



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201922226 A

(43)公開日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 16 日

- (21)申請案號：107135105 (22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 10 月 04 日
- (51)Int. Cl. : *A61K9/12 (2006.01)* *A61K39/23 (2006.01)*
A61K47/32 (2006.01)
- (30)優先權：2017/10/05 日本 2017-195262
- (71)申請人：日商東興藥品工業股份有限公司(日本) TOKO YAKUHI KOGYO CO., LTD. (JP)
 日本
 公益財團法人東京都醫學總合研究所(日本) TOKYO METROPOLITAN INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCE (JP)
 日本
 國立感染症研究所長代表之日本國(日本) JAPAN AS REPRESENTED BY DIRECTOR GENERAL OF NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES (JP)
 日本
 國立大學法人鹿兒島大學(日本) KAGOSHIMA UNIVERSITY (JP)
 日本
 國立大學法人愛媛大學(日本) NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION EHIME UNIVERSITY (JP)
 日本
- (72)發明人：上下泰造 KAMISHITA, TAIZOU (JP)；宮崎隆 MIYAZAKI, TAKASHI (JP)；小原道法 KOHARA, MICHINORI (JP)；真田崇弘 SANADA, TAKAHIRO (JP)；日淺陽一 HIASA, YOICHI (JP)；吉田理 YOSHIDA, OSAMU (JP)；小原恭子 KOHARA, KYOKO (JP)；長谷川秀樹 HASEGAWA, HIDEKI (JP)
- (74)代理人：洪武雄；陳昭誠
- 申請實體審查：無 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：2 共 23 頁

(54)名稱

經鼻 B 型肝炎疫苗組成物及其製造方法

NASAL HEPATITIS B VACCINE COMPOSITION AND PREPARATION PROCESS THEREOF

(57)摘要

本發明係關於一種經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係包含 B 型肝炎抗原及含有羧乙烯聚合物之凝膠基劑，並且可用於預防及治療 B 型肝炎。

The invention relates to hepatitis B vaccine composition for spray-administration to nasal mucosa, which comprises a gel substrate comprising a hepatitis B virus antibody and carboxy vinyl polymer, which can be used in prevention and treatment of hepatitis B.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

經鼻 B 型肝炎疫苗組成物及其製造方法

NASAL HEPATITIS B VACCINE COMPOSITION AND
PREPARATION PROCESS THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係有關用於預防及治療 B 型肝炎之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物及其製造方法。

【先前技術】

【0002】 所謂 B 型肝炎，係藉由 B 型肝炎病毒(HBV)感染而發症之肝炎，HBV 通過血液或體液感染。HBV 對肝細胞持續感染會引起慢性肝炎、肝硬化、肝細胞癌。

【0003】 B 型慢性肝炎(CHB)之治療目前主要使用干擾素製劑(IFN)及核酸類似物製劑(NA)，IFN 雖然有免疫強，可持續有效地抑制病毒增殖之有效例，惟，一般而言，有 HBV 排除率低，且其副作用大之問題。另一方面，NA 雖顯示約 95%之高 HBV 排除率，惟，由於無法根治而必須終生服用，且殘留有順從性、醫療經濟上之大問題，再者，亦報導長期使用有出現抗藥性病毒之可能性的問題。因此，要求開發對於 CHB 之新穎的治療方法。

【0004】 另一方面，就預防 HBV 感染而言，於日本，將感染風險高的人(HBV 帶原家族、醫療從事者)作為對象進行預防疫苗投予，在 HBV 帶原者大幅度減少方面達成了

一定的成果。另一方面，就 CHB 之治療而言，進行藉由 HBV 疫苗之免疫治療的試行，惟，至今仍未獲得充分之治療效果。

【0005】 HBV 存在著複數種抗原，本發明人等著眼於其中誘導中和抗體之 HBs 抗原(B 型肝炎表面抗原)，嚐試免疫治療。又，隨著近年研究之進步，明瞭 HBV 的增殖抑制及排除有助於對於 HBc 抗原(B 型肝炎核鞘(nucleocapsid) 抗原)獲得免疫。

該等中，古巴生體工學研究所(CECMED)開發含有 HBs 抗原及 HBc 抗原 2 種抗原之經鼻用治療疫苗，於孟加拉國進行臨床試驗，以 HeberNasvac(註冊商標、非專利文獻 1) 成功的商品化。然而，該投予方法由於只經鼻投予致使免疫反應不充分，因而併用皮下投予之 2 循環接種成為必須，不能成為完全經鼻用之黏膜疫苗。

【0006】 如上所述，就以治療及預防為目的之 HBV 疫苗而言，汎用性優異之經鼻用疫苗製劑被期望為次世代 B 型肝炎疫苗，惟，實際上未能獲得充分之該免疫反應，至今仍無法完全實現。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0007】

[專利文獻 1]WO2007/123193

[非專利文獻]

【0008】

[非專利文獻 1]HeberNasvac 說明書

【發明內容】

[發明欲解決之課題]

【0009】 本發明之目的為提供一種更簡便之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物及其製造方法及 B 型肝炎之治療及預防方法，該組成物不需併用皮下投予等其他投予路徑，且不含有具有毒性之慮之輔助劑等補助成分。

[解決課題之方法]

【0010】 本發明人等有鑑於上述問題點，進行深入研究之結果發現將經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑藉由 HBs 抗原及 HBc 抗原 2 種類抗原，在不使用輔助劑，且只經鼻投予，可充分地提高對人類之免疫誘導能力，進而完成本發明，其中，該經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑為了附加噴霧性能，而包含已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。亦即，本發明為如下所述。

【0011】 [1]一種經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，係含有：

(i) B 型肝炎表面抗原(HBs 抗原)及 B 型肝炎核鞘抗原(HBc 抗原)兩者或任一者、及

(ii)凝膠基劑，該凝膠基劑為了附加噴霧性能，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

【0012】 [2]如[1]所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其中，(i)之 B 型肝炎疫苗係每 1 種抗原為 0.01 至 10mg/mL。

【0013】 [3]如[1]或[2]所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係含有 0.1w/v%至 1.0w/v%之羧乙烯聚合物。

【0014】 [4]如[1]至[3]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係使用噴霧投予凝膠基劑，該噴霧投予凝膠基劑為了附加作為噴霧性能之(1)製劑粒度分布範圍、(2)噴霧密度均勻性及/或(3)控制噴射角度，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

【0015】 [5]如[1]至[4]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係在使用 0.5w/v%至 2.0w/v%羧乙烯聚合物之凝膠基劑而獲得噴霧投予凝膠基劑後，與含有 HBs 抗原及 HBe 抗原之病毒原液在不給予壓力下以短時間且均勻地混和而得到者；其中，該噴霧投予凝膠基劑為了附加作為噴霧性能之(1)製劑粒度分布範圍、(2)噴霧密度均勻性及/或(3)控制噴射角度，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

【0016】 [6]如[1]至[5]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係使用噴霧投予凝膠基劑來製造者，其中，該噴霧投予凝膠基劑係對含有羧乙烯聚合物之基劑從外部給予剪切力，而附加有下列噴霧性能：(1)於製劑粒度分布中，製劑平均粒徑在 50 μ m 至 120 μ m 之範圍，粒度分布有 50% 以上在 10 μ m 至 100 μ m 之範圍、(2)噴霧密度成為無偏頗之均等全錐形(fullcone)、(3)噴射角度控制在 30°至 70°之範圍。

【0017】 [7]如[1]至[5]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係使用噴霧投予凝膠基劑來製造者，其中，該噴霧投予凝膠基劑係對含有羧乙烯聚合物之基劑從外部給予剪切力，而附加有下列噴霧性能：(1)於製劑粒度分布中，製劑平均粒徑在 $70\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍，粒度分布有 60% 以上在 $10\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍、(2)噴霧密度成為無偏頗之均等全錐形、(3)噴射角度控制在 40° 至 60° 之範圍。

【0018】 [8]如[1]至[7]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係為了能夠使用不具有泵功能之可噴霧裝置進行噴霧投予，而使用了噴霧投予凝膠基劑，其中，該噴霧投予凝膠基劑為了附加(1)製劑粒度分布範圍、(2)噴霧密度均一性、(3)控制噴射角度，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

【0019】 [9]一種 B 型肝炎之預防及/或治療方法，其包含使用可將黏稠製劑從各鼻孔噴霧至鼻腔內黏膜之裝置，而將[1]至[8]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物投予至需要該組成物之對象。

【0020】 [10]一種[1]至[8]中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物之用途，為用於治療及/或預防 B 型肝炎。

[發明之效果]

【0021】 根據本發明，可提供一種經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係在以 HBs 抗原及 HBc 抗

原作為有效成分之疫苗組成物中，利用較少的抗原量即可誘導有效之免疫反應，藉此不需併用皮下投予等其他投予路徑，且不需使用輔助劑。又，作為投予方便且副作用少之製劑而言，不只是預防 B 型肝炎，亦獲得充分之免疫反應，因此亦適用於治療 B 型慢性肝炎，且由於其活性強，因此可期待藉由繼續投予而根治 CHB。

【圖式簡單說明】

【0022】

第 1 圖為免疫反應解析試驗之結果，顯示最終接種 1 週後進行之中和抗體價之結果。圖中，s.c.係指皮下接種，i.n.係指經鼻接種。基劑意指已從外部給予剪切力而處理過之 CVP，(-)係指不含 CVP 之基劑，(+)表示含有 CVP 之基劑。

第 2 圖為免疫反應解析試驗之結果，顯示最終接種 1 週後進行之 IgA 抗體之測定結果。圖中，s.c.係指皮下接種，i.n.係指經鼻接種。基劑意指已從外部給予剪切力而處理過之 CVP，(-)係指不含 CVP 之基劑，(+)表示含有 CVP 之基劑。

【實施方式】

【0023】 本發明提供含有一種含有經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑及 B 型肝炎抗原之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其中，該經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑為了附加噴霧性能，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

【0024】 於本發明使用之「為了附加噴霧性能，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物之凝膠基劑」係指例如於 WO2007/123193 揭示之「含有皮膚/黏膜附著劑之凝膠基劑」，係含有羧乙烯聚合物，適當地含有結蘭膠(Gellan gum)，且從外部給予剪切力而黏度經調整之基劑。於 WO2007/123193 中記載之具體的從外部給予之剪切力，不只是攪拌或振動等，亦可利用所屬技術領域具有通常知識者所公知之給予剪切力之裝置進行，具體而言，可使用高速旋轉型乳化裝置、膠體磨型乳化裝置、高壓乳化裝置、輥磨機型乳化裝置、超音波式乳化裝置及膜式乳化裝置。特佳為均質(homo mixer)型、梳子型及斷續噴射流發生型之高速旋轉型乳化裝置。基劑可藉由從外部給予剪切力而調整成各種黏度，可以使噴霧容器之噴射角度、噴霧密度符合目的之方式進行管理。

【0025】 經由噴霧進行投予所使用之裝置只要是通常使用之點鼻用裝置則無特別限制，即使為不具有泵功能之可噴霧裝置，本發明之組成物亦可使用。例如如 WO2007/123193(參照第 1 圖及第 2 圖)及 WO2007/123207(參照第 1 圖至第 11 圖)之記載，使用上方排壓無氣式噴霧容器作為多劑量噴霧容器，噴霧容器之投予即使以任何角度或角度範圍進行，皆可以容器內無殘餘量之方式使用，該使用形態適用於開發中國家多人數之預防接種等。又，限定於一人接種者使用之一次型裝置，可使用於 WO2015/199130(參照第 1 圖至第 4 圖)揭示之點鼻用噴霧噴嘴。

於本發明中，使用噴霧投予裝置所投予之 B 型肝炎病毒抗原係藉由於鼻腔黏膜廣範圍且長時間的展布，而為提高疫苗之免疫原性者。

【0026】 成為經鼻黏膜噴霧投予用基劑之原料之羧乙烯聚合物，係以丙烯酸作為主成分進行聚合而得之親水性聚合物，為了調製水性凝膠劑，可不受限定地使用通常使用之醫藥品添加物。

為了附加噴霧性能，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物之凝膠基劑之含量，換算為羧乙烯聚合物之含量為 0.1 至 1.0%w/v，較佳為 0.3 至 0.7w/v%。

【0027】 本發明之疫苗係以含有 B 型肝炎病毒抗原之表面型(HBs 抗原)及核心型(HBc 抗原)兩者或任一者作為抗原為特徵。所謂本發明中使用之 B 型肝炎病毒抗原，係指應用重組 DNA 技術，藉由酵母產生之 B 型肝炎病毒表面抗原及 B 型肝炎核鞘抗原。

為了與經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑混合，前述 B 型肝炎病毒抗原使用經精製或濃縮之病毒原液。本發明之疫苗，B 型肝炎病毒抗原之濃度較佳為每 1 種疫苗抗原為 0.01 至 10mg/mL，更佳為 0.05 至 5mg/mL。

B 型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)為具有在脂質膜上呈現許多抗原蛋白質之粒子形(直徑約 50 至 60nm)。呈現的抗原蛋白質基本上是由三個結構域(domain)(S, Pre-S1, Pre-S2)構成的蛋白質，以具有所有三個結構域的抗原為 L 型抗原(HBsAg L-Protein)，與缺失 Pre-S1 的抗原為 M 型

抗原，缺失 Pre-S1 及 Pre-S2 兩者者為 S 型抗原(HBsAg S-Protein)區別。任一種皆使用基因重組酵母進行抗原的製造。

【0028】 所謂輔助劑係具有免疫反應的強化或抑制等之調節活性之物質的總稱，係為了提高抗原之免疫原性而被添加於疫苗之免疫增強劑，至今已對許多物質進行研究。另一方面，使用輔助劑可提昇疫苗之免疫效果，相對地，也有產生炎症等副作用的缺點。當然，亦可提及幾種候選藥物作為鼻腔投予型疫苗的輔助劑，惟，沒有具有廣泛安全性的輔助劑被確認，因此尚未有被認可為含有有效性/安全性經確立之輔助劑之經鼻投予型疫苗。

【0029】 於本發明中，將噴霧投予凝膠基劑與病毒原液混和之方法中，所謂「不給予壓力」係指不給予熱、壓力，且不進行高速攪拌。

【0030】 本發明人等發現，對於上述 B 型肝炎疫苗，藉由使用如前述之具有優異噴霧性能之鼻腔黏膜展布率高之經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑，可獲得不需併用皮下投予等其他投予路徑，不使用輔助劑，且以更少之抗原量即有效且副作用少之疫苗；並發現即使為黏稠性高之凝膠基劑，亦可藉由與可進行噴霧之裝置組合，而得到具有下述特性之經鼻黏膜噴霧式 B 型肝炎疫苗組成物：所噴霧之製劑平均粒徑在 $50\mu\text{m}$ 至 $120\mu\text{m}$ 之範圍(較佳在 $70\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍)之適當範圍，製劑粒度分布有 50%以上在 $10\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍(較佳為 60%在 $10\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍)，以

可投予至鼻腔內之必要部位的方式從裝置噴射之角度作成 30° 至 70° 之範圍(較佳為 40° 至 60° 之範圍)，噴霧密度呈全錐均等地噴霧至鼻腔內；藉由發現該經鼻黏膜噴霧式 B 型肝炎疫苗組成物之製法及使用其之預防方法及治療方法，進而完成本發明。

【0031】 於本發明，表示噴霧密度成為無偏頗之均等噴霧密度之「全錐形」係指一種噴霧圖案形狀，為均質之圓形全域，相對之用語為只於周圍局部化之甜甜圈型之「空心錐形」。

【0032】 本發明之疫苗除了 B 型肝炎病毒抗原及經鼻黏膜噴霧投予凝膠基劑以外，亦可更含有作為醫藥品所容許之載體。前述載體可使用在疫苗及鼻腔內投予型製劑之製造中通常使用之載體，具體而言，可列舉：食鹽水、緩衝食鹽水、右旋糖、水、甘油、等張水性緩衝液及該等之組合。又，可於該等中適當地調配保存劑(例如，乙汞硫酸鈉(thimerosal))、等張劑、pH 調整劑、界面活性劑、安定化劑(例如，乙二胺四乙酸鈉水合物)及不活化劑(例如福馬林)。

【0033】 投予量係考量對象之年齡、性別、體重等決定，惟，就抗原而言，可將每 1 種抗原通常為 0.1 至 $100\mu\text{g}$ ，較佳為 0.5 至 $10\mu\text{g}$ 以 1 次或 2 次以上進行投予。較佳為複數次投予，此時較佳為以 1 至 4 週之間隔投予。

[實施例]

【0034】 以下，藉由實施例對本發明更詳細地說明，

惟，本發明不是受該等實施例所限定者。

【0035】 以下述表示之方法調製凝膠基劑及 B 型肝炎病毒原液，將兩者以下述之方式混合，調製出 B 型肝炎疫苗組成物。

[凝膠基劑之製造]

凝膠基劑例 1

成分	調配量	製造方法
羧乙烯聚合物	11.0 mg	秤取左述之成分及分量之組成比，混合並攪拌至成為均質後，藉由間歇性噴射流產生型高速旋轉型乳化裝置，利用高速旋轉，給予剪切力並將黏度適當地調整製成經處理之基劑，將該基劑於 90℃ 進行加熱處理 20 分鐘，作成噴霧投予凝膠基劑。 性狀：為無色透明之凝膠基劑，幾乎無臭 pH：7.29 黏度：3,800 mPa·s
L-精胺酸	24.0 mg	
濃甘油	20.0 mg	
精製水	適量	
合計	1.0 mL	

【0036】 [含有 B 型肝炎病毒抗原之病毒原液]

病毒原液例 1

成分	調配量
HBsAg S-protein	0.2 mg
HBcAg	0.2 mg
氯化鈉	8.0 mg
氯化鉀	0.2 mg
磷酸一氫鈉(無水)	1.15 mg
磷酸二氫鈉(無水)	0.2 mg
精製水	全量 1 mL

【0037】 病毒原液例 2

成分	調配量
HBsAg L-protein	0.2 mg
HBcAg	0.2 mg
氯化鈉	8.0 mg
氯化鉀	0.2 mg
磷酸一氫鈉(無水)	1.15 mg
磷酸二氫鈉(無水)	0.2 mg
精製水	全量 1 mL

【0038】 [凝膠基劑與病毒原液之混合]

將上述之病毒原液例 1、病毒原液例 2(比率为 1 : 1) 及凝膠基劑例 1 混合攪拌，獲得均質之經鼻 B 型肝炎疫苗組成物(實施例 1 及實施例 2)。該混合攪拌係不對 B 型肝

炎疫苗抗原給予熱/壓力等壓力，可利用緩慢的混合攪拌於短時間內達成。以下顯示獲得之經鼻 B 型肝炎疫苗組成物之成分分量及物性值及使用適當之裝置進行噴霧時所附加之噴霧性能。

【0039】 實施例 1

成分	調配量	物性值/噴霧性能
HBsAg L-protein	0.10 mg	pH：7.16
HBcAg	0.10 mg	黏度：505 mPa·s
羧乙烯聚合物	5.50 mg	使用不具有泵功能之裝置，噴霧 250 μ L 時之噴霧性能 <ul style="list-style-type: none"> • 經噴霧之製劑平均粒徑：88.2μm • 粒徑 10μm 至 100μm 範圍：66.3% • 從裝置噴射之角度：55° • 噴霧密度：全錐均等圓形
L-精胺酸	12.00 mg	
濃甘油	10.00 mg	
氯化鈉	4.00 mg	
氯化鉀	0.10 mg	
磷酸一氫鈉(無水)	5.75 mg	
磷酸二氫鈉(無水)	0.10 mg	
精製水	適量	
合計	1.0 mL	

【0040】 實施例 2

成分	調配量	物性值/噴霧性能
HBsAg S-protein	0.10 mg	pH : 7.16 黏度 : 503 mPa·s 使用不具有泵功能之裝置， 噴霧 250 μ L 時之噴霧性能 · 經噴霧之製劑平均粒徑： 84.5 μ m · 粒徑 10 μ m 至 100 μ m 範圍： 65.9% · 從裝置噴射之角度：53° · 噴霧密度：全錐均等圓形
HBcAg	0.10 mg	
羧乙烯聚合物	5.50 mg	
L-精胺酸	12.00 mg	
濃甘油	10.00 mg	
氯化鈉	4.00 mg	
氯化鉀	0.10 mg	
磷酸一氫鈉(無水)	5.75 mg	
磷酸二氫鈉(無水)	0.10 mg	
精製水	適量	
合計	1.0 mL	

【0041】 將不含有凝膠基劑之經鼻 B 型肝炎疫苗組成物以下述之組成調製。

比較例 1

成分	調配量
HBsAg L-protein	0.10 mg
HBcAg	0.10 mg
氯化鈉	8.0 mg
氯化鉀	0.2 mg
磷酸一氫鈉(無水)	1.15 mg
磷酸二氫鈉(無水)	0.2 mg
精製水	適量
合計	1.0 mL

【0042】 比較例 2

成分	調配量
HBsAg S-protein	0.10 mg
HBcAg	0.10 mg
氯化鈉	8.0 mg
氯化鉀	0.2 mg
磷酸一氫鈉(無水)	1.15 mg
磷酸二氫鈉(無水)	0.2 mg
精製水	適量
合計	1.0 mL

【0043】 免疫反應之解析試驗

針對實施例 1 及實施例 2、比較例 1 及比較例 2 調製出之經鼻 B 型肝炎病毒疫苗組成物，使用樹鼯作為實驗動物，各個抗體誘導能力以下述之方式進行評估。

(於檢體之抗體誘導)

將作為檢體之樹鼯(Tupaia Belangeri，購自中國科學院昆明動物研究所)隨機分成每組 4 隻或 3 隻各 2 組，合計 4 組，於 4 隻之組以實施例 1 及實施例 2 進行利用經鼻投予之抗體誘導，於 3 隻之組以比較例 1 及比較例 2 進行利用經鼻投予之抗體誘導。經鼻投予為使用高壓注射器及液體噴霧裝置，從各鼻孔以單鼻 0.05mL 進行經鼻噴霧接種(兩鼻孔合計各 10 μ g 抗原)。初次接種後以間隔 2 週之方式合計接種 5 次後，間隔 4 週後再度進行 1 次接種。於各接

種時及最終接種之 1 週後進行採血，測定中和抗體價並進行評估。

另一方法，相同地，準備每 3 隻一組之樹鼯 2 組，於樹鼯之背部將比較例 1 及比較例 2 以各 0.1mL(各抗原 10 μ g) 之量進行皮下接種，以與上述經鼻投予之情形相同之方式繼續投予，並採血。

【0044】 (中和抗體價及血清 IgA 抗體之測定)

測定中和抗體價所使用之病毒液為使用基因型 C(C_JPNAT)之 B 型肝炎病毒，使其感染人類初代培養肝細胞(PXB 細胞，PhoenixBio 公司製造)，並進行培養、調製。於中和試驗中使用 HepG2-NTCP30 細胞，依照常法測定中和抗體價。

又，將對於各種抗原之血清中之 IgA 抗體利用 ELISA 進行檢出測定。

【0045】 (結果)

將進行最終接種 1 週後之中和抗體價及 IgA 抗體之測定結果示於表 1、第 1 圖及第 2 圖。經鼻接種者之抗體誘導能力比皮下接種者高，另一方面，於經鼻接種中，相較於未使用 CVP 之比較例 1 及 2 使用已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物(CVP)作為基劑之實施例 1 及實施例 2，顯示抗體誘導能比顯著較高的結果。

[表 1]

		血清中和抗體價		血清 IgA 抗體價(OD 值)	
		HBs-S+HBc	HBs-L+HBc	Anti-HBs-S IgA	Anti-HBs-L IgA
皮下	無 CVP	320	1280	0.062	0.133
		640	640	0.052	0.061
		80	160	0.067	0.082
經鼻	無 CVP	2560	640	1.145	0.590
		1280	1280	0.169	0.435
		2560	640	0.417	0.515
	含有經給予 剪切力 之 CVP	5120	10240	1.171	1.430
		2560	5120	0.499	1.785
		10240	10240	1.208	0.676
		5120	10240	0.782	1.519

【符號說明】

無

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

經鼻 B 型肝炎疫苗組成物及其製造方法

NASAL HEPATITIS B VACCINE COMPOSITION AND
PREPARATION PROCESS THEREOF

【中文】

本發明係關於一種經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係包含 B 型肝炎抗原及含有羧乙烯聚合物之凝膠基劑，並且可用於預防及治療 B 型肝炎。

【英文】

The invention relates to hepatitis B vaccine composition for spray-administration to nasal mucosa, which comprises a gel substrate comprising a hepatitis B virus antibody and carboxy vinyl polymer, which can be used in prevention and treatment of hepatitis B.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

本案圖式皆為實驗數據圖，不足以代表本案發明。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

本案無化學式

申請專利範圍

1. 一種經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，係含有：

(i) B 型肝炎表面抗原(HBs 抗原)及 B 型肝炎核鞘抗原(HBc 抗原)兩者或任一者、及

(ii)凝膠基劑，該凝膠基劑為了附加噴霧性能，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其中，(i)之 B 型肝炎疫苗係每 1 種抗原為 0.01 至 10mg/mL 者。
3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係含有 0.1w/v% 至 1.0w/v% 之羧乙烯聚合物。
4. 如申請專利範圍第 1 項至第 3 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係使用噴霧投予凝膠基劑，該噴霧投予凝膠基劑為了附加作為噴霧性能之(1)製劑粒度分布範圍、(2)噴霧密度均勻性及/或(3)控制噴射角度，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。
5. 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係在使用含有 0.5w/v% 至 2.0w/v% 之羧乙烯聚合物之凝膠基劑而獲得/噴霧投予凝膠基劑後，與含有 HBs 抗原及 HBc 抗原之病毒原液在不給予壓力下以短時間且均勻地混和而得

到者；其中，該噴霧投予凝膠基劑為了附加作為噴霧性能之(1)製劑粒度分布範圍、(2)噴霧密度均勻性及/或(3)控制噴射角度，含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

6. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係使用噴霧投予凝膠基劑來製造者，其中，該噴霧投予凝膠基劑係對含有羧乙烯聚合物之基劑從外部給予剪切力，而附加有下列噴霧性能：(1)於製劑粒度分布中，製劑平均粒徑在 $50\mu\text{m}$ 至 $120\mu\text{m}$ 之範圍，粒度分布有 50% 以上在 $10\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍、(2)噴霧密度成為無偏頗之均等全錐形、(3)噴射角度控制在 30° 至 70° 之範圍。
7. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係使用噴霧投予凝膠基劑來製造者，其中，該噴霧投予凝膠基劑係對含有羧乙烯聚合物之基劑從外部給予剪切力，而附加有下列噴霧性能：(1)於製劑粒度分布中，製劑平均粒徑在 $70\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍，粒度分布有 60% 以上在 $10\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之範圍、(2)噴霧密度成為無偏頗之均等全錐形、(3)噴射角度控制在 40° 至 60° 之範圍。
8. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物，其係為了能夠使用不具有泵功能之可噴霧裝置進行噴霧投予，而使用了噴霧投予凝膠基劑，其中，該噴霧投予凝膠基劑為了附

加(1)製劑粒度分布範圍、(2)噴霧密度均一性、(3)控制噴射角度，而含有已從外部給予剪切力而處理過之羧乙烯聚合物。

9. 一種 B 型肝炎之預防及/或治療方法，其包含使用可將黏稠製劑從各鼻孔噴霧至鼻腔內黏膜之裝置，而將申請專利範圍第 1 項至第 8 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物投予至需要該組成物之對象。
10. 一種申請專利範圍第 1 項至第 8 項中任一項所述之經鼻黏膜噴霧投予用 B 型肝炎疫苗組成物之用途，為用於治療及/或預防 B 型肝炎。

