

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-506701

(P2008-506701A)

(43) 公表日 平成20年3月6日(2008.3.6)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 6 1 K 8/19 (2006.01)	A 6 1 K 8/19	4 C 0 8 3
A 6 1 Q 1/02 (2006.01)	A 6 1 Q 1/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 14 頁)

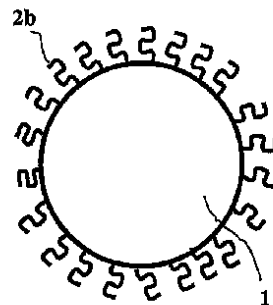
(21) 出願番号 特願2007-521613 (P2007-521613) (86) (22) 出願日 平成17年7月14日 (2005.7.14) (85) 翻訳文提出日 平成19年3月8日 (2007.3.8) (86) 国際出願番号 PCT/US2005/024865 (87) 国際公開番号 W02006/019823 (87) 国際公開日 平成18年2月23日 (2006.2.23) (31) 優先権主張番号 60/587,864 (32) 優先日 平成16年7月15日 (2004.7.15) (33) 優先権主張国 米国 (US)	(71) 出願人 507012261 フリーダムー2・エル・エル・シー アメリカ合衆国、ニュー・ヨーク・100 19、ニュー・ヨーク、ファイフス・アベニ ュー・724、ナインス・フロア (74) 代理人 100062007 弁理士 川口 義雄 (74) 代理人 100114188 弁理士 小野 誠 (74) 代理人 100140523 弁理士 渡邊 千尋 (74) 代理人 100119253 弁理士 金山 賢教 (74) 代理人 100103920 弁理士 大崎 勝真
--	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改変された組織マーキング顔料および組織マーキング顔料を改変するための方法

(57) 【要約】

本発明は、改変された組織マーキング顔料、および顔料粒子表面へのタンパク質の吸着、重要な免疫細胞上の主たる受容体の活性化を変更すること、または顔料粒子の形態を変更することにより、改変された組織マーキング顔料を調製するための方法を提供する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

表面へのタンパク質吸着を低減させる化合物を表面上に有する粒子を含む組織マーキング顔料。

【請求項 2】

化合物が水溶性ポリマーである、請求項 1 に記載の顔料。

【請求項 3】

水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール、ポリ無水物、ポリエチレンオキシドまたはポリヒドロキシエチルメタクリレートである、請求項 2 に記載の顔料。

【請求項 4】

ポリマーがポリエチレングリコールである、請求項 3 に記載の顔料。

【請求項 5】

ポリエチレングリコールの分子量が、約 3 0 0 0 ダルトン超であり約 3 0 0 0 0 ダルトンまでである、請求項 4 に記載の顔料。

【請求項 6】

ポリエチレングリコールの分子量が約 1 8 5 0 0 ダルトンである、請求項 5 に記載の顔料。

【請求項 7】

粒子の直径が約 5 μm 未満である、請求項 1 に記載の顔料。

【請求項 8】

粒子の直径が約 1 μm ~ 約 3 μm である、請求項 7 に記載の顔料。

【請求項 9】

粒子の直径が約 1 5 μm を超える、請求項 1 に記載の顔料。

【請求項 1 0】

粒子の直径が約 2 0 μm ~ 約 1 0 0 μm である、請求項 9 に記載の顔料。

【請求項 1 1】

化合物が、表面に共有結合またはイオン結合されている、請求項 1 に記載の顔料。

【請求項 1 2】

組織細胞または細胞小器官表面の特定の受容体と相互作用し、粒子に対する免疫システム応答の攻撃性を抑制するか又は高める分子が、粒子の表面上に存在する、請求項 1 に記載の顔料。

【請求項 1 3】

分子が、インテグリン、内毒素、リボ多糖、トリプトファン - アルギニン含有コーティングタンパク質および任意のこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 1 2 に記載の顔料。

【請求項 1 4】

表面へのタンパク質吸着を増大させる化合物を表面上に有する粒子を含む組織マーキング顔料。

【請求項 1 5】

組織細胞表面の特定の受容体と相互作用し、粒子に対する免疫システム応答の攻撃性を抑制するか又は高める分子が、粒子の表面上に存在する、請求項 1 4 に記載の顔料。

【請求項 1 6】

分子が、インテグリン、内毒素、リボ多糖および任意のこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 1 5 に記載の顔料。

【請求項 1 7】

化合物が、表面に共有結合またはイオン結合されている、請求項 1 4 に記載の顔料。

【請求項 1 8】

化合物がリボ多糖である、請求項 1 4 に記載の顔料。

【請求項 1 9】

リボ多糖が大腸菌またはボルフィロモナス・ジンジバリスから得られる、請求項 1 8 に

10

20

30

40

50

記載の顔料。

【請求項 20】

化合物がサイトカインである、請求項 14 に記載の顔料。

【請求項 21】

サイトカインが TNF- α である、請求項 20 に記載の顔料。

【請求項 22】

化合物がロイコトリエンである、請求項 14 に記載の顔料。

【請求項 23】

ロイコトリエンが LTB₄ である、請求項 22 に記載の顔料。

【請求項 24】

粒子の直径が約 5 μ m ~ 約 50 μ m である、請求項 14 に記載の顔料。

【請求項 25】

表面を有する粒子を含む組織マーキング顔料を提供する工程；および
表面へのタンパク質吸着を低減させる化合物を、粒子の表面上に設置する工程
を含む、組織マーキング顔料を調製するための方法。

【請求項 26】

化合物が粒子の表面上にコーティングされている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

化合物が、粒子の表面に共有結合またはイオン結合されている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 28】

化合物が水溶性ポリマーである、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 29】

化合物が、ポリエチレングリコール、ポリエチレンオキシドまたはポリヒドロキシエチルメタクリレートである、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 30】

ポリマーがポリエチレングリコールである、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記ポリエチレングリコールの分子量が、約 3000 ダルトン ~ 約 30000 ダルトン
である、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記ポリエチレングリコールの分子量が、約 18500 ダルトンである、請求項 31 に
記載の方法。

【請求項 33】

粒子の直径が約 5 μ m 未満である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 34】

粒子の直径が約 1 μ m ~ 約 3 μ m である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

粒子の直径が約 15 μ m を超える、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 36】

粒子の直径が約 20 μ m ~ 約 100 μ m である、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

組織細胞表面の特定の受容体と相互作用し、粒子に対する免疫システム応答の攻撃性を
抑制するか又は高める分子が、粒子の表面上に存在する、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 38】

分子が、インテグリン、内毒素、リボ多糖および任意のこれらの組合せからなる群から
選択される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

表面を有する粒子を含む組織マーキング顔料を提供する工程；および
表面へのタンパク質吸着を増大させる化合物を、粒子の表面上に設置する工程

10

20

30

40

50

を含む、組織マーキング顔料を調製するための方法。

【請求項 4 0】

化合物が、粒子の表面上にコーティングされている、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

化合物が、粒子の表面に共有結合またはイオン結合されている、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 2】

化合物がリボ多糖である、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 3】

リボ多糖が、大腸菌またはポルフィロモナス・ジンジバリスから得られる、請求項 4 2 に記載の方法。 10

【請求項 4 4】

化合物がサイトカインである、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 5】

サイトカインが T N F - である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

化合物がロイコトリエンである、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 7】

ロイコトリエンが L T B 4 である、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

粒子の直径が約 5 μ m ~ 約 5 0 μ m である、請求項 3 9 に記載の方法。 20

【請求項 4 9】

組織細胞表面の特定の受容体と相互作用し、粒子に対する免疫システム応答の攻撃性を抑制するか又は高める分子が、粒子の表面上に存在する、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 5 0】

分子が、インテグリン、内毒素、リボ多糖および任意のこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

表面上に分子を有する粒子を含む組織マーキング顔料であって、前記分子は、組織細胞表面の特定の受容体と相互作用して、粒子に対する免疫システム応答の攻撃性を抑制するか又は高めるものである、組織マーキング顔料。 30

【請求項 5 2】

分子が、インテグリン、内毒素、リボ多糖および任意のこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 5 1 に記載の顔料。

【請求項 5 3】

外表面を有する少なくとも 1 つの粒子を含む組織マーキング顔料であって、前記外表面は少なくとも 1 つの突起、少なくとも 1 つの凹部、少なくとも 1 つの刻み目および / または少なくとも 1 つの細孔を含むものである、組織マーキング顔料。

【請求項 5 4】

外表面が突起を有し、前記突起は、約 0 . 1 μ m ~ 約 1 0 0 μ m の間隔で置かれ、および / または約 0 . 1 μ m ~ 約 1 0 0 μ m の長さを有する、請求項 5 3 に記載の顔料。 40

【請求項 5 5】

外表面が、約 0 . 1 μ m ~ 約 1 0 0 μ m の直径または短軸を有する、前記少なくとも 1 つの細孔を有する、請求項 5 3 に記載の顔料。

【請求項 5 6】

外表面が刻み目を有し、前記刻み目は、約 0 . 1 μ m ~ 約 1 0 0 μ m の間隔で置かれ、および / または約 0 . 1 μ m ~ 約 1 0 0 μ m の長さを有する、請求項 5 3 に記載の顔料。

【請求項 5 7】

約 0 . 1 ~ 約 1 0 μ m の曲率半径を有するエッジを有する少なくとも 1 つの粒子を含む、組織マーキング顔料。 50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、本明細書に参考として援用されている、2004年7月15日出願の米国特許仮出願第60/587864号の恩恵を主張する。

【0002】

本発明は、組織マーキング顔料の免疫調節に関する。特に、本発明は、改変された組織マーキング顔料および組織マーキング顔料を改変するための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

組織マーキング、例えば、入れ墨は、歴史を通じてほとんど全ての文化において用いられてきた。組織マーキングは、五千年前の人間のミイラで見つかり、装飾された人形は、少なくとも一万五千年前に、組織マーキングが用いられていたことを示唆する。入れ墨は、身元、美しさ、芸術的および精神的表現、薬剤、および魔法を含む多くの目的のために用いられてきた。

【0004】

合衆国では、入れ墨に関する統計は保持されていないが、過去数十年の間に明らかに人気が上昇しつつある。明らかに、入れ墨の大部分は、十代の人々のかなりの部分を含む、年齢が40歳以下の人々によって行われている。毎年、推定2百万人の人々が入れ墨を行っている。

【0005】

合衆国では現在、入れ墨の使用には、見慣れている芸術的な入れ墨のみならず、永続的な化粧（例えば、永続的な眉毛、アイライナ、リップライナ、およびリップカラー）；矯正的なまたは再建的な着色（例えば、傷跡組織の再着色または乳房切除患者の乳輪の再建）；医療用マーキング（例えば、将来モニターするための胃腸の手術部位のマーキングまたは放射線処理のための位置のマーキング）；および動物の識別マーキング（例えば、純血ペットの血統「タグ」）などが含まれる。

【0006】

組織マーキングの手順は、伝統的に、針または類似の器具により皮膚を突き通し、液体担体に懸濁された、通常、広い粒径分布を有する不活性および不溶性の顔料粒子を含むインキを導入することから成る。入れ墨を入れるために通常使用される機械の例には、電磁コイル入れ墨機械（Nightingale、米国特許第4159659号に開示されているものなど）；回転式永続的な化粧品塗布機械（Chou、米国特許第5472449号に開示されているものなど）；または任意の手動式入れ墨装置（Softap Inc.、San Leandro, CAから市販されている滅菌、単回使用装置）などが含まれる。

【0007】

組織マーキング顔料が塗布された後の治癒過程では、顔料粒子は様々な形で影響を被り得るのであり、これらの影響の多くは、組織マーキングの外観にとって有害である。特に、いくつかの小さな粒子は、容易に拡散し、組織マーキングをぼやかし得る。その他の小さな粒子は、マクロファージおよび貪食細胞に取込まれ得る。大きな粒子は、例えば、直接経皮的消去によって移植領域から除去され得るか、または細胞外マトリックスに隔離され得る。また、粒子は、移植領域からリンパ系へ移動され得る。

【0008】

最終的に、組織マーキングとして見えるものは、貪食作用を有する皮膚細胞（例えば、繊維芽細胞およびマクロファージなど）によって取込まれるか又は細胞外マトリックスに隔離された場所に位置している顔料の残りの粒子である。経皮的な消去、拡散および免疫システムを介しての除去は、組織マーキングの明瞭さを減じる傾向がある。

【0009】

皮膚細胞は、僅か約5~30 μmのサイズである。従って、通常は、皮膚細胞が容易に

10

20

30

40

50

取込むことのできる粒子は、最大寸法が僅か約 $5\text{ }\mu\text{m}$ までである。しかし、必ずしも全ての組織マーキング顔料粒子がこのサイズ範囲に入るわけではない。いくつかの組織マーキング粒子は、より大きく、皮膚細胞がこれらの粒子を取囲まれることは困難である。例えば、最大寸法が約 $5\sim 50\text{ }\mu\text{m}$ の粒子は、取囲むことができず、細胞外マトリックスに隔離され得る。この隔離は、最終的に肉芽腫を生じさせ得る。

【0010】

組織マーキングは、また、 $50\text{ }\mu\text{m}$ を超える顔料粒子を使用して行われ得る。例えば、 $100\text{ }\mu\text{m}$ の粒子を使用することができる。しかし、このような粒子を組織に移植すると、極端な免疫応答を引き起こし得る。通常は、 $50\text{ }\mu\text{m}$ 以上の粒子は、取込まれがたく、細胞外に残ることになり、恐らく、長きにわたる異物応答および肉芽腫さえも生じさせる。例えば、 $100\text{ }\mu\text{m}$ の粒子を移植すると、内部「瘢痕化」(肉芽腫)を発生させ得る。加えて、 $5\text{ }\mu\text{m}$ またはそれ未満の小粒子でさえ、非常にゆっくりと取込まれることができ、いくつかの小粒子が移動、排除されるための時間を与える。

10

【0011】

どのサイズの組織マーキング顔料でも異物であるので、アレルギー反応が引き起こされ得る。結果として起こる免疫システムの応答は、顔料を移植場所から除去させることができ、組織マーキングの明瞭さを減少させる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

今日まで、組織内の組織マーキング顔料の割り当てを、顔料の組成を変更することによって制御する方法は提唱されていない。さらに、顔料粒子に対する、所望の組織細胞の反応を容易にして、組織マーキングを安定化し、肉芽腫またはその他の副作用を予防または減少させる方法は、提唱されていない。

20

【課題を解決するための手段】

【0013】

従来技術の上記欠陥を克服するために、本発明は、改善された組織マーキング顔料および組織マーキング顔料を改変するための方法を提供する。

【0014】

本発明によれば、マーキングは、例えば、皮膚、虹彩、強膜、象牙質、筋肉、腱、指の爪、足の指の爪、指の爪の下の組織、足の指の爪の下の組織、口の中の組織、または内部の身体の導管を裏打ちしている組織などの組織に適用され得る。好ましくは、組織は皮膚である。

30

【0015】

組織マーキング顔料は、本発明によれば、組織マーキング粒子の表面に対するタンパク質の吸着を増大または減少させることによって改変され得る。これは、例えば、比較的不活性な、水溶性ポリマーまたはリポ多糖または適切なサイトカインなどを顔料に組込むことによって達成される。これらの材料は、例えば、コーティングまたは自己アセンブリ化単層膜により、顔料中に組込まれるか顔料の表面上に塗布され得る。

【0016】

水溶性ポリマーは、約 $5\text{ }\mu\text{m}$ 未満、好ましくは約 $1\sim 3\text{ }\mu\text{m}$ の直径を有する顔料粒子の表面に塗布され、タンパク質吸着を減少させる。このポリマーは、また、約 $5\text{ }\mu\text{m}$ を超える、好ましくは約 $20\sim 100\text{ }\mu\text{m}$ の直径を有する顔料粒子の表面上に塗布されるかまたは表面の中に組込まれる。その他のポリマー、例えば、ポリエチレンオキシド、ポリ無水物またはポリヒドロキシエチルメタクリレートなども使用され得る。

40

【0017】

ポリエチレングリコールは、好ましい水溶性ポリマーである。特に、約 $3000\sim 30000$ ダルトンの、より好ましくは約 18500 ダルトンの分子量を有する、中度ポリエチレングリコールが使用される。(Harris, J. M. Poly(Ethylene Glycol) Chemistry: Biotechnical and Bio

50

medical; Sawhney A.S., Pathak C.P., Hubbell J.A., "Interfacial Photopolymerization of Poly(ethylene glycol)-based Hydrogels upon Alginate-poly(1-lysine) Microcapsules for Enhanced Biocompatibility," Biomaterials 14:1008~16、1993; Sawhney A.S., Pathak C.P., van Rensburg J.J., Dunn RC., Hubbell J.A., "Optimization of Photopolymerized Bioerodible Hydrogel Properties for Adhesion Prevention," J. Biomed. Mater. Res. 28:831~8、1994を参照されたい)。

【0018】

リポ多糖、または別のCD14受容体アゴニストは、約5~約50 μ mの直径を有する顔料粒子の中へまたは表面上に好ましくは適用され、粒子の免疫応答を上昇させる。多様なリポ多糖は、本発明の文脈の中で使用され得る。例えば、大腸菌またはボルフィロモナス・ジンジバリス由来のものなどの、様々な細菌由来リポ多糖が使用され得る。TNF-

などのサイトカインも、リポ多糖の代わりに、またはリポ多糖と一緒に免疫システムを刺激するために使用することができる。

【0019】

上述の如き、受容体非依存性分子を有する粒子表面へのタンパク質吸着の調整の他に、または調整に加えて、インテグリン、内毒素またはリポ多糖などの特別な分子が、粒子の表面に適用され、細胞または細胞小器官の表面上の特定の受容体(CD14など)と相互作用し、粒子に対する免疫システム応答の攻撃性を抑制するかまたは高めることができる。或いは、トリプトファン-アスパラギン酸含有コートタンパク質(「TACO」)などの分子は、膜に共有結合され、ファゴソームがリソソームと融合することを阻止し、これにより、リソソームの激しい劣化誘導環境から粒子を保護する。

【0020】

本発明の別の態様においては、組織マーキング顔料は、少なくとも1つの突起(projection)、突出部(protrusion)、凹部(recess)、刻み目(indentation)、開口部または細孔を外表面上に有する、少なくとも1つの粒子を含む。突起または刻み目は、約0.1 μ m~約100 μ mの距離で間隔を離す(すなわち、中心から中心までまたはピークからピークまでの距離を有する)、および/またはその長さを有する(すなわち、谷からピークまでの距離を有する)ことができる。粒子は、また、約0.1~約10 μ mの曲率半径を有する鋭いエッジを有することができる。細孔または開口部は、約0.1 μ m~約100 μ mの直径または短軸を有することができる。

【0021】

本明細書において使用される、「組織マーキング」とは、永久的なまたは長期間の耐久性を意図して、顔料を組織に、通常は生体組織に、導入することによって作られる任意のマークである。マーキングは、見えないまたは任意の可視色であることができ、例えば、肉眼によって、または検出装置を使用することによって、検出されるべきである。しかし、一定の実施形態においては、マーキングは、予め決められた時間の後、例えば、1カ月後または数カ月後に消失するよう予め設計されているマークとすることができ、および/または予め決められた時間の前に、特定のエネルギーに曝露することによって除去され得る。

【0022】

本明細書において使用される、組織マーキング「顔料」は、組織に移植される際に、多様な色または外観特性を有する組織マーキングを提供することができる物質として、幅広く定義される。顔料は黒鉛およびその他の炭素物質から成ることができる。また、顔料は、無機金属塩および明るく着色された有機金属錯体などを含むことができる。加えて、顔

料は、K l i t z m a nらの米国特許第6013122号、およびA n d e r s o nらの米国特許第6814760B2号に従う、マイクロ被カプセル化物またはマイクロ粒子であり得る。

【0023】

本明細書において使用される、「入れ墨」は組織マーキングの1タイプであり、この組織は通常、これに限らないが、皮膚である。

【0024】

本明細書において使用される「直径」は、球体の直径および非球体の最大の直線寸法を指す。本発明による組織マーキング顔料粒子は、様々な異なる形態を有することができる。

10

【0025】

他に定義されていない限り、本明細書において使用される全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する分野の技術者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似のまたは同等の方法および材料は、本発明を実施または試験する際に使用され得るが、適切な方法および材料が本明細書に記載されている。本明細書において述べた、全ての刊行物、特許出願、特許、およびその他の参考資料は、その全体が本明細書中に参考として援用されている。矛盾する場合は、定義を含めて本明細書が統制することになる。加えて、材料、方法、および実施例は単に例示的なものであり、限定するよう意図するものではない。

【0026】

本発明は、公知の組織マーキング顔料よりも多数の利点を有する。例えば、本発明は、改善された均一性および安定性を有する組織マーキングを提供し、皮膚の炎症を低下させるのに役立つ。

20

【0027】

本発明のその他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0028】

通常、組織は、内部にインプラントされた個々の粒子に対して、同じ反応をすることはない。反応のタイプは、もしあるとして、インプラントされた粒子のサイズおよびそれに対する免疫応答に依存する。例えば、組織マーキングが適用された場合は、いくつかの小粒子は容易に拡散し、組織マーキングをぼやかす。しかし、多数の小粒子は、マクロファージおよび貪食細胞に取込まれるかまたはその部位からリンパ系へ取除かれる。

30

【0029】

しかし、組織マーキング顔料が選択的に改変され、免疫システムの応答を高めるかまたは低減させると、組織の顔料粒子に対する反応を制御し、より安定な組織マーキングを形成することができる。例えば、組織細胞に対してより「目に見える」ように、顔料粒子を改変することができ、これにより取込みを促進し、肉芽腫を防止または低減させる。また、顔料は、組織細胞に対してあまり「目に見え」ないように、顔料粒子を修正することができ、これにより免疫応答が低減される。本発明は、このような組織マーキング顔料粒子の選択的改変を提供する。

40

【0030】

組織細胞は、一般に、細胞よりサイズの小さな粒子を取込むことができる。例えば、皮膚細胞は、サイズが約5～30μmであるので、最大の大きさが約5μm未満の粒子を容易に取込むことができる。従って、取込みを最小限にするために、および粒子が攻撃され、体内の免疫システムによって除去される可能性を低減させるために、本発明によれば、粒子は改変され、これらの表面へのタンパク質の吸着は低減される。また、以下で考察される如く、粒子の形態を変更することができる。

【0031】

組織マーキング顔料表面へのタンパク質の吸着は、粒子表面上で水溶性ポリマーを利用

50

することにより、低減され得る。このようなポリマーには、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリ無水物、ポリエチレンオキシド、ポリヒドロキシエチルメタクリレート、などが含まれる。これらのポリマーの中では、PEGがインプラントに対する免疫システム応答を減少させるために広く使用されている。PEGベースのコーティングは、インプラントされたグルコースセンサの生体適合性を改善するために使用されてきた。PEGベースポリマーについては、タンパク質薬剤デリバリー装置としてインビボで使用するための、術後癒着を防止するための、および電気化学的センサ上の生体適合性膜のための評価が以前に行われていた。

【0032】

しかし、全てのPEG分子が、組織マーキング粒子の表面改変に、特別適しているわけではない。約3000ダルトン以下の分子量を有する、短いPEG分子は、タンパク質吸着を効果的に低減または防止するほど十分に長くはない。約30000ダルトンを超える分子量を有する長いPEG分子は、これらの分子が互いに付着するのを妨げ、結果として表面被覆に隙間が生じるので、粒子表面で緻密にパッキングできない。従って、本発明の目的をより効果的に達成するために、組織マーキング顔料粒子、特に約5 μ m未満の粒子の表面は、約3000ダルトンを超え30000ダルトン以下の分子量を有するPEG分子によって、好ましくは覆われる。特に、約18500ダルトンのPEG分子が好ましい。生体適合性材料表面へのタンパク質吸着をより効果的に低減させる別の方法は、分子の表面アセンプリ化単層膜を使用することである（Mrksich, M., Dike, L. E., Tien, J., Ingber, D. E., Whitesides, G. M., Exp. Cell Res. 1997, 235, 305; Mrksich, M., Whitesides, G. M. in American Chemical Society Symposium Series）。

【0033】

直径が約5～約50 μ mの組織マーキング粒子は、このサイズのために、組織細胞によって容易に取込まれることはない。例えば、このような粒子が皮膚にインプラントされる場合は、皮膚細胞またはマクロファージがこれらを完全に取込む能力がないために、粒子は隔離される。しかし、引き続いて粒子の隔離が起こると、一般的に好ましくない肉芽腫が形成され得る。従って、特に、直径が約5～約50 μ mの粒子を用いて、組織マーキングを形成するために、このような粒子の表面を（化学的または形態的に）改変して、マクロファージまたは他の細胞を、粒子と反応する際により攻撃的になるよう刺激することができ、それにより、こうしなければ細胞外に残るはずの粒子を上手く取込ませる。具体的には、粒子を免疫刺激剤でコーティングすると、通常は取込まれないはずの顔料粒子が内部に取り込まれるまで、取込み過程を継続させるようにマクロファージを刺激することになる。

【0034】

加えて、5 μ m未満の粒子でさえも、ゆっくりと取込むようにすることができる。上記の如き小粒子の表面を改変することは、免疫応答を刺激して、より速やかに小粒子を取込ませ、これら粒子をより短時間で排除または最初のインプラント部位から移動させる。

【0035】

組織マーキング粒子に免疫応答を増大させるよう、例えば、リポ多糖（LPS）、サイトカイン、および/またはロイコトリエンを表面上に含むように、粒子を製造することができる。

【0036】

様々な細菌から製造されるLPS、例えば、大腸菌またはボルフィロモナス・ジンジバリス由来のLPSなどを使用して、本発明による粒子に対する免疫応答を改変することができる。組織マーキング顔料を改変するのに、LPSのほんの少量が必要とされるだけである。従って、改変された顔料の局所投与は、有利には、全身的な有害作用を引き起こさない。

【0037】

組織マーキング顔料粒子の表面へのタンパク質吸着を改変するのに有用なサイトカインは、TNF- α を含む。サイトカインに加えて、LTB₄などのロイコトリエンも有効であり得る。

【0038】

或いは、5 μ mを超える、特に約15 μ mを超える、好ましくは約20～約100 μ mの、いくつかの組織マーキング粒子が、これらの粒子へのタンパク質吸着を最小化するために改変され得る。改変の方法は、約5 μ m未満の粒子に対するものと同様である。この改変は、組織細胞からの減衰応答を開始させ、例えば、LPSを使用することにより刺激される場合でさえ、粒子が大きすぎて組織細胞が取込むことができない場合は、特に好ましい。このような粒子に対する組織反応は、粒子が、免疫応答を低減させるよう改変されていない場合は、極端な免疫応答および密な癒痕化（肉芽腫）さえ引き起こすことができる。

10

【0039】

米国特許第6013122号および第6814760B2号に記載のマイクロ被カプセル化物またはマイクロ粒子は、組織マーキング顔料として利用される際には、例えば、これらの表面またはコーティングへのタンパク質吸着により、同様に改変され得る。

【0040】

材料の表面を改変するための、少なくとも3種類の異なる方法がある。第1に、表面がポリマー構造を有する場合は、ポリマーが重合または硬化する前に、表面改変化合物をポリマーに混合することができる。第2に、完全な（完全長）分子を、重合または硬化の後で、例えば、コーティングによりポリマー表面に付着または吸着させることができる。第3に、改変化合物を表面にアセンブリ化させることができる。表面アセンブリ化法では、低分子量分子を材料の表面に付着させ、次いで、露出した末端にモノマーを付加することにより延長するか、またはモノマーを分子の中央部に付加することにより分岐させることができる。改変化合物を粒子の表面に共有結合またはイオン結合させると、最も永く持続する効果を生み出すように見える。

20

【0041】

図1A、1Bおよび1Cは、上記改変による、組織マーキング顔料粒子の概略図である。具体的には、図1Aは、所望の免疫応答を誘発するために表面特性を改変する化合物2aによってコーティングされた粒子1を示す。図1Bおよび図1Cは、化合物2bが粒子1の表面上に存在する異なる実施形態を示す。

30

【0042】

組織マーキング顔料は、顔料の形態を変えることにより、細胞の接着および取込みの刺激を増大または減少させることによって、本発明により改変され得る。例えば、顔料粒子をより滑らかにすると、細胞の活性化を低減することになる。鋭いエッジ、突出部および突起または刻み目の任意の組合せにより、顔料粒子をより粗くすると、開口部および細孔は細胞の活性化を増大させることになる。約0.1 μ m～約100 μ mの突起（例えば、「スパイク」など）、エッジ（例えば、「フレーク」など）、または直径が0.1～100 μ mの細孔（「ホール」）により、または粒子を免疫刺激剤でコーティングすることにより、表面をより「粗く」すると、通常は取込まれないはずの顔料粒子が内在化されるまで、取込み過程を継続するようマクロファージを刺激することになる。

40

【0043】

具体的には、本発明により、組織マーキング顔料は、その外表面に少なくとも1つの突起、突出部、凹部、刻み目、鋭いエッジ、開口部または細孔を有する、少なくとも1つの粒子を含む。図2および図3は、突起3および刻み目4を有する粒子1を模式的に示す。突起3または刻み目4は、（aおよびc）だけ間隔を置いて配置されることができ、および/または約0.1 μ m～約100 μ mの長さ（bおよびb'）を有する。

【0044】

図4は、本発明による、鋭いエッジ5を有する粒子1を示す。鋭いエッジは、また、約0.1～約10 μ mの曲率半径を有することができる。

50

【 0 0 4 5 】

図 5 は、細孔または開口部 6 を有する粒子 1 を示す。細孔または開口部は、約 $0.1 \mu\text{m}$ ~ 約 $100 \mu\text{m}$ の直径または短軸を有することができる。

【 0 0 4 6 】

本発明を、それについての詳細な説明および図面と共に説明してきたが、前述の説明および図面は、添付の特許請求の範囲により定義される、本発明の範囲を例示するものであり、限定するものではないことを意図している。他の態様、利点、および改変は特許請求の範囲の範囲内に存在する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 7 】

【図 1 A】本発明による、表面に化合物がコーティングされている組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【図 1 B】本発明による、表面に化合物を有する組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【図 1 C】本発明による、表面に化合物を有する別の組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【図 2】本発明による突起を有する組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【図 3】本発明による、刻み目を有する組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【図 4】本発明による、鋭いエッジを有する組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【図 5】本発明による、細孔を有する組織マーキング顔料粒子を示す概略図である。

【 図 1 A 】

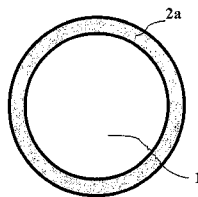


FIG. 1A

【 図 1 B 】

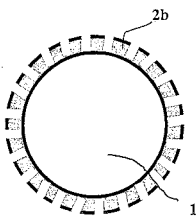


FIG. 1B

【 図 1 C 】

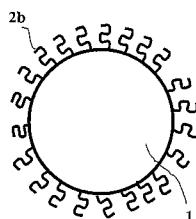


FIG. 1C

【 図 2 】

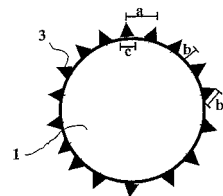


FIG. 2

【 図 3 】

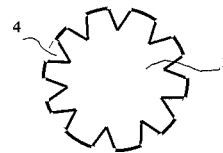


FIG. 3

【 図 4 】

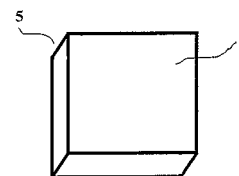


FIG. 4

10

20

【 図 5 】

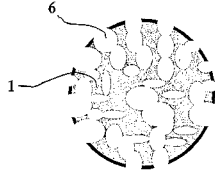


FIG. 5

【国際調査報告】

60700340072



11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US05/24865

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8): A61B 3/00(2006.01), A61B 18/00 USPC: 424/9.8 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) U.S. : 424/9.8 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 5,543,158 (GREF et al.) 6 August 1996 (06.08.1996), abstract; column 2, lines 30-47; column 3, lines 56-61; column 4, lines 3-7, 18-22, 34-43; column 5, lines 55+; column 6, lines 18-26; column 7, line 2; column 13, line 13.	1-18, 20, 24-42, 44 and 48-53 1-18, 20-42 and 44-57 1-18, 20-42 and 44-57
Y	US 6,013,122 (KLITZMAN et al.) 11 January 2000 (11.01.2000), column 2, lines 36+; column 3; column 7, lines 40-51; column 9, lines 20-25; column 10, line 16; column 12, lines 60+; column 16, lines 20-42.	1-18, 20-42 and 44-57 1-18, 20-42 and 44-57
X — Y	US 6,254,852B1 (GLAJCH et al.) 03 July 2001 (03.07.2001), column 2, lines 55-61; column 3, lines 1-9; column 4, lines 45-54	1,2,7-12,14,15,17,22-28,33-37,39-41,46-49 and 51 1-18, 20-42 and 44-57
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 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 "A" document number of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 05 October 2006 (05.10.2006)		Date of mailing of the international search report 18 DEC 2006
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Melissa Ferreira Telephone No. 571-272-1354

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

29.5.2007

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100124855

弁理士 坪倉 道明

(72)発明者 クリッツマン, ブルース

アメリカ合衆国、ノース・カロライナ・27705-5630、ダラム、ウエイド・ロード・3015

Fターム(参考) 4C083 AB132 BB21 BB60 CC11 DD16 EE10