

明 細 書

発明の名称：

鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位とする経鼻ワクチン噴霧用製剤

技術分野

[0001] 本発明は、鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位とする噴霧パターンを最適化した基剤、および抗原を含む経鼻ワクチン噴霧用製剤に関する。

背景技術

[0002] 現在実用化しているワクチンは、皮下・筋肉内注射により接種されている。また、全身および防御バリアの最前線である鼻腔内の粘膜への免疫応答誘導を促進し、投与の際の煩雑な操作や痛みを避けるための非侵襲的投与として、経鼻投与としてのワクチン接種が注目され、多くの研究、開発がされており、一部生ワクチンでは実用化もされている。

[0003] ワクチン接種を目的とした経鼻投与においては、通常の点鼻薬に用いられる噴霧では、噴霧された製剤の展着性・滞留性に問題があり、それらを改善する製剤用基剤として、特許文献1では外部からせん断力を与えて処理したカルボキシビニルポリマーを含有するスプレー投与ゲル基剤とすることで、展着性・滞留性が改善され、液だれの軽減、抗原の鼻粘膜での適正保持、使用感の向上等の効果が得られた。更に、特許文献2ではインフルエンザウイルス不活化全粒子に、このスプレー投与ゲル基剤を用いることで、アジュバントを用いることなく、点鼻投与では得られにくかった有効な免疫応答を得ることに成功した。

[0004] しかしながら、上記の改善された噴霧技術においては、微細な噴霧密度が均一で、鼻腔の前半部分の鼻粘膜には広く均一に到達するが、それより深部、すなわちワクチンの免疫応答において重要と考えられている鼻咽頭に、直接的に到達する製剤量は多くはない。ただ、直接的に噴霧により鼻咽頭に到達していなくても、鼻粘膜に補足された製剤がムコシリアリークリアランスや単純な液ダレにより下鼻道に流れ、鼻咽頭に移動していくことも期待され

るが、ワルダイエルリングを形成する鼻咽頭の咽頭扁桃（アデノイド）、耳管扁桃、口蓋扁桃、咽頭後壁リンパ濾胞には十分にワクチン製剤が到達できず、より高度に免疫応答を得る上ではこの点が課題であった。

- [0005] また、鼻腔内深部の鼻咽頭に噴霧する噴霧器についても検討がなされ、特許文献3においては、ノーズレスト付きノズルを用いた点鼻用噴霧・噴射デバイスが考案されているが、ここでの噴霧は鼻咽頭の深部に集中しているため前半部分の鼻粘膜への噴霧はほとんどなく、効果を高めるために鼻粘膜と鼻咽頭に同時に直接的に薬剤を到達させる点においては、なお課題があった。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：WO 2007／123193
特許文献2：WO 2014／103488
特許文献3：WO 2021／066195

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0007] 鼻孔から鼻咽頭までは、直線的には極めて狭い下鼻道上部の空間的領域として通じている。よって鼻孔から挿入した噴霧用のノズルからの噴霧で、標的部位として鼻咽頭（上咽頭）に多量の製剤を到達させるためには、噴霧角度を極端に狭くして、ほぼ直線的に噴射する必要があった。しかし、この噴霧では噴霧角度が狭いために、その方向がわずかに鼻中隔側や鼻甲介側、または上下にずれるだけで、標的部位への到達量が極端に減ってしまうことになる。また、鼻咽頭への噴霧が有効である一方、鼻腔の前半部位の鼻粘膜への噴霧も有効な免疫応答の観点からは必要であるが、噴霧角度を狭くして噴霧することで、その途中の鼻粘膜にはほとんど付着していないということになってしまう。

よって、鼻粘膜と鼻咽頭に同時に製剤を噴霧できるよう、噴霧された製剤

ミストの中心部は鼻咽頭に到達し、外周部は手前の鼻粘膜に補足されるような、極端に角度を狭くすることなく、噴霧パターンにおいて中心部の密度の濃い噴霧パターンに最適化された性能を有する製剤とする必要があった。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、上記問題点に鑑み、鋭意検討した結果、架橋型ポリアクリル酸に噴霧パターンを最適化する目的でポリエチレングリコールを添加することにより、噴霧パターンがフルコーン且つ山形分布となることを見出し、鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位とすることが可能な経鼻ワクチン用基剤が得られることを確認した。これにより、その基剤と抗原を混合均一化することにより経鼻ワクチン噴霧剤が得られ、免疫誘導に大きく関与する鼻咽頭への到達量を高められることが期待できる。即ち、本発明は、以下に示すとおりである。

[0009] (項1)

架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加した基剤、および抗原を含む、経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0010] (項2)

ポリエチレングリコールがマクロゴール400および／またはマクロゴール4000であり、その配合量が基剤に対して0.1～10.0質量%である、項1に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0011] (項3)

架橋型ポリアクリル酸においてカルボキシル基含量60.0～62.0質量%となるように架橋の位置と密度が調整され、曳糸性を生じない程度まで架橋密度が高いカルボキシビニルポリマーである、項1または2に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0012] (項4)

含まれる基剤が、架橋型ポリアクリル酸を無機塩基および／または塩基性アミノ酸で増粘させ、得られた製剤の粘度を、粘度調節剤および／または外部から機械的せん断力を付加して調整し、次いでポリエチレングリコールを

添加することにより噴霧パターンを最適化して、鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的的部位となる基剤である、項 1 ～ 3 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0013] (項 5)

無機塩基が、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、無機弱酸のナトリウム塩、および／または無機弱酸のカリウム塩であり、

塩基性アミノ酸が、リジン、アルギニン、および／またはオルニチンであり、

粘度調節剤が塩化ナトリウム、塩化カリウム、および／または塩化カルシウムである、

項 4 に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0014] (項 6)

抗原が、生もしくは不活化された、細菌、ウイルス、および／またはマイコプラズマである、項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0015] (項 7)

ウイルスが、新型コロナウイルス、重症急性呼吸器感染症候群 (SARS)、A 型／B 型インフルエンザ等の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、または風疹ウイルス、

細菌が、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、またはジフテリア菌である、項 6 に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0016] (項 8)

抗原がインフルエンザウイルスの全粒子、スプリット抗原、またはサブユニット抗原である、項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0017] (項 9)

抗原が新型コロナウイルスの不活化全粒子、組み換えタンパク質抗原または抗原タンパク質をコードする遺伝子を組み込んだ各種ウイルスベクターである、項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0018] (項 1 0)

抗原が B 型肝炎表面抗原 (H B s 抗原) および／または B 型肝炎ヌクレオキャプシド抗原 (H B c 抗原) である、項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[0019] (項 1 1)

経鼻ワクチン噴霧用製剤に用いるための基剤であって、架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加した基剤。

[0020] (項 1 2)

ノズルが外鼻孔の周辺部に当接して噴霧方向が固定される噴霧用デバイスに、項 1 ～ 1 0 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤を充填した、ワクチン経鼻投与システム。

[0021] (項 1 3)

鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位するために、経鼻ワクチン噴霧用製剤を鼻腔内に片鼻あたりの 1 回の噴霧量が 2 5 0 ～ 7 5 0 μ L の容量で投与して使用することを特徴とする項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

発明の効果

[0022] 本発明の経鼻ワクチン噴霧製剤は、噴霧パターンを最適化する目的で、架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加することにより、鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位とする経鼻ワクチン噴霧用製剤となる。

[0023] さらに噴霧性能を最適化するために、外部から機械的せん断力を付加して処理した架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加することにより、確実に鼻粘膜と鼻咽頭を標的部位として同時に薬剤を到達させることが可能となり、鼻腔粘膜および鼻咽頭に長く展着・滞留することにより、より少ない抗原量で有効な免疫応答を誘導可能とする。

[0024] 本発明によると、抗原を有効成分とし、より少ない抗原量で有効な免疫応答を誘導し、かつ、鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位とすることにより、副作用の少ない経鼻ワクチン噴霧製剤を提供することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0025] [図1]ノズル噴出孔が形成された先端部と、外鼻孔の周辺部に当接可能なノーズレストとを有して成る、点鼻用噴霧・噴射ノズルを示し、それぞれ（A）斜視図、（B）側面図、（C）上面図を示す。

[図2]図1に示す点鼻用噴霧・噴射ノズルにシリンジを装着した噴霧用デバイスを示し、それぞれ（A）斜視図、（B）側面図、（C）上面図を示す。

[図3]対を成すサブノズルを有して成る点鼻用噴霧・噴射ノズルであって、前記サブノズルの各々の先端には噴出孔が設けられており、前記サブノズル同士が連結部を介して互いに連結されており、前記連結部から前記先端に向かって、一方の前記サブノズルの軸と他方の前記サブノズルの軸との離隔距離が広がる、点鼻用噴霧・噴射ノズルを示し、それぞれ（A）斜視図、（B）側面図、（C）上面図を示す。

[図4]図3に示す点鼻用噴霧・噴射ノズルにシリンジを装着した噴霧用デバイスを示し、それぞれ（A）斜視図、（B）側面図、（C）上面図を示す。

[図5]鼻腔構造を示す。

[図6]標的領域への到達試験に用いた鼻腔モデルであり、その正面、側面、後面からの写真を示す。

[図7]図6で示した鼻腔モデルについて、鼻前庭、鼻粘膜（前）、鼻粘膜（後）、鼻咽頭の位置を示す。

[図8]標的領域への到達試験において、トラップ用の試験紙を装着した状態の写真を示す。

[図9]噴霧パターン試験の形状の類型を示す。

[図10]噴霧試験1で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す。

[図11]噴霧試験2で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す。

。

[図12]噴霧試験3で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す

。

[図13]噴霧試験4で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す

。

[図14]噴霧試験5で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す

。

[図15]噴霧試験6で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す

。

[図16]噴霧試験7で用いた試験検体での噴霧パターンの実際のデータを示す

。

[図17] (3) 噴霧プルーム形状および液滴径分布の測定での、撮影した形状と液滴径分布の結果を示す。

[図18] (5) マウスでの抗体産生誘導能試験(2)での血清H I抗体価の結果を示す。グラフの横軸においては、4つの投与容量ごとに基剤A～Hの順に並べて表示(既存アジュバントPoly I:CとODN2006を添加した基剤は、便宜上GとHで示す)。

[図19] (5) マウスでの抗体産生誘導能試験(2)での鼻腔洗浄液I g A抗体価の結果を示す。グラフの横軸の説明は図18と同じ。

発明を実施するための形態

[0026] 本発明は、鼻粘膜と鼻咽頭を標的部位として同時に薬剤を到達させるために、噴霧パターンを最適化する目的で、架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加した鼻粘膜スプレー投与ゲル基剤を提供する。

[0027] 本発明に使用する「架橋型ポリアクリル酸」は、アクリル酸を主成分として重合して得られる親水性ポリマーであり、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、これに限定されない。曳糸性を示さない程度まで架橋

密度の高い架橋型ポリアクリル酸（カルボキシビニルポリマー）を使用するものとする。

ここで、「架橋密度」とは、架橋構造を有する高分子の中で、架橋点（架橋を起こした構造単位）の数の全体の構造単位に対する割合をいうが、架橋密度によりポリマーは流動特性、相対粘度、相対イオン耐性等の特性に差が生じる。架橋型ポリアクリル酸とは、そのポリマー中に含まれる架橋の位置と密度を調整して、その特性を付加したポリアクリル酸をいう。架橋密度が高くなると架橋型ポリマー中のカルボキシル基含量が低下する。「カルボキシル基含量の範囲が60.0～62.0質量%となるように架橋の位置と密度が調整され、曳糸性を生じない程度まで架橋密度が高いカルボキシビニルポリマー」とは、カルボキシル基含量が60.0%から62.0%の範囲にあり、特に好ましいのは、60.0%から61.0%の範囲にあり、具体的には、カーボポール940NF、カーボポール941NF、カーボポール934NF、カーボポール980NF、カーボポール981NF、PW-120、ジュンロンPW-121、ジュンロンPW-312S、アクベックHV-805EG、アクベックHV-801EG等の製品を挙げることができる。

[0028] 本発明に使用する「ポリエチレングリコール」は、「マクロゴール」のことであり、医薬品・医薬品添加剤用に用いられる「マクロゴール」として区別されているものが好ましい。ポリエチレングリコールは高分子化合物のため広範の分子量分布を持つが、その種類は通常、数平均分子量で規定される。一般的に数平均分子量約200から約20000のポリエチレングリコールが使用される。分子量によって液状、ペースト状、固体状の性状を示すが、本発明においては、配合量の増加、分子量の増加により、噴霧パターンがより中心部に集中するため、目標にあわせて配合量、分子量をコントロールして使用する。

本発明に好ましいのは、マクロゴール400および／またはマクロゴール4000であり、その配合量が0.1～10.0質量%の範囲で使用するこ

%の範囲で使用することである。

[0029] 本発明に含有され得る「抗原」としては、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）等に対してワクチンとして作用し得る各種抗原を意味する。具体的には、感染病原体（例えば、ウイルスまたは病原細菌等）または当該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、糖タンパク質、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、抗原の形態としては、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タンパク質、感染防御抗原、中和反応のエピトープ等が挙げられ、感染能を有するものと感染能を喪失させた（不活化抗原）ものが含まれる。構成的には従来型の生ワクチンもしくは不活化されたワクチン以外に、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。

ウイルスベクターとして経鼻ワクチンに用いられるものとしては、鼻粘膜親和性が高いとされているセンダイウイルスベクター、ヒトパラインフルエンザ2型ウイルスベクターなどが例示される。

抗原がウイルスである具体例としては、新型コロナウイルス、重症急性呼吸器感染症候群（SARS）、A型／B型インフルエンザ等の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、風疹ウイルス等、病原菌としては、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、ジフテリア菌等が挙げられる。

[0030] 本発明に使用する「生」の細菌、ウイルス、および／またはマイコプラズマとは、病原体となる細菌、ウイルス、および／またはマイコプラズマの毒

性を弱めて病原性をなくしたものをいい、「不活化」の細菌、ウイルス、および／またはマイコプラズマとは、病原体となる細菌、ウイルス、および／またはマイコプラズマの感染する能力を失わせたものをいう。

[0031] 本発明のワクチン製剤に含まれる抗原の量は、対象疾患、投与対象等により異なるが、抗原特異的抗体（Ig A、Ig G等）を産生するのに十分な量であれば特に限定されるものではない。

[0032] 架橋型ポリアクリル酸を増粘させるために用いる「無機塩基」とは、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、無機弱酸のナトリウム塩、無機弱酸のカリウム塩などが挙げられる。ここで「無機弱酸のナトリウム塩」とは、リン酸水素二ナトリウム水和物が挙げられ、「無機弱酸のカリウム塩」とは、リン酸水素二カリウムが挙げられる。

[0033] 「塩基性アミノ酸」とは、リジン、アルギニン、オルニチンなどが挙げられる。

[0034] 本発明において規定する「粘度」は、例えば、日本薬局方一般試験法の粘度測定法で挙げられている毛細管粘度計法、回転粘度計法などで測定することができる。

[0035] 「粘度調節剤」とは、添加して基剤の粘度を調節するのに用いられる成分であり、例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウムおよび塩化カルシウムよりなる群から選ばれることが望ましい。

[0036] 粘度を調節して噴霧性能を最適化する目的で「外部から機械的せん断力を付加」する装置としては、超音波式、高速回転式、コロイドミル式等の攪拌装置が考えられ、特にホモミキサー型、櫛歯型および断続ジェット流発生型による高速回転式攪拌装置が好ましいがこれらに限定されない。

[0037] 「噴霧パターンを最適化」とは、鼻粘膜と鼻咽頭に同時に製剤を噴霧できるよう、噴霧された製剤ミストの中心部は鼻咽頭に到達し、外周部は手前の鼻粘膜に補足されるような、極端に角度を狭くすることなく、噴霧パターンにおいてフルコーン且つ山形分布となるようにコントロールすることである。例えば図9に示すフルコーン／山形分布である。

[0038] 「標的部位」とは、（１）外鼻孔から鼻弁を経た下鼻甲介先端までの鼻前庭を中心とする部分、（２）下鼻甲介先端から上鼻甲介先端までの鼻粘膜の前半部分、（３）上鼻甲介先端から後鼻孔までの鼻粘膜の後半部分、（４）耳管扁桃、咽頭扁桃を含む鼻咽頭（上咽頭）部分を指す（図 7 を参照）。

[0039] 本発明の経鼻ワクチン噴霧剤は、架橋型ポリアクリル酸、ポリエチレングリコール、および抗原以外に、さらに医薬品として許容されうる担体を含んでいてもよい。前記担体としては、ワクチンおよび鼻腔内投与型剤の製造に通常用いられる担体を使用することができ、具体的には、デキストロース、グリセリン等の等張化剤、保存剤（例、チメロサル）、界面活性剤、安定化剤（例、エデト酸ナトリウム水和物）および不活化剤（例、ホルマリン）等が適宜配合される。担体以外にも、例えば、本発明の経鼻ワクチン噴霧剤は、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）および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等を用いて、抗原に応じて最適な pH に調節される。

[0040] 本発明のワクチンは、鼻孔から鼻腔内へ噴霧投与するものである。ワクチンの投与方法としては、マルチドーズスプレー点鼻容器または両鼻孔に対してポンプ機能を有しないスプレー可能なデバイス、一般的にはポンプ機能を有しないスプレー可能な使い捨てデバイスを用いることができる。

[0041] 本発明の経鼻ワクチン噴霧用剤を鼻腔内に投与する容量としては、片鼻あたりの 1 回の噴霧量が 250～750 μL が好ましく、さらに好ましくは 300～500 μL である。噴霧量に関しては、本発明の経鼻ワクチン噴霧用剤において、同一量の抗原を投与する場合でも、剤投与容量を一定量増加させると抗体産生を増強させる傾向にあり、同効果を検証した後述の実施例でのマウスでの結果と、マウスとヒトとの鼻腔内の表面積の差を考慮して、上記の好ましい噴霧量を示している。

[0042] 具体的に、本発明の「経鼻ワクチン噴霧用剤」を噴霧するためのデバイスとしては、特許文献 1 に開示されているような「噴霧容器の投与方向を任

意に設定して処置する患部に噴霧できるゲル製剤用噴霧容器（上方排圧エアレス式噴霧容器）」、WO 2015/199130に開示されるような「製剤を収容するシリンジバレルに液体連通する先端開口部を有する医療用シリンジ」などが挙げられるが、好ましくは、噴霧用デバイスの鼻に挿入するノズル部分が外鼻孔の周辺部に当接してノズルの方向性が固定されるような噴霧用デバイス、すなわち、「ノズルが外鼻孔の周辺部に当接して噴霧方向が固定される噴霧用デバイス」が用いられる。なお、特許文献1およびWO 2015/199130に開示される内容は、そのまま本明細書の開示内容として組み込まれる。

[0043] 「ノズルが外鼻孔の周辺部に当接して噴霧方向が固定される噴霧用デバイス」の具体例としては、特許文献3に開示されるようなノーズレストを有した噴霧・噴射ノズルを有した噴霧用デバイスが挙げられる（すなわち、「ノズル噴出孔が形成された先端部と、外鼻孔の周辺部に当接可能なノーズレストとを有して成る、点鼻用噴霧・噴射ノズルを備えた噴霧用デバイス」）。具体的には、図1に示されるようなノーズレストがノズルの部分に備えられ、図2に示されるようにシリンジに装着して用いる噴霧用デバイスで、このノーズレストが外鼻孔の入り口に当接して、噴霧用デバイス全体が固定され、噴霧の際噴霧方向が一定となるように設計されたデバイスである。なお、特許文献3に開示される内容は、そのまま本明細書の開示内容として組み込まれる。

[0044] また、「ノズルが外鼻孔の周辺部に当接して噴霧方向が固定される噴霧用デバイス」の別の態様として、図3に示されるような両鼻孔用のノズルを備え、図4に示されるようにシリンジに装着して用いる噴霧用デバイスが挙げられる。具体的には、「対を成すサブノズルを有して成る点鼻用噴霧・噴射ノズルであって、前記サブノズルの各々の先端には噴出孔が設けられており、前記サブノズル同士が連結部を介して互いに連結されており、前記連結部から前記先端に向かって、一方の前記サブノズルの軸と他方の前記サブノズルの軸との離隔距離が広がる、点鼻用噴霧・噴射ノズルを備えた噴霧用デバ

イス」である。

実施例

[0045] 本発明をさらに詳しく説明するために、実施例と製剤の評価試験を示すが、本発明はこれらに限られるものではない。なお、本発明製剤において、抗原を配合することが特に噴霧パターン等に影響がないと考えられることから、噴霧特性の詳細の検討については、抗原を含まない基剤のみで行った。

[0046] 実施例 1

架橋型ポリアクリル酸 (0.55 g) を精製水 (74.45 g) に投入し、均質になるまで攪拌した後、断続ジェット流発生型高速攪拌装置によって機械的せん断を与えて粘度を調節した。精製水 (25.55 g) に水酸化ナトリウム (0.275 g)、塩化ナトリウム (0.45 g) およびマクロゴール 4000 (1.0 g) を溶解し、先の架橋型ポリアクリル酸を含む基剤に加え、均質になるまで攪拌して、無色透明の粘稠な液体として試験検体用の基剤を得た。

[0047] 実施例 2 ～ 8

実施例 1 と同様の方法で、表 1 に示す処方から実施例 2 ～ 8 の基剤を作成した。なお、機械的せん断を加えなかった実施例 2 では、実施例 1 における機械的せん断を加える工程をせずに製造した。

[表1]

成分名\検体番号	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7	実施例8
架橋型 ポリアクリル酸*1	0.55%	0.35%	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%
水酸化ナトリウム	0.27%	—	—	—	—	—	—	—
L-アルギニン	—	0.70%	1.20%	1.20%	1.20%	1.20%	1.20%	1.20%
塩化ナトリウム	0.45%	0.26%	0.40%	0.40%	0.40%	0.40%	0.40%	0.40%
マクロゴール400	—	0.80%	1.00%	—	—	—	—	—
マクロゴール4000	1.00%	—	—	1.00%	—	1.00%	5.00%	10.00%
マクロゴール20000	—	—	—	—	1.00%	—	—	—
精製水	97.73%	97.89%	96.85%	96.85%	96.85%	96.85%	92.85%	87.85%
合計	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
機械的せん断*2	あり	なし	あり	あり	あり	あり	あり	あり
粘度 (mPa・s)	450	500	550	550	550	380	220	130
pH	7.0	6.8	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2
* 1 : ポリアリルペンタエリスリトールで架橋した架橋型ポリアクリル酸 * 2 : 機械的せん断がないものは、上記実施例 1 において機械的せん断を与える工程を省略して行った。								

[0048] 実施例 9

架橋型ポリアクリル酸とポリエチレングリコールを含む基剤に、抗原としてインフルエンザウイルススプリット抗原を含む製剤を、以下の方法で製造した。

架橋型ポリアクリル酸 (1.1 g) と濃グリセリン (2.0 g) を精製水 (71.9 g) に投入し、均質になるまで攪拌した後、断続ジェット流発生型高速攪拌装置によって機械的せん断を与えて粘度を調節した。精製水 (20.6 g) に L-アルギニン (2.4 g) とマクロゴール 400 (2.0 g) を溶解し、先の架橋型ポリアクリル酸を含む基剤に加え、均質になるまで攪拌した。この後、適切な条件で高圧蒸気滅菌し、基剤とした。

インフルエンザウイルススプリット抗原 (60 μ gHA)、リン酸水素ナトリウム水和物 (2.5 mg)、リン酸二水素カリウム (0.4 mg)、および塩化ナトリウム (8.1 mg) に精製水を加えて 1.0 mL とし、均一に混合し、抗原原液とした。

得られた基剤と抗原原液を体積比 1 : 1 で混合し、インフルエンザウイルススプリット抗原製剤を得た。

[0049] 実施例 10～13

実施例 9 と同様の方法で、表 2 に示す処方から各種抗原を含む実施例 10～13 の抗原製剤を作成した。

[表2]

成分名\検体番号	実施例9	実施例10	実施例11	実施例12	実施例13
インフルエンザウイルス スプリット抗原	30 µgHA	30 µgHA	—	—	—
B型肝炎ウイルス表面抗原	—	—	0.050 mg	0.050 mg	—
B型肝炎ウイルス ヌクレオキャプシド抗原	—	—	0.050 mg	0.050 mg	—
SERS-CoV-2 S1 タンパク抗原	—	—	—	—	0.1 mg
リン酸水素ナトリウム水和物	1.25 mg	1.25 mg	—	—	—
リン酸二水素カリウム	0.20 mg	0.20 mg	—	—	—
リン酸水素ナトリウム	—	—	0.56 mg	0.56 mg	—
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	—	—	0.625 mg	0.625 mg	—
エデト酸ナトリウム水和物	—	—	1.115 mg	1.115 mg	—
塩化ナトリウム	4.05 mg	4.05 mg	3.95 mg	3.95 mg	4.5 mg
架橋型ポリアクリル酸	5.5 mg	5.5 mg	6.0 mg	6.0 mg	5.5 mg
濃グリセリン	10.0 mg	10.0 mg	10.0 mg	10.0 mg	—
L-アルギニン	12.0 mg	12.0 mg	11.0 mg	11.0 mg	11.5 mg
マクロゴール400	10.0 mg	—	10.0 mg	—	—
マクロゴール4000	—	—	—	10.0 mg	10.0 mg
マクロゴール20000	—	10.0mg	—	—	—
精製水	適量	適量	適量	適量	適量
合計	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
機械的せん断	あり	あり	あり	あり	あり
粘度 (mPa-s)	500	500	600	600	100
pH	7.1	7.1	6.7	6.7	6.9

[0050] 実施例製剤の評価試験

(1) 標的領域への到達試験

(i) 原理および試験方法

鼻腔内は図 5 に示すような構造を有しており、その標的領域への到達は、実際のヒト鼻腔内の複雑な立体構造をリアルに再現した鼻腔モデルを用いた噴霧試験を実施する（噴霧用製剤を変えて噴霧試験 1～7 で実施）。ここでの鼻腔モデルは、図 6 に示すシリコンで作成した鼻腔モデル装置であり、ヒトの鼻腔内構造をよく再現されており、また図 7 および図 8 に示すように各パ

ーツで分解可能である。そこで、鼻腔入口から噴霧された製剤が、鼻腔内の4つの領域（鼻前庭、鼻粘膜（前）、鼻粘膜（後）、鼻咽頭）に到達した量を、その領域に到達した質量により求め、その到達率を計算する。

具体的には、「鼻前庭」については、鼻腔モデルに噴霧後、鼻前庭部分を取り外してその質量の増加量を基に到達率を求め、一番奥の「鼻咽頭」については、鼻咽頭部分に試験紙を設置して、鼻腔モデルに噴霧し、試験紙の質量の増加量を基に到達率を求める（図8の3つ目の写真参照）。鼻腔中央部の「鼻粘膜」については、「鼻前庭」と「鼻咽頭」に到達した量を差し引くことで求め、更に「鼻粘膜」の中央部に試験紙を設置して（図8の2つ目の写真参照）試験を追加して行うことで、その試験紙にトラップされた量から試験紙の前後での到達量を求め、「鼻粘膜（前）」と「鼻粘膜（後）」の到達率を求める。なお、本評価は噴霧試験2～7では「鼻咽頭」への到達率のみ測定した。

[0051] (ii) 噴霧試験に供した噴霧デバイス

本噴霧試験では、デバイスの影響も検証する目的から、表3に示す3種類の噴霧デバイスを適宜使い分けて実施した。

[表3]

検体略号	デバイス	噴霧量
デバイスA	上方排圧エアレス式噴霧容器	100 mg/1回
デバイスB	経鼻ワクチン用デバイス [1.00 mLシリンジ]	250 mg/1回
デバイスC	経鼻ワクチン用デバイス [2.25 mLシリンジ]	750 mg/1回

[0052] (iii) 噴霧角度の影響

鼻腔入口から噴霧する際、噴霧角度が多少ずれて噴霧しても標的領域への到達率に影響がないかどうか確認するために、通常の鼻への挿入角度に対して縦の使用角度 $[\alpha]$ を約 10° 上方にずらして噴霧する試験と、横の使用角度 $[\beta]$ を鼻甲介側に約 10° ずらして噴霧して、標的領域への分布への影響を確認する。本試験は、噴霧試験1でのみ実施した。

[0053] (2) 噴霧パターン試験

各試験製剤（実施例および比較例）の噴霧パターンを検証するにあたり、各試験製剤をデバイスBに充填し、噴霧パターン試験紙（ろ紙をブロモフェノールブルーに浸し、染色後、乾燥したもの）に噴霧孔より30 mmの距離でデバイスから上方垂直に250 mgの製剤量を噴霧した時の付着箇所の変色（黄色→青色）部分の形状を観察する。噴霧パターンの形状による類型は図9に示すとおりである。本試験は噴霧試験1～7のすべての試験に用いた製剤で実施した。

[0054] 以下、試験製剤と噴霧デバイスを変更させながら、噴霧試験1～7を実施し、標的領域への到達率と噴霧パターンを確認した。

[0055] 噴霧試験1

本発明での必須成分である「架橋型ポリアクリル酸」と「ポリエチレングリコール」についてその効果を評価するため、実施例1に対し、それぞれの成分を除いた表4の比較例を実施例1の方法に準じて作成し、デバイスBを用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、（1）標的領域への到達試験を行った。併せて（2）噴霧パターン試験の測定を行った。

[表4]

成分名\検体番号	実施例1	比較例1	比較例2	比較例3	比較例4	比較例5
架橋型ポリアクリル酸	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%	—	—
ポリアクリル酸*	—	—	—	—	0.55%	0.55%
水酸化ナトリウム	0.272%	0.272%	0.272%	0.272%	0.272%	0.272%
塩化ナトリウム	0.45%	0.45%	0.90%	—	0.45%	0.25%
マクロゴール4000	1.00%	—	—	—	1.00%	1.00%
精製水	97.728%	98.728%	98.278%	99.178%	97.728%	97.928%
合計	100%	100%	100%	100%	100%	100%
機械的せん断	あり	あり	なし	あり	なし	あり
粘度 [mPa・s]	450	450	450	450	160	160
pH	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
*：非架橋型のポリアクリル酸ナトリウムで分子量約100万						

[0056] （結果）

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を下表に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図10に示す。

架橋型ポリアクリル酸とマクロゴールを含む実施例1においては、各標的

領域に偏りなく噴霧され、更に噴霧角度をずらしても、その分布は安定していた。比較例1および比較例2は噴霧角度に関係なく、鼻咽頭に到達する量は極めて少なかった。比較例3～5では鼻咽頭への到達量が多かったが、噴霧角度が僅かにずれるだけでその到達量は大きく減少した。

[表5]

試験検体	試験条件		標的部位 平均到達率% (n=5)				噴霧 パターン
	デバ イス	噴霧 角度*	鼻前庭	鼻粘膜(前)	鼻粘膜(後)	鼻咽頭	
実施例1	B	I	6.2%	38.7%	27.6%	27.5%	フルコーン 山形分布
		II	7.8%	37.5%	35.6%	19.1%	
		III	9.9%	47.9%	23.4%	18.8%	
比較例1	B	I	17.2%	58.5%	16.9%	7.4%	フルコーン 均等分布 (噴霧角度広)
		II	19.9%	67.3%	6.5%	6.3%	
		III	19.3%	69.5%	4.3%	6.9%	
比較例2	B	I	27.9%	61.7%	10.4%	0.0%	ホロコーン 環状分布
		II	32.6%	64.0%	3.4%	0.0%	
		III	30.6%	60.9%	8.5%	0.0%	
比較例3	B	I	0.9%	33.8%	31.2%	34.1%	フルコーン 均等分布 (噴霧角度狭)
		II	1.5%	33.6%	53.7%	11.2%	
		III	0.8%	40.9%	46.3%	12.0%	
比較例4	B	I	1.1%	11.1%	9.4%	78.4%	ソリッド
		II	1.7%	71.6%	22.0%	4.7%	
		III	5.0%	64.6%	22.1%	8.3%	
比較例5	B	I	1.0%	12.8%	10.1%	76.1%	ソリッド
		II	1.4%	72.2%	25.8%	0.6%	
		III	2.7%	70.3%	25.8%	1.2%	
* : 噴霧角度Iは標準的な挿入角度、噴霧角度IIは「α」を約10° 上方にずらして噴霧、噴霧角度IIIは「β」を鼻甲介側に約10° ずらして噴霧							

[0057] 噴霧試験2

ポリエチレングリコール（マクロゴール）と他のアルコール化合物との添加剤としての効果の比較をするため、実施例2に対し、表6に示すような種々のアルコール化合物を含む比較例を実施例1の方法に準じて作成し、デバイスAを用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、（1）標的領域への到達試験を行った。併せて（2）噴霧パターン試験の測定を行った。

[表6]

成分名\検体番号	実施例 2	比較例 6	比較例 7	比較例 8	比較例 9	比較例 10	比較例 11
架橋型ポリアクリル酸	0.35%	0.35%	0.35%	0.35%	0.35%	0.35%	0.35%
L-アルギニン	0.70%	0.70%	0.70%	0.70%	0.70%	0.70%	0.70%
塩化ナトリウム	0.26%	0.26%	0.26%	0.26%	0.26%	0.26%	0.26%
メタノール	—	—	0.80%	—	—	—	—
エタノール	—	—	—	0.80%	—	—	—
イソプロパノール	—	—	—	—	0.80%	—	—
濃グリセリン	—	—	—	—	—	0.80%	—
プロピレングリコール	—	—	—	—	—	—	0.80%
マクロゴール400	0.80%	—	—	—	—	—	—
精製水	97.89%	98.69%	97.89%	97.89%	97.89%	97.89%	97.89%
合計	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
機械的せん断	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
粘度 [mPa・s]	500	500	500	500	500	500	500
pH	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8

[0058] (結果)

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を表7に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図11に示す。

マクロゴールを含む実施例2においては、高い鼻咽頭への到達率とフルコーン／山形分布の良好な噴霧パターンを示した。比較例においては鼻咽頭への到達率が低く、比較例9においてはその中でも比較的高い到達率を示したが、イソプロパノールの刺激性・安全性を考慮すると、点鼻による粘膜への投与に適さないことが予想された。

[表7]

試験検体	デバイス	鼻咽頭平均到達率% (n=5)	噴霧パターン
実施例2	A	15.7%	フルコーン／山形分布
比較例6	A	0.0%	ホロコーン／環状分布
比較例7	A	0.0%	ホロコーン／環状分布
比較例8	A	2.2%	フルコーン／均等分布
比較例9	A	8.3%	フルコーン／山形分布
比較例10	A	0.0%	ホロコーン／環状分布
比較例11	A	0.1%	ホロコーン／環状分布

[0059] 噴霧試験3

ポリエチレングリコール（マクロゴール）の分子量の違いによる効果への

影響について、ポリエチレングリコールを含まない対応の表8の比較例を実施例1の方法に準じて作成し、デバイスAを用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、(1)標的領域への到達試験を行った。併せて(2)噴霧パターン試験の測定を行った。

[表8]

成分名\検体番号	実施例3	実施例4	実施例5	比較例12	比較例13
架橋型ポリアクリル酸	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%
L-アルギニン	1.20%	1.20%	1.20%	1.20%	1.20%
塩化ナトリウム	0.40%	0.40%	0.40%	0.40%	0.40%
濃グリセリン	—	—	—	—	1.0%
マクロゴール400	1.0%	—	—	—	—
マクロゴール4000	—	1.0%	—	—	—
マクロゴール20000	—	—	1.0%	—	—
精製水	96.85%	96.85%	96.85%	97.85%	96.85%
合計	100%	100%	100%	100%	100%
機械的せん断	あり	あり	あり	あり	あり
粘度 [mPa・s]	550	550	550	550	550
pH	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2

[0060] (結果)

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を表9に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図12に示す。

分子量の異なるマクロゴールを含む実施例3～5においては、マクロゴールを含まない比較例より、高い鼻咽頭への到達率とフルコーン／山形分布の良好な噴霧パターンを示した。

[表9]

試験検体	デバイス	鼻咽頭平均到達率% (n=5)	噴霧パターン
実施例3	A	17.7%	フルコーン／山形分布
実施例4	A	20.8%	フルコーン／山形分布
実施例5	A	25.7%	フルコーン／山形分布
比較例12	A	4.9%	フルコーン／均等分布
比較例13	A	6.1%	フルコーン／均等分布

[0061] 噴霧試験4

ポリエチレングリコール（マクロゴール）の濃度の違いによる効果への影

響について、ポリエチレングリコールを含まない対応の表 10 の比較例を実施例 1 の方法に準じて作成し、デバイス A を用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、(1) 標的領域への到達試験を行った。併せて (2) 噴霧パターン試験の測定を行った。

[表10]

成分名\検体番号	実施例6	実施例7	実施例8	比較例14
架橋型ポリアクリル酸	0.55%	0.55%	0.55%	0.55%
L-アルギニン	1.20%	1.20%	1.20%	1.20%
塩化ナトリウム	0.40%	0.40%	0.40%	0.40%
マクロゴール4000	1.0%	5.0%	10.0%	—
精製水	96.85%	92.85%	87.85%	97.85%
合計	100%	100%	100%	100%
機械的せん断	あり	あり	あり	あり
粘度 [mPa・s]	380	220	130	430
pH	7.2	7.2	7.2	7.2

[0062] (結果)

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を表 11 に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図 13 に示す。

濃度の異なるマクロゴールを含む実施例 6～8 においては、マクロゴールを含まない比較例より、高い鼻咽頭への到達率とフルコーン／山形分布の良好な噴霧パターンを示した。

[表11]

試験検体	デバイス	鼻咽頭平均到達率% (n=5)	噴霧パターン
実施例6	A	13.1%	フルコーン／山形分布
実施例7	A	14.8%	フルコーン／山形分布
実施例8	A	22.5%	フルコーン／山形分布
比較例14	A	5.0%	フルコーン／均等分布

[0063] 噴霧試験 5

実際に抗原を含んだ製剤でも噴霧試験 1～4 と同様の効果が得られるか確認するため、抗原としてインフルエンザウイルススプリット抗原を用いた実施例 9 および実施例 10 に対し、ポリエチレングリコール（マクロゴール）を含まない対応の表 12 の比較例を実施例 9 の方法に準じて作成し、デバイ

スBを用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、（１）標的領域への到達試験を行った。併せて（２）噴霧パターン試験の測定を行った。

[表12]

成分名\検体番号	実施例9	実施例10	比較例15
インフルエンザウイルススプリット抗原	30 μ gHA	30 μ gHA	30 μ gHA
架橋型ポリアクリル酸	5.5mg	0.55mg	5.5mg
L-アルギニン	12.0mg	12.0mg	12.0mg
塩化ナトリウム	4.05mg	4.05mg	4.05mg
濃グリセリン	10.0mg	10.0mg	10.0mg
リン酸水素ナトリウム水和物	1.25mg	1.25mg	1.25mg
リン酸二水素カリウム	0.20mg	0.20mg	0.20mg
マクロゴール400	10.0mg	—	—
マクロゴール20000	—	10.0mg	—
精製水	適量	適量	適量
合計	1.0mL	1.0mL	1.0mL
機械的せん断	あり	あり	あり
粘度 [mPa·s]	500	500	500
pH	7.1	7.1	7.1

[0064] （結果）

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を表13に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図14に示す。

抗原（インフルエンザウイルススプリット抗原）を含む実施例においても、マクロゴールを含まない比較例より、高い鼻咽頭への到達率とフルコーン／山形分布の良好な噴霧パターンを示した。

[表13]

試験検体	デバイス	鼻咽頭平均到達率% (n=5)	噴霧パターン
実施例09	B	17.2%	フルコーン／山形分布
実施例10	B	26.1%	フルコーン／山形分布
比較例15	B	6.4%	フルコーン／均等分布

[0065] 噴霧試験6

実際に抗原を含んだ製剤でも噴霧試験1～4と同様の効果が得られるか確認するため、抗原としてB型肝炎ウイルス表面抗原とB型肝炎ウイルスヌク

レオキャプシド抗原を用いた実施例 11 および実施例 12 に対し、ポリエチレングリコール（マクロゴール）を含まない対応の表 14 の比較例を実施例 9 の方法に準じて作成し、デバイス C を用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、（1）標的領域への到達試験を行った。併せて（2）噴霧パターン試験の測定を行った。

[表14]

成分名\検体番号	実施例11	実施例12	比較例16
B型肝炎ウイルス表面抗原	0.050 mg	0.050 mg	0.050 mg
B型肝炎ウイルスヌクレオキャプシド抗原	0.050 mg	0.050 mg	0.050 mg
架橋型ポリアクリル酸	6.0 mg	6.0 mg	6.0 mg
L-アルギニン	11.0 mg	11.0 mg	11.0 mg
塩化ナトリウム	3.95 mg	3.95 mg	3.95 mg
エデト酸ナトリウム水和物	1.115 mg	1.115 mg	1.115 mg
濃グリセリン	10.0 mg	10.0 mg	10.0 mg
リン酸水素ナトリウム	0.56 mg	0.56 mg	0.56 mg
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	0.625 mg	0.625 mg	0.625 mg
マクロゴール400	10.0 mg	—	—
マクロゴール4000	—	10.0 mg	—
精製水	適量	適量	適量
合計	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
機械的せん断	あり	あり	あり
粘度 [mPa・s]	600	600	600
pH	6.7	6.7	6.7

[0066] （結果）

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を表 15 に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図 15 に示す。

抗原（B型肝炎ウイルス表面抗原とB型肝炎ウイルスヌクレオキャプシド抗原）を含む実施例においても、マクロゴールを含まない比較例より、高い鼻咽頭への到達率とフルコーン／山形分布の良好な噴霧パターンを示した。

[表15]

試験検体	デバイス	鼻咽頭平均到達率% (n=5)	噴霧パターン
実施例11	C	28.0%	フルコーン／山形分布
実施例12	C	35.6%	フルコーン／山形分布
比較例16	C	11.5%	フルコーン／均等分布

[0067] 噴霧試験 7

実際に抗原を含んだ製剤でも噴霧試験 1 ～ 4 と同様の効果が得られるか確認するため、抗原としてSARS-CoV-2 S1 タンパク抗原を用いた実施例 13 に対し、ポリエチレングリコール（マクロゴール）を含まない対応の表 16 の比較例を実施例 9 の方法に準じて作成し、デバイス B を用いてそれぞれ鼻腔モデル装置に噴霧して、（1）標的領域への到達試験を行った。併せて（2）噴霧パターン試験の測定を行った。

[表16]

成分名\検体番号	実施例13	比較例17	比較例18
SARS-CoV-2 S1 タンパク抗原	0.1 mg	0.1 mg	0.1 mg
架橋型ポリアクリル酸	5.5 mg	—	5.5 mg
L-アルギニン	11.5 mg	—	11.5 mg
塩化ナトリウム	4.5 mg	9.0 mg	4.5 mg
マクロゴール4000	10.0 mg	—	—
精製水	適量	適量	適量
合計	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
機械的せん断	あり	なし	あり
粘度 [mPa・s]	100	10	100
pH	6.9	6.9	6.9

[0068] （結果）

標的領域への到達試験および噴霧パターン試験の結果を表 17 に示す。また噴霧パターンの実際をデータは図 16 に示す。

抗原（SARS-CoV-2 S1 タンパク抗原）を含む実施例においても、マクロゴールを含まない比較例より、高い鼻咽頭への到達率とフルコーン／山形分布の良好な噴霧パターンを示した。

[表17]

試験検体	デバイス	鼻咽頭平均到達率% (n=5)	噴霧パターン
実施例13	B	27.9%	フルコーン／山形分布
比較例17	B	2.0%	フルコーン／均等分布
比較例18	B	7.1%	フルコーン／均等分布

[0069] （3）噴霧ブルーム形状および液滴径分布の測定

本発明製剤の噴霧による噴霧ブルームと液滴径の分布を確認するため、比

較例の製剤と共に、空中に製剤を噴霧してそれらを確認めた。

(方法)

試験製剤をデバイスBに充填し、上方垂直に250 mgの製剤量を噴霧した時の形状を側面からハイスピードカメラ（ハイスピードマイクロスコープVW-9000）で撮影し、得られた噴霧プルームが最大に形成された時間における噴霧プルーム形状を観察し、噴霧角度等を測定する。また、噴霧した時の30.0mmの距離での液滴径分布を、レーザー回折式粒度分布測定装置（Malvern SPRAYTEC）を用いて測定する。なお、本評価は実施例1と比較例1～4で実施した。

[0070] 結果を図17に示す。

架橋型ポリアクリル酸とマクロゴールを含む実施例1においては、噴霧プルーム形状が比較例と比べ中心部の密度が高いことが観察できた。また、液滴径分布においても、平均粒子径が $61.5\mu\text{m}$ 、 $10\sim 100\mu\text{m}$ の範囲が83.7%と十分に微細な噴霧となっていることが確認できた。

[0071] (4) マウスでの抗体産生誘導能試験 (1)

上記噴霧試験7で使用した抗原を含んだ製剤を用いて、マウスに経鼻投与して、その抗体産生能を比較例と対比して評価した。

(方法)

上記噴霧試験7で用いた実施例13と比較例17及び18の製剤を用い、BALB/Cマウス（雌、6週齢）へ両鼻孔に単回経鼻接種（SARS-CoV-2 S1 タンパク抗原として $3\mu\text{g}$ ）し、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 タンパク特異的IgA、肺胞洗浄液SARS-CoV-2 S1 タンパク特異的IgA、血中SARS-CoV-2 S1 タンパク特異的IgGを測定することにより抗体産生誘導能を解析する。なお投与用デバイスは先端にポリプロピレン製チューブを装着したマイクロシリンジを用いた。

[0072] (結果)

結果を下表に示す。

実施例においては、比較例より各部位において高い抗体産生を示した。

[表18]

試験検体	鼻腔洗浄液 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgA (Titer)	肺胞洗浄液 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgA (Titer)	血中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgG1 (Titer)	血中 SARS-CoV-2 S1 Protein 特異的IgG2a (Titer)
無処置	0	0	0	0
比較例17	0	0	1500	0
比較例18	5	667	86667	167
実施例13	59	8960	704000	44333

[0073] (5) マウスでの抗体産生誘導能試験 (2)

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、下表の4種類の濃度の抗原原液を調製した。

[表19]

抗原原液	a	b	c	d
濃度	2.0 μ gHA/5 μ L	2.0 μ gHA/10 μ L	2.0 μ gHA/15 μ L	2.0 μ gHA/30 μ L

[0074] (2) 基剤の調製

下表の各成分を精製水中に混合し、水酸化ナトリウムでpH 7付近まで中和し、均質になるまで混合して、基剤の組成物を得た。「機械的せん断付加」の組成物については、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調製した（基剤A～Cは本発明実施例に相当。基剤D～Eは比較例に相当）。なお、基剤Fは生理食塩水をそのまま用いて調製した。

成分名	実施例用			比較例用		
基剤	A	B	C	D	E	F
架橋型ポリアクリル酸	11.0 mg	11.0 mg	11.0 mg	11.0 mg	—	—
ポリアクリル酸	—	—	—	—	11.0 mg	—
水酸化ナトリウム	5.44 mg	5.44 mg	5.44 mg	5.44 mg	5.44 mg	—
マクロゴール400	20.0 mg	—	—	—	—	—
マクロゴール4000	—	20.0 mg	—	—	20.0 mg	—
マクロゴール20000	—	—	20.0 mg	—	—	—
塩化ナトリウム	—	—	—	—	—	9.0 mg
精製水	適量	適量	適量	適量	適量	適量
合計	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
機械的せん断付加	あり	あり	あり	あり	なし	なし
粘度 [mPa・s]	3775	3900	4100	3709	81	1

[0075] (3) 試験検体の調製

濃度の異なる4種類の抗原原液と組成の異なる6種類の基剤A～Fを等量混合した試験検体No. 01～No. 24を調製し、さらに既存のアジュバントを添加した場合との効果の比較のために、生理食塩水である基剤Fの検体についてはさらに、既存のアジュバント (Poly I:CまたはODN 2006) を片鼻に投与する製剤の容量あたり10 μ g添加した試験検体No. 25～No. 32を調製し、合計下表の32種類の試験検体を調製した。

試験検体 No.	抗原 原液	基剤	アジュバント	混合後の粘度 (mPa・s)	片鼻あたりの 製剤投与容量
01	a	A	無添加	120	2.5 μ L
02	b				5.0 μ L
03	c				7.5 μ L
04	d				15.0 μ L
05	a	B	無添加	111	2.5 μ L
06	b				5.0 μ L
07	c				7.5 μ L
08	d				15.0 μ L
09	a	C	無添加	84	2.5 μ L
10	b				5.0 μ L
11	c				7.5 μ L
12	d				15.0 μ L
13	a	D	無添加	143	2.5 μ L
14	b				5.0 μ L
15	c				7.5 μ L
16	d				15.0 μ L
17	a	E	無添加	14	2.5 μ L
18	b				5.0 μ L
19	c				7.5 μ L
20	d				15.0 μ L
21	a	F	無添加	1	2.5 μ L
22	b				5.0 μ L
23	c				7.5 μ L
24	d				15.0 μ L
25	a	F	Poly I:C	1	2.5 μ L
26	b				5.0 μ L
27	c				7.5 μ L
28	d				15.0 μ L
29	a	F	ODN2006	1	2.5 μ L
30	b				5.0 μ L
31	c				7.5 μ L
32	d				15.0 μ L

[0076] (4) 試験方法

上表の32種類の試験検体を用い、BALB/Cマウス（雌性、8週齢）の両鼻孔に、基剤により粘性があるものには特に配慮しながら、上表の片鼻あたりの製剤投与容量に従い、2.5 μ L、5.0 μ L、7.5 μ L、15.0 μ Lの投与を行った（インフルエンザスプリット抗原としては、すべて試験検体において両鼻孔あたり1 μ g投与されたことになる）。なおワクチン製剤投与による窒息を避ける

ため、片鼻投与後2分以上経過してから反対側の鼻に投与した。なお投与用デバイスは先端にポリプロピレン製チューブを装着したマイクロシリンジを用いた。なお投与用デバイスは先端にポリプロピレン製チューブを装着したマイクロシリンジを用いた。

初回投与から3週間後、同様の方法で追加経鼻接種し、2回目の接種3週間後に血清、鼻腔洗浄液を回収し、血清中HI抗体価並びに鼻腔洗浄液中抗原特異的IgAを測定して、抗体産生誘導能を解析した。

[0077] (5) 試験結果

結果を下表および図18および図19に示す。

試験検体 No.	抗原 原液	基剤	アジュバント	血清HI 抗体価	鼻腔洗浄液 IgA抗体価
01	a	A	無添加	40	63
02	b			104	173
03	c			208	563
04	d			192	819
05	a	B	無添加	52	70
06	b			112	243
07	c			416	1331
08	d			480	1126
09	a	C	無添加	56	70
10	b			148	243
11	c			480	1946
12	d			416	1331
13	a	D	無添加	56	45
14	b			96	173
15	c			128	256
16	d			120	333
17	a	E	無添加	14	51
18	b			26	45
19	c			16	58
20	d			24	64
21	a	F	無添加	0	3
22	b			4	4
23	c			6	4
24	d			4	4
25	a	F	Poly 1:C	64	51
26	b			96	64
27	c			136	58
28	d			136	42
29	a	F	ODN2006	80	51
30	b			80	64
31	c			136	58
32	d			124	48

[0078] (6) 考察

本試験においては抗原を同一量（両鼻孔あたり1 μ gHA）に調整して行ったが、製剤投与容量を2.5 μ L $\times$ 2、5.0 μ L $\times$ 2、7.5 μ L $\times$ 2と増大させることにより、血清中HI抗体も鼻腔洗浄液中のIgA抗体ものの産生が増強していく傾向にあった。特に5.0 μ L $\times$ 2から7.5 μ L $\times$ 2に変化させるとその抗体産生の増強率が大きかった。しかし、7.5 μ L $\times$ 2から15.0 μ L $\times$ 2に変化させても抗体産生量は

ほとんど変化しなかった。これは投与容量により、製剤の到達部位に差があるものと考えられ、すなわち、

5 μ L/body (2.5 μ L/片鼻) : 鼻腔に限局されていると考えられ、

10 μ L/body (5.0 μ L/片鼻) : 鼻腔と一部上咽頭に到達していると考えられ

、

15 μ L/body (7.5 μ L/片鼻) : 鼻腔及び上咽頭（鼻咽頭）と一部中咽頭に到達していると考えられ、

30 μ L/body (15.0 μ L/片鼻) : 鼻腔、咽頭を通過して食道、消化管まで移動していると考えられる。

基剤Eを用いた試験検体と比較して、基剤A～Dを用いた試験検体はより抗体産生の増強効果が大きかった。このことは架橋型ポリアクリル酸の効果によると考えられる。

基剤Dを用いた試験検体と比較して、マクロゴールを含有する基剤A～Cを用いた試験検体は抗体産生の増強効果が大きくなる傾向にあり、特に製剤投与量を増大させた時の変化がより大きい傾向にあった。また、マクロゴールの分子量が高いほど、抗体産生の増強効果が大きくなる傾向にあった。特に、マクロゴール類の配合を配合すると5.0 μ L $\times$ 2から7.5 μ L $\times$ 2に変化させた場合、その抗体産生の増強率が大きかった。

汎用される2種類のアジュバントを添加した試験検体No. 25～No. 32は、アジュバント無添加の基剤Fの試験検体と比較すると明確な抗体産生増強効果は確認できたが、製剤投与容量を変化させた場合の増強効果の違いは、マクロゴール類の配合した基剤A～Cの試験検体と比較すると少ない傾向にあった。

符号の説明

[0079] 10 : 点鼻用噴霧・噴射ノズル

11a : 先端部

12a : ノズル噴出孔

13a : ノーズレスト

- 1 4 a : ノズル本体部
- 1 1 : サブノズル
- 1 1 A : 先端部
- 1 2 : 噴出孔
- 1 3 : 開口端
- 1 3' : シリンジ接合用突出部
- 1 4 : 境界線
- 1 5 : 連結部
- 1 6 : サブノズルの軸
- a : 股部
- 1 0 0 : シリンジ型噴霧・噴射デバイス
- 1 1 0 : スクリューチップ
- 1 2 0 : シリンジバレル
- 1 3 0 : シリンジ本体
- 1 4 0 : プランジャロッド
- 1 5 0 : アダプター
- 1 6 0 : ピストン
- 1 7 0 : フィンガーレスト
- 1 8 0 : プランジャ

請求の範囲

- [請求項1] 架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加した基剤、および抗原を含む、経鼻ワクチン噴霧用製剤。
- [請求項2] ポリエチレングリコールがマクロゴール400および／またはマクロゴール4000であり、その配合量が基剤に対して0.1～10.0質量%である、請求項1に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。
- [請求項3] 架橋型ポリアクリル酸においてカルボキシル基含量60.0～62.0質量%となるように架橋の位置と密度が調整され、曳糸性を生じない程度まで架橋密度が高いカルボキシビニルポリマーである、請求項1または2に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。
- [請求項4] 含まれる基剤が、架橋型ポリアクリル酸を無機塩基および／または塩基性アミノ酸で増粘させ、得られた製剤の粘度を、粘度調節剤および／または外部から機械的せん断力を付加して調整し、次いでポリエチレングリコールを添加することにより噴霧パターンを最適化して、鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位となる基剤である、請求項1～3のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。
- [請求項5] 無機塩基が、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、無機弱酸のナトリウム塩、および／または無機弱酸のカリウム塩であり、
塩基性アミノ酸が、リジン、アルギニン、および／またはオルニチンであり、
粘度調節剤が塩化ナトリウム、塩化カリウム、および／または塩化カルシウムである、
請求項4に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。
- [請求項6] 抗原が、生もしくは不活化された、細菌、ウイルス、および／またはマイコプラズマである、請求項1～5のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。
- [請求項7] ウイルスが、新型コロナウイルス、重症急性呼吸器感染症候群（SARS）、A型／B型インフルエンザ等の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（H I V）、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、または風疹ウイルス、

細菌が、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、またはジフテリア菌である、請求項 6 に記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[請求項8] 抗原がインフルエンザウイルスの全粒子、スプリット抗原、またはサブユニット抗原である、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[請求項9] 抗原が新型コロナウイルスの不活化全粒子、組み換えタンパク質抗原または抗原タンパク質をコードする遺伝子を組み込んだ各種ウイルスベクターである、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[請求項10] 抗原がB型肝炎表面抗原（H B s 抗原）および／またはB型肝炎ヌクレオキャプシド抗原（H B c 抗原）である、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。

[請求項11] 経鼻ワクチン噴霧用製剤に用いるための基剤であって、架橋型ポリアクリル酸にポリエチレングリコールを添加した基剤。

[請求項12] ノズルが外鼻孔の周辺部に当接して噴霧方向が固定される噴霧用デバイスに、請求項 1 ～ 1 0 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤を充填した、ワクチン経鼻投与システム。

[請求項13] 鼻粘膜と鼻咽頭を同時に標的部位するために、経鼻ワクチン噴霧用製剤を鼻腔内に片鼻あたりの 1 回の噴霧量が 2 5 0 ～ 7 5 0 μ L の容量で投与して使用することを特徴とする請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の経鼻ワクチン噴霧用製剤。