

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3980652号
(P3980652)

(45) 発行日 平成19年9月26日(2007.9.26)

(24) 登録日 平成19年7月6日(2007.7.6)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 39/10 (2006.01) A 6 1 K 39/10
A 6 1 K 39/05 (2006.01) A 6 1 K 39/05
A 6 1 K 39/08 (2006.01) A 6 1 K 39/08
A 6 1 K 39/29 (2006.01) A 6 1 K 39/29

請求項の数 7 (全 10 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平10-521070 (86) (22) 出願日 平成9年11月4日(1997.11.4) (65) 公表番号 特表2001-503422(P2001-503422A) (43) 公表日 平成13年3月13日(2001.3.13) (86) 国際出願番号 PCT/EP1997/006180 (87) 国際公開番号 W01998/019702 (87) 国際公開日 平成10年5月14日(1998.5.14) 審査請求日 平成14年10月21日(2002.10.21) (31) 優先権主張番号 9623233.5 (32) 優先日 平成8年11月7日(1996.11.7) (33) 優先権主張国 英国(GB)</p>	<p>(73) 特許権者 スミスクライン ビーチャム バイオロジ カルズ ソシエテ アノニム ベルギー国, ベー—1330 リクサンサ ール, リュ ドウ ランスティテュ 89</p> <p>(74) 代理人 弁理士 石田 敬</p> <p>(74) 代理人 弁理士 鶴田 準一</p> <p>(74) 代理人 弁理士 中村 和広</p> <p>(74) 代理人 弁理士 西山 雅也</p> <p>(74) 代理人 弁理士 樋口 外治</p>
---	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ジフテリアー及び破傷風毒素による無細胞百日咳ワクチン

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ジフテリア(D)、破傷風(T)、無細胞百日咳(Pa)抗原、及びアジュバントを含むブースターワクチン製剤であって、以下の組成：バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り、百日咳毒素(PT) 8 µg、繊維状ヘマグルチニン(FHA) 8 µg、ペルタクチン(69K) 2.5 µg、D(2.5Lf)及びT(5Lf)をもつ、前記ワクチン製剤。

【請求項 2】

1以上の追加の抗原をさらに含む、請求項1に記載のワクチン製剤。

【請求項 3】

前記追加の抗原がB型肝炎表面抗原である、請求項2に記載のワクチン製剤。

【請求項 4】

前記B型肝炎表面抗原が、B型肝炎表面抗原(HBsAg)のS-抗原である、請求項3に記載のワクチン製剤。

【請求項 5】

前記追加の抗原であって、b型インフルエンザ菌(Hib)、ポリオ又はA型肝炎感染の1以上に対する免疫を提供するものが存在する、請求項2に記載のワクチン製剤。

【請求項 6】

前記製剤中に使用されるアジュバントが水酸化アルミニウムを含む、請求項1~5のいずれか1項に記載のワクチン製剤。

【請求項 7】

10

20

前記製剤中に使用されるアジュバントがリン酸アルミニウムを含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のワクチン製剤。

【発明の詳細な説明】

本発明は、欧州特許第0 162 639号中に開示されたボルデテラ・ペルツシス (*Bordetella pertussis* 百日咳菌) の69kda外膜タンパク質 (以下、“69K”又は“69K抗原”又はペルタクチン (*pertactin*) といい、そして組換え69K (P69) がNF Fair weather et al, Symposium On Pertussis (Bethesda), 26-28 September 1990により記載されている。) の低投与量を含む新規のワクチン製剤に関する。本発明は、特に、1以上の抗原を含むワクチン、特に多価ワクチン、すなわち、69Kの低投与量が存在するところの、1以上の病的状態の改善又は治療のためのワクチンに関する。本発明は、医療におけるこのようなワクチンの製造及び使用にも関する。

10

69Kは、百日咳の有効な予防のための無細胞百日咳ワクチン (Paワクチン) の重要な成分であることが知られている。健康な成人における5つの無細胞百日咳ワクチンの投与量応答についての研究が、Keitel, W. et alにより1996年5月に米国National Institutes of Health (NIH) により公表されている。ジフテリア (D)、破傷風 (T) 及び百日咳 (Pa) に対する抗原を含む“3価”ワクチンを含む69K - 含有ワクチンは、イタリー及びスウェーデンで行われた臨床試験において記載されており、そして〔例えば、商標INFANRIX-DTPa (Smith Kline Beecham Biologicals) の下で〕市販されている。典型的には、上記ワクチンの百日咳成分は、百日咳毒素 (PT)、糸状ヘマグルチニン (*filamentous haemagglutinin* (FHA)) 及び69Kを含む。INFANRIX-DTPa (商標) 中、D : T : PT : FHA : 69Kの量比は、典型的には、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り25Lf : 10Lf : 25µg : 25µg : 8µgである。

20

69Kを含む他の多価ワクチンも、知られており、例えば、B型肝炎に対する抗原並びにジフテリア、破傷風及び百日咳に対する抗原を含むワクチン (HepB, DTPa) は、W093/24148中に記載された。このような配合物中、D : T : PT : FHA : 69Kの量比は、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り、25Lf : 10Lf : 25µg : 25µg : 8µgとして与えられた。

ジフテリア毒素 (D)、破傷風毒素 (T)、PT、FHA及び69Kのそれぞれの低投与量を含むジフテリア、破傷風及び百日咳ワクチン (本明細書中、このような低投与量配合物をdtpaワクチンと略する。) が、例外的に低い反応原性 (*reactogenicity*) を示すという利点を有しながら、百日咳を防止する能力を維持し (そしてこれに関して高い有効性を有する) ということが今般発見された。本明細書中に記載された限定内で、上記ワクチンは、ヒト被検体に投与されるとき安全であり、そして感染に対する速い保護を引き起こす。dtpaと他の抗原を含む組合せワクチンにおいては、妨害は全く存在しないこと、すなわち、このようなワクチンは、免疫原性の損失を全く示さず、そしてヒトに投与されるとき有効であることが、発見された。

30

特に、本発明に掛かるワクチンは、D、T及びPa抗原の高投与量を含むワクチン、例えば、上記INFANRIX-DTPaワクチン (D : T : PT : FHA : 69K = バルク・ワクチン0.5ml投与量当り25Lf : 10Lf : 25µg : 25µg : 8µg) の1以上 (典型的には約3までの) 投与量の事前投与後のブースターとしての子供への投与のために好適である。本発明に掛かるワクチンは、成人及び若年者への投与のためにも大きな価値を有する。

40

従って、本発明は、抗原D、T、PT、FHA及び69Kのそれぞれの低投与量を含むワクチン組成物 (すなわち、dtpaワクチン組成物) を提供する。本発明に係るワクチン組成物は、好適な担体又はアジュバントと配合されると理解される。

dtpaワクチン又はdtpaワクチン組成物とは、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当りのDの濃度が5Lfを超えず、そして好ましくは、1~4Lf、より好ましくは、約2Lfであり；バルク・ワクチンの0.5mlの投与量当りのTの濃度が10Lfを超えず、そして好ましくは、2.5~7.5Lf、より好ましくは、約5Lfであり；バルク・ワクチンの0.5ml投与量当りのPTの濃度が10µgを超えず、そして好ましくは、2~10µg、より好ましくは、約8µgであり；バルク・ワクチンの0.5ml投与量当りFHAの濃度が10µgを超えず、そして好ましくは、2~10µg、より好ましくは、約8µgであり；そして69Kの濃度がバルク・ワクチンの

50

0.5ml投与量当り4マイクログラムを超えず、そして好ましくは、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り0.5 μ g ~ 3 μ gの範囲内にある投与量を意味する。より好ましくは、ワクチン中の69Kの濃度は、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り、2 ~ 3 μ gの範囲内にあり、より好ましくは、約2.5 μ gペンタクチンである。

1の側面においては、本発明に係るワクチン組成物は、例えば、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り(凡そ)、PT(2.5 μ g)、FHA(2.5 μ g)、69K(0.8 μ g)を包含することができる。

好ましい側面においては、本発明に係るワクチン組成物は、(凡そ)、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り、PT(8 μ g)、FHA(8 μ g)、69K(2.5 μ g)を包含する。

特に好ましい側面においては、本発明に係るワクチン組成物は、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り、PT(8 μ g)、FHA(8 μ g)、69K(2.5 μ g)、D(2Lf)及びT(5Lf)を包含する。これを、以下に報告する“dtpa005”試験において使用した。

他の好ましい側面においては、本発明に係るワクチン組成物は、2.5Lfまで増加されたD成分の量をもつ。

さらに好ましい側面においては、dtpa3成分ワクチン組成物は、以下のようなものである：

PT 8 μ g

FHA 8 μ g

69K 2.5 μ g

ジフテリア毒素 2IU

破傷風毒素 20IU

Al塩 0.3mg

フェノキシエタノール 2.5mg

これを、“dtpa003”として知られた若年層における試験において使用し、その結果を以下に与える。

場合により、上記PT成分は、(例えば、欧州特許出願EP第0 306 318号、EP第0 322 533号、EP第0 396 964号、EP第0 322 115号及びEP第0 275 689号中に記載されたように)組換え物であることができ、又は上記PT成分は、例えば、EP第0 515 415号中に記載されたように、毒性であることができる。百日咳抗原の調製のためには、EP第0 427 462号及びW09 1/12020をも参照のこと。

さらなる側面においては、本発明は、1以上の追加の抗原、特に、B型肝炎(HepB)に対する抗原との組合せにおいて(先に定義したような)dtpaを含むワクチン組成物(すなわち、HepB-dtpaワクチン)を提供する。このような多価ワクチンは、一般に、W093/24148中に記載されている。但し、先に定義したようなD、T、PT、FHA及び69Kのそれぞれの低投与量が、その配合物中に使用される。W093/24148中に記載されているように、上記B型肝炎抗原は、好ましくは、B型肝炎表面抗原である。

B型肝炎表面抗原の投与量は、通常、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り5 ~ 20 μ gの範囲内にあるであろう。

B型肝炎表面抗原(HBsAg)の調製は、よく文章化されている。例えば、Develop. Biol. Standard 54, page 125 (1983), Gregg et al in Biotechnology, 5, page 479 (1987), EP-A-0 226 846, EP-A-0 299 108並びにそれらの中の関連文献を参照のこと。

本明細書中に使用するとき、“B型肝炎表面抗原”又は“HBsAg”は、HBV表面抗原の抗原性を示すいずれかのHBsAg抗原又はその断片を含む。HBsAgS抗原(Tiollais et al, Nature, 317, 489 (1985)及びその中の関連文献参照)の226アミノ酸配列に加えて、HBsAgは、本明細書中に記載するとき、所望により、上記文献及びEP-A-0 278 940中に記載されているように、プレ-S配列の全部又は一部を含むと理解されるであろう。HBsAgは、本明細書中に記載するとき、変異体、例えば、W091/14703中に記載されている“エスケープ突然変異体(escape mutant)”をいうこともできる。さらなる側面においては、HBsAgは、欧州特許出願第0 414 374号中にL*として記載されたタンパク質、すなわち、そのアミノ酸配列がB型肝炎ウイルスのラージ(L)タンパク質(ad又はayサブタイプ)のアミノ酸

配列の部分から成るタンパク質であって、そのタンパク質のアミノ酸配列が：

(a) 上記 L プロテインの、残基 12 ~ 52、その後の残基 133 ~ 145、その後の残基 175 ~ 400 ; 又は

(b) 上記 L プロテインの、残基 12、その後の残基 14 ~ 52、その後の残基 133 ~ 145、その後の残基 175 ~ 400、

のいずれかから成ることを特徴とする前記タンパク質を包含することができる。

HBsAgは、EP第0 198 474号又はEP第0 304 578号中に記載されたポリペプチドをもいう。

通常、上記HBsAgは、粒子形態にあるであろう。それは、Sプロテインを単独で包含することができるし、又は複合粒子、例えば、(L^{*}, S) (ここで、L^{*}は、先に定義したものと同一であり、そしてSは、B型肝炎表面抗原のS - プロテインを表す。)として存在

10

することもできる。
好ましくは、上記HBsAgは、W093/24148中に記載されたようなリン酸アルミニウム上に吸着されるであろう。他の抗原は、リン酸アルミニウム又は水酸化アルミニウム上に吸着されることができ、ある場合には、満足すべき結果は、その他の抗原がリン酸アルミニウム上に吸着される場合にのみ得られるであろう。

他の抗原が、小児科学の、若年の又は成人の用途のための他の多価ワクチンを提供するために本発明に係るワクチン中に、含まれることができる。好適な上記の他の抗原は、例えば、W093/24148中に記載されたような、b型インフルエンザ菌 (Haemophilus influenzae b) (Hib) 及び / 又はポリオ (polio) (IPV) 及び / 又はA型肝炎 (hepatitis A) に対

20

する保護を提供するために本分野において知られたものを包含することができる。
上記ワクチン中での使用のために好適な成分は、既に商業的に入手可能であり、そして詳細は、世界保健機構 (World Health Organization) から得られることができる。例えば、上記IPV成分は、Salk不活性化ポリオ・ワクチンであることができる。A型肝炎に対する保護を与える成分は、好ましくは、HAVのHM - 175株由来の殺滅弱ワクチンである “Havrix” (Smith Kline Beecham Biologicals) として知られた製品である [“Inactivated Candidate Vaccines for Hepatitis A” by F.E. Andre, A Hepburn and E. D'Hondt, Prog Med. Virol. Vol 37, pages 72-95 (1990) 及びSmith Kline Beecham Biologicals (1991) により発行された製品モノグラフ “Havrix” (1991) を参照のこと。]。便利には、B型肝炎成分は、商業的ワクチン “Engerix - B” (Smith Kline Beecham Biologicals) 中に既に存在するような “S” 抗原を包含することができる。

30

各ワクチン投薬中の抗原量は、典型的なワクチンにおいてかなりの有害な副作用を伴わずに免疫保護応答を引き起こす量として選ばれる。このような量は、どの特異的免疫原が使用されるかに依存して変わるであろう。一般に、各投与量は、15 ~ 50 µg の合計免疫原を包含するであろうと予想される。ブースター注射が与えられる。全細胞百日咳 (Pw) を含むワクチンによりプライムされた被検体における本発明に係るワクチンのブースター注射は、無細胞百日咳 (Pa) を含むワクチンによりプライムされた被検体におけるものと同様の効果をもつ。

一般に、本発明のいずれかの側面のワクチン製剤を以下のように調製することができる。要求される成分は、好適なアジュバント、最も特に水酸化アルミニウム又はリン酸アルミニウム上に吸着される。対応の成分の完全、かつ、安定した吸着のための時間を与えた後、異なる成分を適切な条件下に組み合わせることができる。

40

本発明に係る組合せB型肝炎含有ワクチン組成物の、好ましい製造側面においては、リン酸アルミニウムに吸着されたHBsAgと1以上の水酸化アルミニウム又はリン酸アルミニウム吸着抗原とを混合することを含む方法が提供される。

以下の実施例は、本発明を例示する：

実施例 1 : dtpaワクチン製剤の調製及び成人における試験

本発明に係るdtpaワクチンを、W093/24148中に記載された高投与量DTPaワクチンを配合するための手順に従う標準的な方法論により調製した。

“ dtpa005 ” とコードした成人における臨床試験における上記ワクチンを用いて得られた結果を、添付の図面に示す。ここで、dtpaは、本発明に係るワクチンを表すために使用し

50

、そしてPRNは、ペルタクチン（69K）についての略号である。略号dTを、低投与量のジフテリア毒素及び高投与量の破傷風毒素を包含するBehring werkeから得られた標準的なジフテリア - 破傷風ワクチンを表すために使用する。

開放の、ランダムな単一投与試験を、60被験者におけるdT（Behring）に比較して、60被験者における上記のように配合したdtpaを使用してベルギーにおいて18～45歳の成人において行った。

dtpa群について、28人の女性を試験し（平均年齢33歳）、そして32人の男性を試験した（平均年齢33歳）。dT群については、32人の女性を試験し（平均年齢34歳）、そして28人の男性を試験した（平均年齢35歳）。

最近10年以内にジフテリア、破傷風又は百日咳腫痘又は最近5年以内に百日咳を患った者を除外した。 10

腫痘前及び1月後に血清を得た。15日後に追跡調査を請求し、30日後には追跡調査を請求しなかった。

反応原性（Reactogenicity）データ、抗体応答、抗 - PT結果、抗 - FHA結果及び抗 - PRN（ペルタクチン）結果を添付図面に示す。

添付図面中に、Keitel et al.により報告されたNIH（AAPPT）において使用された1価Paワクチンについての結果をも示す。Smith Kline Beecham's（SB's）High, Medium（SB-Med）及びLow製剤は、それぞれ、PT（25 μ g）、FHA（25 μ g）及び69K（8 μ g）（High）；PT（8 μ g）、FHA（8 μ g）及び69K（2.5 μ g）（Medium）；及びPT（2.5 μ g）、FHA（2.5 μ g）及び69K（0.8 μ g）（Low）を含有している。 20

略号“ μ g”はマイクログラムを表す。

本発明に係るdtpaワクチンは成人において完全、かつ、免疫原性であることが分かる。さらに、成人における本発明に係る候補ワクチンに対する免疫応答は、米国、ドイツ及びイタリアの幼児に先に投与された公知の高投与量DTPaワクチンについて観察されたよりも少なくとも数倍高いものであった。

実施例2：若年層における試験（“dtpa003”）

開放の、ランダムな単一投与試験を、120被検体におけるdT（フィンランド）に比較して、120被検体において上記のように配合したdtpaを使用してフィンランドの10～12歳の若年において行った。本発明に係るdtpaワクチンの同一ロットをdtpa005とdtpa003試験の両方において使用した。 30

商業的に入手可能な（フィンランド）dTは、ジフテリア毒素 4 IU、破傷風毒素 40 IUを含有していた。

dtpa群について、70人の女性を試験し（平均年齢10.9歳）、そして49人の男性を試験した（平均年齢10.8歳）。dT群について、62人の女性を試験し（平均年齢10.9歳）、そして56人の男性を試験した（平均年齢11.0歳）。

上記試験に含まれた被検体は、人生の最初の2年間以内に4投薬までのDTPaを受容していた。人生の第2年目後にD、T又はP腫痘を受け又は、ジフテリア、破傷風又は百日咳の病歴をもつ被検体を本試験から除外した。

腫痘前及び1月後に血清を得て、15日後に追跡調査を請求し、30日後に追跡調査を請求しなかった。 40

反応原性データ、抗原応答、抗 - PT結果、抗 - FHA結果及び抗 - PRN（ペルタクチン）結果を添付図面中に示す。

本発明に係るdtpaワクチンが若年において安全、かつ、免疫原性であることが分かる。

注：図面中、成人（dtpa005）における試験についての及び若年（dtpa003）における試験についての抗体応答に関する結果は、免疫原性の総合的分析に含まれる被検体の個々の腫痘前及び腫痘後抗 - ジフテリア及び抗 - 破傷風抗体の力価の分析を示している（0.1 IU/mlが、保護について決定されたカット - オフである。）。また、IU/mlにおける、幾何平均抗 - ジフテリア及び抗 - 破傷風抗体力価も与えられる。

抗 - PT、抗 - FHA及び抗 - PRN力価を説明するdtpa005及びdtpa003試験についての図面は、免疫原性の総合的分析に含まれる被検体のワクチン成分PT、FHA及びPRNについての（被検 50

体の合計数 - n - の%における)ワクチン応答率及び(EU/mlにおける)幾何平均抗体力価(GMT)を示している。

実施例3: HepB-dtpaワクチンの調製

上記配合物を、W093/24148の実施例5におけるものと正確に同じ方法で調製した。但し、先に定義したようなD, T, PT, FHA及び69Kの低投与量を、バルク・ワクチンの0.5ml投与量を調製するために使用した。

好ましい組成物においては、dtpaの量は、凡そ以下のようなものであった。バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り、PT(8µg)、FHA(8µg)、69K(2.5µg)、D(2Lf)及びT(5Lf)。

他の好ましい組成物においては、Dの量を、2.5Lfに増加させた。

上記ワクチン組成物中のB型肝炎表面抗原の量は、5~20µgで変わり、そして典型的には、バルク・ワクチンの0.5ml投与量当り10µgである。

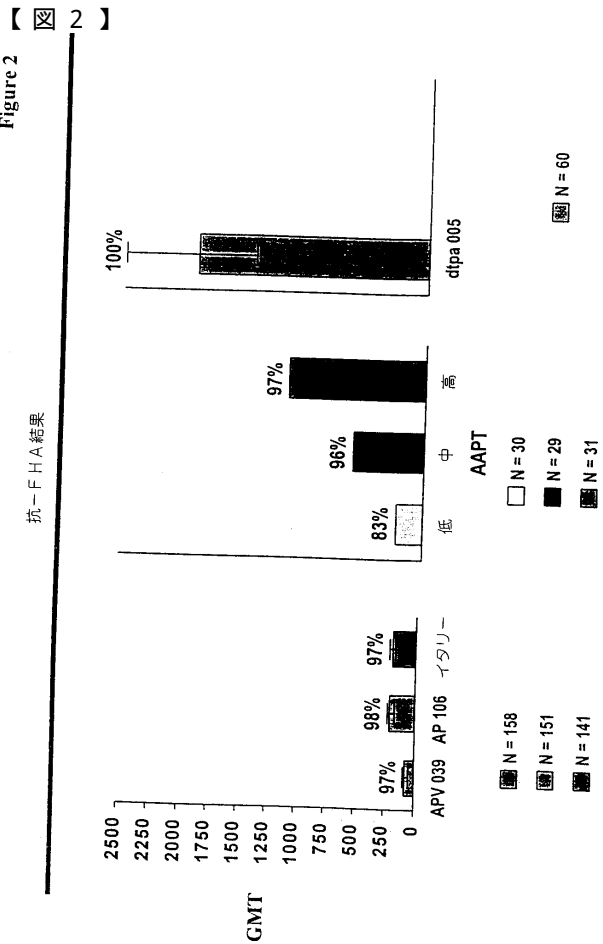
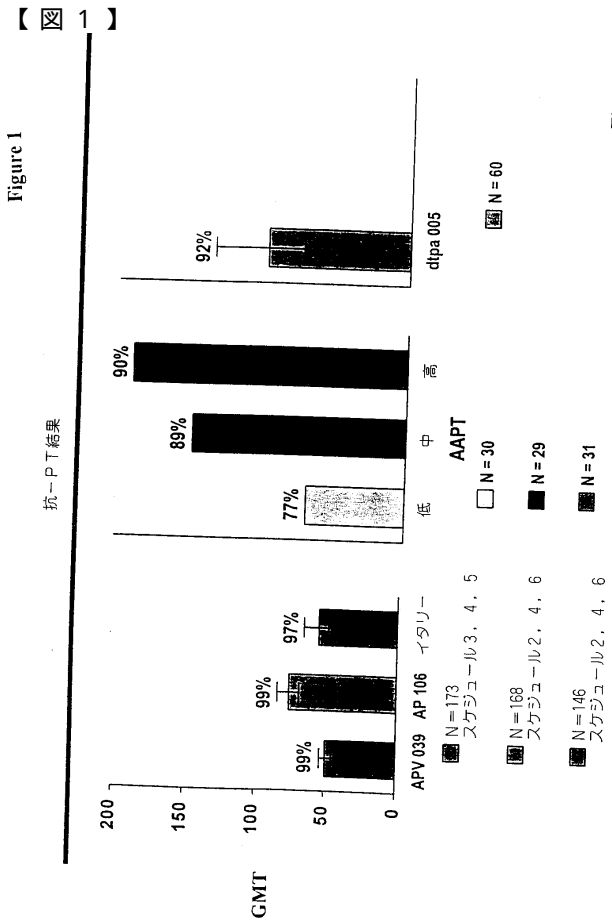


Figure 3

抗-PRN結果

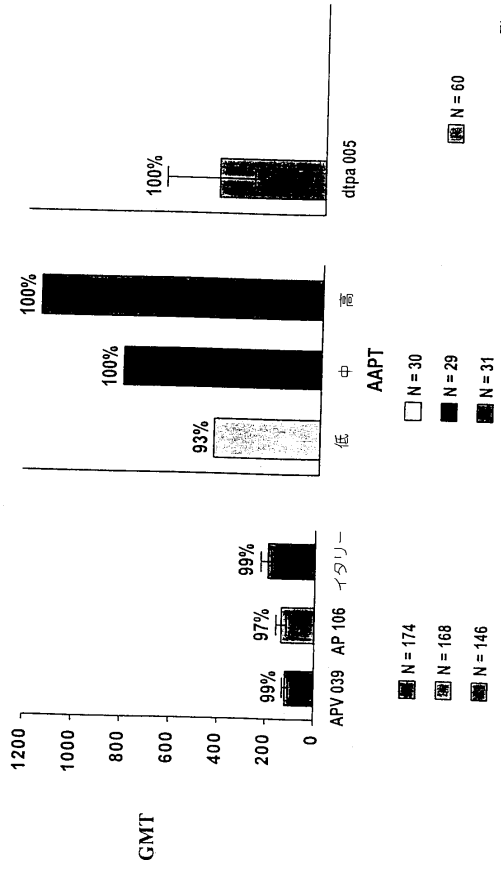
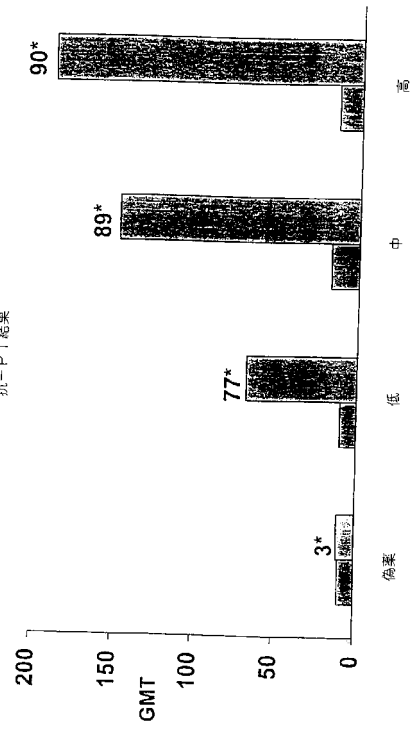


Figure 4

抗-P-T結果



S.B.1.1 種 P.A.-A.P.T. 1996 による免疫感作後の、
アレー及びホスト-血清抗体応答

* ≥ 4倍リンスを用いた%

Figure 5

アレー及びホスト-血清抗体応答 (続き)
A.A.P.T., 1996

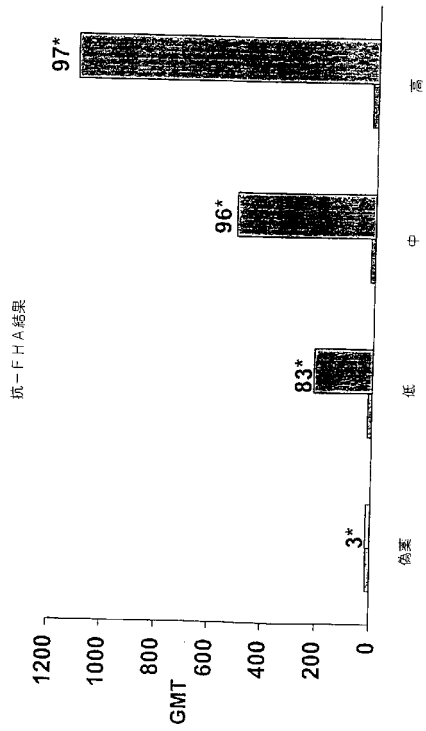
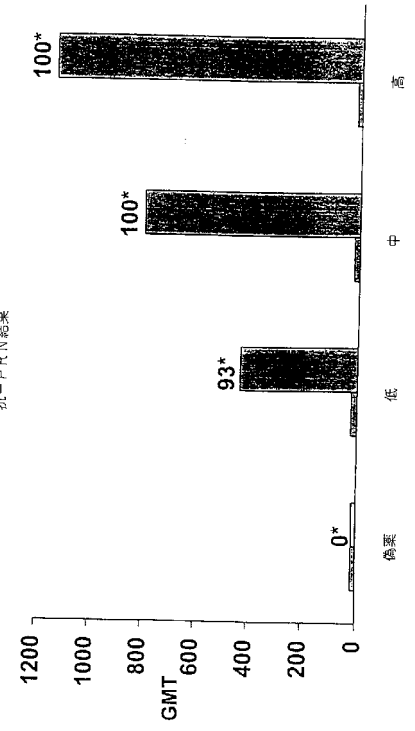


Figure 6

アレー及びホスト-血清抗体応答 (続き)
A.A.P.T., 1996

抗-PRN結果



* ≥ 4倍リンスによる%

Figure 9

AAPT-反応原性

%記録

痛み 週1	中程度の痛み 週1	紅斑 週1	痛み 週2-4	紅斑 週2-4
90	10	10	17	3
19	3	3	3	0

SB-Med (N=31)

偽薬 (N=31)

- 重度の有害事件はない
- 重度の痛みはない
- じんましん性丘疹をもつ2被験体 (日1-4 ; 日18-22)

Figure 7

dtpa 005反応原性

%記録

痛み	dtpa	dT
≤48時間	58	60
15日間	60	60
重症	0	0
赤み		
≤48時間	30	37
15日間	30	37
> 20 MM	17	20
はれ		
≤48時間	30	37
15日間	30	37
> 20 MM	5	8.3
熱		
≤48時間	7	7
15日間	8	8
>39°C	0	0

Figure 8

dtpa 005

抗-D	dtpa	dT
無し		
≥ 0.1	44%	44%
ポスト		
≥ 0.1	80%	78%
GMT	0.85	0.81
抗-T		
無し		
≥ 0.1	88%	88%
ポスト		
≥ 0.1	97%	100%
GMT	7.37	13.60

Figure 10

dtpa 003反応原性

%記録

痛み	dtpa	dT
≤48時間	69	70
15日間	69	70
重症	0	1
赤み		
≤48時間	12	20
15日間	12	20
> 30 MM	1	9
はれ		
≤48時間	12	28
15日間	13	30
> 30 MM	7	15
熱		
≤48時間	5	6
15日間	13	15
> 39°C	0	1

Figure 11

抗体応答 dtpa 003

抗-D	dtpa	dT
アジ		
≥ 0.1	72%	72%
ポスト		
≥ 0.1	100%	100%
GMT	3.3	10.5
抗-T		
アジ		
≥ 0.1	94%	99%
ポスト		
≥ 0.1	100%	100%
GMT	22.9	54.5

Figure 12

抗-P.T結果

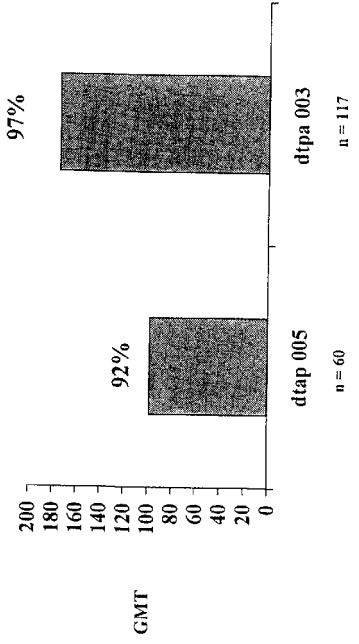


Figure 13

抗-F.H.A結果

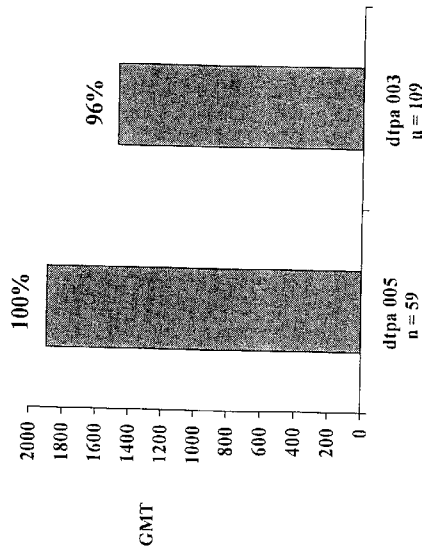
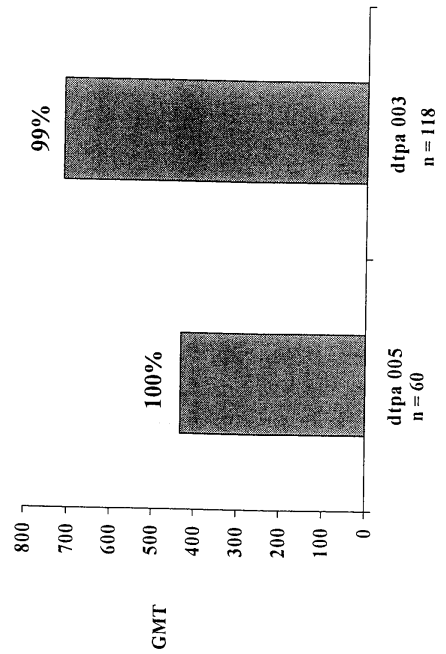


Figure 14

抗-P.R.N結果



フロントページの続き

- (72)発明者 フローラン, パトリック
ベルギー国, ベー 1330 リクサンサール, リュ ドゥ ランスティテュ 89, スミスクラ
イン ビーチャム バイオリジカルズ ソシエテ アノニム
- (72)発明者 ステファン, ジャン
ベルギー国, ベー 1330 リクサンサール, リュ ドゥ ランスティテュ 89, スミスクラ
イン ビーチャム バイオリジカルズ ソシエテ アノニム
- (72)発明者 バンデカセリエ, クリスチャン
ベルギー国, ベー 1330 リクサンサール, リュ ドゥ ランスティテュ 89, スミスクラ
イン ビーチャム バイオリジカルズ ソシエテ アノニム

審査官 川口 裕美子

(56)参考文献 特表平07-508267(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 39/00