

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6049637号  
(P6049637)

(45) 発行日 平成28年12月21日(2016.12.21)

(24) 登録日 平成28年12月2日(2016.12.2)

(51) Int.Cl.		F I	
<b>C03C</b>	<b>3/095</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 3 C 3/095
<b>C03C</b>	<b>12/00</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 3 C 12/00
<b>C03C</b>	<b>4/08</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 3 C 4/08
<b>A61K</b>	<b>33/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 33/00
<b>A61K</b>	<b>33/24</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 33/24

請求項の数 34 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-550965 (P2013-550965)  
 (86) (22) 出願日 平成24年1月27日(2012.1.27)  
 (65) 公表番号 特表2014-508701 (P2014-508701A)  
 (43) 公表日 平成26年4月10日(2014.4.10)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2012/000341  
 (87) 国際公開番号 W02012/101524  
 (87) 国際公開日 平成24年8月2日(2012.8.2)  
 審査請求日 平成27年1月21日(2015.1.21)  
 (31) 優先権主張番号 61/437,566  
 (32) 優先日 平成23年1月28日(2011.1.28)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 516007799  
 エイビーケイ バイオメディカル インコ  
 ーポレイテッド  
 カナダ ノバスコシア州 ハリファックス  
 サマー ストリート 1 3 4 4 # 2 1  
 2  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫  
 (74) 代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝  
 (74) 代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】放射線不透過性塞栓粒子

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下を含む、血管閉塞において用いるための粒状材料：

0.4 ~ 0.57 モル分率の  $SiO_2$  ；

0 ~ 0.05 モル分率の  $TiO_2$  ；

0.04 ~ 0.188 モル分率の  $La_2O_3$  ；

0.068 ~ 0.29 モル分率の  $ZnO$  ；ならびに

$Na_2O$ 、 $MgO$ 、 $SrO$ 、および  $CaO$ 、

ここで  $Na_2O$ 、 $MgO$ 、 $SrO$ 、および  $CaO$  は合わせて 0.14 モル分率で存在する

。

【請求項2】

$MgO$  が 0.035 モル分率で存在する、請求項1記載の粒状材料。

【請求項3】

$SrO$  が 0.035 モル分率で存在する、請求項1または2記載の粒状材料。

【請求項4】

$Na_2O$  が 0.035 モル分率で存在する、請求項1、2、または3記載の粒状材料。

【請求項5】

$CaO$  が 0.035 モル分率で存在する、請求項1 ~ 4のいずれか一項記載の粒状材料

。

【請求項6】

Na<sub>2</sub>O、MgO、SrO、およびCaOがそれぞれ0.035モル分率で存在する、請求項1記載の粒状材料。

【請求項7】

La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>が0.04～0.068モル分率で存在する、請求項1～6のいずれか一項記載の粒状材料。

【請求項8】

TiO<sub>2</sub>が0.017～0.05モル分率で存在する、請求項1～7のいずれか一項記載の粒状材料。

【請求項9】

以下から成る、請求項1記載の粒状材料：

- 0.562モル分率のSiO<sub>2</sub>；
- 0.042モル分率のTiO<sub>2</sub>；
- 0.068モル分率のLa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>；
- 0.035モル分率のMgO；
- 0.035モル分率のNa<sub>2</sub>O；
- 0.188モル分率のZnO；
- 0.035モル分率のCaO；および
- 0.035モル分率のSrO。

10

【請求項10】

0.1モル分率以下のアルミノケイ酸塩、リン酸塩またはその組み合わせを含む、請求項1記載の粒状材料。

20

【請求項11】

治療成分をさらに含む、請求項1～10のいずれか一項記載の粒状材料。

【請求項12】

前記治療成分が生理的条件下で放出される、請求項11記載の粒状材料。

【請求項13】

Q<sup>1</sup>～Q<sup>3</sup>のQ-スペシエーション(Q-speciation)を有する、請求項1～12のいずれか一項記載の粒状材料。

【請求項14】

Q<sup>2</sup>～Q<sup>3</sup>のQ-スペシエーションを有する、請求項13記載の粒状材料。

30

【請求項15】

45～1180μmの平均直径を有する、請求項1～14のいずれか一項記載の粒状材料。

【請求項16】

200～1000μmの平均直径を有する、請求項15記載の粒状材料。

【請求項17】

300～500μmの平均直径を有する、請求項15記載の粒状材料。

【請求項18】

500～710μmの平均直径を有する、請求項15記載の粒状材料。

【請求項19】

請求項1～18のいずれか一項記載の粒状材料；および  
該粒状材料をコーティングするポリマー、またはその中に該粒状材料を懸濁するポリマーマトリックスを含む、組成物。

40

【請求項20】

前記ポリマーが乳酸-グリコール酸コポリマーを含む、請求項19記載の組成物。

【請求項21】

前記ポリマーがポロキサマーを含む、請求項19記載の組成物。

【請求項22】

治療成分をさらに含む、請求項19～21のいずれか一項記載の組成物。

50

## 【請求項 2 3】

前記治療成分が生理的条件下で放出される、請求項 2 2 記載の組成物。

## 【請求項 2 4】

血管奇形の処置のための、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項記載の粒状材料。

## 【請求項 2 5】

臓器切除のための、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項記載の粒状材料。

## 【請求項 2 6】

化学塞栓術のための、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項記載の粒状材料。

## 【請求項 2 7】

出血の処置のための、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項記載の粒状材料。

10

## 【請求項 2 8】

子宮筋腫塞栓術のための、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項記載の粒状材料。

## 【請求項 2 9】

血管閉塞において用いるための、請求項 1 9 ~ 2 3 のいずれか一項記載の組成物。

## 【請求項 3 0】

血管奇形の処置のための、請求項 2 9 記載の組成物。

## 【請求項 3 1】

臓器切除のための、請求項 2 9 記載の組成物。

## 【請求項 3 2】

化学塞栓術のための、請求項 2 9 記載の組成物。

20

## 【請求項 3 3】

出血の処置のための、請求項 2 9 記載の組成物。

## 【請求項 3 4】

子宮筋腫塞栓術のための血管閉塞において用いるための、請求項 1 9 ~ 2 3 のいずれか一項記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

## 関連出願の相互参照

本出願は、2012年1月28日提出の米国特許仮出願第61/437,566号の恩典を主張し、これはあらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

30

## 【0 0 0 2】

## 発明の分野

本発明は、放射線不透過性であり、塞栓術実施に適した、粒状材料に関する。

## 【背景技術】

## 【0 0 0 3】

## 背景

ポリマー粒子は、子宮平滑筋腫などの血管過多腫瘍および血管奇形などの血管異常（それらに限定されるわけではない）の処置における血管の選択的閉塞のために、インターベンショナルラジオロジーの放射線科医によってしばしば用いられる。しかし、現行の最先端技術を用いた粒子は、そのような製品の市場への浸透を制限する多くの欠点に悩まされている。欠点には、粒子が放射線不透過性でないことが含まれる。したがって、医師は粒子の設置を放射線撮影によってモニターすることができない。その結果、非標的塞栓形成および貫通塞栓形成による逆流などの、塞栓術の合併症が検出不可能となる。この問題に対する現行のアプローチには、放射線撮影によって認識できる造影剤を含む媒質中に粒子を分散させることが含まれる。しかし、これは造影剤自体の問題を引き起こす。造影剤によって誘発される腎症は、造影剤に曝露された患者の約7パーセントで起こる。造影剤によって誘発される腎症は、腎不全を引き起こしうる急性腎損傷によって特徴付けられる。造影剤への曝露は、院内腎不全の三番目に多い原因である。加えて、現在用いられている粒子の分解は制御することができない。非分解性であるか、または異なる程度の分解性を

40

50

有する粒子を選択することができれば、塞栓術の対象となる様々な損傷のためのより多くの処置選択肢が可能となる。経時的に分解する粒子の使用によって、処置した損傷がなくなつた後に、閉塞した血管の血管再生が可能となり、正常組織への血流の回復が起こり得る。これは、胃腸出血の処置などの場合に望ましいであろう。他の場合には、非分解性粒子の使用により、根元的血管の血管再生が防止される。これは、血管奇形などの血管損傷において望ましいであろう。

【0004】

したがって、放射線撮像法のための造影剤の添加を制限し、その分解を制御しうる、改善された塞栓粒子が必要とされている。

【発明の概要】

【0005】

概要

TiO<sub>2</sub>、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>OおよびMgOまたはSrOの1つまたは複数を含む粒状材料を提供する。1つの態様において、粒状材料は：0.4~0.7モル分率のSiO<sub>2</sub>；0.04~0.7モル分率のTiO<sub>2</sub>；0.04~0.5モル分率のLa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>；0.03~0.3モル分率のMgO；および0.03~0.3モル分率のNa<sub>2</sub>Oを含む。1つの態様において、MgOは0.05~0.2モル分率で存在する。粒状材料は任意にSrOを含んでいてもよい。SrOが含まれる場合、MgOおよびSrOは合わせて0.05~0.3モル分率で存在しうる。または、MgOおよびSrOは合わせて0.05~0.2モル分率で存在する。La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は0.04~0.4モル分率または0.04~0.3モル分率で存在しうる。TiO<sub>2</sub>は0.04~0.3モル分率または0.04~0.2モル分率で存在しうる。SiO<sub>2</sub>は0.4~0.6モル分率または0.4~0.5モル分率で存在しうる。Na<sub>2</sub>Oは0.03~0.2モル分率または0.03-0.15モル分率で存在する。

【0006】

いくつかの局面において、粒状材料は放射線不透過性である。

【0007】

いくつかの局面において、粒状材料は生体適合性である。

【0008】

粒状材料は任意にインビボで分解性である。1つの態様において、粒状材料は実質的に6ヶ月よりも長期で分解する。または、粒子は非吸収性である。

【0009】

いくつかの局面において、粒状材料は生理的条件下で治療成分を放出する。

【0010】

いくつかの局面において、粒状材料はQ<sup>1</sup>~Q<sup>3</sup>または約Q<sup>2</sup>のQ-スペシエーション(Q-speciation)を有する。

【0011】

いくつかの局面において、粒状材料の粒子は45~1180 μm、200~1000 μm、100~300 μm、300~500 μm、500~710 μmまたは710~1000 μmの平均直径を有する。

【0012】

いくつかの局面において、粒状材料は0.1モル分率以下のアルミノケイ酸塩、リン酸塩またはその組み合わせを含む。

【0013】

粒状材料は任意にポリマーコーティングを含む化合物、またはポリマーマトリックス中に分散している。1つの態様において、ポリマーは乳酸-グリコール酸コポリマーを含む。加えて、または代わりに、ポリマーはポロキサマーを含む。1つの態様において、ポロキサマーはPluronic F127である。ポリマーは任意に生理的条件下で放出される治療成分を含む。

【0014】

1つの局面において、前記請求項のいずれかの粒状材料を、血管閉塞のために用いる。血管閉塞は血管奇形の処置、臓器切除、化学塞栓術、出血の処置または子宮筋腫塞栓術のためでありうる。

[本発明1001]

10

20

30

40

50

SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>OおよびMgOの1つまたは複数を含む粒状材料。

[本発明1002]

下記の1つまたは複数を含む、本発明1001の粒状材料：

0.4～0.7モル分率のSiO<sub>2</sub>；

0.04～0.7モル分率のTiO<sub>2</sub>；

0.04～0.5モル分率のLa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>；

0.03～0.3モル分率のMgO；および

0.03～0.3モル分率のNa<sub>2</sub>O。

[本発明1003]

下記を含む、本発明1001の粒状材料：

0.4～0.7モル分率のSiO<sub>2</sub>；

0.04～0.7モル分率のTiO<sub>2</sub>；

0.04～0.5モル分率のLa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>；

0.03～0.3モル分率のMgO；および

0.03～0.3モル分率のNa<sub>2</sub>O。

[本発明1004]

MgOが0.03～0.2モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1005]

SrOをさらに含む、本発明1001の粒状材料。

[本発明1006]

MgOおよびSrOが合わせて0.03～0.3モル分率で存在する、本発明1005の粒状材料。

[本発明1007]

MgOおよびSrOが合わせて0.05～0.2モル分率で存在する、本発明1006の粒状材料。

[本発明1008]

La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>が0.04～0.4モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1009]

La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>が0.04～0.3モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1010]

TiO<sub>2</sub>が0.04～0.3モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1011]

TiO<sub>2</sub>が0.04～0.2モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1012]

SiO<sub>2</sub>が0.4～0.6モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1013]

SiO<sub>2</sub>が0.5～0.6モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1014]

Na<sub>2</sub>Oが0.03～0.2モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1015]

Na<sub>2</sub>Oが0.03～0.15モル分率で存在する、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1016]

放射線不透過性である、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1017]

生体適合性である、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1018]

インビポで分解性である、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1019]

実質的に6ヶ月よりも長期で分解する、本発明1018の粒状材料。

[本発明1020]

治療成分をさらに含む、前記本発明のいずれかの粒状材料。

[本発明1021]

10

20

30

40

50

- 前記治療成分が生理的条件下で放出される、本発明1020の粒状材料。
- [本発明1022]  
Q<sup>1</sup>～Q<sup>3</sup>のQ-スペシエーション(Q-speciation)を有する、前記本発明のいずれかの粒状材料。
- [本発明1023]  
Q<sup>1</sup>のQ-スペシエーションを有する、本発明1022の粒状材料。
- [本発明1024]  
45～1180 μmの平均直径を有する、前記本発明のいずれかの粒状材料。
- [本発明1025]  
200および1000 μmの平均直径を有する、本発明1024の粒状材料。 10
- [本発明1026]  
300～500 μmの平均直径を有する、本発明1025の粒状材料。
- [本発明1027]  
500～710 μmの平均直径を有する、本発明1025の粒状材料。
- [本発明1028]  
ポリマーコーティングをさらに含む、前記本発明のいずれかの粒状材料。
- [本発明1029]  
前記ポリマーコーティングが乳酸-グリコール酸コポリマーを含む、本発明1028の粒状材料。 20
- [本発明1030]  
前記ポリマーコーティングがポロキサマーを含む、本発明1028の粒状材料。
- [本発明1031]  
前記ポリマーコーティングがPluronic F-127を含む、本発明1030の粒状材料。
- [本発明1032]  
治療成分をさらに含む、本発明1028の粒状材料。
- [本発明1033]  
前記治療成分が生理的条件下で放出される、本発明1032の粒状材料。
- [本発明1034]  
0.1モル分率以下のアルミノケイ酸塩、リン酸塩またはその組み合わせを含む、前記本発明のいずれかの粒状材料。 30
- [本発明1035]  
血管閉塞において用いるための、前記本発明のいずれかの粒状材料。
- [本発明1036]  
血管奇形の処置のための、本発明1035の粒状材料。
- [本発明1037]  
臓器切除のための、本発明1035の粒状材料。
- [本発明1038]  
化学塞栓術のための、本発明1035の粒状材料。
- [本発明1039]  
出血の処置のための、本発明1035の粒状材料。 40
- [本発明1040]  
子宮筋腫塞栓術のための血管閉塞において用いるための、本発明1001～1024または1026～1034のいずれかの粒状材料。
- 【図面の簡単な説明】
- 【0015】
- 【図1】1つの態様による粒子を示す。
- 【図2】8つの粒子のDSCトレースである。
- 【図3】合成した例示的粒子のXRDパターンである。
- 【図4A】合成した例示的粒子の等高線プロットである。
- 【図4B】合成した例示的粒子の等高線プロットである。 50

- 【図4C】合成した例示的粒子の等高線プロットである。
- 【図4D】合成した例示的粒子の等高線プロットである。
- 【図5】ORP5およびContour(商標)からの対照試料の形態学的データ(SEM)。
- 【図6】ORP5の化学的(EDX)データを示す。
- 【図7】実験的塞栓材料の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルを示す。
- 【図8】実験的塞栓材料ORP6の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルを示す。
- 【図9A】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づく等高線プロットを示す。
- 【図9B】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づく等高線プロットを示す。
- 【図9C】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づく等高線プロットを示す。
- 【図9D】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づく等高線プロットを示す。 10
- 【図10A】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づくさらなる等高線プロットを示す。
- 【図10B】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づくさらなる等高線プロットを示す。
- 【図10C】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づくさらなる等高線プロットを示す。
- 【図10D】図7の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルに基づくさらなる等高線プロットを示す。
- 【図11】8つの塞栓微粒子のSi(図11A)およびNa(図11B)放出のイオン放出特性を示す。
- 【図12】8つの塞栓微粒子のCa(図12A)およびSr(図12B)放出のイオン放出特性を示す。
- 【図13】8つの塞栓微粒子のTi(図13A)およびLa(図13B)放出のイオン放出特性を示す。 20
- 【図14】8つの塞栓微粒子のMgのイオン放出特性(図14A)およびZnの平均( $\pm$ SD)放出レベル(図14B)を示す。
- 【図15】120時間のインキュベーション期間後のSi(図15A)およびNa(図15B)の放出レベルに対する塞栓材料組成の効果を示す。
- 【図16】120時間のインキュベーション期間後のCa(図16A)およびSr(図16B)の放出レベルに対する塞栓材料組成の効果を示す。
- 【図17】120時間のインキュベーション期間後のTi(図17A); La(図17B)およびMg(図17C)の放出レベルに対する塞栓材料組成の効果を示す。
- 【図18】細胞生存度および細胞毒性データを示す。
- 【図19】4つの様々なTi添加における実験的塞栓材料細胞生存度(%)に対する組成-相 30  
相互作用効果を示す等高線プロットを示す。
- 【図20】食塩水/造影剤の様々な希釈度でのORP対PVAの放射線不透過性の比較を示す。
- 【図21】ORP5およびContourの性能に関する、各群1匹の動物からの組織学的データを示す。
- 【図22】NZWウサギの皮内刺激試験計画を示す。
- 【図23】24、48および72時間観察後の3匹のNZWウサギの皮内注射部位の画像である。
- 【図24】時間に対するイオン溶解生成物の関数としての遠紫外線円偏光二色性(CD)分光法によりモニターしたFg配座における変化を示す。
- 【図25】アウトライナーを含む(図25A)および含まない(図25B)血小板LDH検定(ORP 40  
5対PVA)の結果を示す。
- 【発明を実施するための形態】
- 【0016】

#### 詳細な説明

粒状材料の粒子は中核および任意の圧縮可能な外殻/基材を含む。中核は $\text{SiO}_2$ 、 $\text{La}_2\text{O}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{O}$ 、 $\text{MgO}$ および $\text{SrO}$ の1つまたは複数を含む。任意の圧縮可能な外殻/基材は生体適合性ポリマーを含む。さらに提供される粒状材料は、 $\text{SiO}_2$ 、 $\text{La}_2\text{O}_3$ 、 $\text{TiO}_2$ 、 $\text{ZnO}$ 、 $\text{MgO}$ 、 $\text{Na}_2\text{O}$ 、 $\text{SrO}$ 、および $\text{CaO}$ の1つまたは複数を含む中核を有する。いくつかの態様において、粒状材料は、リン酸塩およびアルミノケイ酸塩を実質的に含まない。いくつかの態様において、粒状材料は、0.1モル分率以下のアルミノケイ酸塩、リン酸塩またはその組み合わせを含む。驚くことに、粒状材料は生体適合性であるが、リン酸塩またはアルミノケイ酸塩を必要と 50

しない。

【 0 0 1 7 】

#### 中核

1つの態様において、粒状材料は、ガラスセラミックの特性を有する。そのような態様において、成分が網目を構成し、これはアモルファスまたは結晶であり得る。成分にはSiO<sub>2</sub>、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、TiO<sub>2</sub>、ZnO、MgO、Na<sub>2</sub>O、SrO、およびCaOが含まれる。様々な中核成分の量（ならびに成分の互いの比）を改変することで、材料の特徴をその所期の使用に対して調整することが可能となる。

【 0 0 1 8 】

#### 網目成分

La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は0.04～0.5のモル分率で存在する。もう1つの態様において、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は0.04～0.4モル分率で存在する。もう1つの態様において、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は0.04～0.3モル分率で存在する。La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は粒状材料に放射線不透過性を提供する。ランタンは、歯科適用においてガラスセラミックおよび歯科用複合材料中の放射線不透過剤として何十年も用いられてきた。La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は現行の最先端技術を用いた塞栓剤よりもすぐれた放射線不透過性を提供する。材料が分解するにつれてのLa<sup>3+</sup>の放出は、治療上の利益を提供するというさらなる利益を有する可能性がある。例えば、La<sup>3+</sup>は特定の癌のアノキスを促進し、したがって粒状材料の所期の使用がそれらの癌のアノキスを開始するためである場合には有益である。それらの使用のために、ランタンの量をその目的のために調整する。

【 0 0 1 9 】

粒状材料のもう1つの成分はチタンである。TiO<sub>2</sub>は0.04～0.7モル分率で存在する。いくつかの態様において、TiO<sub>2</sub>は0.04～0.3モル分率で存在する。いくつかの態様において、TiO<sub>2</sub>は0.04～0.2モル分率で存在する。チタンは血栓形成性で、粒状材料中にそれを含むことで、インピボでの粒子周辺の血栓形成性が増大する。粒状材料の血栓形成性を、存在するTiO<sub>2</sub>の量によって調整してもよい。所期の適用に応じて、より多量またはより少量の血栓形成性が必要とされる。

【 0 0 2 0 】

粒状材料の第三の成分はケイ素である。SiO<sub>2</sub>は粒状材料中に0.4～0.7モル分率で存在する。1つの態様において、SiO<sub>2</sub>は0.4～0.6モル分率で存在する。さらにもう1つの態様において、SiO<sub>2</sub>は0.4～0.5モル分率で存在する。

【 0 0 2 1 】

マグネシウムは粒状材料中にMgOの形で0.03～0.3のモル分率で存在する。1つの態様において、MgOは0.03～0.2モル分率で存在する。別の態様において、MgOは0.05～0.3または0.05～0.2モル分率で存在する。マグネシウムは血栓形成性材料で、粒状材料中にそれを含むことで、インピボでの粒子周辺の血栓形成性が増大する。さらに、金属元素であるマグネシウムは、粒状材料の撮像品質を増強し、粒状材料の構造に対しさらなる制御も提供する。いくつかの態様において、第二のアルカリ土類金属酸化物、SrOも用いる。MgOのSrOに対する比は、異なる適用の必要性に応じて、粒状材料の生体適合性の調整を可能にする。例えば、MgOを増やすと安定性の低いガラス網目が得られ、これはいくつかの適用にとって望ましい、より速い分解を引き起こすであろう。SrOを増やすと放射線不透過性が高まり、したがってMgOのSrOに対する比は、粒状材料のこの機能的局面の調整も可能にする。

【 0 0 2 2 】

ナトリウムは粒状材料に分解性を与える。より多くのナトリウムが粒状材料中に存在すると、粒状材料はインピボでより速やかに分解する。Na<sub>2</sub>Oは粒状材料中に0.03～0.3モル分率で存在する。いくつかの態様において、Na<sub>2</sub>Oは粒状材料中に0.03～0.2モル分率で存在する。さらに他の態様において、Na<sub>2</sub>Oは粒状材料中に0.03～0.15モル分率で存在する。1つの態様において、粒子は分解するのに6ヶ月よりも長くかかる。この分解速度の粒子は、血管の早期再疎通が望ましくない場合に有用である。そのような状況の例には、臓器切除（すなわち、透析患者または腎臓移植を受けた患者において高血圧を引き起こしている

10

20

30

40

50

、本来の腎臓の塞栓形成)または悪性腫瘍塞栓術(すなわち、カルチノイド腫瘍、腎細胞癌などの、肝臓へのホルモンの活性な転移性疾患)が含まれる。

#### 【0023】

##### さらなる成分

治療特性を有するさらなる成分を、粒状材料に加えることができる。1つの態様において、そのような治療成分は、粒子へのインピゴ表面改変に関連して放出する。次いで、これらの成分は体内で粒子から放出される。網目改変成分の構成を用いて、治療成分の放出を制御する。そのような成分の例には、治療的イオンおよび化学療法剤が含まれる。治療的イオンには、例えば、 $\text{Ca}^{2+}$ が含まれ、これは凝固を助ける。1つの態様において、カルシウムは粒子中に $\text{CaO}$ の形で提供される。

10

#### 【0024】

##### 中核/粒子の性質

1つの態様において、粒状材料はセラミックである。セラミックは、加熱およびその後の冷却によって調製される、無機、非金属材料である。セラミックは通常は、例えば、アルミニウムと酸素、カルシウムと酸素ならびにケイ素と窒素などの金属と非金属元素との間で形成される。セラミックは結晶性、部分的結晶性またはアモルファス構造を有し得、ガラスとも呼ばれるセラミックガラスを含む。他のセラミックには、エナメル、ガラスセラミック(セラミック結晶を含むガラス)、および無機セメント型材料(セメント、プラスチックおよび石灰)が含まれる。1つの態様において、粒状材料はガラスである。ガラスは非結晶性、すなわちアモルファス構造を有する任意の固体で、加熱によりガラス転移を示す。

20

#### 【0025】

Q-スペシエーションはガラス材料を特徴付けるためのシステムとして当技術分野において公知である。ケイ素周囲のいくつの酸素が架橋酸素であるかの尺度である。 $Q^n$ の上付き文字nが大きいほど、網目の四面体ユニットにより多くの架橋酸素がある。上付き文字nは0から4であり得る。1つの態様において、本発明の粒状材料は $Q^1$ から $Q^3$ の間のQ-スペシエーションを有し、対応する網目の連結度は1から3の間である。1つの態様において、粒状材料は $Q^2$ のQ-スペシエーションを有する。

#### 【0026】

##### 圧縮可能な外殻/基材

図1は、1つの態様による粒子を示す。粒子は、前述の中核101と同様、生体適合性ポリマーの圧縮可能な外殻/基材103も含む。そのような態様を図1に示す。前に述べたとおり、中核をポリマー基材に懸濁することもできる。可能なポリマーには、乳酸-グリコール酸コポリマー(「PLGA」)およびポロキサマーが含まれる。1つの態様において、外殻/基材には、BASFから入手可能なPluronic F127が含まれる。この外殻/基材は、治療的利益のための薬物溶出を可能にする。例には、悪性腫瘍の化学塞栓術が含まれる。具体例には、肝臓の肝細胞癌が含まれる。溶出されうるさらなる薬物には、例えば、血管閉塞の程度を増強する血栓形成剤が含まれる。外殻/基材の圧縮可能性は、粒状材料の臨床的配備において有用である。

30

#### 【0027】

##### 粒状材料のサイズ

粒状材料の個々の粒子は平均直径45から1180  $\mu\text{m}$ の間である。または、粒子は平均直径200から1000  $\mu\text{m}$ の間である。粒子の様々な用途は粒子の異なるサイズを必要とする。したがって、1つの態様において、粒子は、悪性腫瘍塞栓術において必要とされうる、深部腫瘍壊死のために有用な、100~300  $\mu\text{m}$ の平均直径を有する。もう1つの態様において、粒子は、300~500  $\mu\text{m}$ の平均直径を有し、胃腸または外傷性出血を処置するために用いられる。300~500  $\mu\text{m}$ の粒子は、子宮筋腫塞栓術およびほとんどの他の臓器または腫瘍塞栓術のための粒子の初期サイズとしても用いることができる。もう1つの別の態様において、粒子は500~710  $\mu\text{m}$ の平均直径を有する。500~710  $\mu\text{m}$ の粒子は、子宮筋腫の塞栓術でも用いられる。子宮筋腫の塞栓術のために、どのサイズ範囲、すなわち300~500  $\mu\text{m}$ または500~

40

50

710 μmを用いるかは、粒子の他の特徴に依存する。さらにもう1つの別の態様において、粒子は710~1000 μmの平均直径を有し、胃腸出血または外傷性出血などの出血部位に対し、「頭部圧」を低下させるための近位塞栓術のために有用である。

【0028】

粒状材料のさらなる使用

本発明の粒状材料を、血管閉塞のために用いてもよい。1つの態様において、門脈塞栓術、化学塞栓術および任意の原因による出血を含む、子宮筋腫、血管奇形および他の血管異常または損傷、臓器切除の処置において、血管閉塞を用いる。

【実施例】

【0029】

10

実施例

ガラス粒状材料の合成

一般に、分析等級試薬の適切な量を適宜秤量し、プラスチック容器内で振盪することにより十分に混合する(30分間)。各バッチの粉末を白金るつぼ中、適切な温度(最初は15 20 で1時間)で加熱する。次いで、ガラス溶融物を水中で急冷する。得られたガラスフリットを乾燥器内で乾燥し(120、1日)、粉碎し、ふるいにかけて、その後の分析用のガラス粉末を回収する。表1および2は粒状材料のための組成の例を示す。表2は本明細書の最後に添付。

【0030】

(表1) 実験計画法を用いて配合した13のガラス組成物(モル分率)。網目改変(NM)成分(Ca; Mg; SrおよびNa)は0.035モル分率で一定に保つ。

20

塞栓の 名称	NC	計画 ポイント <sup>a</sup>	SiO <sub>2</sub>	CaO	ZnO	MgO	La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	SrO	Ti <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O
ORP1	2	V	0.553	0.035	0.137	0.035	0.137	0.035	0.033	0.035
ORP2	2	V	0.570	0.035	0.240	0.035	0.000	0.035	0.050	0.035
ORP3	2	V	0.537	0.035	0.213	0.035	0.068	0.035	0.042	0.035
ORP4	2	V	0.570	0.035	0.000	0.035	0.240	0.035	0.050	0.035
ORP5	2	V	0.562	0.035	0.188	0.035	0.068	0.035	0.042	0.035
ORP6	2	V	0.562	0.035	0.068	0.035	0.188	0.035	0.042	0.035
ORP7	2	A-CB	0.562	0.035	0.213	0.035	0.068	0.035	0.017	0.035
ORP8	2	A-CB	0.570	0.035	0.000	0.035	0.290	0.035	0.000	0.035
ORP9	2	A-CB	0.520	0.035	0.290	0.035	0.000	0.035	0.050	0.035
ORP10	2	A-CB	0.520	0.035	0.000	0.035	0.290	0.035	0.050	0.035
ORP11	2	A-CB	0.570	0.035	0.290	0.035	0.000	0.035	0.000	0.035
ORP12	2	A-CB	0.562	0.035	0.068	0.035	0.213	0.035	0.017	0.035
ORP13	2	C	0.537	0.035	0.068	0.035	0.213	0.035	0.042	0.035

30

40

【0031】

任意の圧縮可能な外殻/基材を改変乳化法によって加える。様々な分子量のPLGAに、様々な重量%のガラス粒子を補充する。PLGAを塩化メチレンに溶解し、次いでガラスを好ましいレベルで溶液に加える。次いで、混合物を攪拌中のPVA溶液中に滴加する。ミクロス

50

フェアをろ過により分離し、脱イオン水で洗浄し、風乾し、次いで真空乾燥する。表3は、ポリマーコーティングを有する粒状材料の例の構成を提供する。

【 0 0 3 2 】

(表3) 実験計画法を用いて配合した9つの複合材料変種(重量%)。ガラスをPLGAベースの重量%で表す。

標準	実行	PLGA	ガラス
ORP2	1	25.00	5.00
ORP8	2	25.00	60.00
ORP1	3	15.00	5.00
ORP9	4	25.00	60.00
ORP7	5	10.00	60.00
ORP6	6	10.00	60.00
ORP4	7	10.00	32.50
ORP3	8	25.0	5.00
ORP5	9	15.0	41.67

10

20

【 0 0 3 3 】

実施例1 - 粒子組成物

粒子組成物(モル分率)  $(0.52 \sim 0.57)\text{SiO}_2 - 0.035\text{CaO} - (0.00 \sim 0.29) - \text{ZnO} - 0.035\text{MgO} - (0.00 \sim 0.188)\text{La}_2\text{O}_3 - 0.035\text{SrO} - (0.00 \sim 0.05)\text{TiO}_2 - 0.035\text{Na}_2\text{O}$  をこの実験のために合成した。分析等級試薬: 二酸化ケイ素、炭酸カルシウム、酸化亜鉛、酸化マグネシウム、酸化ランタン(III)、炭酸ストロンチウム、二酸化チタンおよび炭酸ナトリウム(Sigma Aldrich、カナダ)を秤量し、プラスチック容器(Nalgene(商標)、Sigma Aldrich、カナダ)中で1時間均質に混合した。各バッチの粉末を白金るつぼ(50mL)の中に入れ、次いでBench-Top High Temperature Muffle Furnace(EQ-KSL、MTI Corporation、USA)を用いて加熱(1480、1時間)し、水中で急冷した。得られたフリットを乾燥器内で乾燥し(120、1日)、めのう遊星ミル(Pulverisette 7; Laval Labs Inc.、カナダ)中で粉碎し、様々な孔径を通してふるいにかけて、以下のサイズ範囲の粉末微粒子を生成した:  $< 45 \mu\text{m}$ ;  $45 \sim 12 \mu\text{m}$ ;  $212 \sim 300 \mu\text{m}$ ;  $355 \sim 500 \mu\text{m}$ ;  $> 500 \mu\text{m}$ 。この実験で生成したすべてのバッチの粒子を、この後さらなる評価のために乾燥デシケーター中で保存した。

30

【 0 0 3 4 】

粒状材料の特徴付け

示差走査熱量測定(DSC)

一般に、DSCを用いて各ガラスのガラス転移温度( $T_g$ )の開始を、示差走査熱量計(DSC)を用いて判定する。258.15(最大725まで)の温度間隔を、空気中で、対応させた白金るつぼ中のアルミナ(または他の適切な参照)と共に用いる。用いたDSCの耐用性はおおよそ2%である。

40

【 0 0 3 5 】

実施例2

実施例1で作成した粒子のDSC分析を実施して、ガラス転移温度( $T_g$ )の値を得た。試料(約80mg)を窒素雰囲気下、白金るつぼ中で、空の参照るつぼと一緒に加熱した。標準参照材料は所与の温度範囲のためにすでに事前選択している。 $T_g$ を示差走査熱量計(DSC:T

50

A Instruments-DQ200) で、25 から725 の間を、258.15 の温度間隔で測定した。8つの粒子 (ORP1 ~ 3、ORP5 ~ 7、ORP9およびORP11) のDSCトレースを図2に示す。表4は、 $T_g$ 低下線形混合多項式モデルの要約したANOVA表である。L-Pseudo成分コーディングに関して作成した回帰モデルに基づき、各材料組成物の $T_g$ 挙動の観察値と計算値との間の比較を表にして表5に示す。L-Pseudo成分に関する最終数学的モデルを以下のとおり式1で示す：

$$T_g(\text{ )} = +634.82ZnO + 833.28La_2O_3 + 677.19SiO_2 + 699.01TiO_2 \quad \text{式1.}$$

【 0 0 3 6 】

(表 4)

反応 (有意/ 非有意)	SD	平均	F値	確率>F モデル	$R^2$	調節- $R^2$	予測- $R^2$	CV %	十分な 精度
$T_g$ (°C)	5.05	662.27	31.54	0.0309	0.9793	0.9482	0.7089	0.76	10.728
有意									

10

【 0 0 3 7 】

(表 5)  $T_g$  試験の残差

塞栓組成物	ORP2	ORP3	ORP5	ORP7	ORP9	ORP11
$T_g$ 計算値 (°C)	646.08	680.971	684.087	681.573	639.845	641.05
$T_g$ 実験値 (°C)	643.65	680.20	688.94	677.49	640.23	643.09
残差 (差)	2.43	-0.78	4.85	-4.08	0.39	2.04

20

【 0 0 3 8 】

#### X線回折 (XRD)

一般に、XRDを用いてガラスのアモルファス特性を確認する。各ガラスの粉末試料を圧迫してディスク (32mm × 3mm) を形成する。回折パターンを、X線回折装置を用い、40KVおよび35mAの単色化CuK ( = 1.54060Å) 照射により収集する。走査角範囲 (2 ) を10 ° から70 ° まで、ステップサイズ0.033423 ° およびステップ時間59.69秒で実施する。

【 0 0 3 9 】

#### 実施例3

粒子のX線回折 (XRD) 測定を、X線発生装置 (40kV ; 35mA) に接続し、Cu標的X線管を備えた、彎曲位置敏感検出器によるINEL CPS-120回折計を用いて実施した。試料を、選択した微量粒子 (45 ~ 212 μm) を中空角形スチールウェーハ中に圧迫することにより調製した。入射ビーム経路における単色計は、試料をCu K 1, 2に衝突させる波長を制限する。X線ビームは試料上に約6 ° で入射し、彎曲位置敏感検出器は走査角範囲10 ° < 2 < 110 ° のすべての散乱したX線を収集する。XRDスペクトルの収集時間は1800秒である。粉末試料を、測定および移動操作を逐次プログラムすることを可能にする、INELのx-yトランスレーションステージ上に設置した。

40

【 0 0 4 0 】

図3は、合成した各材料のXRDパターンを示す (A) ガラスORP 2、3、5、7、9、11および (B) ORP 1および6。x軸は2 の角度で測定した散乱角を示し、y軸は任意の単位である。表6は、相識別のための記号を提供する。

50

## 【 0 0 4 1 】

(表 6)

ピーク 識別子	JCPDSカード 番号	相識別子	化学式	組成物に 存在する:
B	00-050-0522	酸化チタン-ランタン- ストロンチウム	$\text{Sr}_3\text{La}_2\text{Ti}_2\text{O}_{10}$	ORP1,6
C	00-042-0423	灰チタン石、 酸化チタンカルシウム	$\text{CaTiO}_3$	ORP6
D	00-049-1433	酸化チタン	$\text{TiO}_2$	ORP6
E	00-039-0190	酸化チタン-亜鉛	$\text{ZnTiO}_3$	ORP1

10

## 【 0 0 4 2 】

驚くことに、これらの複合多成分系の $T_g$ は、4つの組成変種のいずれを増やしても上昇し、組成変種についてのその統計学的有意性レベルは以下の順となる： $\text{La}_2\text{O}_3 > \text{TiO}_2 > \text{SiO}_2 > \text{ZnO}$ 。 $\text{SiO}_2$ 含有量を増やすだけで $T_g$ の上昇を引き起こすと期待されたかもしれない。興味深いことに、より弱いガラス網目の形成が原因とされる $T_g$ の低下に伴い、本明細書における一連のガラスで最も強い網目から最も弱い網目までが形成され、以下の順となる：ORP5 > ORP3 > ORP7 > ORP2 > ORP11 > ORP9。

20

## 【 0 0 4 3 】

## 網目連結度

## 実施例4

各組成物の網目連結度 (NC) を、式2およびガラスのモル組成を用いて計算した<sup>1,2</sup>。結果を表1に示す。

$$NC = \frac{\text{No. BOs} - \text{No. NBOs}}{\text{架橋種の総数}}$$

式 2

式中、NC = 網目連結度；BO = 架橋酸素およびNBO = 非架橋酸素

## 【 0 0 4 4 】

## 実験計画法 (DoE) アプローチを用いての数学的モデルの作成と適用

二次標準シェッフェ多項式の係数を推定するために<sup>3,4</sup>、定義ドメイン (デザインスペース) 内の異なる組成変種 (デザインポイント) を表す13の実験による二次ユーザー定義計画を、Design-Expert 8.0.4ソフトウェア (Stat-Ease, Inc.) を用いて作成した。これらのデザインポイントは、各組成物の制約された範囲に基づいて決定し：6つの実験は頂点先端に設定し；さらなる6つはアキシャルチェックブレンドを調べ、1つは定義デザインスペース内の全体の重心であった。これらの点は、ドメインの興味を持たれる点はそのトップ、サイドの真ん中、フェースの真ん中、およびその重心である、シェッフェの提案と明らかに一致する (表1参照)。混合計画法により、等式を得る。この式はYを、4つの組成因子 ( $\text{ZnO}$ 、 $\text{La}_2\text{O}_3$ 、 $\text{SiO}_2$ および $\text{TiO}_2$ 、それぞれ $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ および $X_4$ と示す) と連結する。

40

## 【 0 0 4 5 】

マジック角回転-核磁気共鳴 (MAS-NMR) 分光法およびDSC反応に適合させた通常の二次シェッフェ (線形) 多項式 (化学シフトおよび線幅) は下記である：

$$Y_A = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + e \quad \text{式3}$$

式中、 $X_1 \sim X_4$ は組成因子であり、 $\beta_1 \sim \beta_4$ 係数は個々の組成因子 $X_1 \sim X_4$ の効果である。eは残差と呼び、この値は選択した各ガラスの計算値と実験値との間の差である。保持するガラスの数が式中の係数の数と同じである場合、これは0となる。選択したガラスの数が係数の数よりも多い場合、残差は各実験で異なる値を有する。

## 【 0 0 4 6 】

50

密度および細胞生存度反応に適合させた標準のシェッフエ二次多項式は下記である：

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \beta_{124} X_1 X_2 X_4 + \beta_{134} X_1 X_3 X_4 + \beta_{234} X_2 X_3 X_4 + e \quad \text{式4}$$

式中、 $X_1 \sim X_4$ は組成因子であり、 $\beta_{1 \sim 4}$ 係数は個々の組成因子 $X_{1 \sim 4}$ の効果であり； $\beta_{12 \sim 24}$ は組成因子間の二方向相互作用の効果を表す回帰の係数であり； $\beta_{123 \sim 234}$ は組成因子間の三方向相互作用の効果を表す回帰の係数であり、 $e$ は残差である。

#### 【0047】

偽および実の値で示した二次モデルの推定係数から、各成分の効果を誘導することができる。反応変数を偽成分の比率に関連づけるすべての混合実験モデルを作成した。偽成分の比率( $z_i$ )を以下のとおりに計算する：

$$z_i = (x_i - L_i) / (1 - L) \quad \text{式5}$$

式中、 $x_i$ は元の成分比率を表し、 $L_i$ は*i*番目の成分の下限(限界)を表し、 $L$ はデザインにおけるすべての成分のすべての下限(限界)の合計を表し、 $1$ は混合物合計を表す。

#### 【0048】

偽成分は元の(実の)成分の組み合わせであり、これは各偽成分の最小許容可能比率がゼロであるように、制約組成物領域を修正する。この変換により、実成分系を用いる場合に比べて、モデル係数がより正確に推定され、したがって以下の議論の文脈では偽成分スケリングに基づいて誘導した係数を指す。しかし、実験対計算データ点およびグラフ表示(等高線プロット)に関して、モデルの有効性を実成分コーディングによって示す。

#### 【0049】

いくつかの反応特性 $y_1, y_2, \dots, y_n$ が $q$ 成分の同じ組の比率でモデリングされている場合、組成物スペースにおいて最良の総括的特性組は望ましき機能アプローチを実行することによって得られる。反応特性に基づくモデルを用いて、特定の目的のために望ましい特性を有する特定の材料のための組成物を決定することができる。

#### 【0050】

##### 真の密度

##### 実施例5

真の密度を、本明細書において合成したすべての粒子についてと、市販の対照材料：Contour(商標)(PVA微粒子)についても、ヘリウム比重びん(AccuPyc 1340、Micromeritics)を用いて測定した。結果は5つの測定記録の平均の代表である。図4Aおよび4Bは得られた等高線プロットで、実成分コーディングにおける4つの様々なTi添加(0.017、0.033、0.042および0.05モル)での実験的粒子密度(g/cc)に対する組成-相互作用効果を示す。

(A)はTi：0.017モル分率であり；(B)はTi：0.033モル分率であり；(C)はTi：0.042モル分率であり；かつ(D)はTi：0.050モル分率である。

#### 【0051】

表7は、 $L_{\text{Pseudo}}$ (1)；実成分(2)に関する最終回帰式ならびに $R^2$ 値；および密度についてのANOVAの概要を示す。ANOVAデータは、モデルが粒状材料の特徴を十分に予測することを示している。

#### 【0052】

(表7)

10

20

30

40

反応	回帰モデル	ANOVA概要					
		R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> <sub>adj.</sub>	R <sup>2</sup> <sub>pred.</sub>	確率 > F	CV (%)	十分な精度
密度 (g/cc)	1 +3.39ZnO + 5.12La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + 2.43SiO <sub>2</sub> + 2.92TiO <sub>2</sub> + 1.07ZnO * La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.9989	0.9975	0.9859	<0.0001	0.55	69.809
	2 +5.65559ZnO + 10.72595La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + 2.82345SiO <sub>2</sub> + 4.26905TiO <sub>2</sub> + 9.211775ZnO * La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>						

10

20

## 【 0 0 5 3 】

表8は、有意な（正および負）主となる相互作用および二次組成因子（最高から最低まで順位付け）ならびに密度増大に対するその効果のまとめであり； は増大を示し、 は低減を示す。実成分コーディングに基づく。

## 【 0 0 5 4 】

(表 8)

組成因子の順位	密度反応
1	↑La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
2	↑ZnO
3	↑TiO <sub>2</sub>
4	↑SiO <sub>2</sub>
5	↑ZnO*La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

30

40

## 【 0 0 5 5 】

示したとおり、密度はLa<sub>2</sub>O<sub>3</sub> > ZnO > TiO<sub>2</sub> > SiO<sub>2</sub>の順で4つの組成変種のいずれを増やすことによっても増大しうる。興味深いことに、ZnOおよびLa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の相互作用（5番目の影響因子）を増やすと、予測されていなかったが、開示したモデルは開示した組成について予測している特徴の、材料密度の増大を引き起こしうる。試験した計画マトリックスにおいて達成された最低レベルの密度（3.2g/cc（ORP2）および3.3（ORP11））は、ORP2からORP11への組成変種におけるわずかな変動（ZnO含有量増加（0.05モル分率）およびTiO<sub>2</sub>含有量減少（0.5モル分率））が、得られる最終細胞生存度にいかに有害に作用しうるかを示

50

しており；それぞれ84%から61%に低減する。興味深いことに、3.5g/cc (±0.3) の範囲の密度 (ORP2、3および5) は、得られる細胞生存度 (86% (±5)) に関して、上位3つの組成変種の代表でもあった。

【 0 0 5 6 】

#### 比表面積決定

N<sub>2</sub> 吸収/脱着を、Brunauer-Emmett-Teller (BET) 法を用いて調べ、調製したガラス粉末の比表面積 (SSA) および多孔度を求める。ガラス試料 (約0.15g ± 0.05g) を窒素雰囲気下、77.35Kに、平衡間隔10秒で置く。

【 0 0 5 7 】

#### 実施例6

微量微粒子およびContour (商標) の理論外部比表面積を、球状微粒子形態の仮定のもと、以下の式<sup>5</sup>によって計算した

$$A = \frac{6}{\rho d}$$

式 6

【 0 0 5 8 】

表9は、比表面積測定値を提供する (45ミクロン (より低いレベル、LL) および212ミクロン (より高いレベル、UL))。

【 0 0 5 9 】

(表 9)

10

20

試料 ID	密度	SD	PD (LL)	PD (UL)	SSA (LL)	SSA (UL)		
	(g/cc)	(g/cc)	cm	cm	cm <sup>2</sup> /g	cm <sup>2</sup> /g		
ORP1	4.09	0.002	0.045	0.212	32.600	6.920		
ORP2	3.17	0.001	0.045	0.212	42.048	8.925		
ORP3	3.77	0.001	0.045	0.212	35.395	7.513		
ORP5	3.70	0.002	0.045	0.212	36.075	7.657	10	
ORP6	4.29	0.001	0.045	0.212	31.087	6.599		
ORP7	3.73	0.002	0.045	0.212	35.737	7.586		
ORP9	3.32	0.001	0.045	0.212	40.136	8.520		
ORP11	3.25	0.003	0.045	0.212	41.038	8.711		
Contour	1.77	0.003	0.045	0.212	75.406	16.006	20	
試料 ID	密度	密度 SD	PD (LL)	PD (UL)	SSA (LL)	SSA (UL)	1m <sup>2</sup>	1cm <sup>2</sup>
	g/m <sup>3</sup>	g/m <sup>3</sup>	m	m	m <sup>2</sup> /g	m <sup>2</sup> /g	g	g
ORP1	4090000	2000	0.000045	0.000212	0.033	0.007	144.51	0.14
ORP2	3171000	1000	0.000045	0.000212	0.042	0.009	112.04	0.11
ORP3	3767000	1000	0.000045	0.000212	0.035	0.008	133.10	0.13
ORP5	3696000	2000	0.000045	0.000212	0.036	0.008	130.59	0.13
ORP6	4289000	1000	0.000045	0.000212	0.031	0.007	151.54	0.15
ORP7	3731000	2000	0.000045	0.000212	0.036	0.008	131.83	0.13
ORP9	3322000	1000	0.000045	0.000212	0.040	0.009	117.38	0.12
ORP11	3249000	3000	0.000045	0.000212	0.041	0.009	114.80	0.11
Contour(商標)	1768200	3000	0.000045	0.000212	0.075	0.016	62.48	0.06

【 0 0 6 0 】

## 走査電子顕微鏡法

## 実施例7

走査電子顕微鏡 (SEM) 観察のために、粉末試料 (粒径範囲: 355 ~ 500 μm) を直径10mm × 高さ3mmのAlスタブに固定し、約27nmの白金で金スパッターコーター (SC7640、Fisons Instruments) を用いてコーティングした。続いて、形態学および化学的分析のために、試料を、Oxford Incaエネルギー分散性x線分光法 (EDS) 装置を備えたHitachi S-4700 FEG-SEMのチャンバーに移した。下方二次電子 (SE) 検出器で、加速電圧5.0kVおよび作動

距離11～12mmを用いた。

【0061】

図5は、1つの実験組成物(ORP5)から誘導した形態学的データ(SEM)を示し;その形態は試験した多成分系のすべての組の代表であり、市販の合法的に市販された装置(predictate device)、Contourと比較している。図5Aは、粒径範囲355～510 $\mu\text{m}$ のContour(商標)の対照試料である。図5Bは、粒径範囲355～510 $\mu\text{m}$ を有するORP5の実験試料である。

【0062】

ORP5の化学的(EDX)データを図6に示し、合成した組成物が表1に報告するとおりであることを示している。

【0063】

非架橋酸素の判定のためのマジック角回転-核磁気共鳴(MAS-NMR)分光法

一般に、ガラスの $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルを、ケイ素に対する1.5 $\mu\text{s}$ の高電力パルス(P1)取得を用い、回転周波数5kHzで記録する。 $^{29}\text{Si}$  MAS-NMR試料を、リサイクル/遅延時間(recycle/delay time)を約2秒に設定して回転させる。 $^{29}\text{Si}$  NMR化学シフトをppmで報告し、周囲のプローブ温度で、2,2-ジメチル-2シラペンタン-5-スルホン酸ナトリウム(DSS)または他の適切な参照品に対して外部参照した $^{29}\text{Si}$ により記録する。固体状態のNMRについて、MASを用いて記録したシフトは試料の等方性バルク磁化率とは無関係である。理想的材料では、データの化学シフトの推定誤差は約0.1ppmで;この値を超える小さい変動が観察されることもある。

【0064】

実施例8

$^{29}\text{Si}$ マジック角回転(MAS)NMR試験を、9.4T磁石のBruker Avance NMR分光計(79.51MHz  $^{29}\text{Si}$  ラーマア回転数)で、回転子直径7mmのプローブヘッドを用いて実施した。標品(<45 $\mu\text{m}$ )を5.00kHzで回転させた。rf磁場強度28kHzで、80°のパルス長を用い、シングルパルス励起で200スキャンを蓄積した。待ち時間を、インバージョンリカバリシーケンスにより求めたスピン格子緩和時間の3倍となるよう選択した。スピン格子緩和時間は15秒から26秒の範囲である。化学シフトスケールを、-91.34ppmの二次化学シフト標準としてカオリンに対して外部参照した。ピーク最大点およびピーク幅上の誤差バーは $\pm 1\text{ppm}$ である。

【0065】

図7は、線幅の低減により分類した(a:ORP11、b:ORP2、c:ORP9、d:ORP7、e:ORP6、f:ORP5、g:ORP3、h:ORP1)、各実験的塞栓材料の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトルを示す(それぞれのピーク最大点およびピーク幅をそれぞれ表10に示す)。速すぎるパルスング(50秒)により結晶シグナルを落としていないことを確認するために、ORP6のさらなる $^{29}\text{Si}$  MAS NMRスペクトルを、より長い反復時間(90秒)で取得した。図8は、反復時間(a)90秒および(b)50秒での実験的塞栓材料ORP6の $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトル、ならびに(c)それらの調整した差を示し;シリカがXRDによって検出された結晶の一部ではないことを検証している。両方のスペクトルにおいて、結晶性成分は認められなかった。ORP1およびORP6のXRDディフラクトグラムは、表6において識別したいいくつかの結晶種の存在を示している。

【0066】

図9は、実成分コーディングにおける4つの様々なTi添加((図9A)0.017、(図9B)0.033、(図9C)0.042および(図9D)0.05モル)での実験的塞栓材料 $^{29}\text{Si}$  MAS-NMR化学シフト(ppm)に対する組成-相互作用効果を示す、等高線プロットを示す。

【0067】

図10は、実成分コーディングにおける4つの様々なTi添加((図10A)0.017、(図10B)0.033、(図10C)0.042および(図10D)0.05モル)での実験的塞栓材料 $^{29}\text{Si}$  MAS-NMRスペクトル線幅(ppm)に対する組成-相互作用効果を示す、等高線プロットを示す。

【0068】

表10は、表1(ここで、 $\text{SiO}_2$ 、 $\text{TiO}_2$ 、 $\text{ZnO}$ および $\text{La}_2\text{O}_3$ は変動し、 $\text{CaO}$ 、 $\text{Na}_2\text{O}$   $\text{MgO}$ およびSr

10

20

30

40

50

0は等モル濃度)に概要を示す組成式からの正電荷の総数ならびに関連するNMR最大点の位置および線幅を示す。

【0069】

(表10)

ORP 試料	SiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	ZnO	La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	最大電荷数			形態
					/Si	位置	幅	
モル分率					±1 ppm	±1 ppm		
11	0.570	0.000	0.290	0.000	1.51	-86.2	26.9	ガラス状
2	0.570	0.050	0.240	0.000	1.68	-89.8	26.9	
9	0.520	0.050	0.290	0.000	2.04	-85.5	24.7	
7	0.562	0.017	0.213	0.068	2.10	-83.6	19.7	
5	0.562	0.042	0.188	0.068	2.19	-84.3	19.9	
3	0.537	0.042	0.213	0.068	2.39	-82.2	18.8	
1	0.553	0.033	0.137	0.137	2.73	-82.4	15.7	ガラス状+結晶
6	0.562	0.042	0.068	0.188	3.05	-84.1	19.0	
12	0.562	0.017	0.068	0.213	3.14			フリット合成 不可能
4	0.570	0.050	0.000	0.240	3.37			
13	0.537	0.042	0.068	0.213	3.47			
8	0.570	0.000	0.000	0.290	3.54			
10	0.520	0.050	0.000	0.290	4.27			

【0070】

表11は、L\_Pseudo(1)；実成分(2)に関する回帰式ならびにR<sup>2</sup>値；および各反応についてのANOVAの概要を示す。ANOVAデータは、モデルが反応AおよびBに対する粒状材料の特徴を十分に予測することを示している。

【0071】

(表11)

10

20

30

反応	回帰モデル		ANOVA概要						
			R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> <sub>adj.</sub>	R <sup>2</sup> <sub>pred.</sub>	確率 > F	CV (%)	AP	
A	化学シフト	1	-82.25ZnO - 63.59La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - 111.10SiO <sub>2</sub> - 103.60TiO <sub>2</sub>	0.9836	0.9589	0.7689	0.0246	0.62	16.512
	(ppm)	2	-44.32971ZnO + 10.55810La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - 129.18571SiO <sub>2</sub> - 107.11371TiO <sub>2</sub>						
B	線幅	1	+24.65ZnO - 8.69La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + 39.61SiO <sub>2</sub> + 25.19TiO <sub>2</sub>	0.9997	0.9993	0.9958	0.0004	0.45	97.003
	(ppm)	2	+2.05426ZnO - 95.99452La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + 46.05426SiO <sub>2</sub> + 3.65426TiO <sub>2</sub>						

10

20

## 【 0 0 7 2 】

表12は、有意な（正および負）主となる相互作用および二次組成因子（最高から最低まで順位付け）ならびに負の方向への化学シフト/ピーク位置生成および線幅増大に対するその効果のまとめを示し； は増大を示し、 は低減を示す。データは実成分コーディングに基づく。

## 【 0 0 7 3 】

(表 1 2)

30

組成因子の順位	反応	
	A	B
1	↑SiO <sub>2</sub>	↑ SiO <sub>2</sub>
2	↑TiO <sub>2</sub>	↑ TiO <sub>2</sub>
3	↑ZnO	↑ ZnO
4	↑La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2</sup>	↓ La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
5		

40

## 【 0 0 7 4 】

表13は、合成したすべての材料組成物についての<sup>29</sup>Si MAS-NMR化学シフト (a) および線幅 (b) の残差を示す。

## 【 0 0 7 5 】

(表 1 3)

ガラス	A. <sup>29</sup> Si MAS-NMR 化学シフト (ppm)			B. <sup>29</sup> Si MAS-NMR 線幅 (ppm)		
	実験データ	計算データ	残差 (差)	実験データ	計算データ	残差 (差)
ORP2	-89.803	-89.631	-0.172	26.900	26.927	-0.027
ORP3	-82.336	-82.528	0.192	18.800	18.747	0.053
ORP5	-84.305	-84.650	0.345	19.900	19.847	0.053
ORP7	-83.617	-83.080	-0.537	19.700	19.807	-0.107
ORP9	-85.484	-85.388	-0.096	24.700	24.727	-0.027
ORP11	-86.223	-86.491	0.268	26.900	26.847	0.053

10

## 【 0 0 7 6 】

NMRスペクトルに示すとおり、両方のNMRピークシフトは $\text{SiO}_2 > \text{TiO}_2 > \text{ZnO} > \text{La}_2\text{O}_3$ の順で4つの組成変種のいずれを減らすことによっても増大し得、線幅は $\text{La}_2\text{O}_3$ を除いて同じ順に従う。ORP2、9および11について得たNMRスペクトル(図7)は、すべての他の組成物について得た他のスペクトルよりも有意に広いようである。対応する標品の間の差は、ORP2、9および11はランタンを含まないが、他は含むことである。

## 【 0 0 7 7 】

標品ORP2は、ORP11に比べて、ZnOを犠牲にしてより多くの $\text{TiO}_2$ からなり、したがってより高い電荷対シリカ比を有するが、 $Q^n(n\text{Si}, 4-n\text{Ti})$ 種は $Q^n(n\text{Si}, 4-n\text{Zn})$ 種よりも低いppm値で共鳴する。電荷対シリカ比に基づき、かつ大まかに二元Q種分布を仮定して、ORP11および2は $Q^3/Q^2$ 範囲で共鳴すべきであり、かつ実験的に共鳴し、標品ORP9、7、5、3、および1は $Q^2/Q^1$ 範囲で(逆重畳積分は $Q^1$ 部位の存在を示し)、かつ標品ORP6および以下は $Q^1/Q^0$ 範囲で共鳴するが、標品ORP10は $Q^0$ および別の金属酸化物種だけからなるべきである。興味深いことに、標品ORP1および6について、(すなわち、電荷対シリカ比が $Q^0$ 寄与の範囲に入る場合)、ガラス状および結晶成分への分離はより高い電荷比ですでに起こっており、フリットにすることはまったくできない。標品ORP6におけるこの相分離は、なぜそのNMR特性がORP7およびORP5のスペクトルのものの中に入るかの理由であり、これはカチオン-酸化物吸引性の結晶、およびNMRによって試験する異なる組成物のガラスにおける結果による。 $\text{La}_2\text{O}_3$ は、あまり高くない濃度でも、ガラスの分解を引き起こす。これは、粒状材料の分解の調整可能性の一助となるため、有用である。

20

30

## 【 0 0 7 8 】

ガラスおよび複合材料からの分解生成物の定量

それぞれ $\text{pH}7.4 \pm 0.1$ および $\text{pH}3.0 \pm 0.2$ のトリス-HCl緩衝液およびクエン酸緩衝溶液を調製して、正常および極度の生理的条件(ISO10993-14による)を模擬する。いずれの緩衝溶液もガラスからの分解生成物の定量のために用いる。各粒状材料100mgを、振盪水浴中で37℃に維持したポリプロピレンチューブ中、各溶液( $n=3$ )10mlに浸漬し、2Hzで搅拌する。標品を様々な期間-例えば、1、3、7、または30日間保存する。各期間の後、標品を取り出し、等級5のWhatmanろ紙を通してろ過し、ろ液をイオン含有量分析のために保持する。ガラスからの分解生成物を同定し、誘導結合プラズマ-質量分析計を用いて定量する。各抽出物の分析を三つ組で実施する( $n=3$ (条件ごとの抽出物)、各抽出物に対して3回の分析を実施)。

40

## 【 0 0 7 9 】

イオン放出特性の分析

塞栓剤からのイオン放出特性を、インキュベーション時間(X)に対するイオン放出濃度(Y)に関して記載する。インキュベーション時間は相関関数の入力ではないため、時間依存性関数を非線形回帰多項、ガウス、正弦波および指数モデルに、Prism 5.0ソフトウェア(GraphPad software Inc.)を用いてあてはめた。各塞栓剤に関する4つの要素の最適モデルは1フェーズ減衰結合モデルである:

$$Y = Y_0 + (\text{プラトー} - Y_0) \cdot (1 - \exp(-K \cdot X)) \quad \text{式7}$$

式中:

50

「Y」および「X」はそれぞれイオン放出濃度 (ppm) およびインキュベーション時間 (時間) であり;

「 $Y_0$ 」は初期イオン放出時のイオン放出濃度 (ppm) であり; ここでY値は $X_0 = 1$ における値であり;

「プラトー」は無限時間におけるイオン放出濃度 (ppm) であり、ここでY値は $X = 120$ 時間における値であり;

「K」は「 $t_{au}$ 」インキュベーション時間の逆数で表した速度定数であり、単位は日の逆数であり;

「 $t_{au}$ 」はイオン放出が推定「 $y_{max}$ 」(ppm)の63%に達するのに必要な時間を意味し;

「 $t^{1/2}$ 」は最終「 $y_{max}$ 」値の50%に達するための半減期(時間)を意味し、「 $t^{1/2} = t_{au} \cdot \ln(2)$ 」: 10

「 $t_s$ 」は $Y_0$ とプラトーとの間の差を意味し;

「 $R^2$ 」は、Prism 5.0 (GraphPad Inc.)ソフトウェアで求めた、指数非線形回帰の最適からの点の距離の二乗の合計である。 $R^2$ の値は0.0から1.0の間の有理数であり、最適線は $R^2 = 1.0$ のものである。

【0080】

#### マウス線維芽細胞株L929による細胞培養試験

樹立マウス線維芽細胞株L929 (American Type Culture Collection CCL 1線維芽細胞、NCTCクローン929)を、10%ウシ胎仔血清および1% (2mM) L-グルタミンを補足したM199培地中で培養する。細胞を、5%CO<sub>2</sub>インキュベーター内、37 °Cの、T-75フラスコ中で成長させる。細胞がコンフルエンスに達すれば、これらを0.25%トリプシンを用いて化学的に取り出し、遠心分離し、新鮮培地に再懸濁して、さらなる接種のための新しい単細胞懸濁液を作成する。 20

【0081】

#### 細胞生存度検定

3T3細胞を24穴プレート (Sarstedt、アイルランド) 中 $1 \times 10^4$ /mlの密度で播種する。M199培地を陰性対照として用い、培地プラス細胞を陽性対照として用いる。次いで、プレートを37 °Cの細胞培養インキュベーター (5%CO<sub>2</sub>/95%空気雰囲気) 内で24時間インキュベートする。24時間後、滅菌組織培養水100  $\mu$ lを対照ウェルに加える。関連する実験抽出物 (粒子を含む) 100  $\mu$ lを試験のために適切なウェルに加える。次いで、プレートを37 °Cの細胞培養インキュベーター (5%CO<sub>2</sub>/95%空気雰囲気) 内で24時間インキュベートする。24時間のインキュベーション後、各ウェルを培地量の10%に等しい量 (100  $\mu$ l) のMTT (Sigma Aldrich、アイルランド) に曝露する。プレートをインキュベーターに3時間戻す。インキュベーション後、MTT可溶化溶液を各ウェルに元の培地量と等しい量 (1ml) で加える。結晶の溶解を増強するために、各ウェルをピペットを用いて滴定し、その後、各ウェルの吸光度を570nmの波長で分光測光法により測定する。細胞陽性対照ウェルは100%の代謝活性を有すると仮定し、実験抽出物に曝露した細胞の代謝活性パーセンテージをこれに対して計算した。 30

【0082】

#### 実施例9

##### 分解試験のための粒子抽出物の調製

粒子およびContour (商標) (市販の対照) (Lot No. : 13473927および13599201) 0.1gを、2Hzで回転振動させた振盪水浴 (Stuart Sb40、Techne Inc.、USA) 中、37 °Cで、滅菌組織培養水 (Sigma-Aldrich、カナダ) 10ml<sup>6</sup>に12、24、48、96および120時間浸漬した。それぞれの保存期間の後、試料を滅菌0.20  $\mu$ mフィルター (Sarstedt、カナダ) を用いてろ過し、ろ液をインビトロ評価まで7 °Cで保存した。 40

【0083】

各抽出物についてSi<sup>4+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Ti<sup>4+</sup>、La<sup>3+</sup>、Sr<sup>2+</sup>、およびMg<sup>2+</sup>濃度を、誘導結合プラズマ原子発光分析 (ICP-AES、Perkin Elmer Optima 3000、MA、USA) を用いて分析した。各元素の定量に用いた吸収波長を表14に報告する。各測定サイクルの前に、Ti 50

$4+$ 、 $La^{3+}$ 、 $Sr^{2+}$ 、および $Mg^{2+}$ を含む標準溶液および $Si^{4+}$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ および $Zn^{2+}$ を含む別の標準溶液の組（JVA Analytical Ltd、アイルランドから入手）を、表15および16に報告する濃度で調製することにより較正曲線を得た。標準試料濃度を定期的に測定して、較正曲線の精度を確保した。各抽出物（インキュベートした各塞栓剤から）の三つ組を各元素について測定し、元の抽出物の希釈度を釣り合わせるために出力における適切な調節を行った。結果は、複合多成分系は分解性の速度調節を提供することを示している。

【 0 0 8 4 】

（表 1 4）

元素	吸収波長	下限	上限	背景補正
$Si^{4+}$	288.158	288.073	288.256	$\pm 0.026$
$Na^+$	330.237	330.136	330.348	$\pm 0.030$
$Ca^{2+}$	396.847	396.679	397.039	$\pm 0.072$
$Zn^{2+}$	334.501	334.400	334.614	$\pm 0.031$
$Ti^{4+}$	337.279	335.188	334.810	$\pm 0.031$
$La^{3+}$	407.735	407.971	407.596	$\pm 0.075$
$Mg^{2+}$	279.553	279.646	279.399	$\pm 0.026$
$Sr^{2+}$	421.552	421.759	421.371	$\pm 0.078$

10

20

【 0 0 8 5 】

表15は、ICP測定（JVA Analytical、アイルランド）のために用いた標準濃度を示す。

【 0 0 8 6 】

（表 1 5）

標準	$Si^{4+}$ (mg/L)	$Na^+$ (mg/L)	$Ca^{2+}$ (mg/L)	$Zn^{2+}$ (mg/L)
1	2	1	0.5	1
2	4	2	1	2
3	10	4	3	4

30

【 0 0 8 7 】

表16は、ICP測定のために用いた実験室標準濃度を示す。

【 0 0 8 8 】

（表 1 6）

標準	$Ti^{4+}$ (mg/L)	$La^{3+}$ (mg/L)	$Mg^{2+}$ (mg/L)	$Sr^{2+}$ (mg/L)
4	0.1	0.1	0.1	0.1
5	1	1	1	1
6	10	10	10	10

40

【 0 0 8 9 】

図11は、8つの塞栓微粒子のSi（図11A）およびNa（図11B）放出のイオン放出特性を、12、24、48、96および120時間にわたる時間依存性と共に示す。線は視覚ガイドとして引いている。図12は、8つの塞栓微粒子のCa（図12A）およびSr（図12B）放出のイオン放出特性を、12、24、48、96および120時間にわたる時間依存性と共に示す。線は視覚ガイドとして引いている。図13は、8つの塞栓微粒子のTi（図13A）およびLa（図13B）放出のイオン放出特性を、12、24、48、96および120時間にわたる時間依存性と共に示す。線は視覚

50

ガイドとして引いている。線は視覚ガイドとして引いている ( $R^2 < 0.6$ のあいまいなデータは除外)。図14は、8つの塞栓微粒子のMgのイオン放出特性 (図14A) およびZnの平均 ( $\pm$ SD) 放出レベル (図14B) を、12、24、48、96および120時間にわたる時間依存性と共に (Zn (図14B) についてのみ) 示す。線は視覚ガイドとして引いている。線は視覚ガイドとして引いている ( $R^2 < 0.6$ のあいまいなデータは除外)。図15は、120時間のインキュベーション期間後のSi (図15A) およびNa (図15B) の放出レベルに対する塞栓材料組成の効果を示す。図16は、120時間のインキュベーション期間後のCa (図16A) およびSr (図16B) の放出レベルに対する塞栓材料組成の効果を示す。図17は、120時間のインキュベーション期間後のTi (図17A) ; La (図17B) およびMg (図17C) の放出レベルに対する塞栓材料組成の効果を示す。

10

## 【 0 0 9 0 】

表16は、5つの時点 (12、24、48、96、120時間) で $Si^{4+}$ および $Na^+$ 放出から生成した非線形1フェーズ結合モデルに対する適合度 ( $R^2$ 値に関して) を示す。

## 【 0 0 9 1 】

(表 1 6)

塞栓組成物	$Si^{4+}$	$Na^+$
	$R^2$	$R^2$
ORP1	0.8219	0.7752
ORP2	0.8115	0.7383
ORP3	0.7195	0.7174
ORP5	0.8691	0.8935
ORP6	0.8123	0.6263
ORP7	0.8672	0.7111
ORP9	0.7839	0.5419
ORP11	0.8697	0.6747

20

30

## 【 0 0 9 2 】

表17は、5つの時点 (12、24、48、96、120時間) で $Ca^{2+}$ 放出から生成した非線形1フェーズ結合モデルに対する最適パラメータを示す。

## 【 0 0 9 3 】

(表 1 7)

塞栓組成物	$t^{1/2}$ (h)	$t_{au}$ (h)	$t_s$ (h)	$y_{max}$ (ppm)	$R^2$
ORP1	4.938	7.123	7.948	7.953	0.9808
ORP2	4.003	5.776	3.932	3.936	0.9427
ORP3	4.840	6.982	2.860	2.868	0.9594
ORP5	4.523	6.525	2.663	2.669	0.9660
ORP6	3.926	5.664	2.650	2.653	0.9604
ORP7	3.771	5.440	2.605	2.607	0.9605
ORP9	1.379	1.989	5.515	5.515	0.6575
ORP11	4.044	5.835	3.189	3.193	0.9669

10

【 0 0 9 4 】

表18は、5つの時点（12、24、48、96、120時間）で $Sr^{2+}$ 放出から生成した非線形1フェーズ結合モデルに対する最適パラメータを示す。

【 0 0 9 5 】

20

(表 1 8 )

塞栓組成物	$t^{1/2}$ (h)	$t_{au}$ (h)	$t_s$ (h)	$y_{max}$ (ppm)	$R^2$
ORP1	15.70	22.65	0.3583	0.3706	0.9550
ORP2	14.64	21.12	0.3446	0.3585	0.9181
ORP3	18.28	26.38	0.2980	0.3089	0.9239
ORP5	12.63	18.21	0.2772	0.2828	0.9713
ORP6	16.00	23.08	0.4494	0.4669	0.9645
ORP7	10.20	14.72	0.3201	0.3262	0.9666
ORP9	6.786	9.79	0.4188	0.4202	0.8559
ORP11	9.671	13.95	0.3096	0.3129	0.9749

30

【 0 0 9 6 】

表19は、5つの時点（12、24、48、96、120時間）で $Ti^{4+}$ 放出から生成した非線形1フェーズ結合モデルに対する最適パラメータを示す。アスタリスク（\*）はあいまいとされたモデルを表す。

40

【 0 0 9 7 】

(表 1 9 )

塞栓組成物	$t^{1/2}$ (h)	$t_{au}$ (h)	$t_s$ (h)	$y_{max}$ (ppm)	$R^2$
ORP1*	~0.233	~0.336	0.1980	0.1980	0.9661
ORP2	2.563	3.698	0.1875	0.1875	0.9815
ORP3	4.300	6.203	0.1861	0.1862	0.9878
ORP5	2.885	4.162	0.1801	0.1801	0.9876
ORP6	2.885	4.162	0.1801	0.1801	0.9876
ORP7	2.885	4.162	0.1801	0.1801	0.9925
ORP9*	~0.000	~0.000	0.1920	0.1920	0.9867

10

## 【 0 0 9 8 】

表20は、5つの時点（12、24、48、96、120時間）で $Mg^{2+}$ 放出から生成した非線形1フェーズ結合モデルに対する最適パラメータを示す。アスタリスク（\*）はあいまいとされたモデルを表す。

## 【 0 0 9 9 】

（表 2 0 ）

20

塞栓組成物	$t^{1/2}$ (h)	$t_{au}$ (h)	$t_s$ (h)	$y_{max}$ (ppm)	$R^2$
ORP1	57.52	82.98	0.11	0.1111	0.9639
ORP2	74.21	107.10	0.07	0.0721	0.7802
ORP3	9.50	13.70	0.03	0.0261	0.3176
ORP5*	~0.05	~0.01	0.05	0.0460	0.2356
ORP6	58.01	83.69	0.11	0.1058	0.9656
ORP7*	~0.00	~0.00	0.05	0.0460	0.1572
ORP9	7.71	11.12	0.08	0.0751	0.4458
OR11	3.91	5.64	0.04	0.0372	0.1779

30

## 【 0 1 0 0 】

驚くことに、 $Zn^{2+}$ は120時間後に初めて放出されることが見られただけであった。すべての他のイオンはすべての期間で持続的に放出されることが判明した。これは、 $Zn^{2+}$ が溶液へのその浸漬の即時開始と共にイオンを放出するであろうとの予想に反するものである。

40

## 【 0 1 0 1 】

$Si^{4+}$ および $Na^{2+}$ 両方のイオン放出特性は、120時間までのイオン放出における安定な時間依存的増大（ $Si^{4+}$ についてはそれぞれ0.72および0.78の $R^2$ 値を示すORP3および9を除く0.81から0.87の範囲の $R^2$ 値、ならびに $Na^{2+}$ についてはそれぞれ0.63、0.54および0.67の $R^2$ 値を示すORP6、9および11を除く0.71から0.90の範囲の $R^2$ 値によって表される最適値によって示す）を示し、これは、各成分の制御可能な性質を示している可能性がある。イオン放出の完全な安定化は、120時間後にも両方のイオンについて明らかではない。

## 【 0 1 0 2 】

ORP9について溶液中での最初の2~3時間に放出された $Ca^{2+}$ の初期バーストが認められ、

50

急激に終わって、試験の残りは安定な放出レベルを維持した。ORP1もCa<sup>2+</sup>放出の初期バーストを示し、24時間を超えて安定な速度でCa<sup>2+</sup>を徐々に放出した。しかし、残りの組成物は24時間までより漸進的な初期Ca<sup>2+</sup>放出を示し、その後完全な安定化に達した。これは、インキュベーション媒質中のH<sub>3</sub>O<sup>+</sup>と引き替えに、初期Ca<sup>2+</sup>放出（微粒子からの）の結果としてガラス微粒子の全表面領域にヒドロゲル様の層が形成され、微粒子の全表面上に沈澱し；さらに微粒子からのイオン放出の速度に影響をおよぼしたことによる可能性がある。興味深いことに、同じ放出特性がSr<sup>2+</sup>およびTi<sup>4+</sup>でも観察された。

#### 【 0 1 0 3 】

重要なことに、Mg<sup>2+</sup>の溶液中への非常に遅い放出レベルが認められ、これはケイ酸塩網目によって強力にキレート化されていることを示唆している。同じことが、ORP1を除くLa<sup>2+</sup>について報告されている（おそらくは結晶種における増大による）。

#### 【 0 1 0 4 】

##### MTT/LDHの放出検定のための粒子抽出物の調製

このプロトコルのために、すべての粒子をインキュベーション前に121 ° /25barで、20分間の高圧滅菌（AMSCO Medallist）によって滅菌した。Contour(商標)の事前滅菌バッチ（Lot No. : 13473927および13599201）を対照として用いた。続いて、等量（0.1g）の各滅菌ガラス（ORP1-3、ORP5-7、ORP9、ORP11）およびContour(商標)を10mLの滅菌組織培養水（Sigma-Aldrich、カナダ）に24時間浸漬し、37 ° のインキュベーター内部に設置したローラー（約2Hzで回転）上に置いた。各保存期間の後、試料を滅菌0.20 μmフィルター（Sarstedt、カナダ）を用いてろ過し、ろ液をインビトロ評価まで7 ° で保存した。

#### 【 0 1 0 5 】

##### 線維芽細胞培養

15~20継代の不死化ラット線維芽細胞（NIH-3T3 ; American Type Tissue Collection, Manassas, VA）を、実験のために用いた。細胞を75-cm<sup>2</sup>組織培養フラスコ内の5%ウシ胎仔血清（FCS ; 56 ° で60分間熱不活化）を補足したダルベッコ改変イーグル培地（DMEM）中で成長させた。細胞を剥離するために2mLの0.25%トリプシン-EDTAを用いて、70%コンフルエンスで1週間に2回細胞を継代し、8mLのDMEMに再懸濁した。フラスコを37 ° 、10%CO<sub>2</sub>の加湿雰囲気下で維持した。細胞代謝の変化を避けるために、日常的細分化の間、または細胞培養実験のために、抗生物質は用いなかった。実験で用いるための線維芽細胞を70%コンフルエンスで回収し、トリプシン-EDTAを用いて剥離し、1 × 10<sup>4</sup>細胞/mLの濃度で懸濁し、コールターカウンターを用いて検証した。

#### 【 0 1 0 6 】

##### 細胞生存度の評価（MTT検定）

NIH-3T3細胞（200 μL）を96-非組織培養処理ポリスチレンプレート（CoStar、Corning、カナダ）中、1 × 10<sup>4</sup>細胞/mLの密度で播種した。DMEM + 5%FCS培地プラス滅菌組織培養水だけを陰性対照として用い、培地プラス細胞プラス滅菌組織培養水を陽性対照として用いた。すべての試料で連続希釈を行い（25、50、75および100%）、三つ組で行った。したがって、4プレート（各希釈度に対応）を37 ° の細胞培養インキュベーター（10%CO<sub>2</sub>/95%空気雰囲気）内で24時間インキュベートした。24時間後、5、10および15 μLの滅菌組織培養水を、それぞれのプレート（75、50および25%希釈に対応）の各ウェルに加えた。次いで、試験のために、20 μLの関連する実験抽出物を適切なウェルに加えた。プレートを37 ° の細胞培養インキュベーター（10%CO<sub>2</sub>/95%空気雰囲気）内で再度24時間インキュベートした<sup>7</sup>。MTT試薬（M2128、Sigma Aldrich Canada）の5mg/mL溶液をリン酸緩衝化食塩水中で調製し、ボルテックス処理し、滅菌ろ過（0.20 μm）した。プレートを24時間インキュベートした後、各ウェルを培地量の10%に等しい量の調製したMTTに曝露した。次いで、各希釈セットの4プレートをインキュベーターに3時間戻した。インキュベーション後、MTT可溶化溶液（カタログコード：M8910）を各ウェルに元の培地量と等しい量で加えた。各ウェルを回転テーブル上で緩やかに攪拌して、ホルマザン結晶の溶解を増強した。その後、各ウェルの吸光度を、多検出マイクロプレート読み取り器（Synergy HT、BIO-TEK）上、570nmの波長で分光測光法により測定した。細胞陽性対照ウェルは100%の細胞生

存度に対応する100%の代謝活性を有すると仮定し、実験抽出物に曝露した細胞の細胞生存度パーセンテージをこれに対して計算した。

【0107】

#### 細胞毒性の評価 (LDHの放出検定)

乳酸脱水素酵素 (LDH) 検定を、比色乳酸脱水素酵素 (LDH) 検定 (TOX-7 (製品コード: 050M6079)、Sigma Aldrich、カナダ) により、供給会社からの説明に従って測定した。培地中のLDHの量は存在する溶解/死滅細胞の数に比例し;したがって、この検定を用いて細胞死を推定することができる。この検定は、培地中に放出された細胞質LDHの量の関数としての膜の完全性を測定する。簡単に言うと、等量のLDH検定基質 (カタログ番号: L2402)、補助因子 (カタログ番号: L2527) および色素溶液 (カタログ番号: L2277) を混合することにより、検定混合物を調製した。すべての培養物 (70  $\mu$ L) に対し、4  $\times$  96-非組織培養処理ポリスチレンプレート (CoStar、Corning、カナダ) 中、検定混合物を培地に2対1の割合で加えた。各プレートはそれぞれ25、50、75および100%の培地希釈度に対応する。室温、暗所 (各プレートをAlオイルで覆った) で、ローラー上で緩やかに回転させてインキュベートした後、呈色反応を1N HClで停止した。MTT検定と同様、DMEM + 5% FCS培地プラス滅菌組織培養水だけを陰性対照として使い、培地プラス細胞プラス滅菌組織培養水を陽性対照として用いた。吸光度を、多検出マイクロプレート読み取り器 (Synergy HT、BIO-TEK) を使い、650nmで背景補正を行って、490nmで測定した。

10

【0108】

#### 統計学的解析

各実験を三つ組で実施し、Prism 5.0ソフトウェア (GraphPad software, Inc.) を用いて解析した。結果を三つ組の測定の平均  $\pm$  標準偏差で表す。群間の比較のために、一元配置分散分析 (ANOVA) と、続いてチューキーの事後検定を行った。有意性のレベルを  $p < 0.05$  に設定した。図18Aは、25、50および100%連続希釈度での、24時間塞栓微粒子抽出物のORP1~3、ORP5~7、ORP9およびORP11ならびにContour (商標) 存在下での、細胞生存度を示す。結果は平均  $\pm$  SDを表す (有意な統計学的差 ( $p < 0.05$ ) は試験した抽出物のいずれの間でも観察されなかった)。図18Bは、25、50、75および100%連続希釈度での、24時間塞栓微粒子抽出物のORP1~3、ORP5~7、ORP9およびORP11ならびにContour (商標) 存在下での、細胞毒性を示す。結果は平均  $\pm$  SDを表す (有意な統計学的差 ( $p < 0.05$ ) は試験した抽出物のいずれの間でも観察されなかった)。図19は、実成分コーディングにおける4つの様

20

30

【0109】

表21は、L\_Pseudo (1); 実成分 (2) に関する最終回帰式ならびに  $R^2$  値; および細胞生存度についてのANOVAの概要を示す。ANOVAデータは、モデルが粒状材料の細胞生存度反応を十分に予測することを示している。

【0110】

(表21)

反応	回帰モデル	ANOVA概要					
		R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> <sub>adj.</sub>	R <sup>2</sup> <sub>pred.</sub>	確率 > F	CV (%)	十分な精度
細胞生存度 (%)	1 +66.63ZnO - 145.51La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + 338.30SiO <sub>2</sub> + 815.98TiO <sub>2</sub> + 265.33ZnO * La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - 365.03ZnO * SiO <sub>2</sub> - 913.28ZnO * TiO <sub>2</sub>	0.9999	0.9994	0.9817	0.0179	0.36	123.770
	2 +1236.37607ZnO - 1029.59161La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + 393.36925SiO <sub>2</sub> + 1798.32577TiO <sub>2</sub> + 2295.21826ZnO * La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - 3157.72134ZnO * SiO <sub>2</sub> - 7900.33004ZnO * TiO <sub>2</sub>						

10

20

## 【 0 1 1 1 】

表22は、合成したすべての材料組成についての細胞生存度試験の残差を示す。

## 【 0 1 1 2 】

(表 2 2)

細胞生存度 (%)				
ガラス	実験データ	SD	計算データ	残差 (差)
ORP1	73.790	°19.77	73.954	-0.164
ORP2	84.120	°17.23	84.087	-0.033
ORP3	81.270	°16.15	81.153	0.117
ORP5	91.790	°18.74	91.885	-0.095
ORP6	72.370	°17.05	72.301	0.069
ORP7	71.440	°10.90	71.323	0.117
ORP9	62.240	°22.03	62.278	-0.038
ORP11	60.760	°03.49	60.798	-0.038

30

40

## 【 0 1 1 3 】

表23は、有意な（正および負）主となる相互作用および二次組成因子（最高から最低まで順位付け）ならびに細胞適合性増大に対するその効果のまとめを示し； は増大を示し、 は低減を示す。データは実成分コーディングに基づく。

## 【 0 1 1 4 】

(表 2 3)

組成因子の 順位	細胞生存度 反応
1	↓ZnO*TiO <sub>2</sub>
2	↑TiO <sub>2</sub>
3	↓ZnO*SiO <sub>2</sub>
4	↑SiO <sub>2</sub>
5	↑ZnO*La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

10

## 【 0 1 1 5 】

データは、75%の細胞生存度に影響をおよぼす、最も有意な「主となる」組成変種はTiO<sub>2</sub> > SiO<sub>2</sub>の順であることを示している。興味深い特徴は、予想されるものとは反対に、ZnOはそれ自体では細胞生存度の低減に寄与しないことである。それよりも、ZnOは細胞生存度を低減するためにTiO<sub>2</sub>との相互作用に依存し（表23G；ZnO\*TiO<sub>2</sub>はMTT検定に関して最も有意な因子である）；それによりTiO<sub>2</sub>の増大のためのZnOの低減は細胞生存度を増強しうる。同様に、ZnOとSiO<sub>2</sub>との間の相互作用は、ZnO：SiO<sub>2</sub>の比の低下が細胞適合性の増強を可能にすることを示している。データに示された他の驚くべき関係を以下に記載する。

20

## 【 0 1 1 6 】

ZnO：La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の比の増大が細胞生存度のレベル増大を提供することも、予想されていなかったであろう。この相互作用効果により、La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>はZnOよりも細胞毒性が高いと考えられる。これに対し、本明細書に記載のZn含有材料が要求に反する細胞毒性を示すことは予想されていたであろう。しかし、複合多成分系が通常の塞栓材料（Contour）に対して調整された（等価またはすぐれた）細胞適合性を提供することが明らかに示されている。

## 【 0 1 1 7 】

放射線不透過性の評価

OccluRad対PVA（Contour）の放射線不透過性を、各製品を充填したGammex Tissue Characterizationファントムインサートのコンピューター断層撮影スキャンを用いて評価した。図20は、食塩水/造影剤の様々な希釈度でのORP対PVAの放射線不透過性の比較である。結果を材料のハウンスフィールド単位（HU）値で示す。

30

## 【 0 1 1 8 】

開示した多成分系（組成物）の複雑さゆえに、その固有の放射線不透過性に関して、それぞれに対する反応を予想することはできなかった。開示した組成物のすべての組の代表である、ORP5のHU値は、いかなる造影剤も非存在下で、Contourよりもはるかにすぐれたレベルを示すことに注目される。

## 【 0 1 1 9 】

安全性および有効性のインビボ評価

子宮動脈内の埋め込み後の局所効果を予備的に試験するために、動物ユニット（ニュージージーランドホワイトウサギ）を用いた。材料（ORP5）を関連する血管系に、25G蝶型カニューレを用い、食塩水の懸濁液（8mg/mL）で送達した。動物8匹を用いた；4匹はORP5で処置し、4匹はContourで処置した。動物を21日後にイソフルランおよびKCl（後者はIVにより2mg/kgで投与）を用いて安楽死させた。開腹術を行い、両方の卵巣を含む子宮を摘出した。左右の子宮角を切除し、10%ホルムアルデヒド溶液中に固定し、組織学的評価のために適宜切断した。組織学的試料を子宮角に沿って4~6の異なるレベル（サイズに応じて）で採取し；その後、日常的なヘマトキシリンおよびエオシン染色を行った。

40

## 【 0 1 2 0 】

図21は、Contour（図21A）、ORP5（図21B）および対照（図21C）の性能に関する、各

50

群1匹の動物からの組織学的データを示す。

【0121】

ORP5がContourと同様にはたらし、幾分優れた性能を示すことは、予想することができなかつた。8匹のウサギすべてからの病理学的標品の肉眼検査により、塞栓部位に壊死性子宮が見られ、未処置の子宮角のいずれでも明白な変化はなかつた。検査したH&E染色組織のいずれについても（実験群および市販品群の両方で）有害反応は観察されず、未処置（正常）子宮組織と匹敵するデータが得られた。皮内刺激試験において、塞栓性の合法的に市販された（predicate）Contourに対するORP5の等価性を示すために、極性（生理食塩水）および非極性（ゴマ油）媒体のいずれにおいても刺激の証拠は見られなかつた（平均スコアの差はすべての観察で1未満）。

10

【0122】

皮内刺激試験

この試験は、ISO 10993-10に従って行った。試験品（粒子ORP5の抽出物）の刺激を生じる可能性を、試験品の皮下注射後に評価した。3匹のニュージーランドホワイトウサギをこの試験で用いた。各ウサギに0.2mLの試験品または媒体を皮内注射した。極性媒体は生理食塩水で、非極性媒体はゴマ油であった。各動物の処置計画を図22に示す。表24は、実験のドレーズ等級付けシステムを示す。

【0123】

（表24）

反応	数値による等級付け
<b>1. 紅斑および痂皮形成</b>	
紅斑なし	0
非常にわずかな紅斑（ほとんど気づかない）	1
明確な紅斑	2
中等度の紅斑	3
重度の紅斑（ビートの赤）から紅斑の等級付けを妨げる痂皮形成	4
<b>2. 浮腫形成</b>	
浮腫なし	0
非常にわずかな浮腫（ほとんど気づかない）	1
明確な浮腫（領域の端が確定的なふくらみによって明確）	2
中等度の浮腫（約1mmのふくらみ）	3
重度の浮腫（約1mmのふくらみおよび曝露領域を超えて拡張）	4

20

30

【0124】

各注射部位の外観を注射直後に注目し、記録した。注射後0時間（注射直後）、24時間、48時間、および72時間の組織反応の所見を等級付けた。注射部位の任意の反応を適宜に記録した。図23は、24、48および72時間観察後の3匹のNZWウサギの皮内注射部位の画像を示す。

【0125】

分解生成物を含む塞栓抽出物中のフィブリノゲンの立体配座

遠紫外線（UV）円偏光二色性（CD）スペクトルを、温度制御能力を備えたJasco J-810分光偏光計（Easton、MD）を用いて記録した。NaOHおよびH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を用いてpH7.4 ± 0.05に調節した25mMリン酸ナトリウム緩衝液中のヒト血漿由来フィブリノゲン（F4883、無プラスミノゲン、58%タンパク質、96%凝固性タンパク質含有；Sigma Aldrich、ON）の6.4mg/mL溶液を、塞栓抽出物の溶液（各抽出物についてn=3で実施例9で調製した、イオン分解生成物含有）で0.2mg/mLに希釈した。フィブリノゲン保存溶液の濃度を、280nmのUV分光法で、製造者のモル吸光係数を用いて定量した。すべてのスペクトルを0.5mmパス長石英キュベット（Hellma、Mullheim、ドイツ）中、37（NESLAB RTE-111浴、Thermo Scientific、Newington、NHで制御）で3回繰り返して収集した（260~190nm、1nmステップ、50nm/

40

50

分)。各イオン分解溶液の三つ組のスペクトルを平均し、リン酸緩衝液(25mM; pH7.4±0.05)によるブランクを差し引き、平均残差楕円率([ ])に変換した。試料間の相対的フィブリノゲン立体配座を、約208および222nmで -らせん帯に対応する最小限で[ ]を比較することによりモニターした。図24は、時間に対するイオン溶解生成物の関数として、遠紫外線円偏光二色性(CD)分光法によりモニターしたFg配座における変化を示す。図24Aは、ORP5の経時的なCDスペクトルの例である。図24BおよびCは、各イオン溶解生成物のFg CDスペクトルの約208および222nmで最小限での強度(3回繰り返しの平均、ブランク減算; 平均偏差を示す)である。すべてのデータは平均残差楕円率[ ]で報告する。示す凡例は3つの図すべてに適用される。

#### 【0126】

そのような複合多成分系からの分解副生成物のフィブリノゲン、Fg(凝血塊形成に必須の前駆タンパク質)の二次構造に対する影響は、予測することができなかった。興味深いことに、以前の文献がこの可能性を報告しているにもかかわらず、Fg構造への有意な配座変化はCDによって観察されなかった(図24)。LDH検定を用いて、ORP5およびContourに接触している血小板の反応は予想することができなかった。

#### 【0127】

##### 血小板乳酸脱水素酵素(LDH)検定試験

全血および血小板の使用に関するすべてのプロトコルは、Capital Health Research Ethics Boardによって承認された。血液(31.5mL)を、Victoria General HospitalのLaboratory Blood Collection施設で、健康な無アスピリンヒト志願者から、クエン酸デキストロース(ACD)抗凝結剤を含む7つの4.5mLガラスBD Vacutainerチューブ(カタログ番号364606、Becton-Dickinson、Franklin Lakes、NJ)中に静脈穿刺により採取した。血液の最初のチューブ(4.5mL)は凝固因子を多く含むため、これを廃棄し、次いで残りの27mLを回収したことに留意することが重要である。血小板を多く含む血漿(PRP)を、Eppendorf 5702遠心機を用いてACD-凝固阻止血液を遠心分離(1500rpm、8分、25 )することにより生成した。滅菌プラスチックパスツールピペットを用いて、PRPの個々の遠沈管への注意深い移動を完了した。

#### 【0128】

血小板濃度をLH 785 CBC分析機を用いて測定した。血小板濃度を各患者について記録したが、調節はしなかった。次いで、血小板懸濁液を好ましい粒子(ORP5およびContour(商標))に、血小板懸濁液1mLあたり0.1ccの最終濃度で加え(塞栓剤ごとに2.5mlのPRPを加えるのに十分なPRPしか有していなかった患者1006を除き、各塞栓剤について3mLの患者PRP)、静止条件下、37 で1時間接着させた。

#### 【0129】

この段階の最後に、懸濁液を各ウェルから吸引し、2.5mLのPBSで10回ウェルを充填および吸引することにより、非接着血小板を洗浄した。血液採取からこの段階の終結までの全期間は4時間未満であった。接着した血小板をトリトン-PSB緩衝液で溶解した時に放出される乳酸脱水素酵素(LDH)を測定することにより、血小板LDHを定量した。較正曲線を、公知の数の血小板を用いて作成し、塞栓剤上の血小板接着をこの較正曲線から求めた。図25は、アウトライアーを含む(図25A)および含まない(図25B)血小板LDH検定(ORP5対PVA)の結果を示す。

#### 【0130】

開示した組成物の複雑さを考慮すると、LDH検定を用いて血小板の材料に対する反応を予想することはできなかった。この検定における多成分系の性能は、Contourへの等価の適合性を示すことが注目される。

#### 【0131】

本明細書において引用するすべての出版物および特許出願は、それぞれ個々の出版物および特許出願が具体的かつ個別に参照により組み入れられると示されているかのごとく、参照により本明細書に組み入れられる。

#### 【0132】

10

20

30

40

50

前述の発明を、理解を明確にするために例示および実施例によっていくらか詳細に記載してきたが、当業者には、本発明の教示に照らして、添付の特許請求の範囲に規定する本発明の精神または範囲から逸脱することなく、それに対して特定の変更および改変を行うことが容易に明らかになるであろう。

【 0 1 3 3 】

参照文献

1. Zhang XF, Kehoe S, Adhi SK, Ajithkumar TG, Moane S, O'Shea H, Boyd D, Composition–structure–property (Zn<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ion release) evaluation of Si–Na–Ca–Zn–Ce glasses: Potential components for nerve guidance conduits. *Materials Science and Engineering C* 2011; doi:10.1016/j.msec.2010.12.016 10
2. Murphy S, Boyd D, Moane S, and Bennett M. The effect of composition on ion release from Ca-Sr-Na-Zn-Si glass bone grafts. *J Mater Sci Mater Med* 2009; 20: 2207–2214.
3. Duce, C., et al., *Mixture designs applied to glass bioactivity evaluation in the Si-Ca-Na system*. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2009. **355**(16-17): p. 943-950.
4. Akalin, O., et al., *Optimization of chemical admixture for concrete on mortar performance tests using mixture experiments*. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2010. **104**(2): p. 233-242. 20
5. Papelis C, Um W, Russell CE, and Chapman JB. Measuring the specific surface area of natural and manmade glasses: effects of formation process, morphology, and particle size. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 2003; 215: 221-239.
6. Ning J, Yao A, Wang DP, Huang WH, Fu HL, Liu X, Jiang XQ, and Zhang XL. Synthesis and in vitro bioactivity of a borate-based bioglass. *Materials Letters* 2007; 61: 5223-5226. 30
7. Cheung S, Gauthier M, Lefebvre LP, Dunbar M, and Filiaggi M. Fibroblastic interactions with high-porosity Ti-6Al-4V metal foam. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials* 2007; 82B: 440-449.

【 0 1 3 4 】

(表2) 実験計画法を用いて配合した177のガラス組成物(モル分率)。NM成分は0~0.140モル分率の間で変動する。 40

標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na	
ORP番号										
78	1	0.000	0.150	0.520	0.050	0.140	0.000	0.140	0.000	
4	2	0.290	0.000	0.570	0.000	0.000	0.140	0.000	0.000	
17	3	0.290	0.140	0.520	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	
132	4	0.000	0.000	0.570	0.050	0.100	0.140	0.000	0.140	10
150	5	0.000	0.150	0.520	0.050	0.000	0.000	0.140	0.140	
73	6	0.200	0.000	0.520	0.000	0.140	0.000	0.140	0.000	
6	7	0.290	0.000	0.570	0.000	0.000	0.000	0.000	0.140	
43	8	0.290	0.000	0.520	0.000	0.000	0.140	0.050	0.000	
10	9	0.000	0.290	0.570	0.000	0.000	0.000	0.140	0.000	
125	10	0.000	0.200	0.520	0.000	0.000	0.140	0.000	0.140	
14	11	0.290	0.000	0.520	0.050	0.000	0.140	0.000	0.000	20
142	12	0.000	0.010	0.520	0.050	0.140	0.140	0.000	0.140	
121	13	0.000	0.100	0.570	0.050	0.140	0.000	0.000	0.140	
20	14	0.000	0.290	0.520	0.050	0.000	0.000	0.140	0.000	
144	15	0.000	0.000	0.520	0.050	0.140	0.140	0.010	0.140	
171	16	0.000	0.000	0.570	0.010	0.000	0.140	0.140	0.140	
62	17	0.000	0.100	0.570	0.050	0.140	0.140	0.000	0.000	30
152	18	0.000	0.100	0.570	0.050	0.000	0.000	0.140	0.140	
151	19	0.100	0.000	0.570	0.050	0.000	0.000	0.140	0.140	
15	20	0.290	0.000	0.520	0.050	0.000	0.000	0.140	0.000	
153	21	0.000	0.000	0.570	0.050	0.100	0.000	0.140	0.140	
27	22	0.290	0.090	0.570	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	
8	23	0.000	0.290	0.570	0.000	0.140	0.000	0.000	0.000	40
145	24	0.200	0.000	0.520	0.000	0.000	0.000	0.140	0.140	

標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na	
ORP番号										
63	25	0.290	0.000	0.520	0.000	0.000	0.000	0.140	0.050	
134	26	0.060	0.000	0.520	0.000	0.140	0.140	0.000	0.140	
107	27	0.290	0.000	0.520	0.000	0.000	0.000	0.050	0.140	
148	28	0.000	0.150	0.570	0.000	0.000	0.000	0.140	0.140	10
160	29	0.000	0.000	0.570	0.010	0.140	0.000	0.140	0.140	
120	30	0.100	0.000	0.570	0.050	0.140	0.000	0.000	0.140	
75	31	0.150	0.000	0.570	0.000	0.140	0.000	0.140	0.000	
128	32	0.150	0.000	0.520	0.050	0.000	0.140	0.000	0.140	
108	33	0.050	0.290	0.520	0.000	0.000	0.000	0.000	0.140	
159	34	0.000	0.010	0.570	0.000	0.140	0.000	0.140	0.140	
24	35	0.290	0.000	0.570	0.050	0.000	0.090	0.000	0.000	20
164	36	0.000	0.000	0.530	0.050	0.140	0.000	0.140	0.140	
9	37	0.000	0.290	0.570	0.000	0.000	0.140	0.000	0.000	
124	38	0.200	0.000	0.520	0.000	0.000	0.140	0.000	0.140	
90	39	0.100	0.000	0.570	0.050	0.000	0.140	0.140	0.000	
126	40	0.150	0.000	0.570	0.000	0.000	0.140	0.000	0.140	
174	41	0.000	0.010	0.520	0.050	0.000	0.140	0.140	0.140	30
141	42	0.010	0.000	0.520	0.050	0.140	0.140	0.000	0.140	
7	43	0.290	0.140	0.570	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
92	44	0.000	0.000	0.570	0.050	0.100	0.140	0.140	0.000	
74	45	0.000	0.200	0.520	0.000	0.140	0.000	0.140	0.000	
122	46	0.000	0.000	0.570	0.050	0.140	0.100	0.000	0.140	
135	47	0.000	0.060	0.520	0.000	0.140	0.140	0.000	0.140	40
64	48	0.290	0.050	0.520	0.000	0.000	0.000	0.140	0.000	
93	49	0.000	0.000	0.520	0.000	0.140	0.140	0.140	0.060	
12	50	0.140	0.290	0.570	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
95	51	0.000	0.060	0.520	0.000	0.140	0.140	0.140	0.000	

標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na
ORP番号									
119	52	0.000	0.150	0.520	0.050	0.140	0.000	0.000	0.140
162	53	0.010	0.000	0.520	0.050	0.140	0.000	0.140	0.140
69	54	0.000	0.290	0.520	0.000	0.050	0.000	0.140	0.000
80	55	0.100	0.000	0.570	0.050	0.140	0.000	0.140	0.000
112	56	0.240	0.000	0.570	0.050	0.000	0.000	0.000	0.140
49	57	0.050	0.290	0.520	0.000	0.000	0.140	0.000	0.000
157	58	0.000	0.000	0.520	0.000	0.140	0.060	0.140	0.140
133	59	0.000	0.000	0.570	0.050	0.000	0.140	0.100	0.140
23	60	0.290	0.000	0.570	0.050	0.090	0.000	0.000	0.000
86	61	0.000	0.150	0.570	0.000	0.000	0.140	0.140	0.000
47	62	0.000	0.290	0.520	0.000	0.000	0.140	0.050	0.000
21	63	0.000	0.290	0.520	0.050	0.000	0.000	0.000	0.140
19	64	0.000	0.290	0.520	0.050	0.000	0.140	0.000	0.000
71	65	0.240	0.000	0.570	0.050	0.000	0.000	0.140	0.000
56	66	0.000	0.150	0.570	0.000	0.140	0.140	0.000	0.000
176	67	0.000	0.000	0.520	0.050	0.010	0.140	0.140	0.140
102	68	0.000	0.000	0.520	0.050	0.140	0.140	0.140	0.010
67	69	0.000	0.290	0.520	0.000	0.000	0.000	0.140	0.050
76	70	0.000	0.150	0.570	0.000	0.140	0.000	0.140	0.000
99	71	0.000	0.000	0.570	0.010	0.140	0.140	0.140	0.000
115	72	0.000	0.200	0.520	0.000	0.140	0.000	0.000	0.140
58	73	0.000	0.150	0.520	0.050	0.140	0.140	0.000	0.000
34	74	0.290	0.000	0.520	0.000	0.140	0.000	0.050	0.000
29	75	0.000	0.290	0.570	0.050	0.000	0.090	0.000	0.000
41	76	0.240	0.000	0.570	0.050	0.140	0.000	0.000	0.000
163	77	0.000	0.010	0.520	0.050	0.140	0.000	0.140	0.140
87	78	0.150	0.000	0.520	0.050	0.000	0.140	0.140	0.000

10

20

30

40

標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na	
ORP番号										
139	79	0.000	0.000	0.570	0.010	0.140	0.140	0.000	0.140	
167	80	0.000	0.060	0.520	0.000	0.000	0.140	0.140	0.140	
48	81	0.000	0.290	0.520	0.000	0.000	0.140	0.000	0.050	
65	82	0.290	0.000	0.520	0.000	0.050	0.000	0.140	0.000	10
5	83	0.290	0.000	0.570	0.000	0.000	0.000	0.140	0.000	
156	84	0.000	0.060	0.520	0.000	0.140	0.000	0.140	0.140	
88	85	0.000	0.150	0.520	0.050	0.000	0.140	0.140	0.000	
45	86	0.290	0.050	0.520	0.000	0.000	0.140	0.000	0.000	
83	87	0.200	0.000	0.520	0.000	0.000	0.140	0.140	0.000	
40	88	0.050	0.290	0.520	0.000	0.140	0.000	0.000	0.000	20
173	89	0.010	0.000	0.520	0.050	0.000	0.140	0.140	0.140	
51	90	0.240	0.000	0.570	0.050	0.000	0.140	0.000	0.000	
165	91	0.000	0.000	0.520	0.050	0.140	0.010	0.140	0.140	
28	92	0.000	0.290	0.570	0.050	0.090	0.000	0.000	0.000	
113	93	0.000	0.240	0.570	0.050	0.000	0.000	0.000	0.140	
44	94	0.290	0.000	0.520	0.000	0.000	0.140	0.000	0.050	
118	95	0.150	0.000	0.520	0.050	0.140	0.000	0.000	0.140	30
131	96	0.000	0.100	0.570	0.050	0.000	0.140	0.000	0.140	
66	97	0.290	0.000	0.520	0.000	0.000	0.050	0.140	0.000	
26	98	0.290	0.000	0.570	0.050	0.000	0.000	0.000	0.090	
170	99	0.000	0.010	0.570	0.000	0.000	0.140	0.140	0.140	
52	100	0.000	0.240	0.570	0.050	0.000	0.140	0.000	0.000	
104	101	0.290	0.050	0.520	0.000	0.000	0.000	0.000	0.140	40
46	102	0.290	0.000	0.520	0.000	0.050	0.140	0.000	0.000	
37	103	0.000	0.290	0.520	0.000	0.140	0.050	0.000	0.000	
36	104	0.290	0.050	0.520	0.000	0.140	0.000	0.000	0.000	
146	105	0.000	0.200	0.520	0.000	0.000	0.000	0.140	0.140	

標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na	
ORP番号										
158	106	0.010	0.000	0.570	0.000	0.140	0.000	0.140	0.140	
89	107	0.000	0.000	0.570	0.050	0.000	0.140	0.140	0.100	
109	108	0.000	0.290	0.520	0.000	0.050	0.000	0.000	0.140	
96	109	0.010	0.000	0.570	0.000	0.140	0.140	0.140	0.000	10
18	110	0.000	0.290	0.520	0.050	0.140	0.000	0.000	0.000	
25	111	0.290	0.000	0.570	0.050	0.000	0.000	0.090	0.000	
42	112	0.000	0.240	0.570	0.050	0.140	0.000	0.000	0.000	
32	113	0.090	0.290	0.570	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	
116	114	0.150	0.000	0.570	0.000	0.140	0.000	0.000	0.140	
149	115	0.150	0.000	0.520	0.050	0.000	0.000	0.140	0.140	
129	116	0.000	0.150	0.520	0.050	0.000	0.140	0.000	0.140	20
117	117	0.000	0.150	0.570	0.000	0.140	0.000	0.000	0.140	
101	118	0.000	0.010	0.520	0.050	0.140	0.140	0.140	0.000	
82	119	0.000	0.000	0.570	0.050	0.140	0.100	0.140	0.000	
84	120	0.000	0.200	0.520	0.000	0.000	0.140	0.140	0.000	
2	121	0.190	0.290	0.520	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
61	122	0.100	0.000	0.570	0.050	0.140	0.140	0.000	0.000	30
175	123	0.000	0.000	0.530	0.050	0.000	0.140	0.140	0.140	
166	124	0.060	0.000	0.520	0.000	0.000	0.140	0.140	0.140	
11	125	0.000	0.290	0.570	0.000	0.000	0.000	0.000	0.140	
97	126	0.000	0.010	0.570	0.000	0.140	0.140	0.140	0.000	
168	127	0.000	0.000	0.520	0.000	0.060	0.140	0.140	0.140	
13	128	0.290	0.000	0.520	0.050	0.140	0.000	0.000	0.000	40
22	129	0.140	0.290	0.520	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	
147	130	0.150	0.000	0.570	0.000	0.000	0.000	0.140	0.140	
68	131	0.050	0.290	0.520	0.000	0.000	0.000	0.140	0.000	
39	132	0.000	0.290	0.520	0.000	0.140	0.000	0.000	0.050	

標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na
ORP番号									
1	133	0.290	0.190	0.520	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
81	134	0.000	0.100	0.570	0.050	0.140	0.000	0.140	0.000
54	135	0.000	0.200	0.520	0.000	0.140	0.140	0.000	0.000
94	136	0.060	0.000	0.520	0.000	0.140	0.140	0.140	0.000
31	137	0.000	0.290	0.570	0.050	0.000	0.000	0.000	0.090
50	138	0.000	0.290	0.520	0.000	0.050	0.140	0.000	0.000
53	139	0.200	0.000	0.520	0.000	0.140	0.140	0.000	0.000
138	140	0.000	0.010	0.570	0.000	0.140	0.140	0.000	0.140
114	141	0.200	0.000	0.520	0.000	0.140	0.000	0.000	0.140
127	142	0.000	0.150	0.570	0.000	0.000	0.140	0.000	0.140
143	143	0.000	0.000	0.530	0.050	0.140	0.140	0.000	0.140
91	144	0.000	0.100	0.570	0.050	0.000	0.140	0.140	0.000
38	145	0.000	0.290	0.520	0.000	0.140	0.000	0.050	0.000
123	146	0.000	0.000	0.570	0.050	0.140	0.000	0.100	0.140
155	147	0.060	0.000	0.520	0.000	0.140	0.000	0.140	0.140
16	148	0.290	0.000	0.520	0.050	0.000	0.000	0.000	0.140
55	149	0.150	0.000	0.570	0.000	0.140	0.140	0.000	0.000
161	150	0.000	0.000	0.570	0.000	0.140	0.010	0.140	0.140
105	151	0.290	0.000	0.520	0.000	0.050	0.000	0.000	0.140
59	152	0.000	0.000	0.570	0.050	0.140	0.140	0.100	0.000
33	153	0.290	0.000	0.520	0.000	0.140	0.050	0.000	0.000
172	154	0.000	0.000	0.570	0.000	0.010	0.140	0.140	0.140
72	155	0.000	0.240	0.570	0.050	0.000	0.000	0.140	0.000
3	156	0.290	0.000	0.570	0.000	0.140	0.000	0.000	0.000
77	157	0.150	0.000	0.520	0.050	0.140	0.000	0.140	0.000
177	158	0.085	0.085	0.543	0.023	0.066	0.066	0.066	0.066
35	159	0.290	0.000	0.520	0.000	0.140	0.000	0.000	0.050

10

20

30

40

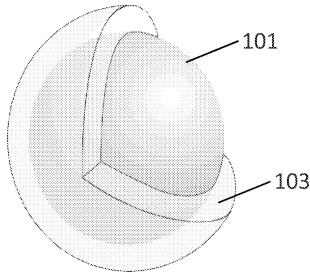
標準	実行	Si	Ca	Zn	Mg	La	Sr	Ti	Na
ORP番号									
57	160	0.150	0.000	0.520	0.050	0.140	0.140	0.000	0.000
100	161	0.010	0.000	0.520	0.050	0.140	0.140	0.140	0.000
169	162	0.010	0.000	0.570	0.000	0.000	0.140	0.140	0.140
60	163	0.000	0.000	0.570	0.050	0.140	0.140	0.000	0.100
111	164	0.000	0.290	0.520	0.000	0.000	0.000	0.050	0.140
70	165	0.000	0.290	0.520	0.000	0.000	0.050	0.140	0.000
140	166	0.000	0.000	0.570	0.000	0.140	0.140	0.010	0.140
154	167	0.000	0.000	0.570	0.050	0.000	0.100	0.140	0.140
137	168	0.010	0.000	0.570	0.000	0.140	0.140	0.000	0.140
106	169	0.290	0.000	0.520	0.000	0.000	0.050	0.000	0.140
98	170	0.000	0.000	0.570	0.000	0.140	0.140	0.140	0.010
79	171	0.000	0.000	0.570	0.050	0.140	0.000	0.140	0.100
30	172	0.000	0.290	0.570	0.050	0.000	0.000	0.090	0.000
85	173	0.150	0.000	0.570	0.000	0.000	0.140	0.140	0.000
103	174	0.000	0.000	0.530	0.050	0.140	0.140	0.140	0.000
110	175	0.000	0.290	0.520	0.000	0.000	0.050	0.000	0.140
130	176	0.100	0.000	0.570	0.050	0.000	0.140	0.000	0.140
136	177	0.000	0.000	0.520	0.000	0.140	0.140	0.060	0.140

10

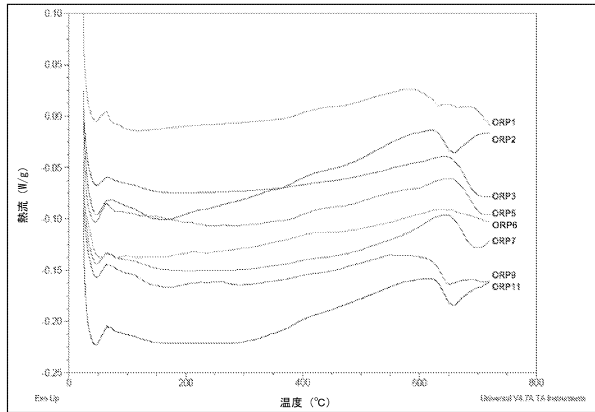
20

30

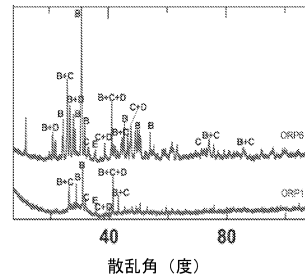
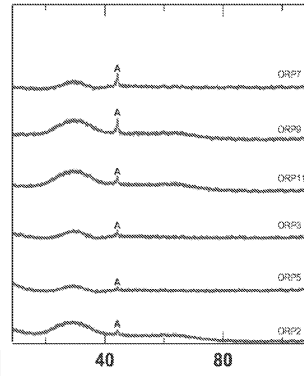
【図1】



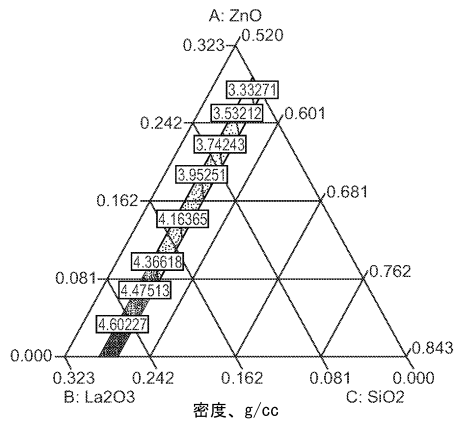
【図2】



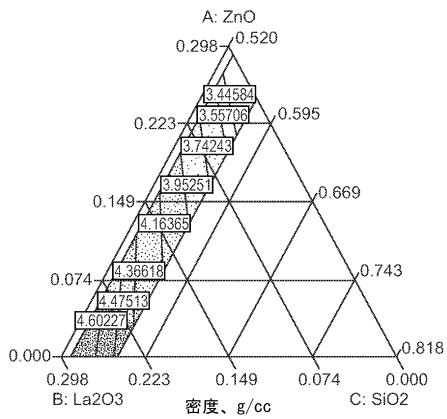
【図3】



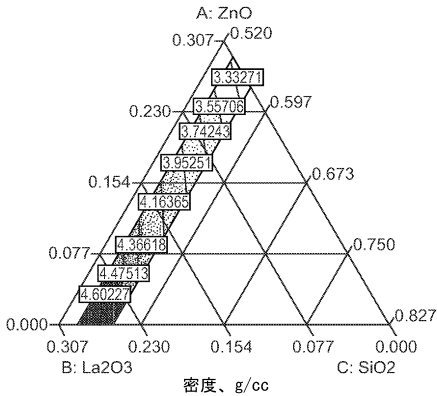
【図4A】



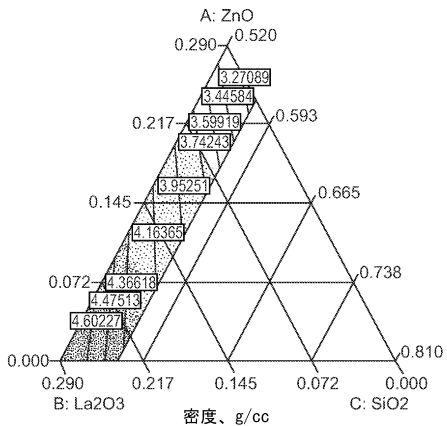
【図4C】



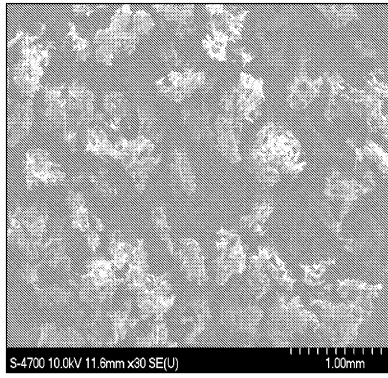
【図4B】



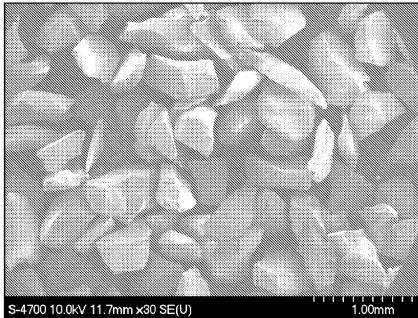
【図4D】



【 5 】

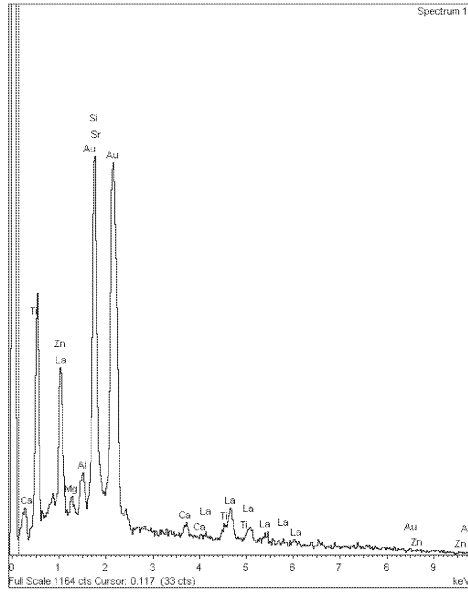


A

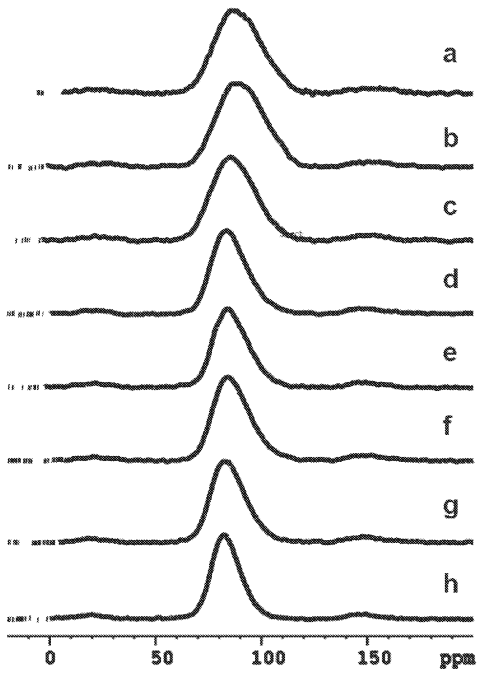


B

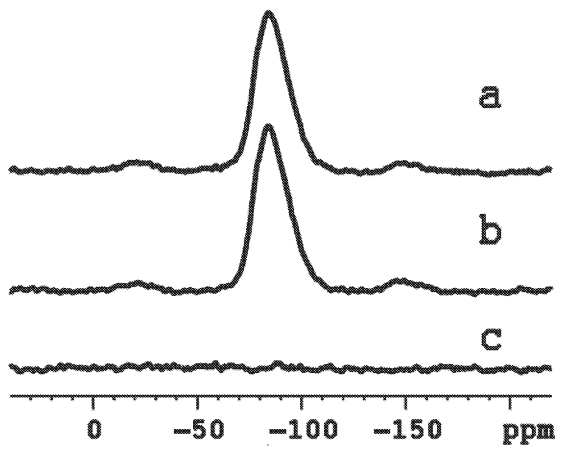
【 6 】



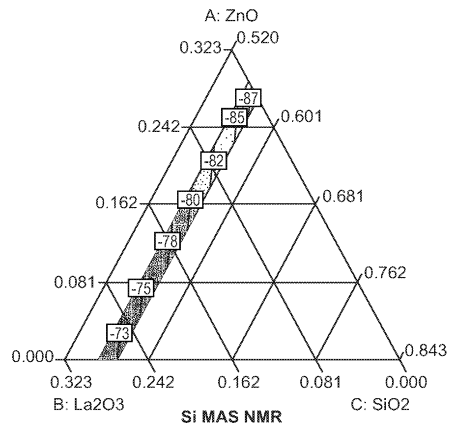
【 7 】



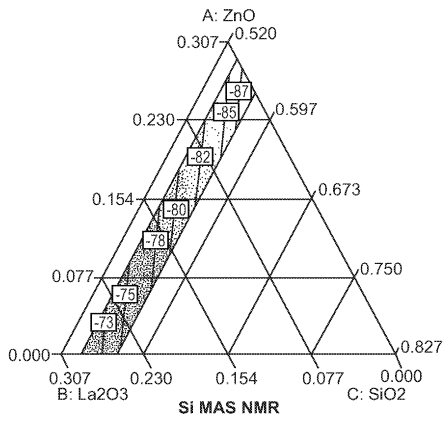
【 8 】



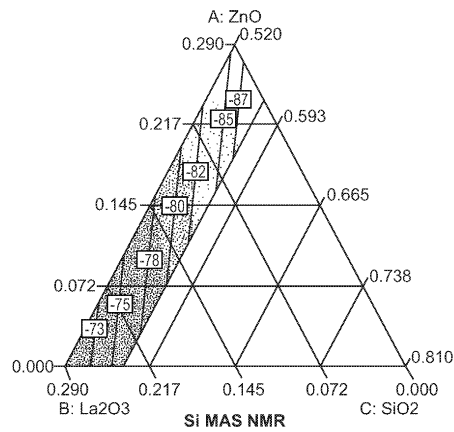
【 9 A 】



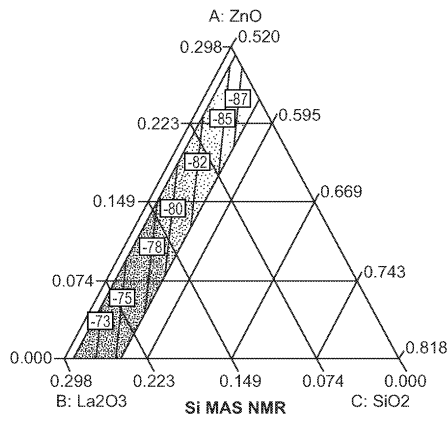
【図9B】



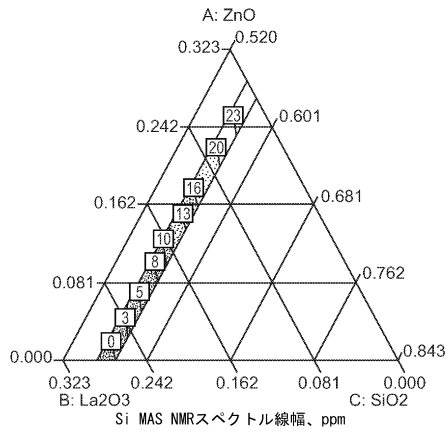
【図9D】



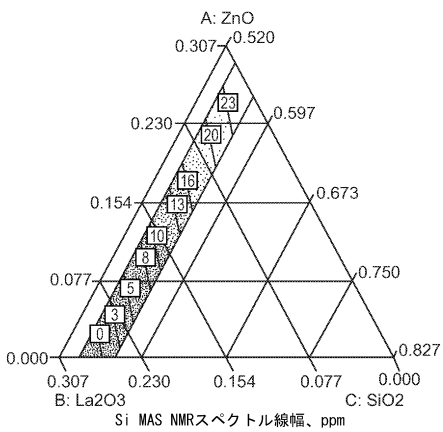
【図9C】



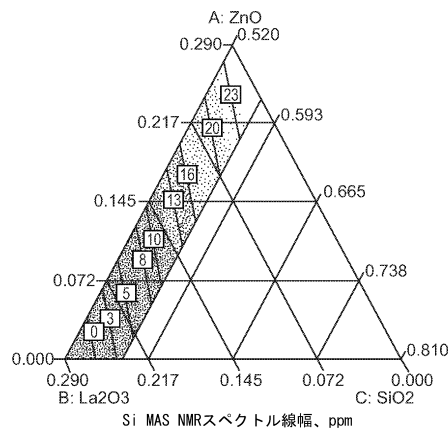
【図10A】



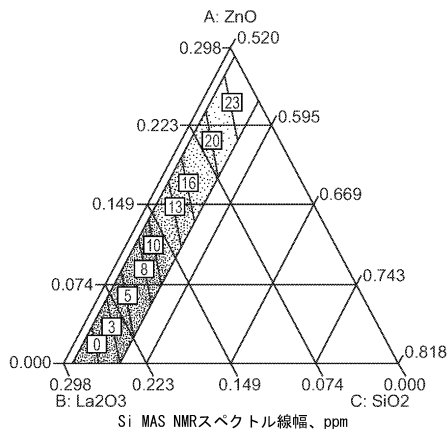
【図10B】



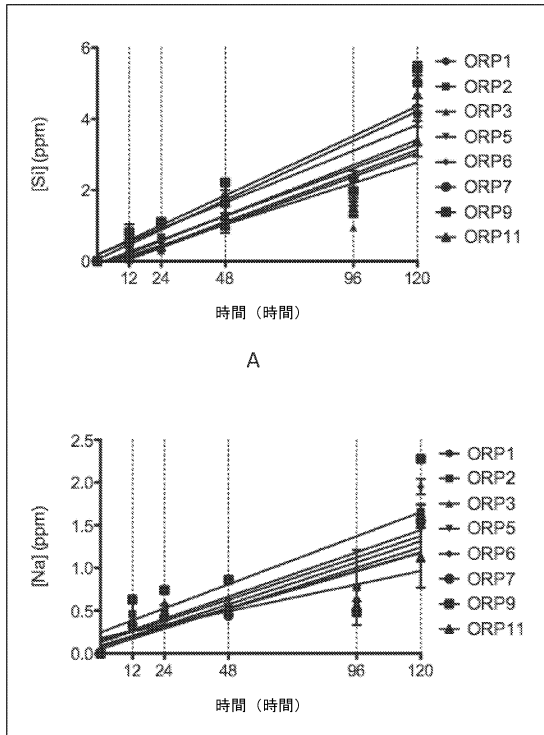
【図10D】



【図10C】

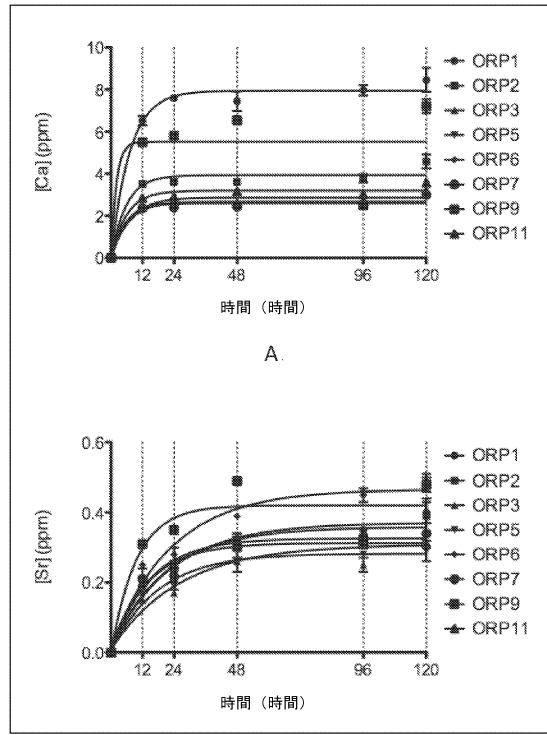


【 図 1 1 】



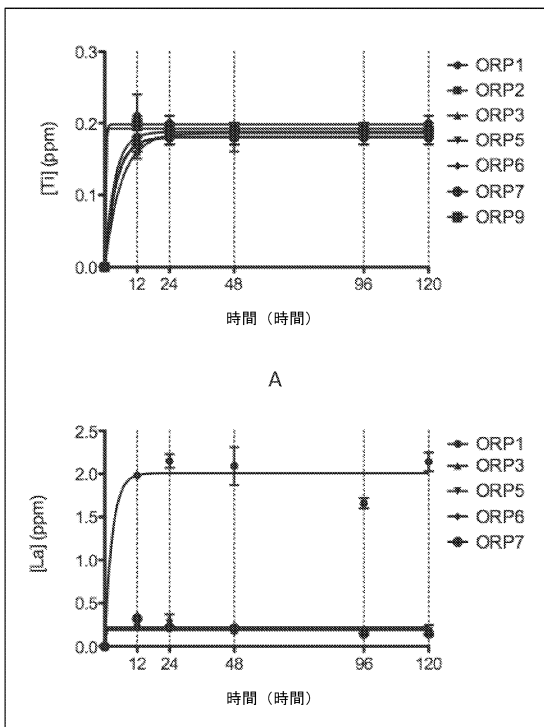
B

【 図 1 2 】



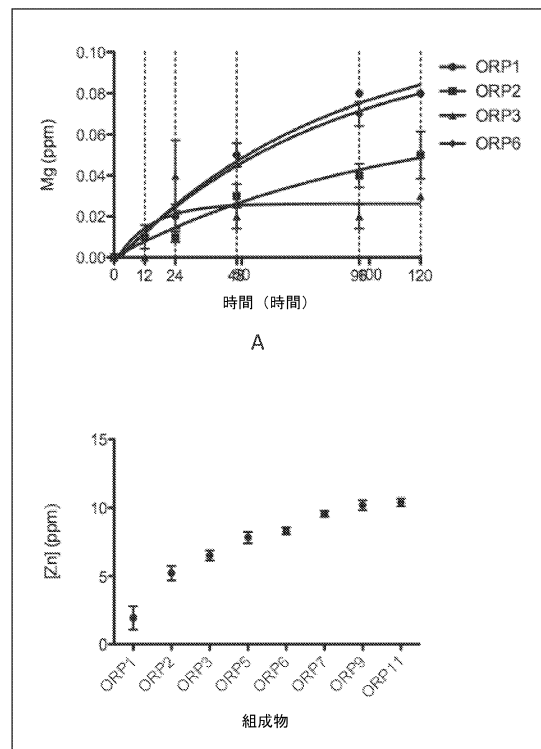
B

【 図 1 3 】



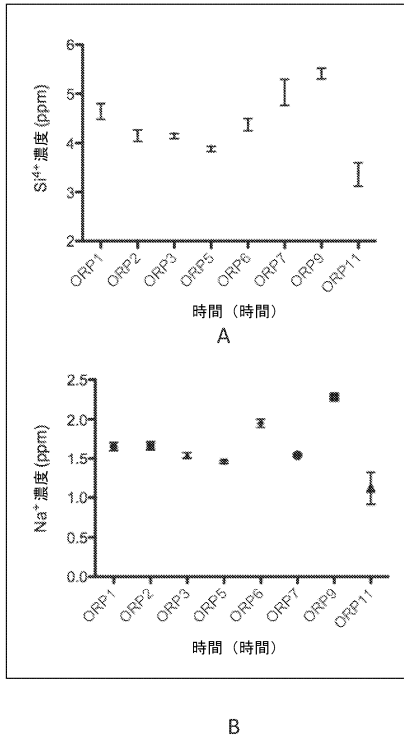
B

【 図 1 4 】

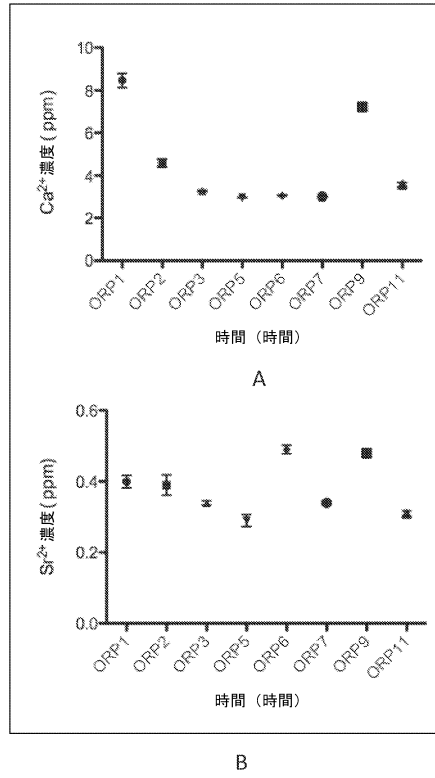


B

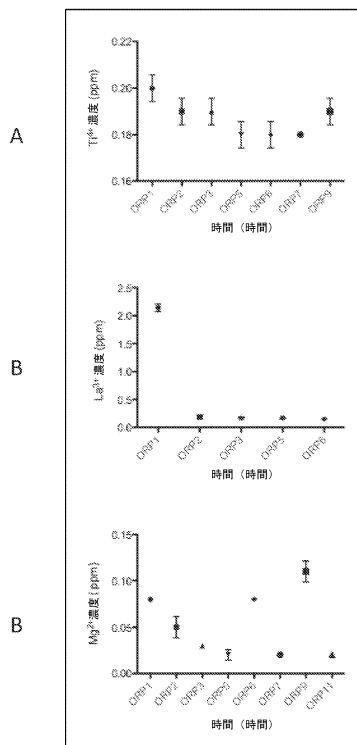
【 図 1 5 】



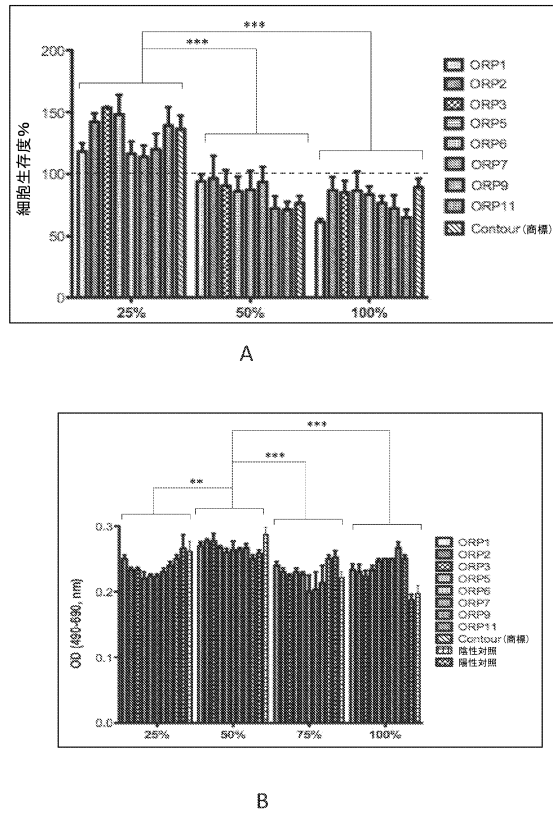
【 図 1 6 】



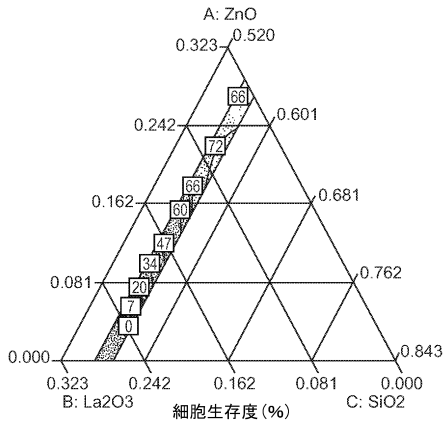
【 図 1 7 】



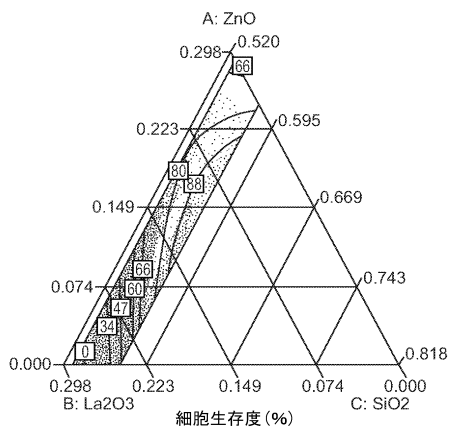
【 図 1 8 】



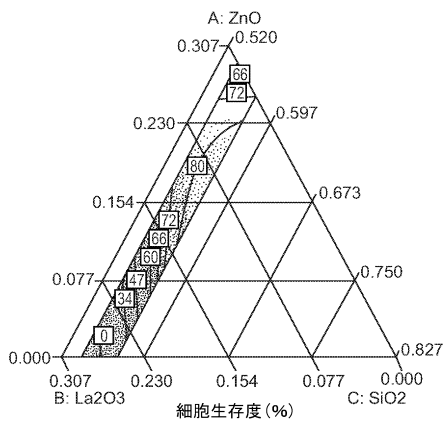
【図19A】



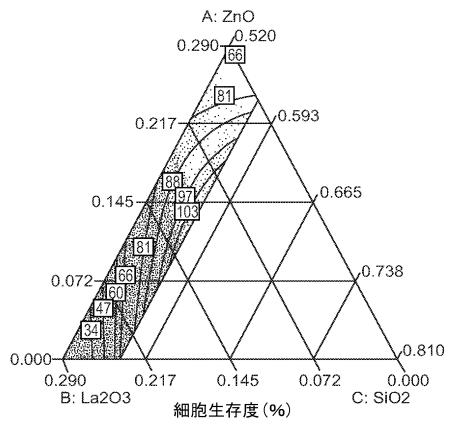
【図19C】



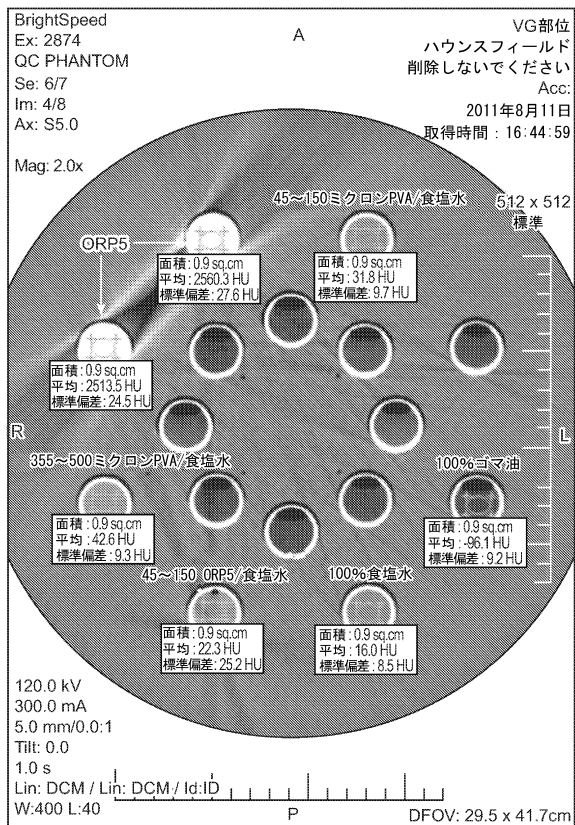
【図19B】



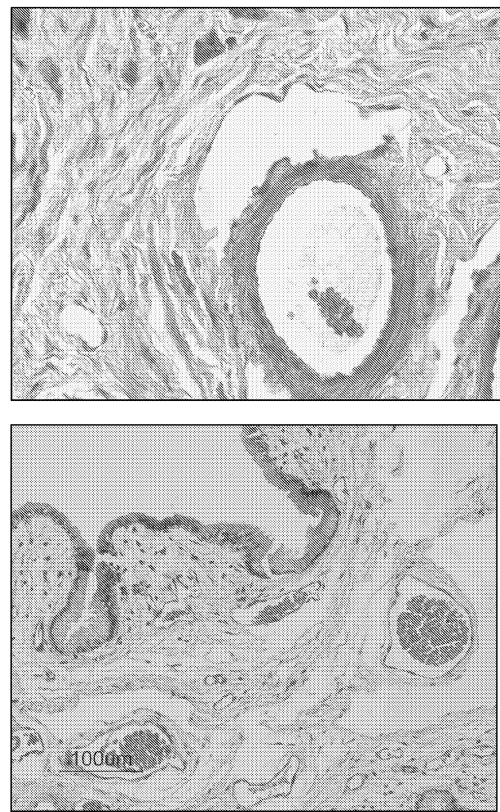
【図19D】



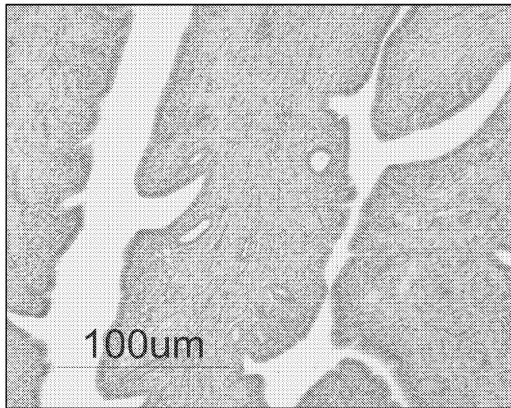
【図20】



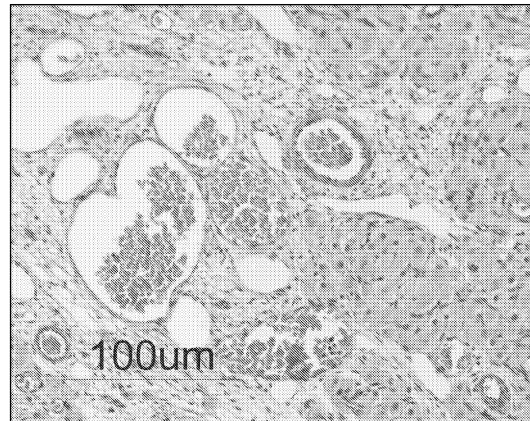
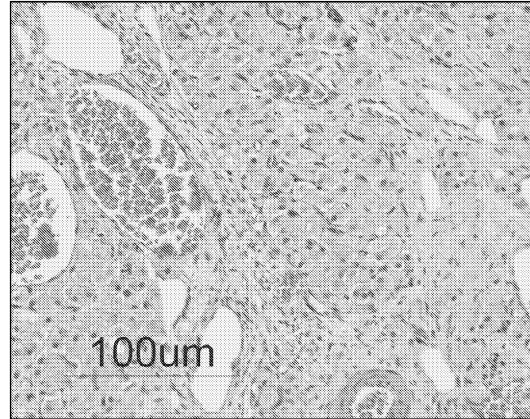
【図21A】



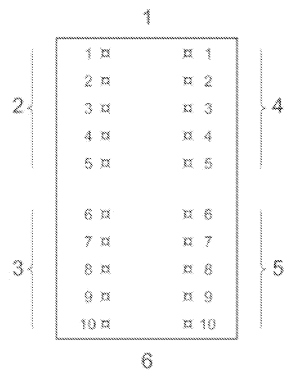
【図 2 1 B】



【図 2 1 C】



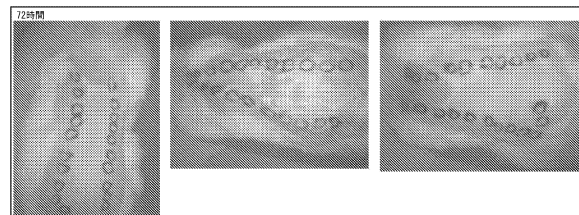
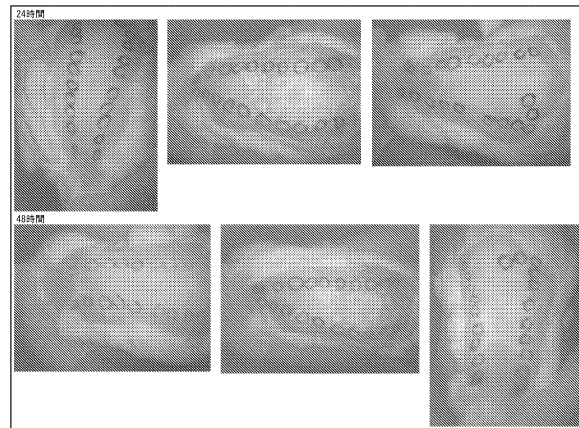
【図 2 2】



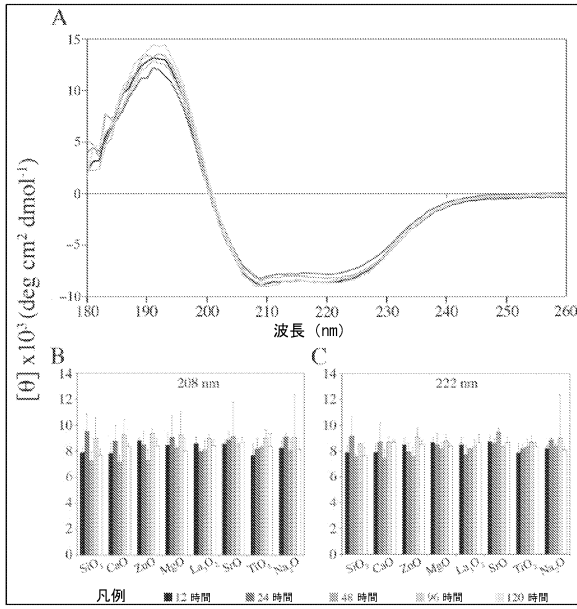
キー

- 1 頭側末端
- 2 極性抽出物の0.2ml注射
- 3 非極性抽出物の0.2ml注射
- 4 極性溶媒対照の0.2ml注射
- 5 非極性溶媒対照の0.2ml注射
- 6 尾側末端

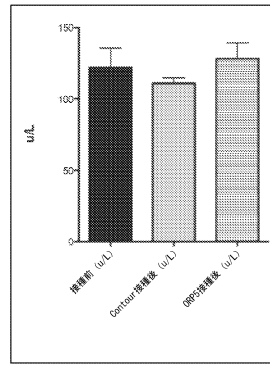
【図 2 3】



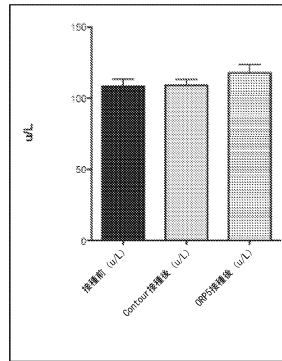
【 図 2 4 】



【 図 2 5 】



A



B

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K	33/08 (2006.01)	A 6 1 K 33/08
A 6 1 K	47/34 (2006.01)	A 6 1 K 47/34
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00
A 6 1 P	7/04 (2006.01)	A 6 1 P 7/04
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 K	9/50 (2006.01)	A 6 1 K 9/50

(74)代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 アブラハム ロバート ジェイ .  
カナダ国 ノバスコシア州 ハリファックス サマー ストリート 1344 スイート 207  
ピー . オー . ボックス 15000 ダルハウジー ユニバーシティ内

(72)発明者 ケホー シャロン  
カナダ国 ノバスコシア州 ハリファックス サマー ストリート 1344 スイート 207  
ピー . オー . ボックス 15000 ダルハウジー ユニバーシティ内

(72)発明者 ボイド ダニエル  
カナダ国 ノバスコシア州 ハリファックス サマー ストリート 1344 スイート 207  
ピー . オー . ボックス 15000 ダルハウジー ユニバーシティ内

審査官 山崎 直也

(56)参考文献 特開2005 - 350325 (JP, A)  
特表2007 - 526202 (JP, A)  
特表2007 - 515450 (JP, A)  
特表平10 - 512227 (JP, A)  
米国特許第05618763 (US, A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)  
C 0 3 C 1 / 0 0 - 1 4 / 0 0  
A 6 1 K 9 / 5 0  
A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0  
I N T E R G L A D