

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年3月5日(05.03.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/045162 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 47/36 (2006.01) *A61K 31/7088* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 35/76* (2015.01)
A61K 9/06 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61P 27/16* (2006.01)
A61K 9/70 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/032411

(22) 国際出願日: 2019年8月20日(20.08.2019)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2018-161863 2018年8月30日(30.08.2018) JP

(71) 出願人: 学校法人慶應義塾(KEIO UNIVERSITY)
[JP/JP]; 〒1088345 東京都港区三田二丁目 1 5

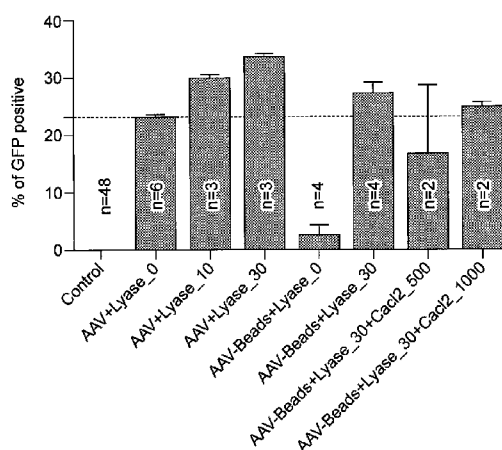
番 4 5 号 Tokyo (JP). 学校法人慈恵大学(THE
JIKEI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1058461 東京
都港区西新橋三丁目 2 5 番 8 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 藤岡 正人 (FUJIOKA Masato);
〒1608582 東京都新宿区信濃町 3 5 番地 慶
應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 尾上 弘晃
(ONOE Hiroaki); 〒2238522 神奈川県横浜市港
北区日吉 3 丁目 1 4 番 1 号 慶應義塾大学理工
学部内 Kanagawa (JP). 倉科 佑太(KURASHINA
Yuta); 〒2238522 神奈川県横浜市港北区日吉
3 丁目 1 4 番 1 号 慶應義塾大学理工学部内
Kanagawa (JP). 宮原 英生(MIYAHARA Hideo);
〒2238522 神奈川県横浜市港北区日吉 3 丁目 1
4 番 1 号 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa
(JP). 岡野 洋尚 ジェイムス(OKANO Hiroataka
James); 〒1058461 東京都港区西新橋三丁目 2

(54) Title: DRUG DELIVERY CARRIER

(54) 発明の名称: 薬物送達用担体

[図3]



(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a drug delivery carrier which can be stably placed in a narrow tissue having a complex structure such as inner ear and enables the control of the sustained release of a drug, and a drug delivery system comprising the drug delivery carrier. The drug delivery carrier according to the present invention comprises a hydrogel which contains a polysaccharide having a crosslinkable functional group.

5 番 8 号 東京慈恵会医科大学内 Tokyo (JP).
 吉田 知彦(YOSHIDA Tomohiko); 〒1058461 東京都港区西新橋三丁目 2 5 番 8 号 東京慈恵会医科大学内 Tokyo (JP). 小川 優樹(OGAWA Yuuki); 〒1058461 東京都港区西新橋三丁目 2 5 番 8 号 東京慈恵会医科大学内 Tokyo (JP). 栗原 渉(KURIHARA Sho); 〒1058461 東京都港区西新橋三丁目 2 5 番 8 号 東京慈恵会医科大学内 Tokyo (JP). 宮内 央子(MIYAUCHI Chikako); 〒1058461 東京都港区西新橋三丁目 2 5 番 8 号 東京慈恵会医科大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 棚 井 澄 雄, 外 (TANAI Sumio et al.);
 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目 9 番 2 号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 一 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(57) 要約: 本発明は、内耳などの狭く複雑な構造をしている組織に安定して留置可能であり、薬剤の徐放制御を可能とする薬物送達用担体、及びこれを含む薬物送達用システム、を提供することを目的とする。本発明の薬物送達用担体は、架橋性官能基を有する多糖を含むハイドロゲルを含む。

明 細 書

発明の名称：薬物送達用担体

技術分野

[0001] 本発明は、薬物送達用担体に関する。より詳細には、本発明は、薬物送達用担体、及び薬物送達システムに関する。

背景技術

[0002] この数年、難聴に対する新規治療法開発が国内外で活発化している。特に、内耳性難聴については、老人性難聴、突発性難聴、メニエール病等、罹患数も多く、65歳以上の日本人口の30～40%が罹患している。しかも哺乳類蝸牛は、自発的再生能に乏しいため、慢性化した感音難聴は難治性である。この現状ゆえに海外の数々の大小企業が内耳性難聴をアンメット・メディカルニーズとして捉え、特に根治治療を目指した内耳への遺伝子治療の開発研究にしのぎを削っている。例えば、大手製薬メーカーは、アデノウイルスでの遺伝子導入において既に臨床試験を進めている。遺伝子導入においては、安全性を鑑み、アデノ随伴ウイルス（以下、AAVともいう。）による遺伝子導入媒体が主流となりつつある。

[0003] 内耳に存在し、音を神経活動に変換する臓器「蝸牛」は、側頭骨という緻密骨の中に埋もれて存在し、正円窓および卵円窓という構造を通して中耳腔と接している。特に前者は正円窓窩と呼ばれる凹みの底に位置する膜様構造であり、内耳への薬剤投与経路として期待されている。

例えば、薬剤としてAAVを用いた場合、AAVが正円窓膜を通過して蝸牛内へ拡散するが、他方中耳手術によって鼓膜を挙上し明視化で正円窓窩に確実にアプローチしても、投与した薬剤と正円窓膜の接触面積や滞留時間、さらには徐放化といったドラッグデリバリーシステム（以下、DDSともいう。）の課題が残る。内耳への局所投与に関するDDS開発研究は世界的にもまだ端を発した段階であり、現在まさにシーズ探索～開発研究をはじめる萌芽期にある。

[0004] 遺伝子治療を目的としたDDSには、コラーゲンによるDNAベクターの傷口への徐放などが報告されている（例えば、非特許文献1参照。）。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1: Lois A. Chandler, et al., “FGF2-Targeted Adenovirus Encoding Platelet-Derived Growth Factor-B Enhances de Novo Tissue Formation,” Molecular Therapy, 2 (2), 153 (2000).

非特許文献2: K Maeda, et al., Controlled Synthesis of 3D Multi-Compartmental Particles with Centrifuge-Based Microdroplet Formation from a Multi-Barrelled Capillary, Adv. Mater., 24, 1340–1346 (2012).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] しかしながら、非特許文献1の技術は、傷口など体表面への塗布などが主であり、狭い複雑な組織に適用は困難である。また、徐放の任意のタイミングでの制御も実現されていない。

[0007] 本発明は上記事情を鑑みてなされたものであり、内耳などの狭く複雑な構造をしている組織に安定して留置可能であり、薬剤の徐放制御を可能とする薬物送達用担体を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明は以下の態様を含む。

[1] 架橋性官能基を有する多糖を含むハイドロゲルを含む、薬物送達用担体。

[2] 前記架橋性官能基を有する多糖は、アルギン酸、又はその塩である、

[1] に記載の薬物送達用担体。

[3] 前記ハイドロゲルは、シート状、ビーズ状、又はファイバ状である、

[1] 又は [2] に記載の薬物送達用担体。

[4] 前記ハイドロゲルは、ビーズ状である、 [3] に記載の薬物送達用担

体。

〔５〕前記ハイドロゲルは、ファイバ状である、〔３〕に記載の薬物送達用担体。

〔６〕ファイバ状の細胞外マトリクスを更に含み、前記細胞外マトリクスは、前記ハイドロゲルを含む、〔１〕～〔４〕のいずれか一つに記載の薬物送達用担体。

〔７〕〔１〕～〔６〕のいずれか一つに記載の薬物送達用担体と、薬物とを含む、薬物送達システム。

〔８〕前記ハイドロゲルの可溶化剤を更に含む、〔７〕に記載の薬物送達システム。

〔９〕疾患治療剤である、〔７〕又は〔８〕に記載の薬物送達システム。

〔１０〕前記疾患治療剤は、難聴治療剤である、〔９〕に記載の薬物送達システム。

〔１１〕前記薬物は、核酸を含む、〔７〕～〔１０〕のいずれかに記載の薬物送達システム。

〔１２〕ウイルスベクターを更に含み、当該ウイルスベクターが前記核酸を含む、〔１１〕に記載の薬物送達システム。

〔１３〕前記核酸は、以下の（Ａ）～（Ｄ）のいずれか一つの塩基配列からなり、且つ、支持細胞を感覚有毛細胞に分化させる能力を有するタンパク質をコードする遺伝子を含む、〔１１〕又は〔１２〕に記載の薬物送達システム：

（Ａ）配列番号１で表される塩基配列、

（Ｂ）配列番号１で表される塩基配列において、１又は数個の塩基が欠失、置換、挿入、又は付加されている塩基配列、

（Ｃ）配列番号１で表される塩基配列において、同一性が７０％以上である塩基配列、

（Ｄ）配列番号１で表される塩基配列からなる遺伝子と相補的な塩基配列からなる遺伝子とストリンジントな条件下でハイブリダイズすることができ

る塩基配列、及び

(E) 前記 (A) ～ (D) の塩基配列の縮重異性体。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、内耳などの狭く複雑な構造をしている組織に安定して留置可能であり、薬剤の徐放制御を可能とする薬物送達用担体を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1A]作製直後のマイクロビーズの蛍光像である。

[図1B]塩化カルシウム溶液内で3日保存後のマイクロビーズの蛍光像である。

[図2A]アルギン酸リアーゼを滴下し、3日間培養した細胞の生死判定試験における生細胞の染色像である。

[図2B]アルギン酸リアーゼを滴下し、3日間培養した細胞の生死判定試験における死細胞の染色像である。

[図3]GFPを発現するAAV含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、アルギン酸リアーゼを滴下した細胞における、72時間後のGFP発現細胞の割合を示すグラフである。

[図4]4℃又は-80℃で保存したGFPを発現するAAV含有アルギン酸カルシウムゲルビーズの安定性試験の結果を示すグラフである。

[図5]AAV含有アルギン酸カルシウムゲルビーズの感染力の経時変化試験の結果を示すグラフである。

[図6]AAV含有コラーゲンゲルビーズ(Low Density及びHigh Density)をアルギン酸リアーゼ処理にかけた後のウイルス感染力の試験結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0011] [薬物送達用担体]

一の実施形態において、本発明は、架橋性官能基を有する多糖を含むハイドロゲルを含む、薬物送達用担体を提供する。

[0012] 架橋性官能基を有する多糖は、架橋剤により架橋されハイドロゲルを形成する。本発明において、ハイドロゲルとは、水又は水系の溶液を含むゲルを意味する。多糖の架橋方法としては、ハイドロゲルが3次元網目構造を形成する方法であれば限定されず、化学的架橋又は物理的架橋が挙げられる。具体的には、共有結合、水素結合、イオン結合による架橋が挙げられ、イオン結合による架橋が好ましい。イオン結合による架橋としては、2価の金属イオンによる架橋が好ましい。

[0013] 架橋性官能基としては、酸性官能基が好ましく、カルボキシル基、アルコール性水酸基、フェノール性水酸基が挙げられ、カルボキシル基がより好ましい。

架橋性官能基を有する多糖としては、アルギン酸、ペクチン酸、ヒアルロン酸、セルロース、キトサン、キチン、澱粉、デキストラン、ヘパリン、コンドロイチン、陽イオングアー、陽イオン澱粉、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルキトサン、カルボキシメチルデキストラン、カルボキシメチル澱粉、キサントラン、カラヤゴム、ガッティゴム、ジェラン、寒天、ヘパリンスルフェート、コンドロイチンスルフェート、又はこれらの塩若しくは誘導体が挙げられる。

中でも、アルギン酸、ペクチン酸、ヒアルロン酸、又はこれらの塩若しくは誘導体が好ましく、アルギン酸、又はアルギン酸塩がより好ましい。アルギン酸塩としては、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウムが挙げられる。

[0014] 架橋剤としては、2価の金属イオンを含むものが好ましく、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} を含むものが挙げられ、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} を含むものが好ましく、 Ca^{2+} を含むものがより好ましい。

[0015] 更に架橋剤は、水に溶かして水溶液の形態で用いることができることから、上記の2価の金属イオンを含む塩が好ましく、上記の陽イオンを含むハロゲン化物、水酸化物、炭酸塩、硝酸塩、酢酸塩がより好ましく、ハロゲン塩

が更に好ましく、塩化カルシウムが特に好ましい。

[0016] ハイドロゲルは、例えば、架橋剤を含む溶液中に、架橋性官能基を有する多糖を含む溶液を押し出すことにより得られる。

架橋剤を含む溶液中の架橋剤の濃度としては、1 mM～10 Mが好ましく、10 mM～5 Mがより好ましく、100 mM～1000 mMが特に好ましい。

架橋性官能基を有する多糖を含む溶液中の多糖の濃度としては、0.1重量%～50重量%が好ましく、0.5重量%～20重量%がより好ましく、1重量%～10重量%が特に好ましい。ハイドロゲルは送達する部位、目的に合わせていかなる形状もとることができる。例えばビーズ上、シート状、ファイバー状などの形状があげられるが、これに限るものではない。

[0017] ハイドロゲルは、ビーズ状とすることができる。ハイドロゲルビーズは、例えば、遠心力を用いたマイクロゲルビーズ作製法(非特許文献2参照。)により作製することができる。

ハイドロゲルビーズの有するポアサイズ(直径)としては、1 nm～10 μ mが好ましく、5 nm～1 μ mがより好ましく、10 nm～200 nmが特に好ましい。

ハイドロゲルビーズのサイズ(直径)としては、1 μ m～1000 μ mが好ましく、10 μ m～500 μ mがより好ましく、50 μ m～200 μ mが特に好ましい。

[0018] 本発明の薬物送達用担体は、ハイドロゲルを含むファイバ状の細胞外マトリクスを含むことが好ましく、その場合、前記ハイドロゲルは、ビーズ状であることが好ましい。本発明の薬物送達用担体を所望の形状を有するものとするにより、生体内の所望の箇所に、係る薬物送達用担体を安定に留置することができる。例えば、本発明の薬物送達用担体をファイバ状の形状に調製することにより、アブミ骨が位置する空間の隙間といった、特異的形状を有する耳内空間に、本発明の薬物送達用担体を適切に留置することができる。

[0019] ファイバ状の細胞外マトリクスの直径としては、 $1\ \mu\text{m}\sim 1000\ \mu\text{m}$ が好ましく、 $10\ \mu\text{m}\sim 500\ \mu\text{m}$ がより好ましく、 $50\ \mu\text{m}\sim 200\ \mu\text{m}$ が特に好ましい。

ファイバ状の細胞外マトリクスの長さとしては、 $10\ \mu\text{m}\sim 100\ \text{cm}$ が好ましく、 $100\ \mu\text{m}\sim 10\ \text{cm}$ がより好ましく、 $1\ \text{mm}\sim 1\ \text{cm}$ が特に好ましい。

ハイドロゲルを含むファイバ状の細胞外マトリクスの製造方法としては、例えば、ファイバ形状の型に、細胞外マトリクスを流し込むことにより作製することができる。

[0020] 細胞外マトリクスとしては、コラーゲン（Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型、Ⅴ型、ⅩⅠ型等）、マウスEHS腫瘍抽出物（ⅠⅤ型コラーゲン、ラミニン、ヘパラン硫酸プロテオグリカン等を含む）より再構成された基底膜成分（商品名：マトリゲル）、グリコサミノグリカン、ヒアルロン酸、プロテオグリカン、ゼラチン等が挙げられる。

[0021] また、ハイドロゲル自体は、ファイバ状とすることもできる。

ファイバ状のハイドロゲルの直径としては、 $1\ \mu\text{m}\sim 1000\ \mu\text{m}$ が好ましく、 $10\ \mu\text{m}\sim 500\ \mu\text{m}$ がより好ましく、 $50\ \mu\text{m}\sim 200\ \mu\text{m}$ が特に好ましい。

ファイバ状のハイドロゲルの長さとしては、 $10\ \mu\text{m}\sim 100\ \text{cm}$ が好ましく、 $100\ \mu\text{m}\sim 10\ \text{cm}$ がより好ましく、 $1\ \text{mm}\sim 1\ \text{cm}$ が特に好ましい。

[0022] [薬物送達システム]

一の実施形態において、本発明は、上述した薬物送達用担体と、薬物とを含む、薬物送達システムを提供する。実施例において後述するように、本実施形態の薬物送達システムにより、細胞毒性を有さず、薬物を所望の器官へ、徐放性を制御した状態で送達することができる。

[0023] 本実施形態の薬物送達システムは、疾患治療剤、造影剤等を薬剤として含む形態で利用することができる。

[0024] 疾患治療剤の有効成分としては、低分子化合物、核酸、タンパク質、ペプチド等が挙げられる。低分子化合物としては、ハイドロゲルビーズの有するポアに担持されるように、ミセル化等によりサイズを調整したものが好ましい。核酸としては、cDNA、mRNA、siRNA、shRNA、miRNA、アンチセンスRNA等が挙げられる。タンパク質としては、酵素、抗体等が挙げられ、ペプチドとしては、リガンド、ワクチン等が挙げられる。

[0025] 本実施形態の薬物送達システムを遺伝子治療に用いる場合、疾患治療剤としては、核酸が好ましい。遺伝子配列の欠損、挿入又は変異等により、患者において野生型遺伝子の発現が喪失又は抑制されている場合には、疾患治療剤として野生型遺伝子のcDNAを用いることが好ましい。また、疾患治療剤が核酸である場合には、デリバリー及び発現効率の観点から、ウイルスベクターが、疾患治療剤としての係るcDNAを含む形態をとることが好ましい。

[0026] ここで使用するウイルスベクターとしては、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)、ヘルペスウイルスベクター等が挙げられ、毒性が少ないという観点から、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)が好ましい。

[0027] 本実施形態の薬物送達システムを、難聴に対する遺伝子治療に用いる場合、atona1関連因子をコードする核酸を含むAAVを用いることが好ましい。atona1関連因子は、塩基性ヘリックスループヘリックスファミリーに属する転写因子である。

[0028] atona1関連因子をコードする遺伝子としては、以下の(A)～(D)のいずれか一つの塩基配列からなり、且つ、支持細胞を感覚有毛細胞に分化させる能力を有するタンパク質をコードする遺伝子が挙げられる：

(A) 配列番号1で表される塩基配列、

(B) 配列番号1で表される塩基配列において、1又は数個の塩基が欠失、置換、挿入、又は付加されている塩基配列、

(C) 配列番号1で表される塩基配列において、同一性が70%以上である

塩基配列、

(D) 配列番号1で表される塩基配列からなる遺伝子と相補的な塩基配列からなる遺伝子とストリンジントな条件下でハイブリダイズすることができる塩基配列、及び

(E) 前記(A)～(D)の塩基配列の縮重異性体。

[0029] 上記(A)において配列番号1で表される塩基配列からなる遺伝子は、H a t h 1 (H u m a n a t o n a l h o m o l o g 1) のcDNAである。

[0030] 上記(B)において、欠失、置換、挿入、又は付加されてもよい塩基の数としては、1～320個が好ましく、1～160個がより好ましく、1～80個が更に好ましく、1～40個が更に好ましく、1～20個が特に好ましく、1～10個が最も好ましい。

[0031] 上記(C)において、同一性は、好ましくは75%以上、より好ましくは80%以上、さらに好ましくは85%以上、特に好ましくは、90%以上である。

[0032] 上記(D)において、「ストリンジントな条件下」とは、例えば、5×SSC(20×SSCの組成: 3M 塩化ナトリウム, 0.3M クエン酸溶液, pH 7.0)、0.1重量% N-ラウロイルサルコシン、0.02重量%のSDS、2重量%の核酸ハイブリダイゼーション用ブロッキング試薬、及び50%フォルムアミドから成るハイブリダイゼーションバッファー中で、55～70℃で数時間から一晩インキュベーションを行うことによりハイブリダイズさせる条件を挙げることができる。なお、インキュベーション後の洗浄の際に用いる洗浄バッファーとしては、好ましくは0.1重量% SDS含有1×SSC溶液、より好ましくは0.1重量% SDS含有0.1×SSC溶液である。

[0033] メチオニンとトリプトファン以外のアミノ酸は、1つのアミノ酸に対して複数のコドンが対応する。このことを遺伝暗号の縮重という。上記(E)において、塩基配列の縮重異性体とは、ある塩基配列がコードするアミノ酸に

対応する他の塩基配列を意味する。

[0034] また、徐放性を制御する観点から、本実施形態の薬物送達システムは、前記ハイドロゲルの可溶化剤を更に含むことが好ましい。

ハイドロゲルの可溶化剤としては、イオン結合により架橋されてなる場合には、二価の金属イオンが取り除くキレート剤が挙げられる。また、架橋性官能基を有する多糖自体を分解する酵素も挙げられる。

[0035] キレート剤としては、クエン酸、エチレンジアミン、エチレンジアミン四酢酸、ニトリロ三酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、グリコールエーテルジアミン四酢酸等が挙げられる。

酵素としては、例えば、アルギン酸リアーゼ等が挙げられる。

[0036] 本実施形態の薬物送達システムは、ハイドロゲルのサイズや形状を調節することにより、またはこのハイドロゲルをゲルファイバなどの高分子構造物内に封入することにより、複雑な組織の内部に確実に留置することができる。

更に、上記AAVが担持されたハイドロゲルビーズを、アルギン酸リアーゼなどの酵素による分解、又は超音波などの照射にかけることにより、AAVの失活や周辺組織へのダメージなく、且つ意図したタイミングでのAAVの徐放が可能となる。徐放されたAAVは、ターゲットとする組織に所望の遺伝子を導入できる。

[0037] また、本実施形態の薬物送達システムにおいて薬剤として造影剤を用いる場合、当該薬剤として、硫酸バリウム、次炭酸ビスマス、酸化ビスマス、酸化ジルコニウム、フッ化イッテルビウム、ヨードホルム、バリウムアパタイト、チタン酸バリウム、ランタンガラス、バリウムガラス、ストロンチウムガラス等のX線造影剤；ヨード造影剤等のComputed Tomography (CT) 用造影剤；ガドリニウム製剤、超常磁性酸化鉄製剤 (Super Paramagnetic Iron Oxide、SPIO) 等のMRI用造影剤；テクネチウム99m (^{99m}Tc)、モリブデン99 (^{99}Mo) 等のSingle photon emission compute

d tomography (SPECT) 用放射性同位体等を好ましい薬剤として挙げることができる。

[0038] [治療方法]

一の実施形態において、本発明は、上述した薬物送達システムを、治療を必要とする患者に投与することを含む、感覚有毛細胞の欠陥又は喪失によって生じる疾患の治療方法を提供する。

[0039] 感覚有毛細胞の欠陥又は喪失によって生じる疾患としては、難聴又は平衡障害が挙げられ、難聴が好ましい。内耳有毛細胞は、長期にわたって大きな音にさらされると破壊され、自然に再生することはないため、上述した a t o n a l 関連因子をコードする核酸を含む A A V を担持したハイドロゲルを薬物送達システムとして用いた遺伝子治療を行うことが好ましい。

薬物送達用担体としては、ファイバ状のハイドロゲルを含むか、ビーズ状のハイドロゲルを含むファイバ状の細胞外マトリクスを含むことが好ましい。係る形状を有することにより、アブミ骨が位置する空間の隙間といった、内耳における空間に、内視鏡で確認しながら、本発明の薬物送達用担体を安定に留置することができる。

[0040] 留置した後は、アルギン酸リアーゼを複数回、定期的に内耳に投与してもよい。係る投与により、ハイドロゲルに担持された a t o n a l 関連因子をコードする核酸を含む A A V の徐放を制御することができる。

[0041] ハイドロゲルに担持させる A A V の用量としては、 $10^5 \text{ g c} / \text{mL} \sim 10^{12} \text{ g c} / \text{mL}$ が挙げられ、下限値としては、 $10^5 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^6 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^7 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^8 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^9 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^{10} \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^{11} \text{ g c} / \text{mL}$ が挙げられ、上限値としては、 $10^{12} \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^{11} \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^{10} \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^9 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^8 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^7 \text{ g c} / \text{mL}$ 、 $10^6 \text{ g c} / \text{mL}$ が挙げられる。

[0042] アルギン酸リアーゼの投与量としては、1回の投与につき、 $1 \mu \text{g} \sim 10 \text{ mg}$ が挙げられ、下限値としては、 $1 \mu \text{g}$ 、 $10 \mu \text{g}$ 、 $100 \mu \text{g}$ 、 1 mg が挙げられ、上限値としては、 10 mg 、 1 mg 、 $100 \mu \text{g}$ 、 $10 \mu \text{g}$ が

挙げられる。

[0043] アルギン酸リアーゼの投与の代わりに、耳の所定の箇所に超音波を当てて、内耳に留置されたハイドロゲルを物理的に溶解させてもよい。

[0044] [その他の実施形態]

[0045] 一の実施形態において、本発明は、感覚有毛細胞の欠陥又は喪失によって生じる疾患の治療のための薬物送達システムを提供する。薬物送達システムとしては、上述したものと同様のものを使用することができる。

[0046] 一の実施形態において、本発明は、感覚有毛細胞の欠陥又は喪失によって生じる疾患の治療のための医薬組成物であって、薬物送達用担体と、薬物とを含む、医薬組成物を提供する。薬物送達用担体、薬物としては、上述したものと同様のものを使用することができる。

[0047] 一の実施形態において、本発明は、感覚有毛細胞の欠陥又は喪失によって生じる疾患の治療として使用するための薬物送達システムを提供する。薬物送達システムとしては、上述したものと同様のものを使用することができる。

実施例

[0048] 次に実施例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0049] [実験例 1]

(シリカビーズ含有マイクロビーズの安定性試験)

AAV が担持された直径約 100 μm のアルギン酸カルシウムゲルビーズを作製するための検証として、AAV と同程度の直径をもつ 20 nm 径の蛍光シリカビーズを AAV と見立て、アルギン酸カルシウムゲルのマイクロビーズに封入した。

最終濃度が、アルギン酸ナトリウム 2 重量%、蛍光シリカ 10 重量%となるように溶液を調製し、遠心力を用いたマイクロゲルビーズ作製法(K Maeda, et al., Controlled Synthesis of 3D Multi-Compartmental Particles with Centrifuge-Based Microdroplet Formation from a Multi-Barrelled Capillary, Adv. Mater., 24, 1340–1346 (2012)参照。)により、500 mM 塩

化カルシウム溶液中に射出した。

このマイクロビーズの塩化カルシウム溶液内での3日後の安定性を評価した。

[0050] 図1Aは、作製直後のマイクロビーズの蛍光像であり、図1Bは、塩化カルシウム溶液内で3日保存後のマイクロビーズの蛍光像である。図1Bに示されるように、マイクロゲルビーズ内にシリカビーズが安定して封入されることが確認された。

[0051] [実験例2]

(マイクロビーズの徐放試験)

次に封入されたシリカビーズの徐放試験を行った。アルギン酸ナトリウム3重量%の水溶液を、100mM塩化カルシウム溶液中に、実験例1と同様の手法で、射出し、アルギン酸カルシウムゲルのマイクロビーズ（直径約80 μ m）を作製した。

このマイクロビーズを、NIH/3T3細胞を培養したディッシュに滴下した後、アルギン酸リアーゼを最終濃度が50 μ g/mLとなるようにディッシュに滴下し、ビーズが溶けるまでの様子を観察したところ、数分で分解することに成功した。その後、アルギン酸リアーゼを滴下したこの細胞を3日間培養した後、生死判定試験により評価した。生細胞の染色に、カルセイン-AMを用い（図2A参照。）、死細胞の染色にエチジウムホモダイマーを用いた（図2B参照。）。図2A及び図2Bの結果からわかるように、培養したほぼ全ての細胞が生存しており、徐放のプロセスにより細胞がダメージを受けないことが確認された。

[0052] [実験例3]

(AAV含有アルギン酸カルシウムゲルビーズの徐放試験)

シリカビーズの代わりにAAVを用いたDDSの検証試験を実施した。具体的には、感染により細胞にGFPを発現するよう調製されたAAVをアルギン酸カルシウムゲルのマイクロビーズに封入し、実施例2と同様の徐放試験を実施した。実施例3は、DDS担体がAAVの感染機能を維持できるか

を実証するものである。

実験例 1 ～ 2 と同様の手法で、 1.7×10^{10} g c / mL の G F P を発現する A A V を含むアルギン酸ナトリウム 3 重量%の水溶液を、100 mM、500 mM、1000 mM の塩化カルシウム溶液中に、実験例 1 と同様の手法で、射出し、アルギン酸カルシウムゲルのマイクロビーズ（直径約 80 μ m）を作製した。

作製した G F P を発現する A A V 含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、最終濃度 10 μ g / mL、30 μ g / mL のアルギン酸リアーゼを、H e L a 細胞に滴下し、72 時間後の G F P 発現細胞の割合を計測した。結果を図 3 に示す。図 3 中、左のレーンから、C o n t r o l は、G F P を発現する A A V 含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、アルギン酸リアーゼ共に無添加の H e L a 細胞を示し、A A V + L y a s e __ 0 は、G F P を発現する A A V のみを添加した H e L a 細胞を示し、A A V + L y a s e __ 10 は、G F P を発現する A A V、及び、最終濃度 10 μ g / mL のアルギン酸リアーゼを添加した H e L a 細胞を示し、A A V + L y a s e __ 30 は、G F P を発現する A A V、及び、最終濃度 30 μ g / mL のアルギン酸リアーゼを添加した H e L a 細胞を示し、A A V - B e a d s + L y a s e __ 0 は、100 mM の塩化カルシウム溶液中で作製した G F P を発現する A A V 含有アルギン酸カルシウムゲルビーズのみを添加した H e L a 細胞を示し、A A V - B e a d s + L y a s e __ 30 は、100 mM の塩化カルシウム溶液中で作製した G F P を発現する A A V 含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、最終濃度 30 μ g / mL のアルギン酸リアーゼを添加した H e L a 細胞を示し、A A V - B e a d s + L y a s e __ 30 + C a C l 2 __ 500 は、500 mM の塩化カルシウム溶液中で作製した G F P を発現する A A V 含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、最終濃度 30 μ g / mL のアルギン酸リアーゼを添加した H e L a 細胞を示し、A A V - B e a d s + L y a s e __ 30 + C a C l 2 __ 1000 は、1000 mM の塩化カルシウム溶液中で作製した G F P を発現する A A V 含有アルギン酸カルシウム

ゲルビーズ、及び、最終濃度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ のアルギン酸リアーゼを添加した H e L a 細胞を示す。

[0053] 図3に示すように、G F Pを発現するA A V含有アルギン酸カルシウムゲルビーズのみを添加したH e L a細胞では、A A Vの感染が抑えられ、アルギン酸カルシウムゲルが、A A Vを担持することができることが確認された。更に、アルギン酸リアーゼを添加することにより、G F Pを発現するA A Vの徐放が制御され、培養細胞におけるG F P遺伝子の発現が確認された。

[0054] [実験例4]

(4°C 又は -80°C で保存したG F Pを発現するA A V含有アルギン酸カルシウムゲルビーズの安定性試験)

実験例3と同様の手法で、 $1.7 \times 10^{10} \text{ g c}/\text{mL}$ のG F Pを発現するA A Vを含むアルギン酸ナトリウム3重量%の水溶液を、 100 mM の塩化カルシウム溶液中に、射出し、アルギン酸カルシウムゲルのマイクロビーズ(直径約 $80 \mu\text{m}$)を作製した。

作製したG F Pを発現するA A V含有アルギン酸カルシウムゲルビーズをP B Sに懸濁したビーズ懸濁液を、 4°C 又は -80°C で72時間保存した後、実験例3と同様の感染実験を行った。結果を図4に示す。図4中左のレーンから、F r e s h B (-) L (-) は、保存を行っていないフレッシュなG F Pを発現するA A Vのみを添加したH e L a細胞を示し、F r e s h B (-) L (+) は、保存を行っていないフレッシュなG F Pを発現するA A V、及び、最終濃度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ のアルギン酸リアーゼを添加したH e L a細胞を示し、F r e s h B (+) L (+) は、保存を行っていないフレッシュなG F Pを発現するA A V含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、最終濃度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ のアルギン酸リアーゼを添加したH e L a細胞を示し、4 B (+) L (+) は、 4°C で72時間保存したG F Pを発現するA A V含有アルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、最終濃度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ のアルギン酸リアーゼを添加したH e L a細胞を示し、- 8 0 B (+) L (+) は、 -80°C で72時間保存したG F Pを発現するA A V含有A

ルギン酸カルシウムゲルビーズ、及び、最終濃度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ のアルギン酸リアーゼを添加した H e L a 細胞を示す。

図 4 に示すように、コントロールと比較して、 4°C 又は -80°C で保存した後でも感染効率に違いがないことから、AAV 含有アルギン酸カルシウムゲルビーズを 4°C 又は -80°C で保存可能なことが確認された。

[0055] [実施例 5]

(ハイドロゲルマイクロビーズへの AAV 封入後、時間経過した後のウイルスの感染力評価試験)

感染により細胞に GFP を発現するよう調製された AAV をアルギン酸カルシウムゲルのマイクロビーズに封入し、(i) 封入から 72 時間後まで保持した試料、(ii) マイクロビーズに封入後すぐにアルギン酸リアーゼにかけて分解し、封入から 72 時間後まで保持した試料、及び (iii) マイクロビーズに封入後 24 時間保持し、その後アルギン酸リアーゼにかけて分解し、封入から 72 時間後まで保持した試料を調製した。リアーゼ濃度は、 $33 \mu\text{g}/\text{mL}$ とした。1 well 当たり 5×10^3 個の細胞に対して、 $\text{MOI}=1 \times 10^6$ で上記 (i) ~ (iii) の試料を使用した。細胞の感染率を試料 (i) ~ 資料 (iii)、コントロール (ポジティブ、ネガティブ) について求めた。結果を図 5 に示す。

[0056] 図 5 に示されるように、試料 (i) ~ 試料 (iii) の全てにおいて感染力が認められた。試料 (i) における感染力は、試料 (ii) 及び試料 (iii) における感染力と比較して有為に低かった。この結果は、AAV の感染がビーズによって抑制されたことを示すものである。

[0057] [実施例 6]

(コラーゲンゲルへの AAV 含有ビーズの封入と、その後に分解処理にかけた試料の感染力評価試験)

感染により細胞に GFP を発現するよう調製された AAV を含有するビーズ (Low Density, High Density) に関して、(i) Low Density ビーズをコラーゲンゲルに封入して 72 時間保持した試料、(ii) Low Density ビーズをコラーゲンゲルに封入してからすぐにアルギン酸リアーゼにかけて分解し、封入

から72時間後まで保持した試料、(iii)High Densityビーズをコラーゲンゲルに封入して72時間保持した試料、(iv)High Densityビーズをコラーゲンゲルに封入してからすぐにアルギン酸リアーゼにかけて分解し、封入から72時間後まで保持した試料を調製した。High Densityビーズは、ビーズ数がLow densityの1/10であり、ウイルス濃度が10倍のものとなっている。

リアーゼ濃度は、 $33 \mu\text{g/mL}$ とした。1well当たり 5×10^3 個の細胞に対して、 $\text{MOI}=1 \times 10^6$ で上記(i)～(iv)の試料を使用した。細胞の感染率を試料(i)～試料(iv)、コントロール（ポジティブ、ネガティブ）について求めた。結果を図6に示す。

[0058] 図6に示されるように、試料(iii)を除く、試料(i)、試料(ii)、及び試料(iv)において感染力が認められた。

産業上の利用可能性

[0059] 本発明によれば、内耳などの狭く複雑な構造をしている組織に安定して留置可能であり、薬剤の徐放制御を可能とする薬物送達用担体を提供することができる。

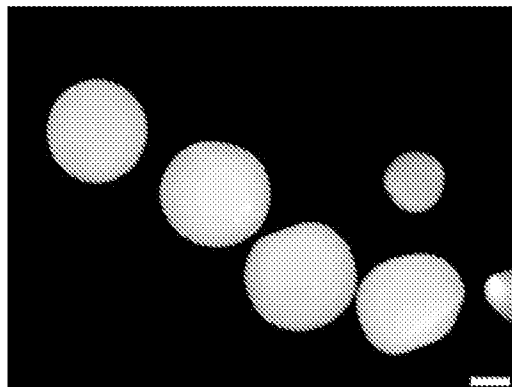
請求の範囲

- [請求項1] 架橋性官能基を有する多糖を含むハイドロゲルを含む、薬物送達用担体。
- [請求項2] 前記架橋性官能基を有する多糖は、アルギン酸、又はその塩である、請求項1に記載の薬物送達用担体。
- [請求項3] 前記ハイドロゲルは、シート状、ビーズ状、又はファイバ状である、請求項1又は2に記載の薬物送達用担体。
- [請求項4] 前記ハイドロゲルは、ビーズ状である、請求項3に記載の薬物送達用担体。
- [請求項5] 前記ハイドロゲルは、ファイバ状である、請求項3に記載の薬物送達用担体。
- [請求項6] ファイバ状の細胞外マトリクスを更に含み、前記細胞外マトリクスは、前記ハイドロゲルを含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の薬物送達用担体。
- [請求項7] 請求項1～6のいずれか一項に記載の薬物送達用担体と、薬物とを含む、薬物送達システム。
- [請求項8] 前記ハイドロゲルの可溶化剤を更に含む、請求項7に記載の薬物送達システム。
- [請求項9] 疾患治療剤である、請求項7又は8に記載の薬物送達システム。
- [請求項10] 前記疾患治療剤は、難聴治療剤である、請求項9に記載の薬物送達システム。
- [請求項11] 前記薬物は、核酸を含む、請求項7～10のいずれか一項に記載の薬物送達システム。
- [請求項12] ウイルスペクターを更に含み、当該ウイルスペクターが前記核酸を含む、請求項11に記載の薬物送達システム。
- [請求項13] 前記核酸は、以下の(A)～(D)のいずれか一つの塩基配列からなり、且つ、支持細胞を感覚有毛細胞に分化させる能力を有するタンパク質をコードする遺伝子を含む、請求項11又は12に記載の薬物

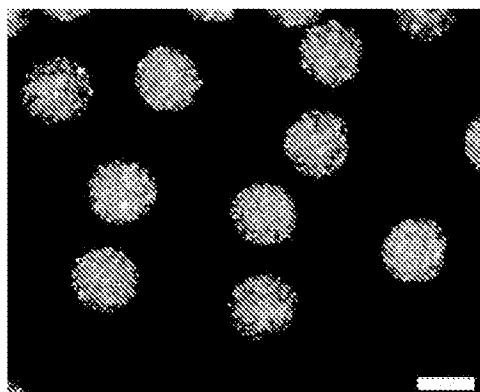
送達システム：

- (A) 配列番号 1 で表される塩基配列、
- (B) 配列番号 1 で表される塩基配列において、1 又は数個の塩基が欠失、置換、挿入、又は付加されている塩基配列、
- (C) 配列番号 1 で表される塩基配列において、同一性が 70 % 以上である塩基配列、
- (D) 配列番号 1 で表される塩基配列からなる遺伝子と相補的な塩基配列からなる遺伝子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができる塩基配列、及び
- (E) 前記 (A) ～ (D) の塩基配列の縮重異性体。

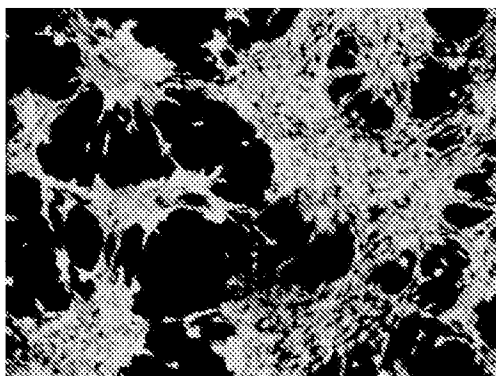
[図1A]



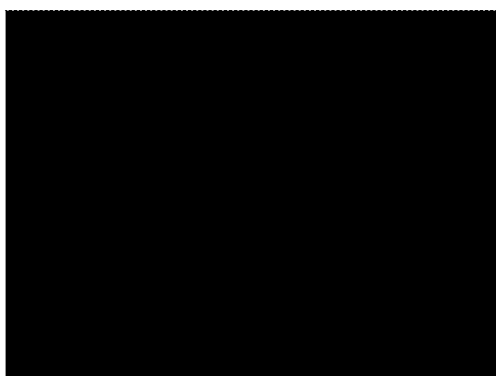
[図1B]



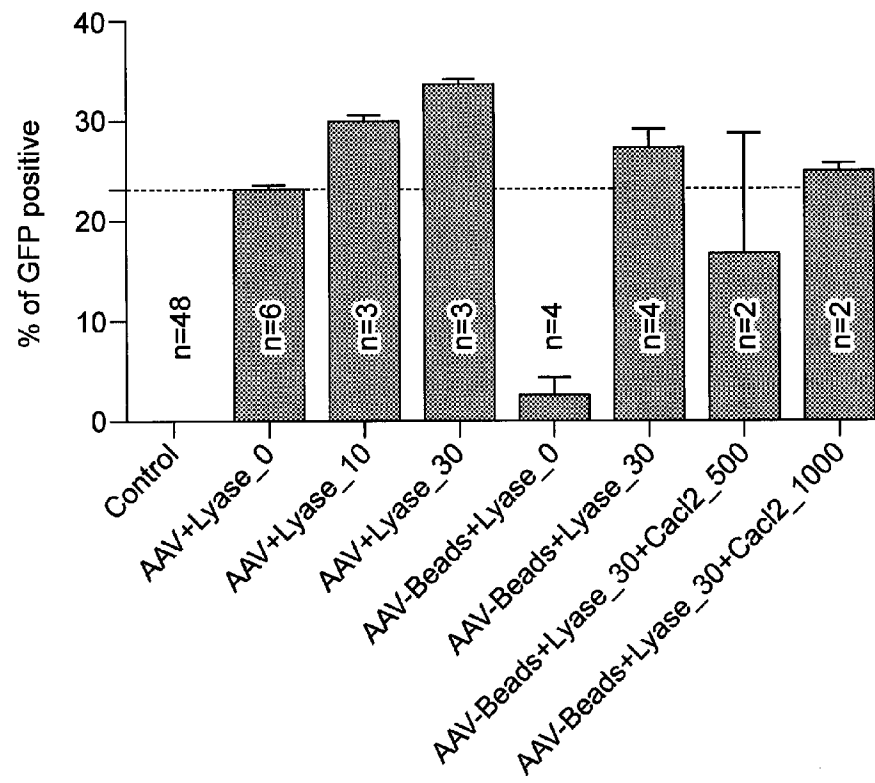
[図2A]



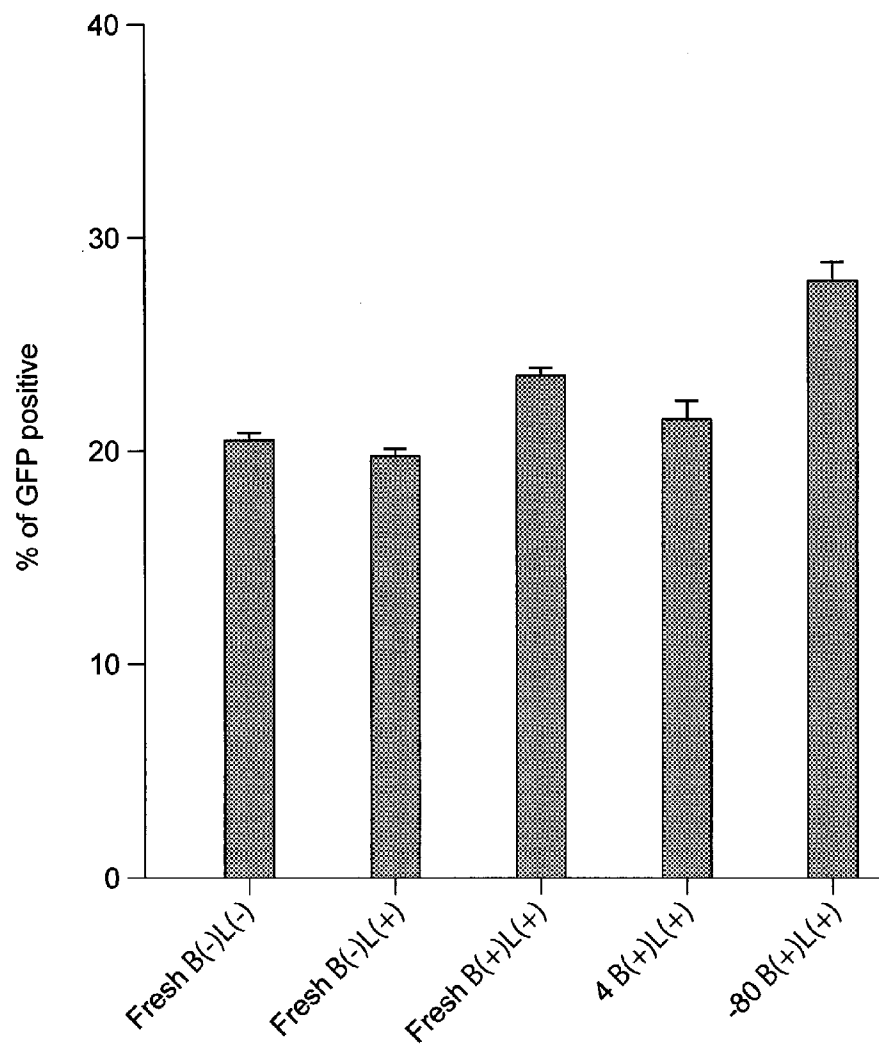
[図2B]



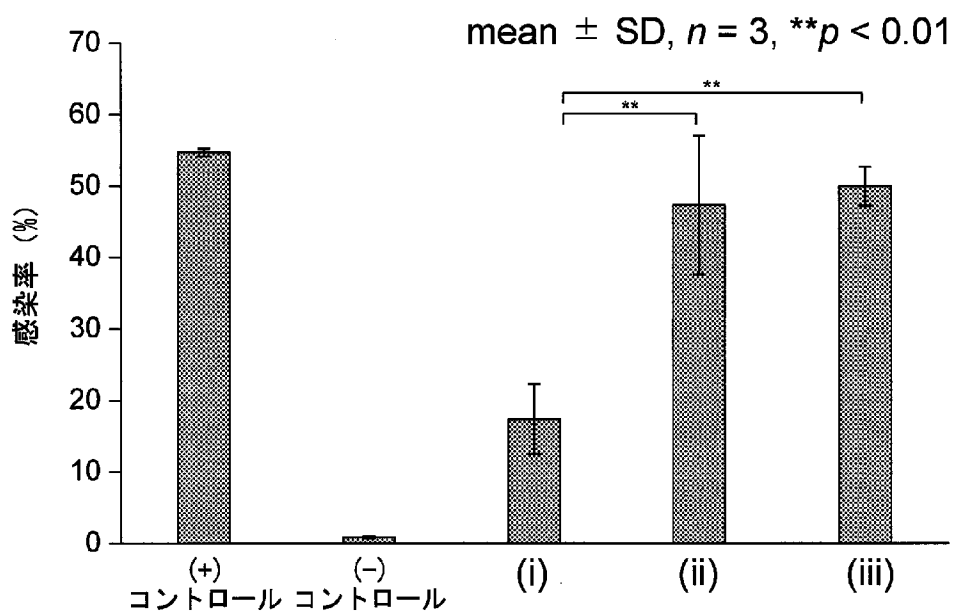
[図3]



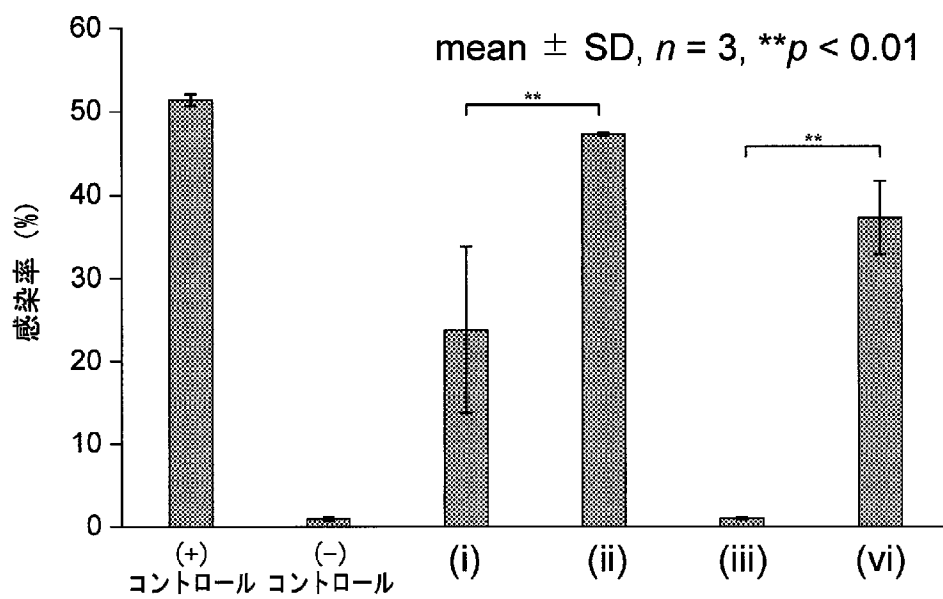
[図4]



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/032411

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K47/36 (2006.01) i, A61K9/00 (2006.01) i, A61K9/06 (2006.01) i, A61K9/14 (2006.01) i, A61K9/70 (2006.01) i, A61K31/7088 (2006.01) i, A61K35/76 (2015.01) i, A61K48/00 (2006.01) i, A61P27/16 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. A61K47/36, A61K9/00, A61K9/06, A61K9/14, A61K9/70, A61K31/7088, A61K35/76, A61K48/00, A61P27/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2001-524084 A (AMGEN INC.) 27 November 2001, claims 1, 8, examples, page 17, lines 10-17 & US 2002/0001619 A1, claims 1, 8, examples, paragraph [0031] & WO 1998/046211 A1 & EP 975333 A1	1-4, 6, 7, 9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18.09.2019

Date of mailing of the international search report

01.10.2019

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/032411

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2011-224378 A (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 10 November 2011, claims 1, 6, example 6, paragraph [0017] & US 2013/0189231 A1, claims 1, 7-11, example 6, paragraphs [0029]-[0033] & WO 2008/102855 A1 & EP 2127687 A1 & KR 10-2009-0113849 A & CN 101951969 A	1-4, 6, 7, 9
X	JP 2005-536513 A (NEOX, INC.) 02 December 2005, examples 1, 2 & US 2004/0014698 A1, examples 1, 2 & WO 2004/054620 A1 & EP 1572243 A1	1-4, 6-9, 11
X	WO 2017/153947 A1 (NORWEGIAN UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 14 September 2017, claim 1, example 3, page 21, line 19 to page 22, line 6 & EP 3426718 A1 & CN 108884229 A & KR 10-2018-0125502 A & JP 2019-510124 A	1, 2, 6-9
X	JP 2011-503157 A (MA.I.A WOUNDCARE) 27 January 2011, claims 1-4, 14, 15, paragraphs [0002], [0006], [0070], [0071] & US 2010/0330157 A1, claims 1-4, 14, 15, paragraphs [0002], [0005], [0069], [0070] & WO 2009/095562 A2 & EP 2219604 A2	1, 2, 6-9
X Y	JP 2012-513394 A (OTONOMY, INC.) 14 June 2012, example 4, claims 9-20, paragraphs [0176]-[0182], [0237], [0361], [0367] & US 2010/0015263 A1, example 4, claims 9-20, paragraphs [0259]-[0265], [0320], [0444], [0450] & WO 2010/008995 A2 & EP 2278999 A2 & KR 10-2010-0135299 A & CN 102099013 A	1-4, 7, 9-13 10, 13
X Y	JP 9-71542 A (SUMITOMO PHARMACEUT CO., LTD.) 18 March 1997, example 7, claims 1-11, paragraphs [0007], [0015] & US 2003/0082161 A1, example 7, paragraphs [0032], [0033], [0046] & WO 1997/002047 A1 & EP 844004 A1 & CN 1193916 A	1-4, 7, 9, 11, 12 10, 13
X	JP 2018-59248 A (KEIO UNIVERSITY) 12 April 2018, examples, paragraph [0093] (Family: none)	1-3, 5, 7, 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/032411

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	宮原 英生 ほか, 酵素分解を利用した複合マイクロゲル構築体によるドラッグデリバリーシステム, 日本機械学会第 9 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集, 30 October 2018, 31-am3-PN-87, (MIYAHARA, Hideo et al., Drug delivery system using composite hydrogel microstructures controlled by enzymatic degradation), non-official translation (The Proceedings of the 9th Symposium on Micro-Nano Science and Technology, The Japan Society of Mechanical Engineers)	1-4, 6-12
P, X	宮原 英生 ほか, 酵素分解を利用したアルギン酸マイクロゲル DDS の徐放制御, 日本機械学会 2018 年度年次大会 講演論文集, 03 September 2018, J0220305, (MIYAHARA, Hideo et al., Controlled release triggered by enzymatic degradation for DDS using alginate hydrogel microparticles), non-official translation (The Proceedings of 2018 annual meeting of the Japan Society of Mechanical Engineers)	1-4, 6-12

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K47/36(2006.01)i, A61K9/00(2006.01)i, A61K9/06(2006.01)i, A61K9/14(2006.01)i,
A61K9/70(2006.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K35/76(2015.01)i, A61K48/00(2006.01)i,
A61P27/16(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K47/36, A61K9/00, A61K9/06, A61K9/14, A61K9/70, A61K31/7088, A61K35/76, A61K48/00, A61P27/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 9 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 9 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 9 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2001-524084 A (アムジエン・インコーポレーテッド) 2001. 11. 27, 請求項 1、8、実施例、第 17 頁第 10 行～第 17 行 & US 2002/0001619 A1 Claims1,8, Examples, [0031] & WO 1998/046211 A1 & EP 975333 A1	1-4, 6, 7, 9

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 8 . 0 9 . 2 0 1 9

国際調査報告の発送日

0 1 . 1 0 . 2 0 1 9

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

参鍋 祐子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

4 U

6 1 1 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2011-224378 A (持田製薬株式会社) 2011.11.10, 請求項 1、6、 実施例 6、段落 0 0 1 7 & US 2013/0189231 A1 Claims 1,7-11, Example 6, [0029]-[0033] & WO 2008/102855 A1 & EP 2127687 A1 & KR 10-2009-0113849 A & CN 101951969 A	1-4, 6, 7, 9
X	JP 2005-536513 A (ネオックス、インコーポレイテッド) 2005.12.02, 実施例 1、2 & US 2004/0014698 A1 Examples 1,2 & WO 2004/054620 A1 & EP 1572243 A1	1-4, 6-9, 11
X	WO 2017/153947 A1 (NORWEGIAN UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 2017.09.14, 請求項 1、実施例 3、第 2 1 頁第 1 9 行 ～第 2 2 頁第 6 行 & EP 3426718 A1 & CN 108884229 A & KR 10-2018-0125502 A & JP 2019-510124 A	1, 2, 6-9
X	JP 2011-503157 A (エムアー. イ. アー. ワウンドケア) 2011.01.27, 請求項 1～4、1 4、1 5、段落 0 0 0 2、0 0 0 6、0 0 7 0、 0 0 7 1 & US 2010/0330157 A1 Claims 1-4, 14, 15, [0002], [0005], [0069]-[0070] & WO 2009/095562 A2 & EP 2219604 A2	1, 2, 6-9
X	JP 2012-513394 A (オトノミー、インク.) 2012.06.14, 例 4、請 求項 9～2 0、段落 0 1 7 6～0 1 8 2、0 2 3 7、0 3 6 1、0 3 6 7	1-4, 7, 9-13
Y	& US 2010/0015263 A1 Example 4, Claims 9-20, [0259]-[0265], [0320], [0444], [0450] & WO 2010/008995 A2 & EP 2278999 A2 & KR 10-2010-0135299 A & CN 102099013 A	10, 13
X	JP 9-71542 A (住友製薬株式会社) 1997.03.18, 実施例 7、請求項 1～1 1、段落 0 0 0 7、0 0 1 5 & US 2003/0082161 A1 Example 7, [0032], [0033], [0046]	1-4, 7, 9, 11, 12
Y	& WO 1997/002047 A1 & EP 844004 A1 & CN 1193916 A	10, 13
X	JP 2018-59248 A (学校法人慶應義塾) 2018.04.12, 実施例、段落 0 0 9 3 (ファミリーなし)	1-3, 5, 7, 9

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
P, X	宮原 英生 ほか, 酵素分解を利用した複合マイクロゲル構築体によるドラッグデリバリーシステム, 日本機械学会第9回マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集, 2018.10.30, 31-am3-PN-87	1-4, 6-12
P, X	宮原 英生 ほか, 酵素分解を利用したアルギン酸マイクロゲルDDSの徐放制御, 日本機械学会2018年度年次大会 講演論文集, 2018.09.03, J0220305	1-4, 6-12