

公告本

84年10月16日修正
補充

310273

申請日期	81.12.15
案 號	81110056
類 別	Int. Cl. 6 A61F 2/04

A4
C4

310273

(以上各欄由本局填註)

發明 專利說明書

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

一、發明 名稱	中 文	胎盤膠原移接物暨用以連接與恢復受阻斷 神經及血管間隙之功能之方法
	英 文	Placental Collagen Graft and Method for Bridging and Restoring Functions of a Gap of Severed Nerves and Vessels
二、發明人	姓 名	1. 沙拉參那 2. 肯斯蓋
	籍 貫 (國籍)	均為美國
	住、居所	1. 美國德州休士頓市北林蔭大道1911號 2. 美國德州休士頓市南杰森4209號
三、申請人	姓 名 (名稱)	美國研究發展基金會
	籍 貫 (國籍)	美國
	住、居所 (事務所)	美國內華達州卡森市北區街402號
	代表人 姓 名	杰姆士威勒

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

本發明範疇：

本發明係有關神經及血管移接用之胎膜管。

本發明背景：

基於數個原因，胎膜、羊膜及絨毛膜被吾人選用為啟始物質。胎膜最好是人類的，雖然動物胎膜亦可使用。(1) 在本發明之一方面，吾人已闡明人類羊膜及絨毛膜導管在老鼠體內之低免疫性，且當其膜中有各種抗原，主要為 I、II 及 III 型膠原、纖維黏蛋白 (fibronectin)、及 海帶氨酸 (laminin)，以點斑法及 ELISA 法進行試驗時，亦獲得證實。(2) 人類胎盤可以相當不受限制之量取得，且價格低廉。(3) 羊膜及絨毛膜被用於各種醫療及外科用途，已有近 90 年。(4) 它們已被證實能形成新血管。(5) 它們亦可被置於人體之皮下凹處長達 7 星期而無急性排斥之現象。胎膜具有複雜之生化構造及獨特之物理性質。利用本文稍後所將述及之處理方法，可對它們進行物理性質方面之改良，而形成半硬質、具彈性之管子，且具有不同長度、直徑及厚度。羊膜及絨毛膜之生化組成主要為 I、II 及 III 型膠原、海帶氨酸、纖維黏蛋白 及其他醣蛋白。已證實 海帶氨酸 可經由與屬於受體 (integrin) 族之軸突性醣蛋白交互作用而促進軸突之伸展。免疫化學研究方法之進行使吾人得以改良對羊膜及絨毛膜之處理方法，以維持 海帶氨酸 為這些管子之主要成分，如本文稍後所述。

雖然以人類之羊膜及絨毛膜較佳，但來自其他動物之這些膜，例如牛膜，則構成了本發明之另一方面。

臨床上，利用神經自體移接作為重建神經間隙之方法

五、發明說明(2)

是可以接受的。神經自體移接之缺點已經被證實有很多，舉例來說，需要一額外的外科手術，在給予體造成麻醉或感覺過敏可能也是一個問題，且在給予體移接上經常有尺寸上之限制。雖然神經同種異體移接已克服了自體移接上之一些缺點，然而移接之排斥仍為一重要問題且限制了其在臨床上之用途，不論是否使用免疫抑制劑。

在神經研究上，目前之重點及未來之方向集中在發展出一理想之神經導管以供臨床使用。一些研究人員已研究利用包括矽氧橡膠、PTFE、聚正酯、聚結素(polyglactin)、肌肉基片、及靜脈移接等不同材料來作為神經導管。所述及之這些材料中，每一種皆有其缺點，沒有一種被證明可提供理想之環境以供神經之再生。一理想之神經導管應該是可輕易取得、價格低、容易製造、具各種尺寸、非免疫性、微孔性、非軟性、可菌解、且其生化組成可提供一理想環境以供軸突再生。如本文稍後所述，吾人已發展出一種利用人類羊膜製成之神經導管，具有所提出理想神經導管之許多特性。

許多研究人員目前正在研究利用膠原作為神經導管。依需要而定，此膠原之來源可以是同種或異種的，因此，能刺激一免疫反應而可能抑制神經之再生。本發明中羊膜及絨毛膜神經導管之免疫試驗結果顯示其免疫反應很小而不顯著，因此，可避免一些可能影響神經再生之抑制因子。雖然，羊膜及絨毛膜導管顯示出菌解性及構造上大體重組之徵兆，且經電子顯微鏡檢查結果，局部炎症細胞浸潤

五、發明說明(3)

情形相當輕微，局限於管壁周圍地區，且不會生成類似慢性神經壓傷之變化。此種後者之發展為利用矽氧橡膠管以供神經再生所遭遇之一主要問題。

利用羊膜及絨毛膜導管進行神經再生之功能性及形態學評估結果，證明其優於神經自體移接及矽氧管。

同時，在血管被阻斷時，例如發生血栓及血管斷片被移除時，亦需要可連接其近端及遠端之血管。在繞流手術中，當病人沒有足夠之靜脈可取代被移除之血栓動脈時，為了這些原因所進行之腿部靜脈剝除可以避免，在後續之繞流手術中亦然。同樣地，靜脈移接壁之壓縮及其管腔閉合加諸於給予體端之罹病率亦為限制其使用之重要問題。通常使用之血管為取自病人腿部或手臂之靜脈移接。冠狀動脈之靜脈繞流及周圍血管間之繞流移接所致之給予體端之罹病率及不可預期之明顯現象皆已為人所熟知。曾經被嘗試過且常被使用之一些血管，包括經保存之牛靜脈移接、達克倫輔助移接、特夫綸、及臍動脈移接。血栓之高發生率及這些移接之感染亦為一個問題。為了達成一理想之血管移接，移接應為不易發生血栓、容易取得、具各種尺寸及長度、可伸展及具彈性。

依據本發明之羊膜及絨毛膜膠原管及導管為非免疫性，可輕易製成各種不同長度及直徑之管子。本發明之羊膜及絨毛膜管可適用於神經移接或作為冠狀動脈繞流或血管繞流手術之繞流管。

五、發明說明(4)

本發明綜述：

本發明係關於提供用來移接之神經及血管或導管以連接神經及血管之間隙。衍生自膜狀羊膜及絨毛膜胎盤之Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型膠原之物理性質業經改良，因此所製成之管子得以維持暢通及彈性，血液流經其內腔時其壁可承受間隙壓力，其中膜之胎面或光亮面為其內面，在神經移接時可促進軸突之生長。

在本發明之一部分中係提供一種移接，其羊膜及絨毛膜係得自新鮮之胎盤，最好是人類者，羊膜及絨毛膜係分離自胎盤，而二者中覆蓋於膜之胎面基片之細胞單層物質被經由暴露於胰酶或胃蛋白酶等方式移除之，以磷酸緩衝溶液或蒸餾水重覆沖洗羊膜及絨毛膜直至乾淨，然後經由暴露於加馬射線或利用戊醛進行化學性交連使羊膜及絨毛膜交連，如此可將組織滅菌，保護之使免受病毒性疾病之傳染，強化之並且使得該物質得以由片狀重新塑造為管狀。然後將羊膜及絨毛膜包裝成層狀，使得光亮之胎面直接指向完成管之內層表面。包裝之數目依管子之長度及直徑而定。然後將管子乾燥置於瓶中，封存之，作標記，若有需要並暴露於2.5雷得之加馬射線中以再度滅菌，並進一步交連導管膠原。若有需要，以如血纖維蛋白膠等適當之膠將各層膠合，以防止分層，特別是在較大之導管，如用於血管移接時。

然後可將管子或導管儲存於例如 -20℃下，直至使用。

五、發明說明(5)

對神經移接而言，在進行移植時在羊膜及絨毛膜管內可使用神經促進因子，例如基片之顆粒、**纖維黏連蛋白**、膠原萃出物、神經生長因子及其他有關之生長因子。

同樣地，本發明之目的之一為提供一種管狀移接以連接一受阻斷周圍神經近枝及遠枝或者是血管之近端及遠端，而可避免以往早期工業之缺點，並且具有前述之優點。

本發明進一步之目的為，提供一種移接以連接一受阻斷周圍神經近枝及遠枝或者是血管之近端及遠端，包括由一層層源自人類胎盤且其細胞性物質已被實質移除之滅菌膠原、I、II、III型，所構成之圓柱形管壁，其胎面朝內，且其膠原被以放射線或化學方法交連，圓管之層數足以維持圓管之暢通，圓管之長度大於近枝及遠枝或近端及遠端間之距離，其直徑至少等於遠枝或端之結締組織。

本發明一進一步之目的為，提供一種移接其羊膜及/或絨毛膜之層面係有效膠合以防止分層。

本發明另一進一步之目的為，提供一種圓柱形移接，其壁可使間質液體流過以供給移接用之早期營養，在神經移接時，並供給許旺氏細胞生長所需之營養。

本發明另一進一步之目的為，提供一種圓柱形移接以作為在神經學範疇內神經再生藥物研究內含物材料之研究模型。

本發明一進一步之目的為，提供一種神經移接，包括含有相關生長因子之羊膜及/或絨毛膜管。

本發明一進一步之目的為，提供一種神經移接，包括

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明(6)

含有基片顆粒之羊膜及 / 或絨毛膜管。

本發明一進一步之目的為，提供一種移接，其可製成相當長之長度不會糾結，而可保持其形狀，其間之通路維持暢通。

本發明其他及進一步之目的、特性及優點處處可見。較佳具體形式詳述：

A. 羊膜之取得及製備

在本發明之這一方面，羊膜係取自新鮮之人類胎盤。這些胎盤係來自醫院之工作人員並且在分娩後 24 小時內送達。只有兩個胎盤係來自己已被篩檢出 AIDS 及肝炎病毒，而他們並不屬於如 IV 藥品濫用者這類之高危險族群。要注意以避免皮膚接觸到血液及組織，並使工作區域遭受這些物質污染之機會減至最小。

羊膜層係以手指分離之方法自胎盤分離。具相同厚度之最大可能羊膜片，係由所有取得之羊膜中選取出來的，徹底清洗所選取之膜片，最好是用磷酸緩衝生理食鹽水或蒸餾水，以去除所有血液及碎片。然後再進一步清洗膜，直至呈白色透明。

以暴露於胰酶等方式將覆蓋於膜胎面基片之單層細胞移除。在室溫下將膜浸潤於 1 : 1 蒸餾水與胰酶之溶液中 2 小時。所用之胰酶最好是取自濃度 25 % 無鈣或鎂之 procine 胰臟。然後再以胰酶處理之，重覆沖洗羊膜，最好是用磷酸緩衝生理食鹽水或蒸餾水，直至得到乾淨、白色而無粉紅色胰酶痕跡之膜。

五、發明說明(7)

將經沖洗之羊膜片裝於蒸餾水瓶中，使暴露於 500,000 雷得之加馬射線。以輻射處理羊膜會使膠原交連，組織滅菌，使動物免受病毒性疾病之傳染，再繼之以使該物質得以由片狀重新塑造為導管或管狀。然後將瓶子貯存於 -80℃ 之冷凍櫃中，如有需要可以用戊醛等化學方法使羊膜片交連。

B. 導管之製造

將羊膜自冷凍貯存階段移出，然後置於室溫下解凍 3 至 4 小時。在操作顯微鏡下檢視羊膜片之缺失，並判斷膜之胎或光亮面。利用輥軋機仔細收集寬度足夠所需導管長度及直徑之羊膜片。旋轉羊膜片使光亮之胎面成為完成管之內表面。

雖然羊膜片可包裝成任何所需之形式，最好是利用一適當直徑經高度磨光之不銹鋼展幅機將羊膜片以層狀包裝。

為了維持羊膜圓管之形狀以避免糾結現象並能維持其暢通所需羊膜片之疊數或層數，依管或圓管之長度及直徑而定。舉例來說，直徑 1.6 - 1.8 英吋之導管需要大約 10 疊之羊膜，而直徑 2.5 者以 15 疊較理想。導管可以是任何所需之長度。然後將展幅機上之管子置於 40 - 60℃ 烘箱中乾燥大約 30 分鐘。乾燥使得管子得以輕易自展幅機移除。為預防分層，如有需要可利用如血纖維蛋白膠等適當之黏合劑或膠將成層或成疊之羊膜片膠合。然後將管子置於瓶中，封存之，作標記，若有需要並暴露於 2,000,000 雷得之加

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明(8)

馬射線中以再度滅菌，並進一步交連導管膠原。然後將導管儲存於 -20°C 下，直至使用。

例證 1

在此例證中，以免疫化學法評估在製成導管之前、後，人類羊膜中基底膜之完整性及薄片含量。依據本發明，人類羊膜導管低免疫性，且當羊膜中有各種抗原，主要為 I 型膠原、纖黏連蛋白、及海帶氨酸時，以點斑法及 ELISA 法進行試驗時，亦獲得證實。羊膜被廣泛用於各種醫療及外科用途，已有近 90 年，且已證實其能用來形成新血管。曾將其置於人體之皮下凹處長達 7 星期而無急性排斥之現象。

胎膜具有複雜之生化構造及獨特之物理性質。在本發明中利用本文所將述及之處理方法，可對它們進行物理性質方面之改良，而形成半硬質、具彈性之導管，且具有不同長度、直徑及厚度。羊膜之生化組成主要為 I、II 及 III 型膠原、海帶氨酸、纖黏連蛋白及其他醣蛋白。已證實海帶氨酸可經由與屬於受體整合蛋白族之軸突性醣蛋白交互作用而促進軸突之伸展。本發明中處理羊膜之方法使海帶氨酸保持為這些組成中之主要成分。利用加馬射線之本方法具有一些優點。已證實在 .20 M 雷得下，所有細菌、真菌及濾過性病毒（包括 AIDS）皆會被破壞。最好是利用 2.5 M 雷得之劑量，以確保終產物完全滅菌。此劑量亦會增加羊膜膠原之交連而強化之，因此，使羊膜導管可製成半硬質型，保持一些彈性，使在移植後維持其暢通。不過，如前所述以已知方法，例如暴露於戊醛，進行化學交連相當有效且很理想

五、發明說明(9)

免疫試驗結果顯示，羊膜神經導管之免疫反應很小而不顯著，因此，可避免一些可能影響神經再生之抑制因子。雖然，羊膜導管顯示出菌解性及構造上大體重組之徵兆，且經電子顯微鏡檢查結果，局部炎症細胞浸潤情形相當輕微，局限於導管管壁周圍地區，且不會生成慢性神經壓傷之變化。此種後者之發展為最近在提供臨床用途上利用矽氧橡膠管以供神經再生所遭遇之一主要問題。

羊膜導管之長期研究結果指出，主要構造上變化之證據為許旺氏細胞浸潤通過成層之導管及膠原之重組，顯示出菌解性及重組之特性，一種羊膜導管之獨特性質。

如前所述，本發明之羊膜管可用來作為如基片、纖維黏連蛋白、膠原萃出物、神經生長因子及其他有關因子等很多能促進神經再生之物質之載體。如美國第 5,002,071 號等專利所述，膠原萃出物係萃取自人類之胎膜。舉例來說，基片可用來作為冰凍乾燥基質，在移植時極化或保存於羊膜管中任何保存溶液中。

例證 2

在此例證中，將依據本發明透過導管之神經再生作用與自體移接及在實驗動物模型中其他型態之神經管進行形態及功能上之比較。

將 11 隻貓分為 5 組以評估透過脛骨神經 4 cm 間隙之神經再生作用。

五、發明說明(10)

第1組(3隻動物)羊膜管。

第2組(3隻動物)羊膜管及萃取自肌肉作為神經營養因子之基片。

第3組(3隻動物)神經自體移接。

第4組(1隻動物)進行模擬手術作為控制組。

第5組(1隻動物)未修復。

追蹤這些動物六個月後，觀察其結果，對神經片段進行形態及組織學之研究。

利用肌肉內注射 Demerol 及苯巴比妥以及吸入鹵化乙烷與 NO₂ 混合物之方式將貓麻醉。將脛骨神經暴露於其中，切除一4 cm 之片段並以下述方法進行修復：

在第1組(羊膜)中，將羊膜管縫合於遠枝及近枝以確保一4 cm 之間隙。兩針分別位於兩邊相隔180°，通過只含有神經叢神經外膜之管子的全部厚度。

在第2組(羊膜—基片)中一如前所述，切除神經中一4 cm 之片段，以充滿基片之羊膜管連接間隙。

在第3組(神經自體移接)中，切除一4 cm 之片段，然後以神經弓突之方法再接合。

在第4組(模擬手術)中，以探針檢查脛骨神經而未作任何處理。

在第5組(未修復)中，切除脛骨神經中一4 cm 之片段，將神經枝與下面之肌肉縫合以確定未修復。

追蹤這些動物六個月，除了模擬手術者外，實驗族群中未發現功能上之改良。

五、發明說明 (11)

在六個月時，犧牲這些貓並進行形態及組織學上之研究。結果顯示，羊膜基片為神經再生上一種很強之待用物，同時指出，將肌肉基片加入羊膜膠原管中，會促進神經之再生。

在軸突直方圖中，和模擬手術組比較起來，羊膜基片組之分佈情形顯示其軸突較大，且有相當比例之軸突(9%)落在 1.5 至 2.25 微米之範圍內。在神經自體移接時，其直方圖與模擬手術組相當，但是有較高比例之軸突(37%)落在 0.5 至 0.75 微米之範圍內。在羊膜管組中，軸突直徑在 0.1 至 1 微米之間，而大多數之軸突(58%)落在 0.25 至 0.5 微米之範圍內。軸突直徑直方圖顯示，基片有助於產生較大之軸突，而應該是最接近正常者。

此例證之結論為，人類羊膜導管為神經移接之強取代物，而肌肉基片在加入羊膜膠原管時，被證實是一種很好的神經營養物質。充滿基片之羊膜導管優於神經自體移接。人類羊膜膠原管為神經再生上很好的導管，可用於放置任何神經營養物質。

例證 3

在此例證中，以人類絨毛膜取代人類羊膜。將絨毛膜自羊膜分離而後得以取得，並以與 A 段所述相同之方式處理之，形成和 B 段相同之導管，具有和例證 1 及 2 所述相似之性質，適合於神經生長及血管。如絨毛膜係分離自羊膜，則使用胰酶及胃蛋白酶之步驟可省略。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明(12)

例證 4

在此例證中，以源自牛羊膜及絨毛膜之 I、II 及 III 型膠原及其混合物取代人類之膜，如前所述，製備並形成導管或管子，對神經生長及血管而言，具有和前面所述人類之膜相似且令人滿意之結果。

本發明之方法包括以一包括至少一層無細胞性或上皮物質，包括 I、II、III 型膠原或其混合物、海帶氨酸、纖維黏連蛋白及其他醣蛋白，經滅菌之交連膜之管子連接一受阻斷周圍神經近枝及遠枝或者是血管之近端及遠端，其胎面朝內。將膜以放射線或化學方法滅菌及交連，其層數足以維持其暢通。管子之長度至少等於近枝及遠枝或近端及遠端間之距離，其直徑至少等於，最好是略大於，近及遠枝或端之結締組織。對神經移接而言，如前所述，管子可包含如基片、纖維黏連蛋白或膠原萃出物或其混合物等神經生長因子。將管子縫合或者固定在鄰近神經枝或血管端之結締組織。

移接物可貯存長時間，為移接材料方便易得之來源。移接物可製成任何所需之直徑及長度，移接之層狀物可予以膠合，以避免在使用時造成分層。

同樣地，連接一受阻斷神經近枝及遠枝或者是血管之近端及遠端間間隙之移接，包括一圓柱其壁係由至少一層源自胎盤衍生自 I、II、III 型膠原或其混合物之經滅菌交連膜所形成，相當適當而令人滿意。

五、發明說明(13)

同樣地，本發明相當適合於達到目的及目標，具有前述特性及優點以及其他其中所蘊含者。

因為目前之本發明較佳具體形式是為了揭示目的而提出，如所附申請專利範圍所定義，在本發明精神之範疇內可作改變及修正。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

310273

84年10月6日修正
補充A5
B5

四、中文發明摘要(發明之名稱)：

胎盤膠原移植物暨用以連接與恢復受阻斷神經及血管間隙之功能之方法

本發明所揭示為其壁由至少一層經滅菌之交連 I、II、III 型膠原或其來自胎盤之混合物所形成，而可作為神經及血管移植用之圓管，以及其製造方法和用途。神經移植及促使軸突由該處再生。神經及血管之移植為非免疫性的，可製成各種不同長度及直徑之管子，可輕易地取得，在使用上為具專利性或可任意使用。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

英文發明摘要(發明之名稱: Placental Collagen Graft and Method for Bridging and Restoring Functions of a Gap of Severed Nerves and Vessels)

Disclosed are cylinders having a wall formed of at least one layer of sterilized cross-linked Types I, II, III collagen or combinations thereof from placenta for nerve and blood vessel grafts, methods of manufacture and use. The nerve grafts promote axon regeneration therethrough. The nerve and blood vessel grafts are non-immunogenic, can be constructed into tubes of various lengths and diameters, are easily accessible and are patent or open in use.

附註：本業已向 美國 地區 申請專利，申請日期：

案號：

1991.11.26

07/799,517

六、申請專利範圍

1. 一種用於連接一受阻斷神經之近端與遠端間以及血管之近端與遠端間之間隙之移接物，包含：

一圓柱，其長度至少等於受阻斷神經或血管之近端與遠端間之距離，而直徑至少等於受阻斷神經或血管之近端與遠端間之直徑，

所述圓柱具有一由至少一層經滅菌之交連膜所形成之壁，所述膜包含由 I 型、III 型、及其等之混合物所組成集團中選出之膠原，

所述膠原係衍生自胎盤之羊膜、胎盤之絨毛膜及其等之混合物所組成之集團。

2. 如申請專利範圍第 1 項之移接物，其中所述壁包含至少二層呈片狀之所述膜，係予有效膠合以防止使用時各層之分層現象。

3. 如申請專利範圍第 1 項之移接物，其中移接物允許間質液體流過其圓柱壁。

4. 如申請專利範圍第 1、2、或 3 項之移接物，其中移接物為一神經移接物且含有至少一種神經生長因子。

5. 如申請專利範圍第 1、2、或 3 項之移接物，其中移接物為一神經移接物且含有基片、纖黏連蛋白、羊膜膠原萃出物或其等之混合物。

6. 如申請專利範圍第 1、2、或 3 項之移接物，其中羊膜或絨毛膜係衍生自人類之胎盤。

7. 如申請專利範圍第 4 項之移接物，其中羊膜或絨毛膜係衍生自人類之胎盤。

六、申請專利範圍

8. 如申請專利範圍第 5 項之移接物，其中羊膜或絨毛膜係衍生自人類之胎盤。

(請先閱讀背面之注意事項五)

頁)

訂