

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-2479

(P2004-2479A)

(43) 公開日 平成16年1月8日(2004.1.8)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/10	A 6 1 K 39/10	4 C O 8 5
A 6 1 K 39/39	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 P 27/16	A 6 1 P 27/16	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04 1 7 1	

審査請求 有 請求項の数 9 O L (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2003-311701 (P2003-311701)	(71) 出願人	397067152
(22) 出願日	平成15年9月3日 (2003.9.3)		ファイザー・プロダクツ・インク
(62) 分割の表示	特願2000-17032 (P2000-17032) の分割		アメリカ合衆国コネチカット州グロトン市 イースタン・ポイント・ロード
原出願日	平成12年1月26日 (2000.1.26)	(74) 代理人	100077517
(31) 優先権主張番号	60/117705		弁理士 石田 敬
(32) 優先日	平成11年1月29日 (1999.1.29)	(74) 代理人	100092624
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 鶴田 準一
(31) 優先権主張番号	60/121760	(74) 代理人	100087871
(32) 優先日	平成11年2月26日 (1999.2.26)		弁理士 福本 積
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也
		(74) 代理人	100081330
			弁理士 樋口 外治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ワクチンにおいて使用するためのアジュバント

(57) 【要約】

【課題】 抗原に対する動物の免疫応答の増強のために有用なアジュバントに関する。

【解決手段】 約0.25% ~ 約12.5% (v/v)のレシチン、約1% ~ 約23% (v/v)の油、1.5% ~ 3.5% (v/v)の少なくとも1つの両親媒性界面活性剤、及び抗原を含んで成るアジュバント組成物に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ホルマリン、続いてグルタルアルデヒドを添加することによって不活性化されているボルデテラ・ブロンキセプチカ培養物を含んで成る抗原組成物。

【請求項 2】

請求項 1 記載の抗原組成物、及びアジュバントを含んで成るワクチン組成物。

【請求項 3】

前記アジュバントが約 0.25% ~ 約 12.5% (v/v) のレシチン、約 1% ~ 約 23% (v/v) の油及び約 1.5% ~ 3.5% (v/v) の少なくとも 1 つの両親媒性界面活性剤を含んで成るアジュバントである請求項 2 記載のワクチン組成物。

10

【請求項 4】

ボルデテラ・ブロンキセプチカの培養物にホルマリンを添加し、続いて前記培養物にグルタルアルデヒドを添加することを含んで成るボルデテラ・ブロンキセプチカの培養物を不活性化する方法。

【請求項 5】

ボルデテラ・ブロンキセプチカ培養物、ホルマリン及びグルタルアルデヒドを含んで成るボルデテラ・ブロンキセプチカ組成物。

【請求項 6】

ボルデテラ・ブロンキセプチカ感染に対して哺乳類を保護するためのワクチンであって、ボルデテラ・ブロンキセプチカ感染に対して前記哺乳類を保護するために効果的な量の、請求項 4 記載の方法に従って不活性化された培養物からのボルデテラ・ブロンキセプチカ細胞、及び生理学的に許容できるキャリアーを含んで成るワクチン。

20

【請求項 7】

毒性パステウレラ・ムルトシダ感染に対して哺乳類を保護するために効果的な量の毒性パステウレラ・ムルトシダ抗原をさらに含んで成る請求項 6 記載のワクチン。

【請求項 8】

ボルデテラ・ブロンキセプチカ感染及び/又は毒性パステウレラ・ムルトシダ感染に対して豚を保護するための方法であって、ボルデテラ・ブロンキセプチカ感染及び毒素原性パステウレラ・ムルトシダ感染に対して保護するために効果的な量の請求項 7 記載のワクチンにより前記豚を予防接種することを含んで成る方法。

30

【請求項 9】

萎縮性鼻炎に対して子豚を保護するための方法であって、 a) 生殖溝形成の前及び妊娠の間、雌豚により生成される初乳中に抗ボルデテラ・ブロンキセプチカ抗体及び抗毒素原性パステウレラ・ムルトシダ抗体を提供するのに効果的な量の請求項 7 記載のワクチンにより前記豚を予防接種し；そして

b) 子豚の出生に続いて約 24 時間以内にその子豚に、前記豚により生成される初乳を供給することを含んで成る方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は免疫的アジュバントに関する。特に、本発明は、水中油性エマルジョン及び界面活性剤を含んで成るアジュバントに関する。本発明のアジュバントは、種々のワクチン配合物、たとえば細菌又はウイルス成分を含んで成るワクチンにおいて有用である。

40

【背景技術】**【0002】**

感染性生物に対する免疫の生成は、免疫制御における強力な手段である。感染に対する免疫を誘発するそれらの抗原は、免疫原として知られている。それらが誘発する保護抗体は、感染過程を阻害するために他の天然の防御力と協力することができ、又はそれらは、感染性生物の有害な生成物、たとえば毒素を中和することができる。

【0003】

50

抗体応答を増強する効果的手段は、アジュバントの使用である。従って、アジュバントは、抗原に対する応答を増強するために添加剤又はピークルとしてワクチンに含まれる。アジュバントは、異なった機構、たとえば(1)遅延を引き起こすために身体に抗原を閉じ込め、(2)注入部位に免疫系の細胞を誘引し、(3)免疫系の細胞の増殖及び活性化を刺激し、そして(4)受容体の身体における抗原分散性を改良することによって機能することができる。

【0004】

種々の化学的性質を有する多くの剤、たとえば油中水型及び水中油型エマルジョン、無機塩、ポリヌクレオチド及び天然の物質がアジュバントとして使用されてきた。商標AMPHIGEN(TM)として知られている1つのアジュバントがアメリカ特許第5,084,269号に記載されている。AMPHIGEN(TM)アジュバントは、油、通常、軽流動パラフィンに溶解されている脱レシチンから成る。ワクチン調製物においては、AMPHIGEN(TM)は、水中油性エマルジョンとして免疫化抗原の水溶液又は水性懸濁液に分散されている。

10

【0005】

上記アメリカ特許第5,084,269号のAMPHIGEN(TM)アジュバントを用いる場合、問題が観察された。たとえば、AMPHIGEN(TM)におけるレシチンは油の安定エマルジョンを生成するために十分ではなく、従って、注入された組織に油のプール又は集積物を導き、鉱油は動物により代謝も又は除去もされ得ない。結果として、油は重度の慢性炎症及び瘢痕の源になる。抗原性調製物へのAMPHIGEN(TM)の直接的な乳化は、抗原の損傷の危険性を担持する。また、所望のエマルジョンが形成しない場合、その価値ある高原は廃棄されなければならない。

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

従って、効果的であり、そして上記問題を解決する、動物、たとえばヒトのためのワクチンへの有用なアジュバントが非常に所望される。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、抗原に対する動物の免疫応答の増強のために有用なアジュバントに関する。特に、本発明は、ワクチン組成物において水中油型エマルジョンを形成することができるアジュバントに関する。本発明はまた、ワクチン配合物に使用される場合、予防接種部位で惹起される炎症及び瘢痕が最小となるアジュバントに関する。さらに、本発明は、本発明のアジュバントを含むワクチン配合物にも関する。

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

1つの態様においては、本発明のアジュバントは、レシチン、油、及びアジュバントを乳化できる両親媒性界面活性剤、たとえばTween又はSpan界面活性剤を含んで成る。もう1つの好ましい観点においては、界面活性剤は、Tween80、Tween85、Span80またはSpan85である。

もう1つの態様においては、本発明のアジュバントは、レシチン、油、及びアジュバント、又はアジュバントを含むワクチン組成物を乳化できる2種の両親媒性界面活性剤を含んで成る。好ましい観点においては、2種の界面活性剤の1つ、たとえばTween80が主として水性相に見出され、そしてほかの界面活性剤、たとえばSpan80は主として油相に見出される。

40

【0009】

レシチンは、ホスファチドである。レシチンの粗調製物は、トリグリセリドを包含することができる。本発明に関しては、“レシチン”とは、精製された及び粗調製物の両者を包含する。好ましい観点においては、レシチンは脱油化されている。

適切な油は、鉱油、たとえばDRAKEOL(TM)軽鉱油を包含する。さらなる態様においては、本発明のアジュバントは、キャリアー水溶液、たとえば生理学的に許容できる緩衝液、

50

水又は塩溶液を含む。

好ましい態様においては、本発明のアジュバントは、レシチン、鉱油、2種の両親媒性界面活性剤及びキャリアー水溶液（たとえば塩溶液）を含む。

【0010】

本発明のもう1つの態様においては、ホルマリン及びグルタルアルデヒドを用いてのボルデテラ・ブロンキセプチカ（“B.ブロンキセプチカ”）の培養物の不活性化方法が記載されている。もう1つの観点においては、ホルマリン及び“グルタルアルデヒド”を用いて不活性化されたB.ブロンキセプチカの培養物が供給される。さらにもう1つの観点においては、ホルマリン及びグルタルアルデヒドを用いて不活性化されたB.ブロンキセプチカ培養物からの抗原組成物が供給される。さらにもう1つの観点においては、ホルマリン及びグルタルアルデヒドを用いて不活性化されたB.ブロンキセプチカ培養物からの抗原組成物が供給される。

10

【0011】

本発明は、抗原に対する免疫応答の増強のために有用のアジュバントに関する。特に、本発明は、ワクチン配合物を乳化できる油状アジュバントに関する。さらに、本発明は、ワクチン配合物に使用される場合、鉱油を含むワクチンに典型的な、注入部位での炎症又は瘢痕を実質的に回避できるアジュバントに関する。本発明のアジュバントは、レシチン、油、及びアジュバント、又はアジュバントを含むワクチン組成物を乳化できる両親媒性界面活性剤を含んで成る。

【0012】

本発明は、アメリカ特許第5,084,269号に記載されるようなアジュバントを含むワクチンへの約1.5% (v/v) (すなわち、アジュバントを含んで成るワクチン98.5体積と両親媒性界面活性剤1.5体積とを混合することによって得られる体積濃度当たり1.5体積) ~ 3.5% (v/v) の両親媒性界面活性剤の添加が、そのようなアジュバントと共に配合されるワクチン組成物を十分に乳化し、そして予防接種された動物の注入部位における刺激を最少にするために効果的である発見の一部、基づかれています。

20

【0013】

1つの態様においては、本発明のアジュバントは、レシチン及び油、並びに両親媒性界面活性剤を含む。1つの態様において、本発明のアジュバントはレシチン、及び本発明のアジュバントと共に配合されるワクチン組成物を乳化できる両親媒性界面活性剤を含む。もう1つの好ましい態様においては、2種の両親媒性界面活性剤、たとえばTween及びSpan界面活性剤が、本発明において使用される。

30

【0014】

好ましいアジュバント（ここで、「No.1アジュバント」として言及される）は、約2% (v/v) の鉱油、及び約8% (v/v) の界面活性剤（たとえば、約5.6% (v/v) のTween80及び約2.4% (v/v) のSpan80）を含んで成り、そして残りの体積は塩溶液である。好ましい観点においては、ワクチン組成物の約75% (v/v) の濃度での抗原、及び約25% (v/v) の濃度でのアジュバント、好ましくはNo.1アジュバントを含んで成るワクチン組成物が配合される。本明細書において%で提供されるすべての濃度は、特にことわらない限り、体積/体積で示される。

40

【0015】

本発明のアジュバントにおいて有用な界面活性剤

本発明のアジュバントのために有用な界面活性剤は、両親媒性であり、そして獣医又は医学的使用のために許容できる。特定の界面活性剤が、医学的又は獣医学的使用のために許容できるか否かは、当業者により決定され得る。界面活性剤は、その界面活性剤分子の一部が疎水性であり、そして一部が親水性である場合、両親媒性である。本発明のアジュバントに使用され得る界面活性剤を記載するアメリカ特許第5,690,942号；第5,376,369号；第4,933,179号；及び第4,606,918号を参照のこと。

【0016】

本発明のアジュバントにおいて有用な界面活性剤の例は、Tween界面活性剤及びSpan界

50

面活性剤を包含するが、但しそれらだけには限定されない。Tween及びSpan界面活性剤は、モノラウレート(Tween20, Tween21, Span20)、モノパルミテート(Tween40, Span40)、モノステアレート(Tween60, Tween61, Span60)、トリステアレート(Tween65, Span65)、モノオレエート(Tween80, Tween81, Span80)、及びトリオレエート(Tween85, Span85)を包含するが、但しそれらだけには限定されない。好ましい態様においては、Tween80, Tween 85, Span80, 又はSpan85が使用されている。

【0017】

本発明のアジュバントにおいて有用な界面活性剤は、両親媒性であり、そして好ましくは、アジュバントのすべての他の成分の親水性 親油性バランス(“HLB”)の合計の少なくとも約半分であるHLB値を有する。より好ましくは、界面活性剤は、アジュバントのすべての他の成分のHLB値の合計の約0.5~約2倍であるHLB値を有する。より好ましくは、界面活性剤は、アジュバントのすべての他の成分のHLB値とほぼ同じであるHLB値を有する。HLB値は、界面活性剤、レシチン、油及びキャリアー溶液のために容易に入手でき、又は必要なら、通常の実験を通して決定され得る。たとえば、アメリカ特許第4,504,275号及び第4,261,925号(引用により本明細書に組み込まれる)を参照のこと。

10

【0018】

本発明のアジュバントにおいて有用な両親媒性界面活性剤は、約2~約20、好ましくは約3~約17のHLB値を有する。特定の界面活性剤のHLB値を決定するための方法は、当業界において知られている。たとえば、特定のHLB値を有する界面活性剤を記載するアメリカ特許第5,603,951号;第4,933,179号;及び第4,606,918号を参照のこと。

20

【0019】

本発明のアジュバントにより配合されるワクチン組成物における界面活性剤の濃度は、約1.5%~3.5%(v/v)、より好ましくは約1.5%~約3%(v/v)、より好ましくは約1.5%~約2.5%(v/v)、及び最も好ましくは約2%(v/v)である。1つ以上の界面活性剤が使用される場合、本発明のアジュバントにより配合されるワクチン組成物に使用されるすべての界面活性剤の濃度の合計はまた、約1.5%~3.5%、より好ましくは約1.5%~約3%、より好ましくは約1.5%~約2.5%及び最も好ましくは約2%(v/v)である。

【0020】

本発明のアジュバントにおける界面活性剤の濃度はまた、アジュバントがワクチン組成物に使用される濃度に依存する。たとえば、ワクチン組成物は、ワクチン組成物の体積の約25%がアジュバントであり(“25%アジュバント”)、そして残りの約75%が他の成分、たとえば抗原組成物から製造されるよう、本発明のアジュバントにより配合され得る。1つの観点において、25%アジュバントにおける界面活性剤の濃度は約6%~14%(v/v)である。より好ましくは、25%アジュバントにおける界面活性剤の濃度は、約6%~約12%、より好ましくは約6%~約10%、及び最も好ましくは約8%(v/v)である。

30

【0021】

本発明のアジュバントにおける界面活性剤の濃度は、種々の要因に依存する。たとえば、アジュバントにおける油の濃度が高くなるほど、本発明のアジュバントにより配合されるワクチン組成物を乳化するためにより多くの界面活性剤が必要とされる。界面活性剤の濃度を決定するために有用であるもう1つの要因は、レシチンの濃度である。アジュバントにおけるレシチンの濃度が高いほど、乳化のために必要とされる界面活性剤の量は少ない。

40

【0022】

本発明のアジュバントが25%(v/v)以下の濃度でワクチン組成物に使用される場合、アジュバントにおけるアジュバント成分の濃度は、それに応じて、高められるべきである。水性キャリアーは、すべての他の成分により占有されないまま存続する体積を常に含んで成るキャリアーとしての例外であり;従って、キャリアーを除くすべての成分の濃度が上昇する場合、アジュバントにおけるキャリアーの濃度は低下するだろうし、そして逆もまた同じである。

【0023】

50

たとえば、アジュバント、がワクチン組成物において約12.5% (v/v)の濃度で使用される場合、アジュバントにおける成分の濃度は、25%アジュバントにおける成分の濃度の約2倍である。同様に、本発明のアジュバントが約25% (v/v)である濃度でワクチン組成物において使用される場合、アジュバントにおける成分の濃度はそれに応じて低められるべきであり、たとえば、アジュバントがワクチン組成物において約50(v/v)の濃度で使用される場合、アジュバントにおける成分の濃度は25%アジュバントにおける成分の濃度の約半分である。

【0024】

1つの態様においては、2種の両親媒性界面活性剤が本発明のアジュバントに使用され得る。好ましくは、2種の界面活性剤は、アジュバントの油相においてよりも水性相においてより濃縮される1つの界面活性剤(“親水性界面活性剤”)、及びアジュバントの油相において濃縮される1つの界面活性剤(親油性界面活性剤”)を包含する。たとえば、Tween80は、水性相においてより濃縮し、そしてSpan80は油相においてより濃縮する。好ましい親水性界面活性剤は約9~約20のHLB値を有し、そして好ましい親油性界面活性剤は約2~約9のHLB値を有する。本発明のアジュバントのために有用な両範囲におけるHLB値を有する界面活性剤を記載するアメリカ特許第5,603,951号;第4,933,179号;及び第4,606,918号を参照のこと。

10

【0025】

2種の界面活性剤が本発明のアジュバントに使用される場合、本発明のアジュバントにより配合されるワクチン組成物に組み合わせられる両界面活性剤の合計濃度は、約1.5%~約3.5%、より好ましくは約1.5%~約3%、より好ましくは約1.5%~約2.5%、及び最も好ましくは約2% (v/v)である。本発明のアジュバントに使用される2種の界面活性剤の個々の濃度は、お互い異なることができる。たとえば、親水性界面活性剤及び親油性界面活性剤、たとえばTween80及びSpan80が使用される場合、好ましくはN0.1アジュバントにおけるようなレシチン及び油濃度を有するアジュバントにおいて使用される場合、Tween80の濃度は、Span80の濃度の約1.2倍~約5倍、より好ましくは約1.5倍~約4倍、より好ましくは約1.8倍から約3倍、より好ましくは約2倍~約2.5倍、及びより好ましくは約2.3倍であり得る。

20

【0026】

本発明のアジュバントに使用される親水性界面活性剤の濃度は、水性相のサイズに一部依存し、そして親油性界面活性剤の濃度は油相のサイズに一部依存する。1つの態様においては、80% (v/v)の水性相及び20% (v/v)の油相から成る本発明のアジュバントは、親油性界面活性剤の濃度の約4倍までの濃度(すなわち80/20)、又はたとえば約2倍までの濃度での親水性界面活性剤を含むことができる。

30

【0027】

本発明のアジュバントの非界面活性剤成分

両親媒性界面活性剤の他に、本発明のアジュバントは、レシチン及び油を含む。もう1つの観点においては、本発明のアジュバントは水性キャリアー溶液を含む。

当業者において知られているいずれかのレシチンが、本発明のアジュバントのために使用される。レシチンは、ホスファチドの混合に言及する。粗抽出物として供給される場合、レシチンはまた、トリグリセリドを含むことができる。レシチンは植物又は生物起源のものであり得る。

40

【0028】

さらに、レシチンは合成的に誘導され得る。レシチンの例は、アメリカ特許第5,690,942号;第5,597,602号;及び第5,084,269号に記載されている。好ましい態様においては、アジュバントに使用されるレシチンにおけるトリグリセリドの含有率は、その天然原に比較して低められ、すなわちレシチンは脱油化される。たとえばアメリカ特許第5,597,602号に記載される様に、レシチンを脱油化するための多くの手段は当業界において知られている。

【0029】

50

本発明のアジュバントと共に配合されるワクチン組成物におけるレシチンの濃度は、約0.25%～約12.5% (v/v)、より好ましくは約0.5%～約10% (v/v)、より好ましくは約0.5%～約7.5% (v/v)、より好ましくは約0.5%～約5% (v/v)、より好ましくは約0.5%～約2.5% (v/v)、及び最も好ましくは約0.5%～約1.25% (v/v)である。

【0030】

25%アジュバントにおけるレシチンの濃度は、少なくとも約1% (v/v)、好ましくは、少なくとも2% (v/v)である。もう一つの観点においては、25%アジュバントにおけるレシチン濃度は、約1%～約50% (v/v)、より好ましくは約2%～約40% (v/v)、より好ましくは約2%～約30% (v/v)、より好ましくは約2%～約20% (v/v)、より好ましくは約2%～約10% (v/v)、そして最も好ましくは約2%～約5% (v/v)である。高いか又は低い濃度を有する本発明のアジュバントにおけるレシチンの濃度は、上記に例示されたようにして決定される。

10

【0031】

本発明のアジュバントは、油、たとえばアメリカ特許第5,814,321号；及び第5,084,269号に記載される油を含む。好ましい観点においては、本発明のアジュバントは、鉱油たとえばDRAKEOL(TM)を含む。もう一つの観点においては、油の混合物が使用される。油は、純粋な油として、又は油ともう一つの成分、たとえばレシチンを含む混合物として、本発明のアジュバントの調製のために提供され得る。

【0032】

本発明のアジュバントと共に配合されるワクチン組成物における油の濃度は、約1%～約23% (v/v)、より好ましくは約1.5%～約20% (v/v)、より好ましくは約2.5%～約15% (v/v)、より好ましくは約3.5%～約10% (v/v)、より好ましくは約3.5%～約7.5% (v/v)、より好ましくは約4%～約6% (v/v)、そして最も好ましくは約4.5% (v/v)である。

20

【0033】

25%アジュバントにおける油の濃度は、少なくとも約5% (v/v)、好ましくは少なくとも約8% (v/v)、そしてより好ましくは少なくとも約12% (v/v)である、もう一つの観点においては、25%アジュバントにおける油濃度は、約4%～約92% (v/v)、より好ましくは約6%～約80% (v/v)、より好ましくは約10%～約60% (v/v)、より好ましくは約14%～約40% (v/v)、より好ましくは約14%～約30% (v/v)、より好ましくは約16%～約24% (v/v)、そして最も好ましくは約18% (v/v)である。高いか又は低い濃度を有する本発明のアジュバントにおける油の濃度は、上記に例示されたようにして決定される。

30

【0034】

もう一つの態様においては、水性キャリアー、たとえば塩溶液(たとえばリン酸緩衝液)、トリス HCL、クエン酸 リン酸緩衝液、Hepes 緩衝液、当業者において知られている他の医薬的に許容できる緩衝液、又は水が、本発明のアジュバントに使用される。キャリアーのpHは好ましくは、生理学的に許容できるものであり、たとえば6～8、最も好ましくは約7である。本発明のアジュバントに使用されている水性キャリアーは好ましくは、他の成分のいずれかのために必要とされない体積を取る。

本発明のアジュバントは、好ましくは、ワクチン組成物へのアジュバントの配合の後の濃度の約2倍～約10倍、より好ましくは約2倍～約8倍、より好ましくは約3倍～約6倍、そして最も好ましくは約4倍である濃度で供給される。

40

【0035】

本発明のアジュバントの用途

本発明のアジュバントは、ワクチン配合物の抗原に対する免疫応答を増強するために使用され得る。本発明のアジュバントは、いずれかの細菌、又はいずれかのウイルスに由来する抗原と共に使用され得るが、但し前記抗原は破壊も又は変性もされない。抗原の例は、エリシペロトリックス・ルヒシオパチアエ抗原、ボルデテラ・ブロンキセプトチカ抗原、パステウレラ・ムルトシダの毒素原性株の抗原、新生児下痢を引き起こすエスシェリシア・コリ株の抗原、アクチノバシラス・プレウロプネウモニア抗原、パステウレラ・ハエモリチカ抗原、又は上記のいずれかの組み合わせを包含するが、但しそれだけには限定され

50

ない。本発明のアジュバントはまた、アメリカ特許第5,616,328号及び第5,084,269号に記載される抗原を含むワクチン組成物においても有用である。

【0036】

好ましい態様においては、本発明のアジュバントは、エリシペロトリックス・ルヒシオパチアエ(“E.ルヒシオパチアエ”)培養物の液相から得られる抗原を含むワクチン調製物に使用される。好ましい態様においては、E.ルヒシオパチアエの培養物は、ホルマリン(約0.5%(v/v)の最終濃度)を添加することによって不活性化され、そして37℃で24時間のインキュベーションの後、細胞はたとえば遠心分離又は濾過により除去される。好ましい態様において、培養物上清液は約10倍に濃縮され、そして水酸化アルミニウムゲル(好ましくは、REHYDRAGEL(TM))が、抗原を安定化するために約30%(v/v)の最終濃度で、前記濃縮された上清液に添加される。

10

【0037】

もう1つの好ましい態様においては、EDTA(約0.07%(v/v)の最終濃度)と共にチメロサル(約0.01%(v/v)の最終濃度)(Dimportex, Spain, Flavine Inc., Klosters, New Jersey)を通して輸入された)が、保存剤として抗原に添加される。もう1つの好ましい態様においては、抗原及び本発明のアジュバント(たとえば、No.1アジュバント)を含んで成るワクチン組成物が配合され、そして前記アジュバントはワクチン組成物の約25%(v/v)を占める。この好ましいE.ルヒシオパチアエ抗原は、“Erysipelothrix rhusiopathiae Antigens and Vaccine Compositions”の名称を有する、1999年1月29日に 出願されたアメリカ特許出願第_____号に記載される(これは引用により本明細書に組み込まれる)。

20

【0038】

もう1つの好ましい態様においては、本発明のアジュバントは、対数増殖期、好ましくは後期対数増殖期においてホルマリン、続いてグルタルアルデヒドの添加により不活性化されているB.ブロンキセプチカ培養物からの抗原を含むワクチン組成物に使用される。細菌細胞の他に、この新規且つユニークな不活性の目的は、所望する免疫応答を誘発するのに効果的なB.ブロンキセプチカ細胞の抗原を残しながら、B.ブロンキセプチカ内毒素及び外毒素を除毒にすることである。

【0039】

ホルマリンは、約0.2%~約1%(v/v)、より好ましくは約0.4%~約0.8%(v/v)、そして最も好ましくは約0.6%(v/v)のB.ブロンキセプチカ培養物中濃度に添加される。グルタルアルデヒドは、培養物へのホルマリンの添加に続いて、約10~約40分、より好ましくは約15~約30分、そして最も好ましくは約20分で添加される。グルタルアルデヒドは、約0.2%~約1%(v/v)、より好ましくは約0.4%~約0.8%(v/v)、そして最も好ましくは約0.6%(v/v)のB.ブロンキセプチカ培養物中濃度に添加される。

30

【0040】

培養物へのグルタルアルデヒドの添加の前、それは約10%~約50%(v/v)、より好ましくは約15%~約35%(v/v)、そして最も好ましくは約25%(v/v)の濃度を有する。B.ブロンキセプチカ培養物へのホルマリン及びグルタルアルデヒドの添加に続いて、その得られる混合物は、約32~約42℃、より好ましくは約35~約39℃、そして最も好ましくは約37℃で、攪拌下でインキュベートされる。混合物は、約12~約60時間、より好ましくは約24~約48時間インキュベートされる。B.ブロンキセプチカ培養物から本発明の抗原組成物を調製することにかかるすべての他の工程段階は、下記例7及びアメリカ特許第5,019,388号及び第4,888,169号に記載されている。

40

【0041】

本発明のアジュバントを含んで成るワクチン組成物及びそれらの投与

本発明のアジュバントは、動物を免疫するためにワクチン配合物に使用され得る。1つの態様においては、ワクチン配合物は、本発明のアジュバント及び抗原を含む。ワクチン配合物における個々の成分の最適割合は、当業者によく知られている技法により決定され得る。

【0042】

50

ワクチン配合物は、対象自体に、又は医薬又は治療組成物の形で投与される。本発明のアジュバント及び抗原を含んで成る医薬組成物は、従来の混合、溶解、顆粒化、糖剤 - 製造、糊状化、乳化、カプセル封入、閉じ込め又は凍結乾燥工程により製造され得る。医薬組成物は、使用され得る調製物中に、本発明の抗原の処理を促進する1又は複数の生理学的に許容できるキャリアー、希釈剤、賦形剤又は助剤を用いて、従来の手段により配合され得る。適切な配合物は、選択される投与経路に依存する。本出願のためには、“生理学的に許容できるキャリアー”とは、比較的有害な副作用(処理される状態に対して)を伴わないで、ヒト又は動物使用のために許容できるキャリアー、並びに同様に許容できる希釈剤、賦形剤又は助剤を包含する。

【0043】

10

全身性配合物は、注射、たとえば皮下、経皮内、筋肉内又は腹腔内注射による投与のために企画された配合物を包含する。

注射のためには、ワクチン調製物は、水溶性、好ましくは生理学的に適合する。緩衝液、たとえばハックス溶液、リンガー溶液、リン酸緩衝溶液又はいずれか他の生理学的塩緩衝液において配合され得る。前記溶液は、配合剤、たとえば懸濁、安定及び/又は分散剤を含むことができる。地方では、タンパク質は、使用の前適切なピークル、たとえば無菌性の発熱物質を含まない水による構成のために、粉末形で存在することができる。

【0044】

投与のためのワクチン配合物の有効量の決定は、特にここに提供される詳細な開示に照らして、当業者の能力内である。

20

有効用量は、最初に、インビトロアッセイから推定される。たとえば、用量は、当業者によく知られている技法を用いて、免疫応答の誘発を達成するために動物モデルにおいて決定され得る。当業者は、本明細書に記載される結果に基づいて、すべての動物種への投与を容易に最適化され得る。投与量及び期間は、個々に調節され得る。たとえば、ワクチンとして使用される場合、本発明のワクチン配合物は、1~36週間、約1~3用量、投与され得る。

【0045】

好ましくは、1又は、2用量が、約3週~約4ヶ月間投与され、そしてその後、追加免疫が定期的に与えられ得る。他のプロトコールも、個々の動物のために適切であり得る。適切な用量は、上記のようにして投与される場合、少なくとも4~12ヶ月間、感染から動物を保護するのに十分な、免疫化された動物における免疫応答を生ぜしめ得るワクチン配合物の量である。一般に、用量に存在する抗原の量は、宿主kg当たり約1pg~約100mg、典型的には約10pg~約1mg、そして好ましくは約100pg~約1µgの範囲である。適切な用量範囲は、注入経路及び患者のサイズにより変化するが、しかし典型的には、約0.1~約5mlである。

30

次の例は、例示的であって、本発明を制限するものではない。

【実施例】

【0046】

例1. 油及びレシチンを含むアジュバントの使用

次の例は、油(「油 レシチンアジュバント」)、通常鉱油(軽流動パラフィン)に溶解された、脱油化されたレシチンを含むアジュバントの家畜用ワクチンへの使用を記載する。油 レシチンアジュバントを記載するアメリカ特許第5,084,269号を参照のこと。油 レシチンアジュバントを用いるワクチン調製物は、水中油型エマルジョンである。

40

【0047】

本明細書におけるすべての%濃度は、特にことわらない限り、体積/体積で供給される。油 レシチンアジュバントの%値は、特にことわらない限り、水性キャリアー(連続相)中レシチン(混合物の10%)及びキャリアー油(DRAKEOL(TM))(混合物の90%)の混合物の濃度を意味する。たとえば、20%の油 レシチンアジュバントは、2%(v/v)のレシチン(Central Soya, Fort Wayne, Indiana)、18%(v/v)のDRAKEOL(TM)5(Penreco, Karns City, Pennsylvania)及び80%(v/v)の塩溶液(この塩溶液含有率は、他の成分、たとえば界面

50

活性剤が添加される場合、低められる)を含む。

【0048】

抗原溶液によるアジュバント溶液の希釈に続いてのワクチン組成物における油 レシチンアジュバントの%値は、特にことわらない限り、アジュバント、レシチン(混合物の10%)及びキャリアー油(DRAKEOL(TM)) (混合物の90%)の混合物の濃度を意味する。界面活性剤がアジュバント組成物に添加されるすべての場合、界面活性剤濃度の%は、特にことわらない限り、アジュバント又はワクチン調製物におけるすべての添加された界面活性剤の合計濃度を意味する。

【0049】

油 レシチンアジュバントがワクチン配合物においてアジュバントとして使用される場合、それは、油 レシチンアジュバントにおけるレシチンが乳化のために十分でない場合、追加の界面活性剤の添加を伴わないでは、水性調製物を乳化しないことが見出された。従って、不適切に分散された油 レシチンアジュバントを用いて製造されたワクチンは、注入部位での組織においてほとんどの鉱油のプール又は集積物を形成した。この油は、注入された動物により代謝も又は除去もされ得ず、そしてその結果、それは重度の慢性炎症及び瘢痕の源として残る。

【0050】

油 レシチンアジュバント及び抗原を含んでなるワクチン配合物への界面活性剤の添加は配合物を乳化するための適切な解決策でないことがまた決定された。乳化の前、ワクチン配合物に油及び界面活性剤を添加する場合に遭遇する問題は、抗原が損傷を受け、そして適切なエマルジョンが達成されない場合、価値ある抗原を含むその配合物は棄てられるべきであることである。

ワクチン配合物を乳化するために界面活性剤と組合して油 レシチンアジュバント組成物が試験された。

【0051】

例2．低濃度での界面活性剤を含むアジュバントの使用

次の例は、リン酸緩衝溶液に40%の油 レシチン及び2%の合成界面活性剤、すなわちTween80及びSpan80(Van Water&Rogers, Omaha, Nebraska)を含むエマルジョンの使用を記載する。このアジュバントは無菌的に調製され、そして抗原から分離された。エマルジョンを、さらに乳化しないで、抗原調製物に添加した。合成界面活性剤は、粗い、比較的安定したエマルジョンとして油 レシチンアジュバントが分散することを助けた。アジュバントエマルジョンを、水性抗原調製物に1:8の割合で添加し、油 レシチンアジュバント含有率を40%から5%に、そして界面活性剤を2%から0.25%に減じた。

【0052】

アジュバントをいくつかのワクチンに使用した。エマルジョンは粗く且つ非常に不安定であるので、油滴は凝集し、そして注入された組織において永久的な刺激性油滴として分離する傾向がある。このアジュバントにより観察されるもう1つの問題は、それがAIゲルと凝集することであった。多くのワクチンは、たとえばアジュバントとして又は抗原を安定化し、又は内毒素を結合する多くの目的のためにAIゲルを含む。油 レシチンアジュバントは、粗凝集体を形成するために正に荷電されたAIゲルへのその結合を引き起こす負の電荷を担持する。それらの凝集体は、皮下注射針を通過するのに困難であり、そして注入された組織に対しては非常に刺激的である。

【0053】

例3．界面活性剤を高濃度で含むアジュバントの使用

油 レシチンアジュバント(5%(v/v))を、上記のようにして、但しワクチン組成物において8%の合計界面活性剤濃度でのTween80及びSpan80界面活性剤の助けを伴って、抗原性調製物において乳化した。そのエマルジョンは非常に微細で且つ安定していた。それは溶液とほとんど同じ透明度を有し、そしてそれは静置に基づいて、クリーム状にならなかった。最大の倍率(0.2ミクロンの解像度)での顕微鏡下で、ほとんどの液滴は見えないほど小さかった。従って、それはマイクロエマルジョンであった。

10

20

30

40

50

【0054】

このアジュバントは、ワクチン配合物に使用される場合、注入部位反応性を実質的に有さないことが見出されており、そしてAIゲルが添加される場合、油及びゲルの検出できる凝集体は存在しなかった。その高い界面活性剤含有率の結果として、このアジュバントは、容易に乳化し、外観上すぐれており、安定し、AIゲルと反応せず、そして予防接種の部位で刺激性効果を実質的に有さない。しかしながら、それらの利点にかかわらず、このエマルジョンは、低い濃度での界面活性剤により製造された粗バージョンに比較して、わずかに低いアジュバント効力を有した。

【0055】

例4. 中間濃度での界面活性剤を含むアジュバントの使用

アジュバントとして許可できるほど滑らかで且つ十分に有用であるアジュバントエマルジョンを見出すための試みが行われた。20%の油 レシチンアジュバントエマルジョンは40%の油 レシチンアジュバントエマルジョンよりも容易に製造されるので、20%の油 レシチンアジュバントが、それらの実験に使用された。5%の最終油濃度を製造するために1:4の割合でのワクチンへのその添加は、抗原のための用量体積の75%を残すであろう。予備実験は、滑らかな極微小エマルジョン(ほとんどの液滴は1ミクロン以下の直径を有した; 図1を参照のこと)が20%の油並びに16%のTween80及びSpan80界面活性剤により調製され得ることを示した。

【0056】

2種のエマルジョンを、アッセイのために調製した。1つのエマルジョンは20%の油 レシチンアジュバント並びに16%のTween80及びSpan80界面活性剤を含んだ。その1:4への希釈は、ワクチン調製物に置いて5%の油 レシチンアジュバント及び4%の界面活性剤を含んで成るエマルジョンをもたらした。他のエマルジョンは、40%の油 レシチンアジュバント並びに2%のTween80及びspan80界面活性剤により調製された。その1:8への希釈は、5%の油 レシチンアジュバント及び0.25%の界面活性剤を含むエマルジョンを提供した。

【0057】

AIゲル(Reheis, Berkeley Heights, New Jergey から得られたREHYDRAGEL(TM))を、個々のエマルジョンのサンプルの添加し、10%の濃度にした。0.25%の界面活性剤を有するエマルジョンにおいては、油及びAIゲルが凝集し、そして分離し、液体カラムの上部で薄層を形成した(クリーム状化)。4%の界面活性剤を有するエマルジョンにおいては、凝集又はクリーム状化は存在しなかった。4%の界面活性剤に関しては、AIゲルが管の底で沈降し、上清液に分散された油滴を残した。

【0058】

例5. 中間濃度の界面活性剤を含むアジュバントを用いる場合の注入部位の膨張

中間濃度の界面活性剤を有するアジュバントが使用される場合、注入部位の膨張が生じるかどうかを決定するために、ワクチン調製物を豚において試験した。5%の油 レシチンアジュバント、及び0.25%又は4%のいずれかの界面活性剤を含むワクチン調製物は、注入部位で豚において膨張を引き起こさなかった。AIゲルが10%の濃度でワクチン調製物に添加される場合、0.25%の界面活性剤を有する調製物は重度の注入部位膨張を引き起こし、ところが4%の界面活性剤を有する調製物はほとんど膨張をもたらさなかった。

【0059】

AIゲルによる凝集及び注入部位の膨張を防止するのに効果的である界面活性剤濃度の範囲を決定するための実験を実施した。ワクチンにおいて1.5%の界面活性剤濃度を用いる場合、油及びAIゲルのわずかな凝集が観察された。2%及び4%の界面活性剤の濃度で、凝集は存在しなかった。0.5%又はそれ以下の界面活性剤を含むワクチン調製物により豚において誘発された膨張は、1%又はそれ以上の界面活性剤を有する調製物により誘発された膨張性よりも、予防接種の2及び4週間後で、大きかった。予防接種の後6週間までに、1.5%の界面活性剤が、慢性膨張を回避するために必要とされる最少であることが明らかであった。

10

20

30

40

50

【0060】

例6. 有用なインビトロ及びインビボ特性を有するアジュバント

予防接種に続いて動物においてAIゲルと反応せず、そして反応性を導かないアジュバントを見出すためにアッセイを実施した。5%の油 レシチンアジュバント及び2%の界面活性剤を有する予防接種調製物をもたらす、8%の界面活性剤を含む20%油 レシチンアジュバントが、AIゲルとのインビトロ反応性、及び予防接種部位での組織の刺激の両者を回避するために十分であることが決定された。界面活性剤濃度とアジュバント力との関係の証拠はほとんど明白ではない。ワクチン中の4%の界面活性剤は、たとえばE.コリK99に対するアグルチニンの誘発、及びP.ムルトシダTypsDの毒素に対する抗毒素の中和において過度であることが、時として示された。

10

【0061】

従って、界面活性剤の最適濃度は、ワクチン組成物において2%の界面活性剤をもたらすように、20%の油 レシチンアジュバントにおいて8%であることが決定された。これは、適度に容易な乳化、及び冷却貯蔵における良好な安定性を提供した。5%の油 レシチンアジュバントを有するワクチンにおいては、2%の界面活性剤が、アジュバント力及び注入された組織における刺激不存在の両者のために理想的であった。

【0062】

8%の界面活性剤を有する20%の油 - レシチンアジュバントの超微小エマルジョンにおける液滴サイズを決定した。8%の界面活性剤は、水性相における5.6% Tween80及び油相における2.4%の Span80から成った。全油滴の約94%が直径1ミクロン以下であった。図1

20

【0063】

8%の界面活性剤を有する20%の油 - レシチンアジュバント1000mLの原液を、200mLのフィルター殺菌されたレシチン - 油 - 溶液(DRAKEOL(TM)鉱油中、10%レシチン)、オートクレーブしたTween80(56mL)及びSpan80(24mL)、並びにリン酸緩衝溶液(720mL)(ダルベッコPBS)から製造した。レシチン - 油 Span80を一緒にし、そして無菌タンクにおいて、乳化が完結するまで、室温で少なくとも1時間、混合した。塩溶液及びTween80を一緒にし、そして無菌タンク中で室温で少なくとも1時間混合した。油混合物を乳化機を用いて、水性混合物において乳化した。乳化を、すべてのアジュバントが塩溶液中に添加されるまで、再循環により続けた。次に、エマルジョンを、室温でホモジナイザーに2度通した。アジュバントを2~8 で貯蔵した。

30

【0064】

例7. 中間濃度の界面活性剤を含むアジュバントを用いての萎縮性鼻炎ワクチン

中間濃度の界面活性剤を有する、例4に記載されるようなアジュバントを、ボルデテラ・ブロンキセプチカ及び毒性パステウレラ・ムルトシダの抗原を含む萎縮性鼻炎ワクチンに使用した。ボルデテラ・ブロンキセプチカ - パステウレラ・ムルトシダ・バクテリン - トキソイド ワクチンを、B.ブロンキセプチカ細胞及びP.ムルトシダのトキソイドから製造した。

【0065】

B.ブロンキセプチカ細胞、すなわち2 9NADL株を、アメリカ特許第5,019,388号に記載のようにして調製し、但し増殖サイクルの最後で、培養物を連続して混合し、そしてホルマリン溶液を添加して0.6%の最終濃度にした。ホルマリンの添加後20分以内に、25%のグルタルアルデヒド溶液を添加して0.6%の最終濃度にした。培養物を372 で24~48時間攪拌し、不活性化及び解毒化を完結にした(表1を参照のこと)。

40

【0066】

次に、培養物流体を、処理のために15 又はそれ以下に冷却した。すぐに処理されなかった、不活性化された培養物は、2~8 で14日以下の間貯蔵した。不活性化に続いて、細菌を培養物流体から遠心分離により分離した。上清液を棄て、そして細胞を、もとの体積の約1/10で、リン酸緩衝溶液溶液に再懸濁した。濃縮された懸濁液を2~8 で貯蔵した。2種のアルデヒドによるB.ブロンキセプチカの処理は内毒素及び外毒素の両者を不活性化

50

し、安全性のためのほかの処理を不必要にする。

【0067】

P. ムルトシダのトキシドを、アメリカ特許第5,536,496号及び第5,695,769号に記載のようにして2種の異なった形で調製した。1つの形においては、毒素は、培養物へのホルムアルデヒドの添加により細菌細胞内でトキシド化され；前記トキシドは細胞内にとどまる。他の形においては、生存細胞は機械的に粉碎され、そして毒素が抽出される。毒素は、アメリカ特許第5,536,496号の記載のようにして、高いpHへの暴露によりトキシド化される。トキシドの両形を、アメリカ特許第5,616,328号に記載のような方法により、遊離の内毒素を制御するためにAlゲルにより処理する（表1を参照のこと）。パステウレラ トキシドの2種の形の間の共同作用は、アメリカ特許第5,695,769号に記載のように単独で使用される場合の個々の形に対する応答の合計をかなり超える抗毒素応答をもたらす。

10

【0068】

【表1】

表1：ボルデテラ・ブロンキセプチカーパステウレラ・ムルトシダ・
バクテリントキシド ワクチンの調製の中の細胞の処理

抗原	不活性化剤	濃度	標的溫度範囲	時間（最大／最小）
B. ブロンキセプチカ	ホルマリン グルタルアルデヒド	0.6% 0.6%	37±2℃	24～48時間
P. ムルトシダ細胞に結合したトキシド	ホルマリン	0.4%	37±2℃	5日
P. ムルトシダ細胞から遊離したトキシド	5NのNaOH	pH10±0.2	15±2℃	1～6時間

20

30

【0069】

例4に記載されるアジュバントを、ワクチン配合物中で5%の濃度の油-レシチンアジュバント及び2%の濃度の界面活性剤をもたらすように添加した。

萎縮性鼻炎（atrophic rhinitis）ワクチンの最少免疫化用量を決定するための試験は、中間濃度の界面活性剤を有する油-レシチンアジュバントのアジュバント特性を示した。妊娠した雌豚を、4週間隔で2度2mLの用量に予防接種した。それら、2回目の投与の約2週間後、分娩した。

【0070】

生後1ヶ月で、それらの豚を順に鼻腔内投与される毒素B. ブロンキセプチカ及びP. ムルトシダ培養物からなる重度のチャレンジにゆだねた。プラシーボのみにより予防接種された7匹の雌豚に生まれた豚は、重度の萎縮性鼻炎を進行せしめた。十分な用量の抗原を有するワクチンを与えられたすべての7匹の豚は、循環中にまだ存在する母性抗体により強く保護された。抗原の1/2又は1/8用量を有するワクチンを与えられた雌豚は、それらの子豚に満足する保護を与えなかった。

40

【0071】

例8. 中間濃度での界面活性剤を含むアジュバントを用いての丹毒ワクチン

中間濃度の界面活性剤を有する例4に記載されるアジュバントを、E. ルヒシオパチアエ抗原を含む丹毒（erysipelas）ワクチンに使用した。ワクチンへの使用のための抗原は、0.5%のホルマリンにより少なくとも24時間、不活性化されたE. ルヒシオパチアエ培養物から製造された。不活性化された培養物を、遠心分離により澄明にし、そして分子濾過

50

により約10倍に濃縮した。前記濃縮物を、AIゲルREHYDRAGEL(TM)を添加し、30%の濃度にするこゝによって安定した。予備吸着された濃縮物は、個々のmlの用量が、不活性化での培養物の光学密度(OD)から計算される場合に少なくとも3.2の不透明単位(opacity unit)(OU)を含むような量で、ワクチンに含まれた、(OUは、mL当りのOU値を付与するために最終濃度因子により掛け算される。)

【0072】

丹毒予防接種を行い、中間濃度の界面活性剤を有する油-レシチンアジュバントを含むワクチンの効力を決定した。例4に記載のようなアジュバントを、25%(v/v)の最終濃度で添加し、5%の最終レシチン-油濃度をもたらした。EDTA(0.07%(v/v))と共にチメロサル(0.01%(v/v))を、保存剤として添加した。

10

【0073】

この製法により製造されたワクチンを、豚における効力について2度試験した。個々の場合、豚に2回の2mL用量により予防接種し、ここで、最初の投与は約3週(離乳)で、そして2度目の投与は3週後に、筋肉内(IM)投与された。対照には、ブラシーボとしてリン酸緩衝溶液を投与した。1つの研究においては生後約9週間で、及び他においては生後6ヶ月で、毒性E.ルヒシオパチアエのIM注射により、免疫性をチャレンジした。表2に示されるように、予防接種による保護は、9週で100%及び6ヶ月(すなわち、屠殺年齢)で75%であった。それらの結果は、ワクチンが通常の飼育期間を通して、丹毒に対して満足すべき保護性を付与したことを示した。

9週で攻撃されたグループに使用されるワクチンは、すでに12ヶ月経過していた。その結果は、保護抗原が都合よく安定化されたことを確認するものである。

20

【0074】

【表2】

表2：丹毒に対する豚の保護

チャレンジでの年齢	対照 (保護/チャレンジ)	予防接種されたもの (保護/チャレンジ)
9週	0/10	19/19
6ヶ月	0/10	15/20

30

【0075】

注：9週で攻撃された予防接種されたグループにおいては、20匹目の豚を排除した。非常に面倒な動物、すなわち取り扱われる場合に激しくもがく動物においては、安静での温度は測定され得なかった。チャレンジに続いて、この豚は完全に健康な状態であった。

本発明は、本発明の単一の観点の例示として意図される例示された態様により制限されず、そして機能的に同等であるアジュバントは本発明の範囲内である。実際、本明細書に記載される種々の変法は、前叙の記載及び添加図面から当業者に明らかになるであろう。そのような変法は、本発明の請求内にある。

40

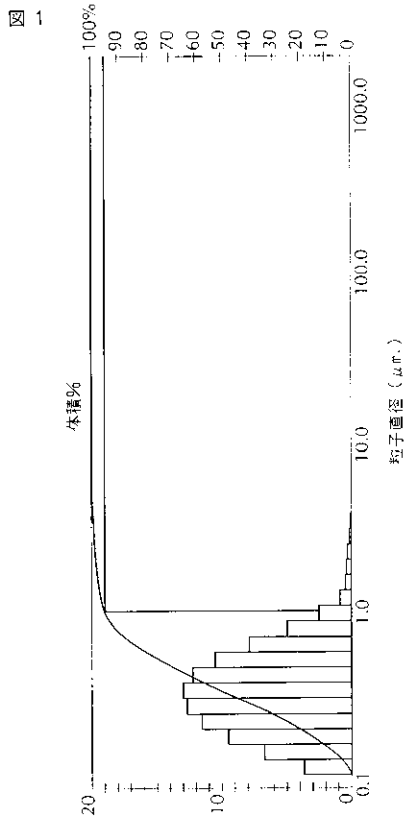
本明細書に引用されるすべての出版物は、完全に引用により組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0076】

【図1】図1は、本発明に従って調製されたエマルジョンの液滴サイズの分布を示すグラフである。線(a)及び(b)は、液滴の約94%が1µm又はそれ以下の直径を有することを示す。

【 図 1 】



フロントページの続き

- (72)発明者 ドン アラン ディアウエスター
アメリカ合衆国, コネティカット 06340, グロトン, イースタン ポイント ロード, セン
トラル リサーチ ディビジョン, ファイザー インク.
- (72)発明者 デービッド スチュワート ロバーツ
アメリカ合衆国, ペンシルバニア 19106, フィラデルフィア, ワシントン スクエア サウ
ス 604 アpartment 303
- (72)発明者 リロイ アレン スウェアリングン
アメリカ合衆国, コネティカット 06340, グロトン, イースタン ポイント ロード, セン
トラル リサーチ ディビジョン, ファイザー インク.
- Fターム(参考) 4C085 AA03 BA17 DD02 DD03 DD86 EE06 FF12