

(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2014-534864

(P2014-534864A)

(43) 公表日 平成26年12月25日(2014.12.25)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 6 1 M 31/00 (2006.01)	A 6 1 M 31/00	4 C 0 6 6
A 6 1 M 1/16 (2006.01)	A 6 1 M 1/16 5 1 0	4 C 0 7 7

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 74 頁)

(21) 出願番号	特願2014-539096 (P2014-539096)	(71) 出願人	513128316
(86) (22) 出願日	平成24年10月26日 (2012.10.26)		プレサージュ バイオサイエンス, イン
(85) 翻訳文提出日	平成26年6月24日 (2014.6.24)		コーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/062313		アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン
(87) 国際公開番号	W02013/063530		州, シアトル, フェアビュー アヴェニュー
(87) 国際公開日	平成25年5月2日 (2013.5.2)		ノース 5 3 0, スイート 1 0 0 0
(31) 優先権主張番号	61/680, 847	(74) 代理人	230104019
(32) 優先日	平成24年8月8日 (2012.8.8)		弁護士 大野 聖二
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100106840
(31) 優先権主張番号	61/553, 003		弁理士 森田 耕司
(32) 優先日	平成23年10月28日 (2011.10.28)	(74) 代理人	100117444
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 片山 健一
		(74) 代理人	100113549
			弁理士 鈴木 守

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬物デリバリー方法

(57) 【要約】

効力を評価するために、薬剤を固形組織に体内 (in vivo) でデリバリーするための方法およびデバイスが記述される。1つの方法では、針を引き抜き、薬剤を固形組織に注入し；別の方法では、複数の微小透析プロープを使用して薬剤を固形組織にデリバリーする。

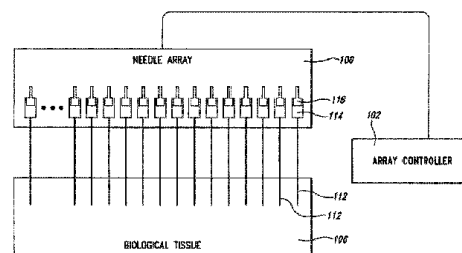


Figure 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

複数の薬剤を、対象の固形組織にデリバリーする方法であって、
(a) 複数の微小透析プローブを前記固形組織に挿入するステップと、
(b) 前記複数の薬剤を、前記複数の微小透析プローブに通して前記固形組織にデリバリーするステップと
を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】

1 種または複数の薬剤を、対象の固形組織にデリバリーする方法であって、
(a) 1 本または複数の針を前記固形組織に挿入するステップと、
(b) 前記 1 本または複数の針を前記固形組織から引き抜き、前記 1 種または複数の薬剤を前記固形組織に注入することによって、前記 1 種または複数の薬剤を前記固形組織にデリバリーするステップと
を含むことを特徴とする方法。

10

【請求項 3】

2 種以上の薬剤を、対象の固形組織にデリバリーする方法であって、(a) 前記 2 種以上の薬剤の少なくとも 1 種を、前記対象に全身投与するステップと、(b) 前記 2 種以上の薬剤の少なくとも 1 種を、少なくとも 1 つの微小透析プローブまたは少なくとも 1 本の針で前記固形組織にデリバリーするステップとを含み、(a) で投与された前記 (1 種または複数の) 薬剤は、(b) でデリバリーされた前記 (1 種または複数の) 薬剤とは異なるものであることを特徴とする方法。

20

【請求項 4】

前記固形組織に対する前記 (1 種または複数の) 薬剤の効果を評価するステップをさらに含む、請求項 1、2、または 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

使用される場合、前記 (1 つまたは複数の) 微小透析プローブの少なくとも 1 つが Y 字形である、請求項 1 または 3 に記載の方法。

【請求項 6】

使用される場合、前記 (1 つまたは複数の) 微小透析プローブの少なくとも 1 つが線形である、請求項 1 または 3 に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記薬剤が、前記薬剤を前記 (1 つまたは複数の) 微小透析プローブ内に流すことによって前記固形組織にデリバリーされる、請求項 1 または 3 に記載の方法。

【請求項 8】

前記薬剤の流量が、少なくとも約 $0.1 \mu\text{l} / \text{分}$ である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記薬剤の流量が、約 $0.1 \mu\text{l} / \text{分}$ から約 $5 \mu\text{l} / \text{分}$ の間である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

前記薬剤の流量が、約 $1 \mu\text{l} / \text{分}$ から約 $2 \mu\text{l} / \text{分}$ の間である、請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 11】

前記薬剤の流量が、約 $1 \mu\text{l} / \text{分}$ である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 12】

前記薬剤が、前記 (1 つまたは複数の) 微小透析プローブ内に連続的に流れる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

前記流れが、蠕動ポンプで実施される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 14】

前記流れが、所定の時間にわたる、請求項 7 に記載の方法。

50

【請求項 15】

前記所定の時間が、少なくとも約 1 時間である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記所定の時間が、約 1 時間から約 1 年である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

前記（1 種または複数の）薬剤の少なくとも 1 種が、複数回用量で、前記固形組織の同じ領域にデリバリーされる、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記複数回用量の任意の 2 回分が、選択された期間だけ間隔を空けている、請求項 17 に記載の方法。

10

【請求項 19】

前記選択された期間が、少なくとも約 10 分である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記選択された期間が、約 1 時間から約 3 カ月である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 21】

前記（1 種または複数の）薬剤が、化学療法剤を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記（1 種または複数の）薬剤が、小分子薬を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 23】

前記小分子薬が、 10^3 ダルトン未満の分子量を有する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記（1 種または複数の）薬剤が、RNA 活性を妨げる薬剤を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記（1 種または複数の）薬剤が、遺伝子療法剤を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記（1 種または複数の）薬剤が、タンパク質、ペプチド、ペプチドミメティック、抗体、小分子、低分子干渉 RNA - コード化ポリヌクレオチド、アンチセンス RNA - コード化ポリヌクレオチド、またはリボザイム - コード化ポリヌクレオチドからなる群から選択された薬剤を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 27】

前記（1 種または複数の）薬剤が、蛍光色素を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

2 種以上の薬剤が、前記固形組織内の同じ領域に同時にデリバリーされる、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

2 種以上の薬剤が、前記固形組織内の同じ領域に逐次デリバリーされる、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 30】

2 種以上の薬剤が、前記固形組織内の異なる領域にデリバリーされる、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

少なくとも 1 種の薬剤が、異なる濃度で、前記固形組織内の異なる領域にデリバリーされる、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

前記固形組織が、腫瘍を含む、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 3 3】

前記腫瘍が、良性腫瘍および悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記腫瘍が、原発性腫瘍、浸潤性腫瘍、および転移性腫瘍からなる群から選択される、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記腫瘍が、前立腺がん細胞、乳がん細胞、結腸がん細胞、肺がん細胞、脳がん細胞、および卵巣がん細胞からなる群から選択された少なくとも 1 種のがん細胞を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

10

【請求項 3 6】

前記腫瘍が、腺腫、腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、小細胞癌、大細胞未分化癌、軟骨肉腫、および線維肉腫からなる群から選択されたがんを含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記固形組織が、脳、肝臓、肺、腎臓、前立腺、卵巣、脾臓、リンパ節、甲状腺、膵臓、心臓、骨格筋、腸、喉頭、食道、および胃からなる群から選択される、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記評価するステップが、体外 (in vitro) で行われる、請求項 4 に記載の方法。

20

【請求項 3 9】

前記評価するステップが、体内 (in vivo) で行われる、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記評価するステップが、組織切除を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記評価するステップが、全身投与されない場合に前記固形組織の個別の領域で、前記 (1 種または複数の) 薬剤のそれぞれの活性または毒性またはそれらの欠如を検出するステップを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記評価するステップが、全身投与されない場合に前記固形組織の同じ領域で、前記薬剤の少なくとも 2 種の活性または毒性を検出するステップを含む、請求項 4 に記載の方法。

30

【請求項 4 3】

前記活性または毒性が相乗的である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記活性または毒性が相加的である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記評価するステップが、前記固形組織を撮像するステップを含む、請求項 4 に記載の方法。

40

【請求項 4 6】

前記撮像するステップが、放射線撮像、磁気共鳴撮像、ポジトロン放出断層撮影、または生物光子撮像を含む、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記撮像するステップが、前記薬剤の導入の最中または後に行われる、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記評価するステップが、腫瘍細胞死、細胞シグナルの変化、または増殖 / 有糸分裂の変化に関するバイオマーカーと、固形組織にデリバリーされた (1 種または複数の) 薬剤と、固形組織にデリバリーされた (1 種または複数の) 薬剤の (1 種または複数の) 代謝

50

産物とからなる群から選択された少なくとも１種の分析物を収集し分析するステップを含む、請求項４に記載の方法。

【請求項４９】

前記評価するステップが、前記固形組織の増殖勾配または多数の微小環境に対する前記（１種または複数の）薬剤の効果を検出するステップを含む、請求項４に記載の方法。

【請求項５０】

前記固形組織に拡がる前記（１つまたは複数の）微小透析プローブの少なくとも一部が、半透膜を含む、請求項１、２、および３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５１】

挿入部位をマークするステップをさらに含む、請求項１、２、および３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５２】

前記挿入部位が、少なくとも１種の位置マーカーによってマークされる、請求項５１に記載の方法。

【請求項５３】

前記少なくとも１種の位置マーカーが、色素を含む、請求項５２に記載の方法。

【請求項５４】

前記色素および少なくとも１種の追加の薬剤が、前記固形組織内の同じ領域にデリバリーされる、請求項５３に記載の方法。

【請求項５５】

前記挿入するステップが、アレイガイドにより導かれる、請求項１、２、および３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５６】

前記挿入するステップが、針アレイデバイスで実施される、請求項１、２、および３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５７】

前記針アレイデバイスが、少なくとも２本の針を含む、請求項５６に記載の方法。

【請求項５８】

前記針アレイデバイスが、少なくとも５本の針を含む、請求項５６に記載の方法。

【請求項５９】

前記針アレイデバイスが、少なくとも１０本の針を含む、請求項５６に記載の方法。

【請求項６０】

前記（１つまたは複数の）微小透析プローブが、少なくとも３つの微小透析プローブを含む、請求項１または３に記載の方法。

【請求項６１】

前記（１つまたは複数の）微小透析プローブが、少なくとも５つの微小透析プローブを含む、請求項１または３に記載の方法。

【請求項６２】

前記（１つまたは複数の）微小透析プローブが、少なくとも１０個の微小透析プローブを含む、請求項１または３に記載の方法。

【請求項６３】

前記（１つまたは複数の）微小透析プローブのそれぞれまたは前記（１本または複数の）針のそれぞれが、２本以上の針または微小透析プローブが存在する場合に異なる薬剤を含有する、請求項１、２、および３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６４】

前記微小透析プローブまたは針の少なくとも２本が、２本以上の針または微小透析プローブが存在する場合にそれぞれが同じ薬剤を異なる濃度で含有する、請求項１、２、および３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６５】

前記（１種または複数の）薬剤が、軸に沿って前記固形組織にデリバリーされる、請求

10

20

30

40

50

項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 66】

前記軸が、前記固形組織内の複数の平行軸の 1 本である、請求項 65 に記載の方法。

【請求項 67】

前記（1 種または複数の）薬剤の少なくとも 1 種が、がん治療剤である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 68】

前記評価するステップが、前記がん治療剤をデリバリーした後に細胞アポトーシスを検出するステップを含む、請求項 67 に記載の方法。

【請求項 69】

前記細胞アポトーシスが、デリバリー部位から 5 mm 以内の領域で検出される、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 70】

前記がん治療剤が、前記がん治療剤のない対照に比べて 20 % 未満の細胞アポトーシスが観察された場合、さらなる評価から選択解除される、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

前記がん治療剤が、前記がん治療剤のない対照に比べて 80 % 未満の細胞アポトーシスが観察された場合、さらなる評価から選択解除される、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 72】

前記がん治療剤が、前記がん治療剤のない対照に比べて 50 % 超の細胞アポトーシスが観察された場合、さらなる評価に向けて選択される、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 73】

前記がん治療剤が、前記がん治療剤のない対照に比べて 80 % 超の細胞アポトーシスが観察された場合、さらなる評価に向けて選択される、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 74】

1 本または複数の針を引き抜き、1 種または複数の薬剤を注入する前記ステップが、同時に実施される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 75】

1 種または複数の薬剤を注入する速度が、少なくとも約 0.1 μ l / 分である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 76】

1 種または複数の薬剤を注入する速度が、約 0.1 μ l / 分から約 10 μ l / 分の間である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 77】

1 種または複数の薬剤を注入する速度が、約 0.5 μ l / 分である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 78】

1 種または複数の薬剤を注入する速度が、約 1 μ l / 分である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 79】

1 本または複数の針を引き抜く速度が、少なくとも約 0.1 mm / 分である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 80】

1 本または複数の針を引き抜く速度が、約 0.1 mm / 分から約 5 mm / 分の間である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 81】

1 本または複数の針を引き抜く速度が、約 0.5 mm / 分である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 82】

1 本または複数の針が、少なくとも 3 本の針を含む、請求項 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 8 3】

1 本または複数の針が、少なくとも 5 本の針を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

1 本または複数の針が、少なくとも 10 本の針を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8 5】

1 本または複数の針が、エンドポート針を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記 1 本または複数の針のそれぞれ 1 本に、それぞれが流体連絡している 1 つまたは複数のリザーバをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8 7】

1 本または複数の針の 1 本に、それぞれが流体連絡している 2 つ以上のリザーバをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8 8】

1 本または複数の針の 1 本に、それぞれが流体連絡している 5 つ以上のリザーバをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記固形組織の外側で、前記（1 種または複数の）薬剤が（i）検出不可能であるか、または（i i）前記固形組織の外側で検出可能な場合には、前記薬剤が最小有効用量未満で存在する、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記（1 種または複数の）薬剤が、前記固形組織で検出可能な効果を発揮するのに必要な最小用量未満の量で導入される、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記（1 種または複数の）薬剤が、治療有効濃度で前記固形組織中に存在する、請求項 1、2、および 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

（a）で投与された前記少なくとも 1 種の薬剤が、体循環内で治療有効濃度よりも少なく存在する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9 3】

（b）でデリバリーされた少なくとも 1 種の薬剤が、前記固形組織の異なる領域に異なる濃度でデリバリーされる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9 4】

（b）でデリバリーされた少なくとも 1 種の薬剤が、前記固形組織の同じ領域に複数回用量でデリバリーされる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9 5】

（a）でデリバリーされた（1 種または複数の）薬剤が、抗血管新生剤、キナーゼ阻害剤、がん細胞で優先的に発現する代謝経路標的の阻害剤、抗体もしくは抗体薬物コンジュゲート、または後成的修飾因子からなる群から選択される、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9 6】

（b）でデリバリーされた（1 種または複数の）薬剤が、低分子干渉 RNA ポリヌクレオチドまたはアンチセンス RNA ポリヌクレオチドを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9 7】

ステップ（a）の（1 種または複数の）薬剤およびステップ（b）の（1 種または複数の）薬剤が、前記固形組織に対して相乗的效果を発揮する、請求項 9 2 に記載の方法。

【請求項 9 8】

対象が動物である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9 9】

対象がヒトである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

10

20

30

40

50

(i) 評価に基づいて前記 (1 種または複数の) 薬剤の少なくとも 1 種を選択するステップ、 (i i) 評価に基づいて (1 種または複数の) 薬剤の少なくとも 1 種を選択解除するステップ、および (i i i) 評価に基づいて薬剤の少なくとも 2 種に優先順位を付けるステップの 1 つをさらに含む、請求項 9 8 または 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記対象が、複数の対象の 1 つである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 2】

(i) 評価に基づいて前記複数の対象の少なくとも 1 つを選択するステップ、 (i i) 評価に基づいて前記複数の対象の少なくとも 1 つを選択解除するステップ、および (i i i) 評価に基づいて前記複数の対象の少なくとも 2 つに優先順位を付けるステップの 1 つをさらに含む、請求項 1 0 1 に記載の方法。

10

【請求項 1 0 3】

対象の固形組織に複数の薬剤をデリバリーするためのデバイスであって、
複数の微小透析プローブを含むことを特徴とするデバイス。

【請求項 1 0 4】

前記複数の微小透析プローブの 1 つを受容するようにそれぞれが構成されている、複数の針をさらに含む、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

【請求項 1 0 5】

前記複数の針に動作可能に連結された、少なくとも 1 つの制御部をさらに含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

20

【請求項 1 0 6】

前記制御部がコンピュータシステムである、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

【請求項 1 0 7】

少なくとも 3 つの微小透析プローブを含む、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

【請求項 1 0 8】

少なくとも 4 つの微小透析プローブを含む、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

【請求項 1 0 9】

少なくとも 5 つの微小透析プローブを含む、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 0】

少なくとも 6 つの微小透析プローブを含む、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

30

【請求項 1 1 1】

少なくとも 1 0 個の微小透析プローブを含む、請求項 1 0 3 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 2】

少なくとも 3 本の針を含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 3】

少なくとも 4 本の針を含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 4】

少なくとも 5 本の針を含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 5】

少なくとも 6 本の針を含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

40

【請求項 1 1 6】

少なくとも 1 0 本の針を含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 7】

前記固形組織への前記複数の針の挿入を案内するガイドデバイスをさらに含む、請求項 1 0 4 に記載のデバイス。

【請求項 1 1 8】

第 1 の複数の穴を有する上部ブロックであって、前記第 1 の複数の穴は、前記上部ブロックに針を通すことができるようにサイズが決められたものである上部ブロックと、

第 2 の複数の穴を有する底部ブロックであって、前記第 2 の複数の穴は、前記底部ブロックに針を通すことができるようにサイズが決められたものである底部ブロックと、

50

を含み、

前記上部ブロックおよび前記底部ブロックは実質的に平行な配置構成にあり、

前記第 1 の複数の穴および前記第 2 の複数の穴は、1 本または複数の針が、両方のブロックの平面に実質的に垂直な経路で前記上部ブロックおよび前記底部ブロックの穴を通過できるように位置決めされていることを特徴とするデバイス。

【請求項 1 1 9】

少なくとも 1 本の調節可能な脚をさらに含み、少なくとも 1 本の調節可能な脚は底部ブロックに取着されている、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 0】

4 本の調節可能な脚を含む、請求項 1 1 9 に記載のデバイス。

10

【請求項 1 2 1】

前記少なくとも 1 本の調節可能な脚が、垂直および水平に調節可能である、請求項 1 1 9 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 2】

前記底部ブロックが固定されている、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 3】

前記上部ブロックが、前記底部ブロックに対して垂直に移動する、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 4】

前記上部ブロックが、前記底部ブロックに取着されたガイド棒に沿って移動する、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

20

【請求項 1 2 5】

前記上部ブロックの垂直移動を制御する駆動機構をさらに含む、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 6】

前記第 1 の複数の穴および前記第 2 の複数の穴が、実質的に平行な列に並べられている、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 7】

少なくとも 1 本の針をさらに含み、前記第 1 の複数の穴の少なくとも 1 つおよび前記第 2 の複数の穴の少なくとも 1 つが、前記少なくとも 1 本の針を受容するように構成されている、請求項 1 1 8 に記載のデバイス。

30

【請求項 1 2 8】

制御アタッチメントが少なくとも 1 本の針に取着される、請求項 1 2 7 に記載のデバイス。

【請求項 1 2 9】

前記制御アタッチメントが前記少なくとも 1 本の針の挿入を止め、それによって前記固形組織への針の挿入の深さが制御される、請求項 1 2 8 に記載のデバイス。

【請求項 1 3 0】

少なくとも 1 つのばねをさらに含み、前記少なくとも 1 つのばねは、前記少なくとも 1 本の調節可能な脚および前記底部ブロックに実質的に接触している、請求項 1 2 9 に記載のデバイス。

40

【請求項 1 3 1】

少なくとも 1 種の薬剤を固形組織にデリバリーする方法であって、

(a) 請求項 1 1 8 に記載のデバイスを用意するステップと、

(b) 前記デバイスを使用して、1 本または複数の針を前記固形組織に挿入するステップと

(c) 前記デバイスを使用して、前記 1 種または複数の薬剤を前記固形組織に注入し、前記 1 本または複数の針を前記固形組織から引き抜くステップと

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 3 2】

50

前記固形組織に対する前記 1 種または複数の薬剤の少なくとも 1 種の効果を評価するステップをさらに含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

前記 1 本または複数の針が、少なくとも 2 本の針を含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記 1 本または複数の針が、少なくとも 5 本の針を含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

前記 1 本または複数の針が、少なくとも 10 本の針を含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

相互参照

本願は、米国特許法第 1 1 9 条 (e) の規定の下で、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる 2 0 1 1 年 1 0 月 2 8 日に出願された米国仮特許出願第 6 1 / 5 5 3 , 0 0 3 号および 2 0 1 2 年 8 月 8 日に出願された米国仮特許出願第 6 1 / 6 8 0 , 8 4 7 号に基づく優先権の利益を主張するものである。

【背景技術】

【0002】

数多くのがん関連治療薬が、前臨床、第 I 相または第 II 相臨床試験、および任意の特定の時点での評価の下にあり；しかしそれらのほとんどは、次に進むことができない。実際に、数多くの薬物候補が前臨床試験に不合格であり、がん関連治療薬の 9 0 % 超が、第 I 相または第 II 相臨床試験評価で不合格になると推定される。第 III 相試験における失敗率は、ほぼ 5 0 % であり、発見から第 III 相試験までにかかる新薬開発の費用は、8 億ドル～17 億ドルの間であり、8～10 年を要する可能性がある。

20

【0003】

その上、多くの対象は、有効性が示された標準薬であっても応答しない。現時点では十分に理解できないまたは容易に評価されない原因により、個々の対象は、標準薬物療法に応答しないこともある。腫瘍学の分野における重大な一課題は、候補薬物に対し細胞自律的な抵抗性を有する個々の対象に対する治療選択を除外して、不必要な副作用のリスクを低下させることである。関連する問題は、腫瘍部位における所望の濃度を達成するために、多くの腫瘍学的薬物候補に対し過剰な全身濃度が必要とされることであり、この課題は、多くの血管新生過少 (u n d e r - v a s c u l a r i z e d) 腫瘍における薬物浸透不良により悪化する (T u n g g a l ら、1999 Clin. Canc. Res. 5 : 1583) 。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、これらのおよび同様の必要性に取り組み、他の関連する利点を提供する。

【課題を解決するための手段】

40

【0005】

一態様では、本開示は、複数の薬剤を対象の固形組織にデリバリーする方法であって： (a) 複数の微小透析プローブを固形組織に挿入するステップと； (b) 複数の薬剤を、複数の微小透析プローブを通して前記固形組織にデリバリーするステップとを含む方法を提供する。この方法はさらに、複数の薬剤が固形組織に及ぼす少なくとも 1 つの影響を評価するステップを含んでもよい。

【0006】

別の態様では、本開示は、2 種以上の薬剤を対象の固形組織にデリバリーする方法であって： (a) 前記 2 種以上の薬剤の少なくとも 1 種を、前記対象に全身投与するステップ

50

と；(b)前記2種以上の薬剤の少なくとも1種を、少なくとも1つの微小透析プローブまたは少なくとも1つの針を用いて前記固形組織にデリバリーするステップとを含み、(a)で投与された前記(1種または複数の)薬剤は、(b)でデリバリーされた前記(1種または複数の)薬剤とは異なるものである方法を提供する。場合によっては、ステップ(a)はステップ(b)の前に行われる。場合によっては、ステップ(a)はステップ(b)の後に行われる。方法は、薬剤が固形組織に及ぼす少なくとも1つの影響を評価するステップを、さらに含んでもよい。

【0007】

いくつかの実施形態では、(a)または(b)でデリバリーされた(1種または複数の)薬剤は、抗血管新生剤、キナーゼ阻害剤、がん細胞で優先的に発現する代謝経路標的の阻害剤、または後成的修飾因子からなる群から選択される。いくつかのその他の実施形態では、(a)または(b)でデリバリーされた(1種または複数の)薬剤は、小分子抗がん剤を含む。いくつかの実施形態では、(a)でデリバリーされた(1種または複数の)薬剤は、抗体または抗体薬物コンジュゲートを含む。いくつかの実施形態では、(b)でデリバリーされた(1種または複数の)薬剤は、低分子干渉RNA、アンチセンスRNA、または小分子抗がん剤を含む。ステップ(b)でデリバリーされた薬剤の少なくとも1種は、異なる濃度で、固形組織の異なる領域にデリバリーされてもよい。あるいは、ステップ(b)でデリバリーされた薬剤の少なくとも1種は、複数回用量で、固形組織の同じ領域にデリバリーされてもよい。ステップ(a)で投与された(1種または複数の)薬剤およびステップ(b)でデリバリーされた(1種または複数の)薬剤は、固形組織に対して相乗効果を発揮してもよい。(1種または複数の)薬剤は、治療有効濃度よりも低い濃度で存在してもよい。

【0008】

微小透析プローブは、異なる形状を有していてもよい。いくつかの実施形態では、複数の微小透析プローブの少なくとも1つがY字形である。他の実施形態では、複数の微小透析プローブのそれぞれがY字形である。いくつかのその他の実施形態では、複数の微小透析プローブの少なくとも1つが線形である。他の実施形態では、複数の微小透析プローブのそれぞれが線形である。

【0009】

薬剤は、微小透析プローブを通して拡散することにより、デリバリーされてもよい。拡散は、濃度勾配(例えば、より高い濃度からより低い濃度)によって推進されてもよい。いくつかの実施形態では、拡散は、溶解度勾配(例えば、それほど可溶性のない溶液からより可溶性のある溶液、またはより可溶性のある溶液からそれほど可溶性のない溶液)によって推進されてもよい。あるいは拡散は、能動的輸送によって推進されてもよい。いくつかの実施形態では、薬剤は、薬剤の溶液を微小透析プローブ内に流すことによってデリバリーされる。流量は、少なくとも約0.1 μL /分であってもよい。いくつかの実施形態では、流量は、約0.1 μL /分から約10 μL /分の間である。他の実施形態では、流量は、約1 μL /分から約2 μL /分の間である。いくつかのその他の実施形態では、流量は、約0.5、0.8、1、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、または10.0 μL /分である。

【0010】

複数の薬剤を、微小透析プローブ内に連続的に流してもよい。流れは、蠕動ポンプまたはシリンジポンプを用いて実施できる。流れは、予め決められた時間にわたってなされてもよい。予め決められた時間は、少なくとも約1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、12時間、18時間、24時間、36時間、48時間、72時間、または96時間であってもよい。予め決められた時間は、約1時間から約1年の範囲であってもよい。

【0011】

固形組織に挿入後、固形組織の全体をカバー範囲とする微小透析プローブの少なくとも一部は、半透膜を含んでもよい。いくつかの実施形態では、固形組織の全体をカバー

10

20

30

40

50

する微小透析プローブの全セクションが半透膜を含む。

【0012】

微小透析プローブの挿入は、アレイガイドによって導かれてもよい。微小透析プローブの挿入は、関節鏡用デバイスによって導かれてもよい。微小透析プローブの挿入は、針アレイデバイスで実施されてもよい。針アレイデバイスは、少なくとも2本、少なくとも5本、または少なくとも10本の針を含んでいてもよい。針のそれぞれは、1つの微小透析プローブを受容するように構成されてもよい。針アレイデバイスは、針の挿入を制御するために、少なくとも1つのアクチュエータをさらに含んでいてもよい。

【0013】

いくつかの実施形態では、少なくとも3つ、少なくとも5つ、または少なくとも10個の微小透析プローブが挿入される。各微小透析プローブは、異なる薬剤を含有していてもよい。さらに少なくとも2つの微小透析プローブは、同じまたは異なる濃度で同じ薬剤を含有していてもよい。

10

【0014】

別の態様では、本開示は、1種または複数の薬剤を固形組織にデリバリーする方法であって：(a) 1本または複数の針を固形組織に挿入するステップと；(b) 1本または複数の針を固形組織から引き抜きかつ1種または複数の薬剤を固形組織に注入することによって、1種または複数の薬剤を固形組織にデリバリーするステップとを含む方法を提供する。この方法はさらに、1種または複数の薬剤が固形組織に及ぼす影響を評価するステップを含んでいてもよい。

20

【0015】

針は、多孔質針またはエンドポート針であってもよい。いくつかの実施形態では、針が多孔質針である。いくつかのその他の実施形態では、針がエンドポート針である。

【0016】

1種または複数の薬剤を注入する速度は、少なくとも約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1.0、1.2、1.5、1.8、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、12.0、15.0、20.0 μl / 分であってもよい。いくつかの実施形態では、1種または複数の薬剤を注入する速度は、約0.1 μl / 分から約5.0 μl / 分の間である。いくつかのその他の実施形態では、1種または複数の薬剤を注入する速度は、約0.1、0.5、1.0、または2.0 μl / 分である。

30

【0017】

1本または複数の針を引き抜く速度は、少なくとも約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.5、1.8、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、または15.0 mm / 分であってもよい。いくつかの実施形態では、1本または複数の針を引き抜く速度は、約0.1 mm / 分から約5.0 mm / 分の間である。いくつかのその他の実施形態では、1本または複数の針を引き抜く速度は、約0.1、約0.5、約1.0、または約2.0 mm / 分である。

40

【0018】

針の挿入および引抜きは、固定されたガイドまたは関節鏡用デバイスによって導かれてもよい。固定されたガイドは、定位デバイスを含んでいてもよい。針の引抜きおよび薬剤の注入は、同時にまたは逐次実施されてもよい。例示的な実施形態では、針の引抜きおよび薬剤の注入は同時に実施される。

【0019】

挿入は、針アレイデバイスで実施されてもよい。針アレイデバイスは、少なくとも2本、少なくとも5本、または少なくとも10本の針を含んでいてもよい。針アレイデバイスは、複数のリザーバを含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、針アレイデバイスは、少なくとも3個、少なくとも5個、または少なくとも10個のリザーバを含む。リザーバのそれぞれは、個別の針と、個別に流体連絡していてもよい。リザーバのそれぞれは、

50

任意のその他のリザーバ内の薬剤とは異なる薬剤を含有していてもよい。ある場合には、リザーバの少なくとも２個が、同じ薬剤を異なる濃度で含有する。針アレイは、アクチュエータおよび／または制御部をさらに含んでもよい。制御部は、アクチュエータに、動作可能に連結されまたは切り離されていてもよい。制御部は、固形組織にデリバリーされる薬剤の投薬量を制御してもよい。

【００２０】

上述の態様のいずれか１つに関し、（１種または複数の）薬剤は、（*i*）固形組織の外側では検出不可能か、または（*ii*）固形組織の外側で検出可能な場合には（１種または複数の）薬剤が最小限の用量未満で存在するかのいずれかである。あるいは、（１種または複数の）薬剤は、全身デリバリーされた場合に対象において検出可能な効果をもたらすのに必要な、最小限の用量未満の量で導入される。あるいは（１種または複数の）薬剤は、治療有効濃度で固形組織中に存在する。固形組織中の、治療有効濃度は、薬剤を経口的に投薬させることによって実現してもよい。

10

【００２１】

上述の態様のいずれか１つに関し、微小透析プローブまたは針を軸に沿って挿入してもよい。挿入したら、薬剤を軸に沿ってデリバリーしてもよい。軸は、固形組織内の複数の平行軸の１つであってもよい。いくつかの実施形態では、３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１４、１５、１８、またはさらに２０の平行軸がある。

【００２２】

上述の態様のいずれか１つに関し、固形組織は腫瘍を含んでもよい。腫瘍は、良性腫瘍および悪性腫瘍からなる群から選択されてもよい。腫瘍は、原発性腫瘍、浸潤性腫瘍、および転移性腫瘍からなる群から選択されてもよい。腫瘍は、前立腺がん細胞、乳がん細胞、結腸がん細胞、肺がん細胞、脳がん細胞、および卵巣がん細胞からなる群から選択された、少なくとも１種のがん細胞を含んでもよい。腫瘍は、腺腫、腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、小細胞癌、大細胞未分化癌、軟骨肉腫、および線維肉腫からなる群から選択されたがんを含んでもよい。さらに、固形組織は、脳、肝臓、肺、腎臓、前立腺、卵巣、脾臓、リンパ節、甲状腺、膵臓、心臓、骨格筋、腸、喉頭、食道、および胃からなる群から選択されてもよい。

20

【００２３】

上述の態様のいずれか１つに関し、評価するステップは、体外（*in vitro*）または体内（*in vivo*）で行ってもよい。いくつかの実施形態では、評価するステップは、組織の切除ステップ；腫瘍細胞死、細胞シグナルの変化、または増殖／有糸分裂の変化に関する少なくとも１つのバイオマーカーを収集し分析するステップ；前記固形組織の増殖勾配または多数の微小環境に対して、前記１種または複数の薬剤が及ぼす影響を検出するステップ；固形組織の個別の領域で、複数の薬剤のそれぞれの活性または毒性を検出するステップ；固形組織内の隣接位置で、異なる濃度にある１種の薬剤の活性または毒性を検出するステップ；および固形組織の同じ領域で、複数の薬剤の少なくとも２種の活性または毒性を検出するステップからなる群から選択される。固形組織の同じ領域で、複数の薬剤の少なくとも２種の活性または毒性が検出される場合、異なる薬剤からの活性または毒性は、相乗的または相加的であってもよい。いくつかのその他の実施形態では、評価するステップは、前記固形組織を撮像するステップを含む。撮像するステップは、放射線撮像、磁気共鳴撮像、ポジトロン放出断層撮影、または生物フォトン撮像を含んでもよい。撮像は、薬剤を導入する前、最中、または後に行ってもよい。

30

40

【００２４】

上述の態様のいずれか１つに関し、複数の薬剤は、タンパク質、ペプチド、ペプチドミメティック、抗体、小分子、低分子干渉RNA-コード化ポリヌクレオチド、ナノ粒子、GCMSTAG分子、遺伝子療法剤、アンチセンスRNA-コード化ポリヌクレオチド、蛍光色素、陽性対照、陰性対照、小分子抗がん剤、またはリボザイム-コード化ポリヌクレオチドからなる群から選択された薬剤を含んでもよい。いくつかの実施形態では、複数の薬剤は、化学療法薬を含む。他の実施形態では、化学療法薬は、小分子薬を含む。さ

50

らに他の実施形態では、小分子薬は、 10^3 ダルトン未満の分子量を有する。いくつかのその他の実施形態では、複数の薬剤は抗がん剤を含む。ある場合には、2種以上の薬剤が同時に、前記固形組織内の同じ領域にデリバリーされる。ある場合には、2種以上の薬剤が、微小透析プローブを通して前記固形組織内の同じ領域に逐次デリバリーされる。

【0025】

上述の態様のいずれか1つに関し、方法は、挿入部位をマークするステップをさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、挿入部位は、薬剤のデリバリー後に、プローブに附着された残りのカラーマーカーによってマークされる。いくつかのその他の実施形態では、挿入部位は、少なくとも1つの位置マーカーによってマークされる。他の実施形態では、少なくとも1つの位置マーカーは色素を含む。色素は、蛍光色素であってもよい。

10

【0026】

上述の態様のいずれか1つに関し、薬剤は複数回用量で、固形組織の同じ領域にデリバリーされてもよい。複数回用量のいずれか2つは、選択された時間により間を空けてもよい。選択された時間は、少なくとも約10分、20分、30分、40分、60分、80分、90分、120分、6時間、12時間、24時間、36時間、48時間、72時間、または96時間であってもよい。選択された時間は、約1時間から約3カ月の範囲であってもよい。

【0027】

上述の態様のいずれか1つに関し、薬剤はがん治療剤を含んでいてもよく、評価するステップは、薬物応答および/または少なくとも1つのバイオマーカーの存在または不在を検出するステップを含んでいてもよい。薬物応答またはバイオマーカーの例には、細胞アポトーシス、下流タンパク質リン酸化、遺伝子発現マーカー、代謝マーカー、およびその他のIHCマーカーを含めてもよいが、これらに限定するものではない。細胞アポトーシスは、デリバリー部位から約0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、または約5mm以内の領域で検出されてもよい。細胞アポトーシスは、デリバリー部位から約0.001~0.1、0.1~0.5、0.5~1.0、または1.0~5.0mmの領域で検出されてもよい。細胞アポトーシスに基づいて薬剤を選択しまたは選択解除するための閾値は、使用されるがん治療剤と、腫瘍の性質またはサイズとに依存してもよい。いくつかの実施形態では、がん治療剤は、がん治療剤を用いない対照に比べて約1%、約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%未満の細胞アポトーシスが観察される場合、さらなる評価から選択解除される。いくつかのその他の実施形態では、がん治療剤は、がん治療剤を用いない対照に比べて約1%、約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%超の細胞アポトーシスが観察される場合、さらなる評価のために選択される。

20

30

【0028】

上述の態様のいずれか1つに関し、対象は、動物またはヒトであってもよい。固形組織に対する(1種または複数の)薬剤の少なくとも1つの影響を評価したら、その評価に基づいて、(1種または複数の)薬剤を選択し、選択解除し、または優先順位を付けてもよい。いくつかの実施形態では、(1種または複数の)薬剤は、評価に基づいて臨床試験用に選択される。いくつかのその他の実施形態では、(1種または複数の)薬剤は、評価に基づいて臨床試験から選択解除される。対象は、複数の対象の1つであってもよい。複数の対象の固形組織に対する(1種または複数の)薬剤の少なくとも1つの影響を評価したら、評価に基づいて、一部の対象を選択し、選択解除し、または優先順位を付けてもよい。いくつかの実施形態では、一部の対象は、評価に基づいて薬剤の臨床試験用に選択される。いくつかのその他の実施形態では、一部の対象は、評価に基づいて薬剤の臨床試験か

40

50

ら選択解除される。影響の非限定的な例には、固形組織の生理学的状態の変化の存在または不在、およびバイオマーカーの存在または不在が含まれる。

【0029】

別の態様では、本開示は、複数の薬剤を対象の固形組織にデリバリーするためのデバイスであって、複数の微小透析プローブを含むデバイスを提供する。デバイスはさらに、下記の構成要素：(1)前記複数の微小透析プローブの1つを受容するようにそれぞれ構成された複数の針；(2)前記複数の針に動作可能に連結された、少なくとも1つの制御部；および(3)前記固形組織への前記複数の針の挿入を案内するためのガイドデバイスの、いずれか1つを含んでいてもよい。デバイスは、少なくとも3、4、5、6、または10個の微小透析プローブまたは針を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、制御部がコンピュータである。コンピュータは、微小透析プローブの挿入および薬剤の注入を制御するのに使用されてもよい。いくつかのその他の実施形態では、コンピュータは、クラウドコンピューティングシステムの部分である。

10

【0030】

別の態様では、本発明は、第1の複数の穴を有する上部ブロックであって、これらの穴は、上部ブロックに針を通すことができるようにサイズが決められたものである上部ブロックと、第2の複数の穴を有する底部ブロックであって、これらの穴は、底部ブロックに針を通すことができるようにサイズが決められたものである底部ブロックとを含み、上部および底部ブロックは実質的に平行な配置構成にあり、第1および第2の複数の穴は、1本または複数の針が、両方のブロックの平面に実質的に垂直な経路で上部ブロックおよび底部ブロックの穴を通過できるように位置決めされている、デバイスを提供する。デバイスは、少なくとも1つの調節可能な脚をさらに含んでいてもよく、この少なくとも1つの調節可能な脚は、底部ブロックに取着されている。脚の数は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20本またはそれ以上であってもよい。例示的な実施形態では、4本の脚がある。いくつかの実施形態では、脚は、垂直および水平に調節可能である。底部ブロックおよび上部ブロックは、独立して、固定されても移動可能であってもよい。ある場合には、デバイスの底部ブロックが固定されており、上部ブロックは、底部ブロックに対して垂直に移動することができる。いくつかのその他の実施形態では、上部ブロックは、底部ブロックに取着されたガイド棒に沿って移動する。任意のブロックの移動は、制御されてもよい。例えば、上部ブロックの垂直移動が制御されるように、システムをデバイスに取着してもよい。

20

30

【0031】

いくつかの実施形態では、第1および第2の複数の穴は、実質的に平行な列に並べられる。デバイスは、少なくとも1本の針をさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、制御アタッチメントを少なくとも1本の針に取着する。制御アタッチメントは、少なくとも1本の針の挿入を停止させてもよく、それによって、固形組織内への針の挿入の深さが制御される。加えて、デバイスは、少なくとも1つのばねをさらに含んでいてもよく、この少なくとも1つのばねは、調節可能な脚および底部ブロックに実質的に接触している。

【0032】

参照による組み込み

本明細書において言及されているあらゆる刊行物、特許および特許出願は、あたかも個々の刊行物、特許または特許出願それぞれが、特におよび個々に、参照により本明細書に組み込まれることが示されていたのと同じ程度まで、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】種々の実施形態による薬剤を生物組織に注射するための針アレイアセンブリの模式図である。

【図2】本発明の原理を具体化した、例示的なデバイスを示す図である。

40

50

【図 3】本発明の原理を具体化した、ばねを使用する腫瘍安定化のためのプラットフォームの一例を示す図である。

【図 4】本発明の原理を具体化した、制御アタッチメントを備えた針の上面図である。

【図 5】本発明の原理を具体化した、上部ブロックの垂直移動を制御するための駆動機構を備えた例示的なデバイスを示す図である。

【図 6】本発明の原理を例示する、腫瘍の一部を図式的に示す図である。

【図 7】本発明の原理を具体化した、微小透析プローブの線形アレイを使用する、問題となっている標的 (c - M e t) を発現する生存可能な E B C - 1 腫瘍上皮を標的とする実施例を示す図である。

【図 8】本発明の原理を具体化した、長い微小透析膜を体内 (i n v i v o) で使用する、充実性腫瘍における多数のゾーン / 微小環境をモニタする概略的な実施例を示す図である。

10

【図 9】本発明の原理を具体化した微小透析プローブを使用する用量決定の、概略図である。薬物の連続ループを固定時間廻らせることによって、チューブからの全透析物を収集し、H P L C、蛍光 / 吸光度などを使用して分析することができ、その結果、受動的拡散を経てデリバリーされた治療剤の量が決定される。

【図 10】本発明の原理を具体化した、特定の順序で与えられる抗がん剤の効力を試験する概略図である。最初の用量で、細胞周期 / シグナル伝達が、接触阻止低増殖ゾーンで活性化する。少し時間を置いて、最初の薬物が微小透析チューブから消えた後、現在活発に分割している細胞を停止させ死滅させる第 2 の薬物を投与する。

20

【図 11】本発明の原理を具体化した、押出し / 注入技法を使用する充実性腫瘍モデルの増殖ゾーンおよびその他のゾーンの両方を標的とする、概略図である。

【図 12】微小透析プローブを使用した、腫瘍にデリバリーされた近赤外 (N I R) 色素の蛍光撮像を示す図である。A、B、C、および D は、本発明の原理を具体化した様々な断面を示す。

【図 13】本発明の原理を具体化した、微小透析プローブを経てデリバリーされた薬物が、空間的制約を受ける薬物特異的腫瘍細胞死を誘導する状態を示す図である。

【図 14】本発明の原理を具体化した、効率 (図 14 a)、シグナル均一性 (図 14 b)、およびカラム長 (図 14 c) に関する、2 つの注入方法の結果を示す図である。

【図 15】本発明の原理を具体化した、3 つの異なる注入方法の、断片当たりの陽性領域の平均数を示す図である。

30

【図 16】3 つの異なる注入方法の、断片内の平均分散を示す図である。

【図 17】本発明の原理を具体化した、単純化した実験システムによる種々の注入方法を評価した結果を示す図である。

【図 18】本発明の原理を具体化した、3 つの異なる注入方法の、蛍光顕微鏡画像を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0034】

< 概説 >

がん治療剤を含めた治療剤の臨床試験は、信じられないほど費用がかかり、時間を消費する。したがって、プロセス中に可能な限り早く、比較的大きな潜在性を有する薬剤を効果的にスクリーニングすることが非常に重要である。そのようなスクリーニングに供される薬剤は、候補薬剤と呼ばれることもある。あるスクリーニング法では、成長培地を有するプラスチック細胞培養プレート上の人工環境で腫瘍細胞を成長させ、次いでそれぞれの細胞培養プレートまたはディッシュに各候補薬剤を置く。細胞培養は、細胞成長の兆候に関して後に評価する。次いでがん細胞の成長を妨げかつ / または生物学的標的に係合するように見える薬剤を、さらなる研究へと進めてもよい。

40

【0035】

しかしこの方法は、いくつかの理由で僅かばかり有効なだけである。第 1 に、細胞培養は、患者において成長する腫瘍の模倣が不十分である。試験条件は、がんが正常に生き成

50

長する条件および療法を用いてがんを治療する条件にほとんど似ていないので、そのような研究からは最も一般的な情報を収集できるだけである。したがって、記述されるようなスクリーニング試験は、これらの場合に有効ではない。第2に、実験室での使用のために腫瘍を固定化するプロセスは、腫瘍の応答特性を変化させる可能性がある。このプロセスでは腫瘍を本質的にすり潰していかなる構造的分化も完全に破壊し、体内 (in vivo) で同じ株に影響を及ぼさないと考えられるいくつかの薬剤、即ちこの薬剤は患者のがんを治療するのに役立たない可能性があるが、この薬剤に対する感受性を与えて偽陽性をもたらす。第3に、同じ粉碎プロセスは、偽陰性をもたらす可能性もあり、この場合いくつかの薬剤は、体外 (in vitro) での細胞成長を阻止できないが、体内 (in vivo) での同じがんの治療には有効と考えられる。最後に、特定のがんのタイプ、サブタイプ、変種、または株などを治療する薬剤の一般的な効力が実証された場合であっても、特定の患者のがんが薬剤に対して全体として非応答性になることは、珍しいことではない。

10

20

30

40

50

【0036】

本発明者らは、薬剤を正確に位置決めしかつ/または体内 (in vivo) で固形組織にデリバリーされる薬剤の量を制御し、その後、固形組織における薬剤の位置を特定する必要性を認識した。そのような精度に達することができるなら、研究および療法における著しく有益な利益が実現できるであろう。例えば、多くの腫瘍は本来不均質であり、とりわけ静止内部ゾーンおよび増殖外部ゾーンとの間で差がある。有糸分裂および有糸分裂チェックポイントを標的とする薬物、および/または増殖ゾーンでより活発な経路、例えば C-Met および AKT を評価するために、充実性腫瘍の増殖ゾーンを標的とすることが重要と考えられる。したがって、充実性腫瘍全体にわたる治療剤の評価を可能にする方法は、非常に価値があるものと考えられる。

【0037】

本開示は、固形組織に、特に体内 (in vivo) で充実性腫瘍に薬剤をデリバリーするための、方法およびデバイスを提供する。しばしば、1種または複数の薬剤は、改善された精度で、均一に、かつ投薬量が制御された状態で、充実性腫瘍にデリバリーされる。その後、薬剤は、選択された時間、固形組織に残される。次いで固形組織に対する薬剤の影響を、体内 (in vivo) または体外 (in vitro) でモニタする。観察された影響に基づいて、薬剤のそれぞれを、その固形組織に候補薬物が評価されている患者の治療に関するさらなる研究または検討に向けて選択しまたは選択解除する。

【0038】

薬剤は通常、溶液に溶解し、固形組織内の標的部位にデリバリーされる。デリバリーされる流体の体積は、無視できるほど小さくすることができ、全身にデリバリーされた場合に対象において検出可能な効果を発揮するのに必要な最小用量となり得るよりもはるかに少ない。それにも関わらず、薬剤に応じて、その効果は、デリバリー部位のすぐ周りを取り囲む非常に小さい領域で検出することができる。したがって、候補の有効薬剤を、腫瘍に、例えばその場で、対象に害を及ぼすことなく注入することができる。さらに、かなりの数の異なる薬剤を同時に、腫瘍内のそれぞれのデリバリー軸にデリバリーすることができる。

【0039】

本明細書に記述される手順は、有効ながん療法を開発するコストおよび遅延に関与するいくつかの問題および難点を解決するのに用いることができる。例えば、候補薬剤は体内 (in vivo) でデリバリーされ、腫瘍はそれ以外のことは妨げられず、かつ薬物濃度は、薬物の全身投与を経て実現されたレベルに近付くことができるので、各薬剤とその反応は、治療有効量の薬剤に曝された場合のその反応を示す傾向になる。偽陽性および偽陰性の発生率は、著しく低減する。第2に、比較的多数の薬剤を、対象に著しい危険を及ぼすことなく腫瘍にデリバリーできるので、試験プロセスの初期において多数の候補薬剤をスクリーニングする手順を使用することは実用的であり、おそらくは、将来性が最も低いものが排除され、追加の研究に関して最も将来性のあるものに目星が付けられ、ま

たはさらなる研究に向けて候補に優先順位が付けられる。第3に、やはり腫瘍にデリバリーできる多数の薬剤により、潜在的な研究対象を、特定の薬剤に対する応答に関してスクリーニングすることができ、特異体質応答を有する対象の数を低減させまたはなくすることができる。第4に、薬剤は固形組織に局所的にデリバリーされるので、薬剤の全身曝露を回避することができる。

【0040】

したがって例えば、ある実施形態は、定められた病巣部位に対する精密な標的治療剤デリバリーを可能にしつつ、組織への機械化学的損傷をなくしまたは低減させるような剪断力が低い、低流量での、固形組織への直接薬物デリバリーを企図するものである。薬剤の著しく高い濃度は、薬剤が全身にデリバリーされた場合におけるよりも、固形組織内で実現することができる。言い換えれば、所望の薬理効果を発揮するのに必要な薬剤の量は、薬剤が全身にデリバリーされた場合におけるよりも低くなると考えられ、ある場合にはさらに低くなる。ある場合には、薬剤は、固形組織の外側では検出不可能である。いくつかのその他の場合には、薬剤の10%未満が固形組織の外側（例えば、体循環内）で検出される。いくつかのその他の場合には、デリバリー後、薬剤は治療有効濃度で固形組織中に存在する。固形組織中の、治療有効濃度の薬剤は、薬剤を経口的に投薬させることによって実現することができる。しかし、しばしば、高濃度である薬剤の全身曝露が必要とされる。したがって、所望の固形組織内で治療有効濃度を得るために過度に高い全身濃度の薬剤を投与することに関連する問題（例えば、毒性、有害な副作用など）は、ここに開示される実施形態によって克服される。

10

20

【0041】

一態様では、本開示は、1つまたは複数の微小透析プローブにより固形組織に1種または複数の薬剤をデリバリーし評価する方法を提供する。挿入される微小透析プローブの数は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、15、20、25、または30個であってもよい。ある場合には、微小透析プローブの少なくともいくつかと同時に挿入される。いくつかのその他の場合には、微小透析プローブの少なくともいくつかは逐次挿入される。微小透析プローブは、軸に沿って挿入されてもよい。軸は、複数の平行な軸の1つであってもよい。軸の数は、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも12、または少なくとも15本であってもよい。軸の数は、約3、4、5、6、7、8、9、10、12、または15本であってもよい。挿入後、薬剤は、微小透析プローブを通して拡散させることにより、固形組織にデリバリーされてもよい。薬剤は、微小透析プローブの膜領域を通して拡散してもよく、したがって薬剤は、固形組織内のデリバリー軸に沿って、カラム形状領域にデリバリーされる。

30

【0042】

微小透析プローブのそれぞれは、任意のその他のプローブとは異なる薬剤を含有していてもよい。あるいは、微小透析プローブのいくつかは、少なくとも別の微小透析プローブと同じ薬剤を含有していてもよい。2種以上の微小透析プローブが灌流液中に同じ薬剤を含有する場合、異なるプローブ中の薬剤の濃度は同じでも異なってもよい。

40

【0043】

薬剤は、連続的に固形組織にデリバリーされてもよい。ある場合には、デリバリーは、約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、200、220、240、260、280、300、320、340、360、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、2000、2200、24000、2600、2800、3000分、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、2カ月、3カ月、4カ月、6カ月、8カ月、9カ月、1年、または2年続いてもよい。

50

【0044】

薬剤は、複数回用量で、固形組織にデリバリーされてもよい。複数回用量の少なくとも2回分は、所定時間、間隔を空けてもよい。所定の期間は、約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、200、220、240、260、280、300、320、340、360、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、2000、2200、2400、2600、2800、3000分、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、2カ月、3カ月、4カ月、6カ月、8カ月、9カ月、1年、または2年であってもよい。

【0045】

10

各微小透析プローブの薬剤の流量は、独立して制御されてもよい。流量は、独立して少なくとも0.001 μ l / 分であってもよい。いくつかの実施形態では、流量は、独立して約0.001 μ l / 分から約5 μ l / 分の範囲にある。いくつかの実施形態では、流量は、独立して約0.001、0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、または5.0 μ l / 分である。

【0046】

20

微小透析プローブは、針アレイデバイスで挿入されてもよい。針アレイデバイスは、複数の針を含有していてもよい。ある場合には、針アレイデバイスは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30本またはそれ以上の針を有する。針のそれぞれは、少なくとも1つの微小透析プローブを受容するように構成されてもよい。ある場合には、各針が、複数の平行軸の1つに沿って挿入される。固形組織に微小透析プローブを挿入し留置したら、その後針を引き抜き、微小透析プローブを固形組織中に残す。

【0047】

30

方法はさらに、固形組織に対する薬剤の影響を評価するステップを含んでいてもよい。ある場合には、そのような評価は、固形組織の個別の領域における薬剤のそれぞれの活性または毒性を検出するステップを含む。いくつかのその他の場合には、そのような評価は、固形組織の同じ領域における、薬剤の2種以上の活性または毒性を検出するステップを含む。2種以上の薬剤が同じ領域にデリバリーされる場合、これらの薬剤は同時にまたは逐次デリバリーされてもよい。いくつかのその他の場合には、そのような評価は、固形組織の隣接領域における、異なる濃度を有する同じ薬剤の活性または毒性を検出するステップを含む。他の実施形態では、そのような評価は、固形組織の同じ領域における3種以上の薬剤の活性または毒性を検出するステップを含む。

【0048】

40

別の態様では、本開示は、2種以上の薬剤を対象の固形組織にデリバリーする方法であって：(a) 前記2種以上の薬剤の少なくとも1種を前記対象に全身投与するステップと；(b) 前記2種以上の薬剤の少なくとも1種を、少なくとも1つの微小透析プローブまたは少なくとも1本の針で前記固形組織にデリバリーするステップとを含み、(a) で投与された前記(1種または複数の) 薬剤は、(b) でデリバリーされた前記(1種または複数の) 薬剤とは異なる方法を提供する。ある場合には、ステップ(a) はステップ(b) の前に行われる。いくつかのその他の場合には、ステップ(a) はステップ(b) の後に行われる。方法は、固形組織への薬剤の影響を評価するステップをさらに含んでいてもよい。ステップ(a) の(1種または複数の) 薬剤は、経口的にまたは注入を介して投与してもよい。

【0049】

50

別の態様では、本開示は、1種または複数の薬剤を固形組織にデリバリーする方法であって：(a) 1本または複数の針を固形組織に挿入するステップと；(b) 1種または複数の薬剤を、1本または複数の針を固形組織から引き抜きかつ1種または複数の薬剤を固形組織に注入することによって、固形組織にデリバリーするステップとを含む方法を提供する。方法は、固形組織に対する1種または複数の薬剤の影響を評価するステップを、さらに含んでいてもよい。

【0050】

1種または複数の薬剤の注入、および1本または複数の針の引抜きは、逐次または同時に実施してもよい。いくつかの実施形態では、1種または複数の薬剤の注入、および1本または複数の針の引抜きは、同時に実施される。さらに、薬剤は、固形組織内に押し遣られる代わりに空間にデリバリーされるので、薬剤交差汚染の可能性がかなり低減される。

10

【0051】

1種または複数の薬剤を注入する速度、および1本または複数の針を引き抜く速度は、別々に制御されてもよい。注入速度は、 $0.1 \sim 5.0 \mu\text{l}/\text{分}$ の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、注入速度は、少なくとも約 $0.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、または約 $5.0 \mu\text{l}/\text{分}$ である。いくつかのその他の実施形態では、注入速度は約 $0.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $0.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $1.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $2.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $3.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.1 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.2 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.3 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.4 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.6 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.7 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.8 \mu\text{l}/\text{分}$ 、約 $4.9 \mu\text{l}/\text{分}$ 、または約 $5.0 \mu\text{l}/\text{分}$ である。いくつかのその他の実施形態では、注入速度は、 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、 $0.5 \sim 1.5 \mu\text{l}/\text{分}$ 、 $1.0 \sim 2.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、 $2.0 \sim 3.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、 $3.0 \sim 4.0 \mu\text{l}/\text{分}$ 、または $4.0 \sim 5.0 \mu\text{l}/\text{分}$ の範囲にある。

20

30

40

【0052】

1本または複数の針の引抜き速度は、 $0.1 \sim 10 \text{ mm}/\text{分}$ の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、1本または複数の針の引抜き速度は、少なくとも約 $0.1 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.2 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.3 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.4 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.5 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.6 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.7 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.8 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $0.9 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.0 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.1 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.2 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.3 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.4 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.5 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.6 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.7 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.8 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $1.9 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.0 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.1 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.2 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.3 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.4 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.5 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.6 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 $2.7 \text{ mm}/\text{分}$ 、約 2.8

50

mm / 分、約 2 . 9 mm / 分、約 3 . 0 mm / 分、約 3 . 1 mm / 分、約 3 . 2 mm / 分、約 3 . 3 mm / 分、約 3 . 4 mm / 分、約 3 . 5 mm / 分、約 3 . 6 mm / 分、約 3 . 7 mm / 分、約 3 . 8 mm / 分、約 3 . 9 mm / 分、約 4 . 0 mm / 分、約 4 . 1 mm / 分、約 4 . 2 mm / 分、約 4 . 3 mm / 分、約 4 . 4 mm / 分、約 4 . 5 mm / 分、約 4 . 6 mm / 分、約 4 . 7 mm / 分、約 4 . 8 mm / 分、約 4 . 9 mm / 分、約 5 . 0 mm / 分、約 5 . 1 mm / 分、約 5 . 2 mm / 分、約 5 . 3 mm / 分、約 5 . 4 mm / 分、約 5 . 5 mm / 分、約 5 . 6 mm / 分、約 5 . 7 mm / 分、約 5 . 8 mm / 分、約 5 . 9 mm / 分、約 6 . 0 mm / 分、約 6 . 1 mm / 分、約 6 . 2 mm / 分、約 6 . 3 mm / 分、約 6 . 4 mm / 分、約 7 . 0 mm / 分、約 8 . 0 mm / 分、約 9 . 0 mm / 分、または 10 . 0 mm / 分である。いくつかのその他の実施形態では、1 本または複数の針の引抜き速度は、約 0 . 1 mm / 分、約 0 . 2 mm / 分、約 0 . 3 mm / 分、約 0 . 4 mm / 分、約 0 . 5 mm / 分、約 0 . 6 mm / 分、約 0 . 7 mm / 分、約 0 . 8 mm / 分、約 0 . 9 mm / 分、約 1 . 0 mm / 分、約 1 . 1 mm / 分、約 1 . 2 mm / 分、約 1 . 3 mm / 分、約 1 . 4 mm / 分、約 1 . 5 mm / 分、約 1 . 6 mm / 分、約 1 . 7 mm / 分、約 1 . 8 mm / 分、約 1 . 9 mm / 分、約 2 . 0 mm / 分、約 2 . 1 mm / 分、約 2 . 2 mm / 分、約 2 . 3 mm / 分、約 2 . 4 mm / 分、約 2 . 5 mm / 分、約 2 . 6 mm / 分、約 2 . 7 mm / 分、約 2 . 8 mm / 分、約 2 . 9 mm / 分、約 3 . 0 mm / 分、約 3 . 1 mm / 分、約 3 . 2 mm / 分、約 3 . 3 mm / 分、約 3 . 4 mm / 分、約 3 . 5 mm / 分、約 3 . 6 mm / 分、約 3 . 7 mm / 分、約 3 . 8 mm / 分、約 3 . 9 mm / 分、約 4 . 0 mm / 分、約 4 . 1 mm / 分、約 4 . 2 mm / 分、約 4 . 3 mm / 分、約 4 . 4 mm / 分、約 4 . 5 mm / 分、約 4 . 6 mm / 分、約 4 . 7 mm / 分、約 4 . 8 mm / 分、約 4 . 9 mm / 分、約 5 . 0 mm / 分、約 5 . 1 mm / 分、約 5 . 2 mm / 分、約 5 . 3 mm / 分、約 5 . 4 mm / 分、約 5 . 5 mm / 分、約 5 . 6 mm / 分、約 5 . 7 mm / 分、約 5 . 8 mm / 分、約 5 . 9 mm / 分、約 6 . 0 mm / 分、約 6 . 1 mm / 分、約 6 . 2 mm / 分、約 6 . 3 mm / 分、約 6 . 4 mm / 分、約 7 . 0 mm / 分、約 8 . 0 mm / 分、約 9 . 0 mm / 分、または 10 . 0 mm / 分である。いくつかのその他の実施形態では、1 本または複数の針の引抜き速度は、0 . 1 ~ 1 . 0 mm / 分、0 . 5 ~ 1 . 5 mm / 分、1 . 0 ~ 2 . 0 mm / 分、1 . 5 ~ 2 . 5 mm / 分、2 . 0 ~ 3 . 0 mm / 分、2 . 5 ~ 3 . 5 mm / 分、3 . 0 ~ 4 . 0 mm / 分、3 . 5 ~ 4 . 5 mm / 分、または 4 . 0 ~ 5 . 0 mm / 分の範囲にある。

【0053】

別の態様では、本開示は、対象の固形組織に複数の薬剤をデリバリーするためのデバイスであって、複数の微小透析プローブを含むデバイスを提供する。デバイスはさらに、下記の構成要素：(1) 前記複数の微小透析プローブの1つを受容するように、それぞれが構成されている複数の針；(2) 前記複数の針に動作可能に連結された、少なくとも1つの制御部；および(3) 前記固形組織への前記複数の針の挿入を案内するガイドデバイスの、いずれか1つを含んでいてもよい。デバイスは、少なくとも3、4、5、6、または10個の微小透析プローブまたは針を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、制御部がコンピュータである。コンピュータは、微小透析プローブの挿入および薬剤の注入を制御するのに使用されてもよい。いくつかのその他の実施形態では、コンピュータは、クラウドコンピューティングシステムの部分である。

【0054】

別の態様では、本発明は、固形組織への針の挿入および固形組織からの針の引抜きを制御するためのデバイスであって：(a) 位置決め機構；(b) 深さ制御機構；および(c) 針引抜き機構を含むデバイスを提供する。

【0055】

さらに別の態様では、少なくとも1種の薬剤を固形組織にデリバリーするためのデバイスであって、実質的に平行な配置構成にありかつそれぞれが複数の穴を有する1つの底部ブロックおよび1つの上部ブロックを含むデバイスが提供される。底部ブロックおよび上部ブロックの複数の穴は、針の挿入を案内することができる。ある場合には、穴のサイズ

は、あるサイズの針が内部を通過できるように制御されてもよい。デバイスは、針挿入の改善された精度、および固形組織への少なくとも１種の薬剤のデリバリーの精密な制御をもたらすことができる。

【００５６】

本明細書で使用される「相乗活性または毒性」という用語は、組み合わせた作用が、別々に作用する各薬剤の作用の合計よりも大きくなるような、２種以上の薬剤の協調活性または毒性を指す。協調活性または毒性は、別々に作用する各薬剤の作用を合計したものよりも少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、またはそれ以上高くてもよい。

【００５７】

本明細書で使用される「相加活性または毒性」という用語は、組み合わせた作用が、別々に作用する各薬剤の作用の合計にほぼ等しくなるような、２種以上の薬剤の活性または毒性を指す。

【００５８】

本明細書で使用される「約」という用語は、±１０％を指し、±１％および±０．１％が含まれる。

【００５９】

本明細書で使用される「治療有効濃度」という用語は、所望の薬理学的効果が固形組織中で観察されたときの、固形組織中の薬剤の濃度を指す。例えば、経口的にデリバリーされる抗がん剤の場合、薬物は、体循環内に入るために吸収プロセスを経る必要がある。次いで吸収後、薬物は固形組織に進入し、蓄積される。固形組織中および体循環中の薬物の濃度は、所望の薬理学的効果が観察された場合、同じでも異なってもよい。

【００６０】

本明細書で使用される「所定の期間」または「選択された期間」という用語は、１分から２年の範囲内の任意の時間を指す。いくつかの実施形態では、所定の期間または選択された期間は、約０．１、０．２、０．５、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１５、１８、２４、３６、４８、７２、９６、１２０、１４４、１６８、または１９２時間である。いくつかのその他の実施形態では、所定の期間または選択された期間は、約２４～７２時間の範囲にある。

【００６１】

< 微小透析プローブ >

本発明は、１つまたは複数の微小透析プローブの使用を通して、薬剤を固形組織に投与するための方法を提供する。ある場合には、微小透析プローブは、入口チューブ、出口チューブ、および膜領域を有する。入口チューブ内の溶液を「灌流液」と呼ぶのに対し、出口チューブ内の溶液は「透析液」と呼ぶ。入口および出口チューブは、微小透析の適用例に適した材料で作製されてもよい。いくつかの実施形態では、材料が融解石英である。いくつかのその他の場合には、微小透析プローブは、出口チューブを持たずに入口チューブおよび膜領域を有する。このデザインでは、薬剤を、膜領域の端から端まで能動的にポンプ送出することができる。

【００６２】

本発明者らは、下記の事項を含む微小透析プローブをデリバリー用具として使用することの利点を認識した：（１）微小透析プローブは密閉システムであり、ある体積の液体をデリバリーすることに依存せず、したがって微小流体設計製作のハードルの多くが除外される；（２）プローブを取り囲む半透膜によって、液体は、固形組織に注入されたときにプローブ膜に沿って充填されかつ均等に分布される；（３）薬剤の初期デリバリーおよび体内分布は、高度に制限され、受動的拡散力に依存するが、液体の堆積／デリバリーには依存しない；（４）薬剤の真の「マイクロドージング」は、時間、灌流液の流量および濃度を制御することによって実現することができる；（５）長期にわたる複数回のまたは時間が定められた投薬は、固形組織中にプローブを残すことによって実現することができる；（６）デリバリーされた薬剤の量は、灌流液および透析液中の薬剤の量を分析すること

10

20

30

40

50

によって、正確に決定することができる；（７）プローブ／半透膜の長さは、様々なサイズの腫瘍または腫瘍内の標的ゾーンの長さに合わせて、カスタマイズすることができる；（８）線形微小透析プローブのアレイは、充実性腫瘍異種移植片での増殖ゾーンに合わせて設計することができ、それと共に、中心領域の壊死が回避される；（９）線形プローブアレイを使用して、効力の差を求めるための充実性腫瘍の全寸法を含めた複数ゾーンのより良好なサンプリングを、実現することができる；（１０）投薬後の様々な時点での透析液の収集および分析により、腫瘍細胞死、細胞シグナルの変化、または増殖／有糸分裂の変化のマーカーの開発および分析が可能になる。さらに、微小透析プローブは、チェックポイント阻止／DNA損傷を使用して死滅させるためまたは非増殖ゾーンで遮断された細胞シグナル経路を活性化するため、接触阻止細胞をサイクルに取り込むのに使用することができる。

10

【００６３】

微小透析プローブは、内容物を含有し、投与し、デリバリーし、輸送するのに適していてもよい。内容物は、１種または複数の薬剤を含んだ医薬品組成物を含む、水溶液であってもよい。単一の微小透析プローブ内の薬剤は、同じタイプの薬剤または異なるタイプの薬剤の混合物であってもよい。複数の微小透析プローブ内では、各微小透析プローブが別のプローブと同じ薬剤を含有していてもよく、または別のプローブとは異なる薬剤を含有していてもよい。いくつかの実施形態では、１つ１つの微小透析プローブが、他の微小透析プローブに含有される薬剤とは全く異なる薬剤を含有する。

20

【００６４】

微小透析プローブは、種々の形状を有していてもよい。ある場合には、微小透析プローブは「Y」字形を有する。いくつかのその他の場合には、微小透析プローブは線形の形状を有する。線形の形状により、微小透析プローブは腫瘍の異なる断片を横断して貫入することが可能になる。

【００６５】

微小透析プローブの膜は、半透過性であってもよい。膜は、溶質の全てではなく一部を輸送することが可能になる。いくつかの実施形態では、膜は、分子量が１００万ダルトン未満の溶質を輸送することができる。他の実施形態では、膜は、分子量が５，０００ダルトンから１００万ダルトンの範囲の溶質を輸送することが可能になる。別のその他の実施形態では、膜は、分子量が１，０００ダルトン未満の溶質を輸送することが可能になる。

30

【００６６】

膜の一方の面からもう一方の面への物質または薬剤の移動は、濃度勾配によって推進されてもよい。ある場合には、膜の一方の面からもう一方の面への物質または薬剤の移動は、濃度勾配によってのみ推進される。物質または薬剤は、半透膜を通して、より高い濃度のエリアからより低い濃度のエリアに移動してもよい。ある場合には、薬剤は、微小透析プローブから固形組織に拡散する。いくつかのその他の場合には、固形組織中の溶質は微小透析プローブ内に拡散する。溶質は、透析液から収集および／または分析することができる。あるいは、物質または薬剤の移動は、濃度勾配とは関係なく、能動輸送体によって推進されてもよい。例えば、本質的に、いくつかの細胞は、イオン、グルコース、およびアミノ酸などの分子を蓄積するために能動輸送体を使用する。あるいは、物質または薬剤の移動は、溶解度の差によって推進されてもよい。物質または薬剤は、膜の一方の面において、他方の面の溶解度よりも高い溶解度を有していてもよい。ある場合には、物質または薬剤は、より高い濃度の側からより低い濃度の側に移動する。いくつかの実施形態では、物質または薬剤は、より低い濃度の側からより高い濃度の側に移動する。ある場合には、膜の一方の面からもう一方の面への物質または薬剤の移動は、濃度勾配、能動輸送、および溶解度の差のいずれか１つの組合せによって推進される。

40

【００６７】

膜は、生体適合性であってもよい。膜は、本質的に、生理学的に不活性であってもよく、または生理学的な事象を誘発させない。いくつかの実施形態では、膜は、炎症、免疫応答、感染、または固形組織内の任意のその他の種類の拒絶を引き起こさないと考えられる。

50

【 0 0 6 8 】

膜は、柔軟性があってもよい。膜の柔軟性により、組織への損傷を最小限に抑えた状態で固形組織への膜断片の挿入が可能になる。それでも膜は、挿入の前、最中または後にその完全性が維持されるように、ある強度を有することができる。いくつかの実施形態では、膜は、柔軟性であると共に耐久性でもある。

【 0 0 6 9 】

膜の材料は、ポリマーまたはコポリマーであってもよい。ポリマーまたはコポリマー材料は、直鎖状であっても架橋されていてもよい。膜材料の非限定的な例には、P E (ポリエチレン)、K e v l a r、クプロファン、ポリエーテルスルホン、ポリアミン、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリカルバメート、ポリウレタン、ポリエステル、ポリエーテル、ポリオレフィン、ポリシリコンオキシド、セルロースアセテート、および多環芳香族材料が含まれる。

【 0 0 7 0 】

膜材料は多孔質であってもよい。いくつかの実施形態では、平均細孔サイズが約 1、5、10、20、30、40、50、100、200、500、1000、2000、5000、または10000ナノメートル未満である。いくつかのその他の実施形態では、平均細孔サイズが約 1、5、10、20、30、40、50、100、200、または500ナノメートル超である。いくつかのその他の実施形態では、平均細孔サイズが1~10、1~40、1~100、1~200、または1~500ナノメートルの範囲である。いくつかのその他の実施形態では、膜の全ての細孔が、実質的に同様の細孔サイズを有する。

【 0 0 7 1 】

細孔サイズは、拡散速度を制御してもよい。細孔サイズは、拡散速度が制御されるように調整してもよい。膜は、拡散速度を制御する目的で、選択された平均細孔サイズで作製されてもよい。薬剤の種々の医薬品組成物は、1つには医薬品組成物、薬剤、および膜材料の物理的および化学的性質によって制御される様々な速度で膜内を拡散することができる。いくつかの実施形態では、選択された細孔サイズで、分子量が100万ダルトン未満の溶質を輸送することが可能になる。その他の実施形態では、選択された細孔サイズで、分子量が5,000ダルトンから100万ダルトンの範囲にある溶質を輸送することが可能になる。別のその他の実施形態では、選択された細孔サイズで、分子量が1,000ダルトン未満の溶質を輸送することが可能になる。さらに、様々な平均細孔サイズを有する膜を実験的に作製し試験することにより、特定の医薬品組成物または薬剤に望ましい拡散速度をもたらす細孔サイズを見出すことができる。

【 0 0 7 2 】

医薬品組成物または薬剤は、蠕動ポンプまたはシリンジポンプなどのポンプを使用することにより、微小透析プローブにデリバリーされてもよい。ポンプの使用は、制御されたデリバリーをもたらすことができる。例えば、薬剤または医薬品組成物は、微小透析プローブを通して連続的にデリバリーすることができる。あるいは、薬剤または医薬品組成物は、数回分の用量としてデリバリーすることができる。任意の2回分の用量の間の時間的間隔は、制御することができる。さらに流量は、各微小透析プローブごとに個々に制御されてもよい。流量は、約0.1から約5マイクロリットル/分の範囲であってもよい。流量は、約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、または約5マイクロリットル/分であってもよい。

【 0 0 7 3 】

微小透析プローブは、固形組織に直接または間接的に挿入されてもよい。間接的な挿入は：(1)微小透析プローブを針に挿入するステップ；(2)針を固形組織に挿入するステップ；および(3)針を固形組織から引き抜き、したがって微小透析プローブを固形組織内に残すステップを含んでいてもよい。ある場合には、複数の微小透析プローブは、固形組織内に、複数の軸に沿って、複数の針により固形組織に挿入される。複数の針のそれ

それは、複数の微小透析プローブの1つを保持する。いくつかの実施形態では、複数の軸が複数の平行な軸である。いくつかの実施形態では、複数の針は、針アレイデバイスの部分である。針アレイデバイスは、少なくとも2、5、10本、またはそれ以上の針を含んでいてもよい。

【0074】

さらに本発明は、出口チューブがなく入口チューブを有する微小透析プローブを提供する。いくつかの実施形態では、プローブの末端は、半透膜により取り囲まれている。このデザインでは、微小透析プローブは、液体および小分子が半透膜を横断するように能動的にポンプ送与される拡散器として作用してもよい。

【0075】

微小透析プローブの挿入は、案内されてもよい。いくつかの実施形態では、微小透析プローブの挿入は、微小透析プローブの挿入が固形組織の選択領域に向かうように、固定ガイドによって案内される。いくつかの実施形態では、微小透析プローブの挿入は、関節鏡用デバイスにより案内される。

【0076】

本発明は、固形組織における薬物代謝および応答をモニタする方法も提供する。例えば、微小透析プローブは閉ループの一部であってもよいが、これに限定するものではない。微小透析プローブの膜セクションは、固形組織をカバーしてもよい。薬剤の溶液の連続流を、選択された期間にわたって微小透析プローブ内に流すことにより、薬剤を固形組織にデリバリーしてもよい。別の選択された期間の後、別の溶液（例えば、生理食塩水）を微小透析プローブ内に流してもよい。固形組織中の溶質は、例えば、透析液に収集され分析されてもよいが、これらに限定するものではない。溶質の非限定的な例には、バイオマーカー、固形組織にデリバリーされた薬剤、および固形組織にデリバリーされた薬剤の代謝産物が含まれる。溶質の存在もしくは不在および/または濃度を分析することにより、固形組織に対する薬剤の効力を決定することができる。

【0077】

< 標的組織 >

一部の実施形態において、本開示は、固形組織において薬剤をスクリーニングするためのシステムを例証する。固形組織は、医術分野において周知のものであり、実質的に多細胞、細胞間、組織および/または臓器構築の産物である、任意の粘着性で空間的に別個で非流体である画定された解剖学的区画を包含することができ、その例として、関連結合組織を含み得る、あるいはそれにより構造的統合性が得られ、薄膜（例えば、髄膜、心膜、胸膜、粘膜、基底膜、網、臓器被包（organ-encapsulating）膜など）により他の身体部分から区別され得る三次元的に画定された区画等が挙げられる。非限定的な例示的な固形組織として、脳、肝臓、肺、腎臓、前立腺、卵巣、脾臓、リンパ節（扁桃腺等）、甲状腺、脾臓、心臓、骨格筋、腸、喉頭、食道および胃を挙げることができる。上述および他の固形組織の解剖学的位置、形態学的特性、組織学的特性評価ならびに侵襲的および/または非侵襲的アクセスは全て、関連分野の当業者にとって周知のものである。一部の実施形態において、組織は、がん性である、炎症を起こしている、感染している、萎縮している、麻痺している、発作をおこしているまたは凝固している、あるいはそうであると疑われる。一部の実施形態において、組織は、がん性である、あるいはそうであると疑われる。一部の実施形態において、組織はがん性である。

【0078】

いくつかの実施形態において、本方法はがんを対象とし、標的組織は、良性であっても悪性であってもよい腫瘍を含み、前立腺がん細胞、乳がん細胞、結腸がん細胞、肺がん細胞、脳がん細胞および卵巣がん細胞からなる群から選択される少なくとも1種のがん細胞を含む。特定の実施形態において、腫瘍は、腺腫、腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、小細胞癌、未分化大細胞癌、軟骨肉腫および線維肉腫から選択されるがんを含む。米国国立がん研究所（U.S. National Cancer Institute）（米国メリーランド州ベテスダ）によって公表された基準、またはDeVita, Hellman,

10

20

30

40

50

and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology (2008、Lippincott, Williams and Wilkins、Philadelphia/Ovid、ニューヨーク) ; Pizzo and Poplack、Principles and Practice of 25 Pediatric Oncology (第4版、2001、Lippincott, Williams and Wilkins、Philadelphia/Ovid、ニューヨーク) ; および Vogelstein and Kinzler、The Genetic Basis of Human Cancer (第2版、2002、McGraw Hill Professional、ニューヨーク) に記載されている基準等、技術上認められた (Art - accepted) 臨床診断基準が、上述および他のがん型に対し確立されている。特定のがんの分類および特性評価の他の非限定的な例は、例えば、Ignatiadisら、(2008 Pathobiol 75 : 104) ; Curr. Drug Discov. Technol. 5 : 9) ; および Aumanら、(2008 Drug Metab. Rev. 40 : 303) に記載されている。特定の実施形態において、組織の選択された領域は、対象における腫瘍の部分であり、特定のさらに別の実施形態において、対象は、前臨床モデルまたはヒト患者の一種である。

10

【0079】

特定の実施形態は、米国国立がん研究所 (米国メリーランド州ベテスダ) の基準または DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology (2008、Lippincott, Williams and Wilkins、Philadelphia/Ovid、ニューヨーク) ; Pizzo and Poplack、Principles and Practice of Pediatric Oncology (第4版、2001、Lippincott, Williams and Wilkins、Philadelphia/Ovid、ニューヨーク) ; および Vogelstein and Kinzler、The Genetic Basis of Human Cancer (第2版、2002、McGraw Hill Professional、ニューヨーク) に記載されている基準等、技術上認められた臨床診断基準に従って、がんであるまたはがんを発症もしくは得るリスクがあるとして診断された患者等、ヒト対象である対象または生物ソースを企図し、特定の実施形態は、このような判断基準によりがんである、がんを発症するまたはがんを得るリスクがないことが知られているヒト対象を企図する。

20

30

【0080】

特定の他の実施形態は、非ヒト対象または生物ソース、例えば、本技術分野において固形腫瘍および/または他のがんの前臨床モデル等の前臨床モデルとして知られ得るような非ヒト対象を包含する、マカク、チンパンジー、ゴリラ、サバンナモンキー、オランウータン、ヒヒ等、非ヒト霊長類または他の非ヒト霊長類を企図する。特定の他の実施形態は、哺乳動物である非ヒト対象、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ウシ、ヤギ、スナネズミ、ハムスター、モルモットまたは他の哺乳動物を企図する。このような哺乳動物の多くは、本技術分野において、固形腫瘍および/または他のがん等、特定の疾患または障害の前臨床モデルとして知られた対象となり得る (例えば、Talmadgeら、2007 Am. J. Pathol. 170 : 793 ; Kerbel、2003 Canc. Biol. Therap. 2 (4 Suppl 1) : S134 ; Manら、2007 Canc. Met. Rev. 26 : 737 ; Cespedesら、2006 Clin. Transl Oncol. 8 : 318) 。実施形態の範囲は、過度に限定されることを目的としないが、対象または生物ソースが、非哺乳動物の脊椎動物、例えば、別の高等脊椎動物またはトリ、両生類もしくは爬虫類生物種または別の対象もしくは生物ソースであってよい他の実施形態も企図するようなものである。トランスジェニック動物は、該動物の細胞のうち1個または複数が、非内在性 (即ち、異種) の核酸であり、

40

50

その細胞の部分において染色体外エレメントとして存在する、あるいはその生殖系列DNA内（即ち、その細胞の大部分または全部のゲノム配列内）に安定的に組み込まれた核酸を包含する非ヒト動物である。本発明の特定の実施形態において、トランスジェニック動物の組織は標的化され得る。

【0081】

本発明の方法は、薬剤を様々な動物組織投与するのに適しており；したがってこの方法には、医学および獣医学での用途がある。いくつかの実施形態では、動物組織は軟組織である。軟組織の非限定的な例には、筋肉、脂肪、皮膚、腱、靱帯、血液、および神経組織が含まれる。いくつかの実施形態では、動物が爬虫類、両生類、鳥類、または哺乳類である。いくつかの実施形態では、動物が哺乳類である。いくつかの実施形態では、動物がマウスである。いくつかの実施形態では、動物がヒトである。いくつかの実施形態では、動物がペット、コンパニオンアニマル、ガーディアンアニマル、使役動物、飼育動物、サービスアニマル、レース用動物、家畜、牧場用動物、または実験室用動物である。

10

【0082】

いくつかの実施形態では、標的組織は疾患の特徴を示さず、1種または複数の化合物に対する個々の組織の応答を評価するのに使用してもよい。ある場合には、1種または複数の薬剤は、組織内に变化した生理学的状態を生成するために投与されてもよい。变化した生理学的状態は、対象または生物学的供給源からの生体サンプルで变化した（例えば、適切な対照に比べて統計的に有意な状態で測定可能に変化した）構造または機能の検出を可能にする、領域または生体サンプルに含まれる固形組織（いくつかの実施形態では充実性腫瘍）の状態、プロセス、経路、動的構造、状態、またはその他の活性に直接関係した、任意の検出可能なパラメータとすることができる。したがって本発明の方法は、1つには、变化した生理学的状態の指標を例えば、さらなる非限定的な例として細胞生存性、細胞増殖、アポトーシス、抗成長シグナルに対する細胞抵抗性、細胞運動性、細胞発現または結合組織 - 分解酵素の生成、血管新生の細胞補充、または本明細書で提供されたようなその他の基準を含めた、細胞または生化学的活性とすることができる、そのような相関関係に関する。

20

【0083】

变化した生理学的状態は、さらに、固形組織の機能に直接または間接的に関係する任意の構造または活性が対照または標準に比べて統計的に有意な状態で变化した、任意の状態または機能を指すことができ、その起源を、固形組織の構成成分と導入された薬剤との間の直接または間接的な相互作用に見出すことができ、または、代謝産物、カタボライト、基質、前駆体、および補因子などを含めたそのような相互作用の結果として形成することができる中間体同士の相互作用の結果として生じた、構造的もしくは機能的変化に見出すことができる。さらに、变化した生理学的状態は、対象または生物学的供給源のいくつかまたは全ての細胞または組織での、变化したシグナル伝達、呼吸、代謝、遺伝子、生合成、またはその他の生化学的もしくは生物物理学的活性を含むことができる。非限定的な例として、变化した生物学的シグナル伝達、細胞生存性、細胞増殖、アポトーシス、抗成長シグナルに対する細胞抵抗性、細胞運動性、細胞発現または結合組織 - 分解酵素の生成、血管新生の細胞補充、または細胞内でのアポトーシス経路の誘導および非定型化学的および生化学的架橋種の形成を含めたその他の基準は、酵素的なメカニズムであろうと非酵素的なメカニズムであろうと、全て、变化した生理学的状態を示すものと見なすことができる。

30

40

【0084】

< 薬剤 >

いくつかの実施形態では、薬剤は、（a）遺伝子療法剤；（b）化学療法剤；（c）小分子；（d）抗体；（e）タンパク質；（f）低分子干渉RNAおよびコード化ポリヌクレオチドの1種；（g）アンチセンスRNAおよびコード化ポリヌクレオチドの1種；（h）リボザイムおよびコード化ポリヌクレオチドの1種；（i）検出可能な標識；（j）治療用タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、およびペプチドミメティックの1種；（k

50

）抗血管新生剤；（l）後成的修飾因子；（m）抗体－薬物コンジュゲート；（n）キナーゼ阻害剤；および（o）がん細胞中に優先的に発現する代謝経路標的の阻害剤から選択された薬剤を含む。特定のさらに別の実施形態において、検出可能標識は、放射標識、放射線不透過性標識、蛍光標識、比色標識、色素、酵素標識、GCMSTag、アビジンおよびビオチンから選択される。特定の実施形態において、薬剤は、（i）少なくとも1種の作動可能に連結したプロモーターを含む遺伝子治療剤、（ii）少なくとも1種の作動可能に連結したプロモーターを含む低分子干渉RNAをコードするポリヌクレオチド、（iii）少なくとも1種の作動可能に連結したプロモーターを含むアンチセンスRNAをコードするポリヌクレオチドおよび（iv）少なくとも1種の作動可能に連結したプロモーターを含むリボザイムをコードするポリヌクレオチドから選択される。特定のさらに別の実施形態において、作動可能に連結したプロモーターは、構成的プロモーターおよび調節可能なプロモーターから選択される。さらにまた別の特定の実施形態において、調節可能なプロモーターは、誘導性プロモーター、密接に調節されたプロモーターおよび組織特異的なプロモーターから選択される。抗血管新生剤の例には、ベバシズマブおよび開発中のその他のものが含まれるが、これらに限定するものではない。後成的修飾因子の例には、アザシチジンおよびデシタピンおよび開発中のその他のものが含まれるが、これらに限定するものではない。小分子は、有意な細胞毒性を有する薬剤であってもよい。

10

【0085】

薬剤は、標的組織にデリバリーされ得る混合物またはコロイドとして水溶液に溶解または懸濁させてもよい。微小透析プローブまたは針を通してデリバリーされる薬剤を指すのに使用する場合、薬剤という用語は、液体、気体、コロイド、懸濁した固体を含め、微小透析プローブまたは針などを通して流れることが可能な任意の物質を含むように広く解釈される。

20

【0086】

いくつかの実施形態では、薬剤は、候補腫瘍薬である。候補腫瘍学的薬剤の選択は、関連分野の当業者であれば理解、決定することができる（例えば、Berkowら編、The Merck Manual、第16版、Merck and Co.、ニュージャージー州ローウェイ、1992；Goodmanら編、Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics、第10版、Pergamon Press、Inc.、ニューヨーク州エルムスフォード（2001）；De Vita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology（2008、Lippincott, Williams and Wilkins、Philadelphia/Ovid、ニューヨーク）；Pizzo and Poplack、Principles and Practice of Pediatric Oncology（第4版、2001、Lippincott, Williams and Wilkins、Philadelphia/Ovid、ニューヨーク）；Avery's Drug Treatment: Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics、第3版、ADIS Press, LTD.、Williams and Wilkins、メリーランド州ボルチモア（1987）、Ebadi、Pharmacology、Little, Brown and Co.、ボストン、（1985）；Osolci al編、Remington's Pharmaceutical Sciences、第18版、Mack Publishing Co.、ペンシルベニア州イーストン（1990）；Katzung、Basic and Clinical Pharmacology、Appleton and Lange、コネチカット州ノーウォーク（1992）を参照されたい）。治療剤は、試験的治療のリストを開示するリソース、例えば、進行中および計画された臨床試験のデータベースをその「ClinicalTrials.gov」ウェブサイト維持する国立衛生研究所（National Institutes of Health）（メリーランド州ベセスダ）から

30

40

50

選択され得る。

【0087】

治療剤へと開発するためのスクリーニング方法および評価方法において用いるための薬剤は、化合物、組成物または分子の「ライブラリー」またはコレクションとして提供することができる。このような分子は、通常、本技術分野において「小分子」として知られ、105ダルトン未満、104ダルトン未満または103ダルトン未満の分子量を有する化合物を包含する。

【0088】

例えば、被験化合物のライブラリーの複数のメンバーは、治療薬剤のそれぞれを各対象における領域内の軸に沿った複数の位置に分布させることにより、公知の腫瘍型の腫瘍を有する1つまたは複数の対象それぞれにおける公知の腫瘍型の固形腫瘍の領域に候補薬剤として導入することができ、選択された期間（例えば、時間の範囲、最短期間または特定の期間）の後、候補薬剤が導入された固形腫瘍の領域は、画像処理または各対象から除去され、例えば、効果を生じない（陰性対照）または容易に検出可能な効果を生じる（陽性対照）本明細書に提示されている対照薬剤で処置された領域における位置と比べて変化した生理状態が、本明細書に提示されている通り存在するか決定することにより、領域内のそれぞれの位置における各薬剤の効果（あるとすれば）を検出して各領域を比較することができる。

10

【0089】

薬剤は、複数の反応容器において行われた複数の所定の化学反応によって調製された合成薬剤を包含し得るコンビナトリアルライブラリーのメンバーとしてさらに提供することができる。例えば、様々な出発化合物は、所定の構成成分が反応条件の複数の順列および/または組み合わせを追跡可能に行うのを可能にする固相合成、記録されたランダム混合手法および記録された反応分割技法のうち1種または複数を用いて調製することができる。得られた産物は、ペプチド（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際出願PCT/US91/08694号明細書、国際出願PCT/US91/04666号明細書を参照）または本明細書に提示されている小分子を包含し得る他の組成物（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際出願PCT/US94/08542号明細書、欧州特許第0774464号明細書、米国特許第5,798,035号明細書、米国特許第5,789,172号明細書、米国特許第5,751,629号明細書を参照）の合成コンビナトリアルライブラリー等、スクリーニングされた後に反復的な選択および合成手順がなされ得るライブラリーを含む。当業者であれば、本開示において、多様な種別のこのようなライブラリーが、確立された手順に従って調製され、変化したミトコンドリア機能の指標におけるその影響が検査され得ることを認められよう。他の薬剤は、タンパク質（治療タンパク質等）、ペプチド、ペプチドミメティック、ポリペプチドおよび遺伝子治療剤（例えば、低分子干渉RNA（siRNA）、リボザイムおよびアンチセンスRNAのコード配列等、治療遺伝子または治療産物をコードするポリヌクレオチドを含有するプラスミド、ウイルスベクター、人工染色体その他）とすることができ、特定のさらに別の実施形態において、遺伝子治療剤は、構成的プロモーターまたは誘導性プロモーター（例えば、IPTG誘導性）、密接に調節されたプロモーター（例えば、その同族誘導物質または抑制解除物質の非存在下では検出可能な転写をほとんど生じないまたは全く生じないプロモーター）もしくは組織特異的なプロモーター等の調節可能なプロモーター等、作動可能に連結したプロモーターを含み得る。上述および関連する薬剤を調製、検査および使用するための手法は、本技術分野において公知のものである。例えば、Ausubel（編）、Current Protocols in Molecular Biology（2007 John Wiley & Sons, NY）; Rosenzweig and Nabel（編）、Current Protocols in Human Genetics（とりわけ、その第13章、「Delivery Systems for Gene Therapy」、2008 John Wiley & Sons, NY）; Abell、Advances in Amino Acid Mimeti

20

30

40

50

cs and Peptidomimetic, 1997 Elsevier, NY. を参照されたい。

【0090】

いくつかの実施形態では、薬剤が小分子薬である。本明細書で使用される「小分子薬」という用語は、分子量が約1000ダルトン未満、約800ダルトン未満、または約500ダルトン未満の薬剤を意味する。いくつかのその他の実施形態では、小分子薬が抗がん剤である。抗がん剤は、市場で現在認可されている抗がん剤、現在臨床試験中の抗がん剤、毒性もしくは不十分な効力により臨床試験もしくは市場から回収された抗がん剤、または開発中の初期段階にある抗がん剤であってもよい。

【0091】

他の薬剤は、天然起源の、免疫学的に誘発された、キメラ、ヒト化、組換えならびに他の遺伝子操作された抗原特異的な免疫グロブリンおよび人工的に作製された抗原結合断片、ならびに単鎖抗体、ミニボディ(minibodies)、Fab断片、二特異性抗体等のそれらの派生体等、抗体となり得る。例えば、Coliganら(編)、Current Protocols in Immunology(2007 John Wiley & Sons, NY); Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual(1988 Cold Spring Harbor Press, ニューヨーク州コールド・スプリング・ハーバー); Harlow and Lane, Using Antibodies(1999 Cold Spring Harbor Press, ニューヨーク州コールド・スプリング・ハーバー)を参照されたい。

【0092】

治療用途のための薬学的に許容される担体は、製薬技術分野において周知のものであり、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro 編, 1985) に記載されている。例えば、生理pHの無菌生理食塩水およびリン酸緩衝食塩水を用いることができる。保存料、安定剤、色素および他の補助的薬剤を医薬組成物に供給することができる。例えば、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸およびp-ヒドロキシ安息香酸エステルを保存料として添加することができる。その上、抗酸化剤および懸濁剤を用いてよい。「薬学的に許容される塩」とは、薬用化合物と、有機もしくは無機酸(酸付加塩)または有機もしくは無機塩基(塩基付加塩)の組み合わせに由来する薬用化合物の塩を意味する。本明細書における使用に企図される薬物を包含する薬剤は、遊離塩基または塩形態のいずれかで用いることができ、どちらの形態であっても、本発明の特定の実施形態の範囲内に収まると考慮される。

【0093】

1種または複数の薬剤を含有する医薬組成物は、組成物を対象に投与することのできるいかなる形態であってもよい。一部の実施形態において、組成物は液状となり、投与経路は、本明細書に記載されている固形組織への投与を含むであろう。本明細書における用語、非経口は、経皮または皮下注射および筋肉内、髄内および胸骨内(intrastemal)技法を包含する。

【0094】

医薬組成物は、その中に含有されている有効成分が、ヒト対象等、対象への該組成物の投与により生物に利用可能となるように処方される。対象に投与される組成物は、1回もしくは複数用量または投薬量単位の形態を取ることができ、例えば、測定前(pre-measured)の流体容量は、単一投薬量単位を含むことができ、液状の1種または複数の組成物(例えば、薬物)の容器は、複数の投薬量単位を保持することができる。薬剤の用量は、薬剤の所望の濃度範囲、例えば、固形組織におけるデリバリーミクロ透析プローブまたは針のごく近傍における薬剤の所望の濃度範囲の達成または維持に十分な様式および時間で投与される、治療上有効量の特定の薬剤の全部または部分を包含し、用量を含む薬剤の絶対量は、医学的および製薬ならびに関連する技術水準に照らして熟練の医者が

10

20

30

40

50

精通している、薬剤、対象、固形組織および他の判断基準に応じて変動する。特定の実施形態において、少なくとも2用量の薬剤を投与することができ、特定の他の実施形態において、3、4、5、6、7、8、9、10以上の用量を投与することができる。

【0095】

溶液または懸濁液の形態であれ他の同様の形態であれ、本明細書における液体医薬組成物は、次の、アジュバント：注射用の水、生理食塩水溶液、生理的食塩水、リンゲル溶液、生理食塩水溶液（例えば、正常生理食塩水または等張性、低張性もしくは高張性塩化ナトリウム）等、無菌希釈剤、溶媒または懸濁培地として働く合成モノもしくはジグリセリド（diglycerides）等の固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の溶媒；ベンジルアルコールまたはメチルパラベン等、抗菌剤；アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム等、抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸等、キレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩等、緩衝剤および塩化ナトリウムまたはデキストロース等、浸透圧調整のための薬剤のうち1種または複数を包含し得る。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジまたは複数用量のバイアル内に封入され得る。一部の実施形態において、生理的食塩水はアジュバントである。注射用医薬組成物は無菌となり得る。アルミニウム塩、油中水型エマルジョン、生分解性油媒体、水中油型エマルジョン、生分解性マイクロカプセル、ハイドロゲルおよびリポソーム等が挙げられるがこれらに限定されないデリバリー媒体等、他の成分を調製物に包含することも望ましい。

【0096】

当業者にとって公知の任意の適切な担体は、本発明の医薬組成物において用いることができるが、担体の種類は、投与様式および従来の徐放的薬物放出が望ましいかにも応じて変動するであろう。薬物の補充的注射等、非経口投与のため、担体は、水、生理食塩水、アルコール、脂肪、ワックスまたは緩衝剤を含むことができる。本発明の医薬組成物の担体として生分解性マイクロスフェア（例えば、ポリ乳酸ガラクトド（polylactide galactide））を用いてもよい。適切な生分解性マイクロスフェアは、例えば、米国特許第4,897,268号および第5,075,109号明細書に開示されている。一部の実施形態において、マイクロスフェアは、およそ25ミクロンよりも大きい、一方、他の実施形態は、そのように限定的ではなく、他の寸法を企図する。

【0097】

医薬組成物は、緩衝剤等の希釈剤、アスコルビン酸等の抗酸化剤、低分子量（約10残基未満の）ポリペプチド、タンパク質、アミノ酸、グルコース、ショ糖またはデキストリン等の炭水化物、EDTA等のキレート剤、グルタチオンならびに他の安定剤および賦形剤を含有してもよい。非特異的な血清アルブミンと共に混合された中性緩衝食塩水または生理食塩水は、例示的な適切な希釈剤である。一部の実施形態において、薬剤（例えば、治療薬物または候補薬物）は、希釈剤として適切な賦形剤溶液（例えば、ショ糖）を用いる凍結乾燥物として処方される。

【0098】

<位置マーカー>

特定の実施形態は、固形腫瘍等、固形組織における平行軸に沿った複数の空間的に画定された位置への複数の薬物、候補薬物、造影剤、位置マーカー、有効性の指標および適切な対照組成物の直接デリバリーと、続く、所望の時間間隔後の、処理組織の切除および治療の効果に関する組織の評価または解析を企図する。有効性の指標は、例えば、検出可能な指標化合物、ナノ粒子、ナノ構造または他の組成物とすることができ、他の組成物は、生体色素（例えば、トリパンブルー）、比色pH指標、多くの細胞生理パラメータ（例えば、pH、細胞内Ca²⁺または他の生理関連のイオン濃度、ミトコンドリア膜電位、細胞膜電位等、Haugland, The Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies（第10版）2005、Invitrogen Corp.、カリフォルニア州カーズバッドを参照）に応じて別個の蛍光を示し得る蛍光化合物、酵素基質、特異的なオリ

ゴヌクレオチドプローブ、レポーター遺伝子等、細胞の生理状態を示す検出可能シグナルを生じるレポーター分子を含む。対照組成物は、例えば、偽注射、生理食塩水、DMSOまたは他のビヒクルもしくは緩衝剤対照、不活性エナンチオマー、スクランブルされたペプチドもしくはヌクレオチド等、生理状態に統計的に有意な変化を生じないことが以前に立証された陰性対照；およびFDAに認可された治療化合物等、生理状態に統計的に有意な変化を生じることが以前に立証された陽性対照となり得る。

【0099】

一部の実施形態において、医薬処方は、色素をさらに含む。医薬組成物を動物組織に投与した後に色素を画像処理して、同一医薬組成物に存在する治療剤の分布および活性を観察することができる。一部の実施形態において、色素は蛍光色素である。一部の実施形態において、色素は放射性色素である。

10

【0100】

いくつかの実施形態では、分析のため、いくつかの公知の組織学的、組織化学的、免疫組織学的、組織病理学的、微視的（形態分析および/または3次元再構築を含む）、細胞学的、生化学的、薬理的、分子生物学的、免疫化学的、撮像、またはその他の分析技法のいずれかであって当業者に公知である技法によって、切除した組織を、平行軸に実質的に直交する（例えば、垂直でありまたは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35度程度もしくはそれ以上に垂直方向から逸れている）平行面に沿って複数の連続した組織学的断片を切り取ることができる。例えば、それぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれるBancroftおよびGamble、Theory and Practice of Histological Techniques（第6版）2007 Churchill Livingstone、Oxford、UK；Kieman、Histological and Histochemical Methods：Theory and Practice、2001 Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY；およびM.A. Hayat（編）、Cancer Imaging - Vols. 1および2、2007 Academic Press、NYを参照されたい。撮像は、ディスペンサの針が固形組織に挿入される前、最中、または後に行うことができる。位置マーカーは、公知のものであり、非限定的な例として、金属またはプラスチッククリップ、蛍光量子ドット、墨汁、金属またはプラスチックビーズ、色素、染色、腫瘍ペイント（Veisehら、2007 Canc. Res. 67：6882）または他の位置マーカーが挙げられ、所望の位置に導入することができる。マーカーは、可視、光学的、比色、色素、酵素、GCMSタグ、アビジン、ビオチン、放射性物質（放射性標識および放射線不透過性等）、蛍光または他の検出可能シグナルとなり得る、それに続いて位置確認できる任意の検出可能シグナル源を包含し得る。

20

30

【0101】

いくつかの実施形態では、微小透析プローブが位置マーカーとして使用される。薬剤を固形組織にデリバリーした後、固形組織を、微小透析プローブの挿入軸に実質的に直交する平行面に沿って切り出してもよい。残留する微小透析プローブは、位置マーカーとして働くことができる。

40

【0102】

したがって、検出可能マーカーは、独特かつ容易に同定可能なガスクロマトグラフィー/質量分析（GCMS）タグ分子を含む。多数のこのようなGCMSタグ分子は、本技術分野で公知のものであり、検出可能識別子成分として単独または組み合わせた使用のために選択することができる。説明のためであって限定を目的としないが、1、2種以上のこのようなGCMSタグの様々な異なる組み合わせは、本明細書に記載されているデバイスの個々のリザーバに、各リザーバの内容物が独特のGCMS「署名」に基づいて同定されるのを可能にする仕方で添加することができ、これにより、それに続いて注入領域から回収される任意の試料から、同定目的のためその元々の針へと遡ることができる。GCMSタグの例として、
、
、
-トリフルオロトルエン、
-メチルスチレン、
o-アニシ

50

ジン、多くの別個のコカインアナログのいずれかまたは規定の条件下で容易に同定可能な G C M S 署名を有する他の G C M S タグ化合物、例えば、S u p e l c o (登録商標) 2 0 0 5 ガスクロマトグラフィーカタログに記載されており、S i g m a A l d r i c h から入手できる S u p e l c o (登録商標) 製品等、S P E X C e r t i P r e p I n c . (ニュージャージー州メタチェン) または S i g m a A l d r i c h (ミズーリ州セントルイス) から入手できる製品が挙げられる。

【0103】

あるその他の実施形態は、位置マーカーとしての、着色微小透析プローブまたは針の使用を企図する。例えば、薬剤をデリバリーするのに微小透析プローブが使用される場合、プローブに装着された着色ワックスを固形組織内に引き込んで、後で行われる組織切除分析のために注入ゾーンをマークすることができる。

10

【0104】

デバイス

一態様では、本開示は、対象の固形組織に複数の薬剤をデリバリーするためのデバイスであって、複数の微小透析プローブを含むデバイスを提供する。デバイスはさらに、下記の構成要素：(1) 前記複数の微小透析プローブの1つを受容するようにそれぞれが構成されている複数の針；(2) 前記複数の針に動作可能に連結された、少なくとも1つの制御部；および(3) 前記固形組織への前記複数の針の挿入を案内するためのガイドデバイスの、いずれか1つを含んでいてもよい。デバイスは、少なくとも3、4、5、6、または10個の微小透析プローブまたは針を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、制御部がコンピュータである。コンピュータは、微小透析プローブの挿入および薬剤の注入を制御するのに使用されてもよい。いくつかのその他の実施形態では、コンピュータが、クラウドコンピューティングシステムの部分である。

20

【0105】

別の態様では、本開示は、針アレイデバイスで1種または複数の薬剤をデリバリーする方法を提供する。ある場合には、針アレイデバイスは、複数の微小透析プローブを固形組織に挿入するのに使用される。いくつかのその他の場合には、針アレイデバイスは、(1) 複数の針を固形組織に挿入するステップ；および(2) 1本または複数の針を固形組織から引き抜き、1種または複数の薬剤を固形組織に注入して、1種または複数の薬剤が固形組織にデリバリーされるようにするステップによって、複数の薬剤をデリバリーするのに使用される。

30

【0106】

針アレイデバイスは、複数の針および複数のリザーバを含んでいてもよい。針アレイデバイスは、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、20、25、30本またはそれ以上の針を含んでいてもよい。針アレイデバイスは、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、20、25、30個またはそれ以上のリザーバを含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、複数のリザーバのそれぞれは、複数の針のそれぞれ1つに別々に流体連絡している。針アレイデバイスは、1つまたは複数のアクチュエータをさらに含んでいてもよい。1つまたは複数のアクチュエータは、陰圧または陽圧を生成するように推進されてもよい。針アレイデバイスは、1つまたは複数の制御部をさらに含んでいてもよい。制御部は、針の挿入の深さ、したがって微小透析プローブの挿入の深さを制御してもよい。針アレイデバイスの1つの例は、B a h r a m i らの W O 2 0 0 9 / 0 2 3 7 9 8 に記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0107】

図1を参照すると、複数の針112と、複数のリザーバ114と、本例においてはブランジャ116等である複数のデリバリーアクチュエータと、コントローラ102とを包含する、針アレイアセンブリ100が示されている。複数の針112のそれぞれは、複数の針の他の針と相対的な位置に固定され、ブランジャも同様に、適所に固定されて同時に作

50

動できるよう動作可能に連結される。複数の針 1 1 2 のそれぞれは、複数のリザーバ 1 1 4 の各 1 個と流体連絡し、複数のプランジャのそれぞれは、複数のリザーバ 1 1 4 の各 1 個に配置された第一の末端を包含する。コントローラ 1 0 2 は、複数のプランジャ 1 1 6 それぞれの第二の末端に動作可能に連結される。コントローラは、運動のスピード、距離および方向に関してリザーバ内のプランジャの作動を制御するよう構成される。

【0 1 0 8】

針アレイデバイスによる薬剤注入に関する最近の進展にも関わらず、潜在的なプラットフォームのばらつきを低減させることが依然として求められている。プラットフォームのばらつきは、注入の失敗、不均等な薬剤堆積、交差汚染、またはこれらの組合せをもたらす可能性がある。プラットフォームのばらつきの潜在的な供給源には：(a) 腫瘍環境；(b) 注入システム；(c) 施術者の技法が含まれる可能性がある。とりわけ、注入システムおよび施術者の技法からの供給源は、固定可能および制御可能と考えられる。これら 2 つの態様の改善により、薬剤をデリバリーするための、改善された方法、例えば改善された精度および狭い体内分布をもたらすことができる。

10

【0 1 0 9】

ある態様では、本発明は、固形組織への針の挿入および固形組織からの針の引抜きを制御するためのデバイスであって：(a) 位置決め機構；(b) 深さ制御機構；および(c) 針引抜き機構を含むデバイスを提供する。

【0 1 1 0】

位置決め機構は、針の挿入を案内する機構である。針の挿入は、穴によって案内されてもよい。穴は、針を挿入部位に案内することができる。穴によって設定された物理的境界は、針挿入の精度を改善することができる。いくつかの実施形態では、各穴は、ちょうど 1 本の針を収容する。

20

【0 1 1 1】

深さ制御機構は、針挿入の深さを制御する機構である。深さ制御機構は、針挿入の深さを制御するよう調節可能と考えられる。いくつかの実施形態では、アタッチメントが針の一端に取着される。針に沿ったアタッチメントの位置は、調節可能と考えられる。アタッチメントは、穴に接触したときに針がさらに挿入されるのを止めることができる。

【0 1 1 2】

針引抜き機構は、駆動機構を含んでいてもよい。駆動機構は制御可能であってもよい。この機構は、ある制御可能な速度で移動することができる。駆動機構は、位置機構に動作可能に接続され、針の引抜き速度を制御することができる。

30

【0 1 1 3】

別の態様では、少なくとも 1 種の薬剤を固形組織にデリバリーするためのデバイスであって、実質的に平行な配置構成にありそれぞれが複数の穴を有する 1 つの底部ブロックおよび 1 つの上部ブロックを含むデバイスが提供される。底部および上部ブロックの複数の穴は、針の挿入を案内することができる。ある場合には、穴のサイズは、あるサイズの針が内部を通過できるように制御することができる。デバイスは、針挿入の改善された精度と、固形組織への少なくとも 1 種の薬剤のデリバリーの精巧な制御とをもたらすことができる。

40

【0 1 1 4】

本明細書に記述される実施例およびデバイスは、例示でありかつ本発明の範囲を限定しないことを意味する。

【0 1 1 5】

図 2 は、本発明の原理を具体化したデバイスの 1 つのタイプを示す。デバイスアセンブリは、ガイド棒 2 0 1、制御アタッチメントを備えた針 2 0 2、上部ブロック 2 0 3、底部ブロック 2 0 4、プラットフォーム 2 0 6、脚 2 0 5、上部および底部ブロックの穴 2 0 7 を含む。上部ブロック 2 0 3 および底部ブロック 2 0 4 は、実質的に平行な配置構成にある。上部ブロック 2 0 3 および底部ブロック 2 0 4 は、金属およびプラスチックを含むがこれらに限定されない様々な材料で作製することができる。これらの材料は透明であ

50

ってもよく、ある範囲の厚さを有していてもよい。各ブロックは、207として示される多数の穴を有していてもよい。各ブロックの穴は、様々な配置構成を有していてもよい。特定の実施形態では、各ブロック内の穴は、実質的に平行な列を形成する。穴の数は、特定の数の針を挿入させるように制御することができる。各ブロックの(1つまたは複数の)穴の数は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、8、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、および500個とすることができる。穴の数は、必要に応じて1000個またはさらに2000個であってもよい。

【0116】

10

本発明は、任意のおよび全ての標準サイズの針に有用であるものとする。穴207のサイズは、特定のゲージの針を穴に通すことができるよう、独立して制御することができる。一般に、上部ブロックおよび底部ブロックの穴は、針の挿入軌跡がブロック平面に実質的に垂直になるように位置合わせされる。ある場合には、挿入軌跡を定める上部ブロックの1つの穴と底部ブロックの1つの穴との2つの穴は、同じサイズである。さらに、ブロック内の穴のサイズは、均一にまたは異ならせることができる。穴のサイズが均一である場合、同じサイズの針が使用される。穴のサイズが異なる場合、異なるサイズの針が使用される。

【0117】

20

図2に示されるように、ガイド棒201は、上部ブロックの動きを案内するのに使用される。ガイド棒の数は、1本から10本までの任意の数であってもよい。図2において、2本のガイド棒201は、底部ブロック204に永続的に取着される。ガイド棒201は、上部ブロック203の動きの軌跡を制御する。ある場合には、ガイド棒201は、底部ブロック204および/または上部ブロック203に実質的に垂直である。ある場合には、ガイド棒は互いに実質的に平行である。ある場合には、上部ブロック203は、底部ブロック204におよび底部ブロック204から垂直に移動する。図2に示される永続的な取着の選択肢に加え、棒を取着する様々なその他の方法を考え出すことができ、その方法は本発明の範囲内に十分含まれる。例えば棒は、底部ブロックの側面に永続的に取着されるクランプを介して底部ブロックに取着することができるが、これに限定するものではない。この特定の構成では、ガイド棒201および上部ブロック203は、必要とされるデ

30

【0118】

さらに図3には、底部ブロック204の下のプラットフォーム206が示される。プラットフォーム206は、固定底部ブロック204の支持を行う。プラットフォームは、底部ブロックの支持を行う限り、様々な形状および構成を有することができる。プラットフォームの1つの例示的な実施例を図3に示す。プラットフォームは、4本の脚205で構成され、これらの脚はそれぞれ、底部ブロック204の1つの側面に取着されている。脚205の他端は支持面208に取着される。脚は、円筒状、長方形、または正方形とすることができる。脚は、底部ブロック204の支持を行う限り、任意の形状のものとするることができる。特定の実施形態では、脚は、垂直におよび水平に調節可能である。固形組織または対象をデバイス内に配置した後、調節可能なプラットフォームにより、針の挿入中および少なくとも1種の薬剤の注入中に、実質的に改善された組織および/または対象の安定化が可能になる。これは、デバイスのない注入に比べ、とりわけ、より大きな挿入精度、より狭い体内分布、およびより少ないサンプルの交差汚染をもたらす。脚の数は変えることができる。脚の数は、1本から12本までの任意の数であってもよい。

40

【0119】

図3に戻ると、実施例による、固形組織および/または対象の安定化を実現するための1つの構成が示されている。ばね301は、脚205と底部ブロック204の1つの側面に、実質的に接触している。脚が適切に調節された場合、固形組織および対象をデバイス内に配置すると、ばねからの張力によって、針の挿入および薬剤注入のプロセス中に固形

50

組織および／または対象をしっかりと保持することができる。

【 0 1 2 0 】

図 4 は、制御アタッチメント 4 0 2 を備えた針の上面図を示す。この図では、制御アタッチメント 4 0 2 が実質的に正方形であり、針の周りに取付されている。上部ブロック 1 0 3 の穴の上面に接触すると、制御アタッチメント 1 0 2 は針のさらなる挿入を止める。針に対する制御アタッチメント 1 0 2 の取付位置は、挿入深さを制御するための重要な因子の 1 つである。制御アタッチメントの機能は針の挿入を止めることであるので、制御アタッチメントは針のさらなる挿入を止めることができる限り、任意のサイズ、形状、取付構成、および材料のものとすることができる。

【 0 1 2 1 】

図 5 は、本発明の原理を具体化した、1 つの特定のタイプのデバイスを示す。図 2 に概念的に示した構成要素に加え、上部ブロック 2 0 3 の垂直移動を制御するための駆動機構 5 0 1 が示されている。駆動機構 5 0 1 は、2 つの機能：(1) 針の挿入前に、上部ブロック 2 0 3 の位置を設定し；(2) 制御アタッチメントで上部ブロック 2 0 3 および針を固形組織または対象から引き離すという機能を発揮することができる。引抜き速度は制御することができる。

【 0 1 2 2 】

一実施形態によれば、本明細書に記述されるデバイスを操作する方法が提供される。駆動機構 5 0 1 は、上部ブロック 2 0 3 の位置を設定する。様々な因子、例えば、限定するものではないが針の長さ、底部ブロック 2 0 4 の高さ、固形組織のサイズ、および意図される挿入の深さは、上部ブロック 2 0 3 に適した位置を決定すると見なすことができる。上部ブロック 2 0 3 と底部ブロック 2 0 4 との間の距離は、特に限定されない。距離は、0、または少なくとも 0 . 0 1、0 . 0 2、0 . 0 3、0 . 0 4、0 . 0 5、0 . 0 6、0 . 0 7、0 . 0 8、0 . 0 9、0 . 1、0 . 2、0 . 3、0 . 4、0 . 5、0 . 6、0 . 7、0 . 8、0 . 9、1 . 0、1 . 5、2 . 0、2 . 5、3 . 0、3 . 5、4 . 0、4 . 5、5 . 0、5 . 5、6 . 0、7 . 0、8 . 0、9 . 0、1 0 . 0、1 5、または 2 0 mm であってもよい。距離は、0 . 0 1、0 . 0 2、0 . 0 3、0 . 0 4、0 . 0 5、0 . 0 6、0 . 0 7、0 . 0 8、0 . 0 9、0 . 1、0 . 2、0 . 3、0 . 4、0 . 5、0 . 6、0 . 7、0 . 8、0 . 9、1 . 0、1 . 5、2 . 0、2 . 5、3 . 0、3 . 5、4 . 0、4 . 5、5 . 0、5 . 5、6 . 0、7 . 0、8 . 0、9 . 0、1 0 . 0、1 5、または 2 0 mm 未満であってもよい。あるいは距離は、約 0、0 . 0 1、0 . 0 2、0 . 0 3、0 . 0 4、0 . 0 5、0 . 0 6、0 . 0 7、0 . 0 8、0 . 0 9、0 . 1、0 . 2、0 . 3、0 . 4、0 . 5、0 . 6、0 . 7、0 . 8、0 . 9、1 . 0、1 . 5、2 . 0、2 . 5、3 . 0、3 . 5、4 . 0、4 . 5、5 . 0、5 . 5、6 . 0、7 . 0、8 . 0、9 . 0、1 0 . 0、1 5、または 2 0 mm であってもよい。2 つのブロック間の距離がゼロの場合、上部ブロックは底部ブロックの上に在る。上部ブロックの位置を設定した後、駆動機構 5 0 1 は上部ブロックを固定状態に保持する。固形組織または対象は、底部ブロックの下に配置される。特定の実施形態では、固形組織または対象は、実質的に全ての脚により設定された境界内に配置される。例えば、固体組織または対象の一方の面を、脚 2 0 5 の底部および／または支持床 2 0 8 に対して配置する。他方の面を、脚 2 0 5 を調節することによって底部ブロック 2 0 4 に対して配置する。固形組織または対象の配置は、上部ブロック 2 0 3 に適した位置を設定する前または後に行ってもよい。プラットフォーム 2 0 6 は、固形組織または対象に適した安定化をもたらすように調節される。針は、上部ブロック 2 0 3 および底部ブロック 2 0 4 の穴を通して挿入される。針挿入の経路は、穴によって案内される。ある場合には、針は、針アレイデバイスの一部である。

【 0 1 2 3 】

本発明は、針の形状が、上部ブロックおよび底部ブロックにより定められた穴の構成に一致する限り、針アレイのタイプまたは形状を限定しない。さらに本発明は、制御アタッチメントが針に取付される限り、使用される針のタイプを限定しない。針のいずれかは、独立して、ゲージ 1 4、1 6、1 8、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6、2 7

10

20

30

40

50

、28、29、または30から選択されてもよい。針は、エンドポート針または多孔質針であってもよい。ある場合には、針がエンドポート針である。ある場合には、針が多孔質針である。ある場合には、針は、エンドポート針と多孔質針とを混合したものである。ある場合には、全ての針がゲージ26である。針アレイデバイスが使用される場合、針の一端はデバイスに取着される。デバイスおよびその使用は、2010年12月30日に公開されたBahramiらによる米国特許出願第2010/0330589A1号；および2011年9月22日に公開されたBahramiらによる第2011/0230839A1号に記載されている。

【0124】

針の挿入後、上部ブロック203は、駆動機構501により制御された選択速度で、底部ブロック204から持ち上げられる。同時に、典型的には少なくとも1種の適切な溶媒に溶解および/または混合された少なくとも1種の薬剤が、針を通して固形組織内のそれぞれの場所に注入される。上部ブロック203を持ち上げる速度および注入速度は、独立して制御することができる。各速度の選択は、例えば固形組織のタイプ、針のサイズ、溶媒の粘度、および少なくとも1種の薬剤の透過率などであってこれらに限定するものではない様々な因子によって、決定される傾向にある。いくつかの実施形態では、上部ブロックの移動速度が少なくとも0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、1.0、1.1、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10、11、12、13、14、15、18、または2mm/分である。いくつかの実施形態では、上部ブロックの移動速度が0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、1.0、1.1、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10、11、12、13、14、15、18、または20mm/分未満である。いくつかの実施形態では、上部ブロックの移動速度が約0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、1.0、1.1、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10、11、12、13、14、15、18、または20mm/分である。ある場合には、少なくとも1種の薬剤の注入速度が、少なくとも0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0、1.1、1.2、1.3、1.5、1.8、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50 μ l/分またはそれ以上である。いくつかのその他の場合には、少なくとも1種の薬剤の注入速度が0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0、1.1、1.2、1.3、1.5、1.8、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、または50 μ l/分未満である。いくつかのその他の場合には、少なくとも1種の薬剤の注入速度が約0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0、1.1、1.2、1.3、1.5、1.8、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、または50 μ l/分である。

【0125】

様々な実施形態によれば、組織の領域は、切除される前にある期間にわたり所定位置に置かれたままになる。例えば、デリバリー後48~72時間は、検出可能な応答を腫瘍が

10

20

30

40

50

示すのに一般に十分と考えられる。その他の場合には、待機時間は数分、数時間、数日、または数週間であってもよい。さらに組織領域は、針を挿入する前に組織の標的領域を精密に位置付けるために、公知の方法を使用して撮像することができる。領域は、組織領域に複数の薬剤をデリバリーする前および後に繰り返し撮像してもよい。繰り返しの回数は、約 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 回またはそれ以上であってもよい。

【0126】

いくつかの実施形態によれば、少なくとも 1 種の薬剤が内部にデリバリーされた固形組織を対象から切除し、評価する。例えば、標的組織ががん性腫瘍である場合、そこに注入された複数の薬剤は、このような腫瘍におけるその有効性または効果が調査中である数種の薬剤を包含することができる。様々な薬剤を体内 (*in vivo*) で注入し、続いて選択された期間待機して、その後腫瘍を除去することにより、腫瘍 *in situ* における薬剤の効果を調査することができる。この操作は、腫瘍微小環境を保存し、この方法を現在の体外 (*ex vivo* または *in vitro*) 療法評価方法から区別する。使用される針は、その長さに沿った任意の所与の位置で実質的に等量の薬剤をデリバリーするように構成されると仮定すると、針のそれぞれによってデリバリーされた薬剤は、固形組織への薬剤のデリバリー中にそれぞれの針が位置決めされるデリバリー軸に沿って周囲組織に均等に分布する。各薬剤は、時間と共に例えば、周囲の組織の密度、薬剤の粘性および組成、個々の薬剤による組織の水和性等の要因に応じて、多かれ少なかれそのデリバリー軸から外部に浸透する。通常、薬剤が拡散する組織の部分は、個々のデリバリー軸に対し同軸の略円柱状領域である。

【0127】

< 方法 >

構成 (例えば、存在する場合には組織の位置で特定の針から放出された内容物の、特定の位置での効果の容易な特定が可能になるように、少なくとも 1 つの位置マーカーを多数の微小透析プローブまたは針の 1 つまたは複数の公知の位置に配置することによる) を含む、本明細書に記述される方法の使用により、したがってこれらおよび関連する実施形態は、同時に、多数の候補の治療剤をデリバリーしかつそれらの相対的な治療効力および/または毒性を比較する方法を企図する。そのような適用例は、潜在的な新しい治療薬を同定し機能的に特徴付けるため、前臨床動物モデルにおけるような、薬物のスクリーニングおよび薬物の発見に用途を見出すことができる。例えば、複数の *siRNA* を腫瘍内に投与することができ、それらの、所望の標的遺伝子の発現をノックダウンする相対的な能力を比較することができる。その他同様の実施形態は、例えば、特定の腫瘍に効果を発揮しない公知の治療剤を「選択解除」または検討から除外し、それによって、時間の損失と効果のないレジメンの投与に関連する可能性のある望ましくない副作用とを回避することにより対象の治療管理を有利に進めるために、臨床という文脈において用途を見出すことができる。

【0128】

あるその他の実施形態では、評価するステップは、固形組織の種々の断片の種々の特徴による、固形組織の種々の断片に対する複数の薬剤の少なくとも 1 種の効果の程度を差別化するステップを含む。あるその他の実施形態では、評価するステップは、固形組織に対する複数の薬剤の少なくとも第 1 の薬剤の第 1 の効果と、固形組織に対する複数の薬剤の少なくとも第 2 の薬剤の第 2 の効果とを比較するステップを含む。あるその他の実施形態では、評価するステップは、複数の薬剤の少なくとも 1 種に関し、固形組織の領域における効力、活性、および毒性の少なくとも 1 種を評価するステップを含む。あるその他の実施形態では、方法は、評価に基づいて複数の薬剤の少なくとも 1 種を選択解除するステップを含む。あるその他の実施形態では、方法は、評価に基づいて薬剤の少なくとも 1 種を選択するステップを含む。あるその他の実施形態では、方法は、評価に基づいて複数の薬剤の少なくとも 2 種に優先順位を付けるステップを含む。あるその他の実施形態では、方法は、複数の薬剤を、複数の対象のそれぞれにおける固形組織の 1 つの領域内の複数の平

行軸のそれぞれ1つに沿って、複数の位置に分布させるステップを含む。あるその他の実施形態では、方法は、(i)評価に基づいて複数の薬剤の少なくとも1種を選択するステップ、(ii)評価に基づいて複数の薬剤の少なくとも1種を選択解除するステップ、および(iii)評価に基づいて複数の薬剤の少なくとも2種に優先順位を付けるステップの1つを含む。あるその他の実施形態では、方法は、(i)評価に基づいて複数の対象の少なくとも1つを選択するステップ、(ii)評価に基づいて複数の対象の少なくとも1つを選択解除するステップ、および(iii)評価に基づいて複数の対象の少なくとも2つに優先順位を付けるステップを含む。あるその他の実施形態では、評価するステップは、複数の平行軸の少なくとも1本の付近にある固形組織の変化した生理学的状態のレベルを決定するステップを含む。

10

【0129】

ある実施形態では、1種または複数の薬剤の臨床試験に参加する適格性に関して対象をスクリーニングする方法であって、(a)1種または複数の薬剤を、1つまたは複数の対象における固形組織の1つの領域に、前記薬剤のそれぞれを各対象の領域内の軸に沿った複数の位置に体内(in vivo)で分布させることにより導入するステップ；(b)前記対象のそれぞれから固形組織の領域を取り出すステップ；および(c)領域内の軸に沿ったそれぞれの位置に対する各薬剤の影響に関し、(b)で取り出した各領域を評価するステップを含み、(i)任意の所与の1種または複数の薬剤に関し、対象から得た固形組織領域に対する前記1種または複数の薬剤の検出可能な効果が存在することにより、1種または複数の薬剤の臨床試験に参加する対象の適格性が示され、(ii)任意の所与の1種または複数の薬剤に関し、対象から得た固形組織領域に対する前記1種または複数の薬剤の検出可能な効果の不在により、1種または複数の薬剤の臨床試験への参加に対象が不適格であることを示し、または(iii)(i)および(ii)の両方であることを示す方法が提供される。

20

【0130】

ある実施形態では、充実性腫瘍を治療するための治療剤への開発のため候補薬剤を格付けする方法であって、(a)1種または複数の薬剤を、公知の腫瘍タイプの腫瘍を有するそれぞれ1つまたは複数の対象における公知の腫瘍タイプの充実性腫瘍の領域に、前記候補薬剤のそれぞれを各対象の領域内の軸に沿った複数の位置に分布させることにより導入するステップ；(b)充実性腫瘍の領域を前記対象のそれぞれから取り出すステップ；および(c)領域内の軸に沿ったそれぞれの位置に対する各候補薬剤の効果に関し、(b)で取り出された各領域を比較するステップを含み、腫瘍に導入されたときにより大きな有益な効果を発揮する薬剤が、充実性腫瘍を治療するための治療剤の開発においてより好ましい格付けを受け、腫瘍に導入されたときに有益な効果をそれほど発揮しない薬剤が、充実性腫瘍を治療するための治療剤の開発においてそれほど好ましくない格付けを受ける方法が提供される。

30

【0131】

本発明は、薬物の発見および薬理遺伝学での使用も含め、対象または対象集団の分類および/または階層化に有用な組成物および方法を提供する。これらおよび関連する実施形態では、所与の候補薬剤が充実性腫瘍に導入された位置に対する、変化した生理学的状態の1つまたは複数の指標の相関関係は、特定の治療的処置に対する対象の応答性またはその潜在的な効力を計測するのに使用することができ；関係する実施形態は、この手法を、腫瘍に導入された部位で変化した生理学的状態の証拠が検出されない候補薬剤の「選択解除」のためまたはこの候補薬剤の潜在的療法としての検討からの除外を企図するものとする。

40

【0132】

本明細書に記載されている通り、変化した生理状態の少なくとも1種の指標のレベルの決定を用いて、臨床試験参加の適格性に関して対象集団を層別化してもよい。上述および関連する実施形態は、現在の事例よりも初期段階の発症における候補治療化合物の評価に関連する利点を有利に提供するものとして企図されている。例えば、第III相試験の前

50

にバイオマーカーパラメータ（対象排除の基盤となり得る）を確立することは現在の標準臨床試験実施ではないが、一方、本明細書に記載されている実施形態は、例えば、第ⅠⅠ相において確立されたバイオマーカー判断基準なしでも有用な結果を生じることができる。したがって、本発明において開示されている特定の実施形態の実施により、固形腫瘍の腫瘍学的薬物開発プログラムにおいて、特定の候補薬剤に対する非応答者の結果に基づき、応答がないあるいは利益が期待できない対象を臨床試験から時間効率的かつ費用効果的に排除させる様式等により、以前の事例よりも早く候補薬剤の特性に関する関連情報を得ることができることが想定される。

【0133】

例えば、本明細書に記載されている通りに決定される、変化した生理状態の少なくとも1種の指標のレベルに従った対象集団の層別化は、がん対象において用いられる任意の候補治療剤の有効性と相関させるためおよび／または対象を応答者、非応答者または可能性のある応答者として分類するために有用なマーカーを提供することができる。

10

【0134】

<データ獲得と分析>

いくつかの実施形態では、固形組織内の標的領域が、薬剤の効果を評価するために周知の技術を用いて画像化されることが考察される。画像処理は、例えば放射線画像法、磁気共鳴画像法、ポジトロン放出断層撮影、生物フォトンイメージングなどを含む任意の好適なプロセスまたは方法によってであってよい。

【0135】

画像処理において、レポーターシグナルのレベルは、当業者に周知の方法によって定量されうる。レポーティングシグナルの観察および／または定量は、治療剤の使用および有効性に関する情報に基づく研究および医療上の判断を行うために用いられうる。そのような観察により行われる場合がある判断の非限定的例は、流体容量品質管理、位置的追跡および薬物体内分布を含む。そのような実験は、ヒトにおける潜在的治療剤の活性に関して情報に基づいた予測を行うために用いられうるレポーティングシグナルを提供するために下等哺乳動物（例えばマウス）において実施されうる。この種の動物研究は、天然環境の代わりに管理された環境下の細胞において薬物有効性研究を実施することによって生じる固有の不確実性および不正確性を回避するために用いられうる。

20

【0136】

蛍光シグナルの定量は、当技術分野において周知の任意の方法によって達成されうる。蛍光シグナルは、生物経路の上方制御または下方制御を決定するために標準または対照と比較されうる。そのような観察は、薬物候補の治療価値に関する予測を行うために用いられうる。

30

【0137】

本明細書に記述されるある実施形態は、薬剤を対象の固形組織に導入すること、および／または対象から固形組織の全てもしくは一部を切除すること、および／または1つもしくは複数の生体サンプルを対象内にあるとすることができる固形組織から得ること、および／または1つもしくは複数の対象を臨床試験適格性に関してスクリーニングすること、および／または対象もしくは生物学的供給源を含めた対象を含むことができる任意の数のその他の方法に関する。

40

【0138】

対象または生物学的供給源は、ヒトまたはヒト以外の動物、トランスジェニックまたはクローン化または組織工学（幹細胞の使用を含む）生物体、初代細胞培養物または培養適合細胞系であって染色体により一体化されたまたはエピソーム組換え核酸配列を含有できる遺伝子組換え細胞系を含むがこれらに限定されないもの、不死化または不死化可能な細胞系、体細胞混成細胞系、分化または分化可能な細胞系、および形質転換細胞系などとしてすることができる。本発明のいくつかの実施形態では、対象または生物学的供給源は、悪性状態を有するリスクを有しまたはそのリスクがあることが疑われる可能性があり、本発明のいくつかの実施形態では、対象または生物学的供給源は、そのような疾患の

50

リスクまたは存在がないことを知ることができる。

【0139】

本明細書に開示されるいくつかの実施形態は、固形組織への流動相薬剤の選択的デリバリーのための方法に関する。上記にも示されるように、そのような選択的デリバリーは、所望の固形組織内で治療有効濃度を実現するために、過剰な全身濃度の療法または候補薬剤を必要とせず、それによって、関係のない組織に対する臨床上有害な毒性が回避され、望ましくない副作用も回避される。関連する実施形態は、固形組織へのそのような選択的デリバリーによる、現在認可されていない候補薬剤の試験を企図するものである。理論に拘泥するものではないが、これらの実施形態によれば、固形組織（例えば、充実性腫瘍）に対する候補薬剤の直接的な効果は、固形組織への直接投与に使用される用量が通常なら全身投与され得る最小用量よりもはるかに低いので、対象の健康に脅威を与えることなく、体内（*in vivo*）投与およびその後に行われる切除組織の体外（*ex vivo*）分析によって評価することができる（最小用量は、所望の生理学的効果を対象で発揮することになる、薬剤の最も小さい量である）。流体投与の本発明の形態の最小体積および低圧と、投与された流体の保持を助長する物理的性質としての固形組織の完全なまたは部分的な自明性を考えると（既存の方法によって、例えば撮像によっておよび/またはトレーサーとしての検出可能な標識の使用によっても決定可能）、本開示により固形組織に選択的に投与される薬剤は、固形組織の外側では検出不可能であるか、または固形組織の外側で検出可能な場合には薬剤が最小用量よりも少なく（統計的に有意な状態で）存在する。

10

20

【0140】

そのような考察は、関連ある実施形態に関係し、1種または複数の薬剤を導入した後の、変化した生理学的状態の固形組織での検出は、固形組織内での（1種または複数の）薬剤の浸透の程度を検出すること、組織内での（1種または複数の）薬剤の吸収の程度を検出すること、組織に対する（1種または複数の）薬剤の物理化学的効果を検出すること、および/または組織に対する（1種または複数の）薬剤の薬理学的効果を検出することを含む。蛍光アッセイを含む、固形組織への薬物の浸透または溶け込みのアッセイは、当技術分野において周知であり、記載されており（例えばKerrら、1987 *Canc. Chemother. Pharmacol.* 19:1およびこれに引用される参考文献；Nedermanら、1981 *In Vitro* 17:290；Durand、1981 *Canc. Res.* 41:3495；Durand、1989 *JNCI* 81:146；Tunggalら、1999 *Clin. Canc. Res.* 5:1583）、例えば切り出しおよび切片化の前に対象の薬剤と共に固形組織に共投与された検出可能な標識の組織学的系列切片における検出を通じて本開示によりさらに構成されうる。

30

【0141】

そのような実施形態では、浸透または溶け込みは、薬剤が灌流（任意の血管による進入および分散）を排して導入された針のすぐ近くの固形組織における薬剤保持の領域に関連し、細胞外空間もしくは細胞外マトリクスにおけるまたは細胞膜もしくは細胞内との会合における薬剤の保持を含みうる。浸透は、針の挿入もしくは流体注射のそれ自体から生じる顕微鏡的に検出可能な組織の機械的破壊を意味する物理化学的作用、または薬剤によって生じる非生物学的機械的なもしくは化学的な組織破壊（例えば細胞膜への損傷または細胞-細胞結合の統合崩壊）とは区別されうる。薬理学的効果は、薬剤の作用の分子機構の結果として検出可能である細胞または組織の生理的状态の統計的に有意な変化（例えば細胞骨格再構築、細胞性プロセシングの伸長もしくは中止または多数の周知の細胞骨格的、生化学的、分子生物学的もしくは他の読み値のいずれかをを用いて検出されうる生物学的シグナル伝達の証拠）を含む。系列切片の比較は、組織学的に検出される効果の性質を区別できるようにする。

40

【0142】

いくつかの実施形態は、固形組織が腫瘍を含むものを含み、薬剤デリバリーを充実性腫瘍に対して行うことができかつ/または充実性腫瘍からのサンプルの回収を行うことがで

50

きるものである。本明細書の開示から、本明細書に記述されるある実施形態を実施する過程において、腫瘍の選択された領域は、本発明により記述されるデバイスの針が挿入され導入されまたはその他の方法で腫瘍に接触する部位を含むことができることが、当業者に理解されよう。領域は、針の挿入、導入、もしくは接触のステップの前、最中、もしくは後に実施することができる撮像に基づいて、または対象から固形組織を切除する前、最中、もしくは後に実施される撮像に基づいて、または解剖学的位置、外科処置の過程における接触性、血管新生の程度、もしくはその他の基準を含むがこれらに限定されないその他の基準に基づいて、これらも含めた任意の数の基準に基づき選択することができる。

【0143】

任意のタイプの充実性腫瘍は、本明細書に記述されるデバイスを使用した介入に適しているものとして企図される。いくつかの実施形態では、充実性腫瘍は、良性腫瘍または悪性腫瘍とすることができ、これらはさらに、原発性腫瘍、侵襲性腫瘍、または転移性腫瘍とすることができる。ある実施形態は、前立腺がん細胞、乳がん細胞、結腸がん細胞、肺がん細胞、脳がん細胞、および卵巣がん細胞の1種を含む充実性腫瘍を企図するものであるが、本発明はそれらに限定するものではなく、その他の充実性腫瘍タイプおよび癌細胞タイプを使用することができる。例えば、腫瘍は、腺腫、腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、小細胞癌、大細胞未分化癌、軟骨肉腫、および線維肉腫、または同様のものから選択されたがんを含むことができる。本明細書の他の箇所に記載されるように、当技術分野で受け入れられる臨床診断基準は、米国国立癌研究所 (Bethesda, MD, USA) により公表されたもの、または DeVita、Hellman、および Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology (2008, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia/Ovid, New York); Pizzo および Poplack, Principles and Practice of Pediatric Oncology (第4版、2001, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia/Ovid, New York); Vogelstein および Kinzler, The Genetic Basis of Human Cancer (第2版、2002, McGraw Hill Professional, New York) に記載されるものなど、これらおよびその他のがんのタイプに関して確立されている。特定のがんのタイプ分けおよび特徴付けのその他の非限定的な例は、例えば、Ignatiadis ら (2008 Pathobiol. 75:104); Kunz (2008 Curr. Drug Discov. Technol. 5:9); および Auman ら (2008 Drug Metab. Rev. 40:303) に記載されている。

【0144】

ある特定の本発明で企図される実施形態によれば、治療剤の効力は、Hanahan および Weinberg (2000 Cell 100:57) とそこに引用された参考文献により検討されたものなど、がん細胞に特徴的ないくつかの生物学的パラメータのいずれかを評価することも含め、本明細書に提示されるような変化した生理学的状態を検出することによって、明らかにすることができる。がん細胞によって示される1つまたは複数の特色に対する候補薬剤の効果を決定するのに有用であり、かつ (i) アポトーシスを回避する能力、(ii) 成長シグナルでの自己充足性の獲得、(iii) 成長阻害シグナルに対する不感受性、(iv) 組織侵襲性および転移性表現型の獲得、(v) 制限のない反復可能性、および (vi) 持続型血管形成の1つまたは複数を決するための当技術分野で公知の様々な技法のいずれかによって検出可能な、がん細胞の特徴がある。当業者なら、特定の切除された腫瘍系に適合することができる、生理学的状態のこれら変化の存在を検出するための多数の手法に馴染みがある。例えば、Bonifaciano ら (編) Current Protocols in Cell Biology, 2007 John Wiley & Sons, NY; Ausubel ら (編) Current Protocols in Molecular Biology, 2007 John Wi

10

20

30

40

50

ley & Sons、NY; Coliganら(編)、Current Protocols in Immunology、2007 John Wiley & Sons、NY; Robinsonら(編)、Current Protocols in Cytometry、2007 John Wiley & Sons、NYを参照されたい。
 変化した生理学的状態を明らかにするためにアッセイすることができるパラメータの非限定的な例には、細胞生存性、細胞分割、アポトーシス、壊死、細胞表面マーカー発現、細胞活性化状態、細胞外基質(ECM)成分またはECM分解酵素の細胞生成、形態計測分析、細胞過程の延長または短縮、細胞骨格再組織、変化した遺伝子発現、例えば免疫組織化学的なin situハイブリダイゼーションによるもの(例えば、Shibataら、2002 J. Anat. 200:309)および細胞内リントンパク質局在化(例えば、Gavetら、1998 J Cell Sci 111:3333)によるものなどのアッセイが含まれる。

【0145】

ある場合には、薬剤の選択/選択解除は細胞アポトーシスに基づく。細胞アポトーシスに基づく薬剤の選択または選択解除に関する閾値は、使用されるがん治療剤および/または腫瘍の性質もしくはサイズに依存する可能性がある。例えば実験は、薬剤を含有する流体溶液および対照(薬剤対照のない同じ溶液)を、固形組織の隣接位置に同時にデリバリーすることによって実施することができる。選択された期間の後、引き続き細胞アポトーシスに対する薬剤または対照の効果を比較する。いくつかの実施形態では、がん治療剤は、がん治療剤のない対照に比べ、約1%、約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%未満の細胞アポトーシスが観察された場合、さらなる評価から選択解除される。いくつかのその他の実施形態では、がん治療剤は、がん治療剤のない対照に比べ、約1%、約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%超の細胞アポトーシスが観察された場合、さらなる評価のために選択される。

【0146】

本開示は、対象の固形組織、特に充実性腫瘍に対する抗がんまたは抗腫瘍薬の効果を評価する方法を提供する。いくつかの実施形態では、評価は、薬剤デリバリー部位の約15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2.5、2、2.0、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1、1.0、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、または0.05 mm以内の領域に対する薬剤の効果の分析に基づく。効果は、変化した生理学的状態、バイオマーカーの存在もしくは不在、または細胞アポトーシスであってもよい。評価に基づいて、薬剤および/または対象をさらなる研究のために選択または選択解除してもよい。

【0147】

本開示は、少なくとも1種の薬剤を異なる濃度で、固形組織内の隣接位置に分布する方法にも関する。いくつかの実施形態では、1種の薬剤を、2、3、4、5、6つ、またはそれ以上の異なる濃度で、固形組織内の隣接位置に分布させる。選択された期間の後、固形組織を切除し評価する。選択された期間は、少なくとも6、12、18、24、36、48、72、96時間またはそれ以上の長さであってもよい。評価に基づいて、固形組織に対して効果を発揮する薬剤の最小濃度を決定することができる。例えば腫瘍の場合、抗腫瘍効果を発揮する潜在的な抗腫瘍薬の最小濃度は、薬剤を種々の濃度で腫瘍に注入することによって決定することができる。この情報は、医師が患者にとって最適な投薬計画を設計するのを助けることができる。

【0148】

図6は、本発明の一実施形態を示す。腫瘍620の一部が、デリバリー軸の実質的に直

交して存在する平面に沿って、複数の切片 6 2 2 に切り取られている。カラム形状のデリバリー領域 6 2 4 は、それぞれの薬剤が透過する領域を画定し、断片 6 2 2 の平面に垂直に延びる。

【0149】

領域 6 2 4 の多くは、使用者が容易に検出可能ではなく、したがって一般に、少なくとも 2 つの容易に検出可能な位置マーカー 6 2 4 a、6 2 4 b が、広く離間した位置で注入される薬剤の中にある。ある場合には、検出可能な位置マーカーは、少なくとも 1 種の追加の薬剤と同時に注入される。次いで使用者は、デリバリー軸のそれぞれの位置がマークされている鑄型を重ね、鑄型に示されるマーカーの位置を、所与の断片 6 2 2 の検出可能な位置マーカー 6 2 4 a、6 2 4 b に位置合わせし、それによって、残りのデリバリー領域 6 2 4 を位置付けることができる。位置マーカー 6 2 4 a、6 2 4 b は、使用者により検出可能な任意の組成物とすることができる。様々な例示的な位置マーカーについて、本開示の他の箇所で詳述する。実施形態によれば、位置マーカーは、例えば 6 2 4 a で示されるように、周囲組織への透過および拡散に抵抗するように選択され、かつ細かいカラム内で濃縮されたままになるように選択され、その結果、注入手順の後で長期にわたり検出可能になり、かつ鑄型を位置決めするのに正確な案内を行うことができるようになる。あるいは、位置マーカー 6 2 4 a、6 2 4 b は、針または微小透析プローブにコーティングされた色素染色剤であってもよい。針または微小透析プローブの挿入は、挿入部位での固形組織の染色を行うことができる。さらに微小透析プローブの場合、着色したストリングを微小透析プローブに装着してもよい。薬剤を固形組織にデリバリーした後、微小透析プローブを固形組織内で引っ張り、その結果、着色されたワックスストリングにより注入部位が染色される。

10

20

【0150】

位置マーカーの他に、対照薬剤が、注入される薬剤の中にあってもよい。例えば陰性対照は、薬剤のその他の中に賦形剤として使用される物質を含むことができ、陽性対照は、その他のデリバリー軸で個々にデリバリーされる薬剤のほとんどまたは全ての化合物を含むことができる。

【0151】

腫瘍 6 2 0 の断片化の後、使用者は、後でより詳細に記述されるように、腫瘍 6 2 0 の様々な断片 6 2 2 のデリバリー領域 6 2 4 に関して、選択されたアッセイを実施する。本明細書に開示されるデバイスおよび方法の 1 つの利益は、腫瘍に対する所与の薬剤の効力を評価することの他に、様々なデリバリー領域 6 2 4 での薬剤の効力を評価し比較できることである。さらに、腫瘍の様々な部分に対する所与の薬剤の効果を、垂直にかつ水平に評価することができる。例えば断片 6 2 2 a でのデリバリー領域 6 2 4 c における薬剤の効果と、断片 6 2 2 b および 6 2 2 c での同じ領域 6 2 4 c での薬剤の効果とを比較することにより、垂直に生じ得る異なる組織組成物に対する薬剤の効果を差別化することができる。同様に、同じ薬剤を、アレイ状になっているいくつかのデリバリー軸、例えば 6 2 4 c および 6 2 4 d でデリバリーすることができ、次いで所与の断片 6 2 2 におけるそれらの位置での相対的な効果を比較することができ、水平方向での差別化を行うことができる。当技術分野で周知のように、生体組織は、比較的小さい距離上にあっても均質であることはまれである。所与の薬剤は、腫瘍のいくつかの組織構造に対して実質的に効果を発揮することができず、一方、その他の構造に対しては極めて有効であると考えられる。そのような差別的な効果は、上述のように検出し評価することができる。

30

40

【0152】

評価することができる、別の価値ある態様は、多数の薬剤が組織内で相互作用する領域での、多数の薬剤の効果である。デリバリー領域 6 2 4 e および 6 2 4 f は、他よりも密集した状態の間隔で配されており、その結果、それぞれの薬剤は、それぞれのデリバリー領域が重なっている領域 3 2 4 e f で相互作用する。

【0153】

< バイオマーカー >

50

本開示は、細胞によって分泌されたバイオマーカーを測定することによって、腫瘍細胞または腫瘍原性細胞の生理学的状態の変化を評価するための方法を具体化する。細胞は、オートクリン、パラクリン、またはエンドクリンを含む可溶性因子とすることができるバイオマーカーを分泌することによって、生理学的きっかけに連絡し応答することができる。腫瘍細胞または腫瘍原性細胞は、生理学的状態の変化の前、最中、または後で、医学の分野で公知の複数のバイオマーカーを分泌してもよい。バイオマーカーは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、RNA、DNA、核酸、プロテオグリカン、脂質、小有機分子、小無機分子、またはイオンとすることができる。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、遺伝子発現として転写レベルでまたはタンパク質レベルで測定することができる。経時的に、本明細書に記述されるバイオマーカーを測定し検出することにより、かつその測定値を医学の分野で公知のバイオマーカーに関連付けることにより、細胞死、細胞増殖、細胞シグナル伝達プロセス、または細胞応答などの、腫瘍細胞または腫瘍原性細胞の生理学的状態または生理学的状態の変化を決定することができる。

【0154】

腫瘍細胞または腫瘍原性細胞の死は、アポトーシスまたは壊死を介するものとして行うことができる。アポトーシスは、プログラミングされた細胞死のプロセスであり、細胞死受容体媒介型外因性経路またはミトコンドリア指向型内因性経路のいずれかを介して活性化されてもよい。遺伝子発現またはタンパク質レベルで測定することができる、アポトーシスのバイオマーカーの非限定的な例には：カスパーゼ2、3、7、8、9、および10などの活性化カスパーゼファミリー；腫瘍タンパク質53 (p53)、ホスファール-p53、p73、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤1 (p21-waf1)、およびホスファール-H2AX / Ser 139 (pH2AX)；Bcl-2などのB-細胞リンパ腫2 (Bcl-2)ファミリーメンバー、B-細胞大型リンパ腫 (Bcl-XL)、Bcl-xs、Bcl-W、および誘導性骨髄白血病細胞分化タンパク質 (Mcl-1)；Bcl-2関連Xタンパク質 (Bax) およびBcl-2相同拮抗体/キラー (Bak) などのプロアポトーシスタンパク質ファミリー；Bcl-2相同性 (BH) ドメインファミリー、例えばBH1、BH2、BH3、BH4、Bcl-2-関連死プロモーター (Bad)、アポトーシスのp53上方制御モジュレーター (PUMA)、NOXA、Bcl-2修飾因子 (Bmf)、Bcl-2相互作用キラー (Bik)、Bcl-2-関連卵巣キラー (Bok)、細胞死のBcl-2相互作用メディエーター (Bim)、およびBH3相互作用ドメイン死作動体 (Bid)；アポトーシスタンパク質のモジュレーター、例えば、アポトーシスプロテアーゼ活性化因子1 (APAF-1)、アポトーシス誘導因子 (AIF)、アポトーシスの阻害剤 (IAP) であって例えばcIAP1、cIAP2、Cp-IAP、Op-IAP、XIAP、NAIP、サバイビン、およびカスパーゼの第2のミトコンドリア誘導活性化因子 (SMAC)；8-ヒドロキシ-2-デオキシグアノシンおよび3-ニトロチロシンなどのDNA酸化損傷の程度を測定するマーカー；アポトーシスに関連するその他のバイオマーカー、例えばシトクロームc、N-ヒドロキシ-L-アルギニン (NOHA)、14-3-3タンパク質、腫瘍壊死因子 (TNF) 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL)、反応性酸素種 (ROS)、外面化ホスファチジルセリン、シトケラチン、ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ、ヌクレオソームDNA、アポトーシス抗原1 (Apo-1)、TNF受容体スーパーファミリー、メンバー6 (Fas)、Fasリガンド (FasL)、Fas関連死ドメインタンパク質 (FADD)、ホスホリル化-FADD、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ-イソ酵素 (Gst-)、-ガラクトシダーゼ、およびホスホリル化網膜芽細胞腫抑制タンパク質などが含まれる。

【0155】

壊死は、細胞または組織の早期の死であり、細胞または組織の外部の因子によって引き起こされる可能性がある。細胞の炎症応答などのその他の生理学的現象は、壊死によって誘発される可能性がある。遺伝子発現またはタンパク質レベルで測定することができる腫瘍細胞または腫瘍原性細胞の壊死に関連したバイオマーカーの非限定的な例には、腫瘍壊死因子 (TNF)、カケクシン、カケクチン、リンホトキシン、シクロフィリンA、イン

10

20

30

40

50

ターロイキン - 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、および17、1 - アンチトリプシン、コペプチン、ミエロペルオキシダーゼ、FLICE様阻害タンパク質 (FLIP)、転写の形質導入因子および活性因子 (STAT)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー、メンバー19 (TROY)、シクロオキシゲナーゼ (COX) - 1、COX - 2、細胞死因子、マクロファージ炎症タンパク質、マクロファージ活性化因子、マクロファージ遊走阻止因子、ニューロロイキン、免疫抑制因子、転移因子、オンコスタチン、オステオポンチン、インターフェロンI型、インターフェロン、インターロイキン1受容体拮抗タンパク質、CD70、CD30、CD40、4 - 1BBリガンド、エクトジスプラシン、B細胞活性化因子、核因子 - Bリガンドの受容体活性化因子 (RANKL)、およびリンホトキシンなどが含まれる。

10

【0156】

細胞死に関連したバイオマーカーの測定に加え、本開示はさらに、腫瘍細胞または腫瘍原性細胞の増殖/成長または有糸分裂活性に関連付けられるように、遺伝子発現またはタンパク質レベルで測定することができるバイオマーカーを測定する方法を提供する。本明細書に記述されるバイオマーカーの非限定的な例には、Aktタンパク質キナーゼB、Wilms腫瘍マーカー、網膜芽細胞腫 (Rb)、Ki - 67、増殖細胞核抗原 (PCNA)、セリン/トレオニンキナーゼ、ラパマイシンの哺乳類標的 (mTOR)、ニューロトロフィン、タンパク質Misp18、ミオスタチン、サイクリン依存性キナーゼ (Cdk) 1、2、4、および6、サイクリン依存性キナーゼ複合体2 (Cdc2 p34)、サイクリンD1、サイクリンD2、サイクリンD3、サイクリンE、サイクリンA、成長分化因子1、2、3、5、6、9、10、および15などが含まれる。

20

【0157】

細胞の生理学的状態は、複数のシグナル伝達経路によって多重に変調させることができる。シグナル伝達は、細胞外シグナル伝達分子またはリガンドが細胞表面受容体に結合し、さらに活性化したときに生じ、それによって応答をもたらす細胞内分子が変化する。いくつかの好ましい態様では、腫瘍細胞または腫瘍原性細胞のシグナル伝達変化に関連するバイオマーカーは、遺伝子発現またはタンパク質レベルで測定することができる。本明細書に記述されるバイオマーカーは、成長因子、酵素、シグナル伝達因子、リガンド、生物学的経路で発生した中間体分子、ホルモン、栄養素、膜貫通タンパク質、細胞外基質タンパク質、細胞内成分、およびタンパク質ホスホリル化の下流因子などとして、シグナル伝達経路に關与することができる。シグナル伝達バイオマーカーの非限定的な例には、ヒト表皮成長因子受容体 (HER) ファミリー分子、例えばHER1、3、および4など；ホスファチジルイノシトール3 - キナーゼ (PI3K) / タンパク質キナーゼB (Akt) シグナル伝達経路分子、例えばPI3K / AKT、微小管関連タンパク質キナーゼ (MAPK) / 細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) 経路分子、例えばMAPK、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ (MEK)、Ras、プロト - オンコジーンセリン/トレオニン - タンパク質キナーゼ (RAF)、ERK1および2など；ヘッジホッグ経路タンパク質、例えばソニックヘッジホッグ、デザートヘッジホッグ、インディアンヘッジホッグ、ヘッジホッグ相互作用タンパク質、平滑化タンパク質 (SMO)、Gli - 1、Gli - 2、Gli - 3、およびフォークヘッドボックスO (FoxO) - 1など；Wntシグナル伝達経路モジュレーター、例えばWnt1、2、2B、3、3A、4、5A、5B、6、7A、7B、8A、8B、9A、9B、10A、10B、11、16、Wnt1誘導性シグナル伝達経路タンパク質1 (Wisp - 1)、Wisp - 2、および - カテキンなど；副甲状腺ホルモン関連タンパク質、例えば悪性腫瘍の高カルシウム血ホルモン、副甲状腺ホルモン様腫瘍因子など；ホスファターゼおよびテンシンホモログ (PTEN)、セリン/トレオニン - タンパク質キナーゼ (SGK3)、真核翻訳初期化因子4E - 結合タンパク質1 (4E - BP1)、チミジンキナーゼ、成長ホルモン、ビルベートデヒドロゲナーゼリポアミドキナーゼイソ酵素1 (PDK1)、シトレート、窒化物酸化物、P70S6キナーゼ、グリコーゲンシンターゼキナーゼ3 (GSK - 3)、Src相同性2ドメイン含有 (SHC) 形質転換タンパク質1、CD117、血小板由来成長因子受容体 (

30

40

50

P D G F R)、 - 、 P D G F R - 、血管内皮成長因子受容体 - 2 (V E G F R - 2)、表皮成長因子受容体 (E G F R)、基質メタロプロテイナーゼ (M M P) - 1、C D 9、ケラチン 7、p 2 7、パラフィブロミン、B M I 1 ポリコームリングフィンガーオンコジーン (B m i - 1)、1 4 - 3 - 3、シスタチン - S A、精巢上体分泌タンパク質 E 4、乳清酸性タンパク質 (W A P) 4 ジスルフィドコアドメインタンパク質 2 (W F D C 2)、アジポネクチン、レブチン、レシスチン、アグーチシグナル伝達タンパク質、アグーチ関連タンパク質、アンジオポイエチン、アンジオスタチックタンパク質、システインに富むタンパク質 6 1、腎芽腫過発現タンパク質、ペプチド P H I、ペプチド Y Y、インスリン、グルコース、下垂体ホルモン、胎盤ホルモン、レラキシン、セクレチン、ウロコルチン、ウロテンシン、血管作動性腸ペプチド、オートクリン運動性因子、 - トロンボグロブリン、白血病阻害因子、白血球遊走阻害因子、リンホトキシン - 、エンドセリン、エンフリン、ブラジキニン、キニノゲン、タキキニン、ケモカイン、例えばケモカイン C、C C、C X C、および C X 3 C などが含まれる。

【 0 1 5 8 】

ある態様では、シグナル伝達経路を誘発させる、即ち細胞応答を変化させることが可能なバイオマーカーは、成長因子とすることができる。腫瘍細胞または腫瘍原性細胞を生理学的状態に関連付けるために遺伝子発現またはタンパク質レベルで測定することができる成長因子の非限定的な例には、エリスロポイエチン (E P O)、アンジオポイエチン (A n g)、幹細胞因子 (S C F)、血管内皮成長因子 (V E G F)、線維芽成長因子 (F G F)、神経成長因子 (N G F)、造血細胞成長因子、肝細胞成長因子、肝腫由来成長因子、遊走刺激因子、オートクリン運動性因子、表皮成長因子 (E G F)、インスリン様成長因子 1 (I G F - 1)、形質転換成長因子 (T G F)、軟骨成長因子 (C G F)、ケラチン細胞成長因子 (K G F)、骨格成長因子 (S G F)、骨芽細胞由来成長因子 (B D G F)、シトリン成長因子 (C G F)、コロニー刺激因子 (C S F)、インテグリン変調因子 (I M F)、血小板由来成長因子 (P D G F)、カルモジュリン、骨形態形成タンパク質 (B M P)、および組織阻害剤基質メタロプロテイナーゼ (T I M P) などが含まれる。

【 0 1 5 9 】

ある実施形態では、バイオマーカーが免疫組織化学 (I H C) マーカーである。測定することができる I H C マーカーの非限定的な例には、造血マーカー、乳癌マーカー、癌腫または中皮マーカー、結腸マーカー、中枢神経系マーカー、感染性疾患マーカー、ケラチンまたは上皮マーカー、肺マーカー、メラニン細胞マーカー、神経内分泌マーカー / その他のホルモン、その他の器官関連マーカー、予後のその他のマーカー、前立腺マーカー、間質マーカー、または腫瘍マーカーが含まれる。造血マーカーには：アネキシン A 1、B C L 2 濾胞性リンパ腫マーカー、B C L 6 濾胞中心 B 細胞マーカー、C D 1 0、C D 2 0、C D 2 3、C D 7 9 a、サイクリン D 1、ヘアリー細胞白血球マーカー、多発性骨髄腫オンコジーン 1、P A X - g B 細胞転写因子、Z A P 7 0、C D 3 4、C D 6 8、C D 9 9、C D 1 1 7、グリコホリン - A、ミエロペルオキシダーゼ、末端デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ、フォンビルブランド因子 V I I I、再生リンパ腫キナーゼ - 1、C D 1 5、C D 3 0、ファスシン、C D 4 5、C D 1 3 8、免疫グロブリン軽鎖、免疫グロブリン軽鎖、形質細胞 p 6 3、C D 1 a、C D 2、C D 3、C D 4、C D 5、C D 7、C D 8、C D 4 3、C D 5 6、C D 5 7、およびグランザイム B が含まれるが、これらに限定するものではない。乳癌マーカーには：A k t タンパク質キナーゼ、サイトケラチン 5、p 6 3、上皮抗原、カテプシン D、サイトケラチン 8、H M W サイトケラチン高分子量、サイトケラチン 5 / 6、サイトケラチン 7、サイトケラチン 1 9、サイトケラチン 2 0、E - カドヘリン、エストロゲン受容体、H E R 2 / n e u、K i 6 7 細胞増殖マーカー、p 5 3 腫瘍抑制遺伝子タンパク質、プロゲステロン受容体、および平滑筋アクチンが含まれるが、これらに限定するものではない。癌腫または中皮マーカーには：B E R - E P 4 上皮抗原、カルレチニン、E R A 上皮関連抗原、頸管または婦人科用マーカー、p 1 6 腫瘍抑制遺伝子タンパク質、P r o E x C バイオマーカー、T A G 7 2、およびウィルムス腫瘍マーカーが含まれるが、これらに限定するもので

10

20

30

40

50

はない。結腸マーカーには：表皮成長因子受容体、CDX2、マイクロサテライト不安定性マーカーであってMLH1、MSH2、MSH6、PMS2、およびp53などが含まれるが、これらに限定するものではない。CNSマーカーには：ヒトグリア細胞線維性酸性タンパク質およびニューロフィラメントが含まれるが、これらに限定するものではない。感染性疾患マーカーには：サイトメガロウイルス、単純ヘルペスウイルスI、II型、ピロリH、および水痘帯状ヘルペスウイルスが含まれるが、これらに限定するものではない。ケラチンおよび上皮マーカーには：サイトケラチン5/6、サイトケラチン7、サイトケラチン8/18、サイトケラチン19、サイトケラチン20、サイトケラチン高分子量、カルデスモン平滑筋、p63、コラーゲン9、平滑筋ミオシン、サイトケラチンカクテル、および上皮膜抗原が含まれるが、これらに限定するものではない。肺マーカーには：34BE12、HMWサイトケラチン高分子量、切除修復交差相補ポリペプチド、シナプトフィジン、および甲状腺転写因子-1が含まれるが、これらに限定するものではない。メラニン細胞マーカーには：HMBメラノーマ関連マーカー45、メラノーマカクテル、メラノーマ関連マーカー1、s100タンパク質、およびチロシナーゼが含まれるが、これらに限定するものではない。神経内分泌マーカーおよびその他のホルモンには：アンドロゲン受容体、カルシトニン、クロモグラニンA、G細胞幽門腔粘膜、ニューロン特異的エノラーゼ、ソマトスタチン、およびシナプトフィジンが含まれるが、これらに限定するものではない。その他の器官関連マーカーには：CEA癌胎児性抗原、カレクチン-3、粗大嚢胞性疾患流体タンパク質15、肝細胞抗原、副腎皮質インヒビン、および腎細胞癌腫マーカーが含まれるが、これらに限定するものではない。前立腺マーカーには：PIN2カクテル、PIN4カクテル、前立腺特異的抗原、前立腺酸ホスホラーゼ、およびp504s遺伝子産物が含まれるが、これらに限定するものではない。間質マーカーには：CD31、ポドプラニン、GIST1から誘導されたDOG1、デスミンフィラメントタンパク質、第XIIIa因子線維組織細胞、ヒトヘルペスウイルス8型、筋特異的アクチン、ミオゲニン筋マーカー、ミオグロビン心臓および骨格マーカー、s100タンパク質、平滑筋アクチン、平滑筋ミオシン、およびビメンチンが含まれるが、これらに限定するものではない。腫瘍マーカーには：デトタンパク質、Ca19-9、CA125上皮悪性マーカーおよびサバイビンが含まれるが、これらに限定するものではない。

【0160】

いくつかの実施形態では、遺伝子発現またはタンパク質レベルで測定することができるバイオマーカーは、代謝産物または代謝バイオマーカーである。代謝産物または代謝バイオマーカーの非限定的な例には：アデノシン三リン酸(ATP)、アデノシン二リン酸(ADP)、アデノシン一リン酸(AMP)、環状アデノシン一リン酸(cAMP)、グアノシン-5'-三リン酸(GTP)、グアノシン-5'-二リン酸(GDP)、グアノシン-5'-一リン酸(GMP)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸(NADP)、NADPH、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)、NADH、増殖細胞核抗原、グルコース、グルコース-6-リン酸、フルクトース-6-リン酸、フルクトース1,6-bリン酸、リボース-5-リン酸、エリスロース-4-リン酸、キシロース5-リン酸、グリセルアルデヒド-3-リン酸、セドヘプツロース7-リン酸、3リブロース-5-リン酸、1リボース-5-リン酸、ホスホエノールビルビン酸、2-ホスホグリセリン酸、3-ホスホグリセリン酸、1,3-ホスホグリセリン酸、ジヒドロキシアセトンリン酸、リンゴ酸、オキサロ酢酸、ケトグルタル酸、乳酸、グルタミン、アラニン、グルタミン酸、ビルビン酸、脂肪酸、アセチル-CoA、クエン酸、グリセロール、尿酸、コレステロール、エイコサノイド、糖脂質、リン脂質、スフィンゴ脂質、ステロイド、トリアシルグリセロール、アルブミン、インスリン、ジオール、Ros、NO、ビリルビン、ホスファールクレアチン、ケトン体、L-オルニチン、アルギニノコハク酸、フマル酸、L-アルギニン、尿素、カルバモイルリン酸、オルニチン、シトルリン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニラニン、トレオニン、トリプトファン、バリン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グリシン、プロリン、セレノシステイン、セリン、タウリン、チロシン、およびクエン酸などが

含まれる。

【0161】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーがイオンであってもよい。非限定的な例には、水素、カリウム、ナトリウム、カルシウム、塩化物、マグネシウム、炭酸水素、ホスフェート、ヒドロキシル、ヨウ素、銅、鉄、亜鉛、およびスルフェートなどが含まれる。

【実施例1】

【0162】

図7は、微小透析プローブの線形アレイを使用して、問題となっている標的(c-Met)を発現する生存可能なEBC-1腫瘍上皮を標的とする例を示す。プローブ/膜の長さは制御することができ、主に腫瘍の増殖ゾーンへの治療剤のデリバリーが可能になる。画像は、EBC-1細胞系異種移植片からのH&E染色切片のものである。EBC-1細胞は、c-Met増殖がある肺がん細胞系である。これらの異種移植片は、ヌードマウスで急速に成長し、白色で示されるように壊死およびa-細胞性の中心領域を発症する。c-Metを標的とするものである化合物の動作を評価するには、化合物を、腫瘍周辺付近の活性増殖ゾーンに向ける必要がある。図面は、微小透析プローブが腫瘍内をどのように通ることができるのか、かつ腫瘍の周辺エリアfのみにどのように配置できるのか、したがって、化合物の動作に無関係な腫瘍の領域ではなく問題となっている組織のみにおける、(1種または複数の)化合物の活性の適正な評価が可能になることを実証する。

10

【実施例2】

【0163】

図8は、長い微小透析膜を使用して、充実性異種移植片腫瘍における多数のゾーン/微小環境をサンプリングする例を示す。長い微小透析膜の使用により、充実性腫瘍の寸法全体および増殖勾配および多数の微小環境に投薬が行われる。これは、現行の技法よりも完全な3次元投薬である。この画像では、外円が、典型的には腫瘍の中でより増殖性のあるゾーンを表し、内円は、しばしばそれほど活性ではなくかつより密に充填された腫瘍の中心を表す。ここで、図面は、どの程度長く微小透析プローブが腫瘍の全長を通過できるのか、したがって、単一腫瘍の様々な組織/ゾーンのそれぞれに化合物をデリバリーして、局所腫瘍環境にばらつきがある場合には1種または複数の化合物の差別化された効果を評価することが可能になることを示す。

20

【実施例3】

【0164】

図9は、微小透析プローブを使用した用量決定の概略図を示す。固定時間にわたり薬物の連続ループを走らせることにより、チューブからの全透析液を収集し、HPLC、蛍光/吸光度などを使用して分析することにより、受動的拡散によりデリバリーされた治療剤の量を決定することができる。この図面では、腫瘍が2つの影の付いた円により表され、1つの円がもう1つの円の内側にある。微小透析プローブは、腫瘍の一方の側から他方の側に通過するカラムとして示され、チューブの閉ループがこの微小透析プローブに接続されて、底部の歯車によって表される蠕動ポンプを通過する。この設定により、濃度がわかっている化合物を、閉システム内に導入することが可能になる。このシステムでは、化合物を受動的にまたは能動的に腫瘍にデリバリーすることができると共に、腫瘍から閉ループシステムにシグナル伝達分子を収集することができる。したがって、所与の長さの時間が経過した後、閉システム内の流体を収集し分析して、開始濃度および最終濃度の差を決定することにより腫瘍にデリバリーされた薬物の正確な量を決定することができ、それと共に、腫瘍から微小透析プローブに押し出された分子の経時的な変化も決定することができる。

30

40

【実施例4】

【0165】

図10は、微小透析膜を利用した、複数回投薬システムの概略図を示す。この場合、プローブは、腫瘍の内部非増殖ゾーンを標的とする。プローブを通る第1の用量は、これらの以前の停止細胞における細胞周期を活性化するように設計された化合物をデリバリーする

50

と考えられる。次いで異なる化合物の第2の用量は、細胞周期に再進入したそれらの細胞に対する影響を評価するために、将来のある時点でデリバリーされると考えられる。この技法によれば、自然の腫瘍進行中に生じ得る腫瘍内での新しい細胞状態の設計製作が可能になり、それらの新しい細胞状態に対する化合物の効力を、引き続き評価することが可能になる。

【実施例5】

【0166】

図11は、押出し/注入技法を使用した、充実性腫瘍モデルの増殖ゾーンを標的とする概略図を示す。固定されたガイドは、押出し注入中に、腫瘍が針によって引き上げられないようにし；薬物配置の深さおよび長さは、挿入および押出し/デリバリーの距離によって支配される。この図面では、互いの内側にある影の付いた円が腫瘍を表す。ここでは、「固定ガイド」および「押出しアレイヘッド」と記された影の付いたボックス内を走る垂直線により表された、針が示されている。これらの針は、「押出しアレイヘッド」に取着され、針と同じ向きの「固定ガイド」内の穴を通過する。この設定により、多数の針および薬物の多数のカラムの平行な配置、ならびにそれらの針の、腫瘍の様々なゾーンへの精密な配置が可能になる。針の配置は、取着された定位デバイスを通して実現され、このデバイスは、「押出しアレイヘッド」に取着され、腫瘍内に化合物を配置したいと望む場所に応じてマイクロメートル単位で漸進的に上昇/下降させることができる。針が通過する「固定ガイド」は確実に、針を互いに同じ向きに留めると共に、針がその内部を移動するときに腫瘍を所定位置に固定するのを確実に行う。

10

20

【実施例6】

【0167】

図12は、腫瘍内の特定軸に沿って挿入された微小透析プローブの例を示す。進入点は、充実性腫瘍の外側にマークし、塊は、注入から24時間後に、Perkin Elmer製VivoTAG 680-SのIVISスペクトラムを介して撮像した。

【実施例7】

【0168】

図13は、誘発された細胞応答を明らかに示している、固形組織中の薬剤の配置を示す。これらの図には、デリバリー軸の周りのバイオマーカーパターンもあり、周囲組織への薬剤の分布も示している。挿入に起因した組織は破壊の証拠はほとんどまたは全く観察されなかった。膜は、挿入、マイクロトームによる断片形成も含めた組織の処理中に、その一体性を維持していた。充実性腫瘍は、ヒトリンパ腫Ramoss細胞系のマウス異種移植片である。バイオマーカーは、核染色用のDAPI、および細胞死用クリーブカスパーゼ3蛍光体555であって、デリバリー薬剤としてピンクリスチンに応答するものである。

30

【実施例8】

【0169】

図14は、標準的な注入方法と、本発明の原理を具体化した例示的な注入方法との、効率(図14a)、シグナル均一性(図14b)、およびカラム長(図14c)に関する結果の比較を示す。本実施例で言及される「新規な」方法は、本発明の原理を具体化した例示的な注入方法であり、以下に詳述されるように、固形組織から針を引き抜きかつエンドポート針で薬剤を同時に組織内に注入する。本実施例で言及される「標準的な」方法では、以下に詳述されるように、多孔質針を固形組織に挿入し、薬剤を注入する。注入される薬剤は、Perkin Elmer製VivoTAG 680-Sである。検出方法は、Perkin Elmer製IVISスペクトラムを介する。注入がなされる組織は、ヌードマウスのH2122またはRH30細胞系異種移植片である。

40

「標準的な」方法の実験詳細

5mmの長さの多孔質領域を有する26ゲージ多孔質針

流量0.70 μ L/分

針の垂直引込みはない

5マイクロリットル注入体積

50

「新規な」方法の実験詳細

BD Biosciences 製 25 ゲージエンドポート針

流量 0.70 μ L / 分

針引抜き速度 1 mm / 分

5 マイクロリットル注入体積

【0170】

図14aは、腫瘍の「最上部（トップ）」または背側と「底部（ボトム）」または腹側との半分ずつから得た各2mmの切片における、4点の注入箇所のを示す、腫瘍の数により定められた注入方法の「効率」を示す。

【0171】

図14bは、同じ2mmの腫瘍断片における注入点同士で、および異なる2mmの断片における注入点同士で、シグナル強度がどのように一定かによって定められた、「腫瘍内シグナル均一性」を示す。本質的に、この図は腫瘍内のシグナル強度の範囲を表し、100%では全てのスポットが同じ強度を示し、0%では2つのスポットが同じシグナル強度を持たないことを示す。測定は、Living Image software (Perkin Elmer) を使用して行った。

【0172】

図14cは、所与の点でシグナルを示す腫瘍の第1の切片から、その同じ点でシグナルを示す同じ腫瘍の最後の切片までの、距離によって測定したときの腫瘍内の蛍光カラムの垂直長さ (mm) を示す。

【実施例9】

【0173】

図15は、以下に列挙された各方法に関する、4つの注入点の最大値を超えた、目に見える注入点の平均数の比較を示す。注入された薬剤は、Perkin Elmer 製 VivoTag 680 S である。検出方法は、Perkin Elmer による IVIS スペクトラムであり、注入がなされた組織は、ヌードマウスの H2122 または RH30 細胞系異種移植片である。

【0174】

図16は、腫瘍の同じ断片における異なる注入点同士の蛍光シグナル強度の平均分散の比較を示し、以下に列挙される注入方法のそれぞれに関しては、シグナル強度を、Perkin Elmer 製 Living Image ソフトウェアを使用して測定した。分析される腫瘍断片は図15と同じものである。

< 実験詳細 >

方法 A :

BD Biosciences 製 25 ゲージエンドポート針

注入速度 0.70 μ L / 分

針引抜き速度 1 mm / 分

方法 B :

3 mm の長さの多孔質領域を有する 26 ゲージ多孔質針

注入速度 0.70 μ L / 分

針引抜き速度 1 mm / 分

5 マイクロリットルの注入体積

方法 C :

5 mm の長さの多孔質領域を有する 26 ゲージ多孔質針

注入速度 0.70 μ L / 分

針の垂直方向の引込みはない

5 マイクロリットルの注入体積

【実施例10】

【0175】

< 実験詳細 >

図17は、単純化した実験システムでの異なる注入方法を評価する結果を示す。

【0176】

<流体動態シミュレーション>

Comsol multiphysics 流体動態ソフトウェアをシミュレーションに使用した。流量、細孔サイズ、細孔数、針の長さ、流体粘度などの変数を操作して、針の外側の流体堆積に対する効果を決定した。モデル化は：S. Mokhtari、V. Kudriavtsev、M. Danna、「Flow Uniformity and Pressure Variation in Multi-outlet Flow Distribution Pipes」、ASME Vol. PVP-355、/K. K. Panahi 編、Advances in Analytical, Experimental and Computational Technologies in Fluids, Structures, Transients and Natural Hazards、ASME Pressure Vessels and Piping Conference、1997年7月、113~122頁に示されているものに類似していた。

10

【0177】

Gel Slabs への注入の実時間可視化

注入を実時間で行い、Canon EF-S 60mm Macro Lens を使用する Canon EOS Rebel T3i で可視化した。注入された色素は、全て、いつでも購入できる食品用色素であった。

20

FD&C Blue No. 1、Brilliant Blue FCF、EU# E133、

FD&C Green No. 3、Fast Green FCF、EU# E143、

FD&C Red No. 3、Erythrosine、EU# E12, 7

注入に使用されるゼラチンは、「パリスティックスゲル」として一般に公知であり、動物組織をシミュレートするよう設計されている。

【0178】

概略的な注入条件

流量 0.70 μ L / 分から 250 μ L / 分の間

【0179】

針引抜き速度 0.5 mm / 分から 1 mm / 20 秒の間、ならびに針の引込みはなし

30

【0180】

注入体積 3 ~ 5 マイクロリットル

【0181】

試験がなされた針の設計には、BD Biosciences 製 25 ゲージエンドポート針、BD Biosciences 製 23 ゲージエンドポート針、5 mm の多孔質領域を有する 26 ゲージ多孔質針、3 mm の多孔質領域を有する 26 ゲージ多孔質針が含まれた。変化し / 評価されるその他の因子は、ゲルの最上部にアレイによって加えられる圧力の量であった。注入は、それぞれ少なくとも 5 回繰り返し、垂直カラムを下降するコンシステンシーおよび均一流体分布、ならびにゲルの物理的破壊および注入部位からの流出 / 漏れについて評価した。

40

【0182】

方法1は、流体流量 0.70 μ L / 分、針引抜き速度 1 mm / 分、および 5 マイクロリットル注入体積で、BD Biosciences 製 25 ゲージエンドポート針を用いて実施した。方法2は、流体流量 0.70 μ L / 分、針引抜き速度 1 mm / 分、および 5 マイクロリットル注入体積で、3 mm の長さの多孔質領域を有する 26 ゲージ多孔質針を用いて実施した。方法3は、流体流量 0.70 μ L / 分、および 5 マイクロリットル注入体積で、5 mm の長さの多孔質領域を有する 26 ゲージ多孔質針による垂直方向の針の引込みのない状態で実施した。画像は、VivoTag 680 S (Perkin Elmer) が注入されたヌードマウスの、H2122 または RH30 細胞系異種移植片のもの

50

であり、IVISスペクトラム(Perkin Elmer)を使用して可視化した。

【実施例 11】

【0183】

図18は、3つの異なる注入方法の、蛍光および明視野画像を示す。注入は、ヌードマウスのH2122またはRH30細胞系異種移植片で実施した。注入された薬剤は、VivoTAG 680-S(Perkin Elmer)である。撮像およびシグナル検出は、IVISスペクトラム(Perkin Elmer)を使用して行った。

【0184】

最初の2列は、流体流量0.70 μ L/分、針引抜き速度1mm/分、および5マイクロリットル注人体積で、BD Biosciences製25ゲージエンドポート針により実施された方法から得た画像であった。第3列および第4列は、流体流量0.70 μ L/分、針引抜き速度1mm/分、および5マイクロリットル注人体積で、3mmの長さの多孔質領域を有する26ゲージ多孔質針により実施された方法から得た画像であった。第5列および第6列は、流体流量0.70 μ L/分および5マイクロリットル注人体積で、5mmの長さの多孔質領域を有する26ゲージ多孔質針による垂直方向の針引込みがない状態で実施された方法から得た画像であった。

【0185】

各列は、上述の所与の方法を使用して注入された1つの腫瘍からの、連続的な2mmの断片を示している。左から右に、断片は腫瘍の背側(即ち、針が最初に穿刺する腫瘍面)から出発し腫瘍の腹側に移動する。

【実施例 12】

【0186】

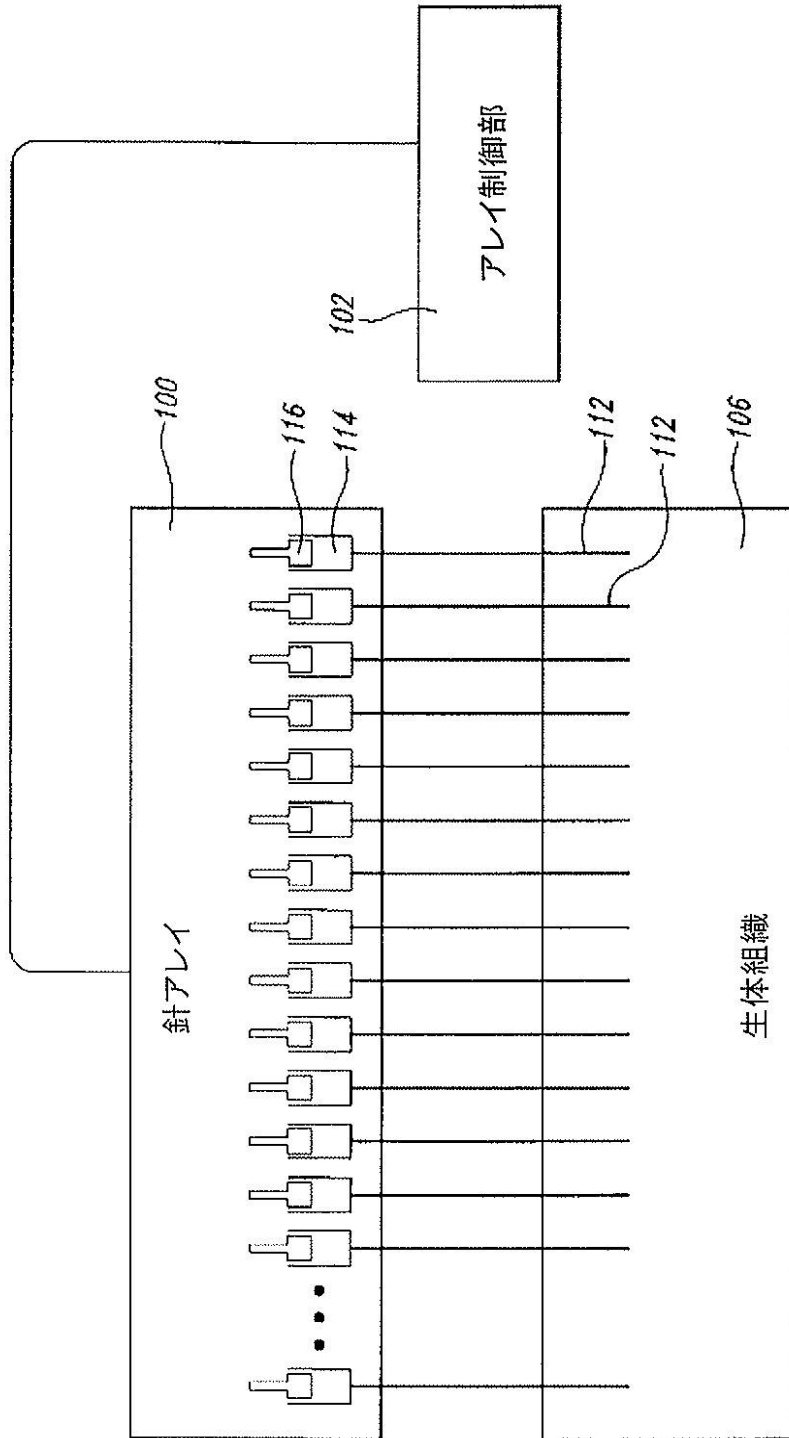
1つまたは複数の微小透析プローブの挿入は、針ガイドにより方向を定めた。針は、1つの微小透析プローブを受容するように構成された。針ゲージは、プローブの設計(上述のように線形またはY字形)に応じて選択された。所望の軸に沿って微小透析プローブを配置するために、下記のステップに従った: 1) 微小透析プローブを、針を投入するためにハブのない針に挿入し、プローブのフロント構成要素(線形プローブの出口チューブ)の全ては針の内側に隠されている; 2) ガイド針を、針の鋭い先端で皮膚および組織に侵入させることにより、充実性腫瘍に挿入する(一部の生物体の場合、入口チューブが露出したままにならないように、針を皮下から腫瘍に案内することが必要と考えられる。針は、線形プローブが灌流液収集のために出口チューブにより配置される場合、充実性腫瘍の全ての場所で穿孔することができ; または一般的な線形プローブ配置では、針は、所望の配置が実現されるまでプローブが内部を移動することのできるトンネルを生成することができる。); 3) 針を充実性腫瘍から引き抜き、したがって微小透析プローブを充実性腫瘍内に残す(線形プローブの配置の場合、出口チューブは針の引込み中は所定位置に保持されて、プローブを所定位置に残すことができるようになり; 入口チューブは針の除去中に末端プローブ(出口チューブではない)の所定位置に固定され; 針は、入口チューブから外に滑り出す); 4) (1つまたは複数の)チューブアダプタを、プローブの入口チューブに装着する; 5) 上述の流量で、蠕動ポンプにより、半透膜を横断する能動的なポンプ送出を行う; 6) ポンプチューブの切離しと、切断による、入口および出口プローブチューブの長さの調節であり、生物体上に残されるのが適切になる; 7) 追加の投薬の場合、チューブアダプタを入口チューブに再度装着し、ポンプに再度接続する。プローブは、組織学的処理のために充実性腫瘍内に残すことができ、または腫瘍から引き出すことができる。

【0187】

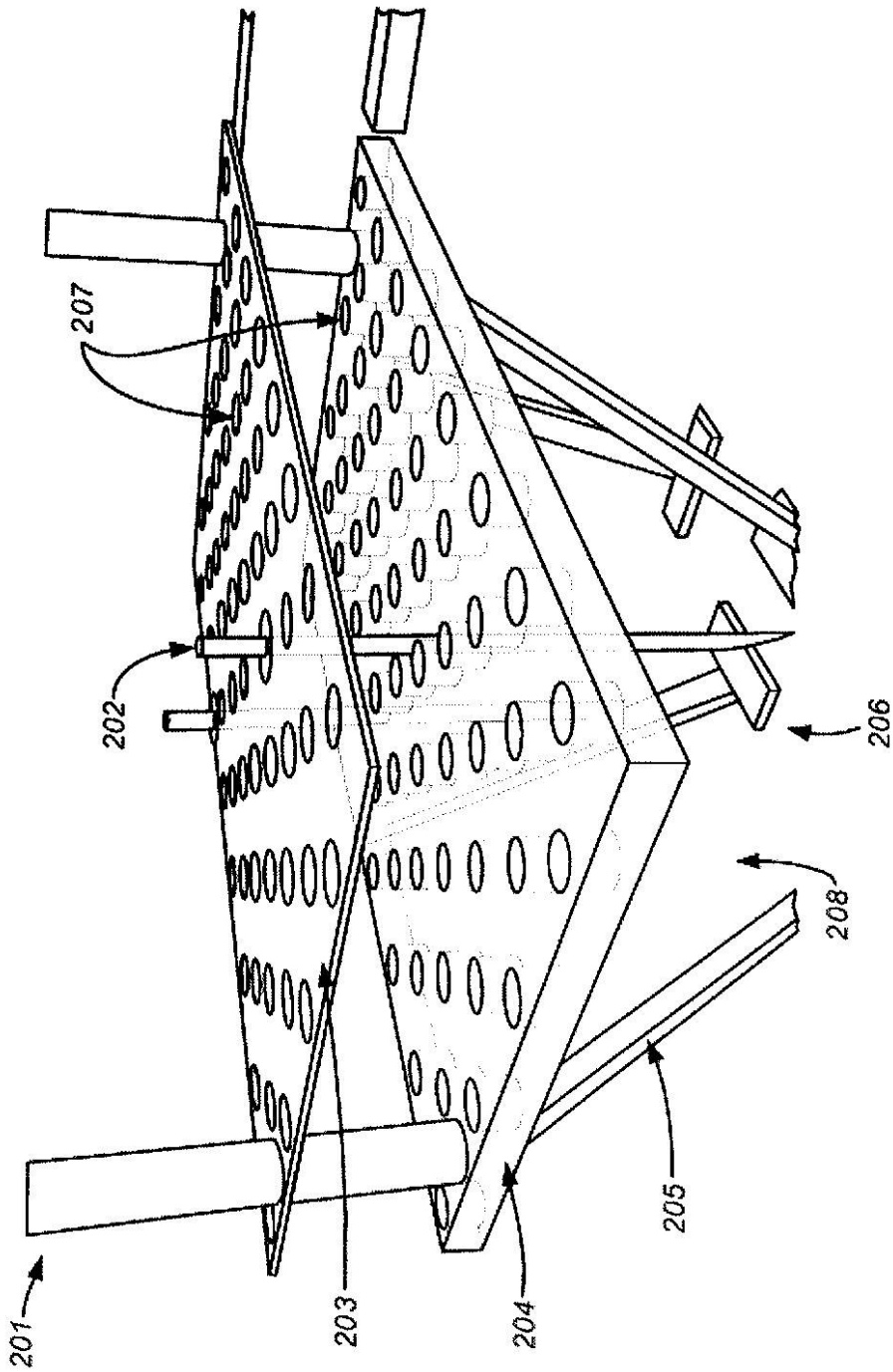
本発明の好ましい実施形態が本明細書に示され、記載されているが、そのような実施形態が例示の方法によってのみ提供されることは当業者に明らかである。多数の変形、変化および置換は本発明から逸脱することなく当業者に見出される。本明細書に記載の本発明の実施形態への種々の別法が本発明の実施において用いられうることは理解されるべきである。続く特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲の範囲内の

方法および構造物ならびにそれらの等価物はそれにより網羅されることが意図される。

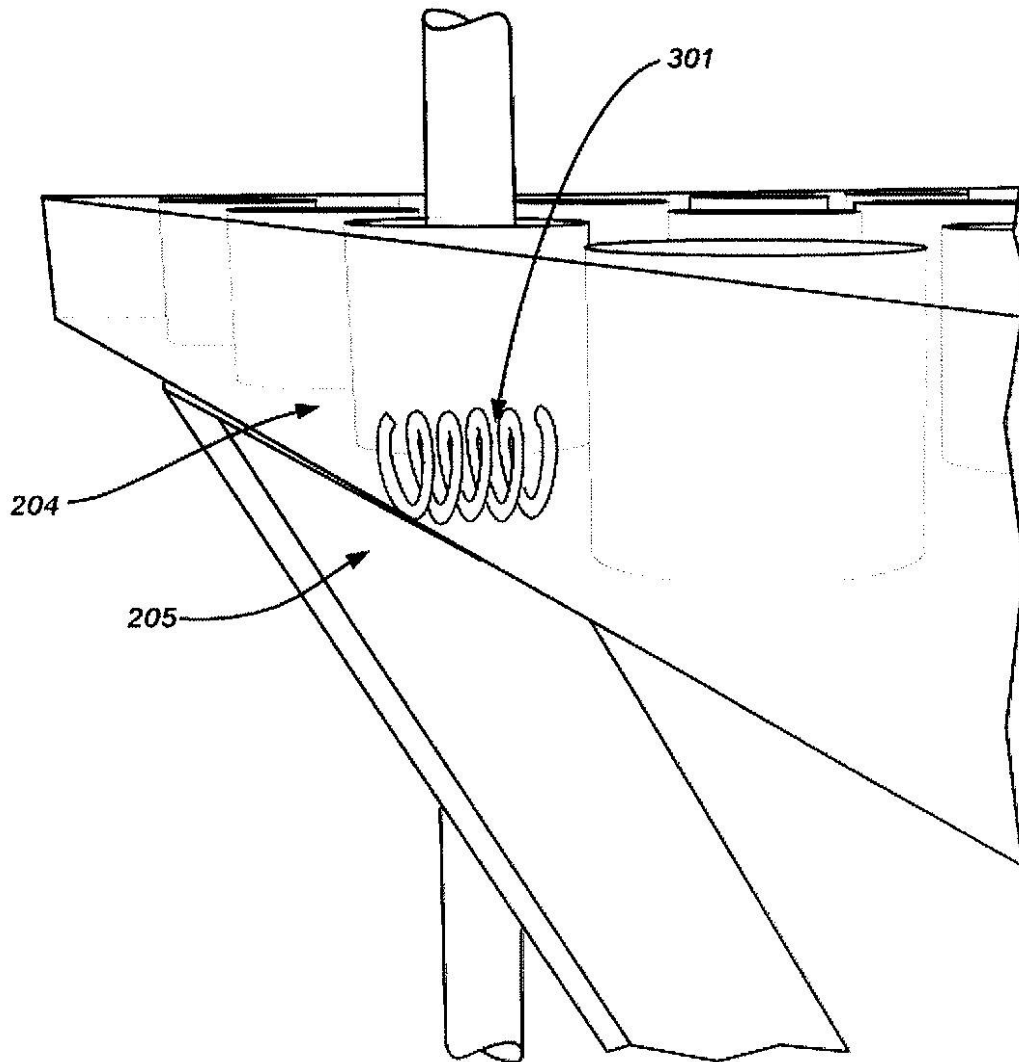
【図 1】



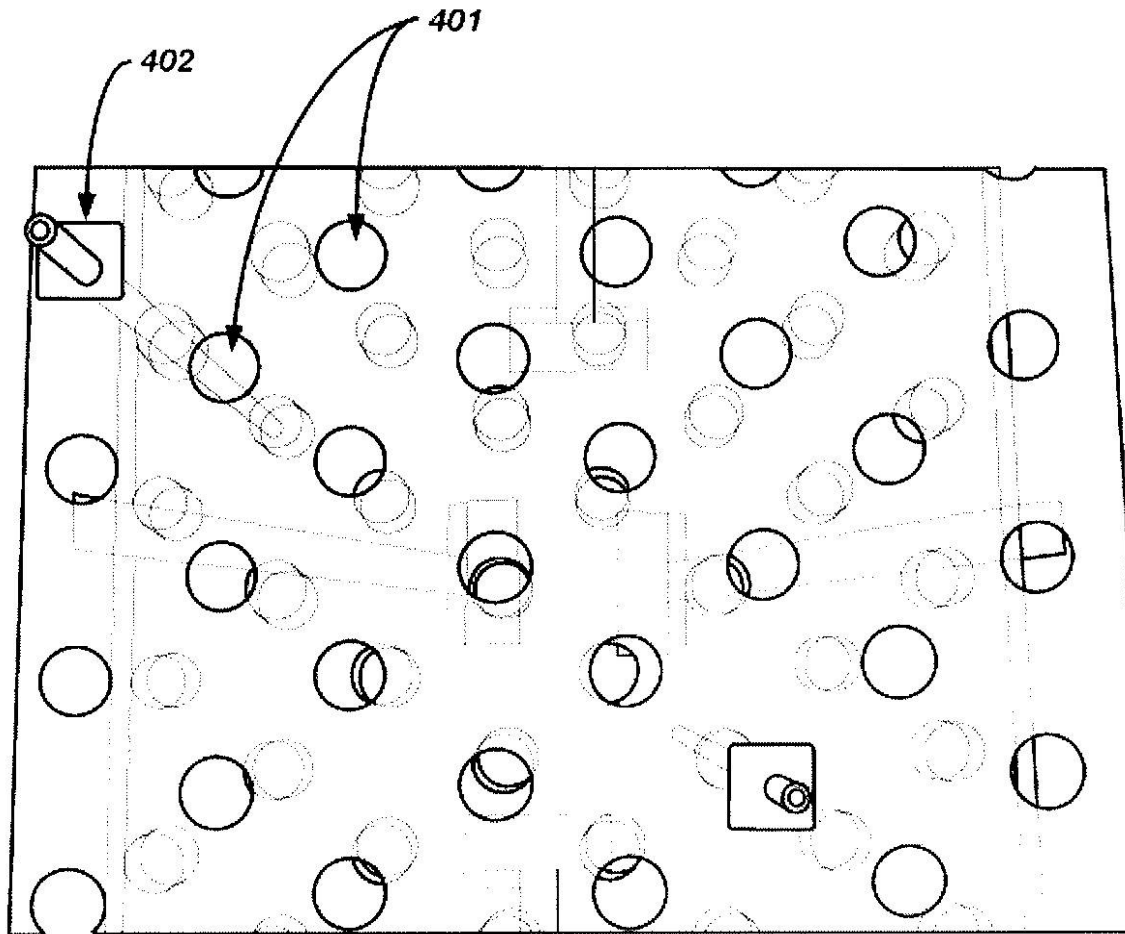
【図 2】



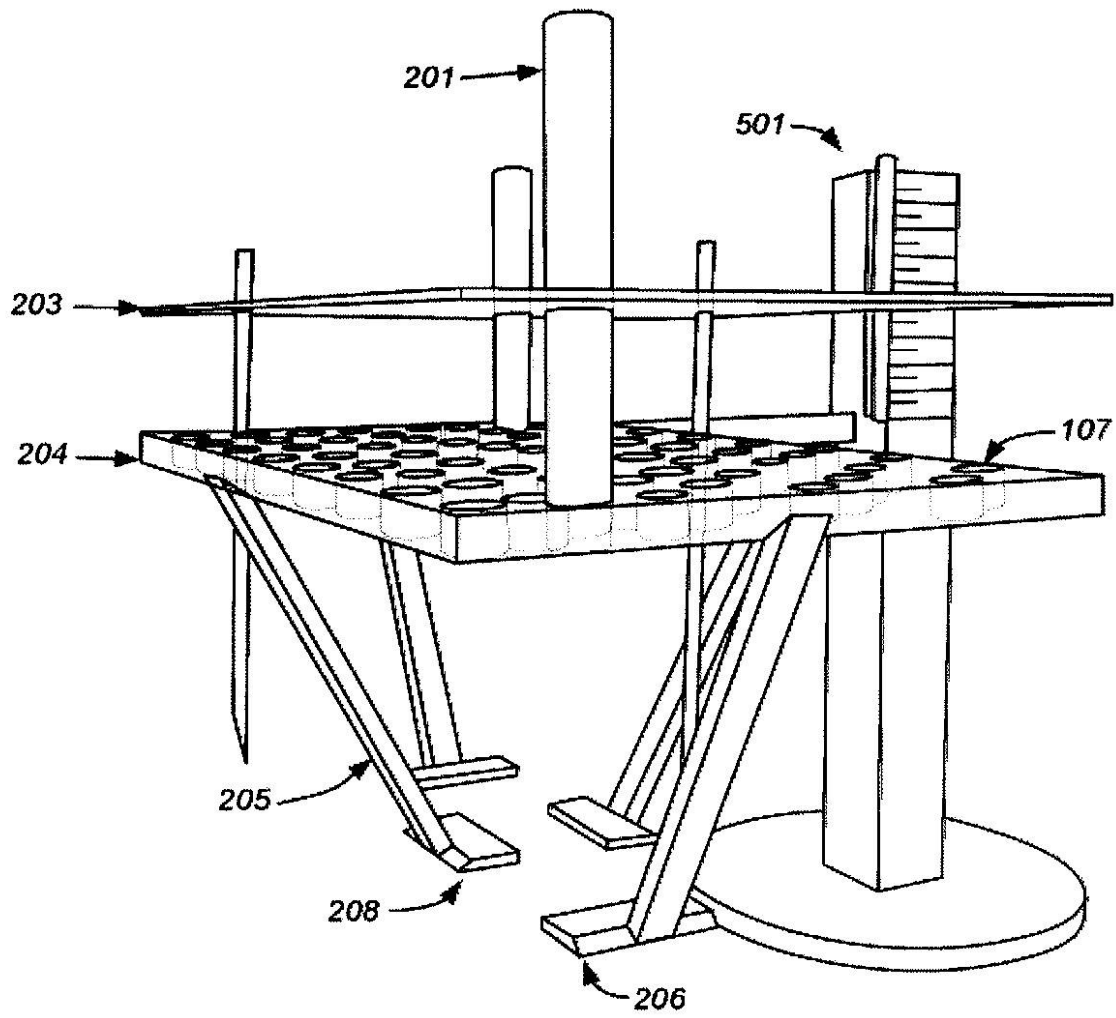
【図 3】



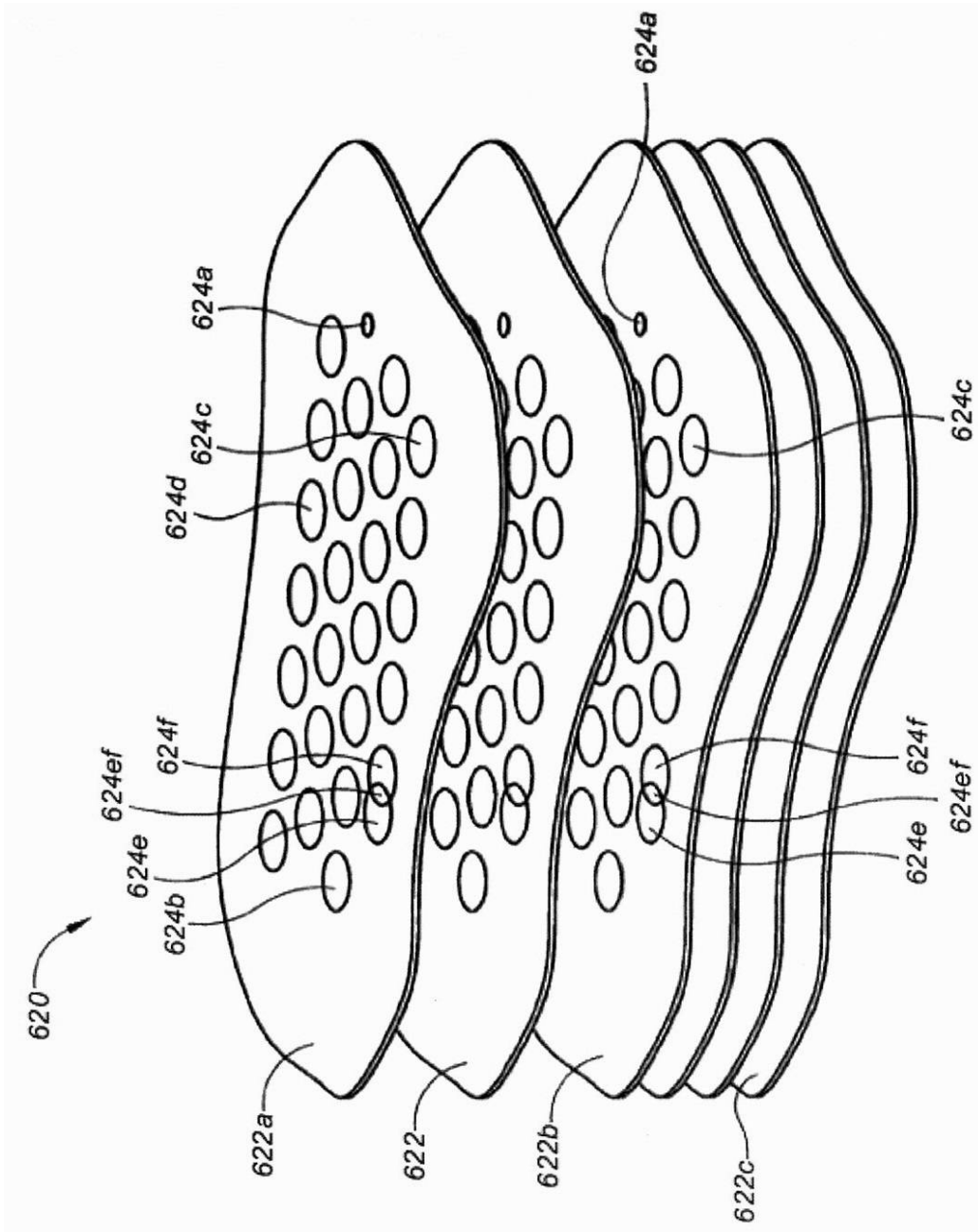
【 図 4 】



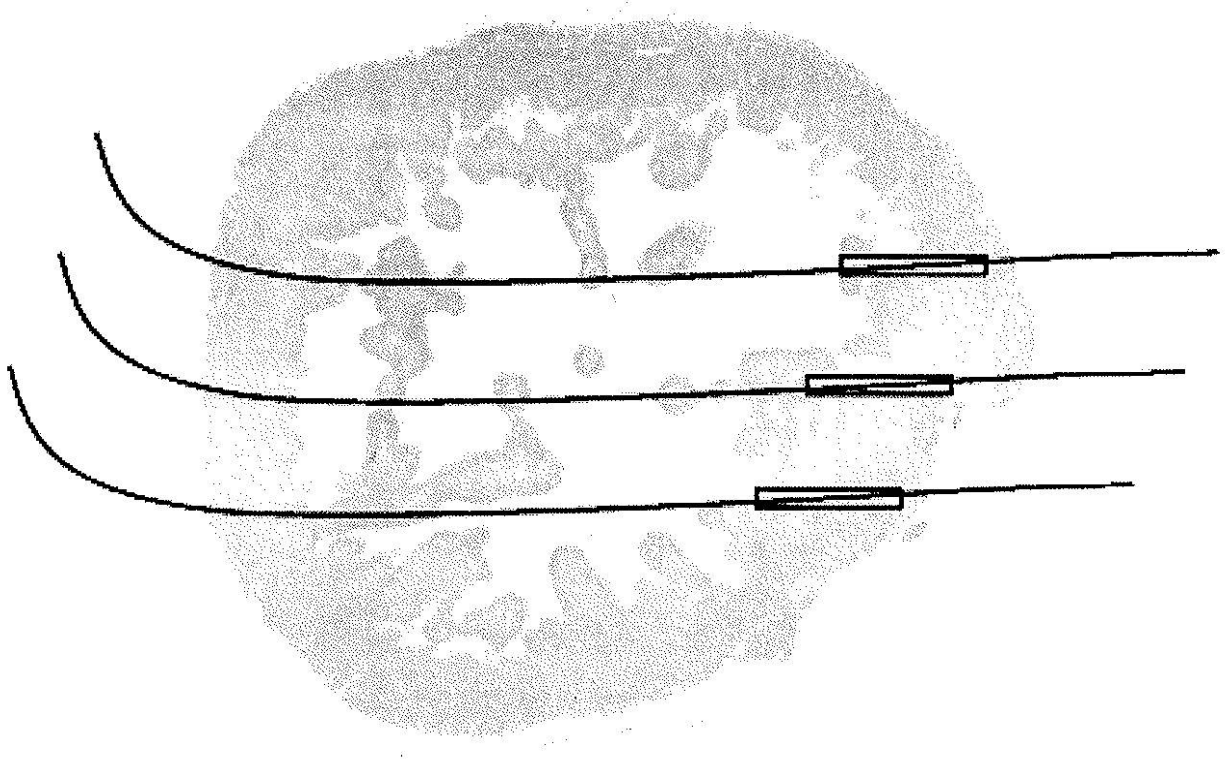
【図 5】



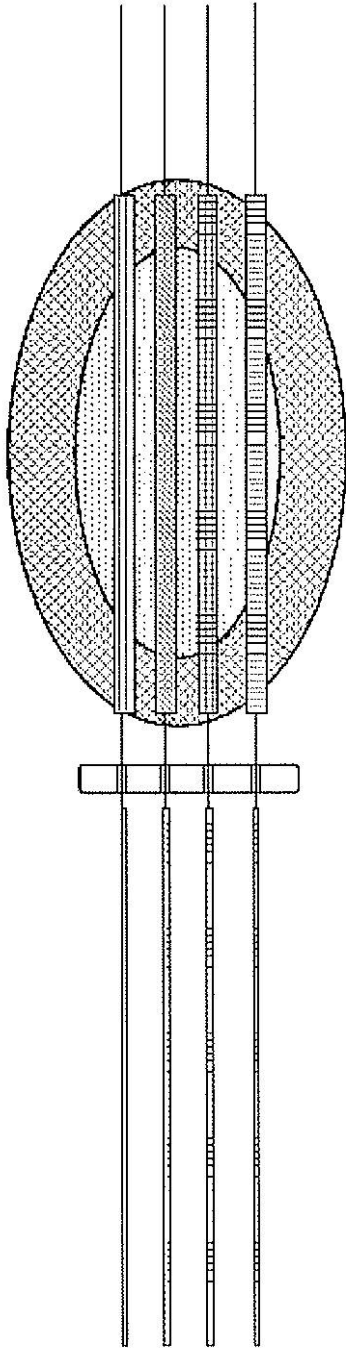
【図 6】



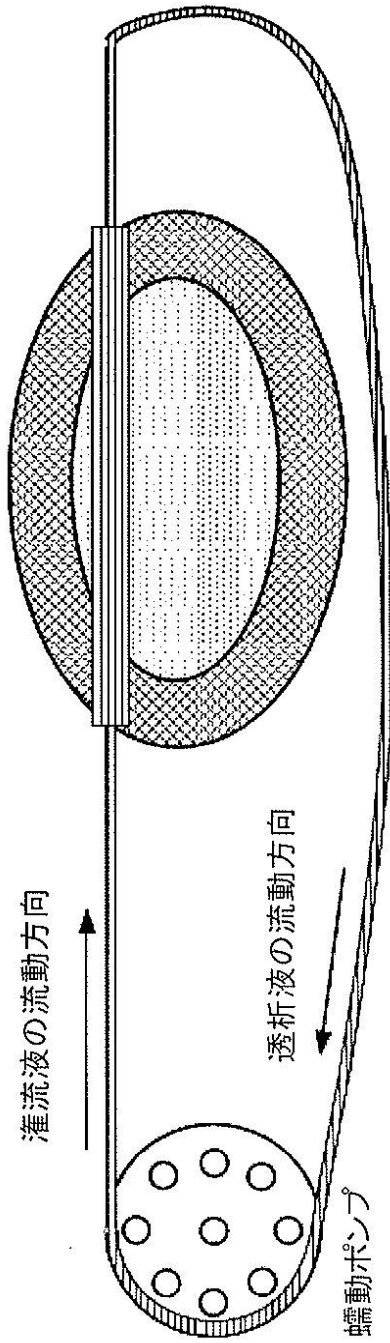
【図 7】



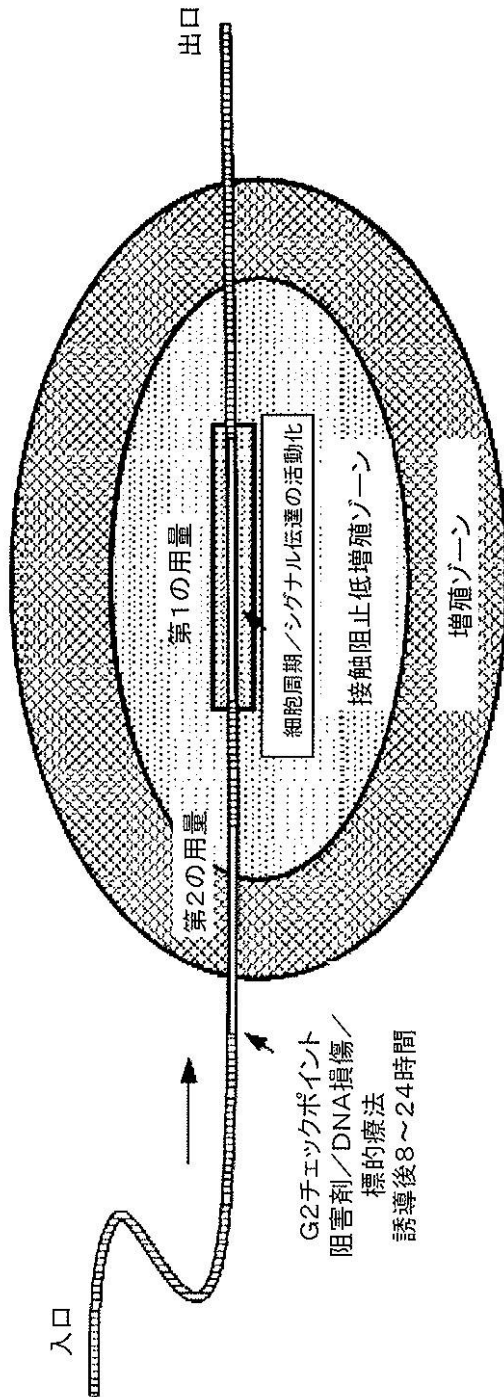
【 図 8 】



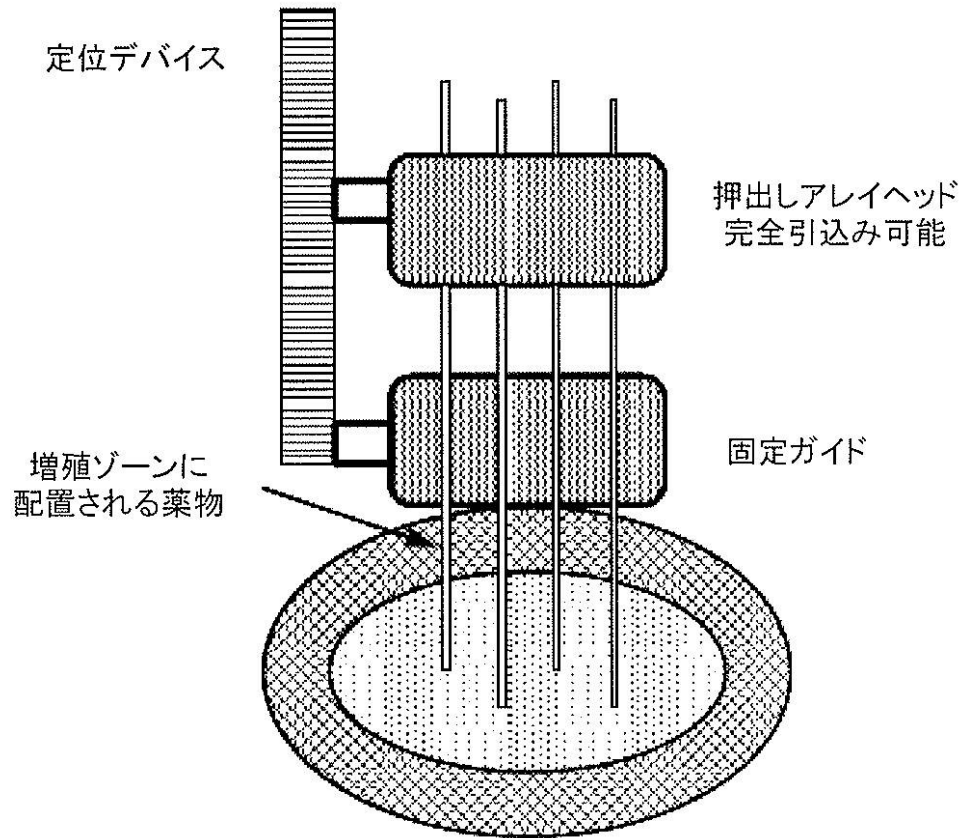
【図 9】



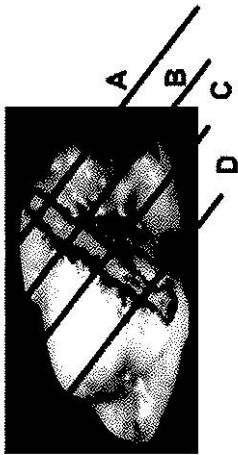
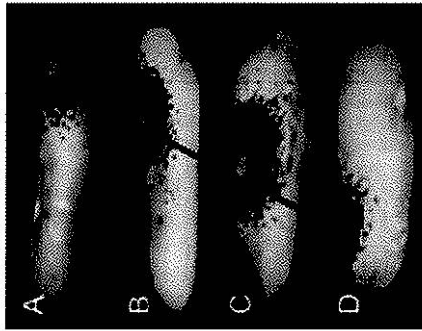
【図10】



【図 1 1】

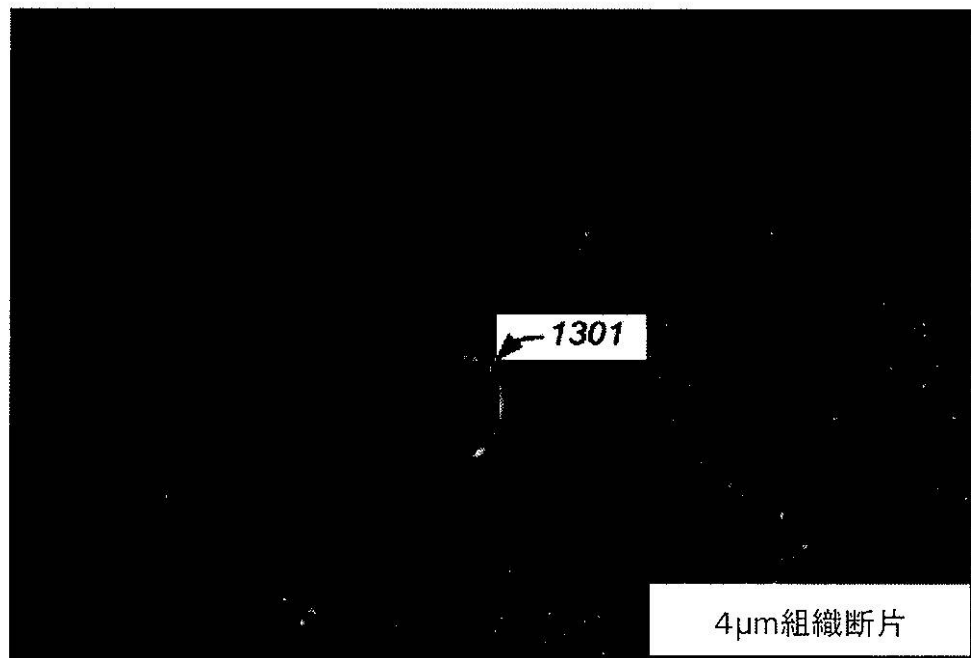


【図 12】

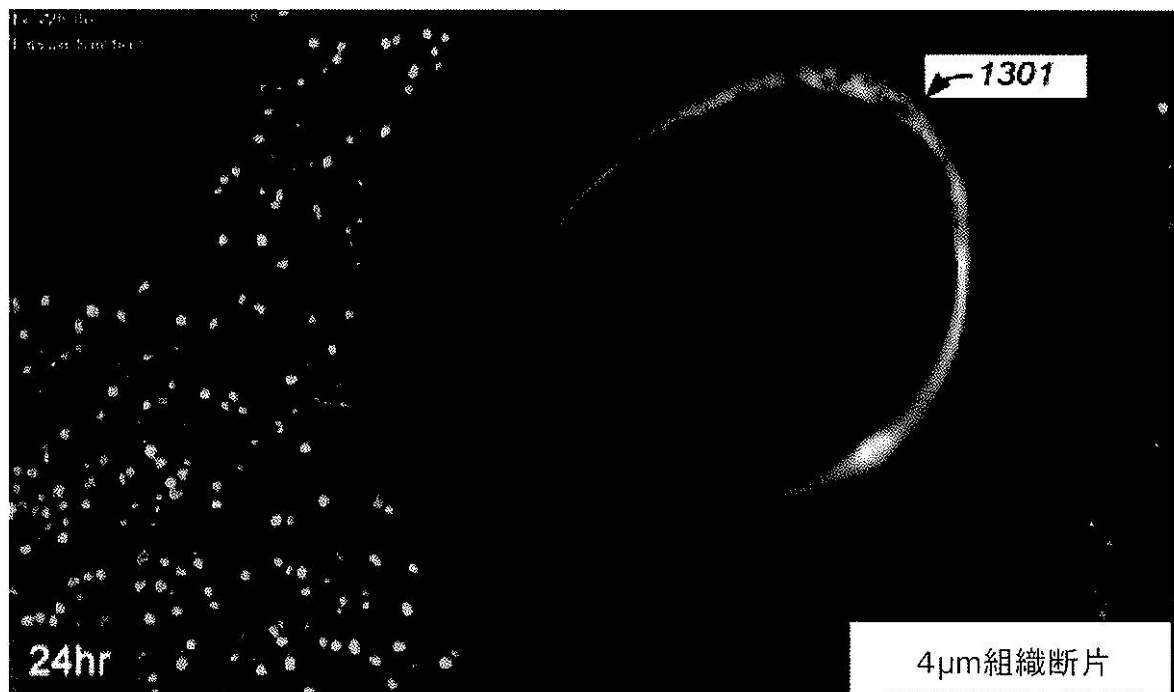


【図 13】

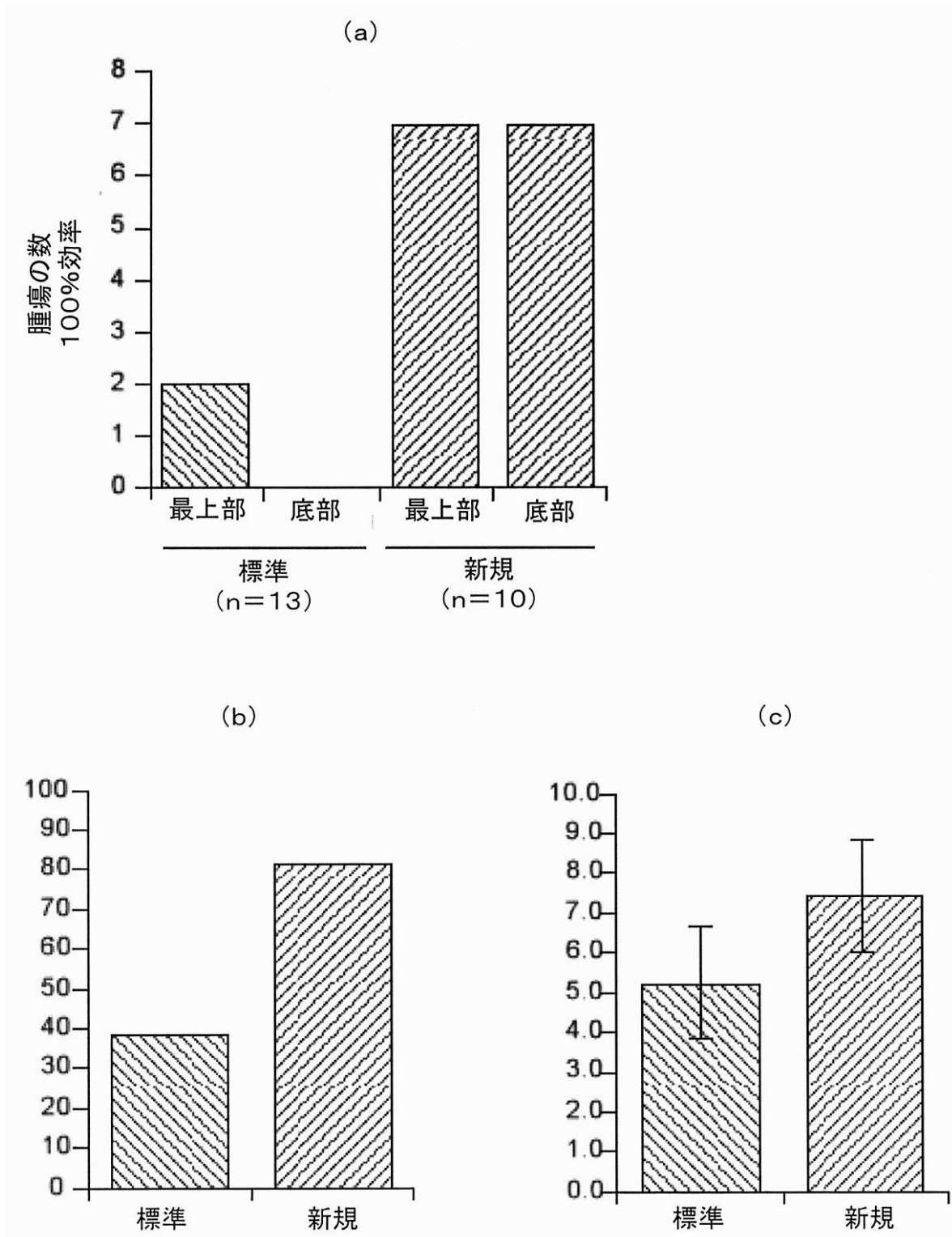
(a)



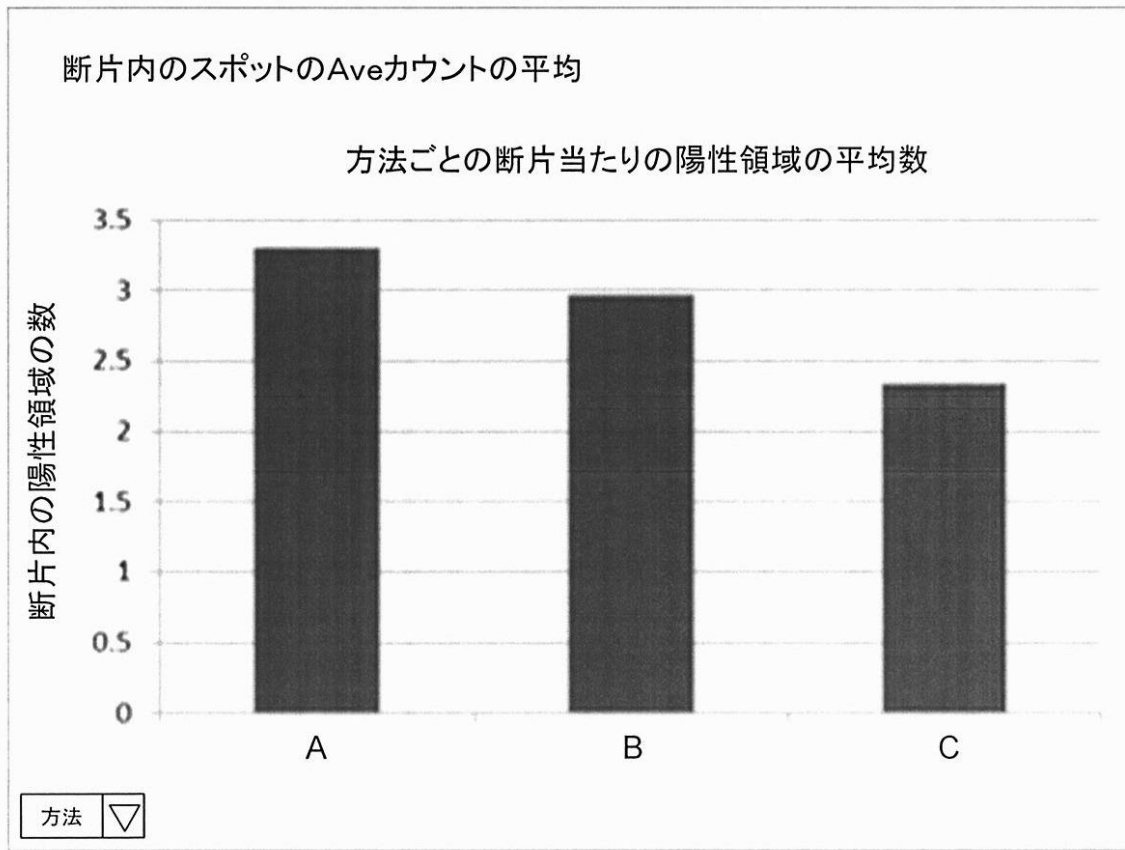
(b)



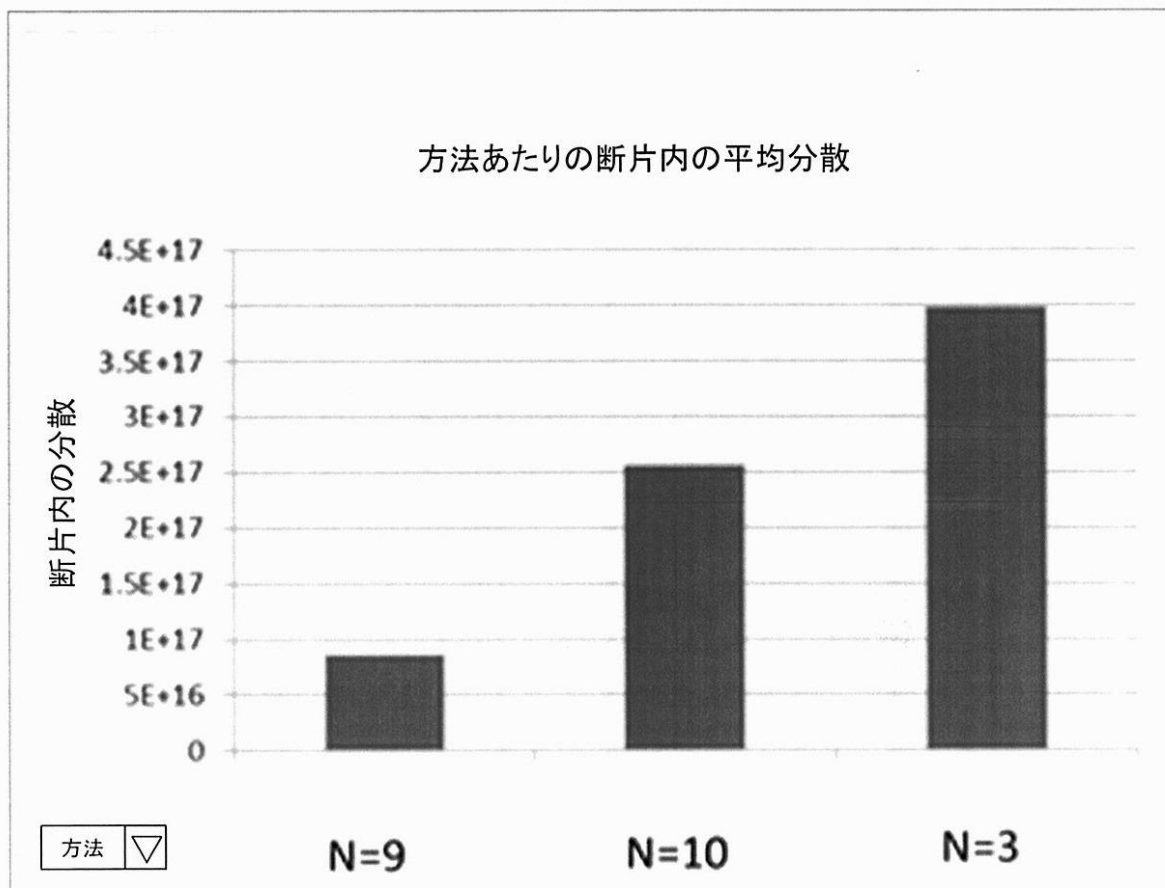
【図 1 4】



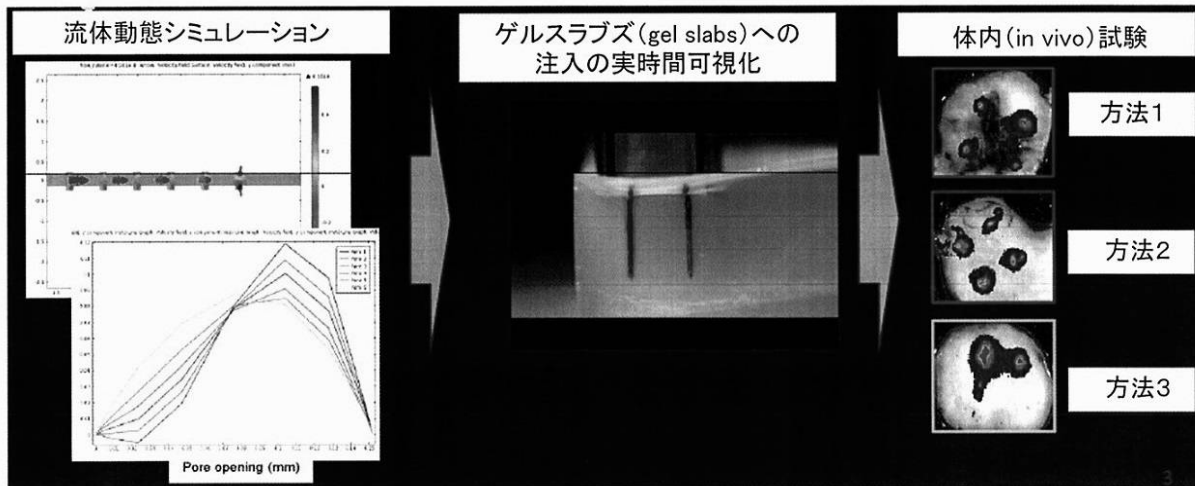
【図 15】



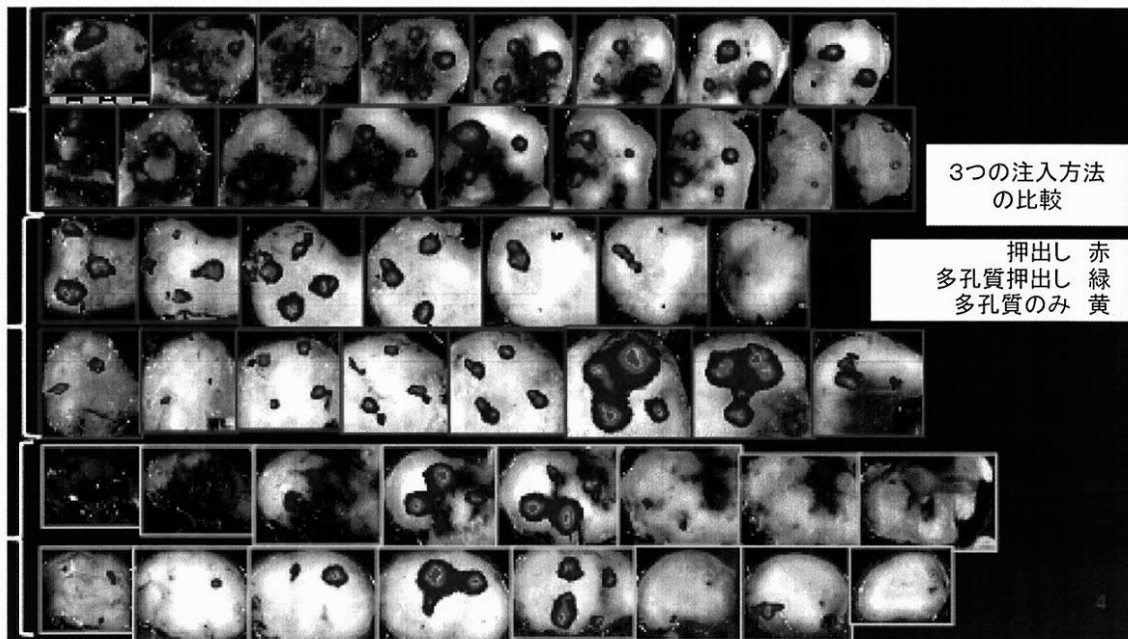
【図 16】



【図 17】



【図 18】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 12/62313

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61M 1/00 (2013.01)

USPC - 604/892.1, 28, 506

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)

IPC(8) - A61M 1/00 (2013.01)

USPC - 604/892.1, 28, 506

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
604/27, 29, 500, 511, 93.01; 604/*
(Search term limited; see below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PubWest (PGPB, USPT, Microdialysis, micro dialysis, permeable, semi-permeable, membrane, diffusion, wall, needle, microneedle, array, catheter, probe, multiple, plural, several, pair, fluorescent, marker, dye, apoptosis, sequential, EPAB, JPAB); Google; PatBase (All);
Search Terms:

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 5,865,766 A (BONSALL et al.) 02 February 1999 (02.02.1999) Entire document, especially col 1, ln 58-67; col 2, ln 10-21; col 5, ln 6-25; col 8, ln 64- col 9, ln 35; col 10, ln 15-33; col 12, ln 24-26; col 12, ln 66- col 13, ln 29.	1, 4/[1]-26/[1], 28/[1], 37/[1]- 39/[1], 50/[1], 60/[1]-62/[1], 65/[1], 89/[1]-91/[1], 98/[1]-99/[1], 101/[1]-102/[1] 27/[1], 29/[1]-36/[1], 40/[1]-49/[1], 51/[1]-59/[1], 63/[1]-64/[1], 66/[1]-73/[1]
Y	US 2009/0105562 A1 (CHIOU et al.) 23 April 2009 (23.04.2009) Abstract, para[0033]-para[0038].	27/[1], 40/[1]-49/[1]
Y	US 2001/0053891 A1 (ACKLEY) 20 December 2001 (20.12.2001) Entire document, especially Abstract, para[0024]- para[0026] and FIGS. 1, 4.	29/[1]-31/[1], 55/[1]-59/[1], 63/[1]-64/[1], 66/[1]
Y	US 2007/0287952 A1 (SHAH et al.) 13 December 2007 (13.12.2007) Entire document, especially Abstract, para[0003] and para[0040]- para[0042]	32/[1]-36/[1], 67/[1]
Y	US 2005/0165342 A1 (ODLAND) 28 July 2005 (28.07.2005) Abstract, para[0169], para[0343]-para[0348].	51/[1]-54/[1]
Y	US 2007/0191490 A1 (SEBTI) 16 August 2007 (16.08.2007) Abstract, para[0047], para[0051] and para[0097].	67/[1]-73/[1]

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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

"G" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 March 2013 (29.03.2013)

Date of mailing of the international search report

19 APR 2013

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/62313

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.: 100
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:
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, 4/[1]-73/[1], 89/[1]-91/[1], 98/[1]-99/[1], 101/[1]-102/[1]
drawn to a method of using a plurality of microdialysis probes, comprising inserting said probes into tissue and delivering plurality of agents to tissue through said probes.

Group II: claims 2, 4/[2], 17/[2]-59/[2], 63/[2]-73/[2], 74-88, 89/[2]-91/[2], 98/[2]-99/[2], 101/[2]-102/[2]
drawn to a method of using a plurality of needles, comprising inserting said needles into tissue and delivering plurality of agents to tissue by withdrawing said needles and injecting said agents into said tissue.

--see extra 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, 4/[1]-73/[1], 89/[1]-91/[1], 98/[1]-99/[1], 101/[1]-102/[1]

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 12/62313

----- Continuation of Box III: Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet) -----

Group III: claims 3, 4/[3]-73/[3], 89/[3]-91/[3], 92-97, 98/[3]-99/[3], 101/[3]-102/[3]
drawn to a method of using a plurality of microdialysis probes, comprising inserting said probes into tissue and delivering agents as well as administering agents systemically.

Group IV: claims 103-117, drawn to a device comprising a plurality of microdialysis probes

Group V: claims 118-135, drawn to a device comprising a top block and bottom block with a plurality of holes (a needle guiding device) and a method of injecting using said device and a plurality of needles

The inventions listed as Groups I - V 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 V relates to a positioning device and method of injection using needles, which shares no common components with groups I, III, IV.

Group V shares (with Group II) the common features of injecting an agent from a plurality of needles into solid tissue and removing the plurality of needles from tissue. However, said features are well known in the art as shown by (US 2009/0234322 A1 to Fischer: see Abstract).

Group II relates to a method of using a plurality of needles, which shares no common technical features with group IV and shares the common feature with Groups I, III of delivering agents to tissue, which is well known in the art (US 5,832,878 A (Bonsall et al.): See Abstract).

Group I, III and IV are related as an apparatus (Group IV) and two separate methods of using the apparatus (Group I, III), and share the technical features of the apparatus of claim 103. However, these shared technical features fail to provide a contribution over the prior art of US 5,832,878 A (Bonsall et al.) which discloses (claim 103): a device for delivering a plurality of agents to a solid tissue of a subject, comprising a plurality of microdialysis probes (col 4, ln 39- col 5, ln 25). Consequently, Groups IV lacks unity with groups I, III.

Groups I, III relate to methods of using a plurality of microdialysis probes, with the further shared feature of inserting said probes into tissue and (generally) delivering agents. However, this feature is well known in the art US 5,832,878 A (Bonsall et al.) which discloses such probes used to delivery of agents into tissue (col 4, ln 39- col 5, ln 25, col 5, ln 35-45). Consequently, the groups comprise unique technical features of: delivering agents through said probes (Group I) and delivering agents systemically (Group III).

Thus, unity is lacking under PCT Rule 13 because the groups do not share a same or corresponding special technical feature providing a contribution over the prior art.

Note: Claim 100 has been excluded from the analysis because it is a dependent claim and is not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74)代理人 100115808

弁理士 加藤 真司

(74)代理人 100131451

弁理士 津田 理

(72)発明者 フラジエ, ジェイソン

アメリカ合衆国 9 8 1 7 8 ワシントン州, シアトル, 6 2 アヴェニュー サウス 1 0 0 2
7

(72)発明者 クリングホフファー, リチャード

アメリカ合衆国 9 8 1 1 5 ワシントン州, シアトル, 5 6 アヴェニュー 7 3 0 7

(72)発明者 グレンリー, マーク

アメリカ合衆国 9 8 1 2 2 ワシントン州, シアトル, ベルモント アヴェニュー 1 6 1 0
4 1 5

F ターム(参考) 4C066 AA10 BB01 CC01 CC03 DD07 DD16 FF04 KK01

4C077 AA05 AA30 BB01 CC03 EE02