(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년02월10일
(11) 등록번호 10-1359943
(24) 등록일자 2014년02월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/12 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7027786(분할)
(22) 출원일자(국제) 2005년06월14일
심사청구일자 2012년11월13일
(85) 번역문제출일자 2012년10월24일
(65) 공개번호 10-2012-0123617
(43) 공개일자 2012년11월08일
(62) 원출원 특허 10-2007-7001065
원출원일자(국제) 2005년06월14일
심사청구일자 2010년05월27일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2005/006461
(87) 국제공개번호 WO 2005/123125
국제공개일자 2005년12월29일
(30) 우선권주장
0413510.9 2004년06월16일 영국(GB)
11/114,301 2005년04월26일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2003077942 A2*
Journal of Virology, Vol. 76, No. 13, p6480-6486, 2002.07*
The Journal of Infectious Diseases, Vol. 186, p737-742, epub. 2002.08.28.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89
(72) 발명자
데브루스, 세르게
벨기에 비-1330 릭센사르트 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
마틴, 마리-테레세
벨기에 비-1330 릭센사르트 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

전체 청구항 수 : 총 16 항 심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 **ＨＰＶ 16과 ＨＰＶ 18 및 적어도 ＨＰＶ 31, 45 또는 52로부터 선택된 또 다른 ＨＰＶ 유형에 대한 백신**

(57) 요 약

본 발명은 HPV 16 및 18로부터의 VLP 및 HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 다른 HPV 암 유형으로부터의 VLP를 포함하는 면역원성 조성물 및 이러한 조성물의 제조 방법에 관한 것이며, 여기서 하나 이상의 다른 암 유형의 VLP의 용량은 HPV 16 또는 18의 VLP의 용량에 비해 감소된다.

(72) 발명자

스티븐, 로버트 존

영국 티더블유8 9지에스 브렌트포드 미들섹스 그레이트 웨스트 로드 980 글락소스미스클라인

스테펜느, 진

벨기에 비-1330 릭센사르트 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.

웨텐도르프, 마틴, 안네, 쎄실

벨기에 비-1330 릭센사르트 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.

특허청구의 범위

청구항 1

HPV 16 및 18로부터의 VLP 또는 캡소머와, HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 다른 HPV 암 유형으로부터의 VLP 또는 캡소머를 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 VLP 또는 캡소머의 용량이 HPV 16 또는 18의 VLP 또는 캡소머의 용량의 30-60%인 면역원성 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 31인 면역원성 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 45인 면역원성 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 52인 면역원성 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 31와 HPV 45인 면역원성 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 31과 HPV 52인 면역원성 조성물.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 52와 HPV 45인 면역원성 조성물.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 다른 암 유형이 HPV 31, HPV 45 및 HPV 52인 면역원성 조성물.

청구항 9

제 1항에 있어서, 10㎍ 이상의 HPV 16 및 HPV 18 중 하나 이상으로부터의 VLP 또는 캡소머와, 2 내지 9㎍의 상기 다른 암 유형으로부터의 VLP 또는 캡소머를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 10

제 1항에 있어서, 20㎍ 이상의 HPV 16 및 HPV 18 중 하나 이상으로부터의 VLP 또는 캡소머와, 5 내지 15㎍의 상기 다른 암 유형으로부터의 VLP 또는 캡소머를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 11

제 10항에 있어서, 10㎍의 상기 다른 암 유형으로부터의 VLP 또는 캡소머를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 12

애쥬번트와 배합된 제 1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 조성물.

청구항 13

제 12항에 있어서, 상기 애쥬번트가 알루미늄염인 면역원성 조성물.

청구항 14

제 13항에 있어서, 상기 애쥬번트가 알루미늄 하이드록시드인 면역원성 조성물.

청구항 15

제 12항에 있어서, 상기 애쥬번트가 지질 A 유도체인 면역원성 조성물.

청구항 16

제 15항에 있어서, 상기 애쥬번트가 3D MPL인 면역원성 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인간 유두종바이러스에 대한 백신에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 유두종 바이러스는 고도로 종 특이적인 작은 DNA 종양 바이러스이다. 지금까지, 100개가 넘는 각기 다른 인간 유두종바이러스 (HPV) 유전자형이 공지되었다. HPV는 대체로 피부 (예를 들어, HPV-1 및 -2) 또는 점막 표면 (예를 들어, HPV-6 및 -11)에 특이적이고, 일반적으로 수 개월 또는 수 년 동안 존속하는 양성 종양 (사마귀)을 야기시킨다. 이러한 양성 종양은 관련 개체에게는 성가실 수 있지만, 소수의 경우를 제외하고는 생명을 위협하는 경향은 없다.

[0003] 일부 HPV는 또한 암과 관련되며, 이들은 종양발생 HPV 유형으로서 공지되어 있다. HPV와 인간 암 사이의 가장 강력하고 확실한 관련성은 HPV-16과 HPV-18 및 자궁경부암종 사이에 존재하는 관련성이다. 자궁경부암은 개발도상국에서 가장 흔한 악성종양이며, 전세계적으로 매년 약 500,000명의 새로운 환자가 발생한다.

[0004] 암과 관련하여 특히 관심을 끄는 다른 HPV는 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82, 26, 53 및 66형이다.

[0005] HPV 바이러스 유사 입자 (VLP)는 HPV를 치료하기 위한 잠재적 백신으로서 제안되어 왔다. VLP를 이용하는 2가 백신은 젊은 여성에서 HPV 16형 및 18형에 의한 감염을 예방하는 데에 효과적인 것으로 밝혀졌다 (Lancet, vol 364, issue 9447, November 2004, pages 1757-1765).

[0006] 다수의 (예를 들어, 2개를 초과하는) HPV 유형에 대해 보호를 제공하는 백신이 여전히 필요한 실정이다.

[0007] 본 발명은 이러한 필요성을 다룬다.

발명의 내용

[0008] **발명의 개요**

[0009] 첫 번째 양태에서, 본 발명은 HPV 16 및 18로부터의 VLP와, HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 다른 HPV 암 유형으로부터의 VLP를 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 VLP의 용량이 HPV 16 또는 18의 VLP의 용량에 비해 감소되는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0010] 관련 양태에서, 본 발명은 HPV 16로부터의 VLP와, HPV 31형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 다른 HPV 암 유형으로부터의 VLP를 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 VLP의 용량이 HPV 16의 VLP의 용량에 비해 감소되는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0011] 관련 양태에서, 본 발명은 HPV 18로부터의 VLP와 HPV 45로부터의 VLP를 포함하는 면역원성 조성물로서, HPV 45 VLP의 용량이 HPV 18 VLP의 용량에 비해 감소되는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0012] 또한, 본 발명은 애쥬번트 및/또는 담체와 배합된 상기 규정된 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0013] *또한, 본 발명은 상기 규정된 면역원성 조성물과 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 백신에 관한 것이다.

[0014] 또한, 본 발명은 HPV 감염 및/또는 질병을 예방할 필요가 있는 개체에게 상기 규정된 조성물 또는 백신을 투여하는 것을 포함하여 HPV 감염 및/또는 질병을 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0015] 또한, 본 발명은 HPV 16 및 18로부터의 VLP를, HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 다른 HPV 암 유형과 혼합하는 것을 포함하여 상기 규정된 면역원성 조성물을 제조하는 방법으로서, 하나

이상의 다른 암 유형의 VLP의 용량이 HPV 16 또는 18의 VLP의 용량에 비해 감소되는 방법에 관한 것이다.

[0016] 본 발명의 상기 양태는 VLP 보다는 HPV 캡소머를 또한 사용할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] **상세한 설명**

[0018] 본 발명자들은 놀랍게도 HPV 16 및 18 VLP가 HPV 31, HPV 45 및 HPV 52인 특정한 다른 HPV 암 유형에 의한 감염 및/또는 질병에 대해 교차 보호를 제공할 수 있다는 것을 발견하였다. 데이터는 본 명세서의 실시예에 제공되어 있다.

[0019] 교차 보호는 상이한 HPV 유형에 의해 야기되는 감염 (일시적(incident) 또는 지속적(persistent)) 및/또는 질병에 대해 하나의 HPV 유형을 함유하는 백신에 의해 제공되는 보호로서 간주될 수 있다. 일시적 및 지속적 감염은 하퍼(Harper) 등의 란셋(Lancet) 논문 [Vol 364, issue 9447, November 2004, pages 1757-1765]에서와 같이 규정된다. 교차 보호는 백신 효능 (V.E.)을 고려함으로써 평가될 수 있고, 여기서 V.E.는 주어진 유형에 대한 위약군과 비교되는 백신에 의한 감염에 대한 보호의 개선 %이다.

[0020] 따라서, HPV 16 및 18 VLP를 포함하는 HPV 백신은 HPV 16 및 18 VLP의 부재하에서 필요한 용량 보다 적은 용량의 다른 (비-HPV 16/18) 암 유형 VLP (31, 45 또는 52)를 사용하여 제형화될 수 있지만 여전히 그러한 다른 유형에 대한 일시적 및/또는 지속적 HPV 감염에 대해 동일한 보호 반응을 달성한다. 다가 백신 시나리오에서 다른 암 유형 VLP의 용량을 감소시키며 이러한 다른 암 유형에 의해 야기되는 보호에 대해 현저한 영향을 미치지 않는 것은, 전체 항원량이 예를 들어 물리적, 화학적 또는 규제성 제약요소에 의해 제한될 수 있는 경우에 유리할 수 있다. 또한, 이는 주어진 항원량에 대해 보다 많은 용량의 백신이 생성될 수 있게 하고, 전반적인 백신 비용을 잠재적으로 감소시킬 수 있다.

[0021] 본 명세서에서 VLP의 용량은 적합하게는 중량에 의해 측정된 VLP의 양이다.

[0022] 바꿔 말하면, 일시적 및/또는 지속적 감염 및/또는 질병에 대해 동일한 보호 반응을 달성하기 위해, HPV 16 및/또는 HPV 18 VLP와 배합하여 사용될 필요가 있는 (HPV 16/HPV 18 이외의) '다른 암 유형' VLP의 용량은 그러한 16형 및/또는 18형 VLP의 부재하에서 필요한 수준과 비교하여 감소될 수 있다.

[0023] 따라서, 본 발명은 HPV 16 및 18로부터의 VLP와, HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 다른 HPV 암 유형으로부터의 VLP를 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 VLP의 용량이 HPV 16 또는 18의 VLP의 용량에 비해 감소되는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0024] 또 다른 양태에서, 본 발명은 HPV 16 및 18로부터의 VLP와, HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 다른 HPV 암 유형을 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 VLP의 용량이 HPV 16 및 18 VLP의 부재하에서 그러한 다른 암 유형에 의한 일시적 및/또는 지속적 HPV 감염에 대해 동일한 보호를 일으키는 데에 필요한 용량에 비해 감소되는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0025] 한 가지 양태에서, (HPV 16, 18 이외의) 다른 암 유형 VLP의 용량은 그러한 유형에 의한 일시적 및/또는 지속적 감염에 대해 보호를 제공하기에 충분하며, 본 발명의 한 가지 양태에서는 적어도 지속적 감염에 대한 보호를 제공하기에 충분하다.

[0026] 본 발명의 양태에서, 본 발명의 조성물은 인간 피검체에서 감염 및/또는 질병을 보호하는 데에 적합하다.

[0027] 적합한 용량은 예를 들어 본 명세서의 실시예에 기재된 실험과 같은 인간 실험에 의해 측정될 수 있다.

[0028] 주어진 HPV 유형, 예를 들어 HPV 16, 18, 31, 45 또는 52에 의한 일시적 및/또는 지속적 감염에 대한 보호는 적합하게는 그러한 유형에 의한 감염에 대해 백신접종된 집단의 50% 보호, 본 발명의 한 가지 양태에서는 60% 보호, 또 다른 양태에서는 70% 보호, 또 다른 양태에서는 80% 보호, 또 다른 양태에서는 90% 보호, 또 다른 양태에서는 95% 보호, 또 다른 양태에서는 96% 보호, 또 다른 양태에서는 97% 보호, 또 다른 양태에서는 98% 보호, 또 다른 양태에서는 99% 보호, 또 다른 양태에서는 100% 보호이다.

[0029] 적합하게는 이러한 보호는 6개월 이상의 기간, 예를 들어 9개월 이상, 1년 이상, 18개월 이상의 기간, 적합하게는 2년 이상의 기간에 걸쳐 평가된다.

[0030] 본 발명의 한 가지 양태에서, 보호는 HPV 16 및/또는 HPV 18에 의해 야기되는 감염 또는 질병에 대해 관찰되고,

한 가지 양태에서는 HPV 16과 HPV 18 둘 모두의 감염 및/또는 질병에 대해 관찰된다.

[0031] 감염의 예방은 예를 들어 본 명세서에 참조로 포함되어 있는 WO03014402 및 WO9914377에 기재된 기술과 같은 PCR 분석 및/또는 하이브리드화 기술에 의해 백신접종된 개체에 존재하는 HPV 종을 분석함으로써 평가될 수 있다.

[0032] 본 발명의 면역원성 조성물이 HPV 16과 18 VLP 둘 모두를 포함하는 경우, 비 HPV 16/18 암 유형 VLP는 31형, 45형, 52형 또는 이들의 배합물이다. 한 가지 양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 HPV 16, 18, 31 및 45로부터의 VLP를 포함한다. 한 가지 양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 HPV 16, 18, 31 및 52로부터의 VLP를 포함한다. 한 가지 양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 HPV 16, 18, 45 및 52로부터의 VLP를 포함한다. 한 가지 양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 HPV 16, 18, 31, 52 및 45로부터의 VLP를 포함한다. 2개 이상의 다른 암 유형 VLP (예를 들어, 31과 45, 31과 52, 45과 52)가 존재하는 경우, 이러한 다른 암 유형 중 하나 이상이 HPV 16 또는 HPV 18의 용량에 비해 감소된 용량으로 존재한다.

[0033] 한 가지 양태에서, HPV 31의 용량은 HPV 16의 용량에 비해 감소된다.

[0034] 한 가지 양태에서, HPV 52의 용량은 HPV 16의 용량에 비해 감소된다.

[0035] 한 가지 양태에서, HPV 45의 용량은 HPV 18의 용량에 비해 감소된다.

[0036] 적합하게는, 상기 규정된 면역원성 조성물은 HPV 16, HPV 18 및 상기 열거된 군에 존재하는 하나 이상의 다른 (31, 45 또는 52) HPV 유형에 의해 야기된 일시적 감염 및/또는 지속적 감염 및/또는 질병, 예를 들어 일시적 감염에 대해 보호를 제공한다.

[0037] 본 발명의 면역원성 조성물이 HPV 18 VLP가 아닌 HPV 16 VLP를 포함하는 경우, 적합하게는 비 HPV 16/18 VLP 암 유형은 31형 및/또는 52형이다.

[0038] 본 발명의 면역원성 조성물이 HPV 16 VLP가 아닌 HPV 18 VLP를 포함하는 경우, 적합하게는 비 HPV 16/18 VLP 암 유형은 45형이다.

[0039] 본 발명의 양태에서, 조성물은 HPV 16과 18 VLP를, HPV 31 및 HPV 45 VLP 중 어느 하나 또는 둘 모두와 함께 포함한다.

[0040] 본 발명의 양태에서, 조성물은 적어도 HPV 16 VLP를, HPV 31 VLP와 함께 포함한다.

[0041] 본 발명의 조성물은 감소된 용량의 VLP 이외에 임의의 적합한 용량의 다른 HPV VLP를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 추가의 "고위험" 암 유형, 예를 들어 HPV 33, 35, 39, 51, 56, 58, 59, 66 또는 68 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0042] 한 가지 양태에서, 조성물은 추가의 소위 "생식기 사마귀 (genital wart)" 유형, 예를 들어 HPV 6 및/또는 11, 또는 소위 "피부" 유형, 예를 들어 HPV 5 및/또는 8을 포함할 수 있다. 한 가지 양태에서, 추가의 VLP는 HPV 16 및/또는 HPV 18과 동일하거나 이 보다 높은 용량으로 존재한다.

[0043] 본 발명의 한 가지 양태에서, 조성물은 HPV 39 및/또는 HPV 51 VLP를 포함하고, 이들 VLP 중 하나 이상의 용량은 HPV 16 및/또는 HPV 18에 비해 감소된다.

[0044] 한 가지 양태에서, 임의의 추가의 VLP의 양은 추가의 유형(들)에 대한 감염 또는 질병에 대해 어느 정도의 보호를 제공하도록 선택된다.

[0045] 하기 개별화된 본 발명의 특정 조성물은 하기 용량의 VLP를 포함한다:

[0046]

조성물 번호	HPV 16 VLP(㎍)	HPV 18 VLP(㎍)	HPV 31 VLP(㎍)	HPV 45 VLP(㎍)
1	20	20	10	10
2	20	30	10	10
3	20	30	20	20
4	30	20	10	10
5	30	20	20	20

[0047] 적합하게는, 본 발명의 조성물 중의 HPV VLP들 사이에 현저하거나 생물학적으로 관련된 간섭이 존재하지 않으며, 이에 따라 본 발명의 복합 VLP 백신은 이러한 백신에 존재하는 각각의 HPV VLP 유형에 의한 감염에 대해 효과적인 보호를 제공할 수 있다. 적합하게는, 배합물 중의 주어진 VLP 유형에 대한 면역 반응은 개별적으로 측정된 경우 동일한 VLP 유형의 면역 반응의 50% 이상, 바람직하게는 100% 또는 실질적으로 100% 이다. HPV

16 및 HPV 18 VLP 성분에 대한 반응의 경우, 본 발명의 복합 백신은 바람직하게는 복합 HPV 16/HPV 18 VLP 백신에 의해 제공되는 면역 반응의 50% 이상인 면역 반응을 자극한다. 적합하게는, 본 발명의 백신에 의해 일어나는 면역 반응은 각각의 VLP 유형의 보호 효과가 여전히 관찰되는 수준으로 존재한다. 면역 반응은 적합하게는 예를 들어 ELISA와 같은 표준 기술을 사용하여 항체 반응에 의해 그리고 본 명세서에 기재된 임상 실험에 의해 측정될 수 있다.

[0048] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물은 열 충격 단백질 또는 이의 단편을 포함하지 않는다.

[0049] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물은 HPV L2 단백질 또는 펩티드를 포함하지 않는다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 조성물은 HPV L2 단백질 또는 펩티드를 포함한다.

[0050] HPV VLP 및 VLP의 생성을 위한 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있다. VLP는 전형적으로 바이러스의 L1 및 임의로 L2 구조 단백질로부터 생성된다 (참조: WO9420137, WO9629413 및 WO9405792). L1 또는 L1 + L2 VLP와 같은 임의의 적합한 HPV VLP가 본 발명에서 사용될 수 있다.

[0051] VLP 형성은 예를 들어 전자 현미경법 및 동적 레이저 광산란과 같은 표준 기술에 의해 평가될 수 있다.

[0052] 본 발명의 한 가지 양태에서, VLP는 L1 단독 VLP이다.

[0053] VLP는 전장 L1 단백질을 포함할 수 있다.

[0054] 본 발명의 양태에서, VLP를 형성하는 데에 사용되는 L1 단백질은 절단된(truncated) L1 단백질이다. 절단된 HPV L1 단백질은 예를 들어 본 명세서에 참조로 포함되어 있는 US6361778에 기재되어 있다. 한 가지 양태에서, 절단은 핵 위치결정 신호를 제거한다. 또 다른 양태에서, 절단은 C 말단 절단이다. 또 다른 양태에서, C 말단 절단은 50개 미만의 아미노산, 적합하게 바람직하게는 40개 미만의 아미노산을 제거한다. 적합하게는, HPV 16 L1 서열은 예를 들어 하기 서열에 제시된 바와 같이 두 번째 메티오닌 코돈에서 또는 다른 HPV 유형의 유사한 위치에서 개시된다. VLP가 HPV 16 VLP인 경우, 한 가지 양태에서 C 말단 절단은 HPV 16 L1 서열로부터 34개 아미노산을 제거한다. VLP가 HPV 18 VLP인 경우, 한 가지 양태에서 C 말단 절단은 HPV 18 L1 서열로부터 35개의 아미노산을 제거한다.

[0055] 한 가지 양태에서, HPV 16 서열은 하기 서열이다:

[0056]
```
MSLWLPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPIKKPNNNKI   60
LVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKFGFPDTSFYNPDTQRLVWACVGVEVGRGQPLGVGISGH  120
PLLNKLDDTENASAYAANAGVDNRECISMDYKQTQLCLIGCKPPIGEHWGKGSPCTNVAV  180
NPGDCPPLELINTVIQDGDMVDTGFGAMDFTTLQANKSEVPLDICTSICKYPDYIKMVSE  240
PYGDSLFFYLRREQMFVRHLFNRAGAVGENVPDDLYIKGSGSTANLASSNYFPTPSGSMV  300
TSDAQIFNKPYWLQRAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMSLCAAISTSETTYKNTNF  360
KEYLRHGEEYDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGTLEDTYRF  420
VTSQAIACQKHTPPAPKEDPLKKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQ           471
```

[0057] 또한, HPV 16 서열은 예를 들어 적합하게 절단된, WO9405792 또는 US6649167에 개시된 서열일 수 있다. 적합한 절단물은 서열 비교에 의해 평가하여 상기 제시된 위치와 동등한 위치에서 절단된다.

[0058] 한 가지 양태에서, HPV 18 서열은 하기 서열이다:

[0059]
```
MALWRPSDNTVYLPPPSVARVVNTDDYVTRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVPAGGGNKQ   60
DIPKVSAYQYRVFRVQLPDPNKFGLPDNSIYNPETQRLVWACVGVEIGRGQPLGVGLSGH  120
PFYNKLDDTESSHAATSNVSEDVRDNVSVDYKQTQLCILGCAPAIGEHWAKGTACKSRPL  180
SQGDCPPLELKNTVLEDGDMVDTGYGAMDFSTLQDTKCEVPLDICQSICKYPDYLQMSAD  240
PYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRAGTMGDTVPPSLYIKGTGMRASPGSCVYSPSPSGSIV  300
TSDSQLFNKPYWLHKAQGHNNGVCWHNQLFVTVVDTTRSTNLTICASTQSPVPGQYDATK  360
FKQYSRHVEEYDLQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGVPPPPTTSLVDTYR  420
FVQSVAITCQKDAAPAENKDPYDKLKFWNVDLKEKFSLDLDQYPLGRKFLVQ          472
```

[0060] 또 다른 HPV 18 서열은 WO9629413에 개시되어 있으며, 이는 적합하게 절단될 수 있다. 적합한 절단물은 서열 비교에 의해 평가하여 상기 제시된 위치와 동등한 위치에서 절단된다.

[0061] 다른 HPV 16 및 HPV 18 서열은 당 분야에 널리 공지되어 있고, 본 발명에서 사용하기에 적합할 수 있다.

[0062] HPV 31, HPV 45 및 HPV 52의 적합한 절단은 적합하게는 서열 정렬에 의해 평가하여 상기 기재된 부분과 동등한 L1 단백질의 C 말단 부분을 제거함으로써 또한 이루어질 수 있다.

[0063] 절단된 L1 단백질은 예를 들어 본 명세서에 참조로 포함되어 있는 WO9611272 및 US6066324에 기재되어 있다.

[0064] 한 가지 양태에서, 절단된 L1 단백질은 적합하게는 면역 반응을 일으킬 수 있는 (필요한 경우, 적합하게는 애쥬번트첨가된 경우) 작용성 L1 단백질 유도체이며, 상기 면역 반응은 전장 L1 단백질로 구성된 VLP 및/또는 L1 단백질이 유래되는 HPV 유형을 인식할 수 있다.

[0065] 본 발명의 VLP는 또한 전장 또는 절단된 HPV L1 단백질의 변이체, 예를 들어 결실, 치환 또는 삽입 변이체를 포함하는 작용성 단백질 유도체의 다른 유형을 포함할 수 있다. L1 단백질 또는 유도체는 또한 융합 단백질, 예를 들어 L1 단백질과 L2 또는 초기 단백질의 융합체일 수 있다. L1 단백질 또는 작용성 단백질 유도체는 VLP를 형성할 수 있고, VLP 형성은 예를 들어 전자 현미경법 및 동적 레이저 광산란과 같은 표준 기술에 의해 평가될 수 있다.

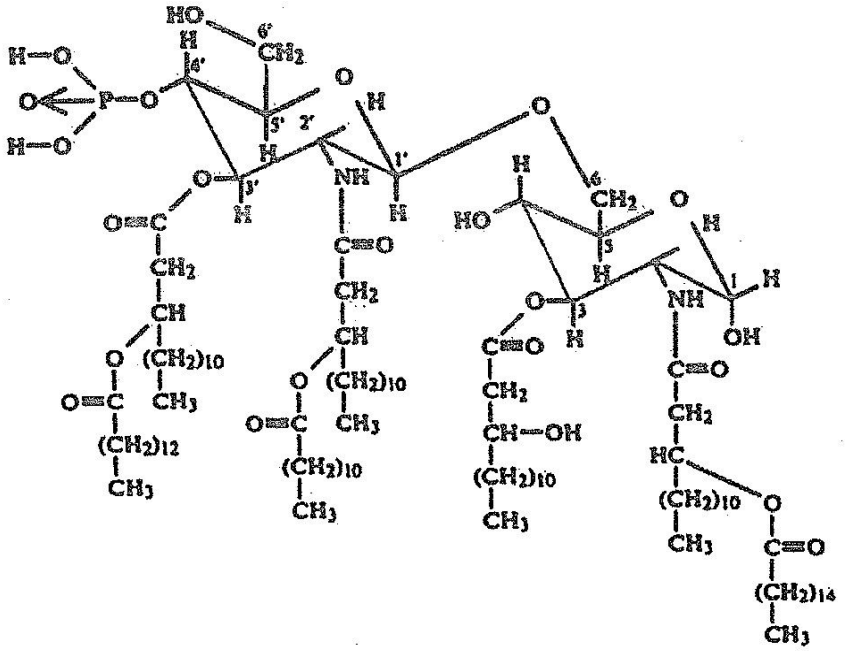
[0066] VLP는 효모 세포 또는 곤충 세포, 예를 들어 바쿨로바이러스 세포와 같은 임의의 적합한 세포 기질에서 제조될 수 있고, VLP를 제조하는 기술은 당 분야에 널리 공지되어 있다 [참조: WO9913056 및 US6245568, 및 상기 문헌에 기재된 참고문헌; 이들의 전체 내용은 본 명세서에 참조로 포함되어 있음].

[0067] 한 가지 양태에서, VLP는 디스어셈블리(disassembly) 및 리어셈블리(reassembly) 기술에 의해 제조될 수 있고, 이는 안정하고/거나 균일한 유두종바이러스 VLP를 제공할 수 있다. 예를 들어, 맥카티(McCarthy) 등의 문헌 [1998 "Quantitative Disassembly and Reassembly of Human Papillomavirus Type 11 Viruslike Particles in Vitro" J. Virology 72(1):33-41]에는 VLP의 균일한 제조물을 수득하기 위해 곤충 세포로부터 정제된 재조합 L1 HPV 11 VLP를 디스어셈블리하고 리어셈블리하는 것이 기재되어 있다. 또한, WO9913056 및 US6245568에는 HPV VLP를 제조하기 위한 디스어셈블리/리어셈블리 방법이 기재되어 있다.

[0068] 한 가지 양태에서, 본 발명의 HPV VLP는 WO9913056 또는 US6245568에 기재된 바와 같이 제조된다.

[0069] 본 발명의 VLP는, 비제한적으로 임의의 공급원로부터의 독성제거된 지질 A 및 지질 A의 무독성 유도체, 사포닌 및 TH1 유형 반응을 자극할 수 있는 다른 시약과 같은 애쥬번트 또는 면역자극제와 배합될 수 있다.

[0070] 장내세균 지질다당류(LPS)가 면역계의 효능있는 자극제인 것으로 오랫동안 공지되어 왔지만, 애쥬번트에서의 이의 사용은 이의 독성 효과에 의해 감소되어 왔다. 환원 말단 글루코사민으로부터 코어 탄수화물 기와 인산염의 제거에 의해 생성되는 LPS의 무독성 유도체인 모노포스포릴 지질 A (MPL)는 리비(Ribi) 등의 문헌 [1986, Immunology and Immunopharmacology of bacterial endotoxins, Plenum Publ. Corp., NY, p407-419]에 기재되어 있고, 하기 구조를 지닌다:



[0071]

[0072] MPL의 또 다른 독성제거된 변형체는 이당류 주쇄의 3-위치로부터 아실 사슬의 제거의 결과로서 생성되며, 이는

3-O-데아실화된 모노포스포릴 지질 A (3D-MPL)로 명명된다. 이러한 변형체는 GB 2122204B에 교시된 방법에 의해 정제되고 제조될 수 있으며, 상기 문헌에는 또한 디포스포릴 지질 A 및 이의 3-O-데아실화된 변이체의 제법이 기재되어 있다.

[0073] 한 가지 양태에서, 3D-MPL은 직경이 0.2㎛ 미만인 작은 입자 크기를 지닌 에멀젼 형태로 존재하고, 이의 제조 방법은 WO94/21292에 기재되어 있다. 모노포스포릴 지질 A 및 계면활성제를 포함하는 수성 제형은 WO9843670A2에 기재되어 있다.

[0074] 본 발명의 조성물에서 제형화하려는 세균 지질다당류 유래된 애쥬번트는 세균원으로부터 정제되고 처리될 수 있거나, 이들은 합성물일 수 있다. 예를 들어, 정제된 모노포스포릴 지질 A는 리비(Ribi) 등의 문헌 (1986, 상기 참조)에 기재되어 있고, 살모넬라 종 (*Salmonella sp.*)으로부터 유래된 3-O-데아실화된 모노포스포릴 또는 디포스포릴 지질 A는 GB 2220211 및 US 4912094에 기재되어 있다. 다른 정제된 형태 및 합성 형태의 지질다당류가 공지되었다 (Hilgers et al., 1986, *Int.Arch.Allergy.Immunol.*, 79(4):392-6; Hilgers et al., 1987, Immunology, 60(1):141-6; 및 EP 0 549 074 B1). 한 가지 양태에서, 세균 지질다당류 애쥬번트는 3D-MPL이다.

[0075] 따라서, 본 발명에서 사용될 수 있는 LPS 유도체는 LPS 또는 MPL 또는 3D-MPL과 구조가 유사한 면역자극제이다. 본 발명의 또 다른 양태에서, LPS 유도체는 아실화된 단당류일 수 있고, 이는 MPL의 상기 구조에 대한 하위 부분이다.

[0076] 사포닌은 라카일-듀부와, 엠(Lacaille-Dubois, M) 및 와그너 에이치.(Wagner H.) (1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. Phytomedicine vol 2 pp 363-386)에 교시되어 있다. 사포닌은 식물 및 해양 동물계에 널리 분포되어 있는 스테로이드 또는 트리테르펜 글리코시드이다. 사포닌은 진탕시 기포를 형성하는 수중 콜로이드 용액을 형성하고, 콜레스테롤을 침전시키는 것에 대해 주목된다. 사포닌이 세포막에 근접해 있는 경우, 이들은 막에 기공 유사 구조를 생성시켜서 막이 파열되게 한다. 적혈구의 용혈은 이러한 현상의 예이며, 이는 전부는 아니지만 특정 사포닌의 특성이다.

[0077] 사포닌은 전신 투여용 백신의 애쥬번트로서 공지되어 있다. 애쥬번트 및 개개의 사포닌의 용혈 활성이 당 분야에서 광범위하게 연구되었다 (Lacaille-Dubois and Wagner, 상기 참조). 예를 들어, Quil A (남아메리카 수목인 퀼라자 사포나리아 몰리나(Quillaja Saponaria Molina)의 수피로부터 유래됨) 및 이의 분획은 US 5,057,540 및 문헌 ["Saponins as vaccine adjuvants", Kensil, C. R., *Cril Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1996, 12 (12):1-55; 및 EP 0 362 279 B1]에 기재되어 있다. Quil A의 분획을 포함하는 면역 자극성 복합체 (ISCOMS)로 명명되는 미립 구조물은 용혈성이고, 백신의 제조에 사용되어 왔다 (Morein, B., EP 0 109 942 B1; WO 96/11711; WO 96/33739). 용혈성 사포닌 QS21 및 QS17 (Quil A의 HPLC 정제된 분획)은 효능있는 전신 애쥬번트로서 공지되어 있고, 이들의 제조 방법은 US 특허 5,057,540호 및 EP 0 362 279 B1에 기재되어 있다. 전신 백신접종 실험에 사용되어온 다른 사포닌으로는 다른 식물종으로부터 유래된 사포닌, 예를 들어 깁소필라(Gypsophila) 및 사포나리아(Saponaria)가 있다 (Bomford et al., Vaccine, 10(9):572-577, 1992).

[0078] 향상된 시스템은 무독성 지질 A 유도체와 사포닌 유도체의 배합물, 특히 WO 94/00153에 기재된 QS21과 3D-MPL의 배합물, 또는 WO 96/33739에 기재된 바와 같은 QS21이 콜레스테롤에 의해 켄칭된 덜 리액토제닉(reactogenic)한 조성물을 포함한다.

[0079] 한 가지 양태에서, 애쥬번트는 QS21과 3D-MPL을 수중유 에멀젼 형태로 포함하는 특히 효능있는 애쥬번트 제형이고, 이는 WO 95/17210에 기재되어 있다.

[0080] 따라서, 본 발명의 한 가지 구체예에서, 독성제거된 지질 A 또는 지질 A의 무독성 유도체, 더욱 바람직하게는 모노포스포릴 지질 A 또는 이의 유도체가 애쥬번트로서 첨가된 조성물이 제공된다.

[0081] 한 가지 양태에서, 조성물은 추가로 사포닌, 더욱 바람직하게는 QS21을 포함한다.

[0082] 한 가지 양태에서, 애쥬번트 제형은 추가로 수중유 에멀젼을 포함한다. 또한, 본 발명은 본 발명의 VLP를 3D-MPL과 같은 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 혼합하는 것을 포함하여 백신 제형을 제조하는 방법을 제공한다.

[0083] 본 발명에 따른 애쥬번트첨가된 조성물에 바람직하게 존재하는 추가의 성분들로는 비이온성 세정제, 예를 들어 본 명세서에 기재된 옥토지놀 및 폴리옥시에틸렌 에스테르, 특히 t-옥틸페녹시 폴리에톡시에탄올 (트리톤 X-100) 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 (트윈 80); 및 본 명세서에 기재된 담즙산염 또는 콜산 유도체, 특히 소듐 데옥시콜레이트 또는 타우로데옥시콜레이트가 있다. 한 가지 양태에서, 애쥬번트 제형은 3D-MPL, 트

리톤 X-100, 트윈 80 및 소듐 데옥시콜레이트를 포함하며, 이는 적합한 백신을 제공하도록 HPV VLP와 배합될 수 있다.

[0084] 본 발명의 한 가지 구체예에서, 조성물은 콜레스테롤, 사포닌 및 LPS 유도체를 포함하는 소포성(vesicular) 애쥬번트 제형을 포함한다. 이와 관련하여, 애쥬번트 제형은 적합하게는 디올레오일 포스파티딜 콜린을 포함하는 지질 이중층을 지니는, 콜레스테롤을 포함하는 단일박막(unilamellar) 소포를 포함할 수 있으며, 여기서 사포닌 및 LPS 유도체는 지질 이중층과 결합되거나 지질 이중층내에 삽입되어 있다. 더욱 바람직하게는, 이러한 애쥬번트 제형은 사포닌으로서의 QS21 및 LPS 유도체로서의 3D-MPL을 포함하며, 여기서 QS21:콜레스테롤의 비는 1:1 내지 1:100 중량/중량이고, 가장 바람직하게는 1:5 중량/중량이다. 이러한 애쥬번트 제형은 EP 0 822 831 B에 기재되어 있고, 이러한 문헌의 기재내용은 본 명세서에 참조로 포함되어 있다.

[0085] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물은 알부민과 함께 사용되고, 적합하게는 알루미늄 애쥬번트상으로 흡착되거나 부분적으로 흡착된다. 적합하게는, 애쥬번트는 알루미늄염이고, 이는 한 가지 양태에서 3D MPL과 함께 사용되며, 예를 들어 알루미늄 포스페이트 및 3D MPL이다. 또 다른 양태에서, 애쥬번트는 알루미늄 하이드록시드이며, 이는 임의로 3D MPL과 함께 사용된다.

[0086] 또 다른 양태에서, 조성물은 VLP와, 알루미늄염 또는 알루미늄염 + 3D MPL과의 배합물이다. 본 발명의 양태에서, 알루미늄염은 알루미늄 하이드록시드이다.

[0087] 또한, 본 발명의 조성물은 안정화제로서 알루미늄 또는 알루미늄 화합물을 포함할 수 있다.

[0088] 본 발명은 전반적으로 VLP의 배합물에 관한 것이다. 그러나, VLP의 필수 성분은 L1 단백질인 것으로 인식된다. L1 단백질은 결합되어 5량체 (캡소머)를 형성한 후, 이는 테셀레이션(tessellation)(어셈블)되어 VLP를 형성한다. 이와 같이, 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 VLP 대신 L1 단백질 또는 L1 단백질을 포함하는 캡소머를 포함하는 상기 기재된 면역원성 조성물에 관한 것이다. 적합하게는, L1 단백질은 보호 면역 반응을 자극할 수 있다. 적합하게는, L1 단백질은 형태적으로 올바르다.

[0089] 불확실함을 피하기 위해, 또한 본 발명은 상기 기재된 작용성 L1 유도체, 예를 들어 L1 절단물, 결실, 치환 또는 삽입 변이체, 및 융합 단백질, 적합하게는 HPV 바이러스를 인식할 수 있는 면역 반응을 일으킬 수 있는 L1 유도체의 용도에 관한 것이다. 이러한 단백질을 포함하는 캡소머가 또한 본 발명에 포함된다. 면역원성 제제로서의 캡소머는 예를 들어 WO0204007에 기재되어 있다. 또한, WO9901557에는 HPV 캡소머 함유 조성물이 개시되어 있다. L1 단백질, 유도체 및 캡소머는 상기 VLP에 대해 기재된 바와 동일한 방식으로 사용될 수 있다.

[0090] 따라서, 본 발명은 HPV 16 및 18, 그리고 HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 다른 암 유형으로부터의 L1 단백질 또는 이의 절단된 유도체를 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 L1 단백질 또는 이의 유도체의 용량이 HPV 16 또는 18의 L1 단백질 또는 이의 유도체의 용량에 비해 감소된 면역원성 조성물에 관한 것으로 이해될 수 있다.

[0091] 따라서, 본 발명은 HPV 16 및 18, 그리고 HPV 31형, 45형 및 52형으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 다른 암 유형으로부터의 HPV 캡소머를 포함하는 면역원성 조성물로서, 하나 이상의 다른 암 유형의 캡소머의 용량이 HPV 16 또는 18의 캡소머의 용량에 비해 감소된 면역원성 조성물에 관한 것으로 이해될 수 있다.

[0092] 한 가지 양태에서, 본 발명은 약제학적으로 허용되는 부형제가 배합된 상기 논의된 면역원성 조성물에 관한 것이다. 적합한 부형제는 당 분야에 널리 공지되어 있으며, 이의 예로는 완충제 및 물이 있다.

[0093] 본 발명의 조성물 및 백신은 다양한 경로 중 어느 하나, 예를 들어 경구, 국소, 피하, 점막 (전형적으로 질내), 정맥내, 근내, 비내, 설하, 피내 경로에 의해 및 좌제를 통해 제공되고 전달될 수 있다.

[0094] 본 발명의 한 가지 양태에서, 조성물 또는 백신은 HPV 초기 항원, 예를 들어 HPV E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7 및 E8로 구성된 군으로부터 선택된 항원과 제형화되거나 이와 공동 투여될 수 있다. 또 다른 양태에서, 백신은 HPV 초기 항원, 예를 들어 HPV E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7 및 E8로 구성된 군으로부터 선택된 항원이 없을 수 있다.

[0095] 임의로, 조성물 또는 백신은 또한 비-HPV 항원과 제형화되거나 이와 공동 투여될 수 있다. 적합하게는, 이러한 비-HPV 항원은 다른 질병, 가장 바람직하게는 성인성(sexually transmitted) 질환, 예를 들어 단순 포진 바이러스, EBV, 클라미디아 및 HIV에 대해 보호를 제공할 수 있다. 본 발명자들은 특히 조성물 또는 백신이 HSV로부터의 gD 또는 이의 절단물, 적합하게는 gD2t로서 공지된 HSV-2로부터의 C 말단 절단물을 포함하는 것을 선호한

다. 이러한 방식으로, 조성물 또는 백신은 HPV 및 HSV 둘 모두에 대해 보호를 제공한다.

[0096] 조성물 또는 백신 성분들의 투여량은 개체의 질환, 성별, 연령 및 체중, 투여 경로 및 백신의 HPV에 따라 달라질 것이다. 또한, 양은 VLP 유형의 갯수에 따라 달라질 수 있다. 적합하게는, 전달은 면역학적 보호 반응을 생성시키기에 적합한 백신의 양을 지닌다. 적합하게는, 각각의 백신 용량은 1 내지 100㎍의 각각의 VLP, 한 가지 양태에서는 5 내지 80㎍, 또 다른 양태에서는 5 내지 30㎍의 각각의 VLP, 또 다른 양태에서는 5 내지 20㎍의 각각의 VLP를 포함하며, 추가의 양태는 상세하게는 5㎍, 6㎍, 10㎍, 15㎍ 또는 20㎍ 이다.

[0097] 인간에서 사용하기에 적합한 용량은 전형적으로 20 내지 40㎍의 HPV 16 및 HPV 18 VLP를 포함하며, 본 명세서에 기재된 다른 HPV 암 유형 (31, 45, 52)의 감소된 용량은 적합하게는 VLP 당 20㎍ 미만의 수준, 적합하게는 적어도 일부의 백신접종된 개체에서 보호 면역 반응을 일으킬 수 있는 수준이다.

[0098] 인간에서 사용하기에 적합한 다른 용량은 HPV 16 및/또는 18의 보다 적은 양을 포함할 수 있는데, 단, 이러한 용량은 본 명세서에 개요가 설명된 실험을 사용하여 평가될 수 있는 바와 같이 인간에서 보호를 나타낸다. 이러한 용량은 본 발명의 VLP가 예를 들어 강력한 애쥬번트와 배합된 경우 적절할 수 있다.

[0099] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물은 20㎍의 HPV 16, 20㎍의 HPV 18 및 5 내지 18㎍, 예를 들어 5 내지 15㎍의 다른 암 유형 (31, 45 또는 52)로부터의 각각의 VLP를 포함하며, 또 다른 양태에서는 상세하게는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15㎍의 각각의 비 HPV 16/18 암 유형으로부터의 VLP를 포함한다.

[0100] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물은 10 내지 15㎍의 HPV 16, 10 내지 15㎍의 HPV 18 및 5 내지 9㎍의 다른 암 유형 (31, 45 또는 52)로부터의 각각의 VLP를 포함하며, 한 가지 양태에서는 상세하게는 5, 6, 7, 8 또는 9㎍의 각각의 비 HPV 16/18 암 유형으로부터의 VLP를 포함한다.

[0101] 한 가지 양태에서, HPV 16 VLP 대 다른 암 유형 (31, 45 또는 52) VLP의 중량비는 1:0.9 내지 1:0.1 (HPV 16:다른 유형), 적합하게는 1:0.9 내지 1:0.3, 적합하게는 1:0.8 내지 1:0.4이다.

[0102] 한 가지 양태에서, HPV 18 VLP 대 다른 암 유형 (31, 45 또는 52) VLP의 중량비는 1:0.9 내지 1:0.1 (HPV 18:다른 유형), 적합하게는 1:0.9 내지 1:0.3, 적합하게는 1:0.8 내지 1:0.4이다.

[0103] 바꿔 말하면, 감소된 용량은 적합하게는 HPV 16 또는 HPV 18 VLP의 용량의 10 내지 90%이고, 한 가지 양태에서는 HPV 16 또는 HPV 18 VLP의 용량의 20 내지 80%이고, 또 다른 양태에서는 30 내지 70%, 또 다른 양태에서는 30 내지 60%, 상세하게는 HPV 16 또는 HPV 18 용량의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%이다.

[0104] 한 가지 양태에서, 조성물은 적합하게는 HPV-16 및/또는 HPV-18 감염, 지속적 HPV-16 및/또는 HPV-18 감염 및 HPV-16 및/또는 HPV-18 관련 자궁경부 신생물 중 하나 이상을 예방하기 위해 사용된다.

[0105] 적합하게는, 본 발명의 면역원성 조성물은 자궁경부 신생물 및/또는 다른 (비 HPV 16, 18) 종양발생 유형에 의한 감염과 관련된 일시적 감염 및/또는 지속적 감염을 예방하기 위해 사용된다.

[0106] 적합하게는, 본 발명의 면역원성 조성물은 성인 및 10세 이상의 연령의 청소년기 여성의 능동 면역에서 사용된다. 본 발명의 모든 조성물 및 백신의 경우, 조성물 또는 백신은 적합하게는 10세 내지 15세, 바람직하게는 10세 내지 13세의 청소년기 여성의 백신접종을 위해 사용된다. 조성물 또는 백신은 또한 비정상적 질 세포진(pap smear) 후 또는 HPV에 의해 야기된 병변의 제거에 이은 수술 후의 보다 나이먹은 성인 여성 또는 HPV 암 유형에 대해 혈청음성이고 DNA 음성인 보다 나이먹은 성인 여성에게 투여될 수 있다. 10세 내지 55세의 여성이 또 다른 적당한 표적 군이다. 또 다른 양태에서, 백신은 소녀 및 유아 이상의 모든 연령대의 여성에서 사용될 수 있고, 또 다른 양태에서 소년 또는 남성에게 투여될 수 있다. 또 다른 양태에서, 백신은 HPV 바이러스에 대해 혈청양성인 여성에서 치료적으로 사용될 수 있다.

[0107] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물은 HPV 감염에 의해 야기되는 CIN 1, CIN II 또는 CIN III 질병 상태, 또는 자궁경부암을 예방하거나 치료하는 데에 사용된다.

[0108] 한 가지 양태에서, 백신은 2회 내지 3회 투여 계획, 예를 들어 각각 0개월, 1개월 계획 또는 0개월, 2개월 계획, 또는 0개월, 2개월, 6개월 계획, 또는 0개월, 1개월 및 6개월 계획으로 전달된다. 적합하게는, 백신접종 계획은 3 내지 10년 후, 또는 5 내지 10년, 예를 들어 바람직하게는 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년 또는 10년 후의 부스터(booster) 주입을 포함한다.

[0109] 한 가지 양태에서, 본 발명의 조성물 또는 백신은 액체 백신 제형이지만, 백신은 동결건조되고 투여 전에 재구성될 수 있다. 예를 들어, 질내 크림과 같은 국소 제형이 또한 사용될 수 있다.

[0110] 특허 출원 및 등록 특허를 포함하는 본원에 기재된 모든 참고문헌의 교시내용은 본 명세서에 전체가 참조로 포함된다.

[0111] 본 발명의 조성물 및 백신은 상기 기재된 특정 HPV 성분들을 포함한다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 백신은 상기 성분들을 필수 성분으로 포함하거나 이들 성분으로 구성된다.

[0112] 본 발명은 HPV 16 및 HPV 18 VLP에 의한 교차 보호 및 HPV VLP의 생성에 관한 하기 비제한적 실시예를 참조로 예시된다.

[0113] **실시예 1**

[0114] 15세 내지 25세의 건강한 여성을 HPV 16 및 HPV 18 L1 VLP의 혼합물로 면역화시켰다. 명부에 기재된 여성은 다음과 같았다: 1) HPV-16 및 HPV-18에 대해 혈청음성인 여성; 2) 자궁경부의 고위험 HPV 감염에 대해 음성인 여성 (HPV PCR에 의해 검출됨); 3) 6명 이하의 평생 성교 상대를 지녔던 여성; 및 4) 정상 질 세포진을 지닌 여성.

[0115] 혼합물은 0.5ml 용량 당 20㎍의 HPV-16 L1 VLP, 20㎍의 HPV-18 L1 VLP를 포함하였고, 500㎍의 알루미늄 하이드록시드 및 50㎍의 3D MPL이 애쥬번트로 첨가되었다. 위약군에게는 500㎍의 알루미늄 하이드록시드를 단독 주입하였다.

[0116] 고위험 암 HPV 유형에 대한 백신 효능 (V.E.)이 평가되었고, 여기서 V.E.는 위약군과 비교되는 백신에 의한 감염에 대한 보호에서의 개선 %이다.

[0117] 교차 보호는 백신접종 군 및 대조군에서 다양한 종양발생 유형에 대해 특이적인 핵산의 존재를 검출함으로써 평가되었다. 검출은 WO03014402 및 이러한 문헌에 인용된 참고문헌에 기재된 기술을 사용하여 수행되었고, 특히 HPV DNA의 비특이적 증폭 및 LiPA 시스템을 사용한 DNA 유형의 후속 검출은 그 전체 내용이 본 명세서에 포함되어 있는 WO 99/14377 및 클레터(Kleter) 등의 문헌 [Journal of Clinical Microbiology (1999), 37 (8): 2508-2517]에 기재되어 있다.

[0118] 그러나, 임의의 적합한 방법, 예를 들어 관심있는 각각의 HPV 유형에 대해 특이적인 프라이머를 사용하는 유형특이적 PCR이 샘플 중의 HPV DNA를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 프라이머는 당업자에게 공지되어 있거나, 종양발생 HPV 유형의 서열이 공지되어 있음을 고려해 볼 때 용이하게 작제될 수 있다.

[0119] 백신 효능은 모든 12개의 고위험 암 유형, HPV-16 계통발생 관련 유형 (31, 35 및 58의 군; 31, 33, 35, 52 및 58의 군) 및 HPV-18 계통발생 관련 유형 (45 및 59)에 대한 감염에 대해 평가되었다.

[0120] 초기 분석은 "ITT" (처리 의향 (Intention To Treat) 코호트(cohort), 하나 이상의 백신 용량을 투여받은 모든 개체를 대표함)에 대해 수행되었다. 이러한 데이터는 표 1에 제시되어 있다.

[0121] 표 2 및 3에 제시된 결과는 실험의 모든 기준을 충족하는 환자에 대한 "ATP" (프로토콜에 따른 (According To Protocol)) 군에 관한 것이다. 표 2는 코호트의 50% 이상이 이들의 최초 백신접종 후 18개월째인 시점에서 모든 환자로부터 취해진 데이터를 이용한 중간점 분석이다. 표 3은 최종 결과를 나타내며, 모든 데이터는 최초 백신접종 (0개월) 후 18개월째에 피검체로부터 수득되었다. ATP 군에서, 모든 환자는 백신을 0개월, 1개월 및 6개월째에 3회 투여받았고, 6개월째에 혈청음성었다.

[0122] 표 1에 제시된 데이터에 의해 입증되는 바와 같이, HPV 16 및 HPV 18 VLP의 혼합물에 의한 면역화는 다른 HPV 유형에 대해 명백한 교차-보호를 제공하였다. 이 시점에서, 샘플 크기가 너무 작아서 정밀한 통계 분석을 제공할 수 없지만, 데이터는 포지티브(positive) 경향을 나타내며 이는 HPV 16 및 HPV 18 VLP에 의한 면역화가 다른 HPV 유형에 의한 감염에 대해 효능있음을 암시한다.

[0123] 이는 실험이 진행됨에 따라 확인되었다.

[0124] 프로토콜에 대한 상세한 사항은 실시예 3에 추가로 기재되어 있다.

[0125] 표 2는 HPV 16 및 HPV 18이 고위험 암 유형 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 60 및 68의 군에 대해 통계적으로 유의수준의 교차 보호를 제공함을 입증한다.

[0126] 표 3은 HPV-18 관련 유형 (매우 강력한 경향을 나타냄)을 제외하고는 평가된 HPV 31, 35, 58; HPV 31, 33, 35, 52, 58; 및 12개의 고위험 (비 HPV-16/18) 유형의 군에 대해 통계적으로 유의수준의 교차-보호가 존재함을 입증한다.

[0127] 실험 데이터의 추후 분석은 실시예 1에서 사용된 HPV 16 및 18 복합 백신이 HPV 31에 의한 통계적 일시적 감염에 대해 통계적으로 유의수준의 교차 보호를 제공함을 나타내었다 (백신 효능 75.1%, p = 0.007). 샘플 크기는 다른 유형에 대해 통계적으로 유의수준의 결론이 도출될 수 없게 하지만, 다른 유형, 예를 들어 39, 45, 51 및 52에 대한 데이터는 포지티브 경향을 입증하고, 이는 HPV16 및 HPV18 VLP에 의한 면역화가 다른 HPV 유형에 의한 감염에 대해 효능이 있음을 암시한다.

[0128] 실시예 3에 제시된 데이터는 동일한 실험에서 수득된 또 다른 데이터를 제공하며, 몇몇 특정 유형에 대해 제공된 교차 보호에 초점이 맞추어져 있다.

표 1

[0129]

분석된 HPV 유형	감염된 여성의 수 (백신군)	감염된 여성 % (백신군) = A	감염된 여성의 수 (위약군)	감염된 여성 % (위약군) = B	백신 효능 % 1-(A/B) x 100, 백신군과 위약군의 상대적 크기에 대해 조정됨	95% 신뢰 한계 -하한	95% 신뢰 한계 -상한	P
HPV 31,35,58	5	1.1	11	2.4	55.1	-29.1	84.4	0.127
HPV 31,33,35,52,58	17	3.8	24	5.4	30.3	-29.7	62.6	0.252
HPV 45,59	3	0.7	6	1.3	50.6	-97.7	87.6	0.309
HPV 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68	27	6.3	40	9.4	34.6	-6.5	59.9	0.086

[0130] 샘플은 환자로부터 9개월, 12개월, 15개월 및 18개월째에 취하고, 상기 특정된 유형에 의한 HPV 감염에 대해 시험하였다.

[0131] 표 2 - 일시적 이종 감염을 예방하는 데에 있어서 3회 투여 후의 백신 효능

[0132] 표 2: HPV-16 계통발생 관련 유형, HPV-18 계통발생 관련 유형, HPV-16 및/또는 HPV-18 계통발생 관련 유형 및 HPV-16 및 HPV-18을 제외한 모든 고위험 유형에 의한 감염에 대한 백신 효능 - ATP 코호트 (6개월 내지 18개월)

표 2

[0133]

감염 유형	공격율(Attack rate)						백신 효능			
	백신			위약						
	N	n	AR	N	n	AR	%	95%	CI	p-값
HPV-16 관련	433	12	2.8	438	24	5.5	49.4	0.2	74.4	0.060
HPV-16 관련*	423	29	6.9	423	46	10.9	37.0	1.6	59.6	0.052
HPV-18 관련	442	9	2.0	449	16	3.6	42.9	-27.9	74.5	0.223
HPV-16/18 관련	433	21	4.9	438	41	9.4	48.2	13.8	68.9	0.012
HPV-16/18 관련*	423	34	8.0	423	56	13.2	39.3	9.0	59.5	0.019
고위험**	385	53	13.8	386	88	22.8	39.6	17.7	55.7	0.001

[0134] N = 특정 코호트 중의 피검체의 수

[0135] n = 일시적 HPV 감염된 피검체의 수

[0136] AR = 공격율 = n/N

[0137] 95% CI = 95% 신뢰 구간

[0138] 하한 = 1 - exp(log(arv/arp) + 1.96*sqrt(1/nv - 1/Nv + 1/np - 1/Np))

[0139] 상한 = 1 - exp(log(arv/arp) - 1.96*sqrt(1/nv - 1/Nv + 1/np - 1/Np))

[0140] 백신군에서의 환자수(number of cases)가 0인 경우,

[0141] 하한* = 1 - exp(log(arv*/arp*) + 1.96*sqrt(1/(nv+0.5) - 1/(Nv+0.5) + 1/(np+0.5) - 1/(Np+0.5)))

[0142] 상한* = 1 - exp(log(arv*/arp*) - 1.96*sqrt(1/(nv+0.5) - 1/(Nv+0.5) + 1/(np+0.5) - 1/(Np+0.5)))

[0143] 여기서, arv = 백신 수용자에서의 공격율

[0144] arp = 위약 수용자에서의 공격율

[0145] nv = 백신 수용자에서의 환자수

[0146] Nv = 백신 수용자에서의 환자 및 비환자(non-case)의 수

[0147] np = 위약 수용자에서의 환자수

[0148] Np = 위약 수용자에서의 환자 및 비환자의 수

[0149] HPV-16 관련: 다른 HPV 유형의 고려없이 HPV-16 계통발생 관련된 유형 35, 31, 58

[0150] HPV-16 관련*: 다른 HPV 유형의 고려없이 HPV-16 계통발생 관련된 유형 35, 31, 58, 33, 52

[0151] HPV-18 관련: 다른 HPV 유형의 고려없이 HPV-18 계통발생 관련된 유형 45, 59

[0152] HPV-16 및/또는 HPV-18 관련: 다른 HPV 유형의 고려없이 HPV-16 및/또는 HPV-18 계통발생 관련된 유형 35, 31, 58, 45, 59

[0153] HPV-16 및/또는 HPV-18 관련*: 다른 HPV 유형의 고려없이 HPV-16 및/또는 HPV-18 계통발생 관련된 유형 35, 31, 58, 33, 52, 45, 59

[0154] ** = HPV-16 및 HPV-18을 제외한 고위험 유형

표 3

[0155]

분석된 HPV 유형	군 당 정보가 이용가능한 전체 피검체의 수	감염된 여성의 수 (백신군)	감염된 여성 % (백신군) = A	감염된 여성의 수 (위약군)	감염된 여성 % (위약군) = B	백신 효능 % 1-(A/B)x100, 백신군 및 위약군의 상대적 크기에 대해 조정됨	95% 신뢰 한계 -하한	95% 신뢰 한계 -상한	P
HPV 31,35,58	412	11	2.7	26	6.3	57.9	15.9	78.9	0.012
HPV 31,33,35,52,58	403	28	6.9	48	12.2	43.0	11.0	63.5	0.015
HPV 45,59	421	10	2.4	15	3.6	33.5	-46.3	69.8	0.319
HPV 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68	368	58	15.8	90	25.3	37.7	16.2	53.6	0.002

[0156] 샘플을 환자로부터 18개월째에 취하고, 상기 특정된 유형에 의한 HPV 감염에 대해 시험하였다.

[0157] **실시예 2**

[0158] HPV 16 및 HPV 18 VLP는 다음과 같은 방식으로 생성될 수 있다.

[0159] 실시예 1

[0160] HPV 16 및 HPV 18 L1 VLP의 배합물은 본 명세서에 상세히 기재되어 있다. 다른 HPV 유전자형으로부터의 L1 단백질은 당 분야에 이미 공지된 유사한 방법에 의해 용이하게 생성될 수 있다.

[0161] A HPV 16/18 L1 VLP의 제조

[0162] *HPV 16 및 HPV 18 VLP을 생성시키는 것은 표준 프로토콜을 사용하여 수행하였다 (참조: WO9913056). HPV 16/18 단백질을 관심있는 HPV 16 또는 18 L1 유전자를 엔코딩하는 재조합 바쿨로바이러스 (0.3의 MOI)로 감염된 트리코플루시아 니(*Trichoplusia ni*) (High Five™) 세포 (ml 당 약 350000개 세포의 밀도로)에서 발현시켰다. 세포를 감염 후 약 72시간째에 수거하였다.

[0163] 4.1 B 세포 수거/항원 추출

[0164] 항원 (L1-16/18)을 농축, 추출, 정화의 3단계 공정으로 Hi5 세포로부터 추출하였다. 농축 단계는 배지의 90%까지를 제거하며, 이를 접선(tangential) 흐름 여과에 의해 수행하였다. 추출 단계는 저장성(hypotonic) 완충액 (Tris 20mM, pH 8.5)을 사용하여 수행하였다. 배양물 부피와 동일한 부피를 사용하여 추출을 수행하였다. 부드러운 교반하에 최소 30분의 접촉 시간을 사용하였다. 정화는 접선 흐름 여과에 의해 수행하였다.

[0165] C 정제

[0166] 정제 공정은 실온에서 수행하였다. β-메르캅토에탄올 (4% w/w)을 추출물에 첨가하여 둘 모두의 항원, 즉, L1-16/18에 대해 VLP를 캡소머로 디스어셈블링하였다. β-메르캅토에탄올을 첨가하기 직전에 글리세롤을 w/w 10%의 농도 이하로 첨가하였다.

[0167] 사용된 모든 완충액을 2℃ 내지 8℃에서 저장하기 전에 0.22㎛ 필터상에서 여과시켰다. 각각의 정제 실행 전에, 겔 매트릭스를 위생처리하고, 샘플 로딩 전에 적절한 완충액을 사용하여 평형을 이루게 하였다.

[0168] 정제 계획은 HPV 16 및 18 둘 모두로부터의 L1의 개별적 정제를 위해 제공된다. 이러한 계획은 대체로 유사하고, 하기 단계를 포함한다:

[0169] 음이온 교환 크로마토그래피 (디메틸 아미노 에틸 - DMAE),

[0170] 음이온 교환 크로마토그래피 (트리메틸 아미노 에틸 - TMAE),

[0171] 하이드록시아파타이트 크로마토그래피,

[0172] 나노메트릭(nanometric) 여과 (Planova),

[0173] 한외여과,

[0174] HPV 18을 위한 소수성 상호작용 크로마토그래피 (옥틸 세파로오스(Octyl Sepharose)를 사용함) 또는 HPV 16을 위한 음이온 교환 크로마토그래피 (DEAE); 및

[0175] 멸균 여과.

[0176] *4.1.1 명세:

[0177] 4.1.2 C1 L1-18 항원의 정제

[0178] 4.1.2.1 음이온 교환 크로마토그래피 DMAE

[0179] 정화된 추출물 (약 1g/ml의 농도의 단백질로서, 여기서 L1 단백질은 약 150mg/ml임)을 음이온 교환 컬럼 (디메틸 아미노 에틸)에 적용시킨다. 용리는 pH 7.9 ± 0.2의 (트리스 20mM | NaCl 200mM | 4% β-메르캅토에탄올 BME) 완충액을 사용하여 수행한다. 항원을 약 5 컬럼 부피로 용리시키고, 용리 프로파일을 280nm에서 모니터한다.

[0180] 4.1.2.2 음이온 교환 크로마토그래피 TMAE

[0181] 첫 번째 단계의 용리액을 1 부피의 H_2O/BME 4%로 희석시킨다. 그 후, 희석된 용리액을 제 2 음이온 교환 컬럼 (트리메틸 아미노 에틸)에 적용시킨다. 용리는 pH 7.9 ± 0.2의 (20mM 트리스 | NaCl 200mM | 4% BME) 완충액을 사용하여 수행한다. 항원을 약 4 컬럼 부피로 용리시키고, 용리 프로파일을 280nm에서 모니터하였다.

[0182] 4.1.2.3 하이드록시아파타이트 크로마토그래피

[0183] TMAE 단계의 용리액을 하이드록시아파타이트 (HA) 컬럼에 적용시킨다. 샘플 적용 후, 겔을 약 2.5 컬럼 부피의 pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 100mM | NaCl 30mM | 4% BME) 완충액으로 용리시킨다.

[0184] 4.1.2.4 나노메트릭 여과 (Planova)

[0185] HA 용리액을 희석시켜서 다음과 같은 조건에 이르게 한다: pH 7.5 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 25mM | NaCl 10mM | 4% BME) 완충액.

[0186] 그 후, 이를 0.2㎛ 예비필터 및 0.12m^2의 플라노바(Planova) 15N 필터상에서 연속적으로 여과시킨다. 여과는 200 mbar ± 20 mbar의 일정한 압력에서 수행한다.

[0187] 4.1.2.5 한외여과

[0188] 한외여과는 폴리에테르술폰 막 (Centramate cassette 0.1 m^2, 100kD)이 구비된 접선 흐름 한외여과 시스템을 사용하여 수행한다.

[0189] 플라노바 용리액을 처리하여 다음과 같은 조건에 이르게 한 후: pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 100mM | NaCl 30mM | 4% BME); 이를 시스템에 로딩하고, 5배 농축시키고, 약 10 출발 부피의 pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 20mM | NaCl 500mM) 완충액을 연속 주입하여 투석여과시킨다.

[0190] 4.1.2.6 소수성 상호작용 크로마토그래피 (옥틸 세파로오스)

[0191] 한외여과 투과물을 옥틸 세파로오스 컬럼에 적용시킨다. 이러한 크로마토그래피 단계는 약 5 컬럼 부피의 pH 6.0 ± 0.2의 (Na_3PO_4 20mM | NaCl 500mM) 완충액을 사용하여 네거티브 모드로 실행한다.

[0192] 4.1.2.7 멸균 여과

[0193] 정제된 L1-18 항원 용액을 0.22㎛ 막상에서 여과시킴으로써 멸균시킨다.

[0194] 4.1.3

[0195] 4.1.4 C2 L1-16 항원의 정제

[0196] 4.1.4.1 음이온 교환 크로마토그래피 DMAE

[0197] 정화된 추출물을 음이온 교환 컬럼 (디메틸 아미노 에틸)에 적용시킨다. 용리는 pH 7.9 ± 0.2의 (트리스 20mM | NaCl 180mM | 4% BME) 완충액을 사용하여 수행한다. 항원을 약 4 컬럼 부피로 용리시키고, 용리 프로파일을 280nm에서 모니터한다.

[0198] 4.1.4.2 음이온 교환 크로마토그래피 TMAE

[0199] 첫 번째 단계의 용리액을 1 부피의 H_2O/BME 4%로 희석시킨다. 그 후, 희석된 용리액을 제 2 음이온 교환 컬럼 (트리메틸 아미노 에틸)에 적용시킨다. 용리는 pH 7.9 ± 0.2의 (20mM 트리스 | NaCl 180mM | 4% BME) 완충액을 사용하여 수행한다. 항원을 약 5 컬럼 부피로 용리시키고, 용리 프로파일을 280nm에서 모니터한다.

[0200] 4.1.4.3 하이드록시아파타이트 크로마토그래피 (HA)

[0201] TMAE 단계의 용리액을 HA 컬럼에 적용시킨다.

[0202] 샘플 적용 후, 겔을 약 3 컬럼 부피의 pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 100mM | NaCl 30mM | 4% BME) 완충액으로 용리시킨다.

[0203] 4.1.4.4 나노메트릭 여과 (Planova)

[0204] HA 용리액을 희석시켜서 다음과 같은 조건에 이르게 한다: pH 7.5 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 25mM | NaCl 10mM | 4% BME) 완충액.

[0205] 그 후, 이를 0.2㎛ 예비필터 및 0.12m^2의 플라노바 15N 필터상에서 연속적으로 여과시킨다. 여과는 200 mbar ± 20 mbar의 일정한 압력에서 수행한다.

[0206] 4.1.4.5 한외여과

[0207] 한외여과는 폴리에테르술폰 막 (Centramate cassette 0.1 m^2, 100kD)이 구비된 접선 흐름 한외여과 시스템을 사용하여 수행한다.

[0208] 플라노바 용리액을 처리하여 다음과 같은 조건에 이르게 한 후: pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 100mM | NaCl 30mM | 4% BME); 이를 시스템에 로딩하고, 5배 농축시키고, 약 10 출발 부피의 pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 20mM | NaCl 500mM) 완충액을 연속 주입하여 투석여과시킨다.

[0209] 4.1.4.6 음이온 교환 크로마토그래피 DEAE

[0210] 한외여과 용리액을 평형 완충액, 즉, pH 6.0 ± 0.2의 (Na_3PO_4 20mM | NaCl 250mM)의 전도도에 대해 조정하고, 음이온 교환 컬럼 (디에틸 아미노 에틸)에 적용한다.

[0211] 용리는 pH 6.0 ± 0.2의 (NaH_2PO_4 20mM | NaCl 500mM) 완충액을 사용하여 수행한다. 항원을 약 3 컬럼 부피로 용리시키고, 용리 프로파일을 280nm에서 모니터한다.

[0212] 4.1.4.7 멸균 여과

[0213] 정제된 L1-16 항원 용액을 0.22㎛ 막상에서 여과시킴으로써 멸균시킨다.

[0214] C3

[0215] 각각의 VLP 유형을 독립적으로 흡착시켜서 농축되고 흡착된 1가물(monovalent)를 생성시킨다.

[0216] 농축되고 흡착된 VLP16 1가물의 제조:

[0217] HPV16으로부터의 60㎍의 정제된 VLP를 약하게 교반시키며 실온에서 1시간 동안 pH 6.0 ± 0.2에서 $Al(OH)_3$로부터의 150㎍ Al^{3+}상에 흡착시킨다. 이러한 농축되고 흡착된 1가물을 +4℃에서 저장한다. 흡착은 제조물을 원심분리하고 상층액에서 VLP를 정량함으로써 검사한다.

[0218] 농축되고 흡착된 VLP18 1가물의 제조:

[0219] HPV18로부터의 60㎍의 정제된 VLP를 약하게 교반시키며 실온에서 1시간 동안 pH 6.0 ± 0.2에서 $Al(OH)_3$로부터의 150㎍ Al^{3+}상에 흡착시킨다. 이러한 농축되고 흡착된 1가물을 +4℃에서 저장한다. 흡착은 제조물을 원심분리하고 상층액에서 VLP를 정량함으로써 검사한다.

[0220] D 최종 백신 제조:

[0221] 상기 방법에 의해 제조된 농축되고 흡착된 1가물을 배합시켜서 용량 당 20㎍의 각각의 VLP를 함유하는 현탁액을 형성할 수 있다. 최종 백신을 +4℃에서 저장한다.

[0222] 다른 암 유형으로부터의 VLP의 첨가는 적절한 경우에 본 발명에 따른 적합한 농도로 이루어질 수 있다. 이러한 유형의 서열은 당 분야에 널리 공지되어 있고, 이러한 단백질을 포함하는 VLP는 당업자에 의해 용이하게 발현될 수 있다.

[0223] 배합된 흡착된 벌크(bulk) 또는 개개의 흡착된 벌크는 3D-MPL과 같은 애쥬번트와 추가로 혼합될 수 있다.

[0224] **실시예 3**

[0225] 수행된 실험의 정확한 세부사항은 하퍼(Harper) 등의 문헌 [the Lancet. 2004 Nov 13;364(9447):1757-65]에 제공되어 있다.

[0226] 요약하면, 15세 내지 25세의 건강한 여성을 HPV 16 및 HPV 18 L1 VLP의 혼합물로 면역화시켰다. 명부에 기재된 여성은 다음과 같았다: 1) HPV-16 및 HPV-18에 대해 혈청음성인 여성; 2) 자궁경부의 고위험 HPV 감염에 대해 음성인 여성 (HPV PCR에 의해 검출됨); 3) 6명 이하의 평생 성교 상대를 지녔던 여성; 및 4) 정상 질 세포진을 지닌 여성.

[0227] 혼합물은 0.5ml 용량 당 20㎍의 HPV-16 L1 VLP, 20㎍의 HPV-18 L1 VLP를 포함하였고, 500㎍의 알루미늄 하이드록시드 및 50㎍의 3D MPL이 애쥬번트로 첨가되었다. 위약군에게는 500㎍의 알루미늄 하이드록시드를 단독 주입

하였다.

[0228] HPV 16 VLP는 471개의 아미노산로 구성되며, 34개 아미노산이 결실된 C 말단 절단된 HPV L1 단백질이다. HPV 18 VLP는 C 말단 절단된 472개 아미노산 HPV L1 단백질로 구성되며, 이는 35개의 아미노산이 결실되어 있다.

[0229] 특정 암 HPV 유형에 대한 백신 효능 (V.E.)이 평가되었고, 여기서 V.E.는 위약군과 비교되는 백신에 의한 감염에 대한 보호에서의 개선 %이다.

[0230] 교차 보호는 백신접종 군 및 대조군에서 다양한 종양발생 유형에 대해 특이적인 핵산의 존재를 검출함으로써 평가되었다. 검출은 WO03014402 및 이러한 문헌에 인용된 참고문헌에 기재된 기술을 사용하여 수행되었고, 특히 HPV DNA의 비특이적 증폭 및 LiPA 시스템을 사용한 DNA 유형의 후속 검출은 그 전체 내용이 본 명세서에 포함되어 있는 WO 99/14377 및 클레터(Kleter) 등의 문헌 [Journal of Clinical Microbiology (1999), 37 (8): 2508-2517]에 기재되어 있다.

[0231] 그러나, 임의의 적합한 방법, 예를 들어 관심있는 각각의 HPV 유형에 대해 특이적인 프라이머를 사용하는 유형특이적 PCR이 샘플 중의 HPV DNA를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 프라이머는 당업자에게 공지되어 있거나, 종양발생 HPV 유형의 서열이 공지되어 있음을 고려해 볼 때 용이하게 작제될 수 있다.

[0232] 상세하게는, 완전을 기하기 위해 란셋 논문의 방법 섹션을 아래에 옮겨놓았다:

[0233] **하퍼 등의 란셋(Lancet) 논문 [2004 Nov 13;364(9447):1757-65 - 실험 세부**사항.

[0234] 본 실험의 주요 목적은 처음에 ELISA에 의해 HPV-16/18에 대해 혈청음성인 것으로 나타나고 PCR에 의해 HPV-16/18 DNA에 대해 음성인 것으로 나타난 참가자에서 6개월 내지 18개월 사이의 HPV-16, HPV-18 또는 둘 모두 (HPV-16/18)에 의한 감염을 예방하는 데에 있어서 백신 효능을 평가하는 데에 있었다. 부수적 목적은 6개월 내지 18개월 사이, 및 6개월 내지 27개월 사이에서, HPV-16/18에 의한 지속적 감염을 예방하는 데에 있어서 백신 효능의 평가, 및 세포학적으로 확인된 저등급 편평 상피내 병변 (LSIL), 고등급 편평 상피내 병변 (HSIL), 및 조직학적으로 확인된 LSIL (CIN 1), HSIL (CIN 2 또는 3) 편평 세포암, 또는 HPV-16/18 감염과 관련된 선암종을 예방하는 데에 있어서 백신 효능의 평가를 포함하였다. 이로인해 HPV-16/18 감염과 관련된 미확정 유의성을 지닌 비정형(atypical) 편평 세포 (ASCUS) 세포검사의 예방이 결과 분석에 첨가되었다.

[0235] 또한, 본 발명자들은 병변 조직에서 PCR에 의해 검출된 HPV-16/18 DNA와 관련된 조직병리학적 종점 CIN 1 및 2의 탐색적 분석을 수행하였다. 그 밖의 목적은 백신 면역원성, 안전성 및 내성의 평가를 포함하였다.

[0236] 북아메리카 (캐나다 및 미국) 및 브라질의 연구자들은 2000년 7월 및 12월 사이에 수행된 HPV 단면 역학 실험에서 광고 또는 사전 참가를 통해 이러한 효능 실험을 위한 여성을 모집하였다.

[0237] 32군데의 실험 장소 각각에 대해, 협회 심의 위원회는 프로토콜, 동의서 양식 및 수정사항을 승인하였다. 여성들은 실험 참가 및 질확대경검사에 대한 개별적인 서면 동의서에 서명하였다. 18세 이하의 여성들에 대해서는, 부모 동의서 및 참가자로부터의 동의가 필수적이었다.

[0238] 두 가지 실험 단계가 존재하였다: 백신접종 및 18개월째에 종결되는 추적검사를 위한 초기 단계; 및 27개월째에 종결되는 맹검 추적검사 확대 단계.

[0239] 초기 단계 (0개월 내지 18개월)에 적격인 여성은 6명 이하의 성교 상대를 지녔고, 비정상적 Pap 시험 또는 자궁경부의 제거 또는 절제 처리의 이력이 없고, 외부 콘딜로마타(condylomata)에 대해 치료가 진행중이 아니며; 실험 진입 전 90일 이내에 세포학적으로 음성이고, ELISA에 의해 HPV-16 및 HPV-18 항체에 대해 혈청음성이고, 14개의 고위험 HPV 유형 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 및 68)에 대해 PCR에 의해 HPV-DNA 음성인 15세 내지 25세의 건강한 여성을 포함하였다.

[0240] 실험의 초기 단계를 가장 먼저 완료하고, 명부기재 후 자궁경부의 제거 또는 절제 치료를 받지 않았거나 자궁절제술을 받지 않은 여성들은 실험의 확대 단계 (18개월 내지 27개월)에 참가할 자격이 있었다.

[0241] **절차**

[0242] 2가 HPV-16/18 바이러스-유사 입자 백신 (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium)의 각각의 용량은 20㎍의 HPV-16 L1 바이러스-유사 입자 및 20㎍의 HPV-18 L1 바이러스-유사 입자를 함유하였다. 각각의 유형의 바이러스-유사 입자는 단일용량 바이알에 제공된 500㎍의 알루미늄 하이드록시드 및 50㎍의 3-데아실화된 모노포스포릴 지질 A (MPL, Corixa, Montana, USA)를 함유하는 AS04 애쥬번트를 지닌 스포돕테라 프루기페르다

(*Spodoptera frugiperda*) Sf-9 및 트리코플루시아 니(*Trichoplusia ni*) Hi-5 세포 기질상에서 생성시켰다. 위약은 용량 당 500㎍의 알루미늄 하이드록시드를 함유하였고, HPV-16/18 백신과 외관상 동일하였다. 모든 실험 참가자는 0개월, 1개월 및 6개월째에 0.5ml 용량의 백신 또는 위약을 투여받았다.

[0243] 헬스케어(healthcare) 공급자는 스크리닝시 및 6개월, 12개월 및 18개월째의 세포검사 및 HPV DNA 시험을 위해 자궁경부 브러쉬 및 주걱(spatula)을 사용하여 자궁경부 표본을 수득하였다. 0개월 및 6개월째, 및 후속하여 3개월 마다 여성들은 HPV DNA 시험을 위해 두 개의 순차적 면봉(swab) (PreservCyt에 들어있음)을 사용하여 자궁질 샘플을 스스로 수득하였다.[DM Harper, W W Noll, DR Belloni and BF. Cole, Randomized clinical trial of PCR-determined human papillomavirus detection methods: self-sampling versus clinician-directed--biologic concordance and women's preferences. *Am J Obstet Gynecol* **186** (2002), pp. 365-373] 중앙 실험실 (Quest Diagnostics, Teterboro, NJ, USA)은 1991 베쎄스타(Bethesda) 분류 시스템을 이용하여 세포검사 결과를 보고하였다 (ThinPrep, Cytyc Corporation).

[0244] 프로토콜 가이드라인은 ASCUS의 2회 보고, 또는 미확정 유의성을 지닌 비정형 샘세포(glandular cell), LSIL 또는 HSIL, 편평 세포 암종, 인 시튜(in situ) 선암종, 또는 선암종의 1회 보고 후에 질확대경검사를 권고하였다. 또한, 이러한 가이드라인은 임의의 의심되는 병변에 대해 생검을 권고하였다.

[0245] 중앙 조직학 실험실은 임상 관리를 위해 포르말린 고정된 조직 표본으로부터 초기 진단을 수행하였다. 3명의 병리학자로 구성된 패널이 CIN 시스템을 이용하여 HPV-16 및 HPV-18 관련된 병변의 후속 컨센서스(consensus) 진단을 수행하였다. 이러한 컨센서스 진단은 또한 병변 HPV DNA의 PCR 검출을 위한 미세절개시에 취해진 단편의 검토를 포함하였다.

[0246] 세포검사 표본 (MagNaPure Total Nucleic Acid system, Roche Diagnosis, Almere, Netherlands) 및 자궁경부 생검 표본 (프로테이나아제 K 추출)으로부터 단리된 HPV DNA를 L1 유전자의 65 bp 영역을 증폭시키는 SPF10 광대역-스펙트럼 프라이머를 사용하여 정제된 전체 DNA의 부분(aliquot)으로부터 증폭시켰다.[B Kleter, LJ van Doorn, J ter Schegget et al., Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Pathol* **153** (1998),pp. 1731-1739: LJ van Doorn, W Quint, B Kleter et al., Genotyping of human papillomavirus in liquid cytology cervical specimens by the PGMY line blot assay and the SPF(10) line probe assay. *J Clin Microbiol* **40** (2002),pp. 979-983 and WG Quint, G Scholte, LJ van Doorn, B Kleter, PH Smits and J. Lindeman, Comparative analysis of human papillomavirs infections in cervical scrapes and biopsy specimens by general SPF(10) PCR and HPV genotying. *J Pathol* **194** (2001),pp. 51-58] 증폭 생성물은 DNA 효소 면역검정에 의해 검출하였다. 라인 프로브 검정 (LiPA Kit HPV INNO LiPA HPV genotypig assay, SPF-10 system version 1, Innogenetics, Gent, Belgium, manufactured by Labo Bio-medical Products, Rijswijk, Netherlands)은 25개의 HPV 유전자형 (6, 11, 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70 및 74)를 검출하였다.[B Kleter, LJ van Doorn, L Schrauwen et al., Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus. *J Clin Micobiol* **37** (1999), pp.2508-2517] DNA 효소 면역검정에 의해 양성인 임의의 표본을 유형 특이적 HPV-16 및 HPV-18 PCR에 의해 시험하였다. HPV-16 유형 특이적 PCR 프라이머는 E6/E7 유전자의 92bp 세그먼트를 증폭시켰고, HPV-18 유형 특이적 PCR 프라이머는 L1 유전자의 126bp 세그먼트를 증폭시켰다. [MF Baay, WG Quint, J Koudstaal et al., Comprehensive study of several general and type-specific primer pairs for detection of human papillomavirus DNA by PCR in paraffin-embedded cervical carcinomas. *J Clin Microbiol* **34** (1996), pp. 745-747]

[0247] 본 발명자들은 HPV-16/18에 의한 일시적 자궁경부 감염을 실험 동안 HPV-16 또는 HPV-18에 대한 하나 이상의 양성 PCR 결과로서 규정하였고, HPV-16/18에 의한 지속적 감염을 적어도 6개월 만큼 차이나는 동일한 바이러스 유전자형에 대한 둘 이상의 양성 HPV-DNA PCR 검정으로서 규정하였다.[H Richardson, G Kelsall, P Tellier et al., The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12** (2003), pp. 485-490 and AB Moscicki, JH Ellenberg, S Farhat and J. Xu, Persistence of human papillomavirus infection in HIV-infected and -uninfected adolescent girls: risk factors and differences, by phylogenetic type. *J Infect Dis* **190** (2004), pp. 37-45] HPV-DNA 시험 결과는 실험 동안 연구자들한테는 비밀로 다루어졌고, 세포학적 및 조직학적 진단은 임상 관리 목적으로만 공개되었다. 분석은 자궁경부 표본 및 합쳐진 자궁경부와 스스로 수득한 자궁질 표본에 대한

HPV-16/18 DNA 결과를 포함하였다.

[0248] 본 발명자들은 면역원성의 평가를 위해 0개월, 1개월, 6개월, 7개월, 12개월 및 18개월째에 실험 참가자들로부터 혈청을 수집하였다. HPV-16 및 HPV-18 바이러스-유사 입자에 대한 항체를 위한 혈청학적 시험은 ELISA에 의해 수행하였다. 재조합 HPV-16 또는 HPV-18 바이러스-유사 입자를 항체 검출을 위한 코팅 항원으로서 사용하였다 (참조: webappendix http://image.thelancet.com/extras/04art10103webappendix.pdf). 혈청양성은 HPV-16에 대해서는 8 ELISA 유닛/ml에서 그리고 HPV-18에 대해서는 7 ELISA 유닛/ml에서 확립된 검정 컷-오프(cut-off) 역가 이상의 역가로서 규정되었다. 전형적 천연 역가는 ELISA에 의해 HPV-16 또는 HPV-18에 대해 혈청양성인 것으로 밝혀진 선행 역학 실험의 여성으로부터 수득된 혈액 샘플을 사용하여 결정하였다.

[0249] 여성들은 백신접종 후 최초 7일 동안 경험한 증상들을 세 등급의 증상 세기가 표시된 일기 카드에 기록하였다. 또한, 이들 여성은 백신접종 후 최초 30일내에 일어난 모든 유해 사건을 인터뷰에 의해 실험 요원에게 보고하였다. 심각한 유해 사건 및 임신에 대한 정보를 실험 기간 내내 수집하였다.

[0250] **통계 방법**

[0251] 12개월에 걸쳐 HPV-16 및 HPV-18 유형 감염 둘 모두의 6% 누적 발생율을 가정하는 경우, 본 발명자들은 처리군당 500명의 여성이 0 보다 큰 백신 효능의 95% CI의 하한을 평가하는데 있어서 80% 검정력(power)을 제공한다고 추정하였다. 본 발명자들은 18개월에 걸쳐 80% 유지율을 가정하였다. 효능, 안전성 및 면역원성에 대한 중간 분석은 장래의 실험 계획 목적으로만 수행하였고; 오브라이언(O'Braien) 및 플레밍(Fleming) 방법을 사용하여 일어난 중간 분석 후의 최종 분석에 대한 α값을 조정하였다 (총괄 α=0.05; 양측(two-sided) 시험).[PC O'Brien and TR. Fleming, A multiple testing procedure for clinical trials. *Biometrics* 35 (1979), pp. 549-556]

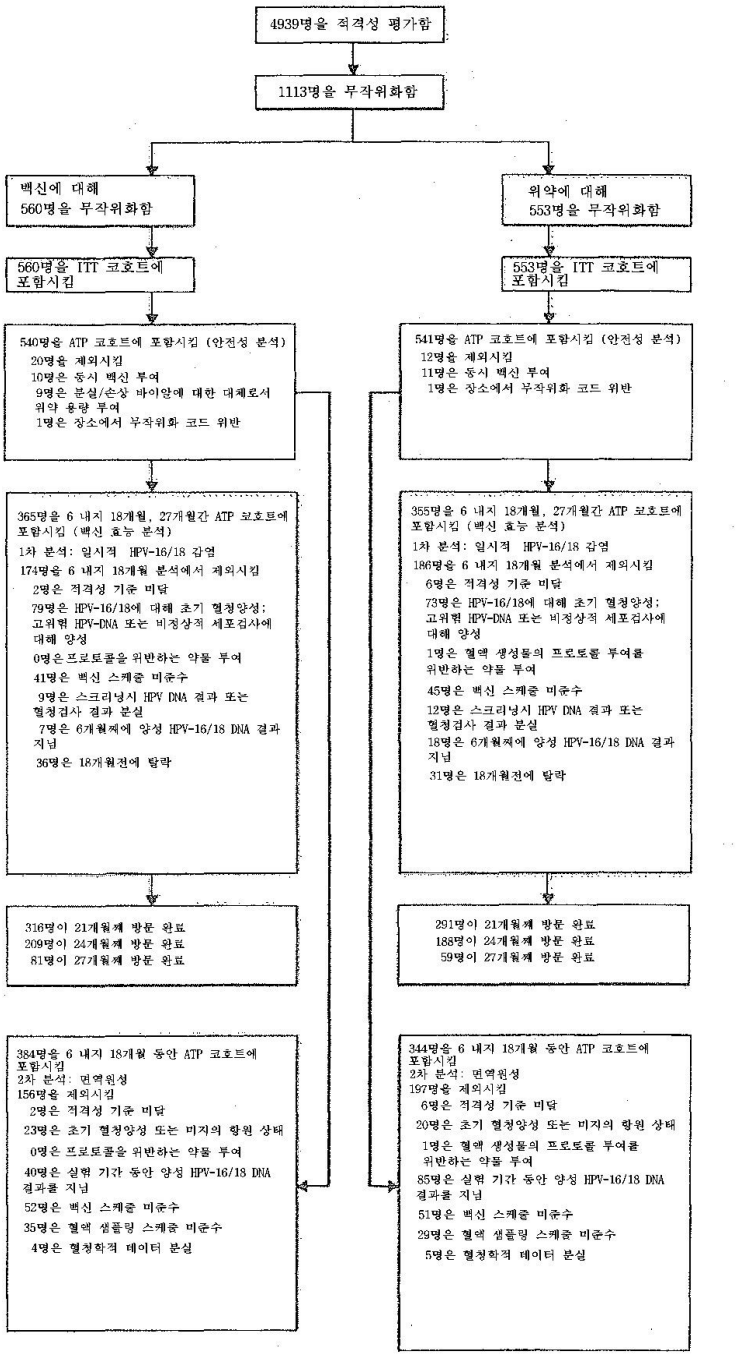
[0252] 확인된 알고리듬에 따른 층화 블록(block) 무작위화를 인터넷 무작위화 시스템을 이용하여 중심에 집중시켰다. 층화는 연령 (15세 내지 17세, 18세 내지 21세 및 22세 내지 25세) 및 지역 (북아메리카 및 브라질)에 따라 이루어졌다. 각각의 백신 용량은 실험 요원에 의해 전산화된 무작위화 시스템내로 입력된 특정 참가자 정보를 기초로 하여 무작위 선택된 수치인 것으로 추정되었다. 처리 할당은 연구자들 및 장기간 추적조사 실험에 참가하는 여성들한테는 비밀로 유지되었다.

[0253] 처리 의향 및 프로토콜에 따른 코호트는 도해로 나타나 있고, 여기서 분석으로부터 제외되는 이유가 순위별로 나열되어 있으며; 1가지가 넘는 제외 기준을 충족하는 여성은 최고 순위 기준에 따라 1번만 계수되었다. 본 발명자들은 처리 의향 및 프로토콜에 따른 분석에서 코호트로서 입력된 일련의 참가자를 참조하고 있지만, 프로토콜에 따른 분석에서 피검체 산입을 제한하는 데에 사용된 정보는 단지 추적조사 후에 알려졌다.

[0254] 본 발명자들은 효능에 대해 프로토콜에 따른 분석 및 처리 의향 분석 둘 모두를 수행하였다. 프로토콜에 따른 18개월 분석에서 백신 효능의 계산은 백신접종군 대 위약군에서 HPV-16/18 감염된 참가자의 비율을 기초로 하여 이루어졌다. 백신 효능은 1에서 이러한 두 가지 비율 사이의 비를 뺀 것으로 정의되었고; 95% CI는 효능 추정치의 정확성을 측정하였다. p값은 양측 피셔(Fisher's) 정밀 시험을 이용하여 계산하였다. 해당 비율은 결과를 지닌 환자수를 위험성이 있는 참가자의 수로 나눈 값으로서 표현되었다. 프로토콜에 따른 18개월 코호트는 3회의 계획된 백신 투여를 받은 명부에 기재된 여성을 포함하였고, 도해에 기재된 프로토콜을 따랐다.

[0255] 처리 의향 및 프로토콜에 따른 27개월 분석에서 백신 효능의 계산은 백신접종군 대 위약군에서 HPV-16/18 감염된 환자의 타임-투-어커런스(time-to-occurrence)를 이용하여 Cox 비례 위험 모델을 기초로 하여 이루어졌다. 이는 각각의 군에서 추가발생된(accrued) 사람-시간 데이터에 대한 제어를 가능하게 하였다. 백신 효능은 1에서 위험비를 뺀 값을 이용하여 계산하였고, p값은 log 등급 시험을 이용하여 계산하였다. 해당 비율은 환자수를 전체 사람-시간으로 나눈 값으로서 표현되었다. 백신 또는 위약을 1회 이상 투여받았고, 0개월째에 고위험 HPV-DNA에 대해 음성이었으며, 결과 측정을 위해 이용가능한 데이터를 지니는 모든 명부에 기재된 여성을 처리 의향 코호트에 포함시켰다. 프로토콜에 따른 27개월 코호트는 프로토콜에 따른 18개월 코호트로부터의 결과 및 확대 단계 (18개월 내지 27개월) 동안 일어난 결과를 포함하였다.

[0256] 안전성 분석을 위한 p값의 계산은 피셔의 정밀 시험 비교를 이용하여 수행하였다. 안전성 분석을 위한 코호트는 백신 또는 위약을 1회 이상 투여받은 모든 명부에 기재된 여성을 포함하였고, 명시된 최소 프로토콜 요건 (하기 도해 참조)을 충족하였다.



[0257]

[0258] 면역원성은 0개월, 7개월 및 18개월째의 혈청검사 결과를 지니며, 스케줄에 따른 모든 3회의 실험 백신 또는 위약을 투여받고, 혈액 샘플링 스케줄을 따르고, 실험 동안 HPV-16/18-DNA에 대해 양성이 되지 않은 여성을 포함하는 프로토콜에 따른 안전성 코호트의 부분집단에서 평가하였다. 백신군과 위약군 사이의 혈청양성율을 피셔의 정밀 시험 ($p<0.001$이 유의성으로 판단됨)을 이용하여 비교하였다. 기하 평균 역가를 ANOVA 및 크러스칼-왈리스(Kruskal-Wallis) 시험을 이용하여 비교하였다.

[0259] 블록 무작위화 및 통계 분석을 SAS 버전 8.2 (SAS Institute, Cary, North Carolina)를 사용하여 수행하였다.

[0260] **결과**

[0261] 교차 보호에 대한 초기 분석의 결과는 전체 내용이 본 명세서에 참조로 포함되어 있는 특허 출원 WO2004/056389에 제시되어 있다.

[0262] **추가 분석**

[0263] 실험의 모든 기준을 충족하는 환자에 대한 "ATP" (According To Protocol) 군에 대해 분석을 수행하였다. ATP

군에서, 모든 환자는 0개월, 1개월 및 6개월째에 3회의 백신 용량을 투여받았고, 6개월째에 혈청음성이었다.

[0264] *표 4에 제시된 데이터에 의해 입증되는 바와 같이, HPV16 및 HPV18 VLP의 혼합물에 의한 면역화는 대조표준과 비교하여 HPV 31형, 52형 및 45형에 의한 일시적 감염에 대해 통계적으로 유의수준의 교차 보호를 제공하였다.

[0265] 일시적 감염에 대한 통계적으로 유의수준의 교차 보호는 또한 모든 HPV 16 관련 유형의 군 (HPV-31, 33, 35, 52 및 58)의 군 및 16 및 18을 제외한 모든 고위험 유형의 군 (HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 및 68)에 대해 관찰되었다.

[0266] 지속적 감염에 대한 통계적으로 유의수준의 교차 보호는 31형 및 52형에 대해 또한 관찰되었고 (표 5 참조), 모든 HPV 16 관련 유형의 군에 대해 또한 관찰되었다 (표 5 참조).

[0267] 또한, 통계적으로 유의수준의 교차 보호는 HPV 52와 관련된 세포학적 비정상에 대해 관찰되었다 (표 6 참조). 통계적으로 유의수준의 보호는 또한 모든 HPV 16 관련 유형의 군 (HPV-31, 33, 35, 52 및 58) 및 16 및 18을 제외한 모든 고위험 유형의 군 (31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 및 68)과 관련된 세포학적 비정상에 대해 관찰되었다.

[0268] **표 4**

[0269] **16/18 관련 유형에 의한 일시적 감염에 대한 효능***

	HPV 유형	백신		대조표준		백신 효능	
		N	AR	N	AR	%	P 값
16 관련	HPV-31	1	0.2	10	2.4	**90.0**	**0.006**
16 관련	HPV-33	6	1.4	6	1.4	-0.2	1.000
16 관련	HPV-35	1	0.2	3	0.7	66.5	0.624
16 관련	HPV-52	6	1.4	16	3.9	**63.0**	**0.031**
16 관련	HPV-58	5	1.2	5	1.2	0.0	1.000
18 관련	HPV-45	0	0.0	5	1.2	**100.0**	**0.031**
18 관련	HPV-59	4	0.9	2	0.5	-100.5	0.448
	모든16관련 유형	16	4.0	32	8.1	**51.1**	**0.017**
	모든18관련 유형	4	1.0	7	1.7	43.0	0.384
	모든 HR (16/18 제외)	32	9.0	53	15.6	**42.3**	**0.011**

** 자궁경부 샘플: ATP 코호트*

[0270]

[0271] **표 5**

[0272] **16/18 관련 유형에 의한 지속적 감염에 대한 효능***

	HPV 유형	백신		대조표준		백신 효능	
		N	AR	N	AR	%	P 값
16 관련	HPV-31	2	0.48	9	2.15	**78.5**	**0.030**
16 관련	HPV-33	3	0.71	5	1.18	40.2	0.476
16 관련	HPV-35	1	0.24	1	0.24	0.4	0.998
16 관련	HPV-52	5	1.20	21	5.10	**77.1**	**0.001**
16 관련	HPV-58	4	0.95	6	1.42	34.1	0.515
18 관련	HPV-45	1	0.24	4	0.94	75.4	0.174
18 관련	HPV-59	3	0.71	0	0.00	-	0.083
	모든16관련 유형	11	2.7	30	7.6	**65.1**	**0.002**
	모든18관련 유형	4	1.0	4	1.0	1.0	0.989
	모든 HR (16/18 제외)	36	10.1	46	13.5	27.1	0.155

** 모든 샘플; ATP 코호트*

[0273]

[0274] **표 6**

[0275] **16/18 관련 유형과 관련된 세포학적 비정상에 대한 효능***

	HPV 유형	백신		대조표준		백신 효능	
		N	AR	N	AR	%	P 값
16 관련	HPV-31	1	0.24	5	1.20	80.1	0.123
16 관련	HPV-33	2	0.47	4	0.94	49.9	0.686
16 관련	HPV-35	0	0.00	2	0.47	100	0.499
16 관련	HPV-52	1	0.24	11	2.67	**91**	**0.003**
16 관련	HPV-58	2	0.47	2	0.47	0.2	1.000
18 관련	HPV-45	0	0.00	2	0.47	100	0.249
18 관련	HPV-59	4	0.94	2	0.47	-101	0.451
	모든16관련 유형	5	1.2	18	4.6	**72.8**	**0.005**
	모든18관련 유형	4	1.0	4	1.0	0.2	1.000
	모든 HR (16/18 제외)	10	2.8	30	8.8	**68.2**	**<0.001**

** ATP 코호트*

[0276]

[0277] 상기 표 4, 5 및 6에서,

[0278] *N = 특정 코호트 중의 피검체의 수이고,

[0279] AR = 공격율 = n (표에 대해 적합한 경우, HPV 일시적 감염, 지속적 감염 또는 세포학적 비정상을 지닌 피검체의 수)/N 이고,

[0280] % 백신 효능은 1 - (A/B) x 100이고, 이는 백신군 및 위약군의 상대적 크기에 대해 조정되며, 여기서,

[0281] A = 표에 대해 적합한 경우, 일시적 감염, 지속적 감염 또는 세포학적 비정상을 지닌 백신군 중의 여성 %이고,

[0282] B = 표에 대해 적합한 경우, 일시적 감염, 지속적 감염 또는 세포학적 비정상을 지닌 위약군 중의 여성 %이다.