

(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2017-525407

(P2017-525407A)

(43) 公表日 平成29年9月7日(2017.9.7)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 6 1 C 8/00 (2006.01)	A 6 1 C 8/00	Z 4 C 0 8 4
A 6 1 C 13/007 (2006.01)	A 6 1 C 13/007	Z N A 4 C 1 5 9
A 6 1 K 38/08 (2006.01)	A 6 1 K 38/08	4 H 0 4 5
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-573918 (P2016-573918)	(71) 出願人	505043041 株式会社スリー・ディー・マトリックス 東京都千代田区麹町三丁目2番4号
(86) (22) 出願日	平成27年6月19日 (2015.6.19)	(71) 出願人	512024026
(85) 翻訳文提出日	平成29年2月10日 (2017.2.10)		フォーシス テンタル インファーマリー フォー チルドレン
(86) 國際出願番号	PCT/US2015/036590		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ケ ンブリッジ ファースト ストリート 2 45
(87) 國際公開番号	W02015/196020	(74) 代理人	100107489 弁理士 大塙 竹志
(87) 國際公開日	平成27年12月23日 (2015.12.23)	(72) 発明者	スピリオ, リサ アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02 421, レキシントン, ケーリー ア ベニュー 45
(31) 優先権主張番号	62/015,114		
(32) 優先日	平成26年6月20日 (2014.6.20)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】歯の骨間隙を充填するための材料および方法

## (57) 【要約】

サイナスリフト手順の間などの歯の骨間隙充填のための材料および方法が提供されている。溶液中に約7アミノ酸から約32アミノ酸を含むペプチドを、標的部位に導入することができる。ペプチドは、生理的条件下、かつ／または陽イオンの存在下で自己組織化を起こすことができる。一局面では、被験体にサイナスリフト手順を実施する方法が提供され、この方法は、上記被験体の口に送達デバイスを導入するステップと、歯槽骨成長の促進が望まれる上記被験体の後方上顎骨中の標的部位の近位に上記送達デバイスの端部を位置付けるステップと、上記標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で約7から約32の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を上記送達デバイスによって投与するステップと、上記被験体の上記口から上記送達デバイスを除去するステップとを含む。



FIG. 2B

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

被験体にサイナスリフト手順を実施する方法であって、  
前記被験体の口に送達デバイスを導入するステップと、  
歯槽骨成長の促進が望まれる前記被験体の後方上顎骨中の標的部位の近位に前記送達デバイスの端部を位置付けるステップと、  
前記標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で約 7 から約 32 の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を前記送達デバイスによって投与するステップと、  
前記被験体の前記口から前記送達デバイスを除去するステップと  
を含む、方法。

**【請求項 2】**

所定の時間後に前記標的部位で増強された歯槽骨中にインプラントを固定するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記所定の時間が、約 3 カ月から約 6 カ月の間である、請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記増強された歯槽骨が、少なくとも約 35 % のバイタルな骨密度によって特徴付けられる、請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 5】**

埋め込みと同時に前記標的部位で追加の体積の前記ペプチド溶液を投与するステップをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記ペプチド溶液の投与と同時に前記後方上顎骨中の前記標的部位でインプラントを固定するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

所定の時間後に前記標的部位を可視化して歯槽骨増強を評価するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

歯槽骨成長を促進するのに有効な前記濃度が、約 0.1 重量 / 体積 (w/v) パーセント～約 3 w/v パーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記溶液中の前記ペプチドが、(RADA)<sub>4</sub> を含む、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 10】**

投与される前記ペプチド溶液の体積が、約 1 mL から約 5 mL の間である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記標的部位の領域内で洞膜を支持して前記ヒドロゲル足場の形成のための空間をもたらすステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記自己組織化ペプチドが、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる約 16 アミノ酸を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記ペプチド溶液が、実質的に非生物学的に活性である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 14】**

投与の前にペプチド溶液を自家移植片または同種移植片と混合するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 15】**

埋め込みの際に前記標的部位で約 2 mm 未満の放射線透過写真法での骨減少と関連している、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 16】**

IgG反応と関連していない、請求項1に記載の方法。

**【請求項 17】**

外科手術後に使用される、請求項1に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記ペプチド溶液の投与後に前記標的部位で創傷包帯を施用するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記ヒドロゲル足場が、約10ナノメートル～約20ナノメートルの直径を有するナノファイバーを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 20】**

被験体における歯の骨間隙を充填するためのキットであって、

標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液；ならびに

前記被験体の歯槽骨中の前記標的部位に前記溶液を投与するための指示を含む、キット。

**【請求項 21】**

前記有効量および前記有効濃度の少なくとも1つが、前記標的部位の寸法に部分的に基づく、請求項20に記載のキット。

**【請求項 22】**

歯槽骨成長を促進するのに有効な前記濃度が、約0.1w/vパーセント～約3w/vパーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む、請求項20に記載のキット。

**【請求項 23】**

前記溶液中の前記ペプチドが、(RAD A)<sub>4</sub>を含む、請求項22に記載のキット。

**【請求項 24】**

前記ペプチド溶液が、実質的に非生物学的に活性である、請求項20に記載のキット。

**【請求項 25】**

前記自己組織化ペプチドが、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる約16アミノ酸を含む、請求項20に記載のキット。

**【請求項 26】**

前記ペプチド溶液が、抗生素および抗炎症剤の少なくとも1種を含む、請求項20に記載のキット。

**【請求項 27】**

前記指示が、投与の前に自家移植片または同種移植片を前記ペプチド溶液と混合することを記載する、請求項20に記載のキット。

**【請求項 28】**

投与の前にペプチド溶液と混合されるセラミックをさらに含む、請求項20に記載のキット。

**【請求項 29】**

前記指示が、前記標的部位での同時的な前記ペプチド溶液の投与およびインプラントの固定を伴うワンステップ手順に関する、請求項20に記載のキット。

**【請求項 30】**

前記指示が、前記標的部位での前記ペプチド溶液の投与、および引き続く所定の時間後の前記標的部位での増強された歯槽骨内のインプラントの固定を伴うツーステップ手順に関する、請求項20に記載のキット。

**【請求項 31】**

前記所定の時間が、約3カ月～約6カ月である、請求項30に記載のキット。

**【請求項 32】**

サイナスリフト手順中に洞膜を支持するように構成されたバリアをさらに含む、請求項

10

20

30

40

50

20に記載のキット。

【請求項33】

前記ペプチド溶液が、実質的に非顆粒状である、請求項20に記載のキット。

【請求項34】

前記ペプチド溶液の投与を助長するためのシリングおよびカニューレの少なくとも1つをさらに含む、請求項20に記載のキット。

【請求項35】

創傷包帯をさらに含む、請求項20に記載のキット。

【請求項36】

同種移植片をさらに含む、請求項20に記載のキット。

10

【請求項37】

歯科用インプラントをさらに含む、請求項20に記載のキット。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1つまたは複数の態様は一般に、医学、研究、および工業上の適用で使用され得る材料および方法に関する。より具体的には、1つまたは複数の態様は、歯の骨間隙を充填するのに使用することができる材料および方法に関し、サイナスリフト手順を容易にするのに使用することができる膜、ヒドロゲル、組成物、および溶液を含む。

20

【背景技術】

【0002】

サイナスエレベーション(sinus elevation)手順は、上顎洞(maxillary sinus)の含氣化の場合における将来のインプラント配置のために後方上顎骨を増強することによる稜線保存の成功裏の方法として過去20年において十分に記載されている。

30

【0003】

洞骨(sinus bone)移植片のためのいくつかの材料が試験されている。3~5年時間枠における90%の成功率が、増強された洞中に配置されたインプラントの生着(survival)分析において報告された。この値は、骨移植片が使用されなかつ天然の上顎骨中に配置されたインプラントについて公開された結果より良好である。

30

【0004】

文献の分析に基づけば、どの材料または技法が洞増強に優れているかを確信をもって述べることは依然として可能でない。サイナスリフト(sinus lift)手術に関連した課題の1つは、移植、インプラント配置、およびエリアの回復の間に要求される長い治癒時間である。増強材料としての自家骨の使用が一般に、優れていると考えられているが、収集のための第2の手術部位を必要とする。同種移植片の使用は、疾患伝播の潜在的なリスクを負う。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

40

【0005】

1つまたは複数の態様によれば、被験体におけるサイナスリフト手順を実施する方法が提供されている。本方法は、被験体の口の中に送達デバイスを導入することと、歯槽骨成長の促進が望まれる被験体の後方上顎骨の標的部位の近位で送達デバイスの端部を位置付けることと、標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量で、かつ有効濃度で約7から約32の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を送達デバイスによって投与することと、被験体の口から送達デバイスを除去することとを含み得る。

【0006】

1つまたは複数の態様によれば、被験体における歯の骨間隙を充填するためのキットが

50

提供されている。キットは、標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液、ならびに被験体の歯槽骨中の標的部位に溶液を投与するための指示を含むことができる。

**【0007】**

さらに他の態様および実施形態は、以下に詳細に論じられている。さらに、上記の情報および以下の詳細な説明はともに、様々な態様および実施形態の単に実例的な例であり、主張した態様および実施形態の特質および特徴を理解するための全体像またはフレームワークを提供するように意図されていることが理解されるべきである。添付の図面は、様々な態様および実施形態の例示およびさらなる理解をもたらすように含められており、本明細書に組み込まれており、その一部を構成する。図面は、本明細書の残りと一緒に、記載および主張した態様および実施形態の原理および操作を説明する機能を果たす。

10

**【0008】**

添付の図面は、一定の縮小拡大比で描かれるように意図されていない。明確さの目的のために、あらゆるコンポーネントが標識されているわけではない。付随する実施例において参照されている図面では：

**【図面の簡単な説明】**

**【0009】**

**【図1】**図1は、研究プロトコールの概略の時系列である。

**【図2】**図2Aは、PuraMatrix（登録商標）を用いた側洞壁（lateral sinus wall）増強の写真である。一部の実施形態によって、側壁中の窓が示されている。図2Bは、PuraMatrix（登録商標）を用いた側洞壁増強の写真である。一部の実施形態によって、PuraMatrix（登録商標）を充填された部位が示されている。図2Cは、PuraMatrix（登録商標）を用いた側洞壁増強の写真である。一部の実施形態によって、部位は、CollaTape（登録商標）（Integra Lifesciences Corporation）で閉じられている。

20

**【図3】**図3Aは、DFDBAを移植する前に6mmの残留する稜（crest）を有していた100倍の拡大率での代表標本の稜ゾーン（crestal zone）の画像である。図3Bは、PuraMatrix（登録商標）を移植する前に5.3mmの残留する稜を有していた100倍の拡大率での代表標本の稜ゾーンの画像である。

30

**【図4】**図4Aは、DFDBAおよびPuraMatrix（登録商標）についての3つの代表ゾーン（稜、稜+移植片、および移植された）における移植片エリアのバイタルな骨（vital bone）のグラフである。図4Bは、DFDBAおよびPuraMatrix（登録商標）についてのバイタルな骨全体のグラフである。

**【図5】**図5Aは、DFDBAおよびPuraMatrix（登録商標）についての3つの代表ゾーン（稜、稜+移植片、および移植された）における骨髄空間のパーセントのグラフである。図5Bは、DFDBAおよびPuraMatrix（登録商標）についての全骨髄空間のパーセントのグラフである。

**【図6】**図6は、一部の実施形態による、PuraMatrix（登録商標）移植エリアの画像である。

40

**【図7】**図7は、一部の実施形態による、PuraMatrix（登録商標）移植エリアの画像である。

**【図8】**図8は、一部の実施形態による、DFDBA移植エリアの画像である。

**【図9】**図9は、一部の実施形態による、DFDBA移植エリアの画像である。

**【図10】**図10は、一部の実施形態による、PuraMatrix（登録商標）移植エリアの画像である。

**【図11】**図11は、一部の実施形態による、PuraMatrix（登録商標）移植エリアの画像である。

**【図12】**図12は、一部の実施形態による、DFDBA移植エリアの画像である。

**【図13】**図13は、歯槽骨の高さおよび歯槽骨の幅が測定された画像である。

50

【図14】図14は、PuraMatrix（登録商標）群に割り当てられた被験体における骨の高さの変化を比較する棒グラフである。

【図15】図15は、DFDBA／対照群に割り当てられた被験体における骨の高さの変化を比較する棒グラフである。

【図16】図16は、一部の実施形態による、PuraMatrix（登録商標）群とDFDBA群との間の骨の高さの変化を比較するグラフである。

【図17】図17は、一部の実施形態による、PuraMatrix（登録商標）群とDFDBA群との間の骨の高さの変化を比較するグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0010】

1つまたは複数の実施形態によれば、本開示の材料および方法は、サイナスリフト手順に関連するものなどの歯の骨間隙を充填するのに使用され得る。有益には、開示した材料および方法は、従来の技法と比較してインプラントのより大きい機械的強度、より高いレベルの生体適合性、およびよりバイタルな骨（vital bone）の成長と関連し得る。

【0011】

1つまたは複数の具体的な実施形態によれば、ペプチドヒドロゲルを、標的部位に投与した後の治癒プロセス中に再吸収し、骨と置き換えられる骨間隙充填剤（BVF）として使用することができる。ペプチドヒドロゲルは、サイナスリフト手順の間などに骨の間隙または骨格系のギャップ中に配置され得る。ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドおよびこれらの自己組織化構造を、様々な組織を修復および置換するための細胞培養支持体として、かつ生細胞を被包するための足場として使用することができる。ペプチドヒドロゲルは、歯周組織再生および関連する細胞外マトリックスタンパク質の生成を促進することができる。少なくとも一部の実施形態では、ペプチドヒドロゲルは、非免疫原性であり、脱塩凍結乾燥骨同種移植片（de minimally freeze-dried bone allograft）（DFDBA）調製物を含めたこの適応についての既存の材料に対して改善を示す。

【0012】

材料および方法は、被験体における歯の骨間隙を充填することにおいて特定の適用を見出しえる。本明細書で使用される場合、「被験体」という用語は、ヒトおよび非ヒト動物、例えば、脊椎動物、大型動物、および靈長類を含むものとする。ある特定の実施形態では、被験体は哺乳動物被験体であり、特定の実施形態では、被験体はヒト被験体である。ヒトでの適用は明白に見越しているが、例えば、非ヒト動物を用いた獣医学的適用も本発明において予想される。本発明の「非ヒト動物」という用語は、全ての脊椎動物、例えば、非哺乳動物（例えば、鳥類、例えばニワトリ；両生類；は虫類など）および哺乳動物、例えば、とりわけ、非ヒト靈長類、家畜、および農業上有用な動物、例えば、ヒツジ、イヌ、ネコ、雌ウシ、ブタ、ラットなどを包含する。

【0013】

少なくとも一部の実施形態では、サイナスリフト手順の被験体候補は一般に、約8mm未満のまたはそれに等しい残留する垂直の骨、ならびに十分な頬骨および舌骨の幅を有し得る。

【0014】

歯の骨間隙の充填は、部分的であっても完全であってもよい。少なくとも一部の実施形態では、バイタルな骨の密度は、標的部位で増大させることができる。一部の実施形態では、標的部位における被験体の歯の骨は、部分的に、または完全に回復され得る。様々な実施形態では、標的部位は、インプラントを標的部位で固定することができるよう準備することができる。歯の骨の含有量は、1つまたは複数の実施形態によれば、標的部位で増強され得る。

【0015】

少なくとも一部の実施形態では、成功裏のサイナスリフト手順と関連した骨増強のレベ

10

20

30

40

50

ルは、インプラント、例えば、3 . 3、4 . 1、または4 . 8 mmのITIインプラントなどを配置するのに十分な骨の幅および深さをもたらすことが予期され得る。

#### 【0016】

1つまたは複数の実施形態によれば、標的部位は一般に、歯槽骨成長の促進が望まれる任意のエリアまたは領域であり得る。一部の実施形態では、標的部位は一般に、外科手術と関連している場合がある。標的部位は、インプラントが望まれる場所などの被験体の歯槽骨の任意の領域内に位置することができる。一部の実施形態では、標的部位は、一般に上顎と呼ばれる被験体の後方上顎骨内であり得る。

#### 【0017】

少なくとも一部の実施形態では、標的部位は、成功裏のインプラントの可能性を増大させるように意図されたサイナスリフトまたは洞増強手順と関連している場合がある。骨は一般に、臼歯の近傍などの患者の上顎に加えることができる。骨は、上顎と上顎洞との間に加えることができる。新しい骨のための空間は、一般に、洞膜 (sinus membrane) を上向きにリフトし、または別の方法で移動させることによって作出され得る。歯科専門家は、最初に、標的部位における歯肉組織内に切開を行う場合がある。次いで組織が持ち上げられて歯槽骨を露出させることができる。間隙が骨中で開かれる場合がある。間隙の近位の洞を裏打ちする膜は一般に、洞を顎から分離する。この膜は、顎から押し上げられ、押しのけられて骨成長のための空間または間隙を作出することができる。この空間は、本明細書に論じられる標的エリアであり得る。

#### 【0018】

以下により詳細に論じるように、材料および方法は、所定のまたは所望の標的エリアへの自己組織化ペプチド、または自己組織化ペプチドを含む溶液、または自己組織化ペプチドを含む組成物の投与、適用、または注射を含み得る。一部の実施形態では、自己組織化ペプチドを含む溶液を、上顎上の歯の骨間隙中に導入することができる。溶液が投与されたら、組織は、縫合を用いて外科的になどで閉じることができる。ある時間、例えば、3 ~ 12カ月が、埋め込みの前に経過させられる場合がある。この時間は一般に、所望の程度の骨成長および歯の骨間隙の網状化 (meshing) を可能にし得る。

#### 【0019】

1つまたは複数の実施形態によれば、ペプチドヒドロゲルを、単独で、または自家骨、同種移植片、アロプラスト、もしくは異種移植片の1種もしくは複数と組み合わせて使用することができる。これらの組み合わせは一般に、移植片材料の体積を増大させることができ、全体的な性能を改善することもできる。少なくとも一部の実施形態では、方法は、投与の前にペプチド溶液を自家移植片または同種移植片と混合することを含み得る。

#### 【0020】

1つまたは複数の実施形態によれば、被験体に対してサイナスリフト手順を実施する方法は、被験体の口の中に送達デバイスを導入することを含み得る。送達デバイスの端部を歯槽骨成長の促進が望まれる被験体の後方上顎骨中の標的部位の近位に位置付けることができる。約7から約32の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を、標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で標的部位に投与することができる。次いで送達デバイスを被験体の口から除去することができる。

#### 【0021】

一部の実施形態では、歯槽骨成長を促進するのに有効な濃度は、約0 . 1重量 / 体積 (w / v) パーセント ~ 約3 w / v パーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む。投与される体積は、例えば、標的部位の寸法および / または骨増強の所望の程度に基づいて、本明細書に論じられるように変動し得る。一部の限定されない実施形態では、投与されるペプチド溶液の体積は、約1 mL から約5 mL の間である。一部の具体的な実施形態では、投与されるペプチド溶液は、PuraMatrix (登録商標) ペプチドヒドロゲルであり得る。

#### 【0022】

10

20

30

40

50

いくつかの方法では、インプラントを、所定の時間の後に標的部位の増強された歯槽骨中に固定することができる。1つまたは複数の実施形態によれば、2カ月～2年の範囲の治癒期間は、標的部位における十分な骨再生を確立するサイナスリフト手順と関連している場合がある。一部の具体的な実施形態では、2カ月～1年の治癒が要求され得る。一部の実施形態では、所定の時間は、約3から約6カ月の間である。少なくとも一部の実施形態では、約6カ月の治癒が要求され得る。一部の実施形態では、追加の用量のペプチド溶液を、可視化の際または規則的間隔で、ランダムに所定時間中に標的部位に投与することができる。一部の実施形態では、追加の体積のペプチド溶液を、埋め込みと同時に標的部位に投与してもよい。

## 【0023】

10

他の方法では、インプラントを、ペプチド溶液の最初の投与と同時に後方上顎骨中の標的部位に固定することができる。

## 【0024】

1つまたは複数の実施形態によれば、洞膜は、ヒドロゲル足場を形成するための空間をもたらすように標的部位の領域内で支持され得る。一部の実施形態では、これは、剛性バリアなどのバリアの挿入および配置を伴い得る。

## 【0025】

投与後、標的部位を外科的に閉じることができる。次いで創傷包帯を、治癒を助長し、ペプチド溶液を所定位置に保持するのを助けるために、ペプチド溶液を投与した後、標的部位に施用してもよい。標的部位は、歯槽骨増強を評価するために規則的時間間隔で、または所定の時間後など、投与後に可視化される場合がある。

20

## 【0026】

少なくとも一部の実施形態では、標的部位における自己組織化ヒドロゲル足場は、約10ナノメートル～約20ナノメートルの直径を有するナノファイバーを含み得る。

## 【0027】

1つまたは複数の実施形態によれば、投与されるペプチド溶液は、実質的に非生物学的に活性である。サイナスリフト手順は、1つまたは複数の実施形態によれば、埋め込み後の標的部位における約2mm未満の放射線透過写真法（radiographic）での骨減少と関連し得る。開示した方法は、IGG反応と関連しない場合がある。得られる増強された歯槽骨は、一部の限定されない実施形態では、少なくとも約35%のバイタルな骨の密度によって特徴付けることができる。

30

## 【0028】

1つまたは複数の実施形態によれば、サイナスリフト手順と関連した慣例的な有害事象が経験される場合がある。例えば、洞膜穿孔が移植手順中に起こり得る。これらは、標準治療に基づいて処置することができる。穿孔は、コラーゲン膜で覆うことができ、次いで移植手順を再開することができる。

## 【0029】

40

用語「自己組織化ペプチド」は、ベータシート構造を誘導する特定の条件の存在下で、水性溶液中でベータシート構造を呈し得るペプチドを指す場合がある。これらの特定の条件は、自己組織化ペプチド溶液のpHを増大させることを含み得る。pHの増大は、生理的pHへのpHの増大であり得る。特定の条件は、自己組織化ペプチド溶液に一価陽イオンなどの陽イオンを添加することも含み得る。特定の条件は、被験体の口に関する条件を含む場合がある。

## 【0030】

50

自己組織化ペプチドは、両親媒性自己組織化ペプチドであってよい。「両親媒性」とは、ペプチドが疎水性部分と親水性部分を含むことを意味する。一部の実施形態では、両親媒性ペプチドは、交互に現れる疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸を含んでもよく、それから本質的になってもよく、それからなってもよい。交互に現れるとは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる一連の3つまたはそれ超のアミノ酸を包含するものとし、また、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れるペプチド配列内の各々全てのアミ

ノ酸を含む必要はない。自己組織化ペプチドは、本明細書では「ペプチド」とも称され、自己組織化ペプチド溶液、組成物、ハイドロゲル、膜、足場の形態でまたは他の形態で所定のまたは所望の標的エリアに投与することができる。ハイドロゲルは、本開示全体を通して、膜または足場とも称することができる。所定のまたは所望の標的エリアは、後方上顎中などの被験体の歯槽骨中に位置し得る。所定のまたは所望の標的エリアは、サイナスリフト手順を助長するように確立することができる。

#### 【0031】

自己組織化ペプチド溶液は、水性自己組織化ペプチド溶液であってよい。自己組織化ペプチドは、実質的に無細胞または細胞非含有の溶液で投与、適用、または注射することができる。ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドは、無細胞または細胞非含有の溶液で投与、適用、または注射することができる。

10

#### 【0032】

自己組織化ペプチドはまた、実質的に薬物を使わないかまたは薬物を含まない溶液で投与、適用、または注射することもできる。ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドは、薬物を使わないかまたは薬物を含まない溶液で投与、適用、または注射することができる。ある特定の他の実施形態では、自己組織化ペプチドは、実質的に無細胞であり実質的に薬物を使わない溶液で投与、適用、または注射することができる。さらなるある特定の他の実施形態では、自己組織化ペプチドは、無細胞であり薬物を使わない溶液で投与、適用、または注射することができる。

20

#### 【0033】

自己組織化ペプチド溶液は、自己組織化ペプチドを含んでよい、それからなってよい、またはそれから本質的になってよい。自己組織化ペプチドは、改変された形態であっても改変されていない形態であってもよい。改変されたとは、自己組織化ペプチドが、溶液中に単独で提供された場合に自己組織化しない1つまたは複数のアミノ酸を含む1つまたは複数のドメインを有し得ることを意味する。改変されていないとは、自己組織化ペプチドが、ペプチドの自己組織化をもたらすもの以外のいかなる他のドメインも有さなくてよいことを意味する。すなわち、改変されていないペプチドは、ベータ-シート、およびハイドロゲルなどの肉眼的構造に自己組織化し得る、交互に現れる疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸からなる。

30

#### 【0034】

溶液の投与は、約7アミノ酸から約32アミノ酸を含み、それからなり、またはそれから本質的になる自己組織化ペプチドを含み、それからなり、またはそれから本質的になる溶液の投与を含むことができ、それからなることができ、またはそれから本質的になることができる。約7アミノ酸から約32アミノ酸を含まない、それからならない、またはそれから本質的にならない他のペプチドも本開示によって企図され得る。

#### 【0035】

交互に現れるとは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる一連の3つまたはそれ超のアミノ酸を包含するものとし、また、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れるペプチド配列内の各々全てのアミノ酸を含む必要はない。

40

#### 【0036】

材料および方法は、所定のまたは所望の標的に自己組織化ペプチドを投与することを含み得る。ペプチドは、ヒドロゲルとして投与することができ、または投与の際にヒドロゲルを形成することができる。ヒドロゲルは、水中に分散しているコロイドゲルを指す場合がある用語である。ヒドロゲルは、本開示全体にわたって膜または足場と呼ばれる場合もある。システムおよび方法は、水性ペプチド溶液などの溶液として所定のまたは所望の標的に自己組織化ペプチドを適用することも含み得る。

#### 【0037】

「投与する」という用語は、これだけに限定されないが、自己組織化ペプチドを、これだけに限定されないが、単独で、水溶液などの溶液として、または組成物、ハイドロゲル、もしくは足場としてを含めた種々の形態のうちの1つまたは複数で、追加的な構成成分

50

を伴ってまたは伴わずに、適用、導入または注射することを含むものとする。

#### 【0038】

方法は、被験体の所定のもしくは所望の標的エリアに、またはその付近に送達デバイスを導入することを含み得る。方法は、被験体の所定のまたは所望の標的エリアに、シリジンジ、ピペット、チューブ、カテーテル、シリジンジカテーテル、または他の針ベースデバイスの少なくとも1種を備える送達デバイスを導入することを含み得る。自己組織化ペプチドは、被験体の所定のまたは所望の標的エリアに、シリジンジ、ピペット、チューブ、カテーテル、シリジンジカテーテル、または他の針ベースデバイスによって投与することができる。シリジンジ針のゲージは、シリジンジから標的エリアへの組成物、溶液、ヒドロゲル、または液体の十分な流れをもたらすように選択され得る。これは、一部の実施形態では、投与されている組成物、ペプチド溶液、またはヒドロゲル中の自己組織化ペプチドの量、ペプチド溶液の、組成物中の、またはヒドロゲルの濃度、およびペプチド溶液、組成物、またはヒドロゲルの粘度の少なくとも1つに基づき得る。送達デバイスは、特定の標的エリアに到達すること、特定の投薬レジームを達成すること、特定の標的体積、量、もしくは濃度を送達すること、および標的エリアに正確に送達することの少なくとも1つを達成する従来のデバイスであり得、またはそのように設計することができる。

10

#### 【0039】

歯の骨間隙を充填する開示した方法は、送達デバイスを被験体の口の中に導入すること、および標的部位の近位に送達デバイスの端部を位置付けることを含み得る。ペプチドの選択的投与は、ペプチド溶液、組成物、またはヒドロゲルの高められた、かつより標的化された送達を可能にすることができる、その結果、骨増強は、成功裏のものであり、正確な様式で所望の場所に位置付けられる。選択的投与は、従来の送達デバイスに対して処置の位置付けおよび有効性を著しく改善する、高められた、標的化された送達をもたらすことができる。本開示のシステム、方法、およびキットにおいて使用され得る送達デバイスとして、シリジンジ、ピペット、チューブ、カテーテル、シリジンジカテーテル、他の針ベースデバイス、チューブ、またはカテーテルを挙げることができる。

20

#### 【0040】

送達デバイスの使用は、付随的なデバイス、例えば、所定位置 (position) へとデバイスをガイドするのに使用されるガイドワイヤー、または標的エリアの適切な配置および可視化、ならびに / もしくは標的エリアへの通路を可能にし得る内視鏡などの使用を含み得る。内視鏡は、被験体の体の画像を閲覧することを可能にする光およびカメラまたは他の可視化デバイスの少なくとも1つを含み得るチューブであり得る。

30

#### 【0041】

送達デバイス、例えば、シリジンジ、ピペット、チューブ、カテーテル、シリジンジカテーテル、他の針ベースデバイス、カテーテル、または内視鏡などの使用は、シリジンジ、ピペット、チューブ、シリジンジカテーテル、他の針型デバイス、カテーテル、または内視鏡の少なくとも一部が開口部に入って、ペプチド、ペプチド溶液、組成物、またはヒドロゲルを標的エリアに投与することができるように、標的エリアが存在する開口部の直径またはサイズを決定することを必要とする場合がある。

40

#### 【0042】

ある特定の実施形態では、ヒドロゲルは、*in vitro*で形成し、*in vivo*で所望の場所に投与することができる。ある特定の例では、この場所は、骨成長を促進することが望まれるエリアであり得る。他の例では、この場所は、そのエリアの上流、下流、または実質的にそのエリア付近であり得る。骨成長を促進することが望まれるエリアへのヒドロゲルの移動を可能にすることが望まれる場合がある。代わりに、別の手順が、ヒドロゲルをそれが望まれるエリア内に位置付けてもよい。所望の場所または標的エリアは、サイナスリフト手順などの外科手術と関連したエリアの少なくとも一部であり得る。

#### 【0043】

本開示のある特定の態様では、ヒドロゲルは、*in vivo*で形成され得る。水性溶液などの自己組織化ペプチドを含む溶液を、被験体の*in vivo*の場所またはエリア

50

に挿入して、その場所での閉塞を防止もしくは低減し、または狭窄を防止もしくは低減することができる。ある特定の例では、ヒドロゲルは、1つの場所で *in vivo* で形成され、骨成長を促進することが望まれるエリアに移動させられる場合がある。代わりに、別の手順が、骨成長を促進することが望まれるエリア内にヒドロゲルを配置してもよい。本開示のペプチドは、粉末、溶液、ゲルなどの形態であり得る。自己組織化ペプチドは、溶液の pH および塩濃度の変化に応答してゲル化するので、これは、適用または投与中に被験体と接触するとゲル化する液体として分布させることができる。

## 【0044】

ある特定の環境では、ペプチド溶液は、弱いヒドロゲルであり得、結果として、これは、本明細書に記載の送達デバイスによって投与することができる。

10

## 【0045】

1つまたは複数の実施形態によれば、自己組織化ペプチドは、歯槽骨成長などの骨成長を促進することができる。ある特定の実施形態では、これは、ヒドロゲルが、所定位置に置かれると、足場をもたらして、標的エリアの骨成長を促進する細胞の浸潤を可能にするためであり得る。

## 【0046】

1つまたは複数の実施形態によれば、肉眼的足場がもたらされる。肉眼的足場は、複数の自己組織化ペプチドを含むことができ、それから本質的になることができ、またはそれからなることができ、このペプチドのそれぞれは、歯の骨間隙内に位置付けられてその中で骨成長を促進することができる有効量で、約 7 アミノ酸から約 32 アミノ酸を含み、それから本質的になり、またはそれからなる。

20

## 【0047】

一部の実施形態によれば、自己組織化ペプチドは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる両親媒性のものであり得る。1つまたは複数の実施形態によれば、被験体は、歯の骨の増強の必要性を決定するために評価される場合がある。評価が完了した後、被験体に投与するためのペプチド溶液を調製することができる。

30

## 【0048】

一部の実施形態では、生物学的に活性な薬剤は、本開示の材料および方法と共に使用することができる。生物学的に活性な薬剤は、被験体または実験室の状況における条件または他の活性のいくつかの活性、制御、調節、または調整を与え得るペプチド、DNA 配列、化学化合物、または無機化合物もしくは有機化合物を含めた化合物を含み得る。生物学的に活性な薬剤は、別の構成成分と相互作用してそのような活性をもたらし得る。生物学的に活性な薬剤は、本明細書では一部の実施形態によると薬物と称することができる。ある特定の実施形態では、1つまたは複数の生物学的に活性な薬剤をペプチド系の外側に徐々に放出させることができる。例えば、1つまたは複数の生物学的に活性な薬剤をハイドロゲルから徐々に放出させることができる。*in vitro* における試験と *in vivo* における試験のどちらでも、生物学的に活性な薬剤のこの段階的な放出が実証された。生物学的に活性な薬剤は、被験体に投与する前にペプチド溶液に添加してもよく、または被験体に溶液と別個に投与してもよい。

40

## 【0049】

本開示は、自己組織化オリゴペプチドと時に呼ばれる自己組織化ペプチドを含む水性溶液、ヒドロゲル、足場、および膜に関する。ペプチドは、約 6 ~ 約 200 アミノ酸残基を有するペプチドから構成され得る。自己組織化ペプチドは、生理的 pH および / もしくは一価陽イオンなどの陽イオン、または被験体の口に適用可能な他の条件の存在下で、水性溶液中でベータシート構造を呈することができる。ペプチドは、両親媒性であり得、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。ある特定の実施形態では、ペプチドは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる両親媒性であり得る第 1 の部分、および両親媒性でない別の部分または領域を含み得る。

## 【0050】

ペプチドは、水性溶液中で一般的に安定であり得、生理的条件、中性 pH、または生理

50

的レベルの塩に曝露されるとき、自己組織化して大きい肉眼的構造、足場、またはマトリックスになることができる。ヒドロゲルが形成されると、これは、ある時間後に、分解しない場合があり、または分解もしくは生分解する場合がある。分解の速度は、アミノ酸配列およびその周囲の条件の少なくとも1つに少なくとも部分的に基づき得る。

#### 【0051】

「肉眼的」とは、10倍またはそれ未満の拡大率の下で見ることができる十分に大きな寸法を有することを意味する。好ましい実施形態では、肉眼的構造は、裸眼で見ることができる。肉眼的構造は透明であってよく、また、2次元であっても3次元であってもよい。一般には、各寸法は、少なくとも $10\text{ }\mu\text{m}$ のサイズである。ある特定の実施形態では、少なくとも2つの寸法が少なくとも $100\text{ }\mu\text{m}$ 、または少なくとも $1000\text{ }\mu\text{m}$ のサイズである。しばしば、少なくとも2つの寸法は少なくとも $1\sim10\text{ mm}$ のサイズ、 $10\sim100\text{ mm}$ のサイズ、またはそれ超である。10

#### 【0052】

ある特定の実施形態では、フィラメントのサイズは、約10ナノメートル(nm)～約20nmであってよい。フィラメント間の距離は約50nm～約80nmであってよい。

#### 【0053】

「生理的条件」は、特定の生物体、細胞系、または被験体に関して天然に生じ得、人工的な実験室条件とは対照的であり得る。条件は、1つまたは複数の特定の性質または1つまたは複数の性質の範囲などの1つまたは複数の性質を含んでよい。例えば、生理的条件は、温度または温度の範囲、pHまたはpHの範囲、圧力または圧力の範囲、および特定の化合物、塩、および他の構成成分の1つまたは複数の濃度を含んでよい。例えば、いくつかの例では、生理的条件は、約20～約40の範囲の温度を含んでよい。いくつかの例では、気圧は、約1atmであってよい。pHは、中性pHの範囲内であってよい。例えば、pHは、約6～約8の範囲であってよい。生理的条件は、膜またはハイドロゲルの形成を誘導し得る一価金属陽イオンなどの陽イオンを含んでよい。これらは、塩化ナトリウム(NaCl)を含んでよい。生理的条件は、約1mMから約20mMの間のグルコース濃度、スクロース濃度、または他の糖濃度も含んでよい。生理的条件は、一部の特定の実施形態におけるサイナス領域を含む口の局所的状態を含む場合がある。20

#### 【0054】

一部の実施形態では、自己組織化ペプチドは、約6アミノ酸から約200アミノ酸のペプチドであり得る。ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドは、少なくとも約7アミノ酸のペプチドであり得る。ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドは、約7アミノ酸から約32アミノ酸のペプチドであり得る。ある特定のさらなる実施形態では、自己組織化ペプチドは、約7アミノ酸から約17アミノ酸のペプチドであり得る。ある特定の他の例では、自己組織化ペプチドは、少なくとも8アミノ酸、少なくとも約12アミノ酸、または少なくとも約16アミノ酸のペプチドであり得る。30

#### 【0055】

ペプチドはまた、相補的であり、構造的に適合性であり得る。相補的は、ペプチドの、これらの親水性側鎖の間で形成するイオン化された対および/または水素結合を通じて相互作用する能力を指し、構造的に適合性は、相補的ペプチドの、これらのペプチド主鎖間で一定の距離を維持する能力を指す。これらの性質を有するペプチドは、分子間相互作用に参加し、それにより、二次構造レベルでのベータシートおよび三次構造レベルでの絡み合ったフィラメントの形成および安定化がもたらされる。40

#### 【0056】

上記の性質を特徴とするペプチドの均質な混合物および不均質な混合物はどちらも、安定な肉眼的膜、フィラメント、およびハイドロゲルを形成し得る。自己相補的で自己適合性のペプチドは、均質な混合物中で膜、フィラメント、およびハイドロゲルを形成し得る。互いに相補的であり、かつ/または構造的に適合性である、均質な溶液中で膜、フィラメント、およびハイドロゲルを形成することができないものを含めた不均質なペプチドも、肉眼的膜、フィラメント、およびハイドロゲルに自己組織化し得る。50

## 【0057】

膜、フィラメント、およびハイドロゲルは、非細胞傷害性であってよい。本開示のハイドロゲルは、被験体において消化および代謝されるものであってよい。ハイドロゲルは、30日またはそれ未満で生分解されるものであってよい。ハイドロゲルは、単純な組成を有し、浸透性であり、また、多量に作製するのが容易で比較的安価である。膜およびフィラメント、ハイドロゲルまたは足場は、滅菌条件下で作製および保管することもできる。膜の形成に最適な長さは、アミノ酸組成、溶液条件、および標的部位における条件の少なくとも1つに伴って変動し得る。

## 【0058】

ある特定の実施形態では、被験体におけるサイナスリフトを実施する方法が提供されている。方法は、歯槽骨成長の促進が望まれる被験体の後方上顎中の標的部位の近位に送達デバイスを導入することを含み得る。方法は、標的部位で歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で、約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を、送達デバイスによって投与することをさらに含み得る。方法は、被験体の口から送達デバイスを除去することをさらに含み得る。

10

## 【0059】

方法は、口の少なくとも一部を含む領域または標的エリアを可視化することをさらに含み得る。領域または標的エリアを可視化することは、標的エリアを識別すること、送達デバイスを導入すること、標的エリア内に送達デバイスの端部を位置付けること、溶液を投与すること、送達デバイスを除去すること、およびその後標的部位を監視することの少なくとも1つの間に領域または標的エリアを可視化することを含むことができる。領域または標的エリアを可視化すると、溶液の選択的投与をもたらすことができる。可視化は溶液を投与する前、間、および後の任意の時間に行うことができる。可視化は、例えば、投与後約1週間、投与後約4週間、および投与後約8週間の少なくとも1つの時間において行うことができる。

20

## 【0060】

投与される溶液は、少なくとも約7アミノ酸を含む自己組織化ペプチドから本質的になることができ、またはそれからなることができる。投与される溶液は、約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドから本質的になることができ、またはそれからなることができる。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

30

## 【0061】

本開示の実施形態を助長する方法は、歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲルを形成する有効量および有効濃度で、約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を、送達デバイスによって投与するための指示を提供することを含み得る。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

40

## 【0062】

助長する方法は、歯槽骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲルを形成する有効量および有効濃度で、約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を提供することを含み得る。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

50

## 【0063】

助長する方法は、口および/またはサイナス領域の少なくとも一部を含む領域または標的エリアを可視化するための指示を提供することを含み得る。方法は、標的エリアを識別すること、送達デバイスを導入すること、標的エリア内に送達デバイスの端部を位置付けること、溶液を投与すること、送達デバイスを除去すること、およびその後監視することの少なくとも1つの間に標的エリアまたは領域を可視化するための指示を提供することを含み得る。方法は、投与後約1週間、約4週間、または約8週間の時間内に標的エリアを可視化するための指示を提供することを含み得る。指示は、標的エリアまたは標的エリア

50

の周囲でエリアを監視するために提供される場合がある。指示は、外科手術中、例えばサイナスリフト手順中に本開示の方法を使用するために提供される場合がある。

#### 【0064】

自己組織化ペプチドは、約6～約200アミノ酸残基から構成され得る。ある特定の実施形態では、約7～約32残基が自己組織化ペプチド中に使用される場合があり、一方、他の実施形態では、自己組織化ペプチドは、約7～約17残基を有し得る。ペプチドは、約5nmの長さを有し得る。

#### 【0065】

本開示のペプチドとして、アルギニン、アラニン、アスパラギン酸、およびアラニンの繰り返し配列(Arg - Ala - Asp - Ala (RADA))を有するペプチドを挙げることができ、このようなペプチド配列は、(RADA)<sub>p</sub>によって表すことができ、式中、p = 2～50、例えば(RADA)<sub>4</sub>またはRADA<sub>16</sub>(すなわち、RADARADARADARADADA)などである。

10

#### 【0066】

本明細書に開示のペプチド配列のそれぞれは、列挙したアミノ酸配列を含み、それから本質的になり、それからなるペプチドをもたらすことができる。

#### 【0067】

本開示は、本明細書に列挙したペプチドを含み、それから本質的になり、またはそれからなる溶液、ヒドロゲル、および足場についての材料、方法、およびキットを提供する。

20

#### 【0068】

1重量/体積(w/v)パーセント水性(水)溶液および2.5w/vパーセントの(RADA)<sub>4</sub>は、3-D Matrix Co., Ltd.によって提供されている製品PuraMatrix(登録商標)ペプチドヒドロゲルとして市販されている。

#### 【0069】

ある特定のペプチドは、細胞接着リガンドRGD(アルギニン-グリシン-アスパラギン酸)と同様である配列を含有し得る。RADベースペプチドは、RGDとのこの配列の類似性のために特定の目的のものであり得る。RAD配列は、細胞外マトリックスタンパク質テネイシン中に存在する高親和性リガンドであり、インテグリン受容体によって認識される。

30

#### 【0070】

ペプチドの自己組織化は、ペプチドを構成するアミノ酸によるペプチド分子間の水素結合および疎水性結合に起因し得る。

#### 【0071】

本開示の自己組織化ペプチドのナノファイバーの直径は約10nm～約20nmの範囲であり、平均孔径は約5nm～約200nmの範囲である。ある特定の実施形態では、ナノファイバーの直径、孔径、およびナノファイバーの密度は、ペプチド溶液の体積などの、使用するペプチド溶液の濃度および使用するペプチド溶液の量の少なくとも1つによって制御することができる。したがって、骨成長を十分にもたらすための所望のナノファイバーの直径、孔径、および密度の少なくとも1つをもたらすために、溶液中のペプチドの特定の濃度およびペプチド溶液の特定の量の少なくとも1つを選択することができる。

40

#### 【0072】

本明細書で使用される場合、歯槽骨成長を促進するのに有効なペプチド、ペプチド溶液またはハイドロゲルの量、「有効量」または「治療有効量」とは、骨間隙または他の障害を有する被験体の増強、処置において、または治癒、緩和、軽減または改善において、被験体に単回投与または多数回投与(適用または注射)した際に、そのような処置の不在下で予測されるものを上回って有効であるペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルの量を指す。これは、ペプチド溶液、またはハイドロゲル中のペプチドの特定の濃度または濃度の範囲、それに加えてまたはその代わりに、ペプチド溶液、またはハイドロゲルの体積の特定の体積または範囲を含み得る。容易にする方法は、有効量および有効濃度の少なくとも一方を調製するための指示を提供するステップを含み得る。

50

## 【0073】

投与（例えば、適用または注射）される投与量、例えば、体積または濃度は、ペプチドの形態（例えば、ペプチド溶液、ハイドロゲル、または凍結乾燥した形態などの乾燥した形態）および利用する投与経路に応じて変動し得る。正確な製剤、投与経路、体積、および濃度は、被験体の状態を考慮して、およびペプチド溶液、ハイドロゲル、または他の形態のペプチドを投与する特定の標的エリアまたは場所を考慮して選択することができる。本明細書において列挙されているものよりも低い用量または高い用量を使用することができるまたはそれが必要である。任意の特定の被験体に対する特定の投与量および処置レジメンは、使用される特定のペプチド（複数可）、処置されるエリアの寸法、所望の標的エリア内に配置することができる、結果として得られるハイドロゲルの所望の厚さ、および処置時間の長さを含み得る種々の因子に左右され得る。特定の投与量および処置レジメンに影響を及ぼす可能性がある他の因子としては、年齢、体重、全体的な健康状態、性別、投与時間、分解の速度、疾患の重症度および経過、状態または症状、および処置を行う医師の判断が挙げられる。ある特定の実施形態では、ペプチド溶液は、単回用量で投与することができる。他の実施形態では、ペプチド溶液は、2回以上の用量、または複数回用量で投与することができる。

10

## 【0074】

ペプチド溶液の有効量および有効濃度は、サイナスリフト手順中などに歯の骨間隙における骨成長を少なくとも部分的に増強するように選択することができる。一部の実施形態では、有効量および有効濃度の少なくとも1つは、標的エリアの寸法または直径および／あるいは所望の骨増強の量に部分的に基づき得る。

20

## 【0075】

有効量は、本明細書に記載するように、患者の後方上顎などにおける歯槽骨の少なくとも部分的な増強をもたらすことができる量であり得る。標的エリアの寸法または直径の少なくとも1つ、標的エリアにおけるまたはその付近の1種または複数の流体の流量、標的エリアにおけるまたはその付近のpH、および標的エリアにおけるまたはその付近の様々な塩の濃度を含む、患者の口およびサイナス領域の様々な性質が、有効量の選択または決定に寄与し得る。有効量を決定し得る追加の性質としては、ペプチド溶液が送達される経路に沿った様々な場所における上記に列挙した様々な性質がある。

30

## 【0076】

有効量は、ペプチド溶液の約0.1ミリリットル(mL)～約100mLの体積を含み得る。有効量は、ペプチド溶液の約0.1mL～約10mLの体積を含み得る。有効量は、ペプチド溶液の約1mL～約5mLの体積を含み得る。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.5mLであり得る。他の実施形態では、有効量は、約1.0mLであり得る。さらに他の実施形態では、有効量は、約1.5mLであり得る。なおさらに他の実施形態では、有効量は、約2.0mLであり得る。一部の他の実施形態では、有効量は、約3.0mLであり得る。ある特定の実施形態では、有効量は、標的エリア $1\text{ cm}^2$ 当たりおよそ0.1mL～約5mLであり得る。ある特定の実施形態では、有効量は、標的エリア $1\text{ cm}^2$ 当たりおよそ1mLであり得る。この有効量は、2.5重量/体積パーセントの本開示のペプチド溶液などの濃度に関連する場合がある。

40

## 【0077】

一部の実施形態では、より有効な骨増強は、投与されるペプチド溶液のより大きい体積、または投与される溶液中のペプチドのより高い濃度で達成することができる。これは、より長く続く、またはより厚いヒドロゲルが標的エリア内で形成することを可能にし、標的エリア内のヒドロゲルのより固定された位置を可能にすることができる。十分高い体積が選択されない場合、ヒドロゲルが所望の時間にわたって標的エリアで有効となり得ない可能性がある。

## 【0078】

有効濃度は、本明細書に記載するように、所望のレベルの骨増強をもたらし得る量であり得る。標的エリアの寸法または直径の少なくとも1つを含む口およびサイナス領域の様

50

々な性質が、有効濃度の選択または決定に寄与し得る。

【0079】

有効濃度は、約0.1w/vパーセント～約3.0w/vパーセントの範囲内の溶液中のペプチド濃度を含み得る。ある特定の実施形態では、有効濃度は、約1w/vパーセントであり得る。他の実施形態では、有効濃度は、約2.5w/vパーセントであり得る。少なくとも一部の実施形態では、PuraMatrix(登録商標)(1%w/v)のストック溶液は、約2.0～約3.0のpHレベルを有し得る。

【0080】

ある特定の実施形態では、より高い濃度のペプチドを有するペプチド溶液は、所定位置に留まり、有効な骨成長をもたらす能力を有するより有効なヒドロゲルをもたらすことができる。ペプチド溶液を送達する目的に関して、より高い濃度のペプチド溶液は、過剰に粘性となって溶液の有効で選択的な投与を可能にすることができない場合がある。十分高い濃度が選択されない場合、ヒドロゲルが所望の時間にわたって標的エリアで骨成長を促進することに有効となり得ない可能性がある。有効濃度は、特定の直径の針または他の送達デバイスを使用する注射または他の手段によって投与され得る溶液をもたらすように選択することができる。

【0081】

本開示の方法は、治療有効量の本明細書に記載のペプチド、組成物、ペプチド溶液、膜、フィラメント、およびヒドロゲルの単回および複数回投与を企図する。本明細書に記載のペプチドは、被験体の状態の特質、重症度、および程度に応じて規則的間隔で投与することができる。一部の実施形態では、ペプチド、組成物、ペプチド溶液、膜、フィラメント、またはヒドロゲルは、単回投与で投与することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載のペプチド、組成物、ペプチド溶液、またはヒドロゲルは、複数回投与で投与される。一部の実施形態では、治療有効量のペプチド、組成物、ペプチド溶液、膜、フィラメント、またはヒドロゲルは、規則的間隔で定期的に投与される場合がある。選択される規則的間隔は、投与される溶液の最初のペプチド濃度、投与される量、および形成されるヒドロゲルの分解速度の任意の1つまたは複数に基づき得る。例えば、最初の投与後、後続の投与を、例えば、1週間、2週間、4週間、6週間、または8週間後に行うことができる。後続の投与は、最初の投与と同じペプチドの濃度、および体積を有する溶液の投与を含み得、またはより低いもしくは高いペプチドの濃度、および体積の溶液の投与を含み得る。ペプチド溶液の適切な後続の投与の選択は、標的エリアおよび標的エリア周囲のエリアの画像化、ならびに被験体の状態に基づく必要性の確認に基づき得る。所定の間隔は、各後続の投与について同じである場合があり、またはこれらは、異なる場合がある。これは、以前の投与から形成されたヒドロゲルが部分的にまたは完全に破壊または分解されているか否かに依存し得る。後続の投与は、最初の投与と同じペプチドの濃度、および体積を有する溶液の投与を含み得、またはより低いもしくは高いペプチドの濃度、および体積の溶液の投与を含み得る。ペプチド溶液の適切な後続の投与の選択は、標的エリアおよび標的エリア周囲のエリアの画像化、ならびに被験体の状態に基づく必要性の確認に基づき得る。

【0082】

RADA16などの本開示の自己組織化ペプチドは、別個の生理的に活性なまたは生物学的に活性なモチーフまたは配列を欠き、したがって、内因性の細胞機能を損なわない可能性があるペプチド配列であり得る。生理的に活性なモチーフにより、転写などの多数の細胞内の現象を制御することができ、また、生理的に活性なモチーフが存在することにより、当該モチーフを認識する酵素による細胞質内タンパク質または細胞表面タンパク質のリン酸化が導かれる。生理的に活性なモチーフが存在すると、種々の機能を有するタンパク質の転写を活性化または抑制することができる。本開示の自己組織化ペプチドは、そのような生理的に活性なモチーフを欠いてよく、したがって、このリスクを有さない。溶液の浸透圧を低張性から等張性に改善するために、自己組織化ペプチド溶液に糖を添加し、それにより、生物学的安全性を上昇させることができる。特定の例では、糖は、スクロー

10

20

30

40

50

スまたはグルコースであつてよい。

【0083】

膜の形成に最適な長さは、アミノ酸組成に伴つて変動し得る。本開示のペプチドにより意図される安定化因子は、ペプチド骨格間の一定の距離を維持する相補的なペプチドである。

【0084】

ペプチドは、化学的に合成することもでき、天然の供給源および組換え供給源から精製することもできる。化学的に合成されたペプチドの使用により、ペプチド溶液が別の動物の細胞外マトリックスに由来する未同定の構成成分などの未同定の構成成分を有さないようにすることを可能にできる。したがつて、この性質により、従来の組織由来のバイオマテリアルと比較して、ウイルス感染のリスクを含めた感染の懸念を排除することができる。これにより、牛海綿状脳症（BSE）などの感染を含めた感染の懸念を排除し、ペプチドを、医療上の使用に関して高度に安全なものにすることができる。

10

【0085】

ペプチドの最初の濃度は、形成される膜、ハイドロゲル、または足場のサイズおよび厚さに関する因子であり得る。一般に、ペプチド濃度が高いほど、膜またはハイドロゲルの形成の程度が高くなる。より高い最初のペプチド濃度（約10mg/ml）（約1.0w/vパーセント）で形成されるハイドロゲル、または足場は、より厚くなり得、したがつて、より強力になる可能性がある。

20

【0086】

膜、ヒドロゲル、または足場の形成は、数分の程度で非常に速い場合がある。膜またはヒドロゲルの形成は、非可逆性であり得る。ある特定の実施形態では、形成は、可逆性であり得、他の実施形態では、形成は、非可逆性であり得る。ヒドロゲルは、標的エリアに投与すると瞬時に形成し得る。ヒドロゲルの形成は、投与して約1～2分以内に起こり得る。他の例では、ヒドロゲルの形成は、投与して約3～4分以内に起こり得る。ある特定の実施形態では、ヒドロゲルを形成するのに要する時間は、ペプチド溶液の濃度、適用されるペプチド溶液の体積、および適用または注射のエリアにおける条件（例えば、適用のエリアでの一価金属陽イオンの濃度、エリアのpH、およびエリアにおけるまたはその付近の1種または複数の流体の存在）の1つまたは複数に少なくとも部分的に基づき得る。プロセスは、12未満またはそれに等しいpHによって、かつ温度によって影響されない場合がある。膜またはヒドロゲルは、約1～99の範囲内の温度で形成し得る。

30

【0087】

ヒドロゲルは、本開示の方法およびキットを使用して所望の効果をもたらすのに十分な時間にわたって、標的エリアで適切な位置に残ることができる。所望の効果は、例えば、サイナスリフト手順の一部として歯の骨間隙を少なくとも部分的に充填するように骨成長を促進することであり得る。

【0088】

膜またはヒドロゲルが所望のエリアに残ることができる時間は、1日または複数日間、最大で1週間または複数週間、および最大で数カ月間であり得る。他の例では、これは、最大で30日またはそれ超にわたって所望のエリアに残ることができる。これは、無期限に所望のエリアに残ることができる。他の例では、これは、自然に分解され、または意図的に除去されるまで、より長い時間にわたって所望のエリアに残ることができる。ヒドロゲルがある時間にわたって自然に分解する場合、同じまたは異なる場所へのヒドロゲルの引き続く適用または注射が実施されてもよい。

40

【0089】

ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドは、自己組織化ペプチドの有効性を増強させ得る、または別の作用、処置、療法をもたらし、もしくはさもなければ被験体の1種もしくは複数の構成成分と相互作用し得る1種または複数の構成成分とともに調製することができる。例えば、1種または複数の生物学的または生理的に活性なアミノ酸配列またはモチーフを含む追加のペプチドを、自己組織化ペプチドとともに構成成分の1つとして

50

含めることができる。他の構成成分として、薬物などの生物学的に活性な化合物、または被験体にいくらかの利益をもたらし得る他の処置を挙げることができる。例えば、抗生物質を自己組織化ペプチドとともに投与してもよく、または別個に投与してもよい。

#### 【0090】

ペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルは、被験体を処置するためまたは溶血、炎症、および感染を予防するための小分子薬物を含んでよい。小分子薬物は、グルコース、サッカロース、精製サッカロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、デキストラン (dextran)、ヨウ素、塩化リゾチーム、ジメチルイソプロピルアズレン (dimethylisopropylazulene)、トレチノイン、トコフェリル (tocopherol)、ポピドンヨード、アルプロスタジルアルファデクス、アニスアルコール、サリチル酸イソアミル、-, -ジメチルフェニルエチルアルコール、バクダノール (bacdanol)、ヘリオナール (helional)、スルファジアジン銀 (sulfazin silver)、ブクラデシンナトリウム、アルプロスタジルアルファデクス、硫酸ゲンタマイシン、塩酸テトラサイクリン、フシジン酸ナトリウム、ムピロシンカルシウム水和物および安息香酸イソアミルからなる群より選択することができる。他の小分子薬物も意図され得る。タンパク質に基づく薬物を投与される構成成分として含めることができ、それらとして、エリスロポエチン、組織型プラスミノーゲン活性化因子、合成ヘモグロビンおよびインスリンが挙げられる。

10

#### 【0091】

ペプチド溶液を、迅速なまたは即時のハイドロゲルへの形成から保護するための構成成分を含めることができる。これは、ペプチド溶液を標的エリアに時間制御放出させてハイドロゲルを所定の期間にわたって形成させることを可能にするために時間をわたり分解させることができる被包された送達系を含み得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの生分解性生体適合性ポリマーを使用することができる。

20

#### 【0092】

本明細書に記載の構成成分のいずれも、ペプチド溶液中に含めることができ、またはペプチド溶液とは別に投与されてもよい。さらに、本明細書に提供される方法および助長する方法のいずれも、1つまたは複数の関係者によって実施され得る。

30

#### 【0093】

本開示のペプチド、ペプチド溶液、またはヒドロゲルは、キットで提供することができる。被験体における歯槽骨の標的エリアに溶液を投与するための指示も、キットで提供することができる。ペプチド溶液は、骨成長を促進するためのヒドロゲルを形成する有効量および有効濃度で、約7から約32の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含み得る。溶液を投与するための指示は、例えば、本明細書に記載の投与経路によって、ある用量、体積、もしくは濃度、または投与スケジュールで、本明細書に提供されるペプチド、ペプチド溶液、またはヒドロゲルを投与するための方法を含み得る。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

#### 【0094】

キットは、情報材料も含んでよい。情報材料は、本明細書に記載の方法に関する説明材料、教材、マーケティング材料または他の材料であってよい。一実施形態では、情報材料は、本明細書に開示されているペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルの作製、ペプチド、組成物、ペプチド溶液またはハイドロゲルの物理特性、濃度、体積、サイズ、寸法、有効期限、およびバッチまたは作製場所に関する情報を含んでよい。

40

#### 【0095】

キットは、場合によって、ペプチドまたはペプチド溶液を所望のエリアに投与することを可能にするためのデバイスまたは材料も含んでよい。例えば、シリング、ピペット、チューブ、カテーテル、シリングカテーテル、または他の針ベースデバイスをキットに含めることができる。それに加えて、またはその代わりに、キットは、標的エリアへのペプチ

50

ド溶液の選択的な投与をもたらすためのガイドワイヤー、内視鏡、または他の付随的な設備を含んでよい。

#### 【0096】

キットは、それに加えてまたはその代わりに、ペプチド溶液、ハイドロゲルまたは足場を配置することを補助し得る構成成分などの他の構成成分または成分を含んでよい。十分な量または体積のペプチド溶液と、キットと共に提供されてもされなくともよいスクロース溶液を合わせるための指示をこのキットで提供することができる。有効濃度の溶液を標的エリアに投与するためにペプチド溶液を希釈するための指示を提供することができる。指示は、希釈剤 (diluant) または溶媒を用いてペプチド溶液を希釈することを記載するものであってよい。希釈剤または溶媒は水であってよい。標的エリアに対する溶液の有効濃度および溶液の有効量の少なくとも1つを決定するための指示をさらに提供することができる。これは、本明細書で考察されている種々のパラメータに基づくものであってよく、標的エリアの寸法を含んでよい。

10

#### 【0097】

他の構成成分または成分をペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルと同じまたは異なる組成物または容器においてキットに含めることができる。1つまたは複数の構成成分としては、自己組織化ペプチドの効果の増強をもたらすことができるか、または別の作用、処置、療法をもたらすもしくは他のやり方で被験体の1つまたは複数の構成成分と相互作用することができる構成成分を挙げることができる。例えば、1つまたは複数の生物学的に活性な配列または生理的に活性な配列またはモチーフを含む追加的なペプチドを構成成分の1つとして自己組織化ペプチドと共に含めることができる。他の構成成分は、被験体に薬物または他の処置などのいくつかの利益をもたらし得る生物学的に活性な化合物を含んでよい。ペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルは、本明細書に開示されている通り、被験体を処置するためまたは溶血、炎症、および感染を予防するための小分子薬物を含んでよい。スクロース溶液などの糖溶液をキットと共に提供することができる。スクロース溶液は、20%スクロース溶液であってよい。本明細書に開示されている他の構成成分も、キットに含めてもよい。

20

#### 【0098】

一部の実施形態では、キットの構成成分を、例えばゴムまたはシリコーンのふた（例えば、ポリブタジエンまたはポリイソブレンのふた）を有する密閉バイアル中に保管する。一部の実施形態では、キットの構成成分を不活性条件下で（例えば、窒素またはアルゴンなどの別の不活性ガスの下で）保管する。一部の実施形態では、キットの構成成分を無水条件下で（例えば、乾燥剤を用いて）保管する。一部の実施形態では、キットの構成成分をアンバーバイアルなどの遮光容器中に保管する。

30

#### 【0099】

キットの一部としてまたはキットとは別に、シリングまたはピペットに、本明細書に開示されているペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルを予め充填することができる。使用者に、他のデバイスの使用を伴ってまたは伴わずに自己組織化ペプチド溶液をシリングまたはピペットに供給し、他のデバイスの使用を伴ってまたは伴わずに自己組織化ペプチド溶液をシリングまたはピペットによって標的エリアに投与するよう指示する方法が提供される。

40

#### 【0100】

1つまたは複数の実施形態によれば、キットは、ペプチド溶液の投与を助長するためのシリングおよびカニューレを含み得る。キットは、治癒を助長し、かつ／または投与されたペプチド溶液を所定位置に保持するための少なくとも1種の創傷包帯も含み得る。サイナスリフト手順中に洞膜を支持するように構成されたバリアが、キット中に提供され得る。投与前または投与中にペプチド溶液と混合される1種または複数の材料、例えば、抗生物質または抗炎症剤などが提供されてもよい。他の材料として、骨成長を促進するためにペプチド溶液と混合される同種移植片またはセラミック材料を挙げることができる。歯のインプラントも、キット中に含めてもよい。

50

## 【0101】

1つまたは複数の実施形態によれば、キットは、標的部位の寸法に少なくとも部分的に基づく有効量および有効濃度でペプチドヒドロゲルを含み得る。一部の実施形態では、歯槽骨成長を促進するのに有効な濃度は、約0.1w/vパーセント～約3w/vパーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む。少なくとも一部の実施形態では、ペプチドヒドロゲル溶液は、実質的に非生物学的に活性であり得る。ペプチドヒドロゲル溶液は、実質的に非顆粒状であり得る。一部の実施形態では、キット中の自己組織化ペプチドは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる約16アミノ酸を含む。少なくとも一部の実施形態では、キットは、Puramatix(登録商標)ペプチドヒドロゲルを含む。

## 【0102】

1つまたは複数の実施形態によれば、キットは、本明細書に論じたサイナスリフト手順においてペプチドヒドロゲルを使用するための指示を含み得る。指示は、投与前に自家移植片または同種移植片をペプチド溶液と混合することを記載する場合がある。一部の実施形態では、指示は、標的部位での同時的なペプチド溶液の投与およびインプラントの固定を伴うワンステップ手順に関し得る。他の実施形態では、指示は、標的部位でのペプチド溶液の投与、および引き続く所定の時間後の標的部位での増強された歯槽骨内のインプラントの固定を伴うツーステップ手順に関し得る。一部の実施形態では、所定の時間は、約3～約6カ月である。少なくとも一部の実施形態では、指示は、実施者に、最初の投与の後で、かつ埋め込みの前に追加の用量のペプチド溶液を提供するように指導する場合がある。指示は、追加のペプチド溶液を埋め込み時に投与することができることを示し得る。

## 【0103】

本開示の一部の実施形態では、自己組織化ペプチドは、デバイスまたは器具上のコーティングとして使用され得る。自己組織化ペプチドは、被験体に治療効果をもたらすことができ、または標的エリア内に適用され得る支持体、例えば、ガーゼもしくは帯具など、または内張に組込み、または固定することもできる。自己組織化ペプチドは、使用するためのスポンジ中に浸漬されてもよい。

## 【0104】

1つまたは複数の実施形態によれば、肉眼的構造は、細胞および細胞単層を培養するのに有用であり得る。細胞は、不均一な荷電表面に接着することを好む。タンパク質性膜の荷電残基およびコンホメーションは、細胞接着および移動を促進する。ペプチド肉眼的構造に線維芽細胞成長因子などの成長因子を添加すると、付着、細胞成長、および神経突起伸長をさらに改善することができる。多孔質マクロ構造も、細胞を被包するのに有用であり得る。膜の孔サイズは、細胞産物および栄養分の拡散を可能にするのに十分大きくてよい。細胞は一般に、孔よりはるかに大きく、したがって、含有されている。

## 【0105】

1つまたは複数の実施形態によれば、肉眼的足場は、複数の自己組織化ペプチドを含み、自己組織化ペプチドは、自己組織化して - シート肉眼的足場になり、前記肉眼的足場は、生細胞を被包し、前記細胞は、3次元配置で前記肉眼的足場内に存在する。1つまたは複数の実施形態は、哺乳動物に、標的部位で開示した自己組織化ペプチドを含む肉眼的足場を投与することを含む、組織を再生する方法も包含する。少なくとも一部の実施形態では、サイナスリフト手順の間などに歯周組織が再生される。追加の実施形態では、歯周組織再生のための足場は、本明細書に記載の自己組織化ペプチドを含む。本明細書では、組織再生および/または歯周組織再生との関連で、足場は、分解性ヒドロゲルであり得る。

## 【0106】

本明細書に開示の方法およびキットのこれらおよび他の実施形態の機能および利点は、以下の実施例からより完全に理解されることになる。以下の実施例は、開示した処置手法の利益を例示するように意図されているが、その全範囲を例示しない。

## 【実施例】

## 【0107】

10

20

30

40

50

歯槽のサイナスリフト手順における PuraMatrix (登録商標) 骨間隙充填剤  
対 脱塩凍結乾燥骨同種移植片 (DFDBA) の単盲検ランダム化対照実行可能性研究

1. 緒言

この試験は、PuraMatrix (登録商標) 骨間隙充填剤 (BVF) (滅菌水中の RADA 16) を、歯科用インプラント配置のための部位を準備するためのサイナスリフト (上顎洞床挙上 (maxillary sinus floor elevation)) として公知の骨増強手順において安全に使用することができるか否かを決定するためを行った。歯科用インプラント配置のための部位を準備するためのサイナスリフト手順に PuraMatrix (登録商標) を使用することの安全性および有効性も決定した。

【0108】

PuraMatrix (登録商標) が、サイナスリフト手順を含めた、口腔内欠損における一般的な骨間隙充填剤として適応され得ることが示されている。これを、使い捨て用の滅菌シリンジ中に提供した。

【0109】

対照製品は、顆粒状形態での脱塩凍結乾燥骨同種移植片 (DFDBA) であった。対照は、水分補給のために自家血または食塩水と混合し、製造業者の指示に従って使用した。

【0110】

2. 研究の記載

研究は、サイナスリフト移植における標準治療 (脱塩凍結乾燥骨同種移植片、すなわち DFDBA) を治験製品、PuraMatrix (登録商標) と比較する前向き単一施設研究であった。スクリーニング後、登録した被験体を 2 : 1 の比で処置群にランダムに割り当てた。2 : 1 の比は、安全性評価のための研究デバイスへの曝露を増大させるために選択した。

【0111】

15人の被験体を、サイナスエレベーション手順において移植片材料 (10のPuraMatrix (登録商標) および5つの対照) を用いて処置した。サイナスエレベーションの6カ月後、少なくとも1つの歯科用インプラントを配置し、骨切り術部位からの得られた組織骨核 (histological bone core) を組織学的分析のために保存した。経過観察を、義歯配置および装填手順中に継続した。最終的なインプラント評価を、インプラントを装填して6カ月後、移植して16カ月後に行った。

【0112】

図1は、研究プロトコールの時系列の概略である。

【0113】

3. 研究の目標およびエンドポイント

安全性目標は、サイナスリフト手順における PuraMatrix (登録商標) BVF の安全性を評価することであった。主要な安全性エンドポイントは、インプラント関連、対照関連、または手順関連有害事象の数および重症度であった。

【0114】

有効性目標は、サイナスリフト手順における骨再生における PuraMatrix (登録商標) BVF の有効性を評価することであった。有効性の主要エンドポイントは、放射線透過写真法での評価および組織学的評価の両方によって評価した、充填された欠損中に形成された骨の定性的評価、ならびに定量的組織形態計測によって評価した場合の骨形成の定量的尺度であった。追加の有効性エンドポイントは、表2において以下でさらに記載した歯科用インプラントのための健康スケールを使用して定義した場合のインプラント成功であった。

【0115】

4. エンドポイント評価

安全性評価

体液性免疫状態の評価を、処置の前および骨移植処置後3カ月において血清 IgG のレベルを決定することによって行った。被験体が3カ月において正常範囲外の結果を有して

10

20

30

40

50

いた場合、追加の試験を 6 ヶ月の経過観察訪問において行った。範囲外の値は、有害事象と考えなかつた。IgG レベルについてのデータを、表 1 で以下に報告する。

#### 【表 1】

表1. 被験体による血清IgGリスト

被験体 群	ベース ライン 試料の 日付	ベース ライン IgG値 mg/dL	正常 範囲内？	移植 の日付	3ヶ月の 試料の 日付	3ヶ月の IgG値 mg/dL	正常 範囲内？	第2の 移植の 日付	第2の 移植 試料を 採取した 日付	第2の 移植の IgG値 mg/dL	正常 範囲内？
1 DFDBA	2/9/2012	777	はい	2/21/2012	5/21/2012	746	はい				はい
2 PM	2/23/2012	818	はい	3/6/2012	6/4/2012	874	はい				はい
3 PM	2/27/2012	1235	はい	3/9/2012	6/4/2012	1234	はい				はい
4 PM	3/12/2012	1039	はい	4/13/2012	7/24/2012	988	はい	1/11/2013	1/18/2013	1100	はい
5 PM	3/12/2012	1419	はい	5/1/2012	7/30/2012	1309	はい				はい
6 DFDBA	3/13/2012	867	はい	4/27/2012	7/27/2012	903	はい				はい
7 DFDBA	3/26/2012	1020	はい	4/17/2012	7/12/2012	866	はい				はい
8 PM	4/9/2012	1177	はい	5/29/2012	8/28/2012	1044	はい	12/12/2012	12/19/2012	1032	はい
9 PM	4/9/2012	1163	はい	4/30/2012	7/30/2012	1177	はい	1/15/2013	2/20/2013	1116	はい
10 PM	4/11/2012	1433	はい	5/11/2012	8/21/2012	1280	はい				はい
12 DFDBA	4/24/2012	1039	はい	5/25/2012	8/28/2012	955	はい				はい
13 PM	4/24/2012	1462	はい	5/15/2012	8/20/2012	1403	はい				はい
14 PM	4/11/2012	1166	はい	5/14/2012	8/6/2012	1129	はい	1/10/2013	1/17/2013	1076	はい
15 DFDBA	5/3/2012	838	はい	5/21/2012	8/28/2013	826	はい				はい
16 PM	6/17/2012	1077	はい	6/14/2012	9/17/2012	1006	はい				はい

#### 【0116】

##### 有効性評価

##### 主要な有効性

主要な有効性アウトカムを測定するために、採取直後に、各生検材料を稜側にマーキングし、固定のために 10 % 中性緩衝ホルマリン溶液中に浸漬した。脱塩後、核を脱水し、パラフィン中に包埋した。標本をプロトコールに従って正確に切断して、試料の稜部分から適切な距離で円柱状切片を得た。円柱状切片を、従来法に従って長手方向軸に平行に切断した。試料を、慣例的なヘマトキシリン - エオシン (H & E) 技法を用いて染色し、組織学的分析および組織形態計測分析について評価した。

#### 【0117】

すべての試料を、盲検化された病理組織学の技術者によって実施された手順および定量化を使用して分析した。分析は、倒立型 (inverted) デジタルカメラを有する光学顕微鏡を使用して実施した。骨核標本 1 つ当たり各高さレベルの少なくとも 2 枚のスライドを分析した。試料の画像は、同じ拡大率で捕捉した。バイタルな骨のパーセント、残っている移植片粒子、および非石灰化結合組織の定量化は、特殊なソフトウェア (Image Pro-Plus Version 5.0) を使用して実施した。バイタルな骨は、裂孔 (lacunae) 中の骨細胞の同定によって定義した。

#### 【0118】

有効性の追加の尺度として、コーンビームコンピューター断層撮影 (CBCT) スキャンを、盲検様式での研究の最後に評価した。部位の横断面を評価して、ベースラインと増強後との間の歯槽骨の高さおよび幅の変化を測定した。すべての測定は、1人の研究者によって行われた。

#### 【0119】

10

20

30

40

50

### 副次的有効性評価

第2のアウトカム尺度として、インプラント成功を、表2に示したように、成功がIIまたはそれより良好なスコアとして定義される歯科用インプラントのためのICOI健康スケールを使用して、義歯配置時（インプラント配置の4ヶ月後）および研究完了時に再び、1人の研究者によって評価した。

【表2】

表2.歯科用インプラントのための健康スケール\*

群	臨床状態
I. 成功(最適の健康)	a) 機能時に痛みも圧痛もなし b) 可動性なし c) 最初の手術から2mm未満の放射線透過写真法での骨減少 d) 浸出物歴なし
II. 満足のいく生着	a) 機能時に痛みなし b) 可動性なし c) 2~4mmの放射線透過写真法での骨減少 d) 浸出物歴なし
III. 損なわれた生着	a) 機能時に感受性を有し得る b) 可動性なし c) 4mm超(インプラント本体の1/2未満)の放射線透過写真法での骨減少 d) 7mm超のプロービング深さ e) 浸出物歴を有し得る
IV. 失敗(臨床的または絶対的な失敗)	以下のいずれか: a) 機能時の痛み b) 可動性 c) インプラントの長さの1/2超の放射線透過写真法での骨減少 d) 制御されない浸出物 e) もはや口に存在しない

\*International Congress of Oral Implantologists、Pisa、イタリア、Consensus Conference、2007年。

【0120】

### 5. 研究集団

15人の被験体を研究中に処置した。年齢範囲は、30歳~73歳であり、平均は、51歳であった。登録期間は、継続時間で13週間であった。

【0121】

処置に利用可能な15人の被験体をプロトコールにおいて示したように、PuraMatrix（登録商標）群およびDFDBA群にランダム化した（2:1）。ランダム化は、8人の女性被験体のうちの7人のPuraMatrix（登録商標）群への割り当てをもたらした。PuraMatrix（登録商標）群に割り当てられた被験体の平均年齢は、49歳であり、範囲は30~72歳であった。DFDBA群に割り当てられた被験体の平均年齢は、59歳であり、範囲は51~73歳であった。

【0122】

### 6. 処置手順

調査群中の被験体の洞増強を以下の通り実施した。

10

20

30

40

50

## 【0123】

対照処置 (D F D B A )

D F D B A を、製造業者の指示に従って水分補給のために自家血と混合した。再吸収可能コラーゲン膜 (C o l l a T a p e (登録商標)など)を、必要であれば、移植片材料を配置する前に洞膜に対して配置した。D F D B A を製造業者の指示に従って使用した。

## 【0124】

P u r a M a t r i x (登録商標) 処置

P u r a M a t r i x (登録商標) B V F は、低温貯蔵から使用し、または室温に到達させることができる。混合は要求されない。再吸収可能コラーゲン膜 (C o l l a T a p e (登録商標)など)を、必要であれば、移植片材料を配置する前に洞膜に対して配置した。

10

## 【0125】

稜上 (s u p r a c r e s t a l ) 切開を、無歯歯槽頂の口蓋側にわずかに向かって行った。切開は、残っている歯の間で、または無歯遠心伸長 (e d e n t u l o u s d i s t a l e x t e n s i o n ) の場合において残っている歯から粗面に延長した。適切なアクセスを得ることが必要なとき、近心または遠心垂直解放切開を引いた。全層粘膜骨膜弁は、上顎洞の側壁を可視化するために上昇させた。次いで、参考として C B C T 画像を使用して円形ダイヤモンドバーを用いて窓を輪郭描画した。露出させた後、シュナイダー膜の慎重な上昇を、洞膜エレベーターを使用して実施した。洞膜を稜から最大で 1 4 m m 上昇させて十分なインプラント長さを可能にした。骨窓 (b o n e w i n d o w ) を膜に蝶番で固定し、それにより洞の新しい基部を形成した。膜を、平坦で、縁が鈍な金属器具を用いてその上昇後に保護した。

20

## 【0126】

必要な限り多くの移植材料を配置して歯槽頂から 1 4 ~ 1 6 m m の最小高さを得、側方窓の境界まで完全に充填した。

## 【0127】

代表的な場合を図 2 A ~ 2 C に示す (P u r a M a t r i x (登録商標) を用いた側壁洞増強)。

## 【0128】

経過観察訪問は、創傷治癒、および有害事象の発生の評価を含んでいた。インプラント配置は、移植後 6 カ月において行った。被験体 1 人当たり複数のインプラントが臨床的な判断に基づいて許容され、不十分な骨成長を伴った 2 人の P u r a M a t r i x (登録商標) 被験体を除くすべての被験体が少なくとも 1 つのインプラントを受けた。骨核をインプラント部位で採取し、組織学的評価のために貯蔵した。3 . 3 、 4 . 1 、または 4 . 8 の直径の骨レベルインプラントを使用した (S t r a u m a n n S L A c t i v e )。第 2 の段階の手術を実施して義歯を準備するためにインプラント治具を露出させた。義歯配置を、インプラント配置をしておよそ 4 カ月後に標準治療によって実施した。最終的な経過観察評価は、インプラント安定性格付けを含んでおり、インプラント (複数可) を 6 カ月間装填した後に行った。

30

## 【0129】

7 . 処置データ

洞移植

最初のサイナスリフト移植手順で配置した P u r a M a t r i x (登録商標) および D F D B A の量を表 3 に示す。D F D B A より少ない P u r a M a t r i x (登録商標) を配置したことに留意されたい。

40

## 【表3】

表3: 処置量(cc)

	最初の 処置	第2の 処置	合計
PuraMatrix(登録商標)			
N	10	4	10
平均	1.41	1.1	1.85
最大	2.6	1.5	4.1
最小	0.5	0.4	0.5
対照			
N	5	0	5
平均	2.2		2.2
最大	5.5		5.5
最小	1.0		1.0

10

20

30

## 【0130】

PuraMatrix(登録商標)は、取り扱いおよび外科的技法の観点からDFDBAに対して利点を提供することが観察された。相当により少ない時間が、移植片を調製するのに必要であった。PuraMatrix(登録商標)は、適用するのが容易であり、手術部位を完全に充填し、手術部位に対してより少ない曝露時間を必要とし、したがって汚染のリスクを最小限にすることを見出すことができた。

## 【0131】

移植して6カ月後に、インプラント配置において、6人のPuraMatrix(登録商標)被験体が最適以下の骨量を有することが判明した。2人の被験体のCBCTスキャンは、骨の高さの増大を示したが、インプラント手順中に、部位は、新しい骨でなく線維性組織で充填されていることが判明した。これらの2人の被験体は、標準治療として対照製品で処置され、研究を抜けた。骨成長が限られていた残りの4人の被験体に、インプラントの長期安定性を支持する配置でインプラントの頂端部分周辺に追加のPuraMatrix(登録商標)を移植した。一次安定性は、これらのインプラントで達成され、彼らは、研究を継続した。追加のIgG試験を追加の移植片を受けている被験体に実施し、値が範囲外であった被験体はいなかった。関連したAEは、これらの被験体において観察されなかつた。

## 【0132】

## インプラントおよびアバットメント

インプラントは、PuraMatrix(登録商標)群における17の移植場所のうちの12、およびDFDBA群における6つすべての場所に配置した。移植およびインプラント配置場所の指定は正確でない。なぜなら、それが歯の場所の専門用語に基づき、上顎洞は、複数の歯の場所に及ぶためである。したがって、場所データの不一致は重要であると見なされない。なぜなら、骨核の組織学的評価により、インプラントが、移植された部位に配置されていたことが確認されたためである。

40

## 【0133】

インプラント配置での一次安定性は、両群におけるすべての配置されたインプラントについて確認され、トルク測定値は、群間で有意に異ならず、10Ncmから32Ncmの間の範囲であった。

## 【0134】

50

アバットメントは、各被験体について第2の段階の手術後に配置および装填した。義歯配置で、すべてのインプラントに、アバットメントスクリューをしっかりと締め、インプラントが骨結合された(*osseointegrated*)ことを確認するために35Ncまでトルクをかけた。インプラント品質の格付けをこの訪問で同様に行つた。義歯配置におけるインプラント品質は、PuraMatrix(登録商標)群の12人において成功裏のもの、1人において満足のいくもの、DFDBA群における6人すべてにおいて成功裏のものであった(フィッシャー正確 $p = 1.000$ )。

#### 【0135】

##### IgG結果

PuraMatrix(登録商標)への2回の曝露を伴ったものを含めたすべての被験体は、正常範囲内の血清IgG結果を示した。被験体1人当たりのIgG値の表を、表1で上記に示す。

#### 【0136】

##### 病理組織学の結果

本研究の病理組織学部分の目的は、配置後6カ月においてPuraMatrix(登録商標)またはDFDBA骨間隙充填剤を使用して側方窓洞増強後の骨形成についてのヒト骨核試料、ならびに関連したエンドポイント(すなわち、骨の品質、残っている移植片粒子、%バイタルな骨、および%非石灰化組織)を評価することであった。

#### 【0137】

全体で、7つのDFDBAおよび5つのPuraMatrix(登録商標)の核を病理組織学的評価に利用した。2人のPuraMatrix(登録商標)被験体が、骨成長が観察されなかった後に研究を抜け、4人のPuraMatrix(登録商標)被験体が、分析のためのインプラント配置で核を収集するのに十分な骨を確かに有していた。採取した骨核の完全なリストは、表4に以下にある。

10

20

【表4】

表4: 収集した骨核

被験体	群	歯	骨核を収集した/ インプラントを 配置したか?	コメント
01-01	DFDBA	3	した	
01-02	PuraMatrix	13	しない	骨成長なし、インプラント を配置しなかった。被験体 を研究から外した。
		14	しない	骨成長なし、インプラント を配置しなかった。被験体 を研究から外した。
01-03	PuraMatrix	3	した	
		4	した	インプラントを移植したエ リアではなかった部位に配 置し、核を分析しなかった
01-04	PuraMatrix	14	しない	不十分な骨
01-05	PuraMatrix	3	した	
		2	した	部分的な核のみ
01-06	DFDBA	2	した	
01-07	DFDBA	3	した	
01-08	PuraMatrix	14	しない	不十分な骨
		15	しない	不十分な骨
01-09	PuraMatrix	14	しない	不十分な骨
01-10	PuraMatrix	14	した	
01-12	DFDBA	12	した	
		14	した	
01-13	PuraMatrix	14	した	
		15	した	核が溶解し、分析しなかつ た
01-14	PuraMatrix	14	しない	不十分な骨
01-15	DFDBA	2	した	
		3	した	
01-16	PuraMatrix	3	しない	骨成長なし、インプラント を配置しなかった。被験体 を研究から外した。
01-16	PuraMatrix	4	しない	骨成長なし、インプラント を配置しなかった。被験体 を研究から外した。

【0138】

一般に、すべての核は、再吸収性移植片粒子または材料および通常の骨代謝回転と一致

10

20

30

40

50

して最小限の炎症細胞浸潤を示した。膿瘍形成は、評価した核のいずれにおいても観察されなかった。D F D B A 移植部位は、新しい骨によって囲繞された大きい再吸収性移植片粒子を示した一方、P u r a M a t r i x (登録商標) 核は、移植された部位においてより大きい新規骨形成を示した。

#### 【 0 1 3 9 】

骨髓空間のサイズは、両群において同様であり、P u r a M a t r i x (登録商標) 核中の新しい骨での知見を支持した。

#### 【 0 1 4 0 】

これらの結果は、本研究では、P u r a M a t r i x (登録商標) が洞増強手順において新規骨形成をすることことができ、結果が標準的な処置、D F D B A と同等、またはそれより優れていたことを示す。

10

#### 【 0 1 4 1 】

##### 微視的な観察

両群 (P u r a M a t r i x (登録商標) およびD F D B A ) は、移植片材料の再吸収および骨代謝回転を示す、特に移植片粒子 (D F D B A ) および移植片材料 (P u r a M a t r i x (登録商標) ) 周辺で様々な程度の炎症細胞浸潤を示した。膿瘍形成は、標本のいずれにおいても見られなかった。(代表的な図6~12を参照)。全体的に、微視的な評価は、両群において移植されたエリアで様々な程度の新規骨形成を示した。稜骨の幅は、最初の稜骨の高さに基づいて試料間で変動した(適格性について8mm以下の稜骨の存在)。群間の主要な差異は、残留する移植片材料であった。これらは、すべてのD F D B A で増強された部位において存在したが、P u r a M a t r i x (登録商標) で増強された部位は、移植後6カ月において最小限のまたはほとんど皆無の残っている移植片材料を示した。D F D B A で増強された部位から採取した核の移植されたゾーンは、移植片粒子と古い骨(稜骨)との間で形成されたいくらかの接続している新しい骨橋( b o n e b r i d g e )を伴って、残留する移植片材料によってほとんど構築されていた。骨髓空間は、血管および非石灰化組織を伴って標本全体について大きいが均一であった(図3Aを参照)。P u r a M a t r i x (登録商標) で増強された部位では、移植されたゾーンは、新しい骨マトリックスから主になり、多数の血管および非石灰化組織とともに大きく均一な骨髓空間を伴った新しい小柱状構造を形成した。新しく形成された骨は、D F D B A 移植部位と比較して裂孔中の骨細胞でより成熟しているように思われた。管壁細胞( l i n i n g c e l l )が新しく形成された骨を囲繞し、P u r a M a t r i x (登録商標) 移植部位で活性な新規骨形成を示した一方、新しく形成した骨の隣に高密度な炎症細胞活性のエリアが検出された。これは、活性プロセスとしての残留する移植片材料の分解および新しく形成された骨による置換を示す(図3B)。

20

#### 【 0 1 4 2 】

図3Aは、D F D B A を移植する前に6mmの残留する稜を有していた100倍の拡大率での代表標本の稜ゾーンを示す。画像の左端は、成熟した骨要素および層状組織化を有する稜骨( C B )を示し、一方右端は、空の裂孔を有する移植片粒子( G P )周辺に層状化した新しい骨( N B )を示す(左を指す矢印によって表した)。移植されたエリアで、血管新生の増大が、移植片粒子周辺に多数の血管( B V )および新規骨形成を伴って検出可能である。新しい骨( N B )は、最初の層としてのセメント線および粒子間の架橋を伴って移植片粒子( G P )を被包しているように思われる(移植された部位、右を指す矢印によって表した)。新規骨形成は、移植片粒子に付着していた。

30

#### 【 0 1 4 3 】

図3Bは、P u r a M a t r i x (登録商標) を移植する前に5.3mmの残留する稜を有していた100倍の拡大率での代表標本の稜ゾーンを示す。図3Aと同様に、画像の左端は、成熟した骨要素および層状組織化を有する稜骨( C B )を示し、一方右端は、バイタルな骨要素を伴った新しい骨( N B )を示す(裂孔内の骨細胞(左を指す矢印によって表した))。いくつかの血管( B V )を伴った大きい骨髓空間( B M )は、D F D B A 移植部位と比較してより成熟した骨形成を示す。高密度な炎症細胞浸潤は、再吸収性移植

40

50

片材料をおそらく囲繞している核の中心に見られた。移植片分解を伴って活性部位の中心から形成する骨粒子に留意されたい(右を指す矢印によって表した)。

#### 【0144】

##### 骨形成の定量的尺度

###### 組織形態計測

すべてのゾーン中のバイタルな骨のパーセントをソフトウェア( Image Pro - Plus バージョン 5.0 )を使用して定量化した。パーセンテージは、100倍での画像の総面積に基づいて計算した。バイタルな骨は、裂孔中の骨細胞の同定によって定義した。測定は、各画像で、3つのゾーン、稜、混合した部位(稜と移植されたものの両方)、および移植された部位で行った。1ゾーン当たり核1個当たり3切片の平均を、各核の各エリアについてバイタルな骨のパーセントを計算するのに使用した。各エリアについて、および全ての核についての平均値を、両方の群(DFDBAおよびPuraMatrix(登録商標))についての標準偏差とともに計算した。

10

#### 【0145】

すべてのゾーン(混合された稜、および移植されたゾーン)中のバイタルな骨のパーセントは、DFDBAで増強されたものよりPuraMatrix(登録商標)で増強された核中で大きかった(図4A)。合計のバイタルな骨を各核について計算したとき、PuraMatrix(登録商標)移植部位は、DFDBA移植部位と比較してよりバイタルな骨を示した(図4B)。DFDBA部位の移植されたゾーンにおいて、骨構造は、新しく形成された骨によって囲繞された移植片粒子で主に形成されており、一方、PuraMatrix(登録商標)核中の移植されたゾーンは、上顎骨の小柱状構造を形成するように架橋している、新しく形成された骨によって主に形成されていた。結果を表5:組織形態計測結果に示す。

20

#### 【表5】

表5:組織形態計測結果

PuraMatrix				DFDBA			
被験体番号	インプラントの場所(ADA#)	バイタルな骨(%)	骨髓(%)	被験体番号	インプラントの場所(ADA#)	バイタルな骨(%)	骨髓(%)
3	3	32.8	55.8	3	3	14.0	49.5
5	3	23.6	64.5	6	2	22.1	72.1
	2	31.5	68.5		3	25.8	53.1
13	14	49.1	50.8	13	12	41.7	55.9
13	14	45.3	56.2	15	14	19.7	71.9
					3	31.4	62.6
%合計		35.2±7.7	56.9±5.3		2	32.6	66.8
					%合計	26.7±15.5	61.7±9.1

30

#### 【0146】

##### 骨髓空間のパーセント

#### 【0147】

非石灰化結合組織、脂肪組織、および骨血管を含む骨髓空間のパーセントを、ソフトウェア( Image Pro - Plus バージョン 5.0 )を使用して定量化した。パーセンテージは、100倍での画像の総面積に基づいて計算した。測定は、各画像で、3つの

40

50

エリア、稜、混合した部位（稜と移植されたものの両方）、および移植された部位で行った。1エリア当たり核1個当たり3切片の平均を、各核の各エリアについて%骨髓空間を計算するのに使用した。各エリアについて、および全ての核についての平均値を、両方の群（D F D B A および P u r a M a t r i x（登録商標））についての標準偏差とともに計算した。

#### 【0148】

すべてのエリアにおける骨髓のパーセントは、%バイタルな骨の差異と比較して両方の群において同様であった。これは、D F D B A 核の移植されたエリアに概ね見られた再吸収されなかつた移植片粒子に起因した。結果は、核全体について計算したとき総骨髓空間において同様であった（図5、表5）。群間で総骨髓空間の差異はなく、それは、P u r a M a t r i x（登録商標）核が、対照部位と比較してより多くの新しい骨によって形成された一方、D F D B A 移植部位は、骨核採取時（6カ月）に残留する移植片粒子および移植片粒子を囲繞する新しい骨を伴つた複合構造を有していたことを示す。

10

#### 【0149】

##### 代表的な画像

代表的な画像を図6～13に示す。図6は、P u r a M a t r i x（登録商標）移植エリアを表す。炎症細胞浸潤を、再吸收性移植片材料を示す新しい骨の周辺に見ることができる。管壁細胞は、骨髓空間内に血管を伴つて新しい成熟した骨を囲繞する。薄い残留する骨が、新しい骨の活性を有する移植されたエリアに直ぐ隣接する稜エリアに見られる（約0.5mm）。

20

#### 【0150】

図7は、P u r a M a t r i x（登録商標）移植エリアを表す。移植された部位は、活性な血管系をともに伴つて新しく形成している骨を示す。稜レベルでの残留する骨が通常の骨特性とともに見られる。

#### 【0151】

図8は、D F D B A 移植エリアを表す。画像は、薄層として新規骨形成によって囲繞された移植片粒子によってほとんど形成されている核を伴つた最小限の稜の残留する骨を示す。中央に、非石灰化組織が観察される。大きい骨髓空間、ある程度の血管新生、および新規骨形成が見られる。

30

#### 【0152】

図9は、D F D B A 移植エリアを表す。残留する稜骨および移植されたエリアを分離するよく区別された非石灰化組織が見られる。移植されたエリアは、移植片粒子と周囲の新規骨形成との間に類骨組織を示す。

#### 【0153】

図10は、P u r a M a t r i x（登録商標）移植エリアを表す。移植されたエリアで、類骨組織形成を囲繞する炎症細胞を伴つた新しい骨の活性が検出される。大きい骨髓空間を有する移植された部位における新規骨形成が観察される。よく組織化された成熟した骨を伴つた薄い残留する稜エリアが存在する。

#### 【0154】

図11は、P u r a M a t r i x（登録商標）移植エリアを表す。高密度な血管新生を伴つた新しい骨粒子および新しい骨周辺の炎症細胞浸潤が移植された部位で見られる。稜エリアで、より少ない血管新生を伴つた大きい骨髓空間を有するよく組織化された小柱状骨構造が存在する。

40

#### 【0155】

図12は、D F D B A 移植エリアを表す。移植されたエリアは、新しく形成された骨を伴つた移植片粒子および移植片粒子を囲繞する非石灰化結合組織からほとんど構成されている。移植片粒子周辺の高密度な炎症細胞浸潤が存在し、骨代謝回転を示す。稜エリアは、残留する骨およびより少なくより小さい血管を有する大きな骨髓空間を示し、非活性の成熟した骨を示す。

#### 【0156】

50

### 放射線透過写真法

放射線透過写真法での評価を実施して、3つの異なる時点、ベースライン、3カ月および6カ月で、PuraMatrix（登録商標）またはDFDBA骨代替品を使用して側方窓洞増強手順後の歯槽骨の高さおよび幅の変化を3次元的に評価した。

#### 【0157】

放射線透過写真法での評価は、オペレーターのマニュアル（iCAT（登録商標）、Imaging Sciences International）に従って標準技法を使用して取得したCBCTによって得られた画像に対して行った。すべての手順および定量化は、1人の記録者によって盲検様式で実施した。

#### 【0158】

スクリーニング時に、CBCTスキャンをすべての登録された被験体から取って、研究の適格性を決定した。このスキャンは、目的のエリアにおける骨の高さおよび幅についてのベースライン測定値としても機能を果たした。PuraMatrix（登録商標）またはDFDBA骨代替品材料を用いた洞増強の3および6カ月後に、CBCT評価を繰り返した。

10

#### 【0159】

歯槽骨の高さは、稜骨縁部と洞膜の基部との間の距離として測定し、一方歯槽骨の幅は、歯槽頂の頬舌径として測定した（図13）。図13では、歯槽骨の高さは、2と標識されており、幅は、1と標識されている。これらは、CBCTソフトウェアの「距離」ツールを使用して測定し、結果をmmで提示した（例えば、1=幅=10.64mmおよび2=高さ=5.88mm）。これらの測定は、1)増強手順の前の、2)3カ月における、および3)6カ月における3つのCBCT画像について実施した。測定に使用した横断面のそれぞれは、各場合についての目的の部位（増強部位）から選択し、選択された領域によって標準化した。

20

#### 【0160】

CBCT画像は、図14に示したように、PuraMatrix（登録商標）で処置された被験体のほとんどについて骨の高さの有意な変化を示した一方、被験体#4、#9、#8、および#14では、変化は限られていた。被験体#2および#16は、増強部位において不十分な骨形成および線維性組織形成を伴って見出され、6カ月時に研究から除外したが、CBCT測定は、有意な骨の高さ変化を示したこと留意されたい。さらに、被験体#4、#8、#9、および#14は、限られた骨形成に起因してインプラント配置中に6カ月において追加のPuraMatrix（登録商標）材料を受けた。全体的に、有意な変化が、ベースラインと比較して3および6カ月で観察され（ $p < 0.05$ ）、3カ月と6カ月との間に差異はなかった。

30

#### 【0161】

図15は、DFDBA / 対照群に割り当てられた被験体における骨の高さの変化を示す。3および6カ月における変化は、ベースラインと比較して統計的に有意であったが（ $p < 0.05$ ）、3カ月と6カ月との間に骨の高さの統計的に有意な差異はなかった。

#### 【0162】

図16は、時間をわたってのPuraMatrix（登録商標）群とDFDBA群との間の骨の高さの比較を示す（平均±SD）。骨の高さの統計的に有意な差異が、3および6カ月においてPuraMatrix（登録商標）群と対照群との間で検出された（それぞれ、 $*p = 0.045$ および $*p = 0.025$ ）。PuraMatrix（登録商標）群中の被験体#2および#16は、データ分析から除外したことに留意されたい。

40

#### 【0163】

図17は、失敗した場合および追加で移植された場合を除いた後のPuraMatrix（登録商標）群とDVDBA群との間の骨の高さの変化の比較を示す。任意の時点における群間の差異（mm）は、統計的に有意でなかった（ $p > 0.05$ ）。

#### 【0164】

PuraMatrix（登録商標）およびDFDBAの両方について、増強により、ベ

50

ースラインに対して3カ月(それぞれ $p = 0.002$ 、 $p < 0.001$ )および6カ月( $p = 0.009$ 、 $p < 0.001$ )において骨の高さが有意に増大した。全体的に、骨の高さの増大は、PuraMatrix(登録商標)よりDFDBAについてより大きかった( $p = 0.025$ )。骨の高さの増大は、骨形成が起らなかった、または不十分であった、以前に論じたPuraMatrix(登録商標)の場合に基づいて、DFDBAよりPuraMatrix(登録商標)について変動が大きかった。これらの場合を分析から除外したとき、PuraMatrix(登録商標)とDFDBAとの間の骨の高さの差異は、統計的に有意でなかった。

#### 【0165】

移植に使用したDFDBAの体積は一般に、PuraMatrix(登録商標)の体積より多かったことに留意されたい。DFDBAに対してPuraMatrix(登録商標)についての骨の高さにおけるいくぶんより低い増大の別の説明は、理論に束縛されることを望むわけではないが、PuraMatrix(登録商標)が、上昇された位置で洞膜を保持するのに十分剛性でなかったことである。これは、特に大きい洞空洞において、および治癒中に崩壊する傾向がある厚い洞膜で当てはまるはずである。この限定事項を克服するために、PuraMatrix(登録商標)を洞膜に対して本明細書に論じたより剛性のバリアと併せて使用することによって、最適な新規骨形成のための空間維持を改善することができることが示唆される。この構成で、PuraMatrix(登録商標)は、空間を維持する機能において膜によって支援されながら新規骨形成のための足場としてその主要な役割を満たすことができるはずである。

10

20

#### 【0166】

骨の幅は、いずれの群においても時間をわたって有意な変化を示さず、外科手術が骨減少を引き起こさなかったことを示した。

#### 【0167】

表6および7は、実施した測定の詳細を示す。

#### 【0168】

#### 【表6】

表6. PuraMatrix(登録商標)およびDFDBAで処置された場合における骨の高さおよび幅。

	N	平均	標準偏差	標準誤差	平均の95%信頼区間		最小	最大	
					下界	上界			
高さ	PM-B	10	5.1350	2.53592	.79877	3.3221	6.9369	1.75	8.02
	PM-3M	10	10.0730	2.15031	.67299	8.5345	11.6112	6.75	13.10
	PM-6M	10	9.4560	2.21046	.69302	7.8777	11.0403	6.54	12.19
DFDBA-B	5	5.0020	1.16719	.53540	3.5155	6.4885	3.81	5.88	
	DFDBA-3M	5	14.5500	4.01312	1.79474	9.5779	19.5420	10.01	18.75
	DFDBA-6M	5	14.2540	3.46773	1.55861	9.9452	18.5598	9.80	18.74
幅	合計	45	9.2378	4.24956	.63350	7.9616	10.5145	1.75	18.75
	PM-B	10	5.4260	1.54236	.48774	4.3227	6.5293	3.50	8.27
	PM-3M	10	5.4320	1.41950	.44588	4.4156	6.4474	3.75	8.25
	PM-6M	10	5.2050	1.61311	.51811	4.0521	6.3599	3.76	8.25
DFDBA-B	5	7.3080	1.96652	.68840	4.7414	9.6746	5.53	10.54	
	DFDBA-3M	5	6.7650	2.32656	1.04547	3.8972	9.6748	4.51	10.55
	DFDBA-6M	5	6.7820	2.48406	1.11091	3.6976	9.8684	4.26	10.55
合計		45	5.8782	1.85057	.27587	5.3220	6.4342	3.50	10.64

30

40

PM=PuraMatrix: B=ベースライン: 3M=3カ月: 6M=6カ月。対照群、DFDBAは、高さおよび幅の両方についてボックス内に示されている。

50

【0169】

【表7】

表7. 時間をわたってのPuraMatrix(登録商標)で処置された場合とDFDBAで処置された場合との間の骨の高さの変化の複数の計算(ANOVAとその後のボンフェローニ検定)。

群時間	群時間	平均差異 (I-J)	標準誤差	n	平均の95%信頼区間	
					下界	上界
PM-6M	PM-3M	-4.34300 <sup>*</sup>	1.15751	1002	-5.5624	-1.3236
	PM-6M	-4.32900 <sup>*</sup>	1.15751	1009	-7.9454	-7.7096
	DFDBA-3M	.12600	1.43766	1000	-4.3048	4.5626
	DFDBA-3M	-9.43300 <sup>*</sup>	1.43766	1000	-13.5566	-4.2872
	DFDBA-6M	-9.12400 <sup>*</sup>	1.43766	1000	-13.5566	-4.5812
	PM-6M	4.94300 <sup>*</sup>	1.15751	1002	1.3236	8.5624
PM-3M	PM-6M	.61400	1.15751	1000	-3.3054	4.2334
	DFDBA-3M	5.07100 <sup>*</sup>	1.43766	1014	.5382	9.5036
	DFDBA-3M	-4.45700 <sup>*</sup>	1.43766	1045	-6.9196	-3.8642
	DFDBA-6M	-4.18100	1.43766	1050	-6.6136	.2518
	PM-6M	4.32900 <sup>*</sup>	1.15751	1000	.7056	7.9454
	PM-3M	-.61400	1.15751	1000	-4.2334	3.8054
DFDBA-3M	DFDBA-3M	4.45700 <sup>*</sup>	1.43766	1048	.5242	8.8898
	DFDBA-3M	-5.10100 <sup>*</sup>	1.43766	1013	-6.5336	-5.6632
	DFDBA-6M	-4.79500 <sup>*</sup>	1.43766	1028	-8.2278	-3.8622
	PM-6M	-.12600	1.43766	1000	-4.5606	4.3048
	PM-3M	-5.07100 <sup>*</sup>	1.43766	1014	-9.5036	-5.3382
	PM-6M	-4.45700 <sup>*</sup>	1.43766	1048	-6.8898	-3.8242
DFDBA-3M	DFDBA-3M	-9.55800 <sup>*</sup>	1.63697	1000	-14.6766	-4.4284
	DFDBA-6M	-9.25200 <sup>*</sup>	1.63697	1000	-14.3706	-4.1234
	PM-6M	9.43300 <sup>*</sup>	1.43766	1000	4.9272	13.5626
	PM-3M	4.45700 <sup>*</sup>	1.43766	1048	.5542	8.9198
	PM-6M	5.10100 <sup>*</sup>	1.43766	1013	.5682	9.5336
	DFDBA-3M	9.55800 <sup>*</sup>	1.63697	1000	4.4284	14.6766
DFDBA-6M	DFDBA-6M	.30600	1.63697	1000	-4.8126	5.4248
	PM-6M	9.12400 <sup>*</sup>	1.43766	1000	4.8212	13.5566
	PM-3M	4.18100	1.43766	1000	-2.2518	8.6138
	PM-6M	4.79500 <sup>*</sup>	1.43766	1028	.3622	9.2278
	DFDBA-3M	9.25200 <sup>*</sup>	1.63697	1000	4.1334	14.3706
	DFDBA-3M	-.30600	1.63697	1000	-5.4248	4.8126

PM=PuraMatrix;B=ベースライン;3M=3カ月;6M=6カ月。ベースラインと比較した、および群間の有意性は、両方の群について赤色で示されている。

【0170】

歯科用インプラント分析のための健康スケールを使用するインプラント成功の評価

【0171】

義歯配置(装填・移植片配置の10カ月後)、および義歯配置後6カ月における歯科用インプラントのための健康スケールによるインプラント成功を、PuraMatrix(登録商標)およびDFDBAについてそれぞれ表8および表9に要約する。両方の群におけるすべてのインプラントは、既定の基準によって成功であった。歯科用インプラントのための健康スケールによる臨床評価に加えて、すべてのインプラントが義歯配置時に35N-cmのトルクの適用に耐えた事実により、これらが骨結合されたことが確認された。アバットメント配置時にIIの成功格付けを有していたPuraMatrix(登録商標)を移植された部位における1つのインプラントを除いて、すべてのインプラントは、アバットメント配置時および義歯配置後6カ月においてIの格付けを有していた。同じインプラントは、義歯配置後6カ月においてIの成功格付けを有していた。このインプラント

10

20

30

40

50

部位は、インプラント配置時に追加の PuraMatrix (登録商標) を受けている。

【表 8】

表 8: インプラント成功-PuraMatrix(登録商標)

被験体	インプラントの場所	移植の 10 カ月後の成功格付け	移植の 16 カ月後の成功格付け
3	3	I	I
	4	I	I
4*	14	II	I
5	3	I	I
	2	I	I
8*	14	I	I
	15	I	I
9*	14	I	I
10	14	I	I
13	14	I	I
	15	I	I
14*	14	I	I

10

\*被験体は、2 用量の PuraMatrix(登録商標)を受けた

20

【表 9】

表 9: インプラント成功-対照

被験体	インプラントの場所	移植の 10 カ月後の成功格付け	移植の 16 カ月後の成功格付け
1	3	I	I
6	2	I	I
7	3	I	I
12	12	I	I
	14	I	I
15	3	I	I
	2	I	I

30

【0172】

結論

本研究は、PuraMatrix (登録商標) を洞増強手順において安全かつ成功裏に使用することができる事を示した。安全性目標は、PuraMatrix (登録商標) の有害事象の数および重症度が、対照処置のものと同様であることを実証することによって満たされた。有効性目標は、新しいバイタルな骨の形成が、対照処置について観察されたものと同様であるか、またはそれより優れていることを示すことによって満たされた。追加の有効性目標は、PuraMatrix (登録商標) 処置および対照処置について、移植片中に配置されたインプラントが、歯科用インプラントのための健康スケールによって定義される場合、義歯配置（装填）後 6 カ月において成功であったことを示すことによって満たされた。

40

【0173】

空間維持および最適の新規骨形成を保証するために、より剛性のバリアと併せて PuraMatrix (登録商標) を使用することが有益であり得る。

【0174】

50

さらに、PuraMatrix（登録商標）に対してDFDBAを使用するとき、より多くの時間が移植片を調製するのに必要である（約15分、脱水および待ち時間を含む）ことが見出された。必要とされる正確な量を予測することは困難であり得、したがって、必要な場合、追加の移植片を調製するのにより多くの時間をする場合がある。より多くの時間はまた、増強されたエリア内で移植片を凝縮するのに、DFDBAを用いると必要となり得る。より多くの注意も、移植片を部位内に慎重に移動させるのに必要である。移動中により多くの汚染リスクまたは移植片の喪失のリスクも存在し得る。

#### 【0175】

PuraMatrix（登録商標）を用いると、相当により少ない時間が移植片を調製するのに必要であることを見出すことができた（約2～5分、脱水も待ち時間もなし）。必要とされる正確な量を予測するのが容易であり、追加の量が必要とされる場合、PuraMatrix（登録商標）を含有する新しいシリンジを加えるのに1～2分しか必要としない。増強エリア内で移植片を凝縮するのに必要とされる追加の時間はほとんどない。さらに、移植片を手術部位内に移動させるのに汚染リスクはより少なく、必要とされる注意はより少ない。

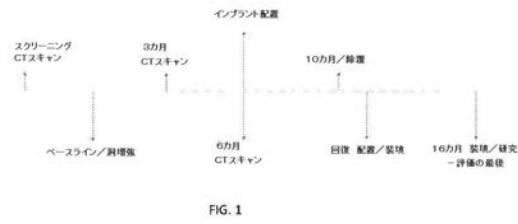
#### 【0176】

PuraMatrix（登録商標）は、適用するのが容易で迅速であることも見出された。したがって、手術部位のための曝露時間はより少ない。これは、手術部位を完全に充填することができ、汚染リスクも材料の喪失のリスクもない。あらゆる口腔内または口腔外の病理の術後の問題も臨床的証拠もない。

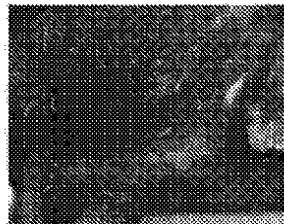
#### 【0177】

本明細書に論じた材料および方法の様々な実施形態は、これらの用途において、本記載に示したまたは図面に例示した詳細に限定されない。1つまたは複数の実施形態は、本明細書に模範となるように提示したものを超えて様々なやり方で実践または実施され得る。

【図1】



【図2C】



【図2A】

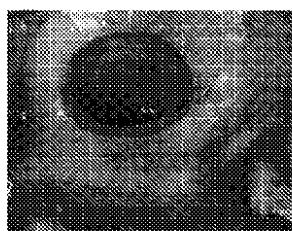


FIG. 2A

【図2B】

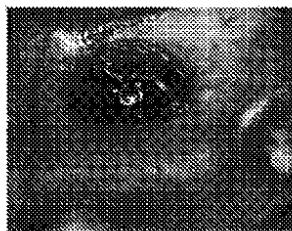
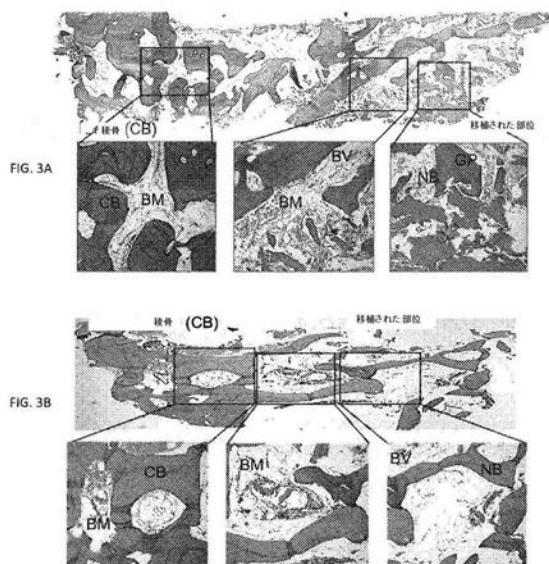


FIG. 2B

10

20

【図3】



【図4】

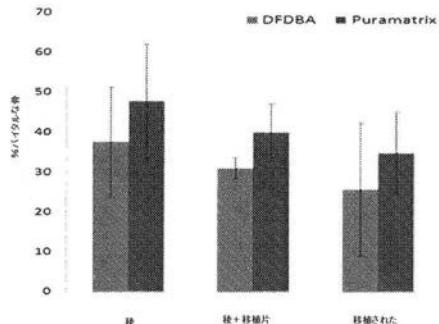


FIG. 4A

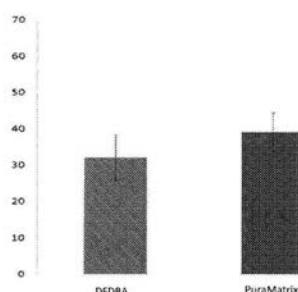


FIG. 4B

【図5】

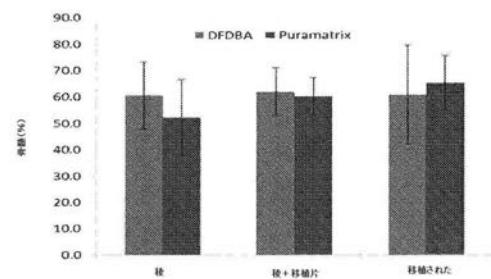


FIG. 5A

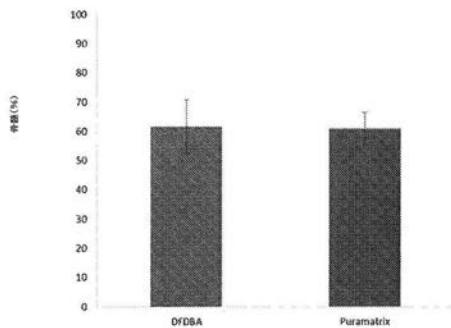


FIG. 5B

【図6】

CB=残骨; BM=骨髓; RB=残留する骨; NB=新しい骨; BV=血管; GP=移植片粒子; OT=頸骨組織  
標本#5株#1 — PuraMatrixを移植された

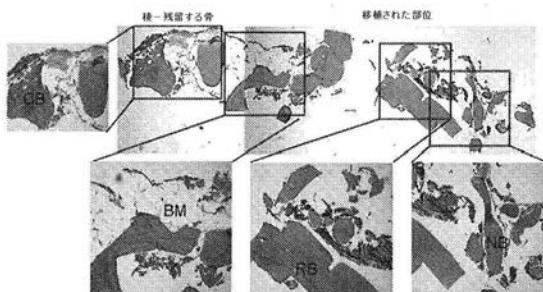


FIG. 6

## 【図7】

標本#5核#2 — PuraMatrixを移植された

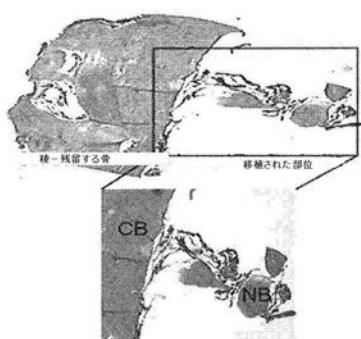


FIG. 7

## 【図8】

標本#6 — DFDBAを移植された

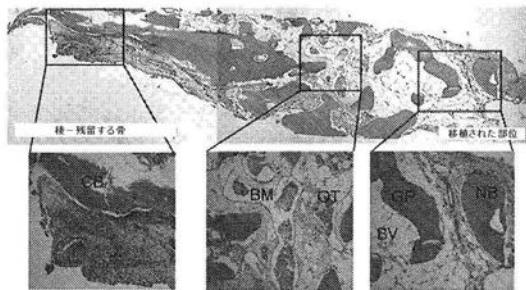


FIG. 8

## 【図9】

標本#7 — DFDBAを移植された

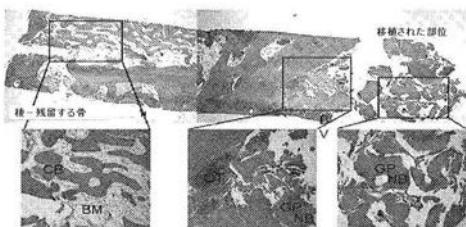


FIG. 9

## 【図10】

標本#10 — PuraMatrixを移植された



FIG. 10

## 【図12】

標本#15 — DFDBAを移植された

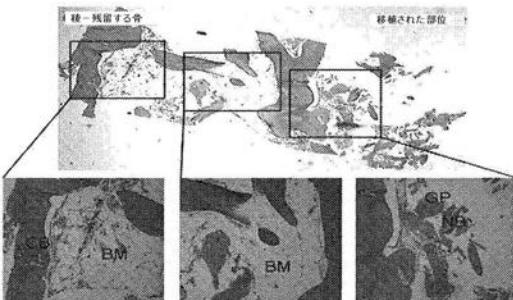


FIG. 12

## 【図11】

標本#13 — PuraMatrixを移植された

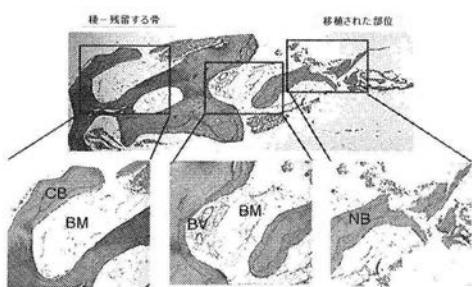


FIG. 11

【図 1 3】

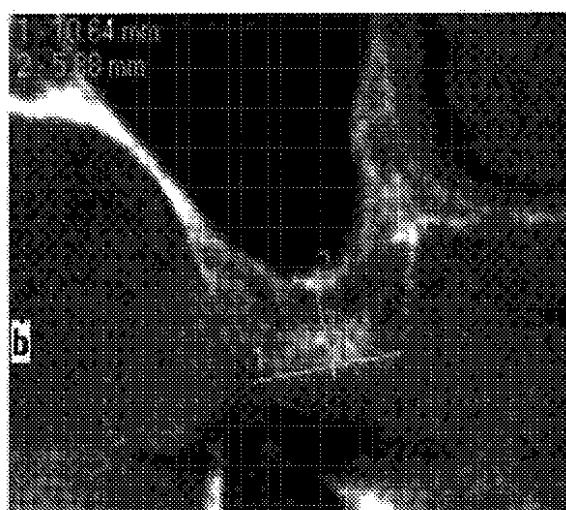


FIG. 13

【図 1 4】

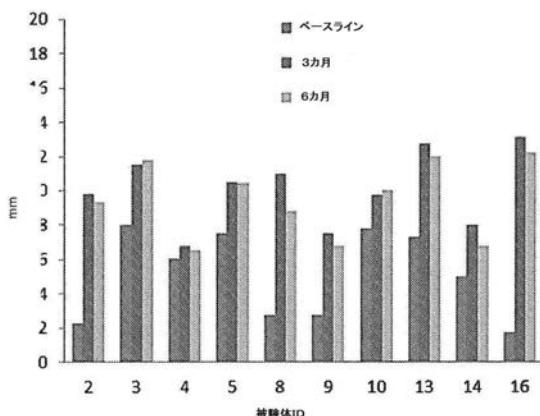


FIG. 14

【図 1 5】

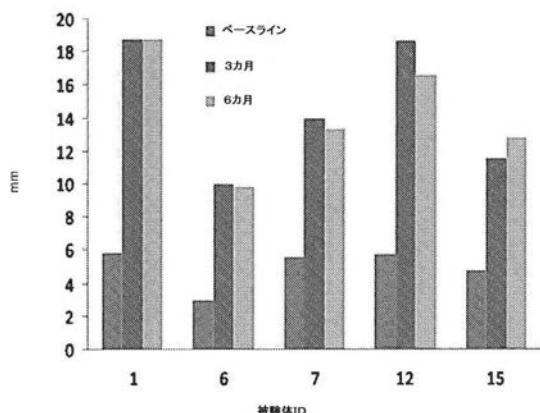


FIG. 15

【図 1 7】

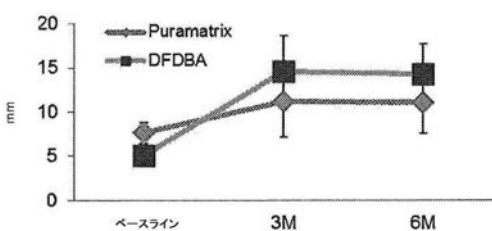


FIG. 17

【図 1 6】

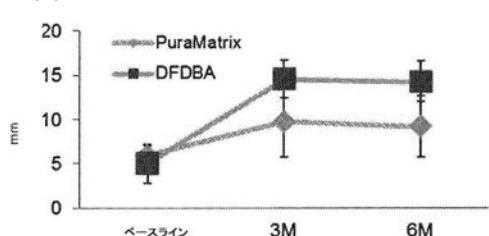


FIG. 16

【配列表】

2017525407000001.app

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 15/36590
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A61B 17/88 (2015.01) CPC - A61C 8/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): A61B 17/88 (2015.01) CPC: A61C 8/00, C07K 14/51		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 433/173, 433/167, 514/21.4, 514/21.5, 424/435 CPC: A61C 8/00, C07K 14/51		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase(Full-text: AU BE BR CA CH CN DE DK EP ES FI FR GB IN JP KR SE TH TW US WO); Google Scholar (Articles and Patents); Search Terms Used: alveol* bone dental* implant* generat* regenerate* augment* grow* peptide* RADA* paramatrix*		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2010/0094329 A1 (CARDOSO et al.) 15 April 2010 (15.04.2010) figs. 5-10 and para [0050]	1-13, 15-19
Y	US 2012/0014925 A1 (KUMADA et al.) 19 January 2012 (19.01.2012) fig. 1 and para [0136]	1-19
Y	US 2014/0023991 A1 (HERTZ) 23 January 2014 (23.01.2014) figs. 3-5 and para [0027]-[0028]	1, 5, 6, 14
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 October 2015 (17.10.2015)	Date of mailing of the international search report 23 November 2015 (23.11.2015)	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT DSB: 571-272-7774	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/US 15/36590

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
  
  
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
  
  
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
(see continuation sheet)

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
  
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos. 1-19

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US 15/38590
--

## Continuation of Box III (Lack of Unity):

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-19, directed to a method of performing a sinus lift procedure on a subject

Group II: Claims 20-37, directed to a kit for filling a dental bone void in a subject

The inventions listed as Groups I-II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Group I includes introducing a delivery device into a mouth of the subject and positioning an end of the delivery device proximate a target site in a posterior maxilla of the subject, which is not present in Group II.

Group II includes a kit for filling a dental bone void in a subject and instructions for administering the solution to the target site in an alveolar bone of the subject, which is not present in Group I.

Groups I and II share the technical feature of:  
a solution comprising a self-assembling peptide comprising between about 7 and about 32 amino acids in an effective amount and in an effective concentration to form a hydrogel scaffold under physiological conditions to promote alveolar bone growth at the target site.

However, all of the above shared technical features do not represent a contribution over the prior art as shown as being anticipated by US 2012/0014925 A1 to Kumada et al.:

a solution comprising a self-assembling peptide comprising between about 7 amino acids and about 32 amino acids (solution is a mix of RADA16 from puramatrix and other peptides e.g. VEVK8 VEVK12 with amino acids numbering in this range for each peptide, see para [0136]) in an effective amount and in an effective concentration to form a hydrogel scaffold under physiological conditions (self assembling hydrogel see para [0136]) to promote alveolar bone growth at a target site (addition of PRGDSCYRGDS SEQ ID NO:15 promotes osteoblast activity for bone regeneration, see para [0149], [0123]-[0124]).

Therefore, Groups I-II lack unity under PCT Rule 13.

## フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
<b>A 6 1 P</b> 1/02 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
<b>C 0 7 K</b> 7/04 (2006.01)	C 0 7 K 7/04	

(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,R0,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,D0,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 ハスターク , ハティス  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02135 , ブライトン , ビゲロウ ストリート 15  
0 ピー

(72)発明者 ヴァン ダイク , トマス イー .  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02132 , ウエスト ロクスベリー , ラトリッジ ス  
トリート 1

F ターム(参考) 4C084 AA02 BA01 BA08 BA17 BA18 BA19 BA23 MA67 NA14 ZA671  
4C159 AA25 AA44 AA62  
4H045 BA10 BA13 BA17 EA34