(12) **PATENTTIJULKAISU**
PATENTSKRIFT

FI0001181188

(10) **FI 118118 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats **13.07.2007**

(51) Kv.lk. - Int.kl.

A61K 39/29 (2006.01)
A61K 39/295 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61P 31/04(2006.01)

(21) Patenttihakemus - Patentansökning **973457**

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag **22.08.1997**

(24) Alkupäivä - Löpdag **15.02.1996**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig **22.08.1997**

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan **PCT/EP96/00681**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

25.02.1995 GB 9503863 P

SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(73) Haltija - Innehavare

1 •SmithKline Beecham Biological s.a., Rue de l'Institut 89, 1330 Rixensart, BELGIA, (BE)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •**Hauser,Pierre,** c/o SmithKline Beecham Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, 1330 Rixensart, BELGIA, (BE)
2 •**Garcon,Nathalie Marie-Josephe Claude,** c/o SmithKline Beecham Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, 1330 Rixensart, BELGIA, (BE)
3 •**Desmons,Pierre,** c/o SmithKline Beecham Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, 1330 Rixensart, BELGIA, (BE)

(74) Asiamies - Ombud: **Berggren Oy Ab**
Annankatu 42 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Hepatiitti B -rokote
Hepatit B -vaccin

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

---

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Saadaan aikaan uusi rokotevalmiste, joka käsittää hepatiitti B -komponentin, erityisesti hepatiitti B -pinta-antigeenin, yhdistettynä alumiinifosfaattiin ja 3-de-O-asyloituun monofosforyylilipidi A:han.

Det åstadkommes en ny vaccinberedning innefattade en hepatit B -komponent, särskilt hepatit B ytantigen, i kombination med aluminiumfosfat och 3-de-O-acylerad monofosforyllipid A.

Hepatiitti B -rokote - Hepatit B -vaccin

Esillä oleva keksintö kohdistuu uusiin rokotevalmisteisiin, niiden valmistusmenetelmiin ja niiden käyttöön hoidossa. Erityisesti esillä oleva keksintö kohdistuu uusiin valmisteisiin hepatiittiinfektioiden hoitamiseksi ja yhdistelmärokotevalmisteisiin, jotka sisältävät hepatiitti B -rokotekomponenttia.

A-, B-, C-, D- ja E-hepatiittivirusten aiheuttama virushepatiitti on erittäin yleinen virussairaus. B- ja C-virukset aiheuttavat erityisesti myös monissa tapauksissa maksasyöpää. Täten tehokkaiden rokotteiden kehittäminen on kriittistä ja huolimatta merkittävästä edistymisestä se on vielä meneillään. Katsauksia uudenaikaisiin hepatiittirokotteisiin mukaan lukien eräitä avainasemassa olevia viitteitä on löydettävissä Lancet, May 12th, 1990, sivulta 1142 ff (prof. A.L.W.F. Eddleston). Katso myös Viral Hepatitis and Liver Disease (Vyas, B. N., Dienstag, J.L. and Hoofnagle, J.H., toim. Grune and Stratton, Inc. (1984) ja Viral Hepatitis and Liver Disease (Proceedings of the 1990 International Symposium, toim. F.B. Hollinger, S.M. Lemon and H. Margolis, julkaisija Williams and Wilkins).

Tässä käytettynä ilmaus "hepatiitti B -antigeeni" tarkoittaa mitä tahansa antigeenistä materiaalia, joka on johdettu hepatiitti B -viruksesta ja jota voidaan käyttää ihmisen virukselle immuunisuuden indusoimiseksi.

Hepatiitti B -virusinfektio (HBV) on laajalle levinnyt ongelma, ja rokotteita, joita voidaan käyttää massaimmunisointiin, on jo saatavissa, kuten esimerkiksi tuote "Engerix-B" (Smith-Kline Beecham plc), joka on saatavissa geenitekniikoilla.

Hepatiitti B -pinta-antigeenin (HBsAg) valmistaminen on hyvin dokumentoitua. Katso esimerkiksi Harford et al., Develop. Biol. Standard 54, sivu 125 (1983), Gregg et al., Biotechnolo-

gy, 5, sivu 479 (1979), EP-A-0 226 846, EP-A-0 299 108 ja niissä mainitut viitteet.

Tässä käytettynä ilmaus "hepatiitti B -pinta-antigeeni tai "HBsAg" käsittää kaikki HBsAg-antigeenit ja niiden fragmentit, joissa on HBV-pinta-antigeeniantigeenisyyttä. On ymmärrettävä, että HBsAg S -antigeenin 226 aminohapposekvenssin lisäksi (katso Tiollais et al., Nature, 317, 489 (1985) ja siinä mainitut viitteet) tässä kuvattu HBsAg voi sisältää haluttaessa edellä kuvatuissa viitteissä ja EP-A-0 278 940:ssä kuvatun pre-S-sekvenssin kokonaan tai osittain. HBsAg voi käsittää erityisesti polypeptidin, joka käsittää aminohapposekvenssin, joka käsittää tähteet 12-52, joita seuraavat tähteet 133-145, joita seuraavat HBsAg:n L-proteiinin tähteet 175-400, jotka ovat avoimen lukujärjestyksen kaltaisia ad-serotyypin hepatiitti B -viruksessa (tätä polypeptidiä nimitetään L*:ksi, katso EP-0 414 374). Keksinnön mukainen HBsAg voi myös sisältää EP-0 198 474:ssä kuvatun preS1-preS2-S-polypeptidin (Endotronics) ja sen analogeja, kuten niitä, joita on kuvattu EP-0 304 578:ssa (Mc Cormick ja Jones). Tässä kuvattu HBsAg voi myös tarkoittaa mutantteja, esimerkiksi WO-91/14703:ssa tai EP-patenttihakemuksessa 0 511 855 A1 kuvattua "villiintynyttä mutanttia", jossa asemassa 145 oleva aminohapposubstituutio on arginiiniin glysiinistä.

Normaalisti HBsAg on partikkelimuodossa. Partikkelit voivat käsittää esimerkiksi S-proteiinin yksinään tai ne voivat olla komposiittipartikkeleita, esimerkiksi (L*,S), jolloin L* on edellä määritetty ja S tarkoittaa HBsAg:n S-proteiinia. Mainittu partikkeli on edullisesti sellaisessa muodossa, jossa se ilmentyy hiivassa.

Vaikkakin kokeellisesti ja kaupallisesti saatavista hepatiittirokotteista, esimerkiksi Engerix-B:stä, on saatu erinomaisia tuloksia, myönnetään se tosiseikka, että tarvitaan optimaalista rokotetta, jolla stimuloidaan neutralisoivan vasta-aineen lisäksi myös niin tehokkaasti kuin mahdollista T-solujen kautta välittyvä soluimmuunisuus. Kansainvälisessä patenttihake-

muksessa WO-93/19780 selostetaan yhdistelmärokotteita, joissa on hepatiitti B -pinta-antigeeniin perustuvaa hepatiitti B -komponenttia, alumiinihydroksidia ja 3-de-O-asyloitua monofosforyylilipidi A:ta. Valmistetta, joka käsittää alumiinifosfaattia, ei ole esitetty.

Yllättäen esillä oleva keksintö saa aikaan valmisteen, joka on neljä kertaa tehokkaampi kuin WO-93/19780:ssa kuvattu.

Näin ollen esillä oleva keksintö saa aikaan rokotteen, joka käsittää hepatiitti B -antigeenin yhdistettynä 3-O-deasyloituun monofosforyylilipidi A:han (lyhennetään tässä selostuksessa MPL:ksi) ja alumiinifosfaattiin.

3-O-deasyloitua monofosforyylilipidi A:ta (tai 3-de-O-asyloitua mofosforyylilipidi A:ta) on aiemmin nimitetty 3D-MPL:ksi tai d3-MPL:ksi sen osoittamiseksi, että pelkistävän pään glukosamiinin asema 3 on de-O-asyloitunut. Valmistuksen osalta katso GB-2 220 211 A. Kemiallisesti se on seos, jossa on 3-deasyloitunutta monofosforyylilipidiä A, jossa on 4, 5 tai 6 asyloitunutta ketjua. Termi 3D-MPL (tai d3-MPL) on lyhennetty tässä selostuksessa MPL:ksi, koska "MPL" on Ribi Immunochemin, Montana, rekisteröimä tavaramerkki ja jota Ribi käyttää tarkoittaessaan yksiselitteisesti omaa 3-O-deasyloitunutta monofosforyylilipidi A -tuotettaan.

Esillä olevan keksinnön mukaisissa koostumuksissa käytetään edullisesti partikkelikooltaan pientä MPL:ää. Partikkelikooltaan pienen MPL:n partikkelikoko on tavallisesti alle 120 nm. Tällaisia valmisteita on kuvattu kansainvälisessä patenttihakemuksessa WO-94/21292.

GB-2 220 211A:ssa mainitaan, että aiemmin käytettyjen enterobakteeriperäisten lipopolysakkaridien (LPS) endotoksisuus vähenee samalla kun immunogeeniset ominaisuudet säilyvät. Kuitenkin GB-2 220 211:ssä mainitaan nämä havainnot pelkästään bakteerijärjestelmien (gram-negatiiviset) yhteydessä.

Yllättäen on kuitenkin havaittu, että keksinnön mukaisissa rokotekoostumuksissa, jotka käsittävät hepatiitti B -virusantigeenejä, on tässä kuvattuja erityisen edullisia ominaisuuksia.

Erityinen etu on se, että keksinnön mukaiset rokotevalmisteet ovat erittäin tehokkaita indusoitaessa suojaavaa immuunisuutta jopa hyvin alhaisina antigeeniannoksina.

Uudet rokotevalmisteet mahdollistavat immunogeenisyyden parantamisen, joka on ekvivalenttinen nykyisin saatavissa olevien hepatiitti B -valmisteiden kanssa, kun niitä annetaan kaksi annosta. Erityisesti ekvivalenttiset vasta-ainetasot saatiin ihmisissä kliinisen kokeen jälkeen, kun niitä oli annettu kaksi rokoteannosta verrattuna kolmeen Engerix-B-annokseen.

Ne suojaavat erinomaisesti primaariselta infektiolta ja stimuloivat edullisesti sekä spesifista humoraalista (neutraloivat vasta-aineet) että effektorisoluvälitteistä (DTH) immuunivastetta.

Muuna etuna on se, että keksinnön mukaisia rokotevalmisteita voidaan käyttää terapeuttisina rokotteina.

Edellä mainittua MPL:ää on tavallisesti läsnä 10-100 µg, edullisesti 25-50 µg, annosta kohti, jolloin hepatiitti B -antigeeniä on tyypillisesti läsnä 2-50 µg annosta kohti ja alumiinifosfaattia on läsnä 500 µg (Al^{3+}) annosta kohti.

Eräs keksinnön suoritusmuoto on HBsAg S -antigeeni (esimerkiksi kuten Engerix-B:ssä) seostettuna MPL:ään ja alumiinifosfaattiin, kuten jäljempänä kuvataan.

Muu keksinnön spesifinen suoritusmuoto on edellä määritetyt HBsAg-antigeeni-, kuten (L*,S)-, partikkelit, joihin on sekoitettu MPL:ää ja alumiinifosfaattia.

Muussa kohteessaan keksintö saa aikaan tässä kuvatun rokotevalmisteen, joka on tarkoitettu käytettäväksi lääketieteelliseen terapiaan, erityisesti käytettäväksi hepatiittivirusinfektioiden hoidossa ja ennaltaehkäisyssä. Edullisessa kohteessa keksinnön mukainen rokote on terapeuttinen rokote, joka on käyttökelpoinen hoidettaessa eteneviä hepatiitti B -infektioita.

Eräässä kohteessa keksinnön mukainen hepatiittirokotevalmiste sisältää muita antigeenejä siten, että se on tehokasta hoidettaessa tai estettäessä ennalta yhtä tai useampaa muuta bakteeri-, virus- tai sieni-infektiota.

Näin ollen keksinnön erään suoritusmuodon mukainen hepatiittirokotevalmiste sisältää vähintään yhtä muuta komponenttia, joka on valittu muista hepatiittiantigeeneistä, erityisesti hepatiitti A -antigeenistä, tai ei-hepatiittiantigeeneistä, joiden alalla tiedetään antavan suojan yhtä tai useampaa seuraavista vastaan: kurkkumätä, jäykkäkouristus, hinkuyskä, hemofilus-influenssa b (Hib) ja polio. Aivonkalvontulehdus A:n, B:n tai C:n vastaiset antigeenit voidaan myös sisällyttää siihen.

Keksinnön mukainen rokote sisältää edullisesti HBsAg:n, kuten edellä määritettiin.

Erityiset keksinnön piiriin kuuluvat yhdistelmärokotteet käsittävät DTP-(difteria-tetanus-pertussis)-hepatiitti B -yhdistelmärokotteen, Hib-hepatiitti B -rokotevalmisteen, DTP-Hib-hepatiitti B -rokotevalmisteen ja IPV-(inaktivoitu poliorokote)-DTP-Hib-hepatiitti B -rokotevalmisteen.

Hepatiittirokote tai edellä mainitut yhdistelmät voivat sisältää edullisesti komponenttia, joka suojaa hepatiitti A:ta vastaan, esimerkiksi tapettua laimennettua kantaa, joka on johdettu HM-175-kannasta ja jota on läsnä Havrixissa.

Tällaisiin rokotteisiin käytettäväksi sopivia komponentteja on kaupallisesti saatavissa ja yksityiskohtia niistä voidaan saada Maailman terveysjärjestöltä. Esimerkiksi IPV-komponentti voi olla Salkin inaktivoitu poliorokote. Hinkuyskärokote voi käsittää kokosolu- tai asellulaarituotteen, joka on formuloitu yhdessä hinkuyskä- ja jäykkäkouristusantigeenin, kuten Infanrix DTPa:n kanssa, ja joka käsittää kolme B. pertussis -antigeeniä: 69 KDa:n, hinkuyskätoksiinin (inaktivoitu) ja FHA:n.

Eräässä kohteessa keksinnön mukainen hepatiitti- tai yhdistelmärokote voi olla lastenrokote.

Rokotevalmiste on kuvattu yleisesti New Trends and Developments in Vaccines, toim. Voller et al., University Park Press, Baltimore, Maryland, USA, 1978. Kapseloinnin liposomeihin on kuvannut esimerkiksi Fullerton, US-patentti 4 235 877. Proteiinien konjugoinnin makromolekyyleihin ovat kuvanneet esimerkiksi Likhite, US-patentti 4 372 945, ja Armor et al., US-patentti 4 474 757.

Kussakin rokoteannoksessa oleva antigeenin määrä valitaan määräksi, joka indusoi immuunisuojaavan vasteen ilman rokotetuissa esiintyviä tyypillisiä merkittäviä haittavaikutuksia. Tällainen määrä vaihtelee riippuen siitä, millaisia spesifisiä antigeenejä käytetään. Tavallisesti otaksutaan, että jokainen annos sisältää 1-1000 µg kokonaisantigeeniä, edullisesti 2-200 µg. Spesifiseen rokotteeseen käytetty optimaalinen määrä voidaan vahvistaa standarditutkimuksilla, joihin kuuluu kohteiden vasta-ainetittereiden ja muiden vasteiden havainnointi. Alkurokotuksen jälkeen kohteet voivat saada yhden tai useampia tehosteannoksia, esimerkiksi 2 ja 6 kuukauden kuluttua.

Muussa keksinnön kohteessa saadaan aikaan menetelmä rokotteen valmistamiseksi, joka rokote on tehokas estettäessä tai hoidettaessa hepatiitti-infektiota, ja joka menetelmä käsittää sen, että tässä määritettyyn hepatiittiantigeeniin sekoitetaan alumiinifosfaattia ja MPL:ää.

Tätä menetelmää käyttäen HBsAg:hen sekoitetaan edullisesti yhtä tai useampaa lisäkomponenttia saaden siten aikaan yhdistelmärokote. Komponenttien sekoittamiseen voidaan käyttää useita sekoitusmenetelmiä. Eräässä menetelmässä kukin antigeeni absorboidaan erikseen alumiinifosfaattiin ja jonkin ajan kuluttua MPL voidaan lisätä kuhunkin ennen sekoitusliuoksen lisäämistä.

On selvää, että keksintö saa myös aikaan menetelmän neutraloivien vasta-ainetittereiden indusoimiseksi alueella 10 mU hepatiitti B:n osalta ihmisessä, joka on alttiina hepatiitti B -infektiolle tai sairastaa sitä, antamalla tässä kuvattua koostumusta korkeintaan kahtena annoksena.

Eräässä kohteessa keksintö saa aikaan tässä määritetyn koostumuksen käytön rokotteen valmistamiseksi, joka rokote indusoi neutraloivia vasta-aineita alueella 10 mU ihmisen hepatiitti B:ssä edullisesti korkeintaan kahden annoksen jälkeen.

Seuraavat esimerkit valaiset keksintöä ja sen etuja.

Esimerkki 1
Hepatiitti B -rokotevalmiste

MPL (3-de-O-asyloitu monofosforyylilipidi A) saatiin Ribi Immunochem Research Inc:stä. Alumiinifosfaatti saatiin Superphosista (Tanska).

MPL suspendoitiin uudelleen injektointiveteen konsentraationa 0,2-3 mg/ml sonikoimalla kunnes partikkelien koko saavutti 80-200 nm mitattuna valonkorrelaatiosironnalla.

1-20 µg HBsAg:tä (S-antigeeni, kuten Engerix-B:ssä, fosfaattipuskuriliuoksessa 0,5-3 mg/ml) absorboitiin 5-1000 µg:hen alumiinifosfaattia (liuos 3-6 Al^{3+} mg/ml) tunnin ajan huoneenlämpötilassa sekoittaen. Seosta seisotettiin huoneenlämpötilassa 15 päivää ja sitten sitä säilytettiin 4 °C:ssa lisäkäsittelyä varten. Sitten liuokseen lisättiin 5-200 µg MPL:ää

(liuos 0,2-10 mg/ml). Tilavuus ja osmolaarisuus säädettiin 500-1000 µl:ksi injektointivedellä ja suolaliuoksella. Tiomersaalia (1 % paino/til.) lisättiin lopulliseen konsentraatioon 0,005 % lopullisen tuotteen saamiseksi.

Samanlainen valmiste valmistettiin käyttämällä HBsAg-komponenttina edellä kuvattua komposiitti(L*,S)-antigeeniä. Tässä valmisteessa bakteriostaattinen aine oli 2-fenoksietanoli.

Esimerkki 2

3-deasyloidulla monofosforyylilipidillä A ja alumiinifosfaatilla formuloidun hepatiitti B -pinta-antigeenin kliiniset tutkimukset

Kliinisessä testauksessa verrattiin erilaisia hepatiitti B -pinta-antigeeniä sisältäviä rokotteita. Tarkasteltiin seuraavia ryhmiä:

Ryhmä 1
HBsAg (20 µg)/MPL (50 µg)/$AlPO_4$ (Al: 500 µg)/tiomersaali (50 µg)/150 mM NaCl/pH 6,1 1 ml:ssa, formuloitu kuten esimerkissä 1.

Ryhmä 2
HBsAg (20 µg)/MPL (50 µg)/$Al(OH)_3$ (Al: 100 µg)/tiomersaali (50 µg)/10 mM fosfaattipuskuri + 150 mM NaCl/pH 6,8 1 ml:ssa.

Ryhmä 3
HBsAg (20 µg)/MPL (50 µg)/$Al(OH)_3$ (Al: 500 µg)/tiomersaali (50 µg)/10 mM fosfaattipuskuri + 150 mM NaCl/pH 6,8 1 ml:ssa.

Ryhmä 4 Engerixin kaltainen
HBsAg (20 µg)/MPL (0 µg)/$Al(OH)_3$ (Al: 500 µg)/tiomersaali (50 µg)/10 mM fosfaattipuskuri + 150 mM NaCl/pH 6,8 1 ml:ssa.

Ryhmä 5
HBsAg (20 µg)/MPL (0 µg)/$AlPO_4$ (Al: 500 µg)/tiomersaali (50 µg)/150 mM NaCl/pH 6,1 1 ml:ssa.

18-40 vuotiaita vapaaehtoisia värvättiin osallistumaan kokeeseen. Kukin ryhmä (noin 60 aikuista ryhmässä päivänä 0) rokotettiin lihaksensisäisesti hartialihaksen alueelle päivänä 0 ja 2 kuukautta myöhemmin. Verinäyte otettiin ennen ensimmäistä injektiota, yksi ja kaksi kuukautta ensimmäisen injektion jälkeen ja 1, 2 ja 4 kuukautta toisen injektion jälkeen. Anti-HBs-vasta-aineet mitattiin käyttämällä AUSAB-välinesarjaa (Abbott) ja WHO-verrokki kalibroitiin mlU/ml:ssa. Reagoijien titteri oli $\geq$ 1 ml U/ml. Kunakin ajankohtana laskettiin serokonvertoijien GMT (geometrinen keskiarvotitteri).

Tulokset

Kunkin rokotteen GMT:t on esitetty taulukossa 1 ja taulukossa 2 esitetään kunkin rokotettujen ryhmän vasta-ainetittereiden sijaluku.

GMT-tulokset osoittavat selvästi (taulukko 1), että kahden $AlPO_4$ + MPL sisältävän rokoteannoksen jälkeen (ryhmä 1) toisen annoksen havaittiin yli 10-kertainen titterien nousu verrattuna titteriin, joka saavutettiin käyttämällä kaupallista Engerix B:tä (ryhmä 4). Anti-HBsAg-vaste oli myös nopeampi ja 51 ja 70 % rokotetuista oli suojatitteri 810 ml/U/ml) 1 ja 2 kuukautta ensimmäisen annoksen jälkeen (verrattuna 34 ja 16 %:iin Engerix B:n osalta) (taulukko 2). 3D-MPL:n lisääminen Engerix B:hen (ryhmä 3), pelkän $AlPO_4$:n käyttö (ryhmä 5) paransi hieman anti-HBS-vastetta (verrattuna Engerix B:hen) mutta titterit olivat ylä 4-5 kertaa alhaisempia kuin $AlPO_4$ + MPL-valmisteella. HBsAg:n absorboiminen pienennettyyn annokseen $Al(OH)_3$ + MPL tuottaa tittereitä, jotka ovat samanlaisia kuin ne, jotka saavutettiin Engerix B:llä. Tulokset osoittavat yhdessä, että sekä $AlPO_4$ että MPL ovat tarpeellisia anti-HBS-vasteen optimaaliseksi nostamiseksi rokotetuissa vain 2 annoksen jälkeen.

Taulukko 1

Serokonvertoijien serokonversiomäärät (%) ja geometriset anti-HBs-vasta-ainetitterit (GMT): Alustava analyysi

Ryhmä	Ajoitus	N	S	%	GMT	CL 95 % alempi	CL 95 % ylempi	Min. titteri	Maks. titteri
1	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI(m1)	53	46	86,8	12	9	8	1	410
	PI(m2)	53	50	94,3	18	13	26	1	140
	PII(m3)	53	53	100,0	2092	1356	3227	43	60000
	PII(m4)	39	39	100,0	1613	1074	2423	40	19620
	PII(m6)	25	25	100,0	890	582	1363	42	3900
2	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI(m1)	53	31	58,5	17	10	32	1	1000
	PI(m2)	53	35	66,0	9	6	16	1	860
	PII(m3)	53	35	100,0	215	128	360	1	25000
	PII(m4)	40	40	100,0	122	74	201	2	2808
	PII(m6)	22	22	100,0	85	50	145	2	900
3	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI(m1)	53	43	81,1	9	6	15	1	720
	PI(m2)	53	44	83,0	7	4	10	1	1040
	PII(m3)	53	53	100,0	527	332	838	3	10100
	PII(m4)	40	40	100,0	363	225	586	3	5638
	PII(m6)	24	24	100,0	177	99	316	9	2196
4	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI(m1)	50	30	64,0	11	6	19	1	290
	PI(m2)	50	34	68,0	4	3	6	1	45
	PII(m3)	50	50	100,0	187	107	329	1	9500
	PII(m4)	42	42	100,0	211	127	350	5	10584
	PII(m6)	25	25	100,0	226	132	386	20	2595
5	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI(m1)	52	30	57,7	12	6	25	1	1060
	PI(m2)	52	41	78,8	9	6	14	1	420
	PII(m3)	52	52	100,0	294	168	515	1	18000
	PII(m4)	41	41	100,0	287	158	521	2	15764
	PII(m6)	24	22	91,7	353	188	660	10	7701

Taulukko 2

Yksittäisten anti-HBs-vasta-ainetitterien alustavan analyysin jakauma

Ryhmä	Ajoitus	N	>-10 n	%	>-100 n	%	>+1000 n	%
1	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI(m1)	53	27	50,9	2	3,8	0	0,0
	PI(m2)	53	37	69,8	2	3,8	0	0,0
	PII(m3)	53	53	100,0	49	92,5	40	75,5
	PII(m4)	39	39	100,0	37	94,9	27	69,2
	PII(m6)	25	25	100,0	24	96,0	15	60,0
2	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI(m1)	53	20	37,7	3	5,7	1	1,9
	PI(m2)	53	14	26,4	3	5,7	0	0,0
	PII(m3)	53	50	94,3	38	71,7	11	20,8
	PII(m4)	40	38	95,0	24	60,0	3	7,5
	PII(m6)	22	21	95,5	8	36,4	0	0,0
3	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI(m1)	53	17	32,1	7	13,2	0	0,0
	PI(m2)	53	17	32,1	1	1,9	1	1,9
	PII(m3)	53	51	96,2	45	84,9	20	37,7
	PII(m4)	40	39	97,5	34	85,0	10	25,0
	PII(m6)	24	23	95,8	18	75,0	3	12,5
4	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI(m1)	50	17	34,0	3	6,0	0	0,0
	PI(m2)	50	8	16,0	0	0,0	0	0,0
	PII(m3)	50	46	92,0	35	70,0	11	22,0
	PII(m4)	42	40	95,2	30	71,4	5	11,9
	PII(m6)	25	25	100,0	18	72,0	4	16,0
5	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI(m1)	52	15	28,8	5	9,6	1	1,9
	PI(m2)	52	20	38,5	3	5,8	0	0,0
	PII(m3)	52	48	92,3	39	75,0	14	26,9
	PII(m4)	41	39	95,1	31	75,6	9	22,0
	PII(m6)	24	22	91,7	18	75,0	5	20,8

Patenttivaatimukset

1. Rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että se käsittää hepatiitti B -antigeeniä yhdistettynä 3-O-deasyloituun monofosforyylilipidi A:han ja alumiinifosfaattiin.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että antigeeni käsittää hepatiitti B -pinta-antigeenin (HBsAg) tai sen variantin.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että HBsAg käsittää HBsAg:n S-antigeenin (226 aminohappoa).

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että HBsAg käsittää lisäksi pre-S-sekvenssin.

5. Patenttivaatimuksen 3 tai 4 mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että HBsAg on komposiittipartikkeli, jolla on kaava (L*, S), jossa L* tarkoittaa hepatiitti B -viruksen modifioitua L-proteiinia, jossa on aminohapposekvenssi, joka käsittää tähteet 12-52, joita seuraavat tähteet 133-145, joita seuraa L-proteiinin 175-400 tähteet ja S tarkoittaa HBsAg:n S-proteiinia.

6. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että se sisältää yhtä tai useampaa hepatiittiantigeeniä ja vähintään yhtä muuta komponenttia, joka on valittu hepatiitti A -antigeenistä tai ei-hepatiittiantigeenistä, joka antaa suojan yhtä tai useampaa seuraavista vastaan: kurkkumätä, jäykkäkouristus, hinkuyskä, hemofilus-influenssa b (Hib), polio ja aivonkalvontulehdus A, B tai C.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että se on valittu DTP-(difteria-tetanus-pertussis)-HBsAg-yhdistelmästä, Hib-HBsAg-yhdistelmästä, DTP-Hib-HBsAg-yhdistelmästä ja IPV-(inaktivoitu poliorokote)-DTP-Hib-HBsAg-yhdistelmästä.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että se lisäksi käsittää hepatiitti A -antigeenin.

9. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen rokotekoostumus, **tunnettu** siitä, että 3-O-deasyloitua monofosforyylilipidi A:ta on läsnä 10 µg - 100 µg annosta kohti.

10. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen rokote käytettäväksi lääketieteessä.

11. **Hepatiitti B -antigeenin käyttö** yhdessä 3-O-deasyloidun monofosforyylilipidi A:n ja alumiinifosfaatin kanssa hepatiitti-infektioiden ennaltaehkäisyyn tai hoitoon tarkoitetun lääkkeen valmistuksessa.

12. Menetelmä jonkin patenttivaatimuksen 1-9 mukaisen rokotteen valmistamiseksi, **tunnettu** siitä, että se käsittää hepatiitti B -pinta-antigeenin absorboimisen alumiinifosfaattiin ja sitten 3-O-deasyloidun monofosforyylilipidi A:n lisäämisen.

Patentkrav

1. Vaccinkomposition, **kännetecknad** av att den omfattar en hepatit B -antigen konjugerad med 3-O-deacylerad monofosforyllipid A och aluminiumfosfat.

2. **Vaccinkomposition enligt patentkrav 1, kännetecknad** av att antigenen omfattar hepatit B -ytantigen (HBsAg) eller en variant därav.

3. Vaccinkomposition enligt patentkrav 2, **kännetecknad** av att HBsAg omfattar S -antigenen av HBsAg (226 aminosyror).

4. **Vaccinkomposition enligt patentkrav 3, kännetecknad** av att HBsAg ytterligare omfattar en pre-S-sekvens.

5. Vaccinkomposition enligt patentkrav 3 eller 4, **kännetecknad** av att HBsAg är kompositpartikeln med formeln (L*,

S), vari L* betecknar ett modifierat L-protein av hepatit B -virus med en aminosyrasekvens omfattande resterna 12-52 efterföljda av resterna 133-145 efterföljda av resterna 175-400 av L-proteinet och S betecknar S-proteinet av HBsAg.

6. Vaccinkomposition enligt något av föregående patentkrav, **kännetecknad** av att den omfattar en eller flera hepatitantigener och åtminstone en annan komponent vald bland en hepatit A -antigen eller en icke-hepatitantigen som ger skydd mot en eller flera av följande: difteri, tetanus, pertussis, hemofilusinfluensa b (Hib), polio och meningitidis A, B eller C.

7. Vaccinkomposition enligt patentkrav 6, **kännetecknad** av att den är vald bland en DTP- (difteri-tetanus-pertussis)-HBsAg-kombination, en Hib-HBsAg-kombination, en DTP-Hib-HBsAg-kombination och en IPV- (inaktiverat poliovaccin)-DTP-Hib-HBsAg-kombination.

8. Vaccinkomposition enligt patentkrav 7, **kännetecknad** av att den ytterligare omfattar en hepatit A -antigen.

9. Vaccinkomposition enligt något av föregående patentkrav, **kännetecknad** av att den 3-O-deacylerade monofosforyllipiden A är närvarande 10 µg - 100 µg per dos.

10. Vaccinkomposition enligt något av föregående patentkrav för användning inom medicin.

11. Användning av en hepatit B -antigen konjugerad med 3-O-deacylerad monofosforyllipid A och aluminiumfosfat vid framställning av ett medikament för profylax eller behandling av hepatitinfektioner.

12. Förfarande för framställning av ett vaccin enligt något av patentkraven 1-9, **kännetecknat** av att det omfattar absorbering av hepatit B -ytantigen på aluminiumfosfat och sedan tillsättning av 3-O-deacylerad monofosforyllipid A.