

(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2006-508988

(P2006-508988A)

(43) 公表日 平成18年3月16日(2006.3.16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/015 (2006.01)	A 6 1 K 39/015	4 C 0 8 5
A 6 1 P 33/06 (2006.01)	A 6 1 P 33/06	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号	特願2004-554018 (P2004-554018)	(71) 出願人	504372041 サナリア, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 メリーランド 2085 2, ロックビル, パークローン ドラ イブ 12115
(86) (22) 出願日	平成15年11月20日 (2003.11.20)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成17年7月13日 (2005.7.13)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/037498	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 国際公開番号	W02004/045559	(72) 発明者	ホフマン, スティーブン エル. アメリカ合衆国 メリーランド 2087 8, ゲイザーズバーグ, アーゴジ ドライブ 308
(87) 国際公開日	平成16年6月3日 (2004.6.3)		最終頁に続く
(31) 優先権主張番号	60/427,911		
(32) 優先日	平成14年11月20日 (2002.11.20)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 マラリア予防のための方法

(57) 【要約】

本発明は、マラリアに対して被験体を防御する新規方法を包含する。本発明の方法は、弱毒化スポロゾイトを用いた接種を包含し、その方法は、特に、皮下投与、筋肉内投与、皮内投与、粘膜投与、粘膜下投与、および皮膚投与を含むが、これらに限定されない。本出願は、一種以上のマラリア原因病原体に対して、ヒトおよび動物を免疫するための方法を提供する。この方法は、弱毒化スポロゾイトの初回ワクチンを投与することにより、ヒトまたは動物における免疫応答を惹起して、感染性プラスモジウム種の寄生生物に対する完全な防御免疫または部分的な防御免疫を提供する工程を包含する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

一種以上のマラリア原因病原体に対して、ヒトおよび動物を免疫するための方法であって、弱毒化スポロゾイトの初回ワクチンを投与することにより、ヒトまたは動物における免疫応答を惹起して、感染性プラスモジウム種の寄生生物に対する完全な防御免疫または部分的な防御免疫を提供する工程を包含する、方法。

【請求項2】

請求項1に記載の方法であって、ここで前記免疫応答は、一以上のさらなるワクチン投与量の弱毒化スポロゾイトを引き続き投与することにより追加免疫され、感染性プラスモジウム種の寄生生物に対する前記レシピエントでの増強された防御免疫応答または長期的防御免疫応答が提供される、方法。

10

【請求項3】

請求項2に記載の方法であって、ここで弱毒化スポロゾイトの前記初回刺激投与量および前記追加免疫投与量は、前記レシピエントの皮下組織、真皮組織、筋肉内組織、表皮組織、粘膜組織、粘膜下組織、または皮膚組織の内部あるいは上部に送達される、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本出願は、2002年11月20日に提出された米国仮出願第60/427,911号の利点に基づき、そしてその利点を請求する。この仮出願の全体の開示は、本明細書中に依拠され、そして参考として援用される。

20

【0002】

(発明の分野)

本出願は、ワクチンを投与することによりマラリアを予防することに関する。さらに具体的には、本発明は、マラリア感染に対するワクチンに関するものであり、本発明は、ヒトまたは動物への弱毒化スポロゾイトの投与を包含する。

【背景技術】

【0003】

(先行技術の紹介および説明)

マラリアは、3～5億人に罹患する疾患であり、毎年百万人～三百万人の個体を死亡させ、そして発展途上世界の人々(特に、サハラ以南のアフリカにおける人々)に巨大な経済的影響をもたらす[1、2]。Plasmodium falciparumは、世界中でマラリアによる死亡の大多数を占める。世界観光機関は、2000年に世界中で記録された約7億人の国際観光客の到来のうち、約9百万人は西アフリカ、中央アフリカ、または東アフリカ行きであり、3千7百万人は東南アジア行きであり、6百万は南アジア行きであり、1千万人は大洋州行きであったことを報告した[3]。一年当たり、北アメリカ、ヨーロッパ、および日本からの10,000人より多くの旅行者が、マラリアに感染すると見積もられる。マラリアが伝染される場所で行われたあらゆる軍事行動の際、1000年より長きにわたり、米国部隊は、敵対火よりも多くのマラリアによる死傷者を出している。推定12,000,000人の人生が、マラリアにより、第二次世界大戦の際に失われ、120万人の人生が、マラリアにより、ベトナム紛争の際に失われた[4]。

30

40

【0004】

寄生生物Plasmodium(マラリアを引き起こす原生動物の寄生生物)の伝染は、感染された雌性Anopheles蚊の刺咬を介して発生し、その蚊は夕方から明け方に活動する。スポロゾイトは、刺咬部位から血流を通じて肝臓に移動し、ここでスポロゾイトは肝細胞内で増殖し、P.falciparumの場合、一感染細胞当たり10,000～40,000個の子孫を産む。これら肝臓段階の寄生生物は、スポロゾイトにおいては発現されない一組の抗原を発現する。寄生生物のこの新しい世代は、メロゾイトとして血流に再入し、スポロゾイトおよび初期肝臓段階の際に発現される抗原とは異なる一組

50

の抗原を発現する。そして、赤血球に侵入し、ここで、さらなる増殖が、寄生生物数を、48時間ごとに約10～20倍に増加させる。いかなる疾病の症状も疾病の徴候も誘導しない、肝臓における上記の五～十日の発生とは異なり、未処理の血液段階感染は、溶血、悪寒戦慄、高熱、および衰弱を引き起こす。P. falciparum (人に感染する四種のPlasmodiumのうち最も危険なもの)の場合、その疾患は、重要な器官(脳、腎臓、および肺など)における微小循環性血流の途絶および代謝変化の途絶により複雑になり、緊急に処置されない場合は、しばしば死に至る。

【0005】

P. falciparumマラリアに対する有効なワクチンは、依然、医学への偉大な挑戦の一つである。百年間を超える努力、数億ドルの研究費、医師および科学者から捧げられた人生の犠牲、および多くの有望な試験的なワクチンにもかかわらず、人類の巨大な感染性の惨害を軽減するための市販ワクチンはない。一世代前、クロロキン、DDT、および媒介動物制御計画を使用する公衆衛生の提唱は、falciparumマラリアを世界規模の脅威としては取るに足りないものとするために熟慮されたようであった。有効なワクチンの欠如は、これらの試みを複雑にしたが、継続維持可能な制御は目前であるようであった。

10

【0006】

差し迫った成功の見込みは、短命に終わった。その失敗の理由は、複数の要因によるものであった。寄生生物は、非常に効果的で手頃な価格の抗マラリア投薬に対してますます耐性となり、媒介動物制御の手段は無効となり、そして移住、戦争、および経済崩壊は、発展途上世界の風土地方においてますます一般的になった。結果として、falciparumマラリアは再起しており、毎年、25億の人間が危険に曝され、これにより3～9億人が感染し、百万人～3百万人の人々を死亡させている。発展途上世界を苦しめる多くの社会問題、経済問題、環境問題、政治問題の中で、P. falciparumマラリアは、これらの不公正の根本的原因および残酷な結果の両方であるとますます思われ、そしてこれらの複雑な問題を解決するための唯一の障害である。発展途上世界においてfalciparumマラリアを制御することは、有効なワクチンなしで可能であり得る。実際、社会的状況、政治的状況、および経済的状況を仮定すると、本発明者らは、ワクチンが継続可能な制御プログラムの必須成分であり得、世界的根絶キャンペーンにとって必要であると、考える。

20

30

【0007】

このように、マラリアワクチン開発の近代は、もどかしい状況の中にあった。1980年代初期から、分子生物学および医学における驚異的な技術的進歩が起きている。これらの進歩は、段階特異的P. falciparumタンパク質および段階特異的P. falciparumエピトープ、ならびに宿主免疫機構および宿主免疫応答の同定を加速させた。この知見は、一定範囲の新規ワクチン候補に変えられた[5、6]。ある意味では、この近代は、マラリアワクチン研究およびヒト試験の黄金時代であった。しかしながら、マラリア研究者の超人的努力にもかかわらず、これらのワクチンの大多数は、レシピエントの40%～70%において、ヒトにおけるいかなる防御免疫も提供できておらず、1つのワクチンが、感染に対する再現性のある短期的防御を実証しているにすぎない。[7～9]。

40

【0008】

十分な時間および資源があれば、これらのワクチン戦略、またはまだ開発されていない他の戦略は、強いワクチンを究極的には導き得る。しかしながら、最近のキーストンミーティング「Malaria's Challenge: From Infants to Genomics to Vaccines」[6]で、参加者が、いつマラリアワクチンが市販品として「売り出され」得ると考えるかについて、投票調査された。その部屋にいた者の多くは、最初のワクチンは2016～2025年まで売り出されないと参加者が考えていることを示した。組換えP. falciparumスポロゾイト周囲タンパク質(PfCSP)ワクチンを開発するGlaxo Smith Kline (GSK)の

50

活動のリーダーは、最も楽観主義を表明した。全て順調に進んだ場合、この単一タンパク質ワクチンは、7～8年(2009～2010)以内に「売り出され」得ることが示された。GSKおよび米陸軍は、PfCSPのクロニングをした1984年から、組換えタンパク質PfCSFワクチンに関して研究している[10]こと、ならびに多くのマラリア学者が、単一タンパク質ワクチンがマラリアを持続的に制御するのに十分であるか否かについての不安を表していることを考えると、単一タンパク質の開発のための25年より長いスケジュールは、この疾患の苦しみを真に軽減するワクチン開発の可能性に対して寒気のする現実的な見込みを与える。

【0009】

(放射線照射弱毒化スポロゾイトを用いた免疫後の防御免疫)

1967年、Nussenzweigは、A/Jマウスへの放射線照射弱毒化P.bergheiスポロゾイトの静脈内投与が、感染性P.bergheiスポロゾイトを用いたチャレンジに対してマウスを防御したことを報告した[11]。これらのげっ歯類の研究は、ヒトの研究についての推進力を提供した。1970年代初期までに、2つのグループが、唾液腺にP.falciparumスポロゾイトを保有する照射した蚊に刺咬させてヒトのボランティアを免疫すると完全に感染性のP.falciparumスポロゾイトを用いたチャレンジに対してボランティアを防御し得ることを、確立した[12～19]。これらの研究は、滅菌防御免疫を提供するマラリアワクチンが可能であることを実証した。しかしながら、当時スポロゾイトを生産する唯一の方法は、P.falciparumをボランティアに感染させ、この寄生生物を抑制するが除去しない用量のクロロキンでそのボランティアを処置し、生殖母細胞を発達させ、そしてさらに、蚊にこれらのボランティアをえさとして与えることであった。たとえこの方法により十分な数のスポロゾイトを生産し得たとしても、照射したスポロゾイトワクチンでヒトを免疫することは、臨床的に、技術的に、かつ論理的に非現実的であると考えられた。大部分において、この理由は、感染した蚊の刺咬、またはマウスで行われたような静脈内注射のいずれかによってスポロゾイトが生きたまま送達されなければならないからであった。当該分野で活動する科学者は、他の免疫経路が、静脈内注射または感染した蚊の刺咬による免疫と比べて、十分な防御も比較可能な防御も提供しないと結論づけた；このことは、この科学者の見込みから弱毒化スポロゾイトのワクチンとしての使用を、本質的に禁止した。幾人かのこのような科学者の発表された意見を、以下に引用する。

【0010】

「この知見は、以前の報告(Nussenzweig、Vanderberg、およびMost、1967年および1969年)を実証し、そして彼らの発見を拡大する。他の非経口的経路(i.m.、i.p.、およびi.c)により免疫されたマウスの群は、i.v.免疫されたマウスより、かなり低い全体的防御レベルを示した。」[20]。

【0011】

「これらの研究は、スポロゾイト誘導性マラリアに対してマウスを防御的に免疫することにおいて、筋肉内注射されるP.bergheiの照射スポロゾイトが、静脈内注射される照射スポロゾイトよりもかなり低い有効性しかないことを実証した以前の報告を確証している。ヒト試験への拡大を阻止する主要な制限は、受容不可能な医学的危険を生じる手順である静脈内免疫の必要性であった。」(この引用において言及される研究において、筋肉内経路による防御は、11%と42%との間の範囲に及び、そして皮下経路による防御は、0%であった)[21]。

【0012】

「げっ歯類におけるワクチン接種の試みにおいて使用される種々の免疫経路(i.m.、i.v.、皮下、経口など)の中で、静脈内経路は、最も高い防御の度合い、および最も再現性のある結果を生じることが、さらに示された。他の唯一の非常に有効な免疫経路は、感染した照射された蚊の刺咬によるものである。」[22]。この1980年の概説(「Use of Radiation-attenuated Sporozoites in the Immunoprophylaxis of Malaria,」)

10

20

30

40

50

において、Dr. Nussenzweigは、スポロゾイトマラリアワクチンを開発する可能性の議論を始め、「結論として、最近の発見は、我々が現在、スポロゾイト誘導性免疫の機構を明らかにするための手段、および防御抗原を単離するための手段を提供すべき必要な強力な手段を有することを、指し示すようである。これらの状況下において、マラリア用のスポロゾイトワクチン開発に対する種々の障壁は、それほど遠くない将来に希望をもって克服可能であるようである。」と結論づけた。Dr. Nussenzweigは、妥当な選択肢として、弱毒化スポロゾイト全体ワクチンを利用するという考えを議論せず、スポロゾイト段階に対する免疫を誘導するワクチン成分を提供するためのスポロゾイトの使用のみを議論する。

【0013】

照射スポロゾイトワクチンモデルに従事して約15年後の1980年に、この分野の疑う余地のないほどのリーダー(Dr. Nussenzweig)によって、ワクチンの経路は、近代科学にずっと存在することが結論づけられた；防御の免疫学的機構およびそれらの防御免疫応答の抗原性標的を理解すること、ならびに「サブユニット」スポロゾイトワクチンを構築すること。それ以降、ヒト用の実用的ワクチンとして、弱毒化した寄生生物スポロゾイト全体のワクチンの開発を試みる文献においては、多くの理由から、本質的には、言及も議論もない。それらの理由のうちで重要なのは、これらの15年の研究にもかかわらず、静脈内投与または感染した蚊の刺咬以外によりスポロゾイトを投与する適切なアプローチを発見した科学者がいないことである。

【0014】

弱毒化スポロゾイトワクチンの開発のさらなる研究もまたなかった。なぜなら、スポロゾイトは、無菌の蚊において作られ、無菌的に精製され、そして適切に保存され、かつ投与前に再構成されなければならず、そして、このような処理後に、そのスポロゾイトは、投与されたときに、依然として、防御免疫応答を惹起し得なくてはならないからである。

【0015】

生産問題の一部についての可能性のある解決法は、弱毒化スポロゾイトワクチンの開発に関係するとは、当時認められなかったが、報告はされていた。1975年、インビトロで*P. falciparum*を培養する方法が、報告され[23、24]、続いて、1982年に、これらの培養物から生殖母細胞を生産する方法が報告された[24]。1986年には、インビトロ培養物においてヒトをえさとして与えた蚊において生産されたスポロゾイトによって、ヒトが、感染され得ることが報告された[26]。従って、ヒトにおいて、生殖母細胞のインビトロ生産の困難性なくしてスポロゾイトを生産する方法があった。これらのスポロゾイトの開発自体は、弱毒化スポロゾイトワクチンの開発に対する障壁の全てを克服するには十分でなかった。十分なスポロゾイトを生産する方法も規制標準に合う条件下でのスポロゾイトの生産および処理する方法もなかった。さらに、適切に生産され処理されたスポロゾイトが、臨床的に受容可能で実用的な様式において、首尾よく投与され得たことを指し示すデータはなかった。

【0016】

従って、マラリア科学界が、高レベルの防御を達成するために十分な弱毒化スポロゾイトを臨床的に受容可能で実用的な様式にて送達する方法を発見できなかった後、弱毒化スポロゾイトワクチンは、臨床的な検討材料から外され、そして、上記科学界は、Dr. Nussenzweig(上記の段落)により予測されたように、ワクチン開発を望んで現代の分子科学を採用した。いくつかの見込みのある開発が、近代のマラリアサブユニットワクチン開発を始めた。スポロゾイトの主要表面タンパク質に対するモノクローナル抗体(スポロゾイト周囲(*circumsporozoite*)タンパク質(CSP))が生産され、これは受動伝達実験においてマウスを防御することが示された[27]。さらに、PfCSPタンパク質をコードする遺伝子がクローン化され、配列決定された[10]。同時に、最初の精製組換えタンパク質ワクチン(B型肝炎表面抗原ワクチン)が、開発され、市販された[28]。ワクチン科学における証拠および流行の重みは、マラリア研究者に、ヒトマラリアワクチンを急速に開発するためのロードマップを提供したようであ

10

20

30

40

50

った。スポロゾイトワクチンを生産しそして投与することは、非現実的であると考えられたので、弱毒化寄生生物全体ワクチンに戻ることは、不必要であり、時代遅れのようであり、その後の全ての努力は、サブユニットワクチンの期待に集中した。

【0017】

最初の組換えタンパク質 [29] ワクチンおよび合成ペプチド [30] ワクチンが、予想通りに防御的であることを証明しなかった1987年に、生産しそして投与することが不可能であると考えられた弱毒化スポロゾイトワクチンの開発を考慮する代わりに、科学者達は、防御免疫を担う免疫機構、およびこれらの防御免疫応答の抗原性標的を理解すること、ならびにサブユニットワクチンおよびこのような防御を誘導するワクチン送達系を開発することに集中した。この基礎研究の多くは、P. berghei げっ歯類モデル系および P. yoelii げっ歯類モデル系において行なわれた。このげっ歯類のマラリア研究は、免疫学的機構および照射スポロゾイトワクチン誘導性防御の抗原性標的への重要な洞察を提供して多くの候補ワクチンの開発を導いた [31 ~ 33]。1984年から2000年終わりにおける、P. falciparum のスポロゾイト周囲タンパク質 (PfCSP) をコードする遺伝子のクローニング後に行われたこれらの研究は、ヒトの照射スポロゾイト全体ワクチンを開発する可能性を全く示唆しなかった。なぜなら、研究者の誰もが、実用的な様式においてこのようなワクチンを生産または投与することが可能であると考えなかったからであった。興味深いことに、サブユニット (組換えタンパク質、合成ペプチド、組換えウイルス、DNA プラスミド) ワクチン処方物は、マウスにおいて優れた防御を生じることが示されているが、ヒトにおいては、匹敵することは示されていないが、対照的に、照射スポロゾイトの静脈内投与によるマウスにおける防御は、ヒトの研究を導き [11]、この研究は、唾液腺に P. falciparum スポロゾイトを含む照射した蚊の刺咬への暴露が、防御を誘導することを実証した [34]。

【0018】

1989年に、サブユニットPfCSPワクチンの多くの失望させる臨床試験の後、唾液腺に P. falciparum スポロゾイトを保有する蚊の刺咬によるボランティアの免疫化、その後のインビボでの放射線への暴露による弱毒化が、Naval Medical Research Institute、後のNaval Medical Research Center (NMRI、後のNMRC) およびWalter Reed Army Institute of Research (WRAIR) で始められた。この研究の目的は、照射スポロゾイトワクチンでヒトを防御することを導く臨床的特徴および臨床的必要性をより良く示すことであり、ヒトにおいて惹起される防御免疫応答を評価することであり、そして、ヒトにおける免疫応答を惹起したそれらのタンパク質上の抗原およびエピトープを同定することであった。なぜなら、このようなワクチンの生産すること、およびこのようなワクチンの投与することが、完全に実用不可能で技術的に実行不可能であると考えられたからである。ヒトワクチンとして照射スポロゾイトを開発することは決して考慮されなかった。これらの研究からの予備的臨床結果および広範な免疫学的アッセイ結果が、公開された [35 ~ 41]。この対象に関する他の研究 [42 ~ 48] と組み合わせられたこれらの免疫学的研究は、放射線照射弱毒化 P. falciparum スポロゾイトで免疫されたヒトにおける免疫学的応答についての本発明者らの理解を増大させた。しかしながら、弱毒化スポロゾイトワクチンを開発することを試みる考慮も言及もなかった。

【0019】

これらの免疫化およびチャレンジを用いる最初の10年間の臨床的経験の結果が、最近報告され、the University of Maryland (1970年代、1980年代後半、および1990前半) および1970年代における the Rush-Presbyterian-St. Luke's Medical Centre in Chicago および the Naval Medical Research Institute [12 ~ 19、34] からの、照射 Plasmodium スポロゾイトでヒトを免疫する [34] 全ての公表された臨床報告と組み合わせられた。多くの知見が、行

10

20

30

40

50

われた解析から生じた。

【0020】

A) 5 ~ 14匹の感染した蚊の刺咬によりチャレンジされたボランティアの間の防御免疫に関して用量応答が存在した。1000匹を超える感染した照射した蚊の刺咬により免疫された14人のボランティアのうち13人(93%)が、彼らの最後の一次免疫の10週間以内にチャレンジされた場合、血液段階の*P. falciparum*感染の発症に対して防御された。これらのボランティアの35のチャレンジがあり、そして35のチャレンジのうち33(94%)において血液段階感染の発症に対し、完全な防御が存在した。200を超え1000未満の感染し照射した蚊の刺咬によって免疫された10人のボランティアのうちの4人(40%)が、彼らの最後の一次免疫の10週間以内にチャレンジされた場合、血液段階の*P. falciparum*感染の発症に対し、防御された(>1000回の感染性刺咬により免疫されたボランティア間より有意に低レベルの防御免疫($p = 0.0088$ 、フィッシャーの直接確率検定、両側)。1000未満の感染性刺咬により免疫されたボランティアの15のチャレンジがあり、15のチャレンジのうちの5(33%)において血液段階の感染の発症に対し、完全な防御が存在した(>1000回の感染性刺咬により免疫されたボランティア間より有意に低いレベルの防御免疫($p = 0.00015$ 、フィッシャーの直接確率検定、両側)。

10

【0021】

B) 防御免疫は、少なくとも42週間(10.5ヵ月間)にわたり存続した。彼らの最後の一次免疫または二次免疫の23~42週間(23週間、36週間、39週間、41週間、および42週間)後にチャレンジされた場合、上記の14人のボランティアのうちの6人のうちの5人が実験的チャレンジに対し防御された。最後の(防御されない)免疫の5年後、1人のボランティアの単回チャレンジを除いて、長期の防御免疫を評価する他のチャレンジは存在しなかった。

20

【0022】

C) 防御は、種特異的ではなかった。4人のボランティアが、彼らが免疫された単離体とは異なる*P. falciparum*の単離体でチャレンジされた。その4人のボランティアは、*P. falciparum*の異なる単離体を用いた7回のそのようなチャレンジのうちの7回において、完全に防御された。

【0023】

D) 免疫記憶は、少なくとも5年は存続する。1601匹の照射した感染した蚊の刺咬に暴露され、最後の暴露の9週間後および42週後にチャレンジされた場合に防御されたボランティアは、照射し感染した蚊への最後の暴露の5年後に再チャレンジされた場合は、防御されなかった。彼は、彼のマラリアについて処置され、147匹の照射し感染した蚊への暴露により追加免疫され、そして*P. falciparum*スポロゾイトで感染した5匹の非照射の蚊の刺咬への暴露により再チャレンジされた。このボランティアは、その感染性チャレンジに対して防御された[34]。このことは、この防御免疫が、照射スポロゾイトへの単回の暴露で追加免疫可能であることを実証した。

30

【0024】

従って、防御は、1000回を超える蚊の刺咬の後のチャレンジ実験の90%より多くにて達成され、少なくとも10.5ヵ月間存続し、そして*P. falciparum*単離体(株)特異的ではなかった。

40

【0025】

ヒトの被験体におけるこのレベルの防御的効力を実証する「サブユニット」ワクチンは、主要なブレークスルーとして認識される。防御がこの実験的照射スポロゾイトワクチンから生じることが、慣例的に観察されたが、弱毒化スポロゾイトの優れた力は、この報告を公開するために必要な慎重な分析が完了した後まで、認識されないままであった。興味深いことに、これらの結果が、2002年3月のキーストンミーティング「*Malaria's Challenge: From Infants to Genomics to Vaccines*」で、本発明者らの1人(SLH)によって示されたとき、これ

50

らの結果は興味深いと考えられたが、聴衆の中で誰も、このアプローチは生きたマラリアワクチンとして追求されるべきであるという考えを提起さえしなかった。なぜなら、全ての人々が、このワクチンは、生産するには非実用的であり、そして投与することも不可能であると考えたからである。この観点は、科学界において未だ広く、保持されている。Nature誌(2003年10月2日)の最近の刊行物[49]において、the Naval Medical Research Center Malaria Programで臨床試験の指導者が、「障壁は、十分に手ごわく、誰もそれに挑戦する意思のあるものはいないようである」と述べ、そして英国のthe University of Oxfordからのマラリアワクチン専門家は、「これは、望みが薄い。試みは価値あるけれども、成功する見込みは非常に低い」と述べた。対照的に、本発明者らは、このようなワクチンを作製することは可能であるが、cGMP製造および臨床試験に移行する前に、解答しなければならないいくつかの重大な問題があると考えた。これらは、最近の刊行物[50]において概要が述べられている。最も重大な問題の1つは、ヒトのワクチンにとって実用的な経路により弱毒化スポロゾイトを投与し得るか否かであった。

10

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0026】

(発明の要旨)

これまで、弱毒化プラスモジウム種スポロゾイトを用いてヒトを免疫することは、非実用的であると考えられていた。なぜなら、このスポロゾイトを、免疫化のために感染した照射した蚊の刺咬、または静脈内投与によって送達しなければならなかったからである。これは、ヒトおよびマウスでそれぞれ、以前になされていたものであり、高レベルの防御免疫を達成するための唯一の方法として、科学界により受け入れられたものであった。

20

【0027】

適切に照射したスポロゾイトが、蚊の刺咬または静脈内注射によって送達される場合、これらのスポロゾイトは、血流を通じて肝臓へ移動し、肝細胞に侵入し、部分的に発達し、その後、発達を停止するが、成熟した肝臓分裂体(これは、破裂して、赤血球感染、およびマラリアとして公知の疾患の原因であるメロゾイトを放出する)までは、決して発達しないと理論づけられていた。従って、これらのスポロゾイトは、弱毒化される。データは、十分な防御免疫応答を惹起するためには、この寄生生物が、肝細胞に侵入し、部分的に発達し、そして防御免疫応答(特にCD8 T細胞)の標的である新しいタンパク質を

30

【0028】

本発明者らは、非照射のスポロゾイト調製物の感染力とスポロゾイトが弱毒化された場合に防御免疫を惹起する能力との間に、直接的相関/関連があると理論づけた。さらに本発明者らは、ある特定の方法で投与される場合の非照射のスポロゾイトの感染力と、照射され、そして防御免疫を惹起するためにこの方法によって送達される場合のこれらのスポロゾイトの能力との間に、直接的相関/関連があると理論づけた。

【0029】

本明細書中に記載された本発明は、ヒトワクチンにとって実用的な経路によって弱毒化スポロゾイトを投与し得るか?という疑問に答えることに応じて発見された。

40

【0030】

この疑問は、上記で引例された全報告(11、20~22)で以前に研究されたP. bergheiげっ歯類マラリア寄生生物ではなく、P. yoeliiげっ歯類マラリア寄生生物を用いて取り組まれた。P. bergheiモデル系は、照射スポロゾイトが、A/Jマウスを防御することを確立するために使用され、そしてこれは、照射されたP. falciparumが感染した蚊への暴露は、ヒトを防御することを実証するヒトの研究を導いた。そのP. berghei系はまた使用されて、照射スポロゾイト投与の筋肉内経路、皮下経路および他の非静脈内経路が、マウスにおいて十分には防御的でないことを科学界に証明した(20~22)。実際、放射線照射弱毒化スポロゾイトを皮下投与した

50

後、防御は、0%であった[21]。A/Jマウスで主に行われたこれらの研究は、ヒトにとって実用的かつ臨床的に適切なマラリアワクチンとして、照射スポロゾイトを開発させることは、可能ではないという結論を導いた。1980年代初期～中期において、the Naval Medical Research Institute laboratoryは、A/JマウスにおけるP. bergheiを用いる研究から、BALB/cマウスにおけるP. yoeliiを用いる研究に切り換えた。これは、the Naval Medical Research Instituteの科学者達が、BALB/cマウスにおける静脈内投与されたP. yoeliiは、静脈内投与されたP. bergheiよりも、ヒトにおけるP. falciparum感染の前兆となると考えたからであった。これは、主に、静脈内投与されたP. yoeliiスポロゾイトは、静脈内投与されたP. bergheiスポロゾイトよりも、マウスに対して大いに感染性であるからであった。BALB/cマウスにおける静脈内投与されたP. yoeliiのマウスに対する50%感染用量は、BALB/cマウスにおけるP. bergheiの50%感染用量の約100分の1～1000分の1の低さであり、そしてP. bergheiよりも、霊長類におけるプラスモジウム種の寄生生物（サルにおけるP. knowlesiおよびヒトにおけるP. falciparumなど）の50%感染用量に対してほぼ確実に匹敵する。1990年代初期（NavyのグループがP. bergheiの代わりにP. yoeliiを用いて研究を始めた約10年後）に、Navyのグループの科学者達からの論文を読み、そして発表を聴聞した後、Dr. Nussenzweigは、本発明者らの1人（SLH）から、Navyの研究室で使用されるP. yoelii寄生生物を要求し、げっ歯類マラリアに関するNew York Universityでの彼女のグループの研究から、P. yoeliiモデル系（主にBALB/cを用いる研究）に、本質的に切り換えた。

10

20

30

40

50

【0031】

ほぼ確実に、上記で記載されたP. bergheiモデル系における以前の研究[11、20～22]が原因で、P. yoeliiを用いる全ての研究は、静脈内注射または蚊の刺咬による投与に焦点を当てていることは、注目すべき重要なことである。さらに、P. bergheiモデル系におけるこの研究が原因で、弱毒化スポロゾイト全体ワクチンを開発させるためのモデルとして、P. yoelii系において、P. yoelii系を使用するよう試みようとは、誰も実験をしていない。P. yoeliiげっ歯類マラリア系における照射スポロゾイトを用いる免疫は、Nussenzweigによって1980年に記載された同一の科学的目的（防御免疫の免疫機構およびこれらの防御免疫応答の寄生生物上の抗原性標的を同定すること）のために、科学者達によって使用されていた[22]。こうした理由で、スポロゾイトの静脈内投与または蚊の刺咬による投与だけが、照射スポロゾイトモデルをそのように有効にさせる100%の防御免疫を提供することが、25年間を超える時間にわたり「公知」であったので、これらは、この系において研究する科学者達によって使用される投与経路であった。照射スポロゾイトを、臨床的に実用的かつ受容可能にさせることが要求される他の経路（例えば、皮下経路、筋肉内経路、皮内経路および他の経路）は、使用されていない。

【0032】

本発明者らは、マラリアに対して被験体を免疫するための方法を発見した。その方法は、比較的短時間に弱毒化スポロゾイトで多数の被験体をワクチン接種することを可能とし、感染に蚊よる以前の刺咬方法の非実用性および潜在的な危険性、またはマウスの場合の皮下注射による非実用性および潜在的な危険性を回避し、そしてこれらの先行方法により達成された防御に匹敵する防御を提供する。

【0033】

さらに具体的には、本発明者らは、マラリアに対する有効な防御が、一定量の弱毒化スポロゾイトを、被験体に、静脈内注射以外の経路（皮下経路、筋肉内経路、皮内経路、粘膜経路、粘膜下経路、表皮経路、および皮膚経路が挙げられるが、これらに限定されない）によって非経口的に投与することにより得られ得ることを、発見した。

【0034】

(発明の詳細な説明)

本発明は、ヒト、哺乳動物、鳥類、および他の関連する種において、実用的にする、弱毒化プラスモジウム種スポロゾイトを投与するための新しい臨床的に関連するかつ受容可能な方法を提供する。

【0035】

以前の弱毒化スポロゾイトの標準的投与方法(静脈内注射または感染した蚊の刺咬による投与)を上回る本発明の重大な改良は、本発明が、以前の標準的方法に匹敵する防御を提供するワクチンを投与する臨床的に実用的かつ安全な方法を可能とすることである。感染した蚊の刺咬による投与は、明白な理由により、決してワクチンとして使用され得ない。そして静脈内注射による投与は、いかなるワクチンについても一般的に使用されない方法である。なぜなら、特に若い子供において、技術的に困難な投与方法であり、そして血流内への直接投与であることが原因で、潜在的に危険であるからである。

10

【0036】

本発明を用いると、非経口的投与は、皮膚に(経皮的、表皮、皮内)、皮下組織に(皮下)、筋肉に(筋肉内)、粘膜を介して、または粘膜下組織に投与され得る。好ましくは、その投与は、皮下、経皮内、または筋肉内にされる。

【0037】

弱毒化の目的は、寄生生物を弱らせることであり、それにより、その寄生生物は、宿主細胞に侵入し新しいタンパク質を産生させるのに十分生存可能であるが、疾患の原因である複製する無性生殖血液段階感染を生じることができない。弱毒化は、複数の方法で起こり得る。例えば、これは、寄生生物を接種したスポロゾイトが、宿主細胞へ侵入し得、これらの細胞内で部分的に発達し得、そして、破裂して赤血球へ侵入して疾患の原因となるメロゾイトを放出し得る、成熟した肝臓段階寄生生物に匹敵する段階に達する前で発達を停止するように弱毒化することによって、起こり得る。この型の弱毒化寄生生物は、代謝的に活性な非複製型寄生生物と呼ばれ得る。弱毒化はまた、宿主細胞に侵入して成熟した肝臓段階の寄生生物に匹敵する段階まで正常に発達し得、宿主細胞から破裂し得るが、しかし、これらが疾患を引き起こすことを必要とされる程度までは、赤血球においては発達不可能な寄生生物を生成することによって、起こり得る。この弱毒化はまた、宿主細胞中に侵入して成熟した肝臓段階の寄生生物に匹敵する段階まで正常に発達し得、宿主細胞から破裂し得るが、赤血球で、これらが重大な疾患を引き起こすために必要とされる程度までの発達は不可能であるようにその寄生生物を弱毒化することによって、起こり得る。この弱毒化はまた、スポロゾイトが、部分的に発達して新しいタンパク質を産生するが、破裂して赤血球へ侵入して疾患の原因となるメロゾイトを放出し得る、成熟した肝臓段階の寄生生物に匹敵する段階に達する前で発達を停止するように寄生生物を弱毒化することによって、起こり得る。

20

30

【0038】

多くの弱毒化方法が使用され得るが、本発明者らは、照射による弱毒化が、代謝的に活性な非複製型寄生生物を生成するために、現在好ましいことを見出した。スポロゾイトの弱毒化は、多投与レジメンを含む複数の方法で、達成され得る。その弱毒化は、スポロゾイトが未だ蚊の中にいる間に達成され得るか、スポロゾイトが蚊から単離された後で操作(凍結保存など)する前に達成され得るか、または、スポロゾイトが蚊から単離された後操作(凍結保存など)された後に達成され得る。以前の経験に基づく現在の照射線量は、*Plasmodium falciparum* スポロゾイトについては、一般に12,000 Rad(cGy)よりも大きく、23,000 Rad(cGy)よりも小さく、15,000 Rad(cGy)が、最も一般に使用される[34]。当業者は、この線量は、種間または株間で異なり得ること、スポロゾイトを照射するために使用される装置および技術によって異なり得ることを認識する。当業者は、その照射は、多くの方法(線、x線、紫外線、または他の亜原子粒子(例えば、電子、陽子、またはこれらの方法の組み合わせ)などが挙げられるが、これらに限定されない)を用いて達成され得ることを認識する

40

50

。

【0039】

将来、上記の段落で記載されるような弱毒化 [39] は、ワクチンのレシピエントに導入される前に、寄生生物の遺伝子操作によって達成され得る。

【0040】

弱毒化はまた、スポロゾイトに暴露する前または後に、この寄生生物の発達を防ぐ薬物で個体を処理してこの寄生生物が、肝細胞で複製し得るようにすることによって達成され得る。

【0041】

弱毒化はまた、スポロゾイトに暴露する前または後に、その寄生生物の発達を防ぐ薬物で個体を処理してその寄生生物が、赤血球で複製し得るようにすることによって達成され得る。 10

【0042】

弱毒化はまた、スポロゾイトを、その寄生生物を弱毒化する化学薬品を用いて処理することによって達成され得る。

【0043】

投与手段は、蚊の刺咬または静脈内投与以外の任意の接種方法（一本針およびシリンジ、複数針およびシリンジアレイを用いる注射、1個～数百個～数千個～数十万個の細孔を有する微小針を用いる注射、弾道技術による針を用いない注射などであるが、これらに限定されない）であり得る。弱毒化スポロゾイトはまた、経皮的パッチにより、または特定の物質（例えば、金ビーズ）上で、送達され得る。単回接種により一定レベルの防御に達成することは可能であるが、一連の2回以上の接種または暴露を行うことが好ましい。 20

【0044】

好ましい接種物は、マラリア免疫に有効な量の弱毒化された *P. falciparum* スポロゾイトまたは他のプラスモジウム種スポロゾイトである。1回の接種当たりのヒトにおける投薬量は、約1,000～10,000,000の範囲であり得るが、これは開業医による評価または弱毒化スポロゾイト調製物の免疫原性/効力に依存して、異なり得る。

【0045】

任意のプラスモジウム種寄生生物が、たとえ、遺伝学的に変化したとしても、本発明の方法で使用され得る。一実施形態では、寄生生物は *P. falciparum* である。他の実施形態では、例えば、寄生生物は *P. vivax*、*P. ovale*、または *P. malariae* であり得る。他の実施形態では、寄生生物はこれらの寄生生物の混合物であり得る。他の実施形態では、寄生生物は、*Plasmodium knowlesi*、*P. yoelii*、または他のプラスモジウム種寄生生物であり得る。 30

【0046】

一実施形態では、本発明は、シリンジのような送達装置の中に弱毒化スポロゾイトを含む、薬学的キットを提供する。

【0047】

他の実施形態では、本発明は、バイアル（凍結した弱毒化スポロゾイトを含むバイアルが挙げられるが、これに限定されない）のような容器、弱毒化スポロゾイトを希釈するための液体を含むバイアルのような容器、ならびにシリンジおよび針のような実際の送達デバイスを含む、キットを提供する。 40

【0048】

他の実施形態では、本発明は、バイアル（凍結乾燥した（凍結乾燥した）弱毒化スポロゾイトを含むバイアルが挙げられるが、これに限定されない）のような容器、弱毒化スポロゾイトを希釈するための液体を含むバイアルのような容器、ならびにシリンジおよび針のような実際の送達デバイスを含む、キットを提供する。

【0049】

他の実施形態では、本発明は、バイアル（保温された弱毒化スポロゾイトを含むバイアル 50

ルが挙げられるが、これに限定されない)のような容器、弱毒化スポロゾイトを希釈するための液体を含むバイアルのような容器、ならびにシリンジおよび針のような実際の送達デバイスを含む、キットを提供する。

【0050】

本発明は、マラリアの予防、またはマラリアの重篤度の軽減のためのワクチン投与における本明細書中で記載されるような弱毒化プラスモジウム種スポロゾイトの非経口的投与の使用をさらに提供する。

【0051】

本発明は、マラリアの原因である病原体に以前に暴露されていないヒト、または暴露されたが完全には防御されていないヒトの、部分的防御、増強した防御、または完全防御を提供する。本発明はまた、使用され得る。マラリア感染の発症の機会を減らすため、感染した場合に疾患になる機会を減らすため、感染した場合にその疾患の重篤度(熱など)を軽減するため、感染した人間における寄生生物の濃度を低下させるため、またはマラリア寄生生物に暴露された場合にマラリアによる死亡率を低下させるために、使用され得る。多くの場合、部分的な防御ですら、有益である。例えば、集団の約30%にこれらの恩恵のうちのいくらかをもたらすワクチン処置戦略は、共同社会の健康およびその共同社会に存在する個体の健康に対して重大な衝撃を有し得る。

10

【0052】

「ワクチン」は、疾病から人間を防御する免疫応答を、その薬剤に起因して刺激するために投与される、感染因子またはその成分を含む調製物を包含する組成物である。治療(処置)ワクチンは、感染後に与えられ、疾患進行を減少させるまたは阻止することが意図される。予防(preventive)(予防(prophylactic))ワクチンは、初期感染を防ぐことを意図する。ワクチンで使用される因子は、全体が死滅されていても(不活性)、生存状態での弱毒化されていても(減らされている)、または人工的に操作されていてもよい。ワクチンは、当業者に容易に理解されるように、希釈液、アジュバント、キャリア、またはこれらの組み合わせをさらに含み得る。

20

【0053】

ワクチンは、別個の成分から構成され得る。本明細書中で使用される場合、「別個の成分」とは、用語ワクチンが、被験体に別々に投与されるべき2つの別個のワクチンを実際に含む状況を言う。その意味で、別個の成分から構成されるワクチンは、別個のワクチン成分を含むキットまたはパッケージとして考えられ得る。例えば、本発明との状況で、パッケージは、弱毒化スポロゾイト成分、および組換えサブユニットワクチン成分(組換えタンパク質、組換えウイルス、組換え細菌、組換え寄生生物、DNAワクチン、またはRNAワクチンが挙げられるが、これらに限定されない)を含み得る。

30

【0054】

「有効な」免疫投与量は、1000スポロゾイトと1千万スポロゾイトとの間の範囲に及び得るが、ワクチンの免疫原性/効力が増大する場合は、より低量であり得る。ワクチンは、複数回で投与され得る。「有効な」接種回数は、1年間で1回投与と6回投与との間の、そしてその後の年の「追加免疫」投与の範囲に及び得る。

【0055】

上記の一般的な説明および以下の詳細な説明は両方とも、例示および説明に過ぎず、特許請求されるような本発明を制限するものではない。さらに、本発明は、記載されている特定の実施形態に限定されず、従って当然変化し得る。さらに、特定の実施形態を記載するために使用される用語法は、限定的であることを意図しない。なぜなら、本発明の範囲は、その特許請求の範囲によってのみ限定されるからである。

40

【0056】

値の範囲に関して、本発明は、脈絡が明白に他のように示さない限り、その範囲の上限と下限との間の各々の介在値から、その下限の単位の少なくとも10分の1まで含む。さらに、本発明は、記載されている他の任意の介在値を含む。さらに、本発明はまた、記載された範囲から具体的に除外されない限り、その範囲の上限および下限のいずれかまたは

50

両方を除いた範囲を含む。

【0057】

他のように規定されない限り、本明細書中で使用される全ての技術的用語および科学的用語の意味は、本発明が属する分野の当業者によって一般に理解される意味である。当業者はまた、本明細書中で記載されたものと同様または等価の任意の方法および物質もまた、本発明を実施または試験するために使用され得ることを理解する。さらに、本明細書中で言及される全ての刊行物は、参考として援用される。

【0058】

文脈が明白に他のように指示しない限り、本明細書中で使用される場合、および添付された特許請求の範囲において、単数形「一つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、複数の言及物を含むことは、注意されなければならない。従って、例えば、「弱毒化スポロゾイトワクチン(an attenuated sporozoite vaccine)」への言及は、複数のこのようなスポロゾイトを含み、「その因子(the agent)」への言及は、一以上の因子および当業者に公知のその等価物への言及を含み、などである。

10

【0059】

さらに、他のように示されない限り、本明細書および特許請求の範囲において使用される分量、反応条件、純度%などを表す全ての数は、用語「約(about)」によって修飾される。従って、本明細書および特許請求の範囲において示される数値パラメータは、本発明の望ましい性質に依存して変化し得る近似値である。最低限でも、特許請求の範囲の範囲に均等論の適用を限定する試みとしてではなく、各数値パラメータは、通常の丸め技術を適用しつつ、報告された有効数字の数を考慮して少なくとも解釈されるべきである。それにもかかわらず、具体的実施例に示される数値は、できる限り正確に報告されている。しかしながら、どの数値も、その実測値の標準偏差からの特定の誤差を固有に含む。

20

【0060】

明らかに、本発明の多くの改変および変化が、上記の技術を考慮して可能である。従って、添付された特許請求の範囲の範囲内で、本発明は、具体的に記載されているのとは異なるように実施され得ることが理解されるべきである。

【0061】

以下の実施例は、本発明をさらに説明する。これらの実施例は、本発明の単なる例示に過ぎず、本発明の特定の実施形態の種々の有益な性質を開示するに過ぎない。これらの実施例は、本発明を限定することものとして解釈されるべきではない。

30

【実施例】

【0062】

(実施例1)

(スポロゾイトの皮内注射、筋肉内注射、皮下注射、および静脈内注射の比較感染力)
皮内(ID)送達、筋肉内(IM)送達、皮下(SQ)送達または静脈内(IV)送達された新しく切開した、スポロゾイトの比較感染力を調べるために、研究を行った。IV投与は、感染を達成するために最も信頼性の高い方法であると考えられていることに注意すること。

40

【0063】

(方法)

手での切開した唾液腺からのPlasmodium yoeliiスポロゾイトを、ID投与、IM投与、SQ投与、またはIV投与によって、BALB/cマウスに、感染させた。投与後、1日目から14日目まで厚層血液塗抹標本を評価することによって、感染レベルを決定した。この結果を表Iに示す。

【0064】

【表 1】

表 I

群	スポロゾイトの数	マウスの数	感染した数	感染%
IV	100	10	10	100
ID	100	10	9	90
ID	500	10	10	100
IM	500	10	10	100
SQ	500	10	10	100

10

これらのデータは、スポロゾイトの送達によって、皮膚組織、筋肉組織または皮下組織でBALB/cマウスに慣習的に感染させることが可能であることを実証する。

20

【0065】

(実施例2)

(皮内投与、筋肉内投与、皮下投与または静脈内投与した複数回投与のスポロゾイトの比較感染力)

実施例1で使用した数よりも少数の新しく切開したスポロゾイトを用いて比較感染力を評価するために、研究を行った。

【0066】

(方法)

BALB/cマウスに、複数の経路[皮内(ID)経路、筋肉内(IM)経路、皮下(SQ)経路または静脈内(IV)経路]によって、手で切開した唾液腺からのPlasmodium yoeliiスポロゾイトを感染させた。注射後、1日目から14日目まで厚層血液塗抹標本を評価することによって、感染を決定した。この結果を表IIに示す。

30

【0067】

【表 2】

表 II

群	スポロゾイトの数	マウスの数	感染した数	感染%
IV	100	10	10	100
	20	10	9	90
	4	10	3	30
ID	100	10	8	80
	20	10	3	30
	4	10	1	10
IM	100	10	7	70
	20	10	3	30
	4	10	1	1
SQ	100	10	9	90
	20	10	4	40
	4	10	0	0

これらのデータは、ID経路、IM経路、またはSQ経路による、手で切開した唾液腺からの少数のPlasmodium yoeliiスポロゾイトの投与が、マウスにおいて、IV経路とほぼ同一の効率で感染を導くことを示す。本発明者らは、特定の方法により投与された場合の非照射スポロゾイトの感染力と、照射されその方法により送達された場合のこれらのスポロゾイトが防御免疫を惹起する能力との間に、直接的相関性/関連性があると理論づけるので、これらのデータは、ID経路、IM経路、およびSQ経路、ならびに標準的なIV経路によって、首尾よく免疫することが実現可能であることを示唆する。

【0068】

(実施例3)

(皮内経路、筋肉内経路、または静脈内経路によって投与された単回投与の照射スポロゾイトの防御効力)

単回投与の150,000個の放射線照射弱毒化スポロゾイトを用いた免疫によって提供される比較防御を調べるために、研究を行った。

【0069】

(方法)

BALB/cマウスに、ID経路、IM経路、またはIV経路によって、単回投与の150,000個の放射線照射弱毒化(10,000Rads/cGy)P.yoeliiスポロゾイトを接種した。密度勾配遠心分離によって、免疫用のスポロゾイトを得た。10日後、手で切開した唾液腺からの100個のPlasmodium yoeliiスポロゾイトの注射によって、この接種したマウスをチャレンジした。チャレンジして14日後までに厚層血液塗抹標本によって、この感染を評価した。感染レベルを1+(ほとんど検出不可)から4+(重い感染)までの尺度で評価した。コントロール群は、免疫接種を受けなかった。この結果を表IIIに示す。

【0070】

10

20

30

40

【表 3】

表 III

群	マウスの数	4日目 防御/ チャレンジ	4日目 感染 レベル	5日目 防御/ チャレンジ	5日目 感染 レベル	14日目 防御/ チャレンジ
コントロール	8	0/8	++++	0/8	++++	0/8
IV	6	2/6	+	1/6	+	0/6
ID	6	4/6	+	2/6	+	1/6
IM	6	3/6	+	2/6	+	0/6

10

これらのデータは、ID経路およびIM経路による単回投与の照射スポロゾイトの投与が、IV経路による単回投与量の照射スポロゾイトの投与後に見られる防御に匹敵するスポロゾイトチャレンジを提供する防御免疫を惹起することを実証する。この発見は、上記の実施例1および実施例2において実証された感染力によって、予測された。IM方法およびID方法は、多数の人々でIV投与よりも容易に使用され、この投与は、IV投与よりも、さらに安全かつ簡単に実行され得るので、本発明は、これまでに実証されたよりも容易な様式で、弱毒化スポロゾイトを用いたかなりの集団の有効な免疫を可能にさせる。実際、本発明は、初めて、実用的な弱毒化スポロゾイトワクチンの計画を考えることを可能とする。単回投与の照射スポロゾイトの投与は、チャレンジしたマウスにおける寄生生物負荷の劇的な減少（レシピエントにおけるマラリアの罹患率および死亡率を顕著に低下させるために潜在的に十分であると多くのマラリアワクチン学者によって考えられる効果）を導いた。しかしながら、これは感染に対して完全には防御しなかった。

20

【0071】

30

(実施例4)

(皮下経路または静脈内経路によって投与される3回投与の照射スポロゾイトの防御効力)

ID経路またはIV経路による3回投与の放射線照射弱毒化 *Plasmodium yoelii* スポロゾイトの標準的レジメン(スポロゾイトチャレンジに対する完全な防御を惹起することを期待されるレジメン)を用いた免疫により提供される比較防御を評価するために、研究を行った。

【0072】

(方法)

BALB/cマウスに、SQ経路またはIV経路によって、第1回の投与の50,000個の放射線照射弱毒化(10,000RADS/cGy) *Plasmodium yoelii* スポロゾイトを、接種した。このマウスには、2回の追加投与の30,000個の照射スポロゾイトを与えた(3回の投与に分けられた合計110,000個のスポロゾイト)を受けた。密度勾配遠心分離によって、免疫用のスポロゾイトを得た。最後の追加免疫投与の14日後、手で切開した唾液腺からの100個の *Plasmodium yoelii* スポロゾイトを用いて、この接種されたマウスにチャレンジした。チャレンジ後14日目まで、厚層血液塗抹標本によってこの感染を評価した。感染を、あるかないかで評価した。この結果を表IVに示す。

40

【0073】

【表 4】

表 IV

群	マウスの数	14日目 防御/チャレンジ	14日目 防御 %
コントロール	8	0/8	0
IV	7	7/7	100%
SQ	8	8/8	100%

10

表IVのデータは、スポロゾイトの皮下投与（SQ）による感染に対する100%の防御を達成し得ることを明白に実証する。これらの結果は、実施例1、実施例2、および実施例3で示される研究結果によって予測されたが、しかしこの結果は、世界で初めて、この実験において実証された。SQ経路、ID経路、およびIM経路による感染（実施例2）における比較性を仮定すると、これらの経路によるスポロゾイトの投与が匹敵する防御を提供することは明らかである。実施例4において報告された100%防御は、以前に報告された放射線照射弱毒化*P. berghei* スポロゾイトを用いたA/Jマウスの皮下免疫での0%防御[21]とは著しく対象的である。上で記載されるように、本発明者らは、*P. yoelii*-BALB/cモデルは、*P. berghei*-A/Jマウスモデル系よりも、ヒトにおける*P. falciparum*に関連性があるという本発明者らの認識によって、本発明者らの発明は可能になったと考える。

20

【0074】

（実施例5）

（静脈内経路によって投与された場合の手での唾液腺の切開によるスポロゾイト感染力と比較した、密度勾配遠心分離によって単離されたスポロゾイトの感染力）

実施例3および実施例4において、密度勾配遠心分離によって単離した照射スポロゾイトの投与によって、マウスを免疫した。蚊の頭部および胸郭の密度勾配遠心分離によって単離したスポロゾイトが、手で切開した唾液腺からのスポロゾイトよりも、感染性が低いことは、本発明者らの仮説であった。そうであれば、そしてスポロゾイトの感染力と上記で述べられたように防御免疫を惹起するスポロゾイトの能力との間に直接的な関連があるとする、防御免疫を達成するためには、密度勾配遠心分離によって単離されたスポロゾイトより、はるかに少ない手で切開した唾液腺からのスポロゾイトしか必要としないはずである。従って、本発明者らは、まず、密度勾配遠心分離により単離された*P. yoelii* スポロゾイトの感染力を、手で切開した唾液腺からの単離したスポロゾイトと比較する実験を行った。

30

【0075】

（方法）

P. yoelii スポロゾイトを、密度勾配遠心分離によって、または手で唾液腺の切開によって、*Anopheles stephensi* 蚊から単離した。種々の数のスポロゾイトを用いて、静脈内注射によってBALB/cマウスに接種した。厚層血液塗抹標本によって、チャレンジ14日後まで、この感染を評価した。感染を、あるかないかで評価した。この結果を表Vに示す。

40

【0076】

【表 5】

表 V

手による切開または密度勾配遠心分離により単離したスポロゾイト

感染した スポロゾイト数	感染数/チャレンジ数	
	手による切開	密度勾配遠心
625	10/10	7/10
125	10/10	4/10
25	10/10	0/10
5	5/10	0/10
1	0/9	0/10
50% 感染用量 (ID 50)	4.9	433

10

表 V におけるデータは、手での切開による唾液腺からのスポロゾイトが、密度勾配遠心分離により単離されたスポロゾイトよりも感染性であることを明白に実証する。この 50% 感染用量は、密度勾配遠心分離により単離されたスポロゾイトに対して 80 倍を超えて大きい。多くの弱毒化スポロゾイトの防御効力が、弱毒化された前のそのスポロゾイト群の感染力と直接的に関連するという仮説が正しい場合、これらのデータは、防御を達成するために必要な弱毒化スポロゾイトの数は、密度勾配遠心分離により単離されるスポロゾイトと比較して、手での唾液腺の切開により単離されるスポロゾイトについて実質的に少ないことを示す。この密度勾配遠心分離は、P. yoelii - BALB/c マウスモデル系における免疫研究にとって、スポロゾイト単離するための標準的な方法となっている。

20

【0077】

(実施例 6)

(静脈内経路により投与される場合に、手での切開により単離されたスポロゾイトと比較した密度勾配遠心分離により単離したスポロゾイトの防御効力)

実施例 5 における感染力実験の結果に基づき、防御効力実験を計画した。90% 防御を生じることが以前の実験に基づいて、公知である、密度勾配遠心分離により単離した照射スポロゾイトのレジメンの防御効力を、手での唾液腺の切開により単離されたかなりより少ない量の照射スポロゾイトが防御免疫を達成する能力と比較した。

30

【0078】

(方法)

P. yoelii スポロゾイトを感染させた Anopheles stephensi 蚊に 10,000 Rads/c Gy で照射した。密度勾配遠心分離により、または手での唾液腺の切開により、スポロゾイトを単離した。照射した P. yoelii スポロゾイトの 3 回投与の静脈内注射によって、BALB/c マウスに 2 週間隔で接種した。グループ 1 には、密度勾配遠心分離により単離した照射スポロゾイトを与えた (第 1 回投与、第 2 回投与、および第 3 回投与について、それぞれ、24,000 個、8,000 個、および 8,000 個)。グループ 2 ~ 5 には手での唾液腺の切開によって単離されたスポロゾイトを与えた。グループ 6 には、免疫をしなかった。グループ 1 ~ 6 のマウスを、第 3 回目の免疫投与の 14 日後に、手での唾液腺の切開によって単離した 100 個の P. yoelii スポロゾイトを用いてチャレンジした。チャレンジして 14 日後まで、厚層血液塗抹標本によって、この感染を評価した。感染を、あるかないかで評価した。この結果を表 V I に示す。

40

【0079】

【表 6】

Table VI

群	マウスの数	感染した数	防御%
密度勾配遠心分離 24000, 8000, 8000 (1)	9	1	88.8%
手による切開-18000,6000,6000 (2)	10	0	100%
手による切開 9000,3000,3000 (3)	10	0	100%
手による切開 4500,4500,4500 (4)	10	0	100%
手による切開 4500,1500,1500 (5)	10	0	100%
コントロール-非免疫マウス (6)	10	10	0

10

20

表VIのデータは、密度勾配遠心分離により単離された合計40,000個の照射P. yoelii スポロゾイト(24000個、8000個、8000個)を用いて免疫されたマウスが、90%の防御を有したことを実証する。手での唾液腺の切開により単離された合計7500個の照射スポロゾイト(4500個、1500個、1500個)を用いて免疫されたマウスは、100%の防御を有した。これらのデータは、実施例5のデータと合わせた場合、スポロゾイト調製物の感染力と、そのスポロゾイトが惹起し得る防御効力との間に直接的な関連があることを示す。実際、手で切開された照射スポロゾイトの量の点で、どれくらい低い用量で行って、なお90%~100%の防御効力を達成し得るかは未だ明白でない。これらのデータは、少ない投与量の照射スポロゾイトを用いて免疫することは、IV経路によるか、ID経路によるか、IM経路によるか、またはSQ経路によるかに関わりなく、防御効力をもたらすことを示す。

30

40

50

【0080】

これらのデータはまた、P. yoelii - BALB/cモデル系が、P. yoelii系におけるかなりより高いスポロゾイトの感染力が部分的には原因で、P. falciparumを用いてヒトで起きることをP. berghei - A/Jマウスモデル系よりも厳密に予想するという仮説を支持する。ヒトは、P. falciparumが感染した1000匹の照射蚊の刺咬によって、完全に免疫され得る[34]。一匹の蚊は、その蚊がえさを食べると10個より多くのスポロゾイトを接種すると考えられる[51]。そうであるとすると、完全に免疫され防御されたヒトは、おそらく、たった10,000個のスポロゾイトを接種される[50]。対照的に、P. berghei - A/Jマウスモデル系において、手で切開した唾液腺から単離された100,000個より多くのスポロゾイトが、防御を達成するために、静脈内投与によって使用され、そしてこの免疫投与レジメンは、皮下投与された場合は、防御を提供しなかった[21]。実施例6において、手での唾液腺の切開により単離された7500個のP. yoelii スポロゾイトのBALB/cマウスへの投与は、100%の防御を提供したことが実証される。弱毒化P. yoelii スポロゾイトを用いて免疫されたBALB/cマウスおよび弱毒化P. falciparum スポロゾイトを用いて免疫されたヒトは、同様の数の弱毒化スポロゾイトへの暴露後に防御され、そしてP. berghei スポロゾイトを用いて免疫されたA/Jマウスは、その量の10倍よりも多くのスポロゾイトを用いて免疫されるという事実は、

P. yoelii - BALB/cモデルは、ヒトにおいて起きることを、*P. berghei* - A/Jモデル系よりも、により予測するという本発明者らの仮説を支持する。

【0081】

(結論)

*P. falciparum*様感染に対する有効的で継続維持可能なワクチンを開発するプロセスは、予想されるよりも、遅く、難しく、そして複雑であることが証明されている。認可されたマラリアワクチンは存在しないが、1000匹より多くの感染された蚊の刺咬による、放射線照射弱毒化*P. falciparum*スポロゾイトを用いた免疫は、世界中からの*P. falciparum*の複数の単離体に対して、免疫された個体のうちの90%より多くにおいて、少なくとも10.5ヵ月にわたって滅菌防御免疫を提供することが、現在公知である。この免疫レジメンをヒト用のワクチンにするための主要な障害の一つは、感染された蚊の刺咬によって多数の個体に調節されたワクチンを提供することは、可能ではないという事実である。さらに、多くの科学者による研究は、優れた防御が、弱毒化スポロゾイトの静脈内投与(標準的な投与方法よりも技術的に難しく潜在的に難しいので、概して、ワクチン接種に使用されない投与方法)によってマウスモデル系においてのみ達成され得ることを示した。従来ヒトにおいて使用されている免疫のための投与方法(例えば、皮下接種および筋肉内接種)は、このマウスモデル系において十分な防御免疫を導かなかつたので、これまで、ヒト用の弱毒化スポロゾイトワクチンを開発することは可能であると考えられなかつた。以前の研究者によって使用されたものとは異なるモデル系を利用することによって、本発明者らは、高レベルの防御を導き、そして実用的であり、安全であり、許容される、スポロゾイト投与方法を発見した。本発見は、この弱毒化スポロゾイト投与方法の利用を容易にし、実用的かつ大量送達される弱毒化スポロゾイトマラリアワクチンを開発し、提供する。

10

20

【0082】

以下の刊行物および本出願中のどこかで言及された刊行物は、本明細書で具体的に参考として援用される：

【0083】

【表 7】

1. Breman JG. Ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 64:1-11.
2. Gallup JL, Sachs JD. The economic burden of malaria. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 64:85-96.
3. World Tourism Organization. International tourist arrivals by (sub)region. June 2002; http://www.world-tourism.org/market_research/facts&figures/latest_data/tita01_07-02.pdf.
4. Beadle, C. および **Hoffman, S. L.** History of malaria in the United States Naval Forces at war: World War I through the Vietnam conflict. *Clin. Infect. Dis.* 16:320-329, 1993.
5. Richie TL, Saul A. Progress and challenges for malaria vaccines. *Nature* 415(6872):694-701, 2000.
6. Long CA, **Hoffman SL.** Parasitology: Malaria--from infants to genomics to vaccines. *Science* 297: 345-7, 2002.
7. Stoute JA, Kester KE, Krzych U, Welde BT, Hall T, White K, Glenn G, Ockenhouse CF, Garcon N, Schwenk R, Lanar DE, Sun P, Momin P, Wirtz RA, Golenda C, Slaoui M, Wortmann G, Holland C, Dowler M, Cohen J, Ballou WR. Long-term efficacy and immune responses following immunization with the RTS,S malaria vaccine. *J Infect Dis* 178: 1139-44, 1998.
8. Kester KE, McKinney DA, Tornieporth N, Ockenhouse CF, Heppner DG, Hall T, Krzych U, Delchambre M, Voss G, Dowler MG, Palensky J, Wittes J, Cohen J, Ballou WR. Efficacy of recombinant circumsporozoite protein vaccine regimens against experimental *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 183: 640-7, 2001.

10

20

30

【 0 0 8 4 】

【表 8】

9. Bojang KA, Milligan PJ, Pinder M, Vigneron L, Allouche A, Kester KE, Ballou WR, Conway DJ, Reece WH. Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in The Gambia: a randomised trial. *Lancet*. 2001 Dec 8;358(9297):1927-34.
10. Dame JB, Williams JL, McCutchan TF, Weber JL, Wirtz RA, Hockmeyer WT, Maloy WL, Haynes JD, Schneider I, Roberts D, Sanders GS, Reddy EP, Diggs CL, Miller LH. Structure of the gene encoding the immunodominant surface antigen on the sporozoite of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science* **225**: 593-9, 1984. 10
11. Nussenzweig RS, Vanderberg J, Most H, Orton C. Protective immunity produced by the injection of X-Irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. *Nature* **216**: 160-2, 1967.
12. Clyde DF, Most H, McCarthy VC, Vanderberg JP. Immunization of man against sporozoite-induced falciparum malaria. *Am J Med Sci* **266**: 169-77, 1973.
13. Clyde DF, McCarthy VC, Miller RM, Hornick RB. Specificity of protection of man immunized against sporozoite-induced falciparum malaria. *Am J Med Sci* **266**: 398-401, 1973. 20
14. Rieckmann KH, Carson PE, Beaudoin RL, Cassells JS, Sell KW. Sporozoite induced immunity in man against an Ethiopian strain of *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **68**: 258-9, 1974.
15. Clyde DF, McCarthy VC, Miller RM, Woodward WE. Immunization of man against falciparum and vivax malaria by use of attenuated sporozoites. *Am J Trop Med Hyg* **24**: 397-401, 1975.
16. McCarthy VC, Clyde DF. *Plasmodium vivax*: correlation of circumsporozoite precipitation (CSP) reaction with sporozoite-induced protective immunity in man. *Exp Parasitol* **41**: 167-71, 1977. 30
17. Rieckmann KH, Beaudoin RL, Cassells JS, Sell DW. Use of attenuated sporozoites in the immunization of human volunteers against falciparum malaria. *Bull World Health Organ* **57**: 261-5, 1979.
18. Clyde DF. Immunity to falciparum and vivax malaria induced by irradiated sporozoites: a review of the University of Maryland studies, 1971-75. *Bull World Health Organ* **68**: 9-12, 1990.
19. Rieckmann KH. Human immunization with attenuated sporozoites. *Bull World Health Organ* **68**: 13-6, 1990. 40

【 0 0 8 5 】

【表 9】

20. Spitalny GL, Nussenzweig RS. Effect of various routes of immunization and methods of parasite attenuation on the development of protection against sporozoite-induced rodent malaria. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 39 (特別号): 506-514, 1972.

21. Kramer LD, Vanderberg JP. Intramuscular immunization of mice with irradiated *Plasmodium berghei* sporozoites: Enhancement of protection with albumin. *Am J Trop Med Hyg*. 24 (6): 913-916, 1975. 10

22. Nussenzweig R. Use of radiation-attenuated sporozoites in the immunoprophylaxis of malaria. *International Journal of Nuclear Medicine and Biology* 7:89-96, 1980.

23. Trager W, Jensen JB. Culture of human malaria parasites *Plasmodium falciparum*. *Science* 193(4254): 673-5, 1976.

24. Haynes JD, Diggs CL, Hines FA, Desjardins RE. Human malaria parasites in continuous culture. *Nature* 263(5580):767-9, 1976.

25. Campbell CC, Collins WE, Nguyen-Dinh P, Barber A, Broderick JR. *Plasmodium falciparum* gametocytes from culture in vitro develop to sporozoites that are infectious to primates. *Science* 217(4564):1048-50, 1982. 20

26. Chulay JD, Schneider I, Cosgriff TM, Hoffman SL, Ballou WR, Ouakry IA, Carter R, Trospen JH, Hockmeyer WT. Malaria transmitted to humans by mosquitoes infected from cultured *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg*. 1986 Jan;35(1):66-8.

27. Yoshida N, Nussenzweig RS, Potocnjak P, Nussenzweig V, Aikawa M. Hybridoma produces protective antibodies directed against the sporozoite stage of malaria parasite. *Science* 207(4426):71-3, 1980 30

28. Hilleman MR. Yeast recombinant hepatitis B vaccine. *Infection* 15(1):3-7, 1987.

29. Ballou WR, Hoffman SL, Sherwood JA, Hollingdale MR, Neva FA, Hockmeyer WT, Gordon DM. Safety and efficacy of a recombinant DNA *Plasmodium falciparum* sporozoite vaccine. *Lancet* 1(8545):1277-81, 1987.

30. Herrington DA, Clyde DF, Losonsky G, Cortesia M, Murphy JR, Davis J, Bager S, Felix AM. Safety and immunogenicity in man of a synthetic peptide malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* sporozoites. *Nature* 328(6127):257-9, 1987.

31. Nussenzweig V, Nussenzweig RS. Rationale for the development of an engineered sporozoite malaria vaccine. *Adv Immunol* 45: 283-334, 1989. 40

【 0 0 8 6 】

【表 1 0】

32. **Hoffman SL**, Franke ED, Hollingdale MR, Druilhe P. Attacking the infected hepatocyte. In: Hoffman SL, ed. *Malaria Vaccine Development: A Multi-Immune Response Approach*. Washington, D.C.: ASM Press, pp. 35-75, 1996.
33. **Hoffman SL**, Miller LH. Perspectives on malaria vaccine development. In: Hoffman SL, ed. *Malaria Vaccine Development: a Multi-Immune Response Approach*. Washington, D.C.: ASM Press, pp. 1-13, 1996.
34. **Hoffman SL**, Goh LM, **Luke TC**, Schneider I, Le TP, Doolan DL, Sacci J, de la Vega P, Dowler M, Paul C, Gordon DM, Stoute JA, Church LW, Sedegah M, Heppner DG, Ballou WR, Richie TL. Protection of humans against malaria by immunization with radiation-attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites. *J Infect Dis* **185**: 1155-64, 2002. 10
35. Egan JE, **Hoffman SL**, Haynes JD, Sadoff JC, Schneider I, Grau GE, Hollingdale MR, Ballou WR, Gordon DM. Humoral immune responses in volunteers immunized with Irradiated *Plasmodium falciparum* sporozoites. *Am J Trop Med Hyg* **49**: 166-73, 1993.
36. Malik A, Egan JE, Houghten RA, Sadoff JC, **Hoffman SL**. Human cytotoxic T lymphocytes against the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**: 3300-4, 1991. 20
37. Wizel B, Houghten RA, Parker K, Coligan JE, Church P, Gordon DM, Ballou WR, **Hoffman SL**. Irradiated sporozoite vaccine induces HLA-B8-restricted cytotoxic T lymphocyte responses against two overlapping epitopes of the *Plasmodium falciparum* surface sporozoite protein 2. *J Exp Med* **182**: 1435-45, 1995.
38. Wizel B, Houghten R, Church P, Tine JA, Lanar DE, Gordon DM, Ballou WR, Sette A, **Hoffman SL**. HLA-A2-restricted cytotoxic T lymphocyte responses to multiple *Plasmodium falciparum* sporozoite surface protein 2 epitopes in sporozoite-immunized volunteers. *J Immunol* **155**: 766-75, 1995. 30
39. Krzych U, Lyon JA, Jareed T, Schneider I, Hollingdale MR, Gordon DM, Ballou WR. T lymphocytes from volunteers immunized with Irradiated *Plasmodium falciparum* sporozoites recognize liver and blood stage malaria antigens. *J Immunol* **155**: 4072-7, 1995.
40. Doolan DL, **Hoffman SL**, Southwood S, Wentworth PA, Sidney J, Chestnut RW, Keogh E, Apella E, Nutman TB, Lal AA, Gordon DM, Oloo A, Sette A. Degenerate cytotoxic T cell epitopes from *P. falciparum* restricted by HLA-A and HLA-B supertypes alleles. *Immunity* **7**: 97-112, 1997. 40

【 0 0 8 7 】

【表 1 1】

41. Doolan DL, Southwood S, Chesnut R, Appella E, Gomez E, Richards A, Higashimoto YI, Maewal A, Sidney J, Gramzinski RA, Mason C, Koech D, **Hoffman SL**, Sette A. HLA-DR-promiscuous T cell epitopes from *Plasmodium falciparum* pre- erythrocytic-stage antigens restricted by multiple HLA class II alleles. *J Immunol* **165**: 1123-37, 2000.
42. Herrington D, Davis J, Nardin E, Beier M, Cortese J, Eddy H, Losonsky G, Hollingdale M, Szein M, Levine M, Nussenzweig RS, Clyde D, Edelman R. Successful immunization of humans with Irradiated sporozoites: humoral and cellular responses of the protected individuals. *Am J Trop Med Hyg* **45**: 539-47, 1991. 10
43. Edelman R, **Hoffman SL**, Davis JR, Beier M, Szein MB, Losonsky G, Herrington DA, Eddy HA, Hollingdale MR, Gordon DM, Clyde DF. Long-term persistence of sterile immunity in a volunteer immunized with X-Irradiated *Plasmodium falciparum* sporozoites. *J Infect Dis* **168**: 1066-70, 1993.
44. Nardin EH, Herrington DA, Davis J, Levine M, Stuber D, Takacs B, Caspers P, Barr P, Altszuler R, Clavijo P, Nussenzweig RS. Conserved repetitive epitope recognized by CD4+ clones from a malaria-immunized volunteer. *Science* **246**: 1603-6, 1989. 20
45. Nardin EH. T cell responses in a sporozoite-immunized human volunteer and a chimpanzee. *Immunol Lett* **25**: 43-8, 1990.
46. Nardin EH, Nussenzweig RS, Altszuler R, Herrington D, Levine M, Murphy J, Davis J, Bathurst I, Barr P, Romero P, Zavala F. Cellular and humoral immune responses to a recombinant P. falciparum CS protein in sporozoite-immunized rodents and human volunteers. *Bull World Health Organ* **68**: 85-7, 1990.
47. Moreno A, Clavijo P, Edelman R, Davis J, Szein M, Herrington D, Nardin E. Cytotoxic CD4+ T cells from a sporozoite-immunized volunteer recognize the *Plasmodium falciparum* CS protein. *Int Immunol* **3**: 997-1003, 1991. 30
48. Moreno A, Clavijo P, Edelman R, Davis J, Szein M, Sinigaglia F, Nardin E. CD4+ T cell clones obtained from *Plasmodium falciparum* sporozoite-immunized volunteers recognize polymorphic sequences of the circumsporozoite protein. *J Immunol* **151**: 489-99, 1993.
49. Butler D. Mosquito production mooted as fast track to malaria vaccine. *Nature* **435**: 437, 2003.
50. Luke TC, Hoffman SL. Rationale and Plans for Developing a Non-Replicating, Metabolically Active Radiation Attenuated *Plasmodium falciparum* Sporozoite Vaccine. *Journal of Experimental Biology* **206**:3803-3808, 2003. 40

【表 1 2】

51. Beier, J.C., ら Quantitation of *Plasmodium falciparum* sporozoites transmitted in vitro by experimentally infected *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi*. Am J Trop Med Hyg 44(5): 564-70, 1991.

本発明の他の実施形態は、明細書および本明細書中に開示されると考慮し、発明を実施することから、当業者にとって明らかである。本明細書および実施例は、単なる例示として解釈されること意図され、本発明の真の範囲および精神は、添付の請求項の範囲によって示される。

【手続補正書】

【提出日】平成17年7月25日(2005.7.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

非経口的非静脈内接種により哺乳動物宿主およびヒト宿主において免疫応答を刺激するための薬学的組成物であって、該組成物は、代謝的に活性化弱毒化 Plasmodium スポロゾイトとキャリアとを含む、組成物。

【請求項2】

請求項1に記載の組成物であって、前記スポロゾイトは、手で切開された Anopheles 蚊の唾液腺から得られる、組成物。

【請求項3】

請求項1に記載の組成物であって、前記 Plasmodium スポロゾイトの種は、falciparum である、組成物。

【請求項4】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、Plasmodium falciparum スポロゾイトと、少なくともさらに1種の Plasmodium とを含む、薬学的組成物。

【請求項5】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、前記弱毒化スポロゾイトは、後に細胞破裂することなく前記宿主の肝臓に侵入することが可能である、組成物。

【請求項6】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、前記弱毒化スポロゾイトは、前記宿主の血液段階感染することなく、宿主肝臓に侵入した後に細胞破裂することが可能である、組成物。

【請求項7】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、放射線により弱毒化した Plasmodium を含む、組成物。

【請求項8】

請求項7に記載の薬学的組成物であって、弱毒化放射線の線量は、少なくとも12,000 cGy でありかつ23,000 cGy 以下である、組成物。

【請求項9】

請求項8に記載の薬学的組成物であって、前記線量は、15,000 cGy に近い、組成物。

【請求項10】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、少なくとも1,000個のスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項 1 1】

請求項 1 に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 10,000 個のスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項 1 2】

請求項 1 に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 100,000 個のスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項 1 3】

請求項 1 に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 1,000,000 個のスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項 1 4】

請求項 1 に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 10,000,000 個のスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項 1 5】

哺乳動物宿主およびヒト宿主において免疫応答を刺激するための薬学的ワクチン接種キットであって、該キットは、代謝的に活性な弱毒化 *Plasmodium* スポロゾイトと、キャリアと、非経口的非静脈内接種のための手段とを備える、キット。

【請求項 1 6】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、針である、ワクチン接種キット。

【請求項 1 7】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、微小針である、ワクチン接種キット。

【請求項 1 8】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、微小針アレイである、ワクチン接種キット。

【請求項 1 9】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、針を用いない弾道技術による注射器である、ワクチン接種キット。

【請求項 2 0】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、針を用いない粒子注射器である、ワクチン接種キット。

【請求項 2 1】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、経皮パッチである、ワクチン接種キット。

【請求項 2 2】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記 *Plasmodium* スポロゾイトの種は、*falciparum* である、ワクチン接種キット。

【請求項 2 3】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、*Plasmodium falciparum* スポロゾイトと、少なくともさらに 1 種の *Plasmodium* とを備える、ワクチン接種キット。

【請求項 2 4】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記弱毒化スポロゾイトは、後に細胞破裂することなく前記宿主の肝臓に侵入することが可能である、ワクチン接種キット。

【請求項 2 5】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、前記弱毒化スポロゾイトは、前記宿主の血液段階感染することなく、宿主肝臓に侵入した後に細胞破裂することが可能である、ワクチン接種キット。

【請求項 2 6】

請求項 1 5 に記載のワクチン接種キットであって、放射線により弱毒化した *Plasmo*

d i u mを含む、ワクチン接種キット。

【請求項27】

請求項26に記載のワクチン接種キットであって、弱毒化放射線の線量は、少なくとも12,000cGyでありかつ23,000cGy以下である、ワクチン接種キット。

【請求項28】

請求項27に記載のワクチン接種キットであって、前記放射線弱毒化線量は、15,000cGyに近い、ワクチン接種キット。

【請求項29】

請求項15に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも1,000個のスプロゾイトを含む、ワクチン接種キット。

【請求項30】

請求項15に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも10,000個のスプロゾイトを含む、ワクチン接種キット。

【請求項31】

請求項15に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも100,000個のスプロゾイトを含む、ワクチン接種キット。

【請求項32】

請求項15に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも1,000,000個のスプロゾイトを含む、ワクチン接種キット。

【請求項33】

請求項15に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも10,000,000個のスプロゾイトを含む、ワクチン接種キット。

【請求項34】

一種以上のマラリア原因病原体に対して、哺乳動物宿主およびヒト宿主において免疫応答を惹起するための方法であって、該方法は、初回ワクチンの非経口的非静脈内投与を包含し、該ワクチンは、代謝的に活性な弱毒化Plasmodiumスプロゾイトを含み、該投与の際に、該スプロゾイトは、宿主細胞に侵入して免疫応答を誘導する、方法。

【請求項35】

請求項34に記載の方法であって、前記免疫応答は、1以上の前記ワクチン投与量を後に投与することによって追加免疫される、方法。

【請求項36】

請求項34に記載の方法であって、前記免疫応答は、宿主のマラリア感染に対して治療的である、方法。

【請求項37】

請求項34に記載の方法であって、前記免疫応答は、マラリアに対する部分免疫を提供する、方法。

【請求項38】

請求項34に記載の方法であって、前記免疫応答は、マラリアに対する完全免疫を提供する、方法。

【請求項39】

請求項34に記載の方法であって、前記投与は、皮下組織、真皮組織、筋肉組織、表皮組織、粘膜組織、粘膜下組織、および皮膚組織からなる群より選択される宿主組織への接種である、方法。

【請求項40】

請求項34に記載の方法であって、前記スプロゾイトは、Plasmodium falciparum、Plasmodium vivax、Plasmodium ovale、Plasmodium knowlesi、およびPlasmodium malariaeからなる群より選択される1つの種である、方法。

【請求項41】

請求項34に記載の方法であって、前記スプロゾイトは、Plasmodium fal

c i p a r u m、P l a s m o d i u m v i v a x、P l a s m o d i u m o v a l e、P l a s m o d i u m k n o w l e s i、およびP l a s m o d i u m m a l a r i a eからなる群より選択される少なくとも2つの種である、方法。

【請求項42】

請求項34に記載の方法であって、前記弱毒化スポロゾイトは、後に細胞破裂することなく宿主の肝細胞に侵入する、方法。

【請求項43】

請求項34に記載の方法であって、前記弱毒化スポロゾイトは、宿主肝細胞に侵入し、その後の宿主細胞破裂を誘導するが、該宿主の血液段階感染は誘導しない、方法。

【請求項44】

請求項34に記載の方法であって、放射線により弱毒化したP l a s m o d i u mを含む、方法。

【請求項45】

請求項44に記載の方法であって、弱毒化放射線の線量は、少なくとも12,000cGyでありかつ23,000cGy以下である、方法。

【請求項46】

請求項45に記載の方法であって、前記放射線弱毒化線量は、15,000cGyに近い、方法。

【請求項47】

請求項34に記載の方法であって、少なくとも1,000個のスポロゾイトを含む、方法。

【請求項48】

請求項34に記載の方法であって、少なくとも10,000個のスポロゾイトを含む、方法。

【請求項49】

請求項34に記載の方法であって、少なくとも100,000個のスポロゾイトを含む、方法。

【請求項50】

請求項34に記載の方法であって、少なくとも1,000,000個のスポロゾイトを含む、方法。

【請求項51】

請求項34に記載の方法であって、少なくとも10,000,000個のスポロゾイトを含む、方法。

【請求項52】

請求項1～14に記載の薬学的組成物であって、哺乳動物宿主およびヒト宿主への該組成物の投与によって、その後、蚊の刺咬により該宿主が前記スポロゾイトに暴露された後のマラリアの症状の出現が防止される、組成物。

【請求項53】

請求項15～33に記載の薬学的ワクチン接種キットであって、哺乳動物宿主およびヒト宿主への前記組成物の投与によって、その後、蚊の刺咬により該宿主が前記スポロゾイトに暴露された後のマラリアの症状の出現が防止される、ワクチン接種キット。

【請求項54】

請求項34～51に記載の方法であって、哺乳動物宿主およびヒト宿主への投与によって、その後、蚊の刺咬により該宿主が前記スポロゾイトに暴露された後のマラリアの症状の出現が防止される、方法。

【手続補正書】

【提出日】平成17年8月8日(2005.8.8)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

非経口的非静脈内接種により哺乳動物宿主およびヒト宿主において免疫応答を刺激するための薬学的組成物であって、該組成物は、代謝的に活性化 Plasmodium スポロゾイト寄生生物とキャリアとを含む、組成物。

【請求項2】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、前記スポロゾイトは、手で切開された Anopheles 蚊の唾液腺から得られる、組成物。

【請求項3】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、前記 Plasmodium 寄生生物の種は、 falciparum である、組成物。

【請求項4】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、 Plasmodium falciparum スポロゾイトと、少なくともさらに1種の Plasmodium スポロゾイトとを含む、薬学的組成物。

【請求項5】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、前記弱毒化スポロゾイト寄生生物は、前記宿主の細胞に侵入する、組成物。

【請求項6】

請求項5に記載の薬学的組成物であって、前記細胞は、肝臓細胞を含み、前記寄生生物は、後に肝臓細胞の破裂を誘導しない、組成物。

【請求項7】

請求項5に記載の薬学的組成物であって、前記細胞は、肝臓細胞を含み、前記寄生生物は、肝臓細胞の破裂を誘導し、該寄生生物は、後に宿主の赤血球内において発達することが不可能である、組成物。

【請求項8】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、前記弱毒化は、遺伝子改変のための手段によって達成される、組成物。

【請求項9】

請求項8に記載の薬学的組成物であって、前記改変手段は、放射線照射、遺伝子操作、および化学物質によるスポロゾイトの処理からなる群より選択される、組成物。

【請求項10】

請求項9に記載の薬学的組成物であって、放射線により弱毒化した Plasmodium スポロゾイトを含む、組成物。

【請求項11】

請求項10に記載の薬学的組成物であって、弱毒化放射線の線量は、少なくとも 12,000 cGy でありかつ 23,000 cGy 以下である、組成物。

【請求項12】

請求項11に記載の薬学的組成物であって、前記線量は、15,000 cGy に近い、組成物。

【請求項13】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 1,000 個であるが 10,000,000 個以下であるスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項14】

請求項13に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 5,000 個であるが 100,000 個以下であるスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項15】

請求項14に記載の薬学的組成物であって、少なくとも 10,000 個であるが 50,000

00個以下であるスポロゾイトを含む、組成物。

【請求項16】

請求項1に記載の薬学的組成物であって、該組成物を哺乳動物宿主またはヒト宿主に投与すると、該宿主中に後に感染性Plasmodiumスポロゾイトが導入された後に、該宿主においてマラリア特異的病理状態を予防する、組成物。

【請求項17】

哺乳動物宿主およびヒト宿主において免疫応答を刺激するための薬学的ワクチン接種キットであって、該キットは、代謝的に活性化弱毒化Plasmodiumスポロゾイト寄生生物とキャリアとを含む薬学的組成物、および非経口的非静脈内接種のための手段を備える、キット。

【請求項18】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、針である、キット。

【請求項19】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、微小針アレイである、キット。

【請求項20】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、針を用いない弾道技術による注入器である、キット。

【請求項21】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段は、針を用いない粒子注入器である、キット。

【請求項22】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記Plasmodiumスポロゾイトの種は、falciparumである、キット。

【請求項23】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記弱毒化スポロゾイト寄生生物は、前記宿主の細胞に侵入する、キット。

【請求項24】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記弱毒化は、遺伝子改変のための手段によって達成される、キット。

【請求項25】

請求項24に記載のワクチン接種キットであって、前記改変手段は、放射線照射、遺伝子操作、および化学物質によるスポロゾイトの処理からなる群より選択される、キット。

【請求項26】

請求項25に記載のワクチン接種キットであって、放射線により弱毒化したPlasmodiumを含む、キット。

【請求項27】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも1,000個であるが10,000,000個以下であるスポロゾイトを含む、キット。

【請求項28】

請求項27に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも5,000個であるが100,000個以下であるスポロゾイトを含む、キット。

【請求項29】

請求項28に記載のワクチン接種キットであって、少なくとも10,000個であるが50,000個以下であるスポロゾイトを含む、キット。

【請求項30】

請求項17に記載のワクチン接種キットであって、前記接種手段によって前記該組成物を哺乳動物宿主またはヒト宿主に投与すると、該宿主中に後に感染性Plasmodiumスポロゾイトが導入された後に、該宿主においてマラリア特異的病理状態を予防する、キット。

【請求項 3 1】

一種以上のマラリア原因病原体に対して、哺乳動物宿主およびヒト宿主において免疫応答を惹起するための方法であって、該方法は、

- a) *Plasmodium* スポロゾイト寄生生物の弱毒化；
- b) 弱毒化スポロゾイトの単離；
- c) 該宿主への初回ワクチン投与量の非経口的非静脈内投与

を包含し、該投与量は、代謝的に活性な弱毒化 *Plasmodium* スポロゾイト寄生生物とキャリアとの薬学的組成物を含み、該スポロゾイトは、該免疫応答を誘導する、方法。

【請求項 3 2】

請求項 3 1 に記載の方法であって、1 以上のワクチン追加免疫投与量を前記宿主にその後投与する工程をさらに包含する、方法。

【請求項 3 3】

請求項 3 1 に記載の方法であって、ネイティブタンパク質、組換えタンパク質、組換えウイルス、組換え細菌、組換え寄生生物、DNA ワクチン、および RNA ワクチンからなる群より選択される *Plasmodium* 特異的サブユニット成分の投与をさらに包含する、方法。

【請求項 3 4】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記免疫応答は、*Plasmodium* 種スポロゾイトに感染した宿主について治療的である、方法。

【請求項 3 5】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記投与は、前記宿主におけるマラリア特異的病理状態を緩和し、該病理状態は、前記ワクチン投与後に感染性 *Plasmodium* スポロゾイトが該宿主に導入されることから生じる、方法。

【請求項 3 6】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記投与は、前記ワクチン投与後に感染性 *Plasmodium* スポロゾイトが前記宿主に導入された後に、該宿主においてマラリア特異的病理状態を予防する、方法。

【請求項 3 7】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記投与は、皮下組織、真皮組織、筋肉組織、表皮組織、粘膜組織、粘膜下組織、および皮膚組織からなる群より選択される宿主組織への接種である、方法。

【請求項 3 8】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記スポロゾイトは、*Plasmodium falciparum*、*Plasmodium vivax*、*Plasmodium ovale*、*Plasmodium knowlesi*、および *Plasmodium malariae* からなる群より選択される 1 つの種である、方法。

【請求項 3 9】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記スポロゾイトは、*Plasmodium falciparum*、*Plasmodium vivax*、*Plasmodium ovale*、*Plasmodium knowlesi*、および *Plasmodium malariae* からなる群より選択される少なくとも 2 つの種である、方法。

【請求項 4 0】

請求項 3 1 に記載の方法であって、前記スポロゾイト寄生生物が宿主細胞に侵入することをさらに包含する、方法。

【請求項 4 1】

請求項 4 0 に記載の方法であって、前記宿主細胞は、肝臓細胞であり、前記寄生生物は、後に肝臓細胞の破裂を誘導しない、方法。

【請求項 4 2】

請求項 4 0 に記載の方法であって、前記宿主細胞は、肝臓細胞であり、該方法は、前記寄

生生物が肝臓細胞の破裂を誘導することをさらに包含し、該寄生生物は、後に宿主の赤血球内において発達することが不可能である、方法。

【請求項 4 3】

請求項 3 1 に記載の方法であって、スポロゾイトの弱毒化は、該スポロゾイトの遺伝子改変のための手段によって達成される、方法。

【請求項 4 4】

請求項 4 3 に記載の方法であって、前記遺伝子改変手段は、放射線照射、遺伝子操作、および化学物質によるスポロゾイトの処理からなる群より選択される、方法。

【請求項 4 5】

請求項 4 4 に記載の方法であって、放射線により弱毒化した P l a s m o d i u m スポロゾイトを含む、方法。

【請求項 4 6】

請求項 4 5 に記載の方法であって、前記スポロゾイトは、蚊の内部で放射線照射される、方法。

【請求項 4 7】

請求項 4 5 に記載の方法であって、前記弱毒化放射線の線量は、少なくとも 1 2 , 0 0 0 c G y でありかつ 2 3 , 0 0 0 c G y 以下である、方法。

【請求項 4 8】

請求項 4 7 に記載の方法であって、前記放射線弱毒化線量は、1 5 , 0 0 0 c G y に近い、方法。

【請求項 4 9】

請求項 3 1 に記載の方法であって、少なくとも 5 , 0 0 0 個であるが 5 0 , 0 0 0 個以下であるスポロゾイトを含む、方法。

【請求項 5 0】

請求項 3 2 に記載の方法であって、前記 1 以上の追加免疫投与量は、少なくとも 1 0 0 0 個であるが 1 0 , 0 0 0 , 0 0 0 個以下であるスポロゾイトを含む、方法。

【請求項 5 1】

請求項 5 0 に記載の方法であって、前記 1 以上の追加免疫投与量は、少なくとも 5 0 0 0 個であるが 1 0 0 , 0 0 0 個以下であるスポロゾイトを含む、方法。

【請求項 5 2】

請求項 5 1 に記載の方法であって、前記 1 以上の追加免疫投与量は、少なくとも 1 0 , 0 0 0 個であるが 5 0 , 0 0 0 個以下であるスポロゾイトを含む、方法。

【請求項 5 3】

請求項 3 2 に記載の方法であって、前記 1 以上の追加免疫投与量は、ネイティブタンパク質、組換えタンパク質、組換えウイルス、組換え細菌、組換え寄生生物、DNA ワクチン、および RNA ワクチンからなる群より選択される P l a s m o d i u m 特異的サブユニット成分をさらに含む、方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/37498
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : G01N 33/536 US CL : 436/536		
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) U.S. : 436/536, 501; 424/9.2, 184.1, 272.1; 435/7.22		
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) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	COLLINS et al. Potential of the Panama Strain of Plasmodium vivax for the Testing of Malarial Vaccines in Aotus Nancymai Monkeys. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2002, Volume 67, Number 5, pages 454-458, especially page 454.	1-3
X	ZAPATA et al. Reproducible infection of intact Aotus lemurinus griseimembra monkeys by Plasmodium falciparum sporozoite inoculation. Journal of Parasitology. August 2002, Volume 88, Number 4, pages 723-729, especially Abstract.	1-3
Y	SCHOFIELD et al. Synthetic GPI as a candidate anti-toxic vaccine in a model of malaria. Nature. August 2002, Volume 418, pages 785-789, especially Abstract.	1-3
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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	"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	
"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 01 April 2004 (01.04.2004)	Date of mailing of the international search report 24 MAY 2004	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer Carolyn Smith Telephone No. 571-272-0721	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/37498

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
WEST, PUBMED, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, SCISEARCH using the following terms: immunize, malaria, pathogen, vaccine, attenuate, sporozoite, immunity, Plasmodium, parasite, boost, tissue

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ルーク, トーマス シー.

アメリカ合衆国 メリーランド 20833, ブルックヴィル, ブルックヴィル ロード 4
101

Fターム(参考) 4C085 AA03 BA06 CC07 DD02 GG01 GG03 GG04

专利名称(译)	预防疟疾的方法		
公开(公告)号	JP2006508988A	公开(公告)日	2006-03-16
申请号	JP2004554018	申请日	2003-11-20
[标]申请(专利权)人(译)	萨那里亚有限公司		
申请(专利权)人(译)	Sanaria公司		
[标]发明人	ホフマンステイーブンエル ルークトーマスシー		
发明人	ホフマン, ステイーブン エル. ルーク, トーマス シー.		
IPC分类号	A61K39/015 A61P33/06 A61P37/04 A61K A61K39/00 A61K39/002 G01N33/536		
CPC分类号	A61K39/015 A61K2039/515 A61P33/06 A61P37/04 Y02A50/412		
FI分类号	A61K39/015 A61P33/06 A61P37/04		
F-TERM分类号	4C085/AA03 4C085/BA06 4C085/CC07 4C085/DD02 4C085/GG01 4C085/GG03 4C085/GG04		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/427911 2002-11-20 US		
其他公开文献	JP2006508988A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明包括一种保护受试者免受疟疾侵害的新方法。本发明的方法包括接种减毒孢子，特别是但不限于皮下，肌肉内，皮内，粘膜，粘膜下和皮肤给药。

群	スポロゾイトの数	マウスの数	感染した数	感染%
IV	100	10	10	100
ID	100	10	9	90
ID	500	10	10	100
IM	500	10	10	100
SQ	500	10	10	100