

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号  
特許第5712126号  
(P5712126)

(45) 発行日 平成27年5月7日(2015.5.7)

(24) 登録日 平成27年3月13日(2015.3.13)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 39/145 (2006.01)

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 K 39/145

A 6 1 K 39/39

請求項の数 32 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2011-515663 (P2011-515663)	(73) 特許権者	504389991
(86) (22) 出願日	平成21年6月25日 (2009. 6. 25)		ノバルティス アーゲー
(65) 公表番号	特表2011-525902 (P2011-525902A)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ
(43) 公表日	平成23年9月29日 (2011. 9. 29)		3 5
(86) 国際出願番号	PCT/IB2009/006260	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開番号	W02009/156852		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開日	平成21年12月30日 (2009. 12. 30)	(74) 代理人	100113413
審査請求日	平成24年6月22日 (2012. 6. 22)		弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	61/133, 140	(72) 発明者	デル ジューデイス, ジュゼッペ
(32) 優先日	平成20年6月25日 (2008. 6. 25)		イタリア国 イー-53100 シエナ,
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ヴィア フィオレンティナ 1, ノバルティス バクシンズ
前置審査			
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 遅延型追加刺激免疫処置に対する迅速な応答

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験体において免疫応答を惹起するための組合せ物であって、該組合せ物は、  
( i ) 初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物であって、該初回刺激免疫原性組成物は、H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発するものである、初回刺激免疫原性組成物、および

( i i ) 追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物を含み、  
該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から 7 日以内に、該 H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであり、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも 1 種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組合せ物。

【請求項 2】

被験体を初回刺激するための組合せ物であって、該組合せ物は、  
初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物であって、ここで、該初回刺激免疫原性組成物は、H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発する、初回刺激免疫原性組成物；および

追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物を含み、  
該追加刺激免疫原性組成物の投与から 7 日以内に、該 H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答が誘発されること、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異

なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むこと、および該追加刺激免疫原性組成物が、該初回刺激免疫原性組成物よりも後に投与されることを特徴とする、追加刺激免疫原性組成物を含む、組合せ物。

【請求項３】

被験体においてＨ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するための組合せ物であって、該組合せ物は、

追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物であって、該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から７日以内に、該Ｈ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであることを特徴とする、追加刺激免疫原性組成物、および

10

初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物であって、該初回刺激免疫原性組成物は、該Ｈ５インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発するために該被験体に以前に投与されていることを特徴とする、初回刺激免疫原性組成物

を含み、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組合せ物。

【請求項４】

Ｈ５インフルエンザによって引き起こされる疾患および／または感染から被験体を保護するためのワクチンの製造における追加刺激免疫原の使用であって、ここで、

20

(i) 該被験体は、該Ｈ５インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物を以前に受容しており、そして

(ii) 該ワクチンは、その投与から７日以内に、該Ｈ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであり、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該ワクチンは免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含む、使用。

【請求項５】

追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物での後の追加刺激のために被験体の免疫系を初回刺激するためのワクチンの製造における初回刺激免疫原の使用であって、ここで、該追加刺激は、その投与から７日以内に、Ｈ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、そして該ワクチンは、該Ｈ５インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発するものであり、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含む、使用。

30

【請求項６】

被験体においてＨ５インフルエンザに対する一次免疫応答を惹起するための方法に使用するための、初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物であって、該被験体は、後で追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物を受容し、該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から７日以内に、該Ｈ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであり、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組成物。

40

【請求項７】

被験体においてＨ５インフルエンザに対する二次免疫応答を惹起するための方法に使用するための、追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物であって、

(i) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から７日以内に、該Ｈ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであり、そして

50

( i i ) 該被験体は、該 H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物を以前に受容しており、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも 1 種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組成物。

【請求項 8】

被験体において H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するための追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物であって、

( i ) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から 7 日以内に（またはそれより早く）、該 H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであり、そして

( i i ) 以前の感染によって、該被験体は該 H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を開始しており、該追加刺激免疫原は、以前に該感染を引き起こした免疫原とは異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも 1 種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組成物。

【請求項 9】

被験体において H 5 インフルエンザに対する二次免疫応答を惹起するための方法に使用するための、追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物であって、

( i ) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から 7 日以内に、該 H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発するものであり、そして

( i i ) 以前の感染によって、該被験体は該 H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を開始しており、該追加刺激免疫原は、以前に該感染を引き起こした免疫原とは異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも 1 種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組成物。

【請求項 10】

H 5 インフルエンザによって引き起こされる疾患および / または感染から被験体を保護するためのワクチンの製造における追加刺激免疫原の使用であって、ここで、

( i ) 該被験体の以前の感染によって、該被験体は、該 H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を開始しており、そして

( i i ) 該ワクチンは、その投与から 7 日以内に、該 H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、該追加刺激免疫原は、以前に該感染を引き起こした免疫原とは異なるクレイドに由来し、該ワクチンは免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも 1 種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含む、使用。

【請求項 11】

H 5 インフルエンザによって引き起こされる疾患および / または感染から被験体を保護するための、追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物であって、ここで、

( i ) 該被験体は、該 H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物を以前に受容しており、そして

( i i ) 該免疫原は、その投与から 7 日以内に、該 H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも 1 種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含む、組成物。

【請求項 12】

追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物での後の追加刺激のために被験体の免疫系を初回刺激するための、初回刺激免疫原を含む初回刺激免疫原性組成物であって、該追加刺激は、その投与から 7 日以内に、H 5 インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、そして該初回刺激は、該 H 5 インフルエンザに対する一次免疫応答を誘発し

10

20

30

40

50

、該初回刺激免疫原および該追加刺激免疫原は、異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含むことを特徴とする、組成物。

【請求項１３】

Ｈ５インフルエンザによって引き起こされる疾患および／または感染から被験体を保護するための、追加刺激免疫原を含む追加刺激免疫原性組成物であって、

（ｉ）該被験体の以前の感染によって、該被験体は、該Ｈ５インフルエンザに対する一次免疫応答を開始しており、そして

（ｉｉ）該免疫原は、その投与から７日以内に、該Ｈ５インフルエンザに対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、該追加刺激免疫原は、以前に該感染を引き起こした免疫原とは異なるクレイドに由来し、該追加刺激免疫原性組成物は免疫学的アジュバントを含み、該アジュバントはスクアレンおよび少なくとも１種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンを含む

ことを特徴とする、組成物。

【請求項１４】

前記初回刺激免疫原性組成物と前記追加刺激免疫原性組成物とが、５年を超えて離して投与されるものであることを特徴とする、請求項１～３のいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項１５】

前記免疫原性組成物と前記ワクチンとが、５年を超えて離して投与されるものであることを特徴とする、請求項４～５のいずれか一項に記載の使用。

【請求項１６】

前記ワクチンが、前記以前の感染から５年を超えて離して投与されるものであることを特徴とする、請求項１０に記載の使用。

【請求項１７】

前記初回刺激免疫原性組成物と前記追加刺激免疫原性組成物とが、５年を超えて離して投与されるものであることを特徴とする、請求項６～７および１１～１２のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１８】

前記追加刺激免疫原性組成物が、以前の感染の後５年を超えて離して投与されるものであることを特徴とする、請求項８～９および１３のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１９】

前記保護的な既往性免疫応答が、中和抗体応答および／またはオプソニン化抗体応答を含む、請求項１～３および１４のいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項２０】

前記保護的な既往性免疫応答が、中和抗体応答および／またはオプソニン化抗体応答を含む、請求項４～５、１０、１５および１６のいずれか一項に記載の使用。

【請求項２１】

前記保護的な既往性免疫応答が、中和抗体応答および／またはオプソニン化抗体応答を含む、請求項６～９、１１～１３、１７および１８のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２２】

前記初回刺激免疫原性組成物が、免疫学的アジュバントを含む、請求項１～３、１４および１９のいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項２３】

前記初回刺激免疫原性組成物が、免疫学的アジュバントを含む、請求項４または１５に記載の使用。

【請求項２４】

前記ワクチンが、免疫学的アジュバントを含む、請求項５または１５に記載の使用。

【請求項２５】

前記初回刺激免疫原性組成物が、免疫学的アジュバントを含む、請求項６～７、１１～

10

20

30

40

50

12、17および21のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項26】

前記初回刺激免疫原性組成物中の前記アジュバントが、スクアレンおよび少なくとも1種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンである、請求項22に記載の組合せ物。

【請求項27】

前記初回刺激免疫原性組成物中の前記アジュバントが、スクアレンおよび少なくとも1種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンである、請求項23に記載の使用。

【請求項28】

前記ワクチン中の前記アジュバントが、スクアレンおよび少なくとも1種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンである、請求項24に記載の使用。

10

【請求項29】

前記初回刺激免疫原性組成物中の前記アジュバントが、スクアレンおよび少なくとも1種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンである、請求項25に記載の組成物。

【請求項30】

前記アジュバントがMF59またはAS03である、請求項1～3、14、19、22および26のいずれか1項に記載の組合せ物。

【請求項31】

前記アジュバントがMF59またはAS03である、請求項4～5、10、15～16、20、23および27～28のいずれか1項に記載の使用。

【請求項32】

20

前記アジュバントがMF59またはAS03である、請求項6～9、11～13、17～18、21、25および29のいずれか1項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この出願は、2008年6月25日に出願された米国仮特許出願第61/133,140号（この完全な内容は、参考として本明細書に援用される）の利益を主張する。

【0002】

（技術分野）

本発明は、免疫処置の分野内である。

30

【背景技術】

【0003】

（背景技術）

初回刺激 - 追加刺激（prime - boost）免疫処置スケジュールの使用は周知である。例えば、小児は典型的に15ヶ月齢までに様々な1次免疫処置を受け（例えばDTPワクチン）、そして次いで4 - 6歳の間およびそれより上の年齢で追加刺激用量を受け（例えばTdapワクチン）。しかし現在のスケジュールによると、追加刺激用量によって誘発される免疫応答は、免疫（例えば保護抗体力価）の迅速な再建を引き起こさない。さらに、1次免疫処置は、小児集団に影響を与える疾患に対する即時の保護を提供することを目的とし、そして追加刺激の目的は、この即時の保護を延長することである。

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

（発明の開示）

現在、追加刺激免疫処置は、初回刺激用量が数年前に与えられて保護免疫が確立されなかったとしても、病原体に対する保護免疫の迅速な誘導を引き起こし得ることが見出されている（例えば追加刺激用量後の7日以内）。この遅延型追加刺激に対する迅速な応答は、追加刺激免疫処置を、活性化免疫応答を必要とし得るイベントの直前に使用し得ることを意味し、そして、後で必要になった場合に迅速な保護を提供するための免疫系を準備するために、初回刺激用量を使用する。従って、追加刺激用量の目的は、保護を延長させる

50

ことではなく、保護を完成させることであり得る。その迅速な応答は、追加刺激免疫処置を、活性化免疫応答を必要とし得るイベントの直前に使用し得ることを意味する。例えば、典型的には高齢の被験体に特定の状況下で影響を与える病原体に対して、被験体を若い年齢で初回刺激し得、その被験体が年をとったときに、それらの特定の状況が予期される場合、免疫応答を迅速に動員し得る。1つの例は、典型的には院内感染する感染（例えばMRSA、Clostridium difficile）に対して被験体を初回刺激し、そして次いで、予定された病院予約のすぐ前に、被験体が免疫警戒（immune-alert）状態で入院するように、被験体の免疫応答を追加刺激することである。別の例は、典型的には出産中にうつされる感染（例えばB群連鎖球菌、Sagalactiae）に対して、女性を青春期に初回刺激し、そして次いで、出産の前に、女性が分娩時に有用な抗GBS免疫を有するように、女性の免疫応答を追加刺激することである。

10

#### 【0005】

この初回/追加刺激アプローチは、病原体が初回刺激免疫処置以来、抗原的にゆるやかに変化（drift）しても、有効であり得ることも見出されている。従って、初回刺激免疫処置は「廃れることがない（future proof）」可能性があり、感染のリスクの多年前に投与することを可能にする。

#### 【0006】

従って、本発明は、被験体において免疫応答を惹起する方法を提供し、それは（i）少なくとも1用量の初回刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程、ここでその初回刺激免疫原性組成物は、病原体に対して一次免疫応答を誘発する、工程；および次いで（ii）追加刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程、ここでその追加刺激免疫原性組成物は、その投与の21日以内に（またはそれより早く）、病原体に対して保護的な既往性免疫応答を誘発する、工程を含む。

20

#### 【0007】

本発明はまた、被験体を初回刺激する方法を提供し、それは初回刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程を含み、ここでその初回刺激免疫原性組成物は、病原体に対する一次免疫応答を誘発して免疫記憶の確立を可能にし、ここでその被験体は、後で追加刺激免疫原性組成物が与えられ、上記追加刺激免疫原性組成物はその投与の21日以内に（またはより早く）に、その病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する。

#### 【0008】

30

本発明はまた、被験体において、病原体に対して保護的な既往性免疫応答を誘発する方法を提供し、それは追加刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程を含み、ここで（i）その追加刺激免疫原性組成物は、その投与の21日以内に（またはより早く）に、その病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し；そして（ii）その被験体は以前に、その病原体に対して一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原性組成物が与えられた。

#### 【0009】

以下で説明するように、追加刺激組成物にアジュバントを含むことが好ましい。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

#### （項目1）

被験体において免疫応答を惹起するための方法であって、該方法は、

40

（i）該被験体に初回刺激免疫原性組成物を投与する工程であって、該初回刺激免疫原性組成物は、病原体に対する一次免疫応答を誘発する、工程  
さらに、

（ii）該被験体に追加刺激免疫原性組成物を投与する工程であって、該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する、工程

を包含する、方法。

#### （項目2）

被験体を初回刺激するための方法であって、該方法は、該被験体に初回刺激免疫原性組成物を投与する工程を包含し、ここで、該初回刺激免疫原性組成物は、病原体に対する一

50

次免疫応答を誘発し、該被験体は、後で追加刺激免疫原性組成物を受容し、該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する、方法。

(項目3)

被験体において病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発するための方法であって、該方法は、該被験体に追加刺激免疫原性組成物を投与する工程を包含し、ここで

(i) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、ならびに、

(ii) 該被験体は、該病原体に対する一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原性組成物を以前に受容している、方法。

10

(項目4)

病原体によって引き起こされる疾患および/または感染から被験体を保護するためのワクチンの製造における免疫原の使用であって、ここで、

(i) 該被験体は、該病原体に対する一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原性組成物を以前に受容し、ならびに、

(ii) 該ワクチンは、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する、使用。

(項目5)

後の追加刺激のために被験体の免疫系を初回刺激するためのワクチンの製造における免疫原の使用であって、ここで、該追加刺激は、その投与から21日以内に、病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、そして該初回刺激は、該病原体に対する一次免疫応答を誘発する、使用。

20

(項目6)

被験体において病原体に対する一次免疫応答を惹起するための方法に使用するための免疫原であって、該方法は、該被験体に初回刺激免疫原性組成物を投与する工程を包含し、ここで、該被験体は、後で追加刺激免疫原性組成物を受容し、該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する、免疫原。

(項目7)

被験体において病原体に対する二次免疫応答を惹起するための方法に使用するための免疫原であって、該方法は、該被験体に追加刺激免疫原性組成物を投与する工程を包含し、ここで、

30

(i) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、ならびに、

(ii) 該被験体は、該病原体に対する一次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原性組成物を以前に受容している、免疫原。

(項目8)

被験体において病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発するための方法であって、該方法は、該被験体に追加刺激免疫原性組成物を投与する工程を包含し、ここで、

(i) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に(またはそれより早く)、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、ならびに、

40

(ii) 以前の感染によって、該被験体は該病原体に対する一次免疫応答を開始している、方法。

(項目9)

被験体において病原体に対する二次免疫応答を惹起するための方法に使用するための免疫原であって、該方法は、該被験体に追加刺激免疫原性組成物を投与する工程を包含し、ここで、

(i) 該追加刺激免疫原性組成物は、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し、ならびに、

(ii) 以前の感染によって、該被験体は該病原体に対する一次免疫応答を開始してい

50

る、免疫原。

(項目10)

病原体によって引き起こされる疾患および/または感染から被験体を保護するためのワクチンの製造における免疫原の使用であって、ここで、

(i) 該被験体の以前の感染によって、該被験体は、該病原体に対する一次免疫応答を開始しており、ならびに、

(ii) 該ワクチンは、その投与から21日以内に、該病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する、使用。

(項目11)

前記病原体が、Staphylococcus aureus、Clostridium difficile、コアグラゼ陰性Staphylococcus種、Candida、Enterococci、Klebsiella pneumoniae、Acinetobacter、Pseudomonas aeruginosa、Streptococcus agalactiae、Streptococcus pyogenesおよび腸外病原性Escherichia coliからなる群より選択される、上記項目のいずれかに記載の方法、使用または免疫原。

10

(項目12)

前記初回刺激組成物と前記追加刺激組成物とが、5年を超えて離して投与される、上記項目のいずれかに記載の方法、使用または免疫原。

(項目13)

前記保護的な既往性免疫応答が、中和抗体応答および/またはオブソニン化抗体応答を含む、上記項目のいずれかに記載の方法、使用または免疫原。

20

(項目14)

前記保護的な既往性免疫が、前記追加刺激組成物の投与から7日以内に誘発される、上記項目のいずれかに記載の方法、使用または免疫原。

(項目15)

前記初回刺激組成物および/または前記追加刺激組成物が、免疫学的アジュバントを含む、上記項目のいずれかに記載の方法、使用または免疫原。

(項目16)

前記アジュバントが、スクアレンおよび少なくとも1種の界面活性剤を含む水中油型エマルジョンである、項目15に記載の方法、使用または免疫原。

30

(項目17)

前記病原体がH5赤血球凝集素を有するインフルエンザAウイルスではない、上記項目のいずれかに記載の方法、使用または免疫原。

【発明を実施するための形態】

【0010】

(病原体)

本発明を、様々な病原体に対して免疫化するために使用し得る。理想的には、一般的に小児期ではなく成人に起こる疾患に対して免疫化するためにふさわしい。同様に、現在の小児期の免疫処置スケジュールによってカバーされない病原体に対して免疫化するために十分ふさわしい(C. diphtheriae、C. tetani、B. pertussis、ポリオウイルス、B型肝炎ウイルス、H. influenzae B型、N. meningitidis、S. pneumoniae、麻疹ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、風疹ウイルス、ロタウイルス、H3N2およびH1N1インフルエンザAウイルス、インフルエンザBウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、A型肝炎ウイルス、ヒトパピローマウイルス)。本発明は、一般的に院内感染する病原体に対して非常に有用である。本発明はまた、一般的に出産中に感染する病原体に対して有用である。本発明のいくつかの実施態様において、その病原体はH5赤血球凝集素を有するインフルエンザAウイルスではない。

40

【0011】

50



従って、本発明をまた、*Staphylococcus aureus* (MRSA株を含む)、*Clostridium difficile*、コアグラゼ陰性*Staphylococcus*種(「CONS」、*S. haemolyticus*および*S. epidermidis*を含む)、*Candida*株(*C. albicans*のような)、*Enterococci*、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter*種、*Pseudomonas aeruginosa*、*Streptococcus agalactiae*、*Streptococcus pyogenes*、および腸外病原性*Escherichia coli*(「EXPEC」)などの(しかしこれらに限らない)病原体に対して免疫化するために使用し得る。これらの病原体由来の免疫原は公知であり、例えば参考文献1-18。

10

#### 【0012】

病原体は、複数の異なる病原性改変体で存在し得る。従って、特定の病原体に依存して、そのような改変体は、例えば血清群、血清型、免疫型、血液型亜型、次亜種、株、クレイド、または種であり得る。

#### 【0013】

(ヒト被験体)

被験体は、少なくとも1用量の初回刺激組成物および少なくとも1用量の追加刺激組成物を与えられる。いくつかの実施態様において、初回刺激組成物を投与するための基準は広いが、追加刺激組成物を投与するための基準はより狭く、例えば初回刺激組成物を、所定の集団中の実質的に全ての小児に与え得、一方追加刺激組成物を、関連する病原体による感染に特定のリスクがある成人にのみ与える。他の実施態様において、初回刺激および追加刺激組成物を、お互い実質的に同じ幅で投与する。

20

#### 【0014】

その被験体は(特に追加刺激用量のときに)、入院、そして従って院内感染にかかる増加したリスクがあり得る(例えば一般的な集団よりも高いリスク)。そのような被験体としては、消防士または武装軍隊のメンバーのような、熱傷の増加したリスクを有する被験体；武装軍隊または警察業務のメンバーのような、創傷の増加したリスクを有する被験体；内科医、外科医、または看護師のような医療従事者；獣医；ナースホーム居住者；侵襲的な医学的処置に備えているかまたはそれを受けている患者；美容手術に備えている被験体；補綴インプラント、例えば心臓弁、関節、慢性血管カテーテル、美容的インプラントに備えているかまたはそれを受けているかまたはそれを有する被験体；例えば末期の腎臓疾患を有する血液透析患者；持続的外来腹膜透析を有する患者；糖尿病患者；少なくとも65歳、例えば70歳、75歳、80歳、85歳、90歳の患者；皮膚科学的病状を有する患者；違法な静脈内薬物の使用者；HIV陽性患者；がん患者；冠動脈バイパス患者；および移植患者が挙げられるがこれらに限らない。

30

#### 【0015】

特に病原体が*S. agalactiae*である場合には、その被験体は女性であり得る。

#### 【0016】

(初回刺激用量および追加刺激用量)

被験体に少なくとも1用量の初回刺激組成物および少なくとも1用量の追加刺激組成物を与える。初回刺激組成物および追加刺激組成物を、典型的には1年超離して、例えば14ヶ月離して、16ヶ月離して、18ヶ月離して、2年離して、5年離して、10年離して、15年離して、20年離して、25年離して、30年離して、35年離して、40年離して、45年離して、50年離して等、投与する。

40

#### 【0017】

初回刺激組成物は、病原体に対する1次免疫応答を誘発する。従って、それは典型的には病原体に対する抗体応答および記憶B細胞を誘発する。その効果は、免疫系を、後の追加刺激組成物に対する曝露のために備えることである。1用量より多い、例えば2用量の初回刺激組成物を与え得る。いくつかの実施態様において、その初回刺激組成物は、(少

50

なくとも一時的に)病原体によって引き起こされる感染および/または疾患から被験体を保護する。他の実施態様において、その初回刺激組成物は、病原体によって引き起こされる感染および/または疾患から被験体を保護せず、そしてそのような保護は、追加刺激組成物によって提供される。

#### 【0018】

その初回刺激組成物を、1つまたはそれ以上の他のワクチンと共に投与し得る。例えば、初回刺激組成物を、麻疹ワクチン、流行性耳下腺炎ワクチン、風疹ワクチン、MMRワクチン、水痘ワクチン、MMRVワクチン、ジフテリアワクチン、破傷風ワクチン、百日咳ワクチン、DTPワクチン、結合型H. influenzae b型ワクチン、不活化ポリオウイルスワクチン、B型肝炎ウイルスワクチン、髄膜炎菌結合型ワクチン(4価A-C-W135-Yワクチンのような)、肺炎球菌結合型ワクチン、ロタウイルスワクチン、インフルエンザウイルスワクチン、A型肝炎ウイルスワクチン、単純ヘルペスウイルスワクチン、および/またはヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチンと実質的に同時に(例えば医療専門家またはワクチン接種センターへの同じ医療相談または訪問の間に)、被験体に投与し得る。例えば、S. agalactiaeに対する初回刺激免疫処置を、例えばTdapワクチン、HPVワクチン、髄膜炎菌結合型ワクチン等と同時に、11-18歳の間に与え得る。

#### 【0019】

以前の初回刺激組成物の投与のために、追加刺激組成物は、病原体に対する2次免疫応答を誘発する。従って、初回刺激組成物によって誘発された記憶B細胞が活性化され、そしてそれらは迅速に増殖し得、高親和性血清抗体を分泌する形質細胞へと分化し得る。その結果は、被験体とその病原体によって引き起こされる感染および/または疾患に対して保護的な既往性免疫応答を開始することである。

#### 【0020】

その保護的な既往性免疫応答は、一般的に少なくとも抗体応答を含み、そしてその抗体応答は、中和および/またはオプソニン化抗体を含み得る。

#### 【0021】

その既往性の免疫応答は、追加刺激組成物が与えられてから21日以内に、例えば20日、19日、18日、17日、16日、15日、14日、13日、12日、11日、10日、9日、8日、7日、6日、5日、4日、3日、2日、または1日にも、被験体によって開始される。好ましい実施態様において、被験体は、追加刺激組成物が与えられてから7日以内に、保護的な既往性免疫応答を開始する。

#### 【0022】

いくつかの実施態様において、その追加刺激組成物を、特定のイベントの前に、例えば病院の予約の前、海外旅行の前、サービス期間の前、戦闘の前、出産の前、居住者としてナーシングホームへ入居する前、侵襲的な医学的処置または手術の前、補綴インプラントを受ける前、血液透析の前、化学療法を受ける前、放射線療法を受ける前等に投与する。そのような実施態様において、その追加刺激組成物を、保護的な既往性免疫応答のために必要な期間と少なくとも同じだけ前に投与する。例えば、保護的な既往性免疫応答を達成するまでに7日間かかる場合、追加刺激組成物を上記イベントの少なくとも7日前に投与する。しかし、典型的には、その追加刺激組成物を、上記イベントのあまりにも前、例えば1年より前には投与しない。

#### 【0023】

他の実施態様において、その追加刺激組成物を、特定のイベントを計画しているときに投与する。例えば、妊娠を計画している場合、その追加刺激組成物を、出産に備えた保護的な既往性免疫応答を提供するために、受胎前、または受胎後に女性に投与し得る。

#### 【0024】

他の実施態様において、その追加刺激組成物を、特定のイベントとは関係がない任意のときに、例えば特定の年齢のときに投与する。

## 【0025】

初回刺激組成物および追加刺激組成物はそれぞれ、同じ病原体に対する免疫応答を誘発する免疫原を含む。その初回刺激免疫原および追加刺激免疫原はそれぞれ、典型的にはT依存性抗原を含む。それらは、同じ免疫原または異なる免疫原を含み得る。その免疫原は、あらゆる適当な形態をとり得、例えばそれはタンパク質、複合糖類、外膜小胞、不活化した細胞全体等を含み得る。

## 【0026】

病原体が、複数の異なる病原性改変体で存在する場合、その初回刺激免疫原および追加刺激免疫原は、同じ改変体由来、または異なる改変体由来であり得る。例えば、初回刺激および追加刺激免疫原は、同じ病原体の、異なる血清群、異なる血清型、異なる免疫型、異なる血液型亜型、異なる次亜種、異なる株、異なるクレイド、または異なる種由来であり得る。例えばH5インフルエンザの場合、追加刺激赤血球凝集素は、初回刺激赤血球凝集素と異なるクレイド由来であり得る。

## 【0027】

初回刺激組成物および/または追加刺激組成物は、免疫学的アジュバントを含み得る。

## 【0028】

その初回刺激組成物および/または追加刺激組成物を、同じ経路によって、または異なる経路によって投与し得る。適当な経路としては、筋肉内注射（例えば腕または脚へ）、皮下注射、鼻腔内、経口、皮内、経皮（transcutaneous）および経皮（transdermal）が挙げられるがこれらに限らない。

## 【0029】

（天然の初回刺激）

初回刺激用量投与の代わりとして、天然の感染が、被験体の免疫応答を初回刺激するために役立ち得る。その感染は、同じ病原体、または免疫学的に関連した病原体（例えば牛痘/天然痘の免疫学的関連のように）により得る。感染が同じ病原体種によるが、その病原体が複数の異なる病原性改変体で存在する場合、追加刺激用量は、そのような改変体であり得る（例えば以前に天然の感染を引き起こした種の、異なる血清群、血清型、免疫型、血液型亜型、次亜種、株、またはクレイド由来）。

## 【0030】

その追加刺激組成物を、典型的には天然の感染の1年超後、例えば 14ヶ月後、 16ヶ月後、 18ヶ月後、 2年後、 5年後、 10年後、 15年後、 20年後、 25年後、 30年後、 35年後、 40年後、 45年後、 50年後等に投与する。

## 【0031】

以前の感染のために、その追加刺激組成物は、その病原体に対する2次免疫応答を誘発する。従って、感染によって誘発された記憶B細胞が活性化され、そしてそれらは上記で記載したように迅速に増殖し得、形質細胞へ分化し得る。

## 【0032】

従って、本発明は、被験体に追加刺激免疫原性組成物を投与する工程を含む、被験体において病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する方法を提供し、ここで(i)その追加刺激免疫原性組成物は、その投与の21日以内に（またはより早く）、病原体に対して保護的な既往性免疫応答を誘発し；そして(ii)以前の感染は被験体にその病原体に対する1次免疫応答を開始させた。

## 【0033】

（医学的使用）

本発明はまた、本発明の方法において使用するための免疫原を提供する。

## 【0034】

本発明はまた、病原体によって引き起こされる疾患および/または感染から被験体を保護するためのワクチンの製造における免疫原の使用を提供し、ここで(i)その被験体は以前に、その病原体に対して1次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原性組成物が与えられ

；そして（i i）そのワクチンは、その投与の２１日以内に、その病原体に対して保護的な既往性免疫応答を誘発する。

【００３５】

本発明はまた、後の追加刺激のために、被験体の免疫系を初回刺激するためのワクチンの製造における免疫原の使用を提供し、ここでその追加刺激は、その投与の２１日以内に、病原体に対して保護的な既往性免疫応答を誘発し、そしてその初回刺激はその病原体に対して１次免疫応答を誘発する。

【００３６】

本発明はまた、初回刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体において病原体に対する１次免疫応答を生じるさせるための方法に使用するための免疫原を提供し、ここでその被験体は後で追加免疫原性組成物が与えられ、それはその投与の２１日以内に、その病原体に対して保護的な既往性免疫応答を誘発する。

10

【００３７】

本発明はまた、追加刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体において病原体に対する二次免疫応答（booster immune response）を生じさせるための方法に使用するための免疫原を提供し、ここで（i）その追加刺激免疫原性組成物は、その投与の２１日以内に、その病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し；そして（i i）その被験体は以前に、その病原体に対する１次免疫応答を誘発する初回刺激免疫原性組成物が与えられた。

【００３８】

20

本発明はまた、病原体によって引き起こされる疾患および／または感染から被験体を保護するためのワクチンの製造における、免疫原の使用を提供し、ここで（i）被験体の以前の感染は、その病原体に対する１次免疫応答を開始させ、そして（i i）そのワクチンは、その投与の２１日以内に、その病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発する。

【００３９】

本発明はまた、追加刺激免疫原性組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体において病原体に対する二次免疫応答を生じるさせるための方法に使用するための免疫原を提供し、ここで（i）その追加刺激免疫原性組成物は、その投与の２１日以内に、その病原体に対する保護的な既往性免疫応答を誘発し；そして（i i）以前の感染は、被験体にその病原体に対する１次免疫応答を開始させた。

30

【００４０】

（アジュバント）

初回刺激組成物および／または追加刺激組成物は、被験体において誘発される免疫応答（体液性および／または細胞性）を増強するために、免疫学的アジュバントを含み得る。両方の組成物がアジュバントを含む場合、それらは同じアジュバントかまたは異なるアジュバントを含み得る。２つのワクチンのうち１つのみがアジュバントを含む場合、好ましくは、アジュバントを含むのは２番目である。アジュバントを含む追加刺激用量の使用が、有効であることを下記に示し（研究Ⅰ）、そしてアジュバントを含む初回刺激用量および追加刺激用量の使用が、最も良好な保護的既往性免疫応答を提供した。

【００４１】

40

本発明で使用するために適当なアジュバントとしては、ミネラルを含む組成物および水中油型エマルジョンが挙げられるが、これらに限らない。

【００４２】

ミネラルを含む組成物としては、カルシウム塩、アルミニウム塩、またはその混合物が挙げられ得る。適当なカルシウム塩としては、リン酸カルシウムが挙げられる（例えば参考文献１９で開示される「CAP」粒子）。適当なアルミニウム塩としては、水酸化物、リン酸塩、硫酸塩等が挙げられ、その塩は任意の適当な形態（例えばゲル、結晶性、非晶質等）をとる。これらの塩への吸着が好ましい。ミネラルを含む組成物をまた、金属塩の粒子として処方し得る〔２０〕。

【００４３】

50

水酸化アルミニウムおよびリン酸アルミニウムとして公知のアジュバントを使用し得る。これらの名称は慣習的なものであるが、どちらも存在する実際の化学的化合物の正確な説明ではないので、簡便さのためのみに使用する（例えば参考文献24の第9章を参照のこと）。本発明は、一般的にアジュバントとして使用される、あらゆる「水酸化物」または「リン酸塩」アジュバントを使用し得る。

#### 【0044】

被験体に投与するための組成物における  $Al^{+++}$  の濃度は、好ましくは  $10\text{ mg/ml}$  未満、例えば  $5\text{ mg/ml}$ 、 $4\text{ mg/ml}$ 、 $3\text{ mg/ml}$ 、 $2\text{ mg/ml}$ 、 $1\text{ mg/ml}$  等である。有用な範囲は、 $0.3 \sim 1\text{ mg/ml}$  の間である。最大で  $0.85\text{ mg}$  / 用量が好ましい。

10

#### 【0045】

水中油型エマルジョンは、ワクチンのアジュバントとして特に適当であることが見出されている。様々なそのようなエマルジョンが公知であり、そしてそれらは典型的には、少なくとも1つの油（例えばスクアレン）および少なくとも1つの界面活性剤を含み、その油および界面活性剤は生物分解性（代謝可能）かつ生体適合性である。エマルジョン中の油滴は一般的に直径が  $5\text{ }\mu\text{m}$  未満であり、そしてサブミクロンの直径さえ有し得、安定なエマルジョンを提供するために、これらの小さいサイズを、マイクロフルイダイザー（microfluidiser）によって達成する。それらをフィルター滅菌に供し得るので、 $220\text{ nm}$  より小さいサイズを有する滴が好ましい。

#### 【0046】

20

本発明で有用な特定の水中油型エマルジョンアジュバントとしては、以下のものが挙げられるがこれらに限らない：

- ・スクアレン、Tween 80、および Span 85 のサブミクロンのエマルジョン。容積によるエマルジョンの組成は、約5%のスクアレン、約0.5%のポリソルベート80、および約0.5%の Span 85 であり得る。重量では、これらの比は、4.3%のスクアレン、0.5%のポリソルベート80、および0.48%の Span 85 となる。このアジュバントは、「MF59」[21-23]として公知であり、参考文献24の第10章および参考文献25の第12章においてより詳細に記載されている。MF59エマルジョンは、クエン酸イオン、例えば  $10\text{ mM}$  のクエン酸ナトリウム緩衝液を有利に含む。

- ・スクアレン、トコフェロール、および Tween 80 のエマルジョン。このエマルジョンは、リン酸緩衝化生理食塩水を含み得る。これはまた、Span 85（例えば1%）および/またはレシチンを含み得る。これらのエマルジョンは、2から10%のスクアレン、2から10%のトコフェロール、および0.3から3%の Tween 80 を有し得、そしてスクアレン：トコフェロールの重量比は、好ましくは1である（より安定なエマルジョンを提供するため）。スクアレンおよび Tween 80 は、約5：2の容積比で存在し得る。1つのそのようなエマルジョンを、PBS中に Tween 80 を溶解して2%の溶液を生じさせ、次いで  $90\text{ ml}$  のこの溶液を、（5gのDL- - トコフェロールおよび  $5\text{ ml}$  のスクアレン）の混合物と混合し、次いでその混合物をマイクロフルイダイズすることによって作製し得る。できたエマルジョンは、例えば  $100 \sim 250\text{ nm}$  の間の、好ましくは約  $180\text{ nm}$  の平均直径を有する、サブミクロンの油滴を有し得る。  $10.68\text{ mg}$  のスクアレン、 $11.86\text{ mg}$  の DL- - トコフェロールおよび  $4.86\text{ mg}$  のポリソルベート80（ $0.25\text{ ml}$  あたりまたは用量あたり）を含むアジュバントが理想的である。

30

40

- ・スクアレン、水性溶媒、ポリオキシエチレンアルキルエーテル親水性非イオン性界面活性剤（例えばポリオキシエチレン（12）セトステアリルエーテル）および疎水性非イオン性界面活性剤（例えばモノオレイン酸ソルピタンまたは「Span 80」のようなソルピタンエステルまたはマンニドエステル（mannide ester））を含むエマルジョン。そのエマルジョンは、好ましくは熱可逆的であり、および/または  $200\text{ nm}$  より小さいサイズを有する少なくとも90%の油滴（体積で）を有する[26]。そのエマルジョンはまた、1つまたはそれより多く、以下のものを含み得る：アルジトール；凍結

50

防止剤（例えば、ドデシルマルトシドおよび／またはショ糖のような糖）；および／またはアルキルポリグリコシド。そのようなエマルジョンを、凍結乾燥し得る。

（一般）

「含む（comprising）」という用語は、「含む（including）」および「から成る（consisting）」を包含し、例えば、Xを「含む」組成物は、Xのみから成り得、またはさらなる何かを含み得る（例えばX + Y）。

【0047】

「実質的に」という用語は、「完全に」を排除せず、例えば、Yを「実質的に含まない」組成物は、完全にYを含まなくてもよい。必要な場合には、「実質的に」という用語は、本発明の定義から省略され得る。

10

【0048】

数値xに関連して「約」という用語は任意であり、そして例えば $x \pm 10\%$ を意味する。

【実施例】

【0049】

（発明を実施するための様式）

（ヒト研究I [27、28]）

被験体を、H5N3株A / アヒル / Singapore / 1997（クレイド0）から調製したインフルエンザワクチンで初回刺激した。そのワクチンには、アジュバントを加えなかった（グループ2）か、またはMF59水中スクアレンエマルジョン（squalene-in-water）をアジュバントに加えた（グループ1）。被験体の3番目のグループ（グループ3）には、H5N3ワクチンを与えなかった。

20

【0050】

6から8年後、そしてH5N1の世界的流行の発生リスクが高まったときに、被験体をH5N1株（クレイド1または2）から調製したインフルエンザワクチンで免疫処置した。0日目および21日目に、MF59アジュバントと共に2用量を投与した。従ってグループ1および2に、追加刺激組成物を与えた。

【0051】

結果を表1に示す。

【0052】

30

幾何平均抗体力価および血清応答は、初回刺激していない被験体よりも初回刺激した被験体において有意に高かった。ワクチン1用量の7日後までに、80%のMF59-H5初回刺激レシピエントが、試験した全てのクレイド1、2.1、2.2、および2.3鳥類H5ウイルス改変体ならびにオリジナルのA / アヒル / Singapore / 1997クレイド0抗原に対して、1:40のセロプロテクティブ（seroprotective）HAI力価を達成した。

【0053】

クレイド0ワクチンによって以前に初回刺激した被験体は、初回刺激していない被験体よりも、新しいクレイドに対して、より良好かつより迅速に免疫応答を開始した。初回刺激した被験体の中で、多様なH5N1ウイルス改変体に対する保護的な交差反応抗体力価を、単一追加刺激用量の7日後までに認めた。初回刺激したグループの中で、アジュバントを加えた初回刺激用量が与えられた被験体は、アジュバントを加えずに初回刺激された被験体よりも、より良好な免疫応答を開始した。

40

【0054】

これらの結果を、インフルエンザウイルスを用いて得たが、これらの結果は、関連する病原体による感染のリスクが低いときにワクチンの初回刺激用量を被験体に投与し得、そして次いでその免疫系を、リスクの高まった数年後に追加刺激して、1週間未満で保護的なレベルの免疫を提供し得るという原理の証明を提供する。この発見は、H5インフルエンザだけではなく、広い範囲の病原体、特に病院においてしばしば感染するものに対しても適用可能である。

50

## 【 0 0 5 5 】

( ヒト研究 I I [ 3 0 ] )

第 I I 相臨床試験を行って、H 5 N 1 A / I n d o n e s i a / 5 / 0 5 由来の 3 . 7 5  $\mu$  g の H A を含む、一価の A S 0 3 アジュバント添加ワクチンの、1 回または 2 回の追加刺激投与の、1 9 - 6 1 歳の成人における免疫原性を評価した。患者を以前に ( 約 1 4 ヶ月前 ) 、 A S 0 3 アジュバントを含むかまたは含まない、H 5 N 1 A / V i e t n a m / 1 1 9 4 / 2 0 0 4 由来の 3 . 8  $\mu$  g 、 7 . 5  $\mu$  g 、 1 5  $\mu$  g または 3 0  $\mu$  g の H A を含む、世界的流行候補ワクチン 2 用量でワクチン接種している ( すなわち、全 8 グループ ) 。この研究は、新たな世界的流行株とは異種の H 5 N 1 株に基づいた世界的流行ワクチンで被験体を初回刺激した後に起こる急激な発生を模倣する。

10

## 【 0 0 5 6 】

初回刺激研究の分析は、アジュバント無添加ワクチンの 2 回の投与は、現在使用されている規制基準 ( C H M P および C B E R からの ) によって保護的であるとみなされる免疫応答を誘発するには十分でなかったことを示した。これらの被験体 ( 4 グループ ) に、 A / I n d o n e s i a / 5 / 0 5 ワクチンを 2 回投与した ; 他の被験体には、単一追加刺激ワクチンを与えた ; 初回刺激していない被験体のコントロールグループには、 A / I n d o n e s i a / 5 / 0 5 ワクチンを 2 用量与えた。

## 【 0 0 5 7 】

1 4 ヶ月前に免疫処置された被験体 ( その初回刺激ワクチンがアジュバント添加または無添加に関わらず ) の一部が、コントロール被験体と比較して、1 用量の追加刺激ワクチンを与えた 7 日後に血清陽性になった。血清陽性率は、アジュバント添加初回刺激ワクチンが与えられた被験体においてより高かった。最後の追加刺激ワクチン接種の 2 1 日後、全てのグループの大部分の被験体が血清陽性になった。

20

## 【 0 0 5 8 】

アジュバント添加初回刺激ワクチンが与えられた被験体において、追加刺激の 7 日後、1 8 - 6 0 歳の成人に関して、European Committee for Medicinal Products for Human Use ( C H M P ) によって必要とされる 4 0 % のセロコンバージョン率の閾値を超え、そしてセロコンバージョン率は免疫処置の 2 1 日後、高いままであった。セロコンバージョンの 9 5 % 信頼区間の下限は、7 . 5  $\mu$  g および 1 5  $\mu$  g グループの閾値より下であったが、初回刺激ワクチンがアジュバント無添加であった被験体においても、最初のワクチン接種の 7 日後、4 0 % のセロコンバージョン率を超えた。

30

## 【 0 0 5 9 】

追加刺激株と異なる株由来のアジュバント添加ワクチンで初回刺激した場合、被験体は、追加刺激株に対して適切なセロプロテクティブ体液性応答を生じた。1 次のワクチン接種で使用した株からドリフトした株に対するセロプロテクティブ応答を、迅速に ( 7 日以内と早く ) 生じる能力は、被験体がアジュバント添加ワクチンで初回刺激され、そしてアジュバント添加ワクチンで追加刺激された場合、1 4 ヶ月と長く維持される。追加刺激のために 1 次株からドリフトしたワクチン株を使用した場合、および追加刺激のために使用した株に対して試験した場合、アジュバント添加ワクチンによる 1 次ワクチン接種の 6 または 1 4 ヶ月後に、アジュバント添加ワクチンで追加刺激した後得られる H I 抗体レベルは同様である。

40

## 【 0 0 6 0 】

持続的交差クレイド C D 4 陽性および記憶 B 細胞応答を、アジュバント添加ワクチンによる 1 次ワクチン接種の 1 4 ヶ月後に検出した。これらの応答は、初回刺激用量がアジュバント無添加であった被験体と比較してより高かった。交差クレイド C D 4 陽性および記憶 B 細胞応答の増加を、全てのグループにおいて観察したが、その初回刺激ワクチンがアジュバント添加であった被験体においてはより高かった。

## 【 0 0 6 1 】

( ヒト研究 I I I [ 2 9 ] )

50

18から59歳の健康なボランティアに、0日目に全ビリオンペロ細胞由来H5N1 (A/Vietnam/1203/2004) インフルエンザワクチンの、単一初回刺激ワクチン接種を与え、そして1年後に単一追加刺激用量 (A/Indonesia/05/2005) を与える。

【0062】

この研究の第一の測定は、追加刺激ワクチン接種の21日後に、保護と関連するワクチン株に対する抗体応答を有する被験体の数である (マイクロ中和試験によって測定される力価  $\geq 1:20$  と定義される)。第二の測定は、初回刺激ワクチン接種の21、42、180および360日後、および追加刺激ワクチン接種の21日後に、保護と関連する抗体応答を有する被験体の数である。

10

【0063】

(ヒト研究IV[30])

18-60歳の健康な成人に、一価アジュバント添加卵由来スプリットH5N1ワクチンを、6ヶ月または12ヶ月の間隔で2用量与えた。そのアジュバントは「AS03」、スクアレンを含む水中油型エマルジョンであった。抗原用量は、投与量あたり3/75  $\mu$ g HAであった。2つの異なるワクチン; A/Vietnam/1194/2005株 (クレイド1) 由来の抗原を含む「VT」; およびA/Indonesia/5/2005株 (クレイド2.1) 由来の抗原を含む「IN」を使用した。4グループの患者 (グループあたり約65人の患者) を以下のように免疫処置した。

20

【0064】

【表1】

グループ	最初のワクチン	2回目のワクチンの時期	2回目のワクチン
A	VT	6ヶ月	VT
B	VT	12ヶ月	VT
C	VT	6ヶ月	IN
D	VT	12ヶ月	IN

血清陽性率およびGMTを、ゼロ時、3週間後、2回目のワクチンのとき、2回目のワクチンの1週間後、および2回目のワクチンの3週間後に測定した。グループBおよびDのデータはまだ入手可能ではない; グループAおよびCのデータは以下のものであった。

30

【0065】

【表2】

	A		C	
	SP%	GMT	SP%	GMT
<i>A/Indonesia/5/2005</i> に対する抗体				
ゼロ	0%	5.0	0%	5.0
+3週間	12.7%	5.6	14.3%	6.3
2回目の用量	4.1%	5.3	7.3%	5.5
+1週間	78.7%	64.6	98.1%	152.9
+3週間	85.4%	92.4	98.1%	303.4
<i>A/Vietnam/1194/2005</i> に対する抗体				
ゼロ	3.6%	5.3	0%	5.0
+3週間	50.9%	16.3	55.4%	20.9
2回目の用量	36.7%	9.7	45.5%	12.0
+1週間	89.4%	202.6	98.1%	226.3
+3週間	89.6%	287.2	98.1%	434.7

40

50



6ヶ月後に追加刺激用量を受けた全てのグループは、迅速かつ有効な免疫応答を開始し、両方の追加刺激後の時点で、A / I n d o n e s i a / 5 / 2 0 0 5 株および A / V i e t n a m / 1 1 9 4 / 2 0 0 4 株に対する H I 抗体の G M T において有意な増加を示した。さらに、追加刺激用量の7日以内に、全てのグループが両方の株に関して C H M P セロコンバージョン閾値（0日目をベースラインとして用いて、40%セロコンバージョン）を満たし、そしてその応答は、少なくとも14日後まで維持された。

【0066】

上記ワクチンは広い交差クレイド免疫を与えることを示した。それは、(i) 2回目の用量が、最初の用量の数ヶ月後に与えられた場合、および(ii) 2回目の用量が、異なる H 5 N 1 株由来であった場合でも維持された。さらなるデータとの比較において、2ワクチン接種用量は、21日間隔または6ヶ月間隔のどちらかに関わらず、そのワクチン株に対して同等の免疫応答を誘発することを示し、このことは、2回目の用量の投与のタイミングは柔軟であり得、最初の免疫処置の6ヶ月後までに行い得ること、そしてこれは免疫応答の質を維持することを確認した。

【0067】

1用量の初回刺激投与に続く6ヶ月後の異種のワクチン株を含む追加刺激用量は、これらのワクチンに関する全ての関連する C H M P および F D A 基準を満たすかまたは超える。Albert Osterhaus 教授 (Head Department of Virology, Institute of Virology Erasmus Medical Centre Rotterdam) は、この研究において使用したワクチンが、「ドリフトした H 5 N 1 株に対しても、広範かつ持続的な免疫を提供する」こと、および「2回目の用量を最初の用量の数ヶ月後に与える場合、異なる H 5 N 1 株を用いるとしても、この免疫レベルを維持し得る」ことを確認した。

【0068】

(ヒト研究 V)

被験体に、免疫学的初回刺激のために、アジュバント添加全ビリオンベロ由来 H 5 N 1 (A / V i e t n a m / 1 2 0 3 / 2 0 0 4) インフルエンザワクチンを与えた。6個の異なる処方、初回刺激のために使用した（投与量あたり 3.75 μg、7.5 μg、15 μg、または 30 μg の、4つのアジュバント添加 H A 用量；7.5 μg または 15 μg の、2つのアジュバント無添加 H A 用量）。12 - 17ヶ月後、77人の患者に、異なる H 5 N 1 株 (A / I n d o n e s i a / 0 5 / 2 0 0 5) 由来の 7.5 μg の H A を含む追加刺激用量を与えた。0日目（初回刺激）、21日目、42日目、および180日目、および次いで0日目（追加刺激用量）、7日目、および21日目に採取した血清を用いて、野生型 A / I n d o n e s i a / 0 5 / 2 0 0 5 に対するマイクロ中和試験を用いて、免疫応答を評価した。G M T 値は、初回刺激後、追加刺激用量受取まで、全てのグループにおいて 0 - 20 の範囲であった。次いで追加刺激用量は、G M T 値を急激に増加させた：7日後、G M T は 50 - 100 の範囲であり、そして追加刺激用量の21日以内では、G M T は 80 - 220 の範囲であった。追加刺激期における中和抗体応答（M N 力価 20）を有する被験体のパーセンテージは以下のものであった。

【0069】

【表 3】

HA 用量：	3.75 $\mu$ g	7.5 $\mu$ g	7.5 $\mu$ g	15 $\mu$ g	15 $\mu$ g	30 $\mu$ g
アジュバント：	+	+	-	+	-	+
A/Indonesia/05/2005 に対する MN						
0 日目	0	7	0	0	0	8
7 日目	81	93	91	92	100	100
21 日目	94	100	100	100	88	100
A/Vietnam/1203/2004 に対する MN						
0 日目	12	13	25	15	50	25
7 日目	81	93	91	92	100	92
21 日目	94	93	92	100	100	100

全体として、この結果は、このワクチンは記憶 B 細胞を誘導し、それは後の H 5 N 1 感染に対して即時の抗体応答を提供し得ることを示す。1 次免疫処置の 12 - 17 ヶ月後の単一異種追加刺激は、最初のワクチンおよび追加刺激株の両方に対する非常に高力価の迅速な誘導を引き起こし、追加刺激ワクチン接種の 7 日後に 90 - 100 % のセロプロテクションを提供した。さらに、保護的免疫応答の迅速な誘導は、クレイド 1 初回刺激株およびクレイド 2 追加刺激株に対してだけでなく、クレイド 2 . 2 ( シチメンチョウ / Turkey ) および 2 . 3 ( Anhui ) の代表的なウイルスに対しても達成された。

【 0 0 7 0 】

本発明は、単に例として記載され、そして本発明の範囲および精神の範囲内に留まりながら、修飾を行い得ることが理解される。

【 0 0 7 1 】

10

20

【表 4】

表 I

測定	G 1	G 2	G 3
0日目において $\geq 40$ のHI力価を有する被験体の%	0	0	3
8日目	75	56	12
15日目	90	60	9
22日目	75	58	13
43日目	75	58	45
8日目においてセロコンバージョンを有する被験体の%	75	56	8
15日目	90	60	10
22日目	75	58	14
43日目	75	58	45
1日目における幾何平均HI	4	4	4.9
8日目	72	51	5.9
15日目	256	79	7.3
22日目	112	52	8.0
43日目	95	44	26
8日目における1日目に対して相対的なHIの比	18	13	1.3
15日目	64	20	1.56
22日目	28	13	1.8
43日目	24	11	5.9
0日目において $\geq 80$ のMN力価を有する被験体の%	0	0	0
8日目	9	5	1
15日目	9	9	1
22日目	12	9	1
43日目	12	10	5
1日目における幾何平均MN力価	10	10	10
8日目	219	151	11
15日目	1145	473	12
22日目	375	324	12
43日目	415	241	33
8日目における1日目に対して相対的なMNの比	22	15	1.1
15日目	115	47	1.2
22日目	37	32	1.2
43日目	41	24	3.3

( 参考文献 )

【 0 0 7 2 】

## 【化 1】

- [1] Shinefield (2006) *Vaccine* 24 Suppl 2:S2-65-9.
- [2] Halsey (2008) *Am J Health Syst Pharm.* 65(8):705-15.
- [3] Wang & Barrett (2007) *Methods Mol Biol* 391:209-25.
- [4] Maira-Litran *et al.* (2004) *Vaccine.* 22(7):872-9.
- [5] WO2007/113222.
- [6] WO2006/032500.
- [7] WO2003/097091.
- [8] Koch *et al.* (2004) *Vaccine* 22(7):822-30.
- [9] Egorova *et al.* (1997) *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* (6):96-101.
- [10] Szostak *et al.* (1994) *J Biotechnol.* 44(1-3):161-70.
- [11] Solov'ev *et al.* (2006) *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* (1):20-5
- [12] Kurupati *et al.* (2006) *Proteomics* 6(3):836-44.
- [13] US patent 5955090.
- [14] Döring & Pier (2008) *Vaccine* 26(8):1011-24.
- [15] WO02/34771.
- [16] WO2006/089264.
- [17] WO2006/091517.
- [18] WO2008/020330.
- [19] US patent 6355271.
- [20] WO00/23105.
- [21] WO90/14837.
- [22] Podda & Del Giudice (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:197-203.
- [23] Podda (2001) *Vaccine* 19: 2673-2680.
- [24] *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).
- [25] *Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols* (Volume 42 of *Methods in Molecular Medicine* series). ISBN: 1-59259-083-7. Ed. O'Hagan.
- [26] US-2007/014805.
- [27] Stephenson *et al.* (2008) *NEJM* 359:1631-33.
- [28] Galli *et al.* (2009) *PNAS USA* 106:7962-7.
- [29] Clinical trial NCT00895544.
- [30] US-2009/0028903.

10

20

30

---

フロントページの続き

(72)発明者 ラップオリ, リノ  
イタリア国 イー - 5 3 1 0 0 シエナ, ヴィア フィオレンティナ 1, ノバルティス バ  
クシンズ

審査官 平井 裕彰

(56)参考文献 国際公開第2006/100110(WO, A1)  
国際公開第2007/052155(WO, A1)  
特表2004-527524(JP, A)  
国際公開第2007/052057(WO, A1)  
VACCINE, 2003, Vol. 21, No. 15, p. 1687-1693

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
A 6 1 K 3 9 / 0 0 ~ 3 9 / 4 4