(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3902224号
(P3902224)
(45)発行日　平成19年4月4日(2007.4.4)　(24)登録日　平成19年1月12日(2007.1.12)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 31/715	(2006.01)	A61K	31/715
A61K 31/721	(2006.01)	A61K	31/721
A61K 31/77	(2006.01)	A61K	31/77
A61K 31/765	(2006.01)	A61K	31/765
A61P 27/12	(2006.01)	A61P	27/12

請求項の数 4　(全 9 頁)

(21)出願番号　特願平6-516924
(86)(22)出願日　平成6年1月24日(1994.1.24)
(65)公表番号　特表平7-504689
(43)公表日　平成7年5月25日(1995.5.25)
(86)国際出願番号　PCT/SE1994/000047
(87)国際公開番号　WO1994/016648
(87)国際公開日　平成6年8月4日(1994.8.4)
審査請求日　平成13年1月18日(2001.1.18)
(31)優先権主張番号　008,947
(32)優先日　平成5年1月26日(1993.1.26)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
アドヴァンスト・メディカル・オプティックス・ウプサラ・アクチエボラーグ
スウェーデン国エス・エー－７５１　３６　ウプサラ．　ボックス　６４０６
(74)代理人
弁理士　高木　千嘉
(72)発明者　リンドクヴイスト，ベンクト
スウエーデン国エス―７５５　９７　ウプサラ．ミユスクダーレンフンブー（番地なし）
(72)発明者　モンソン，ペル
スウエーデン国エス―１９１　４８　ソツレントウナ．ポルスヴエイエン４

最終頁に続く

(54)【発明の名称】後発白内障の防止方法および手段

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
眼の水晶体嚢の後部表面を被覆するための眼内使用に適合した組成物であって、
(a)ポリエチレングリコール、多糖類もしくはその誘導体、ポリエチレンポリプロピレングリコールおよびポリビニルアルコールからなる群より選択されるポリマー、または(b)前記(a)ポリマーの重合可能なモノマーである、有効量の生理学的に許容し得る細胞付着・細胞増殖防止物質と、(c)担体とより成り、且つ前記細胞付着・細胞増殖防止物質がアルデヒド、アンハイドライド、活性化エステル、スルホネート、アジド、チオール、エポキシド、イソシアネート、ハロゲナイド、アクリルおよび／またはビニル基である組織表面上の官能基と反応する反応基を含有することを特徴とする前記組成物。
【請求項２】
前記細胞付着・細胞増殖防止物質が（イソブチル－オキシ－ホルミル）ポリエチレングリコール；ポリエチレングリコールの５－フェニルイソオキサオゾリウム－３’－スルホネート誘導体；ポリエチレングリコールのアジト誘導体；ポリエチレングリコールジスクシンイミジルプロピオネート；ポリエチレングリコールジアクリレート；ポリエチレングリコールジカルボン酸クロライドとポリオキシプロピレンアミンとの縮重合体；ポリビニルアルコールのアジド誘導体；エポキシ活性化デキストラン；およびプロピレンオキサイドとエチレンオキサイドとのアクリル化共重合体より成る群より選択される請求項１記載の組成物。
【請求項３】

前記細胞付着・細胞増殖防止物質がポリエチレングリコールである請求項１記載の組成物。

【請求項４】

請求項１～３のいずれか１項に記載の有効量の生理学的に許容し得る細胞付着・細胞増殖防止物質と担体とより成る、眼科的に適合させた組成物を含有する眼内注射用シリンジより成る、眼の水晶体嚢の後部表面を被覆するための投薬デバイス。

【発明の詳細な説明】

本発明は眼科分野、より詳細には、眼内レンズ移植を伴うまたは伴わない白内障嚢外摘出後の長期的合併症である後発白内障の防止方法および手段に関する。

多年にわたり多くの眼内レンズ（intraocular lens；IOL）モデルが開発され、試験されてきていて、これらモデルおよび移植技術の向上の結果、眼内レンズ移植を伴う白内障嚢外摘出は今や成功率の高い十分確立された方法となっている。しかしながら、後嚢の視軸における混濁は依然として顕著な長期的合併症であり、２～５年後に症例の約50%で生じることが報告されている。この状態はしばしば後発白内障（secondary cataractまたはafter-cataract）といわれる。

混濁の危険は、患者が高齢な程低くなるようであり、年令の若さが最も有意な危険因子であると考えられる。さらに注目すべきこととして、外科医がある特定の移植方法および同じIOLタイプをルーチンに使用しても全く予測不可能な程に結果が異なってしまうことがある。患者によっては混濁が全く無い極めて良い結果が得られる一方で、同様の条件で手術を受けた患者の中には重い混濁を患う者もいる。従って、混濁予防は白内障手術の長期的結果を向上させる上で極めて重要である。

IOL自体および手術に用いられる技術の両方について、多くの後発白内障予防方法が多年にわたり試験されてきている。その一例はHoffer（US 4244060）により記述されたバリヤーリッジ（barrierridge）IOLである。この設計の一つの目的は、機械的バリヤーを創設して残留水晶体上皮細胞およびそれらの派生物がIOL背後の光学ゾーンに移行するのを防止することにあった。

後発白内障は混濁した後水晶体嚢に穿孔することによって治療される。この穿孔は今日では通常NdYagレーザーを用いて行われる。レーザービームは瞳孔とIOLを通して放射されそして後水晶体嚢に集中する。この方法によりいくつかの合併症が認められており網膜剥離および嚢胞状黄斑浮腫の発生を高めることが報告されている。

本発明の一つの目的は、細胞の付着および増殖を減じることにより後嚢壁を化学的に変性して、白内障嚢外摘出および眼内レンズ移植に関係した混濁を防止するための改良方法を提供することにある。もう一つの目的は、かかる変性のための手段を提供することにある。

表面に所望の細胞相互作用特性を付与するには、一般に、移植用デバイスの表面変性が長い間用いられてきている。応用例によっては、目的が細胞付着を完全回避することもあるものもあれば、細胞付着および増殖の良さが良い結果とするために不可欠である応用例もある。こうした理由の為に、親水性表面のほか疎水性表面が開発されてきており、また、表面を正電荷およびその他様々な官能基で化学的に変性して細胞付着を増大させる例もある。様々な種類の挿入用カテーテルを調製する際によく用いられる様々なヘパリンコーティングは極めて特異的な生物学的活性を有する親水性表面変性の例である。やはり極めて親水性度の高い表面を与える化合物の他の例は、ポリエチレングリコール（PEG）、デキストランおよびホスファチジルコリンである。PEG被覆表面のタンパク質／細胞拒絶に関する独特の性質は、水性相の表面層の水和度が高まるために、極めて易動性の高いPEG分子と表面の外側成分例えばタンパク質および細胞との間に立体斥力（反撥力）が生じるということで説明されている。ある関係で用いられる疎水性表面は、例えばシリコーンまたはテトラフルオロエチレンポリマー（Teflon）の層を適用することにより得られている。我々の知る限り、生体組織の表面変性に関連する刊行物はほんのわずかしかない。その一例（Pathak C.P., Sawhney A.S., Dunn R.C.およびHubbel J.A. Fourth World Biomaterial Congress Berlin 1992 Transactions and final program p. 231）では、ラット盲腸

およびウサギ子宮角を生物学的分解性ヒドロゲル（ポリエチレングリコールグリコリジルジアクリレート）で変性した。組織の表面は生物学的に付着性がないと報告されており、また付着を防止するには、バイオコンパチブルな機械的バリヤーが形成されている。
本発明による眼の水晶体嚢の変性は、例えば組織中の化学基に共有結合的に結合され得る安定沈着物を与えるか、または水晶体嚢組織と共に入り組んだネットワークを形成する、嚢に化学的変性を施すことによって特徴付けられる。ポリマーはまた、海貽具（marinemussel；Mytilus Fulis）により分泌される2,3－ジヒドロキシフェニルアラニンに富むポリフェノール性タンパク質（Waite J.H., Chem. Tech. Nov. 1987 p. 692-697）のように付着性を有する特定構造を有していてもよく、またRGDペプチド配列含有ポリマー（Piersbacher, M.DおよびRuoslahti, E., Nature 1984, 309, 30-33）も組織に対し親和性を示すであろう。
本発明により生成される安定層または永久層は非水溶性であって、例えば眼内の水晶体の移植に関係してヒアルロン酸を嚢内注入した際に作られる一時的な層とは明らかに区別される。
本発明の一態様においては、ポリマー、例えばポリエチレングリコール（PEG）、多糖類、ポリエチレンポリプロピレングリコール（ポロキサマー、すなわちPluronic▲R▼およびSynperonic）、およびポリビニルアルコール類またはこれらの誘導体は、マクロモノマーを組織にグラフト、架橋、または重合するのに用いられる官能または活性基を含有するように更に誘導体化される。
この関係で有用な誘導体には、水晶体嚢組織中のタンパク質のカルボキシル基、ヒドロキシル基、アミノ基またはチオール基と反応するものが包含される。かかる誘導体の例としては、アルデヒド、アンハイドライド、活性化エステル例えば：（アルキル－オキシ－ホルミル）カルボキシレート、ニトロフェニアルカーボネートエステル、カルボキシレートスクシンイミジルエステル、カーボネートスクシンイミジルエステル、カルボキシレートｐ－ニトロフェニルエステル、オキシカルボニルイミダゾール、トリフルオロアセテート；アルキルおよびアリールスルホネート例えばトルエンスルホネート、メチルスルホネート、トリフルオロエチルスルホネート；ナイトライト処理すると相当するカルボキシメチルアジドを形成するカルボキシメチルヒドラジド；チオール、エポキシド、イソシアネート、５－フェニルイソオキサゾリウム－3'－スルホネート誘導体；ハロゲナイド例えばクロライド、ブロマイドおよびヨーダイド；塩化シアヌル誘導体；およびUV照射すると水晶体嚢に対する共有結合的結合を形成するアリールアジドなどを挙げることができる。
本発明の好ましい一観点において、誘導体化ポリマーはPEGである。
多糖類およびそれらの誘導体の例は、ムコ多糖類例えばヒアルロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、およびデルマタン硫酸；デキストラン、スターチ、およびスターチ誘導体例えばカルボキシメチルスターチ、セルロースおよびセルロース誘導体例えばカルボキシメチルセルロースおよびヒドロキシプロピルメチルセルロースである。
モノマーまたはマクロマー物質をまず組織内に拡散させた後に重合させると入り組んだネットワークが形成される。これは、重合可能基を含有するかまたはかかる基を含有するように誘導体化されたモノマーまたはマクロマーにより達成することができる。ラジカル重合に適した化合物および置換分の例はアクリル酸アミドおよびエステル、ケイ皮酸誘導体、ビニルエステルおよびスチレン誘導体である。
マクロマー骨格の例は、PEGおよびポリエチレングリコールポリプロピレングリコールコポリマー（ポロキサマー例えばPluronicおよびSynperonic）である。
ラジカル重合は、例えばペルオキソドまたはアゾ化合物、例えばベンゾイルペルオキシド、アゾイソブチロニトリルおよび過硫酸アンモニウムなどの開始剤を用いて熱的に、あるいは照射によって行うことができる。
体温（約37℃）でのペルオキシド系における開始速度を上げるために、好ましくは促進剤を添加する。かかる促進剤の例は金属例えばCo、Fe、Mn、Ｖ、Cuなど、および第三級アミン例えばN,N,N',N'－テトラメチル－エチレンジアミン（TEMED）である。そのペルオキシドおよび促進剤はレドックス系を形成し、そしてこの系により使用モノマーまたはマクロ

モノマーの重合および／または架橋に必要なラジカルが作られる。現在のところ好ましいとされる系は、過酸化水素および過硫酸アンモニウムとそれぞれTEMEDおよびFeを用いることにより調製される。
二重結合で官能化されたマクロモノマーの反応を開始させるもう一つの方法は、反応を照射により開始させる方法である。この方法では、マクロモノマーは、そのマクロモノマー上、または光開始剤上に、反応を開始するラジカルを直接生成させるのに十分な励起エネルギーに付される。それら活性ラジカルは、次いで嚢上の組織上にグラフトするためのグラフト化部位として用いられるか、または入り組んだネットワークを形成する二重結合の伝搬（重合）を開始することができる。
ポリマーを沈着させ、そして多分ある程度共有結合的置換を得た後水晶体嚢組織と共に入り組んだネットワークを形成するもう一つの方法は、PEGカルボン酸クロライドおよびポリオキシプロピレンアミンを相互に反応させている後術の実施例９に例示されるように、縮合重合を用いる方法である。
本発明のもう一つの態様として、ポリビニルアルコールチタニウム複合体を水晶体嚢組織上に沈着させることにより水晶体上皮細胞の増殖を実質的に低下させた。
非水溶性コーティングを得るための複合体形成は、いくつかの方法により、例えば二種類の反対に荷電した高分子（または多価）電解質間の電荷相互反応に基づいて自然に得ることができる。
各種分子を表面に結合することは、いくつかの技術分野から知られており、すでに一つのそのような分野であるクロマトグラフィーに用いられている技法は、本明細書から一般思想が知られればただちに、所望の沈着物を得るための多くの方法を示唆する。
この関連で一つの特定の例、すなわち、ヘパリンを調節された方法によりアミノ基に富む基質に結合するための、米国特許第4810784（Larm）に開示されているようなヘパリンのナイトライト活性化、を挙げることができる。
さらに我々は、前述のタイプの化合物を用いることのほか、低分子量化合物も水晶体嚢の変性に使用できることも見出した。水晶体嚢をブロモ酢酸で処理すると、カルボキシル基が導入され、そして生理学的pHで負荷電表面が生じる。荷電表面を形成するこのような低分子量置換分層もこの関連で用いられる沈着物という用語の範囲内にある。
沈着物を作るための試薬による水晶体嚢の処理は、モノマー、マクロマー、ポリマーまたは反応に必要な他のすべての成分を生物学的に許容し得る溶媒例えばジメチルスルホキシドに溶解しそして組織の上に位置させた後で反応を開始させそして所望の層を形成するというようにして行うことができる。次に、すべての残留および未反応成分を、好ましくは各種眼科学的応用例においてよく用いられるヒアルロン酸をも含有する生理学的に許容し得る水性溶液で組織を洗浄することにより除かれる。非水溶性ポリマーも生物学的に許容し得る溶媒中の溶液として適用すれば水晶体嚢組織上に沈着させることができる。水を添加するとポリマーが組織上に沈殿する。
さらに本発明は、有効量の一種または二種以上の前記において定義された物質を担体中に含む、眼への使用に適合させた組成物に関する。
本発明のもう一つの観点として、有効量の、前記において定義された生理学的に許容し得る細胞付着・細胞増殖防止物質を担体中に含んで成る眼科学的に適合させた組成物を含有する眼内注射用シリンジより成る投薬デバイス（dosage device）が提供される。
次に本発明を一連の実施例によって例説するが、その大部分は自明な理由から試験管内試験系で行われた。この系は生体内状態に関連するように設計されているため水晶体細胞付着および形態学的成長を変性モデル基質で評価することができる。ウサギ白内障モデルで一連の試験が行われている。
試験管モデル基質としては、後水晶体嚢または嚢外マトリックス（ECM）被覆培養皿（Biological kibbutz Beth Haemek Israel）が用いられている。
使用水晶体上皮細胞は次のようにして培養された：ニュージーランド白ウサギ水晶体を摘出したばかりの目から取り出し、前嚢を単離しそして切片に寸断した。付着性LECを有する嚢切片を10％仔牛胎児血清、20％Hams F-12、１％非必須アミノ酸、１％Ｌ－グルタミ

ンおよび１％抗生物質・抗真菌剤溶液（すべてGibco社製）を補給したダルベッコ変性イーグル培地で培養した。全面生長に達した後、細菌を0.05％トリプシンおよび0.02％EDTAを用いて10分間継代しそして１：３に分けた。それら細胞を37℃および５％CO_2でインキュベートした。

水晶体嚢は新鮮な牛の死体の目を用いて次の手順に従って調製した：鋏を用いて眼球を通して赤道部切断を行いそして硝子体を除去した。水晶体嚢の後部に残留している硝子体を綿棒を用いて除去した。その水晶体嚢を鋏を用いて前部と後部に切断した。後部を内部表面を上にしてガラスプレートに移し、次に乾燥させ、そして最後に嚢表面の流体処理のウエルをも形成するシリコーンゴムのリング（RTV Silicone GEC）を用いてガラスプレートに固定した。

様々な処理手順の前および後に水晶体嚢を生理学的食塩溶液を用いて十分洗浄した。それら水晶体嚢を細胞付着実験に用いるまでかかる溶液中に保存した。

試験に用いた表面上での細胞インキュベーションは次のとおり標準化した：第四経代において、細胞を付着実験用の水晶体嚢および培養皿に移した。水晶体嚢１個あたり10,000～20,000個の細胞を用い、また培養皿１枚あたり約50,000個の細胞を用いた。それらサンプルを前述の通りに48時間インキュベートした。培地を除去し、そして細胞を１％グルタールアルデヒドで固定し、PBSで洗浄しまたメイヤー（Mayer）のヘマトキシリンで15分間染色した。それらサンプルを水道水で洗浄しそして細胞付着および形態を光学顕微鏡を用いて評価した。

未変性嚢および培養皿の表面はインキュベーション手順の後、完全に水晶体上皮細胞で覆われていた。細胞の形態は典型的な上皮多角形状のものであるか、または平たくなりかつより広がった細胞を有するより不規則な形態であった。それら細胞は増殖能を有し生存力を示した。

以上のすべての実施例において、前記変性手順により、変性基体表面に対する水晶体細胞付着の有意な低下を示す表面が生じた。それら細胞の形態を見たところ、細胞は丸まっていて広がることができず、そのため完全に付着できないでいた。48時間培養後、それら細胞は増殖能を全く示さなかった。生体内使用にはこれらの方法の一部に特別な投与手順が必要となり得る点に留意すべきである。

実施例１

（イソブチル－オキシ－ホルミル）PEGサクシネートによる水晶体嚢の変性

モノメトキシPEG3000（MeOPEG3000-Hoechst）を、Abuchowski et al（Cancer Biochem Biophys 7(1984)176）に従って、ピリジン中無水コハク酸との反応を介してサクシネートエステルに転化した。

５ｇのMeOPEG3000サクシネートエステルを40mlの塩化メチレンに溶解した。490μｌのトリエチルアミンおよび481μｌのイソブチルクロロホルメートを添加した。その溶液を30分間撹拌後溶媒を30℃で蒸発させた。残留物を50μｌずつの石油エーテルで５回洗浄した。

その物質を用いて水晶体嚢およびECM被覆培養皿を処理した。175mgの該物質を１mlの0.25Mボレート緩衝液（pH８または9.5）で速やかに湿らした。その物質が溶解してしまう前に、それを水晶体嚢または培養皿に適用した。それら表面を各々５分間処理した。PEG置換はESCA分光法によっても確認された。

実施例２

PEGの５－フェニルイソオキサゾリウム－3'－スルホネート誘導体による水晶体嚢の変性

３ｇのメトキシPEG3000サクシネートエステルを25mlの乾燥アセトニトリルに溶解した。その溶液を氷浴で冷却した。139μｌのトリエチルアミンを添加した後0.253mgのＮ－エチル－５－フェニルイソオキサゾリウム－3'－スルホネートを添加した。その溶液を２時間撹拌し、その間に該溶液を室温にまで昇温させた。溶媒を蒸発させそして物質を石油エーテルで２回洗浄した。

250mgのこの誘導体を0.25Mボレート緩衝液（pH9.5）に速やかに溶解した。その溶液を５分間水晶体嚢に直ちに適用した。そのコーティング手順をもう一度繰り返した。

実施例３

PEGのアジド誘導体による水晶体嚢の変性

300mgのPEG1000（Fluka社）をトルエンに溶解しそして溶媒を蒸発させた。この手順をもう一度繰り返した。この物質を５mlの60%水酸化カリウム溶液に溶解した。10mlのトルエンに溶解した80mgの４－アジド－１－フルオロ－２－ニトロベンゼン（Aldrich社）をそのPEG溶液と混合した。その二相系を暗所で３日間、高速撹拌した。そのトルエン相を薄層クロマトグラフィーにかけたところ、ジ－およびモノ置換PEG－アジド誘導体の混合物が検出された。そのトルエン相を水と共に振盪した。モノアジド置換誘導体を水相中に分配し、そしてジアジド誘導体をトルエン相中に保持した。それらの相を蒸発乾固した。

40mgの乾燥モノアジド置換物質を0.5mlの水に溶解した。その溶液を水晶体嚢に適用し、10分間ＵＶ照射した。

トルエン相を蒸発させて得られるジアジド誘導体も用いた。20mgのこの物質を超音波浴内で水に乳化させた。その乳濁液を水晶体嚢に適用しそれらをＵＶ光（ＵＶランプ、Philips TL K40W／09N 90mW／cm^2）で15分間照射した。

実施例４

ポリビニルアルコール（PVA）のアジド誘導体による水晶体嚢の変性

300mgのPVA（100%加水分解M_w 14,000 EGA社スウェーデン）を加熱しながら５mlの水に溶解した。１ｇの水酸化カリウムを添加した。その溶液を室温にまで冷却した。75mgの４－アジド－１－フルオロ－２－ニトロベンゼンを10mlのトルエンに溶解しそして前記のPVA溶液と混合した。その二相系を暗所で一夜激しく撹拌した。

形成された乳濁液に25mlの水を添加し、そしてその混合物を遠心分離した。水相を分離しそして酢酸で中和し、そして蒸留水に対し約35mlの最終容量となるまで透析した。

透析したPVA溶液を水晶体嚢に５分間適用した。その溶液を取り除き、そして水晶体嚢を（実施例３と同様にして）10分間ＵＶ照射した。

実施例５

エポキシ活性化デキストランによる水晶体嚢の変性

２ｇのデキストランM_w 20,000（Dextran T20、Pharmacia Fine Chemicals社）を20mlの0.5%NaOH溶液に溶解した。２ｇの1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルをその溶液に添加し、半時間撹拌しそして一夜透析した。生成物をエタノール中で沈殿させそして乾燥した。

100mgのこのようにして得られたエポキシ活性化デキストランを1mlのボレート緩衝液（pH 9.5）に溶解した。その溶液を水晶体嚢に半時間適用した。

実施例６

ポリアクリロニトリルによる水晶体嚢の変性

25mgのポリアクリロニトリルM_w 150,000（Polysciences社）を1mlのジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した。その溶液を水晶体嚢に５分間適用した。その水晶体嚢を次にDMSO、次いで食塩水で短時間洗浄した。

実施例７ａ、ｂおよびｃ

PEG－アクリレートによる水晶体嚢の変性

a) 0.3ｇのPEG－ジアクリレート400（Polysciences社）および５mgのN,N,N',N'－テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）を１mlの食塩水に溶解した。その溶液に窒素気泡を４分間通じて酸素を除去した。次にその溶液を水晶体嚢に５分間適用した後、その溶液を取り除きそして過硫酸アンモニウムの溶液（0.9%食塩水中0.5%）で５分間置換した。この過硫酸塩処理を１回繰り返した。

b) 0.4ｇのPEG-ジアクリレート400および10mgの$FeSO_4$を１mlの食塩水に溶解した。その溶液に窒素気泡を４分間通じて酸素を除去した。次にその溶液を水晶体嚢に５分間適用した後、その溶液を取り除き、そして過酸化水素の溶液（0.9%中２%）で５分間置換した。

c) 0.3ｇのPEG－ジアクリレート400および５mgの開始剤Quantacure BTC（Ward Blenkinsop.社）を１mlの食塩水に溶解した。その溶液を水晶体嚢に５分間適用した後、その溶液を取り除き、そして水晶体嚢を２分間（実施例３と同様にして）ＵＶ照射に付した。

実施例８

アクリル化ポロキサマーによる水晶体嚢の変性

25ｇのポロキサマー（プロピレン－エチレンオキサイド共重合体－Synperonic F127 M_w 12,000、ICI社）を実施例３と同様にしてトルエンで処理した。その物質を175mlの塩化メチレンに溶解した。その溶液を氷浴で冷却し、そして6.67mlのピリジンと7.23mlのアクリロイルクロライドを添加した。その溶液を一夜にわたり室温に至らしめるまで撹拌した。200mlの塩化メチレンを添加し、そしてその溶液を濾過した。濾液を2,500mlのジエチルエーテル中で沈殿させた。沈殿物質を水に溶解しそして一夜透析した。その透析した溶液を凍結乾燥した。

125mgの乾燥物質を１mlの0.9%食塩水に溶解した。6.4μlのTEMEDを添加し、そしてその溶液を窒素で脱気した。その溶液を水晶体嚢に５分間適用後、その溶液を取り除き、そして過硫酸アンモニウムの溶液（0.9%食塩水中0.5%）で５分間置換した。この過硫酸塩処理を一度繰り返した。

実施例９

PEGジカルボン酸クロライドとポリオキシプロピレンアミンとの縮重合体による水晶体嚢の変性

10gのPEG600－ジ酸（Fluka社）を実施例３と同様にしてトルエンで処理した。この物質を75mlの塩化メチレンに溶解した。その溶液を窒素下に０℃に冷却した。５mlのチオニルクロライドを添加し、そしてその溶液を一夜撹拌した。溶媒を蒸発させ、50mlのトルエンを添加し、次いでその溶媒をもう一度蒸発させた。

２ｇのポリオキシプロピレントリアミン（Jeffamine T-403、Texaco社）を20mlの水に溶解した。その溶液のpHを塩酸で9.5に下げた。その溶液を水晶体嚢に５分間適用した後取り除いた。0.2ｇのPEG酸クロライドを２mlの水に速やかに溶解しそして直ちに、前処理した水晶体嚢に適用しそして１分間放置した。

実施例10

PVAチタニウム複合体による水晶体嚢の変性

500mgのPVA（実施例４参照）を加熱しながら10mlの0.9%食塩水に溶解した。室温にまで冷却したその溶液を水晶体嚢に15分間適用した。次にその水晶体嚢を食塩水で洗浄した。300mgのTYZOR^{R}TE（チタニウムイソプロポキシ（トリエタノールアミナト）イソプロピルアルコール、du Pont社）を２mlの水に溶解した。前処理した水晶体嚢をこの溶液で１分間処理した。

実施例11

ポリエチレングリコールジサクシンイミジルプロピオネートによる水晶体嚢の変性の生体内評価

150mgのPEG3400ジサクシンイミジルプロピオネート（$(SPA)_2$-PEG3400、Shearwater Polymers社、Huntsville、アラバマ州）を１mlの等張セーレンセンホスフェート緩衝液（pH8.0）
(Sörensen(1909)、
Biochem. Zeits., 21, 131)に速やかに溶解した。PEG400に基づく類似の生成物を同様にして調製した。調製後、各溶液を直ちに、後述のとおり処理すべき水晶体嚢に適用した。

後発白内障（Lundgren et al（Lundgren B. Jonsson EおよびRolfsen W（1992）Secondary Cataract. An in vivo model on secondary cataracts in rabbits. Acta Ophthalmol Suppl 205:25-28）参照）の研究のためのモデルで白ウサギ（ニュージーランドホワイト）を用いて生体内試験を行った。ウサギはIOL移植後速やかに後発白内障を生ずることが知られており、それ故に人間の場合は異なるかもしれないとの指摘があったとしても、潜在的な処理系の初期スキャニングには極めて重要である。

それらウサギを１匹ずつ標準化された条件下に保ち、そして水道水と食物を自由摂取させた。

全部で12匹のウサギを用い、そのうち６匹については８週間後に分析した。残る６匹はそれより後の段階で分析されることになる。

それらウサギに塩酸ケタミン（Ketalar▲R▼、Parke-Davis社、英国）およびザイラジン（zylazine）クロライド（Rompun▲R▼、BayerAG社、ドイツ）をそれぞれ35および５mg／kg（体重）筋肉内投与して麻酔した。Cyclogyl▲R▼１％（Alcon社、Fort Worth、テキサス州、米国）およびNeosynephrine 10%（Sterling-Winthrop社、ニューヨーク、米国）を、各眼につき約５分間間隔で２～３回繰り返し注入することにより瞳孔拡大を行った。局所麻酔にはTetracain▲R▼（Smith & Nephew社、米国）の局所適用を用いた。Superblade▲R▼（Kabi Pharmacia社、ウプサラ、スウェーデン）を用いて２～３mm角膜切開を行い、そしてHealon▲R▼（Kabi Pharmacia社）の注射後に、円状嚢崩壊（circular capsulorhexis）を行った。水晶体をBSS（Alcon社、Fort Worth、テキサス州、米国）を用いた水晶体乳化により摘出した。

前房をHealon▲R▼で満たした。75mgのポリエチレングリコールジサクシンイミジルプロピオネートを0.5mlの（前記のとおりの）滅菌等張セーレンセン緩衝液（pH8.0）に速やかに溶解した。約200μlのその溶液をHealon▲R▼カバー下の嚢内に注入しそしてその溶液を嚢袋内に５分間放置した。次いでそのPEG溶液をPhacoチップで吸引した。新鮮なPEGサクシンイミド溶液を調製し、そして水晶体袋を前述のとおりもう一度満たした。５分後にPEG溶液を吸引し、該嚢をHealon▲R▼で満たしそして眼内レンズ（Model 720A、Kabi Pharmacia AB社）を移植した。前記Healon▲R▼を洗浄により除去し、そして角膜切開部を9-0ナイロンを用いた連続ｘ－縫合により閉じた。

対照として用いた反対側の眼については、眼内レンズを移植したが、水晶体嚢はPEGサクシンイミド溶液で処理しなかった。

術後に、５mgのGaramycina▲R▼（Schering Corp.，ニュージャージー州、米国）および１mgのCelestona▲R▼（Schering Corp.，ニュージャージー州、米国）を結膜下に注射した。術後、ウサギを７日間にわたり、Isopto▲R▼－Maxidex１mg／ml（Alcon社、Fort Worth、テキサス州、米国）で毎日３回、またMydriacyl（Alcon社）で毎日２回処理した。外科手術後、すべての眼は閉じたままとし、また処理群と対照群の眼の間に差は全くみられなかった。

８週間後にウサギを安楽死させ、そして眼を摘出した。各摘出眼球を赤道部のすぐ前の冠状部（coronal place）で切断した。後発白内障部を注意深く除去しそして直近のmgまで秤量した（Lundgren et al（Lundgren B、Jonsson EおよびRolfsen W（1992）Secondary Cataract. An in vivo model on secondary cataracts in rabbitts. Acta Ophthalmol Suppl 205:25-28）の方法による）。

この生体内モデルで今日まで試験され評価された大部分の動物において、後発白内障の表現は、細胞の付着およびひき続いての増殖を防ぐ物質で処理された眼に比べ対照眼における方が有意に高かったが、このことは本発明の思想の潜在的重要性を示している。

フロントページの続き

(72)発明者　メルソン，トーマス
スウエーデン国エス－７５４　４０　ウプサラ．フレイスヴエーグ１６

審査官　小堀　麻子

(56)参考文献　特開平０４－３５２７１９（ＪＰ，Ａ）
特開平０１－１００１３３（ＪＰ，Ａ）
特開昭６３－２１１２３９（ＪＰ，Ａ）
特表平０７－５０３９６５（ＪＰ，Ａ）
RUIZ, J.M. et al, Inhibition of posterior capsule opacification by 5-fluorouracil in rabbits, Ophthalmic Res., １９９０年, Vol.22, pp201-208

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 31/00 - 33/44
A61P 1/00 - 43/00
CA(STN)
REGISTRY(STN)