



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년10월15일

(11) 등록번호 10-1450958

(24) 등록일자 2014년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/09 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7028547

(22) 출원일자(국제) 2010년03월17일

심사청구일자 2011년11월29일

(85) 번역문제출일자 2011년11월29일

(65) 공개번호 10-2012-0005537

(43) 공개일자 2012년01월16일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2010/051150

(87) 국제공개번호 WO 2010/125480

국제공개일자 2010년11월04일

(30) 우선권주장

61/174,068 2009년04월30일 미국(US)

61/238,313 2009년08월31일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

Cooper C L et al., Clin. Infect. Diseases, 46, pp1310-1314, 2008*

Kroon F P et al., Vaccine, Vol 19. pp886-894, 2000*

Feikin Daniel R et al., Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Vol 11, pp137-141, 2004*

WO2007071707 A2

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 46 항

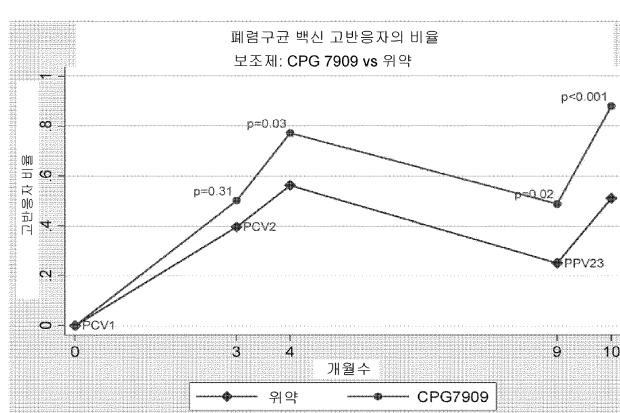
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 폐렴구균 백신 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 새로운 폐렴구균 백신에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 신규 폐렴구균 백신을 사용하여 폐렴구균 감염에 대해 대상, 특히 면역저하된 대상을 백신접종하는 것에 관한 것이다.

대 표 도



(72) 발명자

로세 니콜라이

덴마크 디케이-8022 아르허스 브랜드스트립가드베
100 아르허스 유니버시티 호스피탈 - 스케바이

오스터가르드 라르스

덴마크 디케이-8022 아르허스 브랜드스트립가드베
100 아르허스 유니버시티 호스피탈 - 스케바이

숀헤이더 헨리크 칼

덴마크 디케이-8022 아르허스 브랜드스트립가드베
100 아르허스 유니버시티 호스피탈 - 스케바이

소가르드 올레 슈멜츠

덴마크 디케이-8022 아르허스 브랜드스트립가드베
100 아르허스 유니버시티 호스피탈 - 스케바이

특허청구의 범위

청구항 1

HIV 감염 또는 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)을 앓고 있고, 치료를 받고 있는 면역저하된 인간 대상에서 스트렙 토크커스 뉴모니아(Streptococcus pneumoniae) 감염에 의해 야기된 질환의 예방 또는 치료를 위한 폐렴구균 백신으로서,

상기 치료가 비-뉴클레오시드 역전사효소 억제제, 프로테아제 억제제 및 뉴클레오시드 유사 역전사효소 억제제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 항레트로바이러스 약물을 복용하는 것으로 이루어지고,

상기 폐렴구균 백신이 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드, 및 보조제로서 하나 이상의 톤-유사 수용체 9(TLR-9) 작용물질을 포함하며,

상기 TLR-9 작용물질이 CpG 올리고뉴클레오티드이고, 5' TCGTCGTTTCGGTGCCTT 3'(서열번호: 3), 5' TCGTCGTTTCGGTCGTTT 3'(서열번호: 4), 5' TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT 3'(서열번호: 5), 5' TCGTCGTTCGTCGTTGTCGTT 3'(서열번호: 6) 및 5' TCGTCGTTGTCGTTTCGA 3'(서열번호: 7)로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 서열을 갖는,

폐렴구균 백신.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제 1 항에 있어서,

CpG 올리고뉴클레오티드가 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 폐렴구균 백신: 5'
 T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*G*C*T*T*T
 T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*C*G*T*T*T
 T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T
 T*C*G*T*C*G*T*T*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T
 T*C*G*T*C*G*T*T*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T
 T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*T*T*T*T*T*C*G*A 3'(서열번호: 12)(여기서, *는 포스포로티오에이트 결합을 나타낸다).

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

제 1 항에 있어서,

0.2 내지 10 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 60

삭제

청구항 61

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 62

삭제

청구항 63

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

제 1 항에 있어서,

각각의 백신 용량중 결합체의 양이 각각의 사카라이드-단백질 결합체 0.1 내지 1000 μg 인 폐렴구균 백신.

청구항 69

제 1 항에 있어서,

각각의 용량이 0.1 내지 20 μg , 1 내지 10 μg 또는 1 내지 5 μg 의 사카라이드를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 70

제 1 항에 있어서,

각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드를 0.1 내지 20 μg , 0.5 내지 10 μg , 0.5 내지 5 μg 또는 1 내지 5 μg 사카라이드의 용량으로 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 71

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 72

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 73

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 74

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 75

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 76

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 77

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트랩토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 78

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량으로 존재하는 폐렴구균 백신.

청구항 79

제 1 항에 있어서,

5 내지 500 μg 의 CRM197 담체 단백질을 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 80

제 1 항에 있어서,

20 내지 50 μg 의 CRM197 담체 단백질을 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 81

제 1 항에 있어서,

40 내지 100 μg 의 CRM197 담체 단백질을 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 82

제 1 항에 있어서,

염화나트륨 및/또는 숙신산나트륨 완충제를 부형제로 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 83

제 1 항에 있어서,

하나 이상의 틀-유사 수용체 9 작용물질 보조제에 더하여 1, 2 또는 3개 이상의 보조제를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 84

제 1 항에 있어서,

추가의 보조제를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 85

제 1 항에 있어서,

하나 이상의 틀-유사 수용체 9 작용물질 보조제에 대한 추가의 보조제로서 알룸, 수산화알루미늄, 인산알루미늄 또는 황산알루미늄을 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 86

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 0.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 87

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 1 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 88

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 1.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 89

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 2 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 90

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 0.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 91

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 1 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 92

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 1.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 93

제 1 항에 있어서,

CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하고, 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드가, 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량으로 존재하며, 추가로 2 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 부형제로서 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

제 1 항에 있어서,

상기 뉴클레오시드 유사 역전사효소 억제제가 아바카비르(abacavir)인, 폐렴구균 백신.

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

제 1 항에 있어서,

백신접종될 면역저하된 인간 대상이 55세 이상 연령의 성인 인간인, 폐렴구균 백신.

청구항 121

제 1 항에 있어서,

백신접종될 면역저하된 인간 대상이 70세 이상, 75세 이상, 또는 80세 이상 연령의 성인 인간인, 폐렴구균 백신.

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

제 1 항에 있어서,

백신접종될 면역저하된 인간 대상이 5×10^9 세포/L 미만, 또는 4×10^9 세포/L 미만, 또는 3×10^9 세포/L 미만, 또는 2×10^9 세포/L 미만, 또는 1×10^9 세포/L 미만, 또는 0.5×10^9 세포/L 미만, 또는 0.3×10^9 세포/L 미만, 또는 0.1×10^9 세포/L 미만의 백혈구 세포 수(백혈구 수)를 갖는, 폐렴구균 백신.

청구항 131

삭제

청구항 132

제 1 항에 있어서,

백신접종될 면역저하된 인간 대상이 2×10^9 세포/L 미만, 또는 1×10^9 세포/L 미만, 또는 0.5×10^9 세포/L 미만, 또는 0.1×10^9 세포/L 미만, 또는 0.05×10^9 세포/L 미만의 호중구수를 갖는, 폐렴구균 백신.

청구항 133

제 1 항에 있어서,

백신접종될 면역저하된 인간 대상이 $500/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $300/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $200/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, $100/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, $75/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $50/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수를 갖는, 폐렴구균 백신.

청구항 134

제 1 항에 있어서,

면역저하된 인간 대상이 인간 남성 또는 인간 여성인, 폐렴구균 백신.

청구항 135

제 1 항에 있어서,

1 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함하는 폐렴구균 백신.

청구항 136

제 1 항에 있어서,

각각의 백신 용량중 결합체의 양이 각각의 사카라이드-단백질 결합체 2 내지 100 μg 인 폐렴구균 백신.

청구항 137

제 1 항에 있어서,

각각의 백신 용량중 결합체의 양이 각각의 사카라이드-단백질 결합체 4 내지 40 μg 인 폐렴구균 백신.

청구항 138

제 1 항에 있어서,

20 내지 100 μg 의 CRM197 담체 단백질을 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 139

제 1 항에 있어서,

25 내지 30 μg 의 CRM197 담체 단백질을 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 140

제 1 항에 있어서,

50 내지 60 μg 의 CRM197 담체 단백질을 함유하는 폐렴구균 백신.

청구항 141

제 1 항에 있어서,

백신접종될 면역저하된 인간 대상이 65세 이상 연령의 성인 인간인, 폐렴구균 백신.

명세서**기술분야**

[0001] 본 발명은 새로운 폐렴구균 백신에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 신규 폐렴구균 백신을 사용하여 폐렴구균 감염에 대해 대상, 특히 면역저하된 대상을 백신접종하는 것에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 폐렴구균성 질환은 전세계적으로 주된 대중 건강 문제이다. 폐렴구균에 의해 야기된 감염은 전세계적으로 유병률 및 사망률의 주 원인이다. 폐렴, 열성 세균혈증 및 뇌수막염이 침습성 폐렴구균성 질환의 가장 흔한 징후인 반면, 기도내 세균 확산은 중이염, 부비강염 또는 재발성 기관지염을 유발할 수 있다. 침습성 질환에 비해, 비-침습성 징후는 통상적으로 덜 심각하지만 훨씬 더 보편적이다. 폐렴구균성 질환의 중요성에도 불구하고, 특히 개발도상국으로부터 질환 부담에 대한 정보가 부족하다. 이것은 부분적으로는 폐렴의 경우에 병인학적 진단을 수득하는 고유한 문제에 기인한다. 그러나, 이용 가능한 데이터를 기초로, 금성 호흡기 감염은 매년 5세 이하의 추정상 260만명의 어린이를 사망시키고 있다. 폐렴구균은 영아 전기의 가장 중요한 병원균일 것이다. 유럽 및 미국에서, 폐렴구균성 폐렴은 매년 십만명의 성인당 약 100명에게 영향을 미치는 것으로 추정되는, 가장 흔한 지역사회-획득 세균성 폐렴이다. 열성 세균혈증 및 뇌수막염에 대한 상응하는 숫자는 각각 십만명당 15 내지 19 명 및 십만명당 1 내지 2명이다. 하나 이상의 상기 징후에 대함 위험은 유아 및 노인 뿐 아니라, 임의 연령의 면역 저하된 개인에서 훨씬 더 높다. 경제적으로 발전된 지역에서조차도, 침습성 폐렴구균성 질환은 높은 사망률을 가지며; 폐렴구균성 폐렴을 가진 성인의 경우 사망률은 평균 10 내지 20%에 이르며, 고위험군에서는 50%를 초과할 수도 있다. 폐렴은 지금까지 세계적으로 폐렴구균성 사망의 가장 흔한 원인이다. 폐렴구균성 질환의 병원체인 스트렙토코커스 뉴모니아(Streptococcus pneumoniae)(폐렴구균)은 폴리사카라이드 캡슐에 의해

둘러싸인 그람-양성 캡슐화 구균이다. 상기 캡슐의 조성의 차이가 약 90가지 캡슐 유형들 사이에 혈청학적 구별을 가능케 하며, 상기 캡슐 유형의 일부는 흔히 폐렴구균성 질환과 관련되며 나머지는 드물다. 침습성 폐렴 구균 감염으로는 폐렴, 뇌수막염 및 열성 세균혈증이 포함되며; 흔한 비-침습성 징후중에는 중이염, 부비강염 및 기관지염이 있다. 폐니실린, 세팔로스포린 및 마크롤라이드와 같은 필수 항균제에 대한 폐렴구균 내성을 전 세계적으로 심각하고 급속히 증가하는 문제이다. 중증 폐렴구균성 질환의 증가된 위험과 관련된 조건으로는 연령의 극단성(유아, 노인) 및 다음을 포함하여(이로 제한되지는 않는다) 어떤 이유로든 면역저하되는 것이 포함된다: HIV 감염, 다른 만성 바이러스 감염, 겸상적혈구 빈혈, 당뇨, 암 및 암 치료법, 흡연, 만성 장기 부전, 장기 이식 및 면역 억제 요법. 필수 항생물질에 대한 광범위한 미생물 내성의 최근의 발전 및 증가하는 수의 면역저하된 개인은 보다 효과적인 폐렴구균 백신에 대한 시급한 필요성을 뒷받침한다. 현재 백신접종의 몇몇 결점으로는 다음이 포함된다: 보호를 달성하기 위해 여러 부양체에 대한 필요성, 보호 항체의 발생의 지연, 백신 비-반응자(면역저하된 개체에 대해 특히 문제가 된다)의 우세, 새로운 결합 폐렴구균 백신의 개발에 매우 심각한 제한인 항원 및 백신 생산 비용, 낮은 친화도를 갖는 불량한 보호 항체, 시간 경과에 따라 저하되는 항체 역가. 본 발명의 새로운 폐렴구균 백신의 목적은, 특히, 폐렴구균 감염에 대해 면역저하된 대상을 백신접종할 목적으로, 상기 결점들의 적어도 일부를 해결하는 것이다.

발명의 내용

- [0003] 첫 번째 태양에서, 본 발명은 항원으로서 담체 단백질에 결합된 하나 이상의 폐렴구균 폴리사카라이드 항원 및 보조제로서 톨(Toll)-유사 수용체 9(TLR9)에 대한 작용물질을 포함하는 새로운 폐렴구균 백신에 관한 것이다.
- [0004] 또 다른 태양으로, 본 발명은 면역저하된 대상을 백신접종하기 위한, 항원으로서 담체 단백질에 결합된 하나 이상의 폐렴구균 폴리사카라이드 항원 및 보조제로서 TLR-9 작용물질을 포함하는 폐렴구균 백신의 용도에 관한 것이다.
- [0005] 한 태양에서, 본 발명은 면역저하된 대상, 바람직하게는 본원에 개시된 임의의 면역저하된 대상의 백신접종에 사용하기 위한, 본원에 개시된 임의의 폐렴구균 백신에 관한 것이다.
- [0006] 또 다른 태양에서, 본 발명은 면역저하된 대상, 바람직하게는 본원에 개시된 임의의 면역저하된 대상을 백신접종하기 위한, 본원에 개시된 임의의 폐렴구균 백신의 용도에 관한 것이다.
- [0007] 또 다른 태양에서, 본 발명은 바람직하게는 면역저하된 대상에서 스트렙토코커스 뉴모니에 감염에 의해 야기된 질환의 예방 또는 치료를 위한, 본원에 개시된 임의의 백신에 관한 것이다.
- [0008] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 면역저하된 대상에게 면역보호 용량의 본원에 개시된 임의의 백신을 투여하는 것을 포함하는, 스트렙토코커스 뉴모니에 감염에 의해 야기된 질환에 대해 대상, 바람직하게는 상기 대상을 면역화하는 방법에 관한 것이다.
- [0009] 또 다른 태양에서, 본 발명은 바람직하게는 면역저하된 대상에서 스트렙토코커스 뉴모니에 감염에 의해 야기된 질환의 예방 또는 치료를 위한 약제를 제조하기 위한, 본원에 개시된 임의의 백신의 용도에 관한 것이다.
- [0010] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 폐렴구균 백신 및 본원에 개시된 하나 이상의 TLR-9 작용물질에 관한 것이다.
- [0011] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 면역저하된 대상의 백신접종에 사용하기 위한, 본원에 개시된 임의의 폐렴구균 백신 및 본원에 개시된 하나 이상의 TLR-9 작용물질에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 폐렴구균 백신 고반응자의 비율을 나타낸 것이다.
- 도 2는 CPG 및 위약군 사이에 혈청형 9V에 대한 상대 IgG 반응의 차이를 나타낸 것이다.
- 도 3은 CPG 및 위약군 사이에 혈청형 14에 대한 상대 IgG 반응의 차이를 나타낸 것이다.
- 도 4는 CPG 및 위약군에서 비-PCV 혈청형 1에 대한 상대 IgG 반응을 나타낸 것이다.

도 5는 CPG 및 위약군에서 비-PCV 혈청형 7F에 대한 상대 IgG 반응을 나타낸 것이다.

도 6은 연구동안 기준선으로부터 CD4+ 세포수의 변화를 나타낸 것이다.

도 7, 8 및 9는 2차 폐렴구균 결합 백신 1개월후 여러 사이토카인에 대한 CPG 7909 군과 위약-보조군의 상대적 사이토카인 반응을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 틀-유사 수용체 9 작용물질(TLR-9 작용물질)

본 발명의 한 태양에서, 본 발명에 사용하기 위한 TLR-9 작용물질은 CpG 올리고뉴클레오티드이다. 본원에서 사용된 바와 같은 CpG 올리고뉴클레오티드는 면역자극성 CpG 올리고데옥시뉴클레오티드(CpG ODN)을 말하며, 따라서 상기 용어는 달리 언급되지 않는 한 상호교환적으로 사용된다. 면역자극성 CpG 올리고데옥시뉴클레오티드는, 선택적으로 특정한 바람직한 염기 상황내에서 비메틸화된 시토신-구아닌 다이뉴클레오티드인 하나 이상의 면역자극성 CpG 모티프를 함유한다. CpG 면역자극성 모티프의 메틸화 상태는 일반적으로 다이뉴클레오티드 중 시토신 잔기를 말한다. 하나 이상의 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 함유하는 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 포스페이트 결합에 의해 3' 구아닌에 연결된 5' 비메틸화 시토신을 함유하고 틀-유사 수용체 9(TLR-9)에 대한 결합을 통해 면역계를 활성화시키는 올리고뉴클레오티드이다. 또 다른 태양에서, 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 함유할 수 있으며, 이것은 TLR9를 통해 면역계를 활성화시키지만 CpG 모티프(들)이 비메틸화된 경우만큼 강하게는 아니다. CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 회문(palindrome)을 포함할 수 있으며, 상기 회분은 또한 CpG 다이뉴클레오티드를 포함할 수 있다. CpG 올리고뉴클레오티드는, 미국 특허 제 6,194,388; 6,207,646; 6,214,806; 6,218,371; 6,239,116; 및 6,339,068 호를 포함하여, 많은 허여된 특허, 공개된 특허출원 및 다른 출판물에 기술되었다. 다양한 부류의 CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드가 확인되었다. 이들은 A, B, C 및 P 부류로 지칭되며, 하기에 더 상세히 기술된다. 본 발명의 방법은 이들 다양한 부류의 CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드의 사용을 포함한다. 상기 부류 중 임의 부류는 그의 효능을 증대시키는 E 변형에 속할 수 있다. E 변형은 5' 말단 뉴클레오티드에 대한 할로겐 치환일 수 있으며; 상기 치환의 예로는 브로모-우리딘 또는 요오도-우리딘 치환이 포함되나 이로 한정되지는 않는다. E 변형은 또한 5' 말단 뉴클레오티드에 대한 에틸-우리딘 치환을 포함할 수 있다.

[0015] "A 부류" CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 형질세포양 수지상 세포(plasmacytoid dendritic cell, pDC)로부터 높은 수준의 인터페론-알파(IFN- α)를 유도하고 B 세포 활성화에 최소의 영향을 미치면서 NK 세포 활성화를 유도하는 능력에 의해 기능적으로 특징지워진다. 구조적으로, 상기 부류는 전형적으로 5' 및 3' 말단에 안정화된 폴리-G 서열을 갖는다. 상기 부류는 또한 6개 이상의 뉴클레오티드로 된 회문구조식 포스포다이에스터 CpG 다이뉴클레오티드-함유 서열을 갖는다. 예를 들면, 필수적인 것은 아니지만, 상기 부류는 하기의 6량체 회문서열 중 하나를 갖는다: 야마모토(Yamamoto) 등에 의해 기술된 GACGTC, AGCGCT 또는 AACGTT[Yamamoto S et al., J. Immunol 148:4072-4076 (1992)]. A 부류의 CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드 및 상기 부류의 전형적 서열은 미국 비-임시 특허출원 제 09/672,126 호 및 공개된 PCT 출원 PCT/US00/26527 호(WO 01/22990 호)에 기술되었으며, 이들은 둘 다 2000년 9월 27일에 출원되었다. 한 태양에서, 본 발명의 "A 부류" CpG 올리고뉴클레오티드는 하기의 핵산 서열을 갖는다: 5'-GGGGACGACGTCGTCGGGGG-3' (서열번호: 1). A-부류 올리고뉴클레오티드의 일부 비-제한 예로는 다음이 포함된다: 5' G*G*G_G_A_C_G_G_A_C_G_T_G_T_G_G*G*G*G*G* 3' (서열번호: 2)(여기서 *는 포스포로티오에이트 결합을 나타내며 _는 포스포다이에스터 결합을 나타낸다).

[0016] "B 부류" CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 IFN- α 및 NK 세포 활성화를 유도하는데 있어 비교적 약한 것을 제외하고 B 세포 및 pDC를 활성화시키는 능력에 의해 기능적으로 특징지워진다. 구조적으로, 상기 부류는 전형적으로 포스포로티오에이트 결합에 의해 충분히 안정화될 수 있지만, 상기 부류는 또한 바람직하게는 CpG 모티프(들)의 시토신 및 구아닌 사이에 하나 이상의 포스포다이에스터 결합을 가질 수 있으며, 이 경우, 분자는 반-연질(semi-soft)인 것으로 지칭된다. 한 태양에서, 본 발명에서 사용하기 위한 TLR-9 작용물질은 적어도 다음 식: 5' X₁X₂CGX₃X₄ 3' (여기서, X₁, X₂, X₃ 및 X₄는 뉴클레오티드이다)으로 나타내는 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드이다. 한 태양에서, X₂는 아데닌, 구아닌 또는 티민이다. 또 다른 태양에서, X는 시토신, 아데닌 또는 티민이다. 또 다른 태양에서, 본 발명에 사용하기 위한 TLR-9 작용물질은 적어도 다음 식: 5' N₁X₁X₂CGX₃X₄N₂ 3' (여기서, X₁, X₂, X₃ 및 X₄는 뉴클레오티드이고 N은 임의의 뉴클레오티드이고, N₁ 및 N₂는 각각 약 0 내지 25개

의 N'로 이루어진 핵산 서열이다)으로 나타내는 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드이다. 한 태양에서, X_1X_2 는 GpT, GpG, GpA, ApA, ApT, ApG, CpT, CpA, CpG, TpA, TpT 및 TpG로 이루어진 군에서 선택된 다이뉴클레오티드이고; X_3X_4 는 TpT, ApT, TpG, ApG, CpG, TpC, ApC, CpC, TpA, ApA 및 CpA로 이루어진 군에서 선택된 다이뉴클레오티드이다. 바람직하게, X_1X_2 는 GpA 또는 GpT이고, X_3X_4 는 TpT이다. 다른 태양에서, X_1 또는 X_2 또는 둘 다는 퓨린이고, X_3 또는 X_4 또는 둘 다는 퍼리미딘이거나, 또는 X_1X_2 는 GpA이고, X_3 또는 X_4 또는 둘 다는 퍼리미딘이다. 한 바람직한 태양에서, X_1X_2 는 TpA, ApA, ApC, ApG 및 GpG로 이루어진 군에서 선택된 다이뉴클레오티드이다. 또 다른 태양에서, X_3X_4 는 TpT, TpA, TpG, ApA, ApG, GpA 및 CpA로 이루어진 군에서 선택된 다이뉴클레오티드이다. 또 다른 태양에서, X_1X_2 는 TpT, TpG, ApT, GpC, CpC, CpT, TpC, GpT 및 CpG로 이루어진 군에서 선택되는 다이뉴클레오티드이고; X_3 는 A 및 TfH 이루어진 군에서 선택된 뉴클레오티드이고, X_4 는 뉴클레오티드이나, X_1X_2 가 TpC, GpT 또는 CpG인 경우, X_3X_4 는 TpC, ApT 또는 ApC가 아니다. 또 다른 바람직한 태양에서, CpG 올리고뉴클레오티드는 서열 5' TCN₁TX₁X₂CGX₃X₄ 3'를 갖는다. 일부 태양에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오티드는 GpT, GpG, GpA 및 ApA로 이루어진 군에서 선택되는 X_1X_2 및 TpT, CpT 및 TpC로 이루어진 군에서 선택되는 X_3X_4 를 포함한다. 본 발명의 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드 서열은 상기에서 광범위하게 기술한 것들 뿐 아니라, 공개된 PCT 특허출원 PCT/US95/01570 호 및 PCT/US97/19791 호 및 USP 6,194,388; 6,207,646; 6,214,806; 6,218,371; 6,239,116 및 6,339,068 호에 개시된 것들이다. 전형적인 서열로는 상기 후자의 출원 및 특허에 개시된 것들이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다. 한 태양에서, 본 발명의 "B 부류" CpG 올리고뉴크레오티드는 하기의 핵산 서열을 갖는다:

[0017] 5' TCGTCGTTTCGGTGCTTTT 3'(서열번호: 3) 또는

[0018] 5' TCGTCGTTTCGGTCGTTTT 3'(서열번호: 4) 또는

[0019] 5' TCGTCGTTTGTGCGTTTGTGCGTT 3'(서열번호: 5) 또는

[0020] 5' TCGTCGTTCGTCGTTTGTGCGTT 3'(서열번호: 6) 또는

[0021] 5' TCGTCGTTTGTGCGTTTTCGA 3'(서열번호: 7).

임의의 상기 서열에서, 모든 결합은 모두 포스포로티오에이트 결합이다. 또 다른 태양에서, 임의의 상기 서열에서, 결합들 중 하나 이상의 결합은 포스포다이에스터, 바람직하게는 반-연질 CpG 올리고뉴클레오티드가 되게 하는 CpG 모티프의 "C" 및 "G" 사이의 포스포다이에스터일 수 있다. 임의의 상기 서열에서, 에틸-우리딘 또는 할로겐은 5' T를 대신할 수 있으며, 할로겐 치환의 예로는 브로모-우리딘 또는 요오도-우리딘 치환이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다. B-부류 올리고뉴클레오티드의 일부 비-제한 예로는 다음이 포함된다:

[0023] 5'T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*G*C*T*T*T*T 3'(서열번호: 8) 또는

[0024] 5'T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*C*G*T*T*T*T 3'(서열번호: 9) 또는

[0025] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*C*T*C*G*T*T*T*T*G*C*T*T 3'(서열번호: 10) 또는

[0026] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T 3'(서열번호: 11) 또는

[0027] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T*T*T*T*C*G*A 3'(서열번호: 12) (여기서, *는 포스포로티오에이트 결합을 말한다).

"C 부류"의 CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 B 세포 및 NK 세포를 활성화시키고 IFN- α 를 유도하는 능력에 의해 기능적으로 특징지워진다. 구조적으로, 상기 부류는 전형적으로 하나 이상의 B 부류-유형 면역자극성 CpG 모티프를 갖는 영역, 및 문자가 2자(예를 들면, 스템-루프) 또는 3자(예를 들면, 이량체) 유형 구조를 형성하게 하는 GC-풍부 회문 또는 회문-유사 영역을 포함한다. 상기 올리고뉴클레오티드의 일부는 통상적인 "자극성" CpG 서열 및 "GC-풍부" 또는 "B-세포 중화" 모티프 둘 다를 갖는다. 상기 혼합 모티프 올리고뉴클레오티드는 대략 통상적인 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드(즉, B 세포 활성화 및 수지상 세포(DC) 활성화의 강한 유도)와 관련된 효과와 A 부류 CpG ODN(즉, IFN- α 및 NK 세포 활성화의 강한 유도, 그러나 B 세포 및 DC 활성화의 비교적 불충분한 유도)과 관련된 효과 사이에 속하는 면역 자극 효과를 갖는다[Krieg AM et al. Nature 374:546-549 (1995); Ballas ZK et al. J Immunol 157:1840-1845 (1996); Yamamoto S et al. J Immunol 148:4072-4076 (1992)]. C 부류의 혼합 모티프 면역 자극성 올리고뉴클레오티드는 완전히 안정화되거나(예를 들면, 모두 포스

포로티오에이트), 키메라성(포스포다이에스터 중심 영역)이거나 또는 반-연질(예를 들면, CpG 모티프내에 포스포다이에스터)인 주쇄를 가질 수 있다. 상기 부류는 2002년 8월 19일자로 출원된 미국 특허출원 US 10/224,523 호에 기술되었다. C 부류 CpG 올리고뉴클레오티드의 하나의 자극 영역 또는 모티프는 식: 5' X₁DCGHX₂ 3'로 정의된다. D는 C 이외의 다른 뉴클레오티드이다. C는 시토신이다. H는 G 이외의 다른 뉴클레오티드이다. X₁ 및 X₂는 0 내지 10개 뉴클레오티드 길이를 갖는 임의의 핵산 서열이다. X₁은 CG를 포함할 수 있으며, 이 경우 상기 CG 바로 앞에 T가 존재하는 것이 바람직하다. 일부 태양에서, DCG는 TCG이다. X₁은 바람직하게는 0 내지 6개 뉴클레오티드 길이를 갖는다. 일부 태양에서, X₂는 임의의 폴리 G 또는 폴리 A 모티프를 함유하지 않는다. 다른 태양에서, 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 5' 말단 및 3' 말단에서 폴리-T 서열을 갖는다. 본원에서 사용된 바와 같이, "폴리-A" 또는 "폴리-T"는 4개 이상의 연속 A 또는 T 각각의 연장부, 예를 들면, 5'AAAA3' 또는 5'TTTT3'를 말한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "폴리-G 말단"은 핵산의 5' 말단 및 3' 말단에서 발생하는 4개 이상의 연속 G의 연장부, 예를 들면, 5'GGGG3'를 말한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "폴리-G 올리고뉴클레오티드"는 식 5' X₁X₂GGGX₃X₄ 3'(여기서, X₁, X₂, X₃ 및 X₄는 뉴클레오티드이고, 바람직하게 X₃ 및 X₄ 중 적어도 하나는 G이다)를 갖는 올리고뉴클레오티드를 말한다. 상기 식 하에서 B 세포 자극 영역에 대한 일부 바람직한 설계는 TTTTCG, TCG, TTCG, TTTCG, TCGT, TTCGT, TTTCGT, TCGTCGT를 포함한다. C 부류 CpG 올리고뉴클레오티드의 제 2 모티프는 P 또는 N으로 지칭되며, X₁에 대해 5'에 근접하여 또는 X₂에 대해 3'에 근접하여 위치한다. N은 CGC 트라이뉴클레오티드로 시작하는 B 세포 중화 서열이며 10개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. B 세포 중화 모티프는 CG가 C보다 뒤에 오거나 G보다 앞에 오는[Krieg AM et al. Proc Natl Acad USA 95:12631-12636 (1998)] CpG 서열을 하나 이상 포함하거나, 또는 CG의 C가메틸화된 CG 함유 DNA 서열이다. 중화 모티프 또는 서열은 다른 비-자극성 모트피에 존재하는 경우 어느 정도의 면역자극 능력을 갖지만, 다른 면역자극성 모티프의 맥락에 존재하는 경우에는 상기 다른 모티프의 면역자극 잠재력을 감소시키는 작용을 한다. P는 10개 이상의 뉴클레오티드 길이를 갖는 GC-풍부 회문 함유 서열이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "회문" 및 동등하게 "회문 서열"은 역 반복, 즉, ABCDEE'D'C'B'A'(여기서, A 및 A', B 및 B' 등은 통상적인 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기쌍을 형성할 수 있는 염기들이다)와 같은 서열을 말한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "GC-풍부 회문"은 2/3 이상의 G 및 C의 염기 조성을 갖는 회문을 말한다. 일부 태양에서, GC-풍부 영역은 바람직하게는 3'에서 "B 세포 자극 영역"까지이다. 10-염기 길이의 GC 풍부 회문의 경우, 회문은 따라서 8개 이상의 G 및 C를 함유한다. 12-염기 길이의 GC 풍부 회문의 경우, 회문은 또한 8개 이상의 G 및 C를 함유한다. 14량체 GC-풍부 회문의 경우, 회문의 10개 이상의 염기가 G 및 C이다. 일부 태양에서, GC-풍부 회문은 오직 G 및 C로만 구성된다. 일부 태양에서, GC-풍부 회문은 81% 이상의 G 및 C의 염기 조성을 갖는다. 상기 10-염기 길이 GC-풍부 회문의 경우, 회문은 따라서 G 및 C로만 이루어진다. 상기 12-염기 길이 GC-풍부 회문의 경우, 회문의 10개 이상의 염기(83%)가 G 및 C인 것이 바람직하다. 일부 바람직한 태양에서, 12-염기 길이 GC-풍부 회문은 G 및 C로만 이루어진다. 14량체 GC-풍부 회문의 경우, 회문의 12개 이상의 염기(86%)가 G 및 C이다. 일부 바람직한 태양에서, 14-염기 길이 GC-풍부 회문은 G 및 C로만 이루어진다. GC-풍부 회문의 C는 비메틸화될 수 있거나 또는 메틸화될 수 있다. 일반적으로, 상기 영역은 3개 이상의 C 및 G, 보다 바람직하게는 각각 4개 이상, 가장 바람직하게는 각각 5개 이상을 갖는다. 상기 영역중 C 및 G의 수가 동일할 필요는 없다. C 및 G는 자가-상보성 이중체 또는 회문, 예를 들면, CCGCGCGG를 형성할 수 있도록 정렬되는 것이 바람직하다. 여기에 A 또는 T가 끼어들 수 있으나, 자가-상보성은 예를 들면, 모티프 CGACGTTCGTCG 또는 CGGCGCCGTGCCG에서와 같이 적어도 부분적으로 보존되는 것이 바람직하다. 상보성이 보존되지 않는 경우, 비-상보성 염기쌍은 TG인 것이 바람직하다. 바람직한 태양에서, 회문의 일부가 아닌 연속 염기는 3개 이하, 바람직하게는 2개 이하, 가장 바람직하게는 1개이다. 일부 태양에서, GC-풍부 회문은 하나 이상의 CGG 삼량체, 하나 이상의 CCG 삼량체 또는 하나 이상의 CGCG 사량체를 포함한다. 다른 태양에서, GC-풍부 회문은 CCCCCCGGGGGG 또는 GGGGGGCCCGGGG, CCCCCGGGGG 또는 GGGGGGCCCGG가 아니다. GC 풍부 영역의 하나 이상의 G는 이노신(I)으로 치환될 수 있다. 일부 태양에서, P는 하나 이상의 I를 포함한다. 특정 태양에서, 면역조절성 올리고뉴클레오티드는 다음의 식들 중 하나를 갖는다: 5'NX₁DCGHX₂ 3', 5' X₁DCGHX₂N 3', 5' PX₁DCGHX₂ 3', 5' X₁DCGHX₂P 3', 5' X₁DCGHX₂PX₃ 3', 5' X₁DCGHPX₃ 3', 5' DCGHX₂PX₃ 3', 5' TCGHX₂PX₃ 3', 5' DCGHPX₃ 3' 또는 5' DCGHP 3'. 본 발명은 식 5' N₁PyGN₂P 3'로 정의된 다른 면역 자극성 올리고뉴클레오티드를 제공한다. N₁은 1 내지 6개 뉴클레오티드 길이를 갖는 임의의 서열이다. Py는 피리미딘이다. G는 구아닌이다. N₂는 0 내지 30개 뉴클레오티드 길이의 임의의 서열이다. P는 10개 이상의 뉴클레오티드 길이를 갖는 서열을 함유하는 GC-풍부 회문이다. N₁ 및

N_2 는 50% 이상의 피리미딘, 보다 바람직하게는 50% 이상의 T를 함유할 수 있다. N_1 은 CG를 포함할 수 있으며, 이 경우 바람직하게는 상기 CG 바로 앞에 T가 존재한다. 일부 태양에서, N_1 PyG는 TCG, 가장 바람직하게는 TCGN₂(여기서, N_2 는 G가 아니다)이다. N_1 PyCN₂P는 하나 이상의 이노신(I) 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. N_1 에서 C 또는 G는 이노신으로 치환될 수 있으나, CpI는 IpG로 되는 것이 바람직하다. IpG와 같은 이노신 치환에 있어서, 최적 활성은 "반-연질" 또는 키메라성 주쇄의 사용에 의해 달성될 수 있으며, 이때 IG 또는 CI 사이의 결합은 포스포다이에스터이다. N_1 은 하나 이상의 CI, TCI, IG 또는 TIG 모티프를 포함할 수 있다. 특정 태양에서, N_1 PyGN₂는 TTTTCG, TCG, TTG, TTTG, TCGT, TTTCG 및 TCGTCGT로 이루어진 군에서 선택된 서열이다.

[0029] 한 태양에서, 본 발명의 "C 부류" CpG 올리고뉴클레오티드는 하기의 핵산 서열을 갖는다:

[0030] 5' TCGCGTCGTTCGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 13) 또는

[0031] 5' TCGTCGACGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 14) 또는

[0032] 5' TCGGACGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 15) 또는

[0033] 5' TCGGACGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 16) 또는

[0034] 5' TCGCGTCGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 17) 또는

[0035] 5' TCGACGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 18) 또는

[0036] 5' TCGACGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 19) 또는

[0037] 5' TCGCGTCGTTGGCGCGCG 3'(서열번호: 20) 또는

[0038] 5' TCGCGACGTTGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 21) 또는

[0039] 5' TCGTCGTTTCGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 22) 또는

[0040] 5' TCGTCGTTTCGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 23) 또는

[0041] 5' TCGTCGTTTACGGCGCGCG 3'(서열번호 24) 또는

[0042] 5' TCGTCGTTTCGGCGCGCGCG 3'(서열번호: 25).

[0043] 임의의 상기 서열에서, 모든 결합은 모두 포스포로티오에이트 결합이다. 또 다른 태양에서, 임의의 상기 서열에서, 결합 중 하나 이상은, 바람직하게는 반-연질 CpG 올리고뉴클레오티드가 되게하는 CpG 모티프의 "C" 및 "G" 사이에서 포스포다이에스터일 수 있다.

[0044] C-부류 올리고뉴클레오티드의 일부 비-제한 예로는 다음이 포함된다:

[0045] 5' T*C_G*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 26) 또는

[0046] 5' T*C_G*T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 27) 또는

[0047] 5' T*C_G*G*A*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 28) 또는

[0048] 5' T*C_G*G*A*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 29) 또는

[0049] 5' T*C_G*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 30) 또는

[0050] 5' T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 31) 또는

[0051] 5' T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 32) 또는

[0052] 5' T*C_G*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G 3'(서열번호: 33) 또는

[0053] 5' T*C_G*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 34) 또는

[0054] 5' T*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 35) 또는

[0055] 5' T*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C_G*C_G*C_G 3'(서열번호: 36) 또는

- [0056] 5' T*C*G*T*C_G*T*T*T*A*C_G*G*C*G*C_G*T*G*C*C*G 3'(서열번호: 37) 또는
- [0057] 5' T*C_G*T*C*G*T*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*T 3'(서열번호: 38) (여기서, *는 포스포로티오에이트 결합을 나타내고, _는 포스포다이에스터 결합을 나타낸다). 임의의 상기 서열에서, 애틸-우리딘 또는 할로겐이 5' T 대신 치환될 수 있으며; 할로겐 치환의 예로는 브로모-우리딘 또는 요오도-우리딘 치환이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다.
- [0058] "P 부류" CpG 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 WO2007/095316 호에 기술되었으며, 예를 들면, 5' 및 3' 말단 둘 다에 또는 그 부근에 완전 또는 불완전 회문과 같은 이중체 형성 영역을 함유하여 연쇄체와 같은 보다 높은 차원의 구조를 형성할 가능성을 부여한다는 점을 특징으로 한다. P-부류 올리고뉴클레오티드로 지칭되는 상기 올리고뉴클레오티드는 일부 경우에서 C-부류보다 훨씬 높은 수준의 IFN- α 분비를 유도하는 능력을 갖는다. P-부류 올리고뉴클레오티드는 시험관내 및/또는 생체내에서 자발적으로 연쇄체로 자가-구성되는 능력을 갖는다. 상기 분자들의 작용 방법에 대해 어떤 특정 이론에 결부되지 않으면서, 하나의 가능한 가정은 상기 성질이 P-부류 올리고뉴클레오티드에 특정 면역 세포 내부에서 TLR9를 보다 고도로 가교결합시키는 능력을 부여하여 이전에 기술된 부류의 CpG 올리고뉴클레오티드에 비해 명백한 패턴의 면역 활성화를 유도한다는 것이다.
- [0059] 한 태양에서, 본 발명에서 사용하기 위한 TLR-9 작용물질은 5' TLR 활성화 영역 및 2개 이상의 회문 영역을 함유하는 P 부류 CpG 올리고뉴클레오티드로서, 이때 상기 회문 영역 중 하나는 6개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는 5' 회문 영역이며 8개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는 3' 회문 영역에 직접 또는 스페이서를 통해 연결되고, 상기 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 YpR 다이뉴클레오티드를 포함한다. 한 태양에서, 상기 올리고뉴클레오티드는 T*C_G*T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G 3'(서열번호: 27)이 아니다. 한 태양에서, P 부류 CpG 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, TLR 활성화 영역은 TCG, TTG, TTTG, TYpR, TTYpR, TTTYpR, UCG, UUCG, UUUCG, TTT 또는 TTTT이다. 또 다른 태양에서, TLR 활성화 영역은 5' 회문 영역 내에 존재한다. 또 다른 태양에서, TLR 활성화 영역은 5' 회문 영역에 대해 5'에 근접하여 존재한다. 또 다른 태양에서, 5' 회문 영역은 8개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 또 다른 태양에서, 3' 회문 영역은 10개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 회문 영역은 10개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 또 다른 태양에서, 3' 회문 영역은 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 3' 회문 영역은 2개의 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 5' 회문 영역은 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 5' 회문 영역은 25 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 30 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 40 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 45 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 50 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 55 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 60 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 회문 영역은 65 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다.
- [0060] 한 태양에서, 2개의 회문 영역이 직접 연결된다. 또 다른 태양에서, 2개의 회문 영역은 3'-3' 결합에 의해 연결된다. 또 다른 태양에서, 2개의 회문 영역은 하나의 뉴클레오티드만큼 중복된다. 또 다른 태양에서, 2개의 회문 영역은 2개의 뉴클레오티드만큼 중복된다. 또 다른 태양에서, 2개의 회문 영역은 중복되지 않는다. 또 다른 태양에서, 2개의 회문 영역은 스페이서만큼 중복된다. 한 태양에서, 스페이서는 1 내지 50개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, 스페이서는 1개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, 스페이서는 비-뉴클레오티드 스페이서이다. 한 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 D-스페이서이다. 또 다른 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 링커이다. 한 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 식 5' XP₁SP₂T 3'를 가지며, 여기서 X는 TLR 활성화 영역이고, P₁은 회문이고, S는 스페이서이고, P₂는 회문이며, T는 0 내지 100개 뉴클레오티드 길이의 3' 꼬리이다. 한 태양에서, X는 TCG, TTG 또는 TTTG이다. 또 다른 태양에서, T는 5 내지 50개 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 또 다른 태양에서, T는 5 내지 10개 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 한 태양에서, S는 1 내지 50개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, S는 1 개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, S는 비-뉴클레오티드 스페이서이다. 한 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 D-스페이서이다. 또 다른 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 링커이다. 또 다른 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 리보자임이 아니다. 한 태양에서,

P_1 은 A 및 T가 풍부하다. 또 다른 태양에서, P_1 은 4개 이상의 T를 함유한다. 또 다른 태양에서, P_2 가 바람직한 회문이다. 또 다른 태양에서, P_2 는 G-C가 풍부하다. 또 다른 태양에서, P_2 는 CGGCGCX₁GCGCCG이고, 여기서 X_1 은 T이거나 없다. 한 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다. 또 다른 태양에서, 올리고뉴클레오티드의 모든 뉴클레오티드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이다. 또 다른 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 포스포다이에스터-유사 결합을 포함한다. 또 다른 태양에서, 포스포다이에스터-유사 결합은 포스포다이에스터 결합이다. 또 다른 태양에서, 친유성 기가 올리고뉴클레오티드에 결합된다. 한 태양에서, 친유성 기는 콜레스테롤이다. 한 태양에서, 본 발명에 사용하기 위한 TLR-9 작용물질은 5' TLR 활성화 영역 및 2개 이상의 상보성-함유 영역인 5' 및 3' 상보성-함유 영역을 갖는 P 부류 CpG 올리고뉴클레오티드이며, 상기 각각의 상보성-함유 영역은 8개 이상 뉴클레오티드의 길이를 가지며 서로에 직접 또는 스페이서를 통해 연결되며, 이때 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 피리미딘-퓨린(YpR) 다이뉴클레오티드를 포함하며 상보성-함유 영역의 하나 이상은 완전 회문이 아니다. 한 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, TLR 활성화 영역은 TCG, TTCG, TTTCG, TYpR, TTYP, TTYP, UCG, UUCG, UUUCG, TTT 또는 TTTT이다. 또 다른 태양에서, TLR 활성화 영역은 5' 상보성-함유 영역 내에 존재한다. 또 다른 태양에서, TLR 활성화 영역은 5' 상보성-함유 영역에 대해 5'에 근접하여 존재한다. 또 다른 태양에서, 3' 상보성-함유 영역은 10개 이상 뉴클레오티드의 길이이다. 또 다른 태양에서, 5' 상보성-함유 영역은 10개 이상 뉴클레오티드의 길이이다. 한 태양에서, 3' 상보성-함유 영역은 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 3' 상보성-함유 영역은 2개의 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 5' 상보성-함유 영역은 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 5' 상보성-함유 영역은 2개의 비메틸화 CpG 다이뉴클레오티드를 포함한다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 하나 이상의 뉴클레오티드 유사체를 포함한다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 문자내 이중체를 형성한다. 한 태양에서, 문자내 이중체는 하나 이상의 비-왓슨 크릭 염기쌍을 포함한다. 또 다른 태양에서, 비-왓슨 크릭 염기쌍은 G-T, G-A, G-G 또는 C-A이다. 한 태양에서, 상보성-함유 영역은 문자내 이중체를 형성한다. 또 다른 태양에서, 하나 이상의 문자내 이중체는 하나 이상의 비-왓슨 크릭 염기쌍을 포함한다. 또 다른 태양에서, 비-왓슨 크릭 염기쌍은 G-T, G-A, G-G 또는 C-A이다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 미스매치를 함유한다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 2개의 미스매치를 함유한다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 간접 뉴클레오티드를 함유한다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 상보성-함유 영역은 25 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 5' 및 3' 상보성-함유 영역은 30 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 40 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 45 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 50 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 55 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 60 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상보성-함유 영역은 65 이상의 이중체 안정성 값을 갖는다. 또 다른 태양에서, 2개의 상보성-함유 영역이 직접 연결된다. 또 다른 태양에서, 2개의 회문 영역은 3'-3' 결합을 통해 연결된다. 또 다른 태양에서, 2개의 상보성-함유 영역은 하나의 뉴클레오티드만큼 중복된다. 또 다른 태양에서, 2개의 상보성-함유 영역은 2개의 뉴클레오티드만큼 중복된다. 또 다른 태양에서, 2개의 상보성-함유 영역은 중복되지 않는다. 또 다른 태양에서, 2개의 상보성-함유 영역은 스페이서만큼 중복된다. 또 다른 태양에서, 스페이서는 1 내지 50개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, 스페이서는 1개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 한 태양에서, 스페이서는 비-뉴클레오티드 스페이서이다. 또 다른 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 D-스페이서이다. 또 다른 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 링커이다. 한 태양에서, P -부류 올리고뉴클레오티드는 식 5' XNSPT 3'를 가지며, 여기서 X 는 TLR 활성화 영역이고, N 은 비-완전 회문이고, P 는 회문이고, S 는 스페이서이고, T 는 0 내지 100개 뉴클레오티드 길이의 3' 꼬리이다. 또 다른 태양에서, X 는 TCG, TTCG 또는 TTTCG이다. 또 다른 태양에서, T 는 5 내지 50개 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 또 다른 태양에서, T 는 5 내지 10개 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 또 다른 태양에서, S 는 1 내지 50개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, S 는 1개 뉴클레오티드의 길이를 갖는 핵산이다. 또 다른 태양에서, S 는 비-뉴클레오티드 스페이서이다. 또 다른 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 D-스페이서이다. 또 다른 태양에서, 비-뉴클레오티드 스페이서는 링커이다. 또 다른 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 리보자임이 아니다. 또 다른 태양에서, N 은 A 및 T가 풍부하다. 또 다른 태양에서, N 은 4개 이상의 T를 함유한다. 또 다른 태양에서, P 는 바람직한 회문이다. 또 다른 태양에서, P 는 G-C가 풍부하다. 또 다른 태양에서, P_2 는 CGGCGCX₁GCGCCG이고, 여기서 X_1 은 T이거나 없다. 또 다른 태양에서,

올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다. 또 다른 태양에서, 올리고뉴클레오티드의 모든 뉴클레오티드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이다. 또 다른 태양에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 포스포다이에스터-유사 결합을 포함한다. 또 다른 태양에서, 포스포다이에스터-유사 결합은 포스포다이에스터 결합이다. 또 다른 태양에서, 친유성 기가 올리고뉴클레오티드에 결합된다. 한 태양에서, 친유성기는 클레스테롤이다.

[0061] 한 태양에서, 본 발명의 "P 부류" CpG 올리고뉴클레오티드는 다음의 핵산 서열을 갖는다: 5' TCGTCGACGATCGCGCGCGCCG 3' (서열번호: 39). 상기 서열에서, 모든 결합은 모두 포스포로티오에이트 결합일 수 있다. 또 다른 태양에서, 결합 중 하나 이상은, 바람직하게는 반-연질 CpG 올리고뉴클레오티드가 되게 하는 CpG 모티프의 "C" 및 "G" 사이의 포스포다이에스터일 수 있다. 임의의 상기 서열에서, 에틸-우리딘 또는 할로겐이 5'T 대신 치환될 수 있으며; 할로겐 치환의 예로는 브로모-우리딘 또는 요오도-우리딘 치환이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다. P-부류 올리고뉴클레오티드의 비-제한 예로는 다음이 포함된다: 5' T*C_G*T*C_G*A*C_G*A*T*C_G*G*C*G_C*G*C*G 3' (서열번호: 40) (여기서, *는 포스포로티오에이트 결합을 나타내고, _는 포스포다이에스터 결합을 나타낸다).

[0062] 한 태양에서, 본원에 개시된 CpG 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드간 결합은 모두 포스포다이에스터 결합이다 (PCT 출원 WO2007/026190 호에 기술된 바와 같은 "연질" 올리고뉴클레오티드). 또 다른 태양에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오티드는 분해에 내성이 된다(예를 들면, 안정화된다). "안정화된 올리고뉴클레오티드"는 생체내 분해(예를 들면, 엑소- 또는 엔도-뉴클레아제에 의한)에 대해 비교적 내성인 올리고뉴클레오티드를 말한다. 핵산 안정화는 주쇄 변형에 의해 달성될 수 있다. 포스포로티오에이트 결합을 갖는 올리고뉴클레오티드는 최대 활성을 제공하며 세포내 엑소- 및 엔도-뉴클레아제에 의한 분해로부터 올리고뉴클레오티드를 보호한다. 면역자극성 올리고뉴클레오티드는 포스포다이에스터 및 포스포로티오에이트 결합의 조합을 갖는 키메라성 주쇄를 가질 수 있다. 본 발명에 있어서, 키메라성 주쇄는 하나 이상의 뉴클레오티드간 결합이 포스포다이에스터 또는 포스포다이에스터-유사 결합이고 하나 이상의 다른 뉴클레오티드간 결합이 안정화된 뉴클레오티드간 결합이고, 하나 이상의 포스포다이에스터 또는 포스포다이에스터-유사 결합 및 하나 이상의 안정화된 결합이 상이한, 부분적으로 안정화된 주쇄를 말한다. 포스포다이에스터 결합이 CpG 모티프내에 우선적으로 위치하는 경우, 상기 문자를 PCT 출원 WO2007/026190 호에 기술된 바와 같이 "반-연질"이라 칭한다. 다른 변형된 올리고뉴클레오티드는 포스포다이에스터, 포스포로티오에이트, 메틸포스포네이트, 메틸포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트 및/또는 p-에톡시 결합의 조합을 포함한다. 보라노포스포네이트 결합이 포스포다이에스터 결합에 비해 안정화되는 것으로 보고되었으므로, 주쇄의 키메라 특성에 있어서, 보라노포스포네이트 결합은 상황에 따라 포스포다이에스터-유사로 또는 안정화된 것으로 분류된다. 예를 들면, 본 발명에 따른 키메라성 주쇄는, 일부 태양에서, 하나 이상의 포스포다이에스터(포스포다이에스터 또는 포스포다이에스터-유사) 결합 및 하나 이상의 보라노포스포네이트(안정화된) 결합을 포함한다. 다른 태양에서, 본 발명에 따른 키메라성 주쇄는 보라노포스포네이트(포스포다이에스터 또는 포스포다이에스터-유사) 및 포스포로티오에이트(안정화된) 결합을 포함할 수 있다. "안정화된 뉴클레오티드간 결합"은 포스포다이에스터 뉴클레오티드간 결합에 비해 생체내 분해(예를 들면, 엑소- 또는 엔도-뉴클레아제)에 비교적 내성인 뉴클레오티드간 결합을 의미한다. 바람직한 안정화된 뉴클레오티드간 결합으로는 제한하지 않고 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트, 메틸포스포네이트 및 메틸포스포로티오에이트가 포함된다. 다른 안정화된 뉴클레오티드간 결합으로는 제한하지 않고 펩티드, 알킬, 디포스포 및 전술한 바와 같은 다른 것들이 포함된다. 포스포로티오에이트와 같은 변형된 주쇄는 포스포로아미데이트 또는 H-포스포네이트 화학을 이용한 자동화 기술을 사용하여 합성할 수 있다. 아릴- 및 알킬-포스포네이트는, 예를 들면, 미국 특허 제 4,469,863 호에 기술된 바와 같이 제조할 수 있으며; 알킬포스포트라이에스터(여기서, 하전된 산소 잔기는 미국 특허 제 5,023,243 호 및 유럽 특허 제 092,574 호에 기술된 바와 같이 알킬화된다)는 상업적으로 시판하는 시약을 사용하여 자동 고체상 합성에 의해 제조할 수 있다. 다른 DNA 주쇄 변형 및 치환을 달성하는 방법도 기술되었다[Uhlmann E et al. Chem Rev 90:544 (1990); Goodchild J Bioconjugate Chem 1:165 (1990)]. 키메라성 올리고뉴클레오티드를 제조하는 방법도 또한 공지되어 있다. 예를 들면, 울만 (Uhlmann) 등에게 허여된 특허는 상기 기술을 기술하였다. 혼합 주쇄 변형된 ODN은 PCT 출원 WO2007/026190 호에 기술된 바와 같이 합성할 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 또한 다른 변형을 포함할 수 있다. 상기 변형으로는 비이온성 DNA 유사체, 예를 들면, 알킬- 및 아릴-포스페이트(여기서 하전된 포스포네이트 산소는 알킬 또는 아릴기로 치환된다), 포스포다이에스터 및 알킬포스포트라이에스터(여기서, 하전된 산소 잔기는 알킬화된다)가 포함된다. 어느 한쪽 말단 또는 두 말단 모두에 다이올, 예를 들면, 테트라에틸렌글라이콜 또는 헥사에틸렌글라이콜을 함유하는 핵산도 또한 뉴클레아제 분해에 대해 충분히 내성인 것으로 나타났다.

[0063] CpG 올리고뉴클레오티드의 크기(즉, 올리고뉴클레오티드의 길이를 따라 뉴클레오티드 잔기의 수)도 또한 올리고

뉴클레오티드의 자극 활성에 기여할 수 있다. 세포내로의 흡수를 촉진하기 위해, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오티드는 바람직하게는 6개 뉴클레오티드 잔기의 최소 길이를 갖는다. 6개 올리고뉴클레오티드보다 큰 임의 크기(심지어 많은 kb 길이)를 갖는 올리고뉴클레오티드는, 보다 큰 올리고뉴클레오티드가 세포 내부에서 분해되기 때문에, 충분한 면역자극성 모티프가 존재하는 경우 면역 반응을 유도할 수 있다. 특정 태양에서, CpG 올리고뉴클레오티드는 6 내지 100개 뉴클레오티드의 길이, 바람직하게는 8 내지 30개 뉴클레오티드의 길이를 갖는다. 중요한 태양으로, 본 발명의 핵산 및 올리고뉴클레오티드는 플라스미드 또는 밸런 백터가 아니다. 한 태양에서, 본원에 개시된 CpG 올리고뉴클레오티드는 WO2007/026190 호의 134 내지 147 단락에 기술된 바와 같은 염기 및/또는 당에서와 같이 치환 또는 변형을 포함한다.

[0064]

한 태양에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오티드는 화학적으로 변형된다. 화학적 변형의 예는 숙련된 자에게 공지되어 있으며, 예를 들면, 문헌 [Uhlmann E. et al., Chem. Rev. 90:543 (1990), S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa, USA (1993); Crooke, S.T. et al. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36:107-129 (1990); and Hunziker J. et al., Mod. Synth. Mehtods 7:331-417 (1995)]에 기술되어 있다. 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형을 가질 수 있으며, 이때 각각의 변형은 천연 DNA 또는 RNA로 이루어지는 동일 서열의 올리고뉴클레오티드와 비교하여 특정 포스포다이에스터 뉴클레오티드간 가교에 및/또는 특정 β -D-리보스 단위에 및/또는 특정 천연 뉴클레오티드 염기 위치에 위치한다. 본 발명의 일부 태양에서, CpG-함유 핵산은 당해 분야에 숙련된 자에게 공지된 방법에 따라 면역원성 담체와 단순히 혼합될 수 있다(예를 들면, WO03/024480 호 참조).

[0065]

본 발명의 특정 태양에서, 본원에 개시된 임의의 백신은 2 μ g 내지 100 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.1 내지 50 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.2 내지 10 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.3 내지 5 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.3 내지 5 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드, 훨씬 더 바람직하게는 0.5 내지 2 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드, 더 바람직하게는 0.75 내지 1.5 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 바람직한 태양에서, 본원에 개시된 임의의 백신은 약 1 mg의 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0066]

폐렴구균 백신

[0067]

본 발명의 폐렴구균 백신은 전형적으로 복합 캡슐형 사카라이드 항원을 포함하며, 이때 사카라이드는 스트렙토코커스 뉴모니에의 7개 이상의 혈청형으로부터 유도된다. 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드의 수는 7개의 상이한 혈청형(또는 "v", 결합가) 내지 23개의 상이한 혈청형(23v)의 범위일 수 있다. 한 태양에서, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 상이한 혈청형이 존재한다. 한 태양에서, 10 또는 11개의 상이한 혈청형이 존재한다. 한 태양에서, 7 또는 13개의 상이한 혈청형이 존재한다. 캡슐형 사카라이드 항원은 본원 하기에서 기술하는 바와 같은 담체 단백질에 결합된다.

[0068]

본 발명의 또 다른 태양에서, 백신은 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드 및 비복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함할 수 있다. 바람직하게, 사카라이드 혈청형의 총 수는 23 이하이다. 예를 들면, 백신은 7개의 복합 혈청형 및 16개의 비복합 사카라이드를 포함할 수 있다. 또 다른 태양에서, 백신은 13개의 복합 혈청형 및 10개의 비복합 사카라이드를 포함할 수 있다. 유사한 방법으로, 백신은 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개의 복합 사카라이드 및 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 또는 7개의 비복합 사카로이드를 각각 포함할 수 있다.

[0069]

1. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.

[0070]

2. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1번 이외에, 혈청형 1의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.

[0071]

3. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1 또는 2번 이외에, 혈청형 5의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.

[0072]

4. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2 또는 3번 이외에, 혈청형 7F의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.

[0073]

5. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3 또는 4번 이외에, 혈청형 3의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.

- [0074] 6. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4 또는 5번 이외에, 혈청형 6A의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0075] 7. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5 또는 6번 이외에, 혈청형 19A의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0076] 8. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7번 이외에, 혈청형 22F의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0077] 9. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8번 이외에, 혈청형 15의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0078] 10. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9번 이외에, 혈청형 8의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0079] 11. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10번 이외에, 혈청형 12F의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0080] 12. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11번 이외에, 혈청형 2의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0081] 13. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12번 이외에, 혈청형 9N의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0082] 14. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13번 이외에, 혈청형 10A의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0083] 15. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14번 이외에, 혈청형 11A의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0084] 16. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15번 이외에, 혈청형 11A의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0085] 17. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16번 이외에, 혈청형 17F의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0086] 18. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17번 이외에, 혈청형 20의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0087] 19. 또 다른 태양에서, 본 발명의 백신은 상기 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18번 이외에, 혈청형 33F의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0088] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0089] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 혈청형 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 복합 스트렙토코커스 뉴모니에 사카라이드를 포함한다.
- [0090] 바람직한 태양에서, 캡슐형 사카라이드 항원은 TT, DT, CRM197, TT의 단편 C, PhtD, PhtDE 융합체(특히 WO 01/98334 호 및 WO 03/54007 호에 기술된 것들), 해독된 뉴모라이신 및 단백질 D로 이루어진 군에서 독립적으로 선택된 담체 단백질에 결합된다. 바람직한 태양에서, 캡슐형 사카라이드 항원은 다음으로 이루어진 군에서 선택된 담체 단백질에 결합된다: DT(디프테리아 독소), TT(파상풍 독소) 또는 TT의 단편 C, CRM197(디프테리아 독소의 무독성이지만 항원적으로 동일한 변이체), 기타 DT 점 돌연변이체, 예를 들면, CRM176, CRM228, CRM 45[Uchida et al J. Biol. Chem. 218:3838-3844 (1973)]; CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103 및 CRM107 및 문헌 [Nicholls and Youle, Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maeceel Dekker Inc. (1992)]에 기술된 기타 돌연변이; Glu-148의 Asp, Gln 또는 Ser으로 및/또는 Ala 158의 Gly로의 결실 또는 돌연변이 및 US 4709017 호 또는 US 4950740 호에 기술된 다른 돌연변이; 적어도 하나 이상의 잔기 Lys 516, Lys 526, Phe 530 및/또는 Lys 534의 돌연변이 및 US 5917017 호 또는 US 6455673 호에 개시된 다른 돌연변이; 또는 US 5843711

호에 개시된 단편, 어느정도 해독된 ply, 예를 들면, dPLY-GMBS(WO 0481515 호, PCT/EP2005/010258 호) 또는 dPLY-formol을 포함하여 폐렴구균성 뉴모라이신[Kuo et al. Infect Immun 63:2706-2713 (1995)], PhtA, PhtB, PhtD, PhtE(PhtA, PhtB, PhtD 또는 PhtE의 서열은 WO 00/37105 호 또는 WO 00/39299 호에 개시되어 있다) 및 Pht 단백질의 융합체, 예를 들면, PhtDE 융합체, PhtBE 융합체, PhtA-E(WO 01/98334 호, WO 03/54007 호, WO2009/000826 호)를 포함하여 PhtX, OMPC(수막구균 외막 단백질 - 통상적으로 나이세리아 메닌지티디스(*N. meningitidis*) 혈청균 B로부터 추출됨 - EP0372501 호), ProB(나이세리아 메닌지티디스로부터), PD(헤모필리스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*) 단백질 D - 예를 들면, EP 0 594 610 B 참조) 또는 그의 면역학적 작용성 등가물, 합성 웨პ티드(EP037881 호, EP0427347 호), 열 충격 단백질(WO 93/17712 호, WO 94/03208 호), 백일해 단백질(WO 98/58668 호, EP 0471 177 호), 사이토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 호르몬(WO 91/01146 호), 다양한 병원균 유도 항원으로부터의 다중 인간 CD4+ T 세포 에피토프를 포함하는 인공 단백질[Falugi et al. Eur J Immunol 31:3816-3824 (2001)], 예를 들면, N19 단백질[Baraldoi et al. Infect Immun 72:4884-4887 (2004)], 폐렴구균 표면 단백질 PspA(WO 02/091998 호), 철 흡수 단백질(WO 01/72337 호), 클로스트리듐 디피실리(*C. difficile*)의 독소 A 또는 B(WO 00/61761 호). 한 태양에서, 캡슐형 사카라이드 항원은 DT(디프테리아 특소이드)에 결합된다. 또 다른 태양에서, 캡슐형 사카라이드 항원은 TT(파상풍 독소)에 결합된다. 또 다른 태양에서, 캡슐형 사카라이드 항원은 TT의 단편 C에 결합된다. 또 다른 태양에서, 캡슐형 사카라이드 항원은 PD(헤모필리스 인플루엔자 단백질 D - 예를 들면, EP 0 594 610 B 참조)에 결합된다.

[0091]

바람직한 태양에서, 본 발명의 캡슐형 항원은 CRM197 단백질에 결합된다. CRM197 단백질은 디프테리아 독소의 무독성 형태이지만, 면역학적으로 디프테리아 독소와 구분할 수 없다. CRM197은 독소생성 코리네파아지 베타의 니트로소구아닌돌연변이유발에 의해 생성된 비독소생성 파아지 $\beta 197^{\text{tox}}$ 에 의해 감염된 코리네박테리움 디프테리아(*C. diphtheriae*)에 의해 생성된다[Uchida, T. et al., Nature New Biology 233:8-11 (1971)]. CRM197 단백질은 디프테리아 독소와 동일한 분자량을 갖지만, 구조 유전자 중 단일 염기 변화(구아닌이 아데닌으로)에 의해 그와 상이하다. 상기 단일 염기 변화는 성숙 단백질에서 아미노산 치환(글라이신이 글루탐산으로)을 야기 하며 디프테리아 독소의 독성을 제거한다. CRM197 단백질은 사카라이드에 안전하고 효과적인 T-세포 의존성 담체이다. CRM197에 대한 추가의 상세한 설명 및 그의 생산은, 예를 들면, US 5,614,382 호에서 찾을 수 있다.

[0092]

한 태양에서, 단백질 담체가 조성에 있어 2개 이상의 사카라이드에 대해 동일한 경우, 상기 사카라이드는 단백질 담체(그에 결합된 2개 이상의 상이한 사카라이드를 갖는 담체 분자)의 동일 분자에 결합될 수 있다(예를 들면, WO 04/083251 호 참조). 또는, 사카라이드는 각각 개별적으로 단백질 담체의 상이한 분자(단백질 담체의 각각의 분자는 오직 그에 결합된 한 유형의 사카라이드만 갖는다)에 결합될 수 있다. 상기 태양에서, 캡슐형 사카라이드는 담체 단백질에 개별적으로 결합된다고 한다.

[0093]

한 태양에서, 본 발명의 캡슐형 사카라이드 항원은 상이한 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형으로부터 유도되며 하나 이상의 담체 단백질에 결합된다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 또는 33F로부터의 사카라이드는 단백질 D에 결합된다. 한 태양에서, 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 또는 33F로부터의 사카라이드는 단백질 CRM197에 결합된다.

[0094]

한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 또는 33F로부터의 사카라이드는 단백질 D에 결합된다. 한 태양에서, 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 또는 33F로부터의 사카라이드는 단백질 CRM197에 결합된다.

[0095]

한 태양에서, 하나 이상의 혈청형 1 및 3, 1 및 4, 1 및 5, 1 및 6A, 1 및 6B, 1 및 7, 1 및 9V, 1 및 14, 1 및 22F, 1 및 23F, 3 및 4, 3 및 5, 3 및 6A, 3 및 6B, 3 및 7F, 3 및 9V, 3 및 14, 3 및 22F, 3 및 23F, 4 및 5, 4 및 6A, 4 및 6B, 4 및 7F, 4 및 9V, 4 및 14, 4 및 22F, 4 및 23F, 5 및 6A, 5 및 6B, 5 및 7F, 5 및 9V, 5 및 14, 5 및 22F, 5 및 23F, 6A 및 6B, 6A 및 7F, 6A 및 9V, 6A 및 14, 6A 및 22F, 6A 및 23F, 6B 및 7F, 6B 및 9V, 6B 및 14, 6B 및 22F, 6B 및 23F, 7F 및 9V, 7F 및 14, 7F 및 22F, 7F 및 23F, 9V 및 14, 9V 및 22F, 9V 및 23F, 14 및 22F, 14 및 23F, 또는 22F 및 23F로부터의 사카라이드는 CRM197에 결합된다.

[0096]

한 태양에서, 하나 이상의 혈청형 1, 3 및 4; 1, 3 및 5; 1, 3 및 6A; 1, 3 및 6B; 1, 3 및 7F; 1, 3 및 9V; 1, 3 및 14; 3, 4 및 7F; 3, 4 및 5; 3, 4 및 7F; 3, 4 및 9V; 3, 4 및 14; 4, 5 및 9V; 4, 5 및 14; 5, 7F 및 9V; 5, 7F 및 14; 7F, 9V 및 14; 1, 3, 4 및 5; 3, 4, 5 및 7F; 4, 5, 7F 및 9V; 4, 5, 7F 및 14; 4, 5, 9V 및 14; 4, 7F, 9V 및 14; 5, 7F, 9V 및 14; 또는 4, 5, 7F, 9V 및 14로부터의 사카라이드는 CRM197에 결합

된다.

[0097] 한 태양에서, 하나 이상의 혈청형 1 및 3, 1 및 4, 1 및 5, 1 및 6A, 1 및 6B, 1 및 7, 1 및 9V, 1 및 14, 1 및 22F, 1 및 23F, 3 및 4, 3 및 5, 3 및 6A, 3 및 6B, 3 및 7F, 3 및 9V, 3 및 14, 3 및 22F, 3 및 23F, 4 및 5, 4 및 6A, 4 및 6B, 4 및 7F, 4 및 9V, 4 및 14, 4 및 22F, 4 및 23F, 5 및 6A, 5 및 6B, 5 및 7F, 5 및 9V, 5 및 14, 5 및 22F, 5 및 23F, 6A 및 6B, 6A 및 7F, 6A 및 9V, 6A 및 14, 6A 및 22F, 6A 및 23F, 6B 및 7F, 6B 및 9V, 6B 및 14, 6B 및 22F, 6B 및 23F, 7F 및 9V, 7F 및 14, 7F 및 22F, 7F 및 23F, 9V 및 14, 9V 및 22F, 9V 및 23F, 14 및 22F, 14 및 23F, 또는 22F 및 23F로부터의 사카라이드는 단백질 D에 결합된다.

[0098] 한 태양에서, 하나 이상의 혈청형 1, 3 및 4; 1, 3 및 5; 1, 3 및 6A; 1, 3 및 6B; 1, 3 및 7F; 1, 3 및 9V; 1, 3 및 14; 3, 4 및 7F; 3, 4 및 5; 3, 4 및 7F; 3, 4 및 9V; 3, 4 및 14; 4, 5 및 9V; 4, 5 및 14; 5, 7F 및 9V; 5, 7F 및 14; 7F, 9V 및 14; 1, 3, 4 및 5; 3, 4, 5 및 7F; 4, 5, 7F 및 9V; 4, 5, 7F 및 14; 4, 5, 9V 및 14; 4, 7F, 9V 및 14; 5, 7F, 9V 및 14; 또는 4, 5, 7F, 9V 및 14로부터의 사카라이드는 단백질 D에 결합된다.

[0099] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197이 담체 단백질인, 7개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 7개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197이 담체 단백질인, 10개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 10개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197이 담체 단백질인, 11개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 11개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 13개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 13개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 23개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D가 담체 단백질인, 23개의 상이한 혈청형 캡슐형 사카라이드 결합체를 포함한다.

[0100] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197에 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197에 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197에 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 결합된 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및 33F로부터의 사카로이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 CRM197에 결합된 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및 33F로부터의 사카로이드를 포함한다.

[0101] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및 23F로부터의 사카라이드, 파상풍 톡소이드(TT)에 결합된 혈청형 18C로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 톡소이드(DT)에 결합된 혈청형 19F로부터의 사카라이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 파상풍 톡소이드(TT)에 결합된 혈청형 1, 4, 5, 7F, 9V, 19F 및 23F로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 톡소이드(DT)에 결합된 혈청형 3, 14, 18C 및 6B로부터의 사카라이드를 포함한다.

[0102] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및 23F로부터의 사카라이드, 파상풍 톡소이드(TT)에 결합된 혈청형 18C로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 톡소이드(DT)에 결합된 혈청형 19F로부터의 사카라이드를 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 백신은 파상풍 톡소이드(TT)에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 7F, 9V, 19F 및 23F로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 톡소이드(DT)에 결합된 혈청형 3, 14, 18C 및 6B로부터의 사카라이드를 포함한다.

- [0103] 본 명세서 전체에 걸쳐 용어 "사카라이드"는 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드를 나타낼 수 있으며 둘 다를 포함한다. 스트렙토코커스 뉴모니에의 캡슐형 폴리사카라이드는 8개 이하의 잔기를 함유할 수 있는 반복 올리고사카라이드 단위를 포함한다. 핵심 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형에 대한 올리고사카라이드 단위에 대한 고찰은 [JONES, Christopher]를 참조하시오. 백신은 병원성 세균의 세포 표면 탄수화물을 기초로 하였다[An. Acad. Bras. Cienc, vol.77, no.2, p.293-324, Table II ISSN 0001-3765 (June 2005)].
- [0104] 본 발명의 캡슐형 사카라이드 항원은 당해 분야에 숙련된 자에게 공지된 표준 기술에 의해 제조한다. 전형적으로, 폴리사카라이드 결합체는 별도의 공정에 의해 제조되고 단일 투여 제형으로 제형화된다. 예를 들면, 한 태양에서, 각각의 폐렴구균 폴리사카라이드 혈청형은 대두-기본 배지에서 성장시킨다. 이어서, 개개 폴리사카라이드를 원심분리, 침전, 한외-여과 및 컬럼 크로마토그래피를 통해 정제한다. 정제된 폴리사카라이드는 사카라이드가 담체 단백질과 반응할 수 있게 되도록 화학적으로 활성화된다. 일단 활성화되면, 각각의 캡슐형 폴리사카라이드는 별도로 담체 단백질에 결합되어 당결합체를 형성한다. 한 태양에서, 각각의 캡슐형 폴리사카라이드는 동일한 담체 단백질에 결합한다. 상기 태양에서, 결합은 환원성 아민화에 의해 수행된다. 폴리사카라이드의 화학적 활성화 및 후속의 담체 단백질에 결합은 통상적인 방법에 의해 달성된다(예를 들면, US 특허 제 4,673,574 및 4,902,506 호를 참조하시오). 담체 단백질에 캡슐형 폴리사카라이드의 결합 후에, 폴리사카라이드-단백질 결합체를 다양한 기술에 의해 정제한다(폴리사카라이드-단백질 결합체의 양과 관련하여 증대됨). 상기 기술로는 농축/투석여과 작업, 침전/용출, 컬럼 크로마토그래피 및 심층 여과가 포함된다(예를 들면, US2007/0184072 호 또는 WO2008/079653 호 참조). 개개 당결합체를 정제한 후, 이들을 배합하여 본 발명의 백신을 제형화한다. 본 발명의 면역원성 조성물의 제형화는 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 달성할 수 있다. 예를 들면, 개개 폐렴구균 결합체를 생리학적으로 허용되는 비히클과 배합하여 조성물을 제조할 수 있다. 상기 비히클의 예로는 완충 식염수, 폴리올(예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글라이콜, 액체 폴리에틸렌 글라이콜) 및 텍스트로스 용액이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다.
- [0105] 각각의 백신 용량중 결합체의 양은 전형적인 백신에서 심각한 부작용없이 면역보호 반응을 유도하는 양으로 선택한다. 상기 양은 특정 면역원이 사용되는 것과 어떻게 존재하는지에 따라 달라진다. 한 태양에서, 각각의 용량은 0.1 내지 1000 μg 의 각각의 사카라이드 또는 사카라이드-단백질 결합체, 바람직하게는 2 내지 100 μg , 가장 바람직하게는 4 내지 40 μg 을 포함한다. 한 태양에서, 각각의 용량은 0.1 내지 20 μg , 1 내지 10 μg 또는 1 내지 5 μg 의 사카라이드를 포함한다.
- [0106] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드를 0.1 내지 20 μg , 0.5 내지 10 μg ; 0.5 내지 5 μg 또는 1 내지 5 μg 의 사카라이드의 용량으로 함유한다. 한 태양에서, 캡슐형 사카라이드는 상이한 투여량으로 존재할 수 있다, 예를 들면, 일부 캡슐형 사카라이드는 대략 또는 정확히 2 μg 의 용량으로 존재할 수 있거나, 또는 일부 캡슐형 사카라이드는 대략 또는 정확히 4 μg 의 용량으로 존재할 수 있다.
- [0107] 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 84 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 24 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량으로 존재한다.

스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량으로 존재한다.

[0108] 본 발명의 특정 태양에서, 본원에 개시된 백신은 5 내지 500 μg , 바람직하게는 10 내지 200 μg , 훨씬 더 바람직하게는 20 내지 100 μg 의 CRM197 단백질을 함유한다. 본 발명의 한 태양에서, 본원에 개시된 백신은 20 내지 50 μg , 바람직하게는 20 내지 40 μg , 훨씬 더 바람직하게는 25 내지 30 μg , 훨씬 더 바람직하게는 약 28 또는 29 μg 의 CRM197 단백질을 함유한다. 본 발명의 한 태양에서, 본원에 개시된 백신은 40 내지 100 μg , 바람직하게는 40 내지 80 μg , 훨씬 더 바람직하게는 50 내지 60 μg , 훨씬 더 바람직하게는 약 57 또는 58 μg 의 CRM197 단백질을 함유한다.

[0109] 본 발명의 특정 태양에서, 본원에 개시된 백신은 부형제로서 염화 나트륨 및/또는 숙신산 나트륨 완충제를 함유한다.

[0110] 한 태양에서, 본 발명에 사용될 폐렴구균 백신은 US2007/0184072 호에 개시된 7-가 결합된 폐렴구균 백신(프레베나르(Prevenar)) 또는 13-가 결합된 폐렴구균 백신(프레베나르 13)이다. 7-가 프레베나르는 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유한다. 13-가 프레베나르는 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유한다.

[0111] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및 23F로부터의 사카라이드, 파상풍 특소이드(TT)에 결합된 혈청형 18C로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 특소이드(DT)에 결합된 혈청형 19F로부터의 사카라이드를 포함하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 3 μg 의 용량으로 존재하는 4, 18C 및 19F를 제외하고 1 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 5 내지 500 μg , 바람직하게는 7 내지 100 μg 의 단백질 D 단백질, 2 내지 200 μg , 바람직하게는 4 내지 50 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질, 및 1 내지 100 μg , 바람직하게는 2 내지 25 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다. 본 발명의 바람직한 태양에서, 상기 백신은 9 내지 16 μg 의 단백질 D 단백질, 5 내지 10 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질 및 3 내지 6 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다.

[0112] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및 23F로부터의 사카라이드, 파상풍 특소이드(TT)에 결합된 혈청형 18C로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 특소이드(DT)에 결합된 혈청형 19F로부터의 사카라이드를 포함하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 6 μg 의 용량으로 존재하는 4, 18C 및 19F를 제외하고 2 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 10 내지 1000 μg , 바람직하게는 14 내지 200 μg 의 단백질 D 단백질, 4 내지 400 μg , 바람직하게는 8 내지 100 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질, 및 2 내지 200 μg , 바람직하게는 4 내지 50 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 18 내지 32 μg 의 단백질 D 단백질, 10 내지 20 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질 및 6 내지 12 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다.

[0113] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및 23F로부터의 사카라이드, 파상풍 특소이드(TT)에 결합된 혈청형 18C로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 특소이드(DT)에 결합된 혈청형 19F로부터의 사카라이드를 포함하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 9 μg 의 용량으로 존재하는 4, 18C 및 19F를 제외하고 3 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 15 내지 1500 μg , 바람직하게는 21 내지 300 μg 의 단백질 D 단백질, 6 내지 600 μg , 바람직하게는 12 내지 150 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질, 및 3 내지 300 μg , 바람직하게는 6 내지 75 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 27 내지 48 μg 의 단백질 D 단백질, 15 내지 30 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질 및 9 내지 18 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다.

[0114] 한 태양에서, 본 발명의 백신은 단백질 D에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및 23F로부터의 사카라이드, 파상풍 특소이드(TT)에 결합된 혈청형 18C로부터의 사카라이드, 및 디프테리아 특소이드(DT)에 결합된 혈청형 19F로부터의 사카라이드를 포함하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 12 μg 의 용량으로 존재하는 4, 18C 및 19F를 제외하고 4 μg 의 용량으로 존재한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 20 내지 2000 μg , 바람직하게는 28 내지 400 μg 의 단백질 D 단백질, 8 내지 800 μg , 바람직하게는 16 내지 200 μg 의 파상풍 특소이드(TT) 단백질, 및 4 내지 400 μg , 바람직하게는 8 내지 100 μg 의 디프테리아 특소이드(DT) 단백질을 함유한다.

프테리아 톡소이드(DT) 담체 단백질을 함유한다. 본 발명의 특정 태양에서, 상기 백신은 36 내지 64 μg 의 단백질 D 담체 단백질, 20 내지 40 μg 의 파상풍 톡소이드(TT) 담체 단백질 및 12 내지 24 μg 의 디프테리아 톡소이드(DT) 담체 단백질을 함유한다.

[0115] 본 발명의 특정한 태양에서, 본원에 개시된 백신은 부형제로서 염화 나트륨 완충제를 함유한다. 한 태양에서, 본 발명에 사용될 폐렴구균 백신은 상업적 명칭 신플로리스(Synflorix, 등록상표) 하에 시판되는 10-가 결합된 폐렴구균 백신이다.

[0116] 추가의 보조제(들)

[0117] 일부 태양에서, 본원에 개시된 바와 같은 폐렴구균 백신은 본원에 개시된 하나 이상의 TLR-9 작용물질 이외에 1, 2 또는 3개 이상의 보조제를 포함한다. 용어 "보조제"는 항원에 대한 면역 반응을 증대시키는 화합물 또는 혼합물을 말한다. 항원은 주로 전달 시스템으로서, 주로 면역 조절제로서 작용하거나 또는 둘 다의 강한 특징을 가질 수 있다. 적합한 보조제로는 인간을 포함하여 포유동물에서 사용하기에 적합한 것들이 포함된다.

[0118] 인간에 사용될 수 있는 공지된 적합한 전달-시스템 유형의 보조제의 예로는 알룸(예를 들면, 인산알루미늄, 황산알루미늄 또는 수산화알루미늄), 인산칼슘, 리포솜, 수중유적형 유화액, 예를 들어, MF59(4.3% w/v 스쿠알렌, 0.5% w/v 폴리솔베이트 80(트윈(Tween) 80), 0.5% w/v 솔비탄 트라이올리에이트(스판(Span) 85)), 유중수적형 유화액, 예를 들어, 몬타나이드(Montanide), 및 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드)(PLG) 미세입자 또는 나노입자가 포함되나, 이로 한정되지는 않는다.

[0119] 인간에 사용될 수 있는 공지되어 있는 적합한 면역 조절제 유형 보조제의 예로는 아퀼라(Aquilla) 나무 껍질로부터의 사포닌 추출물(QS21, 퀼(Quil) A), TLR4 작용물질, 예를 들어, MPL(모노포스포릴 지질 A), 3DMPL(3-O-데아실화 MPL) 또는 GLA-AQ, LT/CT 돌연변이체, 사이토카인, 예를 들어, 다양한 인터류킨(예, IL-2, IL-12) 또는 GM-CSF 등이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다.

[0120] 인간에 사용될 수 있는, 전달 및 면역 조절 특징 둘 다를 갖는 공지된 적합한 면역 조절제 유형 보조제의 예로는 이스콤스(ISCOMS)(예를 들면, 문헌 [Sjolander et al. J. Leukocyte Biol. 64:713 (1998)]; WO90/03184, WO96/11711, WO00/48630, WO98/36772, WO00/41720, WO06/134423 및 WO07/026190 호 참조), 또는 TLR4 작용물질 및 수중유적형 유화액의 혼합물인 GLA-EM이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다.

[0121] 동물 실험을 포함하나 이로 한정되지는 않는 수의학적 용도를 위해, 완전 프로인트 보조제(Complete Freund's Adjuvant, CFA), 프로인트 불완전 보조제(IFA), 에멀시겐(Emulsigen), N-아세틸-뮤라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민(thr-MDP), N-아세틸-노르-뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타민(CGP 11637, 노르-MDP로 지칭됨), N-아세틸뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타미닐-L-알라닌-2-(1'-2'-다이팔미토일-sn-글리세로-3-하이드록시포스포릴옥시)-에틸아민(CGP 19835A, MTP-PE로 지칭), 및 2% 스쿠알렌/트윈 80 유화액중 세균, 모노포스포릴 지질 A, 크레할로스 다이미콜레이트 및 세포벽 골격으로부터 추출된 3가지 성분(MPL+TDM+CWS)을 함유하는 RIBI를 사용할 수 있다.

[0122] 본원에 개시된 바와 같은 폐렴구균 백신의 효과를 증대시키기 위한 또 다른 대표적인 보조제로는 다음이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다: (1) 수중유적형 유화액 제형(뮤라밀 웨티드(하기 참조) 또는 세균 세포벽 성분과 같은 다른 특정 면역자극제의 존재 또는 부재하에), 예를 들면, (a) 서브마이크론 유화액으로 미세유동화되거나 또는 보다 큰 입자 크기 유화액을 생성하기 위해 볼텍싱한, 10% 스쿠알렌, 0.4% 트윈 80, 5% 플루로닉-차단 중합체 L121 및 thr-MDP를 함유하는 SAF, 및 (b) 2% 스쿠알렌, 0.2% 트윈 80, 및 하나 이상의 세균 세포벽 성분, 예를 들면, 모노포스포릴지질A(MPL), 트레할로스 다이마이콜레이트(TDM), 및 세포벽 골격(CWS), 바람직하게는 MPL + CWS(데톡스(DETOX, 등록상표))를 함유하는 RIBI(등록상표) 보조제 시스템(RAS)(리비 임무노켐(Ribi Immunochem), 몬타나주 해밀튼); (2) 사포닌 보조제, 예를 들면, QS21, 스티뮬론(STIMULON, 등록상표)(캠브리지 바이오사이언스(Cambridge Bioscience), 메사추세츠주 워스터), 아비스코(Abisco, 등록상표)(스웨덴 이스코노바) 또는 이스코매트릭스(Iscomatrix, 등록상표)(커먼웰쓰 세럼 래버리토리즈(Commonwealth Serum Laboratories), 호주)를 사용할 수 있거나, 또는 이스콤스(면역자극 복합체)와 같이 그로부터 생성된 입자(이스콤스는 추가의 세제가 없을 수 있다, 예를 들면, WO00/07621 호); (3) 완전 프로인트 보조제(CFA) 및 불완전 프로인트 보조제(IFA); (4) 사이토카인, 예를 들면, 인터류킨(예, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12(WO99/44636 호) 등), 인터페론(예, 감마 인터페론), 마크로파지 콜로니 자극 인자(M-CSF), 종양 괴사 인자(TNF) 등; (5) 폐렴구균성 사카라이드(예를 들면, WO00/56358 호 참조)와 함께 사용되는 경우 선택적으로 알룸의 실질적인 부재하에, 모노포스포릴 지질 A(MPL) 또는 3-O-데아실화 MPL(3dMPL)(예를 들면, GB-2220221 호, EP-A-0689454 호); (6) 3dMPL과, 예를 들면, QS21 및/또는 수중유적형 유화액과의 혼합물(예를 들면,

W099/52549 호 참조); (7) 폴리옥시에틸렌 에테르 또는 폴리옥시에틸렌 에스터(예를 들면, W099/52549 호 참조); (8) 옥톡시놀과 함께 폴리옥시에틸렌 솔비탄 에스터 계면활성제(W001/21207 호) 또는 하나 이상의 추가의 비이온성 계면활성제, 예를 들어, 옥톡시놀과 함께 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르 또는 에스터 계면활성제(W001/21152 호); (9) 사포닌 및 면역자극성 올리고뉴클레오티드(예를 들면, CpG 올리고뉴클레오티드)(W000/62800 호); (10) 면역자극제 및 금속염 입자(예를 들면, W000/23105 호); (11) 사포닌 및 수중유적형 유화액(예를 들면, W099/11241 호); (12) 사포닌(예를 들면, QS21) + 3dMPL + IM2(선택적으로 + 스테롤)(예를 들면, W098/57659 호); (13) 조성물의 효능을 증대시키기 위한 면역자극제로 작용하는 기타 물질. 뮤라밀 펩티드로는 N-아세틸-뮤라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민(thr-MDP), N-25 아세틸-노르뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타민(노르-MDP), N-아세틸뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타미닐-L-알라닌-2-(1'-2'-다이팔미토일-sn-글리세로-3-하이들고시포스포릴옥시)-에틸아민 MTP-PE) 등이 포함된다.

[0123] 바람직한 태양에서, 본원에 개시된 바와 같은 폐렴구균 백신은 본원에 개시된 하나 이상의 TLR-9 작용물질 보조제에 추가의 보조제로서 알루, 수산화알루미늄, 인산알루미늄 또는 황산알루미늄을 포함한다.

[0124] 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량이며, 추가로 0.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 포함한다.

[0125] 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량이며, 추가로 1 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량이며, 추가로 1.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화 나트륨 및 숙신산나트륨 완충제를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량이며, 추가로 2 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화 나트륨 및 숙신산 나트륨 완충제를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 4 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 2 μg 의 용량이며, 추가로 0.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화 나트륨 및 숙신산 나트륨 완충제를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 8 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 4 μg 의 용량이며, 추가로 1 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화 나트륨 및 숙신산 나트륨 완충제를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 12 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 6 μg 의 용량이며, 추가로 1.5 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화 나트륨 및 숙신산 나트륨 완충제를 포함한다. 본 발명의 특정한 태양에서, 백신은 CRM197에 개별적으로 결합된 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 사카라이드를 함유하며, 이때 각각의 스트렙토코커스 뉴모니에 캡슐형 사카라이드는 16 μg 의 용량으로 존재하는 6B를 제외하고 8 μg 의 용량이며, 추가로 2 mg의 인산알루미늄, 및 선택적으로 부형제로서 염화 나트륨 및 숙신산 나트륨 완충제를 포함한다. 한 태양에서, 폐렴구균 백신은 US2007/0184072 호에 개시된 바와 같은 7-가 결합된 폐렴구균 백신(프레베나르) 또는 13-가 결합된 폐렴구균 백신(13vPnC)이다.

면역저하된 대상

[0127] 본 발명의 바람직한 태양에서, 본 발명의 백신으로 백신접종될 대상은 면역저하된 대상이다. 바람직하게, 상기 면역저하된 대상은 포유동물, 예를 들면, 고양이, 양, 돼지, 말, 소, 개 또는 인간이다. 가장 바람직한 태양에서, 상기 대상은 인간이다.

[0128] 면역저하된 개인은 일반적으로 감염성 약제에 의한 자극에 대해 정상적인 체액성 또는 세포성 방어를 갖추는 능력이 약화 또는 감소된 개인으로 정의된다. 본 발명의 한 태양에서, 폐렴구균 백신으로 백신접종될 면역저하된

대상은 면역계를 손상시키며 폐렴구균성 질환에 대해 보호하거나 상지 질환을 치료하기에 불충분한 항체 반응을 야기하는 질환 또는 질병을 앓고 있다. 한 태양에서, 상기 질환은 1차 면역결핍성 질환이다. 바람직하게, 상기 1차 면역결핍성 질환은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: 복합 T- 및 B-세포 면역결핍, 항체 결핍, 잘 정의된 증후군, 면역 조절이상, 식세포 이상, 선천성 면역 결핍, 자가염증성 질환 및 보체 결핍. 한 태양에서, 상기 복합 T- 및 B-세포 면역결핍은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: γ c 결핍, JAK3 결핍, 인터류킨 7 수용체 쇄 a 결핍, CD45 결핍 또는 CD3 δ /CD3 ϵ 결핍, RAG 1/2 결핍, DCLRE1C 결핍, 아데노신 테아미나제(ADA) 결핍, 오멘 증후군, DNA 리가제 IV형 결핍, CD40 리간드 결핍, CD40 결핍, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제(PNP) 결핍, MHC 부류 II 결핍, CD3 γ 결핍, CD8 결핍, ZAP-70 결핍, TAP-1/2 결핍 및 날개형 나선 결핍. 한 태양에서, 상기 항체 결핍은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: X-연관 무감마글로불린혈증, btk 결핍, 브루톤(Brutan) 무감마글로불린혈증, μ -중쇄 결핍, I5 결핍, Ig a 결핍, BLNK 결핍, 면역결핍을 갖는 흥선종, 공통가변성 면역결핍(CVID), ICOS 결핍, CD19 결핍, TACI(TNFRSF13B) 결핍, BAFF 수용체 결핍, AID 결핍, UNG 결핍, 중쇄 결실, 카파쇄 결핍, 분리된 IgG 아형 결핍, IgG 아형 결핍을 갖는 IgA, 선택성 면역글로불린 A 결핍, 정상 B 세포 및 정상 Ig 농도를 갖는 특이 항원에 대한 특이 항체 결핍, 유아의 일과성 저감마글로불린혈증(THI). 한 태양에서, 상기 잘 정의된 증후군은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: 비스코트-올드리치(Wiskott-Aldrich) 증후군, 혈관확장성 운동실조증, 운동실조-유사 증후군, 네이메헨(Nijmegen) 파손 증후군, 블룸(Bloom) 증후군, 디조지(DiGeorge) 증후군(흉선 기형과 관련될 때), 연골-모발 형성저하, 쉼케(Schimke) 증후군, 헤르만스키-푸드락(Hermansky-Pudlak) 2형 증후군, 고-IgE 증후군, 만성 점막피부 칸디다증. 한 태양에서, 상기 면역 조절이상 질환은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: 채디아크-히가시(Chediak-Higashi) 증후군, 그리셀리(Gricelli) 2형 증후군, 퍼포린 결핍, MUNC13D 결핍, 신탁신 11 결핍, X-연관 럼프증식 증후군, 자가면역 럼프증식 증후군: 예를 들면, 1a형(CD95 결함), 1b형(Fas 리간드 결함), 2a형(CASP10 결함), 2b형(CASP8 결함), APECED(칸디다증 및 외배엽 이형성증을 갖는 자가면역 다발성내분비병증) 및 IPEX(면역조절 이상 다발성내분비병증 장질환 X-연관 증후군). 한 태양에서, 상기 식세포 이상은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: ELA2 결핍(골수형성이상증과 함께), GFI1 결핍(T/B 럼프구감소증과 함께), G-CSFR 결핍(G-CSF-미반응성), 코스트만(Kostmann) 증후군, 주기성 호중구감소증, X-연관 호중구감소증/골수형성이상증, 백혈구 부착 결핍 1, 2 및 3형, RAC2 결핍, 베타-액틴 결핍, 국소 유년성 치주염, 파피용-르페브르(Papillon-Lefevre) 증후군, 특이 과립 결핍, 슈바치만-다이아몬드(Shwachman-Diamond) 증후군, 만성 육아종 질환: X-연관 및 상염색체 형태, 호중구 글루코스-6-포스페이트 데하이드로제나제 결핍, IL-12 및 IL-23 β 1 쇄결핍, IL-12p40 결핍, 인터페론 γ 수용체 1 결핍, 인터페론 γ 수용체 2 결핍 및 STAT1 결핍(2 형태). 한 태양에서, 상기 선천성 면역 결핍은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: 저한성 외배엽 이형성증, NEMO 결핍, IKBA 결핍, IRAK-4 결핍, WHIM 증후군(사마귀, 저감마글로불린혈증, 감염, 골수배출장애(myelokathexis) 및 우상표피이상증. 한 태양에서, 상기 자가염증 질환은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: 가족성 지중해열, TNF 수용체 관련 주기적 증후군(TRAPS), 고IgD 증후군(HIDS), CIAS1-관련 질환, 머클-웰스(Muckle-Wells) 증후군, 가족성 한랭 가자염증 증후군, 신생아기 발생 다기관 염증 질환, PAPA 증후군(화농성 무균 관절염, 고저성 농피증, 여드름) 및 블라우(Blau) 증후군. 한 태양에서, 상기 보체 결핍은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다: C1q 결핍(루푸스-유사 증후군, 류마티스성 질환, 감염), C1r 결핍(상동), C4 결핍(상동), C2 결핍(루푸스-유사 증후군, 혈관염, 다발성 근염, 화농성 감염), C3 결핍(재발성 화농성 감염), C5 결핍(나이세리아 감염), C1-억제제 결핍(유전성 혈관부종), 인자 I 결핍(화농성 감염), 인자 H 결핍(용혈성-요독 증후군, 막성증식성 신염), 인자 D 결핍(나이세리아 감염), 프로페린(Properdin) 결핍(나이세리아 감염), MBP 결핍(화농성 감염) 및 MASP2 결핍. 한 태양에서, 상기 자가염증성 질환은 C1, C2, C3 및 C4 결핍으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0129] 본 발명의 한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 면역계에 영향을 미치는 질환을 앓고 있으며, 이때 상기 질환은 후천성 면역결핍 질환이다. 후천성 면역결핍증은 세균 또는 바이러스 감염(예를 들면, HIV), 암(예를 들면, 백혈병 또는 골수종), 다른 만성 질환, 및 노화, 영양실조 또는 다양한 치료제(예를 들면, 글루코코르티코이드, 화학치료약물)를 포함한 여러 요인들에 의해 야기될 수 있다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 다음으로 이루어진 군에서 선택된 질환을 앓고 있다: HIV-감염, 후천성 면역결핍 증후군(AIDS), 암, 만성 심장 또는 폐 질환, 울혈성 심부전, 당뇨병, 만성 간 질환, 알콜중독, 간경변증, 척수액 누출, 심근증, 만성 기관지염, 폐기종, 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 비장 기능부전(예를 들면, 겸상적혈구 질환), 비장 기능의 결여(무비증), 혈액 종양, 밸혁병, 다발성 골수종, 호지킨병, 림프종, 신부전, 신 증후군 및 천식. 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 다음으로 이루어진 군에서 선택된 질환을 앓고 있다: 비장 기능부전(예를 들면, 겸상적혈구 질환), 비장 기능의 결여(무비증), 백혈병, 다발성 골수종, 호지킨병 및 림프종. 바람직한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 HIV-감염 또는 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)을 앓고

있다. 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 HIV-감염 또는 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)을 앓고 있고 치료중이며, 상기 치료는 비-뉴클레오시드 역 전사효소 억제제, 프로테아제 억제제 및 뉴클레오시드 유사체 역 전사효소 억제제(예, 마바카비르)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 항레트로바이러스 약물을 복용하는 것으로 이루어진다. 특정 태양에서, 상기 치료는 비-뉴클레오시드 역 전사효소 억제제, 프로테아제 억제제 및 뉴클레오시드 유사체 역 전사효소 억제제(예를 들면, 아바카비르)로 이루어진 군에서 선택된 2부류 이상의 항레트로바이러스 약물에 속하는 3개 이상의 약물을 복용하는 것으로 이루어진다. 특정 태양에서, 상기 치료는 2개 이상의 뉴클레오시드 유사체 역 전사효소 억제제 및 프로테아제 억제제 또는 비-뉴클레오시드 역 전사효소 억제제를 복용하는 것으로 이루어진다. 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 HIV-감염 또는 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)을 앓고 있으며 고활성 항레트로바이러스 치료(HAART) 중이다. 한 태양에서, 상기 HAART는 비-뉴클레오시드 역 전사효소 억제제, 프로테아제 억제제 및/또는 뉴클레오시드 유사체 역 전사효소 억제제(예, 아바카비르)를 포함하는 3 약물 요법, 또는 비-뉴클레오시드 역 전사효소 억제제 및 프로테아제 억제제의 혼합물을 포함하는 2 약물 요법으로 이루어진다. 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 HIV-감염 또는 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)을 앓고 있으며, 고활성 항레트로바이러스 치료(HAART)를 받고 있지 않거나, 또는 항레트로바이러스 치료 중이 아니거나, 또는 상기 대상은 항레트로바이러스 약물에 노출된 적이 없었다. 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 비-바이러스혈증 HIV 감염 환자이다. 또 다른 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 바이러스혈증 HIV 감염 환자이다.

- [0130] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 결핵 또는 성적으로 전염되는 질환, 예를 들면, 매독 또는 간염을 앓고 있다.
- [0131] 본 발명의 한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 영양실조를 앓고 있다. 본 발명의 한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 노화를 앓고 있다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 55세 이상의 성인 인간, 보다 바람직하게는 65세 이상의 성인 인간이다. 한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 70세 이상, 75세 이상 또는 80세 이상의 성인 인간이다.
- [0132] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 감염에 대한 신체의 저항을 저하시키는 약물 또는 치료를 받고 있다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 화학요법(예, 암 치료약), 질환-조절 항류미티즘 약물, 장기 이식후 면역억제 약물 및 글루코코르티코이드로 이루어진 군에서 선택되는 약물을 복용중이다. 본 발명의 한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 타크로리무스(프로그라프(Prograf)), 마이코페놀레이트 모페틸(셀셉트(CeilCept)), 시로리무스(라파문(Rapamune)), 프레드니손, 사이클로소포린(네오랄(Neoral)), 샌드임뮨(Sandimmune), 젠그라프(Gengraf) 및 아자티오프린(이뮤란(Imuran))으로 이루어진 군에서 선택된 경구용 면역억제 약물을 복용중이다. 한 태양에서, 면역저하 대상은 상기 경구용 면역억제 약물 중 2 또는 3개 이상을 복용중이다. 본 발명의 한 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 면역억제 약물을 복용중이다: 에버롤리마스, 마이코페놀산, 코르티코스테로이드(예를 들면, 프레드니솔론 또는 하이드로코르티손), 단클론성 항-IL-2R α 수용체 항체(예를 들면, 바실릭시맙 또는 다클리주맙), 항-흉선세포 글로불린(ATG) 및 항-림프구 글로불린(ALG). 한 태양에서, 면역저하 대상은 상기 면역억제 약물 중 2 또는 3개 이상을 복용중이다.
- [0133] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 장기 이식 또는 골수 이식 또는 인공와우 이식을 받았다.
- [0134] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 방사선 치료를 받았다.
- [0135] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 흡연자이다.
- [0136] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 천식을 앓고 있으며 경구용 코르티코스테로이드 치료로 치료받고 있다.
- [0137] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 알라스카 원주민 또는 아메리카 인디언이다.
- [0138] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 5×10^9 세포/L 미만, 또는 4×10^9 세포/L 미만, 또는 3×10^9 세포/L 미만, 또는 2×10^9 세포/L 미만, 또는 1×10^9 세포/L 미만, 또는 0.5×10^9 세포/L 미만, 또는 0.3×10^9 세포/L 미만, 또는 0.1×10^9 세포/L 미만의 백혈구 세포 수(백혈구 수)를 갖는다. 백혈구 세포 수(백혈구 수): 혈액중 백혈구 세포(WBC)의 수. WBC는 통상적으로 CBC(전혈구 수)의 일부로서 측정된다. 백혈구 세포는 혈액에서 감염과 싸우는 세포이며, 적혈구로 알려진 적색(산소-함유) 혈액 세포와 구분된다. 호중구(다

형핵 백혈구; PMN), 간상핵 세포(약간 미성숙 호중구), T-형 림프구(T 세포), B-형 림프구(B 세포), 단핵구, 호산구 및 호염기구를 포함하여 다양한 유형의 백혈구 세포가 존재한다. 백혈구 세포의 모든 유형은 백혈구 세포 수에 반영된다. 백혈구 세포수에 대한 정상 범위는 통상적으로 4,300 내지 10,800 세포/ mm^3 이다. 이것은 또한 백혈구 수로도 지칭될 수 있으며, 4,3 내지 10.8 x 10 세포/L로서 국제 단위로 나타낼 수 있다.

[0139] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 호중구감소증을 앓고 있다. 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 2×10^9 세포/L 미만, 또는 1×10^9 세포/L 미만, 또는 0.5×10^9 세포/L 미만, 또는 0.1×10^9 세포/L 미만, 또는 0.05×10^9 세포/L 미만의 호중구 수를 갖는다. 낮은 백혈구 세포수 또는 "호중구감소증"은 순환 혈액중 비정상적으로 낮은 수준의 호중구를 특징으로 하는 증상이다. 호중구는 감염을 예방하고 감염과 싸우는 특정한 종류의 백혈구 세포이다. 암 환자가 호중구감소증을 경험하는 가장 통상적인 이유는 화학요법의 부작용 때문이다. 화학요법-유도된 호중구감소증은 환자의 감염 위험을 증가시키고 암 치료를 방해한다. 혈액중 호중구가 적을 수록 및 환자가 충분한 호중구없이 오래 유지될 수록, 환자는 세균 또는 진균 감염 진행에 더 민감하다. 호중구는 항균 방어 기전의 주 성분이다. 호중구 수가 1.0, 0.5 및 0.1×10^9 세포/L 미만으로 떨어질 때, 생명을 위협하는 감염의 빈도는 각각 10%에서 19% 및 28%로 급격히 상승한다.

[0140] 본 발명의 특정 태양에서, 백신접종될 면역저하 대상은 $500/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $300/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $200/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $100/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $75/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수, 또는 $50/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포수를 갖는다. CD4 세포 검사는 통상적으로 mm^3 으로 나타낸 세포의 수로 기록된다. 정상적인 CD4 수는 500 내지 1600이고, CD8 수는 375 내지 1100이다. CD4 수는 HIV를 갖는 인간에서 급격하게 떨어진다.

[0141] 본 발명의 한 태양에서, 본원에 개시된 면역저하 대상은 남성 인간 또는 여성 인간이다.

요법

[0143] 일부 경우에는, 본 발명에 따른 백신의 한 용량 정도가 필요하지만, 보다 큰 면역 결핍의 상태와 같은 일부 상황하에서는 1/2, 1/3 또는 1/4 용량이 제공될 수 있다. 한 태양에서, 최초 용량은 제 0 일에 제공되며, 하나 이상의 추가 용량은 약 2 내지 약 24 주 범위의 간격으로, 바람직하게는 4 내지 8 주의 투여 간격으로 제공된다. 한 태양에서, 최초 용량은 제 0 일에 제공되며, 추가 용량은 약 3 개월 후에 제공된다.

[0144] 실시예 부분에서 나타나듯이, 현재 백신접종의 몇가지 단점은 본 발명의 백신을 사용하여 극복할 수 있다. 특히, 본 발명의 백신은 혈청방어율을 달성하고, 혈청전환을 촉진하여 아마도 노출후 백신접종을 가능케하고, 비-반응자의 비율을 감소시키고, 필요한 항원의 양을 감소시키고, 항체 항체 결합활성 및/또는 보호 활성을 증가시키고/시키거나 보다 지속되는 항체 수준을 유도할 수 있다. 이러한 이점들은 면역저하 환자를 치료할 때 특히 유리하다.

실시예

[0146] 실시예 1: HIV-감염 성인에서 톨-유사 수용체 9-작용물질 보강 폐렴구균 백신접종에 대한 면역 반응

[0147] 96 명의 HIV 감염 환자의 II 단계 연구를 수행하였다.

목적:

[0149] 1차 목적:

[0150] * 백신 고반응자의 수를 비교한다 - 7개 폐렴구균 혈청형 중 5개 이상에 대해 2-배 증가 및 $1 \mu\text{g/ml}$ 이상의 IgG 수준으로 정의된다(정량적 IgG 측정에 의해) - CpG 7909 군 대 대조군에서.

[0151] 2차 목적:

[0152] * CpG 7909의 존재 또는 부재하에 폐렴구균 백신접종에 대한 정성적(기능적) 항체 반응을 비교한다.

[0153] * 폐렴구균 백신 보조제로서 CpG 7909의 안전성 및 내성을 평가한다.

[0154] * 폐렴구균 백신접종후 폐렴구균 담체 상태에서의 변화를 분석한다.

[0155] 주요 평가 파라미터:

[0156] 효능:

[0157] 1차: 특이적 항캡슐형 항체(7개 혈청형)의 정량적 측정.

[0158] 2차: 특이적 항캡슐형 항체(폐렴구균 혈청형 6B, 14, 19F 및 23F)의 작용 활성; 이상반응 및 심각한 이상반응의 수 및 강도; 폐렴구균 인두내 콜로니형성에 있어 미생물적 변화; 기준선 CD4-수 및 sCD 163의 측정.

[0159] 완전성/내성:

[0160] 이상 반응(AE): 심각한 이상 반응(SAE); 실험실 시험(혈액학, 임상 화학, 즉, 바이러스 부하량(HIV RNA) 및 CD4-수); 물리적 검사.

[0161] **연구 설계**: 위약-조절 무작위 이중-맹검 연구. **전체 샘플 크기**: 96명의 참가자(군 당 48명).[0162] **시험 약물 및 제형**: PBS 완충제 중에 배합된 CpG 7909(합성 툴-유사 수용체 9-작용물질). CpG 7909는 서열 5'-TCGTCGTTTGTCTGTTGTCGTT-3'의 B-부류 CpG ODN이며, 완전 포스포로티오에이트 주쇄로 합성되었다.[0163] **시험 약물 투여량**: 각각의 폐렴구균 백신과 혼합된 1 mg CpG 7909(100 μ l).[0164] **대조군**: 각각의 폐렴구균 백신과 함께 100 μ l의 중성 PBS 완충제(색 및 점도가 시험 약물과 동일).[0165] **투여 경로**: 근육내 주사. **맹검**: 이중-맹검 연구. **등록자**: 무작위; 적합한 환자들을 1:1의 비율로 무작위로 CpG 7909의 존재 또는 부재하에 폐렴구균 백신접종을 받도록 하였다.[0166] **면역화**:

[0167] 백신을 제조사의 설명에 따라 그 원래 용기에 유지시키고 면역화 직전에 보조제(CpG 7909 또는 위약)와 혼합하였다. 면역화는 대상의 선호에 따라 좌측 또는 우측 상부 삼각근에 수행하였다.

[0168] **각 참가자에 대한 시험 기간**: 1차 백신접종으로부터 마지막 후속조치까지 10 개월.[0169] **연구로부터 대상 탈퇴**:

[0170] 분석 관점에서, 연구로부터의 "탈퇴"는 프로토콜에서 예전된 최종 방문에 대해 복귀하지 않은 임의의 대상이다. 대상은 어떤 연구 절차도 수행되지 않고 후속조치가 수행되지 않고 탈퇴/마지막 접촉일로부터 상기 대상에 대해 어떤 추가의 정보도 수집되지 않은 경우에 연구로부터 "탈퇴"로 본다. 탈퇴자는 대체되지 않았다.

[0171] **연구 결과로부터 대상 탈퇴**

[0172] 연구 결과로부터의 탈퇴는 완전한 처리를 받지 않은 임의의 대상, 즉, 탈퇴일로부터 추가의 계획 용량이 투여되지 않은 경우이다. 프로토콜에 계획된 경우 추가의 연구 절차 또는 후속조치(안전성 또는 면역원성)가 수행될 수 있으므로 연구 결과로부터의 대상 탈퇴가 연구로부터 반드시 탈퇴되지 않을 수도 있다.

[0173] **사례 보고 형식에 포함될 데이터**:

[0174] * 생일, 성별, 인종, 신장, 체중, 연구 번호

[0175] * 출발점 및 기간(해결까지 시간)을 포함하여 대상에 의해 보고된 이상 반응

[0176] * 신체 검사시 긍정적 결과들

[0177] * 병력

[0178] * 연구 기간동안 연구외에서 받은 다른 백신접종

[0179] * 연구 기간동안 정규 약물치료에서의 임의의 변화

[0180] * 연구/1차 백신접종 개시전에 대상에서 존재하는 이미존재하는 질병 또는 정후 및/또는 증상

[0181] * 연구 기간동안 모든 실험실 결과

[0182] **참가자 포함 기준**:

[0183] 1) 참가자 정보지를 이용하여 지방 규제 및 윤리 관례에 따라 제공된 서면으로 된 사전 동의 및 허가서 및 책임 있는 윤리 위원회에 의해 승인된 사전 동의서 형식

[0184] 2) 18세 이상의 연령을 가진 남성 또는 여성 참가자

[0185] 3) HIV-혈청반응양성 개인

[0186] 참가자 제외 기준:

[0187] 1) 양성 뇌 베타-hCG에 의해 측정할 때 임신(여성의 경우)

[0188] 2) 시험 기간동안 확실한 피임 방법을 이용하고 싶어하지 않는 참가자. 확실한 출산 조절 방법으로는 다음이 포함된다: 경구, 비경구 및 피하 전달을 포함한 약리학적 피임; 살정자제와 함께 콘돔; 살정자제와 함께 다이아프램; 불임 시술; 질내 고리; 자궁내 장치; 금욕; 및 폐경후(여성의 경우).

[0189] 3) 현재 모유수유중(여성의 경우).

[0190] 4) 가장 최근의 CD4 수 $< 200 \times 10^6$ 세포/ μl

[0191] 5) HAART 상에서인 경우 바이러스 부하량(HIV RNA) > 50 복사체/ml(프로테아제 억제제 또는 NNRTI를 포함하여 3개 이상의 항레트로바이러스제로 정의, 즉, 최소 6 개월동안 콤비비르 300/150 mg x 2 + 스토크린 600 mg x 1)

[0192] 6) 본 연구에 이전의 등록

[0193] 7) 연구 책임자(Principal Investigator, PI)의 판단으로 연구 목적의 평가를 방해하는 임의의 의학적, 정신의학적, 사회적 또는 직업적 조건 또는 기타 책임(예를 들면, 심각한 알콜 남용, 심각한 약물 남용, 치매)

[0194] 8) 프로토콜 요법에 따를 수 없음

[0195] 9) 포함되기 5년 이내 폐렴구균 백신접종

[0196] 10) 연구 기간동안 다른 백신접종 실험에 참가 예정

[0197] 절차:

[0198] 포함/제외 기준을 통과한 동의하는 참가자를 연구에 등록시켰다. 면역화를 진행하기 전에 기준선 파라미터 측정을 위한 혈액 샘플을 취하였다. 무작위배정시, 참가자를 두가지 연구법 중 하나에 1:1로 배정하였다.

[0199] * 실험군: 두 용량의 7-가 결합체 폐렴구균 백신접종(프레베나르(Prevenar, 등록상표), 와이어스(Wyeth)) + 1 mg CpG 7909(제 0 일), 두 용량의 7-가 결합체 폐렴구균 백신접종(프레베나르(등록상표), 와이어스) + 1 mg CpG 7909(제 90 일) 및 한 용량의 23-가 폴리사카라이드 백신(뉴모 노븀(Pneumo Novum, 등록상표), 사노피 파스퇴르(Sanofi Pasteur) MSD) + 1 mg CpG 7909(제 270 일)

[0200] * 대조군: 두 용량의 7-가 결합체 폐렴구균 백신접종(프레베나르(등록상표), 와이어스) + 100 μg 위약(제 0 일), 두 용량의 7-가 결합체 폐렴구균 백신접종(프레베나르(등록상표), 와이어스) + 100 μg 위약(제 90 일) 및 한 용량의 23-가 폴리사카라이드 백신(뉴모 노븀(등록상표), 사노피 파스퇴르 MSD) + 100 μg 위약(제 270 일).

[0201] 혈액 샘플을 취하였으며, 의사에 의한 후속조치는 신체 검사 및 병력, AE(이상 반응)/SAE(심각한 이상 반응)의 등록, 연구 외의 백신접종 이력, 및 CRF에서 입증하기에 적절할 수 있는 임의의 기타 정보를 포함하였다. 최종적 방문은 제 300 일에 이루어졌다. 최종 방문시에 재발하였거나 상기 프로토콜에서 예견된 최종 접촉이 유효하였던 대상을 연구를 종료한 것으로 간주하였다.

[0202] 백신 및 시험 약물/위약 주입:

[0203] 모든 대상은 제 0, 90 및 270 일에 투여되었다. 모든 면역화는 우측 또는 좌측 팔(참가자의 선호에 따라)의 삼각근에 수행하였다.

[0204] * 제 0 및 90 일에 연구 참가자들은 이중 용량의 프레베나르 1.0 ml + 0.1 ml의 시험 약물(CpG 7909)/위약을 1회 근육내 주사하였다. 두 경우 모두에서, 팔에 주사된 부피는 1.1 ml이다.

[0205] * 제 270 일에 연구 참가자들은 0.5 ml 뉴모 노븀 + 0.1 ml 시험 약물(CpG 7909)/위약을 1회 근육내 주사하였다. 모든 경우에서, 팔에 주사된 부피는 1.1 ml이다. 연구자 및 참가자는 실험 주사 또는 대조 주사가 투여되었는지 여부를 알지 못했다. 각 주사물의 부피 및 외관은 동일하였다.

[0206] 항체 반응의 1차 효능 파라미터 및 분석

[0207] 7개 폐렴구균 혈청형 중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준(정량적 IgG 측정에 의해)으로 정의되는 폐렴구균 백신 고반응자 중 실험군과 대조군 사이의 차이를 찾아내도록 연구를 조장하였다. 연구는

침습성/비침습성 폐렴 또는 확인된 폐렴구균성 질환의 발병률의 차이를 찾도록 조장되지는 않는다. 이것은 상당한 수의 참가자 및 보다 긴 후속조치 기간을 요한다. 폐렴구균 백신접종에 대한 면역 반응을 측정하는 가장 널리 사용되는 방법은 혈청형 특이적 항캡슐형 항체의 정량적 검출이다. 최근의 데이터는 상기 방법의 특이성이 22F 흡수 단계를 포함시키고; 따라서 낮은 활성을 갖는 상응하는 항체를 제거함으로써 개선될 수 있음을 보여주고 있다. 정량적 혈청형 특이 IgG 측정은 22F 흡수 단계를 포함하는 ELISA를 이용하여 덴마크 코펜하겐의 스테이던스 세럼 인스티튜트(Statens Serum Institut, SSI)에 의해 수행되었다. SSI는 치료 배정군에 대해 맹검하였다.

[0208] 항체 반응의 2차 효능 파라미터 및 분석

혈청형 특이적 항캡슐형 항체의 정량적 양을 측정하는 것은 항체의 기능성에 어떤 정보도 제공하지 않는다. 상기 양은 유세포측정 읍소닌식균작용 분석에 의해 측정될 수 있으며, 침습 폐렴구균을 읍소닌화하고 그의 사멸을 촉진하는 항체 능력에 대한 간접적인 정보를 제공한다. 정성적 분석은 혈청형 특이 항체의 기능(읍소닌식균작용) 활성(OPA)을 측정하는 유세포측정 읍소닌식균작용 분석을 이용하여 수행하였다. 간략히: 8개의 2배 희석물을 시험 혈청 $10 \mu\text{l}$ 로부터 OPA 완충액으로 제조하였다. 1×10^5 의 각각의 표적 폐렴구균 혈청형 또는 폐렴구균 폴리사카라이드-결합 비드를 함유하는 멀티플렉스 세균 또는 멀티플렉스 비드 혼탁액 $20 \mu\text{l}$ 를 각각의 웰에 가하고, 플레이트를 수평으로 진탕시키면서(200 rpm) 37°C 에서 1 시간동안 배양하였다. 그런 후에, 3- 내지 4-주된 어린 래빗 혈청(펠-프리즈(Pel-Freez), 브라운 디어(Brown Deer), 위스콘신)으로부터 $20 \mu\text{l}$ 의 멸균 혈청을, $20 \mu\text{l}$ 의 OPA 완충액을 가한 HL60 세포 대조군 웰을 제외하고 각각의 웰에 가한다. 37°C 에서 진탕하면서(오비탈 진탕기 상에서 200 rpm) 20 분간 배양한 후, $30 \mu\text{l}$ 의 세척된 HL60 다형핵 백혈구(PMN)($2.5 \times 10^4/\text{ml}$)를 각 웰에 가하여 1:4의 작용인자 대 표적 비(각각의 표적 유형에 대해)를 수득하였다. 최종 웰 부피는 $80 \mu\text{l}$ 로, 희석물 시리즈의 첫번째 웰은 1:8의 최종 희석물을 함유한다. 이어서, 플레이트를 37°C 에서 진탕하면서 60 분간 배양한다. 추가의 $80 \mu\text{l}$ 의 OPA 완충액을 모든 웰에 가하여 유세포측정 분석에 충분한 부피를 제공하고, 웰 내용물을 미세적정 뷔브(바이오-래드(Bio-Rad), 헤르클레스(Hercules), 캘리포니아)로 옮겼다. 성질 대조 샘플을 포함하여 12개 이하의 혈청 샘플을 플레이트당 분석할 수 있다. 유세포 분석은 플로우 어플리케이션즈, 인코포레이티드(Flow Applications, Inc.) III USA51에 의해 수행하였다.

[0210] 폐렴구균 보균율

폐렴구균 백신접종은 폐렴구균의 인두내 보균율에 영향을 미칠 수 있다. 폐렴구균 인두내 콜로니형성도 또한 폐렴구균 백신접종에 대한 면역 반응에 영향을 미칠 수 있다. 그러므로, 폐렴구균 백신접종 전후에 보균율 상황을 확실히 하는 것이 중요하다. 구인두내 콜로니형성은 구강을 통한 BBL 배양물 교환(벡톤 딕슨 마이크로바이올로지 시스템즈(Becton Dickinson Microbiology Systems), 미국 메릴랜드 콕키스빌)을 이용하여 후인두에서 검사하였다. 샘플을 개개인 연구 ID 번호로 표지하고, 수시간내에 -20°C 에서 냉동시킨 후 스테이던스 세럼 인스티튜트로 이송하고, 거기에서 분리, 배양 및 혈청형 분석을 수행하였다. 이것은 제 0 일에 수행하였으며, 제 270 일에 후속조치동안 다시 수행하였다.

[0212] 이상 반응(AE):

[0213] AE는, 의약 제품과 관련되는 것으로 간주되든지 아니든지, 의약 제품의 사용과 일시적으로 관련되는, 임상 연구 대상에서 임의의 다루기 힘든 사건이다. 그러므로, AE는 의약 제품의 사용과 일시적으로 관련된 임의의 불리하고 의도하지 않은 징후(비정상적 실험실 결과를 포함하여), 증상 또는 질환(새로운 또는 악화된)일 수 있다. 이 연구에서, AE는 일반 독성 기준(Common Toxicity Criteria) 버전 2.0에 따라 등급을 매겼다.

[0214] 심각한 이상 반응(SAE) 정의:

[0215] 임상 시험동안 일어나는 이상 반응은 참가자에서 의약 제품의 사용과 관련된 임의의 바람직하지 않은 경험이다. 상기 이상 반응은 심각하며 참가자의 결과가 다음과 같을 때 규제 기관에 보고된다:

[0216] 1. 사망

[0217] 2. 생명-위협

[0218] 3. 입원(초기 또는 지연)

[0219] 4. 장애

[0220] 5. 영구적 장애 또는 손상을 방지하기 위한 개입이 필요

- [0221] 6. 선천적 장애/이상(임신한 여성에 대해)
- [0222] **의심되는 예기치 않은 심각한 이상 반응(SUSAR) 정의:**
- [0223] 연구동안 일어나는 의심되는 예기치않은 심각한 이상 반응(SUSAR)이 다음과 같을 때 보고된다:
- [0224] * 이상반응은 SAE이어야 한다.
 - [0225] * 이상반응이 약물 투여에 불리한 반응일 가능성성이 어느 정도 있어야 한다.
- [0226] 불리한 반응은 예기치 못한 것이어야 한다, 즉, 연구자의 브로셔(공인되지 않은 의약 제품에 대해)에서 예견되지 않은 것이어야 한다.
- [0227] **데이터 평가: 목적 평가에 대한 기준**
- [0228] 모든 종료점은 실험 백신 군(+CpG 7909) 및 대조 백신 군(+위약) 사이에서 비교하였다. 준연구는 두(비)-무작위 처리 군(HAART 대 비HAART)에서 종료점을 비교하였다.
- [0229] **1차 종료점:**
- [0230] 프레베나르로 2차 백신접종 6 개월후.
- [0231] * 7개 폐렴구균 혈청형 중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준(정량적 IgG 측정에 의해)으로 정의된 폐렴구균 백신 고반응자
- [0232] **2차 종료점:**
- [0233] 면역원성
- [0234] 프레베나르로 1차 백신접종 3 개월후.
- [0235] * 7개 폐렴구균 혈청형 중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준(정량적 IgG 측정에 의해)으로 정의된 폐렴구균 백신 고반응자
- [0236] * 역가로 나타낸 혈청형 6B, 14, 19F 및 23F에 대해 옵소닌식균 활성
- [0237] * 2-배 증가 및 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준으로 정의된 혈청형-특이 항체 반응
- [0238] * IgG 수준의 변화로 정의된 혈청형-특히 항체 반응
- [0239] 프레베나르로 2차 백신접종 6 개월후.
- [0240] * 역가로 나타낸 혈청형 6B, 14, 19F 및 23F에 대해 옵소닌식균 활성
- [0241] * 2-배 증가 및 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준으로 정의된 혈청형-특이 항체 반응
- [0242] * IgG 수준의 변화로 정의된 혈청형-특히 항체 반응
- [0243] 뉴모 노봄으로 백신접종 1 개월후.
- [0244] * 7개 폐렴구균 혈청형 중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준(정량적 IgG 측정에 의해)으로 정의된 폐렴구균 백신 고반응자
- [0245] * 역가로 나타낸 혈청형 6B, 14, 19F 및 23F에 대해 옵소닌식균 활성
- [0246] * 2-배 증가 및 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 IgG 수준으로 정의된 혈청형-특이 항체 반응
- [0247] * IgG 수준의 변화로 정의된 혈청형-특히 항체 반응
- [0248] * 혈청형 1, 4, 7F, 9V, 14, 18C 및 19F에 대한 표준 효소 면역분석학의 기하 평균 항체 농도
- [0249] **인두내 콜로니형성**
- [0250] 프레베나르로 2차 백신접종 6 개월후.
- [0251] * 폐렴구균 콜로니형성을 갖는 개인의 수
- [0252] **항체 반응의 예상**

[0253] 기준선에서.

[0254] * 프레베나르로 2차 백신접종 6 개월후 백신 반응에 대한 위험 인자

[0255] 2차 종료점:

[0256] 모든 대상에서 반응원성 및 안전성

[0257] 분석 집단:

[0258] 안전성 집단: 하나 이상의 백신접종을 받은 모든 환자.

[0259] * 각각의 백신접종 투여후 4-일(제 0 일부터 제 3 일)의 기간동안 주기적 및 일반 증상의 발생

[0260] * 각각의 백신접종 1 개월후까지 비주기적 증상의 발생

[0261] * 연구동안 CD4-수 및 바이러스 부하량의 변화

[0262] 안전성은 신체 검사, 이상 반응(일반 독성 기준 벼전 2.0에 다라), 실험실 검사, 및 HIV 대조 파라미터(HIV RNA 및 CD4-수)로 평가한다.

통계 분석

[0264] 기준선 특성

[0265] 제 0 일에 연구 군 사이의 차이는 맨-휘트니(Mann-Whitney) 순위 합 검정(연속 변수) 및 카이(Chi)-제곱 검정(이분 및 범주형 변수)에 의해 평가한다.

[0266] 1차 종료점

[0267] 두 백신접종 계획 군(CpG 7909 존재/부재)과 비교한, 프레베나르로 2차 백신접종 6 개월후에 고반응자의 유병률은 카이-제곱 검정에 의해 평가하였다. 연령, 기준선에서의 CD4 세포수 및 기준선에서의 HAART(HAART 대 비 HAART)에 의해 조정된 포아송(Poisson) 회귀분석 모델을 계획하였다.

[0268] 2차 종료점

[0269] 연구군 사이의 종료점 비교는 카이-제곱 검정에 의해 수행하였다. 적절한 잠재적 교란변수에 대해 조정된 포아송 회귀분석(이분 종료점) 또는 선형 회귀분석(연속 종료점)을 계획하였다.

[0270] 안전성 데이터

[0271] 안전성 데이터를 여겨하고 카이-제곱 검정에 의해 비교하였다.

[0272] 평가 샘플 크기

[0273] 치료 의향(ITT) 집단: 모든 무작위 참가자

[0274] 샘플 크기는 1차 종료점(두 백신접종 계획 군과 비교한, 프레베나르로 2차 백신접종 6 개월후에 고반응자의 유병률)에 대해 산출한다. 제 1 종 및 제 2 종 오류의 가능성을 다음으로 설정한다:

[0275] * 제 1 종 오류 가능성(α) = 0.05(양면).

[0276] * 제 2 종 오류 가능성(β) = 0.20(효력 = 1 - β = 0.80).

[0277] * 1차 종료점: 백신 고반응자(7개 폐렴구균 혈청형중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 1 μ g/ml 이상의 IgG 수준)의 비율.

[0278] * N은 각 군에 필요한 참가자의 수이다.

[0279] 대조군 \ CpG 0.50 0.55 0.60 0.65 0.70

[0280] 0.20 39 29 23 18 15

[0281] 0.25 58 41 31 24 19

[0282] 0.30 93 61 42 31 24

[0283] 0.35 170 96 62 43 31

[0284] 0.40 388 173 97 62 42

[0285] 대조 백신 군에서 30%의 유병률 및 실험 백신군에서 60%의 유병률을 가정하면, 포아송 회귀분석에 의해 평가된 유병률의 차이를 알아내기 위해 군 당 42명 환자의 샘플 크기가 필요하다. 예상되는 중도하차 퍼센트는 10%로 설정한다. 따라서, 총 94명의 대상이 연구에 필요하였다. 규제 기관에 의해 권장된 접근방법에 따라서, 면역 반응 차이의 양면 95% 신뢰도 구간(CI)을 산출하였다.

[0286] 실시예 2: HIV-감염 성인에서 TLR9-보조된 폐렴구균 백신의 면역원성 및 안전성. 무작위 이중 맹검 위약-조절 시험의 결과

[0287] 실시예 1에 기술된 임상 시험을 수행하였다.

[0288] 연구는 0 및 3 개월째에 이중 용량의 PCV(폐렴구균 결합 백신)(프레베나르) ± 1 mg CpG 7909 및 9 개월째에 하나의 단일 용량의 PPV(폐렴구균 폴리사카라이드 백신) ± 1 mg CpG 7909로 백신접종될 HIV를 갖는 개인을 무작위 선정한 위약-조절 단계 II 시험이었다. 면역원성 및 안전성은 0, 3, 4, 9 및 10 개월째에 평가하였다. 1차 종료점은 9 개월째에 7개의 PCV 혈청형(ELISA에 의한 정량적 IgG, 스테이던스 세럼 인스티튜트, 덴마크 코펜하겐) 중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 1 μ g/ml 이상의 IgG 수준으로 정의된 백신 고반응자의 비율이다.

[0289] 결과: 표 1에 도시된 바와 같이, 96명의 참가자가 포함되었다. 48명 참가자의 각 군에서, 38명이 ART였다.

표 1

포함시 기준선 특성

		위약군	CpG 군
n		48	48
성별	남성	38(79.2)	43(89.6)
	여성	10(20.8)	5(10.4)
인종	백인	43(89.6)	47(97.9)
	비-백인	5(10.4)	1(2.1)
평균 연령(세)(IQR)		48.9(42.0-59.0)	48.9(43.0-58.8)
평균 CD4 \div ml 당 세포수 $\times 10^6$ (IQR)		617(500-848)	673(393-817)
HAART	있음	38(79.2)	38(79.2)
	없음	10(20.8)	10(20.8)
평균 log HIV RNA, IQR	HAART	1.60	1.60
	비-HAART	4.47(3.73-4.86)	4.25(3.70-4.59)
이전 PPV-23 면역화*		1(2.1)	2.(4.2)
현재 흡연자		17(35.4)	18(37.5)

* 포함전 5년 미만, IQR: 사분위수 범위

[0291] 표 2 및 도 1에서 보여지듯이, 백신 고반응자의 비율은 PCV 면역화 후에 위약 보조군에서보다 CpG에서 훨씬 더 높았다(48.8% 대 25.0%, p=0.018). 3개월(51.1% 대 39.6%, p=0.26), 4개월(77.35 대 56.3%, P=0.033), 10개월(87.8% 대 51.5%, p<0.001)에 또한 증가된 반응이 관찰되었다.

표 2

각 시점에서 백신 고반응자의 비율

n(%)		위약군	CpG군	p
HR 프리 PCV1	있음	0	0	
	없음	0	0	
PCV1 3개월후 HR	있음	19(39.6)	24(51.1)	0.26
	없음	29(60.4)	23(48.9)	
PCV2 1개월후 HR	있음	27(56.3)	34(77.3)	0.03
	없음	21(43.7)	10(22.7)	
PCV2 6개월후 HR	있음	12(25.0)	21(48.8)	0.02
	없음	36(75.0)	22(51.2)	

PPV-23 1개월후 HR	있음 없음	24(51.1) 23(48.9)	36(87.8) 5(12.2)	<0.001
HR: 폐렴구균 백신 고반응자 - 7개 프레베나르 폐렴구균 혈청형 중 5개 이상에 대해 2배 증가 및 1 µg/ml 이상의 IgG 수준으로 정의됨(정량적 IgG 측정에 의해); PCV: 폐렴구균 결합 백신; PPV-23: 23-가 폐렴구균 폴리사카라이드 백신				

[0293] 도 2 및 3은 CPG 및 위약군 사이에 2개의 PCV 혈청형(9V 및 14)에 대해 상대 IgG 반응의 차이를 나타낸다. 도 4 및 5는 CPG 및 위약군에서 2개의 비-PCV 혈청형(1 및 7f)에 대한 상대 IgG 반응을 나타낸다(예상된 바와 같이 PCV 면역화와 관련하여 IgG의 증가가 관찰되지 않았다). PPV 면역화 후, 두 군(+/ - CpG) 모두 상당한 반응을 나타낸다. 그런, CpG는 PPV 면역화후 비-PCV 혈청형(1 및 7f)에 대해 항체 반응을 증가시키지 않았다.

[0294] 표 3에서 보이듯이, IgG 항체의 기하 평균 농도(GMC)에 대한 데이터는 대조군에 비해 실험군에 대해 거의 모든 PCV-7-혈청형에 대해 기준선으로부터 3, 4, 9 및 10개월까지 GMC-비를 증가시킴을 나타내었다. 예상된 바와 같이, 3개의 비-PCV 혈청형(1, 7F 및 19A)의 GMC는 PCV-7 면역화후 별로 변화하지 않았다. PPV-23 후 두 군 모두 비-PCV-7 혈청형에 대한 GMC에서 2 내지 5배 증가(혈청형 19A에 대해 최저)를 나타내었지만, GMC-비에 있어서 군-차이는 별로 없었다.

표 3

CPG7909의 존재 또는 부재하여 IgG 흡체의 기하 평균 농도 및 폐렴구균 백신을 투여 받은 HIV를 찾는 개인의 OPA 액 가의 기하 평균									
PCV-7 출혈	군	1 st PCV-7 전 GM·비	1 st PCV-7 후 GM·비	2 nd PCV-7 후 GM·비	PPV-23 전 GM·비	PPV-23 후 GM·비	PPV-23 후 GM·비	PPV-23 후 GM·비	PPV-23 후 GM·비
PS 4 - IgG	CPG 7909 대조군	0.53 (0.26-0.81) 0.39 (0.32-0.49)	0.81 (0.58-1.13) 1.26 (0.80-1.77)	1.25 (0.95-1.90) 1.26 (0.80-2.00)	2.26 (1.65-3.10) 1.48 (1.09-2.00)	1.00 (0.72-1.39) 1.53 (1.00-2.37)	1.86 (1.34-2.57) 1.40 (0.91-2.16)	1.86 (1.34-2.57) 1.45 (1.07-1.96)	1.28 (0.83-1.98)
PS 6B - IgG	CPG 7909 대조군	1.03 (0.82-1.31) 1.23 (0.94-1.64)	1.23 (0.95-1.20) 0.83 (0.58-1.20)	2.84 (1.96-4.12) 3.35 (2.01-4.62)	7.55 (5.05-11.3) 5.00 (3.19-7.85)	3.55 (2.47-5.12) 1.51 (0.83-2.75)	5.21 (3.6-7.46) 2.62 (1.71-4.01)	5.21 (3.6-7.46) 1.36 (0.77-2.38)	4.07 (2.66-6.24) 1.28 (0.73-2.24)
PS 6B - OPA	CPG 7909 대조군	8 (6-9) 8 (6-10)	60 (45-96) 0.93 (0.67-1.26)	60 (45-96) 0.82 (54-124)	266 (187-384) 1.46 (0.92-2.31)	206 (95-370) 0.97 (0.62-1.52)	556 (399-774) 505 (377-674)	556 (399-774) 1.10 (0.72-1.70)	
PS 9V - IgG	CPG 7909 대조군	0.50 (0.42-0.60) 0.70 (0.51-0.97)	0.50 (0.42-0.60) 0.71 (0.50-1.03)	2.48 (1.71-3.58) 2.22 (1.52-3.25)	3.69 (2.65-5.15) 1.11 (0.66-1.88)	1.83 (1.30-2.58) 2.71 (1.91-3.86)	3.50 (2.59-4.72) 1.41 (0.97-2.07)	3.50 (2.59-4.72) 1.30 (0.78-2.15)	1.33 (0.84-2.12)
PS 14 - IgG	CPG 7909 대조군	1.92 (1.43-2.57) 2.38 (1.67-3.39)	1.92 (1.43-2.57) 0.86 (0.51-1.27)	9.94 (6.40-14.2) 9.99 (6.31-15.8)	10.03 (6.84-14.7) 0.96 (0.52-1.74)	7.31 (4.33-9.18) 11.12 (7.43-16.6)	9.76 (7.16-13.3) 7.64 (5.13-11.4)	10.1 (6.96-14.7) 0.83 (0.48-1.42)	0.98 (0.59-1.57)
PS 14 - OPA	CPG 7909 대조군	37 (25-54) 32 (22-46)	34.6 (23.1-45.6) 1.17 (0.69-1.98)	34.2 (25.3-46.2) 1.01 (0.67-1.51)	35 (24-44.9) 31.8 (24.9-45.5)	61.7 (47.5-82.1) 1.10 (0.76-1.55)	538 (325-752) 576 (445-746)	538 (325-752) 1.07 (0.74-1.54)	1.82 (1.31-2.39)
PS 18C - IgG	CPG 7909 대조군	0.75 (0.61-0.93) 1.00 (0.76-1.30)	0.75 (0.61-0.93) 0.76 (0.54-1.06)	4.11 (2.89-5.85) 4.59 (3.20-6.00)	4.61 (3.33-6.37) 0.90 (0.54-1.47)	2.46 (1.75-3.47) 4.88 (3.50-6.80)	3.90 (3.05-5.4) 0.87 (0.54-1.40)	3.90 (3.05-5.4) 3.91 (2.86-5.30)	1.01 (0.68-1.57)
PS 19F - IgG	CPG 7909 대조군	1.38 (1.12-1.71) 2.09 (1.62-2.70)	3.10 (2.36-4.07) 0.66 (0.49-0.92)	4.52 (3.37-6.05) 0.69 (0.46-1.02)	5.24 (3.95-6.96) 0.91 (0.62-1.35)	2.89 (2.19-3.81) 3.10 (2.33-4.11)	5.57 (4.40-7.05) 0.93 (0.63-1.38)	5.57 (4.40-7.05) 0.93 (0.63-1.38)	0.93 (0.63-1.32)
PS 19F - OPA	CPG 7909 대조군	25 (15-39) 20 (13-32)	42.8 (30.6-61) 1.21 (0.64-2.26)	32.3 (25.5-42.6) 35.9 (25.0-51.0)	204 (142-283) 1.20 (0.74-1.95)	1.36 (0.95-1.96) 242 (185-314)	205 (147-286) 1.00 (0.61-1.61)	205 (147-286) 551 (385-789)	1.26 (0.79-2.00) 1.26 (0.79-2.00)
PS 23F - IgG	CPG 7909 대조군	0.69 (0.57-0.83) 0.75 (0.61-0.92)	2.76 (1.94-3.94) 0.92 (0.70-1.21)	6.61 (4.89-9.48) 3.82 (2.52-5.79)	3.36 (2.43-4.65) 0.72 (0.42-1.24)	5.14 (3.91-6.76) 1.13 (0.86-1.88)	4.09 (2.85-5.89) 2.98 (0.71-4.40)	4.09 (2.85-5.89) 1.25 (0.79-1.99)	
PS 23F - OPA	CPG 7909 대조군	13 (10-17) 11 (6-13)	107 (72-180) 1.22 (0.89-1.74)	196 (141-280) 132 (89-194)	244 (164-523) 0.81 (0.47-1.41)	367 (246-553) 1.13 (0.75-1.69)	245 (171-361) 1.19 (0.80-1.77)	245 (171-361) 1.47 (0.87-2.48)	

[0296]

[0297] 표 4에서 보여지듯이, PCV에 대해 가벼운 전신 및 주사 부작용이 CpG 군에서 더 보편적이었다(100% 대 81.3%, $p=0.002$). 중간정도 내지 심한 인플루엔자-유사 증상이 PPV후 CpG 군에서 관찰되었다.

[0298] CD4+ 세포수(도 6 참조) 또는 장기 기능에 대해 어느 군에서도 어떤 부작용도 나타나지 않았다.

五 4

주사-관련 이상 반응

	1차 PCV			2차 PCV			PPV-23		
	PCV	PCV+CPG	p	PCV	PCV+CPG	p	PPV-23	PPV-23+CPG	p
n(%)	n=48	n=47		n=48	n=44		n=47	n=41	
하나이상의 부작용	33(68.8)	44(93.6)	0.002	30(62.5)	40(90.0)	0.001	28(59.6)	41(100)	<0.001
주사부위 통증	32(66.7)	43(91.5)	0.003	30(62.5)	37(84.1)	0.02	27(57.5)	36(87.8)	0.002
주사부위 발적	3(6.3)	10(21.3)	0.04	5(10.4)	11(25.0)	0.07	7(14.9)	25(61.0)	<0.001

주사부위 타 박상	5(12.5)	18(38.3)	0.004	7(14.6)	16(36.4)	0.02	9(19.2)	27(65.9)	<0.001
주사부위 가 려움	0(0)	1(2.1)	0.50	0(0)	1(2.3)	0.48	0(0)	3(7.3)	0.10
인플루엔자 -유사 증상*	3(6.3)	17(36.2)	<0.001	3(6.3)	17(38.6)	<0.001	2(4.3)	37(90.2)	<0.001
두통	2(4.2)	1(2.1)	1.00	0(0)	0(0)	1.00	0(0)	5(5.7)	0.02
오심	2(4.2)	1(2.1)	1.00	0(0)	1(2.3)	0.48	1(2.1)	0(0)	1.00

*인플루엔자-유사 증상은 발열, 관절통, 오한 및 피로를 포함하였다

[0300]

결론: 면역화에 대해 저-반응성인 것으로 알려진 집단에서, CPG 7909를 결합체 폐렴구균 백신에 첨가하면 백신 고반응자의 비율이 크게 향상되었다. CPG 7909 및 결합체 폐렴구균 백신(프레브나르)의 안전성은 우수하였으며, 시험동안 장기 기능 또는 HIV 질환 진행에 대해 어떤 이상 반응도 관찰되지 않았다. CPG 7909와 결합체 폐렴구균 백신(프레브나르)의 조합은 잘 허용되었으며, 이상 반응은 가벼운 주사 부위 반응 및 인플루엔자-유사 증상이었다. 본 시험에서, CPG 7909는 폐렴구균 폴리사카라이드 백신접종후 비-프레브나르 혈청형에 대한 반응을 증가시킨 것으로 나타나지 않았다.

[0301]

실시예 3: TLR9-작용물질 보조제는 HIV-감염 성인에서 폐렴구균 결합 백신에 응하여 셀룰러 메모리를 유도한다

[0302]

CPG 7909가 폐렴구균 결합 백신에 응하여 셀룰러 메모리 유도에 어떻게 영향을 미치는지를 조사하였다.

[0303]

방법: 실시예 1의 이중 맹검 위약-조절 단계 Ib/IIa 시험으로부터 40 명의 HIV-감염 개인(각 군에 20명의 대상)으로부터 말초혈 단핵 세포(PBMC)를 0 및 4 개월에 수거하고 저장(냉동)하였다. 냉동된 PBMC를 해동하고 생존력에 대해 시험하고 96-웰 편평한 바닥의 조직 배양 플레이트로 옮겼다. 세포를 37 °C에서 밤새 배양하고, 다음날 정제된 폐렴구균 폴리사카라이드(혈청형(ST) 6B 및 14)로 자극하였다. 48 시간 배양한 후, 상동액을 수거하고 루미넥스(Luminex)로 사이토카인 농도를 측정하였다. 상대적 반응을, 스트렙토코커스 뉴모니에에 대해 이미 존재하는 면역성을 고려하고 본능적 인지로부터의 선입관을 배제하여, 면역화 후 및 전의 사이토카인 농도 사이의 비로서 산출하였다.

[0304]

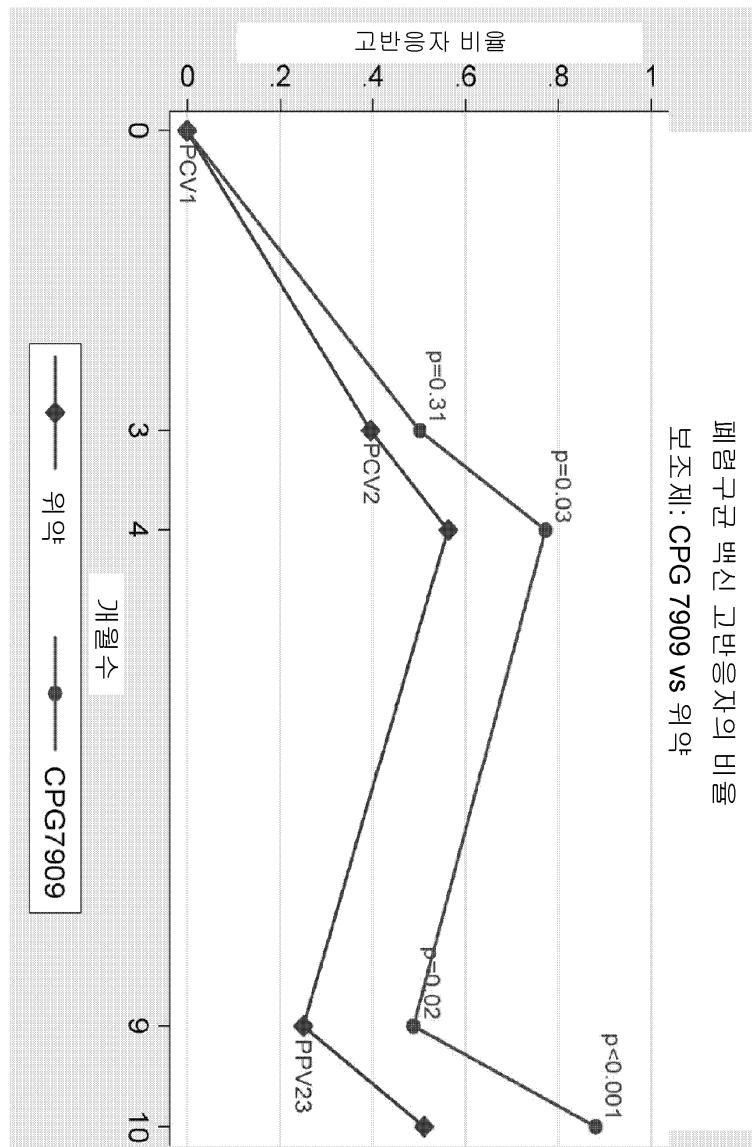
결과: 도 7, 8 및 9에서 보듯이, 2차 폐렴구균 결합 백신 1개월후 CPG 7909 군은 다음에 대해 위약-보조군보다 훨씬 더 높은 상대적 사이토카인 반응을 나타내었다: IFN-감마 (ST6B): 1.22 대 0.82, p=0.004; (ST14): 1.21 대 0.89, p=0.04; TNF-알파(ST6B): 1.49 대 0.82, p=0.03; (ST14): 1.76 대 0.85, p=0.01; IL-6(ST6B): 2.11 대 0.83, p=0.01; IL-6(ST6B): 2.11 대 0.83, p=0.0084; (ST14): 1.64 대 0.81, p=0.0357), IFN-알파(ST6B): 1.55 대 0.84, p=0.0014; (ST14): 1.43 대 0.90, p=0.0466). 대조군에 비해 CPG 7909 군에서 사이토카인 반응은 또한 IL-1B, IL-2R, MIP-1알파, MIP-베타, MCP-1 및 IP-10에 대해 상당히 증가되었다.

[0305]

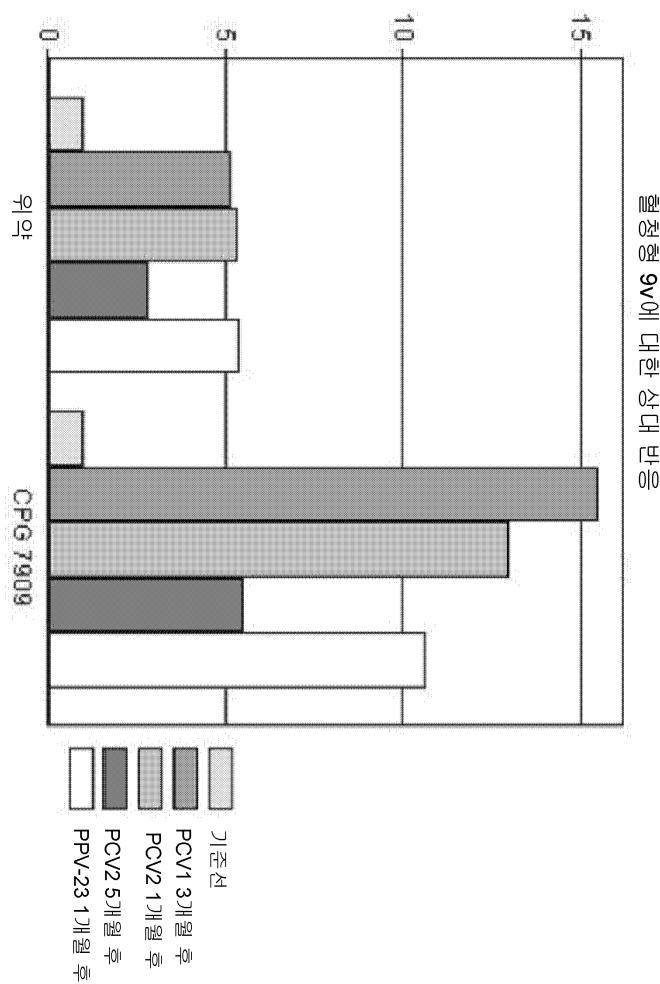
결론: 본 발명자들의 결과는 HIV를 갖는 사람들중에서, 폐렴구균 결합 백신과 동시-투여된 TLR9 작용물질-보조제가 백신을 단독으로 투여했을 때엔 관찰되지 않은 폐렴구균 폴리사카라이드에 대한 셀룰러 메모리를 유도하였음을 보여준다.

도면

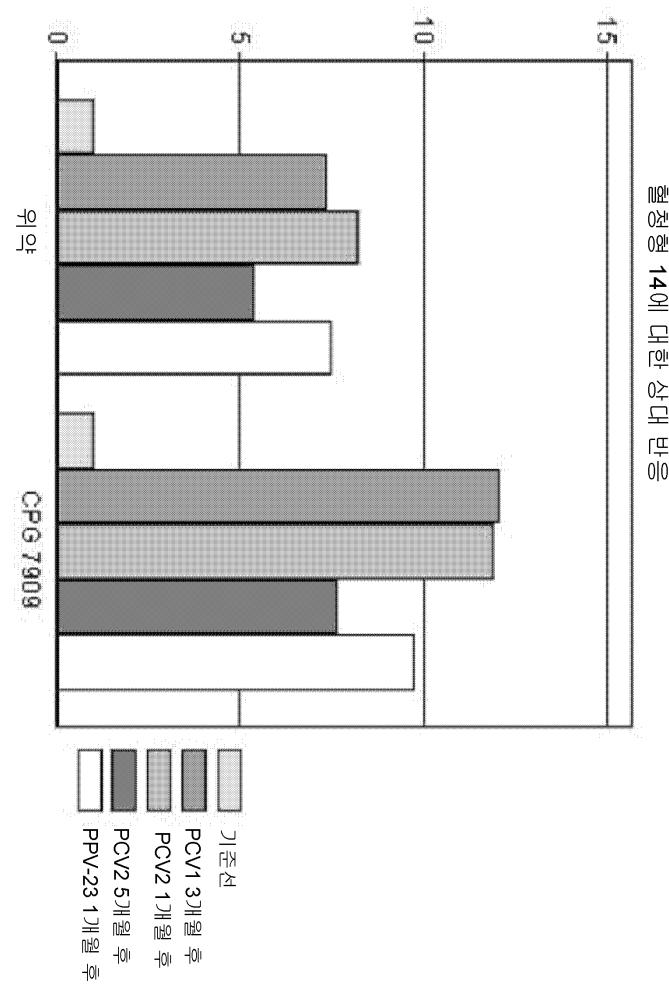
도면1



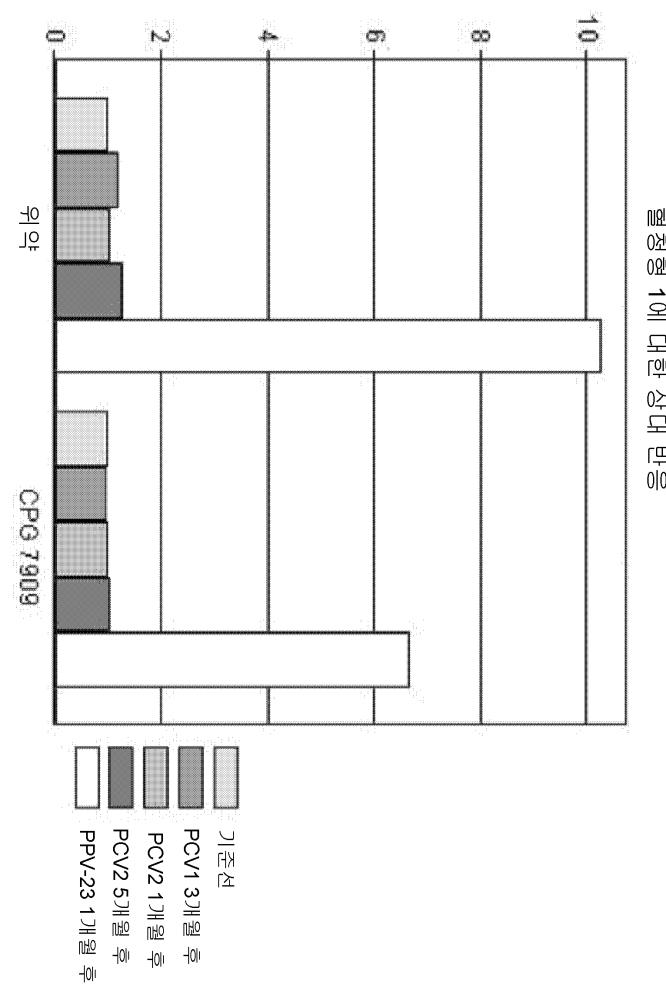
도면2



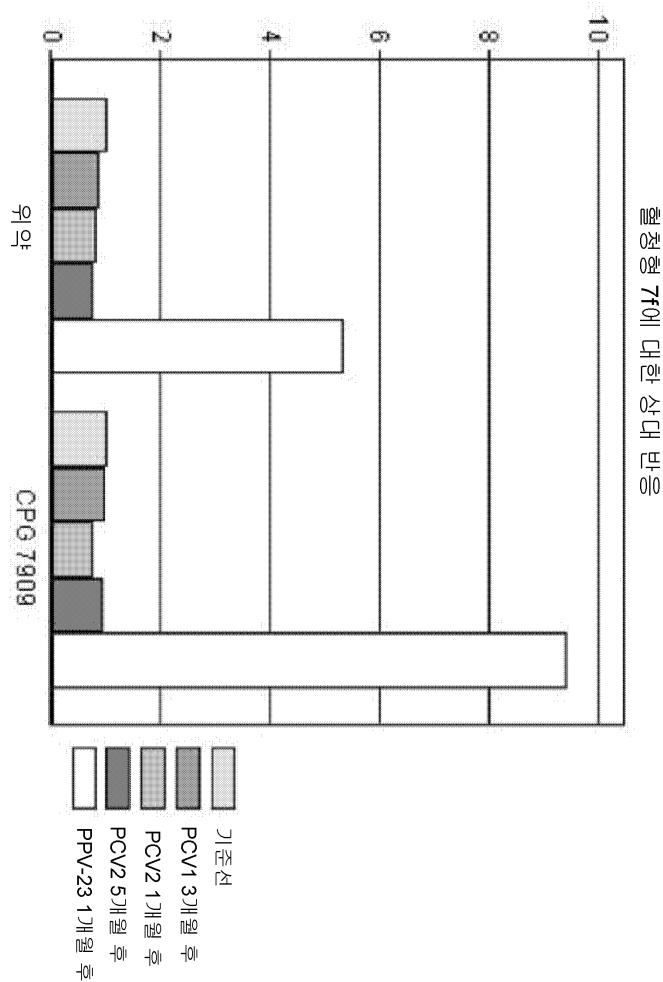
도면3



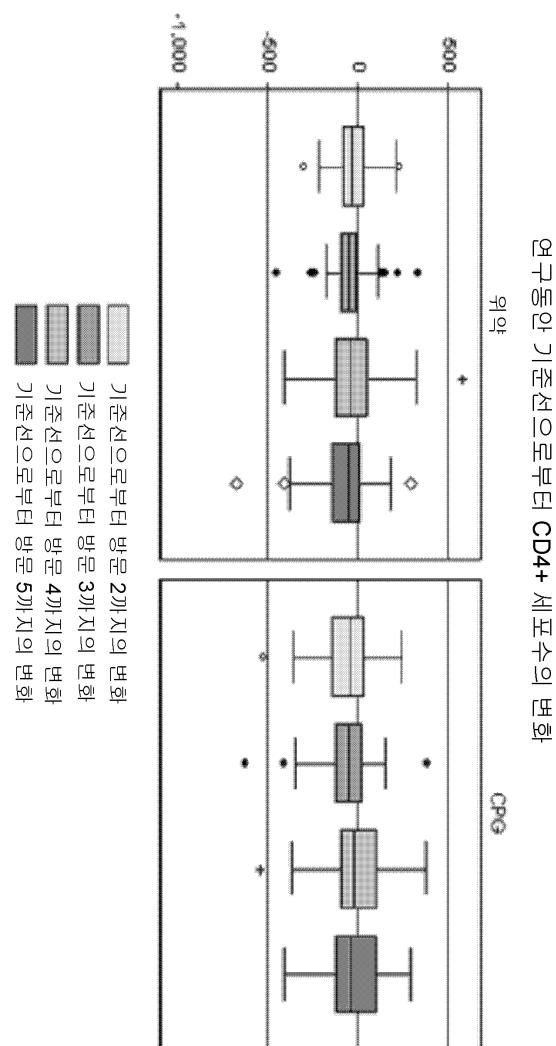
도면4



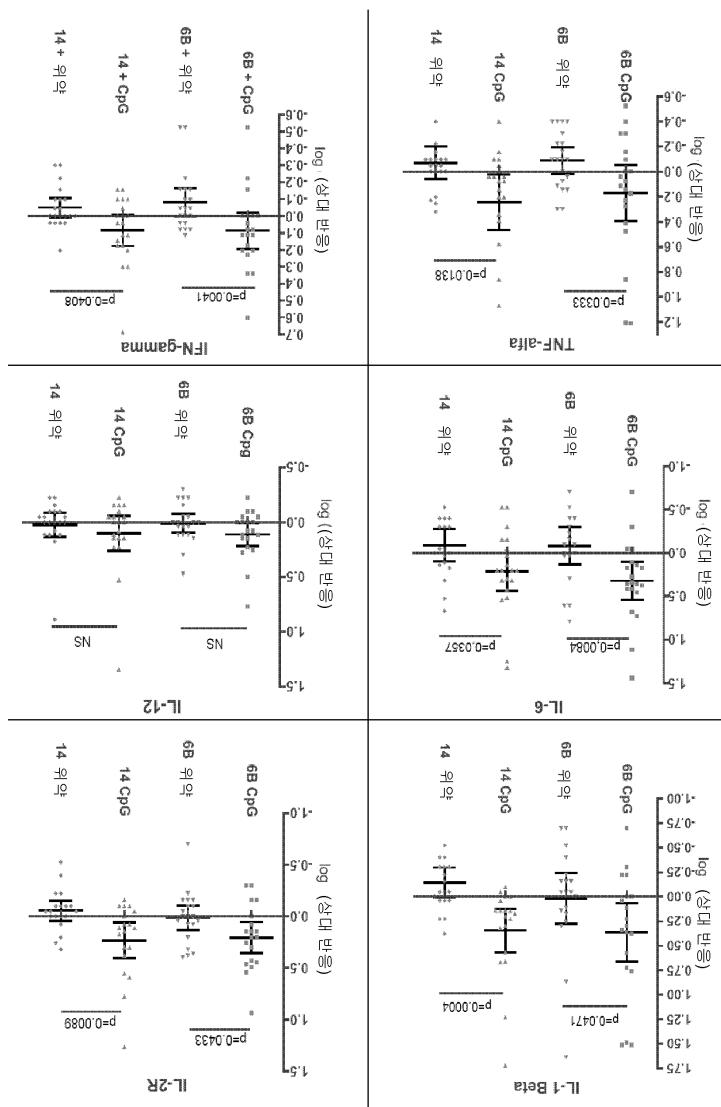
도면5



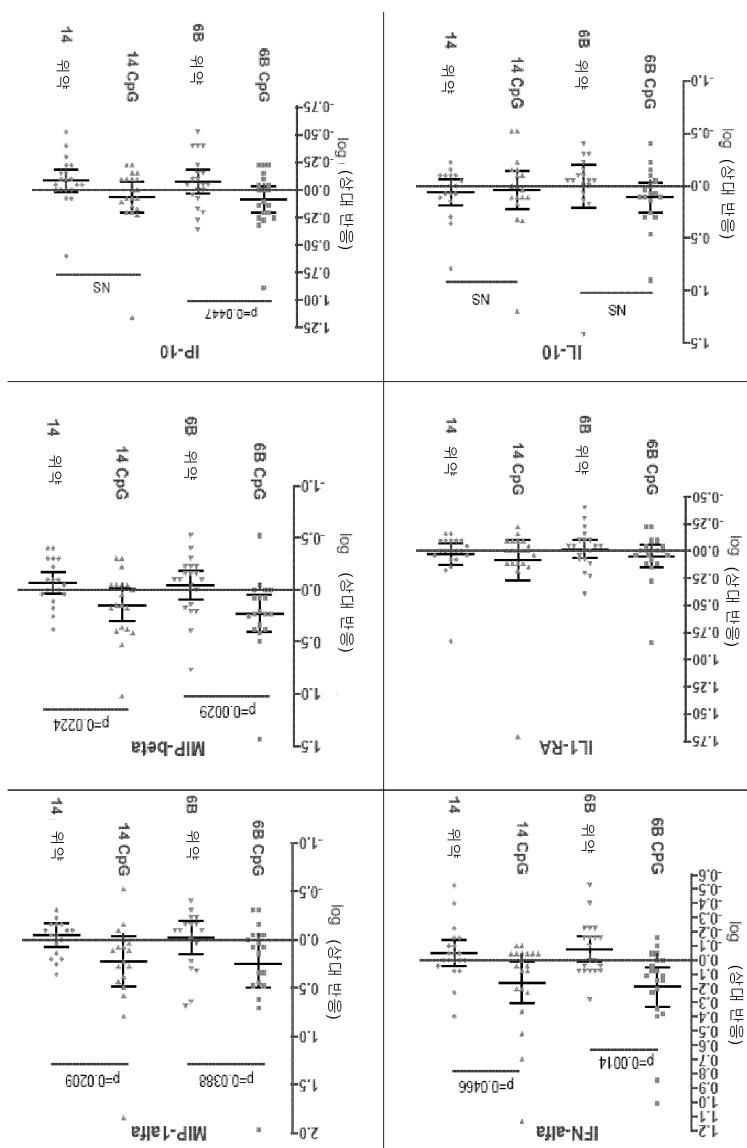
도면6



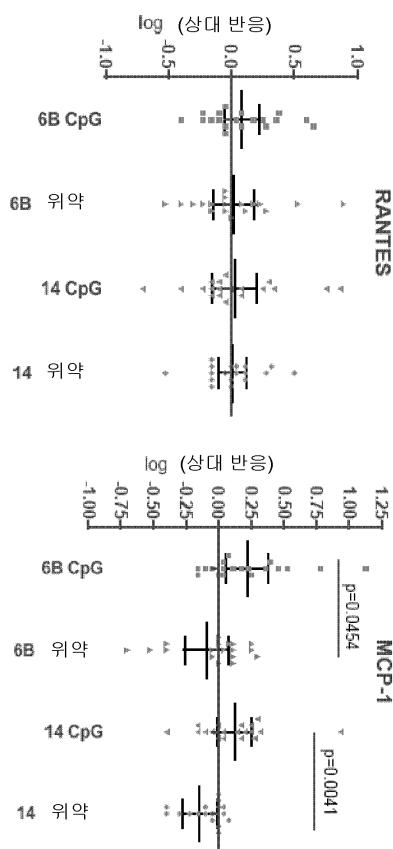
7면



도면8



도면9



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Coley Pharmaceutical Group, Inc.

<120> Pneumococcal vaccine and uses thereof

<130> PC33894

<140> PCT/IB2010/051150

<141> 2010-03-17

<150> US 61/174,068

<151> 2009-04-30

<150> US 61/238,313

<151> 2009-08-31

<160> 40

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> A class CpG oligonucleotide

<400> 1

ggggacgacg tcgtggggg

20

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> A class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(3)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (16)..(21)

<400> 2

ggggacgacg tcgtggggg g

21

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<400> 3

tcgtcggtt tcggtgctt t

21

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<400> 4

tcgtcggtt tcggtgctt t

21

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<400> 5

tcgtcgttt gtcgtttgt cgtt

24

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<400> 6

tcgtcgttc gtcgtttgt cgtt

24

<210> 7

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<400> 7

tcgtcgttt gtcgttttt tcga

24

<210> 8

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(21)

<400> 8

tcgtcgttt tcggtgctt t

21

<210> 9

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(21)

<400> 9

tcgtcgttt tcggtcgtt t 21

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(24)

<400> 10

tcgtcgttt gtcgtttgt cgtt 24

<210> 11

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(24)

<400> 11

tcgtcgttc gtcgtttgt cgtt 24

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> B class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(24)

<400> 12

tcgtcgttt gtcgttttt tcga 24

<210> 13

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<400> 13	
tcgcgtcggtt cggcgccgcg cg	22
<210> 14	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 14	
tcgtcgacgt tcggcgccgcg ccg	23
<210> 15	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 15	
tcggacgttc ggcgcgcgcc g	21
<210> 16	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 16	
tcggacgttc ggcgcgcgccg	19
<210> 17	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 17	
tcgcgtcggtt cggcgccgcgcg	20
<210> 18	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 18	
tcgacgttcg ggcgcgcg	20
<210> 19	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 19	
tcgacgttcg ggcgcgcg	18
<210> 20	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 20	
tcgcgtcggtt cggcgccg	18
<210> 21	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 21	
tcgcgacgtt cggcgccgcg	22
<210> 22	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> C class CpG oligonucleotide	
<400> 22	
tcgtcggtt cggcgccgcg	22
<210> 23	

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> C class CpG oligonucleotide
 <400> 23
 tcgtcgttt cggcgccgc cg 22
 <210> 24
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> C class CpG oligonucleotide
 <400> 24
 tcgtcgttt acggcgccgt gccg 24
 <210> 25
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> C class CpG oligonucleotide
 <400> 25
 tcgtcgttt cggcgccgc cgt 23
 <210> 26
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> C class CpG oligonucleotide
 <220><221> Phosphorothioate bond
 <222> (1)..(2)
 <220><221> Phosphorothioate bond
 <222> (3)..(4)
 <220><221> Phosphorothioate bond
 <222> (8)..(11)
 <220><221> Phosphorothioate bond
 <222> (12)..(16)
 <220><221> Phosphorothioate bond

<222> (17)..(22)

<400> 26

tcgcgtcg t cggcgccgc cg 22

<210> 27

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(5)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (6)..(8)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (9)..(12)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (13)..(17)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (18)..(23)

<400> 27

tcgtcgacgt tcggcgccgc cg 23

<210> 28

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(6)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (7)..(10)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (11)..(15)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (16)..(21)

<400> 28

tcggacgttc ggccgcgc g

21

<210> 29

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221>

Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(6)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (7)..(10)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (11)..(19)

<400> 29

tcggacgttc ggccgcgc g

19

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(4)

<220><221>

Phosphorothioate bond

<222> (5)..(7)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (8)..(11)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (12)..(20)

<400> 30

tcgcgtcggt cggcgccg 20

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(5)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (6)..(9)

<220><221>

Phosphorothioate bond

<222> (10)..(14)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (15)..(20)

<400> 31

tcgacgttcg gcgcgcgc 20

<210> 32

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(5)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (6)..(9)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (10)..(18)

<400> 32

tcgacgttcg gcgcgccc 18

<210> 33

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(4)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (5)..(7)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (8)..(11)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (12)..(18)

<400> 33

tcgcgtcggtt cggcgccc 18

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(4)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (5)..(7)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (8)..(11)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (12)..(16)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (17)..(22)

<400> 34

tcgcgacgtt cggcgccgc cg

22

<210> 35

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(22)

<400> 35

tcgtcggtt cggcgccgc cg

22

<210> 36

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(22)

<400> 36

tcgtcggtt cggcgccgc cg

22

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(5)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (6)..(12)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (13)..(18)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (19)..(24)

<400> 37

tcgtcgttt acggcgccgt gccg 24

<210> 38

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> C class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(23)

<400> 38

tcgtcgttt cggcgcgccg cgt 23

<210> 39

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> P class CpG oligonucleotide

<400> 39

tcgtcgacga tcggcgccg ccc 23

<210> 40

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> P class CpG oligonucleotide

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (1)..(2)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (3)..(5)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (6)..(8)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (9)..(12)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (13)..(17)

<220><221> Phosphorothioate bond

<222> (18)..(23)

<400> 40

tcgtcgacga tcggcgcgccg ccg

23