

平成27年度
革新的ものづくり産業創出連携促進事業
戦略的基盤技術高度化支援事業

「日本発世界初の次世代マイクロニードルワクチンの量産技術の確立」

研究開発成果等報告書

平成28年11月

担当局 近畿経済産業局
補助事業者 コスメディ製薬株式会社

研究開発の概要

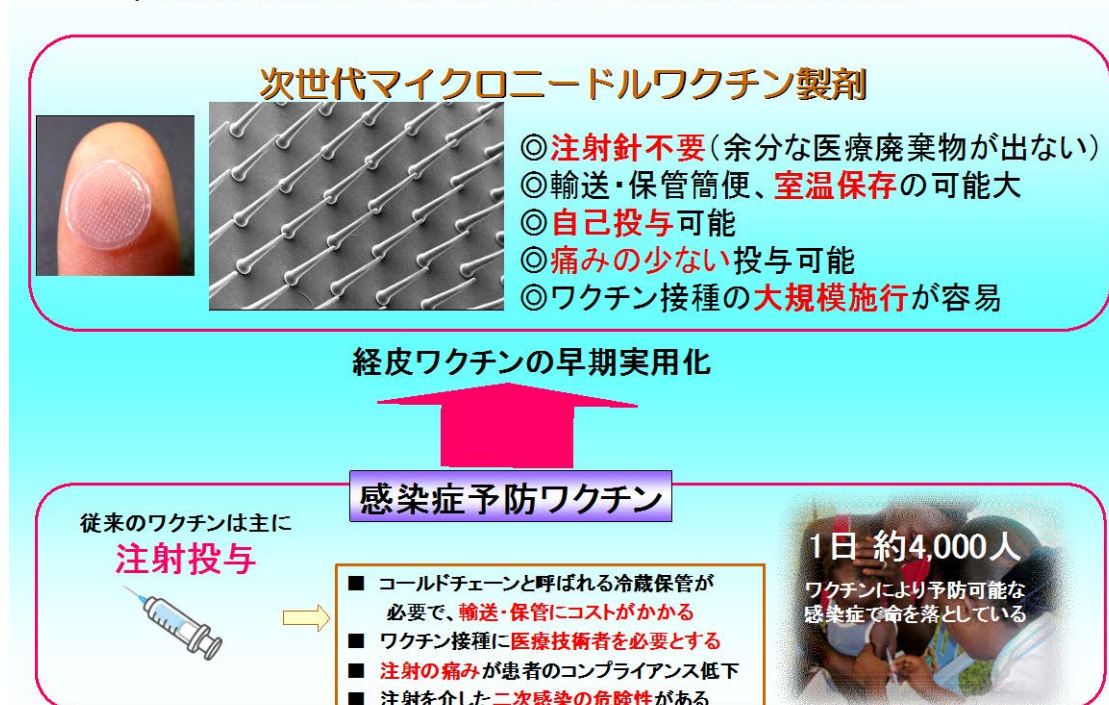
1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

1-1-1 背景

感染症パンデミックは人類にとって共通の世界的な脅威である。感染症に対する唯一の予防手段はワクチンであり、従来の注射ワクチンより簡便性・普及性、備蓄性に優れるパンデミックに対抗できるワクチンが世界的に早期の実用化が望まれている。申請者らは経皮吸収型ワクチンにいち早く着目し、自社独創技術により日本発世界初製品化したマイクロニードルを医療ワクチンに応用し開発研究を行ってきた。

本特定研究開発においては、現在まで得られた知見の上に立ち、インフルエンザマイクロニードルワクチンの実用化に向けて、高度化技術による微細加工・注射レベルの無菌製剤・無菌管理システムの量産化技術を確立し本格臨床試験のため小ロット製造を可能とすることを目的とする。それにより感染症パンデミックの脅威に対抗できる経皮免疫製剤の実用化を加速し安心・安全な社会の実現に貢献したい。以上をまとめたのが下図であり注射法に比べてのマイクロニードル法の特徴を図示している。

従来の注射型ワクチンに比べたマイクロニードル経皮ワクチンの特徴



1-1-2 研究目標

具体的詳細な技術的目標は次節(3)において述べる。本研究開発の大きな目標は以下の5

つにまとめられる。

- ① インフルエンザ抗原を高濃度に安定に装着した生分解型マイクロニードルの完成
- ② 上記マイクロニードルを無菌的、自動製造可能な装置を設計・製造し、日産量 3,000 枚を可能とする。
- ③ マイクロニードルパッチの確実な投与のための投与器具（アプリケーター）の開発
- ④ 上記の結果をもとに本インフルエンザワクチンマイクロニードルの有効性、安全性を、動物及びヒトで検証する
- ⑤ さらに、上記①～③に基づき本開発研究を製薬会社をパートナーとする本格的開発へと進める。

1-2 研究体制

本特定研究開発において以下の研究機関の関与により進めた。

コスメディ製薬： 事業主体。
 大阪大学薬学部薬剤学分野： 新規マイクロニードルワクチンの動物による有効性試験実施
 阪大微生物病研究会： ワクチン原体の提供及び原体関連データの提供
 奈良県立医大： ワクチン製剤の安全性評価

1-3 成果概要

1-3-1 技術目標

研究開発の内容及び技術的目標を下表に示す。技術目標は最終終了時目標である。

研究開発内容、研究項目、及び技術的目標

| | 研究開発内容 | 研究項目 | 技術的目標 |
|-----|---------------------------------|--|---|
| (1) | HA 抗原の薬液調製法の開発と製剤の 1 年間冷蔵安定性の確保 | 1-1 HA 抗原の新規濃縮精製法の検討 1-2 抗原の新規安定化剤の検討 1-3 製剤の安定性試験 | 1. 製剤は無菌であること 2. 製剤は 1 年間冷蔵安定性を有すること |
| (2) | HAMN ワクチンの無菌工業的生産体制の構築 | 2-1 HAMN 製剤の無菌的製造システム構築 (1)薬液自動供給、安定的保持装置の設計 (2)MN の成型から洗浄・滅菌プロセスの構築 (3)ケースの滅菌プロセス、自動供給システム | 1. 自動化 HAMN 製造装置の完成 2. HAMN 製剤 3,000 枚/日の製造能力実現 3. 無菌的製造装置である |

| | | | |
|-----|-------------------------|--|--|
| | | ムの構築 2-2 塗布プロセスの無菌的製造システム構築 2-3 薬物塗布部の性能向上により HAMN 製剤 3,000 枚/日の製造能力実現 | こと |
| (3) | よりコンパクトなアプリケーション、ケースの完成 | 3-1 アプリケーター、ケースの再評価と設計・製作 3-2 アプリケーター、ケースの評価と改良 | 1. 医療従事者に満足してもらえるシステムとして完成させる |
| (4) | HAMN 製剤の安全性と有効性の確認 | 4-1 製剤の安全性、安定性確認 4-2 製剤の動物、ヒトにおける有効性確認 | 製剤の皮膚安全性、安定性、動物有効性、ヒト研究臨床における有効性、等を適切な施設において確認しデータパッケージとする |

HA：インフルエンザ MN：マイクロニードル

1-3-2 研究項目ごとの達成内容

(1). HA 抗原の薬液調製法の開発と製剤の 1 年間冷蔵安定性の確保

(1)-1 HA 抗原の新規濃縮精製法の検討

HA 蛋白原液の濃縮に関し検討し、タンジェンシャルフロー法による限外濾過を利用した方法が最も効率的に原液の HA 活性を失うことなく濃縮可能であることを見出し HA マイクロニードル製剤製造を可能とした。すなわち、インフルエンザ抗原 (HA 抗原) をマイクロニードルへ装着できるよう原液 (阪大微研よりデータとともに提供を受けた) を数十倍安定性を損なわずに濃縮しマイクロニードル (MN) に装着する原理、方法を樹立できた。

(1)-2 抗原の新規安定化剤の検討

安定剤としては種々トライしたが、トレハロースを主とする添加剤が最も HA 安定化に寄与した。製剤の安定性は 35℃、2 ヶ月を確保できた。

(2). HAMN ワクチンの無菌工業的生産体制の構築

(2)-1 HAMN 製剤の無菌的製造システム構築

1. 高強度マイクロニードルの製法に関して検討し、材料 (ポリグリコール酸) の結晶化度を上げることにより強度、経時変化に優れたニードルとなることを見出した。
2. インフルエンザ抗原の濃縮条件に関して検討し 50 倍濃縮までを可能とした。
3. 薬液塗布の条件に関して検討し、薬液貯め、針浸漬タイミング、等を総合的に検討し

塗布精度を著しく上昇させ CV が 10%以下とする条件を見出した。

4. マイクロニードル成型機から自動的にマイクロニードルをパレットに配列して収納、本パレットはマイクロニードルを収納したまま洗浄、滅菌工程に使用可能な構造に設計できた。それゆえ、マイクロニードル成型→洗浄→滅菌→塗布工程の一連の作業を一貫して実施できるようになった。

(2)-2 塗布プロセスの無菌的製造システム構築

1. MN の成型条件を検討し高強度の形状安定性に優れた MN を製造する条件を見出した（特許出願済み）。HA 濃縮液を針に塗布するにあたり、液溜めの構造、液の供給方法、針浸漬時間・回数、針の浸漬前後の形状検査、などを事前検討しその結果はすべて自動製造システムの設計製造に活かした。
2. 工程内検査システムに関して検討し、微小重量測定器、顕微鏡システムを組み合わせることにより、マイクロニードルの針の適一不適、薬物塗布量の適一不適、を識別し不良品を排出できるようなシステムとした。
3. HAMN は無菌製剤でなければならない。全プロセスが無菌的に稼働できるようクリーン化し、外部からの汚染に留意したシステムとして完成させた。

(3). よりコンパクトなアプリケーター、ケースの完成

(3)-1 アプリケーター、ケースの再評価と設計・製作

マイクロニードルパッチをヒトへ投与する際の器具（アプリケーター）は最終製品を医師により確実に投与してもらうために必須である。既に関与したアプリケーターの問題点を集約し改良されたアプリケーターを設計、試作した。

(3)-2 アプリケーター、ケースの評価と改良

ケース、アプリケーターのさらなる改良を繰り返し、最終版としては、アプリケーターが直接ヒト皮膚に触れることのないケースとアプリケーターとのセット組み合わせ使用法へと改良を進めた。

(4). HAMN 製剤の安全性と有効性の確認

(4)-1 製剤の安全性、安定性確認

HAMN 製剤の安全性に関しては、臨床研究実施に十分なデータを蓄積できている。安定

性を考慮した添加剤を組み合わせることにより、HAMN 製剤は現在冷蔵半年における安定性を確認できている。

(4)-2 製剤の動物、ヒトにおける有効性確認

1. コスメディ製薬が試作した HA マイクロニードルパッチを大阪大学（薬学部）において動物試験で有効性を確認した。1 回接種において HAMN ワクチンは HA 皮下注射と比べて、明らかに高い免疫誘導効果が示された。2 回接種において HAMN ワクチンは HA 皮下注射と同等な免疫誘導効果が得られた。このことより、HAMN ワクチンはより少量の抗原でも皮下注と同様の量の抗体産生可能性があるとの結果が示された。
2. 臨床研究用 HAMN 製剤に関し奈良県立医科大学付属病院においてヒト投与における皮膚安全性が確認された。

1-4 当該研究開発の連絡窓口

所属・氏名：コスメディ製薬(株) 神山文男

E-mail：kamiyama@cosmed-pharm.co.jp

電話番号：075-950-1510

第2章 本論

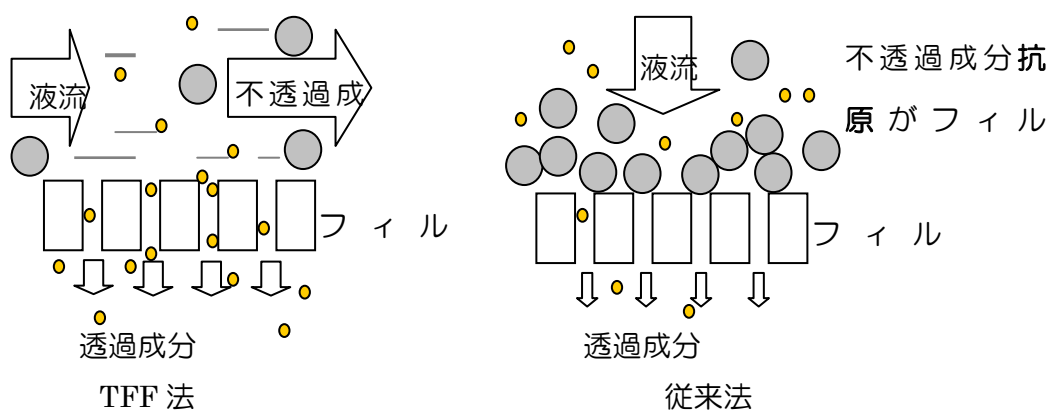
本プロジェクトにおける最大課題であった薬物（インフルエンザワクチン）塗布マイクロニードルの自動製造法確立に関する内容詳細について述べる。

(1) タンジェンシャルフロー法による抗原溶液の濃縮

【原理】

タンジェンシャルフロー法（TFF）はタンパク質等の高度濃縮に適しているとされる一種の限外濾過法であるが、従来の限外濾過法に比べて利点が多く最近普及しだした方法である。本プロジェクトにおいて本システムを購入し詳細な検討を行った。図1はその原理図でありろ過によるフィルターの詰まりを少なくする機構となっている。

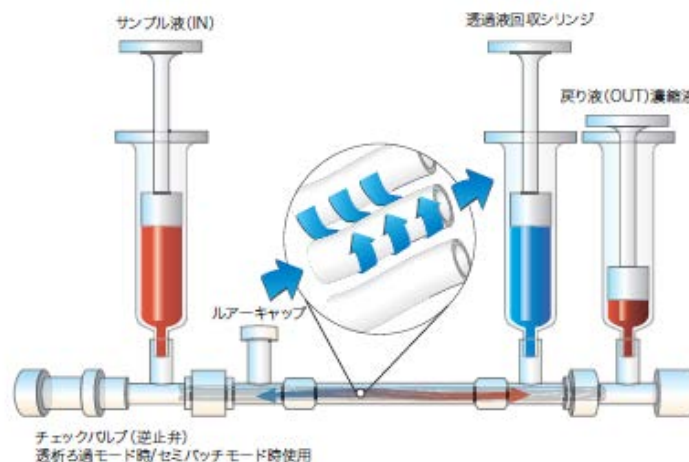
図1 タンジェンシャルフロー法の原理



①HA 抗原溶液の調整・TFF による濃縮

3 種類の抗原溶液を混合し、そのうちの 12ml を TFF で濃縮して安定性実験用塗布液を作製した。その後、同じ 3 種混合溶液 35ml を TFF でさらに高濃度に濃縮した。別途、3 種混合溶液をさらに高度濃縮テストを行った。TFF 処理前の抗原溶液の HA 濃度、混合量等を表 8 に、濃縮に用いた TFF プロセスを図 2 示す。

図2. シリンジを用いた手動 TFF プロセス



②濃縮液と塗布 MN の定量

3 種類の濃縮液の定量結果を表 3 に示す。特に、高濃度濃縮溶液Ⅱは 5.1 倍まで濃縮ができ、目標に近く可能性が明らかになった。さらに、高濃度の濃縮液 (34.5 倍濃縮) を用いマイクロニードルに塗布し定量分析 (表 4) ならびに安定性試験を行った。

表 3. 濃縮液の HA 含量及び濃縮倍率

| | 3 価 HA 濃度 (mg/ml) | 濃縮倍率 |
|----------|----------------------|--------|
| 濃縮前溶液 | 0.64 | — |
| 安定性用濃縮液 | 2.52 | 3.9 倍 |
| 高濃度濃縮溶液 | 22.16 | 34.5 倍 |
| 高濃度濃縮溶液Ⅱ | 32.93 | 51 倍 |

表 4. 高濃度濃縮液を用い塗布した MN 中の HA 含量

| サンプル No. | 定量結果(μ g/枚) |
|----------|------------------|
| 25 | 18.64 |
| 26 | 17.43 |

③濃縮液と塗布 MN の HA 価測定

濃縮液及び最終製剤の HA 活性を保たなければならない。そのため、蛋白量の定量だけではなく作製工程及び最終製品の HA 価の測定が極めて重要である。

本プロジェクトでは、赤血球凝集試験法により HA 価を測定した。

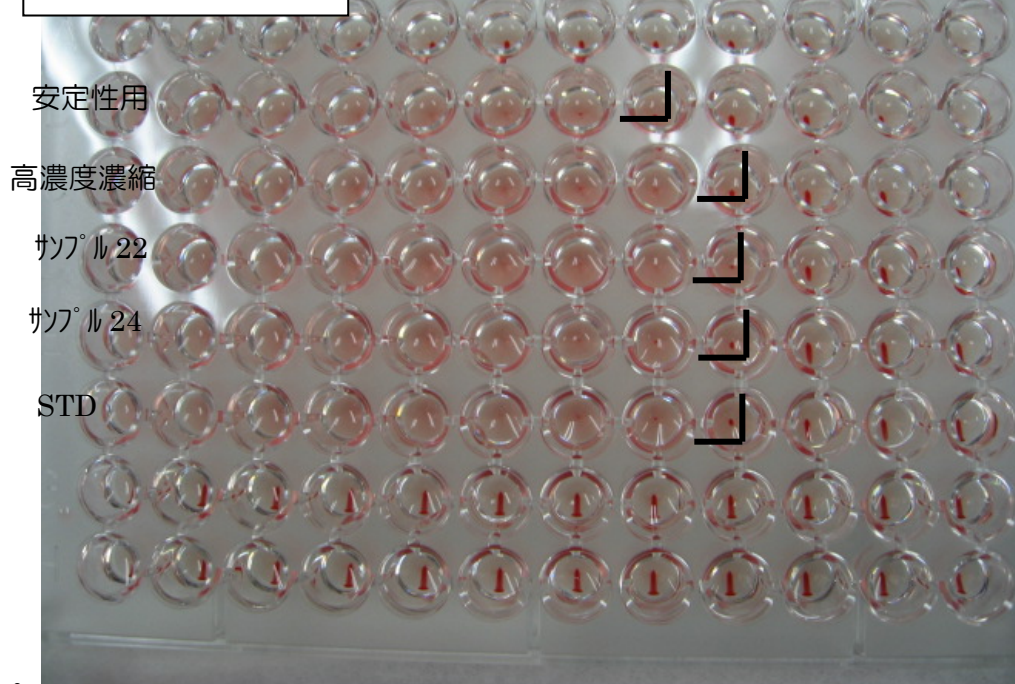
* 試薬及び実験材料

V 底 96well プレート、PBS、ニワトリ保存血液

*HA 価測定

約 1 分間プレートを傾けて血球が流れたものは凝集していないと判定する。抗原溶液の凝集した列と標準抗原溶液 (STD) の凝集した列とを比べて活性を評価する。完全凝集を与えるウィルス希釈の最高値の逆数を HA 価とする。その結果、安定性用溶液は 8 列、高濃度濃縮液と塗布した MN 抽出液 (サンプル 22 および 24) は 9 列まで凝集しており、STD とほとんど同じなので、HA 活性が低下していないと考える (図 3)

図3. HA 測定結果



(2) マイクロニードルのパッチの精密高性能化及びその解析

【目的】

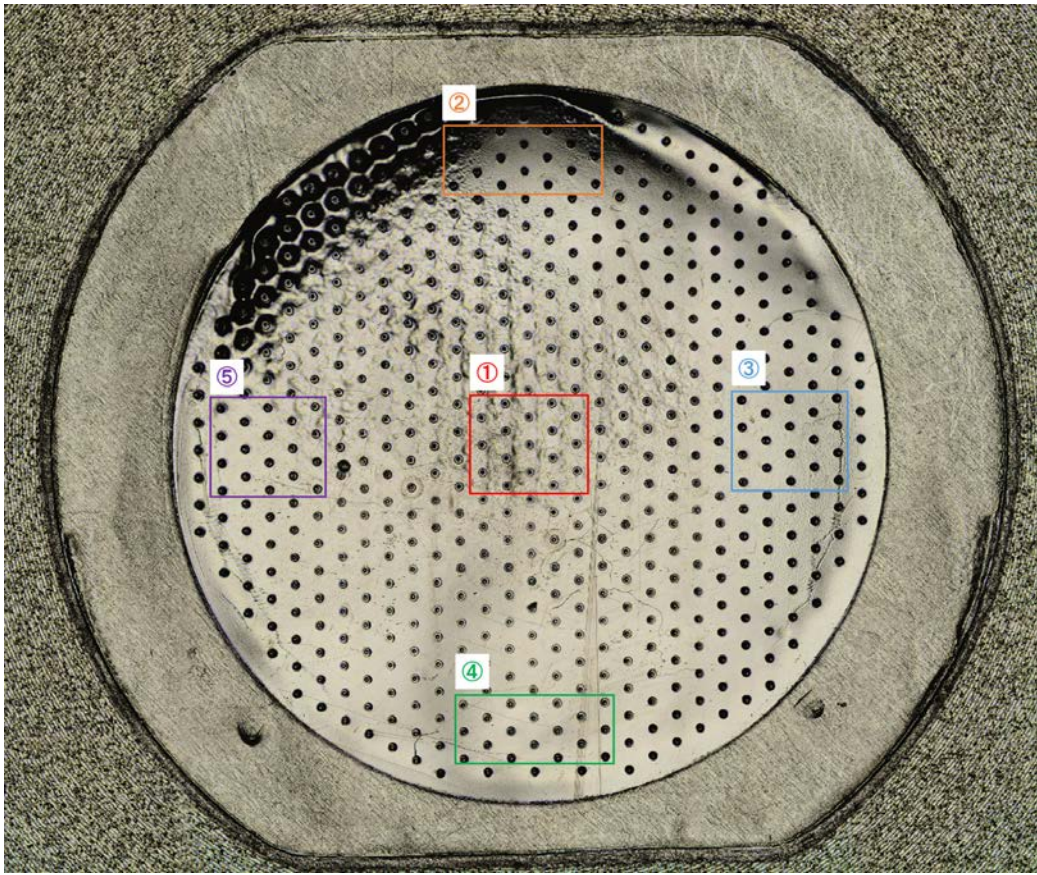
上記高結晶化度マイクロニードルパッチの針長さのバラツキをレーザー顕微鏡で厳密に解析を行った。同時に全体の重量ばらつきについても分析した。

【試験方法】

試作3ロット(ロット番号:150225,150226,150227)を各3枚ずつ計9枚測定した。

測定箇所は以下の図10に示すよう5つのエリアに分けて、①17本、②18本、③18本、④18本、⑤18本 計89本測定した。

図4 MNパッチ中の計測部位



レーザー顕微鏡からの復元図を図5に示す。また解析結果を表1に示す。

図5 マイクロニードルのレーザー顕微鏡からの復元図

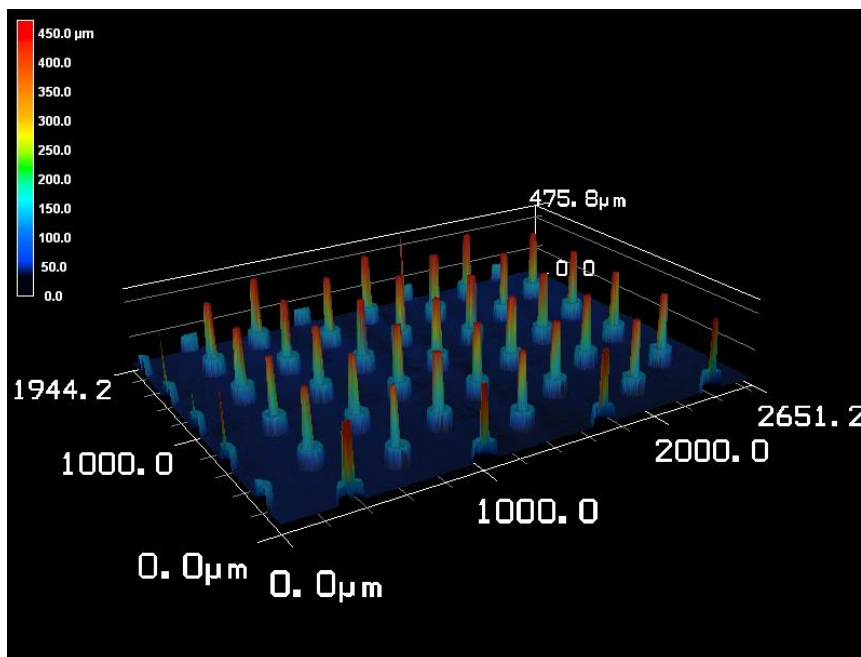


表1 マイクロニードル針高さの計測結果

| Lot | 150225 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Lot内 |
|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| パッチNo. | 1 | | | | | | 2 | | | | | | 3 | | | | | | | |
| 測定位置 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | | |
| 平均(um) | 382.3 | 401.1 | 400.9 | 401.0 | 404.5 | 398.1 | 374.9 | 397.2 | 402.7 | 400.0 | 402.3 | 395.7 | 391.9 | 392.7 | 396.9 | 402.0 | 399.7 | 396.7 | 396.8 | |
| CV値(%) | 6.42 | 1.71 | 0.32 | 0.67 | 0.75 | 3.45 | 7.50 | 2.46 | 0.47 | 0.44 | 0.55 | 4.22 | 2.38 | 2.03 | 0.40 | 0.74 | 0.85 | 1.76 | 0.26 | |

| Lot | 150226 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Lot内 |
|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| パッチNo. | 1 | | | | | | 2 | | | | | | 3 | | | | | | | |
| 測定位置 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | | |
| 平均(um) | 402.3 | 407.3 | 399.4 | 401.5 | 402.2 | 402.5 | 393.8 | 397.5 | 404.8 | 401.6 | 399.6 | 399.5 | 395.3 | 401.8 | 401.4 | 403.1 | 398.9 | 400.2 | 400.7 | |
| CV値(%) | 1.77 | 1.25 | 0.28 | 0.63 | 0.73 | 1.24 | 1.61 | 2.06 | 0.38 | 0.69 | 1.00 | 1.59 | 1.67 | 2.57 | 0.59 | 0.46 | 0.77 | 1.59 | 0.32 | |

| Lot | 150227 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Lot内 |
|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| パッチNo. | 1 | | | | | | 2 | | | | | | 3 | | | | | | | |
| 測定位置 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ①~⑤ | | |
| 平均(um) | 395.5 | 399.3 | 400.8 | 399.6 | 400.6 | 399.2 | 378.1 | 397.4 | 400.8 | 402.8 | 402.4 | 396.5 | 401.4 | 395.2 | 401.2 | 400.3 | 403.1 | 400.2 | 398.7 | |
| CV値(%) | 0.83 | 2.33 | 0.60 | 0.85 | 0.70 | 1.33 | 7.03 | 2.62 | 0.55 | 0.67 | 0.67 | 3.94 | 0.56 | 2.53 | 0.76 | 0.54 | 1.30 | 1.51 | 0.39 | |

Lot.150225 ニードル長さ平均は 396.8μm、CV 値は 0.26%であった。

Lot.150226 ニードル長さ平均は 400.7μm、CV 値は 0.32%であった。

Lot.150227 ニードル長さ平均は 398.7μm、CV 値は 0.39%であった。

別途、高結晶化度マイクロニードルパッチ（ロット番号 140224、測定枚数 98 枚）を用い重量のバラツキについて分析した。その結果以下のものであった。

1 枚あたり平均重量： 194.1 mg
 最大重量： 195.2 mg
 最小重量： 189.0 mg
 標準偏差： 0.68 mg
 CV%： 0.35 %

【結果】

これまで見出したマイクロニードル成型条件で製造した高結晶化度マイクロニードルはバラツキが少なく、安定に製造できると思われる。

(3) 薬液塗布の高度化

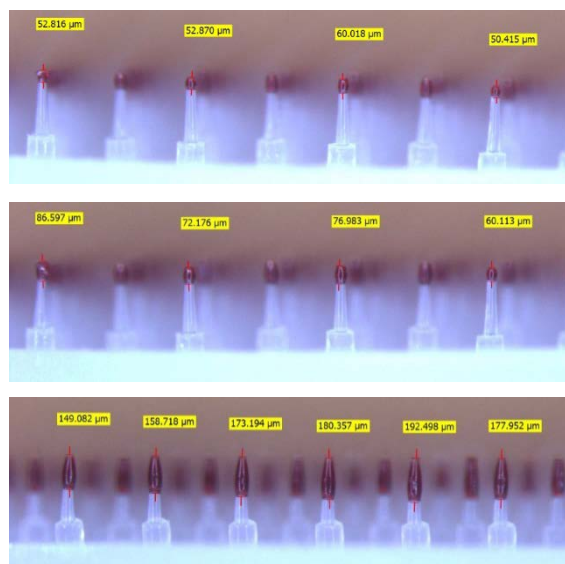
1日 HAMN 製剤を3000枚作製できる自動塗布システムを構築ためには、塗布工程を 1 サイクル 12 秒で完了する必要がある。そこで、塗布液の検討も含めて 10 秒以内で

0.5mg/patch 以上塗布できるように塗布条件について検討を行った。その結果を表2に示す。比較的low粘度の HPC が薬液塗布性が良いと言う結果である。得られたディップ深さが異なるマイクロニードルを図6に示す。

表2 塗工液及び塗布条件検討

| | 上空待機時間 (sec) | 回数 | ディップ深さ (mm) | 塗布量 (mg/patch) | 所要時間 (sec) |
|------------------------|-----------------|----|----------------|-------------------|---------------|
| CMC 1.5% トレハロース 10% | 0.5 | 5 | 0.15 | 0.23 | 8.0 |
| | 1 | 5 | 0.15 | 0.30 | 10.0 |
| | 2 | 3 | 0.15 | 0.35 | 9.3 |
| CMC 1.8% トレハロース 10% | 2 | 3 | 0.15 | 0.22 | 9.3 |
| | 2 | 3 | 0.18 | 0.24 | 9.3 |
| | 3 | 2 | 0.18 | 0.24 | 8.5 |
| HPC 10% トレハロース 10% | 2 | 3 | 0.18 | 0.65 | 9.3 |
| | 3 | 2 | 0.20 | 0.69 | 8.5 |
| | 3 | 2 | 0.22 | 0.84 | 8.5 |
| HPC 15% トレハロース 10% | 3 | 2 | 0.20 | 0.78 | 8.5 |
| | 3 | 2 | 0.22 | 0.90 | 8.5 |
| | 3 | 2 | 0.25 | 0.88 | 8.5 |

図6 ディップ深さを変えて行った塗布試験により製作されたMN



これまでの塗布条件の検討結果に基づき、下記の連続塗布試験を行った。塗布液は CMC1.5%の低粘度溶液を用い、そのほかの添加剤は、トレハロース、ポリソルベート 80 を用いた。

連続塗布の結果は、平均値は 0.398 mg/patch で CV 値は 6.3%であった (図7)。本マイク

ロニードルの顕微鏡写真を図8 に示す。針上に塗布された赤色色素の配列が明瞭に観察される。

図7 連続塗工によるモデル薬物塗布量の変化

縦軸：製造番号（計 73 枚の塗工実験実施） 縦軸：（塗布量 mg/パッチ）

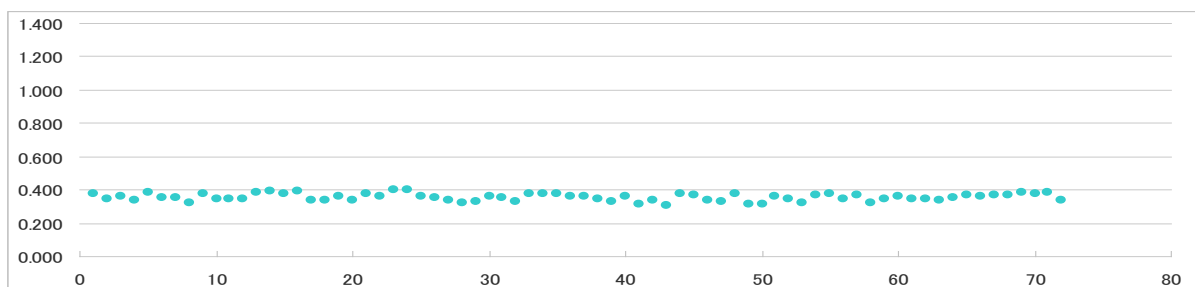
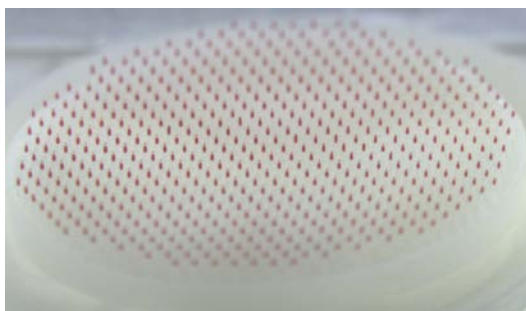


図8 赤色色素塗布のマイクロニードルパッチ全景



【結果】

塗布条件の改良とマイクロニードル自身の改良により薬物塗布精度を向上させ、CV 値で10%以下にすることができた。本結果は今後の本格的ワクチン塗布において有効に応用可能であると考えられる。最終的にはすべての針において10%以内の塗布量であることを目指す。

最終章 全体総括

本支援事業の成果として、（1）ポリグリコール酸からなるマイクロニードルを高精度で成型し、（2）その先端に薬物（インフルエンザ抗原溶液）を高精度で塗布し、（3）アプリケーションにより確実に塗布しヒト皮膚投与における安全性を確認できた。

これらの成果をベースとしてさらなる開発を進めるためニプログループと提携することに決定した。次ページにニプロからの新聞発表を示す。

本プロジェクトはニプログループとの連携においてさらに加速し、近い将来正式な臨床試験へと移行させメガファーマとの共同開発により世界初のインフルエンザマイクロニードルワクチン開発への進めたい。

2015年7月21日



ニプロ株式会社
(コード番号：8086)

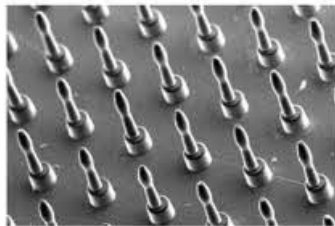
マイクロニードル技術の製品化に向けたライセンス契約締結のお知らせ

ニプロ株式会社（本社：大阪市北区、代表取締役社長 佐野 嘉彦）は、コスメディ製薬株式会社（本社：京都市南区、代表取締役：神山 文男）と、同社が保有するマイクロニードル技術を用いた医薬品の経皮吸収剤の製品化を目的とした独占的ライセンス契約を締結しましたので、お知らせいたします。

本契約締結に伴い、当社は、コスメディ製薬株式会社のマイクロニードルを用いた「皮膚に貼る注射剤」という今までにない全く新しいタイプの経皮吸収剤の製品化を行ってまいります。

マイクロニードルは、多数の微細な針を剣山のように配列させた経皮吸収剤です。薬物を経皮投与する際の最大のバリアである角質層に微小孔を開けることによって、薬物の経皮吸収効率の向上を可能とします。さらに、注射剤投与と比較して痛みが非常に少なく、また、投与が簡便なため、患者さまや医療従事者の方々の負担軽減に繋がります。

マイクロニードル表面にコーティングされた薬剤が皮内で溶解し、投与されます



▲皮膚適用前のマイクロニードル



▲皮膚適用後のマイクロニードル

従来の経皮吸収技術では、薬物自体の物性によって吸収性が大きく左右されるため、経皮吸収剤化を可能とする薬物は限られていました。しかし、マイクロニードル技術を用いるとこれらの制限が小さくなるため、注射として投与されるワクチンやペプチドなどの高分子薬物に応用することが可能となります。

このように、マイクロニードルは将来の経皮吸収剤の一つとして注目されており、今後、大きな市場を形成することが期待されます。

当社は、これまで培ってきた医療機器・医薬品開発の技術と本マイクロニードル技術を活用して製剤開発を推進し、患者さま目線、ユーザー目線に立った低侵襲・簡便・効果的な製剤を、日本はもとより世界の医療機関に向けて提供できるよう努めてまいります。

<お問い合わせ先>

| | | |
|----------------|----------------|------------------|
| リリースの概要に関するご照会 | : 広報担当 | TEL 06-6375-6700 |
| その他製品に関するご照会 | : 医薬品研究所 第三研究部 | TEL 048-740-5041 |