

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-519568

(P2017-519568A)

(43) 公表日 平成29年7月20日(2017.7.20)

(51) Int.Cl.

A61L 27/22 (2006.01)
A61L 27/52 (2006.01)
A61L 27/36 (2006.01)
A61L 15/07 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)

F 1

A 6 1 L 27/22
A 6 1 L 27/52
A 6 1 L 27/36 1 0 0
A 6 1 L 27/36 3 1 1
A 6 1 L 15/07

テーマコード(参考)

4 C 0 8 1

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-574032 (P2016-574032)
(86) (22) 出願日 平成27年6月19日 (2015.6.19)
(85) 翻訳文提出日 平成29年1月31日 (2017.1.31)
(86) 國際出願番号 PCT/JP2015/003096
(87) 國際公開番号 WO2015/194194
(87) 國際公開日 平成27年12月23日 (2015.12.23)
(31) 優先権主張番号 62/015, 151
(32) 優先日 平成26年6月20日 (2014.6.20)
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 505043041
株式会社スリー・ディー・マトリックス
東京都千代田区麹町三丁目2番4号
(74) 代理人 100107489
弁理士 大塙 竹志
(72) 発明者 スピリオ, リサ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
421, レキシントン, ケーリー ア
ベニュー 45
(72) 発明者 ギル, ユン ソク
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
420, レキシントン, エマーソン
ガーデンズ ロード 132

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】骨間隙を充填するための材料および方法

(57) 【要約】

骨間隙充填のための材料および方法が提供されている。溶液中に約7アミノ酸から約32アミノ酸を含むペプチドを、標的部位に導入することができる。ペプチドは、生理的条件下、かつ/または陽イオンの存在下で自己組織化を起こすことができる。一局面において、被験体における骨間隙を充填する方法が提供され、この方法は、被験体の骨に送達デバイスを導入するステップと；骨成長の促進が望まれる上記骨中の間隙の近位に上記送達デバイスの端部を位置付けるステップと；標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量で、かつ約3w/vパーセント～約5w/vパーセントのペプチドの範囲内の濃度で約7から約32の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を上記送達デバイスによって投与するステップと；上記被験体から上記送達デバイスを除去するステップとを含む。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被験体における骨間隙を充填する方法であって、
被験体の骨に送達デバイスを導入するステップと；
骨成長の促進が望まれる前記骨中の間隙の近位に前記送達デバイスの端部を位置付ける
ステップと；
標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量で、かつ
約 3 w / v パーセント～約 5 w / v パーセントのペプチドの範囲内の濃度で約 7 から約 3
2 の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を前記送達デバイスによって投与
するステップと；

前記被験体から前記送達デバイスを除去するステップと
を含む、方法。

【請求項 2】

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

【請求項 3】

前記溶液中の前記ペプチドが、RADA16 を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記溶液中の前記ペプチドが、IEIK13 または KLD12 を含む、請求項 1 に記載
の方法。

【請求項 5】

ペプチド溶液が、実質的に非生物学的に活性である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

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

【請求項 7】

外科手術後に使用される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

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

【請求項 9】

所定の時間の後に前記標的部位に追加の体積のペプチド溶液を投与するステップをさら
に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

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

【請求項 11】

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

【請求項 12】

前記骨が歯槽骨である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

ペプチド溶液が、少なくとも約 3 . 4 の pH レベルを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

被験体における骨間隙を充填する方法であって、
被験体の骨に送達デバイスを導入するステップと；
骨成長の促進が望まれる前記骨中の間隙の近位に前記送達デバイスの端部を位置付ける
ステップと；

標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および十分
な濃度で約 7 から約 32 の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む、約 3 . 0 か

10

20

30

40

50

ら約3.5の間のpHレベルを有する溶液を前記送達デバイスによって投与するステップと；

前記被験体から前記送達デバイスを除去するステップと
を含む、方法。

【請求項15】

前記自己組織化ペプチドが、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる約16アミノ酸を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記溶液中の前記ペプチドが、RADA16を含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記溶液中の前記ペプチドがIEIK13またはKLD12を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項18】

ペプチド溶液が、実質的に非生物学的に活性である、請求項14に記載の方法。

【請求項19】

投与の前にペプチド溶液を自家移植片または同種移植片と混合するステップをさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項20】

外科手術後に使用される、請求項14に記載の方法。

【請求項21】

ペプチド溶液の投与後に前記標的部位で創傷包帯を施用するステップをさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項22】

所定の時間の後に前記標的部位に追加の体積のペプチド溶液を投与するステップをさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項23】

所定の時間の後に前記標的部位を可視化して骨増強を評価するステップをさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項24】

前記ヒドロゲル足場が、約10ナノメートル～約20ナノメートルの直径を有するナノファイバーを含む、請求項14に記載の方法。

【請求項25】

前記骨が歯槽骨である、請求項14に記載の方法。

【請求項26】

被験体における骨間隙を充填するためのキットであって、
標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で約7アミノ酸から約32アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液；ならびに

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

【請求項27】

前記有効量および前記有効濃度の少なくとも1つが、前記標的部位の寸法に部分的に基づく、請求項26に記載のキット。

【請求項28】

歯槽骨成長を促進するのに有効な濃度が、約3w/vパーセント～約5w/vパーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む、請求項26に記載のキット。

【請求項29】

ペプチド溶液が、約3.0から約3.5の間のpHレベルを有する、請求項26に記載のキット。

【請求項30】

10

20

30

40

50

ペプチド溶液が、約 0 mOsm/L から約 300 mOsm/L の間の質量オスモル濃度レベルを有する、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 31】

前記溶液中の前記ペプチドが、RADA16、KLD12、またはIEIK13を含む、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 32】

ペプチド溶液が、実質的に非生物学的に活性である、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 33】

前記ペプチド溶液が、抗生物質および抗炎症剤の少なくとも 1 種を含む、請求項 26 に記載のキット。

10

【請求項 34】

投与の前にペプチド溶液と混合されるセラミックまたは同種移植片をさらに含む、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 35】

ペプチド溶液の投与を助長するためのシリンジおよびカニューレの少なくとも 1 つをさらに含む、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 36】

創傷包帯をさらに含む、請求項 26 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

1 つまたは複数の態様は一般に、医学、研究、および工業上の適用で使用され得る材料および方法に関する。より具体的には、1 つまたは複数の態様は、骨間隙を充填するのに使用することができる材料、例えば、膜、ヒドロゲル、組成物、および溶液など、ならびに方法に関する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0002】

1 つまたは複数の態様によれば、被験体における骨間隙を充填する方法が提供されている。本方法は、被験体の骨に送達デバイスを導入することと、骨成長の促進が望まれる骨の間隙の近位で送達デバイスの端部を位置付けることと、標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量で、かつ約 3w/v パーセント～約 5w/v パーセントのペプチドの範囲内の濃度で約 7 から約 32 の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を送達デバイスによって投与することと、被験体から送達デバイスを除去することとを含み得る。

30

【0003】

1 つまたは複数のさらなる態様によれば、被験体における骨間隙を充填する方法が提供されている。本方法は、被験体の骨に送達デバイスを導入するステップと、骨成長の促進が望まれる骨の間隙の近位で送達デバイスの端部を位置付けるステップと、標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および十分な濃度で約 7 から約 32 の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む、約 3 から約 3.5 の間の pH レベルを有する溶液を送達デバイスによって投与するステップと、被験体から送達デバイスを除去するステップとを含み得る。

40

【0004】

1 つまたは複数の態様によれば、被験体における骨間隙を充填するためのキットが提供されている。キットは、標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で約 7 アミノ酸から約 32 アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液、ならびに被験体の骨中の標的部位に溶液を投与するための指示を含むことができる。

50

【0005】

さらに他の態様および実施形態は、以下に詳細に論じられている。さらに、上記の情報および以下の詳細な説明はともに、様々な態様および実施形態の単に実例的な例であり、主張した態様および実施形態の特質および特徴を理解するための全体像またはフレームワークを提供するように意図されていることが理解されるべきである。

【発明を実施するための形態】**【0006】**

1つまたは複数の実施形態によれば、本開示の材料および方法は、骨間隙を充填するのに使用され得る。有益には、開示した材料および方法は、従来の技法と比較してより大きい機械的強度、より高いレベルの生体適合性、およびよりバイタルな骨 (vital bone) の成長と関連し得る。10

【0007】

1つまたは複数の具体的な実施形態によれば、ペプチドヒドロゲルを、標的部位に投与した後の治癒プロセス中に再吸収し、骨と置き換える骨間隙充填剤 (BVF) として使用することができる。ペプチドヒドロゲルは、骨の間隙または骨格系のギャップ中に配置され得る。ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドおよびこれらの自己組織化構造を、様々な組織を修復および置換するための細胞培養支持体として、かつ生細胞を被包するための足場として使用することができる。ペプチドヒドロゲルは、組織再生および関連する細胞外マトリックスタンパク質の生成を促進することができる。少なくとも一部の実施形態では、ペプチドヒドロゲルは、非免疫原性であり、脱塩凍結乾燥骨同種移植片 (deminer alized freeze-dried bone allograft) (DFDBA) 調製物を含めたこの適応についての既存の材料に対して改善を示す。20

【0008】

材料および方法は、被験体における様々な骨間隙を充填することにおいて特定の適用を見出し得る。本明細書で使用される場合、「被験体」という用語は、ヒトおよび非ヒト動物、例えば、脊椎動物、大型動物、および靈長類を含むものとする。ある特定の実施形態では、被験体は哺乳動物被験体であり、特定の実施形態では、被験体はヒト被験体である。ヒトでの適用は明白に見越しているが、例えば、非ヒト動物を用いた獣医学的適用も本発明において予想される。本発明の「非ヒト動物」という用語は、全ての脊椎動物、例えば、非哺乳動物（例えば、鳥類、例えばニワトリ；両生類；は虫類など）および哺乳動物、例えば、とりわけ、非ヒト靈長類、家畜、および農業上有用な動物、例えば、ヒツジ、イヌ、ネコ、雌ウシ、ブタ、ラットなどを包含する。30

【0009】

1つまたは複数の実施形態によれば、標的部位は一般に、骨成長の促進が望まれる任意のエリアまたは領域であってもよい。一部の実施形態では、標的部位は一般に、外科手術に関連し得る。標的部位は、被験体の骨の任意の領域内に位置し得る。標的部位は、骨間隙であり得る。一部の実施形態では、標的部位は、整形外科的な状態または欠損と関連している場合がある。患者は、骨粗鬆症または骨折を罹患している場合がある。一部の実施形態では、頭蓋冠骨欠損は、骨治癒を介して対処され得る。軟骨または骨軟骨の効果 (effect) も処置することができる。瘢痕形成を防止することができる。一部の実施形態では、標的部位は、インプラントと周囲組織との間のあらゆるギャップを埋め、インプラントへの内方成長 (ingrowth) を促進するように、インプラントまたはプロテーゼ (prosthetic) の固定が望まれる位置であり得る。少なくとも一部の実施形態では、骨組織の発達は、欠損部位におけるギャップをほとんどまたはまったく伴わないで助長される。40

【0010】

1つまたは複数の実施形態によれば、処置は、1つまたは複数の整形外科用医療デバイスおよび / または製品と組み合わせて達成することができる。例えば、本開示の材料を用いた処置は、オーソバイオロジクス (orthobiologics)、例えば、骨移植片代替品、同種移植片分配 / 加工処理、自家骨および軟組織交換品および粘弾性体 (vi50

scoelastictic)、ならびに骨成長刺激物質と組み合わせて使用され得る。本開示の材料を用いた処置は、脊髄インプラントまたは器具使用、例えば、内部固定デバイス、椎間板切除術および椎体形成術(vertebroplasty)/椎体形成術(kyphoplasty)製品と組み合わせて使用され得る。本開示の材料を用いた処置は、整形外科用および歯科用インプラント；再建手術、例えば、股関節部、膝、肩、肘、手首、足首、および指インプラント；骨折固定、例えば、内固定および外固定製品；ならびに関節鏡検査/軟組織修復、例えば、スコープ(scope)、カメラ(camera)、器具(instrument)、軟組織インプラントおよび修復キットと組み合わせて使用され得る。

【0011】

10

一部の実施形態では、歯周疾患が処置され、かつ／または歯組織が再生される。ある特定の実施形態では、歯組織は、歯周韌帯組織である。例示的な歯周疾患は、歯周病、歯肉炎、インプラント周囲炎、およびインプラント周囲粘膜炎である。歯周病では、歯肉が歯から後退し、感染された状態になるポケットを形成する。細菌毒素、および感染と闘う免疫系は、実際には、歯を所定位置に保持する骨および結合組織に損傷を与え始める。インプラント周囲炎は、顎骨に人工材料(alloplastic material)を外科的に埋め込んだ後の合併症であり、機能している骨結合したインプラント周辺の組織に影響し、支持骨の喪失をもたらす。ある特定の実施形態では、治療有効量の自己組織化ペプチドは歯根膜に投与される。歯根膜は、4つの組織、歯肉、歯周韌帯、セメント質、および歯槽骨からなる。歯肉は、歯の一部および歯槽骨の一部を覆う桃色の角質化した粘液膜である。歯周韌帯は、歯を歯槽骨に付着させる結合組織線維の群である。セメント質は、歯の下側部分を覆う石灰化構造である。歯槽骨は、歯が埋め込まれている顎骨(上顎骨および下顎骨)からの一連の稜線である。歯周疾患が開始されるエリアは、歯肉溝、歯と歯肉との間のポケットである。歯の骨含有量は、1つまたは複数の実施形態によって標的部位で増強することができる。一部の実施形態では、標的部位は、上顎と一般に呼ばれる被験体の後方上顎骨などの歯槽骨中にある場合がある。

20

【0012】

1つまたは複数の実施形態によれば、歯の骨間隙は、サイナスリフト、歯科での抜歯ソケットの充填、口腔／顎顔面の増強または再構築、歯槽突起増大、歯周欠損の充填、および囊胞欠損(cystic defect)の充填などの手順の一部として充填され得る。

30

【0013】

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

【0014】

40

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

【0015】

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

50

投与の前にペプチド溶液を自家移植片または同種移植片と混合することを含み得る。

【0016】

1つまたは複数の実施形態によれば、被験体における骨間隙を充填する方法は、被験体に送達デバイスを導入することを含み得る。送達デバイスの端部を骨成長の促進が望まれる被験体の骨中の標的部位の近位に位置付けることができる。約7から約32の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を、標的部位で骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で標的部位に投与することができる。次いで送達デバイスを被験体から除去することができる。

【0017】

一部の実施形態では、骨成長を促進するのに有効な濃度は、約0.1重量／体積(w/v)パーセント～約5.0w/vパーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む。一部の実施形態では、濃度は、約1.0w/vパーセント～約5.0w/vパーセントのペプチドの範囲内であってもよい。少なくとも一部の実施形態では、濃度は、約3.0w/vパーセント～約5.0w/vパーセントのペプチドの範囲内であってもよい。

10

【0018】

一部の実施形態では、ペプチド溶液のpHレベルは、骨成長を促進するのに有効であり得る。一部の実施形態では、pHレベルは、約2～約3の範囲内であり得る。他の実施形態では、pHレベルは、3超、例えば、約3から約3.5の間であり得る。一部の限定されない実施形態では、pHレベルは、約3.4または約3.5であってもよい。

20

【0019】

溶液の質量オスモル濃度は、細胞内または細胞外への水流の方向を決定し得る。1つまたは複数の実施形態によれば、ペプチド溶液は、細胞の中および外の溶質濃度が、細胞の破裂、膨潤、または他の毒性を回避するために一般的にほとんどほぼ同じであるように、質量オスモル濃度レベルと関連している場合がある。一部の実施形態では、水の正味の移動を伴わない実質的に等張性の溶液は一般に、細胞体積を変更せず、骨細胞などの周囲細胞内の任意の可能性がある即時の毒性を除去することになる。一部の実施形態では、ペプチド溶液の質量オスモル濃度レベルは、約0から約300mOsm/Lの間であり得る。ペプチド溶液の質量オスモル濃度は、これらに限定されないが、デキストロース、スクロース、ラクトース、マンニトール(mannitol)、グリセロール、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、またはカルシウム塩、および任意の等張性調整剤を含めた1種または複数の化合物を用いて調整することができる。一部の実施形態では、ペプチド溶液は、最大でほぼ等張性質量オスモル濃度レベル(すなわち、約300mOsm/L)に調整することができる。他の実施形態では、ペプチド溶液は、例えば、塩化ナトリウムを用いて最大で等張性質量オスモル濃度の約2倍またはそれ超に調整されてもよい。ペプチド溶液は、本明細書に論じた上昇した質量オスモル濃度レベルでも、相分離を伴うことなく依然として透明で注射可能であり得る。

30

【0020】

投与される体積は、例えば、標的部位の寸法および/または骨増強の所望の程度に基づいて、本明細書に論じられるように変動し得る。一部の限定されない実施形態では、投与されるペプチド溶液の体積は、約1mLから約5mLの間である。一部の具体的な実施形態では、投与されるペプチド溶液は、PuraMatrix(登録商標)ペプチドヒドロゲルであり得る。

40

【0021】

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

50

施形態では、追加の体積のペプチド溶液を、埋め込みと同時に標的部位に投与してもよい。

【0022】

他の方法では、インプラントを、ペプチド溶液の投与と同時に標的部位に固定することができる。

【0023】

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

10

【0024】

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

【0025】

1つまたは複数の実施形態によれば、投与されるペプチド溶液は、実質的に非生物学的に活性である。開示した方法は、IgG反応と関連しない場合がある。得られる増強された骨は、一部の限定されない実施形態では、少なくとも約35%のバイタルな骨の密度によって特徴付けることができる。

20

【0026】

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

20

【0027】

自己組織化ペプチドは、両親媒性自己組織化ペプチドであってよい。「両親媒性」とは、ペプチドが疎水性部分と親水性部分を含むことを意味する。一部の実施形態では、両親媒性ペプチドは、交互に現れる疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸を含んでもよく、それから本質的になってもよく、それからなってもよい。交互に現れるとは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる一連の3つまたはそれ超のアミノ酸を包含するものとし、また、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れるペプチド配列内の各々全てのアミノ酸を含む必要はない。自己組織化ペプチドは、本明細書では「ペプチド」とも称され、自己組織化ペプチド溶液、組成物、ハイドロゲル、膜、足場の形態でまたは他の形態で所定のまたは所望の標的エリアに投与することができる。ハイドロゲルは、本開示全体を通して、膜または足場とも称することができる。所定のまたは所望の標的エリアは、これに限定されないが、歯槽骨などの被験体の骨中に位置し得る。

30

【0028】

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

40

【0029】

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

50

【0030】

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

10

【0031】

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

20

【0032】

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

【0033】

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

30

【0034】

「投与する」という用語は、これだけに限定されないが、自己組織化ペプチドを、これだけに限定されないが、単独で、水溶液などの溶液として、または組成物、ハイドロゲル、もしくは足場としてを含めた種々の形態のうちの1つまたは複数で、追加的な構成成分を伴ってまたは伴わずに、適用、導入または注射することを含むものとする。

40

【0035】

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

【0036】

骨間隙を充填する開示した方法は、送達デバイスを被験体に導入すること、および標的部位の近位に送達デバイスの端部を位置付けることを含み得る。ペプチドの選択的投与は

50

、ペプチド溶液、組成物、またはヒドロゲルの高められた、かつより標的化された送達を可能にすることができる、その結果、骨増強は、成功裏のものであり、正確な様式で所望の場所に位置付けられる。選択的投与は、従来の送達デバイスに対して処置の位置付けおよび有効性を著しく改善する、高められた、標的化された送達をもたらすことができる。本開示のシステム、方法、およびキットにおいて使用され得る送達デバイスとして、シリンジ、ピペット、チューブ、カテーテル、シリンジカテーテル、他の針ベースデバイス、チューブ、またはカテーテルを挙げることができる。

【0037】

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

10

【0038】

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

20

【0039】

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

【0040】

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

30

【0041】

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

40

【0042】

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

【0043】

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

50

れから本質的になり、またはそれからなる。

【0044】

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

【0045】

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

10

【0046】

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

20

【0047】

ペプチドは、水性溶液中で一般的に安定であり得、生理的条件、中性pH、または生理的レベルの塩に曝露されると、自己組織化して大きい肉眼的構造、足場、またはマトリックスになることができる。ヒドロゲルが形成されると、これは、ある時間後に、分解しない場合があり、または分解もしくは生分解する場合がある。分解の速度は、アミノ酸配列およびその周囲の条件の少なくとも1つに少なくとも部分的に基づき得る。

30

【0048】

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

40

【0049】

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

【0050】

「生理的条件」は、特定の生物体、細胞系、または被験体に関して天然に生じ得、人工的な実験室条件とは対照的であり得る。条件は、1つまたは複数の特定の性質または1つまたは複数の性質の範囲などの1つまたは複数の性質を含んでよい。例えば、生理的条件は、温度または温度の範囲、pHまたはpHの範囲、圧力または圧力の範囲、および特定

50

の化合物、塩、および他の構成成分の1つまたは複数の濃度を含んでよい。例えば、いくつかの例では、生理的条件は、約20～約40の範囲の温度を含んでよい。いくつかの例では、気圧は、約1atmであってよい。pHは、中性pHの範囲内であってよい。例えば、pHは、約6～約8の範囲であってよい。生理的条件は、膜またはハイドロゲルの形成を誘導し得る一価金属陽イオンなどの陽イオンを含んでよい。これらは、塩化ナトリウム(NaCl)を含んでよい。生理的条件は、約1mMから約20mMの間のグルコース濃度、スクロース濃度、または他の糖濃度も含んでよい。生理的条件は、骨の場所とともに変動する場合がある。

【0051】

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

10

【0052】

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

20

【0053】

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

30

【0054】

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

30

【0055】

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

40

【0056】

方法は、骨の少なくとも一部を含む領域または標的エリアを可視化することをさらに含み得る。領域または標的エリアを可視化することは、標的エリアを識別すること、送達デバイスを導入すること、標的エリア内に送達デバイスの端部を位置付けること、溶液を投与すること、送達デバイスを除去すること、およびその後標的部位を監視することの少な

50

くとも 1 つの間に領域または標的エリアを可視化することを含むことができる。領域または標的エリアを可視化すると、溶液の選択的投与をもたらすことができる。可視化は溶液を投与する前、間、および後の任意の時間に行うことができる。可視化は、例えば、投与後約 1 週間、投与後約 4 週間、および投与後約 8 週間の少なくとも 1 つの時間において行うことができる。

【 0 0 5 7 】

投与される溶液は、少なくとも約 7 アミノ酸を含む自己組織化ペプチドから本質的になることができ、またはそれからなることができる。投与される溶液は、約 7 アミノ酸から約 3 2 アミノ酸を含む自己組織化ペプチドから本質的になることができ、またはそれからなることができる。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

10

【 0 0 5 8 】

本開示の実施形態を助長する方法は、骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲルを形成する有効量および有効濃度で、約 7 アミノ酸から約 3 2 アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を、送達デバイスによって投与するための指示を提供することを含み得る。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

20

【 0 0 5 9 】

助長する方法は、骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲルを形成する有効量および有効濃度で、約 7 アミノ酸から約 3 2 アミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含む溶液を提供することを含み得る。ペプチドは、両親媒性であり得、ペプチドの少なくとも一部は、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れ得る。

20

【 0 0 6 0 】

助長する方法は、被験体の骨の少なくとも一部を含む領域または標的エリアを可視化するための指示を提供することを含み得る。方法は、標的エリアを識別すること、送達デバイスを導入すること、標的エリア内に送達デバイスの端部を位置付けること、溶液を投与すること、送達デバイスを除去すること、およびその後監視することの少なくとも 1 つの間に標的エリアまたは領域を可視化するための指示を提供することを含み得る。方法は、投与後約 1 週間、約 4 週間、または約 8 週間の時間内に標的エリアを可視化するための指示を提供することを含み得る。指示は、標的エリアまたは標的エリアの周囲でエリアを監視するために提供される場合がある。指示は、外科手術中またはその後に本開示の方法を使用するために提供される場合がある。

30

【 0 0 6 1 】

自己組織化または両親媒性ペプチドのアミノ酸は、d - アミノ酸、l - アミノ酸、またはこれらの組合せから選択することができる。疎水性アミノ酸としては、Ala、Val、Ile、Met、Phe、Tyr、Trp、Ser、Thr および Gly を挙げることができる。親水性アミノ酸は、塩基性アミノ酸、例えば、Lys、Arg、His、Orn；酸性アミノ酸、例えば、Glu、Asp；または水素結合を形成するアミノ酸、例えば、Asn、Gln であってよい。酸性アミノ酸および塩基性アミノ酸はペプチド上でクラスター化され得る。末端残基のカルボキシル基およびアミノ基は保護されていても保護されていなくてもよい。膜またはハイドロゲルは、自己相補的で自己適合性のペプチドの均質な混合物または互いに相補的であり構造的に適合性であるペプチドの不均質な混合物において形成することができる。上記の基準に当てはまるペプチドは、本明細書に記載の適切な条件下で、肉眼的膜に自己組織化し得る。

40

【 0 0 6 2 】

自己組織化ペプチドは、約 6 ~ 約 2 0 0 アミノ酸残基から構成され得る。ある特定の実施形態では、約 7 ~ 約 3 2 残基が自己組織化ペプチド中に使用される場合があり、一方、他の実施形態では、自己組織化ペプチドは、約 7 ~ 約 1 7 残基を有し得る。ペプチドは、約 5 nm の長さを有し得る。

50

【 0 0 6 3 】

本開示のペプチドとして、アルギニン、アラニン、アスパラギン酸、およびアラニンの繰り返し配列 (Arg - Ala - Asp - Ala (RADA)) を有するペプチドを挙げることができ、このようなペプチド配列は、(RADA)_p によって表すことができ、式中、 $p = 2 \sim 50$ 、例えば(RADA)₄ または RADA₁₆ (すなわち、RADARADARADARA) などである。

【0064】

他のペプチド配列は、イソロイシン、グルタミン酸、イソロイシン、およびリシンの繰り返し配列 (Ile - Glu - Ile - Lys (IEIK)) を有する自己組織化ペプチドによって表すことができ、このようなペプチド配列は、(IEIK)_p によって表され、式中、 $p = 2 \sim 50$ 、例えば IEIK₁₃ などである。他のペプチド配列は、イソロイシン、グルタミン酸、イソロイシン、およびリシンの繰り返し配列 (Ile - Glu - Ile - Lys (IEIK)) を有する自己組織化ペプチドによって表すことができ、このようなペプチド配列は、(IEIK)_p I によって表され、式中、 $p = 2 \sim 50$ である。

10

【0065】

他のペプチド配列は、リシン、ロイシン、アスパラギン酸、およびロイシンの繰り返し配列 (Lys - Leu - Asp - Leu (KLDL)) を有する自己組織化ペプチドによって表すことができ、このようなペプチド配列は、(KLDL)_p によって表され、式中、 $p = 2 \sim 50$ である。他のペプチド配列は、リシン、ロイシン、およびアスパラギン酸の繰り返し配列 (Lys - Leu - Asp (KLD)) を有する自己組織化ペプチドによって表すことができ、このようなペプチド配列は、(KLD)_p によって表され、式中、 $p = 2 \sim 50$ である。本発明による自己組織化ペプチドの具体的な例として、配列 Arg - Ala - Asp - Ala - Arg - Ala - Asp - Ala (RADA)₄ を有する自己組織化ペプチド RADA₁₆、配列 Ile - Glu - Ile - Lys - Ile - Glu - Ile - Lys - Ile - Glu - Ile - Lys - Ile - Lys - Ile (IEIK)₃ I を有する自己組織化ペプチド IEIK₁₃、配列 Ile - Glu - Ile - Lys - Ile - Glu - Ile - Lys - Ile - Glu - Ile - Lys - Ile - Lys - Ile (IEIK)₄ I を有する自己組織化ペプチド IEIK₁₇、または配列 Lys - Leu - Asp - Leu - Lys - Leu - Asp - Leu - Lys - Leu - Asp - Leu (KLDL)₃ を有する自己組織化ペプチド KLDL₁₂ が存在し得る。

20

【0066】

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

30

【0067】

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

40

【0068】

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

【0069】

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

【0070】

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

【0071】

50

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

【0072】

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

10

【0073】

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

20

30

【0074】

ペプチド溶液の有効量および有効濃度は、骨間隙における骨成長を少なくとも部分的に増強するように選択することができる。一部の実施形態では、有効量および有効濃度の少なくとも1つは、標的エリアの寸法または直径に部分的に基づき得る。

【0075】

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

40

【0076】

有効量は、ペプチド溶液の約0.1ミリリットル(mL)～約100mLの体積を含み得る。有効量は、ペプチド溶液の約0.1mL～約10mLの体積を含み得る。有効量は、ペプチド溶液の約1mL～約5mLの体積を含み得る。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.5mLであり得る。他の実施形態では、有効量は、約1.0mLであり得る

50

。さらに他の実施形態では、有効量は、約 1 . 5 mL であり得る。なおさらに他の実施形態では、有効量は、約 2 . 0 mL であり得る。一部の他の実施形態では、有効量は、約 3 . 0 mL であり得る。ある特定の実施形態では、有効量は、標的エリア 1 cm^2 当たりおよそ 0 . 1 mL ~ 約 5 mL であり得る。ある特定の実施形態では、有効量は、標的エリア 1 cm^2 当たりおよそ 1 mL であり得る。この有効量は、2 . 5 重量 / 体積パーセントの本開示のペプチド溶液などの濃度に関連する場合がある。

【 0 0 7 7 】

一部の実施形態では、より有効な骨増強は、投与されるペプチド溶液のより大きい体積、または投与される溶液中のペプチドのより高い濃度で達成することができる。これは、より長く続く、またはより厚いヒドロゲルが標的エリア内で形成することを可能にし、標的エリア内のヒドロゲルのより固定された位置を可能にすることができる。十分高い体積が選択されない場合、ヒドロゲルが所望の時間にわたって標的エリアで有効となり得ない可能性がある。10

【 0 0 7 8 】

有効濃度は、本明細書に記載するように、所望のレベルの骨増強をもたらし得る量であり得る。標的エリアの寸法または直径の少なくとも 1 つを含む標的部位の様々な性質が、有効濃度の選択または決定に寄与し得る。

【 0 0 7 9 】

有効濃度は、約 0 . 1 w / v パーセント ~ 約 3 . 0 w / v パーセントの範囲内の溶液中のペプチド濃度を含み得る。ある特定の実施形態では、有効濃度は、約 1 w / v パーセントであり得る。他の実施形態では、有効濃度は、約 2 . 5 w / v パーセントであり得る。さらに他の実施形態では、有効濃度は、約 3 . 0 w / v パーセントから約 5 . 0 w / v パーセントの間であり得る。20

【 0 0 8 0 】

少なくとも一部の実施形態では、PuraMatrix (登録商標) (1 % w / v) のストック溶液は、約 2 . 0 ~ 約 3 . 0 の pH レベルを有し得る。一部の実施形態では、ペプチド溶液は、少なくとも 3 、例えば、約 3 . 0 から約 3 . 5 の間、例えば、約 3 . 4 または約 3 . 5 などの pH レベルを有し得る。

【 0 0 8 1 】

ある特定の実施形態では、より高い濃度のペプチドを有するペプチド溶液は、所定位置に留まり、有効な骨成長をもたらす能力を有するより有効なヒドロゲルをもたらすことができる。ペプチド溶液を送達する目的に関して、より高い濃度のペプチド溶液は、過剰に粘性となって溶液の有効で選択的な投与を可能にすることのできない場合がある。十分高い濃度が選択されない場合、ヒドロゲルが所望の時間にわたって標的エリアで骨成長を促進することに有効となり得ない可能性がある。有効濃度は、特定の直径の針または他の送達デバイスを使用する注射または他の手段によって投与され得る溶液をもたらすように選択することができる。30

【 0 0 8 2 】

本開示の方法は、治療有効量の本明細書に記載のペプチド、組成物、ペプチド溶液、膜、フィラメント、およびヒドロゲルの単回および複数回投与を企図する。本明細書に記載のペプチドは、被験体の状態の特質、重症度、および程度に応じて規則的間隔で投与することができる。一部の実施形態では、ペプチド、組成物、ペプチド溶液、膜、フィラメント、またはヒドロゲルは、単回投与で投与することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載のペプチド、組成物、ペプチド溶液、またはヒドロゲルは、複数回投与で投与される。一部の実施形態では、治療有効量のペプチド、組成物、ペプチド溶液、膜、フィラメント、またはヒドロゲルは、規則的間隔で定期的に投与される場合がある。選択される規則的間隔は、投与される溶液の最初のペプチド濃度、投与される量、および形成されるヒドロゲルの分解速度の任意の 1 つまたは複数に基づき得る。例えば、最初の投与後、後続の投与を、例えば、1 週間、2 週間、4 週間、6 週間、または 8 週間後に行うことができる。後続の投与は、最初の投与と同じペプチドの濃度、および体積を有する溶液の投40

10

20

30

40

50

与を含み得、またはより低いもしくは高いペプチドの濃度、および体積の溶液の投与を含み得る。ペプチド溶液の適切な後続の投与の選択は、標的エリアおよび標的エリア周囲のエリアの画像化、ならびに被験体の状態に基づく必要性の確認に基づき得る。所定の間隔は、各後続の投与について同じである場合があり、またはこれらは、異なる場合がある。これは、以前の投与から形成されたヒドロゲルが部分的にまたは完全に破壊または分解されているか否かに依存し得る。後続の投与は、最初の投与と同じペプチドの濃度、および体積を有する溶液の投与を含み得、またはより低いもしくは高いペプチドの濃度、および体積の溶液の投与を含み得る。ペプチド溶液の適切な後続の投与の選択は、標的エリアおよび標的エリア周囲のエリアの画像化、ならびに被験体の状態に基づく必要性の確認に基づき得る。

10

【0083】

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

20

【0084】

膜の形成に最適な長さは、アミノ酸組成に伴つて変動し得る。本開示のペプチドにより意図される安定化因子は、ペプチド骨格間の一定の距離を維持する相補的なペプチドである。対形成した際に一定の距離を維持することが可能なペプチドは、本明細書では構造的に適合性であると称される。ペプチド間距離は、各イオン化または水素結合対について、対内の各アミノ酸の側鎖上の非分枝原子(*unbranched atom*)の数の合計を取ることによって算出することができる。例えば、リシンおよびグルタミン酸は、その側鎖上に非分枝原子をそれぞれ5つおよび4つ有する。

30

【0085】

完全に相補的でなく、構造的に適合性でもないペプチドは、核酸のハイブリダイゼーションにおけるミスマッチ塩基対と類似のミスマッチを含有すると考えることができる。ミスマッチを含有するペプチドは、ミスマッチ対の破壊的な力がペプチド間相互作用の全体的な安定性によって支配されている場合、膜を形成することができる。機能的に、このようなペプチドも、相補的であるか、または構造的に適合性であると考えることができる。例えば、ミスマッチアミノ酸対は、各側のいくつかの完全にマッチした対によって囲繞されている場合、許容され得る。

【0086】

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

40

【0087】

ペプチドの最初の濃度は、形成される膜、ハイドロゲル、または足場のサイズおよび厚さに関する因子であり得る。一般に、ペプチド濃度が高いほど、膜またはハイドロゲルの形成の程度が高くなる。より高い最初のペプチド濃度(約10mg/ml)(約1.0w

50

/ v パーセント)で形成されるハイドロゲル、または足場は、より厚くなり得、したがって、より強力になる可能性がある。

【0088】

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

10

【0089】

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

【0090】

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

20

【0091】

ある特定の実施形態では、自己組織化ペプチドは、自己組織化ペプチドの有効性を増強させ得る、または別の作用、処置、療法をもたらし、もしくはさもなければ被験体の1種もしくは複数の構成成分と相互作用し得る1種または複数の構成成分とともに調製することができる。例えば、1種または複数の生物学的または生理的に活性なアミノ酸配列またはモチーフを含む追加のペプチドを、自己組織化ペプチドとともに構成成分の1つとして含めることができる。他の構成成分として、薬物などの生物学的に活性な化合物、または被験体にいくらかの利益をもたらし得る他の処置を挙げができる。例えば、抗生物質を自己組織化ペプチドとともに投与してもよく、または別個に投与してもよい。

30

【0092】

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

40

50

【0093】

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

【0094】

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

10

【0095】

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

20

【0096】

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

【0097】

キットは、場合によって、ペプチドまたはペプチド溶液を所望のエリアに投与することを可能にするためのデバイスまたは材料も含んでよい。例えば、シリング、ピペット、チューブ、カテーテル、シリングカテーテル、または他の針ベースデバイスをキットに含めることができる。それに加えて、またはその代わりに、キットは、標的エリアへのペプチド溶液の選択的な投与をもたらすためのガイドワイヤー、内視鏡、または他の付随的な設備を含んでよい。

30

【0098】

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

40

【0099】

他の構成成分または成分をペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルと同じまたは異なる組成物または容器においてキットに含めることができる。1つまたは複数の構成成分としては、自己組織化ペプチドの効果の増強をもたらすことができるか、または別の作用、処置、療法をもたらすもしくは他のやり方で被験体の1つまたは複数の構成成分と相

50

互作用することができる構成成分を挙げることができる。例えば、1つまたは複数の生物学的に活性な配列または生理的に活性な配列またはモチーフを含む追加的なペプチドを構成成分の1つとして自己組織化ペプチドと共に含めることができる。他の構成成分は、被験体に薬物または他の処置などのいくらかの利益をもたらし得る生物学的に活性な化合物を含んでよい。ペプチド、ペプチド溶液、またはハイドロゲルは、本明細書に開示されている通り、被験体を処置するためまたは溶血、炎症、および感染を予防するための小分子薬物を含んでよい。スクロース溶液などの糖溶液をキットと共に提供することができる。スクロース溶液は、20%スクロース溶液であってよい。本明細書に開示されている他の構成成分も、キットに含めてもよい。

【0100】

10

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

【0101】

20

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

【0102】

30

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

【0103】

40

1つまたは複数の実施形態によれば、キットは、標的部位の寸法に少なくとも部分的に基づく有効量および有効濃度でペプチドヒドロゲルを含み得る。一部の実施形態では、骨成長を促進するのに有効な濃度は、約3w/vパーセント～約5w/vパーセントのペプチドの範囲内の濃度を含む。少なくとも一部の実施形態では、ペプチドヒドロゲル溶液は、実質的に非生物学的に活性であり得る。ペプチドヒドロゲル溶液は、実質的に非顆粒状であり得る。一部の実施形態では、キット中の自己組織化ペプチドは、疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸が交互に現れる約16アミノ酸を含む。少なくとも一部の実施形態では、キットは、Puramatrix（登録商標）ペプチドヒドロゲルを含む。一部の実施形態では、Puramatrix（登録商標）ペプチドヒドロゲルのpHレベルは、少なくとも約3、例えば、約3.4または約3.5などであり得る。

【0104】

1つまたは複数の実施形態によれば、キットは、本明細書に論じた骨間隙充填手順においてペプチドヒドロゲルを使用するための指示を含み得る。指示は、投与前に自家移植片または同種移植片をペプチド溶液と混合することを記載する場合がある。一部の実施形態では、指示は、ペプチド溶液の投与を伴うワンステップ手順を指示している場合がある。少なくとも一部の実施形態では、指示は、実施者に、最初の投与の後で、かつ埋め込みの前に追加の用量のペプチド溶液を提供するように指導する場合がある。

【0105】

50

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

【0106】

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

10

【0107】

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

20

【0108】

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

【実施例】

【0109】

予測的実施例

この予測的実施例では、ペプチドヒドロゲルを標的部位に導入または投与することができる。標的部位は、骨成長が望まれる、または骨成長の促進が望まれるエリアであり得る。ペプチドヒドロゲルは、標的部位に、またはその付近に送達デバイスを導入することによって標的部位に導入または投与することができる。送達デバイスの端部が、標的部位に、またはその付近、例えば、その近位に位置付けられ得る。自己組織化ペプチドを含む溶液は、標的部位に送達デバイスによって投与することができる。溶液は、骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル、例えば、ヒドロゲル足場を形成することが予期される。ペプチド溶液は、約 7 から約 32 の間のアミノ酸を含む自己組織化ペプチドを含み得る。ペプチド溶液は、骨成長を促進する生理的条件下でヒドロゲル、例えば、ヒドロゲル足場を形成する有効量および有効濃度で送達され得る。投与後、送達デバイスは、標的部位に、またはその付近、例えば、その近位にあるところから除去することができる。

30

【0110】

ペプチドヒドロゲルは、PuraMatrix (登録商標) または PuraMatrix Plus (商標) ペプチド溶液であり得、これらは、アルギニン、アラニン、およびアスパラギン酸の繰り返し配列、すなわち RADARADARADARADA (RADARADA 16) を有する合成 16 アミノ酸ポリペプチドを含む水中のペプチド溶液である。PuraMatrix (登録商標) ペプチド溶液は、約 2 から約 3 の間の pH を有するペプチド溶液で存在し得る。PuraMatrix Plus (商標) ペプチド溶液は、約 3.4 またはそれ超、例えば、約 3.5 などの pH レベルを有するペプチド溶液中で存在し得る。他の実施形態では、ペプチドヒドロゲルは、配列 Lys - Leu - Asp - Leu - Lys - Leu - Asp - Leu - Lys - Leu - Asp - Leu (KLDL)₃ を有す

40

50

るKLDL12（またはKLD12）などの別の自己組織化ペプチドであり得る。1つまたは複数のさらなる実施形態によれば、ペプチドヒドロゲルは、配列Ile-Glu-Ile-Lys-Ile-Glu-Ile-Lys-Ile-Glu-Ile-Lys-Ile(IEK)、Iを有するIEIK13であり得る。本明細書に論じた同様の有益な性質を呈する他のペプチドヒドロゲルも使用することができる。これらのペプチドヒドロゲルのいずれも、約3.0超、例えば、約3.4または3.5などのpHレベルを有し得る。

【0111】

PuraMatrix（登録商標）またはPuraMatrix Plus（商標）を含めたペプチドヒドロゲル、例えば、RADAl6、KLD12、またはIEIK13などは、生理的条件下で骨成長を促進するのに有効な濃度で存在し得る。この濃度は、約0.1w/vパーセント～約5w/vパーセントのペプチドの範囲内であり得る。具体的には、濃度は、約1w/vパーセント～約5w/vパーセントのペプチドの範囲内であり得る。より具体的には、濃度は、約3w/vパーセント～約5w/vパーセントのペプチドの範囲内であり得る。

10

【0112】

骨成長を促進する手順は、上記に論じたペプチドヒドロゲルの1種または複数を使用して実施することができる。手順は、例えば、非体重負荷(non-weight bearing)または体重負荷(weight bearing)治癒モデルにおいて非体重負荷または体重負荷骨に対して実施することができる。

20

【0113】

約1パーセント～約5パーセントのペプチドを含むペプチドヒドロゲル溶液が、標的エリアに導入され得る。使用される量は、骨欠損のサイズに基づいて決定することができる。例えば、骨欠損（例えば、骨間隙）がおよそ1cm³の体積を有する場合、使用されるペプチド溶液の量は、その体積にほぼ等しい場合がある。一部の実施形態では、骨間隙の体積のおよそ1.2倍、1.5倍、1.7倍、または2.0倍が、標的部位に導入され得る。

【0114】

試験は、本開示のペプチドヒドロゲル溶液の導入を、他の埋め込み可能な材料、例えば、Collaplug Collagen Implant、Collagraft Strip Implant、リン酸三カルシウム、または脱塩凍結乾燥骨同種移植片(DFDBA)と比較することを含み得る。これらの従来のインプラントは、製造業者の指示に従って使用することができる。

30

【0115】

試験は、ペプチドヒドロゲル溶液を互いに比較することも含み得る。例えば、試験は、PuraMatrix（登録商標）を、PuraMatrix Plus（商標）、KLD12、およびIEIK13の少なくとも1種と比較することを含んでもよい。具体的な試験では、PuraMatrix（登録商標）をPuraMatrix Plus（商標）と比較することができる。

【0116】

試験は、同じ濃度のペプチドで1種または複数のペプチドヒドロゲルを比較することも含み得る。例えば、PuraMatrix（登録商標）の1%ペプチド溶液が、PuraMatrix Plus（商標）、KLD12、およびIEIK13の1%ペプチド溶液の少なくとも1種と比較される場合がある。試験の別の態様では、PuraMatrix（登録商標）の3%ペプチド溶液が、PuraMatrix Plus（商標）、KLD12、およびIEIK13の3%ペプチド溶液の少なくとも1種と比較される場合がある。試験の別の態様では、PuraMatrix（登録商標）の5%ペプチド溶液が、PuraMatrix Plus（商標）、KLD12、およびIEIK13の5%ペプチド溶液の少なくとも1種と比較される場合がある。

40

【0117】

50

試験は、ペプチドの異なる濃度で1種または複数のペプチドヒドロゲルを比較することも含み得る。例えば、PuraMatrix（登録商標）、PuraMatrix Plus（商標）、KLD12、およびIEIK13の1%ペプチド溶液の1種または複数が、PuraMatrix（登録商標）、PuraMatrix Plus（商標）、KLD12、およびIEIK13の3%ペプチド溶液または5%ペプチド溶液の1種または複数と比較される場合がある。

【0118】

ペプチドヒドロゲルおよび他のインプラントと比較するのにインプラントが使用されない1つまたは複数の対照試験を行ってもよい。

【0119】

血液または食塩水を、ペプチドヒドロゲル溶液の任意の1種または複数とともに適用することができる。

【0120】

追加のペプチドヒドロゲル溶液を、溶液の最初の投与後の任意の時間に標的部位に導入することができる。このペプチドヒドロゲル溶液は、最初に投与したペプチドヒドロゲル溶液と、同じペプチドであっても、異なるペプチドであっても、または同じ濃度であっても、異なる濃度であってもよい。

【0121】

ペプチドヒドロゲル溶液は、適用すると、ペプチドヒドロゲル足場を形成し得ることを見出すことができる。ペプチドヒドロゲル足場は、骨成長を促進して骨成長または内方成長をもたらし、標的エリアの治癒を促進することができる。ペプチドヒドロゲル足場は、より少ない骨成長、より少ない治癒、線維性瘢痕組織、血管瘢痕組織、および不連続な治癒の1つまたは複数をもたらし得る対照および他の埋め込み可能な材料と比較したとき、優れた様式で骨成長を促進して骨成長または内方成長をもたらし、標的エリアの治癒を促進することができる。

【0122】

ある特定の態様では、PuraMatrix Plus（商標）を含めた、上昇したpHおよび/または上昇した濃度でのペプチドヒドロゲル足場は、1種または複数の他のペプチドヒドロゲル、すなわち、PuraMatrix（登録商標）、KLD12、およびIEIK13の1種または複数のものより大きい程度に骨成長を促進し得ることを見出すことができる。PuraMatrix Plus（商標）は、試験される他のペプチドヒドロゲルの1種または複数と比較してより大きい機械的強度、より高いレベルの生体適合性、およびよりバイタルな骨の成長を有し得ることも見出すことができる。

【0123】

骨成長または内方成長は、ある時間、例えば、所定の時間にわたって起こり得る。時間または所定の時間は、標的エリアのサイズ（例えば、長さ、幅、深さ、体積）、標的エリアの場所、および被験体の健康に基づき得る。

【0124】

結果の評価

生検材料（例えば、骨核（bone core）試料）を試験中または試験の最後に採取して、従来のヘマトキシリン-エオシン（H&E）技法によって試料を評価することができる。試料は、組織学的分析および組織形態計測分析について評価され得る。

【0125】

分析は、倒立型（inverted）デジタルカメラを有する光学顕微鏡を使用して実施することができる。骨核標本1つ当たり各高さレベルの少なくとも2枚のスライドを分析することができる。試料の画像は、同じ拡大率で捕捉してもよい。バイタルな骨のパーセント、残っている移植片粒子、および非石灰化結合組織の定量化は、特殊なソフトウェアを使用して実施することができる。バイタルな骨は一般に、裂孔中の骨細胞の同定と関連し、またはそれによって定義され得る。

【0126】

10

20

30

40

50

有効性の追加の尺度として、コーンビームコンピューター断層撮影（C B C T）スキャンを、盲検様式での研究の最後に評価することができる。部位の横断面を評価して、ベースラインと増強後との間の骨の高さおよび幅の変化を測定することができる。

【0127】

すべての核は、再吸収性移植片粒子または材料および通常の骨代謝回転と一致して最小限の炎症細胞浸潤を示すことが予期される。膿瘍形成は、評価した核のいずれにおいても観察されないことが予期される。ペプチドヒドロゲル溶液は、他の埋め込み可能な材料より標的部位において大きく新しい骨形成を示すことができるが予期され得る。特に、PuraMatrix Plus（商標）は、他のペプチドヒドロゲルを含めた他の埋め込み可能な材料より標的部位において大きく新しい骨形成を示すことができるが予期され得る。10

【0128】

骨髓空間のサイズは、ペプチドヒドロゲル核中の新しい骨と一致することが予期される。10

【0129】

ペプチドヒドロゲルは、取り扱いおよび外科的技法の観点から他のインプラント材料に対して利点を提供することが観察される場合がある。相当により少ない時間が、移植片を調製するのに必要となり得る。ペプチドヒドロゲルは、適用するのが容易であり得、手術部位を完全に充填し、手術部位に対してより少ない曝露時間を必要とし、したがって汚染のリスクを最小限にすることを見出すことができる。PuraMatrix Plus（商標）のより高い機械的強度および他の性質に起因して、PuraMatrix Plus（商標）は、取り扱うのがより容易であり得、充填するのがより容易であり得、手術部位または骨間隙内に維持されて、他の従来の技法および他のペプチドヒドロゲルに対して優れた結果をもたらし得ることを予期することができる。20

【0130】

ペプチドヒドロゲルで試験されるすべての被験体は、正常範囲内の血清 Ig G 結果を示すことが予期される。

【0131】

バイタルな骨のパーセンテージは、他の埋め込み可能な材料が導入される、または材料が導入されないものより、ペプチドヒドロゲル溶液が導入される標的エリア内で大きくなり得ることが予期される。PuraMatrix Plus（商標）は、PuraMatrix（登録商標）などの他のペプチドヒドロゲル溶液または他の埋め込み可能な材料と比較して、標的エリア内のバイタルな骨のより大きいパーセンテージを有し得ることを予期することができる。30

【0132】

X線撮影評価を実施して、本明細書に記載の手順後の骨の高さおよび幅の変化を3次元的に評価してもよい。

【0133】

画像は、ペプチドヒドロゲル溶液で処置される被験体のほとんどについて、骨の高さのかなりの変化を示すことが予期される。PuraMatrix Plus（商標）は、PuraMatrix（登録商標）などの他のペプチドヒドロゲル溶液および他の埋め込み可能な材料と比較して、標的エリア内の骨の高さのより大きい変化を有し得ることを予期することができる。40

【0134】

結論

この実施例は、ペプチドヒドロゲル溶液を骨成長手順において安全かつ成功裏に使用することができることを示し得る。有効性目標は、新しいバイタルな骨の形成が、対照処置について観察されるものより良好、またはそれと同様であることを示すことによって満たされ得る。追加の有効性目標は、ペプチドヒドロゲル溶液および対照処置について、移植片内に配置されたインプラントが、所定の時間後に成功裏のものであったことを示すこと50

によって満たされ得る。

【0135】

さらに、ペプチドヒドロゲル溶液に対して D F D B A または別のインプラント材料を使用するとき、より多くの時間が移植片を調製するのに必要である（約 15 分、脱水および待ち時間を含む）ことが見出され得る。必要とされる正確な量を予測することは困難であり得、したがって、必要な場合、追加の移植片を調製するのにより多くの時間を要する場合がある。より多くの時間はまた、増強されたエリア内で移植片を凝縮するのに、D F D B A および他のインプラント材料を用いると必要となり得る。より多くの注意も、移植片を部位内に慎重に移動させるのに必要である。移動中により多くの汚染リスクまたは移植片の喪失のリスクも存在し得る。

10

【0136】

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

【0137】

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

20

【0138】

PuraMatrix Plus（商標）は、PuraMatrix（登録商標）などの他のペプチドヒドロゲルより優れた性質を有し得ることも予期することができる。これは、試験される他のペプチドヒドロゲルの 1 種または複数と比較して、より大きい機械的強度、より高いレベルの生体適合性、およびよりバイタルな骨成長を含み得る。

【0139】

例えば、約 3 % ~ 5 % のペプチド溶液の範囲内のより高い濃度も、より低いパーセンテージのペプチドでの他のペプチド溶液と比較して、優れた品質を呈し得ることも予期することができる。

30

【0140】

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

【配列表】

2017519568000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/JP2015/003096

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61L27/22 A61K38/00 A61L27/36 A61L27/52
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61L A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 2012/008967 A1 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY [US]; KUMADA YOSHIYUKI [US]; ZHANG SHUGU) 19 January 2012 (2012-01-19)</p> <p>page 2, line 22 - line 26 page 3, line 21 - line 25 page 4, lines 6-16, 26, 30, 31 page 6, line 2 - line 4 figure 2 page 14, line 16 - line 26 page 27, lines 4, 5</p> <p>----- -/-</p>	<p>1-3,5, 7-16,18, 20-25, 30,34,36</p>

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

14 September 2015

24/09/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Laurent, Antoine

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/JP2015/003096

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/036826 A2 (ETHICON INC [US]; HARRIS IAN ROSS [US]; HARMON ALEXANDER M [US]; BROWN) 6 April 2006 (2006-04-06) page 2, paragraph 4 page 3, paragraph 1 page 7, paragraphs 2, 5 page 8, paragraph 3 page 9, paragraph 5 page 10, paragraph 4 ----- WO 2006/014570 A2 (3D MATRIX INC [US]) 9 February 2006 (2006-02-09) page 5, line 13 - line 24 page 7, line 15 - line 31 -----	1-6,11, 13-19,24
X		1-5,11, 13-18, 24, 26-29, 31-33,35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/JP2015/003096

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 2012008967	A1	19-01-2012	JP WO	2013533271 A 2012008967 A1		22-08-2013 19-01-2012
WO 2006036826	A2	06-04-2006	EP EP US WO	1802743 A2 2361969 A1 2008145934 A1 2006036826 A2		04-07-2007 31-08-2011 19-06-2008 06-04-2006
WO 2006014570	A2	09-02-2006	CA EP JP JP JP JP US US WO	2572964 A1 1843776 A2 5255274 B2 5730828 B2 2008505919 A 2012250988 A 2006084607 A1 2013281547 A1 2006014570 A2		09-02-2006 17-10-2007 07-08-2013 10-06-2015 28-02-2008 20-12-2012 20-04-2006 24-10-2013 09-02-2006

フロントページの続き

(51) Int.CI.

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 L 27/54 Z N A

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

F ターム(参考) 4C081 AA02 AA03 AA12 AB04 AB06 BA12 BA13 CD111 CD34 CE01
CE02 DA02 DA05 DA06 DA12 DA15