



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201204334 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 02 月 01 日

- (21)申請案號：100112736 (22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 04 月 12 日
- (51)Int. Cl. : A61F2/02 (2006.01) C08G77/04 (2006.01)
C08L83/04 (2006.01) A61K47/30 (2006.01)
- (30)優先權：2010/04/12 美國 61/342,377
- (71)申請人：美國邁阿密大學(美國) UNIVERSITY OF MIAMI (US)
美國
康維吉生物科技有限公司(美國) CONVERGE BIOTECH INC. (US)
美國
- (72)發明人：安德森 雀立歐 史塔博 ANDERSON, CHERYL STABLER (US)；佩卓扎 艾琳 PEDRAZA, EILEEN (US)；法瑞克 克里斯佛 A FRAKER, CHRISTOPHER A. (US)；利寇迪 卡密羅 RICORDI, CAMILLO (US)；布其沃德 彼得 BUCHWALD, PETER (US)；肯由 諾瑪 蘇 KENYON, NORMA SUE (US)；印博瑞迪 路卡 INVERARDI, LUCA (US)；皮拉吉 安東尼羅 PILEGGI, ANTONELLO (IT)；拉塔 保羅 LATTA, PAUL (US)；賀貝爾 傑佛瑞 HUBBELL, JEFFREY (US)；威佛 傑西卡 WEAVER, JESSICA (US)
- (74)代理人：陳長文
- 申請實體審查：有 申請專利範圍項數：40 項 圖式數：19 共 59 頁

(54)名稱

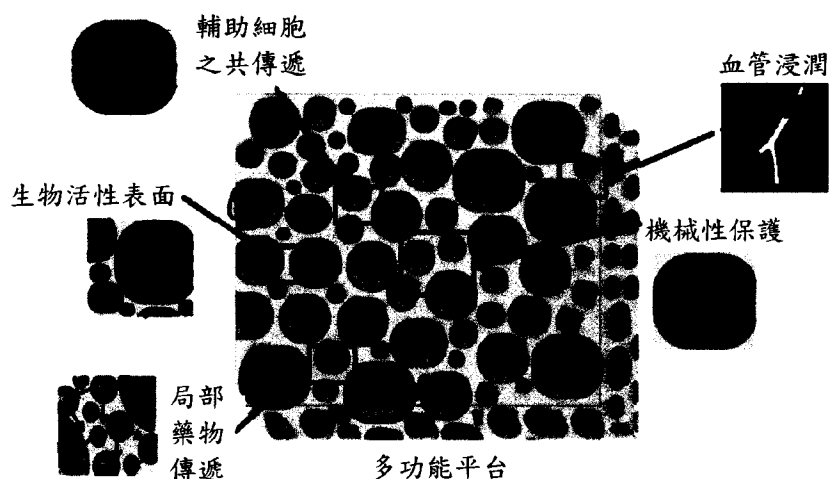
用於細胞移植之多孔生物工程支架

MACROPOROUS BIOENGINEERED SCAFFOLDS FOR CELL TRANSPLANTATION

(57)摘要

本發明提供一種用於改良整體細胞植入之高度多孔、生物相容且生物穩定之支架。此等支架可為植入細胞提供機械性保護，提供自病患之可回收性，及容許裝置內之血管形成及使細胞空間分佈於該裝置內之構件。該支架表面可經過一或多種不同黏附性蛋白及視需要選用之其他生物因子改質，以增強細胞黏附性及存活率。

B





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201204334 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：100112736

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 04 月 12 日

(51)Int. Cl. : A61F2/02 (2006.01) C08G77/04 (2006.01)
C08L83/04 (2006.01) A61K47/30 (2006.01)

(30)優先權：2010/04/12 美國 61/342,377

(71)申請人：美國邁阿密大學(美國) UNIVERSITY OF MIAMI (US)

美國

康維吉生物科技有限公司(美國) CONVERGE BIOTECH INC. (US)

美國

(72)發明人：安德森 雀立歐 史塔博 ANDERSON, CHERYL STABLER (US)；佩卓扎 艾琳 PEDRAZA, EILEEN (US)；法瑞克 克里斯佛 A FRAKER, CHRISTOPHER A. (US)；利寇迪 卡密羅 RICORDI, CAMILLO (US)；布其沃德 彼得 BUCHWALD, PETER (US)；肯由 諾瑪 蘇 KENYON, NORMA SUE (US)；印博瑞迪 路卡 INVERARDI, LUCA (US)；皮拉吉 安東尼羅 PILEGGI, ANTONELLO (IT)；拉塔 保羅 LATTA, PAUL (US)；賀貝爾 傑佛瑞 HUBBELL, JEFFREY (US)；威佛 傑西卡 WEAVER, JESSICA (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：40 項 圖式數：19 共 59 頁

(54)名稱

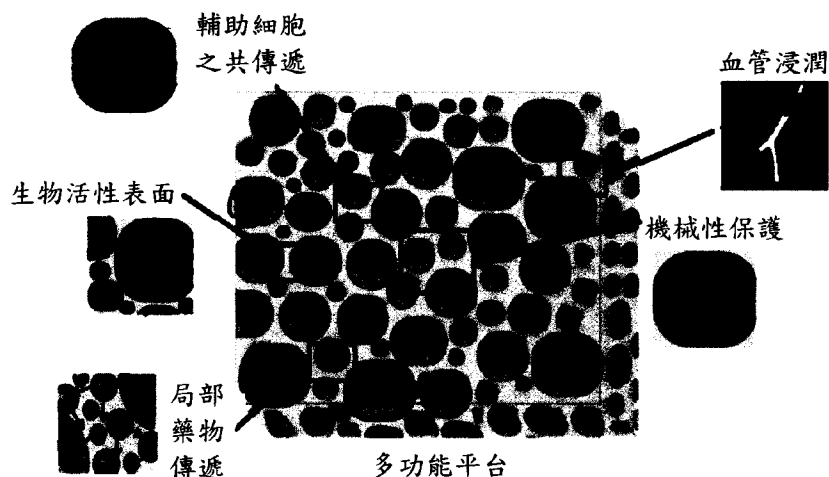
用於細胞移植之多孔生物工程支架

MACROPOROUS BIOENGINEERED SCAFFOLDS FOR CELL TRANSPLANTATION

(57)摘要

本發明提供一種用於改良整體細胞植入之高度多孔、生物相容且生物穩定之支架。此等支架可為植入細胞提供機械性保護，提供自病患之可回收性，及容許裝置內之血管形成及使細胞空間分佈於該裝置內之構件。該支架表面可經過一或多種不同黏附性蛋白及視需要選用之其他生物因子改質，以增強細胞黏附性及存活率。

B



六、發明說明：

【先前技術】

細胞替代療法係用於各種不同疾病之一有希望的可能治療方案。許多臨床病況及疾病狀態源自缺乏由活細胞或組織產生之因子，包括(例如)胰島產生不足之糖尿病；多巴胺產生下降之帕金森疾病；及促紅血球生成素不足之貧血。此等病況或疾病可以產生缺失或不足因子之細胞/組織植入來治療。

然而，在細胞替代療法領域中仍存在許多挑戰。移植細胞之存活率及功能性會因(例如)缺少機械保護、缺少必需因子/營養(例如，由於血管系統之血管生成不足以或無法觸及移植部分)及炎症反應而折衷。因此，需要有一種使植入細胞之存活率及功能性最優化之方法及裝置。

1型糖尿病(T1DM)係一種自身免疫疾病，其特徵在於胰腺胰島中發現之產胰島素 β 細胞會解構。產胰島素細胞之臨床移植提供一種藉由(例如)同種異體胰島至糖尿病接受者之肝內移植來恢復 β 細胞功能之方案(參見圖1A)。此移植可獲得改良之血糖濃度控制、較高的C-肽濃度及數年內對胰島素不依賴，延遲糖尿病相關併發症之發生及降低其強度。然而，臨床產胰島素細胞移植之成功會因移植細胞受高速率破壞及/或變得無功能而受阻。此部份由植入位點之標準肝內位置決定，其係易受機械應力及炎症反應，曝露於高藥物及毒素負載及令移植細胞無法回收。於替代位點處(如皮下空間)移植產胰島素細胞可緩解許多此等問

題。然而，將產胰島素細胞再定位至替代位點需要充分的機械保護及空間分佈移植細胞，以及到達完全成熟之血管系統。

【發明內容】

為解決此等問題，吾人已設計及發展一種可提供細胞結構支撐及可調節空間分佈而不阻礙營養傳遞之高度多孔有機聚矽氧(聚二甲基矽氧烷，PDMS)支架。該支架提供提供細胞優異且更具生理性環境以獲得改良之存活率及功能。此外，該支架材料自身可經改質以提供改良細胞之植入、生存、功能及長期存活率之生物活性劑之持續傳遞。此等製劑包括(但非限於)產氧劑、釋放劑或傳輸增強劑、生長因子或生長刺激因子、消炎化合物及免疫抑制劑。表1(以下)說明該支架之特定優點及其等重要性之選擇原因。

所需參數	原因
生物相容性及生物穩定性	未來可回收性
高彎曲度	高細胞保留及尺寸可調節之均勻空間分佈
不同的孔徑	
高孔隙度	營養物與廢物之最大交換
高氧擴散性	
大孔徑	促進血管浸潤

植入細胞可係(例如)產胰島素細胞。呈支架形式之產胰島素細胞之結構支撐對降低會導致細胞之營養利用率下降及進而導致細胞死亡之細胞丸化及凝集甚為重要。高度多孔有機聚矽氧支架係藉由建立一支撐及空間分佈產胰島素細胞之結構來使營養傳遞最大化，且亦促進血管浸潤。

於替代移植位點中之高度多孔、生物相容及生物穩定的

支架提供一改良整體細胞植入之合理方案(圖1B)。此等支架提供細胞機械保護，提供可回收性且對於具有高代謝要求之細胞(例如，產胰島素細胞)容許裝置內血管生成及將細胞空間分佈在該裝置內之構件以避免因高代謝密度需求(主要)由於擴散受限致使營養供給不足而導致細胞死亡。支架表面及空隙空間，或支架材料自身可以一或多種不同的黏附性蛋白及視需要其他生物因子(例如，消炎因子)改質以增強細胞黏附性及存活率。

【實施方式】

本發明係關於具有可控制孔徑範圍之生物相容支架。於一些實施例中，該孔徑範圍係25至650 μm 。於特定實施例中，該孔徑範圍係250-425 μm ，此有利於容置(例如)一般150 μm 直徑之胰腺胰島。於其他實施例中，該孔徑較小(例如，225 μm 、200 μm 、175 μm 、150 μm 、100 μm 或更小)以容置較小細胞(例如，較小胰島或個別細胞或諸如 β 細胞及其他治療劑釋放細胞之個別細胞之聚結物)。於特定實施例中，孔徑可較大，(例如)以容置較大細胞或組織樣品。亦可將孔製成具有混合孔徑。於特定實施例中，支架具有50至500 μm 、60至450 μm 或75至400 μm 範圍之孔徑。孔徑可隨機分佈或可製造形成圖案。例如，可將孔製成支架頂部具有較大孔及底部具有較小孔或相反，以產生孔徑梯度。支架可完全或部份為大孔。支架於延伸植入後具有高生物相容性且適於活體內應用。於一些實施例中，細胞(例如，產胰島素細胞)之存活率及功能性不會因負載於支

架中而受負面影響。於一些實施例中，細胞(例如，產胰島素細胞)及/或細胞聚結物係均勻分佈於整個支架上。

大孔支架可利用任何賦予高孔隙度之適宜技術自任何適宜生物相容材料製成。於特定實施例中，支架係利用高內相乳化(HIPE)聚合、纖維鍵結、氣體發泡、臨界冷凍乾燥及/或電紡製造。

於特定實施例中，支架係利用溶劑澆鑄及顆粒溶出技術(SCPL)製造。該等支架可由(例如)聚矽氧製造。於一些實施例中，支架係由有機聚矽氧製造。聚矽氧模具可藉由組合不同比例之顆粒與聚矽氧聚合物所建造。於一些實施例中，該比例係50至90體積%。於一些實施例中，該比例係50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99體積%顆粒相對於聚矽氧聚合物。於一實施例中，顆粒相對於聚矽氧聚合物之比例係90體積%。於一些實施例中，該等顆粒係鹽晶體、凝膠球、石蠟球、酒石酸鈉、檸檬酸鈉及/或葡萄糖粒。於特定實施例中，該等顆粒係氯化鈉。於特定實施例中，該聚矽氧聚合物係有機聚矽氧聚合物聚二甲基矽氧烷(PDMS)。孔徑及孔隙度可個別藉由利用本技術中已知方法分別改變粒徑及聚合物相對於顆粒比例控制。負載有顆粒/聚矽氧混合物之模具可根據待移植之細胞類型及植入位點改變尺寸。於一些實施例中，支架具有20至99%、30至99%、40至98%、50至97%、60至96%或70至95%之孔隙度。

支架可為任何所需形狀。支架之形狀可視(例如)待植入之細胞類型、預期治療作用及/或植入位置變化。技術者可評估適宜預期應用之形狀。

就增強之細胞黏附性而言，支架表面或空隙空間可經一或多種不同黏附性蛋白或基質改質或填充。於特定實施例中，可將細胞外基質(ECM)材料或黏附性蛋白(例如，I或IV型膠原、基膜素、纖維連接蛋白、白蛋白、纖維蛋白或精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸肽)或促進細胞黏附性之非天然材料(例如，聚-I-離胺酸、白蛋白、藻酸鹽或瓊脂糖)併入至支架中或其上(參見，例如，Beck等，Tissue Eng 13(3):1-11 (2007))。空隙空間可以基質(例如，膠原蛋白、纖維蛋白、聚(乙二醇)等)(於細胞負載前/期間/後，部份地或完全地)填充。該基質可包含有助於植入支架中之細胞之黏附性、長期存活及/或功能之製劑，如生長因子、消炎因子及/或促血管/促黏附性製劑，例如，PDGF、纖維連接蛋白等。可將該等製劑直接結合至基質或簡單地混合於材料中。於一些實施例中，可藉由(例如)製劑與有機聚矽氧材料混合，然後引發聚合而將該等製劑併入至支架材料中。於特定實施例中，將纖維蛋白膠負載於支架之空隙空間中以有助細胞保留。於特定實施例中，將PDGF負載於支架之空隙空間中。於特定實施例中，支架表面係經纖維連接蛋白塗覆。於一些實施例中，支架表面係經纖維連接蛋白塗覆，並將纖維蛋白膠及PDGF個別或以各種組合負載於空隙空間中。於其他實施例中，將纖維蛋白膠負載於無

PDGF或纖維連接蛋白之支架中。

於一些實施例中，支架在大於50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%空隙空間下具有穩定能力。於特定實施例中，支架在大於80%空隙空間下具有穩定能力。

於特定實施例中，本發明係關於具有可控制孔徑及孔隙度之生物相容、高度多孔有機聚矽氧支架，其可經製造及用於產胰島素細胞之移植。該等支架可藉由解決產胰島素細胞之空間分佈、機械保護及裝置內血管生成之問題而用於將細胞移植至替代非肝位點。

除被視為用於調節糖及能量代謝及治療糖尿病之一較佳細胞/組織類型之胰腺胰島外，本發明之支架及涉及彼等支架之方法亦可用於其他細胞治療模型系統中。用於植入之細胞可藉由(例如)在體內表現治療因子而賦予治療益處。此等細胞之實例包括(但非限於)產生下列各者之細胞：多巴胺以治療帕金森病(Minquez-Castellanos等，J Neurol Neurosurg Psychiatry in press (2007))；生長激素以治療侏儒症(Chang等，Trends Biotechnol 17:78-83 (1999))；因子VIII及因子IX(Chang等，Trends Biotechnol 17, 78-83 (1999))以治療血友病；及促紅血球生成素以治療貧血(Rinsch等，Kidney Intern 62:1395-1401 (2002))。可設想更多有益的細胞產生因子或細胞/組織活性物。所植入之細胞可表現及/或傳遞一種以上之治療因子，或可包含傳遞一或多種治療因子之兩或更多種細胞類型。所植入之細胞亦可或者以不同方式表現及/或傳遞促效劑、類

似物、衍生物、嵌合體、融合物或治療因子片段以賦予治療作用。

所植入之細胞亦可(例如)藉由提供(例如)將基質轉化成具有有利作用及/或代謝、鉗合或吸收有害物質之產物之酶活性或以不同方式賦予治療作用而無分泌可擴散因子。所植入之細胞可經由生物材料連接因子(如細胞表面連接因子)賦予治療作用。

細胞可以天然方式賦予治療作用，而無需基因改質，或可經基因工程方式實現。例如，細胞可以表現一或多種治療及/或輔助細胞因子之表現載體轉染。於另一實施例中，該等細胞可包含經表現一或多種治療及/或輔助細胞因子之表現載體轉染之細胞，由該等細胞組成或基本上由該等細胞組成。此等表現可以固有或經調解方式(例如，以對支架所處之血流或組織中生物調節劑之反應方式)來進行。此等及其他表現系統及其等製造方法係為熟練技術者熟知。

該等細胞可為(例如)自體、異源、同基因、異基因或異種細胞。該等細胞可自死組織或自活組織獲得。該等細胞可屬於非哺乳動物或哺乳動物來源、非人來源或人來源本身或非其本身。於其他細胞類型中，該等細胞可為分化多能性、多能、分化全能或已分化胚胎或成年幹細胞；原分化細胞；或無限增殖細胞。幹細胞可包含(例如)自臍帶血、羊水、經血、胎盤、Wharton膠、細胞滋養層等獲得之細胞。該等細胞亦可包含上述細胞類型之任意組合。

提供治療作用之細胞可單獨或與提供生長因子及/或其他有益製劑之其他細胞類型(例如,賽特利氏(Sertoli)細胞、間葉及骨髓衍生細胞、內皮母細胞、幹細胞、調節T細胞 T_{reg} 等,各一般稱為植入「輔助細胞」)組合植入以建造、維持或擴展所植入之細胞,或以其他方式輔助所植入細胞賦予治療作用。於一實施例中,將提供治療作用之細胞與間葉幹細胞(MSC)一起植入。

本發明之支架及方法可用於治療包括(但非限於)下列各者之疾病:糖尿病、帕金森病、貧血、侏儒症、血友病、澱粉樣變性病、免疫系統疾病、炎症、慢性疼痛、關節炎、高血壓、神經系統疾病、代謝疾病、內分泌疾病、淋巴增生性疾病、骨髓增生性疾病、骨髓增生不良症候群、幹細胞疾病、吞噬細胞疾病、組織細胞疾病、紅血球或血小板異常、血漿細胞疾病、急性白血病、慢性白血病、惡性腫瘤(乳癌、尤文(Ewing)肉瘤、神經母細胞瘤、腎細胞癌等)、甲狀腺機能低下、腦下垂體機能低下、性腺低能症、移植失敗、移植物對抗宿主疾病(GVD)、靜脈閉塞疾病、源自移植前化療之副作用(如出血過多、不孕症及腎以及肺和心臟併發症),及熟練技術者所認知的其他疾病及疾病。

可藉由所移植之細胞傳遞之示例性治療因子包括(但非限於)下列一或多者:胰島素、胰高血糖素、促紅血球生成素;因子VIII;因子IX;血紅素;白蛋白;諸如多巴胺、 γ -胺基丁酸(GABA)、穀胺酸、血清素、正腎上腺素、

腎上腺素及乙醯膽鹼之神經傳遞質；諸如神經生長因子(NGF)、腦源性神經營養因子(BDNF)、神經營養素-3(NT-3)、神經營養素4/5(NT-4/5)、睫狀神經營養因子(CNTF)、膠質細胞源性神經營養因子(GDNF)、膽鹼能分化因子/白血病抑制因子(CDF/LIF)、表皮生長因子(EGF)、類似胰島素生長因子(IGF)、纖維母細胞生長因子(FGF)及血小板源性生長因子(PDGF)之生長因子；諸如P物質、兒茶酚胺、強啡肽、腦內啡或腦啡肽之疼痛抑制素；諸如副甲狀腺素或生長激素之激素；諸如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)之免疫調節劑；神經調節物質；淋巴活素；細胞介素；輔助因子；抗體；適體及酶。一或多種治療因子及自細胞產生及釋放，及藉此自支架產生及釋放此等治療因子至受試者之濃度的選擇係由待治療受試者(例如，病患)、所選擇之植入位置及其他因素決定，其等可藉由熟練技術者根據經驗輕易決定。

於一些實施例中，治療因子具有類似胰島素或胰島素調節活性。於特定實施例中，治療因子係胰島素或胰島素類似物。於特定實施例中，治療因子係胰島素之前驅體形式，如前胰島素原或胰島素原。於特定實施例中，治療因子係胰島素嵌合或融合蛋白。

於一些實施例中，治療因子係因接收來自宿主之刺激或信號(例如，血液中葡萄糖、激素、代謝信號傳導劑、化學信號傳導分子等之濃度變化)而自所植入之細胞釋放。

於一些實施例中，治療作用包含調節血液中之胰島素濃

度。於特定實施例中，治療作用包含調節血液中之葡萄糖濃度。於其他實施例中，治療作用包含調節病患血液中一或多種其他生物反應調節劑之濃度。

於一些實施例中，支架亦含有有助於移植細胞之長期存活及功能之製劑。此等製劑包括(例如)用於血管生成之製劑(例如，VEGF)、消炎劑(例如，抗-TNF- α 、利索茶鹼(lisofylline)、己酮可可鹼(pentoxifilline)、 α -1-抗胰蛋白酶、介白素-1(IL-1)、介白素-10(IL-10)、介白素-1受體拮抗劑肽(IRAP)、TGF- β 、IL-1之抗體、 γ -干擾素、TNF- α 、抗組織因子、補體抑制劑、COX-2抑制劑、鈣調神經磷酸抑制劑(例如，環孢素、他克莫司(tacrolimus)等)、糖皮質素(例如，地塞米松(dexamethasone)、皮質固醇、潑尼松龍(prednisolone)、依碳酸氣替潑諾(loteprednol etabonate)、丙酮化氟新龍(flucinolone acetonide)等)、淋巴細胞運輸抑制劑(例如，芬戈莫德(fingolimod)等)、蛋白激酶C抑制劑、增殖信號抑制劑(例如，西羅莫司(sirolimus)、依維莫司(everolimus)、JAK3抑制劑等)、核苷酸合成抑制劑(例如，硫唑嘌呤(azathioprine)、黴酚酸MPA/黴酚酸酯(mycophenolate mofetil)MMF、來氟米特(leflunomide)等)及細胞表面受體活化抑制劑(例如，消耗或非消耗抗體及融合蛋白，包括(但非限於)抗胸腺細胞免疫球蛋白ATG、莫羅莫那(muromonab)-CD3、阿來組單抗(alemtuzumab)、利妥昔單抗(rituximab)、達克力莫(daclizumab)、巴利昔單抗(basiliximab)、別拉西普

(belatacept)、坎帕斯(campath)-1H等))；產氧、釋氧或氧傳輸增強劑(例如，經封裝之過氧化物或全氟碳化合物(PFC))；細胞保護/抗凋亡劑/分子、耐受性誘導分子(例如，Zheng等，Immunity 19(4):503-514 (2003)中所述之Power-Mix，或其中該Power-Mix包含(1)IL-2之激動劑、免疫球蛋白及/或融合蛋白；(2)拮抗劑型之IL-15相關細胞溶解免疫球蛋白及/或融合蛋白；及(3)正或負雷帕黴素)；IL-10及IL-10融合物；共刺激阻斷劑，包括抗體、融合蛋白、小分子、半乳糖凝集素-1、適體、淋巴細胞活化標記物之抗體及適體(例如，4BB1)；黏附性分子(例如，CD103等)及將信號傳遞至淋巴細胞中所涉及之其他分子(例如，LFA1、LFA3、4BB1及CD45等)；EBNA樣分子；IL-35-、IL12-及IL12-受體-定靶抗體及適體；抗IL-17抗體；抗IL-17受體抗體及適體；及抗IL-6抗體及IL-6受體抗體及適體；等)；免疫抑制劑(例如，oATP、鈣調神經磷酸抑制劑(例如，環孢素、他克莫司(tacrolimus)等)、蛋白激酶C抑制劑(例如，AEB071等)、增殖信號抑制劑(例如，西羅莫司、依維莫司、JAK3抑制劑等)、核苷酸合成抑制劑(例如，硫唑嘌呤、黴酚酸MPA/黴酚酸酯MMF、來氟米特、FK778等)、糖皮質素(例如，地塞米松、皮質固醇、潑尼松龍(prednisolone)、依碳酸氯替潑諾(loteprednol etabonate)、丙酮化氯新龍(flucinolone acetonide)等)、淋巴細胞運輸抑制劑(如神經胺醇-1-磷酸鹽受體1調節劑等)；細胞表面受體活化抑制劑(如消耗或非消耗抗體及融

合蛋白，包括(但非限於)抗胸腺細胞免疫球蛋白ATG、莫羅莫那(muromonab)-CD3、阿來組單抗、利妥昔單抗、達克力莫(daclizumab)、巴利昔單抗、別拉西普(belatacept)、坎帕斯(campath)-1H、普樂(Prograf)、抗IL-2r、MMF、FTY、LEA及其他者等);產氧、釋氧或氧傳輸增強產物;及生長因子(例如，IGF-I、IGF-II、INGAP、腸促胰島素類似物-4、GLP-1、HGF等)。於特定實施例中，該等製劑中之一些或全部係以緩慢/持續釋放特性，例如，於緩慢/持續釋放盒、塗層、囊封、微米或奈米球等中釋放。於特定實施例中，該等製劑中之一些或全部緩慢/持續釋放維持至少3、10、12、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、365、500或730天，或足以獲得所需目的之任何其他時間期。於一實施例中，支架包含緩慢釋放之地塞米松。於一實施例中，支架包含緩慢釋放之芬戈莫德(FTY720)。

於一些實施例中，製劑係自支架釋放。可將該製劑併入至(例如)3-D調配物中。於一些實施例中，該等製劑中之一些或全部係以緩慢/持續釋放特性釋放。於特定實施例中，該製劑係消炎劑，例如，抗TNF- α 、利索茶鹼、己酮可可鹼、 α -1-抗胰蛋白酵素、介白素-1(IL-1)、介白素-10(IL-10)、介白素-1受體拮抗劑肽(IRAP)、TGF- β 、IL-1之抗體、 γ 干擾素、TNF- α 、抗組織因子、補體抑制劑、COX-2抑制劑、鈣調神經磷酸抑制劑(例如，環孢素、他克莫司等)、糖皮質素(例如，地塞米松、皮質固醇、潑尼松

龍、依碳酸氯替潑諾、丙酮化氟新龍等)、淋巴細胞運輸抑制劑(例如,芬戈莫德等)、蛋白激酶C抑制劑、增殖信號抑制劑(例如,西羅莫司、依維莫司、JAK3抑制劑等)、核苷酸合成抑制劑(例如,硫唑嘌呤、黴酚酸MPA/黴酚酸酯MMF、來氟米特等)及細胞表面受體活化抑制劑(例如,消耗或非消耗抗體及融合蛋白,包括(但非限於)抗胸腺細胞免疫球蛋白ATG、莫羅莫那(muromonab)-CD3、阿來組單抗、利妥昔單抗、達克力莫(daclizumab)、巴利昔單抗、別拉西普(belatacept)、坎帕斯(campath)-1H等)。於特定實施例中,該製劑係疏水劑。於一些實施例中,該製劑包含地塞米松、潑尼松龍、環孢素、他克莫司、西羅莫司、依維莫司、芬戈莫德(FTY720)、黴酚酸等。諸如PDMS之有機聚矽氧材料特別適宜用於疏水藥物之持續釋放調配物之製備(Malcolm, K等 J. Contr. Rel. 2003, 90, 217)。然而,可用於製備疏水藥物之持續釋放調配物之任何材料均適宜用於本發明及由本發明涵蓋。

於一些實施例中,支架係用作一封入含待釋放製劑之內部儲集系統之膜。於一些實施例中,將該製劑併入至支架結構本身中。於特定實施例中,該支架形成一含製劑之非侵蝕基質系統,其中該製劑係分散於聚合物中。可自市面購置許多用於持續釋放助孕酮傳遞(6個月至7年)之基於矽氧烷之植入物(Croxatto, H. B. Contraception 2002, 65, 15)證明此方法之可行性及安全性。於一些實施例中,支架之材料亦用作持續釋放治療劑之聚合物基質材料。

或者，或此外，可將該製劑併入至不連接至支架中含有植入細胞之部分的元件中，隨後在植入時置於支架結構中、周圍或鄰接位置處。於一些實施例中，該獨立元件係無孔。該獨立元件可具有任何可針對本發明目的有效釋放製劑之形狀。於一些實施例中，可將該獨立元件成型為盤、桿或外籠。於特定實施例中，該獨立元件係一包圍支架之外籠。於特定實施例中，該獨立元件係經設計以週期地更換及在必需時提供持續釋放之所併入製劑達任意延長之時間。所併入之製劑可於(例如)更換前釋放數小時、數天、數周或數年時間。該獨立元件可由(例如)PDMS及/或可製造及釋放製劑之任何生物相容材料製成。於一些實施例中，獨立元件係由與支架相同之材料製成。於一些實施例中，該獨立元件釋放與支架相同之製劑。

於一些實施例中，可將消炎分子栓於或併入至支架中以降低對植入物之宿主炎症反應。示例性消炎劑包括(例如，抗TNF- α 、利索茶鹼、己酮可可鹼、 α -1-抗胰蛋白酵素、介白素-1(IL-1)、介白素-10(IL-10)、介白素-1受體拮抗劑肽(IRAP)、TGF- β 、IL-1之抗體、 γ 干擾素、TNF- α 、抗組織因子、補體抑制劑、COX-2抑制劑、鈣調神經磷酸抑制劑(例如，環孢素、他克莫司等)、糖皮質素(例如，地塞米松、皮質固醇、潑尼松龍、依碳酸氯替潑諾、丙酮化氟新龍等)、淋巴細胞運輸抑制劑(例如，芬戈莫德等)、蛋白激酶C抑制劑、增殖信號抑制劑(例如，西羅莫司、依維莫司、JAK3抑制劑等)、核苷酸合成抑制劑(例如，硫唑嘌呤

呤、黴酚酸MPA/黴酚酸酯MMF、來氟米特等)及細胞表面受體活化抑制劑(例如，消耗或非消耗抗體及融合蛋白，包括(但非限於)抗胸腺細胞免疫球蛋白ATG、莫羅莫那(muromonab)-CD3、阿來組單抗、利妥昔單抗、達克力莫(daclizumab)、巴利昔單抗、別拉西普(belatacept)、坎帕斯(campath)-1H等)。於一實施例中，將諸如膠原蛋白I或IV型、基膜素、纖維連接蛋白、纖維蛋白或精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸肽之細胞外基質(ECM)合併至支架表面上(Beck等人，Tissue Eng 13(3):1-11 (2007))。除表面改質外，亦可以基質(例如，膠原蛋白、纖維蛋白、聚乙二醇、藻酸鹽等)填充空隙空間。該基質可包含生長因子、表面黏附性蛋白或其他血管促進/黏附性增強劑，例如，PDGF、纖維連接蛋白等。該等製劑可直接栓於該基質中或簡單地混合於材料內。於特定實施例中，該等製劑可經塗覆或囊封以獲得緩慢釋放性質。於一實施例中，支架個別或以各種組合方式將纖維連接蛋白併入於支架表面上及纖維蛋白及/或PDGF併入於空隙空間中。於另一實施例中，經基膜素塗覆之支架係經膠原蛋白I基質個別或以各種組合方式填充。於一實施例中，支架材料係併入地塞米松及/或芬戈莫德(FTY720)。

可將本發明之支架植入受試者內任何適宜位置處。於特定實施例中，植入位置可為(例如)網膜內(網膜窩內)、皮下、腹膜內、肌肉內或腎包膜下。於一實施例中，植入位置係皮下。

可將本發明之支架植入至任何動物宿主或受試者中。於一些實施例中，該宿主或受試者係哺乳動物。於一特定實施例中，該宿主或受試者係人。

於以上實施例中之任何一者中，支架可進一步包含一鏈栓以有助於操縱及/或自受試者回收支架。

實例

實例1：大孔聚矽氧支架之製造

大孔聚矽氧支架係利用溶劑澆鑄及顆粒溶出技術(SCPL)製造。聚矽氧聚合物係藉由將PDMS單體與鉑觸媒，以4:1體積比混合所製成。聚矽氧模具係藉由組合不同比例(50-90體積%)之氯化鈉晶體(Mallinckrodt Baker, NJ)(250至425 μm 直徑)及聚矽氧聚合物溶液建造。將鹽/聚矽氧混合物負載於預先製造之不鏽鋼模具(10 mm直徑，2 mm高度)中，加壓至1500 psi及在37°C下培養48小時以完成聚矽氧交聯。隨後將NaCl自支架溶出持續72小時。孔徑及孔隙度係個別藉由分別改變粒徑及聚合物相對於顆粒之比例控制。為增強細胞黏附性，藉由在250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之纖維連接蛋白下隔夜培養來改質支架表面。

實例2：大孔聚矽氧支架之特徵化

支架之大孔結構係以攝影方式(圖2A)及藉由掃描式電子顯微法(SEM)(圖2B、C)檢視。如SEM圖像所示，支架係高度多孔且孔徑代表鹽晶體直徑。此外，該等孔係互連且曲折。最終孔隙度係利用光澤測定及重量(乾法及濕法)測定，及利用下列方程計算：

$$porosity = \frac{m_w/p_w}{m_w/p_w + m_{silicone}/p_{silicone}}$$

以90%重量/體積氯化鈉晶體製造之支架的孔隙度經測得為85%±5%重量/體積(圖2D)。

經蛋白改質之支架表面係經抗纖維連接蛋白-生物素一級抗體及鏈黴抗生物素蛋白-FITC次級抗體染色，及藉由共焦成像檢視。螢光成像證實具有蛋白塗層之經均勻改質之支架表面(圖2E)。

吾人實施體內研究以評估聚矽氧支架之生物相容性及穩定性，以及血管浸潤。藉由將支架植入雄性Lewis大老鼠之1 cm皮下袋中並在第3、14及30天時進行組織分析(H/E)來測定未經塗覆及經蛋白塗覆之支架之體內生物相容性(圖3)。亦測試達克隆材料及無材料存在者作為對照組。

組織橫截剖面圖顯示在支架周圍形成有血管(圖4)並觀察到明顯膠原蛋白沈積及無纖維組織(圖4及5A)之聚矽氧支架(經或未經塗覆)之生物相容性。該等支架在長達180天內係生物相容且生物穩定。經纖維連接蛋白塗覆之支架相較於未經塗覆之支架促進較高之細胞浸潤及ECM沈積程度，藉此證實生物材料於宿主中經增強之整合性(圖5B)。

經纖維連接蛋白塗覆之大孔聚矽氧支架相較於未經塗覆之大孔聚矽氧支架顯示提供更強之細胞黏附性及間葉幹細胞(MSC)生長。於經塗覆之支架上培養7天之MSC展現其等標準擴展表現型(圖6)。

實例3：於大孔聚矽氧支架中之胰島存活率及功能

在實驗中使用來自雄性Lewis大老鼠、非人靈長類(NHP)狒狒及人源之胰腺胰島以測定大孔聚矽氧支架中之胰島存活率及功能。藉由將胰島懸浮於小容積中，將其等移液至支架上及施加輕微壓力梯度以將胰島分佈至微米級孔中而將胰島以所需胰島當量(IEQ)密度負載於支架中。添加纖維蛋白膠至篩選組以評估胰島保留。於組織培養皿中以20%氧培養胰島長達24小時。將二維培養物用作對照組。

藉由螢光活/死染料染色(鈣黃綠素AM及EthD-1)及共焦顯微鏡檢查經大老鼠、非人靈長類及人胰島接種之支架之胰島空間分佈及存活率(圖9)。大老鼠及非人靈長類胰島之黏附性，及大老鼠、非人靈長類及人胰島之存活率係藉由1500 IEQ/支架之MTT試驗(Promega, WS)定量，經由標準曲線校準細胞數(圖7及8)。功能胰島素分泌速率係藉由收集150 IEQ/支架接受低(40 mg/dL)及高(300 mg/dL)葡萄糖刺激物之類似胰島素品及藉由胰島素ELISA試驗定量而測得(圖10)。非人靈長類胰島及人胰島之平均直徑已顯示(圖11)證實胰島保留係視胰島尺寸(>35%非人靈長類(26%胰島 $\geq 100 \mu\text{m}$)；80%人(71%胰島 $\geq 100 \mu\text{m}$))而定。

在相同指定天數下，所有組及所有試驗中之支架(含或不含纖維蛋白)中的大老鼠胰島表現類似對照組($p > 0.05$)。在所有組中，支架(含或不含纖維蛋白)中之非人靈長類胰島證實具有與對照組類似的存活率及胰島素分泌速率($p > 0.05$)。於所有組及所有試驗中，支架(不含纖維蛋白)中之人胰島表現類似於對照組($p > 0.05$)。含纖維蛋白之支

架中之胰島相較於不含纖維蛋白之支架中的胰島展現統計學上顯著之黏附性增加。

為比較大孔與小孔支架中之胰島存活率，利用溫和壓力梯度將1000 IEQ胰島負載於含纖維蛋白之大孔PDMS支架中；及藉由將胰島與2%液體瓊脂糖均勻混合，傾入尺寸與PDMS支架相同之模具中，及冷卻至室溫而將1000 IEQ胰島負載於小孔支架中。隨後在5%氧氣下將胰島培養48小時。經MTT試驗測定，大孔支架中之存活率相較於小孔支架為提高(圖12)。

此等研究表明大孔聚矽氧支架當以纖維連接蛋白塗覆時展現改良之小胰島保留。此外，大孔聚矽氧支架相較於對照組維持類似的胰島存活率($p>0.05$)，以及高功能指標，且相較於對照組無抑制胰島功能。

實例4：大孔聚矽氧支架之體內性能

為評估支架在同基因鏈尿佐菌素(STZ)-糖尿病小鼠模型中恢復正常血糖之體內效率，含或不含纖維蛋白之經纖維連接蛋白塗覆之支架及PDGF係負載有500 IEQ小鼠C57BL/6J胰島並植入STZ-糖尿病小鼠之附辜脂肪墊(EFP)內。將支架摺疊入EFP中心並固定。對照組將游離胰島接納至EFP袋中。於第74天時，含纖維蛋白及PDGF之支架植入物係經染色以顯示胰島(紅色)及胞核(DAPI)(圖13A)。含有纖維蛋白及PDGF之支架在小鼠中恢復血糖濃度正常(定義為恒定非空腹血糖濃度 <200 毫克)(圖13B)。此外，糖尿病狀態圖說明具含有纖維蛋白/PDGF之大孔支架之移植物

的小鼠可加速恢復至血糖濃度正常(圖 13C)。

為評估支架在化學誘導糖尿病Lewis大老鼠模型恢復血糖正常之體內效率，將負載有1500 IEQ之支架植入大老鼠之網膜窩位點(圖 14A)或負載有1500 IEQ游離胰島之支架植入標準齧齒動物之腎囊移植位點。在移植後之100天內藉由測定注射大量葡萄糖後各時間點之血糖以對功能移植受試者進行靜脈內葡萄糖耐受測試。負載於聚矽氧支架中及植入網膜中之胰島、植入網膜中之游離胰島及植入腎囊中之游離胰島均顯示類似葡萄糖清除率曲線(圖 14C)。在第168天時移除所植入之細胞後恢復高血糖，說明植入物單獨負責血糖濃度之控制(圖 14B)。移植後將支架染色以顯示胰島(紅色)及胞核(DAPI)，證實胰島仍存活且在移植時仍具功能(圖 14D)。

亦評估支架在異基因鏈尿佐菌黴素(STZ)-糖尿病小鼠模型中恢復血糖正常之體內效率。將含或不含纖維蛋白及PDGF且負載有3000或5000 IEQ異基因胰島之經纖維連接蛋白塗覆之PDMS大孔支架植入至化學誘導糖尿病Lewis大老鼠之網膜窩位點中。對照組將3000 IEQ游離胰島納入至標準腎囊移植位點中。經異基因胰島接種之含纖維蛋白及PDGF之支架可在至少28天之時間內恢復大老鼠中之血糖濃度正常(圖 14E)。

為評估支架在糖尿病狒狒模型中恢復血糖正常之體內效率，藉將25,000異基因IEQ/kg負載於6個PDMS大孔支架中並植入網膜窩中，描繪狒狒(藉由部份胰腺切除及後續STZ

投與獲得糖尿病)之空腹血糖、餐後血糖及外源胰島素濃度。狒狒亦在操作後第0、1、4、10、18及28天時接納20 mg/kg之靜脈內抗排斥抗-CD154單療法並此後維持每週進行。於植入後第364天，狒狒仍持續展現血糖控制(圖15)。

實例5：自大孔聚矽氧支架或個別元件釋放地塞米松

為測試製劑自支架釋放，藉由將地塞米松粉末與聚矽氧聚合物混合物，然後負載於模具內而將10%或20%重量/體積之地塞米松併入至兩不同尺寸之PDMS大孔支架(8 mm及10 mm直徑)中。測定支架在緩衝液中培養後之地塞米松溶出。所併合之地塞米松在至少12天之時間內展現自支架材料持續釋放(圖16)。

製劑亦可併入與大孔支架分離之元件中並自該元件釋放。圖17顯示可能的藥物釋放幾何形態之實例。依先將地塞米松與聚合物混合，然後傾入至各模具中之方式以0%、5%、10%或20%重量/體積併入至PDMS盤中或以10%重量/體積併入至PDMS籠中之地塞米松在研究期間展現持續釋放之性質(圖18)。

為檢驗製劑釋放元件之體內性能，將併入0%、5%、10%或20%重量/體積之地塞米松之PDMS盤皮下植入化學誘導糖尿病小鼠中。在一段時間內監視小鼠尿液中之地塞米松且其在研究期間展現自PDMS盤持續釋放(圖19A)。

亦檢驗地塞米松釋放對植入化學誘導糖尿病小鼠中之胰島之性能的作用。將大孔支架中之同基因胰島植入小鼠之附辜脂肪墊位點處，其中0、一或二5%重量/體積之地塞米

松釋放桿係鄰接該支架。在地塞米松的存在下，於恢復至血糖濃度正常之時間內無觀察到有害作用(圖19B)。

本說明書中所引述之所有公開案及專利申請案係以引用之方式併入本文，正如各個別公開案或專利申請案係具體及獨立地表示為以引用方式併入。

【圖式簡單說明】

圖1：支架平台及臨床胰島移植之示意圖。

- A) 胰島細胞移植之流程圖。
- B) 大孔支架多功能平台之示意圖。支架材料為多種尺寸之細胞提供三維分佈及針對機械應力之保護。支架材料之孔隙度足以容許血管浸潤。支架材料可經過生物活性因子進行表面改質，以增強黏附性或調節周圍環境，且可用作局部傳遞製劑之構件。此外，支架材料可用作可於支架上生長及繁殖之黏附性細胞之傳遞平台。

圖2：支架孔結構之分析

- A) 大孔支架結構之攝影圖像。
- B) 藉由掃描式電子顯微法獲得之大孔支架結構圖像 (JEOL, JSM-5600LV, 29Pa, 20kV)。
- C) 在較高放大倍數下藉由掃描式電子顯微法獲得之大孔支架結構圖像 (JEOL, JSM-5600LV, 29Pa, 20kV)。
- D) 支架孔隙率之分佈圖 (n=20)。綠色方塊表示85%之平均支架孔隙率。
- E) 以抗纖維連接蛋白-生物素一級抗體及鏈黴抗生物素蛋

白-FITC二級抗體(Zeiss LSM510)染色之未塗覆支架(上)及經纖維連接蛋白塗覆之支架(下)之共焦圖像(左)及共焦與螢光合併圖像(右)。

圖3：支架可於植入大老鼠後生物穩定達30天。

植入至雄性Lewis大老鼠之1 cm皮下袋中後，於第3、14及30天時經麥森(Masson's)三色染色劑染色之支架於10倍放大倍數下之組織橫截剖面圖。最上面一行：對照組(無材料存在)。第二行：未經塗覆之PDMS大孔支架。第三行：經纖維連接蛋白塗覆之PDMS大孔支架。最下面一行：負對照組(達克隆(Dacron)材料)。

圖4：血管浸潤至支架之辨識

植入至雄性Lewis大老鼠之1 cm皮下袋中後，於第14及30天時經麥森三色染色劑染色之未經塗覆及經纖維連接蛋白塗覆之支架於40倍放大倍數下之組織橫截剖面圖。BV：血管。SS：支架。

圖5：進入支架中之膠原沈積及總浸潤之分析

- A) 藉由經麥森三色染色劑染色之樣品中藍色區域之Metamorph分析量化未經塗覆及經纖維連接蛋白塗覆之支架中增強之膠原沈積。
- B) 藉由經麥森三色染色劑染色之樣品中未被支架材料佔據之總面積之Metamorph分析量化未經塗覆及經纖維連接蛋白塗覆之支架中總細胞及基質之浸潤。

圖6：支架上之細胞黏附及生長。

負載於未經塗覆(左)及經纖維連接蛋白塗覆(右)之支架

中及於標準培養條件(24孔板，全培養基)中培養2天(上)及7天(下)之間質幹細胞之檢視圖。樣品係經螢光活/死染料(鈣黃綠素AM(綠色)及EthD-1(紅色))染色。A：未塗覆，2天；C：經纖維連接蛋白塗覆，2天；D：未塗覆，7天；F：經纖維連接蛋白塗覆，7天。

圖7：接種於支架中之胰島之黏附性

- A) 顯示於負載後0天時經比色MTT試驗測定之大老鼠胰島保留於純支架(黑條)及含纖維蛋白之支架(灰條)中之圖。
- B) 顯示於負載後0天時經MTT試驗測定之非人靈長類胰島保留於純支架(黑條)及含纖維蛋白之支架(灰條)中之圖。

圖8：接種於支架中之胰島之存活率。

經MTT試驗測得之1500 IEQ於下列各者中之存活率：標準二維培養皿對照組(白條)；無纖維蛋白之PDMS大孔支架；或含纖維蛋白之經纖維連接蛋白塗覆之PDMS大孔支架(灰條)。於胰島負載後將纖維蛋白負載於支架上以填充支架之空隙空間。對於大老鼠胰島係將胰島培養0或24小時，及對非人靈長類及人胰島係培養24小時。A：大老鼠胰島；B：非人靈長類胰島；C：人胰島。

圖9：接種於支架中之胰島之空間分佈及存活率。

PDMS大孔支架於培養24小時後經螢光活/死染料(鈣黃綠素AM及EthD-1)染色之胰島之共焦顯微圖像(綠色：可存活；紅色：死亡)。A：大老鼠胰島；B：非人靈長類胰

島；C：人胰島。

圖 10：接種於支架中之胰島之胰島素分泌。

胰島 ELISA 試驗顯示在標準二維培養皿對照組(白條)；不含纖維蛋白之 PDMS 大孔支架(黑條)；或含纖維蛋白之 PDMS 大孔支架(灰條)中之 150 IEQ 於低(40 mg/dl)及高(300 mg/dL)葡萄糖刺激後之功能胰島素分泌速率。結果係表示為刺激指數，其係以高葡萄糖下之總胰島素輸出除以低葡萄糖下之總胰島素輸出。將人及大老鼠胰島培養 24 小時，而於負載後之 6 小時內評估非人靈長類胰島。A：大老鼠胰島；B：非人靈長類胰島；C：人胰島。

圖 11：保留於支架中之胰島之平均直徑。

A) 顯示接種於支架中之非人靈長類胰島之平均直徑之表。

B) 顯示接種於支架中之人胰島之平均直徑之表。

圖 12：比較大孔與小孔結構中之胰島存活率

顯示經 MTT 試驗測得之在 PDMS 大孔支架(黑條，左)或小孔 2% 瓊脂糖凝膠(灰條，右)中經 5% 氧氣培養 48 小時之 1000 IEQ 之胰島存活率之圖。

圖 13：支架在糖尿病小鼠模型中用於正常血糖恢復之體內性能。

A) 用於胰島(紅)及胞核(DAPI)之支架於植入糖尿病小鼠模型之附辜脂肪墊中後 74 天之染色。

B) 僅植入胰島(淺藍色菱形)、接種於經纖維連接蛋白塗覆之支架(深藍色，黑色圓)中之胰島或接種於經纖維

連接蛋白塗覆之支架中並隨後經纖維蛋白/PDGF塗覆之胰島(白色菱形)之糖尿病小鼠之術後血糖濃度。

- C) 具有游離胰島(淺藍色線)、接種於經纖維連接蛋白塗覆之支架中之胰島(深藍色線、黑色圓)及接種於經纖維連接蛋白塗覆之支架中並隨後經纖維蛋白/PDGF塗覆之胰島(點狀線)之小鼠之糖尿病狀態圖。

圖 14：支架在糖尿病大老鼠模型中之體內性能。

- A) 負載有位於一Lewis大老鼠之展開網膜中(左)並包覆於該網膜中(右)之胰島之PDMS大孔支架之攝影圖。
- B) 顯示將PDMS大孔支架中之1500 IEQ同基因胰島移植至網膜窩位點(正方形)或以游離胰島形式移植至標準腎囊移植位點(三角形)後經化學誘導之糖尿病Lewis大老鼠之非空腹血糖濃度之圖。
- C) 顯示移植後100天內在功能移植受試者上所進行之靜脈內葡萄糖耐受性測試之結果之圖。黑色菱形實線：網膜中聚矽氧支架之胰島。開環虛線：游離負載於網膜中之胰島。灰色三角形實線：游離負載於腎囊內之胰島。
- D) 顯示移植之體外培養後PDMS大孔支架中經免疫螢光染色之胰島放大10倍(A)及20倍(B)之攝影圖(藍色：經DAPI染色之胞核；綠色：胰島)。
- E) 顯示將含纖維蛋白/PDGF之PDMS大孔支架中之3000或5000 IEQ異基因胰島移植至網膜窩位點中(3000：三角形；5000：正方形)或以游離胰島形式移植至標準腎囊

移植位點中(菱形)後經化學誘導之糖尿病Lewis大老鼠之非空腹血糖濃度之圖。

圖 15：糖尿病狒狒模型中之支架之體內性能。

顯示接受負載於6個PDMS大孔支架並植入網膜窩中之25,000異基因IEQ/kg之狒狒之空腹血糖(FBG；黃色)、餐後血糖(PBG；綠色)及外源胰島素濃度(胰島素/kg；藍色)之圖。該狒狒在術後第0、1、4、10、18及28天時接受靜脈內抗-CD154單療法(20 mg/kg)並之後維持每週進行。

圖 16：併入支架中之地塞米松(dexamethasone)之溶離曲線。

在緩衝液中培養時併入PDMS大孔支架內之10%或20%重量/體積地塞米松之溶離曲線。測試具8 mm及10 mm直徑之支架。

圖 17：製劑釋放元件之設計

A) 可能的藥物釋放幾何形態之實例。可將藥物併入至諸如PDMS之生物相容材料中及定形成用於植入大孔支架之盤、桿或外籠。

B) 藥物釋放「籠」設計之攝影圖，其中將藥物釋放材料製成一可容置大孔支架之外籠。

圖 18：併入至製劑釋放元件中之地塞米松之釋放溶離曲線。

A) 以0%、5%、10%或20%重量/體積併入至PDMS盤中之地塞米松之釋放之溶離曲線。

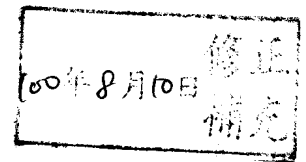
B) 以10%重量/體積併入至PDMS籠中之地塞米松之釋放

之溶離曲線。

圖 19：糖尿病小鼠模型中製劑釋放元件之活體內性能。

- A) 在皮下植入釋放地塞米松之 PDMS 盤(其中地塞米松係以 0%、5%、10% 或 20% 重量/體積併入)之小鼠尿液中地塞米松濃度測定值隨植入後天數之變化。
- B) 顯示在附辜脂肪墊處支架內經同基因胰島移植之化學誘發糖尿病之小鼠恢復至正常血糖濃度之時間圖，其中沒有地塞米松釋放桿圍繞之支架(正方形)、有一支地塞米松釋放桿圍繞之支架(三角形)或有兩支地塞米松釋放桿圍繞之支架(倒三角形)。

發明專利說明書



(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100112136

※申請日：100.4.12

※IPC 分類：

一、發明名稱：(中文/英文)

用於細胞移植之多孔生物工程支架

MACROPOROUS BIOENGINEERED SCAFFOLDS FOR CELL
TRANSPLANTATION

A61F 2/02 (2006.01)

C08G 77/04 (2006.01)

C08L 83/04 (2006.01)

A61K 47/30 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明提供一種用於改良整體細胞植入之高度多孔、生物相容且生物穩定之支架。此等支架可為植入細胞提供機械性保護，提供自病患之可回收性，及容許裝置內之血管形成及使細胞空間分佈於該裝置內之構件。該支架表面可經過一或多種不同黏附性蛋白及視需要選用之其他生物因子改質，以增強細胞黏附性及存活率。

三、英文發明摘要：

The present invention provides highly porous, biocompatible and biostable scaffolds for improving overall cell engraftment. These scaffolds can provide mechanical protection to implanted cells, afford retrievability from a patient, and allow for both intra-device vascularization and a means to spatially distribute the cells within the device. The scaffold surface may be modified with one or more different adhesion proteins and optionally other biological factors for enhanced cell adherence and viability.

七、申請專利範圍：

1. 一種可移植支架結構，其包含一用於為植入細胞提供結構支撐及空間分佈之大孔支架。
2. 如請求項1之支架結構，其中該支架係完全大孔。
3. 如請求項1之支架結構，其中該等細胞係產胰島素細胞。
4. 如請求項3之支架結構，其中該等產胰島素細胞係胰腺胰島細胞。
5. 如請求項1之支架結構，其中該等細胞產生選自下列各者中之至少一種因子：胰高血糖素、促紅血球生成素、因子VIII、因子IX、血紅素、白蛋白、神經傳遞質、多巴胺、 γ -胺基丁酸(GABA)、穀胺酸、血清素、正腎上腺素、腎上腺素、乙醯膽鹼、生長因子、神經生長因子(NGF)、腦源性神經營養因子(BDNF)、神經營養素-3(NT-3)、神經營養素4/5(NT-4/5)、睫狀神經營養因子(CNTF)、膠質細胞源性神經營養因子(GDNF)、膽鹼能分化因子/白血病抑制因子(CDF/LIF)、表皮生長因子(EGF)、類似胰島素生長因子(IGF)、纖維母細胞生長因子(FGF)、血小板源性生長因子(PDGF)、疼痛抑制劑、P物質、兒茶酚胺、強啡肽、腦內啡、腦啡肽、激素、副甲狀腺素、生長激素、免疫調節劑、粒細胞巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、神經調節劑、淋巴活素、細胞介素、輔助因子、抗體、適體及酶。
6. 如請求項1之支架結構，其中該支架係由聚矽氧製造。

7. 如請求項6之支架結構，其中該支架係由有機聚矽氧製造。
8. 如請求項7之支架結構，其中該支架係由聚二甲基矽氧烷(PDMS)製造。
9. 如請求項1之支架結構，其中該支架具有70至95%之孔隙度。
10. 如請求項1之支架結構，其中該支架具有75至400 μm 之孔徑。
11. 如請求項1之支架結構，其中該支架包含一或多種黏附性蛋白。
12. 如請求項11之支架結構，其中該一或多種黏附性蛋白包含纖維連接蛋白。
13. 如請求項11之支架結構，其中該一或多種黏附性蛋白包含纖維蛋白。
14. 如請求項1之支架結構，其中該支架包含選自表皮生長因子(EGF)、類似胰島素生長因子(IGF)、纖維母細胞生長因子(FGF)及血小板源性生長因子(PDGF)之生長因子。
15. 如請求項14之支架結構，其中該支架包含PDGF。
16. 如請求項15之支架結構，其中該支架包含纖維蛋白及PDGF。
17. 如請求項12之支架結構，其中該支架係經纖維連接蛋白塗覆。
18. 如請求項17之支架結構，其中該支架係經纖維連接蛋白

塗覆且包含纖維蛋白及PDGF。

19. 如請求項1之支架結構，其中該支架結構包含一種或多種有助於植入該支架中之細胞之植入、存活、功能及長期存活率中至少一者之製劑。
20. 如請求項19之支架結構，其中該一或多種製劑包含消炎劑或免疫抑制劑中之至少一者。
21. 如請求項20之支架結構，其中該消炎劑或免疫抑制劑包含抗-TNF- α 、利索茶鹼 (lisofylline)、己酮可可鹼 (pentoxifilline)、 α -1-抗胰蛋白酵素、介白素-1(IL-1)、介白素-10(IL-10)、介白素-1受體拮抗劑肽 (IRAP)、TGF- β 、IL-1之抗體、 γ 干擾素、TNF- α 、抗組織因子、補體抑制劑、COX-2抑制劑、環孢素、他克莫司 (tacrolimus)、地塞米松 (dexamethasone)、皮質固醇、潑尼松龍 (prednisolone)、依碳酸氯替潑諾 (loteprednol etabonate)、丙酮化氟新龍 (flucinolone acetonide)、芬戈莫德 (fingolimod)、蛋白激酶C抑制劑、西羅莫司 (sirolimus)、依維莫司 (everolimus)、JAK3抑制劑、硫唑嘌呤 (azathioprine)、黴酚酸 MPA/ 黴酚酸酯 (mycophenolate mofetil)MMF、來氟米特 (leflunomide)、抗胸腺細胞免疫球蛋白 ATG、莫羅莫那 (muromonab)-CD3、阿來組單抗 (alemtuzumab)、利妥昔單抗 (rituximab)、達克力莫 (daclizumab)、巴利昔單抗 (basiliximab)、別拉西普 (belatacept)及坎帕斯 (Campath)-1H中之一或多者。

22. 如請求項21中之支架結構，其中該消炎劑係地塞米松或芬戈莫德。
23. 如請求項19之支架結構，其中該一或多種製劑中之至少一者係併入至該支架材料中。
24. 如請求項19之支架結構，其中該一或多種製劑中之至少一者自該獨立元件緩慢/持續釋放維持至少3、10、12、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、365、500或730天。
25. 如請求項1之支架結構，其中該支架結構進一步包含一獨立元件，其釋放一種或多種製劑，有助於植入該支架中之細胞之移植、存活、功能及長期存活率中至少一者。
26. 如請求項25之支架結構，其中該獨立元件係無孔。
27. 如請求項26之支架結構，其中該獨立元件係由聚矽氧製造。
28. 如請求項27之支架結構，其中該獨立元件係由有機聚矽氧製造。
29. 如請求項28之支架結構，其中該獨立元件係由聚二甲基矽氧烷(PDMS)製造。
30. 如請求項25之支架結構，其中該一或多種製劑包含消炎劑或免疫抑制劑。
31. 如請求項30之支架結構，其中該消炎劑或免疫抑制劑包含抗-TNF- α 、利索茶鹼、己酮可可鹼、 α -1-抗胰蛋白酶、介白素-1(IL-1)、介白素-10(IL-10)、介白素-1受體

拮抗劑肽 (IRAP)、TGF- β 、IL-1 之抗體、 γ 干擾素、TNF- α 、抗組織因子、補體抑制劑、COX-2 抑制劑、環孢素、他克莫司、地塞米松、皮質固醇、潑尼松龍、依碳酸氣替潑諾、丙酮化氟新龍、芬戈莫德、蛋白激酶 C 抑制劑、西羅莫司、依維莫司、JAK3 抑制劑、硫唑嘌呤、黴酚酸 MPA/黴酚酸酯 MMF、來氟米特、抗胸腺細胞免疫球蛋白 ATG、莫羅莫那-CD3、阿來組單抗、利妥昔單抗、達克力莫、巴利昔單抗、別拉西普及坎帕斯-1H 中之一或多者。

32. 如請求項 31 之支架結構，其中該消炎劑係地塞米松或芬戈莫德。

33. 如請求項 25 之支架結構，其中該一或多種製劑中之至少一者係併入至該獨立元件之材料中。

34. 如請求項 25 之支架結構，其中該一或多種製劑中之至少一者自該獨立元件緩慢/持續釋放維持至少 3、10、12、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、365、500 或 730 天。

35. 如請求項 25 之支架結構，其中該獨立元件係盤型、桿型或籠型。

36. 如請求項 25 之支架結構，其中該獨立元件係於該支架中，包圍該支架或鄰接該支架。

37. 一種將細胞負載於如請求項 1 至 36 中任一項之支架結構之支架中之方法，其包括施加輕微壓力梯度以將細胞分佈於該支架之孔內之步驟。

38. 一種如請求項1至36中任一項之支架結構之用途，其係用於治療受試者中之疾病。
39. 如請求項38之用途，其中該疾病係選自糖尿病、帕金森病、貧血、侏儒症、血友病、澱粉樣變性病、免疫系統疾病、炎症、慢性疼痛、關節炎、高血壓、神經系統疾病、代謝疾病、內分泌疾病、淋巴增生性疾病、骨髓增生性疾病、骨髓增生不良症候群、幹細胞疾病、吞噬細胞疾病、組織細胞疾病、紅血球或血小板異常、血漿細胞疾病、急性白血病、慢性白血病、惡性腫瘤、乳癌、尤文(Ewing)肉瘤、神經母細胞瘤、腎細胞癌、甲狀腺機能低下、腦下垂體機能低下、性腺低能症、移植失敗、移植物對抗宿主疾病(GVD)、靜脈閉塞疾病及源自移植前化療之副作用。
40. 如請求項39之用途，其中該疾病係糖尿病。

八、圖式：

A



B

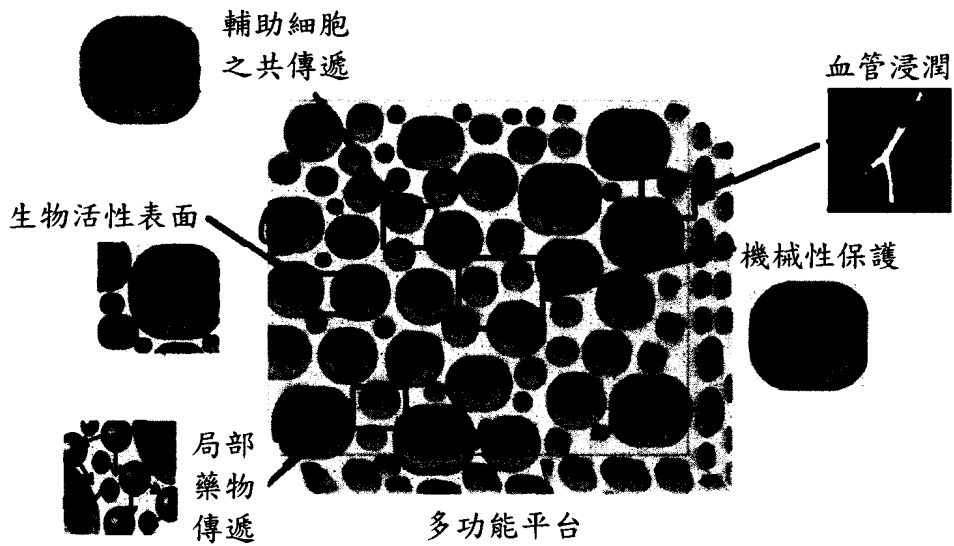


圖 1

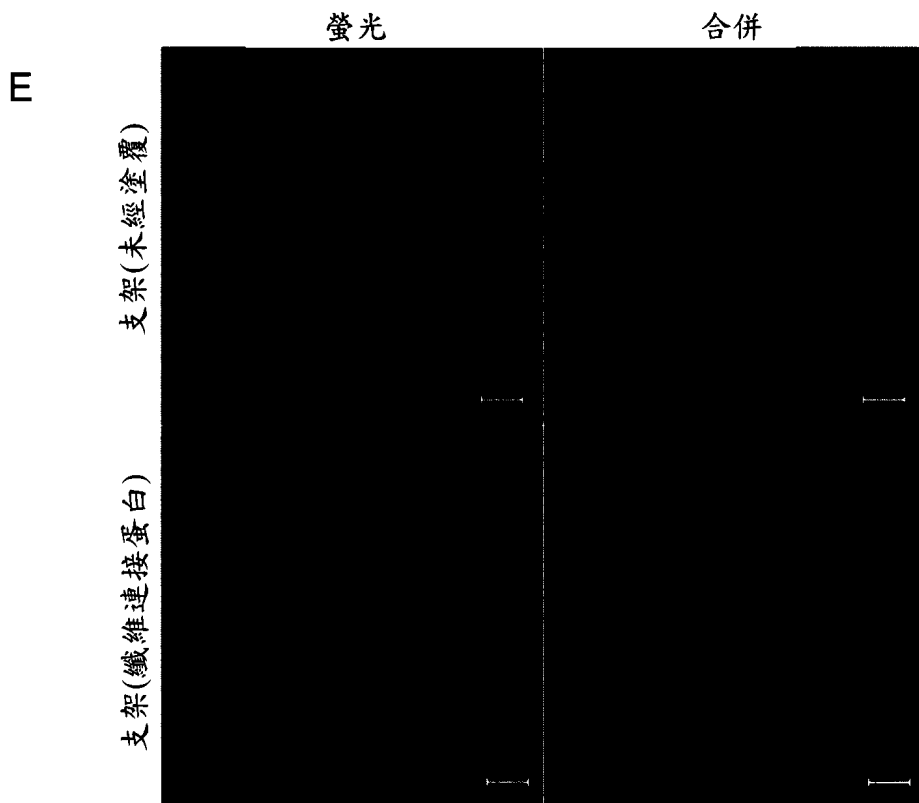
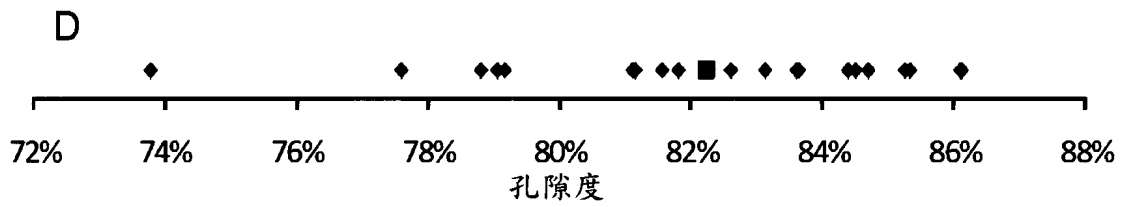
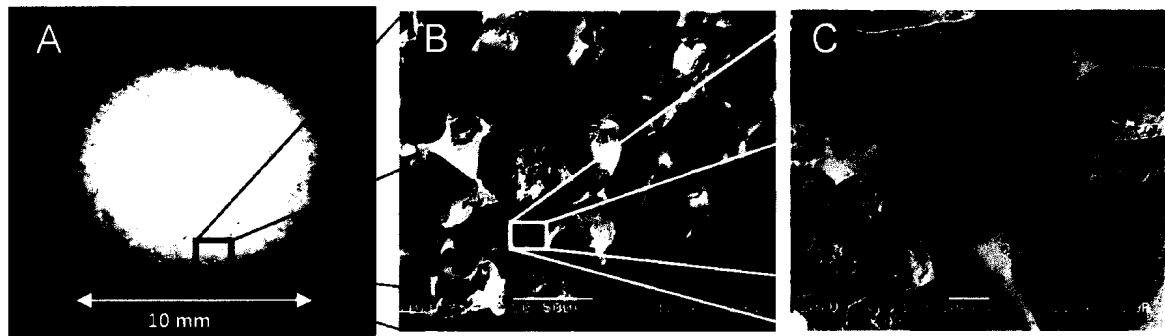


圖 2

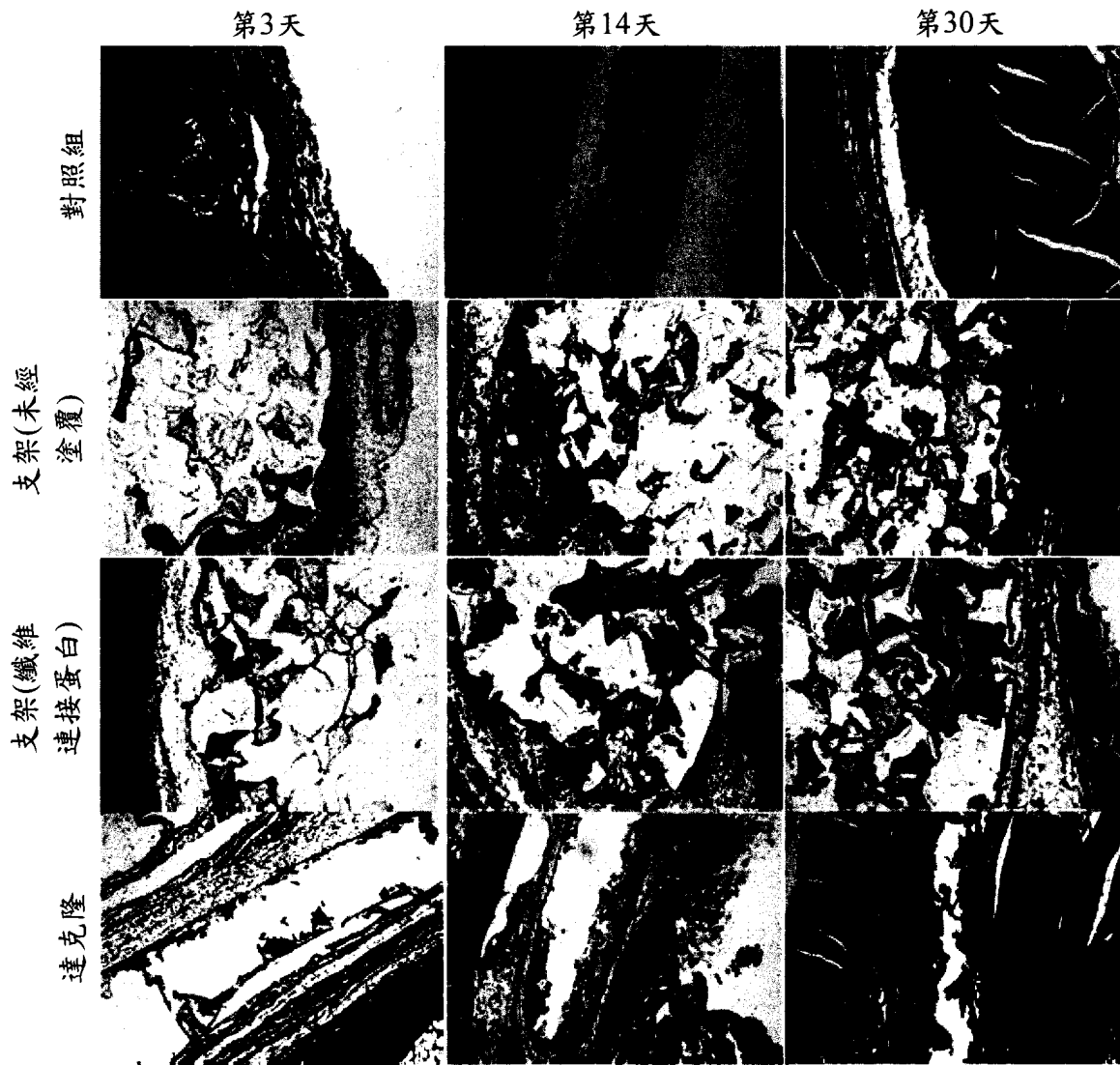


圖 3

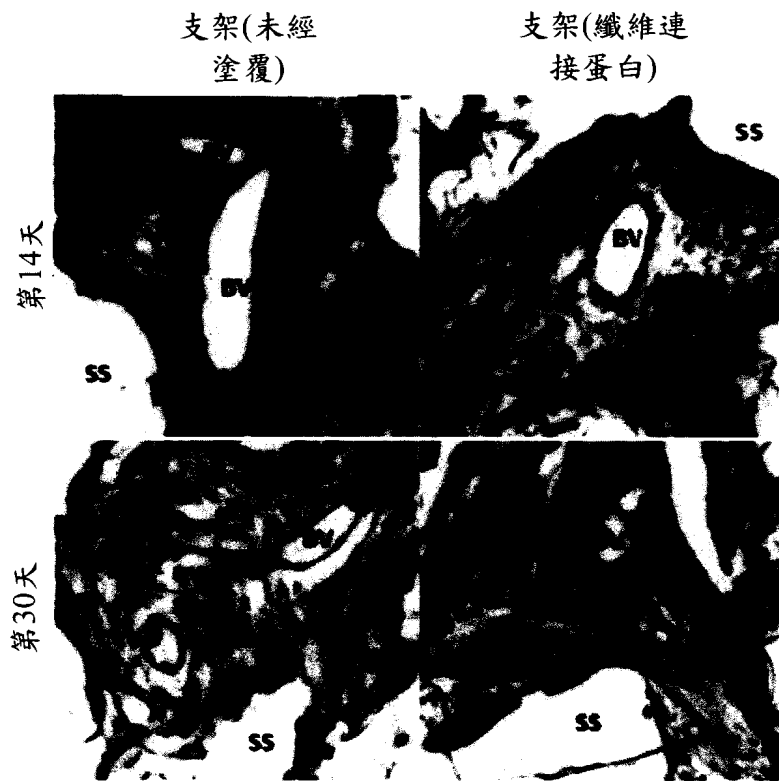
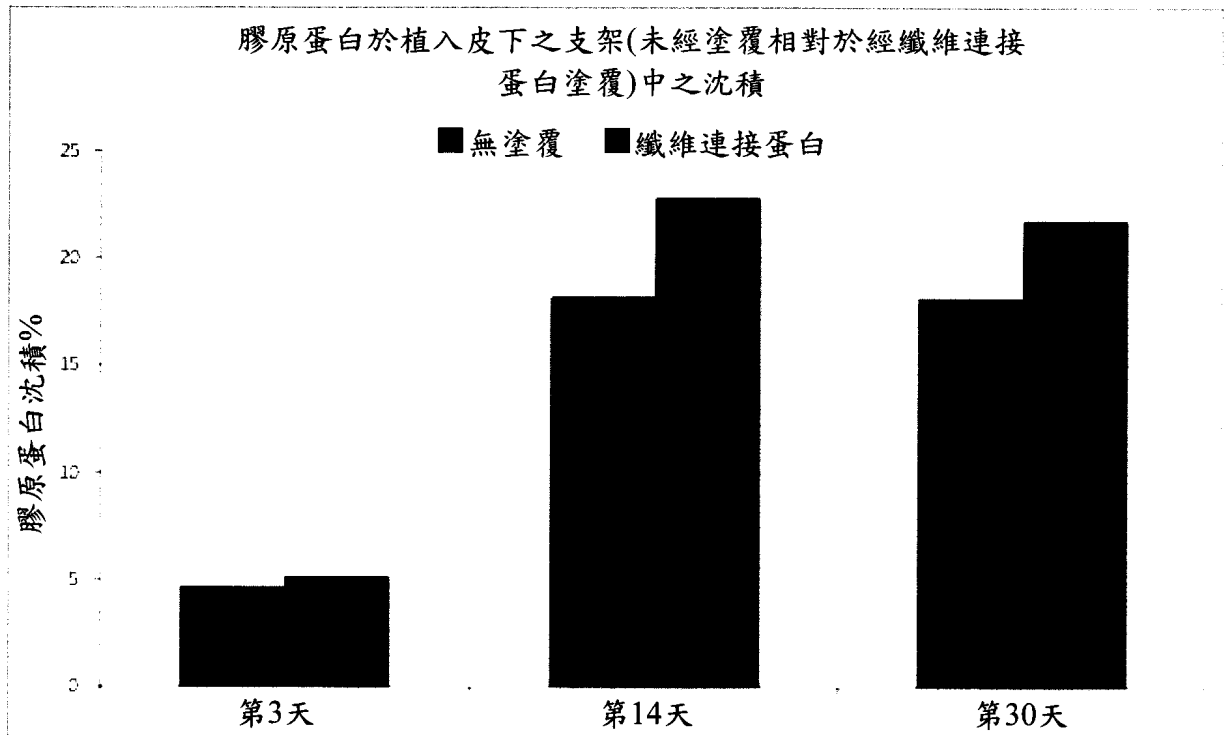


圖 4

A



B

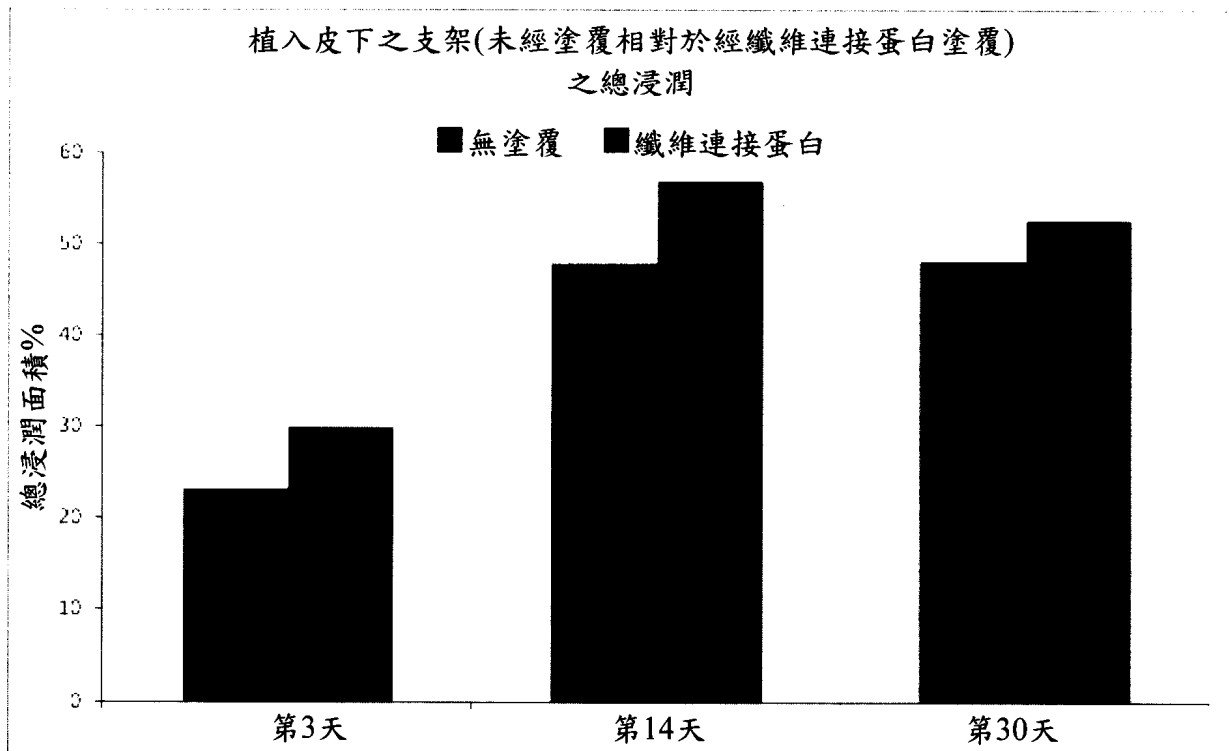


圖 5

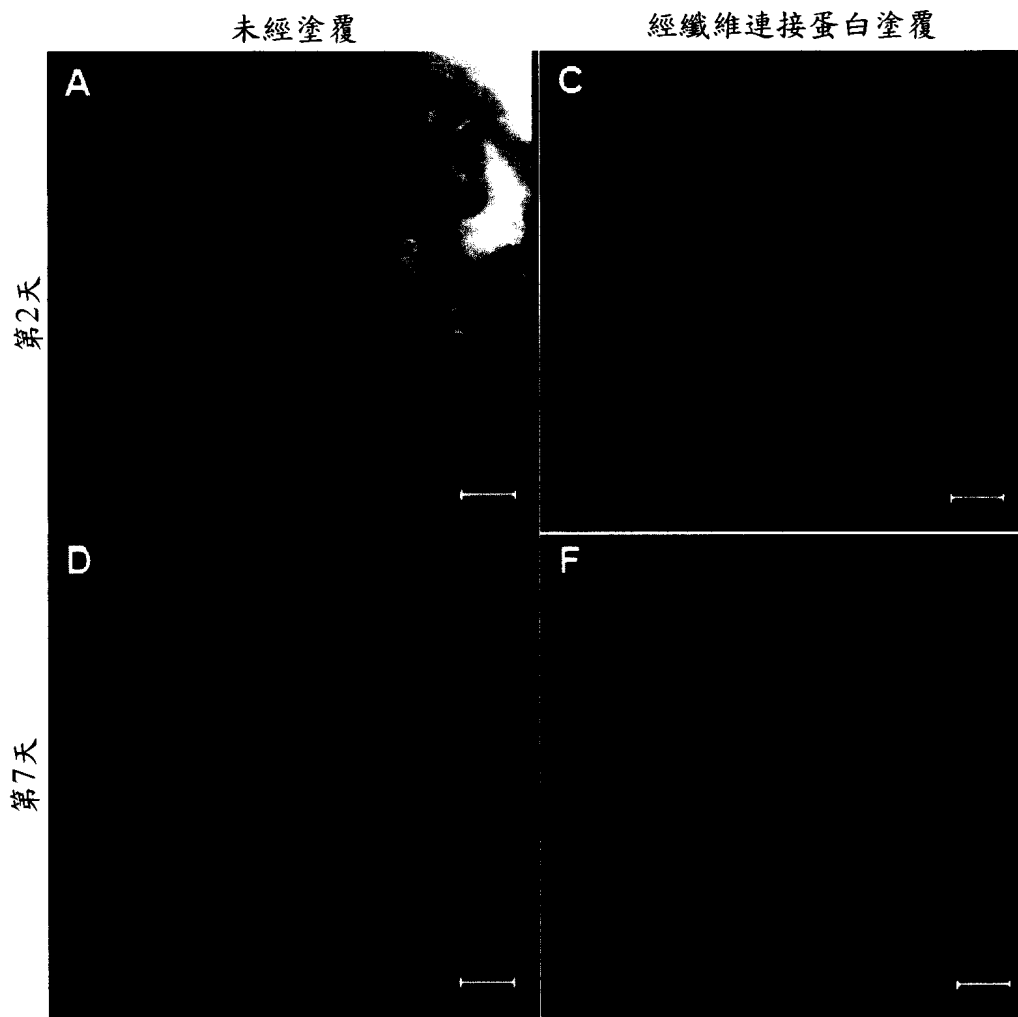


圖 6

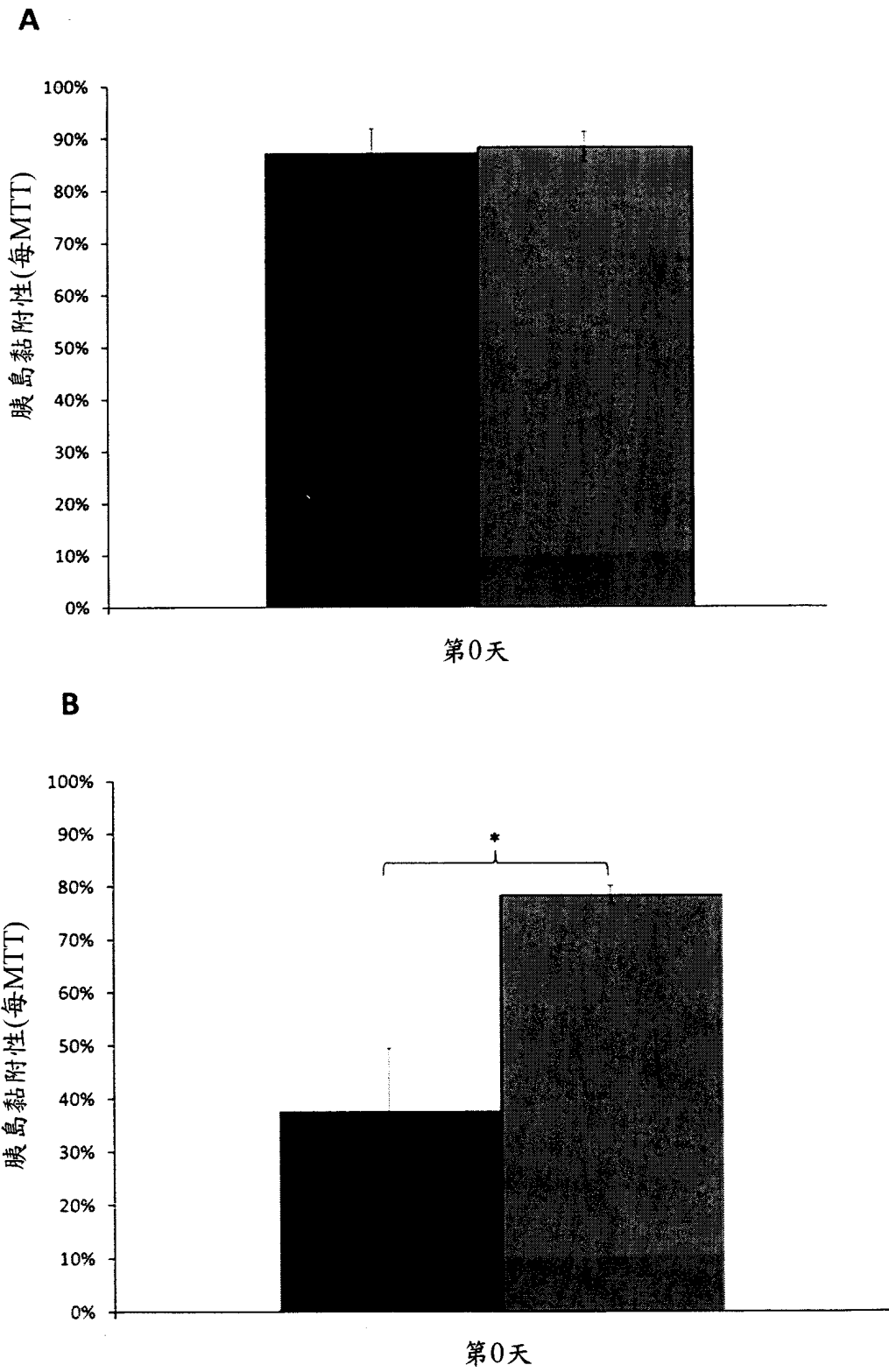


圖 7

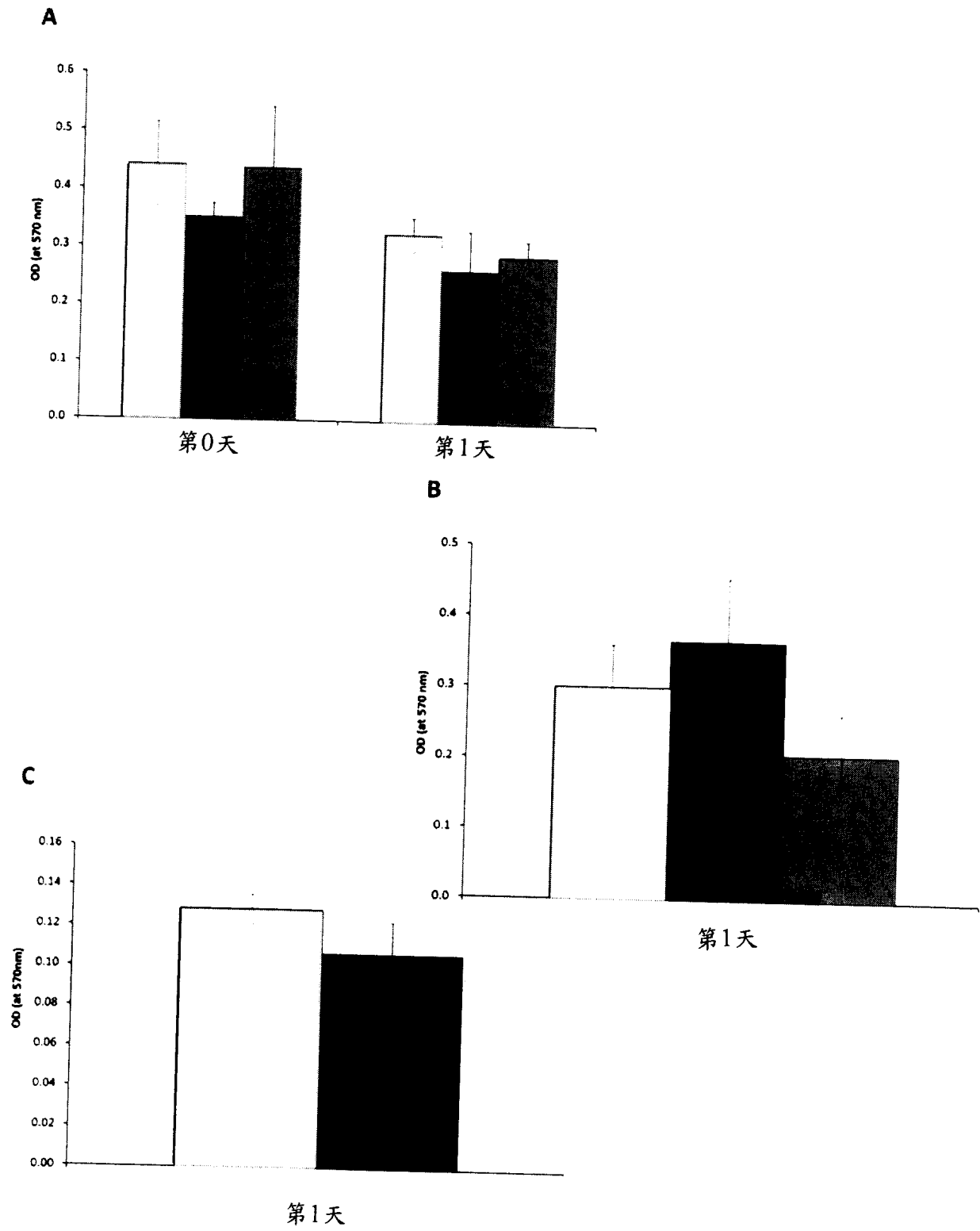


圖 8

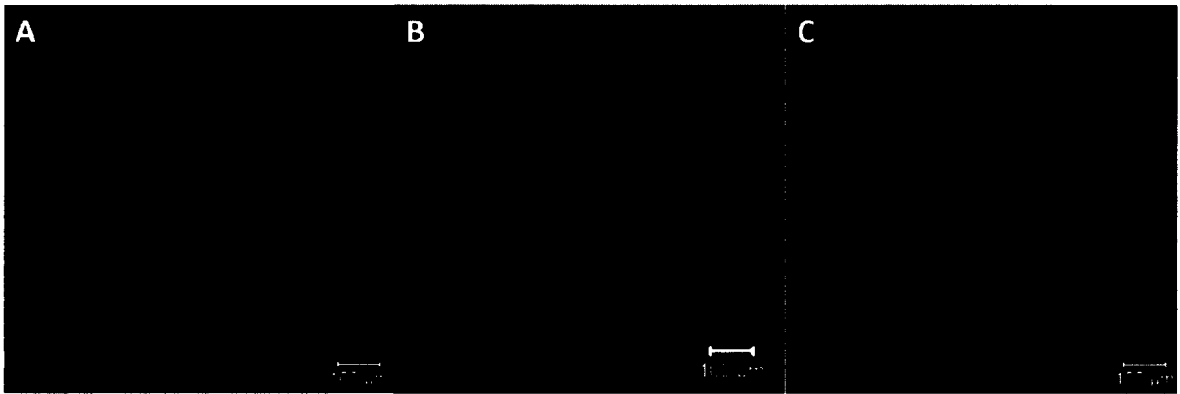


圖 9

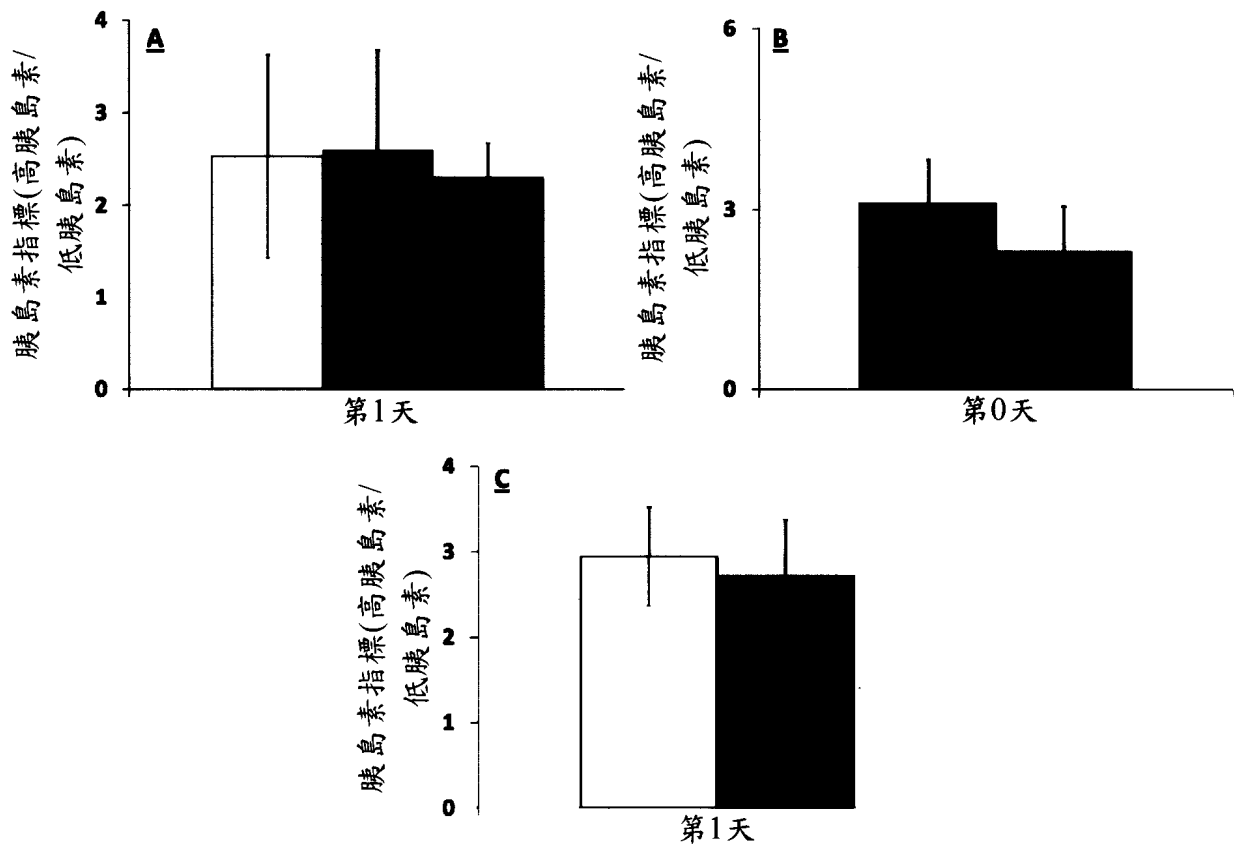


圖 10

A

胰島直徑(μm)	50-100	100-150	150-200	200-250	250-300	300-350
基於尺寸計之胰島平均分佈%	74%	21%	4%	1%	0%	0%

B

胰島直徑(μm)	50-100	100-150	150-200	200-250	250-300	300-350	360-400
基於尺寸計之胰島平均分佈%	28%	40%	20%	7%	2%	1%	2%

圖 11

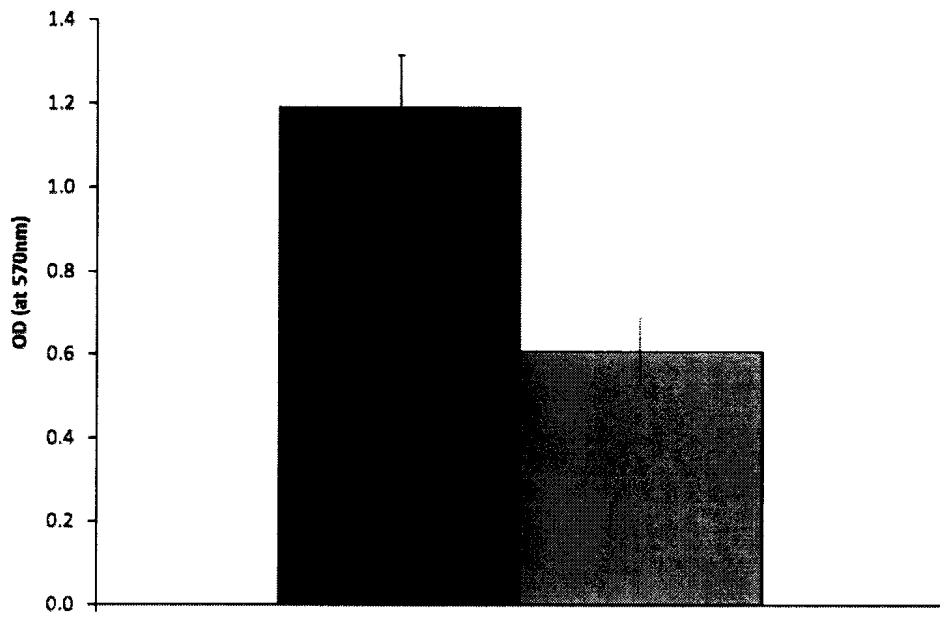
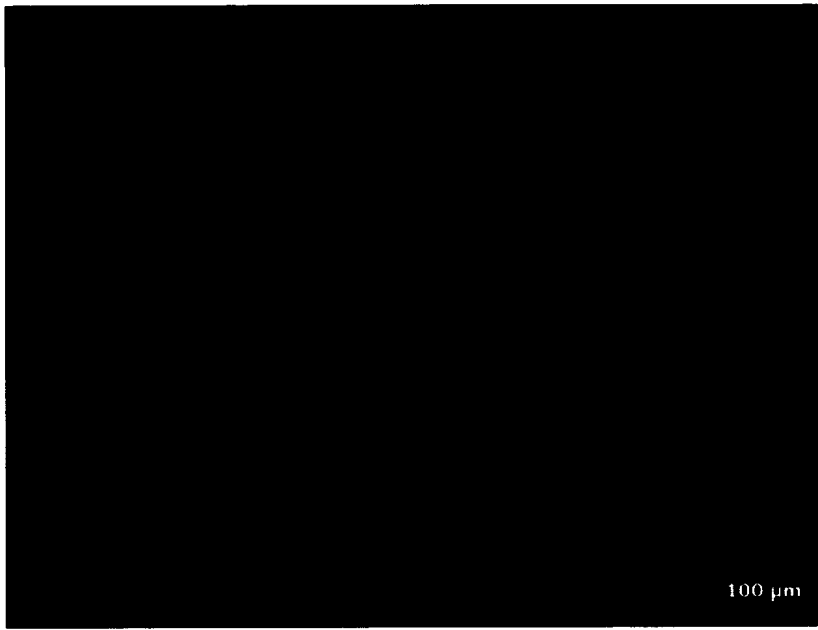


圖 12

A



B

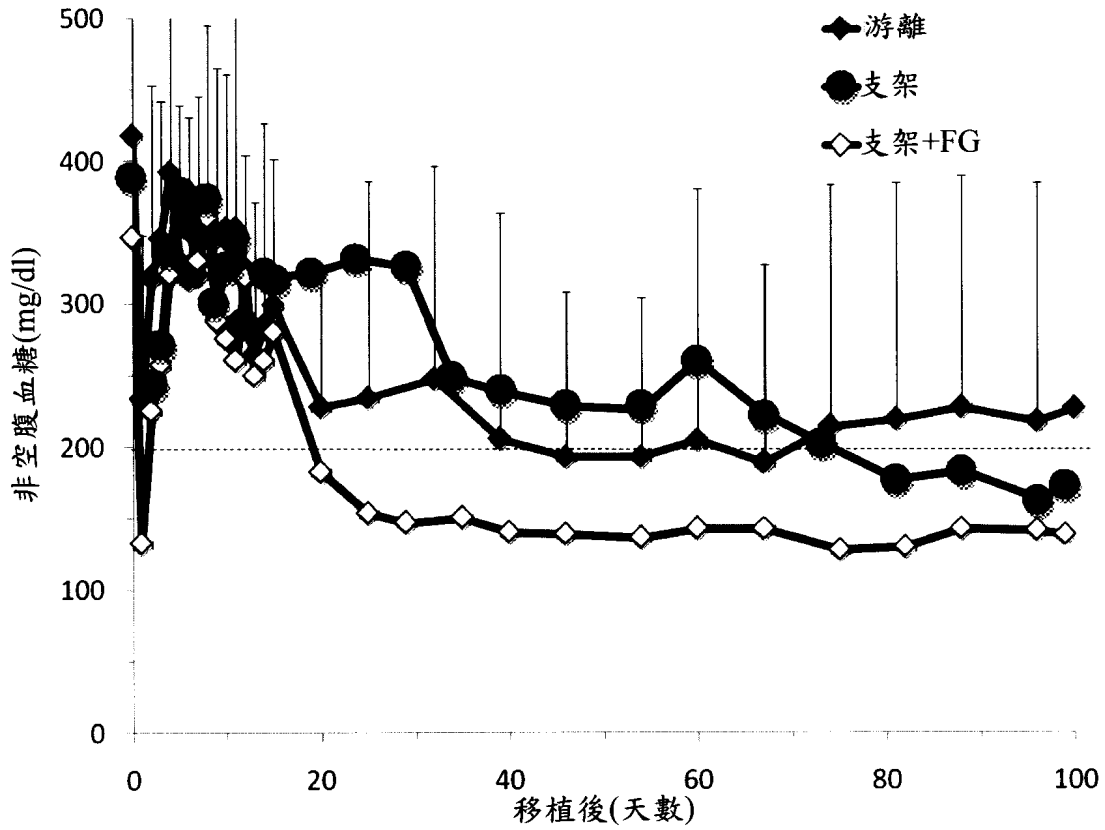


圖 13

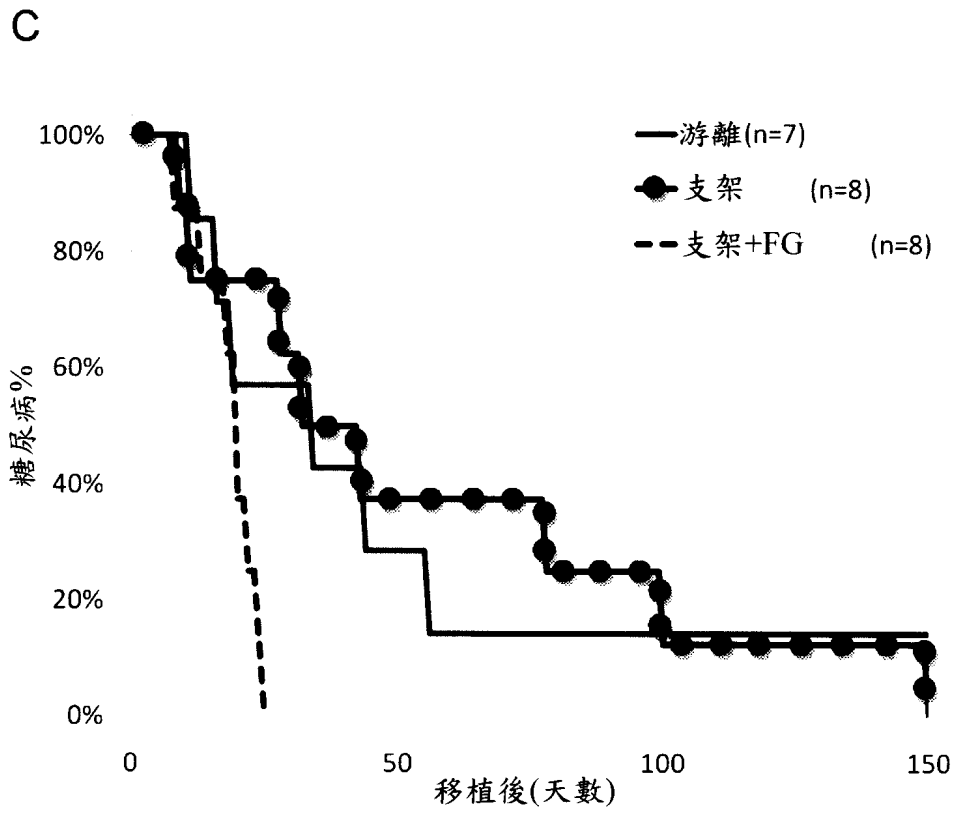
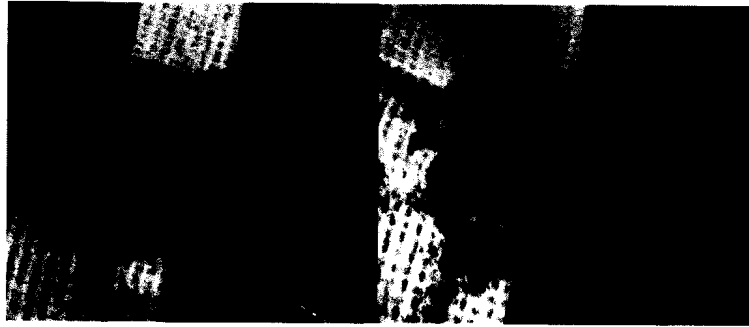


圖 13

A



B

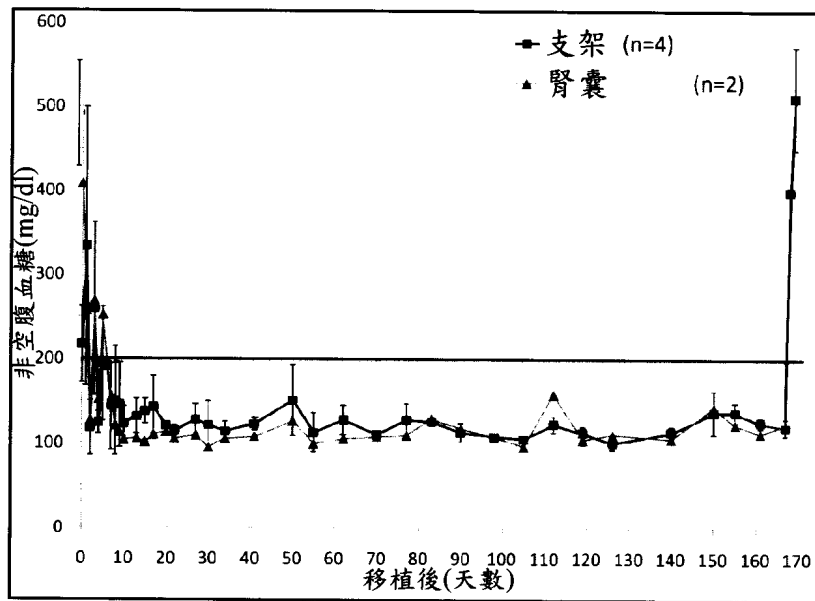


圖 14

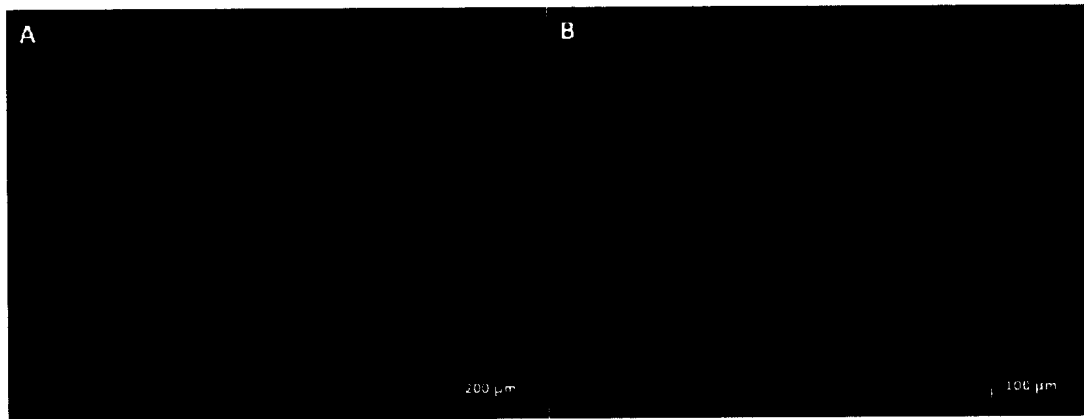
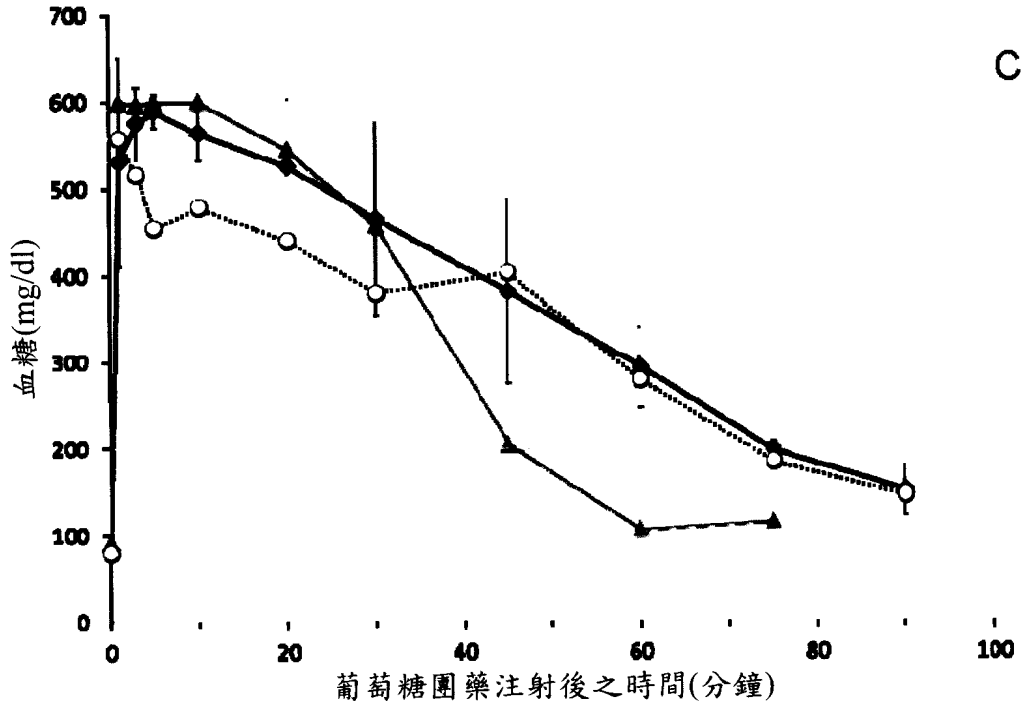


圖 14

E

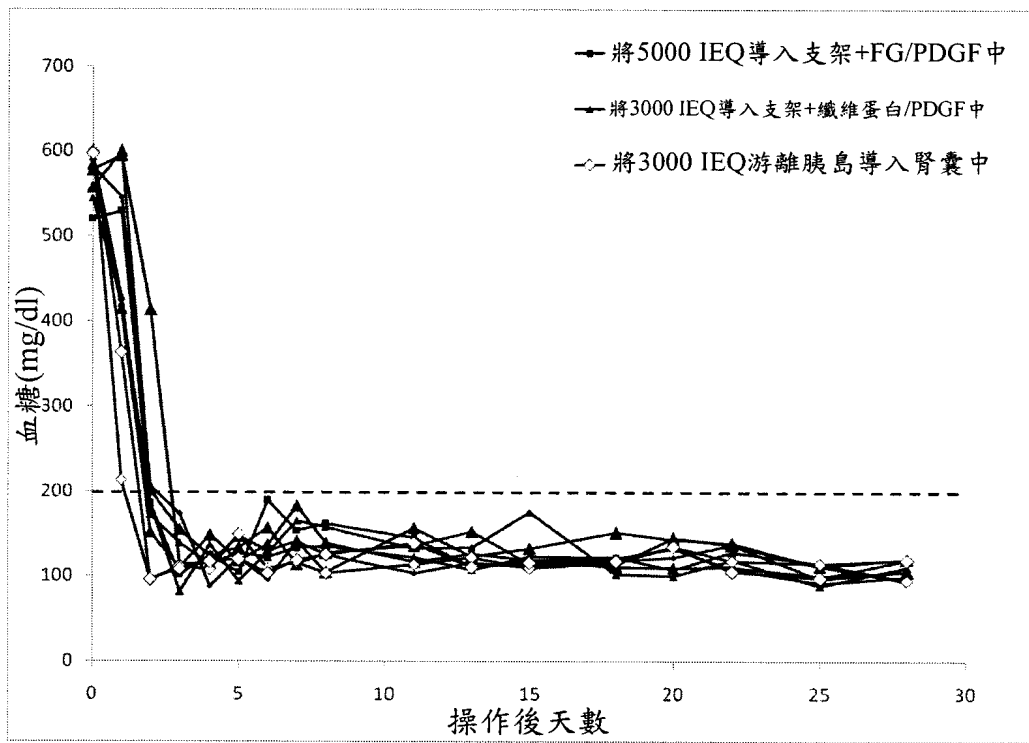


圖 14

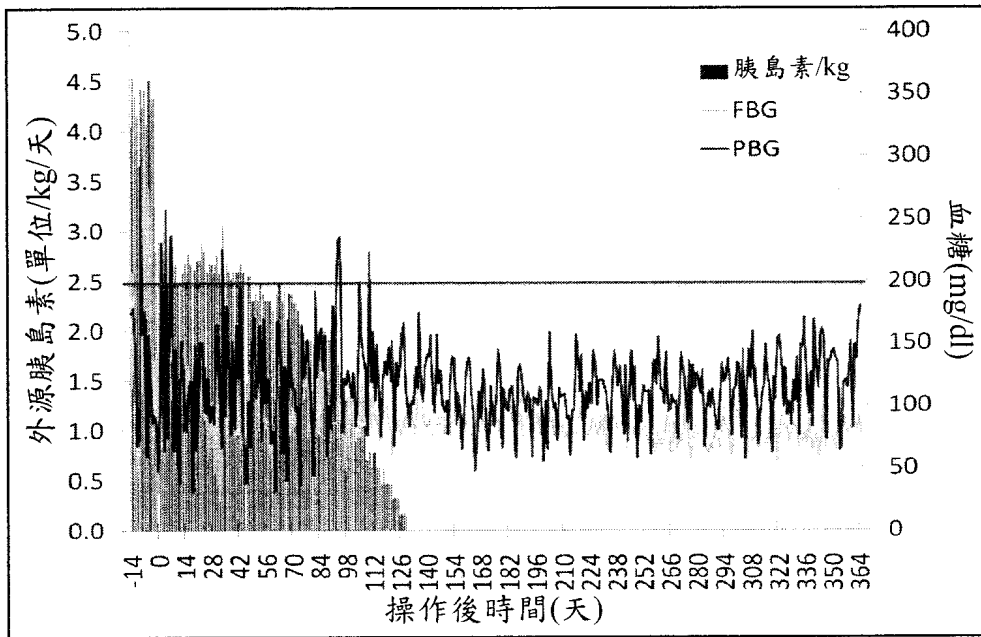


圖 15

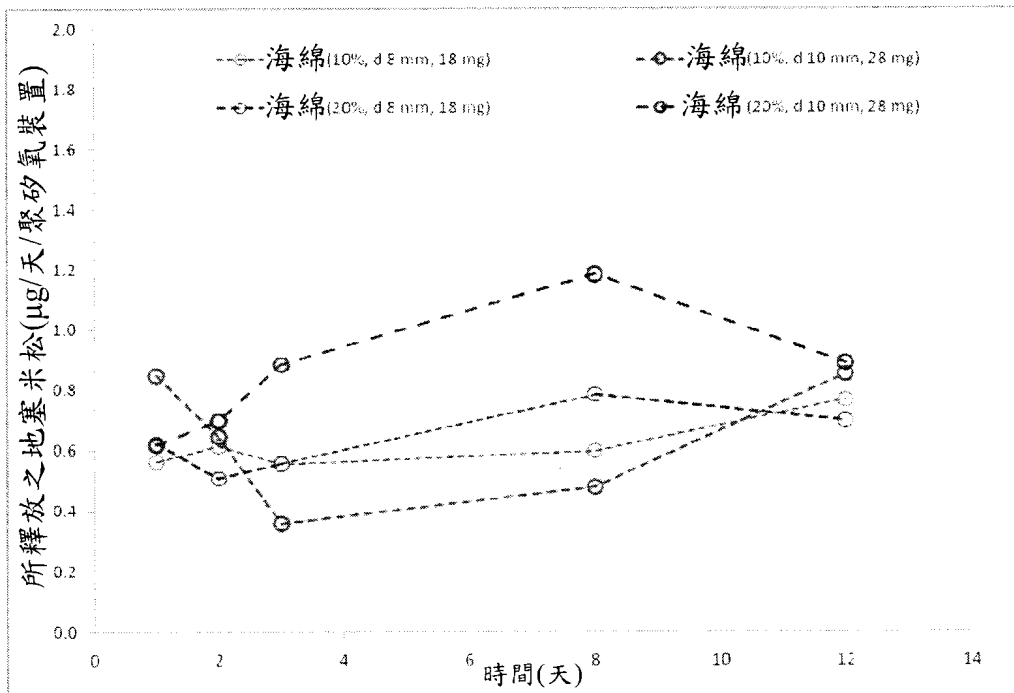
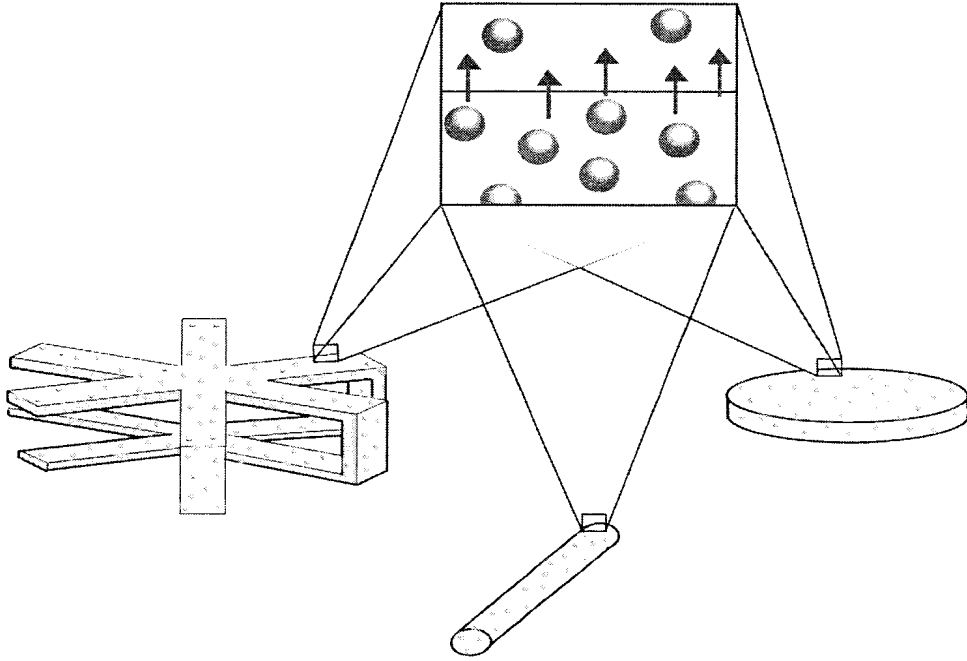


圖 16

A



B

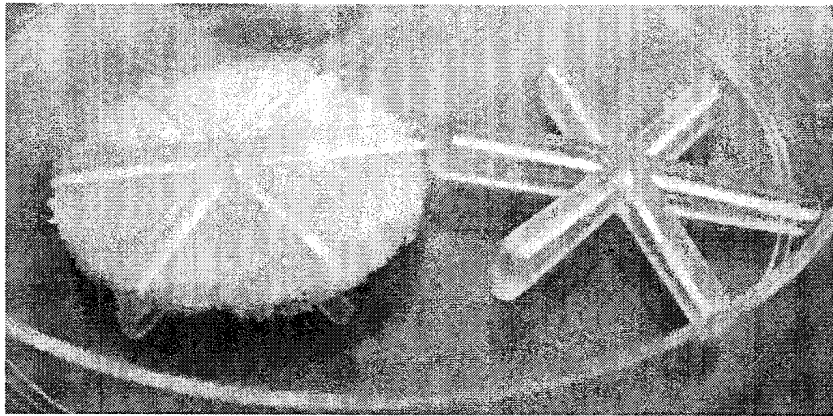


圖 17

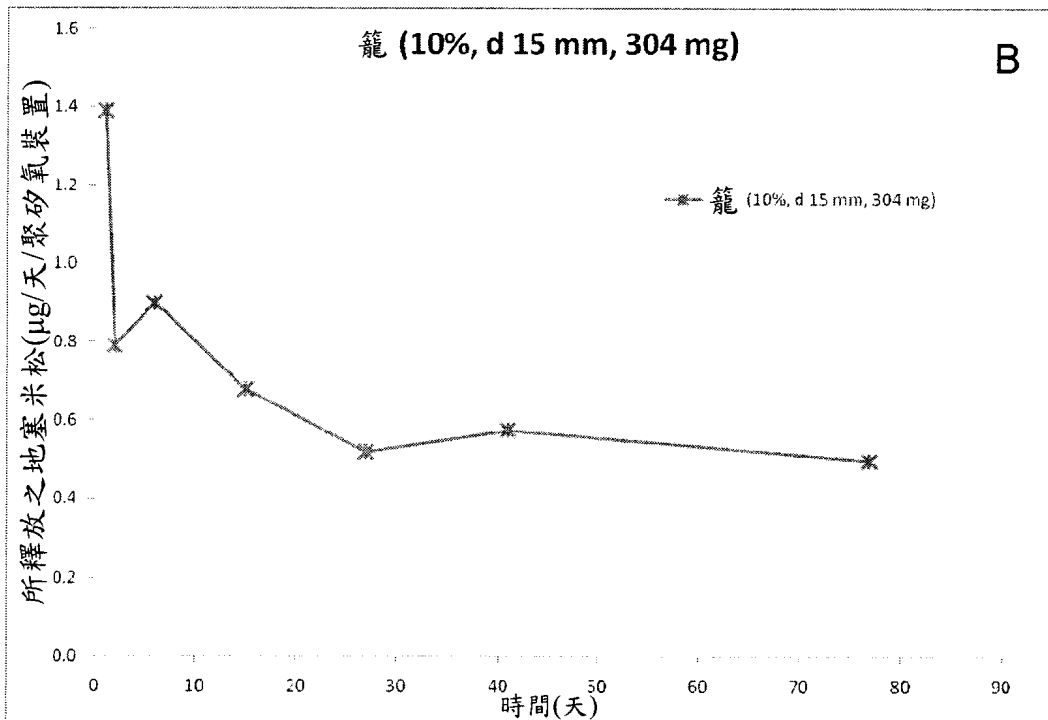
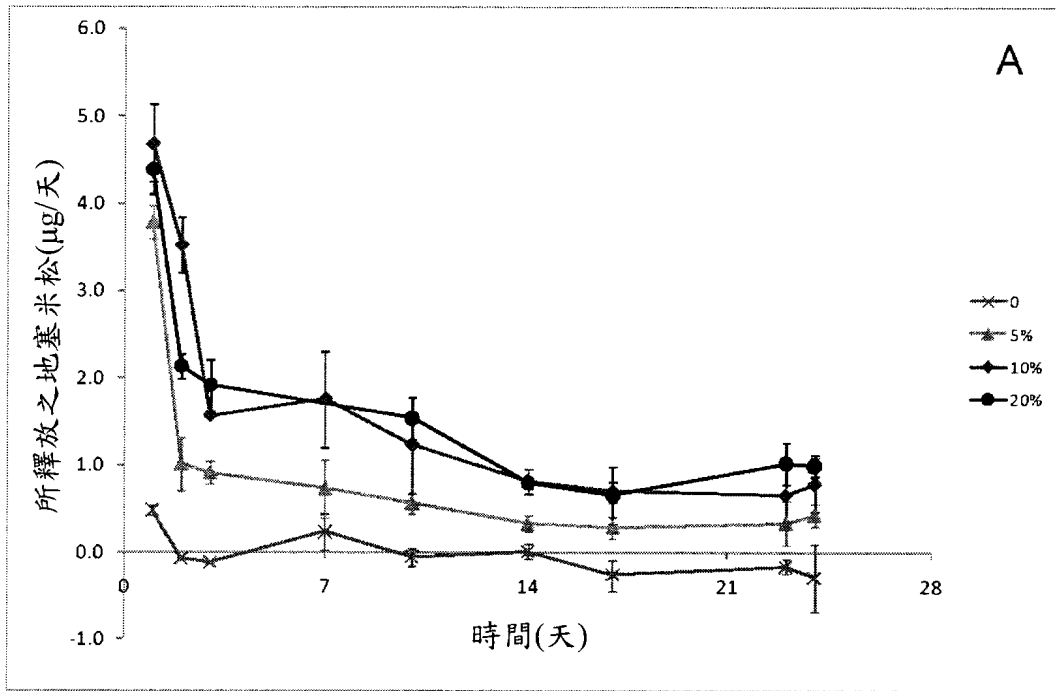


圖 18

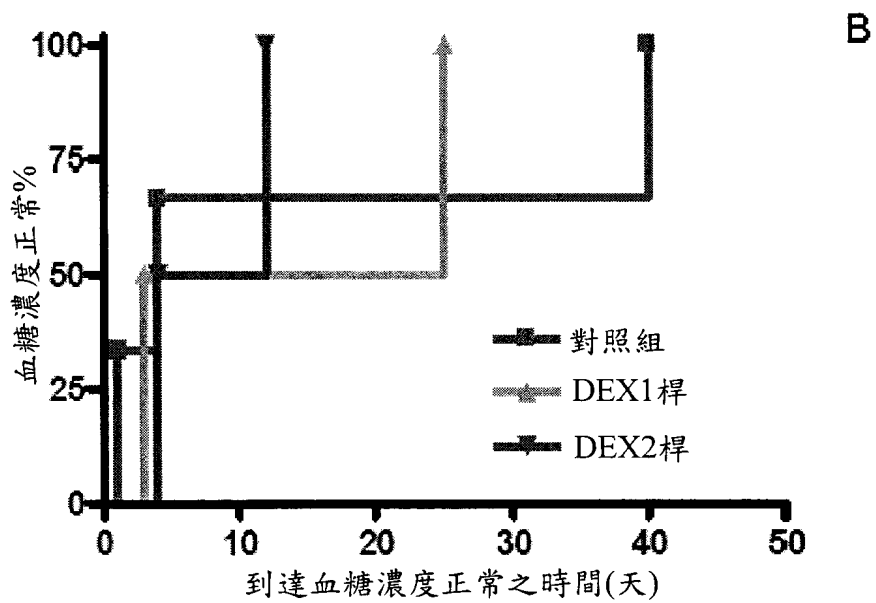
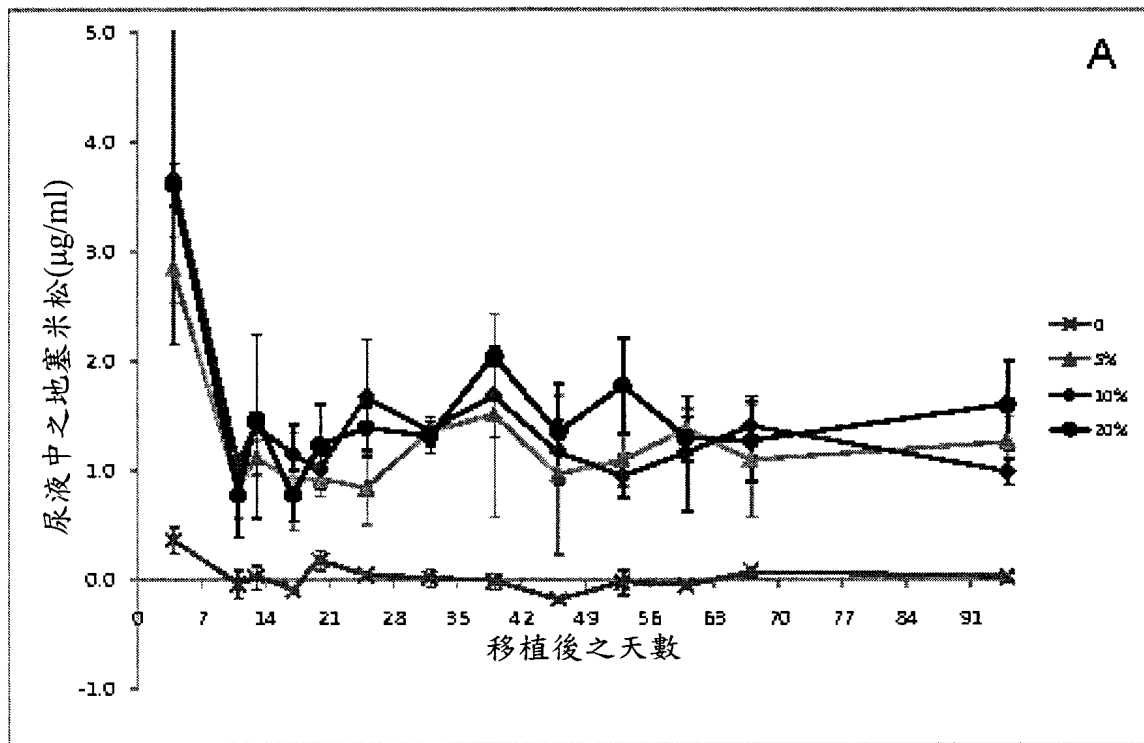


圖 19

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1B) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)