

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7313345号

(P7313345)

(45)発行日 令和5年7月24日(2023.7.24)

(24)登録日 令和5年7月13日(2023.7.13)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 39/295 (2006.01)

A 6 1 K 39/295

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 37/04

C 1 2 N 15/40 (2006.01)

C 1 2 N 15/40

Z N A

C 1 2 N 7/04 (2006.01)

C 1 2 N 7/04

C 1 2 Q 1/06 (2006.01)

C 1 2 Q 1/06

請求項の数 25 (全52頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-519400(P2020-519400)

(86)(22)出願日 平成30年10月5日(2018.10.5)

(65)公表番号 特表2020-536107(P2020-536107
A)

(43)公表日 令和2年12月10日(2020.12.10)

(86)国際出願番号 PCT/IB2018/001219

(87)国際公開番号 WO2019/069130

(87)国際公開日 平成31年4月11日(2019.4.11)

審査請求日 令和3年9月30日(2021.9.30)

(31)優先権主張番号 62/568,525

(32)優先日 平成29年10月5日(2017.10.5)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 592055820

サノフィ・パスツール

S A N O F I P A S T E U R

フランス国 6 9 0 0 7 リヨン エスパス

アンリ ヴァレ 1 4

(74)代理人 100127926

弁理士 結田 純次

(74)代理人 100140132

弁理士 竹林 則幸

(72)発明者 ディアナ・コロネル

メキシコ国 0 3 0 2 0 メキシコシティ・

デレガシオン・ベニート・ファレス・コ

ロニア・ナルバルテ・インテリオル・

コンプレス・デ・マルトラタ 5 0 3

(72)発明者 ベツアーナ・サンブラノ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 デング熱に対するブースターワクチン接種のための組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト対象においてデング熱ウイルスに対する中和抗体の応答を誘発するためのブースターワクチン接種の方法における使用のためのワクチン組成物であって、前記組成物が、血清型 1 から 4 の各々のデング熱抗原を含み、前記デング熱抗原の各々が、(a) 生の減弱されたデング熱ウイルスおよび (b) 生の減弱されたキメラデング熱ウイルスからなるリストから独立に選択され、

前記対象が、デング熱ウイルスの血清型 1 から 4 の各々に対する初回ワクチン接種コースを以前に受けており、前記対象が前記初回ワクチン接種コースの前にはデング熱にナイーブであり、当該初回ワクチン接種コースは複数回の用量で投与され、

前記ブースターワクチン接種が、前記初回ワクチン接種コースの最終用量の投与の少なくとも 1 年後以降に投与され、

前記ブースターワクチン接種により、血清型 1 から 4 の各々に対する中和抗体力価が、初回ワクチン後の前記中和抗体力価と比較して、少なくとも 2 倍の増大を生じ、

血清型 1 から 4 の各々に対する中和抗体力価における前記 2 倍の増大は、前記ブースターワクチン接種後 2 0 日と 6 0 日の間に測定され、

前記初回ワクチン後の前記中和抗体力価は前記ブースターワクチン接種の前に測定される、

前記ワクチン組成物。

【請求項 2】

前記ブースターワクチン投与は、前記初回ワクチン接種コースの終了後少なくとも2年後以降に投与される、請求項1に記載のワクチン組成物。

【請求項3】

前記初回ワクチン接種コースは、1回、2回または3回の用量で投与される、請求項1または2に記載のワクチン組成物。

【請求項4】

前記対象は、少なくとも11歳または12歳である、請求項1～3のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項5】

前記対象は、ブースター投与前に、血清型1から4の各々に対して、少なくとも10以上、および150未満、好ましくは120未満の中和抗体力価を有する、請求項1～4のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

10

【請求項6】

血清型1から4の各々に対する中和抗体の力価の前記2倍の増大が、前記ブースターワクチン接種後20と60日の間に、好ましくは、前記ブースターワクチン接種後28日に測定される、請求項1～5のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項7】

前記中和抗体力価が、デング熱ブラーク減少中和試験(PRNT50)の試験を使用し、測定される、請求項1～6のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項8】

20

ブースターワクチン接種のために投与される前記ワクチン組成物は、初回ワクチン接種コース中において以前に投与されたワクチン組成物と同一である、請求項1～7のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項9】

ブースターワクチン接種のために投与される前記ワクチン組成物は、初回ワクチン接種コース中において以前に投与されたワクチン組成物と異なる、請求項1～7のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項10】

前記対象は、初回ワクチン接種の前にデング熱ウイルスに自然に感染したことがない、請求項1～9のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

30

【請求項11】

ヒト対象においてデング熱ウイルスに対する中和抗体の応答を誘発する方法における使用のためのワクチン組成物であって、前記組成物が、血清型1から4の各々のデング熱抗原を含み、前記血清型1から4のデング熱抗原は、生の減弱されたデング熱ウイルスおよび生の減弱されたキメラデング熱ウイルスからなる群から各々独立に選択され；

前記組成物が、

(a) 初回ワクチン接種コースであって、当該初回ワクチン接種コースは複数回の用量で投与される、初回ワクチン接種コースと、それに続く前記初回ワクチン接種コースの最終用量の投与の少なくとも1年後以降に、

(b) ブースターワクチン接種により投与され、

40

前記ヒト対象が前記初回ワクチン接種コースの前にはデング熱にナイーブである、前記ワクチン組成物。

【請求項12】

前記ブースターワクチン投与は、前記初回ワクチン接種コースの終了後少なくとも2年後以降に投与される、請求項11に記載のワクチン組成物。

【請求項13】

前記初回ワクチン接種コースは、1回、2回または3回の用量で投与される、請求項11または12に記載のワクチン組成物。

【請求項14】

50

前記対象は少なくとも9歳である、請求項11～13のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項15】

前記ブースターワクチン接種は、血清型1から4の各々に対する中和抗体力価において、初回ワクチン接種後に誘発された中和抗体力価と比較して、少なくとも2倍の増大を生ずる、請求項11～14のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項16】

血清型1から4の各々に対する中和抗体の力価の前記2倍の増大は、前記ブースターワクチン接種後20日と60日の間に、好ましくは、前記ブースターワクチン接種後28日に測定される、請求項15に記載のワクチン組成物。

10

【請求項17】

前記中和抗体の力価は、デング熱プラーク減少中和試験（PRNT50）の試験を使用して測定される、請求項15または16に記載のワクチン組成物。

【請求項18】

前記ヒト対象が、デング熱疾患に対して、好ましくは重症のデング熱疾患に対して保護される、請求項1～17のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項19】

前記対象は、9カ月と60歳の間の年齢である、請求項1～3、または11～13のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項20】

前記初回ワクチン接種コースは、3回のワクチン用量の投与にあり、第2の用量は、初回用量の6カ月後に投与され、第3の用量は、第2の用量の6カ月後に投与される、請求項11に記載のワクチン組成物。

20

【請求項21】

前記ブースター免疫は、初回ワクチン接種コースの終了後20年未満、好ましくは10年未満に投与される、請求項1～20のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項22】

前記ヒト対象は、デング熱流行地域に居住している、請求項1～21のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項23】

血清型1から4の各々のデング熱抗原を含み、前記デング熱抗原のそれぞれが、生の減弱されたキメラデング熱ウイルスである、請求項1～22のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

30

【請求項24】

前記生の減弱されたキメラデング熱ウイルスは、p r M - E 配列がデング熱ウイルスの p r M - E 配列で置き換えられている、第1のフラビウイルス由来のゲノムを含む、請求項1～23のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項25】

前記第1のフラビウイルスは、黄熱病ウイルスまたはデング熱ウイルス、好ましくは黄熱病ウイルスである、請求項24に記載のワクチン組成物。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、本出願の一部として添付の配列表中に含まれるヌクレオチドおよび/またはアミノ酸の配列を参照によって組み入れる。

【0002】

本発明は、ヒト対象においてデング熱ウイルスに対して応答する中和抗体を産生させる方法におけるブースターワクチンとしてのワクチン組成物およびそのような組成物の使用に関する。

【背景技術】

50

【 0 0 0 3 】

デング熱は、流行性の伝染のリスクがある地域に住む世界の人口の約半分でマラリアに次ぐ第2の最も重要な感染性の熱帯性疾患である。毎年デング熱の3億9千万症例があると推定され、およそ9千6百万人の人々が臨床的に明確な疾患を有した。各年、小児を含む500,000と推定される人々が、入院を必要とする重症形態のデング熱にかかり、大流行中にヘルスケアシステムに巨大な歪みをもたらす。重症形態のデング熱に罹患する人々の約2.5%が死亡するであろう（（非特許文献1）。URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> から入手可能）したがって、WHOによれば、地方病性の国における人々を保護するために、4種の血清型のデング熱ウイルスに対する安全なおよび効果的なワクチンを開発する、差し迫った必要がある。

10

【 0 0 0 4 】

デング熱疾患は、フラビウイルス属の、抗原性は異なるが密接に関係する4種の血清型のデング熱ウイルスによって惹起される（（非特許文献2）；（非特許文献3）；（非特許文献4）；（非特許文献5））。デング熱ウイルスはプラスのセンス一本鎖RNAウイルスである。

【 0 0 0 5 】

デング熱疾患は、ウイルスに感染したネッタイシマカ（*Aedes aegypti* mosquito）が血を吸う間にデング熱ウイルスの注入により移される。4～10日のインキュベーション期間の後、該疾病は突然始まって、3相：発熱（2から7日）、危機的（24～48時間この間に重症合併症が起こり得る）および回復（48～72時間）が続く。危機相中に、生命を脅かす合併症、例えば出血、ショックおよび急性の器官機能障害が起こり得る。これらの予測できないアウトカムの適切な管理により、致死率を低下させることができる。デング熱の治癒は7から10日の後に完結するが、通常、無力症が長引く。減少した白血球および血小板数がしばしば観察される。

20

【 0 0 0 6 】

デング出血熱（DHF）を含むデング熱疾患の重症形態は、デング熱ウイルス感染の可能性として致命的な合併症である。DHFは、高熱およびデング熱疾患の症状により特徴づけられるが、極度の嗜眠および無力症を伴う。増大した静脈の透過性および異常ホメオスタシスにより、血液体積の減少、低血圧、および重症の場合には、血液量減少ショックおよび内出血に至り得る。2つの要因が、DHFの発生において主要な役割を演じているように思われる。高レベルのウイルス血症を伴う急速なウイルスの複製（疾患の重症度はウイルス血症のレベルと関連する；（非特許文献6））および高レベルの炎症性メディエーターの放出による主要な炎症性応答（（非特許文献7）；（非特許文献8））である。DHFの死亡率は、処置しないと10%に達し得るが、処置にアクセスを有する大部分のセンターでは1%未満である。デング熱疾患感染は、100を超える熱帯性の国の地方病性の病気であり、DHFは60のこれらの国で詳細に報道されている（非特許文献9）。

30

【 0 0 0 7 】

デング熱ショック症候群（DSS）はDHFに共通の進行状態であり、しばしば致死적이다である。DSSは、静脈外の区域への血漿漏洩に至る全身性の血管炎から生ずる。DSSは、急速なおよび貧弱な音量の脈拍、低血圧、冷たい四肢、および不眠により特徴づけられる。

40

【 0 0 0 8 】

アジアでは、DHFおよびDSSは、主として小児で観察され、DHFを有するものの約90%は15歳未満である（（非特許文献10）；（非特許文献11））。対照的に、カリブ海地域および中央アメリカにおける大発生は、主に成人を冒した（（非特許文献12））。デング熱疾患の発生率は、デング熱が地方病性である多くの国における比較的高年齢の群で増大してきた（（非特許文献13）；（非特許文献14））。

【 0 0 0 9 】

デング熱ウイルスの4種の血清型は、約60～80%の配列相同性を有する。1種のデ

50

ング熱血清型による感染は、持続的な相同性免疫を提供するが、しかし、限定された異種の免疫である（非特許文献 15）。したがって、1 種の血清型の Dengue 熱に感染した個体は、その後異なる血清型に感染する可能性もある。異なる Dengue 熱ウイルスの血清型から生ずる第 2 の感染は、理論的に DHF の発生にとってリスク要因であると考えられ、その理由は、DHF を表す患者は、他の 4 種の血清型の Dengue 熱ウイルスのうち少なくとも 1 種に以前に曝露されているからである。

【0010】

今日まで、Dengue 熱疾患のための特異的処置はない。Dengue 熱疾患のための処置は、症状に基づいてベッドにおける休息、解熱剤および鎮痛剤による発熱および疼痛の制御、および適切な飲み方による。DHF の処置には、体液損失の埋め合わせ、凝固因子の置き換えおよびヘパリンの点滴が必要である。

10

【0011】

蚊の制御および刺されることからヒトの保護などの Dengue 熱の予防手段は、有効性が限定され、実施が困難であり、費用がかかるので、安全なおよび効果的な Dengue 熱ワクチンがあれば、予防の最良の様式であろう。

【0012】

本出願人は、以前、Dengue 熱ワクチンを開発して、市販名 Dengvaxia（登録商標）で上市した。この Dengue 熱ワクチンのワクチン有効性は、とりわけ 2 から 16 歳の対象で立証された（非特許文献 16）および（非特許文献 17）。

【0013】

しかしながら、この Dengue 熱ワクチンで得られた結果の徹底的な分析は、それがワクチン接種時にすでに血清が陽性であった対象、すなわち、血清型にかかわらず Dengue 熱ウイルスにより以前感染していた対象の Dengue 熱疾患に対する保護に、特に効果的であることを示す。

20

【0014】

しかしながら、最初は Dengue 熱にナイーブな、すなわち以前に Dengue 熱ウイルスに感染したことがない対象の、最初のワクチン接種後の中和抗体レベルは、Dengue 熱免疫対象で生じた中和抗体の応答よりも低い。

【0015】

異なる第 III 相の有効性研究からの結果の分析、すなわち、より高いレベルの中和抗体（PRNT₅₀により測定した）が Dengue 熱疾患を発生する確率を減少させることに基づいて、Dengue 熱ワクチンについて、保護の絶対的相関は未だ確立されていないが、より高い中和抗体レベルは、より高いワクチン有効性、すなわち Dengue 熱疾患のより低いリスクと関連すると考えられる。換言すれば、ワクチン接種の 28 日後の PRNT₅₀ 力価は、リスクと逆相関すると考えられる（非特許文献 18）。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0016】

【文献】World Health Organization、Dengue and dengue haemorrhagic fever、2015 年 5 月に更新されたファクトシート N°117

40

Gubler ら、1988 年：「Epidemiology of arthropod-borne viral disease」。Monath TPM 編、Boca Raton（フロリダ州）編：CRC Press：223～60 頁

Kautner ら、1997 年、J. of Pediatrics、131 巻：516～524 頁

Rigau-Perez ら、1998 年、Lancet、352 巻：971～977 頁

Vaughn ら、1997 年、J. Infect. Dis.、176 巻：322～30 頁

Vaughn ら、2000 年、J. Inf. Dis.、181 巻：2～9 頁

Rothman および Ennis、1999 年、Virology、257 巻：1～6 頁

50

Alan L. Rothman 2011年、Nature Reviews Immunology、11巻：532～543頁

Gubler、2002年、TRENDS in Microbiology、10巻：100～103頁

Malavigeら、2004年、Postgrad Med. J.、80巻：588～601頁

Meulenら、2000年、Trop. Med. Int. Health、5巻：325～9頁

Malavigeら、2004年、Postgrad Med. J.、80巻：588～601頁

10

Sabchareonら、2012年、Lancet、380巻、1559～1567頁

Messinaら、2014年、Trends Microbiol.、22巻、138～146頁

Sabin、1952年、Am. J. Trop. Med. Hyg.、1巻：30～50頁

Capeding MRら、2014年、Lancet；384巻(9951号)：1358～65頁

Villar Lら、2015年、N Engl J Med.、372巻(2号)：113～23頁)

Moodie、Z.ら、「Neutralizing Antibody Correlates Analysis of Tetravalent Dengue Vaccine Efficacy Trials in Asia and Latin America」、Journal of Infectious Diseases(2018年)、217巻、742～753頁)

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0017】

したがって、前に Dengue 熱ウイルスに自然に感染したことがないヒト対象の中和抗体の応答を、彼らを Dengue 熱に対して、血清型に関わらず効率的に保護するために増強することを目標とするワクチン接種コースで有用なワクチン組成物または方法を開発する必要性がある。

30

【課題を解決するための手段】

【0018】

本発明は、ヒト対象において Dengue 熱ウイルスに対する中和抗体の応答を誘発するためのブースターワクチン接種の方法における使用のためのワクチン組成物であって、前記組成物が、血清型 1 から 4 の少なくとも 1 種の Dengue 熱抗原または前記抗原を対象において発現することができる核酸構築物を含み、

前記対象が、血清型 1 から 4 の Dengue 熱ウイルスの各々に対する初回ワクチン接種コースを前に受けており、前記対象が前記初回ワクチン接種コースの前には、Dengue 熱にナイスであり、

前記ブースターワクチン接種が、血清型 1 から 4 の各々に対する中和抗体力価の少なくとも 2 倍の増大を生ずる、ワクチン組成物に関する。

40

【0019】

本発明は、ヒト対象において Dengue 熱ウイルスに対する中和抗体の応答を誘発する方法における使用のためのワクチン組成物であって、前記組成物が、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原、または前記対象において血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原を発現することができる核酸構築物を含み、

前記組成物が：

(a) 初回ワクチン接種と、それに続く

(b) ブースターワクチン接種

として投与され、

50

ヒト対象が、最初はデング熱にナীবである、
ワクチン組成物にさらに関する。

【0020】

定義

本明細書において使用される用語「デング熱疾患」は、デング熱ウイルスによる感染後に個体によって示される全てのグレードの重症度の臨床的症状を指す。本明細書において使用される用語デング熱疾患は、デング熱の発熱のようなデング熱疾患の軽症の発現および本明細書で定義される重症デング熱または本明細書で定義されるデング出血熱(DHF)のようなデング熱のより重症発現の両方を包含する。1975以来、臨床的デング熱は、世界保健機関指針(1997年更新)により、(i)デング熱の発熱または(ii)デング出血熱として分類された(World Health Organization. Dengue hemorrhagic fever Diagnosis, treatment, prevention and control 第2版. Geneva: WHO, 1997年; ISBN 924 154500 3)。2009年に、WHOは、臨床的デング熱を、(i)前兆の徴候を示すかもしくは示さないデング熱または(ii)重症のデング熱として分類する新しい指針を発した。両方の分類が、Srikiatkachornら、Clin. Infect. Dis. (2011年)53巻(6号):563頁の図1および2に示されている。初期の1997年のWHO分類によれば、デング熱は:(i)頭痛、関節痛、眼窩後の疼痛、皮疹、筋肉痛、出血性発現、および白血球減少から選択される少なくとも2つの症状を有する発熱の存在と一緒に:(ii)支持する血清反応または他の確立されたデング熱の症例と同じ場所および時期における発生により診断される。デング出血熱への進行は、発熱、出血の発現、血小板減少症および証明された血漿漏洩が全て観察されたときに確認される。2009年のWHO分類によれば、デング熱の診断には:(i)発熱および吐き気、嘔吐、皮疹、痛みおよび疼痛、陽性の止血帯試験、または腹痛および敏感な痛み、持続性嘔吐、臨床的体液貯留、粘膜の出血、嗜眠または不眠、肝肥大>2cmまたは血小板数における急速な減少と同時に起こるヘマトクリットの増大から選択されるいずれかの前兆となる徴候から選択される少なくとも2つの臨床的症状;と一緒に(ii)支持する血清反応または他の確認されたデング熱の症例と同じ場所および時期における発生の存在が必要である。2009年のWHOの分類によれば、重症のデング熱は、以下の追加の事象:(i)ショックまたは呼吸困難(体液貯留)に至る重症の血漿漏洩;(ii)臨床医により評価された重症の出血;または(iii)重症の器官の困難な状況(すなわち肝:AST、ALT 1000;CNS:弱った意識または心臓または他の器官)のいずれかの観察によるデング熱の診断と定義される。

【0021】

本明細書において使用される用語「デング出血熱」または「DHF」は、1997年のWHO定義と一致しており、以下の症状を指す

- 1)臨床的発現:
 - (a)発熱:高い(38 以上)および連続して2から7日持続する急性発症;
 - (b)以下の出血性発現:陽性の止血帯試験、点状出血、紫斑病、斑状出血、鼻血、歯肉出血、および吐血および/または下血のいずれか;
- 2)試験室的所見:
 - (a)血小板減少症(血小板数 $100 \times 10^9 / L$);
 - (b)血液濃縮(20%以上増大したヘマトクリット)により示される血漿漏洩または胸水貯留(胸部X線で見られる)および/または腹水および/または低アルブミン血症。最初の2つの臨床的基準(すなわち発熱および出血性発現)に加わる血小板減少症および血漿漏洩の徴候は、DHFの臨床的診断を確定するために十分である。胸水貯留(胸部X線で見られる)および/または低アルブミン血症は、血漿漏洩を支持する証拠を提供する。本明細書において使用されるDHFは、その重症度の根拠に基づいてさらに定義することができる。したがってDHFは、グレードI、グレードII、グレードIIIまたはグレードIVであると定義することができる(World Health Organiz

10

20

30

40

50

ation. Dengue hemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control 第2版。Geneva: WHO、1997年; ISBN 92 4 154500 3)。グレードIは、非特異的な体質上の症状により伴われる発熱と定義される; 出血性のみの発現は陽性の止血帯試験である。グレードIIは、グレードI患者の発現に加えて、通常皮膚または他の出血の形態における自発的出血と定義される。グレードIIIは、冷たいじっとりした皮膚および不眠の存在とともに、急速な弱い脈拍および狭窄の脈拍圧(20 mmHg以下)または低血圧により発現された循環不全と定義される。グレードIVは、検出不能の血液圧および脈拍による深刻なショックと定義される。当業者により理解されるように、本発明の実行、例えば、DHFに対する保護の方法は、前記DHFでは、ウイルス学的に確認する必要はない。

10

【0022】

本明細書において使用される用語「ウイルス学的に確認された Dengue 熱」は、Dengue 熱ウイルスにより誘発されたことが、例えば逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)によりおよび/または Dengue 熱非構造1(NS1)タンパク質の酵素イムノアッセイ(ELISA)により確認される、急性発熱エピソード(すなわち少なくとも2日連続して温度 38)を指す。RT-PCR方法では、市販のキットを使用して、RNAが血清から抽出されて、可能性のある Taq ポリメラーゼ阻害剤または干渉因子は廃棄される。次に、Dengue 熱スクリーンRT-PCR反応が、Dengue 熱ウイルスの中に保存された遺伝子配列からプライマーを用いて実施される。結果は、既知の濃度のウイルスのゲノム核酸配列を含有する標準との比較により log₁₀ プラーク形成単位(PFU)/mLの濃度で表現される。感染性 Dengue 熱ウイルス血症後の血清型同定は、Simplexa(商標) Dengue 熱RT-PCRアッセイ(Focus Diagnostics, Inc. カリフォルニア州、米国)を用いて血清試料を試験することにより決定される。簡単に説明すると、市販のキットを使用して、RNAを血清から抽出して、可能性のあるポリメラーゼ阻害剤または干渉因子は廃棄する。次に Dengue 熱配列から血清型特異的プライマーを組み込んでいる Simplexa(商標)アッセイを実行する。結果は、各 Dengue 熱の血清型について、検出されたかまたは検出されなかったと定性的に表現されて報告される。Simplexa(商標)アッセイは、血清型同定のために、全ての Dengue 熱スクリーンRT-PCR陽性または Dengue 熱NS1 Ag ELISA陽性試料で使用される。NS1 ELISAは、市販のキット(Platelia(商標) Dengue 熱NS1 Ag, Bio-Rad、Marnes-la-Coquette、フランス)を使用して実行される。メーカーの使用説明書の通りを行う。Dengue 熱NS1 Ag試験は、血清中のNS1 Agの検出を可能にするワンステップサンドイッチ-ELISAに基づくアッセイである。該試験は、マウスのモノクローナルAb(MAb)を、捕捉および検出のために使用する。試料および対照は、MAbでコートされたマイクロプレートのウェル内でコンジュゲートと直接および同時にインキュベートされる。NS1 Agが試料中に存在すれば、免疫複合体MAb-NS1-MAb/ペルオキシダーゼが形成されるであろう。免疫複合体の存在は、発色反応を開始する発色溶液の添加により立証される。室温におけるインキュベーションの30分後に、酵素反応を酸溶液の添加により停止させる。450/620 nmに設定された分光光度計を用いて得られた光学密度(OD)読み取り値は、試料中におけるNS1 Agの存在量と比例する。個々の試料中におけるNS1 Agの存在は、試料のOD読み取りをカットオフの対照血清のODと比較することにより決定される。0.5未満、0.5以上~1.0未満、および1以上の試料比が、陰性、不確か、および陽性の結果を、それぞれ示す。

20

30

40

【0023】

本明細書において使用される用語「重症の Dengue 熱」または「重症の Dengue 熱疾患」は、本明細書で報告される第III相の臨床実験を統括するために設立された独立のデータ監視委員会(IDMC)により定義された重症の Dengue 熱を指す。Dengue 熱の発熱の場合におけるIDMCの定義に従って、以下の基準のいずれか1つの様相が重症 Dengue 熱の診

50

断結果となる：(i) ショック（小児または青年における脈拍圧 20 mmHg、または頻脈、弱い脈拍および衰えた灌流と低血圧 [90 mmHg] ）；(i i) 輸血を必要とする出血；(i i i) 脳障害すなわち、意識不明または意識低下状態または単なる熱性の痙攣もしくは限局性の神経学的徴候に帰することができない痙攣。意識低下の状態または意識不明は、グラスゴー昏睡スケール（GCS）スコアにより支持されなければならない；(i v) 肝機能障害（AST > 1000 U/L またはプロトロンビン時間 [PT] 国際標準化比 [INR] > 1.5 ）；(v) 弱った腎臓機能（血清クレアチニン 1.5 mg / dL ）または(v i) 胸部X線（CXR）、心エコー検査、心電図（ECG）または心臓の酵素により、これらが入手可能な場合に支持される心筋炎、心膜炎または心臓不全（臨床的心臓不全）。当業者により理解されるように、本発明の実行において、例えば、重症のデング熱に対して保護する方法は、前記重症のデング熱がウイルス学的に確認される必要はなく、デング熱疾患の他のウイルス学的に確認された症例と単に同じ場所で起こるだけでよい。

【0024】

用語「デング熱発熱ウイルス」、「デング熱ウイルス」および「DEN」は互換的に使用される。それらは、フラビウイルス科のフラビウイルス属に属するプラスの一本鎖RNAウイルスを指す。デング熱ウイルスの4種の異なる血清型（血清型1、2、3および4）があり、約60～80%の配列相同性を有する。以下の要素を含むゲノムの構成：5' 非コード地域（NCR）、構造タンパク質（カプシド（C）、プレメンブレン（pre-membrane）（prM）およびエンベロープ（E））をコードする地域および非構造タンパク質（NS1 - NS2A - NS2B - NS3 - NS4A - NS4B - NS5）をコードする地域および3' NCR。デング熱ウイルスのゲノムは、翻訳後プロセッシングを受ける単一のポリタンパク質に翻訳される中断されないコード地域をコードしている。

【0025】

本明細書において使用される用語「生の減弱されたデング熱ウイルス」とは、毒性の野生型デング熱ウイルスから誘導された、弱毒化されて対応する野生デング熱ウイルスと関連する症状の同じ組み合わせにより特徴づけられる疾患状態を誘発することができなくなる遺伝子改変による、生のデング熱ウイルスを指す。生の減弱されたデング熱ウイルスは、野生ウイルスから、例えば、組換え核酸技術、部位が指定された突然変異生成、複製コンピテント細胞に基づく連続継代、化学的突然変異生成、電磁放射線またはウイルスの核酸の小さい切片の欠失のような遺伝子操作により製造される。本発明の実行において有用な生の減弱されたデング熱ウイルスの例は、VDV1（WO2006/134433）、VDV2（WO2006/134443）、および例えば出願WO02/066621、WO00/57904、WO00/57908、WO00/57909、WO00/57910、WO02/0950075およびWO02/102828に記載された株を含む。本発明の組成物中における血清型1のデング熱抗原として使用される血清型1の生の減弱されたデング熱ウイルスは、LAV1およびVDV1を含む。本発明の組成物中における血清型2のデング熱抗原として使用される血清型2の生の減弱されたデング熱ウイルスは、LAV2およびVDV2を含む。用語「VDV」は、Vero細胞中で複製することができて、ヒトにおける中和抗体の導入を含む特異的液性応答を誘発することができる生の減弱されたデング熱ウイルスを表す。

【0026】

「LAV1」ともいわれる16007/PDK13として知られている血清型1の生の減弱されたデング熱ウイルスは、野生型DEN-1（デング熱ウイルスの血清型1）16007株から、野生株から第1代のイヌ腎臓（PDK）細胞を通して13継代を受けることにより誘導された。LAV1は、EP1159968に記載されて、National Microorganisms Cultures Collection（CNMCM、Institut Pasteur、Paris、フランス）にI-2480の番号で登録された。「VDV1」はLAV1からVero細胞へのその後の適応により誘導されたウイルスであり；これに関して、LAV1からのRNAは、抽出および精製された後、Ve

10

20

30

40

50

r o細胞にトランスフェクトされる。VDV 1株は、その後Vero細胞中でプレート培養精製および増幅により得られた。VDV 1株は、DEN - 116007 / PDK 13株と比較して3つの追加の突然変異を有する。VDV 1株の完全なヌクレオチド配列、ならびにVDV 1株を製造してキャラクタライズする方法が、国際特許出願WO 2006 / 134433に記載されている。VDV 1株の完全な核酸配列は、配列番号6で表される。
【0027】

「LAV 2」とも呼ばれる16681 / PDK 53として知られている血清型2の生の減弱されたデング熱ウイルスは、野生型DEN - 2 (デング熱ウイルスの血清型2) 16681株から、野生株を、PDK細胞を通して53継代を受けさせることにより得られた。LAV 2は、EP 1159968に記載されており、National Microo 10
rganisms Cultures Collection (CNCM, Institut Pasteur, Paris, フランス) に1-2481の番号で登録された。「VDV 2」は、LAV 2からVero細胞にその後適応することにより誘導された株であり;これに関して、LAV 2からのRNAは、抽出および精製された後、Vero細胞にトランスフェクトされた。VDV 2株は、その後Vero細胞中におけるプレート培養精製および増幅により得られた。VDV 2株は、16681 / PDK 53株と比較して、3通りのサイレント突然変異および非コード地域における1つの突然変異を含む10通りの追加の突然変異を有する。VDV 2株の完全なヌクレオチド配列、ならびにVDV 2株を製造およびキャラクタライズする方法は、国際特許出願WO 2006 / 134443に記載されている。VDV 2株の完全な核酸配列は、配列番号7で表される。 20

【0028】

本発明との関連で、「デング熱キメラ」または「キメラデング熱ウイルス」は、遺伝子骨格が、少なくとも受容体フラビウウイルスのEタンパク質の配列をデング熱ウイルスの対応する配列により交換することにより改変された受容体フラビウウイルスを意味する。あるいは、およびより好ましくは、受容体フラビウウイルスの遺伝子骨格は、受容体フラビウ 30
ウイルスのprMおよびEタンパク質の両方をコードする核酸配列を、デング熱ウイルスの対応する配列により交換することにより改変される。典型的には、受容体フラビウウイルスは、減弱されている。受容体フラビウウイルスは、黄熱病(YF)ウイルスであることもあり、その場合に、該キメラは、本明細書では「キメラYF / デング熱ウイルス」と称される。好ましくは、本発明によるキメラYF / デング熱ウイルスのYF骨格は、減弱されたYF 30
ウイルスからのものである。受容体フラビウウイルスは、デング熱ウイルスであることもあり、その場合に、キメラデング熱ウイルスは、本明細書では「キメラデング熱 / デング熱ウイルス」と称されて、EまたはprMおよびEタンパク質のデング熱ウイルスの血清型特性は、受容体デング熱ウイルスの遺伝子骨格の血清型特性と同一であるかまたは異なる。受容体フラビウウイルスがデング熱ウイルスである場合、前記デング熱ウイルスは好ましくは減弱されている。受容体および供与体デング熱ウイルスの血清型が同一である場合、prMおよびEタンパク質をコードする配列が起源とする受容体デング熱ウイルスおよび供与体デング熱ウイルスは、同じ血清型の2種の異なるウイルス株である。本発明において使用するために、キメラデング熱ウイルスは、典型的にはキメラYF / デング熱ウイルスである。 40

【0029】

一実施形態において、キメラYF / デング熱ウイルスは、減弱された黄熱病ウイルス株YF 17Dのゲノム骨格を含む(Theiler M. およびSmith H. H., 1937年、J. Exp. Med., 65巻767~786頁)。使用することができる他の減弱されたYF株の例は、YF 17D 204 (YF - VAX (R), Sanofi - Pasteur, Swiftwater, ペンシルベニア州、米国; Stamaril (R), Sanofi - Pasteur, Marcy l'Étoile, フランス; ARILVAX (TM), Chiron, Speke, Liverpool, 英国; FLAVIMUN (R), Berna Biotech, Bern, スイス; YF 17D - 204 フランス (X15067, X15062); YF 17D - 204, 234US (Riceら、19 50

85年、Science、229巻：726～733頁）、または関係する株YF17DD（Genbank照会番号U17066）、YF17D-213（Genbank照会番号U17067）およびGallerら（1998年、Vaccines、16巻（9/10号：1024～1028頁）により記載された株YF17DDを含む。有利には、本発明の生の減弱されたキメラYF/デング熱ウイルスの受容体フラビウイルスは、YF17DまたはYF17D204である。

【0030】

本発明の実行で有用なキメラデング熱ウイルスの例には、特許出願WO98/37911に記載されているキメラYF/デング熱ウイルスおよび特許出願WO96/40933およびWO01/60847に記載されているもののようなキメラデング熱/デング熱ウイルスが含まれる。

10

【0031】

本発明の実行において使用するために特に適当なキメラYF/デング熱ウイルスの一例は、Chimerivax（登録商標）YF/デング熱ウイルスであり、それは、本明細書では、「CYD」ウイルスとも称される。本明細書において使用されるChimerivax（登録商標）YF/デング熱（またはCYD）ウイルスは、生の減弱されたキメラYF/デング熱ウイルスであり、それは、プレメンブレン（prM）およびエンベロープ（E）のタンパク質をコードする核酸配列が、デング熱ウイルスの対応する構造タンパク質をコードする核酸配列により置き換えられた、適当に減弱されたYFウイルス（例えばYF17DまたはYF17D204（YF-VAX（登録商標）））のゲノム骨格を含む。そのようなChimerivax（登録商標）ウイルスの構築は、Chambersら（1999年、J. Virology 73巻（4号）：3095～3101頁）の教示に従ってまたは実質的に従って完成される。WO2016/034629に記載されている特定のChimerivax（登録商標）（CYD）ウイルスは、株DEN 1 PUO 359（TVP1140）、DEN 2 PUO 218、DEN 3 PaH881/88およびDEN 4 1228（TVP980）からのprMおよびE配列を使用することにより発生された。便宜上、WO2016/034629の実施例に記載されている特定のChimerivax（登録商標）（CYD）ウイルスを、本明細書では、「CYD1」、「CYD2」、「CYD3」および「CYD4」と称する。これらの特定の株の製造は、国際特許出願WO98/37911、WO03/101397、WO07/021672、WO08/007021、WO08/047023およびWO08/065315に詳細に記載されており、それらの製造方法の詳細な記載についてはそれらの特許出願を引用することができる。CYD1、CYD2、CYD3およびCYD4のprM-E地域のヌクレオチド配列は、WO2016/034629および同封された配列表に示されている。あるいは、他のデング熱ウイルス株も、本明細書の他の場所で記載される本発明の実行に有用なキメラウイルスの構築を容易にする核酸の供給源として、例えば他のChimerivax（登録商標）YF/デング熱ウイルスの構築で、使用することができる。本発明の保護の方法において使用されるキメラデング熱ウイルスの代替的实施形態は、遺伝子骨格が、（i）E受容体フラビウイルスのタンパク質をコードする配列コードを、デング熱ウイルスの対応する配列により交換することにより、および（ii）受容体フラビウイルスのprMタンパク質をコードする配列コードを、非デング熱フラビウイルス、例えばJEVウイルスの対応する配列により交換することにより、改変された受容体フラビウイルスである。そのようなキメラデング熱ウイルスの例は、WO2011/138586に記載されている。

20

30

40

【0032】

本明細書において使用される用語「デング熱ウイルス様粒子」または「デング熱VLP」は、複製遺伝子材料を含有しないが、その表面でネイティブなビリオン構造と同様な繰り返しが多い順序づけられた整列でデング熱Eタンパク質を表すウイルス粒子を指す。典型的には、デング熱VLPは、デング熱prMおよび/またはMタンパク質も含有する。VLPは、インピトロで産生することもできる（Zhangら、J. Virol.（20

50

11年)30巻(8号):333頁)。VLPはインビボでも産生することができる。その目的で、prM/MおよびEデング熱タンパク質をコードする1種又は複数の核酸構築物(例えばDNAまたはRNA)を、対象、例えばヒト対象の細胞中に、当技術分野において公知の方法により、例えば少なくとも1種のウイルスのベクターの使用により、導入することができる。次に、VLP粒子がインビボで形成される。本発明の方法において使用することができるウイルスのベクターの例は、ボックスウイルス(例えば減弱されたボックスアンカラウイルス)および麻疹ウイルスを含むが、これらに限定されない。本発明における使用のための、VLPをインビボで発現するウイルスのベクターの特定の Kategorii は、例えば Replivax (商標) 技術による複製欠陥擬感染性 (PIV) ウイルスを含む (Rumyantsev AAら、Vaccine 2011年、7月18日 29巻(32号):5184~94頁)。

10

【0033】

本発明のワクチン組成物の、対象において免疫応答を惹起する(すなわち中和抗体の産生を誘発する)能力は、例えば、組成物内に含まれる1種または複数のデング熱ウイルス血清型に対して高められた中和抗体の力価を測定することにより、査定することができる。中和抗体の力価は、プラーク減少中和試験(PRNT₅₀)の試験により測定することができる(Timiryasova、T.M.ら、Am.J.Trop.Med.Hyg.(2013年)、88巻(5号)、962~970頁)。簡単に説明すると、中和抗体の力価は、デング熱の中和抗体のレベルについて試験する対象が採取された血清で測定される。対象がワクチン接種の対象であれば、試料は、本発明のワクチン組成物の投与後少なくとも28日の前記対象から採取される。血清(予め加熱で不活性化)の連続2倍希釈物が、血清型1、2、3または4の各デング熱ウイルスの適当な一定のチャレンジ用量(PFU/mLとして表現される)と必要に応じて混合される。CYDデング熱ワクチン構築物の親デング熱ウイルス株が、チャレンジ株として使用される。次に、混合物を、コンフルエントなVero細胞の単層を有するマイクロプレートのウェルに接種する。吸着後、細胞の単層を2~3日間インキュベートする。デング熱ウイルスに感染した細胞の存在は、感染病巣(すなわちプラーク)の形成により示されて、したがって血清試料中における中和抗体の存在(すなわち、プラークの数の減少)に基づくウイルスの感染力低下が検出される。報告される値(終点の中和力価)は、陰性対照のウェルにおけるウイルスの平均プラーク数(それが100%ウイルス負荷を表す)と比較して、デング熱チャレンジウイルスの50%以上(プラーク数で)が中和される、血清の最高の希釈を表す。終点の中和力価は連続した値として表される。アッセイの定量の下限(LLoQ)は10(1/希釈)である。力価が10(1/希釈)以上である場合に、血清変換が起こると一般的に考えられてきた。PRNT検定は、試験室毎に僅かに変わり得るのでLLoQも僅かに変わり得る。したがって、一般的様式で、血清変換は、力価が試験のLLoQ以上である場合に起こると考えられる。しかしながら、代替として、血清変換(すなわち陽性結果)を決定するために、より高いカットオフを、PRNT₅₀との関連で、例えば、25(1/希釈)、50(1/希釈)、75(1/希釈)または100(1/希釈)でを使用することができる。PRNT₅₀に対するさらなる代替として、デング熱に対する中和抗体の存在を推定するために、より厳格なPRNT₉₀試験を使用することが好ましいこともある。

20

30

40

【0034】

本発明により、デング熱ワクチンの「ブースターワクチン接種後の血清変換率」は、4種のデング熱ウイルスの血清型の各々について、ブースター注射の直前および28日後に、PRNT₅₀(プラーク減少中和試験)により決定された、10(1/希釈)未満のブースター前の中和抗体力価、および40(1/希釈)を超えるブースター後の力価、または10(1/希釈)を超えるブースター前の力価およびブースター後の力価の少なくとも4倍の増大のいずれかを有する対象のパーセンテージを指す。

50

【 0 0 3 5 】

用語「 $CCID_{50}$ 」は、細胞培養の50%を感染させるウイルスの量（例えばワクチンのウイルス）を指す。 $CCID_{50}$ アッセイは、統計的な力価計算を用いる限界希釈アッセイである（Morrison Dら、J Infect Dis. 2010年；201巻（3号）：370～7頁）。

【 0 0 3 6 】

本明細書において使用される「 Dengue熱にナイーブ」、「 Dengue熱非免疫」または「 Dengue熱血清陰性」の対象は、 Dengue熱ウイルスに感染したことがなく、 Dengue熱ワクチンで前に免疫されたこともない対象を指し、すなわち前記対象から採取された血清試料は、 Dengue熱 ELISAまたは PRNT₅₀アッセイで、陰性の結果を生ずるであろう。 Dengue熱 ELISAの例は、Aleré / Abbottから入手できる Panbio（登録商標） Dengue熱 IgG間接 ELISAであろう。対象の Dengue熱の血清状態のアセスメントは、好ましくは、 PRNT₅₀アッセイを使用して査定される。 PRNT₅₀アッセイに関して、「 Dengue熱にナイーブ」、「 Dengue熱非免疫」または「 Dengue熱血清陰性」の対象からの血清試料は、アッセイの LLOQ未満の結果を生ずるであろう。

【 0 0 3 7 】

本明細書において使用される「 Dengue熱免疫」または「 Dengue熱血清陽性」の対象は、本発明のワクチン組成物の投与前に、 Dengue熱ウイルスに感染したかまたは Dengue熱ワクチンにより免疫された対象を指す、すなわち、前記対象から採取されて血清試料は、 Dengue熱 ELISAまたは PRNT₅₀アッセイにおいて陽性の結果を生ずるであろう。 Dengue熱 ELISAの例は、Aleré / Abbottから入手できる Panbio（登録商標） Dengue熱 IgG間接 ELISAであろう。対象の Dengue熱血清状態のアセスメントは、好ましくは、 PRNT₅₀アッセイを使用して査定される。 PRNT₅₀アッセイに関して、「 Dengue熱免疫」または「 Dengue熱血清陽性」の対象からの血清試料は、アッセイの LLOQを超える結果を生ずるであろう。

【 0 0 3 8 】

本発明により、本願において使用される「保護方法」は、 Dengue熱ウイルスに曝露されたヒト対象における重症度または Dengue熱疾患を発する尤度の低下をもたらす。前記低下が統計的に有意であることが有利である。本発明による保護方法は、以下のいずれか1つまたはそれ以上の結果をもたらすことができる：

(i) 血清型1の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患、血清型2の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患、血清型3の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患および/または血清型4の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患の発生率または尤度の統計的に有意な低下、例えば予防；

(i i) 重症度に関わらず、血清型1、2、3および4により引き起こされた Dengue熱疾患の予防；

(i i i) 血清型1の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた重症の Dengue熱疾患、血清型2の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた重症の Dengue熱疾患、血清型3の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた重症の Dengue熱疾患および/または血清型4の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた重症の Dengue熱疾患の発生率または尤度の統計的に有意な低下、例えば予防；

(i v) 血清型1の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた DHF、血清型2の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた DHF、血清型3の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた DHF および/または血清型4の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた DHF の発生率または尤度の低下、例えば予防；好ましくは、前記低下は統計的に有意である；

(v) 血清型1の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患；血清型2の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患；血清型3の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患および/または血清型4の Dengue熱ウイルスにより引き起こされた Dengue熱疾患に基づく入院の発生率または尤度の統計的に有意な低下、例えば予防；

(v i) 14日を超える間隔で起こる異なる血清型に基づく Dengue熱の2以上のエピソード

ードと定義される、繰り返される症状のウイルス学的に確認された任意の血清型に基づくデング熱の症例の発生率または尤度の統計的に有意な低下、例えば予防。

(v i i) 少なくとも5歳であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

(v i i i) 少なくとも7歳であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

(i x) 少なくとも9歳であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

(x) 少なくとも11歳であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

(x i) 少なくとも12歳であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

(x i i) 9歳と16歳の間であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

(x i i i) 12歳と16歳の間であるヒト対象における(i)から(v i)の任意の1つ；

10

(x i v) 流行地域で生活する9歳から60歳までの個人におけるデング熱ウイルスの血清型1、2、3および4により引き起こされたデング熱疾患の予防；

(x v) 流行地域で生活する12歳から60歳までの個人におけるデング熱ウイルスの血清型1、2、3および4により引き起こされたデング熱疾患の予防。

(x v i) 流行地域で生活する9歳から45歳までの個人におけるデング熱ウイルスの血清型1、2、3および4により引き起こされたデング熱疾患の予防；

(x v i i) 流行地域で生活する12歳から45歳までの個人におけるデング熱ウイルスの血清型1、2、3および4により引き起こされたデング熱疾患の予防；

【0039】

本明細書において使用される、デング熱ウイルスに対する同型の中和抗体とは、デング熱ウイルスの単一の血清型に固有のエピトープに結合して、3種の他の血清型のエピトープと交差反応しない抗体を指す。異型の中和抗体とは、デング熱ウイルスの少なくとも2種の血清型の間で保存されたエピトープと結合する抗体を指し、したがって、そのような抗体は、血清型の交差中和抗体である。

20

【発明を実施するための形態】

【0040】

本発明者らは、ブースターデング熱ワクチンの投与は、初回ワクチン接種前にデング熱にナীবでであった対象において中和抗体力価の予想外の増大を誘発し、それが、前記初回ワクチン接種前にデング熱免疫であった対象における増大より比例的に大きいことを示した。デング熱ウイルスに対する初回ワクチン接種に対する免疫応答は、初回ワクチン接種前にデング熱免疫であるヒト対象において、より効果的であるが、本発明者らは、感染したことがない（すなわち、初回ワクチン接種前にデング熱にナীবでであった）ヒト対象に対して、変調の程度が予想外に高いブースターワクチン接種に対する免疫応答の変調の程度が、この集団において最大であることを、今回示した。

30

【0041】

したがって、第1の態様により、本発明は、ブースターワクチン接種の方法、およびヒト対象に免疫応答を誘発するためのそのような方法における使用のためのワクチン組成物であって、前記対象が、デング熱ウイルスの血清型1から4の各々に対する初回ワクチン接種を前に受けており、前記初回ワクチン接種前にはデング熱にナীবであり、好ましくは、前記初回ワクチン接種前にはフラビウイルスにナীবであり、ワクチン組成物に関する。そのような対象は、好ましくは、デング熱ウイルスに、前に自然に感染したことがなく、好ましくは、フラビウイルスに前に自然に感染したこともない。

40

【0042】

本発明によるブースターワクチン接種の方法は、ワクチン組成物をヒト対象に投与する工程を含む。

【0043】

本発明のワクチン組成物によりまたは本発明の方法により誘発される免疫応答は、好ましくは、液性応答、特にデング熱ウイルスに対する中和抗体の産生を含む応答、すなわち中和抗体の応答である。好ましい実施形態により、中和抗体は、デング熱ウイルスの血清型1から4の各々に対して向けられる。

50

【 0 0 4 4 】

好ましい実施形態では、本発明のこの態様によるブースターワクチン接種の方法およびブースターとして使用のためのワクチン組成物は、ブースターを受ける対象において、中和抗体の力価を、デング熱血清型の少なくとも1種について、好ましくは少なくとも2種について、最も好ましくは少なくとも3種について、およびさらにより好ましくは血清型1から4の各々について、ブースター投与前における中和抗体の力価との比較により、少なくとも2倍の増大を誘発する。好ましくは、比較は、ブースター投与の2ないし3日前と、その投与のおよそ28日または1カ月後に測定されたレベルの間でなされる。あるいは、ブースター投与後のレベルは、前記投与のおよそ1または2カ月後に、前記ブースターワクチン接種後、好ましくはおよそ20日と60日の間に、特に前記ブースターワクチン接種のおよそ28日後に測定される。中和抗体の力価は、PRNT₅₀試験により有利に測定される。したがって、中和抗体力価は、続くPRNT₅₀力価に有利に同化される。

10

【 0 0 4 5 】

別の好ましい実施形態では、ブースターとして使用のためのワクチン組成物および本発明のこの態様による対応する方法は、ブースターを受けるヒト対象において、中和抗体の力価を、デング熱血清型の少なくとも1種について、好ましくは少なくとも2種のデング熱血清型について、より好ましくは少なくとも血清型4について、または血清型3および4について、少なくとも4倍の増大を誘発する。

【 0 0 4 6 】

本発明者らは、そのようなブースターワクチン接種が、ブースター後に、デング熱ウイルスの各血清型について、初回ワクチン接種前にはデング熱に非免疫であった対象において大きく増大した血清変換率を予想外に誘発し、初回ワクチン接種前にデング熱免疫であった対象における血清変換率に関しては、少なくとも2から5の倍率により誘発したことも立証した（実験の部の表8を参照されたい）。好ましい実施形態によれば、デング熱ウイルスの血清型1から4の各々に対して初回ワクチン接種を前に受けたが、前記初回ワクチン接種前にはデング熱にナীবでであったヒト対象における、本発明によるブースターワクチン接種後の血清変換率は、各血清型について少なくとも約30%、血清型1について好ましくは少なくとも35%、または血清型2について少なくとも35%、血清型3について少なくとも45%である。ブースターワクチン接種後の血清変換率は、ブースターワクチン接種を受ける少なくとも10名の異なるヒト対象の集団で、好ましくは少なくとも50名の対象の集団で、さらにより好ましくは少なくとも100名の対象の集団で好ましくは推定される。

20

30

【 0 0 4 7 】

本発明者らは、初回ワクチン接種前にデング熱免疫であった対象における血清変換率に対して、ブースターワクチン接種の血清変換率は、初回ワクチン接種前にはデング熱非免疫であった対象において増大したことでなく、中和抗体の力価の相対的低下速度は、初回ワクチン接種前にデング熱免疫であった対象における相対的低下速度に対して、初回ワクチン接種前にはデング熱非免疫であった対象でより低いことも示した。実際、表15に例示したように、ブースターワクチン接種の1年後に、中和抗体の力価におけるブースター用量の追加効果は、ベースラインでナীবの対象において未だ存在しており、ベースラインで免疫の対象では消失している。ブースター用量の追加効果は、したがって、ベースラインで免疫の対象におけるよりもベースラインでナীবの対象において、より持続性である。より特定して、ブースターワクチン接種後1年またはそれ以上の、ブースターを受けた対象における中和抗体の力価は、初回ワクチン接種前にデング熱にナীবの対象では、ブースターワクチン接種前のレベルに対して、好ましくは少なくとも1.2、または少なくとも1.3以上の倍率により、好ましくはさらに増大した。ブースターワクチン接種後少なくとも1年を通して増大したそのような力価は、少なくとも1種の血清型、好ましくは少なくとも2種または3種の血清型、好ましくは4種の血清型についての力価である。

40

【 0 0 4 8 】

50

本発明によるブースターワクチン接種における使用のためのワクチン組成物は、デング熱疾患に対して前にワクチンを接種されたことがあり、前記初回ワクチン接種以前にはフラビウイルスにナイーブであったヒト対象において使用するためのものである。好ましくは、該対象は、フラビウイルスに自然に感染したことはなく、すなわちブースターワクチン接種前にフラビウイルスに感染したことはない。好ましくは、対象は、以前、黄熱病ウイルス、血清型に関わらずデング熱ウイルス、またはZikaウイルスに自然に感染したことがない。さらにより好ましくは、ブースターワクチン接種を受ける対象は、デング熱ウイルスまたはZikaウイルスに自然に感染したことがない。最も好ましくは、ヒト対象は、血清型に関わらずデング熱ウイルスに前に自然に感染したことがない。したがって、初回ワクチン接種前に、ヒト対象は、デング熱にナイーブ、好ましくはデング熱にナイーブでZikaにナイーブ、およびさらにより好ましくは黄熱病にナイーブ、デング熱にナイーブおよびZikaにナイーブであった。

10

【0049】

したがって、好ましいヒト対象は、ブースターの投与前に、血清型1から4の各々に対する少なくとも10のPRNT₅₀力価を有する（すなわち、対象は初回ワクチン接種に基づいてデング熱に免疫である）が、150未満、好ましくは120未満、または好ましくは100未満、好ましくは80未満、好ましくは60未満、好ましくは40未満またはさらに30未満のPRNT₅₀力価を有し、デング熱ウイルスに自然に感染したことがなく、初回ワクチン接種前にはデング熱にナイーブであったことを示す対象である。

【0050】

20

デング熱ウイルスによる先立つ自然の感染の非存在は、デング熱ワクチン中に存在することがないデング熱ウイルス抗原に対する抗体、例えば少なくともDengvaxia（登録商標）に存在しない、デング熱の非構造タンパク質1（NS1）抗原に対する抗体の検出の非存在によっても確認することができる。デング熱NS1タンパク質に対する種々の抗体を検出するための試験は当技術分野において周知である。

【0051】

本発明の方法により処置されると思われる対象、すなわち初回ワクチン接種を受けたが、自然に感染したことはない対象、または初回ワクチン接種前にはデング熱にナイーブであった対象は、該対象中に存在する中和抗体のタイプまたは品質によっても特徴づけられる。そのような対象は、例えば、4種の血清型のうち1種だけに対して、本質的に同型の中和抗体の応答、および3種の他の血清型に対して混合した同型のおよび異型の中和抗体の応答を示すとして特徴づけられる。好ましくは、この第1の態様によって治療することができる対象は、デング熱ウイルスの血清型4に対する本質的に同型の中和抗体の応答、およびデング熱ウイルスの血清型1～3に対する混合した同型のおよび異型の中和抗体の応答を示す。

30

【0052】

本発明による先行するデング熱感染は、ウイルス学的に確認されたデング熱疾患であることもある。

【0053】

本発明によるワクチン組成物は、対象中における血清型1から4の少なくとも1種のデング熱抗原または前記抗原を発現することができる核酸構築物を含む。好ましい実施形態によれば、ワクチン組成物は：

40

(i) (a) 生の減弱されたデング熱ウイルス；および

(b) 生の減弱されたキメラデング熱ウイルス；

からなる群から（各々独立に）選択される血清型1から4の少なくとも1種のデング熱抗原、

または

(ii) 前記ヒト対象において、血清型1から4の少なくとも1種のデング熱抗原を発現することができる1種もしくは複数の核酸構築物であり、前記デング熱抗体がデング熱VLPである、前記核酸構築物

50

を含む。

【0054】

好ましい実施形態によれば、ワクチン組成物は：

(i) (a) 生の減弱された Dengue 熱ウイルス；および

(b) 生の減弱された キメラ Dengue 熱ウイルス；

からなる群から各々独立に選択される血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原

または

(ii) 前記ヒト対象中において、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原を発現することができる 1 種もしくは複数の核酸構築物であり、前記 Dengue 熱抗原が Dengue 熱 VLP である、前記核酸構築物

を含む。

【0055】

別の実施形態により、ワクチン組成物は、Dengue 熱抗原、または最低 2 種の血清型、好ましくは少なくとも 3 種血清型、例えば血清型 1、2 および 4 の Dengue 熱抗原を発現することができる核酸を含む。

【0056】

好ましくは、本発明によるワクチン組成物は：(a) 生の減弱された Dengue 熱ウイルス および (b) 生の減弱された キメラウイルスからなる群から各々独立に選択される血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原を含む。

【0057】

好ましくは、本発明によるワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の少なくとも 1 種、2 種、3 種または各々の Dengue 熱抗原を含み、前記 Dengue 熱抗原の少なくとも 1 種は、生の減弱された キメラウイルス、好ましくは生の減弱された キメラ Dengue 熱ウイルス、さらにより好ましくは生の減弱された キメラ Dengue 熱 / Dengue 熱ウイルスまたは生の減弱された キメラ YF / Dengue 熱ウイルスである。例えば、血清型 2 の Dengue 熱抗原は、生の減弱された キメラ Dengue 熱 / Dengue 熱ウイルスである。例えば、本発明によるワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原 (TV001、TV002、TV003 および TV004 と称される) の任意の 4 価の混合物であってもよく、そのことは、Durbinら、Journal of Infectious Diseases (2013 年)、207 巻、957～965 頁に開示されている。好ましくは、本発明のこの実施形態によるワクチン組成物は TV003 である。

【0058】

好ましくは、本発明によるワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の少なくとも 1 種、2 種、3 種または各々の Dengue 熱抗原を含み、前記 Dengue 熱抗原は、各々、生の減弱された キメラ Dengue 熱ウイルスである。例えば、本発明のワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原を含み、血清型 1、3 および 4 の前記 Dengue 熱抗原は、各々、生の減弱された キメラ Dengue 熱 / Dengue 熱ウイルスであり、および血清型 2 の前記 Dengue 熱抗原は、生の減弱された Dengue 熱ウイルスである。例えば、本発明によるワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原の 4 価の混合物であってもよく (DENVax と称される)、それは、Huangら、PLoS Negl Trop Dis 7 巻 (5 号) : e2243 頁 (2013 年) に開示されている。あるいは、本発明のワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原を含むことができ、血清型 1、3 および 4 の前記 Dengue 熱抗原は、各々、生の減弱された キメラ YF / Dengue 熱ウイルスであり、および血清型 2 の前記 Dengue 熱抗原は生の減弱された Dengue 熱ウイルスである。

【0059】

好ましくは、本発明によるワクチン組成物は、血清型 1 から 4 の各々の Dengue 熱抗原を含み、前記 Dengue 熱抗原の各々は、生の減弱された キメラ Dengue 熱ウイルス、好ましくは キメラ YF / Dengue 熱ウイルス、より好ましくは キメラ YF / Dengue 熱ウイルスであり、それは、prM-E 配列が Dengue 熱ウイルスの prM-E 配列で置換された減弱された YF ゲノム骨格を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 0 】

好ましくは、本発明の生の減弱されたキメラ Deng 熱ウイルスは、Deng 熱ウイルスからの 1 種またはそれ以上のタンパク質および異なるフラビウイルスからの 1 種またはそれ以上のタンパク質を含む。好ましくは、異なるフラビウイルスは、黄熱病ウイルス（すなわち、キメラ Y F / Deng 熱ウイルス）である。好ましくは、本発明による生の減弱されたキメラ Deng 熱ウイルスは、p r M - E 配列が Deng 熱ウイルスの p r M - E 配列で置換された減弱された黄熱病ウイルスゲノムを含む。あるいは、本発明の生の減弱されたキメラ Deng 熱ウイルスは、第 1 の Deng 熱ウイルスからの 1 種またはそれ以上のタンパク質および第 2 の Deng 熱ウイルス（すなわち、キメラ Deng 熱 / Deng 熱ウイルス）からの 1 種またはそれ以上のタンパク質を含む。好ましくは、前記第 1 の Deng 熱ウイルスおよび前記第 2 の Deng 熱ウイルスは、異なる血清型のものである。前記第 1 の Deng 熱ウイルスおよび前記第 2 の Deng 熱ウイルスが同じ血清型のものである場合、前記第 1 と第 2 の Deng 熱ウイルスは異なる株である。

10

【 0 0 6 1 】

本発明における使用のための血清型 1 の Deng 熱抗原の好ましい例は、配列番号 1 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む、生の減弱されたキメラ Y F / Deng 熱ウイルスである。本発明における使用のための血清型 1 の Deng 熱抗原の別の好ましい例は、配列番号 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱された Deng 熱ウイルスである。好ましくは、配列番号 6 と 1 0 0 未満 % の同一性を有するヌクレオチド配列は、配列番号 6 の位置 1 3 2 3、1 5 4 1、1 5 4 3、1 5 4 5、1 5 6 7、1 6 0 8、2 3 6 3、2 6 9 5、2 7 8 2、5 0 6 3、5 9 6 2、6 0 4 8、6 8 0 6、7 3 3 0、7 9 4 7 および 9 4 4 5 に対応する前記核酸配列内の位置における突然変異を含まない。

20

【 0 0 6 2 】

本発明における使用のための血清型 2 の Deng 熱抗原の好ましい例は、配列番号 2 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む、生の減弱されたキメラ Y F / Deng 熱ウイルスである。本発明における使用のための血清型 2 の Deng 熱抗原の別の好ましい例は、配列番号 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / Deng 熱ウイルスである。本発明における使用のための血清型 2 の Deng 熱抗原の別の好ましい例は、配列番号 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱された Deng 熱ウイルスである。好ましくは、配列番号 7 と 1 0 0 未満 % の同一性を有するヌクレオチド配列は、配列番号 7 の位置 7 3 6、1 6 1 9、4 7 2 3、5 0 6 2、9 1 9 1、1 0 0 6 3、1 0 5 0 7、5 7、5 2 4、2 0 5 5、2 5 7 9、4 0 1 8、5 5 4 7、6 5 9 9 および 8 5 7 1 に対応する前記核酸配列内の位置における突然変異を含まない。

30

【 0 0 6 3 】

有利には、本発明における使用のための血清型 2 の Deng 熱抗原（前記 Deng 熱抗原は、例えば、生の減弱された Deng 熱ウイルス、キメラ Deng 熱ウイルスまたは V L P のいずれかである）は、位置 E - 2 2 6 に T h r 残基および / または位置 E - 2 5 1 に V a l 残基を含む。より有利には、血清型 2 の前記 Deng 熱抗原は、位置 E - 2 2 6 に T h r 残基、位置 E - 2 2 8 に G l y 残基および位置 E - 2 5 1 に V a l 残基を含む。この文脈で、E - 2 2 6 は、エンベロープ（E）タンパク質の位置 2 2 6 を表すなどである。特定の位置におけるアミノ酸残基の同一性は、タンパク質アラインメントにより、例えば、配列番号 2 から容易に誘導される E タンパク質の C Y D 2 からのタンパク質配列を用いるアラインメントにより容易に決定することができる。

40

【 0 0 6 4 】

本発明における使用のための血清型 3 の Deng 熱抗原の好ましい例は、生の減弱された

50

キメラ Y F / デング熱ウイルスであり、それは、配列番号 3 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % 配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 6 5 】

本発明における使用のための血清型 4 のデング熱抗原の好ましい例は、生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルスであり、それは、配列番号 4 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % 配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 6 6 】

本発明における使用のためのブースター組成物の 4 価の投薬形態 (dosage form) (すなわち、血清型 1 から 4 の各々のデング熱抗原を含有するもの) を形成するために、先行する 4 つの段落で開示された血清型 1、2、3 および 4 のデング熱抗原の好ましい例を、可能な任意の組み合わせで組み合わせることができる。あるいは、本発明に従って使用するためのブースター組成物は、二価の投薬形態、または 4 価の投薬形態として対象に投与することもできて、先行する 4 つの段落で開示された血清型 1、2、3 および 4 のデング熱抗原の好ましい例は、任意の二価の対または可能な 4 価の組合せで組み合わせることができる。したがって、血清型 1、2、3 および 4 のデング熱抗原の特に好ましい組合せで、血清型 3 および 4 のデング熱抗原は、それぞれ、生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルスであり、それは、配列番号 3 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列および配列番号 4 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルスである。そのような特に好ましい組合せにおいて、血清型 1 および 2 のデング熱抗原は、それぞれ：

(i) 配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルス、および配列番号 2 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルス；または

(i i) 配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルス、および配列番号 5 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルス；または

(i i i) 配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたキメラ Y F / デング熱ウイルス、および配列番号 7 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % 配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたデング熱ウイルス (好ましくは、配列番号 7 と 100 未満 % の同一性を有するヌクレオチド配列は、配列番号 7 の位置 736、1619、4723、5062、9191、10063、10507、57、524、2055、2579、4018、5547、6599 および 8571 と対応する前記核酸配列内の位置に突然変異を含まない)；または

(i v) 配列番号 6 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたデング熱ウイルス (好ましくは、配列番号 6 と 100 未満 % 同一性を有するヌクレオチド配列は、配列番号 6 の位置 1323、1541、1543、1545、1567、1608、2363、2695、2782、5063、5962、6048、6806、7330、7947 および 9445 に対応する前記核酸配列内の位置に突然変異を含まない)、および配列番号 7 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む生の減弱されたデング熱ウイルス (好ましくは、配列番号 7 と 100 未満 % の同一性を有するヌクレオチド配列は、配列番号 7 の位置 736、16

10

20

30

40

50

19、4723、5062、9191、10063、10507、57、524、2055、2579、4018、5547、6599および8571に対応する前記核酸配列内の位置に突然変異を含まない）であることができる。

【0067】

本発明のこの第1の態様によるブースターワクチン接種として使用するためのワクチン組成物は、初回ワクチン接種コース中に以前投与されたワクチン組成物と同一であることが有利であり得る。あるいは、異なる実施形態により、ブースターワクチン接種として使用するためのワクチン組成物は、初回ワクチン接種コース中に以前投与されたワクチン組成物と異なることもある。それは、とりわけ、初回ワクチン接種が、血清型1～4の各々の抗原を含むのに対して、唯一の血清型の抗原のみを含むこともあり；それは、異なる賦形剤、異なる投薬量も含むことがある。それは、完全に異なるワクチン組成物であってもよく；例えば初回ワクチン接種は生の減弱されたキメラ Dengue 熱 / Dengue 熱ウイルスに基づき、およびブースターワクチン接種は、生の減弱されたキメラ YF / Dengue 熱ウイルスに基づく。

【0068】

第2の態様により、本発明は、ヒト対象において Dengue 熱ウイルスに対する中和抗体の応答を誘発する方法、およびそのような方法における使用のためのワクチン組成物であって、前記組成物が、血清型1から4の各々の Dengue 熱抗原、または前記対象中において、血清型1から4の各々の Dengue 熱抗原を発現することができる核酸構築物を含み；前記組成物が：

(a) 初回ワクチン接種と、それに続く

(b) ブースターワクチン接種

として投与され、

ヒト対象が、最初は Dengue 熱にナীবである、
ワクチン組成物を対象とする。

【0069】

この第2の態様により、Dengue 熱ウイルスに対する中和抗体の応答を、ヒト対象において誘発する方法は、(a) ワクチン組成物を初回ワクチン接種として投与する工程、および (b) その後ワクチン組成物（それは、初回ワクチン接種組成物と同じであることもまたは異なっていることもある）を、ブースターワクチン接種として投与する工程を含む。

【0070】

好ましくは、血清型1から4の Dengue 熱抗原は、生の減弱された Dengue 熱ウイルスおよび生の減弱されたキメラ Dengue 熱ウイルスからなる群から各々独立に選択される。

【0071】

あるいは、本発明のこの第2の態様による使用のためのワクチン組成物は、血清型1から4の各々の Dengue 熱 VLP を発現することができる1種またはそれ以上の核酸構築物を含む。

【0072】

本発明の第1の態様に関して詳述された血清型1から4の抗原の全ての好ましいタイプおよび組み合わせは、本発明のこの第2の態様に適用可能であり；とりわけ、好ましい実施形態によれば、血清型1から4の Dengue 熱抗原は、各々独立に生の減弱されたキメラ Dengue 熱ウイルスであり、特にそれらは生の減弱されたキメラ Dengue 熱 / Dengue 熱および YF / Dengue 熱ウイルスからなる群から各々独立に選択される。好ましい実施形態により、血清型1から4の Dengue 熱抗原は、全ての生の減弱されたキメラ Dengue 熱 / Dengue 熱ウイルスであるか、またはそれらは全ての生の減弱されたキメラ YF / Dengue 熱ウイルスである。

【0073】

好ましくは、前記免疫応答は、Dengue 熱ウイルスに対応する中和抗体の産生を含むか、または前記中和抗体の応答は、本発明の第1のおよび第2の態様により、ある一定のレベルのワクチン有効性を生じて、好ましくは、それは、血清型1、2、3および4の少なく

10

20

30

40

50

とも１種の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患に対して、最も好ましくは４種の血清型に対して、ヒト対象を保護する。例えば、本発明によるブースターワクチン接種における使用のためのワクチン組成物は、任意の血清型（ヒト対象において本明細書で定義された）により引き起こされた Dengue 熱疾患に関して、少なくとも３０％、より好ましくは少なくとも４０％、より好ましくは少なくとも５０％、より好ましくは６０％およびさらにより好ましくは７０％のワクチン有効性（ブースター後の）を生ずる。例えば、本発明によるブースターワクチン接種における使用のためのワクチン組成物は、血清型１、血清型２、血清型３または血清型４（ヒト対象において本明細書で定義された）により引き起こされた Dengue 熱疾患に関して、少なくとも３０％、より好ましくは少なくとも４０％、より好ましくは少なくとも５０％、より好ましくは６０％およびさらにより好ましくは７０％のワクチン有効性（ブースター後の）を生ずる。

10

【００７４】

好ましくは、Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた前記 Dengue 熱疾患は、重症の Dengue 熱疾患である。好ましくは、本発明の方法は、Dengue 熱ウイルスの血清型に関わらず Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患が理由の入院の発生率または尤度における低下をもたらす。好ましくは、前記 Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患は DHF である。

【００７５】

本発明の第１の態様によるワクチン組成物は、Dengue 熱ウイルスに対する初回ワクチン接種レジメンをすでに受けているヒト対象にブースターとして投与され；したがって、ワクチン組成物は、好ましくは少なくとも２歳のヒト対象に投与される。好ましくは、前記ヒト対象は、少なくとも５歳である。好ましくは、前記ヒト対象は少なくとも７歳であり、さらにより好ましくは、前記ヒト対象は少なくとも９歳である。

20

【００７６】

最も好ましくは、特に、初回ワクチン接種が３用量の投与計画からなる場合、互いからおおよそ６カ月離して投与され、本発明の第１の態様によりブースター用量を投与するヒト対象は、少なくとも１０歳、またはさらにより好ましくは１１歳である。好ましくは、前記ヒト対象は、少なくとも１１または１２歳である。

【００７７】

第１の態様によるワクチン組成物は、好ましくは６２歳未満、好ましくは５５歳未満、およびさらにより好ましくは４７歳未満の対象に投与される。本発明のこの態様により好ましい対象は、したがって２歳と６２歳の間、好ましくは５歳と５５歳の間、およびより好ましくは１１歳と４７歳の間である。

30

【００７８】

初回ワクチン接種とそれに続くブースターワクチン接種として投与されるべき本発明の第２の態様によるワクチン組成物は、好ましくは少なくとも生後９カ月のヒト対象に投与されるべきである。好ましくは、前記ヒト対象は、少なくとも２歳、または４または５歳である。好ましくは、前記ヒト対象は、少なくとも７歳であり、さらにより好ましくは、前記ヒト対象は少なくとも９歳である。

【００７９】

40

第２の態様によるワクチン組成物は、好ましくは６０歳未満、好ましくは５５歳未満、およびさらにより好ましくは４５歳未満の対象に投与される。本発明のこの態様による好ましい対象は、したがって生後９カ月と６０歳の間、好ましくは４歳と５５歳の間、およびより好ましくは９歳と４５歳の間である。

【００８０】

あるいは、本発明の両方の態様により、前記ヒト対象は、２歳と６０歳の間である。好ましくは、前記ヒト対象は、１０歳と６０歳の間、例えば１０歳と５０歳の間である。好ましい実施形態により、前記ヒト対象は１１歳と５０歳の間である。さらにより好ましい実施形態により、対象は１２歳と４５歳の間、例えば１２歳と３０歳の間である。

【００８１】

50

本発明によるヒト対象は、好ましくは、妊娠しておらず、授乳中でなくまたは妊娠の可能性がなく、先天性または後天性免疫不全の自己報告がなくまたは疑いがなく、ワクチン接種前6カ月以内に免疫抑制療法、またはワクチン接種前2週間から3カ月以内の間の全身性コルチコステロイド療法を受けておらず、HIV血清陽性でなく、本明細書で規定された如何なるワクチン成分に対して全身性過敏症を有しない。

【0082】

本発明のワクチン組成物は、ブースターワクチン接種として、または初回ワクチン接種とそれに続くブースターワクチン接種として、黄熱病に免疫または黄熱病にナীবであるヒト対象に投与される。本明細書において使用される黄熱病に免疫の対象とは、本発明の初回ワクチン接種またはブースター組成物の投与以前にYFウイルスに感染したことがあるかまたはYFワクチンにより免疫されている、すなわち前記対象から採取された血清試料が、YF E L I S AまたはYF P R N T₅₀アッセイで陽性結果を生ずるとされる対象を指す。逆に、黄熱病にナীবの対象とは、本発明のワクチンまたはブースター組成物の投与より前にYFウイルスに感染したことがないかまたはYFワクチンにより免疫されている対象、すなわち前記対象から採取された血清試料がYF E L I S AまたはYF P R N T₅₀アッセイにおいて陰性の結果を生ずるとされる対象を指す。簡単に説明すると、YF P R N T₅₀アッセイは、以下のように実施される。試験する血清（予め加熱不活性化）の連続2倍希釈で一定濃度（P F U / m Lと表現される）のYFワクチン株17Dと混合される。混合物をコンフルエントのV e r o細胞のプレートのウェルに2連で接種される。吸着後、細胞単層を上積みして2ないし3日の間インキュベートする。報告される値（終点中和力価）は、100%ウイルス装荷を表す陰性対照ウェルとの比較で、YFチャレンジウイルスの50%以上（ブランク数で）が中和される血清の最高の希釈を表す。YF P R N T₅₀アッセイのためのL L O Qは10（1/希釈）である。

【0083】

好ましくは、本発明のワクチン組成物は、ブースターワクチン接種として、黄熱病にナীবおよびデング熱免疫のヒト対象に、より特定してYFまたはデング熱ウイルスに感染したことがなく、YFワクチンにより免疫されていないが、本発明のブースター組成物の投与前にデング熱ワクチンにより免疫された対象に投与される。

【0084】

本発明の両方の態様による初回ワクチン接種コースは、1用量でまたは複数の用量で、例えば1、2または3用量で投与することもできる。初回ワクチン接種が3用量からなる場合、初回用量および第3の用量は、好ましくは約12カ月離して投与される。例えば、初回ワクチン接種は、初回用量、第2の用量および第3の用量でなることができて、その場合、前記第2の用量は前記初回用量の約6カ月後に投与されるべきであり、前記第3の用量は前記初回用量の約12カ月後に投与されるべきである。あるいは、3用量を、ゼロカ月に、約3から4カ月に（例えば約3カ月半に）および約12カ月に投与することもできる（すなわち、初回ワクチン接種の第2の用量が初回用量の約3カ月半後に投与され、初回ワクチン接種の第3の用量が初回用量の約12カ月後に投与される投与計画）。

【0085】

本発明の両方の態様による初回ワクチン接種は、2用量でなることもできる。好ましくは、初回用量および第2の用量は、約3、6、8または9カ月離して投与される。好ましくは、第2の用量は、初回用量の約6カ月後に投与される。あるいは、2用量を、対象に同時または殆ど同時に（例えば互いに24時間以内に）投与することもできる。

【0086】

本発明の両方の態様による初回ワクチン接種は、単一用量からなることもできる。

【0087】

本発明によるブースターワクチン接種は、1または数用量で、好ましくは1、2または3用量で投与することもできる。初回ワクチン接種に関して、上で開示された全ての異なる変法は、必要な変更を加えてブースターワクチン接種に適用される。好ましい実施形態

により、本発明のワクチン組成物は、単回のブースター用量として投与される。

【 0 0 8 8 】

好ましくは、本発明により、ブースターワクチン接種として投与されるワクチン組成物は、初回ワクチン接種コースの終了の少なくとも1年後に投与されるべきであり、すなわちブースターの初回用量は、最初の免疫投与計画で予定された最終用量の投与の少なくとも1年後、より好ましくは初回ワクチン接種コースの少なくとも2年後、およびさらにより好ましくは初回ワクチン接種のおよそ4から6年後に投与される。

【 0 0 8 9 】

好ましい実施形態により、ブースターワクチン接種は、初回ワクチン接種の終了後20年未満に投与される、すなわちブースターの初回用量が初回の免疫投与計画で予定された最終用量の投与後20年未満に投与される。例えば、ブースター投与は、初回ワクチン接種コースの終了後1年と20年の間に、好ましくは初回ワクチン接種コースの終了後1.5年と15年の間、より好ましくは2年と10年の間に投与される。より好ましくは、ブースターワクチン接種は、初回ワクチン接種の終了後およそ4年と約8年の間、より好ましくは初回ワクチン接種の終了およそ4から5年後に投与される。

【 0 0 9 0 】

本発明との関連で、ブースターワクチン接種も、有利に、繰り返すことができ、すなわち2回以上、例えば2回、または3回投与することができる。好ましくは、ブースターワクチン接種は、第1のブースターワクチン接種後およそ4または5年毎に、または7年毎に、または10年毎に繰り返される。

【 0 0 9 1 】

本発明によるヒト対象（ワクチン組成物がブースターとして投与される）は、好ましくは、デング熱流行地域に居住するかまたは旅行する人である。より好ましくは、前記ヒト対象は、デング熱流行地域に居住している。本発明によるヒト対象は、デング熱流行を経験している地域に居住していることもある。居住しているという用語は、本明細書ではその従来の意味を与えられ、問題の地域に常態で住所を定めている人を指す。デング熱流行地域は、当業者に周知であり、本発明により、最も熱帯および亜熱帯の大部分の地域、例えばWHOにより流行国と認定された任意の国を含む。例えば、本発明によるデング熱流行地域は、熱帯および亜熱帯内に入るこれらの米州の国またはそれらの一部を含み得る。したがって、本発明によるデング熱の流行地域は、以下の国またはそれらの一部の任意の1つまたはそれ以上を含むこともある：ブラジル、ベネズエラ、コロンビア、エクアドル、ペルー、ボリビア、パラグアイ、パナマ、コスタリカ、ニカラグア、ホンジュラス、エルサルバドル、グアテマラ、ベリーズ、メキシコ、米国およびカリブ海地域の諸島。特定の実施形態において、本発明のデング熱流行地域は、以下の国々からなり得る：ブラジル、コロンビア、ホンジュラス、メキシコおよびプエルトリコ。別の特定の実施形態、本発明のデング熱流行地域は、以下の国々からなり得る：ブラジル、コロンビアおよびホンジュラス。本発明によるデング熱流行地域は、熱帯および亜熱帯内の南アジアおよびオセアニアの国を含むこともある。したがって、本発明によるデング熱流行地域は、以下の任意の1つまたはそれ以上からなることもある：インド、ミャンマー（ビルマ）、タイ、ラオス、ベトナム、カンボジア、インドネシア、マレーシア、シンガポール、フィリピン、台湾、パプアニューギニアおよびオーストラリア。本発明によるデング熱流行地域（国家のまたは地方の地域であることもある）は、疫学のデータが疾患の高い負担を示す地域である。例えば、デング熱流行地域は、ワクチン接種のための目標とされる集団におけるデング熱の血清学的有病率が、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%である地域として規定される。好ましい実施形態では、本発明による対象は、9歳の局所集団におけるデング熱血清学的有病率が、少なくとも50%、より好ましくは少なくとも70%である地域における居住者である。この関連で、年齢が上がるにつれて、デング熱ウイルスに感染している尤度は増大するので、それより年長の亜集団は、より大きな血清学的有病率を示すと考えられる。

【 0 0 9 2 】

10

20

30

40

50

本発明による方法において使用するワクチン組成物が、配列番号：１、２、３および４のそれぞれと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または１００％の同一性を有する核酸配列（例えば Dengue 熱抗原 C Y D １、C Y D ２、C Y D ３および C Y D ４）を含む血清型 １ から ４ の Dengue 熱抗原を含む場合、有利には、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、Dengue 熱の支配的な広まる株が血清型 １、３および４である Dengue 熱流行地域に居住している。例えば、前記 Dengue 熱流行地域における Dengue 熱疾患の症例の、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％または少なくとも９０％は、血清型 １、３または４の Dengue 熱ウイルスによって引き起こされる。本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、有利には、Dengue 熱の支配的な広まる株が血清型 ３ および ４ である Dengue 熱流行地域に居住している。例えば、前記 Dengue 熱流行地域における Dengue 熱疾患の症例の少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％または少なくとも９０％は、血清型 ３ の Dengue 熱ウイルスまたは ４ による感染である。

10

【 0 0 9 3 】

本発明による方法において使用するワクチン組成物が、配列番号 １、２、３および４とそれぞれ、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または１００％の同一性を有する核酸配列（例えば、Dengue 熱抗原 C Y D １、C Y D ２、C Y D ３および C Y D ４）を含む血清型 １ から ４ の Dengue 熱抗原を含む場合に、有利には、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、広まる血清型 ２ の Dengue 熱株が位置 E - 2 2 6 および E - 2 2 8 における T h r および G l y の存在により特徴づけられる遺伝子型を有する Dengue 熱の流行地域に居住している。有利には、広まる血清型 ２ の Dengue 熱株は、位置 p r M - 1 6、E - 8 3、E - 2 0 3、E - 2 2 6、E - 2 2 8 および E - 3 4 6 における以下の残基 A r g、A s n、A s p、T h r、G l y および H i s の少なくとも５基または全ての６基の存在によりそれぞれ特徴づけられる遺伝子型を有し、ここで、位置 E - 2 2 6 および E - 2 2 8 における残基は、それぞれ T h r および G l y でなければならない。この関係で、p r M - 1 6 は、p r M タンパク質の位置 1 6 を表し、E - 8 3 は E タンパク質の位置 8 3 を表す、その他も同様。本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、広まる血清型 ２ Dengue 熱ウイルスが、この段落で規定された遺伝子型を有する Dengue 熱流行地域に好ましく居住している、すなわち前記 Dengue 熱流行地域における血清型 ２ の Dengue 熱疾患の症例の少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％または１００％が、前記遺伝子型を有する血清型 ２ の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされている。本明細書でいう血清型 ２ の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患は、好ましくは、この段落で規定された遺伝子型を有する、血清型 ２ の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患である。

20

30

【 0 0 9 4 】

本発明による方法において使用するワクチン組成物が、配列番号：１、２、３および４のそれぞれと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または１００％の同一性を有する核酸配列（例えば Dengue 熱抗原 C Y D １、C Y D ２、C Y D ３および C Y D ４）を含む血清型 １ から ４ の Dengue 熱抗原を含む場合、有利には、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、血清型 ２ の広まる Dengue 熱株がアジア - １ の遺伝子型を有しない Dengue 熱流行地域に、居住している。血清型 ２ の Dengue 熱ウイルスは、数種の遺伝子型に細分されて、それらは：米州型、アジア / 米州型、アジア - １ 型、アジア - ２ 型、普遍種および野生鳥獣に伝染する型と称される (T w i d d y S S ら、(2 0 0 2 年) P h y l o g e n e t i c r e l a t i o n s h i p s a n d d i f f e r e n t i a l s e l e c t i o n p r e s s u r e s a m o n g g e n o t y p e s o f d e n g u e - 2 v i r u s . V i r o l o g y ; 2 9 8 巻 (1 号) : 6 3 ~ 7 2 頁) 。したがって、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、有利には、血清型 ２ の広まる Dengue 熱株が、米州、アジア / 米州、アジア - ２、普遍種のまたは野生鳥獣に伝染する遺伝子型を有する Dengue 熱流行地域に居住してい

40

50

る。より好ましくは、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、有利には、血清型 2 の広まる Dengue 熱株が米州、アジア / 米州、または普遍種の遺伝子型を有する Dengue 熱流行地域に居住している。本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、広まる血清型 2 Dengue 熱ウイルスが、この段落で規定された遺伝子型を有する、すなわち、前記 Dengue 熱流行地域における血清型 2 の Dengue 熱疾患の症例の少なくとも 50 %、少なくとも 60 %、少なくとも 70 %、少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 % または 100 % が、米州、アジア / 米州、アジア - 2、普遍種または野生鳥獣に伝染する遺伝子型、好ましくは米州、アジア / 米州または普遍種遺伝子型を有する血清型 2 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされる Dengue 熱流行地域に好ましく居住している。本明細書で参照される血清型 2 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされる Dengue 熱疾患は、米州、アジア / 米州、アジア - 2、普遍種または野生鳥獣に伝染する遺伝子型を有する、好ましくは血清型 2 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患である。より好ましくは、本明細書で参照される血清型 2 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされる Dengue 熱疾患は、米州、アジア / 米州、または普遍種遺伝子型を有する、好ましくは血清型 2 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患である。特定の Dengue 熱 - 2 のウイルス株の遺伝子型は、配列アラインメントおよび系統発生論のトリ分析により決定される。簡単に説明すると、参照配列（T w i d d y らに記載された各遺伝子型の代表株の E タンパク質をコードする選択されたヌクレオチド配列である）が遺伝子型を決定すべき血清型 - 2 株の E タンパク質をコードするヌクレオチド配列とアラインメントされる。次に系統発生論系統樹を計算して、遺伝子型を、参照遺伝子型の配列とそれらのそれぞれのクラスタリングに従って、各未知の血清型 - 2 株に帰属させる。系統発生論の系統樹は、F a s t T r e e 2 ソフトウェア（P r i c e M N ら、F a s t T r e e 2 - a p p r o x i m a t e l y m a x i m u m - l i k e l i h o o d t r e e s f o r l a r g e a l i g n m e n t s、P L o S O n e 2010 年；5 巻（3 号）：e 9 4 9 0 頁）および W h e l a n および G o l d m a n のアミノ酸発生モデル（W h e l a n S、G o l d m a n N. A g e n e r a l e m p i r i c a l m o d e l o f p r o t e i n e v o l u t i o n d e r i v e d f r o m m u l t i p l e p r o t e i n f a m i l i e s u s i n g a m a x i m u m - l i k e l i h o o d a p p r o a c h. M o l. B i o l. E v o l. 2001 年；18 巻（5 号）：691 ~ 699 頁）を使用して、最大尤度方法によって計算する。

【0095】

本発明による方法において使用するワクチン組成物が、配列番号：1、2、3 および 4 と、それぞれ、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の同一性を有する核酸配列（例えば Dengue 熱抗原 C Y D 1、C Y D 2、C Y D 3 および C Y D 4）を含む、血清型 1 から 4 の Dengue 熱抗原を含む場合、有利には、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、血清型 4 の広まる Dengue 熱株が D E N 4 - I I 遺伝子型である、Dengue 熱流行地域に居住している。特に、血清型 4 の広まる Dengue 熱株は、好ましくは、配列番号 4 から容易に誘導される C Y D 4 の p r M、M および E タンパク質配列における等価の残基と一致する「署名」位置 p r 7 3、M 6 5、E 4 6、E 1 2 0、E 1 6 0、E 2 0 3、E 3 2 9、E 4 2 9、E 4 5 5、E 4 6 1 および E 4 7 8 に残基を有する。好ましくは、「署名」残基の少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7、少なくとも 8、少なくとも 9 または全ての 10 個が合致しなければならない。M 6 5 とは、M タンパク質の位置 6 5 を指し、p r 7 3 とは p r M タンパク質の位置 7 3 を指す、その他も同様。本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、広まる血清型 4 の Dengue 熱ウイルスがこの段落で規定された遺伝子型 D E N 4 - I I を有する、すなわち、前記 Dengue 熱流行地域における血清型 4 の Dengue 熱疾患の症例の、少なくとも 50 %、少なくとも 60 %、少なくとも 70 %、少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 % または 100 % が、前記遺伝子型を有する血清型 4 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされる Dengue 熱流行地域に、好ましく居住している。本明細書で参照される血清型 4 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされる Dengue 熱

10

20

30

40

50

疾患は、好ましくはこの段落で規定された遺伝子型を有する血清型 4 の Dengue 熱ウイルスにより引き起こされた Dengue 熱疾患である。

【0096】

本発明による方法において使用するワクチン組成物が、配列番号：1、2、3 および 4 と、それぞれ、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の同一性を有する核酸配列を含む血清型 1 から 4 の Dengue 熱抗原（例えば Dengue 熱抗原 CYD1、CYD2、CYD3 および CYD4）を含む場合、有利には、本発明によるヒト対象（本発明のワクチン組成物が投与される）は、血清型 1、2、3 および 4 の広まる Dengue 熱株が、配列番号：1、2、3 および 4 とそれぞれ少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % または 100 % の同一性を有する prM - E のヌクレオチド配列を含む、Dengue 熱流行地域に居住している。

10

【0097】

好ましくは、本発明によるブースターワクチン接種、すなわち本発明の第 1 のまたは第 2 の態様による方法における使用のための組成物は、Dengue 熱疾患の発生率または尤度を低下させる。

【0098】

好ましくは、本発明によるブースターワクチン接種、すなわち、本発明の第 1 のまたは第 2 の態様による方法における使用のための組成物は、流行地域で生活している 9 歳から 60 歳、または 9 歳から 45 歳の個体で、Dengue 熱ウイルスの血清型 1、2、3 および 4 により引き起こされる Dengue 熱疾患の予防をもたらす（すなわち、Dengue 熱疾患の予防において使用するためである）。この関係で、個体はヒト対象であると理解される。

20

【0099】

好ましくは、本発明によるブースターワクチン接種、すなわち、本発明の第 1 のまたは第 2 の態様による方法における使用のための組成物は、流行地域で生活する 12 歳から 60 歳、または 12 歳から 45 歳の個体において、Dengue 熱ウイルスの血清型 1、2、3 および 4 により引き起こされる Dengue 熱疾患の予防をもたらす（すなわち、予防で使用するためである）。この関係で、個体はヒト対象であると理解される。

【0100】

初回ワクチン接種でまたはブースターワクチン接種で投与されるべき本発明の生の減弱された Dengue 熱ウイルスまたは生の減弱されたキメラ Dengue 熱ウイルスの厳密な量は、ワクチン接種される対象の年齢および体重、投与の頻度ならびに組成物中の他の成分によって変化し得る。一般的に、初回またはブースターワクチン接種のための本発明のワクチン組成物の用量に含まれる生の減弱された Dengue 熱ウイルス（例えば VDV1 または VDV2）の量は、約 10^3 から約 10^6 CCID₅₀ の範囲内、例えば約 5×10^3 から約 5×10^5 の範囲内、例えば約 10^4 CCID₅₀ である。初回またはブースターワクチン接種のための本発明のワクチン組成物に含まれるキメラ Dengue 熱ウイルス（キメラ YF / Dengue 熱ウイルスまたは Chimerivax（登録商標）（CYD）ウイルスのような）の量は、約 10^5 CCID₅₀ から約 10^6 CCID₅₀ の範囲内にある。本発明による 4 価の投薬形態または二価の投薬形態に含まれる血清型 1 から 4 の各々の生の減弱された Dengue 熱ウイルスまたは生の減弱されたキメラ Dengue 熱ウイルスの量は、好ましくは等しい。有利には、初回またはブースターワクチン接種における使用のための本発明によるワクチン組成物は、本明細書で規定された有効量の Dengue 熱抗原を含む。

30

40

【0101】

本発明の第 1 の態様によるブースターワクチン接種における使用のためのワクチン組成物、または第 2 の態様による、初回ワクチン接種とそれに続くブースターワクチン接種として使用するためのワクチン組成物は、薬学的に許容される担体または賦形剤をさらに含むこともできる。本発明による薬学的に許容される担体または賦形剤とは医薬およびワクチンの製剤化において、活性剤の安定性、滅菌および送達性を強化するために一般的に使用される、ヒトでいかなる副反応、例えばアレルギー反応も生じない任意の溶媒または分散媒その他を意味する。賦形剤は、薬学的形態、投与の方法および経路の根拠に基づいて

50

選択される。医薬製剤に関する適当な賦形剤および要件は、「Remington's Pharmaceutical Sciences」(第19版、A. R. Gennaro 編、Mack Publishing Co.、Easton、ペンシルベニア州(1995年))に記載されている。薬学的に許容される賦形剤の特定の例には、水、リン酸塩緩衝食塩水(PBS)溶液および0.3%グリシン溶液が含まれる。本発明によるワクチン組成物は、有利には0.4%食塩水を含むことができる。

【0102】

本発明の方法においてブースターとして使用するためのワクチン組成物は、pH調節および緩衝剤、等張化剤、湿潤剤等のような、生理学的条件に近づけるために必要とされる薬学的に許容される補助物質、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレエート、ヒト血清アルブミン、必須アミノ酸、非必須アミノ酸、L-アルギニン塩酸塩、ショ糖、D-トレハロース無水物、ソルビトール、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンおよび/または尿素を場合により含有することができる。それに加えて、ワクチン組成物は、例えば、希釈剤、結合剤、安定剤、および防腐剤を含む薬学的に許容される添加剤を場合により含むことができる。好ましい安定剤は、WO2010/003670に記載されている。

【0103】

当業者により認識されているように、本発明の第1のまたは第2の態様によるブースターとして使用するためのワクチン組成物は、意図される投与経路と適合性であるように適当に剤形化される。適当な投与経路の例は、例えば、筋肉、経皮的、皮下、鼻腔内、経口または皮内を含む。有利には、投与経路は皮下である。

【0104】

本発明の第1のまたは第2の態様による使用のためのワクチン組成物は、従来の皮下用注射器またはBecton Dickinson Corporation(Franklin Lakes、ニュージャージー州、米国)から市販されているような安全注射器またはジェット注射器を使用して投与することができる。皮内投与のためには、従来の皮下用の注射器がMantoux技法を使用して利用されるかまたはBD Soluvia(商標)微量注射システム(Becton Dickinson Corporation、Franklin Lakes、ニュージャージー州、米国)のような特殊な皮内送達デバイスを使用することができる。

【0105】

投与されるワクチン組成物の体積は、投与方法に依存するであろう。皮下注射の場合には、体積は、一般的に0.1と1.0mlの間、好ましくは約0.5mlである。

【0106】

一実施形態により、本発明は、 Dengue 熱疾患に対してヒト対象を保護する方法で、本発明のワクチン組成物、および前記ワクチン組成物を本発明の第1の態様によるブースターワクチン接種として、または第2の態様による初回ワクチン接種およびブースターワクチン接種として使用するための使用説明書を含むキットも提供する。キットは、前記ワクチン組成物を単独の4価の投薬形態の形態で含むことができるか、または前記キットは、前記ワクチン組成物を2つの二価の投薬形態の形態で含むことができる。キットは、本発明で考えられる少なくとも1用量の任意のワクチン組成物を含むことができる(典型的には、注射器で)。一実施形態により、キットは、本明細書に記載された任意のワクチン組成物の複数回用量製剤を含むことができる。キットは、ブースターワクチン接種としてまたは初回ワクチン接種およびブースターワクチン接種としての、 Dengue 熱疾患を予防するための前記ワクチン組成物の使用または Dengue 熱疾患を防御するための前記ワクチンの使用法を簡単に述べるパンフレットをさらに含む。折りたたみ印刷物は、ワクチン接種の投与計画およびワクチン接種されるべきヒト対象集団、すなわち、血清型に関わらず、前に Dengue 熱ウイルスに自然に感染したことがない対象をさらに簡単に述べることもある。

【0107】

デング熱疾患の尤度または重症度を低下させることにおける本発明のブースター組成物の有効性は、多くの方法で測定することができる。例えば、デング熱疾患の尤度または重症度を低下させることにおける本発明のブースター組成物の有効性は、少なくとも1用量の前記ブースター組成物の投与後に（例えば、1、2または3用量の前記ブースター組成物の投与後に）：

前記ブースター組成物を受けた対象の群における

（i） 任意の血清型のデング熱ウイルスにより引き起こされたデング熱疾患の症例数；

（ii） 任意の血清型のデング熱ウイルスにより引き起こされた重症デング熱症例の数；

（iii） 任意の血清型のデング熱ウイルスにより引き起こされたDHF症例の数；

10

および/または

（iv） 任意の血清型のデング熱ウイルスにより引き起こされたデング熱疾患の入院した症例の数；

を測定して、これらの測定と前記ブースター組成物を受けていない対象の対照群からの等価測定とを比較することにより計算することができ、ここで、前記の両方の群における対象は、デング熱流行地域に居住して、初回ワクチン接種を受けており、デング熱ウイルスに自然に感染したことはない。ブースターを受けていない対象の対照群と比較されたときの、ブースターを受けた対象の群における（i）から（iv）の任意の1つまたはそれ以上における統計的に確定的な低下が、本発明によるブースター組成物の有効性を示す。

【0108】

20

デング熱疾患の重症度または尤度を低下させることにおける本発明によるブースター組成物の有効性は、少なくとも1用量の前記ブースター組成物の投与後に（例えば、1、2または3用量の前記ブースター組成物の投与後に）：前記ブースター組成物を受けてブースターの投与後にウイルス学的に確認されたデング熱疾患を発生した対象の群における

（i） 発熱の平均持続時間および/または強度；

（ii） ヘマトクリットにおける変化により規定される血漿漏洩の平均値；

（iii） 血小板減少症（血小板数）の平均値；および/または

（iv） アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）を含む肝酵素のレベルの平均値；

を測定して、これらの測定と前記ブースター組成物を受けていなくてウイルス学的に確認されたデング熱疾患を発生した対象の対照群からの等価測定とを比較することによっても計算することができ、ここで、前記両方の群における対象は、初回ワクチン接種を受けており、ブースター前にデング熱ウイルスに自然に感染したことはない。ブースターを受けたことがなくてウイルス学的に確認されたデング熱疾患を発生した対象の対照群と比較されたときの、ブースター用量を受けていて、ウイルス学的に確認されたデング熱疾患を発生した対象の群における（i）から（iv）の任意の1つまたはそれ以上における統計的に有意な低下は、デング熱疾患の重症度または尤度を低下させることにおける本発明によるブースター組成物の有効性を示す。

30

【0109】

デング熱疾患の重症度または尤度を低下させることにおける本発明によるブースター組成物の有効性は、少なくとも1用量の前記ブースター組成物の投与後に（例えば、1、2または3用量の前記ブースター組成物の投与後に）前記ブースター組成物を受けた対象の群において前記ブースター組成物により誘発された中和抗体力価を測定して、リスクの相関または保護（使用可能であれば）の相関を使用して、中和抗体力価を有効性の評価基準に変換することによっても計算することができる。

40

【0110】

本明細書で開示された核酸配列の他の核酸配列とのアラインメントは、当業者に周知の任意の適当な配列アラインメント方法により達成することができる。例えば、配列のアラインメントは、手によって実施することもできる。それより便利には、アラインメントは、専門のコンピュータープログラムを使用して実施することができる。例えば、最適の配

50

列アラインメントは、Multiple Sequence Alignment (MSA) algorithms Clustal W and Clustal Omega algorithms, or Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation (MUSCLE) algorithm (Edgar RC, Nucl. Acids Res. (2004年): 32巻(5号): 1792頁)のような全体的配列アラインメントアルゴリズムによって達成され、同一性のパーセントが決定される。これらのアルゴリズムは、European Bioinformatics Institute (EBI)のweb site at <http://www.ebi.ac.uk/services>で使用可能である。そのようなアルゴリズムが、使用者に限定されたパラメーターを有する場合、デフォルトのパラメーターが使用されるべきである。

10

【0111】

本明細書で開示された本発明の種々の特徴および好ましい実施形態を、組み合わせて一緒にすることもできることが理解される。

【0112】

本出願全体を通して、種々の引用文献が引用されている。これらの引用文献の開示は、これにより参照によって本開示中に組み入れる。

【0113】

本発明は、以下の実施例によりさらに例示されるであろう。しかしながら、本発明は、特許請求の範囲によって限定されること、およびこれらの例は、本発明の例示のためにのみ与えられ、本発明の限定となることは決してないことが理解されるべきである。

20

【0114】

実験の部

CYD64の臨床実験：ラテンアメリカで実施された研究で、3用量のスケジュールを以前完了した青年および成人に、ブースター注射として与えられた4価のデング熱ワクチンの免疫原性および安全性。

【0115】

1) 要約

研究の目的は、3用量のワクチン接種スケジュールの完了の4から5年後に投与されたCYDデング熱ワクチン用量のブースター効果を推定および説明することである。

30

【0116】

主要目的

- CYDデング熱ワクチンブースターの力価比の幾何平均 (GMT) に関して、以前のCYDデング熱ワクチン試験の対象における第3のCYDデング熱ワクチン注射と比較して非劣性を立証すること。

【0117】

副次的目的：

- 非劣性の主要目的が達成されるならば：GMTに関して、以前のCYDデング熱ワクチン試験の対象における第3のCYDデング熱ワクチン注射と比較して、CYDデング熱ワクチンブースターの優越性を立証すること。

40

- 以前のCYDデング熱ワクチン試験で3用量のCYDデング熱ワクチンを受けた対象におけるCYDデング熱ワクチンブースターおよびプラセボ注射により惹起された免疫応答を記載すること。

- 用量3後（以前のCYDデング熱ワクチン試験の対象）の後、全ての対象におけるブースターまたはプラセボ注射の直前の各デング熱血清型の中和抗体 (Ab) レベルを記載すること。

- 全ての対象におけるブースターまたはプラセボ注射後6カ月および1年の中和Abの持続を記載すること。

- 全ての対象におけるCYDデング熱ワクチンを用いるブースターワクチン接種の安全性を評価すること。

50

【 0 1 1 8 】

主要アウトカム評価基準：

- 研究群で、第3のCYD Dengue熱ワクチン注射後28日およびブースター注射後28日に測定されたDengue熱ウイルスの各血清型に対する中和抗体レベル [時間枠：ブースターワクチン接種後28日目]。

【 0 1 1 9 】

副次的アウトカム評価基準：

- ブースターまたはプラセボ注射の直前および28日後におけるCYD Dengue熱ワクチンの4種の親Dengue熱ウイルス株の各々に対する中和抗体レベル [時間枠：ブースターワクチン接種の前および28日後]

- ブースターまたはプラセボ注射後6カ月および1年におけるCYD Dengue熱ワクチンの4種の親Dengue熱ウイルス株の各々に対する中和抗体レベル [時間枠：ブースターワクチン接種後6カ月および12カ月]

- CYD Dengue熱ワクチンの4種の親Dengue熱ウイルス株の各々について、ブースター注射後28日における血清変換を有する対象のパーセンテージ：ブースターまたはプラセボ注射の直前および28日後に、PRNTにより決定されたブースター前の力価 < 10 (1 / 希釈) およびブースター後の力価 40 (1 / 希釈)、またはブースター前の力価 10 (1 / 希釈) およびブースター後の力価の4倍以上の増大のいずれかを有する対象のパーセンテージ [時間枠：ブースターワクチン接種の前および28日後]

- 注射部位の応答型の反応、応答型の全身反応、不応答型の有害事象、および試験中に起こった重大な有害事象を報告する参加者の数 [時間枠：ワクチン接種後0日から2年まで]

応答型の注射部位の反応：疼痛、紅斑、および膨潤。応答型の全身反応：発熱（温度）、頭痛、不定愁訴、筋肉痛、および無力症

各Dengue熱ウイルスの血清型に対する中和抗体レベルは、Dengue熱ブラーク減少中和試験（PRNT）を使用して測定した。

【 0 1 2 0 】

2) 統計的方法

主要目的のための仮説および統計的方法（群1のみ）

仮説：

各血清型のための個々の仮説：

GMT Rに関して、非劣性を試験する手法を、注射後28日に各血清型について実施し、対象におけるCYD 13 (Villar LAら、2013年、Pediatr Infect Dis J ; 32巻 (10号) : 1102 ~ 1109頁) およびCYD 30 (Dayan GHら、2013年、Am J Trop Med Hyg 2013年 ; 89巻 (6号) : 1058 ~ 1065頁) の試験から第3のCYD Dengue熱ワクチン用量と比較して、CYD Dengue熱ワクチンブースター用量の非劣性を立証した。

【 0 1 2 1 】

各血清型について個々の仮説は以下の通りであった：

【 化 1 】

$$H_0^i : GM(V_{Booster}^i / V_{P03}^i) \leq 1/2$$

$$H_1^i : GM(V_{Booster}^i / V_{P03}^i) > 1/2$$

式中 i = 1、2、3 および 4 ;

【 化 2 】

$$V_{Booster}^i$$

は、CYD Dengue熱ワクチンブースター用量後28日における免疫原性力価であり、

【化 3】

$$V_{PD3}^i$$

は、C Y D 1 3 および C Y D 3 0 の対象に第 3 の C Y D デング熱ワクチン用量後 2 8 日における免疫原性の力価である。

【0 1 2 2】

全体的仮説：

全体的帰無仮説は、少なくとも 1 種の血清型について、ブースター用量後の応答（C Y D デング熱ワクチンブースター注射後 2 8 日）は、P D 3 の応答（C Y D 1 3 および C Y D 3 0 の対象において第 3 の C Y D デング熱ワクチン用量後 2 8 日）に劣ると定めることができる：

10

【化 4】

$$H_0^G$$

は、少なくとも 1 つの

【化 5】

$$H_0^i$$

20

で棄却されない。

【0 1 2 3】

【化 6】

$$H_1^G ;$$

全ての

【化 7】

$$H_0^i$$

30

が棄却される。

【0 1 2 4】

統計的方法

非劣性検定を、各血清型について G M（V ブースター / V P D 3）の両側 9 5 % C I を使用して実施した；9 5 % C I は、対応のある t - 検定を使用して計算した。

【0 1 2 5】

消失しない P D 3 およびブースター用量後の力価を有する対象をこの分析に含めた。各血清型について、両側 9 5 % C I の下限が 1 / 2 を超えていれば、非劣性が立証された。帰無仮説が棄却されれば、その場合、非劣性の対立仮説が支持される。

40

【0 1 2 6】

4 通りの個々の虚無仮説が、同時に棄却された場合に、全体の帰無仮説が棄却された。

【0 1 2 7】

第 1 の副次的目的のための仮説および統計的方法

主要評価項目について、非劣性が立証されたので、次に優越性仮説を実施することにする。

【0 1 2 8】

仮説：

各血清型についての個々の仮説：

50

優越性仮説を検定する手法を、各血清型について実施して、注射後 28 日における GMT R に関して、CYD13 および CYD30 試験の対象における第 3 の CYD デング熱ワクチン用量と比較して、CYD デング熱ワクチンブースター用量の優越性を立証した。各血清型について個々の仮説は以下の通りであろう：

【化 8】

$$H_0^i: GM(V_{Booster}^i / V_{PD3}^i) \leq 1$$

$$H_1^i: GM(V_{Booster}^i / V_{PD3}^i) > 1$$

式中

i = 1、2、3 および 4；

【化 9】

$$V_{Booster}^i$$

は、CYD デング熱ワクチンブースター用量後 28 日における免疫原性力価であり、

【化 10】

$$V_{PD3}^i$$

は、CYD13 および CYD30 の対象における第 3 の CYD デング熱ワクチン用量後 28 日における免疫原性力価である。

【0129】

全体的仮説：

全体的帰無仮説は、少なくとも 1 種の血清型についてブースター用量後の応答（CYD デング熱ワクチンブースターの注射後 28 日）は、PD3 応答（CYD13 および CYD30 の対象における第 3 の CYD デング熱ワクチン用量後 28 日）に優越しないとして宣言することができる。

【0130】

【化 11】

$$H_0^G$$

は、少なくとも 1 つの

【化 12】

$$H_0^i$$

で棄却されない。

【0131】

【化 13】

$$H_1^G；$$

全ての

【化 14】

$$H_0^i$$

が棄却される。

10

20

30

40

50

【 0 1 3 2 】

統計的方法

各血清型について、 $GM(V_{ブースター}/V_{PD3})$ の両側95%CIを使用して優越性検定を実施した；95%CIは対応のあるt-検定を使用して計算した。

【 0 1 3 3 】

消失しないPD3およびブースター用量後の力価を有する対象を、この分析に含めた。各血清型について、両側95%のCIの下限が1を超えれば、優越性が立証されたことになる。帰無仮説が棄却されたならば、その場合に、優越性の対立仮説が支持された。

【 0 1 3 4 】

4通りの個々の帰無仮説が同時に棄却されたならば、全体の帰無仮説が棄却されたことになる。

10

【 0 1 3 5 】

他の副次的なおよび追加の目的のための統計的方法

全ての他の分析は記述的であり；仮説は検定されない。

【 0 1 3 6 】

免疫原性について2つの試料のt-検定を、 \log_{10} に変換された力価に基づいて、幾何平均力価(GMT)の比(対数尺度に基づくGMT間の差)について、95%CIで使用した。

【 0 1 3 7 】

パーセンテージについて95%CIを、厳密な二項分布(Clopper-Pearsonの方法)を使用して計算した。力価/力価比の \log_{10} 変換は正規分布に従うと仮定して、最初に、平均および95%CIを、 \log_{10} (力価/力価比)で正規分布のための通常の計算を使用して計算し、次に計算結果に逆対数変換を適用して、GMT/GMTRおよびそれらの95%CIを計算した。

20

【 0 1 3 8 】

安全のために、95%CIの計算で、比率について厳密な二項分布(Clopper-Pearson方法)を使用した。

【 0 1 3 9 】

標本サイズの計算：

群1に279名の対象および群2に93名の対象がいた。各群について注射後28日に約2%の脱落を仮定して、273および91の合計の評価可能対象を群1および2について、それぞれ予想した。273名の評価対象で、少なくとも1AEを1.1%の真の発生率で観察する確率は約95%であった。主要評価項目の標本サイズ(群1についてのみ)を推定し、GMTRに関して、CYD13およびCYD30の試験の対象における第3のCYD Dengue 熱ワクチン用量と比較して、CYD Dengue 熱ワクチンブースターの注射後28日で非劣性を立証した。群1における273名の評価可能対象で、対応のあるt-検定を使用して4通りの個々の帰無仮説を同時に棄却する全体的検定力(表1を参照されたい)は88.3%であると期待され；非劣性マージン(デルタ)=2、片側I型の誤差=0.025および同じ対象におけるPD3と同じ血清型のブースター用量後の応答の間における相関=0.5を仮定して計算した。

30

40

【 0 1 4 0 】

【表 1】

表 1：主要評価項目についての検定力／標本サイズ計算要約表

成分（抗原）	標準偏差 (log 10)	非劣性 定義	N=273 に対する 検定力
血清型 1	(sd1=0.88,sd2=1.76)	> 1/2	0.902
血清型 2	(sd1=0.70,sd2=1.40)	> 1/2	0.983
血清型 3	(sd1=0.62,sd2=1.24)	> 1/2	0.996
血清型 4	(sd1=0.50,sd2=1.00)	> 1/2	1.000
全体			0.883

10

【0141】

PD3 についての標準偏差 (sd1) の計算は、第 II 相試験の CYD13 および CYD30 から 28 日の PD3 の力価の標準偏差の加重平均に基づき、およびブースター用量後についての標準偏差 (sd2) は、PD3 についての標準偏差に基づいて推定した。

【0142】

全体的帰無仮説を棄却するためには、4 通りの個々の帰無仮説が同時棄却されるべきであるから、アルファについて多重度の調節は必要でない。

20

【0143】

群 1 と群 2 の間の 3 : 1 の無作為化比が選択されて、その結果 279 および 93 名の対象が、群 1 および群 2 に、それぞれ登録されると期待された。

【0144】

力価 (GMT) の幾何平均および力価比 (GMT R) の幾何平均の計算：

中和抗体力価の幾何平均は、力価の log₁₀ 変換が正規分布に従うと仮定して計算して、その結果、log₁₀ (力価) に基づく平均および 95% CI を、正規分布についての通常の計算 (スチューデントの t 分布を n - 1 の自由度で使用して) を使用して計算した。次に、力価 (GMT) の幾何平均を提供するために、計算結果に逆対数変換を適用した。

30

【0145】

GMT を計算するために、LLOQ 未満として報告される力価を 0.5 LLOQ の値に変換する。

【0146】

GM は以下のように定義される：

【数 1】

$$GM = \left(\prod_{i=1}^n y_i \right)^{1/n} = 10^{\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log_{10}(y_i) \right)}$$

40

【0147】

幾何平均比に関して、それらは、最初に 2 つの比較可能な群間の対数変換されたデータの差を計算して、次に比をその差の逆対数変換することにより得られる。

【0148】

幾何平均力価比 (GMT R) を計算するために、LLOQ 未満の値を 0.5 LLOQ に変換して分子に、LLOQ 未満の値を LLOQ に変換して分母にする。

【0149】

この方法は、GMT R について最も控えめな結果を提供する。

【0150】

50

3) デング熱中和抗体のレベルおよび血清変換を査定する方法:

デング熱の中和A bレベルは、S a n o f i P a s t e u r G C I、S w i f t w a t e r、米国により(またはG C Iが選択した外部の試験室に外注して)、P R N T (C Y Dデング熱ワクチン構築物の親デング熱ウイルス株を使用する)によって測定される。

【0151】

試験する血清(予め加熱不活性化)の連続2倍希釈物を、各デング熱ウイルスの血清型1、2、3または4の一定のチャレンジ用量(ブランク-形成単位[P F U]/m lとして表示される)と混合する。混合物をV e r o細胞の単層でコンフルエントなマイクロプレートのウェルに接種する。吸着後、細胞の単層を2ないし3日の間インキュベートする。デング熱ウイルスに感染した細胞の存在はブランクの形成により示される。血清試料中におけるA bの存在による中和に基づくウイルスの感染力の低下が検出される。報告される値(終点中和力価)は、100%ウイルス装荷を表す陰性対照のウェルにおける平均ウイルスのブランク数と比較して、デング熱チャレンジウイルスの50%以上(ブランク数で)が中和される血清の最高の希釈を表す。終点の中和力価は、不連続の値として与えられる。アッセイの定量の下限(L L O Q)は10(1/希釈)である。

10

【0152】

C Y D - T D V デング熱ワクチンの4種の親デング熱ウイルス株の各々について、ブースター注射後28日における血清変換率は、ブースターまたはプラセボの注射の直前および28日後にP R N T₅₀(ブランク減少中和試験)により決定される、ブースター前の力価<10(1/希釈)およびブースター後の力価40(1/希釈)、またはブースター前の力価10(1/希釈)およびブースター後の力価の4倍以上の増大のいずれかを有する対象のパーセンテージと定義した。ブースター用量の安全性プロファイルも分析されて特別の知見はなかった。

20

【0153】

4) 導入:

C Y D 6 4 は、多中心の、観察者ブラインドの、無作為化された、プラセボを対照とする第IIの相非劣性試験であり、2016年4月14日と2016年10月19日の間にC Y D - T D V デング熱ワクチン(D e n g v a x i a (登録商標))ブースターの1用量を受けた251名の健常青年および成人で、ブラジル、コロンビア、ホンジュラス、メキシコおよびプエルトリコで実施された。それは、ヘルシンキ宣言およびI n t e r n a t i o n a l C o n f e r e n c e o n H a r m o n i s a t i o n g u i d e l i n e s f o r g o o d c l i n i c a l p r a c t i c eならびに全ての地方および/または国家の規制に従って実施された。それに加えて、各研究所の施設内審査委員会および独立倫理委員会が研究プロトコルを承認した。プロトコルの補正は現在まで行われていない。研究参入前に、書面によるインフォームドコンセントが全ての参加者および/または参加者の両親/保護者から得られた。

30

【0154】

適格の参加者は、4~5年前に2つの以前の特異的試験(C Y D 3 0 およびC Y D 1 3、それぞれN C T 0 1 1 8 7 4 3 3 およびN C T 0 0 9 9 3 4 4 7)で3用量のC Y D - T D V デング熱ワクチンを受けたことがある15.3~23.8歳の健常な青年および成人であった。排除基準には、前に言及した試験の部分でないデング熱に対する以前のワクチン接種;妊娠、授乳または妊娠の可能性のある女性;いずれかの時に別の試験に研究登録への参加;試験のワクチン接種に4週間先行して何らかのワクチンを受けたかまたは試験のワクチン接種の後4週間以内に何らかのワクチンを受ける予定があること;過去3か月中に、免疫グロブリン、血液または血液から誘導された生成物の受容;知られているかまたは疑われている先天性または後天性免疫不全;何らかの免疫抑制療法の受容;何らかのワクチン成分に対する知られている全身性過敏症、または試験で使用されたワクチンまたは任意の同じ物質を含有するワクチンに対する生命に危険な反応歴;調査員の意見で、試験の実行または完了を妨げる可能性がある慢性疾病;行政または裁判所の命令によるか、または緊急の状況、または意思によらない入院における自由のはく奪;現在のアルコー

40

50

ル乱用または薬物依存性；ワクチン接種日における中程度または重症の急性疾病／感染または発熱性の疾病（体温 38.0）；提案された研究に直接関与する調査員または研究センターの調査員または被用者と同定されたかまたは誰であっても直接関係する家族のメンバーと同定された人が含まれる。

【0155】

試験に登録された251名の参加者の各々は、対話式音声応答システムまたは対話式ウェブ応答システムを媒介として、3：1の比（CYD-TDV Dengue 熱ワクチン群中における3名の対象に対してプラセボ群に含まれる1名の対象）に従って、2つの研究群（群1または群2）の1つに無作為に帰属された。無作為化は、順序を変えるブロック方法で、場所により層別化されて実施された。二重無作為化システムが使用されて、これは、対象処置割り付けが用量分配から分離されることを必然的に含む。固有の用量番号がランダムリストに従って規定されて、処置群間を識別するために用量番号を使用することができないことが確実にされた。対象番号はいかなる理由でも再指定されない。

10

【0156】

登録時（0日）に、群1中の全ての参加者は、CYD-TDVのDengue 熱ワクチンを受け、群2中の全ての参加者はプラセボ注射を受けた；さらに、全ての参加者は、最初のワクチン接種前のベースラインのDengue 熱免疫状態を推定するために、登録時に、注射前の血液試料を1回、およびDengue 熱免疫原性のために、注射後28日に血液試料を1回提供した。4種の親Dengue 熱ウイルス株の各々に対する中和抗体を、第3のCYD-TDV Dengue 熱ワクチン注射後28日におよびブースター注射後28日に（群1のみ）測定した。

20

【0157】

両群について、4種の親Dengue 熱ウイルス株の各々に対する中和抗体（Nab）を、ブースターまたはプラセボ注射の直前に測定した。さらに、CYD-TDV Dengue 熱ワクチンの4種の親Dengue 熱ウイルス株の各々についての個々のブースター後／ブースター前の幾何平均力価比（GMT R）を、ブースターまたはプラセボ注射の直前および28日後に測定した。

【0158】

両群について、4種の親Dengue 熱ウイルス株の各々に対するNabを、ブースターまたはプラセボ注射後6カ月および1年に測定した。

【0159】

30

5) CYD64 試験、ブースター用量後28日の結果

372名の計画された対象のうち合計251名が無作為化された。無作為化の後、187名の対象がCYD-TDV Dengue 熱ワクチン群に、64名の対象がプラセボ群に割り当てられた。国および処置群により無作為化された対象の全体的分布が表2にまとめられている。

【0160】

40

【表 2】

表 2 国ごとに無作為化された対象

	CYD デング熱ワクチン群 (N=187)	プラセボ群 (N=64)	全体 (N=251)
国	n (%)	n (%)	n (%)
全体	187 (100.0)	64 (100.0)	251 (100.0)
ブラジル	32 (17.1)	11 (17.2)	43 (17.1)
コロンビア	57 (30.5)	19 (29.7)	76 (30.3)
ホンジュラス	32 (17.1)	10 (15.6)	42 (16.7)
メキシコ	49 (26.2)	18 (28.1)	67 (26.7)
プエルトリコ	17 (9.1)	6 (9.4)	23 (9.2)

【0161】

全体として、ブースター注射後 28 日に、250 名 (99.6%) の対象が存在して (すなわち CYD-TDV デング熱ワクチン群の 1 名の対象が不在) および 249 名 (99.2%) の対象が血液試料を提供した (すなわち、CYD-TDV デング熱ワクチン群の 2 名の対象は試料を提供しなかった)。ブースター注射後 28 日に、研究を中断した対象は 1 名 (0.5%) だけであった。中止の理由は、プロトコルを遵守しないことであった。

【0162】

以前の試験における第 3 の CYD-TDV デング熱ワクチン用量と比較した CYD-TDV デング熱ワクチンブースターの非劣性

デング熱の PRNT の関係で、第 3 の CYD-TDV デング熱ワクチンの用量 (PD3) と比較した CYD-TDV デング熱ワクチンブースターの用量後のデング熱 Na b の非劣性が、4 種の血清型について立証された (1/2 を超える両側 95% の CI 下限)。ブースター後 / PD3 比を、95% CI で、各血清型について計算した (表 3)。4 種の血清型の各々に対するブースター後力価の共分散分析が、ベースライン Na b レベルを制御するために行われた (ブースター前の効果を除く); デング熱 / プラセボの GMT 比を、95% CI で各血清型について計算した: 血清型 1、比 2.04 (1.50; 2.78)、p 値 0.0004 種; の血清型 2、比 1.74 (1.28; 2.38)、p 値 0.0021; 血清型 3、比 1.85 (1.37; 2.50)、p 値 0.0002; および血清型 4、比 2.19 (1.53; 3.13)、p 値 < 0.0001。これは、免疫学的応答が、プラセボと比較してワクチン接種群で優れていることを示す (表 4)。

【0163】

以前の試験における第 3 の CYD-TDV デング熱ワクチン用量と比較した CYD-TDV デング熱ワクチンブースターの優越性

CYD-TDV デング熱ワクチンブースターの全体的非劣性を立証することができたので、選択された以前の試験の第 3 の用量と比較されたブースター用量の優越性分析を、各血清型について GMT R を使用して実施した。ブースター用量の優越性が血清型 1、血清型 2、および血清型 4 について立証された。血清型 3 について、ブースター用量の優越性は、この血清型について、GMT R の両側 95% CI の下限が 1 未満であったので、立証することができなかった (表 5)。

【0164】

ブースター注射後 28 日における免疫応答

ブースター注射前に、GMT は処置群間でほぼ同じであった。それらは血清型 1、血清型 2 および血清型 3 についても同様な範囲にある傾向があった。血清型 4 の GMT は両群でそれらより低かった。CYD-TDV デング熱ワクチンブースターの注射後に、GMT

はブースター注射前のレベルと比較して増大した。プラセボ注射後に、血清型によるブースター注射前の血清陽性率は、プラセボ注射後に安定にとどまる傾向があった（表 6）。

【 0 1 6 5 】

【表 3】

表 3 プロトコル分析セットにより、デング熱 PRNT で、CYD13または CYD30 の第 3 の CYD-TDV デング熱ワクチン用量と比較した CYD-TDV デング熱ワクチンブースター用量の非劣性

成分	CYD13および CYD30 (PD3) における用量 3 の後 (N=177)			CYD64 (V04) における プースター用量後 (N=177)			比 (プースター後/PD3)		非劣性
	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM (95% CI)	
血清型 1 [PRNT – 1/dii]	176	316	(233; 428)	177	560	(421; 744)	176	1.66 (1.33; 2.06)	有り
血清型 2 [PRNT – 1/dii]	175	356	(275; 462)	177	657	(520; 830)	175	1.82 (1.43; 2.31)	有り
血清型 3 [PRNT – 1/dii]	175	640	(516; 794)	177	671	(535; 843)	175	1.04 (0.841; 1.27)	有り
血清型 4 [PRNT – 1/dii]	176	243	(195; 303)	177	344	(279; 424)	176	1.32 (1.01; 1.74)	有り

M：両方の時点において使用可能なデータを有する対象の数
各血清型に対して、比について両側 95% C I の下限が 1 / 2 を超えれば、非劣性が立証された。
全体的非劣性は、4 種の血清型が全て非劣性を達成すれば、立証されたといえる。

【 0 1 6 6 】

10

20

30

40

50

【 表 4 】

表 4 親 Deng Deng 熱株と 4 種の血清型の各々に対する プースター後の力価の共分散分析 - Deng Deng 熱 PRNT - プロトコル分析セット

成分	CYD Deng Deng 熱ワクチン群 (N=177)			プラセボ群 (N=64)			差 (Deng Deng 熱 - プラセボ)		比 (Deng Deng 熱 / プラセボ)	ベースライン*群 の交互作用項に ついての p 値*	群*国の交互 作用項について の p 値*
	M	LSMEAN	(95% CI)	M	LSMEAN	(95% CI)	LSMEAN	(95% CI)			
血清型 1 [PRNT - 1/希釈]	177	2.74	(2.67; 2.82)	64	2.43	(2.32; 2.55)	0.310	(0.176; 0.445)	2.04 (1.50; 2.78)	0.0004	0.3250
血清型 2 [PRNT - 1/希釈]	177	2.79	(2.71; 2.86)	64	2.55	(2.43; 2.66)	0.242	(0.107; 0.376)	1.74 (1.28; 2.38)	0.0021	0.7881
血清型 3 [PRNT - 1/希釈]	177	2.86	(2.79; 2.93)	64	2.59	(2.48; 2.71)	0.266	(0.135; 0.398)	1.85 (1.37; 2.50)	0.0002	0.1830
血清型 4 [PRNT - 1/希釈]	177	2.55	(2.47; 2.64)	64	2.21	(2.08; 2.35)	0.341	(0.186; 0.495)	2.19 (1.53; 3.13)	0.0001	0.6498

M : 評価項目に使用可能な対象の数
LSMEAN : 最小二乗平均
LSMEAN と 95% CI の差は、 プースター前の力価の値と国の共分散分析を、 いくつある交互作用項もない共変量として使用して計算した。
*交互作用項についての p 値は、 プースター前の力価と無作為化された群の間の交互作用項に国と無作為化された群との交互作用項を加えて共変量として、
プースター後の力価とプースター前の力価および国に対する共分散分析から誘導した。

【表 5】

表 5. 以前の試験の第 3 の CYD-TDV デング熱ワクチン用量と比較した CYD-TDV
デング熱ワクチンブースター用量の優越性—デング熱 PRNT - 完全分析セット

成分	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3) (N=185)			CYD64 における ブースター用量後 (V04) (N=185)			比 (ブースター後/PD3)			優越性
	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	
血清型 1 [PRNT - 1/希釈]	184	302	(224; 406)	185	536	(404; 710)	184	1.66	(1.34; 2.06)	Yes
血清型 2 [PRNT - 1/希釈]	183	340	(264; 439)	185	653	(519; 823)	183	1.90	(1.49; 2.41)	有り
血清型 3 [PRNT - 1/希釈]	183	611	(495; 755)	185	662	(529; 827)	183	1.07	(0.870; 1.31)	無し
血清型 4 [PRNT - 1/希釈]	184	239	(193; 295)	185	347	(283; 426)	184	1.37	(1.05; 1.78)	有り

M: 両時点における利用可能なデータを有する対象の数

各血清型に対して、比について両側 95% CI の下限が 1 を超えれば、優越性が立証されたことになる。

4 種の血清型が全て優越性を達成すれば、全体的優越性が立証されたことになる。

【 0 1 6 8 】

【表 6】

表 6 ブースター注射前および後における親デング熱ウイルス株について各血清型に対する抗体の力価の
幾何平均および個々の力価の幾何平均の比の要約—デング熱 PRNT—プロトコル当たりの分析セット

成分	時点/比	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)			プラセボ群 (N=64)		
		M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)
血清型 1 [PRNT - 1/希釈]	V01 (D0)	177	325	(233; 452)	64	349	(201; 607)
	V04 (D28)	177	560	(421; 744)	64	297	(162; 547)
	Ratio V04 (D28) /V01 (D0)	177	1.59	(1.33; 1.90)	64	0.798	(0.623; 1.02)
血清型 2 [PRNT - 1/希釈]	V01 (D0)	177	360	(267; 484)	64	323	(195; 535)
	V04 (D28)	177	657	(520; 830)	64	354	(205; 610)
	Ratio V04 (D28) /V01 (D0)	177	1.70	(1.43; 2.03)	64	1.03	(0.754; 1.40)
血清型 3 [PRNT - 1/希釈]	V01 (D0)	177	357	(269; 472)	64	442	(270; 724)
	V04 (D28)	177	671	(535; 843)	64	432	(266; 700)
	Ratio V04 (D28) /V01 (D0)	177	1.78	(1.47; 2.16)	64	0.946	(0.749; 1.19)
血清型 4 [PRNT - 1/希釈]	V01 (D0)	177	162	(134; 195)	64	161	(108; 242)
	V04 (D28)	177	344	(279; 424)	64	161	(110; 237)
	V04 (D28) /V01 比 (D0)	177	2.09	(1.65; 2.63)	64	0.946	(0.777; 1.15)

M: 評価項目に使用可能な対象の数

【 0 1 6 9 】

10

20

30

40

50

4種の血清型のうち3種について血清変換率が、ブースター注射後28日に処置群間で異なったことは意味深い。血清型1についての血清変換率はCYD-TDV Dengue ワクチン群において16.9% (95% CI: 11.7; 23.3) およびプラセボ群において3.1% (95% CI: 0.4; 10.8) であった; 血清型2については、それは、19.2% (95% CI: 13.7; 25.8) および17.2% (95% CI: 8.9; 28.7) であった; 血清型3について、血清変換率は、20.3% (95% CI: 14.7; 27.0) および4.7% (95% CI: 1.0; 13.1) であった; および血清型4については、それは、それぞれ、19.8% (95% CI: 14.2; 26.4) および6.3% (95% CI: 1.7; 15.2) であった。CYD-TDV Dengue ワクチン群と比較してプラセボ群における血清型2に対する高い血清変換率の妥当と思われる1つの説明は、GMTに対する自然感染のブースター効果の強い影響である。

10

【0170】

ベースラインにおける Dengue 熱の血清の状態

CYD-TDV Dengue ワクチンのブースター注射に対する免疫応答を、ベースラインにおける対象の血清状態に従って分析した (すなわち、以前の試験 CYD 13 および CYD 30 における D0 において)。CYD-TDV Dengue ワクチン群に登録した177名の対象の中で、136名 (77%) の対象は、ベースラインで Dengue 熱に免疫であり、41名 (23%) は Dengue 熱非免疫であった。プラセボ群では、ベースラインで Dengue 熱に免疫の46名の対象および18名の非免疫対象がいた。全体として、ブースター注射前、ならびにブースター注射後28日におけるPD3の各血清型に対するNAb力価は、ベースラインで Dengue 熱に免疫の対象における方がより高かった (表7A および7B)。

20

【0171】

ブースター注射前における Dengue 熱の血清状態

ブースター注射前に、GMT (1/希釈) は、Dengue 熱に免疫の対象で224 (血清型4) から668 (血清型1) の範囲であり、Dengue 熱に非免疫の対象で29.6 (血清型1) から54.9 (血清型4) であった。ブースター注射後28日に、GMT (1/希釈) は、Dengue 熱に免疫の対象で343 (血清型4) から940 (血清型1) の範囲、Dengue 熱に非免疫の対象で100 (血清型1) から347 (血清型4) の範囲であった。ベースラインにおける Dengue 熱の血清状態は、各血清型に対する血清変換率において意味深い差を有した。血清変換率は、Dengue 熱に非免疫群の対象の方が高かった (表8)。

30

【0172】

安全性の評価

CYD-TDV Dengue ワクチンまたはプラセボ注射の後、全ての対象を、即時型反応、応答型反応および不応答型事象または反応について査定した。SAEを研究中にわたって集め、重大なおよび重大でないAE SIを、規定された時間枠でAE SIのタイプによって集めた。ブースター注射後28日までの安全性および反応原性の概要を表9に示す。

【0173】

40

【表 7】

表 7 A ベースラインで (すなわち、以前の試験 CYD13 および CYD30 における D0 で) デング熱 ナイプ (非免疫) の対象における
プースター注射前およびプースター注射後 28 日の PD3 における各血清型に対する NAb の力価

成分	時点／比	CYD デング熱 ワクチン 群 (N=177)			プーセボ群 (N=84)		
		M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)
血清型 1 [PRNT - 1/希釈]	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	40	26.2	(17.0; 40.4)	18	39.8	(19.3; 82.4)
	V01 (D0)	41	29.6	(15.6; 56.1)	18	54.0	(21.4; 136)
	V04 (D28)	41	108	(52.5; 192)	18	40.4	(12.6; 136)
	V01 (D0)/PD3 比	40	0.801	(0.431; 1.49)	18	1.16	(0.524; 2.57)
	V04 (D28)/PD3 比	40	2.86	(1.48; 5.51)	18	0.886	(0.318; 2.36)
	V04 (D28)/V01 (D0) 比	41	2.54	(1.57; 4.11)	18	0.616	(0.356; 1.07)
血清型 2 [PRNT - 1/希釈]	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	40	57.1	(39.6; 82.3)	18	79.9	(59.3; 163)
	V01 (D0)	41	48.9	(25.4; 94.1)	18	55.0	(20.2; 150)
	V04 (D28)	41	215	(121; 375)	18	61.0	(17.5; 213)
	V01 (D0)/PD3 比	40	0.757	(0.416; 1.38)	18	0.637	(0.201; 2.03)
	V04 (D28)/PD3 比	40	3.45	(1.93; 6.18)	18	0.706	(0.181; 2.75)
	V04 (D28)/V01 (D0) 比	41	3.38	(2.23; 5.12)	18	0.880	(0.415; 1.86)
血清型 3 [PRNT - 1/希釈]	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	41	129	(98.1; 168)	18	138	(82.0; 234)
	V01 (D0)	41	51.8	(27.4; 97.9)	18	68.3	(38.7; 163)
	V04 (D28)	41	288	(163; 510)	18	74.8	(27.8; 201)
	V01 (D0)/PD3 比	41	0.403	(0.227; 0.714)	18	0.493	(0.256; 0.950)
	V04 (D28)/PD3 比	41	2.24	(1.30; 3.88)	18	0.540	(0.249; 1.22)
	V04 (D28)/V01 (D0) 比	41	4.55	(2.88; 7.22)	18	0.976	(0.556; 1.71)
血清型 4 [PRNT - 1/希釈]	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	41	103	(65.9; 162)	18	119	(71.9; 197)
	V01 (D0)	41	54.9	(37.2; 80.8)	18	31.2	(16.1; 68.3)
	V04 (D28)	41	347	(183; 657)	18	37.0	(17.9; 78.6)
	V01 (D0)/PD3 比	41	0.487	(0.278; 0.854)	18	0.252	(0.133; 0.476)
	V04 (D28)/PD3 比	41	3.08	(1.50; 6.36)	18	0.295	(0.148; 0.604)
	V04 (D28)/V01 (D0) 比	41	5.91	(2.99; 11.7)	18	0.980	(0.632; 1.52)

【 0 1 7 4 】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 7 B ベースラインで（すなわち、以前の試験 CYD113 および CYD30 における D0 で）デング熱免疫の対象における
ブースター注射前およびブースター注射後 28 日の PPD3 における各血清型に対する NAb の力価

成分	時点／比	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)				プラセボ群 (N=64)			
		M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)		
血清型 1 [PRNT - 1/希釈]	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	136	656	{503; 851}	46	463	{278; 711}		
	V01 (D0)	136	668	{498; 895}	46	725	{413; 1273}		
	V04 (D28)	136	940	{723; 1222}	46	650	{358; 1181}		
	V01 (D0) / PD3 比	136	100	{0.803; 1.25}	46	152	{0.913; 2.53}		
	V04 (D28) / PD3 比	136	141	{1.15; 1.73}	46	136	{0.840; 2.21}		
血清型 2 [PRNT - 1/希釈]	V04 (D28) / V01 (D0) 比	136	138	{1.16; 1.65}	46	0.882	{0.608; 1.17}		
	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	135	613	{474; 792}	46	511	{365; 713}		
	V01 (D0)	136	657	{505; 853}	46	647	{408; 1025}		
	V04 (D28)	136	922	{734; 1158}	46	705	{439; 1132}		
	V01 (D0) / PD3 比	135	107	{0.827; 1.38}	46	127	{0.794; 2.02}		
血清型 3 [PRNT - 1/希釈]	V04 (D28) / PD3 比	135	150	{1.17; 1.94}	46	138	{0.871; 2.19}		
	V04 (D28) / V01 (D0) 比	136	138	{1.16; 1.65}	46	109	{0.782; 1.52}		
	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	134	1045	{849; 1286}	46	921	{627; 1323}		
	V01 (D0)	136	638	{502; 811}	46	918	{581; 1452}		
	V04 (D28)	136	866	{689; 1085}	46	857	{561; 1311}		
血清型 4 [PRNT - 1/希釈]	V01 (D0) / PD3 比	134	0.585	{0.483; 0.718}	46	0.987	{0.635; 1.52}		
	V04 (D28) / PD3 比	134	0.817	{0.608; 0.999}	46	0.931	{0.617; 1.40}		
	V04 (D28) / V01 (D0) 比	136	134	{1.12; 1.61}	46	0.934	{0.724; 1.20}		
	CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	135	315	{249; 400}	45	346	{253; 435}		
	V01 (D0)	136	224	{186; 269}	46	307	{214; 441}		
血清型 5 [PRNT - 1/希釈]	V04 (D28)	136	343	{281; 418}	46	287	{205; 402}		
	V01 (D0) / PD3 比	135	0.664	{0.527; 0.838}	45	0.876	{0.584; 1.31}		
	V04 (D28) / PD3 比	135	1.63	{0.786; 1.34}	45	0.825	{0.551; 1.24}		
	V04 (D28) / V01 (D0) 比	136	152	{1.25; 1.86}	46	0.933	{0.744; 1.17}		

【 0 1 7 5 】

10

20

30

40

50

【表 9】

表 8. デング熱免疫および非免疫対象における各血清型に対する血清変換率

血清変換率		
血清型	デング熱免疫	デング熱非免疫
1	10.3% (95% CI: 5.7; 16.7)	39.0% (95% CI: 24.2; 55.5)
2	13.2% (95% CI: 8.0; 20.1)	39.0% (95% CI: 24.2; 55.5)
3	11.0% (95% CI: 6.3; 17.5)	51.2% (95% CI: 35.1; 67.1)
4	15.4% (95% CI: 9.8; 22.6)	34.1% (95% CI: 20.1; 50.6)

10

【0176】

【表 10】

表 9. ブースター注射後の安全性の概要

	CYD デング熱ワクチン群 (N=187)			プラセボ群 (N=64)		
	n/M	%	(95% CI)	n/M	%	(95% CI)
少なくとも1項目を経験している対象:						
ブースター注射後30分以内						
即時不応答型 AE	1/187	0.5	(0.0; 2.9)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
即時不応答型 AR	1/187	0.5	(0.0; 2.9)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
ブースター注射後 28日以内						
応答型反応	114/187	61.0	(53.6; 68.0)	31/64	48.4	(35.8; 61.3)
応答型の注射部位反応	47/187	25.1	(19.1; 32.0)	12/64	18.8	(10.1; 30.5)
応答型の全身反応	105/187	56.1	(48.7; 63.4)	28/64	43.8	(31.4; 56.7)
不応答型 AE	48/187	25.7	(19.6; 32.6)	13/64	20.3	(11.3; 32.2)
不応答型 AR	2/187	1.1	(0.1; 3.8)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
不応答型非重症 AE	48/187	25.7	(19.6; 32.6)	13/64	20.3	(11.3; 32.2)
不応答型非重症 AR	2/187	1.1	(0.1; 3.8)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
不応答型非重症の注射部位 AR	1/187	0.5	(0.0; 2.9)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
不応答型非重症の全身 AE	48/187	25.7	(19.6; 32.6)	13/64	20.3	(11.3; 32.2)
不応答型非重症の全身 AR	1/187	0.5	(0.0; 2.9)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
研究中断に至る AE †	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
SAE	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
死亡	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
重症の AESI	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
非重症の AESI	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
研究中						
SAE	1/187	0.5	(0.0; 2.9)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
死亡	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)
重症の AESI	0/187	0.0	(0.0; 2.0)	0/64	0.0	(0.0; 5.6)

20

30

40

n: 第1欄で挙げた評価項目を経験する対象の数

M: 関連評価項目に使用可能なデータを有する対象の数

† SAEまたは他のAEとしての終了形態で、または少なくともグレード1であり、指示された期間内であったAE形態で確認される

【0177】

50

全体的に、C Y D - T D V デング熱ワクチン群中における対象の 6 1 . 0 % およびプラセボ群中における 4 8 . 4 % が、ブースター注射後に少なくとも 1 種の応答型反応を経験した。これらの対象の中で、C Y D - T D V デング熱ワクチン群中における対象の 8 . 0 % およびプラセボ群中における 6 . 3 % が、少なくとも 1 回のグレード 3 の応答型反応を報告した。各群で報告されたグレード 3 の応答型反応は大部分全身反応であった。ブースター注射後に、2 つの処置群は、応答型反応の数、強度、発症の時、および持続時間に関してほぼ同等であった。両群で最もしばしば報告された応答型の注射部位の反応は、注射部位の疼痛であった (C Y D - T D V デング熱ワクチン群において 2 4 . 6 % およびプラセボ群において 1 8 . 8 %) 。 1 名の (0 . 5 %) 対象が、注射部位の紅斑を経験し (C Y D - T D V デング熱ワクチン群において) 、どちらの群でも注射部位の膨潤は報告されなかった。報告された大部分の応答型の注射部位反応は、グレード 1 の強度であり、3 日以内に起こり、3 日以内に自然に解消した。C Y D - T D V デング熱ワクチン群中の 1 名の (0 . 5 %) 対象が、グレード 3 の反応 (注射部位の疼痛) を報告した。両方の群で最もしばしば報告された応答型全身反応は頭痛であった。注射後に、少なくとも 1 回の頭痛のエピソードが、C Y D - T D V デング熱ワクチン群中の対象の 4 6 . 5 % で、およびプラセボ群中の対象の 3 4 . 4 % で報告された。筋肉痛、不定愁訴、および無力症の少なくとも 1 回のエピソードを報告した対象の比率は、処置群を通して同じ範囲内で同様であった (2 1 % および 3 2 % の間) 。 C Y D - T D V デング熱ワクチン群中の対象の約 7 . 9 % およびプラセボ群中の対象の 9 . 5 % が少なくとも 1 回の発熱エピソードを経験した。C Y D - T D V デング熱ワクチン群中の合計 1 5 名 (8 . 0 %) の対象およびプラセボ群中の 4 名 (6 . 3 %) の対象が、少なくとも 1 回のグレード 3 の応答型の全身反応を経験した。頭痛が最も頻繁なグレード 3 の全身反応であり、それは、C Y D - T D V デング熱ワクチン群から 1 1 名 (5 . 9 %) の対象により、およびプラセボ群中の 2 名 (3 . 1 %) の対象により報告された。C Y D - T D V デング熱ワクチン群中で、1 名 (0 . 5 %) の対象が、少なくとも 1 回の即時型の不応答型非重症 A R を経験した。該対象は、右腋窩にグレード 2 のしこりを経験した。この全身事象は、5 日後に自然に解消して、調査員により、ブースター注射と関係すると査定された。注射後 2 8 日以内に報告された少しの不応答型非重症 A E は、調査員によれば、ワクチン接種と関係した。C Y D - T D V デング熱ワクチン群中の 1 名の対象が、即時型不応答型全身 A R (右腋窩におけるグレード 2 のしこり) を経験した。同じ群中の第 2 の対象は、1 回の不応答型非重症 A R (グレード 1 の筋力低下) を経験した。両方の対象について、A R はブースター注射後 3 日以内に起こって、4 ~ 7 日以内に自然に解消した。5 件の S A E が報告されており、それは、ワクチン接種と関係しないと考えられた。有意と考えられる A E (すなわち、中止、A E S I 、および入院した V C D 症例に至る A E および S A E) および死は、ブースター注射後 2 8 日以内に報告されなかった。

【 0 1 7 8 】

長期追跡調査

ブースター / プラセボ用量後 6 カ月および 1 年における中和抗体の持続を、使用可能な対象で P R N T によって測定して (デング熱にナイーブおよびデング熱免疫の両方共ベースラインで) 、結果を血清型別に表 1 0 から 1 4 に示す。C Y D デング熱ワクチンの受容者の他の長期の追跡調査分析でわかったように、D e n g v a x i a (登録商標) の投与 (ブースター用量) 後 6 カ月の期間に、中和抗体力価の低下はあったが、その点で、中和抗体力価は、少なくともブースター後 1 年まで安定した。驚くべきことに、ベースラインでデング熱にナイーブであった対象で、低下の相対速度は、ベースラインでデング熱免疫であった対象より低かった。例えば、免疫の対象で、ブースター用量後 1 2 カ月における G M T レベルは、全ての 4 種の血清型について、すでにブースター用量の投与の直前で測定された G M T レベル未満に降下していた (すなわち V 0 1 / D 0 で) 。しかしながら、ナイーブ対象では、ブースター用量後 1 2 カ月における G M T レベルは、全ての 4 種の血清型について、ブースター用量の投与の直前に (すなわち V 0 1 / D 0 における) 測定された G M T レベルより高かった。この結果は、表 1 5 で最も容易に見られ、それはベース

10

20

30

40

50

ラインでナীবおよびベースラインで免疫の対象の両方における各血清型について、M12: D0 GMT比を示す。したがって、ベースラインでナীবな対象におけるブースター用量の追加の効果は、驚くべきことに、ベースラインにナীবな対象において、ベースラインで免疫の患者におけるよりも持続可能であることを見ることができる。

【0179】

【表11】

表11: プロトコル分析セットによるCYD13/CYD30ー Dengue熱のPRNTにおけるベースラインの Dengue熱状態による親 Dengue熱ウィルス株について各血清型に対する抗体の幾何平均力価の要約。血清型1

血清型 1 [PRNT-1/希釈]									
時点	ナীব								
	免疫			CYD Dengue熱ワクチン群 (N=177)			プラセボ群 (N=64)		
	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)
CYD13 および CYD30 における用量3後 (PD3)	136	656	(501;861)	46	463	(278; 771)	40	26.2	(17.0; 40.4)
V01 (D0)	136	668	(498; 895)	46	725	(413;1273)	41	29.6	(15.6; 56.1)
V04 (D28)	136	940	(723; 1222)	46	650	(358; 1181)	41	100	(52.5; 192)
V05 (M6)	134	469	(362; 607)	45	396	(237; 663)	40	42.4	(25.1; 71.6)
V06 (M12)	132	473	(366;611)	46	351	(221; 559)	38	38.6	(23.0; 64.6)

M: 評価項目に使用可能な対象の数

GM: 幾何平均

V01 (D0): プースターまたはプラセボ注射前

V04 (D28): プースターまたはプラセボ注射後28日

V05 (M6): プースターまたはプラセボ注射後6カ月

V06 (M12): プースターまたはプラセボ注射後12カ月

【0180】

10

20

30

40

50

表 1 2 : プロトコル分析セットによるCYD13/CYD30-デング熱のPRNTにおけるベースラインのデング熱状態による親デング熱ウイルス株について各血清型に対する抗体の幾何平均力価の要約。血清型 2

血清型 2 [PRNT-1/希釈]												
時点	免疫						ナイーブ					
	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)						プラセボ群 (N=64)					
	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)						プラセボ群 (N=64)					
	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)						プラセボ群 (N=64)					
	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)
CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	135	613	(474; 792)	46	511	(365; 713)	40	57.1	(39.6; 82.3)	18	79.9	(39.3; 163)
V01 (D0)	136	657	(505; 853)	46	647	(408; 1025)	41	48.9	(25.4; 94.1)	18	55.0	(20.2; 150)
V04 (D28)	136	922	(734; 1158)	46	705	(439; 1132)	41	213	(121; 375)	18	61.0	(17.5; 213)
V05 (M6)	134	609	(500; 741)	45	617	(435; 873)	40	151	(89.5; 256)	18	72.6	(27.7; 191)
V06 (M12)	132	398	(327; 485)	46	388	(288; 523)	38	69.4	(42.3; 114)	16	47.2	(18.1; 123)

M: 評価項目に使用可能な対象の数

GM: 幾何平均

V01 (D0): プースターまたはプラセボ注射前

V04 (D28): プースターまたはプラセボ注射後 2 8 日

V05 (M6): プースターまたはプラセボ注射後 6 カ月

V06 (M12): プースターまたはプラセボ注射後 1 2 カ月

表 1 3 プロトコル分析セットによるCYD13／CYD30－デング熱のPRNTにおけるベースラインのデング熱状態による
親デング熱ウイルス株について各血清型に対する抗体の幾何平均力価の要約。血清型 3

血清型 3 [PRNT-1/希釈]		ナイーブ									
時点	免疫	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)					プラセボ群 (N=64)				
		CYD デング熱ワクチン群 (N=177)					プラセボ群 (N=64)				
		M	GM	(95% CI)			M	GM	(95% CI)	M	GM
CYD13 および CYD30 における 用量 3 後 (PD3)		134	1045	(849; 1286)			46	921	(627; 1353)	41	129
V01 (D0)		136	638	(502; 811)			46	918	(581; 1452)	41	51.8
V04 (D28)		136	866	(689; 1089)			46	857	(561; 1311)	41	288
V05 (M6)		134	748	(596; 939)			45	776	(503; 1197)	40	132
V06 (M12)		132	433	(347; 540)			46	528	(362; 769)	38	88.0
										16	83.4

M：評価項目に使用可能な対象の数
GM：幾何平均
V01 (D0): プースターまたはプラセボ注射前
V04 (D28): プースターまたはプラセボ注射後 2 8 日
V05 (M6): プースターまたはプラセボ注射後 6 カ月
V06 (M12): プースターまたはプラセボ注射後 1 2 カ月

表 1 4 : プロトコル分析セットによるCYD13/CYD30ーデング熱のPRNTにおけるベースラインのデング熱状態による親デング熱ウイルス株について各血清型に対する抗体の幾何平均力価の要約。血清型 4

血清型 4 [PRNT-1/ 希釈]											
時点	免疫						ナイープ				
	CYD デング熱ワクチン群 (N=177)						プラセボ群 (N=64)				
	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM	(95% CI)	M	GM
CYD13 および CYD30 における用量 3 後 (PD3)	135	315	(249; 400)	45	346	(253; 475)	41	103	(65.9; 162)	18	119
V01 (D0)	136	224	(186; 269)	46	307	(214; 441)	41	54.9	(37.2; 80.9)	18	31.2
V04 (D28)	136	343	(281; 418)	46	287	(205; 402)	41	347	(183; 657)	18	37.0
V05 (M6)	134	249	(213; 292)	45	247	(193; 315)	40	185	(117; 295)	18	49.9
V06 (M12)	132	192	(164; 225)	46	193	(157; 238)	38	110	(69.1; 175)	16	37.8

M : 評価項目に使用可能な対象の数

GM: 幾何平均

V01 (D0): プースターまたはプラセボ注射前

V04 (D28): プースターまたはプラセボ注射後 2 8 日

V05 (M6): プースターまたはプラセボ注射後 6 カ月

V06 (M12): プースターまたはプラセボ注射後 1 2 カ月

【表 1 5】

表 1 5 ベースラインでナイーブおよびベースライン免疫対象における
各血清型についての M12:D0 の GMT 比

	ベースラインでナイーブ	ベースラインで免疫
血清型 1	1.30	0.71
血清型 2	1.42	0.61
血清型 3	1.70	0.68
血清型 4	2.00	0.85

10

【 0 1 8 4】

結論

- C Y D 6 4 の研究の主要目的が満たされた。4 ~ 5 年前に、C Y D デング熱ワクチンの 3 用量の主要なシリーズを受けた対象では、ブースター用量は、G M T R に関して第 3 の用量に対して非劣性である。

- C Y D デング熱ワクチン 3 用量の主要なシリーズを 4 ~ 5 年前に受けた対象では、ブースター用量は、G M T R に関して、主要なシリーズの第 3 の用量に対して優越でない。個々の血清型の優越性が血清型 3 について立証されないので、全体的優越性は達成されない。

20

- C Y D デング熱ワクチンブースターは、注射後 2 8 日に、各血清型の G M T を増大させる。

- C Y D デング熱ワクチンブースターは、各および任意の血清型に対して血清陽性率を増大させる。

- ベースラインにおけるデング熱の血清状態は、ブースター注射前における G M T の持続性および G M T ブースター注射後のレベルの両方に影響する；すなわち、ベースラインでデング熱に免疫だった対象は、ブースター注射の前および後の両方で、より高い G M T を有する傾向があった。

- 注射後 2 8 日に、ベースラインでデング熱に非免疫の対象は、各血清型について、ベースラインでデング熱に免疫の対象よりも高い血清変換率を有する；すなわち、ブースター注射前とブースター注射後の間における G M T の増大は、ベースラインでデング熱に免疫の対象と比較して、ベースラインでデング熱に非免疫（すなわちデング熱にナイーブ）であった対象の方が大きい。ベースラインにおけるデング熱に免疫とデング熱に非免疫の対象間におけるこの差は、初回ワクチン接種コースの P D 3 とブースター後 2 8 日の G M T を比較した G M T 比でも立証される。

30

- ベースラインでナイーブな対象におけるブースター用量の追加の効果は、ベースラインで免疫の患者におけるよりもベースラインにナイーブな対象における方が持続可能である。

- 3 用量の主要なスケジュール後 4 ~ 5 年で投与されたブースターの注射は、反応原性に関して、C Y D 1 3 および C Y D 3 0 で投与された第 1 の C Y D デング熱ワクチン注射とほとんど同様である。

40

【 0 1 8 5】

本出願において言及する配列

【 0 1 8 6】

【表 1 6】

表 1 6 配列表の配列

配列番号	配列
1	PUO 359 (TVP-1140) 野生株から誘導された血清型 1 のワクチン株の prM-E のヌクレオチド配列
2	PUO 218 野生株から誘導された血清型 2 のワクチン株の prM-E のヌクレオチド配列
3	PaH881/88 野生株から誘導された血清型 3 のワクチン株の prM-E ヌクレオチド配列
4	PaH 1228 (TVP 980) 野生株から誘導された血清型 4 のワクチン株の prM-E ヌクレオチド配列
5	MD1280 野生株 (CYD-2V) から誘導された血清型 2 のワクチン株の prM-E のヌクレオチド配列
6	VDV1 株の全ヌクレオチド配列
7	VDV2 株の全ヌクレオチド配列

10

20

【 0 1 8 7】

上のリストに挙げたヌクレオチド配列は、リストに挙げられたデング熱ウイルスのプラスのストランド RNA (すなわち対応するウイルスの粒子で見出されるヌクレオチド配列) を構成する。等価の DNA 配列 (それは、操作して対応するウイルスを発現されるために使用することができて、本出願の開示の一部も形成する) は、ヌクレオチドの U を、ヌクレオチドの T で置き換えることにより生成することができる。そのような DNA 配列が対応するデング熱ウイルスの cDNA 配列を構成する。

【配列表】

0007313345000001.app

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 Q 1/70 (2006.01)

C 1 2 Q 1/70

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

C 1 2 N 7/01

ウルグアイ国 1 1 3 0 0 . モンテビデオ . ファン・ベニート・ブランコ 7 7 7 / 5 0 3

(72)発明者 フェルナンド・ノリエガ

アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 8 3 2 6 . クレスコ . ピーオーボックス 1 2 8

(72)発明者 アイン・トゥラム・ワルテル

シンガポール国 3 0 9 5 5 5 シンガポール . ユニット 2 8 . イースト・チャンセリー・レーン 3 3
. チャンセリー・レジデンス

審査官 宮岡 真衣

(56)参考文献 特表 2 0 1 5 - 5 2 4 4 2 1 (J P , A)

GUY, B. et al , From research to phase III: Preclinical, industrial and clinical development of
the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine , Vaccine , 2011年 , Vol.29 , pp.7229-7241

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0