

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 9/00		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/47480
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Oktober 1998 (29.10.98)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE98/01089 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. April 1998 (17.04.98) (30) Prioritätsdaten: 197 16 815.9 22. April 1997 (22.04.97) DE 197 48 688.6 4. November 1997 (04.11.97) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: GRÄBER, Hans, Georg [DE/DE]; Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde – Universitätsklinikum, Pauwelsstrasse 30, D-52074 Aachen (DE). LAMPERT, Friedrich [DE/DE]; Klinik für Zahnerhaltung, Parodontolo- gie und Präventive Zahnheilkunde – Universitätsklinikum, Pauwelsstrasse 20, D-52074 Aachen (DE). (74) Anwalt: SCHÜSSLER, Andrea; Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>	
(54) Title: MEMBRANE SYSTEM FOR CONTROLLED TISSUE REGENERATION IN CASES OF DISEASES OF THE PERIDON- TIUM			
(54) Bezeichnung: MEMBRANSYSTEM ZUR GESTEUERTEN GEWEBEREGENERATION BEI ERKRANKUNGEN DES ZAHN- HALTEAPPARATES			
(57) Abstract The invention relates to a membrane system for controlled tissue regeneration of the peridontium, comprising a resorbable polymer membrane and anti-adhesion molecules.			
(57) Zusammenfassung Die vorliegende Erfindung betrifft ein Membransystem zur gesteuerten Geweberegeneration des Zahnhalteapparates, das eine resorbierbare Polymermembran und Anti-Adhäsionsmoleküle aufweist.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Membransystem zur gesteuerten Geweberegeneration bei Erkrankungen des Zahnhalteapparates

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Membransystem zur Parodontitis-Therapie.

5

Die Entzündung der Gingiva, hervorgerufen durch mikrobielle Plaque, führt auch aufgrund von unkontrolliertem Wachstum des Saumepithels nach apikal und Bildung von Zahnfleischtaschen unbehandelt zu einem schrittweisen Verlust von Parodontalgewebe mit Zahnausfall. Davon sind der Alveolarknochen, das Wurzelzement und der desmodontale Faserapparat betroffen. Die bisher einzige regenerative Parodontitis-Therapie besteht in einem operativen Eingriff zur Entfernung der Zahnfleischtaschen, nachfolgender gründlicher Reinigung der betroffenen Stellen und Anlegen einer Membran aus expandiertem Polytetrafluorethylen (e-PTFE, Gore-Tex) um den Zahnhals. Anschließend wird das Zahnfleisch in seine ursprüngliche Lage zurückgebracht und das Implantat bedeckt. In einem zweiten operativen Eingriff wird nach ca. 4-6 Wochen das Implantat wieder entnommen. Die Nachteile dieser Methode liegen in einer möglichen bakteriellen Besiedlung der Membran mit Wundheilungsstörungen sowie in dem langwierigen und schmerzhaften Vorgehen mit 2 operativen Eingriffen.

20

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht deshalb in der Bereitstellung eines Mittels, das die obigen Nachteile bei der Parodontitis-Behandlung vermeidet.

25

Diese Aufgabe wird durch ein Membransystem gemäß Patentanspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Insbesondere weist das erfindungsgemäße Membransystem eine resorbierbare Polymermembran sowie Anti-Adhäsionsmoleküle auf.

Als resorbierbare Polymermembran eignet sich jegliches aus Zahn- und Allgemeinmedizin bekannte durch den Körper abbaubare, d.h. resorbierbare, physiologisch unbedenkliche Polymer. Insbesondere geeignet sind Poly(D,L-Lactid), Poly(D,L-lactid-co-trimethylencarbonat), Poly(ethylen-co-propylen), Poly(ethylen-co-vinylacetat) und Poly(D,L-lactid-co-glycolid) sowie deren Blends oder Mischungen. Diese sind käuflich erhältlich (z.B. von Fa. Boehringer Ingelheim). Die Polymere können bevorzugt durch übliche Verfahren oberflächenmodifiziert werden, um die Zelladhäsion zu verbessern. Dazu geeignet ist beispielsweise die plasmainduzierte Pfropfcopolymerisation mit 2-Hydroxyethylmethacrylat oder aber die Pfropfcopolymerisation mit Acrylsäure und anschließende kovalente Anbindung von Fibronectin.

Als Anti-Adhäsionsmoleküle eignen sich alle Moleküle, die die Wirkung von Adhäsionsmolekülen aufheben. Unter Adhäsionsmolekülen werden allgemein Moleküle verstanden, die eine wesentliche Rolle in der Zell-zu-Zell- und Zell-Matrix-Kommunikation spielen, insbesondere werden darunter die Integrine verstanden, die auch im Periodontium nachgewiesen wurden (Steffensen et al., J. Periodontol. 1992, 63: 584-592). Zur Aufhebung der Wirkung der Adhäsionsmoleküle eignen sich dazu kompetitive Proteine bzw. Peptide (sog. Disintegrine oder disintegrinähnliche Proteine bzw. Peptide) sowie gegen die Adhäsionsmoleküle gerichtete Antikörper, welche käuflich erhältlich sind. Beispielsweise sind dies monoklonale Maus-Antikörper gegen die Integrin-Untereinheit α -5 (Klon IOP 49c; Immunotech, Marseille), Integrin-Untereinheit β -4 (Klon 3E1; Biomol, Hamburg) Integrin-Untereinheit α -6 (Klon GoH3; Dianova, Hamburg) und Integrin-Untereinheit β -1 (Klon P4c10; Biomol, Hamburg). Insbesondere geeignet sind gegen die Integrin-Untereinheiten α -6 und β -1 gerichtete monoklonale Antikörper, einzeln und als Gemisch.

Die Anti-Adhäsionsmoleküle werden durch den Fachmann bekannte Verfahren auf bzw. in die Polymermembran gebracht. Dies kann zur kovalenten Oberflächenbindung der Anti-Adhäsionsmoleküle beispielsweise durch die Carbodiimid-Methode geschehen. Eine andere Möglichkeit ist die Vermischung der Anti-

Adhäsionsmoleküle mit den Polymerkomponenten bei der Polymerherstellung oder die nachträgliche Oberflächenmodifizierung mittels plasmainduzierter Pfropfcopolymerisation. Zur gezielten Freigabe der Anti-Adhäsionsmoleküle werden die Polymermembransysteme lokal unterschiedlich damit bestückt.

5

10

15

20

25

30

Die Entzündung der Gingiva, hervorgerufen durch mikrobielle Plaque, führt auch aufgrund von unkontrolliertem Wachstum des Saumepithels nach apikal zu einer Verlagerung des Epithelansatzes nach apikal, dadurch wird eine Regeneration des kollagen Faserapparates verhindert und die Haltefunktion des Parodontiums ist somit eingeschränkt. Für das Anhaften der Zellen an der Basalmembran sind von den Adhäsionsmolekülen insbesondere die Integrine verantwortlich. Sie binden an die extrazelluläre Matrix und bewirken dadurch eine Modifizierung der intrazellulären Genexpression, eine Änderung der zellulären Proliferation und Differenzierung. In der epithelialen Wundheilung dienen besonders die Integrinuntereinheiten α -6 und β -1 der Verbindung der in das Wundgebiet migrierenden Keratozyten mit allen extrazellulären Matrixproteinen der Basalmembran. Die Erfindung beruht nun darauf, daß eine Wachstumshemmung des Epithels bei gleichzeitiger Wachstumsstimulation im Bindegewebe erfolgen soll. Dadurch wird eine Regeneration des funktionellen Zahnhalteapparates und eine beschleunigte Wundheilung gefördert. Erfindungsgemäß wird das Membransystem um den Zahnhals oder die Zahnhäse gelegt, bei denen die Entwicklung einer Parodontitis droht oder bei denen bereits ein erster operativer Eingriff vorgenommen worden ist, um die sich gebildeten Zahnfleischtaschen zu entfernen. In letzterem Fall läßt sich mit dem erfindungsgemäßen Membransystem dann der oben beschriebene zweite operative Eingriff vermeiden. Zur Anwendung kann eine zusammenhängende Membran oder ein System aus mehreren Membranuntereinheiten kommen. Bevorzugt ist, daß sich die Anti-Adhäsionsmoleküle nur in der Membranregion befinden, wo sie mit dem Saumepithel in Nachbarschaft treten. Dabei soll eine Wirkstoffkonzentration in Abhängigkeit vom verwendeten Anti-Adhäsionsmolekül erreicht werden. Beispielsweise werdene 1:40 - 1:400 Verdünnungen von Antikörpern gegen die Integrinuntereinheiten α -6 und β -1 verwendet.

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält das erfindungsgemäße Membransystem weiter Wachstumsfaktoren und/oder Zytokine, um gezielt das Wachstum des Paradontium-Bindegewebes zur Ausbildung eines funktionsfähigen Zahnhalteapparates anzuregen. Als Wachstumsfaktoren eignen sich die dem Fachmann bekannten, wie TGF- β oder EGF. Als Zytokine sind beispielsweise die Kolonie-stimulierenden Faktoren (CSF), Interleukine und Interferon- γ zu nennen. Die Wachstumsfaktoren und/oder Zytokine werden in bzw. an die Polymermembran auf die gleiche Weise gebracht wie vorstehend für die Anti-Adhäsionsmoleküle beschrieben. Auch für diese ist es vorteilhaft sich nur dort auf dem Membransystem zu befinden, wo sie die erwähnten Teile des Parodontiums beeinflussen können.

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält das erfindungsgemäße Membransystem weiter Antibiotika. Diese Antibiotika dienen dazu, eine Besiedlung der Membran und des Kiefers mit bakteriellen Keimen zu verhindern und den Wundheilungsprozeß ohne bakterielle Entzündung ablaufen zu lassen. Als Antibiotika eignen sich grundsätzlich alle in der Zahn- und Kieferheilkunde dem Fachmann bekannten einsetzbaren Antibiotika. Dies sind insbesondere Antibiotika, die das anaerobe Keimspektrum betreffen, wie z.B. Tetracycline, Metronidazol, Makrolid-Antibiotika, Chinolone, Lincomycine und Chloramphenicol, und in Kombination mit herkömmlichen Antibiotika, wie Penicillinen, eingesetzt werden können. Ganz besonders bevorzugt ist Metronidazol. Die Antibiotika werden ebenso wie die Wachstumsfaktoren bzw. Zytokine und die Anti-Adhäsionsmoleküle in bzw. an die Polymermembran gebracht. Allerdings ist es bevorzugt, daß sie sich überall in dem Membransystem befinden, um eine flächendeckende vollständige antibakterielle Wirkung zu erreichen. Dabei ist eine Wirkstoffkonzentration von etwa 500-2000 ppm, insbesondere etwa 1000 ppm, im Serumspiegel wirksam.

Die vorliegende Erfindung eignet sich somit bestens für die unter dem Begriff "guided tissue regeneration" (GTR) bekannte Methode periodontale Defekte zu beheben.

Die Erfindung wird weiter durch das nachfolgende Beispiel erläutert.

BEISPIEL

- 5 Biopsien von marginaler Gingiva, bestehend aus oralem Epithel und subepithelialem Bindegewebe, werden in Fragmenten von 1-2 mm² bei 37°C in 24-Well-Mikrotiterplatten mit RPMI 1640-Medium ergänzt mit L-Glutamin, 10% FCS, 50 µg/ml Gentamycin, 0,31 µg/100 ml Insulin und 5 µg/ml Hydrokortison kultiviert. Die Fragmente wurden in Gruppen geteilt und folgendermaßen ver-
- 10 fahren:
- I) ohne Zusatz von Antikörpern
 - 15 II) Zusatz von irrelevanten Kontrollantikörpern (mouse-anti-rat-Immunglobulin NK 212-005-102; Dianova, Hamburg, Konzentration 1,8 mg/ml)
 - III) Zusatz von Antikörpern gegen Integrin-Untereinheit β-1 (Klon GoH3; Dianova, Hamburg)
 - IV) Zusatz von Antikörpern gegen Integrin-Untereinheit α-6 (Klon P4-c10; Biomol, Hamburg)
 - 20 V) Zusatz von Antikörpern gegen beide Integrin-Untereinheiten in Kombination

Die Antikörper wurden in Mengen von jeweils 1:400 in Kulturmedium verdünnt und zugesetzt.

25 Bei täglichem Mediumwechsel und nach einheitlicher Kulturdauer von 8 Tagen erfolgte an Kryostatschnitten der Fragmente die histologische und immunhistologische Aufarbeitung.

30 Beurteilt wurden 1. die Epithelbildung auf der Wundmatrix, 2. Expression epithelialer Integrine und 3. rezeptorblockierende Antikörperreaktionen.

Während bei den Kontrollgruppen I und II (ohne und mit irrelevanten Antikörpern) eine vollständige Epithelisierung zu beobachten war, konnte über die erfolgreiche Integrinblockade von α -6 und/oder β -1 die Epithel-Migration inhibiert werden, wobei die Kombination beider Antikörper (Gruppe V) die besten Ergebnisse geliefert hat.

Patentansprüche

- 5 1) Membransystem zur gesteuerten Geweberegeneration des Zahnhalteapparates aufweisend eine resorbierbare Polymermembran und Anti-Adhäsionsmoleküle.
- 10 2) Membransystem nach Anspruch 1, wobei das resorbierbare Polymer ausgewählt ist aus: Poly(D,L-Lactid), Poly(D,L-lactid-co-trimethylencarbonat), Poly(ethylen-co-propylen), Poly(ethylen-co-vinylacetat) und Poly(D,L-lactid-co-glycolid) sowie deren Blends oder Mischungen.
- 15 3) Membransystem nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Anti-Adhäsionsmoleküle ausgewählt sind aus zu Adhäsionsmolekülen kompetitiven Proteinen bzw. Peptiden sowie gegen Adhäsionsmoleküle gerichteten Antikörpern.
- 20 4) Membransystem nach Anspruch 3, wobei die Antikörper gegen die Integrin-Untereinheiten α -6 und/oder β -1 gerichtet sind.
- 5) Membransystem nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Membransystem weiter Wachstumsfaktoren und/oder Zytokine aufweist.
- 25 6) Membransystem nach Anspruch 5, wobei der Wachstumsfaktor TGF- β 1 ist.
- 7) Membransystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei das Membransystem weiter ein oder mehrere Antibiotika aufweist.
- 30 8) Membransystem nach Anspruch 7, wobei das Antibiotikum Metronidazol ist.

- 9) Verwendung des Membransystems nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur gesteuerten Geweberegeneration des Zahnhalteapparates.