

イエル板へと抗原を届ける必要があるが、消化管においては抗原が消化酵素による分解や酸による変性を受ける可能性があるため、開発は困難となっている。この現状を踏まえて、今後 MH にアジュバントを装填することで、粘膜免疫応答をも誘導可能な経皮ワクチン製剤の開発を推進する必要がある。

インフルエンザに対するワクチンは、毎シーズン流行する株が異なるために毎年の予防接種が推奨されていることや、インフルエンザパンデミックの危険性があるために世界中での大規模接種が必要とされることから、簡便に接種可能な剤形の開発が求められている。MN を用いたインフルエンザ経皮ワクチン製剤の非臨床研究に関しては、シリコン製あるいはステンレス製 MN ばかりでなく (*J. Control. Release* 136, 71-78, 2009, *PLoS ONE* 4, e4773, 2009)、我々と同様のコンセプトによる溶解型 MN を用いた研究報告も認められる (*Nat. Med.* 16, 915-921, 2010)。しかし、ヒトに適用して安全性ならびに有効性を検証した報告はほとんどなく、唯一、シリコン製 MN を用いたインフルエンザ経皮ワクチン製剤がヒトにおいて免疫応答を誘導可能であることを示した報告がなされている (*Vaccine* 27, 454-459, 2009)。この論文においては、MN 型インフルエンザ経皮ワクチン製剤が簡便性に優れるだけでなく、ヒトにおいて投与抗原量を少なくしても従来の筋肉内注射と同等の有効性を発揮できることを示している。しかしながら、経皮ワクチンデバイスとして使用されているシリコン製 MN は中空型であり、従来の注射ワクチン製剤と投与デバイス（注射針ならびにシリンジ）が異なるだけで、抗原溶液の低温温度管理の必要性や注射針を介した二次感染の危険性を払拭できないという課題がある。一方、我々の MH（溶解型 MN）は微小針が皮膚内で

溶解することから安全面に優れるだけでなく、乾燥製剤として製造するため輸送や保管の大幅なコストダウンにつながる cold chain-free を図れる可能性があるため、その実用化に大きな期待が寄せられている。

そこで、MH を用いたインフルエンザ経皮ワクチン製剤のヒトにおける安全性ならびに有効性を検証する臨床研究を実施した。本製剤を貼付した皮膚局所には明らかな紅斑が認められたが、これは抗原送達部位が従来の皮下注射投与と比較してより皮膚の表層であるために免疫反応（炎症反応）が外面的に認知されやすくなったためであると考えられた。確認された紅斑は経時的に回復し、皮膚局所に対する一過性の刺激性や起炎性以外に重篤な副反応は認められなかった。また、いずれの被験者においても本製剤の貼付に起因する血液検査値の顕著な変化は認められなかったため、全身性の副反応も誘発されなかったと判断された。さらに、インフルエンザ経皮ワクチンはヒトにおいて HA 抗原特異的抗体産生を誘導し、その感染防御効果（HI 価）はインフルエンザワクチンの有効性判定における指標である EMA 基準を満たすことが判明した。しかし、経皮ワクチン製剤適用被験者群における HI 価上昇効果は、対照群である従来の注射ワクチン製剤を適用した被験者群と比較して僅かながら劣っていた。これは、今回の臨床研究において MH 製剤の貼付が不完全であった被験者が多数いたことに起因しており、2 回の MH 製剤の貼付においていずれも微小針の 50%以上が溶解していた（装填 HA 抗原量の 50%以上が投与された）被験者 7 名に絞って解析を実施したところ、MH 経皮ワクチン群は注射ワクチン群に匹敵する有効性が得られることが判明した。また、経皮ワクチン群では B 型株 HA 抗原に対する抗体産生誘導効果が注射ワクチン群と比較して優れていることも明らかになった。

A 型インフルエンザウイルスは一般的に流行感染しやすく、被験者の中にも感染歴がある可能性が高いのに対して、B 型インフルエンザウイルスによる流行感染は頻度が比較的少ないとされている。したがって、A 型株 HA 抗原投与はブースト免疫として作用している可能性があり、経皮投与ならびに注射投与ともに高いワクチン効果が得られたと考えられる。一方、B 型株 HA 抗原の投与によって特異的抗体産生を増大させるには、初回免疫として強力な免疫応答誘導能が必要であり、抗原提示細胞である LC や dDC が豊富に存在する皮膚表層を標的とした経皮投与だからこそそれを満たした可能性が考えられる。このように、MH を用いた経皮ワクチン製剤はヒトにおいても高い免疫応答誘導能を有することが実証された。また、50%以上の微小針が溶解したという基準（抗原利用率 50%以上）を設けた解析において、経皮ワクチン製剤の有効性は注射ワクチン製剤（抗原利用率 100%）に匹敵したことから、経皮投与はワクチン効果を引き出すための投与抗原量を低減できる可能性が示唆された。

今後、簡便性・普及性に優れた経皮ワクチン製剤の実用化を目指して、確実にヒト皮膚に穿刺できる針部耐荷重値を備えた MH の改良やアプリーターの開発に取り組む予定である。

また、OVA をモデル抗原として針部先端にコーティングした nMN 製剤を作製し、その経皮ワクチン効果を動物実験において検証したところ、OVA を皮下注射免疫した場合に匹敵する血清中 OVA 特異的抗体価の上昇が認められた。今後、各種ワクチン抗原の針部コーティング条件の最適化や抗原装填 MN 製剤の安定性評価など、nMN および pMN を応用した経皮ワクチン製剤の実用化を見据えた基盤技術の強化・改良と基礎データの集積を図る予定である。

D. 4. 経皮ワクチン製剤用アジュバントの探索

ワクチン開発の歴史は、生物として生きたままの病原体の病原性を弱めた弱毒化生ワクチンから、病原体に化学処理等を施して死滅させた不活化ワクチン、病原体を構成する蛋白質等を精製したコンポーネントワクチンへと発展し、ワクチンのデメリットとされてきた原材料（病原体）由来の毒性（副反応）は抑制できるようになってきた。一方、コンポーネントワクチンをはじめ精製度が向上した現在のワクチン抗原の多くは、単味投与では免疫応答を誘導しにくいということが次第に明らかになり、アジュバントを併用する必要性が広く認められるようになってきた。

本邦ではアジュバントとして主に Alum が用いられているが、不溶性に伴う利便性の悪さやアルミニウムの毒性・細胞傷害性といった問題を抱えている。ワクチンの安定した効果を保証するために、安全性と有効性を兼備した新規アジュバントの探索・開発は昨今のワクチン開発研究において重要な課題となっている。近年の免疫学の発展によって、自然免疫応答の活性化がワクチンにとって重要な獲得免疫応答の成立に必須であることが明らかになった（*Nature* 388, 394-397, 1997）。また、自然免疫応答を惹起する重要な分子として TLR が同定され、TLR-L を用いたアジュバント開発が獲得免疫応答の成立を強力に手助けする手段として注目されている（*Curr. Opin. Immunol.* 21, 339-345, 2009）。実際に、TLR4-L である MPLA は欧米では既に上市されたワクチンのアジュバント成分の一つとして使用されており、TLR3, 5, 7, 8, 9 に対するそれぞれのリガンドもアジュバント候補物質として臨床試験が盛んに行われているなど、TLR-L は有効かつ安全なアジュ

バントとしての地位を確立しつつある。しかしながら、これらのアジュバントの投与方法は筋肉内注射あるいは皮下注射である。投与部位が異なれば、そのアジュバントの作用する細胞群も異なるため、投与形態に応じたアジュバント開発が必要である。

そこで、MN の貼付によって予め穿孔した皮膚に対して一定量の抗原 (OVA) とアジュバント候補物質を含む溶液を塗布し、それを親水性ゲルパッチによって被覆することで皮膚内へと確実に浸透させる実験法を確立した (Puncturing 法)。Puncturing 法において各種アジュバント候補物質の免疫応答増強効果を評価したところ、TLR4-L である MPLA と TLR9-L である ODN1826 が、抗原量や免疫回数の低減につながる有望な経皮アジュバント候補物質であることを見出した。特に、ODN1826 は初回免疫から高い抗原特異的抗体産生を誘導し、また免疫応答バランスを Th1 型優位に偏向させることも示唆された。アジュバントは免疫応答を増強する一方で、過剰な炎症反応を誘導するなどの危険性をはらむ諸刃の剣であると言える。そのため、MPLA と ODN1826 の安全性についても評価した結果、いずれも局所ならびに全身性に重篤な副反応を引き起こさず、アジュバント活性を発揮する用量で安全に適用できることが示唆された。前述のとおり MPLA は既に注射型ワクチンのアジュバントとして臨床応用されており、また ODN1826 はヒト型に改変された同様の CpG-ODN (K3) について臨床試験が進められている (*J. Clin. Immunol.* 24, 693-701, 2004, *Hum. Vaccin. Immunother.* 9, 283-290, 2013)。したがって、これら両候補物質を経皮ワクチンアジュバントとして開発していくにあたって、ヒトでの安全性および有効性を検証する臨床研究へと展開する際の倫理的ハードルは比較的超えやすいことが予想される。

本研究では、経皮ワクチン製剤用のアジュバントとして有望な CpG-ODN が、経皮投与においても TLR9 を介してその作用が発揮されていること、また CpG-ODN により刺激された KC が IL-8 の産生分泌を亢進させることを明らかにすることができた。今後、これらの基礎情報を活用してワクチン抗原の用量や投与回数の低減 (コスト削減) ならびに免疫応答増強に基づく安定した有効性を達成できる未来型経皮ワクチン製剤の創出を図り、その有用性を検証するための臨床研究へと展開していきたいと考えている。

E. 結論

E. 1. MN の物理化学的特性解析

- MH、nMN、および pMN が角質層下の皮膚組織に効率よく物質送達できる経皮ワクチンデバイスであることを実証した。また、MH を用いた経皮ワクチン製剤の長期安定性を確認した。

E. 2. MN の安全性評価

- MH、nMN、および pMN のヒト皮膚に対する穿刺特性を明らかにし、これらのデバイスがヒトに安全に適用できることを実証した。

E. 3. MN を用いた経皮ワクチン製剤の安全性・有効性評価

- 動物実験および臨床研究において、MH を用いたインフルエンザ経皮ワクチン製剤の安全性および有効性を実証した。また、nMN にモデル抗原として OVA を装填した各経皮ワクチン製剤の免疫応答誘導能を確認した。

E. 4. 経皮ワクチン製剤用アジュバントの探索

- 経皮ワクチン製剤用アジュバントの候補物質として CpG-ODN を見出し、経皮投与における安全性を確認するとともに、その作用機序の一端を明らかにした。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

G.1. 論文発表

- 1) Sachiko Hirobe, Hiroaki Azukizawa, Kazuhiko Matsuo, You Zhai, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Hiroshi Suzuki, Ichiro Katayama, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Development and clinical study of a self-dissolving microneedle patch for transcutaneous immunization device: *Pharm. Res.* **30**(10): 2664-2674 (2013)
- 2) Yasuhiro Hiraishi, Sachiko Hirobe, Hiroshi Iioka, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Hideo Asada, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Development of a novel therapeutic approach using a retinoic acid-loaded patch for seborrheic keratosis treatment and safety study in humans: *J. Control. Release* **171**(2): 93-103 (2013)
- 3) Kazuhiko Matsuo, Sachiko Hirobe, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Frontiers of transcutaneous vaccination systems: Novel technologies and devices for vaccine delivery: *Vaccine* **31**(19): 2403-2415 (2013)
- 4) Sachiko Hirobe, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Transcutaneous vaccines: current and emerging strategies: *Expert Opin. Drug Deliv.* **10**(4): 485-498 (2013)
- 5) Yasuhiro Hiraishi, Takeshi Nakagawa, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Sachiko Hirobe, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Performance and characteristics evaluation of a sodium hyaluronate-based microneedle patch for a transcutaneous drug delivery system: *Int. J. Pharm.* **441**(1-2): 570-579 (2013)
- 6) 岡田直貴: 経皮ワクチン製剤 (貼るワクチン) の基礎から臨床: *薬学雑誌* **133**(12): 1363-1372 (2013)
- 7) 廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作: マイクロニードル型経皮ワクチン製剤の実用化を目指して: *感染・炎症・免疫* **43**(3): 259-262 (2013)
- 8) Kazuhiko Matsuo, Yayoi Yokota, You Zhai, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Yohei Mukai, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: A low-invasive and effective transcutaneous immunization system using a novel dissolving microneedles patch for soluble and particulate antigens: *J. Control. Release* **161**(1): 10-17 (2012)
- 9) Kazuhiko Matsuo, Sachiko Hirobe, Yayoi Yokota, Yurika Ayabe, Masashi Seto, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Takahiro Tougan, Toshihiro Horii, Yohei Mukai, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Transcutaneous immunization using a dissolving microneedle array protects against tetanus, diphtheria, malaria, and influenza: *J. Control. Release* **160**(3): 495-501 (2012)
- 10) 廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮ワクチンの進歩と展望: *臨床免疫・アレルギー科* **58**(3): 313-321 (2012)

G.2. 学会発表

- 1) 廣部祥子, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: インフルエンザ経皮ワクチン製剤のヒトにおける免疫誘導特性および長期保存安定性: *第17回日本ワクチン学会学術集会*, 三重県 (津市), 2013年11月30日-12月1日
- 2) 大栗千佳, 廣部祥子, 権 英淑, 神山文

- 男, 岡田直貴, 中川晋作: Th2 偏向性免疫応答を誘導するアルツハイマー病経皮ワクチン療法の開発: **第17回日本ワクチン学会学術集会**, 三重県 (津市), 2013年11月30日-12月1日
- 3) 須佐井 亮, 廣部祥子, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮投与した CpG オリゴヌクレオチドのアジュバント活性に関する基礎的検討: **第17回日本ワクチン学会学術集会**, 三重県 (津市), 2013年11月30日-12月1日
 - 4) Risa Otsuka, Yasuhiro Hiraishi, Sachiko Hirobe, Hiroshi Iioka, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Hideo Asada, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Development of a novel therapeutic approach using a retinoic acid-loaded microneedle patch for seborrheic keratosis treatment: *The Asian Federation for Pharmaceutical Sciences Conference 2013 (AFPS 2013)*, Jeju, Republic of Korea, November 20-22, 2013
 - 5) Sachiko Hirobe, Hiroaki Azukizawa, Kazuhiko Matsuo, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Ichiro Katayama, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: Development and clinical study of a dissolving microneedle patch for transcutaneous immunization device: *The Asian Federation for Pharmaceutical Sciences Conference 2013 (AFPS 2013)*, Jeju, Republic of Korea, November 20-22, 2013
 - 6) 大塚梨沙, 平石恭大, 権 英淑, 神山文男, 浅田秀夫, 廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作: レチノイン酸装填マイクロニードル製剤のヒトにおける安全性・有効性評価 ～色素斑ならびに脂漏性角化症に対する新規治療法の確立を目指して～: **第63回日本薬学会近畿支部総会・大会**, 京都府 (京田辺市), 2013年10月12日
 - 7) 廣部祥子, 西内 翠, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: マイクロニードルデバイスを用いた経皮 DNA ワクチンに関する基礎的検討: **遺伝子・デリバリー研究会 第13回夏期セミナー**, Honolulu, Hawaii, U.S.A., July 24, 2013
 - 8) Sachiko Hirobe, Kazuhiko Matsuo, Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Naoki Okada, and Shinsaku Nakagawa: A novel transcutaneous vaccine formulation using a self-dissolving microneedle patch: *The 40th Annual Meeting and Exposition of the Controlled Release Society*, Honolulu, Hawaii, U.S.A., July 21-24, 2013
 - 9) 廣部祥子, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: インフルエンザ HA 抗原装填マイクロニードルパッチ製剤の長期保存安定性に関する検討: **第29回日本DDS学会学術集会**, 京都府 (京都市), 2013年7月4-5日
 - 10) 大塚梨沙, 平石恭大, 廣部祥子, 権 英淑, 神山文男, 浅田秀夫, 岡田直貴, 中川晋作: 脂漏性角化症治療を目指したレチノイン酸装填マイクロニードル製剤の開発: **第29回日本DDS学会学術集会**, 京都府 (京都市), 2013年7月4-5日
 - 11) 廣部祥子, 小豆澤宏明, 花房崇明, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 片山一朗, 岡田直貴, 中川晋作: 臨床研究におけるインフルエンザ経皮ワクチン製剤の免疫誘導特性に関する解析: **日本薬剤学会第28年会**, 愛知県 (名古屋市), 2013年5月23-25日
 - 12) 大栗千佳, 廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋

- 作：ランゲルハンス細胞ターゲットイン
グを目指した Fc 融合アミロイドβペプ
チドの創製： **日本薬剤学会第 28 年会**，
愛知県（名古屋市），2013 年 5 月 23-25
日
- 13) 須佐井亮，王 洪，廣部祥子，権 英淑，
神山文男，岡田直貴，中川晋作： CpG オ
リゴヌクレオチドの経皮アジュバント
活性に関する基礎的検討： **日本薬剤学
会第 28 年会**，愛知県（名古屋市），2013
年 5 月 23-25 日
- 14) 岡田直貴： 経皮ワクチン製剤（貼るワ
クチン）の基礎から臨床： **日本薬学会第
133 年会**，神奈川県（横浜市），2013 年
3 月 27-30 日
- 15) 大塚梨沙，平石恭大，廣部祥子，権 英
淑，神山文男，岡田直貴，中川晋作： レ
チノイン酸装填マイクロニードルを用
いた脂漏性角化症に対する新規薬物治
療法の開発： **日本薬学会第 133 年会**，神
奈川県（横浜市），2013 年 3 月 27-30 日
- 16) 佐藤智美，平石恭大，廣部祥子，翟 優，
横田やよい，権 英淑，神山文男，岡田
直貴，中川晋作： 経皮免疫造成に寄与す
る皮膚内溶解型マイクロニードルの特
性解析： **日本薬学会第 133 年会**，神奈川
県（横浜市），2013 年 3 月 27-30 日
- 17) 岡田直貴： The cutting edge of the
transcutaneous vaccine development
（経皮（貼る）ワクチン開発の最前線）：
第 86 回日本細菌学会総会，千葉県（千
葉市），2013 年 3 月 18-20 日
- 18) Hiroaki Azukizawa, Sachiko Hirobe,
Takaaki Hanafusa, Kazuhiko Matsuo,
Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Ichiro
Katayama, Naoki Okada, and Shinsaku
Nakagawa: A Clinical study of
influenza vaccine using a dissolving
microneedle array: **日本研究皮膚科学
会第 37 回年次学術大会**，沖縄県（那覇
市），2012 年 12 月 7-9 日
- 19) Sachiko Hirobe, Hiroaki Azukizawa,
Takaaki Hanafusa, Kazuhiko Matsuo,
Ying-Shu Quan, Fumio Kamiyama, Ichiro
Katayama, Naoki Okada, and Shinsaku
Nakagawa: Clinical study of
transcutaneous influenza vaccine
using a self-dissolving microneedle
patch: **第 6 回次世代を担う若手医療薬
科学シンポジウム**，京都府（京都市），
2012 年 11 月 23-24 日
- 20) 岡田直貴：世界初、日本発の貼るワクチ
ンの実用化を目指して： **第 4 回経皮投与
製剤 FG シンポジウム**，東京都（品川区），
2012 年 11 月 19 日
- 21) 岡田直貴： マイクロニードル型経皮ワ
クチン製剤の実用化を目指して： **第 16
回日本ワクチン学会学術集会**，神奈川
県（横浜市），2012 年 11 月 17-18 日
- 22) 廣部祥子，小豆澤宏明，花房崇明，松尾
一彦，権 英淑，神山文男，片山一朗，
向 洋平，岡田直貴，中川晋作： 皮膚内
溶解型マイクロニードルを用いたイン
フルエンザ経皮ワクチンの臨床研究：
第 16 回日本ワクチン学会学術集会，神
奈川県（横浜市），2012 年 11 月 17-18
日
- 23) 大塚梨沙，平石恭大，廣部祥子，仁木一
順，権 英淑，神山文男，岡田直貴，中
川晋作： レチノイン酸装填マイクロニ
ードルを用いた脂漏性角化症に対する
新たな治療法の開発： **第 62 回日本薬学
会近畿支部総会・大会**，兵庫県（西宮
市），2012 年 10 月 20 日
- 24) 岡田直貴： 本邦発の経皮ワクチン製剤
の実用化を目指して： **第 28 回日本 DDS
学会学術集会**，北海道（札幌市），2012
年 7 月 4-5 日
- 25) 廣部祥子，小豆澤宏明，花房崇明，仁木
一順，松尾一彦，権 英淑，神山文男，

- 片山一朗, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: インフルエンザ HA 抗原装填マイクロニードルパッチ製剤のヒトにおける安全性・有効性の検証: **第 28 回日本 DDS 学会学術集会**, 北海道 (札幌市), 2012 年 7 月 4-5 日
- 26) 中川岳志, 平石恭大, 権 英淑, 神山文男, 松尾一彦, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチン製剤の物理化学的特性: **日本薬剤学会第 27 年会**, 兵庫県 (神戸市), 2012 年 5 月 24-26 日
- 27) 仁木一順, 松尾一彦, 廣部祥子, 権 英淑, 神山文男, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 新型インフルエンザパンデミックに即時対応できる経皮ワクチンシステムの開発: **日本薬学会第 132 年会**, 札幌, 2012 年 3 月 28-31 日
- 28) 松尾一彦, 横田やよい, 廣部祥子, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いたインフルエンザ経皮ワクチンの開発: **第 15 回日本ワクチン学会学術集会**, 東京, 2011 年 12 月 10-11 日
- 29) 翟 優, 松尾一彦, 齋場雄貴, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮ワクチン (貼るワクチン) における Toll 様受容体リガンドのアジュバント効果: **第 15 回日本ワクチン学会学術集会**, 東京, 2011 年 12 月 10-11 日
- 30) 西内 翠, 廣部祥子, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮ワクチンデバイスー皮膚内溶解型マイクロニードルーのヒトにおける安全性試験: **第 15 回日本ワクチン学会学術集会**, 東京, 2011 年 12 月 10-11 日
- 31) 廣部祥子, 松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮ワクチン製剤のヒトにおける安全性および有効性の評価: **第 40 回日本免疫学会学術総会**, 千葉, 2011 年 11 月 27-29 日
- 32) 松尾一彦, 廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを応用した経皮免疫製剤の感染防御効果: **第 40 回日本免疫学会学術総会**, 千葉, 2011 年 11 月 27-29 日
- 33) 岡本英揚, 松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作: アルツハイマー病モデルマウスにおけるアミロイドβ装填マイクロニードル製剤の経皮ワクチン効果: **第 40 回日本免疫学会学術総会**, 千葉, 2011 年 11 月 27-29 日
- 34) 松尾一彦, 廣部祥子, 翟 優, 権 英淑, 神山文男, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 感染症予防対策に資する経皮ワクチン製剤 (貼るワクチン) の開発ーマイクロニードル型貼るワクチン: **第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会**, 神戸, 2011 年 10 月 22 日
- 35) 廣部祥子, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 浅田秀夫, 小豆澤宏明, 片山一朗, 鈴木 博, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮ワクチン製剤「貼るワクチン」の実用化を目指した橋渡し研究ーヒトにおける安全性・有効性の評価: **第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会**, 神戸, 2011 年 10 月 22 日
- 36) 廣部祥子, 松尾一彦, 横田やよい, 権 英淑, 神山文男, 小豆澤宏明, 片山一朗, 森川彰子, 井上龍巳, 角田秀信, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた貼るワクチンの実用化に向けて: **第 10 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィォラム 2011**, 仙台, 2011 年 10 月 8-9 日
- 37) 岡本英揚, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いたアルツハイマー型認知症に対する経皮ワクチン療法の開発: **第 10 回次世代を**

担う若手ファーマ・バイオフィォーラム

2011, 仙台, 2011 年 10 月 8-9 日

38) 仁木一順, 廣部祥子, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いたアトピー性皮膚炎治療法の可能性: **第 29 回日本美容皮膚科学会学術集会**, 下関, 2011 年 9 月 10-11 日

39) 廣部祥子, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 小豆澤宏明, 片山一朗, 鈴木 博, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルの穿刺特性および安全性に関する臨床研究: **第 27 回日本 DDS 学会学術集会**, 東京, 2011 年 6 月 9-10 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

H. 1. 特許取得

1) (発明の名称): DNA ワクチンマイクロニードル, (発明人): 権 英淑, 神山文男, 中川晋作, 岡田直貴, (出願人): コスメディ製薬株式会社, (出願日): 平成 23 年 9 月 1 日, (出願番号): 特願 2011-205253, (公開日): 平成 25 年 3 月 21 日, (公開番号): 特開 2013-052202

H. 2. 実用新案登録

該当事項なし

H. 3. その他

該当事項なし

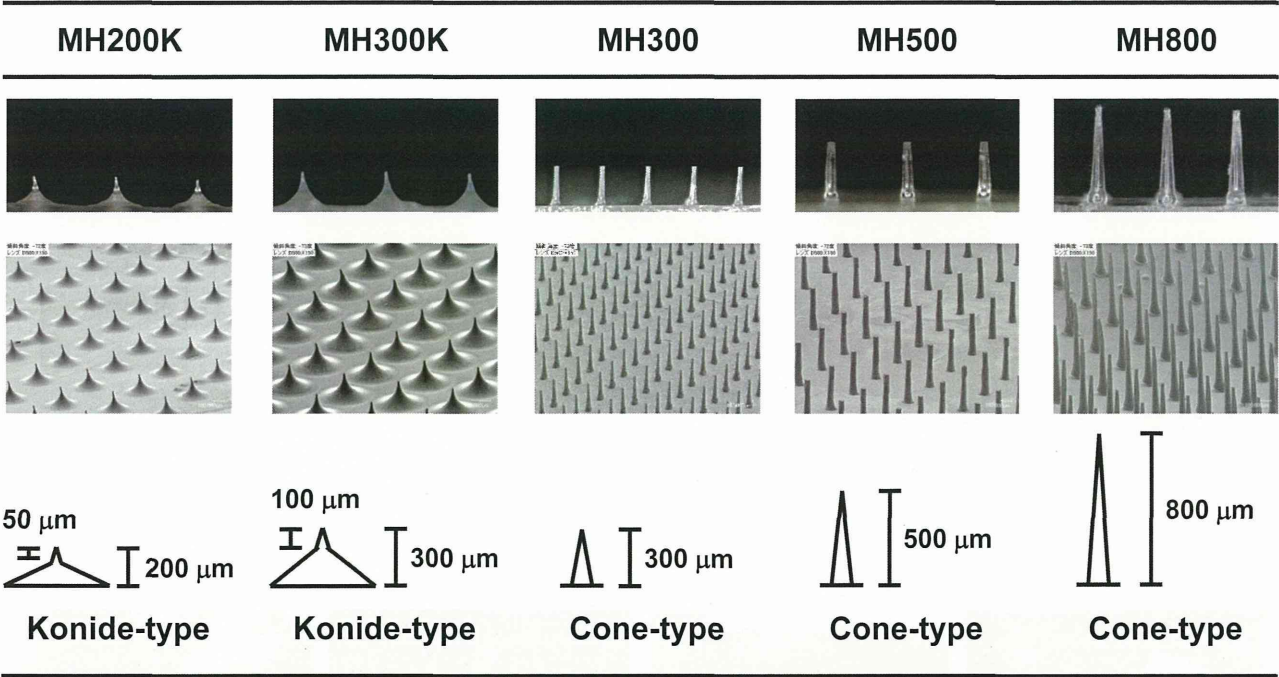


Fig. 1 Dimension of self-dissolving microneedle array (MicroHyal; MH).

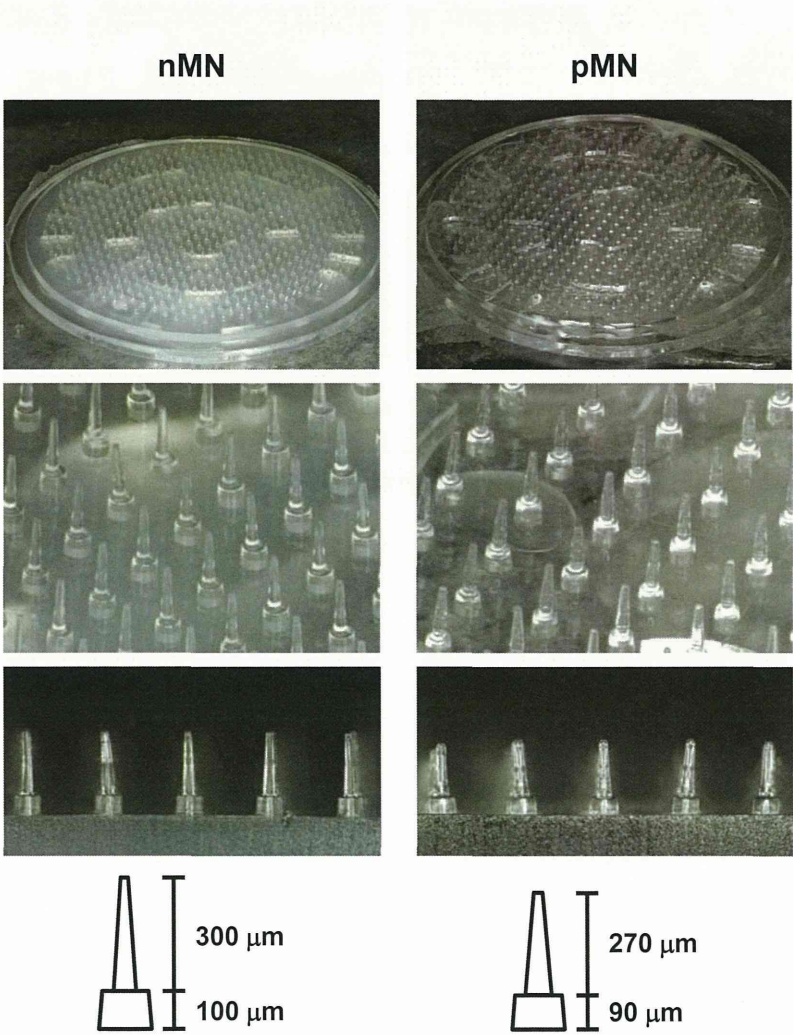


Fig. 2 Dimension of solid microneedle array (nMN and pMN).

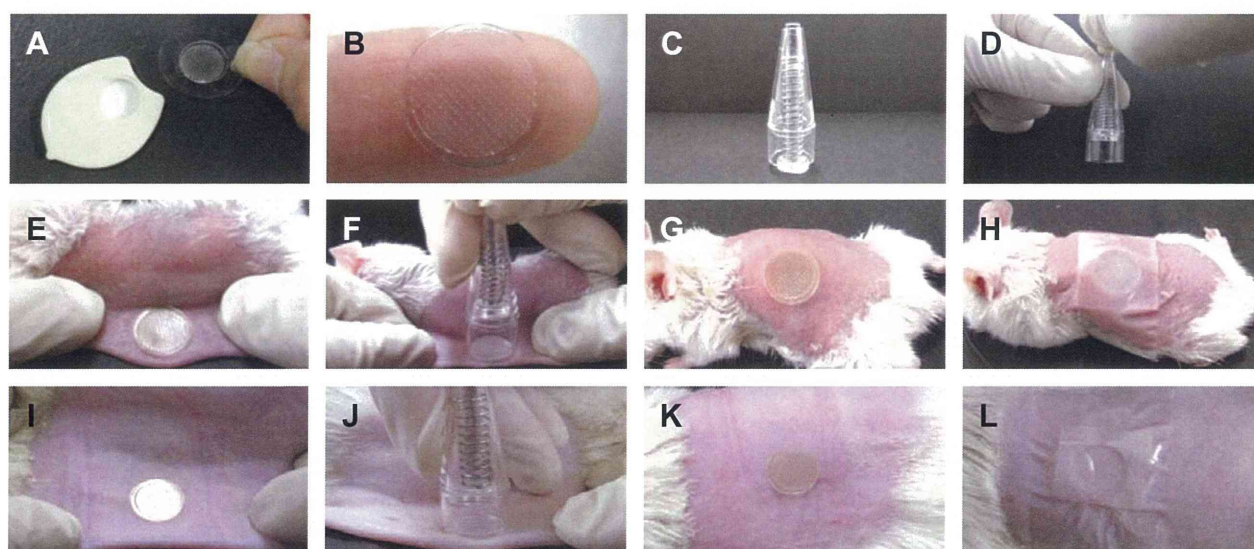


Fig. 3 Schematic drawing of transcutaneous vaccination procedure. A and B; MN, C and D; applicator for MN application, E, F, G, I, J, and K; application of MN to back skin of mice (E, F, G) or rats (I, J, K), H and L; covering with a wound management film over MN.

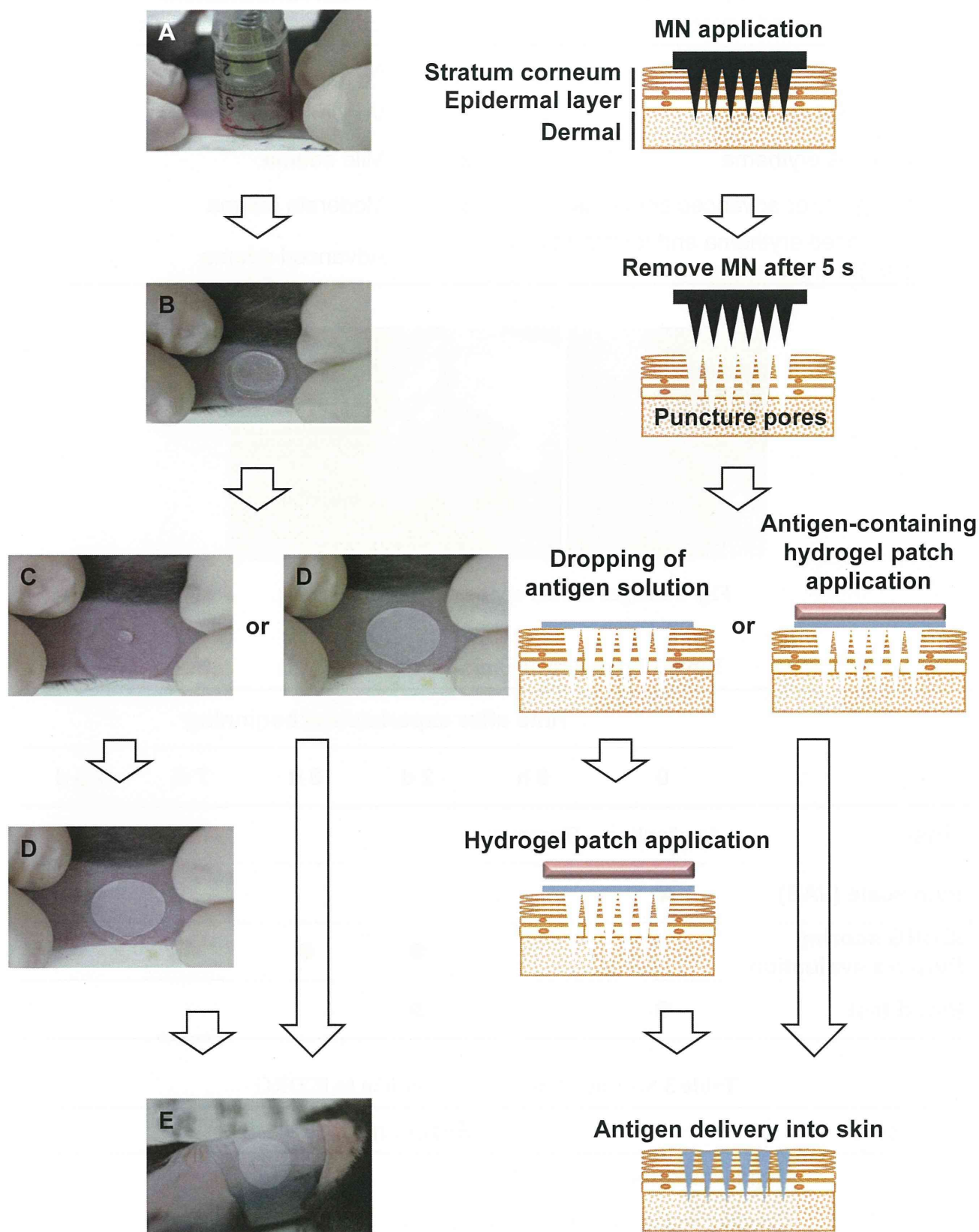


Fig. 4 Schematic drawing of the puncturing method for transcutaneous antigen delivery. (A, B) application of MN to animal skin. (C) removal of the MN, and then dropping antigen solution on the MN-applied site. (D, E) application of a hydrogel patch, and then covering with a wound management film over the hydrogel patch.

Table 1 Draize dermal scoring criteria

Erythema and crust	Score	Edema	Score
No erythema	0	No edema	0
Very mild erythema	1	Very mild edema	1
Obvious erythema	2	Mild edema	2
Moderate or advanced erythema	3	Moderate edema	3
Advanced erythema and formation of a slight crust	4	Advanced edema	4

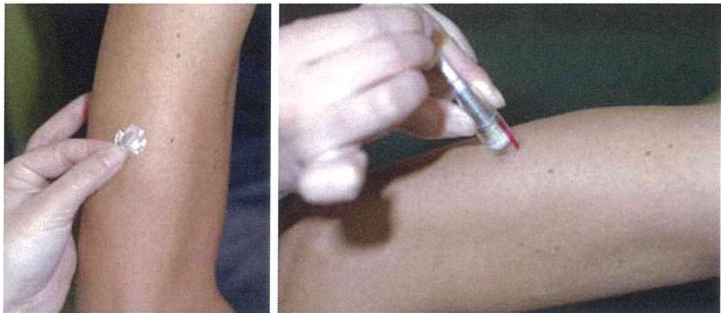


Fig. 5 Images of MH application to human skin.

Table 2 Procedure of clinical study using MHs

	Time after experimental beginning					
	0	6 h	2 d	3 d	7 d	30 d
MHs	Application	Removal				
Pain scale (VAS)	●					
ICDRG scoring			●	●	●	●
Purpura evaluation						
Blood test	●		●			

Table 3 Scoring of patch test according to ICDRG

Score	Reactions
-	Negative reaction
+?	Doubtful reaction; faint erythema only
+	Weak (non-vesicular) positive reaction; erythema, infiltration and possibly papules
++	Strong (vesicular) positive reaction; erythema, infiltration, papules, vesicles
+++	Extreme positive reaction; bullous reaction
IR	Irritant reaction

Table 4 Procedure of clinical study using nMH and pMH

	Time after experimental beginning			
	0	30 min	2 d	7 d
nMH and pMH	Application	Removal		
Pain scale (VAS)	●			
TEWL measurement		●		
ICDRG scoring			●	●
Purpura evaluation				

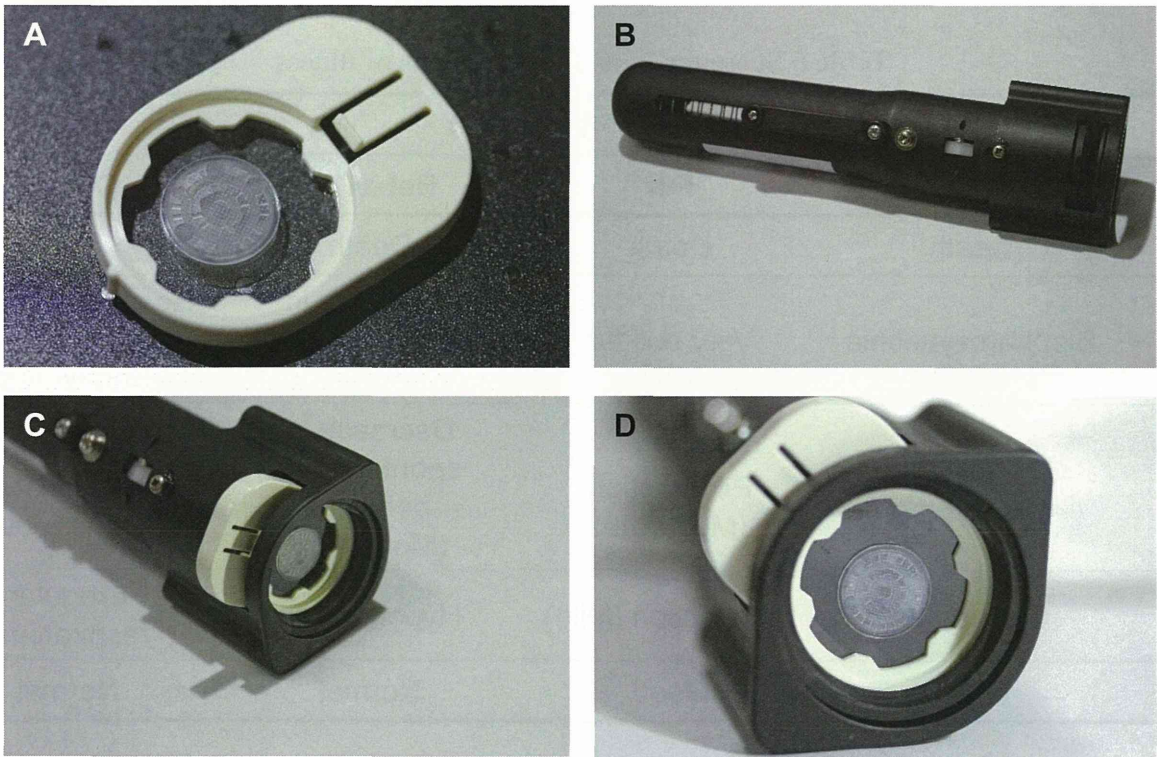


Fig. 6 MN formulation and applicator for clinical study using nMH and pMH. A; MN cassette, B; applicator for MN application, C and D; set image of MN and applicator.

Table 5 ASA scoring system

Score	Symptoms
0	Symptomless
1	Rubbing face and ears, cough more than 2 times
2	Cyanosis caused on eye or ear, intense spasm and tumbling
3	Death

Table 6 Score for signs and symptoms of illness

Score	Condition			
	Eye	Fur	Behavior	Others
5	Death	Death	Death	Death
4	Blepharosynechia	Very dull fur	Decrease in spontaneous behavior (Severe)	Respiration failure, Cooling of body, Cadaverous
3	Loss of eyelid reflex	Dull fur, Piloerection (Moderate)	Decrease in spontaneous behavior (Moderate)	Irregular respirations, Cadaverous
2	Closed eye	Piloerection (Mild)	Hyperkinesis	Irregular respirations
1	Good	Good	Normal	Normal

Table 7 Procedure of clinical study using 3-HA-containing MH800

	Day after experimental beginning			
1 st vaccination	Day 0	Day 2	Day 7	Day 21
2 nd vaccination	Day 21	Day 23	Day 28	Day 42
Skin irritation		●	●	●
Purpura evaluation				
Blood test	●	●	●	●
Pain scale (VAS)	●			
Antibody measurement (HI test)	●		●	●
Cytokine production	●			●

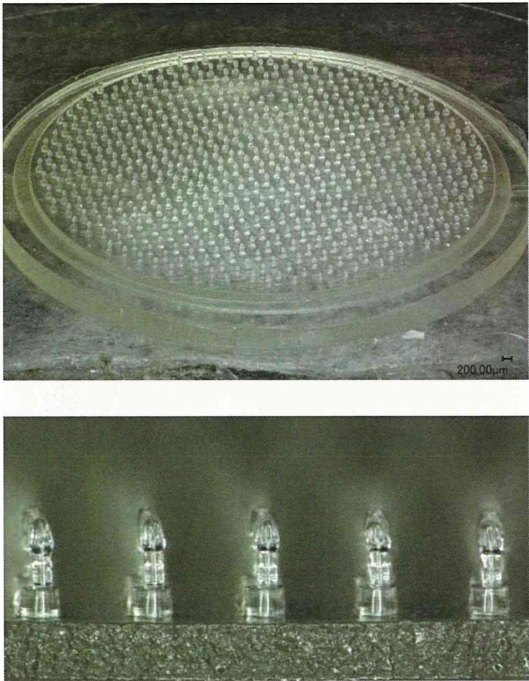


Fig. 7 Image of OVA-coated nMN.

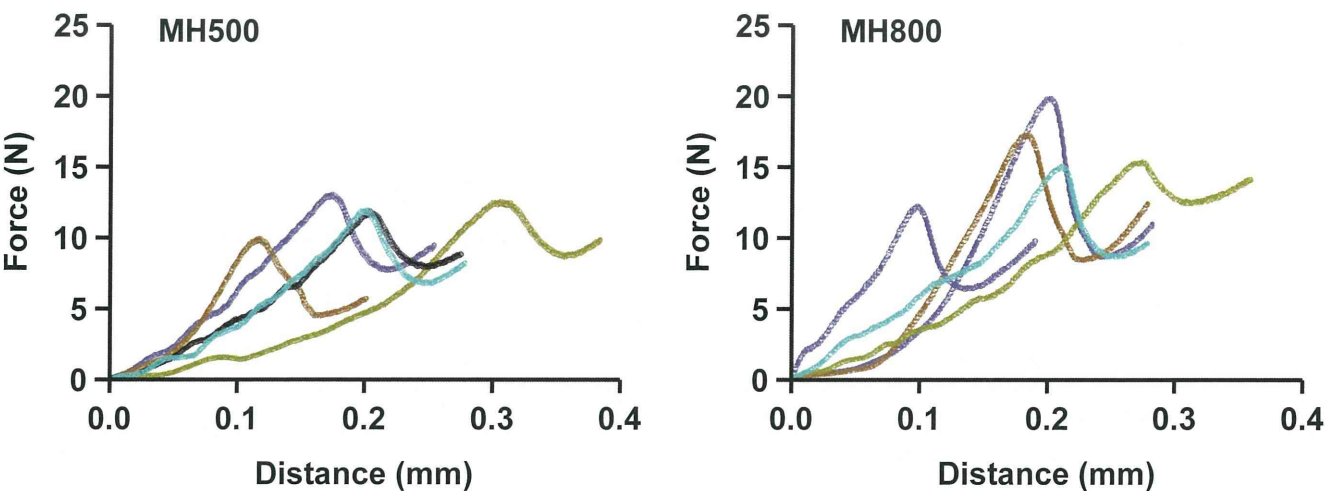


Fig. 8 Mechanical failure force analysis of MHs. Force was measured as a function of the displacement of the stainless steel cylinder pressed against the MHs. Under an axial load, needle failure was identified by a sudden drop in force.

Table 8 Failure force of MH500 and MH800

	MH500	MH800
Force (N/needle)	0.23	0.36
	0.18	0.31
	0.22	0.27
	0.21	0.22
	0.21	0.27
Average	0.21	0.29
S.D.	0.02	0.05
%CV	10	18

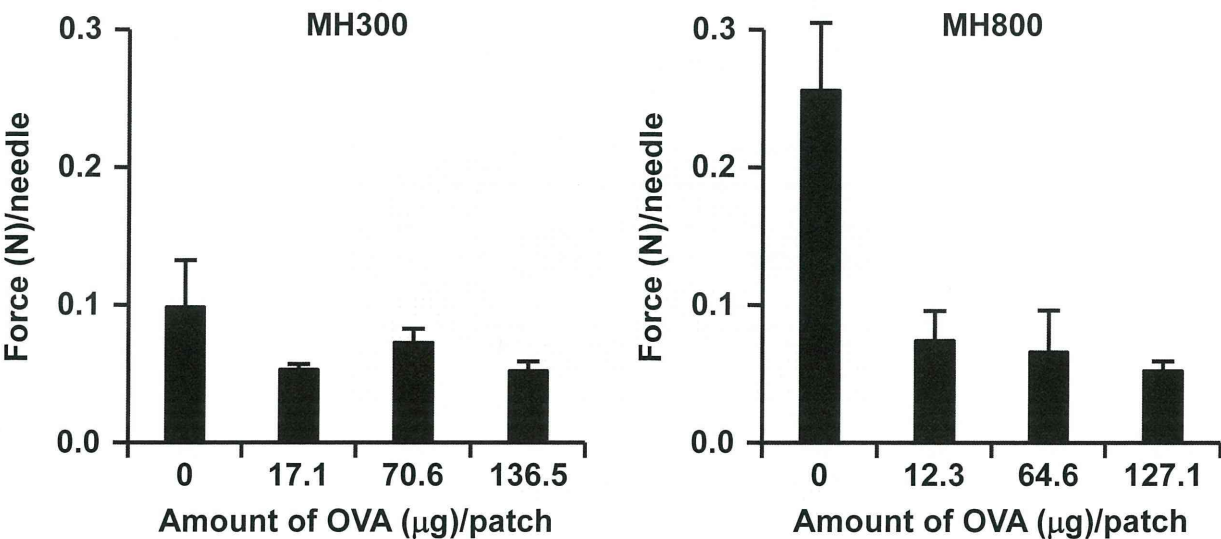


Fig. 9 Mechanical failure force for OVA-loaded MHs. The force required to fracture 113 (MH300) or 55 (MH800) microneedles was measured using a TA-XT plus texture analyzer. Data represent the average $\pm$ SD of 3 measurements each.

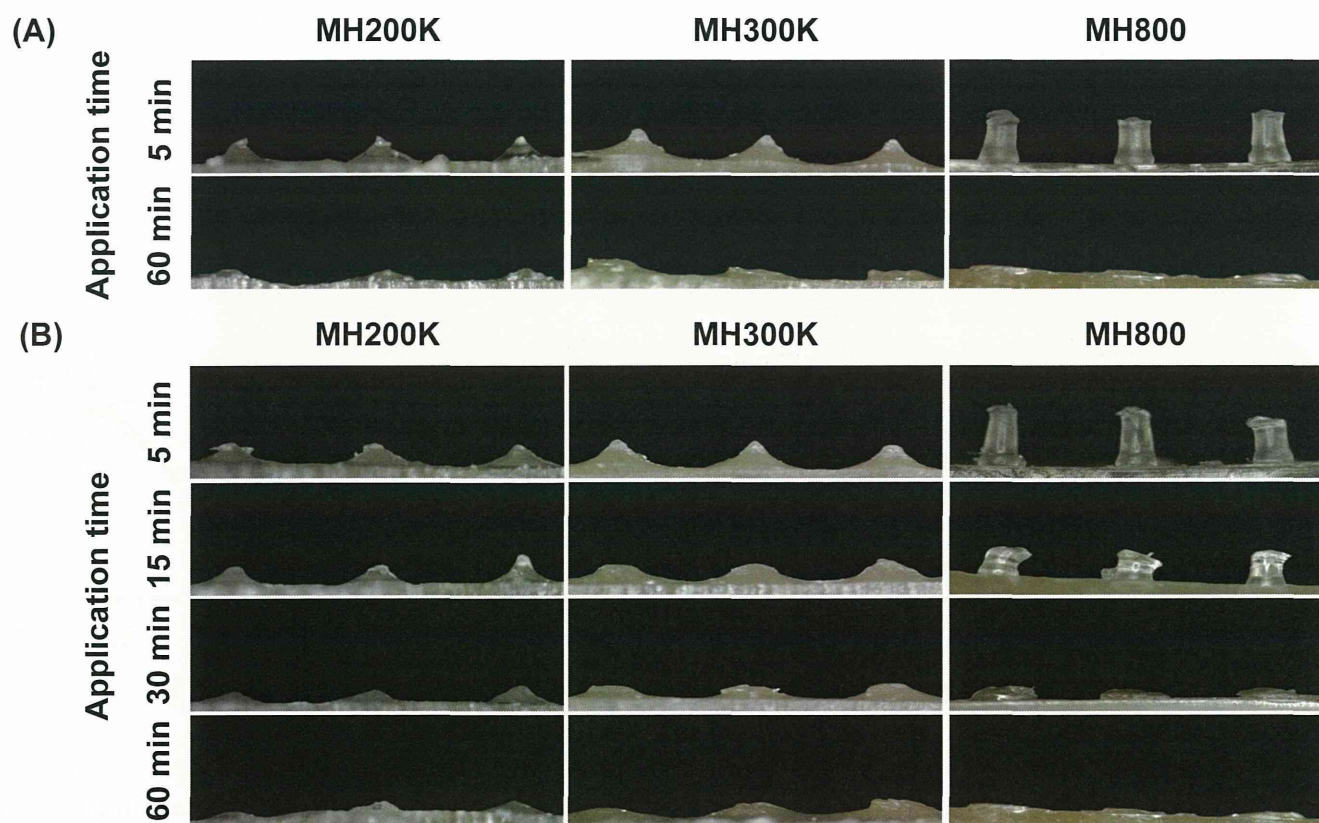


Fig. 10 Dissolution kinetics of microneedles of each MH after skin insertion. The MH200K, MH300K, or MH800 was applied on the back skin of BALB/c mice (A) or Wistar ST rats (B) for the indicated times. After removal of the MH, the microneedles remaining on each MH were photographed under a stereoscopic microscope.

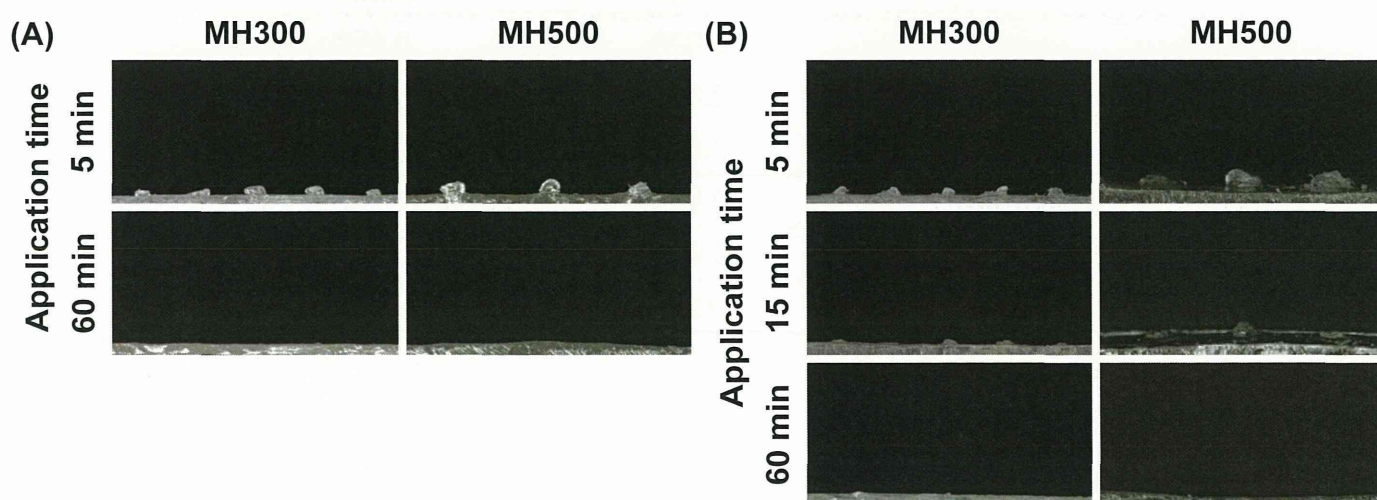


Fig. 11 Dissolution kinetics of microneedles of MH300 and MH500 after application. The MH300 and MH500 were applied on the back skin of ICR mice (A) or Wistar ST rats (B) for the indicated time. After removal of the MH, the microneedles remaining on each MH were photographed under a digital microscope.

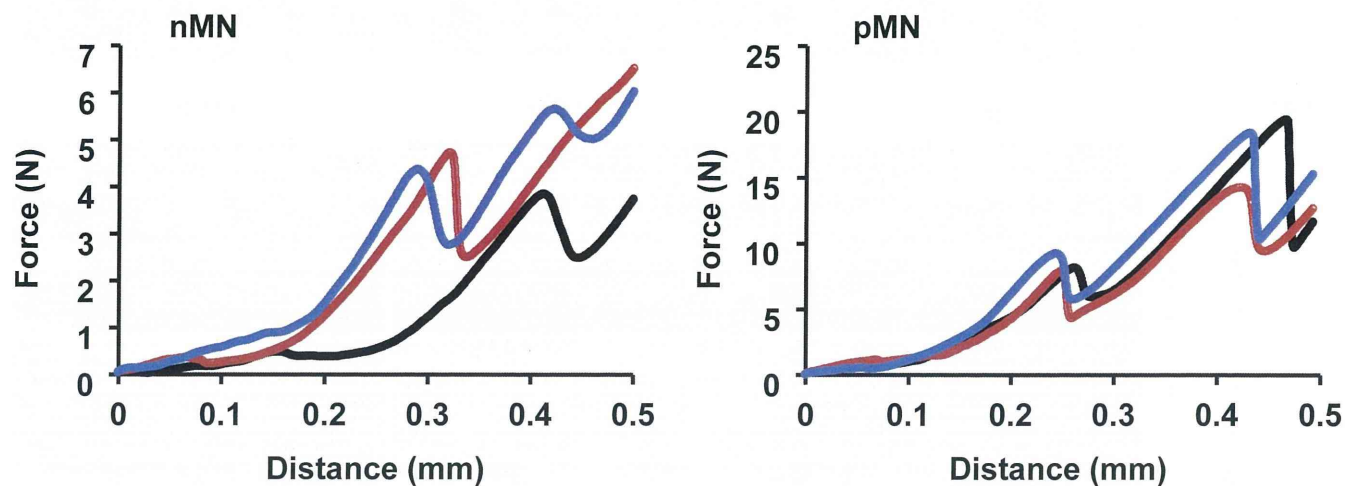


Fig. 12 Mechanical failure force analysis of nMN and pMN. Force was measured as a function of the displacement of the stainless steel cylinder pressed against the MNs. Under an axial load, needle failure was identified by a sudden drop in force.

Table 9 Failure force of nMN and pMN

	nMN	pMN
Force (N/needle)	0.029	0.063
	0.034	0.070
	0.037	0.061
Average	0.033	0.065
S.D.	0.004	0.005
%CV	12.1	7.3

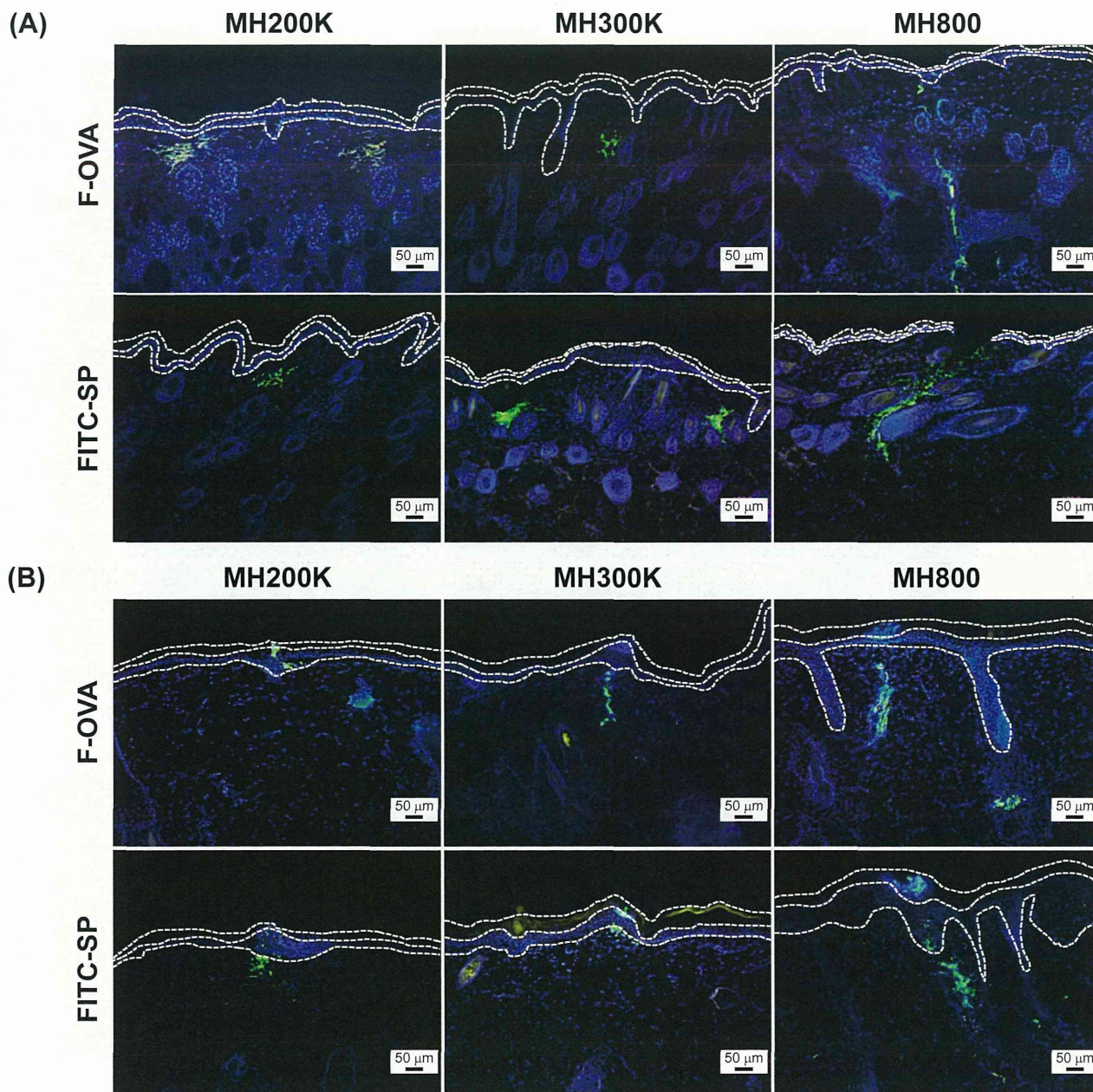


Fig. 13 Skin sections from animals applied with each MH containing F-OVA or FITC-SP. F-OVA (green) or FITC-SP (green)-containing MH200K, MH300K, MH800 was applied on the back skin of ICR mice (A) or HWY hairless rats (B) for 1 h. The skin was harvested and frozen. Frozen section (8-μm thick) were photographed under a fluorescence microscope. The nucleus was counterstained using DAPI (blue). The white dotted lines indicate the surfaces of the stratum corneum, epidermis, and superficial dermis, respectively, from top to bottom.