

明 細 書

発明の名称：

ポリアクリル酸系ポリマーを含有するワクチンアジュバント剤およびその使用

技術分野

[0001] 本発明はワクチンアジュバント剤およびその使用に関する。

背景技術

[0002] ワクチン接種において、抗原と併用することでワクチンの免疫原性を高めるワクチンアジュバントが広く使用されており、アルミニウム塩アジュバントやオイルエマルジョン型アジュバントなどのワクチンアジュバントが実用化されている。その一方、ワクチンアジュバントによっては投与経路が限定されていたり、毒性やアレルギー反応のために実用化が断念されたワクチンアジュバントもある。

ワクチンアジュバントの研究開発は活発に行われているものの（非特許文献1、特許文献1）、依然SARS-CoV-2(COVID-19)などの未知ウイルスの出現に対して、迅速なワクチン抗原の開発と共に、それを補充するワクチンアジュバントの開発が可能な技術の確立が切望されている。投与経路、製剤形等に応じて適宜ワクチンアジュバントを選択できるように、ワクチンアジュバント、特に幅広い範囲の抗原に利用可能な汎用性が高いワクチンアジュバントの選択肢の増加がワクチン開発において強く望まれている。

[0003] 医薬組成物において、様々な高分子ポリマーが使用されているが、その用途としては、粘稠剤、粘着剤、懸濁剤、結合剤、乳化剤等として使用されている。高分子ポリマーとして、例えば、コンドロイチン硫酸ナトリウム、ヒアルロン酸、アクリル酸系ポリマー等の酸性ポリマー、ヒプロメロース、ポリビニルアルコール等の中性ポリマー、キチン、キトサン等の塩基性ポリマーが知られている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：WO 2009/004900

非特許文献

[0005] 非特許文献1：「医学のあゆみ」，2018，Vol. 264，No. 5，p. 368-373

非特許文献2：Vaccine，1990，Vol. 8，No. 6，pp. 573-576

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明の目的は、幅広い範囲の抗原に利用可能な汎用性の高いワクチンアジュバント剤を提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、上記問題点に鑑み、鋭意検討した結果、数ある高分子ポリマーの中で、驚くべきことに、アクリル酸を構成単位とする酸性ポリマーであって、カルボキシル基含量が60.0～62.5質量%の高分子ポリマーが、インフルエンザウイルス、SARS-CoV-2、および卵白アルブミンといった幅広い抗原に対しその免疫原性を高めることを見出し、本発明を完成するに至った。加えて、一定の分子サイズ（非架橋型の場合は質量平均分子量、架橋型の場合はポリマー粒子径）の範囲にあるポリマーがより優れたワクチンアジュバント効果を有することを見出し、本願発明に至った。具体的に本開示は以下の発明の態様を提供する。

[0008] (項1)

アクリル酸を構成単位とし、かつ、カルボキシル基含量が60.0～62.5質量%である高分子ポリマーを含む、ワクチンアジュバント剤。

(項2)

該高分子ポリマーがポリアクリル酸および／またはその塩である、項1に

記載のワクチンアジュバント剤。

(項3)

該高分子ポリマーが架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、かつ、ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～62.0質量%であり、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μm である、項1または項2に記載のワクチンアジュバント剤。

(項4)

該高分子ポリマーが架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、かつ、ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～62.0質量%であり、機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μm に調整されている、項1～項3のいずれか1項に記載のワクチンアジュバント剤。

(項5)

ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である、項4に記載のワクチンアジュバント剤。

(項6)

機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.1～2.0 μm に調整されている、項5に記載のワクチンアジュバント剤。

(項7)

ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が61.0質量%より大きくかつ62.0質量%以下である、項4に記載のワクチンアジュバント剤。

(項8)

機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～0.1 μm に調整されている、項7に記載のワクチンアジュバント剤。

(項9)

該高分子ポリマーが架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり

、ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～62.0質量%であり、かつ、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.1～50 μm である、項1または項2に記載のワクチンアジュバント剤。

(項10)

該高分子ポリマーは機械的せん断力が付加されていない、項9に記載のワクチンアジュバント剤。

(項11)

該高分子ポリマーが非架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、かつ、該高分子ポリマーの質量平均分子量が5万～30万の範囲である、項1または項2に記載のワクチンアジュバント剤。

(項12)

ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が62.0～62.5質量%である、項11に記載のワクチンアジュバント剤。

(項13)

水をさらに含有する、項1～12のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項14)

該ワクチンアジュバント剤は該高分子ポリマーおよび水を含有し、かつ塩化ナトリウム、水酸化ナトリウム、およびL-アルギニンからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を任意に含有し、

該高分子ポリマーおよび該水からなる組成物（ただし、該ワクチンアジュバント剤が該少なくとも1つの添加剤を含有するとき、前記の組成物は該少なくとも1つの添加剤を含有してもよい）に機械的せん断力を付加することにより、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が調整されている、項3～9および13のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項15)

塩化ナトリウムが該ワクチンアジュバント剤の総質量に対して0.1～1.5質量%含まれる、項1～14のいずれか1つに記載のワクチンアジュバ

ント剤。

(項 1 6)

水酸化ナトリウムおよび／またはＬ－アルギニンを含さらに有する、項 1 ～項 1 5 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 1 7)

Ｌ－アルギニンをさらに含有する、項 1 ～項 1 6 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 1 8)

pH が 6 ～ 8 である、項 1 ～項 1 7 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 1 9)

該高分子ポリマーが該ワクチンアジュバント剤の総質量に対して 0.01 ～ 50 質量%含まれる、項 1 ～ 1 8 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 0) エーテル型の非イオン界面活性剤およびエステル・エーテル型の非イオン界面活性剤からなる群から選択される少なくとも 1 つの非イオン界面活性剤をさらに含有する、項 1 ～項 1 9 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 1)

該非イオン界面活性剤がポリソルベート 8 0 である、項 2 0 に記載のワクチン組成物。

(項 2 2)

ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、および 1, 3-ブチレングリコールからなる群から選択される少なくとも 1 つの多価アルコールをさらに含有する、項 1 ～項 2 1 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 3)

該多価アルコールがポリエチレングリコールである、項 2 2 に記載のワク

チンアジュバント剤。

(項 2 4)

病原体由来抗原に対する免疫応答を高めるための、項 1 ～項 2 3 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 5)

該病原体に起因する疾患が呼吸器疾患である、項 2 4 に記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 6)

エンベロープウイルス由来抗原に対する免疫応答を高めるための、項 1 ～項 2 5 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 7)

コロナウイルスおよびインフルエンザウイルスからなる群から選択される少なくとも 1 つのウイルス由来抗原に対する免疫応答を高めるための、項 1 ～項 2 6 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 8)

注射投与および粘膜投与から選択される投与のための、項 1 ～項 2 7 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 2 9)

1 投与あたりの該高分子ポリマーの投与量が $1 \mu\text{g} \sim 100 \text{mg}$ である、項 1 ～項 2 8 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤。

(項 3 0)

抗原に対する免疫応答を高める方法であって、それを必要とする対象にワクチンアジュバントとして有効量の項 1 ～項 2 9 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤を投与することを含む方法。

(項 3 1)

抗原に対する免疫応答を高めるための、項 1 ～項 2 9 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。

(項 3 2)

抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、それを必要とする対象にワクチンアジュバントとして有効量の項 1 ～項 29 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤を抗原と組み合わせて投与することを含む、方法。

(項 33)

抗原に対する免疫応答の誘導における、項 1 ～項 29 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。

(項 34)

病原体に起因する疾患を予防する方法であって、それを必要とする対象にワクチンアジュバントとして有効量の項 1 ～項 29 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤を病原体抗原と組み合わせて投与することを含む、方法。

(項 35)

病原体に起因する疾患の予防における、項 1 ～項 29 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。

(項 36)

抗原に対する免疫応答を高めるための、抗原に対する免疫応答を誘導するための、または病原体に起因する疾患を予防するための医薬の製造における、項 1 ～項 29 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。

(項 37)

(i) 項 1 ～項 29 のいずれか 1 つに記載のワクチンアジュバント剤、および (ii) 抗原を含有するワクチン組成物。

(項 38)

(i) ワクチンアジュバントとして有効量の高分子ポリマー、および (ii) 抗原を含有するワクチン組成物であって、該高分子ポリマーはアクリル酸を構成単位とし、かつ、カルボキシル基含量が 60.0 ～ 62.5 質量%である、ワクチン組成物。

(項 39)

該抗原が病原体由来抗原である、項 37 または項 38 に記載のワクチン組

成物。

(項 4 0)

該病原体に起因する疾患が呼吸器疾患である、項 3 9 に記載のワクチン組成物。

(項 4 1)

該抗原が、エンベロープウイルス（例えばコロナウイルスおよびインフルエンザウイルス）由来抗原である、項 3 7～項 4 0 のいずれか 1 つに記載のワクチン組成物。

(項 4 2)

注射投与および粘膜投与から選択される投与のための、項 3 7～項 4 1 のいずれか 1 つに記載のワクチン組成物。

(項 4 3)

該高分子ポリマーが、質量比で、抗原：該高分子ポリマー＝1：0.1～1：1000 の範囲で含まれる、項 3 7～項 4 2 のいずれか 1 つに記載のワクチン組成物。

(項 4 4)

該抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、それを必要とする対象に有効量の項 3 7～項 4 3 のいずれか 1 つに記載のワクチン組成物を投与することを含む、方法。

(項 4 5)

該抗原に対する免疫応答を誘導するための、項 3 7～項 4 3 のいずれか 1 つに記載のワクチン組成物の使用。

(項 4 6)

病原体に起因する疾患を予防する方法であって、それを必要とする対象に有効量の項 3 7～項 4 3 のいずれか 1 つに記載のワクチン組成物を投与することを含む、方法。

(項 4 7)

病原体に起因する疾患を予防するための、項 3 7～項 4 3 のいずれか 1 つ

に記載のワクチン組成物の使用。

(項48)

ポリエチレングリコール（例えばマクロゴール400および／またはマクロゴール4000）をさらに含有する、項1～項25のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤、または項37～項43のいずれか1つに記載のワクチン組成物。

(項49)

グリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等の多価アルコールをさらに含有する、1～25のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤、または項37～43のいずれか1つに記載のワクチン組成物。

(項50)

エーテル型、エステル・エーテル型の非イオン界面活性剤をさらに含有する、項1～25のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤、または項37～43および項48のいずれか1つに記載のワクチン組成物。

(項51)

エーテル型、エステル・エーテル型の非イオン界面活性剤がポリソルベート80（オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン）である項50に記載のワクチン組成物。

[0009] 前記〔項1〕から〔項51〕の各構成は、任意に2以上を選択して組み合わせることができる。

発明の効果

[0010] 本発明によると、抗原に対する免疫応答は向上し、より少ない抗原量で有効な免疫応答を誘導できうる。

発明を実施するための形態

[0011] 本開示において、数値範囲をX～Yとして示すとき、「X以上Y以下」を意味する。

[0012] 1つの態様において、本発明は、ワクチンアジュバントとして有用なアク

リル酸を構成単位とし、かつ、カルボキシル基含量が60.0～62.5質量%である高分子ホモポリマー（以下、「本発明ポリマー」と称する場合がある）を提供する。

[0013] 本開示において、ワクチンアジュバントとは、抗原と併用した場合に、抗原に対する免疫応答を高めることができる物質を意味する。

[0014] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、アクリル酸のみを主要構成単位とするホモポリマーであるポリアクリル酸である。ポリアクリル酸は塩の形態であってもよく、例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウムイオン、L-アルギニン等との塩が挙げられ、アクリル酸中のカルボキシル基が全てまたは部分的に塩を形成していてもよい。本開示において特段の説明がない限り、「ポリアクリル酸」との用語には塩の形態を含む。

[0015] 本願においてカルボキシル基含量は、ポリマーの総量に対する当該ポリマーに含まれるカルボキシル基の割合（質量%）を意味する。

[0016] 本発明ポリマーが塩形態である場合のカルボキシル基含量とは、本発明ポリマーのフリー体とみなして決定されたカルボキシル基含量を意味する。「ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量」と記載される場合があるが、これも塩形態のポリアクリル酸についてはフリー体とみなして決定されたカルボキシル基含量を意味する。

[0017] 本願において、カルボキシル基含量の定量方法は特に限定されないが、例えば、医薬品添加物規格（2018）に記載されるカルボキシビニルポリマーの定量法を用いてもよい。

[0018] 本発明ポリマーは、架橋剤によってより高分子となった架橋型ポリマーであっても、架橋構造のない非架橋型ポリマーでもよい。

本開示において、架橋型／非架橋型の区別をしない場合には、文脈に反しない限り、そのポリマーは架橋型／非架橋型の両方を含む。

[0019] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋構造のない非架橋型のポリアクリル酸である。

直鎖の非架橋型のポリアクリル酸においては、カルボキシル基含量は最大

値である62.5質量%である。分枝構造部分が増えるに従って、そのカルボキシル基含量は低下する。

1つの実施形態において、非架橋型のポリアクリル酸のカルボキシル基含量が62.0～62.5質量%である。

1つの実施形態において、非架橋型のポリアクリル酸のカルボキシル基含量が62.5質量%である。

[0020] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸である。架橋型ポリマーとするための架橋剤としては、アリルペンタエリスリトール、アリルスクロール、アリルプロピレン等のポリアルケニルエーテル、ジビニルグリコールのジビニル化合物等が例示できるが、これらに限定されない。

1つの実施形態において、架橋型ポリマーとするための架橋剤は、アリルペンタエリストール、およびアリルスクロースからなる群から選択される少なくとも1つである。

1つの実施形態において、架橋型ポリマーとするための架橋剤は、アリルペンタエリストールである。

[0021] 架橋型のポリアクリル酸において、カルボキシル基含量は、例えば、架橋剤により3次元的構造となるほど低下する。

1つの実施形態において、架橋型のポリアクリル酸のカルボキシル基含量が60.0～62.0質量%である。

1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって、カルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である。本開示において、カルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である架橋型のポリアクリル酸を高架橋型ポリアクリル酸と称する場合がある。

1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって、カルボキシル基含量が61.0質量%より大きくかつ62.0質量%以下である。本開示において、カルボキシル基含量が61.0質量%より大きくかつ62.0質量%以下である架橋型のポリアクリル酸を低架橋型ポ

リアクリル酸と称する場合がある。

[0022] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、所定範囲の分子サイズを有するポリアクリル酸である。

[0023] 1つの実施形態において、非架橋型のポリアクリル酸の分子サイズは質量平均分子量 (M_w) で規定される。非架橋型ポリマーの質量平均分子量は、通常用いられる方法により測定されることができる。例えば非常に希薄な溶液の適切な物理的測定によって決定できる。一般的に行われている方法として、ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) と固有粘度が挙げられる。光散乱、超遠心分離、および浸透圧測定もまた、使用されうる。測定方法により質量平均分子量の値に差がある場合には、ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) により測定した値を採用することが好ましい。

[0024] 1つの実施形態において、本発明ポリマーが非架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩である場合、より優れた免疫誘導向上能の観点から、好ましくは質量平均分子量が5万～30万、さらに好ましくは10万～20万である。

[0025] 1つの実施形態において、本発明ポリマーが非架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩である場合、より優れた免疫誘導向上能の観点から、カルボキシル基含量が62.5質量%であり、質量平均分子量が10万～20万である。

[0026] 上記の質量平均分子量の測定方法は、通常、ポリマーの溶解性を必要とするため、不溶性の架橋型のポリアクリル酸の分子量を決定するためには通常使用することはできない。

1つの実施形態において、架橋型のポリアクリル酸の分子サイズはそのポリマー粒子径で規定される。1つの実施形態において、ポリマー粒子径の測定結果はレーザ回折式粒子径分布測定装置で測定された個数基準に基づくモード径で規定される。特段の記載がない限り、本開示における「モード径」は「レーザ回折式粒子径分布測定装置で測定された個数基準に基づくモード径」を意味する。

[0027] 1つの実施形態において、ポリマー粒子径〔粒度分布〕の測定は、レーザ回折式粒子径分布測定装置で測定することができる個数基準の粒度分布とするが、体積基準の粒度分布結果と大きく差が無いことが好ましい。少なくとも一つの装置でポリマー粒子のモード径が所定範囲にあれば、当該ポリマー粒子のモード径が所定範囲に含まれるものとされうる。

また、レーザ回折式粒子径分布測定装置で測定された個数基準に基づくモード径と同等の値が計測されることが確認できた場合には、動的光散乱式粒子径分布測定装置の測定値をレーザ回折式粒子径分布測定装置で測定された個数基準に基づくモード径としても良い。さらに、レーザ回折式粒子径分布測定装置で測定された個数基準に基づくモード径と同等の値が計測されることが確認できた場合には、ポリマー粒子の状態を位相差顕微鏡、オプトセム（Opt-SEM [Optical Shadow Effect Mode マイクロスコープ]）等で確認することでモード径が決定されてもよい。

また、ポリマー粒子径は本願試験例に記載方法に従って、レーザ回折式粒子径分布測定装置（例えば、Shimazu SALD-2300またはShimazu SALD-7000、またはこれらと同等の測定装置）を用いる方法により行ってもよい。

[0028] ポリマー粒子の粒子径（モード径）は、本発明ポリマー（またはこれを含む剤／組成物）に外部からの機械的せん断力を与えて調節されてもよい。例えば市販のアクリル酸系高分子ポリマーに外部からのせん断力（機械的せん断力）を与えてポリマー粒子のモード径を適宜調整することができる。せん断力を与える操作については、当業者に公知の方法で行われる。例えば機械的せん断力を与える装置は、高速回転型乳化装置、コロイドミル型乳化装置、高圧乳化装置、ロールミル型乳化装置、超音波式乳化装置および膜式乳化装置を用いることができる。特にホモキサー型、櫛歯型および断続ジェット流発生型の高速回転型乳化装置が好ましい。断続ジェット流発生型の高速回転型乳化装置が特に好ましい。

[0029] 1つの実施形態において、「機械的せん断力を付加することにより高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が所定範囲（例えば0.05～10μ

m) に調整されている」とは、該高分子ポリマーを含有する剤／組成物に機械的せん断力を付加することにより、当該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が所定範囲になるように調整されていることを意味する。

ポリマー粒子の粒子径の測定は、ポリマーを適宜、下記に記載する本発明アジュバント剤に含まれる他の成分（中和剤、水等）と混合して測定されることが好ましいが、当該他の成分には粒子径の測定値に大きく影響しうる物質（例えば、界面活性剤、多価アルコール、不溶性/難溶性物質）が含まれないことが好ましく、当該他の成分は混合により均一な溶液状態となるものであることが好ましい。

例えば、以下のような方法で測定されてもよい。

ポリマーの濃度により粒子径の測定値にばらつきが生じうる場合には、粒子径を測定する試料中のポリマー濃度は、本発明アジュバント剤中のポリマー濃度に近いことが望ましい。下記に記載する本発明アジュバント剤が水を含有する場合には、少なくとも当該水（例えば全量）を加えて測定したポリマー粒子の粒子径（モード径）とすることが好ましい。下記に記載する本発明アジュバント剤がpH調整剤（例えば水酸化ナトリウム、L-アルギニン）を含有する場合には、これらのpH調整剤を（例えば所定のpHになるように）加えてポリマー粒子の粒子径（モード径）を測定することが好ましい。下記に記載する本発明アジュバント剤が塩化ナトリウムを含有する場合には、塩化ナトリウムを（例えば全量）加えてポリマー粒子の粒子径（モード径）を測定することが好ましい。

- [0030] 1つの実施形態において、架橋型のポリアクリル酸の粒子のモード径は0.05～50 μ mである。
- [0031] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって機械的せん断力を付加されない。
- [0032] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって機械的せん断力が付加されておらず、ポリマー粒子のモード径が0.1～50 μ mである。

- [0033] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって機械的せん断力が付加されておらず、ポリマー粒子のモード径が1～15 μm である。
- [0034] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって機械的せん断力が付加されている。
- [0035] 1つの実施形態において、より優れた免疫誘導向上能の観点から、本発明ポリマーは、架橋型のポリアクリル酸であって機械的せん断力が付加されていて、ポリマー粒子のモード径は0.05～10 μm （例えば0.1～2.0 μm 、0.2～2.0 μm 、0.2～1.0 μm 、0.5～1.0 μm 、0.7～1.0 μm ）である。
- [0036] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは架橋型ポリマーであり、他の成分（例えば水など）を含有する剤／組成物中で外部からせん断力（機械的せん断力）を加えられて、剤／組成物中のポリマー粒子のモード径が0.05～10 μm （例えば0.1～2 μm 、0.2～2.0 μm 、0.2～1.0 μm 、0.5～1.0 μm 、0.7～1.0 μm ）の範囲に含まれるように処理されている。
- [0037] 1つの実施形態において、本発明ポリマーはカルボキシル基含量が60.0～61.0質量%の高架橋型ポリアクリル酸であり、他の成分（好ましくは水またはNaCl水溶液）を含有する剤／組成物中で機械的せん断力を加えられて、剤／組成物中のポリマー粒子のモード径が0.05～10 μm （例えば0.1～2.0 μm 、0.2～2.0 μm 、0.2～1.0 μm 、0.5～1.0 μm 、0.7～1.0 μm ）の範囲に含まれるように処理されている。
- [0038] 1つの実施形態において、本発明ポリマーはカルボキシル基含量が61.0質量%より大きくかつ62.0質量%以下である低架橋型ポリアクリル酸であり、他の成分（例えば水など）を含有する剤／組成物中で外部からせん断力（機械的せん断力）を加えられて、剤／組成物中のポリマー粒子のモード径が0.05～10 μm （例えば、0.05～1 μm 、0.05～0.1 μm ）の範囲に含まれるように処理されている。

- [0039] 本発明ポリマーの投与量は、抗原に対する免疫応答が向上する量であれば特に限定されず、抗原、本発明ポリマーを含有する組成物の製剤形、投与ルート、投与対象等により異なりうる。例えば、1投与あたりの本発明ポリマーの投与量は $1\mu\text{g}\sim 1000\text{mg}$ であり、好ましくは1投与あたり $10\mu\text{g}\sim 100\text{mg}$ であり、より好ましくは1投与あたり $100\mu\text{g}\sim 10\text{mg}$ である。また、例えば、本発明ポリマーの投与量は、抗原の投与量との質量比で、抗原：本発明ポリマー＝1：0.1～1：1000、より好ましくは1：10～1：500の範囲である。
- [0040] 1つの実施形態において、1投与あたりの該高分子ポリマーの投与量が $1\mu\text{g}\sim 100\text{mg}$ である。
- [0041] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは注射投与（例えば皮内、皮下、腹腔内）され、1投与あたりの投与量は $1\mu\text{g}\sim 10\text{mg}$ 、好ましくは $1\mu\text{g}\sim 1\text{mg}$ である。
- [0042] 1つの実施形態において、本発明ポリマーは粘膜（例えば経鼻）投与され、1投与あたりの投与量は $10\mu\text{g}\sim 100\text{mg}$ 、好ましくは $100\mu\text{g}\sim 10\text{mg}$ である。
- [0043] 1つの態様において、本発明は、本発明ポリマーを含有するワクチンアジュバント剤（以下、「本発明アジュバント剤」と称する場合がある）を提供する。
- 上記に記載する本発明ポリマーの説明は、本発明アジュバント剤に含まれる本発明ポリマーの説明として利用できる。
- [0044] 本発明アジュバント剤は、本発明ポリマーそのものであっても、水等の他の成分をさらに含んでもよい。
- [0045] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、他の成分（例えば抗原等）を含有する医薬組成物の添加剤として使用される。
- [0046] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、抗原を含有しないワクチンアジュバント製剤である。ワクチンアジュバント製剤の投与ルートは抗原に対する免疫応答を高める効果を発揮する限り特に限定されない。例え

ば、経口投与、非経口投与（注射、経粘膜等）が挙げられる。本発明アジュバント剤は、例えば、抗原とは混合されることなく、別に投与されうる。本発明アジュバント剤の投与ルートは抗原と同じであっても異なってもよい。本発明アジュバント剤は、例えば、使用時に抗原と混合されて、投与されうる。好ましくは、本発明アジュバント剤は、抗原と混合されて、投与される。本発明アジュバント剤の生体への投与は、通常は抗原と同時に投与するが、抗原投与前又は抗原投与後に投与してもよい。また、本発明アジュバント剤を抗原と同時に投与する場合は、抗原と実質的に同時に投与すればよく、例えば、本発明アジュバント剤と抗原を対象に対して完全に同時に投与してもよいし、一定の時間内（好ましくは数分以内）に連続的に投与してもよい。

[0047] 本発明アジュバント剤に含まれる本発明ポリマーの量は製剤形、使用方法、投与ルート、併用する抗原、投与対象等により異なりうるが、例えば、本発明アジュバント剤の総質量に対して0.01～100質量%であり、好ましくは0.01～50質量%、さらに好ましくは0.01～10質量%、さらに好ましくは、0.1～5質量%である。

本発明アジュバント剤には1種または複数種の本発明ポリマーが含まれていてもよい。上記の本発明アジュバント剤に2種以上の本発明ポリマーが含まれる場合、本発明アジュバント剤に含まれる本発明ポリマーの量は、当該2種以上の本発明ポリマーの合計含有量を意味する。

[0048] 本発明アジュバント剤は、本発明ポリマーおよび適宜他の成分を混合し、医薬組成物あるいは医薬組成物の添加剤の製造に通常用いられる方法により、製造されうる。モード径の大きい本発明ポリマーを用いて、本発明アジュバント剤の製造の過程で外部からのせん断力（機械的せん断力）を与えて、ポリマー粒子のモード径を好ましい範囲に適宜調整してもよい。

[0049] 本発明アジュバント剤の1つの実施形態において、ポリマー粒子のモード径は、ポリマー濃度が、本発明アジュバント剤に含有されうる水の全量と混合した場合に相当する濃度で測定する。

[0050] 本発明アジュバント剤の1つの実施形態において、ポリマー粒子のモード径は、ポリマー濃度が本発明アジュバント剤に含有される水の全量と混合した場合に相当する濃度であって、かつ本発明アジュバント剤のpHに（必要に応じてpH調整剤で）に調整された条件で測定される。

[0051] 本発明アジュバント剤のpHは特に限定されず、例えば、製剤形、使用方法、投与ルート、併用する抗原等に応じて適宜調整されうる。pHの調整には、適当な酸性物質〔リン酸、クエン酸、塩酸等〕、塩基性物質〔水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、リジン、アルギニン等の塩基性アミノ酸等〕を用いる。酸性に調整された各種緩衝液、塩基性に調整された各種緩衝液を用いてもよい。

[0052] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤のpHは6～8（好ましくは6.5～7.5）である。

[0053] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は水を含む。

1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、本発明アジュバント剤の総質量に対して、少なくとも50質量%（例えば、少なくとも70質量%、少なくとも80質量%、少なくとも90質量%）の水を含む。

[0054] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は水酸化ナトリウムおよび／またはL-アルギニンを含む。1つの実施形態において本発明アジュバント剤は水酸化ナトリウムおよび／またはL-アルギニンにより、pH6～8（好ましくは6.5～7.5）に調整される。1つの実施形態において本発明アジュバント剤は水酸化ナトリウムおよび／またはL-アルギニンにより中和される。pHの調整と機械的せん断力を付加の順序は特に限定されない。1つの実施形態において、pHをpH6～8（好ましくは6.5～7.5）に調整した後に機械的せん断力を付加する。1つの実施形態において、pHをpH6～8（好ましくは6.5～7.5）に調整する前に機械的せん断力を付加する。

[0055] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は塩化ナトリウムを含む。

1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は本発明アジュバント剤の総質量に対して0.1～1.5質量%（例えば0.2～1.0質量%）の塩化ナトリウムを含む。

[0056] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、ポリアクリル酸としてのカルボキシル基含量が60.0～62.0質量%（好ましくは、60.0～61.0質量%）である架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩である高分子ポリマー、および水を含む、かつ、塩化ナトリウム、水酸化ナトリウム、およびL-アルギニンからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を任意に含有し、該高分子ポリマーおよび該水からなる組成物（ただし、該ワクチンアジュバント剤が該少なくとも1つの添加剤を含有するとき、前記の組成物は該少なくとも1つの添加剤を含有してもよい）に機械的せん断力を付加することにより、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～50 μm （好ましくは、0.05～10 μm 、0.1～2 μm 、0.2～2.0 μm 、0.2～1.0 μm 、0.5～1.0 μm 、0.7～1.0 μm ）に調整されている。ここで、ポリアクリル酸としてのカルボキシル基含量が60.0～61.0質量%であるとき、好ましくは該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μm （例えば0.1～2.0 μm 、0.2～2.0 μm 、0.2～1.0 μm 、0.5～1.0 μm 、0.7～1.0 μm ）に調整されている。ここで、ポリアクリル酸としてのカルボキシル基含量が61.0質量%より大きくかつ62.0質量%以下であるとき、好ましくは該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μm （例えば、0.05～1 μm 、0.05～0.1 μm ）に調整されている。ここで、「該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径」は、前記組成物を検体として測定したときの該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径を意味する。ここで、水酸化ナトリウムおよびL-アルギニンはpH調整剤として、前記組成物のpHを6～8（好ましくは6.5～7.5）とするために添加されうる。ここで、該組成物には該高分子ポリマーの全量が含まれる。ここで、該組成物には該水の全量が含まれることが好ましい

が、界面活性剤のような他の成分の溶剤として使用されている場合には、該組成物に含まれる水は本発明アジュバント剤中の水の全量でなくてもよい。

ここで、本発明アジュバント剤は、本発明アジュバント剤の総質量に対して、少なくとも50質量%（例えば、少なくとも70質量%、少なくとも80質量%、少なくとも90質量%）の水を含む。ここで、本発明アジュバント剤は非イオン界面活性剤および多価アルコールからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を含有していても良い。

[0057] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、本発明ポリマーおよび水からなり、

塩化ナトリウム、水酸化ナトリウム、およびL-アルギニンからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を任意に含有し、かつ、

非イオン界面活性剤および多価アルコールからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を任意に含有する。

[0058] 本発明アジュバント剤の粘度は特に限定されず、例えば、製剤形、使用方法、投与ルート等に応じて適宜調整されうる。粘度の調整方法は特に限定されず、粘度調節剤の添加、外部からのせん断の付加等、通常用いられる方法で行われうる。本発明アジュバント剤の粘度は、例えば、5～5000 mPa・sであり、好ましくは5～1000 mPa・sであり、より好ましくは5～500 mPa・sである。

[0059] 1つの態様において、本発明は、（i）本発明アジュバント剤および（ii）抗原を含有する、ワクチン組成物（以下、「本発明ワクチン組成物」と称する場合がある）を提供する。

[0060] 1つの態様において、本発明は、（i）本発明ポリマーおよび（ii）抗原を含有する、ワクチン組成物（以下、「本発明ワクチン組成物」と称する場合がある）を提供する。

[0061] 本発明ワクチン組成物に含まれる本発明ポリマーの量は、ワクチンアジュバントとして有効量である限り、特に限定されず、製剤形、投与ルート、抗原、投与対象等によって適宜選択されうる。

- [0062] 本開示において、「ワクチンアジュバントとして有効量」とは抗原に対する免疫応答を高める量を意味し、例えば、本発明ポリマー不含のワクチン組成物と比較して抗原に対する免疫応答の向上が認められる本発明ポリマーの量を意味する。
- [0063] 本発明ワクチン組成物に含まれる本発明ポリマーの量は、例えば、本発明ワクチン組成物の全質量に対して、0.001～10質量%、好ましくは0.01～2.5質量%である。また、本発明ワクチン組成物に含まれる本発明ポリマーの量は、本発明ワクチン組成物の全質量に対して、0.05～5質量%、より好ましくは0.1%～2.5質量%でありうる。
- [0064] 本発明ワクチン組成物に含まれる本発明ポリマーの量は、例えば、抗原との質量比で、抗原：本発明ポリマー＝1：0.1～1：1000、より好ましくは1：10～1：500の範囲である。
- [0065] 本発明ワクチン組成物に含まれる抗原の量は、特に限定されず、製剤形、投与ルート、使用方法、抗原の種類、投与対象等によって適宜選択されうる。例えば、本発明ワクチン組成物の全質量に対して、0.0001～10.0質量%、0.01～10.0質量%、より好ましくは0.05～5.0質量%である。
- [0066] 本発明において、投与される抗原の量は、本発明ポリマーとの併用により抗原特異的抗体〔IgA、IgG等〕を産生するのに十分な量であれば特に限定されず、抗原の種類、対象疾患、投与ルート、投与対象等により異なりうる。例えば、1投与あたりの抗原の投与量は0.1μg～10mgであり、好ましくは1投与あたり1μg～5mgであり、より好ましくは1投与あたり1μg～1mgである。
- [0067] 本発明ワクチン組成物には1種または複数種の本発明ポリマーが含まれていてもよい。本発明ワクチン組成物に2種以上の本発明ポリマーが含まれる場合、本発明ワクチン組成物に含まれる本発明ポリマーの量は、当該2種以上の本発明ポリマーの合計含有量を意味する。
- [0068] 本発明ワクチン組成物には1種または複数種の抗原が含まれていてもよい

。本発明ワクチン組成物に2種以上の抗原が含まれる場合、本発明ワクチン組成物に含まれる抗原の量は、当該2種以上の抗原の合計含有量を意味する。

[0069] 本発明ワクチン組成物の製造方法は特に限定されず、ワクチン組成物の製造に通常用いられる方法により製造されうる。例えば、本発明ワクチン組成物は、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水等の適切な緩衝液等に抗原を溶解または懸濁し、得られた混合液と本発明ポリマー／本発明アジュバント剤とを均一になるまで穏やかに混合して、調製されうる。

[0070] 本発明ワクチン組成物のpHは特に限定されず、例えば、製剤形、使用方法、投与ルート、抗原等に応じて適宜調整されうる。pHの調整には、適当な酸性物質〔リン酸、クエン酸、塩酸等〕、塩基性物質〔水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、リジン、アルギニン等の塩基性アミノ酸等〕を用いる。酸性に調整された各種緩衝液、塩基性に調整された各種緩衝液を用いてもよい。

[0071] 1つの実施形態において、本発明ワクチン組成物のpHは6～8（好ましくは6.5～7.5）である。

[0072] 1つの実施形態において、本発明ワクチン組成物は水酸化ナトリウムおよび／またはL-アルギニンを含む。1つの実施形態において、本発明ワクチン組成物は水酸化ナトリウムおよび／またはL-アルギニンにより中和される。

[0073] 1つの実施形態において、本発明ワクチン組成物は塩化ナトリウムを含む。

1つの実施形態において、本発明ワクチン組成物は本発明ワクチン組成物の総質量に対して0.05～1.5質量%（例えば0.1～1.0質量%）の塩化ナトリウムを含む。

[0074] 本発明ワクチン組成物の粘度は特に限定されず、例えば、製剤形、使用方法、投与ルート等に応じて適宜調整されうる。粘度の調整方法は特に限定されず、粘度調節剤の添加、外部からのせん断の付加等、通常用いられる方法

で行われうる。本発明ワクチン組成物の粘度は、例えば、 $5 \sim 5000 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ であり、好ましくは $5 \sim 1000 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ であり、より好ましくは $5 \sim 500 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ である。

[0075] 本発明において、粘度の測定は通常用いられる方法により行われうる。好ましい方法としては回転粘度計を用いる。

[0076] 本発明ワクチン組成物の投与経路は特に限定されず、経口投与でも非経口投与（例えば注射、粘膜投与）でもよい。適用される粘膜の例としてが、鼻腔、口腔、咽頭、気管、肺、腸管の粘膜が挙げられる。本発明ワクチン組成物は例えば、皮内、皮下、筋肉、腹腔内等への注射；口腔内への塗布、滴下、噴霧スプレー；鼻腔への滴下、噴霧スプレー；肺へのエアゾール、ドライパウダー吸入により投与されうる。本発明ワクチン組成物は例えば経鼻投与型製剤であり、標的部位は例えば鼻粘膜、鼻咽頭である。

[0077] 本発明ワクチン組成物は希釈なしに投与される製剤であっても、使用時に適宜希釈されて使用される製剤であってもよい。

[0078] 本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物には、併用可能な活性薬剤、希釈剤、殺菌剤、防腐剤、界面活性剤、安定剤等が含有されていてもよい。

[0079] 本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物には、ポリエチレングリコール（例えばマクロゴール400、マクロゴール4000、マクロゴール20000）が含有されていてもよい（例えば本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物の総質量に対して、0.05～15質量%、0.1～10質量%、0.1～5質量%）。

[0080] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物には、より優れた免疫誘導向上能の観点から、非イオン界面活性剤および多価アルコールからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を含有していても良い。

本発明アジュバント剤において、機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が調整されている場合には、当

該添加剤は、モード径に影響しうるため、機械的せん断力を付加した後に添加されることが好ましい。

- [0081] 非イオン界面活性剤の例として、エーテル型の非イオン界面活性剤およびエステル・エーテル型の非イオン界面活性剤が挙げられ、さらに具体的な例として、ポリソルベート類、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油類が挙げられ、好ましい例として、ポリソルベート80（別名オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン）が挙げられる。

非イオン界面活性剤の含有量の例として、本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物の総質量に対して0.01～1質量%、0.1～0.7質量%が挙げられる。

- [0082] 多価アルコールの例として、ポリエチレングリコール（例えばマクロゴール400、マクロゴール4000、マクロゴール20000）、グリセリン、プロピレングリコール、および1,3-ブチレングリコールが挙げられる。

多価アルコールの含有量の例として、例えば本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物の総質量に対して0.1～10質量%、0.1～5質量%が挙げられる。

- [0083] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、ポリアクリル酸としてのカルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩である高分子ポリマーを含み、機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μ m（例えば0.1～2.0 μ m、0.2～2.0 μ m、0.2～1.0 μ m、0.5～1.0 μ m、0.7～1.0 μ m）に調整されている。ついで、任意に、非イオン界面活性剤および多価アルコールからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤が添加されても良い。

- [0084] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、ポリアクリル酸としてのカルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩である高分子ポリマー；および水を含み、

機械的せん断力を付加することにより、該水の全量の存在下における該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径は、 $0.05 \sim 10 \mu\text{m}$ （例えば $0.1 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 、 $0.2 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 、 $0.2 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、 $0.7 \sim 1.0 \mu\text{m}$ ）に調整されている。ついで、任意に、非イオン界面活性剤および多価アルコールからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤が添加されても良い。

[0085] 1つの実施形態において、本発明アジュバント剤は、ポリアクリル酸としてのカルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩である高分子ポリマー；水、およびpH調整剤（例えば水酸化ナトリウム、L-アルギニン）を含み、

該高分子ポリマーおよび水を混合して、pH調整剤でpHを6～8（好ましくは6.5～7.5）に調整した後、機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が $0.05 \sim 10 \mu\text{m}$ （例えば $0.1 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 、 $0.2 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 、 $0.2 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、 $0.7 \sim 1.0 \mu\text{m}$ ）に調整されている。ついで、任意に、非イオン界面活性剤および多価アルコールからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤が添加されても良い。

[0086] 1つの態様において、本発明は、抗原に対する免疫応答を高める方法であって、それを必要とする対象に有効量の本発明ポリマー／本発明アジュバント剤を投与することを含む方法を提供する。

[0087] 1つの態様において、本発明は、抗原に対する免疫応答を高めるための、本発明ポリマー／本発明アジュバント剤の使用を提供する。

[0088] 1つの態様において、本発明は、抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、それを必要とする対象に有効量の本発明ポリマー／本発明アジュバント剤を抗原と組み合わせて投与することを含む、方法を提供する。

[0089] 1つの態様において、本発明は、抗原に対する免疫応答の誘導における、本発明ポリマー／本発明アジュバント剤の使用を提供する。

[0090] 1つの態様において、本発明は、病原体に起因する疾患を予防する方法で

あって、それを必要とする対象に有効量の本発明ポリマー／本発明アジュバント剤を病原体抗原と組み合わせて投与することを含む、方法を提供する。

[0091] 1つの態様において、本発明は、病原体に起因する疾患の予防における、本発明ポリマー／本発明アジュバント剤の使用を提供する。

[0092] 1つの態様において、本発明は、本発明アジュバント剤／本発明ワクチン組成物の製造における本発明ポリマーの使用を提供する。

[0093] 1つの態様において、本発明は、本発明ワクチン組成物の製造における本発明アジュバント剤の使用を提供する。

[0094] 本開示において、抗原に対する免疫応答を誘導するとは、抗原特異的抗体（IgA、IgG等）の少なくとも1種が産生されることを意味する。

[0095] 本開示において、抗原に対する免疫応答を高めるとは、抗原特異的抗体（IgA、IgG等）の少なくとも1種の産生量が増加することを意味し、例えば、本発明ポリマー不含のワクチン組成物との比較により評価されうる。

[0096] 抗原特異的IgG2aは、ヘルパーT細胞1型（Th1）細胞性免疫と深く関係しているため、本発明アジュバント剤は抗原特異的IgG2aの産生を高めるのに有効なものであることが好ましい。

抗原特異的IgGとIgAは機能が異なるため、これらの両方の産生が高められることが好ましい。1つの実施態様において本発明アジュバント剤は抗原特異的IgGとIgAを双方を産生を向上するために使用されうる。

[0097] 病原体に起因する疾患を予防することには、疾患の感染／発症を防ぐことに加え、疾患の発症を抑制すること、疾患の症状を緩和すること、疾患の再発を防ぐことを含むうる。

[0098] 本開示において、本発明ワクチン組成物の「有効量」とは、抗原に対する免疫応答の誘導／病原体に起因する疾患の予防において、対象に利益を提供するために必要な本発明ワクチン組成物の量を意味しうる。

[0099] 本発明において、対象は特に限定されず、ヒトまたはヒト以外の動物、例えば家禽（例えば、ニワトリ、アヒル等）、家畜（例えば、牛、豚等）、愛玩動物（例えば、犬、猫）等が挙げられる。好ましくはヒトである。

- [0100] 本発明において、病原体とは、対象に疾患をもらたしうる、細菌、ウイルス、マイコプラズマ等を意味する。病原体の例として、コロナウイルス（例えば、重症急性呼吸器感染症候群（SARS）の病原体、例えばSARS-CoV-2）、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、水痘ウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、ポリオウイルス、ロタウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、風疹ウイルス、肺炎球菌、結核菌、百日咳菌、髄膜炎菌、インフルエンザb型菌、コレラ菌、ジフテリア菌、およびマイコプラズマが挙げられる。
- [0101] 本発明において、抗原は特に限定されず、病原体由来抗原および腫瘍関連抗原が例として挙げられる。病原体由来抗原の例には上記の病原体に由来する抗原が挙げられる。
- [0102] 本発明の1つの実施形態において、病原体由来抗原は、エンベロープウイルス由来抗原である。
- [0103] 本発明の1つの実施形態において、病原体由来抗原は、コロナウイルスおよびインフルエンザウイルスからなる群から選択される少なくとも1つの病原体由来抗原である。
- [0104] 本発明の1つの実施形態において、病原体由来抗原は、SARS-CoV-2由来抗原である。
- [0105] 本発明において、病原体由来抗原には、通常のワクチン製剤に用いられる病原体由来抗原が用いられうる。

病原体から精製された天然の産生物、または遺伝子組換え等の手法により人為的に作製されたタンパク質、糖たんぱく質、ペプチド、多糖類、リポ多糖類、ポリヌクレオチドまたは抗原をコードするDNA等が含まれる。

また、病原体由来抗原の例には、完全ウイルス粒子であるビリオン、不完全ウイルス粒子、ビリオン構成粒子、ウイルス非構造タンパク質、病原菌由来のタンパク質もしくは糖たんぱく質、感染防御抗原、中和反応のエピトープ等が挙げられ、これらには感染能を有するもの（生の抗原）と感染能を喪

失させた（不活化抗原）ものとが含まれる。

病原体由来抗原の例には、コンポーネントワクチン、サブユニットワクチン、ベクターワクチン、遺伝子ワクチンも含まれる。

実施例

[0106] 以下、実施例、比較例および試験例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの例によって限定されるものではない。実施例において「ポリアクリル酸」はフリー体のポリアクリル酸を意味する。「モード径」は個数基準での結果である。

[0107] 「試験例 1」 マウスでの抗体産生誘導能試験（経鼻粘膜接種、インフルエンザスプリット抗原、その 1）

[0108] 1. ワクチン製剤の調製

（1）抗原原液の調製

インフルエンザスプリット抗原〔H1N1〕を生理食塩水に均質になるまで混合し、抗原原液（抗原濃度 0.0066HA w/v%）を得た。

[0109] （2）－ 1 検体番号 A#03～A#10 に用いた高分子ポリマー含有組成物の調製

高分子ポリマーを精製水または塩化ナトリウム水溶液に入れ、水酸化ナトリウムまたは L-アルギニンで中和し、均質になるまで混合して、組成物を得た。「機械的せん断処理あり」の高分子ポリマー含有組成物については、得られた組成物を断続ジェット流発生型高速攪拌装置を用いて機械的せん断力を与えて、当該高分子ポリマー含有組成物に含まれるポリマーの粒子径を調整した。

（2）－ 2 検体番号 A#11～A#19 に用いた高分子ポリマー含有組成物の調製

高分子ポリマーを精製水と均質になるまで混合して、組成物を得た。

A#12 については高分子ポリマー組成物中 0.375 質量% の L-アルギニンを添加した。

（2）－ 3 検体番号 A#20～A#23 に用いた公知ワクチンアジュバント含有

組成物の調製

公知ワクチンアジュバント（Poly I : C、CpG K3、R848、または水酸化アルミニウムゲル）を生理食塩水と均質になるまで混合して、組成物を得た。

[0110] (2) - 4 ポリマー粒子のモード径測定

抗原と混合する前の各高分子ポリマーのモード径をレーザー回折式粒度分布測定装置（Shimazu SALD-2300、Shimazu SALD-7000）を用いて測定した。

機械的せん断力を与えた高分子ポリマー含有組成物については、機械的せん断力を与えた後の高分子ポリマー含有組成物を検体としてレーザー回折式粒度分布測定装置によりポリマー粒子のモード径を測定した。

[0111] ワクチン製剤の調製に使用した、高分子ポリマーの詳細およびポリマー粒子のモード径の測定結果；および高分子ポリマー含有組成物の調製に使用した中和剤、高分子ポリマー含有組成物の総量に対する塩化ナトリウム濃度、機械的せん断処理の有無を下表に示す。

[0112]

	高分子ポリマー					高分子ポリマー含有組成物		
検体番号		ポリマー名	加水キシル基含量(質量%)	質量平均分子量	ポリマー粒子の平均径(μm)	中和剤	NaCl濃度(質量%)	機械的せん断
A#03	酸性ポリマー	架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	605	—	0.94 (せん断処理後)	L-Arg	0.45	あり
A#04			605	—	0.032 (せん断処理後)	NaOH	0.45	あり
A#05			605	—	9.0	L-Arg	0.95	なし
A#06			605	—	9.0	NaOH	0.75	なし
A#07			605	—	1.3 (せん断処理後)	L-Arg	0.45	あり
A#08			605	—	0.64 (せん断処理後)	NaOH	0.45	あり
A#09			605	—	8.3	L-Arg	0.50	なし
A#10			605	—	8.3	NaOH	0.515	なし
A#15		コンドロイチン硫酸ナトリウム[N-アセチル-D-ガラクトサミン(硫酸基)とD-グルクロン酸の非架橋型直鎖状コポリマー]	9.4	2~3万	—	—	0	なし
A#16	ヒアルロン酸[グリコサミノグリカンの非架橋型直鎖状ホモポリマー]	11.9	約50万	—	—	0	なし	
				—: 測定不可	—: 測定不可	—: 不添加		

[0113]

検体番号	高分子ポリマー					高分子ポリマー含有組成物		
		ポリマー名	カルボキシル基含量(質量%)	質量平均分子量	ポリマー粒子の平均径(μm)	NaCl濃度(質量%)	機械的せん断	L-アールギニン濃度(質量%)
A#11	中性ポリマー	ヒプロメロース[ヒドロキシプロピルメチルセルロース非架橋型コポリマー]	0	約30万	—	0	なし	0
A#12		ヒプロメロース[ヒドロキシプロピルメチルセルロース非架橋型コポリマー]	0	約30万	—	0	なし	0.375
A#13		ポリビニルアルコール(部分けん化物)[ビニルアルコールと酢酸ビニルの非架橋型コポリマー]	0	—	—	0	なし	0
A#14		N-ビニル-2-ピロリドンの非架橋型ホモポリマー[カルボキシル基含量 0質量%]	0	120万	162	0	なし	0
A#17		マクロゴール4000[エチレングリコールの非架橋型ホモポリマー]	0	4000	—	0	なし	0
A#18	塩基性ポリマー	キチン[β 1-4-N-アセチルグルコサミンの非架橋型直鎖状ホモポリマー]	0	—	53.1	0	なし	0
A#19		キトサン[β 1-4-N-グルコサミンの非架橋型直鎖状ホモポリマー]	0	—	109	0	なし	0
				—: 測定不可または測定不実施	—: 測定不可			

[0114] (3) - 1 高分子ポリマー不含有ワクチン製剤 (検体番号A#01)

抗原原液と生理食塩水を 1 : 1 (体積比) で混合して、抗原濃度 0.0033HA w/v% の高分子ポリマー不含有ワクチン製剤を得た。

(3) - 2 高分子ポリマー含有ワクチン製剤 (検体番号 A#03 ~ A#19)

抗原原液と高分子ポリマー含有組成物とを 1 : 1 (体積比) で混合して、抗原濃度 0.0033 w/v% の高分子ポリマー含有ワクチン製剤を得た。

(3) - 3 公知ワクチンアジュバント含有ワクチン製剤 (検体番号 A#20 ~ A#23)

抗原原液と公知ワクチンアジュバント含有組成物とを 1 : 1 (体積比) で混合して、抗原濃度 0.0033HA w/v% の高分子ポリマー含有ワクチン製剤を得た。

[0115] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (経鼻粘膜接種)

(方法)

ワクチン製剤 (A#01、A#03 ~ A#23) を BALB/c マウス (雌、6 週齢) の両鼻孔に 15 μ L ずつ (計 30 μ L : 抗原量 1 μ g HA) 単回接種し (各群 3 匹)、接種 3 週間後に肺胞洗浄液を回収し、肺胞洗浄液中のインフルエンザ HA 抗原特異的 IgA の抗体価を測定することにより抗体産生誘導能を解析した。高分子ポリマー / 公知アジュバントの投与量は下表に示す。

[0116] (結果)

結果 (n = 3 の平均値) を下表に示す。

(考察)

カルボキシル基含量が 60.5 質量% であるポリアクリル酸ホモポリマーを含有する A#03 ~ A#10 のワクチン製剤は、抗体産生の誘導を示した。

一方、高分子ポリマー不含有ワクチン製剤 (検体番号 A#01) (これは公知ワクチンアジュバントも含まない)、および他の高分子ポリマー含有ワクチン製剤 (A#11 ~ A#19) は抗体産生を誘導を示さなかった。

インフルエンザスプリット抗原とカルボキシル基含量 60.5 質量% の酸性ポリマーであるポリアクリル酸であり、架橋型でせん断の付加されていないポリマー粒子のモード径が 8.3 ~ 9.0 μ m である A#05、A#06

、A # 0 9、A # 1 0では、高いインフルエンザH A抗原特異的I g Aの産生が認められた。また、カルボキシル基含量6 0. 5質量%の酸性ポリマーであるポリアクリル酸であり、架橋型でせん断の付加されているポリマー粒子のモード径が0. 6 4 ~ 1. 3 μ mであるA # 0 3、A # 0 7、A # 0 8においても、高いインフルエンザH A抗原特異的I g Aの産生が認められた。

[0117]

検体 番号	ワクチン製剤の総量に対する ポリマー/公知アジュバントの濃度 (w/v%) [投与量(μ g/投与)]	肺胞洗浄液 インフルエンザHA 抗原特異的IgA (ng/mL)
A#01	0	0.0
A#03	0.275% [82.5 μ g]	943.8
A#04	0.275% [82.5 μ g]	108.8
A#05	0.275% [82.5 μ g]	837.5
A#06	0.275% [82.5 μ g]	605.8
A#07	0.175% [52.5 μ g]	363.4
A#08	0.175% [52.5 μ g]	268.3
A#09	0.175% [52.5 μ g]	777.9
A#10	0.175% [52.5 μ g]	360.5
A#15	0.50% [150 μ g]	0.0
A#16	0.10% [30 μ g]	0.0
A#11	0.40% [120.0 μ g]	0.0
A#12	0.40% [120.0 μ g]	0.0
A#13	0.125% [37.5 μ g]	0.0
A#14	12.0% [3600 μ g]	0.0
A#17	7.50% [2250 μ g]	0.0
A#18	0.50% [150 μ g]	0.0

A#19	0.50% [150 μ g]	0.0
A#20	[10 μ g]	0.5
A#21	[30 μ g]	0.1
A#22	[10 μ g]	0.5
A#23	[100 μ g]	208.1

[0118] 〔試験例2〕

マウスでの抗体産生誘導能試験（経鼻粘膜接種、SARS-CoV-2 S1 タンパク質）

[0119] 1. ワクチン製剤の調製

(1) 抗原原液の調製

SARS-CoV-2 S1 タンパク質を生理食塩水に均質になるまで混合し、抗原原液（抗原濃度0.02 w/v%）を得た。

[0120] (2) - 1 高分子ポリマー含有組成物の調製

各高分子ポリマーを精製水または塩化ナトリウム水溶液に入れ、一部の組成物については水酸化ナトリウムまたはL-アルギニンで中和し、均質になるまで混合して、高分子ポリマー含有組成物を得た。

「機械的せん断処理あり」の高分子ポリマー含有組成物については、得られた高分子ポリマー含有組成物を断続ジェット流発生型高速攪拌装置を用いて機械的せん断力を与えて、当該高分子ポリマー含有組成物に含まれるポリマーの粒子径を調整した。

[0121] (2) - 2 ポリマー粒子のモード径測定

抗原と混合する前の各高分子ポリマーのモード径をレーザー回折式粒度分布測定装置を用いて測定した。

機械的せん断力を与えた高分子ポリマー含有組成物については、機械的せん断力を与えた後の高分子ポリマー含有組成物を検体としてレーザー回折式粒度分布測定装置（Shimazu SALD-2300、Shimazu-7000）によりポリマー粒子

のモード径を測定した。

[0122] ワクチン製剤の調製に使用した、高分子ポリマーの詳細およびポリマー粒子のモード径の測定結果；および高分子ポリマー含有組成物の調製に使用した中和剤、高分子ポリマー含有組成物の総量に対する塩化ナトリウム濃度、機械的せん断処理の有無を下表に示す

[0123]

検体 番号	高分子ポリマー（酸性ポリマー）					高分子ポリマー含有組成物		
	種類	架橋型 / 非架橋型	加ポキシル基 含量 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子の モード径 (nm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	機械的 せん断
B#0 0	ポリ アクリ ル酸 ホモ ポリマ ー	架橋型	60.7	—	0.71 (せん断処理後)	L-Arg	0	あり
B#0 1		非架橋型	62.5	2～3万	—	NaOH	0	なし
B#0 2		非架橋型	62.5	15万	—	NaOH	0	なし
B#0 3		非架橋型	62.5	100万	—	NaOH	0	なし
B#0 4		非架橋型	62.5	400～ 500万	—	NaOH	0	なし
B#0 5		架橋型	60.7	—	4.5	L-Arg	0	なし
B#0 6		架橋型	61.7	—	22	L-Arg	0.45	なし
B#0 7		架橋型	60.7	—	4.5	L-Arg	0	なし
B#0 8		架橋型	61.7	—	112	L-Arg	0.45	なし
B#0 9		架橋型	60.7	—	3.5	L-Arg	0	なし
B#1 0		架橋型	61.7	—	5.6	L-Arg	0.45	なし
B#1 1		架橋型	60.7	—	112	L-Arg	0.90	なし
B#1 2		架橋型	60.7	—	0.45 (せん断処理後)	NaOH	0	あり
B#1 4*		架橋型	60.7	—	1.6 (せん断処理後)	L-Arg	0	あり
B#1 5	架橋型アクリル酸およ びメタクリル酸		58.2	—	0.089	NaOH	0	なし
B#1 6	アルキル(C10～C30)エポ リマー		58.8	—	0.11	NaOH	0	なし
B#1 7	カルボキシメチルセルロ ースの非架橋型 ホモポリマー		21.8	—	1620	NaOH	0	なし

B#18	カルボキシメチルセルロースの内部架橋型ホモポリマー	218	—	1280	NaOH	0	なし
B#19	セルロースとカルボキシセルロースの非架橋型コポリマー	133	—	1620	—	0	なし
B#20	コンドロイチン硫酸ナトリウム(N-アセチル-D-ガラクトサミン(硫酸基とD-グルクロン酸の非架橋型コポリマー]	94	2~3万	—	—	0	なし
B#21	ヒアルロン酸グリコサミングリカンの非架橋型ホモポリマー]	119	約50万	—	—	0	なし
			—:測定不可	—:測定不可	—:中和剤不添加		
B#14*:高分子ポリマー含有組成物の総質量に対してマクロゴール4000 1.0質量%を含有する。							

[0124]

検体 番号	高分子ポリマー (中性ポリマー)					高分子ポリマー含有組成物		
	種類	架橋型 / 非架橋型	加水基 含量 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子の モード径 (nm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	機械的 せん断
B#2 2	ヒドロメロース(ヒドロ キシプロピルメチルセ ルロース非架橋型コ ポリマー)		0	約30万	—	—	0	なし
B#2 3	ヒドロキシプロピルメ チルセルロースステア ロキエーテルの非架 橋型コポリマー		0	約40万	1620	—	0	なし
B#2 4	ポリビニルアルコー ル(部分けん化物)(ビ ニルアルコールと酢 酸ビニルの非架橋型 コポリマー)		0	—	—	—	0	なし
B#2 5	N-ビニル-2-ピロリド ンの非架橋型 ホモポリマー		0	120万	1620	—	0	なし
B#2 6	マクロゴール400「エ チレングリコールの 非架橋型ホモポリマ ー」		0	400	—	—	0	なし
B#2 7	マクロゴール20000「 エチレングリコール の非架橋型ホモポリ マー」		0	20000	—	—	0	なし
				—:測定不 可	—:測定不可	—: 中和剤 不添加		

[0125]

検体 番号	高分子ポリマー (塩基性ポリマー)					高分子ポリマー含有組成物		
	種類	架橋型 / 非架橋型	カルボキシル基 含量 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子の モード径 (nm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	機械的 せん断
B#2 8	キチン「β1-4-N- アセチルグルコサミン の非架橋型直鎖状ホ モポリマー」		0	—	625	—	0	なし
B#2 9	キトサン「β1-4-N- グルコサミンの非 架橋型直鎖状ホモポ リマー」		0	—	1280	—	0	なし
				—:測定不 可	—:測定不可	—: 中和剤 不添加		

[0126] (3) ワクチン製剤の調製

抗原原液と高分子ポリマー含有組成物とを 1 : 1 (体積比) で混合して、
抗原濃度 0.01 w/v% のワクチン製剤を得た。

[0127] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (経鼻粘膜接種)

(方法)

ワクチン製剤を BALB/c マウス (雌、6 週齢) の両鼻孔に 15 μ L ずつ (計 30 μ L : 抗原量 3 μ g、高分子ポリマーとして 105 μ g または 165 μ g) 単回接種し (各群 3 匹)、接種 3 週間後に血清、鼻腔洗浄液、肺胞洗浄液を回収し、鼻腔洗浄液 SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的 IgA、肺胞洗浄液 SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的 IgA、血清中 SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的 IgG の各抗体価を測定することにより抗体産生誘導能を解析した。

抗原原液と生理食塩水を 1 : 1 (体積比) で混合して得られた、抗原濃度 0.01 w/v% の高分子ポリマー不含有ワクチン製剤を対照として用いた。

[0128] (結果)

結果 (n = 10 の平均値) を下表に示す。

(考察)

カルボキシル基含量が 60.7 ~ 62.5 質量% であるポリアクリル酸ホモポリマー

を含有するB#00～B#14のワクチン製剤は、高分子ポリマー不含有ワクチン製剤と比較してより高い抗体産生の誘導を示した。

非架橋型で質量平均分子量が15万であるB#02；

架橋型で機械的せん断の付加がなくポリマー粒子径のモード径が2.2～11.2 μm であるB#05～B#11；および

架橋型で機械的せん断を付加したポリマー粒子径のモード径が0.71 μm であるB#00、0.45 μm であるB#12は、抗原単独を投与した場合と比較して、特に高い抗体産生誘導の向上が示された。

[0129]

検体番号	ワクチン製剤中のポリマー濃度 (質量%) [ポリマー投与量 (μg/投与)]	肺胞洗浄液 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgA (titer)	鼻腔洗浄液 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgA (titer)	血清中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgG1 (titer)	血清中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgG2a (titer)
無処置		0	0	0	0
高分子ポリマー含有ワクチン製剤	0% [0μg]	0	0	1500	0
B#00	0.55% [165μg]	667	5	86667	167
B#01	0.35% [105μg]	0	0	5333	0
B#02	0.35% [105μg]	10293	117	725333	53500
B#03	0.35% [105μg]	67	1	42667	333
B#04	0.35% [105μg]	33	1	34667	667
B#05	0.35% [105μg]	40	1	364000	167
B#06	0.35% [105μg]	117	2	22667	2667
B#07	0.35% [105μg]	10	1	32667	167
B#08	0.35% [105μg]	373	13	22400	2667
B#09	0.35% [105μg]	7	3	10667	167
B#10	0.35% [105μg]	133	3	11333	333
B#11	0.55% [165μg]	173	12	37333	333
B#12	0.55% [165μg]	1173	37	405333	6000
B#14*	0.55% [165μg]	8960	59	704000	44333
B#15	0.35% [105μg]	0	0	333	0
B#16	0.35% [105μg]	60	0	3000	1333
B#17	0.35% [105μg]	33	0	3000	1000
B#18	0.35% [105μg]	23	1	4333	667
B#19	0.35% [105μg]	0	0	3667	0
B#20	0.35% [105μg]	0	1	4000	0
B#21	0.35% [105μg]	7	0	1667	0
B#22	0.35% [105μg]	0	1	0	0
B#23	0.35% [105μg]	0	0	333	167
B#24	0.35% [105μg]	0	0	0	0
B#25	0.35% [105μg]	0	0	167	0
B#26	0.35% [105μg]	3	0	0	0
B#27	0.35% [105μg]	0	0	0	0
B#28	0.35% [105μg]	0	0	2667	0
B#29	0.35% [105μg]	7	0	12667	0

[0130] (考察-2) B#00の抗体力価に対するポリアクリル酸ホモポリマー含有

検体の抗体力価の比率を算出した。下表に示すとおり、B # 0 0、B # 0 2、B # 1 2、B # 1 4 は異なる部位で I g G と I g A の両方の産生を向上することが示唆された。

B # 1 4 の結果は、ポリアクリル酸ホモポリマーとポリエチレングリコールの併用が相乗的に抗体産生を向上することを示唆する。

[0131]

検体番号	ポリマー 投与量	肺胞洗浄液 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgA	鼻腔洗浄液 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgA	血清中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgG1	血清中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgG2a
無処置		0.00	0.00	0.00	0.00
高分子ポリマー 不含有ワクチン製剤	0 µg	0.00	0.00	0.02	0.00
B#00	165 µg	1.00	1.00	1.00	1.00
B#01	105 µg	0.00	0.00	0.06	0.00
B#02	105 µg	15.43	23.40	8.37	320.36
B#03	105 µg	0.10	0.20	0.49	1.99
B#04	105 µg	0.05	0.20	0.40	3.99
B#05	105 µg	0.06	0.20	4.20	1.00
B#06	105 µg	0.18	0.40	0.26	15.97
B#07	105 µg	0.01	0.20	0.38	1.00
B#08	105 µg	0.56	2.60	0.26	15.97
B#09	105 µg	0.01	0.60	0.12	1.00
B#10	105 µg	0.20	0.60	0.13	1.99
B#11	165 µg	0.26	2.40	0.43	1.99
B#12	165 µg	1.76	7.40	4.68	35.93
B#14*	165 µg	13.43	11.80	8.12	265.47

[0132] 上記（２）－１で調製した高分子ポリマー含有組成物の代表例の成分および分量を下表に記載する。

[0133]

B#00に使用した高分子ポリマー含有組成物	
成分	分量〔質量％〕
架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	1.10
Ｌ－アルギニン	2.30
精製水	96.60
合計	100

[0134]

B#02に使用した高分子ポリマー組成物	
成分	分量〔質量%〕
非架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	0.70
水酸化ナトリウム	0.345
精製水	98.955
合計	100

[0135]

B#08に使用した高分子ポリマー組成物	
成分	分量〔質量%〕
架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	0.70
L-アルギニン	1.52
塩化ナトリウム	0.45
精製水	97.33
合計	100

[0136]

B#11に使用した高分子ポリマー組成物	
成分	分量〔質量%〕
架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	1.10
L-アルギニン	2.30
塩化ナトリウム	0.90
精製水	95.70
合計	100

[0137]

B#12に使用した高分子ポリマー組成物	
成分	分量〔質量%〕
架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	1.10
水酸化ナトリウム	0.544
精製水	98.356
合計	100

[0138] 上記（3）で調製したワクチン製剤の代表例のpHおよび粘度を下表に記載する。

[0139]

	B#00	B#02	B#08	B#11	B#12
pH	6.88	7.05	7.29	6.73	7.15
粘度〔mPa・S〕	104	10	162	407	131

＜粘度の測定方法＞

日本薬局方一般試験法の粘度測定法で挙げられている回転粘度計法(円すい－平板形回転粘度計)で測定した。

[0140] 〔試験例3〕

マウスでの抗体産生誘導能試験(経鼻粘膜接種、卵白アルブミン(OVA))

[0141] 1. ワクチン製剤の調製

(1) 抗原原液の調製

卵白アルブミン [OVA、Sigma Grade V] をPBS (リン酸緩衝生理食塩水) に均質になるまで混合し、抗原原液 (抗原濃度0.2 w/v%) を得た。

[0142] (2) - 1 検体番号C#01～C#05に用いた高分子ポリマー含有組成物の調製

高分子ポリマーをPBS (リン酸生理食塩水) に入れ、水酸化ナトリウムまたはL-アルギニンで中和し、均質になるまで混合して、組成物を得た。「機械的せん断処理あり」の高分子ポリマー含有組成物については、得られた組成物を断続ジェット流発生型高速攪拌装置を用いて機械的せん断力を与えて、当該高分子ポリマー含有組成物に含まれるポリマーの粒子径を調整した。

(2) - 2 検体番号C#06～C#22に用いた高分子ポリマー含有組成物の調製

高分子ポリマーをPBS (リン酸生理食塩水) と均質になるまで混合して、組成物を得た。

[0143] (2) - 3 ポリマー粒子のモード径測定

抗原と混合する前の各高分子ポリマーのモード径をレーザー回折式粒度分布測定装置 (Shimazu SALD-2300、Shimazu SALD-7000) を用いて測定した。

機械的せん断力を与えた高分子ポリマー含有組成物については、機械的せん断力を与えた後の高分子ポリマー含有組成物を検体としてレーザー回折式粒度分布測定装置によりポリマー粒子のモード径を測定した。

[0144] ワクチン製剤の調製に使用した、高分子ポリマーの詳細およびポリマー粒子のモード径の測定結果；および高分子ポリマー含有組成物の調製に使用し

た中和剤、高分子ポリマー含有組成物の総量に対する塩化ナトリウム濃度、機械的せん断処理の有無を下表に示す。

[0145]

検体 番号	高分子ポリマー (酸性ポリマー)					高分子ポリマー含有組成物		
	種類	架橋型 / 非架橋型	加水基 含有 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子の 径 (μm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	機械的 せん断
C#0 1	ポリ アクリル 酸ホモ ポリマー	架橋型	60.5	—	13 (せん断処理後)	L-Arg	0	あり
C#0 2					13 (せん断処理後)	L-Arg	0	あり
C#0 3					13 (せん断処理後)	L-Arg	0	あり
C#0 4		非架橋型	62.5	2000	—	NaOH	0	なし
C#0 5						NaOH	0	なし
C#0 6		非架橋型	62.5	400~500	—	不含	0	なし
C#0 7						不含	0	なし
C#1 1	ヒアルロン酸[グリコ サミノグリカンの非架 橋型直鎖状ホモポリ マー]	11.9	約60万	—	不含	0	なし	
C#1 2					不含	0	なし	
C#1 3	コンドロイチン硫酸ナ トリウム[N-アセチル D-ガラクトサミン(硫 酸基)とD-グルクロン 酸の非架橋型直鎖状 コポリマー]	9.4	2~3万	—	不含	0	なし	
C#1 4					不含	0	なし	
—:測定不可								

[0146]

検体 番号	高分子ポリマー (中性ポリマー)					高分子ポリマー含有組成物		
	種類	架橋型 / 非架橋型	加水基基 含量 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子の モード径 (μm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	機械的 せん断
C#08	ヒドロメロース [ヒドロキシプロピル メチルセルロース非 架橋型コポリマー]	0	約30万	—	不含	0	なし	
C#09					不含	0	なし	
C#10					不含	0	なし	
C#15	ポリビニルアルコー ル(部分けん化物) [ビニルアルコールと 酢酸ビニルの非架橋 型コポリマー]	0	—	—	不含	0	なし	
C#16					不含	0	なし	
C#21	マクロゴール4000 [エチレングリコール の非架橋型ホモポリ マー]	0	4000	—	不含	0	なし	
C#22					不含	0	なし	
—:測定不可または測定不実施								

[0147]

検体 番号	高分子ポリマー (塩基性ポリマー)					高分子ポリマー含有組成物		
	種類	架橋型 / 非架橋型	加水キル基 含量 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子の 平均径 (μm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	機械的 せん断
C#1 7	キチン[β 1-4-N-アセ チルグルコサミンの 非架橋型直鎖状ホモ ポリマー]	0	—	53.1 μm	不含	0	なし	
C#1 8					不含	0	なし	
C#1 9	キトサン[β 1-4-N-グ ルコサミンの非架橋 型直鎖状ホモポリマ ー]	0	—	109 μm	不含	0	なし	
C#2 0					不含	0	なし	
—:測定不可								

[0148] (3) - 1 高分子ポリマー不含有ワクチン製剤 (検体番号C#00)

抗原原液とPBS (リン酸生理食塩水) を 1 : 1 (体積比) で混合して、抗原

濃度0.1 w/v%の高分子ポリマー不含有ワクチン製剤を得た。

(3) - 2 高分子ポリマー含有ワクチン製剤の調製

抗原原液と高分子ポリマー含有組成物とを1 : 1 (体積比) で混合して、抗原濃度0.1w/v%のワクチン製剤を得た。

[0149] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (経鼻粘膜接種)

(方法)

ワクチン製剤をBALB/cマウス (雌、7週齢) の両鼻孔に5 μ Lずつ (計10 μ L : 抗原量 10 μ g) を2週間隔で2回接種し (各群10匹)、2回目の接種から2週間後に血液および鼻腔洗浄液を回収し、マイクロプレート測定用リーダー (450 nm) で吸光度を測定し、鼻腔洗浄液OVA特異的IgA、血中OVA特異的IgGの量を求めた。

[0150] (結果)

結果 (n = 10の平均値) を下表に示す。

(考察)

架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー (カルボキシル基含量が60.5~62.5質量%) を含有するC#01~C#07は血中OVA特異的IgGにおいて、ポリマー不含有のC#00と比較して抗体産生の向上を示した。

カルボキシル基含量が60.5質量%の架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーを含有するC#01~C#03鼻腔洗浄液OVA特異的IgAおよび血中OVA特異的IgGにおいて、ポリマー不含有のC#00と比較して抗体産生の向上を示した。

ポリマー不含有のC#00と比較して、卵白アルブミン抗原抗原とカルボキシル基含量60.5質量%の酸性ポリマーである架橋型アクリル酸系ホモポリマーであり機械的せん断を付加しポリマー粒子径が1.3 μ mであるC#01、C#02、C#03で、強力な抗体産生増強効果が認められた。

[0151]

	検体 番号	ワクチン製剤の殺菌に対する ポリマー/公知アジュバントの濃度 (w/v%) [投与量 (μg/投与)]	鼻腔洗浄液 OVA 特異的IgA	血中OVA 特異的IgG
酸 性 ポ リ マ ー	C#00	0% [0μg]	0.0011	0.0094
	C#01	0.10% [10μg]	0.3130	0.5187
	C#02	0.35% [35μg]	0.4753	0.8393
	C#03	0.55% [55μg]	0.8370	1.0583
	C#04	0.35% [35μg]	0.0004	0.0134
	C#05	0.55% [55μg]	0.0007	0.0251
	C#06	0.35% [35μg]	0.1818	0.3872
	C#07	0.55% [55μg]	0.3994	0.5429
	C#11	7.00% [700μg]	0.0056	0.0322
	C#12	9.25% [925μg]	0.0198	0.0260
	C#13	7.00% [700μg]	0.0049	0.0397
	C#14	9.25% [925μg]	0.0071	0.0276

[0152]

	検体 番号	ワクチン製剤の範囲に対する ポリマー/公知アジュバントの濃度 (w/v%) [投与量 (μg/投与)]	鼻腔洗浄液 OVA 特異的IgA	血中OVA 特異的IgG
中性 ポリマー	C#08	0.55% [55μg]	0.0086	0.0264
	C#09	0.80% [80μg]	0.0055	0.0286
	C#10	0.80% [80μg]	0.0072	0.0103
	C#15	10.0% [1mg]	0.0001	0.0021
	C#16	12.5% [1.25mg]	0.0000	0.0228
	C#21	40.0% [4mg]	0.0458	0.1472
	C#22	50.0% [5mg]	0.0096	0.0247

[0153]

	検体 番号	ワクチン製剤の範囲に対する ポリマー/公知アジュバントの濃度 (w/v%) [投与量 (μg/投与)]	鼻腔洗浄液 OVA 特異的IgA	血中OVA 特異的IgG
塩基性 ポリマー	C#17	0.80% [80μg]	0.3380	0.5421
	C#18	1.40% [140μg]	0.1827	0.5322
	C#19	0.80% [80μg]	0.1907	0.6297
	C#20	1.40% [140μg]	0.3911	0.8357

[0154] [試験例4] マウスでの抗体産生誘導能試験（皮下接種、SARS-CoV-2 S1タンパク質）

[0155] 1. ワクチン製剤の調製

(1) 高分子ポリマー不含有ワクチン製剤（検体番号IA#00）

SARS-CoV-2 S1 タンパク質と生理食塩水（NaCl濃度0.9 w/v%）を均質になるまで混合して、ワクチン製剤を得た。ワクチン製剤 200 μL中には3 μgのSARS-CoV-2 S1 タンパク質が含まれた。

(2) 高分子ポリマー含有ワクチン製剤 (検体番号IA#01)

SARS-CoV-2 S1 タンパク質および架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー (カルボキシル基含量 61.5質量%、ポリマー粒子のモード径2.2 μm) を生理食塩水 (NaCl濃度0.9 w/v%) に入れ、水酸化ナトリウムで中和し、均質になるまで混合して、ワクチン製剤を得た。ワクチン製剤 200 μL 中には、3 μg のSARS-CoV-2 S1 タンパク質と600 μg の架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーが含まれた。

[0156] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (皮下接種)

ワクチン製剤 (200 μL) をBALB/cマウス (雌、6週齢) に2週間間隔で2回皮下接種し (各群4匹)、最終接種から2週間後に血清を回収して、血清中SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的IgGの抗体価を測定することにより抗体産生誘導能を解析した。

[0157] (結果)

結果 (n=4の平均値) を下表に示す。

[0158]

検体 番号	SARS-CoV-2 S1 タンパク質 投与量 (μg /投与)	ワクチン製剤の総量に 対するポリマー濃度 [投与量 (μg /投与)]	血清中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的 IgG1 (titer)	血清中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的 IgG2a (titer)
IA#00 (コントロール)	3 μg	0 w/v% [0 μg]	22000	625
IA#01	3 μg	0.3 w/v% [600 μg]	13312000	208000

[0159] (考察)

架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー [カルボキシル基含量 61.5 質量%] は抗原SARS-CoV-2 S1 タンパク質と共に皮下接種したとき、当該抗原の抗体産生誘導能を向上した。

[0160] 「試験例5」 マウスでの抗体産生誘導能試験 (皮下接種、インフルエンザスプリット抗原)

[0161] 1. ワクチン製剤の調製

(1) 高分子ポリマー不含有ワクチン製剤 (検体番号IB#00)

インフルエンザスプリット抗原 [H1N1] と生理食塩水 (NaCl濃度0.9 w/v%)

）を均質になるまで混合して、ワクチン製剤を得た。ワクチン製剤 200 μ L 中には1 μ gHAのインフルエンザスプリット抗原が含まれた。

(2) 高分子ポリマー含有ワクチン製剤 (検体番号IB#01、IB#02)

架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー (カルボキシル基含量 60.7質量%) を生理食塩水 (NaCl濃度0.9 w/v%) に入れ、水酸化ナトリウムで中和し、均質になるまで混合した。得られた混合物を断続ジェット流発生型高速攪拌装置を用いて機械的せん断力を与えて、当該高分子ポリマー含有組成物に含まれるポリマーの粒子径を調整した。機械的せん断処理後の高分子ポリマー含有組成物に含まれるポリマーの粒子のモード径は0.71 μ mであった。得られた機械的せん断処理後の高分子ポリマー含有組成物とインフルエンザスプリット抗原を均質になるまで混合して、ワクチン製剤を得た。

検体番号IB#01のワクチン製剤 200 μ L中には1 μ gHAのインフルエンザスプリット抗原と60 μ gの架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーが含まれた。

検体番号IB#02のワクチン製剤 200 μ L中には1 μ gHAのインフルエンザスプリット抗原と600 μ gの架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーが含まれた。

[0162] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (皮下接種)

ワクチン製剤 (200 μ L) をBALB/cマウス (雌、6週齢) に2週間間隔で2回皮下接種し (各群4匹)、最終接種から2週間後に血清を回収して、血清中インフルエンザスプリット抗原特異的抗体量を測定することにより抗体産生誘導能を解析した。

[0163] (結果)

結果 (n=4の平均値) を下表に示す。

(考察)

高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー [カルボキシル基含量 60.7質量%、ポリマー粒子のモード径0.71 μ m (せん断処理後) に調整] はインフルエンザスプリットワクチン抗原と共に皮下接種したとき、当該抗原の抗体産生誘導能を向上した。

[0164]

検体番号	インフルエンザスプリット抗原 投与量 (μ gHA/投与)	ワクチン製剤の総量に 対するポリマー濃度 [投与量 (μ g/投与)]	血清中インフルエンザ スプリット抗原特異的 IgG1 (ng/mL)	血清中インフルエンザ スプリット抗原特異的 IgG2a (ng/mL)
IB#00 (コントロール)	1 μ gHA	0 w/v% [0 μ g]	45143	33985
IB#01	1 μ gHA	0.03 w/v% [60 μ g]	207113	216734
IB#02	1 μ gHA	0.3 w/v% [600 μ g]	209326	1224627

[0165] [試験例 6] マウスでの抗体産生誘導能試験（経鼻粘膜接種、インフルエンザスプリット抗原、その 2）

[0166] 1. ワクチン製剤の調製

(1) 抗原原液の調製

インフルエンザスプリット抗原 [H1N1] を生理食塩水に均質になるまで混合し、抗原原液（抗原濃度 0.02HA w/v%）を得た。

(2) - 1 検体番号 D#01～D#08 に用いた高分子ポリマー含有組成物の調製

高分子ポリマーを精製水に入れ、pH 調節が必要な場合は、水酸化ナトリウムまたは L-アルギニンで中和し、均質になるまで混合して、組成物を得た。「機械的せん断処理あり」の高分子ポリマー含有組成物については、得られた組成物を断続ジェット流発生型高速攪拌装置を用いて機械的せん断力を与えて、当該組成物に含まれるポリマーの粒子径（モード径）を約 0.7～0.9 μ m に調整した。ついで、その他の添加剤を含有する高分子ポリマー含有組成物については、その他の添加剤（ポリソルベート 80；グリセリン；マクロゴール 4000；マクロゴール 4000 およびポリソルベート 80）を添加した。

(2) - 2 ポリマー粒子のモード径測定

抗原（およびその他の添加物）と混合する前の各高分子ポリマーのモード径をレーザー回折式粒度分布測定装置（Shimazu SALD-7000）、動的光散乱式粒度分布測定装置（UPT-UT 151）を用いて測定した。なお、非架橋型ポリア

クリル酸ホモポリマーについては、レーザー回折式粒度分布測定装置では測定不可能であったため、動的光散乱式粒度分布測定装置（UPT-UT 151）で測定した。

機械的せん断力を与えた高分子ポリマー含有組成物については、機械的せん断力を与えた後（その他の添加剤を含有する高分子ポリマー含有組成物については、その他の添加剤を添加する前）の高分子ポリマー含有組成物を検体としてレーザー回折式粒度分布測定装置によりポリマー粒子のモード径を測定した。

[0167] ワクチン製剤の調製に使用した、高分子ポリマーの詳細およびポリマー粒子のモード径の測定結果；および当該高分子ポリマーを用いて製した高分子ポリマー含有組成物の調製に使用した中和剤、高分子ポリマー含有組成物の総量に対する塩化ナトリウム濃度、高分子ポリマー含有組成物の総量に対するその他の添加物の種類と濃度、機械的せん断処理の有無を下表に示す。

検体番号	高分子ポリマー				高分子ポリマー含有組成物			
	ポリマー名	カルボキシ基含量 (質量%)	質量平均 分子量	ポリマー粒子 のモード径	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	その他の添加剤 (質量%)	機械的せん断
D#01	高架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.891 μ m (せん断処理後)	L-Arg	0%	—	あり
D#02	高架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.895 μ m (せん断処理後)	L-Arg	0%	ポリソルベート80 0.4%	あり
D#03	高架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.901 μ m (せん断処理後)	L-Arg	0%	グリセリン 20%	あり
D#04	非架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	62.5 %	15万	164 nm	NaOH	0%	—	なし
D#05	非架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	62.5 %	15万	164 nm	NaOH	0%	マクロゴール4000 20%	なし
D#06	低架橋型ポリアクリル酸 ナトリウムホモポリマー	61.7 %	100~200万	12188 μ m	—	0%	—	なし
D#07	高架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.708 μ m (せん断処理後)	L-Arg	0 %	マクロゴール4000 20%	あり
D#08	高架橋型ポリアクリル酸 ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.894 μ m (せん断処理後)	L-Arg	0%	マクロゴール4000 20% ポリソルベート80 0.4%	あり

D#01、D#02、D#03、D#07、D#08の高分子ポリマー含有組成物は、同じ架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーを原料に、それぞれせん断処理等して調製した。

[0168] (3) - 1 高分子ポリマー含有ワクチン製剤 (検体番号D#01～D#08)

抗原原液と高分子ポリマー含有組成物とを1 : 1 (体積比) で混合して、
抗原濃度0.01HA w/v%の高分子ポリマー含有ワクチン製剤を得た。

[0169] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (経鼻粘膜接種)

(方法)

ワクチン製剤 (D#01～D#08) をBALB/cマウス (雌、6週齢) の両鼻孔に5 μ Lずつ (計10 μ L : 抗原量 1 μ g) 単回接種し (各群4匹)、接種2週間後に鼻腔洗浄液及び肺胞洗浄液を回収し、鼻腔洗浄液及び肺胞洗浄液中のインフルエンザHA抗原特異的IgAの抗体価を測定することにより抗体産生誘導能を解析した。高分子ポリマーの投与量は下表に示す。

(結果)

結果 (n = 4の平均値) を下表に示す。

検体番号	ワクチン製剤の総量に対する ポリマーアジュバントの濃度 (w/v%) [投与量 (μ g/投与)]	鼻腔洗浄液中の インフルエンザHA 抗原特異的IgA (OD450値)	肺胞洗浄液中の インフルエンザHA 抗原特異的IgA (OD450値)
D#01	0.55 % [55 μ g]	0.7534	0.4279
D#02	0.55 % [55 μ g]	3.3563	1.1104
D#03	0.55 % [55 μ g]	2.2735	0.5739
D#04	0.55 % [55 μ g]	0.2194	0.0662
D#05	0.55 % [55 μ g]	0.2583	0.0831
D#06	0.55 % [55 μ g]	0.3427	0.0854
D#07	0.55 % [55 μ g]	1.8014	0.5957
D#08	0.55 % [55 μ g]	1.7496	0.3251
無処置	—	0.0648	0.0716

[0170] (考察)

接種量を両鼻孔に5 μ Lずつ (計10 μ L) と鼻腔に局限した免疫とすることで、より明確に各ポリマーの抗体産生誘導能の差を検証できた。

無処置と比較した場合、非架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー (D#04、D#05) 並びに架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーであるが、低架橋型 (カルボキシル基含量 61.7%) であり分子量も100～200万の場合 (D#06) は抗体産生誘導能の上昇は確認できた。

架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーであり、高架橋型（カルボキシル基含量 60.5%）であり分子量も500万以上、機械的せん断を付加している場合（D#01）は抗体産生誘導能の著しい上昇を示した。

さらに、架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーであり、高架橋型（カルボキシル基含量 60.5%）であり分子量も500万以上、機械的せん断を付加している場合、多価アルコールであるグリセリン、マクロゴール4000を配合（D#03、D#07、D#08）、非イオン性界面活性剤であるポリソルベート80を配合（D#02、D#08）することによりさらに抗体産生誘導能は上昇した。

特に、高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーであり分子量が500万以上、機械的せん断を付加して、非イオン性界面活性剤であるポリソルベート80を添加する（D#02）ことにより、インフルエンザHA抗原特異的IgAが鼻腔洗浄液中にも肺胞洗浄液中にもその産生が認められ、抗体産生誘導能は飛躍的に上昇することが判明した。

[0171] 〔試験例7〕 マウスでの抗体産生誘導能試験（経鼻粘膜接種、SARS-CoV-2 S1 タンパク質、その2）

[0172] 1. ワクチン製剤の調製

（1）抗原原液の調製

SARS-CoV-2 S1 タンパク質を生理食塩水に均質になるまで混合し、抗原原液（抗原濃度0.02 w/v%）を得た。

（2）－1 検体番号E#01～E#13に用いた高分子ポリマー含有組成物の調製

高分子ポリマーを精製水または塩化ナトリウム水溶液に入れ、水酸化ナトリウムまたはL-アルギニンで中和し、均質になるまで混合して、組成物を得た。「機械的せん断処理あり」の高分子ポリマー含有組成物については、得られた組成物を断続ジェット流発生型高速攪拌装置を用いて機械的せん断力を与えて、当該組成物に含まれるポリマーの粒子径（モード径）を約0.7～0.9 μ mに調整した。ついで、その他の添加剤を含有する高分子ポリマー含有組成物については、その他の添加剤を添加した。

(2) - 2 ポリマー粒子のモード径測定

抗原（およびその他の添加物）と混合する前の各高分子ポリマーのモード径をレーザー回折式粒度分布測定装置（Shimazu SALD-2300、Shimazu SALD-7000）を用いて測定した。

機械的せん断力を与えた高分子ポリマー含有組成物については、機械的せん断力を与えた後（その他の添加剤を含有する高分子ポリマー含有組成物については、その他の添加剤を添加する前）の高分子ポリマー含有組成物を検体としてレーザー回折式粒度分布測定装置によりポリマー粒子のモード径を測定した。

[0173] ワクチン製剤の調製に使用した、高分子ポリマーの詳細およびポリマー粒子のモード径の測定結果；および当該高分子ポリマーを用いて製した高分子ポリマー含有組成物の調製に使用した中和剤、高分子ポリマー含有組成物の総量に対する塩化ナトリウム濃度、高分子ポリマー含有組成物の総量に対するその他の添加物の種類と濃度、機械的せん断処理の有無を下表に示す。

検体番号	高分子ポリマー				高分子ポリマー含有組成物			
	ポリマー名	カルボキシル基含量 (質量%)	質量平均分子量	ポリマー粒子のモード径 (μm)	中和剤	NaCl濃度 (質量%)	その他の添加剤 (質量%)	機械的せん断
E#01	低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	61.7 %	500万以上	11.220 μm	L-Ar g	0.45 %	—	なし
E#02	低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	61.7 %	500万以上	0.089 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 2.0%	あり
E#03	低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	61.7 %	500万以上	0.891 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 2.0%	あり
E#04	低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	61.7 %	500万以上	0.018 μm	NaOH	0 %	マクロゴール4000 2.0%	あり
E#05	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.891 μm	L-Ar g	0 %	—	あり
E#06	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.708 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 2.0%	あり
E#07	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.891 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール400 2.0%	あり
E#08	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.708 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール20000 2.0%	あり
E#09	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.891 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 0.2%	あり
E#10	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.769 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 1.0%	あり
E#11	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.695 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 0.0%	あり
E#12	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.891 μm	L-Ar g	0 %	マクロゴール4000 2.0%	あり
E#13	高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマー	60.5 %	500万以上	0.708 μm	NaOH	0 %	マクロゴール4000 2.0%	あり
E#02～E#04の高分子ポリマー含有組成物は、E#01と同じ低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーを原料に、それぞれせん断処理等して調製した。								
E#05～E#13の高分子ポリマー含有組成物は、同じ高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーを原料に、それぞれせん断処理等して調製した。								

[0174] (3) - 1 高分子ポリマー含有ワクチン製剤 (検体番号E#01～E#13)

抗原原液と高分子ポリマー含有組成物とを1 : 1 (体積比) で混合して、抗原濃度0.01HA w/v%の高分子ポリマー含有ワクチン製剤を得た。

[0175] 2. マウスでの抗体産生誘導能試験 (経鼻粘膜接種)

(方法)

ワクチン製剤 (E#01～E#13) をBALB/cマウス (雌、6週齢) の両鼻孔に15 μLずつ (計30 μL : 抗原量 3 μg) 単回接種し (各群4匹)、接種3週間後に

鼻腔洗浄液及び肺胞洗浄液を回収し、鼻腔洗浄液 SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的IgA 及び肺胞洗浄液 SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的IgA の抗体価を測定することにより抗体産生誘導能を解析した。高分子ポリマーの投与量は下表に示す。

(結果)

結果 (n=4の平均値) を下表に示す。

検体 番号	ワクチン製剤の総量に対する ポリマーアジュバントの濃度 (w/v%) [投与量 (μg/投与)]	鼻腔洗浄液中の SARS-CoV-2 S1 タンパク質 抗原特異的IgA (titer)	肺胞洗浄液中の SARS-CoV-2 S1 タンパク質 抗原特異的IgA (titer)
E#01	0.55 % [165μg]	15	570
E#02	0.55 % [165μg]	45	9280
E#03	0.55 % [165μg]	45	4640
E#04	0.55 % [165μg]	35	9120
E#05	0.55 % [165μg]	45	685
E#06	0.55 % [165μg]	85	9315
E#07	0.55 % [165μg]	70	2060
E#08	0.55 % [165μg]	75	17920
E#09	0.55 % [165μg]	85	4480
E#10	0.55 % [165μg]	50	9120
E#11	0.55 % [165μg]	60	13760
E#12	1.00 % [300μg]	35	3440
E#13	0.55 % [165μg]	25	7040

[0176] (考察)

低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーでも高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーであってもポリエチレングリコールを添加することにより、特に肺胞洗浄液中のSARS-CoV-2特異的IgA抗体価の著しい抗体産生誘導能の上昇を認めた。(ポリエチレングリコール添加なし [E#01、E#05] と比較して)

低架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーにおいては、ポリエチレングリコールの添加による効果は認められるが、ポリマー粒子の粒子径を $0.1\mu\text{m}$ 以下にコントロールすることにより、抗体産生誘導能が上昇した。

高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーにおいては、ポリエチレングリコールの添加による効果はポリマー粒子径に依存することなく $0.7\sim 0.9\mu\text{m}$ にコ

ントロールすることで、抗体産生誘導能が上昇した。（〔E#05〕と〔E#06〕の比較）

高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーにおいては、ポリエチレングリコールの効果は同一濃度（1.0％）である場合、マクロゴール400〔E#07〕＜マクロゴール4000〔E#06〕＜マクロゴール20000〔E#08〕と分子量が大きくなるに伴い、肺胞洗浄液中のSARS-CoV-2特異的IgA抗体価の抗体産生誘導能も上昇を認めた。

高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーにおいては、ポリエチレングリコール4000を用いた場合、添加量が0.1％〔E#09〕、0.5％〔E#10〕、1.0％〔E#06〕、5.0％〔E#11〕と増加するに伴い、肺胞洗浄液中のSARS-CoV-2特異的IgA抗体価の抗体産生誘導能も上昇を認めた。

高架橋型ポリアクリル酸ホモポリマーにおいては、ポリマー量を増やしても〔E#12〕、中和剤を変更〔E#13〕しても抗体産生誘導能上昇は認められなかった。

産業上の利用可能性

[0177] 本発明ポリマーはワクチンアジュバントとして使用されうる。

請求の範囲

- [請求項1] アクリル酸を構成単位とし、かつ、カルボキシル基含量が60.0～62.5質量%である高分子ポリマーを含む、ワクチンアジュバント剤。
- [請求項2] 該高分子ポリマーがポリアクリル酸および／またはその塩である、請求項1に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項3] 該高分子ポリマーが架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、かつ、ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～62.0質量%であり、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μm である、請求項1または2に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項4] 該高分子ポリマーが架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、かつ、ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～62.0質量%であり、機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～10 μm に調整されている、請求項1～3のいずれか1項に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項5] ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～61.0質量%である、請求項4に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項6] 機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.1～2.0 μm に調整されている、請求項5に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項7] ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が61.0質量%より大きくかつ62.0質量%以下である、請求項4に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項8] 機械的せん断力を付加することにより該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.05～0.1 μm に調整されている、請求項7に記載のワクチンアジュバント剤。

- [請求項9] 該高分子ポリマーが架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が60.0～62.0質量%であり、かつ、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が0.1～50 μ mである、請求項1または2に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項10] 該高分子ポリマーは機械的せん断力が付加されていない、請求項9に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項11] 該高分子ポリマーが非架橋型のポリアクリル酸および／またはその塩であり、かつ、該高分子ポリマーの質量平均分子量が5万～30万の範囲である、請求項1または2に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項12] ポリアクリル酸としての該カルボキシル基含量が62.0～62.5質量%である、請求項11に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項13] 水をさらに含有する、請求項1～12のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項14] 該ワクチンアジュバント剤は該高分子ポリマーおよび水を含有し、かつ塩化ナトリウム、水酸化ナトリウム、およびL-アルギニンからなる群から選択される少なくとも1つの添加剤を任意に含有し、
該高分子ポリマーおよび該水からなる組成物（ただし、該ワクチンアジュバント剤が該少なくとも1つの添加剤を含有するとき、前記の組成物は該少なくとも1つの添加剤を含有してもよい）に機械的せん断力を付加することにより、該高分子ポリマーの粒子の個数基準のモード径が調整されている、請求項3～9および13のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項15] 塩化ナトリウムが該ワクチンアジュバント剤の総質量に対して0.1～1.5質量%含まれる、請求項1～14のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項16] 水酸化ナトリウムおよび／またはL-アルギニンをさらに含有する、請求項1～15のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。

- [請求項17] L-アルギニンをさらに含有する、請求項1～16のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項18] pHが6～8である、請求項1～17のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項19] 該高分子ポリマーが該ワクチンアジュバント剤の総質量に対して0.01～50質量%含まれる、請求項1～18のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項20] エーテル型の非イオン界面活性剤およびエステル・エーテル型の非イオン界面活性剤からなる群から選択される少なくとも1つの非イオン界面活性剤をさらに含有する、請求項1～19のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項21] 該非イオン界面活性剤がポリソルベート80である、請求項20に記載のワクチン組成物。
- [請求項22] ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、および1,3-ブチレングリコールからなる群から選択される少なくとも1つの多価アルコールをさらに含有する、請求項1～21のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項23] 該多価アルコールがポリエチレングリコールである、請求項22に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項24] 病原体由来抗原に対する免疫応答を高めるための、請求項1～23のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項25] 該病原体に起因する疾患が呼吸器疾患である、請求項24に記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項26] エンベロープウイルス由来抗原に対する免疫応答を高めるための、請求項1～25のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項27] コロナウイルスおよびインフルエンザウイルスからなる群から選択される少なくとも1つのウイルス由来抗原に対する免疫応答を高めるための、請求項1～26のいずれか1つに記載のワクチンアジュバン

ト剤。

- [請求項28] 注射投与および粘膜投与から選択される投与のための、請求項1～27のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項29] 1投与あたりの該高分子ポリマーの投与量が $1\mu\text{g}$ ～ 100mg である、請求項1～28のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤。
- [請求項30] 抗原に対する免疫応答を高める方法であって、それを必要とする対象にワクチンアジュバントとして有効量の請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤を投与することを含む方法。
- [請求項31] 抗原に対する免疫応答を高めるための、請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。
- [請求項32] 抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、それを必要とする対象にワクチンアジュバントとして有効量の請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤を抗原と組み合わせて投与することを含む、方法。
- [請求項33] 抗原に対する免疫応答の誘導における、請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。
- [請求項34] 病原体に起因する疾患を予防する方法であって、それを必要とする対象にワクチンアジュバントとして有効量の請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤を病原体抗原と組み合わせて投与することを含む、方法。
- [請求項35] 病原体に起因する疾患の予防における、請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。
- [請求項36] 抗原に対する免疫応答を高めるための、抗原に対する免疫応答を誘導するための、または病原体に起因する疾患を予防するための医薬の製造における、請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバント剤の使用。
- [請求項37] (i) 請求項1～29のいずれか1つに記載のワクチンアジュバン

ト剤、および (i i) 抗原を含有するワクチン組成物。

- [請求項38] (i) ワクチンアジュバントとして有効量の高分子ポリマー、および (i i) 抗原を含有するワクチン組成物であって、該高分子ポリマーはアクリル酸を構成単位とし、かつ、カルボキシル基含量が60.0～62.5質量%である、ワクチン組成物。
- [請求項39] 該抗原が病原体由来抗原である、請求項37または38に記載のワクチン組成物。
- [請求項40] 該病原体に起因する疾患が呼吸器疾患である、請求項39に記載のワクチン組成物。
- [請求項41] 該抗原が、エンベロープウイルス由来抗原である、請求項37～40のいずれか1つに記載のワクチン組成物。
- [請求項42] 注射投与および粘膜投与から選択される投与のための、請求項37～41のいずれか1つに記載のワクチン組成物。
- [請求項43] 該高分子ポリマーが、質量比で、抗原：該高分子ポリマー＝1：0.1～1：1000の範囲で含まれる、請求項37～42のいずれか1つに記載のワクチン組成物。
- [請求項44] 該抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、それを必要とする対象に有効量の請求項37～43のいずれか1つに記載のワクチン組成物を投与することを含む、方法。
- [請求項45] 該抗原に対する免疫応答を誘導するための、請求項37～43のいずれか1つに記載のワクチン組成物の使用。
- [請求項46] 病原体に起因する疾患を予防する方法であって、それを必要とする対象に有効量の請求項37～43のいずれか1つに記載のワクチン組成物を投与することを含む、方法。
- [請求項47] 病原体に起因する疾患を予防するための、請求項37～43のいずれか1つに記載のワクチン組成物の使用。