

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-514183

(P2021-514183A)

(43) 公表日 令和3年6月10日(2021.6.10)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	4 B 0 6 5
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47 Z N A	4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-542973 (P2020-542973)
 (86) (22) 出願日 平成31年2月7日 (2019.2.7)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年10月9日 (2020.10.9)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2019/052983
 (87) 国際公開番号 W02019/154901
 (87) 国際公開日 令和1年8月15日 (2019.8.15)
 (31) 優先権主張番号 18155771.1
 (32) 優先日 平成30年2月8日 (2018.2.8)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 18205478.3
 (32) 優先日 平成30年11月9日 (2018.11.9)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 521091583
 スタイブ セラピューティクス エービー
 エス
 デンマーク国 ディーケー-8230 オ
 ビュホイ リングシースペイ 18
 (74) 代理人 100083806
 弁理士 三好 秀和
 (74) 代理人 100095500
 弁理士 伊藤 正和
 (74) 代理人 100111235
 弁理士 原 裕子
 (74) 代理人 100195257
 弁理士 大淵 一志

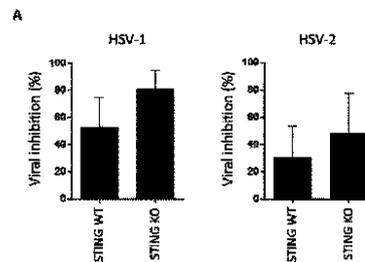
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改変免疫調節ペプチド

(57) 【要約】

IFI16のピリンドメインに由来する改変されたポリペプチド、および医薬におけるそれらの使用が提供される。具体的には、癌および免疫不全疾患または自己免疫疾患を含む、STING活性に関連する疾患の治療における使用のためのポリペプチドが提供される。

FIGURE 9



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式：

$\text{KKX}_3\text{KNIVLL X}_{10}\text{LX}_{13}\text{VINX}_{17}\text{YHF}$ (配列番号31)

の amino 酸配列を含み、ここで、Xはタンパク質生成性および非タンパク質生成性 amino 酸残基から選択され、ただし X_3 はチロシン(Y)ではない、 X_{10} はリジン(K)ではない、 X_{13} はグルタミン酸(E)ではない、 X_{17} はアスパラギン酸(D)ではない、

ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体。

【請求項 2】

配列 $\text{KKX}_3\text{KNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号4)もしくは $\text{KKYKNIVLLX}_{10}\text{GLEVIN DYHF}$ (配列番号5)、 $\text{KKYKNIVLLKGLX}_{13}\text{VIN DYHF}$ (配列番号29)もしくは $\text{KKYKNIVLLKGLEVINX}_{17}\text{YHF}$ (配列番号30)もしくは $\text{KKYKNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号6)またはそのバリエーションもしくは断片もしくはホモログを含み、Xはタンパク質生成性および非タンパク質生成性 amino 酸残基から選択され、ただし X_3 はチロシン(Y)ではなく、 X_{10} はリジン(K)ではなく、 X_{13} はグルタミン酸(E)ではなく、 X_{17} はアスパラギン酸(D)ではない、請求項1に記載のポリペプチド。

10

【請求項 3】

Xが、A、R、N、D、B、C、E、Q、Z、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、WおよびVからなる群より選択される amino 酸残基である、請求項1または2に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

位置2、6、7、11、15、16、19および20における amino 酸残基(K_2 、 I_6 、 V_7 、 G_{11} 、 I_{15} 、 N_{16} 、 H_{19} および F_{20})の一つ以上は未置換および/または未改変のままである、請求項1~3のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

【請求項 5】

位置2、6、7、11、15、16、19および20における amino 酸残基の一つ以上がアラニンに置換されている、請求項1~4のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

前記ポリペプチドが以下のもの：

- i. $\text{KKYKNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号6) (ペプチド101)
- ii. $\text{AKYKNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号7) (ペプチドA1)
- iii. $\text{KAYKNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号8) (ペプチドA2)
- iv. $\text{KKAKNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号9) (ペプチドA3)
- v. $\text{KKYANIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号10) (ペプチドA4)
- vi. $\text{KKYKAINIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号11) (ペプチドA5)
- vii. $\text{KKYKNAVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号12) (ペプチドA6)
- viii. $\text{KKYKNIALLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号13) (ペプチドA7)
- ix. $\text{KKYKNIVALKGLEVIN DYHF}$ (配列番号14) (ペプチドA8)
- x. $\text{KKYKNIVLAKGLEVIN DYHF}$ (配列番号15) (ペプチドA9)
- xi. $\text{KKYKNIVLLAGLEVIN DYHF}$ (配列番号16) (ペプチドA10)
- xii. $\text{KKYKNIVLLKALEVIN DYHF}$ (配列番号17) (ペプチドA11)
- xiii. $\text{KKYKNIVLLKGAEVIN DYHF}$ (配列番号18) (ペプチドA12)
- xiv. $\text{KKYKNIVLLKGLAVIN DYHF}$ (配列番号19) (ペプチドA13)
- xv. $\text{KKYKNIVLLKGLEAIN DYHF}$ (配列番号20) (ペプチドA14)
- xvi. $\text{KKYKNIVLLKGLEVANDYHF}$ (配列番号21) (ペプチドA15)
- xvii. $\text{KKYKNIVLLKGLEVIADYHF}$ (配列番号22) (ペプチドA16)
- xviii. $\text{KKYKNIVLLKGLEVINAYHF}$ (配列番号23) (ペプチドA17)
- xix. $\text{KKYKNIVLLKGLEVINDAHF}$ (配列番号24) (ペプチドA18)
- xx. $\text{KKYKNIVLLKGLEVIN DYAF}$ (配列番号25) (ペプチドA19)
- xxi. $\text{KKYKNIVLLKGLEVIN DYHA}$ (配列番号26) (ペプチドA20)
- xxii. $\text{KKYKNIVLLKGLAVIN DYAA}$ (配列番号27) (ペプチド107)

30

40

50

xxiii. または上記いずれかのものの機能的断片
からなる群より選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

前記断片が、少なくとも10個、例えば少なくとも15個、例えば少なくとも20個の連続するアミノ酸残基を含む機能的断片である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

前記ポリペプチドはサイトカイン応答を誘導することができる、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

前記ポリペプチドはI型インターフェロン応答を誘導することができる、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

前記ポリペプチドは、サイトカイン応答を誘発することなくインターフェロン応答を誘導することができる、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 11】

前記ポリペプチドは、IL6サイトカイン応答を誘発することなく、CXCL10サイトカイン応答を誘導し、インターフェロン応答を誘導することができる、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 12】

前記ポリペプチドが、ペプチドA10 (配列番号16)、A13 (配列番号19)、ペプチド101 (配列番号6) および / またはペプチド107 (配列番号27)、またはその機能的断片もしくはホモログである、請求項 11 に記載のポリペプチド。

【請求項 13】

前記ポリペプチドは少なくとも1つのコンジュゲート部分に連結されている、請求項 1 ~ 12 のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項 14】

前記少なくとも1つのコンジュゲート部分が、HIV TATなどの細胞透過性ペプチドである、請求項 12 に記載のポリペプチド。

【請求項 15】

前記ポリペプチドは、IFI16および / またはSTINGと相互作用することができる、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチド。

【請求項 16】

前記ポリペプチドは、Ser³⁶⁶におけるSTINGのリン酸化を誘導することができる、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 17】

前記ポリペプチドはSTING活性を増加させることができる、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 18】

前記ポリペプチドはSTINGリン酸化を誘導することができる、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 19】

医薬としての使用のための、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 20】

STING活性に関連する障害の治療に使用するための、請求項 19 に記載のポリペプチド。

【請求項 21】

不十分なSTING活性に関連する障害の治療に使用するための、請求項 19 に記載のポリペプチド。

【請求項 22】

10

20

30

40

50

STING活性に関連する障害を治療する方法であって、請求項1～18のいずれか一項に記載のポリペプチドを、必要とする個体に投与することを含む、方法。

【請求項23】

前記障害が癌である、請求項19～22のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

【請求項24】

前記障害が、DNA病原体、例えばHIV、HSV、HVP、HBV、マラリアまたはリステリアによる感染症である、請求項19～22のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

【請求項25】

前記障害の前記治療が、一以上のさらなる活性化化合物の投与をさらに含む、請求項19～24のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、使用またはポリペプチド。

【請求項26】

前記さらなる活性化化合物が抗癌剤である、請求項25に記載のポリペプチド、方法、使用またはポリペプチド。

【請求項27】

前記障害がTBK1および/またはIRF3および/またはNF-κB活性と関連している、請求項19～26のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

【請求項28】

前記障害が、癌、例えば慢性的炎症性シグナル伝達によって誘導される癌である、請求項19～27のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

【請求項29】

前記癌が、皮膚腫瘍、例えば基底細胞癌(BCC)または扁平上皮癌(SCC)である、請求項28に記載のポリペプチド、方法、または使用。

【請求項30】

前記障害が、HSV、HIV、肝炎、HPV、マラリアまたはリステリアなどのDNA病原体による感染症である、請求項19～29のいずれかに記載のポリペプチド、方法、または使用。

【請求項31】

前記障害がHSV-1および/またはHSV-2感染症である、請求項19～30のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド。

【請求項32】

前記ポリペプチドが、配列番号6もしくはそのバリエーションを含むか、またはそれからなる、請求項19～31のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド。

【請求項33】

請求項1～18のいずれか一項に記載のポリペプチドを発現するようにコードするポリヌクレオチド。

【請求項34】

請求項33に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項35】

請求項33に記載のポリヌクレオチドおよび/または請求項34に記載のベクターを含む細胞。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

微生物病原体からの細胞質DNAによる自然免疫活性化は、I型インターフェロン(IFN)および炎症性サイトカインの強力なトリガーである。IFN活性化に至る経路は、細胞質DNAに結合するタンパク質と、その後の下流シグナル伝達および免疫活性化に必要なタンパク質との両方に関して、広範囲に研究されている。細胞質DNAのセンサーとして複数の候補

10

20

30

40

50

が示唆されているが、特に2つのタンパク質が、DNA駆動性IFN応答において役割を果たすことが別々の研究室によって示されている。これらは、サイクリックGMP-AMPシンターゼ (cyclic GMP-AMP synthetase : cGAS) とIFNガンマ誘導性因子16 (IFN gamma-inducible factor 16 : IFI16) である。

【背景技術】

【0002】

細胞質および核のタンパク質であるIFI16は、一本鎖および二本鎖DNAによる刺激、ならびに異なるヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV) および細菌による感染による、I型IFN (IFN- α および IFN- β) の誘導に関連付けられている。cGASは細胞質タンパク質であり、すべての形態の構造化DNAのセンシングのために重要であり、微生物DNAの重要なセンサとして認識されている。これは、小胞体 (endoplasmic reticulum) 結合タンパク質であるインターフェロン遺伝子刺激因子 (stimulator of interferon genes : STING) に結合するセカンドメッセンジャーのサイクリックGMP-AMP (cGAMP) を産生する酵素能力を有する。この相互作用が立体構造変化を誘導して、STINGがホモ二量体化し、ERから移動し、TANK結合キナーゼ1 (TBK1) を動員することを可能にする。TBK1がどのようにSTINGに能動的に動員されるかは現在不明であるが、STINGへのTBK1結合の欠如は免疫活性化障害をもたらす。最近の報告は、STINGへのTBK1結合が、STINGのリン酸化ならびにIFN調節因子3 (IRF3) の動員および活性化を含む複雑な事象カスケードを開始させることを示した。Ser³⁶⁶におけるSTINGのリン酸化の欠如は下流シグナル伝達と免疫活性化を消失させ、このことはSTINGの正確で直接的な活性化の重要性を示している。

【0003】

cGAS欠損マウスの研究は、自然免疫応答における明らかな表現型を証明した。マウスにはヒトIFI16に対する直接的なオーソログがないため、IFI16欠損マウスモデルからのデータは利用可能でない。明確なマウスIFI16オーソログの不在のため、外来DNAに対する自然免疫応答におけるcGASとIFI16の間の潜在的相互接続を解明するためにはマウスモデルはあまり適していない。

【0004】

DNAセンシングにおけるcGASの作用のよく記述されたメカニズムとは対照的に、IFI16がどのようにSTING依存性シグナル伝達に関連しているか、またIFI16がcGAS-STING-TBK1経路と重複するか否かについての知識は限られている。以前の知見は、DNAに対するcGASの親和性が比較的弱く (20 μ Mの範囲のKd)、cGASが結合に関与するためにはDNAの特定のサイズまたは構造が必要であることを示していた。従って、cGASは1つ以上の補助因子の助けを借りて細胞質DNAに効率的に応答すると考えられる。

【0005】

単純ヘルペスウイルス1型および2型 (HSV-1およびHSV-2) は、溶菌感染および潜伏感染を確立する能力を有する、遍在的で感染性の高いDNAウイルスである。HSV感染に対する自然免疫センシングは、脳炎を含む壊滅的な疾患をもたらす得るHSVのウイルス制御のために必須である。HSV-1およびHSV-2は、IFI16と協働する宿主タンパク質STINGによって検出され、これがI型インターフェロンの産生をもたらす。しかし、HSV感染に対する自然免疫におけるIFI16の役割は、STING媒介性の応答に限定されない。IFI16は、インフラマソーム形成を開始し、HSVプロモーター部位に結合することによってHSV-1複製を制限し、ヒストン修飾を導入してウイルスDNA転写の抑制をもたらすことが示されている。

【0006】

ほとんどの病原体と同様に、HSVも自然免疫系による認識を回避する複数の機序を発達させてきた。これには、IFI16の分解およびI型インターフェロン発現の阻害が含まれる。

【発明の概要】

【0007】

本発明は、ヒトIFI16のピリン (pyrin) ドメインに由来する新規免疫調節ペプチドを開示する。IFI16のピリンドメインはIFI16とSTINGの活性に関与し、本明細書で提供されるポリペプチドは、これらの活性を調節することができ、それによって対象における免疫原

10

20

30

40

50

応答を調節する。本明細書に開示されているポリペプチドの特異的な免疫調節活性は、STING活性の調節のための全く新しいアプローチを提供し、それにより自然免疫応答の調節を提供する。

【0008】

ヒトIFI16のピリンドメインに由来する免疫調節ポリペプチドは、一側面において、配列KKYKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号6)に由来する。すなわち、ポリペプチドは、配列KKYKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号6)またはその一部を含み得る。

【0009】

ポリペプチドは、配列番号1のパリアントであってもよい。

【0010】

好ましい一実施形態では、ポリペプチドは配列番号6のパリアントであり、第2、3、6、7、8、9、12、13、15および/または17位における一つ以上のアミノ酸残基は未置換のままである。しかしながら、これらの位置のアミノ酸残基はまた、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させない任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され得、あるいはそれに改変され得る。このようなポリペプチドは、一般に、インターフェロン応答を誘導する能力を維持し、したがって、免疫応答を誘導するのに適している。他の改変は、インターフェロン応答を誘導するポリペプチドの能力を少なくとも部分的に失わせる可能性がある。

【0011】

別の好ましい実施形態では、ポリペプチドは配列番号6のパリアントであり、第1、2、6、7、8、9、11、12、13、17、19および/または20位における一つ以上のアミノ酸残基は未置換のままである。しかしながら、これらの位置のアミノ酸残基はまた、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させない任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され得、あるいはそれに改変され得る。このようなポリペプチドは、一般に、CXCL10サイトカイン応答を誘導する能力を維持し、したがって、免疫応答を誘導するのに適している。他の改変は、CXCL10サイトカイン応答を誘導するポリペプチドの能力を少なくとも部分的に失わせる可能性がある。

【0012】

別の好ましい実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のパリアントであり、ここで、第3、5、10、16および/または17位における一つ以上のアミノ酸残基は、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させるアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され、あるいはそれに改変される。好ましい一実施形態において、これらのアミノ酸の一つ以上がアラニンで置換される。このようなポリペプチドは、一般に、より強いI型インターフェロン応答またはサイトカイン応答を誘導することができる。

【0013】

別の好ましい実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のパリアントであり、ここで、第6、7、14および/または15位における一つ以上のアミノ酸残基は、未置換のままである。しかしながら、これらの位置のアミノ酸残基はまた、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させない任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され得、あるいはそれに改変され得る。このようなポリペプチドは、一般に、CXCL10サイトカイン応答を誘導する能力を維持し、したがって、免疫応答を誘導するのに適している。他の改変は、HSV感染に対するポリペプチドの抗ウイルス効果を少なくとも部分的に失なわせ得る。

【0014】

別の好ましい実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のパリアントであり、ここで、位置10、11および/または17における一つ以上のアミノ酸残基は、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させるアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され、あるいはそれに改変される。好ましい実施形態において、これらのアミノ酸の一つ以上がアラニンで置換される。このようなポリペプチドは、一般に、HSV感染に対して強い抗ウイルス応答を誘導することができる。

10

20

30

40

50

【0015】

1つの側面において、ポリペプチド ペプチド類縁体が提供され、ここで、該ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体は、一般式：KKX₃KNIVLL X₁₀LX₁₃VINX₁₇ YHF（配列番号31）のアミノ酸配列を含み、ここで、Xは任意のタンパク質生成性（天然）および非タンパク質生成性（非天然）アミノ酸残基から選択され、ただし、X₃はチロシン（Y）ではない、X₁₀はリジン（K）ではない、X₁₃はグルタミン酸（E）ではない、X₁₇はアスパラギン酸（D）ではない。

【0016】

好ましい実施形態は、配列KKX₃KNIVLLKGLEVINDYHF（配列番号4）若しくはKKYKNIVLLX₁₀GLEVINDYHF（配列番号5）、KKYKNIVLLKGLX₁₃VINDYHF（配列番号29）若しくはKKYKNIVLLKGLEVINX₁₇YHF（配列番号30）若しくはKKYKNIVLLKGLEVINDYHF（配列番号6）またはその断片若しくはホモログを含むか、またはそれからなるポリペプチドを含み、ここで、Xはタンパク質生成性（天然）および非タンパク質生成性（非天然）アミノ酸残基から選択され、ただしX₃はチロシン（Y）でなく、X₁₀はリジン（K）でなく、X₁₃はグルタミン酸（E）でなく、X₁₇はアスパラギン酸（D）でない。

10

【0017】

このようなポリペプチドは、IRF3もしくはNF-κBのいずれかまたは両方が誘導するシグナル伝達カスケードに続く自然免疫応答を調節することができる。好ましい実施形態において、位置1、2、3におけるアミノ酸残基のうち1つ以上は、これらのアミノ酸残基のいずれかの改変がIL6依存性発現の増加をもたらすので、未置換および/または未改変のままである。

20

【0018】

他の好ましい実施形態において、位置2、6、7、11、13、15、16、19および20におけるアミノ酸残基（K₂、I₆、V₇、G₁₁、E₁₃、I₁₅、N₁₆、H₁₉およびF₂₀）の一つ以上は、これらのアミノ酸残基のいずれかの改変がポリペプチドのサイトカイン依存性免疫刺激効果を部分的に失わせ得るので、未置換および/または未改変のままである。しかしながら、他の好ましい実施形態において、位置10、11、15、16、19および20における一つ以上のアミノ酸残基は、（好ましくはアラニンに）置換されており、そのようなポリペプチドはサイトカイン依存性免疫応答を誘導しないがインターフェロン応答を強く誘導する。

30

【0019】

ポリペプチドはまた、ポリペプチドのN末端またはC末端のいずれかに、特に細胞透過性ペプチドのような、1つ以上のコンジュゲート部分（conjugated moieties）を含んでもよい。

【0020】

本発明のポリペプチドは、特定の一側面において、不十分なSTING活性に関連する障害の治療における使用を含む、医薬としての使用のためのものである。また、STING活性の調節が予防または改善することができる障害の治療のためのポリペプチドも提供されることが理解される。

【0021】

別の実施形態では、必要とする個体に本発明のポリペプチドを投与することを含む、STING活性に関連する障害を治療する方法が提供される。

40

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】THP1細胞におけるアラニン改変ペプチドのスクリーニング。単球細胞株THP1は、DNA/CDNに対する活性の低下が疑われるホモ接合STING突然変異H₇₁A₂₃₀Q₂₉₃を有し、米国人の3%に見出される。PMAを用いてTHP1細胞をマクロファージに分化させた。2日後、IF116-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）またはアラニンで単一位置アミノ酸交換をしたポリペプチド（配列番号7~26）で1時間、細胞を前刺激した。続いて、リポフェクタミン中に製剤化されたSTINGアゴニスト2'3'cGAMPで細胞を刺激した。20時間後、上清を回収し、I型IFN（A）またはCXCL10（B）の産生を評価するために使用した。データは、2つの

50

独立した実験を表す生物学的三重検体の平均 ± SDを表す。

【 0 0 2 3 】

【図 2】初代ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) におけるアラニン改変ペプチドのスクリーニング。野生型STINGハプロタイプを持つ2人の異なる血液ドナーからPBMCを採取し、4時間培養した。次に、IFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6)、またはアラニンによる単一位置アミノ酸交換を有するポリペプチド (配列番号7~26) で細胞をプライミングした。続いて、リポフェクタミン中に製剤化されたニシン精巢DNA (HT-DNA) で細胞を刺激した。20時間後、上清を回収し、I型IFN (A-B) ; CXCL10 (C-D)、IL6 (E-F) の産生を評価するために使用した。

【 0 0 2 4 】

【図 3】タンパク質複合体を伴うペプチドのプルダウン。IFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) に共有結合したストレプトアビジン・ビーズと共に細胞溶解物をインキュベートした。共沈殿およびその後の免疫プロットは、ポリペプチドがSTING、IFI16に直接結合するが、TBK1およびIRF3には結合しないことを示している。

【 0 0 2 5 】

【図 4】ペプチドはSTING複合体を安定化する。PMA分化THP1細胞を、モックまたはIFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) のいずれかで刺激し、次いで2'3' cGAMPで活性化した。30、60、120、240および360分後に細胞を溶解し、図に示すように免疫プロットのために使用した。

【 0 0 2 6 】

【図 5】特定のアラニン変異を有するポリペプチドのCDスペクトル。IFI16-STINGポリペプチド (配列番号6) および位置11と13における二つの特定のアラニン置換 (配列番号17および19) を円偏光二色性スペクトルにより調べて二次構造を評価した。

【 0 0 2 7 】

【図 6】増強されたSTING結合親和性を有する三重変異ポリペプチド。IFI16-STINGポリペプチド (配列番号6および27) を、cGAMPで刺激したPBMCドナーにおいてIFN、CXCL10およびIL6応答についてスクリーニングした。

【 0 0 2 8 】

【図 7】IFI16由来ペプチドはI型インターフェロンとは独立にヒト線維芽細胞においてHSV-1およびHSV-2感染を制限する。A) IFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) または500~1000 U/mL IFN- γ の存在下または非存在下で、ヒト線維芽細胞をHSV-1 GFP (MOI 0.05およびMOI 0.1) で感染させた。48 hpiにフローサイトメトリーにより細胞を分析した。B) IFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) の存在下で、ヒト線維芽細胞をHSV-1 GFPまたはHSV-2 GFPで感染させた (MOI 0.05)。48 hpiにフローサイトメトリーにより細胞を分析した。データは、生物学的二重検体で得た3人のドナーの平均 ± SDを表す。C) HSV-1 GFP感染のあいだヒト線維芽細胞をIFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) で刺激した (MOI 0.1)。陽性対照として、ヒト線維芽細胞をSTINGアゴニストcGAMP (5 μ g/mL) で刺激した。データは、生物学的3重検体で得た2人のドナーの平均 ± SDを表す。

【 0 0 2 9 】

【図 8】細胞生存性試験。80 μ g/mLのIFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) の存在下または非存在下で、ヒト線維芽細胞を、HSV-1 GFP、HSV-2 GFPで感染させるか (MOI 0.05)、または未感染のままにした。細胞死についての陽性対照として、スタウロスポリン (500 nM) でヒト線維芽細胞を処理した。48 hpiに細胞生存率を分析した。データは、生物学的3重検体で得た3人のドナーの平均 ± SDを表す。

【 0 0 3 0 】

【図 9】IFI16由来ペプチドはSTING Aとは独立にHSV-1およびHSV-2の感染を制限する。40 μ g/mLのIFI16-STING特異的ポリペプチド (配列番号6) の存在下で、ヒト線維芽細胞をHSV-1 GFPまたはHSV-2 GFPで感染させた (MOI 0.05)。48 hpiにフローサイトメトリーにより細胞を分析した。データは、生物学的二重検体で得た3人のドナーの平均 ± SDを表す。B) ウェスタンブロット法により検出された、利用したWTおよびSTING KO線維芽細胞におけ

10

20

30

40

50

るSTINGタンパク質発現。

【0031】

【図10】IFI16由来ペプチドはウイルスVP16発現と内因性IFI16分解を阻害する。IFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）の存在下または非存在下で、ヒト線維芽細胞をHSV-1 GFPまたはHSV-2 GFPで感染させた（MOI 0.1、1または5）。24 hpiに、抗VP16、抗IFI16、抗STING、抗TBK1または抗ピンキュリン抗体を用いたウエスタンブロッティングによりタンパク質発現を分析した。

【0032】

【図11】ヒト線維芽細胞におけるアラニン改変ペプチドのスクリーニング。IFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）またはA) アラニンで単一位置アミノ酸交換したポリペプチド（配列番号7~26）の存在下で、ヒト線維芽細胞をHSV-1 GFPで感染させた（MOI 0.05）。48 hpiにフローサイトメトリーにより細胞を分析した。データは生物学的二重検体で得た2人のドナーの平均±SDを表す。B) 25 µg/mLのIFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）、ポリペプチドA10（配列番号16）、またはアシクロビル（50 ng/mL）の存在下または非存在下で、ヒト線維芽細胞をHSV-1 GFPで感染させた（MOI 0.1）。48 hpiにフローサイトメトリーにより細胞を分析した。データは、生物学的一検体で得た2人のドナーの平均±SDを表す。

10

【発明を実施するための形態】

【0033】

[定義]

20

「含む」という用語は、包括的（inclusive）態様で理解されるべきである。したがって、例として、化合物Xを含む組成物は、化合物Xおよび任意で追加の化合物を含み得る。

【0034】

本明細書中で使用される場合、用語「ポリペプチド」は、ペプチド（アミド）結合によって連結されたアミノ酸モノマーの鎖を表す。この鎖は任意の数のアミノ酸モノマーを含むことができるが、典型的には少なくとも5個のアミノ酸を含む。ポリペプチドは、任意のアミノ酸を含むことができるが、好ましくは、天然に存在するアミノ酸から主になり、ただし1つ以上のアミノ酸残基が非天然アミノ酸ホモログによって置換されていてもよい。天然に存在するアミノ酸とは、下記の残基を意味する。

【0035】

30

【表 1】

アミノ酸	3文字コード	1文字コード
アラニン	ala	A
アルギニン	arg	R
アスパラギン	asn	N
アスパラギン酸	asp	D
アスパラギンまたはアスパラギン酸	asx	B
システイン	cys	C
グルタミン酸	glu	E
グルタミン	gln	Q
グルタミンまたはグルタミン酸	glx	Z
グリシン	gly	G
ヒスチジン	his	H
イソロイシン	ile	I
ロイシン	leu	L
リジン	lys	K
メチオニン	met	M
フェニルアラニン	phe	F
プロリン	pro	P
セリン	ser	S
トレオニン	thr	T
トリプトファン	trp	W
チロシン	tyr	Y
バリン	val	V

10

20

30

40

【0036】

本明細書中で使用される場合、用語「ポリペプチド」はまた、非タンパク質生成起源のペプチド（アミド）結合によって連結されたアミノ酸モノマーの鎖も表し得、それらには以下のものが含まれるがこれらに限定されない。

L-アミノ酸、D-アミノ酸の立体異性体、 α -アミノ酸（ β および γ ）；ホモアミノ酸；プロリンおよびピルビン酸誘導体；

3-置換アラニン誘導体；グリシン誘導体；環置換体；

フェニルアラニンとチロシンの誘導体；直鎖状コアアミノ酸；N-メチルアミノ酸；シトルリン；オルニチン； ω -アセチルリジン；3-アミノプロピオン酸（ β -アラニン）；

50

アミノ安息香酸；6-アミノカプロン酸（Aca；6-アミノヘキサン酸）；アミノ酪酸（Abu）；ヒドロキシプロリン；メルカプトプロピオン酸（MPA）；3-ニトロチロシン；ノルロイシン（Nie）；およびピログルタミン酸。

【0037】

本明細書で使用される「ポリペプチド」という用語は、さらに、安定性を高めるためにD-立体異性体のペプチド（アミド）結合によって連結されたアミノ酸モノマーの鎖を表し得る。

【0038】

本明細書に開示されるポリペプチドが、1つ以上のアミノ酸置換を伴うバリエーションである場合、そのような置換は、1つの好ましい実施形態において、保存的突然変異/置換である。保存的アミノ酸置換とは、類似の側鎖を有する残基の互換性を指す。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンである；脂肪族ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリンおよびスレオニンであり、アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群は、アスパラギンおよびグルタミンであり；芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファンであり；塩基性の側鎖を有するアミノ酸の群は、リジン、アルギニン、およびヒスチジンであり；硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の群はシステインおよびメチオニンである。好ましい保存的アミノ酸置換の群は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、およびアスパラギン-グルタミンである。

【0039】

さらに、バリエーションは、下記に定義されるような所定数の保存的アミノ酸置換に基づいても決定される。本明細書中で使用される保存的アミノ酸置換は、（所定の群のアミノ酸のうちの）一アミノ酸を（その同じ群のうちの）別のアミノ酸の代わりに置き換えることに關し、ここで、該アミノ酸は類似のまたは実質的に類似の特徴を示す。

【0040】

従って、本発明によるバリエーションまたはその断片は、当該配列の一つの同じバリエーションもしくはその断片内に、または当該配列の複数の異なるバリエーションもしくはその断片内に、少なくとも1つの置換、例えば互いに独立して導入された複数の置換を含み得る。

【0041】

上記の概説から明らかなように、同じバリエーションまたはその断片が、本明細書中で定義した保存的アミノ酸の2つ以上の群からの2つ以上の保存的アミノ酸置換を含み得る。

【0042】

少なくとも一つのアミノ酸の付加または欠失は、好ましくは2~15個のアミノ酸、例えば2~13個のアミノ酸、例えば2~10個のアミノ酸、例えば2~8個のアミノ酸の付加、置換または欠失であり得る。1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17または18アミノ酸の付加、置換、または欠失もまた本発明の範囲内である。アミノ酸の欠失および/または付加は、互いに独立して、配列内および/または配列の末端における欠失および/または付加であり得る。

【0043】

本明細書に開示されるポリペプチドの機能的バリエーションは、好ましい所定のポリペプチド配列から、保存的置換を含め挿入、欠失および置換の数および範囲が増加するにつれて、徐々に異なるアミノ酸配列を示すことが理解される。この差異は、上記好ましい所定の配列と機能的バリエーションとの間の配列同一性の減少として測定される。本明細書に開示されるポリペプチドのすべての機能的バリエーション、特に配列番号1の機能的バリエーション、例えばそのアミノ酸7~26（配列番号6）は、本明細書に開示された対応する所定の配列（特に配列番号1または配列番号6）に対して示す相同性の程度にかかわらず、本発明の範囲に含まれる。その理由は、配列番号1または配列番号6のいくつかの領域が、容易に変異可能であるかまたは完全に欠失させることができ、生じる断片の結合活性に有意な影響を及ぼさないからである（実施例参照）。例えば、配列番号6のアミノ酸位置10および17は、HSV

10

20

30

40

50

処置に対する効率に関してポリペプチドの機能に全くまたは実質的に影響を与えずに容易に置換可能である。

【0044】

置換によって得られる機能的バリエーションは、機能的に類似したアミノ酸側鎖を含有する残基が置換される場合には、配列番号1または配列番号6のポリペプチドの何らかの形または程度の活性を十分に示しながら相同性はより低くなり得る。この点において機能的に類似しているとは、疎水性、塩基性、中性もしくは酸性、または立体的嵩高さの存在もしくは非存在のような、側鎖の主要な特徴を表す。したがって、本発明の一実施形態では、同一性の程度は、断片が好ましい所定の断片のバリエーションあるいは機能的等価物であることの主要な尺度ではない。

10

【0045】

機能的バリエーションの形成をもたらす非保存的置換は、例えば、i) 極性において実質的に異なり、例えば非極性側鎖を有する残基 (Ala、Leu、Pro、Trp、Val、Ile、Leu、PheまたはMet) がGly、Ser、Thr、Cys、Tyr、Asn、もしくはGlnのような極性側鎖を有する残基またはAsp、Glu、Arg、もしくはLysのような荷電アミノ酸を置換し、あるいは非極性のものを荷電残基もしくは極性残基で置換し、および/または; ii) ProまたはGlyを別の残基に、または別の残基から、置換することのように、ポリペプチド骨格の方向性への影響において実質的に異なり、および/または; iii) 電荷において実質的に異なり、例えば、Lys、HisまたはArgのような正に荷電した残基の代わりにGluまたはAspのような負に荷電した残基に置換し (逆もまた然り)、および/または; iv) 立体的嵩高さにおいて実質的に異なり、例えばHis、Trp、PheまたはTyrのような嵩高い残基が、例えばAla、GlyまたはSerのような小さい側鎖を有するものを置換する (逆もまた然り)。

20

【0046】

アミノ酸の置換によって得られるバリエーションは、1つの好ましい実施形態において、疎水性および親水性の値、ならびに、電荷、サイズ等を含むアミノ酸側鎖置換基の相対的類似性に基づいて作製され得る。前述の特性のいくつかを考慮に入れた典型的なアミノ酸置換は当業者によく知られており、それにはアルギニンとリジン; グルタミン酸とアスパラギン酸; セリンとトレオニン; グルタミンとアスパラギン; およびバリンとロイシンとイソロイシンが含まれる。

【0047】

本明細書に記載されたバリエーションに加えて、バリエーション構造の鍵となる部分を模倣するように立体的に類似したバリエーションを調製することができ、そのような化合物もまた、本発明のバリエーションと同じ態様で使用することができる。これは、当業者に知られるモデリングおよび化学設計の技術によって達成することができる。このような立体的に類似した全ての構築物が本発明の範囲内に入ることが理解されるであろう。

30

【0048】

IF116

本明細書で提供されるポリペプチドは、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質16 (IF116) のピリンドメインに由来する。IF116は、インターフェロン誘導性骨髄分化転写活性化因子としても知られる、細胞質および核のタンパク質である。ヒトにおいて、IF116はIF116遺伝子によってコードされ、ヒトIF116のアミノ酸配列は本明細書中では配列番号2として提供される。

40

【0049】

IF116は、ピリンドメイン、2つのHINDメイン (HIN-AとHIN-B)、およびBFPドメインを含むいくつかのドメインを含む。IF116には3つのアイソフォームが存在し、それらは選択的スプライシング部位によって生じる。3つのアイソフォームはすべてピリンドメインおよびHINDメインを含有する。1つの側面において、本発明は、IF116のピリンドメインに由来するポリペプチドに関する。

【0050】

ヒトIF116において、ピリンドメインは配列番号2のaa 4~90に位置する。他のIF116タ

50

ンパク質のピリンドメインは、そのIFI16を配列番号2のヒトIFI16と整列させて、配列番号2のアミノ酸4~90に対応するアミノ酸を同定することによって決定することができる。

【0051】

IFI16のピリンドメインは、特にヒトIFI16のピリンドメインであり得る。ヒトIFI16 PYRINのアミノ酸配列は、ここでは配列番号1として提供される。

【0052】

免疫調節ペプチド

本開示の1つの側面は、IFI16のピリンドメインを模倣するポリペプチドに関する。IFI16のピリンドメインに関して本明細書で使用される用語「模倣」は、関連するポリペプチドが全長IFI16と同じSTING活性の誘導効果を発揮し得ることを示すことを意図している。好ましくは、これらのポリペプチドはSTING活性を誘導することができる。したがって、該ポリペプチドは、下記「IFI16活性およびSTING活性」の節において記述されるSTING活性のいずれかを誘導する能力を有し得る。特に、ピリンドメイン由来ポリペプチドは、TBK1とSTINGとの間の相互作用を促進させる能力を有し得る。

10

【0053】

本明細書中で提供されるピリンドメイン由来ポリペプチドは、IFI16のピリンドメインの改変された領域またはその断片を含むか、またはそれからなり、場合により化学的部分(moiety)に結合(コンジュゲート)され得る。ピリンドメイン領域の改変は、以下に記述されるように、欠失、置換、挿入、またはアミノ酸改変(例えば少なくとも1つの化学的部分へのコンジュゲーション)によるものであり得る。

20

【0054】

一つの側面において、IFI16のピリンドメインのバリエーションまたはその断片、特に配列K KYKNIVLLKGLEVINDYHF(配列番号6)またはそのバリエーションであって、一つ以上のアミノ酸残基が改変されている、ポリペプチドが提供される。

【0055】

本明細書において言及されるバリエーションポリペプチドは、特に、機能的バリエーションを含む。したがって、本発明の1つの好ましい実施形態において、配列番号6のバリエーションおよびその断片のバリエーションも提供される。ポリペプチドである場合、バリエーションは、所定のアミノ酸配列との同一性の程度もしくは相同性に基づいて決定され、その所定のアミノ酸配列が配列番号1もしくは配列番号6のうちの一つであり、または、バリエーションが断片である場合には、上記アミノ酸配列のいずれかの断片との同一性の程度もしくは相同性に基づいて決定される。

30

【0056】

従ってバリエーションは、好ましくは、所定の配列と少なくとも75%の配列同一性、例えば少なくとも80%の配列同一性、例えば少なくとも85%の配列同一性、例えば少なくとも90%の配列同一性、例えば少なくとも91%の配列同一性、例えば少なくとも91%の配列同一性、例えば少なくとも92%の配列同一性、例えば少なくとも93%の配列同一性、例えば少なくとも94%の配列同一性、例えば少なくとも95%の配列同一性、例えば少なくとも96%の配列同一性、例えば少なくとも97%の配列同一性、例えば少なくとも98%の配列同一性、例えば99%の配列同一性を有する。

40

【0057】

一実施形態では、配列同一性は、配列番号1または配列番号6のペプチドの断片であって少なくとも5つの連続するアミノ酸を含みかつ配列番号4~30のいずれかのアミノ酸配列とそれぞれ少なくとも80%、例えば85%、例えば90%、例えば95%、例えば99%同一であるアミノ酸配列を有するものを利用することによって決定され、ここで、パーセント同一性は、デフォルトのギャップ重みを使用して、Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0中のアルゴリズムGAP、BESTFIT、またはFASTAを用いて決定することができる。

【0058】

「配列同一性」という用語は、二つのポリペプチド配列が比較のウィンドウにわたって同一であること(すなわち、アミノ酸対アミノ酸ベースで)を意味する。用語「配列同一

50

性のパーセンテージ」は、比較のウィンドウにわたって最適に整列された二つの配列を比較し、両方の配列において同一のアミノ酸が生じる位置の数を決定してマッチ位置の数を求め、そのマッチ位置の数を、比較のウィンドウ中の位置の総数（すなわちウィンドウサイズ）で割り、そしてその結果値を100倍して配列同一性のパーセンテージを求めることによって計算される。

【0059】

ヒトIF16のピリンドメインに由来する免疫調節ポリペプチドは、一側面において、配列KKYKNIVLLKGLEVINDYHF（配列番号6）に由来する。すなわち、ポリペプチドは、配列KKYKNIVLLKGLEVINDYHF（配列番号6）またはその一部を含み得る。

【0060】

該ポリペプチドは、配列番号1のバリエーションであってもよい。

【0061】

好ましい一実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のバリエーションであり、位置2、3、6、7、8、9、12、13、15および/または17における一つ以上のアミノ酸残基は非置換のままである。しかしながら、これらの位置におけるアミノ酸残基はまた、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させない任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され得、あるいはそれに改変され得る。そのようなポリペプチドは、一般に、インターフェロン応答を誘導する能力を維持し、したがって免疫応答を誘導するのに適している。他の改変は、インターフェロン応答を誘導するポリペプチドの能力を少なくとも部分的に失わせ得る。

【0062】

別の好ましい実施形態では、ポリペプチドは配列番号6のバリエーションであり、位置1、2、6、7、8、9、11、12、13、17、19および/または20における一つ以上のアミノ酸残基は未置換のままである。しかしながら、これらの位置のアミノ酸残基はまた、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させない任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され得、あるいはそれに改変され得る。そのようなポリペプチドは、一般に、CXCL10サイトカイン応答を誘導する能力を維持し、したがって、免疫応答を誘導するのに適している。他の改変は、CXCL10サイトカイン応答を誘導するポリペプチドの能力を少なくとも部分的に失わせ得る。

【0063】

別の好ましい実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のバリエーションであり、ここで、位置3、5、10、16および/または17における一つ以上のアミノ酸残基は、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させる任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され、あるいはそれに改変される。好ましい一実施形態では、これらのアミノ酸の一つ以上がアラニンで置換される。このようなポリペプチドは、一般に、より強いI型インターフェロン応答またはサイトカイン応答を誘導することができる。

【0064】

別の好ましい実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のバリエーションであり、ここで、位置6、7、14および/または15における一つ以上のアミノ酸残基は非置換のままである。しかしながら、これらの位置のアミノ酸残基はまた、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させない任意のアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され得、あるいはそれに改変され得る。このようなポリペプチドは、一般に、CXCL10サイトカイン応答を誘導する能力を維持し、したがって、免疫応答を誘導するのに適している。他の改変は、HSV感染に対するポリペプチドの抗ウイルス効果を少なくとも部分的に失わせ得る。

【0065】

別の好ましい実施形態において、ポリペプチドは配列番号6のバリエーションであり、ここで、位置10、11および/または17における一つ以上のアミノ酸残基は、それぞれのアミノ酸残基の極性または電荷を変化させるいずれかのアミノ酸またはアミノ酸バリエーションで置換され、あるいはそれに改変される。好ましい一実施形態において、これらのアミノ酸の一つ以上がアラニンで置換される。このようなポリペプチドは、一般に、HSV感染に対して

10

20

30

40

50

強い抗ウイルス応答を誘導することができる。

【0066】

1つの側面において、ポリペプチド ペプチド類縁体が提供され、ここで、該ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体は、一般式：KKX₃KNIVLL X₁₀LX₁₃VINX₁₇YHF（配列番号31）のアミノ酸配列を含み、ここで、Xはタンパク質生成性（天然）および非タンパク質生成性（非天然）アミノ酸残基から選択され、ただし、X₃はチロシン（Y）ではない、X₁₀はリジン（K）ではない、X₁₃はグルタミン酸（E）ではない、X₁₇はアスパラギン酸（D）ではない。

【0067】

一実施形態では、KKX₃KNIVLLKGLEVIN DYHF（配列番号4）もしくはその断片を含むかまたはそれからなるポリペプチドが提供され、ここでXは任意の天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしXはチロシン（Y）ではなく、例えば好ましくはXはA、R、N、D、B、C、E、Q、Z、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、WおよびVからなる群から選択されるアミノ酸残基である。

10

【0068】

別の好ましい実施形態では、KKYKNIVLLX₁₀GLEVIN DYHF（配列番号5）もしくはその断片を含む、またはそれからなるポリペプチドが提供され、ここでXは任意の天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしXはリジン（K）ではなく、例えば好ましくはXはA、R、N、D、B、C、E、Q、Z、G、H、I、L、M、F、P、S、T、W、YおよびVからなる群から選択されるアミノ酸残基である。

20

【0069】

配列番号5のポリペプチドは、配列番号6に対応し、位置10におけるアミノ酸残基が置換および/または改変される。このアミノ酸残基の改変はIL6依存性発現の減少をもたらし得るが、I型IFN応答を有意に増加させた。

【0070】

別の好ましい実施形態では、KKYKNIVLLKGLX₁₃VIN DYHF（配列番号29）もしくはその断片を含むかまたはそれからなるポリペプチドが提供され、ここでXは任意の天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₁₃はグルタミン酸（E）ではなく、好ましくはXはA、R、N、D、B、C、Q、Z、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、YおよびVからなる群から選択されるアミノ酸残基である。

30

【0071】

別の好ましい実施形態では、KKYKNIVLLKGLEVINX₁₇YHF（配列番号30）もしくはその断片を含むかまたはそれからなるポリペプチドが提供され、ここでXは任意の天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₁₇はアスパラギン酸（D）ではなく、好ましくはXはA、R、N、E、B、C、Q、Z、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、YおよびVからなる群から選択されるアミノ酸残基である。

【0072】

好ましい実施形態において、位置13、19および20におけるアミノ酸残基が置換および/または改変され（例えば、アラニンに置換されている配列番号27）、これらのアミノ酸残基のいずれかの改変は、IL6依存性発現の減少をもたらし得るが、I型IFN応答およびCXCL10応答を有意に増加させた。

40

【0073】

好ましい実施形態において、位置1、2、3におけるアミノ酸残基のうちの1つ以上が未置換および/または未改変のままであり、これらのアミノ酸残基のいずれかの改変はIL6依存性発現の増加をもたらし得る。

【0074】

一実施形態では、配列番号6の位置1、2、3、11、13、15、16、19および20におけるアミノ酸残基（K₁、K₂、Y₃、G₁₁、E₁₃、I₁₅、N₁₆、H₁₉およびF₂₀）の一つ以上が未置換および/または未改変のままであるポリペプチドが提供され、ここで、残りのアミノ酸残基の一つ以上は改変/置換され得る。

50

【 0 0 7 5 】

しかしながら、一つの特定の実施態様では、位置10、11、13、15、16、19および20における一つ以上のアミノ酸残基が改変または置換されているポリペプチドが提供される。位置10、11、13、15、16、19および20におけるアミノ酸残基は、任意の天然または非天然アミノ酸によって置換され得るが、好ましい一実施形態では、それらはアラニンに置換される。

【 0 0 7 6 】

別の実施形態では、配列番号6の位置6、7および14におけるアミノ酸残基 (I_6 、 V_7 、 V_{14} 、 E_{13} 、 I_{15} 、 N_{16} 、 H_{19} および F_{20}) の一つ以上が未置換および/または未改変のままであるバリエーションポリペプチドが提供され、ここで、残りのアミノ酸残基の一つ以上、特に位置1、2、3、4、10、11、12、17および/または19における一つ以上のアミノ酸残基は改変/置換されていてもよい。

10

【 0 0 7 7 】

以下のポリペプチドが、好ましい実施形態として提供され、本明細書で提供されるポリペプチドは、好ましくは、以下のものからなる群から選択される。

- ・ KKYKNIVLLKGLEVIN DYHF (配列番号6) (ペプチド 101)
 - ・ AKYKNIVLLKGLEVIN DYHF (配列番号7) (ペプチド A1)
 - ・ KAYKNIVLLKGLEVIN DYHF (配列番号8) (ペプチド A2)
 - ・ KKAKNIVLLKGLEVIN DYHF (配列番号9) (ペプチド A3)
 - ・ KKYANIVLLKGLEVIN DYHF (配列番号10) (ペプチド A4)
 - ・ KKYKAI VLLKGLEVIN DYHF (配列番号11) (ペプチド A5)
 - ・ KKYKNAVLLKGLEVIN DYHF (配列番号12) (ペプチド A6)
 - ・ KKYKNI ALLKGLEVIN DYHF (配列番号13) (ペプチド A7)
 - ・ KKYKNI VALKGLEVIN DYHF (配列番号14) (ペプチド A8)
 - ・ KKYKNI VLAKGLEVIN DYHF (配列番号15) (ペプチド A9)
 - ・ KKYKNI VLLAGLEVIN DYHF (配列番号16) (ペプチド A10)
 - ・ KKYKNI VLLKALEVIN DYHF (配列番号17) (ペプチド A11)
 - ・ KKYKNI VLLKGAEVIN DYHF (配列番号18) (ペプチド A12)
 - ・ KKYKNI VLLKGLAVIN DYHF (配列番号19) (ペプチド A13)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEA IN DYHF (配列番号20) (ペプチド A14)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEVANDYHF (配列番号21) (ペプチド A15)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEVIADYHF (配列番号22) (ペプチド A16)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEVINAYHF (配列番号23) (ペプチド A17)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEVINDAHF (配列番号24) (ペプチド A18)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEVIN DYAF (配列番号25) (ペプチド A19)
 - ・ KKYKNI VLLKGLEVIN DYHA (配列番号26) (ペプチド A20)
 - ・ KKYKNI VLLKGLAVIN DYAA (配列番号27) (ペプチド 107)
- ・ または上記のいずれかのものの機能的断片。

20

30

【 0 0 7 8 】

示されたように、本明細書において提供されるポリペプチドは、機能的断片も含む。このような断片は、一般に、少なくとも5個の連続するアミノ酸残基を含み、より好ましくは少なくとも10個、例えば少なくとも11、12、13、14個、例えば少なくとも15個、例えば少なくとも20個の連続するアミノ酸残基を含む。

40

【 0 0 7 9 】

付加部分

ポリペプチドはまた、任意で、少なくとも1つの化学的部分 (moiety) にコンジュゲート (conjugated) されてもよい。少なくとも1つのコンジュゲート部分は、ポリペプチドのN末端もしくはC末端、またはアミノ酸側鎖にさえ結合させ得る。

【 0 0 8 0 】

一実施形態において、コンジュゲート部分は、ペプチド、糖、脂質、細胞透過性ペプチ

50

ド (cell-penetrating peptide : CPP)、またはポリペプチドに共有結合され得る任意の他の化学基である。好ましい部分は、細胞透過性ペプチド (CPP) であり、これは、ポリペプチドの細胞取り込み (intake) / 取り込み (uptake) を促進させる短いペプチドである。CPPは、典型的には、リジンもしくはアルギニンのような正に荷電したアミノ酸の相対的に高い量を含むアミノ酸組成を有するか、または、極性 / 荷電性アミノ酸と非極性疎水性アミノ酸との交互パターンを含む配列を有する。これら2種類の構造はそれぞれポリカチオン性または両親媒性と呼ばれる。第三のクラスのCPPは、低い正味電荷を有し非極性残基のみを含むか、または細胞取り込みに重要な疎水性アミノ酸基を有する、疎水性ペプチドである。CPPは、直接的透過、エンドサイトーシス媒介性トランスロケーション、または一過性構造 (例えば逆ミセル) の形成を介したトランスロケーションのような、異なる経路を通じて細胞透過を媒介することができる。

【0081】

好ましい一実施形態では、CPPはHIV TAT配列またはその改変物である。別の実施形態では、CPPは (N₆-N₉) のアルギニン配列である。

【0082】

コンジュゲート部分はまた、その溶解性、安定性または半減期のようなポリペプチドの物理的特性を改善させ得る。1つの実施形態において、コンジュゲート部分は、ポリペプチドのイメージングに使用することができる検出可能部分であり、例えば、コンジュゲート部分はビオチン分子である。具体的には、ポリペプチドは、インビボ半減期を延長させるために、1以上の脂肪酸または脂肪酸様部分にコンジュゲートされ得る。

【0083】

したがって、1つの実施形態において、コンジュゲート部分は、アルファ-ヘリックスのポリペプチド二次構造の安定性をサポートすることができる修飾その他の化学基である。

【0084】

一実施形態では、コンジュゲート部分は、ポリエチレングリコール (PEG) ポリマー鎖または修飾PEG、例えばNPEGのような、宿主免疫系からポリペプチドをマスクする化合物であり得る。PEGまたは修飾PEGは、ペプチドのインビボ半減期も延長させ得る。

【0085】

さらに別の実施形態では、ポリペプチドはアルブミン結合ドメインを含む。

【0086】

1つの好ましい態様において、ポリペプチドは、NまたはC末端のCPPコンジュゲート部分を含む。

【0087】

本発明のペプチドは、標準的な化学合成法によって、または組換え発現系を使用することによって、または任意の他の適切な最新技術水準の方法によって製造することができる。したがって、本発明のペプチドは多くの態様で合成することができ、それらの態様としては特に以下の方法が挙げられる。

(a) 固相法または液相法的手段により、段階的にまたは断片アセンブリによってペプチドを合成し、最終的なペプチド生成物を単離し精製すること；または

(b) ペプチドをコードする核酸構築物を宿主細胞において発現させ、宿主細胞培養物から発現産物を回収すること；または

(c) ペプチドをコードする核酸構築物の無細胞インビトロ発現を行い、発現産物を回収すること；

または(a)、(b)および(c)のような方法の任意の組合せを採用して、ペプチドの断片を取得し、続いて断片を連結 (例えばライゲーション) して完全なペプチドを取得し、ペプチドを回収すること。

【0088】

固相または液相ペプチド合成的手段によって本発明の化合物を合成することが好ましくなり得、その方法はペプチド合成の技術分野の当業者にはよく知られている。またこの点に関して、例えば、Fields, G.B. et al., 2002, "Principles and practice of solid-p

10

20

30

40

50

hase peptide synthesis" in: Synthetic Peptides (2nd Edition)、およびそこに提供される例を参照することもできる。

【0089】

1つの実施形態において、ポリペプチドは、活性化剤としてHBTUを、および活性化の際の第三級アミンとしてN-メチルモルホリンを使用して、標準的なFmoc-ペプチド合成を用いるペプチド合成機で合成される。溶媒としてはNMP (n'-メチルピロリドン) が用いられ得る。カップリング時間は室温で約1時間であり得る。ペプチドはまた、TFA:EDT:TIPS:H₂O 94:2:1:3中で側鎖脱保護され得る。ジエチルエーテル中で沈殿させた後、ペプチドを例えばH₂O中に溶解し、0.1% TFAを含有する水アセトニトリル勾配中のC18カラム上で精製すべきである。樹脂の選択は当業者の能力の範囲内であるが、好ましい好適な樹脂は、樹脂ポリスチレン アミノメチル樹脂であり、これは好ましくはリンク・アミドリンカーで誘導体化される。ポリペプチドは、好ましくは少なくとも90%の純度で提供される。

10

【0090】

投与

本明細書で提供されるポリペプチドおよびそのようなペプチドを含む医薬組成物は、そのような治療を必要とする患者に、種々の部位において投与することができ、例えば動脈もしくは静脈、あるいは脳中のような、吸収をバイパスする部位において、および、例えば皮膚、皮下、筋肉、もしくは腹部のような、吸収が関わる部位において、投与され得る。より一般的には、本発明による医薬組成物の投与は、例えば、非経口、頭蓋内、表皮、皮膚、腫瘍内または経皮経路などの様々な投与経路によるものであり得る。ある実施形態では、舌側、舌下、頬側、経口、腔または直腸のような他の経路が有用となり得る。(本発明の医薬組成物の)非経口投与は、例えば、注射器(例えば、ペン様注射器)による皮下、筋肉内、腹腔内、または静脈内注射によって実施され得る。あるいは、非経口投与は、注入ポンプの手段によって行われ得、それは例えば、対象もしくは患者によって持ち運ばれ、有利には、本発明の液体組成物を含むリザーバと、該組成物を対象もしくは患者に送達/投与するための注入ポンプとを含む装置もしくはシステムの形態で、または、対象もしくは患者の体内への移植に適した、対応する小型化装置の形態であり得る。

20

【0091】

IFI16活性とSTING活性

断片およびそのバリエーションを含む、本明細書で提供されるポリペプチドは、好ましくは、機能的ポリペプチドであり、これは、1つ以上の関連する機能を保持することを意味する。好ましくは、ポリペプチドは1つ以上のIFI16活性を有する。

30

【0092】

IFI16は、例えば、小胞体結合タンパク質であるインターフェロン遺伝子刺激因子(STING)と相互作用する能力を有する。ヒトSTINGのアミノ酸配列は、本明細書では配列番号3として提供される。

【0093】

したがって、一実施形態において、本明細書で提供される機能的ポリペプチドは、STINGと相互作用する能力を有する。好ましくは、ポリペプチドは、STING活性を増加させる能力を有する。

40

【0094】

IFI16は、環状ジヌクレオチド(cyclic-di-nucleotide: CDN)の直接結合を介してSTING活性化に関与する。したがって、1つの実施形態において、本明細書で提供される機能的ポリペプチドは、STING活性化を誘導することができ、特に、CDNの存在下でSTING活性化を誘導することができる。しかしながら、特定のポリペプチドは、例えば、CDNの「導入」もしくは「刺激」の後に、またはCDNに由来するかもしくはCDNに類似する小分子の「導入」もしくは「刺激」の後に、STING活性化を阻害または少なくとも低減させることができる。

【0095】

STINGの活性化は、以下に挙げるようないくつかの異なる方法で決定することができる

50

。

【0096】

STING活性化は、STINGリン酸化を決定することによって決定され得る。したがって、本明細書で提供される機能的ポリペプチドは、一実施形態では、STINGのリン酸化を誘導する能力を有し、例えば、STINGのリン酸化の少なくとも2倍の増加を誘導することができる。あるいは、ポリペプチドは、STINGのリン酸化を阻害するか、または少なくとも減少させる能力を有し得る。したがって、好ましくは、ポリペプチドは、STINGのリン酸化を少なくとも2倍減少させることができる。STINGの上記リン酸化は、特に配列番号3のSTINGのSer³⁶⁶のリン酸化であり得る。

【0097】

STINGのリン酸化、特に配列番号3のSTINGのSer³⁶⁶のリン酸化は、任意の有用な方法で、例えば下記の実施例3に記述されているように決定することができる。

【0098】

また、STING活性化は、I型IFNまたはサイトカインを発現する能力を有する細胞におけるI型IFNまたは炎症性サイトカインの発現の活性化として決定することもできる。このような細胞の例としては、マクロファージ、樹状細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、単球、上皮細胞、B細胞、またはNK細胞が挙げられる。従って、STING活性化は、そのような細胞におけるI型IFNまたはサイトカインの発現を決定することによって決定され得る。従って、本明細書中に提供されるポリペプチドは、そのような細胞においてI型IFNまたはサイトカインの発現を誘導することができ、例えばそのような細胞において（例えばマクロファージにおいて）、I型IFNの発現の少なくとも2倍の増加を誘導することができることが好ましくなり得る。また、本明細書中で提供されるポリペプチドは、そのような細胞において（例えばマクロファージにおいて）I型IFNまたはサイトカインの発現を阻害または少なくとも減少させることができることも好ましい。したがって、好ましい一実施形態において、本明細書で提供される上記ポリペプチドは、そのような細胞（例えばマクロファージ）からのI型IFNまたはサイトカインの発現を少なくとも2倍低減させることができる。

【0099】

別の実施形態では、本明細書で提供されるポリペプチドは、I型インターフェロン応答を誘導する能力を有する。

【0100】

さらにもう1つの実施形態において、本明細書中で提供されるポリペプチドは、サイトカイン応答を誘発することなく、インターフェロン応答を誘導することができる。

【0101】

I型IFNまたはサイトカイン（例えばCXCL10およびIL6であるがこれらに限定されない）の発現は、任意の有用な方法、例えば下記の実施例1または2に記述されるような方法で決定することができる。

【0102】

1つの実施形態において、上記ポリペプチドは、IL6サイトカイン応答を誘発することなく、それだけでCXCL10サイトカイン応答を誘導し、インターフェロン応答を誘導することができる。

【0103】

STING活性化はIFNプロモーター活性の活性化としても決定され得る。したがって、本明細書で提供されるポリペプチドは、IFNプロモーター活性を活性化させる能力を有すること、例えば、IFNプロモーター活性の少なくとも2倍の増加を誘導する能力を有することが好ましくなり得る。しかしながら、本明細書で提供される特定のポリペプチドがIFNプロモーターの活性を阻害または少なくとも低下させる能力を有することも好ましい。したがって、好ましくは、本明細書で提供されるポリペプチドは、IFNプロモーターの活性を少なくとも2倍低下させることができる。

【0104】

STING活性は細胞内のSTINGの量によっても反映され得、これはSTING分解とSTING産生の

10

20

30

40

50

レベルに影響される。従って、STING分解を減少させることおよび/または新しいSTINGの生成を増加させることにより、STINGの活性を増加させることができる。従って、STING活性は、細胞中のSTINGの相対量によっても決定され得る。

【0105】

インターフェロン応答とサイトカイン応答の分離

特に驚くべきことに、インターフェロン応答とサイトカイン依存性応答とを、本明細書中に提供される特定のポリペプチドを用いて分離することができることを見出された。したがって、本明細書で提供されるポリペプチドは、応答を増加または減少させるだけのことに限定されず、種々の様式で自然免疫応答を調節し得る。例えば、配列KKX₃KNIVLLKGLE VINDYHF (配列番号4)若しくはKKYKNIVLLX₁₀GLEVINDYHF (配列番号5)若しくはKKYKNIVLL KGLX₁₃VINDYHF (配列番号29)またはその断片若しくはホモログを含むかまたはそれからなり、Xは任意の天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₃はチロシン (Y)ではなく、X₁₀はリジン (K)でなく、X₁₃はグルタミン酸 (E)ではなく、位置11、13、19および20のうちの1つ以上におけるアミノ酸残基が(好ましくはアラニンに)置換されているポリペプチドの好ましい実施形態では、強いインターフェロン応答を誘導しながら、サイトカイン依存性免疫応答は消失する。

【0106】

強力なインターフェロン応答を誘導することができる一方で、サイトカイン応答(例えばCXCL10およびIL6であるがこれらに限定されない)を抑制する、あるいは少なくともそれを同時に誘発しない、そのようなIFI16ピリンドメインポリペプチドは、T細胞活性化の増加または抗ウイルス活性の増加が必要とされる癌または感染性疾患などの臨床状態を含む特定の生理学的状態の治療において、非常に有用となる。

【0107】

特に好ましいのは、ポリペプチドA10(配列番号16)、A13(配列番号19)、101(配列番号6)および/または107(配列番号27)、またはその機能的断片もしくはホモログである。

【0108】

STING活性に関連する障害

1つの側面において、本発明のポリペプチドは、医薬としての使用、特に、STING活性に関連する障害、より具体的には不十分なSTING活性に関連する障害の治療における使用、および/またはSTING活性を増加させることによって治療、予防もしくは改善することができる障害の治療における使用のためにも提供される。

【0109】

したがって、本明細書において提供されるポリペプチドは、1つの好ましい実施形態において、不十分なSTING活性に関連する障害の治療における使用のために提供され、本文脈においてこれは、STING活性を増加させることによって治療または改善することができる任意の障害も含むことが意図される。

【0110】

本明細書の他の箇所述べたように、IFI16のピリンドメインはSTING活性を誘導することができる。従って、本明細書で提供されるポリペプチドは、不十分なSTING活性に関連する障害を治療するために有用であり、それはSTING活性を増加させることによって治療または改善することができるあらゆる障害を含む。

【0111】

1つの実施形態において、障害は、TBK1および/またはIRF3および/またはNF-κB活性と関連するものである。

【0112】

別の実施形態では、障害は癌である。癌(悪性新生物)は、一群の細胞が無制御の増殖(通常の限界を超えた増殖と分裂)、浸潤(隣接組織への侵入およびその破壊)、およびときに転移(リンパまたは血液を介した体内の他の部位への広がり)といった特徴を示す疾患群である。ほとんどの癌は腫瘍を形成するが、白血病のように腫瘍を形成しない癌も

ある。

【0113】

従って、該障害は癌であり得、例えば、結腸癌、乳癌、膵癌、卵巣癌、前立腺癌、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、セミノーマ、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠芽腫、神経鞘腫、頭蓋咽頭腫、シュワン細胞腫、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫瘍、乏突起膠腫、髄膜腫、メラノーマ、神経芽腫、網膜芽腫、白血病およびリンパ腫、急性リンパ性白血病および急性骨髄球性多血症、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、および重鎖病、急性非リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、直腸癌、泌尿器癌、子宮癌、口腔癌、皮膚癌、胃癌、脳腫瘍、肝癌、喉頭癌、食道癌、乳房腫瘍、幼児期null急性リンパ性白血病 (acute lymphoid leukemia : ALL)、胸腺ALL、B細胞ALL、急性骨髄性白血病、骨髄単球様細胞性白血病、急性巨核球性白血病、パーキットリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、T細胞白血病、小型および大型の非小細胞肺癌、急性顆粒球性白血病、生殖細胞腫瘍、子宮内膜癌、胃癌、頭頸部癌、慢性リンパ性白血病、有毛細胞白血病および甲状腺癌からなる群から選択される癌であり得る。

10

【0114】

好ましい一実施形態では、バリエーションポリペプチドが、例えば癌などの、STING活性に関連する障害の治療における使用のために提供され、ここで、配列番号6の位置2、6、7、11、15、16、19および20における一つ以上のアミノ酸残基が未置換および/または未改変のままであり、残りのアミノ酸残基の一つ以上が改変/置換されていてもよく、特に位置3、10および13における一つ以上のアミノ酸残基が改変/置換されていてもよい。バリエーションは、好ましくは、配列番号6と少なくとも70%同一であり、例えば、少なくとも75%、80%同一であり、配列番号6~30のいずれかと少なくとも85%、90%、95%、例えば99%同一である。

20

【0115】

該障害は、IFNが有害となる、DNA病原体による感染症でもあり得る。そのような障害には、例えば、HSV、HIV、肝炎、HPV；マラリアまたはリステリアが含まれる。そのような好ましい一実施形態において、障害は、単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染症、例えばHSV-1および/またはHSV-2感染症である。

30

【0116】

好ましい一実施形態において、HSD感染症の治療における使用のためにバリエーションポリペプチドが提供され、ここで、配列番号6の位置6、7および14におけるアミノ酸残基 (I₆、V₇、V₁₄) の一つ以上は未置換および/または未改変のままであり、一方、残りのアミノ酸残基の一つ以上は改変/置換されていてもよく、特に位置1、2、3、4、10、11、12、17および/または19における一つ以上のアミノ酸残基、好ましくはアミノ酸残基10および/または17は改変/置換され得る。バリエーションは、好ましくは、配列番号6と少なくとも70%同一であり、例えば少なくとも75%、80%同一であり、配列番号6~30のいずれかと少なくとも85%、90%、95%、例えば少なくとも99%同一である。

40

【0117】

治療方法および併用療法

本明細書に提供される態様の1つによれば、本明細書に記載されるポリペプチドのいずれか1以上をそれを必要とする個体に投与することを含む、STING活性に関連する障害を治療する方法が提供される。

【0118】

しかしながら、本明細書中に記載され本明細書中の他の箇所で定義されるところのポリペプチドは、一般的に医薬における使用、すなわち医薬としての使用のためにも提供され

50

る。これらのポリペプチドは、STING活性の調節によって治療、予防または改善され得る任意の臨床状態の治療のために使用することができる。

【0119】

一態様では、医薬の調製のために、例えば、STING活性に関連する（特に、不十分なSTING活性に関連する）障害の治療用の医薬の調製のために、上記で提供されたIFI16ピリンドメイン由来ポリペプチドの使用が提供される。他の箇所でも述べたように、障害は、STING活性の調節によって治療、予防または改善することができる任意の臨床状態であり得る。

【0120】

本明細書に記載されるような医学的使用および/または障害の治療のための、本明細書に提供される使用および方法には、併用療法が関わることもでき、そこでは、本明細書に定義されるポリペプチドが、少なくとも1つのさらなる活性化合物と組み合わせられる。この少なくとも1つの追加の活性化合物は、1つ以上のポリペプチドの投与の前に、それと同時に、またはその後投与され得る。

10

【0121】

1つの好ましい実施形態において、本開示のポリペプチドが、癌の治療における使用のために提供され、この実施形態では、該ポリペプチドの投与は、抗癌剤と共に投与される。

【0122】

この薬剤は、好ましくは化学療法剤である。化学療法剤は、全身投与によって、例えば化学療法剤を含む溶液の静脈内注射によって、または経口投与によって投与されることが好ましい。化学療法剤は、アルキル化剤、抗代謝剤、抗微小管剤、トポイソメラーゼ阻害剤、および細胞傷害性抗生物質から選択され得る。

20

【0123】

1つの実施形態において、化学療法剤はアルキル化剤である。アルキル化剤は、DNAにアルキル基を結合させる抗新生物剤として癌治療に用いられる。アルキル基は、DNAのグアニン塩基の、プリン環の7番窒素原子に結合される。癌細胞は一般に、健康な細胞よりも速く且つより少ないエラー訂正で増殖するため、DNA損傷、すなわちアルキル化されたDNAに関してより感受性が高い。ジアルキル化剤は2つの異なる7-N-グアニン残基と反応とすることができ、モノアルキル化剤はグアニンの1つの7-Nのみと反応することができる。

30

【0124】

アルキル化剤の例は、シクロホスファミド、メクロレタミンまたはムスチン（HN2）（商品名Mustargen）、ウラムスチンまたはウラシルマスタード、メルファラン、クロラムブシル、イホスファミドおよびベンダムスチンなどのナイトロジェンマスタードである。

他の例は、カルムスチン、ロムスチンおよびストレプトゾシンのようなニトロソウレアである。別の実施形態では、アルキル化剤は、ブスルファンなどのアルキルスルホネートである。別の実施形態では、薬剤はチオテパまたはその類縁体である。

【0125】

化学療法剤は、アルキル化剤としてふるまう白金系化学療法剤であってもよい。これらの薬物はアルキル基をもたないが、DNAに恒久的に配位結合してDNA修復を妨げることによってDNAを損傷する。これらの薬剤は「アルキル化様の」と呼ばれることもある。そのような薬剤には、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン、オキサリプラチン、サトラプラチン、および四硝酸トリプラチンが含まれる。

40

【0126】

さらに別の実施形態では、化学療法剤は、プロカルバジン、アルトレタミン、テトラジン、例えばダカルバジン、ミトゾロミドおよびテモゾロミドから選択されるアルキル化剤である。

【0127】

1つの実施形態において、化学療法剤は、アルキル化剤、トポイソメラーゼ阻害剤、例えば1型トポイソメラーゼを標的とするイリノテカンまたは2型トポイソメラーゼを標的と

50

するエトポシドである。別の実施形態では、化学療法剤は、ベバシズマブなどの血管内皮増殖因子（VEGF）阻害剤である。

【0128】

別の実施形態では、化学療法剤は、シクロホスファミド、メクロレタミンまたはムスチン（HN2）（商品名Mustargen）、ウラムスチンまたはウラシルマスタード、メルファラン、クロラムブシル、イホスファミドおよびベンダムスチンなどのナイトロジェンマスタードから選択される。別の実施形態では、化学療法剤は、ニトロソウレア類、例えばカルムスチン、ロムスチンおよびストレプトゾシンから選択される。別の実施形態では、化学療法剤は、プスルファンなどのアルキルスルホネートから選択される。別の実施形態では、化学療法剤はチオテパまたはその類縁体である。別の実施形態では、化学療法剤は、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン、オキサリプラチン、サトラプラチン、および四硝酸トリプラチンなどの白金系化学療法剤から選択される。別の実施形態では、化学療法剤は、プロカルバジン、アルトレタミンまたはテトラジン、例えばダカルバジン、ミトゾロミドおよびテモゾロミドから選択される。別の実施形態では、化学療法剤は、アンサクリン、エトポシド、リン酸エトポシド、テニポシド、ドキシソルビシン、イリノテカン、トポテカン、エキサテカン、ラルトテカンなどのトポイソメラーゼ阻害剤から選択される。さらに別の実施形態では、化学療法剤はベバシズマブおよびラニビズマブなどのVEGF阻害剤から選択される。

10

【0129】

注目すべきことに、本明細書に定義されるポリペプチドと一緒に、医学的使用および/または本明細書に記載の障害の治療のための使用および方法において提供される少なくとも1つのさらなる活性化合物はまた、非化学療法剤でもあり得る。特に、この少なくとも1つの追加の活性化合物は、1つの実施形態において、1つ以上のチェックポイント阻害剤である。チェックポイント阻害剤は一般的に、体が癌細胞を認識し攻撃するのを助ける薬剤である。

20

【0130】

さらに、本明細書に定義されるポリペプチドと一緒に、医学的使用および/または本明細書に記載の障害の治療のための使用および方法において提供される少なくとも1つのさらなる活性化合物はまた、非化学療法剤でもあり得る。特に、この少なくとも1つのさらなる活性化合物は、1つの実施形態において、免疫活性化を増強する1以上のT細胞共刺激免疫調節剤であり、例えば4-1BB（CD137）、OX40（CD134）およびCD40であるがこれらに限定されない。共刺激調節剤は一般に、体が癌細胞を認識し攻撃するのを助ける薬剤である。

30

【0131】

さらに、医学的使用および/または本明細書に記載されるような障害の治療のための、本明細書に提供される使用および方法はまた、併用療法を含み得、ここで、本明細書に定義されるポリペプチドは、放射線療法と組み合わせられ得る。従って、本明細書において定義されるポリペプチドは、特定の実施形態において、治療される個体に放射線療法が施される前、そのあいだ、および/またはその後、少なくとも1つの追加の活性化合物とともに投与される。本明細書中で定義されるポリペプチドを放射線療法と組み合わせて提供することは、放射線療法によって誘発されるSTING依存性免疫応答を高めるのに役立つ、それによって放射線療法の効果を最大化する。

40

【0132】

特定の実施形態において、IFI16ピリンドメイン由来ポリペプチドは、不十分なSTING活性に関連する障害の治療における使用のために提供される。

【0133】

医薬組成物

本発明のポリペプチドを未加工化学物質として投与することも可能ではあるが、それらを医薬組成物の形態で提供することが好ましい。したがって、本発明はさらに、本発明のIFI16ピリンドメイン由来ポリペプチドまたはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許

50

容される担体とを含む医薬組成物を提供する。これらのIF116ピリンドメイン由来ポリペプチドを含有するポリペプチドと薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物も提供される。

【0134】

医薬組成物は、例えばRemington:The Science and Practice of Pharmacy 2005, Lippincott, Williams & Wilkinsに記述されているような、従来の技術によって調製することができる。

【0135】

薬学的に許容される担体は、固体または液体のいずれかであり得る。固形製剤としては散剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、カシェ剤、坐剤及び分散性顆粒剤が挙げられる。固体担体は、希釈剤、着色剤、可溶化剤、潤滑剤、懸濁剤、結合剤、保存剤、湿潤剤、錠剤崩壊剤、または封入材料としても作用し得る、1種以上の賦形剤であり得る。

10

【0136】

また、使用直前に経口投与用の液状調製物に変換することを意図した固形製剤も含まれる。そのような液体形態には、溶液、懸濁液、およびエマルジョンが含まれる。これらの製剤は、活性成分に加えて、着色剤、香料、安定化剤、緩衝剤、人工および天然の甘味剤、分散剤、増粘剤、可溶化剤などを含んでもよい。

【0137】

本発明のポリペプチドは、非経口投与のために製剤化することができ、任意で添加された保存剤と共に、アンプル、事前充填注射器、少量注入液中の単位投与形態で、または多回投与容器中に提供され得る。組成物は、油性または水性媒体中の懸濁液、溶液、またはエマルジョン、例えば水性ポリエチレングリコール中の溶液などの形態をとることができる。油性あるいは非水性の担体、希釈剤、溶媒またはビヒクルの例には、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油（例えばオリーブ油）、および注射可能な有機エステル（例えばオレイン酸エチル）が含まれ、保存剤、湿潤剤、乳化剤または懸濁剤、安定化剤および/または分散剤などの薬剤を含んでもよい。あるいは、活性成分が、無菌固形物の無菌的単離または溶液からの凍結乾燥によって得られる粉末形態であって、使用前に例えば無菌のピロジェンフリー水のような適切なビヒクルによって構成するためのものであってもよい。

20

【0138】

好ましくは、製剤は、約0.5%~75重量%の活性成分（複数可）を含み、残部は本明細書に記載されるような適切な医薬賦形剤からなる。

30

【0139】

IF116ピリン阻害剤の薬学的に許容される塩も、それらが調製され得る場合には、本発明によって包含されることが意図される。これらの塩は、医薬用途への適用に関して許容される塩である。

【0140】

薬学的に許容される塩は、標準的な方法で調製される。親化合物が塩基である場合は、適切な溶媒中で過剰の有機酸または無機酸で処理する。親化合物が酸である場合、適切な溶媒中で無機塩基または有機塩基で処理する。

40

【0141】

本発明のポリペプチドは一般的に、「有効量」、あるいは個々の患者において「有効レベル」を達成するのに必要な量で投与される。「有効レベル」が投薬のための好ましいエンドポイントとして用いられる場合、実際の投与量および投与スケジュールは、薬物動態、薬物分布および代謝における個体間差に依存して変化し得る。「有効レベル」は、例えば、本発明による化合物またはポリペプチドの濃度に対応する、患者において望まれる血液レベルまたは組織レベルとして定義され得る。

【0142】

本発明のポリペプチドは、1以上の他の活性化合物と一緒に、典型的には、治療されるべきその特定の障害の治療に有用な1以上の他の活性化合物と一緒に投与され得る。従っ

50

て、障害が癌である場合、本発明のポリペプチドは、1種以上の抗癌剤と共に投与され得る。

【0143】

本発明の医薬組成物の特定の実施形態は、好ましくは液状医薬組成物であり、約0.01 mg/ml ~ 約50 mg/ml、例えば約1 mg/ml ~ 約20 mg/ml、例えば約1 mg/ml ~ 約10 mg/mlの濃度で本発明の化合物を含み得る。ある態様において、組成物は、2.0 ~ 10.0のpHを有する。本発明の医薬組成物は、緩衝系、保存剤（複数可）、等張化剤（複数可）、キレート安定化剤（複数可）および/または界面活性剤（複数可）をさらに含んでもよい。本発明の液状医薬組成物の特に有用な態様は、水性組成物、すなわち水を含む組成物である。このような組成物は、水溶液または水性懸濁液の形態であり得る。本発明の水性医薬組成物の好ましい態様は水溶液である。本発明の文脈において、「水性組成物」という用語は、通常、少なくとも50重量%（50% w/w）の水を含む組成物を表す。同様に、「水溶液」という用語は、通常、少なくとも50% w/wの水を含む溶液を表し、「水性懸濁液」という用語は、少なくとも50% w/wの水を含む懸濁液を表す。いくつかの実施形態において、本発明の医薬組成物は、0.1 mg/ml以上の濃度で存在する本発明の化合物（またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物）の水溶液を緩衝剤と共に含み、組成物は、約2.0 ~ 約10.0のpH、例えば約6.0 ~ 約8.5のpH、例えば約6.5 ~ 約8.5、例えば約7.0 ~ 約8.5、または約6.5 ~ 約8.0のpHを有する。本発明の薬学的組成物の他の実施形態では、組成物のpHは、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.8、9.9、および10.0からなるリストから選択されるpHである。組成物のpHは、本発明の構成ポリペプチド化合物の等電点から少なくとも1 pH単位であり得（すなわち、より高いかまたはより低く）、例えば本発明の化合物の等電点から少なくとも2 pH単位であり得る（すなわち、より高いかまたはより低い）。本発明の緩衝剤含有医薬組成物のさらなる実施形態において、緩衝剤または緩衝物質は、酢酸塩緩衝剤（例えば酢酸ナトリウム）、炭酸ナトリウム、クエン酸塩（例えばクエン酸ナトリウム）、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リジン、アルギニン、リン酸塩（例えば、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、およびリン酸三ナトリウムのなかから選択されるもの）、TRIS（すなわち、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン）、HEPES（すなわち、4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジン-エタンスルホン酸）、BICINE（すなわち、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)グリシン）、およびTRICINE（すなわち、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]グリシン））、ならびにコハク酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、およびアスパラギン酸塩緩衝剤、およびそれらの混合物からなる群より選択される。

【0144】

保存剤

本発明の医薬組成物のさらなる実施形態において、該組成物は薬学的に許容される保存剤を含む。関連する保存剤としては、フェノール、o-クレゾール、m-クレゾール、p-クレゾール、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸エチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、p-5-ヒドロキシ安息香酸ブチル、2-フェノキシエタノール、2-フェニルエタノール、ベンジルアルコール、エタノール、クロロブタノール、チオメロサール、プロノポール、安息香酸、イミド尿素、クロルヘキシジン、デヒドロ酢酸ナトリウム、クロロクレゾール、塩化ベンゼトニウム、クロルフェネシン [すなわち3-(p-クロロフェノキシ)プロパン-1,2-ジオール]、およびそれらの混合物からなる群から選択される保存剤が挙げられる。保存剤は、最終的な液体組成物中に0.1 mg/ml ~ 30 mg/ml、例えば0.1 mg/ml ~ 20 mg/ml（例えば、0.1 mg/ml ~ 5 mg/ml、または5 mg/ml ~ 10 mg/ml、または10 mg/ml ~ 20 mg/ml）の濃度で存在し得る。医薬組成物における保存剤の使用は当業者によく知られている。これに関連して、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th ed

ition, 1995を参照することができる。

【0145】

等張化剤

さらなる態様において、本発明の医薬組成物は、等張化剤（すなわち、組成物を等張にする目的で組成物に含まれる薬学的に許容される薬剤）を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、注射によって対象に投与される。関連する等張化剤は、塩（例えば塩化ナトリウム）、糖および糖アルコール、アミノ酸（グリシン、アルギニン、リシン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファンおよびトレオニンを含む）、アルジトール（グリセロール、プロピレングリコール（すなわち1,2-プロパンジオール）、1,3-プロパンジオールおよび1,3-ブタンジオールを含む）、ポリエチレングリコール（PEG400を含む）、およびそれらの混合物からなる群より選択される薬剤を含む。適切な糖としては、モノ-、ジ-およびポリサッカライド、並びに、フルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、デキストラン、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、可溶性デンプン、ヒドロキシエチルスターチおよびカルボキシメチルセルロースナトリウム塩のような水溶性グルカンが挙げられる。ある実施形態では、スクロースが使用され得る。適切な糖アルコールとしては、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、ガラシチオール、ズルシトール、キシリトールおよびアラビトールを含む、ヒドロキシル化C4~C8炭化水素が挙げられる。ある実施形態では、マンニトールが使用され得る。上記の糖または糖アルコールは、個別にまたは組合せて使用することができる。液状製剤に溶解し、等張性を確立し、組成物の安定性に悪影響を及ぼさない限り、等張化剤の使用量には決まった制限はない。最終的な液体組成物中の等張化剤（例えば糖または糖アルコール）の濃度は、例えば約1 mg/ml ~ 約150 mg/ml、例えば1 mg/ml ~ 50 mg/mlであり得る。特定の実施形態において、その濃度は、1 mg/ml ~ 7 mg/ml、または8 mg/ml ~ 24 mg/ml、または25 mg/ml ~ 50 mg/mlであり得る。医薬組成物における等張化剤の使用は当業者によく知られている。これに関連して、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995を参照することができる。本発明の医薬組成物のさらなる実施形態において、組成物は、キレート剤を含む。関連するキレート剤としては、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、クエン酸またはアスパラギン酸の塩およびこれらの混合物が挙げられる。キレート剤は、0.1 mg/ml ~ 5 mg/ml、例えば0.1 mg/ml ~ 2 mg/ml、または2 mg/ml ~ 5 mg/mlの濃度で最終的な液体組成物中に好適に存在し得る。医薬組成物におけるキレート剤の使用は当業者によく知られている。これに関連して、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995を参照することができる。

【0146】

安定化剤

本発明の医薬組成物のさらなる実施形態において、組成物は安定化剤を含む。医薬組成物における安定化剤の使用は当業者によく知られており、この点に関しては、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995を参照することができる。本発明の特に有用な医薬組成物は、さもなくば液状培体中での保存の際に凝集体形成を示す可能性がある本発明のポリペプチドを含む治療活性成分を有する、安定化された液状組成物である。この文脈において、「凝集体形成」とは、溶液からある程度の可視的沈殿を起こす、より大きな集合体の形成をもたらすペプチド分子間の物理的相互作用を表す。本明細書中で使用される場合、「液状媒体中での保存の際に」とは、一旦調製されても必ずしもすぐには対象に投与されない液体組成物の保存を表す。代わりに、調製の後にそれは、液体形態、凍結状態、または後で対象への投与に適した液体形態その他の形態に再構成するための乾燥形態のうちのいずれかにおいて、保存用に包装され得る。本明細書中で使用される場合、「乾燥形態」とは、初めは液体であるがフリーズドライ（凍結乾燥）、噴霧乾燥または空気乾燥によって乾燥された医薬組成物または製剤をいう。その液体医薬組成物の保存の際の、ペプチドによる凝集体形成は、当該ペプチドの生物学的活性に悪影響を及ぼし得、その結果、医薬組成物の治療効力の損失をもたらし得る。さらに、凝集体

10

20

30

40

50

形成は、そのようなペプチド含有医薬組成物が注入システムを用いて投与される場合、チューブ、膜、またはポンプの閉塞のような他の問題を引き起こし得る。したがって、本発明のペプチドは、これらの問題を克服する上で有益となり得る。本発明の医薬組成物への組み入れに適した安定化剤の例としては、以下のものが挙げられるが、これらに限定されない：遊離塩基形態または塩形態のアミノ酸、例えばアルギニン、リシン、アスパラギン酸、グルタミン酸などの荷電側鎖をもつアミノ酸、またはグリシン、メチオニンなどのアミノ酸（メチオニンを組み入れると、さらに、酸化に感受性である少なくとも1つのメチオニン残基を含むペプチドにおけるそのようなメチオニン残基の酸化を阻害することができる）；特定のポリマー（例えばポリエチレングリコール（PEG3350等）、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリビニルピロリドン（PVP）、およびカルボキシセルロース/ヒドロキシセルロース並びにこれらの誘導体）；シクロデキストリン；硫黄含有物質（モノチオグリセロール、チオグリコール酸、2-メチルチオエタノールなど）；および界面活性剤（例えば、ポロキサマー型またはポリソルベート（Tween）型の非イオン性界面活性剤を含む非イオン性界面活性剤）。医薬組成物における界面活性剤の使用は当業者によく知られている。これに関連して、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995を参照することができる。

10

【0147】

他の種類の構成成分

本発明の医薬組成物中にはさらなる種類の構成成分も存在し得る。このような構成成分の種類は非限定的な例としては、湿潤剤、乳化剤、抗酸化剤、増量剤、油性ビヒクルおよびタンパク質（例えばヒト血清アルブミンまたはゼラチン）が挙げられる。

20

【0148】

配列

以下の配列が本開示において引用される

【0149】

配列番号1 ピリンドメインを含むヒトIFI16配列+1-100のN末端

MSVKMGKKYKNI VLLKGLEVI NDYHFRMVKSLLSNDLKLNLKMREEYDKIQIADLMEEKFRGDAGLGKLIKIFEDIPTLE
DLAETLKKEKLVKGPALSRKRKK

【0150】

配列番号2

ガンマ・インターフェロン誘導性タンパク質16アイソフォームX1 [Homo sapiens]

MSVKMGKKYKNI VLLKGLEVI NDYHFRMVKSLLSNDLKLNLKMREEYDKIQIADLMEEKFRGDAGLGKLIKIFEDIPTLE
DLAETLKKEKLVKGPALSRKRKKEVDATSPAPSTSSTVKTEGAEATPGAQKRKKSTKEKAGPKGSKVSE
EQTQPPSPAGAGMSTAMGRSPSPKTSLSAPPNSSSTENPKTVAKCQVTPRRNVLQKRPVIVKVLSTTKPFYETPEMEKKIMF
HATVATQTQFFHVKVLN TSLKEKFNGKKIIISDYLEYDLSLLEVNEESTVSEAGPNQTFEVPNKIIN
RAKETLKIIDLHKQASGNI VYGVFMLHKKTVNQKTTIYEIQDDRGMKMDVVGTGQCHNI PCEEGDKLQFCFRLRKK
NQMSKLI SEMHSFI QIKKKTNPRNNDPKSMKLPQEQRQLPYPSEASTTFPESHRLRTPQMPPTTPSSSFFTKKSE
DTISKMNDFMRMQILKEGSHFPGPFMTSIPAESHPHTPQMPPSTPSSSFLTTKSEDTISKMNDFMRMQILKEGSHFPGPFMTS
IPAESHPHTPQMPPSTPSSSFLTTKPRLKTEPEEVSIEDSAQSDLKEVMVLNATESFVYEPKEQKKMFHATVATENEVFRV
KVFNI DLKEKFTPKKIIAIIANYVCRNGFLEVYPTLVADVADRNMIPKGLIRASVTPKINQLCSQTKGSFVNGVFEVHKK
NVRGEFTYYEIQDNTGKMEVVVHGRLTTINCEEGLKLTTCFELAPKSGNTGELRSVISHSIIKVIKTRKNKKDILNP
DSSMETSPDFFF

30

40

【0151】

配列番号3

STING_TMEM 173インターフェロン遺伝子刺激因子タンパク質アイソフォーム1 [Homo sapiens]

50

ens]

MPHSSLHPSIPPCRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHHSRYRGS
YWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYSLPNAVGPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLA
WSYIIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVY
SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADD
SSFSLSQEVLRLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS

【 0 1 5 2 】

配列番号4：

KKX₃KNIVLLKGLEVIN DYHF

ここでXは天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₃はチロシン (Y) でない。
10

【 0 1 5 3 】

配列番号5：

KKYKNIVLLX₁₀GLEVIN DYHF

ここでXは天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただし、X₁₀はリジン (K) ではない。
20

【 0 1 5 4 】

配列番号6：KKYKNIVLLKGLEVIN DYHF (ペプチド101、ヒトIFI16のピリンドメイン由来のポリペプチド)

【 0 1 5 5 】

配列番号7：AKYKNIVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA1)

【 0 1 5 6 】

配列番号8：KAYKNIVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA2)

【 0 1 5 7 】

配列番号9：KKAKNIVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA3)

【 0 1 5 8 】

配列番号10：KKYANIVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA4)

【 0 1 5 9 】

配列番号11：KKYKAVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA5)

【 0 1 6 0 】

配列番号12：KKYKNAVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA6)

【 0 1 6 1 】

配列番号13：KKYKNIVLLKGLEVIN DYHF (ペプチドA7)

【 0 1 6 2 】

配列番号14：KKYKNIVALKGLEVIN DYHF (ペプチドA8)

【 0 1 6 3 】

配列番号15：KKYKNIVLAKGLEVIN DYHF (ペプチドA9)

【 0 1 6 4 】

配列番号16：KKYKNIVLLAGLEVIN DYHF (ペプチドA10)

【 0 1 6 5 】

配列番号17：KKYKNIVLLKALEVIN DYHF (ペプチドA11)

【 0 1 6 6 】

配列番号18：KKYKNIVLLKGAEVIN DYHF (ペプチドA12)

【 0 1 6 7 】

配列番号19：KKYKNIVLLKGLAVIN DYHF (ペプチドA13)

【 0 1 6 8 】

配列番号20：KKYKNIVLLKGLEAVIN DYHF (ペプチドA14)

【 0 1 6 9 】

配列番号21：KKYKNIVLLKGLEVANDYHF (ペプチドA15)

【 0 1 7 0 】

50

配列番号22：KKYKNIVLLKGLEVIADYHF（ペプチドA16）

【0171】

配列番号23：KKYKNIVLLKGLEVINAYHF（ペプチドA17）

【0172】

配列番号24：KKYKNIVLLKGLEVINDAHF（ペプチドA18）

【0173】

配列番号25：KKYKNIVLLKGLEVINDYAF（ペプチドA19）

【0174】

配列番号26：KKYKNIVLLKGLEVINDYHA（ペプチドA20）

【0175】

配列番号27：KKYKNIVLLKGLAVINDYAA（ペプチド107）

【0176】

配列番号28：ビオチン- EDIPTLEDLAETLKKEKLGKRKRRRQRRPQ-NH₂（ペプチドS 7、IFI16ピ
リンドメイン内の領域に渡るポリペプチド）[Homo Sapiens]

【0177】

配列番号29：

KKYKNIVLLKGLX₁₃VINDYHF

ここでXは天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₁₃はグルタミン酸（E）
ではない。

【0178】

配列番号30：

KKYKNIVLLKGLEVINX₁₇YHF

ここでXは天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₁₇はアスパラギン酸（D）
でない。

【0179】

配列番号31：

KKX₃KNIVLLX₁₀GLX₁₃VINX₁₇YHF

ここでXは天然および非天然アミノ酸残基から選択され、ただしX₃はチロシン（Y）でない、
X₁₀はリジン（K）でない、X₁₃はグルタミン酸（E）でない、X₁₇はアスパラギン酸（D）
でない。

【実施例】

【0180】

実施例 1

本実施例は、IFI16のN末端を標的とするポリペプチド内の特定の突然変異の機能を示す。
ヒトPMA処理THP1細胞を用いて、DNAおよび/またはcGAMPに反応するIFN発現、CXCL10お
よびIL6発現が、ポリペプチド（配列番号6）内に位置する特定のアミノ酸に依存すること
が見出された。THP1細胞は、DNAおよび/またはcGAMPへの反応が低下することが知られて
いるSTING HAQ変異のホモ接合を有するところ、ポリペプチド配列内の特定のアラニン置
換がIFNおよび/またはCXCL10反応の著しい低下をもたらすことを我々は同定した。特に
、アミノ酸位置2、6、8、9、10、12および13は、cGAMP刺激後のSTING活性化をサポート
するポリペプチドの相乗的効果およびI型IFNの誘導に影響を及ぼした（図1a）。対照的に、
アミノ酸位置11、13、19および20は、CXCL10サイトカイン分泌を導くSTING活性化をサポ
ートする相乗的効果に強く影響した（図1b）。

【0181】

実施例 2

この実施例は、IFI16のN末端を標的とするポリペプチド内の特定の突然変異の機能を示
す。初代ヒトPBMCを用いて、DNAおよび/またはcGAMPに反応するIFN発現、CXCL10およびI
L6発現が、ポリペプチド（配列番号6）内に位置する特定のアミノ酸に依存することが見
出された。両ドナーはSTING野生型タンパク質を有したため、ポリペプチド内の重要なア
ミノ酸位置を評価することができた。驚くべきことに、DNA刺激に対する種々のポリペ

10

20

30

40

50

チドの相乗的効果およびケモカインCXCL10の分泌を評価したところ、2位のアラニン置換のみが、両ドナーにおいてCXCL10を部分的に減じさせた（図2a）。対照的に、インターロイキンIL6の分泌を評価した場合には、アミノ酸位置2または3のアラニン置換が、非常に強力に相乗的な効果を持つことが見出された。しかしながら、アミノ酸位置6、7、13、15、16のアラニン置換は、ポリペプチドの相乗的効果を阻害した（図2b）。さらに重要なことに、アミノ酸位置10および13のアラニン置換は、親IFI16-STING活性化ポリペプチド（配列番号5および29）と比較して、CXCL10応答に影響することなくI型IFN応答を有意に増加させると同時にIL6分泌を減衰させた（図2c）。

【0182】

実施例 3

この実施例は、ポリペプチド（配列番号6）がTHP1細胞由来の内因性IFI16およびSTINGと直接相互作用できることを示す。これは、ペプチドをベイト（bait）とし細胞溶解物をプレイ（prey）とするプルダウン実験を行うことにより評価した。モック（mock）ペプチドとして、以前STING活性化に相乗的効果をもたらさないことが示された、IFI16ピリンドメイン内の領域に渡る別のポリペプチド（S7：ピオチン-EDIPTLEDLAETLKKEKLKGRKKRRQRRR PQ-NH₂；配列番号28）を用いた。プルダウン実験からの溶出物のイムノプロットは、特異的ポリペプチドがSTING並びにIFI16と相互作用したが、TKB1およびIRF3とは相互作用しなかったことを示している（図3a）。タンパク質の複合体の一部としてではなくSTINGとの直接相互作用であることを確認するために、続いて、アフィニティー精製した組換えヒトSTINGタンパク質（膜貫通ドメインを除く）でポリペプチドを沈殿させ、高塩濃度（NaCl 500 mM）下であってもポリペプチドがSTINGをプルダウンすることを見出した（図3b）。

【0183】

実施例 4

この実施例は、STING複合体を安定化させ、STINGシグナル伝達カスケードのより速い開始および延長された活性化をもたらすことが、ポリペプチドによる一つの可能な作用モードであることを示す。cGAMPで処理したTHP1細胞は、刺激後60～120分で、STING-S 366リン酸化およびTKB1リン酸化により測定されるロバストなSTING活性化を誘導することを我々は見出した。重要なことに、細胞をポリペプチド（配列番号6）で前刺激した場合には、cGAMP刺激後30分未満で両タンパク質のリン酸化が有意に上昇した。

【0184】

実施例 5

この実施例は、ポリペプチド（配列番号6）および二つのアラニン変異体（配列番号17および19）のCDスペクトルを例示する。図に基づくと、3つすべてのペプチドが、推奨緩衝液中で二次構造を描写し、ランダムなコイル・コイル形成を支持した；図5参照。

【0185】

実施例 6

この実施例は、親IFI16-STING活性化ポリペプチド（ペプチド101）（配列番号6）または3つのアラニン変異を有するバージョン（ペプチド107）（配列番号27）のいずれかによる相乗的STING活性の程度の例を示す。2人のドナーからのPBMCのcGAMP刺激後に、三重変異ポリペプチドによる前処理はIL6応答を減じさせたがIFNおよびCXCL10の分泌の増加は支持したことを見出した。

【0186】

実施例 7

この実施例は、IFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）が、HSV-1およびHSV-2の一次感染の際に強力な抗ウイルス薬として使用され得ることを示す（図1a+b）。ポリペプチド誘導ウイルス阻害は用量依存的であることが見出された。さらに、データは、IFI16ポリペプチドの抗ウイルス効果がI型インターフェロンの産生には依存しないことも示している（図1c）。

【0187】

実施例 8

10

20

30

40

50

この実施例は、ヒト線維芽細胞における、抗ウイルス薬としてのIFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）のインビトロ研究の際の毒性の不在を示す。本研究で用いた最高ペプチド濃度で達した最大細胞死率は10%未満であった；図8参照。

【0188】

実施例9

この実施例は、STING発現について枯渇させたヒト線維芽細胞におけるIFI16-STING特異的ペプチド（配列番号6）の抗ウイルス効果を示す。ウェスタンブロット分析は、利用したドナーにおけるSTING発現のほぼ100%のノックアウトを確認した（図3b）。これらのデータは、IFI16-STING特異的ポリペプチドの抗ウイルス効果がI型インターフェロンとは独立していることが見出された図1の知見を支持している。

【0189】

実施例10

この実施例は、IFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）処理の際のウイルスタンパク質VP16の発現が、複数のウイルスMOIにおいて用量依存的に減少することを示す。これは、ポリペプチド処理時のウイルス阻害を示す以前のデータを支持する（図1+3）。さらに、よく知られている内因性IFI16のHSV-1誘導性分解は、IFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）の存在により明らかに阻害された。

【0190】

実施例11

この実施例は、HSV-1 GFP感染の際のヒト線維芽細胞において、IFI16-STING特異的ポリペプチド（配列番号6）内の特定の変異の新規機能を示す（図5a）。ポリペプチドの抗ウイルス効果は特定のアミノ酸位置に依存することが見出された。位置6、7および14は、枯渇した（6+7）または減少した（14）ウイルス阻害を示し、これらの位置がポリペプチドの抗ウイルス効果のために重要であることを明らかにした。対照的に、位置10および17は、アミノ酸置換すると、ポリペプチドの効果を、ほぼ100%のウイルス阻害にまで増加させることが見出された。ポリペプチドA10の抗ウイルス効果を、増加させたMOI（0.1）を用いてさらに検討した（図5b）。このアッセイは、ポリペプチド6番の位置10のアミノ酸置換による効果増大を確認した。

【0191】

材料と方法

細胞培養

ヒト急性単球性白血病細胞株（THP1）は、10%熱不活化ウシ胎児血清、200 IU/mLペニシリン、100 µg/mLストレプトマイシンおよび600 µg/mLグルタミンで補完されたRPMI 1640（Lonza）（以下、完全RPMIと呼ぶ）中で培養した。Lonza MycoAlertキット（LT07-703）を用いて月毎にマイコプラズマ感染を検査し判定した。THP1細胞を接着性の表現型上マクロファージに分化させるためには、完全RPMI中の100 nMホルボール12-ミリステート13-アセテート（PMA、Sigma Aldrich 79346 5MG）で細胞を24時間刺激した後、通常の完全RPMIに培地を置き換え、もう1日さらに分化させた（以下マクロファージと定義される）。

【0192】

末梢血単核細胞（PBMC）はFicoll Paque勾配遠心分離（GEヘルスケア）によって健常ドナーから単離した。PBMCは、IL 2を補充した完全RPMI中で培養した。

【0193】

ヒト線維芽細胞は、10%熱不活化ウシ胎児血清、200 IU/mLペニシリン、100 µg/mLストレプトマイシンおよび600 µg/mLグルタミンを補完されたDMEM 1640（ロンザ）（以下、完全DMEMと呼ぶ）中で培養した。

【0194】

機能的I型IFNアッセイ

機能的I型IFNを定量するため、レポーター細胞株HEK-Blue™ IFN- / （InvivoGen）を、製造業者の説明書に従って利用した。3万個のHEK-Blue細胞を、プラスチックシリンおよびゼオシンを欠いた150 µlの培地を伴う96ウェルプレート中に播種し、翌日、50 µlの上

10

20

30

40

50

清を与えた。この細胞株は、IFN- γ / 誘導性ISG54プロモーターの制御下で、分泌型胚性アルカリホスファターゼ (secreted embryonic alkaline phosphatase) を発現する。SEA P活性は、マイクロプレートリーダー (ELx 808、BioTEK) で620 nmにおける光学密度 (OD) を測定することにより評価した。IFN- γ (A2) (PBL Assay Science) を用いて基準範囲を作成した。

【0195】

酵素結合免疫吸着アッセイ (Enzyme-linked Immunosorbent assay)

上清中のサイトカインCXCL10およびIL6のタンパク質レベルを、製造業者の説明書に従ってRnDのDuoSet ELISAキットを用いて測定した。

【0196】

刺激

STINGアゴニストで細胞を刺激するために、2'3' cGAMP (Invitrogene) またはHT-DNA を、4 ug/ml (cGAMP) および1 ug/ml (HT-DNA) の最終濃度でリポフェクタミン2000と共に製剤した。

【0197】

単純ヘルペスウイルス感染

感染多重度 (multiplicity of infection: MOI) 0.05、0.01、1または5におけるHSV-1 GFP (YK 333株) (7) またはHSV-2 GFP (株:333) (8) によって、ヒト線維芽細胞を感染させた。

【0198】

ペプチドによる処理

各ペプチドを、PBS pH 7中で5 ug/ μ lの最終濃度に希釈した。次いで、ペプチドを最終濃度10 ug/mlで細胞培養物に添加した。1時間後、細胞をSTINGアゴニストで刺激し、20時間後に上清を採取してI型IFNバイオアッセイまたはサイトカインELISAに用いた。HSV感染ヒト線維芽細胞は10~80 μ g/mLペプチドで処理した。ペプチドとHSVは互いの後に添加した。

【0199】

プルダウン実験

ビオチン標識ポリペプチドを、製造プロトコールに従ってストレプトアビジンビーズ上に固定化した (Pierceビオチン化タンパク質相互作用プルダウンキットcat no 21115)。次に、非特異的結合を排除するために、ビーズを組換えビオチンでブロックした。次に、細胞溶解物または組換えSTINGタンパク質とビーズをインキュベートすることにより、プレイ (prey) タンパク質捕捉手順を開始した。90分後、250~500 nM NaClの範囲の高い塩濃度でビーズを洗浄した。ペプチドに結合したタンパク質は最終的に低pH緩衝液 (pH 2.8) 中に溶出させた。

【0200】

イムノプロット法

全細胞抽出物または免疫沈降試料を免疫プロットングにより分析した。試料をXTサンプルバッファーおよびXT還元剤で希釈し、SDS-PAGEで分析した (CriterionTM TGXTM)。PVDF膜にタンパク質を移すために、Trans-Blot TurboTM Transfer System (登録商標) を使用した (全試薬Bio-Rad)。5% DifcoTM スキムミルク (BD) または5%ウシ血清アルブミン (BSA) (Sigma) 中で膜をブロッキングした。イムノプロット法に用いた抗体は、ウサギ抗STING (Cell Signaling, D2P2F/#13647, 1:1000)、ウサギ抗pSTING (S 366) (Cell Signaling Technology, #85735)、ウサギ抗TBK1 (Cell Signaling, D1B4/#3504, 1:1000)、ウサギ抗pTBK1 (Ser172) (Cell Signaling, D52C2/#5483, 1:1000)、抗IFI16 (Santa Cruz sc-6050)、抗VP16 (Abcam, ab110226, 1:1000)、および抗ピンキュリン (Sigma Aldrich v9131) であった。二次抗体、ペルオキシダーゼ結合F(ab')₂口バ抗マウスIgG (H+L)、ペルオキシダーゼ結合Affinipure F(ab')₂口バ抗ウサギIgG (H+L) およびペルオキシダーゼ結合F(ab')₂口バ抗ヤギIgG (H+L) はJackson Immuno Researchから購入した。

10

20

30

40

50

【 0 2 0 1 】
フローサイトメトリー

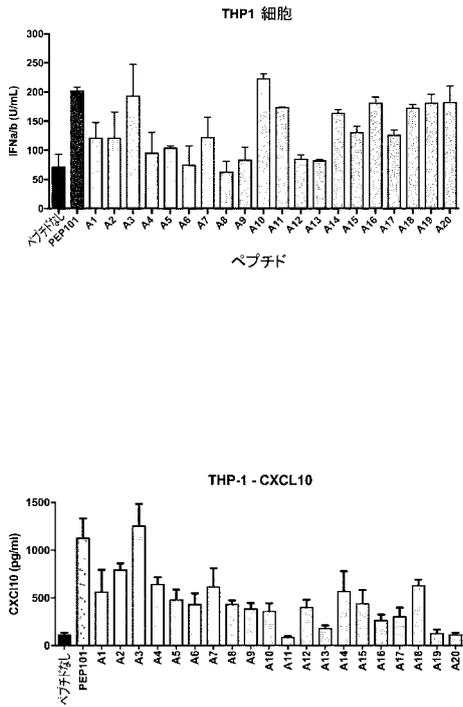
ヒトHSV感染線維芽細胞を、LIVE/DEAD Fixable Near-IR Dead Cell Stain Kit (Thermo Fisher Scientific, L34975) で染色した。染色後、細胞を0.99%パラホルムアルデヒド中で固定し、NovoCyteサイトメーター (ACEA Bioscience Inc.) 上で分析した。データはFlowJo (Tree Star) で処理した。

【 0 2 0 2 】
生存性試験

生存性試験はCellTiter-Glo (登録商標) 2.0アッセイ (Promega, G9242) を用いて実施した。各試料を技術的三連で行い、発光データを分析した。

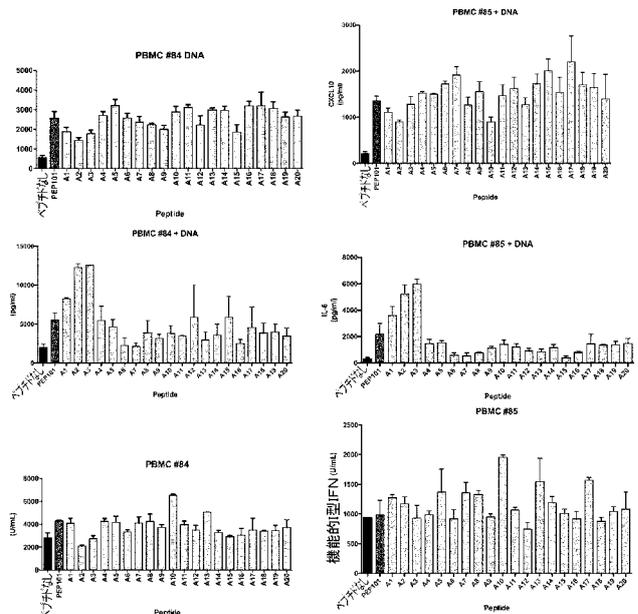
【 図 1 】

FIGURE 1



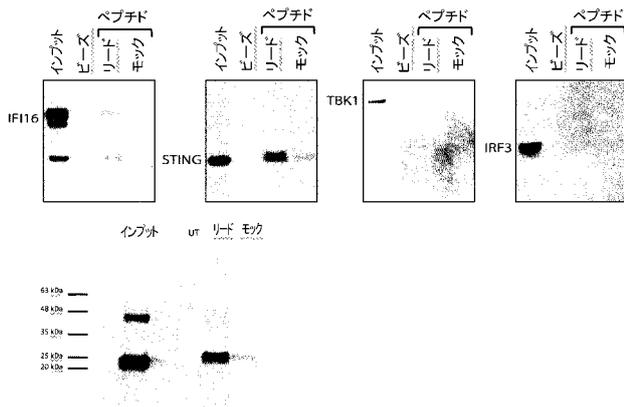
【 図 2 】

FIGURE 2



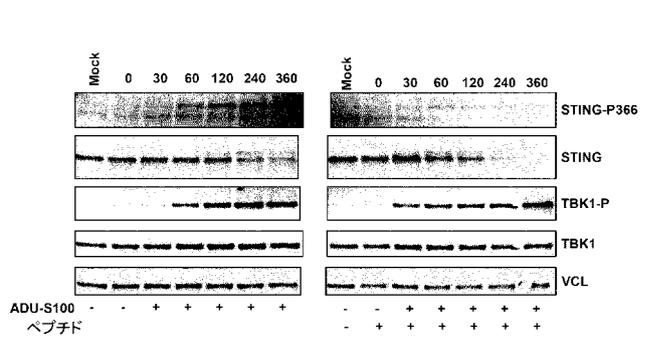
【 図 3 】

FIGURE 3



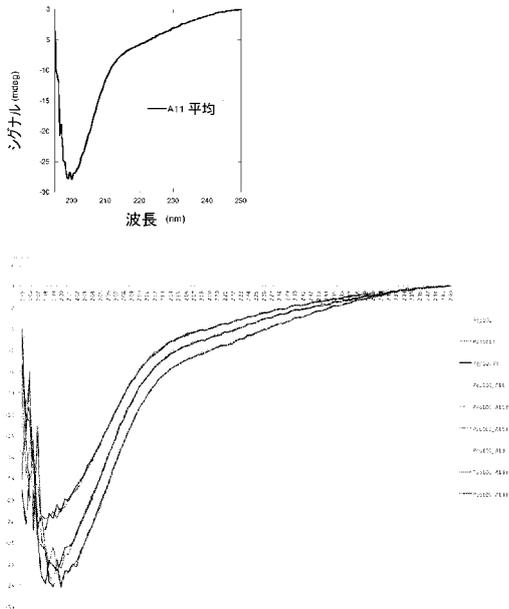
【 図 4 】

FIGURE 4



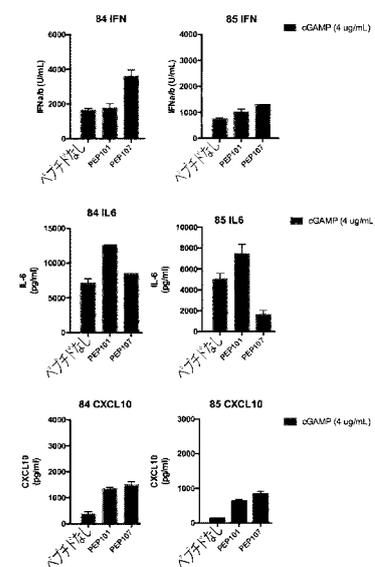
【 図 5 】

FIGURE 5.



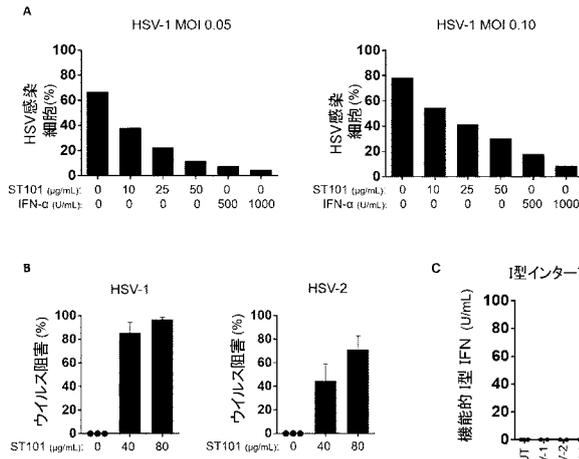
【 図 6 】

FIGURE 6.



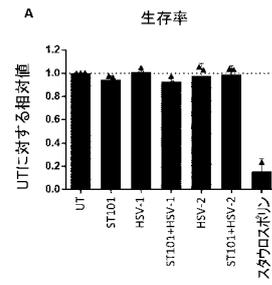
【 図 7 】

FIGURE 7.



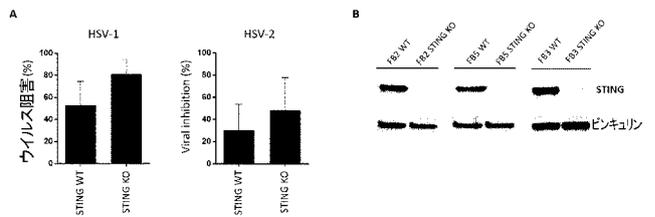
【 図 8 】

FIGURE 8.



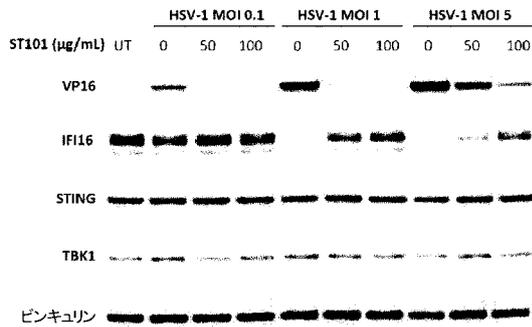
【 図 9 】

FIGURE 9.



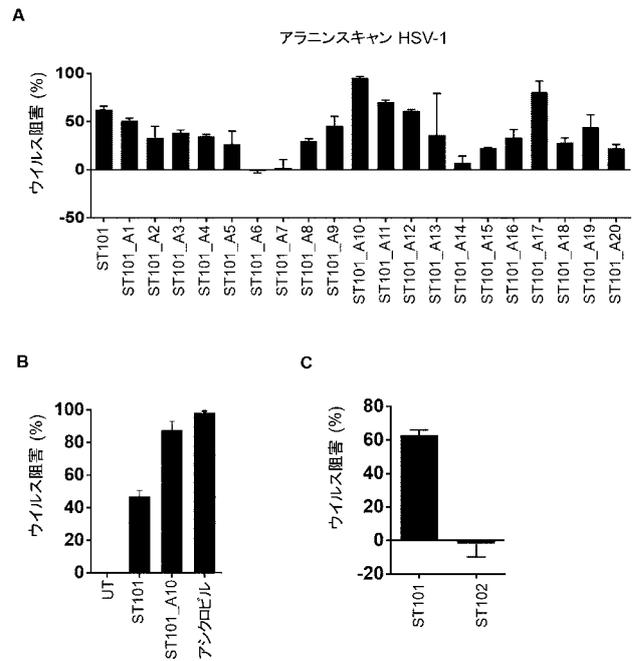
【 図 10 】

FIGURE 10.



【 図 11 】

FIGURE 11.



【配列表】

2021514183000001.app

【手続補正書】

【提出日】令和2年10月12日(2020.10.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

1つの側面において、ポリペプチド ペプチド類縁体が提供され、ここで、該ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体は、一般式： $KKX_3KNIVLL X_{10}GLX_{13}VINX_{17}YHF$ （配列番号31）のアミノ酸配列を含み、ここで、Xは任意のタンパク質生成性（天然）および非タンパク質生成性（非天然）アミノ酸残基から選択され、ただし、 X_3 はチロシン（Y）ではない、 X_{10} はリジン（K）ではない、 X_{13} はグルタミン酸（E）ではない、 X_{17} はアスパラギン酸（D）ではない。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0066

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0066】

1つの側面において、ポリペプチド ペプチド類縁体が提供され、ここで、該ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体は、一般式： $KKX_3KNIVLL X_{10}GLX_{13}VINX_{17}YHF$ （配列番号31）のアミノ酸配列を含み、ここで、Xはタンパク質生成性（天然）および非タンパク質生成性（非天然）アミノ酸残基から選択され、ただし、 X_3 はチロシン（Y）ではない、 X_{10} はリジン（K）ではない、 X_{13} はグルタミン酸（E）ではない、 X_{17} はアスパラギン酸（D）ではない。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0148

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0148】

本開示は以下の実施形態を含む。

[1]

一般式：

$KKX_3KNIVLL X_{10}LX_{13}VINX_{17}YHF$ （配列番号31）

のアミノ酸配列を含み、ここで、Xはタンパク質生成性および非タンパク質生成性アミノ酸残基から選択され、ただし X_3 はチロシン（Y）ではない、 X_{10} はリジン（K）ではない、 X_{13} はグルタミン酸（E）ではない、 X_{17} はアスパラギン酸（D）ではない、

ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体。

[2]

配列 $KKX_3KNIVLLKGLEVIN DYHF$ （配列番号4）もしくは $KKYKNIVLLX_{10}GLEVIN DYHF$ （配列番号5）、 $KKYKNIVLLKGLX_{13}VIN DYHF$ （配列番号29）もしくは $KKYKNIVLLKGLEVINX_{17}YHF$ （配列番号30）もしくは $KKYKNIVLLKGLEVIN DYHF$ （配列番号6）またはそのバリエーションもしくは断片もしくはホモログを含み、Xはタンパク質生成性および非タンパク質生成性アミノ酸残基から選択され、ただし X_3 はチロシン（Y）ではなく、 X_{10} はリジン（K）ではなく、 X_{13} はグ

ルタミン酸 (E) ではなく、X₁₇はアスパラギン酸 (D) ではない、[1] に記載のポリペプチド。

[3]

Xが、A、R、N、D、B、C、E、Q、Z、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、WおよびVからなる群より選択されるアミノ酸残基である、[1] または [2] に記載のポリペプチド。

[4]

位置2、6、7、11、15、16、19および20におけるアミノ酸残基 (K₂、I₆、V₇、G₁₁、I₁₅、N₁₆、H₁₉およびF₂₀) の一つ以上は未置換および/または未改変のままである、[1] ~ [3] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[5]

位置2、6、7、11、15、16、19および20におけるアミノ酸残基の一つ以上がアラニンに置換されている、[1] ~ [4] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[6]

前記ポリペプチドが以下のもの：

- i. KKYKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号6) (ペプチド101)
- ii. AKYKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号7) (ペプチドA1)
- iii. KAYKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号8) (ペプチドA2)
- iv. KKAKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号9) (ペプチドA3)
- v. KKYANIVLLKGLEVINDYHF (配列番号10) (ペプチドA4)
- vi. KKYKAIIVLLKGLEVINDYHF (配列番号11) (ペプチドA5)
- vii. KKYKNAVLLKGLEVINDYHF (配列番号12) (ペプチドA6)
- viii. KKYKNIALLLKGLEVINDYHF (配列番号13) (ペプチドA7)
- ix. KKYKNIVALKGLEVINDYHF (配列番号14) (ペプチドA8)
- x. KKYKNIVLAKGLEVINDYHF (配列番号15) (ペプチドA9)
- xi. KKYKNIVLLAGLEVINDYHF (配列番号16) (ペプチドA10)
- xii. KKYKNIVLLKALEVINDYHF (配列番号17) (ペプチドA11)
- xiii. KKYKNIVLLKGAEVINDYHF (配列番号18) (ペプチドA12)
- xiv. KKYKNIVLLKGLAVINDYHF (配列番号19) (ペプチドA13)
- xv. KKYKNIVLLKGLEAINDYHF (配列番号20) (ペプチドA14)
- xvi. KKYKNIVLLKGLEVANDYHF (配列番号21) (ペプチドA15)
- xvii. KKYKNIVLLKGLEVIADYHF (配列番号22) (ペプチドA16)
- xviii. KKYKNIVLLKGLEVINAYHF (配列番号23) (ペプチドA17)
- xix. KKYKNIVLLKGLEVINDAHF (配列番号24) (ペプチドA18)
- xx. KKYKNIVLLKGLEVINDYAF (配列番号25) (ペプチドA19)
- xxi. KKYKNIVLLKGLEVINDYHA (配列番号26) (ペプチドA20)
- xxii. KKYKNIVLLKGLAVINDYAA (配列番号27) (ペプチド107)
- xxiii. または上記いずれかのものの機能的断片

からなる群より選択される、[1] ~ [5] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[7]

前記断片が、少なくとも10個、例えば少なくとも15個、例えば少なくとも20個の連続するアミノ酸残基を含む機能的断片である、[1] ~ [6] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[8]

前記ポリペプチドはサイトカイン応答を誘導することができる、[1] ~ [7] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[9]

前記ポリペプチドはI型インターフェロン応答を誘導することができる、[1] ~ [8] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[10]

前記ポリペプチドは、サイトカイン応答を誘発することなくインターフェロン応答を誘

導することができる、[1] ~ [9] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[1 1]

前記ポリペプチドは、IL6サイトカイン応答を誘発することなく、CXCL10サイトカイン応答を誘導し、インターフェロン応答を誘導することができる、[1] ~ [1 0] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[1 2]

前記ポリペプチドが、ペプチドA10 (配列番号16)、A13 (配列番号19)、ペプチド101 (配列番号6) および / またはペプチド107 (配列番号27)、またはその機能的断片もしくはホモログである、[1 1] に記載のポリペプチド。

[1 3]

前記ポリペプチドは少なくとも1つのコンジュゲート部分に連結されている、[1] ~ [1 2] のいずれか1項に記載のポリペプチド。

[1 4]

前記少なくとも1つのコンジュゲート部分が、HIV TATなどの細胞透過性ペプチドである、[1 2] に記載のポリペプチド。

[1 5]

前記ポリペプチドは、IFI16および / またはSTINGと相互作用することができる、[1] ~ [1 4] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチド。

[1 6]

前記ポリペプチドは、Ser³⁶⁶におけるSTINGのリン酸化を誘導することができる、[1] ~ [1 5] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[1 7]

前記ポリペプチドはSTING活性を増加させることができる、[1] ~ [1 6] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[1 8]

前記ポリペプチドはSTINGリン酸化を誘導することができる、[1] ~ [1 7] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[1 9]

医薬としての使用のための、[1] ~ [1 8] のいずれか一項に記載のポリペプチド。

[2 0]

STING活性に関連する障害の治療に使用するための、[1 9] に記載のポリペプチド。

[2 1]

不十分なSTING活性に関連する障害の治療に使用するための、[1 9] に記載のポリペプチド。

[2 2]

STING活性に関連する障害を治療する方法であって、[1] ~ [1 8] のいずれか一項に記載のポリペプチドを、必要とする個体に投与することを含む、方法。

[2 3]

前記障害が癌である、[1 9] ~ [2 2] のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

[2 4]

前記障害が、DNA病原体、例えばHIV、HSV、HVP、HBV、マラリアまたはリステリアによる感染症である、[1 9] ~ [2 2] のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

[2 5]

前記障害の前記治療が、一以上のさらなる活性化合物の投与をさらに含む、[1 9] ~ [2 4] のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、使用またはポリペプチド。

[2 6]

前記さらなる活性化合物が抗癌剤である、[2 5] に記載のポリペプチド、方法、使用またはポリペプチド。

[2 7]

前記障害がTBK1および/またはIRF3および/またはNF-κB活性と関連している、[1 9] ~ [2 6] のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

[2 8]

前記障害が、癌、例えば慢性的炎症性シグナル伝達によって誘導される癌である、[1 9] ~ [2 7] のいずれか一項に記載のポリペプチド、方法、または使用。

[2 9]

前記癌が、皮膚腫瘍、例えば基底細胞癌 (BCC) または扁平上皮癌 (SCC) である、[2 8] に記載のポリペプチド、方法、または使用。

[3 0]

前記障害が、HSV、HIV、肝炎、HPV、マラリアまたはリステリアなどのDNA病原体による感染症である、[1 9] ~ [2 9] のいずれかに記載のポリペプチド、方法、または使用。

[3 1]

前記障害がHSV-1および/またはHSV-2感染症である、[1 9] ~ [3 0] のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド。

[3 2]

前記ポリペプチドが、配列番号6もしくはそのバリエーションを含むか、またはそれからなる、[1 9] ~ [3 1] のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド。

[3 3]

[1] ~ [1 8] のいずれか一項に記載のポリペプチドを発現するようにコードするポリヌクレオチド。

[3 4]

[3 3] に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

[3 5]

[3 3] に記載のポリヌクレオチドおよび/または [3 4] に記載のベクターを含む細胞。

配列

以下の配列が本開示において引用される

【手続補正 4】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式：

$\text{KKX}_3\text{KNIVLL X}_{10}\text{GLX}_{13}\text{VINX}_{17}\text{YHF}$ (配列番号31)

の amino 酸配列を含み、ここで、Xはタンパク質生成性および非タンパク質生成性 amino 酸残基から選択され、ただし以下の1つ以上に該当する：X₃はチロシン (Y) ではない、X₁₀はリジン (K) ではない、X₁₃はグルタミン酸 (E) ではない、X₁₇はアスパラギン酸 (D) ではない、

ポリペプチドまたはポリペプチド類縁体。

【請求項 2】

配列 $\text{KKX}_3\text{KNIVLLKGLEVIN DYHF}$ (配列番号4) もしくは $\text{KKYKNIVLLX}_{10}\text{GLEVIN DYHF}$ (配列番号5)、 $\text{KKYKNIVLLKGLX}_{13}\text{VIN DYHF}$ (配列番号29) もしくは $\text{KKYKNIVLLKGLEVINX}_{17}\text{YHF}$ (配列番号30) を含み、Xはタンパク質生成性および非タンパク質生成性 amino 酸残基から選択され、ただしX₃はチロシン (Y) ではなく、X₁₀はリジン (K) ではなく、X₁₃はグルタミン酸

(E)ではなく、X₁₇はアスパラギン酸(D)ではない、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】

Xが、A、R、N、D、B、C、E、Q、Z、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、WおよびVからなる群より選択されるアミノ酸残基である、請求項1または2に記載のポリペプチド。

【請求項4】

位置2、6、7、11、15、16、19および20におけるアミノ酸残基(K₂、I₆、V₇、G₁₁、I₁₅、N₁₆、H₁₉およびF₂₀)の一つ以上は未置換および/または未改変のままである、請求項1～3のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項5】

位置2、6、7、11、15、16、19および20におけるアミノ酸残基の一つ以上がアラニンに置換されている、請求項1～4のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項6】

前記ポリペプチドが以下のもの：

i. KKAKNIVLLKGLEVINDYHF (配列番号9) (ペプチド A3)

ii. KKYKNIVLLAGLEVINDYHF (配列番号16) (ペプチド A10)

iii. KKYKNIVLLKGLAVINDYHF (配列番号19) (ペプチド A13)

iv. KKYKNIVLLKGLEVINAYHF (配列番号23) (ペプチド A17) または

v. KKYKNIVLLKGLAVINDYAA (配列番号27) (ペプチド 107)

からなる群より選択される、請求項1～5のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項7】

前記ポリペプチドはサイトカイン応答を誘導することができる、請求項1～6のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項8】

前記ポリペプチドはI型インターフェロン応答を誘導することができる、請求項1～7のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項9】

前記ポリペプチドは、サイトカイン応答を誘発することなくインターフェロン応答を誘導することができる、請求項1～8のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項10】

前記ポリペプチドは、IL6サイトカイン応答を誘発することなく、CXCL10サイトカイン応答を誘導し、インターフェロン応答を誘導することができる、請求項1～9のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項11】

前記ポリペプチドが、ペプチドA10(配列番号16)、A13(配列番号19)、ペプチド101(配列番号6)および/またはペプチド107(配列番号27)である、請求項10に記載のポリペプチド。

【請求項12】

前記ポリペプチドは少なくとも1つのコンジュゲート部分に連結されている、請求項1～11のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項13】

前記少なくとも1つのコンジュゲート部分が、HIV TATなどの細胞透過性ペプチドである、請求項12に記載のポリペプチド。

【請求項14】

前記ポリペプチドは、IFI16および/またはSTINGと相互作用することができる、請求項1～13のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチド。

【請求項15】

前記ポリペプチドは、Ser³⁶⁶におけるSTINGのリン酸化を誘導することができる、請求項1～14のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項16】

前記ポリペプチドはSTING活性を増加させることができる、請求項1～15のいずれか

一項に記載のポリペプチド。

【請求項 17】

前記ポリペプチドはSTINGリン酸化を誘導することができる、請求項1～16のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 18】

請求項1～17のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

【請求項 19】

STING活性に関連する障害の治療に使用するための、請求項1～17のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

【請求項 20】

不十分なSTING活性に関連する障害の治療に使用するための、請求項1～17のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

【請求項 21】

前記障害が癌である、請求項19または20に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

前記障害が、DNA病原体、例えばHIV、HSV、HVP、HBV、マラリアまたはリステリアによる感染症である、請求項19または20に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

前記障害の前記治療が、一以上のさらなる活性化合物の投与をさらに含む、請求項19～22のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 24】

前記さらなる活性化合物が抗癌剤である、請求項23に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

前記障害がTBK1および/またはIRF3および/またはNF-κB活性と関連している、請求項19～24のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記障害が、癌、例えば慢性的炎症性シグナル伝達によって誘導される癌である、請求項19～25のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前記癌が、皮膚腫瘍、例えば基底細胞癌（BCC）または扁平上皮癌（SCC）である、請求項26に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記障害が、HSV、HIV、肝炎、HPV、マラリアまたはリステリアなどのDNA病原体による感染症である、請求項19～27のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記障害がHSV-1および/またはHSV-2感染症である、請求項19～28のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

請求項1～17のいずれか一項に記載のポリペプチドを発現するようにコードするポリヌクレオチド。

【請求項 31】

請求項30に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 32】

請求項30に記載のポリヌクレオチドおよび/または請求項31に記載のベクターを含む細胞。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/052983

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/52 A61K38/17 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2018/029256 A1 (AARHUS UNIV [DK]) 15 February 2018 (2018-02-15) the whole document	1-35
X	----- US 8 334 101 B2 (E. LATZ) 18 December 2012 (2012-12-18) column 2 sequence 13	6-11, 16, 18, 33-35
X	----- EP 1 033 401 A2 (GENSET SA [FR]) 6 September 2000 (2000-09-06) abstract sequence 4904 claim all	6-11, 33-35
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 22 February 2019		Date of mailing of the international search report 08/03/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Keller, Yves

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/052983

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>W0 2015/123493 A2 (UNIV NORTHWESTERN [US]) 20 August 2015 (2015-08-20) abstract figures 1-38 page 18 - page 26 examples 1-3 sequences 11-25, 27-31 -----</p>	1-35
T	<p>SUDHAKAR VEERANKI ET AL: "IFI16 Protein Mediates the Anti-inflammatory Actions of the Type-I Interferons through Suppression of Activation of Caspase-1 by Inflammasomes", PLOS ONE, vol. 6, no. 10, 28 October 2011 (2011-10-28), page e27040, XP055510873, DOI: 10.1371/journal.pone.0027040 -----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2019/052983

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018029256	A1	15-02-2018	NONE

US 8334101	B2	18-12-2012	US 2010120894 A1 13-05-2010
			US 2013158100 A1 20-06-2013
			WO 2010036918 A2 01-04-2010

EP 1033401	A2	06-09-2000	CA 2296792 A1 26-08-2000
			EP 1033401 A2 06-09-2000
			JP 2001269182 A 02-10-2001

WO 2015123493	A2	20-08-2015	US 2016354437 A1 08-12-2016
			WO 2015123493 A2 20-08-2015

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10	
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/22 (2006.01)	A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 33/06 (2006.01)	A 6 1 P 33/06	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(72) 発明者 ヤコブセン ロエルスガード、 マーチン
デンマーク国 8 2 4 0 リスコフ カネハベン 3 3

(72) 発明者 オレセン エルスボルグ、 クラウス
デンマーク国 8 2 3 0 オビュホイ リングシースベイ 1 8

F ターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44
4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA18 DC01 DC25 NA14 ZB02 ZB03
ZB09 ZB26 ZB33 ZB35 ZC19
4H045 AA10 AA30 BA17 CA40 EA20 FA74