

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5637848号
(P5637848)

(45) 発行日 平成26年12月10日(2014.12.10)

(24) 登録日 平成26年10月31日(2014.10.31)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 39/102 (2006.01) A 6 1 K 39/102
A 6 1 K 39/095 (2006.01) A 6 1 K 39/095
A 6 1 K 39/116 (2006.01) A 6 1 K 39/116
A 6 1 K 39/39 (2006.01) A 6 1 K 39/39
A 6 1 P 31/04 (2006.01) A 6 1 P 31/04

請求項の数 33 (全 31 頁)

(21) 出願番号	特願2010-510910 (P2010-510910)	(73) 特許権者	504389991
(86) (22) 出願日	平成20年6月4日(2008.6.4)		ノバルティス アーゲー
(65) 公表番号	特表2010-529103 (P2010-529103A)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセ
(43) 公表日	平成22年8月26日(2010.8.26)		35
(86) 国際出願番号	PCT/IB2008/002121	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開番号	W02008/149238		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開日	平成20年12月11日(2008.12.11)	(74) 代理人	100062409
審査請求日	平成23年6月1日(2011.6.1)		弁理士 安村 高明
(31) 優先権主張番号	60/933, 235	(74) 代理人	100113413
(32) 優先日	平成19年6月4日(2007.6.4)		弁理士 森下 夏樹
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	コントーニ, マリオ
			イタリア国 イー53100 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバル ティス ヴァクシNZ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 髄膜炎ワクチンの製剤化

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) B 型英膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) 髄膜炎菌の血清群 A、C、W135 および Y のうち 2 つ、3 つ、または、4 つを表す髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) 英膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを含むキット。

【請求項 2】

(i) インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) B 型英膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) 髄膜炎菌の血清群 A、C、W135 および Y のうち 2 つ、3 つ、または、4 つを表す髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) 英膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを合わせる工程を含む、混合ワクチンを調製するための方法。

【請求項 3】

前記水性成分がアジュバントを含む、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 4】

前記インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 結合体がリン酸アルミニウムに吸着している、請求項 1 または請求項 3 に記載のキット。

【請求項 5】

前記水性成分がアジュバント化されていない、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 6】

前記インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 結合体の投与が、患者において $0.15 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗 PRP 抗体濃度をもたらす、請求項 1、3、4 および 5 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 7】

前記水性成分中のインフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 結合体の濃度が $0.5 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲にある、請求項 1、3、4、5 および 6 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 8】

前記インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) サッカリドが、CRM197、破傷風トキソイド及び髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) の外膜複合体からなる群より選択される担体タンパク質に結合体化している、請求項 1、3、4、5、6 および 7 のいずれか一項に記載のキット。

10

【請求項 9】

前記水性成分が、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞性百日咳抗原、不活性化ポリオウイルス抗原、B 型肝炎ウイルス表面抗原及び/又は肺炎球菌サッカリドのうち 1 つ又は複数を含む、請求項 1、3、4、5、6、7 および 8 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 10】

前記髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) 結合体の投与が殺菌抗体反応をもたらす、請求項 1、3、4、5、6、7、8 および 9 のいずれか一項に記載のキット。

20

【請求項 11】

前記凍結乾燥成分が髄膜炎菌血清群 A、C、W135 及び Y のそれぞれに由来する荚膜サッカリドを含む、請求項 1、3、4、5、6、7、8、9 および 10 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 12】

血清群当たりの髄膜炎菌荚膜サッカリドの量が $1 \mu\text{g} \sim 20 \mu\text{g}$ である、請求項 11 に記載のキット。

【請求項 13】

前記髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) サッカリドが CRM197、ジフテリアトキソイド及び破傷風トキソイドからなる群より選択される担体タンパク質に結合体化している、請求項 1、3、4、5、6、7、8、9 および 10 のいずれか一項に記載のキット。

30

【請求項 14】

前記凍結乾燥成分が荚膜および安定化剤を含む、請求項 1、3、4、5、6、7、8、9 および 10 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 15】

前記凍結乾燥成分がアジュバントを含む、請求項 1、3、4、5、6、7、8、9、10 および 13 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 16】

前記凍結乾燥成分がアジュバントを含まない、請求項 1、3、4、5、6、7、8、9、10 および 13 のいずれか一項に記載のキット。

40

【請求項 17】

前記凍結乾燥成分が Hib サッカリドを含まない、請求項 1、3、4、5、6、7、8、9、10、13 および 16 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 18】

前記水性成分がアジュバントを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 19】

前記インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 結合体がリン酸アルミニウムに吸着している、請求項 2 または請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

50

前記水性成分がアジュバント化されていない、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 結合体の投与が、患者において $> 0.15 \mu\text{g/ml}$ の抗 PRP 抗体濃度をもたらす、請求項 2、18、19 および 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記水性成分中のインフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 結合体の濃度が $0.5 \mu\text{g/ml} \sim 50 \mu\text{g/ml}$ の範囲にある、請求項 2、18、19、20 および 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) サッカリドが、CRM197、破傷風トキソイド及び髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) の外膜複合体からなる群より選択される担体タンパク質に結合体化している、請求項 2、18、19、20、21 および 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記水性成分が、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞性百日咳抗原、不活性化ポリオウイルス抗原、B 型肝炎ウイルス表面抗原及び/又は肺炎球菌サッカリドのうち 1 つ又は複数を含む、請求項 2、18、19、20、21、22 および 23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) 結合体の投与が殺菌抗体反応をもたらす、請求項 2、18、19、20、21、22、23 および 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記凍結乾燥成分が髄膜炎菌血清群 A、C、W135 及び Y のうち 2 つ、3 つ又は 4 つを含む、請求項 2、18、19、20、21、22、23、24 および 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記凍結乾燥成分が髄膜炎菌血清群 A、C、W135 及び Y のそれぞれに由来する荚膜サッカリドを含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 2 8】

血清群当たりの髄膜炎菌荚膜サッカリドの量が $1 \mu\text{g} \sim 20 \mu\text{g}$ である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) サッカリドが CRM197、ジフテリアトキソイド及び破傷風トキソイドからなる群より選択される担体タンパク質に結合体化している、請求項 2、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27 および 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記凍結乾燥成分が荚膜および安定化剤を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記凍結乾燥成分がアジュバントを含む、請求項 2、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 および 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記凍結乾燥成分がアジュバントを含まない、請求項 2、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 および 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記凍結乾燥成分が Hib サッカリドを含まない、請求項 2、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31 および 32 のいずれか

10

20

30

40

50

一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この出願は、米国仮出願第60/933,235号（この完全な内容は、参考として本明細書に援用される）からの優先権を主張する。

【0002】

本発明は、髄膜炎に対して免疫化するための混合ワクチンを製剤化する分野に属する。

【背景技術】

10

【0003】

複数の病原性生物からの抗原を単一用量中に含むワクチンは、「多価」又は「混合」ワクチン、例えば、ジフテリア、破傷風および百日咳（「DTP」）ワクチン並びに麻疹、流行性耳下腺炎および風疹（「MMR」）ワクチンとして知られている。混合ワクチンは、特に小児科ワクチン接種における遵守の向上という臨床的利点につながる（例えば、参考文献1（非特許文献1）の29章を参照）、注射を受ける回数が少ないという恩恵を患者に与える。しかし、同時に、それらは、抗原と他の成分との物理的及び生化学的不適合性、免疫学的干渉並びに安定性などの因子に起因する困難をもたらす。

【0004】

これらの困難の一部は、ワクチンの適切な製剤によって対処することができる。例えば、Haemophilus influenzae B型（「Hib」）の結合体化PRP莢膜サッカリドは、水性条件で不安定となり得、そのため、INFANRIX（商標）シリーズ（PEDIARIX（商標）を含む）におけるHib含有ワクチンは、残りの抗原の水性製剤によって使用時に再構成する凍結乾燥Hib成分を含む。参考文献2（特許文献1）もHib含有ワクチンの製剤を記述しており、Hib結合体が即座の再構成のために髄膜炎菌結合体と組み合わせて凍結乾燥されている。それと対照的に、参考文献3（特許文献2）は、さらなる成分（例えば、Hib又は肺炎球菌結合体）を凍結乾燥し、再構成することができる、髄膜炎菌結合体の完全に液体の製剤を記述している。参考文献22（特許文献3）は、血清群A（「MenA」）結合体が他の血清群の結合体の液体製剤による再構成のために凍結乾燥されている、髄膜炎菌結合体の組合せについて述べている。

20

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開第02/00249号パンフレット

【特許文献2】国際公開第2005/032583号パンフレット

【特許文献3】国際公開第03/007985号パンフレット

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】PlotkinおよびOrenstein編、Vaccines、第4版、2004

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

Hib及び髄膜炎菌は、細菌性髄膜炎の2つの原因であり、Hib及び髄膜炎菌結合体のさらなる改良型のワクチン製剤を提供することが本発明の目的である。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明のいくつかの実施形態によれば、液体Hib成分を用いて凍結乾燥髄膜炎菌成分を再構成し、それにより、混合髄膜炎ワクチンを生成させる。

50

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)

(i) *Haemophilus influenzae* B 型莢膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを含むキット。

(項目 2)

(i) *Haemophilus influenzae* B 型莢膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを合わせる工程を含む、混合ワクチンを調製するための方法。

10

(項目 3)

水性 *H. influenzae* 結合体と凍結乾燥 *N. meningitidis* 結合体とを合わせることによって調製される、(i) *Haemophilus influenzae* B 型莢膜サッカリドの結合体と、(ii) *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体とを含む混合ワクチン。

(項目 4)

前記水性成分がアジュバントを含む、項目 1 ~ 3 のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目 5)

前記 *H. influenzae* 結合体がリン酸アルミニウムに吸着している、項目 1 ~ 4 のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

20

(項目 6)

前記水性成分がアジュバント化されていない、項目 1 から 3 のいずれか一項に記載のキット、方法又はワクチン。

(項目 7)

水中油型エマルジョン中に 2 つ以上の *Neisseria meningitidis* 血清群及び *Haemophilus influenzae* B 型由来の莢膜サッカリドの結合体を含むワクチン。

(項目 8)

前記 *H. influenzae* 結合体の投与が、患者において $> 0.15 \mu\text{g/ml}$ の抗 PRP 抗体濃度をもたらす、項目 1 ~ 7 のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

30

(項目 9)

前記水性成分中の *H. influenzae* 結合体の濃度が $0.5 \mu\text{g/ml} \sim 50 \mu\text{g/ml}$ の範囲内にある、項目 1 ~ 8 のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目 10)

前記 *H. influenzae* サッカリドが、CRM197、破傷風トキソイド及び *N. meningitidis* の外膜複合体からなる群より選択される担体タンパク質に結合体化している、項目 1 ~ 9 のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目 11)

前記水性成分が、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞性百日咳抗原、不活性化ポリオウイルス抗原、B 型肝炎ウイルス表面抗原及び / 又は肺炎球菌サッカリドのうち 1 つ又は複数を含む、項目 1 ~ 10 のいずれかに記載のキット又は方法。

40

(項目 12)

ワクチンを調製するためのキットであって、該キットは、(i) 水中油型エマルジョン成分と、(ii) *Neisseria meningitidis* の 2 つ以上の血清群に由来する結合体化莢膜サッカリドを含む凍結乾燥成分とを含む、キット。

(項目 13)

(i) 水中油型エマルジョン成分と、(ii) *Neisseria meningitidis* の 2 つ以上の血清群に由来する莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを

50

合わせる工程を含む、ワクチンを調製するための方法。

(項目14)

水中油型エマルジョン成分と*N. meningitidis*の2つ以上の血清群に由来する莢膜サッカリドの凍結乾燥結合体を合わせることによって調製される、水中油型エマルジョン中に*Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体を含むワクチン。

(項目15)

前記*N. meningitidis* 結合体の投与が殺菌抗体反応をもたらす、項目1～14のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目16)

前記凍結乾燥成分が髄膜炎菌血清群A、C、W135及びYのうち2つ、3つ又は4つを含む、項目1～15のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目17)

前記凍結乾燥成分が髄膜炎菌血清群A、C、W135及びYのそれぞれに由来する莢膜サッカリドを含む、項目16に記載のキット、方法又はワクチン。

(項目18)

血清群当たりの髄膜炎菌莢膜サッカリドの量が $1\mu\text{g} \sim 20\mu\text{g}$ である、項目17に記載のキット、方法又はワクチン。

(項目19)

前記*N. meningitidis* サッカリドがCRM197、ジフテリアトキソイド及び破傷風トキソイドからなる群より選択される担体タンパク質に結合体化している、項目1～18のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目20)

前記凍結乾燥成分が莢膜および安定化剤を含む、項目16に記載のキット、方法又はワクチン。

(項目21)

前記凍結乾燥成分がアジュバントを含む、項目1～20のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目22)

前記凍結乾燥成分がアジュバントを含まない、項目1～20のいずれか一項に記載のキット、方法又はワクチン。

(項目23)

前記凍結乾燥成分がHibサッカリドを含まない、項目1～22のいずれかに記載のキット、方法又はワクチン。

(項目24)

1つ又は複数の緩衝剤を含む、項目1～23のいずれかに記載のワクチン。

(項目25)

ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞百日咳抗原、不活性化ポリオウイルス抗原、B型肝炎ウイルス表面抗原及び/又は肺炎球菌サッカリドのうち1つ又は複数を含む、項目1～24のいずれかに記載のワクチン。

(項目26)

項目1～25のいずれかに記載のワクチンを患者に投与する工程を含む、患者における免疫応答を惹起する方法。

【0009】

したがって、本発明は、(i) *Haemophilus influenzae* B型莢膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを含むキットを提供する。患者に投与するために、水性及び凍結乾燥成分を混合して、注射に適する混合液体ワクチンを得る。

【0010】

10

20

30

40

50

本発明はまた、(i) *Haemophilus influenzae* B型莢膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを混合する工程とを含む、混合ワクチンを調製する方法を提供する。

【0011】

本発明はまた、水性*H. influenzae*結合体と凍結乾燥*N. meningitidis*結合体とを合わせることによって調製される、(i) *Haemophilus influenzae* B型莢膜サッカリドの結合体と、(ii) *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体とを含む混合ワクチンを提供する。該ワクチンは、凍結乾燥安定化剤を含んでいてよい(下記を参照)。

10

【0012】

液体成分

本発明のキット及び方法は、*Hib*サッカリドの結合体を含む水性抗原性成分の使用を含む。*Hib*結合体の投与は、患者において好ましくは $0.15 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、より好ましくは $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗PRP抗体濃度をもたらす。これらは、標準的な許容できる応答閾値である。

【0013】

*Hib*サッカリド抗原はよく知られており[例えば、参考文献1の14章]、それらの調製は十分に記録に残されている[例えば、参考文献4~13]。*Hib*サッカリドは、特に小児におけるその免疫原性を増大させるために担体タンパク質に結合体化させる。本発明は、あらゆる適切な*Hib*結合体を使用することができる。

20

【0014】

*Hib*結合体のサッカリド部分は、多糖(例えば、全長ポリリボシルリビトールリン酸(PRP))であってよいが、オリゴ糖(例えば、MWが約1~約5kDa)を用いることも可能である。オリゴ糖は、好都合には、精製PRPの断片化(例えば、加水分解による)と通常その後の所望のサイズの断片の精製により形成される。本発明の組成物が複合オリゴ糖を含む場合、オリゴ糖の調製を結合体化に先行させるべきである。

【0015】

水性成分中の*Hib*結合体の濃度は、通常、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、例えば、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $12 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $16 \mu\text{g}/\text{ml}$ 等の範囲内にある。濃度は、約 $15 \mu\text{g}/\text{ml}$ であってよい。

30

【0016】

水性*Hib*成分は、アジュバント化されていなく(unadjuvanted)でもよく、又はアジュバントを含んでいてもよい。アジュバントが含まれている場合、それは一般的に、アルミニウム塩、例えば、リン酸塩又は水酸化物塩である。アジュバントが含まれている場合、*Hib*成分は、アルミニウム塩に吸着していてもよく、又は吸着してなくてもよい。リン酸アルミニウムアジュバントへの吸着はある状況において有利であることが報告された[14]が、非吸着が他の状況において有利であることが報告された[2]。

【0017】

様々な異なる*Hib*結合体が知られている。例えば、参考文献1の表14-7に4種の異なる*Hib*結合体の特性が示されている。これらは、種々のパラメーター、例えば、担体タンパク質が異なっている。本発明は、CRM197(「HbOC」におけるような)、破傷風トキシイド(「PRP-GT」におけるような)及び*N. meningitidis*の外膜複合体(「PRP-OMP」におけるような)などのあらゆる適切な担体タンパク質(下記を参照)を用いることができる。

40

【0018】

様々な水性*Hib*結合体が市販されており、本発明で用いることができる。例えば、WyethのHIBTITER(商標)製品は、液体製剤として入手可能である。HIBTITER(商標)は、CRM197担体を用い、各 0.5ml 用量(バイアル入りで供給

50

される)は、0.9%塩化ナトリウム中10 μ gのサッカリドを含み、アジュバントは含まない。MerckのPEDVAXHIB(商標)製品も液体製剤として入手可能である。PEDVAXHIB(商標)は、OMP C担体を用い、各0.5ml用量が0.9%塩化ナトリウム中7.5 μ gのサッカリドと225 μ gの硫酸ヒドロキシリン酸アルミニウムアジュバントを含む。これは、ラクトース及びチメロサルを含まない。ACTHIB(商標)製品は、現在液体形態で入手可能ではない。他の有用なHib結合体は、アジピン酸リンカーを介してCRM₁₉₇に共有結合しているHibオリゴ糖を含む[15、16]。

【0019】

Hib結合体は、水性成分中の唯一の抗原性成分であってよく、或いは1つ又は複数の追加の抗原が存在していてよい。例えば、水性成分は、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞百日咳抗原、不活性化ポリオウイルス抗原、B型肝炎ウイルス表面抗原及び/又は肺炎球菌サッカリドのうち1つ又は複数を含んでいてよい。水性成分がアジュバント化され、Hib結合体、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞百日咳抗原、不活性化ポリオウイルス抗原及びB型肝炎ウイルス表面抗原を含む場合、HEXAVAC(商標)製品を用いることができる。水性成分がアジュバント化され、Hib結合体、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、全細胞百日咳抗原、B型肝炎ウイルス表面抗原を含む場合、QUINVAXEM(商標)製品を用いることができる。水性成分がアジュバント化され、Hib結合体、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、無細胞百日咳抗原及びポリオウイルス抗原を含む場合、PEDIACEL(商標)製品を用いることができる。

【0020】

非アジュバント化HIBTITER(商標)ワクチンのような市販の液体1価Hib結合体は、本発明で用いるのに好ましい水性成分である。Hib結合体と髄膜炎菌結合体とを合わせる場合にアジュバントを避ける明らかな利点は、参考文献2に記載されている。

【0021】

凍結乾燥成分

本発明のキット及び方法は、髄膜炎菌莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥抗原性成分の使用を含む。髄膜炎菌結合体の投与は、好ましくは殺菌抗体反応をもたらす、ヒト補体を用いて測定される少なくとも4倍、好ましくは少なくとも8倍の関連する血清群の血清殺菌アッセイ(SBA)力価の増加を伴う[17]。ウサギ補体を用いてSBA力価を測定する場合、力価の増加は好ましくは少なくとも128倍である。

【0022】

血清群Cに対する結合体化1価ワクチンは、ヒトにおける使用について承認され、MENJUGATE(商標)[18]、MENINGITEC(商標)及びNEISVAC-C(商標)を含む。血清群A+Cの結合体の混合物が知られており[19、20]、血清群A+C+W135+Yの結合体の混合物が報告され[21~24]、水性MENACTRA(商標)製品として2005年に承認された。本発明で用いる凍結乾燥成分は、1つ又は複数の髄膜炎菌結合体を含んでいてよい。血清群A、C、W135及びYの2つ、3つ又は4つを含むことが一般的であり、例えば、A+C、A+W135、A+Y、C+W135、C+Y、W135+Y、A+C+W135、A+C+Y、A+W135+Y、A+C+W135+Y等である。4つのすべての血清群A、C、W135及びYのサッカリドを含む成分が好ましい。1つを超える血清群の結合体が含まれている場合、それらは実質的に等しい質量で存在していてよい。例えば、各血清群のサッカリドの質量は互いの \pm 10%以内である。凍結乾燥成分中の血清群当たりの一般的な量は、1 μ gと20 μ gの間、例えば、血清群当たり2~10 μ g、又は約4 μ gである。実質的に等しい比率に代わるものとして、2倍の質量の血清群Aサッカリドを用いることができる。

【0023】

血清群Aの髄膜炎菌の莢膜サッカリドは、C3及びC4位に部分O-アセチル化を伴う(16)結合N-アセチル-D-マンノサミン-1-リン酸のホモポリマーである。

C - 3 位のアセチル化は、70 ~ 95 % であり得る。サッカリドを精製するのに用いる条件は脱 O - アセチル化をもたらす得る（例えば、塩基性条件下）が、OAc をこの C - 3 位に保持することは有用である。いくつかの実施形態において、血清群 A サッカリドにおけるマンノサミン残基の少なくとも 50 %（例えば、少なくとも 60 %、70 %、80 %、90 %、95 % 又はそれ以上）が C - 3 位で O - アセチル化されている。アセチル基は、加水分解を防ぐために ブロック基 で置換することができ [25]、そのような修飾サッカリドは、本発明の意味の範囲内で依然として血清群 A サッカリドである。

【 0024 】

血清群 C 莢膜サッカリドは、(2 9) 結合シアル酸 (N - アセチルノイラミン酸又は「NeuNAc」) のホモポリマーである。該サッカリドの構造は、9) - Neu p NAc 7 / 8 OAc - (2 と書く。ほとんどの血清群 C 株は、シアル酸残基の C - 7 及び / 又は C - 8 に O - アセチル基を有するが、臨床分離株の約 15 % がこれらの O - アセチル基を欠いている [26、27]。OAc 基の存在又は非存在が特有のエピトープを発生させ、サッカリドに対する抗体の結合の特異性が O - アセチル化 (OAc -) 及び脱 O - アセチル化 (OAc +) 株に対するその殺菌活性に影響を及ぼす可能性がある [28 ~ 30]。本発明で用いる血清群 C サッカリドは、OAc + 又は OAc - 株から調製することができる。認可済み Men C 結合体ワクチンは、OAc - (NEISVAC - C (商標)) 及び OAc + (MENJUGATE (商標) 及び MENINGITEC (商標)) サッカリドを含む。いくつかの実施形態において、血清群 C 結合体の製造用の株は、例えば、血清型 16、血清亜型 P1 . 7a、1 等の OAc + 株である。したがって、C : 16 : P1 . 7a、1 OAc + 株を用いることができる。C11 株などの血清亜型 P1 . 1 の OAc + 株も有用である。

【 0025 】

血清群 W135 サッカリドは、シアル酸 - ガラクトース二糖単位のポリマーである。血清群 C サッカリドと同様に、それは可変 O - アセチル化を有するが、それはシアル酸 7 及び 9 位にである [31]。構造は 4) - D - Neu p 5 Ac (7 / 9 OAc) - - (2 6) - D - Gal - - (1 と書く。

【 0026 】

血清群 Y サッカリドは、二糖反復単位がガラクトースの代わりにグルコースを含むことを除いて、血清群 W135 サッカリドと類似している。血清群 W135 と同様に、それはシアル酸 7 及び 9 位に可変 O - アセチル化を有する [31]。血清群 Y の構造は 4) - D - Neu p 5 Ac (7 / 9 OAc) - - (2 6) - D - Glc - - (1 と書く。

【 0027 】

本発明により用いられるサッカリドは、上述のように O - アセチル化されていてよく（例えば、天然莢膜サッカリドに認められるのと同じ O - アセチル化パターンを有する）、或いはそれらはサッカリド環の 1 つ又は複数の位置で部分的又は完全に脱 O - アセチル化されていてよく、或いはそれらは天然莢膜サッカリドと比べて高 O - アセチル化されていてよい。

【 0028 】

結合体におけるサッカリド部分は、髄膜炎菌から調製される全長サッカリドを含んでいてよく、かつ / 又は全長サッカリドの断片を含んでいてよい（すなわち、サッカリドは細菌に認められる天然莢膜サッカリドより短くてよい）。したがって、サッカリドは解重合してよく、解重合は、サッカリドの精製中又は後に起こるが、結合体化の前に起こる。解重合により、サッカリドの鎖長は減少する。1 つの解重合法は、過酸化水素の使用を伴う [21]。過酸化水素をサッカリドに加え（例えば、最終 H₂O₂ 濃度が 1 % になるように）、所望の鎖長の減少が達成されるまで混合物をインキュベートする（例えば、約 55 で）。他の解重合法は、酸加水分解を伴う [22]。他の解重合法が当技術分野で知られている。本発明による使用のための結合体を調製するのに用いるサッカリドは、これらの解重合法のいずれかにより得ることができる。免疫原性のため最適な鎖長を提供し、

10

20

30

40

50

かつ／又はサッカリドの物理的扱い易さのために鎖長を減少させるために、解重合を用いることができる。いくつかの実施形態において、サッカリドは、次の範囲の平均重合度（ D_p ）を有する： $A = 10 \sim 20$ ； $C = 12 \sim 22$ ； $W135 = 15 \sim 25$ ； $Y = 15 \sim 25$ 。 D_p ではなく、分子量に関しては、すべての血清群について有用な範囲は、 $< 100 \text{ kDa}$ ； $5 \text{ kDa} \sim 75 \text{ kDa}$ ； $7 \text{ kDa} \sim 50 \text{ kDa}$ ； $8 \text{ kDa} \sim 35 \text{ kDa}$ ； $12 \text{ kDa} \sim 25 \text{ kDa}$ ； $15 \text{ kDa} \sim 22 \text{ kDa}$ である。

【0029】

いくつかの実施形態において、髄膜炎菌の血清群A、C、W135及びYのそれぞれのサッカリドの平均分子量は、 50 kDa を超えていてよい、例えば、 75 kDa 、 100 kDa 、 110 kDa 、 120 kDa 、 130 kDa 等[32]、及び特にMALLSにより決定されるように 1500 kDa まででさえあってよい。例えば、MenAサッカリドは $50 \sim 500 \text{ kDa}$ 、例えば $60 \sim 80 \text{ kDa}$ の範囲内にあってよく、MenCサッカリドは $100 \sim 210 \text{ kDa}$ の範囲内にあってよく、MenW135サッカリドは $60 \sim 190 \text{ kDa}$ 、例えば $120 \sim 140 \text{ kDa}$ の範囲内にあってよく、かつ／又はMenYサッカリドは $60 \sim 190 \text{ kDa}$ 、例えば $150 \sim 160 \text{ kDa}$ の範囲内にあってよい。

【0030】

有用な担体タンパク質（下記を参照）は、CRM197、ジフテリアトキシイド及び／又は破傷風トキシイドを含む。凍結乾燥成分が複数の髄膜炎菌血清群の結合体を含む場合、各種結合体は異なる担体タンパク質を用いてよく（例えば、CRM197上で1つの血清群、破傷風トキシイド上で他の血清群）、或いはそれらは同じ担体タンパク質を用いてよい（例えば、2つの血清群のサッカリドがCRM197に別個に結合体化され、次に混合される）。

【0031】

安定性の理由のために、凍結乾燥成分は、ラクトース、スクロース及びマンニトール並びにその混合物、例えば、ラクトース／スクロース混合物、スクロース／マンニトール混合物等などの安定化剤を含んでいてよい。したがって、最終ワクチンは、ラクトース及び／又はスクロースを含んでいてよい。スクロース／マンニトール混合物を用いることにより、乾燥工程を加速することができる。凍結乾燥成分は、塩化ナトリウムも含んでいてよい。凍結乾燥材料中の可溶性成分は、再構成後に組成物中に保持される。

【0032】

凍結乾燥成分は、アルミニウム塩などのアジュバントを含んでいてよく、又は含んでいなくてもよい。

【0033】

凍結乾燥成分は、Hibサッカリドを含まないことが好ましい。

【0034】

本発明の組成物を包装すること

本発明で用いる湿潤成分及び乾燥成分は、使用前には互いに分離した状態に維持しなければならない。したがって、それらは、キットの形で別個に包装する。キットは、様々な形をとることができる。

【0035】

いくつかの実施形態において、2つの成分を別個の容器内に包装する。他の実施形態において、2つの成分を単一容器の別個のチャンバー内、例えば、多チャンバーシリンジの別個の容器内に包装する。二チャンバーシリンジは、2つの個々の組成物を保存中に別個に保持するが、シリンジのプランジャーを作動させるときに混合することができる。

【0036】

凍結乾燥材料は、通常、密封バイアルに入れて提供される。バイアルは、その内容物の除去及び／又は再構成のための水性材料の導入を可能にしながらも無菌性を維持することができる開口部（例えば、ゴムシール、破壊可能ネック（breakable neck）等）を有する。バイアルは、様々な材料、例えば、ガラス、プラスチック等から製造す

ることができる。

【 0 0 3 7 】

水性材料もバイアルに入れて提供することができるが、代替として、例えば、シリンジに入れて提供することができる。この場合にも、容器は、その内容物の除去を可能にしながらも無菌性を維持することができる。シリンジは、それに取り付けられる針と共に又は針を伴わずに供給することができ、後者の場合には、別個の針を、組立及び使用のためにシリンジとともに包装することができ、シリンジは、一般的に針の取り付けの前の先端部をシールするためのチップキャップを有する。安全な針が好ましい。1 インチ 2 3 ゲージ、1 インチ 2 5 ゲージ及び 5 / 8 インチ 2 5 ゲージ針が一般的である。シリンジのプランジャーは、吸引中に偶発的に除去されることを防ぐためにストッパーを有してよい。

10

【 0 0 3 8 】

バイアルは、あらかじめ充填されたシリンジをキャップに挿入し、シリンジの内容物をバイアル中に排出することができ（バイアル中の凍結乾燥材料を再構成するために）、またバイアルの内容物をシリンジ中に戻すことができるように適合されたキャップ（例えば、ルアロック）を有することができる。バイアルからシリンジを取り外した後、針を取り付け、組成物を患者に投与することができる。キャップにアクセスすることができる前にシール又はカバーを取り除かなければならないように、キャップをシール又はカバーの内部に配置することができる。

【 0 0 3 9 】

20

材料を容器内に包装する場合、容器は、通常、材料をそれに加える前に滅菌する。

【 0 0 4 0 】

ガラス容器（例えば、シリンジ又はバイアル）を用いる場合、それをソーダライムガラスでなく、ホウケイ酸ガラスから有用なように製造することができる。

【 0 0 4 1 】

再構成

患者に投与する前に、本発明は、水性成分（H i b 結合体を含む）による凍結乾燥抗原性成分（少なくとも 1 つの髄膜炎菌結合体を含む）の再構成を伴う。再構成は、様々な工程を含み得る。

【 0 0 4 2 】

30

成分が多チャンバーシリンジ中に存在する場合、シリンジの作動により水性材料と乾燥材料とを混合する。成分が別個の容器中に存在する場合、種々の混合方法を用いることができる。いくつかの実施形態において、バイアル中の水性材料は、抜き取ってシリンジ中に入れることができる（例えば、針により）か、或いは既にシリンジ中に存在してよい。水性材料は、次にシリンジから乾燥凍結材料を含むバイアル中に移すことができる（例えば、バイアルから水性材料を抜き取るのに以前に用いた針と同じ又は異なっていてよい針により）。凍結乾燥材料は、それにより再構成され、抜き取って（例えば、以前に用いた針と再び同じ又は異なる針により）シリンジ（例えば、以前に用いたシリンジと同じ又は異なる）に入れることができ、そのシリンジから患者に注射することができる（例えば、以前に用いた針と再び同じ又は異なる針により）。

40

【 0 0 4 3 】

凍結乾燥材料と水性材料とが混合され、それらが送達デバイス（一般的にシリンジ）中に存在しているならば、組成物を患者に投与することができる。再構成は、一般的に患者への投与の直前、例えば、注射前の 3 0 分以内に行う。

【 0 0 4 4 】

再構成の後に、患者に投与するための組成物は、H i b 及び髄膜炎菌結合体を含む。H i b 結合体は、元の水性材料に由来し、髄膜炎菌結合体は、元の凍結乾燥材料に由来する。元の水性材料は、髄膜炎菌結合体も含んでいてよい。例えば、凍結乾燥材料は、血清群 A 及び W 1 3 5 の結合体も含んでいてよく、水性材料は、血清群 C の結合体を含む（H i b 結合体に加えて）。

50

【0045】

本発明の再構成ワクチン中のH i bサッカリドの質量は、通常0.5 μgから50 μgまでの範囲内、例えば、1~20 μg、10~15 μg、12~16 μg等である。量は、約12.5 μgであってよい。5 μg未満の質量、例えば、1~5 μg、2~4 μgの範囲内又は約2.5 μgが適する可能性がある[33]。

【0046】

再構成ワクチン中の血清群当たりの髄膜炎菌サッカリドの質量は、通常1 μgから20 μgまで、例えば、血清群当たり2~10 μg、又は約5 μg若しくは約10 μgである。1つより多い血清群の結合体が含まれている場合、それらは実質的に等しい質量で存在してよい。例えば、各血清群のサッカリドの質量は、互いの+10%の範囲内にある。等しい比率に代わるものとして、2倍の質量の血清群Aサッカリドを用いることができる。したがって、ワクチンは、10 μgのMen Aサッカリド並びにそれぞれ5 μgのMen C、W135及びYサッカリドを含んでいてよい。

10

【0047】

いくつかの実施形態において、H i bサッカリドの質量は、特定の髄膜炎菌血清群サッカリドの質量と実質的に同じである。いくつかの実施形態において、H i bサッカリドの質量は、特定の髄膜炎菌血清群サッカリドの質量より大きい(例えば、少なくとも1.5x)。いくつかの実施形態において、H i bサッカリドの質量は、特定の髄膜炎菌血清群サッカリドの質量より小さい(例えば、少なくとも1.5x)。

【0048】

20

組成物が1つより多い髄膜炎菌血清群のサッカリドを含む場合、血清群当たりのサッカリドの平均質量が存在する。各血清群の実質的に等しい質量を用いる場合、平均質量は、個々の各質量と同じであり、等しくない質量を用いる場合、平均値は異なり、Men ACWY混合物について10:5:5:5 μgの量の場合、平均質量は血清群当たり6.25 μgである。いくつかの実施形態において、H i bサッカリドの質量は、血清群当たりの髄膜炎菌サッカリドの平均質量と実質的に同じである。いくつかの実施形態において、H i bサッカリドの質量は、血清群当たりの髄膜炎菌サッカリドの平均質量より大きい(例えば、少なくとも1.5x)。いくつかの実施形態において、H i bサッカリドの質量は、血清群当たりの髄膜炎菌サッカリドの平均質量より小さい(例えば、少なくとも1.5x)[34]。

30

【0049】

処置の方法およびワクチンの投与

本発明は、混合ワクチンの形でのH i b及び髄膜炎菌結合体の併用投与を含む。再構成組成物は、ヒト患者に投与するのに適しており、本発明は、本発明の組成物を患者に投与する工程を含む、患者における免疫応答を惹起する方法を提供する。

【0050】

本発明はまた、医療用の本発明の組成物を提供する。

【0051】

本発明はまた、患者に投与するための薬剤の製造における、(i) Haemophilus influenzae B型莢膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) Neisseria meningitidis 莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分との使用を提供する。

40

【0052】

本発明はまた、免疫化で使用するための、(i) Haemophilus influenzae B型莢膜サッカリドの結合体を含む水性成分と、(ii) Neisseria meningitidis 莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分との組合せを提供する。

【0053】

本発明の再構成組成物は、好ましくは、髄膜炎菌性髄膜炎及びH i b髄膜炎を含む細菌性髄膜炎の軽減又は予防用のワクチンである。

50

【0054】

本発明の組成物を受容する患者は、2歳未満、例えば、0～12カ月齢であってよい。患者の1つの特定の群は、1～3カ月齢であり、髄膜炎菌結合体ワクチンを以前に受容していないかった。

【0055】

十分な有効性を得るために、小児における一般的な一次免疫化スケジュールは、1回より多い用量を投与することを含んでいてよい。例えば、用量は、0、2及び4カ月時（時間0は初回用量）、0、1及び2カ月時、0及び2カ月時、0、2及び8カ月時等であってよい。初回用量（時間0）を、約2カ月齢時、又は約3カ月齢時に時々（例えば、0 - 2 - 8カ月スケジュールで）投与してよい。

10

【0056】

組成物は、例えば、1歳から2歳までの小児における追加抗原投与量としても用いることもできる。

【0057】

本発明の組成物は、例えば、腕、脚又は臀部への筋肉内注射により投与することができる。

【0058】

本発明の組成物がアルミニウムを用いたアジュバントを含む場合、保存中に成分の沈降が起こる可能性がある。したがって、水性組成物は、患者に投与する前に、再構成の前及び後に振とうすべきである。

20

【0059】

結合体化

本発明は、莢膜サッカリドが担体タンパク質に結合体化したHib及び髄膜炎菌結合体を使用する。共有結合体化のための有用な担体タンパク質は、ジフテリアトキソイド又は破傷風トキソイドなどの細菌トキシン又はトキソイド、或いはCRM197ジフテリアトキシン変異体などのその誘導体である[35～37]。他の適切な担体タンパク質としては、N.meningitidis外膜タンパク質[38]、合成ペプチド[39、40]、熱ショックタンパク質[41、42]、百日咳タンパク質[43、44]、サイトカイン[45]、リンホカイン[45]、ホルモン[45]、成長因子[45]、N19[47]などの様々な病原体由来抗原からの複数のヒトCD4⁺T細胞エピトープを含む人工タンパク質[46]、H.influenzaeからのタンパク質D[48～50]、ニューモリシン[51]、肺炎球菌表面タンパク質PspA[52]、鉄取込みタンパク質[53]、C.difficileからのトキシンA又はB[54]などがある。

30

【0060】

ジフテリアトキソイド(Dt)、破傷風トキソイド(Tt)及びCRM197が小児ワクチンに現在用いられている主な担体であり、例えば、GSKからのHib結合体はTtを担体として用い、HIBTITER（商標）製品はCRM197を用い、PREVENAR（商標）中の肺炎球菌結合体はCRM197を用い、MENJUGATE（商標）及びMENINGITEC（商標）製品はCRM197を用い、NEISVAC-C（商標）はTtを用いる。

40

【0061】

1：5（すなわち、タンパク質過剰）から5：1（すなわち、サッカリド過剰）までのサッカリド：タンパク質比（重量/重量）、例えば、1：2から5：1までの比及び1：1.25から1：2.5までの比を有する結合体を用いることができる。参考文献55に記載されているように、混合物中の異なる髄膜炎菌血清群結合体は、異なるサッカリド：タンパク質比を有することができ、例えば、1つは1：2から1：5までの比を有するのに対して、他は5：1から1：1.99までの比を有してよい。

【0062】

結合体は、遊離担体タンパク質とともに用いることができる[56]。所定の担体タンパク質が本発明の組成物中に遊離形態及び結合体化形態の両方で存在する場合、結合体化

50

されていない形態は、全体として組成物中の担体タンパク質の総量の5%以下であってよく、より一般には2重量%未満で存在する。

【0063】

必要な場合には任意の適切なリンカーを用いた任意の適切な結合体化反応を用いることができる。

【0064】

サッカリドは、結合体化の前に一般的に活性化又は官能基化する。活性化は、例えば、CDAPなどのシアニル化試薬（例えば、1-シアノ-4-ジメチルアミノピリジニウムテトラフルオロボレート[57、58等]）を必要とする場合がある。他の適切な技術は、活性エステル、カルボジイミド、ヒドラジド、ノルボラン、p-ニトロ安息香酸、N-ヒドロキシスクシンイミド、S-NHS、EDC、TSTUを用いるものである（参考文献11の導入も参照）。

【0065】

リンカー基を介しての結合は、任意の既知の手順、例えば、参考文献59及び60に記載されている手順を用いて行わせることができる。結合の1つの種類は、多糖の還元的アミノ化、得られたアミノ基をアジピン酸リンカー基の1つの末端とカップリングし、次にタンパク質をアジピン酸リンカー基の他の末端とカップリングする工程を含む[61、62]。他のリンカーとしては、-プロピオンアミド[63]、ニトロフェニルエチルアミン[64]、ハロゲン化ハロアシル[65]、グリコシド結合[66]、6-アミノカプロン酸[67]、ADH[68]、C₄~C₁₂部分[69]などがある。カルボジイミド縮合も用いることができる[70]。リンカーを用いることに代わるものとして、直接結合を用いることができる。タンパク質に対する直接結合は、例えば、参考文献71及び72に記載されているような、多糖の酸化、その後のタンパク質を用いた還元的アミノ化を含んでよい。

【0066】

アミノ基のサッカリドへの導入（例えば、末端=O基を-NH₂で置換することによる）、その後のアジピン酸ジエステル（例えば、アジピン酸N-ヒドロキシスクシンイミドジエステル）を用いた誘導体化及び担体タンパク質との反応を含む方法を用いることができる。他の有用な反応において、サッカリドをシアニル化試薬で誘導体化した後、リンカーを用いる必要がなく、タンパク質にカップリングさせる（直接、或いはチオール又はヒドラジド求核基の担体への導入後）。適切なシアニル化試薬は、1-シアノ-4-（ジメチルアミノ）-ピリジニウムテトラフルオロボレート（「CDAP」）、シアン酸p-ニトロフェニル及びテトラフルオロホウ酸N-シアノトリエチルアンモニウム（「CTEA」）などがある。

【0067】

参考文献73に記載されているように、混合物は、直接的なサッカリド/タンパク質結合を有する1つの結合体及びリンカーを介しての結合を有する他の結合体を含んでよい。この配合は、特に異なる髄膜炎菌血清群のサッカリド結合体を用いる場合に適用され、例えば、MenA及びMenCサッカリドはリンカーを介して結合体化させることができるのに対して、MenW135及びMenYサッカリドは担体タンパク質に直接結合体化させることができる。

【0068】

結合体化の後に、遊離サッカリドと結合体化サッカリドとを分離することができる。この分離について、疎水性クロマトグラフィー、接線限外ろ過、ダイアフィルトレーション等を含む多くの適切な方法がある（参考文献74及び75等も参照）。ワクチンが遊離形態及び結合体化形態の両方の所定のサッカリドを含む場合、結合体化されていない形態は全体として組成物中の当サッカリドの総量の20重量%以下であることが一般的である（例えば、15%、10%、5%、2%、1%）。

【0069】

各結合体の担体（結合体化されているもの及び結合体化されていないもの）の量は、1

10

20

30

40

50

00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下、例えば、 $< 30 \mu\text{g}/\text{ml}$ の各結合体の担体タンパク質であってよい。いくつかの組成物は、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満、例えば、 $< 400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $< 300 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $< 200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $< 100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $< 50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 等の担体の総濃度を含む。

【0070】

本発明の組成物の特性

上述の抗原性成分に加えて、本発明の組成物（混合の前及び後の両方）は、一般的に非抗原性成分を含む。非抗原性成分は、下でより詳細に述べるように、担体、アジュバント、賦形剤、緩衝剤等を含んでいてよい。

【0071】

本発明の組成物は、通常、1つ又は複数の薬剤担体及び／又は賦形剤を含む。滅菌済みの発熱物質不含有リン酸緩衝生理食塩液は、一般的な担体である。薬剤学的に許容できる賦形剤の十分な考察は、参考文献76で得られる。

【0072】

張度を調節するために、ナトリウム塩などの生理的塩を含めることが有用である。塩化ナトリウム（NaCl）は、1～20 mg/ml で存在していてよい、1つのそのような塩である。

【0073】

水性組成物（凍結乾燥材料の再構成の前及び／又は後）は、一般的に200 mOsm/kg から400 mOsm/kg まで、例えば、240～360 mOsm/kg 、又は290～320 mOsm/kg の範囲内の重量オスモル濃度を有する。

【0074】

本発明の組成物は、1つ又は複数の緩衝剤を含んでいてよい。一般的な緩衝剤としては、リン酸緩衝剤、トリス緩衝剤、ホウ酸緩衝剤、コハク酸緩衝剤、ヒスチジン緩衝剤又はクエン酸緩衝剤などがある。緩衝剤は、一般的に5～20 mM の範囲で含める。そのような緩衝剤は、水性及び／又は凍結乾燥成分に含まれていてよい。

【0075】

水性組成物のpHは、一般的に5.0～7.5、より一般的には最適な安定性のために5.0～6.0、又は6.0～7.0である。

【0076】

本発明の組成物は、好ましくは無菌性である。

【0077】

本発明の組成物は、好ましくは非発熱性であり、例えば、用量当たり $< 1 \text{ EU}$ （エンドトキシン単位、標準的尺度）、好ましくは用量当たり $< 0.1 \text{ EU}$ を含む。

【0078】

本発明の組成物は、グルテンを含まなくてよい。

【0079】

本発明の一部のワクチンは、アジュバント化されていない。本発明の他のワクチンは、アジュバントを含む。非アジュバント化ワクチンは、非アジュバント化成分を混合することによって調製することができる。アジュバント化ワクチンは、複数のアジュバント化成分を混合することによって、アジュバント化成分と非アジュバント化成分とを混合することによって、又は非アジュバント化成分とアジュバントとを混合することによって調製することができる。

【0080】

抗原が吸着している場合、組成物は、濁った外観を有する懸濁液である可能性がある。この外観は、微生物汚染を容易に見ることができないことを意味し、したがって、ワクチンは保存剤を含んでいてよい。ワクチンを多用量容器に包装する場合に、これは特に重要である。含めるのに有用な保存剤は、2-フェノキシエタノール及びチメロサルである。しかし、可能な場合には水銀保存剤（例えば、チメロサル）を用いないことが推奨される。本発明の化合物は約25 ng/ml 未満の水銀を含むことが好ましい。そのような

10

20

30

40

50

保存剤は、水性及び／又は凍結乾燥成分に含まれていてよい。

【0081】

Al^{3+} により表した組成物中のあらゆるアルミニウム塩の濃度は、好ましくは5 mg/ml未満、例えば、4 mg/ml、3 mg/ml、2 mg/ml、1 mg/ml、 < 0.85 mg/ml等である。

【0082】

本発明の組成物は、患者に0.5 mlの用量で投与することができる。0.5 mlの用量への言及は、通常の変動、例えば、 $0.5\text{ ml} \pm 0.05\text{ ml}$ を含むと理解される。

【0083】

アジュバント

本発明の組成物は、アジュバントを含んでいてよく、このアジュバントは、1つ又は複数のアルミニウム塩、特に、リン酸アルミニウムアジュバント及び／又は水酸化アルミニウムアジュバントを含んでいてよい。本発明の組成物を調製するのに用いる抗原性成分は、用いる前にアルミニウムアジュバントを含んでいてよい。すなわち、それらは、アジュバントに「前混合」又は「前吸着」させる。現在用いられているアルミニウムアジュバントは、「水酸化アルミニウム」又は「リン酸アルミニウム」アジュバントと一般的に呼ばれている。しかし、いずれも存在する実際の化合物の正確な記述ではないので、これらは便宜上の名称である（例えば、参考文献77の9章を参照）。本発明は、一般的にアジュバントとして用いられている「水酸化物」又は「リン酸」塩のいずれかを用いることができる。

【0084】

「水酸化アルミニウム」として知られているアジュバントは、通常少なくとも部分的に結晶性である、一般的にアルミニウムオキシ水酸化物塩である。式 $AlO(OH)$ により表すことができる、オキシ水酸化物アルミニウムは、赤外（IR）分光法により、特に 1070 cm^{-1} における吸着帯と $3090 \sim 3100\text{ cm}^{-1}$ における強いショルダーによって水酸化アルミニウム（ $Al(OH)_3$ ）などの他のアルミニウム化合物と区別することができる（参考文献77の9章）。

【0085】

「リン酸アルミニウム」として知られているアジュバントは、しばしば少量の硫酸塩も含む、一般的にヒドロキシリン酸アルミニウムである。それらは沈殿により得ることができる、沈殿中の反応条件及び濃度が塩におけるヒドロキシルのリン酸による置換の程度に影響を及ぼす可能性がある。ヒドロキシリン酸塩は、一般的に $0.3 \sim 0.99$ の PO_4 / Al モル比を有する。ヒドロキシリン酸塩は、ヒドロキシル基の存在によって厳密な $AlPO_4$ と区別することができる。例えば、 3164 cm^{-1} におけるIRスペクトル帯（例えば、 200°C に加熱したとき）は、構造ヒドロキシルの存在を示している（参考文献77の9章）。

【0086】

リン酸アルミニウムアジュバントの PO_4 / Al^{3+} モル比は、一般的に $0.3 \sim 1.2$ 、好ましくは $0.8 \sim 1.2$ 、より好ましくは 0.95 ± 0.1 である。リン酸アルミニウムは、特にヒドロキシリン酸塩については一般的に非晶質である。一般的なアジュバントは、 $0.6\text{ mg } Al^{3+} / \text{ml}$ で含まれる、 $0.84 \sim 0.92$ の PO_4 / Al モル比を有する非晶質ヒドロキシリン酸アルミニウムである。リン酸アルミニウムは、一般的に微粒子である。粒子の一般的な直径は、任意の抗原の吸着後に $0.5 \sim 20\text{ }\mu\text{m}$ の範囲内にある（例えば、約 $5 \sim 10\text{ }\mu\text{m}$ ）。

【0087】

リン酸アルミニウムのPZCは、ヒドロキシルのリン酸による置換の程度と逆の関連性があり、この置換の程度は、沈殿により塩を調製するのに用いる反応条件及び反応物の濃度によって異なる可能性がある。PZCはまた、溶液中の遊離のリン酸イオンの濃度を变化させること（より多くのリン酸＝より酸性のPZC）により、又はヒスチジン緩衝剤などの緩衝剤を加えること（PZCをより塩基性にする）により変化する。本発明により用

10

20

30

40

50

いるリン酸アルミニウムは、一般的に 4 . 0 ~ 7 . 0、より好ましくは 5 . 0 ~ 6 . 5、例えば、約 5 . 7 の P Z C を有する。

【 0 0 8 8 】

本発明の組成物を調製するのに用いるリン酸アルミニウム溶液は、緩衝剤（例えば、リン酸又はヒスチジン又はトリス緩衝剤）を含んでいてよいが、これは必ずしも必要ではない。リン酸アルミニウム溶液は、無菌性で、発熱物質不含であることが好ましい。リン酸アルミニウム溶液は、例えば、1 . 0 ~ 2 0 m M、好ましくは 5 ~ 1 5 m M、より好ましくは約 1 0 m M の濃度で存在する遊離の水性リン酸イオンを含んでいてよい。リン酸アルミニウム溶液は、塩化ナトリウムも含んでいてよい。塩化ナトリウムの濃度は、好ましくは 0 . 1 ~ 1 0 0 m g / m l の範囲内にあり（例えば、0 . 5 ~ 5 0 m g / m l、1 ~ 2 0 m g / m l、2 ~ 1 0 m g / m l）、より好ましくは約 3 ± 1 m g / m l である。NaCl の存在により、抗原の吸着の前の pH の正しい測定が容易になる。

【 0 0 8 9 】

含めることができるさらなる抗原

結合体 *N . meningitidis* 及び *Hib* サッカリドを含むことに加えて、組成物は、1 つ又は複数のさらなる抗原を含んでいてよい。例えば、それらは、他の病原体、特に細菌及び / 又はウイルスからの抗原を含んでいてよい。適切なさらなる抗原は、以下から選択することができる。

【 0 0 9 0 】

- ・ジフテリアトキソイド（「D」）
 - ・破傷風トキソイド（「T」）
 - ・一般的に無細胞性（「aP」）である、百日咳抗原（「P」）
 - ・B型肝炎ウイルス（HBV）表面抗原（「HBsAg」）
 - ・不活性化ポリオウイルスワクチン（IPV）
 - ・A型肝炎ウイルス（HAV）抗原
 - ・*Streptococcus pneumoniae* の莢膜サッカリド
- これらの抗原は、本発明の水性成分から通常生じる。

【 0 0 9 1 】

ジフテリアトキソイド

Corynebacterium diphtheriae がジフテリアを引き起こす。ジフテリアトキシンは、処理すること（例えば、ホルマリン又はホルムアルデヒドを用いて）により、注射後の特異的抗トキシン抗体を誘導する能力を保持すると同時に毒性を除くことができる。これらのジフテリアトキソイドは、ジフテリアワクチンに用いられており、参考文献 1 の 1 3 章により詳細に開示されている。好ましいジフテリアトキソイドは、ホルムアルデヒド処理により調製されるものである。ジフテリアトキソイドは、ウシ抽出物を添加されていてよい増殖培地（例えば、Fenton 培地又は Linggoud & Fenton 培地）中で *C . diphtheriae* を増殖させた後、ホルムアルデヒド処理し、限外ろ過し、沈殿させることにより得ることができる。トキソイド化物質は、次に滅菌ろ過及び / 又は透析を含む方法により処理することができる。

【 0 0 9 2 】

ジフテリアトキソイドの量は、国際単位（IU）で表すことができる。例えば、NIBSC は、アンプル当たり 1 6 0 IU を含む「ジフテリアトキソイド吸着第 3 国際標準 1 9 9 9（*Diphtheria Toxoid Adsorbed Third International Standard 1999*）」[7 8、7 9] を供給している。IU 系に代わるものとして、「Lf」単位（「凝集単位」又は「ライム凝集用量」（*lime flocculating dose*））は、1 国際単位の抗トキシンと混合するとき、最適凝集混合物を生じさせるトキソイドの量と定義される [8 0]。例えば、NIBSC は、アンプル当たり 3 0 0 Lf を含む「ジフテリアトキソイド、プレーン（*Diphtheria Toxoid, Plain*）」[8 1] を供給しており、またアンプル当たり 9 0 0 Lf を含む「凝集試験用のジフテリアトキソイド用の第 1 国際参照試薬

10

20

30

40

50

(The 1st International Reference Reagent For Diphtheria Toxoid For Flocculation Test)」[82]を供給している。

【 0 0 9 3 】

組成物は、一般的に 2 0 ~ 8 0 L f、一般的に約 5 0 L f のジフテリアトキソイドを含む。

【 0 0 9 4 】

I U測定により、組成物は一般的に少なくとも 3 0 I U / 用量を含む。

【 0 0 9 5 】

ジフテリアトキソイドは、実用的には水酸化アルミニウムアジュバント上に吸着されている。

10

【 0 0 9 6 】

破傷風トキソイド

Clostridium tetani が破傷風を引き起こす。破傷風トキシンを処理して、保護トキソイドを得ることができる。該トキソイドは、破傷風ワクチンに用いられており、参考文献 1 の 2 7 章により詳細に開示されている。好ましい破傷風トキソイドは、ホルムアルデヒド処理により調製されるものである。破傷風トキソイドは、増殖培地（例えば、ウシカゼイン由来の Latham 培地）中で C. tetani を増殖させた後、ホルムアルデヒド処理し、限外ろ過し、沈殿させることにより得ることができる。該物質は、次に滅菌ろ過及び / 又は透析を含む方法により処理することができる。

20

【 0 0 9 7 】

破傷風トキソイドの量は、国際単位 (I U) で表すことができる。例えば、NIBSC は、アンプル当たり 4 6 9 I U を含む「破傷風トキソイド吸着第 3 国際標準 2 0 0 0 (Tetanus Toxoid Adsorbed Third International Standard 2 0 0 0) 」[8 3 、 8 4] を供給している。I U 系に代わるものとして、「 L f 」単位（「凝集単位」又は「ライム凝集用量」(limes flocculating dose) ）は、1 国際単位の抗トキシンと混合するとき、最適凝集混合物を生じさせるトキソイドの量と定義される [8 0]。例えば、NIBSC は、アンプル当たり 1 0 0 0 L F を含む「凝集試験用の破傷風トキソイド用の第 1 国際参照試薬 (The 1st International Reference Reagent For Tetanus Toxoid For Flocculation Test) 」[8 5] を供給している。

30

【 0 0 9 8 】

組成物は、一般的に 5 ~ 5 0 L f、一般的に約 2 0 L f のジフテリアトキソイドを含む。

【 0 0 9 9 】

I U測定により、組成物は一般的に少なくとも 4 0 I U / 用量を含む。

【 0 1 0 0 】

破傷風トキソイドは、水酸化アルミニウムアジュバント上に吸着させることができるが、これは必要でない（例えば、0 ~ 1 0 % の総破傷風トキソイドの吸着を用いることができる）。

40

【 0 1 0 1 】

百日咳抗原

Bordetella pertussis が百日咳を引き起こす。ワクチン中の百日咳抗原は、細胞性（不活性化 B. pertussis 細胞の形の全細胞）又は無細胞性である。細胞性百日咳抗原の調製は、十分に文書化されており（参考文献 1 の 2 1 章を参照）、例えば、それは B. pertussis の第 I 期培養物の熱不活性化により得ることができる。しかし、代替として、無細胞性抗原を使用することができる。

【 0 1 0 2 】

無細胞性抗原を用いる場合、次の抗原の 1 つ、2 つ又は（好ましくは）3 つを用いるこ

50

とが好ましい：(1) 解毒百日咳トキシン(百日咳トキソイド又は「PT」)、(2) 繊維状赤血球凝集素(「FHA」)、(3) パータクチン(「69キロダルトン外膜タンパク質」としても知られている)。これらの3つの抗原は、好ましくは修正Stainer-Scholte液体培地中で増殖させたB.pertussis培養物から分離することによって調製する。PT及びFHAは発酵ブロスから分離することができる(例えば、ヒドロキシアパタイトゲル上への吸着により)のに対して、パートクチンは熱処理及び凝集(例えば、塩化バリウムを用いた)により細胞から抽出することができる。抗原は、連続的なクロマトグラフ及び/又は沈殿工程で精製することができる。PT及びFHAは、例えば、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーにより精製することができる。パートクチンは、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーにより精製することができる。FHA及びパートクチンは、本発明による使用の前にホルムアルデヒドにより処理することができる。PTは、ホルムアルデヒド及び/又はグルタルアルデヒドによる処理により解毒することができる。この化学的解毒手順に代わるものとして、PTは酵素活性が変異誘発によって低下した変異体PTであってよい[86]が、化学的処理による解毒がより一般的である。

【0103】

無細胞性百日咳抗原は、1つ又は複数のアルミニウム塩アジュバントに吸着させることができる。代わるものとして、それらは、非吸着状態で加えることができる。パートクチンを加える場合、それが既に水酸化アルミニウムアジュバント上に吸着していることが好ましい。PT及びFHAは、水酸化アルミニウムアジュバント又はリン酸アルミニウムに吸着させることができる。PT、FHA及びパートクチンのすべてが水酸化アルミニウムに吸着していることが有用である。

【0104】

組成物は、一般的に1~50µg/用量のPT、1~50µg/用量のFHA及び1~50µgのパートクチンを含む。

【0105】

PT、FHA及びパートクチンに加えて、無細胞性百日咳ワクチンにフィムブリエ(例えば、凝集原2及び3)を含めることが可能である。

【0106】

B型肝炎ウイルス表面抗原

B型肝炎ウイルス(HBV)は、ウイルス性肝炎を引き起こす既知の作用物質の1つである。HBVビリオンは、外部タンパク質被膜又はキャプシドによって囲まれている内部コアからなっており、ウイルスコアは、ウイルスDNAゲノムを含む。キャプシドの主成分は、一般的に分子量が約24kDaの226アミノ酸ポリペプチドである、HBV表面抗原、又はより一般的に、「HBsAg」として知られているタンパク質である。すべての既存のB型肝炎ワクチンは、HBsAgを含み、この抗原を正常ワクチン接種者に投与したとき、それはHBV感染を防御する抗HBsAg抗体の産生を刺激する。

【0107】

ワクチン製造については、HBsAgを2つの方法で製造している。第1の方法は、HBV感染中に大量のHBsAgが肝臓で合成され、血流中に放出されているので、慢性B型肝炎キャリアーの血漿からの微粒子状の抗原を精製することを含む。第2の方法は、組換えDNA法によりタンパク質を発現させることを含む。本発明の方法で用いるHBsAgは、酵母細胞において組換えにより発現させることが好ましい。適切な酵母は、例えば、Saccharomyces(S.cerevisiaeなど)又はHanensula(H.polymorphaなど)宿主などがある。

【0108】

HBsAgは、通常グリコシル化されていない。天然HBsAg(すなわち、血漿精製製品中に存在する)と異なり、酵母発現HBsAgは一般的にグリコシル化されておらず、これが本発明で用いるHBsAgの最も好ましい形態である。その理由は、それが高度

10

20

30

40

50

に免疫原性であり、血液製剤汚染のリスクなしに調製することができるためである。

【 0 1 0 9 】

H B s A g は、一般的に、リン脂質を含む脂質マトリックスを含む、実質的に球形粒子（平均直径が約 2 0 n m ）の形態である。酵母発現 H B s A g 粒子は、天然 H B V ビリオンに認められないホスファチジルイノシトールを含む可能性がある。該粒子は、免疫系を刺激するために無毒性量の L P S も含んでいてよい [8 7]。H B s A g は、リン脂質を含む脂質マトリックス、ホスファチジルイノシトール及びポリソルベート 2 0を含む粒子の形態であってよい。

【 0 1 1 0 】

すべての既知の H B V サブタイプは、共通の決定因子「 a 」を含む。他の決定因子及び下位決定因子と組み合わせることにより、a y w 1、a y w 2、a y w 3、a y w 4、a y r、a d w 2、a d w 4、a d r q - 及び a d r q + の 9 つのサブタイプが特定された。これらのサブタイプのほかに、免疫化した個体で検出された H B V 突然変異体（「エスケープ突然変異体」）などの他の変異体が発生した。本発明で用いる通常の H B V サブタイプは、サブタイプ a d w 2 である。

10

【 0 1 1 1 】

「 S 」配列に加えて、表面抗原は、前 S 1 及び / 又は前 S 2 配列のすべて又は一部などの前 S 配列のすべて又は一部を含んでいてよい。

【 0 1 1 2 】

H B s A g の量は、一般的にマイクログラム単位で表し、ワクチン用量当たりの H B s A g の一般的な量は、5 ~ 5 μ g、例えば、1 0 μ g / 用量である。

20

【 0 1 1 3 】

H B s A g は、最終ワクチン中（よく知られている E N G E R I X - B（商標）製品中のような）の水酸化アルミニウムアジュバントに吸着させてよく、又は非吸着のままであってよいが、一般的にはリン酸アルミニウムアジュバントに吸着させる [8 8]。

【 0 1 1 4 】

不活性化ポリオウイルスワクチン

ポリオウイルスは、灰白髄炎を引き起こす。本発明は、経口ポリオウイルスワクチンを使用せずに、参考文献 1 の 2 4 章により詳細に開示されているような I P V を使用することができる。

30

【 0 1 1 5 】

ポリオウイルスは、細胞培養物中で増殖させることができ、好ましい培養は、サル腎臓由来のベロ細胞系を使用するものである。ベロ細胞は、ミクロ担体上で好都合に培養することができる。増殖後、ビリオンを限外ろ過、ダイアフィルトレーション及びクロマトグラフィーなどの技術を用いて精製することができる。患者に投与する前に、ポリオウイルスを不活性化しなければならないが、これはホルムアルデヒドによる処理により達成することができる。

【 0 1 1 6 】

灰白髄炎は、3 種類のポリオウイルスの 1 つにより引き起こされる可能性がある。3 つの種類の、類似しており、同じ症状を引き起こすが、抗原性が非常に異なり、1 つの種類による感染は他の種類による感染を防御しない。したがって、本発明において 1 型ポリオウイルス（例えば、M a h o n e y 株）、2 型ポリオウイルス（例えば、M E F - 1 株）及び 3 型ポリオウイルス（例えば、S a u k e t t 株）の 3 つのポリオウイルス抗原を用いることが好ましい。ウイルスは、好ましくは個別に増殖させ、精製し、不活性化し、次いで、混合して、本発明で使用するバルク 3 価混合物を得る。

40

【 0 1 1 7 】

I P V の量は、一般的に「 D U 」単位（「 D 抗原単位」 [8 9]）で表される。用量当たりウイルスの種類当たり 1 ~ 1 0 0 D U、例えば、約 8 0 D U の 1 型ポリオウイルス、約 1 6 D U の 2 型ポリオウイルス及び約 6 4 D U の 3 型ポリオウイルスを含めることが通常である。

50

【0118】

ポリオウイルス抗原は、本発明の組成物を作製するのに用いる前に任意のアルミニウム塩アジュバントに吸着させないことが好ましいが、保存中にワクチン組成物中のアルミニウムアジュバントに吸着した状態になる可能性がある。

【0119】

A型肝炎ウイルス抗原

A型肝炎ウイルス(HAV)は、ウイルス性肝炎を引き起こす既知の作用物質の1つである。HAVワクチンは、参考文献1の15章に開示されている。有用なHAV成分は、不活性化ウイルスに基づいており、不活性化はホルマリン処理により達成することができる。ウイルスは、MRC-5細胞などのヒト胚肺二倍体線維芽細胞上で増殖させることができる。CR326Fも用いることができるが、有用なHAV株は、HM175である。細胞は、ウイルスの増殖を可能にする条件下で増殖させることができる。細胞を溶解し、得られる懸濁液を限外ろ過及びゲル透過クロマトグラフィーにより精製することができる。

10

【0120】

EU(Elisa単位)で測定される、HAV抗原の量は、一般的に少なくとも約500EU/mlである。

【0121】

肺炎球菌サッカリド

結合体化肺炎球菌抗原は、担体タンパク質に結合体化したStreptococcus pneumoniaeの莢膜サッカリド抗原を含む[例えば、参考文献90~92を参照]。S.pneumoniaeの1つより多い血清型のサッカリドを含めることが通常であり、5~11種の異なる血清型の多糖を含む結合体ワクチン[93]と同様に、23種の異なる血清型の多糖の混合物が広く用いられている。例えば、PREVNAR(商標)[94]は、各サッカリドを還元的アミノ化によりCRM197に個別に結合体化させ、0.5mlの用量当たり2µgの各サッカリド(4µgの血清型6B)を含む、7つの血清型の抗原(4、6B、9V、14、18C、19F及び23F)を含む。

20

【0122】

本発明の組成物は、少なくとも血清型6B、14、19F及び23Fのサッカリド抗原を含んでいてよい。さらなる血清型は、1、3、4、5、7F、9V及び18Cから選択することができる。肺炎球菌の血清型の7価(PREVNAR(商標)におけるような)、9価(例えば、PREVNARの7つの血清型+1及び5)、10価(例えば、PREVNARの7つの血清型+1、5及び7F)及び11価(例えば、PREVNARの7つの血清型+1、3、5及び7F)保護範囲が特に有用である。

30

【0123】

通常、組成物は、存在する各血清型の用量当たり1µg~20µg(サッカリドとして測定される)を含む。

【0124】

水中油型エマルジョンアジュバントを含む凍結乾燥結合体

髄膜炎菌結合体を含む改善されたワクチン用製剤を提供することが本発明のさらなる態様の目的であり、水中油型エマルジョンを用いて、複数の髄膜炎菌血清群の莢膜サッカリドを含む凍結乾燥髄膜炎菌成分を再構成する。

40

【0125】

したがって、本発明は、(i)水中油型エマルジョン成分と、(ii)Neisseria meningitidisの1つより多い血清群に由来する莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分とを含むキットを提供する。患者に投与するために、エマルジョン及び凍結乾燥成分を混合して、注射に適する液体ワクチンを得る。

【0126】

本発明はまた、(i)水中油型エマルジョン成分と、(ii)Neisseria meningitidisの1つより多い血清群に由来する莢膜サッカリドの結合体を含む

50

凍結乾燥成分とを合わせる工程を含む、ワクチンを調製する方法を提供する。

【0127】

本発明はまた、水中油型エマルジョン成分と *Neisseria meningitidis* の 1つより多い血清群 に由来する莢膜サッカリドの凍結乾燥結合体とを合わせることによって調製される、水中油型エマルジョン中に *Neisseria meningitidis* 莢膜サッカリドの結合体を含むワクチンを提供する。該ワクチンは、凍結乾燥安定化剤を含んでいてよい（下記を参照）。

【0128】

本発明はまた、患者に投与するための薬剤の製造における、(i) 水中油型エマルジョンと、(ii) *Neisseria meningitidis* の 1つより多い血清群 に由来する莢膜サッカリドの結合体を含む凍結乾燥成分との使用を提供する。

10

【0129】

本発明はまた、免疫化で使用するための、(i) 水中油型エマルジョンと、(ii) *Neisseria meningitidis* の 1つより多い血清群 に由来する莢膜サッカリドの結合体とを含む凍結乾燥成分との組合せを提供する。

【0130】

本発明のこの態様のための凍結乾燥成分の特性は、1つより多い血清群の結合体 を常を含むことを除いて、上述の通りである。さらに、水中油型エマルジョンを用いる場合、凍結乾燥成分は一般的にアジュバントを含まない。

【0131】

20

包装（例えば、キット形、独立した容器、多チャンバーシリンジ、バイアル等）、再構成、投与（例えば、患者、スケジュール、注射等）、結合体化（例えば、担体タンパク質、サッカリド：タンパク質比、結合等）及び最終組成物（例えば、担体、重量オスモル濃度、緩衝剤、pH等）の特性も上述の通りである。エマルジョンは、水性 Hib 成分について上述したのと同じ方法に必要な変更を加えて用いることができる。

【0132】

本発明のこの態様による組成物は、上述のようなさらなる非髄膜炎抗原、例えば D、T、P、HBV、IPV、HAV 及びノ又は肺炎球菌抗原を含んでいてよい。上述のように、これらは、水性成分中、例えば、エマルジョンアジュバント中に存在していてよい。

【0133】

30

本発明のこの態様のワクチンは、髄膜炎菌結合体及びエマルジョンに加えて Hib 結合体を含むことが有利であり得る。Hib 結合体は、最初は、例えば、凍結乾燥髄膜炎菌結合体とともに凍結乾燥形であるか、又は水性形であってよい。いくつかの実施形態において、Hib 結合体は、エマルジョンとの混合物中に存在し、Hib / エマルジョン混合物を用いて凍結乾燥髄膜炎菌結合体を再構成してよい。

【0134】

本発明は、水中油型エマルジョン中に 2 つ以上（例えば、2、3 又は 4 つ）の *Neisseria meningitidis* 血清群の莢膜サッカリド及び H. influenzae B 型莢膜サッカリドの結合体を含むワクチンを提供する。本発明のこの態様において有用な Hib 結合体の特性は、例えば、(i) 結合体化、(ii) サッカリド部分の長さ、(iii) 担体タンパク質及び (iv) 髄膜炎菌結合体に対する用量比に関して上でより詳細に開示している。

40

【0135】

本発明で用いることができる特定の水中油型エマルジョンは、以下を含むが、それらに限定されない。

【0136】

・スクアレン、トウイーン 80 及びスパン 85 のサブミクロンエマルジョン。エマルジョンの容積組成は、スクアレン約 5 %、ポリソルベート 80 約 0.5 % 及びスパン 85 約 0.5 %（又は、2 × 濃縮物のためにこれらの量を 2 倍する）であってよい。重量に換算すると、これらの量はスクアレンが 4.3 %、ポリソルベート 80 が 0.5 %、スパン 8

50

5 が 0.48% となる。このアジュバントは、「MF59」として知られている。MF59 エマルジョンは、クエン酸イオン、例えば、10 mM クエン酸ナトリウム緩衝液を含むことが有利である。

【0137】

・スクアレン、トコフェロール及びトウイーン80のエマルジョン。エマルジョンは、リン酸緩衝生理食塩水を含んでいてよい。エマルジョンは、スパン85（例えば、1%）及び/又はレシチンも含んでいてよい。これらのエマルジョンは、2~10%のスクアレン、2~10%のトコフェロール及び0.3~3%のトウイーン80を有していてよく、より安定なエマルジョンを与える比であるので、スクアレン：トコフェロールの重量比は好ましくは1（例えば、0.90）である。スクアレン及びトウイーン80は、約5：2の容積比又は約11：5の重量比で存在していてよい。1つのそのようなエマルジョンは、トウイーン80を2%溶液が得られるようにPBSに溶解し、次いで、この溶液の90mlを（5gのDL- - トコフェロール及び5mlのスクアレン）の混合物と混合し、次いで、混合物を微小流動化することにより作製することができる。得られるエマルジョンは、例えば、100~250nm、好ましくは約180nmの平均直径を有するサブミクロン油小滴を有していてよい。エマルジョンは、3d-MPL及び/又はサポニン（例えば、QS21）も含んでいてよい。

10

【0138】

・スクアレン、トコフェロール及びトリトン界面活性剤（例えば、トリトンX-100）のエマルジョン。エマルジョンは、3-O-脱アシル化モノホスホリル脂質A（「3d-MPL」）も含んでいてよい。エマルジョンは、リン酸緩衝液を含んでいてよい。

20

【0139】

・スクアレン、Pluronic F-68ブロックコポリマー、卵ホスファチジルコリン、グリセロール及びトコフェロールを含むエマルジョン[95]。

【0140】

・スクアレン、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート80）、トリトン界面活性剤（例えば、トリトンX-100）及びトコフェロール（例えば、コハク酸 - トコフェロール）を含むエマルジョン。エマルジョンは、約75：11：10の質量比でこれらの3つの成分を含んでいてよく（例えば、750µg/mlポリソルベート80、110µg/mlトリトンX-100及び100µg/mlコハク酸 - トコフェロール）、これらの濃度は、抗原からのこれらの成分のあらゆる寄与を含むべきである。エマルジョンは、3d-MPLも含んでいてもよい。エマルジョンは、QS21などのサポニンも含んでいてもよい。水相は、リン酸緩衝液を含んでいてよい。

30

【0141】

・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）及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ビタン又は「スパン80」などのソルビタンエステル又はマンニドエステル）を含むエマルジョン。エマルジョンは、好ましくは熱可逆性であり、かつ/又は200nm未満のサイズを有する少なくとも90%（容積で）の油小滴を有する[96]。エマルジョンは、アルジトール、凍結保護剤（例えば、ドデシルマルトシド及び/又はスクロースなどの糖）及び/又はアルキルポリグリコシドのうち1つ又は複数も含んでいてもよい。エマルジョンは、その化学構造が糖環を含まないようなTLR4アゴニストも含んでいてもよい[97]。そのようなエマルジョンは凍結乾燥することができる。

40

【0142】

・スクアレン、ポロキサマー105及びAbil-Careのエマルジョン[98]。アジュバント化ワクチン中のこれらの成分の最終濃度（重量）は、5%スクアレン、4%ポロキサマー105（pluronicポリオール）及び2%Abil-Care85（ビス-PEG/PPG-16/16 PEG/PPG-16/16ジメチコン；カプリル/カプリントリグリセリド）である。

50

【 0 1 4 3 】

・スクアレン、ポリソルベート 80 及びポリキサマー 401 (Pluronic (商標) L121) のエマルジョン。エマルジョンは、リン酸緩衝生理食塩水、pH 7.4 を用いて製剤化することができる。このエマルジョンは、ムラミルジペプチドの有用な送達媒体であり、「SAF-1」アジュバント [99] (0.05 ~ 1% Thr-MDP、5% スクアレン、2.5% Pluronic L121 及び 0.2% ポリソルベート 80) 中でトレオニル-MDP とともに用いられている。このエマルジョンは、「AF」アジュバント [100] (5% スクアレン、1.25% Pluronic L121 及び 0.2% ポリソルベート 80) 中と同様に、Thr-MDP を含めずに用いることもできる。微小流動化が好ましい。

10

【 0 1 4 4 】

・0.5 ~ 50% の油、0.1 ~ 10% のリン脂質及び 0.05 ~ 5% の非イオン性界面活性剤を有するエマルジョン。参考文献 101 に記載されているように、好ましいリン脂質成分は、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジリンノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、スフィンゴミエリン及びカルジオリピンである。サブミクロンの小滴サイズが有利である。

【 0 1 4 5 】

・非代謝性油 (軽鉱油など) 及び少なくとも 1 つの界面活性剤 (レシチン、トウイーン 80 又はスパン 80 など) のサブミクロン水中油型エマルジョン。QuilA サポニン、コレステロール、サポニン-リポファイル結合体 (脂肪族アミンの脱アシルサポニンへのグルクロン酸のカルボキシル基を介しての添加により生成する参考文献 102 に記載されている GPI-0100 など)、ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド及び / 又は N,N-ジオクタデシル-N,N-ビス (2-ヒドロキシエチル) プロパンジアミンなどの添加物を含めることができる。

20

【 0 1 4 6 】

・サポニン (例えば、QuilA 又は QS21) 及びステロール (例えば、コレステロール) がらせん状ミセルとして会合しているエマルジョン [103]。

【 0 1 4 7 】

・鉱油、非イオン性親油性エトキシル化脂肪アルコール及び非イオン性親水性界面活性剤 (例えば、エトキシル化脂肪アルコール及び / 又はポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロックコポリマー) を含むエマルジョン [104]。

30

【 0 1 4 8 】

・鉱油、非イオン性親水性エトキシル化脂肪アルコール及び非イオン性親油性界面活性剤 (例えば、エトキシル化脂肪アルコール及び / 又はポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロックコポリマー) を含むエマルジョン [104]。

【 0 1 4 9 】

スクアレンを含むエマルジョンが好ましい。

【 0 1 5 0 】

一般

40

「含む (comprising)」という用語は、「含む (including)」並びに「からなる」を含む。例えば、X を「含む (comprising)」組成物は、専ら X からなっていてよく、或いは別のもの、例えば、X + Y を含んでいてよい。

【 0 1 5 1 】

「実質的に」という語は、「完全に」を除外しない。例えば、Y を「実質的に含まない」組成物は、Y を完全に含まない可能性がある。必要な場合、「実質的に」という語は本発明の定義から割愛してよい。

【 0 1 5 2 】

数値 x に関する「約」という用語は、例えば、 $x \pm 10\%$ を意味する。

【 0 1 5 3 】

50

特に述べない限り、2つ以上の成分を混合する工程を含む方法は、混合の特定の順序を必要としない。したがって、成分はあらゆる順序で混合することができる。3つの成分が存在する場合、2つの成分を互いに混合することができ、次にその組み合わせ物を第3の成分と混合することができる等である。

【0154】

担体の選択に起因する変動を避けるために、結合体の濃度は、本明細書ではサッカリドの質量により定義する。

【0155】

抗原がアジュバントに「吸着」されていると記述されている場合、その抗原の少なくとも50%（重量）、例えば、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%又はそれ以上が吸着されていることが好ましい。ジフテリアトキソイド及び破傷風トキソイドが両方とも完全に吸着されている、すなわち、上清中に何も検出されないことが好ましい。HBsAgの完全な吸着も好ましい。

【0156】

動物（及び特にウシ）材料を細胞の培養に用いる場合、それらは、伝染性海綿状脳症（TSEs）がない、特に牛海綿状脳症（BSE）がない供給元から入手すべきである。

【発明を実施するための形態】

【0157】

髄膜炎菌サッカリド結合体は、参考文献22に記載されている通りに調製した。血清群A、C、W135及びYのそれぞれの結合体をアジュバントを用いずに混合して、4価髄膜炎菌結合体混合物を得た。この混合物をスクロース/マンニトール混合物などの安定化剤の存在下で凍結乾燥して、将来必要なときに再構成することができる凍結乾燥髄膜炎菌成分を得ることができる。凍結乾燥材料を、再構成の後に5µgの各サッカリド（血清群Aについては10µg）を提供する量でバイアルに充填する。

【0158】

HIBTITER（商標）ワクチン（Wyeth）及び液体PEDVAXHIB（商標）を購入する。HIBTITER（商標）ワクチンはアジュバント化されていないが、液体PEDVAXHIB（商標）はアルミニウム塩アジュバントを含む。両ワクチンは、ガラスバイアル入りで供給される。

【0159】

ガラスバイアルの内容物を針を介してシリンジ中に抜き取り、凍結乾燥材料を含むバイアルに注入する。緩やかに混合した後、内容物を針を介して新たなシリンジ中に取り出す。シリンジの針を注射針と交換し、再構成ワクチンを試験被験体に注射する。

【0160】

最初の動物試験において、10匹のCD1マウスの8つの群を用いる。群1には、参考文献22に記載されているように凍結乾燥MenA結合体と液体MenCWY混合物とを混合することによって調製したMenACWY結合体ワクチンを投与する。群2には凍結乾燥MenACWYの水性再構成により調製したMenACWYワクチンを投与する。群3～5には、（3）硫酸ヒドロキシリン酸アルミニウムアジュバントを含むHib-OMP結合体、例えば、PEDVAXHIB（商標）、（4）リン酸アルミニウムに吸着させたCRM197-Hib結合体、又は（5）非吸着CRM197-Hib結合体、例えば、HIBTITER（商標）で再構成したこと以外は群2と同じワクチンを投与する。これらの3つの液体Hibワクチンを、髄膜炎菌結合体を含めずに群3～5にそれぞれ対応する群6～8に投与する。ワクチンは0、14及び28日目に200µlの容量で皮下に投与する。用量は、1µgのMenCWYサッカリド、2µgのMenAサッカリド及び2.5µgのHibサッカリドである。0、28及び42日目に採取した血清を髄膜炎菌株に対する殺菌活性及び抗PRP反応について試験する。これらの実験の変形形態において、群4に、アジュバント化されているが、リン酸アルミニウムに吸着していないCRM197-Hib結合体を投与する。

【0161】

試験 S S - 0 7 - 0 2 において、5つの結合体に対するレスポンドーの%として、また髄膜炎菌結合体については幾何平均力価 (G M T) として表した、3回の投与後の免疫原性結果は以下の通りであった。

【 0 1 6 2 】

【表 1】

	MenA		MenC		MenW135		MenY		Hib
	GMT	%	GMT	%	GMT	%	GMT	%	%
1	272	100	154	100	146	100	111	100	-
2	656	100	239	100	106	100	233	100	-
3	1882	100	1533	100	1380	100	530	100	37.5
4	116	87.5	205	100	231	100	91	87.5	87.5
5	111	100	70	87.5	66	75	38	75	75
6	-	-	-	-	-	-	-	-	50
7	-	-	-	-	-	-	-	-	62.5
8	-	-	-	-	-	-	-	-	50

10

したがって、液体 H i b と凍結乾燥 M e n A C W Y との組み合わせにより5つのすべての細菌に対する有効性を保持している組成物を得ることができる。良好な結果が群3（硫酸ヒドロキシリン酸アルミニウムアジュバントを含む液体 H i b 結合体による再構成）及び群4（リン酸アルミニウムアジュバントを含む液体 H i b 結合体による再構成）で認められた。群3は、最高の抗髄膜炎菌力価とすべての血清群に対する100%レスポンドーを示したが、H i b 抗原に対するレスポンドーの大きくない数を示した。最良の抗 H i b 反応が群4に認められ、抗髄膜炎菌反応も、特に血清群 W 1 3 5 に対して妥当であった [3]。

20

【 0 1 6 3 】

群3及び4はまた、2回の投与後に良好な免疫反応を示し（データは示さず）、抗 M e n Y 反応は特にこれらの2つの群で群1、2又は5より高かった（ G M T とレスポンドー%の両方について）。群4は2回の投与後に最高の抗髄膜炎菌力価とすべての血清群に対する100%レスポンドーを示した。

30

【 0 1 6 4 】

群4及び5において、髄膜炎菌結合体の存在が H i b サッカリドに対する免疫反応を増大させた（群8を群5と、群7を群4と比較）。液体 H i b 抗原をアジュバント化した、群3及び4において、H i b 結合体の存在が抗 W 1 3 5 力価を増大させた（群2と比較）が、この増大は、非アジュバント化 H i b を用いた、群5では認められなかった。

【 0 1 6 5 】

並行実験において、結合体を水中スクアレンエマルジョン (M F 5 9) を用いて再構成した。3群 (9 ~ 1 1) には (9) 凍結乾燥 M e n A C W Y 結合体、(1 0) C R M 1 9 7 - H i b 結合体又は (1 1) 2つの混合物を投与した。3回の投与後の免疫原性結果は以下の通りであった。

40

【 0 1 6 6 】

【表 2】

	MenA		MenC		MenW135		MenY		Hib
	GMT	%	GMT	%	GMT	%	GMT	%	%
2 & 8	656	100	239	100	106	100	233	100	50
9	1011	100	501	100	423	100	501	100	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	87.5
11	1470	100	600	100	640	100	374	100	100

したがって、水中スクアレニエマルジョンは、髄膜炎菌及びH i b結合体の有効性を改善し、M e n A C W Y + H i b + エマルジョンの組み合わせは、優れた免疫原性をもたらす。

10

【 0 1 6 7 】

組み合わせた製品 4 及び 5 中の M e n A 及び H i b サッカリド結合体における安定性試験を室温で 2 4 時間にわたり N M R を用いて実施した。これらのサッカリドの両方がホスホジエステル結合を含み、したがって、水性形態での保存中に加水分解による分解を受けやすい。しかし、凍結乾燥 M e n A C W Y 混合物を液体 H i b で再構成した後に、M e n A 及び H i b サッカリドの両方がリン酸アルミニウムアジュバントの存在下又は非存在下で完全に安定のままであり、検出できる解重合はなかった。

【 0 1 6 8 】

20

本発明がほんの一例として記述され、本発明の範囲及び精神内に留めながらも改変を行うことができることは理解されよう。

【 0 1 6 9 】

参考文献（これらの内容は、参考として本明細書に援用される）

【 0 1 7 0 】

【化 1】

- [1] *Vaccines*. (eds. Plotkin & Orenstein). 4th edition, 2004, ISBN: 0-7216-9688-0.
- [2] WO02/00249.
- [3] WO2005/032583.
- [4] Ramsay *et al.* (2001) *Lancet* 357(9251):195-196.
- [5] Lindberg (1999) *Vaccine* 17 Suppl 2:S28-36.
- [6] Buttery & Moxon (2000) *J R Coll Physicians Lond* 34:163-168.
- [7] Ahmad & Chapnick (1999) *Infect Dis Clin North Am* 13:113-133, vii.
- [8] Goldblatt (1998) *J. Med. Microbiol.* 47:563-567.
- [9] European patent 0477508.
- [10] US patent 5,306,492.
- [11] WO98/42721.
- [12] *Conjugate Vaccines* (eds. Cruse *et al.*) ISBN 3805549326, particularly vol. 10:48-114.
- [13] Hermanson (1996) *Bioconjugate Techniques* ISBN: 0123423368 or 012342335X.
- [14] WO97/00697.
- [15] Kanra *et al.* (1999) *The Turkish Journal of Paediatrics* 42:421-427.
- [16] Ravenscroft *et al.* (2000) *Dev Biol (Basel)* 103: 35-47.
- [17] *W.H.O. Tech. Rep. Ser.* 594:51, 1976.
- [18] Jones (2001) *Curr Opin Investig Drugs* 2:47-49.
- [19] Costantino *et al.* (1992) *Vaccine* 10:691-8.
- [20] Lieberman *et al.* (1996) *JAMA* 275:1499-503.
- [21] WO02/058737.
- [22] WO03/007985.
- [23] Rennels *et al.* (2002) *Pediatr Infect Dis J* 21:978-979.
- [24] Campbell *et al.* (2002) *J Infect Dis* 186:1848-1851.
- [25] WO03/080678.
- [26] Glode *et al.* (1979) *J Infect Dis* 139:52-56
- [27] WO94/05325; US patent 5,425,946.

10

20

30

【 0 1 7 1 】

【化 2】

- [28] Arakere & Frasch (1991) *Infect. Immun.* 59:4349–4356.
- [29] Michon *et al.* (2000) *Dev. Biol.* 103:151–160.
- [30] Rubinstein & Stein (1998) *J. Immunol.* 141:4357–4362.
- [31] WO2005/033148
- [32] WO2007/000314.
- [33] WO2007/000327.
- [34] WO2007/000322.
- [35] Anonymous (Jan 2002) *Research Disclosure*, 453077. 10
- [36] Anderson (1983) *Infect Immun* 39(1):233-238.
- [37] Anderson *et al.* (1985) *J Clin Invest* 76(1):52-59.
- [38] EP-A-0372501.
- [39] EP-A-0378881.
- [40] EP-A-0427347.
- [41] WO93/17712
- [42] WO94/03208.
- [43] WO98/58668.
- [44] EP-A-0471177.
- [45] WO91/01146 20
- [46] Falugi *et al.* (2001) *Eur J Immunol* 31:3816-3824.
- [47] Baraldo *et al.* (2004) *Infect Immun* 72(8):4884-7.
- [48] EP-A-0594610.
- [49] Ruan *et al.* (1990) *J Immunol* 145:3379-3384.
- [50] WO00/56360.
- [51] Kuo *et al.* (1995) *Infect Immun* 63:2706-13.
- [52] WO02/091998.
- [53] WO01/72337
- [54] WO00/61761. 30
- [55] WO2007/000341.
- [56] WO96/40242
- [57] Lees *et al.* (1996) *Vaccine* 14:190-198.
- [58] WO95/08348.
- [59] US patent 4,882,317
- [60] US patent 4,695,624
- [61] Porro *et al.* (1985) *Mol Immunol* 22:907-919.
- [62] EP-A-0208375
- [63] WO00/10599
- [64] Gevert *et al.* *Med. Microbiol. Immunol*, 165 : 171-288 (1979). 40
- [65] US patent 4,057,685.
- [66] US patents 4,673,574; 4,761,283; 4,808,700.
- [67] US patent 4,459,286.
- [68] US patent 4,965,338
- [69] US patent 4,663,160.

【 0 1 7 2 】

【化 3】

- [70] WO2007/000343.
- [71] US patent 4,761,283
- [72] US patent 4,356,170
- [73] WO2007/000342.
- [74] Lei *et al.* (2000) *Dev Biol (Basel)* 103:259-264.
- [75] WO00/38711; US patent 6,146,902.
- [76] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [77] *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X). 10
- [78] Sesardic *et al.* (2001) *Biologicals* 29:107-22.
- [79] NIBSC code: 98/560.
- [80] Module 1 of WHO's *The immunological basis for immunization series* (Galazka).
- [81] NIBSC code: 69/017.
- [82] NIBSC code: DIFT.
- [83] Sesardic *et al.* (2002) *Biologicals* 30:49-68.
- [84] NIBSC code: 98/552.
- [85] NIBSC code: TEFT.
- [86] Rappuoli *et al.* (1991) *TIBTECH* 9:232-238. 20
- [87] Vanlandschoot *et al.* (2005) *J Gen Virol* 86:323-31.
- [88] WO93/24148.
- [89] Module 6 of WHO's *The immunological basis for immunization series* (Robertson)
- [90] Watson (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19:331-332.
- [91] Rubin (2000) *Pediatr Clin North Am* 47:269-285, v.
- [92] Jedrzejewski (2001) *Microbiol Mol Biol Rev* 65:187-207.
- [93] Zielen *et al.* (2000) *Infect. Immun.* 68:1435-1440.
- [94] Darkes & Plosker (2002) *Paediatr Drugs* 4:609-630.
- [95] WO99/056776.
- [96] US-2007/0014805. 30
- [97] WO2007/080308.
- [98] Suli *et al.* (2004) *Vaccine* 22(25-26):3464-9.
- [99] Allison & Byars (1992) *Res Immunol* 143:519-25.
- [100] Hariharan *et al.* (1995) *Cancer Res* 55:3486-9.
- [101] WO95/11700.
- [102] US patent 6,080,725.
- [103] WO2005/097181.
- [104] WO2006/113373.

フロントページの続き

(72)発明者 コンスタンチーノ, パオロ
イタリア国 イ - 5 3 1 0 0 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバルティス ヴ
ァクシンズ

審査官 平井 裕彰

(56)参考文献 国際公開第2006/097851(WO, A1)
中国特許出願公開第1709505(CN, A)
特表2004-536859(JP, A)
国際公開第2006/075170(WO, A1)
国際公開第2005/089794(WO, A1)
Mendelman PM, et al., Immunogenicity and safety of Haemophilus influenzae type b polys
accharide-Neisseria meningitidis conjugate vaccine in 7.5 µg liquid formulation: a co
mparison of three lots with the 15.0 µg lyophilized formulation, Vaccine, 1997年
, Vol. 15, No. 6-7, p. 775-781
Southern J, et al., Immunogenicity of one, two or three doses of a meningococcal C con
jugate vaccine conjugated to tetanus toxoid, given as a three-dose primary vaccination
course in UK infants at 2, 3 and 4 months of age with acellular pertussis-containing
DTP/Hib vaccine, Vaccine, 2006年 1月12日, Vol. 24, No. 2, p. 215-219

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K39/00~39/44

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)