



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101112619 B

(45) 授权公告日 2011. 05. 18

(21) 申请号 200610107411. 6

CN 1236321 A, 1999. 11. 24, 全文.

(22) 申请日 2002. 03. 28

US 6251401 B1, 2001. 01. 26, 全文.

(30) 优先权数据

CN 1228709 A, 1999. 09. 15, 全文.

0108364. 1 2001. 04. 03 GB

WO 97/35613, 1997. 10. 02, 全文.

Choo et al..Primary and Booster

(62) 分案原申请数据

Salivary Antibody Responses to a

02811091. 9 2002. 03. 28

7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine

(73) 专利权人 葛兰素史密丝克莱恩生物有限公
司

in Infants.The Journal of Infectious
Diseases182. 2000, 1821260-1263.

地址 比利时里克森萨特

审查员 刘树柏

(72) 发明人 D·布特里奥 C·卡皮奥

P·M·德斯蒙斯 D·勒穆瓦纳

J·普尔曼

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

代理人 梁谋

(51) Int. Cl.

A61K 39/295(2006. 01)

A61K 39/385(2006. 01)

A61P 31/04(2006. 01)

A61P 31/12(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 98/51339, 1998. 11. 19, 全文.

权利要求书 1 页 说明书 12 页

(54) 发明名称

疫苗组合物

(57) 摘要

本发明涉及新的高级 DTP 型联合疫苗制剂以及同时给予的联合疫苗药盒。还提供了这些疫苗和药盒的给药方法。

1. 一种多价免疫原性组合物,其用于保护宿主抵抗由流感嗜血菌和肺炎链球菌引起的疾病,所述组合物包含:

(a) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌荚膜多糖的缀合物,

(b) 超过 7 种的缀合物,所述缀合物为载体蛋白和肺炎链球菌荚膜多糖的缀合物,

其中所述肺炎链球菌荚膜多糖得自选自以下的血清型:1、3、4、5、6B、7F、9V、14、18C、19F 和 23F。

2. 权利要求 1 的免疫原性组合物,其包含载体蛋白和肺炎链球菌血清型 1、3、4、5、6B、7F、9V、14、18C、19F 和 23F 的荚膜多糖的缀合物。

3. 权利要求 1 或 2 的免疫原性组合物,其还含有佐剂。

4. 权利要求 1 或 2 的免疫原性组合物,其中所述 B 型流感嗜血菌荚膜多糖未吸附到铝盐佐剂上。

5. 权利要求 4 的免疫原性组合物,其中所述肺炎链球菌荚膜多糖吸附到铝盐佐剂上。

6. 权利要求 4 的免疫原性组合物,其中所述 B 型流感嗜血菌荚膜多糖和肺炎链球菌荚膜多糖都未吸附到铝盐佐剂上。

7. 权利要求 1 或 2 的免疫原性组合物,其中所用载体蛋白选自:破伤风类毒素、白喉类毒素、CRM197、重组白喉毒素、脑膜炎奈瑟氏球菌的 OMPC、肺炎链球菌的肺炎球菌溶血素和流感嗜血菌的 D 蛋白。

8. 权利要求 1 或 2 的免疫原性组合物,其中所述 B 型流感嗜血菌荚膜多糖和肺炎链球菌荚膜多糖并不缀合到同一种载体上。

9. 权利要求 8 的免疫原性组合物,其中所述 B 型流感嗜血菌荚膜多糖和肺炎链球菌荚膜多糖不是都缀合到 CRM197 上。

10. 权利要求 7 的免疫原性组合物,其中用于所述 B 型流感嗜血菌荚膜多糖的载体蛋白是破伤风类毒素。

11. 权利要求 7 的免疫原性组合物,其中用于全部所述肺炎链球菌荚膜多糖的载体蛋白都是 D 蛋白。

12. 权利要求 1-11 的免疫原性组合物在生产用于治疗或预防由流感嗜血菌和肺炎链球菌感染引起的疾病的药物中的应用。

13. 一种制备权利要求 1-11 的多价免疫原性组合物的方法,该方法包括将所述各种组分混合在一起的步骤。

疫苗组合物

[0001] 本发明是分案申请,原申请的申请日为2002年3月28日,申请号为02811091.9(PCT/EP02/03573),发明名称为“疫苗组合物”。

技术领域

[0002] 本发明涉及新的联合疫苗制剂。为使赋予抗多种病原体的保护所需的免疫接种次数最少、降低给药成本以及增加接受率和覆盖率,联合疫苗(提供抗多种病原体的保护)非常理想。有许多资料证实的抗原竞争(或干扰)现象使多组分疫苗的开发复杂化。抗原干扰是指观察到给予多种抗原经常导致针对某些抗原的应答相对于这些抗原单独给予时观测到的免疫应答减小。

[0003] 技术背景

[0004] 已知联合疫苗可预防百日咳博德特氏菌(*Bordetella pertussis*)、破伤风梭菌(*Clostridium tetani*)、白喉棒杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*)和可选预防乙型肝炎病毒和/或b型流感嗜血菌(*Haemophilus influenzae*)(参见例如W093/24148和W097/00697)。

发明内容

[0005] 本发明涉及生产迄今为止最具挑战性的多价疫苗,给予该疫苗可预防或治疗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒和脑膜炎奈瑟氏球菌(*N. meningitidis*)的感染,优选还预防或治疗流感嗜血菌、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、甲型肝炎病毒和/或脊髓灰质炎病毒的感染,其中所述疫苗的组分不明显干扰该疫苗中任一组分的免疫学功效。

[0006] 因此,在本发明的一方面,提供一种多价免疫原性组合物,用于给宿主提供保护作用以抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒和脑膜炎奈瑟氏球菌所引起的疾病,该多价免疫原性组合物包含:

[0007] (a) 或者灭活全细胞百日咳博德特氏菌(Pw),或者两种或多种非细胞百日咳组分(Pa)[优选后者],

[0008] (b) 破伤风类毒素(TT或T),

[0009] (c) 白喉类毒素(DT或D),

[0010] (d) 乙型肝炎表面抗原(HepB或HB),

[0011] (e) 灭活脊髓灰质炎病毒(IPV),和

[0012] (f) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的缀合物:Y型脑膜炎奈瑟氏球菌(MenY)和C型脑膜炎奈瑟氏球菌(MenC),以及

[0013] (g) 可选载体蛋白和B型流感嗜血菌(Hib)荚膜多糖的缀合物。

[0014] 以上的免疫原性组合物还可含有1、2、3、4、5或6种选自以下的组分:A型脑膜炎奈瑟氏球菌多糖[MenA](优选缀合型)、W型脑膜炎奈瑟氏球菌多糖[MenW](优选缀合型)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)Vi多糖、脑膜炎奈瑟氏球菌(优选B血清型)外膜小泡、

一种或多种脑膜炎奈瑟氏球菌（优选 B 血清型）外膜（表面暴露的）蛋白以及灭活、减毒甲型肝炎病毒（HepA- 优选称为“HavrixTM”[SmithKline Beecham Biologicals] 的制品），这些组分对组合物中的任一种抗原都不存在显著干扰问题。

[0015] 在本发明第二方面，提供各种各样的含有 2 种或 3 种多价免疫原性组合物的高级药盒，所述药盒能够保护宿主抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒和肺炎链球菌以及可选的脑膜炎奈瑟氏球菌和流感嗜血菌所引起的疾病。

[0016] 在本发明第二方面的第一个实施方案中，提供一种含 2 种多价免疫原性组合物的药盒，用于保护宿主抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒和肺炎链球菌以及可选的脑膜炎奈瑟氏球菌和流感嗜血菌所引起的疾病。

[0017] 所述药盒含有的第一个容器包含：

[0018] (a) 或者灭活全细胞百日咳博德特氏菌 (Pw)，或者两种或多种非细胞百日咳组分 (Pa) [优选后者]，

[0019] (b) 破伤风类毒素 (TT 或 T)，

[0020] (c) 白喉类毒素 (DT 或 D)，

[0021] (d) 乙型肝炎表面抗原 (HepB 或 HB)，和

[0022] (e) 灭活脊髓灰质炎病毒 (IPV)，

[0023] 所述药盒含有的第二个容器包含：

[0024] (2a) 载体蛋白和肺炎链球菌荚膜多糖的一种或多种缀合物，[其中所述荚膜多糖优选得自以下肺炎球菌血清型：1、2、3、4、5、6A、6B、7F、8、9N、9V、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、20、22F、23F 和 33F]。

[0025] 在本发明以上药盒的其它有利实施方案中，第一个容器还含有：(f) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的缀合物：Y 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenY) 和 C 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenC)，和 (g) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌 (Hib) 荚膜多糖的缀合物；或者第二个容器还含有：(2b) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的缀合物：Y 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenY) 和 C 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenC)，和 (2c) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌 (Hib) 荚膜多糖的缀合物；或者第一个容器还含有：(f) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的缀合物：Y 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenY) 和 C 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenC)，而第二个容器还含有 (2b) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌 (Hib) 荚膜多糖的缀合物；或者第一个容器还含有：(f) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌 (Hib) 荚膜多糖的缀合物，而第二个容器还含有：(2b) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的缀合物：Y 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenY) 和 C 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenC)。

[0026] 在本发明第二方面的第二个实施方案中，提供一种含 2 种多价免疫原性组合物的药盒，用于保护宿主抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒、脑膜炎奈瑟氏球菌和流感嗜血菌所引起的疾病。

[0027] 所述药盒含有的第一个容器包含：

[0028] (a) 或者灭活全细胞百日咳博德特氏菌 (Pw)，或者两种或多种非细胞百日咳组分 (Pa) [优选后者]，

[0029] (b) 破伤风类毒素 (TT 或 T)，

[0030] (c) 白喉类毒素 (DT 或 D),

[0031] (d) 乙型肝炎表面抗原 (HepB 或 HB), 和

[0032] (e) 灭活脊髓灰质炎病毒 (IPV),

[0033] 所述药盒含有的第二个容器包含:

[0034] (2a) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的缀合物:Y 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenY) 和 C 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenC), 和

[0035] (2b) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌 (Hib) 荚膜多糖的缀合物。

[0036] 在本发明第二方面的第三个实施方案中, 提供一种含 3 种多价免疫原性组合物的药盒, 用于保护宿主抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒和脑膜炎奈瑟氏球菌、流感嗜血菌和肺炎链球菌所引起的疾病。

[0037] 所述药盒含有的第一个容器包含:

[0038] (a) 或者灭活的全细胞百日咳博德特氏菌 (Pw), 或者两种或多种非细胞百日咳组分 (Pa) [优选后者],

[0039] (b) 破伤风类毒素 (TT 或 T),

[0040] (c) 白喉类毒素 (DT 或 D),

[0041] (d) 乙型肝炎表面抗原 (HepB 或 HB), 和

[0042] (e) 灭活脊髓灰质炎病毒 (IPV),

[0043] 所述药盒含有的第二个容器包含:

[0044] (2a) 载体蛋白和肺炎链球菌荚膜多糖的一种或多种缀合物, [其中所述荚膜多糖优选得自以下肺炎球菌血清型: 1、2、3、4、5、6A、6B、7F、8、9N、9V、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、20、22F、23F 和 33F],

[0045] 所述药盒含有的第三个容器包含:

[0046] (3a) 载体蛋白和选自以下细菌的荚膜多糖的任一种或二者的 缀合物:Y 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenY) 和 C 型脑膜炎奈瑟氏球菌 (MenC), 和

[0047] (3b) 载体蛋白和 B 型流感嗜血菌 (Hib) 荚膜多糖的缀合物。

[0048] 以上本发明药盒的任一种容器或上述容器还可含有 1、2、3、4、5、6 或 7 种选自以下的组分: A 型脑膜炎奈瑟氏球菌多糖 [MenA] (优选缀合型)、W 型脑膜炎奈瑟氏球菌多糖 [MenW] (优选缀合型)、伤寒沙门氏菌 Vi 多糖、脑膜炎奈瑟氏球菌 (优选 B 血清型) 外膜小泡、一种或多种脑膜炎奈瑟氏球菌 (优选 B 血清型) 外膜 (表面暴露的) 蛋白、HepA (如上所述) 和一种或多种肺炎链球菌蛋白 (优选表面暴露的), 这些组分对组合物中的任一种抗原都不存在显著干扰问题。

[0049] 所述药盒的容器可单独包装, 或者优选一起包装。所述药盒最好在两个或两个以上容器中提供一张疫苗给药说明书。

[0050] 其中, 药盒中的一个容器包含某一多糖缀合物, 优选药盒中的其它容器没有相同缀合物。

[0051] 本发明人惊奇地发现, 以上述方式提供的药盒有利地以最佳方式将各种抗原呈递给宿主免疫系统。所述药盒给执业医师提供最佳的宿主免疫接种方法, 该方法具有以下一种或多种优势 (优选 2 种或 3 种, 最优选全部): 全部抗原的保护效力、最小的反应原性、最小的载体抑制干扰、最小的佐剂 / 抗原干扰或最小的抗原 / 抗原干扰。按此方法以最少次

数(2次)给予可实现这些目标,优选就医时同时给予。

[0052] 尽管在优选实施方案中第一个和第二个容器(适用时的第三个容器)的疫苗在不同部位(如下所述)同时给予,但在一个选择性实施方案中,本发明人设想可将第一个和第二个容器的内含物混合(优选临用前混合),然后作为单剂疫苗给予。

具体实施方式

[0053] 本发明的抗原

[0054] 破伤风类毒素(TT)的制备方法是本领域公知的。例如,优选通过从破伤风梭菌培养物纯化毒素然后化学解毒生产TT,但可选地通过纯化所述毒素的重组或基因工程解毒类似物(如EP 209281所述)制备。“破伤风类毒素”也包括全长蛋白的免疫原性片段(例如片段C-参见EP 478602)。

[0055] 白喉类毒素(DT)的制备方法也是本领域公知的。例如,优选通过从白喉棒杆菌培养物纯化毒素然后化学解毒生产DT,但可选地通过纯化所述毒素的重组或基因工程解毒类似物(例如CRM197,或US 4,709,017、US 5,843,711、US 5,601,827和US 5,917,017所述的其它突变体)制备。

[0056] 非细胞百日咳组分(Pa)是本领域公知的。实例包括百日咳类毒素(PT)、丝状血细胞凝集素(FHA)、pertactin(PRN)和凝集原2和3。这些抗原部分纯化或高度纯化。优选在疫苗中使用2种或多种非细胞百日咳组分。更优选在疫苗中掺入以上示例非细胞百日咳组分中的2、3、4种或全部5种。最优选包括PT、FHA和PRN。PT可通过多种方式生产,例如通过从百日咳博德特氏菌培养物纯化毒素然后化学解毒制备,或者通过纯化PT的基因工程解毒类似物(例如US5,085,862所述)制备。

[0057] WO 93/24148公开了适于本发明的灭活全细胞百日咳博德特氏菌(Pw)制备方法,也公开了适于生产DT-TT-Pw-HepB和DT-TT-Pa-HepB疫苗的配制方法。

[0058] 灭活脊髓灰质炎病毒(IPV)优选包含疫苗领域视为标准的1、2和3型。最优选的是Salk脊髓灰质炎疫苗。

[0059] 通常,本发明的肺炎链球菌疫苗包含多糖抗原(优选缀合型),其中所述多糖得自选自以下的至少4种肺炎球菌血清型:1、2、3、4、5、6A、6B、7F、8、9N、9V、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、20、22F、23F和33F。4种血清型优选包括6B、14、19F和23F。更优选在组合物中包括至少7种血清型,例如得自血清型4、6B、9V、14、18C、19F和23F。更优选在组合物中还包括超过7种的血清型,例如至少11种血清型。例如,一个实施方案中的组合物包括11种得自血清型1、3、4、5、6B、7F、9V、14、18C、19F和23F的荚膜多糖(优选缀合型)。尽管本发明还考虑了其它的多糖抗原,例如23价抗原(例如血清型1、2、3、4、5、6B、7F、8、9N、9V、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、20、22F、23F和33F),但在本发明的优选实施方案中,包括至少13种多糖抗原(优选缀合型)。

[0060] 对于老年人接种疫苗(例如为了预防肺炎),上述的优选11价抗原组合物中包括血清型8和12F(最优选还有15和22)形成13/15价疫苗是有利的,而对于婴儿和学步幼儿(更关注中耳炎),包含血清型6A和19A形成13价疫苗有利。

[0061] 缀合物

[0062] 细菌荚膜多糖缀合物可包含任何含至少一种T辅助表位的载体肽、多肽或蛋

白。使用的载体蛋白优选选自：破伤风类毒素、白喉类毒素、CRM197、重组白喉毒素（如 US 4,709,017、WO 93/25210、WO 95/33481 或 WO 00/48638 任一个所述）、肺炎链球菌的肺炎球菌溶血素（优选化学解毒的或解毒突变体）、脑膜炎奈瑟氏球菌 OMPC 和流感嗜血菌 D 蛋白（EP 594610）。由于已知的载体抑制作用，如果在本发明的每种组合中将其中所包含的多糖抗原（“n”抗原）与不止一种载体缀合是有利的。因此，可在一种载体上（独立地）携带（n-1）种多糖，而在不同的载体上携带 1 种多糖，或在一种载体上携带（n-2）种多糖，而在两种不同的载体上携带 2 种多糖，依此类推。例如，在含 4 种细菌多糖缀合物的疫苗中，1 种、2 种或全部 4 种缀合物都可以缀合至不同的载体。然而，D 蛋白在本发明的组合中用作载体有利，因为 D 蛋白可用于组合中的各种（2、3、4 或更多种）多糖而没有显著的载体抑制作用。最优选是以 Hib 作为 TT 缀合物，肺炎球菌多糖作为 D 蛋白、DT 或 CRM197 缀合物，而 MenA、MenC、MenY 和 MenW 作为 TT 或 PD 的缀合物。D 蛋白还是一种有用的载体，因为它还提供了另一种可提供抗流感嗜血菌保护的抗原。

[0063] 可采用任何已知的方法（例如 Likhite 的美国专利 4,372,945 和 Armor 等的美国专利 4,474,757），将所述多糖与所述载体蛋白连接。优选的是进行 CDAP 缀合（W095/08348）。

[0064] 在 CDAP 中，优选的是使用氰化剂四氟硼酸 1-氰基-二甲基氨基吡啶鎓（CDAP）来合成多糖-蛋白缀合物。氰化反应可在相对温和的条件下进行，这避免了碱敏感性多糖的水解。该合成方法允许直接与载体蛋白偶联。

[0065] 本发明免疫原性组合物的特性

[0066] 本发明免疫原性组合物优选配制为疫苗，以下述方式体内给予宿主：所述组合物的各种组分经配制使各种组分的免疫原性基本不被组合物中的其它各种组分所削弱。所述基本不被削弱是指在免疫接种时，所获得的针对每种组分的抗体效价（例如 IgG）超过该抗原单独给予时所获得效价的 60%，优选超过 70%，更优选超过 80%，再更优选超过 90%，最优选超过 95-100%。

[0067] 令人感兴趣的是，对于上述的药盒组合，在免疫接种时所获得的抗 Hib 荚膜多糖或某些肺炎球菌多糖的抗体效价有可能接近或超过该抗原单独给予时所获得效价的 100%。

[0068] 疫苗制剂

[0069] 本发明免疫原性组合物优选配制为体内给予宿主的疫苗，使得它们提供的抗体效价优于每种抗原组分在可接受百分比的人类受治疗者中的血清保护标准。这在整个群体的疫苗功效评价中是一个重要的试验。高于所述抗原血清转化型宿主的相关抗体效价是众所周知的，这种效价由 WHO 之类的组织公布。统计学显著的受治疗者样品优选超过 80% 血清转化型，更优选超过 90%，再更优选超过 93%，最优选为 96-100%。

[0070] 本发明的免疫原性组合物优选加有佐剂。合适的佐剂包括铝盐，例如氢氧化铝凝胶（alum）或磷酸铝，但也可以是钙盐、铁盐或锌盐，或者可以是酰化酪氨酸或酰化糖、阳离子或阴离子衍生化多糖或聚磷腈的不溶性悬浮液。

[0071] 还可以选择为 TH1 型应答优先诱导物的佐剂，从而有助于免疫应答的细胞介导分支。

[0072] 高水平的 Th1 型细胞因子往往利于诱导出对给定抗原的细胞介导的免疫应答，而

高水平的 Th2 型细胞因子往往利于诱导出对所述抗原的体液免疫应答。

[0073] 促进主要为 Th1 应答的合适佐剂系统包括：单磷酸脂质 A 或其衍生物，特别是 3-脱-O-酰化单磷酸脂质 A，以及单磷酸脂质 A（优选 3-脱-O-酰化单磷酸脂质 A (3D-MPL)）和铝盐的组合。一种增强系统包括单磷酸脂质 A 和皂苷衍生物的组合，特别是 W094/00153 公开的 QS21 和 3D-MPL 的组合，或者如 W096/33739 公开的用胆固醇将 QS21 猝灭从而反应原性较弱的一种组合物。W095/17210 描述了一种特别有效的佐剂制剂，其在水包油乳剂中含有 QS21、3D-MPL 和生育酚。疫苗可还含有皂苷，更优选 QS21。制剂还可含有水包油乳剂和生育酚 (W095/17210)。包含寡核苷酸的未甲基化 CpG (W096/02555) 也是 TH1 应答的优先诱导物，适合应用于本发明。

[0074] 在上述免疫原性组合物中铝盐是优选的佐剂。具体地说，HepB 优选应当吸附到磷酸铝上，然后和其它组分混合。Pertactin 优选吸附到氢氧化铝上，然后和其它组分混合。为了使本发明组合物中的佐剂（特别是铝盐）水平最小化，多糖缀合物可以不进行佐剂化。

[0075] 本发明还提供一种生产疫苗制剂的方法，该方法包括将疫苗组分和药学上可接受的赋形剂混合在一起的步骤。

[0076] 特别优选的本发明 DTPa 组合物（单独使用或者作为上述药盒之一的第一个容器的内含物）包含：TT、DT、Pa（优选包含 PT、FHA 和 PRN-PRN 优选吸附到氢氧化铝上）、HepB（优选吸附到磷酸铝上）、IPV、MenC（优选缀合 D 蛋白、TT、DT 或 CRM197）以及可选的 MenY（优选缀合 D 蛋白、TT、DT 或 CRM197）。所述组合物还可以可选地含有 Hib（优选缀合 TT 和 / 或未吸附佐剂）。所述疫苗优选以 2 小瓶提供，第一瓶含液体形式的 DTPa-IPV-HepB，而第二瓶含冻干形式的 MenC（以及可选的 MenY 和 / 或 Hib），最好有蔗糖、乳糖或海藻糖之类的抗结块剂。所述小瓶内容物可在临使用前混合在一个容器中，然后以一次给药 / 注射给予宿主。该组合物也可以用于上述药盒（第一个容器的内含物）。

[0077] 因包含 Hib（优选缀合 TT 和 / 或未吸附佐剂）和 / 或 MenC 和 MenY（优选缀合 D 蛋白、TT、DT 或 CRM197 和 / 或未吸附佐剂）的任一种或二者的容器的药盒起见，该组合物优选以冻干形式储存，最好有蔗糖、乳糖或海藻糖之类的抗结块剂。

[0078] 因含本发明 DTPa 组合物（单独使用或作为上述药盒之一的第一个容器的内含物）的容器包含 DTPa 和 Hib 和 / 或 MenC 和 MenY 的任一种或二者（其中 Hib 和 / 或 Men 组分缀合 TT）起见，优选平衡疫苗中的 TT 含量，使得单个容器中的总 TT 含量不超过临界阈值（例如 40、45、50、60、70 或 80 μ g TT），以降低、最小化或防止 TT 缀合多糖的 TT 免疫干扰或载体抑制。该阈值优选为 50 μ g。本发明人发现上述缀合物中的多糖：TT 比率可降低至 1 : 0.5-1.5（重量）（优选 1 : 0.6-1.2，最优选大约 1 : 1），在此范围有益。例如在 DTPa-HB-IPV-Hib(TT)-MenC(TT) 疫苗中，DTPa 中 T 的量优选应当降至通常的标准量以下（优选约常规量的 1/4 至 3/4，最优选约常规量的 1/2），例如降低至 10-30 μ g TT，优选 20-25 μ g TT。例如，如果缀合 Hib 的 TT 量大约为 12 μ g TT，而缀合 MenC 的 TT 量大约为 5 μ g TT，未缀合 TT 的量为 24 μ g，则总 TT 量约为 41 μ g。

[0079] 特别优选的 Hib/肺炎球菌多糖组合物（单独使用或作为上述药盒之一的第二个容器的内含物）包含：Hib（优选缀合 TT 和 / 或未吸附佐剂）和多种（例如超过 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 种）肺炎球菌多糖缀合物（例如以上“本发明的肺炎链球菌疫苗”一段所述的那些组合物）。最优选包括 11 种多糖（得自血清型 1、3、4、5、6B、7F、9V、14、18C、

19F 和 23F)。肺炎球菌多糖优选缀合至 PD、DT、CRM197 或 TT。在一个优选实施方案中,Hib 多糖抗原未吸附到佐剂上,具体地说是铝盐上。尽管肺炎球菌多糖抗原可进行佐剂化(优选吸附到磷酸铝上),但它们也没有吸附到佐剂上,具体地说是铝盐上。在一个具体的实施方案中,组合物中不存在铝盐佐剂。本发明组合物可以包括其它抗原(例如脑膜炎奈瑟氏球菌 C 型荚膜多糖缀合物[优选缀合到 D 蛋白、TT、DT 或 CRM197 上和 / 或未吸附佐剂]),但在一个选择性实施方案中,Hib 和肺炎球菌多糖缀合物是组合物中仅存的抗原。在以上制剂的其它具体实施方案中,Hib 和肺炎球菌多糖未缀合至同一载体(具体地说该载体是 CRM197)。

[0080] 所述疫苗可以以 1 个容器(内容物或者为液体形式或者为冻干形式)或 2 个小瓶提供,第一瓶含 Hib(优选冻干的),第二瓶含肺炎球菌抗原(优选液体形式)。冻干组合物最好有蔗糖、乳糖或海藻糖之类的抗结块剂。所述小瓶的内容物可在临使用前混合在一个容器中,然后以一次给药 / 注射给予宿主。对于这样的制剂,在免疫接种时所获得的抗 Hib 荚膜多糖的抗体效价有可能接近或最常见是超过该抗原单独给予时所获得效价的 100%。在优选的实施方案中,组合物中的肺炎球菌多糖缀合物与其单独给予相比没有出现(明显的)有害作用(就保护性功效而论)。这可根据测量最后初次剂量(初次剂量通常为出生后第一年中给予 3 次免疫接种)后 1 个月抗多糖抗体的初次后几何平均浓度(GMC)评价。本发明疫苗的 GMC($\mu\text{g/ml}$)优选应当超过未缀合 Hib 的肺炎球菌多糖给予时的 GMC 的 55%(更优选超过 60%、70%、80%或 90%)。另一个无有害作用发生的指标是在给予免疫接种后 1 个月对比本发明疫苗和未缀合 Hib 的疫苗时,抗体浓度不低于 $0.5\mu\text{g/ml}$ 的受治疗者百分比差异不超过 10%(优选低于 9%、7%、5%、3%或 1%)。

[0081] 尽管上文提到了 Hib、肺炎球菌和脑膜炎球菌“多糖”,但设想本发明可延伸至疫苗领域众所周知的 Hib 和肺炎球菌“分级多糖”和“寡糖”(多糖大小减小至易处理的程度,仍能够诱导宿主的保护性免疫应答)(参见例如 EP497525)。有利的是,MenY 可与天然多糖分子量 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 或 0.9 倍的寡糖作为寡糖缀合物存在。

[0082] 在本发明再一方面,提供一种如本文所述用于药物的免疫原性组合物或疫苗。

[0083] 在本发明再一方面,提供本发明免疫原性组合物在药物生产中的用途,所述药物用于治疗或预防由百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒和脑膜炎奈瑟氏球菌(和可选流感嗜血菌)感染所引起的疾病。而且,还提供本发明免疫原性组合物在疫苗药盒生产中的用途,所述疫苗药盒用于治疗或预防由百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒、流感嗜血菌、肺炎链球菌和脑膜炎奈瑟氏球菌感染所引起的疾病。

[0084] 另外,还提供免疫人类宿主抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒和脑膜炎奈瑟氏球菌(和可选流感嗜血菌)所致疾病的方法,该方法包括给予所述宿主免疫保护剂量的本发明免疫原性组合物。

[0085] 本发明再一方面涉及用上述本发明药盒免疫人类宿主抵抗百日咳博德特氏菌、破伤风梭菌、白喉棒杆菌、乙型肝炎病毒和脊髓灰质炎病毒以及一种或多种流感嗜血菌、肺炎链球菌和脑膜炎奈瑟氏球菌所致疾病的方法,该方法包括如下所述的同时给药方案。

[0086] 同时给药方案

[0087] 该方案包括以下步骤:给予宿主免疫保护剂量的药盒(例如本发明的一种药盒)

第一个容器的免疫原性组合物,给予部位与给予该药盒第二个(或第三个)容器的免疫原性组合物的部位不同,这些部位由不同的淋巴结引流。所述不同部位优选为不同肢体。疫苗给予优选为互相之间在 24 小时之内,更优选为同一天,最优选为宿主就医时同时给予。优选宿主随后用两种(或全部)疫苗以相同的方式再 1 次或多次(优选 2 次)免疫接种,每次间隔 2-12 周(优选大约 1 个月)。经常在第二次给予后的 2 周和 7 个月之间可以给予第三次免疫接种。例如,可按照正常的 DTP 疫苗给药方案如上给予疫苗(例如三次接种体系,每次接种相隔 1 个月,如 3、4 和 5 月龄方案;或 3、5 和 11 月龄方案;或 3、5 和 12 月龄方案)。这样的给药方案使针对药盒的两个(或全部)容器中的抗原的免疫应答最佳。

[0088] 可以相同的方式由出生后第二年至成年的任何时候给予疫苗加强。尽管接种优选通过肌肉途径进行,但可选地在粘膜佐剂(优选大肠杆菌的 laureth9 或热不稳定毒素 [LT] 及其突变体或片段)存在下由粘膜进行加强可能有利,(例如鼻内给予疫苗易于给药,特别是当宿主胃肠外接种时可非常好地起作用),疫苗的给药部位不需要引流至不同的淋巴结。

[0089] 还设想了容器中本发明免疫原性组合物在用于同时给药的本发明疫苗药盒生产方法中的用途。

[0090] 在两个或两个以上容器中包含 TT 的药盒

[0091] 本发明另一方面涉及用于同时给药(如上定义)的疫苗药盒,其中两个或两个以上容器的 TT 含量平衡至有利于减少、最小化或预防 TT 缀合多糖的 TT 免疫干扰或载体抑制。TT 是一种特别好的载体,但是已知它如果在疫苗组合物中过量使用,特别是如果还存在游离的 TT,那么它具有限制作用。如果过量使用,所有缀合 TT 的抗原都表现出抗体效价下降。因此,本领域存在一个在大联合疫苗的许多不同领域(例如作为游离抗原或作为许多多糖抗原的载体)中如何使用 TT 而没有以上缺点的问题。本发明人发现了解决该问题的最佳方法;通过使用药盒同时给药方案(如上定义),可给予第一个容器含有的 TT 量不超过发生免疫干扰或载体抑制的临界阈值的疫苗和第二个容器(以及任选的第三个容器)含有的 TT 量不超过发生免疫干扰或载体抑制的临界阈值的疫苗,使得同时给予的总 TT 量高于该临界阈值,免疫干扰(或载体抑制)减到最小(即低于如果该组分以一次注射给予),优选根本不发生。临界阈值可为 40、45、50、60、70 或 80 μg TT,优选约 50 μg TT。因此,可给予的最大总 TT 最高约为药盒容器数(2 或 3)乘以临界阈值所获得的量。

[0092] 因此,本发明提供一种用于同时给予的含 2(或 3)个容器的药盒,所述容器含有 2(或 3)种免疫原性组合物,每种组合物含有游离和/或缀合形式的 TT,其中每个容器的 TT 量不超过临界阈值,以预防或最小化 TT 免疫干扰(或载体抑制)作用,但所有容器中的总 TT 超过所述临界阈值。

[0093] 优选至少一个容器应当含有游离(非缀合型)TT,最优选应当包含在 DTPa 或 DTPw 多价疫苗中。尽管存在的游离 TT 量可在大约 42 μg 的正常水平左右,但本发明的另一优势使存在量降低(10-30 或 10-20 μg ,例如 10、15、20、25 或 30 μg),但仍可激发最佳的抗 TT 抗体效价,而免疫干扰或载体抑制作用减至最小(或没有)。

[0094] 优选至少 1 个(但可能是 2 或 3 个)容器应当包括至少 1(但可能是 2、3、4、5、6、7 或更多)种 TT 缀合多糖。当游离 TT 存在于 1 个容器中时,优选在药盒的一个其它容器中应当有至少一种 TT 缀合多糖。所述多糖可以为本申请所述的任何一种,优选为一种或多种肺炎球菌多糖(如上所述)或 MenC、MenY 或 Hib。

[0095] 所述药盒优选为如上所述的任一种本发明药盒。

[0096] 药盒中存在的 1、2、3 或全部多糖-TT 缀合物优选使多糖:TT 比率降低(与标准缀合物相比)至 1:0.5-1.5(重量)(优选 1:0.6-1.2,最优选大约 1:1),使得所述缀合物仍有免疫学功能,但容易将 TT 免疫干扰或载体抑制作用减至最小或杜绝。

[0097] 还提供使用上述药盒免疫人类宿主的方法,该方法包括在第一个部位给予宿主免疫保护剂量的第一个容器的免疫原性组合物,在第二个部位给予宿主免疫保护剂量的第二个容器的免疫原性组合物(以及任选在第三个部位给予宿主免疫保护剂量的第三个容器的免疫原性组合物),其中所述第一和第二(和第三)个部位通过不同的淋巴结引流。

[0098] 同时给药应当如上所述进行。第一和第二(和第三)个部位优选为宿主的不同肢体。第一和第二(和第三)个容器的免疫原性组合物优选在同一天给予。优选随后以相同的方式再 1 次或多次免疫接种宿主,每次间隔 2-12 周,更优选再免疫接种 2 次,每次间隔大约 1-2 个月的周期。

[0099] 在两个或两个以上容器含 DT 或 CRM197 的药盒

[0100] 本发明的再一方面涉及同时给予(如上定义)的疫苗药盒,其中两个或两个以上容器的 DT 含量(包括 DT 和任一免疫学等同突变体,如 CRM197)平衡至有利于增强 DT(或 CRM197)缀合多糖的抗体效价,而反应原性减至最小(即反应原性比容器中的组分单次注射给予低)。DT 和 CRM197 是非常好的载体,但是已知 DT 很大程度上促成了包含其的疫苗的反应原性。本发明人发现通过使用药盒同时给药方案(如上定义),第一个容器中含高量(40-150 μ g,优选 60-120 μ g,更优选 70-100 μ g,最优选大约 95 μ g)存在的 DT(和/或 CRM197)的疫苗有利,其中第二个容器(和任选的第三个容器)中含 DT-或 CRM197-缀合多糖的疫苗同时给予。

[0101] 本发明的优势在于:a) 尽管第一个容器中的 DT 含量高,但高得不足以诱发 DT 免疫干扰或载体抑制作用,b)DT-或 CRM-197 多糖缀合物与第一个容器分开,使得第一个容器疫苗的反应原性没有增加,另 c) 针对缀合 DT 或 CR4197 的多糖的抗体效价没有降低,并可能增加(与所述缀合物单独给予相比或与第一个容器中存在较低量 DT 相比效价较高)。

[0102] 本发明因此提供一种用于同时给药(如上定义)的含 2(或 3)个容器的药盒,容器含有 2(或 3)种免疫原性组合物,其中第一个容器含有高量(如上定义)存在的 DT 内容物(DT 加 CRM197;优选游离或非缀合型),而第二(和第三)个容器包含一种或多种缀合 DT 和/或 CRM197 的多糖。

[0103] 第一个容器优选应当包含游离(非缀合型)DT,最优选应当包含在 DTPa 或 DTPw 多价疫苗中。

[0104] 缀合 DT/CRM197 的多糖可以是本申请描述的任一种;优选以下的一种或多种:肺炎球菌多糖 1、2、3、4、5、6A、6B、7F、8、9N、9V、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、20、22F、23F 或 33F、MenC、MenY 或 Hib。按照本发明,维持的针对一种或多种这些多糖的免疫应答(抗体效价)优选与缀合物单独给予相当,最优选增强。

[0105] 优选所述药盒是如上所述的本发明药盒的任一种。

[0106] 药盒中存在的 1、2、3 或全部多糖-DT(CRM197)缀合物优选使多糖:DT/CRM197 比率降低(与标准缀合物相比)至 1:0.5-1.5(重量)(优选 1:0.6-1.2,最优选大约 1:1)。

[0107] 还提供使用上述药盒免疫人类宿主的方法,该方法包括在第一个部位给予宿主免

疫保护剂量的第一个容器的免疫原性组合物,在第二个部位给予宿主免疫保护剂量的第二个容器的免疫原性组合物(以及任选在第三个部位给予宿主免疫保护剂量的第三个容器的免疫原性组合物),其中所述第一和第二(和第三)个部位通过不同的淋巴结引流。

[0108] 同时给药应当如上所述进行。第一和第二(和第三)个部位优选为宿主的不同肢体。第一和第二(和第三)个容器的免疫原性组合物优选在同一天给予。优选随后以相同的方式再1次或多次免疫接种宿主,每次间隔2-12周,更优选再免疫接种2次,每次间隔大约1-2个月的周期。

[0109] 本发明的疫苗制剂可用来保护或治疗易感染哺乳动物,方法是将所述疫苗经全身或粘膜途径给药。这些给药方法可包括经肌内、腹腔内、皮内或皮下途径注射;或通过口腔/消化道、呼吸道(例如鼻内)、泌尿生殖道粘膜给药。

[0110] 每剂疫苗的抗原量可根据在典型疫苗中诱发免疫保护应答但不造成明显副作用的量进行选择。这种量根据所用特定免疫原及其怎样提呈而有所变化。一般认为每剂包含0.1-100 μg 多糖,优选0.1-50 μg ,优选0.1-10 μg ,其中1-5 μg 是最优选的剂量范围。

[0111] 疫苗中蛋白抗原的含量通常在1-100 μg 的范围内,优选5-50 μg ,最通常在5-25 μg 的范围内。

[0112] 在初次免疫后,受治疗者可接受一次或数次适当间隔的加强免疫。

[0113] 在《疫苗设计》中对疫苗的制备方法进行了综合论述(“亚基及佐剂方法”(Powell M. F. & Newman M. J. 编辑)(1995) Plenum Press New York)。Fullerton的美国专利4,235,877描述了脂质体包囊化。

[0114] 实施例

[0115] 提供实施例仅用以说明本发明,无意限制本发明的范围。

[0116] 实施例1:DT-TT-Pa-IPV-HepB(DTPaIPVHepB)疫苗的制备

[0117] 如W093/24148所述进行。所述疫苗按照商品名Infanrix-PeNTa™(SmithKline Beecham Biologicals)商购。

[0118] 实施例2:MenC或MenC-MenY疫苗的制备

[0119] MenC:脑膜炎奈瑟氏球菌C型荚膜多糖缀合至D蛋白或TT(使用CDAP技术),每0.5ml人剂量缀合物中存在的多糖量为5 μg 。pH调节至6.1,在蔗糖存在下冻干。

[0120] MenCMenY:将缀合至D蛋白或TT(使用CDAP技术)的脑膜炎奈瑟氏球菌C型荚膜多糖和缀合至D蛋白或TT的脑膜炎奈瑟氏球菌Y型荚膜多糖混合在一起,每0.5ml人剂量每种缀合物中的多糖量为5 μg 。pH调节至6.1,并在蔗糖存在下冻干。

[0121] 实施例3:DT-TT-Pa-IPV-HepB-MenC-MenY(DTPaIPVHepB/MenCMenY)或DT-TT-Pa-IPV-HepB-MenC(DTPaIPVHepB/MenC)疫苗的制备

[0122] 使用前(同一天)临时混合实施例1和实施例2的疫苗。

[0123] 实施例4:Hib-11价肺炎球菌缀合(Hib/Strep11V)疫苗的制备

[0124] b型流感嗜血菌荚膜多糖缀合至TT(每剂缀合物中的多糖为10 μg),于pH6.1、乳糖存在下冻干[Hiberix™(SmithKline Beecham Biologicals)],将其临时(使用的同一天)溶解在缀合PD(每剂每种缀合物中的多糖为1 μg)的11价肺炎球菌荚膜多糖(血清型1、3、4、5、6B、7F、9V、14、18C、19F和23F)的液体溶液中。先前肺炎球菌疫苗已经吸附到0.5mgAl³⁺(AlPO₄)上。

[0125] 实施例 5 : 临床试验

[0126] 对实施例 4 疫苗的研究

[0127] 以三剂 (3、4、5 月龄) 方案给予德国婴儿实施例 4 的疫苗和对照疫苗。

[0128] 免疫应答结果 (最后 1 次初次给药后 1 个月测量的结果) 如下。

[0129] 抗肺炎球菌 IgG 抗体 : GMC ($\mu\text{g/ml}$) (通过 ELISA 检测)

[0130]

PS		A 组			D 组		
抗体	时间	人数	S+[%]	GMC	人数	S+[%]	GMC
抗-1	PIII	30	100	1.23	33	100	0.99
抗-3	PIII	30	100	2.04	33	97.0	1.20
抗-4	PIII	30	100	0.98	33	100	1.03
抗-5	PIII	30	100	1.33	33	100	1.34
抗-6B	PIII	30	100	0.54	33	100	0.62
抗-7F	PIII	30	100	1.60	33	100	1.33
抗-9V	PIII	30	100	1.61	33	100	1.21
抗-14	PIII	30	100	2.27	33	100	2.32
抗-18C	PIII	30	100	1.06	33	100	1.04
抗-19F	PIII	30	100	2.05	33	100	1.92
抗-23F	PIII	30	96.7	0.75	33	100	0.76

[0131] A 组 = 11Pn-Pd+Infanrix-HeXa™ (Infanrix-Penta 加上加入的 Hib 缀合物 -DTPa-FB-IPV-Hib)

[0132] D 组 = 11Pn-Pd/Hib+Infanrix-PeNTa™ (DTPa-HB-IPV)

[0133] + 表示同时给予 (在不同肢体), 而不是混合给予。

[0134] 抗体浓度不低于 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 的受治疗者百分比

[0135]

组别	PS1	3	4	5	6B	7F	9V	14	18C	19F	23F
D	84.8	87.9	87.9	90.9	51.5	90.9	93.9	97.0	81.8	97.0	72.7
A	86.7	96.7	76.7	90.0	50.0	93.3	90.0	90.0	80.0	96.7	66.7

[0136] 抗 PRP 抗体 : GMC ($\mu\text{g/ml}$) (通过 ELISA 检测)

[0137]

		D 组(N=34)		
		n	≥ 1	GMC
			$\mu\text{g/ml}$ [%]	$\mu\text{g/ml}$
抗 PRP	PIII	33	100	10.75

[0138] 100% 的受治疗者的抗 PRP (Hib 多糖) 抗体浓度不低于 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 。

[0139] Hiberix (非吸附型 Hib-TT 缀合物) 在相似给药方案后的 GMC 约为 $6 \mu\text{g/ml}$ 。

[0140] 按照 ELISA 抗体测定,接受 11Pn-PD/Hib 疫苗的婴儿的免疫应答与观测到的接受所有血清型的 11Pn-PD 疫苗的婴儿的免疫应答相似,血清型 1、3 和 9V 是例外,因为观察到 11Pn-PD/Hib 疫苗的几何平均浓度有下降的趋势。但是,95%的置信区间重叠表明,这些差异不明显。

[0141] 11Pn-PD/Hib 疫苗诱导出抗全部 11 种血清型的功能性(调理素吞噬作用)抗体。

[0142] Hib 疫苗和肺炎球菌缀合疫苗的混合没有明显干扰肺炎球菌免疫应答,并且与两种已注册的疫苗 Infanrix-HeXa 和 Hiberix 相比,令人惊奇地增强抗 PRP 应答。

[0143] 对实施例 3 疫苗或实施例 3 和实施例 4 疫苗的同时给予的研究

[0144] 研究 1:

[0145] 可以评价与 MenC 缀合疫苗混合的 Infanrix-PeNTa 与 Hib 疫苗给予或与和 Hiberix 混合的 11 价肺炎球菌疫苗同时给予的安全性和免疫原性。可以同时评价 PD 和 TT 载体的 MenC 缀合物。所述疫苗可作为 3 剂疫苗给予婴儿。可在不同肢体、就医时同时注射。

[0146] 研究 2:

[0147] 可以评价与 MenC-MenY 缀合疫苗混合的 Infanrix-PeNTa 与 Hib 疫苗给予或与和 Hiberix 混合的 11 价肺炎球菌疫苗同时给予的安全性和免疫原性。可以同时评价 PD 和 TT 载体的 MenC 和 MenY 缀合物。所述疫苗可作为 3 剂疫苗给予婴儿。可在不同肢体、就医时同时注射。