

(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2008-509748  
(P2008-509748A)

(43) 公表日 平成20年4月3日(2008.4.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 F 2/14 (2006.01)</b>	A 6 1 F 2/14	4 C 0 8 1
<b>A 6 1 F 9/007 (2006.01)</b>	A 6 1 F 9/00 5 9 0	4 C 0 9 7
<b>A 6 1 L 27/00 (2006.01)</b>	A 6 1 L 27/00 D	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号 特願2007-525825 (P2007-525825)  
 (86) (22) 出願日 平成17年8月12日 (2005. 8. 12)  
 (85) 翻訳文提出日 平成19年2月13日 (2007. 2. 13)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/028723  
 (87) 国際公開番号 W02006/020859  
 (87) 国際公開日 平成18年2月23日 (2006. 2. 23)  
 (31) 優先権主張番号 60/601, 270  
 (32) 優先日 平成16年8月13日 (2004. 8. 13)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

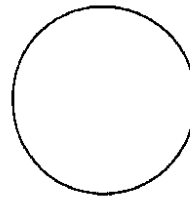
(71) 出願人 505050555  
 オタワ ヘルス リサーチ インスティテ  
 ユート  
 カナダ国 ケー1ワイ 4イー9 オンタ  
 リオ州 オタワ パークデイル アベニュー  
 725  
 (71) 出願人 507046336  
 ナショナル リサーチ カウンシル オブ  
 カナダ  
 カナダ ケイ1エイ 0アール6 オンタ  
 リオ オタワ モントリオール ロード  
 1200 インテレクチュアル プロパテ  
 イー サーヴィシース オフィシース

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 視力向上眼用装置及び関係する方法と組成物

(57) 【要約】

【解決手段】 視力を改善するか、又は目の病気、異常又は損傷を治療するための装置、方法及び組成物について述べられている。角膜アンレー、角膜インレー及び全厚角膜インプラントの様な眼用装置は、装置を通して又は覆って神経が成長し易くするのに効果的な材料で作られている。材料は、約10% (w/w) ~ 約30% (w/w) の様に、1% (w/w) よりも多い量のコラーゲンを含んでいる。材料は、EDC/NHS化学薬品を使って架橋結合されたコラーゲンポリマー及び/又は第2生物ポリマー又は水溶性合成ポリマーを含んでいる。材料は、合成ポリマーを追加して含んでもよい。装置は、個体の視力を補正又は改善するか、或いは個体の目の病気、異常又は損傷を治療するために、目の中に配置される。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

本体を含む視力向上眼用装置であって、前記本体が、前記装置を個体の目の中に配置した時に、前記本体を通るか又は前記本体上で神経の成長を促進する効果的な量の材料を含み、かつ前記本体が、光学的能力を有するように形成されていることを特徴とする装置。

## 【請求項 2】

前記材料が、約 1 % ( w / w ) ~ 約 5 0 % ( w / w ) の量のコラーゲンを含む、請求項 1 に記載の装置。

## 【請求項 3】

前記材料が、約 1 0 % ( w / w ) ~ 約 3 0 % ( w / w ) の量のコラーゲンをむ、請求項 2 に記載の装置。 10

## 【請求項 4】

前記材料が、架橋したコラーゲンポリマーを含む、請求項 1 に記載の装置。

## 【請求項 5】

前記材料が、組み換え型コラーゲンを含む、請求項 1 に記載の装置。

## 【請求項 6】

前記本体が、角膜アンレー、角膜インレー、又は全厚角膜インプラントとして作られている、請求項 1 に記載の装置。

## 【請求項 7】

前記材料が、細胞成長増強剤を更に含む、請求項 1 に記載の装置。 20

## 【請求項 8】

前記細胞成長増強剤が、ペプチドである、請求項 7 に記載の装置。

## 【請求項 9】

約 1 % ( w / w ) ~ 約 5 0 % ( w / w ) の量のコラーゲンを有するコラーゲン成分を含んでおり、光学的能力を有するように形成されている、視力向上眼用装置。

## 【請求項 10】

前記コラーゲンの量が、約 1 0 % ( w / w ) ~ 約 3 0 % ( w / w ) である、請求項 9 に記載の装置。

## 【請求項 11】

前記コラーゲン成分が、個体の角膜のストロマの中に配置されるように作られた角膜インレー、個体の角膜の一部と置き換えるように作られた全厚角膜インプラント、個体の上皮細胞層とボーマン膜の間に配置されるように作られた角膜アンレーからなる群から選択される装置として形成されている、請求項 9 に記載の装置。 30

## 【請求項 12】

前記コラーゲンが、前記装置の唯一の水膨潤可能ポリマーである、請求項 9 に記載の装置。

## 【請求項 13】

前記装置が、光学的に透明である、請求項 9 に記載の装置。

## 【請求項 14】

前記コラーゲン成分が、酸性 pH で処理されたコラーゲン成分を含む、請求項 9 に記載の装置。 40

## 【請求項 15】

酸性 pH が、約 5 . 0 ~ 約 5 . 5 である、請求項 14 に記載の装置。

## 【請求項 16】

前記コラーゲン成分が、前面と後面を有するように形成されている、請求項 9 に記載の装置。

## 【請求項 17】

前記コラーゲン成分が、角膜アンレーとして形成されており、前記コラーゲン成分は、表面修正していない表面、前記アンレーを個体の目の中に配置したときに、前記アンレーの下で上皮細胞の成長を低下するのに効果的な後面修正を有する後面、前記アンレーをヒ 50

トの目の中に配置したときに、前記アンレーの前面上で皮細胞の成長を促進するのに効果的な前面修正を有する前面からなる群から選択される表面を含む、請求項 16 に記載の装置。

【請求項 18】

前記コラーゲン成分が、全厚角膜インプラントとして形成されており、前記コラーゲン成分が、前記インプラントを個体の目の中に配置したときに、前記インプラントの後面上で内皮細胞の成長を低下するのに効果的な後面修正を有する後面、前面修正を含んでいない前面からなる群から選択される表面を含む、請求項 16 に記載の装置。

【請求項 19】

前記前面と前記後面の内の少なくとも一方が、プラズマ重合フッ素化モノマーフィルムを備えている、請求項 16 に記載の装置。

10

【請求項 20】

前記プラズマ重合フッ素化モノマーフィルムが、 $CF_4$ 又は $C_3F_8$ を含む、請求項 19 に記載の装置。

【請求項 21】

前記前面と前記後面の内の少なくとも一方が、そこへ細胞が貼り付くのを低下するのに効果的な低い自由表面エネルギーを有している、請求項 16 に記載の装置。

【請求項 22】

前記前面と前記後面の内の少なくとも一方が、そこへ細胞が貼り付くのを低下するのに十分なほど親水性である、請求項 16 に記載の装置。

20

【請求項 23】

前記前面と前記後面の内の少なくとも一方が、アルギン酸塩被膜を備えている、請求項 22 に記載の装置。

【請求項 24】

前記コラーゲン成分が、架橋したコラーゲンポリマーを含む、請求項 9 に記載の装置。

【請求項 25】

前記コラーゲン成分が、組み換え型コラーゲン、アテロコラーゲン、型式 I、及び型式 III コラーゲンからなる群から選択されるコラーゲンを含む、請求項 24 に記載の装置。

【請求項 26】

前記コラーゲン成分は、組み換え型コラーゲンを含む、請求項 24 に記載の装置。

30

【請求項 27】

前記コラーゲン成分が、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドとN-ヒドロキシスクシンイミドを使ってコラーゲンポリマーを架橋させる工程によって作られる、請求項 24 に記載の装置。

【請求項 28】

前記コラーゲン成分が、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド-コ-アクリル酸)、コンドロイチン硫酸、キトサン、N,O-カルボキシメチルキトサン、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸アルデヒド、及びアルギン酸塩からなる群から選択される薬剤を更に備える、請求項 24 に記載の装置。

40

【請求項 29】

前記コラーゲン成分が、グルタルアルデヒド以外の架橋剤を使って前記コラーゲンポリマーを架橋させる工程によって作られる、請求項 24 に記載の装置。

【請求項 30】

約 1.34 ~ 約 1.37 の屈折率を有する、請求項 9 に記載の装置。

【請求項 31】

細胞成長増強剤を更に備える、請求項 9 に記載の装置。

【請求項 32】

前記細胞成長増強剤が、ペプチドを含む、請求項 31 に記載の装置。

【請求項 33】

前記ペプチドが、RGD、YIGSR、又はIKVAVのアミノ酸配列を有する、請求

50

項 3 2 に記載の装置。

【請求項 3 4】

神経が、前記装置の中へ内方成長し易くするのに効果的である、請求項 9 に記載の装置。

【請求項 3 5】

前記細胞成長増強剤が、神経栄養因子、神経成長因子、及び上皮成長因子で構成されているグループから選択される、請求項 3 1 に記載の装置。

【請求項 3 6】

前記細胞成長増強剤が、実質的に装置全体に提供される、請求項 3 1 に記載の装置。

【請求項 3 7】

視力向上眼用装置を調製する方法において、  
 コラーゲンポリマーを酸性 pH において、架橋剤と結合する工程と、  
 前記結合物を、光学的能力を有し、前記装置を通して又はその上で神経のが成長を促進するのに効果的な視力向上眼用装置に形成する工程と、  
 を有することを特徴とする方法。

10

【請求項 3 8】

前記化合させる工程が、前記コラーゲンポリマーと前記架橋剤を、前記結合物に高剪断力を作り出すように構成されているシステム内で、混ぜ合わせる工程を含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記化合させる工程が、約 0 ~ 約 5 の温度で起こる、請求項 3 7 に記載の方法。

20

【請求項 4 0】

前記コラーゲンポリマーが、同じコラーゲン供給源から得られる、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記コラーゲンポリマーが、組み換え型コラーゲンを含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 2】

得られた前記眼用装置が、約 1 % (w/w) ~ 約 50 % (w/w) の量のコラーゲンを有するコラーゲン成分を有する、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記結合物に、細胞成長増強剤を加える工程を更に含む、請求項 3 7 に記載の方法。

30

【請求項 4 4】

前記化合物を硬化させる工程を更に含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 5】

角膜アンレーであって、水和状態で、約 1 % (w/w) より多い量のコラーゲンを有し、光学的に透明であることを特徴とする角膜アンレー。

【請求項 4 6】

前記アンレーが、架橋したコラーゲンポリマーを有する、請求項 4 5 に記載の角膜アンレー。

【請求項 4 7】

前記コラーゲンの量が、約 1 % (w/w) ~ 約 30 % (w/w) である、請求項 4 5 に記載の角膜アンレー。

40

【請求項 4 8】

前記コラーゲンの量が、約 6 % (w/w) よりも多い、請求項 4 5 に記載の角膜アンレー。

【請求項 4 9】

前記コラーゲンの量が、約 10 % (w/w) ~ 約 24 % (w/w) である、請求項 4 5 に記載の角膜アンレー。

【請求項 5 0】

前記組成物が、自然の角膜ではない、請求項 4 5 に記載の角膜アンレー。

50

## 【請求項 5 1】

前記アンレーが、架橋した組み換え型コラーゲンを有する、請求項 4 5 に記載の角膜アンレー。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、個体の視力を向上させるための、或いは、目の外傷又は個体の眼の病気又は異常を治療するための装置、方法、及び組成に関する。具体的には、本発明は、1つ又はそれ以上の恩恵を個体に提供する材料で作られた角膜アンレー、角膜インレー、及び角膜インプラントに関する。

10

## 【背景技術】

## 【0002】

本出願は、2004年8月13日出願の米国特許仮出願第60/601,270号の恩典を請求し、その内容を参考文献としてここに援用する。

米国特許第5,713,957号は、非生物分解性で非ヒドロゲルで眼と生物適合性のある材料を備えていて、10,000ダルトンより大きな分子流体重量を有する組織流体成分が通過できるだけの有孔率を有する角膜アンレーについて開示している。

米国特許第5,716,633号は、上皮細胞の成長とストロマの再生を促すためのコラーゲン/PHEMAヒドロゲルを開示している。コラーゲン-ヒドロゲルは、ポーランド膜に取り付けられる光学レンズとして提供されており、上皮細胞の成長、又はレンズの前面への角膜上皮の付着を促進及び支持するのに効果的である。コラーゲン-ヒドロゲルは、コラーゲンの水溶液と接するとゲル化し、架橋結合して、コラーゲンを固定するための立体高分子網細工を形成する、親水性のモノマー溶液の遊離基重合によって形成されたヒドロゲルポリマーである。アンレー内のコラーゲンの最終的濃度は、約0.3%から約0.5%(wt/wt)である。

20

## 【0003】

米国特許第5,836,313号は、移植可能な複合材の人工角膜を形成するための方法を開示している。本方法は、角膜上皮細胞の成長に適した基質を提供できるように設計された人工角膜を提供している。人工角膜は、角膜移植片の形状を有する成型型の中に角膜組織を配置し、高分子溶液を架橋結合させて、約50から100ミクロンの間の厚さを有する生体適合性ヒドロゲルを角膜組織に化学的に結合させ、人工角膜を形成することによって形成される。或いは、ポリマー溶液を、角膜組織と事前に形成されたヒドロゲルの間に配置し、次に、ポリマー溶液がヒドロゲルと角膜組織の両方に連結するように重合させる。

30

米国特許第6,454,800号は、組織細胞の付着と成長を支持する複数の表面窪みの付いた表面を備えている角膜アンレー又は角膜インプラントを開示している。

米国特許第6,689,165号は、繋留角膜増強剤を使って角膜の上皮細胞の接着と移動を増強する、角膜の増大及び置換のための人工的装置を開示している。

既存のコラーゲンベースの材料に付帯する問題の1つは、コラーゲンベースの材料が、繊維ベースの材料で形成されているため、又は繊維ベースの材料に転換するために、光学的に透明ではなく、その結果、望ましくない光の散乱が生じることである。

40

従って、生体適合性のある、眼の中に受け入れ可能で、目の中に配置して個体の視力を向上させるのに適している材料が必要とされている。

## 【0004】

【特許文献1】米国特許仮出願第60/601,270号

【特許文献2】米国特許第5,713,957号

【特許文献3】米国特許第5,716,633号

【特許文献4】米国特許第5,836,313号

【特許文献5】米国特許第6,454,800号

【特許文献6】米国特許第6,689,165号

50

- 【特許文献7】WO94/16570
- 【特許文献8】WO2004/015090
- 【特許文献9】米国特許第6,086,204号
- 【特許文献10】WO2004/028356号
- 【特許文献11】米国特許出願第60/573,657号
- 【特許文献12】米国特許出願第10/661,400号
- 【特許文献13】米国特許出願第60/573,657号
- 【特許文献14】米国特許出願第10/661,400号
- 【特許文献15】米国特許出願第60/573,657号
- 【特許文献16】PNAS100:15346-15351 10
- 【特許文献17】PCT、WO93/07889
- 【非特許文献1】Maurice D M「角膜と強膜」489-600頁、「目」第1巻第2版、H Davson編集、アカデミックプレス、ニューヨーク、1969年
- 【非特許文献2】DeLustro他「J Biomed Mater Res.」1986年1月、20(1)、109-20
- 【非特許文献3】Stenzel他「Annu Rev Biophys Bioeng」1974年、3(0)、231-53
- 【発明の開示】
- 【課題を解決するための手段】
- 【0005】 20
- 或る眼用装置は、装置を個体の目の中に配置すると、神経が、本体を通り、又は本体上で成長し易くするのに効果的な組成物を含む本体を備えている。或る実施形態では、装置は、視力向上眼用装置である。代替の実施形態では、装置は、治療用の眼用装置である。本視力向上装置は、1つ又は複数の屈折誤差を補正するように作られた装置であると理解することができる。換言すると、本装置は、屈折誤差補正装置と理解することができる。本装置の本体は、光学的能力(optical power)を有するように形成することができる。
- 【0006】 30
- 本発明の組成物は、光学的に透明であり、約1%(w/v又はw/w)から約50%(w/v又はw/w)の量のコラーゲンを含んでいる。或る実施形態では、コラーゲンの量は、2.5%(w/w又はw/v)よりも多い。ここで、組成物及び装置のコラーゲン及び/又は他の成分の量と言う場合、本発明の精神から逸脱すること無く、w/w又はw/vパーセントの何れかであると理解されたい。別の実施形態では、コラーゲンの量は、約5.0%よりも多い。例えば、材料は、約10%から約30%の量のコラーゲンを含んでもよい。或る実施形態では、材料は、約1%から約50%の量の架橋結合したコラーゲンを含んでおり、コラーゲンは、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC; CAS# 1892-57-5)とN-ヒドロキシスクシンイミドを使って架橋結合されている。別の実施形態では、架橋結合しているコラーゲンの量は、2.5%から約50%である。材料は、第2コラーゲンポリマーと架橋結合している第1コラーゲンポリマーを含んでいる。或る実施形態では、ここに開示している眼用装置は、グルタルアルデヒド無しに作られている。例えば、眼用装置は、製造時に、グルタルアルデヒドを架橋剤として使用していない。グルタルアルデヒド及び/又は本組成物及び装置の取扱い及び安全の要件のため、グルタルアルデヒドは、架橋結合剤として使用するのが望ましくないか又は好ましくない。或る実施形態では、眼用装置は、細胞に有害な成分を含まずに作られ、換言すると、細胞毒性を抑えた成分を使って作られる。
- 【0007】 40
- 上記装置は、角膜アンレー、角膜インレー、又は、個体の生来の角膜に置き換えるように作られた装置の様な全厚角膜インプラントである。本装置は、透明であり、組成物が装置に形成される前は透明である組成物で作成してもよい。
- 上記装置の材料は、1つ又は複数の細胞成長増強剤、又は1つ又は複数の追加のバイオポリマーを含んでもよい。 50

本開示による、屈折誤差補正装置の様な眼用装置を作る方法は、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドとN - ヒドロキシスクシンイミド(EDCとNFS)とを使って、コラーゲンポリマーを架橋する段階を含んでいる。架橋結合は、約5.0から約5.5 pHの様な酸性pHで起こる。本方法は、更に、架橋結合した組成物に細胞成長増強剤を加える1つ又は複数の段階を含んでいる。本方法は、成形型の中に組成物を配置する段階と、組成物を硬化させて眼用装置を形成する段階と、を含んでいる。

#### 【0008】

ここに記載しているあらゆる特徴又はそれらの組み合わせは、その様な組み合わせに含まれる特徴が、文脈、本明細書、及び当業者の知識から明らかに、互いに矛盾していなければ、本発明の範囲の中に含まれる。また、あらゆる特徴又はそれらの組み合わせを、本発明の何れの実施形態からでも特定の排除してもよい。

10

本発明のこの他の利点及び態様は、以下の詳細な説明と、図面と、例と、特許請求の範囲で明らかとなる。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0009】

通常ヒトの目は、レンズと虹彩を有している。後室は、虹彩の後ろに位置しており、前室は、虹彩の前に位置している。目は、ここに論じる様に、5つの層で構成された角膜を有している。層の1つである角膜上皮は、角膜の前方外側表面に張り付いている。角膜上皮は、角膜縁まで横方向に伸張する層状で扁平な上皮である。

角膜の5つの層は、角膜上皮、ポーマン膜、ストロマ、デスメ膜、及び内皮を含んでいる。角膜上皮は、通常、厚さ約5 - 6細胞層(厚さ約50マイクロメートル)であり、角膜が損傷したときは、全体的に再生する。角膜上皮は、比較的滑らかな屈折面を提供し、目の感染を防ぐ働きをする。角膜ストロマは、線維芽細胞や角膜細胞の様な、細胞が中に分散しているコラーゲンの層状構造である。ストロマは、角膜の厚さの約90%を構成している。上皮の下にあるストロマの前方部分は、無細胞であり、ポーマン膜として知られている。ポーマン膜は、上皮とストロマの間に位置しており、角膜を損傷から保護すると考えられている。角膜上皮は、通常、角膜から水分を取り除くことによって角膜を脱水する小さい立方体又は扁平な細胞の単一層である。成人の角膜は、通常、厚さ約500µm(0.5mm)で、通常は血管が無い。

20

#### 【0010】

視力を向上させるか又は改善したい人、或いは目の病気、異常又は外傷の治療を必要とする人の様な人々に、1つ又はそれ以上の恩恵を提供する眼用装置が開発されてきた。ここに記載している装置は、角膜アンレー(onlay)、角膜インレー、又は全厚角膜インプラントとして作られている。本装置は、視力が弱っている個体の視力を向上させるか、又は視力を失った個体に視力を提供する。ここに記載している装置は、特に、眼内レンズを対象から外している。

30

ここで言う「光学的に透明」とは、白色光の少なくとも85%の透過率を指す。或る実施形態では、「光学的に透明」とは、例えば、90%を超える白色光の透過率と、3%未満の散乱を有する健康な角膜の光の透明度と等価な光学透明度を指す。

#### 【0011】

ここで言う「角膜アンレー」は、ヒト又は動物の目の様な個体の目の、上皮又は上皮細胞層とポーマン膜の間に配置されるように、例えば寸法及び形状が作られた、眼用インプラント又は装置である。それに比べて、コンタクトレンズは、目の上皮を覆って配置するように作られている。角膜アンレーは、この様に、ポーマン膜を完全に覆って配置されるか、ポーマン膜の中に伸張する1つ又は複数の部分を含んでいる。その様な部分は、装置の領域又は体積の50%未満の様な、装置の主要でない部分を構成している。

40

ここで言う「角膜インレー」は、目のストロマの中に配置されるように作られた装置又はインプラントである。角膜インレーは、ストロマ内に皮弁又はポケットを形成することによって、ストロマの中に配置される。角膜インレーは、目のポーマン膜の下に配置される。

50

ここで言う「全厚角膜インプラント」は、目の房水の前方に位置する目の不健康な角膜の全部又は部分に置き換えるように作られた装置を指している。

【0012】

本発明の眼用装置は、細胞毒性を低減しているか、又は非細胞毒性であり、装置が配置される個体に1つ又はそれ以上の恩恵を提供する。例えば、本装置は、(i)所望の屈折率、(ii)所望の光学的透明度(可視光線では、光の透過率と光の散乱は、匹敵する厚さの健康なヒトの角膜材料のそれと等しいか、それより優れている)、(iii)視力向上光学的能力の様な所望の光学的能力、(iv)優れた快適性、(v)優れた角膜及び上皮の健康、及び(vi)例えば目の病気、異常、又は外傷の手当てにおける治療上の恩恵の内の1つ又はそれ以上を提供する。本眼用装置は、透明であるか、又は透明な材料で形成されている。その様な装置の例には、光学的に透明な装置が含まれる。

10

以上の恩恵、並びにこの他の恩恵は、(i)受容可能な光学的能力を有する基質を形成するために成形可能、例えば型成形可能で、(ii)光学的に透明、又は視覚的に透明で、及び(iii)神経が装置を通して及び/又は覆って成長し易いようにするのに効果的である材料の装置を形成することによって得られる。装置が角膜アンレーの場合、装置は、装置の前面を覆う上皮再形成をやり易くするのに効果的である。

本装置は、取扱い、縫合を含む移植、装着後の磨耗及び引裂に耐える機械的又は構造的な特性を有する材料で形成されている。本装置は、健康な目を増進できるだけの栄養分とガス交換を提供又は可能にしている。角膜アンレーの様に、型成形で作られる装置は、ここに論じる縁部勾配と視力補正曲率を含む適切な寸法と形状に型成形することのできる材料で形成される。

20

【0013】

本発明の或る実施形態では、視力向上装置は、装置を個体の目の中に配置した時に、神経が本体を通して成長し易くするのに効果的な材料を含んでいる本体を備えている。神経が本体を通して成長し易いようにすることによって、単数又は複数の装置を受け入れる個体の角膜は、接触感度を維持している。本体は、光学的能力を有するように形成されている。従って、本体は、レンズ本体と理解してもよい。ここで論じるように、装置は、例えば寸法と形状が、角膜アンレー、角膜インレー、又は全厚角膜インプラントであるように作られる。或る実施形態では、本発明の屈折誤差補正装置は、光学的能力を有していない。例えば、本開示による屈折誤差補正装置は、患者の角膜上皮とボーマン膜の間か、又は患者の角膜ストロマの中に配置することのできる未完成品であると理解されたい。

30

【0014】

角膜アンレーについては、アンレーを作っている材料は、ガスと、グルコースの様な栄養分とを提供し、ガスと栄養分をボーマン膜と上皮の間で交換できるようにして、実用的で完全に機能する上皮を維持している。他の栄養分は、上皮細胞の様な細胞の存続、成長及び分化を促進又は強化する因子又は薬剤を含んでいる。交換は、健康なヒトの角膜に匹敵するか、又はそれを上回っている。材料の栄養分及び/又は薬品に対する透過性は、従来技法を使って監視することができる。更に、栄養分及び/又は薬品の材料を通る動きは、材料の光学特性を変化させてはならない。アンレー又は微小凸レンズは、完全に生体適合性があり、アンレーに迅速に上皮を接着させることができ、神経支配と、接触感度の様な感度と、を回復させることができる。

40

【0015】

本眼用装置は、細胞外基質(ECM)成分を含んでいる。或る装置では、本体の材料は、コラーゲンを含んでおり、基本的にコラーゲンで構成されており、或いはコラーゲンで構成されている。コラーゲンは、例えば、装置の製造にEDC/NHSを用いることによって、架橋結合されている。本ヒドロゲル装置内に提供されているコラーゲンの量は、現在、他の眼用装置に用いられている量より多い。例えば、本装置に提供されているコラーゲンの量は、ここに論じている様に、通常は、1%(w/w)又は(w/v)より多い。或る実施形態では、コラーゲンの量は、2.5%より多い。例えば、コラーゲンの量は、約5.0%以上である。本装置の或る実施形態では、コラーゲンの量は、約1%(w/w

50

) から約 50% (w/w)、例えば 2.5% から約 50% である。例えば、コラーゲンの量は、約 6% (w/w) より多い。或いは、材料は、約 10% (w/w) から約 30% (w/w) の量のコラーゲンを含んでいる。当業者には理解頂けるように、水和したヒトの角膜の約 15wt% は、コラーゲンである (Maurice D M 「角膜と強膜」 489 - 600 頁、「目」第 1 巻第 2 版、H Davson 編集、アカデミックプレス、ニューヨーク、1969 年)。従って、本装置は、既存の眼用装置より多い量のコラーゲンを含んでおり、ヒトの角膜に存在している量のコラーゲンに遙かに近い。更に、本装置に提供されているコラーゲンの量と種類は、所望の屈折率、所望の光学的透明度、成形性を提供し、装置の、目の中での取扱い、移植、及び縫合を可能にし、装着後の磨耗と引裂特性を提供するのに効果的である。

10

## 【0016】

非コラーゲンベース部分の様な眼用装置の残りの部分は、水又は食塩水の様な液体であってもよいし、生体高分子などの様な 1 つ又は複数の追加ポリマーを含んでいてもよい。例えば、ここに開示しているように約 24% (w/w) のコラーゲンを含んでいる眼用装置は、水又は食塩水の様な液体を約 76% (w/w) 含んでいる。換言すると、水和した状態では、眼用装置は、水和した眼用装置の重量の 24% であるコラーゲン成分を有している。別の例では、眼用装置は、水和した装置の重量の 24% であるコラーゲン成分と、水和した装置の重量の 6% である第 2 ポリマー成分を含んでおり、重量の 70% は液体である。

20

## 【0017】

当業者には理解頂けるように、非水和状態では、装置内のコラーゲンの量は、水和した状態の場合よりも百分率は高い。

コラーゲンは、3 つのポリペプチド鎖を備えており、構造が螺旋形である。ここで使う「コラーゲンポリマー」という用語は、三重螺旋コラーゲン分子を指す。コラーゲンは、棒状の分子で、長さとは直径は、それぞれ約 300nm と約 1.5nm である。コラーゲン分子は、N 及び C の両方の末端に「テロペプチド」と呼ばれるアミノ酸配列を有しており、これがコラーゲンの抗原の大部分を含んでいる。アテロコラーゲンは、ペプシン消化によって得られ (DeLustro 他、J Biomed Mater Res, 1986 年 1 月、20 (1)、109 - 20)、テロペプチドが無く、免疫原性が低い (Stenzel 他、Annu Rev Biophys Bioeng, 1974 年、3 (0)、231 - 53) ことを示している。

30

## 【0018】

上に特定している装置に用いられているコラーゲンは、動物、イースト、及びバクテリア源を含む任意の適切なコラーゲン供給源から入手又は抽出することができる。例えば、コラーゲンは、ヒトのコラーゲン、ウシ科のコラーゲン、ブタ科のコラーゲン、鳥科のコラーゲン、ネズミ科のコラーゲン、ウマ科のコラーゲンなどであってもよいし、組み換え型のコラーゲンであってもよい。組み換え型のコラーゲンは、バクテリア、イースト、植物、又は形質転換動物から得られるので、本装置の組み換え型のコラーゲンは、正常な動物供給源から得られるコラーゲンには存在しない 1 つ又は複数の構造的又は物理的特徴を含んでいる。例えば、組み換え型のヒトのコラーゲンは、動物から抽出して処理したコラーゲンには存在しない別のグリコシル化成分を含んでいる。更に、組み換え型のコラーゲンは、架橋結合の程度が、様々な組成となることもある動物から抽出したコラーゲンとは異なっている。動物から抽出したコラーゲンの架橋結合の程度の変動は、コラーゲンの化学及び物理的特性が一定せず変動する結果的となるので、望ましくない。組み換え型のヒトのコラーゲンは、純度が厳しく制御されていることに加えて、動物から抽出したコラーゲンに付帯する虞のあるウイルス及び / 又はプリオンの汚染を伴うことはない。本装置に有用なコラーゲンは、公に入手可能であるか、又は従来 of 技法を使って合成することができる。例えば、組み換え型のコラーゲンは、Fibrogen (マルチゲンイースト生物反応器培養から) 又は Pharming (オランダ) (遺伝形質転換ウシ又はウサギの乳から) から入手してもよいし、PCT 公告 WO 93/07889 号又は WO 94/165

40

50

70号に開示されている方法を使って調製及び入手してもよい。或る装置では、コラーゲンは、型式Iのコラーゲンである。装置は、アテロコラーゲンで作ることもできる（例えば、テロペプチドを含まないコラーゲン）。或る実施形態では、コラーゲンは、非変性型のコラーゲンである。アテロコラーゲンは、コーケンジャパンの様な会社（ここでは供給元A）から入手してもよく、そこでは、ウシ科のコラーゲンは、或る中性組成物では3.5%（w/v）、或る酸性組成物では3.0%（w/v）、或る酸性組成物では10%（w/v）で入手することができ、ブタのコラーゲンは、或る酸性組成物では3.0%（w/v）で、又は酸性のフリーズドライのブタのコラーゲンの粉末として入手することができる。酸性のフリーズドライのブタのコラーゲンの粉末も、日本ハム（日本）（ここでは供給元B）から入手することができる。Becton Dickinson（ここでは供給元C）は、0.3%の酸性と、10%の酸性コラーゲン組成物を提供している。

10

## 【0019】

数種のコラーゲンの中で、アテロコラーゲンIは、溶解、取扱いが容易で、最終的な装置の透明度が得られる。このコラーゲン（ウシ、ブタ又は組み換え型の、中性又は酸性溶液、又は酸性のフリーズドライ粉末の何れか）は、先に述べた数社から入手することができる。フリーズドライの酸性のブタのコラーゲンは、容易に溶解し、4で攪拌することによって、冷水で濃度33%（w/v）までの同質（非乳白色）の水溶液が得られる。水溶液の様なこれらの透明なコラーゲン組成物のpHは、約3（供給元B）又は約5（供給元A）である。市販されている、0.3%（w/v）の低濃度酸性のコラーゲン組成物を0-4で攪拌しながら真空蒸発させて濃縮すると、最終コラーゲン濃度約10%（w/v）までの透明な溶液が得られ、これを使って本装置を製造することができる。

20

比較的頑丈又は強い眼用装置は、分離及び純化の間に変性しなかった（即ち、その三重螺旋配座の全部又は相当部分を失い、ゼラチンになる）コラーゲン型式Iを使って得ることができる。

## 【0020】

示差走査熱量測定（DSC）は、三重螺旋内容物に基づいて、供給元のコラーゲンの溶液の品質を判定する有用なツールである（表1）。完全に近い三重螺旋内容物では、変性のDSCエンタルピー（ $H_{denature}$ ）は、65-70 J/gの範囲内にある（乾燥コラーゲンの重量に基づく）。DSCのデータから、 $H_{denature}$ の結果は、市販の酸性フリーズドライのブタのコラーゲンからの溶液と、幾つかの市販のウシのコラーゲン溶液とは、完全な三重螺旋形であることを示している。

30

三重螺旋内容物が少ないコラーゲン溶液（ $H_{denature} < 5$  J/g、供給元C、表1）は、比較的低い粘性を有しており、100%近い三重螺旋内容物のコラーゲンからの同じ濃度の組成物又は溶液と比べると、薄いゲルとなる。 $H_{denature} > 約60$  J/gのコラーゲン組成物（溶液）は、許容可能な眼用装置を作ることが分かっている。

40

50

## 【 0 0 2 1 】

表 1 コラーゲン溶液の変性のエンタルピー

市販のコラーゲンのサンプル	組成物	$\Delta H_{denature}$ (乾燥コラーゲンの J / g)
コーケン (日本)、供給元 A	10% のウシの溶液	65.3
コーケン (日本)、供給元 A	10% のウシのコラーゲンの溶液、3% の酸性から濃縮	67.5
コーケン (日本)、供給元 A	5% のウシのコラーゲンの溶液、3.0% の酸性から濃縮	66.4
コーケン (日本)、供給元 A	3.5% のウシの中性溶液	68.1
コーケン (日本)、供給元 A	3.5% のウシの中性溶液、熱変性後	24.4
コーケン (日本)、供給元 A	3.0% のブタのコラーゲンの溶液	72.0
コーケン (日本)、供給元 A	フリーズドライのブタのコラーゲンからの 5% 溶液 (酸性)	68.1
日本ハム、供給元 B	フリーズドライのブタのコラーゲンからの 10% 溶液 (強酸性)	63.4
Becton Dickinson、供給元 C	0.3% から濃縮した 5% のウシの溶液	59.4
Becton Dickinson、供給元 C	「10%」ウシの溶液	4.8
FibroGen 組み換え型のヒトのコラーゲン	0.3 wt / wt % から濃縮した 10% 溶液、	67.7

10

20

30

## 【 0 0 2 2 】

或る実施形態では、先に述べたものを含め、本体の材料は、架橋結合したコラーゲンポリマーを含んでいる。或いは、異なる言い方をすれば、本体の材料は、2つ又はそれ以上の架橋結合したコラーゲンポリマーを含んでいる。例えば、本体の材料は、第1コラーゲンポリマーと、第2コラーゲンポリマーと、第3コラーゲンポリマーを含んでいる。4つ以上のコラーゲンポリマーを含んでいる材料もある。架橋結合したポリマーは、眼用装置のコラーゲン成分に成りうると理解される。

40

## 【 0 0 2 3 】

従って、本発明による視力向上眼用装置は、約1% (w/w) から約50% (w/w) のコラーゲン量を有し、光学的能力を有するように形成されるコラーゲン成分を備えている。ここで論じる様に、或る実施形態では、コラーゲンの量は、2.5% より多く、例えば少なくとも約5.0% である。例えば、或る実施形態では、コラーゲンは、約6% (w/w) より多い。例えば、コラーゲンの量は、約10% (w/w) から約30% (w/w) である。例えば、コラーゲンの量は、約10% (w/w) から約24% (w/w) である。或る装置では、コラーゲンは、装置の、唯一の水膨潤可能ポリマーである (例えばヒドロゲル)。他の装置では、コラーゲンは、唯一の装置又はレンズを形成しているポリマーである。例えば、装置は、乾燥状態で100% のコラーゲンを含んでいてもよい。先に

50

論じた様に、或る装置では、コラーゲンは、例えばEDC/NHSを使って、架橋結合させ、又は少なくとも部分的には架橋結合させている。

【0024】

本発明の各組成物及び装置の製造に用いられるコラーゲンポリマーは、コラーゲン供給源が、同じでも異なってもよい。或いは、異なる言い方をすれば、1つの型式のコラーゲン、例えばアテロコラーゲン型式I(複数のコラーゲンポリマー鎖が含まれている)を、コラーゲンポリマーを互いに架橋結合させるのに効果的な方法で処理してもよい。或る実施形態では、コラーゲンポリマーは、組み換え型コラーゲンである。他の実施形態では、両方のコラーゲンポリマーは、同じ動物供給源から抽出されている。1つの組成物の個々のコラーゲンポリマーは、異なる分子量を有していてもよい。

10

【0025】

本発明の屈折誤差補正装置は、架橋結合した組み換え型コラーゲンを備えているものと理解されたい。その様な装置に含まれるコラーゲンの量は、以前に開示されている他のコラーゲンベースの屈折誤差補正装置に見られる量よりも多い。その様な装置は、光学的能力を有するように形成される。

ここに開示する装置は、透明である。例えば、装置は、光学的に透明でなければならない。例えば、装置を個体の目の中に配置した時、光の散乱は最小でなければならない(健康なヒトの角膜組織に匹敵するか、又はそれより優れている)。更に、ここに開示する装置は、或る屈折率を有している。或る実施形態では、屈折率は、約1.34と約1.37の間にある。例えば、屈折率は、1.341と1.349の間にある。装置が角膜アンレー又は角膜インレーとして作られる場合、装置は、角膜が損傷しているか、又は病気で全厚角膜インプラントが必要な目と比べると、個体の健康な目の中に配置されるように作られる。本装置の或る実施形態では、装置は、黄色の色合い又は黄色を有していない。例えば、装置は、コラーゲンを含んでいる組成物に付帯することの多い黄色の色合い又は黄色を減じるか、除去するように設計されている。

20

【0026】

本装置は、前面と後面を有している。従って、装置の本体又はコラーゲン成分は、前面と後面を有している。前面と後面は、概ね互いに反対側の面である。装置の前面とは、装置を目の中に配置したとき、網膜から遠い側に向いている表面を指し、後面は、装置を目の中に配置したとき、網膜の方を向いている。装置が角膜アンレーである場合、後面は、

30

【0027】

ポーマン膜に隣接し、おそらくは接触しており、前面は、角膜上皮に隣接し、おそらくは接触している。装置が角膜インレーである場合、前面は、ポーマン膜に隣接しているか、又はポーマン膜の方を向いており、後面は、目の網膜の方を向いているストロマ内にある。装置が全厚角膜インプラントである場合、前面は、角膜上皮の方を向いており、後面は、角膜上皮に隣接し、おそらくは接触している。

本装置は、追加的な表面修正を含んでいなくてもよいし、装置は、前面及び後面の一方又は両方で細胞の成長及び/又は分化に影響を与える表面修正を含んでいてもよい。例えば、角膜アンレーは、前面又は後面上の細胞の成長に影響を与える表面修正を含んでいなくてもよい。ここで用いる「細胞成長」は、細胞又は細胞の母集団の拡張を指す。従って、細胞の成長は、表面積、体積などの増大の様な個々の細胞の物理的な成長と、細胞の分割の様な、1つ又は複数の細胞の増殖と、健康なヒトの角膜に見られる様な層状の多重層を形成する場合もある細胞の移動と、を指す。細胞の成長とは、1つ又は複数の神経突起の、装置の上、下、又は装置を通る拡張の様な、神経細胞の成長と、装置の表面を覆う上皮細胞又は内皮細胞の成長、移動、又は増殖と、を指す。ここで用いる「細胞の分化」は、単一又は集団の分化全能、多能又は未熟な前駆体細胞(幹細胞を含む)が、変化して、その最終的な表現型を実現する形態学的、生物化学的、及び生理学的な変化を指す。本装置の或る実施形態では、上皮細胞は、角膜アンレーを覆って成長し、例えば、アンレー、具体的にはアンレーの前面に直接貼り付いて、そこに強く連結される。

40

【0028】

50

或る角膜アンレーでは、本体又はコラーゲン成分は、アンレーを個体の目の中に配置したとき、アンレーの下の上皮細胞の成長を抑えるのに効果的な後面の修正を含んでいる。加えて、又は代わりに、角膜アンレーは、アンレーを個体の目の中に配置したとき、アンレーの前面を覆う上皮細胞の、移動を含む成長を促すのに効果的な前面修正を含む本体又はコラーゲン成分を含んでいてもよい。これに関し、全厚角膜インプラントは、インプラントを目の中に配置したとき、全厚角膜インプラントの後面を覆う内皮細胞の成長を抑えるのに効果的な後面修正を含む本体又はコラーゲン成分を含んでいてもよい。全厚角膜インプラントは、前面修正を含んでいなくてもよい。

細胞の成長を抑える表面修正の例には、前面と後面の一方又は両方に  $CF_4$  又は  $C_3F_8$  の様なプラズマ重合フッ素化モノマーフィルムを提供すること、一方又は両方の面に低い自由表面エネルギーを提供すること、及び / 又は、一方又は両方の表面を親水性にすること、が含まれる。表面は、一方又は両方の表面にアルギン酸被覆を施すことによって、親水性になる。

#### 【0029】

装置は、装置上に、又は装置を通して細胞が成長し易いようにする1つ又は複数の細胞成長増強剤を含んでいてもよい。或る実施形態では、細胞成長増強剤は、ペプチドを含んでいる。例えば、細胞成長増強剤は、RGD、YIGSR、又はIKVAVを含むアミノ酸配列を有するペプチドである。コラーゲンI自体は、豊富なRGDシーケンスの供給源である。或る実施形態では、細胞成長増強剤は、神経栄養因子、又は、分子の生物活性又は神経栄養部分である。例えば、神経栄養因子は、神経成長因子(NGF)、上皮成長因子(EGF又はHB-EGF)、又は塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF又はFGF-2)でもよい。細胞成長増強剤は、装置のコラーゲン成分又は本体と一体に形成されていてもよく、換言すると、細胞成長増強剤は、実質的に装置全体に設けられていてもよい。それに比べて、ペプチドが、装置の一方の表面だけに設けられている眼用装置もある。

#### 【0030】

或る実施形態では、コラーゲンベースの眼用装置は、装置の製造時に酸性pHで処理されたコラーゲン成分を備えている。酸性pHは、コラーゲン成分が、第2コラーゲンポリマーと架橋結合されている第1コラーゲンポリマーを含んでいる場合に特に有用である。その様な装置の製造時に用いられる酸性pHは、通常は約6.0未満であり、例えば、pHは、約5.0と約5.5の間にある。酸性pHを維持し、pH調整中のpHの急な変動を阻止又は抑制することによって、コラーゲンの原線維発生を抑制することができる。更に、pHを約5.0より高く維持すれば、コラーゲンは、pHが5.0未満の場合のように急に劣化することはない。

#### 【0031】

コラーゲンポリマーは、どの様な少量の又はポリマーの、コラーゲン反応剤又は分子を使って架橋結合させてもよい。架橋結合化学反応には、当業者には日常的な作業である従来の方法、又は新しい試薬を使用することができる。コラーゲンポリマーを架橋結合させることによって、装置は、その光学的透明度を維持し、生体分解に耐えることができる。

或る実施形態では、コラーゲンポリマーは、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC; CAS # 1892-57-5)とN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)を使って架橋結合させる。換言すると、装置の製造に用いられる架橋結合剤は、EDC/NHSである。コラーゲンポリマーとEDC/NHS架橋剤は、pHの急な変動を防ぎながら、酸性pHで一体に混ぜ合わされる。十分に混ぜ合わせた後、混ぜ合わせた組成物の一部を成形型の中に入れ、成形型の中で硬化させて、眼用装置を形成する。コラーゲンとCSCを架橋結合させるのに水溶性のEDC/NHS化学薬品を使用する利点の1つは、長さゼロの(アミド)接着になるということである。これによって、移植される有毒物質が組織内に浸出する可能性が少なくなる。更に、EDC/NHS反応の未反応試薬と副産物は、水溶性なので、ゲル形成後に容易に除去することができる。

#### 【0032】

或る実施形態では、コラーゲンポリマーは、細胞毒性の低い架橋剤又は架橋結合剤を使

10

20

30

40

50

って架橋結合されている。その様な架橋剤は、眼用装置を個体の目の中に配置したとき、刺激性がないか、又は負の反応を引き起こさないのが望ましい。或る実施形態では、架橋剤は、グルタルアルデヒド以外の架橋剤である。グルタルアルデヒドは、或る実施形態では有用な架橋剤であるが、取扱い及び安全性の要件によって、適さないこともある。

別の実施形態では、プロセスは、更に、以下の成分：ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド-コ-アクリル酸)、コンドロイチン硫酸、ケラタン硫酸、デルマトン硫酸、エラスチン、キトサン、N,O-カルボキシメチルキトサン、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸アルデヒド、及びアルギン酸塩の内の少なくとも1つを使用する段階を含んでおり、それらは、コラーゲン組成物と混ぜ合わされる。従って、眼用装置は、架橋結合したコラーゲンポリマーの基質の様なコラーゲン成分と、生物ポリマーを含む1つ又は複数の非コラーゲンポリマーと、を備えている。非コラーゲンポリマーは、一体に架橋結合させてもよいし、コラーゲンポリマーと架橋結合させて、架橋結合したポリマーのネットワーク又は基質を形成させてもよい。

10

20

30

40

50

#### 【0033】

或る実施形態では、組成物は、異なる組成物の間に高い剪断を誘発するため、比較的狭いチャンネル又は通路を通して一体に混ぜ合わされる。或る実施形態では、組成物は、シリンジベースのシステムを使って混ぜ合わされる。混合は、狭いチャンネルを通してシリンジをポンピングして、粘性のコラーゲン溶液と試薬の間に高い剪断を誘発することにより行う。チャンネルの直径は、シリンジ又は他の同様な装置の粘性と破裂強度に対応できるように選択される。粘性が高い場合(例えば、20-30%(w/v)のコラーゲン溶液)は、手で高圧を作り出せるように、シリンジプランジャの直径が小さくて容積が少ないシリンジを用いる。混合は、約5.0から約5.5の様な酸性pHで、約0 から約5 の様な低温で起こる。

#### 【0034】

他の眼用装置と比べると、本装置は、生きている細胞を使用しないで作られる。従って、本発明人は、生きている角膜細胞を使用することなく、比較的高く、生理的濃度に近いコラーゲンを使って、組成物と眼用装置を作る新しい方法を発明した。更に、本装置は、他の装置ではコラーゲンの交叉反応性を向上させるのに用いられている合成デンドリマー成分が、実質的に又は全体的に含んでいない。

追加的な神経に優しい材料が、本装置の製造に用いられることもある。その様な材料は、ここに開示している方法を使って製造され、神経の成長の様な神経との友好性について、細胞培養システムの様な、当業者には日常的な従来の方法を使って試験される。例えば、材料は、2003年8月11日出願のWO2004/015090に開示されている方法を使って試験され、識別される。

#### 【0035】

ここに開示している装置は、例えば寸法及び形状が、目の中の目の角膜領域の回りに配置されるように作られている。装置が角膜アンレーの場合、アンレーは、例えば約6mmの様な、約4mmから約12mmの直径を有している。アンレーは、約30µm未満の縁部厚さを有しており、例えば、約10µmから約30µmである。アンレーは、約70µmの中央厚さを有している。

アンレー成形型は、ポリプロピレンから作られ、4mm、6mm、8mm、又は12mmの直径を有している。成形型は、比較的剛性があり(例えば、閉鎖中は曲がらない)、装填を視認できるように透明である。成形型は、細かなテーパの付いた(例えば、約10µm)アンレー縁部又は幾分急な勾配の付いた(例えば、約30µm)アンレー縁部を提供するように作られている。

角膜インプラントの成形型(全厚又は部分厚の何れか)は、約12mmの直径を有している。透明な成形型は、角膜の所望の曲率と厚さで成形されている。必要に応じて、眼用装置(例えば、ヒドロゲル)は、移植処置が必要であれば、冠状のこぎりで切断される。

#### 【0036】

本屈折誤差補正装置の1つの例を、図8と図8Aに示している。

ここに開示している角膜アンレーは、個体の目の1つ又は複数の波面収差を補正するように作られている。波面技術と波面収差の測定についての説明は、米国特許第6,086,204号(Magnate)とWO2004/028356号(Altmann)に提供されている。角膜アンレーは、成型型を、アンレーが補正形状を取ることができる所望の形状に成形することによって、波面収差を補正できる形状に作られている。角膜アンレーの波面収差測定を使用する方法は、2004年5月20日出願の米国特許出願第60/573,657号に開示されている。アンレーは、波面収差を補正するように研削してもよい。例えば、アンレーは、レーザー又はレーザー様装置、ラッチ、及び他の適したレンズ成形装置を使って切除される。

【0037】

ここに開示している角膜アンレーは、更に、複数の異なる領域を含んでいる。例えば、角膜アンレーは、光学領域と周辺領域を含んでいる。通常、光学領域は、周辺領域と境を接しており、言い換えれば、光学領域は、概ね、アンレーの、中心光学軸の様な光学軸回りに、中央に配置されており、周辺領域は、光学領域の縁部と角膜アンレーの周縁部の間に配置されている。追加的領域とアンレー構成には、患者が経験する具体的な視覚欠損次第で、アンレーが設けられる。

更に、本角膜アンレーは、視覚的又は光学的に検出可能な接合部を有していない2つ又はそれ以上の領域の様な接合無し領域を有している。アンレーの領域は、滑らかで連続しており、アンレーは、独立して、又は屈折誤差の補正と組み合わせ、屈折誤差だけでなく、目及び/又は光学装置の他の光学的な収差も補正するように光学的に最適化されている。当業者には理解頂けるように、角膜アンレーは、限定するわけではないが、近視、遠視、乱視、及び老眼を含む視覚的欠陥を補正するように作られる。アンレーは、目のストロマに課される光学的手段又は物理的手段の何れか、又はその組み合わせによって、視覚的欠点を強化又は改善する。この様に、角膜アンレーは、単一焦点レンズでもよいし、限定するわけではないが、二焦点レンズを含む多焦点レンズでもよい。

【0038】

加えて、又は代わりに、角膜アンレーは、円環体レンズでもよい。例えば、アンレーは、乱視の影響を補正又は軽減するために乱視の目の上に配置したときに効果的な円環体領域を含んでいてもよい。アンレーは、アンレーの後面上に位置する円環体領域を含んでいてもよいし、前面に位置する円環体領域を含んでいてもよい。円環体アンレーは、装置の上皮によって比較的一定の位置に保持されるので、目の上でアンレーを正しい向きに維持するためにバラストを必要とすること無く使用できるので、好都合である。しかしながら、必要であれば、バラストを設けてもよい。或る実施形態では、アンレーは、プリズムの様なバラストを含んでいるか、或いは、1つ又は複数の下及び/又は上の細い領域の様な1つ又は複数の細い領域を含んでいる。老眼を補正するように作られているアンレーでは、アンレーは、同軸性、非球面性(正及び/又は負の球面収差の何れか)、回折性、及び/又は、多重領域屈折性の様な、1つ又は複数の設計を含んでいる。

【0039】

本発明は、合成又は非自然発生組成物の様な組成物も包含している。組成物は、完全又は部分的合成物であってもよい。例えば、本発明は、光学的に透明な組成物に関係する。その様な組成物は、ここに開示している1つ又は複数の眼用装置の製造に用いられる。代わりに、組成物は、非眼用組成物として非眼用環境で用いてもよいし、眼用環境に用いて、屈折誤差補正を行わないでもよい。別の実施形態では、或る組成物は、本開示に従って、水和状態で約1%(w/w)より多い量のコラーゲンを含んでおり、光学的に透明である。ここに論じているように、コラーゲンの量は、2.5%より多く、例えば少なくとも約5.0%である。例えば、組成物は、水和状態で、約1%(w/w)、2.5%又は約5%と、約30%(w/w)の間の量のコラーゲンを含んでいる。或る実施形態では、組成物は、約6%(w/w)のコラーゲンを含んでいる。別の実施形態では、組成物は、約10%(w/w)から約24%(w/w)の量のコラーゲンを含んでいる。組成物は、水和状態で約1%(w/w)より多い量の架橋結合したコラーゲンを含んでおり、コラーゲ

10

20

30

40

50

ンは、EDC/NHSを使って架橋結合させている。

【0040】

本組成物は、2つ又はそれ以上のコラーゲンポリマーを含んでいる。或る実施形態では、組成物は、先に述べたように、第2コラーゲンポリマーと架橋結合した第1コラーゲンポリマーを含んでいる。組成物は、グルタルアルデヒドの様な細胞毒性剤を、実質的に、又は完全に含んでいない。

ここに開示している眼用装置は、どの様な適した方法又は技法を使って目の中に配置してもよい。

例えば、角膜アンレーは、ボーマン膜から上皮の一部を除去又は分離することによって、目のボーマン膜の上に配置する。或る状況では、目から上皮を離層させるために、エタノールの様なアルコールを、或る量、角膜の上皮に塗布する。アルコールは、濃度が約10%から約60%、例えば約20%又は約50%である。エタノールを約37（例えば体温）に暖めるのは、上皮を除去し易くするのに効果的である。この上皮分離技法は、現在実施されているLASEK技法と同様である。

【0041】

別の状況では、角膜アンレーは、アンレーを上皮皮弁の下か、又は上皮ポケットの中に配置することによって、ボーマン膜の上に配置される。その様な皮弁とポケットは、切断器具、鈍的切開器具などを使って作られる。角膜アンレーを目の中に配置する方法の例は、2003年9月12日出願の米国特許出願第10/661,400号と、2004年5月20日出願の米国特許出願第60/573,657号に開示されている。

角膜インレーは、基質内ポケット又は角膜皮弁を形成し、インレーをポケットの中、又は皮弁の下に配置することによって、目の中に配置される。

全厚角膜インプラントは、角膜の損傷又は疾患部分を除去し、角膜インプラントを、角膜の除去部分の領域又はその近くに配置することによって、目の中に配置される。

ここに開示している眼用装置は、ピンセット、又は2003年9月12日出願の米国特許出願第10/661,400号と2004年5月20日出願の米国特許出願第60/573,657号に記載されている様な、どの様な他の適した挿入器を使って、目の中に配置してもよい。

【0042】

眼用装置を目の中へ配置し易くするため、装置は、視覚化成分を含んでいてもよい。視覚化成分は、装置を目の中に挿入又は配置する際に、装置を容易に見えるようにするのに適していれば、どの様な機構でもよい。例えば、視覚化成分は、装置の回転位置にも役立つ1つ又は複数の目印を含んでいてもよいし、生体適合性又は非細胞毒性の色素又は着色剤の様な色素を含んでいてもよい。

本眼用装置と、その装置を製造し使用する関連方法に関する追加的詳細事項を、以下の例で提供しているが、これは例証を目的に提供しているのであって、本発明を制限するものではない。

【0043】

実施例

実施例1

コラーゲンベースの角膜アンレーの調製

代表的には、水性緩衝液中の0.5mL - 2.0mLのコラーゲン溶液を、水性緩衝液中の0.01mL - 0.50mLの架橋結合剤と、約0 で、気泡を巻き込むことなく混ぜ合わせた。或る組成物では、コラーゲン以外の第2生物ポリマーを組成物に加えた。

組成物を混ぜ合わせるため、組成物が入っているシリンジを、テフゼルのT字形部片（直立管継手）に接続し、粘性コラーゲン溶液の完全な混合、及び/又はpHの急な変動の無い制御された中和を可能にする微小マニホールドを形成した。pHの急な変動は、しばしば、不可逆的なコラーゲンの原線維発生に繋がりに、不透明な基質を作り出す。

【0044】

更に具体的には、第1ルアーアダプタを、隔膜を保持するのに用いて、T字形のねじ穴

10

20

30

40

50

の底にぴったり嵌る寸法に切断した。隔膜は、Restek社の「Ice Blue」17mmの汎用22397隔膜から寸法に合わせて切断した。MES(2-[N-モルホリノ]エタンスルホン酸)バッファの様な緩衝溶液が入った第1シリンジを、第2ルアーアダプタにロックし、気泡があれば、それを全て緩衝溶液によって押し出した。コラーゲン溶液を第2シリンジの中に入れ、第2シリンジを、3つのルアーアダプタ(図2)が取り付けられているテフゼルのT字形部片である第3ルアーアダプタに接続した(図1に図示)。全体アセンブリを図3に示している。

#### 【0045】

T字形部片の細い内径のチャネル(例えば、約0.5mmから約0.25mm)を通る流れが液体を強力に剪断するように、第1シリンジと第2シリンジの間でT字管を通過するポンピングを繰り返すことによって、コラーゲン溶液をMES緩衝溶液と完全に混ぜ合わせた。pHは、5.0-5.5に調整した。次に、コラーゲン/緩衝剤の混合物を、EDCとNHSの溶液(EDC:NHS 1:1モル当量比)と、0-4で、別のシリンジを使って組成物にマニホールドを通過させることによって、混ぜ合わせた。

10

#### 【0046】

それぞれの実質的に同質の溶液のアリコートをし、直ちにアンレーの成形型に分配し、先ず、室温で5-24時間、例えば15時間、硬化させ、次に、37で15-24時間硬化させ、どちらも100%の湿度環境内で行った。

それぞれの最終的なアンレーサンプルを、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)に2時間浸した後で、その成形型から慎重に分離させた。

20

或る場合は、これらのゲルを、更なる架橋結合を行わせ、新しい生物学的因子を加えるため、第2反応生物ポリマーの水溶液に浸した。

最後に、架橋結合したアンレーヒドロゲルを、20のPBS溶液(1%のクロロホルムが入っているPBS0.5%)に浸し、全ての反応性残基を終結させ、反応副産物を抽出した。これらの無菌で平衡状態の水和したアンレーは、全ての試験の前に、PBSで完全に洗浄した。

#### 【0047】

或るコラーゲン/EDC-NHS化学物質から調製したゲルの場合、高いコラーゲン濃度(10%以上)で、ゲルは、先ず、pH9.1の緩衝剤に漬け、全ての残基の反応を終結させ、反応生成物を適切に抽出した後、クロロホルム飽和状態のPBS内に保管した。この基本的な抽出が、これらのサンプルの上皮細胞毒性問題を取り除いた。多くの化学量論では、クロロホルム飽和状態のPBS内に浸漬し、その後クロロホルム残基を除去することで、無菌で非細胞毒性のゲルが得られた。

30

#### 【0048】

##### 実施例2

##### 細胞成長増強剤を備えた眼用装置

ペントペプチド(YIGSR、ラミニン巨大分子の活性ユニット)単独か、又は、IKVAVと、相乗作用IGFと、上皮の健康、EGF、NGF、FGF又はこれらの分子の或る部分を活性化する物質Pペプチドと、が入っている様な相乗作用ペプチドとの組み合わせの様な、細胞成長増強剤は、第2EDC-NHS反応性生物ポリマーを備えた装置を含め、どの様なコラーゲン/EDC-NHS架橋結合装置にでも組み込むことができる。YIGSRでは、この細胞成長増強剤の結合は、細胞成長増強剤上のチロシン残基の自由アミン末端基の反応性によって実現される。ゲル化後の拡張抽出を使って、全ての結合していない細胞成長増強剤が除去される。

40

眼用装置の具体的な処方の詳細については、以下に、例3-13と表2で提供する。

#### 【0049】

##### 実施例3

眼用装置は、例1で述べたように、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)をN-ヒドロキシスクシニミド(NHS)+コラーゲンと共に、pH5.5で、MES緩衝液の中で、0-4で使い、温度を21に上げて15時

50

間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS は、1 : 1 モル当量比である。

【0050】

実施例 4

眼用装置は、例 1 で述べたように、COP + EDC - NHS + コラーゲンを、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS は、1 : 1 モル当量比である。[COP、コポリマー、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド-コ-アクリル酸)は、70 の窒素の下で、1、4-ジオキサン内の NiPAAm と AAC の、2、2'-アゾビス-イソブチロニトリル開始剤との遊離基重合によって調製した]。

10

【0051】

実施例 5

眼用装置は、例 1 で述べたように、EDC - NHS + コンドロイチン硫酸 (ChS) + コラーゲンを、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

【0052】

実施例 6

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + EDC - NHS + N、O-カルボキシメチルキトサン (CMC) を、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

20

【0053】

実施例 7

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + EDC - NHS + N、O-カルボキシメチルキトサン (CMC) を、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 2 時間保持し、その後、ゲルが PBS 内のキトサン (1% 水溶液、500 Da) に浸漬しているときに第 2 架橋結合を 4 時間追加して作った。最後に、37 ° で 15 時間保持した。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

30

【0054】

実施例 8

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + EDC - NHS + ヒアルロン酸 (HA) を pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

【0055】

実施例 9

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + EDC - NHS + コンドロイチン硫酸 (ChS) + ヒアルロン酸 (HA) を、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

40

【0056】

実施例 10

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + ヒアルロン酸アルデヒド (HA-CHO) + 水素化シアン化ホウ素ナトリウムを、pH 7-8 で、PBS の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。HA-CHO は、HA (0.1 g) を過ヨウ素化ナトリウム (0.05 g) で 21 ° で 2 時間酸化劈開することによって調製した。水溶液は、水に対して 2 日間透析した。

【0057】

実施例 11

50

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + EDC - NHS + アルギン酸塩を、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

【0058】

#### 実施例 1 2

眼用装置は、例 1 で述べたように、グルタルアルデヒド (「Glut」、水で 1 % に希釈) + コラーゲンを、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 2 時間保持し、その後、ゲルが PBS 内のキトサン (1 % 水溶液、500 Da) に浸漬しているときに第 2 架橋結合を 4 時間追加して作った。成形型内のゲルは、温度を 37 ° に上げて 15 時間保持し、その後 PBS の下で取り外した。

10

【0059】

#### 実施例 1 3

眼用装置は、例 1 で述べたように、コラーゲン + EDC - NHS + キトサンを、pH 5.5 で、MES 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

【0060】

#### 実施例 1 4

眼用装置は、例 1 で述べたように、EDC - NHS + コンドロイチン硫酸 (ChS) + コラーゲンを、pH 7 - 8 で、PBS 緩衝液の中で、0 ° - 4 ° で使い、温度を 21 ° に上げて 15 時間、その後 37 ° で 15 時間保持して作った。EDC : NHS = 1 : 1 モル当量比である。

20

例 3 - 1 4 の装置は、全て、以下の表 2 に示す市販のコラーゲンと反応物の比の全てで、頑強で透明で可撓性のゲルを提供した。

アンレー用の幾つかのヒドロゲルは、DSC と、光学的透明度及び屈折率と、測定値と、引張特性 (剛性、最大引張強度、破断時の伸び、表 2) と、生体内性能によって特徴付けられた。全ての例で、反応後のゲルの DSC 測定値から、変性温度が上がり、 $H_{denaturation}$  が下がっており、コラーゲンの架橋結合と整合していることが分かった。表 2 の全処方物の屈折率は、1.341 から 1.349 の範囲にあった。

【0061】

#### 実施例 1 5

30

生体外アンレー性能 (表 2)

Li 他により PNAS 100 : 15346 - 15351 (2003 年) に開示されている方法を使って、上皮細胞 (ヒト、不死化角膜上皮細胞、HCEC) がどの様に成長してヒドロゲルに融合するか (融合までの日数) を評価し、HCEC 細胞がどの様にヒドロゲル上に成層するかを評価し、ヒドロゲル上及びヒドロゲル内への、ひよこの後根神経節神経の成長を評価した (後者は、データが入手可能なミクロン / 日の成長として報告された)。

ヒトの角膜は、上皮を、完全に除去した後 3 - 5 日で復旧する。

生体外の試験期間は、普通は約 6 - 8 日であるが、より良好な処方物では、3 - 5 日以内で融合できるように再び上皮で覆うことができた。濃いゲル (> 5 % のコラーゲン) では、多くの処方物の生体外試験で、拡張的神経の過剰成長 (300 ミクロンの拡張) が見られた。神経の内方成長は、ゲルの剛性が上がるにつれ急に遅くなるが、詳細顕微鏡で見ることができた。

40

【 0 0 6 2 】

表 2 ヒドロゲルの組成物と効能

例 #	コラーゲンの供給元 (表1)(初期濃度 w t / v o l %)	コラーゲン/X L 当量比又は (w t / w t)	ゲルの最終コラーゲン濃度 (w / v %)	最大応力、重力*	破断歪、m m *	剛性 g / m m *	生体外上皮細胞、融合までの日数	生体外神経の6日間の成長
2	B AFD P (10%で融解)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 5 : 1 C o l : Y I G S R = 5 : 0 . 0 0 0 1	7.2				3 - 5	O v e r : 高速 I n : 27 μ m / d
3	A、(10%ウシ)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 5 : 1	7.3	8.0	2.6	4.0		
3	B、AFDP : (10%で融解)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 5 : 1	7.3	9.7	4.0	4.4	2 - 3	O v e r : 高速 I n : 40 μ m / d
3	B、AFDP : (15%で融解)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 5 : 1	10.8	13.08	4.6	3.0	2 - 3	
3	B、AFDP : (20%で融解) 350 μ m 厚さのゲル	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 1 0 : 1	14.3	11.95	4.3	3.0	2 - 3	
3	B、(AFDP、32%で融解)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 1 : 1	18.0	14			2 - 3	O v e r : 高速 I n : 30 μ m / d
3	A、(3.5%中性のウシ)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 1 : 1	2.7	3.1	2.0	1.7	3 - 5	O v e r : 高速
5	A、(3.5%中性のウシ)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 2 : 1 C o l : C h s = (9 : 1)	2.7	2.5	1.8	1.4	3	O v e r : 高速 I n : 41 μ m / d
5	A、(3.5%中性のウシ)	C o l - N H <sub>2</sub> : EDC = 2 : 1 C o l : C h s = (4 : 1)	2.7	2.7	1.8	1.5	3	O v e r : 高速 I n : 73 μ m / d

10

20

30

40

50

5	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=2:1 Col:Chs=(3:1)	2.7	3.1	1.5	1.5	3	Over : In:7 0 μm/ d
6	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=1:1 Col:CMC=(1:0.5)		3.6	1.6	2.0		
6	B、(AFDP、32%で融解)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=1:1 .3 Col:CMC=(15:1)	14.5	6.0			3	
7	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=1:1 Col:CMC=(2:1)+可溶性キトサン		2.9	1.6	1.9		
8	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=2:1 Col:HA=(9:1)	2.2	2.5	2.2	1.08	3-5	
8	A、(5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=2:1 Col:HA=(4:1)	2.2	2.4	2.2	2.07	3-5	
8	A、(10%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=2:1 Col:HA=(3:1)	2.2	2.0	1.8	1.13	3-5	
9	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=0.5 :1.0 Col:HA:Chs=9:1:1	2.3	3.0	1.7	1.7	3-5	Over 及びin に成長

10

20

30

40

50

10	A、(3.5%中性のウシ) 350 $\mu$ m厚さのゲル	Col-NH <sub>2</sub> :HAアルデヒド =1:1	3.2	1.0		0.7		
11	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=2:1 Col:Alg=4:1	2.7	3.0	2.0	1.6	3-5	Over :高速 In:4 1 $\mu$ m/ d
11	A、(3.5%中性のウシ)	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=2:1 Col:Alg=2:1	2.7	3.4	2.5	1.5	3-5	Over :高速 In:1 3 $\mu$ m/ d
12	A、(3.5%中性のウシ)	Col:Glut =(130:1) ??+可溶性キトサン		3.1	2.1	1.5		
13	B、(11%のAFDP) 900 $\mu$ m厚さのゲル	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=0.3 3:1.0 Col:キトサン =(15:1)	5.8	8.32	3.29	2.57	4	
13	B、(11%のAFDP) 500 $\mu$ m厚さのゲル	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=0.6 6:1.0 Col:キトサン =(15:1)	5.8	4.25	4.02	1.32		
13	B、(11%のAFDP) 900 $\mu$ m厚さのゲル	Col-NH <sub>2</sub> :EDC=0.6 6:1.0 Col:キトサン =(15:1)	5.8	8.46	5.23	2.17		

10

20

30

## 【0063】

省略表示: Colはコラーゲン、Glutはグルタルアルデヒド、HAはヒアルロン酸、ChSはコンドロイチン硫酸C、Col-NH<sub>2</sub>はコラーゲンの自由アミン内容物、AFDPは酸性のフリーズドライのブタ、epi.は上皮、NDは未定。

\*500  $\mu$ m厚さは、他に指定がなければ直径12mmのインプラント、応力、歪み、剛性のデータは、Li他によるPNAS100:15346-15351(2003年)に開示されている方法で実行された縫合からのデータ。

\*\*Over: DRGからヒドロゲルを覆って成長する神経突起。In: 神経突起が、ヒドロゲルの中へと表示された長さまで6日間で成長した。

## 【0064】

## 実施例16

生体内アンレー性能

40

50

アンレーは、例1で述べたように調製した。第1セットのアンレーは、EDC/NHSで、10% (w/v) のブタのコラーゲンから調製した。第2セットのアンレーは、コンドロイチン硫酸(CSC)とEDC/NHSで、3.5% (w/v) のウシのコラーゲンから調製した。アンレーは、約6mmの直径と、約70 $\mu$ mの中心厚さと、30 $\mu$ mの傾斜した縁部を有していた。

アンレーを移植するために、ブタの上皮を、45%のエタノールで30-45秒間処理した。蝶型切開を施し、上皮の中にポケットを形成した。アンレーは、可視化するため、青い非細胞毒性の色素(Gel-Code<sup>TM</sup>)で染めた。予め染められたアンレーを、ポケットに挿入した。保護コンタクトレンズを、目の上に縫合した。

角膜の炎症、赤さ、及び/又は血管浸潤を評価するために、視覚検査を行った。細隙灯検査を使って、角膜の透明度を査定した。トノペン眼圧計を用いて、眼圧を測定した。Cochet-Bonnet触覚計を使って、角膜の接触感度を判断した。接触感度は、機能的神経の存在を評価するのに有用であり、神経は、生体内同焦点画像形成と、インプラントにより得られた角膜の免疫組織化学によって確認した。角膜のトポグラフィは、PAR角膜トポグラフィシステム(CTS)を使って、移植の直前と、手術後3週間に検診した。

#### 【0065】

角膜のトポグラフィは、麻酔の掛かったブタの目をCTSと整列させることによって実行した。フルオレセインと人工涙の希釈液を、角膜表面を被覆して目標グリッドを視認できるようにするため、目に塗布した。器具の焦点面は、目標グリッドが前方角膜面上に焦点が合うように、調整した。グリッドのデジタル画像を捕捉した。前方角膜面の形状の測定値を行うため、デジタル画像を分析した。アンレーの移植前と後のデジタル画像の比較は、アンレーの配置による角膜の形状の変化を評価するのに用いることができる。

生体内同焦点顕微鏡は、生きているブタの角膜の、異なる深さの画像を捉えることができるので、眼用装置に対する目の反応を監視することができる。例えば、同焦点顕微鏡検査は、装置内の神経細胞の存在を監視するのに用いることができる。生体内同焦点顕微鏡検査は、眼用装置の移植前と手術後3週間に、麻酔に掛かったブタを、生体内同焦点顕微鏡のNidek Confoscan3で検診することによって実行した。人工の涙を、検診する目に差した。2滴の局所麻酔薬を、眼球の運動を抑制するため、目に塗布した。共焦点レンズ(ゲル浸漬)を、屈折率を合致させるため、レンズの前面上にゲルの層を備えた角膜と接触させた。器具の焦点面を調節して、角膜内皮に焦点を合わせ、レンズの焦点面が、角膜の厚さと等しい深さを通して走査するとき、角膜の画像を撮った。

#### 【0066】

ヘマトキシリンとエオシン(H&E)で染色した組織区画の組織病理学検診に加えて免疫組織化学を使って、アンレー上に角膜上皮が回復したか、及び下にあるアンレーとの接着及び相互作用の早期徴候があるかを判断した。免疫組織学は、神経の有無と、免疫及び炎症細胞の浸透の有無を確立するのにも用いた。抗神経フィラメント染色を、角膜の半分に、洗浄剤を浸透させた後で移植したアンレーと移植しなかったアンレーで、従来の技法を使って実行した。免疫蛍光法を使って、結合された抗体を視覚化した。

先に述べたように、角膜アンレーを装着した角膜は、順調に治癒し、赤み又は炎症が最小又は皆無で光学的に透明のままであった。血管浸潤の兆候は無かった。正常な眼圧が観察された。手術後の角膜は、接触感度を示した。トポグラフィ測定値は、移植されたアンレーが、角膜のトポグラフィの変化に影響を与えることができることを示していた。アンレーは、中心の角膜の厚さが約50 $\mu$ m高くなるように変化する結果となった。上皮は、アンレーに良く接着した。生体内角膜顕微鏡検査は、二次上皮及びストロマの神経と、上皮から内皮までの細胞と、を備えた良好な一般的角膜構造を示した。H&E染色された低温区画は、アンレーの、ホスト角膜への一体化を示した。免疫組織化学は、アンレー移植角膜の細胞の接着性の変化が、未処理の角膜と比べて、あったとしても極僅かであることを、Eカドヘリンへの染色を用いて示した。ケラチン3とEカドヘリンへの染色は、比較基準に匹敵する。コラーゲン型式VIIの、基底膜複合体との係留繊維への染色は、比較基

10

20

30

40

50

準ほど明確な染色を示さなかった。6 インテグリンへの染色は、操作した比較基準と未処理の比較基準の両方で、基底上皮細胞の局所化を示した。抗神経フィラメント200の抗体染色は、アンレーを備えた角膜内の移植部位に神経が存在していることを示した。抗CD45の抗体染色は、炎症又は免疫反応を示さなかった。

【0067】

実施例17

角膜アンレーの切除

コラーゲン/EDCとコラーゲン/キトサンのアンレーを、VIX Star S4エクシマレーザーを使って切除した(表3)。アンレーの表面トポグラフィ測定値を、PAR角膜トポグラフィシステム(CTS)で処理した前後で得た。処理の際、アンレーは、保存溶液から取り出して、PMMMAで作られた球面上に置いた。

光線療法角膜切除術(PTK)処置は、切除帯域全体に均一な数のレーザーパルス(又はエネルギー)を送る。光線療法角膜切除術(PTK)処置は、切除帯域へのパルス密度を変えて、曲率に所望の変化を実現する。AZDは、切除帯域の直径を指す。深さは、レーザー製造元が報告した、ヒトの角膜の治療で予測される深さである。

【0068】

表3 切除パラメーター

処置	型式	AZD (mm)		球体 (D)	円筒 (D)	深さ ( $\mu$ m)
1	PTK	5		----	----	10
2	PTK	5		----	----	20
3	PRK	6	2 +2	—	0	26
4	PRK	6		—	0	19
5	PRK	6	4 +4		0	51
6	PRK	6		—+2	0	38
7	PRK	6	4			30

【0069】

差異マップは、切除の影響を表示するため、コラーゲン/EDCアンレーの術前術後のトポグラフィから作られた。

PTK切除は、(差異マップに)直径が~5mmまでのほぼ一定の中央の青い領域を作るように期待された。アンレーは曲面なので、除去される組織の量は僅かに傾斜していることが期待された。近視性の球のPRK切除は、中心で最大の組織深さを除去するように期待された。除去される組織の深さは、切除の縁部でゼロになるように徐々に減ることが期待された。遠視性の球の補正は、中心の直径1mmに触れないようにし、組織を、処置帯域の縁部で最大に除去するように期待され、移行帯域は、周辺方向に中心から9mmまで作られることが期待された。遠視補正後の差異マップは、中央の緑色帯域の回りに青色の輪を表示することが期待された。近視性乱視を補正した差異マップは、その青いパターンが楕円であると期待されていること以外は、近視性の球を補正したマップと同様になることが期待された。

【0070】

切除されたアンレーからの差異マップは、全ての差異マップで上記の期待された組織除去パターンを示した。除去される組織の最大深さは、ヒトの角膜に対して予測された深さより大きかった。例えば、角膜アンレーの材料を除去する速度は、角膜を除去する速度の約1.7から約2倍であった。アンレー材料と角膜の切除速度の差は、サンプルに亘って

一様ではなかった。速度の差は、とりわけ、処置測定の高さ、材料密度と表面の粗さ、及び材料の含水率に依る。

コラーゲン/キトサンアンレーは、コラーゲン/EDCアンレーより速く切除されるのが観察された。その差は、水和反応に依るものである。例えば、術後のコラーゲン/キトサンアンレーは、コラーゲン/EDCアンレーよりも含水量が低かった。

眼用装置は、ウレタンの様な強度増強成分を含んでいてもよい。

#### 【0071】

##### 実施例18

ヒトの組み換え型コラーゲンの眼用装置

架橋結合したコラーゲンヒドロゲルを、FibroGen (カリフォルニア州サンフランシスコ) から入手した13.7wt%のヒトの組み換え型式Iコラーゲン0.3mlと0.625Mモルホリノエタンスルホン酸(MES)0.3mlとを、ここに記載しているシリジベースのシステムを使って混ぜ合わせることによって調製した。混合は、氷水槽内で混合を実行することによって、低温で行った。

均一な溶液を得た後、57 $\mu$ lのEDC/NHSを、混合物の中に、コラーゲン無しアミン(coll-NH<sub>2</sub>)基に対するモル当量比3:3:1で注入した。溶液のpHを約5に調整するため、混合物にNaOH(2N)を加えた。

混合物を、ガラス又はプラスチックの成形型に入れて成形し、室温、100%の湿度で16時間放置した。その後、成形型を定温器に移し37 $^{\circ}$ Cで5時間、後硬化させた。

EDC/NHS対コラーゲンcoll-NH<sub>2</sub>基比が1:1:1と6:6:1であるヒトの組み換え型コラーゲン型式Iを備えた別のヒドロゲルも、この方法を使って調製した。

屈折率(R<sub>1</sub>)を、VEE GEE屈折計で判定した。光の透過率を、白色光の波長、450nm、500nm、550nm、600nm、及び650nmで測定した。応力、破断歪、及び弾性係数の様な直接引張特性測定値を、インストロン電気機械テスター(モデル3340)で判定した。サンプルのサイズは、5mm $\times$ 5mm $\times$ 0.5mmだった。ヒドロゲルの含水率を以下の式に従って計算した：

#### 【0072】

$$(W - W_0) / W \%$$

ここに、W<sub>0</sub>とWは、それぞれ、乾燥した、及び膨潤したサンプルの重量を示している。

EDC/NHS/coll-NH<sub>2</sub>の比が1/1/1(モル当量)であるヒトの組み換え型コラーゲンヒドロゲル(表のF1)は、1.3457 $\pm$ 0.0013の屈折率を有していた。EDC/NHS/coll-NH<sub>2</sub>の比が3/3/1(モル当量)であるヒトの組み換え型コラーゲンヒドロゲル(表のF3)は、1.3451 $\pm$ 0.0002の屈折率を有していた。EDC/NHS/coll-NH<sub>2</sub>の比が6/6/1(モル当量)であるヒトの組み換え型コラーゲンヒドロゲル(表のF6)は、1.3465 $\pm$ 0.0001の屈折率を有していた。

表4は、異なるヒドロゲルの光の透過率をまとめている。

#### 【0073】

表4 光の透過率

波長 (nm)	白色	450	500	550	600	650
平均透過率 (%)						
F1	86.7 $\pm$ 0.9	69.7 $\pm$ 1.2	76.0 $\pm$ 1.3	79.2 $\pm$ 1.4	82.4 $\pm$ 1.3	84.9 $\pm$ 1.4
F3	90.7 $\pm$ 2.5	85.8 $\pm$ 3.5	86.4 $\pm$ 2.9	86.7 $\pm$ 2.6	88.0 $\pm$ 2.4	89.6 $\pm$ 2.6
F6	75.5 $\pm$ 1.5	48.7 $\pm$ 0.4	57.7 $\pm$ 1.1	62.7 $\pm$ 1.1	67.6 $\pm$ 1.4	71.6 $\pm$ 1.7

F3で示しているヒドロゲルの材料は、最も受け入れ可能な光学特性を示した。視覚的に、又は巨視的に、F3は、他のヒトの組み換え型ヒドロゲルと比べて最高の透明性を有していた。

表 5 は、本発明のヒトの組み換え型ヒドロゲルの機械的特性を提供している。

表 5 機械的特性

サンプル	F 1	F 3	F 6
平均最大応力 (KPa)	62.6 ± 9.9	117.2 ± 36.9	149.9 ± 57.7
平均破断応力 (KPa)	67.1 ± 21.0	110.5 ± 49.7	99.5 ± 60.8
平均破断歪 (%)	62.60 ± 6.82	50.20 ± 7.55	23.51 ± 9.03
平均弾性率 (MPa)	0.281 ± 0.032	0.525 ± 0.124	1.949 ± 0.939

10

【0074】

ヒドロゲル F 3 は、弾性率が比較的低い、他の機械特性は受け入れ易い。

表 6 は、ヒドロゲル材料の含水率を提供している。

【0075】

表 6 平衡含水率

サンプル	F 1	F 3	F 6
含水率 (%)	92.82 ± 0.68	92.63 ± 0.61	91.40 ± 0.38

20

【0076】

ヒドロゲルが、高度に水和していることは明白である。本例では、pH の変化を監視し易いように、MES 緩衝液に、pH 標識を加えた。この例で用いている具体的な標識は、Alizarin Red S (Sigma Aldrich) である。

図 4 は、ヒトの組み換え型コラーゲンサンプル F 1 上でのヒトの角膜上皮細胞の、7 日間に亘る成長のグラフである。図 5 は、ヒトの組み換え型コラーゲンサンプル F 3 上でのヒトの角膜上皮細胞の、7 日間に亘る成長のグラフである。図 6 は、ヒトの組み換え型コラーゲンサンプル F 6 上でのヒトの角膜上皮細胞の、7 日間に亘る成長のグラフである。

組み換え型ヒドロゲル材料上で観察された細胞の成長は、比較基準の実験で観察されたものを上回っていた。

30

図 7 は、ヒドロゲル材料 F 3 が、少なくとも 30 日間、生体内で存続したことを示す写真である。

【0077】

実施例 19

コラーゲン - ポリ (NIPAAm - co - AAC) 組成物

組成物は、ここに述べた EDC / NHS 架橋結合法 (例 4) を使って調製した。開始時コラーゲン濃度は 15% であった。最終コラーゲン濃度は 11% であった。最終ポリ (NIPAAm - co - AAC) 濃度は 3% であった。ゲル中の合計固体濃度は 14% であった。

40

この材料は、屈折率 1.3542、引張強度 11 g フォース、伸び 3.3 mm、弾性率 3.8 g フォース / mm で、何れも Li 他により PNAS 100:15346-15351 (2003 年) に開示されている縫合系引き抜き法で求めた。

変性温度は、架橋結合の前の 40 から、架橋結合後の 50 に上がった。材料は、ヒトの角膜又はウサギの角膜よりも、光の透過率は高く、後方散乱は低かった。例えば、白色光では、パーセント透過率は、ヒドロゲル材料では約 102%、ヒトの角膜では約 93%、ウサギの角膜では 78% であった。ヒドロゲルは、光の波長 450 nm、500 nm、550 nm、600 nm、及び 650 nm に対して、パーセント透過率は、それぞれ、約 90%、96%、100%、101%、及び 103% であった。ヒトの角膜とウサギの角膜は、試験した全ての波長で、パーセント透過率が 100 パーセント未満で、各波長に

50

において、ヒドロゲル材料より一貫して低いパーセント透過率を示した。

ヒドロゲル材料は、播種後7日で、角膜上皮細胞の融合を示した。

【0078】

実施例20

コラーゲン/コンドロイチン硫酸(サルフェート)組成物

光学的透明度と引張強度が高い生合成基質を、コラーゲンIに、プロテオグリカン等価物としてコンドロイチン硫酸(CSC)を使って開発した。CSC対コラーゲンの乾燥重量が30%(wt/wt)までのヒドロゲルを、光学的透明度の損傷を引き起こす虞のある凝固又はコラーゲン原線維発生の無い制御された状況の下で調製した。ヒドロゲルは、物理的及び生物化学的に特徴付けられた。生体内試験は、ヒトの角膜上皮細胞(HCEC)がゲルの表面上で順調に成長し、上手く成層することを示した。基質は、良好な神経の内方成長を支持した。同様の結果は、生体内でも得られた。

組成物は、ここに述べた例14と同様に調製した。CSCは、EDCとNHS化学物質を使って、コラーゲンと共有結合させた。

異なるCSC対コラーゲン乾燥重量比と、異なるEDC対コラーゲンNH2モル当量比とを有するコラーゲン(3.5w/v%)とCSCのゲルを、ここに論じているEDC/NHS(1:1モル当量)架橋結合技法を使って調製した。全てのゲルは、視覚的に透明であった。組成物は、表7に示すように、ヒトの角膜(透過率約87%で後方散乱約3%)と比べて光の透過率は高く、光の散乱は小さかった。

【0079】

表7 透過率と光の散乱

CSC対コラーゲン重量比(%)	0	5	10	20	30
透過率(%)	89.9	95.5	93.0	90.5	97.3
後方散乱	0.30	0.19	0.19	0.17	0.19
EDC対NH <sub>2</sub> 比	0.25	0.5	1.0	2.0	
透過率(%)	96.7	100	99.9	88.2	
後方散乱	0.24	0.28	0.16	0.20	

【0080】

屈折率は、ヒトの角膜の屈折率(1.376)に近い1.34 - 1.35の間にあった。

異なるEDC対コラーゲン-NH<sub>2</sub>モル比を使用して作られたゲルの膨潤比は、次の式で測定及び計算され、

膨潤比 = (W<sub>w</sub> - W<sub>d</sub>) / W<sub>d</sub>

ここに、W<sub>w</sub>は水和したゲルの重量、W<sub>d</sub>は乾燥ゲルの重量である。

EDC/NHSを使ってコラーゲン-CSCの架橋結合を行わせると、カルボキシル酸とアミン基の間に架橋結合が形成されることになる。結果(図9)は、EDC対コラーゲン-NH<sub>2</sub>の比が高くなると、それがより凝縮された網状構造を導くので、コラーゲン-CSCゲルの膨潤比が下がることを示した。

【0081】

インプラントの機械的特性の測定は、Li他によりPNAS100:15346-15351(2003年)に開示されている縫合系引き抜き法で行った。インプラントを、PBS内で完全に水和させ、10mm/分の速度で引いた。引張強度は、インプラント(厚さ500µm、直径12mm)の破断で監視した。ゲルの引張強度は、EDC対NH<sub>2</sub>モル比を上げると高くなった(図10)。しかしながら、材料は、EDCの量が大幅に増すと脆くなるので、EDC対コラーゲン-NH<sub>2</sub>のモル比が2以上では、引張強度が下がった。

【0082】

ゲルの引張強度は、図11に示すように、コラーゲンの濃度を上げることによっても強

化することができる(3.5%に代え10%のコラーゲンを使用したときと比較)。引張強度は、2.65から10.02グラム・フォースに上がり、膨潤比は21.5から12.1に下がった。

架橋結合の効率を、示差走査熱量測定(DSC)で評価した。コラーゲン又は架橋結合したコラーゲンのヒドロゲルを加熱すると、架橋結合の性質と程度次第で、或る温度で、本来の三重螺旋構造の構造的変転が生じる。コラーゲン溶液と、架橋結合し完全に水和したコラーゲンヒドロゲルを、気密パン内で、温度を2 /分の一定速度で上昇させて特徴付けた。最大ピーク温度を、変性温度として記録した。EDC対NH<sub>2</sub>比が上がると、変性温度は、42.4 から56.6 に上がり(図12A)、これは、共有架橋結合の導入によって、三重螺旋の安定性が増して、変性温度が上昇したことを意味していた。コラーゲン-CSCゲルの変性温度は、コラーゲンだけのゲルより高かった(図12B)。しかしながら、コラーゲン-CSCゲル内のCSC対コラーゲンのモル比を変えても、変性温度には影響が無かった。

#### 【0083】

ヒトの角膜上皮細胞の、確定した細胞線からの生体外成長を、観察した。神経の成長を、生体外で、ゲル内に移植された後根神経節を使って行った。神経突起を7日間成長させ、ゲルを神経フィラメントに対して染色し、神経突起の伸びを測定した。神経突起は、全てのコラーゲン-CSCゲル内で順調に成長した(図13)。

CSCの濃度を5%から20%に上げると、ゲル内での神経突起の伸びの長さが大幅に増えた。CSCを30%含んでいるゲルに何ら追加的利点のないことは明白だった(図13)。優れた上皮の被覆範囲とインプラントの一体化が観察された。

#### 【0084】

##### 実施例21

##### 型式IIIコラーゲン組成物

材料。ヒトの組み換え型式IIIコラーゲン(5.1%w/w FibroGen社)、0.625Mモルホリノエタンスルホン酸[MES、Aalizarin 赤 SpH標識(6.5mg/100mlの水)を含んでいる]、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドHCL(EDC)、N-ヒドロキシ-スクシニミド(NHS)

ヒドロゲルは、18.3%(w/w)型式IIIコラーゲン溶液から作った。18.2wt%のヒトの組み換え型式IIIコラーゲン(FibroGen社の5.1%w/wのヒトの組み換え型式IIIコラーゲンから凝縮した)0.3mlと、MES(0.625M)0.3mlとを、氷水槽内で、プラスチックのT字管に接続されている2つの気泡の入っていないシリンジの中で混ぜ合わせた。均一な溶液が形成された後、33.5mgのEDCと、20.1mgのNHSを、0.125mlのMES内に溶解させ、その内の57μlを取り出し、EDC:NHS:コラーゲン-NH<sub>2</sub>のモル比3:3:1で、上記のシリンジの中に注入した。混合物はピンク色で、pHが約5であることを示したので、NaOH溶液は加えなかった。混合物を完全に混ぜ合わせ、ガラスの成形型(厚さ434μm)に入れて成形し、室温、湿度100%で、16時間放置した。次いで、成形型を定温器に移し、37 で5時間、後硬化させた。出来上がった平坦なヒドロゲルを取り出し、10mMのPBS内に浸し、新しい緩衝液を8時間毎に取り替えた。得られたヒドロゲルを、1%のクロロホルムが入っている10mMのPBSに漬け、4 の冷蔵庫内に保管した。

更に、EDC:NHS:コラーゲンNH<sub>2</sub>比が2:2:1と1:1:1の追加の型式IIIのコラーゲンヒドロゲルを、上記の方法を使って調製した。得られた全てのゲルが透明であった。

更に、ヒドロゲルを、5.1%(w/w)型式IIIのコラーゲン溶液から作った。5.1wt%のヒトの組み換え型式IIIコラーゲン0.3mlと、MES(0.625M)50μlとを、氷水槽内で、プラスチックのT字管に接続されている2つの気泡の入っていないシリンジの中で混ぜ合わせた。均一な溶液が形成された後、9.3mgのEDCと、5.6mgのNHSを、0.125mlのMESに溶解させ、その内の57μlを取り出

して、EDC : NHS : コラーゲン - NH<sub>2</sub> のモル比 3 : 3 : 1 で上記シリンジに注入した。混合物はピンク色で、pH 約 5 であることを示したので、NaOH 溶液は加えなかった。混合物を完全に混ぜ合わせ、ガラスの成形型（厚さ 434 μm）に入れて成形し、室温、湿度 100% で、16 時間放置した。次いで、成形型を定温器に移し、37 で 5 時間、後硬化させた。出来上がった平坦なヒドロゲルを取り出し、10 mM の PBS 内に浸し、新しい緩衝液を 8 時間毎に取り替えた。最後に、得られたヒドロゲルを、1% のクロロホルムが入っている 10 mM の PBS に漬け、4 の冷蔵庫内に保管した。得られたゲルは、光学的に透明であった。

#### 【0085】

コラーゲン開始時濃度 18.3% w/w のものの最終的なコラーゲン含有率は、8.36% (w/v) (全成分を加えた後の希釈係数に基づいて計算)、又は約 10% (w/v) であった (測定値)。

10

コラーゲン開始時濃度 5.1% w/w のものの最終的なコラーゲン含有率は、3.76% (w/v) (全成分を加えた後の希釈係数に基づいて計算)、又は約 4% (w/v) であった (測定値)。

以上、本発明を、様々な具体的な例及び実施形態に関して述べてきたが、本発明は、それらに限定されず、他の実施形態も本発明の範囲に含まれるものと理解されたい。

多数の発行物、特許、及び特許出願についても上に引用している。引用した出版物、特許、及び特許出願は、その全体を参考文献として援用することとする。

#### 【図面の簡単な説明】

20

#### 【0086】

【図 1】本発明の組成物と装置を作るための、システムの T 部片アダプタの断面図である。

【図 2】本発明の組成物と装置を作るための、システムの雌型ルアーアダプタの断面図である。

【図 3】本発明の組成物と装置を作るために、図 1 の T アダプタに隔膜と 2 つのシリンジが連結されている状態を示す平面図である。

【図 4】F 1 で示すヒトの組み換え型ヒドロゲル材料に関し、細胞数を時間の関数として示すグラフである。

【図 5】F 3 で示すヒトの組み換え型ヒドロゲル材料に関し、細胞数を時間の関数として示すグラフである。

30

【図 6】F 6 で示すヒトの組み換え型ヒドロゲル材料に関し、細胞数を時間の関数として示すグラフである。

【図 7】ネズミの中に配置された、F 3 で示すヒトの組み換え型ヒドロゲル材料の写真である。

【図 8】本発明の屈折誤差補正眼用装置の或る実施形態の図である。

【図 8 A】本発明のアンレーの或る実施形態のレンズ縁部構造の図である。

【図 9】膨潤率を、EDC 対 NH<sub>2</sub> 分子比の関数として示すグラフである。

【図 10】引張強度を、EDC 対 NH<sub>2</sub> 分子比の関数として示すグラフである。

【図 11】引張強度をコラーゲン濃度の関数として (左パネル)、及び膨潤率をコラーゲン濃度の関数として (右パネル) 示すグラフである。

40

【図 12】熱の流れを、異なる EDC 対 NH<sub>2</sub> 分子比を有する組成物の温度の関数として (左パネル)、及び、熱の流れを、異なる CSC 濃度を有する組成物の温度の関数として (右パネル) 示すグラフである。

【図 13】神経突起の長さを、コンドロイチン硫酸対コラーゲンの乾燥重量比の関数として示すグラフである。

【 図 1 】

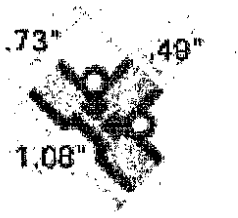


Fig.1.

【 図 3 】

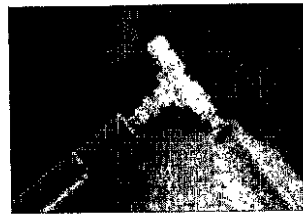


Fig.3

【 図 2 】

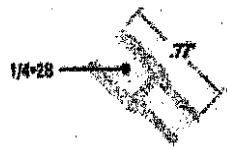


Fig.2

【 図 4 】

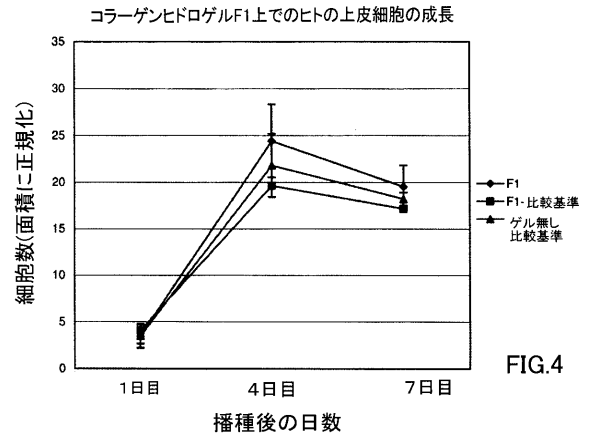


FIG.4

【 図 5 】

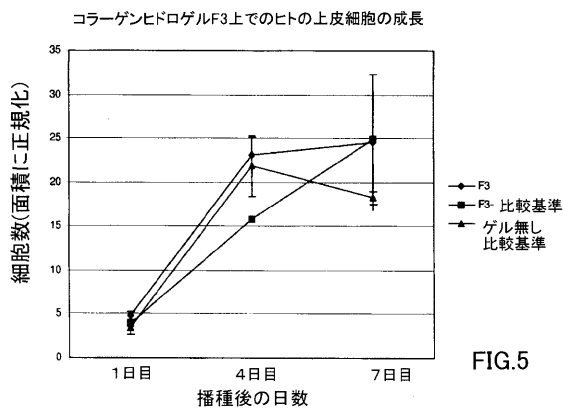


FIG.5

【 図 6 】

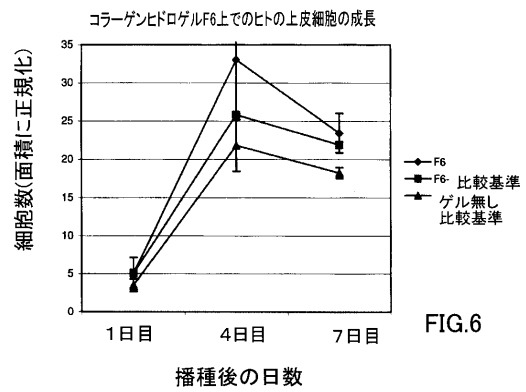


FIG.6

【 図 7 】



FIG.7

【 図 8 】

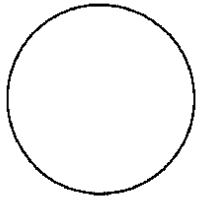


FIG. 8

【 図 8 A 】

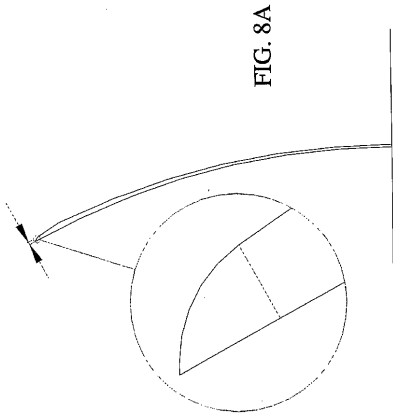


FIG. 8A

【 図 9 】

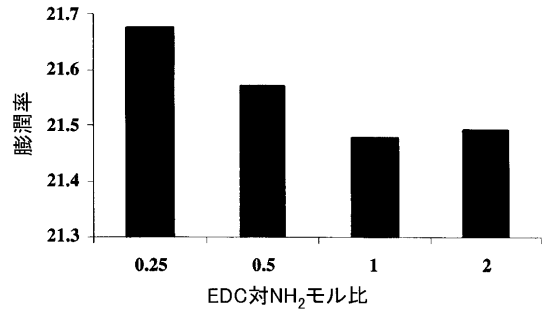


FIG.9

【 図 10 】

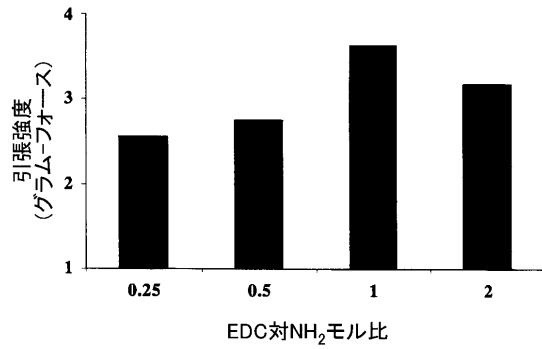


FIG.10

【 図 11 】

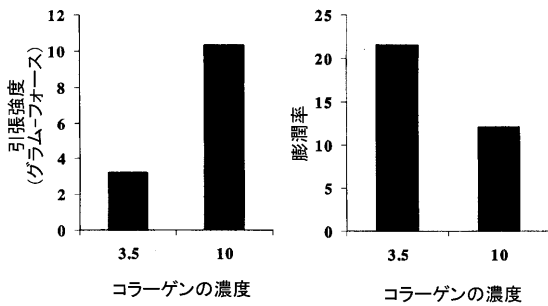


FIG.11

【 図 13 】

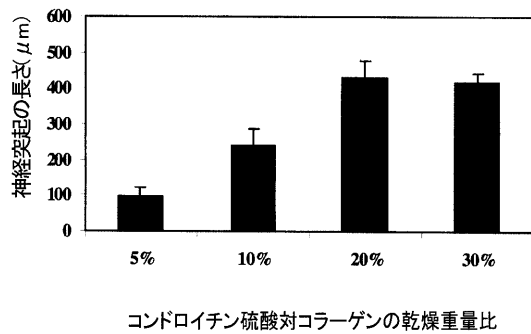


FIG.13

【 図 12 】

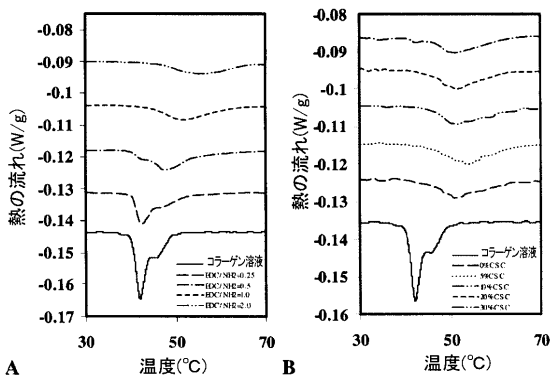


FIG.12

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US05/28723

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</p> <p>IPC: A61F 2/16( 2006.01)</p> <p>USPC: 623/5.16</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>																			
<p>B. FIELDS SEARCHED</p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : Please See Continuation Sheet</p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet</p>																			
<p>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X --- Y</td> <td>US 4,581,030 A (BRUNS et al) 08 April 1986 (08.04.1986), abstract, column 3, lines 59-68, column 4, lines 57-68, and Examples 1 to 3.</td> <td>1-6, 9-16, 24-26, 28-30, 34, 37-42, and 44-51</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 5,112,350 A (CIVERCHIA et al) 12 May 1992 (12.05.1992), see the abstract and Example V.</td> <td>7, 8, 31, 32, 36, and 43</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 5,201,764 A (KELMAN et al) 13 April 1993 (13.04.1993), see the abstract.</td> <td>1-5</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 5,836,313 A (PEREZ et al) 17 November 1998 (17.11.1998), see the abstract.</td> <td>1-5</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2002/0007217 A1 (JACOB et al) 17 January 2002 (17.01.2002), see the abstract.</td> <td>17-23</td> </tr> </tbody> </table>		Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X --- Y	US 4,581,030 A (BRUNS et al) 08 April 1986 (08.04.1986), abstract, column 3, lines 59-68, column 4, lines 57-68, and Examples 1 to 3.	1-6, 9-16, 24-26, 28-30, 34, 37-42, and 44-51	Y	US 5,112,350 A (CIVERCHIA et al) 12 May 1992 (12.05.1992), see the abstract and Example V.	7, 8, 31, 32, 36, and 43	A	US 5,201,764 A (KELMAN et al) 13 April 1993 (13.04.1993), see the abstract.	1-5	A	US 5,836,313 A (PEREZ et al) 17 November 1998 (17.11.1998), see the abstract.	1-5	A	US 2002/0007217 A1 (JACOB et al) 17 January 2002 (17.01.2002), see the abstract.	17-23
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																	
X --- Y	US 4,581,030 A (BRUNS et al) 08 April 1986 (08.04.1986), abstract, column 3, lines 59-68, column 4, lines 57-68, and Examples 1 to 3.	1-6, 9-16, 24-26, 28-30, 34, 37-42, and 44-51																	
Y	US 5,112,350 A (CIVERCHIA et al) 12 May 1992 (12.05.1992), see the abstract and Example V.	7, 8, 31, 32, 36, and 43																	
A	US 5,201,764 A (KELMAN et al) 13 April 1993 (13.04.1993), see the abstract.	1-5																	
A	US 5,836,313 A (PEREZ et al) 17 November 1998 (17.11.1998), see the abstract.	1-5																	
A	US 2002/0007217 A1 (JACOB et al) 17 January 2002 (17.01.2002), see the abstract.	17-23																	
<p><input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.      <input type="checkbox"/> See patent family annex.</p>																			
<p>* Special categories of cited documents:</p> <table border="0"> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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)</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"Z" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>		"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family	"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed									
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention																		
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone																		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art																		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family																		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																			
Date of the actual completion of the international search 30 September 2006 (30.09.2006)	Date of mailing of the international search report 08 DEC 2006																		
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 Paul B. Prebille Telephone No. (571) 272-1600																		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US05/28723

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

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

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

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
Please See Continuation Sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any 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.:
- 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/US05/28723

## BOX III. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

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, claim(s) 1-35 and 45-51, drawn to an ophthalmic device or corneal onlay.

Group II, claim(s) 36-44, drawn to a method of making an ophthalmic device.

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: US Patent 5,713,957 (see column 5, lines 7-13) and US Patent 5,716,633 (see the abstract) provide evidence that there is no special technical feature of collagen used as an ophthalmic device because collagen containing devices are clearly shown in these prior art documents.

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 1:  
623/5.16, 6.61, 6.58, 6.56, 901  
42A/A27

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:  
EAST BRS search terms: collagen and (vision or ophthalmic or cornea\$1 or lens) and crosslink\$3 and (lens or refractive or optic\$2) and growth adj enhancer.

## フロントページの続き

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

(71)出願人 506298068

クーパーヴィジョン インコーポレイテッド

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 14450 フェアポートウッドクリフ ドライヴ 370  
スイート 200

(74)代理人 100082005

弁理士 熊倉 禎男

(74)代理人 100084009

弁理士 小川 信夫

(74)代理人 100084663

弁理士 箱田 篤

(74)代理人 100093300

弁理士 浅井 賢治

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 グリフィス メイ

カナダ ケイ0エイ 1エル0 オンタリオ カーブ アールアール#3 スプルース リッジ  
ロード 1006

(72)発明者 カールソン ディヴィッド ジェイ

カナダ ケイ1ジェイ 7イー6 オンタリオ オタワ ディロング ドライヴ 14

(72)発明者 リー フェンフュ

カナダ ケイ1ジェイ 1ジェイ1 オンタリオ オタワ マクストン プライヴェイト 19

(72)発明者 リウ ユーウェン

カナダ ケイ1ヴィー 6エル7 オンタリオ オタワ スプリングランド ドライヴ 514 -  
790

(72)発明者 マーモ ジェイ クリストファー

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94506 ダンヴィル グリーン ゲイブルズ コート  
39

(72)発明者 アスマンラファット メアダッド

カナダ ジェイ9エイチ 7ケイ7 ケベック ガティノー ロバート ステュアート ロード  
112

Fターム(参考) 4C081 AB21 BA12 BA13 BA14 BB02 BB03 CA082 CA102 CA132 CC01

CC04 CC05 CD042 CD072 CD082 CD092 CD121 CD131 CD27 CD29

DA02 DA12 DC03 DC12 EA05 EA12

4C097 AA24 BB01 DD01 EE06 EE18 EE19 FF03 FF04 MM02 MM04

MM05