DePristo et al, 2011)。全てのインデルを、Integrated Genomics Viewer(Robinson et al, 2011)(ワールドワイドウェブ上の(www) broadinstitute.org/igvにある)を使用して手動で調べ、高フィデリティの

10

20

30

40

50

コールを確実にし得る。

【0311】

5. 遺伝子融合検出

遺伝子融合検出パイプラインの最初のステップは、既知の遺伝子配列のライブラリに対する腫瘍RNA-Seqリードのアラインメントと、続くゲノム座標へのこのアラインメントのマッピングである。ゲノムマッピングは、エクソンを共有する異なる転写変異体にマッピングされる複数のリードペアを共通のゲノム位置に縮める助けとなる。DNAをアラインメントしたbamファイルは、異なる染色体上にあるか、或いは同じ染色体上の場合少なくとも1MB離れている2つの異なるコード領域に2つのメイトがマッピングされるリードペアに関して問い合わせを受け得る。また、そのそれぞれ遺伝子においてアラインメントされるペアエンドが(推定)融合mRNA転写物のコーディング->コーディング5'->3'の向きと一致する向きであることも必要となり得る。少なくとも2つのかかる「キメラ」リードペアがある遺伝子ペアのリストを、さらなる精緻化に供する最初の推定イベントリストとして列挙し得る。次に、全てのアラインメントされていないリードを、そのメイトが当初アラインメントされたという制約を加えて元のbamファイルから抽出し、上記に記載したとおり得られた遺伝子ペアの遺伝子の1つにマッピングし得る。次に当初アラインメントされなかった全てのかかるリードを、発見された遺伝子ペア間の可能な全てのエクソン-エクソン接合部(完全長、境界から境界まで、コーディング5'->3'向き)で作られるカスタムの「参照」とアラインメントする試みが行われ得る。当初アラインメントされなかったかかるリードの一つが遺伝子Xのエクソンと遺伝子Yのエクソンとの間の接合部に(ユニークに)マッピングされ、且つそのメイトが実際に遺伝子X又はYの一方にマッピングされた場合、かかるリードは「融合」リードとしてマークされ得る。遺伝子融合イベントは、エクソン:エクソン接合部の周りに過剰な数のミスマッチがなく、及びいずれの遺伝子においても少なくとも10bpのカバレッジで、そのメイトに対して正しい相対的向きの少なくとも1つの融合リードがある場合にコールされ得る。高度に相同の遺伝子(例えばHLAファミリー)の間の遺伝子融合は誤りである可能性が高く、フィルタリングで除かれ得る。

【0312】

6. クロナリティーの推定

バイオインフォマティクス解析を用いて突然変異のクロナリティーを推定し得る。例えば、ABSOLUTEアルゴリズム(Carter et al, 2012; Landau et al, 2013)を用いて、腫瘍純度、倍数性、絶対コピー数及び突然変異のクロナリティーを推定し得る。各突然変異の対立遺伝子率の確率密度分布を作成し、続いて突然変異の癌細胞率(CCF)に変換し得る。突然変異は、それらのCCFが0.95を超える事後確率がそれぞれ0.5より大きいか又は小さいかに基づきクローナル又はサブクローナルとして分類され得る。

【0313】

7. 発現の定量化

TopHatスイート(Langmead et al, 2009)を使用して、hg19ゲノムに対して腫瘍bam及び対応する正常bamのRNA-Seqリードをアラインメントし得る。RNA-Seq(DeLuca et al, 2012)パッケージによりRNA-Seqデータのクオリティを評価し得る。次にRSEMツール(Li et al, 2011)を使用して遺伝子及びアイソフォーム発現レベルを推定し得る。キロベース当たりの生成されたリードの百万分率及び推定値を使用して、他の部分に記載されるとおりの各患者において同定されたネオ抗原に優先順位を付け得る。

【0314】

8. RNA-Seqにおける突然変異の検証

全エクソームデータの解析(セクション2.3)によって同定される突然変異を、患者の対応するRNA-Seq腫瘍bamファイルにおける存在に関して評価し得る。各変異体遺伝子座について、ベータ二項分布に基づく検出力計算を実施し、それをRNA-Seqデータ中に検出する少なくとも80%の検出力があることを確実にし得る。キャプチャ

ーにより同定された突然変異は、適切な検出力の部位について突然変異を有するリードが少なくとも2つある場合に検証されたと見なし得る。

【0315】

腫瘍特異的突然変異含有エピトープの選択：Center for Biological Sequence Analysis, Technical University of Denmark、オランダによって提供及び管理されるニューラルネットワークベースのアルゴリズム *netMHC* を使用して、全てのミスセンス突然変異及びネオORFを突然変異含有エピトープの存在に関して解析し得る。この一群のアルゴリズムは、一連の関連手法の間で最近完了したコンペティションに基づき最高位のエピトープ予測アルゴリズムと評価された（参照）。複数の異なるヒトHLA A及びB対立遺伝子に関し、100,000超の計測された結合及び非結合相互作用を利用して人工ニューラルネットワークベースの手法を用いてアルゴリズムを訓練した。

10

【0316】

アルゴリズムの正確さは、HLAアロタイプが既知のCLL患者に見出される突然変異から予測を実施することにより評価した。含まれたアロタイプは、A0101、A0201、A0310、A1101、A2402、A6801、B0702、B0801、B1501であった。予測は各突然変異にわたる全ての9mer及び10merペプチドについて、*mid-2011*で*netMHCpan*を使用して、行った。これらの予測に基づき、74個の9merペプチド及び63個の10merペプチド（ほとんどが500nM未満の予測親和性を有した）を合成し、競合的結合アッセイ（Sette）を用いて結合親和性を測定した。

20

【0317】

これらのペプチドの予測を、2013年3月に最新版の*netMHC*サーバの各々（*netMHCpan*、*netMHC*及び*netMHCcons*）を使用して繰り返した。これらの3つのアルゴリズムは、2012年のコンペティションで使用された20のグループの中で最高位のアルゴリズムであった（Zhang et al）。次に新しい予測の各々に関して、実測結合親和性を評価した。各一組の予測値及び実測値について、範囲毎の正しい予測の%、並びに試料の数が得られる。各範囲の定義は以下のとおりである：

0 - 150：150nM以下の親和性を有すると予測され、且つ150nM以下の親和性を有することが計測される。

【0318】

0 - 150*：150nM以下の親和性を有すると予測され、且つ500nM以下の親和性を有することが計測される。

30

151 - 500nM：150nMより高いが500nM以下の親和性を有すると予測され、且つ500nM以下の親和性を有することが計測される。

【0319】

FN (> 500nM)：偽陰性 - 500nMより高い親和性を有すると予測されるが、500nM以下の親和性を有することが計測される。

9merペプチド（表1）については、アルゴリズム間の差はほとんどなく、*netMHCcons*の151~500nM範囲が僅かに高い値であったが、試料数が少ないため重大ではないと判断された。

40

【0320】

50

【表 1】

表 1

範囲 (nM)	9mer PAN	9mer netMHC	9mer CONS
0-150	76% (33)	78% (37)	76% (34)
0-150*	91% (33)	89% (37)	88% (34)
151-500	50% (28)	50% (14)	62% (13)
FN (>500)	38% (13)	39% (23)	41% (27)

10

【0321】

10mer ペプチド (表 2) についても同様に、アルゴリズム間の差はほとんどなかったが、但し netMHC は netMHCpan 又は netMMHCcons と比べて大幅に多い偽陽性を生じた。しかしながら、9mer と比較して 10mer 予測精度は 0 ~ 150 nM 及び 0 ~ 150* nM 範囲で僅かに低く、及び 151 ~ 500 nM 範囲で大幅に低い。

20

【0322】

【表 2】

表 2.

範囲 (nM)	10mer PAN	10mer netMHC	10mer CONS
0-150	53% (19)	50% (16)	59% (17)
0-150*	68% (19)	69% (16)	76% (17)
151-500	35% (26)	42% (12)	35% (23)
FN (>500)	11% (18)	23% (35)	13% (23)

30

【0323】

10mer については、151 ~ 500 nM 範囲では結合体に関して 50% 未満の精度であるため、0 ~ 150 nM 範囲の予測のみを利用し得る。

40

任意の個々の HLA 対立遺伝子の試料数が、種々の対立遺伝子についての予測アルゴリズムの正確さに関する任意の結論を引き出すには少な過ぎた。利用可能な最大のサブセット (0 ~ 150* nM ; 9mer) のデータを例として表 3 に示す。

【0324】

50

【表 3】

表 3

対立遺伝子	補正分率
A0101	2/2
A0201	9/11
A0301	5/5
A1101	4/4
A2402	0/0
A6801	3/4
B0702	4/4
B0801	1/2
B1501	2/2

10

【0325】

20

H L A C 対立遺伝子に関しては予測の正確さを判断する利用可能なデータがほとんどないため、H L A A 及び B 対立遺伝子の予測のみを利用し得る (Zhang et al)。

メラノーマ配列情報及びペプチド結合予測の評価は、T C G A データベースからの情報を用いて実施した。種々の患者の 220 例のメラノーマからの情報により、平均して患者当たり約 450 個のミスセンス及び 5 個のネオ O R F があることが明らかになった。20 人の患者を無作為に選択し、netMHC を使用して全てのミスセンス突然変異の予測結合親和性を計算した (Lundegaard et al 「ニューラルネットワークベースの方法を用いたエピトープの予測 (Prediction of epitopes using neural network based method)」 J Immunol Methods 374: 26 (2011))。これらの患者は H L A アロタイプが未知であったため、当該のアロタイプの頻度に基づきアロタイプ毎の予測結合ペプチドの数を調整し (地理的範囲における予想される罹患優性集団 [メラノーマについて白人] の骨髄登録データセット)、患者当たりの予測される作用可能な突然変異体エピトープ数を求めた。これらの突然変異体エピトープ (M U T) の各々について、対応する天然 (W T) エピトープ結合もまた予測した。K d 500 nM 及び 5 倍より大きい W T / M U T K d 比を有する予測ミスセンス結合体の単一のペプチド及び各ネオ O R F の完全長にわたるオーバーラップペプチドを利用して、80% (20 人中 16 人) の患者が、ワクチン接種に適切な少なくとも 20 個のペプチドを有すると予測された。患者の四分の一は、20 個のペプチドの約半分乃至全てをネオ O R F ペプチドが構成し得た。従って、メラノーマには、患者の高い割合が十分な数の免疫原性ペプチドを生じると予想するのに十分な突然変異負荷がある。

30

40

【0326】

実施例 7：免疫ペプチドの優先順位付け

免疫化用のペプチドは、いくつかの基準に基づき優先順位が付けられ得る：ネオ O R F 対ミスセンス、突然変異ペプチドの予測 K d、突然変異ペプチドと比較した天然ペプチドの予測親和性の比較可能性、突然変異が発癌ドライバー遺伝子に起こるか、それとも関連経路に起こるか、及び R N A - S e q リード数 (例えば、図 8 を参照)。

【0327】

図 8 に示されるとおり、結合すると予測される (K d < 500 nM) ネオ O R F 突然変異のセグメントに由来するペプチドには、これらの完全に新規の配列に対するトランスの欠如及びそれらの優れた腫瘍特異性に基づき、最も高い優先順位が付けられ得る。

50

【0328】

天然ペプチドが結合しないと予測され ($K_d > 1000 \text{ nM}$) 且つ突然変異ペプチドが強力な / 中程度の親和性で結合する ($K_d < 150 \text{ nM}$) と予測されるミスセンス突然変異の同様のクラスには、次に高い優先順位が付けられ得る。このクラス (上記で考察されるグループ I) は、天然に観察される T 細胞応答の約 20% に相当する。

【0329】

3 番目に高い優先順位が、上記で考察されるグループ I I クラスのうちより強く結合する ($< 150 \text{ nM}$) サブセットに付けられ得る。このクラスは近似的に天然に観察される T 細胞応答のほぼ 3 分の 2 を占める。

【0330】

ネオ ORF 突然変異に由来する残りのペプチドは全て、4 番目の優先順位が付けられ得る。結合しないと予測されるにも関わらず、これらは、既知の偽陰性率、HLA - C との潜在的な結合可能性、クラス I I エピトープが存在する潜在的な可能性及び完全に外来性の抗原を利用する高価値に基づき含まれる。

【0331】

5 番目の優先順位は、予測結合親和性が低い ($150 \sim 500 \text{ nM}$) グループ I I のサブセットに付けられ得る。このクラスは天然に観察される T 細胞応答の約 10% を占める。

【0332】

予測親和性が低下するに従い、発現レベルに対してより高いストリンジェンシーが適用され得る。各グループ分けの範囲内で、ペプチドが結合親和性に基づきランク付けされる (例えば、最も低い K_d が最も高い優先順位を有し得る)。ミスセンス突然変異の所与のグループ分けの範囲内で、発癌ドライバー突然変異には、より高い優先順位が付けられ得る。全ての既知のヒトタンパク質配列 (HG19) からキュレートされた約 1260 万個のユニークな 9 及び 10 mer の正常ヒトペプチドームライブラリが作成されている。最終的な選択の前に、ミスセンス突然変異及び全てのネオ ORF 領域に由来する任意の潜在的予測エピトープをこのライブラリに対してスクリーニングすることができ、完全一致が除外され得る。以下で考察するとおり、有害な生化学的特性を有すると予測される特定のペプチドは除去されるか又は修飾され得る。

【0333】

本明細書の技法によれば、RNA レベルを分析してネオ抗原発現を評価し得る。例えば、RNA - Seq リードカウントを代理として使用してネオ抗原発現を推定し得る。しかしながら、現在、腫瘍細胞において細胞溶解を惹起するのに必要とされる最小要求 RNA 発現レベルを評価するために利用可能な情報はない。ナンセンス介在分解機構が運命付けられているメッセージの「先駆」翻訳からの発現レベルであっても、標的生成には十分であり得る。従って、本明細書の技法は、初めに、優先順位グループに反比例して変化し得る RNA レベルに対して広い許容限界を設定する。予測親和性が低下するに従い、発現レベルに対してより高いストリンジェンシーが適用され得る。当業者は、さらなる情報が利用可能になるにつれ、かかる限界が調整され得ることを理解するであろう。

【0334】

その新規性及び優れた腫瘍特異性に起因して、ネオ ORF は標的としての価値が高いため、RNA - Seq によって検出可能な mRNA 分子がない場合にも、予測結合エピトープ ($K_d < 500 \text{ nM}$) を有するネオ ORF が利用され得る (ランク 1)。予測結合エピトープのない ($> 500 \text{ nM}$) ネオ ORF の領域は、概して、あるレベルの RNA 発現が検出される場合に限り利用され得る (ランク 4)。強力乃至中程度の予測 MHC 結合親和性 ($< 150 \text{ nM}$) を有する全てのミスセンス突然変異は、概して、RNA - Seq リードがなかった場合を除き利用され得る (ランク 2 及び 3)。それより低い予測結合親和性のミスセンス突然変異 ($150 \sim 500 \text{ nM}$) は、やや高いレベルの RNA 発現が検出された場合に限り利用される可能性が高い (ランク 5)。

【0335】

発癌ドライバーは高い優先順位のグループに相当し得る。例えば、ミスセンス突然変異

10

20

30

40

50

の所与のグループ分けの範囲内で、発癌ドライバー突然変異はより高い優先順位となり得る。この手法は、免疫圧力（例えば、免疫編集）の標的となる遺伝子の観察された下方制御に基づく。下方制御が癌細胞成長の有害効果を有しないこともある他の免疫標的とは対照的に、発癌ドライバー遺伝子の持続的発現は癌細胞生存にとって不可欠であり、従って免疫エスケープ経路を遮断し得る。例示的発癌ドライバーを表3 - 1に掲載する（例えば、Vogelstein et al; G O T E R M _ B P 遺伝子オントロジー用語 - 生物学的機能に対する遺伝子の割当て、ワールドワイドウェブ上の (www) g e n e o n t o l o g y . o r g ; B I O C A R T A シグナル伝達経路に対する遺伝子の割当て、ワールドワイドウェブ上の (www) b i o c a r t a . c o m ; K E G G K E G G 経路データベースに従う経路に対する遺伝子の割当て、ワールドワイドウェブ上の (www) g e n o m e . j p / k r g g / p a t h w a y . h t m l ; R E A C T O M E R E A C T O M E 経路に従う経路及び遺伝子相互作用に対する遺伝子の割当て、ワールドワイドウェブ上の (www) r e a c t o m e . o r g を参照）。

【 0 3 3 6 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 3-1 例示の発癌ドライバー遺伝子

遺伝子 記号	遺伝子名	突然変異 腫瘍試料数 **	癌遺伝子 スコア*	腫瘍抑制遺 伝子スコア*	分類*	中心経路	プロセス
ABL1	c-abl癌遺伝子1、受 容体チロシンキナー ゼ	851	93%	0%	癌遺伝子	細胞周期/アポ トーシス	細胞生存
AKT1	v-aktマウス胸腺腫ウ イルス癌遺伝子ホモ ログ1	155	93%	1%	癌遺伝子	PI3K	細胞生存
ALK	未分化リンパ腫受容 体チロシンキナーゼ	189	72%	1%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
AR	アンドロゲン受容体	23	54%	0%	癌遺伝子	転写調節	細胞運命
BCL2	B細胞CLL/リンパ腫 2	45	27%	1%	癌遺伝子	細胞周期/アポ トーシス	細胞生存
BRAF	v-rafマウス肉腫ウイ ルス癌遺伝子ホモロ グB1	24288	100%	0%	癌遺伝子	RAS	細胞生存
CARD11	カスパーゼ動員ドメイ ンファミリー、メンバ ー11	74	30%	1%	癌遺伝子	細胞周期/アポ トーシス	細胞生存
CBL	Cas-Br-M(マウス)エ コトロピックレトロウイ ルス形質転換配列	168	57%	9%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
CRLF2	サイトカイン受容体縁 因子2	10	100%	0%	癌遺伝子	STAT	細胞生存
CSF1R	コロニー-刺激因子1 受容体	48	50%	15%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
CTNNB1	カテニン(カドヘリン 関連タンパク質)、 β1、88kDa	3262	92%	1%	癌遺伝子	APC	細胞運命
DNMT1	DNA(シトシン-5-)メ チルトランスフェラー ゼ1	22	36%	5%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
DNMT3A	DNA(シトシン-5-)メ チルトランスフェラー ゼ3α	788	74%	12%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
EGFR	上皮成長因子受容 体(赤芽球性白血病 ウイルス(v-erb-b)癌 遺伝子ホモログ、ト リ)	10628	97%	0%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
ERBB2	v-erb-b2赤芽球性白 血病ウイルス癌遺伝 子ホモログ2、神経/ 膠芽腫由来癌遺伝 子ホモログ(トリ)	164	67%	3%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
EZH2	zesteホモログ2のエ ンハンサー(ショウジョ ウバエ属 (Drosophila))	276	67%	12%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
FGFR2	線維芽細胞成長因 子受容体2	121	49%	6%	癌遺伝子	PI3K;RAS;ST AT	細胞生存
FGFR3	線維芽細胞成長因 子受容体3	2948	99%	0%	癌遺伝子	PI3K;RAS;ST AT	細胞生存

【 0 3 3 7 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

遺伝子 記号	遺伝子名	突然変異 腫瘍試料数 **	癌遺伝子 スコア*	腫瘍抑制遺 伝子スコア*	分類*	中心経路	プロセス
FLT3	fms関連チロシンキ ナーゼ3	11520	98%	0%	癌遺伝子	RAS;PI3K;ST AT	細胞生存
FOXL2	フォークヘッドボック スL2	330	100%	0%	癌遺伝子	TGF-β	細胞運命
GATA2	GATA 結合タンパク 質 2	45	53%	4%	癌遺伝子	NOTCH,TGF- β	細胞運命
GNAI1	グアニヌクレオチド 結合タンパク質(Gタ ンパク質), α11(Gq クラス)	110	92%	1%	癌遺伝子	PI3K;RAS;M APK	細胞生存
GNAQ	グアニヌクレオチド 結合タンパク質(Gタ ンパク質), qポリペプ チド	245	95%	1%	癌遺伝子	PI3K;RAS;M APK	細胞生存
GNAS	GNAS複合座	422	93%	2%	癌遺伝子	APC;PI3K;TG F-β;RAS	細胞生存/ 細胞運命
H3F3A	H3 ヒストン、ファミ リー3B(H3.3B);H3 ヒ ストン、ファミリー3A 偽遺伝子;H3 ヒスト ン、ファミリー3A;H3 ヒストン、ファミリ ー3Bと同様;ヒスト ンH3.3Bと同様	122	93%	0%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
HIST1H3B	ヒストンクラスター1、 H3j;ヒストンクラス ター1、H3i;ヒストンク ラスター1、H3h;ヒス トンクラスター1、 H3g;ヒストンクラス ター1、H3f;ヒストンク ラスター1、H3e;ヒス トンクラスター1、 H3d;ヒストンクラス ター1、H3c;ヒストンク ラスター1、H3b;ヒス トンクラスター1、 H3a;ヒストンクラス ター1、H2ad;ヒスト ンクラスター2、H3a;ヒ ストンクラスター2、 H3c;ヒストンクラス ター2、H3d	25	60%	0%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
HRAS	v-Ha-rasハーベイラ ット肉腫ウイルス癌遺 伝子ホモログ	812	96%	0%	癌遺伝子	RAS	細胞生存
IDH1	イソクエン酸脱水素 酵素 1(NADP+) 可溶性	4509	100%	0%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
IDH2	イソクエン酸脱水素 酵素 2(NADP+) ミトコンドリア	1029	99%	0%	癌遺伝子	クロマチン修飾	細胞運命
JAK1	ヤヌスキナーゼ1	61	26%	18%	癌遺伝子	STAT	細胞生存
JAK2	ヤヌスキナーゼ2	32692	100%	0%	癌遺伝子	STAT	細胞生存
JAK3	ヤヌスキナーゼ3	89	60%	6%	癌遺伝子	STAT	細胞生存

【 0 3 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

遺伝子 記号	遺伝子名	突然変異 腫瘍試料数 **	癌遺伝子 スコア*	腫瘍抑制遺 伝子スコア*	分類*	中心経路	プロセス
KIT	マスト/幹細胞成長因子受容体前駆体(SCFR)と同様(酪氨酸転写因子チロシンキナーゼドメイン) (c-kit)(CD117抗原);v-kitハーディー;ズッカーマン4ネコ肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ	4720	90%	0%	癌遺伝子	PI3K;RAS;STAT	細胞生存
KLF4	クルッペル様因子4	61	80%	4%	癌遺伝子	転写調節;WNT	細胞運命
KRAS	v-Ki-ras2 カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ	23261	100%	0%	癌遺伝子	RAS	細胞生存
MAP2K1	マイジェン活性化タンパク質キナーゼ1	13	67%	0%	癌遺伝子	RAS	細胞生存
MED12	メディアエーター複合体サブユニット12	337	84%	0%	癌遺伝子	細胞周期/アポトーシス;TGF-β	細胞生存
MET	met癌遺伝子(肝細胞増殖因子受容体)	159	61%	4%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
MPL	骨髄増殖性白血病ウイルス癌遺伝子	531	96%	0%	癌遺伝子	STAT	細胞生存
MYD88	ミエロイド分化一次応答遺伝子(88)	134	92%	1%	癌遺伝子	細胞周期/アポトーシス	細胞生存
NFE2L2	核因子(赤血球由来2)様2	102	74%	1%	癌遺伝子	細胞周期/アポトーシス	細胞生存
NRAS	神経芽細胞腫RASウイルス(v-ras)癌遺伝子ホモログ	2738	99%	0%	癌遺伝子	RAS	細胞生存
PDGFRA	血小板由来成長因子受容体、αポリペプチド	653	84%	1%	癌遺伝子	PI3K;RAS	細胞生存
PIK3CA	ホスホイリジド-3-キナーゼ、触媒、αポリペプチド	4560	95%	1%	癌遺伝子	PI3K	細胞生存
PPP2R1A	タンパク質ホスファターゼ2(II 2A)、調節性サブユニット A、αアイソフォーム	86	85%	2%	癌遺伝子	細胞周期/アポトーシス	細胞生存
PTPN11	タンパク質チロシンホスファターゼ、非受容体型 11;タンパク質チロシンホスファターゼ、非受容体型 11と同様	410	90%	0%	癌遺伝子	RAS	細胞生存
RET	ret癌遺伝子	500	86%	1%	癌遺伝子	RAS;PI3K	細胞生存

10

20

30

【 0 3 3 9】

【表 4 - 4】

遺伝子 記号	遺伝子名	突然変異 腫瘍試料数 **	癌遺伝子 スコア*	腫瘍抑制遺 伝子スコア*	分類*	中心経路	プロセス
SETBP1	SET結合タンパク質1	95	25%	4%	癌遺伝子	クロマチン修飾;複製	細胞運命
SF3B1	スプライシング因子3b、サブユニット1、155kDa	516	91%	0%	癌遺伝子	転写調節	細胞運命
SMO	スムーズドホモログ(ショウジョウバエ属(Drosophila))	34	51%	3%	癌遺伝子	HH	細胞運命
SPOP	スペックル型POZタンパク質	35	66%	3%	癌遺伝子	クロマチン修飾;HH	細胞運命
SRSF2	SRSF2セリン/アルギニンリッチスプライシング因子2	273	95%	2%	癌遺伝子	転写調節	細胞運命
TSHR	甲状腺刺激ホルモン受容体	301	86%	0%	癌遺伝子	PI3K;MAPK	細胞生存
U2AF1	U2核内低分子RNA補助因子1	96	92%	1%	癌遺伝子	転写調節	細胞運命

40

50

【 0 3 4 0 】

実施例 8 : ペプチド作製及び製剤化

免疫用の GMP ネオ抗原ペプチドを、FDA の規定に従い化学合成、Merrifield RB : 「固相ペプチド合成 I . テトラペプチドの合成 (Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide) 」 . J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-54, 1963) によって調製し得る。20 個の各約 20 ~ 30 mer ペプチドの 3 つの開発ランが実施されている。各ランは同じ施設で実施され、ドラフト GMP バッチ記録を利用して、GMP ランに使用されたものと同じ機器が利用された。各ランで > 50 mg の各ペプチドを作製することに成功し、現在計画されている全てのリリース試験 (例えば、外観、MS によるアイデンティティ、RP - HPLC による純度、窒素元素による含量、及び RP - HPLC による TFA 含量) によってそれらを試験し、適宜目標規格に適合させた。生成物はまた、プロセスのこの部分に見込まれる時間フレーム (約 4 週間) の範囲内で作製した。凍結乾燥バルクペプチドを長期安定性試験にかけており、これは最長 12 ヶ月までの種々の時点で評価され得る。

10

【 0 3 4 1 】

これらのランからの材料を使用して、計画された溶解及び混合手法が試験されている。簡潔に言えば、各ペプチドを 100 % DMSO 中に高濃度 (50 mg / ml) で溶解し、水性溶媒中に 2 mg / ml に希釈し得る。当初、希釈剤として PBS を使用し得ると見込まれたが、しかしながら少数のペプチドの塩析は目に見える混濁を生じた。D5W (水中 5 % デキストロース) は、はるかに有効性が高いことが示された ; 40 個中 37 個のペプチドで、清澄な溶液に希釈することに成功した。唯一問題のあるペプチドは、極めて疎水性のペプチドである。計画された免疫ペプチドの予測される生化学的特性を評価し、それに従い合成計画を変更してもよい (より短いペプチドを使用する、合成する領域を予測エピトープの周りで N 末端又は C 末端方向にシフトさせる、又は代替的ペプチドを潜在的に利用する) 。 DMSO / D5W 中の 10 個の別個のペプチドを 2 回の凍結 / 解凍サイクルに供し、完全な回復が示された。2 つの個々のペプチドを DMSO / D5W 中に溶解し、2 つの温度 (- 20 °C 及び - 80 °C) で安定下に置いた。これらのペプチドは最長 6 ヶ月まで評価することになる (RP - HPLC、MS 及び pH) 。現在までに、12 週の時点で両方のペプチドとも安定しており、24 週目にさらなる時点が評価される。

20

【 0 3 4 2 】

図 9 に示されるとおり、剤形プロセスの設計は、各 5 個のペプチドからなる患者特異的ペプチドの 4 つのプールを調製することである。RP - HPLC アッセイが調製されており、これらのペプチド混合物の評価に適格であるとされている。このアッセイは、単一混合物内の複数のペプチドの良好な分解能を達成し、また個々のペプチドの定量にも用いられ得る。

30

【 0 3 4 3 】

膜ろ過 (0 . 2 µm 細孔径) を使用してバイオバーデンを低下させ、最終ろ過滅菌を行い得る。初めに 4 つの異なる適切なサイズのフィルタタイプを評価し、Pall、PES フィルタ (4612 番) を選択した。現在までに、5 つの異なる各ペプチドの 4 つの異なる混合物が調製されており、個々に 2 つの PES フィルタで順次ろ過した。RP - HPLC アッセイを利用して各個々のペプチドの回収率を評価した。20 個中 18 個のペプチドについては、2 回のろ過後の回収率は 90 % 超であった。2 つの極めて疎水性のペプチドについては、小規模で評価したとき回収率は 60 % 未満であったが、規模を拡大するとほぼ完全に回収された (87 及び 97 %) 。前述のとおり、選択した配列の疎水性の性質を制限する手法が取られ得る。

40

【 0 3 4 4 】

免疫用の GMP ネオ抗原ペプチドは、FDA の規定に従い化学合成、Merrifield RB : 「固相ペプチド合成 I . テトラペプチドの合成 (Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide) 」 . J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-54, 1963) によって調製し得る。

50

【 0 3 4 5 】

実施例 9：エンドポイント評価

本試験の一次免疫学的エンドポイントは、エキソピボ I F N - E L I S P O Tにより計測される T細胞応答の評価であり得る。I F N - 分泌は、C D 4 + 及び / 又は C D 8 + T細胞によるコグネイトペプチドの認識又は分裂誘発刺激の結果として起こる。ワクチン接種に使用される 2 0 ~ 3 0 m e r ペプチドは抗原提示細胞によるプロセッシングを受けてより小さいペプチドになる必要があるため、インピボでは多数の異なる C D 4 + 及び C D 8 + 決定基が T細胞に提示される可能性があり得る。理論によって拘束されるものではないが、免疫系にとって新規の、従って自己トレランスの免疫抑制効果に供されない個別化されたネオ抗原ペプチドと、強力な免疫アジュバントポリ I C L C との組み合わせは、強力な C D 4 + 及び / 又は C D 8 + 応答を誘導し得ると考えられる。従って、T細胞応答がエキソピボで検出可能であり、即ち短期培養を通じてエピトープ特異的 T細胞をインピトロで拡大する必要がないことが予想される。患者は、初めに E L I S P O T アッセイで刺激物質として完全なペプチド免疫原プールを使用して評価され得る。ロバストな陽性応答を示す患者について、フォローアップ解析で正確な 1 つ又は複数の免疫原性ペプチドを決定し得る。I F N - E L I S P O T は、エキソピボで T細胞活性を検出し且つ特異性を決定するのにロバストで再現性の高いアッセイとして一般に受け入れられている。末梢血単球における T細胞応答の大きさの解析及び決定基マッピングに加えて、ワクチンによって誘導される免疫応答の他の側面が決定的に重要であり、評価され得る。これらの評価は、スクリーニングアッセイにおいてエキソピボ I F N - E L I S P O T 応答を呈する患者で行われ得る。それらには、T細胞サブセット (T h 1 対 T h 2、Tエフェクター対記憶細胞) の評価、調節性細胞、例えば調節性 T細胞又は骨髄由来のサブレッサー細胞の存在及び存在量の分析、及び患者特異的メラノーマ細胞系の樹立に成功した場合には細胞傷害性アッセイが含まれる。

10

20

【 0 3 4 6 】

実施例 1 0：ペプチド合成

G M P ペプチドは標準的な固相合成ペプチド化学により合成し、R P - H P L C により精製し得る。各個々のペプチドは、種々の適格なアッセイにより分析して外観 (目視)、純度 (R P - H P L C)、アイデンティティ (質量分析法による)、量 (窒素元素)、及びトリフルオロ酢酸対イオン (R P - H P L C) を評価し、リリースし得る。

30

【 0 3 4 7 】

個別化されたネオ抗原ペプチドは、各患者にユニークな最大 2 0 個の別個のペプチドから構成され得る。各ペプチドが、標準的なペプチド結合によりつながった約 2 0 ~ 約 3 0 個の L - アミノ酸の線状ポリマーであり得る。アミノ末端は第一級アミン (N H ₂ -) であってもよく、カルボキシ末端はカルボニル基 (- C O O H) である。哺乳類細胞に一般に見出される標準 2 0 アミノ酸が利用される (アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン)。各ペプチドの分子量はその長さ及び配列に基づき異なり、各ペプチドについて計算される。

40

【 0 3 4 8 】

個別化されたネオ抗原ペプチドは、色分けされたキャップを備える 2 m l N u n c C r y o バイアルが入った箱として供給されてもよく、各バイアルに約 4 0 0 μ g / m l の濃度の最大 5 個のペプチドを含有する 1 . 5 m l の凍結 D M S O / D 5 W 溶液が入っている。4 つのグループのペプチドの各々につき 1 0 ~ 1 5 本のバイアルがあり得る。バイアルは使用時まで - 8 0 で保存すべきである。進行中の安定性試験は保存温度及び期間を裏付けている。

【 0 3 4 9 】

保存及び安定性：個別化されたネオ抗原ペプチドは - 8 0 で凍結して保存される。個別化されたネオ抗原ペプチド及びポリ I C L C の解凍して滅菌ろ過したインプロセス中間

50

体及び最終混合物は室温で保つことができるが、4時間以内に使用しなければならない。

適合性：個別化されたネオ抗原ペプチドは、3分の1の容積のポリICLCと使用直前に混合し得る。

【0350】

実施例11：投与

個別化されたネオ抗原ペプチド/ポリペプチドとの混合後、ワクチン（例えば、ペプチド+ポリICLC）は皮下投与されることになる。

【0351】

個別化されたネオ抗原ペプチド/ポリペプチドプールの調製：ペプチドは、各々最大5個のペプチドの4つのプールに共に混合し得る。各プールの選択基準は、ペプチドが結合すると予測される詳細なMHC対立遺伝子に基づき得る。

10

【0352】

プール組成：プールの組成は、各ペプチドが結合すると予測される詳細なHLA対立遺伝子に基づき選択し得る。4つのプールは、別個のリンパ節流域（lymph node basin）に流れ出る解剖学的部位に注入され得る。同じHLA対立遺伝子に結合するペプチド間の抗原競合を可能な限り潜在的に低下させるためにこの手法が選択されたとともに、これには免疫応答の発生における患者の免疫系の幅広いサブセットが関わる。各患者について、最大4つの異なるHLA A及びB対立遺伝子に結合すると予測されるペプチドを同定し得る。一部のネオORF由来ペプチドはいかなる特定のHLA対立遺伝子とも関連しない。ペプチドを異なるプールに分配する手法は、特定のHLA対立遺伝子に関連する各組のペプチドを4つのプールの可能な限り多くに広げることであり得る。所与の対立遺伝子について4つより多くの予測ペプチドがある状況がある可能性が極めて高く、そのような場合、特定の対立遺伝子に関連する2つ以上のペプチドを同じプールに割り当てることが必要になり得る。いかなる特定の対立遺伝子にも関連しないネオORFペプチドは、残りのスロットに無作為に割り当てられ得る。一例を以下に示す。

20

【0353】

【表5】

A1	HLA	3ペプチド
A2	HLA	5ペプチド
B1	HLA B0702	2ペプチド
B2	HLA B6801	7ペプチド
X	なし(ネオORF)	3ペプチド

30

プール番号	1	2	3	4
	B2	B2	B2	B2
	B2	B2	B2	A2
	A2	A2	A2	A2
	A1	A1	A1	B1
	B1	X	X	X

40

【0354】

可能な場合は常に、同じMHC対立遺伝子に結合すると予測されるペプチドを別個のプールに置き得る。一部のネオORFペプチドは、患者のいかなるMHC対立遺伝子にも結合しないと予測され得る。しかしながらこれらのペプチドはなおも利用することができ、その主な理由は、それらが完全に新規であり、従って中枢性トレランスの免疫抑制効果に供されず、従って免疫原性である確率が高いことである。ネオORFペプチドはまた、いかなる正常細胞にも等価な分子がないため、その持つ自己免疫の可能性も劇的に低下している。加えて、予測アルゴリズムから生じる偽陰性があり、このペプチドがHLAクラ

50

ス I I エピトープを含み得る可能性がある (H L A クラス I I エピトープは現在のアルゴリズムに基づく高い信頼性では予測されない) 。特定の H L A 対立遺伝子で同定されない全てのペプチドは、個々のプールに無作為に割り当てられ得る。各ペプチドの量は、注入 1 回当たり 3 0 0 μ g の各ペプチドの最終用量に基礎を置いている。

【 0 3 5 5 】

各患者について、製造者により各々 5 つの合成ペプチドの 4 つの個別的なプール (「 A 」 、 「 B 」 、 「 C 」 及び 「 D 」 と命名される) が調製され、 - 8 0 で保存されている。免疫当日、1 つ又は複数のペプチド成分とポリ I C L C とからなる完全なワクチンを、研究薬局における層流バイオセーフティキャビネットにおいて調製し得る。各一つのバイアル (A 、 B 、 C 及び D) を室温で解凍し、残りのステップのためバイオセーフティキャビネット内に移し得る。0 . 7 5 m l の各ペプチドプールをバイアルから抜き取り、別々のシリンジに入れ得る。別途、ポリ I C L C の 4 つの 0 . 2 5 m l (0 . 5 m g) アリコート抜き取り、別々のシリンジに入れ得る。次に、各ペプチド - プールが入ったシリンジの内容物を 0 . 2 5 m l アリコートのポリ I C L C と、シリンジ間で移し替えることにより穏やかに混合し得る。1 m l の混合物全てを注射に使用し得る。これらの 4 つの調製物は「試験薬 A 」、「試験薬 B 」、「試験薬 C 」、及び「試験薬 D」と命名され得る。

10

【 0 3 5 6 】

注射：免疫化毎に、4 つの試験薬の各々を一つの四肢に皮下注射し得る。個々の試験薬それぞれについて、治療期間全体にわたり免疫化毎に同じ四肢に投与し得る (即ち試験薬 A を 1 日目、4 日目、8 日目等に左腕に注射し、試験薬 B を 1 日目、4 日目、8 日目等に右腕に注射し得る) 。完全腋窩又は鼠径リンパ節郭清後の状態にある患者の代替的な解剖学的部位は、それぞれ左及び右横隔膜である。

20

【 0 3 5 7 】

ワクチンはプライム / ブーストスケジュールに従い投与し得る。ワクチンのプライミング用量は、上記に示すとおり 1 、 4 、 8 、 1 5 、 及び 2 2 日目に投与し得る。ブースト期には、ワクチンは 8 5 日目 (1 3 週目) 及び 1 6 9 日目 (2 5 週目) に投与し得る。

【 0 3 5 8 】

少なくとも 1 用量のワクチン投与を受ける患者は全て、毒性に関して評価可能であり得る。患者が誘導期に間に全てのワクチン接種を受け、且つ維持期に初回ワクチン接種 (ブースト) を受けた場合、それらの患者は免疫学的活性に関して評価可能であり得る。

30

【 0 3 5 9 】

実施例 1 2 : 薬力学試験

免疫戦略は、免疫応答を誘導するための初期の一連の密な間隔の免疫化と、続く記憶 T 細胞を樹立させるための休止期間とを含む「プライム - ブースト」手法である。これにブースター免疫化が続き、このブーストの 4 週間後 (初回ワクチン接種の 1 6 週間後) の T 細胞応答が最も強い応答を生じるものと予想され、一次免疫学的エンドポイントとなり得る。免疫モニタリングが以下に概説するとおり段階的に実施され、誘発される免疫応答の強度及び質が特徴付けられ得る。スキーマ B に示し且つ試験カレンダーに特定されるとおり、初回ワクチン接種より前の 2 つの別個の時点 (ベースライン) 及びその後の種々の時点で末梢血を採取し、P B M C を凍結し得る。誘導期及び維持期それぞれの完全な一組の試料が採取された後、所与の患者の免疫モニタリングを実施し得る。十分な腫瘍組織を利用可能である場合、腫瘍の一部を使用して、細胞傷害性 T 細胞アッセイで使用する自己メラノーマ細胞系を樹立し得る。

40

【 0 3 6 0 】

実施例 1 3 : スクリーニングエキソピボ I F N - E L I S P O T

各患者について、一組のスクリーニングペプチドを合成し得る。スクリーニングペプチドは 1 5 アミノ酸長であり (時に 1 6 m e r 又は 1 7 m e r が用いられ得る) 、 1 1 アミノ酸がオーバーラップし、各ペプチドの全長又はネオ O R F 由来ペプチドについてはネオ O R F の全長を網羅する。完全な一組の患者特異的スクリーニングペプチドをほぼ等濃度で共にプールし、各ペプチドの一部はまた個々に保存し得る。ペプチドプールの純度は、

50

エキソピボIFN-ELISPOTにおいて確立された低バックグラウンドの5人の健康ドナーのPBMCを試験することにより確認し得る。最初は、ベースライン及び16週目(一次免疫学的エンドポイント)で得られたPBMCをオーバーラップ15merペプチド(11アミノ酸のオーバーラップ)の完全なプールで18時間刺激し、ペプチドワクチンに対する全体的な応答を調べ得る。続くアッセイは、指示されるとおりの他の時点で採取されたPBMCを利用し得る。エキソピボIFN-ELISPOTアッセイを使用して一次免疫学的エンドポイントで応答が同定されない場合、PBMCをより長い期間にわたり(最長10日間)ペプチドプールで刺激し、再び分析し得る。

【0361】

実施例14：フォローアップエキソピボIFN-ELISPOTアッセイにおけるエピトープのデコンボリユーション

10

オーバーラップペプチドプールによって誘発されたエキソピボIFN-ELISPOT応答(少なくとも55スポット形成単位/10⁶PBMC又はベースラインの少なくとも3倍を超える増加として定義される)が観察された後、ペプチドプールを免疫ペプチドに基づきサブプールにデコンボリユーションし、且つエキソピボIFN-ELISPOTアッセイを繰り返すことにより、この応答を誘発する特定の免疫原性ペプチドを同定し得る。応答によっては、IFN-ELISPOTアッセイにおいて確認済みの刺激ペプチドに由来するオーバーラップ8~10merペプチドを利用することにより、刺激エピトープを正確に特徴付ける試みが行われ得る。適切な試料に関して個別の場合に応じてさらなるアッセイを実施し得る。例えば、

20

- ・全15merプール又はサブプールを細胞内サイトカイン染色アッセイの刺激ペプチドとして使用して、抗原特異的CD4⁺、CD8⁺、中枢記憶及びエフェクター記憶集団を同定及び定量化し得る

- ・同様に、これらのプールを使用してこれらの細胞により分泌されるサイトカインのパターンを評価し、TH1対TH2表現型を決定し得る

- ・未刺激細胞の細胞外サイトカイン染色及びフローサイトメトリーを使用してTreg及び骨髄由来サブプレッサー細胞(MDSC)を定量化し得る。

【0362】

- ・応答した患者からのメラノーマ細胞系の樹立に成功し、且つエ活性化ピトープを同定することができた場合、突然変異ペプチド及び対応する野生型ペプチドを使用してT細胞の細胞傷害性アッセイを行い得る

30

- ・一次免疫学的エンドポイントのPBMCを、既知のメラノーマ腫瘍関連抗原を刺激剤として使用し、且つ免疫原の中には選択されなかったいくつかのさらなる同定済みの突然変異エピトープを使用することにより、「エピトープの広がり」に関して評価し得る

- CD4⁺、CD8⁺、MDSC、及びTreg浸潤集団を定量化するため腫瘍試料の免疫組織化学を行い得る。

【0363】

実施例15：腫瘍ネオ抗原の体系的同定のためのパイプライン

最近のシーケンシング技術及びペプチドエピトープ予測の進歩を利用して、候補腫瘍特異的HLA結合ネオ抗原を体系的に発見する二段階パイプラインを作成した。図10に示すとおり、この手法では、対応する正常DNAと並行して腫瘍のDNAシーケンシング(例えば、全エクソーム(WES)又は全ゲノムシーケンシング(WGS)のいずれかによる)から始め、非同義体細胞突然変異が網羅的に同定される(例えば、Lawrence et al. 2013; Cibulski et al. 2012を参照)。次に、個人的なクラスI HLAタンパク質に結合する可能性、ひいてはCD8⁺T細胞に提示される可能性のある、腫瘍突然変異によって生じる候補腫瘍特異的突然変異ペプチドを、例えばNetMHCpanなどの予測アルゴリズムを使用して予測し得る(例えば、Lin 2008; Zhang 2011を参照)。候補ペプチド抗原を、HLAとのそれらの結合及び自己白血球細胞におけるコグネイトmRNAの発現を実験的に検証することに基づきさらに評価した。

40

【0364】

50

このパイプラインを、シーケンシングした C L L 試料の大規模データセットに適用した (例えば、Wang et al. 2011を参照)。W E S 又は W G S のいずれかによってシーケンシングした 9 1 例の症例から、タンパク質コード領域に合計 1 8 3 8 個の非同義突然変異が発見され、これはメガ塩基対当たり 0 . 7 2 (± 0 . 3 6 s . d .) の平均体細胞突然変異率 (範囲、0 . 0 8 ~ 2 . 7 0)、及び患者当たり平均 2 0 個の非同義突然変異 (範囲、2 ~ 7 6) に相当した (例えば、Wang et al. 2011を参照)。アミノ酸変化領域を生じ、ひいては免疫学的に認識される可能性があるとする予想し得る 3 個の一般的な突然変異クラスを同定した。最も豊富なクラスは、単一アミノ酸 (a a) 変化を引き起こすミスセンス突然変異を含み、C L L 当たり体細胞突然変異の 9 0 % に相当した。9 1 例の試料中、9 9 % がミスセンス突然変異を含み、6 9 % が 1 0 ~ 2 5 個のミスセンス突然変異を有した (例えば、図 2 A を参照)。他の 2 つの突然変異クラス、フレームシフト及びスプライス部位突然変異 (エクソン - イントロン接合部における突然変異) は、全体が腫瘍に特異的な新規アミノ酸配列のより長いストレッチ (ネオオープンリーディングフレーム、又はネオ O R F) を生成し、所与の改変当たりのネオ抗原ペプチドの数が (ミスセンス突然変異と比較して) より多くなる可能性がある。しかしながら、他の癌タイプのデータと一致して、ネオ O R F 生成突然変異は C L L においてミスセンス突然変異と比べて約 1 0 倍少なかった (例えば、図 2 B ~ 図 2 C を参照)。ミスセンス突然変異の出現率を所与として、続く実験研究は、ミスセンス突然変異によって生じるネオエピトープの分析に焦点を置いた。

10

【 0 3 6 5 】

20

実施例 1 6 : 体細胞ミスセンス突然変異は、個人的 H L A クラス I 対立遺伝子に結合すると予測されるネオペプチドを生成する

T 細胞受容体 (T C R) によるペプチドエピトープの T 細胞認識には、抗原提示細胞の表面上にある H L A 分子の結合溝内に結合したペプチドの提示が必要である。3 0 を超える利用可能なクラス I 予測アルゴリズム間の最近の比較研究は、N e t M H C p a n が一貫して H L A 対立遺伝子間にわたり高い感度：且つ特異性で機能することを示している (例えば、Zhang et al. 2011を参照)。

【 0 3 6 6 】

元は文献においてそれらの機能的活性 (即ち、抗新生物細胞溶解性 T 細胞応答を刺激する能力) に基づき同定されたか又は免疫原性マイナー組織適合抗原として特徴付けられた 3 3 個の既知の突然変異エピトープの集合に対して N e t M H C p a n アルゴリズムを試験し、このアルゴリズムが 3 3 個の既知の突然変異エピトープに関して結合を正しく予測し得るかどうかを決定した (例えば、表 4 及び表 5 を参照)。表 4 及び表 5 は、N e t M H C p a n を使用したヒト癌間における既知の機能的に誘導された免疫原性突然変異エピトープの H L A - ペプチド結合親和性を示す。表 4 はミスセンス突然変異由来のエピトープを示す (N S C L C : 非小細胞肺癌 ; M E L : メラノーマ ; C L L : 慢性リンパ性白血病 ; R C C : 腎明細胞癌 ; B L D : 膀胱癌 ; N R : 未報告 ;)。黄色 : $I C_{50} < 150$ nM、緑色 : $I C_{50} 150 \sim 500$ nM 及び灰色 : $I C_{50} > 500$ nM。

30

【 0 3 6 7 】

40

50

【表 6 - 1】

表 4

グループ	遺伝子	疾患	臨床反応	T 腫瘍成癌		HLA 対立遺伝子	突然変異型		野生型		W/MUT IC50	参考文献
				MUT>>>WT	HLA 対立遺伝子		観察されたエピトープ	予測 IC50 (nM)	観察されたエピトープ	予測 IC50 (nM)		
1	ME-1	NSCLC	有	有	A*02:01	FLDFEIEGV	3	FLDFEIEAV	2	0.7	(50)	
	PLEKHA7	MEL	有	有	A*01:01	LIDRRIFTCY	3	LIDRRIFTC	97	32	(36)	
	PRDX3	MEL	NR	有	A*02:01	ILLDDLLVSI	5	ILLDDSLVSI	7	1.4	(37)	
	MATN2	MEL	有	有	A*11:01	KILTSVFQK	5	ELTTSVFQK	20	4	(36)	
	DDX21	MEL	有	有	A*68:01	EAFIQPTR	10	EASIQPTR	29	3	(52)	
	RRF1	MEL	有	有	B*07:02	RPIVPESAF	10	GFIVPESAF	68	7	(13)	
	GAS7	MEL	有	有	A*02:01	SLADEAEVYL	12	SLADEAEVHL	39	3	(14)	
	SIRT2	MEL	有	有	A*03:01	KIPSEVTLK	14	KIPSEVTPK	16	1.1	(15)	
	EP2	NSCLC	NR	有	A*68:02	EIVSEQSNV	16	EIVSESNV	27	2	(53)	
	GAPDH	MEL	有	有	A*02:01	GIVEGLITV	21	GVVEGLMTV	27	1.3	(14)	
	HSP70	RCC	NR	有	A*02:01	SLFEGHDYI	23	SLFEGIDFYI	7	0.3	(54)	
	ACTIN1	NSCLC	有	有	A*02:01	FIASNGYKLV	29	FIASNGYKLV	44	2	(55)	
	CDK12	MEL	有	有	A*11:01	CILGLFTK	33	CILGELFTK	42	1.3	(36)	
	KIAA1440	RCC	有	有	A*01:01	QTACEVLDY	33	QTICEVLDY	78	2	(14)	
	HAUS3	MEL	有	有	A*02:01	ILNAMIAKI	34	ILNAMITKI	36	1.1	(50)	
	PPP1R3B	MEL	有	有	A*01:01	YTDFFCQYV	49	YTDFFCQYV	72	1.5	(56)	
	MUM-2	MEL	有	有	B*44:02	SELFRRGLDSY	134	SELFRRGLDSY	132	1	(56)	
	KIAA0205	BLD	NR	有	B*44:03	AEPDIQIIV	233	AEPNIQIIV	235	1.1	(57)	

【 0 3 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

3	GFNMB	MEL	有D	有D	A*03:01	TLDWLLQTPK	232	TLGWLLQTPK	179	0.6	(13)	
	CSMKLAI	MEL	有D	有D	A*02:01	GLFGDIYLAI	6	GSEFDIYLAI	1312	219	(36)	
	CLPP	MEL	有D	有D	A*02:01	ILDKVLVHL	32	ILDKVLVHP	7565	236	(58)	
	CTNBI	MEL	有D	有D	A*24:02	SYLDSGHHF	41	SYLDSGHS	18746	457	(59)	
	SWRP	MEL	有D	有D	A*03:01	KILDAVVAQK	48	KILDAVVAQE	14975	312	(13)	
	OS9	MEL	NR	NR	B*44:03	KELEGILL	60	KELEGILLP	115	19	(60)	
	MHI2	MEL	有D	有D	A*03:01	KINKNPKYK	141	EINKNPKYK	4963	35	(61)	
	MART-2	MEL	有D	有D	A*01:01	FLEGNEVGKTY	1115	FLGGNEVGKTY	4564	4	(62)	
	NFYC	NSCLC	NR	NR	B*52:01	AQQTKTEV	7374	AQQITQTEV	5703	0.8	(63)	
	CDK4	MEL	NR	NR	A*02:01	ACDPHSGHFV	1132	ARDPHSGHFV	25222	2	(64)	

10

20

30

40

【 0 3 6 9 】

表 5 は、マイナー組織適合抗原由来のエピトープを示す (MM : 多発性骨髄腫 ; HM : 血液系悪性腫瘍 ; B - ALL : B細胞急性リンパ性白血病)。

【 0 3 7 0 】

50

【表 7】

群	遺伝子	疾患	臨床反応	T細胞応答		対立遺伝子	突然変異		WT/MUT		参考文献
				MUT>>>WT	有/無		捕捉されたエピトープ	予測 IC50(nM)	捕捉されたエピトープ	予測 IC50(nM)	
1	ECGF-1	MM	有り	有り	B*07:02	RPRAIRPLAL	2	RPRAIRPLAL	0.7	(65)	
1	K7440223 (HA-I)	HM	有り	NR	A*02:01	VLRDLEEA	140	VLRDLEEA	8	(66)	
1	BCL2A1	HM	NR	有り	A*24:02	DYLQYVLQI	22	DYLQYVLQI	2	(67)	
1	BCL2A1	HM	NR	有り	A*24:02	KEFEDDINW	46	KEFEDGHNW	0.8	(67)	
1	HB-I	B-ALL	NR	有り	B*44:03	EEKRGSLHWV	8	EEKRGSLYVW	1	(68)	

表 5

【0371】

タイピングした全ての 9mer 及び 10mer の可能性の中で、NetMHCpan は、33 個全ての機能的に検証済みの突然変異エピトープを、所与の突然変異について可能な選択肢の中で最良の結合ペプチドとして同定した。33 個の突然変異エピトープの各々の分かっている既報告の HLA 制限エレメントに対する予測結合親和性中央値 (IC50) は、32 nM (範囲、3 ~ 11、192 nM) であった。予測 IC50 カットオフを 150 及び 500 nM に設定することにより、機能的に検証済みのペプチドのそれぞれ 82 % 及び 91 % が捕捉された (例えば、表 4 及び表 5 並びに図 12A を参照)。

【0372】

その高度な感度及び特異性に基づき、次に NetMHCpan を、HLA タイピング情

10

20

30

40

50

報が利用可能であった91例中31例のCLL症例に適用した。慣例により、それぞれ、 $IC_{50} < 150 \text{ nM}$ のペプチドを強力乃至中程度の結合体と見なし、 $IC_{50} 150 \sim 500 \text{ nM}$ を弱い結合体と見なし、及び $IC_{50} > 500 \text{ nM}$ を非結合体と見なした(例えば、Cai et al. 2012を参照)。91例全てのCLL症例について、中央値10個の強力な結合ペプチド(範囲、2~40個)及び12個の中程度乃至弱い結合ペプチド(範囲、2~41個)が見出された。全体では、症例当たり中央値22個(範囲、6~81個)のペプチドが $IC_{50} < 500 \text{ nM}$ と予測された(例えば、図12B及び表6を参照)。詳細には、表6は、利用可能なHLAタイピングを有する31例のCLL症例から予測されたペプチドの数及び親和性分布を示す。白人集団における8個の最も一般的なHLA-A、HLA-B対立遺伝子を発現する患者を灰色で示す。

10

【0373】

【表8】

表6.

患者 (1)	HLA-A対立遺伝子				HLA-B対立遺伝子				まれな対立遺伝子	予測 ネオペプチドの数	
	*01:01	*02:01	*24:02	*03:01	*07:02	*08:01	*15:01	*38:01		<150 (nM)	150-500 (nM)
P45										10	12
P51										17	20
P32									B*44:02	13	8
P50									A*66:01	14	18
P5									A*32:01; B*44:02	6	15
P68									A*29:02; B*44:03	17	25
P7									B*35:01; *57:01	8	12
P8									A*31:01; B*14:02	6	8
P14									B*31:01; *02:01	5	4
P29									A*26:01; B*48:01	10	6
P24									B*18:01; *32:06	6	7
P35									B*61:01	11	13
F37									A*03:02; B*44:03	2	4
F45									A*11:01; B*35:03	26	29
F42									A*28:01; B*35:02	10	15
F66									A*23:01; B*49:01	4	8
F62									A*26:01; B*35:06	13	20
F63									B*06:01; *04:01	6	2
F67									A*26:01; *31:01	24	29
F47									A*11:01; B*31:01	10	9
F48									A*11:01; B*51:01	13	17
F16									A*11:01; B*44:02; *51:01	13	12
P36									A*88:01; B*14:02	3	5
F39									A*32:01; B*35:03; *44:01	60	44
P53									A*26:01; B*35:01	13	11
F73									A*31:01; *68:01; B*49:01	16	13
F69									A*29:02; B*45:01; *55:01	3	7
F46									A*68:02; B*44:02; *15:03	5	5
P1									A*11:01; *23:01; B*35:01; *61:01	7	17
F49									A*11:01; *32:01; B*40:01; *44:03	14	15
F41									A*29:02; *32:01; B*44:03	10	8

20

30

40

【0374】

50

実施例 17：予測HLA結合ネオペプチドの半数以上がインビトロでHLAタンパク質との直接結合を示した

表7に示すとおり、HLA-ペプチド結合予測により作成されたIC₅₀ nMスコアを競合的MHC I対立遺伝子結合アッセイを用いて検証し、クラスI-A及び-B対立遺伝子に焦点を置いた。この目的で、4例のCLL症例(患者1~4)から同定された500 nM未満の予測IC₅₀スコアを有する112個の突然変異ペプチド(9又は10mer突然変異ペプチド)を合成した。実験結果は結合予測と関連した。実験的結合(IC₅₀ < 500 nMとして定義される)は、< 150 nM又は150~500 nMのIC₅₀と予測されたペプチドのそれぞれ76.5%及び36%に確認された(例えば、図12Cを参照)。全体では、予測ペプチドの約54.5%(61/112個)が、個人的なHLA対立遺伝子との結合体であると実験的に検証された。全体としては、(図13)に示すとおり、9merペプチドの予測の方が10merペプチドと比べて、それぞれ予測ペプチド(IC₅₀ < 500 nM)の60%と44.5%を実験的に検証することができたように、より感度が高かった。

【0375】

10

20

30

40

50

【表 9 - 1】

表 7.4 例の CLL 症例から生成された候補ネオエピトープの予測及び実験 HLA 結合結果

患者	遺伝子	配列	長さ	HLA対立遺伝子	候補ネオエピトープ ICS50(nM)	
					予測	実験
1	THOC6	ELWCRQPPYR	10	A*33:01	10	18
1	THOC6	ELWCRQPPYR	10	A*68:12	59	5.1
1	CDC25A	QSYCEPSSYR	10	A*68:12	23	1.5
1	ALMS1	TVPSSSFHR	10	A*68:12	25	11
1	WHSC1L1	EVQASKHTK	9	A*68:12	33	58
1	CRYBA1	WVCYQYSGYR	10	A*33:01	44	972
1	CDC25A	SYCEPSSYR	9	A*33:01	70	14
1	THNSL2	ATIESVQGAK	10	A*68:12	71	42
1	ALMS1	TPTVPSSSF	9	B*35:01	75	91
1	RALGAPB	WIMVLVLPK	9	A*68:12	95	218
1	THOC6	ELWCRQPPY	9	B*35:01	112	13776
1	RALGAPB	DWIMVLVLPK	10	A*33:01	117	37826
1	C6orf89	MPIEPGDIGC	10	B*35:01	132	131
1	STRAP	LISACKDGKR	10	A*68:12	163	15845
1	CRYBA1	YQYSGYRGY	9	B*35:01	170	9851
1	WHSC1L1	LLNEVQASK	9	A*68:12	197	7440
1	RALGAPB	DWIMVLVLPK	10	A*68:12	222	2956
1	STRAP	ISACKDGKR	9	A*68:12	224	6671
1	XPO1	KTVVKNKLFK	9	A*68:12	253	25393
1	HMG2	NSAENGDAK	9	A*68:12	258	141
1	THOC6	LWCRQPPYR	9	A*33:01	297	915
1	POLR2A	VQKIFHNPR	10	A*33:01	308	17699
1	CDC25A	QSYCEPSSYR	10	A*33:01	309	53
1	ALMS1	SSSFHREK	9	A*68:12	314	1496

【 0 3 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 2】

1	CDC25A	SYCEPSSYR	9	A*68:12	314	812
1	ALMSI	TVPSSFSHR	10	A*33:01	335	237
1	THNSL2	TIESVQGAK	9	A*68:12	338	953
1	POLR2A	MIWNVQKIF	9	B*35:01	393	541
1	CDC25A	QSYCEPSSY	9	B*35:01	478	5000
1	DSCAMLI	SSIRSFVLQY	10	B*35:01	480	9195
2	NIN	FLQEEILIQM	10	A*02:01	10.63	1.1
2	FNDC3B	VVMSWAPPV	9	A*02:01	4.21	6.4
2	SLC46A1	CSDSKLIGY	9	A*01:01	8.13	8.5
2	SYT15	EMLIKPKEL	9	B*08:01	414.37	8.9
2	F2R	ILLMIVTISI	9	A*02:01	41.91	11
2	ACSM2A	SLMEHWALG	9	A*02:01	413.95	17
2	C16orf57	LLRVHTEHV	9	B*08:01	443.97	28
2	ACSM2A	SLMEHWALGA	10	A*02:01	5.67	40
2	TBC1D9B	KMTFLFPNL	9	A*02:01	63.7	62
2	SF3B1	GLVDEQQEV	9	A*02:01	22.26	94
2	LRRCA1	ALPDPILQSI	10	A*02:01	28.18	107
2	LRRCA1	GVWALPDP1	9	A*02:01	382.07	122
2	FNDC3B	AVVMSWAPPV	10	A*02:01	98.15	123
2	F2R	TSIDRFLAV	9	B*08:01	245.43	130
2	KIAA0467	GPSWGLSLM	9	B*07:02	179.31	137
2	C16orf57	LLRVHTEHV	9	A*02:01	454.23	175
2	C22orf28	WVNCSSMTFL	10	A*02:01	302.94	274
2	FNDC3B	VMSWAPPVGL	10	A*02:01	37.77	378
2	GDF2	ILYKDDMGV	9	A*02:01	13.74	567
2	FNDC3B	NIQARAVVM	9	B*08:01	145.51	743
2	C16orf57	HVRCKSGNKF	10	B*08:01	340.37	803
2	LRRCA1	LPDPILQSIL	10	B*07:02	243.46	855

【 0 3 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 3】

2	F2R	SILLMTVTSI	10	A*02:01	301.24	929
2	ACSM2A	LMEHWALGA	9	A*02:01	314.16	968
2	LRRC41	LPDPILOSI	9	B*07:02	471.62	1056
2	C16orf57	VLLRVHTEHV	10	A*02:01	23.04	1252
2	TBCID9B	FPNLKDRDFL	10	B*07:02	107.39	1423
2	SYT15	MLIKPKELY	9	A*02:01	162.61	1442
2	ACSM2A	ILCSLMEHWA	10	A*02:01	424.59	1651
2	TBCID9B	FPNLKDRDF	9	B*07:02	280.32	1687
2	GDF2	SILYKDDMGV	10	A*02:01	140.39	1775
2	TP53	NTERHRVVV	9	B*08:01	285.7	1789
2	SF3B1	EVRTISALAI	10	B*08:01	327.97	2322
2	GDF2	VPTKLSPISI	10	B*07:02	132.77	3416
2	ELK3	LLQDSECKA	10	A*02:01	437.05	5074
2	KIAA0467	SQPGPSWGL	9	A*02:01	128.72	6511
2	RNF150	KPAVSSDSI	10	B*07:02	228.47	8085
3	ZNF182	ITHTGEKPY	9	B*15:01	205.26	92
3	ZNF182	ITHTGEKPYK	10	A*03:01	443.32	40
3	ZNF253	KFSNSNIYK	9	A*03:01	116.69	273
3	IREB2	LTRGTFANIK	10	A*01:01	343.52	739
3	TLK2	LTDGFLSKIM	10	A*03:01	164.9	1897
3	TLK2	LTDGFLSKI	10	A*01:01	227	10452
3	TLK2	KLTDGFLSK	9	A*03:01	26	41
3	MYD88	SLSLGAHQK	9	A*03:01	122.42	30
3	PATE2	FLKHKQSCAV	10	B*08:01	17	21
3	PATE2	GVMTSCFLK	9	A*03:01	25	29
3	PATE2	FLKHKQSCA	9	B*08:01	19	51
3	JTB	GLLCAFTLK	9	A*03:01	12	62
3	JTB	HLCGLLCAF	9	B*15:01	117	125

【 0 3 7 8 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 4】

3	OR13C5	LSIFKISSL	9	B*08:01	151	158
3	PATE2	VMTSCFLKHK	10	A*03:01	140	174
3	PATE2	MTSCFLKHK	9	A*03:01	147	218
3	OR13C5	KISSEGRSK	10	A*03:01	185	257
3	OR13C5	LSIFKISSL	9	B*15:01	152	368
4	MAPK14	RPTFYRQGL	9	B*07:02	6.7	76
4	SCYL2	EVAGFVFDK	9	A*68:01	7.3	14
4	SCYL2	EVAGFVFDKK	10	A*68:01	7.4	8.8
4	COL5A3	FTAGGEPCLY	10	A*01:01	14	153
4	MPDZ	FSIVGGYGR	9	A*68:01	20	2.6
4	CUL1	YMKKAEAPL	9	B*08:01	36	34841
4	MUC2	APITTTTIV	9	B*07:02	53	13
4	KDM5D	HSIPLRQSVK	10	A*68:01	55	45
4	TBC1D25	ISYLGDRRLR	10	A*68:01	106	556
4	NUP98	APGFNTTPA	9	B*07:02	107	13
4	ZNF330	KAFFCDDHTR	10	A*68:01	137	102
4	MPDZ	RPHGDLPIYV	10	B*07:02	155	1321
4	TBC1D25	RLRQEVYLSL	10	B*08:01	165	1084
4	CUL1	YMKKAEAPLL	10	B*08:01	168	138
4	TBC1D25	RLRQEVYLSL	10	B*07:02	183	114
4	LANCL1	CLTKRSIAF	9	B*08:01	205	47
4	COL5A3	FTAGGEPCLY	10	A*68:01	230	11
4	SF3B1	EYVLNNTTAR	9	A*68:01	301	651
4	CNN1	DPKLGTAQPL	10	B*07:02	369	3974
4	PPP2R2C	QTHEPEFDY	9	A*01:01	435	26184
4	MUC2	APITTTTIVT	10	B*07:02	436	3731
4	CUL1	EAPLLEEQR	9	A*68:01	454	36
4	LANCL1	CLTKRSIAFL	10	B*08:01	467	640

【 0 3 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 5】

4	NUP98	APGFNTTPAT	10	B*07:02	475	5744
4	MUC2	TTAPITTT	9	A*68:01	479	118
4	CUL1	YMKKAEAPL	9	B*07:02	480	7927
4	LOXL2	IPGFKFDNL	9	B*07:02	487	809

**A*68:12の実験的結合アッセイは利用できなかった。A*68:12とA*68:01とはB及びFメインペプチド結合ポケットに同一の一次構造を有し、同程度の結合特異性を有することが予測されているため(Sidney and Sette,2007)、A*68:12に結合すると予測されるペプチドに関する実験的結合はA*68:01に對してアッセイした。

10

20

30

40

【0380】

実施例 18：ネオ抗原はCLL腫瘍で発現する

エピトープに対するCTL応答は、そのエピトープをコードする遺伝子が標的細胞で発現する場合に限り有用であり得る。HLAに関してシーケンシング及びタイピングされた31例の患者試料のうち26例を、ゲノムワイドな発現プロファイリングに供した(例えば、Brown et al.2012を参照)。CLL試料中の突然変異を有する347個の遺伝子の発現レベルを、低/無し(最も低い四分位)、中程度(中間の2つの四分位)、又は高い(最も高い四分位)の発現を有するものとして分類した。図12Dに示すとおり、347個の変異遺伝子の80%(又は予測HLA結合を有する180個の突然変異の79%)が

50

中程度乃至高い発現レベルで発現した。予測クラス I 結合エピトープを有する 221 個の変異遺伝子のサブセットの間で同程度の高い頻度の発現が観察された (88.6%)。

【0381】

RNA レベルは遺伝子産物当たりのリード数に基づき決定され、四分位によってランク付けされ得る。「H」- 上位四分位；「M」- 中間の 2 つの四分位；「L」- 最も低い四分位 (リードを有しない遺伝子を除く；「-」- 検出可能なリードなし。予測親和性が低下するに従い、発現レベルに対してより高いストリンジェンシーが適用され得る。RNA-Seq によって検出可能な mRNA 分子がない場合にも、予測結合体を有するネオORF を利用した。現在、ネオORF が活性化 T 細胞の標的として有用であるために腫瘍細胞において必要な最小発現レベルが (それが存在する場合に) どの程度かを評価するのに利用可能なデータはない。ナンセンス介在分解機構が運命付けられているメッセージの「先駆」翻訳の発現レベルであっても、標的生成には十分であり得る (Chang YF, Imam JS, Wilkinson MF: 「ナンセンス変異依存分解機構 RNA 監視経路 (The nonsense-mediated decay RNA surveillance pathway)」. Annu Rev Biochem 76: 51-74, 2007)。従って、その新規性及び優れた腫瘍特異性に起因して、ネオORF は標的としての価値が高いため、RNA レベルで発現が低い又は検出不能な場合であっても、ネオORF は免疫原として利用され得る。

10

【0382】

実施例 19: 候補ネオエピトープを標的化する T 細胞が H S C T 後の C L L 患者 1 に検出された

20

C L L における同種造血幹細胞移植 (H S C T) 後のセッティングを分析し、予測された突然変異ペプチドに対する免疫応答が患者において発生し得たかどうかを決定した。H S C T 後の健常ドナーの T 細胞再構成は宿主の内因性免疫欠損を克服し、また、生体内で宿主における白血病細胞に対するプライミングを可能にすることもできる。分析は、両者とも進行 C L L に対する無関係の用量減量前処置の同種 H S C T を受けており、且つ H S C T 後 4 年より長くにわたり持続的寛解を達成していた 2 人の患者に焦点を置いた (例えば、表 8 を参照)。移植後 T 細胞は移植時から 7 年 (患者 1) 及び 4 年 (患者 2) で採取した。

【0383】

表 8 は、C L L 患者 1 及び 2 の臨床的特徴を示す。両方の患者とも、H S C T 後に 7 (患者 1) 及び 4 年 (患者 2) を上回る進行中の持続的寛解を達成している。M: 男性; H S C T: 造血幹細胞移植; R I C: 用量減量前処置; F l u / B u: フルダラビン/ブスルファン; G v H D: 移植片対宿主病; U R D: 無関係のドナー; M i s: ミスセンス; F S: フレームシフト。

30

【0384】

40

50

【表 10】

患者	HLA タイピング	年齢/性別	同種 HSCT				突然変異数				ネオエピトープ (IC50<500nM)	
			前処置 レジメン	幹細胞源	cGVHD 発症までの 日数	GvHD 薬剤	合計	Mis	FS	推定 ドライバー	予測	実験
1	A*33:01/*68 :12B*35:01/ *14:01	51/M	RIC Flu/Bu	URD PBSC	448	イマチニブ/ プレドニゾン	33	25	8	XFOI	30	14
2	A*01:01/ *02:01B*07: *08:01	72/M	RIC Fu/Bu	URD PBSC	208	イマチニブ	27	26	1	TP53, SF3B1	37	18

表 8.

【0385】

患者（患者 1）については、WES によって 25 個のミスセンス突然変異が同定された。全体では、13 個の突然変異からの 30 個のペプチドが個人的 HLA に結合すると予測された（IC50 < 150 のペプチド 13 個；IC50 150 ~ 500 nM のペプチド 17 個）。図 14 A に示されるとおり、ペプチド予測の実験的検証により、9 個の突然変異に由来する 14 個のペプチドについて HLA 結合が確認された。30 個全ての予測 HLA 結合ペプチドを T 細胞プライミング試験に選択し、6 個のペプチド/プールの 5 つのプールに編成した（例えば、表 9 を参照）。同程度の予測結合スコアのペプチドは同じプールにまとめた。

10

20

30

40

50

【 0 3 8 6 】

表 9 は、T 細胞刺激試験用のペプチドプールに含まれた患者 1 のミスセンス突然変異由来のペプチドの概要を提供する。患者 1 においては、HLA - A 及び - B 対立遺伝子に結合する $IC_{50} < 500 \text{ nM}$ の予測ペプチドの全てを使用した。MHC クラス I 対立遺伝子に対する予測結合親和性の降順で掲載した 6 個のペプチド/プールを含む 5 個の突然変異ペプチドプール。対応する実験 HLA - ペプチド結合親和性、野生型ペプチド及びそれらの予測 IC_{50} スコアを最右列に含める。

【 0 3 8 7 】

【 表 1 1 - 1 】

表 9.

プール	遺伝子	長さ	HLA 対立 遺伝子	突然変異ペプチド			野生型ペプチド	
				配列	予測 $IC_{50}(\text{nM})$	実験 $IC_{50}(\text{nM})$	配列	予測 $IC_{50}(\text{nM})$
1	<i>THOC6</i>	10	A*33:01	ELWCRRQPPYR	10	18	ELWRRQPPYR	11
	<i>THOC6</i>	10	A*68:12	ELWCRRQPPYR	59	5.1	ELWRRQPPYR	61
	<i>CDC25A</i>	10	A*68:12	QSYCEPSSYR	23	1.5	QSYCEPPSYR	37
	<i>ALMS1</i>	10	A*68:12	TVPSSSFSHR	25	11	TVPSGSFSHR	35
	<i>WHSC1L1</i>	9	A*68:12	EVQASKHTK	33	58	EVQASEHTK	34
	<i>CRYBA1</i>	10	A*33:01	WVCYQYSGYR	44	972	WVCYQYPGYR	50
	<i>CDC25A</i>	9	A*33:01	SYCEPSSYR	70	14	SYCEPPSYR	61
2	<i>THNSL2</i>	10	A*68:12	ATIESVQGAK	71	42	AAIESVQGAK	470
	<i>ALMS1</i>	9	B*35:01	TPTVPSSSF	75	91	TPTVPSGSF	89
	<i>RALGAPB</i>	9	A*68:12	WIMVLVLPK	95	218	WIMALVLPK	46
	<i>THOC6</i>	9	B*35:01	ELWCRRQPPY	112	13776	ELWRRQPPY	126
	<i>RALGAPB</i>	10	A*33:01	DWIMVLVLPK	117	37826	DWIMALVLPK	171

【 0 3 8 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 2】

	<i>C6orf89</i>	10	B*35:01	MPIEPGDIGC	132	131	MPIEPGDIGY	3
3	<i>STRAP</i>	10	A*68:12	LISACKDGKR	163	15845	LISACKDGKP	38499
	<i>CRYBA1</i>	9	B*35:01	YQYSGYRGY	170	9851	YQYPGYRGY	171
	<i>WHSC1L1</i>	9	A*68:12	LLNEVQASK	197	7440	LLNEVQASE	21454
	<i>RALGAPB</i>	10	A*68:12	DWIMVLVLPK	222	2956	DWIMALVLPK	299
	<i>STRAP</i>	9	A*68:12	ISACKDGKR	224	6671	ISACKDGKP	39393
4	<i>XPO1</i>	9	A*68:12	KTVVNKLFE	253	25393	KTVVNKLFE	18346
	<i>HMG2</i>	9	A*68:12	NSAENGDAK	258	141	NPAENGDAK	3679
	<i>THOC6</i>	9	A*33:01	LWCRQPPYR	297	915	LWRRQPPYR	222
	<i>POLR2A</i>	10	A*33:01	VQKIFHINPR	308	17699	AQKIFHINPR	738
	<i>CDC25A</i>	10	A*33:01	QSYCEPPSYR	309	53	QSYCEPPSYR	398
	<i>ALMS1</i>	9	A*68:12	SSFSHREK	314	1496	SGFSHREK	3554
5	<i>CDC25A</i>	9	A*68:12	SYCEPPSYR	314	812	SYCEPPSYR	597
	<i>ALMS1</i>	10	A*33:01	TVPSFSHR	335	237	TVPSGFSHR	378
	<i>THNSL2</i>	9	A*68:12	TIESVQGAK	338	953	AIESVQGAK	3861
	<i>POLR2A</i>	9	B*35:01	MIWNVQKIF	393	541	MIWNAQKIF	294
	<i>CDC25A</i>	9	B*35:01	QSYCEPPSY	478	50000	QSYCEPPSY	472
	<i>DSCAML1</i>	10	B*35:01	SSIRFVLQY	480	9195	SSIRGFVLQY	391

【0389】

T細胞のネオ抗原応答性を、候補ネオ抗原ペプチドプールでパルスした（1週間に1回×4週間）自己抗原提示細胞（APC）を使用してT細胞を拡大することにより試験した。図14Bに示すとおり、IFN-ELISPOTアッセイにおける応答性がプール2に対して検出されたが、無関係のペプチド（Taxペプチド）に対しては検出されなかった。プールのデコンボリューションにより、プール2内の突然変異（mut）ALMS1及びC6orf89ペプチドは免疫原性であることが明らかになった。ALMS1は線毛機能、細胞静止及び細胞内輸送において役割を果たし、この遺伝子の突然変異はII型糖尿病に関係があるとされている。C6orf89は、気管支上皮細胞の細胞周期進行及び創傷修復に關与するポンベシン受容体サブタイプ3と相互作用するタンパク質をコードする。いずれの突然変異部位も遺伝子の保存領域にはなかったとともに、これまでに癌で突然変異することが報告されている遺伝子内にはなかった。両方の標的ペプチドとも、患者1のHLA対立遺伝子に結合すると実験的に確認することができた14個の予測ペプチドのサブセットの中にあつた。mut及び野生型（wt）ALMS1の実験的結合スコアは、それぞれ91及び666nMであつた；及びmut-及びwt-C6ORF89は、それぞれ131及び1.7nMであつた（例えば、図14C及び表9を参照）。両方の変異遺伝子とも保存領域にはほとんど局在せず、これまで報告されている癌での突然変異部位には局在しなかつた（例えば、図15～図16を参照）。

【0390】

実施例20：CLL患者2は、天然でプロセシングされる突然変異FND C3Bペプチドに対して免疫を呈した

患者2において、個人的ネオ抗原が長期寛解のセッティングで記憶T応答に寄与する能力を試験した。この個体から26個の非同義ミスセンス突然変異が同定された。全体では、16個の突然変異由来の37個のペプチドが個人的HLA対立遺伝子に結合すると予測

され、そのうちの12個の突然変異由来の18個のペプチドを実験的に検証することができた(15個が $IC_{50} < 150$; 3個が $150 \sim 500$ nM)(例えば、図17Aを参照)。患者2においては、18個の全ての実験的に検証されたHLA結合ペプチドを試験した。6個のペプチド/プールの3つのプールを使用してT細胞刺激を実施した(例えば、表10を参照)。表10は、T細胞刺激試験用のペプチドプールに含められた患者2のミスセンス突然変異由来のペプチドの概要を示す。患者2においては、HLA-A及び-B対立遺伝子に結合することが実験的に確認された全てのペプチドを使用した。突然変異ペプチドの実験結合親和性の降順で掲載した6個のペプチド/プールの3つのペプチドプール。対応する野生型ペプチド及びそれらの予測 IC_{50} スコアを最右列に含める。
【0391】

10

【表12】

表10.

プール	遺伝子	長さ	HLA 対立遺伝子	突然変異ペプチド			野生型ペプチド	
				配列	予測 IC_{50} (nM)	実験 IC_{50} (nM)	配列	予測 IC_{50} (nM)
1	<i>NIN</i>	10	A*02:01	FLQEERTLTQM	10.63	1.1	FLQEERTLTQM	45
	<i>FNDC3B</i>	9	A*02:01	VVMSWAPPV	4.21	6.2	VVLSWAPPV	9
	<i>SLC46A1</i>	9	A*01:01	CSDSKLIGY	8.13	8.5	CWDSKLIGY	1778
	<i>SYT15</i>	9	B*080:1	EMLIKPKEL	414.37	8.9	EMLSKPKEL	785
	<i>F2R</i>	9	A*02:01	ILMTVTSI	41.91	11	ILMTVISI	53
	<i>ACSM2A</i>	9	A*02:01	SLMEHWALG	413.95	17	SLMEPWALG	1313
2	<i>C16orf57</i>	9	B*080:1	LLRVHTEHV	443.97	28	LLRVHTEQV	498.35
	<i>ACSM2A</i>	10	A*02:01	SLMEHWALGA	5.67	40	SLMEPWALGA	9.8
	<i>TBC1D9B</i>	9	A*02:01	KMTFLFPNL	63.7	62	KMTFLFANL	93
	<i>SF3B1</i>	9	A*02:01	GLVDEQQEV	22.26	94	GLVDEQQKV	51
	<i>LRRC41</i>	10	A*02:01	ALPDPILQSI	28.18	107	ALPGPILQSI	99
	<i>LRRC41</i>	9	A*02:01	GVWALPDPI	382.07	122	GVWALPGPI	963
3	<i>FNDC3B</i>	10	A*02:01	AVVMSWAPPV	98.15	123	AVVLSWAPPV	89
	<i>F2R</i>	9	B*080:1	TSIDRFLAV	245.43	130	ISIDRFLAV	252
	<i>KIAA0467</i>	9	B*07:02	GPSWGLSLM	179.31	137	GPSRGLSLM	39
	<i>C16orf57</i>	9	A*02:01	LLRVHTEHV	454.23	175	LLRVHTEQV	433.02
	<i>C22orf28</i>	10	A*02:01	WVNCSSMTFL	302.94	274	WVNRSSMTFL	835
	<i>FNDC3B</i>	10	A*02:01	VMSWAPPVGL	37.77	378	VLSWAPPVGL	48

20

30

40

【0392】

同程度の実験的結合スコアを有するペプチドを同じプール内に組み合わせた。突然変異ペプチドプールでパルスした自己APCに対するT細胞の週1回の刺激を2ラウンド行った後に応答を評価し、図17Bに示すとおり、T細胞はプール1に対して応答性を有することが分かった。プールのデコンボリューションにより、mut-FNDC3Bがこのプールの中でとりわけ優勢な免疫原性ペプチドであることが明らかになった(mut-及びwt-FNDC3Bの実験 IC_{50} はそれぞれ6.2及び2.7 nMであった; 例えば、図17Cを参照)。血液悪性腫瘍におけるFNDC3Bの機能は不明であるが、FNDC3B発現の下方制御がmiR-143発現を上方制御することが知られ、miR-143

50

発現は、前立腺癌幹細胞を分化させ及び前立腺癌転移を促進することが示されている。A L M S 1 及び C 6 o r f 8 9 と同様に、F N D C 3 B の突然変異は進化的に保存された領域には局在せず、またこれまでに他の癌で報告されている領域にも局在しない（例えば、図 1 5 及び図 1 6 を参照）。

【 0 3 9 3 】

mut - F N D C 3 B に対する T 細胞応答性は多機能性で（分泌 G M - C S F、I F N - 及び I L - 2 ）、且つ mut - F N D C 3 B ペプチドに特異的であるが、その野生型対応物には特異的でなかった。種々の濃度の mut - 及び wt - F N D C 3 B ペプチドに対する T 細胞応答性を試験することにより、mut - F N D C 3 B 応答性 T 細胞の高いアピディティ及び特異性が明らかになった。T 細胞応答性はクラス I 遮断抗体（W 6 / 3 2 ）の存在によって消失し、T 細胞応答性がクラス I 制限であることが示された（例えば、図 1 7 D ~ 図 1 7 E を参照）。さらに、図 1 7 E の右側のパネルに示すとおり、遺伝子突然変異領域を包含する 3 0 0 塩基対のミニ遺伝子をトランスフェクトした H L A - A 2 発現 A P C に対して T 細胞応答性が検出されたが、野生型ミニ遺伝子には検出されなかったことから、mut - F N D C 3 B ペプチドは天然にプロセシングされ、ペプチドを提示したように見えた。

10

【 0 3 9 4 】

図 1 7 F に示すとおり、mut - F N D C 3 B / A 2 + 特異的的四量体を使用して、プール 1 で刺激した T 細胞内に、健康成人 H L A - A 2 + ボランティアの対照 P B M C （ 0 . 3 8 % ）と比較して別個の mut - F N D C 3 B 応答性 C D 8 + T 細胞集団（集団の 2 . 4 2 % ）を検出した。1 8 2 例の C L L 症例（患者 2 を含む）及び正常ボランティアから採取した 2 4 例の C D 1 9 + B 細胞の大規模データセットにおける F N D C 3 B の遺伝子発現解析から、図 1 7 G に示すとおり、この遺伝子が他の C L L 及び正常 B 細胞と比較して患者 2 において比較的過剰発現することが明らかになった。従って、C L L 患者 2 において長寿命のネオ抗原特異的 T 細胞を追跡し得たことは明らかである。

20

【 0 3 9 5 】

mut - F N D C 3 B 特異的 T 細胞の動態を H S C T 後の経過との関係で定義するため、H S C T 前後の種々の時点から単離された患者 2 の T 細胞を 2 週間刺激し、次に E L I S P O T で I F N - 応答性に関して試験した。mut - F N D C 3 B 特異的 T 細胞の出現が分子的寛解と同時に起こり、これは持続的寛解を伴い長時間持続した。図 1 8 に示されるとおり（上及び中央パネル）、mut - F N D C 3 B T 細胞応答は、H S C T 前又はその 3 ヶ月後まで検出されなかった。H S C T 後 4 ヶ月で初めて分子的寛解が得られ、次に H S C T 後 6 ヶ月で初めて mut - F N D C 3 B 特異的 T 細胞が検出された。続いて抗原特異的応答性は減弱し（H S C T 後 1 2 ~ 2 0 ヶ月）、しかし H S C T 後 3 2 ヶ月に再び強力に検出された。mut - F N D C 3 B 特異的 T 細胞の T C R の分子解析に基づくと、図 1 9 及び表 1 1 に示すとおり、V 1 1 が、応答性 T 細胞によって用いられる優勢な C D R 3 V サブファミリーとして同定された。表 1 1 は、T C R V サブファミリーの増幅に使用されるプライマーを示す。

30

【 0 3 9 6 】

【表 1 3 - 1】

40

表 11.

名称	フォワードプライマー配列(5'-3')	アンプリコンサイズ (bp)
Vβ1	GCACAACAGTTCCTGACTTGACAC	346

【 0 3 9 7 】

50

【表 1 3 - 2】

Vβ2	TCATCAACCATGCAAGCCTGACCT	349
Vβ3	GTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGC	346
Vβ4	ACATATGAGAGTGGATTTGTCATT	378
Vβ5.1	ATACTTCAGTGAGACACAGAGAAAC	396
Vβ5.2	TTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTG	343
Vβ6	AGGCCTGAGGGATCCGTCTC	340
Vβ7	CCTGAATGCCCAACAGCTCTC	347
Vβ8	ATTTACTTTAACAACAACGTTCCG	404
Vβ9	CCTAAATCTCCAGACAAAGCTCAC	348
Vβ10	CCACGGAGTCAGGGGACACAGCAC	313
Vβ11	TCCAACCTGCAAAGCTTGAGGACT	312
Vβ12	CATGGGCTGAGGCTGATC	417
Vβ13.1	CAAGGAGAAGTCCCAAT	372
Vβ13.2	GGTGAGGGTACAACCTGCC	390
Vβ14	GTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAAT	349
Vβ15	AGTGTCTCTCGACAGGCACAGGCT	352
Vβ16	AAAGAGTCTAAACAGGATGAGTCC	395
Vβ17	GGAGATATAGCTGAAGGGTA	372
Vβ18	GATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA	380
Vβ19	TCCTCTCACTGTGACATCGGCCCA	322
Vβ20	AGCTCTGAGGTGCCCCAGAATCTC	370

10

20

30

40

【 0 3 9 8 】

50

【表 1 3 - 3】

Vβ22	AAGTGATCTTGCGCTGTGTCCCCA	490
Vβ23	AGGACCCCCAGTTCCTCATTTC	435
Vβ24	CCCAGTTTGAAAGCCAGTGACCC	509
Vβ25	TCAACAGTCTCCAGAATAAGGACG	352
名称	リバースプライマー配列(5'-3')	
外部 Cβ	GACAGCGGAAGTGGTTGCGGGGT	
内部 Cβ	FAM-CGGGCTGCTCCTTGAGGGGCTGCG	

10

【0399】

この分子情報を使用してクローン特異的ネステッドPCRアッセイを開発した。このアッセイを適用することにより、正常な健常ボランティアのPBMC (n = 3) 及びCD8 + T細胞にはmut - FNDC3Bに対して同じ特異性を有するT細胞は検出されず(例えば、表12を参照)、しかし、図18の下パネルに示すとおり、患者におけるHSC T後のIFN - 分泌の検出時は同様の動態で検出されることが観察された。クローン特異的T細胞の相対数は時間とともに減少し、HSC T後6ヶ月と比較して32ヶ月では、より低い濃度のペプチド抗原がT細胞応答性を刺激し得たことから、時間とともに潜在的により多くの抗原感受性記憶T細胞が出現することが示された(例えば、図18の差込み図を参照)。

20

【0400】

表12は、患者2におけるT細胞受容体特異的プライマーを使用したmut - FNDC3B特異的TCR V 11の検出を示す。mut - FNDC3B特異的TCR V 11クローンを検出するリアルタイムPCRアッセイを設計した。このクローンは健常ドナーPBMC (n = 3) 又はCD8 T細胞では検出できなかったが、患者2のmut - FNDC3B応答性T細胞由来のcDNAでは(HSC T後6ヶ月に)明確に検出可能であった。PCR産物は18SリボソームRNAで正規化した。-、陰性：増幅なし；+、陽性：増幅が検出される；++、二重陽性：増幅が検出され且つ増幅レベルが全ての陽性試料の中央値より高い。

30

【0401】

40

50

【表 1 4】

表12.

<i>cDNA</i>	<i>Vβ11</i> クローン特異的	
	<i>PCR</i>	<i>18s</i> リボソーム <i>RNA</i>
T細胞クローン	++	+
健常ドナーPBMC (n=3)	-	+
健常ドナーCD8T細胞	-	+

10

【0402】

実施例 2 1：多様な癌にわたり多数の候補ネオ抗原が予測された

C L Lの全体的な体細胞突然変異率は他の血液悪性腫瘍と同程度であるが、固形腫瘍の悪性腫瘍と比較すると低い（例えば、図 2 0 Aを参照）。腫瘍型及び突然変異率が候補ネオ抗原の存在量及びクオリティにどのような影響を及ぼすかを調べるため、高い（メラノーマ（M E L）、肺扁平上皮癌（L U S C）及び腺癌（L U A D）、頭頸部癌（H N C）、膀胱癌、結腸直腸腺癌、中程度（膠芽腫（G B M）、卵巣癌、腎明細胞癌（明細胞 R C C）、及び乳癌）及び低い（C L L及び急性骨髄性白血病（A M L）癌を含めた 1 3 種の悪性腫瘍の公的に利用可能な W E S データにパイプラインを適用した。この解析を実施するため、W E S データからの H L A タイピングの推測が可能な最近記載されたアルゴリズムもまた実施した（Liu et al.2013）。

20

【0403】

これらの固形悪性腫瘍における全体的な突然変異率のオーダーはC L Lより高く、ミスセンス突然変異の中央値の増加と関連した。例えば、それぞれ、メラノーマは症例当たり 3 0 0 個のミスセンス突然変異（範囲、3 4 ~ 4 2 7 6 個）の中央値を示し、一方で R C C は 4 1 個（範囲、1 0 ~ 1 0 1 個）を有した。R C C 及びメラノーマにおけるフレームシフト及びスプライス部位突然変異はC L Lと比較したとき頻度が 2 ~ 3 倍増加したに過ぎず、試料当たりの合計ネオ O R F 長さはやや増加した（5 ~ 1 3 倍）に過ぎなかった。全体として、ミスセンスから生成された I C ₅₀ < 5 0 0 n M の予測ネオペプチド数の中央値及び試料当たりのフレームシフトイベントは突然変異率に比例した；これはメラノーマ（4 8 8；範囲、1 8 ~ 5 8 1 1）及び R C C（8 0；範囲、6 ~ 4 0 7）に関して、C L L（2 4；範囲 2 ~ 1 2 4）と比較してそれぞれ約 2 0 ~ 4 倍高かった。I C ₅₀ < 1 5 0 n M のよりストリンジェントな閾値では、対応する予測ネオペプチド数は、図 2 0 B 及び表 1 3 に示すとおり、メラノーマ、R C C 及び C L L についてそれぞれ 2 1 2 個、3 5 個及び 1 0 個であった）。

30

40

【0404】

表 1 3 は、全 1 3 種の癌の突然変異クラスの分布、合計ネオ O R F サイズ及び予測結合ペプチド数を示す。M E L：メラノーマ、L U S C：肺扁平上皮癌、L U A D：肺腺癌、B L C A：膀胱、H N S C：頭頸部癌、C O A D：結腸腺癌、R E A D：腎腺癌、G B M：膠芽腫、O V：卵巣癌、R C C：腎明細胞癌、B R C A：乳癌、C L L：慢性リンパ性白血病、A M L：急性骨髄性白血病。* - ミスセンス及びフレームシフト突然変異に基づく予測ペプチド数。

【0405】

50

【表 15】

癌型	突然変異数/試料中央値(範囲)			合計NeoORF長さ(試料)	予測ペプチド数中央値(範囲)*	
	ミスセンス	フレームシフト	スプライス部位		IC50<150(nM)	IC50 150-500(nM)
MEL	300(34-4276)	2(0-16)	4(0-101)	48(0-425)	212(10-2566)	488(18-5811)
LUSC	212(0-2397)	3(0-28)	5(0-37)	86.5(0-975)	149.5(0-1320)	351.5(0-2946)
LUAD	172.5(0-8971)	7(0-61)	5(0-127)	173.5(0-2137)	122(0-6999)	269.5(1-16360)
BLCA	161.528-1194)	6(0-22)	4(0-22)	152(0-780)	9719-1073)	232.5(59-2337)
HNSC	95(2-1400)	5(0-106)	2(0-29)	124.5(0-2585)	66.5(2-1139)	159.5(3-2916)
COAD	93(32-5902)	4(1-182)	0(0-96)	121(9-4794)	68(15-2155)	172(40-5199)
READ	72.5(37-1837)	2(0-31)	0(0-2)	51(0-929)	52(14-1215)	114(38-2750)
GBM	47(0-169)	2(0-16)	1(0-5)	47(0-539)	39(0-166)	90(0-332)
OV	42(9-149)	1(0-7)	1(0-6)	7.5(0-328)	30(3-181)	70(13-420)
RCC	41(10-101)	6(0-22)	1(0-8)	143(0-813)	35(2-223)	80(6-407)
BRCA	25(1-300)	2(0-54)	1(0-8)	37(0-1415)	21(0-346)	47(0-781)
CLL	16(0-75)	1(0-9)	1(0-6)	11(0-427)	10(0-50)	24(2-124)
AML	7(0-20)	1(0-2)	0(0-3)	6(0-160)	4(0-19)	8(0-41)

*ミスセンス突然変異によって生じる予測エpiteープのみを参照。

表 13.

【0406】

実施例 22 : クローナル突然変異に対処するための臨床戦略

「クローナル」突然変異は腫瘍内のあらゆる癌細胞に見られるものであり、一方「サブクローナル」突然変異は統計的に全ての癌細胞にあるわけではなく、従って腫瘍内のサブ集団に由来するものである。

【0407】

本明細書の技法によれば、バイオインフォマティクス解析を用いて突然変異のクロナリティーを推定し得る。例えば、ABSOLUTEアルゴリズム(Carter et al, 2012 ; Landau et al, 2013)を用いて、腫瘍純度、倍数性、絶対コピー数及び突然変異のクロナリティーを推定し得る。各突然変異の対立遺伝子率の確率密度分布を作成し、続いて突然変異の癌細胞率(CCF)に変換し得る。突然変異は、それらのCCFが0.95を超える

10

20

30

40

50

事後確率がそれぞれ0.5より大きいか又は小さいかに基づきクローナル又はサブクローナルとして分類され得る。

【0408】

本開示の範囲内で、ネオ抗原ワクチンがクローナルタイプ、サブクローナルタイプ又は両方のタイプの突然変異に対するペプチドを含み得ることが企図される。その判断は、患者の病期及びシーケンシングされる1つ又は複数の腫瘍試料に依存し得る。アジュバントセッティングの初期臨床試験については、ペプチド選択の間にこれらの2つの突然変異タイプを区別することは必要ない場合もあるが、しかしながら当業者は、かかる情報が、いくつもの理由から、さらなる研究の指針とするのに有用であり得ることを理解するであろう。

10

【0409】

第一に、対象となる腫瘍細胞は遺伝的に不均一性であり得る。複数の研究が発表されており、そこでは種々の疾患進行ステージに相当する腫瘍が不均一性に関して評価されている。それには、前癌性疾患（骨髄異形成症候群）から白血病（続発性急性骨髄性白血病 [AML]）への進化（Walter et al 2012）、治療によって誘導されたAML寛解後の再燃（Ding et al 2012）、原発性から転移性乳癌及び髄芽腫への進化（Ding et al 2012; Wu et al Nature 2012）、及び原発性から高転移性膵癌及び腎癌への進化（Yachida et al 2012; Gerlinger et al 2012）を調べることが含まれる。ほとんどの研究がゲノム又はエクソームシーケンシングを利用したが、一つの研究はコピー数変異及びCpGメチル化パターン変異もまた評価した。これらの試験は、遺伝的イベントが癌細胞の成長中に獲得され、それにより突然変異プロファイルが変化することを示している。最も早期に検出可能な突然変異（「ファウンダー突然変異」）の多く、通常ほとんど（40%~90%）が、あらゆる進化した変異体に持続するが、進化クローンにユニークな新規突然変異が実に生じ、それらは種々の進化クローン間で異なり得る。これらの変化は宿主/癌細胞の「環境」圧力及び/又は治療介入によって駆動され、従ってより高転移性の疾患又は過去の治療介入が概してより重大な不均一性をもたらし得る。

20

【0410】

第二に、最初に各患者につき一つの腫瘍がシーケンシングされ得ることが企図され、これによりその特定の時点に関する遺伝的変異のプロファイルのスナップショットが提供され得る。シーケンシングされる腫瘍は、臨床的に明らかなリンパ節、イントランジット転移/衛星転移、又は切除可能な内臓転移に由来し得る。最初に試験した患者のいずれも、臨床的に多部位に進行した疾患を有しない；しかしながら、本明細書に記載される技法は多部位に進行した癌を有する患者に幅広く適用され得ることが企図される。この腫瘍細胞集団の範囲内で、「クローナル突然変異」は、ファウンダー突然変異と、切除された腫瘍を播種した細胞に存在する任意の新規突然変異との両方から構成され、サブクローナル突然変異は、切除した腫瘍の成長中に進化したものを表す。

30

【0411】

第三に、ワクチンにより誘導したT細胞が標的化する際に臨床的に重要な腫瘍細胞は、多くの場合に切除された腫瘍細胞ではなく、むしろ所与の患者の体内にある他の現在検出不能な腫瘍細胞である。これらの細胞は原発腫瘍から直接、又は切除された腫瘍から広がっていることもあり、播種腫瘍内の優位又は準優位な集団に由来していることもあり、及び外科的に切除した部位で遺伝的にさらに進化していることもある。これらのイベントは現在予測不可能である。

40

【0412】

従って、外科的に切除したアジュバントセッティングには、切除された腫瘍に見られるクローナル又はサブクローナルの突然変異が他の切除されない癌細胞を標的化するための最適な選択肢に相当するかどうかを決定する先験的な方法はない。例えば、切除された腫瘍内のサブクローナルの突然変異が、切除された腫瘍内のサブクローナル突然変異を含むサブ細胞集団から他の部位に播種された場合、そうした他の部位ではクローナルであり得る。

50

【0413】

しかしながら他の疾患セッティング、例えば患者が多発性及び転移性病変を有するセッティングでは、2つ以上の病変（又は病変の一部）又は異なる時点の病変をシーケンシングすることにより、有効なペプチド選択に関してより多くの情報が提供され得る。クローナル突然変異は、典型的にはワクチン用のネオ抗原エピトープの設計において優先順位が付けられ得る。場合によっては、特に腫瘍が進化し、且つ個々の患者に関する転移性病変からのシーケンシングの詳細が評価されるようなとき、ペプチド選択の一環として考慮するため特定のサブクローナル突然変異に優先順位が付けられ得る。

実施例 2.3：個別化癌ワクチンは腫瘍ネオ抗原に対する免疫を刺激する

網羅的なバイオインフォマティクスとCLL及び他の癌における機能的データとの上述の詳説した統合は、いくつかの新規の生物学的洞察をもたらす。第一に、CLLは比較的低い突然変異率の癌であるが、それにも関わらず、長期T細胞応答を誘発した、体細胞突然変異によって生成されるエピトープを同定することが可能であった。31例のCLL試料からの全エクソームシーケンシングデータから、症例当たり中央値22個（範囲、6~81個）のペプチドが、中央値16個（範囲、2~75個）のミスセンス突然変異に由来してIC₅₀ < 500 nMで個人的HLA-A及び-B対立遺伝子に結合すると予測されることが明らかになった。IC₅₀ < 150 nM及び500 nMの予測ペプチドのそれぞれ約75%及び半数（54.5%）が、患者のHLA対立遺伝子に結合することが実験的に検証された。RNA発現解析から、予測突然変異ペプチドに対応するコグネイト遺伝子のほぼ90%がCLL細胞で発現したことが示され、且つ試験した3例の各々で（データは示さず）突然変異対立遺伝子からの転写物の発現が検出されたことが確認された。全ネオエピトープのごく一部のみが自然T細胞応答を生じたが、しかしながらこの応答は、移植から数年後になおも検出可能であった；全ての予測し且つ試験された突然変異ペプチドの約6%（3/48個）又は実験的に検証され且つ試験された突然変異ペプチドの9%（3/32個）が、患者T細胞からのIFN- γ 分泌応答を刺激した。低突然変異率の腫瘍であるCLLにおけるこのネオエピトープ発見率は、顕著には、高突然変異率の癌であるメラノーマで最近報告された率（4.5%、又は11/247個のペプチド；Robbins P F, Lu YC, El-Gamil M, et al：「適合移植腫瘍応答性T細胞によって認識される突然変異抗原を同定するためのエクソームシーケンシングデータのマイニング（Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells）」. Nat Med, 2013）と同程度である。従って、低突然変異率の腫瘍を含め、幅広い癌にわたり機能的ネオエピトープを体系的に発見することができる。

10

20

30

【0414】

第2の重要な知見は、CLLネオエピトープに対するT細胞応答が（数年のオーダーで）長寿命で、持続的疾患寛解を伴い、且つ記憶T細胞応答と一致する時間フレームでインピトロ刺激の間に生成されたことである。これらの研究は、腫瘍ネオ抗原に対する応答が有効な免疫応答に寄与するという増えつつある文献に加わる。従って、ミスセンス突然変異から生成された予測ペプチドの約5%が検出可能なT細胞応答を生じたが、応答の動態は、進行中の抗白血病監視機能における可能性のある役割を示唆している。ネオ抗原特異的T細胞応答の機能的影響はCastleらの最近の研究によって裏付けられ（Castle J C, Kreiter S, Diekmann J, et al：「腫瘍ワクチン接種にミュータノームを利用する（Exploiting the mutanome for tumor vaccination）」. Cancer Res 72: 1081-1091, 2012）、彼らはB16マウスメラノーマのWES及びペプチド-HLA対立遺伝子結合体の予測によって候補ネオエピトープを同定した。これらの予測エピトープのサブセットは、突然変異ペプチドに特異的で且つ野生型対応物には特異的でなかった免疫応答を誘発したのみならず、また疾患を治療的及び予防的のいずれにも制御可能であった。腫瘍ネオ抗原の相対的寄与を他のタイプのCLL抗原、例えば過剰発現した又は共通の天然抗原（メラノーマと対照的に、CLL腫瘍抗原は十分に特徴付けられていない）、又はGvL応答と直接比較することは困難であったが、長期生存のメラノーマ患者由来の抗原特異的

40

50

T細胞応答の事前の特徴付けから、抗ネオ抗原免疫が、共通の過剰発現腫瘍抗原に対する免疫と比べてより長期にわたり、時間が経過しても持続することが示唆される。

【0415】

第三に、これらの結果は、腫瘍特異的「幹(trunk)」突然変異を標的化することは、免疫学的観点から強い影響力を有し得るという概念を浮かび上がらせる。2人の患者における免疫原性ネオ抗原の3つ全て(突然変異FND3CB、ALMS1、C6orf89)が、発癌プロセスに直接寄与しないパッセンジャー突然変異であるものと思われ、癌塊の大部分に影響を及ぼすクローナルであった。これらの免疫原性突然変異のいくつかの特徴は、それらがパッセンジャー突然変異であることを示唆している：突然変異周辺での配列保存の欠如及び観察部位における他の癌で既報告の突然変異の欠如。クローナル進化は癌の基本的特徴であるため、癌ドライバーの免疫学的ターゲティングは、それらが選択圧に直面しても維持されることを必要とし得る腫瘍機能におけるそれらの不可欠性を所与として、最小限の抗原ドリフトの利点を有し得ると仮定されている。かかる利点の可能性はあり得るが、明らかに必要条件ではない。加えて、ドライバー突然変異は必ずしも免疫原性ペプチドを生じるとは限らない。例えば、患者2におけるTP53-S83R突然変異は、そのクラスHLA-A又は-B対立遺伝子のいずれに対する<500nMの予測エピトープも生成しなかった。

【0416】

最後に、文献からのネオ抗原データの結合特性(表4)並びにCLLにおけるデータからの候補ネオエピトープの分析により、T細胞応答を有効に生じる可能性が最も高い点突然変異のタイプに関する概念的洞察が明らかになった。免疫原性ネオエピトープの一貫性のある特徴は予測結合親和性<500nM(3個中3個の免疫原性CLLペプチド及び33個中30個[91%]の過去の機能性ネオエピトープ)であり、それらの大多数(92%)が<150nMの予測親和性を示したことが分かった。しかしながら予想外にも、ほとんどの場合に(3個中3個の免疫原性CLLペプチド及び33個中27個[82%]の過去の機能性エピトープ)、対応する野生型エピトープもまた、同等の強力な/中程度の親和性(<150nM、表4のグループ1)又は弱い親和性(150~500nM、表4のグループ2)で結合することが予測された。これらのデータは、ネオ抗原に対する天然に存在するT細胞応答の中には、2つのタイプの突然変異が一般的に観察されるという見解を裏付ける：(1)実質的にMHC対立遺伝子に対するより良好な結合を、恐らくはMHCとの相互作用の向上に起因してもたらず位置にある突然変異(突然変異ALMS1並びに33個中6個(18%)の過去の機能的に同定されたネオエピトープ[「グループ3」、表4])、又は(2)MHCと顕著には相互作用しないが、代わりに恐らくはT細胞受容体結合を変化させる位置にある突然変異((3個中2個のCLLエピトープ[FND3CB及びC6orf89]及び33個中24個(73%)の天然で免疫原性のネオエピトープ[「グループ1」及び「グループ2」、表4])。これら2つのタイプの突然変異の違いは、ペプチドを「鍵」と見なすことができ、細胞溶解を刺激して突然変異がMHC又はTCR結合を独立して変化させることを可能にするためには、この鍵がMHC及びTCRの両方の「鍵穴」に合わなければならないという概念と一致する。移植片対宿主病に対するマイナー組織適合抗原(histocompatibility antigen)の寄与を除き、これらの患者においては、例え突然変異ペプチドに対して反応を起こし、且つコグネイト天然ペプチドが強い結合体であると予測される患者であっても、ネオ抗原に関係付けられる自己免疫性の続発症の報告はない。この結果は、MHC結合性天然ペプチドが通常はネガティブ選択過程に関与し、そこではそれらの天然ペプチドに応答するTCRを有するT細胞が胸腺で欠失され又は反応不顕性にされるが、しかしT細胞レパトリーは、T細胞受容体に対する突然変異ペプチドの提示が変化するため、ネオエピトープ(neoepitope)ペプチドに対する特異的免疫反応の発生に適応し得るという見解と一致している。患者における各個々の腫瘍が、環境に応じて進化し続け得る幅広い共通の遺伝子変化及び個人的な遺伝子変化の両方を有し得ること、及びこの進行が、多くの場合に治療抵抗性をもたらし得ることは明らかである。腫瘍のユニークさ及び可塑性を所与とすれば、最適な治療は各腫瘍

10

20

30

40

50

に存在する正確な突然変異に基づきカスタマイズされる必要があってよく、抵抗性を回避するため複数のノードを標的化する必要があってよい。ヒトCTLの膨大なレパートリーには、複数の個別化された腫瘍抗原を標的化するような治療法を作り出せる可能性がある。上記で考察したとおり、本開示は、超並列シーケンシングを、HLA結合ペプチドを有効に予測するアルゴリズムと組み合わせて使用して、腫瘍特異的突然変異を有するCTL標的抗原を体系的に同定可能であることを示す。有利には、本開示は、種々の突然変異率が低い癌及び高い癌における腫瘍ネオ抗原の予測を可能にし、CLL患者において白血病ネオ抗原を標的化する長寿命のCTLを実験的に同定する。本開示は、腫瘍ネオ抗原を標的化する防御免疫の存在を裏付け、個別化された腫瘍ワクチン用のネオ抗原の選択方法を提供する。

10

【0417】

上記に詳細に考察したとおり、本明細書に記載される技法を、同種HSC T後の抗腫瘍免疫応答を伴う臨床的に明らかな長期寛解を生じたCLL患者のユニークな群に適用した。これらの移植片対白血病応答は、典型的には、造血細胞を標的化するアロ反応性免疫応答に起因している。しかしながらd上述の結果は、GvL応答が、個人的白血病ネオ抗原を認識するCTLにも関連付けられることを示している。これらの結果は、アロ抗原よりむしろ、腫瘍に対して特異性を有するGvL関連CTLの存在を示すデータと一致する。ネオ抗原応答性CTLは癌監視に重要であると仮定されており、これは、長期メラノーマ生存者の研究から、ネオ抗原を標的化するCTLが、非突然変異過剰発現腫瘍抗原に対するものと比べて有意に豊富にあり、持続性であることが分かったためである(Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, et al: 「ヒトメラノーマに対する自己T細胞の応答は突然変異ネオ抗原により支配される(The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens)」. Proc Natl Acad Sci USA 102: 16013-8, 2005)。上記に提供するデータはこのメラノーマ研究と一致し、なぜならCLL患者におけるネオ抗原特異的T細胞応答は(それらの迅速なインビトロ刺激動態に基づけば)長寿命な(数年のオーダーで)記憶T細胞であり、且つ持続的疾患寛解と関連付けられることが分かったためである。従って、ネオ抗原応答性CTLは、移植CLL患者の白血病の管理において積極的な役割を果たす可能性がある。

20

【0418】

より一般的には、多くの腫瘍にわたるネオ抗原の存在量を推定し、点突然変異当たり約1.5個の $IC_{50} < 500 \text{ nM}$ のHLA結合ペプチド及びフレームシフト突然変異当たり約4個の結合ペプチドであることが分かった。予想どおり、予測HLA結合ペプチド率は腫瘍型当たりの体細胞突然変異率を反映した(例えば、図20を参照)。2つの手法を用いて予測結合親和性とCTLを誘導する免疫原性ネオ抗原との間の関係を調べた。既発表の免疫原性腫瘍ネオ抗原(即ち患者において応答性CTLが観察されたもの)に上述の技法を適用し、機能性ネオ抗原の大多数(91%)が $IC_{50} < 500 \text{ nM}$ でHLAに結合すると予測されることが実証された(野生型対応エピトープの約70%は同程度の親和性で結合することが予測される)(例えば、表4を参照)。この試験はネオ抗原のゴールドスタンダードセットを使用し、本明細書に記載される技法が真陽性を正しく分類することが確認された。プロスペクティブなネオエピトープ予測と、続く機能検証から、予測されたエピトープの6%(3/48個)が患者においてネオ抗原特異的T細胞応答に関連したことが示された-これは最近メラノーマで見出された4.8%の率と同等であった。低比率が必ずしもアルゴリズムの低い予測精度を意味するものではない。むしろ、真のネオ抗原の数は以下の理由から大幅に過小評価される:(i)同種HSC Tは、少数のネオ抗原特異的T細胞記憶クローンのみを誘導する可能性が高い一般的な細胞療法である;及び(ii)標準的なT細胞拡大方法は、レパートリーの非常に大きい部分に相当するが、しかしはるかに低い前駆体頻度であるナイーブT細胞を検出するのに十分な感度を有しない。ネオORFを標的化するCTLの頻度はまだ計測されていないが、本発明の範囲内で、このネオ抗原クラスは特異性がより高く(野生型対応物を欠いていることで)且つ免疫原性がより高い(胸腺トランスを回避する結果として)と見られるため、優れた候補ネオ

30

40

50

エピトープであり得ることが特に企図される。

【0419】

本開示は、進行中である極めて強力なワクチン接種試薬の開発によって、腫瘍ネオ抗原に対する免疫を有効に刺激する個別化癌ワクチンの生成を実現可能にする技法を提供する。
材料及び方法

患者試料：ダナ・ファーバー癌研究所 (Dana-Farber Cancer Institute : DFCI) の臨床研究プロトコルに登録された患者からヘパリン添加血液を採取した。全ての臨床プロトコルはDFCIヒト被験者保護委員会 (Human Subjects Protection Committee) によって承認された。患者試料由来の末梢血単核細胞 (PBMC) を Ficoll / Hypaque 密度勾配遠心法により単離し、10% DMSO で凍結保存し、分析時まで気相液体窒素中に保管した。一部の患者について、分子タイピング又は血清学的タイピングのいずれかによりHLAタイピングを実施した (組織タイピング研究所 (Tissue Typing Laboratory)、ブリガム・アンド・ウィメンズ病院 (Brigham and Women's Hospital)、Boston, MA)。

10

【0420】

CLL及び他の癌の全エクソームキャプチャーシーケンシングデータ：dbGaP データベースからメラノーマに関するリストを入手し (phs000452.v1.p1)、TCGA (Sage Bio networks のシナプスリソース (ワールドワイドウェブ上の (www) synapse.org / #! Synapse : syn1729383 にある) から利用可能) を通して11種の他の癌に関して入手した。二段階の尤度に基づく手法を用いてこれらの13種の腫瘍型にわたる2488個の試料のHLA-A、HLA-B及びHLA-C遺伝子座をシーケンシングした。このデータを表14にまとめる。簡潔に言えば、IMGTデータベースに基づき、全ての既知のHLA対立遺伝子 (6597個のユニークなエントリ) からなる専用の配列ライブラリを構築した。このリソースから、38merの二次ライブラリを作成し、HLA遺伝子座から生じる推定リードを全配列リードから、それに対する完全一致に基づき抽出した。次に抽出されたリードを、Novoalignソフトウェア (ワールドワイドウェブ上の (www) novocraft.com にある) を使用してIMGTベースのHLA配列ライブラリとアラインメントし、二段階尤度計算によってHLA対立遺伝子を推測した。第一段階では、集団ベースの頻度を各対立遺伝子の事前尤度として使用し、アラインメントしたリードのクオリティ及び挿入サイズ分布に基づき事後尤度を計算した。HLA-A、B及びC遺伝子の各々について最も高い尤度の対立遺伝子を第1の対立遺伝子セットとして同定した。次に第1の勝者セットと併せた尤度計算値の発見的重み付け戦略を使用して、第2の対立遺伝子セットを同定した。

20

30

【0421】

表14は、癌間でのネオ抗原負荷推定値に関するTCGA患者IDを示す。LUSC (肺扁平上皮癌)、LUAD (肺腺癌)、BLCA (膀胱)、HNSC (頭頸部)、COAD (結腸) 及びREAD (直腸)、GBM (膠芽腫)、OV (卵巣の)、RCC (腎細胞癌)、AML (急性骨髄性白血病) 及びBRCA (乳房)。

【0422】

40

50

【表 16 - 1】

表14

TCGA/バーコード	疾患	UUID
TCGA-BL-A0C8-01A-11D-A10S-08	BLCA	134b0a5e-a0ba-444d-bc4b-bdceb02d5b04
TCGA-BL-A13I-01A-11D-A13W-08	BLCA	aa490522-7bb9-4f82-8f19-caf63f719bfe
TCGA-BL-A13J-01A-11D-A10S-08	BLCA	0c7aca3f-c006-4de3-afc2-20b4f727d4fd
TCGA-BL-A3JM-01A-12D-A21A-08	BLCA	b181ba68-f50f-4faf-b7b5-356e119b5f04
TCGA-BT-A0S7-01A-11D-A10S-08	BLCA	b2e5d244-94c1-4dbf-8d33-34b595903310
TCGA-BT-A0YX-01A-11D-A10S-08	BLCA	d61ccd8c-b798-46e0-aeed-f95b4f3ba4ff
TCGA-BT-A20J-01A-11D-A14W-08	BLCA	1d3c0ff9-d149-4d21-8955-5fb849fc5462
TCGA-BT-A20N-01A-11D-A14W-08	BLCA	341bbffe-7587-4ad0-b3b4-68e64080e216
TCGA-BT-A20O-01A-21D-A14W-08	BLCA	7df63263-de4e-4ed8-804f-9e8fee3be2d5
TCGA-BT-A20P-01A-11D-A14W-08	BLCA	e6c78a98-f45b-482b-a551-4f11b8c1ff8b
TCGA-BT-A20Q-01A-11D-A14W-08	BLCA	8c619cbc-9e91-4716-9711-5236e55d8f46
TCGA-BT-A20R-01A-12D-A16O-08	BLCA	e9bbbf3c-0bcb-4f91-92a1-081bff7c4a07
TCGA-BT-A20T-01A-11D-A14W-08	BLCA	301d6ce3-4099-4c1d-8e50-c04b7ce91450
TCGA-BT-A20U-01A-11D-A14W-08	BLCA	4576527b-b288-4f50-a9ea-5d5dede22561
TCGA-BT-A20V-01A-11D-A14W-08	BLCA	973d0577-8ca4-44a1-817f-1d3c1bada151
TCGA-BT-A20W-01A-21D-A14W-08	BLCA	85ccd9b-f787-4701-822f-ac0fce5b4fc5
TCGA-BT-A20X-01A-11D-A16O-08	BLCA	9b4586ee-4091-484f-8be8-5a5196fe7b6f
TCGA-BT-A2LB-01A-11D-A18F-08	BLCA	e7aea186-f13b-43b1-8693-f90f51e005dd
TCGA-BT-A2LD-01A-12D-A20D-08	BLCA	cc95719c-7fcc-4ed7-837e-1840c0a6bc27
TCGA-BT-A3PH-01A-11D-A21Z-08	BLCA	cd1a403-16b6-487c-a82a-c377d1d0f89d
TCGA-BT-A3PJ-01A-21D-A21Z-08	BLCA	b73523d7-f5a5-4140-8537-4df4d1ecf465
TCGA-BT-A3PK-01A-21D-A21Z-08	BLCA	4ad38e8e-e63e-41d9-9216-617be7fa1d75
TCGA-C4-A0EZ-01A-21D-A10S-08	BLCA	b01a7081-8eb5-4728-a517-52156cdf7ed
TCGA-C4-A0F0-01A-12D-A10S-08	BLCA	612fd956-9a41-4201-9d74-6ab50f6ac987
TCGA-C4-A0F1-01A-11D-A10S-08	BLCA	9377460a-8497-41b8-b2c2-5f50cfeda1fe
TCGA-C4-A0F6-01A-11D-A10S-08	BLCA	608f8c75-40e4-44f2-bdde-5f07aa6b4bee
TCGA-C4-A0F7-01A-11D-A10S-08	BLCA	f389176f-d8f3-45c2-aae4-7378a3d6fc7f
TCGA-CF-A1HR-01A-11D-A13W-08	BLCA	69acf4f1-063f-453d-b148-681518c0bc39
TCGA-CF-A1HS-01A-11D-A13W-08	BLCA	b36e672b-c5d8-4481-bbb3-7be805215212
TCGA-CF-A27C-01A-11D-A16O-08	BLCA	acc629cb-ad03-4cec-9b21-922e4932ef3c
TCGA-CF-A3MF-01A-12D-A21A-08	BLCA	c66c92d5-df65-46e6-861d-d8a98808e6a3
TCGA-CF-A3MG-01A-11D-A20D-08	BLCA	4c89ce08-ed24-4179-8884-4706660b7da8
TCGA-CF-A3MH-01A-11D-A20D-08	BLCA	8867b16f-cd05-41e9-b3ca-4c72a1ebcb70
TCGA-CF-A3MI-01A-11D-A20D-08	BLCA	0afabd62-8454-41b4-9b02-386681589688
TCGA-CU-A0YN-01A-21D-A10S-08	BLCA	803ab221-b813-4bcc-95a9-1f686d172d3c
TCGA-CU-A0YO-01A-11D-A10S-08	BLCA	e80278f9-2059-4e98-92b2-3e9868fc5818
TCGA-CU-A0YR-01A-12D-A10S-08	BLCA	31382822-3792-47bc-99e8-8a1ee1e4e58b

10

20

30

40

【 0 4 2 3 】

【表 16 - 2】

TCGA-CU-A3KJ-01A-11D-A21A-08	BLCA	e22c6a44-4f8e-44eb-8ca8-dff0f2fc5575
TCGA-DK-A1A3-01A-11D-A13W-08	BLCA	2322f7cd-7d55-4a9f-b7f3-da3068089383
TCGA-DK-A1A5-01A-11D-A13W-08	BLCA	448fe471-3f4e-4dc8-a4e0-6f147dc93abe
TCGA-DK-A1A6-01A-11D-A13W-08	BLCA	df8a913c-5160-4fc5-950d-7c890e24e820
TCGA-DK-A1A7-01A-11D-A13W-08	BLCA	91f458e6-64b7-454d-a542-b0aa23638fd8
TCGA-DK-A1AA-01A-11D-A13W-08	BLCA	804ffa2e-158b-447d-945c-707684134c87
TCGA-DK-A1AB-01A-11D-A13W-08	BLCA	5f0fb2ba-0351-4ce0-8b74-31aa3deecae1
TCGA-DK-A1AC-01A-11D-A13W-08	BLCA	a5dc17f5-abda-4534-b0f8-34b59ed4faa3
TCGA-DK-A1AD-01A-11D-A13W-08	BLCA	32398d56-8668-41b1-9c0b-c6aea6e3e787
TCGA-DK-A1AE-01A-11D-A13W-08	BLCA	abd2d959-d5ed-4eb3-9759-67eb1aa23325
TCGA-DK-A1AF-01A-11D-A13W-08	BLCA	fbdcdf79-1901-4e90-8e3c-71b05dc96da1
TCGA-DK-A1AG-01A-11D-A13W-08	BLCA	7d2a22eb-7344-4cba-ad7d-94c3f9ef3d7c
TCGA-DK-A2HX-01A-12D-A18F-08	BLCA	a8f0d416-2102-43ea-9cf1-465c37f9642a
TCGA-DK-A2II-01A-11D-A17V-08	BLCA	f350676a-e308-42fe-8297-9d18ba7027b1
TCGA-DK-A2I2-01A-11D-A17V-08	BLCA	537e0d59-dd1c-479e-877f-eb9523c0967e
TCGA-DK-A2I4-01A-11D-A21A-08	BLCA	d68074b8-ce96-4dc5-b14c-3bbc7ba92ad9
TCGA-DK-A2I6-01A-12D-A18F-08	BLCA	97a755af-ca00-4116-8a32-0984dbfb1585
TCGA-DK-A3IK-01A-32D-A21A-08	BLCA	f730e341-8102-4405-95e2-46a3455a35cc
TCGA-DK-A3IL-01A-11D-A20D-08	BLCA	4838b5a9-968c-4178-bffb-3fafelff6dc09
TCGA-DK-A3IM-01A-11D-A20D-08	BLCA	780f4201-4e59-47b8-b3b7-d322a6162b2d
TCGA-DK-A3IN-01A-11D-A20D-08	BLCA	173c1518-6bcb-4e25-a119-de32dab91286
TCGA-DK-A3IQ-01A-31D-A20D-08	BLCA	c3da3cc2-2299-4a3e-9de8-7a1d0a10345d
TCGA-DK-A3IS-01A-21D-A21A-08	BLCA	92a59313-da12-4896-b164-fd2d50684638
TCGA-DK-A3IT-01A-31D-A20D-08	BLCA	07db4596-cb49-4a32-bc99-3b202ffe61a2
TCGA-DK-A3IU-01A-11D-A20D-08	BLCA	52de410f-3ce3-4ee6-87f3-8ec2e829962f
TCGA-DK-A3IV-01A-22D-A21A-08	BLCA	7cccffbc-5fe4-4413-95fd-07533aacbb73
TCGA-E5-A2PC-01A-11D-A202-08	BLCA	62b9f71c-2dab-455a-a454-579e8843f712
TCGA-FD-A3B3-01A-12D-A202-08	BLCA	8e9fb61d-c90d-440b-857a-12e1048435ea
TCGA-FD-A3B4-01A-12D-A202-08	BLCA	df922c85-5a10-487f-a9d5-220d5090e2e4
TCGA-FD-A3B5-01A-11D-A20D-08	BLCA	d05f9b81-7ba9-4231-aae6-1d2c14df22d7
TCGA-FD-A3B6-01A-21D-A20D-08	BLCA	36524c53-ac54-4a42-a982-bed2e4354268
TCGA-FD-A3B7-01A-31D-A20D-08	BLCA	fc76c5bd-315d-4981-ae53-705f40d2c078
TCGA-FD-A3B8-01A-31D-A20D-08	BLCA	7957bb77-8329-43a0-b1a8-140f2cb6b91b
TCGA-FD-A3N5-01A-11D-A21A-08	BLCA	418a3dec-96ff-4719-becb-e1a8260cce2f
TCGA-FD-A3N6-01A-11D-A21A-08	BLCA	d4615ca0-b5c7-4a5c-8593-bd50034a78ae
TCGA-FD-A3NA-01A-11D-A21A-08	BLCA	d079a32c-270b-4c43-8372-884e8d0c48ed
TCGA-G2-A2EC-01A-11D-A17V-08	BLCA	1376c881-cea5-4470-8dc1-63c69f201570
TCGA-G2-A2EF-01A-12D-A18F-08	BLCA	4e5917bd-2cb1-438c-a46c-5d8ca5b2fd0e
TCGA-G2-A2EJ-01A-11D-A17V-08	BLCA	82f98ff9-7161-45c3-8107-033b47e25f21
TCGA-G2-A2EK-01A-22D-A18F-08	BLCA	eb73bb35-af99-47b8-8bbb-33b5374e5c74
TCGA-G2-A2EL-01A-12D-A18F-08	BLCA	56924619-0724-4b3e-9c53-27c27d3789d6

10

20

30

40

【 0 4 2 4 】

【表 1 6 - 3】

TCGA-G2-A2EO-01A-11D-A17V-08	BLCA	ebb5cdb6-df4a-436d-b4a6-1655d263e3dd
TCGA-G2-A2ES-01A-11D-A17V-08	BLCA	5c628df6-a848-4177-87b8-714788118980
TCGA-G2-A3IE-01A-11D-A20D-08	BLCA	ebacd09f-c204-4cd2-a087-07bc4f2c5b74
TCGA-GC-A3I6-01A-11D-A20D-08	BLCA	372feefe-ee84-4833-8651-8f023f38a56a
TCGA-GC-A3RB-01A-12D-A21Z-08	BLCA	eaf54383-4286-4416-9b18-be1081797df2
TCGA-GD-A2C5-01A-12D-A17V-08	BLCA	2b142863-b963-4cc9-8f8f-c72503c93390
TCGA-GD-A3OP-01A-21D-A21Z-08	BLCA	3e02d723-691a-448c-85e2-4e39a3696ba5
TCGA-GD-A3OQ-01A-32D-A21Z-08	BLCA	fb985b3d-b0f7-42a0-bc3c-f71d9c5f78d8
TCGA-GD-A3OS-01A-12D-A21Z-08	BLCA	9b3e164d-aaa0-4bb5-b7b8-6264b2746a47
TCGA-GV-A3JV-01A-11D-A21Z-08	BLCA	5fed4b8a-4b59-4424-bbfl-bc73ce041361
TCGA-GV-A3JW-01A-11D-A20D-08	BLCA	4534413b-d0d0-4b34-a3d4-f821705485ae
TCGA-GV-A3JX-01A-11D-A20D-08	BLCA	21525d6f-4222-4e0a-9f07-8adbbd55c54f
TCGA-GV-A3JZ-01A-11D-A21A-08	BLCA	074fc904-0a0e-4114-b569-89d51e7a89db
TCGA-GV-A3QG-01A-11D-A21Z-08	BLCA	90534196-b1d8-4054-b4d5-1d29943b52bc
TCGA-GV-A3QI-01A-11D-A21Z-08	BLCA	33a9da52-5471-456f-84cb-13c5de5b0994
TCGA-H4-A2HO-01A-11D-A17V-08	BLCA	2e327841-ee0f-42dd-883e-7d5b5a0d3a93
TCGA-H4-A2HQ-01A-11D-A17V-08	BLCA	94108975-b7a0-40ba-ad39-e44cc62e8cc0
TCGA-HQ-A2OE-01A-11D-A202-08	BLCA	61324839-e90a-49f2-a9c9-629d7b125fe9
TCGA-A1-A0SB-01A-11D-A142-09	BRCA	db9d40fb-bfce-4c3b-a6c2-41c5c88982f1
TCGA-A1-A0SD-01A-11D-A10Y-09	BRCA	1847727f-ea57-4e2e-84e5-a10e764c9096
TCGA-A1-A0SE-01A-11D-A099-09	BRCA	0539776c-3943-41d0-972c-8dc833a603e5
TCGA-A1-A0SF-01A-11D-A142-09	BRCA	b291200e-3c22-411a-85d0-fbe1570acda2
TCGA-A1-A0SG-01A-11D-A142-09	BRCA	39642c6d-9191-4746-8a9d-62d437bfdce8
TCGA-A1-A0SH-01A-11D-A099-09	BRCA	473d6ae4-162a-4136-b44f-fad42529a31a
TCGA-A1-A0SI-01A-11D-A142-09	BRCA	e218c272-a7e1-4bc9-b8c5-d2d1c903550f
TCGA-A1-A0SJ-01A-11D-A099-09	BRCA	a55c6a44-c0f5-4300-8df4-4a70befe2d3b
TCGA-A1-A0SK-01A-12D-A099-09	BRCA	d1b43161-cbc1-4bf6-b8bb-a72a2e5e1150
TCGA-A1-A0SM-01A-11D-A099-09	BRCA	2057b341-ff5c-45ef-83bb-005e29b2e740
TCGA-A1-A0SN-01A-11D-A142-09	BRCA	1b8d93f4-acc2-48ee-9ca8-a327eb0463c2
TCGA-A1-A0SO-01A-22D-A099-09	BRCA	b3568259-c63c-4eb1-bbc7-af711ddd33db
TCGA-A1-A0SP-01A-11D-A099-09	BRCA	d3ae9617-b6cd-4c98-b631-39bd4afd3c4e
TCGA-A1-A0SQ-01A-21D-A142-09	BRCA	9055ddce-a0ff-4980-af86-c07f949ache3
TCGA-A2-A04N-01A-11D-A10Y-09	BRCA	389dd52b-a7b7-46f0-83ae-308e485466a8
TCGA-A2-A04P-01A-31D-A128-09	BRCA	a85cf239-ff51-46e7-9b88-4c2cb49c66b9
TCGA-A2-A04Q-01A-21W-A050-09	BRCA	02eb17d4-9e9e-4e32-96b0-90ccdda3f167
TCGA-A2-A04R-01A-41D-A117-09	BRCA	1f8e4326-dfc7-4635-a9b7-a9207a392748
TCGA-A2-A04U-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f819433a-44db-4022-abdb-d6123cfa30b2
TCGA-A2-A04V-01A-21W-A050-09	BRCA	89501861-2778-4b88-9a44-939fed99850d
TCGA-A2-A04W-01A-31D-A10Y-09	BRCA	7822a6b1-68c8-4675-993c-c4b54a510c09
TCGA-A2-A04X-01A-21W-A050-09	BRCA	66a73891-2fea-450c-8224-0865d98b4346
TCGA-A2-A04Y-01A-21W-A050-09	BRCA	3669bbbd-2e75-4b57-a5a8-8eebc25a97c2

10

20

30

40

【 0 4 2 5 】

50

【表 1 6 - 4】

TCGA-A2-A0CL-01A-11D-A10Y-09	BRCA	a630ed59-dd23-45e1-aa16-4f7a98e32728
TCGA-A2-A0CM-01A-31W-A050-09	BRCA	fe8023d4-5476-4c58-bf70-cbf65cdd4327
TCGA-A2-A0CP-01A-11W-A050-09	BRCA	a776e274-fe9f-49a9-83ab-95ca6819c96b
TCGA-A2-A0CQ-01A-21W-A050-09	BRCA	fa0d7183-8757-4f95-87b2-2366a1dbd508
TCGA-A2-A0CS-01A-11D-A10Y-09	BRCA	fe96b832-cb86-4499-948a-5124a43d5c95
TCGA-A2-A0CT-01A-31W-A071-09	BRCA	2b412ad8-abda-4cf8-8f68-59dbce80031e
TCGA-A2-A0CU-01A-12W-A050-09	BRCA	a9aa68af-f5fe-4ac0-987f-8af49b85c231
TCGA-A2-A0CV-01A-31D-A10Y-09	BRCA	5d1dead5-d9a5-42d3-a703-4c38ad6e8f57
TCGA-A2-A0CW-01A-21D-A10Y-09	BRCA	da4f0f85-b16f-40fa-95c6-524d70d7ac4d
TCGA-A2-A0CX-01A-21W-A019-09	BRCA	975adb76-3561-41a0-959a-68da470816c7
TCGA-A2-A0CZ-01A-11W-A050-09	BRCA	95d5c606-367a-46b5-b663-dcea3f42e2a2
TCGA-A2-A0D0-01A-11W-A019-09	BRCA	3f20d0fe-aaa1-40f1-b2c1-7f070f93acf5
TCGA-A2-A0D1-01A-11W-A050-09	BRCA	a762809c-15c9-485e-ad7a-ef28427750e9
TCGA-A2-A0D2-01A-21W-A050-09	BRCA	05656575-69e7-4745-a89d-ca0568eb5559
TCGA-A2-A0D3-01A-11D-A10Y-09	BRCA	8183420e-7f44-4024-b3db-6b53ad293988
TCGA-A2-A0D4-01A-11W-A019-09	BRCA	f3accede-1716-4d44-bad4-5427a9ebd675
TCGA-A2-A0EM-01A-11W-A050-09	BRCA	0e01c6b8-9edd-4965-b247-ee7e68124f48
TCGA-A2-A0EN-01A-13D-A099-09	BRCA	12362ad7-6866-4e7a-9ec6-8a0a68df8896
TCGA-A2-A0EO-01A-11W-A050-09	BRCA	8e2f9eb7-0660-47ae-b86e-652e99fa69ca
TCGA-A2-A0EQ-01A-11W-A050-09	BRCA	2c449ea9-c3ff-4726-8566-5933e2b7056d
TCGA-A2-A0ER-01A-21W-A050-09	BRCA	31ed187e-9bfe-4ca3-8cbb-10c1e0184331
TCGA-A2-A0ES-01A-11D-A10Y-09	BRCA	64d42c62-5c2d-49f5-856e-72beef88044d
TCGA-A2-A0ET-01A-31D-A045-09	BRCA	f7b40023-4adc-4c7d-ae73-5c10ddcbc0fb
TCGA-A2-A0EU-01A-22W-A071-09	BRCA	de30da8f-903f-428e-a63d-59625fc858a9
TCGA-A2-A0EV-01A-11W-A050-09	BRCA	9433bf4f-23ba-4fe7-9503-1ad243d74225
TCGA-A2-A0EW-01A-21D-A10Y-09	BRCA	a045a04e-4f7b-4f9a-a733-47ad24475496
TCGA-A2-A0EX-01A-21W-A050-09	BRCA	9308f50c-1320-4c45-acc7-38f43b6f9a36
TCGA-A2-A0EY-01A-11W-A050-09	BRCA	a8ede596-e3f5-4b20-9e7f-45d079893176
TCGA-A2-A0ST-01A-12D-A099-09	BRCA	dd669f44-f64d-4afc-a5ac-5f7769d1db43
TCGA-A2-A0SU-01A-11D-A099-09	BRCA	6ceaf20f-1458-4f7f-954a-e2f58ed163bf
TCGA-A2-A0SV-01A-11D-A099-09	BRCA	6d3206c6-0ca8-4b2b-a160-b1719217f9c7
TCGA-A2-A0SW-01A-11D-A099-09	BRCA	7fbd2807-a5bb-4030-a299-524ec3ab4543
TCGA-A2-A0SX-01A-12D-A099-09	BRCA	b54bc31e-bdec-4ad5-998e-5a9c542f83bb
TCGA-A2-A0SY-01A-31D-A099-09	BRCA	efaa9c0b-c14b-4141-b48c-cc2c6b89ab73
TCGA-A2-A0T0-01A-22D-A099-09	BRCA	3c107ce4-a6ac-469b-b1c0-cd86674b5766
TCGA-A2-A0T1-01A-21D-A099-09	BRCA	9515373a-d982-45fa-b8f9-363f9ba8649f
TCGA-A2-A0T2-01A-11W-A097-09	BRCA	c7918143-dbce-45b3-8d24-2993a9e2b7f4
TCGA-A2-A0T3-01A-21D-A10Y-09	BRCA	0ca029bb-3b3a-48ec-8ade-5591e8e8629f
TCGA-A2-A0T4-01A-31D-A099-09	BRCA	0f1b1fda-4956-498a-b8ff-e98b5d64e509
TCGA-A2-A0T6-01A-11D-A099-09	BRCA	e4dcb280-c309-4ebb-a58d-e6389a0306ee
TCGA-A2-A0T7-01A-21D-A099-09	BRCA	3ea4d98d-f8d9-433e-94f1-b0199bfd198

10

20

30

40

【 0 4 2 6 】

【表 16 - 5】

TCGA-A2-A0YC-01A-11D-A117-09	BRCA	4ccc7dc-7c53-409f-a6b1-f86e0f07250b
TCGA-A2-A0YD-01A-11D-A10G-09	BRCA	30e9f9e5-90b2-4c73-bce5-eb6a3d31f496
TCGA-A2-A0YF-01A-21D-A10G-09	BRCA	11571107-fe70-4140-afff-f4792a4fd473
TCGA-A2-A0YG-01A-21D-A10G-09	BRCA	bf82035c-9cd1-4355-acdd-8a007708e976
TCGA-A2-A0YH-01A-11D-A10G-09	BRCA	e5558a39-enb2-4216-ba88-b63c2de48b01
TCGA-A2-A0YI-01A-31D-A10M-09	BRCA	6d2ae968-c977-4b65-869a-5e96ff3216e9
TCGA-A2-A0YJ-01A-11D-A10G-09	BRCA	3fe8e99f-dce5-4df9-983e-efe63d56bdd5
TCGA-A2-A0YK-01A-22D-A117-09	BRCA	7c27f81e-62fb-478c-9cee-8e20db9300f2
TCGA-A2-A0YL-01A-21D-A10G-09	BRCA	3ce80b41-603d-4735-85c7-71f540dc6e5c
TCGA-A2-A0YM-01A-11D-A10G-09	BRCA	1125ec93-6d24-4537-9c89-526f2d6b2299
TCGA-A2-A0YT-01A-11D-A10G-09	BRCA	827c6a2f-fb1b-4845-9cb1-11013a16da3f
TCGA-A2-A1FV-01A-11D-A13L-09	BRCA	51b7064c-d9fc-4312-ad25-b014ef81c821
TCGA-A2-A1FW-01A-11D-A13L-09	BRCA	6ccdb42e-1ad1-4175-b83a-a24b019dc640
TCGA-A2-A1FX-01A-11D-A13L-09	BRCA	0d3dd7a0-ad8d-46cc-86c4-c1994a7b4b74
TCGA-A2-A1FZ-01A-51D-A17G-09	BRCA	0f7038bb-fd25-468e-8bd9-dcd4312d13cb
TCGA-A2-A1G0-01A-11D-A13L-09	BRCA	f7eacf95-478d-4d81-a5e3-f5a8938c83ec
TCGA-A2-A1G1-01A-21D-A13L-09	BRCA	afe70076-1044-4fdd-bebc-14a97b1a8363
TCGA-A2-A1G4-01A-11D-A13L-09	BRCA	420a4771-6376-4b52-a2e3-e62aaf4d4ed6
TCGA-A2-A1G6-01A-11D-A13L-09	BRCA	c012bce9-de13-4e32-a29c-8ab64e16ea96
TCGA-A2-A259-01A-11D-A16D-09	BRCA	93febb0a-587c-47f2-9a59-117f7aa475c5
TCGA-A2-A25A-01A-12D-A16D-09	BRCA	5739a7e1-7fa3-434c-b1c3-c0a9e570c858
TCGA-A2-A25B-01A-11D-A167-09	BRCA	6e839eaf-1dbb-43f5-8846-c980e05540c7
TCGA-A2-A25C-01A-11D-A167-09	BRCA	2411fc4a-c0d7-4a60-a861-f4d954ef1ed5
TCGA-A2-A25D-01A-12D-A16D-09	BRCA	56b152c3-9de5-4b1c-b6b4-0116cb7ce097
TCGA-A2-A25E-01A-11D-A167-09	BRCA	8dce6a9d-ecb7-4699-9fda-1b09b1b1de43
TCGA-A2-A25F-01A-11D-A167-09	BRCA	1cd40576-4f1c-4cf6-8cea-e816c5d73d90
TCGA-A7-A0CD-01A-11W-A019-09	BRCA	d29ba065-28ca-4dfb-9588-06be857f67b2
TCGA-A7-A0CG-01A-11W-A019-09	BRCA	351275c7-70ea-4ddc-be76-a6ff4dc7655e
TCGA-A7-A0CJ-01A-21W-A019-09	BRCA	c9f6a65e-ae20-410d-a397-34aef0818ff3
TCGA-A7-A0DA-01A-31D-A10Y-09	BRCA	878337fe-9f41-44f5-9760-3977e7d75308
TCGA-A7-A13D-01A-13D-A12Q-09	BRCA	418e916b-7a4e-4fab-8616-15dcec4d79f8
TCGA-A7-A13G-01A-11D-A13L-09	BRCA	ef847b83-cb88-435b-bcfd-4b51d4dfa5fe
TCGA-A7-A26E-01A-11D-A167-09	BRCA	73651880-cfbd-4f8d-8031-a14b3ac65454
TCGA-A7-A26F-01A-21D-A167-09	BRCA	fc73db72-d0ac-48d0-b809-2f7540482ee5
TCGA-A7-A26G-01A-21D-A167-09	BRCA	36d1a85c-a09b-4537-86e0-caf1eb03aed8
TCGA-A7-A26H-01A-11D-A167-09	BRCA	fbeade79-28ef-4e85-8282-67e691630ca3
TCGA-A7-A26I-01A-11D-A167-09	BRCA	81fff2d1-d6ed-4963-a5f6-5899cde6b359
TCGA-A7-A26J-01A-11D-A167-09	BRCA	be2ca34f-5c15-4b38-a207-52fd296a98ee
TCGA-A8-A06N-01A-11W-A019-09	BRCA	03d266a3-eb3e-4893-af6b-cb70d197d98f
TCGA-A8-A06O-01A-11W-A019-09	BRCA	29cd408e-a04b-418a-85e2-6ef95840ddbc
TCGA-A8-A06P-01A-11W-A019-09	BRCA	239b3d55-c5d6-4478-9b7b-1cbad3c03c81

10

20

30

40

【 0 4 2 7 】

【表 1 6 - 6】

TCGA-A8-A06Q-01A-11W-A050-09	BRCA	473d5422-978a-48be-be32-2b7516d6d2d5
TCGA-A8-A06R-01A-11D-A015-09	BRCA	c6b00eff-6c4e-4d79-a9b1-8fb1f3090816
TCGA-A8-A06T-01A-11W-A019-09	BRCA	11ec4a6f-f2dc-4b0b-9ba5-6fea8222e2d7
TCGA-A8-A06U-01A-11W-A019-09	BRCA	277c2e8a-dd28-4b8f-96d3-ea790a1986b6
TCGA-A8-A06X-01A-21W-A019-09	BRCA	dc306402-3a55-4996-b786-f3f738f13dd3
TCGA-A8-A06Y-01A-21W-A019-09	BRCA	3bede568-d8b6-44c0-99e0-a9b6c7d4ce80
TCGA-A8-A06Z-01A-11W-A019-09	BRCA	f540c4f8-75b3-47d7-a7cf-53cbf7a2c814
TCGA-A8-A075-01A-11D-A099-09	BRCA	085dd125-1f95-46aa-a480-2965090e8591
TCGA-A8-A076-01A-21W-A019-09	BRCA	dfa06058-320b-4cc6-ac18-a42e59019b1c
TCGA-A8-A079-01A-21W-A019-09	BRCA	06221ce8-ab65-4694-945b-059b9c15ede4
TCGA-A8-A07B-01A-11W-A019-09	BRCA	734421b9-ed55-45b0-9ad5-51bc754ebe90
TCGA-A8-A07C-01A-11D-A045-09	BRCA	6ab33f67-b69d-4a2d-a424-841f5fbflee7
TCGA-A8-A07E-01A-11W-A050-09	BRCA	fa018a20-2c26-4d47-831f-75280b6464df
TCGA-A8-A07F-01A-11W-A019-09	BRCA	73d907e6-4ba0-431f-a009-8366644ffa0
TCGA-A8-A07G-01A-11W-A050-09	BRCA	49f77aa5-446b-49f6-bd1b-02d3ff7b9dfc
TCGA-A8-A07I-01A-11W-A019-09	BRCA	7718c3f0-1c90-4940-bc30-ea4f417851bb
TCGA-A8-A07J-01A-11W-A019-09	BRCA	c8eac36c-c3a7-4c88-b928-832ab279045b
TCGA-A8-A07L-01A-11W-A019-09	BRCA	4cc86f29-061e-4058-8e8f-4c48191f52aa
TCGA-A8-A07O-01A-11W-A019-09	BRCA	4574b64d-8848-46e4-913e-5d318c1f6162
TCGA-A8-A07P-01A-11W-A019-09	BRCA	2b88ff64-bf43-43e8-9ea9-0de571520d72
TCGA-A8-A07R-01A-21W-A050-09	BRCA	f377217c-399f-4b3f-9090-fa5189b2bfc6
TCGA-A8-A07U-01A-11W-A050-09	BRCA	e6409415-8453-489d-a731-49257cade2a3
TCGA-A8-A07W-01A-11W-A019-09	BRCA	9bc8dbab-c700-498c-8ff7-ccc62e911349
TCGA-A8-A07Z-01A-11W-A019-09	BRCA	e4af33f9-f5fe-4e52-8ca0-991bbce2270d
TCGA-A8-A081-01A-11W-A019-09	BRCA	d29c3a5b-aab5-4d1b-bdaf-eb6fa405bc80
TCGA-A8-A082-01A-11W-A019-09	BRCA	575d25ea-eae7-423a-9464-d3b2806bf9eb
TCGA-A8-A083-01A-21W-A019-09	BRCA	1904e458-1a6c-4e91-88cc-10ee154ded5b
TCGA-A8-A084-01A-21W-A019-09	BRCA	6f6f7048-5b7a-4827-af2b-cfecc4a60025
TCGA-A8-A085-01A-11W-A019-09	BRCA	cbdea951-3dc9-42c2-bfdd-3796c30c928e
TCGA-A8-A086-01A-11W-A019-09	BRCA	13d89926-9c4c-434f-80b4-4fb15e4426f6
TCGA-A8-A08A-01A-11W-A019-09	BRCA	0257d030-6d78-452c-9dcc-79fe50533543
TCGA-A8-A08B-01A-11W-A019-09	BRCA	267a951b-29b7-4849-9ea7-d2205838fcc7
TCGA-A8-A08F-01A-11W-A019-09	BRCA	4975eada-984e-4a7a-8193-43d8b6e0271c
TCGA-A8-A08G-01A-11W-A019-09	BRCA	8da61928-e935-4a33-8e46-840e637163d7
TCGA-A8-A08H-01A-21W-A019-09	BRCA	26161c06-f816-489a-8800-e0a68a4ce78a
TCGA-A8-A08I-01A-11W-A019-09	BRCA	4525400d-0a2c-4cc7-9c71-9ad6d9faf93f
TCGA-A8-A08J-01A-11W-A019-09	BRCA	ae458901-e900-4aaa-bde6-3eda8912fbd5
TCGA-A8-A08L-01A-11W-A019-09	BRCA	8b819a59-f0c1-456a-9e81-64b5bed025c1
TCGA-A8-A08O-01A-21W-A071-09	BRCA	bc1398b9-d4cc-43e8-86bc-7025afaf93d5
TCGA-A8-A08P-01A-11W-A019-09	BRCA	2fbe3da3-ce62-4edf-933b-367f983c221a

10

20

30

40

【 0 4 2 8】

【表 16 - 7】

TCGA-A8-A08R-01A-11W-A050-09	BRCA	05362091-8e04-46e2-81e7-1efddc0d8c63
TCGA-A8-A08S-01A-11W-A050-09	BRCA	9c981525-80af-4f79-b94a-be00131ab872
TCGA-A8-A08T-01A-21W-A019-09	BRCA	af5f43d9-5ff3-4fd8-9c1c-30a88d2bab8e
TCGA-A8-A08X-01A-21W-A019-09	BRCA	67c7d350-5c82-49b0-a7eb-6ca829ffc9c9
TCGA-A8-A08Z-01A-21W-A019-09	BRCA	96afb6d0-29ea-4bd5-8a9d-130e42954707
TCGA-A8-A090-01A-11W-A019-09	BRCA	783e4c13-8fa5-4591-9453-1e59ca167e10
TCGA-A8-A091-01A-11W-A019-09	BRCA	6618f367-c782-43a0-b5c8-a53d9bda6722
TCGA-A8-A092-01A-11W-A019-09	BRCA	732dd0ab-c869-4d35-973f-9db064680fb1
TCGA-A8-A093-01A-11W-A019-09	BRCA	8f64ba22-0958-4fdb-8161-f83cfe57c95d
TCGA-A8-A094-01A-11W-A019-09	BRCA	ab9bf7a6-688e-4388-9682-6b1616723fde
TCGA-A8-A095-01A-11W-A019-09	BRCA	d16f025a-4187-4632-b833-02a3ffa54210
TCGA-A8-A096-01A-11W-A019-09	BRCA	8a411a0a-ec66-4d9f-b0e4-flc1f969d605
TCGA-A8-A097-01A-11W-A050-09	BRCA	15ca7c47-131a-4dd7-b0a7-584577b4b02c
TCGA-A8-A099-01A-11W-A019-09	BRCA	1066cb38-e051-42fa-a8bc-20b659c17a13
TCGA-A8-A09A-01A-11W-A019-09	BRCA	ecfedc29-5c31-4d3d-b599-fc0a1c0beafa
TCGA-A8-A09B-01A-11W-A019-09	BRCA	a8be37d2-2743-4fde-9aae-2623b5a03b60
TCGA-A8-A09C-01A-11W-A019-09	BRCA	b56cf2cb-bb2a-46b6-b3b4-84dd8b364984
TCGA-A8-A09D-01A-11W-A019-09	BRCA	d0ef396f-4e9f-40ba-a09c-0a96832cabf9
TCGA-A8-A09E-01A-11W-A019-09	BRCA	d6465963-5ea6-44a5-96b0-dff0b0fae4c4
TCGA-A8-A09G-01A-21W-A019-09	BRCA	3bd68e94-d902-4079-8fdb-16edce90de1c
TCGA-A8-A09L-01A-22W-A050-09	BRCA	96d5070d-1fa9-4fa5-b2e9-4722A0dfd3b9
TCGA-A8-A09K-01A-11W-A019-09	BRCA	d8cd75f2-5ee5-4296-a781-a6a16ee94506
TCGA-A8-A09M-01A-11W-A019-09	BRCA	8e92515a-8049-4ebb-9117-a137c06e5d04
TCGA-A8-A09N-01A-11W-A019-09	BRCA	304a2945-f134-45c7-9eaa-c6c9c2435552
TCGA-A8-A09Q-01A-11W-A019-09	BRCA	51a8ac83-bafa-4df7-a52d-a1e1fb45799d
TCGA-A8-A09R-01A-11W-A019-09	BRCA	35ebf91d-6fec-4d28-9b21-493d0e14f8db
TCGA-A8-A09T-01A-11W-A019-09	BRCA	e565da2b-4a3f-4be1-9cf7-2845145d1dbc
TCGA-A8-A09V-01A-11D-A045-09	BRCA	818f1a34-17c5-409a-b5f5-4a8576db0d44
TCGA-A8-A09W-01A-11W-A019-09	BRCA	9a2690ce-485f-4d4f-9673-d86f91be27a4
TCGA-A8-A09X-01A-11W-A019-09	BRCA	48c532ca-2af5-427a-a784-781e208cced6
TCGA-A8-A0A1-01A-11W-A019-09	BRCA	73aa20fe-b74b-41ae-88d3-2d5a66908c25
TCGA-A8-A0A2-01A-11W-A050-09	BRCA	b681dba3-a608-47c2-9ae8-5d761d1e800e
TCGA-A8-A0A4-01A-11W-A019-09	BRCA	1fc4d542-86ac-42bc-9fbb-272c23e6aa72
TCGA-A8-A0A7-01A-11W-A019-09	BRCA	28be7b14-730d-44f7-bf93-a7590b4a08f8
TCGA-A8-A0A9-01A-11W-A019-09	BRCA	228e66eb-1dc6-4c01-8252-c557a8f53916
TCGA-A8-A0AB-01A-11W-A050-09	BRCA	ad2a2f5d-dad6-4c03-b235-20810d6d34dc
TCGA-A8-A0AD-01A-11W-A071-09	BRCA	6e6511fa-4f6e-4184-84b8-9e9e7a863632
TCGA-AC-A23C-01A-12D-A167-09	BRCA	91766158-e175-4270-bc01-8e853fc9f391
TCGA-AC-A23E-01A-11D-A159-09	BRCA	137eb73f-394a-459a-83e6-0b3c85c955cd
TCGA-AN-A03X-01A-21W-A019-09	BRCA	f177234e-e0a7-4f85-b73d-48e0080c805d
TCGA-AN-A03Y-01A-21W-A019-09	BRCA	f4849adc-b6e8-40bd-9de4-dc5bb37d2a79

10

20

30

40

【 0 4 2 9 】

【表 1 6 - 8】

TCGA-AN-A041-01A-11W-A050-09	BRCA	f18c7389-6c8d-485f-a7f7-a450a42e3719
TCGA-AN-A049-01A-21W-A019-09	BRCA	1d0e87ef-6840-4051-85d5-7fc2c544578c
TCGA-AN-A04A-01A-21W-A050-09	BRCA	7e8f250c-6162-4049-8559-5bfd054b021
TCGA-AN-A04C-01A-21W-A050-09	BRCA	c1302f79-cc50-487a-9db5-016df85e67d7
TCGA-AN-A04D-01A-21W-A050-09	BRCA	9407735f-19e3-49d0-b783-cd9672dfa6a9
TCGA-AN-A0AJ-01A-11W-A019-09	BRCA	97fbc82-0ecd-4d70-9af2-57918a4ea8da
TCGA-AN-A0AL-01A-11W-A019-09	BRCA	47849ee3-b59e-4ccf-a261-65f7e252b885
TCGA-AN-A0AM-01A-11W-A050-09	BRCA	a238f21f-ca46-4759-b5b7-f8c3810dfbdb
TCGA-AN-A0AR-01A-11W-A019-09	BRCA	a2d77acd-89db-4d2d-89d7-d1cc58cf576b
TCGA-AN-A0AS-01A-11W-A019-09	BRCA	2257c942-1274-47e7-86ad-b92ecfafc205
TCGA-AN-A0AT-01A-11D-A045-09	BRCA	f848b66f-bd9e-4fba-afd4-eb58848d1ef4
TCGA-AN-A0FD-01A-11W-A050-09	BRCA	abae6f4c-2378-4fbd-adea-f739e6629b22
TCGA-AN-A0FF-01A-11W-A050-09	BRCA	cd45e46c-50bf-449e-bb40-29ccffbbd49c
TCGA-AN-A0FJ-01A-11W-A019-09	BRCA	6b988737-0504-42bb-8c75-d70d7a312e68
TCGA-AN-A0FK-01A-11W-A050-09	BRCA	a765959e-b234-427d-aade-855d6d4981d9
TCGA-AN-A0FL-01A-11W-A050-09	BRCA	18ee29ae-fe36-49a3-9843-e0757c69a7dd
TCGA-AN-A0FN-01A-11W-A050-09	BRCA	8f583981-b257-43ee-9c9e-71a192a49d38
TCGA-AN-A0FS-01A-11W-A050-09	BRCA	9bb76d20-cefb-4f7a-80c2-aa2178c302a9
TCGA-AN-A0FT-01A-11W-A050-09	BRCA	0598fc5f-9651-4ace-bf4e-56759d544e52
TCGA-AN-A0FV-01A-11W-A019-09	BRCA	c70259c1-f561-43d7-9829-6852815baa87
TCGA-AN-A0FW-01A-11W-A050-09	BRCA	5afde43a-194c-4876-b244-2132aef2f505
TCGA-AN-A0FX-01A-11W-A050-09	BRCA	2523cf22-1a16-42be-8560-833ed2031e3c
TCGA-AN-A0FY-01A-11W-A050-09	BRCA	a6a8bd08-0e60-442d-adce-de020177f82c
TCGA-AN-A0FZ-01A-11W-A050-09	BRCA	d77f59f7-8cff-41f3-a1bb-0de14524d4f4
TCGA-AN-A0G0-01A-11W-A050-09	BRCA	9eb55dd2-a956-4dfe-8631-04722c49819f
TCGA-AN-A0XL-01A-11D-A10M-09	BRCA	1b08a181-a73b-4506-aaa3-3521f2c57207
TCGA-AN-A0XN-01A-21D-A10G-09	BRCA	94a6c172-25e2-4438-945c-9b310f89ae22
TCGA-AN-A0XO-01A-11D-A10G-09	BRCA	f63863f5-cb60-4961-a5b4-ed5ea1fb3dc8
TCGA-AN-A0XP-01A-11D-A117-09	BRCA	6179b498-2cea-4f7a-82a8-b7ec71431ea8
TCGA-AN-A0XR-01A-11D-A10G-09	BRCA	e7dc7492-3a84-49c7-8dea-8f508b53dc40
TCGA-AN-A0XS-01A-22D-A10G-09	BRCA	f1b5268d-556f-404f-a956-770df4a1e7aa
TCGA-AN-A0XT-01A-11D-A10G-09	BRCA	353d9161-95fd-4bec-abb7-859d9ee19785
TCGA-AN-A0XU-01A-11D-A10G-09	BRCA	537c5818-eb89-4b46-8915-2bb2b9c4545f
TCGA-AN-A0XV-01A-11D-A10G-09	BRCA	6f0e5a39-e2c7-4a93-bd63-f1babe1e7c16e
TCGA-AN-A0XW-01A-11D-A10G-09	BRCA	200dba9e-201b-4634-a2cf-666e1f6710dc
TCGA-AO-A03L-01A-41W-A071-09	BRCA	743a29c4-e1cc-457a-8406-765f1a1bcl14
TCGA-AO-A03N-01B-11D-A10M-09	BRCA	ef5987f1-46ac-430a-b94a-49afa0e286d4
TCGA-AO-A03O-01A-11W-A019-09	BRCA	1578b356-7f42-4722-bc54-cd5f37954f6a
TCGA-AO-A03P-01A-11W-A019-09	BRCA	185c5e15-c068-4a72-8d5e-468624bf958a
TCGA-AO-A03R-01A-21W-A050-09	BRCA	6d2dc4e3-f1ed-4ef0-ae83-e09c87756d56
TCGA-AO-A03T-01A-21W-A050-09	BRCA	cbea866d-da66-4f7c-994b-e1cc35aa2d4b

10

20

30

40

【 0 4 3 0】

50

【表 16 - 9】

TCGA-AO-A03U-01B-21D-A10M-09	BRCA	1e0ecd57-5c7d-4495-874d-9e286c999c22
TCGA-AO-A03V-01A-11D-A10Y-09	BRCA	d88c365f-366a-49d5-9860-b930aab3eb1b
TCGA-AO-A0J2-01A-11W-A050-09	BRCA	84b66e02-1b37-4424-b752-363f7861fe74
TCGA-AO-A0J3-01A-11W-A050-09	BRCA	ff706355-867e-4968-99ad-0af4e24ece51
TCGA-AO-A0J4-01A-11W-A050-09	BRCA	7667f49c-449d-44ce-bab8-02a491bb6775
TCGA-AO-A0J5-01A-11W-A050-09	BRCA	93ac73f6-c355-47be-a355-faa78c0632d4
TCGA-AO-A0J6-01A-11W-A050-09	BRCA	7d21a0c4-03c7-4641-8b4d-7a5877960360
TCGA-AO-A0J7-01A-11W-A050-09	BRCA	a53056d9-e8bd-4cb1-ad67-85879ecc925d
TCGA-AO-A0J8-01A-21D-A045-09	BRCA	24ba5501-8097-4af6-b12c-bb6dcbe10cac
TCGA-AO-A0J9-01A-11W-A050-09	BRCA	9932232f-a7b0-4962-9b14-adb8316a4661
TCGA-AO-A0JA-01A-11W-A071-09	BRCA	0215d4f1-6697-4e8f-afc4-ff7c6439e56d
TCGA-AO-A0JB-01A-11W-A071-09	BRCA	8f4f06be-2a16-4ac2-9dd4-5d87f480810b
TCGA-AO-A0JC-01A-11W-A071-09	BRCA	120f55df-5d1d-4073-a21a-632c892d3da9
TCGA-AO-A0JD-01A-11W-A071-09	BRCA	9d3ad8d0-ddd3-44d2-ba0e-0b283a4fbf32
TCGA-AO-A0JE-01A-11W-A071-09	BRCA	4f311714-ebb4-47fb-b471-62c6951d9066
TCGA-AO-A0JF-01A-11W-A071-09	BRCA	191caa1a-5ab8-4db5-b42a-f1c5964b0b0d
TCGA-AO-A0JG-01A-31D-A099-09	BRCA	cf7ec093-5040-43db-949c-f426795a7488
TCGA-AO-A0JI-01A-21W-A100-09	BRCA	861297ec-2c88-4717-ac63-eb8e21fe8c52
TCGA-AO-A0JJ-01A-11W-A071-09	BRCA	812191d1-6711-4efd-8932-c76159b60ffb
TCGA-AO-A0JL-01A-11W-A071-09	BRCA	56a22648-be92-402c-a225-bcaa44a7e612
TCGA-AO-A0JM-01A-21W-A071-09	BRCA	f070142b-f44e-4264-8919-dde7d02ad835
TCGA-AO-A124-01A-11D-A10M-09	BRCA	987528ac-437a-4eb8-a335-4f2076d5c006
TCGA-AO-A125-01A-11D-A10M-09	BRCA	17669c6d-2eeb-4d56-ac72-f06bfa7b7e42
TCGA-AO-A126-01A-11D-A10M-09	BRCA	85b39644-6f19-40dc-94c1-0afc93ee4981
TCGA-AO-A129-01A-21D-A10M-09	BRCA	cdf43c25-3ba7-4073-a92d-4a97f651f4a8
TCGA-AO-A12A-01A-21D-A10Y-09	BRCA	77e7b41a-d4c8-42ec-ac6e-da15ea3634d9
TCGA-AO-A12B-01A-11D-A10M-09	BRCA	865ebd77-7b7d-4a27-b945-df5ec8d1f86a
TCGA-AO-A12D-01A-11D-A10Y-09	BRCA	b3065cfe-3067-4f08-8c82-46f10c1ec279
TCGA-AO-A12E-01A-11D-A10M-09	BRCA	b3990b59-e2f4-4759-8eb0-11ad3c34ac50
TCGA-AO-A12F-01A-11D-A10Y-09	BRCA	d1617673-57c2-40c1-a970-f3692ee13cf3
TCGA-AO-A12G-01A-11D-A10M-09	BRCA	5b9d3741-2aa3-489b-93e6-3b5376b80d48
TCGA-AO-A12H-01A-11D-A10Y-09	BRCA	5a535c49-d42e-43c6-9d32-dc76f28d4f0f
TCGA-AO-A1KO-01A-31D-A188-09	BRCA	2cdec2b-40b1-4419-bcd9-10lcee78966c
TCGA-AO-A1KP-01A-11D-A13L-09	BRCA	bc36db60-3f6b-42c4-b03e-b7c74c3dda5c
TCGA-AO-A1KR-01A-12D-A142-09	BRCA	d3b598d8-8a3b-4506-aa98-9fbc5b51afd4
TCGA-AO-A1KS-01A-11D-A13L-09	BRCA	21074661-4b0f-4adc-b406-5801688a3ae9
TCGA-AO-A1KT-01A-11D-A13L-09	BRCA	97b33dc3-6a62-419a-aa6c-cb84c9f92102
TCGA-AQ-A04H-01B-11D-A10M-09	BRCA	73c13e04-1400-4ebb-aa80-f54becbe036c
TCGA-AQ-A04J-01A-02W-A050-09	BRCA	ccc21f2b-784b-4fa0-9809-ae532c528f8e
TCGA-AQ-A04L-01B-21D-A10M-09	BRCA	e8d7feb0-981b-4ba0-b4d4-fa985064444b
TCGA-AQ-A0Y5-01A-11D-A14K-09	BRCA	4aa80fbd-a337-49b6-9371-223cbcfbc85d

10

20

30

40

【 0 4 3 1 】

【表 16 - 10】

TCGA-AQ-A1H2-01A-11D-A13L-09	BRCA	1ab2dc63-51ce-4a96-b7ad-f0d9eb198d10
TCGA-AQ-A1H3-01A-31D-A13L-09	BRCA	1fa2017e-ce08-4a16-bdf6-f9bf1296c834
TCGA-AR-A0TP-01A-11D-A099-09	BRCA	bee5b9c8-739e-4530-b140-cd2b898d7afd
TCGA-AR-A0TQ-01A-11D-A099-09	BRCA	b266fffc-263d-4b0f-a781-7437e41061b2
TCGA-AR-A0TR-01A-11D-A099-09	BRCA	58ca11bf-17b0-4cff-b210-5b85d8e66ef5
TCGA-AR-A0TS-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c9253ecc-cfac-4cc5-8dab-1e502d34d103
TCGA-AR-A0TT-01A-31D-A099-09	BRCA	29cfdc11-2f20-436e-8913-340909684c06
TCGA-AR-A0TU-01A-31D-A10G-09	BRCA	31922dbe-3b4a-4ac1-98fc-db88ac851462
TCGA-AR-A0TV-01A-21D-A099-09	BRCA	0ec80200-12fe-479c-8ea0-982a9995f55a
TCGA-AR-A0TW-01A-11D-A099-09	BRCA	b40d49ed-bc30-4656-9f36-ffc280de2fb8
TCGA-AR-A0TX-01A-11D-A099-09	BRCA	63d635fa-d136-4e8a-a534-966ce678bb66
TCGA-AR-A0TY-01A-12W-A12T-09	BRCA	f915733b-aaf4-406d-af52-00de113e8e0c
TCGA-AR-A0TZ-01A-12D-A099-09	BRCA	90a26d5e-356b-424c-80bc-4723d24c594f
TCGA-AR-A0U0-01A-11D-A10G-09	BRCA	79e2c073-7727-4c34-ac28-5d7895144743
TCGA-AR-A0U1-01A-11D-A10Y-09	BRCA	265ceec6-e9a8-499e-adf6-0c18c598532e
TCGA-AR-A0U2-01A-11D-A10G-09	BRCA	f0194733-2347-43c4-a4a3-131642c27798
TCGA-AR-A0U3-01A-11D-A10G-09	BRCA	c8251555-77d3-4a20-9cc0-f7df0fda5955
TCGA-AR-A0U4-01A-11D-A117-09	BRCA	cd064e31-8fac-4f9c-8455-d7517f94e16b
TCGA-AR-A1AH-01A-11D-A12B-09	BRCA	ff4a0f5a-9f30-4a2b-9915-62f2df5ad155
TCGA-AR-A1AL-01A-11D-A12Q-09	BRCA	842846ea-881c-4d79-88d2-fc1703c58350
TCGA-AR-A1AJ-01A-21D-A12Q-09	BRCA	4e1f9084-4729-4b3f-b036-6226d64fd25b
TCGA-AR-A1AK-01A-21D-A12Q-09	BRCA	52f7c22f-84cb-4263-93bf-1ae8cf8abbd2
TCGA-AR-A1AL-01A-21D-A12Q-09	BRCA	8495c66e-dc95-4eae-909b-b51b8bc84889
TCGA-AR-A1AN-01A-11D-A12Q-09	BRCA	9c879ced-92e8-4292-9b24-46005acab0f4
TCGA-AR-A1AO-01A-11D-A12Q-09	BRCA	b841db95-2eff-4181-8d44-3cde2f2f9e70
TCGA-AR-A1AP-01A-11D-A12Q-09	BRCA	597e37c9-f0c9-4839-800e-6e9519ec3add
TCGA-AR-A1AQ-01A-11D-A12Q-09	BRCA	88ff7728-ec99-4ec5-817e-4793619ab5a4
TCGA-AR-A1AR-01A-31D-A135-09	BRCA	008ba655-a0a3-42c4-8c72-f1341365ef02
TCGA-AR-A1AS-01A-11D-A12Q-09	BRCA	3f26f93c-e11a-4ec9-b73b-98fcadc209f4
TCGA-AR-A1AT-01A-11D-A12Q-09	BRCA	7e00d4fa-b951-44d8-8fbf-fc7b9f19772e
TCGA-AR-A1AU-01A-11D-A12Q-09	BRCA	d7cfeb04-ce20-4aab-8e5b-8a1483bcaaa5
TCGA-AR-A1AV-01A-21D-A12Q-09	BRCA	0a0dd89c-5ec8-4015-9616-733e41361a64
TCGA-AR-A1AW-01A-21D-A12Q-09	BRCA	33c6b6b5-1484-4002-8f84-ba67525a8777
TCGA-AR-A1AX-01A-11D-A12Q-09	BRCA	71a3cf72-3539-4ade-97d1-6a1bd1ee4205
TCGA-AR-A1AY-01A-21D-A12Q-09	BRCA	15f90ef0-831b-40a3-98bd-ec226a9e8b26
TCGA-AR-A24H-01A-11D-A167-09	BRCA	6bb61dce-289d-4e39-8298-df5abe8049a2
TCGA-AR-A24K-01A-11D-A167-09	BRCA	df692383-1d6d-4caa-b44c-7a133ec4b7ee
TCGA-AR-A24L-01A-11D-A167-09	BRCA	2a93298a-d272-487c-ac4a-ec385844536e
TCGA-AR-A24M-01A-11D-A167-09	BRCA	722a8960-3a69-4f66-b972-74e6de94a1e8
TCGA-AR-A24N-01A-11D-A167-09	BRCA	b85b311c-1b29-44e3-8585-6995f9259221
TCGA-AR-A24O-01A-11D-A167-09	BRCA	2e9fc77f-951b-4764-911a-f0cff3174fb1

10

20

30

40

【 0 4 3 2 】

【表 1 6 - 1 1】

TCGA-AR-A24P-01A-11D-A167-09	BRCA	dbdcf82a-3d37-4cfb-a70b-9b69ada0e732
TCGA-AR-A24Q-01A-12D-A167-09	BRCA	a9d691f2-ad2a-4a3b-ae30-ed4af96d75f2
TCGA-AR-A24R-01A-11D-A167-09	BRCA	baf43433-0001-4495-a37f-9132eb213157
TCGA-AR-A24S-01A-11D-A167-09	BRCA	aad32a56-5b98-433e-bb6e-48e09a027db6
TCGA-AR-A24T-01A-11D-A167-09	BRCA	09991de6-2e8e-476f-987b-98d9a85dac7d
TCGA-AR-A24U-01A-11D-A167-09	BRCA	567cdc6c-df03-4642-8cbc-a269769ce1a1
TCGA-AR-A24V-01A-21D-A167-09	BRCA	bb77af66-bb8f-4590-9be8-5f729373c555
TCGA-AR-A24W-01A-11D-A17G-09	BRCA	454e7cd4-8424-4cad-8fbb-f69affa5d1bf
TCGA-AR-A24X-01A-11D-A167-09	BRCA	53d55f5a-df86-44d7-a3a2-2dccc2557b7b
TCGA-AR-A24Z-01A-11D-A167-09	BRCA	c11f2060-d3fb-4e3d-8058-b8cce44af519
TCGA-AR-A250-01A-31D-A167-09	BRCA	f7d9a372-fcd1-4462-9e0b-7eb46ddb68fd
TCGA-AR-A251-01A-12D-A167-09	BRCA	68b4de6d-352d-44e8-911a-f4541f28fc78
TCGA-AR-A252-01A-11D-A167-09	BRCA	e800d9b3-32a1-48eb-840b-9a3bec9d1f6e
TCGA-AR-A254-01A-21D-A167-09	BRCA	fe2bdac0-832e-4268-bd8f-5dceffda1979
TCGA-AR-A255-01A-11D-A167-09	BRCA	505f1398-0bd8-4f1c-a142-651605158bf3
TCGA-AR-A256-01A-11D-A167-09	BRCA	ea43434b-197e-48ac-ae2e-46bc7f3776de
TCGA-B6-A0I2-01A-11W-A050-09	BRCA	a9cae7c8-a62b-46ad-a98b-82e6b5fdff00
TCGA-B6-A0I5-01A-11W-A100-09	BRCA	f1139266-fade-4d27-ac67-60870e666295
TCGA-B6-A0I6-01A-11D-A128-09	BRCA	a876398c-5b1d-444f-a360-5fe2db697480
TCGA-B6-A0I8-01A-11W-A050-09	BRCA	ba80b13a-e20a-441b-b845-b617cc861ce7
TCGA-B6-A0I9-01A-11W-A050-09	BRCA	d2291482-9bbb-4f8f-a65b-c0737cf3acea
TCGA-B6-A0IA-01A-11W-A050-09	BRCA	f7e5ada6-8f53-4765-a874-5ee9d258ad6a
TCGA-B6-A0IB-01A-11W-A050-09	BRCA	ff80d5cd-7aed-499f-a472-153cc40f65de
TCGA-B6-A0IC-01A-11W-A050-09	BRCA	f23fd730-0a18-4e3b-a2ed-f1a4231c2b53
TCGA-B6-A0IE-01A-11W-A050-09	BRCA	4cb39f50-5031-4b08-baa3-1a366ada6514
TCGA-B6-A0IG-01A-11W-A050-09	BRCA	e8046519-d928-4fd3-b3e2-84585aa4f022
TCGA-B6-A0IH-01A-11D-A10Y-09	BRCA	4a4488b9-74d9-4eb1-a7ef-c894c32db942
TCGA-B6-A0IJ-01A-11W-A050-09	BRCA	c63f9ddb-6301-400e-a0e8-197ea2efe75
TCGA-B6-A0IK-01A-12W-A071-09	BRCA	c5b1f426-562e-44e4-bcce-ce2ff6d969e8
TCGA-B6-A0IM-01A-11W-A050-09	BRCA	e99a4753-10db-4823-953d-e878a90e6b01
TCGA-B6-A0IN-01A-11W-A050-09	BRCA	ee2c9198-cca3-4a54-b96b-834a70c30d2f
TCGA-B6-A0IO-01A-11W-A050-09	BRCA	648cee86-f2e7-45a0-abf2-0ab0037e2eee
TCGA-B6-A0IP-01A-11D-A045-09	BRCA	94250f1c-d514-4dd2-b488-a93fbf111784
TCGA-B6-A0IQ-01A-11W-A050-09	BRCA	583964cf-84ad-4ef1-90d1-2f6fbfbeb245a
TCGA-B6-A0RE-01A-11W-A071-09	BRCA	db2bd5cf-f0a7-4874-89eb-15029447dae1
TCGA-B6-A0RG-01A-11W-A071-09	BRCA	9431c642-610c-4325-97b8-8b4c5c81caed
TCGA-B6-A0RH-01A-21D-A10Y-09	BRCA	6e59b987-b4f0-4078-af2d-482c299103b6
TCGA-B6-A0RI-01A-11W-A071-09	BRCA	50d83050-b98c-4a1a-a673-91dbc67c37c6
TCGA-B6-A0RL-01A-11D-A099-09	BRCA	0d28966d-e03b-4b2a-ba07-b8f195efc29b
TCGA-B6-A0RM-01A-11D-A099-09	BRCA	3e03385e-f0fa-4e11-8bed-c6316802e1a9
TCGA-B6-A0RN-01A-12D-A099-09	BRCA	bb5cb493-2937-4a7b-8454-0abbbb379927

10

20

30

40

【 0 4 3 3】

【表 1 6 - 1 2】

TCGA-B6-A0RO-01A-22D-A099-09	BRCA	05e12ff8-023b-4ac1-b35d-f97b42e3da7a
TCGA-B6-A0RP-01A-21D-A099-09	BRCA	efbdb449-b885-44bb-9054-9e97d6603cad
TCGA-B6-A0RQ-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f425edf3-0d08-49bf-94f6-f03343873a6c
TCGA-B6-A0RS-01A-11D-A099-09	BRCA	6b3ff733-402d-4390-8f57-57a9ad9b9969
TCGA-B6-A0RT-01A-21D-A099-09	BRCA	e1a297ed-1951-4d97-978c-56b452111bn5
TCGA-B6-A0RU-01A-11D-A099-09	BRCA	251371ac-ef46-4e11-b45e-a2aaa986a2d2
TCGA-B6-A0RV-01A-11D-A099-09	BRCA	39b0b605-29ae-4e2c-81dc-319446c807dd
TCGA-B6-A0WS-01A-11D-A10Y-09	BRCA	271d1985-1b15-4828-8261-4415ab048dc9
TCGA-B6-A0WT-01A-11D-A10G-09	BRCA	5fb780fb-12bc-4195-8f0c-2c6e3cc36b49
TCGA-B6-A0WV-01A-11D-A10G-09	BRCA	b92107c5-c46f-4606-b4e9-2dab55ca4e9c
TCGA-B6-A0WW-01A-11D-A10G-09	BRCA	e9d6f59d-7d87-4fda-ab6f-e9c2501b8600
TCGA-B6-A0WX-01A-11D-A10G-09	BRCA	47b5d831-5287-4f62-b17a-6e5eff2e4184
TCGA-B6-A0WY-01A-11D-A10G-09	BRCA	c973a902-abdf-41a3-8250-57011dfef1f4
TCGA-B6-A0WZ-01A-11D-A10G-09	BRCA	f6b8b1a9-370c-4023-b8bd-934e2a3d913a
TCGA-B6-A0X0-01A-21D-A10Y-09	BRCA	264fb6ef-65be-48fd-8216-6c493b620ad8
TCGA-B6-A0X1-01A-11D-A10G-09	BRCA	a492abf9-0cd3-402c-89e2-c49d650ef540
TCGA-B6-A0X4-01A-11D-A10G-09	BRCA	edbe95af-e727-4d0f-a2a4-a3c9f2afa901
TCGA-B6-A0X5-01A-21D-A10G-09	BRCA	da42f10b-d515-4678-a038-ed9c92a8b56b
TCGA-B6-A0X7-01A-11D-A10M-09	BRCA	be5f93af-844a-4adb-ad89-05bfeefa58cd
TCGA-B6-A1KC-01B-11D-A159-09	BRCA	fc3e822f-150d-47a7-a346-10919b42aa8c
TCGA-B6-A1KF-01A-11D-A13L-09	BRCA	fbfbc76-0524-4772-b918-1e8599a09d7f
TCGA-B6-A1KI-01A-11D-A14K-09	BRCA	d9374702-8fc6-48c0-bec5-5c1105e641dc
TCGA-B6-A1KN-01A-11D-A13L-09	BRCA	c1ad09c8-4237-48f0-b04c-7ee8ccaf8ef1
TCGA-BH-A0AU-01A-11D-A12Q-09	BRCA	d06209b8-8aba-44d8-b94a-990861c2324a
TCGA-BH-A0AV-01A-31D-A10Y-09	BRCA	9032b7fe-e38a-4641-a45e-67041668adc4
TCGA-BH-A0AW-01A-11W-A071-09	BRCA	82057159-dd32-49fd-9ee7-82b4668f39c3
TCGA-BH-A0AZ-01A-21D-A12Q-09	BRCA	e6d90bb8-ad96-4cb8-a96f-a8202fcb58f
TCGA-BH-A0B0-01A-21D-A10Y-09	BRCA	4680fd93-33c8-4aee-942b-5c616acd02cf
TCGA-BH-A0B1-01A-12W-A071-09	BRCA	de20290a-1560-41fd-896b-a3ae1103423e
TCGA-BH-A0B4-01A-11W-A019-09	BRCA	83bec702-cb97-4216-a47e-d4e4eece279a
TCGA-BH-A0B5-01A-11D-A12Q-09	BRCA	dfa0f8ea-ae94-4673-9751-f6cdad26022a
TCGA-BH-A0B9-01A-11W-A071-09	BRCA	c57595bb-7953-4611-b0d1-3c2c40feb3b9
TCGA-BH-A0BD-01A-11W-A050-09	BRCA	eba2178f-6235-49c1-a49e-98dc8ffdc6a0
TCGA-BH-A0BF-01A-21D-A12Q-09	BRCA	39221056-704b-4a23-9b8d-3178dd9e790d
TCGA-BH-A0BG-01A-11D-A10Y-09	BRCA	923ee16a-2c42-46ee-b2cb-82075f2dd603
TCGA-BH-A0BP-01A-11D-A10Y-09	BRCA	51405cf1-e844-4316-be17-85e8ad1dc4a3
TCGA-BH-A0BR-01A-21W-A12T-09	BRCA	df82226e-2242-418b-9f5f-0a5e531826a4
TCGA-BH-A0BS-01A-11D-A12Q-09	BRCA	81e4b7a4-8d94-4d31-9c08-325ee04f5f36
TCGA-BH-A0BT-01A-11D-A12Q-09	BRCA	2299036e-7099-4b53-9143-5935442c3310
TCGA-BH-A0BZ-01A-31D-A12Q-09	BRCA	1f07765a-3f2b-4b6f-88ef-0d7aab17a758
TCGA-BH-A0C1-01B-11D-A12B-09	BRCA	adebc709-8059-43c3-ad0e-a102fa1536ff

10

20

30

40

【 0 4 3 4】

【表 16 - 13】

TCGA-BH-AOC3-01A-21D-A12Q-09	BRCA	ec57ee0f-949e-4eee-91c2-dd129d657065
TCGA-BH-AOC7-01B-11D-A10Y-09	BRCA	ba3b30c5-8179-49bd-aacd-53326bf356f8
TCGA-BH-AODD-01A-31D-A12Q-09	BRCA	1a59cd97-2ee8-4f82-b542-e2f35171bc01
TCGA-BH-AODG-01A-21D-A12Q-09	BRCA	ec4d4cbc-d5d1-418d-a292-cad9576624fd
TCGA-BH-AODI-01A-21D-A12Q-09	BRCA	3777748c-5614-4826-8cde-eb7ecef8101
TCGA-BH-AODO-01B-11D-A12B-09	BRCA	14649437-79a6-40bd-87b1-a278bf2dcda
TCGA-BH-AODS-01A-11W-A071-09	BRCA	6cfb5de9-ef59-4bc0-9ec2-f9bd5a9f2aee
TCGA-BH-AODT-01A-21D-A12B-09	BRCA	30dbe353-86d5-40ed-84c2-dbddf7beb17b
TCGA-BH-AODV-01A-21D-A12Q-09	BRCA	24ee6b1d-3594-4d12-91b3-8ad1b3c98f28
TCGA-BH-AODX-01A-11D-A10Y-09	BRCA	bca403d9-48ff-4534-ba33-94b8fb9fee0f
TCGA-BH-AOE2-01A-11W-A071-09	BRCA	2703ce22-3ffa-4094-b3f1-1f573b5204a9
TCGA-BH-AOE6-01A-11W-A050-09	BRCA	1c55939a-ae58-4ed9-8a6e-01bae8ac12f7
TCGA-BH-AOE7-01A-11W-A050-09	BRCA	1ddc3a98-e0b9-4b8e-b3d3-9d39eb7d8264
TCGA-BH-AOE9-01B-11D-A10Y-09	BRCA	48ccd30d-0c71-4117-8ccb-013986f14e95
TCGA-BH-AOEA-01A-11D-A10Y-09	BRCA	561b8777-801a-49ed-a306-e7dafeb044b6
TCGA-BH-AOEB-01A-11W-A050-09	BRCA	3861ca01-bcc3-42a9-835d-1ef9f1a053bd
TCGA-BH-AOEE-01A-11W-A050-09	BRCA	68d16e6a-20a5-428f-89d0-a8a0deda80cc
TCGA-BH-AOEL-01A-11D-A10Y-09	BRCA	ce8e93e0-d08c-400c-8ed7-ac56d7acfbec
TCGA-BH-AOGL-01A-11W-A071-09	BRCA	db589949-1630-45b2-b09b-0312d3efd60b
TCGA-BH-AOGZ-01A-11W-A071-09	BRCA	068bd892-6fee-46c2-945f-34a6c6804070
TCGA-BH-AOH0-01A-11W-A071-09	BRCA	69110467-4cf5-4b5d-a2dd-b1c91c786959
TCGA-BH-AOH3-01A-11D-A12Q-09	BRCA	12d7dc75-2e4f-42f6-a067-fe6d7118a0b6
TCGA-BH-AOH6-01A-21W-A071-09	BRCA	bbed00d2-9791-464d-a1ba-28fd56a0504e
TCGA-BH-AOHA-01A-11D-A12Q-09	BRCA	95f2ee35-a485-4995-8205-01623d97da2d
TCGA-BH-AOHB-01A-11W-A071-09	BRCA	ed5f1077-62c1-43d8-8a27-56521bbdd8a5
TCGA-BH-AOHI-01A-11D-A099-09	BRCA	507213d0-ef1c-400c-8724-24cd6a39feb8
TCGA-BH-AOHL-01A-11W-A050-09	BRCA	1fd1db26-79e0-4018-8548-8fd20a96c479
TCGA-BH-AOHN-01A-11D-A099-09	BRCA	ada199c5-8015-481f-a46e-46fa42646cd8
TCGA-BH-AOHO-01A-11W-A050-09	BRCA	354172e7-3e54-4ec4-88fa-fd7781cc86ae
TCGA-BH-AOHP-01A-12D-A099-09	BRCA	ad52a8fb-7a76-4aa0-95fb-d6edab0fe2b2
TCGA-BH-AOHQ-01A-11W-A050-09	BRCA	f03af67f-3119-4ee4-a4b0-227d36f493ba
TCGA-BH-AOHU-01A-11W-A050-09	BRCA	b46f2619-5937-4847-bb38-fe6022225ab9
TCGA-BH-AOHV-01A-11W-A050-09	BRCA	706ec3be-bd65-4f42-b5cc-603f7f62c91a
TCGA-BH-AOHX-01A-21W-A071-09	BRCA	27df78cd-1f39-42f3-92e6-56664d4c472c
TCGA-BH-AOHY-01A-11W-A071-09	BRCA	a63c2000-9e41-4897-8b01-4723c382096e
TCGA-BH-AORX-01A-21D-A099-09	BRCA	48115e9a-5027-455a-a88e-c3d991dbf966
TCGA-BH-AOW3-01A-11D-A10G-09	BRCA	3fa14183-e0c5-4dc2-bb4a-d8dd42f6578b
TCGA-BH-AOW4-01A-11D-A10G-09	BRCA	fdafddde-aff1-42b4-bf94-a95861eac53
TCGA-BH-AOW5-01A-11D-A10G-09	BRCA	acald737-c24c-49fd-86c0-ab2b29cd28de
TCGA-BH-AOW7-01A-11D-A10Y-09	BRCA	7d20774c-6aac-4eb0-a876-1be14e0f3004
TCGA-BH-AOWA-01A-11D-A10G-09	BRCA	4076f947-af0-4101-9a79-79828eb3bbe3

10

20

30

40

【 0 4 3 5 】

【表 1 6 - 1 4】

TCGA-BH-A18F-01A-11D-A12B-09	BRCA	d414b3fe-b768-4a98-b285-5284bffa66f9
TCGA-BH-A18H-01A-11D-A12B-09	BRCA	d3c1b990-aae2-45f8-be28-8ccd192a0fab
TCGA-BH-A18I-01A-11D-A12B-09	BRCA	f0ca4831-d56d-4bae-b304-bb43c5d2f09b
TCGA-BH-A18J-01A-11D-A12B-09	BRCA	fd9923db-2a27-432e-a0c6-4c44e6e1f53
TCGA-BH-A18K-01A-11D-A12B-09	BRCA	f75de986-bc8a-4ffe-9b35-011eccc3a1446
TCGA-BH-A18L-01A-32D-A12B-09	BRCA	883cd3c9-2681-4822-8b22-29149a027514
TCGA-BH-A18M-01A-11D-A12B-09	BRCA	0e548c1e-cbb7-4432-8112-bb262a1ef9d9
TCGA-BH-A18N-01A-11D-A12B-09	BRCA	13c38ac4-c410-4602-83e3-9b80b4f93839
TCGA-BH-A18P-01A-11D-A12B-09	BRCA	add624a3-57e9-46be-9bcc-3e53d7c2dfb7
TCGA-BH-A18Q-01A-12D-A12B-09	BRCA	a4de6680-33c3-4f6f-8696-453470a00bcb
TCGA-BH-A18R-01A-11D-A12B-09	BRCA	42facac2-81d9-4a9f-b4f6-1de89a7662fc
TCGA-BH-A18S-01A-11D-A12B-09	BRCA	a01c12fc-a33e-4a06-8b69-ebe6d4f59c2b
TCGA-BH-A18T-01A-11D-A12B-09	BRCA	4e0ddfc6-e847-4132-bdce-aaee2e027b28
TCGA-BH-A18U-01A-21D-A12B-09	BRCA	a8400863-c145-4c6c-bcf3-e4cc4d816d22
TCGA-BH-A18V-01A-11D-A12B-09	BRCA	6150dd25-a8f4-4d9f-9da0-f956855ab67d
TCGA-BH-A18W-01A-11D-A17G-09	BRCA	ca100ef0-be45-415f-909d-7172261d0084
TCGA-BH-A18X-01A-11D-A135-09	BRCA	20131381-8a11-425d-8954-980e6ec7c427
TCGA-BH-A18Y-01A-11D-A135-09	BRCA	7ecda44b-e942-4077-9d18-2a844ec53c9d
TCGA-BH-A18Z-01A-11D-A135-09	BRCA	9bd66613-68ad-42c1-ab43-dac1386027f9
TCGA-BH-A19A-01A-11D-A135-09	BRCA	dc578e75-e63c-4bdf-abfa-e2d063c9cd6d
TCGA-BH-A19B-01A-11D-A135-09	BRCA	43fbc2a9-078a-4bc2-b67c-b855329091f0
TCGA-BH-A19C-01A-11D-A135-09	BRCA	c6f4b1b6-a8dd-4a9a-a500-b14a738fe18f
TCGA-BH-A19D-01A-11D-A13L-09	BRCA	537b1685-0882-48ee-a38a-a05b5d1c8ba1
TCGA-BH-A19E-01A-11D-A13L-09	BRCA	7c035023-8ea9-4504-8f03-9573745cb6ef
TCGA-BH-A19F-01A-11D-A135-09	BRCA	3903b485-366d-4318-b17d-a0194f032bd8
TCGA-BH-A19G-01A-31D-A13L-09	BRCA	a5c67494-d843-4b14-ba9c-d077396cd2dc
TCGA-BH-A19H-01A-12D-A13L-09	BRCA	82121518-98d6-4db6-8be4-74bbe232a9ed
TCGA-BH-A19I-01A-11D-A13L-09	BRCA	34eb095d-3d44-4c59-9ef5-94592ba97900
TCGA-BH-A19J-01A-11D-A13L-09	BRCA	030cfc8a-7b43-4d73-8bfa-b68a47749e49
TCGA-BH-A19K-01A-11D-A13L-09	BRCA	84c77098-03d0-4b22-afb1-797703e85c6c
TCGA-BH-A19L-01A-11W-A14Q-09	BRCA	b372b5cd-4c38-4cd3-95e0-8708ce5437e7
TCGA-BH-A19M-01A-11D-A13L-09	BRCA	5e71fc3a-a2f4-4899-9c1f-8fee1ef29e2e
TCGA-BH-A19N-01A-11D-A13L-09	BRCA	311f2f1a-75c8-4fce-b31d-0815d71a3173
TCGA-BH-A19O-01A-12D-A13L-09	BRCA	fd6bd486-6371-4892-863e-64838fcea624
TCGA-BH-A19P-01A-11D-A13L-09	BRCA	dc62eafd-b5ad-42b4-9665-11ba6b22cff5
TCGA-BH-A19Q-01A-11D-A13L-09	BRCA	bb84cbb1-7244-4d92-8977-a37dbafc47b4
TCGA-BH-A19R-01A-11D-A13L-09	BRCA	7eb17736-03da-4f77-8397-145585a25b1e
TCGA-BH-A19S-01A-11D-A13L-09	BRCA	bf92d76e-31ff-4273-82ea-982c4c26394b
TCGA-BH-A19T-01A-11D-A13L-09	BRCA	a589f5ac-105c-45d6-96e1-55e3080f999c
TCGA-BH-A19U-01A-11D-A14G-09	BRCA	9efd4bfb-d4e4-487e-8d1c-a19c2d62e3cf
TCGA-BH-A201-01A-11D-A14K-09	BRCA	df6e619f-67a5-49f3-9768-4826aa2c9d1b

10

20

30

40

【 0 4 3 6】

50

【表 16 - 15】

TCGA-BH-A202-01A-11D-A14K-09	BRCA	e6feb69a-8827-4d43-94aa-036cf5150549
TCGA-BH-A203-01A-12D-A167-09	BRCA	128b9209-2201-428c-87e7-65690bfe3875
TCGA-BH-A204-01A-11D-A159-09	BRCA	2454d30f-1ca5-4f01-bfce-6ae10e84e75a
TCGA-BH-A208-01A-11D-A159-09	BRCA	ac749fbb-6de7-4c51-b9d6-80a2ce7b5a29
TCGA-BH-A209-01A-11D-A17G-09	BRCA	4eaf8116-4733-4865-8e22-5d03887bbe9b
TCGA-BH-A28Q-01A-11D-A16D-09	BRCA	0698379c-8f4e-460d-b7da-d3f6179dafd7
TCGA-C8-A12K-01A-21D-A10Y-09	BRCA	bcf92c27-3aa7-4449-9c7a-fc715789788f
TCGA-C8-A12L-01A-11D-A10Y-09	BRCA	998a465a-d084-4d7f-8c02-8c5be1e1ce27
TCGA-C8-A12M-01A-11D-A135-09	BRCA	9a0a7b93-da6e-45b7-9a6f-190d79552b49
TCGA-C8-A12N-01A-11D-A10Y-09	BRCA	e2af7f0c-3cf4-4ffe-b764-b4fd83bf7694
TCGA-C8-A12O-01A-11D-A10Y-09	BRCA	51bdba2a-106b-4597-aa49-609b677866c8
TCGA-C8-A12P-01A-11D-A10Y-09	BRCA	540fe594-0186-40d3-b519-clccebe82247
TCGA-C8-A12Q-01A-11D-A10Y-09	BRCA	b6b4af38-7ebb-4fa8-9876-6d88d2b1e7e4
TCGA-C8-A12T-01A-11D-A10Y-09	BRCA	961fac8a-d944-4866-b198-ea6f1e59a979
TCGA-C8-A12U-01A-11D-A10Y-09	BRCA	444alef9-819a-41dc-baef-22057225efcd
TCGA-C8-A12V-01A-11D-A10Y-09	BRCA	b8728982-8254-4aa8-baa5-aaeb6d852260
TCGA-C8-A12W-01A-11D-A10Y-09	BRCA	5fb924d9-3201-491b-90b1-fc8a6320b2d7
TCGA-C8-A12X-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f133a2e3-73a2-40b8-855f-e819e4d11630
TCGA-C8-A12Y-01A-11D-A12B-09	BRCA	d5c0a1a0-3d38-497b-9f47-107f06659cb1
TCGA-C8-A12Z-01A-11D-A10Y-09	BRCA	ae68cac5-e561-4094-98fa-2303cdaa6dbb
TCGA-C8-A130-01A-31D-A10Y-09	BRCA	da70101d-10c2-47ab-bce1-7757dcb08a2
TCGA-C8-A131-01A-11D-A10Y-09	BRCA	df8c72f3-ca4f-4a15-8d58-976d9c796570
TCGA-C8-A132-01A-31D-A10Y-09	BRCA	c038ab30-af2f-4771-bf82-def19f32efab
TCGA-C8-A133-01A-32D-A12B-09	BRCA	641e848d-e3e2-46a7-ad42-5e5672639816
TCGA-C8-A134-01A-11D-A10Y-09	BRCA	a3e8738b-2456-4f08-bb3d-5debb4265f85
TCGA-C8-A135-01A-11D-A10Y-09	BRCA	6b47c22f-8b4e-40fd-9a12-18b539521224
TCGA-C8-A137-01A-11D-A10Y-09	BRCA	08778f40-d895-46f1-8e7b-122fc598418b
TCGA-C8-A138-01A-11D-A10Y-09	BRCA	f3474e56-8457-4f0b-8a2f-58fd8f58607
TCGA-C8-A1HE-01A-11D-A188-09	BRCA	8314bada-5bd3-4cd2-b308-4cb2db64de94
TCGA-C8-A1HF-01A-11D-A135-09	BRCA	508a26f2-d117-44aa-b579-00a119b8bcc4
TCGA-C8-A1HG-01A-11D-A135-09	BRCA	ba937e3d-30b7-4446-84fb-5f77831a4843
TCGA-C8-A1HI-01A-11D-A135-09	BRCA	75dc3bff-75da-4734-b930-a18fd3d1ebfe
TCGA-C8-A1HJ-01A-11D-A13L-09	BRCA	a62c3601-b90f-402f-8212-ffdfe3c6df8
TCGA-C8-A1HK-01A-21D-A13L-09	BRCA	357e0b08-fa33-4f58-92b0-d7293b63c01d
TCGA-C8-A1HL-01A-11D-A135-09	BRCA	88c9ef88-5d85-4a4b-9c68-d9ec709a1f07
TCGA-C8-A1HM-01A-12D-A135-09	BRCA	a2f9165d-9fe7-492e-9b4c-3cb4200c6e85
TCGA-C8-A1HN-01A-11D-A135-09	BRCA	a2576147-28eb-460f-9b97-916892d801e2
TCGA-C8-A1HO-01A-11D-A13L-09	BRCA	c6fb921c-78fe-4852-b2a5-edd5a02ae923
TCGA-C8-A26V-01A-11D-A16D-09	BRCA	6c5a83f5-983f-434c-ac29-ddb84a7f1019
TCGA-C8-A26W-01A-11D-A16D-09	BRCA	d3db354e-f22c-4576-a7d7-6515f1c11002
TCGA-C8-A26X-01A-31D-A16D-09	BRCA	a5bc549a-1a1f-41b4-b548-14e448fed6c7

10

20

30

40

【 0 4 3 7 】

【表 1 6 - 1 6】

TCGA-C8-A26Z-01A-11D-A16D-09	BRCA	fa4f7af6-380f-4dbd-ba6a-8c0d22f56a9c
TCGA-C8-A273-01A-11D-A16D-09	BRCA	c5e6f325-5fd0-4cff-8eaf-6e23e016ff605
TCGA-C8-A274-01A-11D-A16D-09	BRCA	5e6e7c20-47b3-4f0e-a3c7-8293993e39cf
TCGA-C8-A275-01A-21D-A16D-09	BRCA	7751a837-2656-4e3b-9182-556314c4f6a3
TCGA-C8-A278-01A-11D-A167-09	BRCA	7bc48524-1f69-4d85-9d16-6db7844543bd
TCGA-C8-A27A-01A-11D-A167-09	BRCA	d0fd3dcc-4ac7-4fe9-9fb8-c0676b6faabb
TCGA-C8-A27B-01A-11D-A167-09	BRCA	11e43e41-54b8-4232-b078-5062288d3868
TCGA-D8-A13Y-01A-11D-A10Y-09	BRCA	8bb90325-028e-491a-bbaf-2cf4b3b87cd6
TCGA-D8-A13Z-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c3722c97-80f5-4eea-bf50-5a214134bbcc
TCGA-D8-A140-01A-11D-A10Y-09	BRCA	795f051e-01c4-4b49-b179-bd18ba24433c
TCGA-D8-A141-01A-11D-A10Y-09	BRCA	807791d8-b6c0-4722-bf5c-d5fa30baffc6
TCGA-D8-A143-01A-11D-A10Y-09	BRCA	db1763d1-fcae-4a01-a0cb-3019e292aa10
TCGA-D8-A145-01A-11D-A10Y-09	BRCA	af6ca646-499a-4e0a-a194-cacf72e5810b
TCGA-D8-A146-01A-31D-A10Y-09	BRCA	9a7548dc-fe79-4ad4-a324-0e9f63c91a20
TCGA-D8-A147-01A-11D-A10Y-09	BRCA	1f292323-cafc-4e45-bb4e-f5428e1a3276
TCGA-D8-A1J9-01A-11D-A13L-09	BRCA	6627e4b1-b34c-4aa2-836e-093061442a6d
TCGA-D8-A1JB-01A-11D-A13L-09	BRCA	54621c54-b7ef-48e4-aa68-e2fe10bf0afb
TCGA-D8-A1JC-01A-11D-A13L-09	BRCA	63a9d14f-d91a-47af-8ef6-8124193aa110
TCGA-D8-A1JD-01A-11D-A13L-09	BRCA	7df92725-fa63-494d-af9d-65c6ed76e023
TCGA-D8-A1JE-01A-11D-A13L-09	BRCA	bb34512b-2432-4256-968c-d7fd38f126a
TCGA-D8-A1JF-01A-11D-A13L-09	BRCA	d31358da-639c-4fe5-9f7c-c17c31fd2865
TCGA-D8-A1JG-01B-11D-A13L-09	BRCA	0b15c6f7-8e3e-48ad-a4a2-97d2ada56c44
TCGA-D8-A1JH-01A-11D-A188-09	BRCA	9f59481d-be89-4361-8cc3-3f1d46702016
TCGA-D8-A1JI-01A-11D-A13L-09	BRCA	2c6a885b-0452-492c-8829-13ba4b2ac455
TCGA-D8-A1JJ-01A-31D-A14K-09	BRCA	412f96a6-6599-40a6-9dd2-afb8c643910
TCGA-D8-A1JK-01A-11D-A13L-09	BRCA	fadaa39d-ebd2-4887-ae54-1fca12287fcf
TCGA-D8-A1JL-01A-11D-A13L-09	BRCA	425dbc9f-6bee-412a-b77a-22a2724ca4c6
TCGA-D8-A1JM-01A-11D-A13L-09	BRCA	f66d4178-34f3-4f5d-aa0a-7fdd03801033
TCGA-D8-A1JN-01A-11D-A13L-09	BRCA	c83c7d48-8671-4f27-b3dd-05411fa2f784
TCGA-D8-A1JP-01A-11D-A13L-09	BRCA	1e21a355-0cb6-4a43-b134-50ff88dacf92
TCGA-D8-A1JS-01A-11D-A13L-09	BRCA	4a9181d0-d3df-4791-99f0-4db076c22a3a
TCGA-D8-A1JT-01A-31D-A13L-09	BRCA	3be3972f-4125-44c3-94d6-0ddba2008fcf
TCGA-D8-A1JU-01A-11D-A13L-09	BRCA	7bff4f75-749d-4a63-9a64-0bcf1cd615ea
TCGA-D8-A1X5-01A-11D-A14G-09	BRCA	db4526d4-e344-4b5a-bb66-fd43b41764ca
TCGA-D8-A1X6-01A-11D-A14K-09	BRCA	1951aa38-481b-464c-9a78-0819312a0a93
TCGA-D8-A1X7-01A-11D-A14K-09	BRCA	7acb4232-db95-4889-942e-f1be897b4f2a
TCGA-D8-A1X8-01A-11D-A14K-09	BRCA	78c3c787-5731-4c38-8d7a-e5b503b11c36
TCGA-D8-A1X9-01A-12D-A159-09	BRCA	b5f65c3a-b922-4a81-863d-59b72b08d1bf
TCGA-D8-A1XA-01A-11D-A14G-09	BRCA	a362780b-8917-4438-9693-ec9fa84c352a
TCGA-D8-A1XB-01A-11D-A14G-09	BRCA	e5ca0f82-6fa9-4d54-adc7-385721f351f3
TCGA-D8-A1XC-01A-11D-A14G-09	BRCA	68fd3045-073d-4242-8a41-41b707fca625

10

20

30

40

【 0 4 3 8】

50

【表 16 - 17】

TCGA-D8-A1XF-01A-11D-A14G-09	BRCA	e1587f32-2ff9-40f3-97dd-b45b0f14be46
TCGA-D8-A1XG-01A-11D-A14G-09	BRCA	800ff536-a1d2-4213-b85e-7780851c6378
TCGA-D8-A1XJ-01A-11D-A14K-09	BRCA	a37b27a2-c3b0-4f62-82a2-94e9205b1d6e
TCGA-D8-A1XL-01A-11D-A14K-09	BRCA	28d44e6e-c73f-4788-8ad4-2bd6572f643d
TCGA-D8-A1XM-01A-21D-A14K-09	BRCA	07418962-0a82-43a2-a66f-614903ca8380
TCGA-D8-A1XO-01A-11D-A14K-09	BRCA	b5ff68a2-da74-4608-941e-dbac40153077
TCGA-D8-A1XR-01A-11D-A14K-09	BRCA	5913c8ff-26ce-4f26-909e-3ed292d3c538
TCGA-D8-A1XS-01A-11D-A14K-09	BRCA	5d302c04-302c-4040-9429-37cd672e8d53
TCGA-D8-A1XT-01A-11D-A14K-09	BRCA	bc13601e-3e03-4d7d-8e6e-5b05ff500ea3
TCGA-D8-A1XU-01A-11D-A14K-09	BRCA	55c547ee-7cc9-4b7a-aaca-22f2a8c8c3a4
TCGA-D8-A1XV-01A-11D-A14K-09	BRCA	a76adfd1-8c89-4c13-b570-5ccc47043a70
TCGA-D8-A1XW-01A-11D-A14K-09	BRCA	f29405cc-d712-4562-ac02-ca3c89fb82af
TCGA-D8-A1XY-01A-11D-A14K-09	BRCA	edb6d161-8f50-4c11-8246-487c4ea9a55d
TCGA-D8-A1XZ-01A-11D-A14K-09	BRCA	381a9211-1f2b-4c14-895b-ee7fb6eb8c7f
TCGA-D8-A1Y0-01A-11D-A14K-09	BRCA	33ff7870-fa76-4e48-a223-a8e2441d8ff53
TCGA-D8-A1Y1-01A-21D-A14K-09	BRCA	2ea6e540-6e2f-48a5-99e3-27a0107d07b7
TCGA-D8-A1Y2-01A-11D-A159-09	BRCA	9dbf62eb-0de7-4410-b44b-fdf59026d8e6
TCGA-D8-A1Y3-01A-11D-A159-09	BRCA	64fa29ff-534f-4b22-b0c4-513c8657edb1
TCGA-D8-A27E-01A-11D-A16D-09	BRCA	eab47cbb-eab0-4dd6-9cd0-f2700e5b6227
TCGA-D8-A27F-01A-11D-A16D-09	BRCA	fc6d77a9-121b-48ab-a899-713c3d1319a2
TCGA-D8-A27H-01A-11D-A16D-09	BRCA	78e51220-c9f8-44b2-bc1c-b34a56af3b54
TCGA-D8-A27I-01A-11D-A16D-09	BRCA	47c0db0a-fc37-4fa0-832c-e67f089d3889
TCGA-D8-A27K-01A-11D-A16D-09	BRCA	09fa0bc7-acb3-45b0-b687-977869c31d12
TCGA-D8-A27L-01A-11D-A16D-09	BRCA	10666107-dff6-4c51-b3ee-71e70cdc7e88
TCGA-D8-A27M-01A-11D-A16D-09	BRCA	cb9257f9-ca3f-4e14-a680-6632175dd526
TCGA-D8-A27N-01A-11D-A16D-09	BRCA	6a411174-582a-4c68-bb04-5ea2e504bf7c
TCGA-D8-A27P-01A-11D-A16D-09	BRCA	94011b46-74e3-41c1-a3f6-6db1821d1778
TCGA-D8-A27R-01A-11D-A16D-09	BRCA	27741c13-8d5f-43b8-8651-caf69acef0e4
TCGA-D8-A27T-01A-11D-A16D-09	BRCA	ecabcc6a-2767-4ad8-ac4f-54cc3d081b6e
TCGA-D8-A27W-01A-11D-A16D-09	BRCA	b045d675-286b-4cf8-aed4-c7ff81a78919
TCGA-E2-A105-01A-11D-A10M-09	BRCA	2441f3e0-2016-4313-8c05-486759f5dd0f
TCGA-E2-A107-01A-11D-A10M-09	BRCA	5804fclc-063b-429d-a652-22b0de416bd6
TCGA-E2-A108-01A-13D-A10M-09	BRCA	e3e394d4-2593-4bf9-86e4-2e79d8cb8dab
TCGA-E2-A109-01A-11D-A10M-09	BRCA	3585e133-b3c1-4d90-b5f2-2b867e0ae0ec
TCGA-E2-A10A-01A-21D-A10Y-09	BRCA	cd49ccc5-a776-4307-930c-298ba6cfd7f9
TCGA-E2-A10B-01A-11D-A10M-09	BRCA	9d712002-74cb-459a-b350-e9a4b49aac13
TCGA-E2-A10C-01A-21D-A10M-09	BRCA	2750ed41-0bd4-4cf4-98f5-762957cf80b7
TCGA-E2-A10F-01A-11D-A10M-09	BRCA	530b7e22-e70a-46ef-a0e8-bf2ef814850a
TCGA-E2-A14N-01A-31D-A135-09	BRCA	00c8d151-2223-4e36-8c66-6c09e42d8777
TCGA-E2-A14O-01A-31D-A10Y-09	BRCA	d6ab6f8d-0e65-40a3-bf98-7249e4075395
TCGA-E2-A14P-01A-31D-A12B-09	BRCA	35a96eee-113b-45cb-a999-81c13545b104

10

20

30

40

【 0 4 3 9 】

【表 1 6 - 1 8】

TCGA-E2-A14Q-01A-11D-A12B-09	BRCA	ee51cf6d-351f-48f8-ab93-639c27c50e9f
TCGA-E2-A14R-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c7212115-1007-40cf-b9b5-7b25e2f5f2a4
TCGA-E2-A14S-01A-11D-A12B-09	BRCA	78f39325-e1d0-4181-87f4-cb7f00ce886d7
TCGA-E2-A14T-01A-11D-A10Y-09	BRCA	14c1c6b6-575e-416b-b219-15552b62ea74
TCGA-E2-A14V-01A-11D-A12B-09	BRCA	703314fe-bfd5-45d5-9ed5-fcdce8a19fd6
TCGA-E2-A14W-01A-11D-A12B-09	BRCA	fbdc8659-e9cc-483f-bd0a-1a24b5ada1cf
TCGA-E2-A14X-01A-11D-A10Y-09	BRCA	74039acd-5aca-4c65-818c-3b577d295be0
TCGA-E2-A14Z-01A-11D-A10Y-09	BRCA	c83eaaca-ced5-4630-abb5-ef34db888753
TCGA-E2-A150-01A-11D-A12B-09	BRCA	446064de-ff64-4113-9080-360e5bf6d5e4
TCGA-E2-A152-01A-11D-A12B-09	BRCA	b266b370-425c-4146-8b72-59248436618e
TCGA-E2-A154-01A-11D-A10Y-09	BRCA	336e39fb-d407-4ced-b7bb-e8ff5329abdb
TCGA-E2-A155-01A-11D-A12B-09	BRCA	a966904f-e8dd-473c-8626-84c25d7e0d6c
TCGA-E2-A156-01A-11D-A12B-09	BRCA	26003dce-0fc6-4538-a392-c80e1ebaa1e4
TCGA-E2-A159-01A-11D-A10Y-09	BRCA	757e8a2d-90cf-4dab-a4dd-45f3cbdeaeab
TCGA-E2-A15A-01A-11D-A12B-09	BRCA	b7e3eff1-65d5-491f-a726-35dc6752b370
TCGA-E2-A15C-01A-31D-A12B-09	BRCA	10c594a1-0843-4740-9d96-00211a9509fb
TCGA-E2-A15D-01A-11D-A10Y-09	BRCA	891295d6-4dd0-4ab4-bbce-13da7f3c30d0
TCGA-E2-A15E-01A-11D-A12B-09	BRCA	c6f107df-1186-4d6d-b5b5-2393e9369dd1
TCGA-E2-A15F-01A-11D-A10Y-09	BRCA	33edf937-b09f-49ec-8f4c-e05dee7ece1f
TCGA-E2-A15G-01A-11D-A12B-09	BRCA	d45bb60a-e73b-4b95-8637-e8d17fcca745
TCGA-E2-A15H-01A-11D-A12B-09	BRCA	7875c5b3-ced2-4669-a3d5-45739b850af7
TCGA-E2-A15I-01A-21D-A135-09	BRCA	9bec02b4-7cf0-4797-b1ac-253ef78a34af
TCGA-E2-A15J-01A-11D-A12Q-09	BRCA	e5fd7cbd-8fce-49e9-8d2c-d2a2e61367a5
TCGA-E2-A15O-01A-11D-A10Y-09	BRCA	39c1df91-b670-4ff6-b5ff-dbb6b66d30af
TCGA-E2-A15P-01A-11D-A10Y-09	BRCA	5f1853c2-6579-42d0-adc2-636b5de543e4
TCGA-E2-A15R-01A-11D-A10Y-09	BRCA	11799240-0275-48fe-84ef-85e188839bbe
TCGA-E2-A15S-01A-11D-A10Y-09	BRCA	01f78efa-ba0b-4263-81fd-d3d8ea1bc5fd
TCGA-E2-A15T-01A-11D-A10Y-09	BRCA	eff74709-36af-4da4-91c1-01100ddc7735
TCGA-E2-A1AZ-01A-11D-A12Q-09	BRCA	f961c932-cf37-47c8-8520-8d0d444dc94f
TCGA-E2-A1B0-01A-11D-A12Q-09	BRCA	14e3b00c-cbec-4733-8fa4-829b8e7d9808
TCGA-E2-A1B1-01A-21D-A12Q-09	BRCA	a6e77a14-e5e5-452e-a46f-5629ee8228e3
TCGA-E2-A1B4-01A-11D-A12Q-09	BRCA	a6aa4529-7996-4b66-9632-2559293db35d
TCGA-E2-A1B6-01A-31D-A12Q-09	BRCA	1aaf88fc-f7cb-4239-a420-224352194160
TCGA-E2-A1BD-01A-11D-A12Q-09	BRCA	f5ac1986-272b-48d2-9a73-4a550e38a997
TCGA-E2-A1IE-01A-11D-A188-09	BRCA	e416f05b-c7d2-479b-8068-803492e86d86
TCGA-E2-A1IF-01A-11D-A142-09	BRCA	7751c2d5-e548-4439-aac1-e7b9dce97583
TCGA-E2-A1IG-01A-11D-A142-09	BRCA	84da47a3-49e1-4f94-bea9-dd20b6627adb
TCGA-E2-A1IH-01A-11D-A188-09	BRCA	cd886e35-4201-4732-90c6-142d8fe309b1
TCGA-E2-A1II-01A-11D-A142-09	BRCA	698e8a73-c6b6-45bd-82fc-9bd0f140729d
TCGA-E2-A1IJ-01A-11D-A142-09	BRCA	3aff2da1-1647-4b95-abdb-c9db923cfc22
TCGA-E2-A1IK-01A-11D-A17G-09	BRCA	8577ac01-1274-4bd5-ab04-380eaa78d95b

10

20

30

40

【 0 4 4 0】

【表 16 - 19】

TCGA-E2-A1IL-01A-11D-A14G-09	BRCA	1540ae03-7bb4-418b-afbc-44bf3ad60a31
TCGA-E2-A1IN-01A-11D-A13L-09	BRCA	9e85559f-098e-4b0f-8034-4798789e710b
TCGA-E2-A1IO-01A-11D-A142-09	BRCA	986e9b9f-ae15-4743-a150-d6ee11f3c077
TCGA-E2-A1IU-01A-11D-A14G-09	BRCA	7fcd5fda-8155-4b48-afb9-9e7958627113
TCGA-E2-A1L6-01A-11D-A13L-09	BRCA	f610239f-5610-4d7b-bc31-ae3ccb9c425d
TCGA-E2-A1L7-01A-11D-A142-09	BRCA	33a09072-6554-4d46-b738-0852624940af
TCGA-E2-A1L8-01A-11D-A13L-09	BRCA	04a7762f-2cbb-498b-ab4e-921406c1nec0
TCGA-E2-A1L9-01A-11D-A13L-09	BRCA	a50cd2b2-913d-41bf-94ad-45464547b348
TCGA-E2-A1LA-01A-11D-A142-09	BRCA	bdcd4800-3258-446f-b6e5-3c8e2f46c656
TCGA-E2-A1LB-01A-11D-A142-09	BRCA	377b1816-61e1-431a-9952-71e4d58bbd48
TCGA-E2-A1LG-01A-21D-A14K-09	BRCA	7cdb0e8-f614-4f54-b864-fd6b39e8ef1c
TCGA-E2-A1LH-01A-11D-A14G-09	BRCA	605fd27-db45-449a-a68f-4888b8c786a1
TCGA-E2-A1LI-01A-12D-A159-09	BRCA	c812374c-8bc9-4ccf-9157-fbd9d162ee1e
TCGA-E2-A1LK-01A-21D-A14G-09	BRCA	4e84eed6-82a8-4e91-b0fd-61ec6ef69ce9
TCGA-E2-A1LL-01A-11D-A142-09	BRCA	47312f61-5ef4-4f25-9320-8fbb4758790e
TCGA-E2-A1LS-01A-12D-A159-09	BRCA	40087f80-85f6-4cc4-95c9-0639153dd3f4
TCGA-E9-A1N3-01A-12D-A159-09	BRCA	6c3891a9-baa9-4309-9974-d82fd5f97417
TCGA-E9-A1N4-01A-11D-A14K-09	BRCA	a3784a48-47a7-4587-91dd-5b8873a24ca9
TCGA-E9-A1N5-01A-11D-A14G-09	BRCA	432a9f5e-0f2a-4cd2-a910-ee9ce30c1ff3
TCGA-E9-A1N8-01A-11D-A142-09	BRCA	cac57844-0e46-489b-8d94-ceeda5788c050
TCGA-E9-A1N9-01A-11D-A14G-09	BRCA	2aa7a1db-40a5-421b-97ab-1031e6fa7f04
TCGA-E9-A1NA-01A-11D-A142-09	BRCA	a3d223eb-20e6-40b9-9f07-e5f865bd2439
TCGA-E9-A1NC-01A-12W-A16L-09	BRCA	2ba4c398-b94b-49f8-bb88-9d0cb3347d2c
TCGA-E9-A1ND-01A-11D-A142-09	BRCA	8e72652d-3b99-47b2-87fe-04b96b243722
TCGA-E9-A1NE-01A-21D-A14K-09	BRCA	dbd34322-ac40-41f0-acc7-7bfd06nfd6f7
TCGA-E9-A1NF-01A-11D-A14G-09	BRCA	cd428bec-fc31-4d2d-9e6c-c8f30608d797
TCGA-E9-A1NG-01A-21D-A14K-09	BRCA	1cbf389d-1ec8-4543-880f-4ef64c55a44b
TCGA-E9-A1NH-01A-11D-A14G-09	BRCA	13c312ec-0add-4758-ab8d-c193e2e08c6d
TCGA-E9-A1NI-01A-11W-A16H-09	BRCA	3bf0b169-f870-4887-be06-414f20f1dcf0
TCGA-E9-A1QZ-01A-21D-A167-09	BRCA	2d47b244-e5e4-4645-91cb-71de1d685a95
TCGA-E9-A1R0-01A-22D-A16D-09	BRCA	c09eaa03-c14c-4a96-a505-4d999e45270e
TCGA-E9-A1R2-01A-11D-A14G-09	BRCA	b321a2d9-5345-4891-b450-bfd696c6cfb0
TCGA-E9-A1R3-01A-31D-A14K-09	BRCA	ba6af877-7a23-4738-a867-01a5dd8a8050
TCGA-E9-A1R4-01A-21D-A14G-09	BRCA	15d9c916-a12e-48a0-8a0f-8c240c54bd37
TCGA-E9-A1R5-01A-11D-A14K-09	BRCA	a04ba6e9-2bc4-4cab-96d8-0820e0390d84
TCGA-E9-A1R6-01A-11D-A14G-09	BRCA	b8a1805d-a43a-4433-a90b-01715e8cc554
TCGA-E9-A1R7-01A-11D-A14K-09	BRCA	b3991854-6634-4428-bef7-a7d9ad9cca30
TCGA-E9-A1RA-01A-11D-A14G-09	BRCA	6d067461-2002-468e-934d-2721f6cb97ff
TCGA-E9-A1RB-01A-11D-A17G-09	BRCA	2ce0333c-deca-4199-a06c-edc43c5575fc
TCGA-E9-A1RC-01A-11D-A159-09	BRCA	5b5e7eb2-8efc-4681-ab8c-49a9cc4ac6d6
TCGA-E9-A1RD-01A-11D-A159-09	BRCA	23f7a698-eab1-40f1-926c-c95d4ed8213d

10

20

30

40

【 0 4 4 1 】

【表 1 6 - 2 0】

TCGA-E9-A1RE-01A-11D-A159-09	BRCA	4a9c0873-f496-48a4-853c-2b41b2dbaa9e
TCGA-E9-A1RF-01A-11D-A159-09	BRCA	43983619-d863-4816-a334-445f6ca36541
TCGA-E9-A1RG-01A-11D-A14G-09	BRCA	81896525-0e3f-47ff-9b0d-95b45ae718c
TCGA-E9-A1RH-01A-21D-A167-09	BRCA	2ecb84c0-c307-4fa9-85e3-2f722dd365a3
TCGA-E9-A1RI-01A-11D-A167-09	BRCA	661c0074-dac9-44c6-bebc-202cfb9fb735
TCGA-E9-A226-01A-21D-A159-09	BRCA	866e5e9b-4e6c-49e2-9ea6-560f9bd99c2b
TCGA-E9-A227-01A-11D-A159-09	BRCA	15eb25c4-f4a7-446c-b654-ae39ccd2cf00
TCGA-E9-A228-01A-31D-A159-09	BRCA	4a804a8d-7dc8-4b5b-9537-b7f8f7133bda
TCGA-E9-A229-01A-31D-A17G-09	BRCA	a27fa57d-d1ad-4534-a933-0fdcc5f06a8c
TCGA-E9-A22A-01A-11D-A159-09	BRCA	25bf7831-6878-4bac-b23d-e94a555b2232
TCGA-E9-A22B-01A-11D-A159-09	BRCA	e46a5d19-2dd7-4c34-8fff-6276278c58b3
TCGA-E9-A22D-01A-11D-A159-09	BRCA	3dfdc7fd-3f69-4297-a4cf-1a05b75d302f
TCGA-E9-A22E-01A-11D-A159-09	BRCA	a1d7dafc-a755-44a6-b45b-dc6aae309d3e
TCGA-E9-A22G-01A-11D-A159-09	BRCA	2be1b92a-6041-4d2b-9cf8-b9723921987f
TCGA-E9-A22H-01A-11D-A159-09	BRCA	42993dbb-b99b-4b48-8038-05cf14fec886
TCGA-E9-A243-01A-21D-A167-09	BRCA	c6bb16c6-cb0f-44c6-93e7-6c55d0958f82
TCGA-E9-A244-01A-11D-A167-09	BRCA	9edf63e8-ae94-4b2f-8521-b56dadc21cd5
TCGA-E9-A245-01A-22D-A16D-09	BRCA	bdd591f9-21d1-4ce5-bfde-30e7ac3d440a
TCGA-E9-A247-01A-11D-A167-09	BRCA	7c184a2b-d857-444a-936c-43e38a196df9
TCGA-E9-A248-01A-11D-A167-09	BRCA	fee90b4e-f005-4b40-a9af-d1e590b1e8a8
TCGA-E9-A249-01A-11D-A167-09	BRCA	2799ad7e-d6f0-4919-b7f6-1c957b4c74f8
TCGA-E9-A24A-01A-11D-A167-09	BRCA	d11d3770-a4f4-4d15-94f4-149cca27d391
TCGA-E9-A295-01A-11D-A16D-09	BRCA	f3d5e986-046f-4f75-8abc-67a3b99f742d
TCGA-EW-A11W-01A-11D-A13L-09	BRCA	8b8732c3-78b1-409b-bc8c-c482575361bb
TCGA-EW-A11X-01A-12D-A142-09	BRCA	01ea194f-dc06-4e15-9b9e-1c73668040e0
TCGA-EW-A11Y-01A-11D-A188-09	BRCA	01d3fddf-b447-4925-a5cb-c5fd70c97278
TCGA-EW-A11Z-01A-11D-A188-09	BRCA	18db4143-48cc-424c-8d23-46cf23056528
TCGA-EW-A1J1-01A-11D-A188-09	BRCA	4b8d51b3-8393-45d4-a73d-3c22c561d6f3
TCGA-EW-A1J2-01A-21D-A13L-09	BRCA	c906931e-dc1a-434c-96cd-58088762f1e7
TCGA-EW-A1J3-01A-11D-A13L-09	BRCA	ac13b81a-ca05-432c-918a-0c9c8170bf46
TCGA-EW-A1J5-01A-11D-A13L-09	BRCA	98bb3025-0637-4106-8621-12df7b5d662f
TCGA-EW-A1J6-01A-11D-A188-09	BRCA	d95c5cb1-d081-47fa-8ac0-1ade7652a0af
TCGA-EW-A1OV-01A-11D-A142-09	BRCA	e27ca8f5-3f76-4531-87ea-ba3a44f6830d
TCGA-EW-A1OX-01A-11D-A142-09	BRCA	7828f9cf-na93-44a0-8070-efd90a677f0
TCGA-EW-A1OY-01A-11D-A142-09	BRCA	925323a2-ca03-48f4-8c37-1a8a6f8a6daa
TCGA-EW-A1OZ-01A-11D-A142-09	BRCA	a73152be-2293-403d-940b-74ac05810808
TCGA-EW-A1P0-01A-11D-A142-09	BRCA	6475f4dd-782c-411a-b7ce-9c9ebd0753b8
TCGA-EW-A1P1-01A-31D-A14G-09	BRCA	28a56927-bab8-4a8c-bel1-f46e37ea34c1
TCGA-EW-A1P3-01A-11D-A142-09	BRCA	e783933d-1c24-4cd5-82b7-0d680f9c3c22
TCGA-EW-A1P4-01A-21D-A142-09	BRCA	204e4ef3-e6b8-469f-9024-56c6f6f07afd
TCGA-EW-A1P5-01A-11D-A142-09	BRCA	84b4da42-9b73-4448-9185-a12857ab422f

10

20

30

40

【 0 4 4 2】

【表 1 6 - 2 1】

TCGA-EW-A1P6-01A-11D-A142-09	BRCA	eef5cea9-82f6-4001-8e2c-701e43a9787a
TCGA-EW-A1P7-01A-21D-A142-09	BRCA	402abf40-5a01-467d-a5be-b9101743f34b
TCGA-EW-A1P8-01A-11D-A142-09	BRCA	e55f338f-97e2-4394-ae23-c92606069485
TCGA-EW-A1PA-01A-11D-A142-09	BRCA	56c8aca4-b3bd-4791-b05d-0b2338b6346d
TCGA-EW-A1PB-01A-11D-A142-09	BRCA	9ddf2119-a222-4fa5-a9f3-0bec7eaa36b
TCGA-EW-A1PD-01A-11D-A142-09	BRCA	5a288561-bf14-4cb9-b2f5-9ece0e038319
TCGA-EW-A1PE-01A-11D-A142-09	BRCA	54377bac-8f52-4116-b7e5-b71a8a721ac4
TCGA-EW-A1PG-01A-11D-A142-09	BRCA	bd3801e2-c5bb-4116-9ce3-97903fc6956e
TCGA-EW-A1PH-01A-11D-A14K-09	BRCA	ce860c6f-c87a-4a45-92df-ca34bfb2e8b2
TCGA-GI-A2C8-01A-11D-A16D-09	BRCA	535a899d-67ca-4500-8dda-63a331a3611c
TCGA-AA-3664-01A-01W-0900-09	COAD	9eff122a-9960-4f2e-ba5b-94736bad7f2b
TCGA-AA-3666-01A-02W-0900-09	COAD	d7065ea5-88b0-4b56-a367-5defa0d9ed27
TCGA-AA-3667-01A-01W-0900-09	COAD	c2799cdc-c6f7-44ba-a72c-e1632b434575
TCGA-AA-3672-01A-01W-0900-09	COAD	04dc0b16-834c-4351-b3b9-58fe558c634d
TCGA-AA-3673-01A-01W-0900-09	COAD	7952f001-8901-44b4-833e-824282967118
TCGA-AA-3678-01A-01W-0900-09	COAD	968fea30-df40-425f-87ba-935942dbd450
TCGA-AA-3679-01A-02W-0900-09	COAD	94cfbc05-df22-4db0-9aa0-808faab01c61
TCGA-AA-3680-01A-01W-0900-09	COAD	20dd1d44-2321-4a84-b8b9-894073c6acd3
TCGA-AA-3681-01A-01W-0900-09	COAD	e5fea94c-f2ab-4476-b641-f2764eb0d026
TCGA-AA-3684-01A-02W-0900-09	COAD	6ecc0812-6ce3-4569-9868-6c4936236682
TCGA-AA-3685-01A-02W-0900-09	COAD	db8d5d6c-c200-4ffc-a1bb-8465044cefad
TCGA-AA-3688-01A-01W-0900-09	COAD	7224118e-b762-4e72-8bee-9e87c37aac7f
TCGA-AA-3692-01A-01W-0900-09	COAD	6e2f4d01-6413-473e-98f4-9256ca4285d5
TCGA-AA-3693-01A-01W-0900-09	COAD	45ea6cb9-8d5e-4470-bd07-a2c59ddc5cf0
TCGA-AA-3695-01A-01W-0900-09	COAD	db143a45-b2c5-4dce-98d4-d15dccc5b757
TCGA-AA-3696-01A-01W-0900-09	COAD	9e1f1824-12e2-42bc-aa57-e0d0b4079a4c
TCGA-AA-3715-01A-01W-0900-09	COAD	554258ce-99c3-49a3-bfbf-131ec867a0e9
TCGA-AA-3812-01A-01W-0900-09	COAD	28087364-af53-4ac4-b1b2-bbe54b71c040
TCGA-AA-3814-01A-01W-0900-09	COAD	733e8b21-718b-405d-b860-ed36c70a8411
TCGA-AA-3818-01A-01W-0900-09	COAD	9ddb06a8-300e-40d2-8f6a-c851e2f90d90
TCGA-AA-3819-01A-01W-0900-09	COAD	0192a572-a235-400d-8fb1-af81e40d3763
TCGA-AA-3831-01A-01W-0900-09	COAD	7843d5c1-373d-4a55-82b8-db2f8ead890c
TCGA-AA-3833-01A-01W-0900-09	COAD	9ea5c555-6e44-4313-8572-779a099efaaa
TCGA-AA-3837-01A-01W-0900-09	COAD	888c1825-a44b-49cb-bed1-09db01e54b75
TCGA-AA-3848-01A-01W-0900-09	COAD	729fbad4-0152-44e5-b26b-dffc1f7dcf70
TCGA-AA-3852-01A-01W-0900-09	COAD	1ee1ab0a-cd8c-49d5-ab8c-0d2a2f94724f
TCGA-AA-3854-01A-01W-0900-09	COAD	2a7ecd84-d49c-484c-a918-381769835ebc
TCGA-AA-3856-01A-01W-0900-09	COAD	7a07d137-7936-486d-aeb5-6d9598fe4660
TCGA-AA-3858-01A-01W-0900-09	COAD	99e41f17-b760-4b34-8230-39aa42db46fd
TCGA-AA-3860-01A-02W-0900-09	COAD	57869735-96fd-4439-ba2d-583df6fc32a0
TCGA-AA-3875-01A-01W-0900-09	COAD	06e6b2e8-634e-4b03-989e-0d192b60b64a

10

20

30

40

【 0 4 4 3】

【表 1 6 - 2 2】

TCGA-AA-3966-01A-01W-1073-09	COAD	689f1a40-4315-48bc-8b05-75d800e17b44
TCGA-AA-3994-01A-01W-1073-09	COAD	4348f66a-e104-4fdd-bdee-2f346832835d
TCGA-AA-A004-01A-01W-A00E-09	COAD	0b856311-aa63-44b7-a191-9d6d8308c3d0
TCGA-AA-A00N-01A-02W-A00E-09	COAD	dfb1aec9-d196-49e6-bdb1-9318222b8121
TCGA-AA-A00O-01A-02W-A00E-09	COAD	0328eea5-c89c-4462-8af8-48a28ed38537
TCGA-AA-A010-01A-01W-A00E-09	COAD	77cdeb19-16fa-4330-921c-e21f17c2298e
TCGA-AA-A017-01A-01W-A00E-09	COAD	a0ad6347-d20c-494a-a094-b816c4fec5de
TCGA-AA-A01D-01A-01W-A00E-09	COAD	e00404be-0bea-4893-89cf-cc24073f10b1
TCGA-AA-A01I-01A-02W-A00E-09	COAD	ee78a7e5-6ddb-4d06-8fb1-ba7300af59e1
TCGA-AA-A01K-01A-01W-A00E-09	COAD	7b7c405e-65c8-4633-ac54-0a112fb478ac
TCGA-AA-A024-01A-02W-A00E-09	COAD	45a6b8e2-a4a7-400c-ba7a-f93c29f50fe4
TCGA-AA-A029-01A-01W-A00E-09	COAD	41be5565-479e-4c56-b48b-1de52dad2299
TCGA-AA-A02F-01A-01W-A00E-09	COAD	68c4226b-dfdb-4130-b50e-94839bcb1b0f
TCGA-AA-A02H-01A-01W-A00E-09	COAD	1cbf3771-fb49-4517-83ba-8e112feb1d00
TCGA-AA-A02J-01A-01W-A00E-09	COAD	5d03450f-b249-4ded-927b-713158acc8b2
TCGA-AA-A02W-01A-01W-A00E-09	COAD	2104138f-b09d-4452-91e1-c4a10382f009
TCGA-AY-4070-01A-01W-1073-09	COAD	a7a74785-31cf-4527-bae2-991d7df97b5f
TCGA-AY-4071-01A-01W-1073-09	COAD	80aa3f17-b072-4e59-a6fc-1afe016fa477
TCGA-02-0003-01A-01D-1490-08	GBM	458f13e0-34f3-4a92-b3b3-9a3c2ee3ef23
TCGA-02-0033-01A-01D-1490-08	GBM	39d1f122-31d0-4e1c-95a7-0e65e75b1457
TCGA-02-0047-01A-01D-1490-08	GBM	ce03026e-b756-43a2-972d-b3a4dcdca5491
TCGA-02-0055-01A-01D-1490-08	GBM	9cd89af4-5118-4adb-aa1d-fbd03bf42a33
TCGA-02-2470-01A-01D-1494-08	GBM	0b35f2ff-2a08-4585-a1a9-cfc6a9f5b224
TCGA-02-2483-01A-01D-1494-08	GBM	4d7f2c74-862b-4aad-98e1-fa831f14a905
TCGA-02-2485-01A-01D-1494-08	GBM	0332b017-17d5-4083-8fc4-9d6f8fbbbde
TCGA-02-2486-01A-01D-1494-08	GBM	3331813c-f338-4833-b5eb-a214b7d52334
TCGA-06-0119-01A-08D-1490-08	GBM	0cda6181-c62b-4ced-a543-d6138fd2e94a
TCGA-06-0122-01A-01D-1490-08	GBM	08c54819-32fa-455d-a443-fc71dfd3f03a
TCGA-06-0124-01A-01D-1490-08	GBM	6ae82bf8-7076-43fb-a541-4c7db5d49280
TCGA-06-0125-02A-11D-2280-08	GBM	96e3db14-2bb1-4f68-aed6-5e794750c96e
TCGA-06-0126-01A-01D-1490-08	GBM	c3c3059d-e2fb-45ea-80b5-99fb040cba29
TCGA-06-0128-01A-01D-1490-08	GBM	c5688535-bda4-4831-aaba-e0c19101d7b0
TCGA-06-0129-01A-01D-1490-08	GBM	73e7aa35-91b4-4392-bbb9-9ec21f30250c
TCGA-06-0130-01A-01D-1490-08	GBM	c09f0ebd-d604-49a3-9738-0c65fd47fbf9
TCGA-06-0132-01A-02D-1491-08	GBM	53c2e159-5774-499f-b0d1-e04fa3faf5c3
TCGA-06-0137-01A-01D-1490-08	GBM	37c11dfc-c37c-4cb6-bd81-9e0a7789b0f1
TCGA-06-0139-01A-01D-1490-08	GBM	c84ff17d-436d-49c1-aef2-b998ffe4a693
TCGA-06-0140-01A-01D-1490-08	GBM	18c94086-d2cc-45cd-9bad-f8968a042d5e
TCGA-06-0141-01A-01D-1490-08	GBM	5af251d5-e76b-480c-8142-6d6fbfce0b2a
TCGA-06-0142-01A-01D-1490-08	GBM	4bce79ce-c59c-4d86-b25f-28c8edda1651

10

20

30

40

【 0 4 4 4】

【表 1 6 - 2 3】

TCGA-06-0145-01A-01W-0224-08	GBM	8f904068-2967-4b38-8813-3ad0a99e4af8
TCGA-06-0151-01A-01D-1491-08	GBM	5fea9ebc-8c1b-4078-af87-79c7f5b5470b
TCGA-06-0152-01A-02W-0323-08	GBM	79062efd-2b09-4798-a504-0a18ca30ef2d
TCGA-06-0154-01A-03D-1491-08	GBM	f5045707-3ddd-4ade-959a-b368437752fb
TCGA-06-0155-01B-01D-1492-08	GBM	2dc59e9b-3a60-4178-9fa0-81cf5171622d
TCGA-06-0157-01A-01D-1491-08	GBM	b1e62d8e-24d2-4118-8cd0-3142acebdd5b
TCGA-06-0158-01A-01D-1491-08	GBM	14580533-4a0c-47ca-bb51-c233700de35c
TCGA-06-0165-01A-01D-1491-08	GBM	1728988e-0877-4194-92c5-92c1ee6c5f5b
TCGA-06-0166-01A-01D-1491-08	GBM	70157018-a3c5-4ef8-9314-f8715a3438a4
TCGA-06-0167-01A-01D-1491-08	GBM	d530c696-235d-4a41-944d-e7f7ae21aa17
TCGA-06-0168-01A-01D-1491-08	GBM	2b3bab1e-dddd-4c2c-b5ec-7bb6c700e070
TCGA-06-0169-01A-01D-1490-08	GBM	06053a14-2d9a-4df0-a79b-81bda36bf3c3
TCGA-06-0171-02A-11D-2280-08	GBM	39520be3-a2af-4189-acf4-9d239363333a
TCGA-06-0173-01A-01D-1491-08	GBM	0908aac1-d3b7-4eec-96f2-a28c3738388c
TCGA-06-0174-01A-01D-1491-08	GBM	017c9167-0354-41e4-ad50-fb38fcb5668c
TCGA-06-0178-01A-01D-1491-08	GBM	a4fa779b-d116-4696-b170-60f3e215e9fb
TCGA-06-0184-01A-01D-1491-08	GBM	a5a2e50f-dc7e-44cc-bffe-b675a707bf53
TCGA-06-0185-01A-01W-0254-08	GBM	bc62d57d-b536-41ab-a344-e765fd3f7439
TCGA-06-0188-01A-01W-0254-08	GBM	cc0c78e7-1d76-45e6-b043-dc209bb9a32a
TCGA-06-0189-01A-01D-1491-08	GBM	25c64c53-746c-4e92-976a-8bd947fb9c7f
TCGA-06-0190-02A-01D-2280-08	GBM	c065761d-f775-457f-bda0-4c7c257a701e
TCGA-06-0192-01B-01W-0348-08	GBM	43d7bc6f-be9b-4d5e-bcec-4fb30b0d9b65
TCGA-06-0195-01B-01D-1491-08	GBM	2a2fac52-44aa-41f7-ae27-de6b7eba8ff1
TCGA-06-0209-01A-01D-1491-08	GBM	b4a7de67-14b6-4b8c-abbe-9eaa990d905e
TCGA-06-0210-02A-01D-2280-08	GBM	b60392fb-43d9-4c9c-b91b-ded40492e61c
TCGA-06-0211-02A-02D-2280-08	GBM	3914c02e-44ad-4c96-8464-61aa95b42c49
TCGA-06-0213-01A-01D-1491-08	GBM	885f9df7-fc27-43c2-9acc-833c410b2db1
TCGA-06-0214-01A-02D-1491-08	GBM	08ac57ec-0036-4134-a9bb-f22eaa27ab0d
TCGA-06-0216-01B-01D-1492-08	GBM	eac73a02-b2e0-4601-9bd6-aceb07594fe8
TCGA-06-0219-01A-01D-1491-08	GBM	a6c6c454-058f-41ec-93c3-3c1f44bed149
TCGA-06-0221-02A-11D-2280-08	GBM	b2d17671-d2e1-4c97-8b01-a976d5abe1d6
TCGA-06-0237-01A-02D-1491-08	GBM	a50b5271-484a-436e-ac6f-6074071015fd
TCGA-06-0238-01A-02D-1492-08	GBM	7e8c6b9f-0fec-49ea-9ecb-c9ba1fb4cb74
TCGA-06-0240-01A-03D-1491-08	GBM	20f74001-1cb8-451d-8173-5795fa93432b
TCGA-06-0241-01A-02D-1491-08	GBM	4dd4035a-c800-41b0-85c9-02531d2910ed
TCGA-06-0644-01A-02D-1492-08	GBM	2553c4d2-5f6a-4eba-84b6-04c4761ebf5c
TCGA-06-0645-01A-01D-1492-08	GBM	3f458a3c-baac-427d-b3d6-6f15104a8886
TCGA-06-0646-01A-01D-1492-08	GBM	89742b5d-0256-48c7-8d8f-41b6e5e5b561
TCGA-06-0648-01A-01W-0323-08	GBM	33f8304e-11c3-4a9d-ad21-ffe555309dc
TCGA-06-0649-01B-01W-0348-08	GBM	27af6a5f-993d-41f0-a9af-65e5a8cc41d4
TCGA-06-0650-01A-02D-1696-08	GBM	89af56db-b7f9-41d2-af62-c9b2ee7b540f

10

20

30

40

【 0 4 4 5】

【表 1 6 - 2 4】

TCGA-06-0686-01A-01W-0348-08	GBM	4af220fa-c00b-40b1-ae82-b2c256a3d3fe
TCGA-06-0743-01A-01D-1492-08	GBM	430e6ca1-d678-4373-8d8d-9d93412c8012
TCGA-06-0744-01A-01W-0348-08	GBM	d80afd62-48a6-4da4-8026-e6384e86cf62
TCGA-06-0745-01A-01W-0348-08	GBM	188c837e-6389-48eb-8b77-91c8a2f099ac
TCGA-06-0747-01A-01W-0348-08	GBM	7773738f-f5dd-48ae-870c-aa89aea77450
TCGA-06-0749-01A-01W-0348-08	GBM	1121aced-04ae-4ba2-a467-c5b8445a0a76
TCGA-06-0750-01A-01W-0348-08	GBM	fc15ced3-5ed1-4f88-8789-09ec713bd613
TCGA-06-0875-01A-01W-0424-08	GBM	862cc896-a0dc-4f02-9940-8c9a5016027b
TCGA-06-0876-01A-01W-0424-08	GBM	c2f27319-4e84-4b12-bce1-623ea20722be
TCGA-06-0877-01A-01W-0424-08	GBM	dda2b842-fd8b-4d14-9aa5-3cd3abc0a0e1
TCGA-06-0878-01A-01W-0424-08	GBM	07869e29-9ced-4be5-9a6c-8fd3c29ae487
TCGA-06-0879-01A-01W-0424-08	GBM	f96b8966-e0c2-4fb6-b3f6-e76d7953d537
TCGA-06-0881-01A-02W-0424-08	GBM	1069a9d0-9978-4c01-8516-947200264314
TCGA-06-0882-01A-01W-0424-08	GBM	385a3692-3208-479f-9f39-37fb65501b80
TCGA-06-1804-01A-01D-1696-08	GBM	d9a1ff46-8d28-451e-937f-bdad42bddd64
TCGA-06-1806-01A-02D-1845-08	GBM	beb40d7c-3861-4efe-9b1d-34ba68a66c9d
TCGA-06-2557-01A-01D-1494-08	GBM	c27290e4-6835-448a-abdc-df8ddd5f4630
TCGA-06-2558-01A-01D-1494-08	GBM	19f41e2f-cff9-4f04-ba65-6d945bf05edd
TCGA-06-2559-01A-01D-1494-08	GBM	8df5560b-9f8f-4636-bdb2-1af8b45df1ba
TCGA-06-2561-01A-02D-1494-08	GBM	f9898ad3-f9b6-4061-90ef-30e0eab0a706
TCGA-06-2562-01A-01D-1494-08	GBM	6cb3467e-0ad8-4dd9-8b9b-9103629fd16f
TCGA-06-2563-01A-01D-1494-08	GBM	1d81086c-bf8b-4459-abcf-1ff905c6bf74
TCGA-06-2564-01A-01D-1494-08	GBM	9225f366-b08b-4c43-a09f-a16b3bcbf5aa
TCGA-06-2565-01A-01D-1494-08	GBM	c866726d-2d95-4d23-b3d4-0e28a0b3da00
TCGA-06-2567-01A-01D-1494-08	GBM	d40a4861-b8c4-4fb8-815a-4e82801eedca
TCGA-06-2569-01A-01D-1494-08	GBM	617eec0b-78e9-4663-946c-c01e7e00a7de
TCGA-06-2570-01A-01D-1495-08	GBM	04339769-517c-448d-a7ca-951f83608c60
TCGA-06-5408-01A-01D-1696-08	GBM	ed8ca267-0153-475b-9154-361af62ff767
TCGA-06-5410-01A-01D-1696-08	GBM	67244284-dc40-46cb-a2ac-3f4a38f7bbe4
TCGA-06-5411-01A-01D-1696-08	GBM	2fdab641-d73b-4f9a-aa4c-e1944f131a69
TCGA-06-5412-01A-01D-1696-08	GBM	b6be0866-b8ae-4767-8cdc-e1dd4f78f440
TCGA-06-5413-01A-01D-1696-08	GBM	72c13e51-0dd2-4e96-af37-aa471407436f
TCGA-06-5414-01A-01D-1486-08	GBM	7aa16ff4-169a-4206-83d1-a2495fb56f62
TCGA-06-5415-01A-01D-1486-08	GBM	fca08ee9-b480-4dc7-be56-f1eb03b56f7c
TCGA-06-5417-01A-01D-1486-08	GBM	66350d36-6662-4d4c-9cf8-e052a17cddba
TCGA-06-5418-01A-01D-1486-08	GBM	ae28fd78-d254-46fa-aba1-1353931aa414
TCGA-06-5856-01A-01D-1696-08	GBM	0bd9b573-712b-4da1-9c33-7b7f43d4af31
TCGA-06-5858-01A-01D-1696-08	GBM	951799e6-12f0-4ef6-8732-f2e044db7210
TCGA-06-5859-01A-01D-1696-08	GBM	bb404507-ab63-4d82-99c6-f3297bffc46f
TCGA-06-6388-01A-12D-1845-08	GBM	c9214f8b-6684-4e29-812c-2a44963e8914
TCGA-06-6389-01A-11D-1696-08	GBM	10911471-5404-42d5-817c-f9616e7dacfe

10

20

30

40

【 0 4 4 6】

50

【表 1 6 - 2 5】

TCGA-06-6390-01A-11D-1696-08	GBM	f04b6bde-63e0-41c9-89f7-07673f9de0f6
TCGA-06-6391-01A-11D-1696-08	GBM	40fc77dc-46df-4487-925f-1d87c5326661
TCGA-06-6693-01A-11D-1845-08	GBM	45ca8f53-6d0e-4659-a81f-258184b7a70e
TCGA-06-6694-01A-12D-1845-08	GBM	b5a5717d-0e3d-4b44-82f3-5b68187beb52
TCGA-06-6695-01A-11D-1845-08	GBM	13817acd-8c1e-4154-8b88-7cdc5f2660a7
TCGA-06-6697-01A-11D-1845-08	GBM	7d947ed1-1315-459e-b973-f3dd624d9e39
TCGA-06-6698-01A-11D-1845-08	GBM	d605a279-c0ea-467c-a423-cdf21547f87e
TCGA-06-6699-01A-11D-1845-08	GBM	90ba858d-c3bb-40d8-98ee-eeb127c58409
TCGA-06-6700-01A-12D-1845-08	GBM	6da42a38-94dd-49b7-8a03-df0f7174ca6f
TCGA-06-6701-01A-11D-1845-08	GBM	fad178f1-385b-4f94-bd29-567c1aa0a8fc
TCGA-08-0386-01A-01D-1492-08	GBM	90bf78f-4b8c-410f-afa6-2b439ec82f97
TCGA-12-0615-01A-01D-1492-08	GBM	a6068793-51e4-4762-9150-cdfb030e8ade
TCGA-12-0616-01A-01D-1492-08	GBM	b0e2fed7-38bd-48d8-a786-ac574c9fa5be
TCGA-12-0618-01A-01D-1492-08	GBM	390fc5e9-787e-4a3f-86c8-e3e0e7e43824
TCGA-12-0619-01A-01D-1492-08	GBM	79c65ab5-1924-4710-96e4-31e9a615a53e
TCGA-12-0688-01A-02D-1492-08	GBM	143dc738-1694-4105-8115-9cc0902ef35b
TCGA-12-0692-01A-01W-0348-08	GBM	937fb2a6-3856-4086-a327-8d8e593b7b7b
TCGA-12-0821-01A-01W-0424-08	GBM	357e3a3c-cceb-4b38-bc35-6fe8f5be5ac8
TCGA-12-1597-01B-01D-1495-08	GBM	7d35c610-cc06-4aa5-8c96-2f7b7465069f
TCGA-12-3649-01A-01D-1495-08	GBM	2580567a-8f51-4cb7-9525-bba987c55e36
TCGA-12-3650-01A-01D-1495-08	GBM	8b1d52e2-489b-4972-9bef-1690ccd2bac9
TCGA-12-3652-01A-01D-1495-08	GBM	ab460bc2-e504-4b7f-8533-ab06448a55bc
TCGA-12-3653-01A-01D-1495-08	GBM	fdc52d48-828e-481f-balc-0264f1da38a5
TCGA-12-5295-01A-01D-1486-08	GBM	796f5741-3b2d-46c5-b74f-e5a76604a401
TCGA-12-5299-01A-02D-1486-08	GBM	a44954fc-49f2-489a-8593-7de98963e4f8
TCGA-12-5301-01A-01D-1486-08	GBM	891fc6bc-d0a7-4064-842c-43d500b4ef5d
TCGA-14-0740-01B-01D-1845-08	GBM	f49859c4-adf9-4c53-8288-8a7ad65a940d
TCGA-14-0781-01B-01D-1696-08	GBM	13878ec6-fce7-423e-b545-6656145e9d2c
TCGA-14-0786-01B-01D-1492-08	GBM	75fa4de1-29fd-4b54-b63a-add459f1d69c
TCGA-14-0787-01A-01W-0424-08	GBM	184b240c-ebf1-4ecf-87eb-aae0718cd81f
TCGA-14-0789-01A-01W-0424-08	GBM	3462087f-f791-43b4-b9d9-b11cc48eaf9e
TCGA-14-0790-01B-01D-1494-08	GBM	d63d49a0-9413-4583-a7a5-cb2c202cc085
TCGA-14-0813-01A-01W-0424-08	GBM	754cd19c-a319-4ddf-887b-ddca4914cdf9
TCGA-14-0817-01A-01W-0424-08	GBM	a5f06dfc-e9b2-46a6-bee5-604d2839band
TCGA-14-0862-01B-01D-1845-08	GBM	f0b7d451-8190-45a4-8242-bf698f05243d
TCGA-14-0871-01A-01W-0424-08	GBM	0cc45f48-0967-42dc-8035-e76c6bd0a3fd
TCGA-14-1034-02B-01D-2280-08	GBM	7cae6c0b-36fe-411b-bbba-093a4c846d84
TCGA-14-1043-01B-11D-1845-08	GBM	a439c422-8728-42f5-8dda-6e9e1590478c
TCGA-14-1395-01B-11D-1845-08	GBM	8825b7a5-dfac-4e21-b4ec-05161b1341e9
TCGA-14-1450-01B-01D-1845-08	GBM	7ec7f174-13f6-44b1-83e3-6f35a244f00e
TCGA-14-1456-01B-01D-1494-08	GBM	e525e774-f925-41cd-9822-15neeee29190

10

20

30

40

【 0 4 4 7】

50

【表 1 6 - 2 6】

TCGA-14-1823-01A-01W-0643-08	GBM	1c3ddf6a-e496-4b87-833b-084d814b6876
TCGA-14-1825-01A-01W-0643-08	GBM	f0d7cb8b-995c-419b-a366-aadb156879bc
TCGA-14-1829-01A-01W-0643-08	GBM	e69ca476-9e11-4ffe-a4f5-6952f792a580
TCGA-14-2554-01A-01D-1494-08	GBM	53dec97d-0464-4ffd-8e2e-95b2b9a03af0
TCGA-15-0742-01A-01W-0348-08	GBM	3c015456-02f0-4473-be25-b53166da41ea
TCGA-15-1444-01A-02D-1696-08	GBM	cbd4d4e7-f1c4-446c-8dbc-ce06c872ec14
TCGA-16-0846-01A-01W-0424-08	GBM	cf3eb226-36c2-4498-a5c1-3f161de6fa3f
TCGA-16-0861-01A-01W-0424-08	GBM	deab6efd-8213-4f35-a897-060c605ce58b
TCGA-16-1045-01B-01W-0611-08	GBM	e92c1d87-0df9-4c5a-baef-2dd26ad6d75a
TCGA-19-1390-01A-01D-1495-08	GBM	d7e8e408-0a8f-4177-ad38-08c5da484ed0
TCGA-19-2619-01A-01D-1495-08	GBM	b765a4c7-4fe8-444c-95bd-6a4d03af1432
TCGA-19-2620-01A-01D-1495-08	GBM	6de41ac1-229b-40b9-a494-5588c284351d
TCGA-19-2623-01A-01D-1495-08	GBM	a14ae5c3-fee0-4ed7-9080-51056ce62ef2
TCGA-19-2624-01A-01D-1495-08	GBM	a8f86b64-914c-4d89-897b-33bcd1759f7
TCGA-19-2625-01A-01D-1495-08	GBM	b0833912-0cb6-4d2a-bd18-9fc211793b30
TCGA-19-2629-01A-01D-1495-08	GBM	56ffaa35-814c-4c0b-b3c6-d4514d34fec2
TCGA-19-5947-01A-11D-1696-08	GBM	d5e7dd90-ead0-40fe-94c5-bc740cb509ab
TCGA-19-5950-01A-11D-1696-08	GBM	8d6626e2-ea32-4b1d-8f2b-389294121692
TCGA-19-5951-01A-11D-1696-08	GBM	57cf584c-8c95-42ec-9cb0-707228b70010
TCGA-19-5952-01A-11D-1696-08	GBM	483cad63-ca73-4b31-b4c7-9d73f2cb4186
TCGA-19-5953-01B-12D-1845-08	GBM	a0180465-3685-4735-a76e-acbeebfa635a
TCGA-19-5954-01A-11D-1696-08	GBM	cf4e06e-203f-4a6f-8aa9-60828e0d4d68
TCGA-19-5955-01A-11D-1696-08	GBM	c8abde95-f4d7-4d48-879b-bd584eaf8a25
TCGA-19-5958-01A-11D-1696-08	GBM	fd385a8e-d6dc-4e65-a023-ce485793c410
TCGA-19-5959-01A-11D-1696-08	GBM	dd3e4733-7154-4162-9a61-a3a685e5f561
TCGA-19-5960-01A-11D-1696-08	GBM	b8151614-b08f-49a3-ab6f-2e780f765a17
TCGA-26-1442-01A-01D-1696-08	GBM	17c25583-886e-4dc9-802b-35e67971073d
TCGA-26-5132-01A-01D-1486-08	GBM	d1132127-1250-43af-9c16-425798a3d1a7
TCGA-26-5133-01A-01D-1486-08	GBM	533051f3-5ea5-41a4-8727-11dc6d786607
TCGA-26-5134-01A-01D-1486-08	GBM	11956d98-4ba5-486f-ae79-05nacebe0631
TCGA-26-5135-01A-01D-1486-08	GBM	2ce48f01-2f61-49d9-a56a-7438bf4a37d7
TCGA-26-5136-01B-01D-1486-08	GBM	39e0587b-1b04-4c68-8ae4-3ae7781c8017
TCGA-26-5139-01A-01D-1486-08	GBM	8199001b-a3c9-47e1-97cf-943fa8030f46
TCGA-26-6173-01A-11D-1845-08	GBM	af373e42-cbbf-4a89-8479-bdd413011885
TCGA-26-6174-01A-21D-1845-08	GBM	3ba04f15-48f4-4851-a21f-8fa7cc9eac6b
TCGA-27-1830-01A-01W-0643-08	GBM	b391392a-9865-4bf4-b5f1-fa4fb2ad1343
TCGA-27-1831-01A-01D-1494-08	GBM	9880c3c9-5685-42a7-8fe9-7585ea1a1d37
TCGA-27-1832-01A-01W-0643-08	GBM	7ea7ee22-55a6-4748-9607-d93a6a367122
TCGA-27-1833-01A-01W-0643-08	GBM	4d8d34d9-7069-436c-84d6-ace5760c2aec
TCGA-27-1834-01A-01W-0643-08	GBM	a6c0824e-3d2a-498a-af77-44ea96ba5ce4
TCGA-27-1835-01A-01D-1494-08	GBM	6d5fd73b-4cad-44ae-8c79-67f2b9d30328

10

20

30

40

【 0 4 4 8】

50

【表 1 6 - 2 7】

TCGA-27-1836-01A-01D-1494-08	GBM	8c58f090-31a3-4b2f-93e7-1ae6f6d73350
TCGA-27-1837-01A-01D-1494-08	GBM	61ad1d55-21a9-49c4-925b-54a24703afda
TCGA-27-1838-01A-01D-1494-08	GBM	881af1d2-3fbc-44dd-8362-e6c386345cf6
TCGA-27-2518-01A-01D-1494-08	GBM	dae099ff-330f-492b-a06d-6f975e9e5aea
TCGA-27-2519-01A-01D-1494-08	GBM	b0daafab-b783-4cfc-9f7d-8017d98e80bb
TCGA-27-2521-01A-01D-1494-08	GBM	3678d5f3-9a29-4750-b0a9-20e971ff6aa4
TCGA-27-2523-01A-01D-1494-08	GBM	d60f54f5-b154-42c4-99fb-cea4e7a33dc7
TCGA-27-2524-01A-01D-1494-08	GBM	ce679bfd-fb9-4c78-822e-37d2322d544b
TCGA-27-2526-01A-01D-1494-08	GBM	bc1abc7-b4e9-4447-b0c5-0fc09401eec0
TCGA-27-2527-01A-01D-1494-08	GBM	b8b00995-ada6-493b-bafc-0f6c9def41c9
TCGA-27-2528-01A-01D-1494-08	GBM	374ebd87-428e-4509-85c1-b7d3302c30a0
TCGA-28-1747-01C-01D-1494-08	GBM	7c746081-ac14-4ae2-9564-d67d52f2627c
TCGA-28-1753-01A-01D-1494-08	GBM	c7143f1e-458c-4129-aa91-61b8e4b90e53
TCGA-28-2499-01A-01D-1494-08	GBM	28583f40-c3fc-4213-91c1-99d7d536551e
TCGA-28-2501-01A-01D-1696-08	GBM	2a2cb25d-4069-4824-b09d-2d49634ed284
TCGA-28-2502-01B-01D-1494-08	GBM	707466c8-138a-4ed0-b806-6579464595cb
TCGA-28-2509-01A-01D-1494-08	GBM	f4a62fe0-cee2-487a-9a8a-4cd98d8380df
TCGA-28-2510-01A-01D-1696-08	GBM	5f2dc303-9859-4b63-8aab-c387da4b2cc1
TCGA-28-2513-01A-01D-1494-08	GBM	52dd150e-abd7-4fd2-abe9-09428c5a610c
TCGA-28-2514-01A-02D-1494-08	GBM	6eef4a0e-3fef-4529-8193-21b380d96344
TCGA-28-5204-01A-01D-1486-08	GBM	e9590ee4-92d8-4afb-908e-0c816d2b82f3
TCGA-28-5207-01A-01D-1486-08	GBM	2d795a16-bdc3-44f0-8c01-6eeec0e1a0b1
TCGA-28-5208-01A-01D-1486-08	GBM	76209124-b3f0-4bb2-8b2c-e268abdefe2b
TCGA-28-5209-01A-01D-1486-08	GBM	ef8b63f3-b820-46ac-a99c-3d401a6203d7
TCGA-28-5211-01C-11D-1845-08	GBM	f8dc846b-1b17-4699-9dc5-3f79e21eee94
TCGA-28-5213-01A-01D-1486-08	GBM	b866e742-5ed0-4d7d-b96c-52f8f6f37142
TCGA-28-5214-01A-01D-1486-08	GBM	c992e603-30c9-4e30-a425-8050189db4f8
TCGA-28-5215-01A-01D-1486-08	GBM	34c77b5d-c3a6-4e83-96f4-fadd729362d9
TCGA-28-5216-01A-01D-1486-08	GBM	cde8518a-ce8e-4b54-ab21-5ad4171ab1b3
TCGA-28-5218-01A-01D-1486-08	GBM	68008a98-3889-4dd2-bcf9-flf6cbca6355
TCGA-28-5219-01A-01D-1486-08	GBM	f016e9f7-66a3-4f50-b9cd-58b1c8a955e9
TCGA-28-5220-01A-01D-1486-08	GBM	f7b80486-fa19-49c7-8ace-ea61338677d7
TCGA-28-6450-01A-11D-1696-08	GBM	5f10d0c5-05b8-44bb-98ca-bbea41820850
TCGA-32-1970-01A-01D-1494-08	GBM	65723119-bdfe-46f0-b629-c171023abd71
TCGA-32-1979-01A-01D-1696-08	GBM	0c81ebb9-20a6-40c1-9be2-17b99517e988
TCGA-32-1980-01A-01D-1696-08	GBM	9b267205-1994-46ff-8d0f-56625dae7c1b
TCGA-32-1982-01A-01D-1494-08	GBM	9cf7c4cb-ce19-4b79-9163-b74369603e22
TCGA-32-1986-01A-01D-1494-08	GBM	5afe3ffc-ba3a-49bb-9837-091b600cbb35
TCGA-32-2615-01A-01D-1495-08	GBM	65e3c804-b1a3-4e21-9407-90a6edc4e290

10

20

30

40

【 0 4 4 9】

50

【表 1 6 - 2 8】

TCGA-32-2632-01A-01D-1495-08	GBM	27203e18-af27-478c-a224-8bca77a81c90
TCGA-32-2634-01A-01D-1495-08	GBM	52b2a114-4f8c-4e02-af9d-24c4a05d4ca0
TCGA-32-2638-01A-01D-1495-08	GBM	1e103221-ab46-4a5c-9b96-5e34f0d49fc2
TCGA-32-5222-01A-01D-1486-08	GBM	f48abf4d-f1fb-48bf-97a1-0c38435b6af7
TCGA-41-2571-01A-01D-1495-08	GBM	36349a22-17eb-48d8-9b69-1921ee7576ff
TCGA-41-2573-01A-01D-1495-08	GBM	fadc9e2a-d97d-4e86-a814-4f32f8cfd7a5
TCGA-41-2575-01A-01D-1495-08	GBM	4943e80a-d098-49cd-8261-1d53d42f8223
TCGA-41-3392-01A-01D-1495-08	GBM	c08b37a5-9938-4ab0-8183-d73b01cb9a89
TCGA-41-5651-01A-01D-1696-08	GBM	5fd77ba9-5015-4d8b-86a0-582e5c76bdd6
TCGA-41-6646-01A-11D-1845-08	GBM	6272bb0c-c47b-4cd2-9f59-398f1a75f020
TCGA-74-6573-01A-12D-1845-08	GBM	0941e50e-1205-49ed-8735-1f86eaf87718
TCGA-74-6575-01A-11D-1845-08	GBM	f4ec96d6-d7fc-4892-9a36-80802f387a12
TCGA-74-6577-01A-11D-1845-08	GBM	5be142d5-b6f7-4e1e-ae75-49b302b332a2
TCGA-74-6578-01A-11D-1845-08	GBM	a2ae2128-4d95-4261-a30d-bd6be58de8e0
TCGA-74-6584-01A-11D-1845-08	GBM	cedd2d49-371b-4b12-8aac-6a9bd38f2ccb
TCGA-76-4925-01A-01D-1486-08	GBM	ca2fa3da-18d6-4e8b-8081-b07022ead6a8
TCGA-76-4926-01B-01D-1486-08	GBM	3e93cb58-d39b-4a5e-907a-8b5438630d21
TCGA-76-4927-01A-01D-1486-08	GBM	2dc69425-dbfd-4228-ab78-541062b5c445
TCGA-76-4928-01B-01D-1486-08	GBM	6e30f277-875e-4ab8-bc7c-0a5121cde6d1
TCGA-76-4929-01A-01D-1486-08	GBM	af4f8b89-837a-48b7-b0e7-12aec23fc285
TCGA-76-4931-01A-01D-1486-08	GBM	d4a27742-ca69-4f54-9bce-ec33d8481fed
TCGA-76-4932-01A-01D-1486-08	GBM	81656daa-af7c-430c-afa3-0eb10eb9a695
TCGA-76-4934-01A-01D-1486-08	GBM	e9bc4701-562e-4d35-a949-53a61fd96651
TCGA-76-4935-01A-01D-1486-08	GBM	c8d06abf-437d-4bc9-804b-44345af74f36
TCGA-76-6191-01A-12D-1696-08	GBM	4dbf66ef-4108-4a86-a8eb-6ba8cdefb4a2
TCGA-76-6192-01A-11D-1696-08	GBM	c29754bc-44e8-4980-98a1-b8d69700f4a3
TCGA-76-6193-01A-11D-1696-08	GBM	6a751d65-5fcf-4c03-8253-8f1b8faccab2
TCGA-76-6280-01A-21D-1845-08	GBM	9096e339-7730-4d7a-acab-a6c4d26c52c3
TCGA-76-6282-01A-11D-1696-08	GBM	1c7f63d2-a2a4-42c3-928b-319695a66443
TCGA-76-6283-01A-11D-1845-08	GBM	a4083f8b-0c39-4d65-a372-b494caf84f8d
TCGA-76-6285-01A-11D-1696-08	GBM	28380a2f-d302-45fb-a4c5-31b2fd150bc3
TCGA-76-6286-01A-11D-1845-08	GBM	45d03116-6cff-4074-9c26-2e5f1a8854d3
TCGA-76-6656-01A-11D-1845-08	GBM	fe66f11a-e03d-49c5-befe-db74ef55ce61
TCGA-76-6657-01A-11D-1845-08	GBM	6ba47878-126c-420d-b3c1-ca7ea8c182d0
TCGA-76-6660-01A-11D-1845-08	GBM	f4960945-c464-49c2-8ad6-d73a6fa47b20
TCGA-76-6661-01B-11D-1845-08	GBM	8329c910-7ccf-4e84-b468-bd6cf23327a2
TCGA-76-6662-01A-11D-1845-08	GBM	7f7c80ca-6ad9-4820-83ca-5248b3873eea
TCGA-76-6663-01A-11D-1845-08	GBM	624864ad-3178-4a6d-a0cf-7fa3e9bdf8da
TCGA-76-6664-01A-11D-1845-08	GBM	6a8f17c6-060d-492e-8a39-53d9ac7035a4
TCGA-81-5910-01A-11D-1696-08	GBM	bef79a66-30e6-4554-982e-38d8eab46114
TCGA-81-5911-01A-12D-1845-08	GBM	a501e01b-249c-43cb-ae2-f355c3c697dd

10

20

30

40

【 0 4 5 0】

【表 16 - 29】

TCGA-87-5896-01A-01D-1696-08	GBM	640c33a6-a7df-4dba-9c21-367a9a839f0f
TCGA-BA-4074-01A-01D-1434-08	HNSC	2c84e904-0cbc-4645-b7e5-94ec45e61268
TCGA-BA-4075-01A-01D-1434-08	HNSC	5b3fec35-d127-4cb5-859b-edac003acd3
TCGA-BA-4076-01A-01D-1434-08	HNSC	93dda6a6-907d-4dc2-9391-36dd09c767c6
TCGA-BA-4077-01B-01D-1434-08	HNSC	9b37211a-2150-4d33-bc6a-9d6a0a429708
TCGA-BA-4078-01A-01D-1434-08	HNSC	f02d0332-d7c8-4d2a-98ca-dbe7826437ae
TCGA-BA-5149-01A-01D-1512-08	HNSC	6e98841c-ce33-4b7e-882d-ce65707d4c10
TCGA-BA-5151-01A-01D-1434-08	HNSC	dac15d7e-3930-4fcb-b752-4a4f00449ddd
TCGA-BA-5152-01A-02D-1870-08	HNSC	18da68fd-3bfb-45a3-ba28-4c90555b4e68
TCGA-BA-5153-01A-01D-1434-08	HNSC	363ccc6f-dab0-413e-bc42-d738ee25abcd
TCGA-BA-5555-01A-01D-1512-08	HNSC	65dc1531-713b-41ba-a567-caa12340c0cf
TCGA-BA-5556-01A-01D-1512-08	HNSC	d31fda32-363b-44c4-8f2c-834a66f46b87
TCGA-BA-5557-01A-01D-1512-08	HNSC	7caa2a2f-3b77-46f0-9886-37f6e4278d83
TCGA-BA-5558-01A-01D-1512-08	HNSC	97a47fa4-c857-4483-9572-07012c10e9d5
TCGA-BA-5559-01A-01D-1512-08	HNSC	c0845927-fe9a-41b2-9431-619952878e18
TCGA-BA-6868-01B-12D-1912-08	HNSC	51647474-f538-4e96-babd-e742f1fb793f
TCGA-BA-6869-01A-11D-1870-08	HNSC	b78a2501-f312-41a2-ab19-7c18d8dfbac6
TCGA-BA-6870-01A-11D-1870-08	HNSC	2fdd3f42-cb2f-4faf-8a47-b8bfee058265
TCGA-BA-6871-01A-11D-1870-08	HNSC	a8a04117-0ebc-4c27-83d6-441be47e5fd3
TCGA-BA-6872-01A-11D-1870-08	HNSC	182b2a39-4881-402a-a907-b51aa114584a
TCGA-BA-6873-01A-11D-1870-08	HNSC	f65b842c-257e-4ac7-a155-23d3ac12d41c
TCGA-BA-7269-01A-11D-2012-08	HNSC	2e8ffdfc-48f5-41e0-9192-d761f3b518ef
TCGA-BB-4217-01A-11D-2078-08	HNSC	5916ef19-7838-4621-a869-de8c2b34931c
TCGA-BB-4223-01A-01D-1434-08	HNSC	c4799ee4-3014-4b2f-ba7e-9771ab5dc3f1
TCGA-BB-4224-01A-01D-1434-08	HNSC	cfa7d658-031d-4cd4-9ca3-ceaa201f702d
TCGA-BB-4225-01A-01D-1434-08	HNSC	85fb5611-0dee-4a73-8aa1-1629ad929173
TCGA-BB-4227-01A-01D-1870-08	HNSC	c1b315bb-773b-4fd0-88cc-d11044996adc
TCGA-BB-4228-01A-01D-1434-08	HNSC	6fd93146-1026-4362-982b-d1fc70e3c65d
TCGA-BB-7861-01A-11D-2229-08	HNSC	77cb5c69-f15e-45de-a060-0e8b52648209
TCGA-BB-7862-01A-21D-2229-08	HNSC	84c57a23-1428-488c-9275-9f2bc3673476
TCGA-BB-7863-01A-11D-2229-08	HNSC	0bf356d5-1259-4042-9860-2f793f5fe32c
TCGA-BB-7864-01A-11D-2229-08	HNSC	1d6324a3-8bb4-45d1-89b3-134ffca01aec
TCGA-BB-7866-01A-11D-2229-08	HNSC	8d6ae619-b33e-453c-aa6d-dda14cd5a337
TCGA-BB-7870-01A-11D-2229-08	HNSC	d584f4ec-09b0-40fe-bba2-256b6cf6974e
TCGA-BB-7871-01A-11D-2229-08	HNSC	8e13f8a5-5d80-4e34-bffa-54ae808114e7
TCGA-BB-7872-01A-11D-2229-08	HNSC	c05cb0b5-b288-48fb-bdc0-ee9acd6643a8
TCGA-CN-4723-01A-01D-1434-08	HNSC	d5d71c48-1a2d-4d7d-8f2c-e3a68352776b
TCGA-CN-4725-01A-01D-1434-08	HNSC	57ffe9d-193b-48f6-8d5b-3c2eca854d93
TCGA-CN-4726-01A-01D-1434-08	HNSC	2201e681-a727-4fd2-adee-ebcb543b2232
TCGA-CN-4727-01A-01D-1434-08	HNSC	b24fc60a-fe83-4743-a6d3-d90b807412e1
TCGA-CN-4728-01A-01D-1434-08	HNSC	e450fec8-66dd-4798-8197-4206b8ba7c4d

10

20

30

40

【 0 4 5 1 】

【表 1 6 - 3 0】

TCGA-CN-4729-01A-01D-1434-08	HNSC	7240e742-9315-4fb8-b6f7-28bf69410a8
TCGA-CN-4730-01A-01D-1434-08	HNSC	543bbfe3-4a11-49af-b445-303f0912bfc3
TCGA-CN-4731-01A-01D-1434-08	HNSC	31ffd2d8-ee97-4002-9737-08c044878ace
TCGA-CN-4733-01A-02D-1870-08	HNSC	12880a34-83d1-4075-b62a-9fc61d18ca09
TCGA-CN-4734-01A-01D-1434-08	HNSC	fd54bbfa-62a2-4d8b-88fb-b74b91e1b958
TCGA-CN-4735-01A-01D-1434-08	HNSC	369ebdf4-ee27-414d-978d-3698711fae98
TCGA-CN-4736-01A-01D-1434-08	HNSC	788337f5-722c-45d6-8ca4-8037c489cb64
TCGA-CN-4737-01A-01D-1434-08	HNSC	4c6857bb-f20f-4ac9-9c2c-cb83c5387a74
TCGA-CN-4738-01A-02D-1512-08	HNSC	1d3b16fd-f98b-45ef-a423-861975f098b6
TCGA-CN-4739-01A-02D-1512-08	HNSC	7d6cc6ef-6bb0-44ab-bac1-c8f7198d1d8a
TCGA-CN-4740-01A-01D-1434-08	HNSC	40308868-8d79-484b-85a4-257142763d72
TCGA-CN-4741-01A-01D-1434-08	HNSC	3486c689-d7ae-4ce8-8df5-ac8271b4661d
TCGA-CN-4742-01A-02D-1512-08	HNSC	1fa89bda-b719-445a-85d2-76ce8c484b15
TCGA-CN-5355-01A-01D-1434-08	HNSC	0d93e8bc-69d5-47aa-b4bb-bf7b0ade92d6
TCGA-CN-5356-01A-01D-1434-08	HNSC	aad13fa4-b2e7-4c89-9936-57cf7a5e16a4
TCGA-CN-5358-01A-01D-1512-08	HNSC	498c0b1f-678f-4f70-b0d1-aad89bfa2a23
TCGA-CN-5359-01A-01D-1434-08	HNSC	dcf1e53d-22dc-4b11-9b3f-e421bc28b835
TCGA-CN-5360-01A-01D-1434-08	HNSC	174f1ea8-abcf-44ee-b17b-9687b3ab6dac
TCGA-CN-5361-01A-01D-1434-08	HNSC	5eea0205-e539-48de-b94c-4bb68c74ec96
TCGA-CN-5363-01A-01D-1434-08	HNSC	203f8426-6ec5-427a-9ccf-ec2b4683504d
TCGA-CN-5364-01A-01D-1434-08	HNSC	22078e53-2c9c-4ac4-a166-34488f259ee8
TCGA-CN-5365-01A-01D-1434-08	HNSC	a419a54c-58b4-4682-aaca-ed85697dd2a0
TCGA-CN-5366-01A-01D-1434-08	HNSC	161342fd-4efa-4fc8-9708-7bb815b137c6
TCGA-CN-5367-01A-01D-1434-08	HNSC	57adb398-48c5-4a14-a43e-f79a19befbda
TCGA-CN-5369-01A-01D-1434-08	HNSC	4c8e6937-9fd7-41cc-ac74-d8b75235d4b3
TCGA-CN-5370-01A-01D-2012-08	HNSC	f4ca6755-68ca-4702-b08b-65005d31e9be
TCGA-CN-5373-01A-01D-1434-08	HNSC	00988676-1e9b-4e00-b4aa-a8f86c21b206
TCGA-CN-5374-01A-01D-1434-08	HNSC	28d5a97b-3f3d-4595-9034-8491999fcf40
TCGA-CN-6010-01A-11D-1683-08	HNSC	2d9693f3-0917-42be-97b8-4dc15cc4d3f6
TCGA-CN-6011-01A-11D-1683-08	HNSC	0e0aa5da-2cb2-47b8-b000-83a07d68cd29
TCGA-CN-6012-01A-11D-1683-08	HNSC	c5d99faa-ef68-4f08-af97-d722bcc383f5
TCGA-CN-6013-01A-11D-1683-08	HNSC	992de9b5-c394-48c7-b4e3-4c4aeacb4a23
TCGA-CN-6016-01A-11D-1683-08	HNSC	fc66c29c-864d-483f-a848-8a61202d9516
TCGA-CN-6017-01A-11D-1683-08	HNSC	7cd89cbe-6bd9-41a2-a042-345fa0a09866
TCGA-CN-6018-01A-11D-1683-08	HNSC	33815edd-bb4f-4f05-bc82-94eafe423652
TCGA-CN-6019-01A-11D-1683-08	HNSC	00769a89-ffc5-46f5-a42e-25b3eae886c2
TCGA-CN-6020-01A-11D-1683-08	HNSC	1f33c4c7-4f08-44a2-91f5-7ed2d7da68f0
TCGA-CN-6021-01A-11D-1683-08	HNSC	e62a2c4d-18c3-4ec8-8d93-40e055e65be4
TCGA-CN-6022-01A-21D-1683-08	HNSC	90cd2296-7133-4cbe-99cb-84b084eb88cd
TCGA-CN-6023-01A-11D-1683-08	HNSC	d03b8f96-c932-4abf-b508-f4e1b50739ee
TCGA-CN-6024-01A-11D-1683-08	HNSC	0604584e-0654-4b00-94fc-45e76588000c

10

20

30

40

【 0 4 5 2】

50

【表 1 6 - 3 1】

TCGA-CN-6988-01A-11D-1912-08	HNSC	230b06a8-5f6e-41db-bb59-19e4e6c9afaf
TCGA-CN-6989-01A-11D-1912-08	HNSC	61cd2198-d85e-4eae-b9c6-e36be372595b
TCGA-CN-6992-01A-11D-1912-08	HNSC	7a70356c-74a3-40c3-bd32-3049da642831
TCGA-CN-6994-01A-11D-1912-08	HNSC	157b67ad-f092-4ea3-b557-0406839e6905
TCGA-CN-6995-01A-31D-2012-08	HNSC	c0b6813d-4b3e-479e-81a7-1e5c2de89b0d
TCGA-CN-6996-01A-11D-1912-08	HNSC	c063bec5-c716-4ca2-843a-e9f0bec3b540
TCGA-CN-6997-01A-11D-2012-08	HNSC	11b531cc-d9d9-496a-8448-e654ba71c414
TCGA-CN-6998-01A-23D-2012-08	HNSC	9c364f7e-5b90-44ef-9f80-250c428989ef
TCGA-CQ-5323-01A-01D-1683-08	HNSC	892067ef-c465-46ea-8f91-10636dd0081b
TCGA-CQ-5324-01A-01D-1683-08	HNSC	67b184fe-c4f4-49f3-938c-5370eb6246b9
TCGA-CQ-5325-01A-01D-1683-08	HNSC	22b6abf5-aad8-46ab-9b87-e3c12309cb59
TCGA-CQ-5326-01A-01D-1870-08	HNSC	199249f9-808d-4565-bb6b-82724f61edaa
TCGA-CQ-5327-01A-01D-1683-08	HNSC	da19d7bc-9748-4cd4-bd54-4792894838f0
TCGA-CQ-5329-01A-01D-1683-08	HNSC	5aa9b6fc-4169-4346-98fb-4c711d08d701
TCGA-CQ-5330-01A-01D-1683-08	HNSC	4ce7e702-9b62-459e-b2b4-a26cabba3a93
TCGA-CQ-5331-01A-02D-1870-08	HNSC	d2c2d3db-dbc0-44f1-b625-17f3f819c122
TCGA-CQ-5332-01A-01D-1683-08	HNSC	4fd4f0d-0a55-4b5e-8545-65flaad37c10
TCGA-CQ-5334-01A-01D-1683-08	HNSC	39978192-2119-4910-a2f6-53834a2b1bf2
TCGA-CQ-6218-01A-11D-1912-08	HNSC	d3717097-7cdb-446f-a020-78c770362656
TCGA-CQ-6219-01A-11D-1912-08	HNSC	c6263b94-0ffe-40e7-9184-deb427c67802
TCGA-CQ-6220-01A-11D-1912-08	HNSC	65e67eda-16a4-4dfd-94a9-546c76d94a02
TCGA-CQ-6221-01A-11D-2078-08	HNSC	d6166f0d-c0b5-44a3-814d-0c94c5bc41b0
TCGA-CQ-6222-01A-11D-1912-08	HNSC	de2e492f-5ed8-4330-a5de-36f693ec31af
TCGA-CQ-6223-01A-11D-1912-08	HNSC	be7cb5b4-1d09-479c-8bf2-a9e7abde575f
TCGA-CQ-6224-01A-11D-1912-08	HNSC	c03d51a0-8731-430d-a792-280e01629e8f
TCGA-CQ-6225-01A-11D-1912-08	HNSC	cd311590-3c69-4ff2-8fbd-cb5b0f21975e
TCGA-CQ-6227-01A-11D-1912-08	HNSC	ca62509e-d477-41ca-9bc2-3f20c2dd4e49
TCGA-CQ-6228-01A-11D-1912-08	HNSC	655e502b-1a6e-4eab-a948-4120d6c31c29
TCGA-CQ-6229-01A-11D-1912-08	HNSC	07e76152-9e83-42a5-9111-c39a2310a2e4
TCGA-CQ-7065-01A-11D-2078-08	HNSC	64c422bb-a531-4636-8e68-bdaf212df6dc
TCGA-CQ-7067-01A-11D-2229-08	HNSC	01f46aa2-e15b-4544-add5-c783868b6c26
TCGA-CQ-7068-01A-11D-2078-08	HNSC	97a96e61-f2dc-4af4-807a-3925c1ffb43
TCGA-CR-5243-01A-01D-1512-08	HNSC	297e8b35-5b8b-4d5b-b812-86165f949a20
TCGA-CR-5247-01A-01D-2012-08	HNSC	3b5b07b4-29ef-4a55-b6ab-93352613f631
TCGA-CR-5248-01A-01D-2012-08	HNSC	e5af63d7-e8b2-4a76-8b39-6ee652ad8e5f
TCGA-CR-5249-01A-01D-1512-08	HNSC	42bf9ca3-47d8-45ff-bccf-bda80af58d22
TCGA-CR-5250-01A-01D-1512-08	HNSC	49e54f5a-9b3a-47ff-b6cc-a1eaf54fd136
TCGA-CR-6467-01A-11D-1870-08	HNSC	2a7f5a16-9330-45a1-9024-1eff1cdb5714
TCGA-CR-6470-01A-11D-1870-08	HNSC	30bc4d1e-f0cb-44c5-a32c-b4b690cd6cc5
TCGA-CR-6471-01A-11D-1870-08	HNSC	c087e87f-867c-45dd-8645-5ab774e4827c
TCGA-CR-6472-01A-11D-1870-08	HNSC	52f12c71-2473-4411-aad6-318a3496e82c

10

20

30

40

【 0 4 5 3 】

【表 1 6 - 3 2】

TCGA-CR-6473-01A-11D-1870-08	HNSC	9f3396a0-a38d-4069-b65a-c4c4dd6187ad
TCGA-CR-6474-01A-11D-1870-08	HNSC	6b4369e1-cf03-4a40-9a66-fc67bf946b3
TCGA-CR-6477-01A-11D-1870-08	HNSC	e02f3646-a500-4781-ad44-2f62661a883d
TCGA-CR-6478-01A-11D-1870-08	HNSC	c21f40c6-4260-4def-8cca-1c11895b35b0
TCGA-CR-6480-01A-11D-1870-08	HNSC	7ec5501e-5463-4481-b798-3d23bfb4f113
TCGA-CR-6481-01A-11D-1870-08	HNSC	5e7d2531-81c1-48bb-9c0a-1867d1f83f92
TCGA-CR-6482-01A-11D-1870-08	HNSC	684bcd80-30fb-49e5-b72a-09502a9d1468
TCGA-CR-6484-01A-11D-1870-08	HNSC	e72df726-1575-4789-afac-3b15a7643401
TCGA-CR-6487-01A-11D-1870-08	HNSC	d4df06d7-97e1-4f22-83a7-993fcd3a4da
TCGA-CR-6488-01A-12D-2078-08	HNSC	8bfa9606-b24d-4803-b551-2e86fb02ae5e
TCGA-CR-6491-01A-11D-1870-08	HNSC	a32853ad-b6a3-4147-ae5a-f48fad71581e
TCGA-CR-6492-01A-12D-2078-08	HNSC	d4550d39-4f32-48ab-b049-2fe623332d07
TCGA-CR-6493-01A-11D-1870-08	HNSC	f061abfa-4554-4328-9e8f-b84dd2aa4b45
TCGA-CR-7364-01A-11D-2012-08	HNSC	f5047f1e-5088-4d30-927d-e64147fe661d
TCGA-CR-7365-01A-11D-2012-08	HNSC	ec114413-a950-4e74-abc8-98857af8b9ad
TCGA-CR-7367-01A-11D-2012-08	HNSC	b82e34db-7b0e-4bbd-bc42-ba063ac42409
TCGA-CR-7368-01A-11D-2129-08	HNSC	4b194ab3-d213-4a7a-be46-909b4f0c7291
TCGA-CR-7369-01A-11D-2129-08	HNSC	f16a5c08-c9f8-442e-ba13-45681caoda40
TCGA-CR-7370-01A-11D-2129-08	HNSC	9f8ec337-85f7-4b01-a2b6-5db9a9e62f30
TCGA-CR-7371-01A-11D-2012-08	HNSC	68201be8-a1a9-4c78-ad99-3c767ca8366b
TCGA-CR-7372-01A-11D-2012-08	HNSC	9032c525-9bcd-47f9-b9f2-ecce4593ea37
TCGA-CR-7373-01A-11D-2012-08	HNSC	9b1f5f6d-503c-4933-944a-b4fd1cc3fa93
TCGA-CR-7374-01A-11D-2012-08	HNSC	2cf33b63-464e-49a0-88f0-6a6d5b0393c4
TCGA-CR-7376-01A-11D-2129-08	HNSC	a6b11f68-79da-4542-818d-f404116c0bf8
TCGA-CR-7377-01A-11D-2012-08	HNSC	93e4eb9a-7643-411b-be90-94b801f23566
TCGA-CR-7379-01A-11D-2012-08	HNSC	8cc45c01-a363-4151-9ea0-32c404b79da4
TCGA-CR-7380-01A-11D-2012-08	HNSC	ae968fdd-970b-41fc-99f7-5670c741bc06
TCGA-CR-7382-01A-11D-2129-08	HNSC	fdde6828-b9f4-4648-a86b-157c5d46abb2
TCGA-CR-7383-01A-11D-2129-08	HNSC	203629ed-2791-4e22-a9da-be647b0cdef5
TCGA-CR-7385-01A-11D-2012-08	HNSC	2c00b622-c4a4-4862-b14a-a97b7261f46f
TCGA-CR-7386-01A-11D-2012-08	HNSC	dac99486-00bc-41ad-92b4-8bed1a28b122
TCGA-CR-7388-01A-11D-2012-08	HNSC	3eddb2ad-6c75-4ae7-9d27-8ec0e7b4aa55
TCGA-CR-7389-01A-11D-2012-08	HNSC	37149937-8131-4dbf-916b-d599d203eba7
TCGA-CR-7390-01A-11D-2012-08	HNSC	714399af-e425-43bb-a82a-b62ca6fd735d
TCGA-CR-7391-01A-11D-2012-08	HNSC	7236609c-34dd-425a-b882-2dff36983f7b
TCGA-CR-7392-01A-11D-2012-08	HNSC	0616d3e5-9641-4329-a65a-19f4c6918e1c
TCGA-CR-7393-01A-11D-2012-08	HNSC	f59efd1d-2fc0-44a0-9d2f-c4efd9e79f5d
TCGA-CR-7394-01A-11D-2012-08	HNSC	1fe9a612-4c9a-432d-b175-e1d8bdbbc7c56
TCGA-CR-7395-01A-11D-2012-08	HNSC	bd0b1b16-ee20-48e5-be11-70eac9c15630
TCGA-CR-7397-01A-11D-2012-08	HNSC	b93863c2-4657-4ca2-8fce-094fe5df163a
TCGA-CR-7398-01A-11D-2012-08	HNSC	12c391dc-3138-4e73-bdc7-b06512dd0fa7

10

20

30

40

【 0 4 5 4】

【表 1 6 - 3 3】

TCGA-CR-7399-01A-11D-2012-08	HNSC	0a76ba15-f6e5-484f-8a52-9be8351ebdb7
TCGA-CR-7401-01A-11D-2012-08	HNSC	f8d6968c-2648-4dcf-a0da-77e46878581c
TCGA-CR-7402-01A-11D-2012-08	HNSC	015b1cc4-6fa5-43c1-9444-4a1af7663f7e
TCGA-CR-7404-01A-11D-2129-08	HNSC	1c1a8920-9163-4d56-a982-61c4e792cee7
TCGA-CV-5430-01A-02D-1683-08	HNSC	4dfcbe35-9e78-4629-8a00-96fee7062d1e
TCGA-CV-5431-01A-01D-1512-08	HNSC	f1a234f0-8890-4cf3-891f-c7a7423b1e75
TCGA-CV-5432-01A-02D-1683-08	HNSC	91e9ac70-5524-4b13-9d53-7cec52b38ea5
TCGA-CV-5434-01A-01D-1683-08	HNSC	69ef7b45-cd0e-4d59-a0ee-35a8c830120c
TCGA-CV-5435-01A-01D-1683-08	HNSC	ec0a719b-3c3a-4797-9cc5-90d3474da727
TCGA-CV-5436-01A-01D-1512-08	HNSC	34dc613e-e4b4-4897-ac4b-13ff46e46d7e
TCGA-CV-5439-01A-01D-1683-08	HNSC	42a06486-b084-4497-8fe0-a8cff194e020
TCGA-CV-5440-01A-01D-1512-08	HNSC	5f5ba5a9-8089-4fe7-92e3-6c31c5fb32d4
TCGA-CV-5441-01A-01D-1512-08	HNSC	f57f2873-a4ae-4fc0-9d4c-e1f4ef47482e
TCGA-CV-5442-01A-01D-1512-08	HNSC	4d42594f-clf4-45ed-8bd2-7701f914d33c
TCGA-CV-5443-01A-01D-1512-08	HNSC	9d279797-4464-4ef5-8858-640978ccc258
TCGA-CV-5444-01A-02D-1512-08	HNSC	ci975479-131b-4b37-927e-cacb1f13e62d
TCGA-CV-5966-01A-11D-1683-08	HNSC	24ad5336-f5ee-49c0-a176-48411285fbc8
TCGA-CV-5970-01A-11D-1683-08	HNSC	a52dc15f-d06d-46ed-a73e-na004a2a736a
TCGA-CV-5971-01A-11D-1683-08	HNSC	881a530b-fdd2-4674-b95d-fded0dfce4ff
TCGA-CV-5973-01A-11D-1683-08	HNSC	b848fbad-1eb3-4bc2-9006-2d0ca559cee8
TCGA-CV-5976-01A-11D-1683-08	HNSC	7b643ce3-43bc-4a14-942a-0d6fffa0312
TCGA-CV-5977-01A-11D-1683-08	HNSC	81f3c96a-54bb-4629-a64e-7c8dae66e11a
TCGA-CV-5978-01A-11D-1683-08	HNSC	791d4f3f-90e0-4fa5-9671-9b5f04ed3eca
TCGA-CV-5979-01A-11D-1683-08	HNSC	c2c31b58-c5b3-4fc3-be99-b978d2961f86
TCGA-CV-6003-01A-11D-1683-08	HNSC	9a040a5e-3d2b-433a-9786-7c26b433c0c2
TCGA-CV-6433-01A-11D-1683-08	HNSC	16b220fa-a554-43c9-85b0-315331e5ba6e
TCGA-CV-6436-01A-11D-1683-08	HNSC	a5214457-3a86-4b29-b116-3baaa0aa5099
TCGA-CV-6441-01A-11D-1683-08	HNSC	22b32736-3b91-4542-affa-46fa90819e69
TCGA-CV-6933-01A-11D-1912-08	HNSC	8ef4b02e-4d34-4d58-aa2d-65a7f73982d5
TCGA-CV-6934-01A-11D-1912-08	HNSC	f5abf385-0372-4faa-9558-8bf02381b68b
TCGA-CV-6935-01A-11D-1912-08	HNSC	fdc0ebce-5ba2-4c18-b594-50b33ef6d116
TCGA-CV-6936-01A-11D-1912-08	HNSC	2d4bdd75-d967-40b2-b55d-99e59cc7e125
TCGA-CV-6937-01A-11D-2012-08	HNSC	1c78a20e-150f-4c12-8abe-b941f90e730f
TCGA-CV-6938-01A-11D-1912-08	HNSC	b1dcb76e-b98f-4989-90a2-885e50d8174c
TCGA-CV-6939-01A-11D-1912-08	HNSC	e2e84cc1-2944-489e-be1b-0018a4e723e4
TCGA-CV-6940-01A-11D-1912-08	HNSC	39f2e005-79f9-4c63-a6d6-0b378481a3ba
TCGA-CV-6941-01A-11D-1912-08	HNSC	87071681-0058-4081-91f3-f689a150fc94
TCGA-CV-6942-01A-21D-2012-08	HNSC	c5409f12-e438-4979-b40e-120899c1fa15
TCGA-CV-6943-01A-11D-1912-08	HNSC	4fa37ade-3451-406d-b0bb-e135e1591b70
TCGA-CV-6945-01A-11D-1912-08	HNSC	fcfc9b74-5b8a-45b7-97ca-4e477e941e7c
TCGA-CV-6948-01A-11D-1912-08	HNSC	03eb2650-4b9f-46d2-b09f-378d8e919ae2

10

20

30

40

【 0 4 5 5】

【表 1 6 - 3 4】

TCGA-CV-6950-01A-11D-1912-08	HNSC	4a341860-44fb-493e-bd46-ae6610842de
TCGA-CV-6951-01A-11D-1912-08	HNSC	9e1bf26c-6a68-44d2-aaa8-9af2f67828aa
TCGA-CV-6952-01A-11D-1912-08	HNSC	2d859062-3655-471e-b3dd-e6ff0671c076
TCGA-CV-6953-01A-11D-1912-08	HNSC	fb79f2be-3dec-4b5a-b5f3-e29e0fb05a98
TCGA-CV-6954-01A-11D-1912-08	HNSC	08f56645-763e-4864-a145-c0136dadc4f5
TCGA-CV-6955-01A-11D-2012-08	HNSC	f2c7fbe1-af36-4c42-b5ae-b9bffe88fe36
TCGA-CV-6956-01A-21D-2012-08	HNSC	9ccee056-124e-40d5-a07d-c208765d8640
TCGA-CV-6959-01A-11D-1912-08	HNSC	ff4cc4f1-9897-4d04-a3f6-c28a9b928b7a
TCGA-CV-6960-01A-41D-2012-08	HNSC	750da72e-cabd-4b97-8160-8c4e39272b8b
TCGA-CV-6962-01A-11D-1912-08	HNSC	0b2767d9-10b4-4ec4-9437-5a5186e284ca
TCGA-CV-7089-01A-11D-2012-08	HNSC	125ccb76-bf8d-4ce7-a04c-4424d6da0322
TCGA-CV-7090-01A-11D-2012-08	HNSC	5c636c2d-f426-43a9-984d-b4455e4388e5
TCGA-CV-7091-01A-11D-2012-08	HNSC	563c5a89-6dad-467e-b2ea-e07677574a08
TCGA-CV-7095-01A-21D-2012-08	HNSC	e4aba107-a048-46e5-b0aa-901f076b6f61
TCGA-CV-7097-01A-11D-2012-08	HNSC	23336d44-bb79-4361-b661-ce26eae06692
TCGA-CV-7099-01A-41D-2012-08	HNSC	12a04e68-c814-4a18-a469-d7edc76e362d
TCGA-CV-7100-01A-11D-2012-08	HNSC	f21a5e1f-84b8-4e6f-8230-03d31cc7c431
TCGA-CV-7101-01A-11D-2012-08	HNSC	511c3fa8-476b-4ce8-8e93-1ab46bc40dbc
TCGA-CV-7102-01A-11D-2012-08	HNSC	eda5514f-3aa1-447c-ad07-55ec307c26e3
TCGA-CV-7103-01A-21D-2012-08	HNSC	e04f3556-ae16-410d-bc03-1057ae308329
TCGA-CV-7104-01A-11D-2012-08	HNSC	4f429401-f71e-4908-9663-2e66bacbebdd
TCGA-CV-7177-01A-11D-2012-08	HNSC	c984165c-88ea-4840-a980-be818db16820
TCGA-CV-7178-01A-21D-2012-08	HNSC	3f30774f-2b8c-4057-abd1-a9dd1e49ec78
TCGA-CV-7180-01A-11D-2012-08	HNSC	4233a363-ba28-495c-8590-644199c33d64
TCGA-CV-7183-01A-11D-2012-08	HNSC	172e7b30-829e-40b2-976e-4971cd1724a9
TCGA-CV-7235-01A-11D-2012-08	HNSC	1758147b-cb09-430b-a8cb-6a144744a79f
TCGA-CV-7236-01A-11D-2012-08	HNSC	dc220a9d-1f16-4fe3-8196-d837a909f038
TCGA-CV-7238-01A-11D-2012-08	HNSC	e9619e49-7185-4158-9e8b-45d446960b60
TCGA-CV-7242-01A-11D-2012-08	HNSC	9e07a1bc-f7c7-4cb4-b3b1-92162a79de0e
TCGA-CV-7243-01A-11D-2012-08	HNSC	bc6a2b7c-8a6c-4084-8551-8d1db9072ec2
TCGA-CV-7245-01A-11D-2012-08	HNSC	56291b3c-595c-4388-a264-9037a48401d8
TCGA-CV-7247-01A-11D-2012-08	HNSC	b0ce56d2-8e2b-42b4-ac59-d37ba5a7a2c3
TCGA-CV-7248-01A-11D-2012-08	HNSC	8ffc7f9d-16da-4cff-b845-f2ff8df87569
TCGA-CV-7250-01A-11D-2012-08	HNSC	14516d2b-47dc-4768-977b-bc3c1fe93722
TCGA-CV-7252-01A-11D-2012-08	HNSC	9692c6b2-ce97-4c92-a0dd-f27d01a94e6e
TCGA-CV-7253-01A-11D-2012-08	HNSC	d501a7e5-70e7-4f80-851a-efe8859d603a
TCGA-CV-7254-01A-11D-2012-08	HNSC	fd22e861-571e-44da-82b6-b128e07d1963
TCGA-CV-7255-01A-11D-2012-08	HNSC	4dedba61-e137-4ae4-8312-94231e3b1d16
TCGA-CV-7261-01A-11D-2012-08	HNSC	9fa7bc79-d05b-41da-8bcc-8d5ad4451b0c
TCGA-CV-7263-01A-11D-2012-08	HNSC	19a07472-c8b9-4a34-b2cb-11ace35e7903
TCGA-CV-7406-01A-11D-2078-08	HNSC	8c9effa8-acb6-4db0-874a-8f0df386924c

10

20

30

40

【 0 4 5 6】

50

【表 16 - 35】

TCGA-CV-7407-01A-11D-2078-08	HNSC	94631dc8-6dcb-49ed-bb68-e1a57a65f1cb
TCGA-CV-7409-01A-31D-2229-08	HNSC	47fa56f1-0802-403a-a644-913f1a0fdeca
TCGA-CV-7410-01A-21D-2078-08	HNSC	b89c4f94-b07c-485b-95ba-ffe815616d78
TCGA-CV-7411-01A-11D-2078-08	HNSC	790e387e-9e87-48d0-bc9d-2bc92f20abc5
TCGA-CV-7413-01A-11D-2078-08	HNSC	be482a19-0de0-4e60-a831-9ebe8545a6f3
TCGA-CV-7414-01A-11D-2078-08	HNSC	7137f980-5301-4b18-9664-d887eaced75e
TCGA-CV-7415-01A-11D-2078-08	HNSC	bb1e4188-130c-4206-8671-d7ce3eb8ee74
TCGA-CV-7418-01A-11D-2078-08	HNSC	25a70d04-f533-4e60-b9fc-e74d600db296
TCGA-CV-7421-01A-11D-2078-08	HNSC	ee675976-b447-48c8-bc67-6878a0d35e07
TCGA-CV-7422-01A-21D-2078-08	HNSC	5eb3f291-082c-48a8-b653-0926432adee
TCGA-CV-7423-01A-11D-2078-08	HNSC	a99653e0-2751-4423-93f7-abc258c9868
TCGA-CV-7424-01A-11D-2078-08	HNSC	76d5fc22-fd06-43f6-94a8-943a09db5fd6
TCGA-CV-7425-01A-11D-2078-08	HNSC	f8cc6696-91d0-4eba-a765-ef7d044238ce
TCGA-CV-7427-01A-11D-2078-08	HNSC	3fdb4698-4a38-4a81-a403-d1ce5568c225
TCGA-CV-7429-01A-11D-2129-08	HNSC	14b42e59-e519-4efc-8105-6f6b83d33353
TCGA-CV-7430-01A-11D-2129-08	HNSC	29a4027f-4d4f-4133-b40a-3bfb6d2ac9e
TCGA-CV-7432-01A-11D-2129-08	HNSC	60da7e3f-4d9c-4cb3-856d-6cc02e381028
TCGA-CV-7433-01A-11D-2129-08	HNSC	15380da5-6a0b-4649-b21b-cc1ed7d61b67
TCGA-CV-7434-01A-11D-2129-08	HNSC	d64e4e80-e6c6-42c8-8bc6-0fab6475c51
TCGA-CV-7435-01A-11D-2129-08	HNSC	16b7fd85-3664-4ca9-9a43-48b107dbcf7f
TCGA-CV-7437-01A-21D-2129-08	HNSC	53413980-80cc-4c73-8bb6-31a01d6df86e
TCGA-CV-7438-01A-21D-2129-08	HNSC	6fd3ecf3-c87c-46c3-81f0-11e2f8936d61
TCGA-CV-7440-01A-11D-2129-08	HNSC	901c2ed5-8348-4dd9-a84c-6c0b18d6525e
TCGA-CX-7082-01A-11D-2012-08	HNSC	4c6c96b8-958e-4235-9673-8bf4ce0e6b38
TCGA-CX-7085-01A-21D-2012-08	HNSC	4f6ee10b-246d-49cd-8b60-01dcb175e634
TCGA-CX-7086-01A-11D-2078-08	HNSC	dfcb7c6e-b0f4-4557-9669-4c580d1093a0
TCGA-CX-7219-01A-11D-2012-08	HNSC	83f92af6-60ab-402e-8990-e1060ca3cc4c
TCGA-D6-6515-01A-21D-1870-08	HNSC	15c4d640-884c-4d55-897e-2f68314423fe
TCGA-D6-6516-01A-11D-1870-08	HNSC	5ab94b24-1a1f-4df7-a5c6-b1dce8ee9be5
TCGA-D6-6517-01A-11D-1870-08	HNSC	c553e4a2-cbea-43d6-8937-a48836856b5a
TCGA-D6-6823-01A-11D-1912-08	HNSC	e1f4d8ef-f24a-417b-bf22-c03cdb6b5275
TCGA-D6-6824-01A-11D-1912-08	HNSC	b658aa3f-0812-4812-8254-816d9a4d7e04
TCGA-D6-6825-01A-21D-1912-08	HNSC	01f44db3-84dc-4f96-888d-b0370bf582a5
TCGA-D6-6826-01A-11D-1912-08	HNSC	368030ac-f855-452a-a3d3-3698ab9a00dd
TCGA-D6-6827-01A-11D-1912-08	HNSC	059be8f9-9536-40c0-a751-5fe529a2f01f
TCGA-DQ-5624-01A-01D-1870-08	HNSC	01282192-5bb6-44d6-bbc7-33a42eba416b
TCGA-DQ-5625-01A-01D-1870-08	HNSC	4e042e1d-8604-484a-b229-94b85745a478
TCGA-DQ-5629-01A-01D-1870-08	HNSC	e748f828-0b80-47f3-aa92-fb3b2be0dcc2
TCGA-DQ-5630-01A-01D-1870-08	HNSC	5aa7ff44-d4ff-4163-81db-9f09bec8d5b0
TCGA-DQ-5631-01A-01D-1870-08	HNSC	e389975a-e588-48d4-9ed3-548e8ed9de1c
TCGA-DQ-7588-01A-11D-2078-08	HNSC	6aad9b01-6a99-4f21-955f-7938af25a188

10

20

30

40

【 0 4 5 7 】

【表 1 6 - 3 6】

TCGA-DQ-7589-01A-11D-2229-08	HNSC	de34e28e-942b-442b-b745-7f2a0e56f3ff
TCGA-DQ-7590-01A-11D-2229-08	HNSC	5cbcfaf67-f062-4a03-84ad-dabfbef14514
TCGA-DQ-7591-01A-11D-2078-08	HNSC	4068a2fc-452d-4b2c-88d8-72d30097527b
TCGA-DQ-7592-01A-11D-2078-08	HNSC	d8e20b3b-2666-4b53-aa85-a5056028df98
TCGA-DQ-7594-01A-11D-2229-08	HNSC	92e689c0-08ab-472b-aedc-6344fedcbbc0
TCGA-DQ-7595-01A-11D-2229-08	HNSC	7d504cd7-09f0-4691-a1b2-55fc7d206439
TCGA-F7-7848-01A-11D-2129-08	HNSC	ba8a3e47-ee55-4c88-b29f-6d161ffae1d0
TCGA-H7-7774-01A-21D-2078-08	HNSC	0eb5b79a-e3be-4b19-aef6-74247986aaf6
TCGA-HD-7229-01A-11D-2012-08	HNSC	26b27991-540f-47f4-95f3-a59a93da593
TCGA-HD-7753-01A-11D-2078-08	HNSC	7dc33525-6f57-4b12-9b72-c9c845296ae3
TCGA-HD-7754-01A-11D-2078-08	HNSC	233ecdca-0b42-4533-8908-64ac7d3ac33b
TCGA-HD-7831-01A-11D-2129-08	HNSC	ae914215-3b1a-4edb-9f5a-ce4a17154178
TCGA-HD-7832-01A-11D-2129-08	HNSC	374f3e37-87e5-4450-a89f-0bde3981a31e
TCGA-HD-7917-01A-11D-2229-08	HNSC	451948e9-3d16-4771-b006-28b98580db2c
TCGA-HL-7533-01A-11D-2229-08	HNSC	fbf8f4a8-be9e-4713-884d-c80ef662d622
TCGA-IQ-7630-01A-11D-2078-08	HNSC	80442509-c2f0-4047-956e-a3633dfd472b
TCGA-IQ-7631-01A-11D-2078-08	HNSC	b2266f1c-1642-4849-9278-41e827691aa7
TCGA-IQ-7632-01A-11D-2078-08	HNSC	9fcfc377-a153-401c-95b4-8a4569866096
TCGA-A3-3311-01A-01D-0966-08	RCC	9c095b70-9a64-48b0-8a1c-45dd00a70019
TCGA-A3-3316-01A-01D-0966-08	RCC	e1241cff-4071-482e-be5b-adb9c46a480a
TCGA-A3-3317-01A-01D-0966-08	RCC	cd12847f-695b-4b97-9a56-a4a1ddc58ec4
TCGA-A3-3319-01A-01D-0966-08	RCC	a771a7ad-8dfa-46ee-849d-4478798c46a6
TCGA-A3-3320-01A-01D-0966-08	RCC	5c4cc718-d7b5-453c-89d8-186ab0869e68
TCGA-A3-3322-01A	RCC	6f329d07-3308-4c84-9113-2bf000e9be3b
TCGA-A3-3323-01A-01D-0966-08	RCC	21c50574-7496-4be5-b723-1fdb980fb208
TCGA-A3-3326-01A-01D-0966-08	RCC	60ed222b-cd0c-4bc5-acd0-39f207be3289
TCGA-A3-3346-01A-01D-0966-08	RCC	c8a52c11-2278-4f15-80bb-c7115c2cd737
TCGA-A3-3347-01A-02D-1386-10	RCC	2f4a6bd7-16ff-4689-b41d-c5fabb87823b
TCGA-A3-3349-01A-01D-1251-10	RCC	c2b257f6-9cb5-4598-89c7-f0b55e24dbb3
TCGA-A3-3357-01A-02D-1421-08	RCC	db6f5ad9-ae6c-4689-b146-f73f8352c54
TCGA-A3-3358-01A-01D-1534-10	RCC	fd42afa7-6f0f-48e8-a947-bb9c9f4770ef
TCGA-A3-3362-01A-02D-1386-10	RCC	03c9042a-0206-4f12-b444-62f435140e8d
TCGA-A3-3363-01A-01D-0966-08	RCC	34dac639-c2e5-447d-99c5-c6a3e15538fe
TCGA-A3-3365-01A	RCC	8bc46a09-7328-42e0-ad97-e557ec81048e
TCGA-A3-3367-01A-02D-1421-08	RCC	83a091b9-35cc-4f3b-9d5f-d699b79ac421
TCGA-A3-3370-01A-02D-1421-08	RCC	21ce7121-87b4-4686-9bf6-aff71d8b2223
TCGA-A3-3372-01A-01D-0966-08	RCC	f9f50073-a1d3-4c52-be78-529bd05cbce4
TCGA-A3-3373-01A-02D-1421-08	RCC	6cbaac72-ca6e-4c4b-a016-1836959344c8
TCGA-A3-3376-01A-02D-1421-08	RCC	31031387-393f-4bf9-ba87-cfe7330afe13
TCGA-A3-3378-01A-01D-0966-08	RCC	f04f3a00-e743-4fed-a0b0-e6a81bdd6ddd
TCGA-A3-3380-01A-01D-0966-08	RCC	269d4e2a-a425-4fde-bb51-5880f7f8b2b9

10

20

30

40

【 0 4 5 8】

【表 1 6 - 3 7】

TCGA-A3-3382-01A-01D-0966-08	RCC	f10e1718-6fb8-4c08-bc28-439f26355cd2
TCGA-A3-3383-01A-01D-0966-08	RCC	2ea06f57-c7fa-4881-b9c0-dd3f9c1c4ca0
TCGA-A3-3385-01A	RCC	f780aef6-1c9c-4167-9f55-48885d6e5874
TCGA-A3-3387-01A-01D-1534-10	RCC	e9e149ff-79e0-48f0-9262-1fbbad865e77
TCGA-AK-3429-01A-02D-1386-10	RCC	fa51dce9-2101-4af7-9280-4bad56b6848e
TCGA-AK-3430-01A	RCC	b16a82ca-2eaf-4b7a-b469-2be4a023fc2a
TCGA-AK-3436-01A-02D-1386-10	RCC	714cd118-7f2b-47a5-83f6-41b20674ad03
TCGA-AK-3444-01A-01D-0966-08	RCC	ea794170-156d-4251-b899-abfd60b213b0
TCGA-AK-3451-01A	RCC	242777f6-a875-4072-9696-8d7f7d718906
TCGA-AK-3455-01A-01D-0966-08	RCC	3fbedea4-a6c4-45a4-a963-dc6ca3f7e0ba
TCGA-AK-3456-01A-02D-1386-10	RCC	d36fe1be-96a5-4001-a95e-d499a6087146
TCGA-AK-3458-01A-01D-1501-10	RCC	0198f3c3-78f2-4c19-90d5-c77b74044ca2
TCGA-AS-3778-01A-01D-0966-08	RCC	7b56e923-2bc5-4368-8e28-42649d3bf169
TCGA-B0-4700-01A-02D-1534-10	RCC	32cb433f-359c-44c3-b2df-d2a64df90175
TCGA-B0-4706-01A-01D-1501-10	RCC	040fdd9b-db76-4357-9aed-77a8cbdc058d
TCGA-B0-4710-01A	RCC	6fc8cb4b-1dc0-46b8-ae80-7dbd022c9431
TCGA-B0-4712-01A-01D-1501-10	RCC	032b33f8-f779-47de-8cb2-d744eab8bd1a
TCGA-B0-4810-01A-01D-1501-10	RCC	c014cecb-c48c-42bb-a683-93299087a3cf
TCGA-B0-4811-01A-01D-1501-10	RCC	a46182dc-2481-4911-9f6b-9532666f9f8c
TCGA-B0-4815-01A-01D-1501-10	RCC	fe091054-41d3-44fa-86a2-fad3ae58423f
TCGA-B0-4816-01A	RCC	d05c3419-4164-4a69-8b11-ce1f5c29b5d4
TCGA-B0-4818-01A-01D-1501-10	RCC	213bf382-c2ca-45d4-95ae-329e6653620f
TCGA-B0-4823-01A-02D-1421-08	RCC	9f790e7e-3475-4242-82fc-cbdd461ce5ef
TCGA-B0-4827-01A-02D-1421-08	RCC	02f83f9a-4e4d-44f3-8d67-b4fc2d35102b
TCGA-B0-4842-01A-02D-1421-08	RCC	ae765ade-6a06-439c-a1cd-67222a70f44e
TCGA-B0-4852-01A-01D-1501-10	RCC	28d8eb57-c919-4f91-aa3c-7b8f8309011e
TCGA-B0-4945-01A-01D-1421-08	RCC	9fae377f-6c63-4f47-a769-a1396fb15f56
TCGA-B0-5075-01A	RCC	200819c3-826e-49a1-8824-6d4752e6eb6f
TCGA-B0-5077-01A-01D-1462-08	RCC	587f2bd8-952a-4f31-98e7-7654c80b8a99
TCGA-B0-5080-01A-01D-1501-10	RCC	9adf0a63-1d5c-403a-9c78-cb9d62a249a4
TCGA-B0-5081-01A-01D-1462-08	RCC	71a9d096-0e27-4585-b54a-48214d83cd6c
TCGA-B0-5085-01A-01D-1462-08	RCC	a36e36ee-48f3-4674-a9f3-a121a09535c5
TCGA-B0-5088-01A-01D-1462-08	RCC	e56245d6-c681-44e0-9eb2-504bee3e1b32
TCGA-B0-5092-01A-01D-1421-08	RCC	76b9d9e3-6010-4894-8435-debe95a376b5
TCGA-B0-5094-01A-01D-1421-08	RCC	8b910c03-86a9-488d-80b4-1f8c214c2941
TCGA-B0-5095-01A-01D-1421-08	RCC	93c714f8-acea-4550-92fe-aad4aad65ac9
TCGA-B0-5096-01A-01D-1421-08	RCC	261de0a2-6006-4b3b-nac0-37d9b33840aa
TCGA-B0-5097-01A-01D-1421-08	RCC	3af2978e-b892-4817-be05-39fd20c06b5e
TCGA-B0-5099-01A-01D-1421-08	RCC	c3150136-ae55-49d0-9212-86728464167d
TCGA-B0-5100-01A-01D-1421-08	RCC	b20bd619-59c9-4e2a-8e64-7bb44eaa75ce
TCGA-B0-5102-01A-01D-1421-08	RCC	abea5e3e-705a-4d2c-b207-1ab43767a19b

10

20

30

40

【 0 4 5 9】

【表 1 6 - 3 8】

TCGA-B0-5104-01A	RCC	ac2cfbde-9d62-49db-9a07-e8166003f10f
TCGA-B0-5106-01A-01D-1421-08	RCC	c0e28603-7204-416d-ba3d-5377a38f677d
TCGA-B0-5107-01A	RCC	4c6f4edb-9a29-48e6-8521-9c5fd2572e2d
TCGA-B0-5108-01A-01D-1421-08	RCC	d1d37af8-d2c3-4825-8e47-1a2e52e3acbb
TCGA-B0-5109-01A-02D-1421-08	RCC	58d6e408-ed00-4e1f-bffa-e73250cfe4a0
TCGA-B0-5110-01A	RCC	38041acb-60fe-4784-a5d8-fd04b5c0c5f8
TCGA-B0-5113-01A-01D-1421-08	RCC	64b234e0-74f6-453f-b5cb-280e01fba09b
TCGA-B0-5115-01A-01D-1421-08	RCC	f122b61c-d537-4456-84e8-54e541eec531
TCGA-B0-5116-01A	RCC	97421d06-b199-4246-b2da-80a9ba313335
TCGA-B0-5119-01A-02D-1421-08	RCC	414d47c7-41bb-4c83-8cdf-703fa0a46f01
TCGA-B0-5120-01A-01D-1421-08	RCC	6ce58fbc-6742-4ade-84b0-ed025266e030
TCGA-B0-5121-01A-02D-1421-08	RCC	a2751cb2-8545-490c-92d9-edb9775d32b8
TCGA-B0-5399-01A	RCC	aldddbed-c780-412a-b563-914f71e5c75d
TCGA-B0-5400-01A-01D-1501-10	RCC	e7128330-77b1-48be-b9f0-be986aa63ea8
TCGA-B0-5402-01A-01D-1501-10	RCC	ca62bea0-a008-481e-8a91-d0f3a9598255
TCGA-B0-5691-01A-11D-1534-10	RCC	ac2e1d29-e239-4dab-9d81-77c8d45970eb
TCGA-B0-5692-01A-11D-1534-10	RCC	1af40135-8357-40b7-b711-478633a70f97
TCGA-B0-5693-01A-11D-1534-10	RCC	be92ce16-6288-46c0-aaa7-7n27020cd7ca
TCGA-B0-5694-01A-11D-1534-10	RCC	6edbaa05-b935-4f82-b070-8fc80ea6b609
TCGA-B0-5695-01A	RCC	86e4862c-7405-40b5-b73f-be0c6c52ea6d
TCGA-B0-5696-01A-11D-1534-10	RCC	48b270af-07f2-4cb5-ace2-e2676ffaccd9
TCGA-B0-5697-01A-11D-1534-10	RCC	9ca4e638-5a95-4eeb-bfc4-257e8ea8fa66
TCGA-B0-5698-01A-11D-1669-08	RCC	2ddf2fa6-7871-49fb-be2c-8fcc6f8e41ed
TCGA-B0-5699-01A	RCC	086554a9-2172-43a7-9f52-aab7d0888429
TCGA-B0-5701-01A-11D-1534-10	RCC	0e1c563a-ee60-478b-9286-ed90e7561892
TCGA-B0-5702-01A-11D-1534-10	RCC	780b3f3e-1c49-40de-9131-65c4df9ebba6
TCGA-B0-5703-01A-11D-1534-10	RCC	963400a2-d939-41a5-8c42-9fc3a04b8362
TCGA-B0-5705-01A-11D-1534-10	RCC	d3095df5-5466-4b98-9f6d-f8ae8916ccca
TCGA-B0-5706-01A-11D-1534-10	RCC	b60cf910-2d2e-483a-a9de-ce1e5f8d3825
TCGA-B0-5707-01A-11D-1534-10	RCC	cb2f9f38-bce2-4746-a3c8-40abc3379b32
TCGA-B0-5709-01A-11D-1534-10	RCC	bfeaecebe-7148-4642-b69a-b908a248f328
TCGA-B0-5710-01A-11D-1669-08	RCC	12f1e370-c269-4b95-a89b-a1f3ac42e876
TCGA-B0-5711-01A-11D-1669-08	RCC	cf09ae91-5523-494c-8f30-c26f6ba37624
TCGA-B0-5713-01A-11D-1669-08	RCC	2f35dbf4-3223-4550-951b-1409a30e6e68
TCGA-B0-5812-01A-11D-1669-08	RCC	6327ce2c-8a24-45b9-9577-7b7d7b603e68
TCGA-B2-3924-01A	RCC	21527594-ed75-4654-9caf-83d31f248e67
TCGA-B2-4098-01A	RCC	6463ae73-a885-4d69-9345-7110ddac0c7e
TCGA-B2-4099-01A	RCC	e242adb8-dbb7-475e-a0e4-52a622666b12
TCGA-B2-4101-01A	RCC	a9947b6c-dbc7-4ba5-af61-7647e11e2973
TCGA-B4-5377-01A-01D-1501-10	RCC	a615b02d-fd18-47ef-bd66-6dba56de6981
TCGA-B8-4143-01A-01D-1806-10	RCC	bb186c78-1052-48ec-97f4-c94bddf0df72

10

20

30

40

【 0 4 6 0 】

【表 1 6 - 3 9】

TCGA-B8-4146-01B-11D-1669-08	RCC	380bdba7-8a12-4136-877a-f54346d2d8a5
TCGA-B8-4148-01A-02D-1386-10	RCC	fe752e2b-e694-4fa9-99d6-46d5bff9e8cf
TCGA-B8-4151-01A-01D-1806-10	RCC	3f847558-8bc7-49b0-899d-2a7b8f0e3d1a
TCGA-B8-4153-01B-11D-1669-08	RCC	a66078d8-a6b2-4dc4-bfa3-def5a2e4504f
TCGA-B8-4154-01A-01D-1251-10	RCC	e48f5c14-4b64-4d4b-8273-bebc74182181
TCGA-B8-4620-01A	RCC	e4cc1484-4f77-4520-9ff5-be4dc8a0fb15
TCGA-B8-4621-01A	RCC	242a72ad-5968-4bbf-936d-75b398a61b96
TCGA-B8-4622-01A	RCC	1c86e0f6-a019-47a5-8325-bbb82f76488c
TCGA-B8-5158-01A-01D-1421-08	RCC	9d730534-98e7-464e-945c-5964cec5362a
TCGA-B8-5159-01A-01D-1421-08	RCC	ed8a9be1-31c6-40e2-9af2-8abd80d00995
TCGA-B8-5163-01A-01D-1421-08	RCC	903132ef-877f-4207-ba28-2e9dd765c824
TCGA-B8-5164-01A	RCC	471ce542-e85b-4bdb-b365-4562a93cfe1e5
TCGA-B8-5165-01A-01D-1421-08	RCC	d1579785-5c42-4bda-9825-15ead235f7f4
TCGA-B8-5545-01A-01D-1669-08	RCC	514d2342-64ba-4c9f-9866-63bdbc26fda3
TCGA-B8-5550-01A	RCC	dafed455-98a2-419a-bebc-f90b731e2813
TCGA-B8-5552-01B-11D-1669-08	RCC	13b52e49-20df-4e39-9dc9-cf8f7c157bd7
TCGA-B8-5553-01A-01D-1534-10	RCC	7e19e63c-770b-4289-aa47-9b2cf261b4ca
TCGA-BP-4161-01A	RCC	154de511-2bba-4959-970b-6a8429f29793
TCGA-BP-4162-01A	RCC	ca4eac28-22c9-48d8-8139-7cda2cfe4ae2
TCGA-BP-4163-01A	RCC	e44de28c-bce0-471d-bd4c-bea710f7c3cc
TCGA-BP-4164-01A	RCC	a8fab76e-ae69-43d6-972b-5837aec668fd
TCGA-BP-4167-01A-02D-1386-10	RCC	79b810e1-4de4-496d-9f70-ab62246e781b
TCGA-BP-4770-01A-01D-1501-10	RCC	aeabc5db-f75a-42d0-a84d-aa0369b08eec
TCGA-BP-4782-01A	RCC	a6c21bf2-dd9b-4243-863e-9d53b056666f
TCGA-BP-4801-01A-02D-1421-08	RCC	d3e62cb1-5ced-42cb-a360-479ee01877aa
TCGA-BP-4960-01A-01D-1462-08	RCC	36d21be3-2f46-47af-84aa-2305f2513aa1
TCGA-BP-4961-01A	RCC	f207131d-8db7-464b-a3e5-44218da1cafc
TCGA-BP-4962-01A-01D-1462-08	RCC	3454a6fe-2547-4531-a0be-cb27c1879e72
TCGA-BP-4963-01A-01D-1462-08	RCC	154bfa5d-0d9a-40c6-a2a5-bde1054702c3
TCGA-BP-4964-01A-01D-1462-08	RCC	5b838251-67f5-4e22-a291-8a9e206d56db
TCGA-BP-4967-01A-01D-1462-08	RCC	75866d14-47d5-4560-a5a0-32ba3e15ac63
TCGA-BP-4968-01A-01D-1462-08	RCC	d777d5ec-4632-446e-aeac-8ac3e5273fe2
TCGA-BP-4970-01A-01D-1462-08	RCC	205e81c6-235a-450f-b1f8-80c518eb3478
TCGA-BP-4971-01A-01D-1462-08	RCC	e07945e8-8133-4237-9d1f-18c023bc9d2c
TCGA-BP-4972-01A-01D-1462-08	RCC	b2da5d39-33f6-4807-9d1d-92b7cef2a8df
TCGA-BP-4973-01A-01D-1462-08	RCC	5db95dcc-97e3-42a5-87dd-75a09b9c164a
TCGA-BP-4974-01A	RCC	a75c92b2-c67b-42b5-a8c2-7eeal b567ed0
TCGA-BP-4975-01A-01D-1462-08	RCC	109d2752-17f8-4b00-a61f-dfd8e2e3ca81
TCGA-BP-4976-01A-01D-1462-08	RCC	95bd81ec-3c06-4c4d-9915-5cc3dd7a7155
TCGA-BP-4977-01A-01D-1462-08	RCC	7c3bf7c1-07d9-4540-9a5e-614fd60b63ec
TCGA-BP-4981-01A-01D-1462-08	RCC	64a1f085-50cc-4129-a617-e0f691a58039

10

20

30

40

【 0 4 6 1】

【表 16 - 40】

TCGA-BP-4982-01A-01D-1462-08	RCC	84591a73-bed0-4ad5-9acd-8f31acf27af0
TCGA-BP-4983-01A-01D-1462-08	RCC	beaafd9-d5c0-4bc4-b08b-833c3c91c9ae
TCGA-BP-4985-01A-01D-1462-08	RCC	e56acfea-acc6-4102-8fe0-25df396e10ac
TCGA-BP-4986-01A-01D-1462-08	RCC	4465171a-d048-4078-b1ae-021b2c635ff4
TCGA-BP-4987-01A-01D-1462-08	RCC	7924f8ff-8e78-4910-9dc5-db14d5ee7011
TCGA-BP-4988-01A-01D-1462-08	RCC	792c9867-ccca-4520-bbb7-5dabe290664f
TCGA-BP-4989-01A-01D-1462-08	RCC	7096085b-cd5b-4cd1-8957-a6adcf7e818a
TCGA-BP-4991-01A-01D-1462-08	RCC	d54c714e-b1c4-4669-986d-5e13d2fc3cc3
TCGA-BP-4992-01A	RCC	212717dd-25f1-4c76-a648-b8a7d65caacf
TCGA-BP-4993-01A-02D-1421-08	RCC	34315bea-6ef2-42ec-b17e-c73eed40647f
TCGA-BP-4995-01A-01D-1462-08	RCC	93b9afac-e12e-49d2-96ac-274da6581d76
TCGA-BP-4998-01A-01D-1462-08	RCC	e646f930-967b-43a3-bd70-184e5c38efe5
TCGA-BP-4999-01A-01D-1462-08	RCC	86ffb814-7c65-426b-b7b5-7250322c4d01
TCGA-BP-5000-01A-01D-1462-08	RCC	b9816eaa-3c60-4fbf-abd6-6d869ca9cca7
TCGA-BP-5001-01A	RCC	e863bd35-0382-4979-b599-033a06a1f50b
TCGA-BP-5004-01A-01D-1462-08	RCC	e3d82fe4-b491-4172-86da-429cf16508de
TCGA-BP-5006-01A-01D-1462-08	RCC	11fb962b-b4b8-46f4-bde4-3f87309e94f3
TCGA-BP-5007-01A	RCC	a44eb1d6-3b5c-42e8-b17a-d71ffc0503d5
TCGA-BP-5008-01A	RCC	41c094e9-6c23-4993-8d90-338b66efefc1
TCGA-BP-5009-01A-01D-1462-08	RCC	3baa3cdc-c63e-4556-baf1-c3b03175b0fa
TCGA-BP-5010-01A-02D-1421-08	RCC	553cbe18-6dd3-4b34-b7fe-96a6dd2e6943
TCGA-BP-5168-01A-01D-1421-08	RCC	9930560d-22e6-43aa-a6f0-02515f7af8f0
TCGA-BP-5169-01A-01D-1429-08	RCC	3527b21e-972b-4c31-b5de-8c394ce0e500
TCGA-BP-5170-01A-01D-1429-08	RCC	68761b2c-66b9-4adf-9b60-955f79ed0f11
TCGA-BP-5173-01A-01D-1429-08	RCC	3ce0a5fc-09ae-412a-8a5b-56d9a44433aa
TCGA-BP-5174-01A-01D-1429-08	RCC	53b5cf8d-f3cf-4e7e-91ec-b0c907d1c13f
TCGA-BP-5175-01A-01D-1429-08	RCC	30e58ale-e7db-43ce-a7e8-alfd21f4438e
TCGA-BP-5176-01A-01D-1429-08	RCC	607eb48b-1647-4e35-ac60-f6c50341e304
TCGA-BP-5177-01A-01D-1429-08	RCC	ad4cc7e3-c4d1-4cc0-9c93-33b47dadaaae
TCGA-BP-5178-01A-01D-1429-08	RCC	60888dc5-1408-4bfb-bf27-f3e22f5488e4
TCGA-BP-5180-01A-01D-1429-08	RCC	a776bde5-7503-459c-8419-dc0d744a651e
TCGA-BP-5182-01A-01D-1429-08	RCC	00523547-dalc-4bb1-a627-c0946849b376
TCGA-BP-5183-01A-01D-1429-08	RCC	cd4c37c3-95f2-4612-b6a8-9d6d1dfb5fd4
TCGA-BP-5184-01A-01D-1429-08	RCC	ddebed14-f47f-46e6-ac39-c74ed3363211
TCGA-BP-5185-01A-01D-1429-08	RCC	42dc6d82-f52a-4b13-b3bc-c63002b47e98
TCGA-BP-5186-01A-01D-1429-08	RCC	02b98f85-07df-4fb2-b27e-efd368c84ec8
TCGA-BP-5187-01A	RCC	3257e690-9306-434f-b6ac-17da58ab1243
TCGA-BP-5189-01A-02D-1429-08	RCC	ca98342a-65ec-468a-9cc1-44c7d31a67d6
TCGA-BP-5190-01A-01D-1429-08	RCC	5491645b-552c-47a9-b081-e8e508d1df3d
TCGA-BP-5191-01A-01D-1429-08	RCC	64dd8a08-483e-4dce-90b0-64a751fdbebd
TCGA-BP-5192-01A-01D-1429-08	RCC	4db23b76-46dd-4ed9-a168-fee43b2fc7d7

10

20

30

40

【 0 4 6 2 】

【表 1 6 - 4 1】

TCGA-BP-5194-01A-02D-1429-08	RCC	5b52e97e-fdd2-4ae2-b036-297feeb1c7e2
TCGA-BP-5195-01A-02D-1429-08	RCC	c2ab2f01-3744-434a-b5b6-0f22599c9a17
TCGA-BP-5196-01A-01D-1429-08	RCC	201bf07d-0be9-442f-ad66-15ea8c7e812d
TCGA-BP-5198-01A-01D-1429-08	RCC	ac66d658-97d4-416b-8028-0077a1c8a01d
TCGA-BP-5199-01A-01D-1429-08	RCC	135f3b77-1474-40d8-87a1-15939136e8cd
TCGA-BP-5200-01A	RCC	e2557bba-b331-40c2-8389-c52324630bca
TCGA-BP-5201-01A-01D-1429-08	RCC	243c77a9-1591-45ac-b048-a5687a77c764
TCGA-BP-5202-01A-02D-1429-08	RCC	accc7214-d441-4a72-a2eb-9f2811c38a3e
TCGA-CJ-4634-01A-02D-1386-10	RCC	59f18fac-c6f8-4cbf-9259-8c22d6ba0c58
TCGA-CJ-4636-01A	RCC	5889076d-0a5f-4c3a-8254-a941df3186f7
TCGA-CJ-4637-01A-02D-1386-10	RCC	b8480571-ee08-4fa1-b509-1331a8fbc075
TCGA-CJ-4638-01A-02D-1386-10	RCC	cbc187b0-fafe-4b1f-9af0-6714942414ab
TCGA-CJ-4639-01A-02D-1386-10	RCC	9df6d1b1-5a09-4082-8ec0-61b12b3c8801
TCGA-CJ-4640-01A-02D-1386-10	RCC	e406036a-eeeb-474e-8c76-0fa8b64225be
TCGA-CJ-4641-01A-02D-1386-10	RCC	c00265ac-c6cc-4349-ac30-e2e44582015a
TCGA-CJ-4643-01A-02D-1386-10	RCC	5e00e420-94fd-4115-9cd9-cef24f6di0eb
TCGA-CJ-4644-01A-02D-1386-10	RCC	2f2888fb-ae20-4347-87dc-f0eaeeb9b0d5
TCGA-CJ-4882-01A-02D-1429-08	RCC	b1b7b8e8-cc87-4a52-900a-1f3cf7d449d7
TCGA-CJ-4897-01A-03D-1429-08	RCC	c1331ecc-e2df-4924-918b-7e5134e933c2
TCGA-CJ-4899-01A-01D-1462-08	RCC	943ca428-39f6-4ad2-8ca5-220628a6b5bb
TCGA-CJ-4901-01A-01D-1429-08	RCC	a8a8f3ff-0514-4bca-be75-16ad58eb9e72
TCGA-CJ-4902-01A-01D-1429-08	RCC	3ef9ea62-85c4-4261-af23-ecb86f192cdf
TCGA-CJ-4903-01A-01D-1429-08	RCC	3b685193-f1fa-4c1b-949b-bcd2d1b934c
TCGA-CJ-4904-01A-02D-1429-08	RCC	9bedcded-0c33-4199-bdce-18681595c2d8
TCGA-CJ-4905-01A-02D-1429-08	RCC	22eb9dc5-8d5e-4158-8edc-12ff62a612be
TCGA-CJ-4907-01A-01D-1429-08	RCC	7c69fcb9-4b94-478a-bcb3-6ebd162d9482
TCGA-CJ-4908-01A-01D-1429-08	RCC	dbc5420c-5c60-4d1e-8554-9d2f6e55e502
TCGA-CJ-4912-01A-01D-1429-08	RCC	894ade93-8feb-4f93-a31a-d9e16cb81743
TCGA-CJ-4913-01A-01D-1429-08	RCC	0635f266-c4be-45ea-8347-455ef7ad5648
TCGA-CJ-4916-01A-01D-1429-08	RCC	81b0e02c-069c-4c4b-b56f-79c2ebec9927
TCGA-CJ-4918-01A-01D-1429-08	RCC	2c5d4600-0271-4c03-ab44-239ac19d8b4d
TCGA-CJ-4920-01A-01D-1429-08	RCC	12bf3338-f541-45a9-9fb7-e84931ba5ed8
TCGA-CJ-4923-01A-01D-1429-08	RCC	19171a1a-6483-4bf3-b0b4-8cd441303c55
TCGA-CJ-5671-01A-11D-1534-10	RCC	5b1084bb-3fb2-4f3f-9ca7-7108b0f77994
TCGA-CJ-5672-01A-11D-1534-10	RCC	61497c42-78f2-43d4-b2ab-2b1e655271a8
TCGA-CJ-5675-01A	RCC	26f77108-c3b0-4833-9a1a-df457d7415a9
TCGA-CJ-5676-01A-11D-1534-10	RCC	2e8aa293-650b-4661-b130-8b70f0949b86
TCGA-CJ-5677-01A-11D-1534-10	RCC	70fe0b18-52d1-40f7-b2a3-c808b3009610
TCGA-CJ-5678-01A-11D-1534-10	RCC	d49759a2-d2a9-48ba-9447-e42c9d3d64c7
TCGA-CJ-5679-01A	RCC	17313700-6052-4901-8850-981fead99d6c
TCGA-CJ-5680-01A-11D-1534-10	RCC	2c718814-9d25-49a6-a430-2019071ec0ab

10

20

30

40

【 0 4 6 3】

【表 1 6 - 4 2】

TCGA-CJ-5681-01A-11D-1534-10	RCC	9ae0744a-9bc1-4cd7-b7cf-c6569ed9e4aa
TCGA-CJ-5682-01A-11D-1534-10	RCC	deceb0ba-600f-491a-a207-2e0205ff89d2
TCGA-CJ-5683-01A-11D-1534-10	RCC	b85e29c5-0206-4d65-aa46-179a55c0ceae
TCGA-CJ-5684-01A-11D-1534-10	RCC	24ee4b71-c2e0-44c3-aaeb-3c488cd26ce7
TCGA-CJ-5686-01A-11D-1669-08	RCC	695e2a72-6b97-4fa1-9f57-d7c6e10438ee
TCGA-CJ-6027-01A-11D-1669-08	RCC	b0483455-4cde-408f-b831-17223c03241a
TCGA-CJ-6028-01A-11D-1669-08	RCC	d165717a-cc3d-4533-8194-0029c186f1bb
TCGA-CJ-6030-01A-11D-1669-08	RCC	c904299c-09a8-4a4c-9378-2fee0ac4cd33
TCGA-CJ-6031-01A-11D-1669-08	RCC	a47debc7-700e-4c64-a9b3-1113609a1ddf
TCGA-CJ-6032-01A-11D-1669-08	RCC	8c9823f0-69af-474d-adb7-5ec8ef4e5af7
TCGA-CJ-6033-01A-11D-1669-08	RCC	c7ce9042-f63c-4a93-a82d-f21977bd9bec
TCGA-CW-5580-01A-01D-1669-08	RCC	6e4ed3ae-aa80-453a-95be-0af96a7bc4e3
TCGA-CW-5581-01A	RCC	22be4bab-231e-4784-aaa9-45ae158a5153
TCGA-CW-5583-01A-02D-1534-10	RCC	2cb6b578-8543-4a12-8331-1721ddc47303
TCGA-CW-5585-01A-01D-1534-10	RCC	bd6d9aa8-d0ef-4810-a43c-eacd846c44e
TCGA-CW-5591-01A-01D-1534-10	RCC	02ac80cd-caa3-4dbc-9b57-4a324cec0ad4
TCGA-CW-6087-01A-11D-1669-08	RCC	65c23a97-1763-47d5-8648-df24cf0226f3
TCGA-CW-6090-01A-11D-1669-08	RCC	3b2e654a-4c13-4dab-9c18-1445a43af3e6
TCGA-CW-6093-01A-11D-1669-08	RCC	9b1beb37-1ed7-43c0-a532-56df7941111f
TCGA-CZ-4853-01A-01D-1429-08	RCC	bdef62d1-a036-43b4-811b-bf4beab7eca8
TCGA-CZ-4856-01A-02D-1429-08	RCC	85e26450-4cb1-4a91-ad86-a6d44890ee97
TCGA-CZ-4859-01A-02D-1429-08	RCC	82c0b6e4-cb0f-4870-81c9-b45a93d6f5d3
TCGA-CZ-4863-01A-01D-1501-10	RCC	4286d73b-1fb9-41a3-baba-46f23100586a
TCGA-CZ-4865-01A-02D-1501-10	RCC	f8eac30d-1155-44cc-a2ad-95427fccf4bf
TCGA-CZ-4866-01A-01D-1501-10	RCC	a3a06421-7838-4ac2-b5d5-45d2ea651368
TCGA-CZ-5451-01A-01D-1501-10	RCC	b1923d68-1d1e-4b59-b643-09e2c5969efd
TCGA-CZ-5452-01A-01D-1501-10	RCC	96bd68cb-5d8e-4del-88ca-5f30fbdde036
TCGA-CZ-5453-01A-01D-1501-10	RCC	605079f6-2d6e-4c38-a214-b4c8875dd166
TCGA-CZ-5454-01A-01D-1501-10	RCC	d9fd1928-7b7d-4147-aeff-1618393ba26c
TCGA-CZ-5455-01A	RCC	d6a730ef-3f0d-47c1-977e-5c80647356d4
TCGA-CZ-5456-01A-01D-1501-10	RCC	45d5c746-60e3-4531-8db0-fd648811d45f
TCGA-CZ-5457-01A	RCC	8d54b22b-ee4b-45e0-922e-24e3c20c4c1a
TCGA-CZ-5458-01A-01D-1501-10	RCC	1737382a-a1c9-45e1-b009-a29be1d93749
TCGA-CZ-5459-01A-01D-1501-10	RCC	5711cdaa-7368-4a4f-8639-5df60a2fedac
TCGA-CZ-5460-01A-01D-1501-10	RCC	a6de1551-2a1a-4a43-ba7f-caa436f5f6dd
TCGA-CZ-5461-01A-01D-1501-10	RCC	79feee74-7b14-48d9-9be7-8d7671c79e83
TCGA-CZ-5462-01A-01D-1501-10	RCC	74eed0c6-b3cc-4666-8ef0-194e1bbe1048
TCGA-CZ-5463-01A-01D-1501-10	RCC	3732539b-eb77-485b-81a1-83be956a9a87
TCGA-CZ-5465-01A-01D-1806-10	RCC	062b7e63-bb4e-4eaa-9aa4-f2af44c2ab37
TCGA-CZ-5466-01A	RCC	694ca445-7bac-4216-acf5-e227650ae973
TCGA-CZ-5467-01A-01D-1501-10	RCC	99c640a3-660f-4723-bf82-36fcb3134356

10

20

30

40

【 0 4 6 4】

【表 1 6 - 4 3】

TCGA-CZ-5468-01A-01D-1501-10	RCC	50c6b5a2-cd0e-4adf-b85f-0f9c1847477f
TCGA-CZ-5469-01A-01D-1501-10	RCC	3df654a0-48b0-45ff-bfe1-b5f78f63b30d
TCGA-CZ-5470-01A-01D-1501-10	RCC	c9a7ca9e-c36e-46c1-926f-4a57a0584cb0
TCGA-CZ-5982-01A-11D-1669-08	RCC	2c3c0f78-1c0a-48df-856e-0afbc2b5bceb
TCGA-CZ-5984-01A-11D-1669-08	RCC	89e8e486-0c93-4056-88ed-83fd0d5a7f2c
TCGA-CZ-5985-01A-11D-1669-08	RCC	ad5eae3d-2f73-49d2-be47-5891e7772bc6
TCGA-CZ-5986-01A-11D-1669-08	RCC	0abded91-5a5f-4923-bef0-7fdda64ae232
TCGA-CZ-5987-01A-11D-1669-08	RCC	84a1a8d2-54c6-4771-9092-27c5f7fc4e5c
TCGA-CZ-5988-01A-11D-1669-08	RCC	668172b3-1e6f-4362-8432-3651925b86a6
TCGA-CZ-5989-01A-11D-1669-08	RCC	852e1614-35c0-4ba7-a29c-e8e2a91aa1b7
TCGA-DV-5565-01A-01D-1534-10	RCC	ee24d408-6043-4ca0-8bde-f29e798cc479
TCGA-DV-5566-01A-01D-1534-10	RCC	39a321cd-dbdf-474b-aead-6e69795470e0
TCGA-DV-5568-01A-01D-1534-10	RCC	ecb100d4-24da-40d9-aeel-2901cf3a655a
TCGA-EU-5904-01A-11D-1669-08	RCC	b13e89f1-683b-4261-94a1-e371d797237f
TCGA-EU-5905-01A-11D-1669-08	RCC	091c18b6-bfc2-4353-9eba-ebc46c2c18e5
TCGA-EU-5906-01A-11D-1669-08	RCC	050dc3b7-e560-44f4-a05c-8c792d8467a8
TCGA-EU-5907-01A-11D-1669-08	RCC	5fded36e-05ba-4cce-8303-738f5b04ad16
TCGA-AB-2807-03D-01W-0755-09	AML	3d15bdda-bbb7-4e3d-bdd6-7546d2905e95
TCGA-AB-2809-03D-01W-0755-09	AML	d86f567d-84f8-4a95-af1d-5a26ada92830
TCGA-AB-2814-03D-01W-0755-09	AML	604f0c72-efc7-4868-bc54-79d8f3f3507b
TCGA-AB-2822-03D-01W-0755-09	AML	68b67026-2f30-4839-8579-7a07341b8976
TCGA-AB-2825-03D-01W-0755-09	AML	e6e4b579-9ddf-4fb1-bb65-db8321294852
TCGA-AB-2840-03D-01W-0755-09	AML	cb122429-5b01-4fad-b498-b0342230b567
TCGA-AB-2845-03D-01W-0755-09	AML	98d27719-6f38-433a-ba0a-a14cb32958d8
TCGA-AB-2853-03D-01W-0755-09	AML	9e238bbc-61ba-4966-b30e-ba7ab1a5b11b
TCGA-AB-2858-03D-01W-0755-09	AML	b9dcb0aa-0098-49a9-a0c8-790a06dadae8
TCGA-AB-2863-03D-01W-0755-09	AML	d4ba0ac2-9d98-430b-bb0d-e1bada2d5486
TCGA-AB-2864-03D-01W-0755-09	AML	07f07406-597d-40b7-b218-ef40aad6f0bc
TCGA-AB-2872-03A-01W-0732-08	AML	495c3e6d-76f1-499d-894b-761d50b70566
TCGA-AB-2909-03A-01W-0755-09	AML	39ad6508-a476-4a33-ac8d-6e25fa36369e
TCGA-AB-2912-03A-01W-0732-08	AML	da01cad7-961b-46e2-8a80-9c846694ad5b
TCGA-AB-2918-03A-01W-0745-08	AML	d0833641-77a1-41fd-b635-d216b00d007b
TCGA-AB-2921-03A-01W-0755-09	AML	779697fc-899a-4bfb-a1d3-44a847487b6b
TCGA-AB-2926-03A-01W-0732-08	AML	890ea799-3156-40c3-839c-0c60179006d7
TCGA-AB-2927-03A-01W-0755-09	AML	46bbb19d-2bc9-4f0a-ac4e-cad7327ca142
TCGA-AB-2934-03A-01W-0755-09	AML	7791e140-fe03-44d0-8250-47826ea993df
TCGA-AB-2946-03A-01W-0755-09	AML	f24b41b4-79bf-4736-96c8-83921811bb95
TCGA-AB-2948-03A-01W-0755-09	AML	7b0fb197-8465-430b-9da7-322f2d218729
TCGA-05-4244-01A-01D-1105-08	LUAD	738c514d-ff0f-4220-9326-236119891df5
TCGA-05-4249-01A-01D-1105-08	LUAD	8be717b5-5b65-4631-a175-1f4c063d447e
TCGA-05-4250-01A-01D-1105-08	LUAD	41c4fe84-8beb-4a3a-920c-e74c7edd2182

10

20

30

40

【 0 4 6 5】

【表 1 6 - 4 4】

TCGA-05-4382-01A-01D-1265-08	LUAD	005b918d-e4a9-4971-9588-656a35c33dec
TCGA-05-4384-01A-01D-1753-08	LUAD	4c71b66b-813f-472b-b866-b34b5b9199e7
TCGA-05-4389-01A-01D-1265-08	LUAD	c6f382d4-a522-4333-88b5-be7f55fe80f5
TCGA-05-4390-01A-02D-1753-08	LUAD	d0854b5b-69be-4b84-aa37-ecdd0bc14de9
TCGA-05-4395-01A-01D-1265-08	LUAD	dc45b4de-4c03-4fe4-89e0-d1cf378084b6
TCGA-05-4396-01A-21D-1855-08	LUAD	0176cfd0-0760-4769-a493-277f4bb7585c
TCGA-05-4397-01A-01D-1265-08	LUAD	4b7be121-49af-4a44-95dd-0a487d47228f
TCGA-05-4398-01A-01D-1265-08	LUAD	9e4b2be6-e149-4c22-93e1-512c3c6bbea8
TCGA-05-4402-01A-01D-1265-08	LUAD	75475a84-582d-4949-a428-1e28ad526d8c
TCGA-05-4403-01A-01D-1265-08	LUAD	7e25ac0e-94e4-42f6-ae6f-89d0d21ce09f
TCGA-05-4405-01A-21D-1855-08	LUAD	3ef10eb8-d713-4fda-9e03-bc594b356d77
TCGA-05-4410-01A-21D-1855-08	LUAD	f85d0d42-436b-4251-a7fd-7d0f5fddd397
TCGA-05-4415-01A-22D-1855-08	LUAD	128f52c7-49dc-4a9f-a5bc-1c14684edc9c
TCGA-05-4417-01A-22D-1855-08	LUAD	57e3657d-7a3c-4d80-a2c2-2de0293f5f05
TCGA-05-4418-01A-01D-1265-08	LUAD	b07397ac-592b-4eb4-98b3-7c7e81ecb5e0
TCGA-05-4420-01A-01D-1265-08	LUAD	0536b000-eaf3-4cb2-b46b-8dd9f23c8199
TCGA-05-4422-01A-01D-1265-08	LUAD	a5370f18-e8a9-43d8-9eb8-be678ccd4669
TCGA-05-4424-01A-22D-1855-08	LUAD	fc500ff5-24c8-4965-94da-b4nafafe2dd
TCGA-05-4425-01A-01D-1753-08	LUAD	4a367804-9934-4241-90da-0ba0245564bd
TCGA-05-4426-01A-01D-1265-08	LUAD	117c6aff-8899-48f4-9328-746207d38eff
TCGA-05-4427-01A-21D-1855-08	LUAD	736e0134-8b1a-4ff1-9106-ca09c9812ef6
TCGA-05-4430-01A-02D-1265-08	LUAD	23398531-3f4c-45e6-980b-755165c04974
TCGA-05-4432-01A-01D-1265-08	LUAD	377ab4af-0958-4b8b-ac0c-4cd49c1e4c2e
TCGA-05-4433-01A-22D-1855-08	LUAD	fab4f1ca-1605-4c30-8b3e-badb44eb6580
TCGA-05-4434-01A-01D-1265-08	LUAD	f529778c-5968-4d87-80c0-bd14ba2311d0
TCGA-05-5420-01A-01D-1625-08	LUAD	8371b6a4-ffea-4fe5-b997-76ece85064a7
TCGA-05-5423-01A-01D-1625-08	LUAD	209d853d-6c50-4223-a572-a90d58ae51e
TCGA-05-5425-01A-02D-1625-08	LUAD	70a3e96b-dd26-419c-9a68-97dea0465d6e
TCGA-05-5428-01A-01D-1625-08	LUAD	7744a93b-0565-4d83-afad-caa02358f258
TCGA-05-5429-01A-01D-1625-08	LUAD	37d0cf1b-1743-4852-8073-372b16b5c17d
TCGA-05-5715-01A-01D-1625-08	LUAD	62fda17b-1de0-4b7e-bd28-a6793bc36d37
TCGA-17-Z000-01A-01W-0746-08	LUAD	ba9d9630-fc6c-4ffb-8464-cla2ddec6579
TCGA-17-Z001-01A-01W-0746-08	LUAD	d5e77555-9412-4c64-a6aa-65c996e3d521
TCGA-17-Z003-01A-01W-0746-08	LUAD	443d768f-b871-4149-9ef0-2d49bc0d05a1
TCGA-17-Z004-01A-01W-0746-08	LUAD	cla70a4b-2879-48e8-87e1-b02c57d58705
TCGA-17-Z005-01A-01W-0746-08	LUAD	96b0bb86-6092-47ef-8088-fd0a4f261439
TCGA-17-Z007-01A-01W-0746-08	LUAD	cac5bcd1-f044-4275-89cd-1110d0025537
TCGA-17-Z008-01A-01W-0746-08	LUAD	6b6ddf99-f050-4dfa-85a2-d5a3e3ad56b0
TCGA-17-Z009-01A-01W-0746-08	LUAD	8c5a3460-c1fa-4b7b-9b31-11f9c7b03255
TCGA-17-Z010-01A-01W-0746-08	LUAD	c9fb7916-74d0-4266-b5b8-705018e0e76b
TCGA-17-Z011-01A-01W-0746-08	LUAD	d7495a00-b312-4502-9e1b-9e5f3dbf4b5d

10

20

30

40

【 0 4 6 6 】

【表 1 6 - 4 5】

TCGA-17-Z012-01A-01W-0746-08	LUAD	861e9d45-df9a-41a6-9ddf-bc72f85aed80
TCGA-17-Z013-01A-01W-0746-08	LUAD	ee0cbaf2-a0bb-4e58-9e52-5986b5f4f25e
TCGA-17-Z014-01A-01W-0746-08	LUAD	ca24ac3d-4686-4f0c-a47d-0eff92a623b1
TCGA-17-Z015-01A-01W-0746-08	LUAD	770c22ba-b759-433e-8478-b6cf0d685447
TCGA-17-Z016-01A-01W-0746-08	LUAD	39bbd67b-52fd-46e5-98cf-b5632400216d
TCGA-17-Z017-01A-01W-0746-08	LUAD	37049bfl-55cb-44d3-b673-1e270ea835f7
TCGA-17-Z018-01A-01W-0746-08	LUAD	dd1a61eb-8362-41a9-952d-b7e6887457ad
TCGA-17-Z020-01A-01W-0746-08	LUAD	7ea20aa3-68cf-4389-9ace-99d6149d16c1
TCGA-17-Z021-01A-01W-0746-08	LUAD	9394b536-cd08-414b-86a3-c6491f967709
TCGA-17-Z022-01A-01W-0746-08	LUAD	7f07e5b3-bf70-4690-84ba-a9eace798a24
TCGA-17-Z023-01A-01W-0746-08	LUAD	bd72330a-463f-471b-9eba-2f188524e74c
TCGA-17-Z025-01A-01W-0746-08	LUAD	99eab29e-32d3-49d5-aa30-56de8be556e7
TCGA-17-Z026-01A-01W-0746-08	LUAD	bb048ffe-de00-4706-85bb-d052c0fb6496
TCGA-17-Z027-01A-01W-0746-08	LUAD	880452fe-00ed-4732-bbcf-14b55c235e61
TCGA-17-Z028-01A-01W-0746-08	LUAD	1f55fb6e-342a-41e0-9a8e-7c5156c95eaa
TCGA-17-Z030-01A-01W-0746-08	LUAD	e35e27e8-6cc5-495b-9ae8-89f65d94ebed
TCGA-17-Z031-01A-01W-0746-08	LUAD	6516244a-dfd8-4568-a2d2-7556cbea52b1
TCGA-17-Z032-01A-01W-0746-08	LUAD	92bc438b-02c1-4b81-a90a-4a1302786a81
TCGA-17-Z033-01A-01W-0746-08	LUAD	639aea7c-5a38-4641-bf0d-90a9ce8e2980
TCGA-17-Z035-01A-01W-0746-08	LUAD	a4bcbb2e-594f-4a89-8b72-8c922a64cdef
TCGA-17-Z036-01A-01W-0746-08	LUAD	374b881a-dbe2-4b4b-bfc0-8431f1aec06c
TCGA-17-Z037-01A-01W-0746-08	LUAD	bffe237d-31b0-4950-a7ab-4ac7047aa3c0
TCGA-17-Z038-01A-01W-0746-08	LUAD	8785c362-1c4d-41da-a29e-5cfff21dc2a2e
TCGA-17-Z040-01A-01W-0746-08	LUAD	62d2ca54-b8e0-4907-b75e-cb9786069b52
TCGA-17-Z041-01A-01W-0746-08	LUAD	c0ead7c7-169e-4932-a987-5461611c95e6
TCGA-17-Z042-01A-01W-0746-08	LUAD	3c303c9d-6cda-490d-a64d-21bc40b064f3
TCGA-17-Z043-01A-01W-0746-08	LUAD	577f7267-c568-4002-a153-26c09d1eca97
TCGA-17-Z044-01A-01W-0746-08	LUAD	cb1aaeb8-0c6f-4266-968c-38a3823d85f6
TCGA-17-Z045-01A-01W-0746-08	LUAD	ec7e65c5-7158-427f-8034-8616077da50b
TCGA-17-Z046-01A-01W-0746-08	LUAD	7aac0c3f-39fe-4c9a-9482-50f02f1b919d
TCGA-17-Z047-01A-01W-0747-08	LUAD	2c04cfa8-6e99-46fa-82ad-36fb96e5ffef
TCGA-17-Z048-01A-01W-0746-08	LUAD	8495e150-796b-4e15-9fa6-1fba558d7b10
TCGA-17-Z049-01A-01W-0746-08	LUAD	ac31bcc6-6ccc-43b7-96f2-3ab47050be76
TCGA-17-Z050-01A-01W-0747-08	LUAD	d086dd38-a9e0-466c-b1e5-9a4a879abd55
TCGA-17-Z051-01A-01W-0747-08	LUAD	5584878f-0608-45d9-8e28-29c277bf655f
TCGA-17-Z052-01A-01W-0747-08	LUAD	afd7c82-2a17-4c73-980c-74ec822dc803
TCGA-17-Z053-01A-01W-0747-08	LUAD	2d422986-6e91-4299-b6cf-4076f3706c83
TCGA-17-Z054-01A-01W-0747-08	LUAD	409dd077-dab9-4f79-9c33-2c3b75b63125
TCGA-17-Z055-01A-01W-0747-08	LUAD	de78326d-3afc-4f29-af7f-1750da544826
TCGA-17-Z056-01A-01W-0747-08	LUAD	e6cb3d63-5a55-4eba-84d2-a25917c7b18e
TCGA-17-Z057-01A-01W-0747-08	LUAD	4236905d-1549-4cbc-b3c6-e62db9ea598b

10

20

30

40

【 0 4 6 7】

50

【表 1 6 - 4 6】

TCGA-17-Z058-01A-01W-0747-08	LUAD	6b0b1fca-efce-49d6-9f7b-a2c34bb343e9
TCGA-17-Z059-01A-01W-0747-08	LUAD	88ec6fb4-1b81-422e-8204-ef9e8dbf260c
TCGA-17-Z060-01A-01W-0747-08	LUAD	f834dfa4-8d9c-4e0b-861f-a3cc31245237
TCGA-17-Z061-01A-01W-0747-08	LUAD	1eb07e6e-6cf8-45e4-9b5c-1a9a5d38d117
TCGA-17-Z062-01A-01W-0747-08	LUAD	f3280e5f-7d6e-4a18-a5a5-e84b805c9e66
TCGA-35-3615-01A	LUAD	7407d705-6ec6-4143-93d2-ecedf5a22399
TCGA-35-3621-01A-01D-0969-08	LUAD	4a0cc41a-562c-4aea-a7c3-b1186d46cda8
TCGA-35-4122-01A-01D-1105-08	LUAD	408e1cb4-64a8-4801-bf58-3b8183ede851
TCGA-35-4123-01A-01D-1105-08	LUAD	7ceccaee-df27-4f7f-bfcd-e1c59b365711
TCGA-35-5375-01A-01D-1625-08	LUAD	63e76bef-3ef1-445f-b591-649d774729cd
TCGA-38-4625-01A-01D-1553-08	LUAD	6f317d31-c9a4-4345-b5b1-b75776536402
TCGA-38-4626-01A-01D-1553-08	LUAD	85b56ce7-b420-433e-a77d-43ef628d685c
TCGA-38-4627-01A-01D-1553-08	LUAD	abef97da-d7db-495f-b594-fa66577becd6
TCGA-38-4628-01A-01D-1265-08	LUAD	67bc44b7-92cf-4e8f-a7f6-c53bf34a17c6
TCGA-38-4629-01A-02D-1265-08	LUAD	4797f969-5f4d-4681-9fc5-68f25ba8f4d8
TCGA-38-4630-01A-01D-1265-08	LUAD	2b139bb4-5a29-4684-901d-8d966ff79ac2
TCGA-38-4631-01A-01D-1753-08	LUAD	b3ffc36d-b0b8-4ada-a00a-b48890c0162c
TCGA-38-4632-01A-01D-1753-08	LUAD	83519ed1-29c2-4f1b-922c-5779f64178bc
TCGA-38-6178-01A-11D-1753-08	LUAD	7fa467f1-d928-4d81-bd0b-68d67a5c18cf
TCGA-44-2655-01A	LUAD	9fcabdal-ea79-4188-8b3f-7d0fd060a819
TCGA-44-2656-01A	LUAD	5593f581-3d45-4a4a-a525-bfae1f4753a0
TCGA-44-2657-01A-01D-1105-08	LUAD	e3aa9b45-13b9-4b61-a30f-ae3f88466040
TCGA-44-2661-01A-01D-1105-08	LUAD	3c3a2e7c-9aa0-495e-95c7-87f661b9ed92
TCGA-44-2662-01A	LUAD	d2198941-e96f-40bd-9fbc-82886217d5db
TCGA-44-2665-01A	LUAD	a0863fa6-515c-44fa-825f-f9e243f945f1
TCGA-44-2666-01A	LUAD	27a64f32-69c5-4c49-86b4-c8fc923cae08
TCGA-44-2668-01A	LUAD	dd9a6c68-b8b4-4168-9ff9-72a45f20c44f
TCGA-44-3396-01A-01D-1265-08	LUAD	d68b216c-b304-4b30-9af7-eb3a9a1a55ae
TCGA-44-3398-01A-01D-1105-08	LUAD	82284bb3-2dfa-4016-a908-3b5994e00d31
TCGA-44-3918-01A-01D-1105-08	LUAD	7f456c3f-58e3-43f1-9f76-4422451528a5
TCGA-44-3919-01A	LUAD	9de8d353-3442-41d8-8bfe-a08c4975eaca
TCGA-44-4112-01A	LUAD	6c206676-e511-4281-91f5-bfe91b3279a4
TCGA-44-5643-01A-01D-1625-08	LUAD	44286013-ae97-4890-86d3-1163285ac0cd
TCGA-44-5645-01A-01D-1625-08	LUAD	dac33765-0c88-4a51-8389-c042ccb78c83
TCGA-44-6144-01A-11D-1753-08	LUAD	f19575fd-eb9d-429f-96ce-c0e8f4bbc593
TCGA-44-6145-01A-11D-1753-08	LUAD	220dc947-4afc-4485-bcc7-cea046100b4b
TCGA-44-6146-01A-11D-1753-08	LUAD	d5e90162-d7d2-4a7c-89f0-51c2b32c9ef0
TCGA-44-6147-01A-11D-1753-08	LUAD	7b6daa70-492e-4283-b3d2-b26f4e26a8d4
TCGA-44-6148-01A-11D-1753-08	LUAD	9c7b3ac8-1352-49cd-8a8c-df6b19f6fd64
TCGA-44-6774-01A-21D-1855-08	LUAD	f9ccd71-bece-4693-b953-3e73d1b6c11c
TCGA-44-6775-01A-11D-1855-08	LUAD	7a70a44f-84f3-440a-b898-dc3a0eff748e

10

20

30

40

【 0 4 6 8】

50

【表 1 6 - 4 7】

TCGA-44-6776-01A-11D-1855-08	LUAD	7d3c5101-fae2-4320-a8a2-a93753375368
TCGA-44-6777-01A-11D-1855-08	LUAD	32a0f0f3-3879-4b96-b9bb-eaab87827f6e
TCGA-44-6778-01A-11D-1855-08	LUAD	903182ad-3145-4fa3-869e-62774aedf86c
TCGA-44-6779-01A-11D-1855-08	LUAD	d6990a90-6a99-490b-a476-5298f0c4e4f2
TCGA-49-4486-01A-01D-1265-08	LUAD	3ac132c3-4889-4dc3-8b3d-0ef98065a858
TCGA-49-4487-01A-21D-1855-08	LUAD	9bd8e303-a81e-4ff8-882b-d46a2f7c55d2
TCGA-49-4488-01A-01D-1753-08	LUAD	3635bb9c-a332-4445-ad81-83cec426dd02
TCGA-49-4490-01A-21D-1855-08	LUAD	940455cf-aa91-432a-bc39-9dfba206e32b
TCGA-49-4494-01A-01D-1265-08	LUAD	136bc973-1908-4767-9b22-d43d522b7c71
TCGA-49-4501-01A-01D-1265-08	LUAD	0c53bb1b-5e6f-44a8-97a0-f89d43e0e789
TCGA-49-4505-01A-01D-1265-08	LUAD	e773a2fe-1d80-492d-bba8-105036a14a92
TCGA-49-4506-01A-01D-1265-08	LUAD	d707f8ad-5ea5-493a-a745-9b5dba64f213
TCGA-49-4507-01A-01D-1265-08	LUAD	562a09a1-b491-45c8-a87d-3c2471353c0d
TCGA-49-4510-01A-01D-1265-08	LUAD	b2c12bff-addd-45a2-ada4-c30ac935809c
TCGA-49-4512-01A-21D-1855-08	LUAD	fa6a60f5-8949-4e01-9435-d3117601627f
TCGA-49-4514-01A-21D-1855-08	LUAD	7751af67-1415-475e-8ec5-66d76f515014
TCGA-49-6742-01A-11D-1855-08	LUAD	49dec0c2-8e75-4f44-a253-82b2ea605890
TCGA-49-6743-01A-11D-1855-08	LUAD	545c9d29-a8c0-4d2d-8552-d27b46f96070
TCGA-49-6744-01A-11D-1855-08	LUAD	bf6ba698-7154-4d7f-b076-24ac2f768696
TCGA-49-6745-01A-11D-1855-08	LUAD	bfb97048-977b-4722-be8f-3dd37370ba30
TCGA-49-6767-01A-11D-1855-08	LUAD	9f82f494-042a-4f00-954c-4761fa25b298
TCGA-50-5044-01A-21D-1855-08	LUAD	ec034986-4bf7-4554-b635-ca6d9c30da28
TCGA-50-5045-01A-01D-1625-08	LUAD	b0d734ad-1222-4bc0-b02b-1d2262b8ac35
TCGA-50-5049-01A-01D-1625-08	LUAD	96358297-0735-4eab-a01c-a6be5d86a3de
TCGA-50-5051-01A-21D-1855-08	LUAD	bb50bc27-fb18-4eee-8785-b8e8b69bcbe6
TCGA-50-5055-01A-01D-1625-08	LUAD	12fe153e-a8f7-49ec-9e0c-f680e2311cf6
TCGA-50-5066-01A-01D-1625-08	LUAD	f5a97315-1906-4774-980e-0879c6ad368e
TCGA-50-5068-01A-01D-1625-08	LUAD	c1efdc48-6ea5-45f0-9fa3-94c42ecf3ab4
TCGA-50-5072-01A-21D-1855-08	LUAD	3c6dcba5-1312-40ca-b589-07f7d88b3477
TCGA-50-5930-01A-11D-1753-08	LUAD	bd3c88b3-b37c-4641-85fa-d8125ba324ca
TCGA-50-5931-01A-11D-1753-08	LUAD	290847c6-e9d4-4a16-a70f-0488e3718f35
TCGA-50-5932-01A-11D-1753-08	LUAD	6726c157-f688-491d-8b56-35628645df89
TCGA-50-5933-01A-11D-1753-08	LUAD	cc3a9cfe-8a14-4fb4-a60f-3cc795c5d7a1
TCGA-50-5935-01A-11D-1753-08	LUAD	9570cd02-3339-4805-855a-74ebe429df96
TCGA-50-5936-01A-11D-1625-08	LUAD	82d380d5-4c07-4cf0-a6e9-7ca9e3fc9a08
TCGA-50-5939-01A-11D-1625-08	LUAD	aa9108d7-5036-4059-ad82-dc64161d5bc3
TCGA-50-5941-01A-11D-1753-08	LUAD	86ef12c0-d5fc-4852-9960-593366e717b4
TCGA-50-5942-01A-21D-1753-08	LUAD	95475c1b-086d-4e09-a871-47d8f76c1a07
TCGA-50-5944-01A-11D-1753-08	LUAD	a314ee0c-694b-4ac8-b572-ff1fbbda4765
TCGA-50-5946-01A-11D-1753-08	LUAD	142d43e8-10c1-4945-a37c-f2824d53b122
TCGA-50-6590-01A-12D-1855-08	LUAD	85de182b-f4ae-41e6-b3fb-f60f46c072e4

10

20

30

40

【 0 4 6 9 】

50

【表 1 6 - 4 8】

TCGA-50-6591-01A-11D-1753-08	LUAD	bf7462a2-394f-4838-bcb6-4d0126fa48b1
TCGA-50-6592-01A-11D-1753-08	LUAD	d0303d05-a937-4a7d-9934-ffa93cclc5de
TCGA-50-6593-01A-11D-1753-08	LUAD	10e03053-f6e3-42b7-8638-ce58c6e7dfaa
TCGA-50-6594-01A-11D-1753-08	LUAD	e1365c7d-e93e-4478-a8e9-ae2d7ca30bc6
TCGA-50-6595-01A-12D-1855-08	LUAD	9913e506-fc98-467d-8601-89595d0475e8
TCGA-50-6597-01A-11D-1855-08	LUAD	cd0aead5-93a1-4287-8a88-fe6b7b5e3983
TCGA-55-1592-01A	LUAD	e190a9e4-10ae-4060-n071-4b8b73479023
TCGA-55-1594-01A	LUAD	2885d4b3-34a6-421d-b20c-eadad721d10a
TCGA-55-1595-01A-01D-0969-08	LUAD	flbe8e08-5201-49bb-abf7-ceed0eff06d6
TCGA-55-1596-01A	LUAD	9a7a1b22-9df6-438f-ad00-54755c7dbc7c
TCGA-55-5899-01A-11D-1625-08	LUAD	ddaf36f7-7503-4ab4-b7f5-9777c0c1518c
TCGA-55-6543-01A-11D-1753-08	LUAD	ac7ab3b3-eb76-4da9-bfb3-82b90c8d79d6
TCGA-55-6642-01A-11D-1855-08	LUAD	3c756f7c-d1f0-4ab1-9c9f-41d2282af3bf
TCGA-55-6712-01A-11D-1855-08	LUAD	bc6eaf2b-9ccc-4ac7-9b19-204b0ff420a3
TCGA-64-1676-01A	LUAD	4bdf77d2-33cc-46e0-af34-1e66a90a213a
TCGA-64-1677-01A-01W-0928-08	LUAD	559017d8-4b22-4313-abdd-d3526c889d7f
TCGA-64-1678-01A-01W-0928-08	LUAD	42e3b592-b57f-4b18-8ff2-e7b0a9c0f1db
TCGA-64-1680-01A	LUAD	0bdbc623-cf95-465a-917d-87dfb6a8618e
TCGA-64-5774-01A-01D-1625-08	LUAD	df5957d5-20d3-483e-990b-d6369fb990b8
TCGA-64-5775-01A-01D-1625-08	LUAD	c209d392-7d3a-481c-8cc7-398a6b90290a
TCGA-64-5778-01A-01D-1625-08	LUAD	3c540f87-5981-4b7a-b1ab-30c2056c785e
TCGA-64-5779-01A-01D-1625-08	LUAD	5734711b-52cd-46e6-9c2a-92c0612fce33
TCGA-64-5781-01A-01D-1625-08	LUAD	fb9cfb49-99cf-4f49-8f3d-e25e762eb3ce
TCGA-64-5815-01A-01D-1625-08	LUAD	e800c8d4-786a-4a9d-ace2-2b779336e557
TCGA-67-3770-01A	LUAD	74bcf2d5-fd42-423e-bd96-b2de1b0cf778
TCGA-67-3771-01A	LUAD	b0410cd6-693d-41d6-9dad-d1b1c30bf5cb
TCGA-67-3772-01A-01W-0928-08	LUAD	09226bc4-0202-4405-b3c9-208e8ff67408
TCGA-67-3773-01A	LUAD	e4cb66f4-e847-40bf-af14-20a3867a1c35
TCGA-67-3774-01A	LUAD	b3585415-9ab9-4614-8b15-8ed666efd1dc
TCGA-67-4679-01B-01D-1753-08	LUAD	341bf21e-abd5-498e-8c49-111782af842c
TCGA-67-6215-01A-11D-1753-08	LUAD	68c2a355-862c-4657-b296-5776ed8447b0
TCGA-67-6216-01A-11D-1753-08	LUAD	6dc6da8c-2ecf-412f-b2c4-74529adb7c0f
TCGA-67-6217-01A-11D-1753-08	LUAD	cb98d825-668f-4b16-a05e-501e1c94f3fe
TCGA-71-6725-01A-11D-1855-08	LUAD	3a146eb4-7b9b-4834-b3d0-eac80f9173ec
TCGA-73-4658-01A-01D-1753-08	LUAD	b11151cf-6976-4812-a77e-1a12f9d1245c
TCGA-73-4659-01A-01D-1265-08	LUAD	13989aec-b1a3-47c2-bc8e-ccf55f8e0c11
TCGA-73-4662-01A-01D-1265-08	LUAD	48262c89-ecac-44c6-9a06-7170b7b41058
TCGA-73-4666-01A-01D-1265-08	LUAD	f49fc77e-03cd-423c-b3e1-18bb19568650
TCGA-73-4668-01A-01D-1265-08	LUAD	0fdcb5e9-ada2-4755-ae02-491037ee9c10
TCGA-73-4670-01A-01D-1265-08	LUAD	2aea0652-17ac-4dfa-9358-206d4f24f02f
TCGA-73-4675-01A-01D-1265-08	LUAD	59dad620-51f8-4c12-8b09-e635fbde126e

10

20

30

40

【 0 4 7 0】

【表 16 - 49】

TCGA-73-4676-01A-01D-1753-08	LUAD	ff368c6d-fedb-49cc-b519-7726816aff8d
TCGA-73-4677-01A-01D-1265-08	LUAD	a9c03165-d534-425e-8370-d1f557b82fa2
TCGA-75-5122-01A-01D-1753-08	LUAD	e359b24f-7312-432f-b054-68dedc027df2
TCGA-75-5125-01A-01D-1753-08	LUAD	4cee9575-3040-4ff1-bf7e-ca8873860c59
TCGA-75-5126-01A-01D-1753-08	LUAD	1c1ad138-a59e-4f5d-8382-54c585c9298c
TCGA-75-5146-01A-01D-1625-08	LUAD	965a2bb7-6cd4-4309-beba-51ae74b8a980
TCGA-75-5147-01A-01D-1625-08	LUAD	52910a60-bb15-4ba5-9d09-50d8ee6a445b
TCGA-75-6203-01A-11D-1753-08	LUAD	d9cd7f95-07d3-4b87-be83-87340b08d249
TCGA-75-6205-01A-11D-1753-08	LUAD	79c0e183-95aa-4c37-9b15-8567aa87c93a
TCGA-75-6206-01A-11D-1753-08	LUAD	7a5ca29b-85d3-46b1-a710-6dcd3ce821c8
TCGA-75-6207-01A-11D-1753-08	LUAD	5a49e3fd-a47d-4b7d-9485-4238a88f4516
TCGA-75-6211-01A-11D-1753-08	LUAD	d8c9abbe-b112-4019-a6a3-f582df1379ed
TCGA-75-6212-01A-11D-1753-08	LUAD	0f2af4c9-05a8-4c97-ac2d-af9241b4ea64
TCGA-80-5611-01A-01D-1625-08	LUAD	c9bab512-c5c3-4ad3-a9bf-f5258e405966
TCGA-86-6562-01A-11D-1753-08	LUAD	e48dd11b-89ae-4278-8de0-7956423c8609
TCGA-91-6828-01A-11D-1855-08	LUAD	99f819f2-4340-4303-8ff0-fdb03ef0151a
TCGA-91-6829-01A-21D-1855-08	LUAD	443f5b2d-832e-45cf-bca5-3f064ea3bc50
TCGA-91-6831-01A-11D-1855-08	LUAD	1624af6f-05a6-474c-ba49-9754938979c6
TCGA-91-6835-01A-11D-1855-08	LUAD	8120c5eb-2917-4053-a5e5-aad53ff45da9
TCGA-91-6836-01A-21D-1855-08	LUAD	87045814-366d-4e42-97f2-ad341c620c47
TCGA-18-3406-01A-01D-0983-08	LUSC	d3320989-71fd-425b-933e-6e8528a016ed
TCGA-18-3407-01A-01D-0983-08	LUSC	c5b09119-0237-4804-a4f9-b67d676b8674
TCGA-18-3408-01A-01D-0983-08	LUSC	cab7a425-e081-4bae-b666-6cdf8ba4dd70
TCGA-18-3409-01A-01D-0983-08	LUSC	aa733cb0-37a9-4fef-8d40-d57596ce9e51
TCGA-18-3410-01A-01D-0983-08	LUSC	7e6382c3-368a-43a5-9812-c58f54ccba3f
TCGA-18-3411-01A-01D-0983-08	LUSC	6a9cc303-c7fd-4f40-8933-1636dea99252
TCGA-18-3412-01A-01D-0983-08	LUSC	84aca315-8380-4625-887f-a8b3c704c0a9
TCGA-18-3414-01A-01D-0983-08	LUSC	239dccc9-2791-4163-b777-fdf8c49c9c33
TCGA-18-3415-01A-01D-0983-08	LUSC	ad0365d1-10b1-41e6-b838-9c5794b9ad42
TCGA-18-3416-01A-01D-0983-08	LUSC	e03577e7-37be-460b-96e8-5f6e0b49b3aa
TCGA-18-3417-01A-01D-1441-08	LUSC	024d8a82-06c5-4b82-9a27-c52bc4fd450a
TCGA-18-3419-01A-01D-0983-08	LUSC	c75ed357-d845-4443-8c9e-a2afa8ed30df
TCGA-18-3421-01A-01D-0983-08	LUSC	9fd0e482e-e72d-4c57-b4f7-4580edabd390
TCGA-18-4083-01A-01D-1352-08	LUSC	0b87a82d-096c-4dd7-80c4-b4054fc1eba2
TCGA-18-4086-01A-01D-1352-08	LUSC	9bbdf36b-6804-416f-977d-fce772972bcc
TCGA-18-4721-01A-01D-1441-08	LUSC	d2ab2555-7288-47a4-a80c-bf62d65b67b8
TCGA-18-5592-01A-01D-1632-08	LUSC	1a6da454-8faf-4725-a702-55d29da461a5
TCGA-18-5595-01A-01D-1632-08	LUSC	973b8ed8-2295-4fb0-b857-f4433dfc785a
TCGA-21-1070-01A-01D-1521-08	LUSC	9e300205-b16d-4f40-bf1b-f47410678f6d
TCGA-21-1071-01A-01D-1521-08	LUSC	e01302f9-c5d6-4745-9c5d-d8bb8d278a77
TCGA-21-1076-01A-02D-1521-08	LUSC	504d4cb0-d2dd-420d-82e6-9ec14434a0fc

10

20

30

40

【 0 4 7 1 】

【表 1 6 - 5 0】

TCGA-21-1077-01A-01D-1521-08	LUSC	a71d74cb-5b10-4787-a654-7049cbb49a92
TCGA-21-1078-01A-01D-1521-08	LUSC	8cf9b32d-3d6f-4898-8c7a-89511b754021
TCGA-21-1081-01A-01D-1521-08	LUSC	811f7a11-635c-4606-91fd-3729b97ffd8e
TCGA-21-5782-01A-01D-1632-08	LUSC	4c2ad4a0-5d57-4e27-9f35-058b2f205f50
TCGA-21-5784-01A-01D-1632-08	LUSC	f79285af-c364-4ec3-97d3-70a7d9b5800b
TCGA-21-5786-01A-01D-1632-08	LUSC	d7404e0f-d171-419b-97d3-807570aba129
TCGA-21-5787-01A-01D-1632-08	LUSC	7cb79e4b-c1f1-434d-b13b-6c2eb7760ee8
TCGA-22-0944-01A-01D-1521-08	LUSC	818a6f09-a7fd-4cce-8373-adb4bcb5bc8c
TCGA-22-1002-01A-01D-1521-08	LUSC	7c7604fe-8321-46cb-ac34-0e7994b8853b
TCGA-22-1011-01A-01D-1521-08	LUSC	c9924f9f-fd86-434c-a83d-393d65272e64
TCGA-22-1012-01A-01D-1521-08	LUSC	3b75368a-d57f-4787-a0ef-3f478c7d22bc
TCGA-22-1016-01A-01D-1521-08	LUSC	935b113e-f5ed-4a07-8e1d-1603daba7f40
TCGA-22-4591-01A-01D-1267-08	LUSC	bcfb93d4-8653-477b-b5d2-c2832a0e3d92
TCGA-22-4593-01A-21D-1817-08	LUSC	b4a48075-92fd-43ab-95f3-476bcea88d7b
TCGA-22-4595-01A-01D-1267-08	LUSC	7fcf5123-2d1b-4666-9d39-a1aaf63cf954
TCGA-22-4599-01A-01D-1441-08	LUSC	08732b51-8ec8-4888-b0c8-a0cb83181cb9
TCGA-22-4601-01A-01D-1441-08	LUSC	6c05b3f5-65e9-4e7d-9f99-a694006f2ed0
TCGA-22-4604-01A-01D-1267-08	LUSC	db2614fb-109c-4ce1-af4c-f648a0d417fb
TCGA-22-4607-01A-01D-1267-08	LUSC	d8c6bb83-cbdd-4547-9077-3eba5c8bb9f0
TCGA-22-4613-01A-01D-1441-08	LUSC	5d1d538a-57d3-42ec-9fa3-0fad10b0f52f
TCGA-22-5471-01A-01D-1632-08	LUSC	665e98bf-6163-4d18-9665-ba93df9ecf6d
TCGA-22-5472-01A-01D-1632-08	LUSC	be780766-483f-42f5-b0d0-11d23a940156
TCGA-22-5473-01A-01D-1632-08	LUSC	c107ca1d-5e35-470a-8c39-80dc7624e306
TCGA-22-5474-01A-01D-1632-08	LUSC	1eda33fc-80e5-4c5f-8c61-43976ea0106f
TCGA-22-5477-01A-01D-1632-08	LUSC	c7ebc6fb-0926-4c8a-a67b-0c6b9c1ffaba
TCGA-22-5478-01A-01D-1632-08	LUSC	0ac704eb-d722-4c27-bfb4-fea6ca7af240
TCGA-22-5480-01A-01D-1632-08	LUSC	24e426fb-219a-4a4d-a45c-c9b0896d0e88
TCGA-22-5482-01A-01D-1632-08	LUSC	b57c316e-1cae-4286-bdbb-8b65c020b3fa
TCGA-22-5485-01A-01D-1632-08	LUSC	448af8b4-e071-48b0-a65b-b4ad17afdc0c
TCGA-22-5489-01A-01D-1632-08	LUSC	c4eb6681-7ec3-4688-b06a-c47a0043f3fb
TCGA-22-5491-01A-01D-1632-08	LUSC	ed4b5a8c-1dae-41a3-8a2a-f54fa51be4b8
TCGA-22-5492-01A-01D-1632-08	LUSC	abc94013-71f5-4ac6-88a4-01b4ef9f9d2f
TCGA-33-4532-01A-01D-1267-08	LUSC	c8baeba2-2a73-41d7-9226-b89a8f42e18f
TCGA-33-4533-01A-01D-1267-08	LUSC	52b8c7c1-2cfe-410d-a738-1dec43109e24
TCGA-33-4538-01A-01D-1267-08	LUSC	e04814f8-a51f-4b6b-a4e9-bd8d2291817c
TCGA-33-4547-01A-01D-1267-08	LUSC	7e622fc2-06c5-4686-a885-e407725c2f08
TCGA-33-4566-01A-01D-1441-08	LUSC	ddd84ea3-dd5c-4f95-97c3-84c107c19cad
TCGA-33-4582-01A-01D-1441-08	LUSC	4cb06585-62f9-4aae-969a-2085b4d514c3
TCGA-33-4583-01A-01D-1441-08	LUSC	fb901997-6e46-436f-ad34-74aad344245
TCGA-33-4586-01A-01D-1441-08	LUSC	e6bf4288-9fdd-4c56-b6d2-fa2f5ee542b6
TCGA-33-6737-01A-11D-1817-08	LUSC	3b21ce38-16c6-4c68-9104-fa11f1b619b1

10

20

30

40

【 0 4 7 2】

【表 1 6 - 5 1】

TCGA-34-2596-01A-01D-1522-08	LUSC	66e35f68-f4db-46ce-876c-e770ea616ef3
TCGA-34-2600-01A-01D-1522-08	LUSC	167e0f4e-e7d3-4942-885a-cf06419bbe6d
TCGA-34-2608-01A-02D-1522-08	LUSC	3c90209b-b6f6-40b2-a374-6cd37d6d3895
TCGA-34-5231-01A-21D-1817-08	LUSC	c9862ed2-4ba6-434d-a205-b1bda292d218
TCGA-34-5232-01A-21D-1817-08	LUSC	f32fff2f-0bbf-475f-b088-3f1699203c31
TCGA-34-5234-01A-01D-1632-08	LUSC	7b19ae84-2cab-47e7-87df-46c497da17e0
TCGA-34-5236-01A-21D-1817-08	LUSC	46cb2de7-bbe1-4444-b17e-4c5677a05249
TCGA-34-5239-01A-21D-1817-08	LUSC	6e596912-2146-4c4f-97b6-70b610f5d4b4
TCGA-34-5240-01A-01D-1441-08	LUSC	4c3840df-9824-40db-879e-6d24adc8c155
TCGA-34-5241-01A-01D-1441-08	LUSC	0bcdbc37-cde8-47df-9184-621b2b47da5b
TCGA-34-5927-01A-11D-1817-08	LUSC	d717b13a-e487-4cad-9aae-4b0d649236c4
TCGA-34-5928-01A-11D-1817-08	LUSC	9e2d032e-f982-44fc-b6e0-3be82f029689
TCGA-34-5929-01A-11D-1817-08	LUSC	a25de54e-c13d-4973-864a-e307fbc7324a
TCGA-37-3783-01A-01D-1267-08	LUSC	711e9b21-bd8c-4058-a0ce-5ff4dc23b527
TCGA-37-3789-01A-01D-0983-08	LUSC	d732196f-ef85-43ea-aac7-7c9060bf19c5
TCGA-37-4133-01A-01D-1352-08	LUSC	a678cc49-9009-4027-826f-e17f4533538d
TCGA-37-4135-01A-01D-1352-08	LUSC	754dda66-fceb-4f63-bc99-c98aaa86b0c2
TCGA-37-4141-01A-02D-1352-08	LUSC	3d4f4555-d71a-4c7d-8667-c42dcc20c076
TCGA-37-5819-01A-01D-1632-08	LUSC	edf2a2c0-3829-4da2-8960-598fbd5c4c07
TCGA-39-5016-01A-01D-1441-08	LUSC	d63a0a46-7676-40f5-8e03-b8317d243c73
TCGA-39-5019-01A-01D-1817-08	LUSC	6aecdd71e-84f1-4b4d-bff6-edc33026f58b
TCGA-39-5021-01A-01D-1441-08	LUSC	4d8b4c6f-e6eb-4799-b64d-119afc691e3d
TCGA-39-5022-01A-21D-1817-08	LUSC	f60928ab-0cb1-4483-8d61-48a5333defbf
TCGA-39-5024-01A-21D-1817-08	LUSC	388478e9-8c1f-43f8-88c4-811bf3cc2500
TCGA-39-5027-01A-21D-1817-08	LUSC	32c14926-b510-4714-90b2-b0bd68569cd4
TCGA-39-5028-01A-01D-1441-08	LUSC	015b9329-ecf2-4410-b7b6-f9313b5d2adb
TCGA-39-5029-01A-01D-1441-08	LUSC	aa02c83c-7ef0-400d-bd8d-729dacda6352
TCGA-39-5030-01A-01D-1441-08	LUSC	9e7b63f2-6080-4bb0-b45d-a0d40dffcb0
TCGA-39-5031-01A-01D-1441-08	LUSC	3eab4096-8c8e-459d-a2bb-6ef03f414315
TCGA-39-5035-01A-01D-1441-08	LUSC	035fe73e-56b4-4afe-b70e-dd3c34027f2d
TCGA-39-5036-01A-01D-1441-08	LUSC	a1aa5fba-f179-4777-8d49-345a366d12fa
TCGA-39-5037-01A-01D-1441-08	LUSC	825bd82c-f8f8-4776-a7f5-713b3a574955
TCGA-39-5039-01A-01D-1441-08	LUSC	0c14e914-abd4-4406-bc82-a810b10a1320
TCGA-43-2578-01A-01D-1522-08	LUSC	7ce90b30-d372-4edb-9807-b71cb5eb4cb7
TCGA-43-3394-01A-01D-0983-08	LUSC	bb72e789-f8ad-4ab5-805b-a9ac21cef0e3
TCGA-43-3920-01A-01D-0983-08	LUSC	a97333f4-d289-493f-8dff-88e52719fa86
TCGA-43-5668-01A-01D-1632-08	LUSC	f01dfe80-ae9-44f6-b32d-3591fbc3c0f5
TCGA-43-6143-01A-11D-1817-08	LUSC	3874253f-7168-4cd6-b1d6-f426fa207313
TCGA-43-6647-01A-11D-1817-08	LUSC	90b97948-26f7-4431-be89-af8c432baae0
TCGA-43-6770-01A-11D-1817-08	LUSC	404ca8c2-f1bb-4749-8abd-87f491a8111c
TCGA-43-6771-01A-11D-1817-08	LUSC	20735861-1f84-4141-a467-f598108e1e41

10

20

30

40

【 0 4 7 3】

【表 1 6 - 5 2】

TCGA-46-3765-01A-01D-0983-08	LUSC	6c4bb09f46e8-4a42-bf4f-8bad5316603d
TCGA-46-3766-01A-01D-0983-08	LUSC	0a691892-2209-4f3c-ab16-c2560e4928b4
TCGA-46-3767-01A-01D-0983-08	LUSC	db4ea3ec-e926-4e75-a97b-a527c101b3b9
TCGA-46-3768-01A-01D-0983-08	LUSC	30666313-cc29-4f6c-8308-b04fb932083c
TCGA-46-3769-01A-01D-0983-08	LUSC	108a1360-a545-4573-a775-49b3420814e2
TCGA-46-6025-01A-11D-1817-08	LUSC	767a9ae0-2aa4-467b-b9c3-fb3bf701b642
TCGA-46-6026-01A-11D-1817-08	LUSC	42a4a60c-257c-4bf6-a9ba-6f162dbca94a
TCGA-51-4079-01A-01D-1458-08	LUSC	0a43aade-225c-4a29-b1d8-6b930eb8a1db
TCGA-51-4080-01A-01D-1458-08	LUSC	2498ada2-b8d3-4220-8283-45af67a8119a
TCGA-51-4081-01A-01D-1458-08	LUSC	1492c429-1041-4d86-9358-c9b9babd1401
TCGA-56-1622-01A-01D-1521-08	LUSC	0bbc7ede-5022-4084-925c-d65baaf7abc2
TCGA-56-5897-01A-11D-1632-08	LUSC	056acb55-f3ba-4ce0-9735-3cfe6516df55
TCGA-56-5898-01A-11D-1632-08	LUSC	aaf47efe-4a0a-40d1-b70f-9c9168cbdae0
TCGA-56-6545-01A-11D-1817-08	LUSC	16756a08-8308-4ad3-9e21-2cea0cd7028e
TCGA-56-6546-01A-11D-1817-08	LUSC	87e71949-5bd9-458c-95f7-4b19882c2b4f
TCGA-60-2698-01A-01D-1522-08	LUSC	2045c788-9ea8-4ea5-a5e3-65fc16a62adb
TCGA-60-2707-01A-01D-1522-08	LUSC	5d1fa470-2789-4576-9743-0362af682c1d
TCGA-60-2708-01A-01D-1522-08	LUSC	a371189b-5808-4408-824e-8dacc925cc5
TCGA-60-2709-01A-21D-1817-08	LUSC	4f321c92-ae27-4253-bd8b-4505ba8c7dc4
TCGA-60-2710-01A-01D-1522-08	LUSC	faecb1fe-b4ef-434d-818e-81ad2167dd25
TCGA-60-2711-01A-01D-1522-08	LUSC	2ed85cc9-31bc-4cea-9e54-13b7c0e645fa
TCGA-60-2712-01A-01D-1522-08	LUSC	6662dd1b-3e4f-4b7a-b603-cfa7fd92fc30
TCGA-60-2713-01A-01D-1522-08	LUSC	79eb7bba-f0d8-462c-add7-20a2fb7843e1
TCGA-60-2715-01A-01D-1522-08	LUSC	8e05a30d-2177-45e0-90fd-8c5961268c39
TCGA-60-2719-01A-01D-1522-08	LUSC	ee6cc68e-8d2a-41ee-82c6-0fecdf7e6259
TCGA-60-2720-01A-01D-1522-08	LUSC	3b435ddf-a496-40a2-82c8-6b10391aac5d
TCGA-60-2721-01A-01D-1522-08	LUSC	8defff62-9395-47cb-bb19-4b8487d9ea8e
TCGA-60-2722-01A-01D-1522-08	LUSC	eb955f72-83bf-4635-a7ed-89e4d66e08f4
TCGA-60-2723-01A-01D-1522-08	LUSC	8a6aa45a-ef6d-4005-b7c9-e15240dc6dd4
TCGA-60-2724-01A-01D-1522-08	LUSC	387c6519-6529-4074-a5ab-00f8052a5732
TCGA-60-2725-01A-01D-1267-08	LUSC	f3ed705b-e5aa-4756-9794-e4b85303693a
TCGA-60-2726-01A-01D-1522-08	LUSC	a96cddfc-3afb-4bf8-a440-c91778113fbd
TCGA-63-5128-01A-01D-1441-08	LUSC	d3b9b51e-eeea-4355-829d-ee35bdd2cf5b
TCGA-63-5131-01A-01D-1441-08	LUSC	b290a86e-22da-4f10-a421-2616bb47bc1b
TCGA-63-6202-01A-11D-1817-08	LUSC	a3c568a6-0c43-47a7-a35a-3225fedeeb44
TCGA-66-2727-01A-01D-0983-08	LUSC	c2b2c909-1461-42ce-8fd9-736147dcacd8
TCGA-66-2734-01A-01D-0983-08	LUSC	9f7a24a2-10e2-4039-nd27-13d7ec28ff36
TCGA-66-2742-01A-01D-0983-08	LUSC	07047a99-45bd-4df6-ad6f-934a48e8e213
TCGA-66-2744-01A-01D-0983-08	LUSC	43be1a37-b18e-4e96-89e6-ed6ee1d8e65a
TCGA-66-2754-01A-01D-0983-08	LUSC	c34a64c8-3746-44f8-a7ee-77f502b6256c
TCGA-66-2755-01A-01D-1522-08	LUSC	177d64a9-65dc-4aa1-8774-bd8208e40f04

10

20

30

40

【 0 4 7 4】

【表 1 6 - 5 3】

TCGA-66-2756-01A-01D-1522-08	LUSC	472e95e6-ecb-4988-be16-fdacc73b2cd8
TCGA-66-2757-01A-01D-1522-08	LUSC	1886cba0-4662-4342-84ac-96af0beb2393
TCGA-66-2758-01A-02D-1522-08	LUSC	71c4e854-a704-4787-a37a-fa6642ca5dac
TCGA-66-2759-01A-01D-1522-08	LUSC	fec0a2b-d176-438a-be95-306f453fde40
TCGA-66-2763-01A-01D-1522-08	LUSC	d6493c56-5322-4961-a693-8e8a62b0f7f1
TCGA-66-2765-01A-01D-1522-08	LUSC	85d7e094-ca96-4090-83aa-2f318ae6e954
TCGA-66-2766-01A-01D-1522-08	LUSC	452b75d0-1818-46aa-8804-9cfc0bd66449
TCGA-66-2767-01A-01D-1522-08	LUSC	ca748128-272c-4fad-9a1f-01328b93b3f4
TCGA-66-2768-01A-01D-1522-08	LUSC	5d458cef-965d-4d27-b754-31df67ed6eaa
TCGA-66-2770-01A-01D-1522-08	LUSC	e417903d-ab76-44f0-aae9-3a91fa9a8d3c
TCGA-66-2771-01A-01D-0983-08	LUSC	58c73372-223f-400a-a2df-073a78c58b62
TCGA-66-2773-01A-01D-1267-08	LUSC	fb0b515b-afc4-40c3-abe6-e90c442f0249
TCGA-66-2777-01A-01D-1267-08	LUSC	2ea52fb8-d7c9-48ce-9aef-50df7c42e5d5
TCGA-66-2778-01A-02D-1522-08	LUSC	5215060d-5ffd-49f3-a7a7-73167e7a74a
TCGA-66-2780-01A-01D-1522-08	LUSC	d088bd17-a1a0-4bd9-hfe1-d57b5725c53b
TCGA-66-2781-01A-01D-1522-08	LUSC	bfb33630-c8a8-4ec4-9eee-8bef349339ea
TCGA-66-2782-01A-01D-1522-08	LUSC	640ff507-203c-45aa-8bc1-030ee8639b5d
TCGA-66-2783-01A-01D-1267-08	LUSC	f574d3b7-4ae4-49bc-9e05-f965fbc86119
TCGA-66-2785-01A-01D-1522-08	LUSC	57debe39-f57d-400a-a860-3de357d6bec1
TCGA-66-2786-01A-01D-1522-08	LUSC	999a6582-33cf-47ca-b268-9b2dal02e99b
TCGA-66-2787-01A-01D-0983-08	LUSC	c59e5971-e243-4b00-b5f0-f4bca18530d6
TCGA-66-2788-01A-01D-0983-08	LUSC	2466d424-98bb-4380-9967-36abaa0e69d7
TCGA-66-2789-01A-01D-0983-08	LUSC	fab8faeb-35b3-42f0-b0af-4dfb1325a21a
TCGA-66-2791-01A-01D-0983-08	LUSC	dd468431-2fa4-45ab-be1f-90671891c5c4
TCGA-66-2792-01A-01D-0983-08	LUSC	b704a17a-9ee9-4555-b2bb-250ac1ec5bed
TCGA-66-2793-01A-01D-1267-08	LUSC	7dc5f8ba-0080-43d3-8426-bd527a970761
TCGA-66-2794-01A-01D-1267-08	LUSC	2c58fa70-8fef-4a49-8cde-bfdc92e77919
TCGA-66-2795-01A-02D-0983-08	LUSC	73825564-8731-4137-972a-330490aceadc
TCGA-66-2800-01A-01D-1267-08	LUSC	803ec3a5-4347-41c3-a7b6-7eb00427a48c
TCGA-70-6722-01A-11D-1817-08	LUSC	e81f1bb5-2d06-44b3-998a-e7a0b818467c
TCGA-70-6723-01A-11D-1817-08	LUSC	7483ea9f-8587-41e7-9ae5-d9223b76f33e
TCGA-85-6175-01A-11D-1817-08	LUSC	2ba53bf0-a4e1-4b46-b258-610522aac7ee
TCGA-85-6560-01A-11D-1817-08	LUSC	a5a156b8-2c8a-4ed0-8bae-b60cdc95698f
TCGA-85-6561-01A-11D-1817-08	LUSC	fSaa0f1c-dai9-4c04-b695-01ed5b20e79e
TCGA-04-1332-01A-01W-0488-09	OV	b52e5d90-dc57-438c-9c38-e043308c24ac
TCGA-04-1336-01A-01W-0488-09	OV	586101df-93c9-4d0b-ba0e-58df7a2f9598
TCGA-04-1343-01A-01W-0488-09	OV	fbbc3d80-aff2-463e-8eb3-c4361ad7cb98
TCGA-04-1346-01A-01W-0488-09	OV	9f494df7-f64f-4935-ae42-ceb0b94624dc
TCGA-04-1347-01A-01W-0488-09	OV	21b50b8c-781a-4e15-a4ad-715f416f0fa2
TCGA-04-1348-01A-01W-0494-09	OV	1f4dee42-8f3d-4307-b6e5-3381d77d201c
TCGA-04-1349-01A-01W-0494-09	OV	e456f707-f0a0-4624-98bc-e9dfe779182b

10

20

30

40

【 0 4 7 5 】

【表 1 6 - 5 4】

TCGA-04-1361-01A-01W-0494-09	OV	0fc567bd-2201-4f3d-820e-2c0dbc58da6f
TCGA-04-1362-01A-01W-0494-09	OV	830e207f-458e-4628-b7bc-287c2f2e12e5
TCGA-04-1542-01A-01W-0553-09	OV	317a63af-e862-43df-8ef5-7c555b2cb678
TCGA-09-0366-01A-01W-0372-09	OV	62269d21-50dc-42b0-b1e4-75ed8010080a
TCGA-09-0369-01A-01W-0372-09	OV	633f5c4d-c224-404c-9f68-24daafd1fc84
TCGA-10-0930-01A-02W-0421-09	OV	ec98ed86-1d2f-4e54-b2d4-5976469b0b88
TCGA-10-0933-01A-01W-0421-09	OV	3ec4215f-b57d-4ac7-b247-55ea1f7e97d3
TCGA-10-0935-01A-03W-0421-09	OV	af0edbfa-9d90-4373-a9ce-0875ebbe1d04
TCGA-13-0723-01A-02W-0372-09	OV	6f9e5a76-5d2a-4bb0-babf-3f365a177236
TCGA-13-0724-01A-01W-0372-09	OV	2b6aa1c8-5150-4d8f-af59-d5a826321308
TCGA-13-0726-01A-01W-0372-09	OV	201415c2-5b5a-4bb8-8005-bf2c78d4d88e
TCGA-13-0755-01A-01W-0372-09	OV	9bd227fa-e52a-4805-bd04-ad63df0930af
TCGA-13-0760-01A-01W-0372-09	OV	5181630f-246a-4cb4-88c2-1534b5fb8c37
TCGA-13-0765-01A-01W-0372-09	OV	5bcfe3ea-d95e-47ff-9718-6b123d3acaef
TCGA-13-0791-01A-01W-0372-09	OV	70f63e2f-9bc6-4ed9-8d91-f1889287d7b7
TCGA-13-0795-01A-01W-0372-09	OV	b266a007-694a-4580-ad67-48b0f709bc43
TCGA-13-0800-01A-01W-0372-09	OV	757862e3-0392-4e05-a242-25e3d2094ee8
TCGA-13-0804-01A-01W-0372-09	OV	7f39610d-45b8-45ae-806e-16b7acebafa6
TCGA-13-0807-01B-02W-0421-09	OV	f80466d9-6cc8-461b-acc2-addee22bd42a
TCGA-13-0884-01B-01W-0494-09	OV	c5f0aa38-556b-401c-b4da-ac82cdc2e637
TCGA-13-0885-01A-02W-0421-09	OV	a530d9a9-b21e-47be-b4d8-1707b71f360a
TCGA-13-0887-01A-01W-0421-09	OV	e05146f2-688d-416b-a992-e2c7a2b7b244
TCGA-13-0890-01A-01W-0421-09	OV	15b867fb-7a7b-4158-9abd-91870ba77eb7
TCGA-13-0893-01B-01W-0494-09	OV	a335ab49-84b7-4d3b-a03d-9c3931904ca5
TCGA-13-0894-01B-01W-0494-09	OV	eb57990e-702f-4fac-9ef5-7447ecb45cec
TCGA-13-0897-01A-01W-0421-09	OV	f48ed68f-a833-4b78-971a-3c746c563d24
TCGA-13-0903-01A-01W-0421-09	OV	854167b5-03ab-4867-af34-9c92e385822e
TCGA-13-0910-01A-01W-0421-09	OV	26cebe0b-b7a7-431c-bc12-7fda22af72f3
TCGA-13-0912-01A-01W-0421-09	OV	517f4d7f-c962-414f-8824-f2a7ae19cb6d
TCGA-13-0920-01A-01W-0421-09	OV	2e28969b-c9a9-41ec-80bf-f583197b7f92
TCGA-13-0924-01A-01W-0421-09	OV	510dda3c-6a1f-4781-972f-c9c270608c72
TCGA-13-1403-01A-01W-0494-09	OV	acbc77ba-7cc0-4af2-9ab6-0c835ce33998
TCGA-13-1404-01A-01W-0494-09	OV	692e4b24-daf0-4771-b4a6-b0599f122ad8
TCGA-13-1405-01A-01W-0494-09	OV	c0d1de72-4cce-4d74-93f0-29c462dc1426
TCGA-13-1411-01A-01W-0494-09	OV	e254d7f4-1cdf-4054-9ca6-9fe058a05484
TCGA-13-1412-01A-01W-0494-09	OV	f7edafe2-3eab-4bac-9d25-ed5c223b4aee
TCGA-13-1481-01A-01W-0549-09	OV	f9eab025-5518-4240-b1a8-19f8ff8354f0
TCGA-13-1482-01A-01W-0549-09	OV	a68927d4-e827-49c9-9c3a-23ce0543261b
TCGA-13-1483-01A-01W-0549-09	OV	52280c07-44f5-4e9c-8601-7455b5b0de7a
TCGA-13-1488-01A-01W-0549-09	OV	886a8c10-63cf-4cb2-83d2-5a99bbda193d
TCGA-13-1489-01A-01W-0549-09	OV	395c1d93-7216-4c9d-bfad-26ff95fb8afe

10

20

30

40

【 0 4 7 6 】

50

【表 1 6 - 5 5】

TCGA-13-1491-01A-01W-0549-09	OV	fb7d1c2b-3e87-4d05-a58b-92d0e1016986
TCGA-13-1497-01A-01W-0549-09	OV	04e814c6-ea28-4ade-bc8f-a618552943da
TCGA-13-1498-01A-01W-0549-09	OV	b00d9680-4099-43fe-87de-b3cc8b9e70c8
TCGA-13-1499-01A-01W-0549-09	OV	b4ce07b1-677c-4a9c-8f8e-2b7762487692
TCGA-13-1506-01A-01W-0549-09	OV	7534b542-88f8-445c-ae4a-9f44fb6798a8
TCGA-13-1507-01A-01W-0549-09	OV	5423db1a-5b59-4a5b-a676-00a54570b04a
TCGA-13-1509-01A-01W-0549-09	OV	4d3fab96-bc22-48d0-a3ef-1844ad894d0f
TCGA-23-1021-01B-01W-0488-09	OV	4f14d366-4750-471f-98a1-a01934365ee1
TCGA-23-1022-01A-02W-0488-09	OV	160a0e7d-315e-4de3-a7d4-928412fd909c
TCGA-23-1117-01A-02W-0488-09	OV	3a4b0c6a-1f43-437c-b715-fe50c1c0303d
TCGA-23-1118-01A-01W-0488-09	OV	00c41845-6b48-40fa-82e9-1b436e7d91c3
TCGA-23-1123-01A-01W-0488-09	OV	22cfe2c8-5e1f-4b64-854d-2a7a02bf10fe
TCGA-23-1124-01A-01W-0488-09	OV	8a4061a0-77f2-4bb4-a3da-9b3d9f0314b9
TCGA-24-0966-01A-01W-0977-09	OV	dc069342-661a-4012-9bda-0c67469e117d
TCGA-24-0980-01A-01W-0421-09	OV	87d32a92-a8d2-4656-a100-798328338486
TCGA-24-0982-01A-01W-0488-09	OV	7667c0e6-e44a-448f-b118-6e2171a99b6c
TCGA-24-1103-01A-01W-0488-09	OV	47b7427c-a91a-4872-bc08-50c07ba60512
TCGA-24-1104-01A-01W-0488-09	OV	9cdb7821-fe43-46cd-94f3-b9d68b9ce21f
TCGA-24-1413-01A-01W-0494-09	OV	1b2d2cde-4553-472e-82f1-8224745ac1eb
TCGA-24-1416-01A-01W-0549-09	OV	21f5e805-c0b4-487b-9ccd-02963e2369ff
TCGA-24-1417-01A-01W-0549-09	OV	f6f43d04-a9e3-48c8-a276-3bebc4f16d7
TCGA-24-1418-01A-01W-0549-09	OV	6093bc5-4889-4cb9-9b01-e4e4278e72aa
TCGA-24-1424-01A-01W-0549-09	OV	2849f3e8-85d8-4d42-953b-3190b0ca98fc
TCGA-24-1425-01A-02W-0553-09	OV	f8d4c37d-5b4d-4f5a-8022-7da2b32cclb0
TCGA-24-1426-01A-01W-0549-09	OV	063f8696-2c9d-4af4-a863-df10c42a5ea8
TCGA-24-1427-01A-01W-0549-09	OV	6511d3d4-722c-4702-a644-29bb98e5e5c3
TCGA-24-1428-01A-01W-0549-09	OV	52866517-eddf-4d63-a121-a296d6b2d264
TCGA-24-1435-01A-01W-0549-09	OV	28d236f6-dddc-48c2-be30-b1568a4d6055
TCGA-24-1436-01A-01W-0549-09	OV	adef0f5-d2a3-41c5-a509-298f702266bb
TCGA-24-1463-01A-01W-0549-09	OV	c01ca9e7-ee9b-4698-8e4d-920ad7bfe5f
TCGA-24-1464-01A-01W-0549-09	OV	01ec3cbb-c68a-4874-b396-f5e34876e04a
TCGA-24-1469-01A-01W-0553-09	OV	990c4b9d-608d-4b85-959c-5cc12f4c10fc
TCGA-24-1470-01A-01W-0553-09	OV	1d2bf111-910b-4ce9-8638-ab992b414e65
TCGA-24-1549-01A-01W-0553-09	OV	b2e252bd-895f-4b28-9367-dd527331010f
TCGA-24-1562-01A-01W-0553-09	OV	5e49bcea-9c1d-4cfd-a64c-4b84859bdda5
TCGA-24-1563-01A-01W-0553-09	OV	b6c46b53-f94d-4936-9005-518c8f1c1449
TCGA-24-1616-01A-01W-0553-09	OV	c464b2f6-9cfe-463a-b5e3-9a76cd4480c5
TCGA-25-1315-01A-01W-0494-09	OV	52f45b5c-af86-454c-be63-a56c6c21b730
TCGA-25-1316-01A-01W-0494-09	OV	d75a0b16-04e4-4ba3-a695-132c5ace698b
TCGA-25-1322-01A-01W-0494-09	OV	626f1798-fb15-4b01-8d8f-db19777d72e9

10

20

30

40

【 0 4 7 7 】

【表 1 6 - 5 6】

TCGA-AF-3913-01A-02W-1073-09	READ	4e6c7cf9-cc4f-485d-9332-ca9b536e38e2
TCGA-AG-3887-01A-01W-1073-09	READ	6d2de0f5-e812-4d3f-903b-7febdcfcd2f7
TCGA-AG-3890-01A-01W-1073-09	READ	042e984f-c106-4b23-9908-5abaf407e694
TCGA-AG-3892-01A-01W-1073-09	READ	26acdae6-b01a-4dbd-b0b8-f6d97fe01808
TCGA-AG-3893-01A-01W-1073-09	READ	0faa6d28-c01c-4847-9552-912733485610
TCGA-AG-3894-01A-01W-1073-09	READ	e508d0c8-cdaf-463f-bb03-47af1bc41866
TCGA-AG-3896-01A-01W-1073-09	READ	22c7d09a-e69b-44be-8d8e-0a0cc9adf57c
TCGA-AG-3898-01A-01W-1073-09	READ	cc3516ba-2941-4efa-80fc-7b5041194d52
TCGA-AG-3901-01A-01W-1073-09	READ	84859471-1136-4f42-ab75-b27a4ef27199
TCGA-AG-3902-01A-01W-1073-09	READ	b679f02d-f48d-49eb-b245-65f341e4c181
TCGA-AG-3909-01A-01W-1073-09	READ	f5ece3cf-39eb-4277-8975-986e548bc1ea
TCGA-AG-3999-01A-01W-1073-09	READ	0445426d-b9c0-4ce5-b1cc-cb236d4381cf
TCGA-AG-4001-01A-02W-1073-09	READ	55075176-07a4-4183-9f8f-9f472b15a6b4
TCGA-AG-4005-01A-01W-1073-09	READ	be1d3bda-de1a-4768-a2e4-22c07326ddc3
TCGA-AG-4007-01A-01W-1073-09	READ	6fcfdc8f-22c0-4c3a-9e46-58c0a68e818e
TCGA-AG-4008-01A-01W-1073-09	READ	83cd3c15-8eab-4d46-b9a2-36ee719f6774
TCGA-AG-4015-01A-01W-1073-09	READ	cf6f8e0f-04bf-4a0d-933e-8034ba6c1607
TCGA-AG-A008-01A-01W-A005-10	READ	2221cfc4-b324-4329-ad37-3dd9a5adf36e
TCGA-AG-A00C-01A-01W-A005-10	READ	1a4f95be-32d3-4202-a0e7-507181b3fb86
TCGA-AG-A00H-01A-01W-A00E-09	READ	fdc4c8ac-fee2-4801-ae94-94c5d8058a9f
TCGA-AG-A00Y-01A-02W-A005-10	READ	b50aefdf-ee6f-4a5e-ba4b-c962d740ab22
TCGA-AG-A011-01A	READ	b5dd8f49-26fc-48d9-a964-d8ebdcca9e19
TCGA-AG-A014-01A	READ	fbfa61fe-4fb7-4b2a-9bf0-33140fd41873
TCGA-AG-A015-01A-01W-A005-10	READ	abb751f0-c4df-4556-ac9b-ad1e1971cccf
TCGA-AG-A016-01A-01W-A005-10	READ	f20ae301-b10b-4dfa-9169-04bc6c3d103a
TCGA-AG-A01L-01A	READ	b034c90b-d0bd-466a-88ba-b61efd36c6e4
TCGA-AG-A025-01A-01W-A00E-09	READ	7b5a3c33-cd13-4e4d-af18-3405dab5998f
TCGA-AG-A02G-01A-01W-A00E-09	READ	954527dc-8a7d-474d-b580-82199e86cb5a
TCGA-AG-A02X-01A-01W-A00E-09	READ	9ffb8919-a98c-40bd-bdad-146blccc14ef
TCGA-AG-A032-01A-01W-A00E-09	READ	7522eb6b-797a-4964-8aca-6d70590b5f9f

10

20

30

【 0 4 7 8】

個人的HLA対立遺伝子に結合性を有する遺伝子突然変異由来のペプチドを予測するためのパイプライン: NetMHCpan (バージョン2.4)を使用して、各体細胞突然変異から生成された可能な全ての9mer及び10merペプチド並びに対応する野生型ペプチドにわたりMHC結合親和性を予測した。これらのタイリングしたペプチドを、患者のHLAプロファイルにおける各クラスI対立遺伝子に対するそれらの結合親和性(IC₅₀nM)に関して分析した。150nM未満のIC₅₀値は、予測される強力乃至中程度の結合体と見なし、150~500nMのIC₅₀は、予測される弱い結合体と見なし、一方、IC₅₀>500nMは非結合体と見なした。HLA分子に結合(IC₅₀<500nM)する予測ペプチドの実験的な確認を、競合的MHCクラスI対立遺伝子結合アッセイを用いて行い、これは他の部分に詳細に記載されている(Cai et al. 28及びSidney et al. 2001)。

40

【 0 4 7 9】

抗原の供給源: New England Peptide (Gardner, MA); 又はRS Synthesis (Louisville, KY)からペプチドを>95%純度(高速液体クロマトグラフィーによって確認した)に合成した。ペプチドをDMSO(10mg/ml)中に再構成し、使用時まで-80で保存した。mut又はwt FND C3 Bを包含する300bpの配列で構成されたミニ遺伝子を、以下のプライマーを使用して患者2の腫瘍から発現ベクターpcDNA3.1にPCRクローニングした: 5'プライマ

50

ー : G A C G T C G G A T C C C A C C A T G G G T C C C G G A A T T A A G A A A A
 C A G A G ; 3 ' プライマー : C C C G G G G C G G C C G C C T A A T G G T G A T G G
 T G A T G G T G A C A T T C T A A T T C T T C T C C A C T G T A A A 。 A m a x a
 ヌクレオフェクション (溶液 V 、 プログラム T 1 6 、 L o n z a I n c ; W a l k e r s
 v i l l e , M D) によつて H L A - A 2 を安定にトランスフェクトされた 2 0 0 万個の
 K 5 6 2 細胞 (A T C C) に 2 0 μ g のこのプラスミドを導入することにより、ミニ遺伝
 子を抗原提示標的細胞で発現させた。 1 0 % ウシ胎仔血清 (C e l l g r o) 、 1 % H E
 P E S 緩衝液 (C e l l g r o) 、 及び 1 % L - グルタミン (C e l l g r o) を補足し
 た R P M I 培地 (C e l l g r o ; M a n a s s a s , V A) で細胞をインキュベートし
 た。ヌクレオフェクションの 2 日後に免疫アッセイのため細胞を回収した。

10

【 0 4 8 0 】

C L L 症例における遺伝子発現の解析 : 既報告のマイクロアレイデータ (N C I 遺伝子
 発現オムニバス (Gene Expression Omnibus) 受託番号 G S E 3 7 1 6 8) を再解析し
 た。 A f f y m e t r i x C E L ファイルを、 R の a f f y パッケージを使用して処理し
 た。バックグラウンド補正に、観察された強度を指数分布シグナルと正規分布ノイズとの
 混合としてモデル化するロバストマルチチップ解析 (Robust Multichip Analysis : R M
 A) アルゴリズムを使用した。この後、アレイ間の四分位正規化によって異なる条件下で
 の遺伝子発現の比較を促進した。最後にメディアンポリッシュ法を用いて個々のプローブ
 レベルを要約し、ロバストなプローブセットレベル値を求めた。遺伝子レベル値は、各遺
 伝子について最大平均発現を有するプローブを選択することにより得た。 C o m b a t プ
 ログラムを使用してデータのバッチ効果を取り除いた。

20

【 0 4 8 1 】

患者 P B M C からの抗原特異的 T 細胞の作成及び検出 : 3 % ウシ胎仔血清、 1 % ペニシ
 リン - ストレプトマイシン (C e l l g r o) 、 1 % L - グルタミン及び 1 % H E P E S
 緩衝液を補足した R P M I (C e l l g r o) 中において 1 2 0 n g / m l G M - C S F
 及び 7 0 n g / m l I L - 4 (R & D S y s t e m s , M i n n e a p o l i s , M N)
) の存在下で培養した免疫磁気分離 C D 1 4 + 細胞 (M i l t e n y i , A u b u r n C
 A) から、自己樹状細胞 (D C) を作成した。 3 日目及び 5 日目、さらなる G M - C S F
 及び I L - 4 を添加した。 6 日目、 I L - 4 及び G M - C S F の添加に加え、細胞を 3 0
 μ g / m l ポリ I : C (S i g m a A l d r i c h , S t L o u i s , M O) に曝露して成熟を生じさせた (4 8 時間) 。患者 P B M C から免疫磁気選択法 (C D 1 9 + マイク
 ロビーズ ; M i l t e n y i , A u b u r n , C A) によつて C D 1 9 + B 細胞を単離し
 、 2 4 ウェルプレートに 1 × 1 0 ⁶ 細胞 / ウェルで播種した。 B 細胞を、 1 0 % ヒト A B
 血清 (G e m C e l l , S a c r a m e n t o , C A) 、 5 μ g / m l インスリン (S i
 g m a C h e m i c a l , S t L o u i s , M O) 、 1 5 μ g / m l ゲンタマイシン、
 I L - 4 (2 n g / m l , R & D S y s t e m s , M i n n e a p o l i s , M N) 及び
 C D 4 0 L - T r i (1 μ g / m l) を補足した B 細胞培地 (イスコフ変法ダルベッコ培
 地 (I M D M ; L i f e T e c h n o l o g i e s , W o b u r n , M A) で培養した。
 3 ~ 4 日おきに C D 4 0 L - T r i を補充した。一部の実験については、 C D 4 0 L - T
 r i で活性化して拡大した C D 1 9 + B 細胞を A P C として使用した。

30

40

【 0 4 8 2 】

患者 P B M C からの抗原特異的 T 細胞の作成 : C L L 患者からペプチド応答性 T 細胞を
 作成するため、移植前及び移植後 P B M C から免疫磁気選択した C D 8 + T 細胞 (5 × 1
 0 ⁶ / ウェル) を (C D 8 + マイクロビーズ、 M i l t e n y i , A u b u r n , C A)
 、それぞれ自己ペプチドプールでパルスした D C (4 0 : 1 比) 又は C D 4 0 L - T r i
 で活性化して照射した B 細胞 (4 : 1 比) と共に、 1 0 % F B S 及び 5 ~ 1 0 n g / m l
 I L - 7 、 I L - 1 2 及び I L - 1 5 を補足した完全培地中で培養した。 A P C はペプチ
 ドプール (1 0 μ M / ペプチド / プール) で 3 時間パルスした。 C D 8 + T 細胞は A P C
 で毎週刺激し直した (1 ~ 3 週間にわたり、 7 日目に開始) 。

【 0 4 8 3 】

50

抗原特異的T細胞の検出： 2回目及び4回目の刺激から10日後、ペプチドプールに対するT細胞特異性をIFN- γ ELISPOTアッセイにより試験した。ELISPOTプレートで50,000個のCD8⁺T細胞/ウェル(Millipore, Billerica, MA)と24時間コインキュベートした、試験及び対照ペプチドでパルスしたCD40L活性化B細胞(50,000細胞/ウェル)を使用して、IFN- γ 放出を検出した。捕捉抗体及び検出抗体を使用して指示通りに(Mabtech AB, Mariemont, OH)IFN- γ を検出し、イメージングした(ImmunoSpotシリーズアナライザー; Cellular Technology, Cleveland, OH)。MHCクラスIに対するT細胞応答性の依存性を試験するため、初めに、クラスI遮断抗体(W6/32)と37 $^{\circ}$ Cで2時間コインキュベートしたAPCでELISPOTプレートをコーティングし、その後、ウェルにT細胞を導入した。MHCクラスI四量体を使用して指示通り(Emory University, Atlanta GA)T細胞の特異性を試験した。四量体染色のため、 5×10^5 細胞を $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ PE標識四量体と48時間で60分間インキュベートし、次に抗CD3-FITC及び抗CD8-APC抗体(BD Biosciences, San Diego CA)を添加して48時間でさらに30分間インキュベートした。試料当たり最低100,000個のイベントが取得された。Luminexマルチプレックスビーズベースの技術を用いて、製造者の推奨(EMD Millipore, Billerica, MA)に従い培養上清を分析することにより、培養CD8⁺T細胞からのGM-CSF及びIL-2の分泌を検出した。端的には、蛍光標識したマイクロスフェアを特異的サイトカイン捕捉抗体でコーティングした。培養上清試料とインキュベートした後、捕捉されたサイトカインをビオチン化検出抗体と、続いてストレプトアビジン-PEコンジュゲートによって検出し、蛍光強度中央値(MFI)を計測した(Luminex 200ビーズアレイ機器; Luminex Corporation, Austin TX)。標準曲線に基づきサイトカインレベルをビーズビューソフトウェア(Bead View Software)プログラム(Upstate, EMD Millipore, Billerica, MA)で計算した。TCR V α クロナタイプの検出及び定量化については、IFN- γ 分泌アッセイ(Miltenyi, Auburn, CA)を製造者の指示に従い及び先述のとおり用いて患者2のT細胞系からmut-FNDC3B特異的T細胞をエンリッチした。

【0484】

統計的考察： IFN- γ 、GM-CSF、及びIL-2放出の形態のmut対wtペプチドに対するT細胞応答性に関して二元配置ANOVAモデルを構築し、これには適宜、相互作用項と共に固定効果として濃度及び突然変異状態を含めた。これらのモデルのP値は、テューキー法を用いた事後多重比較のため調整した。IFN- γ を正規化して比較するため、t検定を実施して、正規化した比が1に等しいという仮説を検証した。群間における連続計測値の他の比較については、ウェルチt検定を使用した。報告される全てのP値は両側性であり、多重比較のための適切な調整を伴い0.05水準で有意と見なした。分析はSAS v9.2で実施した。

【0485】

TCR V α クロナタイプの検出及び定量化： mut-FNDC3B特異的TCR V α を検出するため、ペプチド特異的IFN- γ がエンリッチされたT細胞集団からの二段階ネステッドPCRを実施した。簡単に言えば、24個の既知のV α サブファミリーの中に優位なV α サブファミリーが同定された。初めに、V α フォワードプライマーの5つのプール(プール1：V α 1~5.1；プール2：V α 5.2~9；プール3：V α 10~13.2；プール4：V α 14~19；及びプール5：V α 20、22~25)を作成した。T細胞クローンから抽出したRNA(QIAamp RNA Blood Miniキット; Qiagen, Valencia, CA)を、ランダムヘキサマーを使用してcDNAに逆転写し(Superscript, GIBCO BRL, Gaithersburg, MD)、5つの別個の20 μl 容積反応液中でPCR増幅した。第二に、T細胞クローン由来cDNAを再度増幅し、5つの個々のプライマーの各々がFAMコンジュゲートCリ

10

20

30

40

50

ベース（内部）プライマーと一緒に陽性プール中に含まれた。続いて、4 μ l のこの PCR 産物を、1 μ l のクローン CDR3 領域特異的プライマー及びプローブ、並びに 10 μ l の Taqman Fast ユニバーサル PCR マスターミックス（Applied Biosystems、Foster City, CA）によって合計 20 μ l の容積で増幅した。PCR 増幅条件は以下であった：95 で 20 分 \times 1 サイクル、及び 95 で 3 秒と、続いて 60 で 30 秒を 40 サイクル（7500 Fastリアルタイム PCR サイ클ー；Applied Biosystems、Foster City, CA）。試験転写物を、以前記載されているとおり $2^{-\Delta\Delta C_T}$ （S18 rRNA CT - 標的 CT）を計算することにより S18 リボソーム RNA 転写物に対して定量化した。

【0486】

分子腫瘍量の検出：先述のとおり、VH 特異的 PCR プライマーのパネルを使用して患者 2 のクロナイプ IgH 配列を同定した。この配列に基づき、定量的 Taqman PCR アッセイを、配列特異的プローブが接合部多様性領域に位置するように設計した（Applied Biosystems；Foster City, CA）。この Taqman アッセイを腫瘍の cDNA に適用した。PCR 反応は全て、以下からなった：50 で 1 分 \times 1 サイクル、95 で 10 分 \times 1 サイクル、及び 95 で 15 秒と、続く 60 で 1 分を 40 サイクル。反応は全て、7500 Fastリアルタイム PCR サイ클ー（Applied Biosystems、Foster City, CA）を使用して実施した。試験転写物は GAPDH に対して定量化した。

【0487】

参考文献

Zhang GL, Ansari HR, Bradley P, et al. Machine learning competition in immunology - Prediction of HLA class I binding peptides. *J Immunol Methods*. Nov 30 2011; 374 (1-2): 1-4.

Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Seminars in immunology*. Feb 2007; 19(1): 24-32.

Adams S. Toll-like receptor agonists in cancer therapy. *Immunotherapy*. Nov 2009; 1(6): 949-964.

Cheever MA. Twelve immunotherapy drugs that could cure cancers. *Immunological reviews*. Apr 2008; 222: 357-368.

Bogunovic D, Manches O, Godefroy E, et al. TLR4 engagement during TLR3-induced proinflammatory signaling in dendritic cells promotes IL-10-mediated suppression of antitumor immunity. *Cancer Res*. Aug 15 2011; 71(16): 5467-5476.

Stahl-Hennig C, Eisenblatter M, Jasny E, et al. Synthetic double-stranded RNAs are adjuvants for the induction of T helper 1 and humoral immune responses to human papillomavirus in rhesus macaques. *PLoS pathogens*. Apr 2009; 5(4): e1000373.

Boscardin SB, Hafalla JC, Masilamani RF, et al. Antigen targeting to dendritic cells elicits long-lived T cell help for antibody responses. *The Journal of experimental medicine*. Mar 20 2006; 203(3): 599-606.

Soares H, Waechter H, Glaichenhaus N, et al. A subset of dendritic cells induces CD4+ T cells to produce IFN-gamma by an IL-12-independent but CD70-dependent mechanism in vivo. *The Journal of experimental medicine*. May 14 2007; 204(5): 1095-1106.

Trumpfheller C, Caskey M, Nchinda G, et al. The microbial mimic poly IC induces durable and protective CD4+ T cell immunity together with a dendritic cell targeted vaccine. *Proc Natl Acad Sci USA*. Feb 19 2008; 105(7): 2574-2579.

Trumpfheller C, Finke JS, Lopez CB, et al. Intensified and protective CD4+ T cell immunity in mice with anti-dendritic cell HIV gag fusion antibody vaccin

10

20

30

40

50

e. *The Journal of experimental medicine*. Mar 20 2006; 203(3): 607-617.

Salem ML, Kadima AN, Cole DJ, Gillanders WE. Defining the antigen-specific T-cell response to vaccination and poly (I:C)/TLR3 signaling: evidence of enhanced primary and memory CD8 T-cell responses and antitumor immunity. *J Immunother*. May-Jun 2005; 28(3): 220-228.

Tough DF, Borrow P, Sprent J. Induction of bystander T cell proliferation by viruses and type I interferon in vivo. *Science*. Jun 28 1996; 272(5270): 1947-1950.

Zhu X, Nishimura F, Sasaki K, et al. Toll like receptor-3 ligand poly-ICLC promotes the efficacy of peripheral vaccinations with tumor antigen-derived peptide epitopes in murine CNS tumor models. *Journal of translational medicine*. 2007; 5: 10.

10

Flynn BJ, Kastenmuller K, Wille-Reece U, et al. Immunization with HIV Gag targeted to dendritic cells followed by recombinant New York vaccinia virus induces robust T-cell immunity in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA*. Apr 26 2011; 108(17): 7131-7136.

Gaucher D, Therrien R, Kettaf N, et al. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses. *The Journal of experimental medicine*. Dec 22 2008; 205(13): 3119-3131.

Caskey M, Lefebvre F, Filali-Mouhim A, et al. Synthetic double-stranded RNA induces innate immune responses similar to a live viral vaccine in humans. *The Journal of experimental medicine*. Nov 21 2011; 208(12): 2357-2366.

20

Sabbatini P, Tsuji T, Ferran L, et al. Phase I trial of overlapping long peptides from a tumor self-antigen and poly-ICLC shows rapid induction of integrated immune response in ovarian cancer patients. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. Dec 1 2012; 18(23): 6497-6508.

Robinson RA, DeVita VT, Levy HB, Baron S, Hubbard SP, Levine AS. A phase I-II trial of multiple-dose polyriboinosinic-polyribocytidylic acid in patients with leukemia or solid tumors. *Journal of the National Cancer Institute*. Sep 19 76; 57(3): 599-602.

30

Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA: a cancer journal for clinicians*. Jan 2013; 63(1): 11-30.

Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. Dec 20 2009; 27(36): 6199-6206.

Eggermont AM, Suci S, Testori A, et al. Ulceration and stage are predictive of interferon efficacy in melanoma: results of the phase III adjuvant trials EORTC 18952 and EORTC 18991. *Eur J Cancer*. Jan 2012; 48(2): 218-225.

Sosman JA, Moon J, Tuthill RJ, et al. A phase 2 trial of complete resection for stage IV melanoma: results of Southwest Oncology Group Clinical Trial S9430. *Cancer*. Oct 15 2011; 117(20): 4740-4706.

40

Flaherty KT, Hodi FS, Fisher DE. From genes to drugs: targeted strategies for melanoma. *Nat Rev Cancer*. May 2012; 12(5): 349-361.

Mocellin S, Pasquali S, Rossi CR, Nitti D. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. Apr 7 2010; 102(7): 493-501.

Pirard D, Heenen M, Melot C, Vereecken P. Interferon alpha as adjuvant postsurgical treatment of melanoma: a meta-analysis. *Dermatology*. 2004; 208(1): 43-48.

50

Wheatley K, Ives N, Hancock B, Gore M, Eggermont A, Suci S. Does adjuvant interferon-alpha for high-risk melanoma provide a worthwhile benefit? A meta-analysis of the randomised trials. *Cancer treatment reviews*. Aug 2003; 29(4): 241-252.

Buckwalter MR, Srivastava PK. "It is the antigen(s), stupid" and other lessons from over a decade of vaccitherapy of human cancer. *Seminars in immunology*. Oct 2008; 20(5): 296-300.

Baurain JF, Colau D, van Baren N, et al. High frequency of autologous anti-melanoma CTL directed against an antigen generated by a point mutation in a new helicase gene. *J Immunol*. Jun 1 2000; 164(11): 6057-6066. 10

Chiari R, Foury F, De Plaen E, Baurain JF, Thonnard J, Coulie PG. Two antigens recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on a melanoma result from a single point mutation in an essential housekeeping gene. *Cancer Res*. Nov 15 1999; 59(22): 5785-5792.

Huang J, El-Gamil M, Dudley ME, Li YF, Rosenberg SA, Robbins PF. T cells associated with tumor regression recognize frameshifted products of the CDKN2A tumor suppressor gene locus and a mutated HLA class I gene product. *J Immunol*. May 15 2004; 172(10): 6057-6064.

Karanikas V, Colau D, Baurain JF, et al. High frequency of cytolytic T lymphocytes directed against a tumor-specific mutated antigen detectable with HLA tetramers in the blood of a lung carcinoma patient with long survival. *Cancer Res*. May 1 2001; 61(9): 3718-3724. 20

Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, et al. The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. *Proc Natl Acad Sci USA*. Nov 1 2005; 102(44): 16013-16018.

Zorn E, Hercend T. A natural cytotoxic T cell response in a spontaneously regressing human melanoma targets a neoantigen resulting from a somatic point mutation. *Eur J Immunol*. Feb 1999; 29(2): 592-601.

Kannan S, Neelapu SS. Vaccination strategies in follicular lymphoma. *Current hematologic malignancy reports*. Oct 2009; 4(4): 189-195. 30

Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, et al. Phase I immunotherapeutic trial with long peptides spanning the E6 and E7 sequences of high-risk human papillomavirus 16 in end-stage cervical cancer patients shows low toxicity and robust immunogenicity. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. Jan 1 2008; 14(1): 169-177.

Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *The New England journal of medicine*. Nov 5 2009; 361(19): 1838-1847.

Welters MJ, Kenter GG, Piersma SJ, et al. Induction of tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell immunity in cervical cancer patients by a human papillomavirus type 16 E6 and E7 long peptides vaccine. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. Jan 1 2008; 14(1): 178-187. 40

Lundegaard C, Lund O, Nielsen M. Prediction of epitopes using neural network based methods. *J Immunol Methods*. Nov 30 2011; 374(1-2): 26-34.

Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. Mar 25 2011; 331(6024): 1565-1570.

Berger, M. et al. Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations. *Nature* 485, 502-6 (2012). 50

- Carter, S.L. et al. Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat Biotechnol* 30, 413-21 (2012).
- Chapman, M.A. et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 471, 467-72 (2011).
- Cibulskis, K. et al. ContEst: estimating cross-contamination of human samples in next-generation sequencing data. *Bioinformatics* 27, 2601-2 (2011).
- Cibulskis, K. et al. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. *Nature Biotech* (2013) Feb 10. doi:10.1038/nbt.2514. [Epub ahead of print].
- DeLuca, D.S. et al. RNA-SeQC: RNA-seq metrics for quality control and process optimization. *Bioinformatics* 28, 1530-2 (2012). 10
- DePristo, M. et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature Genetics* 43, 491-498 (2011).
- Landau, D.A. et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell* 152, 714-26 (2013).
- Langmead, B. et al. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology* 10, R25 (2009).
- Li, B. et al. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics* 12, 323 (2011).
- Li, H. et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25, 2078-9 (2009). 20
- Li H. and Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics* 25, 1754-60 (2009).
- McKenna, A. et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res* 20, 1297-303 (2010).
- Robinson, J.T. et al. Integrative genomics viewer. *Nature Biotech* 29, 24-26 (2011).
- Stransky, N. et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science* 333, 1157-60 (2011). 30
- Garraway, L.A. and Lander, E.S. Lessons from the cancer genome. *Cell*. 153, 17-37 (2013).
- Lundegaard, C. et al. Prediction of epitopes using neural network based methods. *J Immunol Methods*. 374, 26-34 (2011).
- Sette, A. et al., The relationship between class I binding affinity and immunogenicity of potential cytotoxic T cell epitopes. *J Immunol*. 153, 5586-5592 (1994).
- Lu, Y.C. et al., Mutated regions of nucleophosmin 1PPP1R3B is Recognized by T Cells Used To Treat a Melanoma Patient Who Experienced a Durable Complete Tumor Regression. *J Immunol*. 190, 6034-6042 (2013). 40
- Sykulev, Y. et al., Evidence that a single peptide-MHC complex on a target cell can elicit a cytolytic T cell response. *Immunity*. 4, 565-571 (1996).
- Carter, S.L. et al., Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat. Biotechnology* 30: 413-21 (2012).
- Sidney, J. et al., HLA class I supertypes: a revised and updated classification. *BMC Immunol*. 9, 1 (2008).
- Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 489, 519-525 (2012).
- Ding, L. et al., Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature*. 455, 1069-1075 (2008). 50

Stransky, N. et al., The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. Science 333, 1157-1160 (2011).

Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. Nature. 487, 330-337 (2012).

Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. Nature. 455, 1061-1068 (2008).

Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. Nature. 474, 609-615 (June 30, 2011).

Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. Nature. 499, 43-49 (2013). 10

Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 368, 2059-2074 (2013).

Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature. 490, 61-70 (2012).

【0488】

他の実施形態

前述の記載から、本明細書に記載される発明の変形及び改良を行い、それを様々な使用及び条件に適合 (adopt) させ得ることは明らかであろう。かかる実施形態もまた以下の特許請求の範囲内にある。

本明細書の可変物の任意の定義において要素を列挙する記載は、列挙される要素の任意の単一の要素又は組み合わせ (又は部分的組み合わせ) としての当該の可変物の定義を含む。本明細書の実施形態の記載は、任意の単一の実施形態として又は任意の他の実施形態若しくはその一部との組み合わせでの当該の実施形態を含む。 20

【0489】

参考文献の援用

本明細書で言及される全ての特許及び刊行物は、各々独立した特許及び刊行物が参照による援用を具体的且つ個々に指示されたものとする場合と同程度まで参照により本明細書に援用される。 30

30

40

50

【 図 5 】

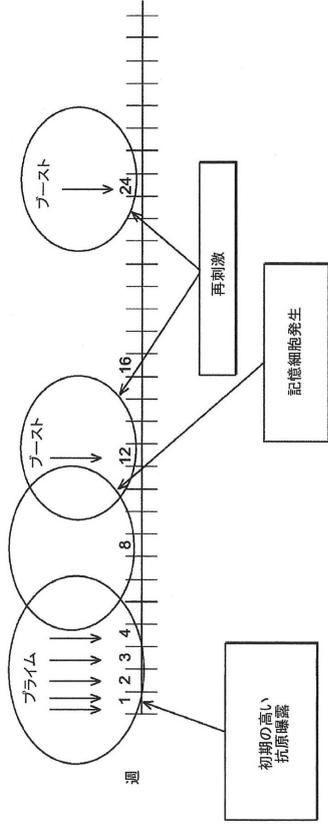


図 5

【 図 6 】

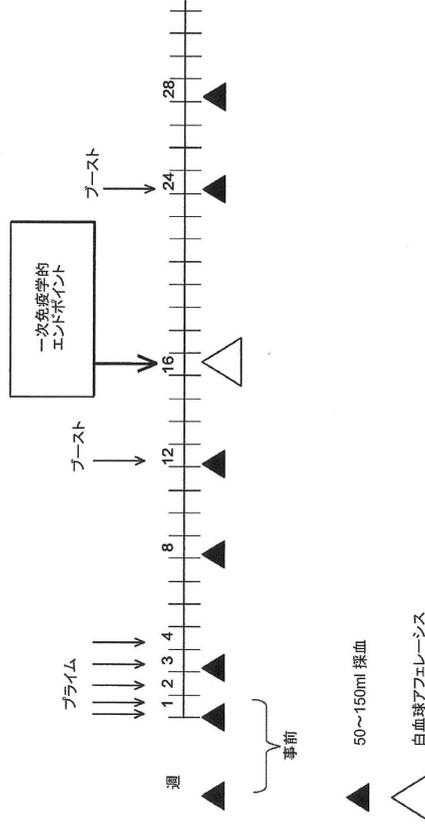


図 6

▲ 50~150ml 採血
△ 白血球アフェレーシス

【 図 7 】

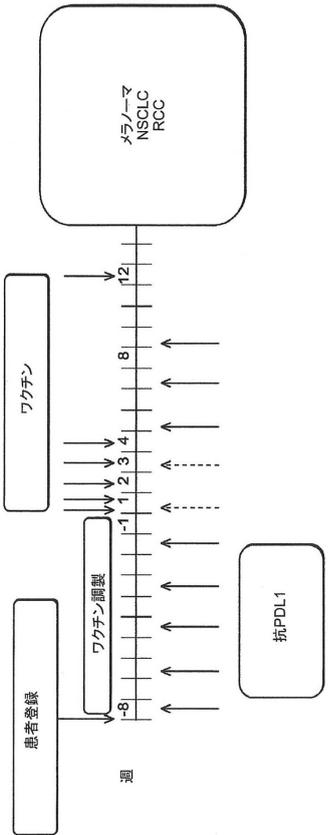


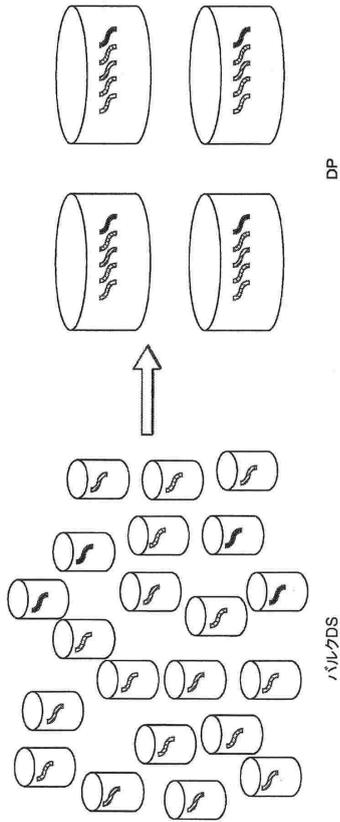
図 7

【 図 8 】

カテゴリ	突然変異タイプ	突然変異ペプチド kDa	天然ペプチド kDa	RNAレベル
1	ネオORF	≤ 500 nM	NA	H/M/L-
2	ミスセンス	≤ 150 nM	≥ 1000 nM	H/M/L
3	ミスセンス	≤ 150 nM	≤ 150 nM	H/M/L
4	ネオORF	>500 nM	NA	H/M/L
5	ミスセンス	150 - ≤ 500 nM	150 - ≤ 500 nM	H/M/L

図 8

【図9】



【図10】



10

20

【図11A】

ミスセンス突然変異

DNA	WT: CTTGATCGGATCGTAGCTACG Mut: CTTGA <u>A</u> CGGATCGTAGCTACG
a.a.	WT: LDRIVAT Mut: L <u>E</u> RIVAT

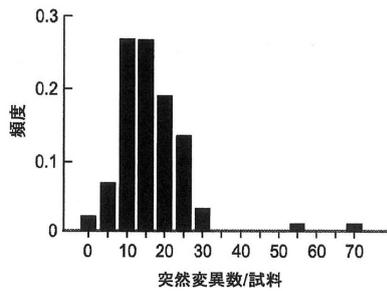


図11A

【図11B】

フレームシフト突然変異

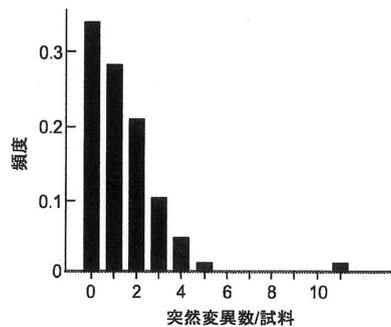
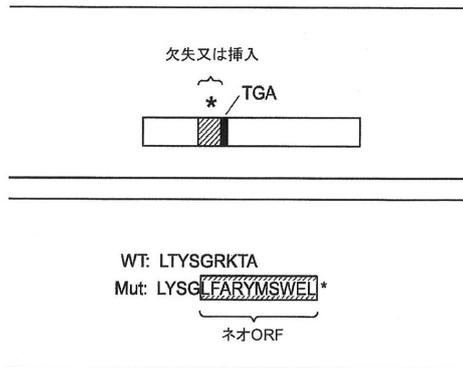


図11B

30

40

50

【 図 1 1 C 】

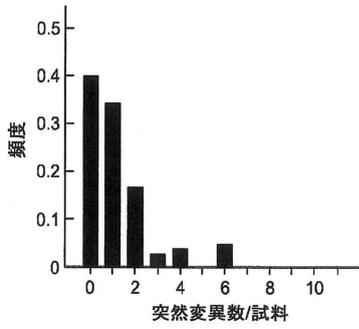
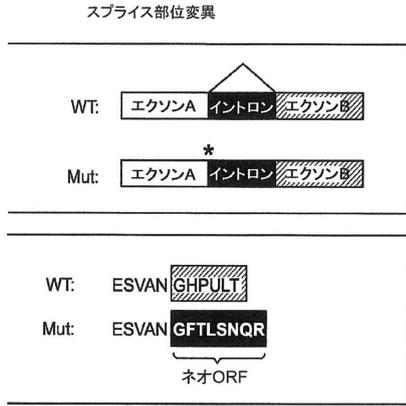


図11C

【 図 1 2 A B 】

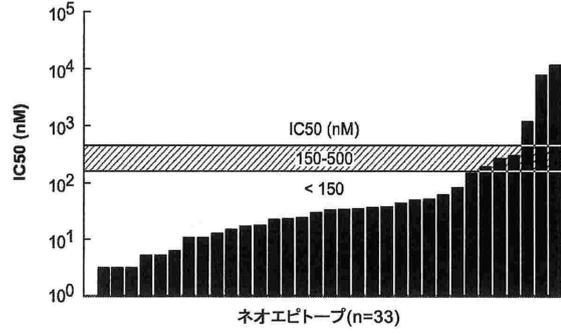


図12A

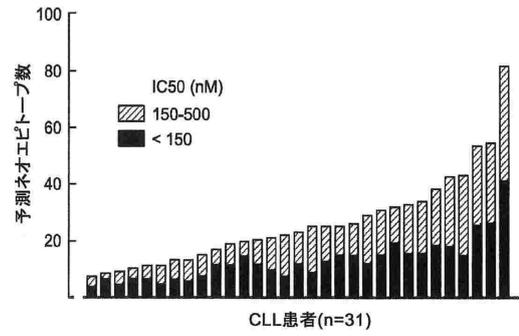


図12B

【 図 1 2 C D 】

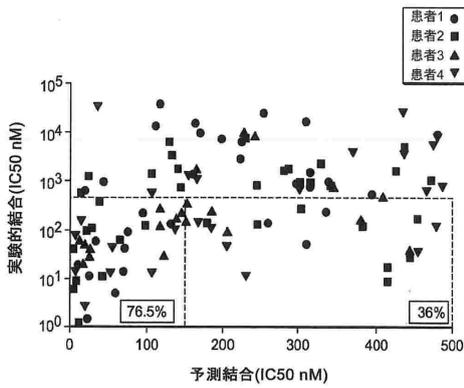
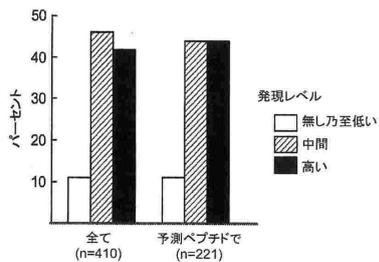


図12C



28個のCLLからのミスセンス突然変異を有する遺伝子

図12D

【 図 1 3 】

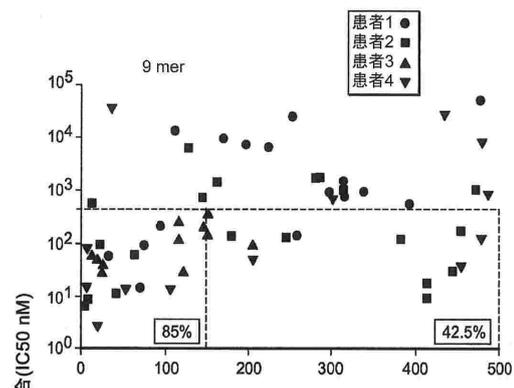


図13A

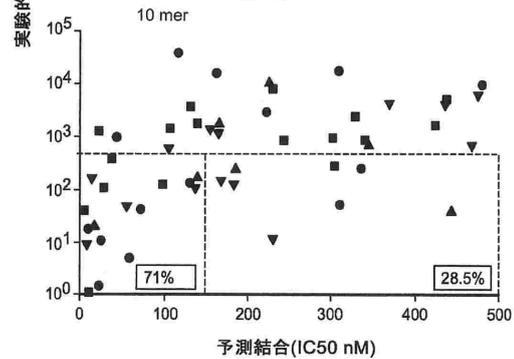


図13B

10

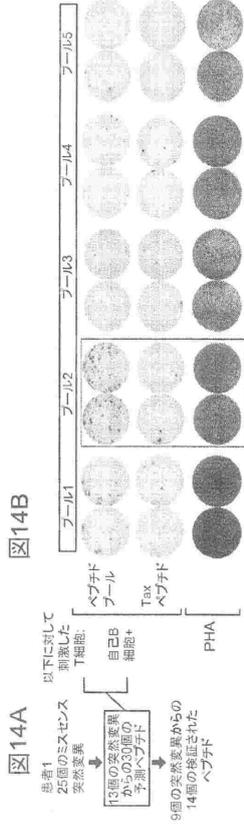
20

30

40

50

【 図 1 4 A B 】



【 図 1 5 】

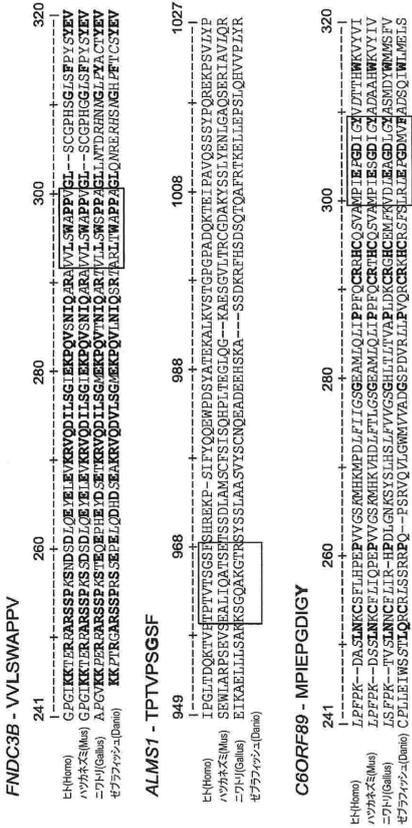


図 15

【 図 1 4 C 】

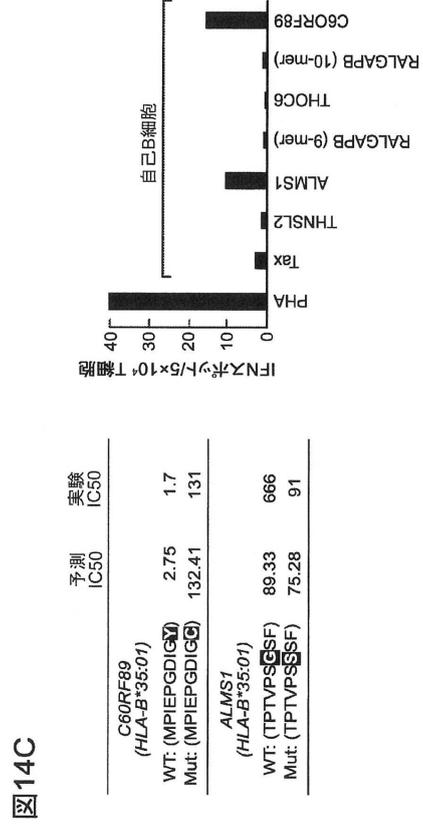


図 14C

【 図 1 6 】

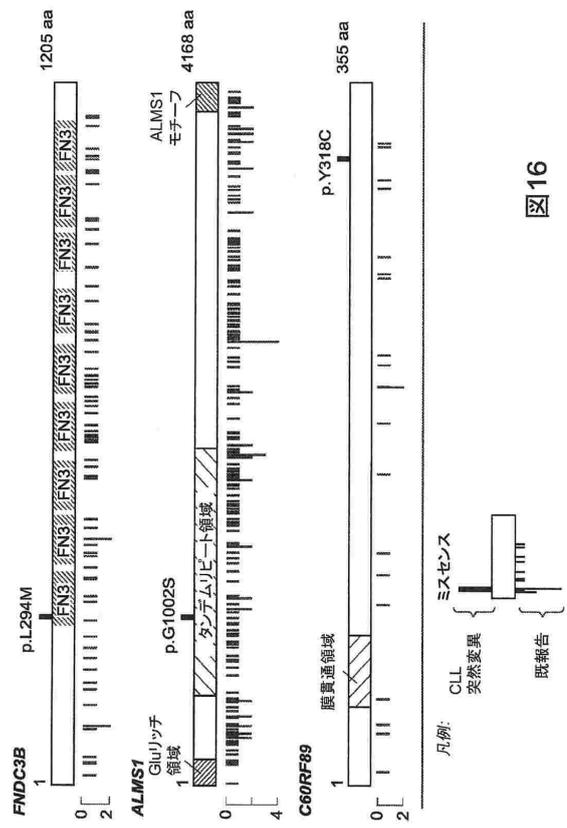
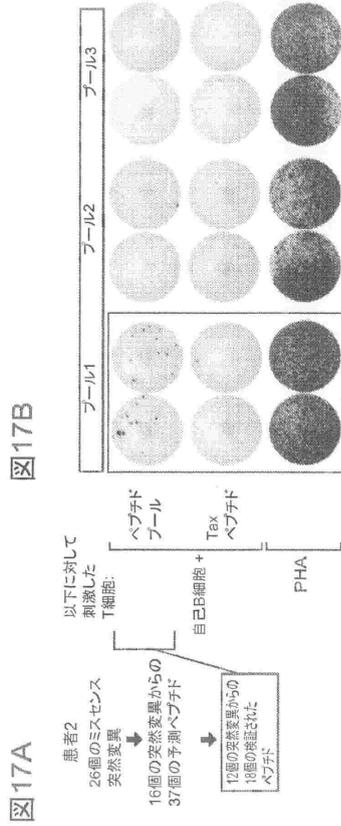
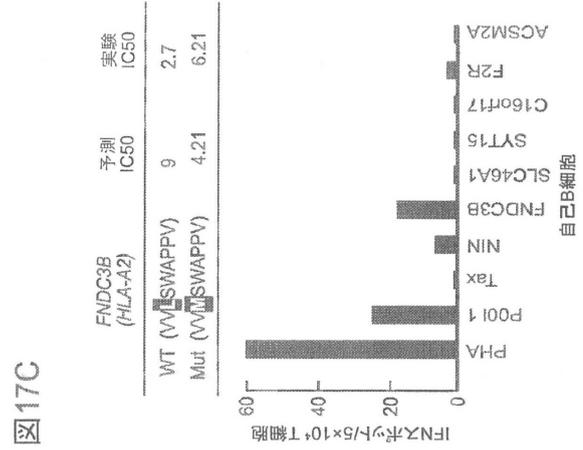


図 16

【図 17 A B】



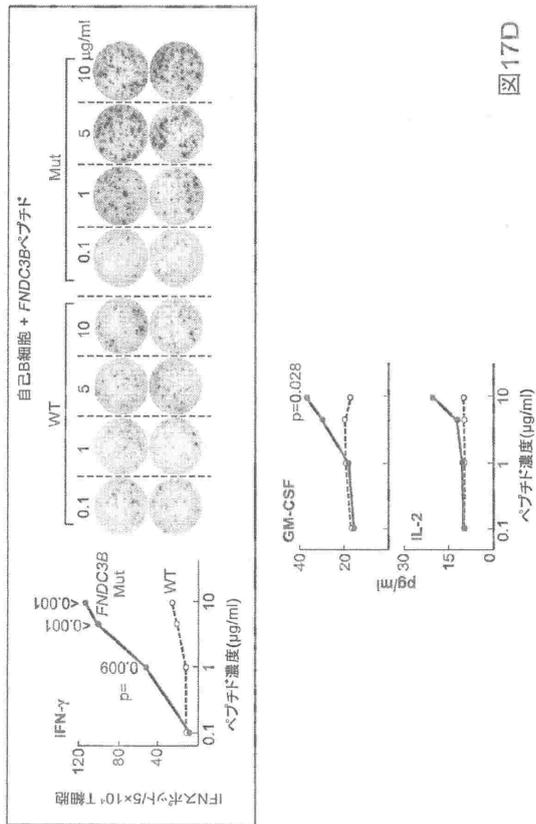
【図 17 C】



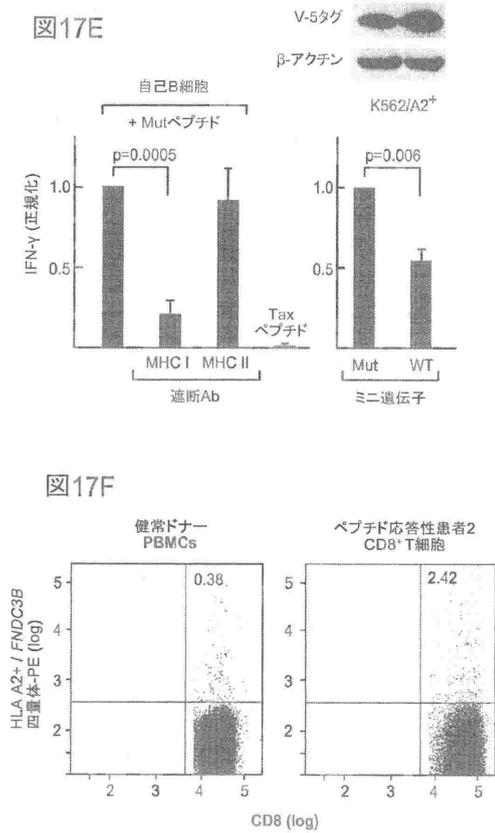
10

20

【図 17 D】



【図 17 E F】



30

40

50

【 図 17 G 】

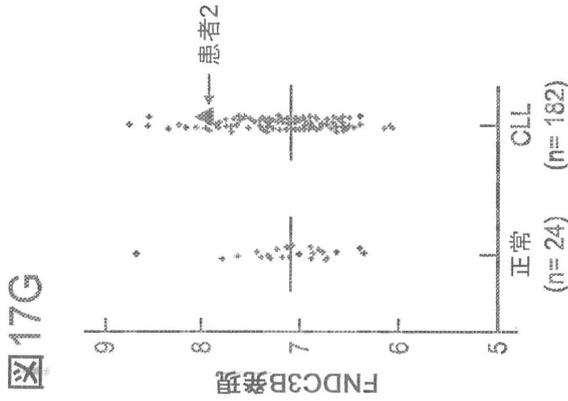
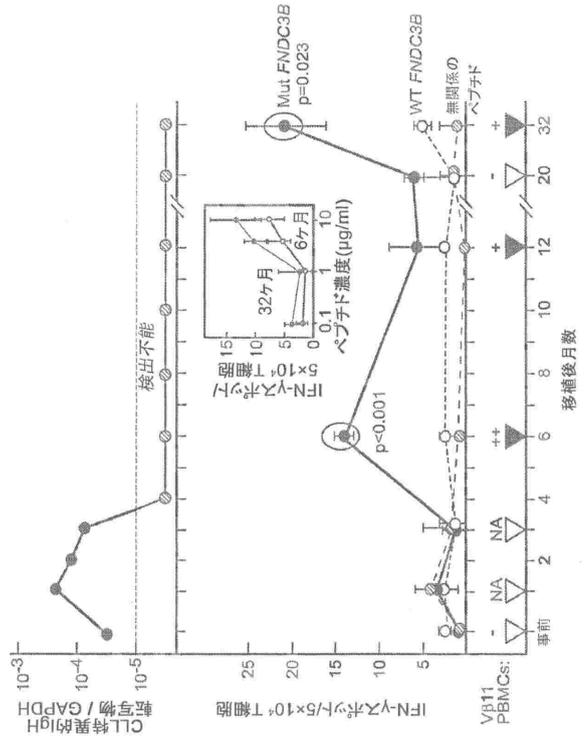


図17G

【 図 18 】

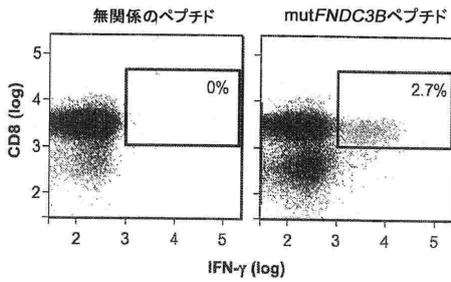


10

20

【 図 19 A B C 】

図19A



30

FIG. 19B

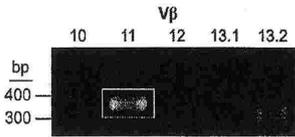


FIG. 19C

VP11

CAAGGCTTGACGACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGC
 AGCTTAGTTTTC|GGGACAGGG|TTCGTTTCGGG|CTACGA
 GCAGTAC|TTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAG

【 図 19 D 】

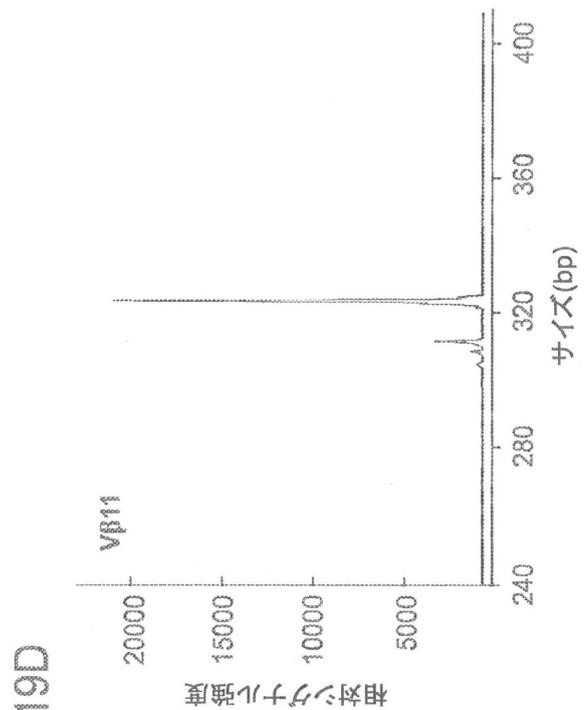


図19D

40

50

【図20A】

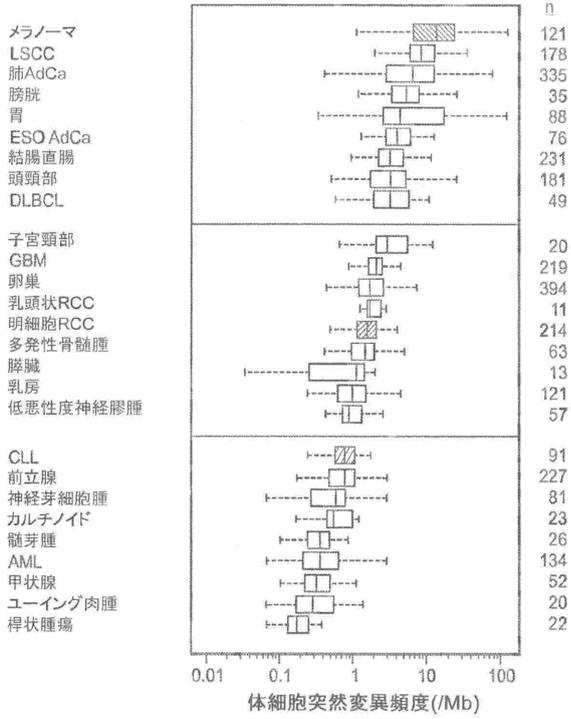


図20A

【図20B】

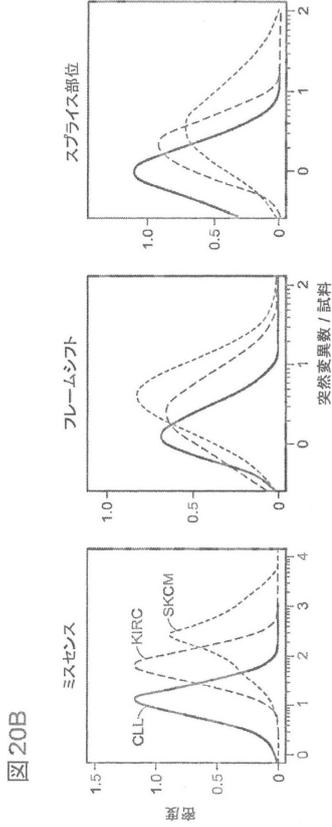
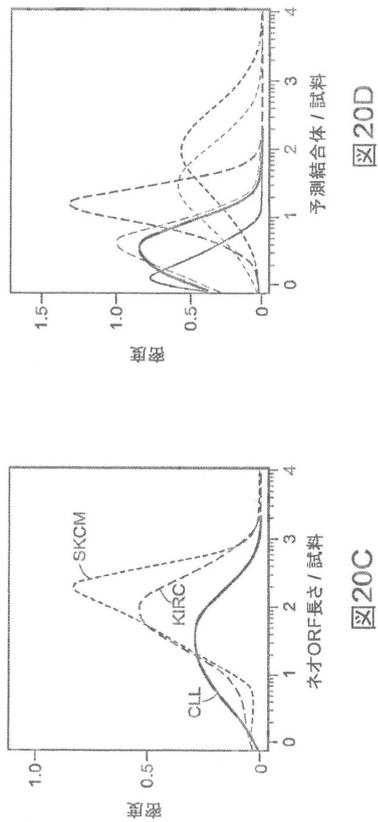


図20B

【図20CD】



【図20E】

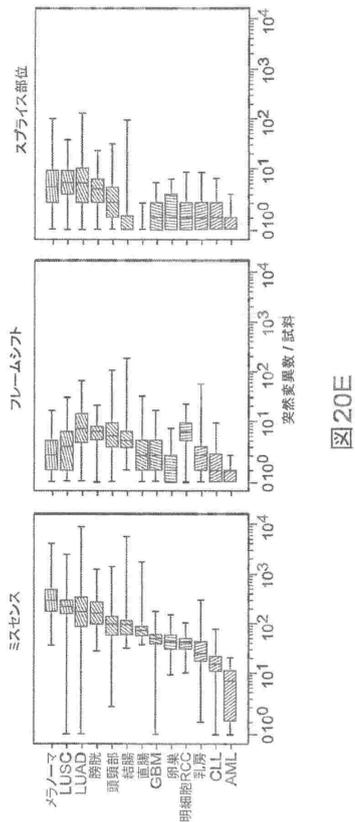


図20E

10

20

30

40

50

【 図 2 0 F G 】

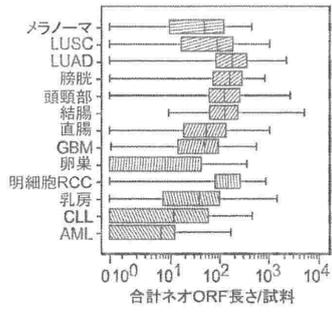


図20F

10

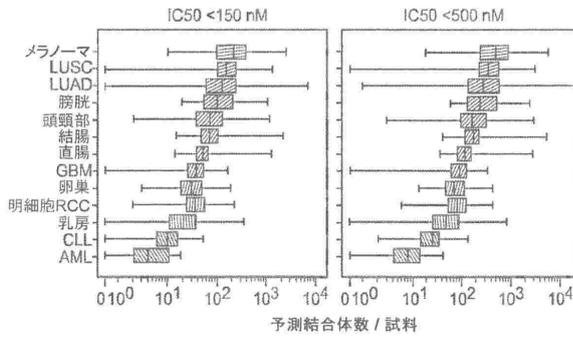


図20G

20

【 配 列 表 】

[0007489193000001.app](#)

30

40

50

フロントページの続き

(32)優先日 平成25年4月7日(2013.4.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボストン フルーツ ストリート 55

(74)代理人 100118902

弁理士 山本 修

(74)代理人 100106208

弁理士 宮前 徹

(74)代理人 100122644

弁理士 寺地 拓己

(72)発明者 ニア・ハコーヘン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02446・ブルックリン・メイソン・テラス・117

(72)発明者 キャサリン・ジェイ・ウー

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02446・ブルックリン・メイソン・テラス・117

(72)発明者 エドワード・エフ・フリッチ

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・01742・コンコード・マイノット・ロード・74

合議体

審判長 光本 美奈子

審判官 吉田 佳代子

審判官 松波 由美子

(56)参考文献 国際公開第2011/143656(WO, A1)

国際公開第2012/159754(WO, A1)

特表2012-522500(JP, A)

国際公開第2008/096831(WO, A1)

Clin. Cancer. Res., 2012年、Vol. 18、No. 23、p. 64
97-6508

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K39/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CaPlus/BIOSIS/MEDLINE/EMBASE/REGISTRY(STN)