

(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2009-531120

(P2009-531120A)

(43) 公表日 平成21年9月3日(2009.9.3)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 L 27/00</b> (2006.01)	A 6 1 L 27/00	4 C 0 8 1
A 6 1 F 2/02 (2006.01)	A 6 1 F 2/02	4 C 0 9 7

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2009-502317 (P2009-502317)  
 (86) (22) 出願日 平成19年3月30日 (2007.3.30)  
 (85) 翻訳文提出日 平成20年10月9日 (2008.10.9)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2007/051153  
 (87) 国際公開番号 W02007/113762  
 (87) 国際公開日 平成19年10月11日 (2007.10.11)  
 (31) 優先権主張番号 2006/02676  
 (32) 優先日 平成18年3月31日 (2006.3.31)  
 (33) 優先権主張国 南アフリカ (ZA)

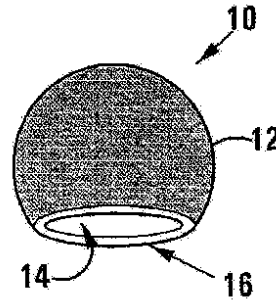
(71) 出願人 504328495  
 シーエスアイアール  
 南アフリカ共和国, プレトリア 000  
 2, サイエンティア (番地なし)  
 (74) 代理人 100095832  
 弁理士 細田 芳徳  
 (72) 発明者 リヒター, ポール, ウィルヘルム  
 南アフリカ国 ウィンゲート パーク O  
 153 ウンランガ ストリート 718  
 (72) 発明者 ナイドー, ケルシュ  
 南アフリカ国 ポート シェプストーン  
 4240 チェスナット ロード 41

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 軟組織のかさ増し

(57) 【要約】

軟組織かさ増し物質は複数の粒子を含む。各粒子は、内腔を画定し、50 μm~250 μmの最大外寸を有する球面状のポリマー殻を含む。殻内には、ポートまたは開口部が設けられている。したがって、ポートまたは開口部は該腔への進入路を提供する。ポートまたは開口部は、該粒子の外寸の10分の1から該粒子の外寸までの範囲のサイズまたは寸法を有する。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

複数の粒子を含み、各粒子が、内部空洞を規定し、50 μm ~ 250 μmの最大外形を有する球面状のポリマー殻を含み、殻内のポートまたは開口部が空洞への接触面を提供して粒子の外形の1/10から粒子の外形までの範囲の大きさまたは寸法を有する、軟組織かさ増し物質。

## 【請求項 2】

粒子の殻が、実質的に球形であるためにその外径が50 μm ~ 250 μmである、請求項1記載のかさ増し物質。

## 【請求項 3】

粒子のポートが実質的に円形であり、その直径が粒子の直径の1/10から粒子のそれぞれの直径までである、請求項2記載のかさ増し物質。

## 【請求項 4】

少なくともいくつかの粒子の殻が10 μm未満の寸法のミクロ細孔を有する、請求項2または3記載のかさ増し物質。

## 【請求項 5】

少なくともいくつかの粒子が10 μm ~ 50 μmの寸法のマクロ細孔を有する、請求項2 ~ 4いずれか記載のかさ増し物質。

## 【請求項 6】

粒子の殻の外表面積の20%未満がマクロ細孔で占められる、請求項5記載のかさ増し物質。

## 【請求項 7】

殻が、ポリマーとの複合物としてまたはポリマーに吸着あるいは結合した複合物として、リン酸カルシウム化合物、造影剤、治療剤、増殖因子、自己血小板富化血漿、正常ヒト細胞、および自己幹細胞から選択される少なくとも1つの添加剤を含む、請求項1 ~ 6いずれか記載のかさ増し物質。

## 【請求項 8】

少なくともいくつかの粒子の殻が、ヒドロキシアパタイトおよび/またはリン酸三カルシウムの外表層を有する、請求項1 ~ 7いずれか記載のかさ増し物質。

## 【請求項 9】

(i) 請求項1 ~ 8いずれか記載の軟組織かさ増し物質；および  
(ii) かさ増し物質粒子が懸濁され、組成物が軟組織への注入による適用に適切な粘稠度を有する、適合性担体媒体を含む注入用軟組織かさ増し組成物。

## 【請求項 10】

担体媒体が、溶媒に溶解されたコラーゲン、キトサン、アルギネート、ポリビニルピロリドン、シリコンオイル、ゼラチン、脂肪、ヒアルロン酸、食塩水、水、血漿、水溶液、グリコール、中鎖トリグリセリド、グリセリド、グリセリン、B-グルカンおよびアガロース溶液、乳酸エチル、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポロキサマーもしくはポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)またはそれらの誘導体から選択される担体媒体を含む、請求項9記載の組成物。

## 【請求項 11】

担体媒体が室温で液体であり、ヒト軟組織に注入された場合にゲル形態へと相変化するように適合される、請求項10記載の組成物。

## 【請求項 12】

担体物質媒体が高度に精製されたグルタルアルデヒド架橋ウシ皮膚コラーゲンを含む、請求項10または11記載の組成物。

## 【請求項 13】

担体媒体が偽可塑性液であり、そのため注入の際に比較的高い剪断環境下で低い粘度をもたらす、注入後に注入された物質を安定化または懸濁するために高い粘度をもたらす、

10

20

30

40

50

請求項10記載の組成物。

【請求項14】

担体媒体が水に溶解されたヒアルロン酸を含む、請求項13記載の組成物。

【請求項15】

担体媒体が、添加剤として造影剤、自己血小板富化血漿、正常ヒト細胞、および/または自己幹細胞を含む、請求項9～14いずれか記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、軟組織のかさ増し(bulking)に関する。本発明は、特に、軟組織かさ増し物質、および注入可能な軟組織かさ増し組成物に関する。 10

【0002】

本発明の第1の局面によれば、複数の粒子を含み、該粒子の各々が、内腔を画定し、50  $\mu\text{m}$ ～250  $\mu\text{m}$ の最大外寸を有する球面状のポリマー殻であって、その殻内にポートまたは開口部を含み、したがって、該ポートまたは開口部は該腔への進入路を提供し、該ポートまたは開口部は、該粒子の外寸の10分の1から該粒子の外寸までの範囲のサイズまたは寸法を有する、軟組織かさ増し物質が提供される。

【0003】

本発明のかさ増し物質は、胃食道逆流性疾患(GERD)、泌尿器系逆流性疾患、腹圧性尿失禁(SUI)、便失禁、皮膚のでこぼこの増大の処置、声帯ひだ麻痺の処置のための声帯ひだの増大などにおける軟組織かさ増し物質としての使用に適している。これは、本明細書において後述する担体媒体に懸濁し、かさ増しまたは増大を必要とする軟組織に注入することにより適用される。 20

【0004】

内腔は、上記のようにして殻によって囲まれ、該腔への外部進入路を提供するポートまたは開口部を有する。

【0005】

該粒子の殻は、好ましくは、外径が50  $\mu\text{m}$ ～250  $\mu\text{m}$ であるように実質的に球形である。換言すると、粒子は、好ましくは、各々が単一の主要な大きなポートまたは開口部をその殻内に有する中空微小球である。微小球の直径は、典型的に約100  $\mu\text{m}$ であり得る。 30

【0006】

該粒子のポートは、そのため実質的に円形であり得、したがって、そのサイズまたは直径は、該粒子の直径の10分の1から該粒子のそれぞれの直径までの範囲である。ポートの直径は、20  $\mu\text{m}$ ～100  $\mu\text{m}$ の範囲であり得る。例えば、ポート直径は約60  $\mu\text{m}$ であり得る。

【0007】

少なくとも一部の該粒子の殻はミクロ細孔を有し得る。ミクロ細孔は、<10  $\mu\text{m}$ の寸法、例えば<10  $\mu\text{m}$ の直径を有し得る。

【0008】

少なくとも一部の該粒子の殻は、マクロ細孔を有し得る。マクロ細孔は、10  $\mu\text{m}$ ～50  $\mu\text{m}$ の寸法、例えば、直径を有し得る。 40

【0009】

本発明の一態様において、該粒子の殻の外表面積の20%未満、すなわち、存在する任意のミクロ-またはマクロ細孔の内表面積以外が、マクロ細孔に占められ得る、すなわち、微小球は、限定的なマクロ細孔性を有し得る。

【0010】

殻は、ポリマーとの複合体として、またはポリマーに吸収された(あるいは結合された)状態で、リン酸カルシウム化合物、造影剤、治療剤、成長因子、自己血小板富化血漿、正常ヒト細胞、および自己幹細胞から選択される少なくとも1種類の添加剤を含み得る。

【0011】

本発明の第2の局面によれば、 50

(i) 上記の軟組織かさ増し物質；および

(ii) かさ増し物質粒子が懸濁された適合性の担体媒体

を含む注入可能な軟組織かさ増し組成物であって、軟組織内に注入することによる適用に適するような粘稠度を有する組成物が提供される。

【0012】

担体媒体としては、溶媒に溶解させたコラーゲン、キトサン、アルギネート、ポリビニルピロリドン、シリコーン油、ゼラチン、脂肪、ヒアルロン酸、食塩水、水、血漿、水溶液、グリコール、中鎖トリグリセリド、グリセリド、グリセロール、B-グルカンおよびアガロース溶液、乳酸エチル、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポロキサマーもしくはポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)またはその誘導体から選択される担体媒体材料が挙げられ得る。

10

【0013】

溶媒に対する担体媒体材料の比は、1:1~200:1(溶媒mlに対する担体媒体のmg)であり得る。

【0014】

使用される担体媒体材料に応じて、水、酸または塩基など任意の適当な溶媒が使用され得る。したがって、コラーゲンが担体媒体として使用される場合、溶媒は酢酸であり得る。アルギネートが担体媒体として使用される場合、水酸化ナトリウムなどの塩基が溶媒として使用され得る。

【0015】

担体媒体は、注入した場合などの高剪断下で低い粘性を可能にするが、注入後に注入された材料を安定化または懸濁するために高い粘性を有する、水に溶解させたヒアルロン酸(好ましくは非動物供給源由来)などの偽塑性液体であり得る。代わりに、担体媒体は、室温で液体であるが、軟組織内に注入されると、すなわち、ヒト身体条件では、例えば液体からゲルに相変化を受けるように適合されたものであってもよい。特に、担体媒体は、体温および/または体内pHで、すなわち、ヒト軟組織内への注入後、液体からゲルへの相変化を受けるように、温度および/またはpH応答性であり得る。好ましくは、高度に精製されたグルタルアルデヒド架橋ウシコラーゲンが担体媒体材料として使用される。その一例は、INAMED Aesthetics of Santa Barbara, California, USAによって製造され、C. R. Bard of Murray Hill, New Jersey, USAによって販売されているコラーゲン調製物である。

20

30

【0016】

組成物は、かさ増し物質および担体媒体を合わせることにより形成される。かさ増し物質は、好ましくは、担体媒体に添加される前に滅菌される。これは、25kGyの線量まで滅菌することによって行なわれ得る。担体媒体はまた、かさ増し物質が添加される前に滅菌され得る。コラーゲン水溶液は、インライン滅菌フィルター(0.22マイクロメートル)での濾過、および厳格な滅菌調製手順のいずれかによって滅菌され得る。

【0017】

担体媒体は、造影剤、自己血小板富化血漿、正常ヒト細胞または自己幹細胞などの前述の添加剤を含み得る。

40

【0018】

軟組織かさ増し物質は、

(i) 細孔形成剤を溶媒に溶解させたポリマーの溶液に分散させ、油(O)相を形成する工程；

(ii) 油相を、水に溶解させた乳化剤/界面活性剤を含む水(W)相に添加し、水中油型エマルジョン(O/W)を形成する工程；または

(iii) 水に溶解させた乳化剤/界面活性剤を含む水相(W)を油相に添加し、エマルジョンを形成した後、このエマルジョンを、乳化剤/界面活性剤を含有する第2の油相に添加し、油中油中水型エマルジョン((W/O)/O)を形成する工程；

(iv) 適宜、工程(ii)または(iii)のエマルジョンに酸を添加する工程、ここで、該酸は

50

細孔形成剤と反応し、それにより、該粒子の各々が、内腔を画定し、50  $\mu\text{m}$  ~ 250  $\mu\text{m}$ の最大外寸を有する球面状のポリマー殻を形成し、その殻内にポートまたは開口部を含み、したがって、該ポートまたは開口部は該腔への進入路を提供し、該ポートまたは開口部が、100  $\mu\text{m}$ の最大寸法および20  $\mu\text{m}$ の最小寸法を有する、  
により調製され得る。

【0019】

代わりに、軟組織かさ増し物質を、

(v) 水に溶解させた乳化剤/界面活性剤を含む水相(W)を、溶媒に溶解させたポリマーの溶液を含む油相(O)に添加し、(W/O)エマルジョンを形成し、細孔形成剤をこのエマルジョンに添加する工程；その後、

(vi) このエマルジョンを、水に溶解させた乳化剤/界面活性剤を含む水相(W)に添加して戻し、水中油中水型エマルジョン((W/O)/W)を形成し、次いで、

(vii) 適宜、((W/O)/W)エマルジョンに酸を添加する工程、ここで、該酸は細孔形成剤と反応し、それにより、該粒子の各々が、内腔を画定し、50  $\mu\text{m}$  ~ 250  $\mu\text{m}$ の最大外寸を有する球面状のポリマー殻を形成し、その殻内にポートまたは開口部を含み、したがって、該ポートまたは開口部は該腔への進入路を提供し、該ポートまたは開口部が、100  $\mu\text{m}$ の最大寸法および20  $\mu\text{m}$ の最小寸法を有する、  
により調製してもよい。

【0020】

したがって、細孔形成剤および酸は、酸がエマルジョンに添加されると、細孔形成剤と反応し、泡立ちまたは発泡が起こり、該粒子内にポートの形成をもたらすように選択され得る。

【0021】

細孔形成剤は、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、炭酸アンモニウム、重炭酸アンモニウム、インピボ使用に許容され得る硝酸塩、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、サッカロースおよびグルコースから選択され得る固形細孔形成剤またはポロジェン(porogen)であり得る。典型的に、重炭酸ナトリウムが使用される。しかしながら、代わりに、パーフルオロカーボンなどの不活性液体細孔形成剤を使用してもよい。しかしながら、使用されるポロジェンは、上記の物質に限定されない。

【0022】

酸をエマルジョンに添加する工程は、適切な場合、すなわち、固体または揮発性有機溶媒の細孔形成剤またはポロジェンそれ自体が十分なガスを生成しない場合にのみ使用されることは認識されよう。化学的に不活性な液体細孔形成剤が使用される場合、酸添加しない。さらにまた、酸添加はある種の固形細孔形成剤が使用される場合、不要であり得る。例えば、重炭酸アンモニウムがポロジェンとして使用される場合、重炭酸アンモニウムが、酸が存在しなくても細孔形成が起こるのに十分に反応性であるため、酸添加は必要とされない。

【0023】

細孔形成剤に対するポリマーの質量比は、1:5 ~ 2:1、典型的に約1:2であり得る。

【0024】

固形細孔形成剤またはポロジェンが使用される場合、これは、0.01  $\mu\text{m}$  ~ 250  $\mu\text{m}$ の粒径範囲、典型的に約150  $\mu\text{m}$ を有し得る。

【0025】

細孔形成剤が溶液に添加された後、ポロジェン溶液混合物は、好ましくは、均質な分散が達成されるまで攪拌またはホモジナイズされる。

【0026】

溶液中の溶媒に対するポリマーの比は、ポリマー溶解度の限界に応じて1:20 ~ 1:5(溶媒mlに対するポリマーg)、典型的に約1:6であり得る。

【0027】

ポリマーは、ポリ(-カプロラクトン)、ポリラクチド、ポリグリコリド、ポリラクチ

10

20

30

40

50

ド-コ-グリコリド、ポリ(ε-カプロラクトン)-コ-グリコリド、ポリヒドロキシブチレート、ポリヒドロキシバレレート、ポリブチロラクトン、ポリバレロラクトン、ポリ(エチレンカーボネート)、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリジオキサノン、ポリウレタン、ポリエチレングリコール、ポリメチルメタクリレート、ポリ酢酸ビニルおよびポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)から選択される合成ポリマー、またはコラーゲン、ヒアルロン酸、キトサン、フィブリンおよびアルギネートから選択される天然ポリマーであり得る。

【0028】

したがって、溶液は、例えば攪拌または均質化を使用し、ポリマーを溶媒に溶解することにより形成される。溶媒は、工程(iii)、(iii)または(v)において使用される水相の一部で予め飽和させてもよい。

10

【0029】

溶媒は、芳香族炭化水素、塩素系溶媒(ジクロロメタン、クロロホルム、CCl<sub>4</sub>など)、アルコール(ベンジルアルコール、ポリプロピレングリコール、n-ブタノールなど)、エステル(酢酸エチル、酢酸ブチル、安息香酸メチル、酢酸メチルなど)、または酢酸もしくはプロピオン酸などの有機酸などの水溶性の有機溶媒であり得る。

【0030】

水相は、脱イオン水に対して乳化剤/界面活性剤を、1:10~1:1000(水mlに対して乳化剤/界面活性剤g)、典型的に約1:50の比で含み得る。

【0031】

上記の工程(v)および(vi)において、使用される水相の構成または組成は同じであり得る。

20

【0032】

乳化剤/界面活性剤は、ポリビニルアルコール、ゼラチン、ポリエチレングリコール、ドデシル硫酸ナトリウム、ポリソルベート、ポリビニルピロリドン、ポロキサマー、モノオレイン酸グリセリル、モノステアリン酸グリセリル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびその混合物から選択され得る。

【0033】

水相は、乳化剤/界面活性剤が添加された後、乳化剤/界面活性剤が溶解されるまで、脱イオン水を攪拌または均質化することにより形成される。脱イオン水は、上記の工程(i)の溶液に使用される溶媒で予め飽和させてもよい。

30

【0034】

したがって、第2の油相は、油および乳化剤/界面活性剤を含む。第2の油相の油は、他方または第1の油相の油、すなわち溶媒と異なる。第2の油相の油は、植物油、鉱物油、ホホバ油、アボカド油またはパーム核油であり得る。第2の油相における乳化剤/界面活性剤に対する油の容量比は、20:1~2000:1、典型的に約200:1であり得る。

【0035】

酸が添加されるエマルジョンは、したがって、O/Wエマルジョンまたは(W/O)/Wエマルジョンまたは(W/O)/Oエマルジョンである。

40

【0036】

O/Wエマルジョンは、W相の攪拌またはホモジナイズを続けながら、油相(O)を水相(W)に添加することにより形成される。O相に対するW相の比は、5:1~200:1(O相mlに対するW相ml)、典型的に約20:1であり得る。

【0037】

(W/O)/Wエマルジョンは、O相にW相(最初のW相)を添加し、エマルジョンを形成し、次いで、このエマルジョンをW相に添加して戻し、それにより、(W/O)/Wエマルジョンを形成することにより形成される。

【0038】

(W/O)/Oエマルジョンは、W相をO相に添加し、エマルジョンを形成し、次いで、このエ

50

マルジョンを第2の油相に添加し、それにより、(W/O)/Oエマルジョンを形成することにより形成される。

【0039】

すべての場合において、乳化は、磁気攪拌、膜乳化、ローター-ステーター均質化、高圧均質化または超音波均質化によって行なわれ得る。攪拌/均質化は、完全な乳化が達成されるまで継続される。また、所望の微粒子を作製するために噴霧乾燥などの当業者に公知の他の乳化方法が代わりに使用され得ることは認識され得よう。

【0040】

酸添加は、乳化してエマルジョンを攪拌または均質化しながら行なわれ得る。使用されるポロジェンの量と化学量論的に均衡するように十分な酸が使用される。酸は、酢酸、アスコルビン酸、サリチル酸、リン酸、塩酸、プロピオン酸およびその混合物から選択され得る。

10

【0041】

エマルジョンへの酸添加後、得られた混合物は、殻およびその内部にポートの形成が可能となるように、50~1000mbar(abs)の真空下で溶媒蒸発され得る。典型的に、溶媒蒸発は、酸/ポロジェン反応が終了するまで約500mbar(abs)の真空で行なわれ得る。

【0042】

造影剤は、水溶性または水不溶性のいずれかであり得、ポリマー殻に組み込まれるように、および/または担体媒体に添加されるようにO相に添加され得る。水溶性造影剤の例としては、メトリザミド、イオパミドール、イオタラム酸ナトリウム、ヨードミド(iodamide)ナトリウム、およびメグルミンが挙げられる。水不溶性造影剤としては、タンタル、酸化タンタル、金、タングステン、白金、パーフルオロカーボンおよびバリウムが挙げられる。これらの添加剤により、組成物を注入した人が、蛍光透視、ラジオグラフィ、超音波光学的コヒーレンス断層撮影法および/または他の可視的画像形成装置によって、注入中の軟組織増大の程度を目で見ることが可能になり、より制御された手順が可能になる。

20

【0043】

抗生物質または抗炎症剤などの治療剤は、ポリマー殻への組み込みのためにW相に添加され得る、および/または担体媒体に添加され得る。

【0044】

新しい組織形成および血管形成の初期段階を刺激するための成長因子は、ポリマー殻および/または担体媒体中に組み込まれ得る。

30

【0045】

使用され得る成長因子としては、ヘパリン、上皮成長因子、トランスホーミング増殖因子-1、トランスホーミング増殖因子- $\beta$ 、血小板由来成長因子、線維芽細胞成長因子、結合組織活性化ペプチド、 $\alpha$ -トロネンボグロブリン(thromboglobulin)、インスリン様成長因子、腫瘍壊死因子、インターロイキン、コロニー刺激因子、エリトロポイエチン、神経成長因子、インターフェロン、骨形成因子および骨形成タンパク質が挙げられる。

【0046】

自己血小板富化血漿(PRP)もまた、所望により、ポリマー殻および/または担体媒体内に組み込まれ得る。かかる添加剤は、種々の関連成長因子のカクテルの富化供給源として機能を果たし得、新しい組織形成および血管形成の初期段階を刺激する。

40

【0047】

また、新しい組織形成および血管形成をさらに刺激する関連正常ヒト細胞および/または自己幹細胞を、ポリマー殻および/または担体媒体内に組み込んでよい。これらとしては、成人または分化前脂肪細胞由来幹細胞、筋芽細胞、骨芽細胞、線維芽細胞、上皮細胞および内皮細胞、平滑筋細胞、好ましくは、成人脂肪細胞由来幹細胞、ならびに正常ヒト平滑筋細胞および上皮細胞が挙げられ得る。幹細胞は、インビトロで分化前ののものであってもよい。

【0048】

50

したがって、本発明のかさ増し組成物は、軟組織をかさ増しさせるために、組成物を、かさ増しを必要とする軟組織に注入することにより使用され得る。組成物の注入は、細胞検査的、内視鏡検査的または腹腔鏡検査的に行なわれ得る。

【0049】

本明細書において上記のように、軟組織適用としては、GERD、泌尿器系逆流性疾患、腹圧性尿失禁(SUI)、便失禁、皮膚のでこぼこの増大の処置、および声帯ひだ麻痺の処置のための声帯ひだの増大が挙げられ得る。

【0050】

次に、本発明を、添付の図面を参照しながら詳細に説明する。

【0051】

図面において、同様の特徴は同じ参照番号で示す。

【0052】

図1を参照する場合、参照番号10は、一般的に本発明の第1の態様による軟組織かさ増し物質の粒子を示す。

【0053】

粒子10は中実の球形殻12、即ち非多孔質ポリマーを含む。殻12は、通常約100  $\mu\text{m}$ の外径を有する。ポリマーは、通常ポリ(カプロラクトン)である。

【0054】

球形殻12は、中心の囲まれた球面状の空洞14を示す。

【0055】

殻12は、通常、1  $\mu\text{m}$ ~10  $\mu\text{m}$ の範囲の壁の厚さを有する。

【0056】

参照番号16で示される1つの主要なポートが殻12に設けられる。ポートの直径は、通常約60  $\mu\text{m}$ である。従って、ポート16は、空洞14と外部との進入路を提供する。

【0057】

図2を参照する場合、参照番号20は、一般的に本発明の第2の態様による軟組織かさ増し物質の粒子を示す。

【0058】

粒子20の場合において、殻12には直径が10  $\mu\text{m}$ 以下のマイクロ細孔が設けられている。

【0059】

図3を参照する場合、参照番号30は、一般的に本発明の第3の態様による軟組織かさ増し物質粒子を示す。

【0060】

粒子30の殻12には、直径10~50  $\mu\text{m}$ のマイクロ細孔32が設けられている。

【0061】

図4を参照する場合、参照番号40は、一般的に本発明の第4の態様による軟組織かさ増し物質の粒子を示す。

【0062】

粒子40は、限られたマクロ細孔性を有する、すなわち、該粒子のマクロ細孔32の全開口面積は、全微小殻の外表面積の20%未満である。

【0063】

粒子10、20、30および40は以下に説明されるように作製されるか、または合成される。

【0064】

注入可能軟組織かさ増し組成物および注入される軟組織かさ増し物質の容積は、必要とされる軟組織の増大量に応じておよそ0.5~20mlである。ポリマー微小殻は、通常10~20%の注入容量を構成し、従って1回の治療当り内視鏡的におよそ0.5~4mlのポリマー微小殻が必要である。以下に記載される合成手順により作製されるポリマー微小殻の容積はおよそ1mlである。

【0065】

(実施例)

10

20

30

40

50

## 実施例1 - O/W手順

150mlの蒸留水中1% (w/v)のポリビニルアルコール (PVA) 溶液を作製する (W)。1.5gのポリ ( カプロラクトン) (PCL) を10mlのジクロロメタン中に溶解しO相を形成する。ポロジェンとして作用する3gのNaHCO<sub>3</sub> ( 粒径: 25 ~ 40 μm) をO相に添加する。油-ポロジェン混合物を緩やかに1分間磁気攪拌する。PVA溶液 (W相) に油相を添加して300rpmで2分間均質にする。その後、20 で2時間、800rpmで、溶媒が完全蒸発するまで磁気攪拌する。攪拌1時間後、2.4mlの酢酸を添加する。発泡性の反応を生じさせる。適切なメッシュサイズを使用して溶液を濾過し、余分な水を除去して、所望の粒径範囲を得、所望の粒径範囲の80%の粒子の容量由来収率を達成する。以降の実施例2~4において、同様の濾過手順を使用する。粒子を真空乾燥させ、典型的な凝集手順を使用して分離し、本発明の軟組織かさ増し物質を得る。レーザー光散乱により得られた体積平均粒径は185 μmであった。本発明の粒子の走査電子顕微鏡写真を示す図5参照。

10

【 0 0 6 6 】

## 実施例2 - W/O/W手順

1.5gのPCLを10mlのジクロロメタン (DCM) 中に溶解し油 (O) 相を得る。0.5mlの1% (w/v)ポリビニルアルコール (PVA) 溶液 (W) を油相に添加する。磁気攪拌し、第1のエマルジョン (W/O) を形成する。ポロジェンとして作用する3gのCaCO<sub>3</sub> ( 粒径100 ~ 150 μm) を第1のエマルジョンに添加する。第1のエマルジョンを150mlの1% PVA (w/v) に添加する (W/O/W)。800rpmでこの混合物を磁気攪拌して第2のエマルジョンを形成し、溶媒が完全に蒸発するまで攪拌し続ける。攪拌1時間後、2.4mlの酢酸を添加する。発泡性の反応を生じさせる。蒸留水で球状体を3回すすぐ。溶液を濾過して粒子を真空乾燥させ、典型的な凝集手順を使用して分離し、微小殻、即ち本発明の軟組織かさ増し物質を得る。レーザー光散乱により得られた体積平均粒径は196 μmであった。本発明の粒子の走査電子顕微鏡写真を示す図6を参照。

20

【 0 0 6 7 】

## 実施例3 - W/O/O手順

5mlの蒸留水中0.33% (w/v)のポリビニルアルコール (PVA) 溶液を作製する (W)。1gのポリ ( カプロラクトン) (PCL) を10mlのジクロロメタン中に溶解して第1の油 (O<sub>1</sub>) 相を形成する。ポロジェンとして作用する3gのNaHCO<sub>3</sub> ( 粒径150 ~ 212 μm) をO<sub>1</sub>相に添加し、第1のエマルジョン (W/O<sub>1</sub>) をポロジェンと共に1分間、緩やかに磁気攪拌する。1% Span 60 (v/v) を使用して200mlの植物油から第2の油相 (O<sub>2</sub>) を作製する。Span 60 (登録商標) は、市販のモノステアリン酸ソルビタン、即ち界面活性剤/乳化剤である。第1のエマルジョンを第2の油相に添加し (W/O<sub>1</sub>/O<sub>2</sub>)、2000rpmで2時間、溶媒が完全に蒸発するまで磁気攪拌してエマルジョンを形成する。最終エマルジョンを濾過し、脱イオン水で3回洗浄する。適切な溶媒で、形成された微小粒子上の残留油を除去する。粒子を真空乾燥して典型的な凝集手順を使用して分離し、本発明の軟組織かさ増し物質を得る。

30

【 0 0 6 8 】

## 実施例4 - 液体ポロジェンを用いた (O/W) 手順

150mlの蒸留水中に1% [w/v]のポリビニルアルコール (PVA) 溶液を作製する (W)。1.5gのポリ ( カプロラクトン) (PCL) を10mlのジクロロメタンに溶解してO相を形成する。固形ポロジェンとして作用する3gのNaHCO<sub>3</sub> ( 粒径: 25 ~ 40 μm) および液体ポロジェンとして作用する1mlのパーフルオロカーボン (PFC) をO相に添加する。油-ポロジェン-PFC混合物を1分間攪拌する。PVA溶液に油相を添加して (O/W) 300rpmで2分間均質化する。その後、20 で2時間、溶媒が完全に蒸発するまで800rpmで磁気攪拌する。溶液を濾過して粒子を真空乾燥し、典型的な凝集手順を使用して分離し、本発明の軟組織かさ増し物質を得る。

40

【 0 0 6 9 】

上述の手順を続ける場合、軟組織かさ増し物質はそれぞれの場合において、図1、2、3および4の各粒子10、20、30および40の混合物を含むことが理解されよう。

【 0 0 7 0 】

50

#### 実施例5 - インビトロ平滑筋増殖

平滑筋細胞が実施例1の軟組織かさ増し物質に接着する能力を調べるために、古典的な微小担体細胞培養技術を使用して、新鮮な平滑筋細胞を上記の微粒子の存在下で培養した。120時間後、ほとんどの細胞が、ポリマー内部への選択的な結合を示した微粒子空洞内へと移動した。本発明の軟組織かさ増し物質上で培養した細胞の走査電子顕微鏡写真を示す、図7を参照。

##### 【0071】

本発明の態様は、単に例示を目的としており、当業者は本明細書で使用される具体的な手順の無数の均等物を確認することができる。全てのこのような均等物は本発明の範囲内にあると見なされる。

##### 【0072】

好ましくは、高度に精製されたグルタルアルデヒド架橋ウシコラーゲンを、担体媒体物質として使用する。この最も良く知られた例は、Collagen Corporation (Inamed Corporation) により製造され、C. R. Bardにより販売されるコラーゲン調製物である。患者がウシコラーゲンに対してアレルギー性であることが分かった場合Restylane™ (Q-Med) のヒアルロン酸を使用することもできる。

##### 【0073】

本発明の組成物、特にかさ増し物質を失禁または逆流に基づく疾患の実質的な治療に使用することができるが、本発明の組成物は、主に、下部食道括約筋 (LES) の一過的な弛緩により生じ、胃酸を食道に逆流させるGERDの治療において特定の応用を有することが考えられている。他の例において、GERDは、LESの休止時の緊張の低下に起因し得る。このことは、下部食道括約筋へのかさ増し物質の内視鏡または腹腔鏡注入により増大する。かさ増し物質の粒子の微小球または殻の特定の配置により容積の増大が生じ、粒子の空洞内に組織が伸長することにより組織が再生する。特に、粒子中の1つの最も大きなポートが、粒子の機械的な完全性を障害することなく、促進されるかまたはより早い新しい組織の伸長をもたらすと考えられている。理論により拘束されることを望まないが、粒子中の空洞および最も大きなポートが、新しい組織の形成にストレスのない環境をもたらし、それにより、「組織の収容所 (harbour)」を形成し、細胞が相互作用する、真の三次元の環境を与えると考えられている。

##### 【0074】

新しい組織の形成のためにストレスのない環境または「組織の収容所」を提供することは、線維症 (癒痕組織) を最小限にし、組織形成の体積を最大限にすることで、筋肉の機能を改善すると考えられている。このことは新しい組織の形成を高い割合で生じるはずである。このストレスのない環境もまた、粒子内に配置された細胞が移植の際に受ける強い剪断力から保護されるように、移植の前に粒子を適切な細胞と共に前もって培養し、1つの大きなポートを通じて周囲の組織と接触しながら、ポートおよびマイクロ細孔またはマクロ細孔が存在する場合にはそれを介して栄養分および酸素を供給する場合に有用であるはずである。

##### 【0075】

本発明のかさ増し物質でGERDを治療することにより、特に良好な結果が達成され、GERDを治療する他の方法に関連する課題が回避されるであろう。例えば、患者は、GERDを治療するための毎日の医療を受けることを回避し、大手術を避けることができる。

##### 【0076】

さらに、時間が進むにつれて、粒子は生分解され、それにより長期間の組織再生が促進される。

##### 【0077】

効果的には、2つのかさ増し機構は、すなわち：注入された組成物の最初の体積により生じる初期のかさ増し、および新しい組織の形成によりもたらされる後期のかさ増しおよび可能性の高い機能の回復という役割を果たす。

##### 【0078】

10

20

30

40

50

前述のように、粒子が添加剤を含む場合には、さらなる利点が生じ得る。従って、粒子がヒト細胞または（前もって平滑筋に分化させることが可能な）自己幹細胞を含む場合、これはさらに新しい組織の形成および血管形成を刺激し、筋肉の機能を回復させることができる。粒子が関連のある増殖因子を含む場合、これらは早期の新しい組織の形成を促進することができる。さらに、このような増殖因子は粒子が生物分解されるにつれて長期にわたり放出される。粒子がリン酸三カルシウムを含む場合、これは機械的な強度をもたらすし、長期にわたり体にカルシウムを供給するカルシウムレザバーとしても機能する。リン酸三カルシウムは良好に確立された生物作用性物質であり、そのためそのかさ増し物質への取り込みは粒子の生物活性を加速させ、改善された組織の粒子内への伸長を生じる。また、カルシウムは血液凝固カスケードに参加し、血小板の顆粒化をもたらす。

10

【0079】

自己由来の血小板富化血漿（PRP）は、増殖因子の「カクテル」の豊富な供給源を提供し、さらなる潜在的な利益付加物である。PRPは、通常、粒子殻よりも担体媒体に取り込まれ、担体媒体が迅速に分解されるために体へと迅速に放出され得る。PRPは、体が適合する場合には増殖因子を放出し、カルシウムを血小板の顆粒化に寄与させる。

【0080】

担体媒体へのPRPの取り込みは、PRPの顆粒が「自然に決定される」速度で、即ち体が必要とするように関連のある増殖因子を放出するので、新しい組織の形成を刺激する。

【0081】

関連のある増殖因子の放出速度は、リン酸三カルシウムの殻への取り込みの結果または製造の際のポロジェンとしての炭酸カルシウムの使用の結果であるカルシウムの局所的な供給の存在下で加速され得る。

20

【0082】

従って、かさ増し物質粒子は、かさ増しを必要とする部位に注入することができるような具体的な範囲の大きさ、即ち最大外形 $50\mu\text{m}$ ~ $250\mu\text{m}$ を有している必要があるということが重要である。これより大きな粒子は内視鏡の適用では注入が容易ではない。通常、内視鏡の針は、最小ゲージサイズ23を有しており、腹腔鏡の針は最大ゲージサイズ16を有する。従って、（粒子が肝臓移植などの適用に必要な場合と同様）本発明の粒子が脈管形成能を有する必要なく、即ち粒子は、通常、粒子が $0.5\text{mm}$ よりも大きい場合に生じるような粒子内で血管を形成する大きさである必要はない。同様に、本発明のポートの開口部 $20\mu\text{m}$ ~ $100\mu\text{m}$ は、粒子の内部に組織が伸長することを可能にするが、粒子内部での血管形成にはより大きな開口部が必要である。本発明のかさ増し物質粒子は、前述の方法により製造することができる。一方で、血管形成のための大きさを有するより大きな粒子、典型的には $100\mu\text{m}$ 、典型的には $200\mu\text{m}$ 以上よりも大きなポートを有する $0.5\text{mm}$ ~ $3\text{mm}$ の大きさの粒子の製造方法は、一般的には本発明による小さなポートサイズを有する小さな粒子の製造には適していない。

30

【図面の簡単な説明】

【0083】

【図1】図1は、本発明の第1の態様による軟組織かさ増し物質の粒子の3次元図を示す。

40

【図2】図2は、本発明の第2の態様による軟組織かさ増し物質の同様の3次元図を示す。

【図3】図3は、本発明の第3の態様による軟組織かさ増し物質の粒子の3次元図を示す。

【図4】図4は、本発明の第4の態様による軟組織かさ増し物質の粒子の3次元図を示す。

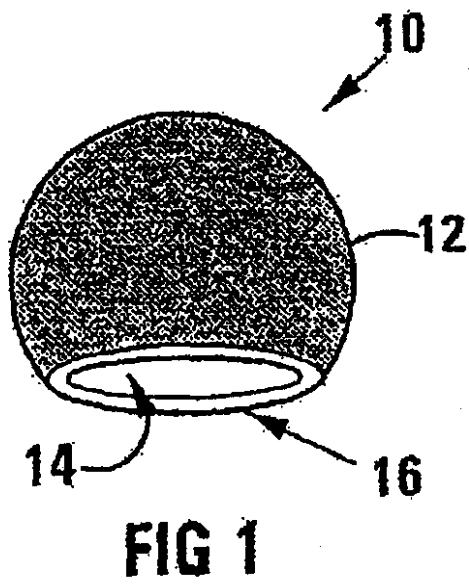
【図5】図5は、実施例1で得られた軟組織かさ増し物質の粒子の走査型電子顕微鏡写真である。

【図6】図6は、実施例2で得られた軟組織かさ増し物質の粒子の走査型電子顕微鏡写真である。

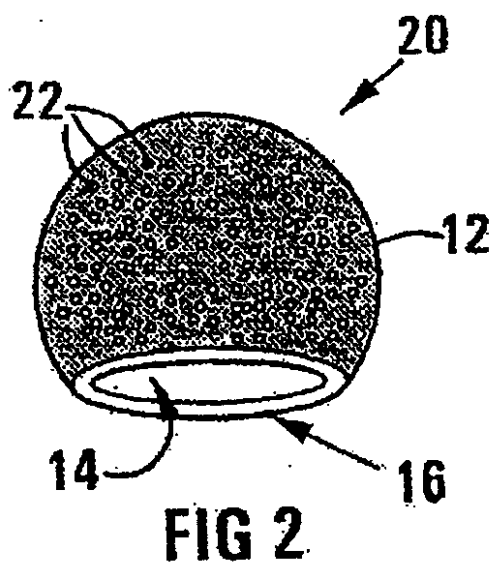
50

【図7】図7は、実施例1で得られた微粒子上で培養された細胞の走査型電子顕微鏡写真を示す。

【図1】



【図2】



【 図 3 】

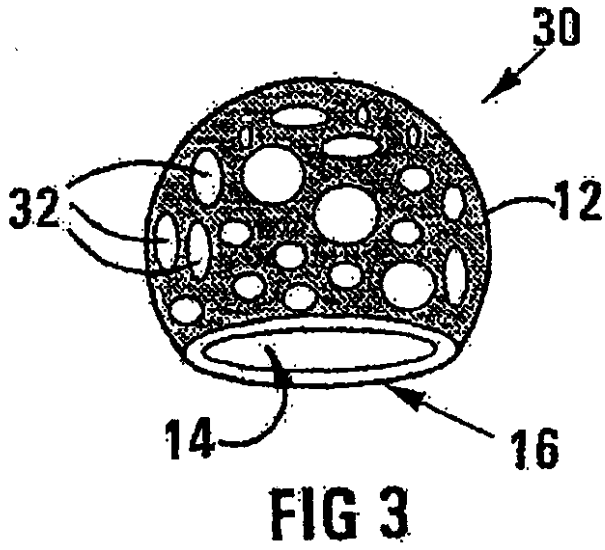


FIG 3

【 図 4 】

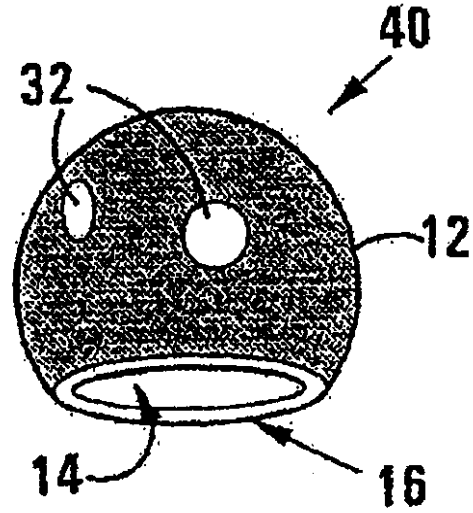


FIG 4

【 図 5 】



FIG 5

【 図 7 】



FIG 7

【 図 6 】

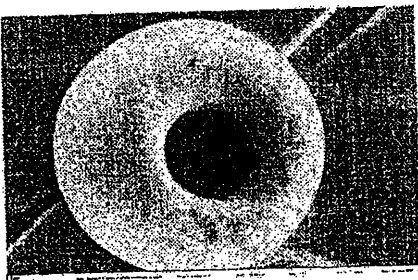


FIG 6

【手続補正書】

【提出日】平成20年2月12日(2008.2.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項1】

複数の粒子を含み、各粒子が、内部空洞を規定し、 $50\ \mu\text{m}$ ~ $250\ \mu\text{m}$ の最大外形を有する球面状のポリマー殻を含み、殻内の単一のポートまたは開口部が粒子の外形の1/10から粒子の外形までの範囲の大きさまたは寸法を有し、ポートまたは開口部が空洞への接触面を提供する、軟組織かさ増し物質。

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2007/051153

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K9/50      A61K47/42      A61L27/44      A61L27/58      A61K9/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61L		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2004/032881 A (NOVOCELL INC [US]; SCHARP DAVID [US]; LATTA PAUL [US]; YU XIAOJIE [US]) 22 April 2004 (2004-04-22) paragraph [0037] paragraphs [0048] - [0050] paragraph [0058] paragraph [0157] paragraph [0209]	1-15
Y	US 5 019 400 A (GOMBOTZ WAYNE R [US] ET AL) 28 May 1991 (1991-05-28) column 1, line 59 - column 2, line 6 column 3, line 46 - column 4, line 7 table 1 column 5, lines 49-54 column 6, lines 53,54	1-15
	----- -/-- -----	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search  25 October 2007		Date of mailing of the international search report  13/11/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  VILLA RIVA, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2007/051153
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2005/025834 A1 (GUO HONG [US] ET AL) 3 February 2005 (2005-02-03) paragraphs [0007] - [0010] paragraphs [0037], [0038]	1-15
Y	US 2002/001608 A1 (POLSON ALAN M [US] ET AL) 3 January 2002 (2002-01-03) abstract paragraph [0010] paragraphs [0041] - [0045] paragraphs [0048] - [0050]	1-15
Y	TOYOMI SATO ET AL: "Porous Biodegradable Microspheres for Controlled Drug Delivery. I. Assessment of Processing Conditions and Solvent Removal Techniques" PHARMACEUTICAL RESEARCH, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM PUBLISHERS, NE, vol. 5, no. 1, 1 January 1988 (1988-01-01), pages 21-30, XP019371057 ISSN: 1573-904X the whole document	1-15
Y	LEMPERLE G ET AL: "Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation" AESTHETIC PLASTIC SURGERY, SPRINGER VERLAG, NEW YORK, NY, US, vol. 27, no. 5, September 2003 (2003-09), pages 354-366, XP002347654 ISSN: 0364-216X abstract page 356, right-hand column, lines 24-47 page 358, right-hand column, lines 19-43 page 361, right-hand column, lines 1-27	1-15
A	US 2006/018942 A1 (ROWE CHARLES W [US] ET AL) 26 January 2006 (2006-01-26) abstract figure 2 paragraphs [0007], [0027], [0028]	1-15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2007/051153

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004032881	A	22-04-2004	AU 2003285887 A1	04-05-2004
			BR 0315130 A	16-08-2005
			CN 1703175 A	30-11-2005
			EP 1553893 A2	20-07-2005
			JP 2006503080 T	26-01-2006
			KR 20050055760 A	13-06-2005
			MX PA05003829 A	05-10-2005
			ZA 200503534 A	30-08-2006
			US 5019400	A
AU 5530990 A	29-11-1990			
CA 2030550 A1	02-11-1990			
DK 424516 T3	11-01-1993			
EP 0424516 A1	02-05-1991			
ES 2037563 T3	16-06-1993			
JP 7039338 B	01-05-1995			
JP 3504389 T	26-09-1991			
WO 9013780 A1	15-11-1990			
US 2005025834	A1	03-02-2005		
US 2002001608	A1	03-01-2002	NONE	
US 2006018942	A1	26-01-2006	NONE	

---

 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, MT, 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, BH, 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, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ヴァン デル メルヴェ, シャーク

南アフリカ国 プレトリア 0 0 7 6 ウッドヒル, プロンデスバリー クロース 8

Fターム(参考) 4C081 AB11 BA12 CA23 CD08 CD12 CF022 CF032 DA11 DA12 DA13

DA14 DA15 DB03 DB07 DC03

4C097 AA30 BB01 DD15 EE19