



등록특허 10-2692762



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월08일

(11) 등록번호 10-2692762

(24) 등록일자 2024년08월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/095 (2006.01) **A61K 39/00** (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/095 (2013.01)
A61K 39/385 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7031453(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년09월01일
심사청구일자 2023년09월14일
(85) 번역문제출일자 2023년09월14일
(65) 공개번호 10-2023-0135178
(43) 공개일자 2023년09월22일
(62) 원출원 특허 10-2019-7009389
원출원일자(국제) 2017년09월01일
심사청구일자 2020년08월31일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/049856
(87) 국제공개번호 WO 2018/045286
국제공개일자 2018년03월08일
(30) 우선권주장
62/383,279 2016년09월02일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
JP2015134829 A

(73) 특허권자
사노피 파스퇴르 인크
미국 펜실바니아주 18370 스위프트워터 디스커버리 드라이브
(72) 발명자
켄싱어, 리처드 데이비드
미국 펜실바니아주 18370 스위프트워터 디스커버리 드라이브
하우저, 스티븐 엘
미국 펜실바니아주 18370 스위프트워터 디스커버리 드라이브
(74) 대리인
양영준, 이윤기, 여호섭, 임근실

전체 청구항 수 : 총 38 항

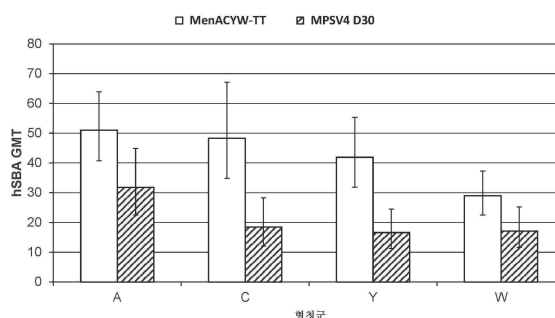
심사관 : 최연정

(54) 발명의 명칭 **네이세리아 메닌기티디스 백신**

(57) 요약

네이세리아 메닌기티디스에 대해 대상체에게 백신접종하기 위한 화합물, 조성물, 제제, 키트, 용도 및 방법이 본원에 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 31/04 (2018.01)

A61P 37/04 (2018.01)

A61K 2039/6037 (2013.01)

A61K 2039/627 (2013.01)

A61K 2039/70 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/468,695 2017년03월08일 미국(US)

62/505,525 2017년05월12일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

네이세리아 메닝기티디스(*Neisseria meningitidis*) 백신 조성물이며,

- a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체,
- b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체,
- c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체, 및
- d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체

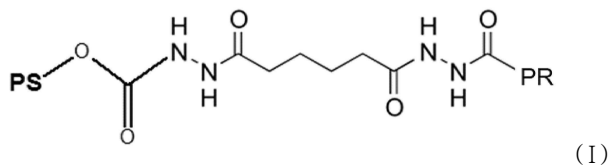
를 포함하고,

담체 단백질은 과상풍 독소이드이고,

제1, 제2, 제3, 및 제4 접합체는 300 kDa 내지 1500 kDa 범위의 중량 평균 분자량을 갖고,

조성물은 총 폴리사카라이드 대비 중량 기준으로 20% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하고,

MenA 피막 폴리사카라이드는 화학식 I의 링커를 통해 담체 단백질에 부착되며:



(여기서,

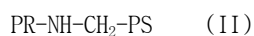
PS는 폴리사카라이드에 대한 부착을 나타내고,

PR은 담체 단백질에 대한 부착을 나타냄),

상기 링커는 MenA 접합체 중에 10-100개 사카라이드 반복 단위당 1개 링커의 비로 존재하고,

제1 접합체는 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.7 내지 1.4를 갖고,

제2, 제3, 및 제4 접합체의 폴리사카라이드는 화학식 II로 나타난 바와 같이 담체 단백질에 부착되고:



(여기서,

PS는 폴리사카라이드에 대한 부착을 나타내고,

PR은 담체 단백질에 대한 부착을 나타냄),

제2 접합체는

담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.3 내지 1.1을 갖고,

이중-단부-연결 접합된 폴리사카라이드 및 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드를 포함하는 집단이며,

MenC 폴리사카라이드는 천연 MenC 폴리사카라이드 대비 3x-8x만큼 크기에서 감소되며,

제3 접합체는 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.3 내지 1.3을 갖고,

제4 접합체는 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.3 내지 1.1을 갖고,

제3 및 제4 접합체는 60 nmol/mg 내지 200 nmol/mg 폴리사카라이드 범위로 존재하는 변형을 포함하고,

상기 변형은

(i) 천연 MenW-135 또는 MenY 폴리사카라이드 내 이웃자리 디올의 위치에서의 1급 히드록실 및/또는

(ii) 담체 단백질과의 접합

이고,

MenW-135 및 MenY 피막 폴리사카라이드는 2급 아민을 통해 담체 단백질에 부착되는 것인 백신 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1, 제2, 제3, 및/또는 제4 접합체가 700 kDa 내지 1400 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단인 백신 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 분자량이 다중-각도 광 산란 (MALS)에 의해 결정되는 것인 백신 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, MenC 폴리사카라이드가

0.6 내지 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 또는

0.8 내지 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드

범위의 0-아세틸화도를 갖는 것인 백신 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 0-아세틸화도가 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 또는 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상인 백신 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 0-아세틸화도가 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 또는 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하인 백신 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

MenC 폴리사카라이드를 포함하는 접합체가 25 nmol/mg 폴리사카라이드 이상으로 존재하는 변형을 포함하며,

상기 변형은

(i) 7 위치에서의 1급 히드록실,

(ii) 환원 단부에서의 (2-히드록시)에톡시, 및

(iii) 담체 단백질과의 접합

인 백신 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 변형이

150 nmol/mg 폴리사카라이드 미만,

100 nmol/mg 폴리사카라이드 미만, 또는

80 nmol/mg 폴리사카라이드 미만

의 양으로 존재하는 것인 백신 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, MenA 접합체가 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.8 내지 1.3을 갖는 것인 백신 조성물.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, MenC 접합체가 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.4 내지 0.8을 갖는 것인 백신 조성물.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, MenW-135 접합체가 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.6 내지 1.3을 갖는 것인 백신 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서,

담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.5 내지 1.3을 갖는, MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체

를 포함하는 백신 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, MenY 접합체가 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비 0.5 내지 0.9를 갖는 것인 백신 조성물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서,

중량 기준 10% 미만의 유리 폴리사카라이드, 또는 중량 기준 5% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하거나, 또는

유리 폴리사카라이드가 실질적으로 없는 백신 조성물.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서, 링커가 MenA 접합체 중에 20-60개 사카라이드 반복 단위당 1개 링커의 비로 존재하는 것인 백신 조성물.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 아주반트를 함유하지 않는 백신 조성물.

청구항 17

제1항 또는 제2항에 있어서,

제약상 허용되는 완충제

를 추가로 포함하는 백신 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서,

5.5 내지 6.5의 pH를 갖는 아세트이트 완충제

를 포함하는 백신 조성물.

청구항 19

제1항 또는 제2항에 있어서,

제약상 허용되는 염

을 추가로 포함하는 백신 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 제약상 허용되는 염이 소듐 클로라이드인 백신 조성물.

청구항 21

제19항에 있어서, 제약상 허용되는 염이 0.45% 내지 0.9% w/v 또는 0.5% w/v 내지 0.85% w/v로 존재하는 것인 백신 조성물.

청구항 22

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1, 제2, 제3 및 제4 접합체 중 적어도 1종, 2종, 3종 또는 모든 4종이 폴리사카라이드와 담체 단백질 사이에 다중 부착 지점을 포함하는 것인 백신 조성물.

청구항 23

제1항 또는 제2항에 있어서, 근육내 투여를 위해 제제화되는 백신 조성물.

청구항 24

제1항 또는 제2항의 백신 조성물의 소정의 용량

을 포함하는, 네이세리아 메닌기티디스에 대해 대상체에게 백신접종하기 위한 의약.

청구항 25

제24항에 있어서, 백신이 근육내 투여를 위한 것인 의약.

청구항 26

제24항에 있어서, 대상체가 6주령 내지 3년령인 의약.

청구항 27

제26항에 있어서, 대상체가 2월령, 6월령, 12월령 또는 15월령인 의약.

청구항 28

제24항에 있어서, 대상체가 50년령 이상, 55년령 이상, 60년령 이상, 또는 65년령 이상인 의약.

청구항 29

제24항에 있어서, 백신이 0.5 mL 용량으로 투여되는 것인 의약.

청구항 30

제29항에 있어서, 백신이 각각 4-10 μ g의 혈청균 A, C, Y, 및 W-135를 포함하는 것인 의약.

청구항 31

제29항에 있어서, 백신이 50-80 μ g의 과상풍 독소이드 단백질을 포함하는 것인 의약.

청구항 32

제29항에 있어서, 백신이

각각 4-10 μg 의 혈청균 A, C, Y, 및 W-135, 및

50-80 μg 의 파상풍 독소이드 단백질을

을 포함하는 것인 의약.

청구항 33

제24항에 있어서, 백신접종이, 네이세리아 메닝기티디스에 대해 지시되지 않은 백신을 MenACYW-TT 백신과 동시에 투여하는 것을 추가로 포함하지만, 그와 동일 주사로 투여되는 것은 아닌 의약.

청구항 34

제33항에 있어서, 비-네이세리아 메닝기티디스 백신이 수두, 디프테리아, Hib, B형 간염, 홍역, 볼거리, 백일해, 소아마비, 폐렴구균, 로타바이러스, 풍진 또는 파상풍 감염을 예방하도록 지시되는 것인 의약.

청구항 35

제34항에 있어서, 비-네이세리아 메닝기티디스 백신이 DTaP5, Hib, HepB, DTaP5-IPV/Hib, DTaP5-IPV/Hib, HepB, MMR, IPV, PCV7, PCV13, RV1 또는 RV5인 의약.

청구항 36

제24항에 있어서, 대상체가 이전에 네이세리아 메닝기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받았던 것인 의약.

청구항 37

제36항에 있어서, 대상체가 4개월 내지 10년 전에 네이세리아 메닝기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받았던 것인 의약.

청구항 38

제24항에 있어서, 대상체가 이전에 네이세리아 메닝기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받지 않았던 것인 의약.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

I. 도입 및 개요

[0002]

네이세리아 메닝기티디스(*Neisseria meningitidis*) (엔. 메닝기티디스(*N. meningitidis*))는 전세계적으로 박테리아성 수막염 및 패혈증의 주요 원인이다. 네이세리아 메닝기티디스의 혈청군 A, C, Y, 및 W-135 (각각 MenA, MenC, MenY, 및 MenW; 집합적으로 MenACYW라 지칭됨)는 전세계적으로 수막구균성 질환의 상당 부분의 이유가 된다. 엔. 메닝기티디스에 대한 방어를 위한 백신은 현재 6가지 유형이 있다 - 4가 수막구균 접합 백신 예컨대 메낙트라(Menactra)®, 니멘릭스(Nimenrix)® 및 멘비오(Menveo)®; 수막구균 폴리사카라이드 백신 예컨대 메노뮴(Menomune)®, 혈청군 C 수막구균 백신 예컨대 네이스백(Neivac)-C®, 멘주게이트(Menjugate)® 및 메니토릭스(Menitorix)®, 혈청군 A 수막구균 백신 예컨대 멘아프리카백(MenAfriVac)®, 혈청군 C 및 Y 수막구균 백신 예컨대 멘히브리릭스(MenHibrix)®, 및 혈청군 B 수막구균 백신 예컨대 벅세로(Bexsero)® 및 트루멘바(Trumenba)®.

[0003]

엔. 메닝기티디스의 역학은 복잡하고, 예상불가능하며, 지리적으로 가변적이며, 시간 경과에 따라 변화하는 것으로 기술될 수 있다. 그러므로, 개선된 엔. 메닝기티디스 백신의 개발에 대한 필요성이 존재한다. 특히, 기존의 폴리사카라이드 접합 백신은 영아, 유아, 청소년 및/또는 고령자 중 하나 이상의 연령대에게 투여하기에 적합하지 않을 수 있거나, 또는 일부 수용자에게서 약하거나 또는 검출불가능한 혈청반응을 초래할 수 있다.

[0004]

일부 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물, 방법, 및/또는 용도는 하나 이상의 이익을 제공하거나, 또는 적어도

일반인에게 유용한 선택을 제공한다. 이러한 이익은 MenA, MenC, MenY, 및 MenW 중 1종, 2종, 3종 또는 모든 4종에 대한 개선된 면역원성; 영아, 유아, 청소년, 및 고령자 중 2 연령대, 3 연령대 또는 4 연령대에서의 면역원성; 및 액체 제제로서 장기간, 예를 들어, 냉장 하에 수년 (예를 들어, 2.5, 3, 3.5, 4 또는 4.5년) 또는 실온에서 수개월 (예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개월) 동안의 저장을 가능하게 하기에 충분한 안정성 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

발명의 내용

- [0005] 이에 따라, 하기 실시양태가 제공된다. 실시양태 1은 하기를 포함하는 네이세리아 메닝기티디스 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 제2 접합체는, 둘 다 2급 아민을 통해 담체 단백질에 부착되는 이중-단부-연결 접합된 폴리사카라이드 및 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드를 포함하는 집단이고, 제2 접합체의 폴리사카라이드는 0.3 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 내지 1.6 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드의 O-아세틸화 수준을 갖는 것인 백신 조성물이다. O-아세틸화의 수준은 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 또는 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상일 수 있다. O-아세틸화의 수준은 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 또는 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하일 수 있다. 예를 들어, 상기 수준은 0.6 내지 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 또는 0.8 내지 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드의 범위일 수 있다. O-아세틸 함량은 헤스트린(Hestrin) 방법(Hestrin et al., J. Biol. Chem. 1949, 180, p. 249)에 의해 측정될 수 있다.
- [0006] 실시양태 2는 하기를 포함하는 네이세리아 메닝기티디스 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 제2 접합체는, 2급 아민을 통해 담체 단백질에 부착되는 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드를 포함하는 집단이며, 여기서 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드는 말단 비연결된 사카라이드를 가지며, 여기서 말단 사카라이드는 7 위치에 1급 히드록실 또는 2급 아민 연결을 갖거나, 또는 여기서 환원 단부는 (2-히드록시)에톡시 또는 2급 아민 연결로 변형되는 것인 백신 조성물이다. 제2 접합체 집단은, 예를 들어, 2급 아민을 통해 폴리사카라이드의 양쪽 단부에 연결된 담체 단백질을 갖는 이중-단부-연결 접합체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0007] 실시양태 3은 하기를 포함하는 네이세리아 메닝기티디스 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 MenA 피막 폴리사카라이드는 카르바메이트, 스페이서, 및 아미드를 포함하는 링커를 통해 담체 단백질에 부착되며, 여기서 스페이서는 카르바메이트와 아미드의 사이에 있으며 2-10개의 선형 탄소를 포함하고, 제1 접합체는 0.3 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖는 것인 백신 조성물이다. 제1 접합체는, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2, 1.2 내지 1.3, 1.3 내지 1.4, 또는 1.4 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 가질 수 있다.
- [0008] 실시양태 4는 하기를 포함하는 네이세리아 메닝기티디스 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 MenA 피막 폴리사카라이드는 카르바메이트, 스페이서, 및 아미드를 포함하는 링커를 통해 담체 단백질에 부착되며, 여기서 스페이서는 카르바메이트와 아미드의 사이에 있으며 2-10개의 선형 탄소를 포함하고; 여기서 MenC, MenW-135, 및 MenY 피막 폴리사카라이드는 2급 아민을 통해 담체 단백질에 부착되고; 접합체 중 적어도 1종은 300 kDa 내지 1500 kDa 범위의 중량 평균 분자량을 갖는 것인 백신 조성물이다.
- [0009] 실시양태 5는 하기를 포함하는 네이세리아 메닝기티디스 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 담체 단백질은 과산화물 특소이드이고; 제1, 제2, 제3, 및 제4 접합체 중 1종 이상은 300 kDa 내지 1500 kDa 범위의 중량 평균 분자량을 갖고; 조성물은 총 폴리사카라이드 대비 중량 기준으로 20% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하는 것인 백신 조성물이다. 조성물 내 접합체 중 적어도 1, 2, 3 또는 4종은 300 kDa 내지 1500 kDa 범위의 중량-평균 분자량을 가질 수 있다. 조성물 내 접합체 중 적어도 1, 2, 3 또는 4종의 중량-평균 분

자량은 400 kDa, 500 kDa, 600 kDa, 700 kDa, 800 kDa, 900 kDa, 1000 kDa 또는 1100 kDa 이상일 수 있다. 조성물 내 접합체 중 적어도 1, 2, 3 또는 4종의 중량-평균 분자량은 600 kDa, 700 kDa, 800 kDa, 900 kDa, 1000 kDa, 1100 kDa, 1200 kDa, 1300 kDa 또는 1400 kDa 이하일 수 있다. 적어도 1종의 접합체는 700-800, 800-900, 900-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400 또는 1400-1500 kDa 범위의 분자량을 가질 수 있다. MenA 접합체는 700-800, 800-900, 900-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400 또는 1400-1500 kDa 범위의 분자량을 가질 수 있다. MenC 접합체는 700-800, 800-900, 900-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400 또는 1400-1500 kDa 범위의 분자량을 가질 수 있다. MenY 접합체는 700-800, 800-900, 900-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400 또는 1400-1500 kDa 범위의 분자량을 가질 수 있다. MenW-135 접합체는 700-800, 800-900, 900-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400 또는 1400-1500 kDa 범위의 분자량을 가질 수 있다.

[0010] 실시양태 6은 하기를 포함하는 네이세리아 메닌기티디스 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 담체 단백질은 과상풍 특소이드이고; 제1, 제2, 제3, 및 제4 접합체 중 1종 이상은 0.3 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖고; 조성물은 총 폴리사카라이드 대비 중량 기준으로 20% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하는 것인 백신 조성물이다. 제1 접합체는, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2, 1.2 내지 1.3, 1.3 내지 1.4 또는 1.4 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 가질 수 있다. 제2 접합체는, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2, 1.2 내지 1.3, 1.3 내지 1.4 또는 1.4 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 가질 수 있다. 제3 접합체는, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2, 1.2 내지 1.3, 1.3 내지 1.4 또는 1.4 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 가질 수 있다. 제4 접합체는, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2, 1.2 내지 1.3, 1.3 내지 1.4 또는 1.4 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 가질 수 있다.

[0011] 실시양태 7은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 제1, 제2, 제3, 및/또는 제4 접합체가 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단인 백신 조성물이다. 제1 및 제2 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단일 수 있다. 제1 및 제3 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단일 수 있다. 제1 및 제4 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단일 수 있다. 제2 및 제3 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단일 수 있다. 제2 및 제4 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단일 수 있다. 제3 및 제4 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단일 수 있다.

[0012] 실시양태 8은 MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함하는 네이세리아 메닌기티디스 백신 조성물로서, 여기서 접합체는, 둘 다 2급 아민을 통해 담체 단백질에 부착되는 이중-단부-연결 접합된 폴리사카라이드 및 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드를 포함하는 집단이고, MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체의 폴리사카라이드는 0.3 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 내지 1.6 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 범위의 O-아세틸화 수준을 갖는 것인 백신 조성물이다. O-아세틸화의 수준은 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 또는 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상일 수 있다. O-아세틸화의 수준은 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 또는 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하일 수 있다. 예를 들어, 상기 수준은 0.6 내지 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 또는 0.8 내지 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드의 범위일 수 있다. O-아세틸 함량은 헤스트린 방법 (Hestrin et al., J. Biol. Chem. 1949, 180, p. 249)에 의해 측정될 수 있다.

[0013] 실시양태 9는 실시양태 8에 있어서, 접합체가 (a) 300 kDa 내지 1500 kDa 범위의 중량 평균 분자량을 갖거나; 또는 (b) 700 kDa 내지 1400 kDa 또는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함하는 집단인 백신 조성물이다.

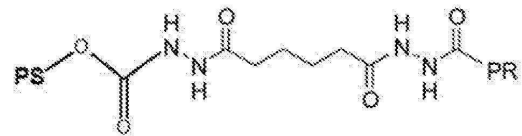
[0014] 실시양태 10은 실시양태 4, 5, 7 또는 9 중 어느 하나에 있어서, 분자량이 다중-각도 광 산란 (MALS)에 의해 결

정되는 것인 백신 조성물이다.

- [0015] 실시양태 11은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenC 폴리사카라이드가 0.6 내지 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 또는 0.8 내지 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 범위의 O-아세틸화도를 갖는 것인 백신 조성물이다.
- [0016] 실시양태 12는 실시양태 11에 있어서, O-아세틸화도가 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 또는 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상인 백신 조성물이다.
- [0017] 실시양태 13은 실시양태 11에 있어서, O-아세틸화도가 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3 또는 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하인 백신 조성물이다.
- [0018] 실시양태 14는 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenC 폴리사카라이드를 포함하는 접합체가 이중-단부-연결 접합된 폴리사카라이드 및 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드를 포함하는 집단인 백신 조성물이다.
- [0019] 실시양태 15는 실시양태 14에 있어서, 제2 접합체의 단일-단부-연결 폴리사카라이드가 말단 비연결된 사카라이드를 포함하며, 여기서 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드는 말단 비연결된 사카라이드를 가지며, 여기서 말단 사카라이드는 7 위치에 1급 히드록실을 갖거나, 또는 여기서 환원 단부는 (2-히드록시)에톡시로 변형되는 것인 백신 조성물이다.
- [0020] 실시양태 16은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenC 폴리사카라이드를 포함하는 접합체가 (i) 7 위치에 1급 히드록실, (ii) 환원 단부에서의 (2-히드록시)에톡시, 및 (iii) 담체 단백질과의 접합으로부터 선택된 1종 이상의 변형을 포함하며, 여기서 변형은 25 nmol/mg 폴리사카라이드 이상으로 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0021] 실시양태 17은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, (i) 천연 MenW-135 또는 MenY 폴리사카라이드 내 이웃자리 디올의 위치에서의 1급 히드록실 및 (ii) 담체 단백질과의 접합으로부터 선택된 1종 이상의 변형을 포함하는 MenW-135 및/또는 MenY 폴리사카라이드의 접합체를 포함하며, 여기서 변형은 60 nmol/mg 폴리사카라이드 이상으로 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0022] 실시양태 18은 실시양태 16 또는 17에 있어서, 변형이 200 nmol/mg 폴리사카라이드 미만, 150 nmol/mg 폴리사카라이드 미만, 150 nmol/mg 폴리사카라이드 미만, 100 nmol/mg 폴리사카라이드 미만 또는 80 nmol/mg 폴리사카라이드 미만의 양으로 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0023] 실시양태 19는 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenC 폴리사카라이드가 천연 MenC 폴리사카라이드 대비 3x-8x만큼 크기에서 감소되는 것인 백신 조성물이다.
- [0024] 실시양태 20은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 0.5 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는, MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함하는 백신 조성물이다. 실시양태 20A는 실시양태 20에 있어서, 0.7 내지 1.4의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는, MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함하는 백신 조성물이다.
- [0025] 실시양태 21은 실시양태 20에 있어서, MenA 접합체가 0.8 내지 1.3의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는 것인 백신 조성물이다.
- [0026] 실시양태 22는 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 0.3 내지 1.1의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는, MenC 및/또는 MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함하는 백신 조성물이다.
- [0027] 실시양태 23은 실시양태 22에 있어서, MenC 접합체가 0.4 내지 0.8의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는 것인 백신 조성물이다.
- [0028] 실시양태 24는 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 0.3 내지 1.3의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는, MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함하는 백신 조성물이다.
- [0029] 실시양태 25는 실시양태 24에 있어서, MenW-135 접합체가 0.6 내지 1.3의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는 것인 백신 조성물이다.
- [0030] 실시양태 26은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 0.5 내지 1.3의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량비를 갖는, MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함하는 백신 조성물이다.
- [0031] 실시양태 27은 실시양태 26에 있어서, MenY 접합체가 0.5 내지 0.9의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량

비를 갖는 것인 백신 조성물이다.

- [0032] 실시양태 28은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 중량 기준 20% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하는 것인 백신 조성물이다.
- [0033] 실시양태 29는 실시양태 28에 있어서, 조성물이 중량 기준 10% 미만의 유리 폴리사카라이드, 중량 기준 5% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하거나, 또는 유리 폴리사카라이드가 실질적으로 없는 것인 백신 조성물이다.
- [0034] 실시양태 30은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenA, MenC, MenW-135 또는 MenY 접합체의 폴리사카라이드가 링커를 통해 담체 단백질에 부착되는 것인 백신 조성물이다.
- [0035] 실시양태 31은 실시양태 30에 있어서, 링커가 2-10개의 선형 탄소를 포함하는 것인 백신 조성물이다.
- [0036] 실시양태 32는 실시양태 30 및 31에 있어서, 링커가 10-100개 사카라이드 반복 단위당 1개 링커의 비로 MenA, MenC, MenW-135 또는 MenY 접합체에 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0037] 실시양태 33은 실시양태 30 및 31에 있어서, 링커가 20-60개 사카라이드 반복 단위당 1개 링커의 비로 MenA, MenC, MenW-135 또는 MenY 접합체에 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0038] 실시양태 34는 실시양태 30 및 31에 있어서, 링커가 제1 카르보닐과 제2 카르보닐 사이에 스페이서를 포함하고, 스페이서가 4-8개의 탄소를 포함하는 것인 백신 조성물이다.
- [0039] 실시양태 35는 실시양태 30-34 중 어느 하나에 있어서, MenA 접합체의 링커가 디히드라지드의 잔기를 포함하는 것인 백신 조성물이다.
- [0040] 실시양태 36은 실시양태 35에 있어서, MenA 접합체의 링커가 아디프산 디히드라지드의 잔기를 포함하는 것인 백신 조성물이다.
- [0041] 실시양태 37은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenA, MenC, MenW-135, 및/또는 MenY 접합체의 폴리사카



라이드가 화학식 I의 링커를 통해 담체 단백질에 부착되며: , 여기서 PS는 폴리사카라이드에 대한 부착을 나타내고, PR은 담체 단백질에 대한 부착을 나타내는 것인 백신 조성물이다.

- [0042] 실시양태 38은 실시양태 30-37 중 어느 하나에 있어서, 링커가 MenA 접합체에 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0043] 실시양태 39는 실시양태 30-37 중 어느 하나에 있어서, 링커가 MenC 접합체에 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0044] 실시양태 40은 실시양태 30-37 중 어느 하나에 있어서, 링커가 MenW-135 접합체에 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0045] 실시양태 41은 실시양태 30-37 중 어느 하나에 있어서, 링커가 MenY 접합체에 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0046] 실시양태 42는 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, MenA, MenC, MenW-135, 및/또는 MenY 접합체의 폴리사카라이드가 화학식 II에 제시된 바와 같이 담체 단백질에 부착되며: $PR-NH-CH_2-PS$ (II), 여기서 PS는 폴리사카라이드에 대한 부착을 나타내고, PR은 담체 단백질에 대한 부착을 나타내는 것인 백신 조성물이다.
- [0047] 실시양태 43은 실시양태 42에 있어서, MenA 접합체의 폴리사카라이드가 화학식 II에 제시된 바와 같이 담체 단백질에 부착되는 것인 백신 조성물이다.
- [0048] 실시양태 44는 실시양태 42에 있어서, MenC 접합체의 폴리사카라이드가 화학식 II에 제시된 바와 같이 담체 단백질에 부착되는 것인 백신 조성물이다.
- [0049] 실시양태 45는 실시양태 42에 있어서, MenW-135 접합체의 폴리사카라이드가 화학식 II에 제시된 바와 같이 담체 단백질에 부착되는 것인 백신 조성물이다.
- [0050] 실시양태 46은 실시양태 42에 있어서, MenY 접합체의 폴리사카라이드가 화학식 II에 제시된 바와 같이 담체 단백질에 부착되는 것인 백신 조성물이다.
- [0051] 실시양태 47은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 담체 단백질이 재조합 엑소단백질 A (rEPA), 디프테리아

톡소이드 또는 디프테리아 독소의 B-단편, CRM197, 과상품 톡소이드 또는 과상품 독소의 C-단편을 포함하거나 또는 그로 이루어지는 것인 백신 조성물이다.

- [0052] 실시양태 48은 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 담체 단백질이 과상품 톡소이드인 백신 조성물이다.
- [0053] 실시양태 49는 하기 단계를 포함하는, 네이세리아 메닝기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법이다: a) 카르바메이트 연결을 형성할 수 있는 활성화제로 폴리사카라이드를 활성화시키며, 여기서 활성화제는 폴리사카라이드보다 20배 내지 50배의 몰 과량으로 존재하는 것인 단계; b) 활성화된 폴리사카라이드를 부분적으로 켄칭하고, 활성화된 폴리사카라이드를 폴리사카라이드 반복 단위 대비 0.3 내지 1.0의 몰 비로 첨가된 디히드라지드 링커로 유도체화하며, 여기서 폴리사카라이드는 10-100개 사카라이드 반복 단위당 1개 디히드라지드 링커의 비로 유도체화되는 것인 단계; c) 유도체화된 폴리사카라이드를 담체 단백질에 카르보디이미드 화학에 의해 접합시키며, 여기서 폴리사카라이드는 담체 단백질 대비 3:1 내지 5:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응의 초기에 존재하고, 이에 의해 접합체를 형성하는 단계.
- [0054] 실시양태 50은 실시양태 49에 있어서, 디히드라지드 링커가 폴리사카라이드 반복 단위 대비 0.4 내지 0.6의 몰 비로 첨가되는 것인 방법이다.
- [0055] 실시양태 51은 실시양태 49에 있어서, 반응을 글리세올로 켄칭하는 추가의 단계를 포함하는 방법이다.
- [0056] 실시양태 52는 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 디히드라지드 링커가 아디프산 디히드라지드인 방법이다.
- [0057] 실시양태 53은 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 유도체화된 폴리사카라이드가 접합 반응에서 10 g/L 내지 20 g/L의 출발 농도로 존재하는 것인 방법이다.
- [0058] 실시양태 54는 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 활성화제가 2개의 N-연결된 헤테로아릴 예컨대 CDI (1,1'-카르보닐디이미다졸) 및 CDT (1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸)), 또는 다른 적절한 이탈기에 결합된 카르보닐을 포함하는 것인 방법이다.
- [0059] 실시양태 55는 실시양태 54에 있어서, 활성화제가 카르보닐 디이미다졸인 방법이다.
- [0060] 실시양태 56은 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 활성화제가 폴리사카라이드보다 35배 내지 45배의 몰 과량으로 활성화 단계에서 존재하는 것인 방법이다.
- [0061] 실시양태 57은 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 접합 단계가 담체 단백질을 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드와 반응시키는 것을 포함하는 것인 방법이다.
- [0062] 실시양태 58은 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenA 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0063] 실시양태 59는 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenC 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0064] 실시양태 60은 실시양태 49 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenW-135 또는 MenY 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0065] 실시양태 61은 하기 단계를 포함하는, 네이세리아 메닝기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법이다: a) 폴리사카라이드를 알칼리 가수분해에 의해 부분적으로 탈-O-아세틸화시키는 단계; b) 폴리사카라이드를 피아이오데이트 처리에 의해 활성화시키며, 이에 의해 mg 폴리사카라이드당 적어도 20 nmol 알데히드의 정도까지 디올을 알데히드로 전환시키는 단계; c) 활성화된 폴리사카라이드를 담체 단백질에 환원성 아미노화에 의해 접합시키며, 여기서 폴리사카라이드는 담체 단백질 대비 1:1 내지 5:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응에서 존재하고, 이에 의해 접합체를 형성하는 단계.
- [0066] 실시양태 62는 실시양태 61에 있어서, 폴리사카라이드가 담체 단백질 대비 1.5 내지 3:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응에서 존재하는 것인 방법이다.
- [0067] 실시양태 63은 실시양태 61에 있어서, 탈-O-아세틸화가 폴리사카라이드 내 O-아세틸화의 초기 양을 40% 내지 70% 또는 50% 내지 60%만큼 감소시키는 것인 방법이다.
- [0068] 실시양태 64는 실시양태 61 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 탈-O-아세틸화 이후, 폴리사카라이드가 0.6 μ mol/mg 폴리사카라이드 내지 1.5 μ mol/mg 폴리사카라이드 또는 0.8 내지 1.4 μ mol/mg 폴리사카라이드의 O-아

세틸화도를 갖는 것인 방법이다.

- [0069] 실시양태 65는 실시양태 64에 있어서, 0-아세틸화도가 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 또는 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상인 방법이다.
- [0070] 실시양태 66은 실시양태 64에 있어서, 0-아세틸화도가 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3 또는 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하인 방법이다.
- [0071] 실시양태 67은 실시양태 61 내지 66 중 어느 하나에 있어서, 활성화된 폴리사카라이드가 접합 반응에서 20 g/L 내지 50 g/L의 출발 농도로 존재하는 것인 방법이다.
- [0072] 실시양태 68은 실시양태 61 내지 66 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenC 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0073] 실시양태 69는 실시양태 61 내지 66 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenA 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0074] 실시양태 70은 실시양태 61 내지 66 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenW-135 또는 MenY 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0075] 실시양태 71은 실시양태 61 내지 66 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 접합 반응 전에 30 내지 150 kDa 또는 50 내지 100 kDa으로 크기에서 감소되는 것인 방법이다.
- [0076] 실시양태 72는 하기 단계를 포함하는, 네이세리아 메닝기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법이다: a) 폴리사카라이드를 피아이오테이트 처리에 의해 활성화시키며, 이에 의해 mg 폴리사카라이드당 적어도 50 nmol 알데히드의 정도까지 디올을 알데히드로 전환시키는 단계; b) 활성화된 폴리사카라이드를 담체 단백질에 환원성 아미노화에 의해 접합시키며, 여기서 폴리사카라이드는 담체 단백질 대비 1:1 내지 5:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응에서 존재하고, 이에 의해 접합체를 형성하는 단계.
- [0077] 실시양태 73은 실시양태 72에 있어서, 폴리사카라이드가 담체 단백질 대비 1.5 내지 3:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응에서 존재하는 것인 방법이다.
- [0078] 실시양태 74는 실시양태 72 및 73 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenW-135 또는 MenY 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0079] 실시양태 75는 실시양태 72 및 73 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenC 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0080] 실시양태 76은 실시양태 72 및 73 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 MenA 피막 폴리사카라이드인 방법이다.
- [0081] 실시양태 77은 실시양태 72 내지 76 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 접합 반응 전에 100 내지 200 kDa 또는 125 내지 175 kDa으로 크기에서 감소되는 것인 방법이다.
- [0082] 실시양태 78은 실시양태 49, 61 및 72 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 산 가수분해 및/또는 열에 의해 크기에서 감소되는 것인 방법이다.
- [0083] 실시양태 79는 실시양태 49, 61 및 72 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드가 산화성 절단에 의해 크기에서 감소되는 것인 방법이다.
- [0084] 실시양태 80은 실시양태 72 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 환원성 아미노화가 시아노보로히드라이드 또는 다른 환원 시약 예컨대 피리딘 보란 ($\text{C}_5\text{H}_5\text{BN}$) 및 피콜린 보란 복합체 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{N} \cdot \text{BH}_3$)를 사용하여 이민을 아민으로 환원시키는 것을 포함하는 것인 방법이다.
- [0085] 실시양태 81은 실시양태 72 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 접합체 내 미반응 알데히드를 환원 시약으로 알콜로 전환시키는 것을 추가로 포함하는 방법이다.
- [0086] 실시양태 82는 실시양태 81에 있어서, 환원 시약이 보로히드라이드인 방법이다.
- [0087] 실시양태 83은 실시양태 72 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 피아이오테이트가 1 mM 내지 4 mM 또는 1.5 mM 내지 3 mM의 농도로 첨가되어 폴리사카라이드를 활성화시키는 것인 방법이다.

- [0088] 실시양태 84는 실시양태 49 내지 83 중 어느 하나에 있어서, 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 접합체를 정제하는 것을 추가로 포함하는 방법이다.
- [0089] 실시양태 85는 실시양태 49 내지 83 중 어느 하나에 있어서, 혼합 모드 수지 크로마토그래피에 의해 접합체를 정제하는 것을 추가로 포함하는 방법이다.
- [0090] 실시양태 86은 하기 단계를 포함하는, 네이세리아 메닌기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 접합체, 염, 및 유리 폴리사카라이드를 함유하는 혼합물로부터 정제하는 방법이다: a) 소수성 상호작용 크로마토그래피 수지를 혼합물과 접촉시키며, 여기서 접합체는 수지에 결합하는 것인 단계; b) 수지로부터 유리 폴리사카라이드를 용리시키는 단계; 및 c) 수지로부터 접합체를 수성 액체로 용리시키며, 여기서 수성 액체는 염을 함유하지 않거나 또는 혼합물보다 염을 적게 함유하고, 이에 의해 정제된 접합체를 포함하는 조성물을 수득하는 단계.
- [0091] 실시양태 87은 실시양태 86에 있어서, 염이 암모늄 술페이트를 포함하는 것인 방법이다.
- [0092] 실시양태 88은 실시양태 86 또는 실시양태 87에 있어서, 혼합물이 0.5 내지 1.5 M 또는 0.8 내지 1.2 M 범위의 양으로 염을 포함하는 것인 방법이다.
- [0093] 실시양태 89는 실시양태 86 내지 88 중 어느 하나에 있어서, 수성 액체가 0.2, 0.1, 또는 0.05 M 미만의 염을 포함하는 것인 방법이다.
- [0094] 실시양태 90은 실시양태 86 내지 89 중 어느 하나에 있어서, 수성 액체가 물인 방법이다.
- [0095] 실시양태 91은 실시양태 86 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 중량 기준 20% 미만의 유리 폴리사카라이드, 중량 기준 10% 미만의 유리 폴리사카라이드, 중량 기준 5% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하거나, 또는 유리 폴리사카라이드가 실질적으로 없는 것인 방법이다.
- [0096] 실시양태 92는 실시양태 86 내지 91 중 어느 하나에 있어서, 소수성 상호작용 크로마토그래피 수지가 페닐, 프로필 또는 부틸 수지인 방법이다.
- [0097] 실시양태 93은 실시양태 49 내지 92 중 어느 하나에 있어서, 담체 단백질이 과산화물 특소이드인 방법이다.
- [0098] 실시양태 94는 실시양태 49 내지 85 중 어느 하나의 방법에 따라 생산되는 접합체이다.
- [0099] 실시양태 95는 하기를 포함하는 백신 조성물로서: a) MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제1 접합체; b) MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제2 접합체; c) MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제3 접합체; 및 d) MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 제4 접합체; 여기서 제1, 제2, 제3, 및 제4 접합체 중 1종, 2종, 3종 또는 모두는 실시양태 49 내지 85 중 어느 하나의 방법에 따라 생산되는 것인 백신 조성물이다.
- [0100] 실시양태 96은 실시양태 1-48 또는 95 중 어느 하나에 있어서, 아주반트를 함유하지 않는 백신 조성물이다.
- [0101] 실시양태 97은 실시양태 1-48 또는 95-96 중 어느 하나에 있어서, 제약상 허용되는 완충제를 추가로 포함하는 백신 조성물이다.
- [0102] 실시양태 98은 실시양태 97에 있어서, 5.5 내지 6.5의 pH를 갖는 아세테이트 완충제를 포함하는 백신 조성물이다.
- [0103] 실시양태 99는 실시양태 1-48 또는 95-98 중 어느 하나에 있어서, 제약상 허용되는 염을 추가로 포함하는 백신 조성물이다.
- [0104] 실시양태 100은 실시양태 99에 있어서, 제약상 허용되는 염이 소듐 클로라이드인 백신 조성물이다.
- [0105] 실시양태 101은 실시양태 99 또는 100에 있어서, 제약상 허용되는 염이 0.45% 내지 0.9% w/v 또는 0.5% w/v 내지 0.85% w/v로 존재하는 것인 백신 조성물이다.
- [0106] 실시양태 102는 실시양태 1-48 또는 95-101 중 어느 하나에 있어서, 제1, 제2, 제3 및 제4 접합체 중 적어도 1종, 2종, 3종 또는 모든 4종이 폴리사카라이드와 담체 단백질 사이에 다중 부착 지점을 포함하는 것인 백신 조성물이다.
- [0107] 실시양태 103은 실시양태 1-48 또는 95-102 중 어느 하나에 있어서, 근육내 투여를 위해 제제화되는 백신 조성

물이다.

- [0108] 실시양태 104는 각각 6 μ g 내지 15 μ g의 MenA, MenC, MenW-135 및 MenY 폴리사카라이드를 포함하는, 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물의 단일 단위 용량이다.
- [0109] 실시양태 105는 실시양태 104에 있어서, 담체 단백질이 50 μ g 내지 80 μ g의 양으로 존재하는 것인 단일 단위 용량이다.
- [0110] 실시양태 106은 실시양태 104 또는 105에 있어서, 시린지에 함유되는 단일 단위 용량이다.
- [0111] 실시양태 107은 실시양태 106에 있어서, 시린지가 실리콘-무함유인 단일 단위 용량이다.
- [0112] 실시양태 108은 실시양태 106 또는 107에 있어서, 시린지가 상업적 판매 또는 유통을 위해 포장되는 것인 단일 단위 용량이다.
- [0113] 실시양태 109는 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물의 소정의 용량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 네이세리아 메닝기티디스에 대해 대상체에게 백신접종하는 방법이다. 실시양태 109A는 백신 조성물의 소정의 용량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 네이세리아 메닝기티디스에 대해 대상체에게 백신접종하는 방법에 사용하기 위한 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물이다.
- [0114] 실시양태 110은 네이세리아 메닝기티디스에 대해 대상체를 면역화시키기 위한 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물 또는 실시양태 104-108 중 어느 하나의 단일 단위 용량의 용도이다. 실시양태 110A는 네이세리아 메닝기티디스에 대해 대상체를 면역화시키는데 사용하기 위한 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물 또는 실시양태 104-108 중 어느 하나의 단일 단위 용량이다.
- [0115] 실시양태 111은 네이세리아 메닝기티디스에 대해 대상체를 면역화시키기 위한 의약의 제조에 있어서의 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물 또는 실시양태 104-108 중 어느 하나의 단일 단위 용량의 용도이다. 실시양태 111A는 네이세리아 메닝기티디스에 대해 대상체를 면역화시키기 위한 의약으로서 사용하기 위한 실시양태 1-48 또는 95-103 중 어느 하나의 백신 조성물 또는 실시양태 104-108 중 어느 하나의 단일 단위 용량이다.
- [0116] 실시양태 112는 실시양태 109-111A 중 어느 하나에 있어서, 백신이 근육내로 투여되는 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0117] 실시양태 113은 실시양태 109-112 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 6주령 내지 3년령인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0118] 실시양태 114는 실시양태 113에 있어서, 대상체가 2월령, 6월령, 12월령 또는 15월령인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0119] 실시양태 115는 실시양태 109-112 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 50년령 이상, 55년령 이상, 60년령 이상, 또는 65년령 이상인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0120] 실시양태 116은 실시양태 109-115 중 어느 하나에 있어서, 백신이 0.5 mL 용량으로 투여되는 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0121] 실시양태 117은 실시양태 116에 있어서, 백신이 각각 4-10 μ g의 혈청균 A, C, Y, 및 W-135를 포함하는 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0122] 실시양태 118은 실시양태 116에 있어서, 백신이 50-80 μ g의 과상풍 독소이드 단백질을 포함하는 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0123] 실시양태 119는 실시양태 116에 있어서, 백신이 각각 4-10 μ g의 혈청균 A, C, Y, 및 W-135, 및 50-80 μ g의 과상풍 독소이드 단백질을 포함하는 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0124] 실시양태 120은 실시양태 109-119 중 어느 하나에 있어서, 네이세리아 메닝기티디스에 대해 지시되지 않은 백신을 MenACYW-TT 백신과 동시에 투여하는 것을 추가로 포함하지만, 그와 동일한 주사는 아닌 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0125] 실시양태 121은 실시양태 120에 있어서, 비-네이세리아 메닝기티디스 백신이 수두, 디프테리아, Hib, B형 간염, 홍역, 볼거리, 백일해, 소아마비, 폐렴구균, 로타바이러스, 풍진 또는 과상풍 감염을 예방하도록 지시되는 것인

방법, 용도 또는 조성물이다.

- [0126] 실시양태 122는 실시양태 120에 있어서, 비-네이세리아 메닌기티디스 백신이 DTaP5, Hib, HepB, DTaP5-IPV/Hib, DTaP5-IPV/Hib, HepB, MMR, IPV, PCV7, PCV13, RV1 또는 RV5인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0127] 실시양태 123은 실시양태 109-122 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 이전에 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받은 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0128] 실시양태 124는 실시양태 123에 있어서, 대상체가 4개월 내지 10년 전에 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받은 것인 방법, 용도 또는 조성물이다. 실시양태 124A는 실시양태 123에 있어서, 대상체가 2개월 내지 10년 전에 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받은 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.
- [0129] 실시양태 125는 실시양태 109-122 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 이전에 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신을 제공받지 않은 것인 방법, 용도 또는 조성물이다.

도면의 간단한 설명

- [0130] II. 도면의 간단한 설명

도 1a는 혈청군 A 폴리사카라이드-ADH 연결된 단백질 접합체의 개략도를 제시한다. 반응성 부위 잔기(11)를 갖는 혈청군 A 폴리사카라이드(10)는 폴리사카라이드의 히드록실 기에서의 카르보닐 디이미다졸 (CDI)로의 활성화 및 임의로 아디프산 디히드라이드 (ADH)로의 유도체화 및 단백질 (예를 들어, 과상풍 독소이드 (TT))과의 반응에 의해 형성된다. 활성화/유도체화된 폴리사카라이드는 연결(12)을 통해 직접적으로 또는 간접적으로 기(14)에서 단백질(13)에 가교된다. 예를 들어, 직접적 연결은, 예를 들어, 카르바메이트 연결을 형성함으로써 단백질의 1급 아민을 사용할 수 있다 (예를 들어, CDI로부터 유래됨). 간접적 연결은 ADH 및 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 (EDAC)로부터 유래될 수 있으며, 이는 단백질의 카르복실을 활성화시킨다.

도 1b는 단백질의 카르복실 기 (예를 들어, 아스파르트산 또는 글루탐산 측쇄 또는 C-말단 상)와 반응하는, N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 (EDAC)를 사용하여 담체 단백질 (예를 들어, TT)의 활성 O-아실 이소우레아 중간체를 제조하는 것을 예시한다. 이 중간체는 활성화되고 유도체화된 폴리사카라이드의 아민 기와의 커플링에 적합하다 (제시되지 않음).

도 1c는 담체 단백질 (예를 들어, TT)에 연결된 혈청군 A 폴리사카라이드-ADH 접합체를 생산하는데 사용될 수 있는, 활성화되고 유도체화된 혈청군 A 폴리사카라이드를 생산하는 반응식을 예시한다. 이러한 실시양태에서, 폴리사카라이드는 히드록실 기에서 CDI로 활성화되어 이미다졸 카르바메이트 활성 중간체를 형성하며, 이는 ADH로 추가로 유도체화된다. ADH-유도체화된 혈청군 A 폴리사카라이드는 ADH 링커 상의 1급 아민 기와 담체 단백질의 활성 O-아실이소우레아 중간체의 아민 커플링을 통해 담체 단백질에 대한 공유 부착에 적합하다 (제시되지 않음).

도 1d는 카르바메이트를 통해 과상풍 독소이드에 연결된 혈청군 A 폴리사카라이드 접합체를 생산하는 반응식을 제시한다. 폴리사카라이드 (PS)는 히드록실 기에서 CDI로 활성화되어 이미다졸 카르바메이트 활성 중간체를 형성한다. 이어서, 활성 중간체는 단백질 담체 (PR)과 반응된다. 단백질의 1급 아민이 카르바메이트 탄소를 공격하여, 이미다졸의 손실 및 폴리사카라이드와 단백질 사이의 카르바메이트 연결의 형성을 초래하는 친핵성 치환 반응을 통해 카르바메이트 연결이 형성된다.

도 1e-f는 (e) CDI-활성화 이후 및 (f) CDI-활성화 및 ADH로의 유도체화 이후의 혈청군 A 폴리사카라이드의 구조를 제시한다.

도 1g는 활성화되고 유도체화된 폴리사카라이드, 및 과상풍 독소이드 담체 단백질 및 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 (EDAC)로부터 형성된 활성 O-아실이소우레아 중간체로부터 담체 단백질 (예를 들어, TT)에 연결된 혈청군 A 폴리사카라이드-ADH 접합체를 생산하는 것을 예시한다. 활성화되고 유도체화된 폴리사카라이드의 1급 아민은 이탈기로서 작용하는 이소우레아를 치환하여, 단백질이 아마이드 결합, ADH의 잔기, 및 카르보닐이 CDI로부터 유래된 것인 카르바메이트 연결을 통해 폴리사카라이드에 연결된 생성물을 제공한다. 제거된 우레아 부산물은 제시되지 않는다.

도 1h는 연결된 폴리사카라이드 반복 단위의 구조 (ADH 잔기를 포함함)가 도시된, 도 1f의 반응의 생성물을 제시한다.

도 2a는 혈청군 C 폴리사카라이드-단백질 접합체의 개략도를 제시한다. 혈청군 C 폴리사카라이드(20)는 그의 말단에서 단백질 (예를 들어, 파상풍 독소이드) (21)에 결합된다.

도 2b는 소듐 메타퍼아이오데이트를 사용하는 혈청군 C 폴리사카라이드의 활성화를 예시한다 (폴리사카라이드 반복 단위 내 탄소의 통상적인 넘버링이 함께 제시됨). 소듐 메타퍼아이오데이트 처리는 폴리사카라이드를 상응하는 말단 알데히드로 산화성 탈중합시키는, 7번과 8번 탄소 사이의 절단을 초래한다.

도 2c는 환원성 아미노화를 통한 혈청군 C 폴리사카라이드-단백질 (예를 들어, TT) 접합체의 형성을 예시한다. 단백질 (PR)의 1급 아민 (예를 들어, 리신 측쇄 또는 N-말단)은 탈중합되고 활성화된 혈청군 C 폴리사카라이드 (PS)의 말단 알데히드와 반응하여 쉬프 염기 중간체 (제시되지 않음)를 형성하고, 이는 환원되어 (예를 들어, 피리딘 보란, 피콜린 보란 또는 시아노보로히드라이드를 사용함) 2급 아민 연결을 제공한다. 폴리사카라이드 모이어티는 단백질에 단부-연결된다. 개별 단백질 분자는 1개 초과와 폴리사카라이드와 반응할 수 있고, 일부 폴리사카라이드 말단은 반응되지 않을 수 있다 (제시되지 않음; 도 2a의 예시 참조). 미반응 알데히드는 쉬프 염기의 환원 후에 캡핑, 즉 적합한 환원제 예컨대 소듐 보로히드라이드를 사용하여 알콜로 환원될 수 있다 (제시되지 않음).

도 2d는 연결된 폴리사카라이드 반복 단위의 구조가 도시된, 도 2c의 반응의 생성물을 제시한다. 단백질의 추가의 폴리사카라이드에 대한 연결이 가능하다 (제시되지 않음).

도 3은 혈청군 W-135 또는 혈청군 Y 폴리사카라이드-단백질 접합체의 개략도를 제시한다. 혈청군 W-135 또는 혈청군 Y 폴리사카라이드(31)는 1개 이상의 위치에서 1개 이상의 단백질 (예를 들어, 파상풍 독소이드) (30)에 결합된다.

도 4a는 혈청군 W-135 폴리사카라이드의 탈중합 및 활성화를 예시한다. 폴리사카라이드는, 예를 들어, 승온을 사용하여 탈중합되고, 이어서 이웃자리 디올 예컨대, 예를 들어, 시알산 모이어티의 탄소 7번과 8번 사이를 절단하고 이들을 알데히드로 산화시키는 소듐 메타퍼아이오데이트로의 처리에 의해 활성화된다.

도 4b는 환원성 아미노화를 통한 혈청군 W-135 폴리사카라이드-단백질 (예를 들어, TT) 접합체의 형성을 예시한다. 단백질 (PR)의 1급 아민 (예를 들어, 리신 측쇄 또는 N-말단)은 탈중합되고 활성화된 혈청군 W-135 폴리사카라이드 (PS)의 알데히드와 반응하여 쉬프 염기 중간체를 형성한다 (제시되지 않음). 중간체는 소듐 시아노보로히드라이드에 의해 환원되어 2급 아민 연결을 제공한다. 개별 단백질 분자는 1개 초과와 폴리사카라이드와 반응할 수 있으며, 그 반대의 경우도 가능하다 (제시되지 않음; 도 3의 예시 참조). 미반응 알데히드는 쉬프 염기의 환원 후에 캡핑, 즉 적합한 환원제 예컨대 소듐 보로히드라이드를 사용하여 알콜로 환원될 수 있다 (제시되지 않음).

도 4c는 연결된 폴리사카라이드 반복 단위의 하나의 가능한 구조가 도시된, 도 4b의 반응의 생성물을 제시한다. 단백질의 추가의 폴리사카라이드에 대한 연결 또는 그 반대의 경우가 가능하다 (제시되지 않음; 도 3의 예시 참조).

도 5a는 혈청군 Y 폴리사카라이드의 탈중합 및 활성화를 예시한다. 폴리사카라이드는, 예를 들어, 승온을 사용하여 탈중합되고, 이어서 이웃자리 디올 예컨대, 예를 들어, 시알산 모이어티의 탄소 7번과 8번 사이를 절단하고 이들을 알데히드로 산화시키는 소듐 메타퍼아이오데이트로의 처리에 의해 활성화된다.

도 5b는 환원성 아미노화를 통한 혈청군 Y 폴리사카라이드-단백질 (예를 들어, TT) 접합체의 형성을 예시한다. 단백질 (PR)의 1급 아민 (예를 들어, 리신 측쇄 또는 N-말단)은 탈중합되고 활성화된 혈청군 Y 폴리사카라이드 (PS)의 알데히드와 반응하여 쉬프 염기 중간체를 형성한다 (제시되지 않음). 중간체는 환원되어 (예를 들어, 피리딘 보란, 피콜린 보란 또는 시아노보로히드라이드를 사용함) 2급 아민 연결을 제공한다. 개별 단백질 분자는 1개 초과와 폴리사카라이드와 반응할 수 있으며, 그 반대의 경우도 가능하다 (제시되지 않음; 도 3의 예시 참조). 미반응 알데히드는 쉬프 염기의 환원 후에 캡핑, 즉 적합한 환원제 예컨대 소듐 보로히드라이드를 사용하여 알콜로 환원될 수 있다 (제시되지 않음).

도 5c는 연결된 폴리사카라이드 반복 단위의 하나의 가능한 구조가 도시된, 도 5b의 반응의 생성물을 제시한다. 단백질의 추가의 폴리사카라이드에 대한 연결 또는 그 반대의 경우가 가능하다 (제시되지 않음; 도 3의 예시 참조).

도 6은 최종 백신 투여로부터 30일 (D30) 후에 혈청군 A, C, Y 및 W에 대해 1:8 이상의 hSBA 역가를 달성한 대상체의 제1 그룹-제4 그룹에서의 백분율을 제시한다.

도 7은 최종 백신 투여로부터 D30 후에 혈청군 A, C, Y 및 W에 대해 1:8 이상의 rSBA 역가를 달성한 대상체의 제1 그룹-제4 그룹에서의 백분율을 제시한다.

도 8은 MenACYW-TT 백신의 투여 이후 7일 이내에 1건 이상의 예측된 주사 부위 반응을 보고한 참가자의 누적 백분율을 제시한다.

도 9는 MenACYW-TT 백신 + 상용 백신 또는 단독의 상용 백신의 투여의 7일 이내에 예측된 전신 반응을 갖는 대상체의 백분율을 제시한다.

도 10은 MenACYW-TT 또는 메노문®-A/C/Y/W-135 (MPSV4) 백신의 투여로부터 D30 후에 다양한 혈청군에 대해 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 달성하는 대상체의 백분율을 제시한다.

도 11은 MenACYW-TT 또는 MPSV4 백신의 투여로부터 D30 후의 hSBA 기하 평균 역가 (GMT)의 요약을 제시한다.

도 12는 MenACYW-TT 또는 MPSV4 백신의 투여로부터 D30 후에 다양한 혈청군에 대해 $\geq 1:8$ 의 rSBA 역가를 달성하는 대상체의 백분율을 제시한다.

도 13은 MenACYW-TT 또는 MPSV4 백신의 투여 후에 예측된 주사 부위 반응을 갖는 대상체의 백분율을 유형 및 등급에 의해 제시한다.

도 14는 MenACYW-TT 또는 MPSV4 백신의 투여 후에 예측된 전신 반응을 갖는 대상체의 백분율을 유형 및 등급에 의해 제시한다.

도 15는 MenACYW-TT 또는 MCV4-TT 백신의 투여로부터 D30 후에 hSBA 백신 혈청반응을 달성하는 대상체의 백분율을 제시한다.

도 16은 MenACYW-TT 또는 MCV4-TT 백신의 투여 후의 백신접종 후 hSBA 기하 평균을 제시한다.

도 17은 MenACYW-TT 또는 MCV4-TT 백신의 투여 이후 D0-D7의 예측된 주사 부위 반응을 제시한다.

도 18은 MenACYW-TT 또는 MCV4-TT 백신의 투여 이후 D0-D7의 예측된 전신 반응을 제시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0131] III. 발명의 실시양태의 상세한 설명
- [0132] 이제 본 발명의 특정 실시양태가 상세하게 참조될 것이며, 그의 예는 첨부 도면에 예시되어 있다. 본 발명이 예시된 실시양태와 함께 기재될 것이나, 이들은 본 발명을 이들 실시양태로 제한하도록 의도되지 않는 것으로 이해될 것이다. 오히려, 본 발명은 첨부된 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명 내에 포함될 수 있는 모든 대안, 변형 및 등가물을 포함하도록 의도된다.
- [0133] 본 발명의 교시를 상세히 기재하기 전에, 본 개시내용은 구체적 조성물 또는 공정 단계로 제한되지 않으며, 그러므로 달라질 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 단수 형태는, 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한, 복수 지시대상을 포함한다는 것을 유의하여야 한다. 따라서, 예를 들어, "접합체"라는 언급은 복수의 접합체를 포함하고, "세포"라는 언급은 복수의 세포를 포함하는 등이다.
- [0134] 수치 범위는 범위를 정의하는 수를 포함한다. 측정된 및 측정가능한 값은 유효 숫자 및 측정과 연관된 오차를 고려한, 근사치인 것으로 이해된다. 또한, "포함하다", "포함한다", "포함하는", "함유하다", "함유한다", "함유하는", "수반하다", "수반한다" 및 "수반하는"의 사용은 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 상기 일반적 설명 및 상세한 설명 둘 다는 단지 예시적이며 설명하기 위한 것으로, 교시를 제한하는 것은 아닌 것으로 이해되어야 한다.
- [0135] 상기 명세서에서 구체적으로 나타내지 않는 한, 다양한 구성요소를 "포함하는" 것으로 열거한 본 명세서의 실시양태는 열거된 구성요소로 "이루어지거나" 또는 "본질적으로 이루어지는" 것으로도 고려되고; 다양한 구성요소로 "이루어지는" 것으로 열거한 본 명세서의 실시양태는 열거된 구성요소를 "포함하거나" 또는 그로 "본질적으로 이루어지는" 것으로도 고려되고; 다양한 구성요소로 "본질적으로 이루어지는" 것으로 열거한 본 명세서의 실시양태는 열거된 구성요소로 "이루어지거나" 또는 그를 "포함하는" 것으로도 고려된다 (이러한 상호교환가능성은 청구범위에서의 이들 용어의 사용에는 적용되지 않음).
- [0136] 본원에 사용된 섹션 표제는 단지 구성 목적을 위한 것으로, 어떠한 방식으로든 목적하는 대상을 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 참조로 포함된 임의의 참고문헌이 본 명세서에서 정의된 임의의 용어와 모순되는 경

우에는, 본 명세서가 우선한다. 본 발명의 교시가 다양한 실시양태와 함께 기재되어 있으나, 본 발명의 교시는 이러한 실시양태로 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 오히려, 본 발명의 교시는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인지될 것처럼, 다양한 대안, 변형 및 등가물을 포괄한다.

- [0137] A. 정의
- [0138] 달리 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 하기 용어 및 어구는 하기 의미를 갖는 것으로 의도된다:
- [0139] 본원에 사용된 용어 "또는 그의 조합"은 상기 용어의 앞에서 열거된 용어들의 모든 순열 및 조합을 지칭한다. 예를 들어, "A, B, C 또는 그의 조합"은 하기 중 적어도 하나를 포함하는 것으로 의도된다: A, B, C, AB, AC, BC 또는 ABC, 및 순서가 특정한 문맥에서 중요한 경우에는, 또한 BA, CA, CB, ACB, CBA, BCA, BAC 또는 CAB. 이러한 예를 계속 들면, 하나 이상의 아이템 또는 용어의 반복을 함유하는 조합, 예컨대 BB, AAA, AAB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB 등이 명백하게 포함된다. 통상의 기술자라면, 문맥으로부터 달리 분명하지 않는 한, 전형적으로 임의의 조합에서 아이템 또는 용어의 수에 제한이 없다는 것을 이해할 것이다.
- [0140] 본원에 사용된 용어 "키트"는 관련된 구성요소, 예컨대 1종 이상의 화합물 또는 조성물 및 1종 이상의 관련된 물질 예컨대 용매, 용액, 완충제, 지침서 또는 건조제의 포장된 세트를 지칭한다.
- [0141] "또는"은, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 포함적 의미로 사용되며, 즉 "및/또는"에 상응한다.
- [0142] 용어 "링커" 및 "연결"은 상호교환가능하게 사용되며, 담체 단백질 또는 폴리사카라이드와 같은 아이템을 공유 부착시키거나 또는 그에 부착되는 원자의쇄를 포함하는 화학적 모이어티를 의미한다.
- [0143] "연결 모이어티"는 또 다른 분자와 반응하여 공유 결합에 의해 연결을 형성할 수 있는 화학적 반응성 기, 치환 기 또는 모이어티, 예를 들어 친핵체 또는 친전자체를 의미한다.
- [0144] "알킬"은 모 알칸, 알켄 또는 알킨의 단일 탄소 원자로부터 1개의 수소 원자의 제거에 의해 유래된 포화 또는 불포화, 분지형, 직쇄, 분지형 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 의미한다. 전형적인 알킬 기는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 1 내지 12개의 포화 및/또는 불포화 탄소로 이루어진다.
- [0145] "반복 단위"는 폴리사카라이드 내 중합된 모노- 또는 올리고사카라이드 잔기이다. MenA 및 MenC의 반복 단위는 모노사카라이드 (각각 N-아세틸 만노사민 및 시알산)이고, MenW-135 및 MenY의 반복 단위는 디사카라이드 (MenY의 경우에는 시알산 및 글루코스, 또는 MenW-135의 경우에는 시알산 및 갈락토스의 디사카라이드)이다. 반복 단위는 측쇄 (예를 들어, O-아세틸화) 및/또는 변형 예컨대 본원에 개시된 것들과 관련하여 서로 다를 수 있다.
- [0146] MenA, MenC, MenW-135, 및 MenY는 각각 혈청군 A, C, W-135 또는 Y의 네이세리아 메닌기티디스, 또는 그의 피막 폴리사카라이드에 대한 약칭으로서 사용된다 (예를 들어, 혈청군 C의 네이세리아 메닌기티디스의 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 의미하는 "MenC 접합체"의 경우에서처럼).
- [0147] B. 예시적인 백신 조성물
- [0148] 일부 실시양태에서, 백신 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물은 MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물은 MenA 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물은 MenW-135 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물은 MenY 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물은 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 적어도 2종, 적어도 3종 또는 적어도 4종의 접합체를 포함한다. 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 적어도 2종, 적어도 3종 또는 적어도 4종의 접합체는 네이세리아 메닌기티디스의 다양한 혈청군으로부터의 피막 폴리사카라이드의 접합체, 예를 들어, MenA, MenC, MenY, 및 MenW 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질, 예를 들어, 파상풍 독소이드와의 접합체일 수 있다.
- [0149] 피막 폴리사카라이드는 US 2003/0068336의 실시예 1에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있다. 피막 폴리사카라이드는 또한 예를 들어 US 6,933,137에 기재된 배치 및 방법을 사용하여 제조될 수 있다.
- [0150] 담체 단백질을 포함하는 접합체가 본원에 개시되어 있다. 단백질 담체의 예는, 예를 들어, 본원에 참조로 포함되는 문헌 [Pichichero ME. Protein carriers of conjugate vaccines: Characteristics, development, and clinical trials. Human Vaccines & Immunotherapeutics. 2013;9(12):2505-2523. doi:10.4161/hv.26109]에 논의되어 있다. 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 재조합 엑소단백질 알파 (REPA), 디프테리아 독소이드, CRM197, 파상풍 독소이드 또는 파상풍 독소의 C-단편을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서,

단백질 담체는 과산화물 독소이드이다.

- [0151] 일부 실시양태에서, 과산화물 독소이드 (TT)는 뮐러(Mueller) 및 밀러(Miller) 배지 또는 변형된 뮐러 및 밀러 배지에서 성장시킨 클로스트리디움 테타니(*Clostridium tetani*) (하버드 균주)의 배양물로부터 독소의 추출, 암모늄 술페이트 정제 및 포르말린 불활성화에 의해 제조된다. 일부 실시양태에서, TT는 잔류 포르말데히드를 감소시키도록 가공되고, 소듐 클로라이드 중에 농축되고, 여과 멸균된다. 일부 실시양태에서, TT는 암모늄 술페이트 정제보다는 크로마토그래피에 의해 정제된다. 일부 실시양태에서, 변형된 뮐러 및 밀러 배지는 소심근 침출액을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서, 클로스트리디움 테타니는 W02006/042542의 제16면, 표 3에 기재된 배지 중에서 성장된다.
- [0152] 하기 논의된 특정 실시양태는 폴리사카라이드의 단위 질량당 주어진 양으로 존재하는 화학적 모이어티 (예를 들어, 히드록실 또는 O-아세틸화) 또는 담체 단백질과의 접합과 같은 특색을 수반한다. 예를 들어, 특정 특색 또는 특색들의 조합은 25 nmol/mg 폴리사카라이드 이상과 같은 수준으로 존재할 수 있다. 이는 1 mg의 폴리사카라이드에서, 특색 또는 특색들의 조합이 적어도 15×10^{15} 배로 발생한다는 것을 의미한다 (여기서 $25 \text{ nmol} = 25 \times 10^{-9} \text{ mol} \times (6.02 \times 10^{23} \text{ 아이트}/\text{몰}) = 15 \times 10^{15} \text{ 아이트}$).
- [0153] 일부 실시양태에서, MenC 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체의 폴리사카라이드는 0.3 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 내지 1.6 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 범위의 O-아세틸화 수준을 갖는다. 일부 실시양태에서, O-아세틸화의 수준은 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 또는 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상이다. 일부 실시양태에서, O-아세틸화의 수준은 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 또는 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하이다. 예를 들어, 상기 수준은 0.6 내지 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 또는 0.8 내지 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드의 범위일 수 있다. O-아세틸 함량은 헤스트린 방법 (Hestrin et al., J. Biol. Chem. 1949, 180, p. 249)에 의해 측정될 수 있다.
- [0154] 일부 실시양태에서, 조성물 내 접합체 중 적어도 1종은 300 kDa 내지 1500 kDa 범위의 중량-평균 분자량을 갖는다. 일부 이러한 실시양태에서, 중량-평균 분자량은 400 kDa, 500 kDa, 600 kDa, 700 kDa, 800 kDa, 900 kDa, 1000 kDa 또는 1100 kDa 이상이다. 일부 이러한 실시양태에서, 중량-평균 분자량은 600 kDa, 700 kDa, 800 kDa, 900 kDa, 1000 kDa, 1100 kDa, 1200 kDa, 1300 kDa 또는 1400 kDa 이하이다. 중량-평균 분자량은 관련 기술분야에 공지된 방법, 예를 들어, 다중-각도 광 산란 (MALS)에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물 내 적어도 1종의 접합체는 700 kDa 내지 1400 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함한다 (즉, 그를 포함하는 분자의 집단임). 집단의 일부 분자는, 중량-평균 또는 수-평균 분자량이 상기 범위에 있는지 또는 없는지에 상관없이, 상기 범위에 있는 중량을 가질 수 있다는 것을 유의하여야 한다. 예를 들어, 600 kDa 또는 1500 kDa의 중량-평균 분자량을 갖는 분자의 집단은 700 kDa 내지 1400 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 아마도 함유할 것이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내 적어도 1종의 접합체는 800 kDa 내지 1300 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물 내 적어도 1종의 접합체는 700-800, 800-900, 900-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400 또는 1400-1500 kDa 범위의 분자량을 갖는 분자를 포함한다. 일부 실시양태에서, MenA 접합체는 상기 기재된 바와 같은 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, MenC 접합체는 상기 기재된 바와 같은 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, MenW-135 접합체는 상기 기재된 바와 같은 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, MenY 접합체는 상기 기재된 바와 같은 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분자량은 다중-각도 광 산란 (MALS)을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자량은 고성능 크기-배제 크로마토그래피 (HPSEC)를 사용하여 결정된다.
- [0155] 일부 실시양태에서, 접합체, 예컨대 MenC의 접합체는 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드, 이중-단부-연결 폴리사카라이드 또는 그의 조합을 포함하는 집단이다. 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드는 한쪽 단부에서 담체 단백질에 부착된다. 이중-단부-연결 접합된 폴리사카라이드는 양쪽 단부에서 담체 단백질에 부착된다. 단부-연결 접합된 폴리사카라이드는, 예를 들어, 폴리사카라이드 백본 내 이웃자리 디올을 절단하고 활성화시켜 활성화된 단부를 노출시킴으로써, 예컨대 퍼아이오데이트 처리에 의해 형성될 수 있다. 예를 들어, MenC 폴리사카라이드는 그의 시알산 반복 단위에 7,8 이웃자리 디올을 가지므로, 동일한 반복 단위에서 7 및 8 위치가 O-아세틸화되지 않는다. 이러한 이웃자리 디올은, 그의 절단이 하나의 사카라이드를 그 다음 것으로부터 분리하기 때문에 폴리사카라이드의 백본에 있는 것이며, 즉 이웃자리 디올이 측쇄의 일부가 아니다. 활성화 이후, 활성화된 단부는 이어서 담체 단백질 (또는 이어서 담체 단백질에 부착될 또는 이미 담체 단백질에 부착된 링커)과 반응하여 단부-연결 폴리사카라이드 접합체를 형성할 수 있다. 접합체는, 폴리사카라이드의 단부 (말단 사카라이드 잔기)의 단지 한쪽만이 담체 단백질에 연결된다면 (적용가능하다면 링커를 통한 연결 포함) 단일-단부

연결된다. 이중-단부-연결 접합체는 폴리사카라이드의 양쪽 단부에 연결된 담체 단백질을 갖는다. 일반적으로, 담체 단백질 대비 보다 높은 화학량론의 폴리사카라이드 또는 보다 낮은 전체 반응물 농도를 사용하는 것은 접합 반응을 단일-단부-연결 생성물 쪽으로 치우치게 할 것이다. 대조적으로, 담체 단백질 대비 보다 낮은 화학량론의 폴리사카라이드 또는 보다 높은 전체 반응물 농도는 접합 반응을 이중-단부-연결 생성물 쪽으로 치우치게 할 것이다.

[0156] 일부 실시양태에서, 단일-단부-연결 접합된 폴리사카라이드 (예를 들어, MenC 접합체)는 말단 비연결된 사카라이드를 가지며, 여기에는 7 위치에 1급 히드록실기 존재하거나, 또는 여기서 환원 단부는 (2-히드록시)에톡시로 변형된다. 이는 7,8 이웃자리 디올을 포함하는 폴리사카라이드의 피아이오테이트로의 활성화 (말단 알데히드를 제공함), 한쪽 단부에서의 접합, 및 다른 쪽 단부에서의 미반응 알데히드의, 예를 들어, 보로히드라이드 시약으로의 환원으로부터 초래될 수 있다. 7 위치에서의 1급 히드록실기는 말단절단된 시알산 잔기의 단부로 간주될 수 있다. (2-히드록시)에톡시로 변형된 환원 단부는 그의 환원 단부에서 또 다른 잔기의 9번 및 8번 탄소 및 이들의 회합된 산소의 단편에 부착된 시알산 잔기로 간주될 수 있다.

[0157] 일부 실시양태에서, 접합체는 (i) 천연 MenW-135 또는 MenY 폴리사카라이드의 이웃자리 디올의 위치에서의 1급 히드록실 및 (ii) 담체 단백질과의 접합으로부터 선택된 1종 이상의 변형을 포함하는 MenW-135 및/또는 MenY 폴리사카라이드이며, 여기서 변형은 60 nmol/mg 폴리사카라이드 이상으로 존재한다. 변형은 피아이오테이트 산화에 이어 담체 단백질과의 접합 및 미반응 알데히드의 환원에 의해 형성될 수 있다. 사카라이드 잔기의 피아이오테이트-구동된 절단은 이웃자리 디올 위치 예컨대 시알산의 7,8 또는 8,9 위치 및 또한 잠재적으로, 특히 디올이 시스 배열인 경우에는 반복 단위의 헥소스 고리에서 발생할 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형은 200 nmol/mg 폴리사카라이드 미만, 150 nmol/mg 폴리사카라이드 미만, 100 nmol/mg 폴리사카라이드 미만 또는 80 nmol/mg 폴리사카라이드 미만의 양으로 존재한다.

[0158] 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는 2급 아민을 통해 담체 단백질에 연결된다. 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는 화학식 II에 제시된 바와 같이 담체 단백질에 부착되며:

[0159] $PR-NH-CH_2-PS$ (II)

[0160] 여기서 PS는 폴리사카라이드에 대한 부착을 나타내고, PR은 담체 단백질에 대한 부착을 나타낸다. 이러한 2급 아민 연결은, 예를 들어, 단백질 상의 1급 아민 (예를 들어, N-말단 또는 리신 측쇄의 아미노 기)이 폴리사카라이드 상의 활성화된 기 (예를 들어, 알데히드)를 공격하여 쉬프 염기를 형성하고, 이것이 이어서 환원되어 2급 아민을 형성하는 환원성 아미노화를 통해 형성될 수 있다. 환원은 적합한 환원 시약 예컨대 시아노보로히드라이드 (예를 들어, 소듐 시아노보로히드라이드) 또는 보란 (예를 들어, 피리딘 보란 또는 피콜린 보란)을 사용하여 수행될 수 있다.

[0161] 일부 실시양태에서, MenC 폴리사카라이드의 접합체는 천연 MenC 폴리사카라이드 대비 3x-8x, 예를 들어, 3x-4x, 4x-5x, 5x-6x, 6x-7x 또는 7x-8x만큼 크기에서 감소된다. 피아이오테이트 절단이 인접한 반복 단위를 분리하며, 이에 따라 폴리사카라이드의 크기에서의 감소를 제공한다. 크기는 피아이오테이트 처리 전에, 예를 들어, 열 및/또는 산과 같은 처리에 의해 추가로 감소될 수 있다. 크기를 감소시키기 위한 다른 공지된 처리, 예컨대 초음파처리 또는 마이크로유동화가 또한 사용될 수 있다.

[0162] 일부 실시양태에서, MenA 폴리사카라이드의 접합체는 0.3 내지 1.5, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2, 1.2 내지 1.3, 1.3 내지 1.4 또는 1.4 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖는다. 일부 실시양태에서, MenA 폴리사카라이드의 접합체는 0.5 내지 1.5의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖는다.

[0163] 일부 실시양태에서, MenC 폴리사카라이드의 접합체는 0.3 내지 1.1, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0 또는 1.0 내지 1.1의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖는다.

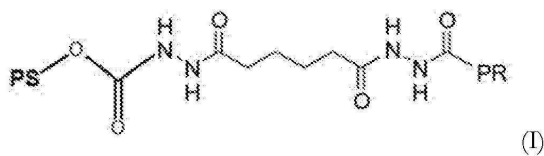
[0164] 일부 실시양태에서, MenW-135 폴리사카라이드의 접합체는 0.3 내지 1.3, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2 또는 1.2 내지 1.3의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖는다.

[0165] 일부 실시양태에서, MenY 폴리사카라이드의 접합체는 0.5 내지 1.3, 예를 들어, 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5,

0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9, 0.9 내지 1.0, 1.0 내지 1.1, 1.1 내지 1.2 또는 1.2 내지 1.3의 담체 단백질에 대한 폴리사카라이드 질량 비를 갖는다.

[0166] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 백신 조성물은 중량 기준 20% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하며, 예를 들어, 중량 기준 10% 미만의 유리 폴리사카라이드, 중량 기준 5% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함하거나, 또는 유리 폴리사카라이드가 실질적으로 없다. "유리 폴리사카라이드가 실질적으로 없다"는 것은 유리 폴리사카라이드의 수준이, 예를 들어, 문헌 [Lei et al., "Quantification of free polysaccharide in meningococcal polysaccharide-diphtheria toxoid conjugate vaccines," Dev Biol (Basel). 2000; 103:259-64 (PMID: 11214246)]에 기재된 바와 같은, 단백질-접합된 폴리사카라이드가 데옥시콜레이트로 침전되고 용액에 잔류하는 폴리사카라이드가 검정되는 데옥시콜레이트 침전 검정의 검출 한계 미만이라는 것을 의미한다.

[0167] 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는 2-10개의 선형 탄소, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 탄소를 포함하는 링커를 통해 담체 단백질에 부착된다. "선형 탄소"는 폴리사카라이드에서부터 담체 단백질로 이어지는쇄를 따라 존재하는 탄소이며, 이 쇠로부터의 분지 상의 탄소는 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 링커는 제1 카르보닐과 제2 카르보닐 사이에 스페이서를 포함하고, 스페이서는 4-8개의 탄소 (예를 들어, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 탄소)를 포함하며, 이들은 선형 탄소일 수 있다. 제1 카르보닐은 카르바메이트의 일부일 수 있다. 제2 카르보닐은 아미드의 일부일 수 있다. 제1 카르보닐은 폴리사카라이드에 가깝고 담체 단백질로부터 멀리 있을 수 있다. 제2 카르보닐은 담체 단백질에 가깝고 폴리사카라이드로부터 멀리 있을 수 있다. 링커는 디히드라지드, 예컨대 아디프산 디히드라지드 (ADH)의 잔기를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는 화학식 I의 링커를 통해 담체 단백질에 부착되며:



[0168] 여기서 PS는 폴리사카라이드에 대한 부착을 나타내고, PR은 담체 단백질에 대한 부착을 나타낸다. 개별 폴리사카라이드는 1개 또는 1개 초과 of 담체 단백질에 부착될 수 있으며 (상기한 위치에서), 그 반대의 경우도 가능하다.

[0170] 일부 실시양태에서, 링커는 10-100개, 예를 들어, 20-60개 사카라이드 반복 단위당 1개 링커의 비로 접합체에 존재한다. 이는 담체 단백질 및 폴리사카라이드 둘 다에 부착된 링커 및 또한 단지 폴리사카라이드에만 부착된, 즉 담체 단백질에 대한 부착은 형성하지 않는 링커를 포함한다.

[0171] 일부 실시양태에서, 링커를 통한 네이세리아 메닝기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체가 제공되며, 여기서 링커는 폴리사카라이드의 10-100개 반복 단위당 1개 링커, 예를 들어, 10-20개 반복 단위당 1개 링커, 20-30개 반복 단위당 1개 링커, 30-40개 반복 단위당 1개 링커, 40-50개 반복 단위당 1개 링커, 50-60개 반복 단위당 1개 링커 또는 60-70개 반복 단위당 1개 링커의 양으로 존재한다. 일부 실시양태에서, MenA 폴리사카라이드는 상기 기재된 바와 같은 링커를 통해 담체 단백질에 부착된다. 일부 실시양태에서, MenC 폴리사카라이드는 상기 기재된 바와 같은 링커를 통해 담체 단백질에 부착된다.

[0172] 일부 실시양태에서, 본 개시내용에 따른 폴리사카라이드 접합체 조성물은 기존의 제제에 비해 개선된 안정성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 안정성은 각각의 접합된 폴리사카라이드에 상응하는 유리 폴리사카라이드 수준이 2°C-8°C에서의 저장 기간, 예를 들어, 2.5, 3, 3.5, 4 또는 4.5년 후에 40% 미만으로 유지되는지 여부의 측면에서 시험된다. 일부 실시양태에서, 안정성은 각각의 접합된 폴리사카라이드에 상응하는 유리 폴리사카라이드 수준이 23°C-27°C에서의 저장 기간, 예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개월 후에 40% 미만으로 유지되는지 여부의 측면에서 시험된다. 특정 4가 MenACYW 폴리사카라이드 접합 백신은 적어도 부분적으로 구성 접합체 중 1종 이상과 관련하여 액체 제제로서의 낮은 안정성의 결과로서 동결건조 또는 다른 보존제 조치를 요구한다. 동결건조는 단일 액체 제제에 비해 제조 및 투여 둘 다를 복잡하게 한다. 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는 다중 지점에서 담체 단백질에 부착된다. 다중 지점 부착은 일반적으로, 적절한 폴리사카라이드 크기 및 로딩 비와 함께, 담체 단백질 및 폴리사카라이드의 격자를 형성할 수 있는 접합 화학, 예를 들어, 피아이오테이트 활성화 후에 이어지는 환원성 아미노화, 또는 카르보닐 디이미다졸-기반 커플링 (임의로 링커 사용)의 결과이다. 이러한 예시적인 화학의 상세한 논의는 하기 실시예를 참조한다. 다중 부착 지점을 수반하는 단백질-폴리사카라이드 격자의 형성과 양립될 수 있는 예시적인 폴리사카라이드 크기 및 로딩 비는 적어도 30 kDa (및 상기 논의된

예시적인 크기 범위) 및 0.3 내지 1.5의 폴리사카라이드/단백질 비 (및 상기 논의된 예시적인 로딩 비 범위)이다. 특정한 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 폴리사카라이드와 담체 단백질 사이에 다중 부착 지점을 갖는 접합체를 제공하는 것은, 담체 단백질로부터 폴리사카라이드 단편을 유리시키기 위해서는 다중 절단 (예를 들어, 가수분해성) 사건이 필요할 것이라는 점에서 접합체의 장기간 안정성에 기여할 수 있다. 장기간 안정성에 대한 이러한 기여는 특히, 액체로의 저장 동안 글리코시드 결합보다 더 불안정할 수 있는 포스포디에스테르 연결을 갖는 MenA 폴리사카라이드와 관련있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 담체 단백질에 대해 다중 부착 지점을 갖는 MenA 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 담체 단백질에 대해 다중 부착 지점을 갖는 MenC 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 담체 단백질에 대해 다중 부착 지점을 갖는 MenY 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 담체 단백질에 대해 다중 부착 지점을 갖는 MenW-135 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 담체 단백질에 대해 각각 다중 부착 지점을 갖는 MenA, MenC, MenY 및 MenW-135 폴리사카라이드를 포함한다.

[0173] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 백신 조성물은 시린지, 예를 들어, 사전-충전 및/또는 실리콘-무함유 시린지 내 액체 제제로서 제공된다. 일부 실시양태에서, 이러한 시린지는 상업적으로 판매 및/또는 유통을 위해 포장된다.

[0174] C. 접합체 및 백신을 생산하는 예시적인 방법

[0175] 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산 및/또는 정제하는 방법이 본원에 제공된다.

[0176] 시약 (예컨대 활성화제)은 관련된 단계 또는 반응 동안 어느 때라도 (예를 들어, 반응이 시작될 때) 주어진 양으로 존재한다면, 단계 (예를 들어, 활성화 단계)에서 주어진 양으로 존재하는 것으로 간주된다.

[0177] 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는, 예를 들어, 알칼리 가수분해에 의해 탈-O-아세틸화된다. 예를 들어, 히드록시드 예컨대 NaOH 또는 KOH가, 예를 들어, 50-150, 60-140, 70-130, 80-120, 90-110 또는 95-100 mM의 농도로 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 히드록시드는 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 mM의 농도이다. 일부 실시양태에서, 히드록시드는 100 mM의 농도이다. 탈-O-아세틸화는 폴리사카라이드를 출발 양과 비교하여 40% 내지 70% 또는 50% 내지 60%만큼 탈-O-아세틸화시키기에 충분한 시간 및 온도에서 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 탈-O-아세틸화는 폴리사카라이드를 출발 양과 비교하여 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%만큼 탈-O-아세틸화시키기에 충분한 시간 및 온도에서 수행될 수 있다. 특정 실시양태에서, 탈-O-아세틸화 이후, 폴리사카라이드는 0.6 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 내지 1.5 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 또는 0.8 내지 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드의 O-아세틸화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, O-아세틸화도는 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2.0 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이상이다.

[0178] 일부 실시양태에서, O-아세틸화도는 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3 또는 1.4 $\mu\text{mol/mg}$ 폴리사카라이드 이하이다.

[0179] 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는, 예를 들어, 열, 산 처리, 초음파처리, 마이크로유동화 또는 그의 조합, 예컨대 열 및 산에 의해 탈중합된다. 예를 들어, 폴리사카라이드는 40°C-80°C (예를 들어, 45°C, 50, 55, 60, 65, 70 또는 75)로 가열되고/거나 온화한 산성 pH 예컨대 5, 5.5, 6 또는 6.5 또는 그 초과에 노출될 수 있다. 폴리사카라이드는, 예를 들어, 50 kDa 내지 200 kDa, 예컨대 50, 75, 100, 125, 150, 175 또는 200의 중량-평균 분자량까지 탈중합될 수 있다.

[0180] 일부 방법은 카르바메이트 연결을 형성할 수 있는 활성화제를 사용하며, 그의 예는 관련 기술분야에 공지된되어 있다. 카르바메이트 연결을 형성할 수 있는 활성화제는 2개의 우수한 이탈기, 예컨대 N-연결된 헥테로아릴, 예컨대 이미다졸, 피리딘, 피리미딘, 퓨린, 트리아진, 피라진, 티아진, 티아졸 등에 부착된 카르보닐을 갖는 화합물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 활성화제는 카르보닐 디이미다졸이다. 활성화제는 폴리사카라이드보다 20 배 내지 50배, 예를 들어, 20배 내지 25배, 25배 내지 30배, 30배 내지 35배, 35배 내지 40배, 40배 내지 45배 또는 45배 내지 50배만큼 물 과량으로 존재할 수 있다.

[0181] 일부 실시양태에서, 링커 예컨대 디히드라지드 링커는, 예를 들어, 폴리사카라이드 반복 단위 대비 0.3 내지 1.0, 예컨대 0.3 내지 0.4, 0.4 내지 0.5, 0.5 내지 0.6, 0.6 내지 0.7, 0.7 내지 0.8, 0.8 내지 0.9 또는 0.9 내지 1.0의 물비로, 활성화된 폴리사카라이드와 반응된다. 일부 실시양태에서, 디히드라지드 링커는 아디프산 디히드라지드이다. 일부 실시양태에서, 폴리사카라이드는 10-100개 반복 단위당 1개 링커, 예를 들어, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90 또는 90-100개 반복 단위당 1개 링커를 함유하도록 링커로

유도체화된다. 일부 실시양태에서, 폴리스카라이드는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100개 반복 단위당 1개 링커를 함유하도록 링커로 유도체화된다.

[0182] 일부 실시양태에서, 폴리스카라이드는 산화제, 예컨대 퍼아이오데이트, 예를 들어, 소듐 메타퍼아이오데이트 (또한 소듐 퍼아이오데이트로서 공지되어 있음)로의 처리에 의해 활성화된다. 일부 실시양태에서, 산화제는 폴리스카라이드와 반응하여 알데히드를 형성한다. 일부 실시양태에서, 알데히드는, 예를 들어, MenW-135 및 MenY 폴리스카라이드의 경우에 폴리스카라이드의 측쇄 상에 형성된다. 일부 실시양태에서, 알데히드는, 예를 들어, MenC 폴리스카라이드의 경우에 폴리스카라이드 백본을 절단함으로써 형성되며 말단에서 형성된다. 산화 처리는 대략 2 mM, 예를 들어, 1.5 내지 3 mM의 산화제를 사용하여 수행될 수 있다. 산화 처리는 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 또는 3.0 mM에서 수행될 수 있다. 산화 처리는 적어도 20 nmol/mg 폴리스카라이드, 예를 들어, 20-30, 20-40, 20-50, 20-60, 20-70, 20-80, 20-90, 20-100, 20-150, 20-160, 20-170, 20-180, 20-190 또는 20-200 nmol/mg을 생산하기에 충분한 온도 및 시간에서 수행될 수 있다. 산화 처리는 적어도 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 또는 200 nmol/mg 폴리스카라이드를 생산하기에 충분한 온도 및 시간에서 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 산화 처리는 6.5 내지 9.5 범위의 pH에 있거나, 또는 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0 또는 9.5의 pH를 갖는다. 일부 실시양태에서, 산화 처리는 실온 미만에서, 예를 들어, 20°C, 15°C, 10°C 또는 5°C 미만에서 액체 용액 중에서 수행된다.

[0183] 접합이 환원성 아미노화를 통한 것인 경우에, 슈프 염기는 적합한 환원제 예컨대 시아노보로히드라이드 (예를 들어, NaCNBH₃) 또는 보란 예컨대 피리딘 보란 또는 피콜린 보란으로 환원될 수 있다.

[0184] 접합 이후, 미반응 알데히드가 존재하는 경우에, 접합체는 알데히드를 환원시키거나 또는 아미노화함으로써 안정화될 수 있다. 보로히드라이드 예컨대 NABH₄가 적합한 환원 시약이다. 암모니아, 메틸아민, 글리신, 알라닌 등이 미반응 알데히드의 아미노화에 적합하다.

[0185] 일부 실시양태에서, 접합물은 정제된다. 암모늄 술페이트의 존재 하의 한외여과를 수반하는, 하나의 정제 방법이 미국 특허 번호 6,146,902에 기재되어 있다. 대안적으로, 접합체는, 특히, 크기 배제 크로마토그래피, 밀도 구배 원심분리, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 혼합 모드 수지 크로마토그래피 또는 암모늄 술페이트 분획화를 포함한 많은 표준 기술에 의해 미반응 단백질 및 폴리스카라이드로부터 정제될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [P. W. Anderson, et al. (1986). J. Immunol. 137: 1181-1186]을 참조한다. 또한, 문헌 [H. J. Jennings and C. Lugowski (1981) J. Immunol. 127: 1011-1018]을 참조한다.

[0186] 일부 실시양태에서, 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)가 수행된다. 페닐, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐 또는 데실 수지와 같은 수지가 사용될 수 있다. 혼합물은 접합체를 유리 폴리스카라이드로부터 정제하기 위해 수지 상에 로딩될 수 있다. 일부 실시양태에서, 혼합물은 염, 예컨대 암모늄 술페이트를 포함한다. 일부 실시양태에서, 로딩되는 혼합물의 pH는 pH가 중성에 보다 가까워지도록 조정된다. 일부 실시양태에서, 로딩되는 혼합물의 pH는 5.5-8.5, 6-8, 6.5 내지 7.5, 또는 7이거나 또는 그로 조정된다. 염은, 예를 들어, 0.5 M 내지 1.5 M, 예컨대 0.5 M 내지 0.7 M, 0.7 M 내지 0.9 M, 0.9 M 내지 1.1 M, 1.1 M 내지 1.3 M 또는 1.3 M 내지 1.5 M의 농도로 존재할 수 있다. 로딩 후에 수지는, 예를 들어, 암모늄 술페이트를 포함하는 염 용액으로 세척될 수 있으며, 여기서 염 농도는, 예를 들어, 이전 문장에 나타난 바와 같을 수 있다. 일부 실시양태에서, 수지는 칼럼에 존재하고, 세척액은 적어도 2, 3, 4, 5 또는 6 칼럼 부피, 예를 들어, 최대 7, 8, 9 또는 10 칼럼 부피이다. 일부 실시양태에서, 수지는 염 용액의 배치로, 예를 들어, 로딩 전 혼합물 부피의 적어도 2, 3, 4, 5, 6 또는 7배의 부피를 갖는 배치의 누적 부피를 갖는 2개 이상의 배치로 세척된다. 접합체는 수지와 보다 강력하게, 예를 들어, 높은 이온 강도로 상호작용할 수 있고, 유리 폴리스카라이드는 세척 제거될 수 있다. 접합체는 세척 이후 낮은 이온 강도 용리액, 예컨대 물, 예를 들어, WFI를 사용하여 수지로부터 용리될 수 있다. 대안적으로, 예를 들어, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02, 0.01 또는 0.005 M 이하의 염 농도를 갖는 저염 용액 (예를 들어, 아세테이트 염, 예컨대 소듐 아세테이트)이 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 용리액은 중량 기준 20% 미만의 유리 폴리스카라이드를 포함하며, 예를 들어, 중량 기준 10% 미만의 유리 폴리스카라이드, 중량 기준 5% 미만의 유리 폴리스카라이드를 포함하거나, 또는 유리 폴리스카라이드가 실질적으로 없다.

[0187] 일부 실시양태에서, 네이세리아 메닌기티디스 피막 폴리스카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법

은 하기 단계를 포함한다:

- [0188] a) 카르바메이트 연결을 형성할 수 있는 활성화제 (예를 들어, 카르보닐 디이미다졸)로 폴리사카라이드를 활성화시키며, 여기서 활성화제는 폴리사카라이드보다 20배 내지 50배의 몰 과량으로 존재하는 것인 단계;
- [0189] b) 활성화제를 켄칭하고 (예를 들어, 물을 사용함), 활성화된 폴리사카라이드를 폴리사카라이드 반복 단위 대비 0.3 내지 1.0의 몰비로 첨가된 디히드라지드 링커로 유도체화하며, 여기서 폴리사카라이드는 10-100개 사카라이드 반복 단위당 1개 디히드라지드 링커의 비로 유도체화되는 것인 단계;
- [0190] c) 유도체화된 폴리사카라이드를 담체 단백질에 카르보디이미드 화학에 의해 접합시키며, 여기서 폴리사카라이드는 담체 단백질 대비 3:1 내지 5:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응의 초기에 존재하고, 이에 의해 접합체를 형성하는 단계.
- [0191] 일부 실시양태에서, 네이세리아 메닌기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0192] a) 폴리사카라이드를 알칼리 가수분해에 의해 부분적으로 탈-O-아세틸화시키는 단계;
- [0193] b) 폴리사카라이드를 피아이오데이트 처리에 의해 활성화시키며, 이에 의해 mg 폴리사카라이드당 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 또는 50 nmol 알데히드의 정도까지 디올을 알데히드로 전환시키는 단계;
- [0194] c) 활성화된 폴리사카라이드를 담체 단백질에 환원성 아미노화에 의해 접합시키며, 여기서 폴리사카라이드는 담체 단백질 대비 0.5-1 내지 5:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응에서 존재하고, 이에 의해 접합체를 형성하는 단계.
- [0195] 일부 실시양태에서, 네이세리아 메닌기티디스 피막 폴리사카라이드의 담체 단백질과의 접합체를 생산하는 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0196] a) 폴리사카라이드를 피아이오데이트 처리에 의해 활성화시키며, 이에 의해 mg 폴리사카라이드당 적어도 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 또는 75 nmol 알데히드의 정도까지 디올을 알데히드로 전환시키는 단계;
- [0197] b) 활성화된 폴리사카라이드를 담체 단백질에 환원성 아미노화에 의해 접합시키며, 여기서 폴리사카라이드는 담체 단백질 대비 1:1 내지 5:1의 중량-대-중량 비로 접합 반응에서 존재하고, 이에 의해 접합체를 형성하는 단계.
- [0198] 일부 실시양태에서, 정제하는 방법은 접합체를 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)에 의해 정제하는 것을 추가로 포함한다.
- [0199] A. 예시적인 백신 제제
- [0200] 본 발명의 백신 조성물의 제제는 관련 기술분야에 인지된 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 본 발명의 백신 조성물/제제는 또한 1종 이상의 아주반트를 함유할 수 있다. 아주반트는, 예로서 비제한적으로, 알루미늄 아주반트, 프로인트 아주반트, BAY, DC-chol, pcpp, 모노포스포릴 지질 A, CpG, QS-21, 콜레라 독소 및 포르밀 메티오닐 펩티드를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Vaccine Design, the Subunit and Adjuvant Approach, 1995 (M. F. Powell and M. J. Newman, eds., Plenum Press, N.Y.)]을 참조한다. 아주반트는, 존재하는 경우에, 알루미늄 아주반트, 예컨대 알루미늄 히드록시드 또는 알루미늄 포스페이트일 수 있다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 아주반트를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 아주반트를 포함한다.
- [0201] 본 발명의 백신 조성물 및 제제 (예를 들어, 접합 백신/ MenACWY-TT 백신)는 단일 용량으로 또는 연속적으로 (즉, "부스터" 또는 "부스터들" 사용), 또는 다양한 네이세리아 메닌기티디스 백신, 예컨대 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신의 선행 투여 후 부스터로서 투여될 수 있다. 예를 들어, 소아는 소아기 질환을 예방하기 위한 다른 백신에 대해 현재 권장되는 바와 같이, 어릴 때 단일 용량을 제공받고, 그 후 최대 10년 뒤에 부스터 용량이 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 백신의 용량은 이전에 투여된 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신으로부터 2개월 내지 10년 후에, 예컨대 이전에 투여된 네이세리아 메닌기티디스 피막 사카라이드 접합 백신으로부터 2 내지 4개월, 4 내지 6개월, 6 내지 12개월, 1년 내지 2년, 2년 내지 3년, 3년 내지 4년, 4년 내지 5년, 5년 내지 6년, 6년 내지 7년, 7년 내지 8년, 8년 내지 9년 또는 9년 내지 10년 후에 투여된다.

- [0202] 부스터 용량은 프라이밍된 B-세포로부터 항체를 생성할 것이며, 즉 면역기억 반응을 일으킬 것이다. 즉, 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 청년층 및 고령자 집단에서 높은 1차 (즉, 백신의 단일 투여 이후) 기능적 항체 반응을 도출하고, 면역기억 반응 (즉, 부스터 투여 이후)을 도출할 수 있으며, 이는 본 발명의 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신에 의해 도출되는 방어성 면역 반응이 오래 지속된다는 것을 입증한다.
- [0203] 일부 실시양태에서, 투여는 근육내 주사이다. 일부 실시양태에서, 투여는 피하, 피내, 복강내, 비경구 또는 정맥내 투여이다. 조성물 및 제제는 적합한 담체, 희석제 또는 부형제 예컨대 소듐 아세테이트 완충 염수 용액, 멸균수, 생리 염수 등과의 혼합물일 수 있다. 조성물/제제는 또한 동결건조될 수 있다. 조성물/제제는 투여 경로 및 목적하는 제제에 따라, 보조 물질 예컨대 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 겔화 또는 점도 증진 첨가제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 과도한 실험 없이 적합한 제제를 제조하기 위해, 표준 문헌, 예컨대 본원에 참조로 포함되는 문헌 ["REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCE", 17th edition, 1985]을 찾아볼 수 있다.
- [0204] 일부 실시양태에서, 백신 조성물/제제는 액체 제제이다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물/제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 동물, 소아, 특히 어린 소아, 예를 들어, 55, 60, 65, 70, 75, 80 또는 90세 초과와 고령자에게 주사에 의해 투여될 액체 조성물이다.
- [0205] 적합한 담체 및 다른 첨가제의 선택은 정확한 투여 경로 및 특정한 투여 형태의 성질에 좌우될 것이다.
- [0206] 한 실시양태에서, 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACYW-TT 백신은 제약상 허용되는 보존제, 담체, 완충제, 부형제 등을 포함한다. 한 실시양태에서, 제약상 허용되는 보존제, 담체 또는 부형제는 조성물의 보관 수명을 증가 또는 연장시킨다. 일부 실시양태에서, 백신은 완충제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 완충제는 소듐 아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 완충제는 소듐 포스페이트이다. 일부 실시양태에서, 완충제는 10 mM 내지 100 mM, 예를 들어, 10 mM 내지 70 mM, 15 mM 내지 45 mM, 20 mM 내지 40 mM, 40 mM 내지 60 mM 또는 60 mM 내지 100 mM 범위의 농도로 존재한다. 일부 실시양태에서, 완충제는 4.5 내지 7.5, 4.5 내지 7.0, 4.5 내지 6.5, 4.5 내지 6.0, 4.5 내지 5.5 또는 4.5 내지 5.0의 pH를 갖는다. 일부 실시양태에서, 완충제는 5.5 내지 7.0, 예를 들어, 5.75 내지 6.25 또는 6.25 내지 6.75 범위의 pH를 갖는다. 일부 실시양태에서, 완충제는 5.5 내지 6.5의 pH를 갖는다. 일부 실시양태에서, 완충제는 5 또는 6의 pH를 갖는다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물은 제약상 허용되는 염을 포함한다. 일부 실시양태에서, 백신 조성물/제제는 염수를 포함한다. 일부 실시양태에서, 염수는 NaCl을 포함하거나 또는 NaCl이다. NaCl은 0.45% 내지 0.9% w/v, 예컨대 0.5% 내지 0.85% w/v 또는 0.6% 내지 0.8% w/v, 또는 0.6%, 0.67%, 0.75%, 0.8%, 0.85% 또는 0.9%의 농도로 존재할 수 있다.
- [0207] 한 실시양태에서, 조성물의 각각의 구성요소는 엔. 메닌기티디스 폴리사카라이드-단백질 담체 접합체에 대해 화학적으로 불활성이다.
- [0208] 일부 실시양태에서, 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 단일 단위 용량으로 제제화된다. 일부 실시양태에서, 단일 단위 용량은 각각 6 μ g 내지 15 μ g의 MenA, MenC, MenW-135, 및 MenY 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 단일 단위 용량은 각각 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15 μ g의 MenA, MenC, MenW-135, 및 MenY 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 단일 단위 용량 중에 50 μ g 내지 80 μ g의 양으로 존재한다. 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 단일 단위 용량 중에 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 또는 80 μ g의 양으로 존재한다.
- [0209] 일부 실시양태에서, 백신 조성물 및 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 소듐 아세테이트, 소듐 아세테이트 완충 염수 또는 유사한 완충제 중에 0.5 mL 용량으로 제제화된다. 일부 실시양태에서, 0.5 mL 용량은 50, 55, 60, 65, 70, 80, 85 또는 90 μ g의 과산화물 특소이드 단백질에 접합된 각각 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15 μ g의 혈청군 A, C, Y, 및 W-135를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 0.5 mL 용량은 근육내로 투여된다.
- [0210] B. 예시적인 방법 및 용도
- [0211] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신을 투여하는 것을 포함하는, 네이세리아 메닌기티디스에 대해 대상체에게 백신접종하는 방법이 포괄된다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 네이세리아 메닌기티디스에 대해 대상체를 면역화시키기 위한 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제의 용도를 포함한다. 일부 실시양태에서, 네이세리아 메닌기티디스에 대해 대상체를 면역화시키기 위한 의약의 제조에 있어서의 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제의 용도가 포괄된다.

- [0212] 일부 실시양태에서, 대상체는 백신접종될 때 12월령 이상이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 백신접종될 때 고령자이다. 일부 실시양태에서, 고령자는 백신접종될 때 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 또는 100세이다.
- [0213] 일부 실시양태에서, 대상체는 백신접종될 때 6주령 내지 3년령이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 백신접종될 때 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10주차이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 백신접종될 때 2개월, 4개월, 6개월, 12개월 및/또는 15개월차이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 연령에 기반하여 백신접종된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 6-8, 10-12 및 14-16주차에 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신의 3회 용량을 제공받는다.
- [0214] 일부 실시양태에서, 대상체는 일생 동안 1회 초과로 백신접종된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 제1 용량으로부터 3년 이상이 지난 후에 부스터 용량을 제공받는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 제1 용량으로부터 4년 이상이 지난 후에 부스터 용량을 제공받는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 그의 첫 생일 전에 최대 3회, 및 그의 첫 생일쯤에 또는 그 후에 1회 백신접종된다. 일부 실시양태에서, 1차 백신접종은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10주령일 때이다. 일부 실시양태에서, 1차 또는 2차 백신접종은 3, 4 또는 5월령일 때이다. 일부 실시양태에서, 1차, 2차, 또는 3차 백신접종은 5, 6 또는 7월령일 때이다. 일부 실시양태에서, 1차, 2차, 3차, 또는 4차 백신접종은 11, 12, 13, 14 또는 15월령일 때이다. 일부 실시양태에서, 1차, 2차, 3차, 또는 4차 백신접종은 14, 15, 16, 17 또는 18월령일 때이다. 일부 실시양태에서, 1차 백신접종은 6, 7, 8 또는 9개월차일 때이고, 2차 백신접종은 최대 24개월차일 때까지 제공된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 이전에 MenACWY-TT 또는 네이세리아 메닝기티디스에 대한 다른 백신을 제공받은 적이 있는지 또는 그렇지 않은지에 상관없이, 고령자일 때 백신접종된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신으로 백신접종될 때 50년령 이상, 55년령 이상, 60년령 이상 또는 65년령 이상이다.
- [0215] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신은 다른 상용 백신과 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, 상용 백신은, 예를 들어, 펜타셀(Pentacel)® (DTaP5-IPV/Hib), 프레브나르(Prevnar)® (PCV7), 프레브나르 13® (PCV13), 로타텍(RotaTeq)® (RV5), 로타릭스(ROTARIX)® (RV1), 엔제릭스(ENGIRIX)-B® (HepB), 레콤비박스(RECOMBIVAX) HB® (HepB), M-M-R® (MMR), M-M-R®_{II} (MMR) 및 바리박스(VARIVAX)® (V) 백신을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상용 백신은, 예를 들어, 아다셀(Adacel)® (Tdap5) 및 가르다실(Gardasil)® (HPV4)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상용 백신은 DTaP5-IPV/HibHepB를 포함한다. 다른 상용 백신은 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 본원에 기재된 백신 조성물 또는 제제, 예를 들어, MenACWY-TT 백신과 동시에, 그 전에 또는 그 후에 대상체에게 제공될 수 있다.
- [0216] IV. 실시예
- [0217] 하기는 본원에 개시된 방법, 용도 및 조성물의 실시예이다. 다양한 다른 실시양태가 상기 제공된 일반적 설명 및 상세한 설명을 고려하여 실시될 수 있는 것으로 이해된다. 하기 실시예는 본 발명의 교시를 예시하기 위한 목적으로 제공된 것으로, 본 개시내용 또는 청구범위의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0218] 1. 그룹 A 접합체의 제조
- [0219] 실시예 1A
- [0220] 그룹 A 정제된 피막 폴리사카라이드를 디메틸설폭시드(DMSO) 중 10 중량% 테트라부틸암모늄 클로라이드(TBAC) 중에 8 mg/mL의 표적 농도까지 용해시킨다. 폴리사카라이드가 19 - 25°C에서 완전히 용해될 때까지 용액을 혼합한다. 용해된 폴리사카라이드를 N-아세틸만노사민 포스페이트 반복 단위(PS RU)당 35-45 몰 과량의 카르보닐디이미다졸(CDI)의 표적 농도의 첨가에 의해 활성화시키고, 19 - 25°C에서 50 내지 70분 동안 혼합한다(도 1c, 제1 반응; 도 1e에 제시된 생성물). 폴리사카라이드 용액을 WFI (50% v/v)로 1:2 희석하여, 활성화된 폴리사카라이드의 농도를 50% DMSO 중 4 mg/mL로 조정한다. 용액을 아디프산 디히드라지드(ADH) (1-3 mol PS RU 당 1.0 mol ADH)를 첨가함으로써 유도체화하고(도 1c, 제2 반응; 도 1f에 제시된 생성물), 실온에서 밤새 혼합한다. 반응은 10 내지 100개 폴리사카라이드 반복 단위당 1개의 결합된 ADH, 예를 들어, 20, 30, 40, 50 또는 60개 폴리사카라이드 반복 단위당 1개의 결합된 ADH가 존재하도록 하는 유도체화의 양을 제공한다. 활성화된 폴리사카라이드를 10kDa MWCO PES 막 상의 한외여과에 의해 농축시키고, 이어서 생리 염수의 12 - 18 부피 교환에 대해 투석여과한다. 표적 농도는 대략 30mg/mL이다. 활성화된 폴리사카라이드를 여과하고, 1-5°C에서 저장한다.
- [0221] 정제된 과산화 톡소이드 단백질(TT)을 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 1-5°C에서 저장한다. 유도체화된 폴리사카라이드 및 농축된 과산화 단백질을 0.5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 또는 5:1의 비로 함께 혼합한다. pH

5.7의 1.0 M MES 완충제 중 100 mg/mL의 가교제 1-에틸-3-(디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDAC)의 분취 물을, EDAC의 최종 농도가 10 mg/mL이고 MES가 100 mM이도록 폴리사카라이드-단백질 혼합물에 첨가한다. 염수를 16 mg/mL 폴리사카라이드 및 4 mg/mL TT의 표적 농도를 제공하도록 첨가한다. 최종 pH를 5.5 - 5.9로 조정하고, 반응물을 16-24시간 동안 15.6 - 23.9°C에서 혼합한다. 이 시간 동안, EDAC 및 TT가 반응하여 O-아실이소우레아 중간체를 형성한다 (도 1b). O-아실이소우레아 중간체 및 유도체화된 폴리사카라이드는 이어서 접합체를 형성한다 (도 1g; 도 1h 및 도 1a에 제시된 생성물).

[0222] 암모늄 술페이트를 1 M 암모늄 술페이트 농도를 산출하도록 접합체 반응물에 첨가한다. pH를 7로 조정하고, 실온에서 용해될 때까지 혼합한다. 접합체 반응 혼합물을 페닐 수지가 패킹된 HIC 칼럼에 적용한다. 미접합 폴리사카라이드를 1 M 암모늄 술페이트 용액의 2 내지 7 칼럼 부피로 용리시킨다. 접합체를 WFI로 용리시킨다. 본 실시예 및 다음 실시예에서, 접합체의 HIC 정제는 질량 기준 20% 미만의 폴리사카라이드가 유리 (미접합) 폴리사카라이드인 생성물을 제공할 수 있다. 접합체 용리액을 100 kDa MWC PES 막을 사용하여, pH 6.0의 50mM 소듐 아세테이트의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 정제된 접합체의 최종 여과를 0.2 마이크로미터 막을 사용하여 수행하고, 접합체를 1 - 5°C에서 저장한다.

[0223] 실시예 1B

[0224] 그룹 A 정제된 피막 폴리사카라이드를 테트라부틸암모늄 클로라이드 (TBAC)/디메틸설폭시드 (DMSO) 중에 중량 기준 6 mg/mL의 표적 농도까지 용해시킨다. 용액을 19 - 25°C에서 16 내지 24시간 동안 혼합한다. 용해된 폴리사카라이드를 N-아세틸만노사민 포스페이트 반복 단위 (PS RU)당 35-45 몰 과량의 카르보닐디이미다졸 (CDI)의 표적 농도의 첨가에 의해 활성화시키고, 19 - 25°C에서 50 내지 70분 동안 혼합한다 (도 1c, 제1 반응; 도 1e에 제시된 생성물). 활성화된 폴리사카라이드가 50% DMSO 중 3 mg/mL의 표적 농도가 되도록, 폴리사카라이드 용액을 WFI (45 - 55% v/v)로 1:2 희석한다.

[0225] 정제된 파상풍 독소이드 단백질 (TT)을 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 1-5°C에서 저장한다. 파상풍 단백질을 1 mg/mL의 최종 농도까지 첨가한다. 이 시간 동안, 활성화된 폴리사카라이드 및 TT는 반응하여 카르바메이트 연결을 갖는 접합체를 형성한다 (도 1d). 반응을 실온에서 밤새 진행시킨다.

[0226] 암모늄 술페이트를 1 M 암모늄 술페이트 농도를 산출하도록 접합체 반응물에 첨가한다. pH를 7로 조정하고, 실온에서 용해될 때까지 혼합한다. 접합체 반응 혼합물을 페닐 수지가 패킹된 HIC 칼럼에 적용한다. 미접합 폴리사카라이드를 1 M 암모늄 술페이트 용액의 2 내지 7 칼럼 부피로 용리시킨다. 접합체를 WFI로 용리시킨다. 본 실시예 및 다음 실시예에서, 접합체의 HIC 정제는 질량 기준 20% 미만의 폴리사카라이드가 유리 (미접합) 폴리사카라이드인 생성물을 제공할 수 있다. 접합체 용리액을 100 kDa MWC PES 막을 사용하여, pH 6.0의 50mM 소듐 아세테이트의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 정제된 접합체의 최종 여과를 0.2 마이크로미터 막을 사용하여 수행하고, 접합체를 1 - 5°C에서 저장한다.

[0227] 2. 그룹 C 접합체의 제조

[0228] 실시예 2A

[0229] 그룹 C 정제된 피막 폴리사카라이드를 생리 염수 중에 10 mg/mL의 표적 농도까지 용해시킨다. 용액을 용해될 때까지 혼합한다. 폴리사카라이드 용액의 온도를 37°C로 조정하고, 소듐 히드록시드 (NaOH)를 100 mM NaOH의 표적 최종 농도까지 첨가한다. 용액을 혼합하고 20분 동안 인큐베이션하여, 최종 접합체 내 폴리사카라이드가 0.8 내지 1.4 μmol OAc/mg 폴리사카라이드의 O-아세틸화 수준 및/또는 출발 물질의 O-아세틸화 수준 대비 50% 내지 60%의 감소를 가질 부분적 탈-O-아세틸화를 제공한다. 천연 MenC 폴리사카라이드는 모노사카라이드 반복 단위당 2개의 잠재적 O-아세틸화 위치를 가지며, 일반적으로 모든 가능한 O-아세틸화 부위에 대해 40-45%의 전체 O-아세틸화 수준을 갖는다. 출발 물질 대비 O-아세틸 기의 50% 감소는 25% 미만의 전체 O-아세틸화 수준 (모든 가능한 O-아세틸화 부위의 아세틸화 수준)을 제공할 것이다.

[0230] pH를 6으로 조정하고, 온도를 15°C로 강하시킨다. 용해된 폴리사카라이드를 표적 농도가 2 mM이도록 하는 소듐 메타 퍼아이오테이트의 첨가에 의해 활성화시킨다 (도 2b). pH를 6으로 조정하고, 용액을 15°C에서 혼합한다. 퍼아이오테이트는 인접해 있는 디올 위치에서 산화시키고 절단하여, 알데히드-종결 쇄를 제공한다. 평균 분자 크기가 HPSEC에 의해 결정 시, 50,000 내지 100,000 달톤으로 감소될 때까지 반응물을 혼합한다. 환원 활성화 (알데히드의 양을 반영함)은 40 내지 100 nmol/mg 폴리사카라이드이다. 글리세롤을 폴리사카라이드의 그램당 0.5 mL 글리세롤의 양으로 첨가함으로써 반응물을 쉐킷하고, 최소 5분 동안 혼합한다. 폴리사카라이드를 초기에 5 kDa MWC 재생 셀룰로스 필터를 사용하는 한외여과에 의해 농축시키고, 이어서 pH 6.0의 50 mM 소듐 아세

테이트 완충제의 8 - 12 부피 교환에 대해 투석여과한다. 물질을 50mg/mL의 표적 농도까지 추가로 농축시킨다. 탈중합/활성화된 폴리사카라이드를 여과하고 저장한다.

[0231] 정제된 과상풍 독소이드 단백질을 10 kDa MWCO PES 막 상에서 최대 100 mg/mL의 표적 최종 농도까지 농축시키고, 이어서 0.2 마이크로미터 필터를 통해 통과시킨다. 여과된 단백질 용액을 1-5℃에서 저장한다. 탈중합/활성화된 폴리사카라이드 및 농축된 과상풍 단백질을 0.5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 또는 5:1 (폴리사카라이드:단백질)의 질량 비로 함께 혼합한다. 2.0 M 포스페이트 완충제 중 100 mg/mL의 소듐 시아노보로히드라이드의 분취물을, 소듐 시아노보로히드라이드가 10 mg/mL이고 포스페이트 완충제가 200 mM, pH 8.0이도록 폴리사카라이드-단백질 혼합물에 첨가한다. 염수를 첨가하여 농도를, 예를 들어, 폴리사카라이드에 대해 15-50mg/mL의 표적까지 조정한다. 반응물 (도 2c)을 16 - 30시간 동안 37℃에서 혼합한다. 반응물을 6 mM 포스페이트 완충 염수 (PBS)로 1:2 희석한다. 6 mM PBS 중 100 mg/mL의 소듐 보로히드라이드의 분취물을 반응물 부피의 mL당 표적 0.5 mg의 소듐 보로히드라이드를 얻도록 반응 혼합물에 첨가한다. 반응물을 실온에서 최소 15분 동안 혼합한다. 소듐 보로히드라이드는 미반응 알데히드를 알콜로 환원시킴으로써 이들을 캡핑하여, 7 위치에서 1급 히드록실을 갖거나 또는 환원 단부가 (2-히드록시)에톡시로 변형되어 있는 말단 비연결된 사카라이드를 제공한다. 생성물 (말단 사카라이드는 제시되지 않음)이 도 2d 및 도 2a에 예시되어 있다. 접합물 용액을 50 kDa MWCO PES 막 상에서 6 mM PBS의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 용액을 1-5℃에서 저장한다.

[0232] 암모늄 술페이트를 1 M 암모늄 술페이트 농도를 산출하도록 접합체 반응물에 첨가한다. pH를 7로 조정하고, 실온에서 용해될 때까지 혼합한다. 접합체 반응 혼합물을 페닐 수지가 패킹된 HIC 칼럼에 적용한다. 미접합 폴리사카라이드를 1 M 암모늄 술페이트 용액의 2 내지 7 칼럼 부피로 용리시킨다. 접합체를 WFI로 용리시킨다. 본 실시예 및 다음 실시예에서, 접합체의 HIC 정제는 질량 기준 20% 미만의 폴리사카라이드가 유리 (미접합) 폴리사카라이드인 생성물을 제공할 수 있다. 접합체 용리액을 100 kDa MWCO PES 막을 사용하여, pH 6.0의 50mM 소듐 아세테이트의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 정제된 접합체의 최종 여과를 0.2 마이크로미터 막을 사용하여 수행하고, 접합체를 1 - 5℃에서 저장한다.

[0233] 실시예 2B

[0234] 그룹 C 정제된 피막 폴리사카라이드를 생리 염수 중에 10 mg/mL의 표적 농도까지 용해시킨다. 용액을 용해될 때까지 혼합한다. pH를 6.0으로 조정하고, 온도를 15℃로 변화시킨다. 용해된 폴리사카라이드를 표적 농도가 2 mM이도록 하는 소듐 메타 피아이오데이트의 첨가에 의해 활성화시킨다 (도 2b). 평균 분자 크기가 HPSEC에 의해 결정 시, 50,000 내지 100,000 달톤이 될 때까지 반응물을 혼합한다. 글리세롤을 폴리사카라이드의 그램 당 0.5 mL 글리세롤의 양으로 첨가함으로써 반응물을 켄칭하고, 최소 5분 동안 혼합한다. 폴리사카라이드를 초기에 5 kDa MWCO 재생 셀룰로스 필터를 사용하는 한외여과에 의해 농축시키고, 이어서 pH 6.0의 50 mM 소듐 아세테이트 완충제의 8 - 12 부피 교환에 대해 투석여과한다. 물질을 50mg/mL의 표적 농도까지 추가로 농축시킨다. 탈중합/활성화된 폴리사카라이드를 여과하고, 1-5℃에서 저장한다.

[0235] 정제된 과상풍 독소이드 단백질을 10 kDa MWCO PES 막 상에서 최대 100 mg/mL의 표적 최종 농도까지 농축시키고, 이어서 0.2 마이크로미터 필터를 통해 통과시킨다. 여과된 단백질 용액을 1-5℃에서 저장한다. 탈중합/활성화된 폴리사카라이드 및 농축된 과상풍 단백질을 0.5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 또는 5:1 (폴리사카라이드:단백질)의 몰비로 함께 혼합한다. 2.0 M 포스페이트 완충제 중 100 mg/mL의 소듐 시아노보로히드라이드의 분취물을, 소듐 시아노보로히드라이드가 10 mg/mL이고 포스페이트 완충제가 200 mM, pH 8.0이도록 폴리사카라이드-단백질 혼합물에 첨가한다. 염수를 첨가하여 농도를, 예를 들어, 폴리사카라이드에 대해 15-50mg/mL의 표적까지 조정한다. 반응물 (도 2c)을 16 - 30시간 동안 37℃에서 혼합한다. 반응물을 6 mM 포스페이트 완충 염수 (PBS)로 1:2 희석한다. 6 mM PBS 중 100 mg/mL의 소듐 보로히드라이드의 분취물을 반응물 부피의 mL당 표적 0.5 mg의 소듐 보로히드라이드를 얻도록 반응 혼합물에 첨가한다. 반응물을 실온에서 최소 15분 동안 혼합한다. 소듐 보로히드라이드는 미반응 알데히드를 알콜로 환원시킴으로써 이들을 캡핑하여, 7 위치에서 1급 히드록실을 갖거나 또는 환원 단부가 (2-히드록시)에톡시로 변형되어 있는 말단 비연결된 사카라이드를 제공한다. 생성물 (말단 사카라이드는 제시되지 않음)이 도 2d 및 도 2a에 예시되어 있다. 접합물 용액을 50 kDa MWCO PES 막 상에서 6 mM PBS의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 용액을 1-5℃에서 저장한다.

[0236] 암모늄 술페이트를 1 M 암모늄 술페이트 농도를 산출하도록 접합체 반응물에 첨가한다. pH를 7로 조정하고, 실온에서 용해될 때까지 혼합한다. 접합체 반응 혼합물을 페닐 수지가 패킹된 HIC 칼럼에 적용한다. 미접합 폴리사카라이드를 1 M 암모늄 술페이트 용액의 2 내지 7 칼럼 부피로 용리시킨다. 접합체를 WFI로 용리시킨다. 본 실시예 및 다음 실시예에서, 접합체의 HIC 정제는 질량 기준 20% 미만의 폴리사카라이드가 유리 (미접합) 폴

리사카라이드인 생성물을 제공할 수 있다. 접합체 용리액을 100 kDa MWCO PES 막을 사용하여, pH 6.0의 50mM 소듐 아세테이트의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 정제된 접합체의 최종 여과를 0.2 마이크로미터 막을 사용하여 수행하고, 접합체를 1 - 5℃에서 저장한다.

[0237] 3. 그룹 W-135 및 Y 접합체의 제조

[0238] 그룹 W-135 정제된 피막 폴리사카라이드를 소듐 아세테이트 완충제 중에 10 mg/mL의 표적 농도까지 용해시킨다. 용액을 용해될 때까지 혼합한다. 폴리사카라이드 용액을 재킷 열 교환기를 사용하여 50 - 70℃로 가열한다. pH를 4.5로 조정한다. 평균 분자 크기가 HPSEC에 의해 결정 시, 150,000 달톤이 될 때까지 반응물 (도 4a, 단계 1)이 혼합되도록 한다. 반응 혼합물을 1-5℃로 냉각시킨다. 소듐 메타 퍼아시오테이트를 표적 메타 퍼아시오테이트 농도가 2 mM이도록 폴리사카라이드 용액에 첨가한다 (도 4a, 단계 2). pH를 6.0으로 조정하고, 용액을 60분 동안 0 내지 5℃에서 혼합한다. 퍼아시오테이트는 도 4a에 제시된 바와 같이 인접해 있는 디올 위치에서 산화시키고 절단하여, 예를 들어, 시알산 잔기의 7-위치에서 알데히드를 제공한다. 환원 활성화 (알데히드의 양을 반영함)은 60 내지 150 nmol/mg 폴리사카라이드이다. 폴리사카라이드의 그램당 0.5 mL의 글리세롤을 첨가함으로써 반응물을 켄칭하고, 최소 5분 동안 혼합한다. 폴리사카라이드를 10kDa MWCO 재생 셀룰로스 필터를 사용하는 한외여과에 의해 농축시키고, 이어서 pH 6.0의 50 mM 소듐 아세테이트 완충제의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 물질을 50 mg/mL의 표적 농도까지 추가로 농축시킨다. 탈중합/활성화된 폴리사카라이드를 여과하고, 1-5℃에서 저장한다.

[0239] 정제된 파상풍 독소이드 단백질을 10 kDa MWCO PES 막 상에서 최대 100 mg/mL의 표적 최종 농도까지 농축시키고, 이어서 0.2 마이크로미터 필터를 통해 통과시키고, 1-5℃에서 저장한다. 탈중합/활성화된 폴리사카라이드 및 농축된 파상풍 단백질을 0.5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 또는 5:1 (폴리사카라이드:단백질)의 질량 비로 함께 혼합한다. 2.0 M 포스페이트 완충제 중 100 mg/mL의 소듐 시아노보로히드라이드의 분취물을, 소듐 시아노보로히드라이드가 10 mg/mL이고 포스페이트 완충제가 200 mM, pH 9.0이도록 폴리사카라이드-단백질 혼합물에 첨가한다. 염수를 첨가하여 표적 농도를, 예를 들어, 폴리사카라이드에 대해 15-50mg/mL의 표적까지 조정한다. 반응물 (도 4b)을 실온에서 밤새 혼합한다.

[0240] 반응물을 6 mM 포스페이트 완충 염수 (PBS)로 1:2 희석한다. 6 mM PBS 중 100 mg/mL의 소듐 보로히드라이드의 분취물을 반응물 부피의 mL당 표적 0.5 mg의 소듐 보로히드라이드를 얻도록 반응 혼합물에 첨가한다. 반응물을 실온에서 최소 15분 동안 혼합한다. 소듐 보로히드라이드는 미반응 알데히드를 알콜로 환원시킴으로써 이들을 캡핑한다. 생성물은 도 4c 및 도 3에 제시되어 있다.

[0241] 암모늄 술페이트를 1 M 암모늄 술페이트 농도를 산출하도록 접합체 반응물에 첨가한다. pH를 7로 조정하고, 실온에서 용해될 때까지 혼합한다. 접합체 반응 혼합물을 페닐 수지가 패킹된 HIC 칼럼에 적용한다. 미접합 폴리사카라이드를 1 M 암모늄 술페이트 용액의 2 내지 7 칼럼 부피로 용리시킨다. 접합체를 WFI로 용리시킨다. 접합체 용리액을 100 kDa MWCO PES 막을 사용하여, pH 6.0의 50mM 소듐 아세테이트의 10 부피 교환에 대해 투석여과한다. 정제된 접합체의 최종 여과를 0.2 마이크로미터 막을 사용하여 수행하고, 접합체를 1 - 5℃에서 저장한다. 동일한 방법을 그룹 Y 정제된 피막 폴리사카라이드에 대해 사용할 수 있다.

[0242] 4. 4가 백신의 제제화

[0243] 실시예 4A

[0244] 4가 MenACYW-TT 접합 백신을 실시예 1A, 2A 및 3-4에 기재된 바와 같이 제조된 4종의 1가 PS-단백질 접합체로부터 제제화하고, 소듐 아세테이트 완충 염수 용액 중에 10 µg PS/혈청균/0.5 mL의 최종 농도까지 희석한다. 즉, MenACYW 접합 백신의 0.5 mL 용량은 총 45 내지 80 µg의 파상풍 독소이드 단백질 (파상풍 독소이드 단백질의 실제 양은 제제화에 사용된 1가 벌크 농축물 로트의 특정한 PS-대-단백질 비에 좌우됨)에 접합된, 각각 10 µg의 수막구균 PS 혈청균 A, C, Y, 및 W-135를 함유한다.

[0245] MenACYW 접합 백신의 0.5 mL 용량은 각각 30 mM 소듐 아세테이트-완충 pH 6.0 염수 용액 중에 제제화된다.

[0246] 실시예 4B

[0247] 4가 MenACYW-TT 접합 백신을 실시예 1A, 2B 및 3-4에 기재된 바와 같이 제조된 4종의 1가 PS-단백질 접합체로부터 제제화하고, 소듐 아세테이트 완충 염수 용액 중에 10 µg PS/혈청균/0.5 mL의 최종 농도까지 희석한다. 즉, MenACYW 접합 백신의 0.5 mL 용량은 총 45 내지 80 µg의 파상풍 독소이드 단백질 (파상풍 독소이드 단백질의 실제 양은 제제화에 사용된 1가 벌크 농축물 로트의 특정한 PS-대-단백질 비에 좌우됨)에 접합된, 각각 10

μg 의 수막구균 PS 혈청군 A, C, Y, 및 W-135를 함유한다.

- [0248] MenACYW 접합 백신의 0.5 mL 용량은 각각 30 mM 소듐 아세테이트-완충 pH 6.0 염수 용액 중에 제제화된다.
- [0249] 실시예 4C
- [0250] 4가 MenACYW-TT 접합 백신을 실시예 1B, 2B 및 3-4에 기재된 바와 같이 제조된 4종의 1가 PS-단백질 접합체로부터 제제화하고, 소듐 아세테이트 완충 염수 용액 중에 10 μg PS/혈청군/0.5 mL의 최종 농도까지 희석한다. 즉, MenACYW 접합 백신의 0.5 mL 용량은 총 45 내지 80 μg 의 과상풍 독소이드 단백질 (과상풍 독소이드 단백질의 실제 양은 제제화에 사용된 1가 벌크 농축물 로트의 특정한 PS-대-단백질 비에 좌우됨)에 접합된, 각각 10 μg 의 수막구균 PS 혈청군 A, C, Y, 및 W-135를 함유한다.
- [0251] MenACYW 접합 백신의 0.5 mL 용량은 각각 30 mM 소듐 아세테이트-완충 pH 6.0 염수 용액 중에 제제화된다.
- [0252] 5. 예시적인 접합체의 특성 및 면역원성
- [0253] MenA 접합체를, 과상풍 독소이드와의 접합 반응에 사용되는 폴리사카라이드 농도가 12 mg/ml인 것을 제외하고는, 일반적으로 상기 기재된 바와 같이 ADH 링커 없이 제조하였다. 접합체는 0.3 폴리사카라이드/단백질 (PS/PR) 질량 비를 가졌다. O-아세틸화 수준은 3.0 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드인 것으로 결정되었다.
- [0254] MenA 접합체를, 과상풍 독소이드와의 접합 반응에 사용되는 폴리사카라이드 농도가 12 mg/ml인 것을 제외하고는, 일반적으로 상기 기재된 바와 같이 ADH 링커를 사용하여 제조하였다. 접합체는 1.0 PS/PR 질량 비를 가졌다. O-아세틸화 수준은 2.8 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드인 것으로 결정되었다. ADH 링커를 갖는 MenA 접합체의 여러 추가의 배치를 제조하였으며, 여기서 과상풍 독소이드와의 접합 반응에 사용되는 폴리사카라이드 농도는 12 mg/ml 또는 16 mg/ml였다. 이들 배치에 대해 PS/PR 질량 비의 측정된 값은 1.0, 1.1, 1.2 및 1.3이며, $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드로의 O-아세틸화 수준의 측정된 값은 2.5, 2.8, 2.9 및 3.0이었다. 몇몇 값은 1회 초과로 관찰되었다.
- [0255] MenA 접합체의 각각의 배치는 MenA 백신-나이프 인간, 마우스 및/또는 기니 피그 대상체에게 4가 제제로 투여될 때 면역원성인 것으로 확인되었다 (즉, 혈청 살박테리아 검정 및/또는 ELISA에 의해 측정 시 처리 전 샘플 및/또는 비면역화 대조군 대비 수용자의 적어도 상당하고 통계적으로 유의한 비율에서 항-MenA 항체를 도출하였음).
- [0256] MenC 접합체를 일반적으로 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. 접합체는 0.6 폴리사카라이드/단백질 (PS/PR) 질량 비를 가졌다. O-아세틸화 수준은 2.4 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드인 것으로 결정되었다. MenC 접합체의 여러 추가의 배치를 제조하였다. 이들 배치에 대해 PS/PR 질량 비의 측정된 값은 0.4, 0.6 및 0.7이며, $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드로의 O-아세틸화 수준의 측정된 값은 0.8, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 2.2 및 2.3이었다. 몇몇 값은 1회 초과로 관찰되었다.
- [0257] MenC 접합체의 각각의 배치는 MenC 백신-나이프 인간, 마우스 및/또는 기니 피그 대상체에게 4가 제제로 투여될 때 면역원성인 것으로 확인되었다 (즉, 혈청 살박테리아 검정 및/또는 ELISA에 의해 측정 시 처리 전 샘플 및/또는 비면역화 대조군 대비 수용자의 적어도 상당하고 통계적으로 유의한 비율에서 항-MenC 항체를 도출하였음).
- [0258] MenW-135 접합체를 일반적으로 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. 접합체는 0.9 폴리사카라이드/단백질 (PS/PR) 질량 비를 가졌다. O-아세틸화 수준은 1.6 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드인 것으로 결정되었다. MenW-135 접합체의 여러 추가의 배치를 제조하였다. 이들 배치에 대해 PS/PR 질량 비의 측정된 값은 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 및 1.2이며, $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드로의 O-아세틸화 수준의 측정된 값은 0.7, 0.8 및 1.3이었다. 몇몇 값은 1회 초과로 관찰되었다.
- [0259] MenW-135 접합체의 각각의 배치는 MenW-135 백신-나이프 인간, 마우스 및/또는 기니 피그 대상체에게 4가 제제로 투여될 때 면역원성인 것으로 확인되었다 (즉, 혈청 살박테리아 검정 및/또는 ELISA에 의해 측정 시 처리 전 샘플 및/또는 비면역화 대조군 대비 수용자의 적어도 상당하고 통계적으로 유의한 비율에서 항-MenW-135 항체를 도출하였음).
- [0260] MenY 접합체를 일반적으로 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. 접합체는 1.0 폴리사카라이드/단백질 (PS/PR) 질량 비를 가졌다. O-아세틸화 수준은 1.3 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 폴리사카라이드인 것으로 결정되었다. MenY 접합체의 여러 추가의 배치를 제조하였다. 이들 배치에 대해 PS/PR 질량 비의 측정된 값은 0.6, 0.7, 0.8 및 0.9이며, μ

mol/mg 폴리사카라이드로의 0-아세틸화 수준의 측정된 값은 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 및 1.3이었다. 몇몇 값은 1회 초과로 관찰되었다.

- [0261] MenY 접합체의 각각의 배치는 MenY 백신-나이프 인간, 마우스 및/또는 기니 피그 대상체에게 4가 제제로 투여될 때 면역원성인 것으로 확인되었다 (즉, 혈청 살박테리아 검정 및/또는 ELISA에 의해 측정 시 처리 전 샘플 및/또는 비면역화 대조군 대비 수용자의 적어도 상당하고 통계적으로 유의한 비율에서 항-MenY 항체를 도출하였음).
- [0262] 상기 기재된 모든 접합체 배치는 300 내지 1500 kDa 범위의 중량-평균 분자량을 갖는 접합체 분자의 집단이었다.
- [0263] 6. 임상 시험
- [0264] 본원에 기재된 바와 같은 4가 MenACYW-TT 접합체를 영유아 (6주령 이상) 및 56세 이상의 성인에서의 다양한 백신접종 스케줄의 안전성 및 면역원성을 평가하기 위해 임상 연구에서 사용하였다.
- [0265] a) I/II상 임상 시험 1 - 건강한 수막구균 백신 나이브 유아 (12개월 +/- 21일)에게 투여된 다양한 MenACYW-TT-유사 제제의 안전성 및 면역원성
- [0266] 본 I/II상 연구는 생후 12개월 +/- 21일이 지난 유아 (제1 그룹-제5 그룹)에게 근육내로 투여되는 MenACYW-TT와 관련하여 다양한 4가 수막구균 폴리사카라이드-과상풍 독소이드 접합체 제제의 단일 용량의 안전성 및 면역원성을 평가하였다. 네이스백-C® (완전히 탈-0-아세틸화된 수막구균 그룹 C 폴리사카라이드-과상풍 독소이드 접합체, 본원에서 "MenC-TT"라 지칭됨, 허가받은 1가 수막구균 접합 백신)를 대조군 그룹 (제6 그룹)에 투여하였다.
- [0267] 제제 1A는 0.5 mL 용량당 4종의 폴리사카라이드 각각의 4 µg 폴리사카라이드 (즉, MenACYW) 및 22.1 µg TT를 함유하였다. 모두 천연 0-아세틸화 수준을 가지며, 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 피아이오데이트 활성화 및 환원성 아미노화를 통해 (MenCYW) 또는 카르보닐 디이미다졸 및 아디프산 디히드라지드를 사용하여 (MenA) 접합되었다.
- [0268] 제제 1B는 0.5 mL 용량당 각각 10 µg의 MenA 및 MenW 폴리사카라이드 및 각각 4 µg의 MenC 및 MenY 폴리사카라이드 및 36.6 µg TT를 함유하였다. 그 외에는 제제 1A와 동일하였다.
- [0269] 제제 1C는 0.5 mL 용량당 각각 10 µg의 4종의 폴리사카라이드 및 54.8 µg TT를 함유하였다. 그 외에는 제제 1A와 동일하였다.
- [0270] 제제 2A는 0.5 mL 용량당 4종의 폴리사카라이드 각각의 4 µg 폴리사카라이드 및 33.9 µg TT를 함유하였다. MenC, Y 및 W 폴리사카라이드는 알칼리 처리에 의해 부분적으로 탈-0-아세틸화되었고, 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 피아이오데이트 활성화 및 환원성 아미노화를 통해 접합되었다. MenA 폴리사카라이드는 천연 0-아세틸화 수준을 가지며, 본질적으로 US2005/0002957의 실시예 5에 기재된 바와 같은 접합 화학을 사용하여 신당접합체로서 만들어졌다.
- [0271] 제제 2B는 0.5 mL 용량당 각각 10 µg의 4종의 폴리사카라이드 및 84.8 µg TT를 함유하였다. 그 외에는 제제 2A와 동일하였다.
- [0272] 모든 상기 제제는 0.67% NaCl을 함유하며, pH 6에서 소듐 포스페이트로 완충되었다.

[0273] 6개의 연구 그룹이 표 1에 요약 및 특징화되어 있다.

표 1: I/II상 임상 시험 1을 위한 연구 그룹			
그룹	n	처리	프로토콜 순응 분석 집단
1	63	제제 1A	54
2	61	제제 1B	51
3	61	제제 1C	51
4	60	제제 2A	48
5	61	제제 2B	51
6	62	MenC-TT	51

[0274]

[0275] 처리 그룹 내에서, 남성-대-여성 비는 다양한데, 제2 그룹의 39.3% 대 60.7% 및 제5 그룹의 62.3% 대 37.7%의 극치를 가졌다. 모든 그룹의 연령 범위는 11.0 내지 12.0개월이며; 그룹 전체에서, 평균은 11.5 내지 11.7개월의 범위였다.

[0276] 예측되지 않은 유해 사건 (AE)으로서의 안전성 데이터를 백신 용량으로부터 최대 30-37일 후까지 수집하였다. 예측된 AE에 대한 구간은 D0 내지 D7 사이였다 (즉, 투여로부터 0 내지 7일 후). 예측된 반응원성의 수집은 주사 부위 압통, 발적 및 종창, 뿐만 아니라 발열, 구토, 식욕 상실, 비정상적인 울음, 졸음 및 과민성을 포함하였다.

[0277] 모든 백신접종된 대상체가 연구를 완료하였지만, 56명의 백신접종된 대상체 (모든 그룹)는 프로토콜 일탈로 인해 분석에서 제외되었는데, 가장 흔한 이유는 허용된 시간 윈도우 이내에 제30일-제37일 혈액 샘플을 제공하지 못한 것이었다.

[0278] 2명의 대상체가 직접적인 예측되지 않은 AE를 경험하였으며, 그 중 1명이 백신접종과 관련있는 것으로 간주되었다 (제1 그룹 대상체에서 발진의 발생).

[0279] 제0일 내지 제7일 사이의 예측된 주사 부위 반응: 모든 그룹에서 대상체의 대부분이 예측된 반응을 경험하였다. 전체적으로, 예측된 반응의 비율은 그룹 사이에 비슷하였다. 주사 부위 반응을 보고하는 제1 그룹-제5 그룹 수용자의 백분율은 대조군 백신을 제공받은 대상체 (제6 그룹)에게서 확인되는 것과 유사하였다.

[0280] 주사 부위 반응의 비율과 각각의 백신 제제에 함유된 파상풍 독소이드의 양 사이에는 분명한 상관관계가 없었다.

[0281] 가장 흔한 주사 부위 반응은 제1 그룹에서의 25.4% 내지 제5 그룹에서의 39.3% 범위의 비율을 갖는 압통이고; 그 다음은 제2 그룹에서의 29.5% 내지 제5 그룹에서의 39.3% 범위의 홍반이며; 가장 드문 반응은 제4 그룹에서의 13.6% 내지 제3 그룹에서의 23.0% 범위의 종창이었다. 예측된 주사 부위 반응의 대부분은 등급 1 강도이며, 백신접종의 3일 이내에 시작되어 해소되었고, 어떠한 개입도 요구하지 않았다. 강도, 개시 시간, 지속기간 또는 취한 조치의 측면에서 그룹 동향은 확인되지 않았다.

[0282] 제0일 내지 제7일 사이의 예측된 전신 반응: 주사 부위 반응과 마찬가지로, 전신 반응 예컨대 발열, 구토, 비정상적인 울음, 졸음, 식욕 상실 및 과민성의 전체 비율은 제1 그룹-제5 그룹에 걸쳐 비슷하였고 대조군 백신으로 확인되는 것과 유사하였다. 모든 그룹에서 가장 흔한 전신 반응은 제4 그룹에서의 54.2% 내지 제2 그룹 및 제5 그룹 둘 다에서의 70.5% 범위의 과민성이었다. 그 다음으로 흔한 것 (제2 그룹을 제외한 모든 그룹에 대해)은 제2 그룹에서의 34.4% 내지 제6 그룹에서의 48.4% 범위의 비정상적인 울음이며, 그 다음으로는 제6 그룹에서의 27.9% 내지 제2 그룹에서의 46.8% 범위의 식욕 상실 (제2 그룹에서는 두번째로 흔한 반응임)이 나타났다. 구토의 비율은 제4 그룹에서의 18.6% 내지 제6 그룹에서의 32.3%의 범위이고; 발열은 가장 적게 보고된 반응으로, 제1 그룹에서의 11.1% 내지 제6 그룹에서의 25.8%의 범위였다. 예측된 전신 반응의 대부분은 등급 1 강도이며, 백신접종의 3일 이내에 시작되어 해소되었고, 어떠한 개입도 요구하지 않았다. 강도, 개시 시간, 지속기간 또는 취한 조치의 측면에서 그룹 동향은 확인되지 않았다.

[0283] 제0일 내지 제30일 사이의 예측되지 않은 유해 사건: 총 931건의 예측되지 않은 AE가 327명의 대상체에서 보고

되었다. 총 107건의 예측되지 않은 AE가 백신접종과 관련있는 것으로 간주되었으며, 이를 유해 반응 (AR)으로서 식별하였다. 가장 흔한 AR은 SOC에 따른 1) 전신 장애 및 투여 부위 병태 (25건); 2) 감염 및 침입 및 피부 및 피하 조직 장애 (각각 20건), 및 3) 위장 장애 및 호흡기, 흉부 및 종격 장애 (각각 16건)였다. AR의 건수와 제공받은 백신 사이에는 분명한 연관성이 없었다. 총 4건의 전신 AR은 등급 3 강도로 보고되었다: 제1 그룹 및 제4 그룹 각각에서 1건 및 제5 그룹에서 2건.

[0284] 심각한 AE: 사망은 발생하지 않았다. 연구 동안 총 7건의 SAE가 7명의 대상체에서 발생하였다: 제1 그룹 대상체에서 2건, 제2 그룹 대상체에서 1건, 제3 그룹 대상체에서 2건 및 제4 그룹 대상체에서 2건. 제5 그룹 및 제6 그룹에서 보고된 SAE는 없었다. 이들 SAE 중 하나로, 제3 그룹의 1명의 대상체가 경험한 반응성 관절염은 백신접종과 관련있는 것으로 간주되었다. 대상체는 23일 후에 완전히 회복하였다.

[0285] 안전성에 관한 결론은, 단일 용량이 모든 그룹에서 내약성이 우수하였고 안전성 프로파일에 있어서 유의한 차이가 없었다는 것이었다.

[0286] 수막구균 혈청군 A, C, Y, 및 W-135에 대한 기능적 항체를 인간 보체를 사용한 혈청 살박테리아 검정 (SBA-HC) 및 어린 토끼 보체를 사용한 혈청 살박테리아 검정 (SBA-BR)에 의해 측정하여, 1) $\geq 1:8$ 및 $\geq 1:4$ 의 SBA-HC 역가 또는 $\geq 1:8$ 의 SBA-BR 역가를 갖는 대상체의 비율; 2) 기하 평균 역가 (GMT); 3) 역 누적 분포 곡선 (RCDC); 및 4) 역가의 분포를 결정하였다. 추가적으로, 백신에 존재하는 과산화물 특소이드에 대한 항체 역가를 ELISA에 의해 평가하였다. 백신접종 전에 수집된 혈액 샘플 (표 2 및 3에서 "접종 전") 및 백신접종으로부터 30-37일 후에 수집된 혈액 샘플 (표 2 및 3에서 "접종 후")에 대해 검정을 수행하였다.

[0287] 표 2 및 3은 SBA-HC 결과를 제시한다. 표 2 및 3에서, 95% 신뢰 구간은 백분율이다.

표 2: 기준선 및 백신접종 후 $\geq 1:8$ 의 역가를 갖는 대상체의 수 및 백분율, SBA-HC 검정 (프로토콜 순응 집단)							
혈청군	시점	제1 그룹 (N=54)	제2 그룹 (N=51)	제3 그룹 (N=51)	제4 그룹 (N=48)	제5 그룹 (N=51)	제6 그룹 (N=51)
		n/M; % 95% CI	n/M; % 95% CI	n/M; % 95% CI	n/M; % 95% CI	n/M; % 95% CI	n/M; % 95% CI
A	접종 전	19/54; 35.2 (22.7; 49.4)	11/51; 21.6 (11.3; 35.3)	15/50; 30.0 (17.9; 44.6)	9/48; 18.8 (8.9; 32.6)	16/51; 31.4 (19.1; 45.9)	13/51; 25.5 (14.3; 39.6)
	접종 후	47/54; 87.0 (75.1; 94.6)	50/50; 100.0 (92.9; 100.0)	45/51; 88.2 (76.1; 95.6)	36/48; 75.0 (60.4; 86.4)	47/51; 92.2 (81.1; 97.8)	23/50; 46.0 (31.8; 60.7)
C	접종 전	0/54; 0.0 (0.0; 6.6)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	1/48; 2.1 (0.1; 11.1)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)
	접종 후	49/54; 90.7 (79.7; 96.9)	44/51; 86.3 (73.7; 94.3)	43/51; 84.3 (71.4; 93.0)	45/48; 93.8 (82.8; 98.7)	49/51; 96.1 (86.5; 99.5)	51/51; 100.0 (93.0; 100.0)
Y	접종 전	1/54; 1.9 (0.0; 9.9)	2/51; 3.9 (0.5; 13.5)	1/51; 2.0 (0.0; 10.4)	0/48; 0.0 (0.0; 7.4)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	3/51; 5.9 (1.2; 16.2)
	접종 후	36/54; 66.7 (52.5; 78.9)	40/51; 78.4 (64.7; 88.7)	40/51; 78.4 (64.7; 88.7)	44/48; 91.7 (80.0; 97.7)	42/51; 82.4 (69.1; 91.6)	4/51; 7.8 (2.2; 18.9)
W-135	접종 전	0/54; 0.0 (0.0; 6.6)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	0/48; 0.0 (0.0; 7.4)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)	0/51; 0.0 (0.0; 7.0)
	접종 후	35/54; 64.8 (50.6; 77.3)	35/50; 70.0 (55.4; 82.1)	33/51; 64.7 (50.1; 77.6)	30/48; 62.5 (47.4; 76.0)	36/51; 70.6 (56.2; 82.5)	1/50; 2.0 (0.1; 10.6)

[0288]

표 3: 기준선 및 백신접종 후 기하 평균 역가 (GMT), SBA-HC 검정 (프로토콜 순응 집단)							
항원	시점	제1 그룹 (N=54)	제2 그룹 (N=51)	제3 그룹 (N=51)	제4 그룹 (N=48)	제5 그룹 (N=51)	제6 그룹 (N=51)
		GMT (95% CI)	GMT (95% CI)	GMT (95% CI)	GMT (95% CI)	GMT (95% CI)	GMT (95% CI)
A	접종 전	4.79 (3.75; 6.11)	3.84 (3.12; 4.73)	4.17 (3.35; 5.19)	3.83 (3.07; 4.78)	4.77 (3.59; 6.35)	3.84 (3.11; 4.74)
	접종 후	21.22 (14.85; 30.33)	41.64 (30.30; 57.24)	29.10 (20.18; 41.95)	14.89 (10.54; 21.03)	29.10 (21.30; 39.75)	6.87 (5.10; 9.26)
C	접종 전	2.00 (2.00; 2.00)	2.03 (1.97; 2.08)	2.03 (1.97; 2.08)	2.06 (1.94; 2.18)	2.00 (2.00; 2.00)	2.08 (1.99; 2.18)
	접종 후	60.80 (37.71; 98.01)	46.19 (29.29; 72.82)	73.32 (42.18; 127.43)	131.75 (80.90; 214.56)	252.54 (170.84; 373.32)	471.91 (373.90; 595.60)
Y	접종 전	2.08 (1.96; 2.20)	2.14 (1.94; 2.36)	2.20 (1.86; 2.60)	2.00 (2.00; 2.00)	2.00 (2.00; 2.00)	2.32 (1.96; 2.76)
	접종 후	13.89 (9.19; 21.00)	17.36 (11.50; 26.21)	23.73 (14.86; 37.90)	26.52 (18.61; 37.79)	26.46 (17.29; 40.49)	2.42 (2.09; 2.80)
W-135	접종 전	2.03 (1.97; 2.08)	2.00 (2.00; 2.00)	2.03 (1.97; 2.08)	2.03 (1.97; 2.09)	2.03 (1.97; 2.08)	2.00 (2.00; 2.00)
	접종 후	10.21 (7.32; 14.25)	13.00 (8.59; 19.66)	16.00 (9.74; 26.28)	10.53 (7.10; 15.60)	15.57 (10.56; 22.95)	2.17 (2.01; 2.34)

[0289]

[0290]

표에서 확인할 수 있는 바와 같이, 백신접종 전 역가는 모든 혈청군에 대해 낮았다. 혈청군 A에 대해, 모든 그룹에서 대상체의 대부분이 8 이하의 역가를 가졌고; 다른 3종의 혈청군에 대해, 실질적으로 모든 대상체가 <4의 값을 가졌다. 백신접종 후의 제1 그룹-제5 그룹에서, 역가 값의 대부분이 혈청군 A에 대해서는 8 내지 128; 혈청군 C에 대해서는 16 내지 1024; 혈청군 Y에 대해서는 <4 내지 128; 및 혈청군 W-135에 대해서는 <4 내지 64였다. 대조군 그룹의 경우에는, 혈청군 A, Y, 및 W-135에 대한 값이 대부분 <4 내지 4인 반면에, 혈청군 C에 대해서는 대부분의 값이 256 내지 1024였다. 저-용량 그룹과 비교하여 고-용량 그룹에서 보다 강력한 항체 반응의 동향이 있었다.

[0291]

SBA-BR 검정에서, 용량 전 GMT는 혈청군 A에 대해서는 4.22 내지 5.26; 혈청군 C에 대해서는 4.00 내지 6.26; 및 혈청군 W-135에 대해서는 6.01 내지 8.45의 범위로, 처리 그룹에 걸쳐 비슷하였다. 혈청군 Y에서는 보다 큰 변동성이 확인되었으며, 그의 값은 17.36 (제5 그룹) 내지 35.92 (제1 그룹)의 범위였다.

[0292]

제1 그룹-제5 그룹에서, 백신접종 후의 값은 혈청군 A에 대해 336.91 (제1 그룹) 내지 759.35 (제5 그룹)의 범위였고; 대조군 그룹의 값은 5.66이었다. 혈청군 C에 대한 값은 145.53 (제1 그룹) 내지 636.37 (제5 그룹)의 범위였다. 대조군 그룹의 값은 1290.16이었다. 혈청군 Y에 대한 값은 586.54 (제3 그룹) 내지 713.70 (제4 그룹)의 범위였다. 대조군 그룹의 값은 23.41이었다. 혈청군 W-135에 대한 값은 912.28 (제4 그룹) 내지 1518.71 (제5 그룹)의 범위였다. 대조군 그룹의 값은 8.57이었다.

[0293]

b) II상 임상 시험 1 - 영유아에서의 MenACYW-TT의 안전성 및 면역원성

[0294]

II상, 무작위화, 개방-표지, 다기관 임상 시험을 미국에서 580명의 소아에 대해 수행하였다. 시험은 다양한 스케줄로, 상용되는 소아과 백신접종과 병용으로 투여되는 MenACYW-TT 백신의 안전성 및 면역원성 프로파일을 연구하기 위해 설계되었다. 본 연구는 또한 MenACYW-TT 백신, 및 선택된 허가받은 소아과 백신 (펜타셀® (DTaP-IPV/Hib), 프레브나르® (PCV7) 또는 프레브나르® 13 (PCV13), M-M-R® II (MMR), 바리박스® (V), 엔제릭스-B® 또는 레콤비박스 HB® (HepB), 로타릭스® (RV1) 및 로타텍® (RV5))의 MenACYW-TT 백신과 병용으로 투여될 때의 면역원성 프로파일을 기술하는 것을 목적으로 하였다.

[0295]

참가자는 MenACYW-TT 백신을 상용 백신과 병용으로 제공받거나 (임상시험 그룹; 표 1로부터의 제1 그룹-제5 그룹) 또는 상용 소아과 백신을 단독으로 제공받았다 (대조군 그룹; 제6 그룹-제7 그룹).

[0296] 2월령 영아를 표 1에 제시된 바와 같이, 3개의 임상시험 그룹 (제1 그룹-제3 그룹) 및 2개의 대조군 그룹 (제6 그룹 및 제7 그룹)에 무작위로 할당하였다. 임상시험 그룹인 제1 그룹-제3 그룹의 영아는 표 4에 기재된 바와 같이 MenACYW-TT 백신의 3회 또는 4회 용량을 제공받았다 (상용 백신과 병용으로).

[0297] 표 4는 임상 시험 설계의 요약을 제공한다.

표 4: 본 임상 시험에서의 연구 설계 및 제공받은 백신					
시험 스케줄 (시기)					
그룹	2개월	4개월	6개월	12개월	15개월
1	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5, HepB ¹	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV5 ² , HepB	MenACYW-TT, MMR, V, PCV7 또는 PCV13	
2	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5, HepB ¹	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV5 ² , HepB	MMR, V, PCV7 또는 PCV13	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib
3	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5, HepB ¹	MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5	DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV5 ² , HepB	MenACYW-TT, MMR, V, PCV7 또는 PCV13	
4			MenACYW-TT, DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV5 ² , HepB	MenACYW-TT, MMR, V, PCV7 또는 PCV13	
5				MenACYW-TT, MMR, V, PCV7 또는 PCV13	
6	DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5, HepB ¹	DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5	DTaP-IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV5 ² , HepB	MMR, V, PCV7 또는 PCV13	
7	DTaP-	DTaP-	DTaP-	MMR, V,	DTaP-IPV/Hib

	IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5, HepB ¹	IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV1 또는 RV5	IPV/Hib, PCV7 또는 PCV13, RV5 ² , HepB	PCV7 또는 PCV13	
--	---	------------------------------------	---	---------------	--

¹단지 1회의 이전 용량이 제공된 경우; ²이전에 RV5를 사용하여 백신접종한 경우

[0298]

[0300] 생후 6개월 및 12개월에 MenACYW-TT 백신의 2회 용량을 제공받은 (상용 백신과 병용으로) 6월령 영아 (제4 그룹), 및 생후 12개월에 MenACYW-TT 백신의 1회 용량을 제공받은 (상용 백신과 병용으로) 12개월령 (제5 그룹)을 또한 등록하였다.

[0301] 인간 (hSBA) 및 어린 토끼 (rSBA) 보체를 사용한 혈청 살박테리아 검정을 사용하여 기준선에서 및 최종 영아 및

유아 용량으로부터 30일 후에 수막구균 혈청군 A, C, Y 및 W에 대한 항체를 측정하였다. 이들 검정 둘 다의 정량 하한치 (LLOQ)는 1:4였다. 예를 들어, 문헌 [Maslanka et al., Standardization and a Multilaboratory Comparison of Neisseria meningitidis Serogroup A and C Serum Bactericidal Assays, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Mar. 1997, p. 156-167] 및 [Goldschneider Gotschlich, and Artenstein, Immunity to Meningococcus, The Role of Humoral Antibodies, the Journal of Experimental Medicine, 1969]을 참조한다.

[0302] 안전성 데이터를 백신의 최종 용량으로부터 최대 6개월 후까지 수집하였다. 예측된 유해 사건 (AE)에 대한 기간은 D0 내지 D7 사이였다 (즉, 투여로부터 0 내지 7일 후). 예측된 반응원성의 수집은 체온의 매일 측정 및 주사 부위 발적 및 종창, 뿐만 아니라 주사 부위 통증, 두통, 근육통 및 권태감에 대한 강도의 기록을 포함하였다. 예측되지 않은 AE 및 심각한 유해 사건 (SAE)을 또한 연구 내내 수집하였다. 모든 통계적 분석은 기술적이었다.

[0303] 인구통계가 안전성 분석 세트에 대해 분석되며, 이는 연구 또는 대조군 백신의 적어도 1회 용량을 제공받았고, 안전성 데이터가 입수가 가능한 이들을 대상체로서 정의하였다. 제1 그룹, 제2 그룹, 제3 그룹, 제6 그룹 및 제7 그룹에서 연구에 포함된 평균 연령은 각각 2.19, 2.20, 2.24, 2.18 및 2.20월령이었다. 연령 범위는 제1 그룹에서 1.57 내지 2.97월령, 제2 그룹에서 1.57 내지 2.90월령, 제3 그룹에서 1.53 내지 3.00월령, 제6 그룹에서 1.53 내지 2.87월령, 및 제7 그룹에서 1.70 내지 2.97월령이었다 (포함 기준 2월령 [42 내지 89일령]). 제4 그룹에서, 평균 연령은 6.23월령이고, 연령 범위는 5.63월령 내지 6.50월령이었다 (포함 기준 6월령 [180일 ± 14일령]). 제5 그룹에서, 평균 연령은 12.4월령이고, 연령 범위는 12.2 내지 12.7월령이었다 (포함 기준 12월령 [365일 + 14일령]).

[0304] 영아 시리즈를 완료하고 생후 2년에 추가의 MenACYW-TT 백신 용량을 제공받은 후에 (제1 그룹-제4 그룹), 대부분의 연구 참가자는, 생후 1년 동안 제공받은 용량 횟수에 상관없이, MenACYW-TT 백신에 포함된 모든 4종의 혈청군 (ACYW)에 대해 1:8의 방어 역가를 달성하였다 (인간 보체 [hSBA]의 경우에는 91%-100% 및 어린 토끼 보체 [rSBA]의 경우에는 80%-100%). 생후 12개월에 단일 용량을 제공받은 참가자 (제5 그룹)는, 1:8의 ACYW 방어 역가가 47.5%-90% (hSBA) 및 62%-100% (rSBA)였다. 따라서, MenACYW-TT 접합 백신은, 생후 1년에 제공받은 1차 스케줄에 상관없이, 생후 2년의 추가의 용량 후에 강건한 면역원성 반응을 나타낸다.

[0305] 도 6은 제1 그룹-제4 그룹에서 각각의 혈청형 A, C, Y 및 W에 대해 1:8 이상의 hSBA 수준을 갖는 대상체의 백분율을 제공한다. 도 7은 이들 동일한 그룹에서 유사한 rSBA 결과를 제공한다.

[0306] 생후 12개월에 투여된 MenACYW-TT 백신의 단일 용량 (제5 그룹) 후의 hSBA에 대한 면역 반응은 혈청군 C (90%)에 대해서는 3-용량 시리즈 (제3 그룹)에서 확인된 반응과 유사하였지만, 혈청군 Y (47.5%), A (75%) 및 W-135 (54%)에 대해서는 보다 낮았다. 생후 12개월에 단일 MenACYW-TT 백신 용량을 제공받은 대상체 (제5 그룹)에 대한 hSBA 및 rSBA 역가를 제시하는 표 5를 참조한다.

표 5. MenACYW-TT 백신으로부터 D30 후에 $\geq 1:8$ 의 hSBA 및 rSBA 역가를 달성하는 대상체의 백분율 (생후 2년에 단지 1회 용량을 제공받은 대상체)		
혈청군	$\geq 1:8$ 의 혈청 살박테리아 검정 역가를 달성하는 대상체의 백분율	
	인간 보체 (hSBA) % (95%CI)	어린 토끼 보체 (rSBA) % (95%CI)
A	74.6 (61.6; 85.0)	62.1 (48.4; 74.5)
C	90.2 (79.8; 96.3)	91.4 (81.0; 97.1)
Y	47.5 (34.6; 60.7)	94.8 (85.6; 98.9)
W	54.2 (40.8; 67.3)	100.0 (93.8; 100.0)
D: 일; CI: 신뢰 구간		

[0307]

[0308] MenACYW-TT 백신과 병용으로 투여된 소아과 상용 백신에 의한 간섭의 증거는 없었다 (데이터는 제시되지 않음).

[0309] 예측된 주사 부위 반응의 빈도는 반복된 백신 용량으로 증가하지 않았다. MenACYW-TT 백신의 투여의 7일 이내에 1건 이상의 예측된 주사 부위 반응을 보고한 참가자의 누적 백분율을 제시하는 도 8을 참조한다. MenACYW-TT 백신 투여 이후 7일 이내에 ≥ 1 의 예측된 주사 부위 반응을 보고한 참가자의 누적 백분율은 4회 용량을 제공받은 그룹 (제1 그룹 및 제2 그룹, 80.0%-80.8%)에서 가장 높았고, 그 다음으로는 2회 용량 (제4 그룹, 75.3%) 또는 3회 용량 (제2 그룹, 74.0%)을 제공받은 그룹에서 높았고, 1회 용량을 제공받은 그룹 (제5 그룹, 57.4%)에

서 가장 낮았다.

- [0310] 도 9는 MenACYW-TT 백신 + 상용 백신 또는 단독의 상용 백신의 투여의 7일 이내의 예측된 전신 반응을 제시한다.
- [0311] 대부분 경미한 유해 사건 (NSAE)이 MenACYW-TT 백신 또는 상용 백신으로의 백신접종 후에 보고되었고, 각각의 보고된 등급 3 NSAE는 연구 백신과 관련이 없었다. 백신-관련된 심각한 유해 사건은 없었다.
- [0312] MenACYW-TT 백신 및 상용 백신 둘 다는, 대조군 그룹에서 상용 백신이 MenACYW-TT 백신 없이 제공될 때와 비교하여, 병용으로 제공될 때 (즉, 동일한 날에, 개별 백신으로서) 면역원성이 있었으며, 이는 MenACYW-TT 백신과 상용 백신 사이에 부정적 상호작용이 없다는 것을 나타낸다.
- [0313] 요약하면, MenACYW-TT 백신은 면역화 스케줄 및 투여된 용량 횟수에 상관없이 영유아에서 안전하며 내약성이 우수하였다. MenACYW-TT 백신의 안전성 프로파일은 면역화 스케줄 및 투여된 용량 횟수에 상관없이, 대조군 그룹과 전체적으로 유사하였다.
- [0314] 따라서, 임상시험용 MenACYW-TT 백신은 내약성이 우수하며 면역원성이 있었다. 생후 1년 및 2년 둘 다에서의 용량(들)을 포함하는 모든 백신접종 스케줄은 모든 4종의 백신 엔. 메닌기티디스 혈청군 A, C, Y 및 W에 대해 강건한 면역 반응을 유도하며, 허용가능한 안전성 프로파일을 동반하였다.
- [0315] c) II상 임상 시험 2 - 56세 이상의 성인에게 투여된 MenACYW-TT의 안전성 및 면역원성
- [0316] 연령 및 기저 만성 질병은 수막구균성 질환에 있어서 중요한 위험 인자이므로, 고령자는 위험이 증가된다. 임상 연구를 수행하여, 56세 이상의 성인에서의 MenACYW-TT 백신의 안전성 및 면역원성을 허가받은 4가 수막구균 단순 폴리사카라이드 백신인 메노뮴®-A/C/Y/W-135 (MPSV4)와 비교하여 평가하였다.
- [0317] II상, 무작위화, 개방-표지, 다기관 연구를 미국에서 56세 이상의 301명의 건강한 성인에 대해 수행하였다. 12개의 연구 장소에서 참가자를 MenACYW-TT 또는 MPSV4 (메노뮴® - A/C/Y/W-135)의 1회 용량을 제공받도록 무작위로 할당하였다. 환자를 연령에 따라 2개의 하위세트로 계층화하였다: 1) 56 내지 64세 및 2) 65세 이상.
- [0318] 4개의 연구 그룹을 하기와 같이 구성하였다. 제1a 그룹 (n=101, 56-64세) 및 제1b 그룹 (n=100, ≥65세)은 MenACYW-TT를 제공받았다. 제2a 그룹 (n=50, 56-64세) 및 제2b 그룹 (n=50, ≥65세)은 MPSV4 백신을 제공받았다. "제1 그룹"은 제1a 그룹 + 제1b 그룹을 지칭할 것이다. "제2 그룹"은 제2a 그룹 + 제2b 그룹을 지칭할 것이다. 인구통계학적 결과는 표 6에 요약되어 있다.

표 6: 본 임상 시험에서의 연구 설계 및 제공받은 백신	
연구 그룹 (연구 참가자 수)	제공받은 백신 (연구 참가자의 연령 범위)
제1a 그룹 (n=101)	MenACYW-TT (56-64세)
제1b 그룹 (n=100)	MenACYW-TT (≥ 65세)
제2a 그룹 (n=50)	MPSV4 (56-64세)
제2b 그룹 (n=50)	MPSV4 (≥ 65세)

- [0319]
- [0320] 상기 기재된 바와 같은, 인간 보체 (hSBA) 및 어린 토끼 보체 (rSBA)를 사용한 혈청 살박테리아 검정 (SBA)을 사용하여 기준선에서 및 백신 투여로부터 30일 후에 수막구균 혈청군 A, C, Y 및 W에 대한 항체를 평가하였다. 이들 검정 둘 다의 정량 하한치 (LLOQ)는 1:4였다.
- [0321] 안전성 데이터를 투여로부터 최대 30일 후까지 수집하였다. 예측된 AE에 대한 구간은 D0 내지 D7 사이였다 (즉, 투여로부터 0 내지 7일 후). 예측된 반응원성의 수집은 체온의 매일 측정 및 주사 부위 발적 및 종창, 뿐만 아니라 주사 부위 통증, 두통, 근육통 및 권태감에 대한 강도의 기록을 포함하였다. 예측되지 않은 AE 및 심각한 유해 사건 (SAE)을 또한 연구 내내 수집하였다. 모든 통계적 분석은 기술적이었다.
- [0322] 인구통계가 안전성 분석 세트에 대해 분석되며, 이는 연구 또는 대조군 백신의 적어도 1회 용량을 제공받았고, 안전성 데이터가 입수가 가능한 이들을 대상체로서 정의하였다. 등록 시, 대상체의 평균 연령은 제1 그룹 및 제2

그룹 둘 다에서 유사하였다 (각각 66.1 ± 7.13 세 및 65.8 ± 6.58 세). 추가적으로, 연령은 56-64세의 대상체를 갖는 그룹 및 ≥ 65 세의 대상체를 갖는 그룹에 대해 유사하였다 (제1a 그룹에서 60.3 ± 2.52 세, 제2a 그룹에서 60.8 ± 2.59 세, 제1b 그룹에서 71.9 ± 5.28 세 및 제2b 그룹에서 70.8 ± 5.45 세).

[0323] 제1 그룹 및 제2 그룹 둘 다에서, 여성 대상체 (각각 60.8% [121/199] 및 55.0% [55/100])가 남성 대상체 (각각 39.2% [78/199] 및 45.0% [45/100])보다 약간 더 많았다. 하위세트에서도 동일한 경향이 관찰되었지만, 동일한 수의 여성 및 남성 대상체 (50.0% [25/50])가 있는 제2b 그룹은 예외로 한다.

[0324] 혈청군 A, C, Y, 및 W-135에 대해 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 연구 참가자의 백분율은 모든 하위그룹에 대해 기준선과 비교하여 제30일에 현저히 증가되었다. 2개의 연령 계층 (56 내지 64세 및 ≥ 65 세)에서 결과는 표 7에 제시된 바와 같이 각각의 백신접종 그룹 내에서 전체적으로 유사하였다.

표 7. D30에 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 달성하는 대상체의 백분율				
혈청군	제1a 그룹 MenACYW-TT (56y-64y) (N=98) % (95% CI)	제1b 그룹 MenACYW-TT (≥ 65 y) (N=97) % (95% CI)	제2a 그룹 MPSV4 (56y-64y) (N=46) % (95% CI)	제2b 그룹 MPSV4 (≥ 65 y) (N=48) % (95% CI)
A	95.9 (89.9; 98.9)	91.8 (84.4; 96.4)	78.3 (63.6; 89.1)	91.7 (80.0; 97.7)
C	71.4 (61.4; 80.1)	78.4 (68.8; 86.1)	58.7 (43.2; 73.0)	66.7 (51.6; 79.6)
Y	81.6 (72.5; 88.7)	79.4 (70.0; 86.9)	60.9 (45.4; 74.9)	58.3 (43.2; 72.4)
W	77.6 (68.0; 85.4)	81.4 (72.3; 88.6)	58.7 (43.2; 73.0)	62.5 (47.4; 76.0)
D: 일; CI: 신뢰 구간				

[0325] 도 10은 모든 환자 (즉, 합친 연령 그룹)로부터의 데이터를 사용하여 혈청군 A, C, Y 및 W에 대해 D30에 $\geq 1:8$ 의 hSBA 수준을 달성하는 대상체의 백분율을 제공한다. 혈청군 A 및 C에 대해서는 MenACYW-TT 투여 후에 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 개체의 백분율이 MPSV4 투여 후의 역가와 비슷하였다. 혈청군 Y 및 W에 대해서는 MenACYW-TT 투여 후에 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 개체의 백분율이 MPSV4 투여 후의 역가보다 높았다.

[0327] 도 11은 이들 백신 둘 다로 인한 D30에서의 다양한 혈청군에 대한 기하 평균 역가 (GMT)를 제공한다. 모든 혈청군에 대해 MenACYW-TT를 사용한 GMT가 MPSV4를 사용한 GMT 이상이였다.

[0328] $1:8$ 이상의 rSBA 역가를 갖는 참가자의 백분율은 모든 4종의 백신 그룹에 대해 MenACYW-TT 수용자와 MPSV4 수용자 사이에 비슷하였다. 도 12를 참조한다.

[0329] MenACYW-TT의 투여의 7일 이내의 예측된 주사 부위 반응 (도 13) 및 예측된 전신 반응 (도 14)은 MPSV4 백신에 대한 것들과 유사하였다.

[0330] 전체적으로, MenACYW-TT 및 MPSV4 백신 둘 다의 반응원성 프로파일은 유사하였다. 대부분의 예측되지 않은 유해 사건은 등급 1 또는 등급 2 강도였다. 직접적인 과민성 반응은 없었으며, AE 또는 SAE로 인한 중단도 없었다. 고령의 백신 수용자에게서 반응원성의 증가는 관찰되지 않았다. 심각한 유해 사건은 보고되지 않았다.

[0331] MenACYW-TT는 56세 이상의 성인에게 투여될 때 내약성이 우수하며 면역원성이 있었다. 따라서, MenACYW-TT는, MPSV4와 같은 단순 폴리사카라이드 백신만이 고령자의 면역화를 위해 현재 이용가능한 전세계 지역을 포함하여, 침습성 수막구균성 질환의 예방을 위한 대안적 백신을 대표한다.

[0332] d) II상 임상 시험 3 - 건강한 수막구균 백신 나이브 유아 (12-23개월)에게 투여된 MenACYW-TT의 안전성 및 면역원성

[0333] MenACYW-TT 접합 백신은 6주령 이상의 개체에게 사용하도록 의도된다. 본 연구는 허가받은 4가 수막구균 접합 백신인 니멘릭스® (MCV4-TT)를 대조군으로서 사용하여 유아에서의 단일 용량의 안전성 및 면역원성을 평가하였다.

[0334] 188명의 수막구균 백신-나이브 유아 (12-23월령)에 대한 II상, 무작위화, 개방-표지 연구를 핀란드에서 수행하

였다. 참가자를 MenACYW-TT 백신 또는 MCV4-TT의 1회 용량을 제공받도록 무작위로 할당하였다. 인간 (hSBA) 및 어린 토끼 (rSBA) 보체를 사용한 혈청 살박테리아 검정을 사용하여 기준선에서 및 용량으로부터 30일 후에 수막구균 혈청군 A, C, W 및 Y에 대한 항체를 측정하였다. 살박테리아 검정 둘 다의 LLOQ는 1:4였다. 과상풍에 대한 항체 반응을 또한 측정하였다.

[0335] 안전성 데이터를 용량으로부터 최대 30일 후까지 수집하였다. 예측된 유해 사건 (AE)에 대한 구간은 D0 내지 D7 사이였다. 예측된 반응원성의 수집은 체온의 매일 측정 및 주사 부위 발적 및 종창, 뿐만 아니라 주사 부위 통증, 두통, 근육통 및 권태감에 대한 강도의 기록을 포함하였다. 예측되지 않은 AE 및 심각한 유해 사건 (SAE)을 연구 내내 수집하였다. 모든 통계적 분석은 기술적이었다.

[0336] 표 8은 시험의 연구 설계 및 대상체 배치에 대한 데이터를 제공한다.

표 8: 연구 설계 및 대상체 배치			
	MenACYW-TT 접합 백신, n (%)	MCV4-TT 대조군 백신, n (%)	전체 대상체, n (%)
계획된 샘플 크기	100	100	200
등록 대상체	94 (100%)	94 (100%)	188 (100%)
무작위화 대상체	94 (100%)	94 (100%)	188 (100%)
연구를 완료한 대상체	94 (100%)	94 (100%)	188 (100%)
중단 대상체	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
프로토콜 순응 분석 세트	91 (96.8%)	86 (91.5%)	177 (94.1%)

[0337]

[0338] 인구통계학적 분석을 안전성 분석 세트에 대해 수행하였다. 안전성 분석 세트는 연구 또는 대조군 백신의 적어도 1회 용량을 제공받았고, 안전성 데이터가 입수가 가능한 이들을 대상체로서 정의하였다. 안전성 분석 세트에는 98명 (52.1%)의 남성 대상체 및 90명 (47.9%)의 여성 대상체가 있으며; 남성/여성 대상체의 전체 비는 1.09였다. MenACYW-TT 그룹에는 남성이 여성보다 더 많았다 (남성/여성 비가 1.54임). MCV4-TT 그룹에는 여성이 남성보다 더 많았다 (남성/여성 비가 0.77임). 대상체의 연령은 2개 그룹 사이에 비슷하였다. 등록된 대상체의 평균 연령은, MenACYW-TT 그룹은 1.44 ± 0.302 년령이고 MCV4-TT 그룹은 1.47 ± 0.314 년령이었다.

[0339] MenACYW-TT 백신으로 hSBA 백신 혈청반응을 갖는 대상체의 백분율은 혈청군 A, W 및 Y에 대해 MCV4-TT의 것과 비슷하였다 [96.7% 내지 98.9%의 범위 (MenACYW-TT) 및 91.9% 내지 98.8%의 범위 (MCV4-TT)] (도 15). hSBA 백신 혈청반응은 하기와 같이 정의되었다: 역가가 기준선에서 $< 1:8$ 이면, 백신접종 후 역가가 $\geq 1:8$ 인 경우 또는 역가가 기준선에서 $\geq 1:8$ 이면, 백신접종 후에 ≥ 4 배의 증가를 갖는 경우.

[0340] 혈청군 C에 대해 혈청반응을 갖는 대상체의 백분율은 MCV4-TT에 의한 것 (86.0%)보다 MenACYW-TT에 의한 것 (100.0%)이 더 높았다. 혈청군 C에 대한 동향은 rSBA를 사용하여도 유사하였다.

[0341] 백신으로부터 D30 후에 ≥ 8 ($\geq 1:8$)의 hSBA 역가를 달성하는 대상체의 백분율에 대한 데이터가 표 9에 제시되어 있다.

표 9: ≥ 8 의 hSBA 역가를 달성하는 환자의 백분율		
혈청군	≥ 8 의 인간 혈청 살박테리아 검정 역가를 달성하는 대상체의 백분율 % (95% CI)	
	MenACYW-TT	MCV4-TT
A	97.8 (92.3; 99.7)	91.9 (83.9; 96.7)
C	100.0 (96.0; 100.0)	89.5 (81.1; 95.1)
W	98.9 (94.0; 100.0)	96.5 (90.1; 99.3)
Y	98.9 (94.0; 100.0)	100.0 (95.8; 100.0)

[0342]

[0343]

hSBA 기하 평균 역가 및 ≥ 8 ($\geq 1:8$)의 백신접종 후 hSBA 역가를 갖는 대상체의 백분율을 사용하여 평가할 때, MenACYW-TT는 혈청군 A, W 및 Y에 대해서는 비슷한 면역 반응을 도출하며 혈청군 C에 대해서는 보다 높은 면역 반응을 도출하였다 (도 16 및 표 10). 도 16 및 표 10의 데이터는, 표 10의 데이터가 도 16에 제시된 바와 같이 log2 스케일로 변환된 것을 제외하고는 동일한 데이터를 제시한다.

표 10: 백신접종 후 hSBA 기하 평균 역가		
	MenACYW-TT	MCV4-TT
A	76.8	61.5
C	492.9	28.4
W	71.7	44.5
Y	96.6	76.4

[0344]

[0345]

안전성을 또한 연구에서 평가하였다. 반응원성 프로파일은 두 백신 사이에 비슷하였다. 적어도 1건의 예측된 주사 부위 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 두 백신 사이에 비슷하였다 (48.9% 및 53.2%). 주사 부위에서의 홍반, 압통 및 종창에 대한 데이터가 도 17에 제시되어 있다. 주사 부위에서의 반응의 대부분은 등급 1 또는 2 강도이며, 모두 D0 내지 D03 사이에 시작되어 대부분 1 내지 3일 지속되었다.

[0346]

소수의 대상체는 등급 3의 예측된 주사 부위 반응을 보고하였으며: MenACYW-TT 그룹에서는 대상체의 3.2%이고 MCV4-TT 그룹에서는 대상체의 4.3%였다.

[0347]

예측된 전신 반응도 또한 두 그룹 사이에 유사하였다 (도 18).

[0348]

적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 AE를 보고하는 대상체의 백분율은 연구 그룹 사이에 비슷하였다. 대부분의 예측되지 않은 유해 사건은 등급 1 또는 등급 2 강도였다. 그룹의 어느 쪽에서도 직접적인 예측되지 않은 AE는 보고되지 않았다. 임의의 아나필락시스성 또는 생명-위협 사건을 포함한, 직접적인 SAE는 없었다. 보고된 2건의 심각한 유해 사건은 관련이 없는 것으로 간주되었다.

[0349]

임상시험용 MenACYW-TT 백신은 내약성이 우수하며 면역원성이 있었다. MenACYW-TT 백신의 단일 용량은 처음으로 수막구균 백신접종을 제공받는 유아를 위한 대안적 백신 옵션이 되도록 하는 탁월한 잠재성을 입증하였다.

[0350]

e) II상 임상 시험 4 - 건강한 수막구균 백신 나이브 청소년 (10-18세)에게 투여된 MenACYW-TT의 안전성 및 면역원성

[0351]

본 II상 연구는 10-18세 청소년에게 근육내로 투여되는 MenACYW-TT의 단일 용량 (pH 6.0으로 완충된 0.67% NaCl/30 mM 소듐 아세테이트 중 총 65 μ g TT에 접합된 혈청군당 10 μ g 폴리사카라이드)의 안전성 및 면역원성을 평가하였다. 멘비오® (수막구균 (그룹 A, C, Y 및 W-135) 올리고사카라이드 디프테리아 CRM197 접합 백신, 본원에서 "MenACYW-CRM₁₉₇"이라 지칭됨, 허가받은 4가 수막구균 접합 백신)를 대조군 그룹 (제2 그룹)에 투여하

었다. MenACYW-TT를 Tdap/아다셀® 및 HPV/가르다실®과 함께 공동투여한 효과 (제3 그룹)를 또한 Tdap/아다셀® 및 HPV/가르다실®만을 투여한 것 (제4 그룹)과 비교하였다. 대조군 백신 및 Tdap/아다셀® 및 HPV/가르다실® 백신은 라벨 지침서에 따라 투여하였다. 4개의 연구 그룹이 표 11에 요약 및 특징화되어 있다.

표 11: 임상 시험 4를 위한 연구 그룹					
그룹	n	처리	남성	여성	평균, 중앙 연령 (년)
1	503	MenACYW-TT	243	260	11.4, 11.1
2	501	MenACYW-CRM ₁₉₇	272	229	11.4, 11.2
3	392	MenACYW-TT + Tdap/아다셀® 및 HPV*/가르다실®	201	191	11.3, 11.1
4	155	Tdap/아다셀® 및 HPV*/가르다실®	155	141	11.4, 11.1

*: HPV 백신의 제1 용량은 D0에 제공되고; HPV 제2 용량 및 제3 용량은 제1 용량으로부터 각각 2개월 및 6개월 후에 제공되었다.

총 74명의 대상체 (4.3%)는 시험을 완료하지 못했다: 제1 그룹에서 10명 (2.0%), 제2 그룹에서 7명 (1.4%), 제3 그룹에서 27명 (6.7%) 및 제4 그룹에서 30명 (10.0%). 가장 빈번하게 보고된 중단 이유는 하기와 같았다: 유효 사건으로 인한 것이 아닌 자발적인 철회, 추적 실패, 프로토콜에의 비-순응. SAE 또는 다른 AE로 인한 조기 종결은 없었다.

인간 보체를 사용한 혈청 살박테리아 검정 (hSBA)을 사용하여 기준선에서 및 용량으로부터 30일 후에 수막구균 혈청군 A, C, W 및 Y에 대한 항체를 측정하였다. 살박테리아 검정의 LLOQ는 1:4였다. hSBA 데이터는 제1 그룹의 463명의 구성원, 제2 그룹의 464명의 구성원 및 제3 그룹의 360명의 구성원에 대해 수집되었다. hSBA 결과는 표 12에 있으며, 여기서 % 대상체는 양성 혈청반응, 즉 <1:8의 백신접종 전 hSBA 역가를 갖는 대상체의 경우에는 $\geq 1:8$ 의 백신접종 후 hSBA, 또는 $\geq 1:8$ 의 백신접종 전 역가를 갖는 대상체의 경우에는 백신접종 전후에 hSBA 역가의 적어도 4배 증가를 갖는 대상체의 백분율을 나타낸다. 모든 4종의 혈청군에 대해 MenACYW-CRM₁₉₇에 의한 것보다 MenACYW-TT에 의해 보다 큰 백분율의 대상체가 양성 혈청반응을 제시하였다.

표 12. II상 임상 시험 4의 hSBA 결과						
	제1 그룹 (MenACYW-TT) (N=463)		제2 그룹 (MenACYW-CRM ₁₉₇) (N=464)		제3 그룹 (MenACYW-TT + Tdap + HPV) (N=360)	
혈청군	% 대상체	95%CI	% 대상체	95%CI	% 대상체	95%CI
A	75.6	71.4; 79.4	66.4	61.9; 70.7	80.6	76.1; 84.5
C	97.2	95.2; 98.5	72.6	68.3; 76.6	97.2	95.0; 98.7
Y	97.0	95.0; 98.3	80.8	76.9; 84.3	95.6	92.9; 97.4
W	86.2	82.7; 89.2	66.6	62.1; 70.9	83.9	79.7; 87.5

[0357] 제1 그룹과 제2 그룹 사이의 혈청반응 빈도의 차이가 그의 95% 신뢰 구간과 함께 표 13에 제시되어 있다

표 13. 제1 그룹 - 제2 그룹 혈청반응 차이		
혈청군	차이 (%) 대상체	95% CI
A	9.2	3.4; 15.0
C	24.6	20.3; 29.0
Y	16.2	12.3; 20.2
W	19.6	14.2; 24.8

[0358]

[0359] 제1 그룹과 제3 그룹 사이의 혈청반응 빈도의 차이는 95% 신뢰도에서 유의하지 않았으며, 이는 MenACYW-TT 효능이 Tdap/아다셀® 및 HPV/가르다실®과의 공동투여에 의해 영향을 받지 않는다는 결론과 일치한다.

[0360] 표 14는 제0일 (D0) 및 제30일 (D30)에서의 기하 평균 역가 (GMT)로서 나타내어진 hSBA 결과를, 95% 신뢰 구간과 함께 제시한다.

표 14. hSBA 기하 평균 역가							
혈청군		제1 그룹 (N=463)		제2 그룹 (N=464)		제3 그룹 (N=360)	
		GMT	95%CI	GMT	95%CI	GMT	95%CI
A	D0	6.19	5.62; 6.83	5.75	5.24; 6.31	5.34	4.8; 5.94
	D30	44.1	39.2; 49.6	35.2	30.3; 41.0	47.9	41.7; 55.0
C	D0	3.36	3.12; 3.62	3.08	2.88; 3.30	3.38	3.13; 3.64
	D30	387	329; 456	51.4	41.2; 64.2	335	280; 399
Y	D0	2.33	2.23; 2.43	2.41	2.28; 2.54	2.46	2.32; 2.62
	D30	75.7	66.2; 86.5	27.6	23.8; 32.1	77.3	66.5; 89.9
W	D0	5.17	4.67; 5.73	5.35	4.82; 5.94	5.87	5.22; 6.60
	D30	86.9	77.8; 97	36.0	31.5; 41.0	91	80.2; 103

[0361]

[0362] 디프테리아 및 파상풍에 대한 면역 반응을 모든 그룹에 대해 비교하였다. 기하 평균 농도 (GMC); 항파상풍 및 항디프테리아 항체 농도가 ≥ 0.1 IU/mL인 대상체 %; 및 항파상풍 및 항디프테리아 항체 농도가 ≥ 1.0 IU/mL인 대상체 %로서 나타내어진 결과가 표 15에 제시되어 있다.

표 15. 디프테리아 및 파상풍에 대한 백신접종 후 기하 평균 및 역가						
	디프테리아			파상풍		
	GMC	≥ 0.1 IU/mL (%)	≥ 1.0 IU/mL (%)	GMC	≥ 0.1 IU/mL (%)	≥ 1.0 IU/mL (%)
제1 그룹 (N=463)	0.152	57.4	7.4	21.4	100	97.9
제2 그룹 (N=464)	35.4	100	98.9	0.346	90.1	18.7
제3 그룹 (N=360)	11.9	99.4	97.8	29.0	99.7	99.7
제4 그룹 (N=263)	15.7	99.6	98.9	14.7	100	99.6

[0363]

[0364] 결과는, 제3 그룹에서처럼 MenACYW-TT의 Tdap/아다셀®과의 공동투여가 후자의 면역원성을 간섭하지 않는다 (제

4 그룹 결과 참조)는 결론과 일치하였다.

[0365]

백신 반응을 또한 하기 항원과 관련하여 특징화하였다: 백일해 독소 (PT), 백일해 섬모 적혈구응집원 (FHA), 백일해 페르타틴 (PRN) 및 백일해 펄브리아 항원 (FIM). 표 16을 참조한다.

표 16. PT, FHA, PRN 및 FIM 항원에 대한 반응.						
	제3 그룹 (N=360)			제4 그룹 (n = 263)		
항원	GMT/ GMC	95% CI	백신 반응 (%)	GMT/ GMC	95% CI	백신 반응 (%)
PT	37.5	33.8; 41.7	67.3	44.4	39.5; 49.9	78.2
FHA	180	168; 194	92.1	242	218; 268	89.4
PRN	200	177; 225	94.7	265	231; 304	96.6
FIM	339	285; 403	92.2	499	414; 601	95.4

[0366]

[0367]

안전성과 관련하여 하기를 관찰하였다: 백신접종으로부터 30분 후에 보고된 임의의 예측되지 않은 전신 유해 사건 (AE)의 발생, 성질, 지속기간, 강도, 및 백신접종과의 관계; D0 백신접종(들)으로부터 최대 7일 후까지 발생하는 예측된 주사 부위 반응의 발생, 개시 시간, 발생 일수, 강도, 취한 조치, 및 그 반응이 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부; D0 백신접종(들)으로부터 최대 7일 후까지 발생하는 예측된 전신 반응의 발생, 개시 시간, 발생 일수, 강도, 취한 조치, 및 그 반응이 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부; D0 백신접종(들)으로부터 최대 23-37일 후까지의 예측되지 않은 AE의 발생, 성질, 개시 시간, 지속기간, 강도, 취한 조치, 백신접종과의 관계 (단지 전신 AE의 경우에만), 및 그 사건이 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부; 및 D0 백신접종(들)으로부터 최대 180일 (제1 그룹 및 제2 그룹) 또는 210일 (제3 그룹 및 제4 그룹) 후까지 시험 동안의 심각한 유해 사건 (SAE)의 발생, 성질, 개시 시간, 지속기간, 심각성 기준, 백신접종과의 관계, 결과 및 SAE가 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부. 예측된 전신 반응은 발열, 근육통 및 두통을 포함하였다. 예측된 주사 부위 반응은 통증, 홍반 및 종창을 포함하였다.

[0368]

D0 내지 D07 사이에 적어도 1건의 예측된 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 MenACYW-TT 접합 백신과 멘비오® 사이에 비슷하였다: 각각 제1 그룹에서는 대상체의 63.5% (315/496) 및 제2 그룹에서는 64.2% (316/492). 적어도 1건의 예측된 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 MenACYW-TT 접합 백신을 Tdap 및 HPV와 병용으로 제공받은 대상체와 Tdap 및 HPV만을 제공받은 대상체 사이에 비슷하였다: 각각 제3 그룹에서는 88.9% (345/388) 및 제4 그룹에서는 89.0% (258/290). 적어도 1건의 예측된 주사 부위 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 제1 그룹, 제2 그룹 및 제3 그룹 사이에 비슷하였다: 각각 46.6% (231/496), 45.7% (225/492), 및 49.0% (190/388). MenACYW-TT 접합 백신이 단독으로 제공될 때 (제1 그룹) 대비 MenACYW-TT 접합 백신이 Tdap 및 HPV와 병용으로 제공될 때 (제3 그룹), MenACYW-TT 접합 백신에 대한 국부 반응원성의 증가는 확인되지 않았다.

[0369]

가장 빈번하게 보고되는 예측된 주사 부위 반응은 제1 그룹에서 대상체의 45.2% (224/496)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 42.5% (209/492)에 의해, 제3 그룹에서 대상체의 47.2% (183/388)에 의해 보고된 통증이며, 그 다음으로는 제1 그룹에서 대상체의 5.0% (25/496)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 7.5% (37/491)에 의해, 제3 그룹에서 대상체의 3.9% (15/388)에 의해 보고된 주사 부위 홍반, 제1 그룹에서 대상체의 5.4% (27/496)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 6.5% (32/491)에 의해, 제3 그룹에서 대상체의 4.4% (17/388)에 의해 보고된 종창 순으로 나타났다. MenACYW-TT 접합 백신 또는 멘비오® 주사 부위에서의 반응의 대부분은 등급 1 또는 2 강도이며, D0 내지 D03 사이에 시작되어 1 내지 3일 지속되었다. MenACYW-TT 접합 백신 또는 멘비오® 주사 부위에서의 임의의 등급 3 주사 부위 반응을 갖는 대상체의 백분율은 제1 그룹에서 1.8% (9/496), 제2 그룹에서 2.2% (11/492), 제3 그룹에서 2.8% (11/388)였다. MenACYW-TT 접합 백신 또는 멘비오® 주사 부위에서의 등급 3 통증을 갖는 대상체의 백분율은 제1 그룹에서 1.4% (7/496), 제2 그룹에서 1.0% (5/492), 제3 그룹에서 2.3% (9/388)였다. 등급 3 홍반을 갖는 대상체의 백분율은 제1 그룹에서 0.4% (2/496), 제2 그룹에서 1.2% (6/491), 제3 그룹에서 0.5% (2/388)였다. 등급 3 종창을 갖는 대상체의 백분율은 제1 그룹에서 0.2% (1/496), 제2 그룹에서 0.4% (2/491), 제3 그룹에서 0.3% (1/388)였다. 강도 등급은 일반적으로 하기 의미를 갖는다. 등급 1: 활동의 간섭 없음. 등급 2: 활동의 약간의 간섭. 등급 3: 유의함; 일상 활동을 방해함.

[0370]

백신접종 후에 적어도 1건의 예측된 전신 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 제1 그룹 (52.0% [258/496])과 제

2 그룹 (51.0% [251/492]) 사이에 비슷하였다. 근육통이 가장 흔히 보고되는 예측된 전신 반응이며, 그 다음으로는 두통 및 권태감이며, 발열이 극소수 보고되었다. 근육통은 제1 그룹에서 대상체의 35.3% (175/496)가, 제2 그룹에서 대상체의 35.2% (173/492)가 보고하였다. 두통은 제1 그룹에서 대상체의 30.2% (150/496)가, 제2 그룹에서 대상체의 30.9% (152/492)가 보고하였다. 권태감은 제1 그룹에서 대상체의 26.0% (129/496)가, 제2 그룹에서 대상체의 26.4% (130/492)가 보고하였다. 발열은 제1 그룹에서 대상체의 1.4% (7/494)가, 제2 그룹에서 대상체의 1.2% (6/488)가 보고하였다.

[0371] 백신접종 후에 적어도 1건의 예측된 전신 반응을 갖는 대상체의 백분율은 제3 그룹 (70.6% [274/388])과 제4 그룹 (65.9% [191/290]) 사이에 비슷하였다. 근육통이 가장 흔히 보고되는 예측된 전신 반응이었다: 제3 그룹에서 대상체의 61.3% (238/388) 및 제4 그룹에서 대상체의 55.4% (160/289). 두통은 제3 그룹에서 대상체의 33.8% (131/388)가, 제4 그룹에서 대상체의 29.0% (84/290)가 보고하였다. 권태감은 제3 그룹에서 대상체의 29.1% (113/388)가, 제4 그룹에서 대상체의 27.9% (81/290)가 보고하였다. 발열은 제3 그룹에서 대상체의 1.6% (6/387)가, 제4 그룹에서 대상체의 0.7% (2/286)가 보고하였다. 전체적으로, 대부분의 예측된 전신 반응은 등급 1 또는 등급 2 강도이며, D0 내지 D03 사이에 시작되어 1 내지 3일 지속되었다.

[0372] 전체적으로, 등급 3의 예측된 전신 반응을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹 (3.8% [19/496])과 제2 그룹 (4.3% [21/492]) 사이에 비슷하였다. 등급 3의 예측된 전신 반응을 보고한 대상체의 백분율은 제3 그룹 (7.5% [29/388])과 제4 그룹 (5.5% [16/290]) 사이에 비슷하였다. 가장 흔히 보고되는 등급 3의 예측된 전신 반응은 근육통이며, 그 다음으로는 권태감 및 두통이 나타났다. 등급 3의 근육통을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹 (1.6% [8/496])과 제2 그룹 (1.8% [9/492]) 사이에, 제3 그룹 (4.6% [18/388])과 제4 그룹 (3.8% [11/289]) 사이에 비슷하였다. 등급 3의 권태감을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹 (2.2% [11/496])과 제2 그룹 (2.8% [14/492]) 사이에 비슷하였다. 권태감은 제4 그룹 (1.7% [5/290])보다 제3 그룹 (2.6% [10/388])에서 더욱 빈번하게 보고되었다. 등급 3의 두통을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹 (1.8% [9/496])과 제2 그룹 (1.8% [9/492]) 둘 다에서 동일하였다. 두통은 제4 그룹 (1.7% [5/290])보다 제3 그룹 (2.8% [11/388])에서 더욱 빈번하게 보고되었다.

[0373] 전체적으로, D0 내지 D30 사이에 적어도 1건의 예측되지 않은 AE를 보고하는 대상체의 백분율은 4개의 연구 그룹에 걸쳐 비슷하였다: 제1 그룹에서 대상체의 22.9% (115/503) 및 제2 그룹에서 25.7% (129/501); 제3 그룹에서 26.0% (102/392) 및 제4 그룹에서 22.6% (67/296). 소수의 대상체는 직접적인 예측되지 않은 AE를 보고하였다: 제1 그룹에서 대상체의 0.6% (3/503), 제2 그룹에서 대상체의 0.2% (1/501), 제3 그룹에서 대상체의 0.8% (3/392) 및 제4 그룹에서 대상체의 0.7% (2/296). 임의의 아나필락시스성 또는 생명-위협 사건을 포함한, 직접적인 SAE는 없었다. 12건의 직접적인 예측되지 않은 AE가 23-37일에 9명의 대상체에서 보고되었다. 1명의 대상체는 D0 백신접종(들)으로부터 6개월 후에 1건의 직접적인 예측되지 않은 AE를 보고하였다.

[0374] D0 백신접종(들) 후에 적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 주사 부위 AR을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹과 제2 그룹 사이에 비슷하였고: 각각 1.4% (7/503) 및 1.6% (8/501); 적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 주사 부위 AR을 보고한 대상체의 백분율은 제3 그룹이 제4 그룹보다 수적으로 더 높았다: 각각 4.3% (17/392) 및 2.0% (6/296). 가장 흔히 보고되는 예측되지 않은 주사 부위 반응은 14명의 대상체에서 보고된 소양증이며, 그 다음으로는 13명의 대상체에서 보고된 타박상이다. 이들 예측되지 않은 주사 부위 반응은 일반적으로 임의의 백신접종 후에 발생할 수 있다.

[0375] MenACYW-TT 접합 백신 또는 멘비오® 주사 부위에서의 적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 주사 부위 AR을 보고한 대상체의 백분율은 비슷하였다: 제1 그룹에서 1.4% (7/503), 제2 그룹에서 1.6% (8/501) 및 제3 그룹에서 1.8% (7/392). 제2 그룹에서 1명의 대상체는 D01에 시작되어 4일 지속되고 자연 해소된 주사 부위 열감으로, 1건의 등급 3의 예측되지 않은 경미한 주사 부위 AR을 보고하였다. 어떠한 조치도 취하지 않았다. 등급 3의 예측되지 않은 경미한 주사 부위 AR은 제1 그룹에서 또는 제3 그룹의 MenACYW-TT 접합 백신 주사 부위에서 보고되지 않았다.

[0376] 30일 이내에 적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 AE를 보고하는 대상체의 백분율은 4개의 연구 그룹에 걸쳐 비슷하였다: 제1 그룹에서 대상체의 22.7% (114/503), 제2 그룹에서 대상체의 25.5% (128/501), 제3 그룹에서 대상체의 26.0% (102/392) 및 제4 그룹에서 대상체의 22.3% (66/296). 감염 및 침입 (제1 그룹에서 대상체의 7.2% [36/503], 제2 그룹에서 대상체의 8.0% [40/501], 제3 그룹에서 대상체의 8.2% [32/392], 제4 그룹에서 대상체의 6.1% [18/296])이 가장 빈번하게 보고되었으며; 가장 흔한 유형은 상기도 감염이었다.

[0377] 16명의 대상체는 시험 기간 동안 SAE를 보고하였고; 4명의 대상체는 D0에서의 백신접종의 30일 이내에 SAE를 보

고하였다. 어느 것도 백신과 관련있는 것으로 간주되지 않았고, 어느 것도 연구로부터의 중단으로 이어지지 않았다. 모든 대상체는 회복하였다. 연구 기간 동안 사망은 보고되지 않았다.

[0378] 청소년에게 MenACYW-TT 접합 백신을 사용한 백신접종은 단독으로 또는 Tdap 및 HPV 백신과 병용으로 제공될 때 확인되는 안전성 우려 없이, 안전한 것으로 밝혀졌다. MenACYW-TT 접합 백신의 안전성 프로파일은 허가받은 멘비오® 백신과 비슷하였다.

[0379] f) III상 임상 시험 1 - 청소년 및 성인에서의 MenACYW-TT의 부스터 용량의 면역원성 및 안전성

[0380] 본 연구는 청소년 (≥ 15 내지 < 18 세) 및 성인 (18-59세)에게 근육내로 투여되는 MenACYW-TT의 단일 용량 (pH 6.0으로 완충된 0.67% NaCl/30 mM 소듐 아세테이트 중 총 65 μ g TT에 접합된 혈청군당 10 μ g 폴리사카라이드)의 안전성 및 면역원성을 평가하였다. 대상체는 MenACYW-TT를 투여하기 4-10년 전에 4가 수막구균 접합 백신 ("프라이밍 백신")의 1회 용량을 제공받은 바 있다 (제1 그룹; n= 402).

[0381] 메낙트라® (수막구균 (그룹 A, C, Y 및 W-135) 피막 사카라이드 디프테리아 독소이드 접합 백신, 본원에서 "MenACYW-DT"라 지칭됨, 허가받은 4가 수막구균 접합 백신)를 대조군 그룹 (제2 그룹; n = 407)에 투여하였다. 제2 그룹의 대상체도 역시 4-10년 전에 프라이밍 백신의 1회 용량을 제공받은 바 있다.

[0382] 양쪽 그룹에서, 프라이밍 백신은 MenACYW-DT (모든 대상체의 86.3%), MenACYW-CRM₁₉₇ (모든 대상체의 11.25%; MenACYW-CRM₁₉₇은 임상 시험 4와 관련하여 상기 논의되었음), 또는 미지의 것 (모든 대상체의 2.45%; 제1 그룹에서 9명 및 제2 그룹에서 10명)이었다. 연구 그룹의 인구통계는 표 17과 같았다.

표 17: III상 임상 시험 1을 위한 연구 그룹							
그룹	n	처리	남성	여성	평균, 중앙 연령 (년)	프라이밍 백신 MenACYW-DT	프라이밍 백신 MenACYW- CRM ₁₉₇
1	402	MenACYW-TT	195	207	22.0, 16.5	327	48
2	407	MenACYW-DT	207	200	22.5, 16.4	340	39

[0383]

[0384] hSBA 및 어린 토끼 혈청 살박테리아 (rSBA) 검정을 처리로부터 30일 후에 수행하였다. hSBA 검정은 또한 제6일에도 수행하였다. 양성 혈청반응을 제시한 대상체의 백분율이 표 18에 제공되어 있다. hSBA 결과에 있어서, 양성 혈청반응은 기준선 역가가 $<1:8$ 인 경우에는 $\geq 1:16$ 의 백신접종 후 역가이거나 또는 기준선 역가가 $\geq 1:8$ 인 경우에는 백신접종 후 4배 증가였다. 384명의 제1 그룹 대상체 및 389명의 제2 그룹 대상체가 제30일에 유효한 hSBA 결과를 가졌다. rSBA 결과에 있어서, 양성 혈청반응은 기준선 역가가 $<1:8$ 인 경우에는 $\geq 1:32$ 의 백신접종 후 역가이거나 또는 기준선 역가가 $\geq 1:8$ 인 경우에는 백신접종 후 4배 증가였다.

표 18. 임상 시험 5의 hSBA 및 rSBA 결과				
hSBA, 제30일	제1 그룹 (MenACYW-TT)		제2 그룹 (MenACYW-DT)	
혈청군	% 대상체	95%CI	% 대상체	95%CI
A	92.2	(89.0;94.7)	87.1	(83.4;90.3)
C	97.1	(94.9;98.6)	91.8	(88.6;94.3)
Y	97.4	(95.3;98.7)	95.6	(93.1;97.4)
W	98.2	(96.3;99.3)	90.7	(87.4;93.4)
hSBA, 제6일	제1 그룹 (MenACYW-TT)		제2 그룹 (MenACYW-DT)	
혈청군	% 대상체	95%CI	% 대상체	95%CI
A	72.7	(59.0;83.9)	66.1	(53.0;77.7)
C	83.6	(71.2;92.2)	87.1	(76.1;94.3)
Y	90.9	(80.0;97.0)	83.9	(72.3;92.0)
W	94.5	(84.9;98.9)	83.9	(72.3;92.0)
rSBA, 제30일	제1 그룹 (MenACYW-TT)		제2 그룹 (MenACYW-DT)	
혈청군	% 대상체	95%CI	% 대상체	95%CI
A	80.2	(70.6;87.8)	71	(61.1;79.6)
C	98.9	(94.0;100.0)	96	(90.1;98.9)
Y	95.6	(89.1;98.8)	87	(78.8;92.9)
W	94.5	(87.6;98.2)	95	(88.7;98.4)

[0385]

[0386]

제30일에 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 제시한 대상체의 백분율은 모든 혈청군에 대해 $\geq 99\%$ 이었고, 이전에 투여된 백신의 정제에 따라 유의하게 다르지 않았다 (데이터는 제시되지 않음).

[0387]

표 19는 hSBA 및 rSBA에 의해 측정된, 제0일 (처리 전) 및 제30일에서의 기하 평균 역가 (GMT)를 제시한다. 제30일의 경우에, hSBA 결과는 전체 그룹 및 이전에 MenACYW-DT 및 MenACYW-CRM₁₉₇을 제공받은 바 있는 하위그룹에 대해 제시된다.

표 19. 기하 평균 역가							
hSBA		제1 그룹 (전체)		제2 그룹 (전체)		제1 그룹/제2 그룹 GMT	
혈청군		GMT	95%CI	GMT	95%CI	비	
A	D0	13.7	(12.2;15.5)	15.1	(13.5;16.9)		
	D30	497	(436;568)	296	(256;343)	1.68	(1.38;2.05)
C	D0	11.0	(9.32;13.1)	10.6	(9.10;12.4)		
	D30	2618	(2227;3078)	599	(504;71)	4.37	(3.45;5.53)
Y	D0	7.7	(6.56;9.04)	7.27	(6.21;8.50)		
	D30	2070	(1807;2371)	811	(699;941)	2.55	(2.09;3.12)
W	D0	9.76	(8.46;11.2)	10.6	(9.21;12.2)		
	D30	1747	(1508;2025)	723	(614;853)	2.42	(1.94;3.01)
hSBA		제1 그룹 (MenACYW-DT가 이전에 제공되었음)		제2 그룹 (MenACYW-DT가 이전에 제공되었음)		제1 그룹/제2 그룹 GMT	
혈청군		GMT	95%CI	GMT	95%CI	비	
A	D30	490	(424;565)	298	(255;349)	1.64	(1.33;2.03)
C	D30	2505	(2096;2993)	575	(478;691)	4.36	(3.37;5.63)
Y	D30	2009	(1737;2324)	771	(660;902)	2.61	(2.10;3.23)
W	D30	1758	(1497;2065)	671	(563;800)	2.62	(2.06;3.32)
hSBA		제1 그룹 (MenACYW-CRM ₁₉₇ 이 이전에 제공되었음)		제2 그룹 (MenACYW-CRM ₁₉₇ 이 이전에 제공되었음)		제1 그룹/제2 그룹 GMT	
혈청군		GMT	95%CI	GMT	95%CI	비	
A	D30	636	(439;920)	238	(148;384)	2.67	(1.49;4.79)
C	D30	4096	(2745;6113)	771	(439;1351)	5.31	(2.74;10.3)
Y	D30	2981	(2011;4420)	1245	(738;2101)	2.39	(1.27;4.51)
W	D30	1773	(1185;2651)	1202	(697;2071)	1.48	(0.768;2.83)
rSBA		제1 그룹		제2 그룹			

혈청군		GMT	95%CI	GMT	95%CI
A	D0	1097	(724;1662)	1144	(812;1613)
	D30	10859	(8844;13333)	6608	(5410;8071)
C	D0	15.2	(9.38;24.5)	9.1	(5.90;14.1)
	D30	11898	(9425;15021)	2665	(1934;3672)
Y	D0	84.2	(45.7;155)	52.7	(29.0;95.9)
	D30	9468	(7447;12037)	3848	(2778;5331)
W	D0	141	(74.3;269)	145	(85.0;247)
	D30	21227	(17199;26200)	9410	(7203;12294)

상기 제시된 결과는, hSBA 검정을 사용하여, 부스터 후 제30일에 MenACYW-TT의 투여 이후 혈청반응을 나타낸 대상체의 백분율이 모든 4종의 혈청군에 대해 MenACYW-DT보다 더 크다는 것을 제시한다. hSBA에 따른 백신접종

후 GMT는 모든 4종의 혈청군에 대해 MenACYW-DT에 비해 MenACYW-TT 백신의 경우에 수적으로 더 높았다.

[0391] 게다가, 4-10년 전에 MenACYW-DT 또는 MenACYW-CRM₁₉₇의 단일 용량을 제공받은 바 있는 성인 및 청소년에서 MenACYW-TT의 단일 용량의 투여는 내약성이 우수하며 어떠한 새로운 안전성 우려 또는 안전성 신호도 유발하지 않았다. 안전성과 관련하여 하기를 관찰하였다: 백신접종으로부터 30분 후에 보고된 임의의 예측되지 않은 전신 AE의 발생, 성질, 지속기간, 강도, 및 백신접종과의 관계; 백신접종으로부터 최대 7일 후까지 발생하는 예측된 주사 부위 반응의 발생, 개시 시간, 발생 일수, 강도, 취한 조치, 및 그 반응이 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부; 백신접종으로부터 최대 7일 후까지 발생하는 예측된 전신 반응의 발생, 개시 시간, 발생 일수, 강도, 취한 조치, 및 그 반응이 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부; 최대 D30 (+14일)까지 발생하는 예측되지 않은 AE의 발생, 성질, 개시 시간, 지속기간, 강도, 취한 조치, 백신접종과의 관계 (단지 전신 AE의 경우에만), 및 그 사건이 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부; 및 시험 동안의 SAE의 발생, 성질, 개시 시간, 지속기간, 심각성 기준, 백신접종과의 관계, 결과, 및 SAE가 연구로부터의 조기 종결로 이어졌는지의 여부. 예측된 AE는 본질적으로 II상 임상 시험 4에 대해 상기 기재된 바와 같았다.

[0392] 전체적으로, 적어도 1건의 예측된 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 제1 그룹과 제2 그룹 사이에 비슷하였다: 각각 제1 그룹에서 대상체의 64.3% (256/398) 및 제2 그룹에서 대상체의 65.4% (263/402). 적어도 1건의 등급 3의 예측된 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 제1 그룹과 제2 그룹 사이에 비슷하였다: 각각 제1 그룹에서 대상체의 5.0% (20/398) 및 제2 그룹에서 대상체의 5.5% (22/402). 적어도 1건의 예측된 주사 부위 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 제1 그룹과 제2 그룹 사이에 비슷하였다: 각각 제1 그룹에서 대상체의 46.5% (185/398) 및 제2 그룹에서 대상체의 49.3% (198/402). 가장 빈번하게 보고되는 예측된 주사 부위 반응은 제1 그룹에서 대상체의 44.7% (178/398)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 48.8% (196/402)에 의해 보고된 통증이었다. 홍반 및 종창은 보다 덜 빈번하게 보고되었다. 홍반 및 종창은 제2 그룹 (각각 1.5% [6/402] 및 0.7% [3/402])보다 제1 그룹 (각각 5.0% [20/398] 및 4.0% [16/398])에서 보다 높은 빈도로 보고되었다. 대부분은 등급 1 강도이며; 등급 2의 홍반 및 종창을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹 (각각 0.5% [2/398] 및 0.8% [3/398])과 제2 그룹 (각각 0.2% [1/402] 및 0.5% [2/402]) 사이에 비슷하였다. 등급 3의 홍반 또는 종창은 어느 그룹에서도 보고되지 않았다. MenACYW 접합 백신 또는 메낙트라® 주사 부위에서의 반응의 대부분은 등급 1 또는 2 강도이며, 대부분 D0 내지 D03 사이에 시작되어 대부분 1 내지 3일 지속되었다. 소수의 대상체는 등급 3의 예측된 주사 부위 반응을 보고하였으며: 제1 그룹에서 대상체의 1.0% (4/398) 및 제2 그룹에서 대상체의 2.0% (8/402)가 등급 3의 통증을 보고하였다. 어느 그룹에서도 대상체가 등급 3의 홍반 또는 종창을 보고하지 않았다.

[0393] 적어도 1건의 예측된 전신 반응을 보고한 대상체의 백분율은 제1 그룹과 제2 그룹 사이에 비슷하였다: 각각 제1 그룹에서 대상체의 55.3% (220/398) 및 제2 그룹에서 대상체의 54.2% (218/402). 근육통 및 두통이 가장 빈번하게 보고되는 예측된 전신 반응이며: 근육통은 제1 그룹에서 대상체의 36.7% (146/398)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 38.8% (156/402)에 의해 보고되었고; 두통은 제1 그룹에서 대상체의 37.9% (151/398)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 33.3% (134/402)에 의해 보고되었다. 권태감은 제1 그룹에서 대상체의 27.6% (110/398)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 26.9% (108/402)에 의해 보고되었다. 발열은 제1 그룹 (0.0% [0/390])에서 보고되지 않았고, 제2 그룹에서 대상체의 0.5% (2/395)가 보고하였다. 전체적으로, 대부분의 예측된 전신 반응은 등급 1 또는 등급 2 강도이며, D0 내지 D30 사이에 시작되어 1 내지 3일 지속되었다. 소수의 대상체는 등급 3의 예측된 전신 반응을 보고하였다. 등급 3의 예측된 전신 반응을 보고하는 대상체의 백분율은 발열 (각각 0.0% [0/390] 및 0.3% [1/395]), 두통 (각각 2.3% [9/398] 및 3.5% [14/402]), 권태감 (각각 2.8% [11/398] 및 3.5% [14/402]) 및 근육통 (각각 2.0% [8/398] 및 2.2% [9/402])의 경우에 제1 그룹과 제2 그룹 사이에 유사하였다.

[0394] D0 내지 D30 사이에 적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 AE를 보고하는 대상체의 백분율은 제1 그룹 (26.1% [105/402])과 제2 그룹 (25.3% [103/407]) 사이에 비슷하였다. 예측되지 않은 경미한 AE의 건수는 제1 그룹 (n=164 AE)과 제2 그룹 (n=164 AE)에서 동일하였다. 예측되지 않은 경미한 AE의 낮은 비슷한 백분율은 D0에 제공된 백신과 관련있는 것으로 간주되었다: 제1 그룹에서 대상체의 3.0% (12/402) 및 제2 그룹에서 대상체의 2.9% (12/407). 대부분의 이들 사건은 등급 1 또는 등급 2 강도였다.

[0395] 제1 그룹에서 2명의 대상체 (0.5%) 및 제2 그룹에서 0명의 대상체 (0.0%)는 적어도 1건의 직접적인 예측되지 않은 AE (대상체 둘 다 어지럼증)를 보고하였다.

[0396] 제1 그룹에서 총 5명의 대상체 (1.2%) 및 제2 그룹에서 총 6 대상체 (1.5%)는 적어도 1건의 예측되지 않은 경미한 주사 부위 AR을 보고하였다. 주사 부위 타박상은 제1 그룹에서 2명의 대상체 (0.5%)가, 제2 그룹에서 3명의 대상체 (0.7%)가 보고하였다. 주사 부위 소양증은 제1 그룹에서 2명의 대상체 (0.5%)가, 제2 그룹에서 1명의

대상체 (0.2%)가 보고하였다. 주사 부위 열감은 제1 그룹에서 1명의 대상체 (0.2%)가 보고하였다. 주사 부위 변색 및 주사 부위 두드러기는 각각 제2 그룹에서 1명의 대상체 (0.2%)가 보고하였다. 주사 부위 변색은 등급 3이었고, 연구가 끝날 때까지 계속되었다.

[0397] 감염 및 침입이 가장 빈번하게 보고되는 예측되지 않은 경미한 전신 AE였다 (제1 그룹에서 대상체의 7.5% [30/402] 및 제2 그룹에서 대상체의 6.6% [27/407]). 감염 또는 침입의 빈번하게 보고된 유형은 제1 그룹에서 대상체의 1.7% (7/402)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 1.7% (7/407)에 의해 보고된 비인두염; 및 제1 그룹에서 대상체의 1.0% (4/402)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 1.7% (7/407)에 의해 보고된 상기도 감염이었다. 또한 SOC에 따른 기침 및 구인두통을 포함한, 호흡기, 흉부 및 종격 장애가 빈번하게 보고되었다: 제1 그룹에서 대상체의 6.0% (24/402) 및 제2 그룹에서 대상체의 6.6% (27/407). 백신 주사의 30일 이내의 대부분의 예측되지 않은 경미한 AE는 등급 1 또는 등급 2 강도였다. 적어도 1건의 등급 3의 예측되지 않은 경미한 전신 AE를 보고한 대상체의 백분율은 두 그룹 사이에 비슷하였다: 제1 그룹에서 대상체의 3.7% (15/402) 및 제2 그룹에서 대상체의 4.2% (17/407).

[0398] 전신 장애 및 투여 부위 병태의 분류에 속하는 예측되지 않은 경미한 전신 AR이 가장 빈번하게 보고되며, 이는 제1 그룹에서 대상체의 2.2% (9/402)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 1.7% (7/407)에 의해 보고되었다. 이러한 분류에 속하는 가장 빈번하게 보고되는 예측되지 않은 경미한 전신 AR은 제1 그룹에서 대상체의 0.5% (2/402)에 의해, 제2 그룹에서 대상체의 0.2% (1/407)에 의해 보고된 피로였다. 제2 그룹에서 단지 1명의 대상체가 2건의 등급 3의 예측되지 않은 경미한 전신 AR을 보고하였다: SOC의 위장 장애에 속하는 등급 3의 오심 및 전신 장애 및 투여 부위 병태의 분류에 속하는 등급 3의 피로. 둘 다 D0에 시작되어 2일 동안 지속되었다. 오심에 대해서는 의약을 복용하였고; 피로에 대해서는 어떠한 조치도 취하지 않았다.

[0399] 어느 그룹에서도 연구로부터의 중단으로 이어진 AE 또는 AR은 없었다. 3명의 대상체는 백신접종으로부터 처음 30일 이내에 SAE를 경험하였다: 제1 그룹의 1명의 대상체에서의 양측 폐 색전증 및 제2 그룹의 각각 1명에서의 주요 우울 장애 및 흉통. 이들 SAE는 조사자에 의해 백신과 관련이 없는 것으로 간주되었고, 어느 것도 연구로부터의 중단으로 이어지지 않았다.

[0400] 6명의 대상체 (제1 그룹의 4명 및 제2 그룹의 2명)는 D30 후에 6개월 추적을 통해 총 6건의 SAE를 경험하였으며: 제1 그룹의 4명의 대상체 (1.0%)가 4건의 SAE를 경험하였고, 제2 그룹의 2명의 대상체 (0.5%)가 2건의 SAE를 경험하였다. SAE 중 어느 것도 백신과 관련있는 것으로 간주되지 않았고, 어느 것도 연구로부터의 중단으로 이어지지 않았다. 연구 동안 사망은 보고되지 않았다.

[0401] 4가 수막구균 접합 백신-프라이밍된, 적어도 15세가 된 청소년 및 성인에서 MenACYW 접합 백신의 부스터 용량을 사용한 백신접종은 확인되는 안전성 우려 없이, 안전한 것으로 밝혀졌다. 전체적으로, MenACYW 접합 백신의 안전성 프로파일은 허가받은 백신인 메낙트라®와 비슷하였다.

[0402] 7. MenACYW-TT 액체 제제 안정성

[0403] 기존의 수막구균 폴리사카라이드 접합 백신 예컨대 MenACWY-CRM₁₉₇/멘비오® (CRM197과의 4가 접합체, 여기서 MenA 접합체는 동결건조됨) 및 MCV4-TT/니멘릭스® (전체적으로 동결건조된, TT와의 4가 접합체)의 일부 또는 모든 구성요소는 액체 제제로는 장기간 저장되지 않는다. 메낙트라® (TT와의 4가 접합체)는 액체 제제로 저장되지만, 그의 보관 수명이 24개월이다. 최근 공개에서, 베레스포드(Beresford) 등은 다양한 기존의 백신의 안정성 및 특정 조건 하에 관찰된 탈중합 및 면역원성의 손실을 특징화하여, "임의의 새로 개발되는 MenACWY 사카라이드-단백질 접합 백신에 대해, 면역원성에 영향을 미칠 유해한 분해를 방지하기 위해 최종 생성물의 동결건조를 고려하는 것이 주요 권장사항이 될 것이다"라고 권장하기에 이르렀다. 문헌 [Beresford et al., Vaccine 2017 Jun 16;35(28):3598-3606 at Abstract].

[0404] 액체 제제는, 적어도 이들이 제조 동안 동결건조 단계를 요구하지 않고, 투여 전에 재구성 단계를 요구하지 않으며, 재구성과 연관된 가능한 실수의 위험을 피하기 때문에 유리하다. 당연히, 이들 이점은 생성물 자체가 면역원성을 손상시키는 분해를 겪는다면 무의미해진다. 따라서, MenACYW 접합 백신은 액체 제제로서 24개월 넘게 안정한 것이 바람직할 것이다. 본 개시내용에 따른 MenACYW-TT의 안정성을 하기와 같이 특징화하였다.

[0405] MenACYW-TT를 pH 6.0으로 완충된 0.67% NaCl/30 mM 소듐 아세테이트 중에 2°C-8°C에서 54개월 동안 저장하고, 0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 및 54개월로부터 선택된 시점에 안정성에 대해 시험하였다 (표 20 참조). 측정되는 파라미터는 시각적 외관, 멸균성, 비정상적인 독성의 부재, 각각의 혈청군의 총 폴리사카라이드

드, % 유리 폴리사카라이드, 분자량, 다분산도, pH 및 면역원성을 포함하였다.

- [0406] MenACYW-TT의 가속 안정성 시험을 또한 23℃-27℃에서 제제를 저장함으로써 수행하였다. 시험은 1주, 3개월 및 6개월 중 하나 이상에서 수행하였다 (표 21 참조).
- [0407] 시각적 외관과 관련하여, 용액은 2℃-8℃에서는 54개월의 전체 기간 동안, 23℃-27℃에서는 6개월 동안 투명하게 유지되었고, 결함이 드러나지 않았다 (상기 열거된 모든 시점에서 시험하였음).
- [0408] 비정상적인 독성의 부재는 소정의 용량의 MenACYW-TT의 투여 이후 설치류 (마우스 또는 기니 피그)를 관찰함으로써 결정하였다. 모든 시험에서, 모든 동물은 투여 이후 28일의 시험 기간을 생존하였고; 불특정의 또는 예상치 못한 반응이 없었으며; 동물은 시험 기간 동안 체중이 줄지 않았다. 비정상적 독성 시험은 0, 12, 24, 36, 42, 48 및 54-개월 시점에 수행되었다.
- [0409] pH는 0개월에 6.1이었고, 모든 측정치가 시간이 경과하는 동안 6.1 내지 6.3의 범위에 있었다 (pH를 위한 시점은 2℃-8℃에서는 0, 1, 6, 12, 24, 36, 42, 48 및 54개월이고, 23℃-27℃에서는 6개월임). 54개월을 포함한 어느 시험 시점에서도 증식이 관찰되지 않았다 (멸균성을 위한 시점은 2℃-8℃에서는 0, 12, 24, 36, 42, 48 및 54개월이고, 23℃-27℃에서는 6개월임).
- [0410] 총 폴리사카라이드는 디오넥스(Dionex)TM 크로마토그래피에 의해 측정하였다. % 유리 폴리사카라이드는 디오넥스TM 크로마토그래피 및 데옥시콜레이트 침전에 의해 측정하였다. 분자량 및 다분산도는 크기 배제 크로마토그래피/다중-각도 광 산란 (SEC/MALS)에 의해 측정하였다.
- [0411] 2℃-8℃에서의 결과는 표 20에 있고, 23℃-27℃에서의 결과는 표 21에 있다.
- [0412] 표 20: 2℃ 내지 8℃에서의 저장에 대한 안정성 시험 결과.

시험	혈청 군	제0 시간	1개월	3개월	6개월	9개월	12개월	18개월
총 폴리사카 라이드 (μg/mL)	A	20.2	19.3	16.6	18.2	18.8	21.3	21.9
	C	19.4	20.8	15.0	14.5	16.2	18.3	20.4
	Y	16.7	16.2	20.7	16.8	16.9	17.2	16.4
	W-135	15.9	15.6	12.4	15.9	15.5	16.3	17.5
% 유리 폴리사카 라이드	A	<15%	<16%	<18%	<17%	<16%	<14%	<14%
	C	<16%	<14%	<20%	<21%	<19%	<16%	<15%
	Y	<18%	19%	<15%	<18%	<18%	18%	<18%
	W-135	<19%	<19%	<24%	<19%	<19%	<18%	<17%
분자량	전체	9.122E5	5.095E5	7.679E5	7.713E5	1.533E6	8.348E5	9.958E5
다분산도	전체	1.381	1.359	1.298	1.311	1.862	1.256	1.581
시험	혈청 군	제0 시간	24개월	30개월	36개월	42개월	48개월	54개월
총 폴리사카 라이드 (μg/mL)	A	20.2	19.4	19.4	18.4	19.2	18.6	18.8
	C	19.4	17.7	18.2	18.2	22.4	21.6	20.0
	Y	16.7	13.5	14.6	14.7	18.5	14.8	14.2
	W-135	15.9	14.6	13.3	13.5	15.3	15.5	14.5
% 유리 폴리사카 라이드	A	<15%	<15%	<15%	<16%	<16%	17	17
	C	<16%	<17%	<16%	<16%	<13%	<14	<15
	Y	<18%	<22%	<20%	<20%	21%	<20	<21
	W-135	<19%	<21%	<23%	<22%	<20%	<19	<21
분자량	전체	9.122E5	9.958E5	1.192E6	5.419E5	8.286E5	7.700E5	8.092E5
다분산도	전체	1.381	1.581	1.432	1.288	1.485	1.572	1.495

- [0413]
- [0414] NS: 계획되지 않음. †: 혈청 샘플을 시험 전에 약 6-7개월 동안 <-20℃에서 유지하며, 여기서 이들은 안정한 것으로 간주되었다.

[0415] 표 21: 23℃ 내지 27℃에서의 저장에 대한 안정성 시험 결과.

시험	혈청군	1주	3개월	6개월
총 폴리사카라이드 ($\mu\text{g/mL}$)	A	19.4	22.0	22.0
	C	14.1	20.5	19.9
	Y	13.9	17.0	15.9
	W-135	15.5	17.3	16.2
% 유리 폴리사카라이드	A	<15%	27%	31%
	C	<21%	25%	18%
	Y	<22%	<18%	30%
	W-135	<19%	17%	28%
분자량	전체	8.212E5	8.285E5	6.209E5
다분산도	전체	1.335	1.361	1.474

[0416]

[0417] NS: 계획되지 않음.

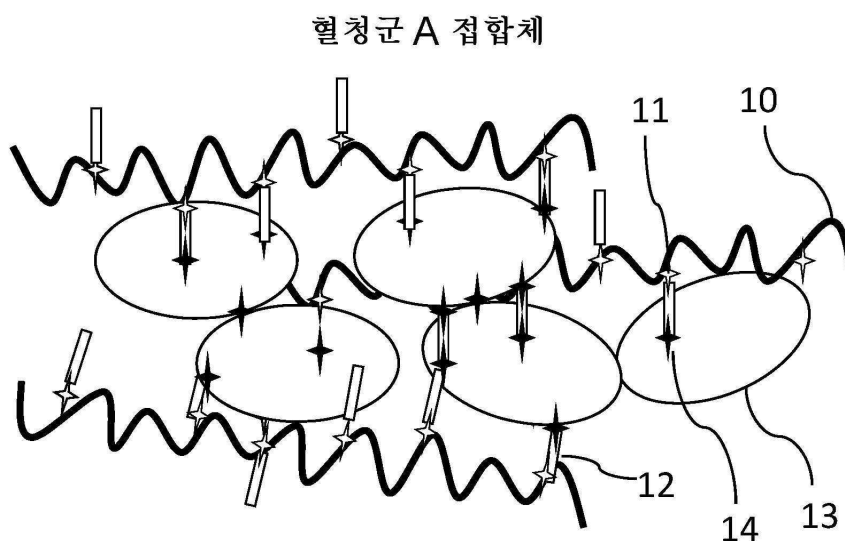
[0418] 결과는 2℃-8℃에서는 54개월의 전체 기간 및 23℃-27℃에서는 6개월 동안의 우수한 안정성을 나타냈다. 특히, 2℃-8℃에서, 모든 4종의 혈청군에 대해 폴리사카라이드의 TT와의 접합에 있어서 최소한의 손실이 있었고 (% 유리 폴리사카라이드의 0-3% 증가), 면역원성은 24개월을 제외한 모든 시점에서 실질적으로 유지되었으며, 여기서 낮은 값은 이상치이고/거나 0 및 12개월 측정치와 더 유사한 36개월 이후에는 관찰에 기반한 기술상의 문제로부터 초래된 것으로 보인다. 23℃-27℃에서, 6개월까지 MenA, MenY, 및 MenW에 대해 유리 폴리사카라이드의 증가가 있었지만, 그 수준이 40%의 허용가능한 한계 미만으로 유지되었다. 면역원성은 6개월째에도 존재하였다.

[0419] 이들 결과로부터, MenACYW-TT는, 예를 들어, 포장, 유통 및 저장 동안 냉장 하에 액체 제제로서 장기간 유지될 수 있고, 동결건조 또는 보존을 위한 다른 조치가 불필요한 것으로 결론지을 수 있다.

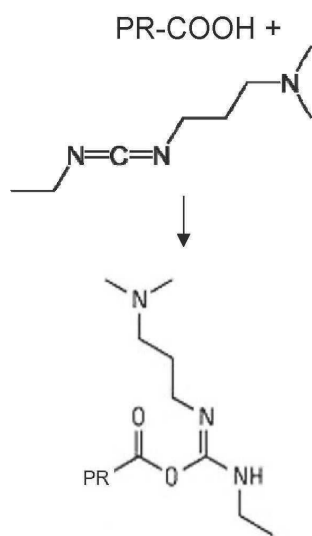
[0420] 상기 발명은 이해의 명료함을 위해 예시 및 예로서 어느 정도 상세히 기재되어 있지만, 상기 설명 및 실시예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

도면

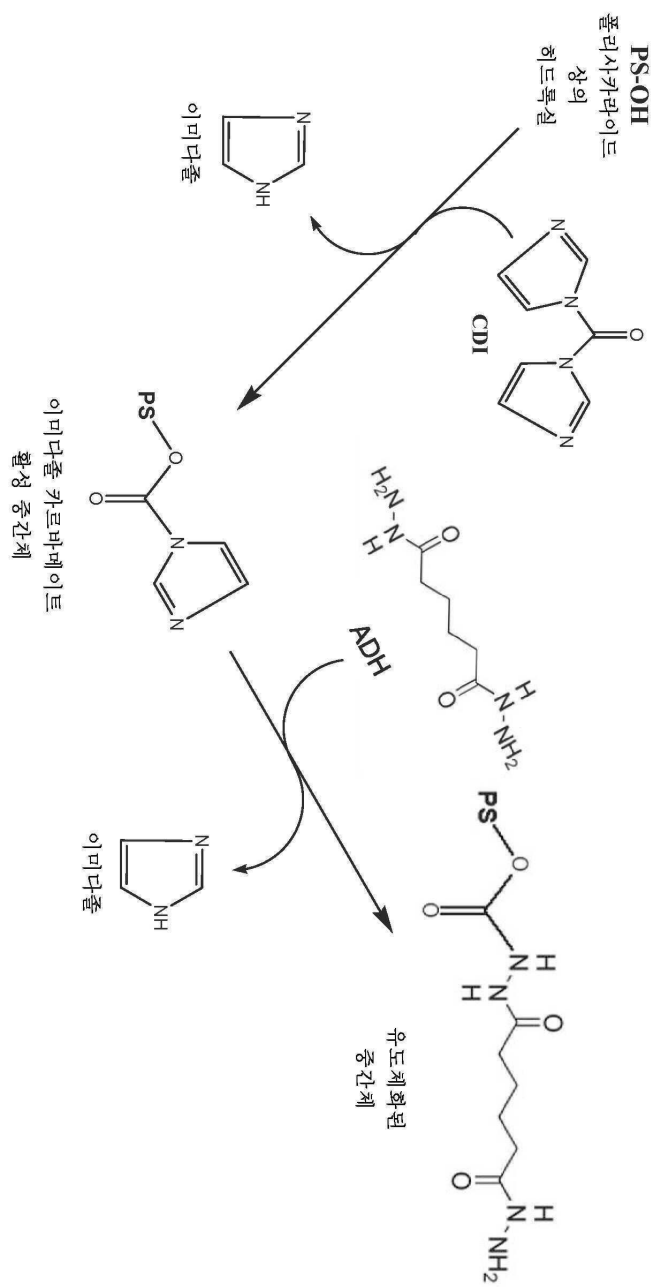
도면1a



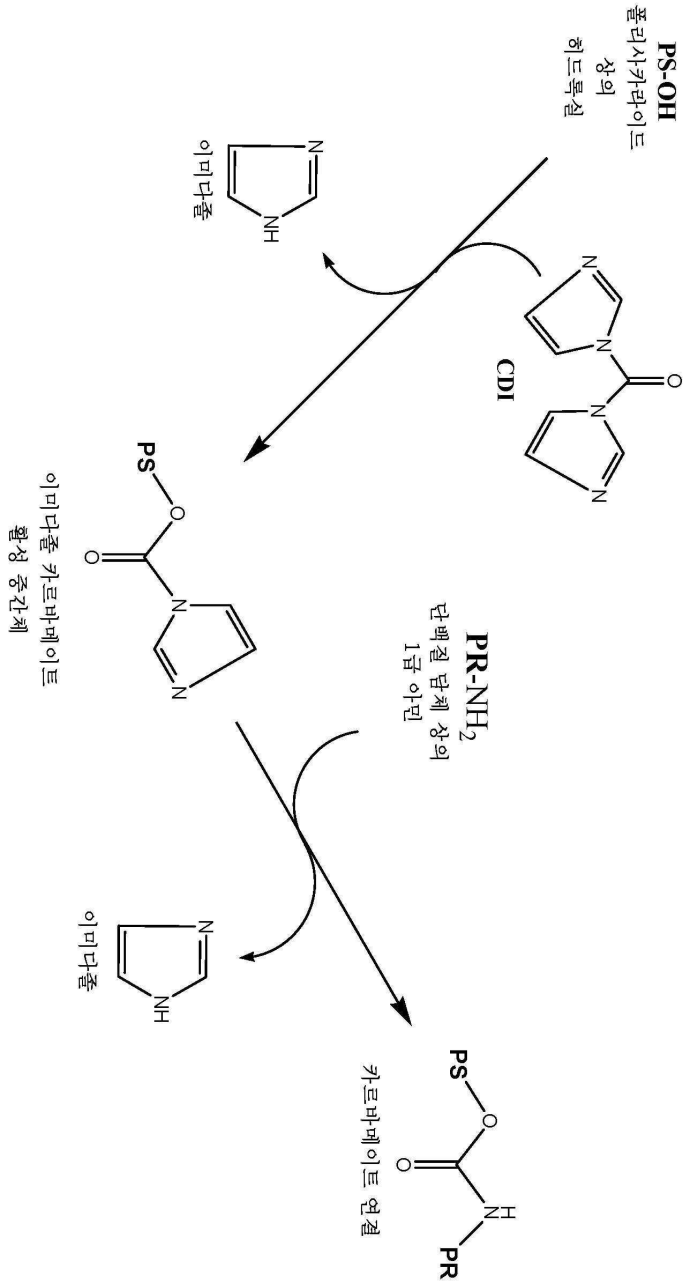
도면1b



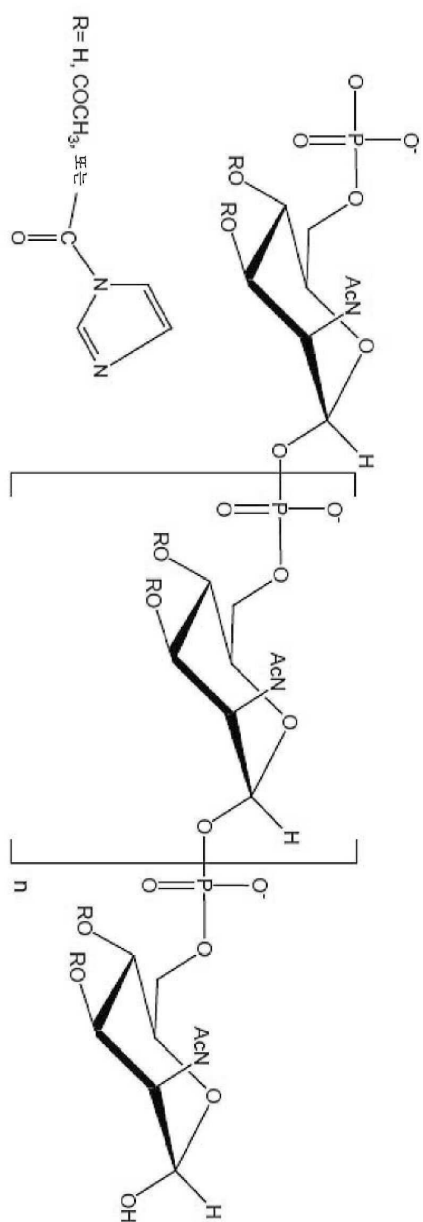
도면1c



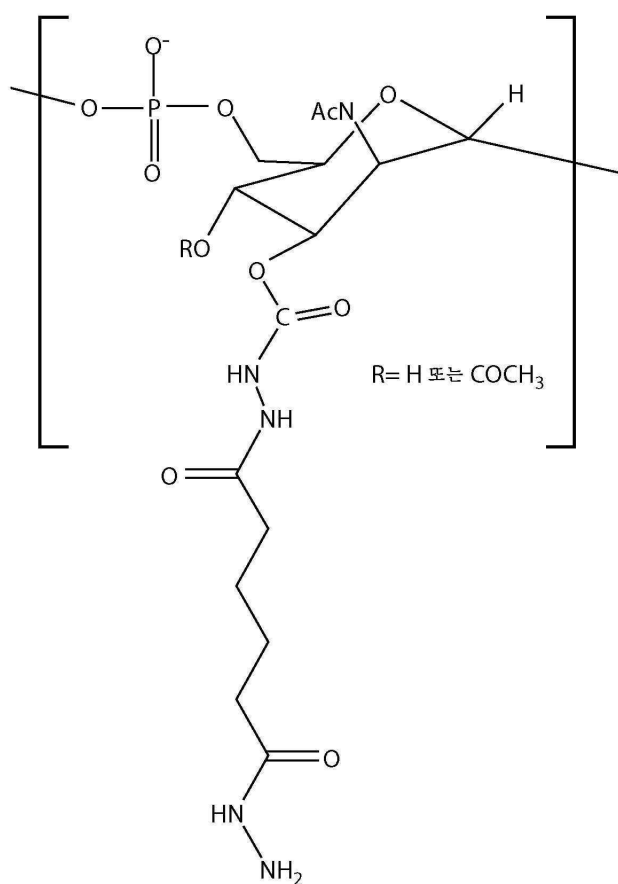
도면1d



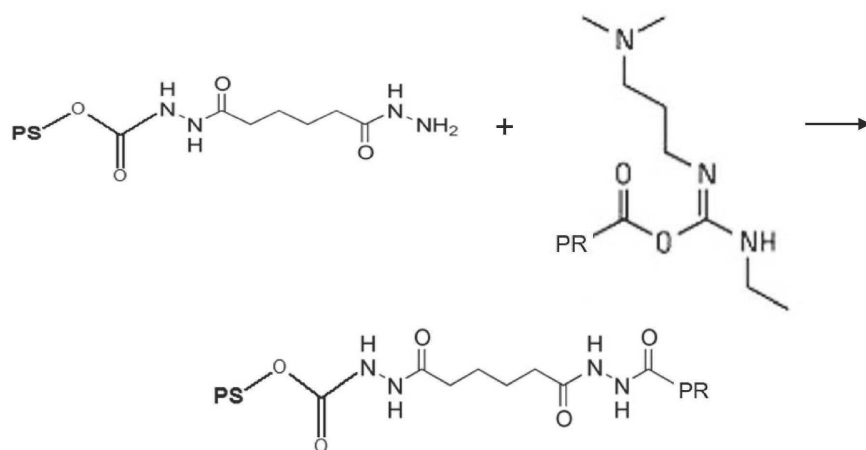
도면1e



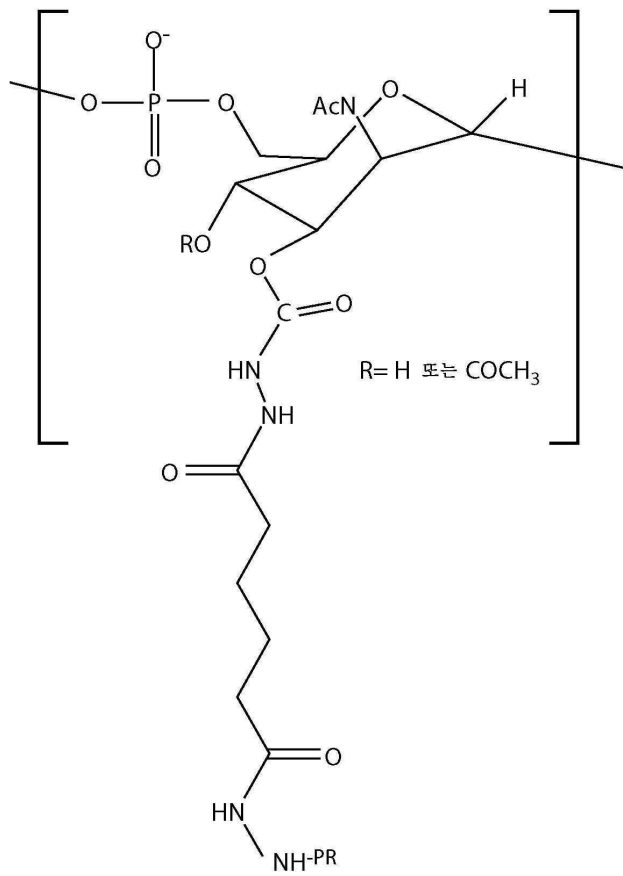
도면1f



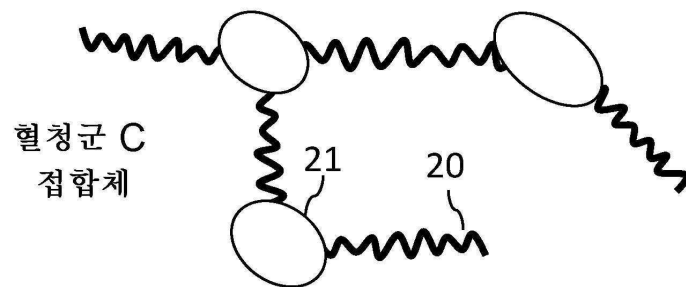
도면1g



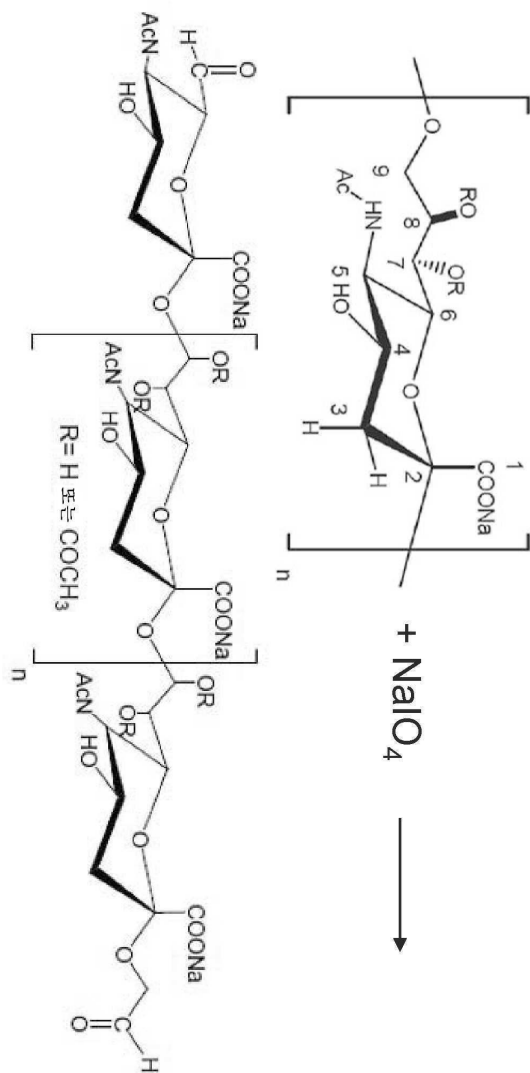
도면1h



도면2a



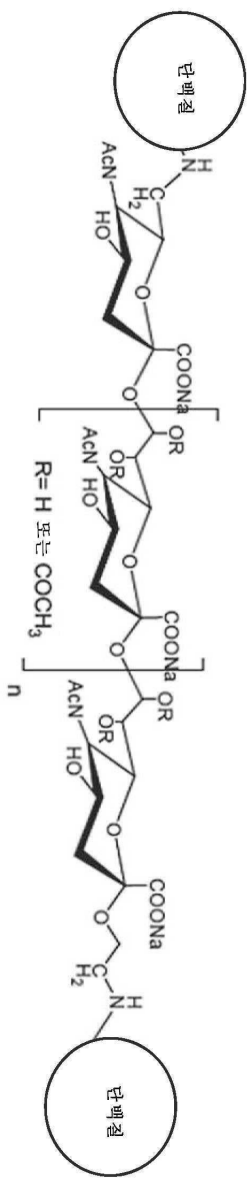
도면2b



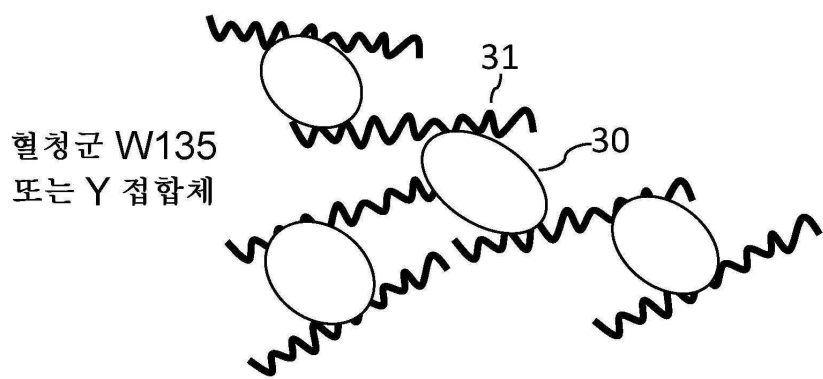
도면2c



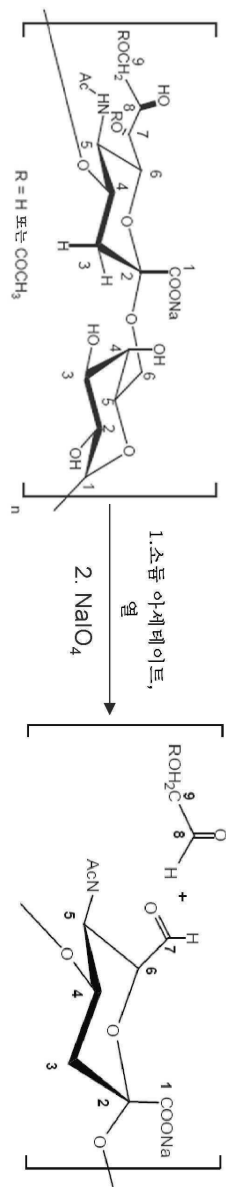
도면2d



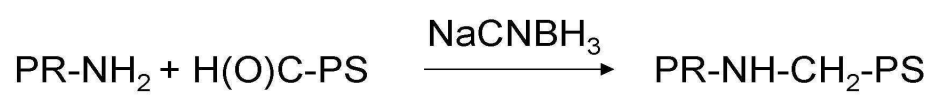
도면3



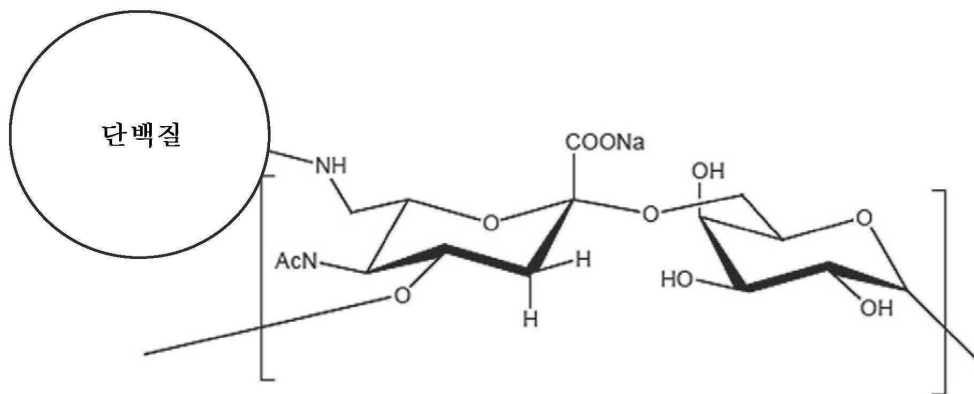
도면4a



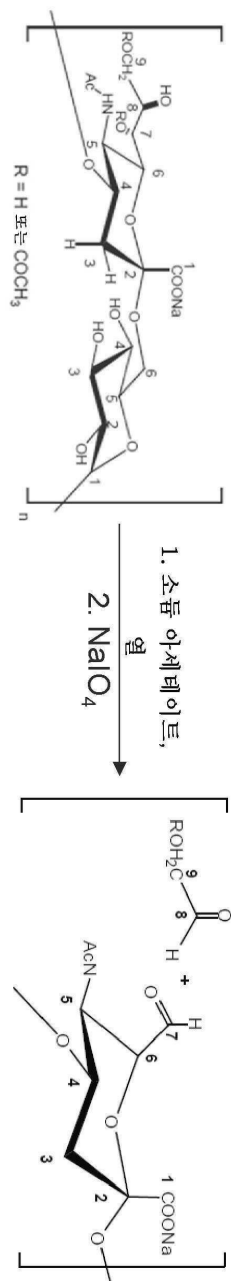
도면4b



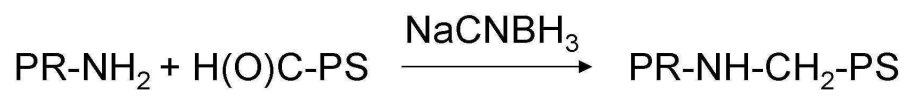
도면4c



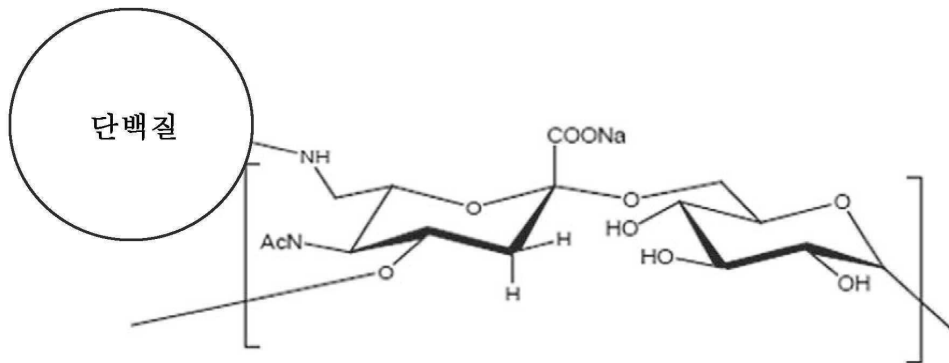
도면 5a



도면5b

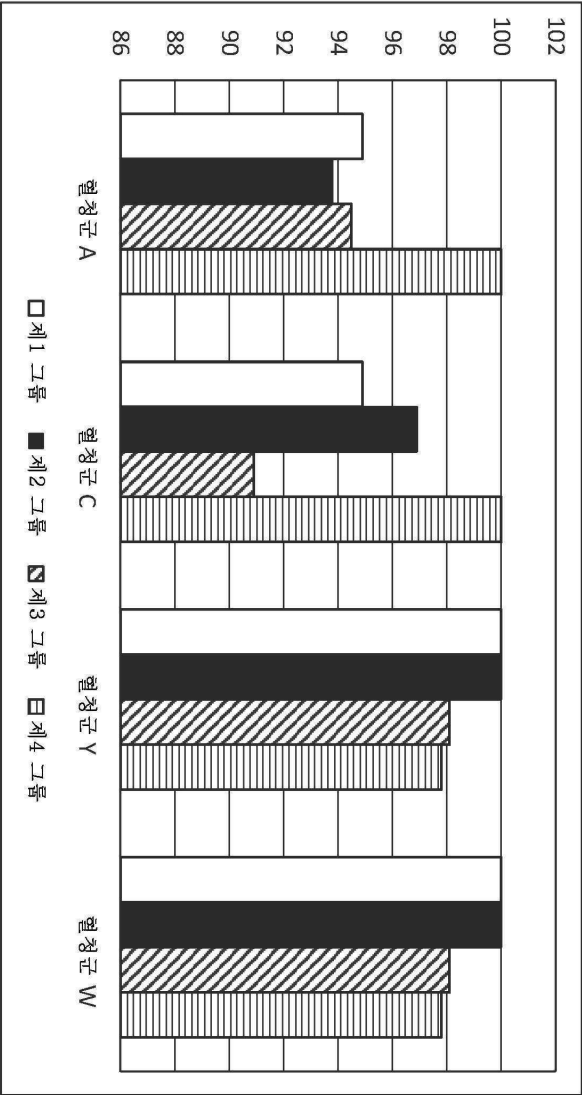


도면5c



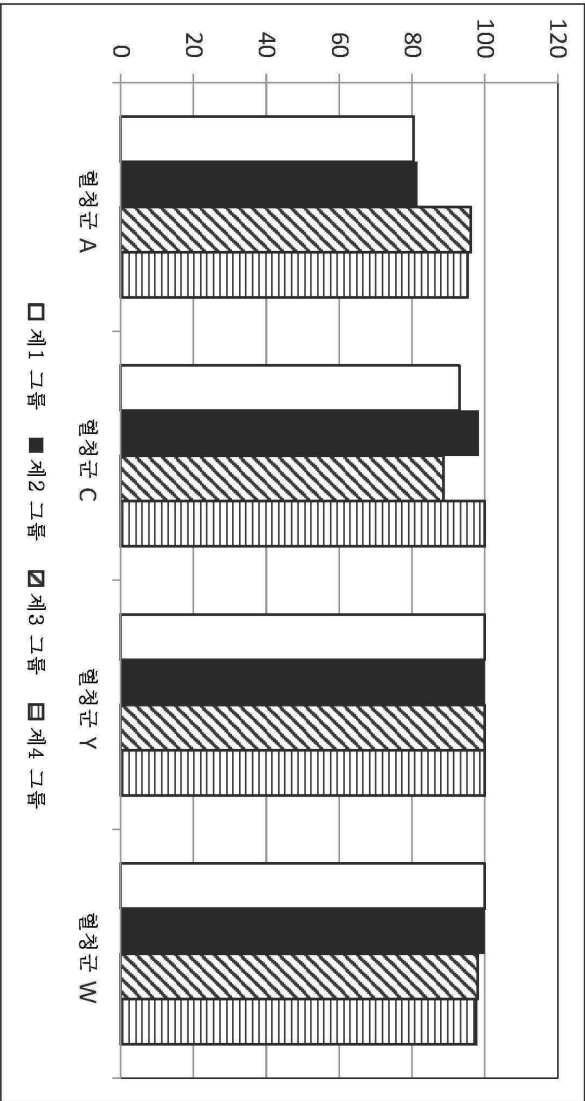
도면6

>= 1:8의 hSBA 역가를 갖는 대상체 %



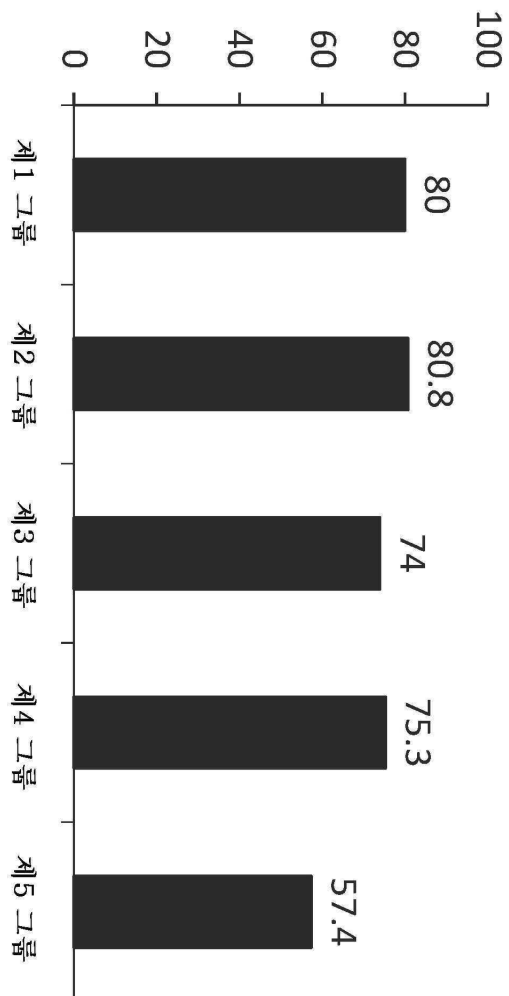
도면7

>= 1:8의 rSBA 역가를 갖는 대상체 %

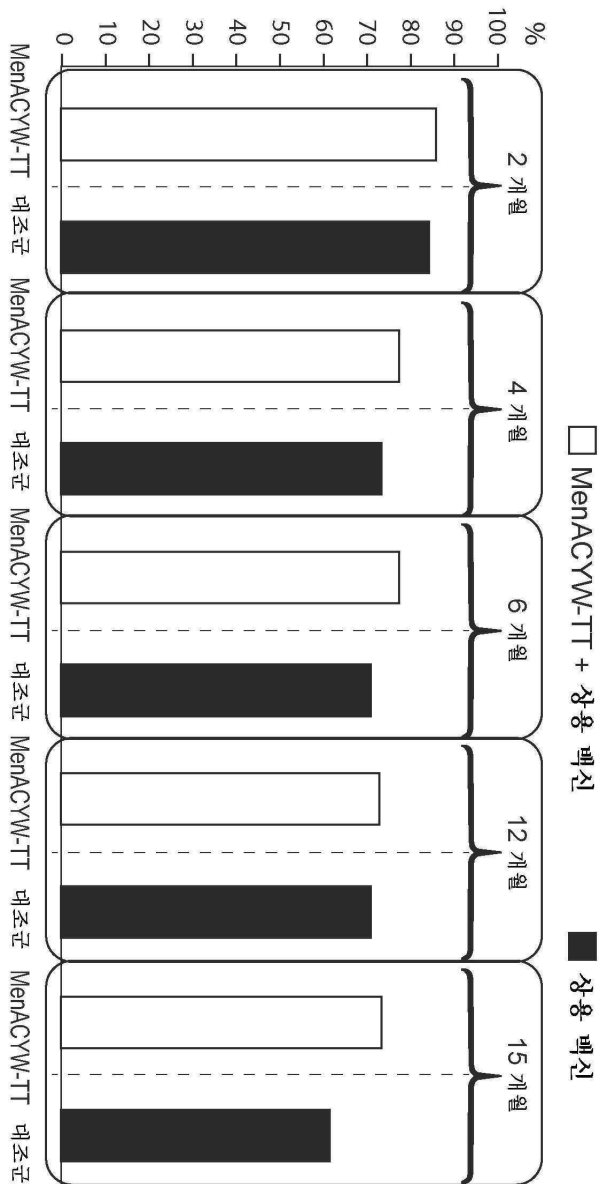


도면8

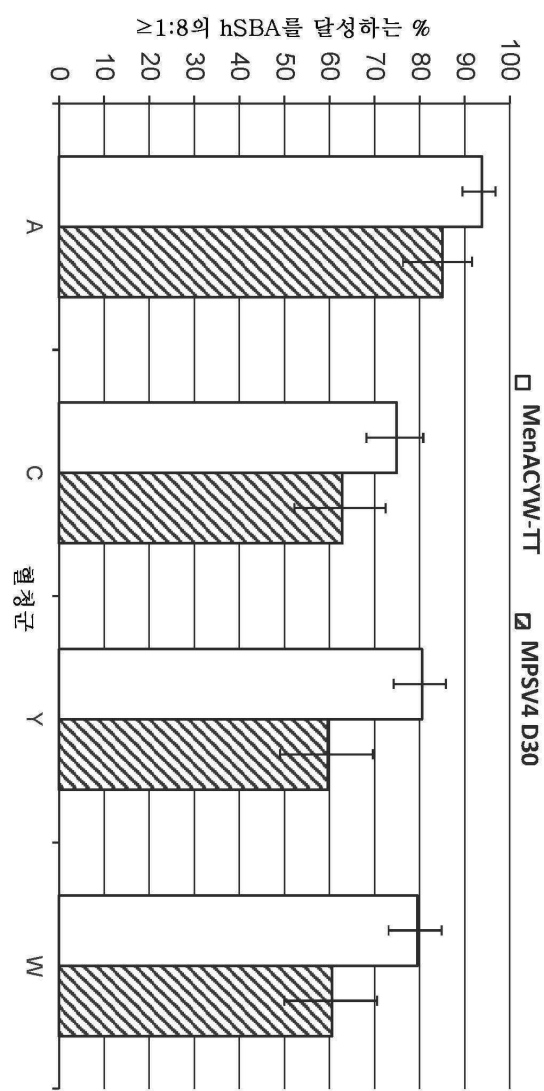
7일 이내에 ≥ 1 의 예측된 주사 부위 반응을
갖는 대상체의 %



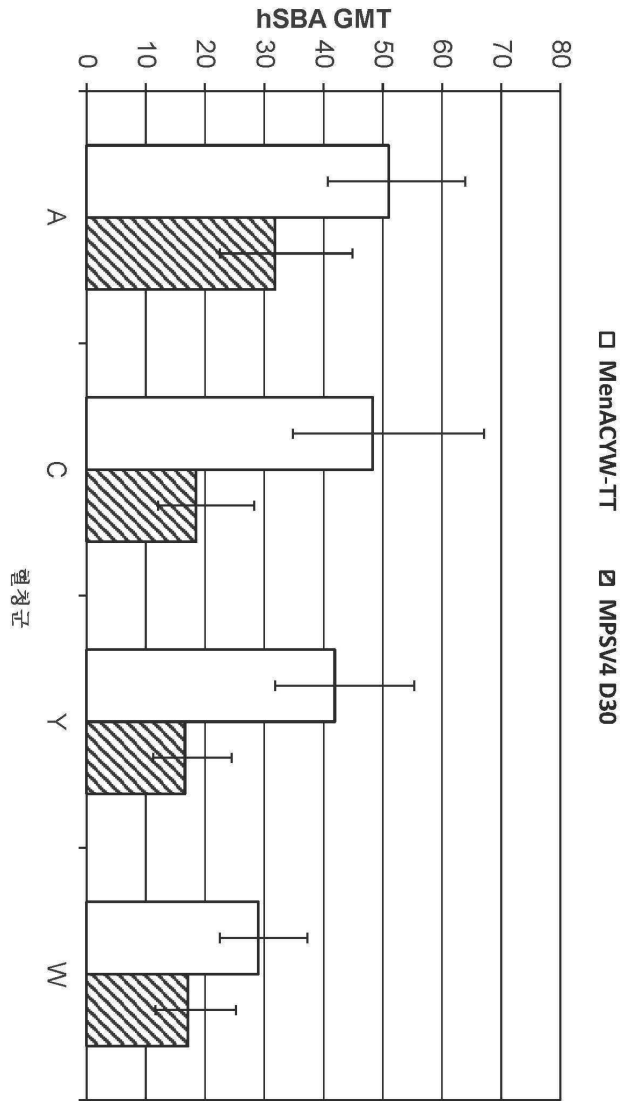
도면9



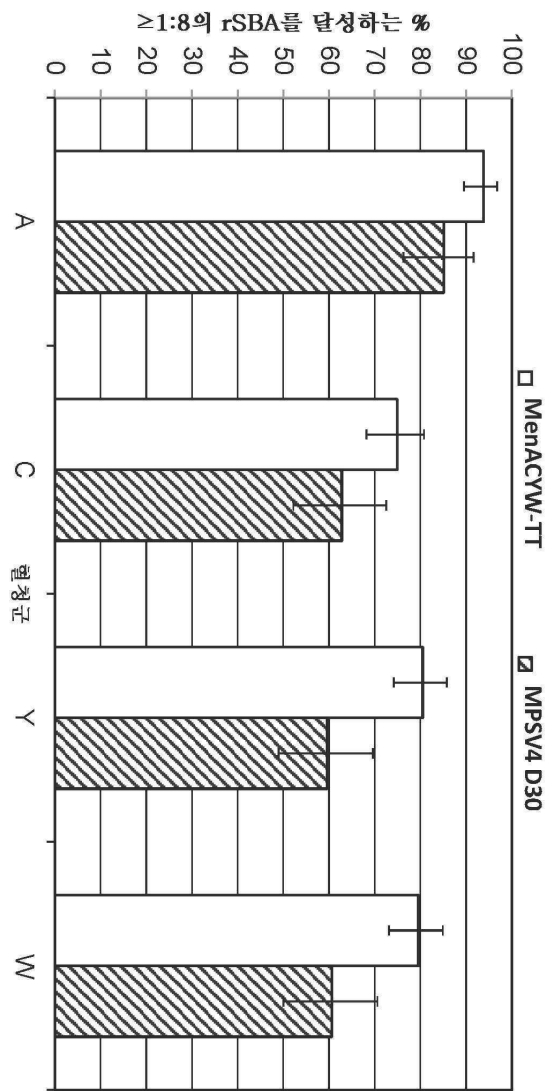
도면10



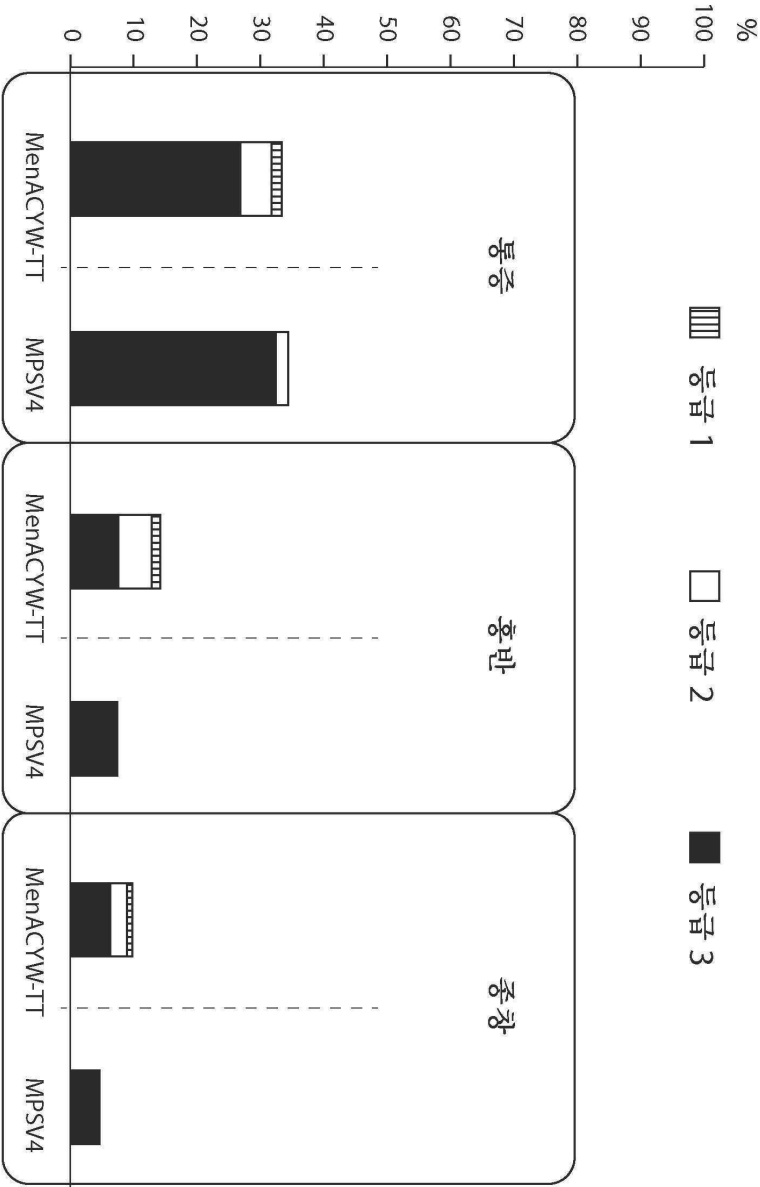
도면11



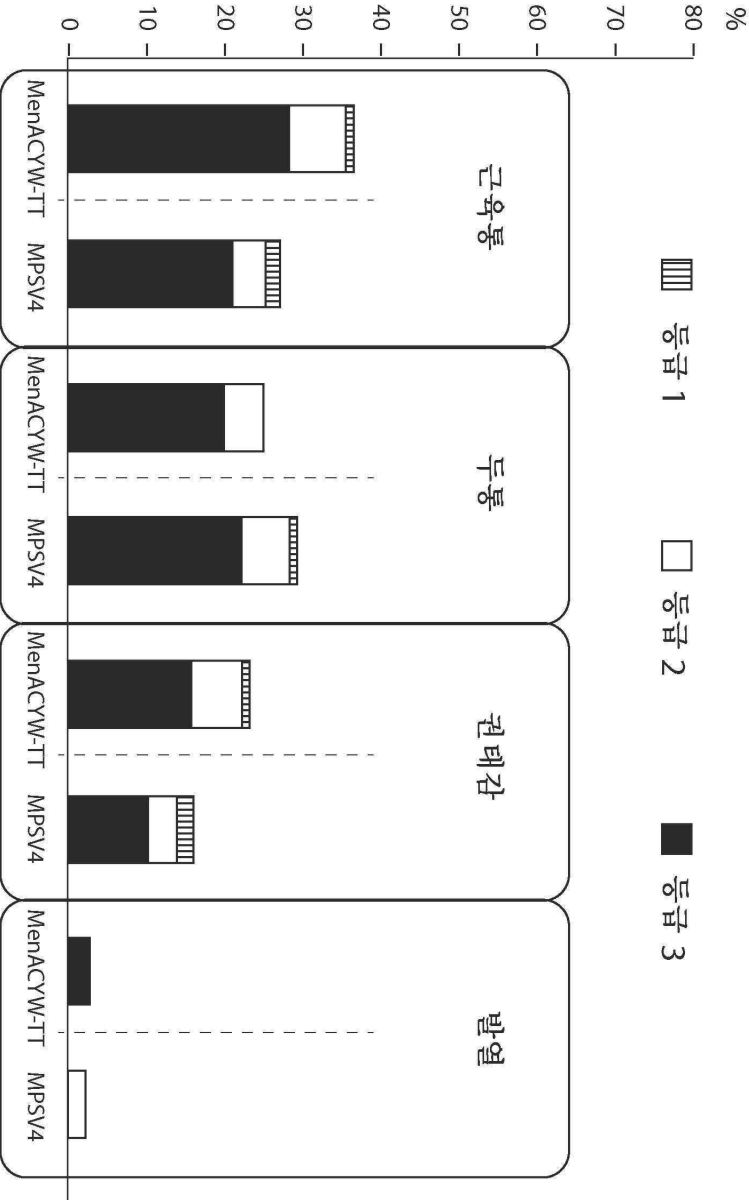
도면12



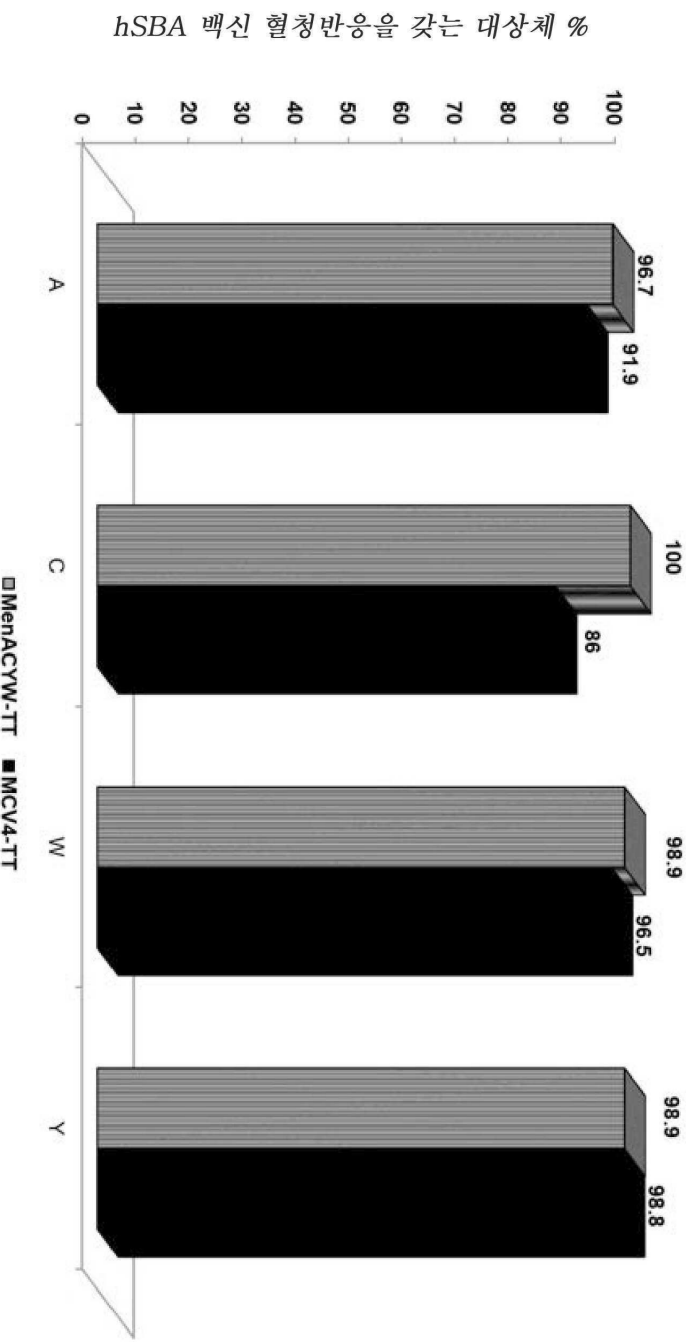
도면13



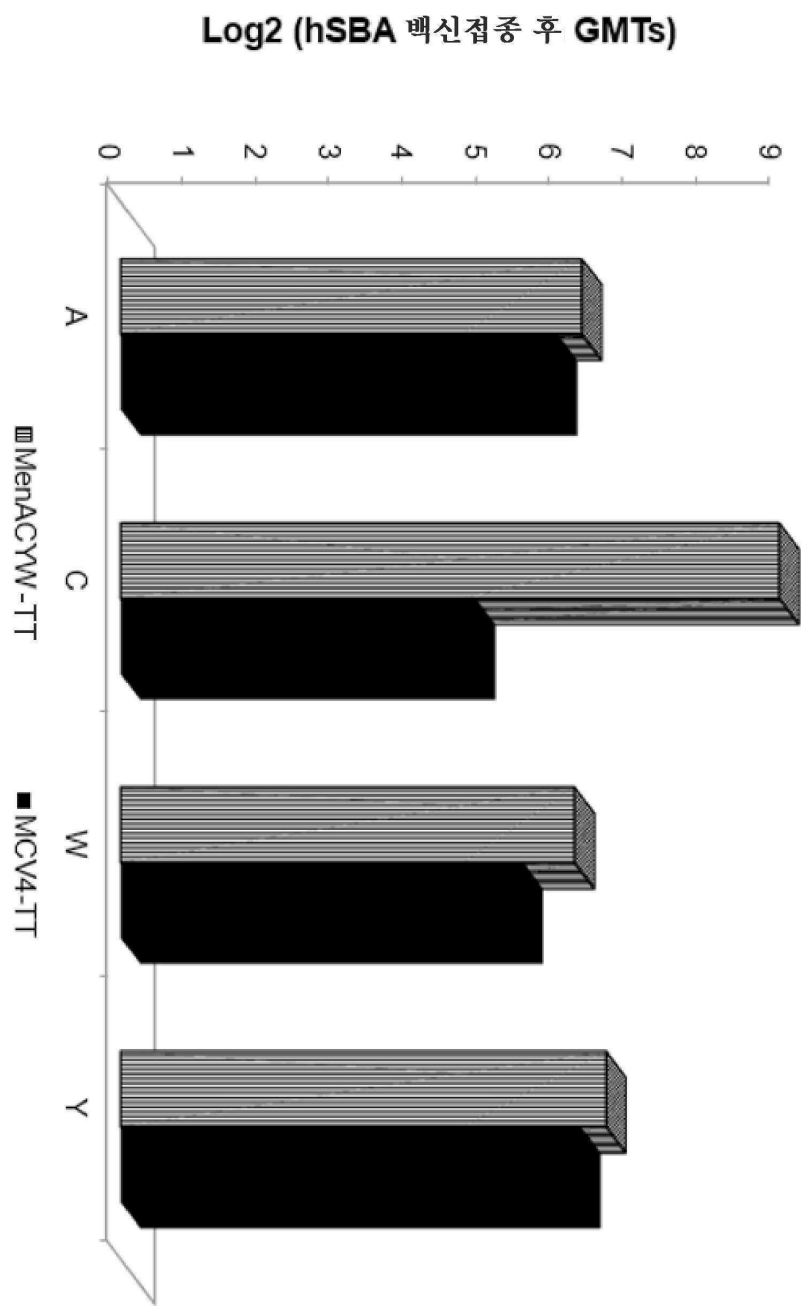
도면14



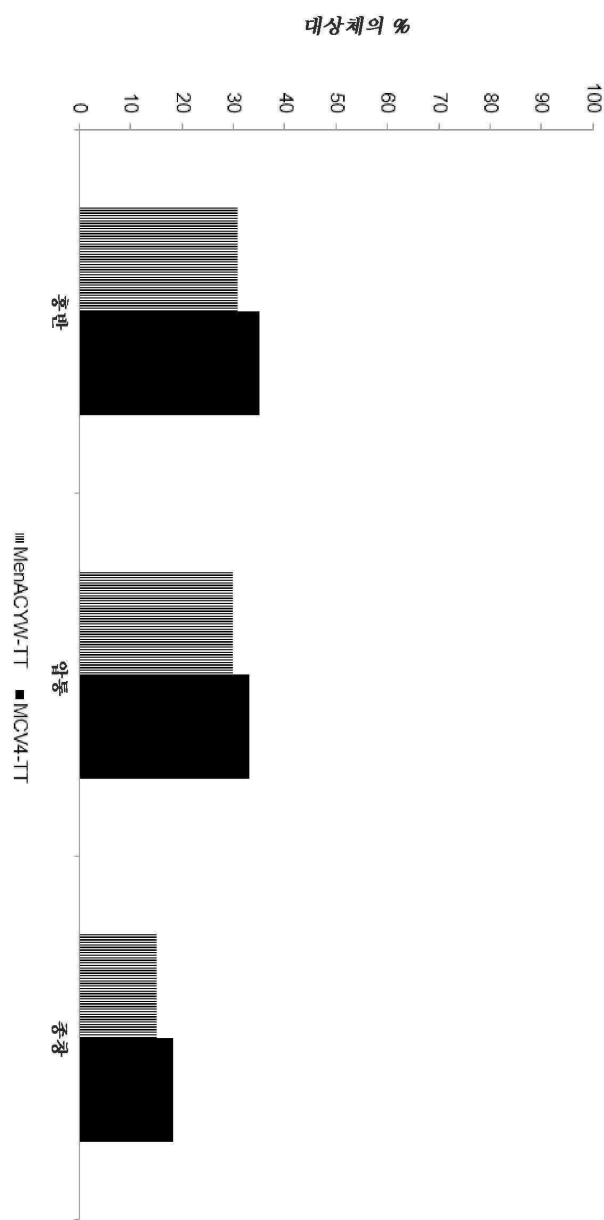
도면15



도면16



도면17



도면18

