



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104245003 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 24

(21) 申请号 201380017915. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 02. 01

A61L 27/26 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61L 27/56 (2006. 01)

12000659. 8 2012. 02. 01 EP

A61L 27/58 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 09. 29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2013/000327 2013. 02. 01

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/113516 DE 2013. 08. 08

(71) 申请人 生物资源资本公司

地址 德国科隆

(72) 发明人 马丁·哥尔勒

(74) 专利代理机构 北京聿宏知识产权代理有限公司

11372

代理人 吴大建 刘华联

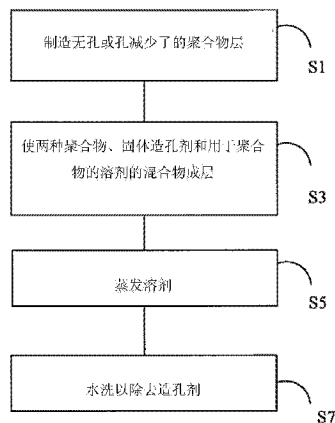
权利要求书1页 说明书2页 附图1页

(54) 发明名称

用于细胞移植的基体

(57) 摘要

本发明涉及一种细胞移植基体,其具有大于80%的连通孔隙度,并主要由可生物再吸收的聚合物的混合物构成。所述基体为盘形,该盘的一侧的表面层具有小于其他侧的平均孔密度的20%的平均孔密度。所述基体通过提供可生物再吸收的聚合物层;使水溶性固体、吸收率不同的至少两种聚合物以及用于聚合物中的一种的溶剂的混合物在所述聚合物层上成层;蒸发溶剂,然后任选地压缩该混合物;以及水洗该被压缩体以除去盐来制造。



1. 用于细胞移植的基体,其具有大于80%的联通孔隙度,主要由可生物再吸收的聚合物的混合物组成,其中所述基体是盘形的,其特征在于,盘的一侧的表面具有少于盘的其他侧的平均孔隙比例的20%的平均孔隙比例。

2. 根据权利要求1所述的基体,其中,所述基体主要由聚( $\alpha$ -羟基)碳酸构成。

3. 根据前述权利要求中的任一项所述的基体,其中,构成混合物的聚合物中的两种聚合物的吸收率相差大于5倍,其中所述两种聚合物中的每一种各自提供混合物的至少10%。

4. 权利要求1-3中任一项所述的基体用于活细胞移植以及用于使所述活细胞暴露于体外的预定的检测剂的用途。

5. 一种具有不同的连通孔隙度的用于细胞移植的基体的制造方法,所述方法包括:  
制造可生物再吸收的聚合物层;

使水溶性固体、具有不同吸收率的至少两种聚合物以及用于聚合物中的至少一种的与水不混溶的溶剂的混合物在所述聚合物层上一侧成层;

蒸发溶剂;以及

水洗团块,以将水溶性固体从所成层的层除去。

6. 根据权利要求5所述的方法,进一步包括在蒸发溶剂之后施加压力来压缩混合物。

7. 根据权利要求5或6所述的方法,其中,使用氯仿作为溶剂。

8. 根据权利要求5-7中任一项所述的方法,其中,构成混合物的聚合物中的两种聚合物的吸收率相差大于5倍,其中所述两种聚合物的每一种各自提供混合物的至少10%。

9. 根据权利要求5-8中任一项所述的方法,其中,最初制造的层的厚度为0.002-2.5mm。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中,最初制造的层的厚度为0.005-0.025mm。

11. 根据权利要求9所述的方法,其中,最初制造的层的厚度为0.25-2.0mm。

12. 根据权利要求5-11中任一项所述的方法制造的基体用于活细胞移植以及用于使所述活细胞暴露于体外的预定的检测剂的用途。

13. 权利要求1-3中任一项所述的基体或者根据权利要求5-11中任一项所述的方法制造的基体用于在用于治疗人体的治疗方法中的细胞移植的用途。

## 用于细胞移植的基体

[0001] 本申请涉及用于治疗或诊断目的的用于细胞移植 (Zellbesiedelung) 的多孔基体。

[0002] 基于由生物相容性的聚合物制成的多孔基体 (Matrices) 的细胞移植物可从 WO 2004/108810A1 获知。在这种基体中,孔是相互联通的,并且充当体内 (例如治疗) 或体外 (例如诊断) 的细胞渗透的模板。对于移植,这种可生物再吸收的基体可能用于暂时地定位移植。

[0003] 在一些申请中,已知的模板尚不能完全令人满意,尤其是在临床表现方面。

[0004] 本发明旨在改善模板的临床表现。

[0005] 为此,本发明的目的是在通常为盘形的模板的一侧上提供具有少于另一侧的平均孔隙数量的 20% 的孔隙数量的表面。该不对称结构能够以使得所移植的活细胞被更长时间地保留于其中的方式在体内安置模板。

[0006] 在另一方面,本发明提出一种制造多孔的可生物再吸收的基体的方法,其中不使用造孔剂而最初形成聚合物层,在其上放置至少两种聚合物、用于其中一种聚合物的溶剂以及水溶性造孔剂的混合物,接着蒸发所述溶剂,然后加水以除去造孔剂。在后两个步骤之间,在一种变化形式中可以发生压力的施用。两种方法都产生高度多孔的聚合物基体盘,但是其中一侧是没有孔或者至少是孔减少了的膜。尽管该膜在使用时,存在于孔中的细胞的供给是足够的,但是由于迁移而造成的损失率大大减少。在一种变化形式中,这种模板将用来支撑结缔组织,连续的聚合物层可以为例如缝合材料提供足够的强度来固定该模板。

[0007] 本发明的进一步的特征可以通过实施方案的以下说明结合权利要求和附图而获知。本发明不通过所描述的实施方案来限定,而是通过随附的专利权利要求的范围来限定。尤其是,本发明的实施方案的个别技术特征可以以与下文的实施例中不同的数量和结合来实现。在实施方案的随后的解释中,参考随附的附图,所述附图显示了根据本发明的方法的流程图。

[0008] 在一个主要的应用中,提供了用于功能性细胞、例如肝细胞和 / 或胰岛朗格罕氏 (islet-of-Langerhans, Langerhans' schen) 细胞的移植的基体。这种生化功能性细胞粘附在泡沫状基体的孔的内壁 (粘附率超过 80%, 或者在被适宜地包覆的情况下超过 95%), 并可能随基体被移植进入间皮囊 (mesotheliale Taschen) 中,其本身是理想的细胞供体。在此,在该情况中发现,没有排斥反应发生,而只有相对温和的异物刺激,这对治疗过程甚至是有利的。在几个星期之内,基体被血管化,并且被移植的细胞不再仅依赖于扩散性的供给。布置基体使孔减少了的 (或无孔的) 一侧朝内,而多孔的一侧朝外,以使由于迁移而导致的损失率保持在低的水平。平行的,发生一部分可再吸收的基体的逐渐再吸收 (在 3-4 个月内,或至少 2 和 / 或少于 7 个月),生理环境因此被以与有益于治疗成功相同的方式而受影响。令人满意的是,一部分聚合物混合物腐蚀较慢 (降解时间比至少为 5),并且在较长时间内保持结构的完整,例如 2.5-3 年 (或者至少 2 年和 / 或少于 5 年)。这些聚合物被期望基于  $\alpha$ -羟基碳酸,例如乳酸和 / 或乙醇酸,例如 PLA 或 PLGA。被认证用于人体的这些聚合物的生产商指出了在此相关的名义上的降解时间。

[0009] 首先,将一种被认证用于医疗目的的所使用的聚合物氯仿溶液倒入模子中,并在45-65°C下蒸发溶剂。接着,将具有预定颗粒尺寸分布的聚合物混合物与同样具有预定的颗粒尺寸分布的岩盐颗粒混合,并与一种聚合物氯仿溶液混合,然后放到已经存在的聚合物层上。从该粗加工产品中,溶剂在稍高的温度(45-65°C)下蒸发,若需要,通过施用压力同样可以将其压缩。接着,该粗加工产品被水洗以除去盐,并以此提供所需的有孔性。在此,最初被制造的聚合物层却保持无孔。根据应用领域,孔减少的层的厚度可以通过初始溶液的量 and 浓度来控制。例如,如果溶液的浓度低(例如氯仿中4%的可缓慢降解的聚合物),并且填充液位较小(例如0.1-1mm,例如0.3mm),那么可以获得非常薄的膜。如果需要机械上更持久的结构,可以在相同的浓度下将填充液位设置得更高(例如5-50mm,尤其是20-25mm)。在这种情况下,氯仿的蒸发相应地需要更长时间(1.5h)。在前一种情况中,产生的膜具有大约10-20 μm的厚度,后一种情况具有大约0.5-1mm的厚度。

[0010] 成层混合物的岩盐颗粒(中值在350-370 μm)比聚合物颗粒(可较慢降解的聚合物的中值在210 μm和230 μm之间,可较快降解的聚合物的中值在150 μm和170 μm之间)稍微更加粗糙。其中分布宽度(5%/95%)是相似的,即对于盐或总的聚合物分别为±85-95 μm左右。分布的形状可以是双峰或者三峰。成层混合物的组成为约96%的盐、1-1.5%的固体聚合物和其他大约3-5%溶解的聚合物,其中固体和液体的体积比例大致相等。总体上,可快速降解的聚合物的比例仅为聚合物的约5-20%。形成层的孔的总的厚度为5-6mm。在较稳定的起始层的变化形式中,选择稍微较粗糙的盐(中值大约为400-420 μm)。在这种情况下,形成层的孔的总的厚度是4-5mm,可以省去在压力下的压缩。水洗进行大约24h,然后在45-50°C下干燥。当进行包覆时,将基体放置在孔减少的一侧,因此主要是开孔侧被覆盖。

[0011] 本文所使用的聚合物可从例如Evonik获得,并分别具有以下名称:L210s、L210、L09s、L207s、206s(可较慢降解的PLGA聚合物)或者RG502、RG502H、RG505(可较快降解的PLGA聚合物)。

[0012] 在一种体外应用中,根据以上说明的基体可用来固定被暴露于生物反应器中的试剂的细胞。例如,如此限定的细胞类型可能被研究关于它们是否对争议中的药物有反应,然后可以根据以此获得的观察结果来计划治疗。同样的,药物的开发可被简化,因为任何毒性都在早期被辨认出来。

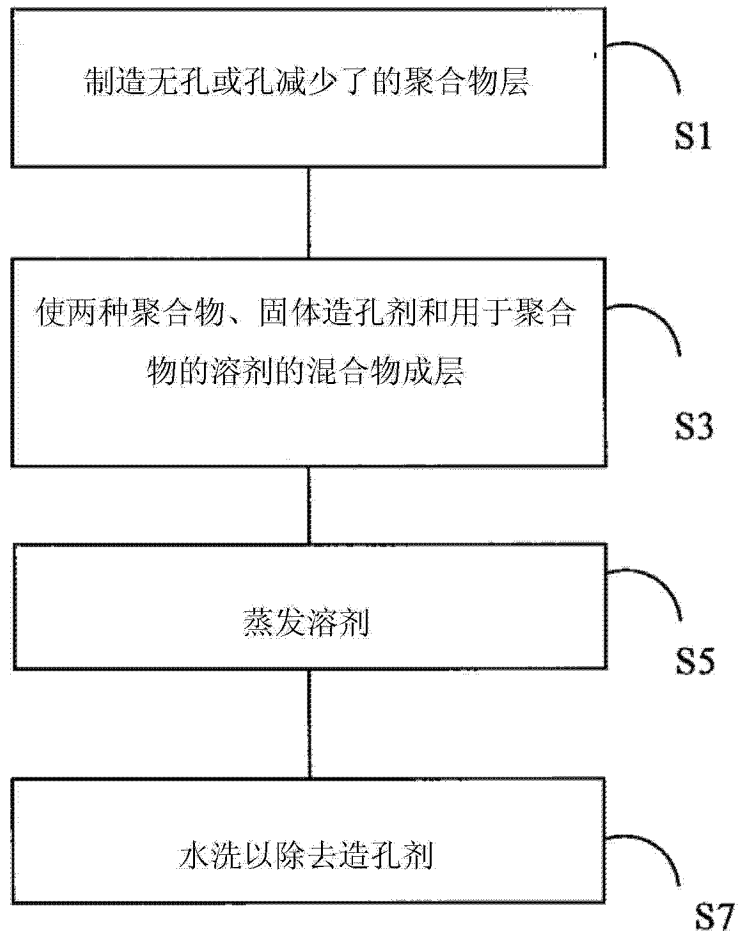


图 1