

公 告 本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：94127770

※ 申請日期：94.8.15

※IPC 分類：A61L 24/00

A61F 7/14

G02B 1/00

一、發明名稱：(中文/英文)

眼用裝置及相關方法及組合物

OPHTHALMIC DEVICES AND RELATED METHODS AND
COMPOSITIONS

二、申請人：(共 2 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

1. 加拿大渥太華市健康研究中心

OTTAWA HEALTH RESEARCH INSTITUTE

2. 加拿大國家研究委員會

NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF CANADA

代表人：(中文/英文)

1. 羅納德 G 渥頓

WORTON, RONALD G.

2. 派特 莫提米爾

MORTIMER, PAT

住居所或營業所地址：(中文/英文)

1. 加拿大安大略省渥太華市帕克戴爾大道 725 號

725 PARKDALE AVENUE, OTTAWA, ONTARIO, CANADA K1Y
4E9

2. 加拿大安大略省渥太華市蒙特利路 1200 號

1200 MONTREAL ROAD, OTTAWA, ONTARIO, CANADA K1A
0R6

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2004 年 08 月 13 日；60/601,270

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

相關申請案之前後參照

本申請案係請求2004年8月13日提出申請之美國臨時申請案編號60/601,270之權益，其全部內容均據此併於本文供參考。

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於裝置、方法及組合物，用於增進個體之視覺，或在個體中用於治療眼睛之外傷性損傷或眼科疾病或病症。特定言之，本發明係關於角膜上嵌體、角膜內嵌體及角膜植入物，其係製自對個體提供一或多種利益之材料。

【先前技術】

美國專利5,713,957揭示角膜上嵌體，其包含生物不可降解之非水凝膠眼部生物可相容材料，且具有足以允許具有分子流體重量大於10,000道爾吞之組織流體成份通過上嵌體之多孔性。

美國專利5,716,633揭示一種膠原/PHEMA-水凝膠，用於促進上皮細胞生長與基質之再生作用。膠原-水凝膠可被提供作為光學鏡片，以被附著至Bowman氏膜，其係有效促進且支持上皮細胞生長，或角膜上皮之附著於鏡片前表面上。膠原-水凝膠為水凝膠聚合體，藉由親水性單體溶液之自由基聚合反應形成，於膠原之儲備水溶液存在下凝膠化與交聯，以形成用於錨定膠原之三次元聚合網狀組織。膠原在上嵌體中之最後濃度為約0.3%至約0.5%（重量/重量）。

美國專利5,836,313揭示形成可植入複合物角膜假體之方

法。此方法係提供角膜假體，經設計以提供角膜上皮細胞生長用之適當受質。角膜假體係以下述方式形成，將角膜組織放置在具有角膜植入物形狀之模具中，並與使聚合體溶液交聯，以化學方式結合具有厚度在大約50與100微米間之生物可相容水凝膠至角膜組織，以形成角膜假體。或者，將聚合體溶液置於角膜組織與預成形水凝膠之間，然後聚合，以致使聚合體溶液偶合至水凝膠與角膜組織兩者。

美國專利6,454,800係揭示角膜上嵌體或角膜植入物，其包含具有多個表面凹痕之表面，以支持組織細胞之連附與生長。

美國專利6,689,165係揭示一種供角膜增進與替補之合成裝置，使用繫留角膜增進劑增加角膜上皮細胞黏連與潛移。

與現行膠原為基礎之材料有關聯之一些問題，係為膠原為基礎之材料並非光學上透明，其可能由於形成或轉化成纖維質為基礎之材料所致，其會造成不期望之光散射。

因此，仍然需要生物可相容，眼睛上可接受，且適合安置在眼睛中，以增進個體視覺之材料。

【發明內容】

發明摘述

一種眼用裝置係包含本體，其包含當該裝置被置於個體眼睛中時有效幫助神經生長經過或覆蓋該本體之組合物。在某些具體實施例中，該裝置為增進視覺之眼用裝置。在替代具體實施例中，該裝置為治療性眼用裝置。可明瞭本發明之視覺增進裝置係為經結構化，以矯正一或多種折射

誤差之裝置。換言之，可明瞭本發明之裝置係為折射誤差矯正裝置。本發明裝置之本體可被形成具有光學能力。

本發明之組合物為光學上透明，並可包含約 1% (w/v 或 w/w) 與約 50% (w/v 或 w/w) 間之膠原量。在某些具體實施例中，膠原量係大於 2.5% (w/w 或 w/v)。當於本文中使用时，組合物與裝置之膠原及 / 或其他成份之量，在未偏離本發明之精神下，應明瞭係為無論是 w/w 或 w/v 百分比。在其他具體實施例中，膠原量係大於約 5.0%。例如，此材料可包含膠原量在約 10% 與約 30% 之間。在某些具體實施例中，此材料包含經交聯膠原量在約 1% 與約 50% 之間，其中膠原係使用 1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺 (EDC; CAS # 1892-57-5) 與 N-羥基琥珀醯亞胺交聯。在進一步具體實施例中，經交聯膠原量係在 2.5% 與約 50% 之間。此材料可包含第一種膠原聚合體，經交聯至第二種膠原聚合體。在某些具體實施例中，於本文中所揭示之眼用裝置係未使用戊二醛製造。例如，眼用裝置在其製造中並未利用戊二醛作為交聯劑。戊二醛可能不令人滿意或並非較佳作為交聯劑使用，此係因對於戊二醛及 / 或本發明組合物與裝置之處理與安全要求所致。在某些具體實施例中，眼用裝置係未使用細胞毒性成份製造，或換言之，係使用具有降低細胞毒性之成份製造。

前述裝置可為角膜上嵌體，角膜內嵌體或全厚度角膜植入物，譬如經設計以替代個體天然角膜之裝置。本發明裝置係為透明，且可製自組合物，在該組合物被製成裝置之

前係為透明。

前述裝置之材料亦可包含一或多種細胞生長增進劑或一或多種其他生物聚合體。

一種製造眼用裝置譬如折射誤差矯正裝置之方法，根據本文之揭示內容，係包括使用1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺與N-羥基琥珀醯亞胺(EDC與NHS)，使膠原聚合體交聯。此交聯作用係發生在酸性pH下，譬如pH值約5.0至約5.5。該方法亦可包括添加細胞生長增進劑至交聯組合物之一或多個步驟。該方法包括將組合物放置在模具中，並允許組合物熟化以形成眼用裝置。

本文中所述之任何特徵或特徵組合係被包含在本發明之範圍內，其條件是被包含在任何此種組合中之特徵不會相互不一致，正如將自上下文、本專利說明書及一般熟諳此藝者之知識所明瞭者。此外，任何特徵或特徵之組合可明確地自本發明之任何具體實施例排除。

本發明之其他優點與各方面，將在下文詳細說明、附圖、實例及請求項中明瞭。

詳細說明

典型人類眼睛具有晶狀體與虹膜。眼後房係位於虹膜後面，而眼前房係位於虹膜前面。眼睛具有角膜，其包含五層，如本文中所討論。其中一層，角膜上皮，係作為角膜之前面外部表面之內襯。角膜上皮為分層鱗狀上皮，以側向方式延伸至邊緣。

角膜之五層係包含角膜上皮、Bowman氏膜、基質、Descemet

氏膜及內皮。角膜上皮經常為約5-6個細胞層厚(大約50微米厚)，而當角膜受傷害時一般會再生。角膜上皮係提供相對較平滑折射表面，且幫助防止眼睛感染。角膜基質為膠原之層合結構，其含有已被分散於其中之細胞，譬如纖維母細胞與角膜細胞。基質係構成約90%之角膜厚度。基質之前面部份，其係位於上皮之下，係為無細胞且被稱為Bowman氏膜。Bowman氏膜係位於上皮與基質之間，且咸認係為保護角膜免於損傷。角膜內皮典型上為單層之低立方形或鱗狀細胞，其係藉由從角膜移除水而使角膜脫水。成年人類角膜典型上為約500微米(0.5毫米)厚，且典型上無血管。

眼用裝置已被發明，其係對希望其視覺被增進或改善，或需要治療眼睛之疾病、病症或外傷性損傷之個體(譬如個人)提供一或多種利益。本文中所述之裝置可經設計為角膜上嵌體、角膜內嵌體或全厚度角膜植入物。本發明裝置可增進已降低視覺之個體之視覺，或對未具有視覺之個體提供視覺。本文中所述之裝置係明確地排除眼球內鏡片。

於本文中使用之"光學上透明"係指至少85%之白光透光率。在某些具體實施例中，"光學上透明"係指相當於健康角膜之光學透明性，例如，具有大於90%之白光透光率，且低於3%散射。

於本文中使用之"角膜上嵌體"係為眼用植入物或裝置，經設計，譬如裁定尺寸與成形，以被定位於個體眼睛之上皮或上皮細胞層與Bowman氏膜之間，譬如人類或動物之眼

睛。比較上而言，隱形鏡片係經設計以被定位於眼睛上皮之上方。角膜上嵌體可因此完全安置於Bowman氏膜上，或其可包含一或多個延伸進入Bowman氏膜中之部份。此種部份係構成該裝置之較少部份，譬如低於該裝置面積或體積之50%。

於本文中使用的"角膜內嵌體"係為經設計以被放置在眼睛基質中之裝置或植入物。角膜內嵌體可經由在基質中形成側翼或袋囊，而被置於基質中。角膜內嵌體係被置於眼睛之Bowman氏膜下方。

於本文中使用的"全厚度角膜植入物"係指經設計以替代位於眼睛水狀液前面之眼睛全部或部份不健康角膜之裝置。

本發明眼用裝置具有降低之細胞毒性或為非細胞毒性，且對其中放置該裝置之個體，提供一或多種利益。例如，該裝置係提供下列之一或多個：(i)所要之折射率，(ii)所要之光學透明性(對於可見光，光學透光率與光散射係等於或優於可比擬厚度之健康人類角膜物質)，(iii)所要之光學能力，譬如增進視覺之光學能力，(iv)增進之舒適性，(v)增進之角膜與上皮保健，及(vi)治療利益，例如在眼睛之疾病、病症或外傷性損傷之治療上。本發明眼用裝置係為透明，或係由透明材料形成。此種裝置之一些實例包括光學上透明之裝置。

前述以及其他利益可經由以一種材料形成該裝置而獲得，該材料係為(i)可成形，譬如可模製，以形成具有可接

受光學能力之基體，(ii)光學上透明或視覺上透明，及(iii)有效幫助神經生長經過及/或覆蓋該裝置。當裝置為角膜上嵌體時，該裝置係有效幫助上皮再形成覆蓋該裝置之前表面。

該裝置係由一種材料形成，其具有足夠機械或結構性質，以克服處理、植入，其可包括縫合與安裝後磨耗與撕裂。此裝置係提供或允許足夠營養物與氣體交換，以促進健康眼睛。在模具中製成之裝置，譬如角膜上嵌體，係由一種材料形成，其可被模製成適當大小與形狀，包括邊緣梯度與視覺矯正曲率，如本文中所討論者。

在本發明之一項具體實施例中，增進視覺之眼用裝置包含一個本體，其包含一種材料，當該裝置被置於個體眼睛中時，其係有效幫助神經生長經過該本體。藉由幫助神經生長經過該本體，接受該一或多個裝置之個體之角膜，係保持其接觸敏感性。該本體係被形成具有光學能力。因此，可明瞭該本體係為鏡片本體。如本文中所討論，該裝置可經設計，譬如裁定尺寸與成形，以成為角膜上嵌體、角膜內嵌體或全厚度角膜植入物。在某些具體實施例中，本發明折射誤差矯正裝置可不具有光學能力。例如，可明瞭根據本發明揭示內容之折射誤差矯正裝置，係為可被置於病患角膜上皮與Bowman氏膜之間或在病患角膜基質中之毛壞。

對角膜上嵌體而言，自其製成該上嵌體之材料，係提供或允許氣體與營養物，譬如葡萄糖，在Bowman氏膜與上皮

之間交換，以保持可用完全發揮功能之上皮。其他營養物包括一些因子或藥劑，以促進或增進細胞譬如上皮細胞之存活、生長及分化。此交換應相當於或優於健康人類角膜。此材料對營養物及/或藥物之滲透性，可使用習用技術監測。此外，營養物及/或藥物之移動經過此材料，不應造成材料之光學性質改變。上嵌體或晶狀體係為完全生物可相容，允許對上嵌體之快速上皮黏著性，且允許神經分佈與敏感性(例如接觸敏感性)之修復。

本發明眼用裝置可包含胞外間質(ECM)成份。在某些裝置中，本體之材料包含，基本上包含或由膠原所組成。此膠原可經交聯，例如在裝置之製造上利用EDC/NHS。被提供於本發明水凝膠裝置中之膠原量，係大於目前在其他眼用裝置中所使用者。例如，被提供於本發明裝置中之膠原量，典型上係大於1% (w/w) 或 (w/v)，如本文中所討論者。在某些具體實施例中，膠原量係大於2.5%。例如，膠原量可為約5.0%或較多。在本發明裝置之某些具體實施例中，膠原量係在約1% (w/w) 與約50% (w/w) 之間，譬如在2.5%與約50%之間。例如，膠原量係大於約6% (w/w)。或者，該材料可包含膠原量在約10% (w/w) 與約30% (w/w) 之間。正如一般熟諳此藝者所明瞭者，約15重量%之水合人類角膜為膠原(Maurice D M: 角膜與鞏膜，第489-600頁。Eye, 第I卷，第二版，H Davson. 編著，大學出版社，New York, 1969)。因此，本發明裝置包含之膠原量係大於現行眼用裝置，且遠較類似存在於人類角膜中之膠原量。此外，被提供於本發明裝置中之膠

原量與類型，係有效提供所要之折射率、所要之光學透明性、可成形性，允許該裝置在眼睛中之處理、植入及縫合，以及安裝後之磨耗與撕裂。

眼用裝置之其餘部份，譬如非膠原為基礎之部份，可為液體，譬如水或鹽水，或亦可包含一或多種其他聚合體，譬如生物聚合體等。例如，眼用裝置，其包含約24% (w/w) 膠原，如本文中所揭示，其可包含約76% (w/w) 之液體，譬如水或鹽水。換言之，在水合狀態中，此眼用裝置可具有膠原成份，其係為水合眼用裝置重量之24%。作為另一項實例，眼用裝置可包含膠原成份，其係為水合裝置重量之24%，與第二種聚合體成份，其係為水合裝置重量之6%，及該重量之70%為液體。正如一般熟諳此藝者所明瞭，在未水合狀態中，於裝置中之膠原量可比在水合狀態中為較大百分比。

膠原包含三個多肽鏈，且為於結構上為螺旋狀。於本文中使用之"膠原聚合體"一詞，係意欲指稱三股螺旋膠原分子。膠原為棒狀分子，具有長度與直徑個別為約300毫微米與約1.5毫微米。膠原分子具有胺基酸順序，稱為"端肽"，在其N-與C-兩末端處，其包含膠原之大部份抗原性。非端膠原係藉由胃蛋白酶消化而獲得[DeLustro等人，J Biomed Mater Res. 1986年1月；20(1)：109-20]，且不含端肽，表示其具有低致免疫性[Stenzel等人，Annu Rev Biophys Bioeng. 1974；3(0)：231-53]。

被使用於上文所確認裝置之膠原，可得自或衍生自任何

合物或溶液比較時，具有低三股螺旋含量 ($\Delta H_{\text{變性}} < 5$ 焦耳/克，供應商 C，表 1) 之膠原溶液，具有相對較低黏度，而獲得弱凝膠。已發現具有 $\Delta H_{\text{變性}} > \text{約 } 60$ 焦耳/克之膠原組合物 (溶液)，係製造可接受之眼用裝置。

表 1. 膠原溶液之變性焓

市售膠原試樣	組合物	$\Delta H_{\text{變性}}$ (乾燥膠原之 焦耳/克)
Koken (日本), 供應商 A	10% 牛溶液	65.3
Koken (日本), 供應商 A	10% 牛膠原溶液， 濃縮自 3% 酸性	67.5
Koken (日本), 供應商 A	5% 牛膠原溶液， 濃縮自 3.0% 酸性	66.4
Koken (日本), 供應商 A	3.5% 牛中性溶液	68.1
Koken (日本), 供應商 A	3.5% 牛中性溶液， 於加熱變性後	24.4
Koken (日本), 供應商 A	3.0% 豬膠原溶液	72.0
Koken (日本), 供應商 A	5% 溶液， 得自凍乾豬膠原 (酸性)	68.1
Nippon Ham, 供應商 B	10% 溶液， 得自凍乾豬膠原 (極酸性)	63.4
Becton Dickinson, 供應商 C	5% 牛溶液， 濃縮自 0.3%	59.4
Becton Dickinson, 供應商 C	"10%" 牛溶液	4.8
纖維蛋白原重組人類膠原	10% 溶液， 濃縮自 0.3 重量/重量%	67.7

在某些具體實施例中，包括上文所述者，本體之材料可

組膠原。存在於此種裝置中之膠原量，係大於在其他已於先前揭示之膠原為基礎之折射誤差矯正裝置中所發現者。此種裝置可被形成具有光學能力。

於本文中所揭示之裝置係為透明。例如，此等裝置應為光學上透明。例如，當此裝置被置於個體眼睛中時，該裝置應提供最少光散射(相當於或優於健康人類角膜組織)。此外，於本文中所揭示之裝置具有折射率。在某些具體實施例中，折射率係在約1.34與約1.37之間。例如，折射率可在1.341與1.349之間。當此裝置經設計為角膜上嵌體或角膜內嵌體時，該裝置係經設計以放置在個體之健康眼睛中，當與其中角膜受到傷害或患病之眼睛比較時，其中可能需要全厚度角膜植入物。在本發明裝置之某些具體實施例中，此等裝置並未具有黃色色調或黃顏色。例如，此等裝置可經設計以降低或排除黃色色調或黃顏色，其可能與一些含有膠原之組合物有關聯。

本發明裝置具有前表面與後表面。因此，裝置之本體或膠原成份可具有前表面與後表面。前與後表面係大致上為相反面。裝置之前表面係指當裝置被放置在眼睛中時，遠離視網膜取向之表面，而當裝置被放置在眼睛中時，後表面係朝向視網膜取向。當裝置為角膜上嵌體時，後表面將鄰近且可接觸Bowman氏膜，而前表面將鄰近且可接觸角膜上皮。當裝置為角膜內嵌體時，前表面將鄰近或朝向Bowman氏膜取向，而後表面將在朝向眼睛之視網膜取向之基質中。當裝置為全厚度角膜植入物時，前表面係朝向角膜上

皮取向，而後表面係鄰近且可與角膜內皮接觸。

本發明裝置可未包含其他表面改質，或此裝置可包含表面改質，其會影響前與後表面之任一個或兩者上之細胞生長及/或分化。例如，角膜上嵌體可未包含表面改質，其會影響前或後表面上之細胞生長。於本文中使用之"細胞生長"係指細胞或細胞群集之擴張。因此，細胞生長係指個別細胞之物理生長，譬如增加表面積、體積等，一或多個細胞之增生，譬如細胞之分裂，及細胞之潛移，在一些情況中係形成分層之多層，如在健康人類角膜中所發現者。細胞生長係指神經細胞之生長，譬如一或多個神經元突之延伸於該裝置上方、下方或經過其間，且係指上皮細胞或內皮細胞於該裝置表面上方之生長或潛移或增生。於本文中使用的"細胞分化"係指單一或群集之全能、多能或未成熟先質細胞(包括幹細胞)所進行之形態學、生物化學及生理學改變，以達成其最後表現型。在本發明裝置之某些具體實施例中，上皮細胞係於角膜上嵌體上方生長，且緊密地結合至其上，例如直接連接至上嵌體，特別是上嵌體之前表面。

在某些角膜上嵌體中，該本體或膠原成份係包含後表面改質，當上嵌體被放置在個體之眼睛中時，有效降低上皮細胞生長於上嵌體下方。另外或替代地，角膜上嵌體可包含本體或膠原成份，其包含前表面改質，當上嵌體被放置在個體之眼睛中時，有效促進上皮細胞生長於上嵌體前表面上方，包括潛移。有關聯地，全厚度角膜植入物可包含

該本體或膠原成份，其包含後表面改質，當植入物被放置在眼睛中時，有效降低內皮細胞生長於全厚度角膜植入物後表面上方。全厚度角膜植入物可未包含前表面改質。

可降低細胞生長之表面改質實例，包括提供電漿聚合之氟化單體薄膜，譬如 CF_4 或 C_3F_8 ，於前與後表面之一或兩者上，提供低自由表面能於該表面之一或兩者上，及/或經由造成該表面之一或兩者具親水性。此等表面可藉由提供海藻酸鹽塗層於一或多個表面上而成為親水性。

此等裝置可包含一或多種細胞生長增進劑，其有助於細胞在於或經過該裝置生長。在某些具體實施例中，細胞生長增進劑包括肽。例如，細胞生長增進劑可為具有包括 RGD、YIGSR 或 IKVAV 之胺基酸順序之肽。膠原 I 本身為 RGD 順序之豐富來源。在某些具體實施例中，細胞生長增進劑為神經營養因子或該分子之生物活性或神經營養部份。例如，神經營養因子可為神經生長因子 (NGF)、表皮生長因子 (EGF 或 HB-EGF) 或鹼性成纖維細胞生長因子 (bFGF 或 FGF-2)。細胞生長增進劑可與該裝置之膠原成份或本體一起整合地形成，或換言之，細胞生長增進劑可實質上被提供於整個裝置中。比較上而言，一些眼用裝置僅包含被提供於裝置之一個表面上之肽。

在某些具體實施例中，膠原為基礎之眼用裝置係包含一種膠原成份，其在裝置之製造上，係於酸性 pH 下處理。當膠原成份包含第一種膠原聚合體，經交聯至第二種膠原聚合體時，酸性 pH 係特別有用。於此種裝置製造中所使用之

酸性 pH，典型上係低於約 6.0，例如此 pH 可在約 5.0 與約 5.5 之間。藉由保持酸性 pH，及藉由在 pH 調整期間預防或降低 pH 起伏，膠原之微纖維生成係被降低。此外，藉由保持 pH 值高於約 5.0，膠原不會猶如 pH 低於 5.0 時一樣快速地降解。

膠原聚合體可使用任何小的或聚合之膠原-反應性作用劑或分子交聯。交聯化學可採用習用方法，其對一般熟諳此藝者係為例行性，或新穎試劑。經由使膠原聚合體交聯，此等裝置係保持其光學透明性，且能夠抵抗生物降解。

在某些具體實施例中，膠原聚合體係使用 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳化二亞胺 (EDC; CAS # 1892-57-5) 與 N-羥基琥珀醯亞胺 (NHS) 交聯。換言之，被使用於裝置製造之交聯劑為 EDC/NHS。膠原聚合體與 EDC/NHS 交聯劑係於酸性 pH 下混合在一起，同時防止 pH 中之起伏。於充分混合後，將部份經混合之組合物放置在模具中，並允許在模具中熟化，以形成眼用裝置。利用水溶性 EDC/NHS 化學以使膠原與 CSC 交聯之一項優點係為其會造成零長度(醯胺)鍵結。這會降低接枝之有毒物質滲出至組織中之可能性。此外，來自 EDC/NHS 反應之未反應試劑與副產物係為水溶性，且因此可容易地於凝膠形成後被移除。

在某些具體實施例中，膠原聚合體係使用具有降低細胞毒性之交聯劑或交聯作用劑交聯。當眼用裝置被放置在個體之眼睛中時，此種交聯劑較佳係不會刺激或造成負面反應。在一些具體實施例中，交聯劑係為戊二醛以外之交聯劑。雖然戊二醛在某些具體實施例中可為有用交聯劑，但

戊二醛可能並非較佳，此係由於處理與安全要求所致。

在其他具體實施例中，此方法可進一步包括使用至少一種下列成份：聚(N-異丙基丙烯醯胺-共-丙烯酸)、硫酸軟骨素、硫酸角質素、硫酸皮膚素、彈性蛋白、脫乙醯殼多糖、N,O-羧甲基脫乙醯殼多糖、玻尿酸、玻尿酸醛及海藻酸鹽，其可與膠原組合物混合。因此，眼用裝置可包含膠原成份，譬如經交聯膠原聚合體之基體，與一或多種非膠原聚合體，包括生物聚合體。非膠原聚合體可經交聯在一起，及/或可經交聯至膠原聚合體，以形成交聯聚合體之網狀組織或基體。

在某些具體實施例中，組合物係經過相對較狹窄通道或通路混合在一起，以在不同組合物之間引致高剪切。於一項具體實施例中，組合物係使用注射器為基礎之系統混合。混合係依泵送經過狹窄通道以在黏稠膠原溶液與試劑之間引致高剪切之注射器而定。通道直徑係經選擇，以順應黏度及注射器或其他類似裝置之發射強度。對高黏度(例如20-30% (w/v) 膠原溶液)，係使用具有小直徑注射器柱塞之小體積注射器，因為較高壓力可藉由手獲得。混合係發生在酸性pH下，譬如在約5.0與約5.5之間，及在降低溫度下，譬如在約0°C與約5°C之間。

與其他眼用裝置比較，本發明裝置係未使用活細胞製造。因此，本案發明人已發明製造組合物與眼用裝置之新穎方法，使用相對較高且接近生理濃度之膠原，而未使用活角膜細胞。此外，本發明裝置係實質上或完全不含合成樹枝

狀體成份，其已被用以增加膠原在其他裝置中之交叉反應性。

其他神經友善材料可用於製造本發明裝置。此種材料可使用本文中所揭示之方法製造，並測試神經友善性，譬如神經生長，使用習用方法，其對一般熟諳此藝者係為例行性，譬如細胞培養系統等。例如，此等材料可使用2003年8月11日提出申請之WO 2004/015090中所揭示之方法測試與確認。

於本文中所揭示之裝置係經設計，譬如裁定尺寸與成形，以被放置在眼睛中，環繞眼睛之角膜區域。當此裝置為角膜上嵌體時，此上嵌體可具有直徑約4毫米至約12毫米，譬如約6毫米。上嵌體亦可具有邊緣厚度小於約30微米，例如，在約10微米與約30微米之間。上嵌體亦可具有中央厚度為約70微米。

上嵌體成形模具可製自聚丙烯，並可具有4毫米、6毫米、8毫米或12毫米之直徑。模具應為相對較僵硬性(例如，在閉合期間不會撓曲)且透明以允許裝料顯像。模具係經設計，以提供精密錐狀(例如約10微米)上嵌體邊緣，或稍微較陡峭(例如約30微米)上嵌體邊緣。

角膜植入物模具(無論是全厚度或部份厚度)可具有直徑為約12毫米。移植物模具係被製成具有所要角膜之曲率與厚度。若必要則眼用裝置(例如水凝膠)可被施以環鋸，按移植程序所需要而定。

其中一種本發明折射誤差矯正裝置之實例係示於圖8與

圖 8A 中。

於本文中所揭示之角膜上嵌體亦可經設計，以矯正個體眼睛之一或多個波前像差。波前技術之說明與波前像差之度量，係提供於美國專利 6,086,204 (Magnate) 與 WO 2004/028356 (Altmann) 中。角膜上嵌體可被成形以矯正波前像差，其方式是使模具以所要之型態成形，其允許上嵌體呈現矯正形狀。在角膜上嵌體中使用波前像差度量之方法，係揭示於 2004 年 5 月 20 日提出申請之美國專利申請案 60/573,657 中。上嵌體亦可經切蝕以矯正波前像差。例如，上嵌體可使用雷射或似雷射裝置、車床及其他適當鏡片成形裝置切蝕。

於本文中所揭示之角膜上嵌體亦可包含多個不同區帶。例如，角膜上嵌體可包含光學區帶與外圍區帶。典型上，光學區帶係以外圍區帶為邊界，或換言之，光學區帶係大致上中央地位於環繞上嵌體之光軸，譬如中央光軸，而外圍區帶係經配置於光學區帶之邊緣與角膜上嵌體之外圍邊緣之間。其他區帶與上嵌體型態可被提供於上嵌體，依病患所歷經之特定視覺缺陷而定。

此外，本發明角膜上嵌體可具有無接面區帶，譬如兩個或多個未具有視覺上或光學上可偵測接面之區帶。上嵌體之區帶可為平滑且連續，且上嵌體可於光學上達最佳化，以矯正不僅是折射誤差，而且是眼睛及/或光學裝置之其他光學像差，獨立或合併矯正折射誤差。正如熟諳此藝者所明瞭，角膜上嵌體可經結構化，以矯正視覺缺陷，包括而不限於近視、遠視、散光及老視。上嵌體可藉由被加諸於

眼睛基質上之無論是光學設置或物理設置或其組合，增進或改善視覺缺陷。因此，角膜上嵌體可為單焦鏡片或多焦鏡片，包括但不限於雙焦鏡片。

另外或替代地，角膜上嵌體可為隆凸鏡片。例如，上嵌體可包含隆凸區域，當被置於具有散光之眼睛上時，其可有效矯正或降低散光之影響。上嵌體可包含隆凸區域，位在上嵌體之後表面上，或上嵌體可包含隆凸區域，位在前表面上。有利的是，可使用隆凸上嵌體，而無需整定物以保持上嵌體在眼睛上之適當取向，因為上嵌體可藉由裝置之上皮保持在相對較固定位置上。但是，若需要，可提供整定物。在某些具體實施例中，上嵌體可包含整定物，譬如稜鏡，或其可包含一或多個薄化區域，譬如一或多個在下及/或在上之薄區帶。在經設計以矯正老視之上嵌體中，上嵌體可包含一或多種設計，譬如同心、非球形(無論是具有正及/或負球形像差)、繞射及/或多區帶折射。

本發明亦涵蓋一些組合物，譬如合成或非天然生成之組合物。此等組合物可為完全或部份合成。例如，本發明係關於光學上透明之組合物。此種組合物可被使用於本文中所示之一或多種眼用裝置之製造上。或者，此等組合物可被使用於非眼用環境中，作為非眼用組合物，或可被使用於眼用環境中，而未提供折射誤差矯正。於另一項具體實施例中，根據本發明揭示內容，一種組合物係包含大於約1% (w/w) 之膠原量，呈水合狀態，且為光學上透明。如本文中所討論，膠原量可大於2.5%，譬如至少約5.0%。例如，

此組合物可包含膠原量在約 1% (w/w) 或 2.5% 或約 5.0% 與約 30% (w/w) 之間，呈水合狀態。在某些具體實施例中，此組合物可包含約 6% (w/w) 膠原。在其他具體實施例中，此組合物可包含膠原量在約 10% (w/w) 與約 24% (w/w) 之間。此組合物可包含大於約 1% (w/w) 之經交聯膠原量，呈水合狀態，其中膠原係使用 EDC/NHS 交聯。

本發明組合物可包含兩種或多種膠原聚合體。在某些具體實施例中，組合物係包含第一種膠原聚合體，經交聯至第二種膠原聚合體，如上述。組合物可實質或完全不含細胞毒劑，譬如戊二醛。

於本文中所揭示之眼用裝置可使用任何適當操作法或技術，被放置在眼睛中。

例如，角膜上嵌體可藉由從 Bowman 氏膜移除或分離一部份上皮，而被放置在眼睛之 Bowman 氏膜上。在某些狀況中，可將一數量之醇，譬如乙醇，塗敷至角膜上皮，以使上皮自眼睛脫層。此醇可在約 10% 至約 60% 之濃度下，例如約 20% 或約 50%。溫熱此乙醇至約 37°C (例如體溫) 可有效增進上皮移除。此脫上皮技術係類似目前實施之 LASEK 技術。

在其他狀況中，可將角膜上嵌體放置在 Bowman 氏膜上，其方式是將上嵌體放置在上皮側翼下或在上皮袋囊中。此種側翼與袋囊可使用切割儀器、鈍器解剖工具等製成。放置角膜上嵌體於眼睛中之方法，其實例係揭示於 2003 年 9 月 12 日提出申請之美國專利申請案 10/661,400 與 2004 年 5 月 20 日提出申請之美國專利申請案 60/573,657 中。

角膜內嵌體可被放置在眼睛中，其方式是形成基質內袋囊或角膜側翼，並將內嵌體放置在該袋囊或側翼中。

全厚度角膜植入物可被放置在眼睛中，其方式是移除角膜之受到傷害或患病部份，並將角膜植入物放置在於或接近經移除角膜部份之區域中。

於本文中所揭示之眼用裝置可使用鑷子或任何其他適當插入物置於眼睛中，譬如在2003年9月12日提出申請之美國專利申請案10/661,400與2004年5月20日提出申請之美國專利申請案60/573,657中所述者。

為幫助眼用裝置安置於眼睛中，此裝置可包含顯像成份。顯像成份可為任何適當特徵，其允許裝置被插入或置於眼睛中時容易被見及。例如，顯像成份可包含一或多種標記，其亦可幫助裝置之旋轉位置，或顯像成份可包含染料，譬如生物可相容或非細胞毒性染料或微染劑。

關於本發明眼用裝置與製造及使用此裝置之相關方法之其他細節，係提供於下文實例中，其係藉由說明方式提供，而非限制本發明。

【實施方式】

實例

實例1

膠原為基礎之角膜上嵌體之製備

典型上，係將0.5毫升-2.0毫升在緩衝水溶液中之膠原溶液，與0.01毫升-0.50毫升在緩衝水溶液中之交聯劑，於約0℃下混合，而無氣泡捕獲。在一些組合物中，將膠原以外

之第二種生物聚合體添加至組合物中。

為混合此等組合物，將含有組合物之注射器連接至 Tefzel T 形管件 (Uptight 零件)，形成微歧管，其允許黏稠膠原溶液之充分混合，及 / 或經控制之中和作用，於 pH 上無起伏。pH 起伏經常會導致膠原之不可逆微纖維生成，而得不透明基體。

更明確言之，使用第一個魯厄氏接頭以保持隔片，經切割至適當大小以緊密地吻合至 T 形管線孔之底部。切割隔片至適當大小，其係得自 Restek 公司之 "Ice Blue" 17 毫米通用 22397 隔片。將第一個具有緩衝溶液譬如 MES (2-[N-嗎福啉基] 乙烷磺酸) 緩衝劑之注射器鎖入第二個魯厄氏接頭中，並以此緩衝溶液推送出任何氣泡。將膠原溶液置於第二個注射器中，然後使其連接至裝有三個魯厄氏接頭 (圖 2) 之 Tefzel T 形管件 (如圖 1 中所示) 之第三個魯厄氏接頭。完全組裝係示於圖 3 中。

膠原溶液係完全與 MES 緩衝溶液混合，其方式是在第一個與第二個注射器之間重複泵送經過 T 形管，以致經過 T 形管件中之狹窄管孔通道 (例如，在約 0.5 毫米至約 0.25 毫米之間) 之流動，係強烈地剪切該液體。調整 pH 值至 5.0-5.5。然後，將膠原 / 緩衝劑混合物與 EDC 及 NHS 溶液 (EDC: NHS 在 1:1 莫耳當量比例下) 於 0°C -4°C 下混合，其方式是使用另一個注射器，引導組合物經過歧管。

將各實質上均勻溶液之液份立即分配至上嵌體模具中，並首先在室溫下熟化 5-24 小時，譬如 15 小時，然後在 37°C 下

15-24 小時，於兩種溫度下，均在 100% 濕度環境下。

各最後上嵌體試樣係在浸沒於磷酸鹽緩衝之鹽水 (PBS) 中 2 小時後，小心地自其模具分離。

在一些情況中，係將此等凝膠浸沒於第二種反應性生物聚合體之水溶液中，以獲得進一步交聯作用，及增加新生物因子。

最後，係將經交聯之上嵌體水凝膠浸沒於 PBS 溶液 (0.5%，在 PBS 中，含有 1% 氯仿) 中，於 20°C 下，以使任何反應性殘基末端化，並萃取出反應副產物。在所有測試之前，將此等無菌平衡水合上嵌體在 PBS 中充分沖洗。

對於在較高膠原濃度 (10% 及較高) 下，製自一些膠原 /EDC-NHS 化學物質之凝膠，係將凝膠首先浸泡在 pH 9.1 緩衝劑中，以終止任何殘留反應性，且在儲存於氯仿-飽和 PBS 中之前，賦予反應產物之適當萃取。此鹼性萃取係自此等試樣移除上皮毒性問題。對許多化學計量，浸泡在氯仿飽和 PBS 中，接著移除氯仿殘留物，係獲得無菌非細胞毒性凝膠。

實例 2

具有細胞生長增進劑之眼用裝置

細胞生長增進劑，譬如五肽 (YIGSR，在昆布胺酸巨分子中之活性單位)，單獨或併用增效肽，譬如含有 IKVAV 者，增效 IGF，及物質 P 肽，其會促進上皮健康，EGF、NGF、FGF，或此等分子之一部份，可被摻入任何膠原 /EDC-NHS 交聯裝置中，包括具有第二種 EDC-NHS 反應性生物聚合體者。關

於 YIGSR，此細胞生長增進劑之結合可經由酪胺酸殘基之自由態胺端基在藥劑上之反應性而達成。於膠凝後之廣泛萃取可用以移除任何未結合之細胞生長增進劑。

眼用裝置之特定配方細節係被提供於下文實例 3-13 與表 2 中。

實例 3

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用 1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺 (EDC) 與 N-羥基琥珀醯亞胺 (NHS) + 膠原，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。

實例 4

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用 COP + EDC-NHS + 膠原，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0°C -4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。[COP，共聚物，聚(N-異丙基丙烯醯胺-共-丙烯酸)係藉由 NiPAAm 與 AAc 在 1,4-二氧陸園中，使用 2,2'-偶氮雙-異丁腈引發劑，於氮氣及 70°C 下之自由基聚合製成。

實例 5

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用 EDC-NHS + 硫酸軟骨素 C (ChS) + 膠原，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。

實例 6

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + EDC-NHS + N,O-羧甲基脫乙醯殼多糖(CMC)，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。

實例 7

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + EDC-NHS + N,O-羧甲基脫乙醯殼多糖(CMC)，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 2 小時，然後當凝膠被浸沒於 PBS 中之脫乙醯殼多糖(1% 水溶液，5000 Da)內時，+ 第二次交聯作用，歷經 4 小時。最後在 37°C 下 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。

實例 8

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + EDC-NHS + 玻尿酸(HA)，及在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。

實例 9

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + EDC-NHS + 硫酸軟骨素(ChS) + 玻尿酸(HA)，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後升高至 37°C，歷經 15 小時。EDC : NHS = 1 : 1 莫耳當量比例。

實例 10

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + 玻尿酸醛

(HA-CHO) + 氰基硼氫化鈉，在 pH 7-8 下，於 PBS 中，在 0-4°C 中，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下歷經 15 小時。HA-CHO 係使用過碘酸鈉 (0.05 克)，在 21°C 下 2 小時，藉由氧化性分裂，製自 HA (0.1 克)。使水溶液對著水滲析 2 天。

實例 11

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + EDC-NHS + 海藻酸鹽，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC: NHS = 1: 1 莫耳當量比例。

實例 12

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用戊二醛 ("Glut"，在水中經稀釋至 1%) + 膠原，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C 歷經 2 小時，然後當凝膠被浸沒於 PBS 中之脫乙醯殼多糖 (1% 水溶液，5000 Da) 內時，+ 第二次交聯作用，歷經 4 小時。於 PBS 下移除之前，使凝膠在其模具中升高至 37°C，歷經 15 小時。

實例 13

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用膠原 + EDC-NHS + 脫乙醯殼多糖，在 pH 5.5 下，於 MES 緩衝劑中，在 0-4°C 下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC: NHS = 1: 1 莫耳當量比例。

實例 14

眼用裝置係按實例 1 中所述製成，使用 EDC-NHS + 硫酸軟骨素 C (ChS) + 膠原，在 pH 7-8 下，於 PBS 緩衝劑中，在 0-4°C

下，升高至 21°C，歷經 15 小時，然後在 37°C 下 15 小時。EDC：NHS = 1：1 莫耳當量比例。

實例 3-14 之所有裝置均獲得強韌、透明及可撓性凝膠，具有下表 2 中所指示之所有商用膠原與反應物比例。

供上嵌體應用之一些水凝膠，係藉由 DSC、光學透明性及折射率度量，抗張性質(表 2 之剛性、最高抗張強度、斷裂伸長率)及活體內性能作特徵鑒定。在所有實例反應後，於凝膠上之 DSC 度量，係發現增加變性溫度與降低 $\Delta H_{\text{變性}}$ ，與膠原之交聯作用一致。於表 2 中所有配方之折射率均在 1.341 至 1.349 範圍內。

實例 15

活體外上嵌體性能(表 2)

使用由 Li 等人 PNAS 100：15346-15351 (2003) 所揭示之方法，以評估上皮細胞(人類不滅角膜上皮細胞，HCEC)如何生長至匯合於水凝膠上(至匯合之天數)，以評估 HCEC 細胞如何分層於水凝膠上，及評估雞背側根部神經節神經生長於水凝膠上且進入其中(在數據可取得之情況下，後者係以微米/天生長作報告)。

人類角膜係在完全移除後，於 3-5 天內恢復其上皮。

活體外試驗期間通常為約 6-8 天，但較佳配方係在 3-5 天或較少天內，允許上皮再形成至匯合。對於較濃密凝膠(>5% 膠原)，在活體外試驗中，對於許多配方已發現外延性神經過度生長(300 微米延伸)。當凝膠剛性增加時，神經向內成長會迅速地減緩，但被深度顯微鏡術見及。

表 2. 水凝膠之組合物與性能[†]

實例#	膠原供應商 (表 1) (最初濃度, 重量/ 體積 %)	膠原/XL 當量比或 (重量/重量)	於凝膠 中之最後膠原 濃度 (w/v%)	最大 應力, 克力*	斷裂 應變, 毫米*	剛性, 克/毫米*	活體外 上皮細胞至匯 合之 天數	在 6 天內 之活體外 神經生長 **
2	B, AFDP: (於 10% 下溶解)	Col-NH ₂ : EDC = 5:1 Col: YIGSR = 5:0.0001	7.2				3-5	過度: 快速進入: 27 微米/天
3	A, (10% 牛)	Col-NH ₂ : EDC = 5:1	7.3	8.0	2.6	4.0		
3	B, AFDP: (於 10% 下溶解)	Col-NH ₂ : EDC = 5:1	7.3	9.7	4.0	4.4	2-3	過度: 快速進入: 40 微米/天
3	B, AFDP: (於 15% 下溶解)	Col-NH ₂ : EDC = 5:1	10.8	13.08	4.6	3.0	2-3	
3	B, AFDP: (於 20% 下溶解) 350 微米 厚度凝膠	Col-NH ₂ : EDC = 10:1	14.3	11.95	4.3	3.0	2-3	
3	B, (AFDP, 於 32% 下溶 解)	Col-NH ₂ : EDC = 1:1	18.0	14			2-3	過度: 快速進入: = 30 微米/天
3	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 1:1	2.7	3.1	2.0	1.7	3-5	過度: 快速
5	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2:1 Col: ChS = (9:1)	2.7	2.5	1.8	1.4	3	過度: 快速進入: = 41 微米/天
5	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2:1 Col: ChS = (4:1)	2.7	2.7	1.8	1.5	3	過度: 快速進入: = 73 微米/天
5	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2:1 Col: ChS = (3:1)	2.7	3.1	1.5	1.5	3	過度進入: = 70 微米/天

[†] 縮寫: Col 膠原; Glut 戊二醛; HA 玻尿酸; ChS 硫酸軟骨素 C; 膠原之 Col-NH₂

自由態胺含量; AFDP 酸, 經凍乾豬; epi. 上皮; ND 未測得。

* 500 微米厚, 12 毫米直徑植入物, 除非另有指出。應力、應變及剛性數據係
得自縫合處拔出方法, 如由 Li 等人 PNAS 100: 15346-15351 (2003) 所揭示者。

** 過度: 得自 DRG 過度生長水凝膠之神經突。進入: 神經突於 6 天內生長進
入水凝膠中, 至所指示之長度。

表 2 (續)

實例#	膠原供應商 (最初濃度, 重量/體積 %)	膠原/XL 當量 比或 (重量/重量)	於凝膠中之最後膠原濃度 (w/v%)	最大應力, 克力*	斷裂應變 (毫米)*	剛性, 克/毫米*	活體外 上皮生長至匯合之 天數	在6天之活體 外神經生長**
6	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 1: 1 Col: CMC = (1: 0.5)		3.6	1.6	2.0		
6	B, (AFDP, 於 32% 下溶解)	Col-NH ₂ : EDC = 1: 1.3 Col: CMC = (15: 1)	14.5	6.0			3	
7	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 1: 1 Col: CMC = (2: 1) + 可溶性脫乙酰殼多糖		2.9	1.6	1.9		
8	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2: 1 Col: HA = (9: 1)	2.2	2.5	2.2	1.08	3-5	
8	A, (5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2: 1 Col: HA = (4: 1)	2.2	2.4	2.2	2.07	3-5	
8	A, (10% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2: 1 Col: HA = (3: 1)	2.2	2.0	1.8	1.13	3-5	
9	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 0.5: 1.0 Col: HA: ChS = 9: 1: 1	2.3	3.0	1.7	1.7	3-5	過度 與向內 生長
10	A, (3.5% 中性牛) 350 微米 厚度凝膠	Col-NH ₂ : HA- CHO = 1: 1	3.2	1.0		0.7		
11	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2: 1 Col: Alg = 4: 1	2.7	3.0	2.0	1.6	3-5	過度: 快速 進入: = 41 微米/天
11	A, (3.5% 中性牛)	Col-NH ₂ : EDC = 2: 1 Col: Alg = 2: 1	2.7	3.4	2.5	1.5	3-5	過度: 快速 進入: = 13 微米/天

12	A, (3.5% 中性牛)	Col: Glut = (130:1)?? + 可溶性脫乙 醯殼多糖		3.1	2.1	1.5		
13	B, (11% AFDP), 900 微米 厚度凝膠	Col-NH ₂ : EDC = 0.33:1.0 Col: 脫乙醯殼 多糖 = (15:1)	5.8	8.32	3.29	2.57	4	
13	B, (11% AFDP), 500 微米 厚度凝膠	Col-NH ₂ : EDC = 0.66:1.0 Col: 脫乙醯殼 多糖 = (15:1)	5.8	4.25	4.02	1.32		
13	B, (11% AFDP), 900 微米 厚度凝膠	Col-NH ₂ : EDC = 0.66:1.0 Col: 脫乙醯殼 多糖 = (15:1)	5.8	8.46	5.23	2.17		

[†] 縮寫：Col 膠原；Glut 戊二醛；HA 玻尿酸；ChS 硫酸軟骨素 C；Col-NH₂ 膠原之自由態胺含量；AFDP 酸，經凍乾豬；epi. 上皮；ND 未測得。

* 500 微米厚，12 毫米直徑植入物，除非另有指出。應力、應變及剛性數據係得自縫合處拔出方法，如由 Li 等人 PNAS 100: 15346-15351 (2003) 所揭示者。

** 過度：得自 DRG 過度生長水凝膠之神經突。進入：神經突於 6 天內生長進入水凝膠中，至所指示之長度。

實例 16

活體內上嵌體性能

上嵌體係按實例 1 中所述製成。第一組上嵌體係使用 EDC/NHS 製自 10% (w/v) 豬膠原。第二組上嵌體係使用硫酸軟骨素 (CSC) 與 EDC/NHS 製自 3.5% (w/v) 牛膠原。上嵌體具有直徑約 6 毫米，中央厚度約 70 微米及 30 微米傾斜邊緣。

為植入上嵌體，將豬之上皮以 45% 乙醇處理 30-45 秒。施行蝶狀切開術，並於上皮中形成袋囊。將上嵌體以藍色非細胞毒性染料 (Gel-Code™) 染色以供顯像。將此預染色之上嵌體插入袋囊中。將保護性隱形鏡片縫合於眼睛上。

進行目視檢查以評估角膜之發炎、發紅及/或血管侵入。

使用裂隙燈診察以評估角膜透明性。使用眼壓筆以度量眼內壓。使用 Cochet-Bonnet 感覺計以測定角膜之接觸敏感性。接觸敏感性可用以評估功能性神經之存在，其係以所採集具有植入物之角膜之活體內同焦點照影與免疫組織化學而確証。角膜表面形態係就在植入之前及於手術後三週，以 PAR 角膜表面形態系統(CTS) 診查。

角膜表面形態係藉由將已麻醉豬之眼睛與 CTS 對準而進行。將螢光素與人工淚液之稀溶液施加至該眼睛，以塗覆角膜表面，並使得標的網格能夠顯像。調整儀器焦平面，以致使標的網格聚焦於前角膜表面上。拍攝網格之數值影像。分析此數值影像，以提供前角膜表面形狀之度量。將上嵌體植入前後之數值影像作比較，可用以評估角膜由於安置上嵌體所致之形狀上之改變。

活體內同焦顯微鏡術允許活豬中角膜之不同深度之影像被拍攝到，且因此允許眼睛對眼用裝置之回應被監測。例如，同焦顯微鏡術可用以監測神經在裝置中之存在。活體內同焦顯微鏡術係經由在眼用裝置植入前及手術後3週，以 Nidek Confoscan 3 活體內同焦顯微鏡診查經麻醉豬而進行。將人工淚液置於欲被診查之眼睛中。將兩滴局部麻醉劑施加至眼睛，以降低眼球移動。使同焦鏡片(凝膠浸漬)與角膜接觸，其中一層凝膠於該鏡片之前方表面上，供折射率配合。調整儀器焦平面，致使角膜內皮進入焦點中，然後當掃描鏡片之焦平面經過等於角膜厚度之深度時，取得角膜影像。

除了蘇木素與曙紅(H&E)染色組織切片之組織病理學檢查以外，使用免疫組織化學，以測定是否角膜上皮恢復覆蓋上嵌體及早期指示與其下方上嵌體之黏附和交互作用。免疫組織化學亦用以証實神經之存在或不存在，及免疫與炎性細胞之任何浸潤。抗-神經纖維素染色係於一半角膜上進行，使用與未使用經植入之上嵌體，使用習用技術，以清潔劑滲透後。免疫螢光法係用以見及經結合之抗體。

接受如上文所討論角膜上嵌體之角膜，係良好地痊癒，且仍然保持光學上透明，具有最少或無發紅或發炎。沒有血管浸潤之跡象。發現正常眼球內壓力。手術後角膜顯示接觸敏感性。表面形態度量顯示經植入之上嵌體能夠達角膜表面形態上之改變。上嵌體會在中央角膜高度上，造成約50微米厚度之改變。上皮係良好地黏連至上嵌體。活體內角膜顯微鏡術顯現出良好一般角膜結構，具有上皮與基質神經，及來自上皮之細胞經過至內皮。H&E染色之低溫切片顯示上嵌體整合至宿主角膜中。免疫組織化學在上嵌體植入之角膜中，與未經處理之角膜比較，對E-卡赫林素(cadherin)使用著色料，在細胞黏附能力上証實極少(若含有時)改變。對角質素3與E-卡赫林素(cadherin)之染色，係相當於對照組。對於具有基底膜複合物之錨定纖維之膠原類型VII染色，相較於對照組，顯示較少不同染色。於經操作與未經處理對照組中，對於 $\alpha 6$ 整合素之染色顯示基底上皮細胞中之定位。抗-神經纖維素200抗體染色顯示神經存在於具有上嵌體之角膜中之植入位置。抗CD45抗體染色未顯

現出炎性或免疫反應。

實例 17

角膜上嵌體之切蝕

膠原/EDC 與 膠原/脫乙醯殼多糖上嵌體係使用 VISX Star S4 激元雷射(表 3)切蝕。上嵌體之表面形態度量，係在以 PAR 角膜表面形態系統(CTS)處理之前與之後獲得。關於此處理，係將上嵌體移離儲存溶液，並置放於由 PMMA 製成之球形表面上。

光治療角膜切開術(PTK)手術係傳輸均勻數目之雷射脈衝(或能量)至整個切蝕區帶。光折射角膜切開術(PRK)手術會改變切蝕區帶上之脈衝密度，以達成曲率上之所要改變。AZD 係指切蝕區帶直徑。深度係為如由雷射製造者所報告，在人類角膜上所預測之處理深度。

表 3：切蝕參數

手術	類型	AZD (毫米)	球體(D)	Cyl (C)	深度 (微米)
1	PTK	5	----	----	10
2	PTK	5	----	----	20
3	PRK	6	-2	0	26
4	PRK	6	+2	0	19
5	PRK	6	-4	0	51
6	PRK	6	+4	0	38
7	PRK	6	-4	+2	30

差異圖係產生自膠原/EDC 上嵌體之手術前與手術後表面形態，以顯示切蝕之作用。

預期 PTK 切蝕會產生相當地恒定之中央藍色區域，~5 毫

米直徑(關於差異圖)。預期於被移除組織量中之小梯度係由於上嵌體為彎曲表面所致。預期近視球體PRK切蝕會於中央移除最高組織深度。預期被移除之組織深度，會在切蝕邊緣逐漸地降至零。預期遠視球體矯正會留下中央1毫米直徑未觸及，且移除組織最高在處理區帶之邊緣，亦預期過渡區帶係於外圍產生，從中央向外至9毫米。於遠視矯正後之差異圖，預期會顯示藍色環，環繞中央綠色區帶。得自近視散光矯正之差異圖，預期會顯示類似得自近視球形矯正之圖，惟預期其藍色圖樣係為橢圓形。

得自經切蝕上嵌體之差異圖，証實前述預期之組織移除圖樣在所有差異圖中。被移除組織之最高深度顯示係大於對人類角膜所預測者。例如，移除角膜上嵌體材料之速率，係在角膜移除速率之約1.7與約2倍之間。在上嵌體材料與角膜切蝕速率間之差異，並非均勻橫越試樣。速率差異可由於特別是處理度量之深度、材料密度與表面粗糙度及材料之水含量。

已發現膠原/脫乙醯殼多糖上嵌體會比膠原/EDC上嵌體較快之速率下切蝕。此差異可能是由於水合問題所致。例如，手術後膠原/脫乙醯殼多糖上嵌體可能已具有比膠原/EDC上嵌體較低之水含量。

眼用裝置亦可包含增加強度成份，譬如胺基甲酸酯。

實例 18

人類重組膠原眼用裝置

交聯膠原水凝膠係經由將得自FibroGen (San Francisco, CA)

之 0.3 毫升 13.7 重量 % 人類重組第 I 型膠原與 0.3 毫升 0.625 M 嗎福啞基乙烷磺酸 (MES)，使用如本文中所述之注射器為基礎之系統混合而製成。混合係發生在降低溫度下，其方式是在冰水浴中進行此混合。

於獲得均勻溶液後，將 57 微升 EDC/NHS 以對膠原自由態胺 (coll-NH₂) 基團之莫耳當量比為 3 : 3 : 1 注入混合物中。為調整溶液之 pH 值至約 5，將 NaOH (2N) 添加至混合物中。

將混合物澆鑄於玻璃或塑膠模中，並留置於具有 100% 濕度之室溫下 16 小時。接著，將模具轉移至後熟化用之培養器中，在 37°C 下 5 小時。

其他水凝膠，具有第 I 型人類重組膠原且 EDC/NHS 對膠原 coll-NH₂ 基團之比例為 1 : 1 : 1 與 6 : 6 : 1，亦使用此方法製成。

折射率 (RI) 係於 VEE GEE 折射計上測定。光學透光率係在白光、450 毫微米、500 毫微米、550 毫微米、600 毫微米及 650 毫微米之波長下度量。直接抗張性質度量，譬如應力、斷裂應變及模數，係於 Instron 電機械測試器 (3340 型) 上測定。試樣之大小為 5 毫米 x 5 毫米 x 0.5 毫米。水凝膠之水含量係根據下列方程式計算：

$$(W - W_0) / W\%$$

其中 W₀ 與 W 個別表示經乾燥與已膨潤試樣之重量。

具有 EDC/NHS/Coll-NH₂ 之比例為 1/1/1 (莫耳當量) (稱為 F1) 之人類重組膠原水凝膠，具有折射率為 1.3457±0.0013。具有 EDC/NHS/Coll-NH₂ 之比例為 3/3/1 (莫耳當量) (稱為 F3) 之人類

重組膠原水凝膠，具有折射率為 1.3451 ± 0.0002 。具有 EDC/NHS/Coll- NH_2 之比例為 6/6/1 (莫耳當量) (稱為 F6) 之人類重組膠原水凝膠，具有折射率為 1.3465 ± 0.0001 。

表 4 摘錄不同水凝膠之光學透光率。

表 4. 光學透光率

波長 (毫微米)	白光	450	500	550	600	650
平均透光率 (%)						
F1	86.7 ± 0.9	69.7 ± 1.2	76.0 ± 1.3	79.2 ± 1.4	82.4 ± 1.3	84.9 ± 1.4
F3	90.7 ± 2.5	85.8 ± 3.5	86.4 ± 2.9	86.7 ± 2.6	88.0 ± 2.4	89.6 ± 2.6
F6	75.5 ± 1.5	48.7 ± 0.4	57.7 ± 1.1	62.7 ± 1.1	67.6 ± 1.4	71.6 ± 1.7

稱為 F3 之水凝膠材料係顯示最可接受之光學性質。於視覺上或於巨觀上，與其他人類重組水凝膠比較，F3 顯示具有最大透明性。

表 5 係提供本發明人類重組水凝膠之機械性質。

表 5. 機械性質

試樣	F1	F3	F6
平均最大應力 (KPa)	62.6 ± 9.9	117.2 ± 36.9	149.9 ± 57.7
平均斷裂應力 (KPa)	67.1 ± 21.0	110.5 ± 49.7	99.5 ± 60.8
平均斷裂應變 (%)	62.60 ± 6.82	50.20 ± 7.55	23.51 ± 9.03
平均模數 (MPa)	0.281 ± 0.032	0.525 ± 0.124	1.949 ± 0.939

水凝膠 F3 顯示具有相對較低模數，但可接受之其他機械性質。

表 6 係提供水凝膠材料之水含量值。

表 6. 平衡水含量

試樣	F1	F3	F6
水含量(%)	92.82±0.68	92.63±0.61	91.40±0.38

顯然此等水凝膠係經高度地水合。

在本發明實例中，係將pH指示劑添加至MES緩衝劑中，以幫助監測pH變化。使用於此實例之特定指示劑為茜紅S (Sigma Aldrich)。

圖4為在人類重組膠原試樣F1上之人類角膜上皮細胞生長，歷經7天期間之圖表。圖5為在人類重組膠原試樣F3上之人類角膜上皮細胞生長，歷經7天期間之圖表。圖6為在人類重組膠原試樣F6上之人類角膜上皮細胞生長，歷經7天期間之圖表。

於重組水凝膠材料上所發現之細胞生長，係大於對照實驗所發現者。

圖7為照片，証實水凝膠材料F3於活體內持續至少30天。

實例 19

膠原-聚(NIPAAm-共-AAC)組合物

組合物係使用本文中所述之EDC/NHS交聯方法(實例4)製備。起始膠原濃度為15%。最後膠原濃度為11%。最後聚(NIPAAm-共-Aac)濃度為3%。凝膠中之總固體含量為14%。

此材料具有折射率為1.3542，抗張強度為11克力，伸長率為3.3毫米，及模數為3.8克力/毫米，得自由如由Li等人PNAS 100: 15346-15351 (2003)所揭示之縫合處拔出方法。

變性溫度係從交聯前之40°C增加至交聯後之50°C。此材

料具有比人類角膜或兔子角膜較高之光學透光率與較低之逆散射。例如，使用白光，對於水凝膠材料，透光率百分比為約 102%，而對人類角膜為約 93%，及對兔子角膜為 78%。個別對於 450 毫微米、500 毫微米、550 毫微米、600 毫微米及 650 毫微米之光線波長，水凝膠具有百分比透光率為約 90%、96%、100%、101% 及 103%。人類角膜與兔子角膜在所有測試波長下，顯示透光率百分比均低於 100%，並顯示透光率百分比一致地低於各波長下之水凝膠材料。

水凝膠材料証實角膜上皮細胞係在接種後七天匯合。

實例 20

膠原 / 硫酸軟骨素組合物

具有高光學透明性與抗張強度之生物合成基體，係使用膠原 I 發展，具有硫酸軟骨素 (CSC) 作為蛋白多醣相當物。具有至高 30% (重量 / 重量) CSC 對膠原乾重之水凝膠，係於控制條件下製成，未具有凝聚或膠原微纖維生成，其可能會造成光學透明性損失。此等水凝膠係以物理方式與生物化學方式作特徵鑒定。活體外試驗顯示人類角膜上皮細胞 (HCEC) 係良好地在凝膠表面上生長，且成功地分層。此基體係支持良好神經生長。類似結果亦於活體內獲得。

組合物係類似本文中所述之實例 14 製成。CSC 係使用 EDC 與 NHS 化學，共價結合至膠原。

膠原 (3.5 w/v%) 與 CSC 凝膠，具有不同 CSC 對膠原乾重比例，及不同 EDC 對膠原-NH₂ 莫耳當量比例，係利用如本文中所討論之 EDC/NHS (1:1 莫耳當量) 交聯技術製成。所有凝

膠均為視覺上透明。與人類角膜(約87%透光率與3%逆散射)比較，此等組合物具有較高光透射與低光散射，如表7中所示。

表 7- 透光率與光散射

CSC 對膠原重量比(%)	0	5	10	20	30
透光率(%)	89.9	95.5	93.0	90.5	97.3
逆散射(%)	0.30	0.19	0.19	0.17	0.19
EDC 對 NH ₂ 比例	0.25	0.5	1.0	2.0	
透光率(%)	96.7	100	99.9	88.2	
逆散射(%)	0.24	0.28	0.16	0.20	

折射率係在 1.34-1.35 之間，其係接近人類角膜之折射率 (1.376)。

利用不同 EDC 對膠原 -NH₂ 莫耳比所製成凝膠之膨潤比，係經度量並藉下列方程式計算：

$$\text{膨潤比} = (W_w - W_d) / W_d$$

其中 W_w 為水合凝膠之重量，而 W_d 為乾燥凝膠之重量。

使用 EDC/NHS 之膠原 -CSC 交聯作用，會造成羧酸與胺基間之交聯鍵形成。其結果(圖 9)指出增加 EDC 對膠原 -NH₂ 比例會降低膠原 -CSC 凝膠之膨潤比，因其引進較多縮合網狀組織。

植入物之機械性質度量係藉由縫合處拔出方法進行，如由 Li 等人 PNAS 100: 15346-15351 (2003) 所揭示者。植入物係在 PBS 中經充分水合，並在 10 毫米/分鐘之速度下拉伸。抗張強度係在植入物斷裂下監測(500 微米厚度與 12 毫米直徑)。凝膠之抗張強度係藉由增加 EDC 對 NH₂ 莫耳比而被增進(圖

10)。但是，當EDC之量實質上增加時，材料變成易碎性，因此當EDC對膠原-NH₂莫耳比為2或較高時，抗張強度少量降低。

凝膠之抗張強度亦可藉由增加膠原之濃度而被增進，如圖11中所示(參閱利用10%膠原代替3.5%)。抗張強度係從2.65增加至10.02克力，且膨潤比從21.5降至12.1。

交聯效率係藉由示差掃描卡計法(DSC)評估。將膠原或經交聯之膠原水凝膠加熱，將引致天然三股螺旋結構之結構轉移，在依交聯性質與程度而定之溫度下。膠原溶液與經交聯充分水合之膠原水凝膠，係在不透氣密封淺盤中作特徵鑒定，且試樣之溫度係於2°C/分鐘之恒定速率下提升。於最大吸收峰下之溫度係被記錄為變性溫度。當EDC對NH₂比例增加時，變性溫度係從42.4°C增加至56.6°C(圖12A)，這指出共價交聯鍵之引進會增加三股螺旋之安定性，且因此增加變性溫度。膠原-CSC凝膠之變性溫度係高於只有膠原之凝膠(圖12B)。但是，改變膠原-CSC凝膠中之CSC對膠原莫耳比，不會影響變性溫度。

發現人類角膜上皮細胞自所建立細胞系之活體外生長。神經生長係使用被植入凝膠中之背側根部神經節，於活體外進行。使神經突生長7天，將凝膠染色以提供神經纖維，並度量神經突延伸。神經突係良好地生長於所有膠原-CSC凝膠中(圖13)。

增加CSC之濃度從5%至20%係大為增進凝膠內神經突延伸之長度。在含有30% CSC之凝膠中未顯見附加利益(圖

13)。發現優越上皮被覆與植入物整合。

實例 21

類型 III 膠原組合物

物料 人類重組類型 III 膠原 (5.1% w/w, FibroGen 公司)、0.625 M 嗎福啉基乙烷磺酸 [MES, 含有茜素紅 S pH 指示劑 (6.5 毫克 /100 毫升水)]、1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺 HCl (EDC)、N-羥基-琥珀醯亞胺 (NHS)。

水凝膠係製自 18.3% (w/w) 類型 III 膠原溶液。將 0.3 毫升 18.2 重量% 人類重組類型 III 膠原 (自 FibroGen 公司之 5.1% w/w 人類重組類型 III 膠原濃縮) 與 0.3 毫升 MES (0.625 M), 於冰水浴中, 在兩個與塑膠 T 形管連接而不含氣泡之注射器中混合。在形成均勻溶液後, 使 33.5 毫克 EDC 與 20.1 毫克 NHS 溶於 0.125 毫升 MES 中, 取用其中 57 微升, 並以 EDC : NHS : 膠原-NH₂ 莫耳比為 3 : 3 : 1, 注入上述注射器中。未添加 NaOH 溶液, 因為混合物呈現粉紅色, 表示 pH 約 5。將混合物充分地混合, 並澆鑄於玻璃模具 (厚度 434 微米) 中, 及在 100% 濕度之室溫下留置 16 小時。然後, 將模具轉移至培養器, 於 37°C 下後熟化 5 小時。將所形成之平坦水凝膠移除, 並浸泡在 10 mM PBS 中, 其中新緩衝劑係於 8 小時間隔下置換。將所獲得之水凝膠浸沒於含有 1% 氯仿之 10 mM PBS 中, 並儲存於 4 °C 冷藏室中。

具有 EDC : NHS : 膠原-NH₂ 之比例為 2 : 2 : 1 與 1 : 1 : 1 之其他類型 III 膠原水凝膠, 亦使用上述方法製成。所獲得之所有凝膠均為透明。

水凝膠亦製自 5.1% (w/w) 類型 III 膠原溶液。將 0.3 毫升 5.1 重量% 人類重組類型 III 膠原與 50 微升 MES (0.625 M)，於冰水浴中，在兩個與塑膠 T 形管連接而不含氣泡之注射器中混合。在形成均勻溶液後，使 9.3 毫克 EDC 與 5.6 毫克 NHS 溶於 0.125 毫升 MES 中，取用其中 57 微升，並以 EDC：NHS：膠原-NH₂ 之莫耳比 3：3：1 注入上述注射器中。未添加 NaOH 溶液，因為混合物呈現粉紅色，表示 pH 約 5。將混合物充分地混合，並澆鑄至玻璃模具 (厚度 434 微米) 中，及在具有 100% 濕度之室溫下留置 16 小時。然後，將模具轉移至培養器，於 37°C 下後熟化 5 小時。將所形成之平坦水凝膠取出，並浸泡在 10 mM PBS 中，其中新緩衝劑係於 8 小時間隔下置換。最後，將所獲得之水凝膠浸沒於含有 1% 氯仿之 10 mM PBS 中，並儲存於 4°C 冷藏室中。所形成之凝膠為光學上透明。

對於 18.3% w/w 膠原起始濃度之最後膠原含量為 8.36% (w/v) (於添加每一成份後，以稀釋因數為基準計算) 或大約 10% (w/v) (經度量)。

對於 5.1% w/w 膠原起始濃度之最後膠原含量為 3.76% (w/v) (於添加每一成份後，以稀釋因數為基準計算) 或大約 4% (w/v) (經度量)。

雖然本發明已針對不同特殊實例與具體實施例加以描述，但應明瞭的是，本發明並不受其所限，且其他具體實施例係在本發明之範圍內。

許多公報、專利及專利申請案已被引用於上文。各所引用之公報、專利及專利申請案，均據此以其全文併於本文

供參考。

【圖式簡單說明】

圖 1 為用於產生本發明組合物與裝置之系統之 T-管件接頭截面圖之圖解。

圖 2 為用於產生本發明組合物與裝置之系統之魯厄氏母接頭截面圖之圖解。

圖 3 為圖 1 之 T-接頭具有隔片與兩個聯結至其上之注射器，以產生本發明組合物與裝置之平面圖。

圖 4 為被稱為 F1 之人類重組水凝膠材料之細胞計數作為時間函數之圖表。

圖 5 為被稱為 F3 之人類重組水凝膠材料之細胞計數作為時間函數之圖表。

圖 6 為被稱為 F6 之人類重組水凝膠材料之細胞計數作為時間函數之圖表。

圖 7 為被稱為 F3 之人類重組水凝膠材料位於大白鼠中之照片。

圖 8 為本發明折射誤差矯正眼用裝置之一項具體實施例之圖解。

圖 8A 為本發明上嵌體之一項具體實施例之鏡片邊緣型態之圖解。

圖 9 為膨潤比作為 EDC 對 NH_2 莫耳比之函數之圖表。

圖 10 為抗張強度作為 EDC 對 NH_2 莫耳比之函數之圖表。

圖 11 係提供抗張強度作為膠原濃度之函數(左邊板面)與膨潤比作為膠原濃度之函數(右邊板面)之圖表。

圖 12 係提供關於具有不同 EDC 對 NH_2 莫耳比之組合物之熱流量作為溫度之函數(左邊板面)，與關於具有不同 CSC 濃度之組合物之熱流量作為溫度之函數(右邊板面)之圖表。

圖 13 為神經突長度作為硫酸軟骨素對膠原乾重比例之函數之圖表。

五、中文發明摘要：

本發明係描述用於改善視覺或治療眼睛之疾病、病症或損傷之裝置、方法及組合物。眼用裝置，譬如角膜上嵌體、角膜內嵌體及全厚度角膜植入物，係製自有效幫助神經生長經過或覆蓋該裝置之材料。此材料可包含一數量之膠原，大於1% (w/w)，譬如在約10% (w/w) 與約30% (w/w) 之間。此材料可包括膠原聚合體及/或第二種生物聚合體或水溶性合成聚合體，使用EDC/NHS化學交聯。此材料可另外包含合成聚合體。該裝置係被置於眼睛中，以矯正或改善個體之視覺，或治療個體眼睛之疾病、病症或損傷。

六、英文發明摘要：

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (7) 圖。

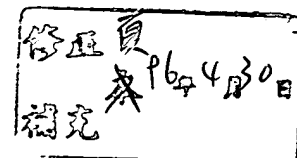
(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

第 094127770 號專利申請案
中文說明書替換頁(96 年 4 月)



國 籍：(中文/英文)

1. 加拿大 CANADA
2. 加拿大 CANADA

三、發明人：(共 5 人)

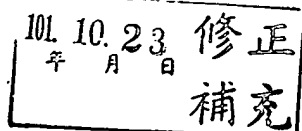
姓 名：(中文/英文)

1. 梅 格瑞菲斯
GRIFFITH, MAY
2. 大衛 J 卡爾森
CARLSSON, DAVID, J.
3. 李凡福
LI, FENG FU
4. 劉宇文
LIU, YU WEN
5. 雷夫 莫戴德
RAFAT, MEHRDAD

國 籍：(中文/英文)

1. 加拿大 CANADA
2. 加拿大 CANADA
3. 加拿大 CANADA
4. 加拿大 CANADA
5. 加拿大 CANADA

適當膠原來源，包括動物、酵母及細菌來源。例如，膠原可為其中尤其是人類膠原、牛膠原、豬膠原、鳥類膠原、老鼠膠原、馬膠原，或膠原可為重組膠原。在本發明裝置中之重組膠原可包含一或多種結構或物理特徵，其並未存在於得自正常動物來源之膠原中，因為重組膠原係得自細菌、酵母、植物或轉基因動物。例如，重組人類膠原可包含不同糖基化作用成份，其可能不存在於動物所衍生且經處理之膠原中。此外，相對於動物衍生之膠原，其可具有可變組成，重組膠原可具有不同程度之交聯作用。在動物衍生膠原中，於交聯作用程度上之變異，可能會造成不一致性，及膠原之可變化學與物理性質，其可能是不期望的。除了具有緊密地控制之純度以外，重組人類膠原並未伴隨著病毒及/或朊病毒污染，其可能伴隨著動物衍生之膠原。可用於本發明裝置中之膠原，係為公開地可取用，或可使用習用技術合成。例如，重組膠原可得自纖維蛋白原(得自致突變酵母生物反應器培養物)或 Pharming (Netherlands) (得自轉基因母牛或兔子之乳液)，或重組膠原可使用 PCT 公報案號 WO 93/07889 或 WO 94/16570 中所揭示之方法製備與獲得。在某些裝置中，膠原可為第 I 型膠原。此等裝置亦可由去端肽膠原製成(例如，未具有端肽之膠原)。在某些具體實施例中，膠原係為膠原之非變性類型。去端肽膠原可得自一些公司，譬如日本 Koken (供應商 A，當於本文中使用时)，其中牛膠原可以 3.5% (w/v) 在中性組合物中，3.0% (w/v) 在酸性組合物中，10% (w/v) 在酸性組合物中取得，而其中豬膠



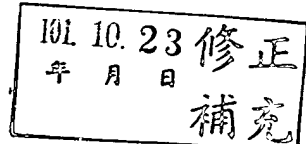
原可以 3.0% (w/v) 在酸性組合物中，或以酸性凍乾豬膠原粉末取得。酸性凍乾豬膠原粉末亦可得自 Nippon Ham (日本) (供應商 B，當於本文中使用时)。Becton Dickinson (供應商 C，當於本文中使用时) 係提供 0.3% 酸性與 10% 酸性膠原組合物。

於數種膠原類型中，去端肽膠原 I 係提供易於溶解、處理及最後裝置透明性。此膠原(牛、豬或重組，無論是在中性或酸性溶液中，或為酸性凍乾粉末)可得自數家公司，如上述。凍乾酸性豬膠原係在高達 33% (w/v) 濃度下，經由在 4°C 下攪拌，立即溶解於冷水中，而得均質(非乳白色)水溶液。此等透明膠原組合物，譬如溶液之 pH 值，係為約 3 (供應商 B) 或約 5 (供應商 A)。低達 0.3% (w/v) 之市售酸性膠原組合物，可藉真空蒸發，並在 0-4°C 攪拌而被濃縮，獲得高達約 10% (w/v) 最後膠原濃度之透明溶液，然後可將其使用於本發明裝置之製造上。

相對較韌性或強之眼用裝置可使用膠原類型 I 獲得，其在單離與純化期間未曾被變性(意即失去其所有或實質部份之三股螺旋構形，而變成明膠)。

示差掃描卡計法(DSC)為一種有用工具，以測定供應商膠原溶液之品質，以其三股螺旋含量為基礎(表 1)。對於幾乎完美之三股螺旋含量，DSC 變性焓($\Delta H_{\text{變性}}$)係在 65-70 焦耳/克範圍內(以乾燥膠原重量為基準)。由 DSC 數據， $\Delta H_{\text{變性}}$ 結果顯示得自市售酸性、凍乾、豬膠原之溶液，及一些市售牛膠原溶液，係呈完全三股螺旋形式。

當與得自具有接近 100% 三股螺旋含量膠原之相同濃度組



包含經交聯之膠原聚合體。或者，以不同方式陳述，本體之材料可包含兩種或多種經交聯之膠原聚合體。例如，本體之材料可包含第一種膠原聚合體、第二種膠原聚合體及第三種膠原聚合體。其他材料可包含超過三種膠原聚合體。可明瞭經交聯之聚合體係為眼用裝置之膠原成份。

因此，根據本發明之增進視覺眼用裝置可包含膠原成份，具有膠原量在約 1% (w/w) 與約 50% (w/w) 之間，且係被形成具有光學能力。如本文中所討論，在某些具體實施例中，膠原量係大於 2.5%，譬如至少約 5.0%。例如，在某些具體實施例中，膠原係大於約 6% (w/w)。例如，膠原量係在約 10% (w/w) 與約 30% (w/w) 之間。例如，膠原量可在約 10% (w/w) 與約 24% (w/w) 之間。在某些裝置中，膠原係為該裝置之單獨水可膨潤性(例如水凝膠)聚合體。在其他裝置中，膠原可為單獨之可形成裝置或鏡片之聚合體。例如，裝置可包含 100% 呈乾燥狀態之膠原。正如上文所討論者，在某些裝置中，膠原可使用例如 EDC/NHS 交聯或至少部份交聯。

用於製造本發明組合物與裝置之膠原聚合體，可來自相同膠原來源，或來自不同膠原來源。或以不同方式陳述，單一類型之膠原，例如去端肽膠原類型 I (其含有多個膠原聚合體鏈)，係以有效允許膠原聚合體交聯至彼此之方式加工處理。於一項具體實施例中，膠原聚合體為重組膠原。在其他具體實施例中，兩種膠原聚合體係衍生自相同動物來源。於單一組合物中之個別膠原聚合體可具有不同分子量。

可明瞭的是，本發明之折射誤差矯正裝置係包含交聯重

十、申請專利範圍：

1. 一種光學上透明之可植入生物合成組合物，其包含經交聯膠原，其中該組合物包含膠原量在約 5% 與約 50% 重量或體積比之間，其中經交聯膠原係經由使用 1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺與 N-羥基琥珀醯亞胺，使膠原聚合體交聯之方法製成。
2. 如請求項 1 之組合物，其中膠原量為至少 6% 重量或體積比。
3. 如請求項 2 之組合物，其中膠原量為至少 10% 重量或體積比。
4. 如請求項 3 之組合物，其中膠原量係在約 10% 與約 30% 重量或體積比之間。
5. 如請求項 4 之組合物，其中膠原量係在約 10% 與約 24% 重量或體積比之間。
6. 如請求項 1 之組合物，其中經交聯膠原包含一種類型之膠原。
7. 如請求項 1 之組合物，其中經交聯膠原包含兩種或多種類型之膠原。
8. 如請求項 1 之組合物，其進一步包含細胞生長增進劑。
9. 如請求項 8 之組合物，其中細胞生長增進劑為肽。
10. 如請求項 9 之組合物，其中肽具有 RGD、YIGSR 或 IKVAV 之胺基酸順序。
11. 如請求項 8 之組合物，其中細胞生長增進劑係選自包括神經營養因子、神經生長因子及表皮生長因子。

12. 如請求項 11 之組合物，其中細胞生長增進劑係被實質上分佈於整個組合物中。
13. 如請求項 1 之組合物，其中膠原為該裝置之單獨水可膨潤性聚合體。
14. 如請求項 1 之組合物，其中膠原係在酸性 pH 下交聯。
15. 如請求項 14 之組合物，其中酸性 pH 係在約 5.0 與約 5.5 之間。
16. 如請求項 1 之組合物，其中經交聯膠原包含去端肽膠原、類型 I 膠原、類型 III 膠原或其組合。
17. 如請求項 1 之組合物，其中經交聯膠原包含重組膠原。
18. 如請求項 1 之組合物，其中經交聯膠原包含單離自動物之膠原。
19. 如請求項 1 之組合物，其進一步包含聚(N-異丙基丙烯醯胺-共-丙烯酸)、硫酸軟骨素、N,O-羧甲基脫乙酰殼多糖、玻尿酸、玻尿酸醛或海藻酸鹽。
20. 如請求項 1-19 中任一項之組合物，其係有效幫助神經生長於該組合物上及/或進入其中。
21. 一種製造如請求項 1-20 中任一項之組合物之方法，其包括：
將膠原聚合體與交聯劑，在酸性 pH 下合併；與
使所形成之組合熟化，以形成包含經交聯膠原之組合物。
22. 如請求項 21 之方法，其中合併步驟係包括將膠原聚合體與交聯劑在系統中混合，該系統係經設計以產生高剪切力於所形成之組合上。
23. 如請求項 22 之方法，其中合併係發生在約 0°C 與約 5°C 間之

溫度下。

24. 如請求項21之方法，其進一步包括添加細胞生長增進劑至該組合中。

25. 一種如請求項1-21中任一項之組合物製造眼用裝置以在有需要之病患中治療眼科疾病、病症或損傷之用途。

十一、圖式：

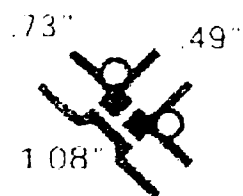


圖 1

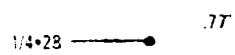


圖 2



圖 3

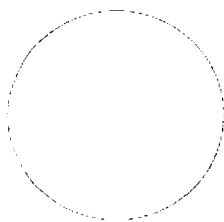


圖 8

101.12.21

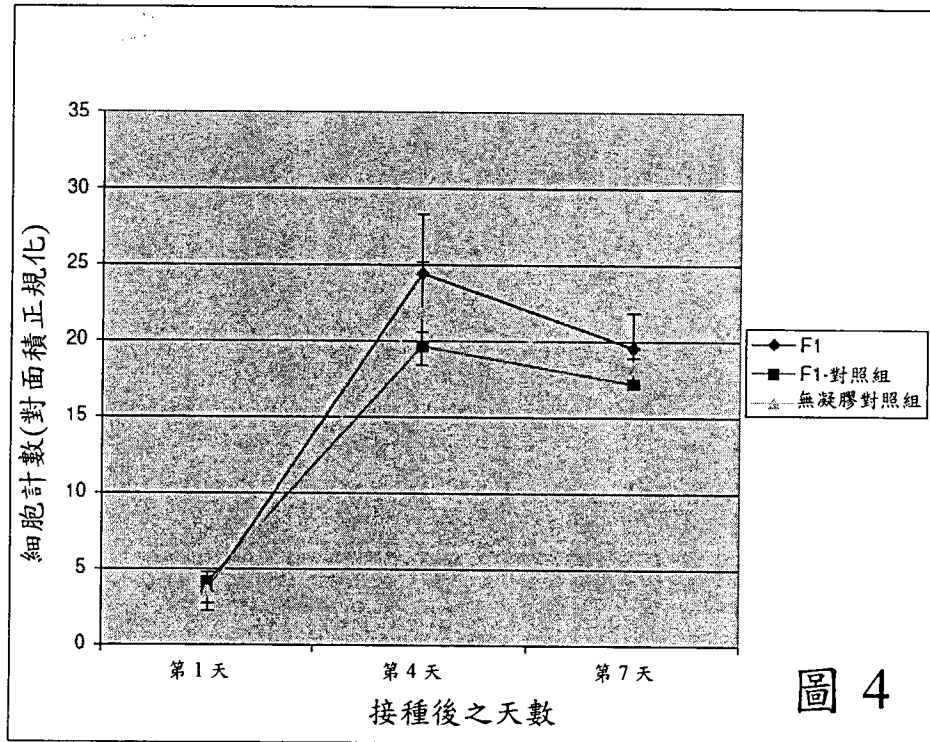
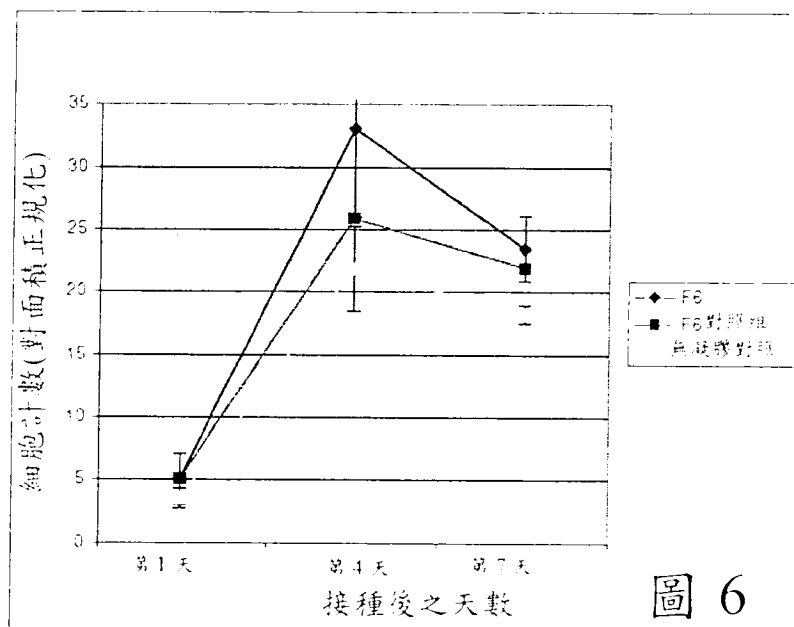
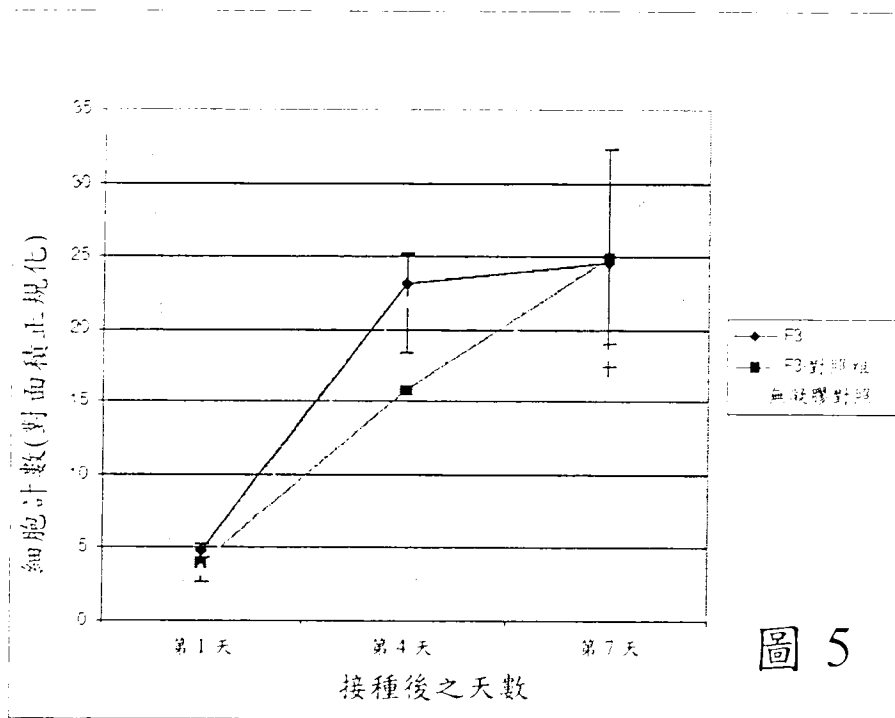


圖 7



101.12.21 修正
年 月 日
補充

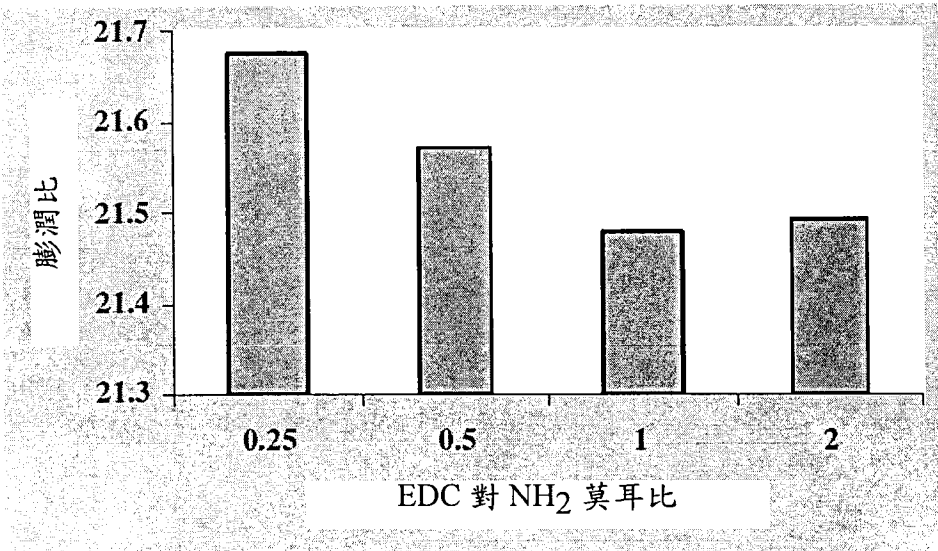


圖 9

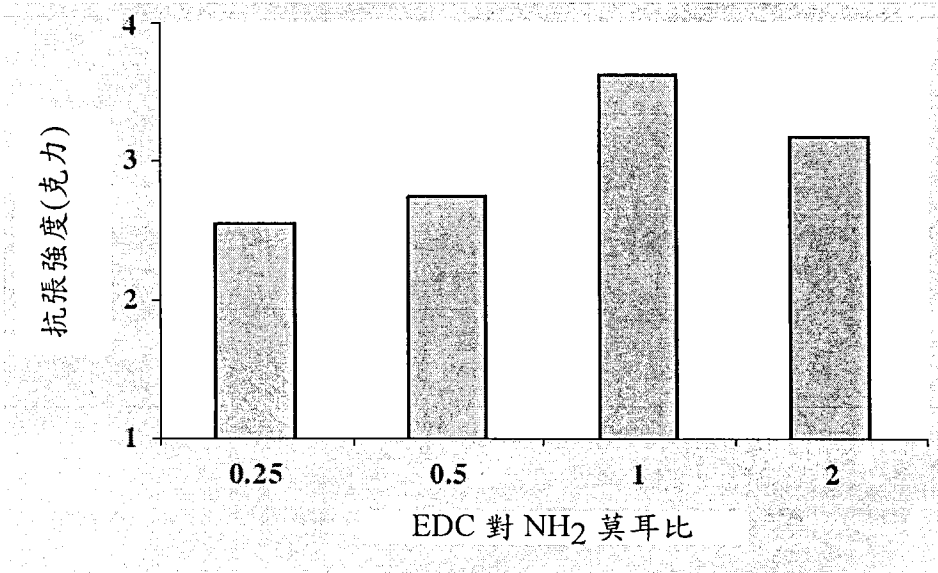


圖 10

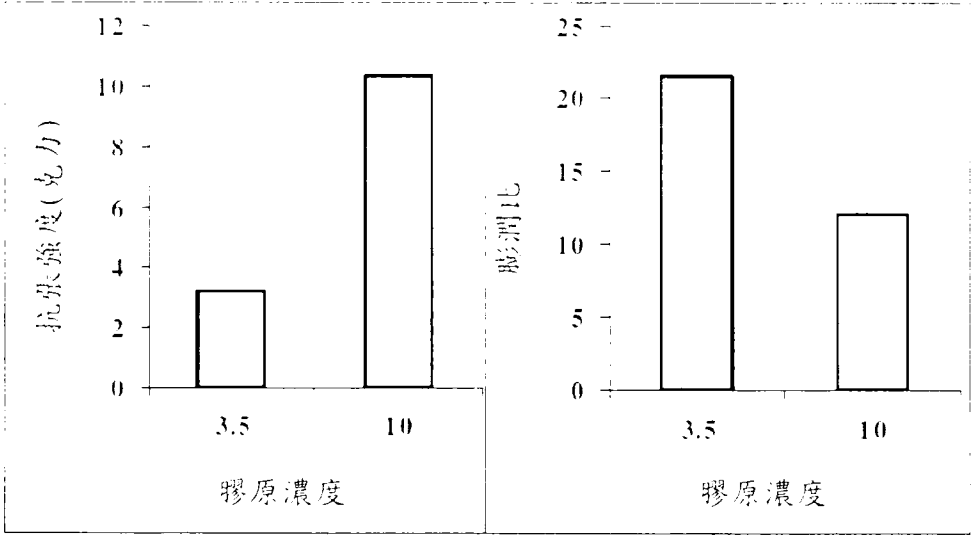


圖 11

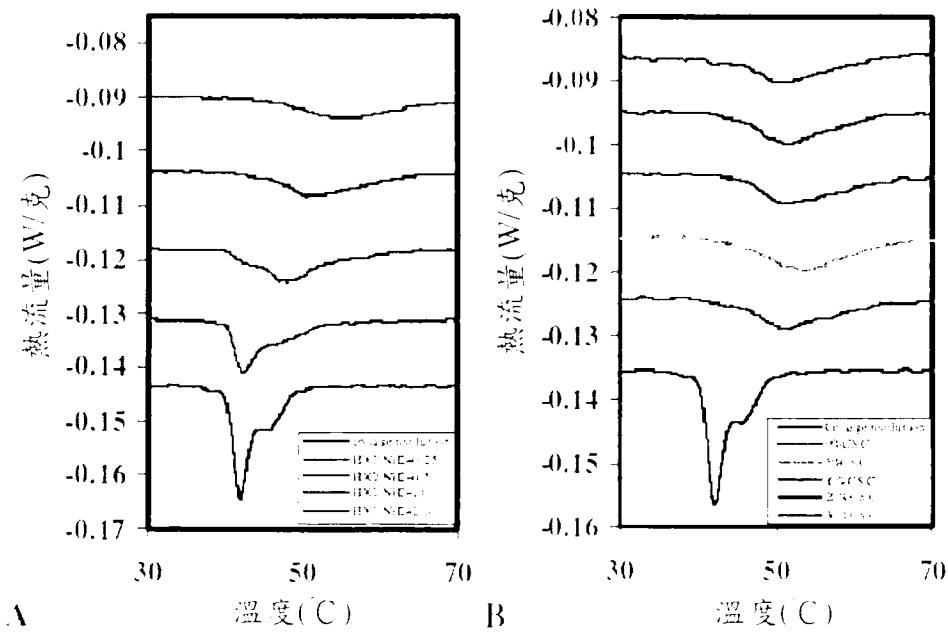


圖 12

101.10.23 修正
年 月 日 補充

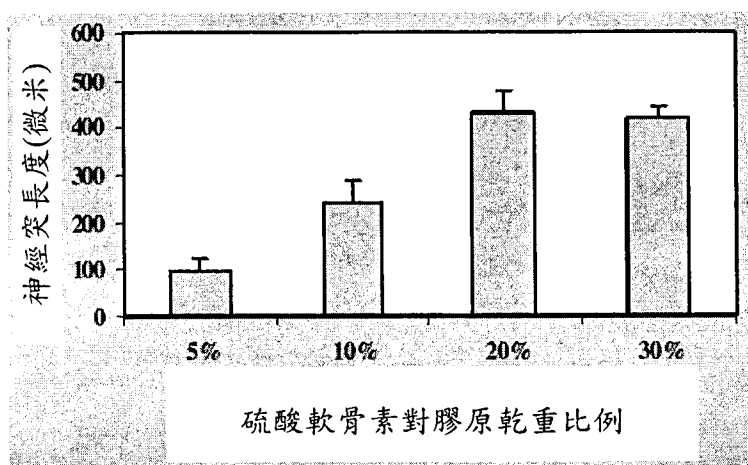


圖 13

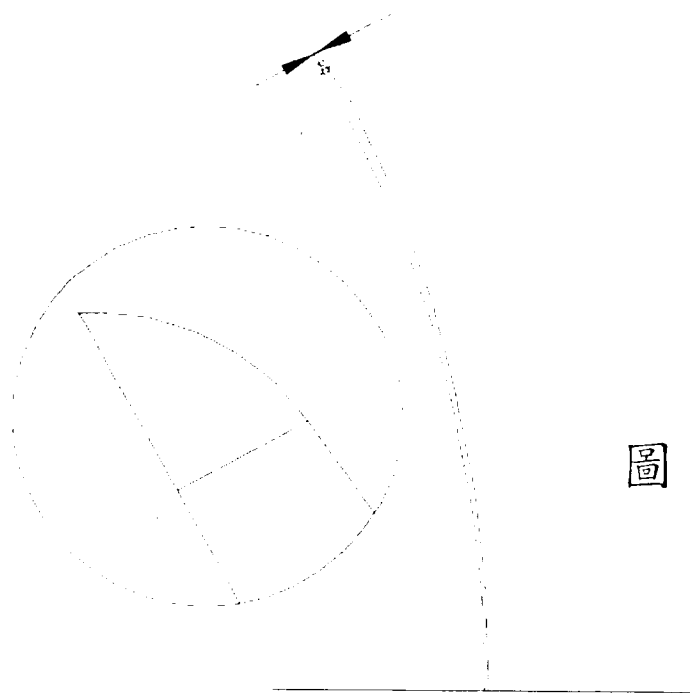


圖 8A