

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-533673

(P2014-533673A)

(43) 公表日 平成26年12月15日(2014.12.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	4 C 0 7 6
A 6 1 K 9/70 (2006.01)	A 6 1 K 9/70 4 O 1	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
A 6 1 P 31/20 (2006.01)	A 6 1 P 31/20	
	A 6 1 K 39/395 S	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 17 頁)		

(21) 出願番号 特願2014-541700 (P2014-541700)
 (86) (22) 出願日 平成24年11月19日(2012.11.19)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年7月17日(2014.7.17)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2012/072947
 (87) 国際公開番号 W02013/072518
 (87) 国際公開日 平成25年5月23日(2013.5.23)
 (31) 優先権主張番号 1119999.9
 (32) 優先日 平成23年11月20日(2011.11.20)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 305060279
 グラクソスミスクライン バイオロジカル
 ズ ソシエテ アノニム
 ベルギー ベー ー 1 3 3 0 リクセンサー
 ル リュ ドランスティテュ 8 9
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100122389
 弁理士 新井 栄一
 (74) 代理人 100111741
 弁理士 田中 夏夫
 (74) 代理人 100169971
 弁理士 菊田 尚子

最終頁に続く

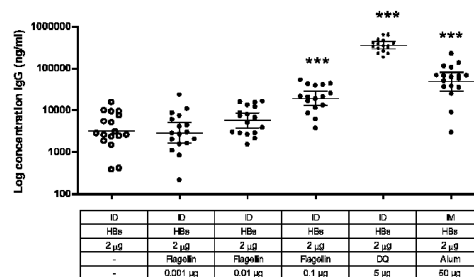
(54) 【発明の名称】 TLR-5アゴニストをアジュバントとして含む皮膚免疫処置において使用するためのワクチン

(57) 【要約】

本発明は、皮膚免疫処置に使用するための、1種以上の抗原とアジュバントとを含む免疫原性組成物を提供し、ここにおいて、該アジュバントはTLR-5アゴニストである。

【選択図】 図 1

Figure 1: Mouse immunogenicity data Results IgG anti-HBs 14 days post 2nd



*** Highly significant difference in comparison to the unadjuvanted control (open circle) Approx 6 x

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

皮膚免疫処置 (cutaneous immunisation) に使用するための、1種以上の抗原とアジュバントとを含む免疫原性組成物であって、該アジュバントがTLR-5アゴニストである、免疫原性組成物。

【請求項 2】

前記免疫原性組成物が、TLR-4アゴニスト、TLR7/8アゴニスト、または免疫学的に活性なサポニンからなる群より選択される1種以上の追加のアジュバントをさらに含む、請求項 1 記載の免疫原性組成物。

【請求項 3】

パッチの形態で投与される、前記請求項のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項 4】

短針デバイスを用いて投与される、前記請求項のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項 5】

前記TLR-5アゴニストがフラジェリンまたはTLR-5活性を有するその断片である、前記請求項のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項 6】

前記TLR-5アゴニストが超可変ドメインを欠失しているものである、前記請求項のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【請求項 7】

前記TLR-5アゴニストがFliC_{Δ 174-400}; FliC_{Δ 161-405} およびFliC_{Δ 138-405} からなる群より選択される、請求項5記載の免疫原性組成物。

【請求項 8】

前記抗原がB型肝炎ウイルスに由来し、特に前記抗原がB型肝炎表面抗原(HBsAg)である、前記請求項のいずれか一項記載の免疫原性組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****発明の分野**

本発明は、抗原とアジュバントとを含む、皮膚免疫処置(cutaneous immunisation)に使用するための免疫原性組成物を提供し、該アジュバントはTLR-5アゴニストである。

【背景技術】**【0002】****発明の背景**

一般的に、ワクチン接種が初回免疫(プライム)であろうと追加免疫(ブースト)であろうと、ワクチン接種における患者のコンプライアンスを高めること、並びにワクチンの製造および輸送の容易さを向上させることが必要である。皮膚免疫処置は、これらの必要性のいくつかに対処することができ、抗原特異的免疫応答を誘導するために、抗原をアジュバントと組み合わせて投与するために使用することができる。

【発明の概要】**【0003】**

本発明の目的は、被験者におけるワクチンに対する免疫応答を刺激することである。そのワクチンは、抗原とアジュバントの両方を含む免疫原性組成物を含んでなり、かつ皮膚に投与される。

【0004】

免疫原性組成物中のアジュバントは、TLR-5アゴニストである。

【図面の簡単な説明】**【0005】**

【図 1】 2回目の免疫から14日後のIgG抗-HBsの結果を示すマウスの免疫原性データ。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

【 0 0 0 6 】

詳細な説明

一実施形態では、本発明は、皮膚免疫処置に使用するための、1種以上の抗原とアジュバントとを含む免疫原性組成物を提供し、該アジュバントはTLR-5アゴニストである。

【 0 0 0 7 】

別の実施形態では、皮膚免疫処置のための薬剤の製造における、1種以上の抗原とアジュバントとを含む免疫原性組成物の使用を提供し、該アジュバントはTLR-5アゴニストである。

【 0 0 0 8 】

別の実施形態では、被験者の皮膚に、1種以上の抗原とアジュバントとを含む免疫原性組成物を適用する段階を含んでなる、皮膚免疫処置の方法を提供し、該アジュバントはTLR-5アゴニストである。 10

【 0 0 0 9 】

本明細書中で用いる「皮膚に」(cutaneously)という用語は、ヒト皮膚の真皮および/または表皮への抗原の適用を指すことを意図している。本発明は特に、動物またはヒトにおいて免疫応答を誘導する皮膚免疫処置のための送達システムを利用するが、従来の投与方法も包含される。

【 0 0 1 0 】

少なくとも1種の抗原およびアジュバントを含み、該アジュバントがTLR-5アゴニストである免疫原性組成物の皮膚適用は、当業者に知られている任意の皮膚適用方法を用いて行うことができ、そうした方法としては、限定するものではないが、短針デバイス(長さが約1～約2mmの針を備えたデバイス)を使用する送達、または皮膚パッチを使用する送達が挙げられる。 20

【 0 0 1 1 】

本明細書に記載の皮膚ワクチンと共に使用するのに適したデバイスとしては、例えばUS 4,886,499、US 5,190,521、US 5,328,483、US 5,527,288、US 4,270,537、US 5,015,235、US 5,141,496、US 5,417,662およびEP 1092444に記載されるような短針デバイスが挙げられる。皮膚ワクチンはまた、例えば、参照により本明細書に組み入れられるWO 99/34850に記載されるような、皮膚への針の有効貫入長さを制限するデバイスおよびその機能的等価物によって投与することもできる。また、液体ジェットインジェクターを用いて、または角質層を穿刺しかつ真皮に到達するジェット噴流を生成する針を用いて、真皮に液体ワクチンを送達するジェット式注射器具も適している。ジェット式注射器具は、例えば、US 5,480,381、US 5,599,302、US 5,334,144、US 5,993,412、US 5,649,912、US 5,569,189、US 5,704,911、US 5,383,851、US 5,893,397、US 5,466,220、US 5,339,163、US 5,312,335、US 5,503,627、US 5,064,413、US 5,520,639、US 4,596,556、US 4,790,824、US 4,941,880、US 4,940,460、WO 97/37705およびWO 97/13537に記載されている。また、皮膚の外層から真皮へと粉末形態のワクチンを加速させるために圧縮ガスを用いるバリスティック(ballistic)粉末/粒子送達デバイスも適している。さらに、皮膚投与の古典的マントゥー(mantoux)法において従来の注射器を使用することも可能である。しかし、従来の注射器の使用は高度に熟練したオペレータを必要とし、そのため、高度に熟練したユーザなしで正確な送達が可能なデバイスが好適である。したがって、一実施形態では、皮膚免疫処置に使用するための本発明の免疫原性組成物が提供され、該免疫原性組成物は従来の注射器を使用するマントゥー法で投与されるものではない。 30 40

【 0 0 1 2 】

本発明の特定の実施形態では、本明細書に記載される本発明の免疫原性組成物を含むパッチが提供される。このパッチは一般的に、固体基板(例えば、閉鎖性または非閉鎖性包帯)などのパッキングプレート(受け板)を含む。本発明のパッチは、本発明の抗原およびアジュバントを真皮または表皮に送達するものである。したがって、本発明のパッチは、本発明の免疫原性組成物を表皮または真皮に送達するのに適した1つ以上の微小突起(microprojection)を含む。本発明の一実施形態では、1つ以上の微小突起は、10 μm～2mmの 50

間、例えば20 μm ~ 500 μm 、30 μm ~ 1mm、100 ~ 200、200 ~ 300、300 ~ 400、400 ~ 500、500 ~ 600、600 ~ 700、700、800、800 ~ 900、100 μm ~ 400 μm 、特に約200 μm ~ 300 μm の間または約150 μm ~ 250 μm の間である。

【0013】

特定の実施形態では、本発明のパッチは複数の微小突起を含む。特定の実施形態では、本発明のパッチは2 ~ 5000の微小針、例えば1000 ~ 2000の微小突起を含む。

【0014】

特定の実施形態では、微小突起同士は約50 μm ~ 1000 μm の距離だけ離れている。

【0015】

微小突起は、角質層、表皮および/または真皮を穿刺し、かつ抗原およびアジュバントを表皮または真皮に送達するのに適した任意の形状であり得る。例えば、WO 2000/074765 およびWO 2000/074766に開示されるように微小突起を成形することができる。微小突起は、アスペクト比(高さ対基部での直径)を少なくとも3 : 1、少なくとも約2 : 1、または少なくとも約1 : 1とすることができる。微小突起の特に好ましい形状は、多角形(例えば、六角形またはひし形)の底面を有する錐形である。他の可能な微小突起の形状は、例えば、米国公開特許出願第2004/0087992号に示されている。特定の実施形態では、本発明の微小突起は基部に向かって厚くなる形状を有する。

10

【0016】

アレイ中の微小突起の数は、好ましくは、少なくとも約100、少なくとも約500、少なくとも約1000、少なくとも約1400、少なくとも約1600、または少なくとも約2000である。微小突起の面積密度は、それらの小さいサイズを考慮すると、特に高くはないかもしれないが、例えば、 cm^2 あたりの微小突起の数は、少なくとも約50、少なくとも約250、少なくとも約500、少なくとも約750、少なくとも約1000、または少なくとも約1500であり得る。

20

【0017】

本発明の一実施形態では、本発明の抗原およびアジュバントは、宿主の皮膚上にパッチを置いてから5時間以内に、例えば、4時間、3時間、2時間、1時間または30分以内に、宿主に送達される。本発明の特定の実施形態では、本発明の抗原およびアジュバントは、皮膚にパッチを置いてから20分以内に、例えば、30秒、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18または19分以内に送達される。

【0018】

微小突起は、当業者に知られている任意の適切な材料で作製することができる。特定の実施形態では、微小突起の少なくとも一部、特に微小突起の最外層の先端は、生分解性である。特定の実施形態では、微小突起の実質的に全部が生分解性である。本明細書中で用いる「生分解性」という用語は、生分解のメカニズムに関係なく、インビボ使用(例えば、皮膚への挿入)の予想された条件下で分解可能なことを意味する。代表的な生分解のメカニズムには、崩壊、分散、溶解、侵食、加水分解、および酵素的分解が含まれる。「実質的に全部」とは、微小突起の少なくとも70%が生分解性であり、例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、または少なくとも95%が生分解性であることを意味する。

30

【0019】

特定の実施形態では、生分解性の微小突起は生分解性ポリマーから構成される。例えば、適切な、生体適合性の、生分解性の、または生体侵食性のポリマーとしては、以下が挙げられる：ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ酸無水物、ポリオルトエステル、ポリエーテルエステル、ポリカプロラクトン(PCL)、ポリエステルアミド、ポリ(酪酸)、ポリ(吉草酸)、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリエチレングリコール(PEG)、ブロックコポリマーのPEG-PLA、PEG-PLA-PEG、PLA-PEG-PLA、PEG-PLGA、PEG-PLGA-PEG、PLGA-PEG-PLGA、PEG-PCL、PEG-PCL-PEG、PCL-PEG-PCL、エチレングリコール-プロピレングリコール-エチレングリコールのコポリマー(PEG-PPG-PEG、商品名Pluronic(登録商標)またはPoloxamer(登録商標))、デキストラン、ヘタスターチ、テトラスターチ、ペンタスターチ、ヒドロキシエチルデンプン、セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)、カルボキシメチルセルロー

40

50

スナトリウム(Na CMC)、熱感受性HPMC(ヒドロキシプロピルメチルセルロース)、ポリホスファゼン、ヒドロキシエチルセルロース(HEC)、他の多糖類、ポリアルコール、ゼラチン、アルギン酸塩、キトサン、ヒアルロン酸およびその誘導体、コラーゲンおよびその誘導体、ポリウレタン、ならびにこれらのポリマーのコポリマーおよびブレンド。好ましいヒドロキシエチルデンプンは、0~0.9の範囲内の置換度を有するものであり得る。

【0020】

特定の実施形態では、微小突起の生分解性部分が抗原および/またはアジュバントを含む。抗原および/またはアジュバントは別個の微小突起中に存在することができ、例えば、微小突起の約90%、80%、70%、60%、50%、40%または30%が抗原を含み、そして微小突起の10%、20%、30%、40%、50%、60%または70%がアジュバントを含み得る。特定の実施形態では、本明細書に記載の免疫原性組成物を含む生分解性微小突起を1つ以上、特に複数、備えたパッチが提供される。抗原などの活性物質を含む微小突起の例は、WO 2008/130587およびWO 2009/048607に開示されている。代謝可能な微小針の製造方法は、WO 2008/130587およびWO 2010/124255に開示されている。

10

【0021】

さらなる実施形態では、アジュバントおよび抗原は1つ以上の微小突起上にコーティングされている。コーティングは、当業者に公知の任意の方法、例えばWO 06/055844およびWO 06/055799に開示された方法により、行うことができる。

【0022】

抗原および/またはアジュバントは別個の微小突起上にコーティングすることができ、微小突起の90%、80%、70%、60%、50%、40%または30%が抗原でコーティングされ、そして微小突起の10%、20%、30%、40%、50%、60%または70%がアジュバントでコーティングされ得る。

20

【0023】

本発明のパッチは、任意の手段によって、例えば手で皮膚の上にパッチを置くことによって、使用者の皮膚に適用することができる。特定の実施形態では、本発明のパッチは、アプリケーション、例えばWO 2008/091602に記載のアプリケーションを用いて、皮膚に適用される。特に、そのアプリケーションは、1つ以上の微小突起が角質層、表皮および/または真皮を確実に穿刺する(penetrate)のに十分な圧力でパッチが皮膚に適用されたことを保証する手段、例えば、十分な圧力が加えられたときに可聴音を出すデバイスを含む。

30

【0024】

本発明のパッチはまた、真皮および/または表皮への抗原およびアジュバントの放出/送達の間、パッチを皮膚上に保持するのに役立つ接着剤を含むことができる。

【0025】

本発明の免疫原性組成物は抗原とアジュバントの両方を含む。アジュバントは、抗原に対する免疫応答を誘導するのに役立つ免疫原性組成物の成分である。本発明では、皮膚免疫処置に使用するための免疫原性組成物は、TLR-5アゴニストであるアジュバントを含む。

【0026】

上記TLR-5アゴニストは、フラジェリンであるか、またはTLR-5アゴニスト活性を保持するフラジェリンの断片であり得る。フラジェリンは、以下の菌類からなる群より選択されるポリペプチドを含むことができる：ピロリ菌(*H. pylori*)、ネズミチフス菌(*S. typhimurium*)、コレラ菌(*V. cholera*)、セラチア・マルセセンス(*S. marcescens*)、フレキシネル赤痢菌(*S. flexneri*)、梅毒トリパネーマ(*T. pallidum*)、レジオネラ・ニューモフィラ(*L. pneumophila*)、ボレリア・ブルグドルフェリ(*B. burgdorferi*)；クロストリジウム・ディフィシル(*C. difficile*)、リゾビウム・メリロティ(*R. meliloti*)、アグロバクテリウム・ツメファシエンス(*A. tumefaciens*)；*R. ルピン*(*R. lupine*)；バルトネラ・クラリゲイア(*B. clarridgeiae*)、プロテウス・ミラビリス(*P. mirabilis*)、枯草菌(*B. subtilis*)、リステリア・モノサイトゲネス(*L. monocytogenes*)、緑膿菌(*P. aeruginosa*)および大腸菌(*E. coli*)。

40

50

【 0 0 2 7 】

特定の実施形態では、フラジェリンは、ネズミチフス菌フラジェリンB (GenBankアクセッション番号AF045151)、ネズミチフス菌フラジェリンBの断片、大腸菌FliC (GenBankアクセッション番号AB028476)、大腸菌FliCの断片、ネズミチフス菌フラジェリンFliC (ATC C14028)およびネズミチフス菌フラジェリンFliCの断片からなる群より選択される。

【 0 0 2 8 】

特定の実施形態では、前記TLR-5アゴニストは、WO 2009/156405に記載されるようなトランケート型フラジェリン、すなわち、超可変ドメインが欠失されているものである。この実施形態の一態様では、前記TLR-5アゴニストは、FliC_{Δ174-400}; FliC_{Δ161-405} およびFliC_{Δ138-405}からなる群より選択される。

10

【 0 0 2 9 】

さらなる実施形態では、前記TLR-5アゴニストは、WO 2009/128950に記載されるようなフラジェリンである。

【 0 0 3 0 】

TLR-5アゴニストがフラジェリンの断片である場合、当然のことながら、前記断片はTLR 5アゴニスト活性を保持するものであり、したがって、TLR-5活性化に關与するその配列の部分を保持しなければならない。フラジェリンのNH₂およびCOOH末端ドメインはTLR-5相互作用および活性化に重要であることが当業者に知られており、具体的には、例えばサルモネラ(Salmonella)におけるアミノ酸86-92が重要である。

【 0 0 3 1 】

20

一実施形態では、免疫原性組成物は、本明細書で定義されるTLR-5アゴニストを含み、他のアジュバントを含まない。別の実施形態では、免疫原性組成物はTLR-5アゴニストおよび1種以上の他のアジュバントを含む。この実施形態の一態様では、前記1種以上の他のアジュバントは、TLR-4アゴニスト、TLR 7/8アゴニスト、および免疫学的に活性なサポニン画分からなる群より選択される。

【 0 0 3 2 】

本発明で使用するのに特に適したサポニンは、Quil Aおよびその誘導体である。Quil Aは、南米の樹木キラヤ・サポナリア・モリナ(Quillaja Saponaria Molina)から分離されたサポニン調製物であり、1974年にDalsgaardら(“Saponin adjuvants”, Archiv. fuer die gesamte Virusforschung, Vol. 44, Springer Verlag, Berlin, p243-254)によってアジュバント活性を有することが最初に記載された。Quil Aの精製された断片がHPLCにより単離されており、これらの断片は、Quil Aに付随する毒性なしにアジュバント活性を保持しており(EP 0 362 278)、例えばQS7およびQS21(QA7およびQA21の別名でも知られる)である。QS-21は、キラヤ・サポナリア・モリナの樹皮に由来する天然のサポニンであって、CD8+細胞傷害性T細胞(CTL)、Th1細胞および主にIgG2a抗体応答を誘導し、本発明との関連において好ましいサポニンである。本発明の特定の実施形態では、免疫学的に活性なサポニンはQS21である。特に、QS21は実質的に純粋な形態のものであり、すなわち、QS21は少なくとも90%の純度、好ましくは少なくとも95%の純度、最も好ましくは少なくとも98%の純度である。本発明の特定の実施形態では、QS21はステロールを用いて製剤化される。好ましいステロールとしては、β-シトステロール、スチグマステロール、エルゴステロール、エルゴカルシフェロール、およびコレステロールが挙げられる。これらのステロールは当技術分野でよく知られており、例えばコレステロールは、Merck Index, 第11版, 341ページに、動物性脂肪中に存在する天然のステロールとして開示されている。本発明の特定の実施形態では、ステロールはコレステロールである。本発明の特定の実施形態では、QS21のコレステロールに対する比は、1:100~1:1の間、特に1:2~1:10の間、例えば1:5である。

30

40

【 0 0 3 3 】

TLR-4アゴニストは、Toll様受容体ファミリーのメンバーであるToll様受容体4のアゴニストである。これは、よく知られた受容体のファミリーであり、そのすべてが免疫応答に何らかの形で關与している。一実施形態では、TLR-4アゴニストは、リボ多糖、適切には

50

無毒性のリピドA誘導体、特にモノホスホリルリピドA、またはより具体的には3-脱アシル化モノホスホリルリピドA(3D-MPL)である。

【0034】

3D-MPLは、GlaxoSmithKline Biologicals N.A. からMPLの名称で販売されており、本明細書全体を通してMPLまたは3D-MPLと呼ばれる。例えば、米国特許第4,436,727号；第4,877,611号；第4,866,034号および第4,912,094号を参照されたい。3D-MPLは、主にIFN- γ (Th1)表現型を有するCD4+ T細胞応答を促進する。3D-MPLは、GB 2 220 211 Aに開示された方法に従って製造することができる。化学的には、それは3-脱アシル化モノホスホリルリピドAと3-、4-、5-または6-アシル化鎖との混合物である。

【0035】

本発明において有用であり得る他のTLR-4アゴニストは、GlaxoSmithKline Biologicals S.A. から入手可能な合成TLR-4アゴニストであるアミノアルキルグルコサミニド (glucosaminide) ホスフェート (AGP) である。適切な例は、WO 98/50399または米国特許第6,303,347号 (AGPの調製方法も開示される) に開示されるもの、好適にはRC527もしくはRC529、または米国特許第6,764,840号に開示されるようなAGPの薬学的に許容される塩である。

【0036】

TLR7および8は、Toll様受容体ファミリーのさらなるメンバーである。TLR7受容体もしくはTLR8受容体のいずれかまたは両方のアゴニストである小分子が知られている。TLR7/8アゴニストとは、TLR7受容体もしくはTLR8受容体のいずれかまたは両方の受容体のシグナル伝達を作動する(すなわち、増加する)ことができる分子を意味する。一態様では、したがって、TLR7/8リガンドは、TLR7アゴニストであるがTLR8アゴニストではない分子である。別の態様では、TLR7/8リガンドは、TLR8アゴニストであるが、TLR7アゴニストではない。さらなる態様では、TLR7/8リガンドは、TLR7受容体とTLR8受容体の両方でアゴニストとして作用する。適切なTLR7/8リガンドは、例えば、WO 2010/018133、WO 2010048520、WO 2010/018134、WO 2008004948、WO 2007034882、およびWO 2005092893に見出すことができる。

【0037】

本明細書中でさらに説明するように、抗原調製物が弱毒化生ウイルスまたは天然の病原体関連分子パターン (pathogen associated molecular patterns) を含む死滅全ウイルスである場合には、いくつかの天然アジュバントが該抗原調製物中に存在し得ることは、当業者には明らかであろう。これに関連して、用語「他のアジュバントを含まない」は、いくつかの抗原調製物に見出される天然のアジュバントを除くことを意味しておらず、さらなるアジュバントが免疫原性組成物に特に添加されないことを意味するものである。

【0038】

一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、一次皮膚免疫処置のために使用される。別の実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、舌下、鼻腔内または筋肉内などの非経皮経路により一次免疫を受けている被験者における追加皮膚免疫処置のために使用される。さらに別の実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、一次皮膚免疫と追加皮膚免疫の両処置を提供することができる。

【0039】

用語「一次免疫(処置)」(primary immunization)は、被験者が特定の病原体に対して受ける初回コースのワクチン接種を意味するものである。例えば、英国のワクチン接種スケジュールでは、乳児は生後13ヶ月で麻疹、おたふく風邪および風疹に対する予防接種を受ける(一次免疫)。彼らは、生後3年4ヶ月で同じ病原体に対して再びワクチン接種を受ける(追加免疫)。別の例は、B型肝炎の分野に見ることができる。ワクチン接種を必要とする人々(成人または乳幼児)は、0、1および6ヶ月目に3回のワクチン接種の一次スケジュールを受ける(一次免疫)。必要であれば、(例えば、加速した一次スケジュールに従ったか、または抗体価が減少している場合)、初回ワクチン接種の1年後または5年後にワクチン接種をもう1回受けることができる(追加免疫)。さらなる例は、いわゆる「DTP」ワクチン、すなわちジフテリア・破傷風・百日咳ワクチンに見ることができる。一般的に、破傷風と

10

20

30

40

50

ジフテリアの一次免疫は2回に分けて生後1年の間に実施される。国に応じて、ブースター量が2年目および/または4～10歳の間に投与される。

【0040】

用語「抗原」は、当技術分野でよく理解されており、免疫応答をもたらす物質を意味する。抗原は、ヒトまたは動物において免疫応答を惹起することが可能な、タンパク質、多糖類、ペプチド、核酸、タンパク質-多糖複合体、分子またはハプテンの1種以上であり得る。あるいは、抗原は、全病原体、例えば弱毒化または不活化した病原体であり得る。不活化した全病原体はさらに分割することができ、例えば、スプリットインフルエンザウイルスである。本発明の一実施形態では、抗原はA型肝炎ウイルスおよび/またはB型肝炎ウイルス(例えばB型肝炎ウイルス表面抗原)に由来する。本発明の別の実施形態では、抗原はヒトパピローマウイルスに由来する。本発明の別の実施形態では、抗原はニコチンであるか、またはニコチンから誘導される。本発明の別の実施形態では、抗原はデング熱ウイルスに由来する。本発明の別の実施形態では、抗原は呼吸器合胞体ウイルス(RSV)に由来する。別の実施形態では、抗原はアルツハイマー病に関連している。別の実施形態では、抗原は麻疹、おたふく風邪、風疹を引き起こすウイルス、またはそれらの組み合わせに由来する。別の実施形態では、抗原は水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)に由来する。別の実施形態では、抗原は腫瘍関連抗原(例えばMAGEおよび/またはPRAME)に由来する。別の実施形態では、抗原は、ヒトにおいてマラリアを引き起こす寄生虫、特に熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*)および/または三日熱マラリア原虫(*Plasmodium vivax*)に由来する。別の実施形態では、抗原はサイトメガロウイルス(CMV)に由来する。

10

20

【0041】

本発明の免疫原性組成物が追加免疫として使用される場合、一次免疫はアジュバント添加またはアジュバント無添加のいずれであってもよい。いくつかのワクチンはもともとアジュバントを含むことが明らかであり、例えば、弱毒化生ワクチンまたは死滅ウイルスワクチンは、もとの病原体中に存在していた病原体関連分子パターン(PAMP)の一部を保持している。一次免疫が「アジュバント無添加」である場合、この用語は、一次免疫が、抗原調製物中に存在し得るアジュバントに加えて、どのようなアジュバントも含まない、ことを意味するものである。

【0042】

本発明の特定の実施形態では、一次免疫はアジュバントが添加されている(すなわち、抗原調製物中にもともと存在し得るアジュバントに追加のアジュバントが組み込まれている)。アジュバントは、抗原に対する免疫応答を誘導するのに役立つ成分を意味することが当技術分野で理解されている用語である。一次ワクチン接種に有用なアジュバントは、例えば、金属塩、TLRモジュレーター、水中油型エマルジョン、リボソーム免疫原性組成物、サポニンアジュバント、またはこれらの任意の組み合わせである。

30

【0043】

一実施形態では、一次免疫に使用されるアジュバントは、TLRモジュレーター、例えばTLR-4モジュレーター、例えばリボ多糖類またはその誘導体、例えばモノホスホリルリピドAまたは3-脱アシル化モノホスホリルリピドA(3D-MPLとして知られており、GlaxoSmithKline Biologicals North Americaから入手可能; 例えば、米国特許第4,436,727号; 第4,877,611号; 第4,866,034号および第4,912,094号を参照されたい)を含む。

40

【0044】

別の実施形態では、一次免疫に使用されるアジュバントは、サポニンアジュバント、例えばQuil Aおよびその誘導体を含む。Quil Aは、南米の樹木キラヤ・サポナリア・モリナ(*Quillaja Saponaria Molina*)から分離されたサポニン調製物であり、1974年にDalsgaardら("Saponin adjuvants", *Archiv. fuer die gesamte Virusforschung*, Vol. 44, Springer Verlag, Berlin, p243-254)によってアジュバント活性を有することが最初に記載された。Quil Aの精製された断片がHPLCにより単離されており、これらの断片はQuil Aに付随する毒性なしにアジュバント活性を保持しており(EP 0 362 278)、例えばQS7およびQS21(QA7およびQA21の別名でも知られる)である。

50

【 0 0 4 5 】

一実施形態では、一次免疫に使用されるアジュバントはサポニンアジュバントとTLR-4モジュレーターの両方を含み、例えば、AS01Bとして知られるアジュバント(リボソーム免疫原性組成物中の3D-MPLおよびQS21、50 µgの3D-MPLと50 µgのQS21)またはAS01Eとして知られるアジュバント(リボソーム免疫原性組成物中の3D-MPLおよびQS21、25 µgの3D-MPLと25 µgのQS21)を含む。

【 0 0 4 6 】

一実施形態では、一次免疫に使用されるアジュバントは、水酸化アルミニウムまたはリン酸アルミニウムなどの金属塩と3-脱アシル化モノホスホリルリピドAを含む。この実施形態の具体的な例では、一次免疫に使用されるアジュバントは、AS04として知られるアジュバント(500 µgのアルミニウム塩上に吸着させた50 µgの3D-MPL)である。

10

【 0 0 4 7 】

さらなる実施形態では、一次免疫に使用されるアジュバントは水中油型エマルションを含み、該エマルションそれ自体がスクアレンなどの代謝可能な油と、Tween 80および/またはスパン (span) 85などの界面活性剤を含む。この実施形態の具体的な例では、前記水中油型エマルションはMF59である。この実施形態の一例では、水中油型エマルションは、代謝可能な油の組み合わせ、例えばスクアレンとα-トコフェロールを含むことができる。この実施形態の具体例では、水中油型エマルションアジュバントは、AS03_A、AS03_B、AS03_CまたはAS03_Dであり、これらのすべては、GlaxoSmithKline Biologicals S.A. から得られるα-トコフェロールベースの水中油型エマルションである。

20

【 実施例 】

【 0 0 4 8 】

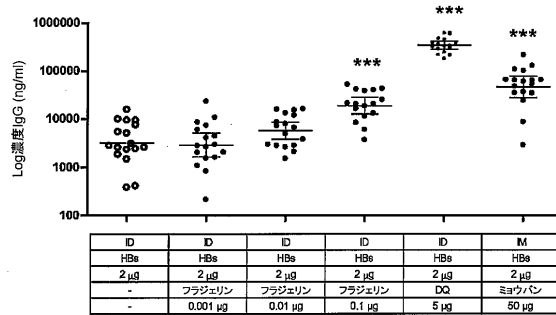
ネズミチフス菌(*Salmonella typhimurium*)由来の天然フラジェリンタンパク質 (FliCタンパク質) のアジュバント能力を評価するために、C57BL/6マウスの群に、2 µgのB型肝炎表面抗原(HBsAg)単独、または漸増用量 (0.001 µg、0.01 µgもしくは0.1 µg) のネズミチフス菌由来天然FliCタンパク質と組み合わせたHBsAgのいずれかを、0日目と14日目に皮内注射した。対照群にも同量のHBsAgをDQアジュバントと混合して皮内経路で、または50 µgのミョウバンに吸着させて筋肉内経路で投与した。マウスを28日目に安楽死させ、血液サンプルを心臓穿刺によって採取した。それぞれの免疫処置の前にも血液サンプルを採取した。血液サンプルを処理し、血清サンプルをELISAによる抗原特異的抗体の測定のために80 °Cで凍結させた。HBsAgは固相抗原として使用した。簡単に説明すると、マイクロウェルプレートのウェルに、最適濃度のHBsAgを室温で4時間コーティングした。マイクロウェルを洗浄してブロッキングした後、血清サンプルをプレートに連続希釈し、そのプレートを4 °Cで一晩インキュベートした。十分な洗浄工程の後に、マウスIgGを、HRP結合二次抗体を用いて検出し(37 °Cで30分間)、続いてTMB基質溶液とインキュベートした。この反応を1M硫酸で30分後に停止させた。プレートを450nmで読み取った。試験サンプル中の抗体濃度は、精製したマウス抗体を用いて各プレートの標準曲線ランから計算した。特定の血清IgG濃度は、4パラメータ方程式を使用することによって、SoftMaxProによって標準から計算した。値を血清ミリリットルあたりの特異的抗体のナノグラムとして表して、試験群の抗体濃度の平均を、アジュバント無添加HBsAgを皮内投与した対照群(グラフ上の白丸)と、一元配置ANOVAとその後のダネット(Dunnett)の多重比較検定により比較した。統計解析から、HBsAgを0.1 µgのFliCと共投与した場合、HBsAgを単独で投与した動物と比較して、抗原特異的血清抗体濃度の増加によって示される免疫原性の上昇が実証された。約7倍の抗体濃度の上昇が観察された。別の別個の実験 (データは示さない) の結果から、FliCの用量を1 µgまで増加させてもHBsAgの免疫原性を更に改善することはないことが示された。興味深いことに、0.1 µgのFliCと共にHBsAgを投与したマウスからの抗体価と、Engerixワクチンのヒト用量の1/10を投与したマウス (50 µgのミョウバンに吸着させたHBsAg 2 µg) を投与したマウスからの抗体価とで統計的に有意な差はなかった。

30

40

【 図 1 】

2回目の免疫から14日後のIgG抗-HBsの結果を示すマウスの免疫原性データ



***アジュバント無添加対照(白丸)と比較して約6倍の大きな有意差あり

【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成26年7月23日 (2014.7.23)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

皮膚免疫処置 (cutaneous immunisation) に使用するための、1種以上の抗原とアジュバントとを含む免疫原性組成物を含むパッチであって、該アジュバントがTLR-5アゴニストであり、該パッチが該免疫原性組成物を表皮に送達するのに適した微小突起 (microprojection) を含み、該微小突起の少なくとも一部が生分解性である、上記パッチ。

【 請求項 2 】

前記免疫原性組成物が、TLR-4アゴニスト、TLR7/8アゴニスト、または免疫学的に活性なサポニンからなる群より選択される1種以上の追加のアジュバントをさらに含む、請求項1記載のパッチ。

【 請求項 3 】

前記TLR-5アゴニストがフラジェリンまたはTLR-5活性を有するその断片である、請求項1または2記載のパッチ。

【 請求項 4 】

前記TLR-5アゴニストが超可変ドメインを欠失しているものである、請求項1～3のいずれか一項記載のパッチ。

【 請求項 5 】

前記TLR-5アゴニストがFliC_{Δ174-400}; FliC_{Δ161-405} およびFliC_{Δ138-405} からなる

群より選択される、請求項3記載のパッチ。

【請求項 6】

前記抗原がB型肝炎ウイルスに由来する、請求項1～5のいずれか一項記載のパッチ。

【請求項 7】

前記B型肝炎ウイルスに由来する抗原がB型肝炎表面抗原(HBsAg)である、請求項6記載のパッチ。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/072947

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/39 A61K39/29 A61P31/22
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/156405 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]; NEMPONT CLEMENT [FR]; SIRARD JEAN-CLAUDE) 30 December 2009 (2009-12-30) cited in the application the whole document in particular abstract page 3, line 21 - page 4, line 27 page 26, line 15 - page 28, line 15 claims 1-18; figures 1-14; examples 1-3 ----- -/--	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 February 2013

Date of mailing of the international search report

01/03/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ferreira, Roger

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/072947

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/128950 A2 (VAXINNATE CORP [US]; SONG LANGZHOU [US]; TUSSEY LYNDIA G [US]; SHAW ALA) 22 October 2009 (2009-10-22) cited in the application the whole document in particular abstract page 2, line 1 - page 8, line 25 page 58, line 23 - page 62, line 13 page 209, line 26 - page 214, line 18 claims 1-125; figures 1-68; examples 1-12 -----	1-8
X	WO 2006/066214 A2 (UNIV WAKE FOREST HEALTH SCI) 22 June 2006 (2006-06-22)	1-6
A	the whole document in particular abstract page 2, line 19 - page 3, line 32 page 19, lines 19-26 claims 1-23; figures 1-8; examples 1-5 -----	7,8
X	WO 2006/055729 A1 (TRANSCUTANEOUS TECH INC [JP]; MATSUMURA AKIHIKO [JP]; REED STEVEN G [U]) 26 May 2006 (2006-05-26)	1-4,6,8
A	the whole document in particular abstract page 6, line 1 - page 12, line 11 page 26, line 1 - page 27, line 11 claims 1-47; figures 1-5; examples -----	5,7
X	WO 2011/095649 A1 (INST NAC INVESTIGACION INIA [ES]; GOMEZ CASADO EDUARDO [ES]) 11 August 2011 (2011-08-11)	1,2,4,6
A	the whole document in particular abstract page 5, lines 27-33 page 10, line 30 - page 11, line 7 claims 1-24; figures 1-9; examples 1-5 -----	3,5,7,8
X	WO 2010/040096 A2 (UNIV EMORY [US]; HOSSAIN MOHAMMAD S [US]; GEWITZ ANDREW T [US]; ROBACK) 8 April 2010 (2010-04-08)	1,2,4-6,8
A	the whole document in particular abstract page 3, lines 1-27 page 16, line 8 - page 18, line 6 page 23, line 6 - page 24, line 14 page 41, line 16 - page 43, line 5 claims 1-38; figures 1-8; examples 1-5 ----- -/--	3,7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/072947

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 2008/069844 A1 (RHEE JOON-HAENG [KR] ET AL) 20 March 2008 (2008-03-20) the whole document in particular abstract paragraphs [0007] - [0009], [0019] - [0040] claims 1-7; figures 1-9; examples -----	1,2,4-6 3,7,8
X A	WO 2005/042564 A1 (SIDNEY KIMMEL CANCER CT [US]; LUSTGARTEN JOSEPH [US]) 12 May 2005 (2005-05-12) the whole document in particular abstract page 6, lines 14-17 page 8, line 29 - page 13, line 7 claims 1-6; figures 1-9; examples -----	1,2,4-6 3,7,8
X A	WO 2004/022092 A2 (BTG INT LTD [GB]; SIRARD JEAN-CLAUDE [FR]; KRAEHNBUHL JEAN-PIERRE [CH]) 18 March 2004 (2004-03-18) the whole document in particular abstract page 2, line 16 - page 9, line 6 claims 1-16; figures 1-22; examples 1-12 -----	1,2,4-6 3,7,8
X,P	WO 2011/151431 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; OUAKED NADIA [CA]; PLANTE MARTIN [CA];) 8 December 2011 (2011-12-08) the whole document -----	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/072947

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009156405 A1	30-12-2009	AU 2009264257 A1 CA 2728038 A1 CN 102203252 A EA 201001820 A1 EP 2300609 A1 JP 2011525371 A KR 20110041479 A US 2011110962 A1 WO 2009156405 A1	30-12-2009 30-12-2009 28-09-2011 30-08-2011 30-03-2011 22-09-2011 21-04-2011 12-05-2011 30-12-2009
WO 2009128950 A2	22-10-2009	AU 2009236585 A1 CA 2721246 A1 EP 2280991 A2 JP 2011519828 A US 2011135680 A1 WO 2009128949 A2 WO 2009128950 A2 WO 2009128951 A2 WO 2009128952 A2	22-10-2009 22-10-2009 09-02-2011 14-07-2011 09-06-2011 22-10-2009 22-10-2009 22-10-2009 22-10-2009
WO 2006066214 A2	22-06-2006	AU 2005316265 A1 AU 2005325715 A1 CA 2589553 A1 CA 2589556 A1 EP 1824510 A2 EP 1827489 A2 JP 5094407 B2 JP 2008523818 A JP 2008523819 A US 2008124361 A1 US 2008220011 A1 US 2010285048 A1 WO 2006066214 A2 WO 2006081007 A2	22-06-2006 03-08-2006 22-06-2006 03-08-2006 29-08-2007 05-09-2007 12-12-2012 10-07-2008 10-07-2008 29-05-2008 11-09-2008 11-11-2010 22-06-2006 03-08-2006
WO 2006055729 A1	26-05-2006	US 2006135906 A1 WO 2006055729 A1	22-06-2006 26-05-2006
WO 2011095649 A1	11-08-2011	EP 2532363 A1 WO 2011095649 A1	12-12-2012 11-08-2011
WO 2010040096 A2	08-04-2010	AU 2009298122 A1 CA 2739454 A1 EP 2349291 A2 US 2011206699 A1 WO 2010040096 A2	08-04-2010 08-04-2010 03-08-2011 25-08-2011 08-04-2010
US 2008069844 A1	20-03-2008	CN 1909924 A EP 1708749 A1 KR 20050073865 A US 2008069844 A1 WO 2005070455 A1	07-02-2007 11-10-2006 18-07-2005 20-03-2008 04-08-2005
WO 2005042564 A1	12-05-2005	NONE	
WO 2004022092 A2	18-03-2004	AU 2003264724 A1 EP 1536832 A2 JP 2006503825 A	29-03-2004 08-06-2005 02-02-2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/072947

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2006257415 A1	16-11-2006
		WO 2004022092 A2	18-03-2004

WO 2011151431 A1	08-12-2011	AU 2011260215 A1	17-01-2013
		CA 2801266 A1	08-12-2011
		CN 102905726 A	30-01-2013
		SG 185729 A1	28-12-2012
		WO 2011151431 A1	08-12-2011

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74)代理人 100171505

弁理士 内藤 由美

(72)発明者 ギャルソン - ジョンソン, ナタリー, マリー - ジョゼフ

ベルギー ベー - 1 3 3 0 リクセンサール, リュ ドランスティチュ 8 9, グラクソスミスク
ライン バイオリジカルズ ソシエテ アノニム

(72)発明者 ヴァン メッヘレン, マルセル, ポーレット

ベルギー ベー - 1 3 3 0 リクセンサール, リュ ドランスティチュ 8 9, グラクソスミスク
ライン バイオリジカルズ ソシエテ アノニム

(72)発明者 プランテ, マーティン

カナダ国 エイチ7ブイ 3エス8 ケベック, ラバル, カルティエ ブールバード ウェスト
5 2 5, アイディー バイオメディカル コーポレーション オブ ケベック

Fターム(参考) 4C076 AA73 BB31 CC07 FF32

4C085 AA13 AA14 AA38 BA89 BA90 DD86 EE01 EE06 FF18 FF21

GG10