

明 細 書

発明の名称：H I V感染を治療するための組成物

技術分野

[0001] 本開示は、ウイルス感染を治療するための組成物および関連技術を提供する。より特定すると、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物に関する技術を提供する。

背景技術

[0002] 過去30年間、有効なヒト免疫不全ウイルス（H I V）ワクチンの開発に多大な資源が投入されてきたにもかかわらず、この課題はいまだ達成されていない。抗レトロウイルス療法は、H I V関連の罹患率および死亡率の劇的な減少をもたらしたが、それはH I Vを治癒することはできない（非特許文献1）。細胞移植によってH I Vの寛解が達成された2つの症例がある。有効なワクチンが開発されれば、H I V感染の拡大を防ぐことができるが、過去30年間、ワクチンの開発はほとんど成功していない。現在までに唯一成功したH I VワクチンはR V 1 4 4臨床試験で評価され、総合的な有効性はわずか31%であった（非特許文献2）。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1：Cohen, M. S. et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. N. Engl. J. Med. 365, 493-505 (2011).

非特許文献2：Rerks-Ngarm, S. et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. N. Engl. J. Med. 361, 2209-2220 (2009).

発明の概要

課題を解決するための手段

[0004] 本発明者らは、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物が、対象におけるウイルス感染を治療することを見出し、本発明を完成するに至った。

[0005] したがって、本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物を含む、対象におけるウイルス感染を治療するための組成物。

(項目 2)

前記組成物が、ウイルス感染後に投与されることを特徴とする、上記項目に記載の組成物。

(項目 3)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させるものである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 4)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させる目的で投与されるものである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 5)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、弱毒化ウイルスをコードする核酸配列である、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 6)

前記弱毒化ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化ウイルスである、上記項目の

いずれか一項に記載の組成物。

(項目 7)

前記 A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8)

前記 A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記 n e f 欠損型弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中の欠損された n e f 遺伝子の位置に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9)

前記ウイルスがエイズウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 10)

前記ウイルスが、ヒトに感染するウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 11)

前記ウイルスが、H I V、S I V、S H I V、および F I V からなる群から選択されるエイズウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 12)

前記ウイルスが、弱毒化 H I V である、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 13)

前記ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化 H I V である、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 14)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、配列番号 3 の 1 ~ 9 6 3 3 位および 1 0 6 1 2 ~ 1 1 0 2 2 位のヌクレオチドを含む核

酸配列、または配列番号4の1～8786位および9765～15182のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも90%同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目15)

前記核酸構築物が、配列番号3または4に記載の核酸配列と少なくとも90%同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目16)

前記核酸構築物が、配列番号3または4に記載の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目17)

前記核酸構築物が、1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目18)

前記核酸構築物が、2回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目18-A)

前記核酸構築物が、抗HIV薬を投与した後に、投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目18-B)

前記抗HIV薬は逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択され、好ましくは、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビルン、リルピビルン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 18-C)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に、該HIV薬の投与を中断してから投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-D)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に2回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-E)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に3回、4回、5回以上、あるいはそれ以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-F)

前記核酸構築物の2回以上投与は、少なくとも1週間以上間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-G)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-H)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1～3週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-I)

前記核酸構築物の2回以上投与において、前記患者の血漿中ウイルス量を観察し、所定値になったら再度投与されることを特徴とする、請上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-J)

前記核酸構築物は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上の投与量で投与されることを特徴とする、上記項目の

いずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 18-K)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上で、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の組成物。

(項目 19)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回、投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 19A)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回、あるいはそれ以上の間隔で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 20)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 21)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 22)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1週間に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 23)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1回投与され、体内にウイルスが検出された場合に、前記

核酸構築物がさらに投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 24)

前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上 5.0×10^6 TCID₅₀以下の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 25)

前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上の用量で1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 26)

前記対象が、抗HIV薬を既に投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 27)

前記対象が抗HIV薬を未だ投与されていない、または、前記組成物の投与開始時に抗HIV薬が中止される、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 28)

前記抗HIV薬が、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 29)

前記抗HIV薬が、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビリン、リルピビル、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択され

る抗H I V薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 3 0)

前記組成物が、前記対象における前記エイズウイルスを完全に排除する、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 3 1)

前記組成物が、ウイルス感染前に投与されていない、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 3 2)

前記対象が、以前にB C Gワクチンの接種を受けている、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 1 A)

対象におけるウイルス感染を治療する方法であって、該方法が、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目 2 A)

前記核酸構築物が、ウイルス感染後に投与されることを特徴とする、上記項目に記載の方法。

(項目 3 A)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させるものである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 A)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させる目的で投与されるものである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 A)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、弱毒化ウイルスをコードする核酸配列である、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 A)

前記弱毒化ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 A)

前記A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列が、前記弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 A)

前記A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列が、前記n e f 欠損型弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中の欠損されたn e f 遺伝子の位置に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 A)

前記ウイルスがエイズウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 0 A)

前記ウイルスが、ヒトに感染するウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1 A)

前記ウイルスが、H I V、S I V、S H I V、およびF I Vからなる群から選択されるエイズウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 A)

前記ウイルスが、弱毒化H I Vである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 A)

前記ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化H I Vである、上記項目のいずれか

一項に記載の方法。

(項目 1 4 A)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、配列番号 3 の 1 ～ 9 6 3 3 位および 1 0 6 1 2 ～ 1 1 0 2 2 位のヌクレオチドを含む核酸配列、または配列番号 4 の 1 ～ 8 7 8 6 位および 9 7 6 5 ～ 1 5 1 8 2 のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも 9 0 % 同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 A)

前記核酸構築物が、配列番号 3 または 4 に記載の核酸配列と少なくとも 9 0 % 同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6 A)

前記核酸構築物が、配列番号 3 または 4 に記載の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 7 A)

前記核酸構築物が、1 回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A)

前記核酸構築物が、2 回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - A)

前記核酸構築物が、抗 H I V 薬を投与した後に、投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - B)

前記抗 H I V 薬は逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、および C C R 5 阻害薬からなる群より選択され、好ましくは、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビルン、リルピビルン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、

ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからである、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - C)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に、該HIV薬の投与を中断してから投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - D)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に2回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - E)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に3回、4回、5回以上、あるいはそれ以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - F)

前記核酸構築物の2回以上投与は、少なくとも1週間以上間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - G)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - H)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1～3週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 A - I)

前記核酸構築物の2回以上投与において、前記患者の血漿中ウイルス量を観察し、所定値になったら再度投与されることを特徴とする、請上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 18A-J)

前記核酸構築物は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上の投与量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の方法。

(項目 18A-K)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上で、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の方法。

(項目 19A)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 19A)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回、あるいはそれ以上の間隔で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 20A)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 21A)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 22A)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1週間に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 23A)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1回投与され、体内にウイルスが検出された場合に、前記核酸構築物がさらに投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目24A)

前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上 5.0×10^6 TCID₅₀以下の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目25A)

前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上の用量で1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目26A)

前記対象が、抗HIV薬を既に投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目27A)

前記対象が抗HIV薬を未だ投与されていない、または、前記組成物の投与開始時に抗HIV薬が中止される、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目28A)

前記抗HIV薬が、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目29A)

前記抗HIV薬が、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビリン、リルピビル、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラ

ビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目30A)

前記組成物が、前記対象における前記エイズウイルスを完全に排除する、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目31A)

前記組成物が、ウイルス感染前に投与されていない、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目32A)

前記対象が、以前にBCGワクチンの接種を受けている、上記項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目1B)

対象におけるウイルス感染を治療するための医薬の製造における、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、Ag85Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物の使用。

(項目2B)

前記核酸構築物が、ウイルス感染後に投与されることを特徴とする、上記項目に記載の使用。

(項目3B)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させるものである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目4B)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させる目的で投与されるものである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 5 B)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、弱毒化ウイルスをコードする核酸配列である、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 6 B)

前記弱毒化ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 7 B)

前記 A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 8 B)

前記 A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記 n e f 欠損型弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中の欠損された n e f 遺伝子の位置に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 9 B)

前記ウイルスがエイズウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 0 B)

前記ウイルスが、ヒトに感染するウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 1 B)

前記ウイルスが、H I V、S I V、S H I V、および F I V からなる群から選択されるエイズウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 2 B)

前記ウイルスが、弱毒化 H I V である、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 3 B)

前記ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化H I Vである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 4 B)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、配列番号3の1～9633位および10612～11022位のヌクレオチドを含む核酸配列、または配列番号4の1～8786位および9765～15182のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも90%同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 5 B)

前記核酸構築物が、配列番号3または4に記載の核酸配列と少なくとも90%同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 6 B)

前記核酸構築物が、配列番号3または4に記載の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 7 B)

前記核酸構築物が、1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B)

前記核酸構築物が、2回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - A)

前記核酸構築物が、抗H I V薬を投与した後に、投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - B)

前記抗H I V薬は逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択され、好ましくは、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エ

トラビリン、リルピビル、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからである、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - C)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に、該HIV薬の投与を中断してから投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - D)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に2回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - E)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に3回、4回、5回以上、あるいはそれ以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - F)

前記核酸構築物の2回以上投与は、少なくとも1週間以上間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - G)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - H)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1～3週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 1 8 B - I)

前記核酸構築物の2回以上投与において、前記患者の血漿中ウイルス量を観察し、所定値になったら再度投与されることを特徴とする、上記項目の

いずれか一項に記載に記載の使用。

(項目 18B-J)

前記核酸構築物は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上の投与量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の使用。

(項目 18B-K)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上で、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載に記載の使用。

(項目 19B)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 19B-A)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回、あるいはそれ以上の間隔で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 20B)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 21B)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 の TCID₅₀未満の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 22B)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 の TCID₅₀未満の用量で1週間に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 3 B)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1回投与され、体内にウイルスが検出された場合に、前記核酸構築物がさらに投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 4 B)

前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上 5.0×10^6 TCID₅₀以下の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 5 B)

前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上の用量で1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 6 B)

前記対象が、抗HIV薬を既に投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 7 B)

前記対象が抗HIV薬を未だ投与されていない、または、前記組成物の投与開始時に抗HIV薬が中止される、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 8 B)

前記抗HIV薬が、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目 2 9 B)

前記抗HIV薬が、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビルン、リルピビルン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホス

アンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目30B)

前記組成物が、前記対象における前記エイズウイルスを完全に排除する、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目31B)

前記組成物が、ウイルス感染前に投与されていない、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目32B)

前記対象が、以前にBCGワクチンの接種を受けている、上記項目のいずれか一項に記載の使用。

(項目1C)

対象におけるウイルス感染を治療するための、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、Ag85Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物。

(項目2C)

前記核酸構築物が、ウイルス感染後に投与されることを特徴とする、上記項目に記載の核酸構築物。

(項目3C)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させるものである、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目4C)

前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させる目的で投与されるものである、上記項目のいずれか

一項に記載の核酸構築物。

(項目 5 C)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、弱毒化ウイルスをコードする核酸配列である、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 6 C)

前記弱毒化ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 7 C)

前記 A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 8 C)

前記 A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記 n e f 欠損型弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中の欠損された n e f 遺伝子の位置に組み込まれている、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 9 C)

前記ウイルスがエイズウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 0 C)

前記ウイルスが、ヒトに感染するウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 1 C)

前記ウイルスが、H I V、S I V、S H I V、および F I V からなる群から選択されるエイズウイルスの弱毒化ウイルスである、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 2 C)

前記ウイルスが、弱毒化 H I V である、上記項目のいずれか一項に記載の

核酸構築物。

(項目 1 3 C)

前記ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化 H I V である、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 4 C)

前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、配列番号 3 の 1 ～ 9 6 3 3 位および 1 0 6 1 2 ～ 1 1 0 2 2 位のヌクレオチドを含む核酸配列、または配列番号 4 の 1 ～ 8 7 8 6 位および 9 7 6 5 ～ 1 5 1 8 2 のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも 9 0 % 同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 5 C)

前記核酸構築物が、配列番号 3 または 4 に記載の核酸配列と少なくとも 9 0 % 同一の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 6 C)

前記核酸構築物が、配列番号 3 または 4 に記載の核酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 7 C)

前記核酸構築物が、1 回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C)

前記核酸構築物が、2 回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - A)

前記核酸構築物が、抗 H I V 薬を投与した後に、投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - B)

前記抗 H I V 薬は逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、および C C R 5 阻害薬からなる群より選択され、好ましくは、テ

ノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビルン、リルピビルン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからである、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - C)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に、該HIV薬の投与を中断してから投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - D)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に2回以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - E)

前記核酸構築物は、抗HIV薬の投与の後に3回、4回、5回以上、あるいはそれ以上投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - F)

前記核酸構築物の2回以上投与は、少なくとも1週間以上間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - G)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1 8 C - H)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1～3週間間隔をあけて投与されるこ

とを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 18C-I)

前記核酸構築物の2回以上投与において、前記患者の血漿中ウイルス量を観察し、所定値になったら再度投与されることを特徴とする、請上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 18C-J)

前記核酸構築物は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上の投与量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 18C-K)

前記核酸構築物の2回以上投与は、1回あたり 5.0×10^5 TCID₅₀以上または 1.0×10^6 TCID₅₀以上で、1週間から4週間間隔をあけて投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 19C)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 19C-A)

前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回、あるいはそれ以上の間隔で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 20C)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 21C)

前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に

記載の核酸構築物。

(項目 2 2 C)

前記核酸構築物が、 $1.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上 5.0×10^4 の TCID_{50} 未満の用量で1週間に1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 2 3 C)

前記核酸構築物が、 $1.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上 5.0×10^4 の TCID_{50} 未満の用量で1回投与され、体内にウイルスが検出された場合に、前記核酸構築物がさらに投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 2 4 C)

前記核酸構築物が、 $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上 $5.0 \times 10^6 \text{ TCID}_{50}$ 以下の用量で投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 2 5 C)

前記核酸構築物が、 $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上の用量で1回投与されることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 2 6 C)

前記対象が、抗HIV薬を既に投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 2 7 C)

前記対象が抗HIV薬を未だ投与されていない、または、前記組成物の投与開始時に抗HIV薬が中止される、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 2 8 C)

前記抗HIV薬が、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

築物。

(項目 29C)

前記抗HIV薬が、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビルン、リルピビルン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 30C)

前記組成物が、前記対象における前記エイズウイルスを完全に排除する、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 31C)

前記組成物が、ウイルス感染前に投与されていない、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 32C)

前記対象が、以前にBCGワクチンの接種を受けている、上記項目のいずれか一項に記載の核酸構築物。

(項目 1D)

前記組成物、核酸分子、方法、使用または核酸構築物は、レンチウイルス属に属するウイルス、好ましくはエイズウイルスの感染、またはそれらに起因するウイルス感染症を治療するものである、上記項目のいずれか一項に記載の組成物、核酸分子、方法、使用または核酸構築物。

[0006] 本開示において、上記1または複数の特徴は、明示された組み合わせに加え、さらに組み合わせて提供され得ることが意図される。本開示のなおさらなる実施形態および利点は、必要に応じて以下の詳細な説明を読んで理解すれば、当業者に認識される。

図面の簡単な説明

[0007] [図1]図1は、実施例3における実験の概要を示す。

[図2]図2は、抗HIV薬のみを投与したサル（#137）における血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の動態を示す。

[図3]図3は、抗HIV薬のみを投与したサル（#139）における血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の動態を示す。

[図4]図4は、低用量SHIV-Ag85Bを2回投与したサル（#142）における血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の動態を示す。

[図5]図5は、高用量SHIV-Ag85Bを1回投与したサル（#141）における血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の動態を示す。

[図6]図6は、高用量SHIV-Ag85Bを複数回投与したサル（#140）における血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の動態を示す。

[図7]図7は、低用量および高用量SHIV-Ag85Bをそれぞれ1回投与したサル（#138）における血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の動態を示す。

[図8]図8は、実施例2における各個体における投与スケジュールを示す。

[図9A]図9Aは、実施例3において、低用量のSHIV-Ag85Bを2回投与されたサル（#138）における血漿中ウイルス量の推移を示す。

[図9B]図9Bは、実施例3において、高用量のSHIV-Ag85Bを1回投与されたサル（#142）における血漿中ウイルス量の推移を示す。

[図10]図10は、実施例3において、用量のSHIV-Ag85Bを投与されたサル1頭（#141）に関しては初期に短期間の効果しか認められず、血漿中にウイルスが出現するたびに投与したところ、5度目の接種以降に長期の抑制効果を示す。

[図11A]図11Aは、実施例4において抗HIV薬のみを投与された未治療のサル（#137）の結果である。

[図11B]図11Bは、実施例4において抗HIV薬のみを投与された未治療のサル（#139）の結果である。

[図12]図12は、実施例4におけるHIVウイルスの接種後に本開示に係る組成物を投与した場合の血漿中ウイルス量の推移を検証する実験プロトコルである。

[図13]図13は実施例4において、抗HIV薬は個体の相違にかかわらず奏功していることを示す結果である。

[図14]図14は、高用量（ $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ ）のSHIV-Ag85Bを投与されたサル（#164、#165および#167）において、高用量のSHIV-Ag85Bを1週間間隔で4回投与した後の血漿中ウイルス量を示す図である。

[図15]図15は、実施例5における高用量（ $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ ）のSHIV-NIを投与されたサル（#162、#166および#168）において、高用量のSHIV-NIを4回投与したときの血漿中ウイルス量の結果である。

[図16]図16は、実施例5におけるAg85Bを含まない対照群は休薬後2週で血漿中ウイルス量の結果である。

発明を実施するための形態

[0008] 以下、本開示を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞（例えば、英語の場合は「a」、「an」、「the」など）は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用されるすべての専門用語および科学技術用語は、本開示の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書（定義を含めて）が優先する。

[0009] （用語の定義）

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列挙する。

- [0010] 本明細書において、「約」とは、示される値の±10%を意味する。
- [0011] 本明細書において、「Ag85B」とは、抗酸菌が分泌する免疫原性タンパク質を指す。抗酸菌は細菌を色素で染めたときに、酸で色素が脱色されない、つまり酸に抵抗性を示す性質を示す。抗酸菌（マイコバクテリウム）は、結核菌、らい菌、非結核性抗酸菌に大別される。Ag85Bの代表的なソースは、*Mycobacterium Tuberculosis*である。Ag85Bは、antigen 85-B, 85B, Extracellular alpha-antigen, Antigen 85 complex B, Ag85B, Mycolyl transferase 85B, EC 2.3.1.-, Fibronectin-binding protein B, 30 kDa extracellular protein, fbpB, A85B, Major Secretory Protein Antigen 85Bなどとも称される。Accession番号は、Q847N4が代表的である。<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q847N4/entry>を参照。核酸配列のIDはAY207396gが代表的であり、タンパク質の配列のIDは、AA062005.1が代表的である。本明細書では、配列番号1（核酸配列）および配列番号2（アミノ酸配列）として示されるが、これに限定されず、抗酸菌が分泌する免疫原性タンパク質であれば、本開示の範囲内にあることが理解される。
- [0012] 本明細書において、「作動可能に」とは、核酸配列の転写または翻訳が、発現制御エレメントによる制御下にあり、核酸配列の転写または翻訳が適切に制御され、機能的に発現がなされる状態にあることを指す。
- [0013] 本明細書において、「Th1型の免疫応答」とは、Tリンパ球により媒介される細胞性免疫応答であり、活性化されたT細胞により産生されるサイトカインおよび／またはケモカインによる応答を指す。
- [0014] 本明細書において、「Th2型の免疫応答」とは、B細胞で産生される分泌抗体によって媒介される液性免疫応答を指す。

- [0015] 本明細書において、「弱毒化ウイルス」とは、親ウイルスと比較して病原性が減少しているが免疫応答を誘導する能力を保持するウイルスを指す。弱毒化されているかどうかは、細胞に対する毒性および／または動物に対する病原性により確認することができる。動物実験等により決定されるのが好ましい。一般に、「弱毒化」という用語は、病原体が病原性を失ったが、免疫原性を保持するように、遺伝子を突然変異して人工的に病原体の毒性を低下させることである。一般的には、UV照射、化学処理或いは体外連続高次継代培養によって病原体毒性を弱める弱毒化を実現する。人工的に遺伝子を変更し、たとえば既知の配列における特定のヌクレオチドを欠失させて毒性を弱める。
- [0016] 本明細書において、「エイズウイルス」とは、後天性免疫不全症候群（AIDS）を引き起こすウイルスを指し、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、サル免疫不全ウイルス（SIV）、サル／ヒト免疫不全（キメラ）ウイルス（SHIV）、ネコ免疫不全ウイルス（FIV）等が挙げられる。
- [0017] 本明細書において、「サル／ヒト免疫不全（キメラ）ウイルス（SHIV）」とは、SIV遺伝子の少なくとも一部の遺伝子がHIV-1遺伝子のもので置き換えたサル／ヒト免疫不全キメラウイルスを指す。SHIVは、env遺伝子に加えてvpr、rev、tat、vpu遺伝子がさらにHIV-1のものに置き換えられ得る。
- [0018] nef (negative factor) は、約27kDaの蛋白質でHIV-1遺伝子の3'側にコードされているものである。もともとウイルス増殖を抑制する因子として報告されたが、その後、初代培養細胞や生体内ではむしろウイルス増殖を促進させ、HIV-1病原性と関連するとされている。HIV-1 Nef protein, anchor domain superfamily (IPR027480)、HIV-1 Nef protein, core domain superfamily (IPR027481) などが知られている。nef、vpx、vpr、vifなどの主要な制御遺伝子を遺伝子破壊して弱毒化した様々なワクチン

ンウイルスが用いられてきたが、ほとんどの研究で、中程度に弱毒化したプロトタイプのワクチン株S I V m a c 2 3 9 Δ n e f が使用されてきた。n e f 欠損型弱毒化サル免疫不全ウイルス (S I V) およびサルーヒト免疫不全ウイルス (S H I V) は、非ヒト霊長類モデルでのワクチンとして高い有効性が証明されているが、ヒトでのH I Vワクチンのテンプレートとして使用するには十分な安全性を有しているとはいえない。いくつかの研究により、弱毒化され遺伝的に欠損したS I VまたはS H I Vにサイトカインまたはケモカイン遺伝子を挿入すると、安全で毒性の低い株と比較して、免疫原性が改善され、ウイルスの防御能が高まることが証明されていたが、本開示のn e f 欠損型弱毒化H I V - A g 8 5 Bは、予想外にも、すでに感染しウイルスが体内に存在する患者において、感染後の投与で、実質的にこれを消失させ、すなわち、ウイルスが完全に生体から取り除かれた状態（代表的に、P C R等の高感度の検出法で検出限界以下であり、临床上の症状も示さない状態）にまで治癒させることができることを見出した。また、本開示のn e f 欠損型弱毒化H I V - A g 8 5 Bまたはその機能的等価物は、感染後の対象に対しても、安全性が高まり、毒性が低いうえに、有効にT h 1型の免疫応答を誘導し得ることが判明し、HIVに対して実用に耐えうる治療用組成物を提供することができる。

[0019] 本明細書においても使用される非ヒト霊長類におけるS I V感染モデルは、後天性免疫不全症候群 (A I D S) の発症機構の解析や、H I VワクチンまたはH I V治療介入の有効性の決定に重要である。本発明者らも報告したように、インドネシア、マレーシア、およびフィリピンのカニクイザルにおいて、S I V m a cおよびS H I V 8 9 . 6 Pの病原性がある。血漿中ウイルス量、末梢C D 4 + T細胞数、ウイルス抗原特異的免疫応答のパターン、疾患の転帰などのパラメータを比較した結果、S I VおよびS H I Vは、産地が異なってもカニクイザルで発症することが示されている。インドアカゲザルと比較して、アジア由来のカニクイザルは、S I V m a cおよびS H I Vの様々な株に対して同様に寛容であり、S I VまたはS H I V感染後の

生存期間が長いことから、カニクイザルはヒトにおけるH I V－1 疾患の進行経過に近いモデルであることが示されている。

[0020] 本明細書において、「ウイルスを完全に排除する」とは、ウイルスが生体から完全に取り除かれた状態を指す。ウイルスが完全に生体から取り除かれた状態は、P C R等の高感度の検出法で検出限界以下であり、臨床上的症状も示さないことを意味する。

[0021] 本明細書において、「ワクチン」とは、抗原を含む物質に対し能動免疫を提供するが、疾患は引き起こさない抗原を含有またはコードする物質を意味する。本明細書において、ワクチンは、予防的に使用されるものを指す。本明細書において「D N Aワクチン」とは、ワクチン抗原をコードする核酸を意味し、主としてD N A（特に、プラスミドD N A）が使用されるためこのような一般名称が使用される。なお、核酸を使用した実施形態としては、ウイルスベクターなどに組み込んで生体内に送達する態様もあり、この場合、D N A以外の核酸形態での提供もされ得ることが理解される。このような場合は「核酸ワクチン」とも称する。通常、D N AワクチンはプラスミドD N Aの形態をとるが、プラスミドD N Aの形態でD N Aワクチンを皮下に投与すると、プラスミドD N Aは皮下細胞に取り込まれ、その細胞内で目的の抗原タンパク質を産生する。

[0022] 本明細書において「抗原」（a n t i g e n；A gともいう。）とは、抗体分子によって特異的に結合され得る任意の基質をいう。本明細書において「免疫原」（immunogen）とは、抗原特異的免疫応答を生じるリンパ球活性化を開始し得る抗原をいう。

[0023] 本明細書において「寛解」とは、ウイルスが完全に排除されており、治療薬の投与を必要とせず健常な状態を指す。

[0024] 本明細書において「ウイルス感染」の「治療」とは、ウイルス感染による少なくとも1つの症状を軽減する、少なくとも1つの症状の進行を遅らせる、または少なくとも1つの症状を寛解させることを指す。

[0025] 本明細書において「ウイルスを実質的に消失させる」とは、临床上、ウイ

ルスが検出できず発症していないと判定されることを指す。

- [0026] 本明細書において「対象」とは、本開示の治療の対象となるヒト患者を含む哺乳動物を指す。
- [0027] 本明細書において「核酸構築物」とは、タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むDNAまたはRNA分子を指す。
- [0028] 本明細書において「欠損」とは、遺伝子が消失することを指す。欠損は、遺伝子の一部が消失して機能していないことも包含する。
- [0029] 本明細書において「X回投与」とは、観察期間中においてX回投与されることを指す。
- [0030] 本明細書において「TCID₅₀」とは50%組織培養感染量を指し、50%の細胞に感染するウイルス量を意味する。
- [0031] 本明細書において「抗HIV薬を既に投与されている」とは、本開示の核酸構築物が投与される以前に抗HIV薬が投与されていることを指す。
- [0032] 本明細書において「抗HIV薬を未だ投与されていない」とは、本開示の核酸構築物が投与される際に抗HIV薬が投与されていないことを指す。
- [0033] 本明細書において「逆転写酵素阻害薬」とは、逆転写酵素の酵素機能をブロックし、二本鎖ウイルスDNAの合成を防ぎ、HIVの増殖を防ぐ薬剤を指す。
- [0034] 本明細書において「プロテアーゼ阻害薬」とは、プロテアーゼの酵素活性部位に結合しその活性を消失させる薬剤を指す。HIVの機能タンパクは、まず複合タンパクとして産生され、HIV自身のプロテアーゼによって特定の部位で切断されてはじめて機能を発揮する。プロテアーゼ阻害剤は、プロテアーゼの活性を消失させた結果、ウイルスは完成型となれず、感染力を失う。
- [0035] 本明細書において「インテグラーゼ阻害薬」とは、インテグラーゼを阻害することで、HIVが自身の遺伝子を宿主染色体に組み込む反応を阻害し、感染を不成立にする作用を有する薬剤を指す。これにより感染性ウイルス粒子を新たに産生させないため感染拡大が阻止される。

- [0036] 本明細書において「CCR5阻害薬」とは、HIVが細胞に侵入する際に利用する補助レセプターのC-Cケモカイン受容体5（CCR5）を阻害する薬剤を指す。
- [0037] 本明細書において「エイズウイルスを完全に排除する」とは、臨床上に加えどのような検出方法でも、エイズウイルスなどのウイルスが検出できないと判定されることを指す。
- [0038] 本明細書において、「核酸コンストラクト」、「コンストラクト」、「構築物」または「遺伝子コンストラクト」は互換可能に使用され、天然に存在する遺伝子から単離されるか、または天然には存在しない様式で組み合わせ、並置した核酸の集合を複数含む核酸分子である。
- [0039] アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に認知された1文字コードにより言及され得る。本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるBLASTを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。同一性の検索は例えば、NCBIのBLAST2.2.28（2013.4.2発行）を用いて行うことができる（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993）。本明細書における同一性の値は通常は上記BLASTを用い、デフォルトの条件でアラインした際の値をいう。ただし、パラメータの変更により、より高い値が出る場合は、最も高い値を同一性の値とする。複数の領域で同一性が評価される場合はそのうちの最も高い値を同一性の値とする。類似性は、同一性に加え、類似のアミノ酸についても計算に入れた数値である。BLASTでアミノ酸配列を比較するときのアルゴリズムには、Blastpをデフォルト設定で使用できる。測定結果はPositivesまたはIdentitiesとして数値化される。アミノ酸配列や塩基配列の相同性は、Karlin and Altschulによるアルゴリズム

BLASTによって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている (Altschul et al., J. Mol. Biol., 215:403-410, 1990)。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメータは例えばscore=100、wordlength=12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメータは例えばscore=50、wordlength=3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメータを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。

[0040] 本開示で使用される核酸またはタンパク質は、対象となるアミノ酸または塩基配列において1もしくは複数のアミノ酸またはヌクレオチドが置換、欠失および／または付加された配列を含み得る。ここで、キメラタンパク質全長アミノ酸配列において「1もしくは複数」とは、通常、50アミノ酸以内であり、好ましくは30アミノ酸以内であり、更に好ましくは10アミノ酸以内（例えば、5アミノ酸以内、3アミノ酸以内、1アミノ酸）である。また、ドメインのアミノ酸配列において、「1もしくは複数」とは、通常、6アミノ酸以内であり、好ましくは5アミノ酸以内であり、更に好ましくは4アミノ酸以内（例えば、3アミノ酸以内、2アミノ酸以内、1アミノ酸）である。キメラタンパク質の本開示の生物学的活性を維持する場合、変異するアミノ酸残基においては、アミノ酸側鎖の性質が保存されている別のアミノ酸に変異されることが望ましい。例えばアミノ酸側鎖の性質としては、疎水性アミノ酸（A、I、L、M、F、P、W、Y、V）、親水性アミノ酸（R、D、N、C、E、Q、G、H、K、S、T）、脂肪族側鎖を有するアミノ酸（G、A、V、L、I、P）、水酸基含有側鎖を有するアミノ酸（S、T、Y）、硫黄原子含有側鎖を有するアミノ酸（C、M）、カルボン酸およびアミド含有側鎖を有するアミノ酸（D、N、E、Q）、塩基含有側鎖を有す

るアミノ酸（R、K、H）、芳香族含有側鎖を有するアミノ酸（H、F、Y、W）を挙げることができる（括弧内はいずれもアミノ酸の一文字標記を表す）。これらは本明細書において「保存的置換」ともいう。なお、あるアミノ酸配列に対する1または複数個のアミノ酸残基の欠失、付加および／または他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有するタンパク質がその生物学的活性を維持することは公知である（Mark, D. F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984) 81, 5662-5666、Zoller, M. J. & Smith, M. Nucleic Acids Research (1982) 10, 6487-6500、Wang, A. et al., Science 224, 1431-1433、Dalbadié-McFarland, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79, 6409-6413）。したがって、本開示の一実施形態において「数個」は、例えば、10、8、6、5、4、3、または2個であってもよく、それらいずれかの値以下であってもよい。欠失等がなされたキメラタンパク質は、例えば、部位特異的変異導入法、ランダム変異導入法、または抗体ファージライブラリを用いたバイオパニング等によって作製できる。本開示において、「70%以上」は、例えば、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99%以上などであってもよく「80%以上」は、例えば、80、85、90、95、96、97、98、99%以上であってもよく「90%以上」は、例えば、90、95、96、97、98、99%以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。「相同性」は、2つもしくは複数間のアミノ酸配列において相同なアミノ酸数の割合を、当該技術分野で公知の方法に従って算定してもよい。割合を算定する前には、比較するアミノ酸配列群のアミノ酸配列を整列させ、同一アミノ酸の割合を最大にするために必要である場合はアミノ酸配列の一部に間隙を導入する。整列のための方法、割合の算定方法、比較方法、およびそれらに関連するコンピュータプログラムは、当該技術分野で従来からよく知られている

(例えば、BLAST、GENETYX等)。「同一性」の場合は、同一のアミノ酸の割合、「類似性」の場合は、類似するアミノ酸の割合を算出する。類似なアミノ酸としては、保存的置換が可能なアミノ酸を挙げることができるがこれらに限定されない。

[0041] 本開示において本開示の具体的に示されるコンストラクトの一部も、本開示の範囲に包含される。本明細書において「一部」、「フラグメント」または「断片」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド(長さが n)に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ(例えば、11など)もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ(例えば、11など)もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、このようなフラグメントは、例えば、全長のものがワクチンとして機能する場合、そのフラグメント自体もまたワクチンとしての機能を有する限り、本開示の範囲内に入ることが理解される。本開示において本開示に具体的に示されるもの(コンストラクト等)の「機能的等価物」も本開示に包含される。本明細書において「機能的等価物」とは、対象となるもとの実体に対して、目的となる機能が同じであるが構造が異なる任意のものをいう。

[0042] 本開示に従って、用語「活性」は、本明細書において、最も広い意味での分子の機能を指す。活性は、限定を意図するものではないが、概して、分子の生物学的機能、生化学的機能、物理的機能または化学的機能を含む。活性は、例えば、酵素活性、他の分子と相互作用する能力、および他の分子の機能を活性化するか、促進するか、安定化するか、阻害するか、抑制するか、

または不安定化する能力、安定性、特定の細胞内位置に局在する能力を含む。適用可能な場合、この用語はまた、最も広い意味でのタンパク質複合体の機能にも関する。本明細書では、「生物学的活性」は、光反応の活性化などを含む。

[0043] 本明細書において「機能的等価物」とは、対象となるもとの実体に対して、目的となる機能が同じであるが構造が異なる任意のものをいう。したがって、「H I Vウイルスがコードするタンパク質」またはそのキメラの機能的等価物は、H I Vウイルスがコードするタンパク質またはそのキメラ自体ではないが、H I Vウイルスがコードするタンパク質またはそのキメラの変異体または改変体（例えば、アミノ酸配列改変体等）であって、H I Vウイルスがコードするタンパク質またはそのキメラの持つ生物学的作用を有するもの、ならびに、作用する時点において、H I Vウイルスがコードするタンパク質またはその抗体自体またはこのH I Vウイルスがコードするタンパク質またはそのキメラの変異体もしくは改変体に変化することができるもの（例えば、H I Vウイルスがコードするタンパク質またはそのキメラまたはH I Vウイルスがコードするタンパク質またはそのキメラ変異体もしくは改変体をコードする核酸、およびその核酸を含むベクター、細胞等を含む）が包含されることが理解される。本開示の機能的等価物としては、アミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸の挿入、置換および／もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加されたものを用いることができる。本明細書において、「アミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸の挿入、置換および／もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加」とは、部位特異的突然変異誘発法等の周知の技術的方法により、あるいは天然の変異により、天然に生じ得る程度の複数個の数のアミノ酸の置換等により改変がなされていることを意味する。改変アミノ酸配列は、例えば1～30個、好ましくは1～20個、より好ましくは1～9個、さらに好ましくは1～5個、特に好ましくは1～2個のアミノ酸の挿入、置換、もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加がなされたものであることが

できる。改変アミノ酸配列は、好ましくは、そのアミノ酸配列が、HIVウイルスがコードするタンパク質のアミノ酸配列において1または複数個（好ましくは1もしくは数個または1、2、3、もしくは4個）の保存的置換を有するアミノ酸配列であってもよい。

[0044] 本明細書において「治療」とは、ある疾患または障害（例えば、ウイルス感染によるもの）について、そのような状態になった場合に、そのような疾患または障害の悪化を防止、好ましくは、現状維持、より好ましくは、軽減、さらに好ましくは消退させることをいい、患者の疾患、もしくは疾患に伴う1つ以上の症状の、症状改善効果を発揮しうることを含む。事前に診断を行って適切な治療を行うことは「コンパニオン治療」といい、そのための診断薬を「コンパニオン診断薬」ということがある。

[0045] 本明細書において「治療薬（剤）」とは、広義には、目的の状態（例えば、網膜変性疾患など）を治療できるあらゆる薬剤をいう。本開示の一実施形態において「治療薬」は、有効成分と、薬理学的に許容される1つもしくはそれ以上の担体とを含む医薬組成物であってもよい。医薬組成物は、例えば有効成分と上記担体とを混合し、製剤学の技術分野において知られる任意の方法により製造できる。また治療薬は、治療のために用いられる物であれば使用形態は限定されず、有効成分単独であってもよいし、有効成分と任意の成分との混合物であってもよい。また上記担体の形状は特に限定されず、例えば、固体または液体（例えば、緩衝液）であってもよい。

[0046] 本開示のものは、キットとして提供され得る。本明細書において「キット」とは、通常2つ以上の区画に分けて、提供されるべき部分（例えば、複数の核酸コンストラクト、薬剤を凍結乾燥したものと投与用の緩衝液など、説明書など）が提供されるユニットをいう。そのようなキットは、好ましくは、提供される部分（例えば、核酸コンストラクトをどのように使用するか、あるいは、試薬をどのように処理すべきかを記載する指示書または説明書を備えていることが有利である。本明細書はまた、使い方などを記載した指示書などが含まれる。

[0047] 本明細書における「有効成分」は、本開示の組成物などが目的とする治療または進行抑制などの効果を得るために必要な量で含有される成分を指し、効果が所望のレベル未満にまで損なわれない限りにおいて、他の成分も含有されてよい。また、本開示の医薬、組成物などは製剤化されたものであってもよい。また、本開示の医薬、組成物などの投与経路は、経口または非経口のいずれであってもよく、製剤の形態等に応じて適宜設定することができる。本開示のコンストラクトは有効成分として用いられ得る。

[0048] 本明細書において「指示書」（添付文書や米国FDAが利用するラベルなどを含む）は、本開示を使用する方法を医師または他の使用者に対する説明を記載したものである。この指示書は、本開示の医薬などを投与することを指示する文言が記載されている。また、指示書には、投与部位として、静脈投与等（例えば、注射などによる）することを指示する文言が記載されていてもよい。この指示書は、本開示が実施される国の監督官庁（例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局（FDA）など）が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書（package insert）やラベル（label）であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体（例えば、インターネットで提供されるホームページ、PDF、電子メール）のような形態でも提供され得る。

[0049] （好ましい実施形態）

以下に好ましい実施形態の説明を記載するが、この実施形態は本開示の例示であり、本開示の範囲はそのような好ましい実施形態に限定されないことが理解されるべきである。当業者はまた、以下のような好ましい実施例を参考にして、本開示の範囲内にある改変、変更などを容易に行うことができることが理解されるべきである。これらの実施形態について、当業者は適宜、任意の実施形態を組み合わせ得る。

[0050] 一つの局面において、本開示は、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、Ag85B

タンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物を含む、対象におけるウイルス感染を治療するための組成物、およびそれらに関連する方法、用途などを提供する。

[0051] 一つの好ましい実施形態では、本開示における対象は、ウイルス感染後の対象であり、本開示の組成物は、感染後に投与される。

[0052] 好ましい実施形態では、本開示のウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させ、好ましくは完全に消失させる。

[0053] ここで、「実質的に」ウイルスが「消失」するとは、臨床上、エイズウイルスなどのウイルスが検出できず発症していないと判定されることをいう。

[0054] ここで、「完全に」ウイルスが「消失」する・BR>二は、どのような検出方法でも（例えば、高感度のPCR検査によっても）、エイズウイルスなどのウイルスが検出できず、臨床上の症状も示さないと判定されることをいう。

[0055] したがって、好ましい実施形態では、本開示は、ウイルス感染対象から、ウイルスを実質的に消失させる目的で投与される組成物を提供する。

[0056] 一つの実施形態では、使用される抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、弱毒化ウイルスをコードする核酸配列であり、好ましくは、弱毒化ウイルスが、nef欠損型弱毒化ウイルスである。nef遺伝子はエイズウイルスの免疫回避を司る遺伝子であるためにこの部分を欠損させると生体の免疫機能により、弱毒化される。従来弱毒化ウイルスはこのようなアジュバント抗原とともに用いられることは想定されていない。

[0057] 一つの実施形態では、本開示で使用されるAg85Bタンパク質をコードする核酸配列は、本開示の弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中に組み込まれている。nef遺伝子はエイズウイルスの免疫回避を司る遺伝子であるためにこの部分を欠損させると生体の免疫機能により、弱毒化される。Ag85Bを加えると、強い細胞性免疫が誘導され、強い免疫反応が誘導され、よりウイルスが弱毒化される。

[0058] 一つの実施形態では、本開示で使用される記Ag85Bタンパク質をコー

ドする核酸配列は、n e f 欠損型弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中の欠損された n e f 遺伝子の位置に組み込まれている。n e f 遺伝子はエイズウイルスの免疫回避を司る遺伝子であるためにこの部分を欠損させると生体の免疫機能により、弱毒化される。A g 8 5 B を加えると、強い細胞性免疫が誘導され、強い免疫反応が誘導され、よりウイルスが弱毒化される。

- [0059] 一つの実施形態は、使用されるウイルスはエイズウイルスである。
- [0060] 一つの実施形態は、使用されるウイルスは、ヒトに感染するウイルスの弱毒化ウイルスである。
- [0061] 一つの実施形態は、使用されるウイルスは、ヒト免疫不全ウイルス（H I V）、サル免疫不全ウイルス（S I V）、サル／ヒト免疫不全キメラウイルス（S H I V）およびネコ免疫不全ウイルス（F I V）からなる群から選択されるエイズウイルスの弱毒化ウイルスである。
- [0062] 好ましい実施形態では、ウイルスはH I Vウイルスである。
- [0063] ヒト免疫不全ウイルス（H I V）は、遺伝子学的にI型H I V（H I V－1）とII型H I V（H I V－2）の2種類に大別される。H I V－1は日本を含めた世界で最も流行している型であり、その多くを占めるグループM（M a i n）と限局した地域で認められるグループO（O u t l i e r）、N（N e w）の3種に分類され、グループMはさらに9種のサブタイプ（A～D，F～H，J，K）に分類される。一方、H I V－2はA～Gにサブタイプ分類され、主に西アフリカに限局して存在していたが、フランス、アメリカ、西インド地域や韓国においても感染例の報告がある。
- [0064] 特定の実施形態では、ウイルスは、H I V－1の株であり、例えば、B a L株、I I I B株、R F株、G B 8株、U 4 5 5株、R O D株、およびこれらの変異株等が挙げられるが、これらに限定されない。
- [0065] 好ましい実施形態では、ウイルスは、弱毒化H I Vであり得る。より好ましい実施形態では、ウイルスは、n e f 欠損型弱毒化H I Vであり得る。
- [0066] 一つの実施形態は、使用されるウイルスは、n e f 欠損型弱毒化S H I Vである。n e f 遺伝子はエイズウイルスの免疫回避を司る遺伝子であるため

にこの部分を欠損させると生体の免疫機能により、弱毒化される。Ag85Bを加えると、強い細胞性免疫が誘導され、強い免疫反応が誘導され、よりウイルスが弱毒化される。

[0067] 使用される抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列は、配列番号3の1～9633位および10612～11022位のヌクレオチドを含む核酸配列、または配列番号4の1～8786位および9765～15182のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一の核酸配列である。

[0068] 好ましい実施形態では、使用される核酸構築物は、配列番号3または4に記載の核酸配列と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一の核酸配列であり、好ましくは使用される核酸構築物は、配列番号3または4に記載の核酸配列を含む。さらに有利には配列番号3または4に記載の核酸配列において1または数個の改変を有するもの（特にその改変は保存的置換であり得、改変場所は、活性に影響を与えない場所であり得る）、特に有利には、配列番号3または4に記載の核酸配列である。特に本開示の配列番号3または4の配列を有するコンストラクトは、安全性が高まり、毒性が低いうえに、HIVに対して実用に耐えうる治療的組成物を初めて提供することができること実証されたものであり、臨床上の意義は高いものである。

[0069] 本開示のコンストラクトがコードするアミノ酸配列において、「1もしくは数個」とは、通常、6アミノ酸以内であり、好ましくは5アミノ酸以内であり、更に好ましくは4アミノ酸以内（例えば、3アミノ酸以内、2アミノ酸以内、1アミノ酸）である。キメラタンパク質の本開示の生物学的活性を維持する場合、変異するアミノ酸残基においては、アミノ酸側鎖の性質が保存されている別のアミノ酸に変異されることが望ましい。改変される場合、アミノ酸側鎖の性質としては、保存的置換であるものが好ましい。本開示の

一実施形態において「数個」は、例えば、10、8、6、5、4、3、または2個であってもよく、それらいずれかの値以下であってもよい。欠失等がなされたキメラタンパク質は、例えば、部位特異的変異導入法、ランダム変異導入法、または抗体ファージライブラリを用いたバイオパニング等によって作製できる。部位特異的変異導入法としては、例えばKOD-Plus-Mutagenesis Kit (TOYOBO CO., LTD.)を使用できる。

[0070] (用法用量)

種々の実施形態では、本開示の組成物は、種々の用法用量で使用され得る。

[0071] 一つの実施形態では、本開示の組成物について、核酸構築物が、1回投与され、あるいは、2回以上、例えば、3回、4回、5回またはそれ以上投与される。

〔0072〕 簡便さの点で 1 回の投与が好ましいが、確実な治療効果を達成するために、反復投与、高用量投与、またはこれらの組み合わせを用いてもよい。当業者であれば、投与回数、頻度、投与量を適宜決定することができる。

〔0073〕 例えば、本開示では、核酸構築物または組成物は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回、3ヶ月に1回、4カ月に1回、6カ月に1回、1年に1回投与される。

[0074] 一つの実施形態では、本開示の組成物または核酸構築物は、 1.0×10^3 TCID₅₀以上の用量で投与される。あるいは、別の実施形態では、本開示の組成物または核酸構築物は、 1.0×10^1 TCID₅₀以上、 2.0×10^1 TCID₅₀以上、 3.0×10^1 TCID₅₀以上、 4.0×10^1 TCID₅₀以上、 5.0×10^1 TCID₅₀以上、 6.0×10^1 TCID₅₀以上、 7.0×10^1 TCID₅₀以上、 8.0×10^1 TCID₅₀以上、 9.0×10^1 TCID₅₀以上、 1.0×10^2 TCID₅₀以上、 2.0×10^2 TCID₅₀以上、 3.0×10^2 TCID₅₀以上、 4.0×10^2 TCID₅₀以上、 5.0×10^2 TCID₅₀以上、 6.0×10^2 TCID₅₀以上、 7.0×10^2

2 TCID_{50} 以上、 $8.0 \times 10^2 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $9.0 \times 10^2 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $1.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $2.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $3.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $4.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $5.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $6.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $7.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $8.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $9.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $1.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $2.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $3.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $4.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $6.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $7.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $8.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、 $9.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上、または $1.0 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}$ 以上である。

[0075] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物の用量は、 $1.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上 5.0×10^4 未満の TCID_{50} 未満の用量で投与される。

[0076] いくつかの実施形態において、低用量、高用量またはその両方を1週間ごとに2回以上、例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上投与されてもよい。特定の実施形態において、低用量を投与した後に、高用量を投与してもよい。特定の実施形態においては、高用量を複数回、例えば、4回投与してもよい。

[0077] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物は、 $1.0 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}$ 以上 5.0×10^4 の TCID_{50} 未満の用量で1回投与され、体内にウイルスが検出された場合に、前記核酸構築物がさらに投与される。ウイルスの検出は、抗原検査、PCR検査などで実施することができる。

[0078] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物は、低用量として、 $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上 $5.0 \times 10^6 \text{ TCID}_{50}$ 以下の用量で投与される。

[0079] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物は、高用量として、 $5.0 \times 10^4 \text{ TCID}_{50}$ 以上の用量で1回投与される。

[0080] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物は、対象が、抗HIV薬を既に投与された対象に投与され得る。すでに投与された、抗HIV薬としては、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およ

びCCR5阻害薬、例えば、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビリン、リルピビリン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせなどを挙げることができる。

[0081] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物は、対象が抗HIV薬を未だ投与されていない対象、または、前記組成物の投与開始時に抗HIV薬が中止された対象に投与され得る。

[0082] 一つの実施形態では、使用される他の抗HIV薬が、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択される。

[0083] 一つの実施形態では、本開示の核酸構築物または組成物とともに用いられ得る抗HIV薬が、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビリン、リルピビリン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される抗HIV薬でありうる。

[0084] 一つの実施形態では、核酸構築物または組成物は、対象におけるエイズウイルスを完全に排除するものであり、このようなものは従来提供されていなかった。また、完全排除ができない個体においても、本開示の核酸構築物または組成物の継続的な投与により発症を継続的に抑えて健常を維持することができる。

[0085] 一つの実施形態では、対象には、核酸構築物または組成物は、ウイルス感染前に投与されていない。このような対象において、エイズウイルス等の対

象となる感染ウイルスを完全に排除するものであることは従来知られていなかった。

[0086] (コンストラクトの製造法)

本開示のコンストラクトは、以下のようにして製造し得る。その代表例は実施例に記載されている。

[0087] 患者からウイルスを分離し、nef以外の分子（例えば、gag、pol、vif、vpx、vpr、vpu、tat、env、rev、またはこれらの組み合わせ）からウイルスを作製する。その時にnef領域にAg85B遺伝子を挿入する。Ag85Bは、BCGワクチンより遺伝子分離することができる。組み込み用プラスミドによりウイルスの核酸配列に挿入する。

[0088] コンストラクトは、既知のウイルス株にAg85Bを組み込んで作製してもよい。例えば、I型HIV（HIV-1）ウイルスであれば、典型的には、HIV-1 NL432株が使用され得るが、その他に、例えば、BaL株、IIIB株、RF株、GB8株、U455株、ROD株、およびこれらの変異株等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0089] (コンストラクトの用途)

本開示のコンストラクトは、HIVの治療に使用することができる。一局面において、本開示は、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、Ag85Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物を含む、対象におけるウイルス感染を治療するための組成物を提供する。本開示の核酸構築物は、Th2型の免疫応答に依存することなく、ウイルス感染を治療することが可能である。

[0090] いくつかの実施形態において、抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列は、配列番号3の1～9633位および10612～11022位のヌクレオチドを含む核酸配列、または配列番号4の1～8786位および9765～15182のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100

%同一の核酸配列を含み得る。

[0091] (医薬用途)

さらなる局面において、本開示は、レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、A g 8 5 Bタンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物を含む、対象においてウイルス感染を治療するための医薬組成物を提供する。ウイルス感染の治療は、T h 2型の免疫応答に依存することなく、T h 1型の免疫応答を誘導することによって達成され得る。H I V感染後の治療は、本発明によって初めて達成された。

[0092] 本開示の組成物は、対象においてウイルスを完全に排除することができる。特にH I V感染において、対象からウイルスを完全に排除することは、これまでに達成されなかった。ウイルスの完全な排除は、T h 1型の免疫応答によって達成される。

[0093] 好ましい実施形態において、対象は、以前にB C Gワクチンの接種を受けている。B C Gワクチンの接種はA g 8 5 Bのアジュバント効果を增強させることが期待されるため、B C G接種群では、H I V－A g 8 5 BによるH I Vに対する治療効果が高いと予想される。B C Gワクチンは、禁忌等により実施されていない国（米国等）もあり、必ずしもB C Gワクチンを必要とするものではない。B C G非接種群においても、十分な効果が期待される。

[0094] (医薬、治療法)

1つの局面において、本開示は、本開示の組成物または医薬を投与することによる治療法を提供する。1つの実施形態において、本開示の組成物または核酸構築物は、注射により投与される。別の実施形態において、本開示の組成物または核酸構築物は体内に投与される。特定の実施形態において、本開示の組成物または核酸構築物は保存液と共に提供され得る。一部の実施形態において、保存液は緩衝液であり得る。他の実施形態において、本開示の組成物または核酸構築物は、容器に格納された状態で提供され得る。特定の実施形態において、本開示の組成物または核酸構築物を格納する容器は、シ

リングであり得る。。

[0095] 本開示の弱毒化ウイルスに関連する薬剤の投与は、他の成分と併用して、HIVの改善、又は軽減に有効な治療薬の濃度をもたらす任意の好適な手段によって行うことができる。薬剤は、任意の好適な担体物質中に任意の適切な量で含有させてよく、一般に、組成物の全重量の1～95重量%の量で存在する。組成物は、非経口（例えば、皮下、静脈内、筋肉内、又は腹腔内）投与経路に好適な投薬形態で提供してよい。医薬組成物は、慣行的薬局業務規範（pharmaceutical practice）に従って製剤化することができる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.), ed. A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000及びEncyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988–1999, Marcel Dekker, New Yorkを参照のこと）。本開示の医薬組成物は、ほぼ投与直後、又は投与からの予定時点若しくは予定時間後に、活性化化合物を放出するように製剤化することができる。

[0096] 本開示が非経口投与で使用される場合、単位投与量アンプルもしくは多投与量容器またはチューブ内に収容された状態に製剤化してもよく、また、安定剤、緩衝剤、保存剤、等張化剤等の添加剤も含有させてもよい。また、非経口投与の場合における製剤は、使用時に、適当な担体（滅菌水等）で再溶解可能な粉体に製剤化されてもよい。非経口投与としては、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与などが挙げられ、静脈内投与であることが好ましい。本明細書において記載されるコンストラクト、有効成分は、担体と共に投与され得る。担体とは、希釈剤、アジュバント、賦形剤、または媒体を含む。組成物はまた、必要に応じて、微量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含有し得る。これらの組成物は、溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、ピル、カプセル、粉末、持続放出製剤、その組合せなどの形態を取り得る。

[0097] 本開示において使用され得る薬学的に許容される担体は、副作用を伴わずに対象内に注射され得る、本明細書において記載されるコンストラクトまたは薬剤を含有する媒体を指す。薬学的に許容される担体には、無菌の液体、例えば水および油が含まれ、油には、石油由来、動物由来、植物由来、または合成由来の油、例えば、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ごま油、その組合せなどが含まれる。適切な薬学的に許容される担体には、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョコレート、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール、その組合せなどが含まれる。適切な薬学的担体の他の例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」において記載されている。本開示の組成物の投与は、局所経路、皮下経路、静脈内経路、筋肉内経路、皮内経路、腹腔内経路、経口経路、吸入経路、またはその組合せを含む、本開示の組成物の接種に典型的に使用される任意の経路によるものであり得る。

[0098] 本明細書において記載される組成物は、核酸医薬に製剤化することができる。本明細書において記載される核酸医薬は、適切に製剤化された、真核細胞における発現に適切なプロモーターに作動可能に連結した感染性の非病原性および／または弱毒化ウイルスの完全長ゲノムRNA分子をコードするDNAを含む本明細書において記載されるベクターを含む。

[0099] 1つの特定の実施形態では、本開示のコンストラクト、医薬等は、治療期間において1回または2回以上投与される。実施例に記載されるとおり、本開示の医薬等は少なくとも1回投与することで、その効果を奏することが確認されており、患者に対するコンプライアンスもよいと考えられる。

[0100] (一般技術)

本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり慣用されるものであり、例えば、*Current Protocols in Molecular Biol*

ogy (<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471142727>) および *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Fourth Edition) (<http://www.molecularcloning.com>) などに記載されており、これらは本明細書において関連する部分（全部であり得る）が参考として援用される。

[0101] 以上、本開示を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本開示を説明するが、上述の説明および以下の実施例は、例示の目的のみに提供され、本開示を限定する目的で提供したものではない。したがって、本開示の範囲は、本明細書に具体的に記載された実施形態にも実施例にも限定されず、請求の範囲によってのみ限定される。

実施例

[0102] （実施例1）コンストラクトの製法

HIV-1 NL432 遺伝子を SIVmac239 バックグラウンドに持つ SHIV-NM3rN を出発物質として利用した。組換え SHIV は、以前報告された方法に従って構築した (15, 16)。SHIV-nef ベクター (SHIV-NI) は、SHIV-NM3rN の感染性分子クローンから構築したものである (48)。SHIV-NI の env 遺伝子のソースは、X4-トロピックウイルスである HIV-1 NL432 とした。SHIV-NI では nef 遺伝子が、ClaI および ApaI などのユニークな制限酵素部位に置き換えられた。Ag85B 遺伝子は、Mycobacterium kansasii を鋳型として、5'-ATATCGATACC ATGTTCTCCCGTCCCGGGCT-3' (ClaI) (配列番号 5) および 5'-AGGGCCCCCTAGCGGGCGCCCAGGCTGG-3' (ApaI) (配列番号 6) プライマーを用いて PCR により増幅された。その後、PCR 産物を ClaI および ApaI 部位の制限酵素で消化した。このプラスミドを pSHIV-Ag85B と呼ぶ。SHIV-Ag

85Bは、FuGENE 6 Transfection Reagent (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) を用いてpSHIV-Ag85Bを293T細胞にトランスフェクションして調製し、トランスフェクション後48時間の培養上清を使用時まで液体窒素中で保存した。

[0103] (実施例2) コンストラクトの性能確認

(Ag85Bタンパク質の検出)

M8166細胞にSHIV-Ag85BをMOI 0.1で感染させ、1時間培養した。細胞をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で3回洗浄した後、さらに48時間培養液中で培養を行った。PBSでさらに3回洗浄した後、細胞を、1.5M尿素、2%NP-40および5%2-メルカプトエタノールを含むPBSで溶解した。次いで、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離し、ニトロセルロース膜にエレクトロブロットで移し、0.01%Tween 20 (PBST) 含有PBS中の5%脱脂乾燥乳でブロックした。PBSTで3回洗浄した後、膜をウサギの抗Ag85Bポリクローナル抗体で2時間インキュベートした。膜をNBT/BCIP (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) で3回洗浄した後、アルカリホスファターゼ標識抗ウサギIgG (New England Biolabs, Beverly, MA) と共にインキュベートした。

[0104] (挿入されたAg85B遺伝子のin vivo安定性)

接種したマカクザルの 1×10^6 PBMCからプロウイルスDNAを抽出した。ウイルスが再分離される場合、M8166細胞と共培養したCD8⁺枯渇PBMCもモニターした。細胞DNAは、DNeasy組織キット(QIAGEN社)を用いて抽出した。SHIV-Ag85Bにおける挿入されたAg85B遺伝子の安定性を確認するため、SHIV-Ag85Bにおける挿入されたAg85B遺伝子を包含するプロウイルスDNA断片を、プライマーを用いてPCR増幅した。プライマーの配列は上記のとおりである。

[0105] (実施例3) SHIV-Ag85B治療核酸医薬の評価

本実施例の実験の概要を図1に示す。本実施例では、HIVウイルスの接種後に本願発明に係る組成物を投与した場合の血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の推移を検証した。

[0106] (材料および方法)

(ウイルス株)

本研究では、SHIV-Ag85B、SHIV-NI、SHIV89.6Pを使用した。これらのウイルス株は、カニクイザルのPBMCで増殖させた。標準フィコール密度勾配分離法で分離したPBMCを10%ウシ胎児血清、2mM L-グルタミン、100ユニット/mlのIL-2（塩野義製薬）を添加したRPMI1640で培養し、フィトヘマグルチニンで72時間刺激し、感染倍率(MOI)が0.1のSHIV-Ag85B、SHIV-NIまたはSHIV89.6Pを細胞に感染させた。3日ごとに培養液の半分を新しい培養液に交換し、感染後6~9日目に無細胞上清を回収した。M8166細胞を用いて、各SHIVのTCID₅₀を測定した。ウイルスストックのTCID₅₀値は、SHIV-Ag85Bにおいて 5×10^4 、SHIV-NIにおいて 4.7×10^4 、SHIV89.6Pにおいて 3×10^5 であった。

[0107] (動物)

サルSIV、D型レトロウイルス、T細胞リンパ腫ウイルス、サル泡沫状ウイルス、Epstein-Barrウイルス、サイトメガロウイルス、およびBウイルスのすべてが陰性である成人サル（インドネシア、フィリピン、マレーシア産）を使用した。7頭のサルにSHIV89.6P50を 10^4 TCID₅₀で静脈内接種した。その後、SHIV89.6P感染後1週間または2週間後（#137のみ5週間後）、抗HIV薬（テノホビル 20 mg/kg、エムトリシタビン 40 mg/kgまたはドルテグラビル 2.5 mg/kg）を1日1回皮下投与した。抗HIV薬投薬休止後に、5頭のサルにSHIV-Ag85Bを静脈内接種した（高用量SHIV-Ag85B接種； 8×10^4

TCID₅₀、低用量SHIV-Ag85B接種；10⁴ TCID₅₀）。血液を、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いて定期的に採取し、CD4⁺T細胞数の測定、血漿ウイルス量の定量化、および免疫学的分析に使用した。リンパ組織試料を、生検で入手し、プロウイルスDNA量の測定および病理学的検査に使用した。

[0108] (DNA試料の調製およびネステッドPCRによるSHIV gag遺伝子の増幅)

SHIV-Ag85Bを接種したサルにおけるプロウイルスDNAを測定するために、ネステッドPCRを用いてgag遺伝子セグメントの断片を増幅した。プロウイルスDNAは、接種したサルのPBMCから抽出した。細胞DNAをDNeasy tissue kits (QIAGEN)を用いて抽出した。ネステッドPCRをTakara Ex Taq (Takara Bio Inc.、Shiga、Japan)を用いて実施した。最初のプロトコルおよびネステッドPCRのプロトコルは、参考文献49および50において説明されている(49および50)。本研究で使用したプライマーは、第1ラウンドのPCRにおいてOuter SIVgag-F (5'-CCATTAGTGCCAACAGGCTCAG-3' (配列番号7))およびOuter SIVgag-R (5'-CCCCAGTTGGATCCATCTCCTG-3' (配列番号8))を使用し、第2ラウンドのPCRにおいてNested SIVgag-F (5'-ACTGTCTGCGTCATCTGGTG-3' (配列番号9))およびNested SIVgag-R (5'-GTCCCAATCTGCAGCCTCCTC-3' (配列番号10))を使用した。2回目の増幅後、ネステッドPCRで増幅した産物10μlを1.0%アガロースゲルにかけ、エチジウムブロマイドで染色し、DNAバンドを可視化した。outer gagプライマー対による最初の増幅で、このPCR法で検出されたプラスミドSIV DNAの最低濃度は100コピーであった。さらにnested/internal gagプライマーで増幅すると、1コピーのプラスミドDNAが慣例的に

検出される（４９、５０）。

[0109] （血漿中ウイルスRNA量）

SHIV感染レベルは、先に述べたように、高感度定量リアルタイムRT-PCRを用いて血漿中のウイルスRNA量を測定することによってモニターした（２３、５１、５２）。ウイルスRNAをMagna Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit (Roche Diagnostics) を用いて血漿から単離した。リアルタイムRT-PCRは、Quantitect Probe RT-PCR Kit (Qiagen) およびLightCycler 480サーモサイクラー (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) を用いて実施した。SIVmac239のgag遺伝子を、プローブ5'-FAM-TGTCCACCTGCCATTAAGTCCCGA-TAMRA-3'（ここでFAMは6-カルボキシフルオレセインおよびTAMRAは、6-カルボキシテトラメチルローダミンである）（配列番号１１）、プライマー5'-TGGAAGAAAGACCTCCAGAAAATG-3'（配列番号１２）および5'-CAAGTGCAGTTAGCAAGCGAGGAT-3'（配列番号１３）で増幅した。検出限界を１０００ウイルスRNAコピー／mlと算出した。

[0110] （プロウイルスDNA量）

DNeasy tissue kit (QIAGEN) を用いて、PBMCおよびリンパ組織からDNA試料を製造者のプロトコルにしたがって抽出した。超高感度デジタルPCRは、QX200 Droplet Digital PCR system (Bio-Rad) で行った。DNA試料2 μ l、ddPCR supermix for probes (dUTPなし) (Bio-Rad)、各プライマー900 nM、プローブ200 nM、および脱塩水を含む20 μ lの反応混合物を調製した。この混合液を液滴生成オイル (Bio-Rad) 70 μ lとともにDG8カートリッジに入れ、液滴生成器 (Bio-Rad) で液滴を形成した。その後、96ウェルマイ

クロプレートに液滴を移した。PCR増幅は以下のプログラムで行った：95℃で10分間の初期変性および安定化、94℃で30秒間の変性、57℃で60秒間のアニーリング／伸長を40サイクル行い、その後10分間98℃で行った。その後、QuantaSoft v1.6 (Bio-Rad) ソフトウェアを使用して、QX200液滴リーダー (Bio-Rad) で液滴をソートし、分析した。試料は、20,000以上の液滴が読み取られた場合のみ考慮された。細胞数を、先に述べたように、高感度定量リアルタイムPCRによってモニターした(53)。DNADNeasy tissue kit (QIAGEN) を用いて、製造者のプロトコルに従って、DNA試料をPBMCおよびリンパ系組織から抽出した。細胞数は、アカゲザルIL-4特異的プライマー5'-TGTCCTCCGGCAGTTCTACA-3' (配列番号14) および5'-CCGTTTTCAGGAATCGGATCA-3' (配列番号15) ならびにプローブ5'-FAM-TGCACAGCAGTTCCACAGGCACAAG-TAMRA-3' (配列番号16) を用いて細胞性IL-4配列を検出して確認した。

[0111] (CD4⁺T細胞数)

それぞれのカニクイザルの全血100μlを、蛍光標識モノクローナル抗体：抗CD3 (クローンSP34-2、Alexa700; BD)、抗CD4 (クローンL200、PerCP-Cy5.5; BD) で染色した。フローサイトメトリーを、FACSCanto II フローサイトメーター (BD) で行った。データをFACSDiVaソフトウェアを用いて解析した。

[0112] (結果)

(抗HIV薬のみの投与)

抗HIV薬のみを投与されたサル (#137および#139) において、血漿中ウイルス量は低レベルを維持していたが、抗HIV薬の投与を中止すると、血漿中ウイルス量が増加した(図2および図3)。また、SHIV89.6Pを接種し、抗HIV薬を投与されたサル (#137および#139) において、観察期間中、CD4⁺T細胞数は非常に低かった(図2および

図3)。

[0113] (低用量SHIV-Ag85B 2回投与)

低用量のSHIV-Ag85Bを2回投与されたサル(#138)において、抗HIV薬の投与を中止した後もほとんど血漿中ウイルスが検出されず、1回目のSHIV-Ag85B投与14週間後には、血漿中ウイルス量は検出限界以下に達した(図4)。また、低用量のSHIV-Ag85Bを2回投与されたサル(#138)において、SHIV-Ag85B投与後、CD4⁺T細胞数は正常レベルを維持した(図4)。

[0114] (高用量SHIV-Ag85B 1回投与)

高用量のSHIV-Ag85Bを1回投与されたサル(#142)において、抗HIV薬の投与を中止した後、血漿中ウイルス量は検出限界以下を観察期間にわたって維持した(図5)。また、高用量のSHIV-Ag85Bを1回投与されたサル(#142)において、SHIV-Ag85B投与後、CD4⁺T細胞数は正常レベルを維持した(図5)。

[0115] (高用量SHIV-Ag85B 5回投与)

高用量のSHIV-Ag85Bを投与されたサル(#141)において、高用量のSHIV-Ag85Bを2回投与すると低いレベルまで血漿中ウイルス量は低下するが、しばらくすると血漿中ウイルス量は増加した(図6)。再度低用量のSHIV-Ag85Bを投与すると(感染後91日目、147日目および154日目)、血漿中ウイルス量は低下した。このような例においても、SHIV-Ag85Bを複数回投与することにより、血漿中ウイルス量を低レベルに維持することが可能と考えられる。CD4⁺T細胞は、正常レベルを維持していた(図6)。

[0116] (低用量および高用量SHIV-Ag85Bそれぞれ1回投与)

感染後66日目に低用量SHIV-Ag85Bを投与したサル(#140)において、感染後77日目以降に血漿中ウイルス量が増加した。感染後98日目に高用量SHIV-Ag85Bを投与したが、血漿中ウイルス量は上昇したままであった(図7)。CD4⁺T細胞数は、観察期間中にわたって低

いレベルであった（図7）。

[0117] 本実施例の実験の方法は図1に準じて行った。

[0118] 具体的には以下のとおりである。

抗HIV薬投与開始：

SHIV89.6P感染後、血漿中ウイルスがピークを示したのち（#137除く）。

投与方法：

1日1回；皮下投与

抗HIV薬：

テノホビル 20 mg/kg

エムトリシタビン 40 mg/kg

ドルテグラビル 2.5 mg/kg

参考文献（Goswami R, et al.. Analytical Treatment Interruption after Short-Term Antiretroviral Therapy in a Postnatally Simian-Human Immunodeficiency Virus-Infected Infant Rhesus Macaque Model. mBio. 2019 Sep 5;10 (5) :e01971-19. doi: 10.1128/mBio.01971-19., Nishimura Y, et al., Prevention and treatment of SHIVAD8 infection in rhesus macaques by a potent d-peptide HIV entry inhibitor. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Sep 8;117 (36) :22436-22442. doi: 10.1073/pnas.2009700117)

[0119] 具体的には上述のSHIVと実質的に同様の手順で実施した。各個体における投与スケジュールは図8記載のとおりである。

- [0120] 低用量のSHIV-Ag85Bを2回投与されたサル(#138)および高用量のSHIV-Ag85Bを1回投与されたサル(#142)において、SHIV-Ag85Bの接種後は長期にわたり血漿中ウイルス量が検出限界以下を維持した(図9Aおよび図9B)。また、高用量のSHIV-Ag85Bを投与されたサル1頭(#141)に関しては初期に短期間の効果しか認められず、血漿中にウイルスが出現するたびに投与したところ、5度目の接種以降に長期の抑制効果が認められた(図10)。
- [0121] 上記結果の説明は以下のとおりである。
- [0122] 低用量のSHIV-Ag85Bを2回投与されたサル(#138)は、低用量(1×10^4 TCID₅₀) SHIV-Ag85Bを治療薬休止後4日目と11日目に投与したところ血漿中ウイルスは検出限界以下を維持し、CD4⁺細胞も正常値に回復し、維持されている。
- [0123] 上記結果の説明は以下のとおりである。
- [0124] 高用量のSHIV-Ag85Bを1回投与されたサル(#142)は、高用量SHIV-Ag85B(5×10^4 TCID₅₀)を治療薬休止後7日目に投与したところ血漿中ウイルスは検出限界以下を維持し、CD4⁺細胞も正常値に回復し、維持されている。
- [0125] 高用量のSHIV-Ag85Bを投与されたサル(#141)は、高用量SHIV-Ag85B(5×10^4 TCID₅₀)を治療薬休止後7日目に投与したところ血漿中ウイルスは検出限界以下には短期間しか維持されなかったために血漿中にウイルスが出現するたびに投与したところ、5度目の接種以降に長期の抑制効果が認められた。CD4⁺細胞も正常値に回復し、維持されている。
- [0126] (実施例4) SHIV-Ag85Bでのさらなる臨床試験
カニクイザルに高用量SHIV-Ag85Bを1週間毎に4回投与する。
その後、カニクイザルにおける血漿中ウイルス量およびCD4⁺T細胞数の推移を測定した。
(1) 休薬による影響

休薬による影響について、SHIV-Ag85Bの接種回数および接種量を検討し、実施例3と同様の実験を行った。休薬は8週間の投与後、3日間投薬を中止することによって行った。

[0127] 上記結果は図11に示す（#137は図11A、#139は図11B。）
のとおりである。

[0128] 上記結果の説明は以下のとおりである。

[0129] 図11Aは、抗HIV薬のみを投与された未治療のサル（#137）のコントロールである。休薬後7日目には血漿中ウイルスが出現し、その後上昇、それと反比例の形でCD4⁺細胞は減少し、感染後170日で死亡した。

[0130] 図11Bは、抗HIV薬のみを投与された未治療のサル（#139）のコントロールである。休薬後110日目には血漿中ウイルスが出現し、その後上昇、それと反比例の形でCD4⁺細胞は減少し、感染後500日で死亡した。

[0131] （2）治療プロトコルの最適化

本実施例の実験の概要を図12に示す。本実施例では、HIVウイルスの接種後に本開示に係る組成物を投与した場合の血漿中ウイルス量の推移を検証した。

[0132] （プロトコール）

SHIV感染後1週目より投薬を開始する。治療薬を休薬後7日目から1週間隔で4回SHIV-Ag85B（ 5×10^4 TCID₅₀）を投与した。

[0133] （検証手法）

（血漿中ウイルスRNA量）

SHIV感染レベルは、先に述べたように、高感度定量リアルタイムRT-PCRを用いて血漿中のウイルスRNA量を測定することによってモニターした（23、51、52）。ウイルスRNAをMagna Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit（Roche Diagnostics）を用いて血漿から単離した。リアルタイムRT-PCRは、QuantiTect Probe RT-PCR

Kit (Qiagen) および LightCycler 480 サーマサイクラー (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) を用いて実施した。SIVmac239 の gag 遺伝子を、プローブ 5' - FAM-TGTCCACCTGCCATTAAGTCCCGA-TAMRA-3' (ここで FAM は 6-カルボキシフルオレsein および TAMRA は、6-カルボキシテトラメチルローダミンである) (配列番号 11)、プライマー 5' - TGGAAGAAAGACCTCCAGAAAATG-3' (配列番号 12) および 5' - CAAGTGCAGTTAGCAAGCGAGGAT-3' (配列番号 13) で増幅した。検出限界を 1000 ウイルス RNA コピー / ml と算出した。

[0134] (CD4⁺T 細胞数)

それぞれのカニクイザルの全血 100 μ l を、蛍光標識モノクローナル抗体：抗 CD3 (クローン SP34-2、Alexa700; BD)、抗 CD4 (クローン L200、PerCP-Cy5.5; BD) で染色した。フローサイトメトリーを、FACSCanto II フローサイトメーター (BD) で行った。データを FACSDiva ソフトウェアを用いて解析した。

[0135] (結果)

図 13 に結果を示す。使用した抗 HIV 薬は個体の相違にかかわらず奏功していることが示された。

[0136] (実施例 5：治療最適化)

本実施例では、SHIV-Ag85B 4 回投与の試験を行った。実質的には上述のプロトコールと同様である。

[0137] (SHIV-Ag85B 4 回投与)

高用量 (5.0×10^4 TCID₅₀) の SHIV-Ag85B を投与されたサル (#164、#165 および #167) において、高用量の SHIV-Ag85B を 1 週間間隔で 4 回投与すると血漿中ウイルス量は検出限界以下を観察期間にわたって維持した (図 14)。Ag85B を含まない、対照群は休薬後 2 週で血漿中ウイルスが出現したが、SHIV-Ag85B 投与群

は血漿中ウイルスは検出限界以下を維持した。

[0138] (SHIV-NI 4回投与)

高用量 (5.0×10^4 TCID₅₀) のSHIV-NIを投与されたサル (#162、#166および#168)において、高用量のSHIV-NIを4回投与すると#168においては血漿中ウイルス量は検出限界以下を維持したが、#162と#166において血漿中ウイルス量は増加した(図15)。Ag85Bを含まない、対照群は休薬後2週で血漿中ウイルスが出現したが、SHIV-Ag85B投与群は血漿中ウイルスは検出限界以下を維持した(Ag85Bを含まない対照群は図15。SHIV-Ag85B接種群は図14、未治療群は図16である)。

[0139] (実施例6) HIV-Ag85Bでの臨床試験

本実施例では、HIV-Ag85B(配列番号4)を、抗HIV治療薬による治療を受けているHIVに感染したヒト(BCGワクチン接種群およびBCGワクチン非接種群)に、抗HIV治療薬の休止後1~2週間間隔で4~8回皮下投与もしくは静脈内投与する。HIV-Ag85Bによる治療効果を確認する。

[0140] 実施例1~5に基づき、血漿中ウイルス量およびCD4⁺細胞数を確認する。BCGワクチンの接種はAg85Bのアジュバント効果を増強させることが期待されるため、BCG接種群では、HIV-Ag85BによるHIVに対する治療効果が高いと予想される。

[0141] (実施例7) 製剤化例

製剤化する場合には、以下のような製法によって製造することができる。

[0142] (例1) 凍結乾燥した核酸構築物の適宜の量に適宜の容積の生理食塩水を直接加えて注射用溶液製剤とすることができる。

[0143] (例2) 凍結乾燥した核酸構築物の適宜の量に適宜の容積の等張液5%ブドウ糖液を加えて注射用溶液製剤とすることができる。

[0144] (例3) 水に溶解された核酸構築物の適宜の量に適宜の容積の電解質補正液大塚食塩注10%などを加え0.9%NaCl濃度に調製し注射用溶液製

剤とすることができる。

[0145] (例4) 水に溶解された核酸構築物の適宜の量を凍結乾燥し、核酸構築物ナトリウム塩の凍結乾燥製剤とすることができる。

[0146] 参考文献

1. Cohen, M. S. et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. N. Engl. J. Med. 365, 493-505 (2011).
2. Gupta, R. K. et al. HIV-1 remission following CCR5Delta32/Delta32 haematopoietic stem-cell transplantation. Nature 568, 244-248 (2019).
3. Hutter, G. et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. N. Engl. J. Med. 360, 692-698 (2009).
4. Burton, D. R. et al. A blueprint for HIV vaccine discovery. Cell Host Microbe 12, 396-407 (2012).
5. Haynes, B. F. et al. HIV-host interactions: implications for vaccine design. Cell Host Microbe 19, 292-303 (2016).
6. Rerks-Ngarm, S. et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. N. Engl. J. Med. 361, 2209-2220 (2009).
7. Kestler, H. W. 3rd et al. Importance of the nef gene for maintenance of high virus loads and for development of AIDS. Cell 65, 651-662 (1991).
8. Daniel, M. D., Kirchhoff, F., Czajak, S. C., Sehgal, P. K. & Desrosiers, R. C. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the nef gene. Science 258, 1938-1941 (1992).
9. Johnson, R. P. & Desrosiers, R. C. Protective immunity i

- duced by live attenuated simian immunodeficiency virus. *Curr. Opin. Immunol.* 10, 436-443 (1998).
10. Koff, W. C. et al. HIV vaccine design: insights from live attenuated SIV vaccines. *Nat. Immunol.* 7, 19-23 (2006).
11. Picker, L. J., Hansen, S. G. & Lifson, J. D. New paradigms for HIV/AIDS vaccine development. *Annu. Rev. Med.* 63, 95-111 (2012).
12. Baba, T. W. et al. Pathogenicity of live, attenuated SIV after mucosal infection of neonatal macaques. *Science* 267, 1820-1825 (1995).
13. Baba, T. W. et al. Live attenuated, multiply deleted simian immunodeficiency virus causes AIDS in infant and adult macaques. *Nat. Med.* 5, 194-203 (1999).
14. Wyand, M. S., Manson, K. H., Lackner, A. A. & Desrosiers, R. C. Resistance of neonatal monkeys to live attenuated vaccine strains of simian immunodeficiency virus. *Nat. Med.* 3, 32-36 (1997).
15. Shimizu, Y. et al. A genetically engineered live-attenuated simian-human immunodeficiency virus that co-expresses the RANTES gene improves the magnitude of cellular immunity in rhesus macaques. *Virology* 361, 68-79 (2007).
16. Shimizu, Y. et al. Induction of immune response in macaque monkeys infected with simian-human immunodeficiency virus having the TNF- α gene at an early stage of infection. *Virology* 343, 151-161 (2005).
17. Stahl-Hennig, C. et al. Replication, immunogenicity, and protective properties of live-attenuated simian immunodeficiency viruses expressing interleukin-4 or interferon- γ . *Virology*

- 305, 473–485 (2003).
18. Takamura, S., Matsuo, K., Takebe, Y. & Yasutomi, Y. Ag85B of mycobacteria elicits effective CTL responses through activation of robust Th1 immunity as a novel adjuvant in DNA vaccine. *J. Immunol.* 175, 2541–2547 (2005).
19. Mori, H. et al. Administration of Ag85B showed therapeutic effects to Th2-type cytokine-mediated acute phase atopic dermatitis by inducing regulatory T cells. *Arch. Dermatol. Res.* 301, 151–157 (2009).
20. Tsujimura, Y. et al. Effects of mycobacteria major secretion protein, Ag85B, on allergic inflammation in the lung. *PLoS ONE* 9, e106807 (2014).
21. Tsujimura, Y. & Yasutomi, Y. Allergy vaccines using a mycobacterium-secreted antigen, Ag85B, and an IL-4 antagonist. *Methods Mol. Biol.* 1403, 723–738 (2016).
22. Watanabe, K. et al. Recombinant Ag85B vaccine by taking advantage of characteristics of human parainfluenza type 2 virus vector showed Mycobacteriaspecific immune responses by intranasal immunization. *Vaccine* 32, 1727–1735 (2014).
23. Okamura, T. et al. Simian immunodeficiency virus SIVmac239 infection and simian human immunodeficiency virus SHIV89.6P infection result in progression to AIDS in cynomolgus macaques of Asian origin. *J. Gen. Virol.* 97, 3413–3426 (2016).
24. Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R. & Flavell, R. A. Recognition of doublestranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3. *Nature* 413, 732–738 (2001).
25. Kato, H. et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature* 441, 101–

105 (2006).

26. Fukazawa, Y. et al. Lymph node T cell responses predict the efficacy of live attenuated SIV vaccines. *Nat. Med.* 18, 1673-1681 (2012).

27. Reynolds, M. R. et al. Macaques vaccinated with live-attenuated SIV control replication of heterologous virus. *J. Exp. Med.* 205, 2537-2550 (2008).

28. Villinger, F. et al. Induction of long-term protective effects against heterologous challenge in SIVhu-infected macaques. *Virology* 278, 194-206 (2000).

29. Giavedoni, L. D., Velasquillo, M. C., Parodi, L. M., Hubbard, G. B. & Hodara, V. L. Expression of IL-18 by SIV does not modify the outcome of the antiviral immune response. *Virology* 303, 327-337 (2002).

30. Giavedoni, L. D. & Yilma, T. Construction and characterization of replication-competent simian immunodeficiency virus vectors that express gamma interferon. *J. Virol.* 70, 2247-2251 (1996).

31. Berg, R. K. et al. Genomic HIV RNA induces innate immune responses through RIG-I-dependent sensing of secondary-structured RNA. *PLoS ONE* 7, e29291 (2012).

32. Bosinger, S. E. & Uday, N. S. Type I interferon: understanding its role in HIV pathogenesis and therapy. *Curr. HIV/AIDS Rep.* 12, 41-53 (2015).

33. Co, J. G., Witwer, K. W., Gama, L., Zink, M. C. & Clements, J. E. Induction of innate immune responses by SIV in vivo and in vitro: differential expression and function of RIG-I and MDA5. *J. Infect. Dis.* 204, 1104-1114 (2011).

34. Mogensen, T. H., Melchjorsen, J., Larsen, C. S. & Paludan, S. R. Innate immune recognition and activation during HIV infection. *Retrovirology* 7, 54 (2010).
35. Borducchi, E. N. et al. Ad26/MVA therapeutic vaccination with TLR7 stimulation in SIV-infected rhesus monkeys. *Nature* 540, 284–287 (2016).
36. Vaccari, M. et al. Adjuvant-dependent innate and adaptive immune signatures of risk of SIVmac251 acquisition. *Nat. Med.* 22, 762–770 (2016).
37. Goulder, P. J. & Watkins, D. I. Impact of MHC class I diversity on immune control of immunodeficiency virus replication. *Nat. Rev. Immunol.* 8, 619–630 (2008).
38. Loffredo, J. T. et al. Mamu-B*08-positive macaques control simian immunodeficiency virus replication. *J. Virol.* 81, 8827–8832 (2007).
39. Muhl, T., Krawczak, M., Ten Haaf, P., Hunsmann, G. & Sauermann, U. MHC class I alleles influence set-point viral load and survival time in simian immunodeficiency virus-infected rhesus monkeys. *J. Immunol.* 169, 3438–3446 (2002).
40. Yant, L. J. et al. The high-frequency major histocompatibility complex class I allele Mamu-B*17 is associated with control of simian immunodeficiency virus SIVmac239 replication. *J. Virol.* 80, 5074–5077 (2006).
41. Saito, Y., Naruse, T. K., Akari, H., Matano, T. & Kimura, A. Diversity of MHC class I haplotypes in cynomolgus macaques. *Immunogenetics* 64, 131–141 (2012).
42. Hansen, S. G. et al. Profound early control of highly pathogenic SIV by an effector memory T-cell vaccine. *Nature*

473, 523-527 (2011).

43. Hansen, S. G. et al. Effector memory T cell responses are associated with protection of rhesus monkeys from mucosal simian immunodeficiency virus challenge. *Nat. Med.* 15, 293-299 (2009).

44. Hansen, S. G. et al. Immune clearance of highly pathogenic SIV infection. *Nature* 502, 100-104 (2013).

45. Martinez-Navio, J. M. et al. Adeno-associated virus delivery of anti-HIV monoclonal antibodies can drive long-term virologic suppression. *Immunity* 50, 567-575.e565 (2019).

46. Borducchi, E. N. et al. Antibody and TLR7 agonist delay viral rebound in SHIVinfected monkeys. *Nature* 563, 360-364 (2018).

47. Lim, S. Y. et al. TLR7 agonists induce transient viremia and reduce the viral reservoir in SIV-infected rhesus macaques on antiretroviral therapy. *Sci. Transl. Med.* 10, eaao4521 (2018).

48. Igarashi, T. et al. Infectivity and immunogenicity of SIVmac/HIV-1 chimeric viruses (SHIVs) with deletions in two or three genes (*vpr*, *nef* and *vpx*). *Microbiol. Immunol.* 42, 71-74 (1998).

49. Unger, R. E. et al. Detection of simian immunodeficiency virus DNA in macrophages from infected rhesus macaques. *J. Med. Primatol.* 21, 74-81 (1992).

50. Yoshino, N. et al. Intradermal delivery of recombinant vaccinia virus vector DIs induces gut-mucosal immunity. *Scand. J. Immunol.* 72, 98-105 (2010).

51. Mori, K. et al. Quintuple deglycosylation mutant of simi

an immunodeficiency virus SIVmac239 in rhesus macaques: robust primary replication, tightly contained chronic infection, and elicitation of potent immunity against the parental wild-type strain. *J. Virol.* 75, 4023-4028 (2001).

52. Enose, Y. et al. Protection by intranasal immunization of a nef-deleted, nonpathogenic SHIV against intravaginal challenge with a heterologous pathogenic SHIV. *Virology* 298, 306-316 (2002).

53. Sugimoto, C. et al. Glycosylation of simian immunodeficiency virus influences immune-tissue targeting during primary infection, leading to immunodeficiency or viral control. *J. Virol.* 86, 9323-9336 (2012).

54. Amara, R. R. et al. Different patterns of immune responses but similar control of a simian-human immunodeficiency virus 89.6P mucosal challenge by modified vaccinia virus Ankara (MVA) and DNA/MVA vaccines. *J. Virol.* 76, 7625-7631 (2002).

55. Montefiori, D. C. Measuring HIV neutralization in a luciferase reporter gene assay. *Methods Mol. Biol.* 485, 395-405 (2009).

56. Pollara, J. et al. Bridging Vaccine-Induced HIV-1 Neutralizing and Effector Antibody Responses in Rabbit and Rhesus Macaque Animal Models. *J. Virol.* 93, e02119-18 (2019).

57. Yamamoto, T. et al. Virus inhibition activity of effector memory CD8(+) T cells determines simian immunodeficiency virus load in vaccinated monkeys after vaccine breakthrough infection. *J. Virol.* 86, 5877-5884 (2012).

58. Yamamoto, T. et al. STING agonists activate latently infected cells and enhance SIV-specific responses ex vivo in na

turally SIV controlled cynomolgus macaques. Sci. Rep. 9, 5917 (2019).

59. Kuromatsu, I., Matsuo, K., Takamura, S., Kim, G., Takebe, Y., Kawamura, J and Yasutomi, Y. Induction of effective antitumor immune responses by using DNA of an α Ag from mycobacteria. Cancer Gene Ther. 2001;8:483-490.

(注記)

以上のように、本開示の好ましい実施形態を用いて本開示を例示してきたが、本開示は、この実施形態に限定して解釈されるべきものではない。本開示は、請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。当業者は、本開示の具体的な好ましい実施形態の記載から、本開示の記載および技術常識に基づいて等価な範囲を実施することができることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。本出願は、日本国特許庁に2022年9月2日に出願された特願2022-140218号に対して優先権主張を伴うものであり、必要に応じその内容はすべて本願において参考として引用される。

産業上の利用可能性

[0147] 本開示は、医薬を産業とする分野において有用である。

配列表フリーテキスト

[0148] 配列番号1 : Ag85Bの核酸配列

配列番号2 : Ag85Bのアミノ酸配列

配列番号3 : SHIV-Ag85Bの核酸配列

配列番号4 : HIV-Ag85Bの核酸配列

配列番号5 : ClaIプライマー

配列番号6 : ApaIプライマー

配列番号7 : Outer SIVgag-Fプライマー

配列番号 8 : Outer S I V g a g - R プライマー

配列番号 9 : Nested S I V g a g - F プライマー

配列番号 10 : Nested S I V g a g - R プライマー

配列番号 11 : S I V m a c 2 3 9 の g a g に対するプローブ

配列番号 12 : S I V m a c 2 3 9 の g a g に対するプライマー 1

配列番号 13 : S I V m a c 2 3 9 の g a g に対するプライマー 2

配列番号 14 : I L - 4 に対するプライマー 1

配列番号 15 : I L - 4 に対するプライマー 2

配列番号 16 : I L - 4 に対するプローブ

請求の範囲

- [請求項1] レンチウイルス属に属するウイルスに含まれる抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列と、A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列とを作動可能に含む核酸構築物を含む、対象におけるウイルス感染を治療するための組成物。
- [請求項2] 前記組成物が、ウイルス感染後に投与されることを特徴とする、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] 前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させるものである、請求項2に記載の組成物。
- [請求項4] 前記ウイルス感染の治療は、ウイルス感染後の前記対象から、前記ウイルスを実質的に消失させる目的で投与されるものである、請求項2に記載の組成物。
- [請求項5] 前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、弱毒化ウイルスをコードする核酸配列である、請求項1～4のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項6] 前記弱毒化ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化ウイルスである、請求項5に記載の組成物。
- [請求項7] 前記A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中に組み込まれている、請求項5または6に記載の組成物。
- [請求項8] 前記A g 8 5 B タンパク質をコードする核酸配列が、前記n e f 欠損型弱毒化ウイルスをコードする核酸配列中の欠損されたn e f 遺伝子の位置に組み込まれている、請求項6に記載の組成物。
- [請求項9] 前記ウイルスがエイズウイルスである、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項10] 前記ウイルスが、ヒトに感染するウイルスの弱毒化ウイルスである、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

- [請求項11] 前記ウイルスが、H I V、S I V、S H I V、およびF I Vからなる群から選択されるエイズウイルスの弱毒化ウイルスである、請求項1～10のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項12] 前記ウイルスが、弱毒化H I Vである、請求項1～11のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項13] 前記ウイルスが、n e f 欠損型弱毒化H I Vである、請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項14] 前記抗原タンパク質またはその一部をコードする核酸配列が、配列番号3の1～9633位および10612～11022位のヌクレオチドを含む核酸配列、または配列番号4の1～8786位および9765～15182のヌクレオチドを含む核酸配列と少なくとも90%同一の核酸配列を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項15] 前記核酸構築物が、配列番号3または4に記載の核酸配列と少なくとも90%同一の核酸配列を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項16] 前記核酸構築物が、配列番号3または4に記載の核酸配列を含む、請求項1～15のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項17] 前記核酸構築物が、1回投与されることを特徴とする、請求項1～16のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項18] 前記核酸構築物が、2回以上投与されることを特徴とする、請求項1～16のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項19] 前記核酸構築物が、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、または2ヶ月に1回投与されることを特徴とする、請求項18に記載の組成物。
- [請求項20] 前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上の用量で投与されることを特徴とする、請求項1～19のいずれか一項に記載の組成物。

- [請求項21] 前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で投与されることを特徴とする、請求項1～20のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項22] 前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1週間に1回投与されることを特徴とする、請求項21に記載の組成物。
- [請求項23] 前記核酸構築物が、 1.0×10^3 TCID₅₀以上 5.0×10^4 のTCID₅₀未満の用量で1回投与され、体内にウイルスが検出された場合に、前記核酸構築物がさらに投与されることを特徴とする、請求項21に記載の組成物。
- [請求項24] 前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上 5.0×10^6 TCID₅₀以下の用量で投与されることを特徴とする、請求項1～20のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項25] 前記核酸構築物が、 5.0×10^4 TCID₅₀以上の用量で1回投与されることを特徴とする、請求項24に記載の組成物。
- [請求項26] 前記対象が、抗HIV薬を既に投与されていることを特徴とする、請求項1～25のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項27] 前記対象が抗HIV薬を未だ投与されていない、または、前記組成物の投与開始時に抗HIV薬が中止される、請求項1～25のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項28] 前記抗HIV薬が、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、およびCCR5阻害薬からなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、請求項26または27に記載の組成物。
- [請求項29] 前記抗HIV薬が、テノホビル、エムトリシダビン、ドルテグラビル、ジドブジン、ラミブジン、サニルブジン、ジダノシン、アバカビル、ネビラピン、エファビレンツ、エトラビルン、リルピビルン、サキナビル、インジナビル、ネルフィナビル、ロピナビル／リトナビル

合剤、アタザナビル、ホスアンプレナビル、ダルナビル、リトナビル、ラルテグラビル、エルビテグラビル、マラビロクまたはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される抗HIV薬を投与されていることを特徴とする、請求項26または27に記載の組成物。

[請求項30] 前記組成物が、前記対象における前記エイズウイルスを完全に排除する、請求項1～29のいずれか一項に記載の組成物。

[請求項31] 前記組成物が、ウイルス感染前に投与されていない、請求項1～30のいずれか一項に記載の組成物。

[請求項32] 前記対象が、以前にBCGワクチンの接種を受けている、請求項1～31のいずれか一項に記載の組成物。