(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113453711 A
(43)申请公布日 2021.09.28

(21)申请号 201980092246.7

(22)申请日 2019.12.20

(30)优先权数据
62/782,733 2018.12.20 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.16

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/067961 2019.12.20

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/132510 EN 2020.06.25

(71)申请人 武田疫苗股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 T·马苏达 J·舍伍德
P·门德尔曼 F·博纳

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 39/12(2006.01)
A61K 39/39(2006.01)

权利要求书3页 说明书18页
序列表3页 附图17页

(54)发明名称

诺如病毒疫苗配制品及方法

(57)摘要

本发明属于疫苗领域,特别是用于诺如病毒的疫苗。此外,本发明涉及制备疫苗组合物的方法以及诱导和评估人类、特别是儿科患者的针对诺如病毒的保护性免疫应答的方法。

CN 113453711 A

1.一种用于诱导儿科受试者的针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法,所述方法包括以给药方案向所述受试者施用包含诺如病毒病毒样颗粒(VLP)的组合物,其中所述给药方案包括以至少第一剂量和第二剂量施用所述组合物。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述组合物包含诺如病毒基因群I VLP和诺如病毒基因群II VLP。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的方法,其中所述组合物包含诺如病毒基因群I基因型1(GI.1)VLP和诺如病毒基因群II基因型4(GII.4)VLP。

4.根据权利要求3所述的方法,其中所述GII.4VLP衍生自诺如病毒基因群II基因型4的流行毒株的共有序列的表达。

5.根据权利要求4所述的方法,其中所述GII.4VLP包含含有SEQ ID NO:1序列的衣壳蛋白。

6.根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述组合物包含约50μg诺如病毒基因群I VLP和约150μg诺如病毒基因群II VLP。

7.根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述儿科受试者是约6周与约9岁之间的年龄的。

8.根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述儿科受试者是约6周与约6个月的之间的年龄的。

9.根据权利要求8所述的方法,其中以三个剂量向所述受试者施用所述组合物。

10.根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述儿科受试者是约6个月与约9岁之间的年龄的。

11.根据权利要求9所述的方法,其中以不多于两个剂量向所述受试者施用所述组合物。

12.根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用所述第一剂量和第二剂量,间隔约1、约2或约3个月。

13.根据权利要求1-7中任一项所述的方法,当所述受试者的年龄约5个月时施用所述第一剂量,并且当所述受试者的年龄约7个月时施用所述第二剂量。

14.根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中向所述受试者肌内施用所述组合物。

15.根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述组合物包含至少一种佐剂。

16.根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述组合物包含单一佐剂。

17.根据权利要求15或16所述的方法,其中所述佐剂是氢氧化铝。

18.根据权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述组合物包含500μg的氢氧化铝。

19.根据权利要求1-18中任一项所述的方法,其中与在施用所述组合物之前所述受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比,所述方法引起所述滴度至少三倍的增加。

20.根据权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述方法与可接受的安全性特征相关和/或其中所述组合物的施用在所述儿科受试者中是良好耐受的。

21.根据权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述方法诱导与不存在于所述组合物中的一种或多种病毒毒株的交叉反应性。

22.一种组合物,其包含基因群I诺如病毒VLP和基因群II诺如病毒VLP,所述组合物用于引起儿科受试者的针对诺如病毒的保护性免疫的方法。

23.根据权利要求22所述的用于所述用途的组合物，其中所述诺如病毒基因群I VLP是基因群I基因型1(GI.1)VLP并且其中所述诺如病毒基因群IIVLP是诺如病毒基因群II基因型4(GII.4)VLP。

24.根据权利要求23所述的用于所述用途的组合物，其中所述GII.4VLP衍生自诺如病毒基因群II基因型4的流行毒株的共有序列的表达。

25.根据权利要求24所述的用于所述用途的组合物，其中所述GII.4VLP包含含有SEQ ID NO:1序列的衣壳蛋白。

26.根据权利要求22-25中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述组合物包含约50μg诺如病毒基因群I VLP和约150μg诺如病毒基因群IIVLP。

27.根据权利要求22-26中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述儿科受试者是约6周与约9岁之间的年龄的。

28.根据权利要求22-27中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述儿科受试者是约6周与约6个月的之间的年龄的。

29.根据权利要求28所述的用于所述用途的组合物，其中以三个剂量向所述受试者施用所述组合物。

30.根据权利要求22-27中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述儿科受试者是约6个月与约9岁之间的年龄的。

31.根据权利要求30所述的用于所述用途的组合物，其中以不多于两个剂量向所述受试者施用所述组合物。

32.根据权利要求22-27中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中以至少第一剂量和第二剂量向所述受试者施用所述组合物，其中向所述受试者施用所述第一剂量和第二剂量，间隔约1、约2或约3个月。

33.根据权利要求32所述的用于所述用途的组合物，其中当所述受试者的年龄约5个月时施用所述第一剂量，并且当所述受试者的年龄约7个月时施用所述第二剂量。

34.根据权利要求22-33中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中向所述受试者肌内施用所述组合物。

35.根据权利要求22-34中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述组合物包含至少一种佐剂。

36.根据权利要求22-34中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述组合物包含单一佐剂。

37.根据权利要求35或36所述的用于所述用途的组合物，其中所述佐剂是氢氧化铝。

38.根据权利要求22-34中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述组合物包含500μg的氢氧化铝。

39.根据权利要求22-38中任一项所述的用于所述用途的组合物，其中所述组合物诱导与不存在于所述组合物中的一种或多种病毒毒株的交叉反应性。

40.包含基因群I诺如病毒VLP和基因群II诺如病毒VLP的组合物在用于引起儿科受试者的针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法中的用途。

41.根据权利要求40所述的用途，其中所述诺如病毒基因群I VLP是基因群I基因型1(GI.1)VLP并且其中所述诺如病毒基因群II VLP是诺如病毒基因群II基因型4(GII.4)VLP。

42.根据权利要求41所述的用途,其中所述GII.4VLP衍生自诺如病毒基因群II基因型4的流行毒株的共有序列的表达。

43.根据权利要求42所述的用途,其中所述GII.4VLP包含含有SEQ ID NO:1序列的衣壳蛋白。

44.根据权利要求40-43中任一项所述的用途,其中所述组合物包含约50μg诺如病毒基因群I VLP和约150μg诺如病毒基因群II VLP。

45.根据权利要求40-44中任一项所述的用途,其中所述儿科受试者是约6周与约9岁之间的年龄的。

46.根据权利要求40-45中任一项所述的用途,其中所述儿科受试者是约6周与约6个月的之间的年龄的。

47.根据权利要求46所述的用途,其中以三个剂量向所述受试者施用所述组合物。

48.根据权利要求40-45中任一项所述的用途,其中所述儿科受试者是约6个月与约9岁之间的年龄的。

49.根据权利要求48所述的用途,其中以不多于两个剂量向所述受试者施用所述组合物。

50.根据权利要求40-45中任一项所述的用途,其中以至少第一剂量和第二剂量向所述受试者施用所述组合物,其中向所述受试者施用所述第一剂量和第二剂量,间隔约1、约2或约3个月。

51.根据权利要求50所述的用途,其中当所述受试者的年龄约5个月时施用所述第一剂量,并且当所述受试者的年龄约7个月时施用所述第二剂量。

52.根据权利要求40-51中任一项所述的用途,其中向所述受试者肌内施用所述组合物。

53.根据权利要求40-52中任一项所述的用途,其中所述组合物包含至少一种佐剂。

54.根据权利要求40-52中任一项所述的用途,其中所述组合物包含单一佐剂。

55.根据权利要求53或54所述的用途,其中所述佐剂是氢氧化铝。

56.根据权利要求40-52中任一项所述的用途,其中所述组合物包含500μg的氢氧化铝。

57.根据权利要求40-52中任一项所述的用途,其中所述组合物诱导与不存在于所述组合物中的一种或多种病毒毒株的交叉反应性。

58.一种用于诱导儿科受试者的针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法,所述方法包括以下步骤

(i)确定所述受试者的年龄;以及

(ii)(a)如果所述年龄是至少约6周但是小于6个月,则以由以下组成的给药方案向所述受试者施用包含诺如病毒病毒样颗粒(VLP)的组合物:以三个单独的剂量施用所述组合物,以及

(b)如果所述年龄是至少6个月但是小于9岁,则以由以下组成的给药方案向所述受试者施用包含诺如病毒病毒样颗粒(VLP)的组合物:以两个单独的剂量施用所述组合物。

诺如病毒疫苗配制品及方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2018年12月20日提交的临时申请62/782,733的权益,将其内容通过引用以其整体并入本文。

电子提交的文本文件的说明

[0002] 将与此一起以电子方式提交的文本文件的内容通过引用以其整体并入本文:序列表的计算机可读格式拷贝(文件名:LIGO_028_01WO_SeqList_ST25,记录日期:2019年12月13日,文件大小:5千字节)。

背景技术

[0003] 诺如病毒是不可培养的人类杯状病毒,其已经作为非细菌性肠胃炎流行暴发的单一最重要的原因出现(Glass等人,2000;Hardy等人,1999)。在开发敏感的分子诊断测定法之前,诺如病毒的临床意义未被重视。原型基因群I诺瓦克病毒(NV)基因组的克隆和病毒样颗粒(VLP)从重组杆状病毒表达系统的产生导致揭示广泛传播的诺如病毒感染的测定法的发展(Jiang等人1990;1992)。

[0004] 诺如病毒是含有非节段RNA基因组的单链正义RNA病毒。病毒基因组编码三个开放阅读框,其中后两个分别指定了主要衣壳蛋白和次要结构蛋白的产生(Glass等人2000)。当在真核表达系统中以高水平表达时,NV和某些其他诺如病毒的衣壳蛋白自组装成结构模拟天然诺如病毒病毒体的VLP。当通过透射电子显微术观察时,VLP在形态上与从人类粪便样品中分离的感染性病毒体无法区分。

[0005] 针对诺如病毒的免疫应答是复杂的,并且刚刚阐明了保护的相关因素。用天然病毒进行的人类志愿者研究证明,粘膜衍生的记忆免疫应答提供了免受感染的短期保护,并且表明疫苗介导的保护是可行的(Lindesmith等人2003;Parrino等人1977;Wyatt等人,1974)。

[0006] 人类针对诺如病毒的保护性免疫仍然难以捉摸,因为人类保护性免疫应答的指示符仍未明确鉴定(Herbst-Kralovetz等人(2010)Expert Rev.Vaccines 9(3),299-307)。本领域需要鉴定安全有效的方法来引起针对诺如病毒感染的保护性免疫,特别是在脆弱患者群体(诸如婴儿和儿童)中。

发明内容

[0007] 本公开文本提供了一种引起人类儿科受试者的针对诺如病毒的保护性免疫的方法,所述方法包括向所述受试者肠胃外施用有效量的疫苗组合物,所述疫苗组合物包含诺如病毒VLP。在实施方案中,所述组合物包含基因群I诺如病毒VLP和基因群II诺如病毒VLP。在实施方案中,所述方法包括向受试者施用至少第一剂量和第二剂量的组合物。本公开文本还提供了一种组合物,所述组合物包含基因群I诺如病毒VLP和基因群II诺如病毒VLP,所述组合物用于引起儿科受试者的针对诺如病毒的保护性免疫的方法。本公开文本进一步提供了包含基因群I诺如病毒VLP和基因群II诺如病毒VLP的组合物在用于引起儿科受试者的

针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法中的用途。

[0008] 在一方面，可用于本文提供的方法和用途的组合物包含诺如病毒基因群I基因型1(GI.1)VLP和诺如病毒基因群II基因型4(GII.4)VLP。在一些实施方案中，所述GII.4 VLP衍生自诺如病毒基因群II基因型4的流行毒株的共有序列的表达。在某些实施方案中，所述GII.4 VLP包含含有SEQ ID NO:1序列的衣壳蛋白。在一些实施方案中，此类VLP在本文中称为“GII.4c”。

[0009] 在实施方案中，可用于本文提供的方法和用途的组合物在所述组合物中包含约15μg至约150μg的每种VLP类型。在某些实施方案中，所述组合物包含约15μg GI.1 VLP和约15μg GII.4 VLP;或约15μg GI.1 VLP和约50μg GII.4 VLP;或约50μg GI.1 VLP和约50μg GII.4 VLP;或约50μg GI.1 VLP和约150μg GII.4 VLP。在一些实施方案中，所述组合物进一步包含一种或多种佐剂。在一些实施方案中，所述组合物包含单一佐剂。在一些实施方案中，所述组合物包含氢氧化铝。在一些实施方案中，所述组合物包含500μg氢氧化铝。在一些实施方案中，所述组合物被配制用于肌内施用。因此，在一些实施方案中，本公开文本提供了用于引起儿科受试者的保护性免疫的方法，所述方法包括肌内施用包含如本文所述的GI.1和GII.4 VLP并且进一步包含500μg氢氧化铝的组合物。

[0010] 在实施方案中，所述儿科受试者是约6周与约9岁之间的年龄的。在进一步的实施方案中，以两个或三个剂量向所述受试者施用所述组合物。在一些实施方案中，所述儿科受试者是约6周与约6个月之间的年龄的。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途包括施用不多于三个剂量(例如，一个、两个、或三个剂量)的本文提供的组合物，其中所述受试者是约6周与约6个月之间的年龄的。在进一步的实施方案中，所述受试者是约6周与约6个月之间的，并且以两个或三个剂量施用所述组合物。在进一步的实施方案中，所述受试者是约6周与约6个月之间的，并且以确切地三个剂量施用所述组合物。在一些实施方案中，所述受试者是约6周与约6个月之间的，并且以至少三个剂量施用所述组合物。在一些实施方案中，所述儿科受试者是约6个月的年龄与约1岁的年龄之间的。在一些实施方案中，所述儿科受试者是约1岁的年龄与约4岁的年龄之间的。在一些实施方案中，所述儿科受试者是约4岁的年龄与约9岁的年龄之间的。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途包括施用不多于两个剂量的本文提供的组合物(例如一个剂量或两个剂量)，其中所述受试者是约6个月的年龄与约9岁的年龄之间(例如约6个月与约1岁之间;约1岁与约4岁之间或约4岁与约9岁之间)的。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途包括施用确切地两个剂量的本文提供的组合物，其中所述受试者是约6个月的年龄与约9岁的年龄之间(例如，约6个月与约1岁之间;约1岁和约4岁之间;或约4岁与约9岁之间)的。

[0011] 在一些实施方案中，本公开文本提供了本文提供的组合物的方法和用途，其中向所述受试者施用第一剂量和第二剂量，间隔约1、约2或约3个月。在进一步的实施方案中，所述方法包括施用三个剂量的组合物，其中向所述受试者施用第二剂量和第三剂量，间隔约1、约2或约3个月。在一些实施方案中，当受试者是约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、或约12个月的年龄的时，向所述儿科受试者施用第一剂量，并且当所述受试者是约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、或约14个月的年龄的时，施用第二剂量。例如，在一些实施方案中，当受试者是约5个月的年龄的时向所述儿科受试者施用第一剂量，并且当所述受试者是约7个月的年龄的时施用第二剂量。

[0012] 在一些实施方案中，与在施用所述组合物之前所述受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比，本文提供的方法和用途引起所述滴度至少三倍或至少四倍的增加。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途与可接受的安全性特征相关。例如，在一些实施方案中，本文提供的组合物安全地施用于儿科受试者。在一些实施方案中，本文提供的组合物在儿科受试者中是良好耐受的。例如，即使当以测试的最高剂量(例如，50μg GI.1 VLP和150μg GII.4 VLP)和以测试的最高剂量次数(例如，两个或三个剂量)向儿科受试者施用时，本文提供的组合物也是良好耐受的。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途与统计学上显著的安全不良事件特征相关。在一些实施方案中，所述方法具有统计学上显著的低的不良事件发生率和/或严重程度。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途具有低的不良事件发生率。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途具有低的严重不良事件发生率。在一些实施方案中，所述方法具有可忽略的严重不良事件发生率。在一些实施方案中，与采用不同疫苗组合物的可比较的方法和用途相比，本文提供的方法和用途具有较低的不良事件发生频率和/或严重程度。

[0013] 在一些实施方案中，本文提供的方法和用途诱导与不存在于组合物中的一种或多种病毒毒株的交叉反应性。例如，在一些实施方案中，本文提供的方法和用途诱导针对不存在于组合物中的一种或多种病毒毒株的免疫应答。在一些实施方案中，本文提供的方法和用途在受试者中诱导针对不存在于组合物中的一种或多种病毒毒株的保护性免疫。不存在于组合物中的一种或多种病毒毒株可以是不存在于组合物中的诺如病毒毒株和/或在组合物中未表示的诺如病毒毒株。例如，不存在于组合物中的诺如病毒毒株可以是除GI.1或GII.4诺如病毒毒株以外的毒株；或可以是不是用于衍生GII.4c共有序列的毒株之一的GII.4诺如病毒毒株。

[0014] 在一些方面，本公开文本提供了用于诱导儿科受试者的针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法、用途和组合物，包括以下步骤：(i)确定受试者的年龄，以及(ii)(a)如果年龄是至少约6周但是小于6个月，则以由以下组成的给药方案向所述受试者施用包含诺如病毒VLP的本文提供的组合物：以三个单独的剂量施用所述组合物，以及(ii)(b)如果年龄是至少6个月并且小于约9岁，则以由以下组成的给药方案向所述受试者施用包含诺如病毒病毒样颗粒(VLP)的组合物：以两个单独的剂量施用所述组合物。在进一步的实施方案中，如果年龄是至少6个月并且小于约8岁、小于约7岁、小于约6岁、小于约5岁、小于约4岁、少于约3岁、少于约2岁、或少于约1岁，则以由以下组成的给药方案施用所述组合物：以两个单独的剂量施用所述组合物。

附图说明

[0015] 图1是儿科患者的2期临床研究的设计示意图。

[0016] 图2A-2D示出了通过pan-Ig滴度测量的针对GI.1和GII.4诺如病毒的血清反应速率(SRR)。在每个条形图中，从左到右，四个给药组是：15/15；15/50；50/50；和50/150。队列1的1剂量组(疫苗/安慰剂；V/P)示出于条形图的顶行中(图2A)。队列1的2剂量组(疫苗/疫苗；V/V)示出于条形图的第二行中(图2B)。队列2的2剂量组(疫苗/疫苗/安慰剂；V/V/P)示出于第三行中(图2C)。队列2的3剂量组(疫苗/疫苗/疫苗；V/V/V)示出于第四行中(图2D)。血清反应是滴度升高≥4倍(在第57天(剂量2后28天)或第140天(剂量3后28天)。在图中，组

1(4至<9岁)示出为4-8y;组2和组2a(12个月至<4岁)示出为1-3y;组3(6个月至<12个月)示出为6-11mo;组4(6周至6个月)示出为6-25wk。

[0017] 图3A-3D示出了通过组织血型抗原(HBGA)阻断滴度测量的GI.1和GII.4诺如病毒的SRR。在每个条形图中,从左到右,四个给药组是:15/15;15/50;50/50;和50/150。队列1的1剂量组(V/P)示出于条形图的顶行中(图3A)。队列1的2剂量组(V/V)示出于条形图的第二行中(图3B)。队列2的2剂量组(V/V/P)示出于第三行中(图3C)。队列2的3剂量组(V/V/V)示出于第四行中(图3D)。血清反应是滴度升高≥4倍(在第57天(剂量2后28天)或第140天(剂量3后28天)。在图中,组1(4至<9岁)示出为4-8y;组2和组2a(12个月至<4岁)示出为1-3y;组3(6个月至<12个月)示出为6-11mo;组4(6周至6个月)示出为6-25wk。

[0018] 图4A-4D示出了按年龄组和小组的GI.1特异性HBGA阻断几何平均滴度(GMT)。在每个图中,从左到右,四个给药组是:15/15;15/50;50/50;和50/150。队列1的1剂量组(V/P)示出于条形图的顶行中(图4A)。队列1的2剂量组(V/V)示出于条形图的第二行中(图4B)。队列2的2剂量组(V/V/P)示出于第三行中(图4C)。队列2的3剂量组(V/V/V)示出于第四行中(图4D)。使用协方差分析(ANCOVA)模型相对于基线滴度(第1天)调整GMT。

[0019] 图5A-5D示出了按年龄组和小组的GII.4c特异性HBGA阻断GMT。在每个图中,从左到右,四个给药组是:15/15;15/50;50/50;和50/150。队列1的1剂量组(V/P)示出于条形图的顶行中(图5A)。队列1的2剂量组(V/V)示出于条形图的第二行中(图5B)。队列2的2剂量组(V/V/P)示出于第三行中(图5C)。队列2的3剂量组(V/V/V)示出于第四行中(图5D)。使用协方差分析(ANCOVA)模型相对于基线滴度(第1天)调整GMT。

[0020] 图6A-6B示出了针对组1(4至<9岁)的GI.1特异性IgA(图6A)和GII.4c特异性IgA(图6B)的GMT。2剂量组中的患者用实线示出并且1剂量组中的患者用虚线示出(用于在剂量2的时间点施用安慰剂后进行测量)。

[0021] 图7A-7B示出了针对组2(1至<4岁)的GI.1特异性IgA(图7A)和GII.4c特异性IgA(图7B)的GMT。2剂量组中的患者用实线示出并且1剂量组中的患者用虚线示出(用于在剂量2的时间点施用安慰剂后进行测量)。

[0022] 图8A-8B示出了针对组3(6至<12个月)的GI.1特异性IgA(图8A)和GII.4c特异性IgA(图8B)的GMT。2剂量组中的患者用实线示出并且1剂量组中的患者用虚线示出(用于在剂量2的时间点施用安慰剂后进行测量)。

[0023] 图9A-9B示出了针对组4(6周至<6个月)的GI.1特异性IgA(图9A)和GII.4c特异性IgA(图9B)的GMT。3剂量组中的患者用实线示出并且2剂量组中的患者用虚线示出(用于在剂量3的时间点施用安慰剂后进行测量)。

[0024] 图10示出了在向组2受试者(1至<4岁)施用两个剂量的二价GI.1/GII.4c诺如病毒疫苗后,对其他诺如病毒毒株的交叉反应性。

[0025] 图11A-11B示出了在向组3受试者(6至<12个月)施用二价GI.1/GII.4c诺如病毒疫苗后,对其他诺如病毒毒株的交叉反应性。图11A示出了在第一剂量后的交叉反应性。图11B示出了在第二剂量后的较高的交叉反应性。

[0026] 图12A-12B按组提供了在临床研究中每个剂量后招致的局部AE的概述。对于组1(顶行,图12A)、组2(从顶部起第二行,图12A)、组2a(从顶部开始的第三行,图12A)和组3(底行,图12A)示出了在指示的强度(轻度、中度、严重)下经历指示的AE的受试者%。图12B示出

了对于组4在指示强度下经历指示的AE的受试者％。在每个剂量后7天内记录招致的局部AE。针对所有局部AE的百分比计算为100x受试者的数量/N_T，以及针对个别的AE症状的百分比计算为100x受试者的数量/N_S，其中N_T＝安全组中受试者的数量以及N_S＝针对所述症状评估的安全组中受试者的数量。图中注释的百分比已经按照“四舍五入到最接近的偶数整数”惯例进行修约。

[0027] 图13A-13C按组提供了在临床研究中每个剂量后招致的系统性AE的概述。对于组1(顶行，图13A)、组2(底行，图13A)、组2a(顶行，图13B)和组3(底行，图13B)示出了在指示强度下经历指示的AE的受试者％。图13C示出了对于组4在指示强度下经历指示的AE的受试者％。在每个剂量后7天内记录招致的系统性AE。发热被认为是招致的系统性AE；并且对于图，发热被分级为轻度℃至<38.5℃；中度，38.5℃至<39.0℃；和严重，≥39℃(然而，发热强度分级在总体上针对AE强度分级中被描绘为轻度)。针对所有系统性AE的百分比计算为100x受试者的数量/N_T，以及针对个别的AE症状的百分比计算为100x受试者的数量/N_S，其中N_T＝安全组中受试者的数量以及N_S＝针对所述症状评估的安全组中受试者的数量。图中注释的百分比已经按照“四舍五入到最接近的偶数整数”惯例进行修约。

具体实施方式

[0028] 本发明涉及引起受试者的针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法，其中所述受试者是儿科人类受试者。特别地，本发明提供了通过向儿科受试者肠胃外施用至少两个剂量的包含诺如病毒VLP的疫苗来引起所述受试者的针对诺如病毒的保护性免疫的方法。诸位发明人令人惊讶地发现，包含诺如病毒VLP的组合物可以有效并且安全地施用于儿科受试者，并且引起这些受试者的针对诺如病毒感染的保护性免疫。向人类儿科受试者施用两个或三个剂量的包含诺如病毒VLP的疫苗组合物诱导快速稳健的血清转化(例如，抗原特异性血清抗体滴度比疫苗接种前水平高至少三倍的增加)，这表明针对诺如病毒感染和病患的保护性免疫应答。儿科受试者的年龄小到6周，并且关于可接受的安全性特征实现了保护性免疫应答的引发。

[0029] 根据本文提供的方法施用的包含15μg至150μg的每种VLP类型的给药方案在儿科受试者中是安全并且有效的。在实施方案中，向儿科受试者施用的疫苗组合物包含约50μg的诺如病毒基因群I基因型1(GI.1)VLP和约150μg的诺如病毒基因群II基因型4(GII.4)VLP(由不同的GII.4毒株的共有序列产生)。在进一步的实施方案中，GII.4 VLP包含根据SEQ ID NO:1的衣壳蛋白。在又进一步的实施方案中，所述组合物进一步包含500μg氢氧化铝。

[0030] 本发明提供了包含一种或多种诺如病毒抗原的疫苗组合物。本文的“诺如病毒(Norovirus)”、“诺如病毒(NOR)”、“诺如病毒(norovirus)”和语法等效语意指杯状病毒科的诺如病毒属的成员。在一些实施方案中，诺如病毒可以包括一组相关的正义单链RNA无包膜病毒，其可以对人类或非人类哺乳动物物种具有感染性。在一些实施方案中，诺如病毒可以引起人类急性肠胃炎。当通过电子显微术观察时，诺如病毒也可以被称为具有确定的表面结构或参差不齐的边缘的小型圆形结构病毒(SRSV)。

[0031] 诺如病毒中包括至少五种基因组(GI、GII、GIII、GIV和GV)。GI、GII和GIV诺如病毒在人类中具有感染性，而GIII诺如病毒主要感染牛物种。最近从小鼠中分离GV(Zheng等人(2006)Virology，第346卷:312-323)。GIII的代表是Jena和Newbury毒株，而Alphatron、

Fort Lauderdale、和Saint Cloud毒株是GIV的代表。GI和GII组可以基于遗传分类(Ando等人(2000)J.Infectious Diseases,第181卷(增刊2):S336-S348;Lindell等人(2005)J.Clin.Microbiol.,第43卷(3):1086-1092)和/或基于爆发或流行病分类进一步分为遗传簇或基因型。如本文所用,术语遗传簇可与术语基因型互换使用。在基因群I中,迄今为止已知有8种GI簇(具有原型病毒毒株名称):GI.1(诺瓦克病毒(NV-USA93));GI.2(南安普顿病毒(Southhampton)(SOV-GBR93));GI.3(沙漠风暴病毒(Desert Shield)(DSV-USA93)、或GI.3.2000);GI.4(游轮(Cruise Ship)病毒/千叶病毒(Chiba)(Chiba-JPN00)、或GI.4.2000);GI.5(318/穆斯格罗夫病毒(Musgrove)(Musgrov-GBR00));GI.6(海塞病毒(Hesse)(Hesse-DEU98));GI.7(Wnchest-GBR00);和GI.8(Boxer-USA02)。在基因群II中,迄今为止已知有19种GII簇(具有原型病毒毒株名称):GII.1(夏威夷病毒(Hawaii-USA94));GII.2(雪山/梅尔克舍姆病毒(Snow Mountain/Melksham)(Msham-GBR95));GII.3(多伦多病毒(Toronto-CAN93)、或GII.3.1999);GII.4(布里斯托尔/洛兹达雷病毒(Bristol/Lordsdale)(Bristol-GBR93)、GII.4.2006b、或GII.4.2012);GII.5(290/惠灵顿病毒(Hilingd-GBR00));GII.6(269/锡克罗夫特病毒(Seacroft)(Seacrof-GBR00));GII.7(273/利兹病毒(Leeds-GBR00));GII.8(539/阿姆斯特丹病毒(Amsterdam)(Amstdam-NLD99));GII.9(378(VABeach-USA01))、GII.10(Erfurt-DEU01);GII.11(SW9180JPN01);GII.12(Wortley-GBR00);GII.13(Faytvil-USA02);GII.14(M7-USA03);GII.15(J23-USA02);GII.16(Tiffin-USA03);GII.17(CSE1-USA03)、或GII.17.2015;GII.18(QW101/2003/US)和GII.19(QW170/2003/US)。

[0032] “诺如病毒”在本文中也意指重组诺如病毒病毒样颗粒(rNOR VLP)。在一些实施方案中,至少由ORF2编码的诺如病毒衣壳蛋白在细胞中的重组表达(例如,在Sf9细胞中从杆状病毒载体)可以导致衣壳蛋白自发自组装成VLP。在一些实施方案中,至少由ORF1和ORF2编码的诺如病毒蛋白在细胞中的重组表达(例如,在Sf9细胞中从杆状病毒载体)可以导致衣壳蛋白自发自组装成VLP。VLP在结构上与诺如病毒相似,但是缺乏病毒RNA基因组并且因此不具有感染性。因此,“诺如病毒”包括可以作为感染性或非感染性颗粒(包括缺陷型颗粒)的病毒体。

[0033] 诺如病毒的例子在本领域中通常是已知的,并且包括例如在美国公开号US 2013-0273102和US 2011-0195113(将其中每一个的整体内容通过引用特此并入)中公开的那些,当鉴定出新毒株并且它们的遗传序列变得可得时,本领域技术人员将能够使用普通技术在本发明的组合物和方法中使用这些当代毒株采用VLP。因此,本公开文本涵盖施用由此类毒株制成的VLP作为合适的抗原,用于如本文所述的用于引起儿科受试者的保护性免疫的组合物和方法中。

[0034] 疫苗组合物中的诺如病毒抗原可以呈肽、蛋白质、或病毒样颗粒(VLP)的形式。在优选的实施方案中,所述诺如病毒抗原包含VLP。如本文所用,“一种或多种病毒样颗粒”或“VLP”是指由诺如病毒的衣壳蛋白编码序列产生并且包含与感染性诺如病毒颗粒的一种或多种抗原特征相似的一种或多种抗原特性的一种或多种病毒样颗粒、一种或多种片段、一种或多种聚集体、或一种或多种部分。诺如病毒抗原也可以呈衣壳单体、衣壳多聚体、VLP的蛋白质或肽片段、或其聚集体或混合物的形式。诺如病毒抗原蛋白或肽也可以呈变性形式,使用本领域已知的方法产生。

[0035] 使用本领域的标准方法,本发明的VLP可以由全长诺如病毒衣壳蛋白(诸如VP1和/或VP2蛋白)或某些VP1或VP2衍生物形成。可替代地,用于形成VLP的衣壳蛋白是截短的衣壳蛋白。在一些实施方案中,例如,至少一种VLP包含截短的VP1蛋白。在其他实施方案中,所有的VLP均包含截短的VP1蛋白。截短体可以是N末端或C末端截短体。截短的衣壳蛋白是适当功能性衣壳蛋白衍生物。功能性衣壳蛋白衍生物能够以与由全长衣壳蛋白组成的VLP引起的免疫应答相同的方式来引起免疫应答(如有需要,当适当调节时)。在一些实施方案中,用于所公开的方法的本文提供的组合物包含截短的衣壳蛋白。在其他实施方案中,用于所公开的方法的本文提供的组合物已经被纯化,使得它们不包含截短的衣壳蛋白,或包含40%、30%、20%、10%、5%、1%或更少的截短的衣壳蛋白。

[0036] VLP可能含有主要的VP1蛋白和/或次要的VP2蛋白。在一些实施方案中,每种VLP含有来自仅一种诺如病毒基因群的VP1和/或VP2蛋白,从而产生单价VLP。如本文所用,术语“单价”意指抗原性蛋白衍生自单个诺如病毒基因群。例如,VLP含有来自基因群I的病毒毒株的VP1和/或VP2(例如来自诺瓦克病毒的VP1和VP2)或基因群I毒株的共有序列;或VLP含有来自基因群II的病毒毒株的VP1和/或VP2(例如,来自GII.4毒株的VP1和/或VP2)或GII.4毒株的共有序列(例如,GII.4c,本文的SEQ ID NO:1)。优选地,VLP主要由VP1蛋白组成。

[0037] 在本发明的一个实施方案中,所述组合物包含单价VLP的混合物,其中所述组合物包含由来自单个诺如病毒基因群的VP1和VP2构成的VLP,所述VLP与来自取自多种病毒毒株的不同的诺如病毒基因群(例如,诺瓦克病毒和休斯顿病毒)的VP1和VP2构成的VLP混合。单纯通过举例的方式,所述组合物可以含有来自诺如病毒基因群I的一种或多种毒株的单价VLP以及来自诺如病毒基因群II的一种或多种毒株的单价VLP。可以基于它们在给定时间的流行主导性来选择毒株。在某些实施方案中,诺如病毒VLP混合物由GI.1和GII.4病毒毒株构成。更优选地,诺如病毒VLP混合物由诺瓦克毒株和衍生自基因群II诺如病毒的共有衣壳序列构成。衍生自流行诺如病毒序列的共有衣壳序列和用此类序列制得的VLP在WO 2010/017542中描述,将其通过引用以其整体并入本文。例如,在一个实施方案中,衍生自基因群II基因型4(GII.4)病毒毒株的共有衣壳序列包含SEQ ID NO:1的序列。此VLP在本文中称为“GII.4c”。因此,在一些实施方案中,所述疫苗组合物包含单价VLP的混合物,其中一种单价VLP包含来自基因群I诺如病毒(例如诺瓦克)的衣壳蛋白,并且其他单价VLP包含含有SEQ ID NO:1(GII.4c)的序列的共有衣壳蛋白。

[0038] 在组合物内VLP的组合优选地不降低每种VLP类型的免疫原性。特别优选的是,在本发明的组合中诺如病毒VLP之间没有干扰,使得本发明的合并的VLP组合物能够引起针对疫苗中表示的每种诺如病毒基因型和/或基因群的感染的免疫。在实施方案中,针对组合中的给定VLP类型的免疫应答是在单独测量时相同VLP类型的免疫应答的至少50%、优选100%或基本上100%。此外,所要求保护的组合物可以诱导与不存在于组合物中的病毒毒株的交叉反应性。例如,所要求保护的组合物可以诱导与组合物中未表示的其他诺如病毒基因型和/或其他诺如病毒基因群的交叉反应性。诱导交叉反应性的组合物或方法可以诱导对其他病毒毒株的免疫应答;和/或可以引起受试者的针对其他病毒毒株的保护性免疫。

[0039] 例如,向受试者施用本文提供的组合物可以诱导针对其他基因群I毒株(除GI.1之外);其他基因群II毒株(除构成GII.4c的毒株之外);和/或其他基因群(除基因群I和基因群II之外)的免疫。通过非限制性举例的方式,本文提供的组合物可以诱导针对选自

GII.4.2006b、GII.4.2012、GI.3.2000、GI.4.2000、GII.3.1999、和GII.17.2015中的一种或多种毒株的免疫。在一些实施方案中，本文提供的组合物可以诱导针对GII.4.2006b的免疫。在一些实施方案中，本文提供的组合物可以诱导针对GII.4.2012的免疫。免疫应答可以例如通过抗体应答适当地测量，如本文实施例中所说明的。

[0040] 可以通过单独表达单个衣壳蛋白，然后组合以形成VLP来产生多价VLP。可替代地，多种衣壳蛋白可以在相同细胞内从一种或多种DNA构建体表达。例如，可以将多种DNA构建体转化或转染到宿主细胞中，每种载体编码不同的衣壳蛋白。可替代地，可以使用由共用启动子或多个单独的启动子控制的具有多个衣壳基因的单个载体。在适当的情况下，也可以将IRES元素掺入载体中。使用此类表达策略，共表达的衣壳蛋白可以被共纯化以随后形成VLP，或可以自发形成多价VLP，然后可以将所述多价VLP纯化。用于多价VLP产生的优选方法包括从不同的诺如病毒基因型制备VLP衣壳蛋白或衍生物(诸如VP1蛋白)，将所述蛋白质混合，并且将所述蛋白质组装以产生多价VLP。VP1蛋白可以呈粗提取物的形式，在混合之前将其部分纯化或纯化。可以将不同基因群的组装的单价VLP分解，混合在一起并且重新组装成多价VLP。优选地，所述蛋白质或VLP在合并之前至少被部分纯化。任选地，多价VLP的进一步纯化可以在组装后进行。

[0041] 在使用多价VLP的情况下，优选地，将VLP的组分以它们在最终混合的VLP中所希望的比率混合。例如，来自诺瓦克病毒和休斯顿病毒(或其他诺如病毒毒株)的相同量的部分纯化的VP1蛋白的混合物提供了具有大约相等量的每种蛋白质的多价VLP。包含多价VLP的组合物可以通过本领域已知的溶液(诸如WO 98/44944、WO 00/45841(通过引用并入本文)的那些)来稳定。

[0042] 除了诺如病毒VP1和VP2蛋白或衍生物之外，本发明的组合物还可以包含其他蛋白质或蛋白质片段。其他蛋白质或肽也可以与本发明的组合物共施用。任选地，所述组合物还可以与非诺如病毒抗原一起配制或共施用。适当地，这些抗原可以提供针对其他疾病的保护。

[0043] VP1蛋白或功能性蛋白衍生物能够适当地形成VLP，并且VLP的形成可以通过标准技术(诸如尺寸排阻色谱法、电子显微术和动态激光散射)来评估。

[0044] 本发明的抗原分子可以通过从它们天然存在的生物体中分离和纯化来制备，或者它们可以通过重组技术来制备。优选地，诺如病毒VLP抗原由昆虫细胞(诸如Sf9或H5细胞)制备，尽管也可以使用任何合适的细胞，诸如大肠杆菌(E.coli)或酵母细胞，例如酿酒酵母(S.cerevisiae)、粟酒裂殖酵母(S.pombe)、巴斯德毕赤酵母(Pichia pastori)或其他毕赤酵母(Pichia))表达系统，或哺乳动物细胞表达(诸如CHO或HEK系统)。当通过重组方法或通过合成制备时，可以进行构成肽的氨基酸的一个或多个插入、缺失、倒位或取代。上述抗原中的每一种优选地以基本上纯的状态使用。

[0045] 在昆虫细胞培养物中产生诺如病毒VLP的方法先前已经在美国专利号6,942,865中公开，将其通过引用以其整体并入本文。简言之，克隆来自基因组的3'端的cDNA，所述cDNA含有病毒衣壳基因(ORF2)和次要结构基因(ORF3)。携带病毒衣壳基因的重组杆状病毒是从克隆的cDNA构建的。在Sf9或H5昆虫细胞培养物中产生诺如病毒VLP。

[0046] 在一些实施方案中，所述疫苗组合物包含与诺如病毒抗原组合的一种或多种佐剂。佐剂(诸如氢氧化铝或矿物油)含有被设计用于保护抗原免受快速分解代谢的物质。合

适的佐剂可以作为以下商购获得:例如弗氏完全佐剂(Freund's Incomplete Adjuvant)和完全佐剂(Complete Adjuvant)(Pifco Laboratories,密歇根州底特律);Merck Adjuvant 65(Merck and Company,Inc.,新泽西州罗威);铝盐,诸如氢氧化铝($Al(OH)_3$)、氢氧化铝凝胶(明矾)或磷酸铝;钙、铁或锌盐;酰化酪氨酸酰化糖的不溶性悬浮液;阳离子或阴离子衍生的多糖;聚磷腈;可生物降解的微球;和Quil A。在一些实施方案中,所述佐剂是氢氧化铝($Al(OH)_3$)。在进一步的实施方案中,所述佐剂是氢氧化铝,并且在每种组合物中以以下的量存在:约10μg、约25μg、约50μg、约75μg、约100μg、约125μg、约150μg、约175μg、约200μg、约225μg、约50μg、约275μg、约300μg、约350μg、约375μg、约400μg、约425μg、约450μg、约475μg、约500μg、约525μg、约550μg、约575μg、约600μg、约625μg、约650μg、约675μg、约700μg、约750μg、约800μg、约850μg、约900μg、约950μg、或约1000μg。在某些实施方案中,所述组合物以约500μg的量包含氢氧化铝。

[0047] 合适的佐剂还包括但不限于toll样受体(TLR)激动剂,特别是toll样受体4型(TLR-4)激动剂(例如,单磷酰脂质A(MPL)、合成脂质A、脂质A模拟物或类似物)、铝盐、细胞因子、皂苷、胞壁酰二肽(MDP)衍生物、CpG寡糖、革兰氏阴性菌的脂多糖(LPS)、聚磷腈、乳液、病毒粒子(virosome)、螺旋体、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLG)微粒、泊洛沙姆颗粒、微粒、脂质体、水包油乳液、MF59、和角鲨烯。在一些实施方案中,佐剂不是细菌衍生的外毒素。优选的佐剂包括刺激Th1型应答的佐剂,诸如3DMPL或QS21。

[0048] 在一些实施方案中,所述疫苗组合物包含两种佐剂。佐剂的组合可以选自以上所述的那些。在一个特定的实施方案中,所述两种佐剂是MPL和氢氧化铝(例如明矾)。在另一个特定的实施方案中,所述两种佐剂是MPL和油。在优选的实施方案中,所述疫苗组合物包含单一佐剂。在进一步的实施方案中,所述单一佐剂是氢氧化铝。

[0049] 术语"有效佐剂量"或"佐剂的有效量"将是本领域技术人员充分理解的,并且包括如在鼻腔冲洗液中的IgA水平、血清IgG或IgM水平、或B细胞和T细胞增殖方面所测量的能够刺激对施用的抗原的免疫应答的一种或多种佐剂的量,即,增加所施用的抗原组合物的免疫应答的量。与没有任何佐剂的相同抗原组合物相比,免疫球蛋白水平的适当有效增加包括超过5%、优选超过25%、并且特别地超过50%。

[0050] 在一个实施方案中,本发明提供了被配制用于肠胃外施用的疫苗组合物,其中所述组合物包含与氢氧化铝和缓冲剂组合的至少两种类型的诺如病毒VLP。所述缓冲剂可以选自L-组氨酸、咪唑、琥珀酸、tris、柠檬酸、bis-tris、pipes、mes、hepes、甘氨酸酰胺和甲基甘氨酸(tricine)。在一个实施方案中,所述缓冲剂是L-组氨酸或咪唑。优选地,所述缓冲剂以从约15mM至约50mM、更优选从约18mM至约40mM、或最优选约20mM至约25mM的浓度存在。在一些实施方案中,抗原组合物或疫苗组合物的pH是从约6.0至约7.0、或从约6.2至约6.8、或约6.5。所述疫苗组合物可以是水性配制品。在一些实施方案中,所述疫苗组合物是冻干粉末并且重构成水性配制品。

[0051] 在某些实施方案中,所述疫苗组合物可以包含约15μg至约150μg的每种诺如病毒VLP、更优选约15μg至约50μg的基因群I VLP和约50μg至约150μg的基因群II VLP。因此,在一些实施方案中,一种类型的诺如病毒VLP的剂量不同于其他类型的诺如病毒VLP的剂量。例如,在某些实施方案中,所述疫苗组合物包含约15μg的基因群I VLP和约50μg的基因群II VLP。在某些实施方案中,所述疫苗组合物包含约50μg的基因群I VLP和约150μg的基因群II

VLP。在其他实施方案中，所述疫苗组合物包含约15μg的基因群I VLP和约15μg的基因群II VLP；或约50μg的基因群I VLP和约50μg的基因群II VLP。在某些实施方案中，用于引起人类儿科受试者的针对诺如病毒的保护性免疫应答的本发明的疫苗组合物包含50μg GI.1 VLP和150μg GII.4c VLP和500μg氢氧化铝。

[0052] 在一些实施方案中，所述疫苗组合物进一步包含药学上可接受的盐，包括但不限于氯化钠、氯化钾、硫酸钠、硫酸铵、和柠檬酸钠。在一个实施方案中，所述药学上可接受的盐是氯化钠。所述药学上可接受的盐的浓度可以是从约10mM至约200mM，其中优选的浓度在从约100mM至约150mM的范围内。优选地，本发明的疫苗组合物含有小于2mM的游离磷酸盐。在一些实施方案中，所述疫苗组合物包含小于1mM的游离磷酸盐。疫苗组合物还可以进一步包含其他药学上可接受的赋形剂，诸如糖(例如，蔗糖、海藻糖、甘露糖醇)和表面活性剂。

[0053] 如本文所讨论的，本发明的组合物可以被配制用于作为疫苗配制品施用。如本文所用，术语“疫苗”是指含有如上所述的本发明的诺如病毒VLP或其他诺如病毒抗原的配制品，所述配制品呈能够向人类、优选儿科人类施用的形式，并且所述配制品诱导保护性免疫应答，所述保护性免疫应答足以诱导免疫以预防和/或改善诺如病毒感染或诺如病毒诱导的病患和/或减轻诺如病毒感染或病患的至少一种症状。

[0054] 如本文所用，术语“免疫应答”是指体液免疫应答和细胞介导的免疫应答二者。体液免疫应答涉及通过B淋巴细胞刺激抗体的产生，所述抗体例如中和感染原、阻断感染原进入细胞、阻断所述感染原的复制、和/或保护宿主细胞免受感染和破坏。细胞介导的免疫应答是指由脊椎动物(例如人类)展现的由T淋巴细胞和/或其他细胞(诸如巨噬细胞)介导的针对感染原的免疫应答，所述免疫应答预防或改善感染或减轻其至少一种症状。特别地，“保护性免疫”或“保护性免疫应答”是指由脊椎动物(例如，人类)展现的针对感染原的免疫或引起免疫应答，其预防或改善感染或减少其至少一种症状。具体地，通过消除或减少急性肠胃炎的一种或多种症状的存在或减少此类症状的持续时间或严重程度，由疫苗的施用诱导保护性免疫应答是明显的。诺如病毒引起的肠胃炎的临床症状包括恶心、腹泻、稀便、呕吐、发热、和全身不适。减少或消除疾病症状的保护性免疫应答将减少或阻止诺如病毒暴发在群体中的传播。疫苗制备通常在疫苗设计(Vaccine Design)(“The subunit and adjuvant approach”(编辑Powell M.F.&Newman M.J.)(1995)Plenum Press纽约)中描述。本发明的组合物可以被配制例如用于递送至口腔、胃肠道、和呼吸(例如鼻腔)粘膜中的一种或多种。本发明的组合物可以被配制例如用于通过注射(诸如肠胃外注射(例如，静脉内、皮下、皮内、或肌内注射))递送。

[0055] 如果组合物旨在用于肠胃外注射，诸如静脉内(i.v.)、皮下(s.c.)、皮内或肌内(i.m.)注射，则典型地将其配制为由至少一种类型的诺如病毒VLP和任选地至少一种佐剂构成的液体悬浮液(即水性配制品)。在优选的实施方案中，肠胃外配制的(例如，肌内、静脉内、或皮下配制的)液体疫苗包含诺如病毒基因群I和/或r基因群II VLP和氢氧化铝。在进一步优选的实施方案中，所述组合物被配制用于肌内注射。

[0056] 上文所述的疫苗组合物可以冻干并且以无水形式储存，直到它们准备好使用，此时将它们用稀释剂重构。可替代地，组合物的不同组分可以单独储存于试剂盒中(任何或所有组分是冻干的)。所述组分可以保持冻干形式用于干配制品或被重构为液体配制品，并且在使用前混合或单独施用于患者。在一些实施方案中，疫苗组合物以液体配制品储存于试

剂盒中，并且可以伴随有递送装置，诸如配备有针头的注射器。在其他实施方案中，液体疫苗组合物可以储存于试剂盒中的递送装置内。例如，试剂盒可以包含含有本文所述的疫苗组合物的液体配制品的预填充注射器、自动注射器、或注射笔装置。

[0057] 以足以引起对特异性抗原的免疫应答和/或预防、缓解、减轻或治愈疾病或感染的症状和/或并发症的量向儿科患者施用所述组合物，并且因此减少或阻止在群体中爆发的诺如病毒的传播。足以完成此操作的量被定义为“治疗有效剂量”。每种疫苗组合物中抗原的量被选择为诱导稳健免疫应答而无显著的不良副作用的量。本公开文本的诸位发明人出乎意料地发现，50μg GI.1和150μg GII.4cVLP的多剂量方案安全地引起儿科受试者(包括年龄小到6周的受试者)的针对诺如病毒感染的保护性免疫。例如，三个剂量的50μg/150μg(GI.1/GII.4c)配制品引起年龄为6周至<6个月的受试者的保护性免疫；并且两个剂量的50μg/150μg(GI.1/GII.4c)配制品引起年龄为6个月至<9岁的受试者的保护性免疫。

[0058] 包括施用本文提供的组合物的方法和用途可以与儿科群体中令人惊讶地节省的不良事件特征相关。如在此公开的实施例和附图中所展示的，对于每个测试的队列和年龄组，不良事件的发生率都在可接受的限值内。特别地，对于许多组，严重不良事件(SAE)的发生可以忽略不计，并且在实施例1中所述的研究中没有报告疫苗相关的SAE或致死性SAE。因此，在一些实施方案中，本发明的方法可以在相对不存在疫苗相关的严重不良事件的情况下进行。在一些实施方案中，与可比较的疫苗组合物相比，本发明组合物的安全性特征更安全和/或与统计学上显著更低的不良事件发生率相关。可比较的疫苗组合物可以是靶向引起肠胃炎的病毒的那些。例如，可比较的疫苗组合物可以是靶向轮状病毒的疫苗组合物。另一种可比较的疫苗组合物可以是靶向腺病毒的疫苗组合物。另一种可比较的疫苗组合物可以是靶向流感病毒的疫苗组合物。

[0059] 本发明提供了引起儿科受试者的针对诺如病毒的保护性免疫的方法。如本文所用，“儿科受试者”和“儿科患者”等是指年龄为6周或以上的婴儿；和年龄为9岁或以下的儿童。在一些实施方案中，“婴儿”可以指年龄小于6个月；或年龄在6周与<6个月之间的人类受试者。

[0060] 在一些实施方案中，与施用所述组合物之前的受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比，所述疫苗组合物诱导所述滴度至少三倍的增加。在一些实施方案中，与施用所述组合物之前的受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比，所述疫苗组合物诱导所述滴度至少四倍的增加。在一些实施方案中，与施用所述组合物之前的受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比，所述疫苗组合物诱导所述滴度至少五倍的增加。在一些实施方案中，与施用所述组合物之前的受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比，所述疫苗组合物诱导所述滴度至少六倍的增加。在其他实施方案中，所述疫苗组合物诱导与通过在天然感染中暴露于活诺如病毒诱导的抗体滴度可比较的诺如病毒特异性血清抗体滴度，即与在施用所述组合物之前的人类受试者中的诺如病毒特异性血清抗体滴度相比，诺如病毒特异性血清抗体大于十倍的增加。在某些实施方案中，所述疫苗组合物在施用所述组合物七天内诱导诺如病毒特异性血清抗体滴度的增加。优选地，通过静脉内、皮下、或肌内施用途径施用所述疫苗组合物。在某些实施方案中，向人类受试者肌内施用所述疫苗组合物。

[0061] 在所述方法的一个实施方案中，所述受试者是人类儿科受试者，并且所述疫苗提供免受诺如病毒感染的一种或多种症状的保护。所述儿科受试者可以是约6周的周龄至约9

岁的年龄。

[0062] 由于诺如病毒无法在体外培养,因此目前尚无可用的病毒中和测定法。用作中和测定法的功能测定法的替代方案是血凝抑制(HAI)测定法。HAI测量诺如病毒疫苗诱导的抗体抑制由诺如病毒VLP导致的抗原包被的红血细胞的凝集的能力,因为诺如病毒VLP与红血细胞抗原(例如组织血型抗原)结合。此测定法也称为碳水化合物阻断测定法,因为它指示抗体阻断病毒或VLP与红血细胞上的血型抗原碳水化合物结合的功能能力。在此测定法中,将固定量的诺如病毒VLP与固定量的来自免疫受试者的红血细胞和血清混合。如果血清样品含有功能性抗体,则抗体将与VLP结合,从而抑制红血细胞的凝集。如本文所用,"功能性抗体"是指能够抑制诺如病毒颗粒与红血细胞抗原之间的相互作用的抗体。换言之,功能性抗体滴度相当于组织血型抗原(HBGA)或碳水化合物阻断抗体滴度。诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度可以通过上述的HAI测定法测量。诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度也可以使用基于ELISA的测定法测量,在所述基于ELISA的测定法中碳水化合物H抗原与微滴度孔结合并且在血清的存在下检测到与H抗原结合的诺如病毒VLP(参见Reeck等人(2010)J Infect Dis,第202卷(8):1212-1218)。诺如病毒特异性功能性抗体水平的增加可以是保护性免疫应答的指示符。因此,在一个实施方案中,疫苗的施用引起保护性免疫,所述保护性免疫包括与未接受所述疫苗的人类的诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度相比,所述血清滴度增加。指示保护性免疫应答的诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度优选地是如通过HAI测定法测量的大于40、50、75、100、125、150、175、200的几何平均滴度或如通过H抗原结合测定法测量的大于100、150、200、250、300、350、400、450、或500的阻断滴度$(BT)_{50}$(诺如病毒VLP结合H抗原的50%抑制)几何平均滴度。在一个实施方案中,诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度是如通过HAI测定法测量的大于40的几何平均滴度。在另一个实施方案中,诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度是如通过HAI测定法测量的大于100的几何平均滴度。在另一个实施方案中,诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度是如通过H抗原结合测定法测量的大于100的BT_{50}几何平均滴度。在仍另一个实施方案中,诺如病毒特异性功能性抗体的血清滴度是如通过H抗原结合测定法测量的大于200的BT_{50}几何平均滴度。

[0063] 在进一步的方面,通过向儿科受试者肠胃外(优选肌内)施用至少两个剂量的抗原组合物或疫苗组合物,疫苗的施用引起保护性免疫应答,所述保护性免疫应答包括IgA粘膜免疫应答和IgG系统性免疫应答,所述抗原组合物或疫苗组合物包含一种或多种类型的诺如病毒抗原和任选地至少一种有效佐剂(例如,氢氧化铝)。诸位发明人已经令人惊讶地发现,本文所述的诺如病毒疫苗组合物的肠胃外施用除了强IgG应答之外,还在儿童中诱导稳健的IgA应答。典型地,仅当通过粘膜施用途径施用疫苗时,才观察到强的IgA应答。

[0064] 如上所述,本发明的疫苗组合物的施用预防和/或减轻诺如病毒感染的至少一种症状。诺如病毒感染的症状是本领域熟知的,并且包括恶心、呕吐、腹泻和胃痉挛。此外,患有诺如病毒感染的患者可能具有低级别的发热、头痛、寒战、肌肉酸痛、和疲劳。本发明还涵盖一种通过以下方式诱导经历诺如病毒感染的受试者的保护性免疫应答的方法:向所述受试者施用本发明的疫苗配制品,使得与诺如病毒感染相关的至少一种症状得到缓解和/或减轻。症状的减轻可以主观地或客观地确定,例如通过受试者自我评估、通过临床医生的评估或通过进行适当的测定法或测量(例如体温)(包括例如生活质量评估、诺如病毒感染或另外的症状的进展减慢、诺如病毒症状的严重程度降低)或合适的测定法(例如抗体滴度、

RT-PCR抗原检测、和/或B细胞或T细胞激活测定)。有效应答也可以通过直接测量(例如,RT-PCR)粪便样品中的病毒载量(其反映从肠道中流出的病毒的量)来确定。客观评估包括动物和人类评估。

[0065] 本发明还提供了一种产生针对一种或多种诺如病毒抗原的抗体的方法,所述方法包括向受试者施用如上所述的本发明的疫苗组合物。可以通过本领域的常规方法分离和纯化这些抗体。针对诺如病毒抗原的分离的抗体可以用于开发诊断免疫学测定法。这些测定法可以用于检测临床样品中的诺如病毒并且鉴定引起感染的特定病毒(例如诺瓦克、休斯顿、雪山等)。可替代地,可以向易感于诺如病毒感染的受试者施用分离的抗体以赋予被动或短期免疫。

[0066] 现在将参考在以下实施例中所述的特定实施方案更详细地说明本发明。所述实施例仅旨在说明本发明并且不旨在以任何方式限制本发明。

实施例

实施例1.儿科受试者的肌内诺如病毒二价病毒样颗粒(VLP)疫苗的剂量递增、安全性和免疫原性研究

[0067] 进行临床研究以确定针对婴儿或儿童的诺如病毒VLP疫苗的安全有效的给药水平。所述研究是在年龄为6周至<9岁的儿童中的2期、随机化、安慰剂对照、双盲安全性和免疫原性试验。单独测试的队列包括年龄为6周至<6个月的儿童;年龄为6个月至<1岁的儿童;年龄为1岁至<4岁的儿童;以及年龄为4岁至<9岁的儿童。诺如病毒疫苗组合物包含GI.1VLP和GII.4 VLP(GI.1/GII.4c二价VLP疫苗)。测试四种不同的剂量水平。其中两种给药水平包括相同给药水平的GI.1和GII.4疫苗组分;其中两种给药水平包括两种不同给药水平的GI.1和GII.4疫苗组分。测试的剂量是:

- GI.1/GII.4c VLP的比率为15/15μg、
- GI.1/GII.4c VLP的比率为15/50μg、
- GI.1/GII.4c VLP的比率为50/50μg、和
- GI.1/GII.4c VLP的比率为50/150μg。

[0068] 所述疫苗组合物还包含500μg $Al(OH)_3$(佐剂)。经由肌内注射向受试者施用所述疫苗组合物。

[0069] 在个别的患者群体中测试两种不同的给药方案,如下:

- 在年龄为6个月至<9岁的受试者中(即,在6个月至<1岁组、1岁至<4岁组、和4岁至<9岁组)一个剂量或两个剂量;以及
- 在年龄为6周至<6个月的受试者中两个剂量或三个剂量)。

[0070] 纳入标准包括以下:

- 在招募时年龄在6周与小于9岁之间的男性和女性参与者。
- 在进入试验时健康状况良好,如通过病史、体格检查(包括生命体征)和研究者的临床判断确定的。
- 在根据当地法规要求解释试验的性质后,参与者合法授权代表(LAR)在启动任何试验程序之前签署书面知情同意书(ICF)和任何必需的隐私授权并且签署日期。还将根据适合年龄的国家特定法规获得同意。
- 可以遵守试验程序并且在试验期间可用的参与者。

[0071] 排除标准包括以下：

• 在预期的接种日期的3天内，临床上显著的活性感染(由研究者评估)或体温38.0℃(100.4°F)或更高。

• 在预期的疫苗施用前24小时内接受了退热/镇痛药物。

• 对研究疫苗(包括研究疫苗的赋形剂)的已知超敏性或过敏性。

• 研究者认为可能干扰参与试验的能力的行为或认知损害或精神疾病。

• 任何进行性或严重的神经病学障碍、癫痫障碍、或神经炎性疾病(例如，格林-巴利(Guillain-Barré)综合征)的历史。

• 已知或怀疑免疫功能损害/改变，包括以下：

• 年龄<18个月的儿童，其在生命的前6个月有反复发作急性中耳炎(AOM)(AOM定义为鼓膜鼓胀)并且不与渗出性中耳炎(OME)混淆的历史。

• 在第1天之前的60天内长期使用口服类固醇(相当于20mg/天泼尼松，持续≥12周/≥2mg/kg体重/天，持续≥2周)(允许使用吸入、鼻内、或局部皮质类固醇)。

• 在第1天之前的60天内接受肠胃外类固醇(相当于20mg/天泼尼松≥12周/≥2mg/kg体重/天≥2周)。

• 在第1天之前的60天内接受免疫刺激剂。

• 在第1天之前的3个月内或在试验的整个长度期间接受肠胃外、硬膜外或关节内免疫球蛋白制剂、血液制品、和/或血浆衍生物。

• 在第1天之前的6个月内接受免疫抑制疗法。

• 人类免疫缺陷病毒(HIV)感染或与HIV相关的疾病。

• 慢性乙型肝炎或丙型肝炎感染。

• 可遗传的免疫缺陷。

• 脾或胸腺功能异常。

• 已知出血素质或可能与出血时间延长相关的任何病症。

• 根据研究者的判断，任何严重的慢性或进行性疾病(例如，肿瘤、胰岛素依赖型糖尿病、心脏病、肾脏疾病或肝脏疾病)。

• 在首次试验访视前的30天用另一种研究产品参与任何临床试验，或在进行此试验期间的任何时间有意参与另一种临床试验。

• 在招募到此试验前的14天内(针对灭活疫苗)或28天内(针对活疫苗)接受任何其他疫苗。

• 参与试验进行的个人的一级亲属。

• 自身免疫疾病的历史。

[0072] 图1中提供了临床研究设计的示意图。队列1包括在组1(4岁至<9岁的年龄)、2(1岁至<4岁的年龄)、2a(1岁至<4岁的年龄)、和3(6个月至<1岁的年龄)中的受试者。组2a是桥接组，在下一个更小年龄组中施用之前允许评估两个不同制造批次。队列1中所有的480名受试者以以上指定的给药水平(15/15、15/50、50/50、或50/150)之一接受1个或2个剂量的GI.1/GII.4 VLP疫苗。队列2包括组4的受试者，年龄为6周至<6个月。队列2(组4)中所有的360名受试者以以上指定的给药水平(15/15、15/50、50/50、50/150)之一接受两个或三个剂量的GI.1/GII.4 VLP疫苗。在第1天(1剂量方案)、第1和29天(2剂量方案，队列1)、第1和56

天(2剂量方案,队列2)、或第1、56、和112天(3剂量方案,队列2)施用剂量。在1剂量方案中的受试者在第29天接受安慰剂注射,并且在2剂量队列2方案中的受试者在第112天接受安慰剂注射。

[0073] 下表1提供了在符合方案患者组中是人口统计学。

表1.人口统计

	组1	组2	组2a	组3	组4
研究位置	芬兰、巴拿马、哥伦比亚		巴拿马、哥伦比亚		
N	108	112	108	108	306
年龄，平均值(SD)	5.8 岁 (1.39)	2.1岁(0.85)	2.0 岁 (0.74)	8.1 个 月 (1.44)	3.1 个 月 (1.32)
性别，男性，编号(%)	52 (48.1)	60 (53.6)	61 (56.5)	57 (52.8)	157 (51.3)
种族，编号(%)					
白种人	58 (53.7)	55 (49.1)	2 (1.9)	2 (1.9)	4 (1.3)
美洲印第安人或阿拉斯加土著人	37 (34.3)	18 (16.1)	21 (19.4)	53 (49.1)	144 (47.1)
黑色人种或非裔美国人	3 (2.8)	0	18 (16.7)	12 (11.1)	40 (13.1)
其他	10 (9.3)	47 (33.0)	67 (62.0)	39 (36.1)	118 (38.6)
在基线时血清阴性(%)					
GI.1特异性HBGA	84	94	79	92	88
GII.4c特异性HBGA	30	55	44	82	58

[0074] 研究结果显示所有给药水平都是免疫原性的。50/150μg给药的2剂量方案对年龄为6个月至<5岁的儿童有效并且安全。3剂量方案对年龄为6周至<6个月的儿童有效并且安全。

免疫原性

[0075] 在年龄为6周至<6个月、6至<12个月、1至<4岁、和4至<9岁的儿童的不同年龄组中,组合物的所有给药水平是免疫原性的(图2A-D)。基于HBGA阻断滴度,在队列1的年龄为6个月至<1岁和1至<4岁的儿童中,2个剂量的疫苗组合物的免疫原性看起来高于1个剂量(图3A、3B)。基于pan-Ig和HBGA阻断滴度,在队列2的年龄为6周至<6个月的婴儿中,3个剂量的免疫原性看起来高于2个剂量。

[0076] 队列3中的大多数患者在基线时血清阴性(如通过HBGA GI.1、HBGA GII.4、pan-Ig GI.1、和pan-IG GII.4测量的)。因此,所述疫苗在大多数未致敏的儿童中具有免疫原性。在接受两个制造批次(组2和组2a;图2A、2B、3A、3B)的1至<4岁的儿童中观察到如通过HGBA阻断抗体和pan-Ig测量的类似的免疫应答模式。在两个年龄组(6个月至>12个月和1至<4岁)中,两个剂量的疫苗方案的免疫原性高于单个剂量方案。

[0077] 下表2示出了对于在所有测定法中针对两种VLP具有低于定量下限(LLoQ)的基线滴度的受试者,在组合配制品和年龄组中对GI.1和GII.4二者的血清反应(与基线相比4倍的滴度增加)。

表2.组合配制品和年龄组:在针对两种VLP具有基线滴度<LLoQ的患者中,组1和组2对GI.1和GII.4二者的血清反应

访视	Pan-Ig	HBGA	IgA
1剂量组(在第29天生理盐水)；(N = 6)			
第29天SRR	5/6 (83%)	2/5 (40%)	2/5 (40%
第57天SRR	6/6 (100%)	2/5 (40%)	0/6 (0%)
2剂量组(N = 8)			
第29天SRR	8/8 (100%)	4/8 (50%)	8/8 (100%)
第57天SRR	8/8 (100%)	8/8 (100%)	7/8 (88%)

[0078] 像来自组3的数据，表2中总结的数据显示所述疫苗在未致敏的儿童中具有免疫原性。在组4(6周至<6个月)中，通过具有血清阴性GI.1特异性或GII.4c特异性pan-Ig抗体的受试者的患病率相对较低表明存在GI.1特异性和GII.4c特异性母体抗体。

[0079] 与其他组合物相比，50/150组合物与在队列1中年龄为6至<12个月和年龄为1至<4岁的儿童2个剂量后或在队列2中年龄为6周至<6个月的婴儿3个剂量后的最高GI.1特异性(图4A-4D)和GII.4c特异性(图5A-5D)HBGA阻断GMT相关。

[0080] 针对GI.1特异性IGA和GII.4c特异性IgA的GMT示出于图6A-6B(组1)、图7A-7B(组2)、图8A-8B(组3)、和图9A-9B(组4)中。

[0081] 在组2和组3中测试了与其他诺如病毒毒株的交叉反应性。在年龄为1至<4岁的儿童亚组(即，组2;组合物组合并)中，观察到在第二剂量的疫苗后，与异源变异GII.4 VLP(GII.4.2006b和GII.4.2012)的高交叉反应性(图10)。在年龄为6至<12个月的婴儿(即组3，2个剂量组，组合物组合并)中，在单个疫苗剂量后，仅与2种异源变体GII.4毒株GII.4.2006b和GII.4.2012发生边缘交叉反应性(图11A)。在两个疫苗剂量后，组3受试者展现出与2种异源变体GII.4毒株更高的交叉反应性(图11B)。

安全性

[0082] 未报告疫苗相关严重不良事件(SAE)或致死性SAE。不同疫苗组合物(15/15、15/50、50/50和50/150)的安全性特征对于每个儿科年龄层是相似的，并且主要特征在于轻度至中度的反应原性症状，主要是轻度至中度强度，其中严重症状相对罕见(≤5％的受试者)，持续时间短，并且其中在任一队列中第二剂量后或在队列2中第三个剂量后没有增加。针对组1、2、2A和3招致的局部不良事件(AE)示出在图12A中。针对组4招致的局部AE示出在图12B中。针对组1和2招致的系统性AE示出在图13A中。针对组2a和3招致的系统性AE示出在图13B中。针对组4招致的系统性AE示出在图13C中。

[0083] 表3提供了在28天后所有组的来路不明的不良事件(按小组和剂量亚组)的概述。

表3.来路不明的AE。

剂量[a] (V或P)	亚组	AE的数量（n_e）与报告AE的数量（受试者的百分比；n_s[%]）											
		A (15/15)			B (15/50)			C (50/50)			D (50/150)		
		N	n_e	n_s (%)	N	n_e	n_s (%)	N	n_e	n_s (%)	N	n_e	n_s (%)
组	1 (4–<9 y)												
1 (V)	1剂量	15	7	4 (27)	16	5	5 (31)	14	10	8 (57)	16	11	6 (38)
1 (V)	2剂量	14	8	6 (43)	14	11	5 (36)	16	10	7 (44)	15	6	5 (33)
2 (P)	1剂量	15	6	5 (33)	16	9	5 (31)	14	6	5 (36)	16	6	5 (31)
2 (V)	2剂量	14	7	6 (43)	14	4	2 (14)	16	5	5 (31)	15	5	5 (33)
组	2 (1–<4 y)												
1 (V)	1剂量	16	15	11 (69)	16	14	10 (62)	14	5	5 (36)	15	6	6 (40)
1 (V)	2剂量	15	11	8 (53)	14	10	6 (43)	15	13	9 (60)	15	11	8 (53)
2 (P)	1剂量	16	14	8 (50)	16	10	7 (44)	14	6	3 (21)	15	4	4 (27)
2 (V)	2剂量	15	8	7 (47)	14	12	6 (43)	15	8	5 (33)	15	8	8 (53)
组	2a (1–<4 y)												
1 (V)	1剂量	14	3	3 (21)	15	9	7 (47)	15	9	5 (33)	16	7	5 (31)
1 (V)	2剂量	16	6	6 (38)	15	7	6 (40)	15	3	3 (20)	14	2	2 (14)
2 (P)	1剂量	14	6	4 (29)	15	7	5 (33)	15	6	6 (40)	16	5	5 (31)
2 (V)	2剂量	16	2	2 (12)	15	6	6 (40)	15	7	6 (40)	14	7	6 (43)
组	3 (6–<12 mo)												
1 (V)	1剂量	15	10	8 (53)	15	7	6 (40)	15	7	5 (33)	15	10	8 (53)
1 (V)	2剂量	15	10	8 (53)	15	10	7 (47)	15	7	6 (40)	15	5	5 (33)
2 (P)	1剂量	15	10	8 (53)	15	7	6 (40)	15	12	9 (60)	15	11	10 (67)
2 (V)	2剂量	15	13	8 (53)	15	14	12 (80)	15	7	6 (40)	15	9	5 (33)
组	4 (6 wk–<6 mo)												
1 (V)	2剂量	45	34	24 (53)	46	32	20 (44)	44	31	23 (52)	45	21	15 (33)
1 (V)	3剂量	45	27	18 (40)	44	26	20 (46)	46	22	19 (41)	44	22	16 (36)
2 (V)	2剂量	45	25	18 (40)	46	27	21 (46)	44	33	26 (59)	45	28	21 (47)
2 (V)	3剂量	45	24	19 (42)	44	24	16 (36)	46	30	24 (52)	44	40	24 (54)
3 (P)	2剂量	45	21	17 (38)	46	16	14 (30)	44	25	19 (43)	45	21	17 (38)
3 (V)	3剂量	45	21	14 (31)	44	20	16 (36)	46	33	22 (48)	44	26	19 (43)

[0084] 表4提供了针对所有组的按组和剂量亚组的SAE的概述。

表4.SAE

组 / 亚组 [a]	SAE的数量（n_e）与报告SAE的数量（受试者的百分比；n_s[%]）											
	A (15/15)			B (15/50)			C (50/50)			D (50/150)		
	N	n_e	n_s (%)	N	n_e	n_s (%)	N	n_e	n_s (%)	N	n_e	n_s (%)
组 1 (4–<9 y)												
1剂量	15	0	0 (0)	16	0	0 (0)	14	0	0 (0)	16	1	1 (6)
2剂量	14	0	0 (0)	14	0	0 (0)	16	1	1 (6)	15	1	1 (7)
组 2 (1–<4 y)												
1剂量	16	0	0 (0)	16	0	0 (0)	14	0	0 (0)	15	1	1 (7)
2剂量	15	0	0 (0)	14	0	0 (0)	15	1	1 (7)	15	1	1 (7)
组 2a (1–<4 y)												
1剂量	14	0	0 (0)	15	4	3 (20)	15	2	2 (13)	16	1	1 (6)
2剂量	16	0	0 (0)	15	1	1 (7)	15	0	0 (0)	14	0	0 (0)
组 3 (6–<12 mo)												
1剂量	15	2	2 (13)	15	1	1 (7)	15	3	3 (20)	15	0	0 (0)
2剂量	15	2	2 (13)	15	2	2 (13)	15	0	0 (0)	15	1	1 (7)
组 4 (6 wk–<6 mo)												
2剂量	45	5	5 (11)	46	4	4 (9)	44	5	4 (9)	45	4	4 (9)
3剂量	45	12	11 (24)	44	6	4 (9)	46	4	3 (6)	44	7	6 (14)

[0085] 来自研究的数据揭示，即使在研究中以最高剂量和最高数量的剂量施用时，二价诺如病毒疫苗组合物仍是安全的。疫苗中招致的AE的频率与抗原数量之间没有明显的关联。在第2剂量后或在组4中第3剂量后，招致的AE的频率没有增加。在第一疫苗剂量后，在所有组中39％至57％的受试者报告了招致的AE。在第二疫苗剂量后，在所有组中37％至46％的受试者报告了招致的AE。在剂量3后，对于安慰剂组和疫苗组，招致的AE的频率相似。在任何疫苗剂量后，疼痛是最常见的局部系统(≤24％)；易怒(≤29％)和嗜睡(≤23％)是常见的系统性症状。招致的症状主要为轻度或中度强度。类似地，大多数来路不明的AE为轻度至中度强度，并且与疫苗无关。24名受试者报告的38例SAE均不与疫苗相关。没有报告死亡，并

且没有导致从方案撤回的AE。

[0086] 总之，所述研究显示进一步包含500μg铝(作为$Al(OH)_3$)的GI.1/GII.4c二价疫苗的50/150μg组合物在年龄为6周至<9岁的儿童中具有高度免疫原性和安全性。没有鉴定出安全性问题，并且因此所述组合物在此患者群体中具有可接受的安全性特征，即使在2个剂量或3个剂量的情况下也是如此。基于经由临床研究获得的安全性和免疫原性数据，可以用2个或3个剂量的包含50μg GI.1 VLP和150μg GII.4 VLP的组合物向儿科患者群体给药。例如，年龄为6周至<6个月的患者群体可以安全并且有效地施用3个剂量的组合物。年龄为6个月至<9岁的患者群体可以安全并且有效地施用2个剂量的组合物。

[0087] 因此，在一些实施方案中，本公开文本提供了用于诱导针对诺如病毒感染的保护性免疫的方法、用途和组合物，包括首先确定受试者的年龄，并且然后确定要向受试者施用的剂量的数量。例如，如果受试者的年龄为至少约6周但是小于6个月，则以三个单独的剂量向受试者施用诺如病毒VLP疫苗(例如，GI.1/GII.4c二价疫苗，给药水平为50μg/150μg)；并且如果受试者的年龄为至少约6个月但是小于9岁，则以两个单独的剂量向受试者施用诺如病毒VLP疫苗(例如，GI.1/GII.4c二价疫苗，给药水平为50μg/150μg)。

[0088] 本发明不限于所述的特定实施方案的范围，所述实施方案旨在作为本发明的各个方面的单独说明，并且在功能上等同的方法和组分都在本发明的范围内。确实，除了本文显示和描述的内容以外，本发明的各种修改对于本领域技术人员而言也将从以上描述和附图中使用不多于常规实验而变得显而易见。此类修改和等效语旨在落于所附权利要求的范围内。

[0089] 本说明书中所提到的所有出版物、专利和专利申请都通过引用到说明书中并入本文中，并入程度如同明确且单独地指示每个单独出版物、专利或专利申请通过引用并入本文一般。

[0090] 本文中对参考文献的引用或讨论不应被解释为承认这是本发明的现有技术。

序列表

<110> 武田疫苗股份有限公司

<120> 诺如病毒疫苗配制品及方法

<130> LIGO-028/01WO

<150> US 62/782,733

<151> 2018-12-20

<160> 1

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 540

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 复合型GII.4诺如病毒VP1氨基酸序列

<400> 1

```
Met Lys Met Ala Ser Ser Asp Ala Asn Pro Ser Asp Gly Ser Thr Ala
1               5                  10                  15
Asn Leu Val Pro Glu Val Asn Asn Glu Val Met Ala Leu Glu Pro Val
            20                  25                  30
Val Gly Ala Ala Ile Ala Ala Pro Val Ala Gly Gln Gln Asn Val Ile
        35                  40                  45
Asp Pro Trp Ile Arg Asn Asn Phe Val Gln Ala Pro Gly Gly Glu Phe
    50                  55                  60
Thr Val Ser Pro Arg Asn Ala Pro Gly Glu Ile Leu Trp Ser Ala Pro
65                  70                  75                  80
Leu Gly Pro Asp Leu Asn Pro Tyr Leu Ser His Leu Ala Arg Met Tyr
                85                  90                  95
Asn Gly Tyr Ala Gly Gly Phe Glu Val Gln Val Ile Leu Ala Gly Asn
            100                 105                 110
Ala Phe Thr Ala Gly Lys Ile Ile Phe Ala Ala Val Pro Pro Asn Phe
        115                 120                 125
Pro Thr Glu Gly Leu Ser Pro Ser Gln Val Thr Met Phe Pro His Ile
    130                 135                 140
Ile Val Asp Val Arg Gln Leu Glu Pro Val Leu Ile Pro Leu Pro Asp
145                 150                 155                 160
Val Arg Asn Asn Phe Tyr His Tyr Asn Gln Ser Asn Asp Pro Thr Ile
                165                 170                 175
Lys Leu Ile Ala Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Ala Asn Asn Ala Gly
```

180 185 190

Asp Asp Val Phe Thr Val Ser Cys Arg Val Leu Thr Arg Pro Ser Pro

195 200 205

Asp Phe Asp Phe Ile Phe Leu Val Pro Pro Thr Val Glu Ser Arg Thr

210 215 220

Lys Pro Phe Thr Val Pro Ile Leu Thr Val Glu Glu Met Thr Asn Ser

225 230 235 240

Arg Phe Pro Ile Pro Leu Glu Lys Leu Phe Thr Gly Pro Ser Gly Ala

245 250 255

Phe Val Val Gln Pro Gln Asn Gly Arg Cys Thr Thr Asp Gly Val Leu

260 265 270

Leu Gly Thr Thr Gln Leu Ser Pro Val Asn Ile Cys Thr Phe Arg Gly

275 280 285

Asp Val Thr His Ile Ala Gly Thr Gln Glu Tyr Thr Met Asn Leu Ala

290 295 300

Ser Gln Asn Trp Asn Asn Tyr Asp Pro Thr Glu Glu Ile Pro Ala Pro

305 310 315 320

Leu Gly Thr Pro Asp Phe Val Gly Lys Ile Gln Gly Val Leu Thr Gln

325 330 335

Thr Thr Arg Gly Asp Gly Ser Thr Arg Gly His Lys Ala Thr Val Ser

340 345 350

Thr Gly Ser Val His Phe Thr Pro Lys Leu Gly Ser Val Gln Phe Ser

355 360 365

Thr Asp Thr Ser Asn Asp Phe Glu Thr Gly Gln Asn Thr Lys Phe Thr

370 375 380

Pro Val Gly Val Val Gln Asp Gly Ser Thr Thr His Gln Asn Glu Pro

385 390 395 400

Gln Gln Trp Val Leu Pro Asp Tyr Ser Gly Arg Asp Ser His Asn Val

405 410 415

His Leu Ala Pro Ala Val Ala Pro Thr Phe Pro Gly Glu Gln Leu Leu

420 425 430

Phe Phe Arg Ser Thr Met Pro Gly Cys Ser Gly Tyr Pro Asn Met Asn

435 440 445

Leu Asp Cys Leu Leu Pro Gln Glu Trp Val Gln His Phe Tyr Gln Glu

450 455 460

Ala Ala Pro Ala Gln Ser Asp Val Ala Leu Leu Arg Phe Val Asn Pro

465 470 475 480

Asp Thr Gly Arg Val Leu Phe Glu Cys Lys Leu His Lys Ser Gly Tyr

485 490 495

Val Thr Val Ala His Thr Gly Gln His Asp Leu Val Ile Pro Pro Asn
500 505 510
Gly Tyr Phe Arg Phe Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Thr Leu Ala
515 520 525
Pro Met Gly Asn Gly Thr Gly Arg Arg Arg Ala Leu
530 535 540

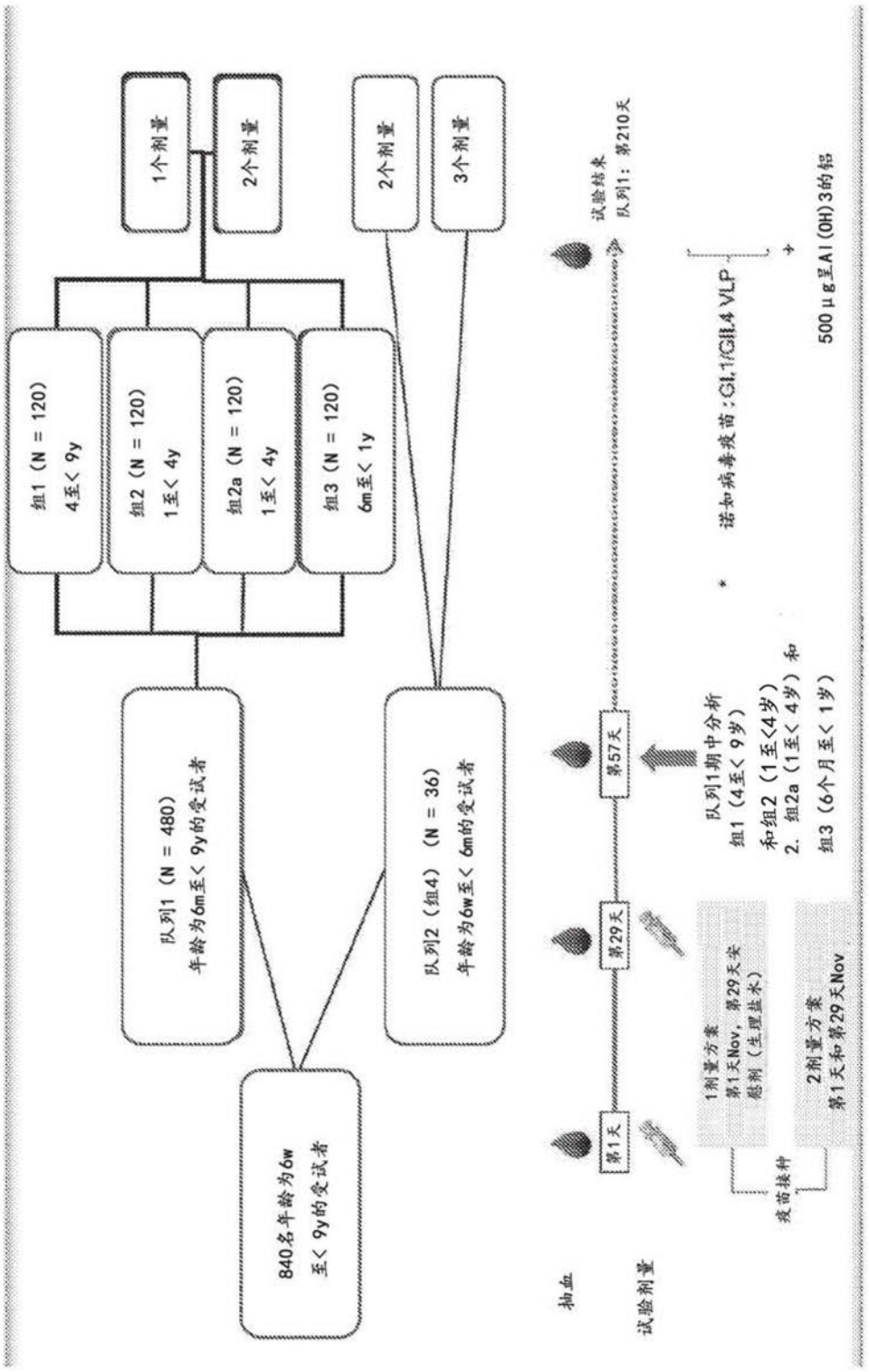

840名年龄为6w
至< 9y的受试者
队列1（N = 480）
年龄为6m至< 9y的受试者
队列2（组4）（N = 36）
年龄为6w至< 6m的受试者
组1（N = 120）
4至< 9y
组2（N = 120）
1至< 4y
组2a（N = 120）
1至< 4y
组3（N = 120）
6m至< 1y
1个剂量
2个剂量
2个剂量
3个剂量
抽血
试验剂量
第1天
第29天
第57天
1剂量方案
第1天Nov，第29天安
慰剂（生理盐水）
2剂量方案
第1天和第29天Nov
疫苗接种
队列1期中分析
组1（4至< 9岁）
和组2（1至<4岁）
2. 组2a（1至< 4岁）和
组3（6个月至< 1岁）
*
诺如病毒疫苗：GI.1/GII.4 VLP
+
500 μg呈Al(OH)3的铝
试验结束
队列1：第210天

FIG.1

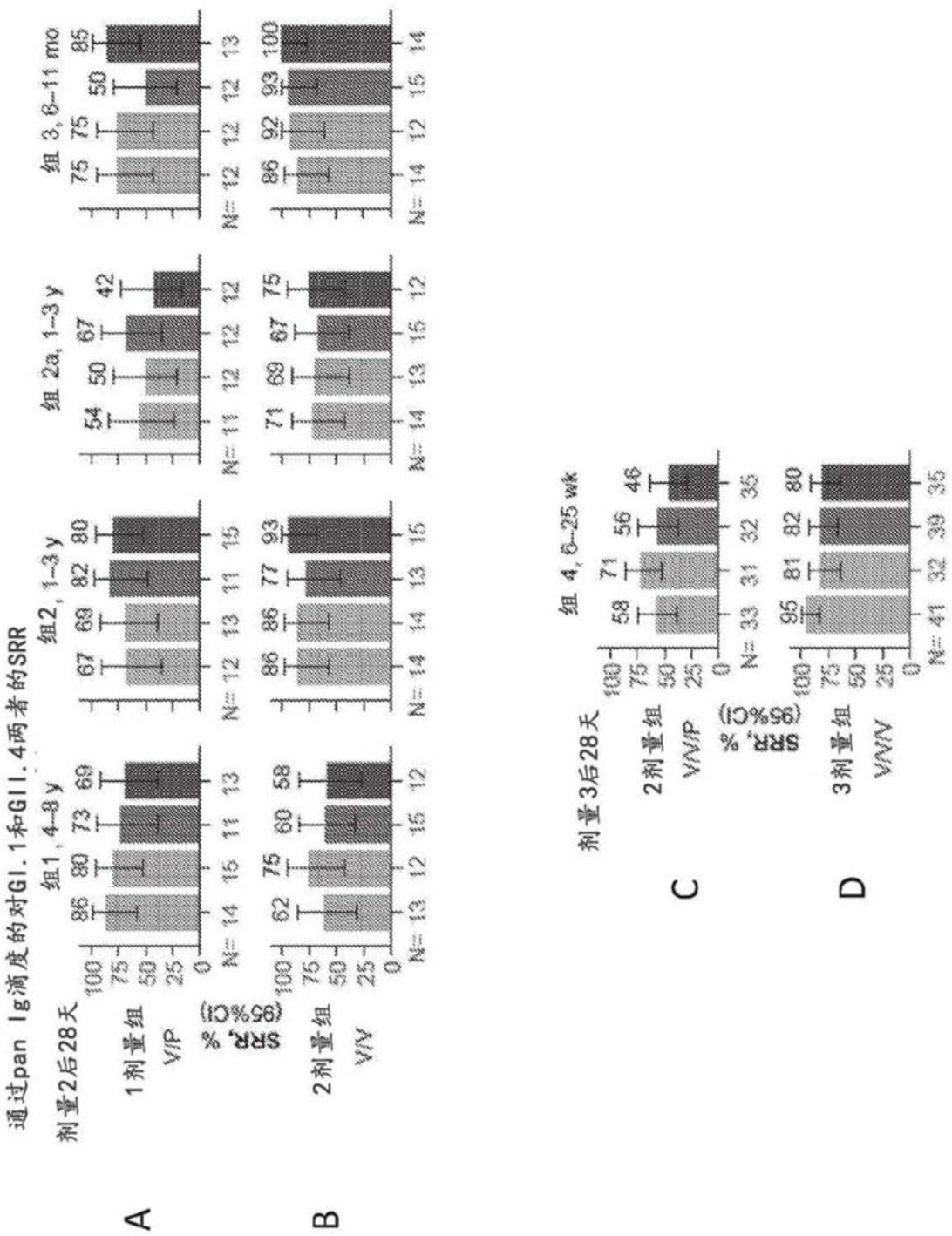

通过pan Ig滴度的对GI.1和GII.4两者的SRR
剂量2后28天
组1, 4–8 y
组2, 1–3 y
组2a, 1–3 y
组 3, 6–11 mo
1剂量组
V/P
2剂量组
V/V
SRR (95% CI), %
N= 14 15 11 13
N= 12 13 11 15
N= 11 12 12 12
N= 14 12 15 12
N= 14 14 13 15
N= 14 13 15 15
N= 12 12 12 13
N= 14 12 15 14
A
B
剂量3后28天
组 4, 6–25 wk
2剂量组
V/V/P
3剂量组
V/V/V
N= 33 31 32 35
N= 41 32 39 35
C
D

FIG.2A-D

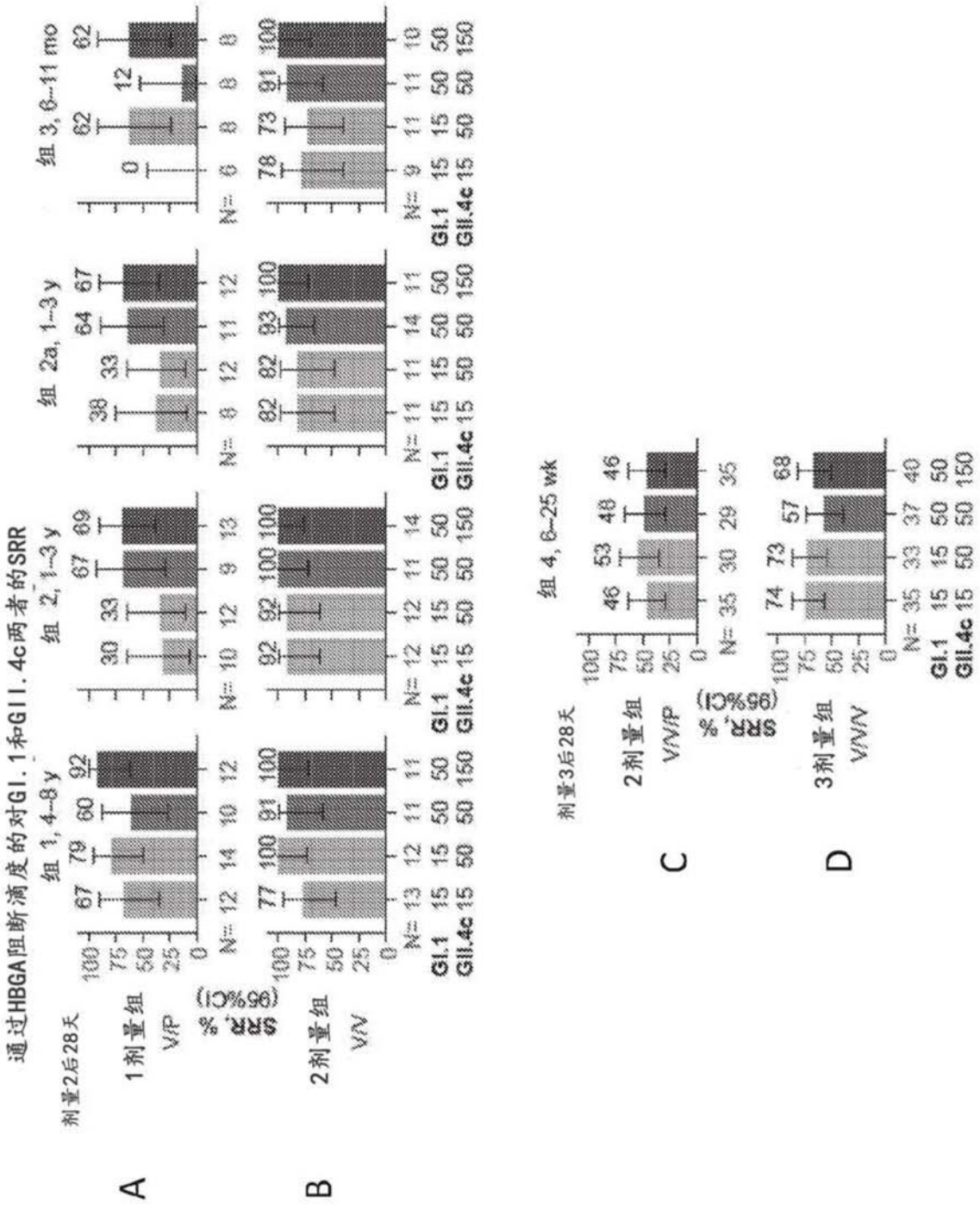

通过HBGA阻断滴度的对GI.1和GII.4c两者的SRR
A
B
C
D
1剂量组
2剂量组
2剂量组
3剂量组
V/P
V/V
V/V/P
V/V/V
SRR (95%CI)
剂量2后28天
剂量3后28天
组 1, 4–8 y
组 2, 1–3 y
组 2a, 1–3 y
组 3, 6–11 mo
组 4, 6–25 wk
GI.1
GII.4c

FIG.3A-D

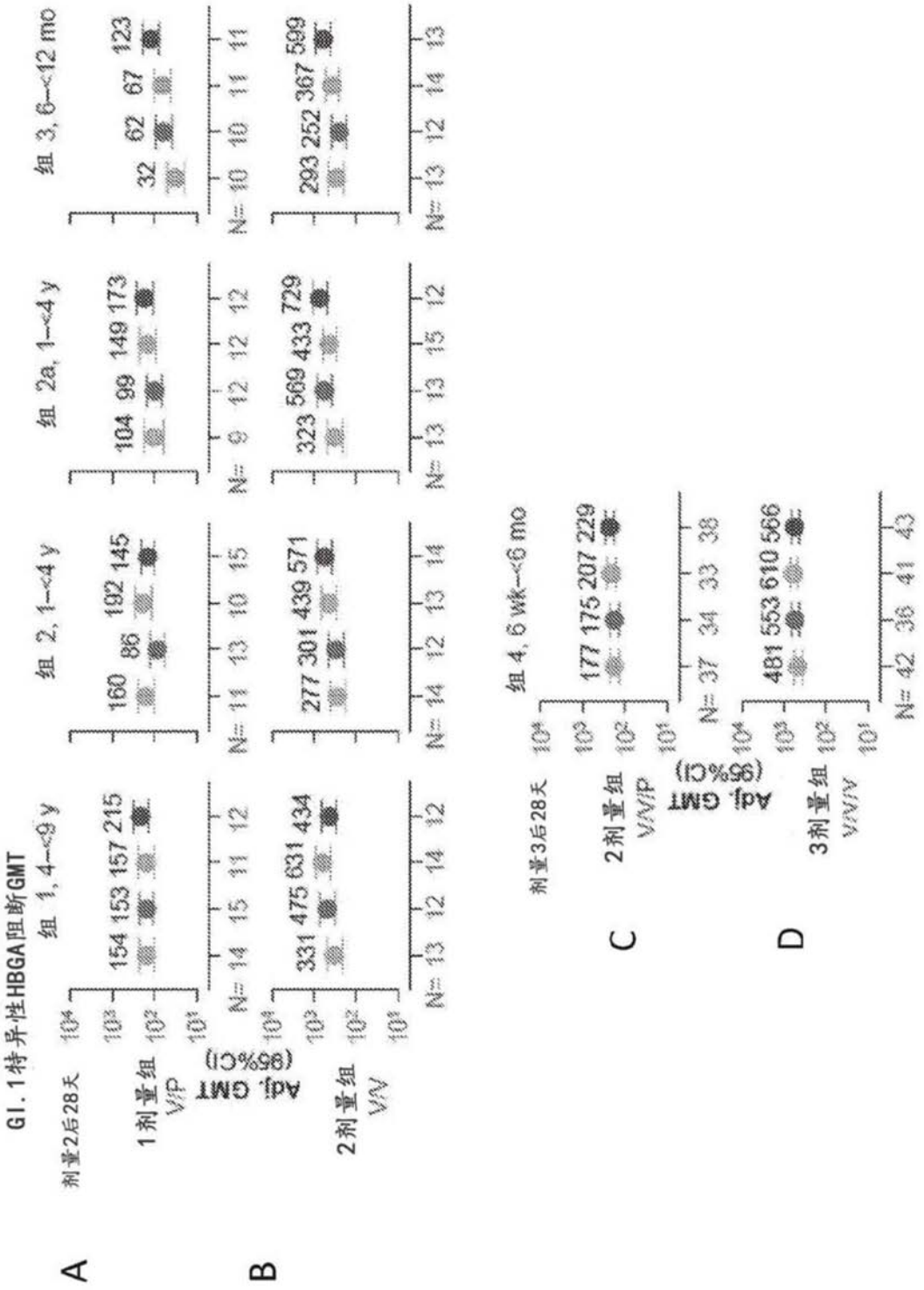

GI.1特异性HBGA阻断GMT
Adj. GMT (95%CI)
A
B
C
D
组 1, 4–<9 y
组 2, 1–<4 y
组 2a, 1–<4 y
组 3, 6–<12 mo
组 4, 6 wk–<6 mo
剂量2后28天
剂量3后28天
1剂量组 V/P
2剂量组 V/V
2剂量组 V/V/P
3剂量组 V/V/V
154 153 157 215
331 475 631 434
160 86 192 145
277 301 439 571
104 99 149 173
323 569 433 729
32 62 67 123
293 252 367 599
177 175 207 229
481 553 610 566
N= 13 12 14 12
N= 14 15 11 12
N= 11 13 10 15
N= 14 12 13 14
N= 9 12 12 12
N= 13 13 15 12
N= 10 10 11 11
N= 13 12 14 13
N= 37 34 33 38
N= 42 36 41 43

FIG.4A-D

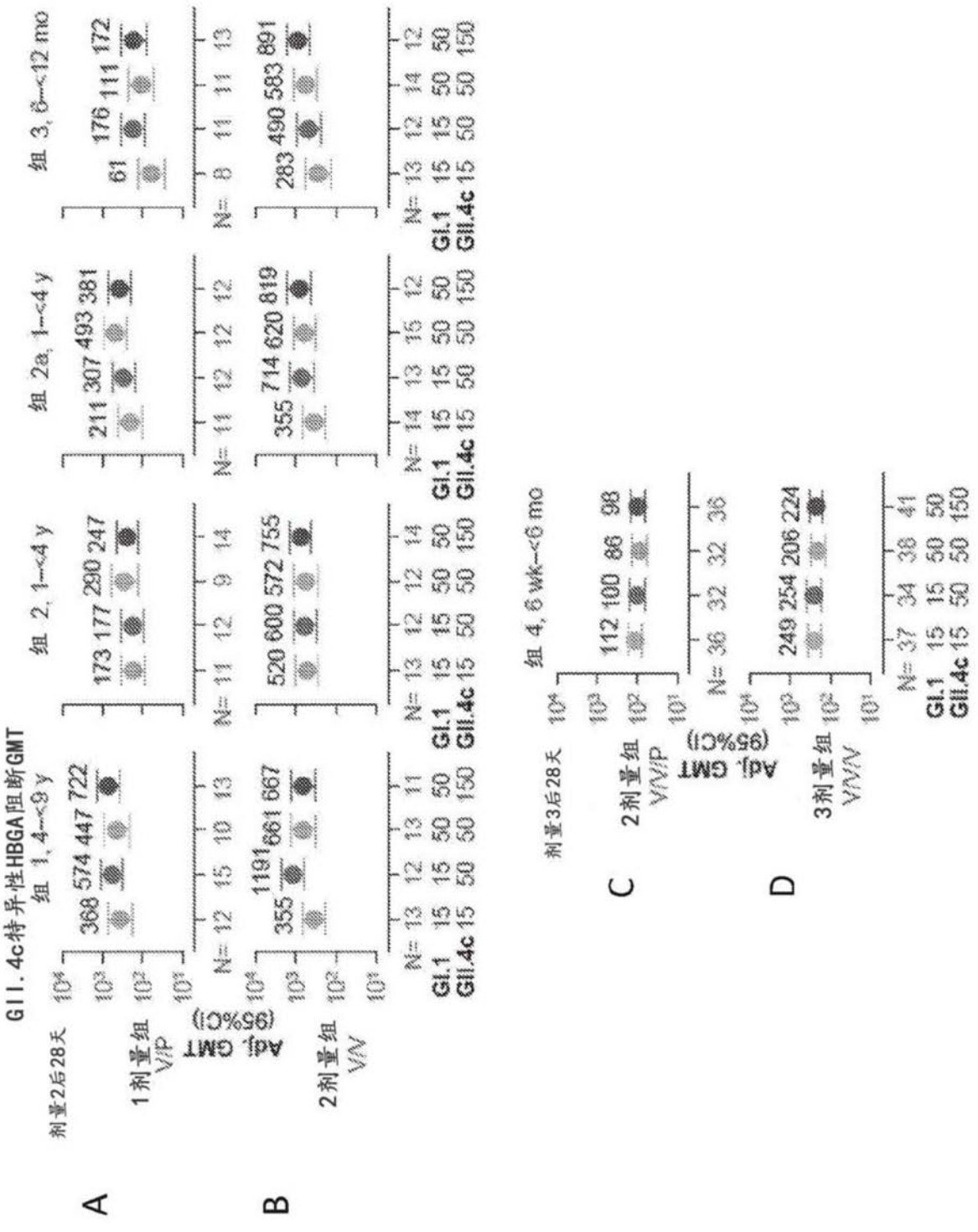

GII.4c特异性HBGA阻断GMT
A
B
C
D
剂量2后28天
剂量3后28天
1剂量组 V/P
2剂量组 V/V
2剂量组 V/V/P
3剂量组 V/V/V
Adj. GMT (95%CI)
组 1, 4-<9 y
组 2, 1-<4 y
组 2a, 1-<4 y
组 3, 6-<12 mo
组 4, 6 wk-<6 mo
GI.1
GII.4c

FIG.5A-D

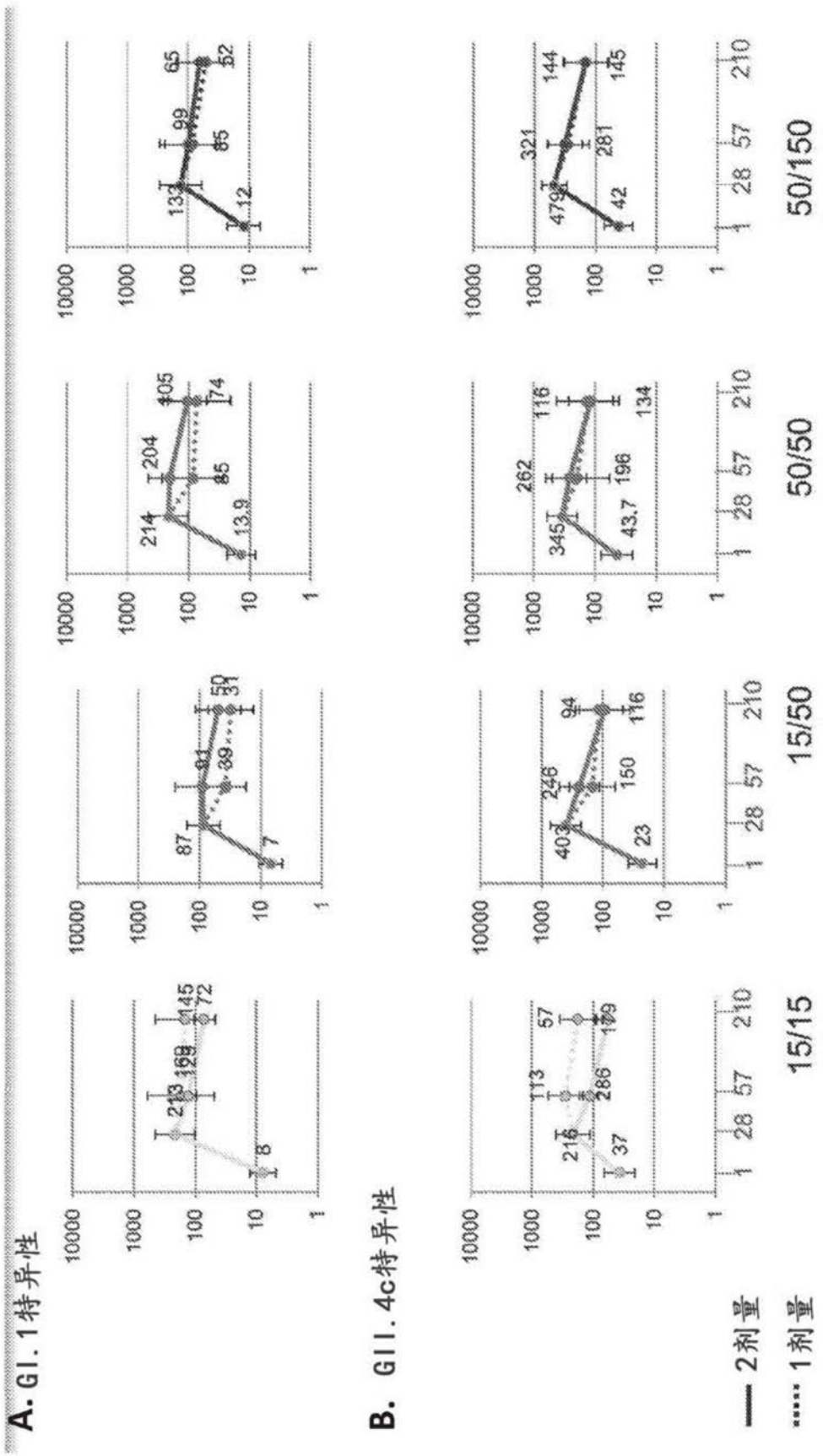

A. GI.1特异性
B. GII.4c特异性
15/15
15/50
50/50
50/150
2剂量
1剂量
10000
1000
100
10
1
1
28
57
210

FIG.6A-6B

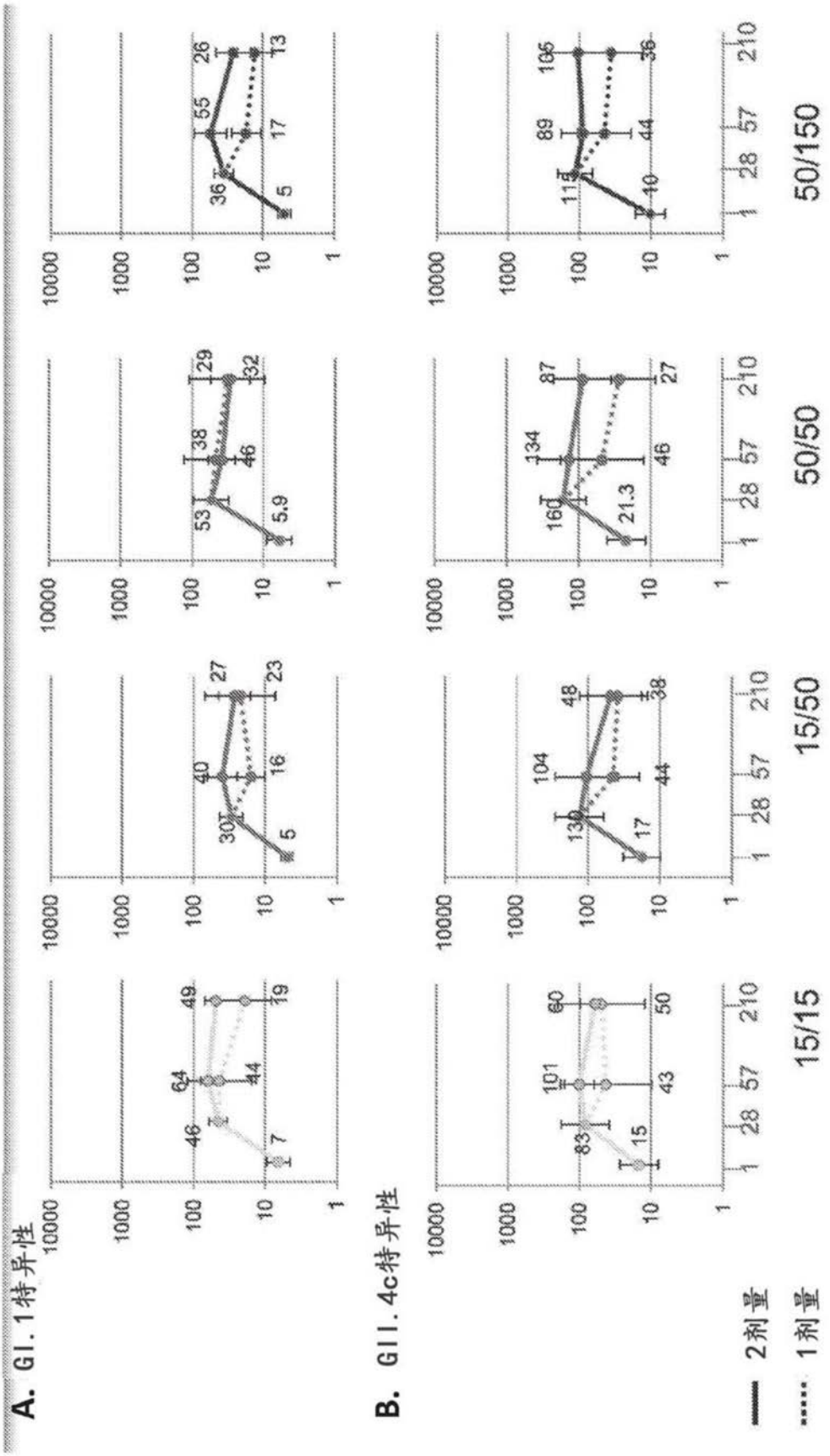


FIG.7A-7B

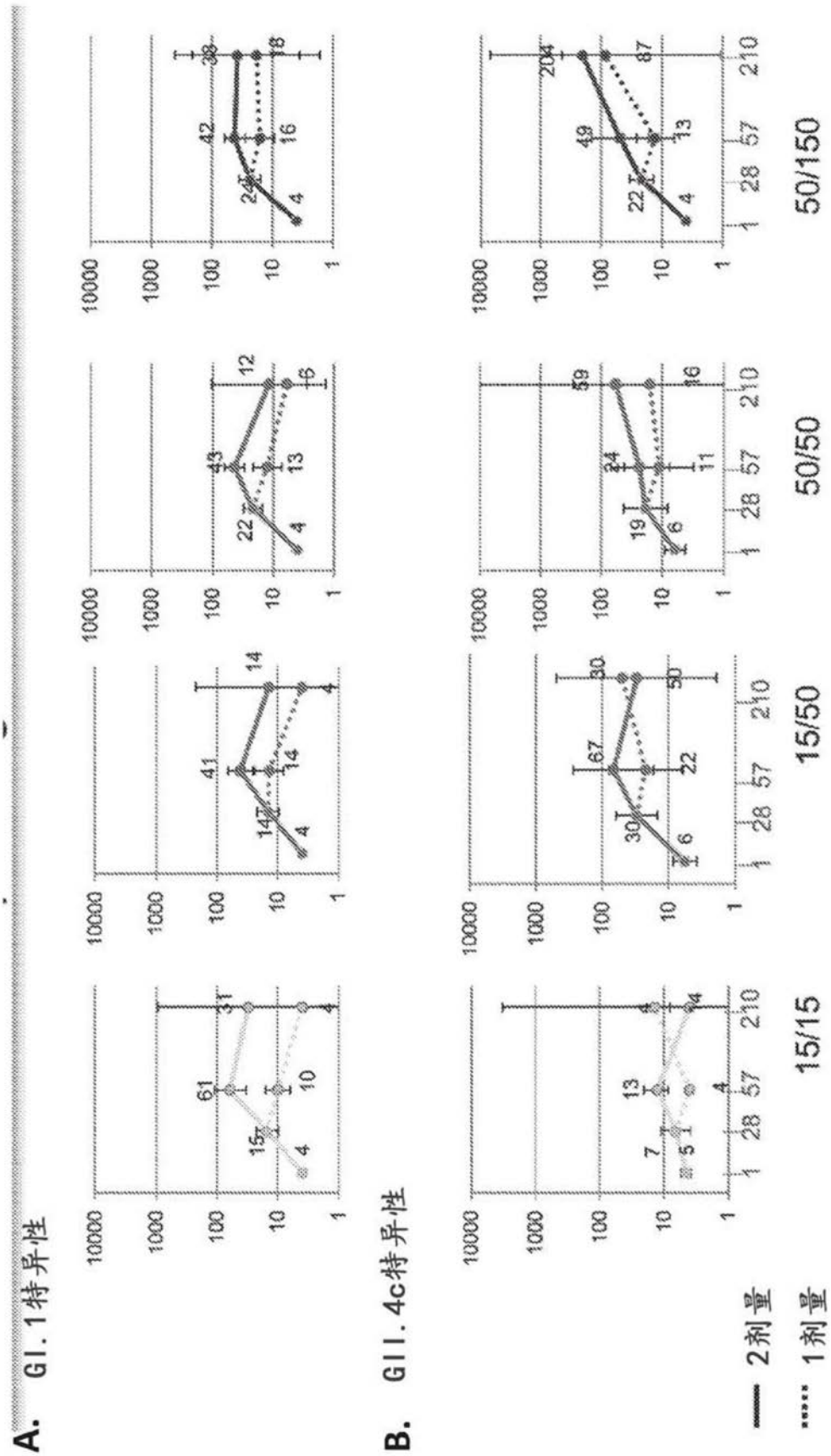

A. GI.1特异性
B. GII.4c特异性
15/15
15/50
50/50
50/150
2剂量
1剂量
10000
1000
100
10
1
1
28
57
210

FIG.8A-8B

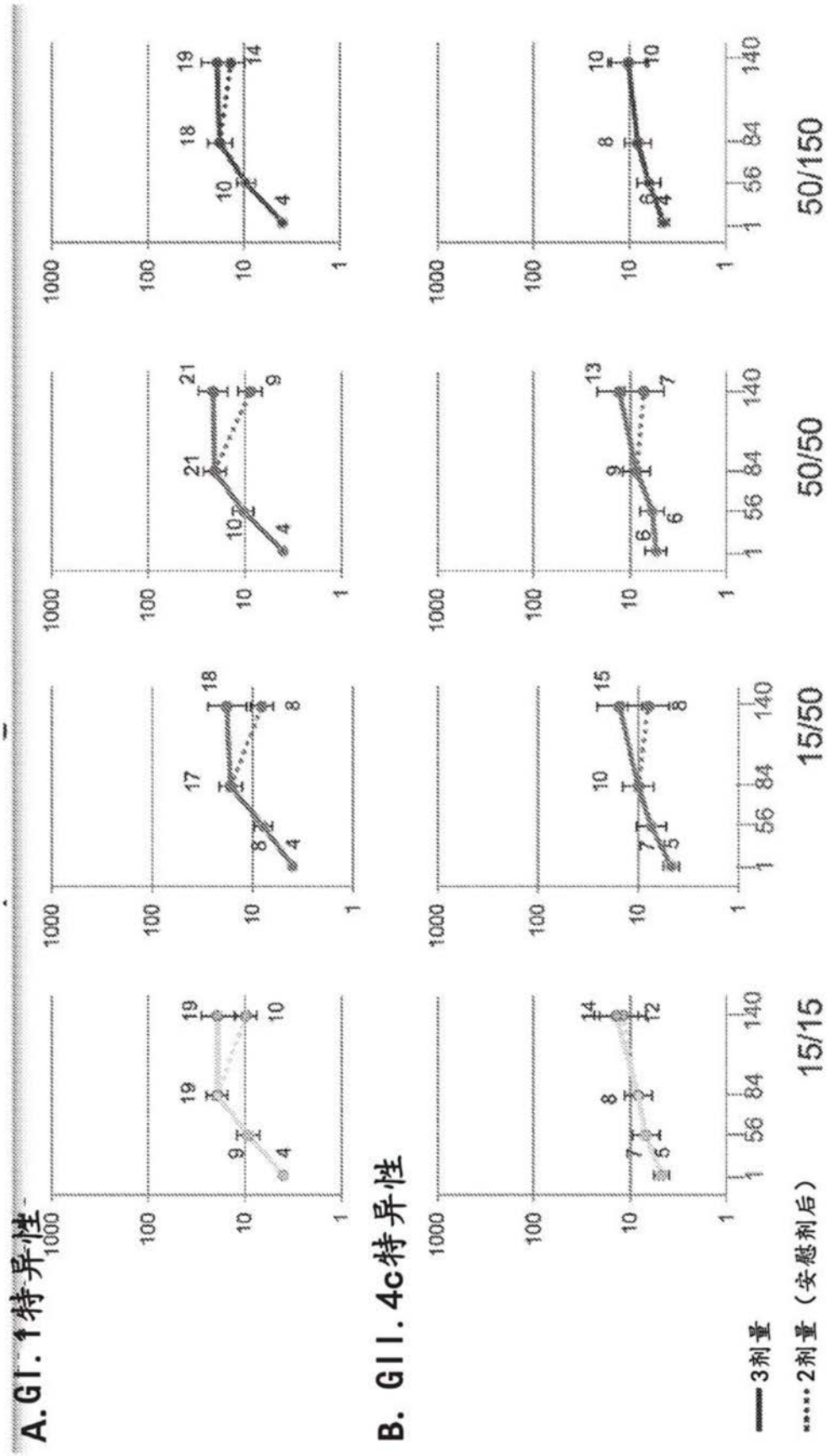


FIG.9A-9B

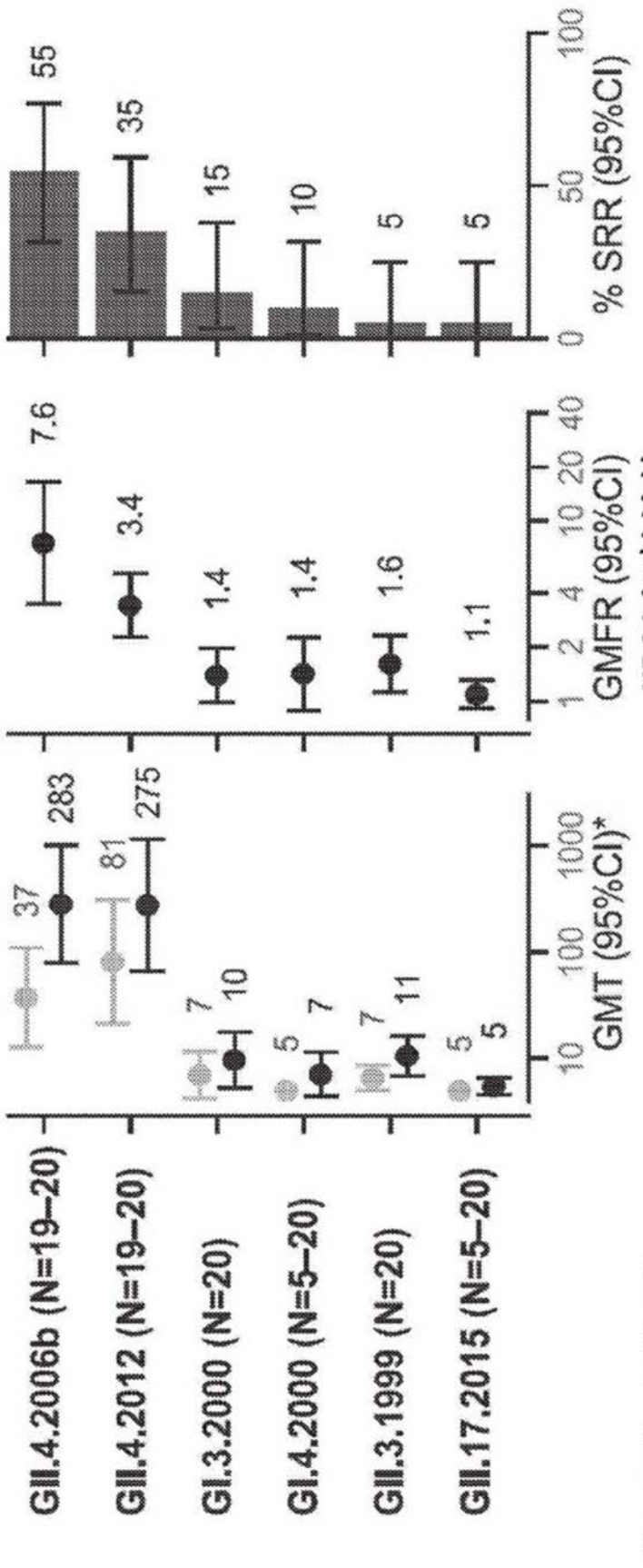

GII.4.2006b (N=19–20)
GII.4.2012 (N=19–20)
GI.3.2000 (N=20)
GI.4.2000 (N=5–20)
GII.3.1999 (N=20)
GII.17.2015 (N=5–20)
37
283
81
275
7
10
5
7
7
11
5
5
10
100
1000
GMT (95%CI)*
7.6
3.4
1.4
1.4
1.6
1.1
1
2
4
10
20
40
GMFR (95%CI)
HBGA阻断活性
55
35
15
10
5
5
0
50
100
% SRR (95%CI)
基线（第1天）
第2剂量后

FIG.10

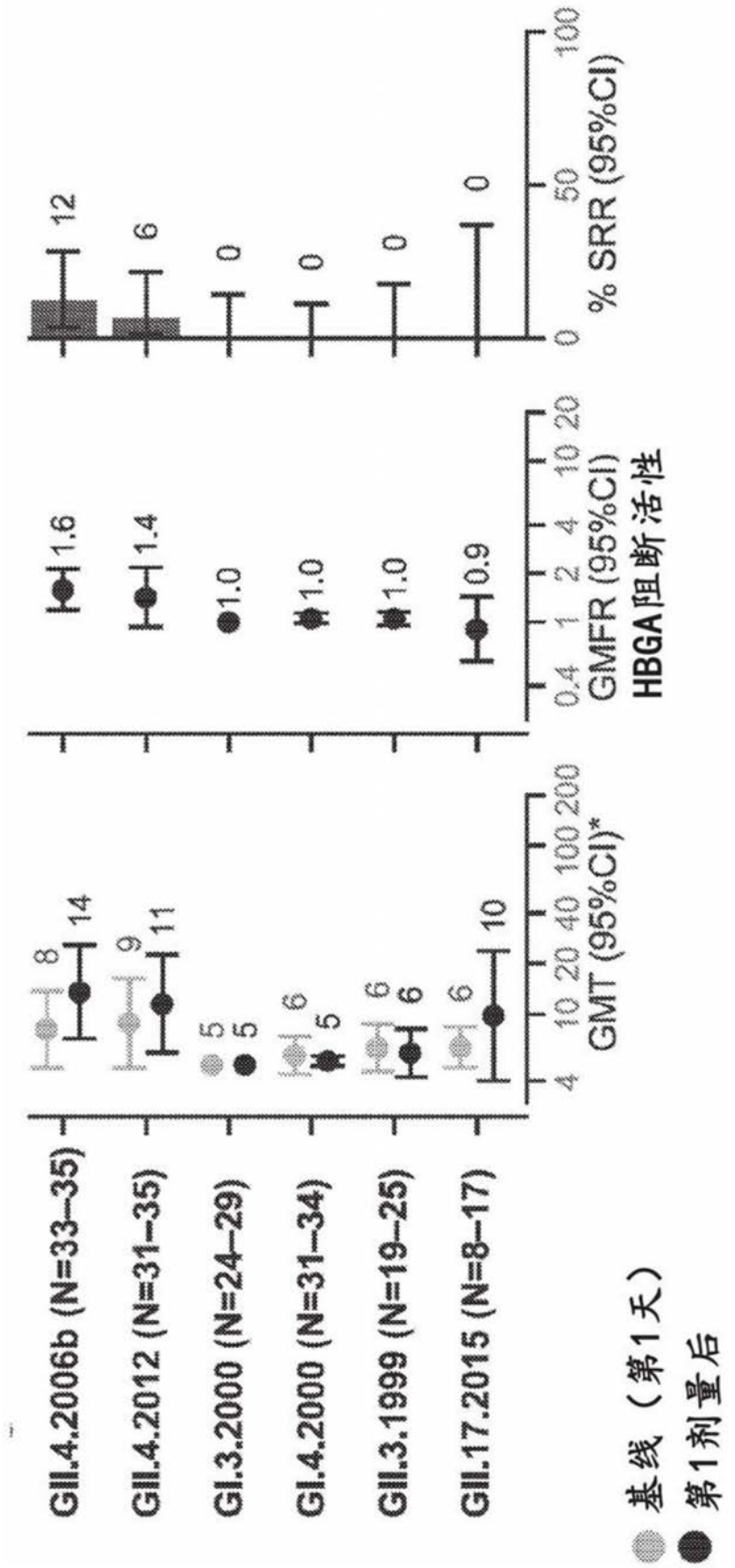

GII.4.2006b (N=33–35)
GII.4.2012 (N=31–35)
GI.3.2000 (N=24–29)
GI.4.2000 (N=31–34)
GII.3.1999 (N=19–25)
GII.17.2015 (N=8–17)
8
14
9
11
5
5
6
5
6
6
6
10
4 10 20 40 100 200
GMT (95%CI)*
1.6
1.4
1.0
1.0
1.0
0.9
0.4 1 2 4 10 20
GMFR (95%CI)
HBGA阻断活性
12
6
0
0
0
0
0 50 100
% SRR (95%CI)
基线（第1天）
第1剂量后

FIG.11A

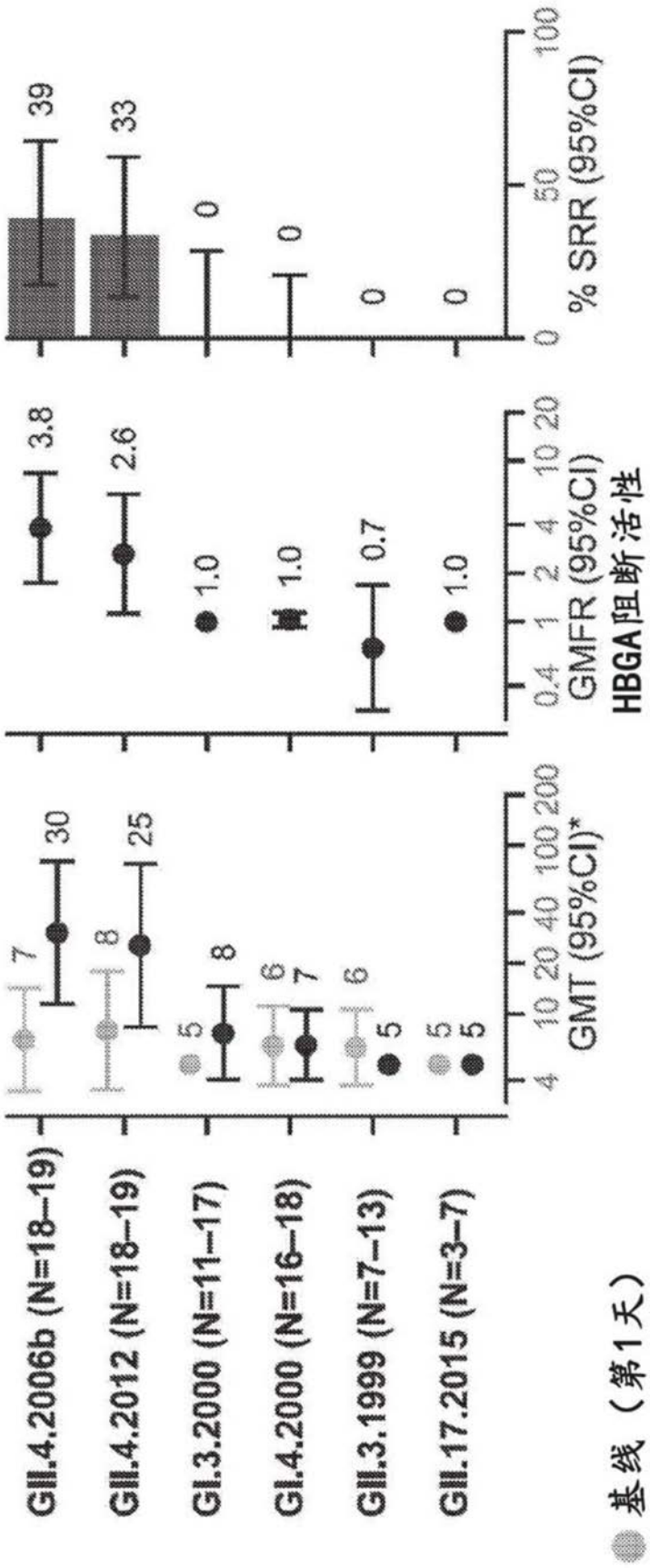

GII.4.2006b (N=18–19)
GII.4.2012 (N=18–19)
GI.3.2000 (N=11–17)
GI.4.2000 (N=16–18)
GII.3.1999 (N=7–13)
GII.17.2015 (N=3–7)
7
30
8
25
5
8
6
7
6
5
5
5
4 10 20 40 100 200
GMT (95%CI)*
3.8
2.6
1.0
1.0
0.7
1.0
0.4 1 2 4 10 20
GMFR (95%CI)
HBGA阻断活性
39
33
0
0
0
0
0 50 100
% SRR (95%CI)
基线（第1天）
第2剂量后

FIG.11B

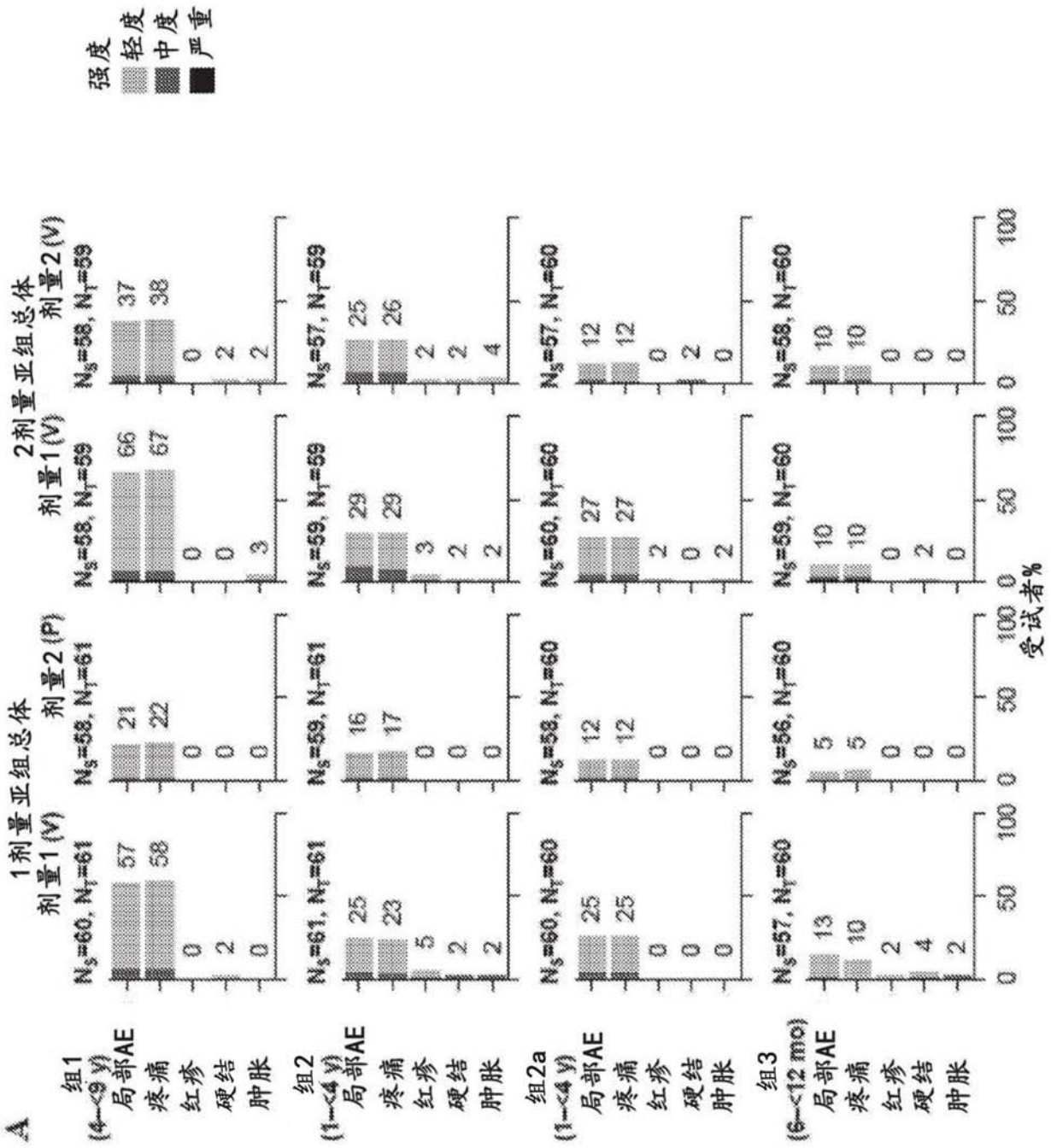

A
1剂量亚组总体
剂量1 (V)
剂量2 (P)
2剂量亚组总体
剂量1 (V)
剂量2 (V)
强度
轻度
中度
严重
组1 (4–<9 y)
局部AE
疼痛
红疹
硬结
肿胀
组2 (1–<4 y)
局部AE
疼痛
红疹
硬结
肿胀
组2a (1–<4 y)
局部AE
疼痛
红疹
硬结
肿胀
组3 (6–<12 mo)
局部AE
疼痛
红疹
硬结
肿胀
受试者%

FIG.12A

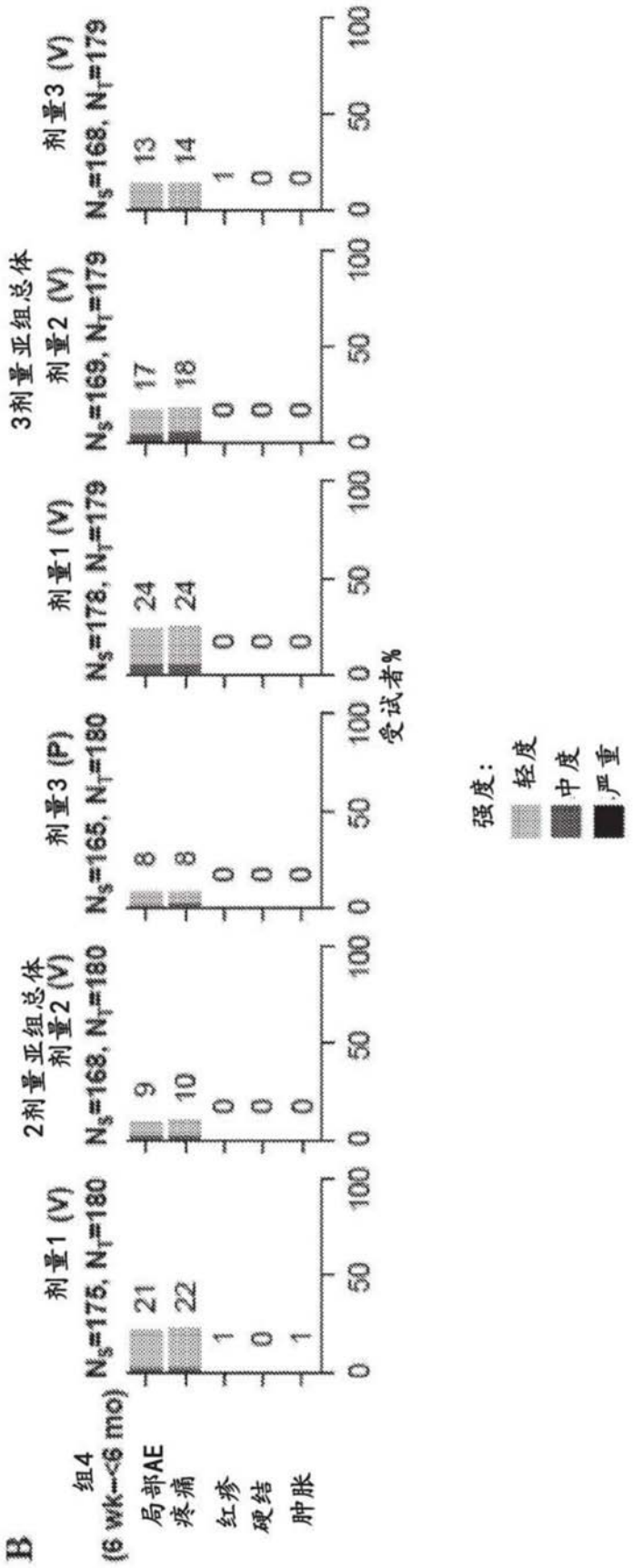

B
组4
(6 wk-<6 mo)
局部AE
疼痛
红疹
硬结
肿胀
剂量1 (V)
N_S=175, N_T=180
21
22
1
0
1
2剂量亚组总体
剂量2 (V)
N_S=168, N_T=180
9
10
0
0
0
剂量3 (P)
N_S=165, N_T=180
8
8
0
0
0
剂量1 (V)
N_S=178, N_T=179
24
24
0
0
0
3剂量亚组总体
剂量2 (V)
N_S=169, N_T=179
17
18
0
0
0
剂量3 (V)
N_S=168, N_T=179
13
14
1
0
0
0
50
100
受试者%
强度:
轻度
中度
严重

FIG.12B

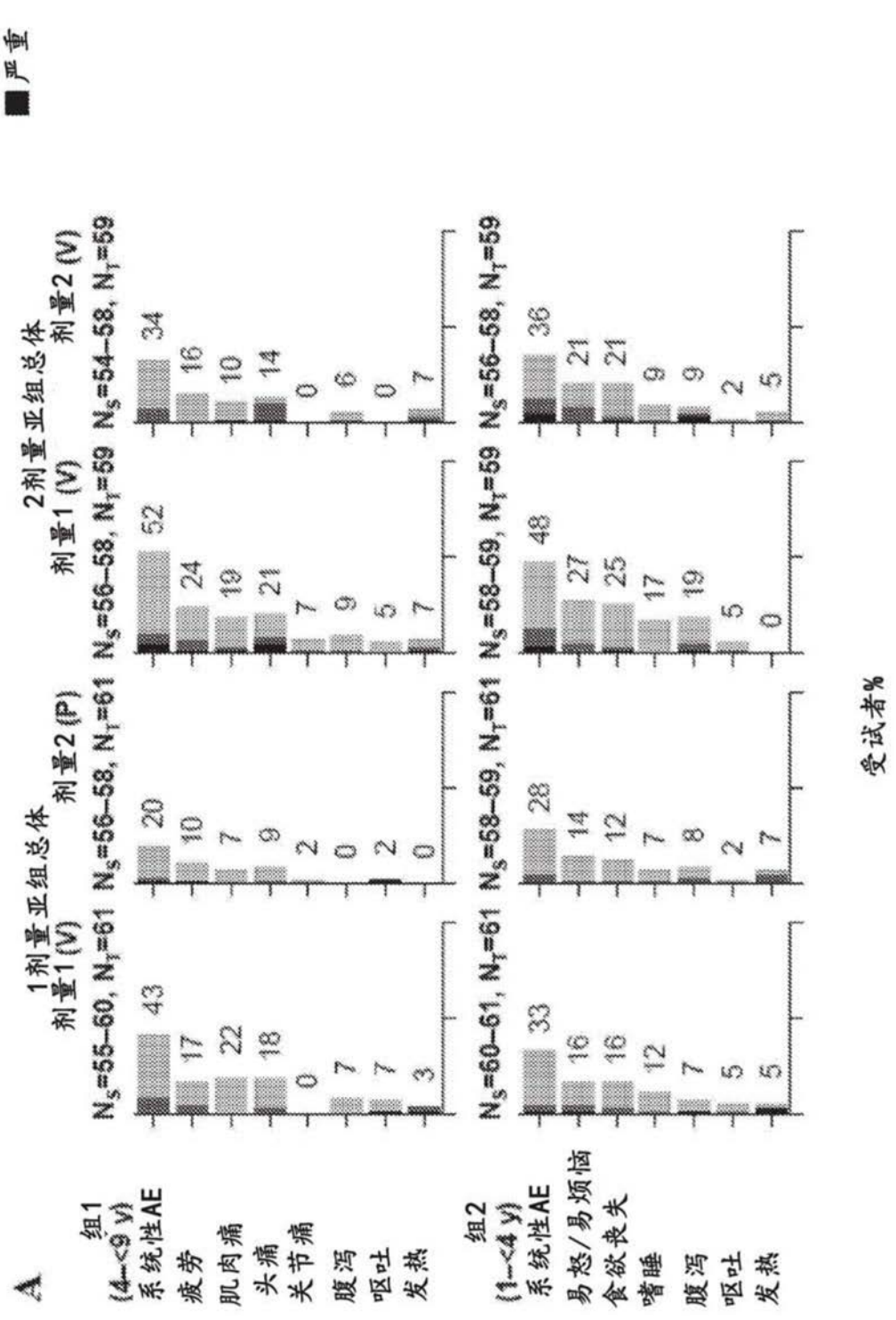

强度：
轻度
中度
严重
A
1剂量亚组总体
剂量1 (V)
剂量2 (P)
2剂量亚组总体
剂量1 (V)
剂量2 (V)
组1
(4–<9 y)
系统性AE
疲劳
肌肉痛
头痛
关节痛
腹泻
呕吐
发热
组2
(1–<4 y)
系统性AE
易怒/易烦恼
食欲丧失
嗜睡
腹泻
呕吐
发热
受试者%

FIG.13A

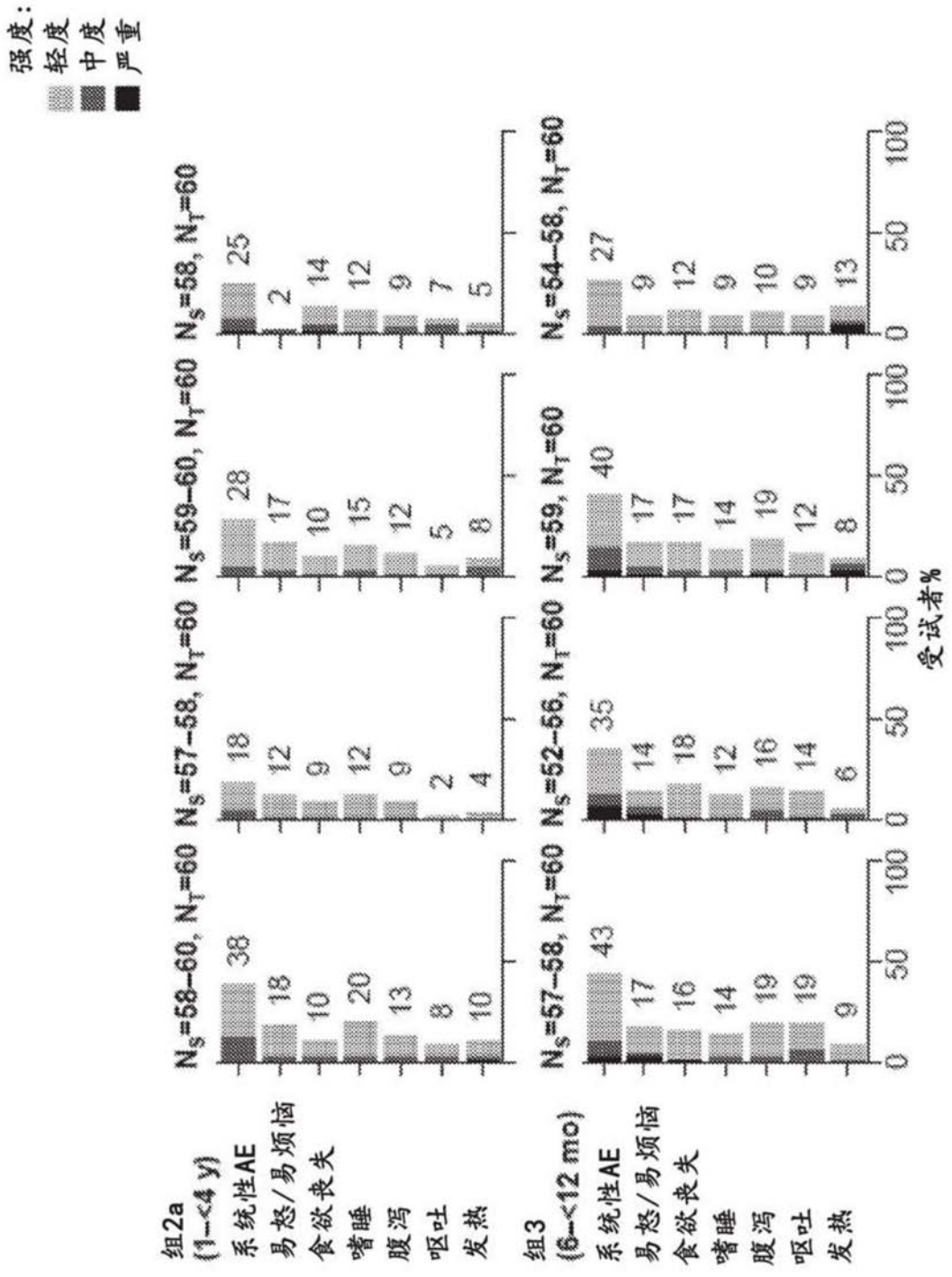

强度：
轻度
中度
严重
组2a
(1-<4 y)
N_S=58-60, N_T=60
N_S=57-58, N_T=60
N_S=59-60, N_T=60
N_S=58, N_T=60
系统性AE 38 18 28 25
易怒/易烦恼 18 12 17 2
食欲丧失 10 9 10 14
嗜睡 20 12 15 12
腹泻 13 9 12 9
呕吐 8 2 5 7
发热 10 4 8 5
组3
(6-<12 mo)
N_S=57-58, N_T=60
N_S=52-56, N_T=60
N_S=59, N_T=60
N_S=54-58, N_T=60
系统性AE 43 35 40 27
易怒/易烦恼 17 14 17 9
食欲丧失 16 18 17 12
嗜睡 14 12 14 9
腹泻 19 16 19 10
呕吐 19 14 12 9
发热 9 6 8 13
0 50 100
受试者%

FIG.13B

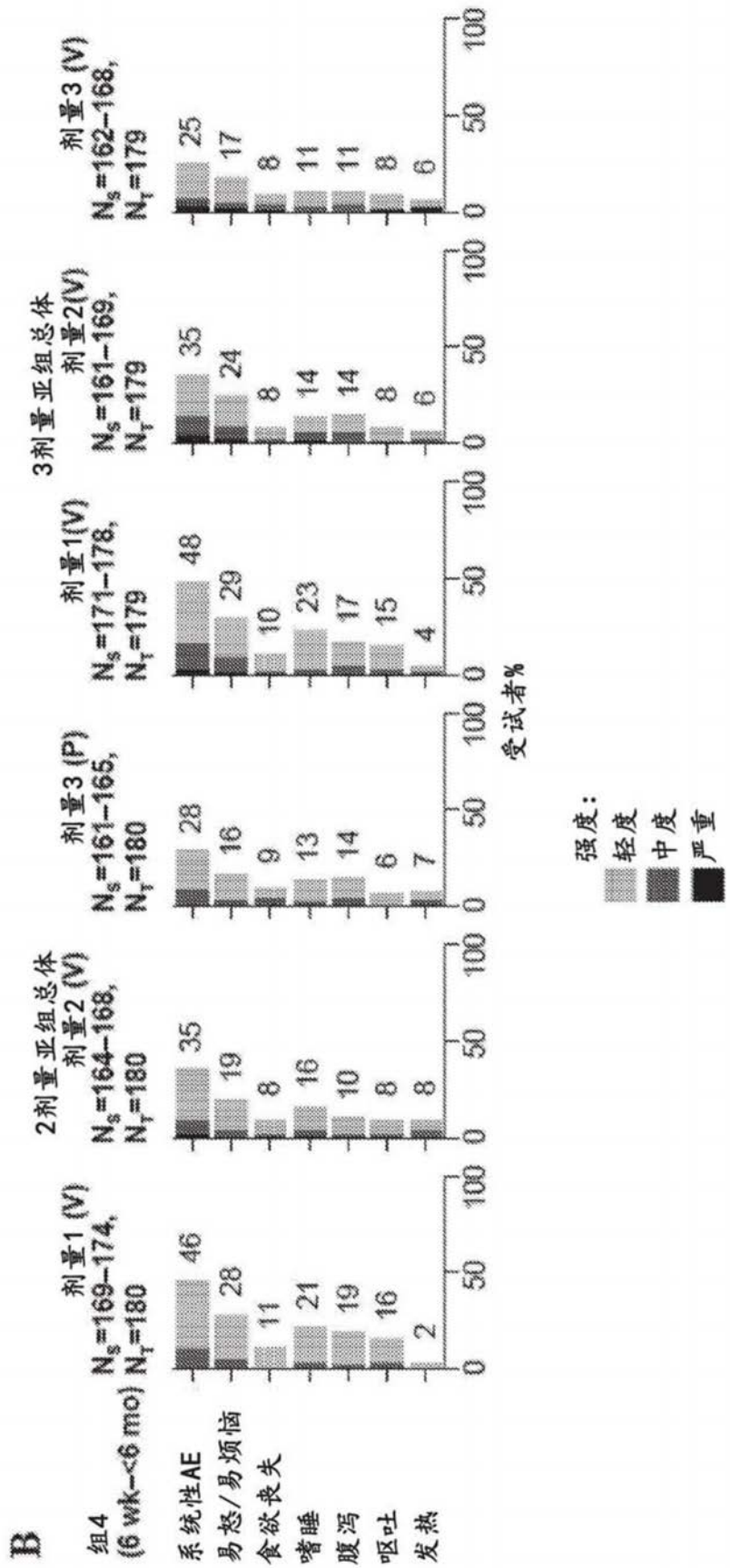

B
组4
(6 wk–<6 mo)
剂量1 (V)
Ns=169–174,
NT=180
2剂量亚组总体
剂量2 (V)
Ns=164–168,
NT=180
剂量3 (P)
Ns=161–165,
NT=180
剂量1(V)
Ns=171–178,
NT=179
3剂量亚组总体
剂量2(V)
Ns=161–169,
NT=179
剂量3 (V)
Ns=162–168,
NT=179
系统性AE
易怒/易烦恼
食欲丧失
嗜睡
腹泻
呕吐
发热
46 28 11 21 19 16 2
35 19 8 16 10 8 8
28 16 9 13 14 6 7
48 29 10 23 17 15 4
35 24 8 14 14 8 6
25 17 8 11 11 8 6
0 50 100
受试者%
强度:
轻度
中度
严重

FIG.13C