

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-509311

(P2014-509311A)

(43) 公表日 平成26年4月17日(2014.4.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A61K 9/14 (2006.01)	A61K 9/14	4C076
A61B 8/06 (2006.01)	A61B 8/06	4C084
A61K 47/34 (2006.01)	A61K 47/34	4C167
A61K 9/127 (2006.01)	A61K 9/127	4C601
A61K 9/107 (2006.01)	A61K 9/107	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-548555 (P2013-548555)
 (86) (22) 出願日 平成24年1月5日 (2012.1.5)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年9月4日 (2013.9.4)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/020389
 (87) 国際公開番号 W02012/094541
 (87) 国際公開日 平成24年7月12日 (2012.7.12)
 (31) 優先権主張番号 61/430,073
 (32) 優先日 平成23年1月5日 (2011.1.5)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508154841
 ザ レジェンツ オブ ザ ユニヴァーシ
 ティー オブ カリフォルニア
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94
 607-5200、オークランド、フラン
 クリン ストリート 1111、トゥエル
 ス フロアー
 (74) 代理人 100109634
 弁理士 舛谷 威志
 (72) 発明者 マイケル ベンチモル
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 92
 122 サンディエゴ、ストレセマン ス
 トリート 5701

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 低キャピテーション閾値の音響応答性粒子

(57) 【要約】

薬剤送達および画像化ビヒクルを実施および作製するための技術、システム、デバイスおよび材料が開示される。上記薬剤送達および画像化ビヒクルは、集束超音波によって、体内の対象組織において活性化される。一局面において、薬剤送達ビヒクルは外膜を有する担体を含み得る。上記外膜は、音響感受性粒子と、上記標的組織へと送達されるべき積載物質とを封入する。上記外膜は、上記音響感受性粒子および上記積載物質を分解およびオプソニン効果から保護する。上記外膜が腫瘍標的化リガンドによって機能化されることにより、上記薬剤送達ビヒクルおよび薬剤を他の組織より優先して選択的に腫瘍領域内に蓄積させることができる。これにより、望ましくない体内組織、臓器およびシステムへの取り入れを低減することができ、循環時間を増加させることができる。

【選択図】 図 1

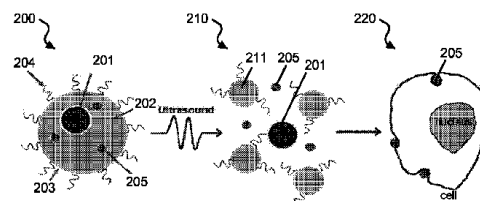


FIG. 2A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

音響応答性の粒子に積載された物質を送達する超音波システムであって、

1つ以上の粒子を供給する機構と、ここで、当該粒子は水性媒体を封入する外殻を有し、当該水性媒体は、超音波応答性ナノ粒子と積載物質とを含む、

超音波エネルギーを発生させ、当該超音波エネルギーを前記1つ以上の粒子が配置される特定の領域に集束させる機構と、ここで、当該領域内の1つ以上の粒子では、前記超音波応答性ナノ粒子の界面でキャビテーションが発生し、これにより前記1つ以上の粒子の外殻が破裂し、その結果前記積載物質が前記特定の領域内に放出される、

とを有することを特徴とする超音波システム。

10

【請求項 2】

前記1つ以上の粒子は、前記外殻に付着した分子をさらに含む、請求項1に記載の超音波システム。

【請求項 3】

前記分子は、ポリエチレングリコール、リガンド、画像化剤、薬剤、酵素、核酸または他の二分子薬剤のうちの少なくとも1つである、請求項2に記載の超音波システム。

【請求項 4】

前記積載物質は、薬剤、造影剤、酵素、プロドラッグ、核酸、ウイルスベクター、治療物質、または感知物質のうちの少なくとも1つを含む、請求項1に記載の超音波システム。

20

【請求項 5】

前記超音波応答性ナノ粒子は、ナノサイズ液体エマルション、金属、酸化物、ポリマー、生体分子、またはガスのナノスケールポケットを安定化させる粒子のうちの少なくとも1つを含む、請求項1に記載の超音波システム。

【請求項 6】

前記1つ以上の粒子は、リポソーム、ポリマーソーム、無機または有機シェルまたはキャプシド、あるいは生物細胞のうちの少なくとも1つを含む、請求項1に記載の超音波システム。

【請求項 7】

前記1つ以上の粒子を供給する機構は、前記1つ以上の粒子を生体内へと供給するように構成され、前記特定の領域は、腫瘍細胞、幹細胞、白血球または臓器細胞を含む、請求項1に記載の超音波システム。

30

【請求項 8】

前記1つ以上の粒子は、前記生体内の前記特定の領域外において、圧力、pH、温度および化学的物質に起因する損傷に対して回復力を有する、請求項7に記載の超音波システム。

【請求項 9】

前記1つ以上の粒子は、前記生体に対して害をなすレベルよりも低いレベルの超音波強度および周波数レベルで、キャビテーション閾値を有する、請求項7に記載の超音波システム。

40

【請求項 10】

外膜を有する担体を含む薬剤送達ビヒクルであって、

前記外膜は、音響感受性粒子と、体内の標的組織に送達される積載物質とを封入し、

前記外膜は、前記音響感受性粒子および前記積載物質を、分解およびオプソニン効果から保護し、

前記外膜の外側表面は、腫瘍標的リガンドによって機能化され、これにより前記薬剤送達ビヒクルは、他の組織よりも腫瘍領域内に選択的に蓄積され、

前記外膜の外側表面は、望ましくない身体組織、臓器およびシステムによる取り入れを低減することによって循環時間が増大するように、薬剤によってさらに機能化されている、

50

ことを特徴とする薬剤送達ビヒクル。

【請求項 1 1】

前記担体は、リポソーム、ポリマーソーム、無機または有機シェルまたはキャプシド、あるいは生物細胞のうちの少なくとも1つを含む、請求項 1 0 に記載の薬剤送達ビヒクル。

【請求項 1 2】

前記音響感受性粒子は、固体形態、液体形態、あるいはガスポケットを含む液体形態または固体形態のナノ粒子を含む、請求項 1 0 に記載の薬剤送達ビヒクル。

【請求項 1 3】

前記標的組織は生体組織を含み、当該生体組織は、腫瘍細胞、幹細胞、白血球または臓器細胞を含む、請求項 1 0 に記載の薬剤送達ビヒクル。

10

【請求項 1 4】

前記循環時間を増大させる薬剤は、ポリエチレングリコール、両性イオン化合物、または細胞膜のような患者特有のコーティングのうちの少なくとも1つを含む、請求項 1 0 に記載の薬剤送達ビヒクル。

【請求項 1 5】

前記薬剤送達ビヒクルは、生体吸収性材料によって構成される、請求項 1 0 に記載の薬剤送達ビヒクル。

【請求項 1 6】

超音波により活性化される担体を標的細胞へ送達する方法であって、
 キャピテーションナノ粒子を含む積載物を超音波応答性担体に積載し、体内の血管系を通じて前記積載物を体内の標的細胞に選択的に送達する工程と、ここで、前記担体は、浸透性および保持効果の向上により、前記血管系から前記標的細胞へと浸出する、
 集束超音波パルスを用いて前記担体へ照射して前記担体を破裂させ、前記積載物を前記標的細胞へと放出させる工程と、
 を有することを特徴とする方法。

20

【請求項 1 7】

前記積載物は、化学療法剤、酵素、ウイルス、コラゲナーゼ酵素、プロドラッグ、核酸、または別の積載物成分の細胞内への取り込みを支援する成分のうちの少なくとも1つを含む、請求項 1 6 に記載の方法。

30

【請求項 1 8】

前記担体は、超音波応答性ナノ粒子を有するリポソームを含む、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 9】

安定した微小気泡を生成する方法であって、
 集束超音波パルスを用いて水性媒体中のナノエマルジョン構造を含むリポソームへ照射して、前記リポソームを断片化させて、前記断片化リポソームの脂質を再構成することにより1つ以上の微小気泡とする工程、
 を有することを特徴とする方法。

【請求項 2 0】

前記1つ以上の微小気泡は、超音波画像化の造影剤として用いられる、請求項 1 9 に記載の方法。

40

【請求項 2 1】

前記1つ以上の微小気泡を形成する前記脂質は、前記1つ以上の微小気泡を会合および溶解に対して安定化させる、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記ナノエマルジョンはパーフルオロカーボン材料を含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記リポソームは、分子、ナノサイズ粒子またはミクロンサイズ粒子を含む、請求項 1 9 に記載の方法。

50

【請求項 2 4】

前記分子、ナノサイズ粒子またはミクロンサイズ粒子は、生物学的成分、画像化剤、薬剤、酵素、プロドラッグ、核酸、ウイルスベクター、治療物質、または感知物質を含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

超音波造影剤デバイスであって、
封入チャンバを形成するよう構成された外膜と、
前記チャンバ内に封入された水性媒体と、
前記水性媒体中の 1 つ以上のナノエマルジョン構造と、
を有し、

10

前記外膜は、集束超音波パルスによって断片化して複数の成分となる材料によって構成され、断片化により生じた前記複数の成分は、再構成されて 1 つ以上の微小気泡となり、当該 1 つ以上の微小気泡は、会合および溶解に対して安定であり、超音波画像化の造影剤として機能する、

ことを特徴とする超音波造影剤デバイス。

【請求項 2 6】

前記外膜はリポソームである、請求項 2 5 に記載の超音波造影剤デバイス。

【請求項 2 7】

前記外膜は、ポリマーソーム、無機または有機シェルまたはキャプシド、あるいは生物細胞のうちの少なくとも 1 つである、請求項 2 5 に記載の超音波造影剤デバイス。

20

【請求項 2 8】

前記外膜は標的リガンドによって機能化され、これにより担体は、特定の領域内に選択的に蓄積される、請求項 2 5 に記載の超音波造影剤デバイス。

【請求項 2 9】

前記外膜は、望ましくない身体組織、臓器およびシステムによる取り入れを低減することによって循環時間が増大するように、薬剤によって機能化されている、請求項 2 5 に記載の超音波造影剤デバイス。

【請求項 3 0】

前記チャンバは、前記水性媒体中に積載物質を含む、請求項 2 5 に記載の超音波造影剤デバイス。

30

【請求項 3 1】

前記集束超音波パルスが前記外膜に照射されると、前記積載物質が放出される、請求項 3 0 に記載の超音波造影剤デバイス。

【請求項 3 2】

前記外膜は、前記積載物質を分解およびオプソニン効果から保護する、請求項 3 0 に記載の超音波造影剤デバイス。

【請求項 3 3】

積載物質を搬送する超音波応答性デバイスであって、

封入チャンバを形成するよう構成された外膜と、

前記チャンバ内に封入された水性媒体と、

40

前記水性媒体中に存在する 1 つ以上の超音波応答性ナノ粒子と、ここで、当該 1 つ以上の超音波応答性ナノ粒子は、超音波応答性ナノ粒子と水性媒体との界面における超音波キャピテーションの閾値を低下させるように構成される、

前記水性媒体中の積載物質と、

を有し、

前記外膜は、集束超音波パルスによる前記チャンバ内でのキャピテーションに起因して断片化する材料で構成され、前記断片化により、前記積載物質が前記封入チャンバから外部に放出される、

ことを特徴とする超音波応答性デバイス。

【請求項 3 4】

50

前記外膜はリポソームである、請求項 3 3 に記載の超音波応答性デバイス。

【請求項 3 5】

前記外膜は、ポリマーソーム、無機または有機シェルまたはキャプシド、あるいは生物細胞のうちの少なくとも 1 つである、請求項 3 3 に記載の超音波応答性デバイス。

【請求項 3 6】

前記積載物質は、薬剤、画像化剤、酵素、プロドラッグ、核酸、ウイルスベクター、治療物質、または感知物質のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 3 3 に記載の超音波応答性デバイス。

【請求項 3 7】

前記 1 つ以上の超音波応答性ナノ粒子は、ナノサイズ液体エマルション、金属、酸化物、ポリマー、生体分子、またはガスのナノスケールポケットを安定化させる粒子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 3 3 に記載の超音波応答性デバイス。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[関連出願の相互参照]

本特許文書は、米国仮特許出願第 6 1 / 4 3 0 , 0 7 3 号 (出願日: 2 0 1 1 年 1 月 5 日、名称: 「低キャピテーション閾値の音波発生型粒子」) の優先権を主張する。本明細書中、同文献の開示内容の全体をあらゆる目的のために参考として援用する。

20

[連邦支援の研究または開発についての声明]

【0002】

本発明は、国立衛生研究所 (N I H) によって付与された助成 C A 1 1 9 3 3 5 下における政府支援に基づいてなされた。よって、政府は本発明において特定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

本特許文書は、超音波画像化技術および治療技術に関するシステム、デバイス、およびプロセスに関する。

【0004】

超音波とは、人間の典型的な聴覚周波数の上限よりも高い周波数で動作する音波を指す。超音波信号は、画像化目的および治療目的のために、多様な生物医学的用途や他の用途に用いることができる。例えば、超音波画像化 (超音波検査とも呼ばれる) は、医学用途の画像化モダリティであり、媒体中を移動する音波の特性を用いて、動物および人間の内部構造および機能の視覚映像を得ることができる。超音波画像化の 1 つとして、造影剤を用いて超音波画像の画質を高める造影超音波がある。例えば、超音波造影剤は、薬剤間の界面から多様な方法で超音波を反射することができ、このような薬剤による超音波の反射能力は、エコー輝度のレベルによって測定される。超音波造影剤は、周囲組織に対してより高いエコー輝度を持つガス入り微小気泡 (微小気泡) を含み得る。例えば、微小気泡を超音波造影剤として用いて、超音波反射を向上させ、高いエコー輝度差に起因した高解像度画像を生成することができる。しかし、微小気泡超音波造影剤は不安定であるため、i n v i v o 循環時間が短く、組織浸出が低く、また超音波信号コントラスト強調の期間が短い場合がある (例えば、高速溶解または会合に起因して微小気泡が大きくなり、その結果、診断用超音波画像化システムの標準的コントラスト感度モードにおける信号強調が激減する、またはゼロになる)。

30

40

【0005】

超音波の治療用途には、集束超音波がある。集束超音波を用いた場合、エネルギーを体の奥深くにミリメートル精度で堆積させるための安全かつ非侵襲的手段を得ることができ、生物学的悪影響も無い。例えば、集束超音波は治療化合物を放出する機能として使用でき、この治療化合物はより大型の構造または粒子 (「ビヒクル」と呼ばれる) によって搬

50

送され、体内の特定の領域または組織への絞って送達される。超音波送達ビヒクルの例を挙げると、フッ化炭素ベースの微小気泡があり、微小気泡のサイズは、約数マイクロメートルまたはそれ以上であり得る。しかし、これらのフッ化炭素ベースの微小気泡は血管系に留まるように制限される可能性があるため、その積載物は血管系中へ送達する必要がある。また、微小気泡は、心臓、肺、および脾臓を通過する際に不安定となり得るため、循環半減期が低減する。

【発明の概要】

【0006】

薬剤送達用ビヒクルおよび造影用ビヒクルを実施および製造するための技術、システム、デバイスが記載される。これらの薬剤送達用ビヒクルおよび造影用ビヒクルは、音響エネルギーによって特定の位置で活性化させることができる。

10

【0007】

本開示の技術の一局面において、音響応答性の粒子に積載された物質を送達する超音波システムは次を含む：1つ以上の粒子を供給する機構と、ここで、当該粒子は水性媒体を封入する外殻を有し、当該水性媒体は、超音波応答性ナノ粒子と積載物質とを含む、

超音波エネルギーを発生させ、当該超音波エネルギーを前記1つ以上の粒子が配置される特定の領域に集束させる機構と、ここで、当該領域内の1つ以上の粒子では、前記超音波応答性ナノ粒子の界面でキャピテーションが発生し、これにより前記1つ以上の粒子の外殻が破裂し、その結果前記積載物質が前記特定の領域内に放出される。

【0008】

20

別の局面において、薬剤送達ビヒクルは外膜を有する担体を含み、

前記外膜は、音響感受性粒子と、体内の標的組織に送達される積載物質とを封入し、

前記外膜は、前記音響感受性粒子および前記積載物質を、分解およびオプソニン効果から保護し、

前記外膜の外側表面は、腫瘍標的リガンドによって機能化され、これにより前記薬剤送達ビヒクルは、他の組織よりも腫瘍領域内に選択的に蓄積され、

前記外膜の外側表面は、望ましくない身体組織、臓器およびシステムによる取り入れを低減することによって循環時間が増大するように、薬剤によってさらに機能化されている、

ことを特徴とする。

30

【0009】

別の局面において、超音波により活性化される担体を標的細胞へ送達する方法は次を含む：キャピテーションナノ粒子を含む積載物を超音波応答性担体に積載し、体内の血管系を通じて前記積載物を体内の標的細胞に選択的に送達する工程と、ここで、前記担体は、浸透性および保持効果の向上により、前記血管系から前記標的細胞へと浸出する、

集束超音波パルスで前記担体へ照射して前記担体を破裂させ、前記積載物を前記標的細胞へと放出させる工程。

【0010】

別の局面において、安定した微小気泡を生成する方法には、

集束超音波パルスを水性媒体中のナノエマルジョン構造を含むリポソームへ照射して、前記リポソームを断片化させて、前記断片化リポソームの脂質を再構成することにより1つ以上の微小気泡とする工程を含む。

40

【0011】

別の局面において、超音波造影剤デバイスは、封入チャンバを形成するよう構成された外膜と、前記チャンバ内に封入された水性媒体と、前記水性媒体中の1つ以上のナノエマルジョン構造とを有し、前記外膜は、集束超音波パルスによって断片化して複数の成分となる材料によって構成され、断片化により生じた前記複数の成分は、再構成されて1つ以上の微小気泡となり、当該1つ以上の微小気泡は、会合および溶解に対して安定であり、超音波画像化の造影剤として機能する。

【0012】

50

別の局面において、積載物質を搬送する超音波応答性デバイスは、封入チャンバを形成するように構成された外膜と、前記チャンバ内に封入された水性媒体と、前記水性媒体中に存在する1つ以上の超音波応答性ナノ粒子と、ここで、当該1つ以上の超音波応答性ナノ粒子は、超音波応答性ナノ粒子と水性媒体との界面における超音波キャピテーションの閾値を低下させるように構成される、前記水性媒体中の積載物質とを有し、

前記外膜は、集束超音波パルスによる前記チャンバ内でのキャピテーションに起因して断片化する材料で構成され、前記断片化により、前記積載物質が前記封入チャンバから外部に放出される。

【0013】

本特許文書中に記載される発明は、以下の特徴のうち1つ以上が得られるように特定の状態で実施できる。本開示の技術により、積載物を高い特異性で体内の所望の位置へ所望のときに送達することが可能になる。例えば、積載物には、薬剤、造影剤、酵素、核酸（例えば、DNAやRNA）、ウイルスベクター、これらの積載物の取り込みを促進するための薬剤、他の任意の治療粒子や分子、または感知粒子や分子がある。本開示の技術は、生理的圧力に遭遇しても大きな影響を受にくい液体または固体粒子によって構成される超音波感受性ビヒクルまたはキャリアを含み得る。例えば、上記ビヒクルにより、超音波画像化および治療実行状態において安定性を得ることができる。本開示の技術は、リボソームのように循環可能なビヒクル（例えば、心臓および肺中を多数回通過することが可能なもの）を含み得、これにより、より高いパーセンテージの上記ビヒクルが腫瘍に進入できる。また、これらの例示的なビヒクルは十分に小さいため、向上した浸透性および保持（EPR）効果によって腫瘍中に蓄積でき、生体細胞によって取り込まれ得る。いくつかの例では、上記技術を用いて、超音波誘発型の送達物または造影剤を腫瘍または生体細胞中に配置することができる。また、本開示の技術では、より低いエネルギーの超音波が利用可能になり、対象者にとってより安全になり得る。さらに、本開示の技術は造影剤として用いることができる。例えば、集束超音波を用いて、液体パーフルオロカーボン（PFC）ガスナノ液滴を安定したガス微小気泡に変換して、超音波コントラスト画像化において用いることができる。また、本開示の技術は、多くの利点および機能を提供する作製方法を含み得る。例えば、本開示の技術は、下記を可能にする容易な作製プロセスを含み得る：リボソームの大規模製造と、多様な用途に用いるためのリボソームサイズの制御と、薬剤、タンパク質、酵素、生体分子、核酸、ナノ粒子、微小粒子、細胞への取り込みを促進する薬剤、および他の溶質の効率的な取り入れと、超音波誘導型の積載物放出のための粒子およびエマルジョンの取り込みと、画像化薬剤/造影剤の取り込みと、生物学的プロセスを実行可能な細胞成分を持ち得る人工細胞または小胞の生成。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】積載物を送達するための例示的な超音波応答性ビヒクルの模式図である。

【0015】

【図2A】超音波応答性リボソームを用いた薬剤送達の例を示す。

【0016】

【図2B】超音波応答性リボソームを用いたトランスフェクション試薬送達の例を示す。

【0017】

【図2C】超音波応答性リボソームを用いた酵素プロドラッグ投与の例を示す。

【0018】

【図3】超音波応答性リボソームによるコラゲナーゼ送達の例を示す。

【0019】

【図4A】および

【図4B】本開示技術の実験データにおける遺伝子発現の例を示す。

【0020】

【図5】安定した微小気泡を音響的に制御された方法で生成する例を示す模式図である。

【0021】

10

20

30

40

50

【図6】リポソーム作製の例示的な画像を示す。

【0022】

【図7】集束超音波によるリポソームのリアルタイム破壊を示す例示的な連続画像である。

【0023】

【図8A】IgG積載物の積載封入効率を示す例示的プロットである。

【0024】

【図8B】リポソームに積載されたドキシソルピシンの例示的な画像である。

【0025】

【図9】集束超音波によるリポソーム破壊の別の例示的な連続画像である。

10

【0026】

【図10】カルセインの放出%を定量化した例示的プロットを示す。

【0027】

【図11】本開示の技術を用いた正規化された酵素活性の例示的プロットを示す。

【0028】

【図12】積載物の局所的な*in vivo*送達の例示的画像を示す。

【0029】

【図13】パーフルオロカーボンエマルジョン核形成音響キャビテーションの例示的な高速画像を示す。

【0030】

20

【図14】さまざまな実験構成下において酸化鉄ナノ粒子に観察されるキャビテーション閾値低下の例示的画像を示す。

【0031】

【図15】作製から1ヶ月後の酸化鉄ナノ粒子を示す例示的画像である。

【0032】

【図16】高密度のパーフルオロノナンエマルジョンを含むリポソームの例示的なcryo-TEM顕微鏡写真を示す。

【0033】

上記のさまざまな図面において、類似の参照符号は類似の要素を指す。

【発明を実施するための形態】

30

【0034】

特定の場所で音響エネルギーによって活性化させることができる薬剤送達および画像化ビヒクルの実施および作製のための技術、システム、デバイス、および構造が記述される。

【0035】

上記薬剤送達および画像化ビヒクルのいくつかの実施形態を説明する。一局面において、本開示の技術は、1つ以上の物質(「積載物」と呼ばれる)を破裂機構と共に搬送し得る音響応答性のエコー発生型粒子またはビヒクルを含み得る。上記破裂機構は、集束超音波などの音響エネルギーによって活性化させることが可能な1つ以上のナノ粒子に由来する。上記音響応答性ビヒクルは、上記積載物および上記ナノ粒子を搭載可能な水性内部体積を持ち得る。上記ナノ粒子は、音響キャビテーションのための核形成部位として機能できるため、音響(例えば、超音波)エネルギーに対して上記ビヒクルを増感させることができる。

40

超音波誘発により、ビヒクル膜が破壊され、上記ビヒクルの積載物を高速放出させることが可能になる。例えば、上記ビヒクルが配置された体内の標的に集束された音響エネルギー(例えば、三次元(3D)集束超音波)が照射される。焦点領域内において、上記音響エネルギーにより、上記音響応答性ビヒクルの破裂を誘発することができる。上記焦点領域の外部では、エネルギー濃度が急速に低下し、上記破裂機構は誘発されなくなる。例えば、上記3D集束超音波は、例示的な調査用超音波パルス(例えば、超音波画像化様式に用いられるもの)よりも高い強度、パルスエネルギー、周波数、および/またはデュー

50

ティサイクルを含み得る。本開示の音響応答性ビヒクルを用いることにより、積載物（例えば、薬剤、造影剤、酵素、核酸、ウイルスベクター、他の任意の治療粒子や分子、または感知粒子や分子など）を直接体内の所望の位置へ所望の時に、高い特異性を以て送達することができる。このような送達は、例えば、外部集束超音波の誘発によって上記積載物を放出することによって達成できる。

【0036】

図1に示す例示的なビヒクル100は、水性媒体102中のナノ粒子101を含み、水性媒体102は、外殻103によって封入される。外殻103は、外側に突出する分子104を含むことができる。ビヒクル100は、積載物質105も含み得る。この例において、ナノ粒子101および積載物質105は、媒体102中に自由に含まれる。別の例において、1つ以上のナノ粒子および積載物質105は、媒体102内に自由に含まれ得る。また、他の例において、積載物質105は、外殻103の内側境界上の媒体102内に、または外殻103の外側境界上に含まれ得る。積載物質105の例を挙げると、薬剤、造影剤（例えば、酸化鉄、ガドリニウム、放射性追跡子、蛍光色素分子など）、酵素、核酸、ウイルスベクター、あるいは他の任意の治療粒子や分子または感知粒子や分子がある。

10

【0037】

ビヒクル100は、脂質二重層からなる外殻103を備えたりポソームキャリアとして構成できる。さらに、ビヒクル100は、ポリマー材料からなる外殻103を備えたポリマーソームキャリアとして構成できる。また、ビヒクル100は、生体細胞として構成され得る。図1に示すように、例示的な積載物質105は、ビヒクル100（例えば、媒体102）の容積中に封入されるため、実行時において宿主免疫システムから隠されている。

20

【0038】

ナノ粒子101は、音響キャビテーションのための核形成部位として機能できる。前記音響キャビテーションはビヒクル膜（例えば、外殻103）を破壊することができる激しいプロセスであり、その結果、積載物（例えば、積載物質105）が高速放出される。ナノ粒子101の例を挙げると、液体エマルジョン、金属、酸化物、ポリマー、生体分子、ガスのナノスケールポケットを安定させる固体粒子、またはこれらの組み合わせがある。ナノ粒子101の存在により、キャビテーションの開始に必要な音響エネルギー（例えば、超音波の強度、パルスエネルギー、および/またはデュティサイクル）の閾値を低下させることが可能になる。例えば、体内の特定の標的に音響エネルギーを集束させることができ、ここでビヒクル100により、音響エネルギーの集束領域内ではキャビテーションが誘発され、上記焦点領域外部においてはキャビテーションは誘発されない。例えば、音響エネルギー（例えば、集束超音波）は、表面効果によってキャビテーションを核形成するようにナノ粒子101を誘導し、あるいは、ナノ粒子101がナノエマルジョンである例においては、液体エマルジョンからの過渡的気泡または安定した気泡の形成によって行われる。例示的な表面効果により、超音波圧力によってナノ粒子101の表面上に発生した気孔を含み得、これは、表面における水分子の表面相互作用に起因するか、あるいは表面の疎水性または表面トポロジーに起因する類似の影響に起因し得る。超音波を用いたナノエマルジョンからの気泡の例示的な過渡的形成により、容積内のキャビテーションを受けるナノエマルジョン中に封入された液体が発生し得る。例示的な核形成キャビテーションにより蒸気気泡が発生し得、これらの気泡そのものは、その後さらなるキャビテーションのための核形成部位として機能することができる。

30

40

【0039】

例示的な外殻103は、突出分子104を含み得る。突出分子104を用いて、例えば、腫瘍標的化リガンドによってビヒクル100を機能化させて、送達ビヒクルを（他の非腫瘍組織ではなく）腫瘍領域内に選択的に蓄積させることができる。例示的な外殻103はポリエチレングリコール（PEG）または他の生体分子薬剤を含む突出分子104と共に機能化させることもできる。これらの他の生体分子薬剤は、例えば、望ましくない細胞

50

、組織、臓器、またはシステム（例えば、免疫系および肝臓）からの取り入れを低減させることにより、循環時間を増大させる。他の生体分子薬剤を挙げると、両性イオン化合物や患者特有のコーティング（例えば、細胞膜）などがある。例示した薬剤送達ビヒクル（例えば、ビヒクル100）を構築するために用いられる外殻103および突出分子104の材料は、体内において生体吸収性および非蓄積性であり得る。

【0040】

本開示の音響応答性ビヒクルは、積載物の高封入および柔軟性が可能なように構成できる。例示した音響応答性ビヒクルは、大きく異なる薬力学的条件下において、超音波コントラスト画像化および積載物送達のために使用可能である。また、本開示の音響応答性構造は、体内において高い安定性を示すことができる。例えば、本開示の音響応答性粒子は、高圧力または低圧力環境において安定するように構成でき、例えば心臓および肺中において容易に破壊されない。

10

【0041】

例えば、音響応答性ビヒクルは、外側リポソーム膜を備えた加工リポソームとして構成できる。外側リポソーム膜は、音響感受性物質（例えば、1つ以上のナノ粒子、分解およびオプソニン効果から保護されるナノサイズの積載物）を封入する。例示したリポソームは、例えば薬剤送達ビヒクルとして、積載物の標的型放出のために体内の特定の標的へと送達することができる。このような送達は、例えば外部からの集束超音波誘発により、薬剤積載物を直接腫瘍部へと放出することができる。

【0042】

図2Aは、薬剤送達用途（例えば、標的腫瘍への化学療法薬剤送達）のための加工リポソーム超音波応答性ビヒクルを用いた薬剤積載物送達の一連の例示的な図を示す。例示的なリポソームビヒクル200が図示されている。リポソームビヒクル200は、水性媒体202中に超音波感受性化ナノ粒子201を含み得る。水性媒体202は、分子薬剤204を含み得る外殻脂質二重層203によって封入される。リポソームビヒクル200は、積載物質として薬剤205を含み得る。例えば、薬剤205は、抗癌化学療法薬または他の非癌型薬剤を含み得る。分子薬剤204は、（例えば望ましくない体内組織、臓器およびシステムからの取り入れを低減することにより）体内の特定の細胞、組織、臓器、または構造を標的とし、かつ/または循環時間を増大させる分子、化合物、または物質を含み得る。イラスト210は、超音波を加えた後のリポソームビヒクル200を例示する。超音波の付加によりビヒクル200が破裂し、リポソームの断片が発生し得る。これらのリポソームの断片は自己集合して、新規リポソーム要素211を形成し、リポソームビヒクル200にあらかじめ封入されていた薬剤205が放出される。イラスト220は、例えばエンドサイトーシスによる薬剤205の細胞取り入れを示す。

20

30

【0043】

別の例において、キャビテーションナノ粒子および核酸積載物を備えた音響応答性加工リポソームを利用して、選択した細胞に対する遺伝子治療を行うことができる。核酸を本開示のビヒクルと共に送達する例示的用途において、トランスフェクション効率を向上させ得るトランスフェクション試薬、分子、または粒子を用いると有用な場合がある。ビヒクル（例えば、加工リポソーム）中にトランスフェクション試薬（TR）を封入した場合、*in vivo* 循環時間を増大させることが可能になり、その後集束超音波（例えば、図2Bに示すようなもの）によるビヒクルシステムの実行によってトランスフェクション試薬を標的細胞へと露出させることが可能になる。

40

【0044】

図2Bは、遺伝子治療用途のための加工リポソーム超音波応答性ビヒクルを用いたプラスミド-TR複合体の積載物送達の一連の例示である。例示的なリポソームビヒクル230は、水性媒体232中に超音波増感ナノ粒子231を含み得る。水性媒体232は、PEG分子234を含み得る外殻脂質二重層233によって封入される。リポソームビヒクル230は、トランスフェクション試薬（プラスミド-TR）複合体235の積載物質を含むことができる。例えば、プラスミド-TR複合体235は、陽イオントランスフェク

50

ション試薬に封入されたプラスミドを含み得る。分子薬剤 234 は、例えば望ましくない体内組織、臓器およびシステムからの取り入れを低減させることによって、体内の特定の細胞、組織、臓器、または構造を標的とし、かつ/または循環時間を増加させ得る分子、化合物、物質を含み得る。イラスト 240 は、超音波付加後のリポソームビヒクル 230 を示す。超音波付加により、ビヒクル 230 が破裂し、その結果リポソーム断片が自己集合化して、新規リポソーム成分 241 が形成され、あらかじめリポソームビヒクル 230 中に封入されていたプラスミド - TR 複合体 235 が放出される。イラスト 250 は、例えばエンドサイトーシスによるプラスミド - TR 複合体 235 の細胞取り入れを示す。この例において、超音波付加により、図 2B のイラスト 260 に示すように集束超音波源を用いて血管中を循環しているビヒクル 230 を、焦点領域（焦点ゾーン）にて破裂させることができる。

10

【0045】

図 2C は、薬剤治療用途の加工リポソーム超音波応答性ビヒクルを用いたプロドラッグ積載物送達の一連の例示を示す。図示のような例示的なりポソームビヒクル 270 は、外殻脂質二重層 273 によって封入された水性媒体 272 中にキャビテーションナノ粒子 271 を含み得る。外殻脂質二重層 273 は、分子薬剤 274 を含み得る。分子薬剤 274 を挙げると、例えば、標的リガンド（例えば、サイクリック RGD）などの分子、化合物、または物質、ならびに、例えば望ましくない体内組織、臓器およびシステムからの取り入れを低減させることにより循環時間を増大させる分子、化合物、または物質がある。リポソームビヒクル 270 は、酵素 275 の積載物質を含み得る。例えば、酵素 275 は、プロドラッグを含み得る。プロドラッグは薬剤前駆分子であり、ある物理的手段または化学的手段により、より有毒な形態に変換できる。イラスト 280 は、超音波付加後のリポソームビヒクル 270 を示す。超音波付加によりビヒクル 270 が破裂し、その結果発生したリポソームの断片が自己集合化して新規リポソーム成分 286 が形成され、あらかじめリポソームビヒクル 270 中に封入されていたプロドラッグ酵素 275 が放出される。イラスト 280 はまた、酵素（プロドラッグ）275 から薬剤 295 への変換も示す。薬剤 295 は、例えばエンドサイトーシスによってイラスト 290 に示すように細胞へさらに取り込まれ得る。いくつかの例において、UV - 青色光を用いて局所的に光化学を行って、プロドラッグを治療形態に変換することができる。あるいは、例えば、他の物理的手段または化学的手段を適用して、プロドラッグ酵素 275 から薬剤 295 への変換を促進

20

30

【0046】

高密度の細胞外膠原性基質に起因して、膵臓腫瘍細胞などの腫瘍細胞中への薬剤浸透が限定される場合がある。別の例において、キャビテーション核形成ナノ粒子および酵素積載物（例えば、コラゲナーゼ）を含む超音波応答性加工リポソームを実行して、積載物を腫瘍組織へと選択的に送達し、化学療法に対する腫瘍の浸透を向上させることができる。加工リポソームは、静脈内投与することができ、体内を循環させることができる。投与されたリポソームは、浸透性および保持（EPR）効果の向上により、（血管系から腫瘍などの標的へと）浸出できる。浸出後、集束超音波パルスにより、上記リポソームを破壊することができる。あるいは、超音波付加により、対象組織の血管を循環するビヒクルを破裂させることができる。この破裂により放出された積載物は、例えば、腫瘍、微小環境、または癌細胞などの所望の標的に対して作用できる。例えば、上記放出されたコラゲナーゼ積載物は、細胞外腫瘍マトリックスを局所的に消化でき、これにより、後で投与される化学療法薬剤を分散させることができる。システム循環中へ漏れ出したコラゲナーゼを血清アルファ - 2 - マクログロブリンによって阻害できる点に留意されたい。

40

【0047】

図 3 は、化学療法薬剤 333 に対する腫瘍細胞の浸透を向上させるための加工リポソーム超音波応答性ビヒクル 300 を用いた、コラゲナーゼ積載物送達の一連の例示を示す。イラスト 310 は、標的である細胞外マトリックスを有する腫瘍細胞へ浸出した例示的なりポソームビヒクル 300 を示す。リポソームビヒクル 300 は、超音波感受性リポソ-

50

ムとして構成することができ、封入された超音波感受性化ナノ粒子と、集束音響エネルギーによって破裂させることが可能なコラゲナーゼ積載物を備える。これらの加工リポソームは、リポソーム表面上に標的リガンドを含み得、これにより、上記標的リガンドを標的腫瘍近傍にて事前濃縮させる。例えば、上記標的リガンドは、アルファ ν インテグリン（例えば、サイクリックアルギニン-グリシン-アスパラギン酸（RGD）ペプチド）のリガンドを含み得、これらのリガンドは、標的ナノ構造および微小構造から、腫瘍およびその血管系を標的とすることができる。イラスト320によって示される集束超音波パルスは、リポソームビヒクル300を破裂させて、コラゲナーゼ積載物321（および残留リポソーム断片322）を放出させ、腫瘍細胞外マトリックスの消化を促進させる。イラスト330は、例示的な化学療法薬剤333および/またはナノ粒子がその後腫瘍細胞へアクセスしている様子を示す。超音波治療を繰り返し行うことにより、新規に蓄積したリポソームから新規コラゲナーゼをさらに放出させて、細胞外マトリックスを徐々に消化することができる。

【0048】

図4Aおよび図4Bは、プラスミドDNA（pDNA）およびトランスフェクション試薬のリポソーム封入および超音波放出により遺伝子発現増加が得られた例示的な実験データを示す。図4Aに示す例示的プロット410は、ホタルルシフェラーゼベクターによる発光を示す。この例示的な実験において、ホタルルシフェラーゼベクターをトランスフェクション試薬と共に本開示のリポソーム中に封入した。陽性対照（青色バー411）では、同一濃度を用いた。デュアルルシフェラーゼアッセイを用いて、他の可能性のある影響を正規化した。超音波によって破裂したリポソーム（赤色バー412）は、無傷のリポソーム（緑色バー413）と比較して、発現が6倍増加している。図4Bに示す例示的画像は、遺伝子発現用途のための本開示技術の実験実行様態を示す。この例では、記載の条件下において、細胞をトランスフェクション試薬（例えば、eGFPベクター）へ暴露させたかまたは暴露させなかった。画像421は、リポソームを含むeGFPベクターによって処置されていない例示的な細胞を示す。画像422は、本開示の超音波応答性ビヒクル（例えば、ビヒクル100）を用いずにeGFPベクターによって処置した例示的細胞を示す。画像423示す例示的細胞は、本開示の技術を実行することにより（例えば、eGFPベクターを封入している例示的な超音波応答性リポソームに暴露した細胞に集束超音波を付加することにより）上記eGFPベクターで処置した。画像424に示す例示的細胞は、超音波は加えずに、上記eGFPベクターを封入している超音波応答性リポソームで処置し、これにより、上記eGFPベクターを封入しているリポソームが比較的無傷で維持され、その後のトランスフェクションが回避された。超音波によってpDNAが放出させられた結果、発現が増加し、より多くの細胞が蛍光発光した。

【0049】

別の例において、本開示の技術を実行して、標的部において増殖可能な積載物を送達することにより（例えば、ウイルス積載物を腫瘍部へと搬送する超音波応答性ビヒクルを破裂させることにより）治療効果を増幅させることができる。例えば、体内において、ウイルスは免疫システムによって急速に取り除かれ、通常、自発的には腫瘍に到達しない。このような腫瘍細胞を破壊することが可能なウイルスが腫瘍に到達でき、腫瘍細胞によって取り込まれれば、腫瘍に対する局所的なウイルス感染を発生させ、これらのウイルスの増殖によって上記腫瘍細胞を殺すことが可能となる。記載の技術を用いて、このようなシステムを実現することができる。例えば、上記の音響応答性積載物送達ビヒクルは、ウイルスが腫瘍床に到達するまでウイルスを保護し、到達時点において選択的に放出させることができる。例えば、（図1に示す）ビヒクル100は、ウイルスベクター（例えば、特定の腫瘍細胞を攻撃するようにプログラムされたもの）からなる積載物質105を含み得る。さらに、本開示の音響応答性ビヒクルは、例えば低いまたは高い圧力、pH、温度、化学的物質、機械的力、および他の環境要素に対して安定しているため、積載物を焦点領域外の体内環境から保護することができ、また、移動時において焦点領域外のウイルス積載物から体内の健康な組織を保護できる。例えば、標的腫瘍に対する特異性を促進するため

10

20

30

40

50

に、例示的なビヒクル100は、標的リガンド（例えば、サイクリックRGD）と共に外殻103上の突出分子104として構成することができる。

【0050】

別の局面において、本開示の技術は、超音波画像化を向上させるために、ナノ液滴またはナノエマルジョンを安定した微小気泡へと変換することを含み得る。相変化エマルジョン構造を作製し、安定したガス微小気泡を生成する技術が記載される。例えば、本開示の技術は、細胞と同様の区画として用いることが可能なりポソームを生成するための例示的なプロセスを含む。上記区画は、分子、ナノサイズ粒子、およびマイクロンサイズ粒子（例えば、生物学的機構、造影剤、および多様な他の積載物）を閉じ込めることができる。

【0051】

既存のガス微小気泡超音波造影剤を用いた場合もコントラスト強調が可能であるが、通常、*in vivo*循環時間が短く、組織浸出が少なく、また不安定なため超音波信号コントラスト強調できる期間も短い。上記技術の相変化ナノエマルジョンを実行することにより、既存の微小気泡技術の不利点および欠陥を回避できる。例示的な相変化ナノエマルジョンによって生成された微小気泡は、より小さく、より安定しており、また*in vivo*でより長期に循環し得る。例えば、上記相変化エマルジョンを、安定した微小気泡を生成するために必要な脂質でパッケージすることができる。超音波が的確な強度および周波数で付加されると、リポソーム中に封入された例示的なナノ液滴またはナノエマルジョンを微小気泡へ変換でき、これにより造影剤をオンサイトで効果的に生成することができる。

【0052】

例えば、パーフルオロカーボンナノエマルジョンをリポソーム内部に封入して、安定した微小気泡を生成し、超音波造影剤として用いることができる。例えば、上記リポソーム中に存在する脂質が断片化されると、新規に形成されたガス微小気泡の周囲で上記脂質が再構成し、微小気泡の会合および溶解に対する安定化剤として機能できる。

【0053】

図5は、安定した微小気泡を音響的に制御された様態で生成する様子を示す例示的模式図である。この例に示すように、ナノエマルジョン501を含む水502などの水性媒体をリポソーム503内に封入し、集束超音波などの超音波の存在下で微小気泡へ変換することができる。集束超音波を付加することにより、断片化リポソームからの脂質を再構築して、安定した微小気泡504を形成できる。

【0054】

上記キャリア（担体）は、リポソーム、ポリマーソーム、無機または有機シェルまたはキャプシド、あるいは幹細胞、マクロファージまたは樹枝状細胞などの生物細胞として構成することができる。リポソームとして、上記担体を小型にすることができ（例えば、 $< 200\text{nm}$ ）、よって生物細胞によって積極的に取り込まれ得る。例えば、上記担体は小型かつ強固であるため、循環時間が増大し、EPRによって腫瘍への浸透性が増加する。

【0055】

例示的な安定した微小気泡504は、超音波造影剤として構成できる。例えば、安定した微小気泡504は、相変化造影剤を含む特性を持ったエマルジョンベースの超音波造影剤であり、上記相変化造影剤は、新規形成された微小気泡を安定させるために必要な脂質を含むサブマイクロンリポソームの内側にパッケージされる。上記エマルジョンとリポソームとの間の一定量の水により、音響特性を大きく変更せずにエマルジョンを膨張させることができる。上記リポソームを含む脂質は自由分子であり、上記ナノエマルジョン膨張の力に起因して上記リポソームが破裂すると、熱力学的に不安定になり得る。これらの両親媒性脂質は、例えば水性液体と疎水性気体との界面において急速に安定化することができる。リポソーム503に合わせて、微小気泡の安定性が得られるように脂質を最適化することができる。例えば、通常、界面活性剤は、気体微小気泡および液体エマルジョン液滴の双方に対して効果的な安定剤ではないため、本開示の技術は、上記2つのシェル材料について独立した制御を可能にしてもよい。

10

20

30

40

50

【0056】

一例として、加工リポソームを用いた本開示技術の実行様態について記載する。例えば、加工リポソームは、分子、ナノ粒子、さらにはミクロンサイズ粒子の高取り込みが可能なりポソームを作製するための例示的なプロセスによって作製することができる。例えば、シート状の脂質を形成可能な特定の溶媒システムを利用できる。この例示的な混合物中の脂質の溶解性により、閉鎖してリポソームを形成せずに、脂質を層状態で安定化させることが可能になる。水を加えると、上記脂質シートが熱力学的に不安定になり、その結果、上記脂質シートが自ら閉鎖し、リポソームを形成し得る。近隣の分子または粒子はこれらのリポソームに取り込まれうる。この特定の状態に起因して、上記脂質は、形成前に取り込む物質の周辺に懸濁されうる。本例に記載した例示的なリポソーム送達ビヒクルは、小型の（例えば、 $< 200 \text{ nm}$ の）ナノ粒子を超音波増感剤（センシタイザー）として用いることができる。このビヒクルは、液体または固体、あるいはガスポケットを含む液体または固体であり得、長期の安定性および *in vivo* 循環時間を持ち、エンドサイトーシスを通じて細胞に積極的に取り込まれ得る。粒子そのものは化学的修飾または相変化を一切必要としないため、低沸点エマルジョンである必要は無い。必要な超音波の強度/エネルギーを低下させるためにナノ粒子を用いることにより、上記例示的なビヒクルの活性化と、生物学的効果（例えば、加熱、機械的破砕、および非特異性キャビテーション）の低下とが可能になる。

10

【0057】

例示的な安定した微小気泡504は、大型水性積載物を搬送可能な積載物送達ビヒクルとして構成できる。例えば、この大型水性積載物は、膜拡散によって制限される油積載物空間（最善の状態でも断片化されてより小型の液滴となるだけである）とは対照的に、急速に放出（例えば、 $< 2 \text{ ms}$ ）させることが可能である。例えば、安定した微小気泡のシェル中またはシェル上に積載された積載物は、破壊後に粒子内に依然として含まれ得る。これとは対照的に、上記記載のシステムは、水性空間中に溶解小型分子を含み得る。放出後、上記分子は、エンドサイトーシスを必要とせず、濃度勾配によって近隣の細胞の細胞質中へと直接溶解し得る。その結果、分解およびエンドソーム脱出などの関連する不利点を解消することができる。

20

【0058】

本開示の技術は、脂質および乳化剤の存在下においてグリセロール、プロピレングリコールおよびエタノールの混合物中におけるパーフルオロカーボン（PFC）の乳化を用いて上記の超音波応答性リポソームを生成するための例示的な生成技術、およびその後の位相反転とを含み得る。例えば、上記脂質は、プロピレングリコール、エタノールおよびグリセロールの混合物中に溶解し得る。エタノールの割合は、最小限（例えば、 $< 15\%$ ）まで低下させることができる。親油性色素3、3'-ジオクタデシクロオキサカルボシアニン過塩素酸塩（DiO）をエタノール溶液に添加して、例えば蛍光顕微鏡によって脂質二重層を可視化してもよい。この例示的な手順により、内部に粒子が封入された直径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ のリポソームを高い再現性で作成することが可能になる。ナノ粒子および積載物取り込みの効率と全体の形は、生成において用いられる脂質および溶媒濃度と相関する。

30

【0059】

図6は、リポソーム製造方法の例示的な画像を示す。例えば、画像601は例示的なエタノール/グリセロール/プロピレングリコール混合物を用いて溶解させた後の開口状態のラメラ構造脂質を示し、画像602は閉口状態のラメラ構造脂質を示す。その後、画像603に示すように水性溶媒量を増やすと、リポソームが形成され得る。これらの例示的な画像において、脂質膜はDiOで標識される。スケールバーは $2 \mu\text{m}$ を示し、図6の画像全てで画像領域は同じではない点に留意されたい。

40

【0060】

所望のリポソームを作製するための本開示技術における別の方法には、逆相蒸発（REV）プロセスがある。このプロセスでは、水のエマルジョン液滴を非混和性有機溶媒中に分散させることができる。例えば、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、クロロ

50

ホルム、ジクロロメタン、および他の多数の有機溶媒を使用できる。水性体積は、封入すべき積載物を含み得る。前記有機溶媒は、リポソームを二重層に構成し得る脂質を含み得、また、ナノサイズエマルションを最初に安定化させる機能を果たす。前記有機溶媒が蒸発すると、ゲル相が形成され得る。このゲル相は、例えば、水エマルションの大きな凝集である。さらに蒸発および混合が行われると、上記ゲルはリポソーム溶液中に分散し、上記ゲルのサイズは、最初のエマルションのサイズによって決定され得る。

【0061】

強度およびパルスシーケンスを調整可能な専用の超音波顕微鏡を用いて、染料が積載されたリポソームと超音波との相互作用について調査した。例えば、超音波振動子および顕微鏡の対物レンズを同一空間位置へと焦点させ、高速カメラを使用して蛍光発光モードまたは明視野モードにおいて画像シーケンスを取得した。LabVIEWプログラムから振動子に任意の波形を供給し、トリガーすることができる。記載した音響応答性ビヒクルの集束による崩壊（例えば、積載物などの水性内容物の放出を伴う）を、例示的実験中に示す。例えば、高強度のプロブチップ超音波発生装置と、氷上に多様な分子量（例えば、パーフルオロペンタン（ C_5F_{12} ）～パーフルオロノナン（ C_9F_{20} ））のフッ化炭素とを共に用いることにより、液体PFCからのナノエマルジョンを調製した。界面活性剤を用いてエマルションを安定化して、直径約150nmの単分散エマルションを高い再現性で生成することができた。上記方法を用いて、上記エマルションを上記リポソームに積載した。これらのナノエマルジョンは、超音波による衝撃波へと暴露される用のキャビテーションサイトを生成することができる。

10

20

【0062】

図7は、集束超音波によるリポソームの破壊をリアルタイムで行った場合の例示的な連続画像を示す。この例示的な連続画像は、集束超音波への暴露前、暴露最中、暴露後における150nmの液体パーフルオロオクタンナノ粒子を含むリポソーム（上段）と、ナノ粒子を含まない対照リポソーム（下段）とを示す。画像701および704は、集束超音波を当てる前のナノ粒子を含むリポソームおよびナノ粒子を含まないリポソームをそれぞれ示す。集束超音波（2.25MHz）への暴露後、画像702および703に示すように蛍光標識された膜が破裂し、リポソームが完全に破壊されたが、この効果は分散剤の沸点とはほとんど関係なかった。ナノ粒子を含まない対照リポソームサンプルの場合、ナノ粒子が積載されたリポソームと同じ設定において、（画像705および706に示すように）リポソームの破壊は全く発生しなかった。前記リポソーム膜は、DiOで標識された。自由エマルションナノ粒子は、0.4μmポリカーボネート膜を用いた透析によって除去された。上記画像から分かるように、ナノ粒子を含むリポソームのみが破壊された。図示のサイズバーは、2μmを示す。

30

【0063】

本開示の技術を用いて、いくつかの例示的な実証を行った。これらの実証では、加工リポソームの内部に数種類の分子をうまく導入した（例えば、薬剤、タンパク質、酵素、DNAをリポソームの内部に導入した）。本開示の方法を用いることにより、異なるサイズおよび水溶性の分子の導入が可能になる。例えば、図8Aに示すようにリポソーム作製時において、免疫グロブリンIgGを水性媒体中に溶解させた。図8Aは、本開示のリポソーム作製方法（パー801）および対照方法（パー802）を用いたIgG積載物の封入効率の例示的なプロット800を示す。酵素結合免疫吸着法（ELISA）を用いて、IgGの積載を定量した。標準的な脱水-再水和-ボルテックス法を用いて対照リポソームを作製したところ、封入効率は2.5%と7倍低かった（パー802）。本開示技術の上記例示的方法を用いた場合、免疫グロブリンの取り込み効率は16%（パー801）になり、これは、脂質層状シートの閉鎖によって体積の大部分が封入されたことを示している。図8Aに示すデータのリポソームと同様に、化学療法薬剤ドキソルピシンも、図8Bの画像850に示すようにリポソーム中にうまく導入された。他の積載物も、同様に導入することができた。

40

【0064】

50

図 9 は、リポソーム破壊を示す他の例示的なリアルタイム観察画像である。この例において、上側の連続画像は、例示的なナノサイズリポソームからのカルセイン積載物の局所的放出を示す。スケールバーは約 0.8 μm を示し、これは、ほぼ超音波焦点領域のサイズである。画像 901 は、超音波前の封入されたカルセイン染料積載物の蛍光発光が無い様子を示し、画像 902 は、超音波を当てている最中の、蛍光発光観察によって見られたカルセインの露出を示し、画像 903 は、超音波後のカルセイン露出の継続を示す。下側の連続画像に示す実験は、視認化のために親油性色素 DiO で膜が染色されたより大型のリポソームを用いた。画像 904 は、超音波前の無傷のリポソームを示し、画像 905 は、超音波が発生しリポソームが断片化する様子を示し、画像 906 は、超音波後の対照リポソームの比較的完全な断片化を示す。下側の連続画像は、脂質膜の断片化の確認を示し、その結果発生した積載物放出が画像 902 および 903 に示すように確認された。

10

【0065】

図 10 は、カルセイン放出の定量化 (%) を示す例示的なプロット 1000 を示す。逆相蒸発を用いて例示的な加工リポソームを調製し、10 vol%、~100 nm のパーフルオロカーボンエマルジョンおよび 23.75 mM のカルセインを含む水性溶液を封入した。3 つの異なる PFC エマルジョンを用いた (パーフルオロデカリン (データ線 1001)、パーフルオロノナン (データ線 1002) およびパーフルオロオクタン (データ線 1003))。プロット 1000 中、対照データをデータ線 1004 として示す。大孔膜による透析により、未封入のカルセインおよびエマルジョンを除去した。破裂したリポソームからカルセインが放出された結果、染料の脱消光が起こり、蛍光発光が増加し、その結果、放出パーセンテージの定量化が可能になった。

20

【0066】

さまざまな種類のナノ粒子を試験したところ、キャビテーションの核形成と、キャビテーション閾値の低減とがみられた。例えば、多様な液体 PFC エマルジョンを実行したところ、いくつかの PFC エマルジョンが、異なる 2 種類の界面活性剤によって安定した。ラテックス、ポリスチレン、金、酸化鉄、および銀の固体ナノ粒子を比較のために実行した。これらの例示的な実験様態では、リポソームをナノ粒子エマルジョンと共に積載し、2.25 MHz の超音波を照射した。リポソームの破壊に必要な超音波強度を超音波顕微鏡を用いて測定した。それぞれの例示的リポソーム/ナノ粒子サンプルを表 1 に示す。表 1 から分かるように、閾強度を測定した。この閾強度を下回ると、上記リポソームの破壊は見られなかった。上記閾値は、ナノ粒子サイズおよび組成に依存していることが分かった。ナノ粒子を含まない対照リポソームの場合、閾強度が少なくとも 40% 高かった。

30

【表 1】

表 1. ナノ粒子が積載されたリポソームを破壊するための超音波強度

ナノ粒子	閾強度(MPa)
PFHept-FSO-100 エマルション	≤ 1.5
PFO-FSO-100 エマルション	1.24
PFO-FSN-100 エマルション	1.39
PFN-FSN-100 エマルション	1.39
PFOB-FSN-100 エマルション	1.39
100 nm デキストラン酸化鉄	1.5
100 nm ラテックス	1.5
130 nm ラテックス	1.16
500 nm ラテックス	応答なし
100 nm 銀	1.5
200 nm ポリスチレン	1.16
500 nm ポリスチレン	< 0.62
100 nm 金	1.5

10

20

30

40

50

【 0 0 6 7 】

図 1 1 は、正規化された酵素活性の例示的なプロット 1 1 0 0 を示す。この例では、酵素ラクタマーゼを含むリポソームを調製した。さまざまな圧力の超音波を付加した後、酵素が放出された。各圧力について、発色基質ニトロセフィンを用いて吸光度増加を監視することによって酵素活性を測定した。プロット 1 1 0 0 に示すデータは、酵素活性増加に対するピーク負圧増大の影響を例示する。

【 0 0 6 8 】

図 1 2 は、本開示技術の *in vivo* の局所的送達（例えば、マウスの耳への局所的送達の *in vivo* 実証）の例示的画像を示す。キャビテーション核形成部位を含むリポソームをマウスの尾静脈に注入した。図 1 2 は、同じマウスにおける 2 つの異なる耳からの切片を示す。1 つの耳に超音波を照射したところ、画像 1 2 0 4、1 2 0 5 および 1 2 0 6 を示すように、脂溶性蛍光色素分子 Di R によって蛍光標識された脂質膜が局所的に蓄積した。画像 1 2 0 4 は、明視野画像を示す。画像 1 2 0 5 は蛍光発光画像を示す。画像 1 2 0 6 は、オーバーレイ画像を示す。反対側の耳は、「非超音波」対象として用いた。画像 1 2 0 1、1 2 0 2 および 1 2 0 3 から分かるように、この耳内に蛍光膜の大幅な蓄積はみられなかった。

【 0 0 6 9 】

エマルションによるキャビテーションの核形成の例示的な方法は、エマルションの表面上または体積中における蒸気気泡の過渡的形成を含み得る。例えば、パーフルオロカーボンエマルションは、超音波照射を受けた場合、このような効果を起こすことができる。新しく形成された気泡は、エマルションまたは周囲媒体へ濃縮または溶解して、その結果、（例えば、図 1 3 に示すような）超音波を多数回照射しても反復可能な効果が得られた。上記エマルションにおいて用いられるパーフルオロカーボンなどの液体を高濃度の気体（例えば、酸素または二酸化炭素）で飽和させることができ、その結果、キャビテーション閾値を低下させることができる。

【 0 0 7 0 】

図13は、パーフルオロカーボンエマルジョン核形成音響キャビテーションの一連の高速観察画像1300の例示を示す。フレーム1は、超音波付加前のエマルジョンを示す。フレーム2において超音波パルスが付加される。ここで、激しいキャビテーション反応を示し、その結果、フレーム3に示す気泡が発生した。その後のフレームによれば、気泡が視認できなくなるまで蒸気気泡が濃縮または溶解してエマルジョン液滴となり、このエマルジョンがフレーム1のように再度出現した。上記エマルジョンは元の状態に戻るため、このプロセスは多くの超音波パルスで反復することができる。

【0071】

図14は、酸化鉄ナノ粒子において観察されたキャビテーション閾値低下現象が単なる実験設定のアーキファクトではなかったことを確認する一連の実験からの例示的な画像を示す。集束超音波前後において、異なる構成を用いて実験構成を変更した。例えば、水面におけるガラススライド、ガラスカバースリップ、および油浸レンズの状態

1401、水面におけるガラススライド、ガラスカバースリップ、および水浸レンズの状態1402、および水中11mm下におけるガラススライド、ガラスカバースリップの状態1403、水中11mm下におけるプラスチックホルダの状態1404、ならびに組織ファントム寒天に封入され、水中11mm下におけるガラススライド、ガラスカバースリップの状態1405を示す。例えば、上記ホルダを、ガラススライド上のガラスカバースリップから、プラスチックフレームワークに保持された2枚の肉薄プラスチックシートへと変更した。上記レンズを油浸型から水浸型へと変更した。上記ホルダの位置を空気/水界面から水中11mmへと変更し、さらに、上記ホルダを寒天組織ファントム中に封入して、キャビテーション閾値低下が実際の組織中においても発生することを示した。この例示的な実験実行様態により、観察された効果は用いられるレンズ、ガラスの種類、または空気/水界面に存在することのアーキファクトではないことが確認された。図14の例示的な状態から分かるように、酸化鉄ナノ粒子に起因してキャビテーションが発生した結果、周囲の蛍光リポソームが破裂して、脂質粒子の残屑フィールドが生成した。

【0072】

図15は、作製後一ヶ月が経過した酸化鉄ナノ粒子の例示的な画像1500を示す。画像1500から分かるように、棚中に一ヶ月保存された後も、上記酸化鉄ナノ粒子は、キャビテーション閾値低下特性を失っていないことが確認できる。

【0073】

図16は、高密度で封入されたパーフルオロノナンエマルジョンを含むリポソームの例示的な極低温透過型電子顕微鏡写真(cryo-TEM)1600を示す。前に説明した本開示技術の例示的な方法を実行して、この実験画像を入手した。例えば、1滴のリポソーム溶液を銅グリッド上に配置した後、液体エタン中でガラス化させて、上記エマルジョンのリポソーム構造および内在化状態を保持した。上記エマルジョンが確かに表面上ではなくリポソーム体積中に封入されていることを確認するために、断層写真を撮影した。

【0074】

この特許文書に記載の発明は、以下の特徴および利点のうち1つ以上が得られるような特定の状態で実行可能である。本開示の技術は、多様な例示的な用途において用いることができる。この用途には、例えば、送達ビヒクルを破裂させて積載物を放出すること、封入ナノ液滴から安定したガス微小気泡を生成させて造影超音波画像化に用いること、UV-青色光を生成して局所的な光化学を行って、プロドラッグを治療形態に変換すること、本開示の音響応答性ビヒクルを高強度集束超音波(HIFU)と共に用いて、材料特性を変化させるために局所的に熱を発生させるのと同時に、超音波画像化能を高めること、誘導型治療用途の特徴的な音響放射を生成すること。例えば、上記した音響応答性ビヒクルにより、ビヒクルがなくてもキャビテーションを発生させるような患者の身体に有害になり得るレベルを下回る超音波レベルまでキャビテーション閾値を低下させることができる。例えば、上記した音響応答性ビヒクルは、さまざまな積載物を搬送することができる。例示的な積載物には、以下のうち1つ以上がある：例えば水性空間中に溶解することが可能な親水性薬剤、例えばナノ粒子またはミセル構造中に含まれ得る疎水性薬剤、例えば酸化

10

20

30

40

50

鉄、ガドリニウムまたは他の材料を含む造影剤または治療薬剤であり得るかまたはそれらを含むナノ粒子、超音波造影剤としてのガス気泡またはフッ化炭素液滴またはエマルション、放射性同位体、封入された酵素、封入されたウイルス、および封入された核酸。

【0075】

本開示の技術の実行様態は、標的型薬剤送達を含む多様な生物医学的分野に適用することが可能である。例えば、化学療法薬剤の腫瘍への送達、体内の所望の（非がん性）組織への治療薬剤の特異的送達などの用途がある。他の例示的な用途には、腫瘍中の間質組織の消化および他の基質変換のための酵素の局所的送達がある。核酸の局所的かつ制御された送達は、例えば遺伝子送達用途または遺伝子サイレンシング用途のために実行できる。また、本開示の技術は、超音波画像化の向上のために安定した微小気泡を生成することを含み得る。本開示の技術を用いて、積載物を標的部位へ同時送達することができ（例えば、薬剤、酵素、プロドラッグ、遺伝子材料などを標的細胞または組織へ送達する）、また、標的部位の超音波画像の解像度を向上させることができる。本開示の作製方法を用いて、生物学的機構および/または画像化薬剤の封入のための細胞様区画を生成できる。

10

【0076】

この特許文書は多くの詳細を含むが、これらの記載は、あらゆる発明の範囲または特許請求の範囲の限定として解釈されるべきではなく、特定の発明の特定の実施形態に対して特異的な特徴の説明として解釈されるべきである。この特許文書中において別個の実施形態の文脈において記載された特定の特徴は、組み合わせて単一の実施形態として実行することも可能である。逆に、単一の実施形態の文脈において記載された多様な特徴を、複数の実施形態において別個にあるいは適切なサブコンビネーションとして実行することも可能である。さらに、上記した特徴は、特定の組み合わせで機能するものとして、また、さらにはそのように特許請求の範囲に記載しているが、場合によっては、特許請求の範囲に記載の組み合わせからの1つ以上の特徴を上記組み合わせから削除することが可能であり、特許請求の範囲に記載の組み合わせをサブコンビネーションまたはサブコンビネーションの変形例で実行してもよい。

20

【0077】

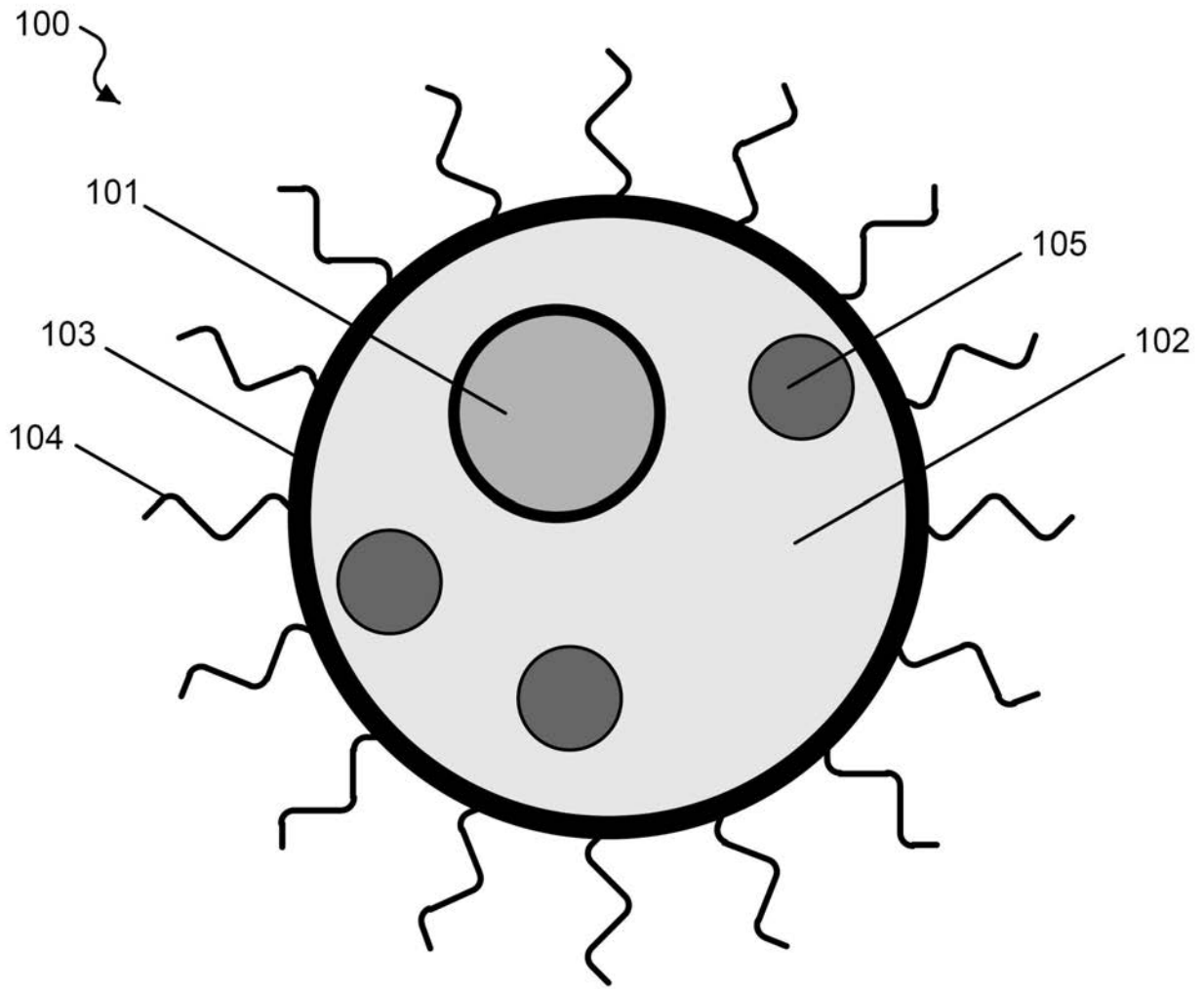
同様に、図面中に操作を特定の順序で記載しているが、所望の結果を得るためには、このような操作を図示の特定の順序または連続的順序で行う必要があると理解されるべきではなく、また、記載の操作全てを行う必要があると理解されるべきでもない。さらに、上記した実施形態における多様なシステム要素の分離は、すべての実施形態においてこのような分離が必要であると理解されるべきではない。

30

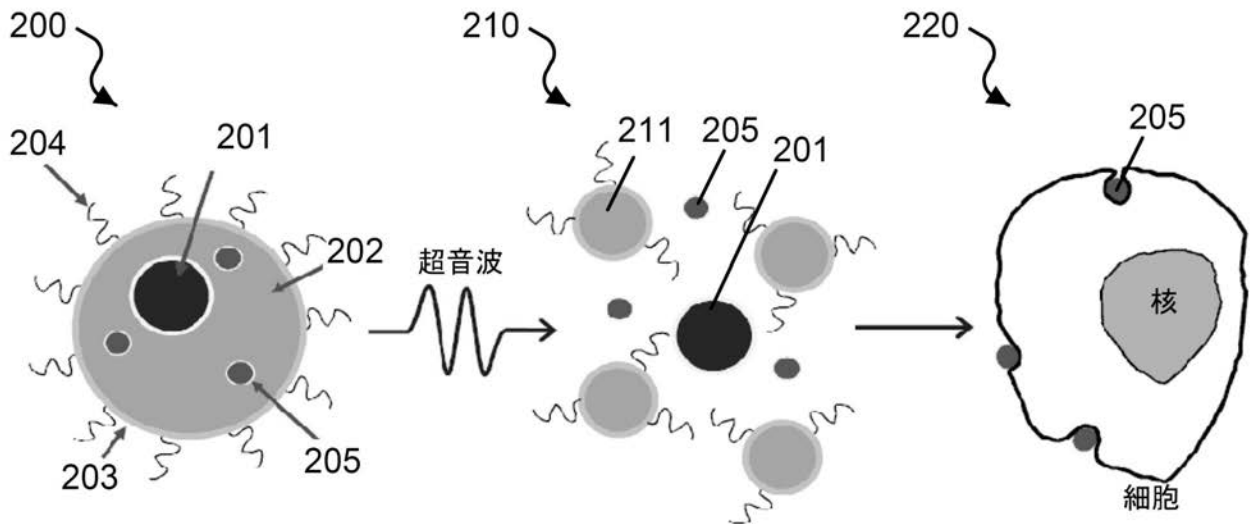
【0078】

ごくわずかの実行様態および例を示したが、本特許文書の記載および例示に基づいて、その他の実行形態、向上および改変が可能である。

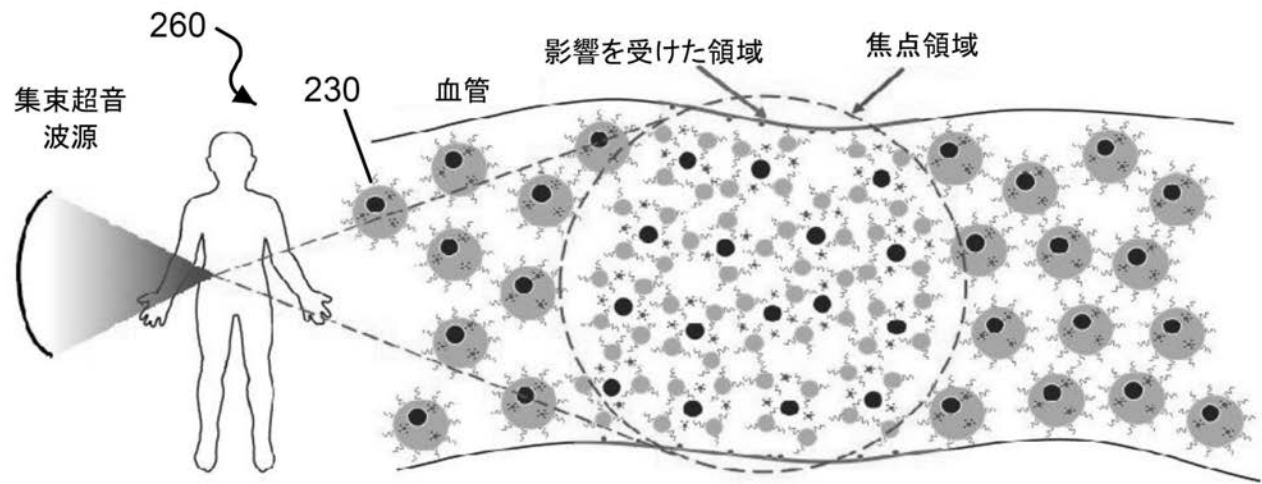
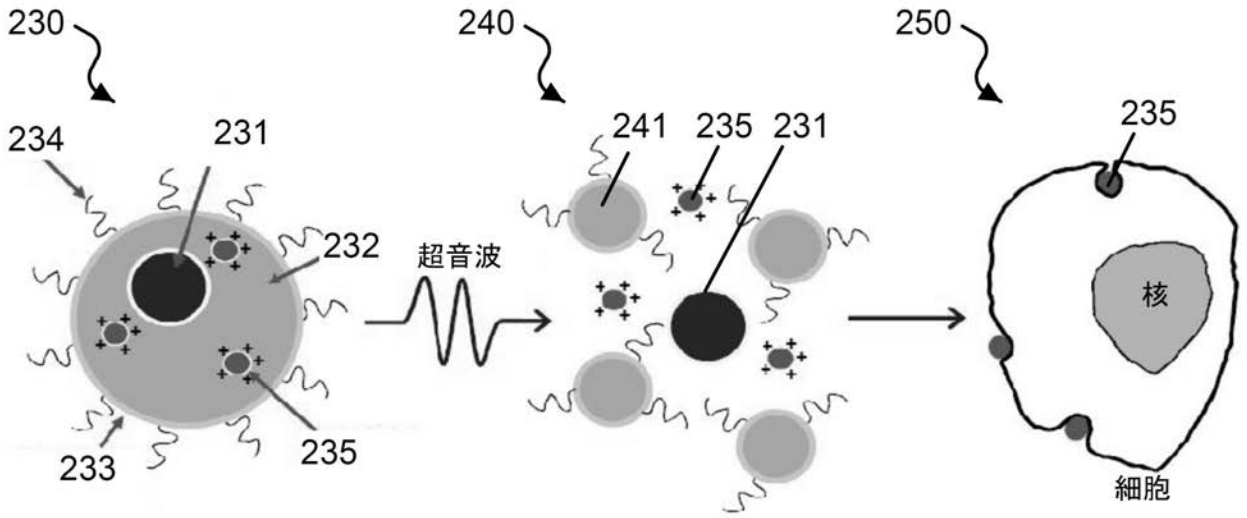
【 図 1 】



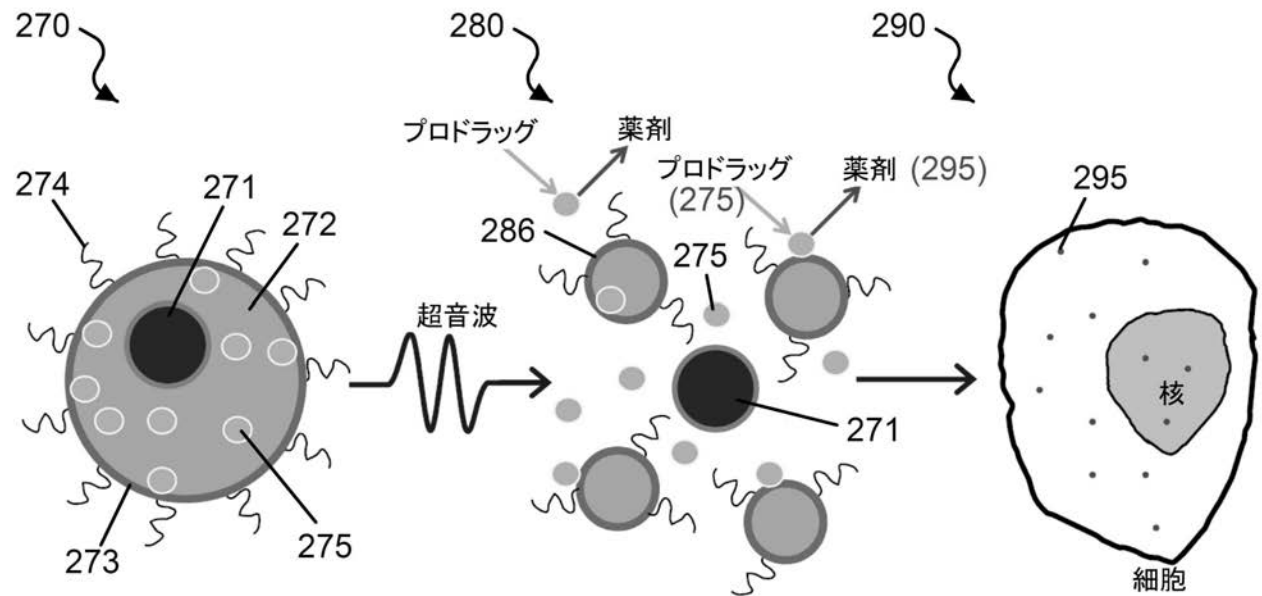
【 図 2 A 】



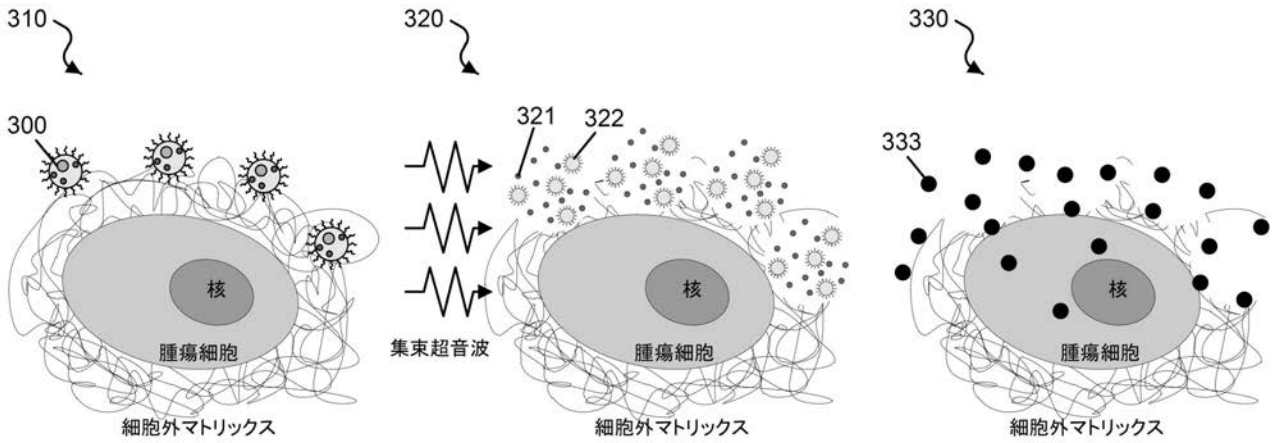
【図 2 B】



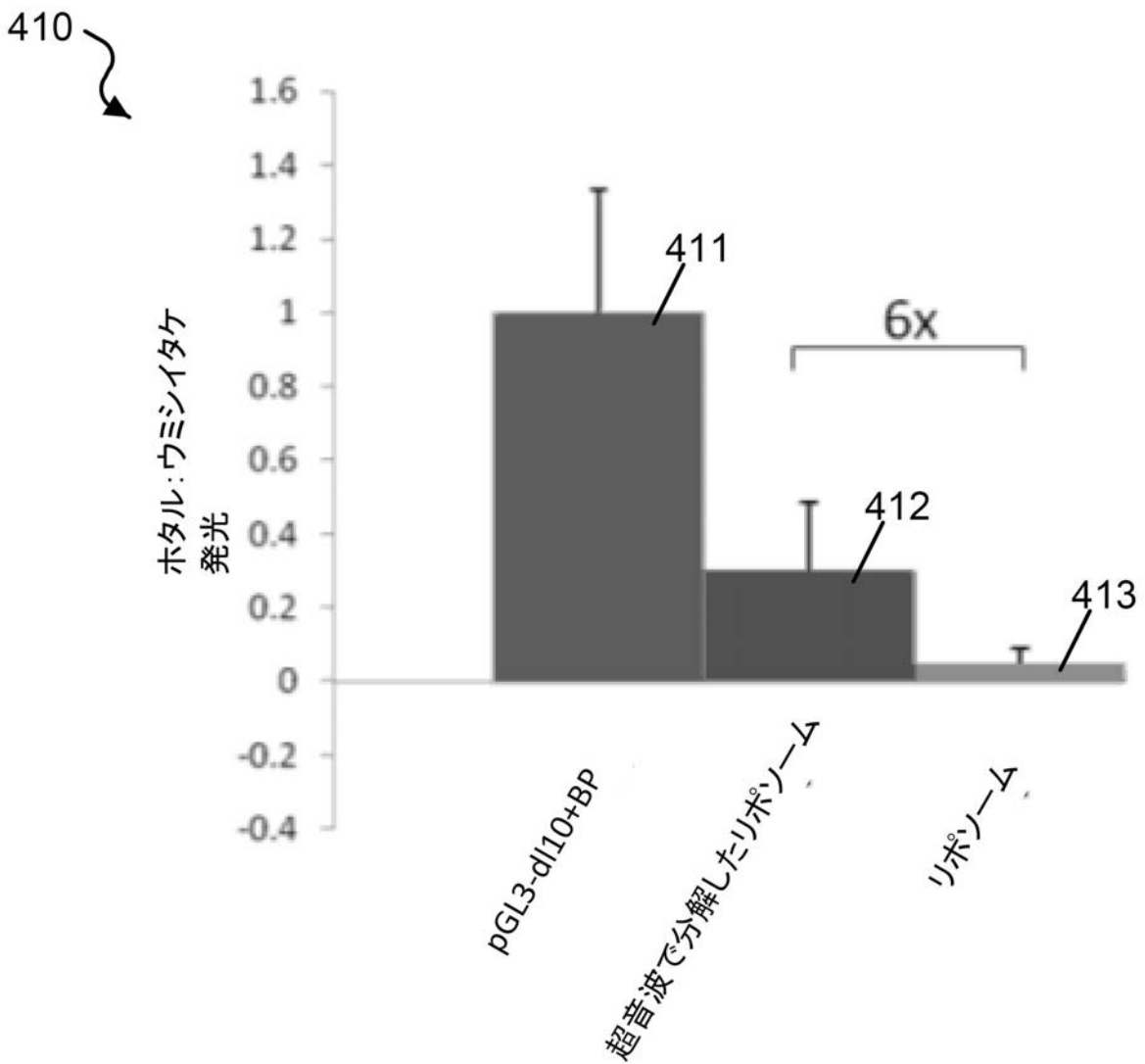
【図 2 C】



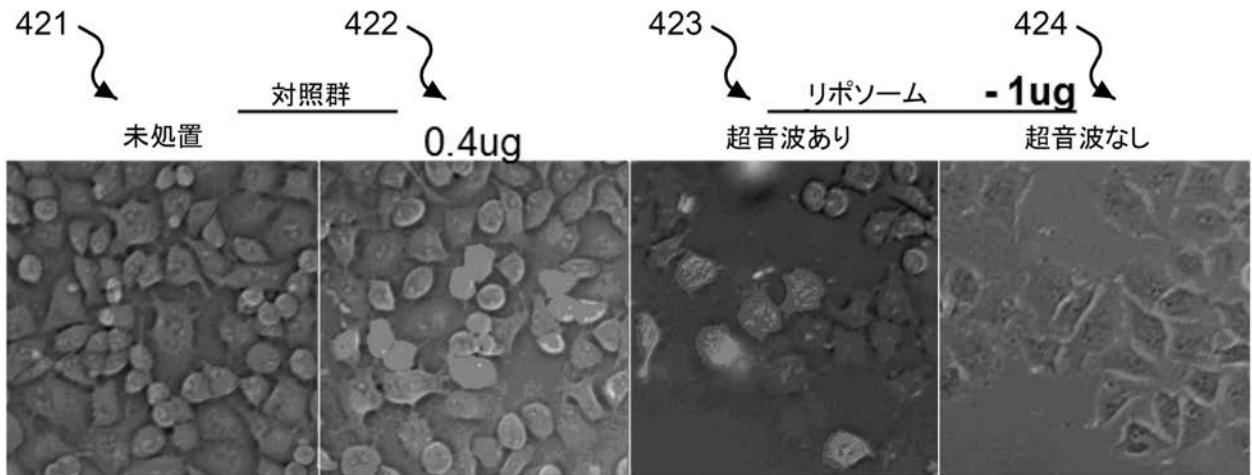
【 図 3 】



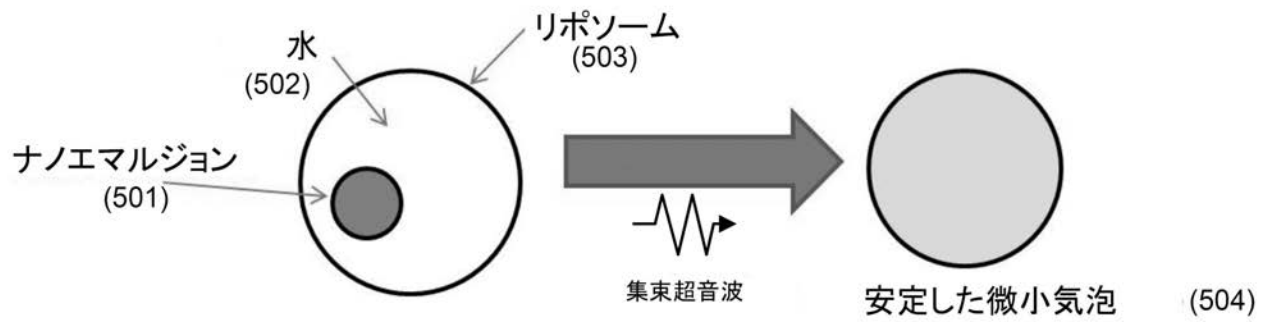
【 図 4 A 】



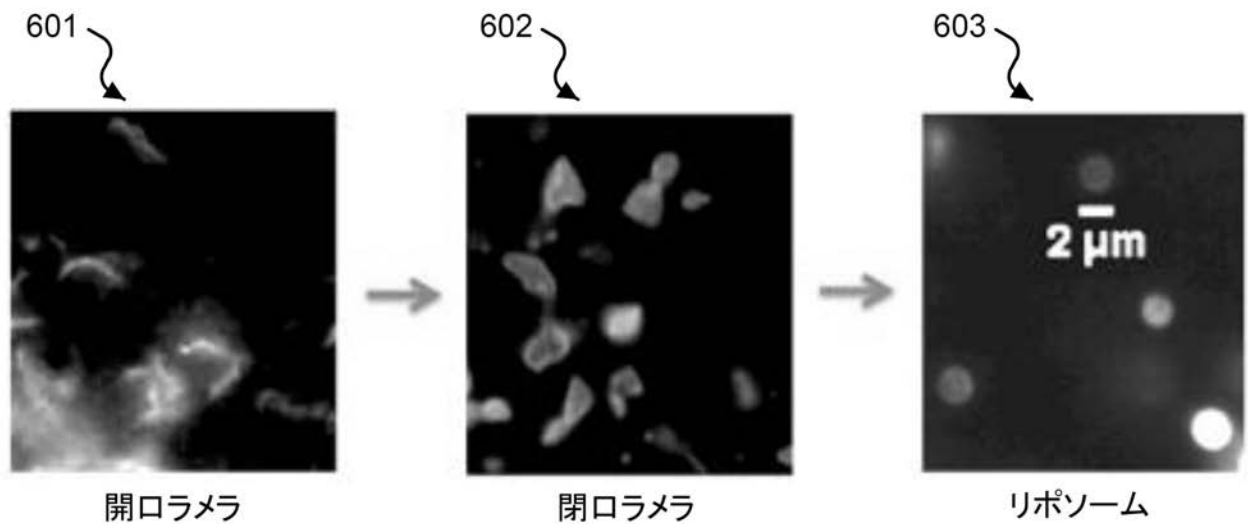
【図4B】



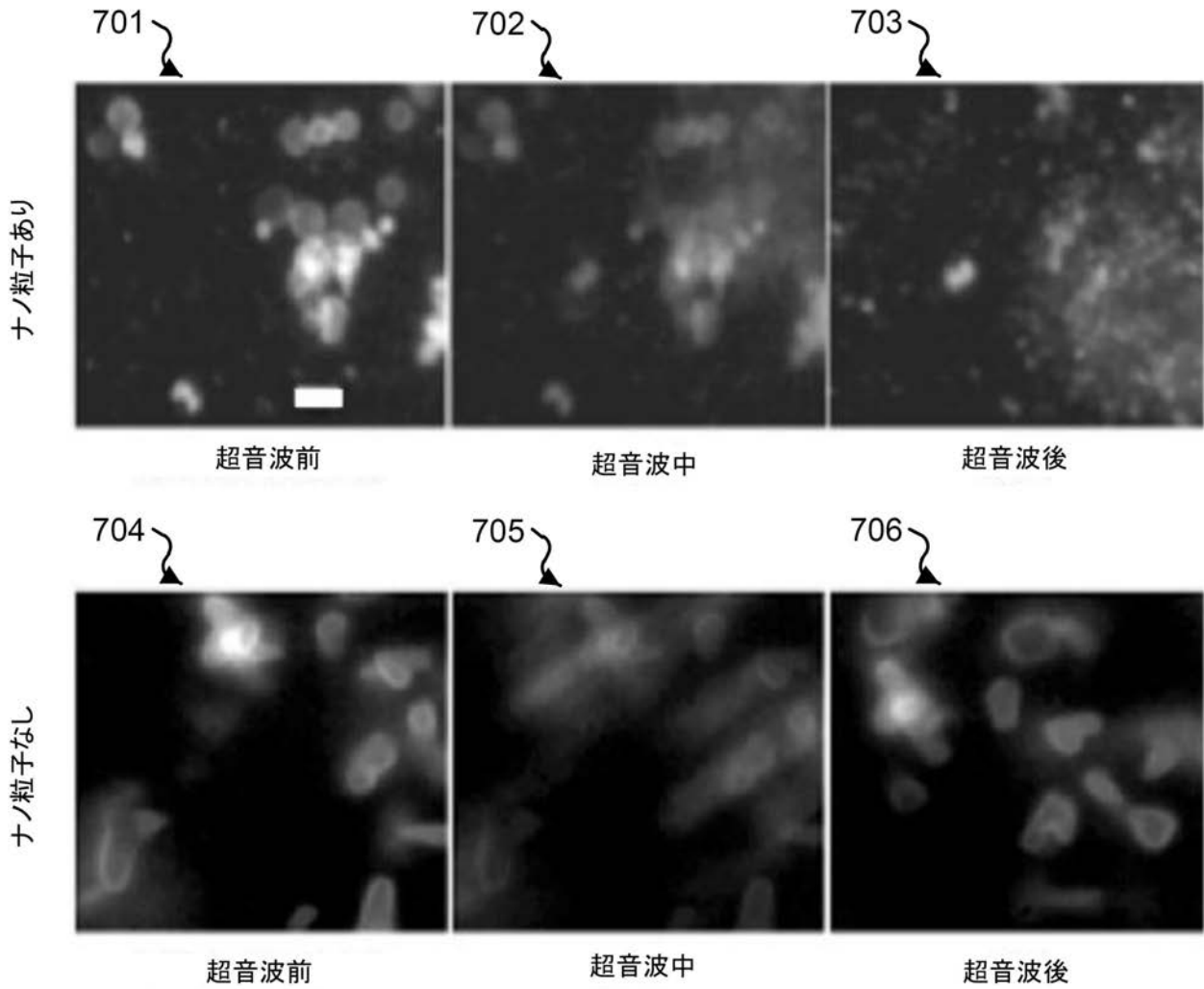
【図5】



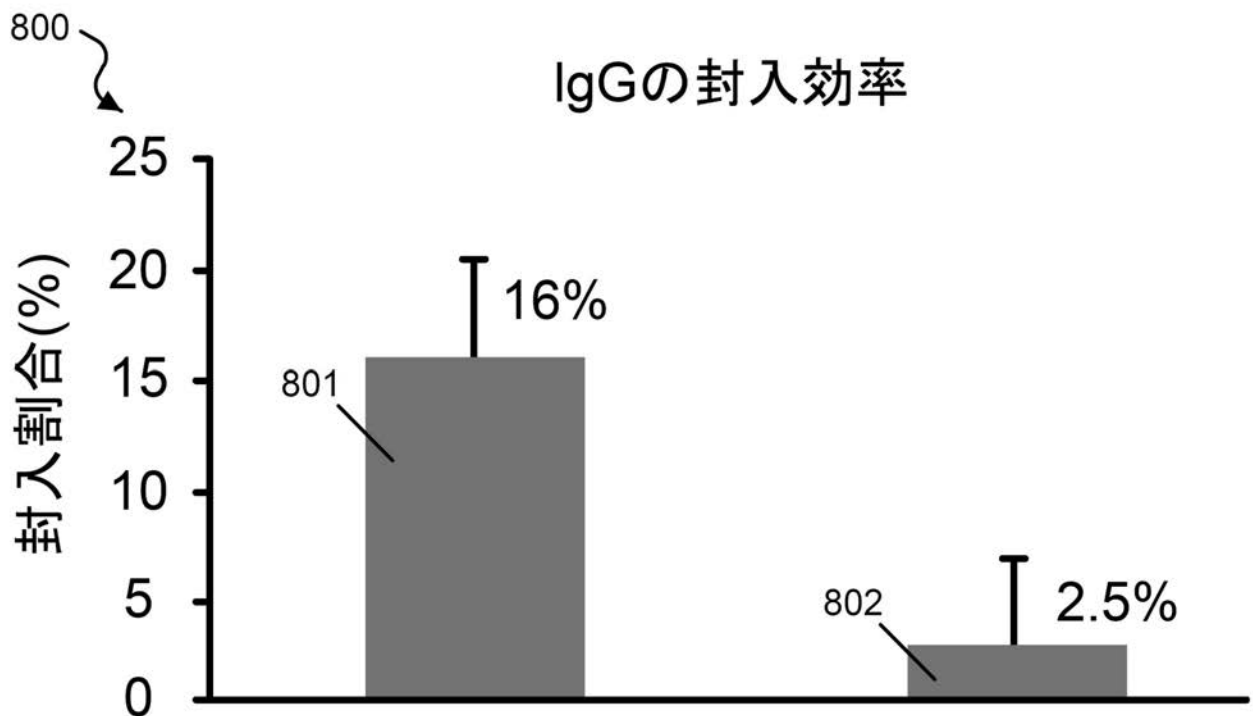
【図6】



【 図 7 】

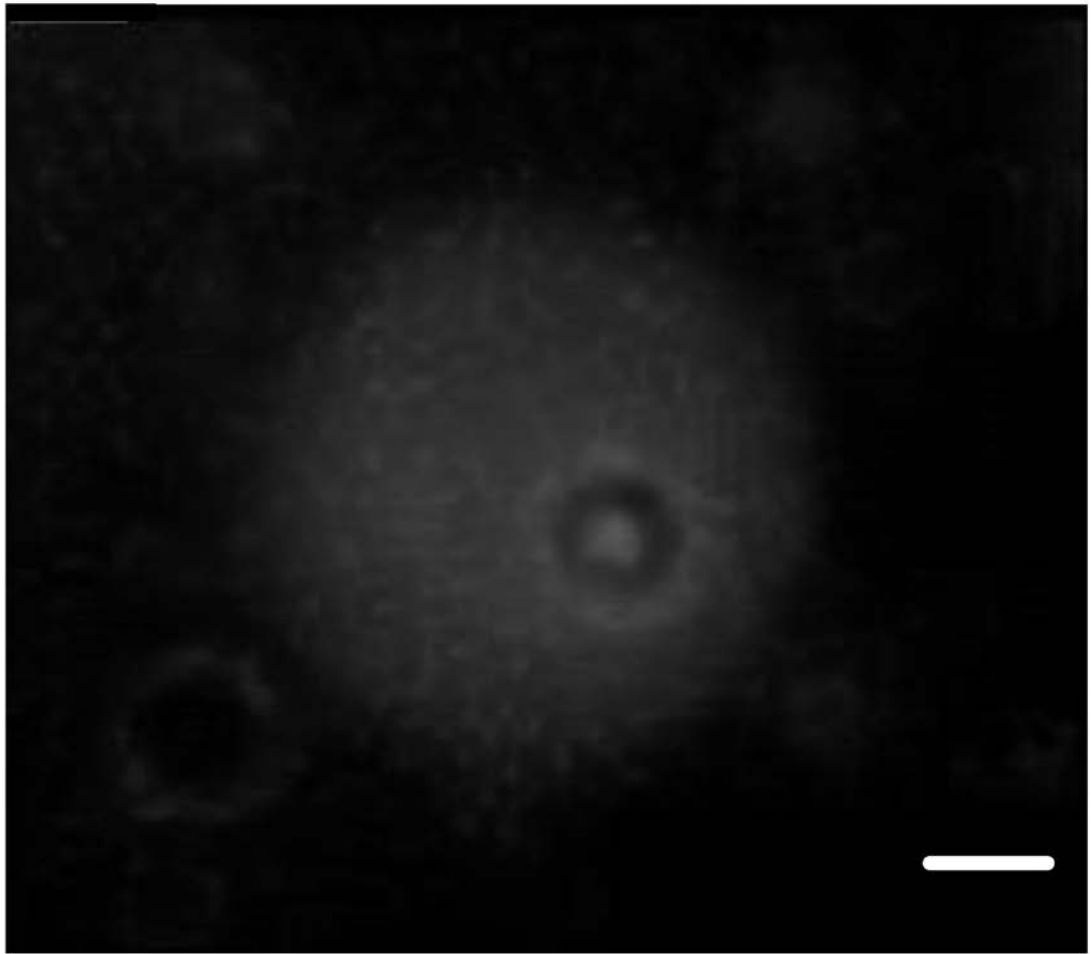


【 図 8 A 】

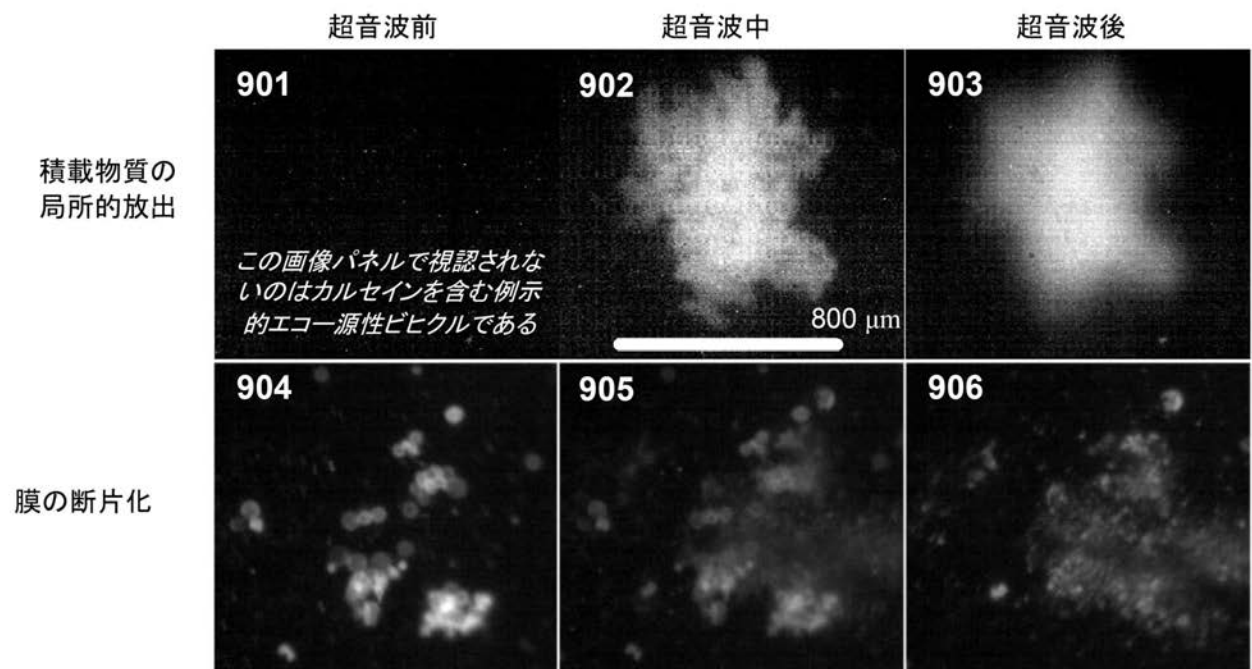


【図 8 B】

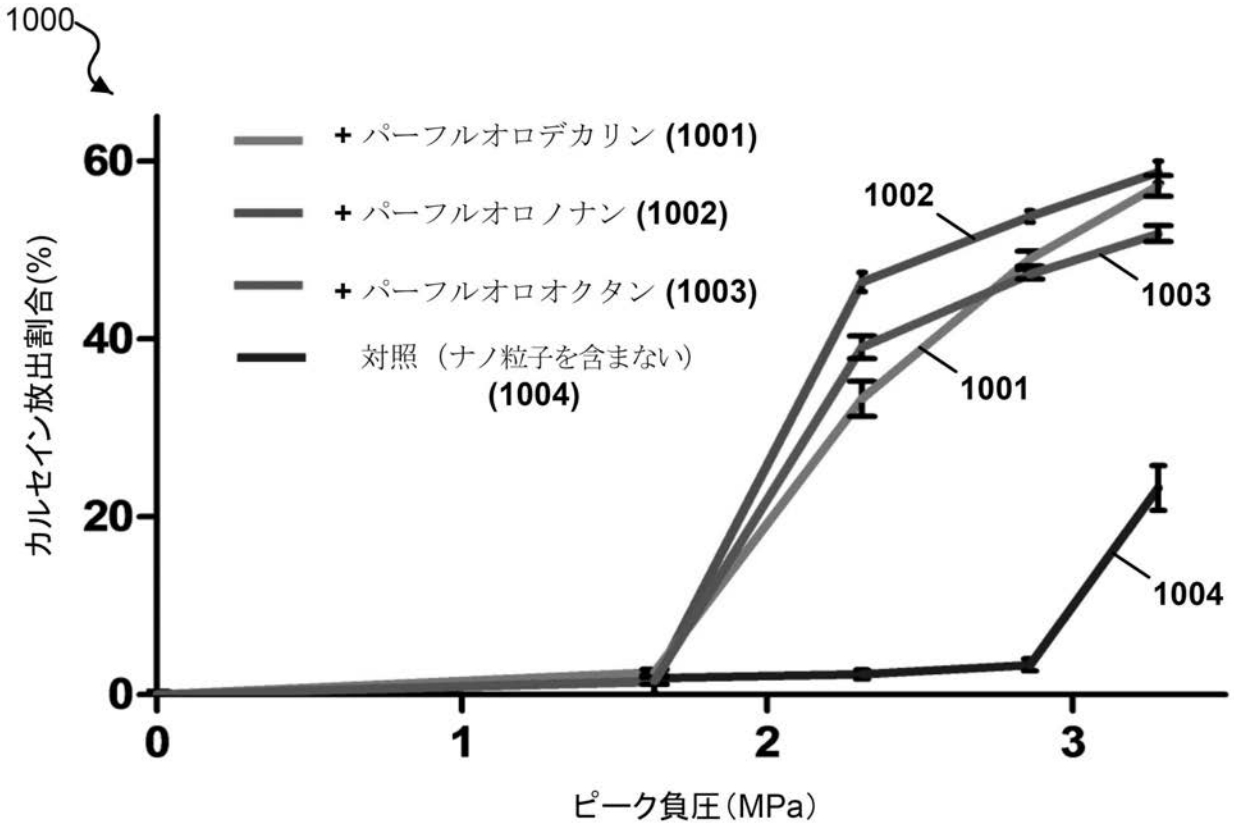
850



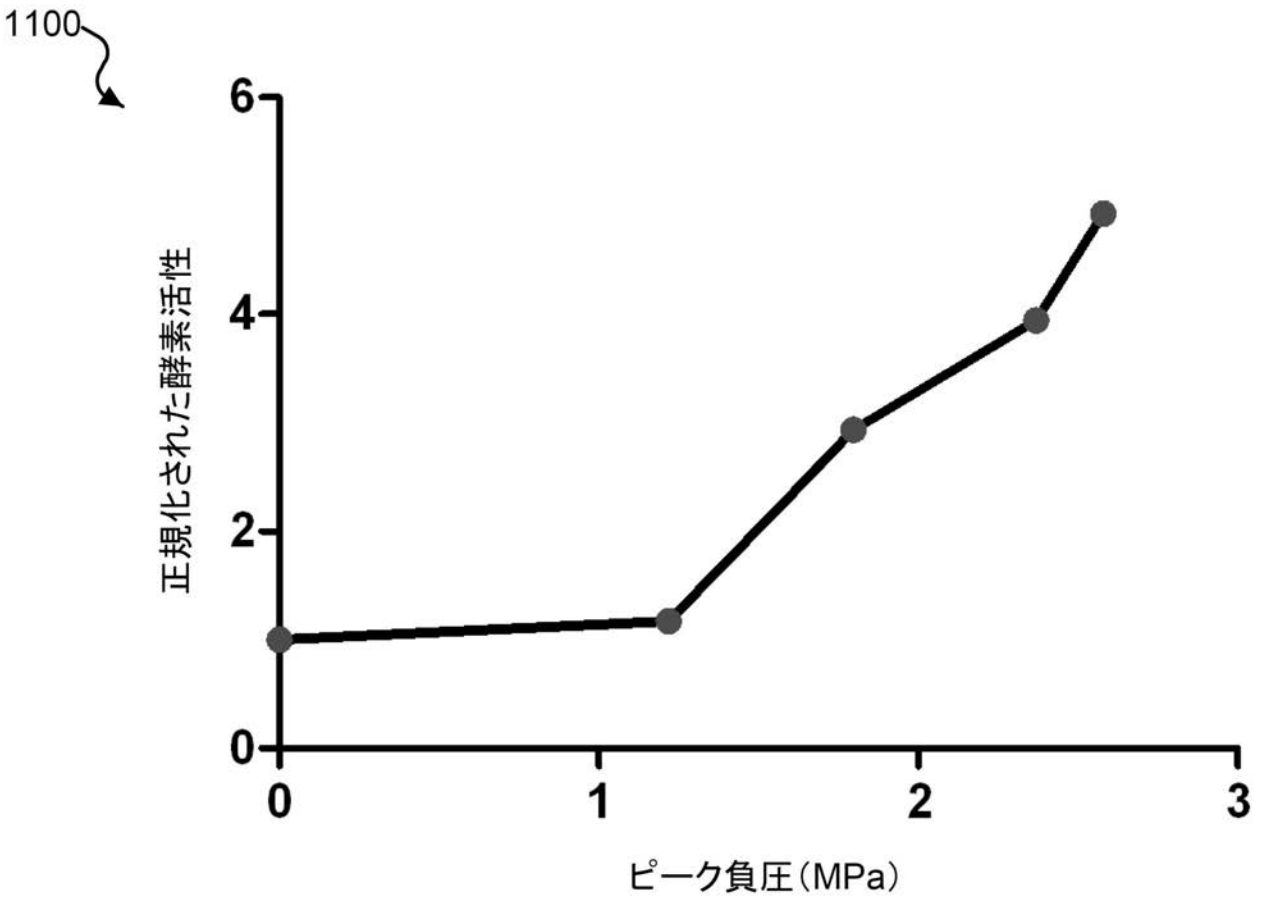
【図 9】



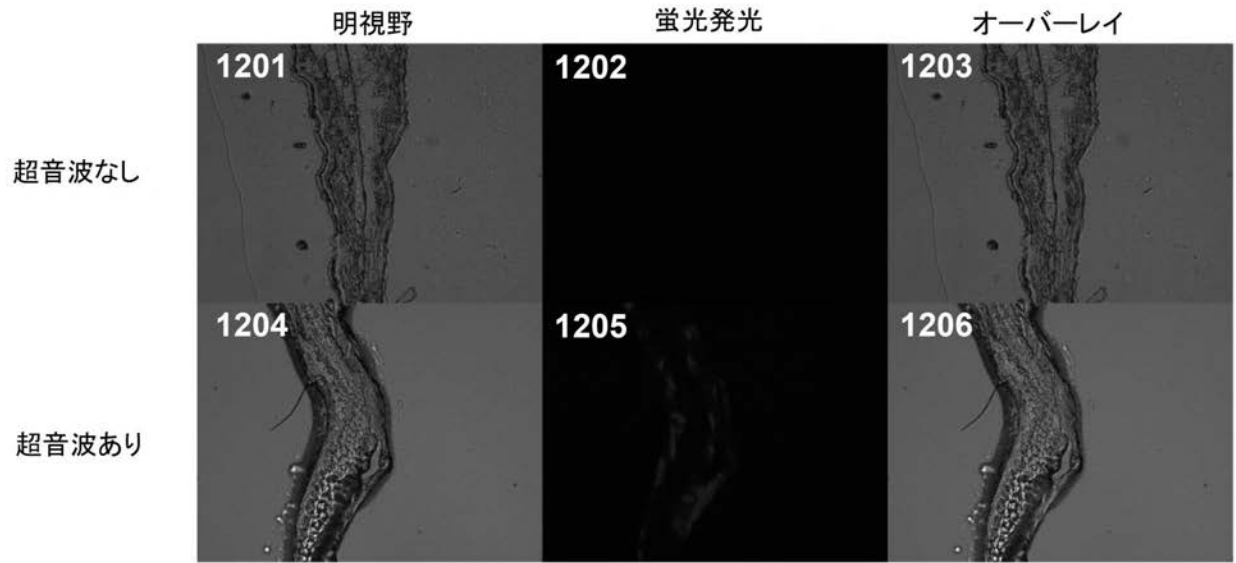
【図10】



【図11】

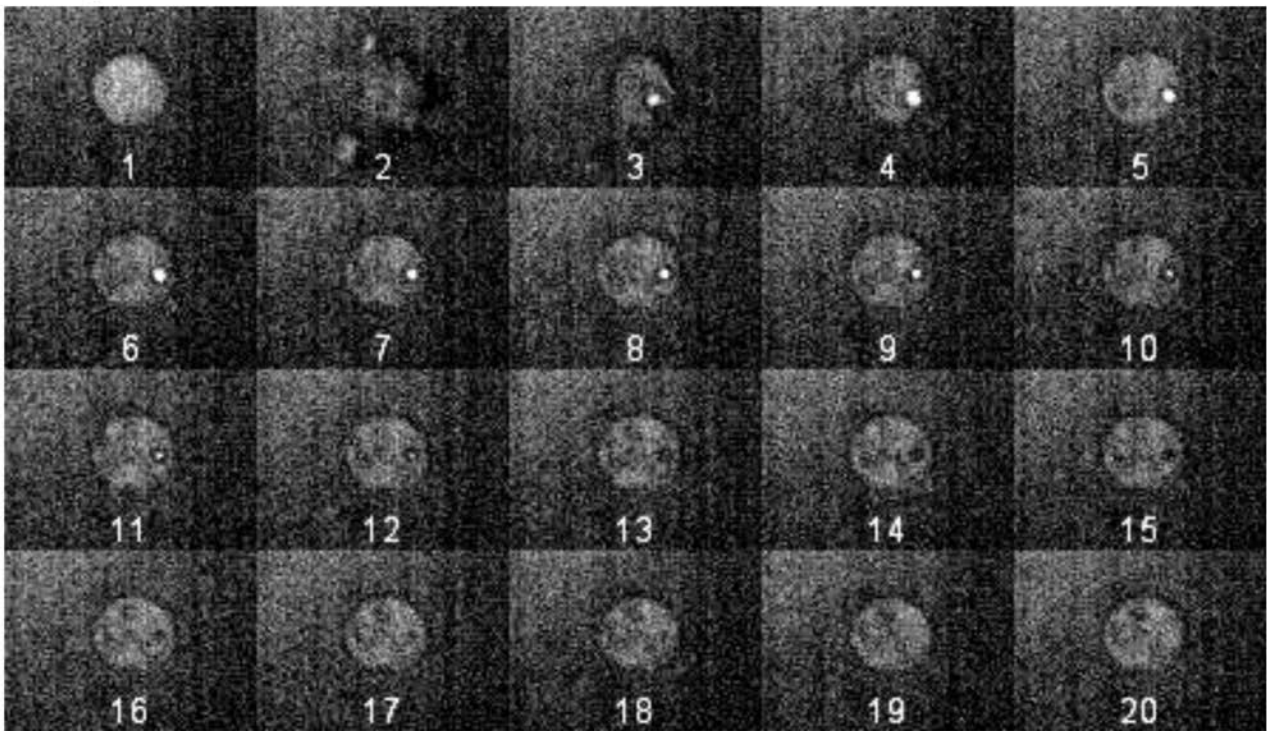


【図 1 2】

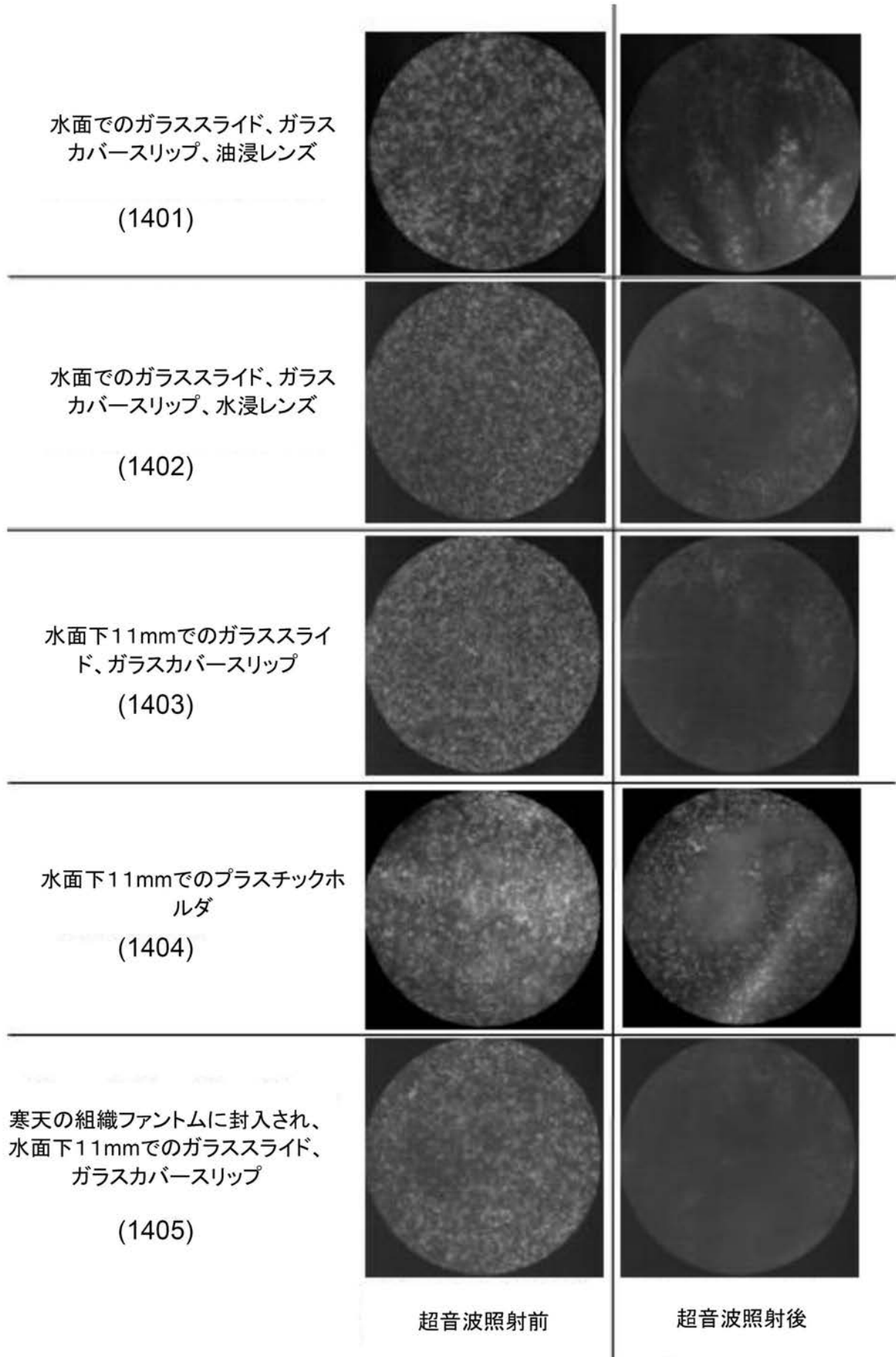


【図 1 3】

1300



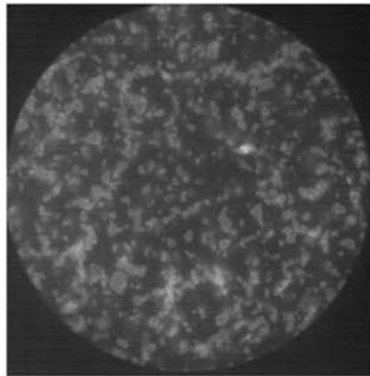
【 図 1 4 】



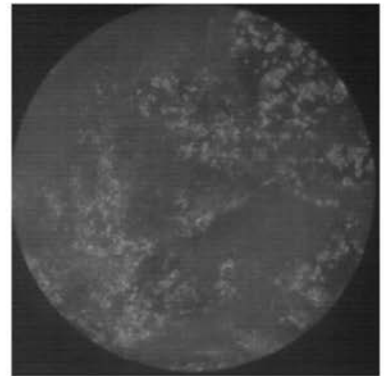
【図 1 5】

1500

作製から一ヶ月経った酸化鉄
ナノ粒子



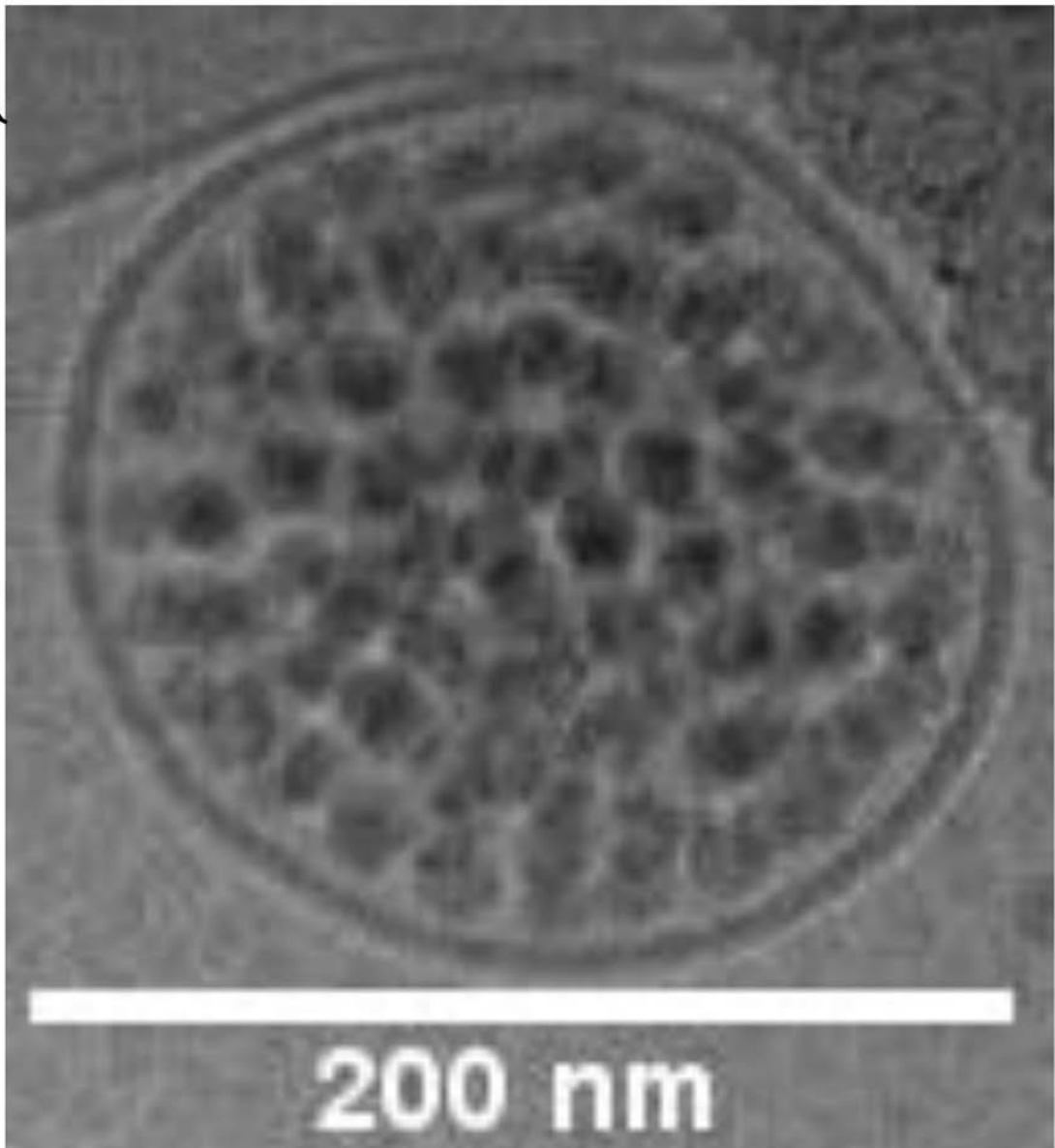
超音波照射前



超音波照射後



【図 1 6】

1600



200 nm

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2012/020389
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>A61K 9/16(2006.01); A61K 9/48(2006.01); A61K 47/48(2006.01); A61K 47/30(2006.01); A61K 49/04(2006.01); A61P 35/00(2006.01)</i>		
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 9/16; A61K 49/00; B01J 13/00; A61K 9/50; A61K 9/127; A61B 8/00; A61K 49/22; A61K 47/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: ultrasound, acoustic, nanoparticle, payload substance, opsonization, microbubble, liposome, nanoemulsion, contrast agent, drug delivery		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6416740 B1 (E. C. UNGER) 09 July 2002 See abstract, lines 58-61 in column 5, lines 5 - 13, 35 - 41 in column 6, lines 6-9 in column 19, lines 23-28 in column 67, lines 4-8 in column 74, lines 18-20 in column 75, lines 6-8 in column 87, Figure 3, and claim 1.	1-15, 33-37
Y		25-32
A		19-24
X	US 2001-0031243 A1 (E. C. UNGER) 18 October 2001 See abstract, paragraphs [0015], [0357], and claims 1, 8.	1-15, 33-37
Y		25-32
A		19-24
X	US 06036644 A (E. G. SCHUTT) 14 March 2000 See abstract and claims 1, 9, 19.	19-24
Y		25-32
A		1-15, 33-37
X	US 05716597 A (R. LOHRMANN et al.) 10 February 1998 See abstract and all claims.	19-24
Y		25-32
A		1-15, 33-37
<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 application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 18 JULY 2012 (18.07.2012)		Date of mailing of the international search report 20 JULY 2012 (20.07.2012)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer LEE, SUN HWA Telephone No. 82-42-481-5606 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/020389

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2009-0180967 A1 (E. TU et al.) 16 July 2009 See paragraphs [0033], [0037] and Figure 2.	1-15,19-37
A	US 2009-0098212 A1 (S. FOSSHEIM et al.) 16 April 2009 See abstract and claims 1, 2.	1-15,19-37
PX	S. IBSEN et al., "A novel nested liposome drug delivery vehicle capable of ultrasound triggered release of its payload", Journal of Controlled Release, Vol. 155, pp. 358-366, 02 July 2011 (Available online) See abstract, lines 34-36 in column 1 in p. 364, lines 36-41 in column 2 in p. 364, lines 9 - 12, 15 - 23 in column 1 in p. 365, and Figures 1, 5.	1-15,19-37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/020389

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.: 16-18
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 16-18 are directed to a treatment method of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT.
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:

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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2012/020389

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
US 6416740 B1	09.07.2002	AU 2001-24585 A1	16.07.2001		
		AU 2002-330886 A8	17.02.2003		
		AU 2003-238936 A1	22.12.2003		
		AU 2003-238936 A8	22.12.2003		
		AU 7796198 A	08.12.1998		
		CA 2395132 A1	12.07.2001		
		EP 0981333 A1	01.03.2000		
		EP 0981333 A4	24.04.2002		
		EP 0983060 A1	08.03.2000		
		EP 1246608 A1	09.10.2002		
		EP 1551371 A2	13.07.2005		
		JP 2001-524983 A	04.12.2001		
		JP 2001-524983 T	04.12.2001		
		JP 2003-520210 A	02.07.2003		
		JP 2010-280678 A	16.12.2010		
		US 2001-0018072 A1	30.08.2001		
		US 2002-0039594 A1	04.04.2002		
		US 2002-0041898 A1	11.04.2002		
		US 2002-0159952 A1	31.10.2002		
		US 2003-0059465 A1	27.03.2003		
		US 2004-0009229 A1	15.01.2004		
		US 2004-0091541 A1	13.05.2004		
		US 6391687 B1	21.05.2002		
		WO 01-49268 A1	12.07.2001		
		WO 03-009881 A2	06.02.2003		
		WO 03-103596 A2	18.12.2003		
		WO 98-51282 A1	19.11.1998		
		WO 98-51284 A1	19.11.1998		
		US 2001-0031243 A1	18.10.2001	EP 0901793 A1	17.03.1999
				US 6548047 B1	15.04.2003
				US 6716412 B2	06.04.2004
		US 06036644 A	14.03.2000	EP 0730434 A1	13.07.2005
				EP 0730434 B1	07.12.2005
JP 03-862276 B2	27.12.2006				
JP 09-505765 A	10.06.1997				
JP 2005-306878 A	04.11.2005				
US 05540909 A	30.07.1996				
US 05733527 A	31.03.1998				
US 06019960 A	01.02.2000				
US 06056943 A	02.05.2000				
US 2002-0065467 A1	30.05.2002				
US 2003-0044355 A1	06.03.2003				
US 2003-0220563 A1	27.11.2003				
US 2005-0049484 A1	03.03.2005				
US 6802813 B2	12.10.2004				
US 7081092 B2	25.07.2006				
US 7374744 B2	20.05.2008				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2012/020389

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		WO 96-09793 A1	04.04.1996
		WO 98-53855 A1	03.12.1998
US 05716597 A	10.02.1998	CA 2164410 C	22.02.2000
		EP 0701451 A1	08.04.1998
		EP 0701451 A1	20.03.1996
		EP 0701451 B1	19.08.1998
		EP 0852145 A2	08.07.1998
		EP 0852145 A3	05.07.2000
		JP 03-016592 B2	24.12.1999
		JP 08-509984 A	22.10.1996
		JP 11-193247 A	21.07.1999
		US 05536489 A	16.07.1996
		US 06030603 A	29.02.2000
		WO 94-28939 A1	22.12.1994
US 2009-0180967 A1	16.07.2009	WO 2009-091927 A1	23.07.2009
US 2009-0098212 A1	16.04.2009	EP 2142167 A2	13.01.2010
		WO 2008-120998 A2	09.10.2008
		WO 2008-120998 A3	05.02.2009

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 M 37/00 (2006.01)	A 6 1 M 37/00	

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

(72) 発明者 サディク シー . エセナ
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 2 0 7 5 ソラナビーチ、サンマリオドライブ 7 4 3

(72) 発明者 ドミトリ シンベリ
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 2 1 2 9 サンディエゴ、スピンドレットップ ロード
 1 2 5 1 5

(72) 発明者 スチュアート イブセン
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サンディエゴ、ジャディシャル ドライブ 9
 1 7 5、アパート . 6 4 1 7

F ターム(参考) 4C076 AA19 AA29 AA32 AA95 CC27 CC29 DD35 EE33 FF67 FF68
 4C084 AA17 MA22 MA24 MA43 NA05 NA13 NA15 ZB26
 4C167 AA80 BB45 CC04
 4C601 DE07

专利名称(译)	具有低空化阈值的声学响应粒子		
公开(公告)号	JP2014509311A	公开(公告)日	2014-04-17
申请号	JP2013548555	申请日	2012-01-05
[标]申请(专利权)人(译)	加利福尼亚大学董事会		
申请(专利权)人(译)	加利福尼亚州的盐湖城大学Rejentsu		
[标]发明人	マイケルベンチモル サディクシーエセナ ドミトリシンベリ スチュアートイプセン		
发明人	マイケル ベンチモル サディク シー. エセナ ドミトリ シンベリ スチュアート イプセン		
IPC分类号	A61K9/14 A61B8/06 A61K47/34 A61K9/127 A61K9/107 A61K45/00 A61M37/00		
CPC分类号	A61K41/0047 A61K9/0009 A61K9/1273 A61K41/0028 A61M5/007 A61M37/0092		
FI分类号	A61K9/14 A61B8/06 A61K47/34 A61K9/127 A61K9/107 A61K45/00 A61M37/00		
F-TERM分类号	4C076/AA19 4C076/AA29 4C076/AA32 4C076/AA95 4C076/CC27 4C076/CC29 4C076/DD35 4C076/EE33 4C076/FF67 4C076/FF68 4C084/AA17 4C084/MA22 4C084/MA24 4C084/MA43 4C084/NA05 4C084/NA13 4C084/NA15 4C084/ZB26 4C167/AA80 4C167/BB45 4C167/CC04 4C601/DE07		
优先权	61/430073 2011-01-05 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了用于实施和制造药物输送和成像载体的技术，系统，装置和材料，其通过聚焦超声在身体中在感兴趣的组织中被激活。在一个方面，药物递送载体可包括载体，所述载体具有包裹声敏剂颗粒的外膜和待递送至靶组织的有效负载物质。外膜可以保护声敏剂颗粒和有效负载物质免于降解和调理作用。外膜可以用肿瘤靶向配体功能化以使药物递送载体选择性地 在肿瘤区域中累积超过其他组织，以及通过减少不需要的身体组织，器官和系统的摄取来增加循环时间的药剂。

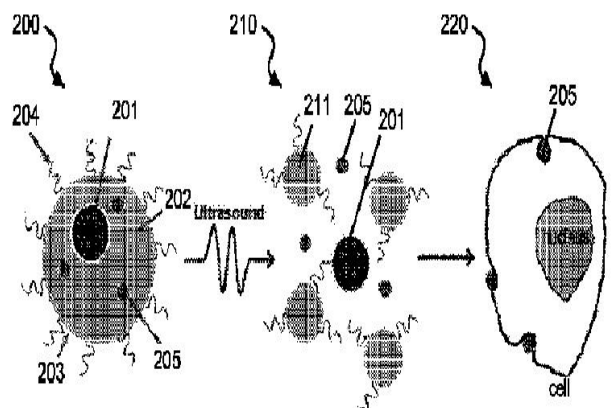


FIG. 2A