

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第6275137号
(P6275137)

(45) 発行日 平成30年2月7日 (2018.2.7)

(24) 登録日 平成30年1月19日 (2018.1.19)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 9/70 (2006.01)	A 6 1 K 9/70
A 6 1 K 47/36 (2006.01)	A 6 1 K 47/36
A 6 1 K 47/32 (2006.01)	A 6 1 K 47/32
A 6 1 K 47/38 (2006.01)	A 6 1 K 47/38
A 6 1 K 47/34 (2017.01)	A 6 1 K 47/34

請求項の数 25 (全 79 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-526643 (P2015-526643)	(73) 特許権者	391058060
(86) (22) 出願日	平成25年8月6日 (2013.8.6)		ベイラー カレッジ オブ メディシン
(65) 公表番号	特表2015-524473 (P2015-524473A)		BAYLOR COLLEGE OF M
(43) 公表日	平成27年8月24日 (2015.8.24)		E D I C I N E
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/053805		アメリカ合衆国, テキサス 77030,
(87) 国際公開番号	W02014/025792		ヒューストン, ワン ベイラー プラザ
(87) 国際公開日	平成26年2月13日 (2014.2.13)		(番地なし)
審査請求日	平成28年6月29日 (2016.6.29)	(73) 特許権者	506115514
(31) 優先権主張番号	61/679, 908		ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
(32) 優先日	平成24年8月6日 (2012.8.6)		ティ オブ カリフォルニア
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94
(31) 優先権主張番号	61/775, 891		607-5200, オークランド, フラン
(32) 優先日	平成25年3月11日 (2013.3.11)		クリン ストリート 1111, 12番
(33) 優先権主張国	米国 (US)		フロア

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療薬分与デバイスおよびその作製方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

眼に治療薬を送達するためのデバイスであって、前記デバイスは、
少なくとも1つの生体適合性材料を含むヒドロゲルマトリクスと、
前記ヒドロゲルマトリクス内に配置された複数のリザーバと

を備え、
前記複数のリザーバの開放端を含む前記ヒドロゲルマトリクスの表面の少なくとも一部は、
ユーザの眼の表面に接触し、かつ、前記ユーザの眼の前記表面との接触に応じて、溶解
するように構成され、前記ユーザの眼の前記表面に接触する前記ヒドロゲルマトリクスの
前記表面部分の溶解により、前記リザーバ内の物質の一部が放出される、
デバイス。

【請求項 2】

ヒドロゲルマトリクスの前記表面部分の溶解は、所定の率で生じる、請求項 1 に記載のデ
バイス。

【請求項 3】

溶解の前記所定の率は、少なくとも前記生体適合性材料に基づく、請求項 2 に記載のデバ
イス。

【請求項 4】

前記少なくとも1つの生体適合性材料は、デキストラン、ポリビニルアルコール、カルボ
キシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビ

ニルアルコール（PVA）、ポリラクチド-コ-グリコリド（PLGA）、ポリヒドロキシエチルメタクリレート（ポリHEMA）、ポリヒドロキシエチルアクリレート、ゼラチン材料、コラーゲン材料、および、それらの任意の組み合わせのうちの少なくとも1つを含む、請求項1に記載のデバイス。

【請求項5】

前記デバイスは、少なくとも5日間、前記リザーバ内の前記物質を放出するように構成される、請求項1に記載のデバイス。

【請求項6】

前記リザーバ内の前記物質は、治療薬を含む、請求項1に記載のデバイス。

【請求項7】

前記治療薬は、化合物、抗炎症剤を含む薬物および薬物マトリクス、他の小分子薬物、抗体、抗生物質、siRNA、ペプチド、コルチコステロイドを含むステロイド、生物学的抗真菌薬、アミノ酸、mRNA、栄養サプリメント、または、それらの任意の組み合わせから成る群から選択される、請求項6に記載のデバイス。

【請求項8】

前記ヒドロゲルマトリクスは、所定の時間区間後に完全に溶解するように構成される、請求項1に記載のデバイス。

【請求項9】

少なくとも1つのリザーバは、深さ約500nmを有する、請求項1に記載のデバイス。

【請求項10】

前記ヒドロゲルマトリクスは、表面積約1mm²~150mm²を有する、請求項1に記載のデバイス。

【請求項11】

眼に治療薬を送達するための治療薬分与デバイスを製作するための方法であって、前記方法は、

基部構成要素と前記基部構成要素の表面に取り付けられた複数の支柱とを備えるテンプレートを形成するステップと、

生体適合性材料層に、前記基部部分に隣接する、前記支柱の長さを上回る厚さを提供するステップと、

前記生体適合性材料層を前記テンプレートから分離することにより、前記支柱に対応する複数のリザーバを伴うヒドロゲルマトリクスを形成するステップと、

治療薬を少なくとも1つのリザーバ内に注入するステップとを含み、

前記複数のリザーバの開放端を含む前記ヒドロゲルマトリクスの表面の少なくとも一部は、ユーザの眼の表面に接触し、かつ、前記ユーザの眼の前記表面との接触に応じて、溶解するように構成され、前記ユーザの眼の前記表面に接触する前記ヒドロゲルマトリクスの前記表面部分の溶解により、前記リザーバ内の物質の一部が放出される、方法。

【請求項12】

前記治療薬は、化合物、抗炎症剤を含む薬物および薬物マトリクス、他の小分子薬物、抗体、抗生物質、siRNA、ペプチド、コルチコステロイドを含むステロイド、生物学的抗真菌薬、アミノ酸、mRNA、栄養サプリメント、または、それらの任意の組み合わせから成る群から選択される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

テンプレートを形成する前記ステップは、前記テンプレートを微細加工するステップを含む、請求項11に記載の方法。

【請求項14】

前記微細加工は、プラズマエッチングが後に続く電子ビームリソグラフィを含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

個体における眼の医学的状態を治療するための、請求項 1 に記載のデバイスであって、前記複数のリザーバのうちの少なくとも 1 つは、少なくとも 1 つの治療薬組成物を備え、前記デバイスは、前記個体の眼に適用されることを特徴とする、デバイス。

【請求項 16】

前記眼の医学的状態は、角膜疾患、角膜炎症、角膜傷害、ドライアイ疾患、眼の感染症（細菌性、真菌性、または、ヘルペス性の角膜炎）、眼傷害、眼の熱傷（化学的、熱的）、創傷治癒、角膜傷害後、LASIK 後、または、角膜移植後の神経再生、角膜潰瘍、角膜の血管新生および脈管形成の防止／治療、角膜シスチン症、緑内障、糖尿病網膜症、および、黄斑変性症から成る群から選択される、請求項 15 に記載のデバイス。

【請求項 17】

前記眼の医学的状態は、眼表面の炎症、感染症、または、両方である、請求項 15 に記載のデバイス。

【請求項 18】

前記眼の医学的状態は、シスチン症である、請求項 15 に記載のデバイス。

【請求項 19】

前記デバイスは、角膜上、結膜上、または、円蓋において適用される、請求項 15 に記載のデバイス。

【請求項 20】

前記治療薬組成物は、薬物を含む、請求項 15 に記載のデバイス。

【請求項 21】

前記薬物は、リボフラビン、ドキシサイクリン、デキサメタゾン、タクロリムス、トピロマー、エチホキシ、ピナキサトン、および、ネオトロフィン、ソラフェニブ、スニチニブ、シクロスポリン A、アバスタチン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、エリスロマイシン、アジスロマイシン、アシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、システアミン、ブルセラミン (brucellamine)、チオプロニン、抗 IFN、輪部幹細胞、または、それらの組み合わせである、請求項 20 に記載のデバイス。

【請求項 22】

前記薬物は、システアミン、ブルセラミン (brucellamine)、チオプロニン、ポリチオール、チオポリマー (チオマー)、または、それらの組み合わせである、請求項 20 に記載のデバイス。

【請求項 23】

少なくとも 1 つの眼における神経再生のために、少なくとも 1 つの治療薬組成物を個体に送達するための請求項 1 に記載のデバイスであって、前記複数のリザーバのうちの少なくとも 1 つは、前記治療薬組成物を備える、デバイス。

【請求項 24】

前記個体は、LASIK 手術後、神経再生の必要がある、請求項 23 に記載のデバイス。

【請求項 25】

前記個体は、角膜移植または角膜傷害の後、神経再生の必要がある、請求項 23 に記載のデバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、National Eye Institute によって授与された R01 EY011915 - 14 の下で政府の支援を用いて行われた。政府は本発明において一定の権利を有する。

【0002】

本願は、2012 年 8 月 6 日に出願された米国仮特許出願第 61 / 679 , 908 号に対する優先権を主張し、かつ、2013 年 3 月 11 日に提出された米国仮特許出願第 61 / 775 , 891 号に対する優先権を主張し、それらの出願の両方は、参照により本明細書にその全体が援用される。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 3 】

本開示は、概して、溶解性ヒドロゲルマトリクスを通した局所的治療薬の送達等、個体における制御された治療薬の放出に関する。特定の実施形態では、技術分野として、少なくとも、細胞生物学、分子生物学、医用生体工学、および、医薬品が挙げられる。

【 背景技術 】

【 0 0 0 4 】

医薬品、例えば、薬物を用いた傷害、疾患、および、炎症の治療は、多くの場合、傷害部位のみだけではなく、全身をそれらの医薬品の毒性および/または副作用に曝すことを伴う。これは、薬物が、多くの場合、局所送達ではなく、摂取を通して投与されるためである。したがって、薬剤が、身体内の特定の部分または臓器のみに影響する、または、それらを治療する場合、薬剤をその部分または臓器のみに投与することが望ましい。そのような局所送達は、他の非標的部分または臓器への副作用を最小限にし、全身投与が、多くの場合、局所送達と同一の効果を達成するために、より多い用量を要求するため、薬剤の無駄を低減させる。傷害の部位への治療薬剤の局所送達は、多くの場合、最も効果的治療形態であるが、現在の薬物送達形態は、ピークおよび終息薬物放出プロファイルと関連付けられ、持続薬物放出が、望ましい。局所薬物送達デバイスおよび方法は、現在利用可能であるが、これらのアプローチにはいくつかの制限がある。

10

【 0 0 0 5 】

眼内局所送達も、利用されている。眼は、その解剖学的構造および固有の生理学的および防御機構のため、独特な臓器である。他の粘膜上皮と異なり、眼の平滑かつ湿潤した粘膜表面は、直接、外部環境に暴露され、傷害、乾燥、および、炎症誘発性刺激を受けやすい。毎年、2.5百万例を上回る眼傷害が発生しており、50,000人が、その視力の一部または全部を永久的に失っており、約3.2百万人の50歳以上の女性および1.68百万人の50歳以上の男性が、ドライアイ症候群に罹患している(2011年4月のAmerican Academy of Ophthalmologyによって編纂された眼の健康に関する月例統計)。眼表面の不浸透性および涙液浄化のため、適切な作用部位への薬物の標的化は、通常、薬物送達における最大の課題の1つである(Gipson, 2007; Singh et al., 2011; Gaudana et al., 2008)。薬物療法成功のために、薬物は、所定の時間区間の間、治療上効果的な濃度において、標的部位(角膜または結膜)に存在すべきである。薬物の生物学的利用能は、薬物の物理化学的特性、標的組織、薬物吸収、分布、排除、および、薬物送達システムに依存する。薬物のほとんどに対して、薬物動態および有効性が、十分に理解されているが、しかしながら、規定された時間区間の間、治療上効果的な濃度においての標的部位への薬物の送達は、課題である。

20

30

【 0 0 0 6 】

1. 眼球薬物送達

【 0 0 0 7 】

概して、眼への薬物治療は、局部眼球、全身、および、眼球内または眼球周囲注入によって送達される。眼球疾患は、一般に、薬物溶液(すなわち、点眼薬または軟膏)の局部適用を用いて治療される。これらの従来の投薬形態は、その単純性、安全性、および、患者による容認性のため、現在利用可能な市販の製剤のほぼ90%を占める。しかしながら、眼表面障壁は、眼における薬物吸収およびその生物学的利用能を制限し得る。局部眼球薬物投与は、点眼薬によって達成されるが、眼表面上と短い時間しか接触しない。典型的には、薬物の<5%は、角膜を通して浸透し、眼球内組織に到達する。結果として、点眼薬の複数回の投与が、療法効果のために要求される(Sultana et al., 2007; KunoおよびFujii, 2011; Gaudana et al., 2010)。1日数回の点眼薬の投与は、短時間の治療上効果的範囲に加え、高低薬物濃度プロファイル、すなわち、毒性範囲内の高濃度および非効果的範囲内の低濃度をもたらす(図10)。これらの従来の投薬形態の主な不利点は、非常に低生物学的利用能を呈することである。薬物接触時間および薬物作用の持続時間は、ゲル製剤、軟膏、および、眼球

40

50

挿入物を開発することによって改善されている。全身投与される薬剤は、一般に、眼球浸透が制限され、毒性の潜在性を伴う高周辺薬物レベルを要求し得る。薬剤の眼球または眼球周囲注入は、外傷性および侵襲性であって、急速に希釈され、適正な薬物レベルのために、反復手技を要求し得る。

【0008】

2. 眼球薬物動態および眼表面にわたる薬物輸送

【0009】

眼球薬物動態研究は、特殊送達システムを用いて、または、用いずに、局所または全身薬物投与後、眼球組織中の薬物濃度を分析する簡単なインビボ実験である。別の種類の眼球薬物動態は、物理化学薬物特性と浸透性との間の関係が評価される、薬物浸透性研究を含む (Mannermaa et al., 2006)。これらの研究は全て、関連障壁内の浸透の機構を理解することを目的とせずに、眼球薬物動態に関する基本情報を提供するために臨床的に進められる。しかしながら、角膜および結膜にわたる薬物分子拡散の完全な理解は、臨床的に移行可能なナノ薬物送達システムの開発に重要である。

【0010】

角膜上皮中の薬物分子の受動拡散

【0011】

局部的に送達される薬物 (点眼薬または軟膏) は、角膜を通じた拡散によって、眼の前房に進入する。約 20 ~ 60 分の遅延時間が、薬物が房水に到達するために要求される。遅延時間は、角膜にわたる薬物分子の拡散率に等しい。一般に、角膜を通して拡散する薬物の量は、涙液膜中のその濃度に線形比例する。涙中の薬物濃度 (ひいては、角膜に浸透する薬物の濃度) の低下は、一次速度則に従い、その率は、新しく分泌された涙による希釈率に依存する (図 10)。ヒトでは、薬物溶液の単回 20 μ l の液滴の半減期は、2 ~ 20 分に及ぶ。故に、局部的に適用された薬物のわずか 1 ~ 5 % しか、前房に到達せず、薬物の残りは、涙液膜、鼻涙排水系、ならびに、鼻粘膜および腸粘膜からの全身吸収によって浄化されるであろう (Urtti, 2006)。

【0012】

涙液から角膜への薬物分子の拡散は、眼表面上の送達システムの滞留 / 接触時間および角膜内への薬物浸透性によって制御される。角膜内への薬物浸透性は、受動拡散または能動輸送によるものである。能動輸送は、角膜上皮内の輸送体の発現を要求する。受動拡散は、輸送体タンパク質に依存せず、細胞膜の脂質二重層内の薬物分子の分配および拡散を決定する物理的パラメータによって左右される (Mannermaa et al., 2006)。角膜は、薬物吸収に対して非常に緊密な障壁である。角膜上皮の浸透性は、 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ cm / 秒であって、局部眼球投与後の眼球の薬物生物学的利用能は、小親油性分子に対してさえ、5 % 未満である (Urtti et al., 1990)。角膜上皮は、薬物吸収に対する周知の障壁である (Maurice and Mishima, 1984)。親油性分子の低速放出に対する障壁および薬物貯蔵所としての角膜上皮の役割は、Siegel and Robinson (1976) によって実装されている。したがって、角膜上皮は、親水性分子に対する障壁として、または、小親油性分子に対する障壁および貯蔵所として機能することができる。角膜にわたる親油性薬物の速やかな浸透のために、log D 値は、2 ~ 3 であるべきであって、浸透性は、親油性上皮の強固な結合のため、より高い log D 値 (> 3) に伴って低下する。

【0013】

角膜上皮内への薬物分子の能動輸送

【0014】

薬物分子の角膜浸透性は、受動拡散および能動輸送の和であって、能動輸送の効果は、受動拡散の程度に依存する。角膜上皮では、親水性薬物分子の能動輸送は、親水性分子の低受動拡散のため、親油性薬物より有意に高くなるであろう。輸送体発現は、角膜上皮細胞の頂端表面上で有意であるため、角膜上皮にわたる親水性薬物分子の能動輸送は、親油性薬物分子より高くなるであろう。Michaelis-Menten 式によると、薬物

分子の能動輸送は、薬物濃度、輸送体に対するその親和性 (K_m)、および、膜内の輸送体の発現レベル (すなわち、最大容量) (V_m) に依存する (Mannermaa et al., 2006)。

【0015】

薬物の物理化学特性

【0016】

薬物分子は、経細胞または傍細胞経路を介して、角膜上皮にわたって拡散する。概して、親油性薬物は、経細胞経路を介して拡散する一方、親水性薬物は、細胞間空間を通して、傍細胞経路によって拡散する (Borchardt, 1990)。局部的に適用された薬物の場合、濃度勾配に沿った経細胞または傍細胞経路を介した受動拡散が、好ましい。角膜内の薬物浸透率は、分子サイズ、形状、電荷、イオン化度、溶解度、および、親油性等の薬物の物理化学特性によって影響される (Schoenwald and Huang, 1983; Grass and Robinson, 1988; Liaw and Robinson, 1992; Huang et al., 1989; Rojanasakul et al., 1992; Liaw et al., 1992; Sieg and Robinson, 1977; Maren and Jankowski, 1985; Brechue and Maren, 1993)。親油性角膜上皮は、非常に親水性の薬物の拡散に対してその率を制限する障壁である一方、角膜上皮から親水性間質への分配は、非常に親水性の薬物に対してその率を制限し、角膜浸透性を決定する。その率を制限する障壁は、やや親油性の - 遮断薬に対して、上皮のまさに表面に位置する一方、角膜上皮全体は、親水性化合物に対する障壁である (Shih and Lee, 1990)。イオン性薬物の拡散は、涙液内のイオン化薬物と非イオン化薬物との間の化学的平衡に依存する (Friedrich et al., 1993)。非イオン化薬物分子は、イオン化形態より容易に脂質膜を通して拡散する。例えば、遊離ピロカルピン塩基の経角膜浸透は、インビトロでイオン化形態より2~3時間を上回った (Francouer et al., 1983; Mitra and Mikkelson, 1988)。

【0017】

3. 眼球薬物送達における障壁および課題

【0018】

治療上効果的な濃度における眼の前部への薬物の送達は、角膜および眼表面の感染症ならびに炎症の治療に不可欠である。角膜および結膜は、前部薬物吸収の主要経路であるが、しかしながら、角膜上皮の不浸透性、涙動態、円蓋結膜内における一時的滞留、および、全身吸収等の要因が、薬物の生物学的利用能および療法有効性に影響を及ぼす。眼内の薬物浸透性および吸収を増加させることによる生物学的利用能の改善は、大きな課題である。また、標的部位において最適薬物濃度を達成することも重要である。

【0019】

角膜障壁

【0020】

健康な角膜は、眼の透明な一次水晶体である。角膜直径は、約11.7 mmである。角膜上皮は、厚さ約50 μ mの最前層である。頂端角膜上皮細胞は、平坦であって、細胞間空間内に緊密な結合を形成し、ほとんどの微生物に対してだけではなく、また、治療薬物に対しても効果的障壁として作用する。これらの緊密な結合は、最頂端表面細胞層内のみ位置し、涙液から眼の前房への薬物吸収に対する拡散障壁を提供する (Reinstein et al., 1994; Hitzzenberger et al., 1994; Grass and Robinson, 1988)。角膜上皮は、角膜薬物吸収および経角膜薬物浸透における主要な制限障壁である (Maurice and Mishima, 1984)。

【0021】

結膜障壁

【0022】

結膜は、眼瞼の内側表面を被覆し、強膜の前部を被覆する、血管化粘膜である。表部の結膜上皮の緊密な結合は、結膜にわたる薬物浸透のための主要な障壁であるが、結膜上皮は、角膜より広い細胞間空間を有する。結膜上皮はまた、角膜 (1 cm^2) と比較して、はるかに大きい表面積 ($16 \sim 18\text{ cm}^2$) を被覆する (Dartt et al., Biology of the Eye)。結膜上皮の相対的漏出性、豊富な血流、および、大表面積のため、涙液からの局所的に適用された薬物の結膜取り込みは、典型的には、角膜取り込みより1桁大きい。しかしながら、結膜内の毛細血管およびリンパ管の存在のため、薬物の大部分は、全身循環に損失され、それによって、眼球生物学的利用能を低下させるであろう。結膜取り込みに続く全身薬物吸収のため、結膜嚢内の眼球挿入物薬物送達システムによる薬物滞留時間の実質的向上でも、常時、眼球薬物吸収において有意な改善をもたらさない場合がある (Newell, 1986; Ahmed et al., 1987)。まとめると、角膜および結膜は、眼の前部における薬物吸収に対してその率を制限する障壁である。

10

【0023】

涙動態

【0024】

涙液膜は、高代謝率およびゲル状粘液層のため、動的障壁として作用する。基礎涙流は、約 $1.2\text{ }\mu\text{l}/\text{分}$ ($0.5 \sim 2.2\text{ }\mu\text{l}/\text{分}$) であって、反射刺激は、最大 $300\text{ }\mu\text{l}/\text{分}$ まで涙液分泌を増加させることができる (Dartt et al., Biology of the Eye; Mishima et al., 1966)。点眼薬の局部投与は、反射流涙を刺激し、薬物は、適用後、涙液膜によって急速に洗浄される。MUC5AC等のゲル形成粘液は、眼表面上皮の細胞外被と界面接触し、細胞残骸、異物、および、病原を浄化する、親水性層を生成する。約 $2 \sim 3\text{ }\mu\text{l}$ 粘液が、毎日分泌され、薬物吸収の障壁として作用する (Gipson and Argueso, 2003)。

20

【0025】

涙液からの鼻涙排水系による薬物排除

【0026】

眼の滞留涙体積は、概して、 $7 \sim 10\text{ }\mu\text{l}$ であるため、ほとんどの局所的に投与される溶液は、適用から $15 \sim 30$ 秒以内に洗浄される (de la Fuente et al., 2010)。局所的に投与された薬物は、主に、反射流涙によって前角膜涙液から排除され、鼻涙系に排水される。通常の市販点眼器は、約 $40\text{ }\mu\text{l}$ の液滴を送達する。点眼薬が、滴下されると、ヒトの眼は、一時的に、約 $30\text{ }\mu\text{l}$ の体積を含有するが、滴下された溶液は、涙がその通常の体積 ($7\text{ }\mu\text{l}$) に戻るまで、結膜嚢からの溢出または涙点を通して涙管排水系への損失によって、急速に除去される (Lederer and Harold, 1986; Zaki et al., 1986)。点眼薬の体積が、 $5 \sim 10\text{ }\mu\text{l}$ まで減少し、適用された用量が、濃度を増加させることによって、一定に保たれる場合、薬物の眼球生物学的利用能は、改善されることができる (Chrai et al., 1973)。刺激性薬物の眼球投与は、反射涙液分泌のため、前角膜面積からさらなる範囲に薬物損失を増加させる (Mesequer et al., 1993; Craig, 2002)。

30

40

【0027】

全身吸収

【0028】

眼科薬物送達システムの目標は、従来、全身吸収を最小限にすることではなく、眼球薬物吸収を最大限にすることであった (Urtti et al., 1990)。点眼薬の滴下後、滴下された用量の5%未満は、眼内に吸収される一方、全身吸収は、多くの場合、滴下された用量の50%を上回る (Urtti and Salminen, 1993; Lee et al., 1993)。全身吸収の主要部位は、結膜および鼻粘膜である。眼球から適用された薬物の全身吸収は、多くの場合、ほぼ完全であって、軽度か

50

ら生命を脅かす事象まで及ぶ全身副作用につながり得る。全身副作用を生じさせ得る眼科薬物の場合、薬物送達システムは、制御放出方式において、標的組織のみに薬物を送達し、したがって、薬物の全身吸収を最小限にしなければならない。局所的に適用された薬物の臨床投与は、多くの場合、流涙、視力のぼやけ、および、炎症等のその眼球/全身副作用によって制限される (Shell, 1984)。炎症は、眼表面組織上の薬物濃度に関連するため、制御放出薬物送達システムは、炎症を最小限にし、患者コンプライアンスを向上させることができる。

【0029】

4. ナノ薬物送達方式

【0030】

従来の溶液および懸濁薬物製剤は、依然として、最も頻繁に使用される投薬形態であるが、いくつかの新しい薬物送達システムが、「ピークおよび終息」効果を最小限にし、長期間の間、薬物濃度を効果的レベルに維持するために開発されている (Vandervort and Ludwig, 2007)。局部眼球薬物送達における最近の進歩は、点眼薬の改善からエマルジョン、リポソーム、脂質ナノ粒子、および、眼球挿入物に及ぶ (Sultana et al., 2011; Kapoor and Chauhan, 2008; Mahmoud et al., 2008; Souto et al., 2010; Li et al., 2008; Seyfoddin et al., 2010; Mack et al., 2009)。これらの努力は全て、眼に長期または持続送達を提供することによって、あるいは経角膜浸透を促進することによって、薬物生物学的利用能の向上を目的とする。それにもかかわらず、市場で成功している代替薬物送達システムは、非常に少ない。現在、製品の95%は、従来の点眼薬瓶を介して送達される (表1)。

【表1】

製品名	医薬品有効成分	剤形	企業名	指示子	状態
Restasis	シクロスポリンA	エマルジョン	Allergan	重度ドライアイ疾患	米国で市販
Refresh dry Eye therapy		エマルジョン	Allergan	ドライアイ疾患	米国で市販
Durezol	ジフルプレドナート	エマルジョン	Alcon	炎症	米国で市販
Cationorm		カチオン性エマルジョン	Novagali	軽度ドライアイ疾患	欧州で市販
Soothe XP Emollient		エマルジョン	Bausch & Lomb	ドライアイ疾患	米国で市販
Tear Again	ビタミンA	リポソーム	Optima Pharmazeutische	ドライアイ疾患	米国で市販
表1. 代表的市販眼球薬物送達製剤					

【表 2】

薬物	ナノ粒子システム	結果	参考文献
オリゴヌクレオチド	リポソーム	より優れた放出率の制御	[69]
アセタゾールアミド	リポソーム	IOPにおける著しい低下をもたらした	[70]
ピロカルピン HCl	リポソーム	薬物の有糸分裂応答および 眼球生物学的利用能の増加	[71]
イヌリン	リポソーム	薬物の眼球濃度の増加	[72]
GCV	アルブミンナノ粒子	ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 感染症に対する抗ウイルス活性の増加	[73]
ピロカルピン	マイクロエマルジョン	25%のIOPの低下	[74]
アミカシン	ナノ粒子	角膜および房水への薬物の送達の改善	[75]
ピロカルピン	ポリ(ブチル)ーシアノア クリレートナノ粒子	有糸分裂応答の向上および 22%のIOPの低下	[76]
フルルビプロフェン	アクリレートポリマーナノ 懸濁液	房水中の薬物レベルの増加	[77]
シクロスポリン	キトサンナノ粒子	外部眼球組織への送達の向上	[78]
デキサメタゾン	マイクロエマルジョン	房水中の生物学的利用能の向上	[79]
硝酸ピロカルピン、 トロピカミド	デンドリマー	長期有糸分裂活性	[80]
デキサメタゾン	HP-β-CD	溶解度、浸透性、および、 角膜生物学的利用能の向上	[81,82]
表 2. 眼科研究において使用されるナノ粒子薬物送達システム			

【0031】

5. ナノ薬物送達システム

【0032】

ナノ粒子、リポソーム、ミセル、および、デンドリマー等のナノ薬物送達システムが、眼球薬物送達の向上を目的として開発されている (Singh et al., 2011; Gaudana et al., 2008; Sultana et al., 2007; Kuno and Fujii, 2011; Gaudana et al., 2010)。これらのシステムは、眼表面における長期滞留時間を提供し、自然な目の浄化システムの効果を最小限にすることが求められている。制御された薬物送達と組み合わせると、作用部位に長時間薬物療法レベルを提供可能であると主張されている。ナノおよびマイクロ粒子が、全身薬物送達のために開発されているが、しかしながら、眼球疾患を治療するためのナノ技術に基づく薬物送達システムの開発における進歩は、ほとんど認められていない。最近、エマルジョン、マイクロ、および、ナノ粒子が、眼球薬物送達において使用されるが、その成功は、制限されている (Diebold and Calonge, 2010; Gershkovich et al., 2008; Choy et al., 2008; Chang et al., 2011)。現在開発中のナノ粒子薬物送達システムのいくつかは、表 2 に列挙されている。ナノ粒子懸濁液でさえ、同様に、眼から急速に浄化され、制限された薬物の有効性につながる。マイクロ/ナノ粒子ベースの送達システムは、調製が容易であるが、低薬物装填量、バースト薬物放出動態、ならびに、円蓋内および眼瞼の縁に沿った粒子の凝集等の制限を呈する。また、非常に短い周期の薬物放出 (約 1 ~ 3 時間) のため、療法有効性は、非常に限定され、複数回の投与を要求する。眼内における薬物滞留時間を改善するために、原位置ゲル形成システムが、開発されている (He et al., 2008)。薬物を含有する溶液が、点眼薬としての滴下に応じて、眼表面上において、ゾル/ゲル相転移を被る。原位置で形成されたゲルは、より長い時間区間の間、薬物を保持し、したがって、その生物学的利用能を向上させることが期待される。しかしながら、これらの原位置で形成するゲル

は、薬物滞留時間を数時間まで増加させ得る。薬物が装填されたコンタクトレンズが、眼内の薬物滞留時間を改善するために開発されている (Gulsen and Chauhan, 2004; Singh et al., 2011)。コンタクトレンズは、角膜と常時接触するため、薬物が装填されたコンタクトレンズは、薬物滞留時間を30分超まで向上させることが期待される。これらのシステムに関する問題は、薬物の大部分が、1時間以上以内に拡散することである。さらなる前進として、薬物が充填されたりボソーム、ミセル、マイクロエマルジョン、または、ナノ粒子が装填されたコンタクトレンズが、開発されている (Garhwal et al., 2012; Peng and Chauhan, 2011; Yanez et al., 2011)。これらのアプローチは、薬物滞留時間が数時間に改善されているが、しかしながら、1日から1週間の長期放出のためにはあまり好適ではない。最近、薬物が装填されたPLGAフィルムが、エコナゾールの長期放出のために、コンタクトレンズの内側に封入された (Ciollino et al., 2011)。これらのシステムは、最大1ヶ月まで薬物を送達し得るが、厚いPLGAフィルムのため、透明性の低下および低酸素浸透性によって制限される (Jung and Chauhan, 2012)。また、PLGAの生体分解性性質のため、これらのコンタクトレンズは、PBS内にパッケージ化されることができない。概略すると、これらのシステムは全て、薬物滞留時間を数時間まで延長させ得るが、長期間の間、制御放出方式において、薬物を放出することができない。故に、高薬物含有量および長期薬物放出属性を伴うプログラム可能薬物送達システムの開発が非常に必要とされる。

10

20

【0033】

6. 現在の眼球薬物送達システムにおける欠落

【0034】

眼球薬物送達は、損傷健康な組織を損傷しない方法によって、標的眼球組織に対して適切な療法用量において、正しい薬理学的薬剤を得るという単純目標にまとめられ得る。しかしながら、眼球疾患の治療では、本単純目標は、前述のように、薬物浸透に対して非常に敏感な眼球組織および眼表面障壁のため、より困難となる。課題は、これらの保護眼表面障壁を慎重に迂回し、恒久的組織損傷を生じさせずに、薬物を標的部位(角膜または結膜)に送達することである。持続的努力にもかかわらず、新しいナノ薬物送達システムの開発および最適化は、非常にゆっくりである。

30

【0035】

眼科薬物の療法有効性を改善するために、薬物送達システムは、以下の属性を包含しなければならない。(i) 眼表面上における薬物滞留時間の増加、(ii) 薬物吸収の増加、(iii) 薬物の生物学的利用能の改善、(iv) 薬物の全身吸収の最小限化、(v) 薬物送達システムの局所耐性の改善、および、(vi) 患者コンプライアンス。眼表面への薬物送達に対処する主要な課題は、薬物作用を標的部位内に局所化し、治療薬物レベルを維持する一方、全身への影響を最小限にする方法である。また、患者コンプライアンスの問題は、眼球薬物送達において深刻に検討されなければならない。薬物が、慢性疾患を治療するとき、例えば、治療薬組織濃度に到達するために、1週間、1時間毎に与えられなければならない場合、全くではないにしても、一貫して与えられる可能性は非常に低い。

40

【0036】

本開示の実施形態は、より長い持続時間の間(例えば、1日から1週間)、治療上効果的な濃度において薬物を放出することができる、制御放出眼球薬物送達システムを提供するという当技術分野における長年にわたる必要性を満たす。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0037】

【非特許文献1】 Ahmed I, Gokhale RD, Shah MV, Patton TF. Physicochemical determinants of

50

drug diffusion across the conjunctiva, sclera, and cornea. J. Pharm. Sci. 1987; 76, 583-586.

【非特許文献2】Borchardt RT. Assessment of transport barriers using cell and tissue culture systems. Drug. Dev. Ind. Pharm. 1990; 16: 2595-2612.

【非特許文献3】Brecht WF, Maren TH. pH and drug ionization affects ocular pressure lowering of topical carbonic anhydrase inhibitors. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993; 34: 2581-2587.

【非特許文献4】Chang E, McClellan, AJ, Farley WJ, Li D-Q, Pflugfelder SC, De Paiva, C. Biodegradable PLGA-based drug delivery systems for modulating ocular surface disease under experimental murine dry eye. J Clin Exp Ophthalmol. 2011; 2: 191. doi: 10.4172/2155-9570.1000191

【非特許文献5】Choy YB, Park J-H, McCarey BE, Edelhauser HF, Prausnitz MR. Mucoadhesive microdiscs engineered for ophthalmic drug delivery: effect of particle geometry and formulation on preocular residence time. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008; 49: 4808-4815.

【非特許文献6】Chrai SS, Patton TF, Mehta A, Robinson JR. Lacrimal and instilled fluid dynamics in rabbit eye. J. Pharm. Sci. 1973; 62: 1112-1121.

【非特許文献7】Ciolino JB, Hudson SP, Mobbs AN, Hoare TR, Iwata NG, Fink GR, Kohane DS. A prototype antifungal contact lens. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011; 52: 6286-629.

【非特許文献8】Craig, J. Structure and function of the preocular tear film. In The tear film; Korb, D.R., Craig, J., Doughty, M., Guillon, J., Smith, G., Tomlinson, A., Eds.; Butterworth-Heinemann: Oxford, UK, 2002; pp. 18-50.

【非特許文献9】Dartt DA, Hodges RR, Zoukhri D. Tears and their secretion. In: Fischbarg J. (editor) The Biology of the Eye. Academic Press, New York, 21-82.

【非特許文献10】de la Fuente M. et al. Chitosan-based nanostructures: a delivery platform for ocular therapeutics. Adv. Drug Deliv. Rev. 2010; 62: 100-117.

【非特許文献11】Diebold Y, Calonge M. Applicati

10

20

30

40

50

ons of nanoparticles in ophthalmology. Prog Retina Eye Res 2010;29:596-609.

【非特許文献12】Francouer M, Ahmed I, Sitek S, Patton TF. Age-related differences in ophthalmic drug disposition. III. Corneal permeability of pilocarpine in rabbits. Int. J. Pharm. 1983; 16:203-213.

【非特許文献13】Garhwal R, Shady SF, Ellis EJ, Ellis JY, Leahy CD, McCarthy SP, Crawford KS, Gaines P. Sustained ocular delivery of Ciprofloxacin using nanospheres and conventional contact lens materials. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012;53: 1341-1352.

【非特許文献14】Gaudana R, Jwala J, Boddur SHS, Mitra AK. Recent perspectives in ocular drug delivery. Pharm. Res. 2008;26:1197-1216.

【非特許文献15】Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular drug delivery. Am Assoc Pharm Sci J. 2010;12:348-360.

【非特許文献16】Gershkovich P. et al. A review of the application of lipid-based systems in systemic, dermal, transdermal, and ocular drug delivery. Crit. Rev. Ther. Drug 2008; 25:545-584.

【非特許文献17】Gipson I.K, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. Int. Rev. Cytol. 2003; 231:1-49.

【非特許文献18】Gipson IK. The ocular surface: The challenge to enable and protect vision. Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 2007;48:4391-4398.

【非特許文献19】Grass GM, Robinson J.R. Mechanisms of corneal drug penetration II: Ultrastructural analysis of potential pathways for drug movement. J. Pharm. Sci. 1988; 77, 15-23.

【非特許文献20】Gulsen D, Chauhan A. Ophthalmic drug delivery through contact lenses. Invest Ophthalmol Vis Sci. 45: 2342-2347, 2004.

【非特許文献21】Hitzenberger CK, Baumgartner A, Drexler W, Fercher AF. Interferometric measurement of corneal thickness with micrometer precision. Am. J. Ophthalmol. 1994; 118:468-476.

【非特許文献22】Huang AJW, Tseng SCG, Kenyon KR. Paracellular permeability of corneal a

10

20

30

40

50

nd conjunctival epithelia. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989; 30:684-689.

【非特許文献23】Jung HJ, Chauhan A. Temperature sensitive contact lenses for triggered ophthalmic drug delivery. Biomaterials 2012; 33:2289-2300.

【非特許文献24】Kapoor Y, Chauhan A. Ophthalmic delivery of cyclosporine A from Brij-97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. Int. J. Pharm. 2008; 361:222-229.

10

【非特許文献25】Kuno N, Fujii S. Recent advances in ocular drug delivery systems. Polymers 2011; 3:193-222.

【非特許文献26】Lederer CM, Harold RE. Drop size of commercial glaucoma medications. Am. J. Ophthalmol. 1986; 101:691-694.

【非特許文献27】Lee Y-H, Kompella UB, Lee VHL. Systemic absorption pathways of topically applied α -adrenergic antagonists in the pigmented rabbit. Exp Eye Res. 1993; 57:341-349.

20

【非特許文献28】Li X, et al. A controlled-release ocular delivery system for ibuprofen based on nanostructured lipid carriers. Int. J. Pharm. 2008; 363:177-182.

【非特許文献29】Liaw J, Robinson JR. (1992) The effect of polyethylene glycol molecular weight on corneal transport and the related influence of penetration enhancers. Int. J. Pharm. 1992; 88:125-140.

30

【非特許文献30】Liaw J, Rojanasakul Y, Robinson JR. The effect of drug charge type and charge density on corneal transport. Int. J. Pharm. 1992; 88:111-124.

【非特許文献31】Mack BC, Wright KW, Davis, ME. A biodegradable filament for controlled drug delivery. J. Control. Release 2009; 139:205-211.

【非特許文献32】Mahmoud SS, et al. Liposomal phospholipid preparations of chloramphenicol for ophthalmic applications. J. Pharm. Sci. 2008; 97:2691-2701.

40

【非特許文献33】Mannermaa E, Vellonen K-S, Urtti A. Drug transport in corneal epithelium and blood-retina barrier: Emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics. Adv Drug Deliv Rev. 2006; 58:1136-1163.

【非特許文献34】Maren TH, Jankowska L. Ocular p

50

armacology of sulfonamides: the cornea as barrier and depot. Curr. Eye Res. 1985; 4:399-408.

【非特許文献35】Maurice DM, Mishima S. Ocular pharmacokinetics. Sears, MC (Ed.), Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 69, Pharmacology of the Eye. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1984; 19-116.

【非特許文献36】Meseguer G, Gurny R, Buri P, Rozier A, Plazonnet B. Gamma scintigraphic study of precorneal drainage and assessment of miotic response in rabbits of various ophthalmic formulations containing pilocarpine. Int. J. Pharm. 1993; 95:229-234.

10

【非特許文献37】Mishima S. et al. Determination of tear volume and tear flow. Invest. Ophthalmol. 1966; 5: 264-276.

【非特許文献38】Mitra AK, Mikkelsen TJ. Mechanism of transcorneal permeation of pilocarpine. J. Pharm. Sci. 1988; 77:771-775.

20

【非特許文献39】Newell FW. Ophthalmology, Principles and Concepts, 6th edn. 1986; C.V Mosby Co., St. Louis, MO.

【非特許文献40】Peng C-C, Chauhan A. Extended cyclosporine delivery by silicone-hydrogel contact lenses. J Control Release 2011; 154: 267-274.

【非特許文献41】Reinsten DZ, Silverman RH, Rondeau MJ, Coleman DJ. Epithelial and corneal thickness measurements by high-frequency ultrasound digital signal processing. Ophthalmology 1994; 101:140-146.

30

【非特許文献42】Rojanasakul Y, Wang L-Y, Bhat M, Glover DD, Malanga C, Ma JKH. The transport barrier of epithelia: a comparative study on membrane permeability and charge selectivity in the rabbit. Pharm. Res. 1992; 9:1029-1034.

【非特許文献43】Schoenwald RD, Huang H-S. (1983) Corneal penetration behavior of -blocking agents I: physicochemical factors. J. Pharm. Sci. 1983; 72, 1266-1272.

40

【非特許文献44】Seyfoddin A. et al. Solid lipid nanoparticles for ocular drug delivery. Drug Deliv. 2010; 17:467-489.

【非特許文献45】Shell JW. Ophthalmic drug delivery systems. Surv. Ophthalmol. 1984; 29: 117-128.

【非特許文献46】Shih R-L, Lee VHL. Rate limit in

50

g barrier to the penetration of ocular hypotensive - blockers across the corneal epithelium in the pigmented rabbit. J. Ocul. Pharmacol. 1990; 6:329-336.

【非特許文献47】Sieg JW, Robinson JR. Mechanistic studies on transcorneal permeation of pilocarpine, J. Pharm. Sci. 1976; 65:1816-1822.

【非特許文献48】Sieg JW, Robinson, JR. (1977) Vehicle effects on ocular drug bioavailability II: Evaluation of pilocarpine. J. Pharm. Sci. 1977; 66:1222-1228.

【非特許文献49】Singh V, Ahmad R, Heming T. The challenges of ophthalmic drug delivery: A review. Int J Drug Discovery. 2011;3:56-62

【非特許文献50】Souto EB. et al. Feasibility of lipid nanoparticles for ocular delivery of anti-inflammatory drugs. Curr. Eye Res. 2010; 35:537-552.

【非特許文献51】Sultana Y, Aqil M, Ali A, Samad A. Advances in the topical ocular drug delivery, Expert Rev Ophthalmology, 2007; 2(2):309-23.

【非特許文献52】Sultana, Y. et al. Nanotechnology in ocular delivery: current and future directions. Drugs Today 2011; 47:441-455.

【非特許文献53】Urtti A, Salminen L. Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs. Surv. Ophthalmol. 1993; 37:435-456.

【非特許文献54】Urtti A, Pipkin JD, Rork G, Sendo T, Finne U, Repta AJ. Controlled drug delivery devices for experimental ocular studies with timolol 2. Ocular and systemic absorption in rabbits, Int. J. Pharm. 1990; 61:241-249.

【非特許文献55】Urtti A. Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. Adv Drug Deliv Rev. 2006;58:1131-1135.

【非特許文献56】Vandervoort J, Ludwig A. Ocular drug delivery: nanomedicine applications. Nanomed 2007; 2:11-21.

【非特許文献57】Yanez F, Martikainen L, Braga MEM, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Duarte CMM, Gil MH, de Sousa HC. Supercritical fluid-assisted preparation of imprinted contact lenses for drug delivery. Act

10

20

30

40

50

a Biomaterialia 2011;7: 1019 - 1030 .

【非特許文献58】Zaki I, Fitzgerald P, Hardy JG, Wilson CG. A comparison of the effect of viscosity on the precorneal residence of solutions in rabbit and man. J. Pharm. Pharmacol. 1986; 38:463 - 466 .

【非特許文献59】Singh K, Nair AB, Kumar A, Kumria R. Novel approaches in formulation and drug delivery using contact lenses. J Basic Clin Pharmacy 2011;2:87 - 101 .

【非特許文献60】Singh V, Ahmad R, Heming T. The challenges of ophthalmic drug delivery: A review. Int J Drug Discovery. 2011;3: 56 - 62 .

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0038】

本発明は、例えば、以下を提供する：

(項目1)

眼に治療薬を送達するためのデバイスであって、前記デバイスは、

少なくとも1つの生体適合性材料を含むヒドロゲルマトリクスと、

前記ヒドロゲルマトリクス内に配置された複数のリザーバと

を備え、

前記複数のリザーバの開放端を含む前記ヒドロゲルマトリクスの表面の少なくとも一部は、ユーザの眼の表面に接触し、かつ、前記ユーザの眼の前記表面との接触に応じて、溶解するように構成される、

デバイス。

(項目2)

ヒドロゲルマトリクスの前記表面部分の溶解は、所定の率で生じる、項目1に記載のデバイス。

(項目3)

溶解の前記所定の率は、少なくとも前記生体適合性材料に基づく、項目2に記載のデバイス。

(項目4)

前記少なくとも1つの生体適合性材料は、デキストラン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリラクチド-コ-グリコリド(PLGA)、ポリヒドロキシエチルメタクリレート(ポリHEMA)、ポリヒドロキシエチルアクリレート、ゼラチン材料、コラーゲン材料、および、それらの任意の組み合わせのうちの少なくとも1つを含む、項目1に記載のデバイス。

(項目5)

前記デバイスは、前記ユーザの眼の前記表面との接触に応じて、前記リザーバ内に含まれる物質の一部を放出するように構成される、項目1に記載のデバイス。

(項目6)

前記デバイスは、少なくとも5日間、前記リザーバ内の前記物質を放出するように構成される、項目5に記載のデバイス。

(項目7)

前記ユーザの眼の前記表面に接触する前記ヒドロゲルマトリクスの前記表面部分の溶解は、前記リザーバ内の前記物質の一部を放出する、項目5に記載のデバイス。

(項目8)

前記リザーバ内の前記物質は、治療薬を含む、項目 5 に記載のデバイス。

(項目 9)

前記治療薬は、化合物、抗炎症剤を含む薬物および薬物マトリクス、他の小分子薬物、抗体、抗生物質、*siRNA*、ペプチド、コルチコステロイドを含むステロイド、生物学的抗真菌薬、アミノ酸、*mRNA*、栄養サプリメント、または、それらの任意の組み合わせから成る群から選択される、項目 8 に記載のデバイス。

(項目 10)

前記ヒドロゲルマトリクスは、所定の時間区間後に完全に溶解するように構成される、項目 1 に記載のデバイス。

(項目 11)

少なくとも 1 つのリザーバは、深さ約 500 nm を有する、項目 1 に記載のデバイス。

(項目 12)

前記ヒドロゲルマトリクスは、表面積約 $1\text{ mm}^2 \sim 150\text{ mm}^2$ を有する、項目 1 に記載のデバイス。

(項目 13)

治療薬分与デバイスを製作するための方法であって、前記方法は、

基部構成要素と前記基部構成要素の表面に取り付けられた複数の支柱とを備えるテンプレートを形成するステップと、

生体適合性材料層に、前記基部部分に隣接する、前記支柱の長さを上回る厚さを提供するステップと、

前記生体適合性材料層を前記テンプレートから分離することにより、前記支柱に対応する複数のリザーバを伴うヒドロゲルマトリクスを形成するステップと、

治療薬を少なくとも 1 つのリザーバ内に注入するステップとを含む、方法。

(項目 14)

前記治療薬は、化合物、抗炎症剤を含む薬物および薬物マトリクス、他の小分子薬物、抗体、抗生物質、*siRNA*、ペプチド、コルチコステロイドを含むステロイド、生物学的抗真菌薬、アミノ酸、*mRNA*、栄養サプリメント、または、それらの任意の組み合わせから成る群から選択される、項目 13 に記載の方法。

(項目 15)

テンプレートを形成する前記ステップは、前記テンプレートを微細加工するステップを含む、項目 13 に記載の方法。

(項目 16)

前記微細加工は、プラズマエッチングが後に続く電子ビームリソグラフィを含む、項目 15 に記載の方法。

(項目 17)

個体における眼の医学的状態を治療する方法であって、前記方法は、項目 1 に記載のデバイスを前記個体の眼に適用するステップを含み、前記複数のリザーバのうちの少なくとも 1 つは、少なくとも 1 つの治療薬組成物を備える、方法。

(項目 18)

前記眼の医学的状態は、角膜疾患、角膜炎症、角膜傷害、ドライアイ疾患、眼の感染症（細菌性、真菌性、または、ヘルペス性の角膜炎）、眼傷害、眼の熱傷（化学的、熱的）、創傷治癒、角膜傷害後、LASIK 後、または、角膜移植後の神経再生、角膜潰瘍、角膜の血管新生および脈管形成の防止 / 治療、角膜シスチン症、緑内障、糖尿病網膜症、および、黄斑変性症から成る群から選択される、項目 17 に記載の方法。

(項目 19)

前記眼の医学的状態は、眼表面の炎症、感染症、または、両方である、項目 17 に記載の方法。

(項目 20)

前記眼の医学的状態は、シスチン症である、項目 17 に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 2 1)

前記デバイスは、角膜上、結膜上、または、円蓋において適用される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記治療薬組成物は、薬物を含む、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記薬物は、リボフラビン、ドキシサイクリン、デキサメタゾン、タクロリムス、トピラマート、エチホキシシン、ピナキサトン、および、ネオトロフィン、ソラフェニブ、スニチニブ、シクロスポリン A、アバスタチン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、エリスロマイシン、アジスロマイシン、アシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、システアミン、ブルセラミン (brucellamine)、チオプロニン、抗 IFN、輪部幹細胞、または、それらの組み合わせである、項目 2 2 に記載の方法。

10

(項目 2 4)

前記薬物は、システアミン、ブルセラミン (brucellamine)、チオプロニン、ポリチオール、チオポリマー (チオマー)、または、それらの組み合わせである、項目 2 0 に記載の方法。

(項目 2 5)

少なくとも 1 つの眼における神経再生のために、少なくとも 1 つの治療薬組成物を個体に送達する方法であって、前記方法は、項目 1 に記載のデバイスを前記個体に適用するステップを含み、前記複数のリザーバのうちの少なくとも 1 つは、前記治療薬組成物を備える、方法。

20

(項目 2 6)

前記個体は、LASIK 手術後、神経再生の必要がある、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 7)

前記個体は、角膜移植または角膜傷害の後、神経再生の必要がある、項目 2 5 に記載の方法。

本開示は、制御された様式において、治療薬の局所送達を提供することに関する。本開示の実施形態は、特に、ドライアイ疾患、眼の感染症 (細菌性、真菌性、および、ウイルス性)、眼傷害、創傷治癒、角膜傷害後、LASIK 後、または、角膜移植後の神経再生、角膜潰瘍、角膜の血管新生および脈管形成の防止 / 治療、角膜システイン症、緑内障、糖尿病網膜症、黄斑変性症、眼表面、角膜、あるいは眼球内炎症等の種々の病気または状態を治療するための眼への治療薬の持続投与に適用可能である。本開示の実施形態はまた、角膜移植患者等の臓器移植患者のための免疫抑制剤および抗炎症薬物の長期局所および / または全身送達においても使用されることができる。

30

【 0 0 3 9 】

本開示の実施形態は、概して、溶解性基質を通した局所的治療薬の送達を含む、個体における治療薬の制御放出に関する。具体的実施形態では、溶解性基質は、マトリクスであって、マトリクスの実施例は、粘膜付着性ポリマーヒドロゲルマトリクス等のヒドロゲルマトリクスである。

【 0 0 4 0 】

本開示の実施形態は、個体上または内に局所的に容易に留置されることができる、制御放出ナノウエハ薬物送達システムを包含する。具体的実施形態では、ナノウエハ薬物送達システムは、眼に利用され、特定の実施形態では、本システムは、いかなる臨床手技も伴わずに、例えば、患者の指先によって、または、アプリケータを用いて、角膜または結膜上で利用される。

40

【 0 0 4 1 】

一側面によると、眼に治療薬を送達するためのデバイスであって、少なくとも 1 つの生体適合性材料を含むヒドロゲルマトリクスと、ヒドロゲルマトリクス内に配置された複数のリザーバとを備え、複数のリザーバの開放端を含むヒドロゲルマトリクスの表面の少なくとも一部は、ユーザの眼の表面に接触し、かつ、ユーザの眼の表面との接触に応じて、

50

溶解するように構成される、デバイスが、提供される。1つの実施形態において、ヒドロゲルマトリクスの表面部分の溶解は、所定の率で生じる。別の実施形態では、溶解の所定の率は、少なくとも生体適合性材料に基づく。デバイスは、少なくとも円形、楕円形、長方形、正方形、卵形等を含む、任意の好適な形状であってもよい。リザーバは、少なくとも円形、楕円形、長方形、正方形、卵形等を含む、任意の好適な形状であってもよい。具体的実施形態では、デバイスは、2つ、3つ、または、それ以上の異なる形状等、異なる形状リザーバを有してもよい。別の実施形態では、2つ以上の薬物が、独立して、あるいは混合物または懸濁液として、ナノウエハ内に装填されるであろう。

【0042】

ある実施形態では、生体適合性材料は、デキストラン、ヒアルロナン、ヒアルロン酸、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリラクチド-コ-グリコリド(PLGA)、ポリヒドロキシエチルメタクリレート(ポリHEMA)、ポリヒドロキシエチルアクリレート、ゼラチン材料、コラーゲン材料、および、それらの任意の組み合わせのうちの少なくとも1つを含む。別の実施形態では、デバイスは、ユーザの眼の表面との接触に応じて、リザーバ内に含まれる少なくとも1つの物質の一部を放出するように構成される。別の実施形態では、デバイスは、少なくとも1~30日間、リザーバ内の物質を放出するように構成される。さらに別の実施形態では、ユーザの眼の表面に接触するヒドロゲルマトリクスの表面部分の溶解は、リザーバから物質の一部を放出する。

【0043】

ある他の実施形態では、ヒドロゲルマトリクスは、所定の時間区間後に完全に溶解するように構成される。1つの実施形態において、少なくとも1つのリザーバは、深さ約500nmを有する。別の実施形態では、ヒドロゲルマトリクスは、表面積約1mm²~150mm²、好ましくは、約1mm²~100mm²、または、約1mm²~約50mm²、または、約1mm²~約25mm²、または、約5mm²~約15mm²を有する。

【0044】

別の側面によると、治療薬分与デバイスを製作するための方法であって、基部構成要素および基部構成要素の表面に取り付けられた複数の支柱を備えるテンプレートを形成するステップと、生体適合性材料層に、該基部部分に隣接する、支柱の長さを上回る厚さを提供するステップと、該生体適合性材料層を該テンプレートから除去し、支柱に対応する複数のリザーバとともにヒドロゲルマトリクスを形成するステップと、治療薬を少なくとも1つのリザーバ内に注入するステップとを含む、方法が、提供される。

【0045】

1つの実施形態において、個体における眼の医学的状態を治療する方法であって、本開示の少なくとも1つのデバイスを個体の眼に適用するステップを含み、複数のリザーバのうちの少なくとも1つは、少なくとも1つの治療薬組成物を備える、方法である。眼の医学的状態は、角膜疾患、角膜炎、角膜傷害、ドライアイ疾患、眼の感染症(細菌性、真菌性、または、ヘルペス性の角膜炎)、眼傷害、眼の熱傷(化学的、熱的)、創傷治療、角膜傷害後、LASIK後、または、角膜移植後の神経再生、角膜潰瘍、角膜の血管新生および脈管形成の防止/治療、角膜シスチン症、緑内障、糖尿病網膜症、および、黄斑変性症から成る群から選択され得る。少なくともいくつかの場合には、眼の医学的状態は、眼表面の炎症、感染症、または、両方である。眼の医学的状態は、シスチン症であり得る。

【0046】

特定の実施形態では、本開示の少なくとも1つのデバイスは、角膜上、結膜上、または、円蓋において適用される。少なくとも1つの側面では、治療薬組成物は、薬物を含み、薬物は、少なくとも、リボフラビン、ドキシサイクリン、デキサメタゾン、タクロリムス、トピラマート、エチホキシシン、ピナキサトン、および、ネオトロフィン、ソラフェニブ、スニチニブ、シクロスポリンA、アバスタチン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、エリスロマイシン、アジスロマイシン、アシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビ

ル、システアミン、ブルセラミン (b r u c e l l a m i n e)、チオプロニン、抗 I F N 、輪部幹細胞、または、それらの組み合わせを含む、任意の種類であってもよい。個体がシスチン症を有するとき等、ある場合には、薬物は、システアミン、ブルセラミン (b r u c e l l a m i n e)、チオプロニン、ポリチオール、チオポリマー (チオマー)、または、それらの組み合わせであってもよい。

【 0 0 4 7 】

1つの実施形態において、少なくとも1つの眼における神経再生のために、少なくとも1つの治療薬組成物を個体に送達する方法であって、本開示の少なくとも1つのデバイスを個体に適用するステップを含み、複数のリザーバのうちの少なくとも1つは、治療薬組成物を備える、方法である。ある実施形態では、個体は、L A S I K手術後あるいは角膜移植または角膜傷害の後等、神経再生の必要がある。

10

【 0 0 4 8 】

前述は、以下の本開示の発明を実施するための形態が、より理解され得るように、本開示の特徴および技術的利点をむしろ広義に概略している。本開示は、他の分野でも使用されることができることを理解されたい。本開示の実施形態の付加的特徴および利点は、本開示の請求項の主題を形成する、本明細書に後述される。開示される概念および具体的実施形態は、本開示の同一の目的を実施するための他の構造、物質、および、プロセスを修正または設計するための基礎として容易に利用され得ることは、当業者によって理解されるはずである。そのような同等構造、物質、方法、プロセス、または、装置が、添付の請求項に記載の本開示の精神および範囲から逸脱しないことは、当業者によって認識されるはずである。その編成および動作方法の両方に関して、本開示の特性であると考えられる、新規特徴は、さらなる目的および利点とともに、付随の図と併せて検討されることによって、以下の説明からより理解されるであろう。しかしながら、図はそれぞれ、例証および説明の目的のためだけに提供され、本開示の制限の定義として意図されるものではないことは、明示的に理解されたい。

20

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 9 】

本発明の特徴および利点は、それらが、明細書、請求項、および、添付の図面を参照することによってより理解されるにつれて明確になるであろう。

【 0 0 5 0 】

30

【図1】図1は、本開示の治療薬分与デバイスの一実施形態の例証である。

【 0 0 5 1 】

【図2】図2 Aおよび2 Bは、図1に描写される治療薬分与デバイスの横断面図である。

【 0 0 5 2 】

【図3】図3は、本開示の側面による、例示的治療薬分与デバイスを製作するための一実施形態を図示する、概略である。

【 0 0 5 3 】

【図4】図4 A - 4 Dは、種々の物質が装填された本開示の治療薬分与デバイスの一実施形態の画像である。

【 0 0 5 4 】

40

【図5】図5 Aおよび5 Bは、本開示の治療薬分与デバイスの実施形態からのデキサメタゾンの薬物放出プロファイルである。

【 0 0 5 5 】

【図6】図6は、本開示の治療薬分与デバイスのある実施形態の例示的適用の例証である。

【 0 0 5 6 】

【図7】図7 A - 7 Cは、ドキシサイクリンが装填された本開示の治療薬分与デバイスの一実施形態の画像である。

【 0 0 5 7 】

【図8】図8 A - 8 Cは、(A)空包P V Aナノウエハ(制御)、(B)ドキシサイクリ

50

ンが装填されたナノウエハ、および、(C)デキサメタゾンが装填されたナノウエハが装填された本開示の治療薬分与デバイスの一実施形態を用いて治療されたドライアイ誘発マウスにおける角膜平滑度評価の画像である。

【0058】

【図9】図9は、ドキシサイクリンまたはデキサメタゾンが装填された本開示の治療薬分与デバイスの一実施形態を用いて治療されたあるマウスにおける炎症誘発性サイトカイン、MMP、および、IL-17Aの遺伝子発現分析を示す、グラフである。

【0059】

【図10】図10は、従来の投与方法に対する典型的薬物濃度プロファイルを図示する。

【0060】

【図11】図11は、本開示の治療薬デバイスの実施形態に対する例示的薬物濃度プロファイルを図示する。

【0061】

【図12-1】図12は、角膜薬物送達のための制御放出ナノウエハ薬物送達システムを示す。略図は、(A)ナノウエハ、(B)断面ナノウエハ、(C)角膜と直接接触するナノ薬物リザーバの開放面からの薬物放出、(D)角膜上に留置されたナノウエハ、(E)角膜上に留置されたナノウエハを伴う眼の断面、(F)ナノウエハから角膜内への薬物分子の拡散、および、(G)ナノウエハの予期される制御薬物放出プロファイルを描写する。

【図12-2】図12は、角膜薬物送達のための制御放出ナノウエハ薬物送達システムを示す。略図は、(A)ナノウエハ、(B)断面ナノウエハ、(C)角膜と直接接触するナノ薬物リザーバの開放面からの薬物放出、(D)角膜上に留置されたナノウエハ、(E)角膜上に留置されたナノウエハを伴う眼の断面、(F)ナノウエハから角膜内への薬物分子の拡散、および、(G)ナノウエハの予期される制御薬物放出プロファイルを描写する。

【図12-3】図12は、角膜薬物送達のための制御放出ナノウエハ薬物送達システムを示す。略図は、(A)ナノウエハ、(B)断面ナノウエハ、(C)角膜と直接接触するナノ薬物リザーバの開放面からの薬物放出、(D)角膜上に留置されたナノウエハ、(E)角膜上に留置されたナノウエハを伴う眼の断面、(F)ナノウエハから角膜内への薬物分子の拡散、および、(G)ナノウエハの予期される制御薬物放出プロファイルを描写する。

【図12-4】図12は、角膜薬物送達のための制御放出ナノウエハ薬物送達システムを示す。略図は、(A)ナノウエハ、(B)断面ナノウエハ、(C)角膜と直接接触するナノ薬物リザーバの開放面からの薬物放出、(D)角膜上に留置されたナノウエハ、(E)角膜上に留置されたナノウエハを伴う眼の断面、(F)ナノウエハから角膜内への薬物分子の拡散、および、(G)ナノウエハの予期される制御薬物放出プロファイルを描写する。

【0062】

【図13-1】図13は、ヒドロゲルテンプレート方式を介したナノウエハ加工を示す。無充填ナノウエハを含有する空のウェル(それぞれ、直径および深さ500nm)の(A)明視野像、(BおよびC)原子間力顕微鏡写真、蛍光薬物ドキシサイクリンが充填されたナノウエハの(D)明視野像、および、(E)蛍光画像である。

【図13-2】図13は、ヒドロゲルテンプレート方式を介したナノウエハ加工を示す。無充填ナノウエハを含有する空のウェル(それぞれ、直径および深さ500nm)の(A)明視野像、(BおよびC)原子間力顕微鏡写真、蛍光薬物ドキシサイクリンが充填されたナノウエハの(D)明視野像、および、(E)蛍光画像である。

【図13-3】図13は、ヒドロゲルテンプレート方式を介したナノウエハ加工を示す。無充填ナノウエハを含有する空のウェル(それぞれ、直径および深さ500nm)の(A)明視野像、(BおよびC)原子間力顕微鏡写真、蛍光薬物ドキシサイクリンが充填されたナノウエハの(D)明視野像、および、(E)蛍光画像である。

10

20

30

40

50

【図13-4】図13は、ヒドロゲルテンプレート方式を介したナノウエハ加工を示す。無充填ナノウエハを含有する空のウェル（それぞれ、直径および深さ500nm）の（A）明視野像、（BおよびC）原子間力顕微鏡写真、蛍光薬物ドキシサイクリンが充填されたナノウエハの（D）明視野像、および、（E）蛍光画像である。

【0063】

【図14】図14は、異なる薬物送達システムの薬物放出プロファイル、すなわち、点眼薬剤のピークおよび終息薬物可用性プロファイル（短破線および点線）、持続薬物放出プロファイル（長破線および点線）、および、制御薬物放出プロファイル（実線）を図示する。

【0064】

【図15】図15は、ナノウエハからのドキシサイクリンのインビトロ薬物放出プロファイルを示す。

【0065】

【図16】図16は、ナノウエハから角膜内へのナノ粒子の拡散を示す。角膜内に拡散された赤色蛍光ナノ球体（60nm）のレーザ共焦点蛍光画像の（A）対照（ナノウエハを伴わない）、（B）2日後、（C）5日後と、角膜内の金ナノ球体（60nm）の拡散を実証する、透過電子顕微鏡写真（TEM）の（D）対照（ナノウエハを伴わない）、（E）2日後、および、（F）5日後である。

【0066】

【図17】図17は、円蓋においてナノウエハが留置されたドライアイ誘発マウスにおける白色光のリングの反射による角膜平滑度の評価を提供するものであって、（A）空包PVAナノウエハ（対照）、（B）ドキシサイクリンが装填されたナノウエハ、および、（C）デキサメタゾンが装填されたナノウエハである。スケールバーは、1000μmである。

【0067】

【図18】図18は、炎症誘発性サイトカイン、MMP、CCL20、および、IL-17Aの遺伝子発現分析を実証する。IL-1、IL-1、および、IL-6を除く全炎症サイトカインが、ドキシサイクリンまたはデキサメタゾンを含むナノウエハを受容したドライアイ群において、角膜発現を減少させた。

【0068】

【図19】図19は、角膜傷害治癒に及ぼすナノウエハの有効性を示す。空包ナノウエハ（薬物を含有しない）と比較した上皮剥離後24時間における角膜の創傷、傍中心、および、中心における好中球蓄積に及ぼすデキサメタゾンが装填されたナノウエハの阻害作用。P<0.01、n=4。

【0069】

【図20】図20は、シスチノシン（Ctns^{-/-}）マウスモデルにおける角膜結晶成長進行を示す。

【0070】

【図21】図21は、Ctns^{-/-}マウスにおける角膜シスチン症を実証する。（A）3ヶ月時における、後部中心/周辺間質内の非常に反射性の針形状結晶、（B）7ヶ月時における、後中央部中心/周辺間質内のより大量の針形状結晶、（C）10ヶ月時における、後部および前部間質内のより短く厚い結晶、および、（D）12ヶ月時における、より点状かつより少ない針形状結晶である。

【0071】

【図22】図22は、薬物漸増試験を示し、毒性を伴わずに、150ng/ウエハでナノウエハ中の最適薬物濃度を実証する。

【0072】

【図23】図23は、シスチン症ロックアウトマウスにおけるシステアミンナノウエハの有効性を提供する。

【0073】

10

20

30

40

50

【図 2 4】図 2 4 は、シスチン症ノックアウトマウスにおけるインビボシステアミン - ナノウエハの有効性を示す。共焦点蛍光撮像法は、(A) 1 日目、最大結晶密度が存在し、(B) 4 日毎に 1 回、システアミンが装填されたナノウエハを用いた治療によって、2 7 日以内に結晶の大部分が溶解したことを実証する。

【 0 0 7 4 】

【図 2 5 - 1】図 2 5 (A) は、両眼球が熱傷 + 乾燥ストレスに曝された眼の代表的デジタル画像である。3 mm の直径のドキシサイクリンが装填されたナノウエハが、眼球熱傷の表面に適用された。画像は、初期病変後、6 時間 (h) ~ 7 日 (D) にわたって撮影された。ドキシサイクリンは、4 8 8 nm 励起下、自己蛍光性である。上部パネル内のナノウエハ自己蛍光のサイズ (実線白色線によって包囲される) は、経時的に減少することに留意されたい。赤色線は、眼瞼縁を描出する。下部パネルは、明視野条件下で撮影された同一の眼を示す。点線は、ナノウエハ膜を示す。(B) は、A における画像と同時に角膜上で測定されたドキシサイクリン - ナノウエハ膜の強度 (グレーレベル) / mm^2 の平均 \pm 標準偏差である。

10

【図 2 5 - 2】図 2 5 (A) は、両眼球が熱傷 + 乾燥ストレスに曝された眼の代表的デジタル画像である。3 mm の直径のドキシサイクリンが装填されたナノウエハが、眼球熱傷の表面に適用された。画像は、初期病変後、6 時間 (h) ~ 7 日 (D) にわたって撮影された。ドキシサイクリンは、4 8 8 nm 励起下、自己蛍光性である。上部パネル内のナノウエハ自己蛍光のサイズ (実線白色線によって包囲される) は、経時的に減少することに留意されたい。赤色線は、眼瞼縁を描出する。下部パネルは、明視野条件下で撮影された同一の眼を示す。点線は、ナノウエハ膜を示す。(B) は、A における画像と同時に角膜上で測定されたドキシサイクリン - ナノウエハ膜の強度 (グレーレベル) / mm^2 の平均 \pm 標準偏差である。

20

【 0 0 7 5 】

【図 2 6】図 2 6 A および 2 6 B は、局部 (T) ドキシサイクリン (A における D o x y)、デキサメタゾン (B における D e x a)、または、その媒介体のいずれかを用いて治療された、眼球熱傷 (O B) に曝され、同時に乾燥ストレス (D S) を伴う、眼内の眼球穿孔率を実証する。C および D は、ドキシサイクリン (C) またはデキサメタゾン (D) のいずれかが装填されたマイクロウエハ (M W) を用いて局部的に治療された眼球熱傷 (O B) + 乾燥ストレス (D S) を受けた角膜内の炎症サイトカインおよび M M P の遺伝子発現。* $p < 0.05$; * * $P < 0.01$, * * * $P < 0.001$; N S = 有意ではない。

30

【 0 0 7 6 】

図面は、必ずしも、正確な縮尺ではなく、開示される実施形態は、時として、図式的かつ部分的図に図示されることを理解されたい。ある事例では、開示される方法および装置の理解のために必要ではない、または、他の詳細を分かりにくくさせる詳細は、省略され得る。当然ながら、本開示は、本明細書に図示される特定の実施形態に制限されないことを理解されたい。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 7 7 】

40

用語「結合される」は、必ずしも、直接に、かつ必ずしも、機械的にではないが、接続されずとして定義される。すなわち、「結合される」2 つのアイテムは、相互に一体型であってもよい。用語「a」および「an」は、本開示が、明示的に、別様に要求しない限り、1 つ以上として定義される。用語「実質的に」、「およそ」、および、「約」は、当業者によって理解されるように、必ずしも指定されるもの全体的ではないが、大部分として定義される。

【 0 0 7 8 】

用語「comprise (備える)」(ならびに「comprises」および「comprising」等の任意の形態のcomprise)、「have」(ならびに「has」および「having」等の任意の形態のhave)、「include」(なら

50

びに、「includes」および「including」等の任意の形態のinclude)、および、「contain」(ならびに「contains」および「containing」等の任意の形態のcontain)は、非制限連結動詞である。その結果、1つ以上のステップを「備える」、「有する」、「を含む」、または、「含有する」方法は、それらの1つ以上のステップを保有するが、それらの1つ以上のステップのみの所有に制限されない。同様に、1つ以上の要素を「備える」、「有する」、「含む」、または、「含有する」デバイスは、それらの1つ以上の要素を所有するが、それらの要素のみの所有に制限されない。

【0079】

本開示の実施形態は、制御放出薬物送達基質を用いて局所病状を治療するための組成物および/または方法を提供する。局所化は、眼またはその一部内にあって、および、任意の好適な眼の医学的状態が、治療され得る。実施形態はまた、基質を作製する方法と、デバイスとも称され得る、基質自体を含む。

【0080】

具体的場合では、眼の医学的状態は、角膜に関する。角膜無血管状態は、角膜の透明性、したがって、視力の透明性を助長する(Cursiefen, 2007; Azar, 2006)。しかしながら、角膜感染症、外傷、化学傷害、可能性として、ウイルス感染症、および、角膜移植の拒絶反応による眼表面への損傷は、角膜の血管新生を誘発し、再上皮化および神経再生を阻害し、それによって、視力を損なわせ得る(DeStafeno and Kim, 2007)。眼への傷害は、多くの場合、角膜、結膜、および、眼瞼縁を被覆する上皮を損傷し、さらに深刻な場合には、これらの上皮を蘇らせる幹細胞を破壊する。多くの場合、支持間質細胞およびマトリクスが、損傷され、慢性的炎症が、誘発される。炎症細胞(単球/マクロファージ、好中球)の出現、角膜細胞(主に、角化細胞)の活性化、ならびに、上皮細胞および後続間質血管新生は、多くの場合、角膜の混濁および視力の低下につながる。これらの事象は、角膜における再上皮化および神経再生の阻害、および、涙の枯渇/ドライアイを生じさせ得る。眼球傷害および炎症のための現在利用可能な治療モダリティは、頻繁な投与を要求し、多くの場合、最小療法効果を生み出す。故に、長期間、治療上効果的な濃度において薬物を放出することができる長期薬物放出属性を伴う、広く適用可能であるナノウエハ薬物送達システムの開発の満たされていない必要性がある。

【0081】

ナノウエハ薬物送達システムは、眼内への設置に応じて、制御放出方式において、より長い持続時間の間(例えば、1日から1ヶ月)、薬物を放出し、したがって、薬物の有効性を向上させ、患者コンプライアンスを改善するであろう。薬物分子は、ナノウエハのポリマーマトリクスからゆっくりと拡散するため、分解および急速放出から保護される。ナノウエハの全成分、すなわち、PVA(ポリビニルアルコール)、PLGA(ポリ(乳酸-コ-グリコール酸))、および、提案される薬物の大部分は、FDA承認であるため、ドライアイ疾患を治療するために、診療所に容易に移行されることができる。ナノウエハは、市販の人工涙液中で現在使用されているポリマーを用いて加工されてもよく、したがって、これらのポリマーを用いて加工されたナノウエハは、薬物送達システムとして、また、潤滑剤としての両方で機能し得る。さらに、角膜/眼表面疾患を治療するために開発されたナノウエハ薬物送達システムは、ドライアイ疾患、眼の感染症(細菌性、真菌性、および、ヘルペス性の角膜炎)、眼傷害、眼の熱傷(化学的、熱的)、創傷治癒、角膜傷害後、LASIK後、または、角膜移植後の神経再生、角膜潰瘍、角膜の血管新生および脈管形成の防止/治療、角膜シスチン症、緑内障、糖尿病網膜症、黄斑変性症、眼表面角膜および眼球内炎症等を治療する際にその用途を見出すことができる。

【0082】

さらに、ナノウエハ薬物送達システムは、制御薬物送達に加え、機械的障壁を提供し、傷害眼を乾燥および/または微生物および/または炎症細胞浸潤から保護し、したがって、失明に至る眼の傷害の緊急管理を促進することができる。実施形態は、数時間から1日

10

20

30

40

50

、少なくとも1週間、薬物を放出し、したがって、薬物の有効性を向上させ、薬物の全身損失を最小限にし、患者コンプライアンスを改善することができる、制御放出ナノウエハ薬物送達システムを提供する。

【0083】

1. 角膜疾患を治療するための制御放出薬物送達ナノウエハ

【0084】

ナノ加工技術および制御放出薬物送達技術を統合することによって、ナノパターン化されたヒドロゲルウエハ（ナノウエハ）薬物送達システムが、現在利用可能な眼球薬物送達システムの制限を克服するように提供される。ナノウエハ薬物送達システムは、より長い持続時間の間、すなわち、1日から1週間、薬物治療上効果的な濃度において放出することができ（図12A）。ナノウエハは、指先等を用いて眼表面（図12D）上に適用されることができ、変位されることなく、常時瞬きに耐えることができる、微小円板（2～4mm直径）であってもよい。ナノリザーバの開放面は、角膜と近接近するため、ある実施形態では、薬物分子は、ナノウエハから角膜組織内に拡散することができる（図12B-F）。ナノウエハは、緊密な制御方式において薬物を放出し、薬物濃度を治療上効果的範囲内に維持することができる。規定された薬物放出周期の終了時、ナノウエハは、特定の側面では、溶解し、消失するであろう。

10

【0085】

ナノウエハ設計

【0086】

ナノウエハは、ヒドロゲルテンプレート方式を介して加工されてもよい（Acharya et al., 2011; Acharya, Shin, Vedenham, et al., 2010; Acharya, Shin, McDermott, et al., 2010）。ナノウエハは、例えば、水溶性、生体適合性、水に近い屈折率を伴う材料の透明性、および、眼の曲率に容易に付着および適合するような粘膜付着特性等の属性を保有するポリマーを選定することによって加工されてもよい。一連の寸法（200nm～3μm）のリザーバを伴うナノウエハが、設計され、電子ビームリソグラフィおよびフォトリソグラフィによって加工されてもよい。薬物リザーバ寸法は、薬物含有量および放出動態を定義し、ある実施形態では、したがって、ナノウエハにプログラム可能属性を備え付け得る。加えて、ナノウエハ薬物送達システムは、少なくともある側面である、薬物放出を制御し、療法効率を最大限にし、毒性副作用を最小限にする（図12E）。薬物放出の過程の間、ナノウエハは、ある実施形態では、ゆっくりと溶解し、消失する。

20

30

【0087】

ナノウエハは、眼内への設置に応じて、制御放出方式において、より長い持続時間の間（少なくとも1日から1ヶ月）、薬物を放出し、したがって、薬物の有効性を向上させ、患者コンプライアンスを改善する。薬物分子は、ナノウエハのポリマーマトリクスからゆっくりと拡散するため、分解および急速放出から保護される。ナノウエハの成分（薬物およびポリマー）は全て、FDA承認であるため、ドライアイ疾患を治療するために、診療所に容易に移行されることができる。ナノウエハは、市販人工涙液中で現在使用されているポリマーを用いて加工されてもよく、したがって、これらのポリマーを用いて加工されるナノウエハは、薬物送達システムとして、また、潤滑剤としての両方で機能し得る。さらに、ドライアイおよび角膜炎症のために開発されたナノウエハ薬物送達システムは、視力を脅かす傷害を含む、他の角膜疾患を治療する際にも有用である。

40

【0088】

特定の実施形態では、ナノウエハは、長期薬物放出属性の高薬物含有量を伴う生体分解性（溶解性）ナノウエハの開発を可能にする。本アプローチの最も有意な利点は、ナノウエハが、ヒドロゲルテンプレート方式を介して容易に加工されることができることである。ナノウエハのポリマーマトリクスは、薬物分子を酸化分解から保護する。薬物分子は、ナノウエハから周囲組織にゆっくりと拡散し、したがって、より長い持続時間の間、薬物の

50

可用性を可能にする。所望の薬物放出プロファイルは、異なる寸法の薬物リザーバを含有するナノウエハを加工することによって得られることができる。薬物リザーバの開放面は、結膜と常時接触し、放出された薬物分子は、結膜組織にゆっくり進入し、したがって、一定生物学的利用能を向上させるであろう。ナノウエハ材料は、薬物放出の過程の間、ゆっくりと溶解し、最終的に、消散するであろう。ナノウエハ材料は、少なくともいくつかの実施形態では、ゆっくりとした溶解に応じて、潤滑剤として機能し、したがって、必要な鎮静および快適性を提供するように選択されるであろう。新しいプログラム可能ナノウエハ薬物送達システムは、臨床使用のために、単純で、より有効であって、かつ制御された放出ナノ治療薬システムを提供することができる。ナノウエハ薬物送達システムは、その単純加工方法、長期薬物放出能力、粘膜付着性性質、および、広範囲の可用性のため、独特であって、眼球薬物送達の新しい形態を提供する。広範囲に適用可能であるナノウエハ薬物送達システムの開発は、長時間の間、治療上効果的な濃度において、薬物を放出することができる、高薬物含有量を伴う長期放出薬物送達システムのこれまで満たされたい必要性を満たす。現在、利用可能なそのようなデバイスは存在せず、ナノウエハ薬物送達システムの開発は、眼球薬物送達の分野の大きな前進である。

10

【0089】

いかなる臨床手技も伴わずに、個体の指先によって、眼の角膜、結膜上、または、円蓋内（例えば）に容易に留置されることができる、長期放出ナノウエハ薬物送達システムの開発は、非常に便宜的であるだけでなく、また、少なくとも角膜疾患、慢性ドライアイ、角膜炎症および傷害、血管新生、緑内障、ならびに、他の眼表面炎症／感染症を治療するために最も望ましい。

20

【0090】

2．ヒドロゲルテンプレート方式を介したナノウエハの加工

【0091】

相可逆ヒドロゲルは、組織工学、薬物送達において、バイオセンサとして使用されている（Park et al., 1993; Peppas et al., 2006; He et al., 2008）。最近、ヒドロゲルテンプレート方式が、制御放出薬物送達システムとして機能することができる、ナノパターン化ヒドロゲルウエハの加工のために開発された（Acharya et al., 2011; Acharya, Shin, Vedenham, et al., 2010; Acharya, Shin, McDermott, et al., 2010）。ヒドロゲルテンプレート方式の側面は、図3に提示される。ある場合には、第1のステップは、シリコンウエハ上の垂直支柱のアレイのナノ加工である（図3A）。そのように加工されたシリコンウエハは、ヒドロゲルナノウエハの転写のために使用された。シリコンウエハの上部に、ヒドロゲル形成ポリマー溶液が注がれ、30分間、70℃で加熱された（図3B）。ポリマー層が、固化されると、シリコンウエハから剥がされる（図3C）。ナノリザーバが、例えば、超音波噴霧ノズルを使用して、または、マイクロ注入によって、薬物PLGAマトリクスが充填される（図3D）。種々の天然および合成ヒドロゲル形成材料が、検討され、PVAが、ナノパターン化ウエハ（ナノウエハ）の加工のための有用システムとして選択された。PVAは、FDA承認材料であって、点眼薬内の潤滑剤として使用されている。500nm特徴を有するシリコンウエハが、電子ビームリソグラフィによって加工された。ナノウエハは、具体的実施形態では、角膜、結膜上、または、下側眼瞼下に指先で適用されることができる、微小円板（2～5mm直径）である（図13A-C）。ウエハのナノリザーバは、ドキシサイクリン-PLGAマトリクスが装填される（図13Dおよび13E）。薬物分子は、ゆっくりと拡散し、したがって、眼内の薬物の一定可用性を可能にする。

30

40

【0092】

3．インビトロ薬物放出プロファイルの評価

【0093】

ナノウエハからの薬物放出は、少なくともある場合には、正しい薬物リザーバ寸法およ

50

び薬物装填濃度を選択することによってプログラムされることができる。リザーバ寸法が小さいほど、薬物分子のゆっくりとした拡散およびゆっくりとした放出を可能にする一方、薬物分子は、より大きいリザーバからは急速に拡散する。同様に、低薬物装填濃度は、よりゆっくりとした放出をもたらす一方、より高い濃度は、急速放出につながる。ナノウエハからの薬物放出は、3つのパラメータ、すなわち、初期バースト放出の大きさ、薬物放出の程度、および、初期バースト放出に続く薬物放出動態に基づいて、2つのカテゴリに分類されることができる(図14)。現在利用可能な点眼薬製剤は、眼表面上にピークおよび終息薬物濃度をもたらし、薬物のわずか1~5%のみ、角膜内に吸収されるであろう。持続薬物放出ナノ粒子の場合、薬物濃度は、短時間区間の間、療法範囲内にあって、その後、非効果的範囲へとゆっくりと低下する。制御薬物放出ナノウエハの場合、薬物濃度は、療法範囲内に急速に到達し、要求に応じて、1日から1週間等の所定の時間区間の間、そこに留まり続ける。したがって、制御薬物放出ナノウエハからの薬物放出は、患者の要件に適する薬物の長期有効性を有するようにプログラムされることができる。

10

【0094】

デキサメタゾン、ドキシサイクリン、リボフラビン、トピラマート、タクロリムス、ソラフェニブ、スニチニブ、アバスチン、および、抗IFN(実施例にすぎない)の薬物放出プロファイルが、薬物装填(すなわち、薬物の総量のパーセンテージ)、能動薬物の特性(分子量および疎水性)等の製剤パラメータの関数として検討される。制御薬物放出動態に加え、ナノウエハはまた、眼と直接接触する表面からのみ薬物放出を可能にする(図12)。その結果、放出された薬物は、結膜と常時接触し、したがって、薬物の有効性を向上させる。初期研究では、500nm直径リザーバのアレイを有するナノウエハが、加工され、マイクロ注入によって、例示的薬物ドキシサイクリンが充填された。ドキシサイクリンが装填されたナノウエハからの薬物放出が、UV分光光度分析によって研究された。図15から分かるように、4時間後のドキシサイクリン放出は、約50%であって、治療上効果的な濃度範囲に急速に到達した後、最大2日間、ほぼゼロ次放出が続いた。ある実施形態では、例えば、1週間、デキサメタゾン放出を達成するために、ナノウエハの加工および薬物装填パラメータを最適化することができる。

20

【0095】

4. ナノウエハから角膜および結膜内への蛍光ナノ球体のインビボ拡散

【0096】

角膜内における薬物分子の拡散およびその滞留時間の増加におけるナノウエハの有効性を実証するために、(i)赤色蛍光ナノ球体(60nm直径)が装填されたナノウエハと、(ii)金ナノ球体(60nm直径)が装填されたナノウエハが加工された。これらのナノウエハは、健康なマウスの角膜上に留置された。マウスは、それぞれ、2および5日後、屠殺され、眼が、回収された。眼は、5μmのスライスを得るためにマイクロトームで切断され、ナノ球体の拡散および滞留時間を見極めるために、共焦点蛍光撮像法および電子透過顕微鏡(TEM)によって検討された。図16A-Cから分かるように、赤色蛍光ナノ球体が、角膜内に拡散し、5日後でさえ、そこに留まっていた。さらに、角膜内のナノ粒子拡散を確認するために、金ナノ球体が装填されたナノウエハが、健康なマウスの角膜上に設置され、マイクロトームで切断された5μmのスライスが、TEM撮像によって検討された。TEM分析は、共焦点蛍光撮像法によって得られた結果を再確認した。図16D-Fから分かるように、金ナノ粒子(画像内の微小黒色点)は、角膜上皮および間質内に拡散し、5日後、金ナノ粒子の密度は、わずかのみ少なくなった。まとめると、これらの結果は、ドライアイ誘発マウスでの角膜粗度の減少における薬物が装填されたナノウエハの有効性の向上が、滞留時間の向上ならびに結膜および角膜内への薬物分子の拡散によるものであることを確認する(図17および18)。角膜創傷治癒、神経再生、および、角膜の血管新生の阻害におけるナノウエハ薬物送達システムの有効性が、特徴付けられる。

30

40

【0097】

5. ドライアイ誘発マウスモデルにおけるナノウエハのインビボ有効性

50

【0098】

例示的研究では、ナノウエハから放出される薬物の有効性が、ドライアイ誘発マウスモデルにおいて調査された。薬物、すなわち、デキサメタゾンおよびドキシサイクリンが装填された500nmナノリザーバを有するナノウエハが、研究において使用された。約1.5mm直径の円形薬物ナノウエハが、ベースライン時に全身麻酔下でマウスの下側および上側眼瞼下に設置され、局部治療を伴わずに、5日間、乾燥ストレスに曝された。マウスは、安楽死され、5日後、光学顕微鏡および遺伝子発現分析によって、薬物の有効性に関して検討された。マウス角膜から反射する白色光リングの規則性が、角膜平滑度を評価するために使用された。リングの真円度は、角膜表面の平滑度に比例する(de Paiva et al., 2006)。角膜平滑度の増加は、ナノウエハから放出される薬物の有効性を示す。図17Aから分かるように、角膜リングは、空包ナノウエハ(対照)によって治療された実験ドライアイにおいて非常に不規則である一方、ドキシサイクリン-ナノウエハ(図17B)またはデキサメタゾン-ナノウエハ(図17C)のいずれかを受けたマウスでは、角膜表面は、平滑かつ均一であった。これらの結果は、ナノウエハからの制御薬物放出が、ドライアイ誘発角膜不規則性を改善する際に効果的であることを確認する。

10

【0099】

さらに、ナノウエハのインビボ有効性を評価するために、炎症サイトカイン(ICK)およびマトリクスメタロプロテイナーゼ(MMP)濃度のレベルが、リアルタイムPCR分析によって分析された。ドライアイでは、ICKおよびMMPの産生が増加し、故に、ナノウエハのインビボ有効性は、ICKおよびMMP発現を定量化することによって評価されることができる(Luo et al., 2004; Solomon et al., 2001; Afonso et al., 1999; Pflugfelder et al., 2005; de Paiva et al., 2006; Luo et al., 2004; De Paiva et al., 2009)。ICKおよびMMP発現の減少は、ナノウエハ薬物送達システムの有効性の増加を確認する。初期研究は、ドライアイ誘発マウスの結膜におけるデキサメタゾンまたはドキシサイクリンが装填されたナノウエハの単回投与が、実験ドライアイの5日後の対照として使用された空包ナノウエハと比較して、角膜上皮中の炎症誘発性サイトカインであるIL-1、IL-6、MMP-3、MMP-9、CCL20、および、Th-17シグニチャサイトカインであるIL-17Aの発現を有意に減少させたことを実証する(図18)。

20

30

【0100】

角膜傷害および治癒マウスモデルにおけるナノウエハのインビボ有効性

【0101】

標準的角膜剥離研究が、2ヶ月齢および4ヶ月齢のC57BL/6Jマウスで行われた(Liu et al., 2012)。全身麻酔下、角膜の中心領域が、2mm直径の穿孔器を使用して、オスまたはメスマウスにおいて限界され、上皮および基底下神経叢が、ゴルフ刀を用いて除去される(Accutome, Inc., Malvern, PA)。本標準化病変に対する自然治癒応答として、18時間時のピーク上皮細胞分裂、24時間以内の創傷閉鎖、96時間以内の上皮の全厚層化の回復、および、96時間以内の創傷面積内の基底下神経密度の約20%回復が挙げられる(Li et al., 2006; Byeseda et al., 2009; Li et al., 2011)。傷害後3時間までに、剥離によって直接傷害されていない上皮は、一連の炎症誘発性サイトカイン、ケモカイン、付着分子、および、成長因子の発現を亢進し、角膜縁小静脈は、有意な膨張および好中球溢出を呈する(Byeseda et al., 2009; Li, Burns, Han, et al., 2011; Li, Burns, Byeseda, et al., 2011; Li, Burns, Smith, et al., 2011)。3時間時の好中球は、大部分が、前部角膜縁に制限され、経時的に蓄積し続け、前部間質内の角膜実質細胞と接触するように移動し、6時間以内に元の創傷縁に到達し、オスマウスでは、12時間以内に、メスマウスでは、18時間以

40

50

内に、角膜内でピークに達する (Byeseda et al., 2009; Li, Burns, Han, et al., 2011; Li et al., 2006a; Li et al., 2006b; Petrescu et al., 2007; Gagen et al., 2010; Burns et al., 2005)。
【0102】

好中球移動および分裂上皮細胞に及ぼすナノウエハの効果を調査するために、空包ポリビニルアルコール (PVA) ナノウエハが、角膜剥離マウスモデルにおける角膜の剥離部位上に設置された。角膜全組織標本が、中心上皮剥離が好中球および分裂上皮細胞に対して染色された後、24時間時に回収された。剥離直後に適用された空包ナノウエハ (薬物を伴わない) は、元の創傷縁 ($n = 6$) における好中球 / 視野の有意な減少と、角膜の角膜縁 (L)、傍角膜縁 (PL)、元の創傷縁 (W)、傍中心 (PC)、および、中心 (C) における分裂上皮細胞 / 視野の分布の変化をもたらした (図19)。総分裂上皮細胞は、治療を伴わない創傷角膜 (角膜あたりの傍角膜縁領域内の合計4つの無作為に選択された視野) と異ならなかった。デキサメタゾンが装填されたナノウエハの場合、好中球の創傷の部位への移動が、顕著に示された (図19)。小数の好中球が、創傷面積に移動し、好中球は、創傷の傍中心および中心領域では観察されなかった。比較では、空包ナノウエハは、創傷部位への好中球の移動を阻害する影響を有していない。これらのナノウエハ (空包およびデキサメタゾンが装填されたものの両方) は、上皮治癒に影響を及ぼすと考えられ、空包ナノウエハ (薬物を伴わない) および薬物が装填されたナノウエハ (デキサメタゾン、タクロリムス) を用いた本影響の程度の詳細な分析を要求するであろう。

【0103】

概略すると、これらの実験結果は、(i) 研究概念の実行可能性、(ii) ナノウエハ加工および制御薬物放出属性、(iii) 機械的コンプライアンスおよびナノウエハの粘膜付着性、(iv) ナノウエハの単回留置が、点眼薬製剤として、1日に2回局部的に投与されるドキシサイクリンおよびデキサメタゾン薬物溶液と比較して、実験ドライアイ誘発マウスの5日後の眼表面の平滑度を有意に改善し得ること、ならびに、(v) デキサメタゾンが装填されたナノウエハが、マウス角膜剥離モデルにおける角膜の好中球浸潤を低下させることを実証する。

【0104】

異なる薬物リザーバ寸法のナノウエハの加工

【0105】

ナノウエハは、より長い持続時間 (例えば、数時間から1日、1週間、または、それ以上) の間、制御放出方式において、薬物を放出することができる。加えて、薬物は、治療上効果的な濃度において放出され、有意な有効性を引き出し、全身毒性を最小限にする。薬物放出動態の緊密な制御を維持するために、ナノウエハ内の薬物リザーバ寸法は、慎重に設計および最適化されなければならない。初期研究として、500 nm 薬物リザーバを有するナノウエハが、モデルシステムとして、PVAを使用して加工された。これは、ナノウエハ加工の実行可能性を実証したが、薬物含有量および薬物放出動態は、インビボ療法の有効性のために最適化されてもよい。正しい薬物リザーバ寸法、総薬物含有量を選定することによって、薬物放出動態および薬物投薬は、制御されることができる。薬物リザーバが大きいほど、より多い薬物装填量およびより長い放出持続時間を可能にする一方、薬物の量が少ないほど、短期間放出のためのより小さいリザーバ内に装填されることができる。例示的实施形態では、薬物リザーバ寸法 100 nm、250 nm、500 nm、1 μ m、1.5 μ m、および、3 μ m を伴うナノウエハが、設計され、例えば、電子ビームリソグラフィおよびフォトリソグラフィによって加工される。薬物リザーバ寸法は、少なくともいくつかの実施形態では、薬物含有量および放出動態を定義し、したがって、ナノウエハにプログラム可能属性を備え付けさせることができる。加えて、ナノウエハ薬物送達システムは、薬物放出を緊密に制御し、療法効率を最大限にし、毒性副作用を最小限にすることが予期される (図12E)。薬物放出の過程の間、ナノウエハは、ゆっくりと溶解し、消失する。

【0106】

ポリマー

【0107】

本研究では、ナノウエハは、異なるポリマーを使用して加工される。異なるポリマーのスクリーニングは、具体的薬物のための正しいポリマーの選択を可能にする。異なるポリマーは、ひいては、薬物放出動態に影響を及ぼすであろう、水素結合、ファン・デル・ワールス相互作用、疎水性相互作用等を介して、異なる薬物と様々に相互作用する。例えば、薬物が、ポリマーと強固に水素結合している場合、薬物放出率は、非常にゆっくりであることができ、組織内の薬物の生物学的利用能は、非常に乏しく、薬物の有効性に影響を及ぼすであろう。また、少なくともいくつかの場合には、ナノウエハ開発成功のために、結膜の粘液層に良好に付着し、無傷のまま、常時瞬きに耐えるべきである。ヒドロゲルナノウエハの加工のために、以下の属性を有するポリマーが、いくつかの実施形態では、選定されるであろう。(i)ポリマーの水溶性性質、(ii)生体適合性、(iii)ナノウエハの透明性、(iv)粘膜付着性特性、(v)眼の曲率に容易に適合するような機械的コンプライアンス、および、(vi)臨床使用におけるFDA承認ポリマー。本研究では、具体的実施形態において、以下の合成および天然バイオポリマーが、検討される。PVA、デキストラン、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロース、(ヒドロキシプロピル)メチルセルロース、ゼラチン、および、コラーゲンが、ナノウエハの加工のために使用されるであろう。

10

【0108】

薬物

20

【0109】

広範囲に適用可能であるナノウエハシステムを開発するために、ナノウエハ有効性研究が、以下の薬物/治療薬を使用して実施されるであろう。リボフラビン、ドキシサイクリン、デキサメタゾン、ホスホデキサメタゾン(phosphodexamethasone)、タクロリムス、トピラマート、エチホキシシン、ピナキサトン、および、ネオトロフィン、ソラフェニブ、スニチニブ、シクロスポリンA、アバスタチン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、エリスロマイシン、アシクロビル、パラシクロビル、ガンシクロビル、システアミン、塩酸システアミン、酒石酸システアミン、ブルセラミン(brucellamine)、チオプロニン、抗IFN、および、輪部幹細胞。

30

【0110】

シクロスポリンA点眼薬は、すでに臨床で使用されており、シクロスポリンAが装填されたナノウエハの有効性は、市販の点眼薬製剤と比較されることができる。結膜の病理学的アポトーシスおよびドライアイ状態の悪化におけるIFNの影響は、公知である(Choe et al., 2012; Gayton, 2009)。実施形態では、抗IFNが装填されたナノウエハの療法効果が、ドライアイ疾患を治療するために提供される。デキサメタゾンは、コルチコステロイドであって、FDA承認抗炎症薬物である。しかしながら、デキサメタゾン点眼薬は、糖尿病患者における血糖値の増加等の副作用を生じさせる。デキサメタゾンが装填されたナノウエハは、角膜および結膜内のその制御薬物放出および局所薬物分布のため、その有効性および角膜剥離マウスモデルにおける全身副作用の最小限化に関して検討される。傷害角膜内の神経再生を刺激するために、タクロリムスが装填されたナノウエハが、調査される。タクロリムスは、神経再生および神経機能の回復を助長するが、しかしながら、また、顕著な免疫抑制傾向を実証する。結果として、タクロリムス点眼薬および全身注入は、制限された成功となる。ナノウエハは、制御放出方式において、傷害角膜部位に局所的に薬物を送達することができるため、タクロリムスが装填されたナノウエハの療法の有効性は、神経再生の刺激および全身副作用を最小限にするために利用される。

40

【0111】

傷害後の角膜の血管新生を阻害するために、抗血管新生薬物、すなわち、ソラフェニブ、スニチニブ、および、アバスタチンが装填されたナノウエハが、利用される。これらの薬

50

物は、抗血管新生治療薬として、すでに臨床で使用されている。しかしながら、全身副作用を防止するために、制御放出方式において、これらの薬物を角膜に局所的に送達することは、困難なタスクである。ナノウエハは、制御放出方式において、これらの薬物を角膜傷害の部位に局所的に送達することができるため、抗血管新生薬物が装填されたナノウエハの療法の有効性が、角膜の血管新生マウスモデルにおいて、脈管形成の阻害および血管新生能の退行のために利用される。

【0112】

ドライアイ誘発マウスモデルにおけるナノウエハ有効性の調査

【0113】

ドライアイは、炎症、ぼやけた波動性視力、涙液膜の不安定性、涙液オスモル濃度の増加、および、眼表面上皮疾患を伴う、異常眼表面をもたらし得る、多因子疾患である (Pflugfelder et al., 2007)。ドライアイ疾患は、機能的視力および通常の日常活動を行う能力を低下させることによって、生活の質に深刻な影響を及ぼす (Zoukhri, 2006)。ドライアイの原因要素として、眼表面、涙腺、マイボーム腺、および、神経網に影響を及ぼす自己永続的一連の事象を引き起こす、炎症、ホルモンの不均衡、年齢、および、環境要因が挙げられる (Miljanovic et al., 2007; Lopez and Ubel, 1991; Lopez and Ubel, 1993; Nagelhout et al., 2005)。涙腺機能不全は、ドライアイ疾患患者の涙液膜内で同定される炎症性サイトカインの産生を誘発する、高浸透圧血症等の涙液組成物の変化につながる。炎症は、重要な病原因子であると考えられ、それを治療することによって、眼表面を回復することができる。軽度ドライアイは、一時的な緩和のために、人工涙液点眼薬を用いて治療される。炎症の結果としての慢性ドライアイは、それぞれ、ドキシサイクリン、デキサメタゾン、および、シクロスポリン等の局部抗炎症薬物または免疫抑制剤を含有する点眼薬を用いて治療される (Avunduk et al., 2003)。

【0114】

Tヘルパー細胞サイトカインIFN- γ は、結膜扁平上皮化生の助長、粘液産生杯細胞の損失、ドライアイ、および、表面上皮アポトーシスにおける重要な役割を果たすものとして同定されている。局部または全身投与された抗IFN- γ は、上皮アポトーシスを防止し、杯細胞を保存することができる (Choi et al., 2012; Gayton, 2009)。マウスドライアイモデルにおけるドライアイの治療のためのIFN- γ 等の生物製剤の使用は、大きな前進となるであろうが、しかしながら、眼表面への抗体の送達は、製剤の不安定性、タンパク質分解、瞬き、および、涙管排液系内への浄化のため、困難なタスクである。結果として、高価な抗体溶液の複数回の投与が、療法効果を得るために眼に要求される。1日数回の点眼薬の投与は、治療上効果的範囲に加え、高低薬物濃度プロファイル、すなわち、毒性範囲内の高濃度および非効果的範囲内の低濃度をもたらす (図10)。ドライアイにおける眼表面上皮疾患に及ぼす抗IFN- γ が装填されたナノウエハの療法の有効性を特性評価するために、実験ドライアイ誘発マウスモデルが、利用される。本マウスモデルは、ドライアイ疾患状態を厳密に複製し、抗IFN- γ が装填されたナノウエハの有効性を検証するあるパラメータが、細かく立証される。安定制御放出様式において、生物製剤を送達するための新規薬物送達システムの開発は、角膜および眼表面疾患の治療における大きな前進である。

【0115】

角膜上皮治癒および神経再生におけるナノウエハの有効性の調査

【0116】

薬物の組み込みの有無によって、角膜における炎症および治癒の状態に関して、ナノウエハの影響を分析することができる。治癒は、上皮復元および感覚神経の再生を含み、角膜内の炎症の状態は、薬物が装填されたナノウエハに対する炎症性および抗炎症性応答の理解を伴う。傷害に対する炎症性応答は、治癒に重要な影響を及ぼす、複合的段階状の要因および細胞タイプを伴う。これは、回復に対する重要な側面に寄与するが、無調節であ

10

20

30

40

50

る場合、組織損傷を悪化させ、治癒を妨害し得る。段階における重要なステップの状態の定義は、創傷治癒および角膜神経再生のための最適なナノウエハ送達システムを査定するための有用な洞察を提供する。例えば、(i) 上皮神経密度および創傷治癒に及ぼすデキサメタゾンが装填されたナノウエハの影響、ならびに、(i i) 基底下および上皮感覚神経再生に及ぼすタクロリムスが装填されたナノウエハの影響の2つの異なる試験設定を検討することができる。

【 0 1 1 7 】

例示的デバイス

【 0 1 1 8 】

ナノおよびマイクロ粒子が、全身薬物送達のために開発されているが、しかしながら、
10
眼球疾患を治療するためのナノ技術ベースの薬物送達システムの開発は、あまり進歩していない。最近、マイクロおよびナノ粒子は、眼球薬物送達において使用されているが、その成功は、制限されている。ナノ粒子懸濁液もまた、眼から急速に浄化され、制限された薬物の有効性につながる。マイクロ/ナノ粒子ベースの送達システムは、調製が容易であるが、低薬物装填、バースト薬物放出動態、および、粒子の凝集等の制限を呈する。また、非常に短い周期の薬物放出(約1~3時間)のため、療法の有効性は、非常に制限され、複数回の投与を要求する。眼内の薬物滞留時間を改善するために、原位置ゲル形成システムが、開発されている。点眼薬としての滴下に応じて、薬物を含有する溶液は、眼表面上でゾル/ゲル相転移を被る。原位置で形成されるゲルは、より長い時間区間の間、薬物を保持し、したがって、その生物学的利用能を向上させることが予期される。しかしながら、
20
これらの原位置形成ゲルは、薬物滞留時間を数時間まで増加させ得る。薬物が装填されたコンタクトレンズが、眼内の薬物滞留時間を改善するために開発されている。コンタクトレンズは、角膜と常時接触するため、薬物が装填されたコンタクトレンズは、薬物滞留時間を30分超まで向上させることが予期される。これらのシステムに関する問題は、薬物の大部分が、1時間以上以内に拡散することである。さらなる前進として、薬物が充填されたりボソーム、ミセル、マイクロエマルジョン、または、ナノ粒子が装填されたコンタクトレンズが、開発されている。これらのアプローチは、数時間、薬物滞留時間を改善したが、しかしながら、1日から1週間の長期間放出にはあまり好適ではない。最近、薬物が装填されたポリラクチド-コ-グリコリド(PLGA)フィルムが、エコナゾールの長期放出のために、コンタクトレンズの内側に封入された。これらのシステムは、最大
30
1ヶ月間、薬物を送達し得るが、厚いPLGAフィルムのため、透明性の減少および低酸素浸透性によって制限される。また、PLGAの生体分解性性質のため、これらのコンタクトレンズは、PBS内にパッケージ化されることができない。概略すると、これらのシステムは全て、薬物滞留時間を数時間延長させ得るが、長時間の間、制御放出方式において、薬物を放出することができない。これらの制限を考慮して、いかなる臨床手技も伴わずに、患者の指先を用いて、眼の角膜、結膜上、または、円蓋において容易に留置され得る、長期放出ナノウエハ薬物送達システムの開発が、非常に便宜的であるだけでなく、また、慢性ドライアイ、緑内障、角膜潰瘍、および、他の眼球炎症/感染症を治療するために最も望ましいであろう。

【 0 1 1 9 】

本開示は、所望の持続時間の間、治療上効果的な濃度において薬物を放出する、薬物送達システムのある実施形態を提供する。一側面では、本開示の実施形態は、他の送達システムよりも長い時間区間の間、例えば、少なくとも、1日から1週間、治療上効果的な濃度を放出する。本開示の薬物送達システムのある実施形態は、局所または全身かどうかにかかわらず、局部投与または注入を通してではなく、デバイスが、直接、罹患または傷害部位、例えば、眼の表面上に設置され、そこに留まることを可能にする、長期薬物放出のための生体溶解性ヒドロゲルマトリクスを備える治療薬分与デバイスを備える。

【 0 1 2 0 】

具体的例示の実施形態では、図1は、ヒドロゲルマトリクス102および薬物リザーバ104を伴う、治療薬分与デバイス100を示す。図1は、円形であるように治療薬分与
50

デバイス100を示すが、所望に応じて、あるいは用途および/または傷害の部位によって決定されるように、規則的または不規則的任意の形状を有することができる。ある実施形態では、治療薬分与デバイス100の形状は、少なくとも、ヒドロゲルマトリクス102の材料に基づく。治療薬分与デバイス100はまた、リザーバ深さ等のある寸法がナノメートル範囲内である場合、「ナノウエハ」と呼ばれ、寸法がマイクロメートル範囲内である場合、「マイクロウエハ」と呼ばれ得る。ある事例では、これらの用語は、同じ意味で使用され、サイズ基準に固執しない。図2A-2Bは、治療薬分与デバイス100の断面を示す。治療薬分与デバイス100は、ヒドロゲルマトリクス102全体を通して配置される、一連の薬物リザーバ104を備える。薬物リザーバ104は、好ましくは、パターン化アレイ内に配列される。治療薬分与デバイス100は、薬物リザーバ104の上部が暴露された開放面106と、それに向かって下部薬物リザーバ104が位置する閉鎖面108とを有する。図2Bを参照すると、好ましい実施形態では、開放面106は、罹患または傷害部位に隣接して設置され、開放面106の周囲のヒドロゲルマトリクス102の部分が眼の表面上で流体（例えば、涙）の循環によってゆっくりと浄化されるにつれて、制御様式で薬物リザーバ104から薬物を送達する。治療薬分与デバイス100の開放面106の溶解は、薬物リザーバ104を周囲組織にゆっくりと暴露し、したがって、治療薬分与デバイス100の材料がある溶解率を有するように構成することによって、薬物放出の持続時間が制御されることを可能にする。ヒドロゲルマトリクス102は、周囲組織に暴露されない薬物が、身体内の種々のシステムによって放出または浄化されないように保護する。ある実施形態では、薬物リザーバ104内に含有される治療薬は、種々の化合物、抗炎症剤を含む薬物および薬物マトリクス、他の小分子薬物、抗体、抗生物質、siRNA、ペプチド、コルチコステロイドを含むステロイド、生物学的抗真菌薬、アミノ酸、mRNA、タンパク質、栄養サプリメント、または、それらの任意の組み合わせのうちの少なくとも1つを含む。

【0121】

ヒドロゲルマトリクス102は、好ましくは、経時的に溶解または分解し、薬物リザーバ内の薬物を放出する、生体適合性材料を含む。生体適合性材料は、好ましくは、デキストラン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリラクチド-コ-グリコリド（PLGA）、ポリヒドロキシエチルメタクリレート（ポリHEMA）、ポリヒドロキシエチルアクリレート、ゼラチン材料、コラーゲン材料、および、それらの任意の組み合わせを含む。PVA、ポリHEMA、および、PLGAは、縫合糸、骨プレート、コンタクトレンズ、および、長期放出医薬品における安全なヒトでの使用歴を伴う、FDA承認バイオポリマーである。ヒドロゲルマトリクス102がPLGAを含む、ある実施形態では、経時的に、PLGAポリマーは、乳酸およびグリコール酸に分解し、身体によって完全に代謝され、二酸化炭素および水として排除され、それによって、薬物リザーバ104内の薬物を放出する。理論によって拘束されることを意図するわけではないが、PLGAマトリクスは、埋込に応じて、ほぼ瞬時に水を吸収し始め、ヒドロゲルマトリクス102の膨張につながる。好ましい実施形態では、本プロセスは、ヒドロゲルマトリクス102の表面またはその近傍に存在する薬物リザーバ104から少量の薬物が放出される位相を開始する。経時的に、涙等の眼内または眼の表面上の流体は、ポリマー構造をゆっくりと分解し、薬物の放出を可能にし、埋込部位に薬物の持続的供給をもたらす。ポリマーマトリクスは、最終的に、オリゴマーおよびモノマーに分解し、所望の持続時間の終了時に薬物の完全放出をもたらす。さらに、ヒドロゲルマトリクス102は、好ましくは、薬物リザーバ104をそれらの周囲の瘢痕組織の増殖から保護する。

【0122】

好ましい実施形態では、ヒドロゲルマトリクス102は、経時的にさらに分割される比較的により大きい部分に分解する、生体分解性材料ではなく、溶液中で個々の単位に分解する、生体溶解性材料を含む。マトリクスの溶解は、薬物の放出の制御を可能にし、溶液に暴露される部分のみ溶解し、デバイスの残りを無傷のままにするであろうため、好まし

10

20

30

40

50

い。さらに、溶解された粒子は、身体、特に、傷害部位への損傷のリスクをほとんど呈さない。

【 0 1 2 3 】

好ましい実施形態では、治療薬分与デバイス 1 0 0 は、直径約 2 ~ 9 m m を有する。薬物リザーバ 1 0 4 は、好ましくは、深さ約 2 0 0 ナノメートル ~ 5 0 マイクロメートル、好ましくは、約 2 5 0 n m、5 0 0 n m、1 マイクロメートル、1 . 5 マイクロメートル、および、3 マイクロメートルを有する。薬物リザーバ 1 0 4 の形状は、所望に応じて、変動することができる。薬物リザーバ 1 0 4 の数、深さ、形状、および、他の寸法は、あるサイズの治療薬分与デバイス 1 0 0 上に設置される所望の量の治療薬を達成するように変動することができる。すなわち、治療薬分与デバイス 1 0 0 および薬物リザーバ 1 0 4 の寸法は、制限ではないが、薬物のタイプ、所望の薬物の量、ヒドロゲルマトリクス 1 0 2 の材料、治療薬分与デバイス 1 0 0 が設置されるであろう臓器または場所を含む、いくつかの要因に基づいて、調節されることができる。

【 0 1 2 4 】

薬物は、治療薬分与デバイス 1 0 0 の開放面 1 0 6 が溶解されるにつれてのみ放出されるため、本開示のある実施形態は、他の従来の薬物放出方法と比較して、少なくとも 1 日（または、2 4 時間）のより長期間の薬物放出を可能にする。例えば、摂取を通して投与される薬物が、3 ~ 1 2 時間の間のみ、治療上効果的用量で全身内に留まる、または、点眼薬を通して投与される薬物が、1 時間未満の間、眼内に留まる。これは、薬物濃度ピークならびに急速降下を示し、後続投薬が、薬物濃度が治療のための療法範囲内となることが要求される、図 1 0 における薬物濃度プロファイルによって実証される。従来の方法と異なり、治療薬分与デバイス 1 0 0 の材料は、患者要件に好適であるように構成またはプログラムされることができる。加えて、所望の薬物放出プロファイル（例えば、所望の時間区間にわたって持続的または可変）が、デキストラン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリラクチド - コ - グリコリド（PLGA）、ポリヒドロキシエチルメタクリレート（ポリHEMA）、ポリヒドロキシエチルアクリレート、または、それらの任意の組み合わせ等の異なるポリマーを使用して、ヒドロゲルマトリクス 1 0 2 を加工することによって得られることができる。図 1 1 は、本開示の治療薬分与デバイスのある実施形態を用いて達成されることができる、例示的薬物プロファイル濃度を図示し、1 回の用量が、数時間、数日、および / または数週間等、長期時間区間にわたって、薬物濃度を療法範囲内に維持することができ、放出率および / または治療周期は、プログラムされる（例えば、制御される）ことができる。

【 0 1 2 5 】

本開示の治療薬分与デバイスのある実施形態のための特定の用途の 1 つは、低刺激の一時的な緩和のみを提供する、生物学的活性を伴わない人工涙液点眼薬を用いて治療される、軽度ドライアイである。涙液膜高浸透圧に応答して生じる慢性ドライアイおよび炎症は、それぞれ、デキサメタゾンおよびシクロスポリン等の局部ステロイドまたは免疫抑制剤を含有する点眼薬を用いて治療される。瞬きおよび涙管排水系によるその急速浄化のため、長時間の間、薬物の治療上効果的な濃度を維持することは非常に困難である。結果として、複数回の投与が、療法効果を得るために、眼内に要求される。1 日数回の点眼薬の投与は、治療上効果的範囲に加え、高低薬物濃度プロファイル、すなわち、毒性範囲内の高薬物濃度および非効果的範囲内の低濃度をもたらす（図 1 0 ）。

【 0 1 2 6 】

前述のように、ナノウエハからの薬物放出は、正しい薬物リザーバ寸法および薬物装填濃度を選定することによってプログラムされることができる。リザーバ寸法が小さいほど、薬物分子のゆっくりとした拡散およびゆっくりとした放出を可能にする一方、薬物分子は、より大きいリザーバからは急速に拡散する。同様に、低薬物装填濃度は、よりゆっくりとした放出をもたらす一方、より高い濃度は、急速放出につながる。ナノウエハからの薬物放出は、3 つのパラメータ、すなわち、初期バースト放出の大きさ、薬物放出の程度

、および、バースト放出後の薬物放出動態に基づいて、4つのカテゴリに分類され得る。好ましい放出プロファイルは、典型的には、総装填薬物の20%を下回る、小バースト放出後、薬物の大部分が放出されるまで、長期間、ほぼゼロ次放出が続くものである。2つのプロファイル間の差異は、初期バースト放出の程度であり得る。あるプロファイルは、高バースト放出後、薬物の定常放出が続いてもよい。

【0127】

本開示の別の側面は、本開示の治療薬分与デバイスのある実施形態を加工する方法を提供する。好ましい実施形態では、本開示の治療薬分与デバイスの実施形態は、電子ビームリソグラフィおよびバイオ加工を使用する。図3を参照すると、治療薬分与デバイス300は、基部306に連結された一連の支柱304を有するテンプレート302を使用して加工される。治療薬分与デバイス300の薬物リザーバ308は、支柱304と同一の寸法および配列を有する。故に、支柱304は、薬物リザーバ308の所望の寸法を伴って構成される。さらに、治療薬分与デバイス300のヒドロゲルマトリクス310の形状および寸法は、基部306と同一である。例えば、各リザーバが1マイクロメートル深さの4列の5つの薬物リザーバのパターンで配列される20の薬物リザーバを有する、直径2mmを伴う円形治療薬分与デバイスを製作するために、テンプレートは、2mmの円形基部と、所望の寸法およびパターンを伴う対応する数の支柱とを有するであろう。テンプレート302は、好ましくは、シリコンまたは石英ガラスを含む。テンプレート302は、好ましくは、電子ビームリソグラフィに続いて、プラズマエッチングを使用して、マイクロ加工されることができる。

【0128】

図3Aを参照すると、第1のステップは、基質306上に垂直支柱304のパターンを有するテンプレート302を形成することを含む。代替実施形態では、概して、図3Cにおけるヒドロゲルマトリクスに類似する鋳型が、中間テンプレート（図示せず）を形成するために使用されることができる。例えば、鋳型は、剛性材料から作製されることができ、所望の薬物リザーバに対応する複数のリザーバを有する。中間テンプレートのための材料は、シリコンゴムまたはポリジメトキシシラン（PDMS）等、可撓性であることができ、固化に先立って、液体形態で存在することができる。中間テンプレートの材料は、図3Aのテンプレート302に類似する中間テンプレートを形成するように鋳型に注がれ、硬化されることができる。図3Bを参照すると、ヒドロゲルマトリクスとして使用するための所望の組成物を伴う生体適合性材料の溶液が、テンプレート302上に注がれ、組成物の特性に従って、固化される。例えば、PVA溶液が、ヒドロゲルマトリクスとして使用される場合、溶液は、好ましくは、約30分間、約70℃で加熱される。図3Cを参照すると、生体適合性材料層312が固化されると、剥がされ、平坦ガラスプレートに取り付けられ、薬物リザーバ308を暴露する。図3Dを参照すると、薬物リザーバ308は、マイクロ注入を使用して、好ましくは、超音波噴霧ノズルを使用して、種々の抗炎症剤を含む薬物および薬物マトリクス、他の小分子薬物、抗体、抗生物質、siRNA、ペプチド、コルチコステロイドを含むステロイド、生物学的抗真菌薬、アミノ酸、mRNA、または、それらの任意の組み合わせを含む、治療薬等の所望の物質が充填される。

【0129】

本開示の治療薬分与デバイスの実施形態の完全性は、共焦点蛍光およびSEM撮像によって特徴付けられることができる。図4Aは、PVA溶液を使用して、Oregon Green - デキストラン蛍光染料が充填された、本開示の側面に従って加工された治療薬分与デバイスの明視野画像である。薬物リザーバ寸法は、500nm直径および500nm深さである。図4Bは、同一のデバイスの蛍光画像であって、ナノサイズ薬物リザーバを充填する、開示されるプロセスを実証する。図4Cおよび4Dは、異なる倍率における、PVA溶液を使用して、デキサメタゾン薬物が充填された、本開示の側面に従って加工された治療薬分与デバイスの明視野画像である。

【0130】

図5A - 5Bは、デキサメタゾンが装填された本開示の治療薬分与デバイスの薬物放出

動態を示す。試験されるデバイスは、例示であって、限定ではないことが意図される、以下のプロトコルに従って形成された。

【0131】

リザーバをデキサメタゾンが充填する

【0132】

加工された治療薬分与デバイスが、マイクロ注入によって、デキサメタゾン溶液で充填される。5%デキサメタゾン溶液が、デバイスを充填するために使用された。薬物溶液の濃度(1~20%)は、要求される投薬および放出持続時間に好適であるように調節されることができる。

【0133】

リザーバをドキシサイクリンが充填する

【0134】

別の加工された治療薬分与デバイスが、マイクロ注入によって、ドキシサイクリン溶液で充填される。5%ドキシサイクリン溶液が、ナノウエハを充填するために使用された。薬物溶液の濃度(1~20%)は、要求される投薬および放出持続時間に好適であるように調節されることができる。

【0135】

デバイスからのデキサメタゾンのインビトロ放出

【0136】

典型的実験では、3つのデキサメタゾンが装填されたナノウエハ(1cm×1cm)が、3つの10mlガラスバイアルに別個に計量され、5mlのPBS/Tween-20(pH7.4)離型剤が、各バイアルの中に移された。これらのバイアルは、一定撹拌を用いて、37℃に維持されたオービタルシェーカー内に保たれた。2時間の時間間隔時に、5mlの離型剤が、バイアルから抜取され、同一の量の新しい媒体と交換された。したがって、回収されたサンプルは、ガラスバイアルの中に移され、冷蔵庫で保管された。離型剤のサンプリングは、5日間、継続された。各サンプルは、0.5μm注入器フィルタを通して濾過され、HPLC分析を受けた。本研究では、メタノール(90%)および酢酸アンモニウム(10%、pH7)の混合物が、0.22μm膜フィルタを通した濾過後、移動相として使用された。

【0137】

Dex-ナノウエハ内の総デキサメタゾン含有量の判定

【0138】

ナノウエハ内に装填されたデキサメタゾンの総量が、正確に計量されたデキサメタゾンが装填されたナノウエハ(1cm×1cm)を5ml水中に溶解した後、エタノール(9ml)の添加によって判定された。沈殿PVAは、遠心分離によって除去された。透明溶液が、回転蒸発され、形成された固体が、10mlの移動相(90%メタノールおよび10%酢酸アンモニウム、pH7)中に再溶解された。本溶液の分割量が、0.5μm注入器フィルタを通して濾過され、HPLCによって分析され、標準曲線と比較され、デキサメタゾン含有量を定量化した。

【0139】

図5A-5Bから分かるように、6時間後の初期放出は、20%未満である。比較的に低初期放出のため、治療薬分与デバイスは、挿入部位に留まり、少なくとも3日間、薬物リザーバ内の薬物を放出し続けることができる。

【0140】

図6を参照すると、本開示の治療薬分与デバイスの実施形態は、多くの用途を有するが、特に、長期持続時間(例えば、少なくとも1日)の間、眼内に治療薬の制御放出を提供するように適用可能である。図6では、治療薬分与デバイス600は、眼606内に挿入され、ヒドロゲルマトリクス602が、所定の様式および持続時間において溶解するにつれて、薬物リザーバ604内の物質を送達する。ヒドロゲルマトリクス602の組成物は、治療薬分与デバイス600が、所定の時間の間、眼606内に留まり、薬物を保護され

10

20

30

40

50

た環境内に留保し、ヒドロゲルマトリクス602が所定の様式において溶解するにつれてのみ、それを周囲組織に放出するように構成される。好ましい実施形態では、デバイス600は、所定の時間区間内に完全に溶解するように構成される。別の実施形態では、デバイス600は、所定の時間区間後に除去されることができる。

【0141】

標的における長期放出周期は、薬物が短時間区間（約20分）の間のみ利用可能であって、薬物の大部分が、損失されるであろう、点眼薬を通した送達に優る利点である。さらに、点眼薬は、特に、反復用量が慢性状態を治療するために要求されるとき、不便である。本開示の治療薬分与デバイスの実施形態はまた、Ocuser t、Vitraser t、Retiser t、および、Iluvienを含む、現在利用可能な眼球薬物送達インプラントに優る利点を提供する。Ocuser t薬物送達システムは、緑内障を治療するためのピロカルピンの送達のために、Alza Corporationによって開発され、Vitraser tおよびRetiser t等の他の眼球インプラントは、Bausch & Lombによって開発された。これらのインプラントは全て、非生体分解性材料から作製され、外科手術埋込を要求する。

10

【0142】

本開示の治療薬分与デバイスの実施形態はまた、局所送達を可能にするが、他の短所に悩まされる、薬物が装填されたマイクロまたはナノ粒子の注入に優る利点を有する。例えば、注入されたマイクロまたはナノ粒子は、少量の薬物のみ保持するため、制限される。さらに、その放出動態は、容易に制御されない（例えば、一気に薬物を放出する）。加えて、その注入は、注入部位における粒子の凝集または嚢胞形成につながるこれらの凝集の周囲の瘢痕組織の成長につながり得る。注入された粒子は、眼から急速に浄化されるため、短期間の薬物放出（約1～3時間）を提供する。したがって、注入されたマイクロまたはナノ粒子の療法の有効性は、非常に制限され、それによって、反復用量を要求する。

20

【0143】

本開示の治療薬分与デバイスの実施形態は、他のシステムが達成不可能であった、少なくとも6時間の長期放出周期を提供する。例えば、薬物を含有する溶液または懸濁液と原位置でゲルを形成するシステムは、角膜または結膜の表面上でゾル/ゲル相転移を被る、点眼薬としての滴下に応じて、薬物滞留持続時間を数時間までしか増加させない。また、薬物が装填されたコンタクトレンズは、薬物滞留持続時間を30分超しか向上させることができない。ポリ(2-ヒドロキシエチルメタアクリレート)コンタクトレンズの内側に封入される、薬物が装填されたPLGAフィルムのため、透明性の低下および低酸素浸透性によって制限される。

30

【0144】

説明されるように、本開示の治療薬分与デバイスは、他の送達システムと比較して、高薬物装填能力、所定の薬物放出動態、および、長期送達周期を有する。例えば、治療薬分与デバイスの組成物の少なくとも20%、好ましくは、25%は、注入されたマイクロまたはナノ粒子等の他のシステムより多く送達される物質、例えば、薬剤を備えることができる。

【0145】

本開示の治療薬分与デバイスは、任意の形状で形成されることができるが、眼球挿入物のために好ましい形状は、図7A、7B、および、8Aに示されるように、円形円板である。円板は、角膜疾患の治療のために、眼瞼に粘着せずに、角膜全体を適正に被覆する表面積を有する、または、瞬きとともに移動する、あるいは眼表面疾患、緑内障、または、眼球炎症疾患の治療のために、眼球または眼瞼結膜に接着することが好ましい。これらの目的を達成するための好ましい直径は、約9mmである。

40

【0146】

図7では、ドキシサイクリン(5%)が装填されたナノウエハが、提示されている。各ウエハは、直径約3mmである。ドキシサイクリンが装填されたマイクロウエハの代表的写真である。(A)明視野画像(2倍)、(B)蛍光画像(2倍)、(C)より高い倍率

50

下で視覚化されたBにおける画像(5倍)。

【0147】

高速(3~5日)分解可能ドキシサイクリンマイクロウエハを使用して、眼の連続撮像が、マイクロウエハの設置後、6時間~7日にわたって行われた。d o x y - マイクロウエハの自己蛍光の強度が、マイクロウエハによって占有される総面積を境界することによって、デジタル画像内で測定され、結果が、群内で平均化された。3 - m mのd o x y - ウエハの初期溶解は、設置後6時間で見られ、その消失は、7日の周期に及び得る。自己蛍光は、マイクロウエハ内の薬物含有量に反比例する。

【0148】

別の研究である、ある例示的研究では、ナノウエハから放出された薬物の有効性が、ドライアイ誘発マウスモデルにおいて調査された。薬物が装填されたナノウエハ、すなわち、(1)デキサメタゾン - ナノウエハおよび(2)ドキシサイクリン - ナノウエハが、本研究において使用された。約2mm直径の円形薬物 - ナノウエハが、マウスの下側眼瞼下に設置され、光学顕微鏡によって、薬物の有効性に関して、5日後、検討された。角膜平滑度が、顕微鏡で撮影された反射光リングの画像内で評価された。リングの真円度は、角膜表面の平滑度に比例する。角膜平滑度の増加は、ナノウエハから放出される薬物の有効性を示す。図7Aから分かるように、角膜は、対照として留置された空包マイクロウエハによって治療された実験ドライアイでは、非常に不均等である。ドキシサイクリン - ナノウエハ(図7B)およびデキサメタゾン - ナノウエハ(図7C)が留置されたマウスの場合、角膜表面は、平滑かつ均一であって、ナノウエハからの制御薬物放出が、ドライアイ誘発角膜上皮疾患を改善する際に効果的であることを確認した。比較では、ドキシサイクリンおよびデキサメタゾン点眼薬が1日2回投与された、マウスにおいて誘発されたドライアイは、5日後、角膜表面の平滑度にあまり改善を示さなかった。本研究は、単回ナノウエハ留置が、いくつかの毎日投薬する点眼薬と比較して、5日以上の間でも、非常に有効であることを確認する。

【0149】

図8A - 8Cは、本開示のナノウエハの例示的实施形態から放出される薬物の有効性を評価するための研究において撮影された画像を示す。本特定の研究では、ドライアイ誘発マウスモデルが、使用された。以下の薬物が装填されたナノウエハが、研究では使用された。(1)デキサメタゾン - ナノウエハおよび(2)ドキシサイクリン - ナノウエハ。約2mm直径の円形薬物 - ナノウエハが、マウスの下側眼瞼下に設置され、5日後、光学顕微鏡によって、薬物の有効性について検討された。角膜平滑度が、顕微鏡で撮影された反射光リングの画像内で評価された。リングの真円度は、角膜表面の平滑度に比例する。²
³角膜平滑度の増加は、ナノウエハから放出される薬物の有効性を示す。図8Aから分かるように、角膜は、対照としての役割を果たす、任意の治療薬が充填されていない例示的实施形態によって治療された実験ドライアイでは、非常に不均衡である。ドキシサイクリン - ナノウエハ(図8B)およびデキサメタゾン - ナノウエハ(図8C)が留置されたマウスの場合、角膜表面は、平滑かつ均一であって、本開示のナノウエハの例示的实施形態からの制御薬物放出が、ドライアイ誘発角膜上皮疾患を改善する際に効果的であることを確認した。比較では、ドキシサイクリンおよびデキサメタゾン点眼薬が1日2回投与された、マウスにおいて誘発されたドライアイは、5日後、角膜表面の平度にあまり改善を示さなかった。本研究は、いくつかの毎日投薬する点眼薬と比較して、単回の例示的ナノウエハ留置が、5日以上の間でさえ、非常に有効であることを確認する。

【0150】

図9は、炎症誘発性サイトカインおよびマトリクスメタロプロテイナーゼ(MMP)の遺伝子発現に及ぼす本開示のナノウエハの例示的实施形態を用いた治療の効果の別の例示的研究において得られた分析を示す。炎症誘発性サイトカインおよびMMPは、ドライアイにおいて改変された角膜障壁機能および表面不規則性に関わることが分かっている。ストレスを受けた眼表面および腺上皮細胞ならびにこれらの組織に浸潤する炎症細胞による、炎症誘発性サイトカイン(インターロイキン(IL) - 1、腫瘍壊死要因(TNF) -

10

20

30

40

50

）、および、タンパク質分解酵素の産生増加および活性化が、ドライアイにおいて報告されている。MMP-9等のこれらの酵素は、角膜上皮基底膜の成分を含む種々の異なる基質および角膜上皮障壁機能を維持する緊密な結合タンパク質（ZO-1およびオクルジン等）を溶解する。ドライアイにおけるMMP-9活性の増加は、乱れた角膜上皮障壁機能、角膜上皮落屑の増加、および、角膜表面不規則性と関連付けられる。図9に示されるように、研究は、デキサメタゾンまたはドキシサイクリンが装填されたナノウエハの例示的实施形態が、炎症誘発性サイトカインIL-1、IL-1、TNF-、および、マトリクスメタロプロテイナーゼ（MMP）-3およびMMP-9、ならびに、Th-17シグニチャサイトカインIL-17Aの発現を低下させたことを実証する。IL-6を除く、全炎症性サイトカインは、ドキシサイクリンまたはデキサメタゾンのいずれかを含有するナノウエハの例示的实施形態を受けたドライアイ群において、結膜発現を減少させた。これらのパイロット研究は、統計的有意性に到達する確率は、わずか50%であるが、サンプルサイズを計算するために有用であった。StateMate（登録商標）ソフトウェアを使用して、理想的サンプルサイズが、群あたり12匹の動物に対して計算された。以下の仮定が行われた。a = 0.05、空包ナノウエハとドキシサイクリンとの間のIL-1の遺伝子発現の50%差異は、有意であると見なされ、検出力は、³90%となるであろう。

10

【0151】

実施例

以下の段落は、本開示の治療薬分与デバイスの例示的かつ非制限的实施形態を提供する。

20

【実施例1】

【0152】

ポリビニルアルコールマイクロウエハの加工

【0153】

透明ポリビニルアルコール（PVA）溶液（水中15% w/v、5ml）が、ピペットを用いて、円形柱（例えば、500nm直径および500nm高さ）を含有するPDMSテンプレート（3インチ直径）上に移された。PVA溶液が、PDMSテンプレートを完全に被覆する薄フィルムを形成するように均等に拡散され、70で30分間、オープン内に保たれた。本ステップは、薄く、かつ機械的に強固なPVAテンプレートの形成をもたらした。PVAテンプレートは、PDMSテンプレートから剥がされた。得られたPVAテンプレートは、約3インチの直径であって、円形ウェル（例えば、500nm直径および500nm深さ）を含有していた。PVAテンプレートは、明視野反射率顕微鏡下で検討され、その構造上の完全性を判定した。

30

【実施例2】

【0154】

ポリアクリル酸マイクロウエハの加工

【0155】

透明ポリアクリル酸（PAA）溶液（エタノール中10% w/v、5ml）が、ピペットを用いて、円形柱（例えば、500nm直径および500nm高さ）を含有するPDMSテンプレート（3インチ直径）上に移された。PAA溶液が、PDMSテンプレートを完全に被覆する薄フィルムを形成するように均等に拡散され、70で30分間、オープン内に保たれた。本ステップは、薄く、かつ機械的に強固なPAAテンプレートの形成をもたらした。PAAテンプレートは、PDMSテンプレートから剥がされた。得られたPAAテンプレートは、約3インチの直径であって、円形ウェル（例えば、500nm直径および500nm深さ）を含有していた。PVAテンプレートは、明視野反射率顕微鏡下で検討され、その構造上の完全性を判定した。

40

【実施例3】

【0156】

ポリメタクリル酸ヒドロキシエチルマイクロウエハの加工

50

【 0 1 5 7 】

透明ポリHEMA溶液（エタノール中12% w/v、5 ml）が、ピペットを用いて、円形柱（例えば、500 nm直径および500 nm高さ）を含有するPDMSテンプレート（3インチ直径）上に移された。PVA溶液が、PDMSテンプレートを完全に被覆する薄フィルムを形成するように均等に拡散され、70 で30分間、オープン内に保たれた。本ステップは、薄く、かつ機械的に強固なポリHEMAテンプレートの形成をもたらした。ポリHEMAテンプレートは、PDMSテンプレートから剥がされた。得られたポリHEMAテンプレートは、約3インチの直径であって、円形ウェル（例えば、500 nm直径および500 nm深さ）を含有していた。ポリHEMAテンプレートは、明視野反射率顕微鏡下で検討され、その構造上の完全性を判定した。

10

【実施例4】

【 0 1 5 8 】

ゼラチンマイクロウエハの加工

【 0 1 5 9 】

50 ~ 55 における透明ゼラチン溶液（水性溶液中20% w/v、3 ml）が、ピペットを用いて、円形柱（例えば、500 nm直径および500 nm高さ）を含有するシリコンマスタテンプレート（3インチ直径）上に移された。ゼラチン溶液が、マスタテンプレートを完全に被覆する薄フィルムを形成するように均等に拡散され、15分間、それを冷蔵庫に保つことによって、4 まで冷却された。冷却は、ゼラチンテンプレートの形成をもたらし、続いて、マスタテンプレートから剥がされた。得られたゼラチンテンプレートは、約3インチの直径であって、円形ウェル（例えば、500 nm直径および500 nm深さ）を含有していた。

20

【 0 1 6 0 】

提供されるように、本開示は、所定の時間区間内に溶解するにつれて、埋込または挿入部位で物質を放出するように構成されることができる、治療薬分与デバイスのある実施形態を提供する。本開示の治療薬分与デバイスは、特に、治療薬を眼に提供するために適用可能であって、いかなる外科手術手技も伴わずに、指先（コンタクトレンズのように）を用いて眼（角膜または結膜）上または円蓋において留置されることができ、これは、非常に便宜的であるだけでなく、また、最も望ましい。本開示の治療薬分与デバイスは、埋込のために外科手術を要求せず、患者にいかなる不快感ももたらさず、患者の視力を妨害または遮断せず、不便な過剰な反復投薬も要求しない。

30

【 0 1 6 1 】

薬物が装填されたナノウエハの加工

【 0 1 6 2 】

実施形態は、薬物マトリクスが充填されたナノリザーバでパターン化されたポリマーウエハを提供する。本プロジェクトにおける新しいアプローチの有用側面は、ナノウエハの加工のためのテンプレートとしての役割を果たすだけでなく、また、長期放出のために、薬物マトリクスの安定化成分としても機能する、ヒドロゲルテンプレート方式の使用である。アプローチにおける重要な処理ステップは、ヒドロゲルテンプレート方式を介してナノウエハを加工するための水溶性ポリマーの使用である（Acharya et al., 2011; Acharya, Shin, Vedenham, et al., 2010; Acharya, Shin, McDermott et al., 2010）。ナノウエハは、すでに臨床で使用されている以下のポリマーを使用して加工される。PVA、デキストラン、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、および、（ヒドロキシプロピル）メチルセルロース。これらの中から、最良性能のポリマー-薬物の組み合わせが、選択され得る。モデルシステムとして、PVAナノウエハの加工が、本明細書で詳細に説明される。

40

【実施例5】

【 0 1 6 3 】

PVAナノウエハの加工

50

【0164】

透明PVA溶液(10%w/v、10ml)が、ピペットを用いて、スピンコーティングシステム(SCS P6708 Spin Coater, Specialty Coating Systems)上に設置された正方形支柱(例えば、500nm×500nm正方形および500nm高さ)を含有するシリコンマスタテンプレート(3インチ直径)上に移される。スピンスピードは、500rpmに調節され、150μm厚のナノウエハを得るために、45秒間、スピンされた。ポリマー溶液の濃度、スピンコーティング機のスピードおよび時間は、ナノウエハの要求される厚さを得るために変動されることができる。スピンコーティング後、ウエハは、70で30分間、焼成され、本周期の終了時、形成されたPVAナノウエハが、シリコンウエハマスタテンプレートから慎重に剥がされる。そのように得られたPVAナノウエハは、約3インチ直径であって、所定の寸法(500nm500nm×500nm正方形および500nm深さ)のナノリザーバを有する。ナノウエハは、明視野顕微鏡およびFESEMによって特性評価され、その構造上の完全性を判定する。初期研究は、15%ポリマーの溶液が、さらなる処理を可能にするために十分に機械的に強固である、ナノウエハを形成することを示す。

10

【実施例6】

【0165】

ナノウエハのリザーバを薬物-PLGAマトリクスで充填する

【0166】

そのように加工されたナノウエハは、超音波噴霧器またはマイクロ注入によって、薬物-PLGA溶液が充填される。1~5%範囲内の薬物濃度の場合、溶液は、超音波噴霧器によって容易に噴霧されることができる。超音波噴霧器を使用したナノリザーバの充填は、PVAナノウエハの表面上に過剰薬物-PLGA溶液の薄フィルムを形成し、これは、かみそり刃を用いて、表面を掃引することによって除去されることができる。本プロセスでは、正しい溶媒の使用は、高速蒸発による薬物フィルムの早期形成を防止するために重要である。より高い薬物濃度(5~20%)の場合、溶液は、濃く、ナノウエハは、マイクロ注入によって充填される。薬物-PLGA溶液(1~20%)の濃度は、要求される投薬および放出持続時間に好適であるように調節されることができる。

20

【実施例7】

【0167】

Dex-ナノウエハからのデキサメタゾンのインピット口放出

【0168】

典型的研究では、Dex-ナノウエハ(1cm×1cm)が、3つの10mlガラスバイアルに別個に計量され、5mlのPBS/Tween-20(pH7.4)離型剤が、各バイアルに移される。これらのバイアルは、一定撹拌を用いて37に維持されたオービタルシェーカー内に保たれる。2時間の時間間隔時、5mlの離型剤が、バイアルから抜取され、同一量の新しい媒体と交換される。したがって、回収されたサンプルは、ガラスバイアルに移され、冷蔵庫内に保管される。離型剤のサンプリングは、5日間、継続され得る。各サンプルは、0.5μm注入器フィルタを通して濾過され、HPLC分析を受ける。本研究では、メタノール(90%)および酢酸アンモニウム(10%、pH7)の混合物が、0.22μm膜フィルタを通した濾過後、移動相として使用される。

30

40

【実施例8】

【0169】

Dex-ナノウエハ内の総デキサメタゾン含有量の判定

【0170】

ナノウエハ内に装填されたデキサメタゾンの総量が、正確に計量されたデキサメタゾン-ナノウエハ(1cm×1cm)を5ml水中に溶解した後、エタノール(9ml)の添加によって判定される。沈殿したPVAは、遠心分離によって除去される。透明溶液は、回転蒸発され、形成された固体は、10mlの移動相(90%メタノールおよび10%酢酸アンモニウム、pH7)内に再溶解される。本溶液の分割量が、0.5μm注入器フィ

50

ルタを通して濾過され、HPLCによって分析され、標準曲線と比較され、含有量を定量化する。本研究は、3回行われ得る。本研究から、ナノウエハの単位面積あたりのデキサメタゾンの量が、判定され得る。

【0171】

HPLC分析

【0172】

HPLC実験は、Hitachi LaChrom-7000 HPLCシステム上で行われる。分析用カラムは、Waters製X-Terra C-18(250mm×4.6mm)である。本システムは、自動サンブラ、インライン脱ガス装置、および、室温に設定されたカラムオーブンを具備する。移動相は、メタノール(90%)および酢酸アンモニウム(10%、pH7)の混合物であって、0.22μm膜フィルタを通した濾過後、使用されるであろう。注入体積65μl、流量率1.0ml/分、および、圧力1200mmである。デキサメタゾンは、280nmにおけるUV吸収によって検出され、滞留時間は、約2.1±0.1分である。デキサメタゾン濃度は、標準およびサンプルのピーク面積を比較することによって計算される。

【0173】

正確度および精度

【0174】

正確度および精度は、200μg/ml濃度のデキサメタゾンを使用して査定される。行われる各一式の研究の開始および終了時、複製サンプルが、評価される。正確かつ精密な方法のために、%RSD(相対標準偏差)は、少なくともある側面では、2.0%未満である。

【0175】

デキサメタゾン濃度の標準曲線の線形性

【0176】

線形性研究が、定量化の限界値から昇順に一連の濃度のデキサメタゾン溶液の単回測定によって行われる。得られたデータは、回帰係数(R^2)の計算のために、統計的に処理される。ほとんどの状況下において、 $R^2 = 0.999$ である。Lambert Beerの法則に従う検出の線形範囲は、分析される薬物および使用される検出器に依存する。0.5μg/mlおよび50μg/mlの濃度範囲内の薬物に対する R^2 値が、計算される。標準曲線は、少なくともある側面では、1~50μg/ml濃度のデキサメタゾンに完璧な線形性を示す。

【実施例9】

【0177】

薬物安定性分析

【0178】

デキサメタゾンが装填されたナノウエハが、異なる時間間隔で分析され、溶液が物理的および化学的ストレスから保護されている間の薬物のピーク面積の任意の変化を査定した。本研究のために、28のデキサメタゾンナノウエハ(1cm×1cm)が、冷蔵条件下に保たれ、28日間、24時間間隔で分析された。HPLC分析は、付加的ピークが、デキサメタゾン以外、観察されなかったため、PBS/Tween-20中のデキサメタゾンが、28日間、安定することを明らかにした。

【実施例10】

【0179】

マウス涙液洗液の回収

【0180】

涙液洗液が、以前に報告された方法(Grass et al., 1988)によって回収される。簡潔に説明すると、0.1%ウシ血清アルブミン(BSA)を含有する1.5μLのPBSが、結膜嚢に滴下される。涙液は、外眼角内の涙液メニスカスから毛細管作用によって、1μL体積のガラス毛細管チューブ(Drummond Scient

10

20

30

40

50

ific Co., Broomhall, PA)を用いて回収される。涙洗液は、涙液アッセイが行われるまで、 -80°C で保管される。oregon greenデキストランが装填されたナノウエハの場合、涙洗液内の濃度は、oregon greenデキストランの標準曲線と比較される($50\mu\text{g}/\mu\text{L}$ から)。デキサメタゾンナノウエハから涙液内への薬物放出は、デキサメタゾン標準曲線を使用して測定される。

【実施例11】

【0181】

コリン作動性受容体遮断および乾燥環境によるマウスにおけるドライアイの生成

【0182】

ドライアイの乾燥ストレス(DS)マウスモデルが、以前に報告されたように生成される。2.5mg/mL臭化水素酸スコポラミン、(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)の皮下注射が、1日4回、交互に側腹部に与えられる(Cho et al., 2012; Gayton, 2009)。6~8週齢のメスC57BL/6が、両側にスクリーンを伴う特別に設計されたケージ内に置かれ、次いで、5または10日間、1日16時間、チャンバ内に位置するファンの正面から6インチに置かれる。部屋の湿度は、30%以下に維持される。

【実施例12】

【0183】

ドライアイ誘発マウスにおける薬物-ナノウエハのインビボ有効性の評価

【0184】

ナノウエハのインビボ有効性は、角膜および結膜上皮アポトーシスを阻害することが分かっている抗IFN- γ を使用して、マウスドライアイモデルにおいて評価される(Cho et al., 2012; Gayton, 2009)。ドライアイの導入に先立って、マウスは、Avertinで麻酔され、2mm円形ナノウエハが、鉗子を使用して、円蓋に隣接する下眼球結膜に適用される。ナノウエハは、結膜に接着し、瞬きに伴って移動しない。麻酔から回復後、DSが、前述のように誘発される。対照マウスは、眼球局部治療を受けない。有効性パラメータとして、結膜杯細胞密度、杯細胞ムチンMUC5AC発現、ならびに、DSの10日後に得られた角膜および結膜組織切片内および溶解物(カスパーゼ3活性)内のアポトーシスのマーカー(TUNELおよび活性化カスパーゼ3染色)が挙げられる。1mg/mLの抗IFN- γ を含有するナノウエハが、最初に評価され、より高いまたは低い濃度が、生物学的応答に基づいて評価される。

【0185】

対照研究

【0186】

別のドライアイマウスの群は、ドライアイ誘発眼表面疾患の開発に及ぼすナノウエハ材料単独の効果を査定するために、デキサメタゾンに対する対照として空包ナノウエハまたは抗IFN- γ に対する対照としてラットIgG、1mg/mL(Vector Laboratories)を受ける。空包およびIgGが装填されたナノウエハは、薬物が装填されたナノウエハとして、同一の方法によって調製される。薬物が装填された群のために使用される有効性測定値が、評価され、結果が、薬物-ナノウエハ治療から得られたものと比較される。

【実施例13】

【0187】

点眼薬を用いたドライアイ誘発マウスの局部治療

【0188】

ドライアイマウス群は、10日間、1日2回、デキサメタゾン0.1%または抗IFN- γ 点眼薬($10\mu\text{L}$ の抗IFN- γ ハイブリドマ-1mg/mL、R4-6A2;カタログ番号HB-170; American Type Culture Collection, Rockville, MD)を用いて治療される。ナノウエハ治療群で査定される同一のGCおよびアポトーシスマーカーも、10日間、評価される。

【実施例 14】

【0189】

有効性パラメータの実施例

【0190】

過ヨウ素酸シッフ染色および杯細胞測定

【0191】

除核マウス眼が、10%ホルマリン中に固定され、パラフィン内に埋め込まれる。眼球切片が、眼の中心で切断され、水晶体は、その最大直径を有する。切片は、杯細胞密度を測定するために、過ヨウ素酸シッフ(PAS)試薬で染色され、デジタルカメラ(DS-Fi1を伴うEclipse E400; Nikon)を具備する顕微鏡を用いて検討および撮影される。上および下結膜内の杯細胞の数が、画像分析ソフトウェア(NIS Elements Software, バージョン3.0, BR, Nikon)を使用して、各眼から300mm離れた3つの切片内で測定され、杯細胞/mmの数として表される。

10

【0192】

MUC5AC ELISA

【0193】

市販のマウスMUC5サブタイプAC ELISAキットが、結膜溶解物中のMUC5ACタンパク質の濃度を測定するために使用されてもよい。結果は、溶解物のタンパク質濃度によって正規化される。マウストライアイモデルにおける組織学的切片内で測定されたMUC5ACタンパク質のレベルと結膜杯細胞密度との間に良好な相関が存在する。

20

【0194】

眼表面上皮アポトーシスの査定

【0195】

TUNELアッセイおよびカスパーゼ-3免疫染色

【0196】

TUNELアッセイが、市販のキット(ApopTag; Intergen Co, Purchase, NY)を使用して行われる。活性化カスパーゼ-3(5g/mL; BD Pharmingen)、カスパーゼ-8(未希釈血清、1:100; Novus Biologicals, Littleton, CO)、および、カスパーゼ-9(未希釈血清、1:100; Novus Biologicals)に対して染色された低温切片が、ヤギ抗ウサギAlexa-Fluor 488-共役抗体を使用して生成される。同時に行われる陰性対照は、一次抗体の代わりに、PBSでインキュベートされた切片から成る。中心角膜の代表的面積および結膜の杯細胞が豊富な面積のデジタル画像(512x512画素)が、レーザ走査共焦点顕微鏡(Zeiss, Thornwood, NY)を用いて捕捉される。染色の強度は、NIS Elements(Nikon)を使用して測定される。

30

【0197】

活性化カスパーゼ3、8、および、9に対する蛍光定量アッセイ

【0198】

カスパーゼ3、8、および、9の活性が、その個別の蛍光定量キット(それぞれ、Biovision K105-25、K112-25、および、K189-100)の製造業者によって提供されるプロトコルに従って、角膜上皮および結膜生検において測定される。角膜上皮は、搔爬され、結膜は、外科手術的に切除され、キットを用いて提供される溶解バッファ中に設置される。溶解物のタンパク質濃度は、マイクロBSAタンパク質アッセイキット(Thermo Fisher Scientific, Austin, TX)を使用して測定され、50μgの角膜/結膜溶解物が、アッセイ毎に使用される。任意のタンパク質を伴わない溶解バッファは、空包対照としての役割を果たす。群/系統あたり5つのサンプルが、使用され、各サンプルは、4匹のマウスからの貯蔵された角膜または結膜サンプルから成る。蛍光光度が、400-nm励起および505-nm放出

40

50

フィルタを伴う Tecan Spectra Fluorophotometer を使用して読み取られる。

【0199】

TUNEL および MUC5AC 免疫染色

【0200】

TUNEL アッセイが、市販のキット (ApopTag; Intergen Co., Purchase, NY) を使用して行われる。低温切片が、1%パラホルムアルデヒド中に固定され、2:1エタノール/酢酸溶液で透過処理される。サンプルは、37で4時間、TdT酵素および11-ジゴキシゲニン dUTP でインキュベートされる。反応物を急冷後、サンプルは、遮断溶液で遮断され、室温で60分間、抗ジゴキシゲニン FITC 共役抗体でインキュベートされる。初期 TUNEL 手技の完了後、低温切片は、説明されるように、MUC5AC の発現 (ウサギ抗 MUC5AC 一次抗体; 1:100、sc-20118; Santa Cruz Biotechnology) のために染色される。眼瞼結膜の代表的面積のデジタル画像 (512x512画素) が捕捉され、200 μm 長の区画内の結膜上皮中の TUNEL 陽性細胞が、計数される。

10

【実施例15】

【0201】

角膜シスチン症を治療するための制御放出性システアミンナノウエハ

【0202】

シスチン症は、腎臓、甲状腺、脳、および、眼を含む、種々の組織内のシスチン結晶の蓄積によって特徴付けられる、常染色体劣性リソソーム蓄積症である。本疾患は、リソソームからの二硫化物シスチンアミノ酸の輸送に関わる、膜貫通タンパク質である、シスチノシンをコードする、CTNS 遺伝子 (17p13) の突然変異と結び付けられる。異なる CTNS 突然変異は、臨床疾患のスペクトルと関連付けられるが、しかしながら、角膜結晶は、あらゆる形態の疾患で存在する (図20および21)。

20

【0203】

経口システアミン ($\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3$) は、20年にわたって、療法の中心である。システアミン中の遊離チオール基が、シスチンと反応し、単一硫化物アミノ酸システインに加え、システイン-システアミン混合二硫化物を産生し、それによって、輸送体欠陥を回避する。経口システアミンは、全体的予後を有意に完全するが、疾患の眼球兆候における改善は、全身治療を用いて実証されていない。毎時間適用される局部システアミンは、角膜結晶を減少させる際に効果的であるが、炎症、赤み、および、他の副作用の増加のため、非実践的であって、コンプライアンス不良につながる。角膜結晶の濃度増加と関連付けられた進行性羞明、再発性角膜びらん、および、視覚低下が、したがって、角膜シスチン症に罹患する個体にとって、主な長期的負担となる。本実施例では、従来の点眼薬製剤および長時間 (1~7日) の間の放出性システアミンの欠点を克服する、ナノウエハ薬物送達システムの開発が、説明される。

30

【0204】

500nm直径ウェルを含有する例示的ポリビニルアルコール (PVA) ナノウエハが、システアミンおよびシステアミン-PLGAマトリクスで充填された。したがって、加工されたナノウエハは、シスチノシン (Ctns-/-) ノックアウトマウスにおいて、インビボ有効性に関して試験された。マウス角膜内のシステアミンナノウエハの潜在的角膜毒性 (角膜間質混濁、角膜の血管新生、または、角膜上皮変化) が、ナノウエハ中の5つのシステアミン濃度 500、200、100、50、および、0 ng/ウエハ (0 = 空包ウエハ) を試験することによって評価された。3~5ヶ月齢の25匹の CTNS^{+/+} マウスが、群あたり5匹の動物を伴う5群に分割された。システアミンナノウエハが、1週間、3日毎に、各動物の右角膜に適用された。視認可能な角膜毒性は、空包ウエハあるいは50または100 ng/ウエハ用量において認められなかった。4日目に、500 ng/ウエハ角膜の50%が、角膜間質混濁を示し、7日目には、100%が、間質混濁を示した。200 ng システアミン/ウエハ群の場合、1つの角膜が、7日目に、わずかな

40

50

疑わしい角膜混濁を示した（図 2 2）。

【 0 2 0 5 】

これらの結果に基づいて、150 および 175 ng / ウエハのシステアミン濃度を伴うナノウエハで、角膜結晶濃度に及ぼす影響を評価した（図 2 2）。7 月齢の C T N S - / マウスが、5 匹の 2 つの群に分割された。基線角膜シスチン結晶体積が、各動物の右眼において、時間ゼロ時に、インビボ共焦点顕微鏡を使用して定量化された。150 または 175 ng / ウエハのいずれかのシステアミンナノウエハが、27 日間、3 日毎に右眼に設置された。27 日目に、角膜結晶体積が、インビボ共焦点顕微鏡を使用して、再測定された。結果は、角膜結晶体積が劇的に減少し（約 90 %）、システアミンが毎時間投与されたシステアミン点眼薬と比較して、ナノウエハの有意に向上した有効性をもたらすことを実証した（図 2 3 および 2 4）。

10

【実施例 1 6】

【 0 2 0 6 】

眼の熱傷のための制御放出ナノウエハ

【 0 2 0 7 】

眼の表面に対する化学的および熱的傷害は、失明を生じさせる潜在性が高い。これらの傷害は、多くの場合、角膜、結膜、および、眼瞼縁を被覆する上皮を損傷し、より重度の場合、これらの上皮を再生する幹細胞を破壊する。角膜に対するアルカリ熱傷は、重度かつ恒久的視力低下を生じさせ得る、深刻な問題である。多くの場合、支持間質細胞およびマトリクスが、損傷され、慢性炎症は、誘発される。炎症細胞（単球 / マクロファージ、好中球）の出現、角膜細胞（主に、角化細胞）および上皮細胞の活性化、ならびに、後続間質血管新生が、角膜にアルカリ組織後損傷として伴う（S a i k a e t a l . , 2005）。さらに、重度の眼表面傷害を伴うほとんどの患者は、涙を産生する細胞の破壊のため、二次ドライアイを発症し、転帰を悪化させる。眼表面を潤滑化させることに加え、涙は、創傷修復ならびに炎症および組織破壊の抑制に不可欠な多数の成長および抗炎症因子を含有する。即時相または急性期が、傷害時に生じ、角膜および結膜上皮損傷またはネクローシス死ならびに間質、前房、毛様体、および、虹彩内への化学物質の侵入をもたらす。眼熱傷の後期（中間期から慢性期）が、翌日から数ヶ月にわたって生じ、長引く炎症および傷害に対する創傷治癒応答を制御するために、眼科的および眼科的専門家による医療および外科手術管理を要求する。

20

30

【 0 2 0 8 】

眼表面外傷は、メタロプロテイナーゼの放出 / 活性化を誘発する。何十年にもわたって、眼表面化学的 / 熱的傷害は、創傷治癒段階の一部として、組織分解酵素の産生を刺激することが認識されている（S o s n e e t a l . , 2005 , T a k a h a s h i e t a l . , 2007）。メタロプロテイナーゼ（MMP）を含むマトリクス分解酵素は、特に、ドライアイおよび眼球熱傷において、眼表面の炎症および創傷治癒応答における重要な因子として同定されている。創傷治癒の間のその誘発は、細胞外マトリクス再構築、サイトカイン活性化、および、脈管形成の調整に役割を果たすと考えられる（C o r r a l e s e t a l . , 2006）。MMP 族として、線維状コラーゲンタイプ I、II、および、III 型（MMP - 1 , - 8 , - 13）を分解する、コラーゲナーゼ；コラーゲン IV、V、VII、および、X 型、ならびに、基底膜（MMP - 2、- 9）内に見出されるデコリン、フィブロネクチン、および、ラミニンを分解する、ゼラチナーゼ；ストロメライシン（MMP - 3 および - 10）；プロテオグリカン、ラミニン、および、糖タンパク質（MMP - 7 および - 26）を分解する、マトリリシン；ならびに上皮細胞膜に結合され、その構造および基質特異性に従って、MMP を活性化させることができる、膜型 MMP（MMP - 14 から - 17 および - 24）に分割され得る、25 を超える要素が挙げられる。^{9 - 12} 集合的に、これらは、細胞外マトリクスおよび基底膜成分全体を分解することが可能である。非創傷角膜ではほとんど検出されないが、MMP は、創傷治癒の間、顕著に誘発される。これらのうち、MMP - 9 は、ストレスを受けた角膜および結膜上皮細胞によって産生されるという大きな役割を果たし、マトリクス分解性お

40

50

よび炎症誘発性活性の両方を有する (Fini et al, 1992; Matsubara et al., 1991)。

【0209】

眼球傷害のための新しい治療方式が、必要である。眼表面化学的/熱的傷害のための療法方式が、急性期の間、上皮治癒を助長し、炎症および組織分解を抑制することを目的として進められている (Reim et al., 2001)。解剖学的続発症を含む、慢性期の治療は、時として、集学的アプローチ、および、非常に多くの場合、羊膜移植または幹細胞移植等の外科手術手技を要求する。²⁸ これらのアプローチは、若干、改善された視覚的転帰を改善するがこれらの傷害からの視覚的転帰は、依然として、主に、創傷治癒応答の炎症およびタンパク質分解成分の不適正な制御のため、不良のままである。

10

【0210】

ナノウエハ眼球薬物送達システムの開発の必要性。点眼薬の形態での眼への治療薬剤の送達は、これまで、治療の最も効果的形態である。これは、薬物送達の非常に単純な形態であるが、薬物は、短時間 (約30分) の間のみ、利用可能であって、薬物の大部分は、眼角から、または、鼻の中の排出管への吸収によって損失されるであろう。局所送達はまた、薬物装填粒子を含有する点眼薬懸濁液を使用することによって達成されることができる。マイクロ/ナノ粒子ベースの送達システムは、調製が容易であるが、ある制限、すなわち、(a) 低薬物装填、(b) パースト薬物放出動態、(c) 潜在的に、感染症につながる、眼内のナノ/マイクロ粒子の凝集、および、(d) 嚢胞形成につながる、これらの凝集の周囲の瘢痕組織の成長を呈する。故に、高薬物含有量および長期薬物放出属性を伴う、プログラム可能薬物送達システムの開発が非常に必要とされる。

20

【0211】

抗炎症剤の長期投与のための制御放出ナノウエハ薬物送達システムは、失明に至る眼傷害および感染症の管理の大きな前進となるであろう。制御放出薬物送達システムとしての役割を果たし、眼を感染症から保護するための機械的障壁を提供し、消失 (生体分解/溶解) することができる、ナノウエハ薬物送達デバイスの開発が、最も望ましい。いくつかの保護コンタクトレンズが、市場にあるが、これらの機能を効果的に果たすことができる、現在利用可能なデバイスはない。これらの問題に対処するために、我々は、ナノウエハ薬物送達システムを開発し、眼球熱傷マウスモデルにおいて、その有効性を評価した。

【0212】

30

ナノウエハからのインビボ薬物放出。高速 (3~5日) 分解可能ドキシサイクリンナノウエハを使用して、ナノウエハの設置後、6時間~7日にわたって、眼の連続撮影を行った。d o x y - ナノウエハの自己蛍光の強度が、マイクロウエハによって占有される総面積を境界することによって、デジタル画像内で測定され、結果が、群内で平均化された。我々の結果は、図25に示され、3-mmのd o x y - ナノウエハの初期溶解は、設置後6時間で見られ、その消失は、7日の周期に及び得る。自己蛍光は、マイクロウエハ内の薬物含有量に反比例する。

【0213】

ドキシサイクリンまたはデキサメタゾンのいずれかをを用いた局部治療は、O B + D S を受けた角膜の運命を有意に変化させる。4回/日の従来の局部ドキシサイクリン点眼薬を受けた角膜は、角膜穿孔の数を有意に低下させ、初期損傷の2日後、I L - 1、M M P 3、- 8、- 9発現を有意に減少させた (図26)。これらの結果は、早期療法が眼球傷害の管理に必須であることを示す。

40

【0214】

ナノウエハは、接触保護レンズとして作用する。我々の結果は、ナノウエハとP V A 媒介体の併用が、機械的障壁のため、従来の点眼薬よりさらなる保護をもたらす (図25B)、治癒上皮を眼表面内のプロテアーゼおよび炎症性サイトカインから保護することを示す。これらの結果は、従来の点眼薬療法に優るナノウエハが装填された薬物の使用のさらなる利点を示す。

【0215】

50

ドキシサイクリンまたはデキサメタゾンが装填されたマイクロウエハはさらに、局部薬物と比較して、OB + DSを受けた角膜の遺伝子発現を減少させる。薬物が装填されたナノウエハは、媒介体マイクロウエハの局部治療と比較して、炎症/プロテアーゼメディエーターの発現をさらに減少させることによって、OB + DSを受けた角膜にさらなる保護を提供する(図25Cおよび25D)。

【0216】

本開示の実施形態およびその利点が、詳細に説明されたが、種々の変更、代用、および、改変が、添付の請求項によって定義される本開示の精神および範囲から逸脱することなく、本明細書に行なわれ得ることを理解されたい。加えて、本開示によって教示される方法および装置は、無機物および流体の原位置水素化の分野にも明確かつ明白な用途を有する。さらに、本願の範囲は、本明細書に説明されるプロセス、機械、製造、組成物、手段、方法、および、ステップの特定の実施形態に制限されることを意図しない。当業者が、本開示の開示から容易に理解するであろうように、本明細書に説明される対応する実施形態と実質的に同一の機能を行なう、または、実質的に同一の結果を達成する、既存のまたは後に開発される、プロセス、デバイス、製造、組成物、手段、方法、または、ステップは、本開示に従って利用されてもよい。故に、添付の請求項は、その範囲内に、そのようなプロセス、デバイス、製造、組成物、手段、方法、または、ステップを含むものと意図される。

【0217】

参考文献

以下の刊行物は、各個々の刊行物が、参照することによって組み込まれるように具体的かつ個々に示される場合と同様に、参照することによって本明細書に組み込まれる。

【0218】

Acharya G, McDermott M, Shin SJ, Park H, Park K. Hydrogel Templates for the Fabrication of Homogeneous Polymer Microparticles. Biomedical Nanotechnology, Methods Mol Biol. 2011;726:179-185.

【0219】

Acharya G, Shin CS, McDermott M, Mishra H, Park H, Kwon IC, Park K. The hydrogel template method for fabrication of homogeneous nano/microparticles. J. Control. Release. 2010;141:314-319.

【0220】

Acharya G, Shin CS, Vedantham K, McDermott M, Rish T, Hansen K, Fu Y, Park K, A Study of Drug Release from Homogeneous PLGA Microstructures. J. Control. Release. 2010;146:201-206.

【0221】

Afonso AA, Sobrin L, Monroy DC, Selzer M, Lokeshwar B, Pflugfelder SC. Tear fluid gelatinase B activity correlates with IL-1alpha concentration and fluorescein clearance in ocular rosacea. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999;40:2506-2512.

【0222】

Ahmed I, Gokhale RD, Shah MV, Patton TF. Physicochemical determinants of drug d

10

20

30

40

50

diffusion across the conjunctiva, sclera, and cornea. J. Pharm. Sci. 1987; 76, 583 - 586.

【0223】

Ahmed, I. et al. (1987) Disposition of timolol and inulin in the rabbit eye following corneal versus noncorneal absorption. Int. J. Pharm. 38, 9-21.

【0224】

Alonso, M.J. et al. (1989) New ophthalmic drug release systems: formulation and ocular disposition of amikacin-loaded nanoparticles. 5th Int. Conf. Pharm. Tech. 1, 77-83.

10

【0225】

Araki K, Ohashi Y, Kinoshita S, Hayashi K, Kuwayama Y, Tano Y: Epithelial wound healing in the denervated cornea. Curr Eye Res. 1994, 13:203-211.

【0226】

Avunduk AM, Avunduk MC, Varnell ED, Kaufman HE. The comparison of efficacies of topical corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory drops on dry eye patients: a clinical and immunocytochemical study. Am J Ophthalmol. 2003;136:593-602.

20

【0227】

Azar DT. Corneal angiogenic privilege: angiogenic and antiangiogenic factors in corneal avascularity, vasculogenesis, and wound healing (an American Ophthalmological Society thesis). Trans Am Ophthalmol Soc. 2006;104:264-302.

30

【0228】

Bausch&Lomb, Fluocinolone acetonide ophthalmic - Bausch & Lomb: fluocinolone acetonide Envision TD implant. Drugs R D, 2005. 6(2): p. 116-9.

【0229】

Bausch&Lomb, http://www.retisert.com/professional_home.html

40

【0230】

Bochot, A. et al. (1998) Liposomes dispersed within a thermosensitive gel: a new dosage form for ocular delivery of oligonucleotides. Pharm. Res. 15, 1364-1369.

【0231】

Borchardt RT. Assessment of transport b

50

arriers using cell and tissue culture systems. Drug. Dev. Ind. Pharm. 1990;16:2595-2612.

【0232】

Brechue WF, Maren TH. pH and drug ionization affects ocular pressure lowering of topical carbonic anhydrase inhibitors.

Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993; 34: 2581-2587.

【0233】

Burns AR, Li Z, Smith CW. Neutrophil migration in the wounded cornea: The role of the keratocyte. Ocular Surface 2005; 3:S-173-S-176.

【0234】

Byeseda SE, Burns AR, Dieffenbaugher S, Rumbaut RE, Smith CW, Li Z. ICAM-1 is necessary for epithelial recruitment of gamma delta T cells and efficient corneal wound healing. Am J Pathol 2009;175:571-9.

【0235】

Cadman, J., Ganciclovir implants: one year later. GMHC Treat Issues, 1997. 11(4/5): p. 3-6.

【0236】

Chang E, McClellan, AJ, Farley WJ, Li D-Q, Pflugfelder SC, De Paiva, C. Biodegradable PLGA-based drug delivery systems for modulating ocular surface disease under experimental murine dry eye. J Clin Exp Ophthalmol. 2011;2:191. doi:10.4172/2155-9570.1000191

【0237】

Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. Curr Opin Ophthalmol. 2001;12:242-249.

【0238】

Cho, Y. K., Uehara, H., Young, J. R., Archer, B., Zhang, X. and Ambati, B. K. (2012) 'Vascular endothelial growth factor receptor 1 morpholino decreases angiogenesis in a murine corneal suture model', Investigative ophthalmology & visual science 53(2): 685-92.

【0239】

Choy YB, Park J-H, McCarey BE, Edelhauser HF, Prausnitz MR. Mucoadhesive microdiscs engineered for ophthalmic drug delivery: effect of particle geometry and fo

10

20

30

40

50

rmulation on preocular residence time. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49:4808-4815.

【0240】

Chrai SS, Patton TF, Mehta A, Robinson JR. Lacrimal and instilled fluid dynamics in rabbit eye. J. Pharm. Sci. 1973; 62:1112-1121.

【0241】

Ciolino JB, Hudson SP, Mobbs AN, Hoare TR, Iwata NG, Fink GR, Kohane DS. A prototype antifungal contact lens. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52: 6286-629.

10

【0242】

Condeelis, J. and Pollard, J. W. (2006) 'Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis', Cell 124(2): 263-6.

【0243】

Corrales RM, Stern ME, de Paiva CS, Welch J, Li DQ, Pflugfelder SC. Desiccating stress stimulates expression of matrix metalloproteinases by the corneal epithelium. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006;47:3293-3302.

20

【0244】

Craig, J. Structure and function of the preocular tear film. In The tear film; Korb, D.R., Craig, J., Doughty, M., Guillon, J., Smith, G., Tomlinson, A., Eds.; Butterworth-Heinemann: Oxford, UK, 2002; pp. 18-50.

30

【0245】

Cursiefen C. Immune privilege and angiogenic privilege of the cornea. Chem Immunol Allergy. 2007;92:50-57.

【0246】

Dartt DA, Hodges RR, Zoukhri D. Tears and their secretion. In: Fischbarg J. (editor) The Biology of the Eye. Academic Press, New York, 21-82.

40

【0247】

De Campos, A.M. et al. (2001) Chitosan nanoparticles: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to cyclosporin A. Int. J. Pharm. 224, 159-168.

【0248】

de la Fuente M. et al. Chitosan-based nanostructures: a delivery platform for o

50

cular therapeutics. Adv. Drug Deliv. Rev. 2010; 62:100-117.

【0249】

De Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelina SB, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. Mucosal Immunology 2009;2:243-53.

【0250】

de Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. Exp Eye Res. 2006;83:526-535.

【0251】

de Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley W, Li D-Q, Stern ME, Pflugfelder SC. Apical corneal barrier disruption in experimental murine dry eye is abrogated by methylprednisolone and doxycycline. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006;47:2847-2856.

【0252】

DeStafeno JJ, Kim T. Topical bevacizumab therapy for corneal neovascularization. Arch Ophthalmol. 2007;125:834-836.

【0253】

Diebold Y, Calonge M. Applications of nanoparticles in ophthalmology. Prog Retina Eye Res 2010;29:596-609.

【0254】

El-Gazayerly, O.N. et al. (1997) Preparation and evaluation of acetazolamide liposomes as ocular delivery systems. Int. J. Pharm. 158, 121-127.

【0255】

Eye health statistics at a glance, Compiled by American Academy of Ophthalmology, April 2011 <http://www.aaopt.org/newsroom/upload/Eye-Health-Statistics-April-2011.pdf>

【0256】

Fantin, A., Vieira, J. M., Gestri, G., Denti, L., Schwarz, Q., Prykhodzhiy, S., Peri, F., Wilson, S. W. and Ruhrberg, C. (2010) 'Tissue macrophages act as cellular chaperones for vascular anastomosis downstream of VEGF-mediated endothelial tip cell induction', Blood 116(5): 829-840.

【0257】

FDA, Chiron Vision files FDA application to market intraocular implant for CMV retinitis. Food and Drug Administration. J Int Assoc Physicians AIDS Care, 1995. 1(6): p. 37.

【0258】

Fialho, S.L. et al. (2004) New vehicle based on a microemulsion for topical ocular administration of dexamethasone. Clin. Exp. Ophthalmol. 32, 626-632.

10

【0259】

Flach, A., The pilocarpine Ocusera Delivery System. Trans Pac Coast Otoophthalmol Soc Annu Meet, 1974. 55: p. 179-208.

【0260】

Francouer M, Ahmed I, Sitek S, Patton T F. Age-related differences in ophthalmic drug disposition. III. Corneal permeability of pilocarpine in rabbits. Int. J. Pharm. 1983; 16:203-213.

20

【0261】

Friedrich SW, Cheng Y-L, Saville BA. Theoretical corneal permeation model for ionizable drugs. J. Ocul. Pharmacol. 1993; 9:229-249.

【0262】

Gagen D, Laubinger S, Li Z et al. ICAM-1 mediates surface contact between neutrophils and keratocytes following corneal epithelial abrasion in the mouse. Exp Eye Res 2010; 91:676-84.

30

【0263】

Garcia-Hirschfeld J, Lopez-Briones LG, Belmonte C: Neurotrophic influences on corneal epithelial cells. Exp Eye Res 1994, 59:597-605.

【0264】

Garhwal R, Shady SF, Ellis EJ, Ellis JY, Leahy CD, McCarthy SP, Crawford KS, Gaines P. Sustained ocular delivery of Ciprofloxacin using nanospheres and conventional contact lens materials. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012; 53: 1341-1352.

40

【0265】

Garty, N. et al. (1994) Pilocarpine in submicron emulsion formulation for treatment of ocular hypertension: a phase II clinical trial. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 35, 2175.

50

【0266】

Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular drug delivery. Am Assoc Pharm Sci J. 2010;12:348-360.

【0267】

Gaudana R, Jwala J, Boddur SHS, Mitra AK. Recent perspectives in ocular drug delivery. Pharm. Res. 2008;26:1197-1216.

【0268】

Gayton, JL. Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. Clinical Ophthalmol. 3:405-412, 2009.

10

【0269】

Gershkovich P. et al. A review of the application of lipid-based systems in systemic, dermal, transdermal, and ocular drug delivery. Crit. Rev. Ther. Drug 2008; 25:545-584.

【0270】

Gerten G. Bevacizumab (avastin) and argon laser to treat neovascularization in corneal transplant surgery. Cornea. 2008;27:1195-1199.

20

【0271】

Gipson I.K, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. Int. Rev. Cytol. 2003; 231:1-49.

【0272】

Gipson IK. The ocular surface: The challenge to enable and protect vision. Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 2007;48:4391-4398.

30

【0273】

Gould, D. J., Vadakkan, T. J., Poche, R. A. and Dickinson, M. E. (2011) 'Multifractal and lacunarity analysis of microvascular morphology and remodeling', Microcirculation 18(2): 136-51.

【0274】

Grass GM, Robinson J.R. Mechanisms of corneal drug penetration II: Ultrastructural analysis of potential pathways for drug movement. J. Pharm. Sci. 1988; 77, 15-23.

40

【0275】

Gulsen D, Chauhan A. Ophthalmic drug delivery through contact lenses. Invest Ophthalmol Vis Sci. 45: 2342-2347, 2004.

【0276】

50

Harmia, T. et al. (1986) A solid colloidal drug delivery system for the eye: encapsulation of pilocarpin in nanoparticles. J. Microencapsul. 3, 3-12.

【0277】

He C, Kim SW, Lee DS, In situ gelling stimuli-sensitive block copolymer hydrogels for drug delivery, J. Control. Release 2008; 127: 189-207.

【0278】

Hitzenberger CK, Baumgartner A, Drexler W, Fercher AF. Interferometric measurement of corneal thickness with micrometer precision. Am. J. Ophthalmol. 1994; 118: 468-476.

【0279】

Huang AJW, Tseng SCG, Kenyon KR. Paracellular permeability of corneal and conjunctival epithelia. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989; 30: 684-689.

【0280】

Irache, J.M. et al. (2005) Albumin nanoparticles for the intravitreal delivery of anticytomegaloviral drugs. Mini. Rev. Med. Chem. 5, 293-305.

【0281】

Jaffe, G.J., et al., Fluocinolone acetonide implant (Retisert) for noninfectious posterior uveitis: thirty-four-week results of a multicenter randomized clinical study. Ophthalmology, 2006. 113(6): p. 1020-7.

【0282】

Jung HJ, Chauhan A. Temperature sensitive contact lenses for triggered ophthalmic drug delivery. Biomaterials 2012; 33: 2289-2300.

【0283】

Kane, F.E., et al., Iluvien: a new sustained delivery technology for posterior eye disease. Expert Opin Drug Deliv, 2008. 5(9): p. 1039-46.

【0284】

Kapoor Y, Chauhan A. Ophthalmic delivery of cyclosporine A from Brij-97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. Int. J. Pharm. 2008; 361: 222-229.

【0285】

Khalil, R.M. et al. (1992) Pilocarpine hydrochloride liposomal ophthalmic drug

10

20

30

40

50

delivery system. Egypt. J. Pharma. Sci. 33, 667 - 668

【0286】

Kristinsson JK. et al. (1996) Dexamethasone-cyclodextrin-polymer co-complexes in aqueous eye drops. Aqueous humor pharmacokinetics in humans. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 37, 1199 - 120.

【0287】

Kubilus JK, Linsenmayer TF: Developmental corneal innervation: interactions between nerves and specialized apical corneal epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010, 51:782 - 789.

10

【0288】

Kuno N, Fujii S. Recent advances in ocular drug delivery systems. Polymers 2011; 3:193 - 22.

【0289】

Lederer CM, Harold RE. Drop size of commercial glaucoma medications. Am. J. Ophthalmol. 1986; 101: 691 - 694.

20

【0290】

Lee Y-H, Kompella UB, Lee VHL. Systemic absorption pathways of topically applied α -adrenergic antagonists in the pigmented rabbit. Exp Eye Res. 1993; 57:341 - 349.

【0291】

Lee, P., Y. Shen, and M. Eberle, The long-acting Ocuser-t-pilocarpine system in the management of glaucoma. Invest Ophthalmol, 1975. 14(1): p. 43 - 6.

30

【0292】

Leslie-Barbick, J. E., Saik, J. E., Gould, D. J., Dickinson, M. E. and West, J. L. (2011) 'The promotion of microvasculature formation in poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels by an immobilized VEGF-mimetic peptide', Biomaterials 32(25): 5782 - 9.

40

【0293】

Li X. et al. A controlled-release ocular delivery system for ibuprofen based on nanostructured lipid carriers. Int. J. Pharm. 2008; 363:177 - 182.

【0294】

Li Z, Burns AR, Byeseda MS, Smith CW. CCL20, $\gamma\delta$ T cells, and IL-22 in corneal epithelial healing. FASEB J 2

50

011;25:2659-68.

【0295】

Li Z, Burns AR, Han L, Rumbaut RE, Smith CW. IL-17 and VEGF are necessary for efficient corneal nerve regeneration. *Amer J Pathol* 2011;178:1106-16.

【0296】

Li Z, Burns AR, Smith CW. Lymphocyte function-associated antigen-1-dependent inhibition of corneal wound healing. *Am J Pathol* 2006;169:1590-600.

10

【0297】

Li Z, Burns AR, Smith CW. Two waves of neutrophil emigration in response to corneal epithelial abrasion: distinct adhesion molecule requirements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1947-55.

【0298】

Li Z, Rumbaut RE, Burns AR, Smith CW. Platelet Response to Corneal Abrasion Is Necessary for Acute Inflammation and Efficient Re-epithelialization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4794-802.

20

【0299】

Liaw J, Robinson JR. (1992) The effect of polyethylene glycol molecular weight on corneal transport and the related influence of penetration enhancers. *Int. J. Pharm.* 1992; 88:125-140.

【0300】

Liaw J, Rojanasakul Y, Robinson JR. The effect of drug charge type and charge density on corneal transport. *Int. J. Pharm.* 1992; 88:111-124.

30

【0301】

Lim, L.L., J.R. Smith, and J.T. Rosenbaum, Retisert (Bausch & Lomb/Control Delivery Systems). *Curr Opin Investig Drugs*, 2005. 6(11): p. 1159-67.

【0302】

Liu Q, Smith CW, Zhang W, Burns AR, Li Z. NK Cells Modulate the Inflammatory Response to Corneal Epithelial Abrasion and Thereby Support Wound Healing. *Am J Pathol* 2012.

40

【0303】

Loftsson, T. et al. (1994) The effect of hydroxypropyl methylcellulose on release of dexamethasone from aqueous 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin formulations. In

50

t. J. Pharm. 104, 181-184.

【0304】

Lopez BD, Ubels JL. Artificial tear composition and promotion of recovery of the damaged corneal epithelium. Cornea. 1993;12:115-120.

【0305】

Lopez BD, Ubels JL. Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: effect of artificial tears and preservatives. Curr Eye Res. 1991;10:645-656.

10

【0306】

Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004;45:4293-4301.

【0307】

20

Mack BC, Wright KW, Davis ME. A biodegradable filament for controlled drug delivery. J. Control. Release 2009; 139:205-211

【0308】

Mackie IA: Role of the corneal nerves in destructive disease of the cornea. Trans Ophthalmol Soc UK 1978, 98:343-347.

【0309】

Macoull, K.L. and D. Pavan-Langston, Pilocarpine ocusert system for sustained control of ocular hypertension. Arch Ophthalmol, 1975. 93(8): p. 587-90.

30

【0310】

Mahmoud SS. et al. Liposomal phospholipid preparations of chloramphenicol for ophthalmic applications. J. Pharm. Sci. 2008; 97:2691-2701

【0311】

Mannermaa E, Vellonen K-S, Urtti A. Drug transport in corneal epithelium and blood-retina barrier: Emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics. Adv Drug Deliv Rev. 2006;58:1136-1163.

40

【0312】

Maren TH, Jankowska L. Ocular pharmacology of sulfonamides: the cornea as barrier and depot. Curr. Eye Res. 1985; 4:399-408.

【0313】

50

Maurice DM, Mishima S. Ocular pharmacokinetics. Sears, MC (Ed.), Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 69, Pharmacology of the Eye. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1984; 19-116.

【0314】

Meseguer G, Gurny R, Buri P, Rozier A, Plazonnet B. Gamma scintigraphic study of precorneal drainage and assessment of miotic response in rabbits of various ophthalmic formulations containing pilocarpine. Int. J. Pharm. 1993; 95:229-234.

10

【0315】

Miljanoviae B, Dana R, Sullivan DA, Schamber DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. Am J Ophthalmol. 2007; 143:409-415.

【0316】

Mishima S. et al. Determination of tear volume and tear flow. Invest. Ophthalmol. 1966; 5: 264-276.

20

【0317】

Mitra AK, Mikkelsen TJ. Mechanism of transcorneal permeation of pilocarpine. J. Pharm. Sci. 1988; 77:771-775.

【0318】

Moon, J. J., Saik, J. E., Poche, R. A., Leslie-Barbick, J. E., Lee, S. H., Smith, A. A., Dickinson, M. E. and West, J. L. (2010) 'Biomimetic hydrogels with pro-angiogenic properties', Biomaterials 31 (14): 3840-7.

30

【0319】

Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM: Corneal nerves: structure, contents and function. Exp Eye Res 2003, 76:521-542.

【0320】

Nagelhout TJ, Gamache DA, Roberts L, et al. Preservation of tear film integrity and inhibition of corneal injury by dexamethasone in a rabbit model of lacrimal gland inflammation-induced dry eye. J Ocu Pharmacol Ther. 2005; 21:139-148.

40

【0321】

Newell FW. Ophthalmology, Principles and Concepts, 6th edn. 1986; C.V Mosby Co., St. Louis, MO.

【0322】

Park K, Shalaby WSW, Park H. Biodegradable

50

ble Hydrogels for Drug Delivery, Technomic Publishing, Lancaster, PA, 1993.

【0323】

Peng C-C, Chauhan A. Extended cyclosporine delivery by silicone-hydrogel contact lenses. J Control Release 2011;154: 267-274.

【0324】

Peppas NA, Hilt JZ, Khademhosseini A, Langer R. Hydrogels in biology and medicine: molecular principles to bionanotechnology, Adv. Mater 2006;18: 1345-1360.

10

【0325】

Petrescu MS, Larry CL, Bowden RA et al. Neutrophil interactions with keratocytes during corneal epithelial wound healing: a role for CD18 integrins. Invest Ophthalmol Vis Sci 2007;48:5023-9.

【0326】

Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, et al. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. Am J Pathol. 2005;166:61-71.

20

【0327】

Pflugfelder SC, Geerling G, Kinoshita S, Lemp MA, McCulley J, Nelson D, Novack GN, Shimazaki J, Wilson C. Management and therapy of dry eye disease: Report of the management and therapy subcommittee of the international dry eye workshop. Ocul Surf 5:163-178, 2007.

30

【0328】

Pignatello, R. et al. (2002) Flurbiprofen-loaded acrylate polymer nanosuspensions for ophthalmic application. Biomaterials 23, 3247-3255.

【0329】

Poche, R. A., Larina, I. V., Scott, M. L., Saik, J. E., West, J. L. and Dickinson, M. E. (2009) 'The Flk1-myr::mCherry mouse as a useful reporter to characterize multiple aspects of ocular blood vessel development and disease', Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists 238(9): 2318-26.

40

【0330】

Poche, R. A., Saik, J. E., West, J. L. and Dickinson, M. E. (2010) 'The mouse c

50

ornea as a transplantation site for live imaging of engineered tissue constructs', Cold Spring Harbor protocols 2010(4): pdb prot5416.

【0331】

Qian, B., Deng, Y., Im, J. H., Muschel, R. J., Zou, Y., Li, J., Lang, R. A. and Pollard, J. W. (2009) 'A distinct macrophage population mediates metastatic breast cancer cell extravasation, establish 10
ment and growth', PloS one 4(8): e6562.

【0332】

Rae, F., Woods, K., Sasmono, T., Campanale, N., Taylor, D., Ovchinnikov, D. A., Grimmond, S. M., Hume, D. A., Ricardo, S. D. and Little, M. H. (2007) 'Characterisation and trophic functions of murine embryonic macrophages based upon the use of a Csf1r-EGFP transgene reporter', Developmental biology 308(1): 232-46. 20

【0333】

Reim M, Redbrake C, Schrage N. Chemical and thermal injuries of the eyes. Surgical and medical treatment based on clinical and pathophysiological findings. Arch Soc Esp Oftalmol. 2001;76:79-124.

【0334】

Reinsten DZ, Silverman RH, Rondeau MJ, Coleman DJ. Epithelial and corneal thickness measurements by high-frequency ultrasound digital signal processing. Ophthalmology 1994;101:140-146. 30

【0335】

Rojanasakul Y, Wang L-Y, Bhat M, Glover DD, Malanga C, Ma JKH. The transport barrier of epithelia: a comparative study on membrane permeability and charge selectivity in the rabbit. Pharm. Res. 1992; 9:1029-1034.

【0336】

Saik, J. E., Gould, D. J., Keswani, A. H., Dickinson, M. E. and West, J. L. (2011a) 'Biomimetic hydrogels with immobilized ephrinA1 for therapeutic angiogenesis', Biomacromolecules 12(7): 2715-22. 40

【0337】

Saik, J. E., Gould, D. J., Watkins, E. M., Dickinson, M. E. and West, J. L. (2011b) 'Covalently immobilized platelet-derived growth factor-BB promotes angiogen 50

esis in biomimetic poly(ethylene glycol) hydrogels', *Acta biomaterialia* 7(1): 133-43.

【0338】

Saika S, Ikeda K, Yamanaka O, et al. Therapeutic effects of adenoviral gene transfer of bone morphogenic protein-7 on a corneal alkali injury model in mice. *Lab Invest.* 2005;85:474-486.

【0339】

Sasmono, R. T., Oceandy, D., Pollard, J. W., Tong, W., Pavli, P., Wainwright, B. J., Ostrowski, M. C., Himes, S. R. and Hume, D. A. (2003) 'A macrophage colony-stimulating factor receptor-green fluorescent protein transgene is expressed throughout the mononuclear phagocyte system of the mouse', *Blood* 101(3): 1155-63.

【0340】

Schoenwald RD, Huang H-S. (1983) Corneal penetration behavior of -blocking agents I: physicochemical factors. *J. Pharm. Sci.* 1983;72, 1266-1272.

【0341】

Seyfoddin A. et al. Solid lipid nanoparticles for ocular drug delivery. *Drug Deliv.* 2010; 17:467-489.

【0342】

Shell JW. Ophthalmic drug delivery systems. *Surv. Ophthalmol.* 1984; 29: 117-128.

【0343】

Shih R-L, Lee VHL. Rate limiting barrier to the penetration of ocular hypotensive -blockers across the corneal epithelium in the pigmented rabbit. *J. Ocul. Pharmacol.* 1990; 6:329-336.

【0344】

Sieg JW, Robinson JR. Mechanistic studies on transcorneal permeation of pilocarpine, *J. Pharm. Sci.* 1976; 65:1816-1822.

【0345】

Sieg JW, Robinson, JR. (1977) Vehicle effects on ocular drug bioavailability II: Evaluation of pilocarpine. *J. Pharm. Sci.* 1977; 66:1222-1228.

【0346】

Singh K, Nair AB, Kumar A, Kumria R. Novel approaches in formulation and drug delivery using contact lenses. *J Basic Cl*

10

20

30

40

50

in Pharmacy 2011; 2: 87 - 101.

【0347】

Singh V, Ahmad R, Heming T. The challenges of ophthalmic drug delivery: A review. Int J Drug Discovery. 2011; 3: 56 - 62.

【0348】

Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001; 42: 2283 - 2292.

10

【0349】

Souto EB. et al. Feasibility of lipid nanoparticles for ocular delivery of anti-inflammatory drugs. Curr. Eye Res. 2010; 35: 537 - 552.

【0350】

Sultana Y, Aqil M, Ali A, Samad A. Advances in the topical ocular drug delivery, Expert Rev Ophthalmology, 2007; 2(2): 309 - 23.

20

【0351】

Sultana, Y. et al. Nanotechnology in ocular delivery: current and future directions. Drugs Today 2011; 47: 441 - 455.

【0352】

Sweet, M. J. and Hume, D. A. (2003) 'CSF-1 as a regulator of macrophage activation and immune responses', Archivum immunologiae et therapiae experimentalis 51(3): 169 - 77.

30

【0353】

Ufret-Vincenty, R.L., et al., Cytomegalovirus retinitis after fluocinolone acetate (Retisert) implant. Am J Ophthalmol, 2007. 143(2): p. 334 - 5.

【0354】

Urtti A, Pipkin JD, Rork G, Sendo T, Finne U, Repta AJ. Controlled drug delivery devices for experimental ocular studies with timolol 2. Ocular and systemic absorption in rabbits, Int. J. Pharm. 1990; 61: 241 - 249.

40

【0355】

Urtti A, Salminen L. Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs. Surv. Ophthalmol. 1993; 37: 435 - 456.

【0356】

50

Urtti A. Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. Adv Drug Deliv Rev. 2006; 58:1131-1135.

【0357】

Vandamme, T.F.A. et al. (2005) Poly(amidoamine) dendrimers as ophthalmic vehicles for ocular delivery of pilocarpine nitrate and tropicamide. J. Contr. Rel. 102, 23-38.

【0358】

Vandervoort J, Ludwig A. Ocular drug delivery: nanomedicine applications. Nanomed 2007; 2:11-21.

【0359】

Watsky MA, Jablonski MM, Edelhauser HF. Comparison of conjunctival and corneal surface areas in rabbit and human. Curr. Eye Res. 1988; 7:483-486.

【0360】

Yanez F, Martikainen L, Braga MEM, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Duarte CMM, Gil MH, de Sousa HC. Supercritical fluid-assisted preparation of imprinted contact lenses for drug delivery. Acta Biomaterialia 2011; 7: 1019-1030.

【0361】

Zaki I, Fitzgerald P, Hardy JG, Wilson CG. A comparison of the effect of viscosity on the precorneal residence of solutions in rabbit and man. J. Pharm. Pharmacol. 1986; 38:463-466.

【0362】

Zhang, J., Cao, R., Zhang, Y., Jia, T., Cao, Y. and Wahlberg, E. (2009) 'Differential roles of PDGFR- α and PDGFR- β in angiogenesis and vessel stability', The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 23(1): 153-63.

【0363】

Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. Exp Eye Res. 2006; 82:885-898.

10

20

30

40

【図 1】

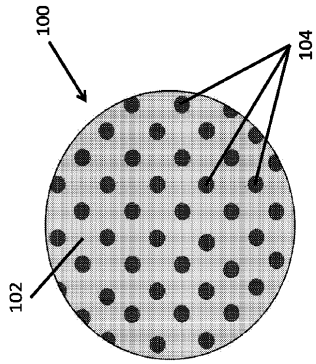


FIG. 1

【図 2】

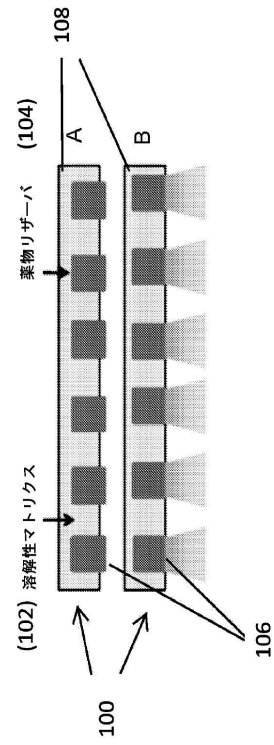
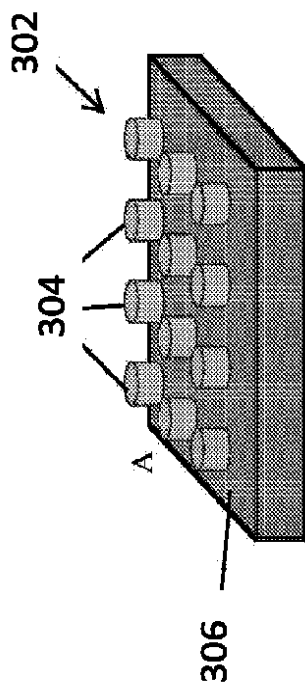
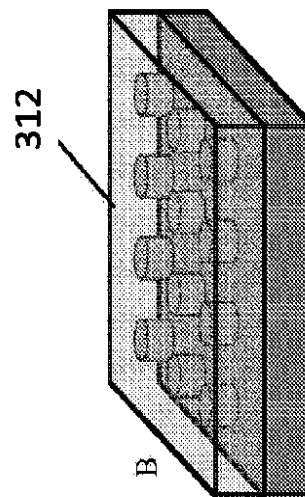


FIG. 2

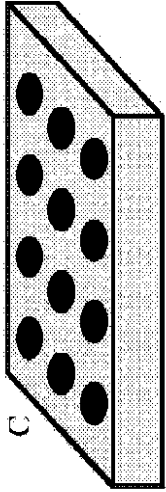
【図 3 A】



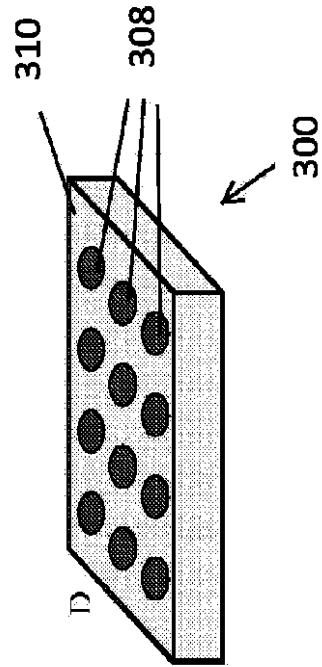
【図 3 B】



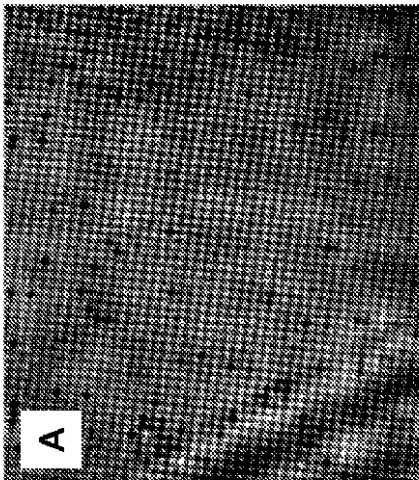
【図 3 C】



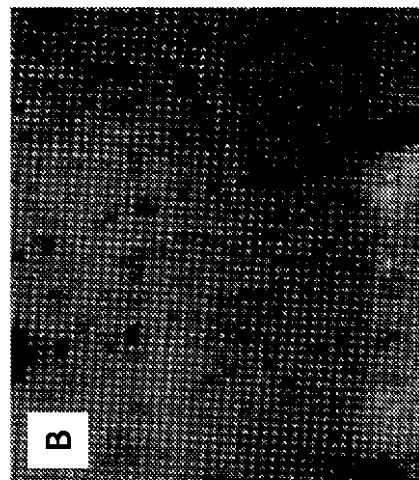
【図 3 D】



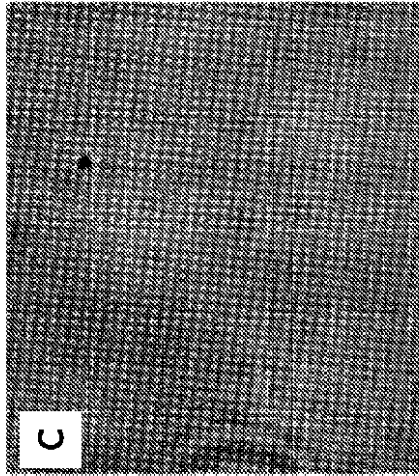
【図 4 A】



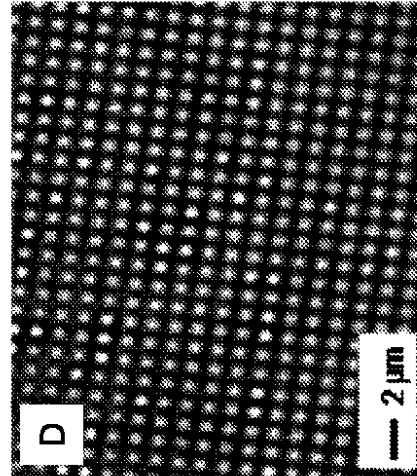
【図 4 B】



【図 4 C】



【図 4 D】



【図 5】

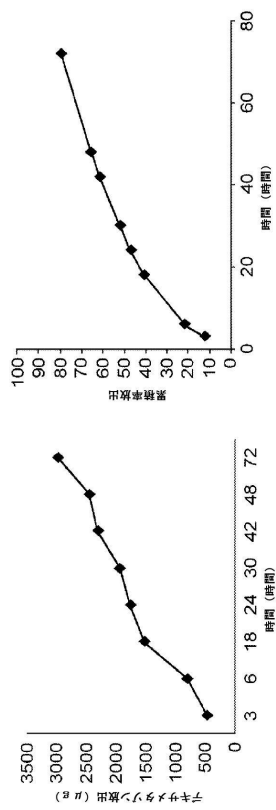


FIG. 5

【図 6】

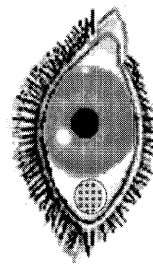
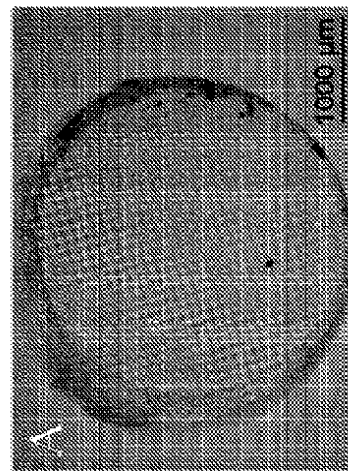
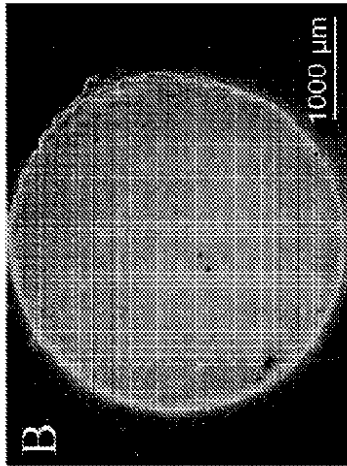


FIG. 6

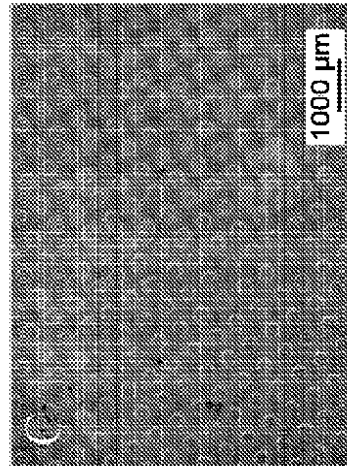
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 7 C】



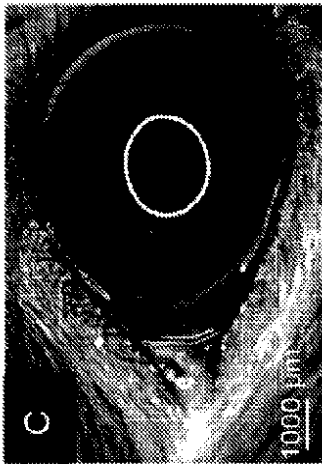
【図 8 A】



【図 8 B】



【図 8 C】



【図 9】

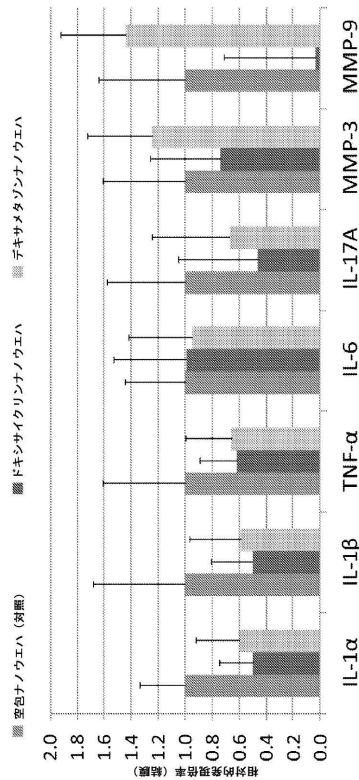


FIG. 9

【図 10】

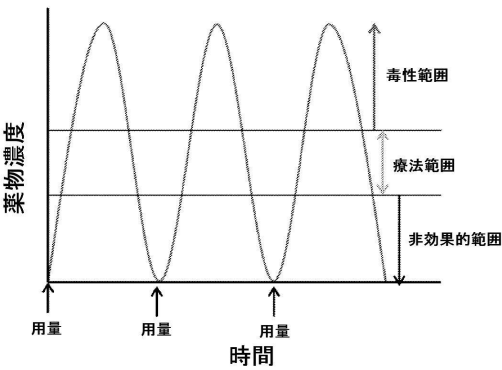


FIG. 10

【図 11】

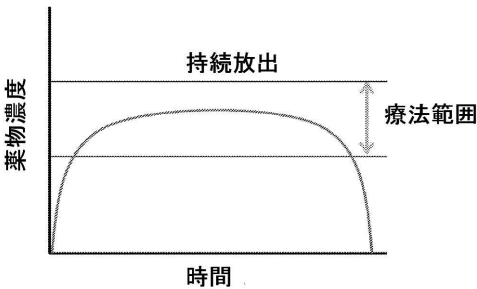


FIG. 11

【図 1 2 - 1】

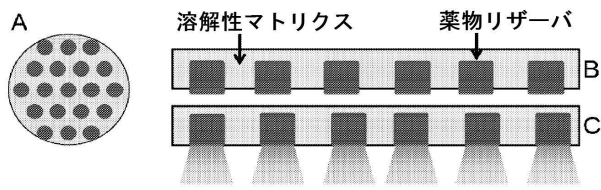


FIG. 12

【図 1 2 - 3】

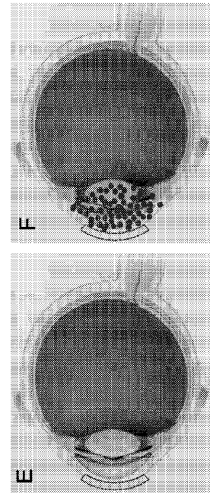


FIG. 12

【図 1 2 - 2】

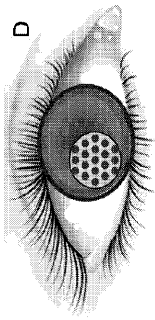


FIG. 12

【図 1 2 - 4】

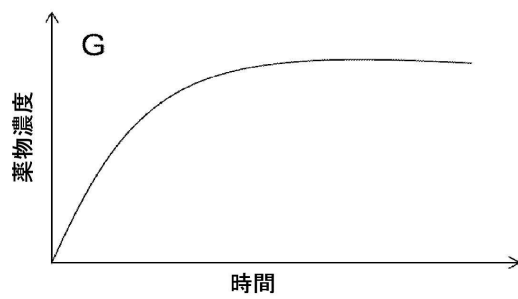


FIG. 12

【図 1 3 - 1】

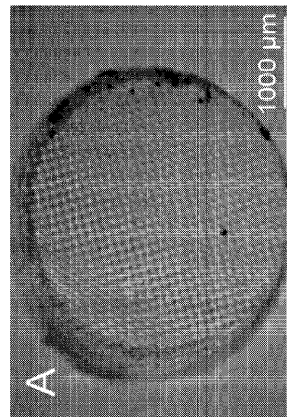


FIG. 13

【図 13 - 2】

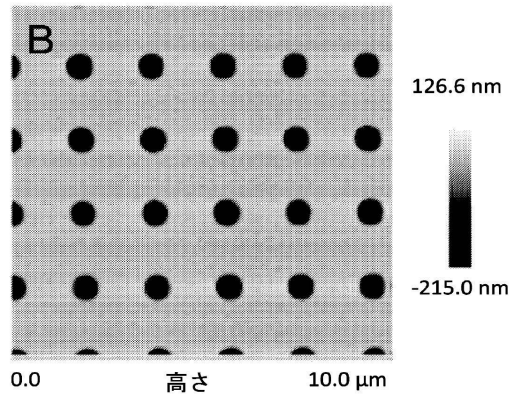


FIG. 13

【図 13 - 4】

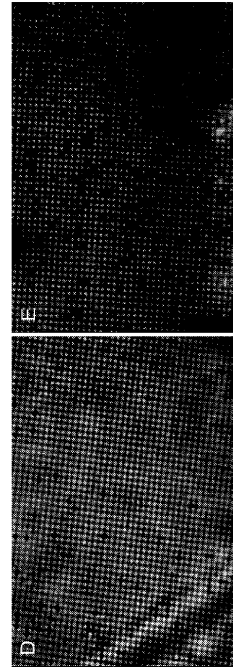


FIG. 13

【図 13 - 3】

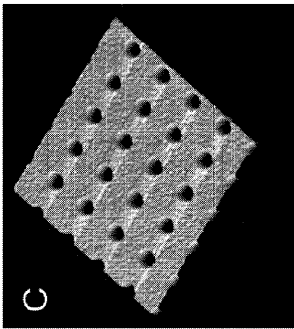


FIG. 13

【図 14】

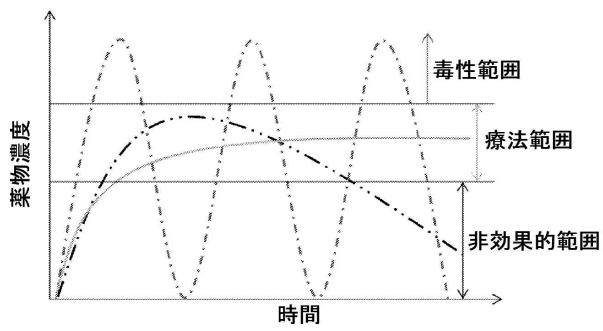


FIG. 14

【図 15】

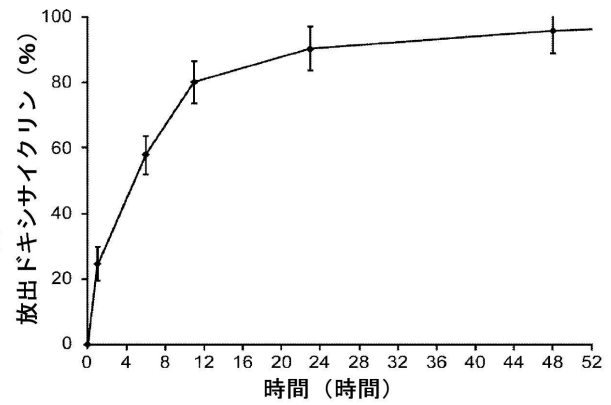
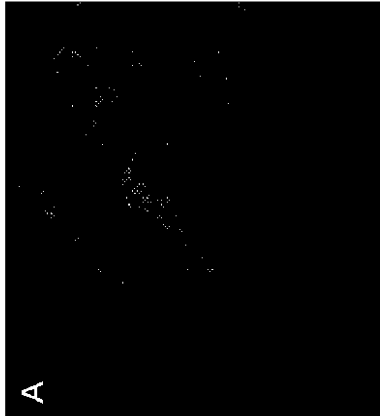


FIG. 15

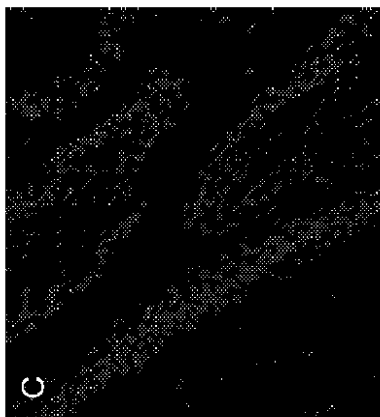
【図 16 A】



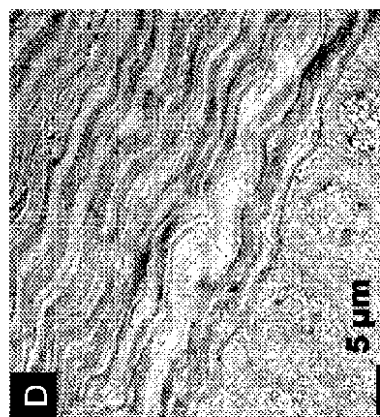
【図 16 B】



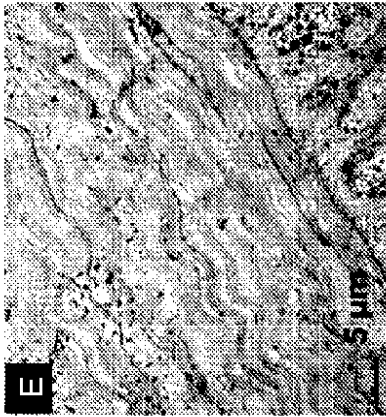
【図 16 C】



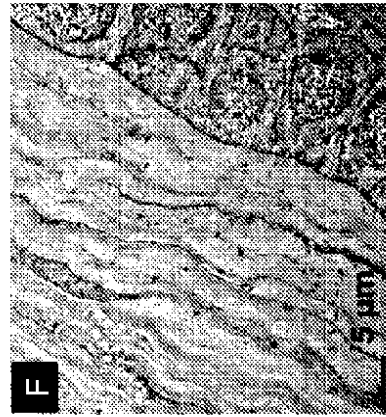
【図 16 D】



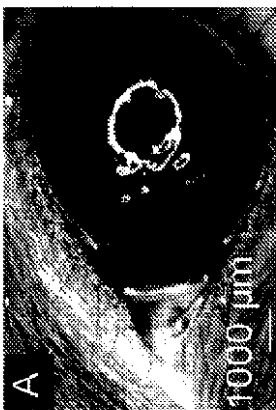
【図 16 E】



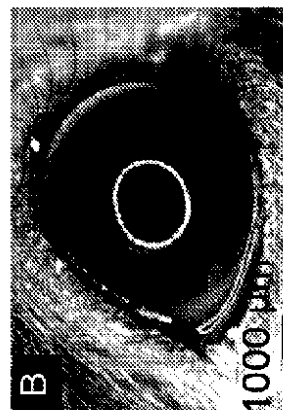
【図 16 F】



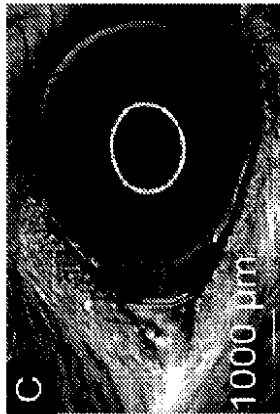
【図 17 A】



【図 17 B】



【図 17 C】



【図 18】

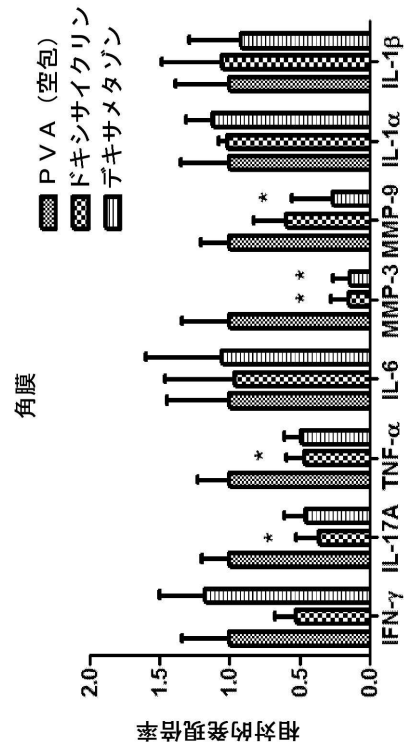


FIG. 18

【図 19】

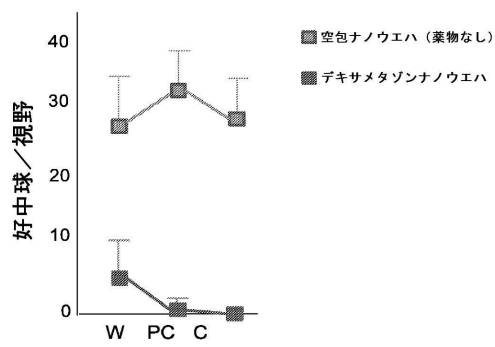


FIG. 19

【図 20】

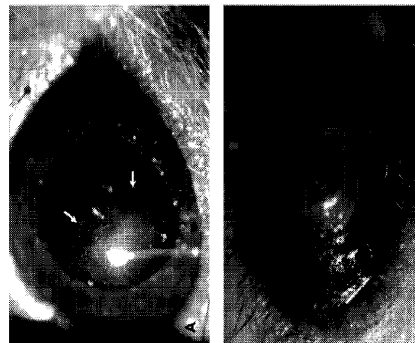
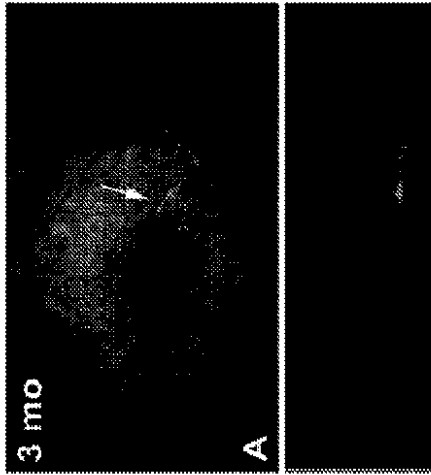
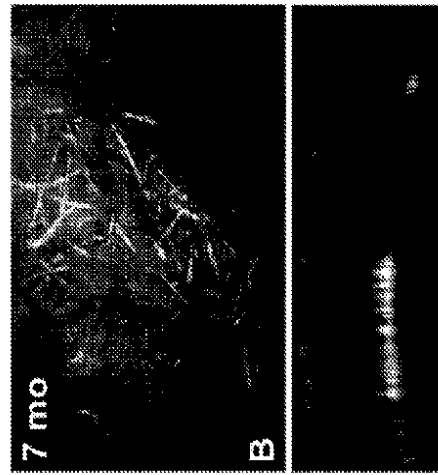


FIG. 20

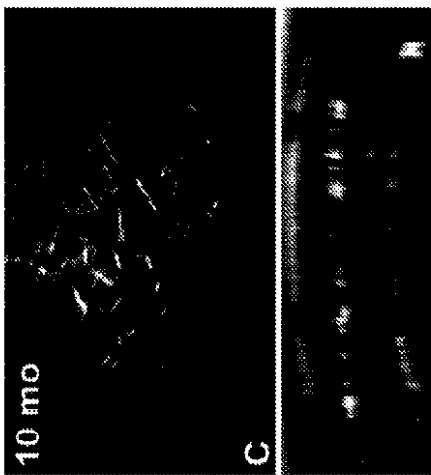
【図 2 1 A】



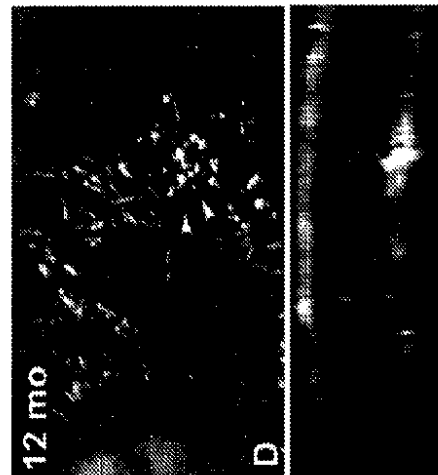
【図 2 1 B】



【図 2 1 C】



【図 2 1 D】



【 図 2 2 】

システアミン濃度 (n g / ウエハ)	角膜混濁率
0	0%
50	0%
100	0%
150	0%
175	~1-2%
200	~20%
500	~100%

FIG. 22

【 図 2 3 】

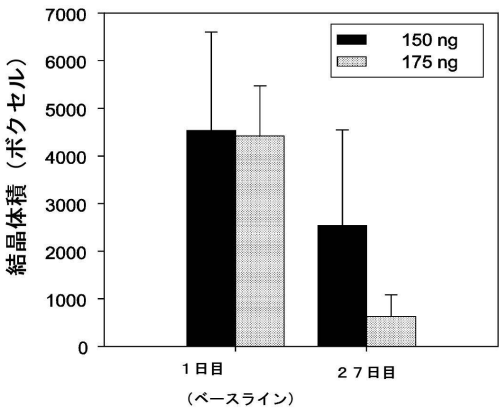


FIG. 23

【 図 2 4 】

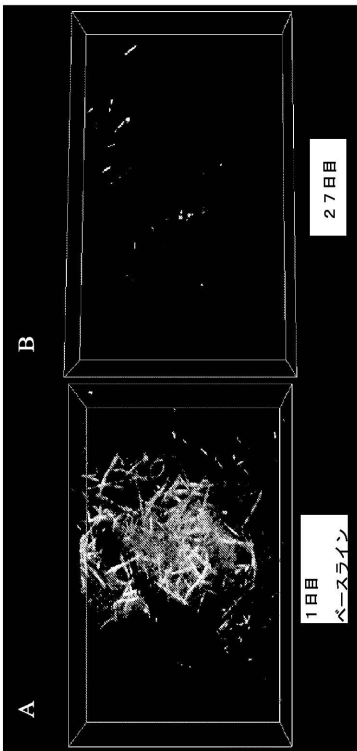


FIG. 24

【 図 2 5 - 1 】

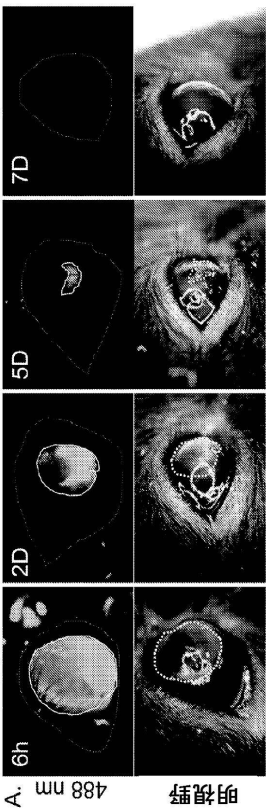


FIG. 25

【図 25 - 2】

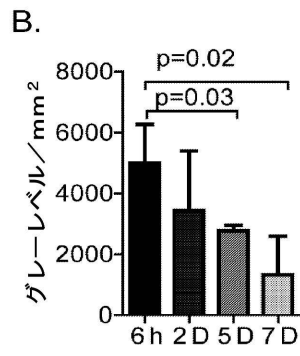


FIG. 25

【図 26】

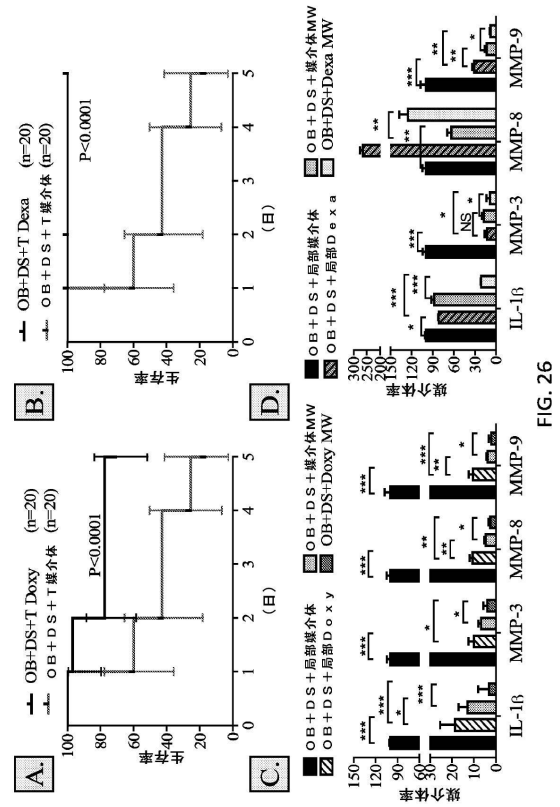


FIG. 26

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 47/42	(2017.01)	A 6 1 K 47/42
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 27/06	(2006.01)	A 6 1 P 27/06
A 6 1 P 31/00	(2006.01)	A 6 1 P 31/00
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00
A 6 1 K 31/65	(2006.01)	A 6 1 K 31/65
A 6 1 K 31/573	(2006.01)	A 6 1 K 31/573
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 アチャリヤ, ガナシャム

アメリカ合衆国 テキサス 77054, ヒューストン, アルメダ ロード 7009 アパートメントナンバー 821

(72)発明者 フルーグフェルダー, スティーブン シー.

アメリカ合衆国 テキサス 77005, ヒューストン, ユニバーシティ ブールバード 2738

(72)発明者 デ パイバ, シンティア エス.

アメリカ合衆国 テキサス 77096, ヒューストン, マンハッタン ドライブ 8827

(72)発明者 シンプソン, ジェニファー エル.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 92603, アーバイン, ニードル グラス 19

審査官 澤田 浩平

(56)参考文献 特開2009-142661(JP,A)

特表2012-511395(JP,A)

特表2003-515787(JP,A)

特表2012-517330(JP,A)

特表2010-533225(JP,A)

米国特許出願公開第2010/0216700(US,A1)

米国特許出願公開第2010/0278931(US,A1)

国際公開第2012/019047(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 F 9 / 0 0 - 9 / 0 8 ,

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2 ,

A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 1 / 8 0 ,

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9 ,

A 6 1 L 3 1 / 0 0 - 3 1 / 1 8 ,

A 6 1 M 3 5 / 0 0 ,

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

JSTPlus (JDreamIII),

JMEDPlus (JDreamIII),

JST7580 (JDreamIII),
PubMed