

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-530478

(P2020-530478A)

(43) 公表日 令和2年10月22日(2020.10.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/102 (2006.01)	A 6 1 K 39/102	4 C 0 8 5
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 U	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
C 0 7 K 14/285 (2006.01)	C 0 7 K 14/285 Z N A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 56 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-508049 (P2020-508049)
 (86) (22) 出願日 平成30年8月13日 (2018. 8. 13)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年4月1日 (2020. 4. 1)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2018/071860
 (87) 国際公開番号 W02019/034575
 (87) 国際公開日 平成31年2月21日 (2019. 2. 21)
 (31) 優先権主張番号 62/545, 010
 (32) 優先日 平成29年8月14日 (2017. 8. 14)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/633, 263
 (32) 優先日 平成30年2月21日 (2018. 2. 21)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 305060279
 グラクソスミスクライン バイオロジカル
 ズ ソシエテ アノニム
 ベルギー ベー-1330 リクセンサー
 ル リュ ドランスティテュ 89
 (74) 代理人 110002572
 特許業務法人平木国際特許事務所
 (72) 発明者 アローラ, アシュワニ クマール
 イタリア国 アイ-53100 シエナ,
 ビア フィオレンティーナ 1, ジーエス
 ケー ヴァクシNZ エスアールエル

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫応答を強化する方法

(57) 【要約】

本発明は、免疫応答を強化する方法での使用のための、インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリス由来の免疫原性ポリペプチドを含む、ワクチンなどの免疫原性組成物、ならびにそれを用いる治療方法に関する。より詳細には、本発明は、慢性閉塞性肺疾患の増悪を治療または予防する方法でのそのような免疫原性組成物の使用に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項1】**

以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD (PD) またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE (PE) またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリン (pilin) A (PilA) またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2) またはその断片を含む免疫原性組成物を、既存の免疫応答と比較して、さらなるまたは追加的免疫応答を生起するために十分な量で被験体に投与するステップを含む、被験体での分類不可能インフルエンザ菌 (Non-Typeable *Haemophilus influenzae*) およびモラクセラ・カタラーリス (*Moraxella catarrhalis*) に対する既存の免疫応答を強化する方法。

10

【請求項2】

既存の免疫応答が、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD (PD) またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE (PE) またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA (PilA) またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2) またはその断片を含む免疫原性組成物の少なくとも2用量の先行する投与により生起されている、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

被験体が、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の既往歴を有する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

被験体が、中等度および重度の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪 (AECOPD) の既往歴を有する、請求項3に記載の方法。

20

【請求項5】

前記免疫原性組成物が、少なくとも2用量のワクチンの第1の投与から6~13ヵ月後に投与される (例えば、6~12ヵ月後に投与される ; 6ヵ月後に投与される ; または12ヵ月後に投与される)、請求項2、3または4に記載の方法。

【請求項6】

前記免疫原性組成物が、少なくとも2用量のワクチンの第1の投与の日付に、12ヵ月毎に引き続き投与される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記さらなるまたは追加的免疫応答が、分類不可能インフルエンザ菌 (NTHi) およびモラクセラ・カタラーリス (Mcat) に対する保護的または治療的免疫を誘導するために十分である、請求項1~6のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項8】

前記免疫応答がPD、PE、PilAおよびUspA2に対するものであり、かつAECOPDの頻度を低減するために十分である、請求項1~7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

被験体がヒトである、請求項7または8に記載の方法。

【請求項10】

被験体が、18~40歳または50~70歳または40~80歳の成人である、請求項9に記載の方法。

40

【請求項11】

被験体が、少なくとも10パック年 (pack year) の喫煙歴を有する、請求項9に記載の方法。

【請求項12】

UspA2が、全長にわたって、配列番号13に対して少なくとも63%、66%、70%、72%、74%、75%、77%、80%、84%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である、請求項1~11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項13】

UspA2が、本質的に、配列番号13のアミノ酸30~540 (配列番号61、62、63または64)、

50

配列番号13のアミノ酸31～540（配列番号71）、配列番号13のアミノ酸30～519（配列番号65または66）、配列番号13のアミノ酸30～564（配列番号67または68）、および配列番号13のアミノ酸31～564（配列番号69または70）からなる群より選択されるUspA2の免疫原性断片からなる、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

PEおよびPiIAが融合タンパク質として、特に配列番号72または配列番号73として存在する、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項15】

前記免疫原性組成物が、UspA2（配列番号69）、プロテインD（配列番号1）およびPE-PiIA融合タンパク質（配列番号72）を含む、請求項1～14のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項16】

前記免疫原性組成物が、アジュバント、特にアジュバントAS01Eをさらに含む、請求項1～15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項17】

前記免疫原性組成物が、(1) 10 µgのPD、(2) 10 µgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 10 µgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項18】

前記免疫原性組成物が、(1) 10 µgのPD、(2) 10 µgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 3.3 µgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項19】

20

第1、第2および第3の免疫学的有効用量の免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含む、ワクチン接種プロトコールであって、該免疫原性組成物の第3用量が、該免疫原性組成物の第1用量の投与から少なくとも6ヵ月後に投与され、該免疫原性組成物が、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリン（pilin）A（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む、上記プロトコール。

【請求項20】

前記免疫原性組成物が、(1) 10 µgのPD、(2) 10 µgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 10 µgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、請求項19に記載のワクチン接種プロトコール。

30

【請求項21】

前記免疫原性組成物が、(1) 10 µgのPD、(2) 10 µgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 3.3 µgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、請求項19に記載のワクチン接種プロトコール。

【請求項22】

PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答が、分類不可能インフルエンザ菌（NTHi）およびモラクセラ・カタラーリス（Mcat）に対する保護的または治療的免疫を誘導するために十分である、請求項20または21に記載のワクチン接種プロトコール。

【請求項23】

40

PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答が、AECOPDの頻度を低減するために十分である、請求項20、21または22に記載のワクチン接種プロトコール。

【請求項24】

被験体がヒトである、請求項23に記載のワクチン接種プロトコール。

【請求項25】

被験体が、18～40歳または50～70歳または40～80歳の成人である、請求項24に記載のワクチン接種プロトコール。

【請求項26】

被験体が、少なくとも10パック年の喫煙歴を有する、請求項25に記載のワクチン接種プロトコール。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫応答を強化する方法での使用のための、インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) およびモラクセラ・カタラーリス (*Moraxella catarrhalis*) 由来の免疫原性ポリペプチドを含む、ワクチンなどの免疫原性組成物、ならびにそれを用いる治療方法に関する。より詳細には、本発明は、慢性閉塞性肺疾患の増悪を治療または予防する方法での、そのような免疫原性組成物の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

一般的な予防可能な疾患である慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は、通常は進行性である持続的な気流制限により特徴付けられる。気流制限は、気体の有害粒子に対する気道および肺での慢性的炎症性応答の増強を伴う。職業性曝露などの他の因子もまた該疾患の発症に寄与し得るものの、COPDの最も重要な環境的リスク因子は、喫煙である[1]。該疾患は、肉体的労作時の息切れ、健康状態の低下および増悪などの症状を伴う、肺機能の加速的低下として現われる、多成分疾患である。

【0003】

COPDの有病率は増加しており、全世界では、40歳以上の集団のうちの10.1±4.8%がCOPD (GOLDグレードII以上) に罹患している[2]。COPDは、喫煙歴を有する成人/高齢者で最も高頻度に見られる[3]。該疾患は、米国での慢性的疾病率および死亡率の主要原因の第4位であり、中国での疾病負担に関しては第1位である。近年の論文の報告では、2015年には、COPDが、両方の性別に関して、全世界の年齢標準化死亡率のうちで第3位にランク付けされ、該疾患により約3・2百万人の患者が死亡した[4]。

【0004】

急性増悪および併存疾患が、個々のCOPD患者での全体的な疾患重症度に関与する。COPDの急性増悪 (AECOPD) とは、通常の日間変化を超える患者の呼吸器症状の悪化を特徴とする急性イベントであり、投薬の変更につながる[1]。AECOPDは、疾病率および死亡率を増加させ、肺機能の急速な低下および機能的状態のさらなる悪化を引き起こす[5]。

【0005】

肺には、様々な細菌株が定着することが知られている[6、7]。COPD患者では、新規細菌株の獲得が、AECOPDの重要な原因であると考えられる[8]。推定は大きく変化するが、分類不可能 (non-typeable) インフルエンザ菌 (NTHi) が、AECOPDに関連する主要な細菌性病原体であるようであり (11~38%)、モラクセラ・カタラーリス (Mcat) (3~25%) および肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) (4~9%) がこれに続く[7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18および18A]。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). From the Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, updated 2017; <http://www.goldcopd.org/>. Last accessed: 16-MAR 2017.

【非特許文献2】Buist S, McBurnie MA, Vollmer WM, et al. International variation in the prevalence of COPD (The BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet* 2007;370:741-50.

【非特許文献3】Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJ, et al. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance-United States, 1971-2000. *MMWR Surveill Summ* 2002;51:1-16.

【非特許文献4】Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systemat

10

20

30

40

50

ic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388: 1459-544.

【非特許文献 5】Sapey E, Stockley RA. COPD exacerbations 2: aetiology. *Thorax* 2006;61:250-8.

【非特許文献 6】Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK, et al. Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD. *PLoS One* 2011;6:e16384.

【非特許文献 7】Wilkinson TM, Hurst JR, Perera WR, et al. Effect of interactions between lower airway bacterial and rhinoviral infection in exacerbations of COPD. *Chest* 2006;129:317-24.

【非特許文献 8】Sethi S, Evans N, Grant BJ, et al. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2002;347:465-71. 10

【非特許文献 9】Alamoudi OS. Bacterial infection and risk factors in outpatients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: a 2-year prospective study. *Respirology* 2007; 12:283-7.

【非特許文献 10】Bandi V, Jakubowycz M, Kinyon C, et al. Infectious exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease associated with respiratory viruses and non-typeable *Haemophilus influenzae*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;37:69-75.

【非特許文献 11】Beasley V, Joshi PV, Singanayagam A, et al. Lung microbiology and exacerbations in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2012;7:555-69. 20

【非特許文献 12】Hutchinson AF, Ghimire AK, Thompson MA, et al. A community-based, time-matched, case-control study of respiratory viruses and exacerbations of COPD. *Respir Med* 2007;101:2472-81.

【非特許文献 13】Ko FW, Ip M, Chan PK, et al. A 1-year prospective study of the infectious etiology in patients hospitalized with acute exacerbations of COPD. *Chest* 2007;131:44-52.

【非特許文献 14】Larsen MV, Janner JH, Nielsen SD, et al. Bacteriology in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in patients admitted to hospital. *Scand J Infect Dis* 2009;41:26-32. 30

【非特許文献 15】Murphy TF, Brauer AL, Grant BJ, et al. *Moraxella catarrhalis* in chronic obstructive pulmonary disease: burden of disease and immune response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:195-9.

【非特許文献 16】Papi A, Bellettato CM, Braccioni F, et al. Infections and airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease severe exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1114-21.

【非特許文献 17】Rosell A, Monso E, Soler N, et al. Microbiologic determinants of exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Intern Med* 2005;165: 891-7.

【非特許文献 18】Sethi S, Murphy TF. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2008;359:2355-65. 40

【非特許文献 19】Wilkinson TMA, Aris E, Bourne S, et al. A prospective, observational cohort study of the seasonal dynamics of airway pathogens in the aetiology of exacerbations in COPD *Thorax* Published Online First: 21 April 2017. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209023

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

広範囲の薬物的介入（吸入コルチコステロイド、気管支拡張剤、ホスホジエステラーゼ阻害剤、テオフィリン、長期抗生物質治療および粘液溶解薬など）および非薬物的介入（ 50

肺気量減少手術、家庭酸素療法、換気補助および肺リハビリテーションなどが、COPDを管理または治療するために存在し、それらの一部が、AECOPD率に対する正の影響を有する。しかしながら、これらのアプローチは、最適に標的化および使用されたとしても、完全に有効ではない場合がある。したがって、COPD、特にAECOPDを管理または治療するためのさらなる治療レジメンに対する必要性が存在する。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する免疫応答を強化するための改善されたレジメンを見出した。特に、治療レジメンは、ワクチンレジメン、例えば、初回-追加免疫レジメンである。

10

【0009】

つまり、本発明の第1の態様では、被験体での分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する既存の免疫応答を強化する方法での使用のための、(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD(PD)またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE(PE)またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリン(pilin)A(PiIA)またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2(UspA2)またはその断片、を含む免疫原性組成物が提供され、該方法は、免疫応答を生起するために十分な量で、特に既存の免疫応答と比較して、さらなるまたは追加的な免疫応答を生起するために十分な量で、被験体に該免疫原性組成物を投与するステップを含む。

20

【0010】

特に、被験体は、慢性閉塞性肺疾患(COPD)の過去の既往歴を有する。さらにまた詳細には、被験体は、中等度および重度の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪(AECOPD)の過去の既往歴を有する。つまり、特定の実施形態では、免疫原性組成物は、慢性閉塞性肺疾患の急性増悪(AECOPD)を治療または予防する方法での使用のためのものであり、該方法は、免疫応答を生起するために十分な量で、特に既存の免疫応答と比較して、さらなるまたは追加的な免疫応答を生起するために十分な量で、被験体に該免疫原性組成物を投与することにより、分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する既存の免疫応答を強化するステップを含む。一実施形態では、慢性閉塞性肺疾患の急性増悪(AECOPD)は、細菌感染を伴う。しかしながら、このことは、細菌感染が、検査により、例えば細菌培養により、特定されていなければならないことを暗示することを意図しない。

30

【0011】

一般的に、既存の免疫応答は、PD、PE、PiIAおよびUspA2またはそれらの断片を含む免疫原性組成物の少なくとも2用量の投与、例えば、第1用量および第2用量からなる先行する投与により生起されている。例えば、既存の免疫応答は、PD、PE、PiIAおよびUspA2またはそれらの断片を含むワクチンの少なくとも2用量を用いる被験体の初回免疫化により生じ得る。

【0012】

特定の実施形態では、免疫原性組成物は、ワクチンの少なくとも2用量のうちの第1の投与の6~12ヵ月後に投与される。その後、免疫原性組成物を、定期的な間隔で、例えば、6~12ヵ月毎に投与することができる。つまり、一実施形態では、免疫原性組成物は、ワクチンの少なくとも2用量のうちの第1の投与の6~12ヵ月後に投与され、かつ6~12ヵ月後に再び、例えば、ワクチンの少なくとも2用量のうちの第1回の日付に投与することができる。

40

【0013】

特に、被験体に対して免疫原性組成物を投与するステップは、PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答を生起する。より詳細には、PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答は、分類不可能インフルエンザ菌またはモラクセラ・カタラーリスに対する保護的免疫または治療的免疫を誘導するために十分である。さらにまた詳細には、PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答は、分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラー

50

リスに対する保護的免疫または治療的免疫を誘導するために十分である。さらにまたより詳細には、PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答は、AECOPDの頻度を低下させるために十分である。

【0014】

特に、被験体は、好適な哺乳動物、好ましくはヒトである。被験体は、成人であり得、例えば、18～80歳、18～70歳、18～50歳、18～40歳または50～70歳または40～80歳であり得る。一部の実施形態では、免疫原性組成物は、喫煙歴、例えば、少なくとも10パック年の喫煙歴を有する被験体での使用のためのものである。例えば、1パック年とは、1年間毎日20本（1パック）、または半年間の毎日40本、または2年間の毎日10本の喫煙に等しい。パック年の数値は、1日あたりの喫煙したタバコのパック数に、その人物が喫煙してきた年数を乗算することにより算出される（1パックはタバコ20本であるので、これは以下の通りにも算出できる：1日あたりの平均喫煙本数に年数を乗算し、20で除算する）。他の実施形態では、免疫原性組成物は、嚢胞性線維症を有する（例えば、遺伝学的検査、血液検査および/または汗検査により診断された）被験体での使用のためのものである。

10

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】図1(a)は、第1相臨床試験（NTHi-003）での、喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者（50～70歳）の0、2ヵ月スケジュールに従って筋内投与された、PDおよびPE-PiIA融合タンパク質を含むAS01Eアジュバント化NTHi免疫原性組成物の2用量を用いた免疫化後のPDおよびPiIAに対する免疫応答を示す図である。図1(b)は、臨床試験データの間間解析に基づく、ワクチン効力の理論的傾向を示す図である。ワクチン接種7ヵ月後のワクチン効力が、ワクチン接種4ヵ月後と比較して低いとの理論的傾向が示される。

20

【図2】ABCD評価ツールを示す図である。

【図3】本発明の治療レジメンを例示する図である。図3(a)は、1日目、61日目および181日目に行なわれる初回ワクチン接種を用いる3用量レジメンを提供する。年1回の追加投与を、3用量ワクチン接種レジメンの完了に続いて提供することができる。図3(b)は、1日目、61日目に行なわれる初回ワクチン接種および361日目の追加接種を用いる3用量レジメンを提供する。年1回の追加免疫用量を、3用量ワクチン接種レジメンの完了に続いて提供することができる。

【図4 A】AS01Eを用いてアジュバント化された10 μgまたは30 μg抗原/用量のいずれかのNTHi ワクチン（PDおよびPE-PiIA融合タンパク質を含むAS01Eアジュバント化免疫原性組成物）の2用量を投与された参加者での抗PEの幾何平均濃度を示す図である。喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者（50～70歳）の第1相臨床試験（NTHi-003）での、PRE：用量1前；PI(D30)：用量1の30日後；PI(D60)：用量2前；PII(D90)：用量2の30日後；PII(D180)：用量3前；PIII(D210)：用量3の30日後；PIII(D420)：用量3の8ヵ月後。

30

【図4 B】AS01Eを用いてアジュバント化された10 μgまたは30 μg抗原/用量のいずれかのNTHi ワクチン（PDおよびPE-PiIA融合タンパク質を含むAS01Eアジュバント化免疫原性組成物）の2用量を投与された参加者での抗PiIAの幾何平均濃度を示す図である。喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者（50～70歳）の第1相臨床試験（NTHi-003）での、PRE：用量1前；PI(D30)：用量1の30日後；PI(D60)：用量2前；PII(D90)：用量2の30日後；PII(D180)：用量3前；PIII(D210)：用量3の30日後；PIII(D420)：用量3の8ヵ月後。

40

【図4 C】AS01Eを用いてアジュバント化された10 μgまたは30 μg抗原/用量のいずれかのNTHi ワクチン（PDおよびPE-PiIA融合タンパク質を含むAS01Eアジュバント化免疫原性組成物）の2用量を投与された参加者での抗PDの幾何平均濃度を示す図である。喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者（50～70歳）の第1相臨床試験（NTHi-003）での、PRE：用量1前；PI(D30)：用量1の30日後；PI(D60)：用量2前；PII(D90)：用量2の30日後；PII(D180)：用量3前；PIII(D210)：用量3の30日後；PIII(D420)：用量3の8ヵ月後。

【図5 A】以下のマーカーを発現するPD特異的CD4+ T細胞数を示す図である：喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者（50～70歳）の第1相臨床試験（NTHi-003）での、10-AS01Eアジュバント化製剤を用いる各ワクチン接種の前および後の、全種類（第1のバー）、CD40L

50

(第2のバー)、IL-2(第3のバー)、TNF-(第4のバー)、IFN-(第5のバー)、IL-13(第6のバー)およびIL-17(第7のバー)。

【図5B】以下のマーカーを発現するPE特異的CD4+ T細胞数を示す図である：喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者(50~70歳)の第1相臨床試験(NTHi-003)での、10-AS01Eアジュバント化製剤を用いる各ワクチン接種の前および後の、全種類(第1のバー)、CD40L(第2のバー)、IL-2(第3のバー)、TNF-(第4のバー)、IFN-(第5のバー)、IL-13(第6のバー)およびIL-17(第7のバー)。

【図5C】以下のマーカーを発現するPiIA特異的CD4+ T細胞数を示す図である：喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者(50~70歳)の第1相臨床試験(NTHi-003)での、10-AS01Eアジュバント化製剤を用いる各ワクチン接種の前および後の、全種類(第1のバー)、CD40L(第2のバー)、IL-2(第3のバー)、TNF-(第4のバー)、IFN-(第5のバー)、IL-13(第6のバー)およびIL-17(第7のバー)。

【図6A】4価NTHi-Mcat(PD-PEPiIA-UspA2)ワクチンによるマウスでのUspA2、PD、PEおよびPiIAに対して誘導されたIgG応答を示す図である(UspA2)。UspA2の添加により、AS01E中のPDおよびPEPiIA免疫原性に対する大きな影響は観察されなかった。

【図6B】4価NTHi-Mcat(PD-PEPiIA-UspA2)ワクチンによるマウスでのUspA2、PD、PEおよびPiIAに対して誘導されたIgG応答を示す図である(PD、プロテインD)。UspA2の添加により、AS01E中のPDおよびPEPiIA免疫原性に対する大きな影響は観察されなかった。

【図6C】4価NTHi-Mcat(PD-PEPiIA-UspA2)ワクチンによるマウスでのUspA2、PD、PEおよびPiIAに対して誘導されたIgG応答を示す図である(PE、プロテインE)。UspA2の添加により、AS01E中のPDおよびPEPiIA免疫原性に対する大きな影響は観察されなかった。

【図6D】4価NTHi-Mcat(PD-PEPiIA-UspA2)ワクチンによるマウスでのUspA2、PD、PEおよびPiIAに対して誘導されたIgG応答を示す図である(PiIA)。UspA2の添加により、AS01E中のPDおよびPEPiIA免疫原性に対する大きな影響は観察されなかった。

【図6E】4価NTHi-Mcat(PD-PEPiIA-UspA2)ワクチンによるマウスでのUspA2、PD、PEおよびPiIAに対して誘導されたIgG応答を示す図である(PE、PiIAおよびPD)。UspA2の添加により、AS01E中のPDおよびPEPiIA免疫原性に対する大きな影響は観察されなかった。

【図7】UspA2により誘導される殺細菌応答を示す図である。抗モラクセラ・カタラーリス殺細菌アッセイを、同種(25238)または異種(F10)UspA2を発現する菌株に対して行った。UspA2は、両方の菌株に対して、高い殺細菌力価を誘導した。

【図8A】18~40歳の健康成人ならびに50~70歳の喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者の第1相試験(NTHi-MCAT-001)での、NTHi-Mcatワクチン(PD-PEPiIA-UspA2)によりマウスでPD(プロテインD)に対して誘導されたIgG応答を示す図である。

【図8B】18~40歳の健康成人ならびに50~70歳の喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者の第1相試験(NTHi-MCAT-001)での、NTHi-Mcatワクチン(PD-PEPiIA-UspA2)によりマウスでPE(プロテインE)に対して誘導されたIgG応答を示す図である。

【図8C】18~40歳の健康成人ならびに50~70歳の喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者の第1相試験(NTHi-MCAT-001)での、NTHi-Mcatワクチン(PD-PEPiIA-UspA2)によりマウスでPiIAに対して誘導されたIgG応答を示す図である。

【図8D】18~40歳の健康成人ならびに50~70歳の喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者の第1相試験(NTHi-MCAT-001)での、NTHi-Mcatワクチン(PD-PEPiIA-UspA2)によりマウスでUspA2に対して誘導されたIgG応答を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0016】

COPDは、気流制限の進行性の悪化および肺機能の低下を特徴とし、COPD症状が増加して追加の医療的処置および多くの場合入院が必要になる、一時的かつ見た目には確率的な期間である急性増悪(AECOPD)によって複雑化する。「急性増悪」は、当技術分野でのその通常の意味を有し、COPD患者の通常の前正常な日間変動および状態を超える患者のCOPD症状の急激な突然の悪化を意味し、緊急の措置を必要とする。急性増悪は、細菌およびウイルスなどの病原体、タバコの煙、アレルゲンまたは汚染物質などの吸入された刺激物質へ

10

20

30

40

50

の曝露をはじめとする様々な刺激因子により惹起される場合がある。1回以上の急性増悪の記録された既往歴を有するCOPD患者は、その後の増悪、特に細菌性増悪のリスクが高まる。用語「細菌性増悪」とは、日常的培養（例えば、インフルエンザ菌および/またはモラクセラ・カタラーリス）または 10^7 細胞以上の合計好気性CFU（コロニー形成単位）カウントに対して陽性の細菌性病原体を伴う急性増悪を意味する。理論に拘束されるものではないが、治療レジメンは、インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスによる感染および/またはそれらによる被験体の、特に被験体の気道の定着のリスクを予防または低減する抗体のレベルの上昇により特徴付けられる被験体での免疫応答を誘導することにより、そのような細菌性増悪の発生のリスクを低減する。そのようにする場合、本発明は、COPDの急性増悪の頻度、持続期間もしくは重症度を低減し、かつ/またはCOPDの急性増悪の1種以上の症状の頻度、持続期間もしくは重症度を低減する。急性増悪または急性増悪の1種以上の症状の頻度、持続期間もしくは重症度の低減は、通常の技能を有する医師または臨床医による臨床観察により測定することができる。頻度、持続期間または重症度の低減は、本発明の方法に従って治療されていない同じ被験体での急性増悪もしくは症状の頻度、持続期間または重症度と比較して決定される。通常の技能を有する臨床医による好適な臨床観察としては、肺機能の客観的尺度、ならびに医学的介入を必要とする頻度が挙げられる。被験体による主観的自己評価もまた、尺度として用いることができ、例えば、FDAに認められた被験体報告結果ツールまたは肺疾患からの増悪ツール（Exacerbations from Pulmonary Disease Tool, EXACT-PRO）を用いることができる。

10

20

30

40

50

【0017】

研究用NTHi-Mcatワクチンの2用量を用いる免疫化スケジュールに従って、本発明者らは、被験体での抗体応答が、第2用量の投与の1ヵ月後にピークを迎えることを観察した（図1a）。このピークに続いて、ワクチン特異的抗体のレベルの低下が、第2用量の投与から4~5ヵ月後に観察され、この時点では、循環抗体のレベルが次の数ヵ月の間安定化する（図1a；実施例4、表9）。ワクチン接種4ヵ月後と比較したワクチン接種7ヵ月後の比較的低いワクチン効力に関する理論的傾向が予測された（図1b）。応答の持続は第2用量の投与の1年後まで観察されるが、本発明者らは、2用量免疫化スケジュールと比較して増加した抗体レベルを提供して免疫応答を改善するために、第3の、または追加免疫用量のワクチンを含む改善された治療レジメンを開発した。

【0018】

つまり、本発明は、分類不可能インフルエンザ菌および/またはモラクセラ・カタラーリスに対する既存の免疫応答を強化する方法での使用のための免疫原性組成物に関する。結果として、この治療レジメンは、被験体での慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）を減少または阻害する。特に好適な免疫原性組成物は、以下の頁で説明され、かつ一般的には以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含むであろう。治療レジメンは、特に、体液性免疫応答を改善し、より詳細には、抗PD、抗PE、抗PiIAおよび抗UspA2抗体のレベルを増大または「強化」する。

【0019】

本発明の第1の実施形態では、被験体での分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する既存の免疫応答を強化する方法での使用のための、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片、を含む免疫原性組成物が提供され、該方法は、免疫応答を生起するために十分な量で、被験体に該免疫原性組成物を投与するステップを含む。より詳細には、被験体での慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）を治療または予防する方法での使用のための、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD

）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE (PE) またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA (PilA) またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2) またはその断片、を含む免疫原性組成物が提供され、該方法は、免疫応答を生起するために十分な量で、被験体に該免疫原性組成物を投与することにより、分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する既存の免疫応答を強化するステップを含む。より詳細には、既存の免疫応答を増大させるためである。

【0020】

用語「既存の免疫」とは、特定の抗原（1種または複数種）に対して以前に曝露され、従って対象となる抗原に対する検出可能な血清抗体力価を有する被験体を意味する。対照的に、用語「ナイーブ」とは、特定の抗原（1種または複数種）に対して以前に曝露されておらず、対象となる抗原に対する検出可能な血清抗体力価を有しない被験体を意味する。既存の免疫の存在は、必要な場合、当技術分野で公知の慣用的方法により、確認することができる。例えば、既存の免疫を有する被験体、言い換えれば「血清陽性被験体」は、特定の抗原への以前の曝露を示す、血清中の抗体または他の免疫マーカーの存在により特定することができる。本発明に関連して、既存の免疫は、以前のワクチン接種または少なくとも2用量（第1用量および第2用量）の、PD、PE、PilAおよびUspA2またはそれらの断片を含む免疫原性組成物の逐次的投与による、インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する被験体の「初回免疫」（プライミング）により生じる。初回免疫は、典型的には、第1の時点でのPD、PE、PilAおよびUspA2またはそれらの断片を含む免疫原性組成物の第1用量の投与、ならびにそれに続く、第2の時点でのPD、PE、PilAおよびUspA2またはそれらの断片を含む免疫原性組成物の第2用量の投与を含む。第1および第2の時点は、一般的には、少なくとも2週間、典型的には約8週間（2ヵ月または60日間）、隔てられるであろう。第1の時点が「1日目」と称される場合、60日間後の第2の時点は、「61日目」と称されるであろう。

【0021】

そのような初回免疫に続いて、既存の免疫応答を改善、刺激または拡大するために、例えば、免疫応答を刺激して、それにより、抗PD、抗PE、抗PilAおよび抗UspA2抗体、限定するものではないがIgA、IgGまたはIgEのレベルを増大させるために、免疫原性組成物の第3用量が投与される。第3用量が、第1用量の約1年後に投与される場合、一般的には、追加免疫用量と称され得る。一部の実施形態では、用語「追加免疫」（ブースト）または「強化」（ブースティング）とは、IgG、IgG1、およびIgG3などのワクチン特異的抗体の濃度が、対応するプラセボ処置群と比較して処置群で有意に増加している状況を含むことを意味する。そのような免疫強化は、被験体での慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）の予防または治療に有効であり得る。特に、第3または追加免疫用量は、既存の免疫応答に対して、またはこれと比較した場合に、さらなるまたは追加の免疫応答を生起するために十分な量で投与される。

【0022】

第3用量は、ワクチンの第1用量の投与から少なくとも6ヵ月後、例えば、181日目または約181日目に患者に投与することができる。第3用量は、特定の実施形態では追加免疫用量と称され、第1用量から少なくとも6ヵ月後、少なくとも7ヵ月後、少なくとも8ヵ月後、少なくとも9ヵ月後、少なくとも10ヵ月後、少なくとも11ヵ月後または少なくとも12ヵ月後に投与することができる。例えば、第3用量は、第1用量から6~7ヵ月後、6~8ヵ月後、6~9ヵ月後、6~10ヵ月後、6~11ヵ月後、または6~12ヵ月後の範囲内に投与することができる。例えば、181日目、211日目、241日目、271日目、301日目、331日目、361日目、もしくは391日目、または約181日目、約211日目、約241日目、約271日目、約301日目、約331日目、約361日目、もしくは約391日目である。特に、5ヵ月~12.5ヵ月、5.5~12.5ヵ月、6~12ヵ月、7~12ヵ月、8~12ヵ月、9~12ヵ月、10~12ヵ月、または11~12ヵ月の範囲内である。例えば、第3用量は、第1用量から7~12.5ヵ月後、8~12.5ヵ月後、9~12.5ヵ月後、10~12.5ヵ月後、または11~12.5ヵ月後の範囲内に投与することができる。特に、

166日目～391日目、181日目～361日目、241日目～361日目、271日目～361日目、301日目～361日目、または331日目～391日目、特に331日目～365日目の範囲内である。

【0023】

一実施形態では、免疫原性組成物（例えば、第3用量）は、少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与から6～13ヵ月後に投与される（例えば、6～12ヵ月後に投与される）。例えば、免疫原性組成物（例えば、第3用量）は、少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与から6ヵ月後に投与され得る。例えば、免疫原性組成物（例えば、第3用量）は、少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与から12ヵ月後に投与され得る。

【0024】

細菌感染に關与する慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）は、以下の事象により定義することができる：(a)被験体から取得した誘導されたかもしくは自発的な喀痰サンプルの培養での陽性細菌病原体；および/または(b) 10^7 個の細菌細胞以上の合計好気性CFUカウント；および/または(c)喀痰中の膿の増加の存在。細菌感染はまた、分子検出、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、選択された遺伝子、特に、生物種の系統間で不均一である遺伝子（NTHiのP2遺伝子など）の配列決定を用いて、決定することもできる。特に、細菌性増悪は、例えば、陽性細菌培養により決定して、以下の細菌の細菌感染と関連し得る：(a)インフルエンザ菌、特に分類不可能インフルエンザ菌（NTHi）、(b)モラクセラ・カタラーリス、または(c)インフルエンザ菌、特に分類不可能インフルエンザ菌（NTHi）およびモラクセラ・カタラーリス。

10

【0025】

第1、第2および追加免疫用量として投与される免疫原性組成物は、同じ（同種）であるかまたは異なる（異種）ことができるが、好ましくは、それらは、免疫学的有効量の以下の構成要素を含むであろう：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PilA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片。非限定的な例として、異種免疫原性組成物は、抗原、製剤化、アジュバント、ベクターなどの量に関して異なることができる。一般的に、免疫原性組成物は、同じ、すなわち、製剤化、抗原含有量、賦形剤などに関して、同じであろう。

20

【0026】

特定の実施形態では、免疫原性組成物は、インフルエンザ菌、特にNTHiによる細菌感染と関連するかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に対して被験体を保護する方法での使用のためのものである。特定の実施形態では、免疫原性組成物は、被験体での慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪、特に、インフルエンザ菌、特にNTHiによる細菌感染と関連するかまたはそれにより引き起こされる増悪のリスクを低下させる方法での使用のためのものである。特定の実施形態では、免疫原性組成物は、モラクセラ・カタラーリスによる細菌感染と関連するかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に対して被験体を保護する方法での使用のためのものである。特定の実施形態では、免疫原性組成物は、インフルエンザ菌、特にNTHi、およびモラクセラ・カタラーリスによる細菌感染と関連するかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に対して被験体を保護する方法での使用のためのものである。

30

40

【0027】

特定の実施形態では、免疫原性組成物は、インフルエンザ菌、特にNTHiによる細菌感染と関連するかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に關連する少なくとも1種の症状の重症度を低下させるかまたはその発症を遅延させる方法での使用のためのものである。特定の実施形態では、免疫原性組成物は、モラクセラ・カタラーリスによる細菌感染と関連するかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に關連する少なくとも1種の症状の重症度を低下させるかまたはその発症を遅延させる方法での使用のためのものである。特定の実施形態では、免疫原性組成物は、インフルエンザ菌、特にNTHi、およびモラクセラ・カタラーリスによる細菌感染と関連する

50

かまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に関連する少なくとも1種の症状の重症度を低下させるかまたはその発症を遅延させる方法での使用のためのものである。

【0028】

本発明はさらに、被験体でのインフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスによる細菌感染と関連する慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪を治療または予防するための初回-追加免疫法での使用のための免疫原性組成物を提供し、該方法は、以下のステップ：

- (a) 該免疫原性組成物の第1用量を被験体に投与するステップ；および
- (b) 該免疫原性組成物の第2用量を該被験体に投与するステップ；および
- (c) 該免疫原性組成物の第3用量を該被験体に投与するステップ

10

を含み、このとき、該免疫原性組成物は、以下の構成要素を含む：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PilA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片。

【0029】

被験体は、いずれかの好適な哺乳動物であり得るが、好ましくはヒトである。被験体は、成人、例えば、18～40歳または50～70歳または40～85歳であり得る。被験体は、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の既往歴、特に、慢性閉塞性肺疾患の中等度および重度の急性増悪（AECOPD）の既往歴を有する。例えば、慢性閉塞性肺疾患に関する国際指針（Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease；GOLD）分類に従って、中等度、重度、または極めて重度と分類される、COPDの確認された診断を有する。GOLDにより作成されたCOPDの診断、管理および予防に関する国際戦略（Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD）は、COPDは、呼吸困難、慢性的な咳もしくは喀痰産生、および/または該疾患に対するリスク因子（喫煙、職業、または汚染物質など）への曝露歴を有するいずれの患者でも検討されるべきであると言明している。気流制限を測定する肺活量測定評価が、診断を確立するために必要とされる。GOLD戦略中で概説されるCOPDでの気流制限重症度の分類を、表1に示す。

20

【0030】

【表1】

30

表 1. FEV1/FVC < 0.70 を有する患者での COPD における
気流制限の重症度の分類(気管支拡張後 FEV1 に基づく)

GOLD 1	軽度	FEV1 ≥ 80% 予測値
GOLD 2	中等度	50% ≤ FEV1 < 80% 予測値
GOLD 3	重度	30% ≤ FEV1 < 50% 予測値
GOLD 4	非常に重度	FEV1 < 30% 予測値

【0031】

COPD評価としてはまた、患者症状の分析も挙げられ、これは、慢性肺疾患質問票（Chronic Respiratory Questionnaire；CRQ）およびセント・ジョージ肺疾患質問票（St. George's Respiratory Questionnaire；SGRQ）などの包括的疾患特異的健康状態質問票を用いて行なうことができる。日常的な実務のために、COPD評価試験（CATTM）およびCOPD制御質問票（The COPD Control Questionnaire；CCQ^(C)）が開発されている。CATTM試験およびCCQ^(C)試験は、治療の目的のために患者を分類するものではないが、SGRQ評価に関して、症状スコア 25は、息切れに対する定期的処置の検討のための閾値として用いることができる。CATTMに関する同等の閾値は10である。息切れの簡潔な評価は、改変型英国医学研究会議（mMRC）質問票である。GOLD戦略に従えば、GOLD2（中等度）ステージに分類される患者のうち、約20％は、定期的な維持療法に加えて、抗生物質および/または全身的コルチコステロイド療法を必要とする頻回な増悪を経験する可能性がある。増悪のリスク

40

50

は、GOLD3（重度）およびGOLD4（極めて重度）と分類される患者において著しく高い。「ABCD」評価ツールが、COPD患者の疾患重症度を理解するためにさらに用いられる。この評価は、患者の肺活量測定分析を、増悪既往歴および症状評価と組み合わせて、「ABCD」群と組み合わせられた肺活量グレードを提供する。ABCD評価ツールは、図2に示される。一部の実施形態では、被験体は、GOLD2（中等度）、GOLD3（重度）またはGOLD4（極めて重度）のCOPDステータスを有する。被験体は、少なくとも1回（例えば、2回以上、3回以上）の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）のエピソード、特に、12ヵ月間に少なくとも1回（例えば、2回以上、3回以上）の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）のエピソードを経験している者であり得る。さらにまた詳細には、被験体は、過去12ヵ月の間に、少なくとも1回（例えば、2回以上、3回以上）の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）のエピソードを経験している。被験体は、気管支拡張症を有する被験体であり得る。特定の実施形態では、被験体は、慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）を経験し、抗生物質療法後に症状を解消することができなかった。

10

20

30

40

50

【0032】

当業者はまた、本発明が、治療方法に対しても適用可能であることを理解するであろう。したがって、本発明は、免疫学的有効量の以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含む、被験体での慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）の治療または予防のための方法もまた提供する。

【0033】

本発明はまた、免疫学的有効量の以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含む、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪を治療または予防するための、インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリス感染に対して被験体を免疫化する方法もまた提供する。

【0034】

本発明はまた、免疫学的有効量の以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含む、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪を治療または予防するための、被験体でのインフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する免疫応答を誘導する方法もまた提供する。

【0035】

本発明はさらに、以下のステップを含む、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪を治療または予防するための、被験体でのインフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する免疫応答を誘導するための初回-追加免疫法を提供し：

(a) (i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片、を含む第1の免疫原性組成物を被験体に投与するステップ；および

(b) (i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiIA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片、を含む第2の免疫原性組成物を被験体に投与するス

テップ；および

(c) (i)インフルエンザ菌由来のプロテインD (PD) またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE (PE) またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA (PilA) またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2) またはその断片、を含む第3の免疫原性組成物を被験体に投与するステップ；

このとき、第1、第2または第3の免疫原性組成物のうちの少なくとも1種である。一部の実施形態では、第1、第2および第3の免疫原性組成物は、異種組成物である。他の実施形態では、第1、第2および第3の免疫原性組成物は、同種組成物である。

【0036】

特定の実施形態では、第1、第2および第3の免疫学的有効用量の免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含むワクチン接種プロトコールが提供され、このとき、免疫原性組成物の第3用量は、免疫原性組成物の第1用量の投与から少なくとも6ヵ月後に投与され、免疫原性組成物は、(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD (PD) またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE (PE) またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA (PilA) またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2) またはその断片を含む。

【0037】

特定の実施形態では、方法は、インフルエンザ菌、特にNTHiの細菌感染を伴うかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪から被験体を保護する方法である。特定の実施形態では、方法は、モラクセラ・カタラーリスの細菌感染を伴うかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪から被験体を保護する方法である。特定の実施形態では、方法は、インフルエンザ菌、特にNTHi、およびモラクセラ・カタラーリスの細菌感染を伴うかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪から被験体を保護する方法である。

【0038】

特定の実施形態では、方法は、インフルエンザ菌、特にNTHiの細菌感染を伴うかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪に関連する少なくとも1種の症状の重症度を低下させるかまたはその発症を遅延させる方法である。特定の実施形態では、方法は、モラクセラ・カタラーリスの細菌感染を伴うかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪に関連する少なくとも1種の症状の重症度を低下させるかまたはその発症を遅延させる方法である。特定の実施形態では、方法は、インフルエンザ菌、特にNTHi、およびモラクセラ・カタラーリスの細菌感染を伴うかまたはそれにより引き起こされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪に関連する少なくとも1種の症状の重症度を低下させるかまたはその発症を遅延させる方法である。

【0039】

他の実施形態では、本発明は、インフルエンザ菌、特にNTHi、およびモラクセラ・カタラーリスにより引き起こされる被験体での細菌感染と関連する慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪を治療または予防するための医薬の製造での使用のための免疫原性組成物およびワクチンを提供する。

非限定的な例として、図3aおよび3bは、本発明の一般化されたレジメンの模式図を提供する。

【0040】

免疫原性組成物

用語「免疫原性組成物」とは、組成物中に存在する抗原に対する免疫応答 (抗体または細胞性免疫応答など) を生起するために投与することができるいずれかの組成物を広く意味する。つまり、本発明の組成物は、免疫原性である。免疫原性組成物が、被験体から疾患を予防、改善、緩和または除去する場合、そのような組成物は、ワクチンと称される場合がある。本発明に従うワクチンは、予防的 (すなわち、感染を予防するため) または治療的 (すなわち、感染を治療するため) のいずれかであり得るが、典型的には予防的であ

10

20

30

40

50

ろう。特定の実施形態では、免疫原性組成物はワクチンである。用語「抗原」とは、被験体に投与される場合に、その物質を標的とする免疫応答を生起する物質を意味する。本発明の文脈では、PD、PE、PilA、UspA2（それらの断片を含む）が抗原である。好ましくは、PD、PE、PilAおよびUspA2抗原は、組み換えDNA技術を用いて調製または製造された組み換え抗原である。特に、被験体に投与される場合、免疫原性組成物は、PD、PE、PilA、UspA2を標的とする免疫応答を引き起こす。特に、PD、PE、PilA、UspA2を標的とする免疫応答は保護的であり、すなわち、免疫応答は、インフルエンザ菌および/またはモラクセラ・カタラーリスにより引き起こされる感染もしくは定着を防止または低減することができる。

【0041】

プロテインD (PD)

本発明での使用のための免疫原性組成物は、インフルエンザ菌由来のプロテインDまたはその免疫原性断片を含む。プロテインD (PD) は、分類不可能インフルエンザ菌を含むすべてのインフルエンザ菌で見出される、高度に保存された42kDaの表面リポタンパク質である。免疫原性組成物にこのタンパク質を含めることにより、中耳炎に関連するインフルエンザ菌に対する保護のレベルを提供することができる[19]。PDに関する好適なアミノ酸配列としては、例えば、EP 0594610の図9から（図9aおよび9bを併せて、364アミノ酸）、およびWO91/18926またはWO00/56360に記載される通り（本明細書中では配列番号1および2として開示される）のプロテインD配列が挙げられる。他の好適なタンパク質は、例えば、Genbank登録番号：X90493（配列番号3）、X90489（配列番号4）、X90491（配列番号5）、Z35656（配列番号6）、Z35657（配列番号7）、Z35658（配列番号8）、M37487（配列番号9）によりコードされ得る。

【0042】

当業者はさらに、そのようなポリペプチドがプロテインDに対する免疫応答を生成することが可能である限り、例えば、それらがプロテインDの1種以上のエピトープを含む限り、免疫原性組成物が、プロテインDに対する配列同一性を有するポリペプチドを含み得ることを認識するであろう。つまり、免疫原性組成物は、配列番号1に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含むことができ、このとき、該単離された免疫原性ポリペプチドは、配列番号1に対する免疫応答、特に、配列番号1に結合する抗体の形成をもたらす免疫応答を生起することが可能である。

【0043】

プロテインE (PE)

プロテインEは、接着性を有する外膜リポタンパク質である。このタンパク質は、上皮細胞に対する分類不可能インフルエンザ菌（NTHi）の接着/浸潤での働きを有する[20、21、22]。このタンパク質は、莢膜化型インフルエンザ菌および分類不可能インフルエンザ菌の両方で高度に保存され、かつ保存された上皮結合性ドメインを有する[23]。参照菌株としてインフルエンザ菌Rdと比較した場合に、13種類の異なる点突然変異が様々なヘモフィルス属菌種で記載されてきた。その発現は、対数増殖期および静止期の両方の細菌で観察される（WO2007/084053）。

【0044】

プロテインEはまた、ピトロネクチンとの結合を介して、ヒト補体抵抗性にも関与する[24]。PEは、結合性ドメインPKRYARSVRQ YKILNCANYH LTQVR（配列番号10、配列番号11のアミノ酸84~108に対応する）により、最終補体経路の重要な阻害因子であるピトロネクチンに結合する[24]。

【0045】

インフルエンザ菌由来のプロテインE（「プロテインE」、「Prot E」および「PE」とも称される）は、配列番号11のアミノ酸配列（WO2012/139225A1の配列番号4に対応する）からなるか、またはこれを含むことができる。当業者はさらに、そのようなポリペプチドがプロテインEに対する免疫応答を生成することが可能である限り、例えば、それらがプロ

10

20

30

40

50

テインEの1種以上のエピトープを含む限り、免疫原性組成物が、プロテインEに対する配列同一性を有するポリペプチドを含み得ることを認識するであろう。つまり、免疫原性組成物は、配列番号11に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含むことができ、このとき、該単離された免疫原性ポリペプチドは、配列番号11に対する免疫応答、特に、配列番号11に結合する抗体の形成をもたらす免疫応答を生起することが可能である。PEポリペプチドの免疫原性は、参照により本明細書中に組み入れられるWO2012/139225A1に記載される通りに測定することができる。

【0046】

ピリンA (PilA)

ピリンA (PilA) はおそらく、収縮運動に關与するIV型インフルエンザ菌線毛 (Tfp) の主要ピリンサブユニットである[25]。NTHi PilAは、in vivoで発現される保存された接着因子 (adhesin) である。PilAは、NTHiの接着、定着およびバイオフィーム形成に關与することが示されている[26]。PilAは、配列番号12のタンパク質配列 (WO2012/139225A1の配列番号58に対応する) からなるか、またはこれを含むことができる。当業者はさらに、そのようなポリペプチドがPilAに対する免疫応答を生成することが可能である限り、例えば、それらがPilAの1種以上のエピトープを含む限り、免疫原性組成物が、ピリンAに対する配列同一性を有するポリペプチドを含み得ることを認識するであろう。つまり、免疫原性組成物は、配列番号12に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含むことができ、このとき、該単離された免疫原性ポリペプチドは、配列番号12に対する免疫応答、特に、配列番号12に結合する抗体の形成をもたらす免疫応答を生起することが可能である。PilAポリペプチドの免疫原性は、参照により本明細書中に組み入れられるWO2012/139225A1に記載される通りに測定することができる。

【0047】

ユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2)

本明細書中で用いる場合、「UspA2」とは、モラクセラ・カタラーリス (*M. catarrhalis*; Mcat) 由来のユビキタス表面タンパク質A2を意味する。ユビキタス表面タンパク質A2は、電子顕微鏡写真では棒付きキャンディ状構造 (lollipop-shared structure) に見える、モラクセラ・カタラーリスで同定された三量体自己輸送体である[27]。UspA2は、N末端頭部と、それに続いて両親媒性ヘリックスで終端するストーク部、およびC末端膜ドメインから構成される[27]。UspA2は、非常によく保存されたドメインを含み[28]、このドメインは、マウスでのモラクセラ・カタラーリス抗原接種モデルで受動的伝達に際して保護的であることが示されたモノクローナル抗体により認識される[29]。UspA2は、宿主構造ならびにフィブロネクチン[30]およびラミニン[31]などの細胞外マトリックスタンパク質と相互作用することが示されており、このことは、このタンパク質がモラクセラ・カタラーリス感染の早期に働き得ることを示唆する。UspA2はまた、モラクセラ・カタラーリスが正常ヒト血清の殺細菌活性に耐える能力に關与するとも考えられる[32]。UspA2は、(i) 補体阻害因子であるC4bpに結合してモラクセラ・カタラーリスが古典的補体系を阻害することを可能にし、(ii) 血清からC3を吸収することにより代替的補体経路の活性化を防止し、かつ(iii) 補体調節因子タンパク質であるピトロネクチンに結合することにより、補体系の最終段階である膜攻撃複合体 (Membrane Attack Complex; MAC) に干渉する[33]。UspA2は、ATCC 25238からの配列番号13のアミノ酸配列、ならびに配列番号13に対して全長にわたって少なくともまたは正確に63%、66%、70%、72%、74%、75%、77%、80%、84%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは100%の同一性を有する配列からなるか、またはこれを含むことができる。

【0048】

配列番号13に記載されるUspA2は、アミノ酸1~29のシグナルペプチド (配列番号14)、アミノ酸30~177のラミニン結合性ドメイン (配列番号15)、アミノ酸165~318のフィブロネクチン結合性ドメイン (配列番号16) (Tan et al. JID 192: 1029-38 (2005))、ア

10

20

30

40

50

ミノ酸30～539のC3結合性ドメイン（配列番号17）（WO2007/018463）または配列番号10のアミノ酸30～539の断片、例えば、配列番号1のアミノ酸165～318（Hallstrom T et al. J. Immunol. 186: 3120-3129 (2011)）、アミノ酸519～564（配列番号18）またはアミノ酸520～559（配列番号19）の両親媒性ヘリックス（異なる予測法を用いて特定された）およびアミノ酸576～630（配列番号20）のC末端アンカードメイン（Brooks et al., Infection & Immunity, 76(11), 5330-5340 (2008)）を含む。UspA2アミノ酸の差異が、様々なモラクセラ・カタラーリス種について記載されている。例えば、J Bacteriology 181(13):4026-34 (1999)、Infection and Immunity 76(11):5330-40 (2008)およびPLoS One 7(9):e45452 (2012)を参照されたい。

【0049】

UspA2は、以下のアミノ酸からなる群より選択されるいずれかの1箇所以上のアミノ酸で配列番号13とは異なるアミノ酸配列からなるか、またはこれを含むことができる：AA（アミノ酸）30～298、AA299～302、AA303～333、AA334～339、AA349、AA352～354、AA368～403、AA441、AA451～471、AA472、AA474～483、A487、AA490、AA493、AA529、AA532またはAA543。UspA2は、配列番号13と比較してアミノ酸挿入を含む、配列番号13とは異なるアミノ酸配列からなるか、またはこれを含むことができる。UspA2は、配列番号21～配列番号57の中のアミノ酸差異のうちのいずれか1箇所で配列番号13とは異なるアミノ酸配列からなるか、またはこれを含むことができる。例えば、配列番号13は、アミノ酸70にQではなくKを、アミノ酸135にGではなくQを、および/またはアミノ酸216にNではなくDを含むことができる。モラクセラ・カタラーリスの38種の菌種に由来するUspA2のさらなるアミノ酸配列が、配列番号21～57として提供される。WO2015/125118A1は、モラクセラ・カタラーリス（*M. catarrhalis*、Mcat）ユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）を含む組成物を記載する。

【0050】

免疫原性断片

特定の実施形態では、上記のタンパク質の免疫原性断片もまた用いることができる。本明細書中で用いる場合、用語「断片」とは、別の配列のサブセットである配列を意味する。この用語は、無傷もしくは完全な野生型ポリペプチドの一部または一部分であるが、無傷もしくは完全な野生型ポリペプチドよりも少ないアミノ酸残基を含むものを意味するために使用される。つまり、この用語は、野生型もしくは参照ポリペプチドの1箇所以上の領域に対応する切断型またはより短いアミノ酸配列を意味し、かつ、本明細書中で用いる場合、断片との用語は、全長または野生型ポリペプチド配列に対する言及を排除することが理解されるはずである。断片の一例は、エピトープ配列である。アミノ酸配列の断片または部分配列は、天然に存在するか、または参照ポリペプチドで見出されるよりも少ないいずれかの残基数であり得る。しかしながら、本発明の文脈では、いかなるそのような免疫原性断片も、全長ポリペプチドに対する免疫応答、特に、全長ポリペプチドに結合することが可能である抗体の形成をもたらす免疫応答を生起することが可能でなければならぬことは、当業者には明らかであろう。タンパク質の断片は、当技術分野で公知の技術を用いて、例えば、組み換え的に、タンパク質分解消化により、または化学合成により、生成することができる。ポリペプチドの内側断片または末端断片は、ポリペプチドをコードする核酸の一方の端部（末端断片に関して）または両端（内側断片に関して）から1個以上のヌクレオチドを除去することにより生成することができる。

【0051】

断片は、配列由来の少なくともn個の連続するアミノ酸を含み、その特定の配列に応じて、nは7以上（例えば、7、10、15、20、25、30もしくは50またはそれ以上）である。断片は、7個のアミノ酸残基から、最大10個、最大15個、最大20個、最大30個または最大50個の連続するアミノ酸残基のアミノ酸配列を含むことができる。断片は、7個超のアミノ酸残基であるが50個未満、40個未満、30個未満、25個未満、20個未満、15個未満または10個未満の連続するアミノ酸残基のアミノ酸配列を含むことができる。好ましい断片は、配列由来の1個以上のエピトープを含むことができる。そのような断片が用いられる程度ま

10

20

30

40

50

で、天然に存在するかまたは参照ポリペプチドの免疫原性を共有するであろうし、より詳細には、本発明の文脈での「免疫原性」（単数または複数）は、分類不可能インフルエンザ菌またはモラクセラ・カタラーリスに対する治療的免疫応答を生起する能力である（例えば、配列表に記載される分類不可能インフルエンザ菌またはモラクセラ・カタラーリスに関連するかまたは対応する配列により示される効果の少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の保護的効果を提供または誘導する）。

【0052】

そのような断片は参照配列の切断型またはより短い断片であるが、そのような断片は、参照ポリペプチド中には見出されない追加の配列を含むように改変することができ、例えば、融合ポリペプチドを形成するために、Hisタグまたはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）タグなどの「タグ」配列、リンカー配列などを含むことができることは当業者に明らかであろう。つまり、そのような改変型断片では、断片のN末端アミノ酸のアミノ基は、それが由来する参照ポリペプチド中で連結されているであろうアミノ酸のカルボキシル基に対してペプチド結合により連結されておらず、かつ/または、断片のC末端アミノ酸のカルボキシル基は、それが由来する参照ポリペプチド中で連結されているであろうアミノ酸のアミノ基に対してペプチド結合により連結されていない。

10

【0053】

プロテインDの特定の免疫原性断片は、例えば、配列番号1もしくは2の少なくとも7個、10個、15個、20個、25個、30個または50個の連続するアミノ酸を含むか、またはそれからなる。好ましくは、免疫原性断片は、配列番号1または2に結合することができる抗体を生起する。特定の実施形態では、プロテインD免疫原性断片配列は、EP0594610に記載されるプロテインD断片を含む（かまたはそれからなる）ことができ、該断片は、配列SSHSSNMAN T（配列番号58）で始まり、EP0594610の図9から19個のN末端アミノ酸を欠失し、任意により該プロテインD断片のN末端に融合されたNS1由来のトリペプチドMDPを含む（348アミノ酸）（配列番号2）。プロテインDまたはプロテインDの断片は、脂質化（lipidate）されているか、または脂質化されていない（un-lipidated）ことができる。特に、プロテインDまたはプロテインDの断片は、脂質化されていない。免疫原性組成物は、プロテインDの免疫原性断片、好適には、配列番号1に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含むか、またはそれからなることができる。

20

30

【0054】

プロテインEの特定の免疫原性断片は、配列番号11の少なくとも7個、10個、15個、20個、25個、30個または50個の連続するアミノ酸を含むか、またはそれからなる。好ましくは、免疫原性断片は、配列番号11に結合することができる抗体を生起する。免疫原性組成物は、プロテインEの免疫原性断片、好適には、配列番号59（WO2012/139225A1の配列番号125に対応する）に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含むことができ、配列番号59は、プロテインEのアミノ酸20~160である。

40

【0055】

PilAの特定の免疫原性断片は、配列番号12の少なくとも7個、10個、15個、20個、25個、30個または50個の連続するアミノ酸を含むか、またはそれからなる。好ましくは、免疫原性断片は、配列番号12に結合することができる抗体を生起する。免疫原性組成物は、PilinAの免疫原性断片、好適には、配列番号60（WO2012/139225A1の配列番号127に対応する）に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含むことができ、配列番号60は、インフルエンザ菌86-028NP株由来PilAのアミノ酸40~149である。

【0056】

UspA2の免疫原性断片は、配列番号1の少なくとも450個の連続するアミノ酸、配列番号1

50

3の490個の連続するアミノ酸（例えば、MC-004またはMC-005のUspA2断片）、配列番号13の511個の連続するアミノ酸（例えば、構築物MC-001、MC-002、MC-003またはMC-004のUspA2断片）、配列番号13の534個の連続するアミノ酸（例えば、MC-009またはMC-011のUspA2断片）または配列番号13の535個の連続するアミノ酸（例えば、MC-007、MC-008またはMC-010のUspA2断片）の免疫原性断片を含む。免疫原性断片は、配列番号13に結合することができる抗体を生起することができる。

【0057】

UspA2の免疫原性断片は、配列番号13の少なくとも450個、490個、511個、534個または535個の連続するアミノ酸の免疫原性断片を含むことができる。UspA2の免疫原性断片は、UspA2の免疫原性断片、例えば、UspA2構築物MC-001（配列番号61）、MC-002（配列番号62）、MC-003（配列番号63）、MC-004（配列番号64）、MC-005（配列番号65）、MC-006（配列番号66）、MC-007（配列番号67）、MC-008（配列番号68）、MC-009（配列番号69）、MC-010（配列番号70）またはMC-011（配列番号71）のうちのいずれかを含むことができる。UspA2構築物MC-001～MC-011は、WO2015/125118にさらに説明されている。免疫原性断片は、該断片が由来する全長配列に結合することができる抗体を生起することができる。

【0058】

本発明の別の態様では、免疫原性組成物は、UspA2の免疫原性断片、好適には、MC-001（配列番号61）、MC-002（配列番号62）、MC-003（配列番号63）、MC-004（配列番号64）、MC-005（配列番号65）、MC-006（配列番号66）、MC-007（配列番号67）、MC-008（配列番号68）、MC-009（配列番号69）、MC-010（配列番号70）またはMC-011（配列番号71）からなる群より選択されるポリペプチド、例えば、MC009（配列番号69）（WO2015/125118A1の配列番号69に対応する）に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含む。一実施形態では、UspA2の免疫原性断片は、ラミニン結合性ドメインおよびフィブロネクチン結合性ドメインを含む。追加の実施形態では、UspA2の免疫原性断片は、ラミニン結合性ドメイン、フィブロネクチン結合性ドメインおよびC3結合性ドメインを含む。さらなる実施形態では、UspA2の免疫原性断片は、ラミニン結合性ドメイン、フィブロネクチン結合性ドメイン、C3結合性ドメインおよび両親媒性ヘリックスを含む。UspA2ポリペプチドの免疫原性は、その内容が参照により本明細書中に組み入れられるWO2015/125118A1に記載される通りに測定することができる。

【0059】

融合体

本明細書中に記載されるポリペプチドはまた、融合タンパク質の形態などの、他の形態で提供することができる。特に、プロテインEおよびピリンAは、融合タンパク質（PE-PilA）の形態で提供することができる。好適な融合体はWO2012/139225に開示され、好ましい融合体は配列番号72（WO2012/139225の配列番号194に対応する）である。つまり、免疫原性組成物は、配列番号72および/もしくは73に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するポリペプチドを含むことができる。

【0060】

つまり、本発明の特定の実施形態では、免疫原性組成物は、融合タンパク質の形態でプロテインEおよびPilAの両方を含み、好適には、LVL-735（シグナルペプチドは除去されている、配列番号73（WO2012/139225A1の配列番号219に対応する）に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%を有する単離された免疫原性ポリペプチドを含む。本明細書中で用いる場合、「シグナルペプチド」とは、前駆体タンパク質に（典型的にはN末端に）存在し、かつ成熟型タンパク質には典型的に存在しない、短い（60アミノ酸未満、例えば、3～60アミノ酸）ポリペプチドを意味する。シグナルペプチド（sp）は、典型的には疎水性アミノ酸に富む。シグナルペプチドは、翻訳されたタンパク質の膜を通過する輸送および/または分泌を指令する。シグナルペプチドはまた、標的化シグナル、輸送ペプチド、局在化シグナル、

またはシグナル配列とも称される場合がある。例えば、シグナル配列は、共翻訳型または翻訳後のシグナルペプチドであり得る。プロテインE (PE) およびピリンA (PilA) ポリペプチドの免疫原性は、その内容が参照により本明細書中に組み入れられるWO2012/139225A1に記載される通りに測定することができる。

【0061】

本発明での使用のための特定の免疫原性組成物は、(1)プロテインD、(2) PE-PilA融合タンパク質および(3) UspA2を含むであろう。特定の実施形態では、本発明での使用のための免疫原性組成物は、配列番号69に対して少なくとも95%の配列同一性を有する組み換えUspA2タンパク質、配列番号1に対して少なくとも95%の配列同一性を有する組み換えプロテインDタンパク質および配列番号72に対して少なくとも95%の配列同一性を有する組み換えPE-PilA融合タンパク質を含む。本発明での使用のための免疫原性組成物は、(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PilA融合タンパク質、(3) 10 μgのUspA2および(4) アジュバント、特にAS01Eを含むことができる。本発明での使用のための免疫原性組成物は、(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PilA融合タンパク質、(3) 3.3 μgのUspA2および(4) アジュバント、特にAS01Eを含むことができる。特に、PE-PilA融合タンパク質は、WO2012/139225に記載される通りの、LVL735構築物(配列番号72)である。特に、UspA2タンパク質は、WO2015125118に記載される通りの、MC009構築物(配列番号69)である。特定の実施形態では、本発明での使用のための免疫原性組成物は、(1) 10 μgの配列番号69の組み換えUspA2タンパク質、(2) 10 μgの配列番号1の組み換えプロテインDタンパク質および(3) 10 μgの配列番号72の組み換えPE-PilA融合タンパク質を含む。特定の実施形態では、本発明での使用のための免疫原性組成物は、(1) 3.3 μgの配列番号69の組み換えUspA2タンパク質、(2) 10 μgの配列番号1の組み換えプロテインDタンパク質および(3) 10 μgの配列番号72の組み換えPE-PilA融合タンパク質を含む。他の実施形態では、本発明での使用のための免疫原性組成物は、本質的に、(1) 10 μgの配列番号69の組み換えUspA2タンパク質、(2) 10 μgの配列番号1の組み換えプロテインDタンパク質、(3) 10 μgの配列番号72の組み換えPE-PilA融合タンパク質および(4) アジュバントAS01Eからなる。他の実施形態では、本発明での使用のための免疫原性組成物は、本質的に、(1) 3.3 μgの配列番号69の組み換えUspA2タンパク質、(2) 10 μgの配列番号1の組み換えプロテインDタンパク質、(3) 10 μgの配列番号72の組み換えPE-PilA融合タンパク質および(4) アジュバントAS01Eからなる。

【0062】

製剤

本発明の免疫原性組成物は、一般的には、製薬上許容される担体を含むであろう。「製薬上許容される担体」とは、それ自体は抗体の産生を誘導しない担体である。そのような担体は、当業者には周知であり、非限定的な例として、多糖、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、アミノ酸コポリマー、スクロース、トレハロース、ラクトース、および脂質凝集体(油滴またはリポソームなど)が挙げられる。免疫原性組成物はまた、水、生理食塩液、グリセロールなどの希釈剤も含有することができる。滅菌パイロジェン不含リン酸緩衝生理食塩液が、典型的希釈剤である。そのような組成物は、湿潤化剤または乳化剤、pH緩衝性物質などの補助物質もまた含むことができる。組成物のpHは、pH6~pH8、特に約pH7であり得る。安定なpHは、緩衝剤の使用により維持することができる。組成物は、抗微生物剤および/またはTween(ポリソルベート)などの界面活性剤を含むことができる。

【0063】

好適な免疫原性組成物は、水性形態で、例えば溶液もしくは懸濁液として、または乾燥形態で、例えば、凍結乾燥されていることができる。乾燥または凍結乾燥組成物は、一般的に、注入前に液体媒体を用いて再調製される。凍結乾燥のために、糖アルコール(例えば、マンニトール)および/または二糖(例えば、スクロースまたはトレハロース)などの安定化剤を含めることができる。免疫原性組成物は、好ましくは無菌であり、かつパイロジェン不含であり得る。組成物は、被験体の身体に対して等張性であり得る。

【0064】

免疫原性組成物は、種々の剤型で、バイアル中または針を有するかまたは有しない充填

済みシリンジ中の注射剤として、調製することができる。シリンジには一般的に、単一用量の組成物が入っているが、バイアルには、単一用量または複数用量が入っている場合がある。組成物は、経肺投与用に、例えば、吸入器を用いる投与用の微細粉末剤またはスプレー剤として、調製することができる。投与のための他の形態は、当業者に公知であり、非限定的な例として、固体投与剤型、坐剤およびベッサリー、鼻内投与、耳内投与もしくは眼内投与用の組成物（スプレー剤、滴下剤、ゲル剤または粉末剤など）が挙げられる。

【0065】

ワクチンとして用いられる免疫原性組成物は、免疫学的有効量の抗原を含む。用語「免疫学的有効量」とは、所望の免疫学的作用、特に、当業者に公知の標準的アッセイにより測定される場合に、細胞性（T細胞）応答、体液性（B細胞または抗体）応答、またはそれらの両方を、刺激もしくは達成するために必要とされる抗原（1種類または複数種類）の量を意味する。この量は、治療対象の被験体の健康状態および身体状態、年齢、抗体を合成する個体の免疫系の能力、所望の保護の程度、製剤化などに応じて変わり得る。当業者は、免疫学的有効量が、単一用量で被験体に投与される抗原の量であること、および臨床試験または投与量決定試験などの日常的な試験を通じて決定することができ、かつ一定範囲に入ることができる量であることを理解する。

10

【0066】

免疫原性組成物の単一用量中のそれぞれの個別のタンパク質抗原の量は、一般的に、 $1\ \mu\text{g}$ (0.001mg) ~ $120\ \mu\text{g}$ (0.120mg) であろう。モラクセラ・カタラーリス由来の免疫原性ポリペプチドまたはその免疫原性断片の典型的な量は、約 $1\ \mu\text{g}$ (0.001mg) ~ $120\ \mu\text{g}$ (0.120mg) の範囲内に入ることができる。より詳細には、約 $2.5\ \mu\text{g}$ (0.0025mg) ~ 約 $30\ \mu\text{g}$ (0.03mg) の範囲内、さらにより詳細には、約 $2.5\ \mu\text{g}$ (0.0025mg) ~ 約 $3.5\ \mu\text{g}$ (0.0035mg) のタンパク質の範囲内、例えば、約2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4または $3.5\ \mu\text{g}$ のタンパク質である。一般的に、インフルエンザ菌由来の免疫原性ポリペプチドまたはその免疫原性断片の典型的な量は、約 $5\ \mu\text{g}$ (0.005mg) ~ 約 $50\ \mu\text{g}$ (0.05mg) のタンパク質の範囲内に入ることができる。例えば、約9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、20、25、30、35、40、45または $50\ \mu\text{g}$ のタンパク質である。当業者は、多成分の免疫原性組成物、すなわち、少なくとも2種類の異なる抗原を含有する免疫原性組成物では、各抗原の免疫学的有効量はおそらく異なり、したがって、用量当たりのタンパク質抗原の総量のうちの割合を表わすことを理解する。非限定的な例として、免疫学的有効量の $X\ \mu\text{g}$ の第1の抗原および免疫学的有効量の $Y\ \mu\text{g}$ の第2の抗原を含む免疫原性組成物は、用量当たり $X+Y\ \mu\text{g}$ の総タンパク質抗原を含むであろう。

20

30

【0067】

免疫原性組成物は、一般的に、1種以上のアジュバントを含むであろう。本明細書中で用いる場合、「アジュバント」とは、抗原（1種類または複数種類）と組み合わせて、例えば、免疫原性組成物またはワクチンの一部分として被験体に投与される場合に、（アジュバント非存在下で得られる免疫応答と比較して）投与された抗原（1種類または複数種類）に対する被験体の免疫応答を増大または増強する、化合物または物質（または化合物もしくは物質の組み合わせ）を意味する。

40

【0068】

好適なアジュバントとしては、水酸化アルミニウムゲルまたはリン酸アルミニウムまたはミョウバンなどのアルミニウム塩が挙げられるが、カルシウム、マグネシウム、鉄または亜鉛の塩である場合もあり、またはアシル化チロシン、もしくはアシル化糖、カチオンのもしくはアニオンの誘導体化された糖、もしくはポリホスファゼンの不溶性懸濁物であり得る。一実施形態では、タンパク質は、リン酸アルミニウム上に吸着されることができる。別の実施形態では、タンパク質は、水酸化アルミニウム上に吸着されることができる。第3の実施形態では、ミョウバンをアジュバントとして用いることができる。

【0069】

優勢的にTh1応答を促進する好適なアジュバント系としては、リピドAの無毒誘導体、モ

50

ノホスホリルリピドA (MPL) またはその誘導体、特に3-デ-0-アシル化モノホスホリルリピドA (3D-MPL) (その調製に関して、GB 2220211 Aを参照されたい); およびモノホスホリルリピドA、好ましくは3-デ-0-アシル化モノホスホリルリピドAを、アルミニウム塩 (例えば、リン酸アルミニウムまたは水酸化アルミニウム) または水中油型エマルジョンと併せた組み合わせが挙げられる。そのような組み合わせでは、抗原および3D-MPLが、同じ粒子状構造中に含まれ、それにより、抗原および免疫刺激シグナルのより効率的な送達を可能にする。研究によれば、3D-MPLは、ミョウバン吸着型抗原の免疫原性をさらに増強することができることが示されている (Thoelen et al. Vaccine (1998) 16:708-14; EP 689454-B1)。

【0070】

10

AS01は、MPL (3-0-デスアシル-4'-モノホスホリルリピドA)、QS21 (キラヤ・サボナリア・モリナ、第21画分) Antigenics, New York, NY, USA) およびリポソームを含有するアジュバント系である。AS01Bは、MPL、QS21およびリポソームを含有するアジュバント系である (50 µg MPLおよび50 µg QS21)。AS01Eは、MPL、QS21およびリポソームを含有するアジュバント系である (25 µg MPLおよび25 µg QS21)。一実施形態では、免疫原性組成物またはワクチンは、AS01を含む。別の実施形態では、免疫原性組成物またはワクチンは、AS01BまたはAS01Eを含む。特定の実施形態では、免疫原性組成物またはワクチンは、AS01Eを含む。

【0071】

AS02は、MPLおよびQS21を水中油型エマルジョン中に含有するアジュバント系である。AS02Vは、MPLおよびQS21を水中油型エマルジョン中に含有するアジュバント系である (50 µg MPLおよび50 µg QS21)。

20

【0072】

AS03は、 α -トコフェロールおよびスクアレンを水中油 (o/w) 型エマルジョン中に含有するアジュバント系である。AS03Aは、 α -トコフェロールおよびスクアレンをo/w型エマルジョン中に含有するアジュバント系である (11.86mgトコフェロール)。AS03Bは、 α -トコフェロールおよびスクアレンをo/w型エマルジョン中に含有するアジュバント系である (5.93mgトコフェロール)。AS03Cは、 α -トコフェロールおよびスクアレンをo/w型エマルジョン中に含有するアジュバント系である (2.97mgトコフェロール)。一実施形態では、免疫原性組成物またはワクチンは、AS03を含む。

30

【0073】

AS04は、アルミニウム塩 (500 µg Al³⁺) 上に吸着されたMPL (50 µg MPL) を含有するアジュバント系である。一実施形態では、免疫原性組成物またはワクチンは、AS04を含む。

【0074】

QS21および3D-MPLの使用を含む系は、WO94/00153に開示されている。QS21がコレステロールを用いてクエンチされる組成物が、WO96/33739に開示されている。QS21、3D-MPLおよびトコフェロールを水中油型エマルジョン中に含む追加のアジュバント製剤が、WO 95/17210に記載されている。一実施形態では、免疫原性組成物は、QS21であり得るサポニンを追加的に含む。製剤はまた、水中油型エマルジョンおよびトコフェロールを含むこともできる (WO95/17210)。非メチル化CpG含有オリゴヌクレオチド (WO96/02555) および他の免疫調節性オリゴヌクレオチド (WO 0226757およびWO 03507822) もまた、TH1応答の優先的誘導因子であり、本発明での使用のために好適である。

40

【0075】

追加のアジュバントは、金属塩、水中油型エマルジョン、Toll様受容体アゴニスト (特に、Toll様受容体2アゴニスト、Toll様受容体3アゴニスト、Toll様受容体4アゴニスト、Toll様受容体7アゴニスト、Toll様受容体8アゴニストおよびToll様受容体9アゴニスト)、サポニンまたはそれらの組み合わせの群から選択されるものである。

【0076】

考えられる賦形剤としては、アルギニン、プルロン酸 (pluronic acid) および/または

50

ポリソルベートが挙げられる。好ましい実施形態では、ポリソルベート80（例えば、TWEEN N（米国登録商標）80）が用いられる。さらなる実施形態では、約0.03%～約0.06%の最終濃度が用いられる。具体的には、約0.03%、0.04%、0.05%または0.06%ポリソルベート80（w/v）の最終濃度を用いることができる。

【0077】

本発明の免疫原性組成物を含む製剤は、適切な経路による、例えば、筋内、舌下、経皮、皮内または鼻内経路による投与に対して適合させることができる。そのような製剤は、当技術分野で公知のいずれかの方法により調製することができる。

【0078】

キット

本発明はさらに、(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PiA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む凍結乾燥された免疫原性組成物を含む第1の容器、ならびにAS01Eを含有する液体を含む第2の容器を含む、本発明の方法での使用のためのキットを提供する。特定の詳細な実施形態では、キットはさらにバッファーを含む。特定の他の実施形態では、キットはさらに使用説明書を含む。

【0079】

一般的事項

用語「含む」（comprising）は「含む」（including）を包含し、例えば、Xを含む（comprising）組成物は、追加の何か、例えばX+Yを含む（include）ことができる。「実質的に」との単語は、「完全に」を排除せず、例えば、Yを「実質的に含まない」組成物は、Yを完全に含まないことができる。一部の実装形態では、用語「含む」（comprising）とは、列挙されたポリペプチドなどの示された活性薬剤の含有、ならびに他の活性薬剤、および製薬分野で公知の通りの製薬上許容される担体、賦形剤、エモリエント剤、安定化剤などの含有を意味する。一部の实装形態では、用語「本質的に～からなる」とは、その唯一の活性成分は、示された活性成分（例えば、抗原）であるが、製剤を安定化、保存等するためのものであるものの、示された活性成分の治療効果に直接的に関与しない他の化合物も含むことができる組成物を意味する。移行句「本質的に～からなる」の使用は、請求項の範囲が、請求項に列記される指定された材料またはステップ、および特許請求される発明の基本的および新規な特徴に著しく影響しないものを包含するものと解釈されるべきである。In re Herz, 537 F.2d 549, 551-52, 190 USPQ 461, 463 (CCPA 1976)（原文では強調）を参照されたく；またMPEP 2111.03節を参照されたい。つまり、本発明の請求項で用いられる場合に、用語「本質的に～からなる」とは、「含む」（comprising）と等価であると解釈されることを意図しない。用語「からなる」およびその変形は、別途明記されない限り、「限定される」ことを意味する。特定の分野では、用語「からなる活性成分を含む」は、「本質的に～からなる」の代わりに用いることができる。数値xに関する用語「約」とは、例えば、 $x \pm 10\%$ 、 $x \pm 5\%$ 、 $x \pm 4\%$ 、 $x \pm 3\%$ 、 $x \pm 2\%$ 、 $x \pm 1\%$ を意味する。「実質的に」との単語は、「完全に」を排除せず、例えば、Yを「実質的に含まない」組成物は、Yを完全に含まないことができる。必要な場合、「実質的に」との単語は、本発明の定義からは省略することができる。例えば、方法が、(a)、(b)、(c)などの投与のステップを指す場合、逐次的である、すなわち、ステップ(c)がステップ(b)に続き、その前にステップ(a)が先行することが意図される。抗体は、一般的に、それらの標的に特異的であり、すなわち、ウシ血清アルブミンなどの無関係の対照タンパク質に対するよりも、標的に対して高い親和性を有するであろう。

【0080】

ポリペプチド間の同一性は、種々のアルゴリズムにより算出できる。例えば、EMBOSSパッケージからのNeedleプログラム（無料ソフトウェア；EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite (2000). Trends in Genetics 16(6): 276-277）およびCGC（登録商標）パッケージからのGapプログラム（Accelrys社）を用いることができる。この

10

20

30

40

50

Gapプログラムは、Needleman, S. B. and Wunsch, C. D. (1970) J. Mol. Biol. 48, 443-453に記載されるNeedleman-Wunschアルゴリズムの実装形態である。BLOSUM62スコア付けマトリックスが用いられており、ギャップオープンおよび伸長ペナルティは、それぞれ8および2であった。

【0081】

コンピュータ化アライメントを見ると、2種の比較される配列間に同一の残基を観察することができる。同一性パーセンテージは、(1)アライメントの長さにより除算し、100を乗算した同一数を算出すること(例えば、Needleプログラム解析)、(2)最も長い配列の長さにより除算し、100を乗算した同一数を算出すること、(3)最も短い配列の長さにより除算し、100を乗算した同一数を算出すること、または(4)アライメントした残基数により除算し、100を乗算した同一数を算出すること(別の残基の前であれば、残基はアライメントされている)(例えば、Gapプログラム解析)により算出することができる。

10

【0082】

一般的に、配列同一性は、参照配列、例えば全長または野生型配列の全長にわたって算出される。アミノ酸置換は、保存的または非保存的であり得る。一部の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。変異体が免疫原性ポリペプチドである限り、置換、欠失、付加またはそれらのいずれかの組み合わせを、単一変異体中で組み合わせることができる。本発明の「ワクチン組成物」に関連する本明細書中の実施形態はまた、本発明の「免疫原性組成物」に関連する実施形態にも応用可能であり、逆もまた然りである。

本特許明細書中で言及されるすべての参照文献または特許出願は、参照により本明細書中に組み入れられる。

20

【0083】

本発明の態様

以下の節には、本発明の追加的実施形態が記載される。

実施形態1：被験体での分類不可能インフルエンザ菌(NTHi)およびモラクセラ・カタラーリス(Mcat)に対する既存の免疫応答を強化する方法での使用のための、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD(PD)またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE(PE)またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリン(pilin)A(PiIA)またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2(UspA2)またはその断片を含む免疫原性組成物であって、既存の免疫応答が、PD、PE、PiIAおよびUspA2を含む少なくとも2用量のワクチンの以前の投与により生じられたものであり、該方法が、PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する被験体での免疫応答を生起するために十分な量で、特に、既存の免疫応答と比較して、PD、PE、PiIAおよびUspA2に対するさらなるまたは追加的免疫応答を生起するために十分な量で、被験体に該免疫原性組成物を投与するステップを含む、上記免疫原性組成物。

30

実施形態2：被験体が、慢性閉塞性肺疾患(COPD)の既往歴を有する、実施形態1の使用のための免疫原性組成物。

実施形態3：被験体が、中等度および重度の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪(AECOPD)の既往歴を有する、実施形態2の使用のための免疫原性組成物。

実施形態4：少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与から6~12ヵ月後に投与される、実施形態2または3の使用のための免疫原性組成物。

40

実施形態5：少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与の日付に、12ヵ月毎に引き続き投与される、実施形態4の使用のための免疫原性組成物。

【0084】

実施形態6：PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答が、分類不可能インフルエンザ菌(NTHi)およびモラクセラ・カタラーリス(Mcat)に対する保護的または治療的免疫を誘導するために十分である、実施形態1~5のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

実施形態7：PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答が、AECOPDの頻度を低減するために十分である、実施形態1~6のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

50

実施形態8：被験体がヒトである、実施形態6または7の使用のための免疫原性組成物。

実施形態9：被験体が、18～40歳または50～70歳または40～80歳の成人である、実施形態8の使用のための免疫原性組成物。

実施形態10：被験体が、少なくとも10パック年の喫煙歴を有する、実施形態9の使用のための免疫原性組成物。

【0085】

実施形態11：UspA2が、全長にわたって、配列番号13に対して少なくとも63%、66%、70%、72%、74%、75%、77%、80%、84%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である、実施形態1～10のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

10

実施形態12：UspA2が、本質的に、配列番号13のアミノ酸30～540（配列番号61、62、63または64）、配列番号13のアミノ酸31～540（配列番号71）、配列番号13のアミノ酸30～519（配列番号65または66）、配列番号13のアミノ酸30～564（配列番号67または68）、および配列番号13のアミノ酸31～564（配列番号69または70）からなる群より選択されるUspA2の免疫原性断片からなる、実施形態1～11のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

実施形態13：PEおよびPilAが融合タンパク質として、特に配列番号72または配列番号73として存在する、実施形態1～12のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

実施形態14：UspA2（配列番号69）、プロテインD（配列番号1）およびPE-PilA融合タンパク質（配列番号72）を含む、実施形態1～13のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

20

実施形態15：アジュバント、特にアジュバントAS01Eをさらに含む、実施形態1～14のいずれか1つの使用のための免疫原性組成物。

【0086】

実施形態16：(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PilA融合タンパク質、(3) 10 μgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、実施形態14の使用のための免疫原性組成物。

実施形態17：(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PilA融合タンパク質、(3) 3.3 μgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、実施形態14の使用のための免疫原性組成物。

実施形態18：第1、第2および第3の免疫学的有効用量の免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含む、ワクチン接種プロトコルであって、該免疫原性組成物の第3用量が、該免疫原性組成物の第1用量の投与から少なくとも6ヵ月後に投与され、該免疫原性組成物が、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PilA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む、上記プロトコル。

30

【0087】

以下の節にもまた、本発明の追加的実施形態が記載される。

実施形態1a：以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PilA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む免疫原性組成物を、既存の免疫応答と比較して、さらなるまたは追加的免疫応答を生起するために十分な量が被験体に投与するステップを含む、被験体での分類不可能インフルエンザ菌およびモラクセラ・カタラーリスに対する既存の免疫応答を強化する方法。

40

【0088】

実施形態2a：既存の免疫応答が、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ菌由来のピリンA（PilA）またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2（UspA2）またはその断片を含む免疫原性組成物の少なくとも2用量の先行する投与により生起されている、実施形態1aに

50

記載の方法。

【0089】

実施形態3a：被験体が、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の既往歴を有する、実施形態1aまたは2aに記載の方法。

実施形態4a：被験体が、中等度および重度の慢性閉塞性肺疾患の急性増悪（AECOPD）の既往歴を有する、実施形態3aに記載の方法。

実施形態5a：前記免疫原性組成物が、少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与から6～13ヵ月後に投与される（例えば、6～12ヵ月後に投与される；6ヵ月後に投与される；または12ヵ月後に投与される）、実施形態2a、3aまたは4aに記載の方法。

【0090】

実施形態6a：前記免疫原性組成物が、少なくとも2用量のワクチンのうちの第1の投与の日付に、12ヵ月毎に引き続き投与される、実施形態5aに記載の方法。

実施形態7a：前記さらなるまたは追加的免疫応答が、分類不可能インフルエンザ菌（NTHi）およびモラクセラ・カタラーリス（Mcat）に対する保護的または治療的免疫を誘導するために十分である、実施形態1a～6aのいずれか1つに記載の方法。

実施形態8a：前記免疫応答がPD、PE、PiIAおよびUspA2に対するものであり、かつAECOPDの頻度を低減するために十分である、実施形態1a～7aのいずれか1つに記載の方法。

実施形態9a：被験体がヒトである、実施形態7aまたは8aに記載の方法。

実施形態10a：被験体が、18～40歳または50～70歳または40～80歳の成人である、実施形態9aに記載の方法。

【0091】

実施形態11a：被験体が、少なくとも10パック年の喫煙歴を有する、実施形態9aに記載の方法。

実施形態12a：UspA2が、全長にわたって、配列番号13に対して少なくとも63%、66%、70%、72%、74%、75%、77%、80%、84%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である、実施形態1a～11aのいずれか1つに記載の方法。

実施形態13a：UspA2が、本質的に、配列番号13のアミノ酸30～540（配列番号61、62、63または64）、配列番号13のアミノ酸31～540（配列番号71）、配列番号13のアミノ酸30～519（配列番号65または66）、配列番号13のアミノ酸30～564（配列番号67または68）、および配列番号13のアミノ酸31～564（配列番号69または70）からなる群より選択されるUspA2の免疫原性断片からなる、実施形態1a～12aのいずれか1つに記載の方法。

実施形態14a：PEおよびPiIAが融合タンパク質として、特に配列番号72または配列番号73として存在する、実施形態1a～13aのいずれか1つに記載の方法。

実施形態15a：前記免疫原性組成物が、UspA2（配列番号69）、プロテインD（配列番号1）およびPE-PiIA融合タンパク質（配列番号72）を含む、実施形態1a～14aのいずれか1つに記載の方法。

【0092】

実施形態16a：アジュバント、特にアジュバントAS01Eをさらに含む、実施形態1a～15aのいずれか1つに記載の方法。

実施形態17a：前記免疫原性組成物が、(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 10 μgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、実施形態15aに記載の方法。

実施形態18a：前記免疫原性組成物が、(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 3.3 μgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、実施形態15aに記載の方法。

実施形態19a：第1、第2および第3の免疫学的有効用量の免疫原性組成物を被験体に投与するステップを含む、ワクチン接種プロトコルであって、該免疫原性組成物の第3用量が、該免疫原性組成物の第1用量の投与から少なくとも6ヵ月後に投与され、該免疫原性組成物が、以下の構成要素：(i)インフルエンザ菌由来のプロテインD（PD）またはその断片、(ii)インフルエンザ菌由来のプロテインE（PE）またはその断片、(iii)インフルエンザ

10

20

30

40

50

菌由来のピリンA (PiIA) またはその断片、および(iv)モラクセラ・カタラーリス由来のユビキタス表面タンパク質A2 (UspA2) またはその断片を含む、上記プロトコール。

実施形態20a：前記免疫原性組成物が、(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 10 μgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、実施形態19aに記載のワクチン接種プロトコール。

【0093】

実施形態21a：前記免疫原性組成物が、(1) 10 μgのPD、(2) 10 μgのPE-PiIA融合タンパク質、(3) 3.3 μgのUspA2および(4)アジュバントAS01Eを含む、実施形態19aに記載のワクチン接種プロトコール。

実施形態22a：PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答が、分類不可能インフルエンザ菌 (NTHi) およびモラクセラ・カタラーリス (Mcat) に対する保護的または治療的免疫を誘導するために十分である、実施形態20aまたは21aに記載のワクチン接種プロトコール。

実施形態23a：PD、PE、PiIAおよびUspA2に対する免疫応答が、AECOPDの頻度を低減するために十分である、実施形態20a、21aまたは22aのいずれか1つに記載のワクチン接種プロトコール。

実施形態24a：被験体がヒトである、実施形態23aに記載のワクチン接種プロトコール。

実施形態25a：被験体が、18~40歳または50~70歳または40~80歳の成人である、実施形態24aに記載のワクチン接種プロトコール。

実施形態26a：被験体が、少なくとも10パック年の喫煙歴を有する、実施形態25aに記載のワクチン接種プロトコール。

【0094】

本発明がよりよく理解され得る目的で、以下の実施例を説明する。これらの実施例は、例示のみのためのものであり、いかなる様式でも本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【実施例】

【0095】

実施例1：ヒト成体でのPD、PEおよびPiIAの免疫原性

NTHi多成分研究用ワクチンを、2種類のワクチン抗原として提示されるNTHi由来の3種類の選択された保存された表面タンパク質の組み合わせに基づいて調製した：(1)遊離組み換え型プロテインD (PD) および(2)プロテインEおよびピリンAの組み換え融合タンパク質 (PE-PiIA)。ワクチンは、AS01Eを用いて再構成される凍結乾燥ケーキとして提示された。調製後、各ワクチン用量の適切な注人体積 (0.5mL) を、利き腕でない腕の三角筋へと筋内投与した。等張生理食塩液 (0.9%NaCl) をプラセボとして用いた。研究用ワクチンは、AS01Eを用いてアジュバント化した。AS01Eは、それぞれ25 μgの3-O-デスアシル-4'-モノホスホリルリピドA (MPL; GSK Vaccines, Rixensart, Belgium)、キラヤ・サボナリア・モリナ第21画分 (QS-21; Agenus社の完全所有子会社である米国デラウェアの会社であるAntigenics社からGSKによりライセンス供与されている) およびリボソームを含有するアジュバント系である。

【0096】

50~70歳の喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者が、第I相試験 (NTHi-003) に参加し、1日目および61日目に (0、2ヵ月スケジュールに従って) NTHi ワクチン (10 μgまたは30 μgの各抗原) の2用量を投与された。ワクチン製剤により誘導されたPD、PEおよびPiIAに対する抗体および細胞媒介性免疫応答 (CMI) を、ワクチン接種前および各ワクチン接種の30日後に評価した。血液サンプルを、各ワクチン接種から30日後に、免疫原性試験のために採取した (すなわち、0、30、60、90、180、210および420日目)。抗PD、抗PEおよび抗PiIA抗体濃度を、標準的な手順を用いてELISAにより測定した。アッセイのカットオフは、抗PD、抗PEおよび抗PiIAについてそれぞれ、100ELISA単位 (EU) /mL、8EU/mLおよび7 EU/mLであった (図4A、4Bおよび4C)。注記：本研究で用いた抗PD ELISAは、2001年に承認されており (カットオフ = 100EU/mL)、最新の承認基準を満たしていなかった。したが

って、血清サンプルを、2014年に承認された抗PD ELISA (カットオフ = 153EU/mL) を用いて再試験した。CMI 応答 (抗原特異的CD4+およびCD8+T細胞) は、凍結末梢血単核細胞 (PBMC) に対する細胞内サイトカイン染色 (ICS) を用いるフローサイトメトリーにより、以前に記載された方法の適合化に従って、測定した [Moris P, van der Most R, Leroux-Roels I, Clement F, Drame M, Hanon E, et al. H5N1 influenza vaccine formulated with AS03 A induces strong cross-reactive and polyfunctional CD4 T-cell responses. J Clin Immunol 2011;31:443-54]。関連する抗原を用いるPBMC刺激後に、選択されたセットのサイトカイン (IL-2、IL-13、IL-17、IFN- γ 、TNF- α およびCD40L) または選択された組み合わせのサイトカインを発現するCD4+および/またはCD8+T細胞の頻度を評価した (図5A、5Bおよび5C)。

10

【0097】

実施例2: Balb/cマウスでのPDおよびPE-PiIA NTHi抗原と組み合わせたUspA2の免疫原性免疫化プロトコール

25匹の雌性Balb/cマウスの群を、50 μ L以下の製剤を用いて、0、14および28日目に筋内 (IM) 経路により免疫化した:

1 μ gのUspA2構築物MC-009、1 μ gのPD、1 μ gのPEPiIA構築物LVL-735、AS01E (1mL当たり50/50 QS21/MPL) を用いてアジュバント化されている。

【0098】

抗UspA2抗体を測定するためのELISA

抗UspA2、抗PE、抗PiIAおよび抗PD IgGレベルを、以下の通りに28日目および42日目に採取した個別の血清中で決定した: (1) UspA2 構築物MC-009 (4 μ g/mL、炭酸バッファerpH9.6中)、(2) 2 μ g/mLのPE (炭酸バッファerpH9.6中)、(3) 4 μ g/mLのPiIA (炭酸バッファerpH9.6中) または(4) 8 μ g/mLのPD (炭酸バッファerpH9.6中) のいずれかを1ウェル当たり100 μ L用いて、プレートを4 $^{\circ}$ Cで一晩コーティングした。

20

【0099】

プレートを、0.09% NaCl、0.05% ポリソルベート20 (TWEEN-20; TWEENはCroda International PLCの商標である) を用いて3回洗浄した。洗浄後、血清の2倍連続希釈物をPBS TWEEN-20 0.05% 中でマイクロウェルに加えた。プレートを、振盪しながら30分間、室温に置いた。洗浄後、ペルオキシダーゼにコンジュゲート化した抗マウスIgG抗体 (Jackson 15-035-003) (100 μ L/ウェル) を添加し、プレートを、振盪しながら30分間、室温に置いた。上記の通りにプレートを洗浄し、4mgのo-フェニレンジアミン二塩酸塩 (OPDA、Sigma P8787) および5 μ LのH₂O₂の10mLクエン酸塩0.1M PH(pH)4.5中の溶液を、暗所で15分間、各ウェルに添加した (100 μ L/ウェル)。50 μ LのHCl 1Nの添加により反応を停止させ、490nm (参照フィルターについては620nm) での吸光度を読み取った。SOFTMAX Proソフトウェアを用いる4パラメータ法により、力価を算出した。

30

【0100】

殺細菌アッセイ

以下のプロトコールを用いて、42日目に採取したプール血清 (5プール/群) での殺細菌力価を測定した: モラクセラ・カタラーリス (Moraxella catarrhalis) を、37 $^{\circ}$ C + 5% CO₂ で、ペトリ皿上で一晩培養した。細菌を10mL BHI (ハートインフュージョンブイヨン) 培地へと移し、0.650のOD620を得た。血清サンプルを56 $^{\circ}$ Cで45分間加熱して、内因性補体を不活性化した。SBAバッファ (HBSS-BSA 0.1%) 中の血清の2倍連続希釈物を、96ウェル丸底マイクロタイタープレートに添加した (25 μ L/ウェル)。続いて、50 μ LのSBAバッファを各ウェルに添加した。次に、25 μ Lのモラクセラ・カタラーリス25238株を4 \times 10³ cfu/mLで血清含有ウェルに添加し、室温で15分間インキュベートした。最後に、25 μ Lの新鮮解凍仔ウサギ補体 (HBSS-BSA 0.1% 中に1/8希釈) を添加して、最終体積125 μ Lとした。プレートを、軌道振盪 (210rpm) しながら37 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートした。少なくとも5分間、マイクロプレートを氷上に置くことにより、反応を停止させた。プレートの各ウェルからの20 μ Lのアリコート、96ウェル平底マイクロプレートの対応するウェルへと移し、50 μ Lのミュラー・ヒントンブロス-0.9% 寒天を各ウェルに添加した。50 μ L

40

50

のPBS 0.9%寒天を第2層として添加した。37℃、5%CO₂での3時間後、プレートを25℃で一晩インキュベートした。モラクセラ菌のコロニーを、自動化画像解析システム(KS 400, Zeiss, Oberkochen, Germany)を用いてカウントした。血清サンプル不含の8ウェルを細菌対照として用いて、1ウェル当たりのモラクセラ菌の数を決定した。対照ウェルのコロニー形成単位(CFU)の平均数を決定し、各血清サンプルの殺菌活性の算出のために用いた。抗モラクセラ・カタラーリス殺菌力価を、42日目に採取したプール血清(5プール/III後群)で測定した。殺菌力価は、50%の殺菌を誘導する血清の希釈率の逆数で表わした。殺菌アッセイは、同種UspA2または異種(F10)UspA2を発現する、モラクセラ・カタラーリスATCC 25238TM株に対して行なった。UspA2は、図7の通り、両方の菌株に対して高い

10

殺菌力価を誘導した。

【0101】

PE-PEPiiA-UspA2ワクチンによりマウスでUspA2、PD、PEおよびPiiAに対して誘導されたIgG応答を、それぞれ、図6A、図6B、図6C、図6Dおよび図6Eに示す。AS01E中のPDおよびPE PiiA免疫原性に対するUspA2の添加の大きな影響は観察されなかった。

【0102】

実施例3：研究用NTHi-Mcatワクチンの第II相試験

10 µgのPD、10 µgのPE-PiiA融合タンパク質および3.3 µgのUspA2を含有するAS01_Eアジュバント化製剤が評価される。抗原および製剤は、W02015/125118に記載される通りに調製および試験することができる。

20

【0103】

【表2】

表2: 試験ワクチン

処置名	ワクチン/製品名	製剤	形態	投与体積	用量数
10-10-3/AS01E	NTHi-Mcat/ 10-10-3.3	PD=10 µg; PE-PiiA=10 µg; UspA2= 3.3 µg	単一用量 バイアル中の 凍結乾燥抗原	0.5 ml	3
	AS01E	MPL=25µg; QS21=25µg; リポソーム	単一用量 バイアル中の 液剤		
プラセボ	製剤化 バッファー S9b	Na ₂ HPO ₄ =0.4mg; KH ₂ PO ₄ =56µg; NaCl=1,16mg; KCl=30µg; MgCl ₂ =15µg	単一用量 バイアル中の 液剤	0.5 ml	1

30

MPL = 3-O-デスアシル-4'-モノホスホリルリピド A; **QS-21** = キラヤ・サポナリア・モリナ第21画分 (Agenus社の完全所有子会社である米国デラウェアの会社である Antigenics社から GSKによりライセンス供与されている)

40

【0104】

実験設計

2種類の平行群を用いる、第II相観察者盲目無作為化多施設研究。

試験群

少なくとも10パック年の喫煙歴を有する40~80歳の成人に、0ヵ月目および2ヵ月目に2用量のNTHi-Mcat研究用ワクチンを投与し、その後、6ヵ月目もしくは12ヵ月目に第3の強化用量の研究用NTHi-Mcatワクチンまたは6ヵ月目もしくは12ヵ月目にプラセボ対照のいずれかを投与する。試験は、2種類のスケジュールに従って投与されたNTHi-Mcatワクチンの安全性および反応原性(reactogenicity)プロフィールを評価し、かつNTHi-Mcat研究用ワクチンの体液性および細胞性免疫原性に関連する追加データを提供する。

50

【 0 1 0 5 】

スケジュール1：約100名の被験体に、1日目、61日目、181日目に、10 µgのPD、10 µgのPE-PilAおよび3.3 µgのUspA2を含有する3用量のAS01Eアジュバント化NTHi-Mcat研究用ワクチン、361日目に1用量のプラセボを投与する。

【 0 1 0 6 】

スケジュール2：約100名の被験体に、1日目、61日目、361日目に、10 µgのPD、10 µgのPE-PilAおよび3.3 µgのUspA2を含有する3用量のAS01Eアジュバント化NTHi-Mcat研究用ワクチン、181日目に1用量のプラセボを投与する。

【 0 1 0 7 】

被験体を、インターネットでの集中化無作為化システム（SBIR）を用いて試験群に割り当てる。無作為化アルゴリズムは、年齢（40～59歳または60～80歳）、喫煙状況（喫煙継続中または喫煙経験者）、施設および1秒間当たりの努力呼気肺活量（FEV1）/努力性肺活量（FVC）（0.7または<0.7）を考慮に入れる最小化手順を用いる。

10

【 0 1 0 8 】

【表3】

表3: 投与量および投与

接触の種類 および時点	試験群	処置名	投与体積	経路 1	部位		
					位置	方向性 2	左右 3
通院 1 (1 日目)	スケジュール 1	10-10-3/ AS01E	0.5 ml	IM	三角筋	上側	利き腕でない
	スケジュール 2	AS01E					
通院 3 (61 日目)	スケジュール 1	10-10-3/ AS01E	0.5 ml	IM	三角筋	上側	利き腕でない
	スケジュール 2	AS01E					
通院 6 (181 日目)	スケジュール 1	10-10-3/ AS01E	0.5 ml	IM	三角筋	上側	利き腕でない
	スケジュール 2	プラセボ					
通院 8 (361 日目)	スケジュール 1	プラセボ	0.5 ml	IM	三角筋	上側	利き腕でない
	スケジュール 2	10-10-3/ AS01E					

20

1 筋内(IM)

2 方向性は、ワクチン投与の位置をさらに詳述するための修飾語(例えば、上側、下側)である。

3 利き腕でない腕が、注入の好ましい腕である。利き腕でない腕へのワクチンの投与が可能でない場合には、利き腕への注入を行なう場合がある。

30

【 0 1 0 9 】

サンプル採取スケジュール

体液性免疫原性の評価のための血液サンプルは、通院1（1日目）、通院2（31日目）、通院3（61日目）、通院4（91日目）、通院5（181日目）、通院6（211日目）、通院7（361日目）、通院8（391日目）および通院9（451日目）にすべての被験体から採取する。

細胞媒介性免疫原性（CMI）の評価のための血液サンプルは、通院1（1日目）、通院6（211日目）および通院8（391日目）に部分コホートから採取する。

40

【 0 1 1 0 】

実験室アッセイ

総IgG濃度を、認定された手順を用いるELISAにより測定する。

【 0 1 1 1 】

【表4】

表4: 体液性免疫(抗体測定)

系	成分	方法	単位	カットオフ
血清	抗 PD 抗体	ELISA	EU/ml	153
	抗 PE 抗体			8
	抗 PiiA 抗体			7
	抗 UspA2 IgG 抗体			18

EU/ml = ELISA 単位/ミリリットル

【0112】

10

細胞媒介性免疫アッセイは、ELISpotおよびフローサイトメトリーを含む認定された手順を用いて行なう。

注記：アッセイカットオフは、認定後に更新される場合がある。

【0113】

【表5】

表5: フローサイトメトリーを用いた細胞媒介性免疫(CMI)

系	成分ファミリー	スケール	方法	単位
PBMC	特異的 CD4+/CD8+ T細胞	定量的	フローサイトメトリー ICS	特異的 CD4+/CD8+ T細胞数 /106

20

【0114】

限定するものではないが、NTHiおよび/またはMcat特異的メモリーB細胞の評価、他の細菌性抗原を用いる細胞内サイトカイン染色(ICS)試験などの末梢血単核細胞(PBMC)に対する追加の試験を行なっても良い。

【0115】

【表 6】

表 6: 免疫学的読み出し値

採血時点		部分コホート名	被験体数	成分
接触の種類 および時点	サンプル 採取時点			
通院 1 (1 日目)	ワクチン I 前	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
		CMI 部分コホート*	約 40	特異的 CD4+/CD8+ T 細胞
通院 2 (31 日目)	ワクチン I 後	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
通院 3 (61 日目)	ワクチン II 前	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
通院 4 (91 日目)	ワクチン II 後	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
通院 5 (181 日目)	ワクチン III 前	全被験体	約 120	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
通院 6 (211 日目)	ワクチン III 後	全被験体	約 120	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
		CMI 部分コホート*	約 40	特異的 CD4+/CD8+ T 細胞
通院 7 (361 日目)	ワクチン IV 前	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
通院 8 (391 日目)	ワクチン IV 後	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2
		CMI 部分コホート*	約 40	特異的 CD4+/CD8+ T 細胞
通院 9 (451 日目)	ワクチン IV 後	全被験体	約 200	抗 PD、抗 PE、抗 PiIA および抗 UspA2

* 各群の被験体のうちの約 20%が、CMI 分析のための部分コホートの部分となるであろう。

【 0 1 1 6 】

免疫原性

・すべての被験体での1日目、31日目、61日目、91日目、181日目、211日目、361日目、391日目および451日目のNTHi-Mcat研究用ワクチン製剤の成分に対する体液性免疫応答を、すべての群で測定する：

- 抗PD、抗PE、抗PiIAおよび抗UspA2抗体濃度。

・被験体の部分コホートでの、1日目、211日目および391日目のNTHi-Mcat研究用ワクチン製剤の成分に対する細胞媒介性免疫応答を、すべての群で測定する：

- 凍結保存されたPBMCに対して測定され、2種以上のマーカー（IL-2、IL-13、IL-17、IFN- γ 、TNF- α およびCD40Lなど）を発現するICSにより特定される、特異的CD4+/CD8+ T細胞の頻度。

【 0 1 1 7 】

実施例 4 : 18~40歳の健康成人ならびに50~70歳の喫煙継続中の喫煙者および喫煙経験者での研究用NTHi-Mcatワクチンの第I相試験

3種類の研究用NTHi-Mcatワクチン製剤を、第1相試験（NTHi-MCAT-001）において時差型設計で行なわれる0、2ヵ月スケジュールに従って評価した。最初に（ステップ1）、18~40歳の健康成人が参加し、10 μ gのPD、10 μ gのPE-PiIAおよび10 μ gのUspA2を含有する非アジュバント化（単純）ワクチンまたはプラセボ対照を用いてワクチン接種され、第2に（ステップ2）、50~70歳の継続喫煙者/喫煙経験者が、プラセボ対照、または2種類のAS01Eアジュバント化製剤（すなわち、10 μ gのPD、10 μ gのPE-PiIAおよび10 μ gのUspA2（群10-10-AS）または10 μ gのPD、10 μ gのPE-PiIAおよび3.3 μ gのUspA2（群10-10-3-AS））の

10

20

30

40

50

いずれかを用いてワクチン接種された。対照として用いたプラセボは、等張生理食塩溶液であった。合計76名の被験体が少なくとも1用量のいずれかのNTHi-Mcat製剤を投与され、44名がプラセボを投与された。

ワクチン製剤を、利き腕でない方の腕の三角筋へと0.5mL体積の筋内注入により送達した。利き腕でない方の腕での注入が可能でない場合には、利き腕への注入を行なった。

【0118】

試験の継続期間：各被験体に関して、スクリーニングから試験終了まで、試験は約15ヵ月間続いた。

時期 (Epoch) 001：主要期間は、スクリーニング通院に開始し、通院6 (90日目) で終了し、かつこれを含んだ。

時期002：追跡期間は、通院7 (210日目) に開始し、通院8 (420日目) で終了した。

【0119】

試験群：

(F1群) 10-10-10：被験体は、0日目および60日目で2用量の非アジュバント化GSK Biologicals社NTHi-Mcat研究用ワクチン (10 µgのPD、PE-PiIAおよびUspA2を含有する) を試験のステップ1の間に投与された。

プラセボ1：被験体は、0日目および60日目で2用量のプラセボ (生理食塩溶液) を試験のステップ1の間に投与された。

【0120】

(F2群) 10-10-10-AS：被験体は、0日目および60日目で2用量のAS01Eアジュバント化GSK Biologicals社NTHi-Mcat研究用ワクチン (10 µgのPD、PE-PiIAおよびUspA2を含有する) を試験のステップ2の間に投与された。

【0121】

(F3群) 10-10-3-AS：被験体は、0日目および60日目で2用量のAS01Eアジュバント化GSK Biologicals社NTHi-Mcat研究用ワクチン (10 µgのPD、10 µgのPE-PiIAおよび3.3 µgのUspA2を含有する) を試験のステップ2の間に投与された。

プラセボ2：被験体は、0日目および60日目で2用量のプラセボ (生理食塩溶液) を試験のステップ2の間に投与された。

【0122】

サンプル採取スケジュール：

安全性 (血液学/生化学) に関して、血液サンプルを、スクリーニング通院 (0日目以前)、通院1 (0日目)、通院2 (7日目)、通院4 (60日目)、通院5 (67日目)、通院7 (210日目) および通院8 (420日目) にすべての被験体から採取した。

【0123】

免疫原性に関して、血液サンプルを、体液性免疫については、通院1 (0日目)、通院3 (30日目)、通院4 (60日目)、通院6 (90日目)、通院7 (210日目) および通院8 (420日目) にすべての被験体から、細胞媒介性免疫 (CMI) については、通院1 (0日目)、通院4 (60日目)、通院6 (90日目)、通院7 (210日目) および通院8 (420日目) に被験体の部分コホートから、採取した。

【0124】

実験室アッセイ

体液性免疫原性：

体液性免疫原性を評価した。抗体の定量のための血清学的アッセイは、ELISAにより行なった。

【0125】

10

20

30

40

【表 7】

表 7: 体液性免疫原性

系	成分	方法	単位	カットオフ
NTHi 特異的				
血清	抗 PD	ELISA	EL.U/mL	153
血清	抗 PE	ELISA	EL.U/mL	25
血清	抗 PIIA	ELISA	EL.U/mL	7 (通院、0 日目; 通院 3、30 日目; 通院 4、60 日目; 通院 6、90 日目) 16 (通院 7、210 日目; 通院 8、420 日目)
NTHi-Mcat 特異的				
血清	抗 UspA2	ELISA	EL.U/mL	38

EL.U/mL = ELISA 単位/ミリリットル

抗体濃度は、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)により測定され、ELISA 単位/ミリリットル(EL.U/mL)で幾何平均濃度(GMC)として表わされる。

【 0 1 2 6 】

【表 8】

表 8: 細胞媒介性免疫原性

系	成分	スケール	方法	単位
CMI	特異的 CD4+/CD8+ T 細胞	定量的	フローサイトメトリー	特異的 D4+/CD8+ T 細胞数/106

CMI = 細胞媒介性免疫原性

【 0 1 2 7 】

特異的CD4+ T細胞の頻度は、2種以上のマーカー（インターロイキン[IL]-2、IL-13、IL-17、インターフェロンガンマ[FN-]、腫瘍壊死因子アルファ[TNF-]およびCD40Lなど）を発現する細胞内サイトカイン染色（ICS）のフローサイトメトリーにより測定した。特異的CD4+ T細胞の頻度を、CMIに関して血液サンプルが採取された各時点で、ステップ2での群毎に各抗原（PD、PE、PIIAおよびUspA2）に対してまとめる〔記述統計学：平均および標準偏差（SD）〕。

【 0 1 2 8 】

特異的CD8+ T細胞の頻度は、2種以上のマーカー（IL-2、IL-13、IL-17、IFN- 、TNF- およびCD40Lなど）を発現する細胞内サイトカイン染色（ICS）のフローサイトメトリーにより測定した。特異的CD8+ T細胞の頻度を、CMIに関して血液サンプルが採取された各時点で、ステップ2での群毎に各抗原（PD、PE、PIIAおよびUspA2）に対してまとめる〔記述統計学：平均および標準偏差（SD）〕。

【 0 1 2 9 】

結果

結果を、表9および図8中に提供する。

【 0 1 3 0 】

10

20

30

40

【表 9 - 1】

表 9: 測定値

	F1 群	F2 群	F3 群	プラセボ群
NTHi-Mcat に対する抗体濃度: 抗 PD(インフルエンザ菌のプロテイン D)ワクチン成分				
分析した参加者数	14	31	29	43
単位:EL.U/mL 幾何平均 (95%信頼区間)				
抗 PD 抗体、0 日目				
	109.7 (71.2~ 169.1)	102.8 (77.5~ 136.4)	88.1 (72.4~ 107.1)	89 (75~ 105.7)
分析した参加者数	14	30	29	43
抗 PD 抗体、30 日目				
	239.8 (123~ 467.6)	569.4 (335.9~ 965.3)	818 (532~ 1257.8)	90.8 (76.5~ 107.8)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PD 抗体、60 日目				
	220.9 (121.1~ 402.9)	327.1 (207.4~ 515.6)	495 (307.2~ 797.5)	88.6 (75.2~ 104.3)
分析した参加者数	14	30	29	43
抗 PD 抗体、90 日目				
	289.2 (144.6~ 578.5)	984.4 (662.3~ 1463.2)	1538.5 (1134.6~ 2086.2)	91.8 (77.8~ 108.3)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PD 抗体、210 日目				
	179.5 (96.7~ 333.5)	471.8 (310.2~ 717.5)	806.1 (560.2~ 1159.9)	92.9 (79~ 109.2)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PD 抗体、420 日目				
	165.1 (89.7~ 303.8)	370.2 (238.2~ 575.3)	538.1 (369.1~ 784.5)	88.8 (77.3~ 102.1)
分析した参加者数	14	31	29	43

10

20

30

40

【表 9 - 2】

	F1 群	F2 群	F3 群	プラセボ群
NTHi-Mcat に対する抗体濃度: 抗 PE(インフルエンザ菌の蛋白質 E)ワクチン成分				
分析した参加者数	14	31	29	43
単位:EL.U/mL 幾何平均 (95%信頼区間)				
抗 PE 抗体、0 日目				
	31.3 (16.4~59.7)	20.6 (15.7~27)	19.7 (14.8~26.2)	21.9 (17~28.1)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PE 抗体、30 日目				
	178.3 (64.6~491.9)	627.2 (401~980.9)	1287.8 (816.2~2032)	21.3 (16.7~27.1)
分析した参加者数	13	31	29	43
抗 PE 抗体、60 日目				
	151.9 (58~397.6)	573.1 (360.1~912.1)	1207.1 (753.8~1932.9)	20.3 (15.9~25.9)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PE 抗体、90 日目				
	719.1 (357.4~1446.8)	5945.2 (4069.5~8685.5)	8983.9 (7150.4~11287.5)	21.8 (17.1~27.8)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PE 抗体、210 日目				
	385.8 (191.2~778.4)	2390.9 (1655.4~3453.1)	3247.6 (2285.2~4615.3)	20.7 (16.5~26)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PE 抗体、420 日目				
	244.1 (112.4~529.9)	1206.6 (817.5~1781)	1701 (1192.1~2427.1)	22.8 (17.5~29.7)
分析した参加者数	14	31	29	43

10

20

30

40

【表 9 - 3】

	F1 群	F2 群	F3 群	プラセボ群
NTHi-Mcat に対する抗体濃度: 抗 PiiA(分類不可能インフルエンザ菌の IV 型線毛サブユニット)ワクチン成分				
分析した参加者数	14	31	29	43
単位:EL.U/mL 幾何平均 (95%信頼区間)				
抗 PiiA 抗体、0 日目				
	11.6 (5.3~25.2)	13.5 (8~22.6)	17.1 (11~26.5)	8.8 (6.1~12.6)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PiiA 抗体、30 日目				
	37.2 (13.6~101.5)	238.6 (123.1~462.5)	330.9 (211.7~517.2)	9.2 (6.4~13.3)
分析した参加者数	14	29	29	42
抗 PiiA 抗体、60 日目				
	33.2 (11.3~97.9)	177 (83.4~375.7)	321.2 (210.1~491.2)	9 (6.3~13)
分析した参加者数	14	30	29	43
抗 PiiA 抗体、90 日目				
	165.8 (76.7~358.4)	1127.5 (751~1692.8)	1722.3 (1383.4~2144.2)	8.6 (5.8~12.6)
分析した参加者数	14	31	29	39
抗 PiiA 抗体、210 日目				
	52 (18.4~146.8)	367.2 (220.2~612.3)	671 (508.6~885.2)	11.5 (9~14.8)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 PiiA 抗体、420 日目				
	40.8 (16.5~100.7)	181.8 (108~305.9)	322.2 (233.4~444.9)	11.9 (9.2~15.5)
分析した参加者数	14	31	29	43

10

20

30

40

【表 9 - 4】

	F1 群	F2 群	F3 群	プラセボ群
NTHi-Mcat に対する抗体濃度: 抗 UspA2(カタラリス菌のユビキタス表面タンパク質 A2) ワクチン成分				
分析した参加者数	14	31	29	43
単位:EL.U/mL 幾何平均 (95%信頼区間)				
抗 UspA2 IgG 抗体、0 日目				
	572.5 (254.4~1288.6)	384.1 (253~583.2)	468.1 (330.6~662.8)	548.3 (399.4~752.8)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 UspA2 IgG 抗体、30 日目				
	879.9 (396.6~1952.4)	1006.7 (732.5~1383.6)	913.5 (693.3~1203.7)	571.5 (416.9~783.4)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 UspA2 IgG 抗体、60 日目				
	780.7 (365.4~1668.3)	754.4 (533.1~1067.6)	714.7 (538.9~947.8)	567 (418~769.1)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 UspA2 IgG 抗体、90 日目				
	1172 (654.7~2097.9)	1440.7 (1065.8~1947.5)	1279 (1026.1~1594.4)	621.5 (449.1~860)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 UspA2 IgG 抗体、210 日目				
	775.1 (361.3~1662.8)	882.5 (629.8~1236.7)	767.2 (584.8~1006.5)	525.7 (386.8~714.5)
分析した参加者数	14	31	29	43
抗 UspA2 IgG 抗体、420 日目				
	732 (339.2~1579.5)	703.6 (501.8~986.5)	673.4 (504.3~899.2)	552.9 (399.7~764.9)
分析した参加者数	14	31	29	43

10

20

30

40

【表 9 - 5】

	F2 群	F3 群	プラセボ群
細胞媒介性免疫応答の評価のために採取された NTHi-Mcat 抗原に対する特異的分化のクラスター(CD)4+ T 細胞の頻度			
分析した参加者数	16	12	15
単位:CD4+ T 細胞/1,000,000 細胞 平均 ± 標準偏差			
CD4+.PD、0 日目			
	28.3 ± 42.1	81.8 ± 92.29	37.4 ± 46.29
分析した参加者数	12	12	13
CD4+.PD、60 日目			
	105.4 ± 123.95	107.8 ± 117.92	55 ± 91.94
分析した参加者数	16	12	15
CD4+.PD、90 日目			
	283.3 ± 236.93	349.9 ± 216.5	90.5 ± 117.41
分析した参加者数	16	11	13
CD4+.PD、210 日目			
	120.4 ± 99.23	176.9 ± 101.39	78.7 ± 112.16
分析した参加者数	11	11	13
CD4+.PD、420 日目			
	154.3 ± 165.98	164.8 ± 123.33	60.3 ± 82.01
分析した参加者数	13	9	14
CD4+.PE、0 日目			
	89.2 ± 199.87	41.4 ± 48.55	47.1 ± 70.65
分析した参加者数	12	12	13
CD4+.PE、60 日目			
	370.7 ± 372.5	176.9 ± 172.74	50.9 ± 47.91
分析した参加者数	16	12	15
CD4+.PE、90 日目			
	1182.2 ± 1507.29	732.7 ± 804.67	52.4 ± 56.2
分析した参加者数	16	11	13
CD4+.PE、210 日目			
	469.1 ± 381.87	337.4 ± 228.12	39.1 ± 65.14
分析した参加者数	12	11	14

10

20

30

40

CD4+.PE、420 日目			
	545 ± 735.89	215.8 ± 137.79	26.6 ± 51.74
分析した参加者数	14	10	14
CD4+.PiIA、0 日目			
	32.8 ± 43.6	60.5 ± 92.87	32.6 ± 48.69
分析した参加者数	12	12	13
CD4+.PiIA、60 日目			
	169.1 ± 150.22	110.2 ± 67.81	57.1 ± 99.26
分析した参加者数	16	11	15
CD4+.PiIA、90 日目			
	508.6 ± 474.31	330.5 ± 412.4	99 ± 152.45
分析した参加者数	16	11	13
CD4+.PiIA、210 日目			
	326 ± 208.31	220.8 ± 148.59	43.7 ± 69.03
分析した参加者数	7	9	11
CD4+.PiIA、420 日目			
	348.8 ± 376.87	131.1 ± 75.89	59.1 ± 53.4
分析した参加者数	10	8	12
CD4+.UspA2、0 日目			
	115.4 ± 154.96	126.3 ± 97.92	131.1 ± 182.97
分析した参加者数	11	12	13
CD4+.UspA2、60 日目			
	383.9 ± 326.2	253 ± 202.76	278.7 ± 672.84
分析した参加者数	16	12	15
CD4+.UspA2、90 日目			
	1392.6 ± 1145.48	979.2 ± 807.03	143.5 ± 237.29
分析した参加者数	16	11	13
CD4+.UspA2、210 日目			
	582.9 ± 376.54	322.8 ± 273.5	143.9 ± 242.72
分析した参加者数	13	11	15
CD4+.UspA2、420 日目			
	723.2 ± 763.51	385.4 ± 174.08	126.6 ± 187.52
分析した参加者数	14	10	14

10

20

30

40

【表 9 - 6】

	F2 群	F3 群	プラセボ群
細胞媒介性免疫応答の評価のために採取した NTHi-Mcat 抗原に対する特異的 CD8+ T 細胞の頻度			
分析した参加者数	15	12	13
単位:CD8+ T 細胞/1,000,000 細胞 平均 ± 標準偏差			
CD8+.PD、0 日目			
	66 ± 88.69	27.9 ± 80.68	46.9 ± 73.28
分析した参加者数	11	12	13
CD8+.PD、60 日目			
	29.4 ± 49.67	1 ± 0	20.5 ± 55.1
分析した参加者数	15	11	12
CD8+.PD、90 日目			
	66.5 ± 97.16	7.7 ± 21.19	49 ± 64.89
分析した参加者数	14	10	12
CD8+.PD、210 日目			
	66.4 ± 101.79	16.8 ± 42.84	17.7 ± 33.01
分析した参加者数	11	12	11
CD8+.PD、420 日目			
	43.2 ± 51.32	10.6 ± 17.98	37.3 ± 70.58
分析した参加者数	13	8	12
CD8+.PE、0 日目			
	42.4 ± 52.5	33.3 ± 59.32	74.4 ± 175.42
分析した参加者数	11	12	12
CD8+.PE、60 日目			
	27.8 ± 46.77	26.1 ± 40.81	42.7 ± 107.03
分析した参加者数	15	11	12
CD8+.PE、90 日目			
	30.4 ± 52.48	19.8 ± 43.69	45.4 ± 82.76
分析した参加者数	14	10	12
CD8+.PE、210 日目			
	31.8 ± 52.08	30.6 ± 62.25	44.2 ± 85.37
分析した参加者数	12	12	12

10

20

30

40

CD8+.PE、420 日目			
	5.7 ± 10.89	27 ± 58.46	19.4 ± 44.74
分析した参加者数	15	10	12
CD8+.Pi1A、0 日目			
	34.6 ± 57.02	16 ± 40.27	44.7 ± 58.58
分析した参加者数	11	12	13
CD8+.Pi1A、60 日目			
	26 ± 82.07	35.1 ± 39.81	28.7 ± 72.65
分析した参加者数	15	11	12
CD8+.Pi1A、90 日目			
	50.8 ± 82.01	27.9 ± 43.03	28.3 ± 45.69
分析した参加者数	14	10	11
CD8+.Pi1A、210 日目			
	11.3 ± 19.17	30.9 ± 70.04	21.4 ± 35.86
分析した参加者数	8	9	9
CD8+.Pi1A、420 日目			
	28 ± 50.45	23 ± 37.7	28 ± 39.21
分析した参加者数	10	7	10
CD8+.UspA2、0 日目			
	22.5 ± 35.07	34.9 ± 50.24	85.3 ± 140.42
分析した参加者数	10	12	13
CD8+.UspA2、60 日目			
	29.3 ± 67.7	27.7 ± 50.12	21 ± 36.81
分析した参加者数	15	11	12
CD8+.UspA2、90 日目			
	74.1 ± 99.92	20.6 ± 26.17	37.4 ± 76.73
分析した参加者数	14	10	11
CD8+.UspA2、210 日目			
	61.5 ± 89.07	17.3 ± 26.54	48.1 ± 53.97
分析した参加者数	13	11	13
CD8+.UspA2、420 日目			
	16.7 ± 24.45	25.3 ± 70.42	48.8 ± 86.71
分析した参加者数	15	10	12

10

20

30

40

【 0 1 3 1 】

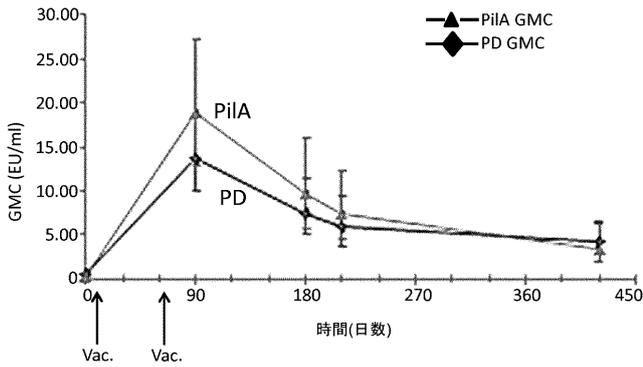
参照文献

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). From the Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, updated 2017; <http://www.goldcopd.org/>. Last accessed: 16-MAR-2017.
2. Buist S, McBurnie MA, Vollmer WM, *et al.* International variation in the prevalence of COPD (The BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet* 2007;370:741-50.
3. Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJ, *et al.* Chronic obstructive pulmonary disease surveillance-United States, 1971-2000. *MMWR Surveill Summ* 2002;51:1-16.
4. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388: 1459–544.
5. Sapey E, Stockley RA. COPD exacerbations 2: aetiology. *Thorax* 2006;61:250-8.
6. Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK, *et al.* Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD. *PLoS One* 2011;6:e16384.
7. Wilkinson TM, Hurst JR, Perera WR, *et al.* Effect of interactions between lower airway bacterial and rhinoviral infection in exacerbations of COPD. *Chest* 2006;129:317-24.
8. Sethi S, Evans N, Grant BJ, *et al.* New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2002;347:465-71.

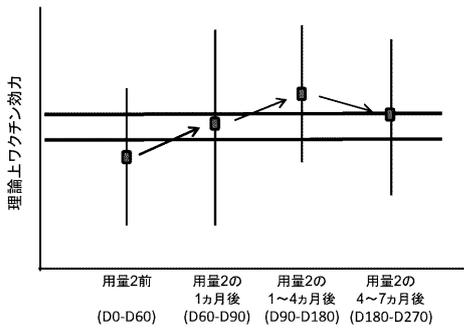
9. Alamoudi OS. Bacterial infection and risk factors in outpatients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: a 2-year prospective study. *Respirology* 2007; 12:283-7.
10. Bandi V, Jakubowycz M, Kinyon C, *et al.* Infectious exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease associated with respiratory viruses and non-typeable *Haemophilus influenzae*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;37:69-75.
11. Beasley V, Joshi PV, Singanayagam A, *et al.* Lung microbiology and exacerbations in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2012;7:555-69.
12. Hutchinson AF, Ghimire AK, Thompson MA, *et al.* A community-based, time-matched, case-control study of respiratory viruses and exacerbations of COPD. *Respir Med* 2007;101:2472-81. 10
13. Ko FW, Ip M, Chan PK, *et al.* A 1-year prospective study of the infectious etiology in patients hospitalized with acute exacerbations of COPD. *Chest* 2007;131:44-52.
14. Larsen MV, Janner JH, Nielsen SD, *et al.* Bacteriology in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in patients admitted to hospital. *Scand J Infect Dis* 2009;41:26-32.
15. Murphy TF, Brauer AL, Grant BJ, *et al.* *Moraxella catarrhalis* in chronic obstructive pulmonary disease: burden of disease and immune response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:195-9. 20
16. Papi A, Bellettato CM, Braccioni F, *et al.* Infections and airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease severe exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1114-21.
17. Rosell A, Monsó E, Soler N, *et al.* Microbiologic determinants of exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Intern Med* 2005;165: 891-7.
18. Sethi S, Murphy TF. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2008;359:2355-65.
- 18A. Wilkinson TMA, Aris E, Bourne S, *et al.* A prospective, observational cohort study of the seasonal dynamics of airway pathogens in the aetiology of exacerbations in COPD Thorax Published Online First: 21 April 2017. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209023 30
19. Prymula *et al.* *Lancet* 367; 740-748 (2006).
20. *J. Immunology* 183: 2593-2601 (2009).
21. *The Journal of Infectious Diseases* 199:522-531 (2009).
22. *Microbes and Infection* 10:87-96 (2008).
23. *The Journal of Infectious Diseases* 201:414-419 (2010).
24. *Immunology* 183: 2593-2601 (2009). 40
25. *Infection and Immunity*, 73: 1635-1643 (2005).
26. *Molecular Microbiology* 65: 1288-1299 (2007).
27. Hoiczky *et al.* *EMBO J.* 19: 5989-5999 (2000).
28. Aebi *et al.*, *Infection & Immunity* 65(11) 4367-4377 (1997).
29. Helminen *et al.* *J Infect Dis.* 170(4): 867-72 (1994).

- 30. Tan et al., J Infect Dis. 192(6): 1029-38 (2005).
- 31. Tan et al., J Infect Dis. 194(4): 493-7 (2006).
- 32. Attia AS et al. Infect Immun 73(4): 2400-2410 (2005).
- 33. de Vries et al., Microbiol Mol Biol Rev. 73(3): 389-406 (2009)).

【 図 1 】



1(a)

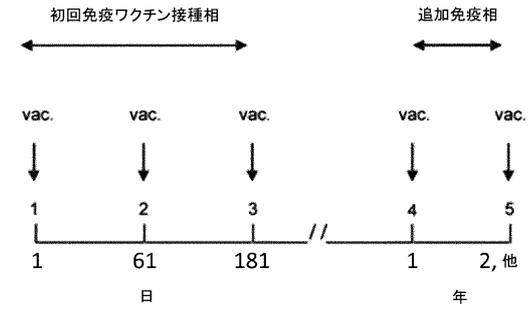


1(b)

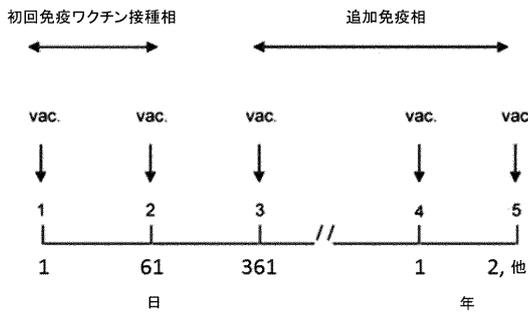
【 図 2 】

症状のリスク/ 増悪の評価	<table border="1"> <tr> <td>D</td> <td>B</td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>A</td> </tr> </table>	D	B	C	A	症状 mMRC ≥ 2 CAT ≥ 10 mMRC 0-1 CAT < 10						
D	B											
C	A											
↑	増悪既往歴 ≥ 2または ≥ 1は 実際に つながる	0または1 (実際に つなからない)										
気流制限の 評価	<table border="1"> <tr> <td>FEV₁ (% 予測値)</td> <td>≥ 80</td> </tr> <tr> <td>GOLD 1</td> <td>50 - 79</td> </tr> <tr> <td>GOLD 2</td> <td>30 - 49</td> </tr> <tr> <td>GOLD 3</td> <td>< 30</td> </tr> <tr> <td>GOLD 4</td> <td></td> </tr> </table>	FEV ₁ (% 予測値)	≥ 80	GOLD 1	50 - 79	GOLD 2	30 - 49	GOLD 3	< 30	GOLD 4		
FEV ₁ (% 予測値)	≥ 80											
GOLD 1	50 - 79											
GOLD 2	30 - 49											
GOLD 3	< 30											
GOLD 4												
↑	気管支拡張後 FEV ₁ /FVC < 0.7											
肺活量測定により 確認された疾患												

【 図 3 】

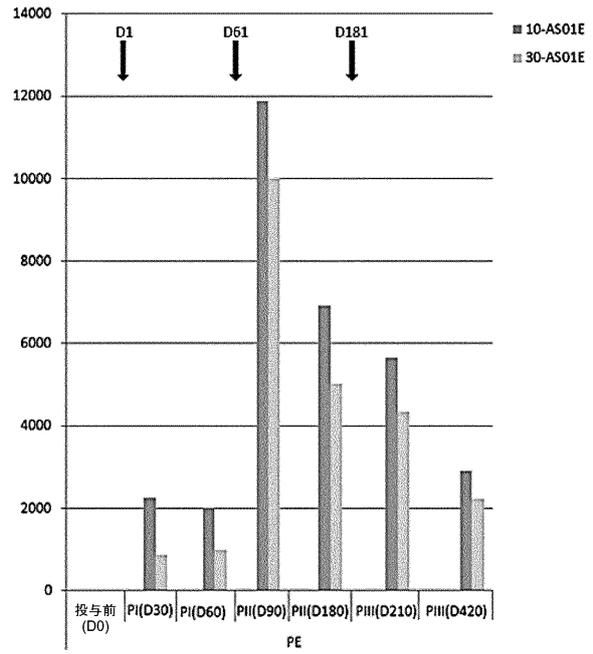


3(a)

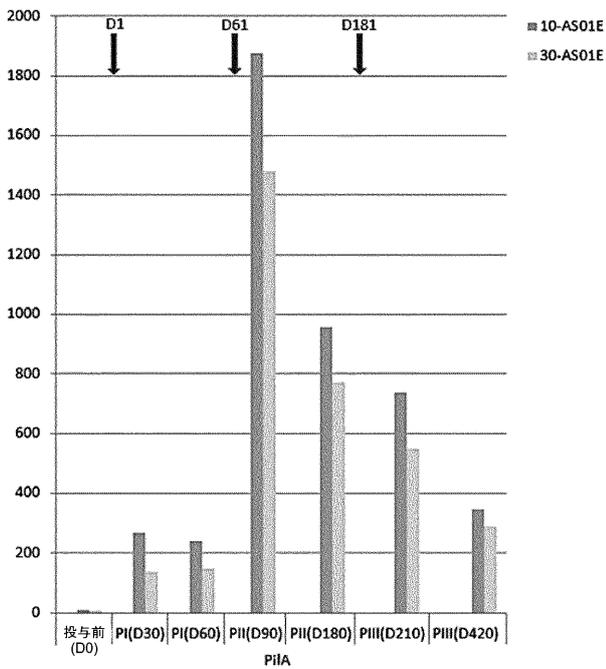


3(b)

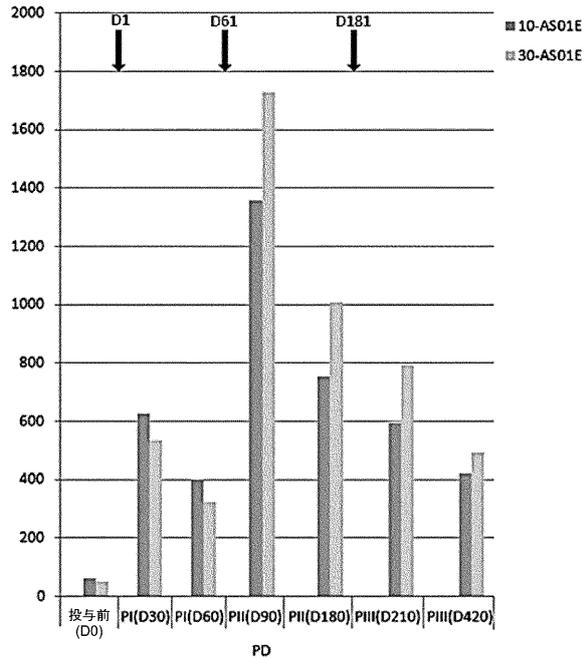
【 図 4 A 】



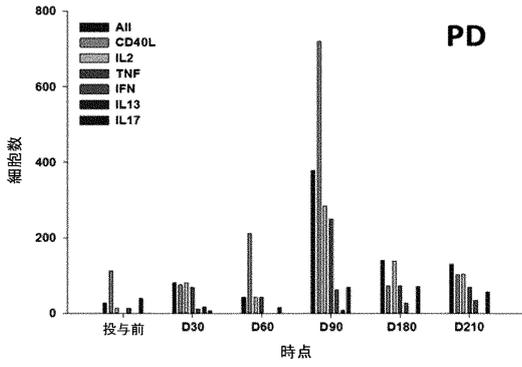
【 図 4 B 】



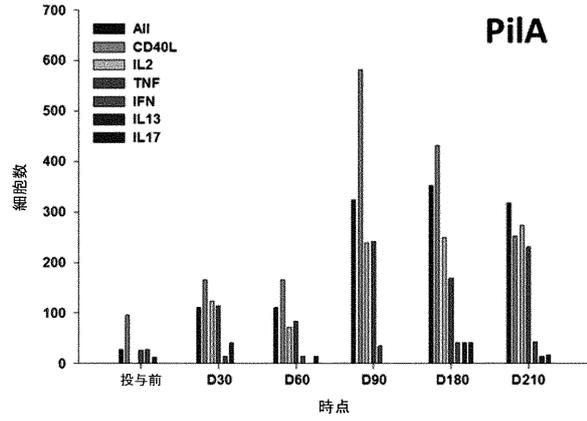
【 図 4 C 】



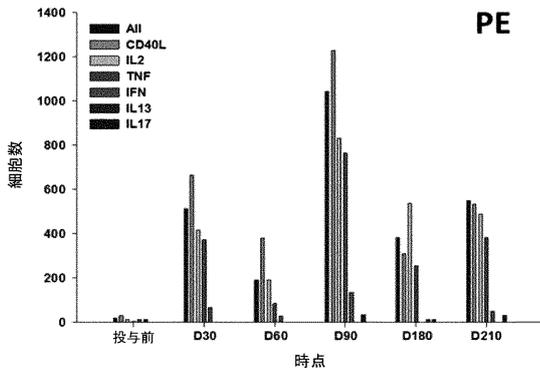
【図 5 A】



【図 5 C】

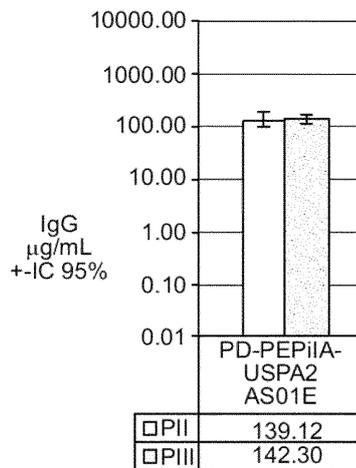


【図 5 B】



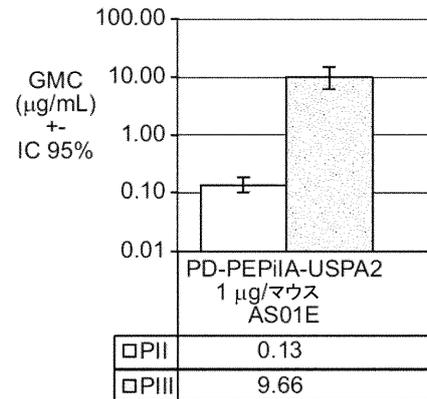
【図 6 A】

UspA2に対する抗体応答



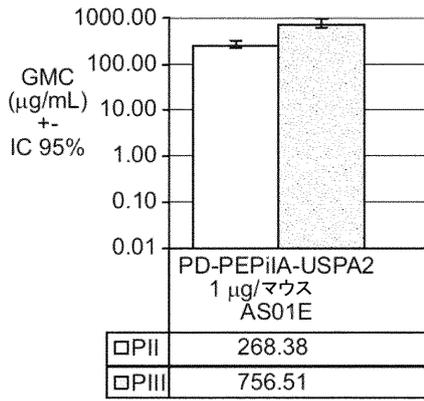
【図 6 B】

PDに対して誘導されたIgG応答



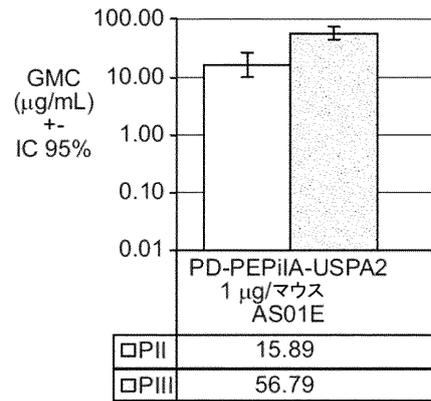
【 図 6 C 】

PEIに対して誘導されたIgG応答

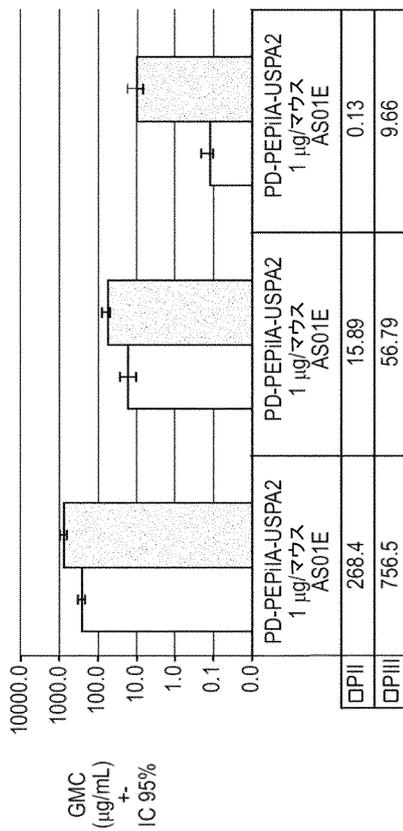


【 図 6 D 】

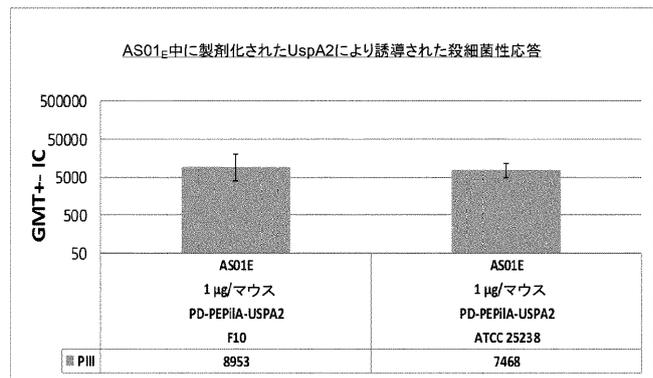
PIIAに対して誘導されたIgG応答



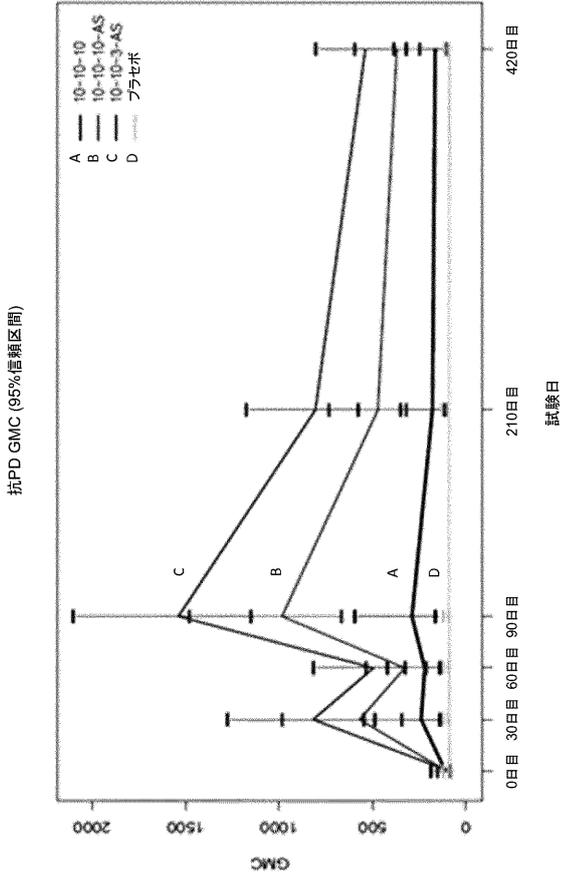
【 図 6 E 】



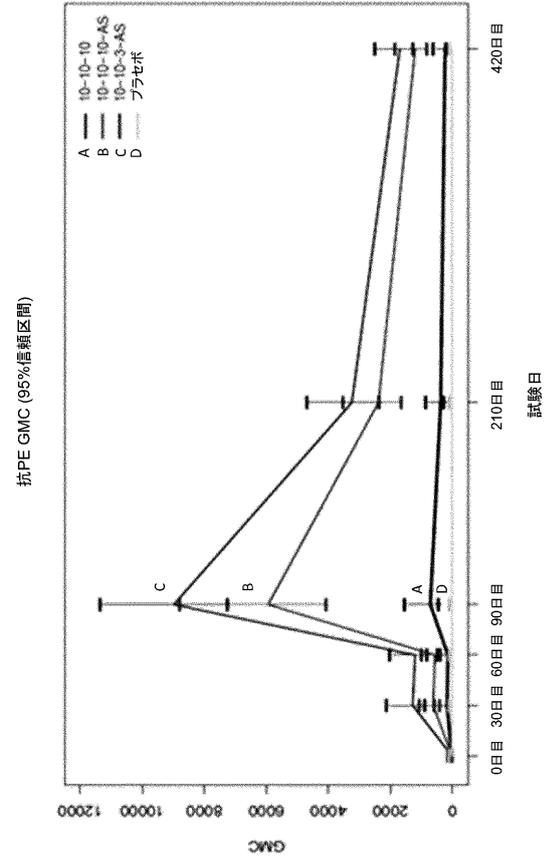
【 図 7 】



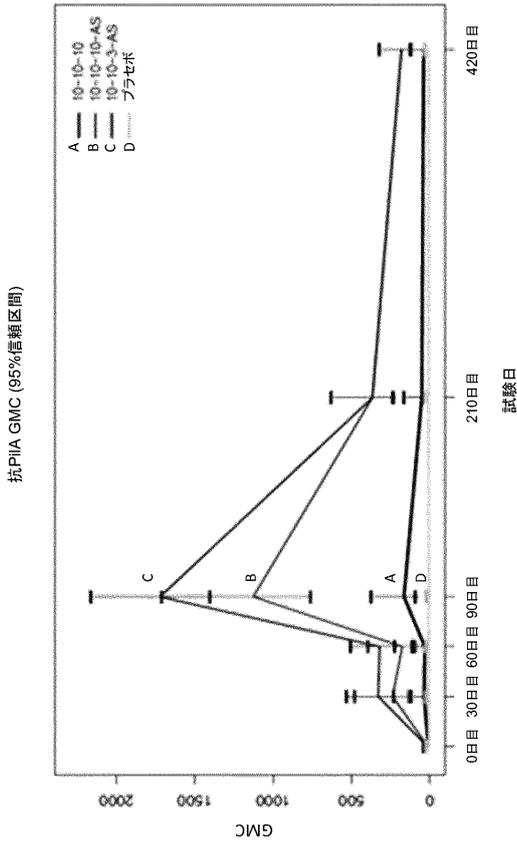
【 図 8 A 】



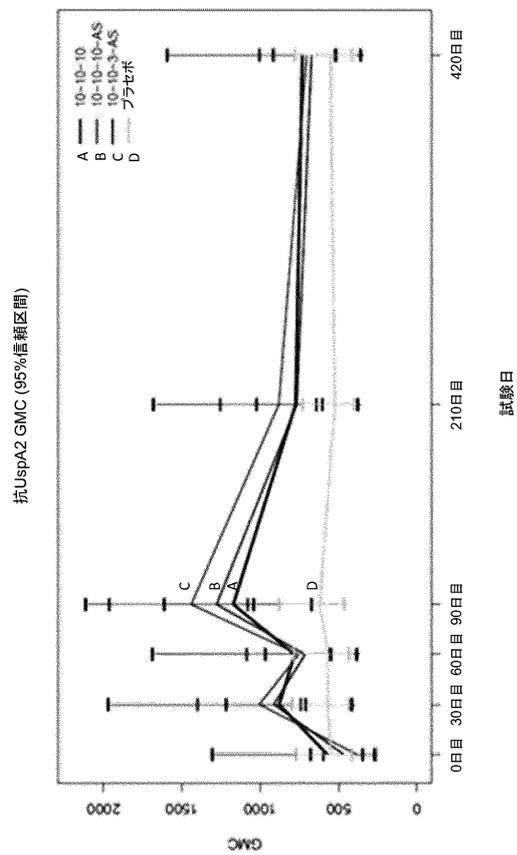
【 図 8 B 】



【 図 8 C 】



【 図 8 D 】



【配列表】

2020530478000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/071860

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/102 A61K39/104 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/125118 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]) 27 August 2015 (2015-08-27) cited in the application the whole document, especially Examples 12-14, Fig. 17-24, claims 28-31 -----	1-26
A	WO 2012/139225 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; BLAIS NORMAND [CA]; LABBE STEVE [CA];) 18 October 2012 (2012-10-18) cited in the application -----	1-26
A	WO 2007/018463 A2 (ARNE FORSGREN AB [SE]; FORSGREN ARNE [SE]; RIESBECK KRISTIAN [SE]) 15 February 2007 (2007-02-15) cited in the application ----- -/--	1-26
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
21 September 2018		05/10/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Marinoni J-C

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2018/071860

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98/28333 A2 (UNIV TEXAS [US]; HANSEN ERIC J [US]; AEBI CHRISTOPH [US]; COPE LESLIE) 2 July 1998 (1998-07-02) -----	1-26
A	WO 2007/084053 A1 (FORSGREN ARNE [SE]; RIESBECK KRISTIAN [SE]) 26 July 2007 (2007-07-26) cited in the application -----	1-26
A	LEROUX-ROELS GEERT ET AL: "Phase I, randomized, observer-blind, placebo-controlled studies to evaluate the safety, reactogenicity and immunogenicity of an investigational non-typeable Haemophilus influenzae (NTHi) protein vaccine in adults", VACCINE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 34, no. 27, 29 April 2016 (2016-04-29), pages 3156-3163, XP029569617, ISSN: 0264-410X, DOI: 10.1016/J.VACCINE.2016.04.051 -----	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2018/071860

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 2015125118 A1	27-08-2015	AU 2015220369 A1	15-09-2016		
		BR 112016019525 A2	24-10-2017		
		CA 2939862 A1	27-08-2015		
		CN 106061995 A	26-10-2016		
		EA 201691611 A1	30-12-2016		
		EP 3110438 A1	04-01-2017		
		JP 2017507181 A	16-03-2017		
		KR 20160124774 A	28-10-2016		
		SG 11201606272P A	29-09-2016		
		TW 201620927 A	16-06-2016		
		US 2017008932 A1	12-01-2017		
		UY 36006 A	30-09-2015		
		WO 2015125118 A1	27-08-2015		
		WO 2012139225 A1	18-10-2012	AR 086078 A1	20-11-2013
				AU 2012243412 A1	18-04-2013
				BR 112013026175 A2	29-11-2016
CA 2830786 A1	18-10-2012				
CN 103476799 A	25-12-2013				
CN 107383201 A	24-11-2017				
CN 107522788 A	29-12-2017				
CO 6781540 A2	31-10-2013				
CR 20130529 A	05-03-2014				
DK 2707393 T3	29-01-2018				
DO P2013000235 A	16-03-2014				
EA 201391240 A1	30-04-2014				
EP 2707393 A1	19-03-2014				
EP 3321287 A1	16-05-2018				
ES 2658512 T3	12-03-2018				
HR P20180216 T1	09-03-2018				
HU E036983 T2	28-08-2018				
JP 6196963 B2	13-09-2017				
JP 2014512365 A	22-05-2014				
KR 20140026483 A	05-03-2014				
LT 2707393 T	12-03-2018				
MA 35110 B1	02-05-2014				
MX 350013 B	23-08-2017				
NZ 615328 A	30-10-2015				
PE 09862014 A1	20-08-2014				
PL 2707393 T3	30-05-2018				
PT 2707393 T	09-02-2018				
SG 193906 A1	29-11-2013				
SG 10201602549W A	30-05-2016				
SI 2707393 T1	30-03-2018				
TW 201302779 A	16-01-2013				
US 2014056934 A1	27-02-2014				
US 2015166613 A1	18-06-2015				
US 2015175670 A1	25-06-2015				
US 2016250313 A1	01-09-2016				
US 2017029472 A1	02-02-2017				
US 2018222946 A1	09-08-2018				
UY 34017 A	30-11-2012				
WO 2012139225 A1	18-10-2012				
WO 2007018463 A2	15-02-2007	AU 2006277076 A1	15-02-2007		
		BR PI0614734 A2	12-04-2011		
		CA 2618554 A1	15-02-2007		
		EA 200800565 A1	30-10-2008		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2018/071860

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		EP 1913019 A2	23-04-2008
		EP 2548884 A2	23-01-2013
		EP 2548885 A2	23-01-2013
		EP 3305807 A1	11-04-2018
		ES 2537274 T3	05-06-2015
		JP 5269594 B2	21-08-2013
		JP 5763113 B2	12-08-2015
		JP 2009504152 A	05-02-2009
		JP 2013150614 A	08-08-2013
		KR 20080042865 A	15-05-2008
		MA 29765 B1	01-09-2008
		NZ 565651 A	12-01-2012
		US 2010062027 A1	11-03-2010
		US 2012148614 A1	14-06-2012
		US 2013129763 A1	23-05-2013
		US 2015140026 A1	21-05-2015
		US 2016318979 A1	03-11-2016
		US 2017281746 A1	05-10-2017
		WO 2007018463 A2	15-02-2007

WO 9828333	A2	02-07-1998	
		AT 497004 T	15-02-2011
		AU 746442 B2	02-05-2002
		AU 2011201228 A1	14-04-2011
		BR 9714160 A	02-05-2000
		CA 2274495 A1	02-07-1998
		CN 1251611 A	26-04-2000
		EP 0948625 A2	13-10-1999
		JP 2001515467 A	18-09-2001
		JP 2009142276 A	02-07-2009
		KR 20000057575 A	25-09-2000
		US 6310190 B1	30-10-2001
		US 2003032772 A1	13-02-2003
		US 2005131221 A1	16-06-2005
		US 2005137131 A1	23-06-2005
		US 2009118486 A1	07-05-2009
		US 2009137788 A1	28-05-2009
		WO 9828333 A2	02-07-1998

WO 2007084053	A1	26-07-2007	
		AU 2007206114 A1	26-07-2007
		BR PI0707154 A2	26-04-2011
		CA 2636566 A1	26-07-2007
		CN 101374859 A	25-02-2009
		CN 104436180 A	25-03-2015
		EA 200870176 A1	30-06-2009
		EP 1973933 A1	01-10-2008
		JP 5275814 B2	28-08-2013
		JP 6008747 B2	19-10-2016
		JP 2009523790 A	25-06-2009
		JP 2013126986 A	27-06-2013
		JP 2016135770 A	28-07-2016
		KR 20080096775 A	03-11-2008
		KR 20140101387 A	19-08-2014
		MA 30309 B1	01-04-2009
		MY 150105 A	29-11-2013
		NZ 569417 A	27-04-2012
		SG 175492 A1	28-11-2011
		SG 10201600336R A	26-02-2016
		UA 92782 C2	10-12-2010

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2018/071860

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2009246219 A1	01-10-2009
		US 2014350220 A1	27-11-2014
		US 2015071956 A1	12-03-2015
		US 2016114021 A1	28-04-2016
		US 2017326223 A1	16-11-2017
		WO 2007084053 A1	26-07-2007
		ZA 200805602 B	30-12-2009

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 14/195 (2006.01)	C 0 7 K 14/195	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 1 2 N 15/31 (2006.01)	C 1 2 N 15/31	

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72) 発明者 ヴェイナントツ, ヴィンセント

ベルギー 1 3 0 0 ワーフェル, アベニュー フルミング 2 0, グラクソスミスクライン パイオロジカルズ ソシエテ アノニム

Fターム(参考) 4C085 AA03 BA18 CC21 EE01 EE06 GG01 GG10
4H045 AA11 AA30 BA10 CA11 DA86 EA31 FA74