

(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2019-524672
(P2019-524672A)

(43) 公表日 令和1年9月5日(2019.9.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 9/06 (2006.01)	A 6 1 K 9/06	4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/20 (2006.01)	A 6 1 K 47/20	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/10	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 27/16 (2006.01)	A 6 1 P 27/16	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-567745 (P2018-567745)
 (86) (22) 出願日 平成29年6月23日 (2017. 6. 23)
 (85) 翻訳文提出日 平成31年2月20日 (2019. 2. 20)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/039090
 (87) 国際公開番号 W02017/223498
 (87) 国際公開日 平成29年12月28日 (2017. 12. 28)
 (31) 優先権主張番号 62/353, 676
 (32) 優先日 平成28年6月23日 (2016. 6. 23)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 502362426
 ザ チャールズ スターク ドレイパー
 ラボラトリー, インク.
 THE CHARLES STARK D
 RAPER LABORATORY, I
 NC.
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
 139 ケンブリッジ テクノロジー ス
 クエア 555
 (71) 出願人 596114853
 マサチューセッツ・アイ・アンド・イア・
 インファーマリー
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州021
 14, ボストン, チャールズ・ストリート
 243
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 聴覚疾患の処置のための内耳への薬物化合物の送達の薬物動態、治療効果、および安全性の定量的評価のための方法およびプロセス

(57) 【要約】

本開示は、内耳特異的治療用化合物を含むゲルベースの前駆体の有効量を、対象の蝸牛内に直接投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患を処置するための組成物および方法を提供する。

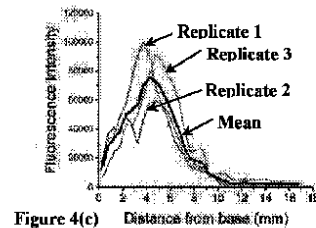
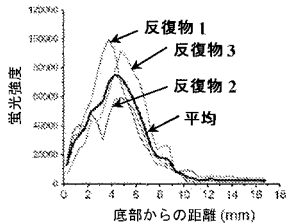


Figure 4(c) Distance from base (mm)

【特許請求の範囲】

【請求項1】

有効量の第一のバック組成物および有効量の第二のバック組成物を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患を処置するための方法であって、

(a) 該第一のバック組成物は、該第一のバック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および水を含み、

(b) 該第二のバック組成物は、該第二のバック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および水を含み、かつ

(c) 該第一のバック組成物および/または該第二のバック組成物は、少なくとも1種の内耳特異的治療剤をさらに含み、

該第一のバック組成物および/または該第二のバック組成物は、該対象の正円窓膜を貫通するカニューレを通して投与され、かつ該PEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物を含む、方法。

10

【請求項2】

有効量の第一のバック組成物および有効量の第二のバック組成物を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患を処置するための方法であって、

(a) 該第一のバック組成物は、該第一のバック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および水を含み、

(b) 該第二のバック組成物は、該第二のバック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および水を含み、かつ

(c) 該第一のバック組成物および/または該第二のバック組成物は、少なくとも1種の内耳特異的治療剤をさらに含み、

該第一のバック組成物および/または該第二のバック組成物は、該対象の内耳における蝸牛開口術 (cochleostomy) 部位またはカナロストミー (canalostomy) 部位にアクセスするカニューレを通して投与され、かつ該PEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物を含む、方法。

20

【請求項3】

蝸牛開口術部位は対象の蝸牛骨内に位置する、請求項2記載の方法。

30

【請求項4】

カナロストミー部位は対象の半規管内に位置する、請求項2記載の方法。

【請求項5】

カニューレをヒアルロン酸ナトリウム、筋肉移植片、脂肪移植片、または筋膜移植片で再封止する工程をさらに含む、請求項2～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物をカニューレを通して注入するために、マイクロ流体管または高ゲージ針を用いる、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物を、鼓室階 (ST)、前庭階、および中央階からなる群より選択される、流体で満たされた蝸牛管 (cochlear tube) 内に投与する、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項8】

少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、コルチコステロイド、アミノグリコシド、フリーラジカル捕捉剤、小ペプチド治療薬、遺伝子療法関連剤、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、シプロフロキサシン、ガシクリジン、 α -セクレターゼ阻害剤、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾ

50

ロン、ゲンタマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、トブラマイシン、N-アセチルシステイン(NAC)、メチオニン、トコフェロール、ビタミンE、エブセレン、チオプロニン、有機チオホスフェート、銅化合物、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3ベータ(GSK3)に対する阻害剤、パルプロ酸、TGF- 阻害剤、上皮成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1、ニューロトロフィン3(NT-3)、GDNF受容体に対するアゴニスト(例えば、XIB4035)、脳由来神経栄養因子、脂質ベクター、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、ポリプレックス、リボソーム、ミクロソーム、ポリマーソーム、リオプレックス、オリゴヌクレオチド、ネイキッドDNA、スモールRNA、CRISP-Cas9、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む、請求項1~8のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項10】

第一のバック組成物および第二のバック組成物は同時にまたは逐次的に投与される、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

対象はヒトである、請求項1~10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、1~1,000kPaの弾性率を有するヒドロゲルを形成する、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、蛍光トレーサー化合物をさらに含む、請求項1~12のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項14】

蛍光トレーサー化合物は、FM 1-43 FX、GTTR、ファロイジン、Hoechst、Mitotracker、Q-tracker、およびCFSEからなる群より選択される、請求項13記載の方法。

【請求項15】

聴覚疾患は、感音性難聴、騒音性難聴、突発性感音性難聴、自己免疫性内耳疾患、耳鳴、シスプラチン耳毒性保護、放射線誘発性耳毒性保護、メニエール病、および脳神経シュワン腫からなる群より選択される、請求項1~14のいずれか一項記載の方法。

【請求項16】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物の投与は、内有毛細胞または外有毛細胞の生存の増加および/または再生の増加をもたらす、請求項1~15のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項17】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物の投与は、聴覚疾患を有する処置されていない対照対象において観察されるものと比べて、ABR、CAP、聴覚閾値、およびDPOAEからなる群より選択される1つまたは複数の電気生理学的パラメーターの改善をもたらす、請求項1~16のいずれか一項記載の方法。

【請求項18】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、単回の注射または複数回の注射として投与される、請求項1~17のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項19】

第一のバック組成物の重量で約10重量%~約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および

水

を含む第一のバック組成物と；

第二のバック組成物の重量で約10重量%~約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および

水

を含む第二のバック組成物と

を含むヒドロゲルキットであって、

50

該PEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物を含む、ヒドロゲルキット。

【請求項 20】

マルチアームPEGチオールは、3アームPEGチオール、4アームPEGチオール、6アームPEGチオール、および8アームPEGチオール、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物である、請求項19記載のヒドロゲルキット。

【請求項 21】

マルチアームPEGチオール-エステルは、3アームPEGチオール-エステル、4アームPEGチオール-エステル、6アームPEGチオール-エステル、および8アームPEGチオール-エステル、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物である、請求項19または請求項20記載のヒドロゲルキット。

10

【請求項 22】

PEGマイケルアクセプターはマルチアームPEGマイケルアクセプターを含み、かつ該マルチアームPEGマイケルアクセプターは、3アームPEGマイケルアクセプター、4アームPEGマイケルアクセプター、6アームPEGマイケルアクセプター、および8アームPEGマイケルアクセプター1、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物を含む、請求項19~21のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【請求項 23】

PEGマイケルアクセプターは、PEGマレイミド、PEGビニルスルホン、PEGアクリレート、PEGアリアルアミド、PEGメタクリレート、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物である、請求項19~22のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

20

【請求項 24】

PEGチオールは、約100~約10,000g/モルの数平均分子量 (M_n) を有する、請求項19~23のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【請求項 25】

PEGチオール-エステルは、約100~約10,000g/モルの数平均分子量 (M_n) を有する、請求項19~24のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【請求項 26】

PEGマイケルアクセプターは、約100~約10,000g/モルの数平均分子量 (M_n) を有する、請求項19~25のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

30

【請求項 27】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は治療剤をさらに含む、請求項19~26のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【請求項 28】

治療剤は、コルチコステロイド、アミノグリコシド、フリーラジカル捕捉剤、小ペプチド治療薬、遺伝子療法関連剤、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む、請求項27記載のヒドロゲルキット。

【請求項 29】

治療剤は、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、ゲンタマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、トブラマイシン、N-アセチルシステイン (NAC)、メチオニン、トコフェロール、ビタミンE、エプセレン、チオプロニン、有機チオホスフェート、銅化合物、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3ベータ (GSK3) に対する阻害剤、バルプロ酸、TGF- 阻害剤、上皮成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1、ニューロトロフィン3 (NT-3)、GDNF受容体に対するアゴニスト、脳由来神経栄養因子、脂質ベクター、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、ポリプレックス、リポソーム、マイクロソーム、ポリマーソーム、リオプレックス、オリゴヌクレオチド、ネイキッドDNA、スモールRNA、CRISP-Cas9、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む、請求項27または請求項28記載のヒドロゲルキット。

40

50

【請求項 30】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は蛍光成分をさらに含む、請求項19~29のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【請求項 31】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は蛍光色素をさらに含む、請求項19~30のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【請求項 32】

蛍光色素は、N-(3-トリエチルアンモニウムプロピル)-4-(4-(ジブチルアミノ)スチリル)ピリジニウムジプロミド、蛍光ゲンタマイシン、ファロイジン、Hoeschst 33258、Hoeschst 33342、Hoeschst 34580、MitoTracker (登録商標) Orange CMTMRos、MitoTracker (登録商標) Red CMXRos、MitoTracker (登録商標) Orange CM-H2TMRos、MitoTracker (登録商標) Red CM-H2XRos、MitoTracker (登録商標) Red FM、MitoTracker (登録商標) Green FM、MitoTracker (登録商標) Deep Red FM、Qtracker (登録商標) 細胞標識キット、カルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物を含む、請求項31記載のヒドロゲルキット。

10

【請求項 33】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、
1種以上の緩衝剤；および
1種以上の等張化剤

をさらに含む、請求項19~32のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

20

【請求項 34】

1種以上の等張化剤は、サッカロース、グルコース、グリセリン、ソルビトール、1,2-プロピレングリコール、NaCl、KCl、CaCl₂、ホウ酸、クエン酸、酒石酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物を含む、請求項33記載のヒドロゲルキット。

【請求項 35】

1種以上の緩衝剤は、クエン酸、ホウ酸、リン酸、トロメタモール、3-[[1,3-ジヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-2-イル]アミノ]プロパン-1-スルホン酸(「TAPS」)、2-(ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ)酢酸(「ピシン」)、2-アミノ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-1,3-ジオール(「トリス」)、N-(2-ヒドロキシ-1,1-ビス(ヒドロキシメチル)エチル)グリシン(「トリシン」)、3-[[1,3-ジヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-2-イル]アミノ]-2-ヒドロキシプロパン-1-スルホン酸(「TAPSO」)、2-[[1,3-ジヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-2-イル]アミノ]エタンスルホン酸(「TES」)、3-モルホリノプロパン-1-スルホン酸(「MOPS」)、1,4-ピペラジンジエタンスルホン酸(「PIPES」)、2-モルホリン-4-イルエタンスルホン酸(「MES」)、2-[4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-イル]エタンスルホン酸(「HEPES」)、それらのうちの任意の1種もしくは複数種の薬学的に許容される塩、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む、請求項33または請求項34記載のヒドロゲルキット。

30

【請求項 36】

第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、約0.001Pa・s~約1Pa・sの動粘度を呈する、請求項19~35のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

40

【請求項 37】

第一のバック組成物と第二のバック組成物とを組み合わせることによって生成されるヒドロゲルは、約2Pa・s~約1000Pa・sの動粘度を呈する、請求項19~36のいずれか一項記載のヒドロゲルキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年6月23日に提出された米国出願第62/353,676号の恩典およびそれに対

50

する優先権を主張し、その内容は参照によりそれらの全体として本明細書に組み入れられる。

【0002】

政府支援についての声明

本発明は、アメリカ国立衛生研究所によって授与されたR01 DC006848-01A2の下で政府支援により行われた。政府は、本発明において一定の権利を有する。

【0003】

技術分野

本技術は、概して、その必要がある対象において聴覚疾患を処置するための組成物および方法に関する。一部の態様において、方法は、内耳特異的治療用化合物を含むゲルベースの前駆体の有効量を、対象の蝸牛内に直接投与する工程を含む。

10

【背景技術】

【0004】

背景

本技術の背景についての以下の説明は、本技術を理解する際の単なる支援として提供されるものであり、本技術に対する先行技術を記載または構成するとは認められない。

【0005】

内耳の障害は、難聴に關与する疾患の最も大きくかつ最も深刻なクラスを構成し、世界中で2億5000万人の人々が生活に支障をきたす難聴を患っている (Holley MC, Drug Discov Today 10(19):1269-82 (2005) (非特許文献1))。米国だけで2800万人の患者が、現時点では蝸牛機能の不可逆的衰退を引き起こす病状である感音性難聴 (sensorineural hearing loss: SNHL) を患っており、重度の聴覚消失は、依然として出生時において最も多く見られる深刻な医学的病状であり、1000人中3人の新生児がこの病状に苦しんでいる。これらの聴覚障害に加えて、耳鳴は、依然として多くの患者にとって解決困難な問題である。

20

【0006】

内耳疾患の処置における主な課題は、依然として、血液蝸牛関門の存在に主に起因する、療法の標的のアクセス不可能性である。経口医薬は、典型的に血液蝸牛関門によって遮断される。内耳疾患の処置のための化合物の鼓室内送達は、患者および疾患状態に応じて幅広く異なる輸送特性を有する構造である正円窓膜 (RWM) を通しての拡散に依存する。このばらつきは、不十分な投薬量制御をもたらし、蝸牛の長さに沿って薬物を輸送する受動拡散メカニズムへの依存と相まって、鼓室内送達の有効性を限定している。Borenstein J., Expert Opin Drug Deliv. 8(9):1161-1174 (2011) (非特許文献2) を参照されたい。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Holley MC, Drug Discov Today 10(19):1269-82 (2005)

【非特許文献2】Borenstein J., Expert Opin Drug Deliv. 8(9):1161-1174 (2011)

【発明の概要】

40

【0008】

本技術の概要

一局面において、第一の組成物の重量で約10重量% ~ 約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物と；水とを含む第一の組成物（第一の「パック」組成物）を含む、ヒドロゲルキットが提供される。ヒドロゲルキットは第二の組成物（第二の「パック」組成物）も含み、第二の組成物は、第二のパック組成物の重量で約10重量% ~ 約50重量%のPEGマイケルアクセプターと；水とを含む。ヒドロゲルキットの任意の態様において、少なくともPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物のうちの1つまたは複数を含んでもよい。ヒドロゲルキットの任意の態様において

50

、少なくともマイケルアクセプターは、マルチアームマイケルアクセプターを含んでもよい。

【0009】

1つの局面において、本開示は、有効量の第一のパック組成物および有効量の第二のパック組成物を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患を処置するための方法を提供し、(a)第一のパック組成物は、第一のパック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および水を含み、(b)第二のパック組成物は、第二のパック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および水を含み、かつ(c)第一のパック組成物および/または第二のパック組成物は、少なくとも1種の内耳特異的治療剤をさらに含み、第一のパック組成物および/または第二のパック組成物は、対象の正円窓膜を貫通するカニューレを通して投与される。聴覚疾患を処置するための方法の任意の態様において、少なくともPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物のうちの1つまたは複数を含んでもよい。聴覚疾患を処置するための方法の任意の態様において、少なくともマイケルアクセプターは、マルチアームマイケルアクセプターを含んでもよい。

10

【0010】

別の局面において、本開示は、有効量の第一のパック組成物および有効量の第二のパック組成物を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患を処置するための方法を提供し、(a)第一のパック組成物は、第一のパック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および水を含み、(b)第二のパック組成物は、第二のパック組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および水を含み、かつ(c)第一のパック組成物および/または第二のパック組成物は、少なくとも1種の内耳特異的治療剤をさらに含み、第一のパック組成物および/または第二のパック組成物は、対象の内耳における蝸牛開口術(cochleostomy)部位またはカナロストミー(canalostomy)部位にアクセスするカニューレを通して投与される。方法の任意の態様において、少なくともPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物のうちの1つまたは複数を含んでもよい。方法の任意の態様において、少なくともマイケルアクセプターは、マルチアームマイケルアクセプターを含んでもよい。一部の態様において、蝸牛開口術部位は、対象の蝸牛骨内に位置する。ある特定の態様において、カナロストミー部位は、対象の半規管内に位置する。加えてまたは代替的に、一部の態様において、方法は、カニューレをヒアルロン酸ナトリウム、筋肉移植片、脂肪移植片、または筋膜移植片で再封止する工程をさらに含む。

20

30

【0011】

本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、第一のパック組成物および/または第二のパック組成物をカニューレを通して注入するために、マイクロ流体管または高ゲージ針を用いる。ある特定の態様において、第一のパック組成物および/または第二のパック組成物を、鼓室階(ST)、前庭階、および中央階からなる群より選択される、流体で満たされた蝸牛管(cochlear tube)内に投与する。本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、第一のパック組成物および/または第二のパック組成物は、1～1,000kPaの弾性率を有するヒドロゲルをインサイチューで形成する。

40

【0012】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、コルチコステロイド、アミノグリコシド、フリーラジカル捕捉剤、小ペプチド治療薬、遺伝子療法関連剤、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む。少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、シプロフロキサシン、ガシクリジン、 α -セクレターゼ阻害剤、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、ゲンタマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、トブラマイシン、N-アセチルシステイン(NAC)、メチオニン、トコフェロー

50

ル、ビタミンE、エプセレン、チオプロニン、有機チオホスフェート、銅化合物、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3ベータ (GSK3) に対する阻害剤、バルプロ酸、TGF- 阻害剤、上皮成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1、ニューロトロフィン3 (NT-3)、GDNF受容体に対するアゴニスト (例えば、XIB4035)、脳由来神経栄養因子、脂質ベクター、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、ポリプレックス、リボソーム、マイクロソーム、ポリマーソーム、リオプレックス、オリゴヌクレオチド、ネイキッドDNA、スモールRNA、CRISP-Cas9、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含んでもよい。

【0013】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、第一のバック組成物および第二のバック組成物は、同時にまたは逐次的に投与される。第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、単回の注射または複数回の注射として投与され得る。本技術の方法の一部の態様において、対象はヒトである。

10

【0014】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、蛍光トレーサー化合物をさらに含む。蛍光トレーサー化合物は、FM 1-43 FX、GTTR、ファロイジン、Hoechst、Mitotracker、Q-tracker、およびCFSEからなる群より選択され得る。

【0015】

本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、聴覚疾患は、感音性難聴、騒音性難聴、突発性感音性難聴、自己免疫性内耳疾患、耳鳴、シスプラチン耳毒性保護、放射線誘発性耳毒性保護、メニエール病、および脳神経シュワン腫からなる群より選択される。方法のある特定の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物の投与は、内有毛細胞または外有毛細胞の生存の増加および/または再生の増加をもたらす。加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物の投与は、聴覚疾患を有する処置されていない対照対象において観察されるものと比べて、聴性脳幹反応、複合活動電位、聴覚閾値、および歪成分耳音響放射からなる群より選択される1つまたは複数の電気生理学的パラメーターの改善をもたらす。

20

【図面の簡単な説明】

30

【0016】

【図1】難聴または聴覚疾患を患っている対象の蝸牛液中に直接投与されるように設計された生分解性ゲルの化学的設計および計画された送達動態を示している。図1(a)は、クリックケミストリーおよびチオール型マイケル付加メカニズムの略図である。図1(b)は、様々なクリック反応性官能基を有する多官能性ポリ(エチレングリコール)オリゴマーを示している。図1(c)は、ヒドロゲルネットワーク形成の展開を示した動的レオロジープロット： G' 、 G'' 、および G''/G' における G' (貯蔵弾性率)および G'' (損失弾性率)を示している。図1(d)は、4 における毛細管内への注射後に形成されたヒドロゲルを示している。

【図2(a)】図2は、本明細書において記載される薬物送達実験のコンピューターモデリング結果を示しており、様々な方程式は、拡散、対流、薬物結合、薬物クリアランス、鼓室階の半径に対する変化などの、薬物濃度を制御する因子を特徴付けしている。図2(a)は、用いられたコンピューター手法とともに、往復式送達スキームの1回の完全なサイクルに關与する工程を示している。薬物動態は、擬1D拡散反応方程式を用いてモデル化されており、場所の関数としての蝸牛の断面積の変化、ならびにタンパク質への薬物結合が考慮されている。流体ポラスのポンプによる対流注入または抽出は、考慮される長い拡散時間(数千秒間)と比較して、(ほぼ数秒の)短いシステム時定数により、瞬間的なものとして処理される。

40

【図2(b)】図2は、本明細書において記載される薬物送達実験のコンピューターモデリング結果を示しており、様々な方程式は、拡散、対流、薬物結合、薬物クリアランス、

50

鼓室階の半径に対する変化などの、薬物濃度を制御する因子を特徴付けしている。図2(b)は、場所の関数としての蝸牛の断面積を示している。

【図2(c)】図2は、本明細書において記載される薬物送達実験のコンピューターモデリング結果を示しており、様々な方程式は、拡散、対流、薬物結合、薬物クリアランス、鼓室階の半径に対する変化などの、薬物濃度を制御する因子を特徴付けしている。図2(c)は、往復式送達の4サイクル後の、蝸牛における場所の関数としての薬物濃度を示している。各サイクルについて、1 μ Lの薬物を蝸牛の底部から4.8mmに注入し、9,900秒拡散させ、次いで1 μ Lの流体を蝸牛から抽出した。抽出後100秒の拡散もモデル化した。

【図2(d)】図2は、本明細書において記載される薬物送達実験のコンピューターモデリング結果を示しており、様々な方程式は、拡散、対流、薬物結合、薬物クリアランス、鼓室階の半径に対する変化などの、薬物濃度を制御する因子を特徴付けしている。図2(d)は、往復式送達スキームにおける各工程後の、場所の関数としての薬物濃度を示している。

【図2(e)】図2は、本明細書において記載される薬物送達実験のコンピューターモデリング結果を示しており、様々な方程式は、拡散、対流、薬物結合、薬物クリアランス、鼓室階の半径に対する変化などの、薬物濃度を制御する因子を特徴付けしている。図2(e)は、32、24、16、12、8、5.6、4、および2.78kHzの特徴的周波数に対応する、蝸牛のいくつかの場所における時間の関数としての薬物濃度を示している。

【図3(a)】図3は、薬物送達実験に対する聴力測定を示しており、薬物模擬体DNQX(聴覚シグナルの求心性シナプス伝達を一時的に遮断することができる)は、マイクロポンプを用いて急性的に送達される。図3(a)は、マイクロポンプを用いたモルモット蝸牛内への人工外リンパ(対照)およびDNQX(聴覚シグナルの求心性シナプス伝達を妨害するAMPA受容体遮断薬)の注入中の、時間の関数としての歪成分耳音響放射(DPOAE;破線、白丸)および複合活動電位(CAP;実線、黒丸)の閾値シフトを示している。注入は、 $t=0$ に始まった。聴覚閾値は、応答を生じさせるために要される最小音圧レベル(dB SPLで測定される)である。報告されるデータは、ベースラインと比較した閾値の変化である閾値シフトである。

【図3(b)】図3は、薬物送達実験に対する聴力測定を示しており、薬物模擬体DNQX(聴覚シグナルの求心性シナプス伝達を一時的に遮断することができる)は、マイクロポンプを用いて急性的に送達される。図3(b)は、ヒートマップ形態での、図3(a)に提示された同じデータを示しており、DNQXの広がりおよび分布を表している。logスケールでのものである凡例とともに、CAP振幅も示されている。

【図4】図4(a)は、蝸牛の底部における注射部位(左)、脱灰したモルモット蝸牛(中央)、および全載標本でのモルモットコルチ器の切片(右)を示した、モルモット鼓室階のコンピューターレンダリングを示している。図4(b)は、蝸牛の底部からの距離の関数としての、外有毛細胞における生の蛍光強度(スチリル色素FM 1-43の固定可能な誘導体であるFM 1-43 FX)の例を示している。図4(c)は、3つの反復物にわたって同様の染色パターンを示した、蝸牛の底部からの距離の関数としてのピン化された蛍光強度を示している。

【図5(a)】図5は、蛍光トレーサーで標識された薬物分子をそれらの安全性および効力について評価するプロセスを示している。薬物の輸送/濃度プロファイルは、本明細書において記載される送達実験後の切片化技法および共焦点顕微鏡評価を用いて、蛍光シグナルを介して(または組織学によって)モニターされる。図5(a)は、Zeiss LSM 710共焦点顕微鏡でのフルオレセインナトリウム標準物質についての強度対濃度の校正曲線を示している。共焦点顕微鏡は、狭いダイナミックレンジ内で非常に高感度であるように設計されているため、蛍光組織切片を定量的に評価するためには慎重な校正が必要である。

【図5(b)】図5は、蛍光トレーサーで標識された薬物分子をそれらの安全性および効力について評価するプロセスを示している。薬物の輸送/濃度プロファイルは、本明細書において記載される送達実験後の切片化技法および共焦点顕微鏡評価を用いて、蛍光シグナルを介して(または組織学によって)モニターされる。図5(b)は、解析のために切開

10

20

30

40

50

されて全載切片にされたモルモット蝸牛を示している。

【図5(c)】図5は、蛍光トレーサーで標識された薬物分子をそれらの安全性および効力について評価するプロセスを示している。薬物の輸送/濃度プロファイルは、本明細書において記載される送達実験後の切片化技法および共焦点顕微鏡評価を用いて、蛍光シグナルを介して(または組織学によって)モニターされる。図5(c)は、FM 1-43 FXの送達の3時間後の有毛細胞の蛍光染色を示した、共焦点z-スタック画像の数枚のスライスを示している。組織は、2 μ Lの人工外リンパ中35 μ M FM 1-43 FXの蝸牛内送達の3時間後に固定された。より暗いエリアは、より明るい蛍光を表す。

【図5(d)】図5は、蛍光トレーサーで標識された薬物分子をそれらの安全性および効力について評価するプロセスを示している。薬物の輸送/濃度プロファイルは、本明細書において記載される送達実験後の切片化技法および共焦点顕微鏡評価を用いて、蛍光シグナルを介して(または組織学によって)モニターされる。図5(d)は、蝸牛の底部におけるFM 1-43の注射の3時間後の、先端からの距離の関数としての内有毛細胞に沿った蛍光強度を示している。

【発明を実施するための形態】

【0017】

詳細な説明

本方法のある特定の局面、様態、態様、変形、および特徴は、本技術の実質的な理解を提供するために、様々なレベルの詳細で下記に記載されているということが理解されるべきである。

【0018】

薬物動態および薬力学についての評価は、薬物送達システムの開発の重大な側面である(Salt AN & Plontke SK, *Audiol Neurootol.* 14(6):350-60 (2009))。最適な薬物動態プロファイルを有する蝸牛内送達法を確立することは、聴覚構造の遠隔性および小さなサイズ、ならびに薬物輸送を撮像することの難しさが理由で困難であり得る。内耳薬物送達適用の付加的な要件は、聴覚構造の保存および手術による外傷の最小化である。

【0019】

その必要がある対象において聴覚疾患および/または難聴を処置するために設計された薬物の薬物動態、治療効力、および安全性を評価するための方法およびプロセスが本明細書において提供される。本技術の方法は、内耳への現在の薬物送達技法に伴う多くの不確実性を克服する。これらの障害になっているものは、送達部位と標的部位との間の介在組織および構造を通じた薬物輸送と主に関連している。本技術の方法は、薬物輸送/濃度の観点においてより高い程度の確実性および精度を提供し、薬物安全性および効力についての定量的評価を可能にする。

【0020】

1つの局面において、本技術は、内耳特異的治療剤を含むゲル前駆体溶液の有効量を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象の蝸牛に、最小限に侵襲的な様式で直接アクセスするための方法を提供し、ゲル前駆体溶液は、対象の内耳における蝸牛開口術部位またはカナロストミー部位にアクセスするカニューレを通して投与され、カニューレは、ゲルベースの前駆体溶液が送達された後に封止される/除去される。代替的に、蝸牛は、内耳特異的治療剤を含むゲル前駆体溶液の有効量を対象に投与することによってアクセスされてもよく、ゲル前駆体溶液は、正円窓膜(RWM)を一時的に貫通するカニューレを通して投与される。蝸牛構造中の薬物放出および拡散は、薬物送達後のある期間にわたって生じる。薬物の薬物動態をモデル化し、ならびに聴力に対するおよび細胞/組織構造に対する治療用薬物の効果を評価するための実験手法およびコンピューターによる手法も本明細書において記載される。

【0021】

定義

別様に定義されていない限り、本明細書において用いられるすべての技術用語および科学用語は、概して、本技術が属する技術分野における当業者によって共通に理解されるも

10

20

30

40

50

のと同じ意味を有する。本明細書および添付の特許請求の範囲において使用するとき、「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」という単数形は、文脈で別様にはっきりと述べられていない限り、複数形の指示対象を含む。例えば、「1個の細胞(a cell)」への言及は、2個以上の細胞の組み合わせ等を含む。一般的に、本明細書において用いられる命名法、ならびに下記に記載される細胞培養、分子遺伝学、有機化学、分析化学、ならびに核酸化学およびハイブリダイゼーションにおける実験室手順は、周知のものであり、当技術分野においてよく採用されている。

【0022】

本明細書において使用するとき、数に関する「約」という用語は、別様に明記されていないまたは文脈から別様に明白でない限り、一般的に、数のいずれかの方向(それよりも大きいまたはそれよりも小さい)の1%、5%、または10%の範囲内に入る数を含むと解釈される(そのような数が、考え得る値の0%未満であるかまたは100%を超えるであろう場合を除く)。

10

【0023】

本明細書において使用するとき、対象への剤または薬物の「投与」は、化合物をその意図される機能を果たすように対象に導入または送達する任意の適切な経路を含む。投与は、自己投与および他者による投与を含む。

【0024】

本明細書において使用するとき、「対照」とは、比較目的のために実験において用いられる代替的サンプルである。対照は、「陽性」または「陰性」であり得る。例えば、実験の目的が、特定のタイプの疾患に対する処置のための治療剤の効力の相関を決定することである場合、陽性対照(所望の治療効果を呈することが公知の化合物または組成物)および陰性対照(療法を受けないまたは偽薬を受ける対象またはサンプル)が典型的に採用される。

20

【0025】

本明細書において使用するとき、「有効量」という用語は、所望の治療効果および/または予防効果を達成するのに十分な分量、例えば本明細書において記載される疾患もしくは病状、または本明細書において記載される疾患もしくは病状と関連した1つもしくは複数の兆候もしくは症状、の防止または減少をもたらす量を指す。治療的または予防的適用の文脈において、対象に投与される組成物の量は、組成物、疾患の程度、タイプ、および重症度に応じて、ならびに全般的健康状態、年齢、性別、体重、および薬物に対する耐性など、個体の特徴に応じて変動する。当業者であれば、これらおよび他の因子に応じて適当な投薬量を決定することができるであろう。組成物は、1種または複数種の付加的な治療用化合物と組み合わせて投与することもできる。本明細書において記載される方法において、治療用組成物は、本明細書において記載される疾患または病状の1つまたは複数の兆候または症状を有する対象に投与され得る。本明細書において使用するとき、組成物の「治療有効量」とは、疾患または病状の生理学的影響が改善または排除される組成物レベルを指す。治療有効量は、1回または複数回の投与で与えられ得る。

30

【0026】

本明細書において使用するとき、「治療剤」という用語は、有効量で存在する場合に、その必要がある対象に対して所望の治療効果をもたらす化合物を意味することが意図される。

40

【0027】

本明細書において使用するとき、「対象」、「個体」、または「患者」という用語は、個々の生物、脊椎動物、哺乳類、またはヒトであり得る。一部の態様において、個体、患者、または対象はヒトである。

【0028】

本明細書において用いられる「処置すること」または「処置」は、ヒトなどの対象における、本明細書において記載される疾患または障害の処置を網羅し、(i)疾患もしくは障害を阻害すること、すなわちその発症を食い止めること；(ii)疾患もしくは障害を軽

50

減すること、すなわち障害の退縮を引き起こすこと；(iii) 障害の進行を遅らせること；および/または(iv) 疾患もしくは障害の1つもしくは複数の症状の進行を阻害する、軽減する、もしくは遅らせることを含む。一部の態様において、処置とは、疾患に関連した症状が、例えば緩和される、減少する、治癒する、または寛解の状態に置かれることを意味する。

【0029】

本明細書において記載される疾患の処置の様々な様態は、全体的処置を含むが全体的ではない処置も含み、一部の生物学的または医学的に関連する結果が達成される、「実質的」を意味することが意図されるということも理解されるべきである。処置は、慢性疾患に対する連続的な長期処置、または急性病状の処置のための単回もしくは数回の投与であり得る。

10

【0030】

内耳疾患

蝸牛（聴覚器官）は、内耳において前庭器官とともに存在し、中耳からの機械的シグナルを、聴神経に沿って脳幹まで伝達される電気的シグナルに変換することに関与する。器官への直接的な薬物送達、その小さなサイズおよび遠隔位置のために難しい。ヒトにおいて長さが大体32mmである蝸牛は、鼓室階（ST）、前庭階、および中央階という、流体で満たされた3本のコイル状の管を含む。STは正円窓膜（RWM）で終結する。前庭階は卵円窓で終結し、卵円窓は、中耳からの機械的シグナルを伝達するアブミ骨またはアブミ骨底を収容する。前庭階および鼓室階は、蝸牛孔を介して蝸牛の先端で互いに接続する。外耳からの音は、鼓膜（eardrum）または鼓膜（tympenic membrane）の動きを引き起こし、それが次に内耳における流体の動きを生む。蝸牛はコルチ器（OC）を含有し、コルチ器（OC）は基底膜に沿って3列の外有毛細胞（OHC）および1列の内有毛細胞（IHC）を含む。IHCは、神経伝達物質を放出して聴神経線維を活性化することによって、音刺激の波形に応答する。有毛細胞および聴神経の機能の損失は、聴力損失をもたらす。

20

【0031】

蝸牛に存在する2種の主な流体は、外リンパおよび内リンパである。外リンパは、有毛細胞の側底面および聴神経と直接接触している。中央階に含有される流体である内リンパは、有毛細胞の先端面を浸し、細胞内流体環境に類似したイオン組成を有する。蝸牛は、IHCによる音の変換を支持する固有の電気化学的環境を維持する血管条として知られる高度に血管に富んだ領域を含有する。

30

【0032】

聴力の機能的評価は、特定の聴覚構造に対する公知の作用を有する電気生理学的パラメータの十分に確立されたセットを利用する。これらには、歪成分耳音響放射（DPOAE）および聴性脳幹反応（ABR）が含まれる。加えて、送達動態を評価するために、複合活動電位（CAP）測定が薬物送達実験においてしばしば用いられる。これらのそれぞれは、特定周波数で評価され得、蝸牛のトノトピックな配置は、特定の周波数の応答と蝸牛の長さに沿った場所との間の相関により、有毛細胞機能の空間地図を提供する。DPOAEの測定は、所定の音量および周波数を有する2種のトーンピップを外耳道に導入することによって達成され、内耳は、基底膜の機械的な動きの結果として音響放射を生み、それがOHCの機能についての直接評価を提供する。薬物送達実験におけるDPOAE測定の1つの特に有用な適用は、手術により生じた外傷を評価するベースライン測定としてである。CAP測定は、RWMの近くに位置付けされたボール電極をしばしば用いることによる、トーンピップに対する神経線維応答をモニターする遠距離場の蝸電図技法である。この技法は、特定周波数における蝸牛機能の測定として用いられ得、薬物送達実験の間の蝸牛を通した有毛細胞機能の地図を提供する。

40

【0033】

ゲル組成物

一局面において、第一の組成物の重量で約10重量%～約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物と；水とを含む第一の組成物（第一の「バック

50

」組成物)を含む、ヒドロゲルキットが提供される。ヒドロゲルキットは第二の組成物(第二の「パック」組成物)も含み、第二の組成物は、第二のパック組成物の重量で約10重量%~約50重量%のPEGマイケルアクセプターと;水とを含む。

【0034】

(第一の組成物の重量での)第一の組成物における(第一の組成物に含まれる本明細書における任意の態様の)PEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物の量は、約10重量%、約12重量%、約14重量%、約16重量%、約18重量%、約20重量%、約22重量%、約24重量%、約26重量%、約28重量%、約30重量%、約32重量%、約34重量%、約36重量%、約38重量%、約40重量%、約42重量%、約44重量%、約46重量%、約48重量%、約50重量%、またはこれらの値の任意の2つを含むおよび/もしくはそれらの間にある任意の範囲であり得る。

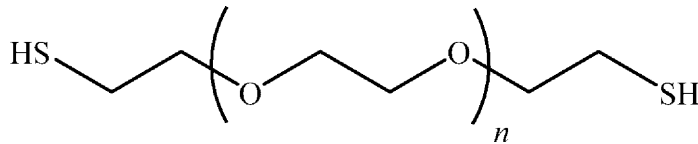
10

【0035】

PEGチオールは、直鎖PEGチオール、マルチアームPEGチオール、またはそれらの混合物であり得る。スキーム1は、直鎖PEGチオールおよびマルチアームPEGチオールの1タイプ(具体的には、3アームPEGチオール)の説明図を提供しており、式中、 n 、 m 、 p 、および q は、それぞれ独立して1よりも大きな整数である。 X^1 は、例えば3アームPEGチオールの場合のグリセロールなどの、マルチアームPEGのコアであるが、他のコアを3アームPEG骨格のために用いて3アームPEGチオールを提供してもよい。同様に、適当なコア、例えば4アームPEG骨格のためのペンタエリスリトール、6アームPEG骨格のためのジペンタエリスリトール、ならびに8アームPEG骨格のためのトリペンタエリスリトールおよび/またはヘキサグリセロールなど(しかし、それらに限定されるわけではない)は、例えば4アーム、6アーム、および8アームPEG骨格を提供する。ゆえに、マルチアームPEGチオールは、3アームPEGチオール、4アームPEGチオール、6アームPEGチオール、および8アームPEGチオール、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物であり得る。

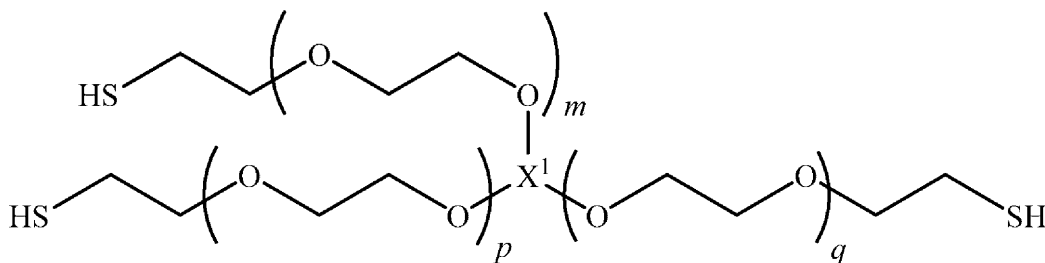
20

スキーム1.



直鎖PEGチオール

30



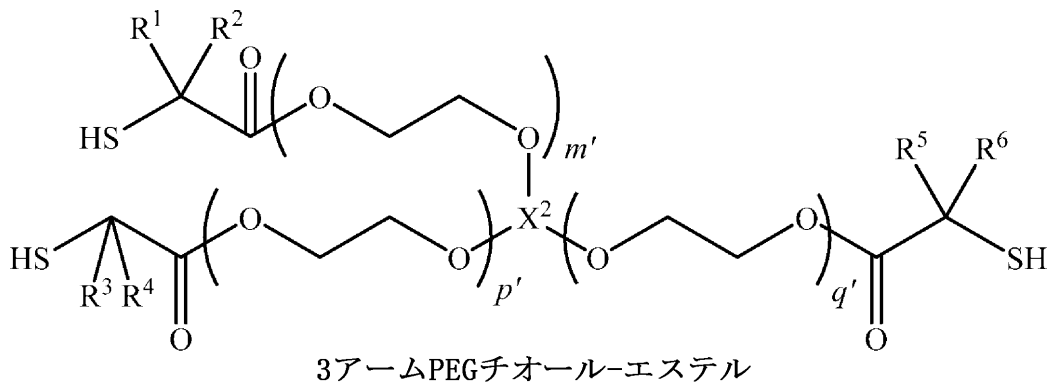
3アームPEGチオール

40

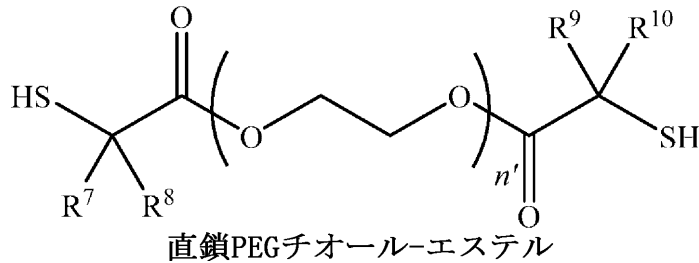
【0036】

同様に、PEGチオール-エステルは、直鎖PEGチオール-エステル、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物であり得る。スキーム2は、直鎖PEGチオール-エステルおよびマルチアームPEGチオール-エステルの1タイプ(ここでは、3アームPEGチオール-エステル)の説明図を提供しており、式中、 n' 、 m' 、 p' 、および q' は、それぞれ独立して1よりも大きな整数であり、 X^2 はマルチアームPEGのコアであり、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、および R^{10} は、それぞれ独立してHまたはメチルである。

スキーム2.



10



本明細書における任意の態様において、マルチアームPEGチオール-エステルは、3アームPEGチオール-エステル、4アームPEGチオール-エステル、6アームPEGチオール-エステル、および8アームPEGチオール-エステル、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物であり得る。

20

【0037】

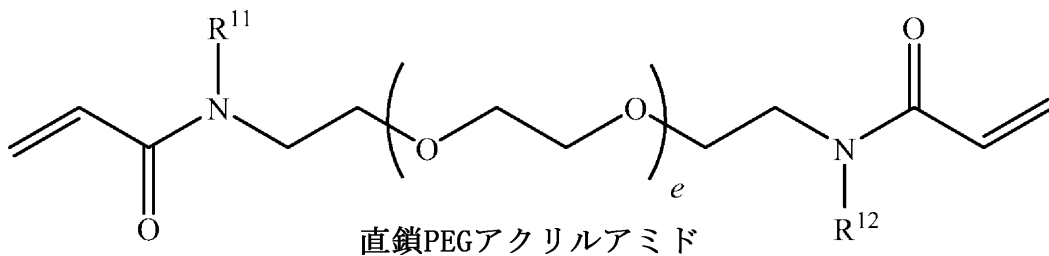
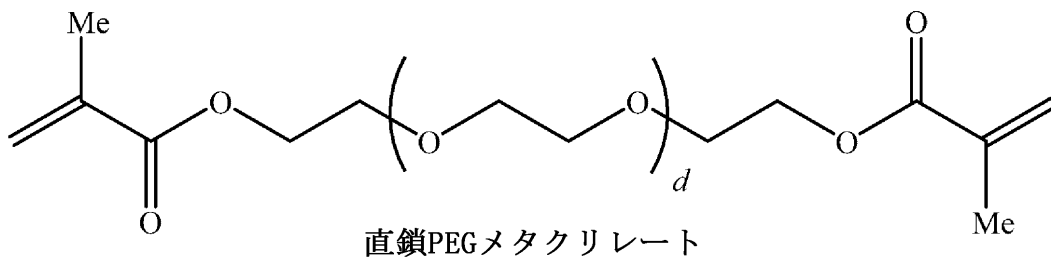
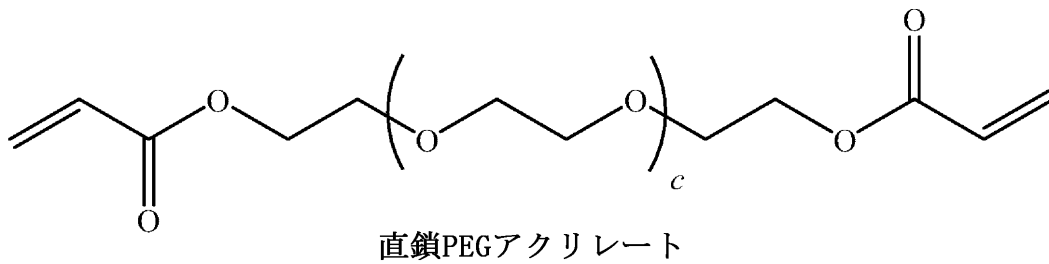
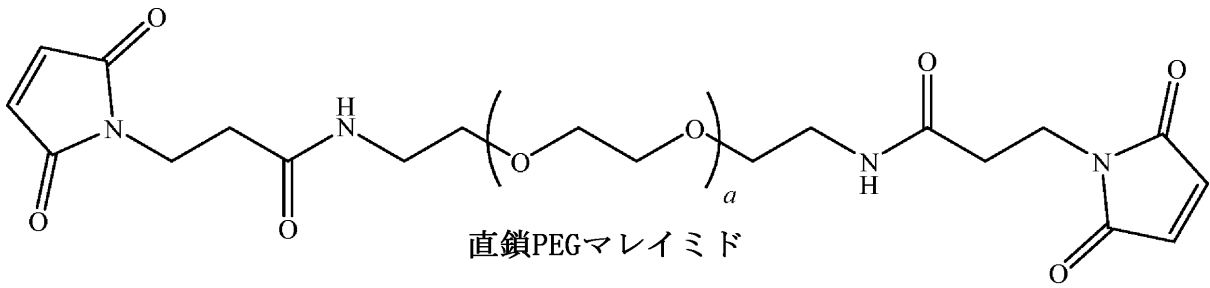
上記と同様に、PEGマイケルアクセプターは、直鎖PEGマイケルアクセプター、マルチアームPEGマイケルアクセプター、またはそれらの混合物であり得る。マルチアームPEGマイケルアクセプターは、3アームPEGマイケルアクセプター、4アームPEGマイケルアクセプター、6アームPEGマイケルアクセプター、8アームPEGマイケルアクセプター、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物であり得る。

【0038】

本明細書における任意の態様において、PEGマイケルアクセプターは、(直鎖PEGマイケルアクセプター、マルチアームPEGマイケルアクセプター、またはそれらの混合物かどうかにかかわらず) PEGマレイミド、PEGビニルスルホン、PEGアクリレート、PEGアリアルアミド、PEGメタクリレート、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物であり得る。単なる実例として、スキーム3は、直鎖PEGマレイミド、直鎖PEGビニルスルホン、直鎖PEGアクリレート、直鎖PEGアリアルアミド、および直鎖PEGメタクリレートの図を提供している。スキーム3において、a、b、c、d、およびeは、それぞれ独立して1よりも大きな整数であり、R¹¹およびR¹²は、それぞれ独立してH、またはメチル、エチル、n-プロピル、もしくはi-プロピルなどのアルキル基である。

30

スキーム3.



【0039】

(第二の組成物の重量での) 第二の組成物に含まれる本明細書における任意の態様のPEGマイケルアクセプターの量は、約10重量%、約12重量%、約14重量%、約16重量%、約18重量%、約20重量%、約22重量%、約24重量%、約26重量%、約28重量%、約30重量%、約32重量%、約34重量%、約36重量%、約38重量%、約40重量%、約42重量%、約44重量%、約46重量%、約48重量%、約50重量%、またはこれらの値の任意の2つを含むおよび/もしくはそれらの間にある任意の範囲であり得る。

【0040】

本明細書における任意の態様において、少なくともPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物は、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物を含んでもよく、少なくともPEGマイケルアクセプターは

10

20

30

40

50

、マルチアームPEGマイケルアクセプターを含んでもよい。本明細書における任意の態様における第一の組成物および第二の組成物の量は、ヒドロゲルキットにおいて同じであり得る。

【0041】

本明細書における任意の態様のPEGチオールは、約100g/モル～約10,000g/モルの数平均分子量 (M_n) を有し得る。本明細書における任意の態様のPEGチオールの数平均分子量は、100g/モル、200g/モル、300g/モル、400g/モル、500g/モル、600g/モル、700g/モル、800g/モル、900g/モル、1,000g/モル、1,100g/モル、1,200g/モル、1,300g/モル、1,400g/モル、1,500g/モル、1,600g/モル、1,700g/モル、1,800g/モル、1,900g/モル、2,000g/モル、2,100g/モル、2,200g/モル、2,300g/モル、2,400g/モル、2,500g/モル、2,600g/モル、2,700g/モル、2,800g/モル、2,900g/モル、3,000g/モル、3,250g/モル、3,500g/モル、3,750g/モル、4,000g/モル、4,250g/モル、4,500g/モル、4,750g/モル、5,000g/モル、5,250g/モル、5,500g/モル、5,750g/モル、6,000g/モル、6,500g/モル、7,000g/モル、7,500g/モル、8,000g/モル、8,500g/モル、9,000g/モル、9,500g/モル、または10,000g/モルであり得る。

10

【0042】

本明細書における任意の態様のPEGチオール-エステルは、約100g/モル～約10,000g/モルの数平均分子量 (M_n) を有し得る。ゆえに、本明細書における任意の態様において、本明細書における任意の態様のPEGチオール-エステルの数平均分子量は、100g/モル、200g/モル、300g/モル、400g/モル、500g/モル、600g/モル、700g/モル、800g/モル、900g/モル、1,000g/モル、1,100g/モル、1,200g/モル、1,300g/モル、1,400g/モル、1,500g/モル、1,600g/モル、1,700g/モル、1,800g/モル、1,900g/モル、2,000g/モル、2,100g/モル、2,200g/モル、2,300g/モル、2,400g/モル、2,500g/モル、2,600g/モル、2,700g/モル、2,800g/モル、2,900g/モル、3,000g/モル、3,250g/モル、3,500g/モル、3,750g/モル、4,000g/モル、4,250g/モル、4,500g/モル、4,750g/モル、5,000g/モル、5,250g/モル、5,500g/モル、5,750g/モル、6,000g/モル、6,500g/モル、7,000g/モル、7,500g/モル、8,000g/モル、8,500g/モル、9,000g/モル、9,500g/モル、または10,000g/モルであり得る。

20

【0043】

本明細書における任意の態様のPEGマイケルアクセプターは、約100g/モル～約10,000g/モルの数平均分子量 (M_n) を有し得る。マルチアームPEGマイケルアクセプターの本明細書における任意の態様において、本明細書における任意の態様のマルチアームPEGチオール-エステルの数平均分子量は、100g/モル、200g/モル、300g/モル、400g/モル、500g/モル、600g/モル、700g/モル、800g/モル、900g/モル、1,000g/モル、1,100g/モル、1,200g/モル、1,300g/モル、1,400g/モル、1,500g/モル、1,600g/モル、1,700g/モル、1,800g/モル、1,900g/モル、2,000g/モル、2,100g/モル、2,200g/モル、2,300g/モル、2,400g/モル、2,500g/モル、2,600g/モル、2,700g/モル、2,800g/モル、2,900g/モル、3,000g/モル、3,250g/モル、3,500g/モル、3,750g/モル、4,000g/モル、4,250g/モル、4,500g/モル、4,750g/モル、5,000g/モル、5,250g/モル、5,500g/モル、5,750g/モル、6,000g/モル、6,500g/モル、7,000g/モル、7,500g/モル、8,000g/モル、8,500g/モル、9,000g/モル、9,500g/モル、または10,000g/モルであり得る。

30

40

【0044】

本明細書における任意の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、治療剤をさらに含む。治療剤には、抗生物質、コルチコステロイド、アミノグリコシド、フリーラジカル捕捉剤、小ペプチド治療薬、遺伝子療法関連剤、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせが含まれ得る。例示的な抗生物質には、シプロフロキサシンおよびガシクリジンが含まれる。例示的なコルチコステロイドには、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、およびプレドニゾロンが含まれるが、それらに限定されるわけではない。例示的なアミノグリコシドには、ゲンタマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、およびトブラマイシンが含まれるが、それらに限定されるわけではない。フリーラジカル捕捉剤には、N-アセチルシステイン (

50

NAC)、メチオニン、トコフェロール、ビタミンE、エプセレン、チオプロニン、有機チオホスフェート、および銅化合物(無機銅(I)塩および/または無機銅(II)塩など)が含まれるが、それらに限定されるわけではない。小ペプチド治療薬には、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3ベータ(GSK3)に対する阻害剤、パルプロ酸、TGF-阻害剤、上皮成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1、ニューロトロフィン3(NT-3)、GDNF受容体に対するアゴニスト、および脳由来神経栄養因子が含まれるが、それらに限定されるわけではない。遺伝子療法関連剤には、脂質ベクター、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、ナノ粒子、細胞膜透過性ペプチド(CPPおよび/またはPTD)、デンドリマー、ポリプレックス、リポソーム、マイクロソーム、ポリマーソーム、リオプレックス、オリゴヌクレオチド、ネイキッドDNA、スモールRNA、およびCRISP-Cas9が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

10

【0045】

第一の組成物および/または第二の組成物における治療剤の量は、それぞれの組成物の0.0001重量%~約20重量%であり得る。それゆえ、治療剤の量は、約0.0001重量%、約0.0002重量%、約0.0003重量%、約0.0004重量%、約0.0005重量%、約0.0006重量%、約0.0007重量%、約0.0008重量%、約0.0009重量%、約0.001重量%、約0.002重量%、約0.003重量%、約0.004重量%、約0.005重量%、約0.006重量%、約0.007重量%、約0.008重量%、約0.009重量%、約0.01重量%、約0.02重量%、約0.03重量%、約0.04重量%、約0.05重量%、約0.06重量%、約0.07重量%、約0.08重量%、約0.09重量%、約1.0重量%、約1.1重量%、約1.2重量%、約1.3重量%、約1.4重量%、約1.5重量%、約1.6重量%、約1.7重量%、約1.8重量%、約1.9重量%、約2.0重量%、約2.2重量%、約2.4重量%、約2.6重量%、約2.8重量%、約3.0重量%、約3.5重量%、約4.0重量%、約4.5重量%、約5.0重量%、約5.5重量%、約6.0重量%、約6.5重量%、約7.0重量%、約8.0重量%、約9.0重量%、約10.0重量%、約11.0重量%、約12.0重量%、約13.0重量%、約14.0重量%、約15.0重量%、約16.0重量%、約17.0重量%、約18.0重量%、約19.0重量%、約20.0重量%、またはこれらの値の任意の2つを含むおよび/もしくはそれらの間にある任意の範囲であり得る。

20

【0046】

本明細書における任意の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、蛍光成分をさらに含む。蛍光成分は蛍光色素であり得る。例示的な蛍光色素には、N-(3-トリエチルアンモニウムプロピル)-4-(4-(ジブチルアミノ)スチリル)ピリジニウムジプロミド、蛍光ゲンタマイシン、ファロイジン、Hoeschst 33258(CAS #:23491-45-4)、Hoeschst 33342(CAS #:23491-52-3)、Hoeschst 34580(CAS #:23555-00-2)、MitoTracker(登録商標)Orange CMTMRos、MitoTracker(登録商標)Red CMXRos、MitoTracker(登録商標)Orange CM-H2TMRos、MitoTracker(登録商標)Red CM-H2XRos、MitoTracker(登録商標)Red FM、MitoTracker(登録商標)Green FM、MitoTracker(登録商標)Deep Red FM(例えばThermoFisher Scientificから入手可能なMitoTracker(登録商標)色素)、Qtracker(登録商標)細胞標識キット(例えば、ThermoFisher Scientificから入手可能)、およびカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル(「CFSE」)、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物が含まれるが、それらに限定されるわけではない。第一の組成物および/または第二の組成物における蛍光成分の量は、それぞれの組成物の0.0001重量%~約20重量%であり得る。それゆえ、蛍光成分の量は、約0.0001重量%、約0.0002重量%、約0.0003重量%、約0.0004重量%、約0.0005重量%、約0.0006重量%、約0.0007重量%、約0.0008重量%、約0.0009重量%、約0.001重量%、約0.002重量%、約0.003重量%、約0.004重量%、約0.005重量%、約0.006重量%、約0.007重量%、約0.008重量%、約0.009重量%、約0.01重量%、約0.02重量%、約0.03重量%、約0.04重量%、約0.05重量%、約0.06重量%、約0.07重量%、約0.08重量%、約0.09重量%、約1.0重量%、約1.1重量%、約1.2重量%、約1.3重量%、約1.4重量%、約1.5重量%、約1.6重量%、約1.7重量%、約1.8重量%、約1.9重量%、約2.0重量%、約2.2重量%、約2.4重量%、約2.6重量%、約2.8重量%、約3.0重量%、約3.5重量%、約4.0重量%、約4.5重

30

40

50

量%、約5.0重量%、約5.5重量%、約6.0重量%、約6.5重量%、約7.0重量%、約8.0重量%、約9.0重量%、約10.0重量%、約11.0重量%、約12.0重量%、約13.0重量%、約14.0重量%、約15.0重量%、約16.0重量%、約17.0重量%、約18.0重量%、約19.0重量%、約20.0重量%、またはこれらの値の任意の2つを含むおよび/もしくはそれらの間にある任意の範囲であり得る。

【0047】

本明細書における任意の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、1種以上の緩衝剤と；1種以上の等張化剤とをさらに含み得る。例示的な等張化剤および緩衝剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences (Alfonso Gennaro 18th ed. 1990)およびWade & Weller, HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS (1994)において提供されており、そのそれぞれは参照により本明細書に組み入れられる。ゆえに、1種以上の等張化剤には、サッカロース、グルコース、グリセリン、ソルビトール、1,2-プロピレングリコール、NaCl、KCl、CaCl₂、ホウ酸、クエン酸、酒石酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、またはそれらのうちの任意の2種以上の混合物が含まれ得る。1種以上の緩衝剤には、クエン酸、ホウ酸、リン酸、トロメタモール、3-[[1,3-ジヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-2-イル]アミノ]プロパン-1-スルホン酸(「TAPS」)、2-(ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ)酢酸(「ピシン」)、2-アミノ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-1,3-ジオール(「トリス」)、N-(2-ヒドロキシ-1,1-ビス(ヒドロキシメチル)エチル)グリシン(「トリシン」)、3-[[1,3-ジヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-2-イル]アミノ]-2-ヒドロキシプロパン-1-スルホン酸(「TAPSO」)、2-[[1,3-ジヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-2-イル]アミノ]エタンスルホン酸(「TES」)、3-モルホリノプロパン-1-スルホン酸(「MOPS」)、1,4-ピペラジンジエタンスルホン酸(「PIPES」)、2-モルホリン-4-イルエタンスルホン酸(「MES」)、2-[4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-イル]エタンスルホン酸(「HEPES」)、それらのうちの任意の1種もしくは複数種の薬学的に許容される塩(例えば、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム)、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせが含まれ得る。第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、約290mOsm~約320mOsmの張度を呈し得る。

【0048】

さらに、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、約0.001~約1Pa・sの動粘度を呈し得る。ゆえに、第一のバック組成物の任意の態様および/または第二のバック組成物の任意の態様の動粘度は、約0.001Pa・s、約0.002Pa・s、約0.003Pa・s、約0.004Pa・s、約0.005Pa・s、約0.006Pa・s、約0.007Pa・s、約0.008Pa・s、約0.009Pa・s、約0.01Pa・s、約0.02Pa・s、約0.03Pa・s、約0.04Pa・s、約0.05Pa・s、約0.06Pa・s、約0.07Pa・s、約0.08Pa・s、約0.09Pa・s、約1.0Pa・s、またはこれらの値の任意の2つを含むおよび/もしくはそれらの間にある任意の範囲であり得る。

【0049】

第一のバック組成物と第二のバック組成物とを組み合わせると、ヒドロゲルが生成される。ゆえに、ヒドロゲルキットは、第一のバック組成物と第二のバック組成物とを組み合わせるための指示書をさらに含み得る。このヒドロゲルは、マルチアームPEGチオール、マルチアームPEGチオール-エステル、またはそれらの混合物と、マルチアームPEGマイケルアクセプターとの架橋結合によって形成された架橋ポリマーを含む。ヒドロゲルは、本明細書における任意の態様の治療剤を、ヒドロゲルの重量で0.001重量%~約20重量%(または、以前に列挙された範囲および/もしくは値のいずれか)含み得る。ヒドロゲルは、約290mOsm~約320mOsmの張度を呈し得る。ヒドロゲルは、約2~約1000Pa・sの動粘度を呈し得る。ゆえに、ヒドロゲルの任意の態様の動粘度は、約2Pa・s、約3Pa・s、約4Pa・s、約5Pa・s、約6Pa・s、約7Pa・s、約8Pa・s、約9Pa・s、約10Pa・s、約15Pa・s、約20Pa・s、約30Pa・s、約40Pa・s、約50Pa・s、約60Pa・s、約70Pa・s、約80Pa・s、約90Pa・s、約100Pa・s、約200Pa・s、約300Pa・s、約400Pa・s、約500Pa・s、約600Pa・s、約700Pa・s、約800Pa・s、約900Pa・s、約1000Pa・s、またはこれらの

値の任意の2つを含むおよび/もしくはそれらの間にある任意の範囲であり得る。

【0050】

本明細書における任意の態様のヒドロゲルキットは医療用キットであり得、そのような医療用キットは、カニューレ（管など）、第一および第二の組成物を組み合わせるための器具（第一および第二の組成物が、独立したカニューレに流され、該器具を介して組み合わせられ、該器具から分配されるまたは該器具から出る付加的なカニューレから分配される場合など）、または針のうちの1種または複数種をさらに含む。針は、カニューレを通して第一のバック組成物を注入するように構成され得る；針は、カニューレを通して第一のバック組成物を注入するように構成され得る；針は、第一および第二の組成物の組み合わせ（例えば前記器具によって提供される）を部位に送達するように構成され得る。医療用キットの本明細書における任意の態様において、カニューレはマイクロ流体管であり得る。医療用キットの本明細書における任意の態様において、医療用キットは、ヒドロゲルを対象に投与するカニューレ、器具、および針のうちの任意の1種または複数種の使用のための指示書をさらに含み得る。

10

【0051】

本技術の薬物送達法および処置法

本開示は、最小限に侵襲的な様式で蝸牛液中に薬物を直接送達するための方法を提供する。一部の態様において、方法は、本明細書において開示されるゲル前駆体溶液（内耳特異的治療剤を含む）の有効量を対象に投与する工程を含み、ゲル前駆体溶液は、対象の内耳における蝸牛開口術部位（例えば、鼓室階）またはカナロストミー部位にアクセスするカニューレを通して投与され、カニューレは、ゲルベースの前駆体溶液が送達された後に手術により封止される/除去される。ゲル前駆体溶液は、生分解性であり分解すると非耳毒性生成物を生成しかつ1~1,000kPaの弾性率を有するヒドロゲルを、インサイチューで形成する。ゲルマトリックスから放出された治療剤は、経時的に外リンパ液を通じて拡散しかつ広がり、最終的に内耳空間内の有毛細胞または神経細胞などの聴覚関連標的と相互作用する。図1(a)~1(b)は、難聴または聴覚疾患を患っている対象の蝸牛液中に直接投与されるように設計された生分解性ゲルの化学的設計および計画された送達/分解動態を示している。

20

【0052】

蝸牛内設置によるゲルベースの送達は、ゲルマトリックスからの薬物放出速度の変動によって影響を受けるものの、本明細書において開示される方法の1つの利点は、放出された薬物が、送達部位と標的部位との間の介在組織および構造を通して拡散する必要がないことである。その生分解性特性を考慮すると、ゲルマトリックスは、いったん送達プロセスが完了すると、聴力に影響を及ぼさないかまたは聴力を損なわない。

30

【0053】

1つの局面において、本開示は、有効量の第一のバック組成物および有効量の第二のバック組成物を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患または難聴を処置するための方法を提供し、(a)第一のバック組成物は、第一のバック組成物の重量で約10重量%~約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および水を含み、(b)第二のバック組成物は、第二のバック組成物の重量で約10重量%~約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および水を含み、かつ(c)第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、少なくとも1種の内耳特異的治療剤をさらに含み、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、対象の正円窓膜を貫通するカニューレを通して投与される。

40

【0054】

別の局面において、本開示は、有効量の第一のバック組成物および有効量の第二のバック組成物を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患または難聴を処置するための方法を提供し、(a)第一のバック組成物は、第一のバック組成物の重量で約10重量%~約50重量%のPEGチオール、PEGチオール-エステル、またはそれらの混合物；および水を含み、(b)第二のバック組成物は、第二のバック組成物の重量で約10

50

重量%～約50重量%のPEGマイケルアクセプター；および水を含み、かつ(c)第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、少なくとも1種の内耳特異的治療剤をさらに含み、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、対象の内耳における蝸牛開口術部位またはカナロストミー部位にアクセスするカニューレを通して投与される。一部の態様において、蝸牛開口術部位は、対象の蝸牛骨内に位置する。ある特定の態様において、カナロストミー部位は、対象の半規管内に位置する。加えてまたは代替的に、一部の態様において、方法は、カニューレをヒアルロン酸ナトリウム、筋肉移植片、脂肪移植片、または筋膜移植片で再封止する工程をさらに含む。

【0055】

本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物をカニューレを通して注入するために、マイクロ流体管または高ゲージ針を用いる。ある特定の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物を、鼓室階(ST)、前庭階、および中央階からなる群より選択される、流体で満たされた蝸牛管内に投与する。本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、1～1,000kPaの弾性率を有するヒドロゲルをインサイチューで形成する。

10

【0056】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、コルチコステロイド、アミノグリコシド、フリーラジカル捕捉剤、小ペプチド治療薬、遺伝子療法関連剤、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含む。少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、シプロフロキサシン、ガシクリジン、 α -セクレターゼ阻害剤、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、ゲンタマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、トブラマイシン、N-アセチルシステイン(NAC)、メチオニン、トコフェロール、ビタミンE、エプセレン、チオプロニン、有機チオホスフェート、銅化合物、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3ベータ(GSK3 β)に対する阻害剤、バルプロ酸、TGF- β 阻害剤、上皮成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1、ニューロトロフィン3(NT-3)、GDNF受容体に対するアゴニスト(例えば、XIB4035)、脳由来神経栄養因子、脂質ベクター、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、ポリプレックス、リボソーム、マイクロソーム、ポリマーソーム、リオプレックス、オリゴヌクレオチド、ネイキッドDNA、スモールRNA、CRISP-Cas9、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含み得る。

20

30

【0057】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、第一のバック組成物および第二のバック組成物は、同時にまたは逐次的に投与される。第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、単回の注射または複数回の注射として投与され得る。本技術の方法の一部の態様において、対象はヒトである。

【0058】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、蛍光トレーサー化合物をさらに含む。蛍光トレーサー化合物は、FM 1-43 FX、GTTR、ファロイジン、Hoechst、Mitotracker、Q-tracker、およびCFSEからなる群より選択され得る。

40

【0059】

本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、聴覚疾患は、感音性難聴、騒音性難聴、突発性感音性難聴、自己免疫性内耳疾患、耳鳴、シスプラチン耳毒性保護、放射線誘発性耳毒性保護、メニエール病、および脳神経シュワン腫からなる群より選択される。方法のある特定の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物の投与は、内有毛細胞または外有毛細胞の生存の増加および/または再生の増加をもたらす。加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物の投与は、聴覚疾患を

50

有する処置されていない対照対象において観察されるものと比べて、聴性脳幹反応、複合活動電位、聴覚閾値、および歪成分耳音響放射からなる群より選択される1つまたは複数の電気生理学的パラメーターの改善をもたらす。

【0060】

1つの局面において、本開示は、(a)少なくとも1種の内耳特異的治療剤を含有するポンプを対象の蝸牛に取り付ける工程、および(b)有効量の該少なくとも1種の内耳特異的治療剤を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患または難聴を処置するための方法を提供し、ポンプは、対象の正円窓膜を貫通するカニューレを通して該少なくとも1種の内耳特異的治療剤を注入する。別の局面において、本開示は、(a)少なくとも1種の内耳特異的治療剤を含有するポンプを対象の蝸牛に取り付ける工程、および(b)有効量の該少なくとも1種の内耳特異的治療剤を対象に投与する工程を含む、その必要がある対象において聴覚疾患または難聴を処置するための方法を提供し、ポンプは、対象の内耳における蝸牛開口術部位またはカナロストミー部位にアクセスするカニューレを通して該少なくとも1種の内耳特異的治療剤を注入する。一部の態様において、蝸牛開口術部位は、対象の蝸牛骨内に位置する。ある特定の態様において、カナロストミー部位は、対象の半規管内に位置する。加えてまたは代替的に、一部の態様において、方法は、カニューレをヒアルロン酸ナトリウム、筋肉移植片、脂肪移植片、または筋膜移植片で再封止する工程をさらに含む。

10

【0061】

加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、ポンプは、対象が、薬物送達プロセス中に依然として歩行可能なままであり得るように、頭部装着型であるマイクロポンプまたは(薬物送達が、数日間、数週間、または数ヶ月間の期間維持されるべきである場合には)埋め込まれるマイクロポンプであり得る。ポンプは、短期間の蝸牛内への単回注入、蝸牛内への複数回注入、または長時間の、連続的な、もしくは慢性的な使用に用いられ得る。

20

【0062】

上記態様のいずれかにおいて、少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、凍結乾燥粉末、流体ボラスの形態であり得るか、またはゲルマトリックスもしくは粒子マトリックス内に含有され得る。本明細書において記載される治療剤を任意の適切な濃度で製剤化して、選択された送達レジメンに従う1日用量を達成し得る。例として、治療剤は、約10mg/ml ~ 約500mg/mlの濃度で製剤化され得る。

30

【0063】

治療剤は、溶液、懸濁液、分散液、ならびにポリマーナノ粒子、リポソーム、高分子ミセル、および1ミクロン未満の粒子サイズ中央値を有する固体脂質ナノ粒子の懸濁液を含めた任意のクラスのナノコロイド状キャリアとして製剤化され得る。

【0064】

分散液は、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含めた滅菌油、およびオレイン酸を含めた脂肪酸など、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を用いて、当技術分野において周知の技法(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Chapter 43, 14th Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa.を参照されたい)に従って製剤化され得る。大分子を含有する流体組成物は、水、生理食塩水、等張食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、クエン酸緩衝生理食塩水中等で調製され得、任意で非毒性界面活性剤と混合され得る。分散液は、グリセロール、液体ポリエチレン、グリコール、DNA、植物油、トリアセチン等、およびそれらの混合物中でも調製され得る。これらの調製物は、微生物の増殖を防止する防腐剤を含有し得る。注射または注入に適切な薬学的剤形には、活性成分を含む、滅菌した水溶液、懸濁液、もしくは分散液、または滅菌粉末が含まれ、その粉末は、滅菌した注射可能なまたは注入可能な溶液または分散液の即時調製に適している。最終剤形は、滅菌流体でありかつ製造および保管の条件下で安定である。溶液、懸濁液、または分散液の液体キャリアまたはビヒクルは、例えば水、エタノール、ポリオール、例えばグリセロール、プロピレングリコール、または液体ポリエチレングリコール等、植物油、非毒性グリセ

40

50

リルエステル、およびそれらの適切な混合物を含む、希釈剤または溶媒または液体分散媒であり得る。溶液、懸濁液、または分散液の適正な流動性は、例えばリポソームの形成によって、分散液の場合には所望の粒子サイズの維持によって、または非毒性界面活性剤の使用によって維持され得る。

【0065】

抗細菌剤および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル、エタノール等が含まれ得る。多くの場合、等張剤、例えば糖類、緩衝液、または塩化ナトリウムが含まれ得る。組成物の長期吸収は、吸収を遅らせる作用物質、例えばモノステアリン酸アルミニウムヒドロゲルおよびゼラチンを組成物に含めることによってもたらされ得る。シクロデキストリンなど、溶解度を増加させる賦形剤が添加され得る。大分子の濃度は、処置される疾患、または患者の処置への応答に基づいて条件が保証するように容易に決定および変動され得る。対象への流体組成物の長期送達に関して、組成物は、該組成物が送達されている組織と等張であることが望ましくあり得る。例えば、流体組成物は、対象の外リンパ液と等張であり得る。

10

【0066】

蝸牛内送達を意図される流体組成物は、約290mOsm～約320mOsmの張度を有し得る。製剤化の間、組成物が約290mOsm～約320mOsmよりも低い張度を有する場合、張度は、塩化ナトリウムなどの張度増強剤を添加することによって増強され得る。本明細書において使用するとき、「張度増強剤」とは、組成物の張度を増加させる化合物または組成物を意味する。一部の態様において、付加的な治療剤、安定化化合物、防腐剤、可溶化剤、緩衝液等が添加され得る。滅菌した流体組成物は、所望の量の大分子を、例えば上記で挙げられた様々な他の成分を有する適当な希釈剤または溶媒中に組み入れ、所望のようにその後滅菌を行うことによって調製され得る。滅菌のための任意の手段が用いられ得る。例えば、滅菌は、加熱、濾過、無菌技法等、またはそれらの組み合わせによって達成され得る。一部の状況において、滅菌溶液の調製のための滅菌粉末を得ることが望ましくあり得る。

20

【0067】

送達プロセスが急性的または短期的である場合、ポンプは、対象が鎮静状態である間に配置される大きな装置であり得る。いずれかの場合、適当な送達順序の後、ポンプは除去され、手術によるアクセス部位は閉じられる/封止される。ポンプベースの送達に関して、いったんポンプが除去されると、少なくとも1種の内耳特異的治療剤の持続的な拡散および広がり、開始薬物濃度、治療剤の拡散係数/分子量、分子電荷などの電気的作用、タンパク質への薬物結合、および本明細書において記載される他の作用に依存する。

30

【0068】

内耳特異的治療剤の例には、コルチコステロイド、アミノグリコシド、フリーラジカル捕捉剤、小ペプチド治療薬、遺伝子療法関連剤、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせが含まれる。少なくとも1種の内耳特異的治療剤は、シプロフロキサシン、ガシクリジン、 β -セクレターゼ阻害剤、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、ゲンタマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、トブラマイシン、N-アセチルシステイン (NAC)、メチオニン、トコフェロール、ビタミンE、エブセレン、チオプロニン、有機チオホスフェート、銅化合物、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3ベータ (GSK3 β) に対する阻害剤、バルプロ酸、TGF- β 阻害剤、上皮成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1、ニューロトロフィン3 (NT-3)、GDNF受容体に対するアゴニスト (例えば、X1B4035)、脳由来神経栄養因子、脂質ベクター、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、ポリプレックス、リポソーム、マイクロソーム、ポリマーソーム、リオプレックス、オリゴヌクレオチド、ネイキッドDNA、スモールRNA、CRISP-Cas9、またはそれらのうちの任意の2種以上の組み合わせを含み得る。

40

【0069】

本明細書において開示される方法の上記態様のいずれかにおいて、聴覚疾患は、感音性難聴、騒音性難聴、突発性感音性難聴、自己免疫性内耳疾患、耳鳴、シスプラチン耳毒性

50

保護、放射線誘発性耳毒性保護、メニエール病、および脳神経シュワン腫からなる群より選択される。方法のある特定の態様において、少なくとも1種の内耳特異的治療剤の投与は、内有毛細胞または外有毛細胞の生存の増加および/または再生の増加をもたらす。加えてまたは代替的に、本明細書において開示される方法の一部の態様において、少なくとも1種の内耳特異的治療剤の投与は、聴覚疾患を有する処置されていない対照対象において観察されるものと比べて、聴性脳幹反応、複合活動電位、聴覚閾値、および歪成分耳音響放射からなる群より選択される1つまたは複数の電気生理学的パラメーターの改善をもたらす。

【0070】

マイクロポンプベースのサンプリング装置を対象の蝸牛に取り付ける工程を含む、対象の蝸牛内の治療剤の濃度を評価するための方法も本明細書において開示され、マイクロポンプベースのサンプリング装置は、対象の正円窓膜を貫通するカニューレに取り付けられる。本開示は、マイクロポンプベースのサンプリング装置を対象の蝸牛に取り付ける工程を含む、蝸牛内の治療剤の濃度を評価するための方法も提供し、マイクロポンプベースのサンプリング装置は、対象の内耳における蝸牛開口術部位またはカナロストミー部位にアクセスするカニューレに取り付けられる。一部の態様において、蝸牛開口術部位は、対象の蝸牛骨内に位置する。ある特定の態様において、カナロストミー部位は、対象の半規管内に位置する。加えてまたは代替的に、一部の態様において、方法は、カニューレをヒアルロン酸ナトリウム、筋肉移植片、脂肪移植片、または筋膜移植片で再封止する工程をさらに含む。

10

20

【0071】

本開示は、内耳液中に直接分配される薬物で治療効果を達成するために用いられる様々な送達手法の効力および/または安全性を評価するために有用である方法も提供する。これらの方法には、本明細書において記載される薬物送達法と併せて用いられる、コンピューターモデリング、聴力測定、および組織病理学的評価工程が含まれる。

【0072】

コンピューターモデリングを用いて、軸方向拡散、径方向拡散、ポンプによる対流効果、蝸牛水管下へのクリアランス、鼓室階の直径の変動、蝸牛液中に存在するタンパク質への薬物結合、および送達プロトコルの循環性要素または反復性要素などの、薬物濃度を調節するメカニズムを説明すると同時に、直接的蝸牛内アクセスに基づく薬物送達/輸送をシミュレーションする。

30

【0073】

聴力測定は、内耳における治療用化合物の効果をアッセイする。一時的な直接的蝸牛内送達および輸送サイクル、コンピューターモデリング、ならびに組織病理学と組み合わせた聴力測定の使用は、治療剤の効力および安全性を評価するのに有用である。

【0074】

送達サイクル後の蝸牛の全載または切片化を用いた組織病理学は、蝸牛構造内の一時的に埋め込まれたゲルまたはポンプからの薬物送達/輸送を評価する半定量的手段として用いられ得る。FM-143およびQTrackerなどの蛍光トレーサー化合物を用い、共焦点顕微鏡法を用いて蛍光トレーサー化合物を可視化する、組織病理学的評価の例が、推定濃度勾配および薬物動態プロファイルとともに、図5に示されている。

40

【0075】

1つの局面において、本開示は、(1)本明細書において記載される任意の第一のバック組成物の有効量および本明細書において記載される任意の第二のバック組成物の有効量を対象に投与する工程であって、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は治療剤をさらに含み、第一のバック組成物および/または第二のバック組成物は、対象の正円窓膜を貫通するカニューレを通してまたは対象の内耳における蝸牛開口術部位もしくはカナロストミー部位にアクセスするカニューレを通して投与される、工程；(2)第一のバック組成物および第二のバック組成物の投与後、対象の聴覚応答、ならびに/または蝸牛細胞、組織、および/もしくは聴覚構造の組織学を評価する工程；ならびに(3)対象

50

が、難聴を有する処置されていない対象と比較して、難聴の改善および/または内有毛細胞もしくは外有毛細胞の生存の増加もしくは再生の増加を呈する場合、治療剤が内耳疾患を処置することにおいて有効であると判定する工程を含む、内耳疾患の処置における治療剤の効力を評価するための方法を提供する。

【0076】

別の局面において、本開示は、(1) 治療剤を含有するポンプを対象の蝸牛に取り付ける工程；(2) 有効量の治療剤を対象に投与する工程であって、ポンプは、対象の正円窓膜を貫通するカニューレを通してまたは対象の内耳における蝸牛開口術部位もしくはカナロストミー部位にアクセスするカニューレを通して治療剤を注入する、工程；(3) 治療剤の投与後、対象の聴覚応答、ならびに/または蝸牛細胞、組織、および/もしくは聴覚構造の組織学を評価する工程；ならびに(4) 対象が、難聴を有する処置されていない対象と比較して、難聴の改善および/または内有毛細胞もしくは外有毛細胞の生存の増加もしくは再生の増加を呈する場合、治療剤が内耳疾患を処置することにおいて有効であると判定する工程を含む、内耳疾患の処置における治療剤の効力を評価するための方法を提供する。

10

【0077】

本明細書において開示される方法の一部の態様において、蝸牛開口術部位は、対象の蝸牛骨内に位置する。本明細書において開示される方法のある特定の態様において、カナロストミー部位は、対象の半規管内に位置する。加えてまたは代替的に、一部の態様において、方法は、カニューレをヒアルロン酸ナトリウム、筋肉移植片、脂肪移植片、または筋膜移植片で再封止する工程をさらに含む。

20

【0078】

聴覚閾値をモニターすることに加えて、CAPの振幅、ABR、またはDPOAEをモニターして、短期(急性)評価または長期(慢性)評価の際に薬物動態学的な薬物プロファイルを作成し得る。蝸牛細胞、組織、および/または聴覚構造の組織学は、本明細書において記載される蛍光トレーサー化合物を用いて評価され得る。

【実施例】

【0079】

実施例1：本技術のゲル組成物を調製するための材料および方法

ヒドロゲル形成動態の試験。チオール型マイケル付加メカニズムによる3アームチオール-エステルおよびPEG-ジアクリレートの段階成長重合によって、ゲルを形成した。3アームチオール-エステルおよびPEG-ジアクリレートの化学量論的分量を、緩衝人工外リンパ溶液(mM: NaCl, 120; KCl, 3.5; CaCl₂, 1.5; グルコース, 5.5; HEPES, 20)中に25重量%で別個に溶解した。これらのプレポリマー溶液を4に冷却して溶解度を向上させ、次いで組み合わせ、ボルテックスによって混合した。TA instruments (Newcastle, DE)製のDiscovery Hybrid rheometerでレオロジーを実施した。混合した後、250 μLのプレポリマー溶液を、温度制御を備えたペルチェプレート上に注射した。20mmの円形オーバーヘッドプレートを用いて、10rad/秒で0.5%の歪みを適用し、ゲル化が生じるにつれて10分間データを収集した。図1(c)は、ヒドロゲルネットワーク形成の展開を示した動的レオロジープロット：4、25、および37におけるG'(貯蔵弾性率)およびG''(損失弾性率)を示している。

30

40

【0080】

インピトロでの膨潤および分解の調査。様々な時点におけるヒドロゲルの湿潤質量を測定することによって、膨潤および分解調査を実施した。膨潤比

Q を、
$$Q = \frac{m_w - m_d}{m_d}$$

として算出した。式中、

m_w

50

は、時点xにおけるヒドロゲルサンプルの湿潤質量であり、

M_g

は、ゲル化直後のヒドロゲルサンプルの湿潤質量である。

【0081】

蝸牛内ヒドロゲル注射のシミュレーション。蝸牛におけるヒドロゲル形成を、人工外リンパを含有する毛細管内へのマイクロ流体デバイスを通したプレポリマー構成要素の注射によってインビトロでシミュレーションした。マイクロ流体デバイスを、市販の構成要素から構築した；150 μm ID PEEK管をIDEX (Oak Harbor, WA) から購入し、Y-インターコネクターおよび2ピースのマイクロ流体アダプターを、LabSmith (Livermore, CA) から購入し、ルアーロックアダプターを有する250 μL の1700シリーズシリンジを、Hamilton (Reno, NV) から購入した。2つのシリンジに、プレポリマー構成要素(3アームチオール-エステルまたはPEG-ジアクリレートのいずれか)をロードし、Harvard PHD ULTRA (商標) シリンジポンプ (Harvard Apparatus-Holliston, MA) 上に並列に置いた。プレポリマー構成要素は、シリンジのそれぞれからの流入管を統合するY-コネクターを通して組み合わされる。10cm長のPEEK管は、Y-コネクターの流出ポートから出て、蝸牛内注射のためのカニューレとしての役割を果たす、Grainger (Everett, MA) から調達された5mm長の100 μm ID Teflon管内で終結する。シミュレーション実験において、37 $^{\circ}\text{C}$ に加熱した人工外リンパを含有する0.5mm IDガラス毛細管内に、カニューレを3mm挿入した。2 μL のプレポリマー溶液を1 μL /分の速度で注射した。注射のおよそ10分後、毛細管を開いてヒドロゲルを調べた。図1(d)は、4 $^{\circ}\text{C}$ における毛細管内への注射後に形成されたヒドロゲルを示している。

10

20

【0082】

インビトロでのFITC-デキストラン放出調査。ヒドロゲルからの巨大分子溶質の放出プロファイルを、様々な分子量(3kDa、10kDa、20kDa、40kDa)の蛍光デキストラン(FITC-デキストラン)薬物代用物を用いて調査した。ゲル化の前に、FITC-デキストランをヒドロゲル前駆体溶液中に2mg/mLでロードした。ヒドロゲル円板(d=5mm、h=3mm)をシリコーンの型の中で形成し、穏やかに攪拌しながら1mLのPBS(1x)中で37 $^{\circ}\text{C}$ にてインキュベートした。受容溶液のアリコート置き換えにより回収し、蛍光強度について解析した。

【0083】

実施例2：本技術の薬物送達法の効力についての評価

本実施例は、本技術の方法が、外リンパ液を介して蝸牛内に薬物を送達するのに、ならびに対象における蝸牛細胞、組織、および聴覚構造に対する組織学的影響をモニターするのに有用であることを実証している。

30

【0084】

コンピューターモデリングを用いて、軸方向拡散、径方向拡散、ポンプによる対流効果、蝸牛水管下へのクリアランス、鼓室階の直径の変動、蝸牛液中に存在するタンパク質への薬物結合、および送達プロトコルの循環性要素または反復性要素などの、これらのプロセス中の薬物濃度を制御する主なメカニズムを説明すると同時に、直接的蝸牛内投与に基づく薬物送達/輸送をシミュレーションした。図2(a)~(e)は例示的なコンピューターモデルを示しており、顕著な境界条件ならびに濃度対蝸牛内の距離および位置のプロットが提供されている。

40

【0085】

蝸牛開口術(基底回転で行われる)を介して薬物を注入するポンプを用いた、モルモットモデルにおける往復式内耳送達および電子制御投薬を評価した。薬物貯留層に、グルタミン酸受容体アンタゴニストDNQX(有毛細胞から聴神経シナプスへの伝達を妨害し、聴性刺激に応答して生じる複合活動電位(CAP)の減衰をもたらす)をロードした。DNQXの分子量(232ダルトン)および物理化学的特徴により、DNQXは、内耳送達の他の小分子候補の潜在性を評価するための適切なモデルとなる。さらに、トーンピップにより惹起された複合活動電位(CAP)を遮断し得るDNQXの用量依存的能力は、薬物濃度の代わりとしての役割を果たす薬物の電気生理学的作用を用いた、蝸牛の長さに沿った薬物分布のモニタリ

50

ングを可能にする。有毛細胞からのDPOAE応答（DNQXによって変化しない）を、非特異的作用についての対照としてモニターした。

【0086】

本明細書において記載される実験において、薬物濃度は直接測定されず、STの長さに沿った薬物媒介性CAP阻害をマッピングして、所与の位置における薬物濃度を算出することによって推論された。図3(a)~3(b)は、DNQXに対する応答の指標としての役割を果たすサンプル聴力測定を示している。薬物送達の開始後のCAPの観察された低下は、送達プロセスの効力を実証している。経時的なDPOAEの変化がないことは、手順の安全性を裏付けし、機械的損傷または伝音性難聴の兆候がないことを示した。

【0087】

注射後の蝸牛内構造内の薬物分布を可視化するために、蝸牛開口術手技の後、FM 1-43 FXトレーサーを蝸牛の底部への溶液（人工外リンパ）中に投与した。図4(b)は、蝸牛の底部からの距離の関数としての、外有毛細胞における生の蛍光強度（FM 1-43 FX）の例を示している。図4(c)は、3つの反復物にわたって同様の染色パターンを示した、蝸牛の底部からの距離の関数としてのピン化された蛍光強度を示している。

【0088】

図5(a)~5(d)は、FM-143などの蛍光トレーサー化合物を用いた、聴覚構造の組織病理学的評価を示している。蛍光トレーサー化合物を、蝸牛開口術を介して溶液（人工外リンパ）中に注入し、共焦点顕微鏡法を用いて可視化した。推定濃度勾配およびプロファイルを、蛍光トレーサー化合物のそれぞれに対して作成した。これらの組織病理学的調査の結果は、蛍光シグナルを介して、蝸牛内の様々な位置における薬物またはトレーサー化合物の存在を実証しており、細胞、組織、および聴覚構造に対する組織学的影響を評価するのに有用である。

【0089】

本実施例は、本技術の方法が、外リンパ液を介して蝸牛内に薬物を送達するのに、ならびに対象における蝸牛細胞、組織、および聴覚構造に対する組織学的影響をモニターするのに有用であることを実証している。

【0090】

実施例3：本技術の薬物送達法は、聴覚疾患および/または難聴を処置するのに有用である

本実施例は、本技術の方法が、その必要がある対象における聴覚疾患および/または難聴の処置に有用であることを実証している。

【0091】

ヒドロゲル製剤は、正円窓膜を通してまたは蝸牛の骨もしくは半規管の蝸牛開口術（開窓術）を介して、内耳治療用化合物を含有するヒドロゲル前駆体を注射することによって、難聴を有する哺乳類対象の蝸牛に投与される。水性ヒドロゲル前駆体溶液は $8.90 \times 10^{-4} \text{ Pa} \sim 10^{-3} \text{ Pa}$ の動粘度を有するニュートン流体であり、蛍光トレーサー化合物を含有しても含有していなくてもよい。マイクロ流体管または高ゲージ針を用いて、ヒドロゲル前駆体を $1 \text{ nL/分} \sim 100 \mu\text{L/分}$ の速度で注入する。注射されるヒドロゲル前駆体の総容積は、 $1 \text{ nL} \sim 100 \mu\text{L}$ の間で変動し得る。ヒドロゲル前駆体溶液の化学的架橋は、 $1 \sim 1,000 \text{ kPa}$ の弾性率を有するヒドロゲルをもたらす。ヒドロゲルは、1時間~12ヶ月のゲル滞留時間を有して、エステルまたはアミド加水分解によって分解する。ゲル形成によって誘発される聴覚閾値上昇は、 $< 40 \text{ dB}$ であると予想される。聴覚の機能的評価には、DPOAE、ABR、およびCAP測定が含まれる。組織病理学は、共焦点顕微鏡法により蛍光トレーサー化合物の分布を可視化することによって評価される。

【0092】

処置された対象は、難聴を有する処置されていない対象と比較して、蝸牛細胞、組織、および聴覚構造の組織学的改善、ならびに/または難聴の反転もしくは改善の兆候を示すであろうということが予想される。したがって、本明細書において開示される方法は、その必要がある対象における聴覚疾患および/または難聴の処置に有用である。

【0093】

10

20

30

40

50

等価物

本技術は、本出願において記載される特定の態様の観点において限定されるべきではなく、それは、本技術の個々の局面の単なる実例として意図される。当業者に明らかであろうように、本技術の多くの改変および変形が、その精神および範囲から逸脱することなく行われ得る。前述の記載から、本明細書において挙げられるものに加えて、本技術の範囲内にある機能的に等価の方法および器具が当業者に明らかであろう。そのような改変および変形は、本技術の範囲内に入ることが意図される。本技術は、特定の方法、試薬、化合物、組成物、または生物学的システムに限定されず、それは当然変動し得ることが理解されるべきである。本明細書において用いられる術語は、単に特定の態様を記載する目的のためのものであり、限定的であることが意図されないことも理解されるべきである。

10

【0094】

加えて、本開示の特徴または局面が、マーカッシュ群の観点から記載される場合、当業者であれば、本開示も、それによって、マーカッシュ群の任意の個々のメンバーまたはメンバーの部分群の観点から記載されることを認識するであろう。

【0095】

当業者によって理解されるであろうように、あらゆる目的のために、特に書面による記載を提供する観点において、本明細書において開示されるすべての範囲は、そのあらゆる考え得る部分範囲および部分範囲の組み合わせも包含する。任意の列記される範囲は、少なくとも2等分、3等分、4等分、5等分、10等分などに分割される同じ範囲を十分に記載しおよび可能にするものとして容易に認識され得る。非限定的な例として、本明細書において記述される各範囲は、下部3分の1、中央3分の1、および上部3分の1等に容易に分割され得る。当業者によってまた理解されるであろうように、「～までの」、「少なくとも」、「～よりも大きい」、「～よりも小さい」などのすべての言語は、列挙された数を含み、上記で記述されるように部分範囲にその後分割され得る範囲を指す。最後に、当業者によって理解されるであろうように、範囲は、それぞれ個々のメンバーを含む。ゆえに、例えば、1～3個の細胞を有する群は、1、2、または3個の細胞を有する群を指す。同様に、1～5個の細胞を有する群は、1、2、3、4、または5個の細胞を有する群を指す、等である。

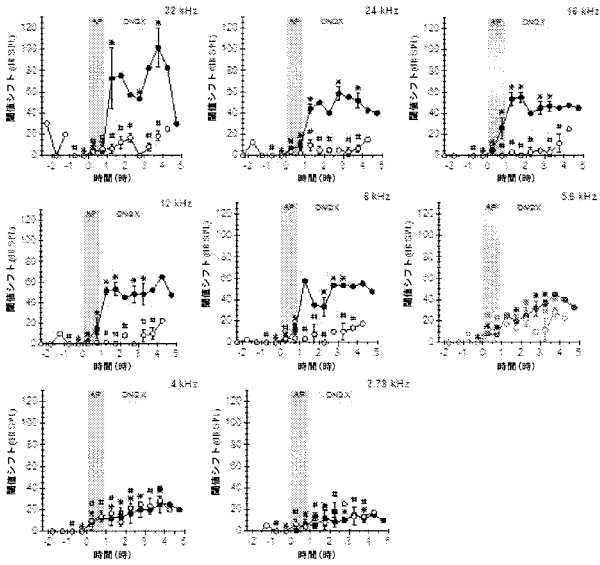
20

【0096】

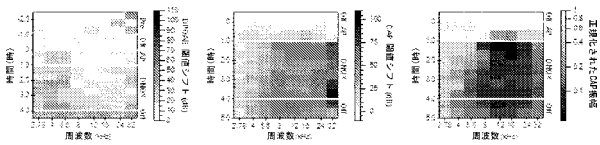
すべての図および表を含めた、本明細書において言及されるまたは引用されるすべての特許、特許出願、仮出願、および刊行物は、それらが本明細書の明示的な教示と矛盾しない程度まで、参照によりそれらの全体として組み入れられる。

30

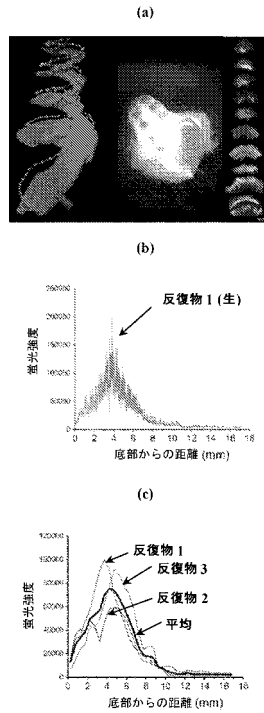
【図3(a)】



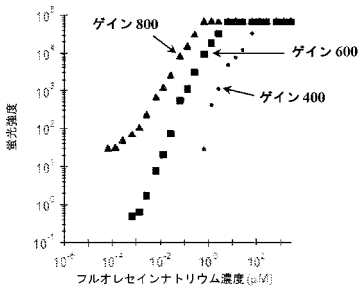
【図3(b)】



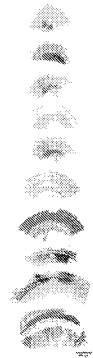
【図4】



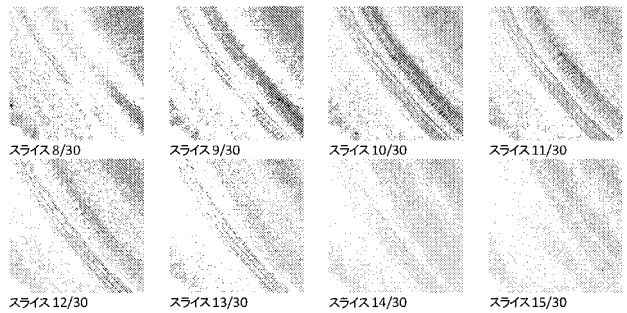
【図5(a)】



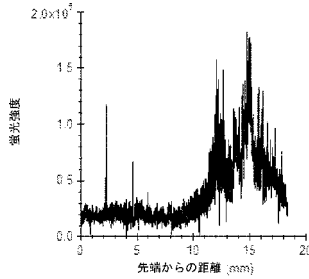
【図5(b)】



【図5(c)】



【図5(d)】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2017/039090

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/498 A61K47/10 A61K9/00 A61P27/16 ADD.		
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) A61K A61P		
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) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YU JING ET AL: "In situ covalently cross-linked PEG hydrogel for ocular drug delivery applications", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, vol. 470, no. 1, 23 April 2014 (2014-04-23), pages 151-157, XP028849341, ISSN: 0378-5173, DOI: 10.1016/J.IJPHARM.2014.04.053	19-37
Y	abstract page 152, left-hand column, last paragraph - page 152, right-hand column, paragraph f page 153, left-hand column, last paragraph - page 154, right-hand column, paragraph f figure 2a; table 1 ----- -/--	1-18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent 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 *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
12 September 2017	22/09/2017	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Ganschow, Silke	

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2017/039090

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2014/200395 A1 (SHAFI BILAL [US] ET AL) 17 July 2014 (2014-07-17)	19-37
Y	paragraph [0010] paragraph [0033] - paragraph [0034] paragraph [0036] - paragraph [0039] paragraph [0042] paragraph [0049] - paragraph [0050] paragraph [0058] claims 1,7-11,16,27,36 -----	1-18
Y	YU DEHONG ET AL: "Inner ear delivery of dexamethasone using injectable silk-polyethylene glycol (PEG) hydrogel", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 503, no. 1, 10 March 2016 (2016-03-10), pages 229-237, XP029475935, ISSN: 0378-5173, DOI: 10.1016/J.IJPHARM.2016.02.048 the whole document -----	1-18
Y	EL KECHAI NAILA ET AL: "Recent advances in local drug delivery to the inner ear", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, vol. 494, no. 1, 7 August 2015 (2015-08-07), pages 83-101, XP029276490, ISSN: 0378-5173, DOI: 10.1016/J.IJPHARM.2015.08.015 4.1.3.1. table 6 -----	1-18
Y	US 2013/085476 A1 (IMRAN MIR A [US]) 4 April 2013 (2013-04-04) claims 1-30 -----	1-18
Y	US 2010/015263 A1 (LICHTER JAY [US] ET AL) 21 January 2010 (2010-01-21) the whole document -----	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/039090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2014200395 A1	17-07-2014	NONE	

US 2013085476 A1	04-04-2013	NONE	

US 2010015263 A1	21-01-2010	US 2010015263 A1	21-01-2010
		US 2010273864 A1	28-10-2010
		US 2014018395 A1	16-01-2014
		US 2015313839 A1	05-11-2015
		US 2016038491 A1	11-02-2016
		WO 2010062413 A1	03-06-2010

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 38/03 (2006.01)	A 6 1 K 38/03	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 47/22	
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	
A 6 1 K 47/04 (2006.01)	A 6 1 K 47/04	
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T E F L O N

- (71) 出願人 596060697
マサチューセッツ インスティテュート オブ テクノロジー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 2 1 3 9 ケンブリッジ, マサチューセッツ・アヴェニュー・
7 7
- (74) 代理人 100102978
弁理士 清水 初志
- (74) 代理人 100102118
弁理士 春名 雅夫
- (74) 代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝
- (74) 代理人 100119507
弁理士 刑部 俊
- (74) 代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74) 代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74) 代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74) 代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74) 代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
- (74) 代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74) 代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 ボレンスタイン ジェフリー ティー .
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 パララス エリン
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 キム アーネスト エス .
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 タンドン ヴィシヤル
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 アヨオブ アンドリュー
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 マケナ マイケル
アメリカ合衆国 0 2 1 1 4 マサチューセッツ州 ボストン チャールズ ストリート 2 4 3
- (72)発明者 シューエル ウィリアム
アメリカ合衆国 0 2 1 1 4 マサチューセッツ州 ボストン チャールズ ストリート 2 4 3
- (72)発明者 ペッピ マルチェッロ
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 ワインバーグ マーク
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 5
5 5
- (72)発明者 ランガー ロバート
アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ マサチューセッツ アベニュー
ー 77 ルーム 76 - 6 6 1
- Fターム(参考) 4C076 AA09 BB26 CC10 DD22D DD23D DD26D DD38D DD43D DD44 DD57
DD60 DD67D EE23 FF68
4C084 AA13 AA17 BA03 MA70 NA10 ZA34
4C085 HH11 JJ20 KA36 KB74 LL20
4C086 AA01 AA10 DA10 MA01 MA04 MA28 MA70 NA10 ZA34