

(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2017-537690

(P2017-537690A)

(43) 公表日 平成29年12月21日 (2017. 12. 21)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 M 37/00 (2006. 01)	A 6 1 M 37/00	4 C 0 5 3
A 6 1 N 1/30 (2006. 01)	A 6 1 N 1/30	4 C 1 6 7
A 6 1 M 35/00 (2006. 01)	A 6 1 M 35/00	Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 76 頁)

(21) 出願番号	特願2017-525973 (P2017-525973)	(71) 出願人	515305809
(86) (22) 出願日	平成27年11月12日 (2015. 11. 12)		ミューファーマ ピーティーワイ リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成29年6月23日 (2017. 6. 23)		オーストラリア国 3 1 4 2 ビクトリア
(86) 国際出願番号	PCT/AU2015/050707		トゥーラック ワシントン ストリート
(87) 国際公開番号	W02016/074040		6 / 3
(87) 国際公開日	平成28年5月19日 (2016. 5. 19)	(74) 代理人	100126505
(31) 優先権主張番号	2014904549		弁理士 佐貫 伸一
(32) 優先日	平成26年11月12日 (2014. 11. 12)	(74) 代理人	100131392
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		弁理士 丹羽 武司
(31) 優先権主張番号	2014904550	(72) 発明者	アンガー, ハリー
(32) 優先日	平成26年11月12日 (2014. 11. 12)		オーストラリア ヴィクトリア 3 1 4 2
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		トゥーラック リンリスゴー ロード
(31) 優先権主張番号	PCT/AU2015/050218		2 0
(32) 優先日	平成27年5月6日 (2015. 5. 6)		
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非侵襲性の薬剤塗布具

(57) 【要約】

生体組織に非侵襲的に薬剤を送達するシステムおよび方法が開示される。組織への薬剤の送達は、1つまたは複数の様式によるものであり得る。いくつかの実施形態では、このシステムおよび方法は、治療中の組織を非侵襲的に咬持する組織接触表面を含む薬剤キャリア本体を用いるものである。組織接触表面は、少なくとも一部が、薬剤キャリア本体の一部を形成する1つまたは複数のリザーバと流体接続した複数の突起部によって画定されるものであり得る。突起部は、空隙の内側から外に向かって伸長し前記組織接触表面で終端になっているものであり得る。

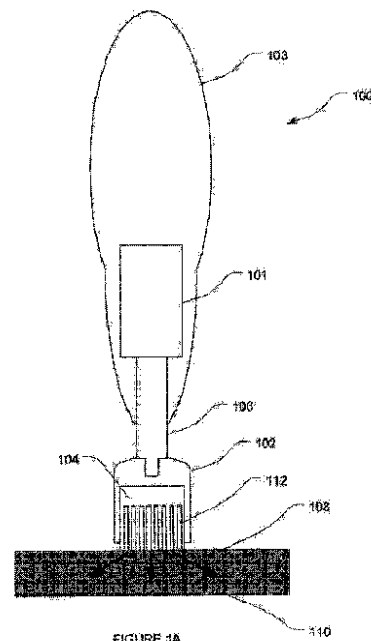


FIGURE 1A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象の組織の 1 つまたは複数の選択した層に薬剤を送達する方法であって、
超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具の中の前記薬剤に超音波を当てる段階であって、前記薬剤キャリアが、前記組織を咬持する組織接触表面を含む段階と、

前記組織の前記 1 つまたは複数の層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように、前記薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階と
を含み、

前記薬剤の送達が、前記対象に免疫応答を誘導する、
方法。

10

【請求項 2】

対象に免疫応答を誘導する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具の中の薬剤に超音波を当てる段階であって、前記薬剤キャリア本体が、前記組織を咬持する組織接触表面を含む段階と、

1 つまたは複数の選択した層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように、前記薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階と

を含み、

前記薬剤の送達が、前記対象に免疫応答を誘導する、
方法。

20

【請求項 3】

前記免疫応答が少なくとも粘膜免疫応答である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

少なくとも粘膜免疫応答を誘導する前記薬剤の送達が、粘膜の上皮層または上皮層と上皮下層の中に送達される薬剤の量を制御することによるものである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記免疫応答が全身免疫応答である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 6】

全身免疫応答を誘導する前記薬剤の送達が、上皮組織および上皮下組織の中におよびそこを通過して送達される薬剤の量を制御することによるものである、請求項 5 に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記薬剤キャリア本体および / または前記薬剤キャリアに薬剤を装填する段階、

前記薬剤を保持する前記薬剤キャリア本体または前記薬剤キャリアを提供する段階、

前記薬剤キャリア本体または前記薬剤キャリアの組織接触表面を前記組織に直接接触させるか、間接的に接触させる段階ならびに

前記薬剤キャリア本体または前記薬剤キャリアから前記薬剤を投薬する段階

のうちの 1 つまたは複数の段階をさらに含み、

前記薬剤を投薬する段階が、超音波シグナルを発生させて、前記組織接触表面への前記薬剤の輸送を可能にするか、促進することを含む、

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 8】

対象の組織の 1 つまたは複数の選択した層に薬剤を送達するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、前記薬剤キャリア本体が、前記組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤と、

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段と

を含み、

前記組織の前記 1 つまたは複数の層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう

50

設計されており、

前記薬剤の送達が、前記対象に免疫応答を誘導する、システム。

【請求項 9】

組織に薬剤を送達して対象に免疫応答を誘導するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、前記薬剤キャリア本体が、前記組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤と、

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段とを含み、

組織の 1 つまたは複数の選択した層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設計されており、

前記薬剤の送達が、前記対象に免疫応答を誘導する、システム。

【請求項 10】

前記免疫応答が粘膜免疫応答である、請求項 8 または 9 に記載のシステム。

【請求項 11】

少なくとも粘膜免疫応答を誘導する前記薬剤の送達が、粘膜の上皮層または上皮層と上皮下層の中に送達される薬剤の量を制御することによるものである、請求項 10 に記載のシステム。

【請求項 12】

前記免疫応答が全身免疫応答である、請求項 8 または 9 に記載のシステム。

【請求項 13】

全身免疫応答を誘導する前記薬剤の送達が、粘膜の上皮層または上皮下層の中におよびそこを通過して送達される薬剤の量を制御することによるものである、請求項 12 に記載のシステム。

【請求項 14】

設定する前記操作パラメータが、

塗布圧力、

超音波周波数、

超音波出力レベル、

超音波の波形、

超音波適用の持続時間、

超音波適用の動作周期および

超音波の方向

のうちのいずれか 1 つまたは複数のものを含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法またはシステム。

【請求項 15】

前記薬剤を以下の組織または組織層

粘膜；

上皮

上皮下組織

粘膜；

粘膜下組織

粘膜血管系

角膜；

角膜上皮

ボーマン膜

角膜実質

角膜内皮

結膜；

10

20

30

40

50

テノン膜；
上強膜；
強膜；
脈絡膜；
脈絡膜毛細血管板；
ブルッフ膜；
網膜色素上皮；
神経網膜；
網膜血管；
内境界膜；
硝子体；
表皮；および
真皮

のうちのいずれか１つもしくは複数のものまで、またはそれを超えて送達することを含む、請求項１もしくは２に記載の方法または請求項８もしくは９に記載のシステム。

【請求項１６】

前記薬剤キャリアまたは前記薬剤キャリア本体が、治療中の組織を咬持する組織接触表面を含み、前記組織接触表面が、少なくとも部分的に複数の突起部によって確定される、請求項１～１５のいずれか１項に記載の方法またはシステム。

【請求項１７】

前記薬剤キャリアが、前記薬剤を保持する１つまたは複数の薬剤リザーバを含み、前記突起部が、前記薬剤キャリアの一部を形成する１つまたは複数のリザーバと流体接続している、請求項１６に記載の方法またはシステム。

【請求項１８】

各薬剤リザーバが、前記薬剤キャリア本体内に形成された空隙を含む、請求項１７に記載の方法またはシステム。

【請求項１９】

前記突起部が、空隙の内側から外に向かって伸長し、前記組織接触表面で終端になっている、請求項１６または１７に記載の方法またはシステム。

【請求項２０】

前記空隙が末端構造物によって形成されており、前記末端構造物の少なくとも一部が、前記組織接触表面で終端になっている、請求項１８または１９のいずれか１項に記載の方法またはシステム。

【請求項２１】

前記末端構造物が、前記突起部と同じ平面で終端になっている、請求項２０に記載の方法またはシステム。

【請求項２２】

前記組織接触表面を画定する前記突起部の少なくとも一部が、前記空隙から外に向かって前記末端構造物を超えて伸長している、請求項２０に記載の方法またはシステム。

【請求項２３】

前記突起部が平面で終端になっており、前記末端構造物が、前記突起部が前記末端構造物を超えて伸長するように前記平面に達する前で終端になっている、請求項２２に記載の方法またはシステム。

【請求項２４】

前記薬剤キャリア本体が、
前記組織接触表面を含む組織接触層と、
少なくとも１つの他の層と
を含む積層物を含む、
請求項１～２３のいずれか１項に記載の方法またはシステム。

【請求項２５】

10

20

30

40

50

少なくとも前記組織接触層の中を少なくとも１つの穴が伸長して、前記薬剤キャリア本体内のそれぞれのマイクロチャネルの少なくとも一部を画定している、請求項２４に記載の方法またはシステム。

【請求項２６】

マイクロチャネルによって、薬剤を１つの層から隣接する層まで輸送することが可能である、請求項２５に記載の方法またはシステム。

【請求項２７】

前記薬剤キャリアが伝導刺激を伝える、請求項１～２６のいずれか１項に記載の方法またはシステム。

【請求項２８】

前記薬剤キャリア本体が前記伝導刺激を伝える、請求項２７に記載の方法またはシステム。

【請求項２９】

前記薬剤キャリア本体が、少なくとも一部が前記薬剤キャリア本体の中を前記組織接触表面まで伸長し組織表面への前記薬剤の輸送を可能にする１つまたは複数のマイクロチャネルを含む、請求項１～２８のいずれか１項に記載の方法またはシステム。

【請求項３０】

前記マイクロチャネルが、前記薬剤キャリア本体の中を伸長して薬剤リザーバと流体接続している、請求項２９に記載の方法またはシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、標的部位への薬剤の塗布に関する。好ましい形態では、本発明は、超音波エネルギーを用いて、内部に複数のマイクロスケール構造物を有する薬剤キャリア本体に含まれる薬剤を非侵襲的に標的部位へ輸送する。この好ましい形態では、標的部位において、超音波導入機序により標的部位への薬剤の浸透が可能になるか促進される。

【背景技術】

【０００２】

国際公開第２００７／１４３７９６号には、標的組織内への分子および／または粒子の浸透を促進するために超音波を発生させる装置を用いて、標的部位に分子および／または粒子を送達する方法が開示されている。

【０００３】

国際公開第２００７／１４３７９６号の装置は、医薬品またはインクなどの分子および／または粒子を装填した導電性ポリマーゲル材料を含むものである。導電性ポリマーゲルに電場をかけると、ポリマーゲルマトリックス内で実質的に結合した分子または粒子が放出され、これらの分子または粒子は最終的に、超音波によりそのポリマーゲルを通して標的組織表面まで輸送される。標的組織表面では、超音波導入機序によって分子および／または粒子の組織内への浸透が可能になるか促進される。

【０００４】

この送達機序に関連する問題点の１つに、例えば水分の喪失によって、ポリマーゲルの構造が時間の経過とともに分解し、それにより、超音波による分子および／または粒子の伝播が減少し得るという点がある。さらに、ゲルは超音波の伝達性に乏しく、超音波導入過程の効果を減少させる。さらに、少量の分子および／または粒子を装填したポリマーゲルを塗布具に適切に装填することは時間がかかり、簡単なことではない。

【０００５】

上に挙げた問題点を踏まえ、標的組織に薬剤を送達するための改善された装置および機序を追求する。

【０００６】

本明細書で任意の先行技術に言及する場合、それは、その先行技術が、オーストラリアをはじめとする管轄国に共通の一般的知識の一部をなすこと、またはその先行技術が、他

10

20

30

40

50

の先行技術と関連性があるか組み合わせたものであると当業者により合理的に確認、理解および認識されることが予想され得ることを認めるものでも何らかの形でこれを示唆するものでもなく、またそのように解釈されるべきでもない。

【発明の概要】

【0007】

本開示は、生体組織に薬剤を非侵襲的に送達する薬剤キャリアを提供する。組織への薬剤の送達は、1つまたは複数の様式によるものであり得る。送達の様式は、薬剤キャリアを通った薬剤の輸送を引き起こす輸送刺激（1つまたは複数）を特徴とするものであり得る。好ましい形態では、輸送刺激はほかに、薬剤の組織内への浸透を促進するか、可能にする。好ましい実施形態は、輸送刺激として超音波のみを用いる。

10

【0008】

刺激は、それがなければ低い速度または少ない深度（またはその両方）で組織内に拡散する薬剤の組織内への浸透を、とりわけ薬剤を組織内に移動させる速度または深度（またはその両方）を増大させることによって促進し得る。あるいは、刺激は、それがなければ組織内に移動することができないか、組織内にほとんど拡散しない薬剤の組織内への浸透を、とりわけ薬剤の組織内への移動を可能にすることによって可能にするか、実現し得る。

【0009】

好ましい実施形態では、薬剤キャリアは、中に薬剤を保持するよう設計された薬剤キャリア本体を含む。薬剤キャリア本体は、治療中の組織を咬持する組織接触表面を有し、ここでは、輸送刺激を加えると、薬剤が薬剤キャリア本体を通して組織接触表面まで輸送される。

20

【0010】

送達する薬剤は、1つもしくは複数の分子もしくは粒子または任意に組み合わせた1つもしくは複数の分子と粒子を含み得る。薬剤は流体であっても、または例えば水、油、エマルション、ゲルなどの液状媒体に溶解、懸濁もしくは分散させることによって液状媒体中に保持されてもよい。少数ではあるが例を挙げれば、薬剤は、タンパク質（アミノ酸、ペプチド、ポリペプチドを含む）、ワクチン、核酸、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ナノ粒子または分子機械を含み得る。好ましい実施形態では、薬剤は医薬品または医薬組成物である。医薬品または医薬組成物の1つもしくは複数の活性医薬成分は、特に限定されないが、合成化合物；天然化合物；または生物製剤のうちのいずれか1つであり得る。医薬品または医薬組成物を生体組織に送達する目的は、任意の所望の臨床的理由であり得、疾患、病態もしくは障害の治療、治癒もしくは緩和；特定の疾患、病態もしくは障害の1つもしくは複数の症状の軽減、改善もしくは解消；1つもしくは複数の疾患、病態もしくは障害またはその症状の発現の予防または遅延；疾患、病態もしくは障害または身体の構造もしくは任意の機能に影響を及ぼすことを目的とする薬剤の診断がこれに含まれる。他の実施形態では、薬剤は、洗浄、美化、魅力の増進または身体の外観の改変などの美容目的に使用する薬剤であり得る。薬剤はこのほか、ヒトまたは機械が認知可能な材料、例えばインクなどを作製するのに使用するマーカー物質であり得る。その他の種類の薬剤も使用し得る。

30

40

【0011】

輸送刺激は、薬剤をキャリアを通して組織接触表面まで移動させる駆動力となるほか、組織接触表面から組織内への薬剤の浸透を促進し、かつ／または可能にし得る。

【0012】

いくつかの実施形態では、組織は、粘膜、皮膚および歯を含めた任意のヒトまたは動物生体組織であり得る。好ましくは、組織は眼組織または口腔粘膜である。いくつかの実施形態では、組織は任意の植物組織である。

【0013】

一態様では、治療中の組織を非侵襲的に咬持する組織接触表面を含む薬剤キャリア本体が提供され、組織接触表面は、少なくとも一部が複数の突起部によって画定される。突起

50

部は、薬剤キャリア本体の一部を形成する１つまたは複数のリザーバと流体接続し得る。各薬剤リザーバは、薬剤キャリア本体内部に形成された空隙を含み得る。突起部は、空隙の内側から外に向かって伸長し、前記組織接触表面で終端になり得る。空隙は末端構造物によって形成されているものであり得、前記末端構造物の少なくとも一部は組織接触表面で終端になり得る。

【００１４】

いくつかの実施形態では、末端構造物は突起部と同じ表面で終端になる。他の実施形態では、組織接触表面を画定する前記突起部の少なくとも一部は、空隙から外に向かって末端構造物を超えて伸長している。いくつかの実施形態では、突起部は、ある平面で終端になり得、末端構造物は、突起部が末端構造物を超えて伸長するように、その平面に達する前で終端になり得る。

10

【００１５】

薬剤キャリア本体は、少なくとも一部が薬剤キャリア本体の中を組織接触表面まで伸長し組織表面への薬剤の輸送を可能にする１つまたは複数のマイクロチャンネルを含み得る。マイクロチャンネルは、薬剤キャリア本体の中を伸長して薬剤リザーバと流体接続し得る。

【００１６】

上記の態様の薬剤キャリア本体は、組織接触表面を含む組織接触層と、少なくとも１つのそれ以外の層とを含む、積層物を含み得る。組織接触層は、その中を伸長し本体の少なくとも一部のマイクロチャンネルを画定する穴を有するのが好ましい。いくつかの実施形態では、複数の層が、その内部に形成された穴を有し、ある層から隣の層への薬剤の輸送を可能にする。複数の層のうちの１つの層に形成された穴は、複数の層の複数の穴が協同してマイクロチャンネルを形成するように、隣接する層の穴と一直線に配置されているのが好ましい。いくつかの実施形態では、最初の層から組織接触層まで穴の直径が減少し、穴の数が増大する。マイクロチャンネルは、その長さに沿って変化する断面積を有し得る。

20

【００１７】

いくつかの実施形態では、薬剤を貯蔵するリザーバは、少なくとも一部が（任意選択で全部が）薬剤キャリア本体内に形成されている。

【００１８】

マイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバ（１つまたは複数）および／または突起部は、薬剤キャリア本体内の内部露出表面によって画定される。これらの内部露出表面は、所定の親水性、疎水性および／または導電性を有するよう設計されているのが好ましい。この場合、少なくとも一部の内部露出表面を改変または処理して、その親水性、疎水性および／または導電性を設定し得る。

30

【００１９】

薬剤キャリア本体は、薬剤キャリア本体および／またはリザーバ（１つまたは複数）に薬剤を装填することを可能にする入口を含み得る。

【００２０】

薬剤キャリア本体は、輸送刺激を発生させるよう作動可能な刺激発生装置をさらに含み得る。刺激発生装置は、好ましくは超音波振動子を含む。

【００２１】

いくつかの実施形態では、薬剤キャリアは、本明細書に記載される任意の種類の薬剤キャリア本体を機械的に支持するよう設計された収納部を含むのが好ましい。収納部は、薬剤塗布装置に取り付けるよう設計された取付構造を含み得る。取付構造は、薬剤キャリアを取り換えることができるように、薬剤キャリアを選択的に薬剤塗布装置に取り付け、薬剤塗布装置から取り外すことを可能にするものが好ましい。

40

【００２２】

薬剤キャリア収納部はこのほか、薬剤キャリア本体を収容するためにその中に形成されたくぼみをはじめとする取付形状を含み得る。いくつかの実施形態では、薬剤キャリア本体を取り換えることができるように、薬剤キャリア本体を選択的にくぼみまたは取付形状に取り付けるか、取り外すことができる。

50

【 0 0 2 3 】

薬剤キャリアは、薬剤キャリア本体および / またはリザーバ (1 つまたは複数) に薬剤を装填することを可能にする入口を含み得る。

【 0 0 2 4 】

薬剤キャリアは、輸送刺激を発生させるよう作動可能な刺激発生装置をさらに含み得る。刺激発生装置は、好ましくは超音波振動子を含む。刺激発生装置の少なくとも一部は、薬剤キャリア本体の一部として形成され得る。

【 0 0 2 5 】

好ましい実施形態では、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体は、薬剤塗布装置の一部として 1 回使用するのに適合した消耗品塗布具チップである。

【 0 0 2 6 】

本開示の別の態様では、本明細書に記載される薬剤キャリアおよび / または薬剤キャリア本体を含む、非侵襲性の薬剤塗布装置が提供される。

【 0 0 2 7 】

薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体は、薬剤塗布装置の手持操作を容易にするハンドルユニットと直接的または間接的に連結し得る。ハンドルユニットは、薬剤キャリアおよび / または薬剤キャリア本体の相補的な取付構造と協同するよう設計された取付構造を含むのが好ましい。

【 0 0 2 8 】

ハンドルユニットは、取り付けられた薬剤キャリアおよび / または薬剤キャリア本体に伝達する超音波を発生させる超音波発振器を含み得る。

【 0 0 2 9 】

薬剤キャリアは、好ましくは、1 回の使用に適合した消耗品塗布具チップである。

【 0 0 3 0 】

薬剤キャリアは、治療中の組織を非侵襲的に咬持する組織接触表面を含み、組織接触表面が少なくとも部分的に複数の突起部によって画定される、薬剤キャリア本体を含むのが好ましい。

【 0 0 3 1 】

薬剤キャリアは、前記薬剤を保持する 1 つまたは複数の薬剤リザーバを含み得るものであり、ここでは、前記突起部は、薬剤キャリアの一部を形成する 1 つまたは複数のリザーバと流体接続している。各薬剤リザーバは、一部 (または全部が) が、薬剤キャリア本体内に形成された空隙を含み得る。

【 0 0 3 2 】

本明細書にはこのほか、本明細書に記載される薬剤キャリアから薬剤を投薬する方法が開示される。この方法は、薬剤キャリア内に薬剤を保持することを含み、前記薬剤キャリアは固い薬剤キャリア本体を含む。この方法は、薬剤キャリア本体の組織接触表面で生体組織の組織表面を咬持することをさらに含み得る。この方法は、少なくとも 1 つの輸送刺激を加えて、薬剤を薬剤キャリア本体を通して組織表面まで輸送することによって、薬剤キャリアから組織表面に薬剤を投薬することをさらに含み得る。

【 0 0 3 3 】

いくつかの形態では、この方法は、薬剤キャリアを介して組織に輸送刺激を加えて、生体組織への薬剤の浸透を促進するか、可能にすることをさらに含む。

【 0 0 3 4 】

薬剤キャリア内に薬剤を保持することは、少なくとも一部の薬剤をキャリア本体内に保持することを含み得る。

【 0 0 3 5 】

好ましい実施形態では、薬剤キャリア本体は、組織接触表面の複数の突起部を末端とする。この場合、薬剤キャリア本体の組織接触表面で生体組織の組織表面を咬持することは、生体組織の組織表面を薬剤キャリア本体の突起部で咬持することを含む。このような咬持操作は、突起部によって生体組織の層を機械的に貫通することを一切含まないのが好ま

10

20

30

40

50

しい。

【 0 0 3 6 】

本開示の別の態様では、既に記載した薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布装置から薬剤を投薬する方法が提供され、この方法は、薬剤キャリアの組織接触表面と組織表面とを接触させること；および薬剤キャリア本体から組織表面および標的組織内に薬剤を投薬することを含む。

【 0 0 3 7 】

上記のいずれかの方法のいくつかの実施形態では、薬剤を投薬する段階は、超音波を発生させて薬剤を組織接触表面まで輸送することを含む。この方法は、超音波を薬剤キャリアを通して組織に伝播させることを含むのがさらに好ましい。これにより、超音波導入法によって薬剤を組織を通過させて送達するのを容易にする。

10

【 0 0 3 8 】

上記のいずれかの方法のいくつかの実施形態では、薬剤を投薬する段階は、薬剤キャリア本体に電圧を加えて組織接触表面に薬剤を輸送することを含み得る。電圧はこのほか、イオン導入法による組織内へのおよび組織を通過する薬剤の輸送をもたらし得る。この方法は、電流を薬剤キャリアを通して組織に伝播させることを含むのがさらに好ましい。

【 0 0 3 9 】

本開示のさらに別の態様では、本明細書に記載される薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布装置から薬剤を投薬する方法が提供される。この方法は、薬剤キャリア本体の組織接触表面と組織表面とを接触させること；および薬剤キャリアから組織表面に薬剤を投薬することを含む。薬剤を投薬する段階は、超音波を発生させて組織接触表面への薬剤の輸送を引き起こすか、容易にすることを含むのが好ましい。この方法は、超音波導入法により組織表面に超音波を当てて、非侵襲的に組織内へのおよび組織を通過する薬剤の浸透を引き起こすか、容易にすることを含み得る。

20

【 0 0 4 0 】

この方法は、超音波を薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体を通して組織に伝播させることをさらに含む。

【 0 0 4 1 】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載される薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布装置のうちのいずれか 1 つの中に薬剤を装填する方法を提供する。この方法は、薬剤キャリア本体を薬剤に曝露して、リザーバまたは前記リザーバと流体接続したマイクロチャネルの両方のうちのいずれかに前記薬剤を充填することを可能にすることを含む。

30

【 0 0 4 2 】

この方法は、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体に陰圧を加えて、マイクロチャネルまたはマイクロチャネルと流体接続した薬剤リザーバの中に薬剤を吸い込むことを含み得る。この方法は、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体に陽圧を加えて、マイクロチャネルまたはマイクロチャネルと流体接続した薬剤リザーバの中に薬剤を注入することを含み得る。

【 0 0 4 3 】

マイクロチャネルまたは薬剤リザーバに薬剤を充填する段階は、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体に超音波エネルギーを加えて、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体の中に薬剤を吸い込むことを含み得る。

40

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、薬剤キャリアが薬剤と接触したときの毛管力によって、薬剤キャリア本体の空隙および / またはマイクロチャネルを装填する。

【 0 0 4 5 】

本発明の実施形態は、粘膜（結膜、頬粘膜および口唇粘膜を含む）、角膜および眼球の外膜などの繊細な組織に薬剤を非侵襲的に送達するのに用いるのが有利であり得る。

【 0 0 4 6 】

第一の態様では、本発明は、組織に薬剤を送達する方法であって、超音波を輸送刺激と

50

し、本明細書に記載される態様または実施形態のうちのいずれか 1 つの薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布具を用いて前記薬剤を塗布すること；および上記の組織内の選択した深度への前記薬剤の送達を促進するか、引き起こす塗布の操作パラメータを設定することを含む、方法を提供する。設定する操作パラメータは（特に限定されないが）

塗布圧力；
超音波周波数；
超音波出力レベル；
超音波の波形；
超音波適用の持続時間；
超音波適用の動作周期；および
超音波の方向

10

のうちのいずれか 1 つまたは複数のものを含み得る。

【0047】

操作パラメータは、選択した量の薬剤が組織内の選択した深度に送達されるよう選択するのが好ましい。当業者であれば、対象の臨床試験を含めた実験的試験によって、特定の種類の組織への薬剤塗布および特定の薬剤キャリア設計の使用によって所望の免疫応答をもたらすのに必要な至適操作パラメータを決定することが可能であることを理解するであろう。

【0048】

この方法は、以下の組織または組織層のうちのいずれか 1 つもしくは複数のものまで、またはそれを超えて薬剤を送達することを含み得る：

20

粘膜；
上皮
上皮組織
粘膜；
粘膜下組織
粘膜血管系
角膜；
角膜上皮
ボーマン膜
角膜実質
角膜内皮
結膜；
テノン膜；
上強膜；
強膜；
脈絡膜；
脈絡膜毛細血管板；
ブルッフ膜；
網膜色素上皮；
神経網膜；
網膜血管；
内境界膜；
硝子体；
表皮；および
真皮。

30

【0049】

本発明の別の態様では、対象の組織内の選択した深度範囲に薬剤を送達する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具を用いて前

50

記薬剤に超音波を当てる段階であって；薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、段階；および

組織内の選択した深度への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階

を含み、

薬剤の送達を対象に免疫応答を誘導する、

方法が提供される。

【0050】

本発明の別の態様では、対象の組織の1つまたは複数の選択した層に薬剤を送達する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具を用いて前記薬剤に超音波を当てる段階であって；薬剤キャリアが、組織を咬持する組織接触表面を含む、段階；および

組織の1つまたは複数の層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階

を含み、

薬剤の送達を対象に免疫応答を誘導する、

方法が提供される。

【0051】

この方法は、本発明の以前の態様の実施形態による方法に従って実施するのが好ましい。

【0052】

本発明のさらなる態様では、対象の組織内の選択した深度範囲に薬剤を送達するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が、薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤；および

超音波を輸送刺激とし、薬剤に超音波シグナルを与える手段を含み；

上記の組織内の選択した深度範囲への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設計されており、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、

システムが提供される。

【0053】

本発明のさらなる態様では、対象の組織の1つまたは複数の選択した層に薬剤を送達するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤；および

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段を含み；

組織の1つまたは複数の層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設計されており、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、

システムが提供される。

【0054】

本発明の別の態様では、対象に免疫応答を誘導する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納された薬剤に超音波を当てる段階であって；薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、段階；および

組織内の選択した深度範囲への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階

を含み、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、

10

20

30

40

50

方法が提供される。

【0055】

本発明の別の態様では、対象に免疫応答を誘導する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納された薬剤に超音波を当てる段階であって；薬剤キャリアが、組織を咬持する組織接触表面を含む、段階；および

組織の1つまたは複数の選択した層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階

を含み、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、

方法が提供される。

10

【0056】

本発明の別の態様では、対象に免疫応答を誘導するのに使用する薬剤が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織内の選択した深度範囲に送達される。

【0057】

本発明の別の態様では、対象に免疫応答を誘導するのに使用する薬剤が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリアが組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織の1つまたは複数の選択した層に送達される。

20

【0058】

本発明のさらに別の態様では、対象に免疫応答を誘導する薬物の調製への薬剤の使用が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリアが組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織内の選択した深度範囲に送達される。

【0059】

本発明のさらに別の態様では、対象に免疫応答を誘導する薬剤の調製への薬剤の使用が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリアが組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織の1つまたは複数の選択した層に送達される。

30

【0060】

本発明の上記の態様の薬剤は、本明細書に記載される方法に従い、薬剤塗布具の操作パラメータを設定することによって、選択した深度範囲または組織の1つまたは複数の選択した層に送達される。

【0061】

本発明のさらなる態様では、組織に薬剤を送達して対象に免疫応答を誘導するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤；および

40

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段を含み；

組織内の選択した深度範囲への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設定されており、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、

システムが提供される。

【0062】

本発明のさらなる態様では、組織に薬剤を送達して、対象に免疫応答を誘導するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤；および

50

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段を含み；

組織の1つまたは複数の選択した層への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設計されており、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、
システムが提供される。

【0063】

本発明の上記の態様で誘導する免疫応答は、粘膜免疫応答、全身免疫応答またはその両方であり得る。好ましくは、少なくとも粘膜免疫応答を誘導し、任意選択で全身免疫応答も誘導する。

【0064】

本明細書に記載される本発明の各態様および各実施形態からわかるように、組織の標的送達部位は、組織の特定の層（1つまたは複数）であると定義されるか、あるいは深度範囲で定義されるものであり得る。例えば、薬剤の送達は、角膜のボーマン膜（すなわち、層）に送達されるという観点から定義され得るか、約5～15 μMの深度（すなわち、深度範囲）に送達されるという観点から定義され得る。当業者であれば、所与の標的層が所与の組織のどの深度にあるかがわかるであろう。本発明の上記の態様で誘導する免疫応答は、粘膜免疫応答、全身免疫応答またはその両方であり得る。好ましくは、少なくとも粘膜免疫応答を誘導し、任意選択で全身免疫応答も誘導する。本明細書に記載される薬剤塗布具の操作パラメータを選択的に設定することによって、組織の選択した深度または1つまたは複数の層に送達される薬剤の量を制御し得ることが考慮される。例えば、本発明の本明細書の態様および以前の態様のいくつかの実施形態では、薬剤の大部分が粘膜の上皮層および上皮層内に送達されるよう薬剤の送達を制御することによって少なくとも粘膜免疫応答を誘導する薬剤の送達が提供される。

【0065】

したがって、本発明の本明細書の態様および以前の態様のいくつかの実施形態では、薬剤の送達が少なくとも粘膜免疫応答を誘導する。薬剤は、本明細書に記載される操作パラメータを用いて塗布してよく、粘膜に免疫応答を誘導するため、十分な用量の薬剤が少なくとも一時的に粘膜に留まり続けるのが好ましい。より具体的には、十分な用量の薬剤が、少なくとも一時的に粘膜の上皮層または上皮層のうちの1つまたは複数のものに留まり続ける。

【0066】

したがって、対象に少なくとも粘膜免疫応答を誘導する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具内の薬剤に超音波を当てる段階であって；薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、段階；および

粘膜の上皮層または上皮層と上皮層の両方への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階

を含み、

薬剤の送達が、少なくとも粘膜免疫応答を誘導する、
方法が提供される。

【0067】

本発明の別の態様では、対象に少なくとも粘膜免疫応答を誘導するのに使用する薬剤が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織の上皮層内または上皮層内と上皮層内に送達され、薬剤の送達が少なくとも粘膜免疫応答を誘導する。

【0068】

本発明の別の態様では、対象に少なくとも粘膜免疫応答を誘導する薬物の調製への薬剤の使用が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織

10

20

30

40

50

の上皮層内または上皮層内と上皮下層内に送達され、薬剤の送達が少なくとも粘膜免疫応答を誘導する。

【0069】

本発明の上記の態様の薬剤は、本明細書に記載される方法に従い、薬剤塗布具の操作パラメータを設定することによって、上皮組織および上皮下組織に送達される。

【0070】

本発明のさらなる態様では、組織に薬剤を送達して対象に少なくとも粘膜免疫応答を誘導するシステムであって、

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤；および

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段を含み；

組織の上皮層内または上皮層内と上皮下層内への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設計されており、

薬剤の送達が、対象に少なくとも粘膜免疫応答を誘導する、

システムが提供される。

【0071】

上皮層または上皮層と上皮下層への薬剤の送達は、少なくとも粘膜免疫応答のほか、可能性として全身免疫応答を誘導し得るのに対し、薬剤がこれらの層を通過して上皮下層の下層まで送達されるよう制御すれば、より確実に全身免疫応答を誘導することができる。例えば、本発明の本明細書の態様および以前の態様のいくつかの実施形態では、組織の上皮層および上皮下層内ならびにそこを通過して下層組織に送達される薬剤の量を制御することにより薬剤を送達して、全身免疫応答を誘導することが提供される。

【0072】

したがって、対象に全身免疫応答を誘導する方法であって、

超音波を輸送刺激とし、薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具内の薬剤に超音波を当てる段階であって；薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、段階；および

組織の上皮層および上皮下層内ならびにそこを通過して下層組織への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするように薬剤塗布具の操作パラメータを設定する段階

を含み、

薬剤の送達が、対象に全身免疫応答を誘導する、

方法が提供される。

【0073】

本発明の別の態様では、対象に全身免疫応答を誘導するのに使用する薬剤が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織の上皮層および上皮下層内ならびにそこを通過して下層組織に送達され、薬剤の送達が、対象に全身免疫応答を誘導する。

【0074】

本発明の別の態様では、対象に全身免疫応答を誘導する薬物の調製への薬物の使用が提供され、ここでは、薬剤が薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が組織を咬持する組織接触表面を含み；薬剤が組織の上皮層および上皮下層内ならびにそこを通過して下層組織に送達され、薬剤の送達が、対象に全身免疫応答を誘導する。

【0075】

本発明の上記の態様の薬剤は、本明細書に記載される方法に従い、薬剤塗布具の操作パラメータを設定することによって、組織の上皮層および上皮下層内ならびにそこを通過して下層組織に送達される。

【0076】

本発明のさらなる態様では、組織に薬剤を送達して対象に全身免疫応答を誘導するシス

10

20

30

40

50

テムであって

薬剤キャリア本体、薬剤キャリアまたは薬剤塗布具に収納されており、薬剤キャリア本体が、組織を咬持する組織接触表面を含む、薬剤；および

超音波を輸送刺激とし、超音波シグナルを与える手段を含み；

組織の上皮層および上皮下層内ならびにそこを通過して下層組織への前記薬剤の送達を促進するか、可能にするよう設計されており、

薬剤の送達が、対象に免疫応答を誘導する、システムが提供される。

【0077】

本発明の本明細書の態様および以前の態様のいくつかの実施形態では、薬剤は粘膜免疫応答および全身免疫応答をとともに誘導する。

10

【0078】

本明細書に記載される本発明の方法はほかに、

- ・薬剤キャリア本体および/または薬剤キャリアに薬剤を装填する段階；
 - ・薬剤を保持している薬剤キャリア本体または薬剤キャリアを提供する段階；
 - ・薬剤キャリア本体または薬剤キャリアの組織接触表面を前記組織と直接的または間接的に接触させる段階；ならび
 - ・薬剤キャリア本体または薬剤キャリアから組織表面に薬剤を投薬する段階
- のうちの1つまたは複数のものを含み得るものであり、ここでは、薬剤を投薬する段階は、超音波シグナルを発生させて、組織接触表面への薬剤の輸送を引き起こすか、促進することを含むのが好ましい。

20

【0079】

間接的に接触させることによって、薬剤キャリア本体と組織との間にゲルなどの物質を設置し得ることが理解されよう。

【0080】

当業者には理解されるように、1つの選択した層への薬剤の送達が絶対的なものであるとは限らない。例えば、十分な量の薬剤（「十分な量」は、免疫応答を誘導するのに十分な量を意味することが理解されよう）が例えば上皮に送達されるよう薬剤塗布具の操作パラメータを設定し得る。ただし、最終的に上皮下組織にも少量の薬剤が入ることがある。本発明では、この少量の「溢流」が上皮組織および上皮下組織の両方に送達されることは考慮されない。むしろ、上皮組織および上皮下組織の両方に十分な量の薬剤を送達することを意図する場合、十分な量の薬剤を上記の組織に特異的に送達するため、特定の薬剤塗布具の操作パラメータを設定することが必要となる。同様に、薬剤を、例えば組織の上皮層および上皮下層組織内に送達することならびにそこを通過させて送達することによって、薬剤の一部が上記の層の一方または両方に留まり得るが、本発明の目的には、十分な量の薬剤が下層組織に送達されることになる。

30

【0081】

本発明の本明細書の態様および以前の態様のいくつかの実施形態では、薬剤の送達は、粘膜から身体に入る感染症および感染病原体に対する免疫を誘導する。

【0082】

40

本発明の上記の各態様および各実施形態に記載される薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布具は、本明細書に記載される態様または実施形態のうちのいずれか1つに記載されるものである。例えば、本明細書に記載されるように、薬剤キャリア本体の組織接触表面は、少なくとも一部が複数の突起部によって画定される。薬剤キャリア本体はこのほか、組織接触層と少なくとも1つの他の層とを含む積層物を含み得る。また、本発明の各態様または各実施形態の操作パラメータは、好ましくは、第一の態様に挙げたものから選択されるものであり、より好ましくは、選択した量の薬剤が組織内の選択した深度範囲または組織の1つまたは複数の選択した層に送達されるよう選択されるものである。

【0083】

本発明の上記の各態様および各実施形態に記載される組織および組織層は、第一の態様

50

で上に挙げたものである。薬剤を送達する組織およびその特定の層の選択は、生じさせる免疫応答に基づくものであり得る。

【0084】

本発明の各態様および各実施形態の薬剤の送達または使用は、非侵襲性であるのが好ましい。

【0085】

本明細書で使用される用語「comprise（含む）」およびその変化形、例えば「comprising」、「comprises」および「comprised」などは、文脈上他の意味に解釈する必要がある場合を除き、さらなる事柄、添加物、成分、整数または段階を除外しないものとする。このほか、本明細書で使用される場合、単語「include（含む）」、「for example（例えば）」またはそれと同様の表現の後に何かを明記することは、それと反対の表現が存在する場合を除き、ほかに含まれるものを限定するものではない。

【0086】

上の段落に記載される本発明のさらなる態様および諸態様のさらなる実施形態は、例を挙げ、添付図面を参照した以下の説明から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0087】

【図1A】組織表面に当てた一実施形態による薬剤塗布装置の模式的断面ブロック図であり、1つの例示的な薬剤塗布装置の構成要素全体を示している。

【図1B】図1Aに示され本出願者のオーストラリア特許出願第2013901606号に既に記載されている実施形態の薬剤キャリア本体のさらに詳細な断面図である。

【図1C】図1Bのものと同一薬剤キャリア本体で、超音波振動子を含むものを示す図である。

【図2】薬剤塗布装置のハンドルアセンブリの一実施形態およびその基本的な構成部品の断面ブロック図である。

【図3】本出願者のオーストラリア特許出願第2013901606号に既に記載されている種類の薬剤キャリア本体を含み、使い捨て塗布具チップの形態をとる薬剤キャリアの断面図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図8A～10または図23～30Aのいずれか1つに例示される任意の薬剤キャリア本体を代替手段として使用し得る。

【図4A】本出願者のオーストラリア特許出願第2013901606号に既に記載されている様々なマイクロチャネルおよび/またはリザーバ配置を有する単層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図4B】本出願者のオーストラリア特許出願第2013901606号に既に記載されている様々なマイクロチャネルおよび/またはリザーバ配置を有する単層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図4C】本出願者のオーストラリア特許出願第2013901606号に既に記載されている様々なマイクロチャネルおよび/またはリザーバ配置を有する単層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図4D】単層薬剤キャリア本体の第一の表面および組織接触表面の実施形態を示す図である。

【図4E】様々なマイクロチャネルおよびリザーバ配置を有する多層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図4F】様々なマイクロチャネルおよびリザーバ配置を有する多層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図4G】様々なマイクロチャネルおよびリザーバ配置を有する多層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図4H】様々なマイクロチャネルおよびリザーバ配置を有する多層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図 4 I】薬剤キャリア本体の第一の層の第一の表面および第二の表面ならびに薬剤キャリア本体の第二の層の第一の表面および組織接触表面の図 4 H に示される実施形態を示す図である。

【図 4 J】追加の薬剤を貯蔵し、使用過程でマイクロチャネルの薬剤が枯渇したときにこれを補充することが可能な薬剤キャリア本体の薬剤リザーバ接触層のさらなる実施形態の例を示す図である。

【図 5 A】それぞれが様々な設計の表面接触層を有する薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図 5 B】それぞれが様々な設計の表面接触層を有する薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図 5 C】それぞれが様々な設計の表面接触層を有する薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示す図である。

【図 5 D】図 5 B および 5 C に示される薬剤キャリアから伸長する 2 種類の例示的な種類の微小突起部を示す図である。

【図 6】積層配置および薬剤充填口を有する薬剤キャリア本体の実施形態を示す図である。

【図 7 A】積層構造を有する薬剤キャリア本体の穴およびその穴によって画定されるチャネルの実施形態を示す図である。

【図 7 B】積層構造を有する薬剤キャリア本体の穴およびその穴によって画定されるチャネルの実施形態を示す図である。

【図 7 C】微小製造工程によって作製した穴およびマイクロチャネルの拡大像である。

【図 7 D】微小製造工程によって作製した穴およびマイクロチャネルの拡大像である。

【図 7 E】微小製造工程によって作製した穴およびマイクロチャネルの拡大像である。

【図 8 A】本発明の一態様による薬剤キャリア本体の代替的实施形態の模式図であり、それぞれその平面図および斜視図を示している。

【図 8 B】本発明の一態様による薬剤キャリア本体の代替的实施形態の模式図であり、それぞれその平面図および斜視図を示している。

【図 8 C】中に形成されたマイクロチャネルを有する薬剤キャリア本体層の代替的实施形態の模式図であり、それぞれその平面図および斜視図を示している。

【図 8 D】中に形成されたマイクロチャネルを有する薬剤キャリア本体層の代替的实施形態の模式図であり、それぞれその平面図および斜視図を示している。

【図 8 E】中に形成されたりザーバを有する薬剤キャリア本体層の代替的实施形態の模式図であり、それぞれその平面図および斜視図を示している。

【図 8 F】中に形成されたりザーバを有する薬剤キャリア本体層の代替的实施形態の模式図であり、それぞれその平面図および斜視図を示している。

【図 8 G】図 8 E および 8 F の薬剤キャリア本体層と図 8 C および 8 D の薬剤キャリア本体層とが積み重なって形成された薬剤キャリア本体の模式図であり、それぞれ未充填形態および充填形態の薬剤キャリア本体を示している。

【図 8 H】図 8 E および 8 F の薬剤キャリア本体層と図 8 C および 8 D の薬剤キャリア本体層とが積み重なって形成された薬剤キャリア本体の模式図であり、それぞれ未充填形態および充填形態の薬剤キャリア本体を示している。

【図 9 A】図 8 A ~ 8 H のいずれか 1 つの薬剤キャリア本体の一部の電子顕微鏡像である。

【図 9 B】図 8 A ~ 8 H のいずれか 1 つの薬剤キャリア本体の単一の突起部の電子顕微鏡像である。

【図 10】本発明の実施形態のそれぞれの薬剤キャリア本体（またはその層）を形成するのに適した一連の 4 つのマスクデザインを示す図である。

【図 11 A】薬剤キャリア内の薬剤キャリア本体の外部の位置に薬剤リザーバを備えた様々な実施形態を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 10 または図 23 ~ 30 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこの

10

20

30

40

50

ような実施形態とともに使用し得る。

【図 1 1 B】薬剤キャリア内の薬剤キャリア本体の外部の位置に薬剤リザーバを備えた様々な実施形態を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

【図 1 1 C】薬剤キャリア内の薬剤キャリア本体の外部の位置に薬剤リザーバを備えた様々な実施形態を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

【図 1 2 A】本発明の実施形態に用い得る充填方法または再充填方法の様々な実施形態の諸段階を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

10

【図 1 2 B】本発明の実施形態に用い得る充填方法または再充填方法の様々な実施形態の諸段階を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

【図 1 2 C】本発明の実施形態に用い得る充填方法または再充填方法の様々な実施形態の諸段階を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

20

【図 1 2 D】本発明の実施形態に用い得る充填方法または再充填方法の様々な実施形態の諸段階を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

【図 1 2 E】本発明の実施形態に用い得る充填方法または再充填方法の様々な実施形態の諸段階を示す図である。理解されるように、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体をこのような実施形態とともに使用し得る。

【図 1 3 A】一実施形態による薬剤キャリアの分解図および断面図を示す図である。薬剤キャリアは、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体を保持するのに用いることができる。

30

【図 1 3 B】一実施形態による薬剤キャリアの分解図および断面図を示す図である。薬剤キャリアは、本明細書に概略的に記載され、図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示される任意の薬剤キャリア本体を保持するのに用いることができる。

【図 1 4】口唇送達から 2 4 時間後の F P V - H I V - G F P ワクチンの取込みを評価したプロットであり、矢印で示される右上 4 分の 1 の区分に、検出されたワクチンの蛍光 G F P 抗原を含む I - A d A P C M H C - I I 細胞が示されている。各点は単一の細胞を表す。

【図 1 5】口唇送達から 2 4 時間後の様々な樹状細胞サブセットによるそれぞれの流入領域リンパ節への抗原取込みの動員を評価したプロットである。M H C - 1 1 + および C D 1 1 b + (左側の 2 つの欄) または C D 1 1 c + (右側の 2 つの欄) であると同定された樹状細胞の割合が右上 4 分の 1 の区分に示されている (矢印を参照されたい) 。

40

【図 1 6】口唇送達から 2 4 時間後の頸部リンパ節、縦隔リンパ節および腸間膜リンパ節での F P V - H I V - G F P ワクチン取込みを評価したプロットである。ワクチンの蛍光 G F P 抗原を含む I - A d A P C M H C - I I 細胞が、矢印で示される右上 4 分の 1 の区分に検出されている。

【図 1 7】実施した実験の以下の段階を示す写真である。示される段階には、投与する薬剤のマイクロチップへの装填 (左上) 、超音波システムの設定 (右上) およびマウスへの口唇送達 (下 2 つ) が含まれる。

50

【図18】IFN- γ 細胞内染色を用いてHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の程度の評価を可能にしたプロットである。Cell Quest ProまたはFlowJo解析を用いてFACSデータを解析した。四角の囲みは、口唇/i.m.（上段のマウス3匹）、i.n./i.m.（中段のマウス2匹）およびブースター単独（下段のマウス3匹）でワクチン接種した後のIFN- γ を発現するHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の割合を示している。

【図19】四量体染色を用いてHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の評価を可能にしたプロットである。Cell Quest ProまたはFlowJo解析を用いてFACSデータを解析した。四角の囲みは、様々な経路、すなわち、口唇/i.m.（上段のマウス3匹）、i.n./i.m.（中段のマウス2匹）およびブースター単独（下段のマウス2匹）でワクチンを送達した後のHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の割合を示している。

【図20】図10の4種類の異なるマイクロチップで観察されたHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞応答を示すプロットである。データは、四量体染色によって測定したHIV特異的CD8⁺T細胞の数を表す（データは、各グループのマウス1匹を表す）。

【図21】四量体染色を用いてHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞応答の評価を可能にしたプロットである。Cell Quest Proソフトウェアを用いてFACSデータを解析した。プロットは、1グループ当たり3匹のマウスについて、マイクロチップ1（上段）および2（中段）によるプライムブースト感作のデータと経口送達（下段）のデータとを比較して表したものである。右上4分の1の区分（矢印）は、各ワクチン戦略の後に観察されたHIV特異的CD8⁺T細胞の%を示している。

【図22】IFN- γ 細胞内サイトカイン染色を用いてHIV特異的CD8⁺T細胞応答の程度の評価を可能にしたプロットである。Cell Quest Proソフトウェアを用いてFACSデータを解析した。プロットは、1グループ当たり3匹のマウスについて、マイクロチップ1（上段）および2（中段）によるプライムブースト感作のデータと経口送達（下段）のデータとを比較して示したものである。右上4分の1の区分（赤い矢印）は、IFN- γ を発現するHIV特異的CD8⁺T細胞の%を示している。

【図23】様々な薬剤キャリア本体（またはその層）を作製するための一連のマスクデザインを示す図である。

【図24】様々な実施形態の薬剤キャリア本体およびその諸領域の一連の電子顕微鏡像である。

【図25】様々な実施形態の薬剤キャリア本体およびその諸領域の一連の電子顕微鏡像である。

【図26】様々な実施形態の薬剤キャリア本体およびその諸領域の一連の電子顕微鏡像である。

【図27】様々な実施形態の薬剤キャリア本体およびその諸領域の一連の電子顕微鏡像である。

【図28】様々な実施形態の薬剤キャリア本体およびその諸領域の一連の電子顕微鏡像である。

【図29】本発明の一実施形態による2つの混合型薬剤キャリア本体を示す図である。

【図30】本発明の一実施形態による2つの混合型薬剤キャリア本体を示す図である。

【図30A】本発明の一実施形態による2つの混合型薬剤キャリア本体を示す図である。

【図31A】様々なチップを有する本発明の実施形態とともに使用可能な5種類の薬剤塗布具を作動させたときの変位（nm）および速度（m/s）のプロットである。

【図31B】様々なチップを有する本発明の実施形態とともに使用可能な5種類の薬剤塗布具を作動させたときの変位（nm）および速度（m/s）のプロットである。

【図31C】様々なチップを有する本発明の実施形態とともに使用可能な5種類の薬剤塗布具を作動させたときの変位（nm）および速度（m/s）のプロットである。

【図31D】様々なチップを有する本発明の実施形態とともに使用可能な5種類の薬剤塗布具を作動させたときの変位（nm）および速度（m/s）のプロットである。

【図32】薬剤塗布具MP4およびAMO1を選択した周波数で様々な駆動電圧にわたっ

10

20

30

40

50

て駆動させたときのチップの変位を示す図である。

【図 3 3】実験 5 の結果を示す図であり、対照マウス（左の画像）ならびにワクチン接種から 3 時間後、6 時間後および 9 時間後に m C h e r r y 蛍光抗原の発現を評価した別のマウスの画像を示している。

【図 3 4】実験 5 の結果を示す図であり、対照マウス（左の画像）ならびにワクチン接種から 3 時間後、6 時間後、9 時間後および 2 4 時間後に m C h e r r y 蛍光抗原の発現を評価した別のマウスの画像を示している。

【図 3 5】実験 6 の結果を示す図であり、具体的には、図 3 5 および 3 6 は H I V 特異的四量体の実験結果を示し、図 3 7 および 3 8 は I F N - 染色の実験結果を示している。

【図 3 6】実験 6 の結果を示す図であり、具体的には、図 3 5 および 3 6 は H I V 特異的四量体の実験結果を示し、図 3 7 および 3 8 は I F N - 染色の実験結果を示している。

【図 3 7】実験 6 の結果を示す図であり、具体的には、図 3 5 および 3 6 は H I V 特異的四量体の実験結果を示し、図 3 7 および 3 8 は I F N - 染色の実験結果を示している。

【図 3 8】実験 6 の結果を示す図であり、具体的には、図 3 5 および 3 6 は H I V 特異的四量体の実験結果を示し、図 3 7 および 3 8 は I F N - 染色の実験結果を示している。

【発明を実施するための形態】

【0088】

（実施形態の詳細な説明）

説明を目的として、本発明を十全に理解できるよう多数の具体的な詳細を以下に記載する。しかし、本発明は、これらの具体的な詳細がなくても実施し得るものであることが明らかになるであろう。その他の例では、不必要に不明瞭になるのを避けるため、周知の構造物および装置をブロック図の形態で示す。

【0089】

この説明は以下のアウトラインに従って記載される：

1. 概要
2. 一般的原則およびマイクロチャネルの実施形態
3. 突起部をベースとする実施形態
4. 混合型代替的实施形態
5. 装填および使用の例
6. 試験の結果
7. 参考文献

【0090】

1. 概要

本発明の実施形態の背景

医学の分野では、皮下注射も経口摂取も外科手術も用いずに約 500 ダルトンを超える高分子を含めた薬物および親水性薬物を身体に送達することが長年、望ましい目標の 1 つとされてきた。

【0091】

これ（「薬物送達装置」）を達成するべく、これまでに様々な技術を用いた薬物送達装置が多数開発されてきたが、いずれも多岐にわたる薬物を安全で実用的、かつ予測可能で効果的な方法で非侵襲的に身体に送達することはできていない。歴史的にみれば、経皮経路が非侵襲性の薬物送達適用の主要な焦点であった。

【0092】

経口摂取することなく薬物を身体に送達することの利点としては、消化管の酸性またはアルカリ性の領域および消化管内の酵素による薬物の分解が迂回されること、肝臓酵素による薬物代謝が回避されることのほか、薬物による消化不良性の副作用が解消されることが挙げられる。皮下注射を用いずに高分子または親水性薬物を身体に送達することの利点としては、痛み、局所的な外傷および副作用の軽減または解消、患者コンプライアンスの向上のほか、針による汚染、疾患の伝播および針の誤用の発生率の低下が挙げられる。埋込装置を用いて身体に薬物を送達するには外科手術が必要であり、外科手術には、その処置

自体による合併症のリスク（麻酔によるリスクを含む）の可能性および異物の導入による合併症のリスクの可能性がある。

【0093】

薬物送達装置は、標的を定めた塗布に用いられ得るほか、全身薬物送達の入口としても用いられ得る。親水性分子および／または約500ダルトンを超える分子を経皮輸送する際に主な障壁となるのが、表皮の最外層である角質層であり、その厚さは通常、10～20μmである。角質層は生育不能細胞の層であり、皮脂脂質の連続する基質の中に高度に架橋されたケラチノサイトが埋め込まれたものからなる。この天然の半透性バリアを克服して薬物を送達するには薬物送達装置を必要とする。皮膚用の薬物送達装置には、そのような組織に薬物を送達する主な手段としてマイクロニードルおよび／またはイオン導入法を用いることが多い。

10

【0094】

頻度は低いものの全身薬物送達の入り口として用いられる薬物送達装置のまた別の適用部位に粘膜がある。親水性分子および高分子の経粘膜輸送の主な障壁となるのが上皮層である。経粘膜送達用の薬物送達装置には通常、主な薬物送達手段として鼻噴霧剤、吸入剤および／またはイオン導入法を用いる。

【0095】

薬物送達装置には現時点で、以下に挙げる技術が（単独で、または任意に組み合わせて）用いられている。

【0096】

20

イオン導入法

イオン導入として知られる過程を用いて身体に薬剤を送達する薬物送達装置は、電極を当てることによって生じる電流を発生させ、装置と標的組織との間に電位差を生じさせて維持することによって作動する。送達するイオン形態の薬物は電流の中を輸送され、それにより標的組織に達する。イオン導入法を用いて身体に薬剤を送達する装置は通常、薬物含有液の連続する層を有し、その中に装置内の電極が浸されている。適用時間は長い傾向にあり、多くの場合、数時間に及ぶ。

【0097】

イオン導入法を用いて身体に送達することができる薬剤は、親水性であると同時に電荷を有するものでなければならない。イオン導入法では、中性分子ならびに／あるいは大きいタンパク質およびワクチンを含む粒子を送達することはできない。

30

【0098】

マイクロニードル

マイクロニードルは、組織の1つまたは複数の層を貫通するよう機能する分離した複数の突起部である。マイクロニードルはその用途に応じて、一部分または全体が中空であったり、中空でなかったりする。薬物送達装置に用いられるマイクロニードルは通常、1）特定の外部刺激と組み合わせて組織内の透過性を増大させることができる構造物；2）組織中に溶解する薬剤を組み込む構造物；3）薬剤を組織中に注入する中空の導管；および／または4）表面組織を搔爬するもしくは内部組織を露出させるよう設計された構造物として機能する。マイクロニードルは通常、粘着剤で皮膚に貼付するか、機械的に皮膚に貼り付かせるパッチに組み込まれる。マイクロニードルはほかにも、薬剤の組織を通過する浸透を促進する化合物を含有し得るか、組織を透過促進化合物で前処理した後、その組織に適用され得る。

40

【0099】

超音波導入法

超音波導入として知られる過程を用いて薬剤を送達する薬物送達装置は、組織に超音波を当て、組織の透過性を増大させるとともに薬剤に運動エネルギーを加えることによって作動する。超音波による組織の透過性の増大は、以下に挙げる現象のうちいずれか1つまたは複数のものを含めたいくつかの現象に起因する：1）気泡の発生および振動による空洞現象；2）温度上昇による熱効果が引き起こす対流輸送の誘導；または3）超音波が引き

50

起こす圧力変動に起因するストレス発生による機械的効果。超音波導入法には、一般に 20 ~ 200 kHz の範囲、好ましくは 100 kHz 未満の低周波数超音波の方が、これより周波数の高い超音波よりも効果が高いことがわかっている。超音波導入により皮膚を通過させて輸送する主要な方法は、空洞現象を生じさせるのに十分な出力を必要とする。

【0100】

超音波導入法を用いて身体に薬剤を送達する薬物送達装置は通常、薬剤を含有する流体の層を有し、その中に超音波発生源が浸されているか、そのすぐ近くに超音波発生源が設置されている。このような装置はほかにも、様々な種類のマイクロニードルを含むことがあり、その場合、マイクロニードルは上記の流体の中に浸されている。上記の各装置では、流体は固体よりも超音波の出力を低下させ、超音波が作用する流体の体積は、その内部または周囲の固体構造物に対して大きいという理由で、波面が組織表面に近づくまでに相当量の超音波エネルギーが低下する。この超音波波面は、一部が組織表面に反射して流体層に戻り、これが超音波の効率をさらに低下させるため、流体に加える出力を大きくする必要が生じる。これらの技術にはいくつかの欠点が考えられ、例えば、組織に超音波を当てると、その出力の大きさに応じて、空洞現象および熱効果による局所的損傷を引き起こし得る。超音波出力による組織損傷の閾値は、組織の種類、組織の厚さ、組織の健康状態および組織損傷の有無を含めた様々な因子に左右される。例えば、皮膚は、粘膜および眼組織よりも高い超音波出力を加えても、それに耐えることが可能である。さらに、薬剤に超音波を当てると、その出力の大きさに応じて、薬剤またはその中の分子に空洞現象、熱効果または機械的効果による切断、変性または別の形の損傷を引き起こし得る。超音波空洞現象、機械力または摂氏 40 超の温度に対する耐性が低いことが知られている薬剤としては、ワクチン、タンパク質をはじめとする生物製剤が挙げられる。

10

20

【0101】

実施形態の概要

本発明の好ましい実施形態は、概略的には、薬剤を非侵襲的に組織に送達するために、低周波の超音波を低出力で用いて、内部にマイクロスケール構造物を有する薬剤キャリア本体の中に収納された薬剤を輸送するものである。

【0102】

理解されるように、1つもしくは複数の周波数帯域にわたる超音波または複数の帯域を有する周波数スペクトルにわたる超音波を適用する。帯域(1つまたは複数)は、薬剤キャリア本体を含む薬剤塗布装置の共鳴周波数のほか、任意選択でその共鳴周波数の1つまたは複数の高調波に対応しているのが好ましい。本発明のいくつかの形態では、用いる超音波は、20 kHz ~ 100 kHz の低周波のものであり、最も好ましくは、超音波エネルギーの周波数が 20 kHz ~ 40 kHz である。この周波数は、粘膜、眼球をはじめとする繊細な組織での使用に特に好ましい。しかし、他の実施形態では、薬剤塗布装置の共鳴周波数がこれよりも低い場合もあり、本明細書に記載される装置を薬剤キャリア本体チップの一次共鳴周波数である約 10 kHz で作動させ得る。試験を実施する際には、本発明の実施形態で使用するのに適した薬剤塗布具を、10 kHz ; 20 kHz、22 kHz、28 kHz、28.19 kHz および 38 kHz を中心とするか、その前後にある帯域ならびに / あるいは 20 ~ 25 kHz、25 ~ 30 kHz、38 ~ 40 kHz、40 ~ 45 kHz、40 ~ 60 kHz、40 ~ 80 kHz、140 ~ 160 kHz の周波数帯域のうちのいずれか1つあるいは複数の周波数で作動させている。

30

40

【0103】

皮膚などのその他の組織には、超音波周波数は上記の範囲外のものであり得る。

【0104】

本発明の好ましい形態では、用いる超音波出力は比較的小さく、通常、 $0.05 \sim 3.5 \text{ W cm}^{-2}$ の範囲内にある。用途によっては、これよりも強度の高い超音波出力を必要とし得る。このような場合、組織損傷(例えば、熱効果によるもの)および / または薬剤への損傷を防ぐため、超音波エネルギーの動作周期を瞬間適用などにより制御することが必要であり得る。

50

【0105】

薬剤塗布具から超音波エネルギーを加えると、薬剤キャリア本体の組織接触表面の往復運動が起こる。典型的な実施形態では、組織接触表面の平均位置からの変位は約100nm~2200nmであり得る。諸実施形態は、200nm超の変位で作動し得る。諸実施形態は、2100nm未満の変位で作動し得る。諸実施形態は、400nm超の変位で作動し得る。実験に用いた実施形態は、500nm未満、より具体的には400nm未満の変位で作動した。

【0106】

2種類のチップアセンブリ、例えば薬剤キャリア、「チップアセンブリ1」および「チップアセンブリ2」を有する2種類の薬剤塗布具、MP1およびMP4を0~200kHzの範囲の周波数で作動させたときの変位(nm)および速度(m/s)のプロットを図31Aに示す。

10

【0107】

チップアセンブリ、例えば薬剤キャリアを有さず、ある実施形態による薬剤塗布具に使用可能な3種類のハンドルユニット、AMO1(モデル番号Sov37706);AMO2(モデル番号Sov39302)およびALCON1(モデル番号TurboSonic-375)を0~200kHzの範囲の周波数で作動させたときの変位(nm)および速度(m/s)のプロットを図31Bに示す。

【0108】

第二の種類のチップアセンブリ、例えば薬剤キャリアを有する3種類のハンドルユニット、AMO1;AMO2およびALCON1を0~200kHzの範囲の周波数で作動させたときの変位(nm)および速度(m/s)のプロットを図31Cに示す。

20

【0109】

第三の種類のチップアセンブリ、例えば薬剤キャリアを有する3種類の薬剤塗布具、AMO1;AMO2およびALCON1を0~200kHzの範囲の周波数で作動させたときの変位(nm)および速度(m/s)のプロットを図31Dに示す。

【0110】

薬剤塗布具MP4およびAMO1を選択した周波数で一定範囲の駆動電圧にわたって駆動させたときのチップの変位を図32に示す。MP4システムは、RF増幅器を介し、22kHzでピークトゥピーク値50~400Vの範囲の入力電圧にわたって駆動させた。AMO1は、28.19kHzで同じ電圧範囲にわたって駆動させた。

30

【0111】

装置の試験は、ドイツのPolytec社製の機器のうちレーザードップラー振動計モデルMSA400を用いて実施した。

【0112】

図からわかるように、作動させる周波数(または周波数帯域)を選択することによって、所望の振動パラメータを選択することができる。これらのパラメータは、使用する特定の薬剤キャリアに応じて異なるものとなる。好ましい実施形態では、これらの装置は、プロットに示される運動のピークのうち1つまたは複数のものに対応する周波数帯域で作動させる。

40

【0113】

典型的な実施形態では、組織接触表面の運動速度は約0.01m/s~0.4m/sであり得る。諸実施形態は0.03m/s超の速度で作動し得る。諸実施形態は0.36m/s未満の速度で作動し得る。諸実施形態は0.06m/s超の速度で作動し得る。実験に用いた実施形態は0.05m/s未満の変位で作動した。

【0114】

本発明の諸実施形態は、粘膜(結膜、頬粘膜および口唇粘膜を含む)、眼組織などの繊細な組織への薬剤の送達に使用し得るという点で有利である。

【0115】

諸実施形態の超音波出力および/または周波数パラメータは、組織内への薬剤の浸透深

50

度を制御するためなどの様々な理由で増大または減少させ得る。1つの例として、粘膜の上皮表面細胞に薬剤を送達するのに用いる超音波出力および/または周波数パラメータは、上皮表面よりも下にある血管に富む毛細血管床および深部結合組織に用いる出力および/または周波数パラメータよりも小さい値となり得る。

【0116】

好ましい実施形態では、薬剤キャリア本体は組織表面のいずれの層も貫通しないことが意図される。本発明の好ましい実施形態を用いる際にある程度の表層細胞の損傷が起こり得るが、薬剤を標的組織に送達するためにそれを意図することも、それに依存することもない。可能な限り無傷な組織表面を維持することは、薬剤が組織層内に浸透する深度をより精密に制御するのに役立ち得る。

10

【0117】

本明細書に記載される薬剤キャリア本体内の様々なマイクロスケール構造物はとりわけ、薬剤キャリア本体と組織表面とを直接接触させて超音波エネルギーを伝播し、それにより薬剤キャリア本体内および薬剤キャリア本体と標的組織との間の連続する層の流体（超音波を減衰させる傾向がある）の程度を最小限に抑えるという目的にかなうものである。

【0118】

本発明者の国際出願PCT/AU2014/050027号（その内容全体はあらゆる目的で参照により本明細書に組み込まれる）に最初に記載した一群の実施形態は、強固な壁に取り囲まれた複数のマイクロチャネルを形成する微細構造物を有する、様々な薬剤を送達するための薬剤キャリア本体を含むものである。このマイクロチャネルは通常、送達方向を横断する形で測定したとき約25～100μmの範囲内にあり、長さが約0.5mm～2mmであり得る。任意の適切な断面の形状および/または縦断面の形状を用いることができる。

20

【0119】

使用時、各チャネルには薬剤が流体柱の形で収納されており、各流体柱およびそれを取り囲む壁に超音波エネルギーを直接加える。実際には、超音波は本来、縦方向に発生する、すなわち、チャネルに沿って伝播する。いくつかの実施形態では、微細構造物のマイクロスケールの構造を用いることによって、流体柱に衝突する波面を各マイクロチャネル内に集中させ、超音波の減衰を抑える。装置と組織表面、最も好ましくは薬剤キャリア本体と組織表面とを直接接触させて、両者の間に流体空間を存在させないようにすることによって、超音波が組織表面で反射するのを最小限に抑える。このことはさらに、分子が超音波波面の経路に沿って超音波の影響を受けながら、標的組織に向かって効率的に移動するのを助ける。超音波は薬剤キャリア本体、特にマイクロチャネルを画定する壁にも伝わる。これらは流体ほど超音波エネルギーを低下させることがないため、超音波導入出力を効率的に標的組織に直接伝える。

30

【0120】

好ましい実施形態では、装置の組織接触表面は、連続する流体層によって組織から分離することはない。薬剤キャリア本体の組織接触表面は、固体の本体および液体の薬剤の領域（すなわち、マイクロチャネルの開口部）を有する表面となり、いくつかの実施形態では、固体-液体がほぼ「千鳥格子」様の配列となる。この配置では、固い壁面が直接組織と接触するため、装置の超音波導入能が増大し得る。このような実施形態では、装置の構造は、多数の個々のマイクロスケールの超音波導入式送達装置が密に詰め込まれて一緒になったものと考えることができる。

40

【0121】

新たな実施形態のまた別のグループは、一緒に薬剤キャリア本体の組織接触表面を画定するマイクロスケールの突起部によって形成される複数のマイクロスケール構造物を含むものである。これらの突起部が標的組織と接触し、送達する薬剤がそれを取り囲む。好ましい形態では、薬剤キャリア本体は、突起部を取り囲み、使用時に薬剤を収納する末端構造物、通常は壁を有する。この実施形態は、薬剤キャリア本体内の流体に対する微細構造物の比が、マイクロチャネルからなる薬剤キャリア本体よりも小さい。これらの実施形態

50

は、突起部やほか可能性としては末端構造物を介して、超音波発生源と標的組織との間の直接的接触を維持するのが好ましい。突起部およびその間の流体によって縦方向の超音波が伝導される。突起部は、標的組織の方向への薬物の輸送を促進することによって作用する。突起部が存在することによって、突起部間の隣接する空間内の流体による波形干渉が最小限に抑えられ、このことは、少なくとも波形の伝播を遮断するのに役立つ。

【0122】

新たな実施形態のまた別のグループは、複数のマイクロスケールの突起部を有する少なくとも1つの領域と、強固な壁に取り囲まれたマイクロチャンネルを有する少なくとも1つの他の領域とを有する、混合型装置を提供する。強固な壁に取り囲まれたマイクロチャンネルを有する領域（1つまたは複数）は通常、マイクロスケールの突起部を有する領域を画定する末端構造物の一部を形成する。

10

【0123】

本発明の方法およびシステムでは、上記のいずれかのグループに分類される薬剤キャリア本体を有する薬剤キャリアを用い得ることが理解されるべきである。

【0124】

超音波導入法を用いて身体に送達される可能性があることが本発明者らにわかっている分子としては、1) 任意の種類の電荷を有するか、中性の電荷（全体として中性のものを含む）を有する分子、2) 小さい分子または大きい分子（約150,000ダルトンのモノクローナル抗体を含む）および3) 親水性、疎水性または親油性の分子が挙げられる。

20

【0125】

本発明者らはさらに、本発明を用いてワクチンを主として粘膜上皮に送達することにより、粘膜免疫を誘導し、粘膜での特に限定されないがインフルエンザ、HIV/AIDS、ヒトパピローマウイルス、結核をはじめとする病原体を含めた初期感染によって生じる疾患または病態を予防または治療する新たな機会が生まれることを明らかにした。粘膜免疫はほかにも、自己免疫疾患、癌、アレルギーなどを治療または軽減する機会をもたらす。いくつかの試験では、粘膜免疫応答を刺激することによって、粘膜および全身の両方の環境で防御B細胞およびT細胞の産生が起こり、感染が侵入領域に限定され、身体の他の組織に達するのを防ぎ得ることが明らかになった。特に、粘膜は分泌型IgAまたはsIgAという特殊な種類の抗体を産生する。さらに、粘膜免疫によって生じた抗体および細胞傷害性T細胞は、全身免疫によって生じた抗体および細胞傷害性T細胞よりも粘膜から身体に侵入する病原体に対する効果が高いと考えられる。

30

【0126】

好ましくは超音波のみを用いる輸送様式で薬剤を非侵襲的に標的組織表面部位に送達する例示的薬剤塗布装置に関して、本発明の様々な態様の例示的实施形態をいくつか記載する。これらの例示的实施形態では、標的組織表面部位において、超音波導入機序により同部位への薬剤の浸透を可能にするか、促進する。標的組織表面部位は、特に限定されないが、結膜、膺、尿道、内耳、気管および気管支、肛門、口腔および鼻の組織を含めた粘膜であるのが好ましい。標的組織表面はこのほか、角膜を含み得る。

【0127】

2. 一般的原則およびマイクロチャンネルの実施形態

40

このシステムは、好ましくは手持式で標的組織への薬剤の送達に使用する薬剤塗布装置を含む。薬剤塗布装置の好ましい形態は、塗布具チップと連結されたハンドルを含む。塗布具チップは薬剤キャリア本体を含み、薬剤キャリア本体の中にはマイクロチャンネルが形成されており、薬剤は、そのマイクロチャンネルを通して塗布具チップ内から標的組織表面に送達される。薬剤キャリア本体は、塗布具チップの中に組み込まれていても、塗布具チップに装着可能な別個の構成要素（カートリッジなど）であってもよい。

【0128】

塗布具チップは、薬剤を保持するリザーバを含み得る。リザーバは、薬剤キャリア本体の一部を形成していても、薬剤キャリア本体と流体接続した別個の構成要素であってもよい。

50

【 0 1 2 9 】

ハンドルまたは塗布具チップの一部を形成する超音波振動子から超音波エネルギー（波）が発生し、これにより薬剤が薬剤キャリア本体のマイクロチャンネルの中を移動し、薬剤キャリア本体の組織接触表面でマイクロチャンネルの末端孔から標的組織表面に出る。超音波はこのほか、超音波導入によって標的組織内への薬剤の取込みを促進し、かつ／または可能にする。

【 0 1 3 0 】

図 1 A は、本明細書に記載される任意の薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体とともに使用可能な本発明による薬剤塗布装置の第一の実施形態を極めて模式的に示した図である。この例では、薬剤塗布装置 1 0 0 は、塗布具ハンドル 1 0 3 と連結した塗布具チップ 1 0 2 を含む（装置全体は示していない）。塗布具ハンドル 1 0 3 は超音波発振器 1 0 1 を含む。塗布具チップ 1 0 2 はハンドル 1 0 3 と接続されているため、超音波エネルギーがトランスデューサー 1 0 1 から連結棒 1 0 6 を介してそれに伝わる。理解されるように、超音波の適用は一般に、上の概要に記載したパラメータに従うものとなる。塗布具チップ 1 0 2 の組織接触表面を標的組織表面 1 0 8 に接触させる。次いで、超音波発振器が作動し、それにより超音波 1 1 0 が連結棒 1 0 6 を通って塗布具チップ 1 0 2 および薬剤キャリア本体 1 0 4 を通過し、標的組織 1 0 8 内に伝播する。この実施形態では、薬剤は薬剤キャリア本体 1 0 4 内に貯蔵され、薬剤キャリア本体 1 0 4 内に形成されたマイクロチャンネル 1 1 2 を介して標的組織表面 1 0 8 まで輸送される。超音波は、薬剤が薬剤キャリア本体 1 0 4 からマイクロチャンネル 1 1 2 を介して標的組織表面 1 0 8 まで輸送されるのを助ける。超音波はこのほか、組織超微細構造に対する超音波導入作用によって、標的組織 1 0 8 内への薬剤の浸透を促進し、かつ／または可能にする。

【 0 1 3 1 】

この例では、薬剤キャリア本体 1 0 4 は、本明細書に一般に記載されている任意の種類のものおよび図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示されているものであり得る。しかし、薬剤キャリア本体が作動する原理を説明するため、本出願者のオーストラリア特許出願第 2 0 1 3 9 0 1 6 0 6 号に既に記載されている種類の薬剤キャリア本体 1 0 4 のより詳細な図を、1 A を組織表面 1 0 8 に当てた状態で図 1 B に示す。薬剤キャリア本体 1 0 4 は組織接触表面 1 1 4 を有する。この例では、薬剤キャリア本体 1 0 4 内に形成され、薬剤キャリア本体 1 0 4 の内部から組織接触表面 1 1 4 に及ぶマイクロチャンネル 1 1 2 が含まれている。マイクロチャンネル 1 1 2 は組織接触表面 1 1 4 で細孔 1 1 6 として終わっている。薬剤は、薬剤キャリア本体 1 0 4 から供給され、チャンネル 1 1 2 を通り、組織接触表面 1 1 4 で細孔 1 1 6 から組織表面 1 0 8 上に出る。別の方法として、薬剤キャリア本体 1 0 4 は、本明細書に一般に記載されている任意の種類のものおよび図 8 A ~ 1 0 または図 2 3 ~ 3 0 A のいずれか 1 つに例示されているものであり得る。

【 0 1 3 2 】

この例では、超音波 1 1 0 が発生し、薬剤キャリア本体 1 0 4 内を伝導する。これにより、チャンネル 1 1 2 内に貯蔵されている薬剤 1 1 8 がチャンネル 1 1 2 から組織表面 1 0 8 上に放出される。組織に対して超音波導入作用を発揮する超音波の使用によって、組織 1 0 8 内への薬剤の浸透が促進され、かつ／または可能になる。

【 0 1 3 3 】

図 1 A の実施形態では、塗布具ハンドル 1 0 3 は超音波 1 1 0 を発生する超音波振動子 1 0 1 を有し、発生した超音波は連結棒 1 0 6 を通って塗布具チップ 1 0 2 から薬剤キャリア本体 1 0 4 に伝わる。しかし、代替的实施形態では、塗布具チップ 1 0 2 はその構造内に、外部の超音波振動子を必要とせずにそのものが超音波を発生することができるシステムを含むよう形成されていてもよい。図 1 C に、薬剤キャリア本体 1 0 4 が超音波振動子 1 2 4 をさらに含む代替的实施形態を示す。

【 0 1 3 4 】

チャンネル 1 1 2 の内表面（1 つまたは複数）は官能化されているのが好ましい。チャンネル 1 1 2 の内表面 1 1 3 は、疎水特性もしくは親水特性またはその両部分の組合せを有す

る化合物または分子で官能化し得る。あるいは、チャンネルの表面に小分子を接触させてチャンネルの表面に吸着させ、所望の物理的および／または化学的特性を有する特定の官能基を露出させることによって、チャンネル 112 の表面 113 を官能化し得る。小分子は、化学吸着または物理吸着によりチャンネルの内部表面に吸着させ得る。水／油親和性を变化させることに代えて、またはこれに加えて、マイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバの内表面を導電性にすることによって、これを官能化し得る。

【0135】

図 2 は、本明細書に一般に記載されている任意の種類の薬剤キャリア本体および図 8 A ~ 10 または図 23 ~ 30 A のいずれか 1 つに例示されている薬剤キャリア本体とともに使用可能な薬剤塗布装置のハンドルアセンブリ 200 の一実施形態の図を示している。ハンドルアセンブリ 200 は、超音波振動子 204 を収納する主要収納部 202 を含む。トランスデューサーはバッテリー 206 (あるいは外部の電源) を動力源とし、超音波を発生して、コネクタ 210 を終端とする連結棒 208 にこれを伝えるよう設計されている。コネクタ 210 は、例えばねじ山またはバヨネット式取付具など、ハンドルアセンブリ 200 と薬剤キャリアとを (直接的なかみ合せ、または間接的なかみ合せのいずれかにより) かみ合わせることが可能な任意の種類のものであり得る。

【0136】

図 3 は、図 2 のハンドルアセンブリ 200 とともに使用し得る塗布具チップ 300 の形態の薬剤キャリアの模式的断面図である。塗布具チップ 300 は、第一の末端 302 と第二の末端 303 とを有する収納部 301 を含む。第一の末端 302 は、ハンドルアセンブリ 200 のコネクタ 210 と機械的に接続させるバヨネット式取付具またはねじ山などの取付機構 305 を含む。塗布具チップ 300 は、その第二の末端 303 に、薬剤キャリア本体 104 または本明細書に一般に記載されている任意の種類の薬剤キャリア本体および図 8 A ~ 10 もしくは図 23 ~ 30 A のいずれか 1 つに例示されている薬剤キャリア本体を受け止めるよう配置されたくぼみ 304 をさらに含む。塗布具チップ 300 は、使用時に、薬剤を薬剤キャリア本体 104 の組織接触表面 306 まで運び、必要に応じて、超音波の適用によって治療する組織に薬剤を送達するよう設計されている。いくつかの実施形態では、塗布具チップ 300 は、薬剤キャリア本体 104 内に形成されたマイクロチャンネルと流体接続した薬剤リザーバを含み得る。

【0137】

図 4 A、4 B、4 C および 4 D に単層薬剤キャリア本体の様々な実施形態を示し、図 4 E、4 F、4 G、4 H に、積み重なった薬剤キャリア層から薬剤キャリア本体が形成される様々な実施形態を示す。

【0138】

薬剤キャリア本体 400 は、固体材料の層 (1 つまたは複数) で形成され、様々な幾何学的形状および大きさであり得る複数のマイクロチャンネルまたは網状のマイクロチャンネルを有する。これらのマイクロチャンネルは、薬剤の貯蔵または保持のほか、薬剤キャリア本体 400 内から薬剤キャリア本体 400 の組織接触表面 406 への薬剤の送達にも用いることができる。マイクロチャンネルは、微細加工技術によって作製することができる。例えば、薬剤キャリア本体 400 がケイ素から形成されている実施形態では、リソグラフィー、エッチングおよび／またはその他の工程によってマイクロチャンネルを形成することができる。金属、プラスチックまたはポリマーから作製する実施形態では、様々な種類および波長のレーザーの使用ならびに成形および押出技術を含めた他の技術によってマイクロチャンネルを作製することができる。これらの微細加工技術を用いると、薬剤量の精度が保持されるという利点、マイクロ流体力学が予測可能になるという便益がもたらされ、さらには、薬剤キャリア本体 400 の露出した組織接触表面およびミクロンスケールの空洞 402 を裏打ちする内壁の一方または両方に特殊な表面化学処理などの改良が可能になるため、特に望ましい。これらの便益性を用いて、例えば、薬剤の装填、保持および標的組織への送達をさらに促進することができる。

【0139】

組織接触表面 406 は、一連の開口部、窓または細孔 404 を有する。細孔の多種多様な形状および大きさは約 10 ~ 100 μm であり得るが、他の実施形態は最大 1000 μm の孔径を有し得る。マイクロチャネル 402 は、組織接触表面 406 の細孔 404 から少なくとも一部が薬剤キャリア本体 400 の中を伸長している。マイクロチャネル 402 は、薬剤の保持および組織表面への薬剤輸送の両方に用いることができる。

【0140】

細孔 404 は、パターン化された外観を呈し、様々な幾何学的形状、例えば最密六方構造、様々な密度で配列された四角形、多角形が入り混じったモザイク、らせん、直線などを示し得る。薬剤の保持および / または輸送のためのマイクロチャネル 402 の配列が形成されるよう薬剤キャリア本体 400 に所望の幾何学的形状が物理的にエッチングされている。マイクロチャネルは、様々な形状、例えば円柱状、円錐状などであり得る。

10

【0141】

薬剤キャリア本体 400 内のマイクロチャネル 402 の壁および / またはその他の内部表面が、互いにかつ / または組織接触表面 406 の細孔 404 の間の領域と性質が同じまたは逆であり得る親水特性または疎水特性を有するように、これ进行处理し得る。薬剤キャリア本体 400 内のマイクロチャネル 402 の壁および / またはその他の内部表面が、互いにかつ / または組織接触表面 406 の細孔 404 の間の領域と同じまたは逆の極性を有し得る電荷を伝導するか、局所電場を生じ得るように、これ进行处理し得る。

【0142】

薬剤キャリア本体 400 は、単一の材料片から形成されたものであり得る。しかし、別の実施形態では、薬剤キャリア本体は、積み重なった複数の層を含み得る。微細加工した固体材料を単一または複数の層として用いて薬剤キャリア本体を作製することにより、音波透過性が向上し、ひいては超音波による標的組織への薬剤の送達が向上する。

20

【0143】

薬剤キャリア本体 404 内のマイクロチャネル 402 および / またはその他の内部表面の寸法および内層の特徴ならびに薬剤キャリアを含む層の数は、薬剤および標的組織に合わせて調節され、薬剤の特性、用量および製剤の必要性、超音波出力および熱発生ならびに使用時間の結果として異なるものとなる。

【0144】

マイクロチャネル 402 ' が内部連結チャネル 408 によって相互に連結されていることを除き、図 4 A の実施形態とほぼ同じ別の実施形態を図 4 B に示す。このような構造によって、チャネル 402 ' 単独の場合のものに加えてある程度のレベルの薬剤貯蔵が可能になる。

30

【0145】

単層の薬剤キャリア本体 400 ' ' がマイクロチャネル 402 ' ' を有し、マイクロチャネル 402 ' ' の一端が組織接触表面 406 ' ' で細孔 404 ' ' として終わっており、他方の端が薬剤リザーバ 410 と接続している、さらなる実施形態を図 4 C に示す。

【0146】

図 4 D は、図 4 A ~ 4 C のいずれか 1 つに示される単層の薬剤キャリア本体の表面の図を示している。薬剤キャリア本体 400 ' ' は、第一の表面 411 と、組織接触表面である第二の表面 412 とを有する。既に記載した通り、マイクロチャネルは、薬剤キャリア本体 400 内から (リザーバ 410 または連結チャネル 408 が存在する場合はそこから) 伸長し、組織接触表面 412 の細孔 404 として終わっている。

40

【0147】

別の実施形態では、薬剤キャリア本体は積層構造を有し、少なくとも 2 つの層を含む。より好ましくは、1 つまたは複数の層は、その中に形成され、治療する組織に塗布する前に薬剤を保持するためのマイクロチャネルと流体接続している追加のマイクロリザーバ容積を有する。マイクロリザーバ容積は、単一の容積であっても、あるいは、例えばそれぞれが 1 つまたは 1 群のマイクロチャネルと連続した複数の小さい容積であってもよい。組織接触層から最も離れた層に、チャネルと流体接続した単一の大きいリザーバ容積が存在

50

してもよい。あるいは、複数のマイクロリザーバ容積が存在し、それぞれのマイクロリザーバ容積が流体接続していてもよい。

【0148】

図4E、4Fおよび4Gはそれぞれ、薬剤キャリア本体413が第一の層414、414'、414''および第二の層416、416'、416''を含むことを除き、図4A、4Bおよび4Cに対応している。第一の層414、414'、414''は、図4A、4Bおよび4Cの単層の実施形態に関して一般に記載される通りのものであるが、層と一緒に積み重なっている場合、組織接触表面422を有する代わりに、第一および第二の層の中を伸長するマイクロチャネルの一部を画定する細孔または止まり穴を含む接合面415を有する。第二の層416、416'、416''は、第一の層414、414'、414''の接合面415と接する第一の表面420と、マイクロチャネル424によって形成される細孔426を有する組織接触表面422とを含む。図からわかるように、マイクロチャネル424は、第一の層の内部から第二の層416、416'、416''の中を伸長し、第二の層416、416'、416''の組織接触表面422で細孔426として終わっている。このように、第一の層414、414'、414''および第二の層416、416'、416''の穴が整列してマイクロチャネル424を形成し、それにより、第一の層414、414'、414''と第二の層416、416'、416''が接続されてシステム内の流体の連続性が可能になる。

10

【0149】

第一の層414'、'が、第二の層416'、'のマイクロチャネル内に薬剤を直接供給する開口型の薬剤リザーバ425を含む、二重積層の薬剤キャリア本体413のさらなる代替的实施形態を図4Hに示す。

20

【0150】

図4Iは、図4Hに示される二重層の薬剤413'、'キャリアの様々な層の表面の図を示している。第一の層414'、'は、第一の表面430と第二の表面432とを有する。第二の層416'、'は第一の表面と第二の表面(434で一般に示されるものと同じである)とを有する。薬剤リザーバ425は、第一の層414'、'に形成され一部がリザーバ内まで伸長しているくぼみによって形成されている。第一の層414'、'の第二の表面432は、第二の層416'、'の接合面の上方に整列して配置されているため、第二の層内に形成されている実質的に全部のマイクロチャネル424が、第一の層414'、'の薬剤リザーバ425と流体接続している。

30

【0151】

薬剤キャリア本体内に形成され、追加の薬剤を貯蔵し、使用過程でマイクロチャネルの薬剤が枯渇したときにこれを補充することが可能な薬剤リザーバのさらなる実施形態を図4Jに示す。リザーバは、例えば図4Gに示されるものと同じ薬剤キャリア本体層のマイクロチャネルと接続しているか、例えば図4Hに示される薬剤キャリア本体の連続する層のマイクロチャネルと接続し得る。薬剤キャリア本体438は、2つの環状輪型リザーバ容積440および442によって形成されるリザーバを含み、入口446を通して伸長している導管444を含む。入口446に真空をかけるか、入口446に薬剤を注入すると、それぞれ陰圧または陽圧がリザーバ440、442にかかる。この種類の層は、積層になるよう配置されて薬剤キャリア本体を形成し、第一の層がその隣接する層に重なっているため、その隣接する層の穴がいずれもリザーバ容積と流体接続しており、薬剤は、層の中を通るマイクロチャネルを通して組織接触表面まで移動することが可能である。

40

【0152】

薬剤キャリア本体448は、リザーバが、それぞれが互いに流体接続した複数の同心円状の環からなる、また別の実施形態である。これ以外にも、本発明を逸脱することなく層内の薬剤リザーバ容積の配置が可能であることが理解されよう。

【0153】

薬剤キャリア本体の低層ないし中間層の穴は一般に、その層の厚さ全体にわたって伸長し、それに続く流体接続した他の層の穴とともに、薬剤キャリアの表面接触層の組織接触

50

表面から伸長するマイクロチャネルを形成する。ある特定の場合には、穴は特定の層の途中まで伸長するにとどまり、このことは、例えば図 4 E ~ 4 G に示される第一の層の場合に当てはまり得ることが理解されよう。

【 0 1 5 4 】

既に記載したように、マイクロチャネルの内表面（１つまたは複数）をはじめとする薬剤キャリアの内部表面、例えば薬剤リザーバの内部表面は、官能化されているのが好ましい。

【 0 1 5 5 】

図 5 A、5 B および 5 C に示される実施形態では、薬剤キャリア本体は、１つの表面組織接触層と、その表面接触層の上に次々に積み重なった５つの層とを含む、６つの層を含む。

10

【 0 1 5 6 】

６つの層 5 0 1 . 1、5 0 1 . 2、5 0 1 . 3、5 0 1 . 4、5 0 1 . 5、5 0 1 . 6 が積み重なった薬剤キャリア本体 5 0 0 の実施形態を図 5 A に示す。薬剤キャリア本体の第一の端部は、治療する組織と接触する層 5 0 1 . 6 の表面組織接触表面 5 0 2 である。この層の上には複数のほかの層と、最上層 5 0 1 . 1 がある。この実施形態では、薬剤を保持および送達する薬剤リザーバおよびマイクロチャネル（不掲載）は、薬剤キャリア 5 0 0 の層 5 0 1 . 1 ~ 5 0 1 . 6 のうちの一部または全部の中を伸長し得る。いくつかの実施形態では、チャネルは、層 5 0 1 . 6 の組織接触表面 5 0 2 から中間層 5 0 1 . 5 ~ 5 0 1 . 2 の中を伸長し、最上層 5 0 1 . 1 で終端となる。

20

【 0 1 5 7 】

図 5 A に示されるものに代わる６層が積み重なった薬剤キャリア本体 5 0 5 の実施形態を図 5 B に示す。この実施形態では、表面組織接触層 5 0 1 . 6 は複数の微小突起部 5 0 6 を含み、この例では同突起部は微小チューブである。全体的な配置はこれとほぼ同じであるが、微小突起部 5 0 6 が微小針であるさらなる代替的薬剤キャリア本体 5 1 0 を図 5 C に示す。微小突起部は中空であり、その中にはチャネルが形成されており、薬剤を送達する微小チャネルのシステムの一部を形成している。以下に記載するように、可能な限り無傷な状態の組織表面を維持するため、微小針の使用は好ましくない。

【 0 1 5 8 】

微小針および微小チューブなどの微小突起部は、細孔間の領域がほとんど取り除かれるように、組織接触層 5 0 1 . 6 の組織接触表面 5 0 2 のエッチングからなる二次加工によって作製することができる。これにより、各細孔を取り囲むのに必要な突起部の各細孔周囲の壁が残る。微小針および微小チューブは、任意の所望の形状であり得る。例えば、図 5 D に、円柱の形状を有する微小突起部（微小チューブ 5 1 0）および円錐台状の形状を有する別の微小突起部（微小針 5 0 8）を示す。他の実施形態では、図示はしないが、表面 5 0 2 組織接触層 5 0 1 . 6 は、薬剤キャリア本体が標的組織と接合しやすくなるよう、他の表面処理が施されているか、組織を咬持する表面構造、例えば鋸歯構造、リップル、環などを備えていてよい。

30

【 0 1 5 9 】

好ましい実施形態では、各層が円盤状または円柱状である。好ましくは、各層は厚さが約 0 . 3 mm ~ 約 1 . 0 mm であり、さらにより好ましくは、各層は厚さが約 0 . 5 mm である。各層は、好ましくは直径が約 3 mm ~ 約 1 0 mm、さらにより好ましくは直径が約 5 mm である。厚さ寸法および直径寸法は層の間で異なっていてよい。薬剤キャリア本体の層および全体的形状は、図 3 のように断面形状が円盤状または円柱状であると記載しているが、本発明の範囲を逸脱することなく、例えば長方形、正方形をはじめとする多角形、卵円形など、これ以外の形状を用いることも可能である。さらに、薬剤キャリア本体の全体的形状は断面が一定であるのが好ましいが、その長さに沿って変化するものであってもよく、例えば、薬剤キャリア本体は、錐台（円錐台、角錐台を問わない）または角柱の形状であってもよい。用いる輸送様式または輸送様式の組合せに依存する装置の効率を最大限にするため、薬剤キャリアおよび薬剤キャリア本体の全体の形状および／または構

40

50

成要素の形状を改変することができる。

【0160】

図6は、積層配置の薬剤キャリア本体601を有する薬剤キャリア600を図示したものである。積層は、1つの最下層602、4つの中間層604、最上層606を含む。最下層602は微小チューブ608を有し、これが伸長して組織接触表面610を形成する。薬剤キャリア600は、入口612をさらに含む。この実施形態では、入口612は第一の層606の一部になっている。入口612は、好ましくは間を流体が流れることができるように第一の層606の薬剤リザーバ容積を介して、薬剤キャリア本体601内に形成されているマイクロチャンネルと接続している。入口612は、これに陰圧または陽圧をかけることができるように、真空ラインまたは高圧注入器に接続するように設計されている。これにより、薬剤を外部の供給源から薬剤キャリア内に装填することが可能になる。入口612に真空をかけると、組織接触表面610の微小チューブの細孔から薬剤が吸い込まれ、マイクロチャンネルを通して薬剤キャリア本体601の積層物の中に入り、マイクロチャンネルおよびリザーバ容積を満たす。あるいは、入口612から薬剤キャリア内に薬剤を注入してもよい。いずれかの方法を用いて、薬剤キャリアに薬剤を充填することができる。

10

【0161】

図6にはほかに、入口612に取り付ける栓またはシール614および表面接触層610に被せる栓またはシール616が示されている。シール616は、表面接触層610の表面を密封して、無菌性を維持するほか、マイクロチャンネル内で生じた真空を維持する。これと同様に、シール614も同じ目的で入口612を密封する。この密封層はプラスチックフィルムであるのが好ましい。

20

【0162】

図6の実施形態はほかに、追加の層618と超音波振動子620とを含む。層618は、最上層の窓を覆って（マイクロチャンネルが最上層を貫通して伸長している場合）、流体の放出および/または真空の解除を防ぐ役割を果たす単純な分離層であり得る。

【0163】

輸送様式は、電場を用いて、帯電した薬剤を輸送するものであり得る。電場は、薬剤塗布装置内部のバッテリーを用いて、または外部電源によって、薬剤キャリア内の電極に電圧をかけることにより生じさせることができる。好ましい形態では、薬剤塗布装置内に電極を設置し、第二の外部電極を同じく薬剤塗布装置の電源に接続し、標的組織を効率的にその極性が内部電極と逆の電極になるよう設置し得る。電極の極性は、内部電極が薬剤の電荷と同じ極性になるよう選択し得る。2つの電極間で確立した電圧は、帯電した薬剤を薬剤キャリアを通して組織接触表面まで輸送するほか、イオン導入法によって、帯電した薬剤の組織内への輸送を促進し、かつ/または可能にし得る。本発明の実施形態では、超音波および電流を交互にまたは同時に組み合わせる複数の送達様式を用い得る。したがって、層618が、電極としての役割を果たす材料を含むか、あるいはそのような材料となるよう、これをさらに改変することができる。電極は、正に帯電していても負に帯電していてもよく、これを用いて静的電場または動的電場を発生させる。隣接する薬剤キャリア層の上面に細孔がなく、隣接する薬剤キャリア層が導電性でない材料でできている場合、電極と、マイクロチャンネルまたはリザーバ内に収納されているイオンまたは帯電した薬剤とが接触することはないが、電極上に存在する極性と同じ極性のイオンおよび帯電した薬剤であれば反発する。隣接する薬剤キャリア層が導電性の材料でできている場合、隣接する薬剤キャリア層に穴がない場合、マイクロチャンネルまたはリザーバ内に収納されているイオンまたは帯電した薬剤によって確立された導電性が存在する。この状況は、隣接する薬剤キャリア層の表面が細孔を有し（かつ隣接する薬剤キャリア層の導電性に依存しない）、電極がマイクロチャンネルまたはリザーバ内に収納されているイオンまたは帯電した薬剤と直接接触している場合と機能的に同等であり、この場合、層618と逆の極性のさらなる電極を標的組織上にまたはこれに隣接させて設置することができる。電気回路を完成させるため、標的組織上にまたはこれに隣接させて設置した電極を、塗布装置の薬剤キ

30

40

50

キャリア、塗布具ハンドルをはじめとする構成要素に接続し得る（不掲載）。電圧を加えると、層 6 1 8 の電極と同じ極性の帯電した薬剤が、薬剤キャリア本体 6 0 1 のマイクロチャンネル内に収納されている流体に流れ込み、薬剤キャリアから細孔を出て組織表面まで移動し、イオン導入によって組織内に送達されるのに必要なエネルギーが供給され得る。

【 0 1 6 4 】

これは、薬剤キャリアが電圧を発生させて、電流の流れが帯電した薬剤を薬剤キャリアから細孔を出て組織まで輸送するのを促進することが可能な代替的实施形態となる。

【 0 1 6 5 】

いくつかの実施形態では、薬剤キャリア本体は、帯電した薬剤を薬剤キャリアを通り細孔を出て標的組織まで輸送するのを促進する電極を含む（層 6 1 8 と同様に）か、それ自体がそのような電極となる。電極は、積層物に隣接して設置されていても、積層物の中に組み込まれた電極層であっても（層 6 1 8 と同様に）よい。

【 0 1 6 6 】

上記の実施形態では、超音波エネルギーおよび / または電圧によって、薬剤が薬剤キャリアの中をその組織接触表面まで移動するのに必要なエネルギーが供給され、この場合、超音波導入法および / またはイオン導入法によって薬剤を標的組織内に送達することが可能である。

【 0 1 6 7 】

上記の実施形態で理解されるように、組織接触表面、例えば 4 2 2、4 2 2'、4 2 2''、5 0 2、6 1 0 を含む層は、図 8 A ~ 1 0 および図 2 3 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載されているもののよう、少なくとも一部が複数の突起部によって画定される組織接触表面を含む層であり得る。

【 0 1 6 8 】

図 7 A および 7 B は、本発明の一実施形態による薬剤キャリア本体を形成する積層物の穴およびその穴によって画定されるチャンネルの実施形態を図示したものである。図 7 A は、2 つの層 7 0 2 および 7 0 4 を含む積層物 7 0 0 を図示したものである。層 7 0 2 は、組織接触表面から層 7 0 4 よりも遠い位置にある層である。層 7 0 2 は複数の穴 7 0 6 を含み、層 7 0 4 は、穴の集合体 7 0 8 として配置された複数の穴を含む。これらの層 7 0 4、7 0 2 は、積層物 7 0 0 で互いに隣接して配置されている。層 7 0 4 の穴の集合体 7 0 8 はそれぞれ層 7 0 2 の穴 7 0 6 と一直線に整列している。層 7 0 4 の穴は、層 7 0 2 の穴よりも数が多く、小さい。装置を組み立てるときに層の整列を容易にするため、層 7 0 2、7 0 4 はそれぞれ、層の配列を明確に示す基準点または基準構造 7 0 7、7 0 7' を備え得る。このため、所定の方法で配列されたそれぞれの基準点 7 0 7、7 0 7' に合わせて層を整列させて（例えば、互いに一直線に整列させて）層 7 0 2、7 0 4 それぞれの穴を正確に整列させ、それにより、積層物 7 0 0 の複数の層の中を伸長するマイクロチャンネルを形成することができる。

【 0 1 6 9 】

図 7 B は、薬剤キャリア本体の変形形態および異なる積層の様々な大きさの穴の間での整列をさらに図示したものである。穴 7 0 6' は穴 7 0 6 を拡大したものである。穴 7 0 6' は、隣接する次の積層の第一の穴の集合体 7 0 8（点線で示す）に重なる。穴 7 0 8' は穴 7 0 8 を拡大したものである。穴 7 0 8' は、隣接する次の積層の対応する穴の集合体 7 1 0（点線で示す）に重なる。同様に、7 1 0' は穴 7 1 0 を拡大したものである。穴 7 1 0' は、隣接する次の積層の対応する穴の集合体 7 1 2（点線で示す）に重なる。穴 7 1 2' は穴 7 1 2 を拡大したものであるなど、最後の層までこれが続く。

【 0 1 7 0 】

最上層から中間層を通して表面接触層まで進むに従って、穴の直径が小さくなり、穴の数が多くなるように複数の層を配置することができる。次の層はそれぞれ、隣接する次の層の穴と一直線に整列する穴の集合体を含む。例えば、第一の層（最上層であっても、中間層の上方の層であってもよい）は複数の穴を有する。この第一の層は第二の層に重なり、ここでは、第二の層は第一の層の穴の下に配置される穴の集合体を有する。この第二の

10

20

30

40

50

層は第三の層に重なってよく、第二の層の穴の集合体それぞれの各穴は、第三の層のより小さな穴のさらなる集合体に重なる（このようにして、さらに層を追加してもよい）。

【0171】

チャネルは、薬剤キャリア本体を通して組織表面までの薬剤の流路を画定するものである。チャネルはまず、最初の有穴層の穴の直径によって画定される。これに続く層は、この最初の有穴層の穴と一直線に整列している穴の集合体を有する。したがって、最初の有穴層からそれに続く層に進むに従って、チャネルが多数の枝管に分岐する。これらの多数の枝管はいずれもチャネルの一部を形成することが理解されよう。

【0172】

微小製造工程によって作製したマイクロチャネルの例を詳細に示す拡大像を図7C、7Dおよび7Eに示す。図7Cおよび7D（7Dは7Cの倍率を高めたものを示している）は、穴の断面が正方形である層を示している。図7Eは、断面が正方形および六角形である穴を含む層を示している。

10

【0173】

3. 突起部をベースとする実施形態

以下の一連の実施形態は、一緒に薬剤キャリア本体の組織接触表面を画定するマイクロスケールの突起部から形成される複数の微細構造物を含むものである。これらのマイクロスケール構造物は標的組織と接触し、送達する薬剤に取り囲まれている。好ましい形態では、薬剤キャリア本体は、末端構造物、通常は突起部を取り囲む壁を有し、使用する薬剤を収納する。この実施形態は、マイクロチャネルからなる薬剤キャリア本体よりも薬剤キャリア本体内の流体に対する微細構造物の比が小さい。これらの実施形態は、突起部のほかにも、可能性として末端構造物を介して、超音波発生源と標的組織との間の直接的接触を維持するのが好ましい。理解されるように、超音波の適用は一般に、上の概要に記載したパラメータに従うものとなる。

20

【0174】

より具体的には、治療中の組織を咬持する組織接触表面を含み、組織接触表面の少なくとも一部が複数の突起部によって画定される薬剤キャリア本体を用いる実施形態を図8A～10および図23～30Aにいくつか示す。突起部は、空隙の内側から外に向かって伸長し、前記組織接触表面で終端になるのが好ましい。空隙は末端構造物によって形成されているものであり得、前記末端構造物の少なくとも一部は組織接触表面で終端になり得る。

30

【0175】

いくつかの実施形態では、末端構造物は突起部と同じ表面で終端になる。他の実施形態では、組織接触表面を画定する前記突起部の少なくとも一部は、空隙から外に向かって末端構造物を超えて伸長している。いくつかの実施形態では、突起部は、ある平面で終端になり得、末端構造物は、突起部が末端構造物を超えて伸長するように、その平面に達する前で終端になり得る。

【0176】

このような実施形態では、好ましい実施形態の突起部が微小針としての役割を果たすこととは異なることに留意するべきである。好ましい実施形態の突起部は、微小針とは異なり、組織のいかなる層も貫通することを目的とするものではない。突起部の機能としては、圧力を加えて表面に摩擦力を生じさせることによって標的組織を咬持することが挙げられる。これにより、（例えば、滑りやすい粘膜表面での）装置の位置決めが容易になり、超音波導入作用が促進される。

40

【0177】

理解されるように、これらの図面に例示される薬剤キャリア本体は、本明細書に図示される任意の薬剤キャリア本体、例えば、薬剤キャリア本体104、810、902、903、903'、903''、903'''、903''''および1302の代わりに、あるいは本明細書に記載されるいずれかの薬剤キャリア、例えば、薬剤キャリア300、800、800'および900、900'、900''、900'''、900''''、900'''''

50

とともに使用することができる。

【0178】

好ましい実施形態では、突起部は以下の特性を有する：

先端が針様ではない、すなわち、先端の幅がほぼ0になるまで減少しないよう、ある点までは細くならない。

少なくとも先端付近では、最も好ましくはその長さ全体にわたって、断面が比較的一定である。ほとんどの場合、幅は、その先端に向かって狭くなる割合は20%以下、好ましくは10%未満である。

通常、先端の幅が10 μ mよりも大きい。したがって、突起部のスケールも一般に微小針のものとは異なる。

10

標的組織の無傷の上皮表面に侵入することはない。

装置を組織に接触させて置くとときに加わる摩擦力によって、装置を安定させるのに役立つ。このことは、局所的な粘液分泌により表面の摩擦力が小さくなる傾向にある粘膜に対して特に有利である。

一般に、縦横アスペクト比（最短の断面幅のもの）が1：1～10：1である。これよりも大きいアスペクト比を用いてもよいが、操作、装填および損傷を与えない超音波エネルギー適用に耐え得る許容される強度を得るのが難しくなる。理解されるように、断面の形状は突起部の強度に大きな影響を及ぼすものであり、しかるべく選択される。

【0179】

好ましい実施形態では、突起部は、薬剤を保持して突起部を取り囲む体積の5%超を占める。この割合は、毛管力をはじめとする力によって、通常の操作によって生じる重力をはじめとする力に逆らって薬剤を薬剤キャリア本体内に保持できるよう十分に高くする必要がある。水様薬剤とともに用いる実施形態では通常、突起の密度は5%超、最も好ましくは10%超である。このほか、薬剤が粘度の高いもの（例えば、タンパク質含有量の多い薬剤）になるにつれて、突起部の密度あるいはその大きさおよび/または壁表面積を小さくし得ることが理解されるべきである。

20

【0180】

薬剤キャリア本体および一緒に薬剤キャリア本体の組織接触表面を画定する複数の突起部を含む薬剤キャリア本体の層の代替的实施形態の模式図を図8A～8Gに示す。

【0181】

30

この実施形態では、輸送刺激を介した組織への薬剤送達に薬剤キャリア本体750を用いることができる。薬剤キャリア本体750は、治療中の組織を咬持する組織接触表面752を含む。この例では、組織接触表面は、少なくとも一部が複数の突起部754によって画定される。

【0182】

突起部754は任意の形状のものであってよいが、この例では一般に円柱状である。突起部は、その長さに沿って一定の断面形状を有するのが好ましい。突起部754は、薬剤キャリア本体750内に形成された空隙756の内側から外に向かって伸長している。外側端部758は、薬剤キャリア本体750の組織接触表面の少なくとも一部を画定している。

40

【0183】

空隙756は末端構造物760によって形成され、同構造物はこの場合、周壁または枠の形態をとる。枠760も組織接触表面752の一部を画定している。

【0184】

この実施形態の末端構造物760は、突起部と同じ平面で終端となって、平面状の組織接触表面752を画定している。しかし、他の実施形態では、前記突起部754の少なくとも一部が末端構造物を超えて伸長し、かつ/または末端構造物に達する前に終わっているため、組織接触表面752は平面状ではない。いくつかの実施形態では、いずれの突起部754も末端構造物760を超えて伸長している。

【0185】

50

空隙 754 は、薬剤キャリア本体 750 内に薬剤を保持するリザーバとしての役割を果たす。しかし、このリザーバは、前の実施形態とは異なり、薬剤キャリア本体の組織接触表面側に位置している。

【0186】

突起部 754 は、リザーバ内の薬剤と流体接続するようにリザーバ内に位置している。これにより、突起部 754 が薬剤キャリア本体 750 内の薬剤に作用し、薬剤中に輸送刺激を伝えることが可能になるのに対し、上記の実施形態では、マイクロチャネルの壁が薬剤キャリア本体内の薬剤に作用する。

【0187】

この種類の実施形態は一般に、薬剤を保持する容積が上記の実施形態よりも大きい。充填容積が大きくなることにより、空気が閉じ込められる可能性も低くなる。このように充填特性が改善されることにより、特定の実施形態では充填の精度および再現性が改善され、医療用途に重要となり得る用量の精度の向上に寄与し得る。さらに、充填が改善されると、空気間隙の保持による減衰が抑えられるため、超音波エネルギーの伝播が向上し得る。

10

【0188】

空隙 754 の内表面（1つまたは複数）は官能化されているのが好ましい。空隙 754 および突起部 752 の内表面は、疎水特性もしくは親水特性またはその両部分の組合せを有する化合物または分子で官能化し得る。あるいは、チャネルの表面に小分子を接触させてチャネルの表面に吸着させ、所望の物理的および/または化学的特性を有する特定の官能基を露出させることによって、空隙 754 および突起部 752 の表面を官能化し得る。小分子は、化学吸着または物理吸着によりチャネルの内部表面に吸着させ得る。水/油親和性を変化させることに代えて、またはこれに加えて、マイクロチャネルおよび/または薬剤リザーバの内表面を導電性にすることによって、これを官能化し得る。好ましい形態では、薬剤キャリアが薬剤と接触したときの毛管力によって、薬剤キャリア本体の装填を実施する。

20

【0189】

図 8C および 8D に薬剤キャリア本体の層 750' を示す。薬剤キャリア本体の層 750' は一般に、薬剤キャリア本体 750 と同じものであり、同じ特徴には同じ番号が付してある。しかし、薬剤キャリア本体の層 750' は、その中を伸長する 1つまたは複数のマイクロチャネル 762 をさらに含む。マイクロチャネル 762 は、前の実施形態のように、リザーバ 756 が隣接する薬剤キャリア本体の層と流体接続し得るように薬剤キャリア本体の層の中を伸長している。この例では、4つのマイクロチャネルを用いている。

30

【0190】

図 8E および 8F は、中に形成されたリザーバを有する薬剤キャリア本体の層の略図である。薬剤キャリア本体の層 764 は一般に、形態が円柱状であり、内部のリザーバ容積 770 を画定する周壁 766 を含む。使用時、薬剤キャリア本体の層 764 が薬剤キャリア本体の層 750' の上に積み重なることにより、壁 766 の外枠 768 が薬剤キャリア本体の層 750' の背面と接触してリザーバ容積 770 が閉じられる。薬剤キャリア本体の層 750' のマイクロチャネル 762 は、リザーバ容積 770 内の薬剤を通過させて、投薬用のリザーバ 756 内に入れる。

40

【0191】

図 8G および 8H は、図 8E および 8F の薬剤キャリア本体の層に図 8C および 8D の薬剤キャリア本体の層を積み重ねて薬剤キャリア本体 780 を形成することによって形成した薬剤キャリア本体の略図である。薬剤キャリア本体 780 は、組織接触表面 752 を含む組織接触層 750' と、もう 1つの層 764 とを含む、積層物を含む。さらに多くの層を積み重ねて薬剤キャリア本体を形成することも可能である。

【0192】

図 8H では、薬剤キャリア本体 780 に薬剤を充填した状態で示している。この形態では、薬剤が組織接触表面 752 まで充填される。

50

【0193】

図9Aは、図8A～8Hに模式的に示した種類の薬剤キャリア本体（またはその層）の一部を示す電子顕微鏡像である。図9Aは、突起部754として働く3つの柱状物782の一部を示している。表面784は、柱状物782が伸長する空隙756の土台となっている。図9Bは、また別の柱状物786の一部分を接写したものを示す電子顕微鏡像である。これらの実施形態のそれぞれのスケールからわかるように、柱状物782および786は幅が約200マイクロメートルであり、高さもこれとほぼ同じである。しかし、他の実施形態では、異なる高さおよび幅を用い得る。

【0194】

図10は一連の4つのマスクデザインを示しており、それぞれがその薬剤キャリア本体（またはその層）を形成するのに適している。これらのマスクは、薬剤キャリアの組織接触表面の突起部および末端構造物を形成するマイクロマシニング工程に使用するものである。突起部は、あるパターン、この例では規則的な配列で配置されている。

【0195】

図10では、各装置（装置1～4）のマスクは、正方形の周壁を画定する第一のマスク区画792を含む。装置1は、5×5の配列で配置された25個のマスクが配列した区画794を含み、突起部の5×5の配列を形成している。装置2は、4×4の配列で配置された16個のマスクが配列した区画794を含み、突起部の4×4の配列を形成している。装置3は、3×3の配列で配置された9個のマスクが配列した区画794を含み、突起部の3×3の配列を形成している。装置4も、4×4の配列で配置された16個のマスクが配列した区画794を含み、突起部の4×4の配列を形成している。図からわかるように、装置4の突起部は、装置2のものよりも間隔が広がっている。本発明の諸実施形態の突起部の高さは、所望の容積を有する空隙が形成されるよう選択することができる。いくつかの実施形態では、突起部は高さが200μm超であり得る。いくつかの形態では、それらは高さが1mm未満であり得る。いくつかの実施形態では、突起部は高さが300μm超であり得る。いくつかの形態では、それらは高さが800μm未満であり得る。いくつかの実施形態では、突起部は高さが400μm超であり得る。いくつかの形態では、それらは高さが700μm未満であり得る。いくつかの実施形態では、突起部は高さが500μm超であり得る。いくつかの形態では、それらは高さが600μm未満であり得る。いくつかの実施形態では、1mm超または200μm未満の高さを用い得る。

【0196】

図23に、様々な薬剤キャリア本体（またはその層）を作製するための（a）～（g）の一連のマスクデザインを示す。図（a）～（e）は円形の突起部794を有する実施形態であるのに対し、図（f）および（g）は平面図で十字形の突起部794を有する実施形態である。これらの実施形態を以下の表にまとめる。

【0197】

【表 1】

例	配列	突起部の幅 μm	突起部の間隔 μm	突起部の形状
a	7×7	100	200	円形
b	6×6	100	300	円形
c	5×5	100	400	円形
d	5×5	200	200	円形
e	4×4	200	400	円形
f	4×4	450	100	十字形 アームの長さ200μm、アームの厚さ50μm
g	3×3	650	100	十字形 アームの長さ300μm、アームの厚さ50μm

10

【0198】

これらの実施形態は決して網羅的なものではなく、突起部の寸法、間隔、断面形状が異なる代替的实施形態が多数案出され得ることが理解されよう。このほか、これらの実施形態は、参照番号792と命名される正方形の枠に含まれるが、これ以外の形状も用いることができることも留意するべきである。さらに、突起部の配列は、規則的な配列である必要も、チップ全体で均一な密度または分布を有する必要もない。ある実施形態に用いる突起部794は、すべてが同じ断面形状を有する必要がない。

20

【0199】

例(f)および(g)は十字形の突起部794を有する。十字形の突起部には、円形の突起部に比して壁の表面積が大きい、断面積は小さく、このため薬剤貯蔵容積が最大限になるという利点がある。十字形の突起部の表面形状はほかにも、各アームが横方向に伸長するアームを支える支持物として働く限り、比較的優れた機械的特性を有する。

【0200】

図24～28に、薬剤キャリア本体およびその諸領域の一連の電子顕微鏡像を示す。図24(a)～(c)は第一の実施形態を示している。この実施形態は、空隙784から上に向かって伸長している4×4の配列の十字形の突起部782を有する。空隙784は、前の実施形態のように、周壁785によって取り囲まれている。使用時、空隙784をリザーバとして用いることにより、送達する薬剤を薬剤キャリア本体内に保持する。図からわかるように、突起部782は、その高さ全体にわたって断面形状が十字形であるが、その幅は変化している。この変化は、特にその先端付近で比較的小さいため、薬剤キャリア本体の組織接触表面を形成する最上表面は実質的に平坦である。この実施形態では、周壁785は高さが約0.5mmであり、極めて厳密に言えば484.89μmである。各突起部は実質的に同じ長さである。この実施形態の断面形状の幅は31.11μmである。これは、50μmのマスクによって画定される名目上の断面と比較したものであり、突起部がほぼ40%先細であることを表す。しかし、図からわかるように、突起部は先端に向かって少し細くなっているものの、微小針のように鋭いものではない。この平坦な表面および複数の密に詰まった突起部が、上記の実施形態による表面の機械的損傷または貫通を防ぐ。

30

40

【0201】

図24(d)は、同じくほぼ正方形の周囲枠785によって取り囲まれた十字形の突起部782を有するさらなる実施形態である。この例では、突起部は3×3のパターンで配置されている。

【0202】

50

図 2 5 (a) ~ (e) は、円形の断面を有するいくつかの実施形態の電子顕微鏡像である。同じ特徴には同じ番号が付してあり、詳細には記載しない。しかし、図からわかるように、突起部 7 8 2 がその先端に向かって細くなっているものの、その先端は平坦であり、微小針のように尖ってはいない。この実施形態でも同じく、突起部は高さが約 0 . 5 m m (写真 (b) に示されるように、5 2 5 . 2 5 μ m) である。図 2 5 に示されるように、突起部の先端の直径は 1 8 4 . 0 2 μ m である。

【 0 2 0 3 】

図 2 6 (a) ~ (d) は、十字形の断面 (a) および円形の断面 (b) ~ (d) を有するいくつかのさらなる実施形態の電子顕微鏡像である。この例では、突起部 7 8 2 の側面が前の実施形態よりも垂直である。つまり、その側面は前の実施形態よりも先細りの程度が少い。このことは写真 (a) ~ (c) で最も顕著である。

10

【 0 2 0 4 】

図 2 7 (a) ~ (d) は、円形の断面を有する突起部を有するいくつかのさらなる実施形態の電子顕微鏡像である。これらの実施形態でも同じく、突起部 7 8 2 の側面が前の実施形態よりも垂直である。周壁および突起部の高さも同じく約 0 . 5 m m である。最後の 2 つの実施形態を図 2 8 (a) および (b) に示す。これらの例は、それぞれ 4 \times 4 の配列および 5 \times 5 の配列である。

【 0 2 0 5 】

この顕微鏡像では、突起部が底部でも先細りになっている。この先細りは、製造時に用いたエッチング工程の結果であり、ほとんど意図的なものではない。しかし、いくつかの実施形態では、この先細りによって、薬剤を保持する空隙の容積が増大するため、これを活用することができる。

20

【 0 2 0 6 】

4 . 混合型代替的实施形態

図 2 9 および 3 0 に、薬剤キャリア本体の 2 つの混合型実施形態を示す。図 2 9 では、薬剤キャリア本体 1 0 4 は、その周縁部を取り囲んで配置された複数のマイクロチャンネル 1 1 2 を枠 7 8 5 内に含む。同薬剤キャリア本体はほかにも、中央の空隙 7 8 4 の中に形成された突起部 7 8 2 の配列を有する。

【 0 2 0 7 】

図 3 0 および 3 0 A に、突起部をベースとする実施形態であると見なすことができるが、凹凸のある枠または特定の輪郭を有する枠を有する代替的实施形態を示す。この場合、薬剤キャリア本体はスプライン加工されている周囲枠 7 8 5 を有する。枠 7 8 5 は、周縁部から空隙 7 8 4 まで枠 7 8 5 の中を伸長する一連のチャンネルまたは窓 7 8 5 A を有する。空隙 7 8 4 にはほかにも、3 \times 3 の配列の突起部 7 8 2 が含まれている。配置をさらによく示すため、線 3 0 A - 3 0 A に沿った断面を図 3 0 A に示す。

30

【 0 2 0 8 】

このほか、可能性としては配列などのパターンで配置された複数の薬剤キャリア本体を有する薬剤キャリアが提供され得る。

【 0 2 0 9 】

5 . 装填および使用の例

40

図 1 1 A、1 1 B および 1 1 C に、薬剤キャリア内に薬剤リザーバを薬剤キャリア本体とは別個の構成要素として備えた実施形態を示す。

【 0 2 1 0 】

図 1 1 A は、本発明のさらなる実施形態による薬剤塗布具の一部分を示している。この図には、塗布具チップ 8 0 0 と手持式薬剤塗布装置のハンドル部分とを連結する連結棒 8 0 2 に装着された塗布具チップ 8 0 0 の実施形態が示されている。塗布具チップ 8 0 0 は、チップの収納部 8 0 3 内に形成された薬剤リザーバ 8 0 4 を含む。収納部 8 0 3 はほかにも、薬剤キャリア本体を収容するくぼみ領域 8 0 6 を含む。薬剤リザーバ 8 0 4 は入口 8 0 8 を含む。入口 8 0 8 は、複数の異なる用途のために設計され得る。ある特定の実施形態では、薬剤リザーバ 8 0 4 に薬剤を注入するのに入口 8 0 8 を用い得る。他の実施形

50

態では、薬剤リザーバ 804 に真空をかけてリザーバ 804 内に薬剤を吸い込むのに入口 808 を用い得る。

【0211】

図 11B は、薬剤キャリア本体 810 がくぼみ領域 806（薬剤キャリア本体 810 の存在によって見えない）に挿入された塗布具チップ 800' を示している。図 11A の説明から理解されるように、入口 808' に吸引をかけ、薬剤キャリア本体 810 の中のマイクロチャンネルを介して薬剤を吸い込むことによって、薬剤リザーバ 804' に薬剤を充填し、リザーバ 804 に保管 / 保持し得る。あるいは、入口 808' を用いて薬剤リザーバ 804' に薬剤を直接注入した後、リザーバ 804' および薬剤キャリア 810 のマイクロチャンネルを薬剤で満たし得る。

10

【0212】

図 11C は、塗布具チップ 800' のさらなる実施形態を示しており、この実施形態は上記のものとはほぼ同じであるため、対応する特徴には同じ番号を付し、実施形態から変更したことを示すため、その番号に二重プライム記号を付してある。塗布具チップ 800' は連結棒 802' と接続されている。同塗布具チップは、薬剤リザーバ 804' と、積み重なった薬剤キャリア本体 810' とを含む。その他の箇所については前の例と同じである。

【0213】

薬剤キャリアに薬剤および / またはその他の物質を充填する機序、改変および方法であって、システムによる薬剤の装填、保持および送達に役立つものを図 12A、12B、12C、12D および 12E に示す。

20

【0214】

図 12A ~ 12E に概略的に示した装填機序はこのほか、薬剤を装填する前に薬剤キャリアまたはその空洞の表面を親水性または疎水性の部分で裏打ちするか、電荷を伝導することができ、かつ / または薬剤を装填する前に電場の発生もしくは伝播に關与することができる部分で裏打ちする方法として、単独で、または組み合わせて用い得る。

【0215】

図 12A は、薬剤キャリアに薬剤を充填する方法の実施形態を示している。この実施形態では、薬剤キャリア本体 902 を含む塗布具チップ 900 が、その連結棒 908 を介して手持式薬剤塗布装置（不掲載）と接続されている。薬剤キャリア本体 902 は、少なくとも一部が薬剤 906 を含む容器 904 に浸かっている。薬剤塗布装置の超音波振動子によって発生した超音波振動が、連結棒 908 を介して塗布具チップ 900 を通り、薬剤キャリア本体 902 に伝わる。この振動はマイクロチャンネルから空気を排出し、薬剤キャリア本体 902 内のマイクロチャンネルおよび / または薬剤リザーバの少なくとも一部に薬剤 906 を充填する。

30

【0216】

図 12B は、薬剤キャリアに薬剤を充填する方法の別の実施形態を示している。この実施形態では、薬剤キャリアは取外し可能な塗布具チップ 900' になっている。塗布具チップ 900' および / または別個の薬剤キャリア本体 903 は、少なくとも一部が薬剤 906' を含む容器 904' に浸かっている。外部の発生源 910 によって発生した超音波振動が容器 904' に加わり、これにより、塗布具チップ 900' に含まれる薬剤キャリアのマイクロチャンネルおよび / または薬剤リザーバ（不掲載）ならびに / あるいは別個の薬剤キャリア本体 903 から空気が排出され、塗布具チップ 900' 内の薬剤キャリアのマイクロチャンネルおよび / または薬剤リザーバならびに / あるいは別個の薬剤キャリア本体 903 の少なくとも一部に薬剤 906' を充填する。他の実施形態では、超音波振動を加えず、単に薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体を浸漬することによって装填を実施し得る。

40

【0217】

図 12C は真空チャンバ 912 を示している。入口 914 に真空をかけて、チャンバ 912 の空気のほか、塗布具チップ 900' 内に保持されている薬剤キャリアのマイクロ

50

チャンネルおよび／または薬剤リザーバあるいは別個の薬剤キャリア本体 903' 中の空気を除去する。真空をかけ終わると、薬剤入口 916 を制御するバルブが開き、チャンバ 917 内に保管されていた薬剤が、薬剤入口 916 を通ってチャンバ 912 内に吸い込まれ、塗布具チップ 900' 内の薬剤キャリア本体 902' のマイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバならびに／あるいは別個の薬剤キャリア本体 903' 中に吸い込まれる。薬剤は、薬剤キャリア（１つまたは複数）の組織接触表面の細孔を通して進入する。薬剤が充填された後、薬剤を含有する流体から塗布具チップ 900' および／または別個の薬剤キャリア本体 903' を取り出し、露出した表面に密封層を被せ得る。

【0218】

図 12D は、真空を用いて薬剤キャリア本体 903' に薬剤 906' を充填する方法の別の実施形態を示している。薬剤 906' は容器 904' 内に保持されている。薬剤キャリア 903' は容器 904' 内にあり、薬剤キャリア本体 903' の組織接触表面 920 の細孔が薬剤溶液 906' 中にあるように、同薬剤キャリア本体の少なくとも一部が浸かっている。入口 918 に真空をかけて、薬剤キャリア 903' のマイクロチャンネルから薬剤溶液を吸い上げ、マイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバの少なくとも一部に薬剤溶液 906' を充填する。

10

【0219】

薬剤キャリア本体に薬剤を充填する方法のまた別の実施形態では、薬剤を直接入口に注入し、薬剤キャリア（すなわち、マイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバ）中の空気を排出して薬剤と入れ替えることができる。

20

【0220】

図 12E は、図 12D のものとほぼ同じ方法を示しているが、薬剤キャリア本体 902' を有する塗布具チップ 900' に薬剤を充填するようになっている。塗布具チップ 900' は、塗布具チップが、薬剤キャリア本体 902' 内に形成された任意のリザーバとは別個の収納部にリザーバ 921 を含むことがわかるように、断面で示されている。塗布具チップ 900' はリザーバ 921 につながる真空入口 922 を含む。上記のように、真空入口 922 に真空を加えると、薬剤キャリア本体 902' のマイクロチャンネルを通して薬剤溶液が吸い上げられ、薬剤キャリア本体 902' または塗布具チップ 900' の収納部のいずれかのマイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバの少なくとも一部に薬剤溶液 906' が充填される。

30

【0221】

薬剤キャリアまたは薬剤キャリアを有する塗布具チップに薬剤を充填する方法のまた別の実施形態では、薬剤を直接入口に注入し、薬剤キャリア（例えば、マイクロチャンネルおよび／または薬剤リザーバ）中の空気を排出して薬剤と入れ替えることができる。

【0222】

理解されるように、上記の装填技術は、本明細書に記載されているか、考案される、適切なマイクロチャンネル、混合型または突起部をベースとする薬剤キャリア本体とともに用いることができる。しかし、薬剤リザーバに直接つながることが可能な薬剤キャリア本体または薬剤キャリアは、薬剤を直接リザーバに入れる、例えば薬剤をピペットでリザーバに入れることによって装填し得る。下に記載する実験では、このような機序の 1 つの例を用いた。この例では、突起部をベースとする薬剤キャリア本体の薬剤キャリア本体の組織接触表面の空隙に薬剤をピペットで入れる。同様にして、薬剤キャリア本体の背面のリザーバに薬剤をピペットで入れ、マイクロチャンネルを通して組織接触表面に送達する。

40

【0223】

薬剤キャリアは、空の薬剤キャリアまたは薬剤の入った充填済みの薬剤キャリアのいずれかで提供され得る。空の薬剤キャリアが提供される場合、末端使用者が使用前に薬剤を薬剤キャリアに充填する必要がある。

【0224】

本発明はこのほか、薬剤キャリアに薬剤を充填し、薬剤キャリアから薬剤を放出する方法に関する。

50

【0225】

薬剤キャリアから薬剤を放出する、または組織表面に薬剤を投薬する方法は、薬剤キャリアを組織表面に当てることと、薬剤キャリアから組織表面に薬剤を投薬することを含む。薬剤を投薬する過程は、組織表面に超音波を当てて、超音波導入により組織内への薬剤の浸透を促進することを含むのが好ましい。

【0226】

上記のことから理解されるように、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体そのものは、薬剤塗布装置から分離可能なアイテムである。好ましい形態では、薬剤キャリアまたは薬剤キャリア本体は、取外し可能または交換可能な使い捨てアイテムである。このことは、医療に使用するのに必要な滅菌に役立ち、とりわけ、患者間で用いる手持式薬剤塗布装置の清浄化および滅菌を容易にする。好ましい実施形態の固い物理的性質により、取替え可能な状況下での薬剤キャリアの取付けおよび操作が容易になる。さらに、薬剤を入れる薬剤キャリア本体に固い材料を使用することにより、薬剤キャリアへの薬剤の装填、予め薬剤を装填した薬剤キャリア本体の包装、操作が容易になる。重要なのは、薬剤キャリア本体に固い材料を使用することにより、薬剤を薬剤キャリアの中を移動させるのに用いる超音波が伝播しやすくなるほか、超音波導入による標的組織内への薬剤の浸入が促進され、かつ/または可能になる。

10

【0227】

図13Aおよび13Bに、塗布具チップ形態の薬剤キャリアの一実施形態を示す。塗布具チップ1300は概略的には、図1に示される塗布具チップ102と同じものである。この例では、薬剤キャリア1300は、取外し可能で交換可能な薬剤キャリア本体を有する塗布具チップの形態をとる。

20

【0228】

薬剤キャリア1300は、以下の主な構成要素、つまり、薬剤キャリア本体1302と、チップ本体1304および薬剤キャリア本体保持キャップ1306を含むチップ収納部1303とを含む。

【0229】

薬剤キャリア本体1302は一般に、平面図では直線で囲まれており、この例では正方形である。薬剤キャリア本体1302は、上記の例または本明細書に記載される態様のうちのいずれか1つに従って作製され得る。薬剤キャリア本体1302は組織接触表面1304を有する。

30

【0230】

チップ本体1304には、薬剤キャリア1300と薬剤塗布装置とを接続することと、超音波エネルギーの形態の伝導刺激を薬剤キャリア本体1302に伝えることの両方の役割がある。これを達成するため、チップ本体1304は、その第一の端部にねじ山の形態の取付機構1305を備えている。取付機構1305は、対応するハンドルアセンブリのコネクタと機械的に接続するのに用いられる。チップ本体1304の第二の端部は、合せ面1307を介して超音波エネルギーを薬剤キャリア本体1302に伝える角として働く。

【0231】

薬剤キャリア本体保持キャップ1306には、薬剤キャリア本体1302を保持し、それを合せ面1307と接触させておく役割がある。薬剤キャリア本体保持キャップ1306には、その中に形成された開口部1310があり、使用時にそこから薬剤キャリア本体1302の組織接触表面1308が露出する。薬剤キャリア本体保持キャップ1306は、ねじ山を用いてチップ本体1304に取り付けられる。

40

【0232】

理解されるように、このようなシステムには、作製することが可能な形態的変形形態および機械的変形形態が多数存在する。例えば、薬剤キャリア本体およびそれに付随する組織接触表面を含めた構成要素の形状を変化させ得る。この正方形の実施形態は、半導体材料から薬剤キャリア本体を作製し、その製造工程が正方形の構成要素を生産するのに最も

50

都合がよい場合に特に好都合である。輸送刺激として超音波エネルギーを用いる場合、超音波エネルギーの伝導が最大限に高められるようチップ本体の形状を変化させ得る。薬剤キャリア本体の組織接触表面を露出させる開口部の形状を変化させてもよい。いくつかの場合には、それは薬剤キャリア本体の組織接触表面の形状と異なるものであり得る。

【0233】

薬剤キャリア保持キャップをチップ本体に咬持させる方法を様々に変化させて、任意の好都合な種類の機序を用いることができる。この例では、咬持はねじ山によるものであるが、非網羅的なリストまたは代替法を挙げると、薬剤キャリア保持キャップをチップ本体に圧入するか、留め金またはパヨネット式取付具で咬持させることも可能である。同様に、薬剤キャリア本体の取付機構を変化させて、任意の既知の連結機序を用いることができる。

10

【0234】

このほか、可能性としては配列などのパターンで配置された複数の薬剤キャリア本体を有する薬剤キャリアが提供され得る。

【0235】

6. 試験の結果および治療の方法論

本発明のさらなる態様では、薬剤を生体組織、例えば動物、植物またはヒトに送達する方法が提供される。本明細書に記載される非侵襲性の薬剤塗布具の操作パラメータを選択的に選択することによって、組織内の選択した深度に送達される薬剤の量を制御し得るものと考えられる。

20

【0236】

制御する操作パラメータは、
塗布圧力；
超音波周波数；
超音波の波形；
超音波の方向；
超音波出力レベル；
超音波適用の持続時間；および
超音波動作周期。

のうちの1つまたは複数のものを含み得る。

30

【0237】

当業者には、特定の種類の組織への薬剤の塗布および特定の薬剤キャリア設計の使用によって所望の免疫応答を得るのに必要な最適な操作パラメータは、対象での臨床試験を含めた実験的試験によって決定することが可能であることが理解されよう。特に好ましい形態では、標的組織の所望の深度への薬剤の送達が制御されるよう操作パラメータを選択することができる。その1つの例として、薬剤の経上皮送達が主として角膜の実質内に起こるようシステムパラメータを設定することが考えられる。このことは、組織の中で最も有効であることがわかっている深度を選択して、薬物、ワクチンをはじめとする薬剤を送達する機会が得られるという点で有利である。

【0238】

40

この点に関して、本発明は一形態では、本明細書に記載される態様または実施形態のうちのいずれか1つの薬剤キャリア、薬剤キャリア本体または薬剤塗布具を用いて、組織内の選択した深度範囲または組織の1つもしくは複数の選択した層に送達される薬剤の量を制御する方法を提供する。

【0239】

好ましい形態では、この方法を用いて粘膜の免疫応答、好ましくは少なくとも粘膜免疫応答を優先的に誘導する。さらに、全身免疫応答も誘導され得る。この方法は、免疫応答、好ましくは粘膜免疫応答を誘導するため、粘膜内のある深度範囲に送達される薬剤の量を制御して、そのような組織のある深度に十分な用量の薬剤を（少なくとも一時的に）留まらせることを含む。さらに、超音波を（低出力レベルで）当てる時間を長くすると、よ

50

り表層の組織層に選択的に送達される用量が増大することによって、粘膜免疫応答を誘導する能力が増強され得ると考えられる。

【0240】

また別の形態では、この方法を用い、上皮組織および上皮組織層内およびその下層まで送達される薬剤の量を制御することによって、全身免疫応答を誘導する。前記薬剤は、前記応答を引き起こすのに十分な用量で投与する。本明細書に既に詳述したように、一部の薬剤は表皮および/または上皮組織層に留まり得るが、全身免疫応答を誘導するのに十分な量がこれらの組織を通過する。

【0241】

組織深度範囲または組織の1つもしくは複数の選択した層に送達される薬剤の量を選択的に制御して粘膜免疫を誘導する実施形態は、単なる例としてインフルエンザ、HIV/AIDS、ヒトパピローウイルス、結核、麻疹、流行性耳下腺炎および百日咳を含めた粘膜から身体に入る感染症の治療または予防に用い得る。

【0242】

全身免疫は血液媒介感染症に有益である。全身免疫が好ましいものであり得る例には、C型肝炎ウイルス、HIV/AIDS、マラリアおよび破傷風がある。

【0243】

薬剤を組織の複数の深度に同時にまたは逐次的に送達する有用な組合せ法を用いることができる。この方法はとりわけ、全身免疫および粘膜免疫の両方を誘導しようとするのに用い得る。

【0244】

実験的試験

本発明の実施形態を用いて組織に薬剤を良好に送達することができるかどうかを明らかにするため、マウスを用いて一連の実験を実施した。各場合の輸送刺激は超音波エネルギーのみとした。本実験では、薬剤が免疫系に提示され、免疫応答を誘導し得るかどうかを明らかにするため、本発明の実施形態を用い、超音波エネルギーのみを口唇の内側に当てて、ウイルスワクチンを投与した。研究者らは、全身免疫応答を引き起こすのに必要な時間の間装置を適用することによって口唇の粘膜が損傷を受けることはないことを実験2で明らかにした。

【0245】

以下の実施例に記載する方法論に加えて、特異的分泌型IgA抗体が粘膜免疫系の優勢な抗体アイソタイプであることから、その抗体を検出することによって粘膜免疫をモニターまたは確認することができる。このクラスの抗体は、ヒトの粘膜分泌物に2つのアイソタイプ型、IgA1およびIgA2として存在し、二量体形態で産生される。このことにより、同抗体は安定性が高く、粘膜免疫の優れたマーカーとなる。

【0246】

6.1. 実験の概要

実験1

図7cに示される本発明の実施形態に2つの薬剤キャリア本体(実験の考察では「マイクロチップ」と呼ぶ)を用いて、マウスに1匹当たり計約 $2 \sim 5 \times 10^6$ プラーク形成単位(pfu)の蛍光標識組換えボックスウイルスベクター系HIVワクチンを接種した。

【0247】

ワクチン抗原を取り込んだ抗原提示細胞の割合(0.025~0.068対0.025~0.022)および流入領域リンパ節に動員された樹状細胞の割合(0.25~0.54対0.22~0.49)は、接種マウス、未接種マウスでそれぞれ同程度であった(図1および2)。重要な結論は、2つのマイクロチップのみを用いても免疫応答は誘導されなかったということである。

【0248】

実験2

マウスのプライミング1回当たり3つのマイクロチップを用い、HIV抗原を発現する

10

20

30

40

50

組換えボックスウイルスを用いた完全異種プライムブーストワクチン接種を実施し、鼻腔内（i . n . ）投与でプライミングしたマウス（陽性対照）およびワクチンでプライミングしていないマウス（陰性対照）と応答を比較した。プライミングワクチン接種から2週間後、全マウスに筋肉内（i . m . ）ブースターワクチン接種を実施した。

【0249】

脾臓のHIV特異的CD8⁺T細胞のパーセントを求めることにより、様々なワクチン接種経路によって誘導された全身免疫応答（血液区画の応答）の程度を評価した。本発明の実施形態を用いてワクチン接種したマウスのうち、1匹に陽性対照を上回る免疫応答がみられ、概念実証が示された。

【0250】

10

実験3

さらなる実験では、図10に示される本発明の実施形態を用いて予備的プライムブーストワクチン接種実験を実施した。各実施形態によるマイクロチップを3つ用いた口唇送達システムでマウスを1匹当たり約 $2 \sim 5 \times 10^6$ pfuのFPV-HIVでプライミングした後、筋肉内ブースターワクチン接種を実施した。HIV特異的CD8⁺T細胞のパーセントを用いて、誘導された免疫応答の程度を評価した。データから、マイクロチップ1（細胞1%）および2（0.6%）の方がマイクロチップ3および4（0.5%）よりも若干性能が優れていることがわかった。このほか、マイクロチップ1および2の方がマイクロチップ3および4よりも装填および送達時の性能が優れていることがわかった。

【0251】

20

実験4

図10のマイクロチップ1および2を用いて完全プライムブーストワクチン接種実験を実施した。この実験では、ワクチン接種したグループそれぞれのマウスのうち1匹に鼻腔内陽性対照を上回る免疫応答が生じたのに対し、各グループのほかの2匹のマウスには経口ワクチン陰性対照群と同程度の応答がみられた。

【0252】

表1に実験1～4それぞれの実験のパラメータおよび結果をまとめる。

【0253】

【表 2】

表 1：原型マイクロチップならびにマイクロチップ 1 および 2 で実施したプライムブーストワクチン接種実験のまとめ。

該当するチップの名称 ^a	プライミング：経路、FPV-HIV の用量 ^b	ブースター：経路、VV-HIV の用量 ^c	HIV 特異的 CD8+T 細胞の % (四量体試験) ^d			HIV 特異的 CD8+T 細胞応答の程度 (ICS 試験) ^d		
			M#1	M#2	M#3	M#1	M#2	M#3
原型 Mc(×3) 試験群	口唇 約 2~5×10 ⁶ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	15.1	1.03	1.06	10.5	0.73	0.78
陽性対照	i.n. 1×10 ⁷ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	8.94	9.33		6.85	6.14	
陰性対照		i.m. 1×10 ⁷ pfu	1.36	1.40		1.03	0.78	
Mc1(×3) 試験群	口唇 約 2~5×10 ⁶ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	0.38	15.5	0.67	0.06	1.5	0.08
Mc2(×3) 試験群	口唇 約 2~5×10 ⁶ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	0.81	0.73	9.45	0.12	0.08	2.0
陰性対照	経口 5×10 ⁶ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	1.17	0.45	2.87	0.8	0.05	0.35

^a (×3) - 各マウスに投与したワクチンのマイクロチップの数を表し、「×3」は 3 つのマイクロチップを用いたことを意味する；

Mc - 「マイクロチップ」の略記であり、各試験で用いたチップの種類を表すのに用いられている；

^b プライミングワクチンである HIV 抗原を発現する鶏痘ウイルス (FPV-HIV) のプラーク形成単位 (pfu) で表した用量が示されている。ワクチン接種経路は以下のように表されている；

「Lip」は、対象の口唇の組織に本発明の実施形態を用いて投与を実施したことを表す；

「i. n.」は鼻腔内送達を表す；

「経口」は口腔内に直接送達したことを表す

^c ブースターワクチンは HIV 抗原を発現するワクシニアウイルス (VV-HIV) であり、いずれの場合も筋肉内 (i. m.) 経路を用いて送達した。

^d いずれの場合も全身免疫応答を検討した。

M# はマウスの番号を表す。

【0254】

実験 5

この実験は、本発明の実施形態を用いて対象に送達したワクチンの取込みを明らかにしようとするものである。この実施例では、口唇に送達した。このほか、皮内 (i. d.) 取込みを評価するため、追加の実験を実施した。図 10 のマイクロチップ 1 の設計を有する 3 × マイクロチップを用いてヌードマウスにワクチン接種した。マイクロチップには、mCherry 蛍光抗原を発現する蛍光標識組換えポックスウイルスベクター系 HIV ワクチンを収納した。ワクチン接種から 3 時間後、6 時間後、9 時間後および 24 時間後に生体イメージングを実施し、蛍光ワクチンの取込みおよび発現を経時的に評価した。データから、口唇送達が効果的であったほか、i. d. 送達も効率的に機能することがわかった。マイクロチップ装置 # 1 はワクチン取込みに優れ、送達から 3 時間後に早くも抗原発現プロファイルが検出された。

【0255】

実験 6

図 10 のマイクロチップ装置 # 1 に HIV 抗原を発現する組換えボックスウイルスを用いた異種プライムブーストワクチン接種を実施することにより、本発明の一実施形態を試験した。プライミングに BALB / c マウス 1 匹当たり 3 マイクロチップ用量 (マウス 1 匹当たり約 $2 \sim 5 \times 10^6$ の FPV - HIV) を用い、次いでプライミングワクチン接種から 2 週間後、 1×10^7 VV - HIV ブースターの筋肉内 (i . m .) ワクチン接種を実施した。応答をいずれのワクチンでもプライミング - ブーストを実施していないマウス (未感作対照) と比較した (表 3)。脾臓およびパイエル板それぞれの HIV 特異的 CD 8 T 細胞のパーセントを求めることのほか、細胞内サイトカイン染色および抗ウイルスサイトカイン IFN - の測定によって、全身免疫応答の程度 (血液区画の応答) および消化管粘膜 (パイエル板) の粘膜応答を評価した。

10

【 0 2 5 6 】

この実験から、本発明の実施形態を口唇組織に用いることにより、全身応答のほかにも粘膜免疫を誘導することが可能であることがわかる。プライムブーストワクチン接種後に一貫した (有効性 80 %) CD 8 T 細胞免疫応答がみられた。以上のデータをまとめると、この方法を口唇 / i . d . プライムブースト無針送達戦略として良好に用いることが可能であることが示唆される。

【 0 2 5 7 】

【表 3】

口唇／i. m. プライムブーストワクチン接種後に誘導された全身応答および粘膜免疫応答のまとめ。

該当するチップの名称 ^a	プライミング：経路、FPV-HIVの用量 ^b	ブースター：経路、VV-HIVの用量 ^c	HIV 特 異 的 CD8+T 細 胞 の%(四量体試験) ^d					HIV特異的CD8+T細胞応答の程度(ICS試験) ^d				
			M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5
陰性対照脾臓	無し	無し	0.2 0	0.1 1				0.3 1	0.2 4			
Mc1(×3)試験群脾臓	口唇約2~5×10 ⁶ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	3.6 9	1.0 1	8.3 9	8.9 7	12. 4	3.2 4	1.4 3	8.1 2	8.3 9	12. 6
陰性対照消化管-PP ^e	無し	無し	0.0 7					0.0 7				
Mc1(×3)試験群消化管-PP ^e	口唇約2~5×10 ⁶ pfu	i.m. 1×10 ⁷ pfu	1.2 0	1.2 6	1.2 1			1.2 2	1.4	1.3 3		

^a ×3－マウス1匹当たり3チップのワクチンを投与したことを表す；Mc－マイクロチップの種類を表す；実験グループ内の試験および陰性対照も示されている

^b プライミングワクチンであるHIV抗原を発現する鶏痘ウイルス（FPV－HIV）のプラーク形成単位（pfu）で表した用量が示されている。ワクチン接種経路；MuPharmaシステムを用いた口唇経路

^c ブースターワクチンはHIV抗原を発現するワクシニアウイルス（VV－HIV）であり、いずれの場合も筋肉内（i. m.）経路を用いて送達した

^d いずれの場合も、四量体染色および細胞内サイトカイン染色（ICS）を用いて全身応答および粘膜免疫応答を検討した。

^e はパイエル板を表す。

M#はマウスの番号を表す。

【0258】

6.2. 実験の詳細

実験1

目的：図7cの実施形態を用いた口唇送達システムが流入領域リンパ節（LN）への抗原取込みを誘導するかどうかを明らかにするため、ワクチン接種から24時間後、抗原提示および免疫細胞の動員を以下に通りにモニターした：

1. HIV抗原とともに緑色蛍光タンパク質を発現する蛍光標識ワクチンである組換え鶏痘ウイルス（FPV－HIV－GFP）を一定数のマイクロチップの分だけ投与した後、頸部リンパ節、縦隔リンパ節および／または腸間膜リンパ節でのワクチン抗原の取込みをモニターした；

2. 抗原提示細胞（APC）がこれらのLNに動員されるかどうかを評価するため、特有の細胞表面マーカーを染色することによって、これらの部位の樹状細胞（DC）およびマクロファージの相対数を明らかにした。

【0259】

方法：

1. マウスをFPV－HIV－GFPで感作し、ワクチン接種から24時間後に応答を

評価した。これらの実験ではほかに、以下のマウス：

a) 未感作対照 (図 14 および 15) または

b) F P V - H I V のみをワクチン接種した対照 (すなわち、G F P 蛍光抗原無し、図 16) を飼育した。

マウスには 2 つのマイクロチップを用いてワクチン接種を実施し、一方は左側の口唇、もう一方は右側の口唇に実施した (マウス 1 匹当たり約 5×10^6 p f u)。

2. 24 時間後、様々な流入領域 L N を回収してプールし、完全培地で単細胞懸濁液を調製した (R a n a s i n g h e ら, 2011、R a n a s i n g h e ら, 2006、R a n a s i n g h e ら, 2007、R a n a s i n g h e ら, 2013) 10

3. 1×10^6 個の細胞を等分し、様々な細胞表面マーカーで染色した。[抗原提示 M H C - I I 細胞を I - A^d A P C 細胞表面マーカーに対する抗体で染色した。D C の同定には細胞表面マーカーの C D 11 b - P E および C D 11 c - P e r C P に対する抗体を用い (図 15)、マクロファージの同定には細胞表面マーカーの F 4 / 80 - P E C y 7 に対する抗体を用いた (データ不掲載)] (R a n a s i n g h e ら, 2013)。

4. フローサイトメトリ分析 (F A C S) を用いて、細胞表面に発現した蛍光標識細胞表面マーカーに基づき様々な細胞サブセットを分析した。これらの実験を 3 回反復し、その結果を合わせて図 14 ~ 16 に示す。

5. これらの実験ではほかに、単色対照 (S S) および 1 項目除外蛍光 (f l u o r e s c e n t m i n u s o n e) (F M O) 対照を用いて、ゲーティングを設定し、 20 様々な細胞サブセットの分析を正確に実施した。

【0260】

結果および結論：

図 14 ~ 16 に実験の結果をグラフで示す。これに関して、図 14 は、口唇送達から 24 時間後の F P V - H I V - G F P ワクチン取込みの評価をプロットしたものであり、矢印で示される右上 4 分の 1 の区分に、検出されたワクチンの蛍光 G F P 抗原を含む I - A^d A P C M H C - I I 細胞が示されている。このプロットをはじめとする F A C S プロットでは、各点が単一の細胞を表すことに留意されたい。

【0261】

図 15 は、口唇送達から 24 時間後の様々な樹状細胞サブセットによるそれぞれの流入領域リンパ節への抗原取込みの動員を評価したプロットを示している。M H C - 11 + および C D 11 b + (左側の 2 つの欄) または C D 11 c + (右側の 2 つの欄) であると同定された樹状細胞の割合が右上 4 分の 1 の区分に示されている (矢印を参照されたい)。

【0262】

図 16 は、口唇送達から 24 時間後の頸部リンパ節、縦隔リンパ節および腸間膜リンパ節 (実験 3 を反復) での F P V - H I V - G F P ワクチン取込みを評価したプロットを示している。ワクチンの蛍光 G F P 抗原を含む I - A^d A P C M H C - I I 細胞が、矢印で示された右上 4 分の 1 の区分に検出されている。(上の 3 つのグラフはゲーティング戦略を示していることに留意されたい)。

【0263】

図からわかるように、F P V - H I V - G F P ワクチンを投与したマウスと対照との間に抗原の取込みおよび提示 (図 14 および 16) の差も、流入領域リンパ節に動員された D C サブセット (図 15) の差も検出されなかった。データから以下のことがわかった；

i) マウス 1 匹当たりマイクロチップ 2 つ分の用量 (用量約 $2 \sim 5 \times 10^6$ p f u) でワクチン送達を実施しても効果はみられなかった。

i i) このため、のちのプライムブーストワクチン接種の実験では、免疫に何らかの結果をもたらすため、マウス 1 匹当たり最低 3 つ以上のチップを用いた。

【0264】

実験 2

次のこの実験では、プライムブーストワクチン接種を用いて、実験 1 と同じマイクロチ 50

チップでの口唇送達の効果の評価を実施した。

【0265】

目的：

1. HIV g a g 特異的四量体染色および
 2. HIV 特異的 CD8⁺ T 細胞内の IFN- γ の細胞内サイトカイン染色 (ICS)
- を用いて、口唇プライミングの後に筋肉内 (i. m.) ブースターワクチン接種を実施することによって、鼻腔内プライミング (i. n.) / i. m. ブースターワクチン接種戦略と比較して効果的な HIV 特異的 CD8⁺ T 細胞免疫を誘導することができるかどうかを試験すること。

【0266】

方法：

図17は、実施した実験の以下の段階を示す写真である。示される段階には、マイクロチップの装填 (左上)、超音波システムの設定 (右上) およびマウスへの口唇送達 (下2つ) が含まれる。実験方法は以下の通りに実施した。

【0267】

1) FPV - HIV によるプライミングワクチン接種

a. ルーチンの i. n. 送達には、ワクチン (約 600 ~ 800 μ l のストック) を超音波処理 (すなわち、出力: 30%; 1 サイクル当たり 10 秒間で 3 サイクル) した。超音波処理したウイルスを 48 ウェルプレートの 2 つのウェルに 300 ~ 400 μ l / ウェルで加えた。

b. 48 ウェルプレートの FPV - HIV (5×10^8 PFU / ml) にマイクロチップを浸漬した (図17左上)。各マイクロチップは 5 μ l を吸収し排出し得ると推定されたため、マイクロチップ 1 つ当たりの用量は 2.5×10^6 pfu と算出された。

c. 1 ウェル当たり 6 つのマイクロチップを重ならないように流体中に浸漬し、氷上で 30 分間インキュベートした (図17左上)。

d. マイクロチップ 1 つを取り出し、装填済みマイクロチップを PBS の入ったウェルに入れることにより、チップにウイルスが装填されたかどうかを試験した。マイクロチップが浮かべば、チップは装填されていないことを表し、マイクロチップが沈めば、装填されているものと見なした。

e. 対照: 陽性対照のマウスのうち、2 匹は i. n. (20 μ l / マウス、 1×10^7 pfu) で感作し、2 匹には i. m. ブースター (1×10^7 pfu) をワクチン接種してその効果のみを試験した。

f. 試験群: 口唇 / i. m. 群にはマウス 3 匹を以下の通りに感作した。図1に示されるものと同じ薬剤塗布具にマイクロチップを取り付け、電源に接続した。アームとマイクロチップとの接触を良くするため、両者の間に超音波ゲルを用いた。電源を入れた。

g. 麻酔をかけたマウスの口唇内部の領域にマイクロチップをしっかりと押し当てた (図17下)。

h. 出力スイッチを入れて超音波エネルギーを 30 秒間当て、口唇領域内にウイルスを送達した。この時点の機器の設定は、トランスデューサー駆動電圧 $V = 95 \sim 160$; $P = 2800 \sim 3200$ mW であった。

i. マイクロチップからウイルスが送達されたかどうかを確認するため、チップを上の場合と同様に、PBS の中に入れた。チップが浮かべば、ウイルスがチップから良好に排出されたことがわかった。チップは 80 % の時間浮かんでいたことから、ワクチンが排出されたことがわかった。2 つのマイクロチップがワクチンを正しく送達できなかった場合、そのマウスは除外し、新たなマウスを感作した。

j. 毎回新たなチップを用いて、この操作をマウス 1 匹当たり 3 つのマイクロチップで繰り返した。

【0268】

2) 10^7 PFU の VP - HIV を用いた筋肉内ブースターワクチン接種

a. FPV - HIV プライミングワクチン接種から 2 週間後、ブースターワクチン接種

を実施した。

b. ブースターワクチンは、マウス9匹に対しPBS 900 μ lで計 9×10^7 PFU調製した。

c. FPV-HIVの場合と全く同じようにウイルスを超音波処理した。

d. マウスにノーゾコーンを用いてイソフルランで麻酔をかけ、VV-HIV 50 μ lを四頭筋からi.m.送達した。

【0269】

3) 分析用の脾臓試料の調製

ブースターワクチン接種から7~14日後、各マウスから脾臓を採取し、Ranasingheら(2006)に記載されている通りに単細胞懸濁液を調製した。

【0270】

以下のように、プレートスキームに従い各マウスの脾臓細胞 4×10^6 個を用いて、四量体染色および細胞内サイトカイン染色によりHIV特異的CD8 T細胞応答の程度を評価した：

a. (Ranasingheら, 2011、Ranasingheら, 2006、Ranasingheら, 2007、Ranasingheら, 2013に)記載されている通りに四量体染色を実施した。

- 細胞をFACS緩衝液中、室温で45分間、K^dGag197-205-APC四量体および抗CD8 FITCで染色した。

- 細胞を洗浄し、0.5%PFAで固定した後、FACSを用いて分析した。

b. このほか、IFN- γ に対する細胞内サイトカイン染色(ICS)を記載されている通り(Ranasingheら, 2011、Ranasingheら, 2006、Ranasingheら, 2007、Ranasingheら, 2013)に実施した。

- 細胞を37℃および5%CO₂で1時間、K^dGag197-205ペプチドで一晩刺激した。

- 各ウェルにプレフェルジンAを加え、37℃でさらに5時間インキュベートした。

- 細胞をFACS緩衝液中、4℃で25分間、抗CD8 FITCで表面染色した。

- eBioscience社のICfixおよびICpermを用いて細胞を固定/透過処理した。

- 次いで、細胞に抗IFN- γ を用いて4℃で25分間、細胞内染色を実施した(表2)。

陽性染色-IC Permに溶かした抗IFN- γ APC
単色対照およびFMO。

【0271】

【表4】

表2：四量体染色のプレートスキーム。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A ss対 比	未染 色	FITC	APC						
B	口唇1	口唇2	口唇3	i.n.1	i.n.2	ブー スト 単独1	ブー スト 単独2	FMOCD8	FMO四量 体

【0272】

10

20

30

40

【表 5】

表 3：ICS のプレートスキーム。

	1	2	3	4	5	6	7	8	11
A ss対 比	未染 色	FITC	APC						
B 刺激	口唇1	口唇2	口唇3	i.n.1	i.n.2	ブー スト 単独1	ブー スト 単独2	FMOCD8	FMOIFN-g
C 未刺 激	口唇1	口唇2	口唇3	i.n.1	i.n.2	ブー スト 単独1	ブー スト 単独2		

SS = 単色対照、FMO = 1 項目除外蛍光 (fluorescent minus one)

【0273】

結果および結論：

IFN- γ 細胞内染色を用いて HIV 特異的脾臓 CD8⁺ T 細胞の程度の評価を示したプロットを図 18 に示す。Cell Quest Pro または Flow Jo 解析を用いて FACS データを解析した。四角の囲みは、口唇 / i.m. (上段のマウス 3 匹)、i.n. / i.m. (中段のマウス 2 匹) およびブースター単独 (下段のマウス 3 匹) でワクチン接種した後の IFN- γ を発現する HIV 特異的脾臓 CD8⁺ T 細胞の割合を表す。四量体染色を用いて HIV 特異的脾臓 CD8⁺ T 細胞の評価を可能にしたプロットを図 19 に示す。材料および方法に記載通りに細胞を染色した。Cell Quest Pro または Flow Jo 解析を用いて FACS データを解析した。四角の囲みは、様々な経路、すなわち、口唇 / i.m. (上段のマウス 3 匹)、i.n. / i.m. (中段のマウス 2 匹) およびブースター単独 (下段のマウス 2 匹) でワクチンを送達した後の HIV 特異的脾臓 CD8⁺ T 細胞の割合を表す。

【0274】

HIV 特異的四量体 (図 18) および IFN- γ 染色 (図 19) のデータから、極めて一貫性のある結果が得られた i.n. / i.m. 送達戦略 (図 18 - 範囲 8.94 ~ 9.33 %) とは異なり、口唇 / i.m. 送達戦略では一貫した結果が得られない (図 19 - 範囲 1.03 ~ 15.1 %) ことがわかった。これは、口唇送達の際にマウスのブライミングに一貫性がなかった (注：i.m. ブースター単独と比較して口唇 / i.m. も参照されたい) ことに起因するものと思われるが、1 匹のマウス (マウス 1) には i.n. / i.m. 送達戦略を上回る免疫応答がみられ、本発明の実施形態を用いて応答が可能であることが示された。

【0275】

データからほかに、3 × 口唇または 4 × 口唇マイクロチップ送達の方が 5 × 口唇マイクロチップ送達よりも効果的であることがわかった (データ不掲載)。これらの実験をは 2 回実施したものであり、データは実験間 (実験 4 および 5) でほぼ同じであることがわかった。データは 1 つの実験の代表的なものである。

【0276】

実験 3：

プライムブーストワクチン接種戦略を試験する実験をなおも実施して、図 10 に示される本発明の突起部をベースとする実施形態をそれぞれ用いた口唇送達の効果を評価した。

【0277】

目的：HIV gag 特異的四量体染色を用いて、これらのマイクロチップに図 7c のマイクロチップよりも効率的にワクチンを装填し口唇に送達することができるかどうかを

試験すること（図 20）。

【0278】

1) F P V - H I V によるプライミングワクチン接種

a. 上の場合と同様に、ワクチンを超音波処理し、48 ウェルプレートに1 ウェル当たり 300 ~ 400 ml 加えた。

b. マイクロチップを装置に接続した後、ピペットを用いてマイクロチップの組織接触表面にワクチン 5 ~ 7 μ l を装填し、直ちにマウスの口唇に送達した。図 7 c のマイクロチップとは異なり、これらの改良マイクロチップは F P V - H I V に 30 分間浸漬しなかった。

c. 対照：陽性対照にはマウス 2 匹を i . n . で感作し（20 ml / マウス）；陰性対照にはマウス 2 匹を経口的に感作し、ワクチン接種単独の効果を試験するため、i . m . ブースト単独の対照としてマウス 2 匹を飼育した（図 5 と同じ）。

【0279】

2) i . m . ブースターワクチン接種および四量体染色を用いた免疫応答の評価

a) 実験 2 に記載した通りに実施した。

【0280】

結果および結論：

1) 図 7 c のマイクロチップとは異なり、ワクチンをピペットで直接チップに装填したため、新規なマイクロチップが適切に装填されたかどうかを判定するのが極めて容易であった。同様に、ワクチン接種を実施した後、マイクロチップを組織片の上において、ワクチンが適切に排出されたかどうかを判定した。マイクロチップが乾いていれば、ワクチンが送達されたことを表した。このほか、空のマイクロチップ、装填済みのマイクロチップおよび使用済みのマイクロチップを顕微鏡下で可視化することによって上記の装填を検査した。

2) マイクロチップ 1 および 2（図 10 上段）は、マイクロチップ 3 および 4（図 10 下段）よりもはるかに効率的に（漏出せずに）ワクチンが装填および排出されるのが観察された。装填ははるかに効率的であったが、装置を口唇に当てると、出力スイッチを入れる間もなく直ちにマイクロチップ 3 および 4（特に前者）からワクチンが漏出し、むしろ経口送達になった。

3) さらに、H I V 特異的四量体に関する予備データから、マイクロチップ 1の方がマイクロチップ 3 および 4 よりも性能が優れていることが確認された。このため、以下の実験 4 では、対照である経口プライム / i . m . ブースター感作戦略を含めたプライムブーストワクチン接種実験を図 10 のマイクロチップ 1 および 2 で再び実施してデータを検証することにした。

【0281】

実験 4

この実験では、3 x 口唇 p / i . m . ワクチン接種戦略に図 10 のマイクロチップ 1 および 2 を用いたワクチン接種をこれまでの実験と同様に試験した。

【0282】

目的：

a) H I V g a g - 特異的四量体染色（図 21）および

b) I F N - の細胞内サイトカイン染色（ICS）（図 22）

を用いて、3 x 口唇 / i . m . ワクチン接種戦略の効果を 1 x 経口 / i . m . プライム - ブースターワクチン接種と比較して試験する。

【0283】

方法：

1 グループ当たり 3 匹のマウスを用いて、実験 3 の通りにワクチン接種および解析を実施した。このほか、追加の対照として 1 x 経口プライム / i . m . ブースターワクチン接種を実施して、プライミングが経口送達または口唇送達（経口用量 = 5 x 10⁶ F P V - H I V）と関係があるかどうかを評価した。ブースターワクチン接種から 14 日後、四量

10

20

30

40

50

体染色および細胞内 I F N - 染色を用いて脾臓の H I V 特異的 C D 8 T 細胞応答を測定した。実験は 2 回実施した。

【 0 2 8 4 】

結果および結論：

四量体染色を用いて H I V 特異的脾臓 C D 8 T 細胞応答の評価を可能にしたプロットを図 2 1 に示す。C e l l q u e s t P r o ソフトウェアを用いて F A C S データを解析した。プロットは、1 グループ当たり 3 匹のマウスについて、マイクロチップ 1 (上段) および 2 (中段) によるプライムブースト感作のデータと経口送達 (下段) のデータとを比較して表したものである。右上 4 分の 1 の区分 (赤い矢印) は、各ワクチン戦略の後に観察された H I V 特異的 C D 8 T 細胞の % を示している。

10

【 0 2 8 5 】

I F N - 細胞内サイトカイン染色を用いて H I V 特異的 C D 8 T 細胞応答の程度の評価を可能にしたプロットを図 2 2 に示す。C e l l q u e s t P r o ソフトウェアを用いて F A C S データを解析した。プロットは、1 グループ当たり 3 匹のマウスについて、マイクロチップ 1 (上段) および 2 (中段) によるプライムブースト感作のデータと経口送達 (下段) のデータとを比較して示したものである。右上 4 分の 1 の区分 (赤い矢印) は、I F N - を発現する H I V 特異的 C D 8 T 細胞の % を示している。

【 0 2 8 6 】

図からわかるように、マイクロチップ 1 - マウス 2 およびマイクロチップ 2 - マウス 3 (赤い矢印) で観察された H I V 特異的脾臓 C D 8 T 細胞応答は、経口送達 (図 2 1 および 2 2 のマウス 3 匹) と比較して大幅に上昇しており、これらの結果は、観察された応答が口腔内での取込みではなく口唇での取込みであることを明確に示していた。

20

【 0 2 8 7 】

データから、送達に均一性 / 一貫性があれば、マイクロチップ 1 および 2 によって血液区画に良好な H I V 特異的 C D 8 T 細胞免疫が誘導され得ることがわかった。

【 0 2 8 8 】

図 1 0 に従って作製したマイクロチップで検出された陽性応答は、実験 1 および 2 で用いた図 7 c のマイクロチップで検出された陽性応答と極めて類似していた。しかし、前者のマイクロチップの方が装填が容易であった。

【 0 2 8 9 】

実験データから、均一性 / 一貫性が得られれば、口唇送達の方が経口送達または鼻腔内送達よりも効果的であり得ることが示唆される。

30

【 0 2 9 0 】

考察

超音波導入法を用いて身体に送達される可能性があることが本発明者らにわかっている分子としては、1) 任意の種類の電荷を有するか、中性の電荷 (全体として中性のものを含む) を有する分子、2) 小さい分子または大きい分子 (約 1 4 9 , 0 0 0 ダルトンのモノクローナル抗体を含む) および 3) 親水性、疎水性または親油性の分子が挙げられる。

【 0 2 9 1 】

さらに、本発明を用いてワクチンを粘膜上皮に送達すると、全身免疫に加えて粘膜免疫が誘導されるにより、特に限定されないがインフルエンザ、H I V / A I D S および結核を含めた疾患を予防または治療する新たな機会が生まれることがわかった。粘膜抗体は、粘膜から感染する病原体に対する免疫を生じさせるうえで全身抗体よりも効果的であると考えられる。全身免疫は一般に、ワクチンを注射により身体に送達することによって誘導されるが、粘膜免疫応答の刺激によって防御 B 細胞および T 細胞が産生され、粘膜免疫および全身免疫の両方が生じ得ることを示唆する証拠が存在する。

40

【 0 2 9 2 】

実験 5

この実験は、本発明の実施形態を用いて口唇および / または真皮内 (i . d .) への送達を実施した後のウイルスベクター系ワクチンの取込みを評価するものである。

50

【0293】

6インチ（約15cm）のシリコンウエハからマイクロチップを切り取り、図10のマイクロチップ1のマスクの特徴を用いて作製した。完成したチップは、大きさ3mm、厚さ1mmであり、既に記載したように、エッチングを施した開口領域と独立して立っている支柱（ヘアブラシの毛のような配置）とを有する。マイクロチップは、深さが500～600μmであり、側壁のばらつきは最大でエッチングの深さの±10%である。

【0294】

目的：本発明の実施形態を用いて口唇および/またはi.dの抗原取込みが効果的であるかどうかを明らかにすること。Townsendら（出版準備中）に記載されている通りに、ヌードマウスに蛍光タグタンパク質（mCherry）を発現する組換えFPV-HIVをワクチン接種し、ワクチン接種後から24時間、タンパク質の取込みおよび発現をモニターした。

10

【0295】

方法：ヌードマウス3匹（n=3）をFPV-HIV-mCherryで感作し、ワクチン接種後から最大24時間、抗原の取込み/発現を評価した。これらの実験ではほかにも、マウス1匹をa）未感作対照またはb）FPV-HIVのみ（すなわち、mCherry蛍光抗原を有さない）でワクチン接種した対照のいずれかとして飼育した。図33および34に、mCherry抗原を発現するFPV-HIVを用いた生きた個体の画像を示す。両図とも、左端の個体が、ワクチンを一切投与しなかった未感作マウスである。図33では、右端から3枚の画像は、口唇送達によるワクチン接種から3時間後、6時間後および9時間後のmCherry抗原の取込みおよび発現を単一の個体について示している。同様に図34では、右端から4枚の画像は、FPV-HIV-mCherryをi.d.で耳内に投与し、ワクチン接種から3時間後、6時間後、9時間後および24時間後にmCherryの発現を評価した1匹のマウスを示している。これらの図は、経時的に追跡したマウス1匹の代表的なものであるが、実験は、マウス3匹（n=3）を用いて実施し、2回反復した。上記の通り、マウスのワクチン接種は、3×マイクロチップを用いて口唇に実施するか、i.d.送達で耳に実施した（マウス1匹当たり約2～5×10⁶ pfu）。

20

【0296】

結論：データから以下のことがわかった：

30

マウス1匹当たり3×マイクロチップ（用量約2～5×10⁶ pfu）を用いて口唇からワクチンを取り込ませるのが効果的である。図33および34の左から2枚目の画像からわかるように、抗原の取込みおよび発現ピークは、早くも3時間後に検出することができる。これは、送達から6～12時間後に発現ピークが検出され得るいくつかの別のワクチン接種戦略（Trivediら, 2014）、Townsendら（出版準備中）とよりも好ましいことである。

【0297】

マウス1匹当たり3×マイクロチップを用いてワクチンが皮内（i.d.）に送達されることが示された。

【0298】

40

実験6

この実験は、実験5の場合と同じマイクロチップを用いて口唇送達する本発明の実施形態の使用の効果を評価するものである。

【0299】

目的：口唇プライミングの後に筋肉内（i.m.）ブースターワクチン接種を実施することによって、効果的なHIV特異的粘膜免疫および全身CD8 T細胞免疫を誘導することが可能であるかどうかを、HIV gag特異的四量体染色およびIFN- γ の細胞内サイトカイン染色（ICS）を用いて試験すること。

【0300】

方法：

50

1) F P V - H I Vによるプライミングワクチン接種

a. ワクチン(約600~800 μ lのストック)を超音波処理(すなわち、出力:30%;1サイクル当たり10秒間で3サイクル)した。

b. 口唇/i.m.群にはマウス5匹を以下の通りに感作した。各マイクロチップを薬剤塗布装置に取り付けた。超音波と薬剤キャリアとの連結を良くするため、塗布具のアクチュエータロッドとマイクロチップとの間に超音波ゲルを用いてもよい。

c. マイクロチップにワクチン約3 μ lを装填し、対象(各場合とも、麻酔をかけたBALB/cマウス)の口唇領域にしっかり押し当てた。

d. 超音波を30秒間当てて口唇領域内にウイルスを送達した。トランスデューサー出力を10、V=1.52に設定した。

e. この操作をマウス1匹当たり3つのマイクロチップで繰り返した。

10

【0301】

2) 10^7 PFUのVV-HIVを用いた筋肉内ブースターワクチン接種

a. F P V - H I Vプライミングワクチン接種から2週間後、ブースターワクチン接種を実施した。

b. ウイルスをF P V - H I Vの場合と全く同じように超音波処理した。

c. マウスにノーズコーンを用いてイソフルランで麻酔をかけ、VV-HIV 50 μ lを四頭筋からi.m.送達した(計 10^7 pfu)。

【0302】

3) 分析用の脾臓試料およびパイエル板試料の調製

ブースターワクチン接種から14日後、各マウスから脾臓およびパイエル板(PP)を採取し、(Ranasinghera, 2006; Ranasinghera, 2013、Xira, 2012)に記載されている通りに単細胞懸濁液を調製した。

20

【0303】

以下のように、各マウスの脾臓細胞 4×10^6 個を用いて、四量体染色および細胞内サイトカイン染色によりHIV特異的CD8⁺T細胞応答の程度を評価した:

a. (Ranasinghera, 2011、Ranasinghera, 2006、Ranasinghera, 2007、Ranasinghera, 2013に)記載されている通りに四量体染色を実施した。

・細胞をFACS緩衝液中、室温で45分間、K^dGag₁₉₇₋₂₀₅-APC四量体および抗CD8 FITCで染色した。

30

・細胞を洗浄し、0.5%PFAで固定した後、FACSを用いて分析した。

b. このほか、IFN- γ に対する細胞内サイトカイン染色(ICSS)を記載されている通り(Ranasinghera, 2011、Ranasinghera, 2006、Ranasinghera, 2007、Ranasinghera, 2013)に実施した。

・細胞を37 $^{\circ}$ Cおよび5%CO₂で1時間、K^dGag₁₉₇₋₂₀₅ペプチドで一晩刺激した。

・各ウェルにプレフェルジンAを加え、37 $^{\circ}$ Cでさらに5時間インキュベートした。

・細胞をFACS緩衝液中、4 $^{\circ}$ Cで25分間、抗CD8 FITCで表面染色した。

40

・eBioscience社のIC/fixおよびIC/permを用いて細胞を固定/透過処理した。

・次いで、細胞に抗IFN- γ を用いて4 $^{\circ}$ Cで25分間、細胞内染色を実施した。

【0304】

結果および結論:

各実験は2回実施し、図35~37に示されるデータは1つの実験の代表的なものである。図35および36は、HIV特異的四量体の実験結果を示し、図37および38はIFN- γ 染色の実験結果を示している。

【0305】

より具体的には、図35は、四量体染色を用いたHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞を示

50

している。上に記載した通りに脾臓細胞を染色した。FlowJo解析を用いてFACSデータを解析した。四角の囲みは、ワクチン接種後のHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の割合を示している。上段の5つのプロットは口唇/i.m.感作マウスを示し、下段のプロットは2匹の未感作対照マウスを示している。

【0306】

図36は、四量体染色を用いたHIV特異的消化管(粘膜)CD8⁺T細胞を示している。上記の通りにパイエル板の細胞を染色した。FlowJo解析を用いてFACSデータを解析した。四角の囲みは、ワクチン接種後のHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の割合を示している。プロットのうち、上段は1グループ当たり2匹のマウス、全体で計5匹のマウスについてプールした口唇/i.m.感作マウスの結果を示している。下段は、2匹の未感作対照マウスについてプールしたデータである。

10

【0307】

図37は、IFN- γ 細胞内染色を用いたHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の程度を示している。上記の通りに染色を実施し、FlowJo解析によりFACSデータを解析した。上段のプロットはそれぞれ口唇/i.m.感作マウスの結果を示している。四角の囲みは、IFN- γ を発現するHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の割合を示している。下段のプロットは、2匹の未感作対照マウスのデータを表している。

【0308】

図38は、IFN- γ 細胞内染色を用いたHIV特異的消化管(粘膜)CD8⁺T細胞の程度を示している。上記の通りにパイエル板の細胞を染色した。FlowJo解析によりFACSデータを解析した。各プロットは、計5匹のマウスを用い、2匹のプールしたマウスのデータを表している。四角の囲みは、口唇/i.m.感作後のIFN- γ を発現するHIV特異的脾臓CD8⁺T細胞の割合を示している。下段のプロットは2匹の未感作対照マウスを表している。

20

【0309】

結果

1. ライブイメージングのデータから、本発明の実施形態を用いた口唇送達およびi.d.送達後の組換えベクター系ワクチンの取込みおよび発現の均一性が良好であることがわかる。

2. プライムブースト実験のデータから、口唇プライミングによって効果的な粘膜(消化管特異的)免疫および全身HIV特異的CD8⁺T細胞免疫を誘導することが可能であることがわかる。

30

3. デーからほかにも、本発明の装置を口唇/i.d.無針プライムブースト戦略に使用できる可能性が示唆される。このほか、(ヒトに関しては皮膚内への)i.d.送達によって粘膜免疫が改善される可能性がある。(例えば、i.m.ブースターをi.d.ブースターに置き換える)。

【0310】

以上の結果から、BALB/cマウスでは、実施した方法によって一貫性のある免疫的結果を誘導することが可能である(表3および図35~38)ことがわかる。マウス5匹のうち4匹に口唇プライミングに対する効果的な応答がみられたことから、データは、プライミングの効力に一貫性があることを示している。

40

【0311】

7. 参考文献:

RANASINGHE, C., EYERS, F., STAMBAS, J., BOYLE, D. B., RAMSHAW, I. A. & RAMSAY, A. J, 2011. A comparative analysis of HIV-specific mucosal/systemic T cell immunity and avidity following rDNA/rFPV and poxvirus-poxvirus prime boost immunisations. Vaccine, 29, 3008-20

50

RANASINGHE, C., MEDVECZKY, J. C., WOLTRING, D., GAO, K., THOMSON, S., COUPAR, B. E. H., BOYLE, D. B., RAMSAY, A. J. & I. A., R. 2006. Evaluation of fowlpox-vaccinia virus prime-boost vaccine strategies for high-level mucosal and systemic Immunity against HIV-1. Vaccine, 24, 5881-5895

RANASINGHE, C., TRIVEDI, S., STAMBAS, J. & JACKSON, R. J. 2013. Unique IL-13Ralpha2-based HIV-1 vaccine strategy to enhance mucosal immunity, CD8(+) T-cell avidity and protective immunity. Mucosal Immunol, 6, 1068-80

10

RANASINGHE, C., TURNER, S. J., MCARTHUR, C., SUTHERLAND, D. B., KIM, J. H., DOHERTY, P. C. & RAMSHAW, I. A. 2007. Mucosal HIV-1 pox virus prime-boost immunization Induces high-avidity CD8+T cells with regime-dependent cytokine/granzyme B profiles. J Immunol., 178, 2370-9

20

TRIVEDI, S., JACKSON, R. J. & RANASINGHE, C. 2014. Different HIV pox viral vector-based vaccines and adjuvants can induce unique antigen presenting cells that modulate CD8 T cell avidity. Virology, 468-470, 479-89.

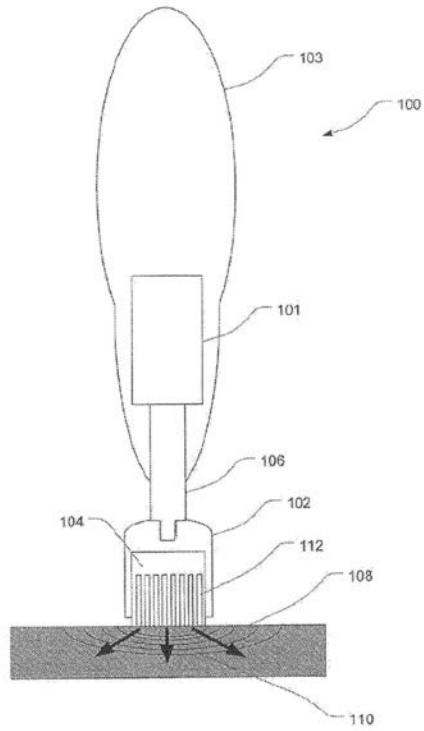
XI, Y., DAY, S. L., JACKSON, R. J. & RANASINGHE, C. 2012. Role of novel type I interferon epsilon in viral infection and mucosal immunity. Mucosal Immunol, 5(6), 610-622.

30

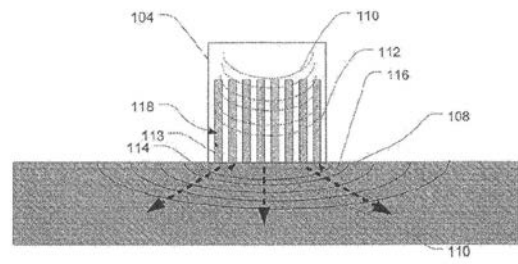
【0312】

本明細書に開示および明記される本発明は、本文または図面に記載されているか、これより明らかである個々の特徴をまた別に2つ以上組み合わせたものすべてに及ぶことが理解されよう。これらの様々な組合せはいずれも、本発明の様々な代替的態様を構成するものである。

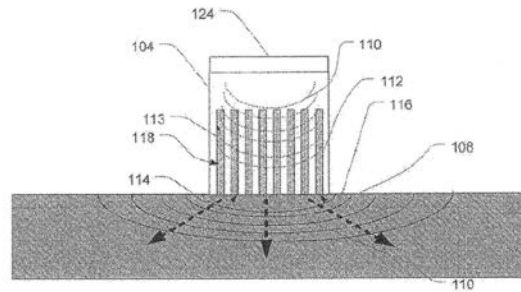
【図 1 A】



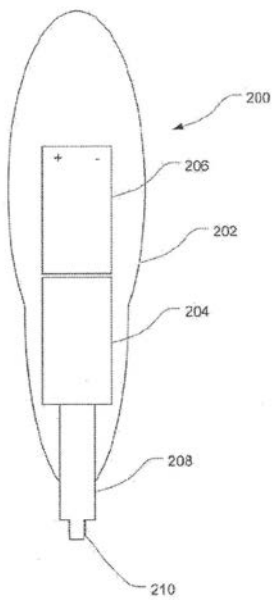
【図 1 B】



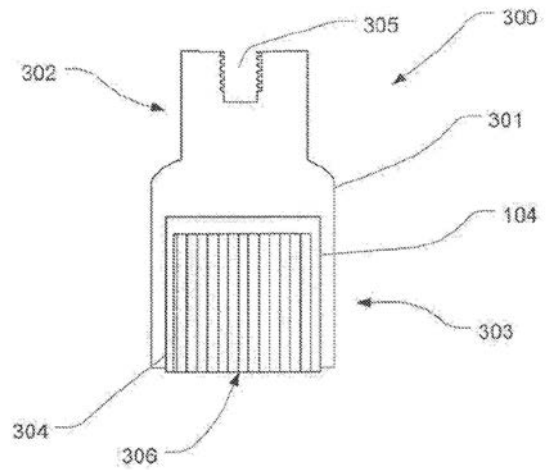
【図 1 C】



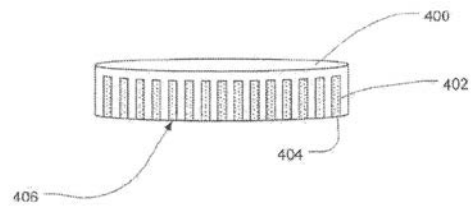
【図 2】



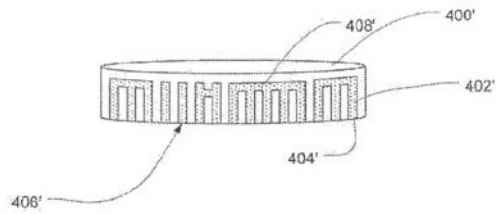
【図 3】



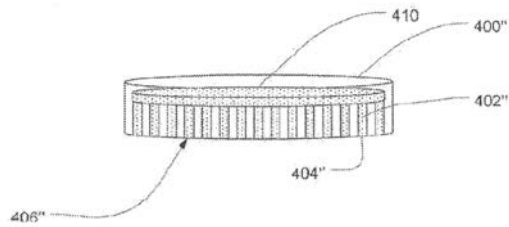
【図 4 A】



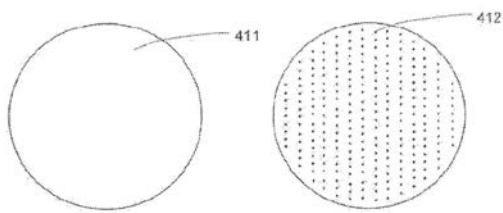
【図 4 B】



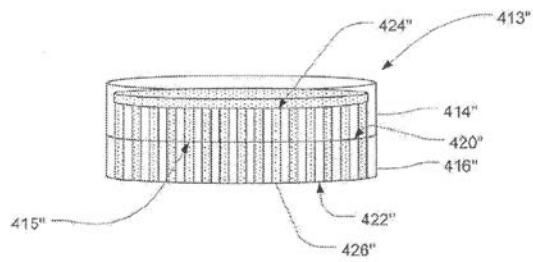
【図 4 C】



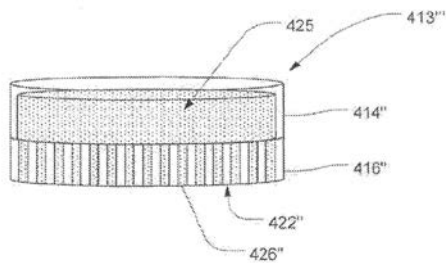
【図 4 D】



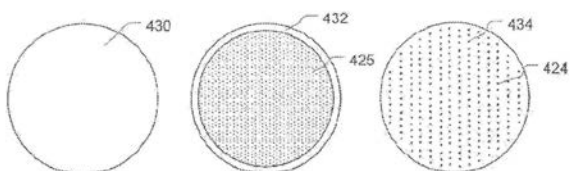
【図 4 G】



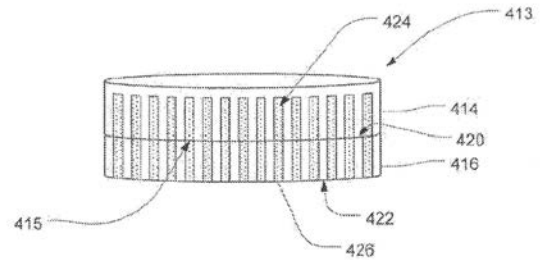
【図 4 H】



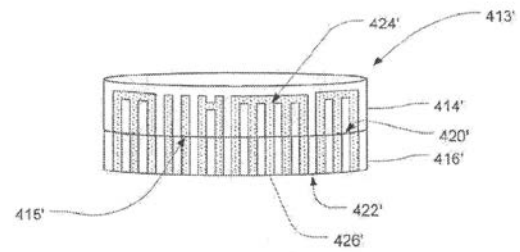
【図 4 I】



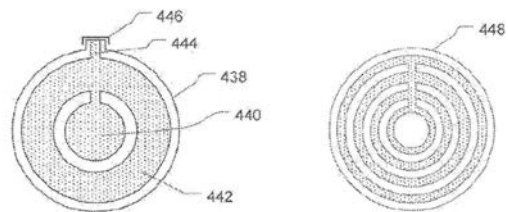
【図 4 E】



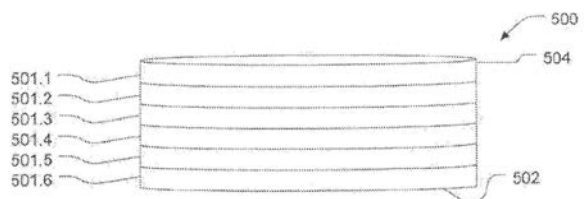
【図 4 F】



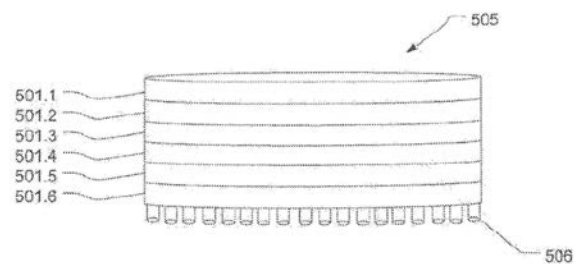
【図 4 J】



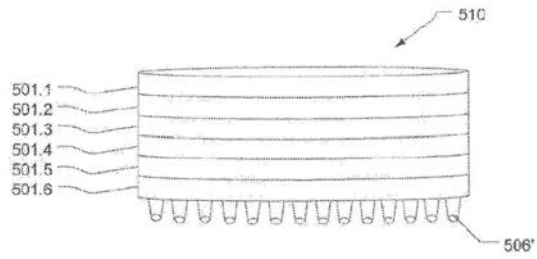
【図 5 A】



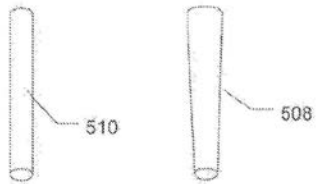
【図 5 B】



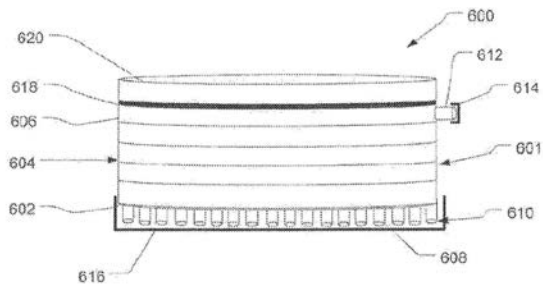
【図 5 C】



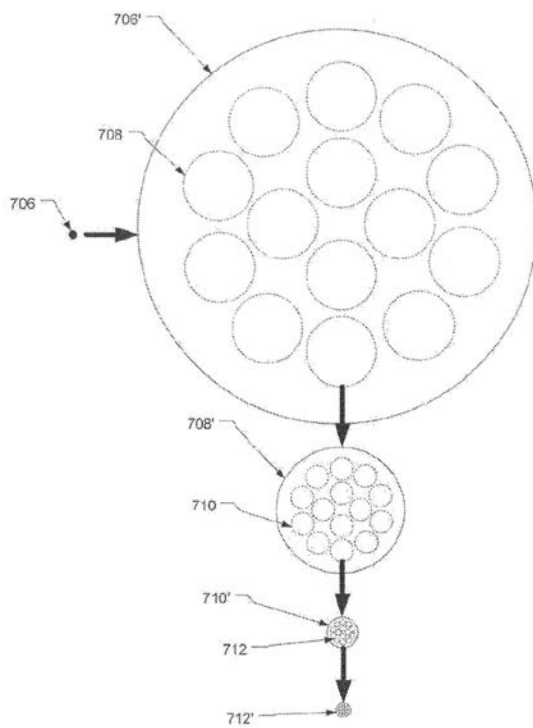
【図 5 D】



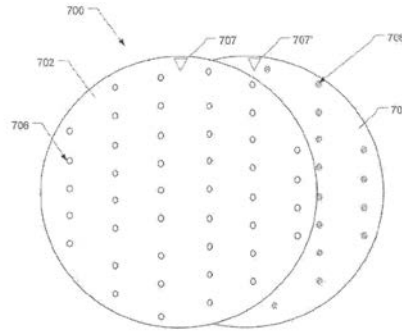
【図 6】



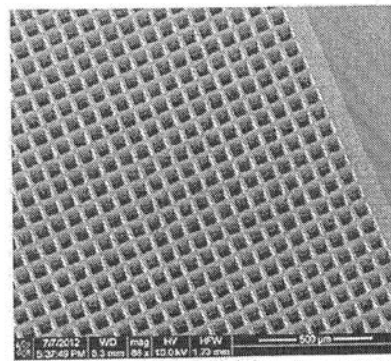
【図 7 B】



【図 7 A】



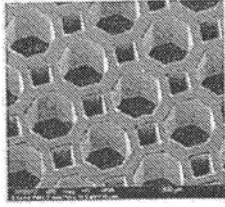
【図 7 C】



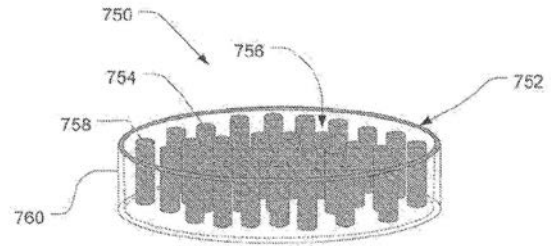
【図 7 D】



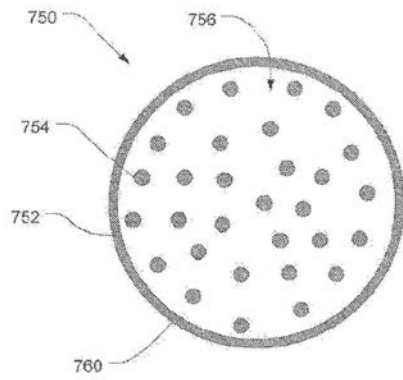
【図 7 E】



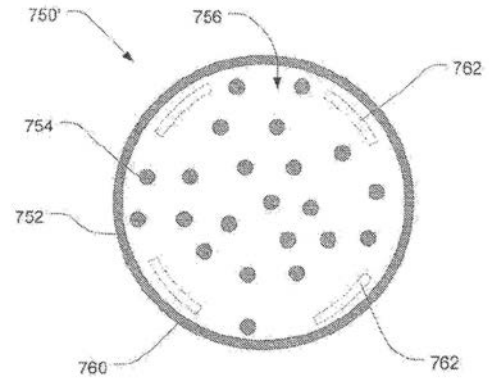
【図 8 B】



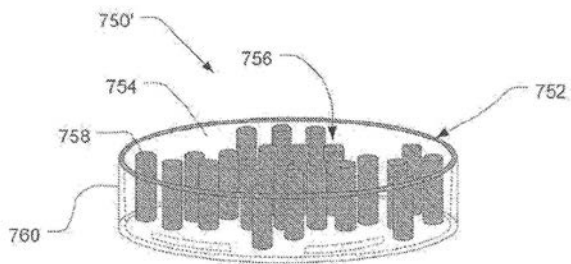
【図 8 A】



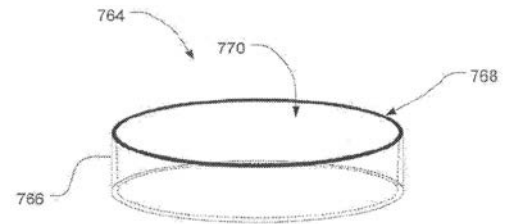
【図 8 C】



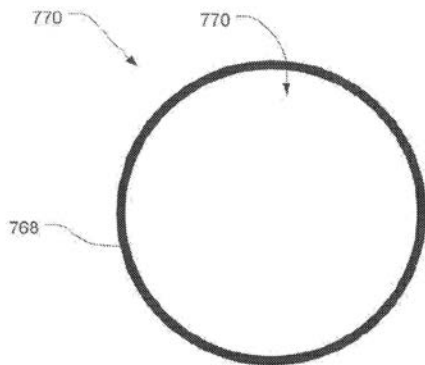
【図 8 D】



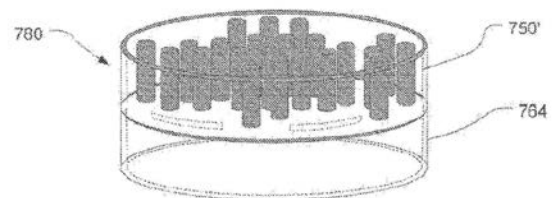
【図 8 F】



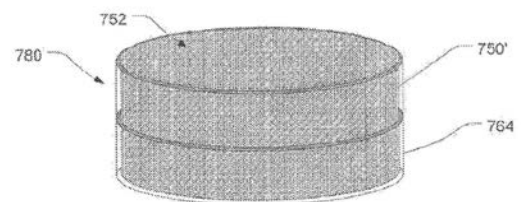
【図 8 E】



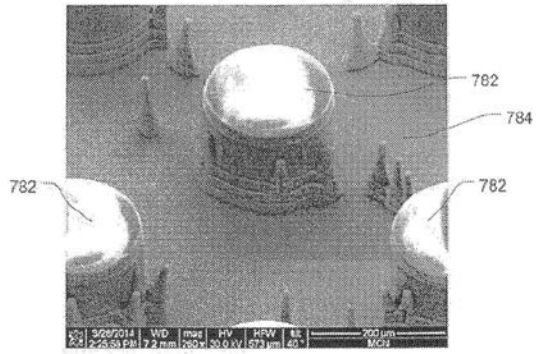
【図 8 G】



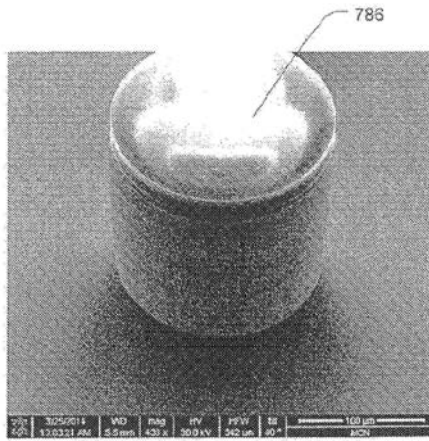
【図 8 H】



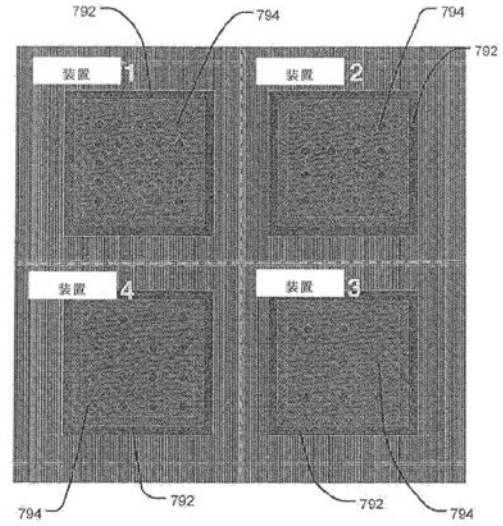
【図 9 A】



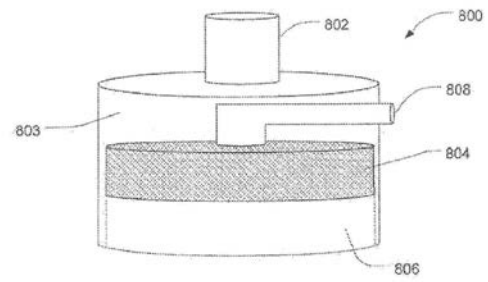
【図 9 B】



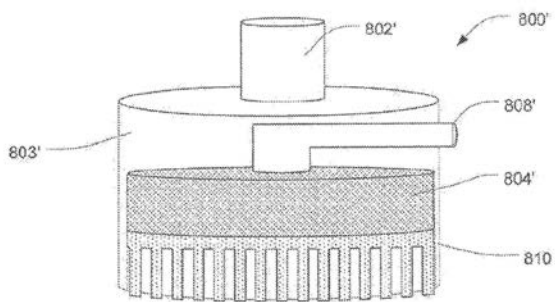
【図 10】



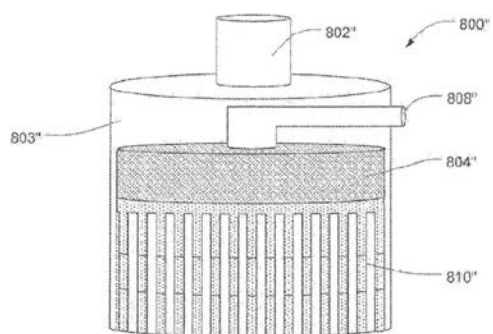
【図 11 A】



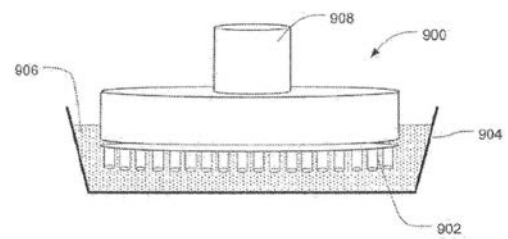
【図 11 B】



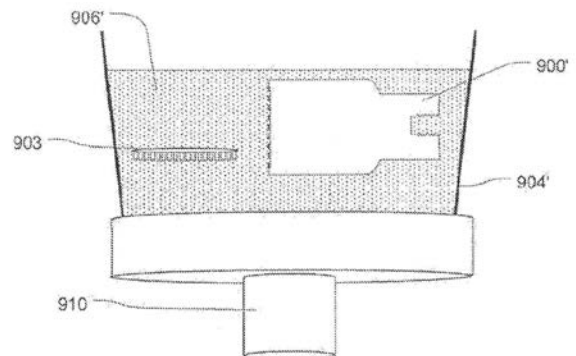
【図 11 C】



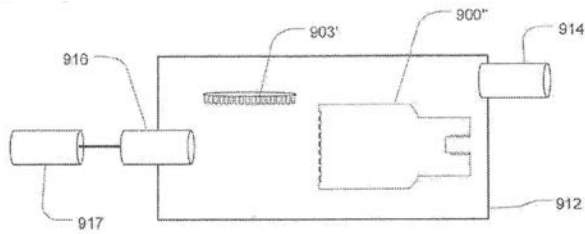
【図 12 A】



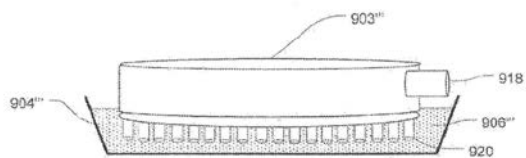
【図 12 B】



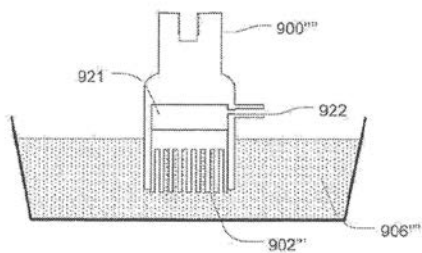
【図 12 C】



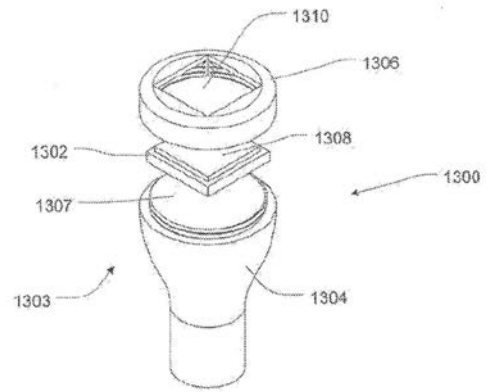
【図 12 D】



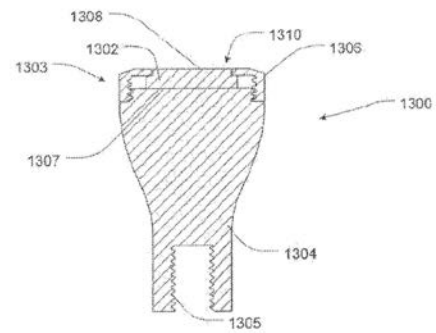
【図 12 E】



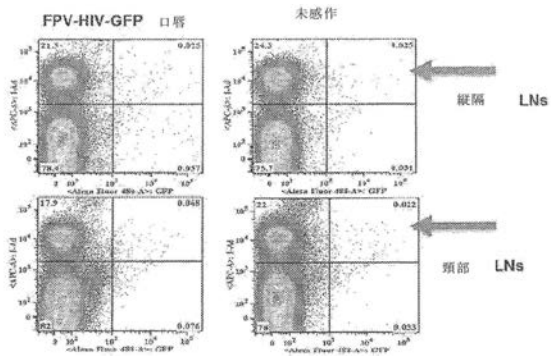
【図 13 A】



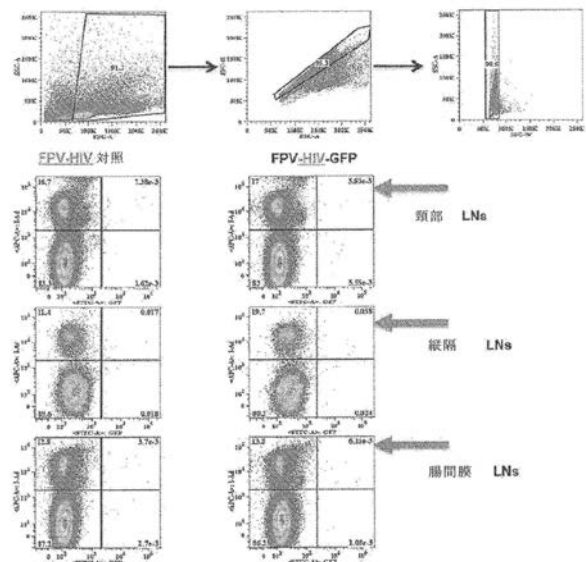
【図 13 B】



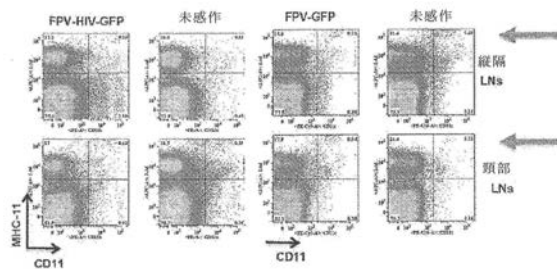
【図 14】



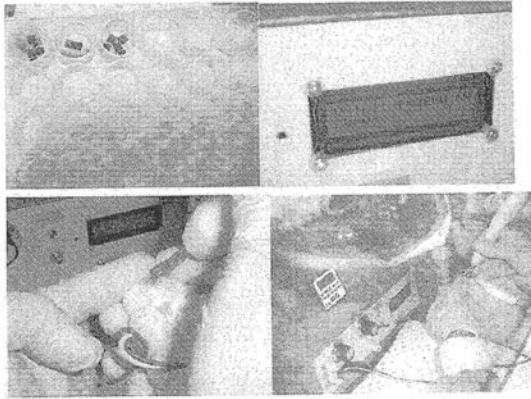
【図 16】



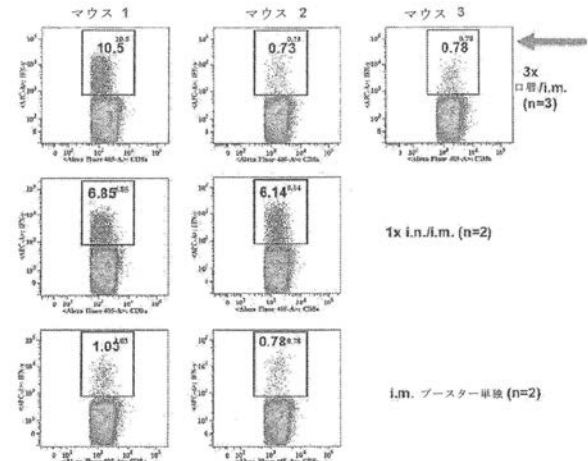
【図 15】



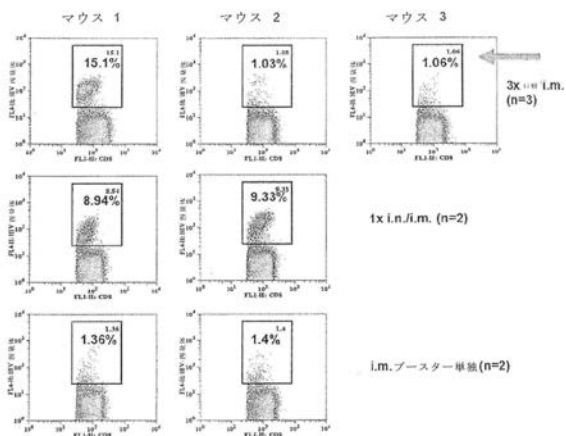
【図 17】



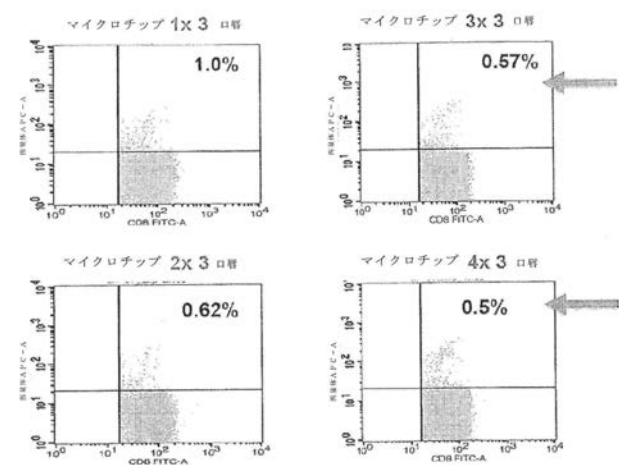
【図 18】



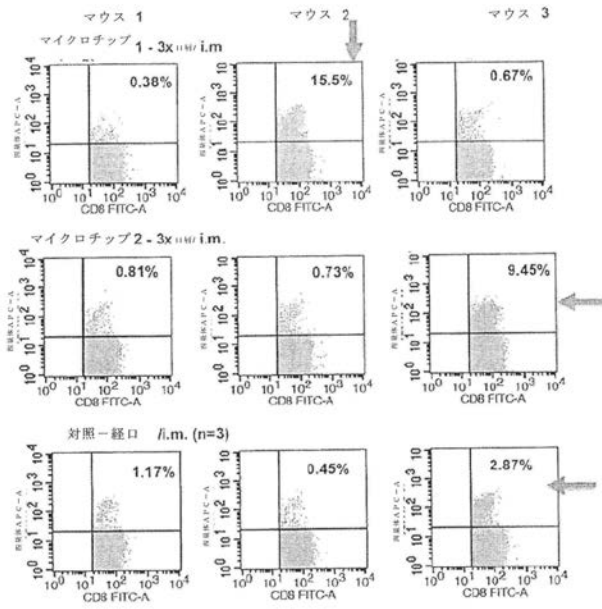
【図 19】



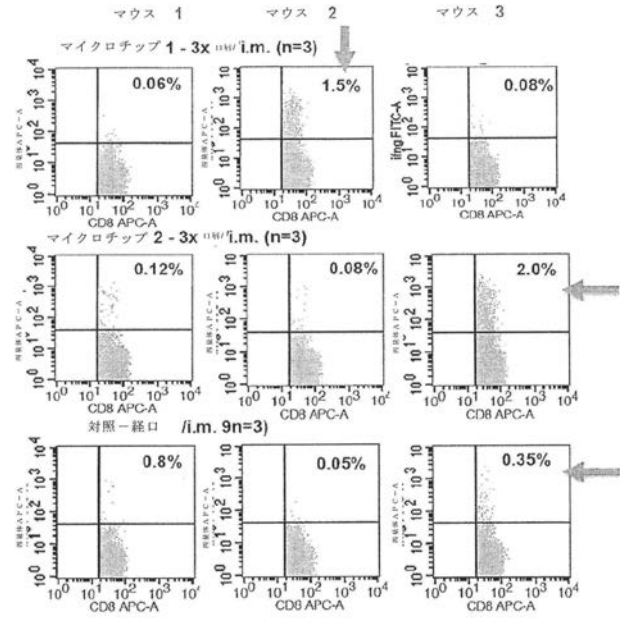
【図 20】



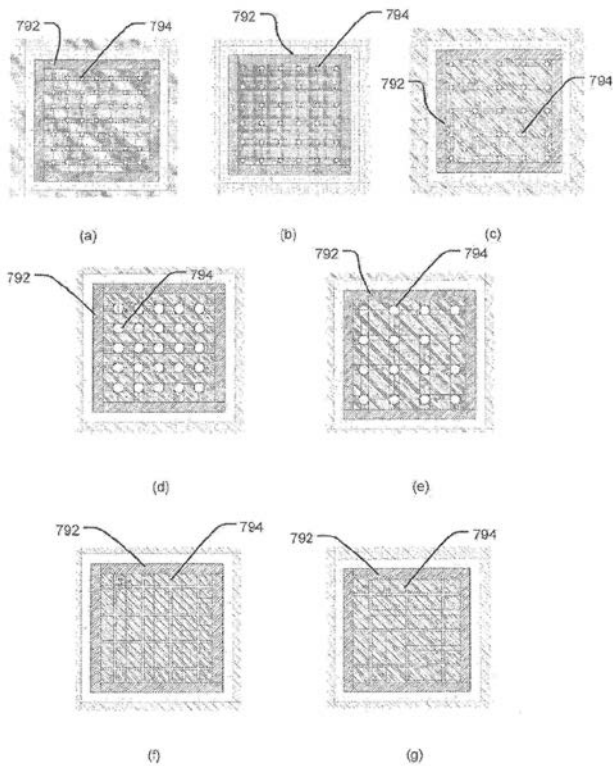
【図 2 1】



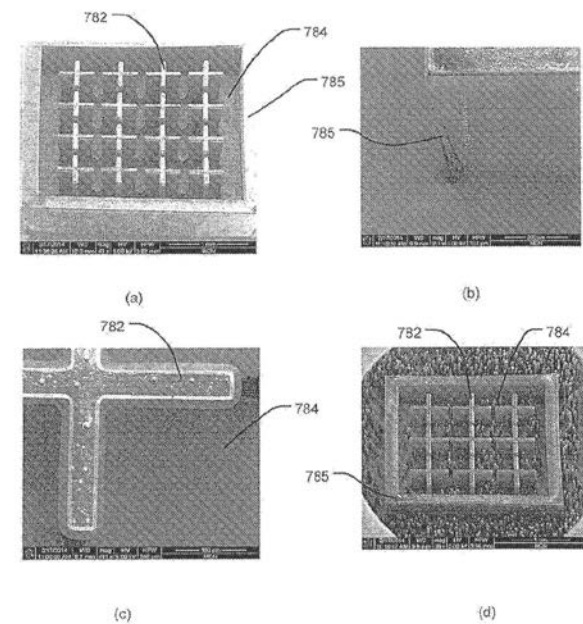
【図 2 2】



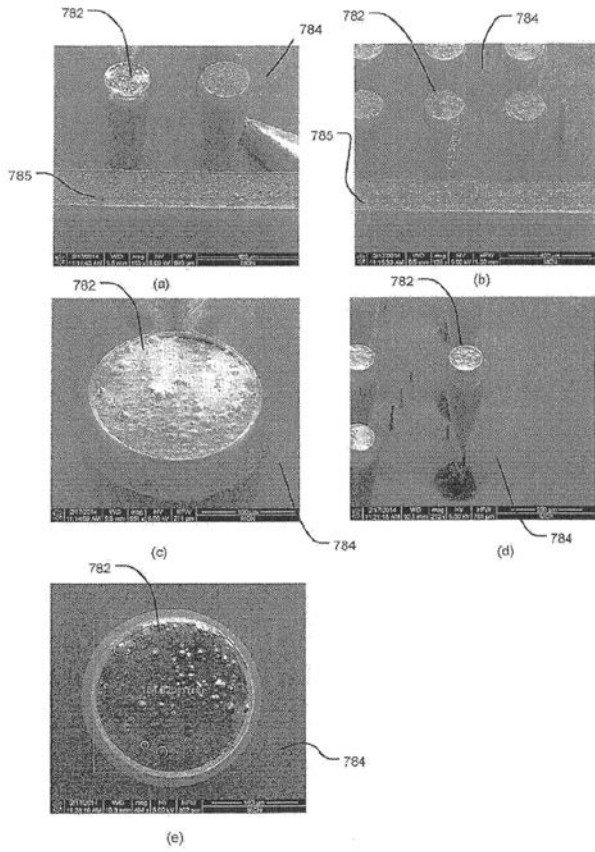
【図 2 3】



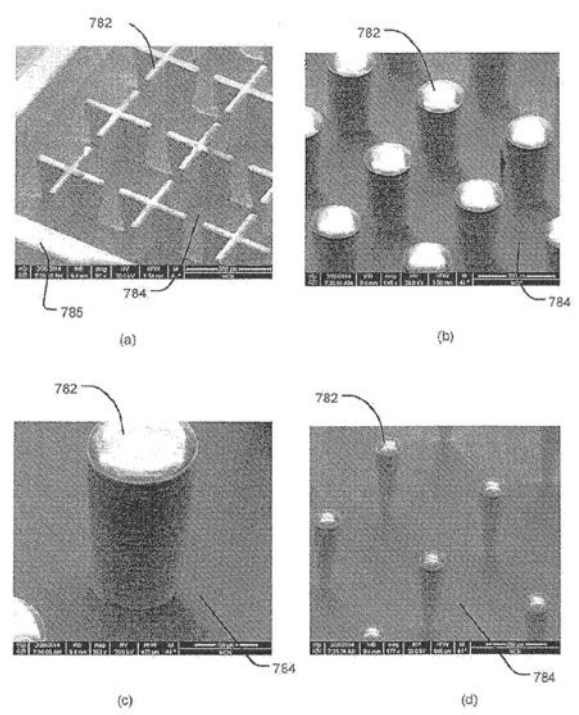
【図 2 4】



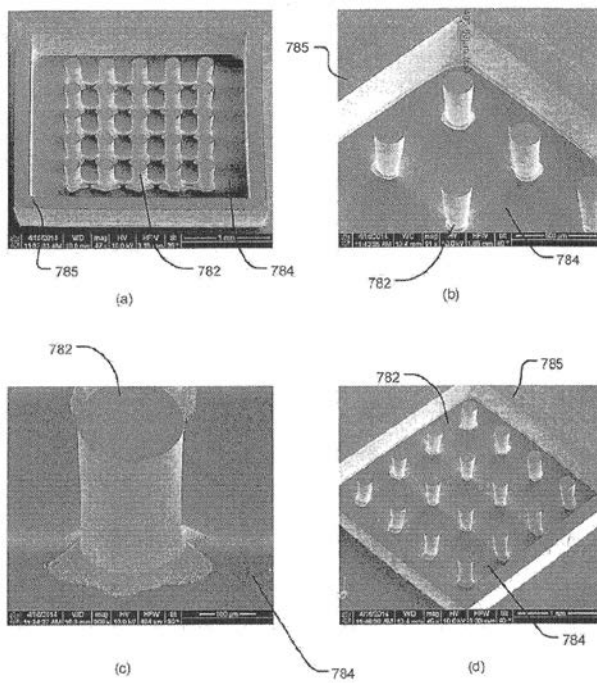
【図 25】



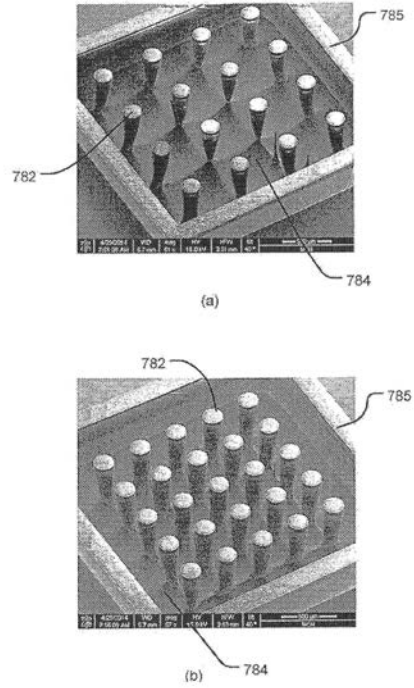
【図 26】



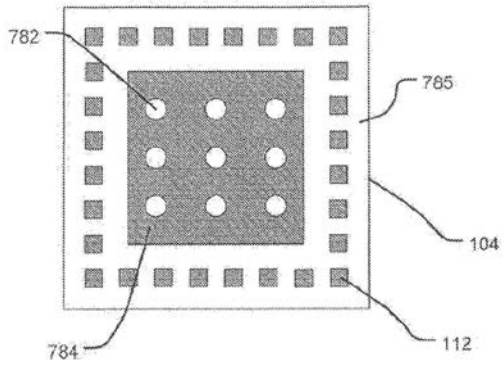
【図 27】



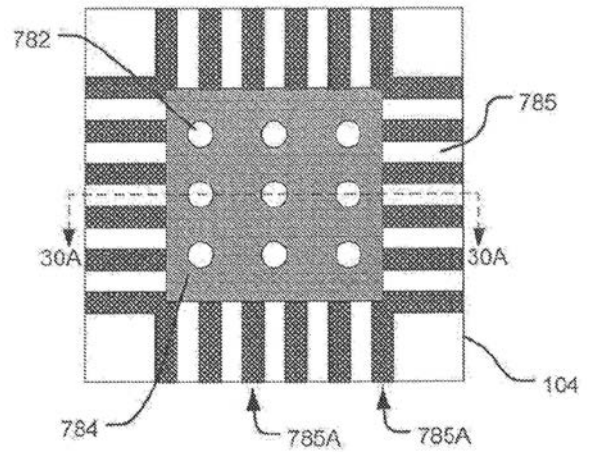
【図 28】



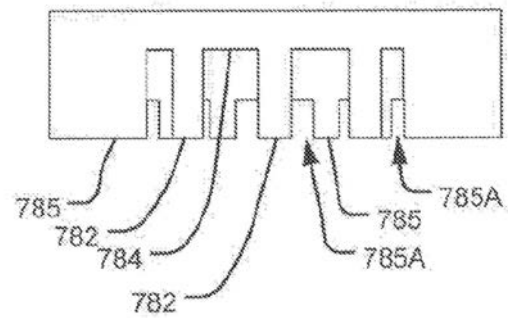
【図 29】



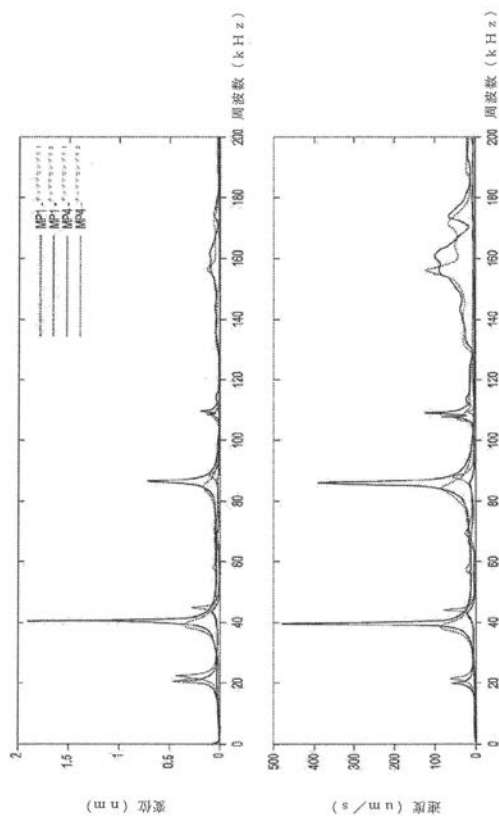
【図 30】



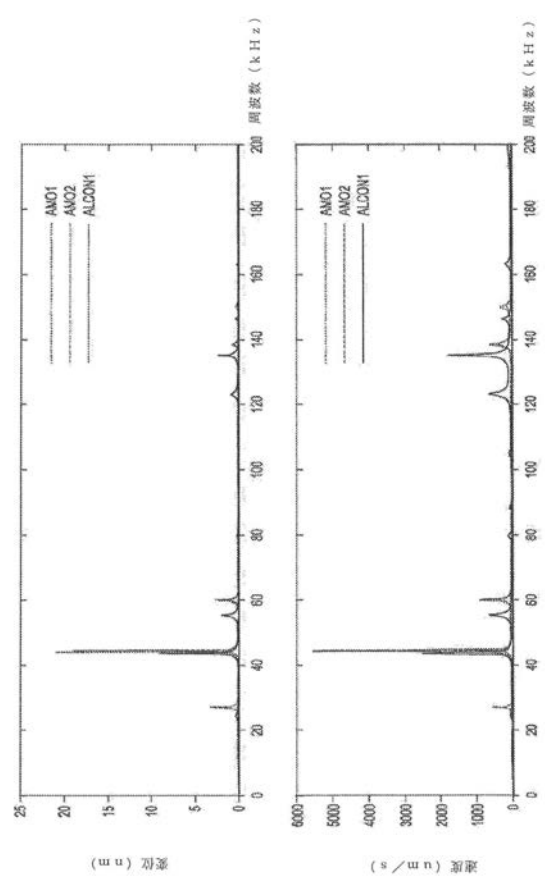
【図 30A】



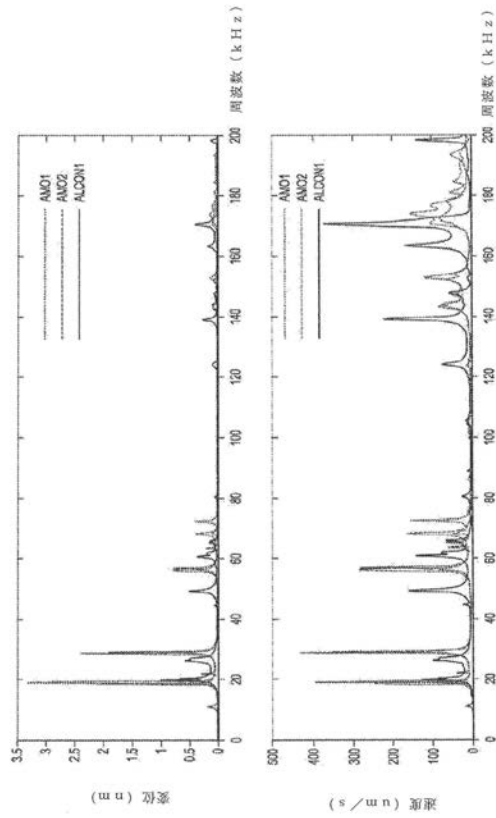
【図 31A】



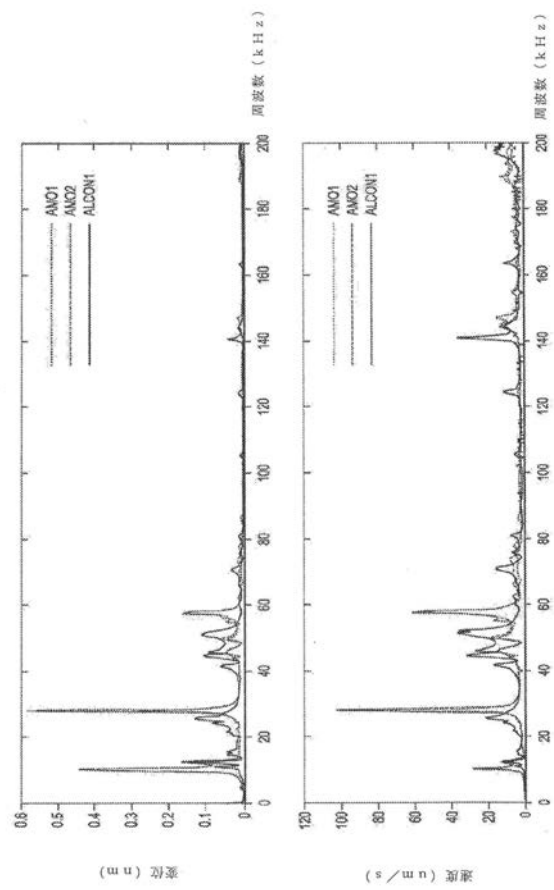
【図 31B】



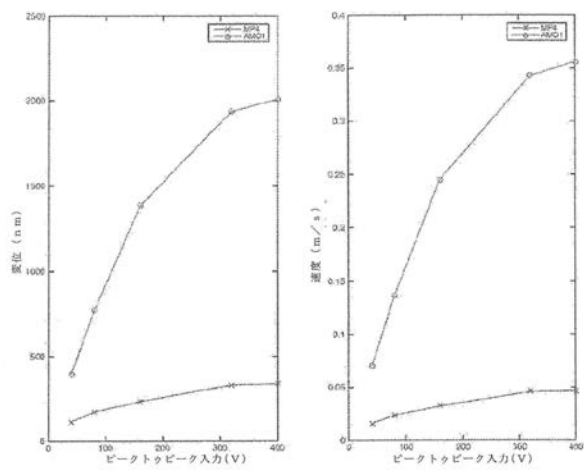
【図 3 1 C】



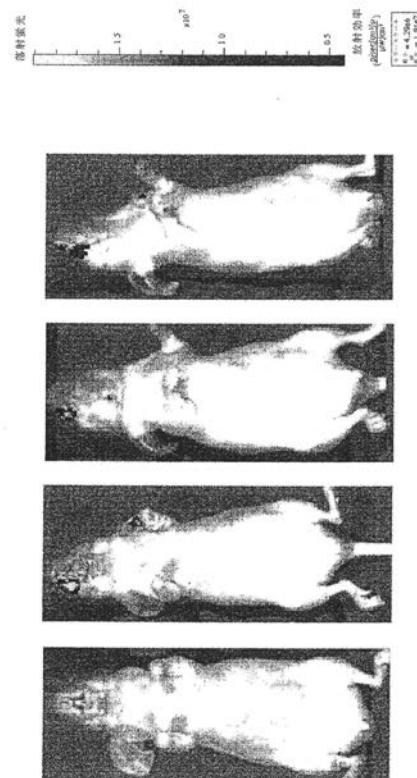
【図 3 1 D】



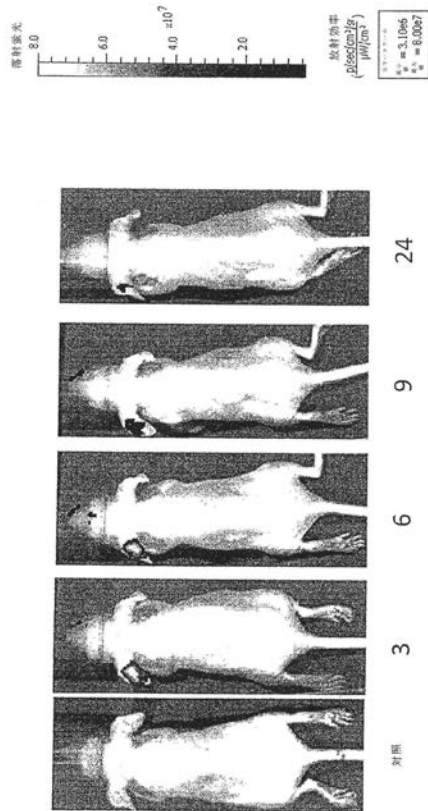
【図 3 2】



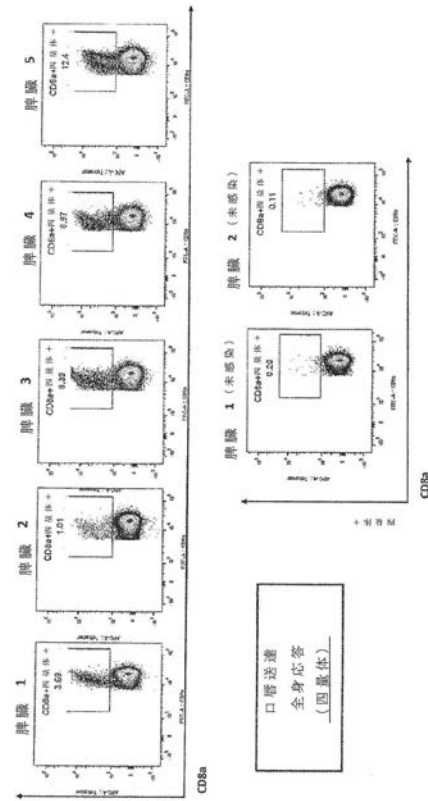
【図 3 3】



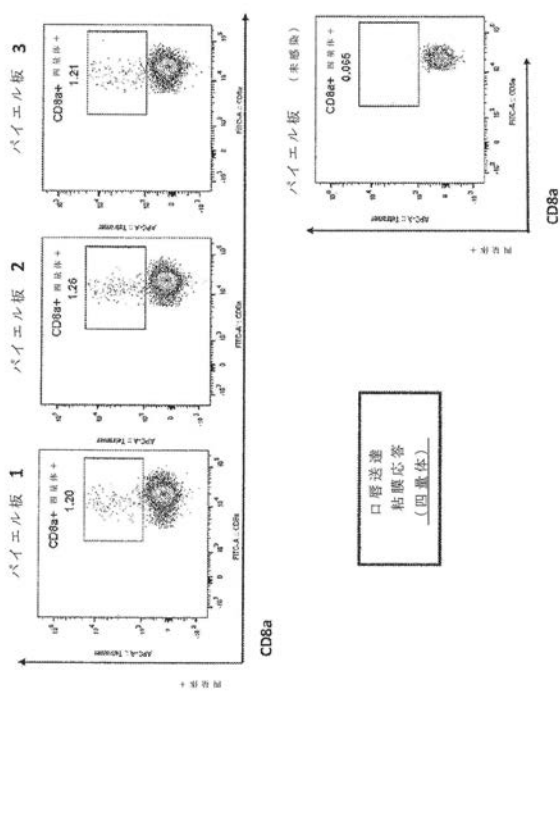
【図 3 4】



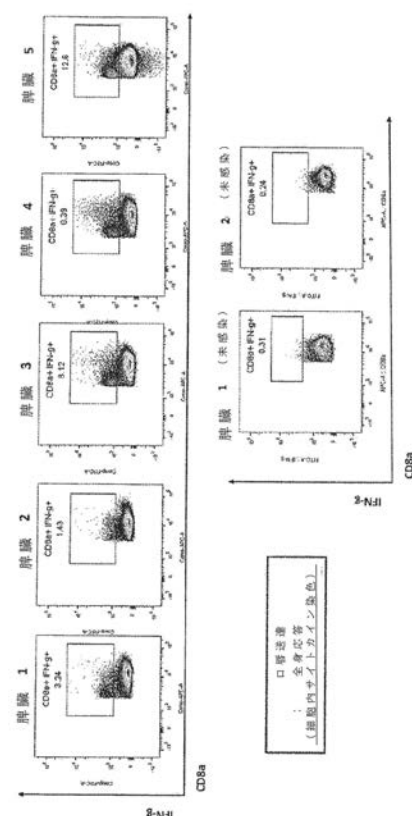
【図 3 5】



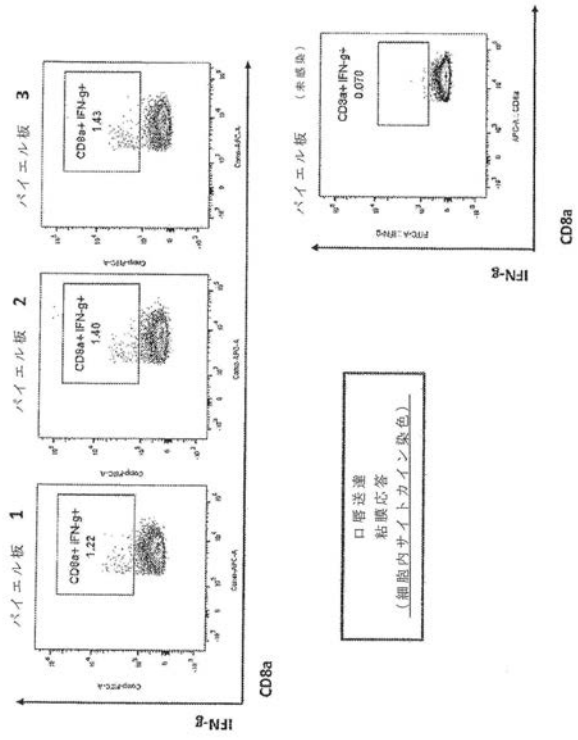
【図 3 6】



【図 3 7】



【図 38】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/AU2015/050707
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61M 37/00 (2006.01)		
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)		
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) EPODOC, TXTE and A61M 37/0092 and keywords: vaccine and mucous and epithelia and similar terms Espace: Applicant and inventor name searches.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex		
* "A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 1 December 2015		Date of mailing of the international search report 01 December 2015
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustalia.gov.au		Authorised officer David Melhuish AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. 0262832426

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/AU2015/050707
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	US 2005/0153873 A1 (CHAN et al.) 14 July 2005 paragraphs 6 to 8, 42, 46, 47, 121 and 200 to 204 paragraphs 6 to 8, 42, 46, 47, 121 and 200 to 204	1 to 19, 24 to 30 16 to 23
X Y	US 8870810 B2 (MITRAGOTRI et al.) 28 October 2014 column 29 line 45 to column 31 line 18 column 29 line 45 to column 31 line 18	1 to 15 16 to 23
X Y	US 6322532 B1 (D'SA et al.) 27 November 2001 column 1 lines 8 to 13, column 5 paragraphs 2 and 3 column 1 lines 8 to 13, column 5 paragraphs 2 and 3	1 to 15 16 to 23
Y	US 6440096 B1 (LASTOVICH et al.) 27 August 2002 figures 5 and 11	16 to 23
P,X	WO 2014/179840 A1 (MUPHARMA PTY LTD) 13 November 2014 page 3 lines 1 to 20, page 2 line 18	1 to 30
<p>Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2009)</p>		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/AU2015/050707	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
US 2005/0153873 A1	14 July 2005	US 2005153873 A1	14 Jul 2005
		AR 046697 A1	21 Dec 2005
		AU 2004314416 A1	04 Aug 2005
		BR PI0417757 A	10 Apr 2007
		CA 2552754 A1	04 Aug 2005
		CN 1946452 A	11 Apr 2007
		EP 1706176 A2	04 Oct 2006
		JP 2007519446 A	19 Jul 2007
		KR 20060134050 A	27 Dec 2006
		MX PA06007832 A	26 Jan 2007
		WO 2005069758 A2	04 Aug 2005
US 8870810 B2	28 October 2014	US 2013035566 A1	07 Feb 2013
		US 8870810 B2	28 Oct 2014
		AU 740999 B2	22 Nov 2001
		AU 781149 B2	05 May 2005
		AU 2109199 A	26 Jul 1999
		AU 2191900 A	03 Jul 2000
		AU 4580901 A	03 Oct 2001
		AU 2005302493 A1	11 May 2006
		AU 2005302584 A1	11 May 2006
		AU 2005302584 B2	11 Aug 2011
		AU 2006216455 A1	31 Aug 2006
		BR PI0517236 A	07 Oct 2008
		BR PI0517255 A	07 Oct 2008
		CA 2317777 A1	15 Jul 1999
		CA 2355184 A1	22 Jun 2000
		CA 2374751 A1	27 Sep 2001
		CA 2584699 A1	11 May 2006
		CA 2585081 A1	11 May 2006
		CA 2598751 A1	31 Aug 2006
		CN 101065060 A	31 Oct 2007
		CN 101087822 A	12 Dec 2007
		CN 101087822 B	30 May 2012
		EP 1045714 A1	25 Oct 2000
		EP 1139886 A1	10 Oct 2001

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/AU2015/050707	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
		EP 1225831 A2	31 Jul 2002
		EP 1819283 A2	22 Aug 2007
		EP 1851255 A1	07 Nov 2007
		EP 1851255 B1	12 Aug 2015
		EP 1853176 A2	14 Nov 2007
		HK 1115602 A1	15 Mar 2013
		JP 2008519099 A	05 Jun 2008
		JP 5416352 B2	12 Feb 2014
		JP 2008518662 A	05 Jun 2008
		JP 5502279 B2	28 May 2014
		JP 2002500075 A	08 Jan 2002
		JP 2002532130 A	02 Oct 2002
		JP 2003527613 A	16 Sep 2003
		JP 2012068263 A	05 Apr 2012
		JP 2014057885 A	03 Apr 2014
		KR 20070085460 A	27 Aug 2007
		MX 2007005101 A	04 Jul 2007
		NO 20072702 A	27 Jul 2007
		NZ 554624 A	26 Nov 2010
		RU 2007119546 A	10 Dec 2008
		TW I387605 B	01 Mar 2013
		US 6190315 B1	20 Feb 2001
		US 2003100846 A1	29 May 2003
		US 7066884 B2	27 Jun 2006
		US 2006094946 A1	04 May 2006
		US 8224414 B2	17 Jul 2012
		US 2004236268 A1	25 Nov 2004
		US 8287483 B2	16 Oct 2012
		US 2004171980 A1	02 Sep 2004
		US 2006015058 A1	19 Jan 2006
		US 2006094944 A1	04 May 2006
		US 2006094945 A1	04 May 2006
		US 2008311670 A1	18 Dec 2008
		WO 0035357 A1	22 Jun 2000
		WO 0170330 A2	27 Sep 2001
		WO 9934857 A1	15 Jul 1999
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.			

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/AU2015/050707	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
US 6322532 B1	27 November 2001	WO 2006050031 A2	11 May 2006
		WO 2006050032 A2	11 May 2006
		WO 2006050033 A2	11 May 2006
		WO 2006050033 B1	14 Dec 2006
		WO 2006050115 A1	11 May 2006
		WO 2006091877 A2	31 Aug 2006
		ZA 200704127 A	27 Aug 2008
		US 6322532 B1	27 Nov 2001
		AU 746035 B2	11 Apr 2002
		AU 4679299 A	10 Jan 2000
US 6440096 B1	27 August 2002	CA 2335502 A1	29 Dec 1999
		EP 1089788 A1	11 Apr 2001
		EP 1089788 B1	01 Oct 2003
		JP 2002518142 A	25 Jun 2002
		MX PA00012778 A	24 Apr 2002
		WO 9966980 A1	29 Dec 1999
		US 6440096 B1	27 Aug 2002
		AU 7334001 A	30 Jan 2002
		EP 1301237 A2	16 Apr 2003
		EP 1301237 B1	29 Nov 2006
WO 2014/179840 A1	13 November 2014	JP 2004503342 A	05 Feb 2004
		JP 4892166 B2	07 Mar 2012
		US 2002183688 A1	05 Dec 2002
		WO 0205890 A2	24 Jan 2002
		WO 2014179840 A1	13 Nov 2014
End of Annex			
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.			

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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

(72)発明者 アンガー , マーク

オーストラリア ヴィクトリア 3 1 4 2 トゥーラック ワシントン ストリート 6 / 3

(72)発明者 ランゲリアー , ショーン マイケル

オーストラリア ヴィクトリア 3 1 8 8 ハンプトン イースト カリントン ストリート 2
2

F ターム(参考) 4C053 HH02

4C167 AA71 BB45 CC01 EE07