

SMP-105 (BCG-CWS) 水性懸濁製剤のアジュバント作用

岸本 修一^{1,2)}、波多野 友希¹⁾、伊藤 有祐¹⁾、柳 義和³⁾、福島 昭二^{1,2)}

1) 神戸学院大学 薬学部、2) 神戸学院大学 ライフサイエンス産学連携研究センター、3) 株式会社MBR

背景および目的

SMP-105 (BCG-CWS) は、BCG-CWSを安定かつ一定規格とした薬剤である。従来、SMP-105は安定な製剤としてoilの存在が必須であったが、(株) MBRにより oil 不含の水性懸濁剤が開発された。我々は、SMP-105 水性懸濁剤のがんワクチンのアジュバントとしての応用を目指した。

がんワクチン療法では、樹状細胞の抗原提示能力を活性化させるためにアジュバントの存在が必要である。現在のがんワクチンは、Incomplete Freund's AdjuvantであるMontanide ISA 51 VG (以下、IFAとする) をアジュバントとし、W/Oエマルジョンの形で用いられてきた。しかし、IFAのアジュバント作用は弱く、新規アジュバント物質が必要とされる。そこで、我々はSMP-105水性懸濁剤を用いたエマルジョンによるアジュバント関節炎の誘導能を評価した。

今回の検討では、SMP-105 水性懸濁剤のエマルジョンの剤形およびComplete Freund's adjuvant (以下、CFAとする) との比較、各剤形でのSMP-105含有量およびIFA含有量の比較を行った。

実験方法

測定方法および評価方法

SMP-105 水性懸濁剤および IFA とのエマルジョン製剤を Lewis ラットの左足甲部に皮下投与し、Perfluorocarbon (PFC) 中浸漬法により両足の腫脹による体積変化を評価した。両足の体積変化は、投与後約 10 日目までの左足の腫脹を局所刺激作用、投与後約 10 日目以降の右足の腫脹をアジュバント作用として評価した。

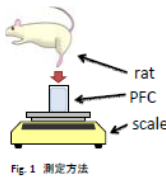


Fig. 1 測定方法

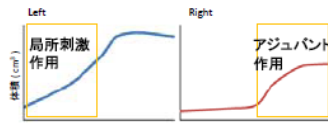


Fig. 2 評価方法

O/W エマルジョンの調製方法

水相および油相を充填したシリンジを GP コネクターで接続し、30 往復ポンピングをすることで O/W エマルジョン製剤とした。

W/O エマルジョンの調製方法

水相および油相を充填したシリンジを GP コネクターで接続し、水相を 1/3 量ずつ押し出してシリンジを振とうし分散させた。この操作を 3 回繰り返した。その後 30 往復ポンピングをすることで最終的な W/O エマルジョン製剤とした。

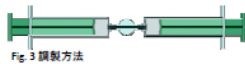


Fig. 3 調製方法

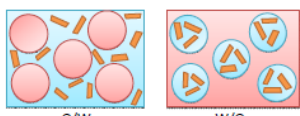


Fig. 4 各エマルジョンの性状

結果

剤形比較

The form of emulsion	Injection volume	Concentration of SMP-105	Dose of SMP-105	Dose of IFA
水性懸濁剤のみ	0.1 mL	1 mg/mL	—	—
O/W	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	100 μL
W/O	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	100 μL

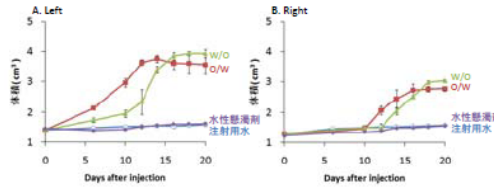


Fig. 5 局所刺激作用およびアジュバント作用への水性懸濁剤の剤形の影響 (n=3, mean±S.D.)

SMP-105 水性懸濁剤単独では、両足の腫脹はまったく認められなかった。エマルジョンは、どちらの剤形とも局所刺激作用およびアジュバント作用が認められた。

CFA との比較

The formulation	Injection volume	Concentration of SMP-105	Dose of SMP-105	Dose of IFA
SMP-105 O/W	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	—
BCG 死菌 O/W	0.2 mL	0.5 mg/mL (BCG 死菌)	100 μg (BCG 死菌)	100 μL

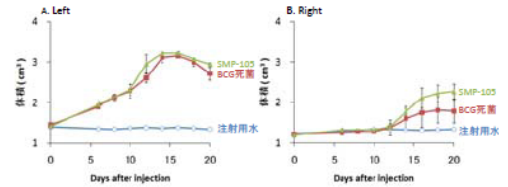


Fig. 6 SMP-105 (BCG-CWS) と CFA での局所刺激作用およびアジュバント作用の違い (n=3, mean±S.D.)

SMP-105 と BCG 死菌のエマルジョン間では、局所刺激作用に違いは認められなかった。しかし、アジュバント作用は SMP-105 のほうが強かった。

SMP-105 量の影響 (O/W)

The form of emulsion	Injection volume	Concentration of SMP-105	Dose of SMP-105	Dose of IFA
O/W	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	100 μL
		0.05 mg/mL	10 μg	
		0.017 mg/mL	3.3 μg	
		0.0017 mg/mL	1 μg	
		0.005 mg/mL	0.5 μg	

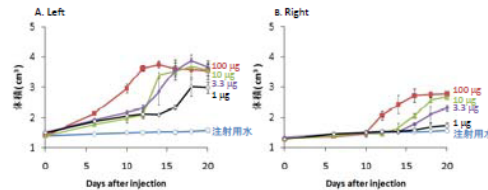


Fig. 7 O/W エマルジョンにおける局所刺激作用およびアジュバント作用への SMP-105 含有量の影響 (n=3, mean±S.D.)

O/W エマルジョン中の SMP-105 量を減少に伴い、局所刺激およびアジュバント作用の減弱が認められた。SMP-105 量を 1 μg に減じた場合、局所刺激はわずかに起こったが、アジュバント作用はほとんど認められなかった。

SMP-105 量の影響 (W/O)

The form of emulsion	Injection volume	Concentration of SMP-105	Dose of SMP-105	Dose of IFA
W/O	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	100 μL
		0.017 mg/mL	3.3 μg	
		0.005 mg/mL	1 μg	
		0.0017 mg/mL	0.3 μg	
		0 mg/mL	0 μg	

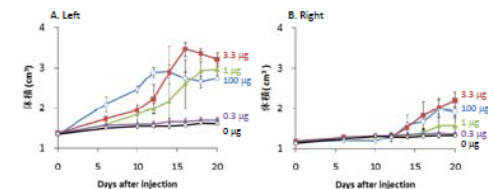


Fig. 9 W/O エマルジョンにおける局所刺激作用およびアジュバント作用への SMP-105 含有量の影響 (n=3, mean±S.D.)

W/O エマルジョン中の SMP-105 量の減少に伴い、局所刺激およびアジュバント作用の減弱が認められた。SMP-105 量を 1 μg に減じた場合、局所刺激は起こったが、アジュバント作用はほとんど認められなかった。

IFA 量の影響

The form of emulsion	Injection volume	Concentration of SMP-105	Dose of SMP-105	Dose of IFA
O/W	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	50 μL
				25 μL
				12.5 μL
				6.25 μL
				3.125 μL

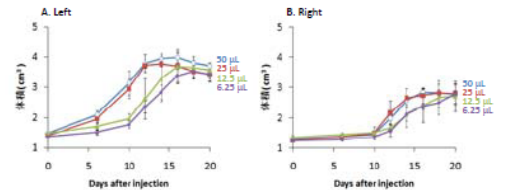


Fig. 8 O/W エマルジョンにおける局所刺激作用およびアジュバント作用への IFA 含有量の影響 (n=3, mean±S.D.)

SMP-105 投与量を一定とし IFA の容積比を減少させた場合、通常の 1/8 以下の IFA 投与量では、明らかな局所刺激作用の減弱およびアジュバント作用の発現の遅延が認められた。

投与量の影響

The form of emulsion	Injection volume	Concentration of SMP-105	Dose of SMP-105	Dose of IFA
W/O	0.2 mL	0.5 mg/mL	100 μg	100 μL
	0.1 mL			50 μL
	0.05 mL			25 μL
	0.025 mL			12.5 μL
	0.0125 mL			6.25 μL

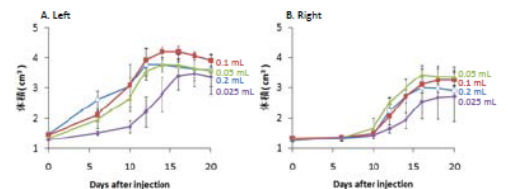


Fig. 10 W/O エマルジョンにおける局所刺激作用およびアジュバント作用への投与量の影響 (n=3, mean±S.D.)

投与量が 0.2、0.1、0.05 mL では、局所刺激作用およびアジュバント作用にほとんど違いがなかった。投与量 0.025 mL では、明らかな局所刺激作用およびアジュバント作用の発現遅延と減弱が認められた。

考察および結論

- SMP-105 水性懸濁剤がアジュバント作用を示すには、IFA の存在が必要だが、エマルジョンの剤形は影響しないことがわかった。
- 同濃度の BCG 死菌のエマルジョンと比べ、アジュバント作用が強かったことから、SMP-105 水性懸濁剤はより有効なアジュバントであると考えられた。
- アジュバント作用の強度は、SMP-105 量、IFA 量を変えることで、コントロールが可能であることがわかった。
- エマルジョンの剤形によらず、SMP-105 量を 1 μg 以下にするとアジュバント作用が極めて弱くなることが示された。
- O/W エマルジョンでは、IFA 量の減少が局所刺激作用およびアジュバント作用に影響することが示された。
- W/O エマルジョンは、投与量の減少 (IFA 量減少 + SMP-105 量減少) が局所刺激作用およびアジュバント作用に影響することが示された。