

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61F 2/02 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480018348.8

[45] 授权公告日 2009年11月11日

[11] 授权公告号 CN 100558319C

[22] 申请日 2004.4.29

[21] 申请号 200480018348.8

[30] 优先权

[32] 2003.5.2 [33] US [31] 10/428,901

[86] 国际申请 PCT/US2004/013260 2004.4.29

[87] 国际公布 WO2004/098503 英 2004.11.18

[85] 进入国家阶段日期 2005.12.28

[73] 专利权人 得克萨斯系统大学评议会

地址 美国得克萨斯州

[72] 发明人 K·D·纳尔逊 B·B·克罗

[56] 参考文献

CN1355005A 2002.6.26

CN1293553A 2001.5.2

CN1290153A 2001.4.4

WO9820190A1 1998.5.14

US5578046A 1996.11.26

Cartilage tissue engineering with novel nonwoven structured biomaterial based on hyaluronic acid benzyl ester. Aigner et al. J. of Biomed. Materials Res., Vol. 42 No. 2. 1998

Tissue engineered bone repair of calvarial defects using cultured periosteal cells. Breitbart et al. Plastic & Reconstructive Surgery, Vol. 101 No. 3. 1998

审查员 范文扬

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝

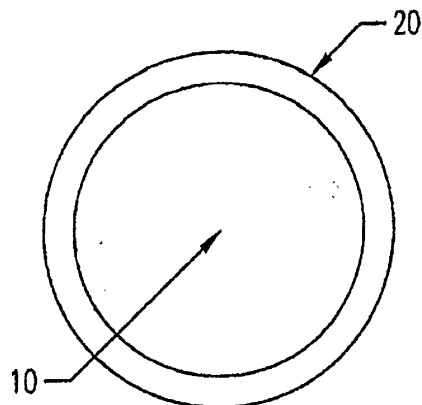
权利要求书 3 页 说明书 49 页 附图 11 页

[54] 发明名称

用于传递治疗剂的药物释放性生物可降解纤维

[57] 摘要

本发明涉及合凝胶或水凝胶的纤维组合物。本发明进一步涉及载荷凝胶或水凝胶的生物可降解纤维组合物以及生产这种纤维的方法。本发明进一步提供组织工程和药物传递组合物和方法，其中制备的细胞培养用三维基质在体外和体内使用。本发明还涉及通过生物可降解聚合物改性以及加入的凝胶或水凝胶改性以操控治疗剂释放速率的方法。



1. 一种药物传递组合物，所述组合物包含至少一种纤维，其中所述纤维含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分为凝胶或水凝胶。

2. 权利要求1的组合物，其中所述第一种组分存在于纤维芯中，所述第二种组分存在于纤维壁中。

3. 权利要求1的组合物，其中所述第二种组分存在于纤维芯中，所述第一种组分存在于纤维壁中。

4. 权利要求1的组合物，其中所述治疗剂载入凝胶或水凝胶中。

5. 权利要求4的组合物，其中所述治疗剂为生长因子。

6. 权利要求5的组合物，其中所述生长因子为血管生成促进剂。

7. 权利要求5的组合物，其中所述生长因子促进神经再生。

8. 权利要求4的组合物，其中所述治疗剂为病毒。

9. 权利要求4的组合物，其中所述治疗剂是蛋白、酶、转录因子、信号转导分子、内部信使、第二信使、激酶、蛋白酶、细胞因子、趋化因子、结构蛋白、白介素、激素、抗凝剂、促凝剂、抗炎剂、抗生素、促进血管生成的物质、抑制血管生成的物质、生长因子、免疫调节物、趋化剂、促凋亡剂、抑凋亡剂或促有丝分裂剂。

10. 权利要求1的组合物，其中所述凝胶或水凝胶为前体凝胶或前体水凝胶。

11. 权利要求1的组合物，其中所述纤维含疏水性药物。

12. 权利要求1的组合物，其中所述凝胶或水凝胶含放射性物质。

13. 一种含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维包含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分为水，而且其中所述水存在于纤维的内核中。

14. 权利要求13的组合物，其中所述纤维含疏水性药物。

15. 一种含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维包含由凝胶或

水凝胶组成的乳状液。

16. 一种含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维包含第一种组分，其中所述第一种组分为凝胶或水凝胶，而且其中所述纤维含中空芯。

17. 一种支架组合物，所述组合物含一种或多种纤维，其中所述纤维包含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分选自凝胶或水凝胶。

18. 权利要求 17 的组合物，其中所述第一种组分存在于纤维芯中，所述第二种组分存在于纤维壁中。

19. 权利要求 17 的组合物，其中所述第二种组分存在于纤维芯中，所述第一种组分存在于纤维壁中。

20. 权利要求 17 的组合物，其中治疗剂载入凝胶或水凝胶中。

21. 权利要求 20 的组合物，其中所述治疗剂为生长因子。

22. 权利要求 21 的组合物，其中所述生长因子为血管生成促进剂。

23. 权利要求 21 的组合物，其中所述生长因子促进神经再生。

24. 权利要求 20 的组合物，其中所述治疗剂为病毒。

25. 权利要求 20 的组合物，其中所述治疗剂是蛋白、酶、转录因子、信号转导分子、内部信使、第二信使、激酶、蛋白酶、细胞因子、趋化因子、结构蛋白、白介素、激素、抗凝剂、促凝剂、抗炎剂、抗生素、促进血管生成的物质、抑制血管生成的物质、生长因子、免疫调节物、趋化剂、促凋亡剂、抑凋亡剂或促有丝分裂剂。

26. 权利要求 17 的组合物，其中所述凝胶或水凝胶为前体凝胶或前体水凝胶。

27. 权利要求 17 的组合物，其中所述纤维含疏水性药物。

28. 权利要求 17 的组合物，其中所述凝胶或水凝胶含放射性物质。

29. 一种生产纤维的方法，其中所述纤维包含第一种组分和第二

种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分选自凝胶或水凝胶。

30. 一种生产纤维的方法，其中所述纤维包含由凝胶或水凝胶组成的乳状液。

31. 一种生产纤维的方法，其中所述纤维包含第一种组分，其中所述第一种组分为凝胶或水凝胶，而且其中所述纤维含中空芯。

用于传递治疗剂的药物释放性生物可降解纤维

相关申请的相互参考

本申请是2000年8月4日提交的申请09/632,457的部分继续申请，该申请要求1999年8月6日提交的美国临时申请60/147,827的权益。

发明背景

1. 发明领域

本发明涉及药物和组织工程领域，具体地说，本发明涉及用于传递治疗剂的药物释放性生物可降解纤维。

2. 相关领域描述

组织工程是一门使用活细胞替代动物或人中因伤害、疾病或先天缺陷而损失的细胞的学科。这些替代细胞可为自体、同种异体或异种细胞。组织工程领域是一个新的药物领域，最佳程序还有待阐明。

目前有几种工程培养组织的方法。一种方法是收集健康供体的细胞，优选由同一个体收集，或者至少由相同物种的合适供体收集，并在支架上体外培养这些细胞。此支架通常为三维聚合物网络，通常由生物可降解纤维组成。然后，通常可诱导附着于聚合物网络的细胞增殖。可将这种布满细胞的支架植入到受损伤的宿主中，目标是细胞可发挥其生理功能，并避免宿主免疫系统的破坏。为此，重要的是使用纯化的细胞系，因为导入非自体免疫细胞可上调宿主免疫攻击强度。该方法的难度在于支架必须小，因为没有细胞可在远离氧源和营养源几毫米以上的情况下生存。因此，不能使用大支架，因为大支架不能及时地充分血管化来保全内部区域中的细胞。

在另一个方法中，将空的三维生物可降解聚合物支架直接植入到患者中，目标是诱导患者体内的正确类型的细胞迁移到聚合物支架中。好处在于血管形成可与细胞迁移到基质中同时发生。主要问题在于目前没有方法确保合适的细胞类型迁移到支架中，并且维持机械和生物特性来满足患者的生理需要。

在以上的两种方法中，支架可为生物可降解的，这意味着其随着时间推移同时在化学和机械上分解。随着这种分解的发生，细胞分泌出其自身的胞外基质，此胞外基质对细胞生存和功能起关键作用。在正常组织中，组织的组成细胞和周围的胞外基质之间存在活跃和动态的互换。胞外基质提供调节细胞形态特性和表型性状的化学信号，并可诱导分裂、分化乃至细胞死亡。另外，细胞还不断重排胞外基质。细胞同时降解和重建胞外基质，并分泌化学物质到基质中，这些化学物质稍后由它们自身或可迁移到该区域的其它细胞使用。还发现胞外基质在胚胎发育中是最重要的组分之一。先驱细胞分泌的化学信号有助于其后的细胞分化成合适的最终表型。例如，这些化学信号引起神经嵴细胞分化为轴突、平滑肌细胞或神经元。

胞外基质和组织细胞之间的整体关系确立了胞外基质为组织工程中的重要参数。如果需要细胞以特定方式表现，那么胞外基质必须提供合适的环境和合适的化学/生物信号来诱导该细胞类型行为。目前不可能精确地复制出具有生物活性的胞外基质。因此，某些研究者使用生物可降解基质，使细胞能够随着外源基质降解而产生其自身胞外基质。

在上述组织工程方法中，聚合物支架不仅提供了机械支撑，而且提供了新组织或器官所需的三维形状。因为细胞为了生存和有功能必须邻近氧源和营养源，所以现时的主要限制在于血液供应。当代方法学大多数提供非特异性方法来积极辅助血管掺入到聚合物基质之中和各处。这将限制置聚合物基质的物理尺寸和形状。目前唯一已转入大范围临床应用的组织工程部件是人造皮肤，根据定义其

厚度有限。本发明提供促进合适细胞类型直接迁移到工程化胞外基质中的组合物和方法。通过引导特定的三维细胞迁移和功能模式，可诱导定向血管化，这克服了当前对聚合物植入体的形状和大小的限制。还确保合适的细胞类型物理性定位于基质中的特定位置。提供调节表型表达随时间和空间而变化的组合物和方法。

由载荷药物的聚合载体进行的药物传递大多数基于以下结构：微球体、纳米颗粒、泡沫、薄膜、脂质体、聚合胶束或病毒包。上述结构具有许多固有的缺点。上述药物传递结构中有几种在其植入后不能保持在原位。结果在对植入物出现副反应时不能将植入物取出。另外，这些结构每单位体积具有高表面积，导致药物释放时间快，此特点与药物传递目标正相反。而且，上述结构中可载荷的药量受一定局限。这些结构中有些不能用于除药物传递以外还要求机械支撑的情况。

本发明提供不存在先有技术已知的药物传递结构缺点的纤维组合物。

发明概述

本发明涉及含凝胶或水凝胶的纤维组合物。本发明还涉及载荷凝胶或水凝胶的生物可降解纤维的组合物以及制作这种纤维的方法。本发明进一步提供组织工程和药物传递组合物和方法，其中制备的细胞培养用三维基质在体外和体内使用。本发明还涉及通过生物可降解聚合物改性和加入的凝胶或水凝胶改性操控治疗剂释放速率的方法。

本发明的一个实施方案提供含至少一种纤维的药物传递组合物，其中所述纤维含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分选自凝胶和水凝胶。本发明的另一个实施方案提供含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚

合物，所述第二种组分为水，而且其中所述水作为内核存在。本发明的再一个实施方案提供含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维含基本由凝胶或水凝胶组成的乳状液。本发明的一个实施方案提供含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维含第一种组分，其中所述第一种组分为凝胶或水凝胶，而且其中所述纤维含中空芯。本发明的一个实施方案提供含一种或多种纤维的支架组合物，其中所述纤维包含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分选自凝胶和水凝胶。本发明的实施方案还提供生产本发明纤维的方法。

附图简述

以下的图构成了本说明书的一部分，包含这些图是为了进一步阐明本发明的某些方面。参考这些图中的一个或多个连同本文提出的具体实施方案的详述可更好地理解本发明。所述图无意限制本发明的范围。

图 1A 图示一种双组分纤维，其具有水芯(10)和含疏水聚合物的壁(20)。

图 1B 图示一种双组分纤维，其具有水芯(10)、含疏水聚合物的壁(20)和水乳状液(30)。

图 1C 图示一种双组分纤维，其具有水芯(10)、含疏水聚合物的壁(20)以及凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 1D 图示一种双组分纤维，其具有水芯(10)、含疏水聚合物的壁(20)以及水和凝胶或水凝胶的乳状液(50)。

图 2A 图示一种双组分纤维，其具有凝胶或水凝胶芯(60)和含疏水聚合物的壁(20)。

图 2B 图示一种双组分纤维，其具有凝胶或水凝胶芯(60)、含疏水聚合物的壁(20)和水乳状液(30)。

图 2C 图示一种双组分纤维，其具有凝胶或水凝胶芯(60)、含疏

水聚合物的壁(20)以及凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 2D 图示一种双组分纤维，其具有凝胶或水凝胶芯(60)、含疏水聚合物的壁(20)以及水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50)。

图 3A 图示一种双组分纤维，其具有凝胶或水凝胶芯(60)和含疏水聚合物的壁(20)，该壁含有药物(70)。

图 3B 图示一种双组分纤维，其具有聚合物芯(80)，该聚合物芯由凝胶或水凝胶壁(90)包围。

图 3C 图示一种双组分纤维，其具有含水乳状液(30)的聚合物芯(80)，该聚合物芯由凝胶或水凝胶壁(90)包围。

图 3D 图示一种双组分纤维，其具有含凝胶或水凝胶乳状液(40)的聚合物芯(80)，该聚合物芯由凝胶或水凝胶壁(90)包围。

图 4A 图示一种双组分纤维，其具有含水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50)的聚合物芯(80)，该聚合物芯由凝胶或水凝胶壁(90)包围。

图 4B 图示一种多组分纤维，其具有凝胶或水凝胶芯(60)，该芯由两层疏水聚合物壁(20 和 100)包围，聚合物外壁含水乳状液(30)，聚合物内壁含凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 4C 图示一种单丝纤维，其含有疏水聚合物(100)和凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 4D 图示一种单丝纤维，其含有疏水聚合物(100)以及水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50)。

图 5A 图示一种双组分纤维，其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20)，该壁含凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 5B 图示一种双组分纤维，其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20)，该壁含水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50)。

图 5C 图示一种双组分纤维，其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20)，该芯含水乳状液(30)，该壁含凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 5D 图示一种双组分纤维，其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏

水聚合物的壁(20), 该芯含凝胶或水凝胶乳状液(40), 该壁含凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 6A 图示一种双组分纤维, 其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20), 该芯含水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50), 该壁含凝胶或水凝胶乳状液(40)。

图 6B 图示一种双组分纤维, 其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20), 该芯含水乳状液(30), 该壁含水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50)。

图 6C 图示一种双组分纤维, 其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20), 该芯含凝胶或水凝胶乳状液(40), 该壁含水乳状液和凝胶或水凝胶乳状液(50)。

图 6D 图示一种双组分纤维, 其具有疏水聚合物芯(90)和包含疏水聚合物的壁(20), 该芯同时含水和凝胶或水凝胶乳状液(50), 该壁同时含水和凝胶或水凝胶乳状液(50)。

图 7 图示一种用于挤出本发明纤维的湿式挤出装置。

图 8 图示一种用于本发明的喷丝头。

图 9 图示一种用于挤出本发明纤维的三联装置。

图 10 图示一种用于生产多组分纤维的三联喷丝头。

图 11 图示治疗剂经过载荷乳状液的纤维壁的流程。

说明性实施方案的描述

本发明的一个实施方案提供含至少一种纤维的药物传递组合物, 其中所述纤维含第一种组分和第二种组分, 其中所述第一种组分为生物可降解聚合物, 所述第二种组分选自凝胶和水凝胶。本发明的另一个实施方案提供含纤维的药物传递组合物, 其中所述纤维含第一种组分和第二种组分, 其中所述第一种组分为生物可降解聚合物, 所述第二种组分是水, 而且其中所述水作为内核存在。本发明的再一个实施方案提供含纤维的药物传递组合物, 其中所述纤维

含基本由凝胶或水凝胶组成的乳状液。本发明的一个实施方案提供含纤维的药物传递组合物，其中所述纤维含第一种组分，其中所述第一种组分是凝胶或水凝胶，而且其中所述纤维含中空芯。本发明的一个实施方案提供含一种或多种纤维的支架组合物，其中所述纤维含第一种组分和第二种组分，其中所述第一种组分为生物可降解聚合物，所述第二种组分选自凝胶和水凝胶。本发明的实施方案还提供生产本发明纤维的方法。

本发明的一个实施方案提供一种双组分纤维，其中纤维的内芯(即纤维的内径)含凝胶或水凝胶，纤维的外壁含生物可降解聚合物。本文使用的术语“凝胶”是指具有至少两相的胶体体系，其中一相形成连续的三维网络，起弹性固体的作用。本文使用的术语“水凝胶”是指其中分散相(胶体)与连续相(水)混合产生粘性胶状物的胶体。

本发明的一个替代实施方案提供与上述相反的双组分纤维，即外壁含凝胶或水凝胶，内芯含生物可降解聚合物。

本发明的另一个实施方案提供一种单丝纤维，其中水凝胶或凝胶随机分散于整个生物可降解聚合物层中。这种构型导致不同相分离，其中生物可降解聚合物纤维构成连续相，凝胶或水凝胶构成分散相。本文使用的“连续相”是指分散体系中固体悬浮于其中或另一种液体的液滴分散于其中的液体。本文使用的“分散相”是指分散体系中由分散在另一体系中的一种体系的颗粒或液滴组成的相。

在某些凝胶或水凝胶浓度为零的实施方案中，提供水芯纤维，即水存在于纤维内径中的纤维。在此情况下，任选混合其它物质的水构成纤维内核，而生物可降解聚合物纤维构成了环绕的纤维表层。在一个替代实施方案中，生物可降解聚合物纤维表层包含凝胶或水凝胶分散体。在另一个实施方案中，生物可降解聚合物纤维表层包含替代凝胶或水凝胶分散体的水分散体。在另一个实施方案中，生物可降解聚合物纤维表层包含水分散体连同凝胶和水凝胶分散体。

在本发明的一个实施方案中，上述纤维与组成类似的纤维组合。

在其它实施方案中，组合类型和组成不相似的纤维。

在一个实施方案中，将治疗剂加入到单独或组合存在的一种或多种上述纤维中。在其它实施方案中，将药物加入到单独或组合存在的一种或多种上述纤维中。

在本发明的某些实施方案中，一层纤维环绕着一层临近的内纤维。内纤维大致位于外纤维的中心。在某些实施方案中，一层或多层被环绕的纤维在纤维壁或纤维芯中含水凝胶或凝胶。在其它实施方案中，在一层或多层纤维的生物可降解聚合物中加入凝胶或水凝胶作为分散相。本发明的其它实施方案提供多层纤维，其中每层都包含组成可变的凝胶、水凝胶和治疗剂。本发明的某些实施方案提供在其一层或多层中含一种以上治疗剂的纤维。

本发明进一步涉及通过生物可降解聚合物改性以及加入的凝胶或水凝胶改性以操控治疗剂释放速率的方法。载荷治疗剂的纤维适于植入动物中，或者更优选适于植入人中，植入时或者为单股，用做治疗剂传递载体，或者与其它(相似或不同类型的)纤维一起形成纤维型支架，用于组织工程、伤口愈合、再生医学或其它医学相关应用。这些纤维还可以用于在体外创建细胞培养、组织培养或体外器官发生的支架，其中这些纤维的具体三维结构可机织、针织、编织，用作非编织网，或保持为平行、非平行、扭曲或随机的阵列，用于创建复杂的三维支架。因为所述纤维支架中的每根纤维都可载荷不同的治疗剂，而每种药物都可具有不同的释放动力学模式，所以有可能在支架的特定区域中诱导特定细胞生长。这就提供了一种通过在纤维支架中的特定位置周密布置特定纤维而建立复杂三维生物结构的能力。这些三维生物结构在其设计上可为仿生或不仿生的。通过相同的方法，有可能将不同的治疗剂释放到细胞培养物、组织培养物或类器官中的一个区域，而不释放到同一样本中的另一区域。

该类复杂的三维纤维支架还可植入到动物或人中，以在所述纤维支架中的不同位置诱导特定的生物反应。这可通过设计纤维支架

使具有特定治疗剂和特定释放模式的纤维位于支架中的特定位置来实现。这使纤维支架能以时间和空间方式控制治疗剂传递。

在本申请上下文中的“限定的非均态模式”是指将特定纤维加入到支架基质中，以在支架基质中获得需要的一种或多种治疗剂的三维分布。在聚合物纤维释放出治疗剂后，治疗剂在纤维中的分布，也许在其中心的分步，控制随后在基质支架的间质介质中的空间分布。这样，可在三维支架结构内和支架基质的附近周围中建立所需浓度梯度的空间轮廓。时间分布受控于纤维的聚合物组成和凝胶或水凝胶组成以及纤维中多层的运用。

本发明一方面是含生物可降解聚合物纤维支架的生物相容性植入组合物。在本发明的各种实施方案中，纤维之间的距离可为约 20 μm 、约 70 μm 、约 90 μm 、约 100 μm 、约 120 μm 、约 140 μm 、约 160 μm 、约 180 μm 、约 200 μm 、约 220 μm 、约 240 μm 、约 260 μm 、约 280 μm 、约 300 μm 、约 320 μm 、约 340 μm 、约 360 μm 、约 380 μm 、约 400 μm 、约 450 μm 或约 500 μm 。在各种实施方案中，纤维之间的距离可低于 50 μm 或高于 500 μm 。

另外，在本发明的各种实施方案中，预计纤维的直径为约 20 μm 、约 40 μm 、约 60 μm 、约 80 μm 、约 100 μm 、约 120 μm 、约 140 μm 、约 160 μm 、约 180 μm 、约 200 μm 、约 220 μm 、约 240 μm 、约 260 μm 、约 280 μm 、约 300 μm 、约 320 μm 、约 340 μm 、约 360 μm 、约 380 μm 、约 400 μm 、约 450 μm 或约 500 μm (包括中间长度)。在各种实施方案中，纤维直径可低于约 20 μm 或高于约 500 μm 。另外，设想直径达 3.5 cm 的大纤维用于某些实施方案。纤维直径优选为约 60 μm 至约 500 μm 。

在本发明的另一个实施方案中，纤维或一部分纤维含一种或多种治疗剂，使得一种或多种治疗剂的浓度沿着纤维或一部分纤维的纵轴变化。一种或多种活性药剂的浓度可沿纤维纵轴作为距离的函数以线性、指数或任何需要的方式变化。变化可以是单向的，即一

种或多种治疗剂的含量由纤维或一部分纤维的一端向纤维或一部分纤维的另一端下降。含量还可以双向方式变化，即一种或多种治疗剂的含量由纤维或一部分纤维的一端增加至最大，然后向纤维或一部分纤维的另一端下降。

在本发明的某些实施方案中，组成支架的一部分纤维可以不含治疗剂。对于含一种或多种治疗剂的纤维，所述一种或多种治疗剂包括：生长因子、免疫调节物、促进血管生成的化合物、抑制血管生成的化合物、抗炎化合物、抗生素、细胞因子、抗凝剂、促凝剂、趋化剂、促凋亡剂、抑凋亡剂、促有丝分裂剂、放射性物质、用于显像研究的造影剂、病毒载体、多核苷酸、治疗性基因、DNA、RNA、多肽、糖胺聚糖、碳水化合物、糖蛋白。治疗剂还可包括给予患者用来长期维持的药物，例如心血管药物，包括血压、起搏、抗心律不齐、 β -阻滞药物和基于钙通道的药物。本发明的治疗剂还包括抗震颤药物以及其它用于癫痫或其它运动障碍的药物。这些治疗剂还可包括长期药物，例如避孕药和生育药。其可包括神经药物(例如多巴胺)和相关药物，以及心理或其它行为药物。治疗剂还可包括化学清除剂，例如螯合剂、抗氧化剂和营养剂。在促进血管生成的治疗剂中，该药物可为血管内皮生长因子。治疗剂可为合成或天然药物、蛋白、DNA、RNA 或细胞(有或没有基因工程改变)。根据长期以来的专利法实践，在说明书和权利要求中涉及词语“包含”或“包括”时，是指一个(种)或多个(种)。

一般来说，本发明设想了任何药物加入本发明的生物可降解聚合物纤维中的用途。本文使用的词语“药物”被定义为能够给予生物体的化学品，其调整或改变生物体的生理。本文使用的词语“药物”更优选被定义为任何要用于治疗或预防疾病的物质。药物包括合成和天然的毒素和生物感染物以及公知的药物，例如“The Physicians Desk Reference,” 第471版，101-321页；“Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics” 第8版(1990)，

84-1614 页和 1655-1715 页；以及“The United States Pharmacopeia, The National Formulary”，USP XXH NF XVII (1990)列出的药物，这些参考文献的化合物通过引用结合到本文中。术语“药物”还包括其标称特性迄今为止在美国还没有被发现或利用的化合物。术语“药物”包括药物的活化前、已活化和代谢形式。还包括组织刺激因子，例如：血小板衍生生长因子(PDGF)的二聚体、胰岛素样生长因子(IGF-1)、IGF-2、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、酸性 FGF、血管内皮细胞生长因子(VEGF)、神经生长因子(NGF)、神经营养因子 3 (NT-3)、神经营养因子 4 (NT-4)、脑衍生神经营养因子(BDNF)、内皮细胞生长因子(EGF)、胰岛素、白介素 1 (IL-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF α)、结缔组织生长因子(CTGF)、转化生长因子 α (TGF α)和所有其它生长因子和细胞因子，以及甲状旁腺激素(PTH)、前列腺素如前列腺素 E-1 和前列腺素 E-2、巨噬细胞集落刺激因子(MCSF)和皮质激素如地塞米松、强的松龙和糖皮质激素。

本发明还设想了形成水凝胶的物质在纤维内核中的用途。水凝胶是结构稳定、高度水合的合成聚合物或生物聚合物基质。这些物质可在水中吸附至其重量的数千倍(Hoffman, A.S., *Advanced Drug delivery Reviews*, 43(2000), 3-12)。水凝胶可分为两大类：可逆的或物理的和不可逆的或化学的。物理性凝胶中的网络由分子缠结和/或次级力(包括离子力、氢键力或疏水作用力)共同维持。物理性水凝胶的特征在于流变学特性随温度、离子浓度和稀释度而显著变化。化学性凝胶也称为永久性凝胶，其特征不在于化学交联的网络。在交联时，这些凝胶在水溶液中达到平衡膨胀水平，该水平主要取决于交联度。

可通过本领域一般技术人员周知的各种方法实现水凝胶的制备。物理性凝胶可通过以下方法形成：加热或冷却某些聚合物溶液(例如冷却琼脂)、使用冻融循环形成聚合物微晶、降低溶液 pH 以在同一水溶液的两种不同聚合物之间形成 H-键键合的凝胶、混合聚阴离子和聚阳离子的溶液以形成复合凝聚层凝胶、用相反电荷的多价离

子胶凝聚合电解质溶液、使线性聚合物网状化、将合成聚合物接枝到天然大分子上以及螯合聚阳离子(Hoffman, A.S., *Advanced Drug delivery Reviews*, 43(2000), 3-12)。化学性凝胶可通过以下方法产生：用辐射、化学交联剂如戊二醛或多功能团活性化合物交联固态或溶解状态的聚合物。其还可由以下方法制备：使溶解状态的单体和交联剂共聚、使单体和多功能团大分子单体共聚、聚合不同固体聚合物中的单体以形成 IPN 凝胶，或将疏水聚合物化学转变为水凝胶(Hoffman, A.S., *Advanced Drug delivery Reviews*, 43(2000), 3-12); Hennick, W.F. and van Nostrum, C.F., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(2002), 13-26。

本发明设想了水凝胶前体物质以及非胶凝化蛋白和多糖在纤维芯中的用途。水凝胶前体物质与形成水凝胶的物质相同，但它们不接触通常使物质凝胶化的物质或条件，或者它们可以是形成凝胶但不是水凝胶的其它蛋白和多糖。例如，藻酸钠之类的藻酸盐在二价阳离子(如钙)存在下凝胶化，而其它物质通过 pH 或温度的变化产生水凝胶。本发明的某些实施方案包括从不凝胶化的前体物质的用途。本发明的其它实施方案包括前体物质在制作过程中的用途，该制作过程此后可形成凝胶或水凝胶。凝胶或水凝胶在纤维层中的形成可作为纤维制作过程的一部分，在制作出纤维之后或施加适当类型的外部刺激(包括将纤维置于体外或体内)之后发生。本文使用的术语“凝胶”或“水凝胶”意欲包括形成的凝胶或水凝胶以及参与形成凝胶和水凝胶的合适前体分子。

用于纤维结构的生物可降解聚合物可为单组分聚合物或共聚物或聚合物的混合物，可包括聚(L-乳酸)、聚(DL-乳酸)、聚己内酯、聚(乙醇酸)、聚酞或天然聚合物或多肽，例如再生胶原或蜘蛛丝和多糖。

使用湿或干/湿(干喷湿)纺丝法生产本发明要求保护的纤维。每种方法都影响要构建的纤维的特性。湿纺法是将聚合物材料挤入含凝固剂的液体浴中的方法。凝固剂通常由可与聚合物溶液中的溶剂

混溶的聚合物非溶剂组成，但其还可包含溶剂/非溶剂混合物。在干喷湿纺法中，聚合物溶液首先接触气隙，然后进入凝固浴中。

在本发明的一个实施方案中，纤维包含多个共轴层的生物可降解聚合物。本发明的药物传递纤维可植入到体内的许多部位中，包括皮肤组织、心脏组织、软组织、神经、骨和眼。眼植入术对治疗白内障、糖尿病诱发的增殖性和非增殖性视网膜病、青光眼和黄斑变性特别有用。

本发明另一方面是生产纤维支架的方法，该支架用于制备能控制一种或多种治疗剂的时间和空间浓度的植入体。该方法通常包括用生物可降解聚合物纤维编成三维纤维支架。生物可降解聚合物纤维包含一种或多种治疗剂。一种或多种治疗剂以限定的非均态模式分布在纤维支架中。

在本发明的某些实施方案中，纤维层中包含的凝胶和水凝胶可以无限稀释浓度存在，即凝胶或水凝胶的浓度为零，使用有或没有其它物质和/或活性物质(包括治疗剂)的水替代凝胶或水凝胶。

在本发明的一个实施方案中，用作纤维芯中所含水凝胶的优选物质是藻酸盐或修饰的藻酸盐物质。藻酸盐分子由(1-4)-连接的 β -D-甘露糖醛酸(M 单元)和 α -L-古洛糖醛酸(G 单元)单体组成，它们沿着聚合物链在比例和顺序分布上具有变化。藻酸盐多糖是聚合电解质体系，对二价阳离子(例如 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+})具有强亲和性，在接触这些分子时形成稳定的水凝胶。生物可降解聚合物是聚(L-乳酸)(PLLA)。在一个实施方案中，包含的藻酸盐为内核，PLLA 是外层。藻酸盐的浓度范围为 0.25%重量/体积至 100%重量/体积(即 g/100ml 水)，优选为 0.75%重量/体积至 20%重量/体积，最优选浓度为 1%重量/体积。藻酸盐的来源和组成直接影响其有效浓度。

在本发明的另一个实施方案中，环绕着凝胶或水凝胶内核的 PLLA 外层包含不同分子量 PLLA 聚合物的混合物，作为增加降解速率的手段。PLLA 聚合物的比例和聚合物的分子量范围可变。在一个

代表性实施方案中，聚合物混合物中 $M_w=100,000$ Da 的 PLLA 聚合物占 80% (重量); $M_w=2,000$ Da 的聚合物占 15% (重量); $M_w=300,000$ Da 的聚合物占 5% (重量)。

在本发明的另一个实施方案中，环绕着凝胶或水凝胶内核的 PLLA 外层由两相组成，连续相含生物可降解聚合物，分散相含由表面活性剂稳定的水相。水相任选含治疗剂。分散相的量相对于纤维重量在约 0% 至约 85% (重量) 的范围内。在一个优选实施方案中，分散相的量相对于纤维重量在约 33% 至约 50% (重量) 的范围内。随着分散相比率的增加，聚合物降解速率也增加。这导致载荷的治疗剂的释放速率增加。

在本发明的一个实施方案中，将设计用来降解凝胶或水凝胶的物质载入纤维的生物可降解聚合物组分的分散水相中(如上所述)。该物质随时间推移缓慢释放到凝胶或水凝胶中，以分解凝胶或水凝胶。这增加了治疗剂释放速率。另外，许多有潜力的凝胶和水凝胶在动物(或者更重要地是人)中不能直接生物降解。因此，这种设计式降解有助于机体在不再需要凝胶或水凝胶时将其清除。

在一个实施方案中，通过将胶凝剂直接加入到藻酸盐溶液中内部胶凝藻酸盐。典型的胶凝剂包括氯化钙、碳酸钙、钙-EDTA (乙二胺四乙酸) 或本领域技术人员周知的含二价阳离子的其它化合物。胶凝剂的浓度范围为约 5 mM 至约 100 mM，更优选约 12 mM 至约 50 mM，最优选约 15 mM 至 30 mM。范围的选择由需要的水凝胶特性确定。如果在中性 pH 不易溶，则通常通过降低溶液 pH 活化胶凝剂。这种酸化可通过多种酸或内酯来实现。该名单包括但不限于柠檬酸、盐酸、D-葡萄糖酸- δ -内酯和冰醋酸。

在另一个实施方案中，通过将胶凝剂源加入到生物可降解纤维中外部胶凝凝胶或水凝胶。或者，将胶凝剂源加入到水相中，将水相载入生物可降解聚合物的一层或多层中。这样，胶凝剂随着纤维降解缓慢释放到凝胶或水凝胶中。在某些实施方案中，随着纤维降

解并变成更不牢固和多孔，凝胶变得更紧密交联。这样，释放速率有可能随着纤维降解而持续改变。释放速率随着聚合物变得更多孔而倾向于增加，在此情况下，这种趋势被变得更紧密交联的凝胶相抵消，因此随着纤维降解而阻滞了进入凝胶或水凝胶的释放速率。

在另一个实施方案中，胶凝剂在聚合物溶剂中可溶，并在纤维制作时与聚合物溶液混合。在此实施方案中，胶凝剂不是保持在水相中，而是在分子水平上与聚合物混合。随着纤维降解，其获得将胶凝剂缓慢释放到凝胶或水凝胶中的有效作用。该实施方案允许使用有机可溶性胶凝剂源。

在另一个实施方案中，藻酸盐溶液中载有随时间活化的胶凝剂，例如在脂球体、微球体、纳米颗粒或其它在以后活化的密封物中。这些物质可随时间推移被缓慢活化，或有目的地由某些外部事件活化。这导致随着时间推移凝胶或被加强或被维持。

在本发明的另一个实施方案中，凝胶或水凝胶是外层，而生物可降解聚合物是内核。在此实施方案中，胶凝剂在凝固浴中，应外部胶凝。

本发明提供创建单组分药物释放性纤维的组合物和方法，以及创建在组织工程应用中用于培养细胞的不均一、机织、针织、编织、非机织、扭曲、平行阵列或随机三维纤维支架的组合物和方法。这些支架可体外和体内应用，并由于其不均一性而产生治疗剂的时间和空间分布。在本发明中，治疗剂可包括药物、蛋白、肽、单糖或二糖、多糖、糖蛋白、DNA、RNA、病毒或其它目标生物分子。本发明中的术语治疗剂还包括用于帮助破坏有害组织(如局部区域中的肿瘤)或用于抑制健康组织生长(例如在目前的支架应用中)的放射性物质；或用于成像研究的标记物。

A. 三维纤维支架

为创建本发明的不均一支架，通过本文描述的方法将治疗剂包

埋入基质的单独纤维中。治疗剂由各个单独的纤维以可控方式缓慢释放。纤维结构作为药物传递平台具有很多超越本领域熟知的其它药物缓释剂(如微球体、多孔塞或片)的优势。纤维的主要优势在于其可提供有或没有形态结构的复杂三维机织或非机织支架,以允许细胞粘附、扩展、分化和成熟为合适的功能细胞。因为它们可形成形态结构,所以可生产由于释放出特定的趋化因子而诱导特定类型细胞迁移至支架的特定区域的“智能支架”。该支架模拟了胚胎发育过程和胚胎后组织中的胞外基质物质的功能。另外,丝可组成为组织修复或再生提供生长基质的独特支架,这无法由其天然结构的联想到。

因为机织形态结构能够诱导合适的细胞类型进入特定区域,所以有可能将诱导血管形成的束(strand)加入到纤维中。这可通过提供释放生长因子如血管内皮生长因子(VEGF)的纤维实现。通过适当间隔机织形态结构中含 VEGF 的纤维,可工程培养出大的组织,可为该组织中的细胞提供足够的血液供应,由此吸收氧和营养,并能够清除废物。

在支架应用中,纤维还具有为机体提供短期机械支撑的优势,其中聚合物纤维可保持任何管状体的腔,所述管状体例如为动脉、静脉、导管(例如胆管、输尿管、尿道、气管等)、消化道器官如食道、肠、结肠,以及结缔组织如腱、韧带、肌肉和骨。纤维提供愈合过程中支撑机械强度或机械拉伸的有用结构。纤维还可以用于促进神经或脊髓的神经再生或神经重建。

B. 纤维结构

在本发明范围内有大量的组合和变化。本发明涵盖凝胶或水凝胶与多层、多组分结构的生物可降解聚合物纤维的组合,其中每层完全包含在邻近外层中,而内层一般位于外层中央。这些层可由不同的凝胶或水凝胶或不同的生物可降解聚合物组成。

本发明还包括凝胶或水凝胶作为生物可降解聚合物层中的分散相的用途，其中连续相是生物可降解聚合物相。分散相可由内部或外部的表面活性剂稳定化。

在凝胶或水凝胶分散于生物可降解聚合物层中以及凝胶或水凝胶层位于生物可降解聚合物层内部的情况下，可以容许的特殊情况是水凝胶浓度为零。这意味着水(含或不合其他物质)可用于替代凝胶或水凝胶。

作为另一个特殊情况，最内核的聚合物浓度有可能为零，在此情况下通常用于聚合物的溶剂由非溶剂取代。这样非溶剂内核就起内部凝固浴的作用。结果是产生中空纤维。这种特殊情况可在生物可降解聚合物层外部有或没有凝胶或水凝胶以及在生物可降解聚合物层内部有或没有凝胶、水凝胶或水分散相的情况下发生。

这产生了大量的潜在组合。基本类型是外部生物可降解聚合物和内部凝胶或水凝胶，以及相反的设计，即凝胶或水凝胶在外部，生物可降解聚合物为内核。在这些组合的每一种情况中，生物可降解聚合物层可以有或没有水、凝胶或水凝胶分散相。另一种情况是具有凝胶或水凝胶分散相的单丝纤维。

C. 单个纤维的释放动力学

此外，有各种方法控制治疗剂的释放动力学，因此以时序方式控制治疗剂的释放。以下的论述仅适于其中聚合物外层环绕着凝胶或水凝胶内核的纤维结构。控制聚合物的第一点是混合低分子量聚合物和高分子量的纤维形成聚合物。这样，较低分子量的组分能够快速降解并由纤维中扩散出来，使纤维更多孔。这使凝胶或水凝胶中的内部治疗剂更易获得。加速纤维释放速率的第二种方法是创建双相纤维，其中连续相为生物可降解聚合物，而分散相是由表面活性剂稳定的水袋(aqueous pocket)。随着分散相浓度增加，产生了一条由外部到内部凝胶或水凝胶的路径，其中只有必须降解的聚合物位

于分散水相的各个袋之间。其作用是使需要降解以联系凝胶或水凝胶与外部空间的聚合物少得多，因此加速了治疗剂的释放。此分散水相还有可能含相同或不同的药物或治疗剂。在此情况下，分散水相中的药物或治疗剂首先被释放，接着释放出凝胶或水凝胶中的治疗剂。为改变聚合物纤维壁中药物或治疗剂的释放动力学，有可能要稍微改变上述情况，使分散相现在是凝胶或水凝胶而不是水。在此情况下，流路比水分散相的情况缩短；但是，连接路径现在必须穿过凝胶或水凝胶袋，治疗剂在其中的扩散相比于纯水路径受阻滞。扩散受阻滞的程度随凝胶或水凝胶的类型、交联的类型和程度以及凝胶或水凝胶的浓度而变化。所有这些参数都在对形成纤维的实体的控制中。还有可能控制生物可降解聚合物中水或凝胶分散相的浓度，其沿纤维长轴随距离而变化。用这种方法，可使纤维一端的释放动力学与另一端不同，沿着纤维长度具有释放动力学的限定梯度。释放动力学的这种变化可以与治疗剂浓度梯度组合或不组合。用同样的方法，可能使分散相的含量沿着聚合物纤维随长度而变化，使得在一端的分散相为例如纯水，而在纤维的另一端，分散相可为凝胶或水凝胶。其它梯度还可能包括分散相中凝胶浓度的变化。因此，有大量控制方法可用于纤维释放动力学。除了纤维聚合物壁中的这些变化以外，还可通过改变含治疗剂的纤维内核中凝胶或水凝胶的类型、浓度以及交联程度，控制该纤维的释放动力学。

在药物传递周期的整个过程中，动力学改变凝胶或水凝胶的释放动力学的能力构成了本发明的重要方面，其中所述凝胶或水凝胶由内核载荷或作为生物可降解聚合物纤维中的分散相。这提供了在其它形式的药物传递性凝胶或水凝胶中不可能存在的独特机会。由于凝胶载入生物可降解聚合物纤维而可利用的第一种控制方法是该纤维释放已知凝胶交联物质的能力。这样，随着时间推移，凝胶的交联度实际上增加，其阻滞了治疗剂的释放。利用以上概述的方法，即使用分子量混合物或改变分散水相的浓度，生物可降解聚合物纤

维表层对交联剂的这种释放是自身可控的。作为一种特殊情况，生物可降解聚合物纤维表层是多层和多组分的生物可降解聚合物表层。这就使得可以产生方向特异性，以及改变生物可降解聚合物纤维表层每层的释放动力学。例如，设想在表层中有两层生物可降解聚合物纤维的情况。最内层可含有起交联纤维的凝胶或水凝胶内核作用的物质，该层可由具有快速降解率的生物可降解聚合物组成。而且，该层可含有高度分散的水相。在同一实施例，最外层可由具有不同降解速率和不同水(或凝胶或水凝胶)分散相浓度(包括零)的不同生物可降解聚合物组成。该实例产生的情况是：交联剂随时间推移在内部传递至纤维内核的凝胶或水凝胶，由此产生的情况是：纤维内核中的凝胶或水凝胶载荷的治疗剂的扩散系数随时间推移而降低。

另一种特殊情况是聚合物纤维包含降解纤维内核中的凝胶或水凝胶的物质。使用和以上示例相同的逻辑，又产生了一种情况：在纤维内核中或分散于纤维中的凝胶或水凝胶中的治疗剂的扩散系数随时间推移而连续改变。但是，在这种情况下，扩散速率随时间推移而增加。这种特殊情况还具有的优势是：纤维植入的动物(优选人)机体可能不具有降解凝胶或水凝胶所需的特定酶或其他化学条件。在此情况下，在纤维壁中载入合适的降解剂可降解凝胶或水凝胶，因此有助于清除宿主中的凝胶或水凝胶。再者，如上所述，通过改变纤维表层中生物可降解聚合物层的特性，很大程度上可控制降解剂的释放。

由此可见，利用这些方法，借助于生物可降解聚合物表层的存在，可改变凝胶或水凝胶内核或分散于生物可降解聚合物纤维表层中的治疗剂的释放动力学。

在凝胶或水凝胶是外层的情况下，生物可降解聚合物是纤维内核。在此情况下，生物可降解聚合物内核可由一个或多个上述多组分层构成，而且每层都可含有不同浓度的、自身可携带或不携带治

治疗剂的水或凝胶或水凝胶分散相。治疗剂由纤维的全面释放受控于治疗剂的位置，该位置或者在外部凝胶或水凝胶中，或者在生物可降解聚合物内核中，或者二者中都有。利用和上述相同的方法，通过由生物可降解聚合物纤维内核释放交联剂或降解剂，可改变外部凝胶或水凝胶的释放动力学。因为这些物质由生物可降解聚合物纤维内核释放，它们将改变外部凝胶或水凝胶的特性，因此降低或增加外部凝胶或水凝胶中治疗剂的释放。对于生物可降解聚合物内核中的任何治疗剂，都可以在两个水平上控制这些物质的释放。首先，如上阐述，聚合物自身的类型和分子量分布改变释放动力学，这是本领域技术人员众所周知的。除此之外，任何水或凝胶或水凝胶分散相的浓度将改变生物可降解聚合物中的释放。但是，因为凝胶或水凝胶环绕着生物可降解纤维，所以生物可降解聚合物中的所有治疗剂都必须通过凝胶或水凝胶扩散。因此，治疗剂通过凝胶或水凝胶扩散的任何改变还直接影响纤维内核中任何治疗剂的释放。因此，在这种情况下，人们可以通过改变凝胶和生物可降解聚合物链段两者来改变纤维的释放动力学。

如果分散相是还含有治疗剂的凝胶或水凝胶，则通过用相同的方法选择生物可降解聚合物、分子量分布和分散相浓度，可控制治疗剂的释放。另外，凝胶或水凝胶特性还改变单丝纤维中分散相的治疗剂释放。

D. 生物可降解聚合物

用于本发明的优选聚合物包括聚(L-乳酸)、聚(DL-乳酸)、聚己内酯、聚(乙醇酸)或聚酞的单组分聚合物、共聚物或聚合物混合物。还可以使用天然聚合物，例如再生胶原或天然丝。本领域技术人员理解这些聚合物仅仅是可用于本发明的一类生物可降解聚合物基质的实例。其它的生物可降解基质包括聚酞、聚原酸酯和聚(氨基酸)(Peppas and Langer, 1994)。可利用任何这种基质制作用于本发明

的特性可控的生物可降解聚合物基质。产生无毒降解产物的生物可降解聚合物的非穷尽性清单列于表 1。

表 1

生物可降解聚合物

1. 合成型

2.

多肽

多缩酚肽(polydepsipeptide)

尼龙-2/尼龙-6 共聚多酰胺

脂族聚酯

聚(乙醇酸)(PGA)和共聚物

聚(乳酸)(PLA)和共聚物

聚(琥珀酸亚烷基二醇酯)

聚(羟基丁酸酯)(PHB)

聚(二羟乙酸丁二醇酯)

聚(ϵ -己内酯)和共聚物

聚二氢吡喃

聚磷腈

聚(原酸酯)

聚(氰基丙烯酸酯)

3. 天然型

改性多糖

纤维素、淀粉、几丁质

改性蛋白

胶原蛋白、纤维蛋白

根据 Wong and Mooney, 1997 改写。

E. 凝胶和水凝胶的类型

仅就术语来说,凝胶是起类似固体作用的液体体系。凝胶更技术地定义为具有至少两相的胶体体系,其中一相形成起弹性固体作用的连续三维网络。通过物理、分子或化学连接形成的凝胶导致体系分子量的无限大。形成的粘弹性物质具有的储能模量 G' , 高于损耗模量 G'' , 而且 G' 和 G'' 都几乎和频率无关。[E.R. Morris, Polysaccharide solution properties: origin, rheological characterization and implications for food systems, *Frontiers in Carbohydrate Research 1: Food Applications* (R.P. Millane, J.N. BeMiller, and R. Chandrasekaran, eds.), Elsevier, London, 1989, 132 页]。储能模量表征样品的刚性, 而损耗模量表征样品对流动的抗性[Damodaran, Srinivasan, *Food Proteins and Their Applications, Food Science and Technology* (Marcel Dekker, Inc.); New York Marcel Dekker, Inc., 1997]。实例是聚合物溶液、胶束溶液、微乳溶液, 而在最近这些年, 大量由存在的极低浓度小有机分子胶凝的有机溶剂已扩展了该领域。

水凝胶被定义为胶体, 其中分散相(胶体)与连续相(水)混合, 产生粘性胶状物。[*Dictionary of Chemical Terms*, 4th Ed., McGraw Hill (1989)]。水凝胶能够在过量水中快速膨胀, 并在其溶胀结构中存留大量水。含水凝胶的聚合物在水中可吸附超过其自身重量 20%, 但形成的水凝胶不溶于水, 且保持三维结构。[Amidon, Gordon L., *Transport Processes in Pharmaceutical Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*; v. 102 New York Marcel Dekker, Inc., 2000]。它们通常由亲水聚合物分子制备, 这些亲水聚合物分子通过化学键或其它内聚力如离子相互作用、氢键键合或疏水作用交联。[J.I. Kroschwitz, *Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, New York, Wiley, XXIX, 1341 页, 1990]。

水凝胶存在可记忆的参考构型, 甚至在变形很长时间后体系都可以恢复成该构型, 在此意义上水凝胶是弹性固体。

有机凝胶被定义为具有交错聚合组分的有机相。优选溶剂包括无毒有机溶剂, 包括但不限于二甲亚砜(DMSO)、矿物油和植物油。

术语“有机凝胶”最初用于描述用凝胶溶液使油包水反微乳液胶凝的特定概念(参阅 Luisi et al. *Colloid & Polymer Science*, 1990, 268 卷, 356-374 页)。近来该术语延伸至含两个不混溶相(油包水)的胶凝体系, 该体系稳定在富集磷脂酰胆碱并通常氢化的卵磷脂中(参阅 Williman et al. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1992, 81 卷, 871-874 页和 Schchipunov et al., *Colloid Journal*, 1995, 57 卷, 556-560 页)。这些乳状液具有层状相, 甚至在没有胶凝剂时也为凝胶形式, 因此命名为有机凝胶, 表示该类乳状液与乳化取向(油包水或水包油)无关。

用于本发明的凝胶物质类型包括多糖, 包括但不限于直链淀粉、支链淀粉、糖原、纤维素、透明质酸酯、软骨素、肝素、糊精、菊粉、甘露聚糖、几丁质、半乳糖、瓜尔豆胶、角叉藻聚糖、琼脂、红藻胶、黄原胶、其它水胶体树胶、果胶、刺槐豆胶、阿拉伯树胶、茄替胶、戊聚糖、阿拉伯半乳聚糖、其合成衍生物及其混合物。

可形成水凝胶的物质的实例包括天然和合成多糖以及其它天然和合成聚合物及其衍生物, 以及它们的组合。合适的多糖和聚合物包括但不限于: 直链淀粉、支链淀粉、糖原、纤维素、透明质酸、硫酸软骨素、肝素、糊精、菊粉、甘露聚糖、几丁质、半乳糖、瓜尔豆胶、角叉藻聚糖、琼脂、红藻胶、黄原胶、其它水胶体树胶、果酸和果胶、刺槐豆胶、阿拉伯树胶、茄替胶、戊聚糖、阿拉伯半乳聚糖、藻酸盐和藻酸盐衍生物、吉兰糖、吉兰糖胶、葡萄糖、胶原蛋白(和凝胶)、纤维素、羧甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素和甲氧基纤维素、纤维蛋白、黄原胶、琼脂糖、壳聚糖(聚阳离子多糖聚合物)、白蛋白、人 γ 球蛋白、支链淀粉、角叉菜胶(聚阴离子多糖聚合物)、糊精、葡聚糖、硫酸葡聚糖、角蛋白、菊粉、葡萄糖、直链淀粉、糖原、支链淀粉、聚赖氨酸和其它多氨基酸、聚酯如聚羧基丁酸酯和聚磷嗪、聚(乙烯醇)、聚(烯化氧)尤其是聚(环氧乙烷)、聚乙二醇(包括 PEO-PPO-PEO 和类似的嵌段共聚物, 如 Pluronic®)、聚(烯丙胺)(PAM)、聚(丙烯酸酯)、改性苯乙

烯聚合物、pluronic 多元醇、Polyoxamer、聚丙烯、聚氨酯、聚(糖醛酸)、聚氯乙烯、聚乙烯吡咯烷酮以及上述物质的共聚物、接枝共聚物、合成衍生物、共混物和其它混合物。多糖是用于本发明的优选聚合物。例如，藻酸盐生物可相容、无细胞毒性、无致癌性、无致炎性并无免疫原性，因此是良好的使用候选物。

F. 聚合材料的类型

代表性天然聚合物包括天然多糖，例如阿拉伯聚糖、果聚糖、岩藻聚糖、半乳聚糖、聚半乳糖醛酸、葡聚糖、甘露聚糖、木聚糖(例如菊粉)、果聚糖、岩藻聚糖、角叉藻聚糖、半乳卡洛糖、果胶酸、果胶，包括直链淀粉、支链淀粉、糖原、支链淀粉、纤维素、葡聚糖、糊精、葡萄糖、聚葡萄糖、石耳素、几丁质、琼脂糖、角蛋白、软骨素、皮肤素、透明质酸、海藻酸、黄原胶、淀粉和各种其它天然均聚物或杂聚物，例如含一种或多种以下醛糖、酮糖、酸或胺的均聚物或杂聚物：赤藓糖、苏糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖、赤藓酮糖、核酮糖、木酮糖、阿洛酮糖、果糖、山梨糖、塔格糖、甘露醇、山梨醇、乳糖、蔗糖、海藻糖、麦芽糖、纤维二糖、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、葡糖醛酸、葡糖酸、葡糖二酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸、葡糖胺、半乳糖胺和神经氨酸及其天然衍生物。因此，合适的聚合物包括例如蛋白，如白蛋白。

代表性半合成聚合物包括羧甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素和甲氧基纤维素。代表性的合成聚合物包括聚磷腈、聚乙烯(例如聚乙二醇(包括称为 Pluronic®的化合物类别，可由 BASF, Parsippany, N.J.购买)、聚氧乙烯和聚对苯二甲酸乙二醇酯)、聚丙烯(例如聚丙烯二醇)、聚氨酯、聚乙烯醇(PVA)、聚氯乙

烯和聚乙烯吡咯烷酮、聚酰胺(包括尼龙)、聚苯乙烯、聚乳酸、氟化烃聚合物、氟化碳聚合物(例如聚四氟乙烯)、丙烯酸酯、异丁烯酸酯和聚甲基异丁烯酸酯及其衍生物。

聚合材料选自通过应用外源方法和内源方法可在体内使其聚合或改变其粘性的物质,所述外源方法例如为单独或在存在添加催化剂的情况下应用光、超声、辐射或整合,所述内源方法例如为改变生理 pH、钙离子(藻酸盐)或硼酸盐离子(聚乙烯醇)扩散入聚合物中或改变温度至体温(37°C)。

G. 促进血管生成的物质

本发明的聚合物纤维包埋的一类治疗剂是促进血管生成的治疗剂。成功工程建立新组织需要建立血管网络。血管生成的诱导由各种因素介导,其中任一种都可和本发明协同使用(Folkman and Klagsbrun, 1987, 其中提及的参考文献每个都通过引用结合到本文中)。血管生成因子的实例包括但不限于:血管内皮生长因子(VEGF)或血管通透因子(VPF);成纤维细胞生长因子家族成员,包括酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF);白介素-8 (IL-8);表皮生长因子(EGF);血小板衍生的生长因子(PDGF)或血小板衍生的内皮细胞生长因子(PD-ECGF);转化生长因子 α 和 β (TGF- α 、TGF- β);肿瘤坏死因子 α (TNF- α);肝细胞生长因子(HGF);粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);胰岛素生长因子-1 (IGF-1);血管生成素;血管营养素;血管紧张肽;纤维蛋白和烟酰胺(Folkman, 1986, 1995; Auerbach and Auerbach, 1994; Fidler and Ellis, 1994; Folkman and Klagsbrun, 1987; Nagy et al., 1995)。

H. 细胞因子

在某些实施方案中,设想了加入本发明聚合物纤维中的具体细胞因子的用途。下表 2 示范性而非限制性地列出了设想用于本发明

的细胞因子和相关因子。

3.1.1.1.表 2

细胞因子	参考文献
人 IL-1	March et al., <i>Nature</i> , 315:641, 1985
鼠 IL-1	Lomedico et al., <i>Nature</i> , 312:458, 1984
人 IL-1	March et al., <i>Nature</i> , 315:641, 1985 ; Auron et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 81:7907, 1984
鼠 IL-1	Gray, <i>J. Immunol.</i> , 137:3644, 1986; Telford, <i>NAR</i> , 14:9955, 1986
人 IL-1ra	Eisenberg et al., <i>Nature</i> , 343:341, 1990
人 IL-2	Taniguchi et al., <i>Nature</i> , 302:305, 1983; Maeda et al., <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> , 115:1040, 1983
人 IL-2	Taniguchi et al., <i>Nature</i> , 302:305, 1983
人 IL-3	Yang et al., <i>Cell</i> , 47:3, 1986
鼠 IL-3	Yokota et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 81:1070, 1984; Fung et al., <i>Nature</i> , 307:233, 1984; Miyatake et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 82:316, 1985
人 IL-4	Yokota et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 83:5894, 1986
鼠 IL-4	Norma et al., <i>Nature</i> , 319:640, 1986; Lee et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 83:2061, 1986
人 IL-5	Azuma et al., <i>Nuc. Acids Res.</i> , 14:9149, 1986
鼠 IL-5	Kinashi et al., <i>Nature</i> , 324:70, 1986; Mizuta et al., <i>Growth Factors</i> , 1:51, 1988
人 IL-6	Hirano et al., <i>Nature</i> , 324:73, 1986
鼠 IL-6	Van Snick et al., <i>Eur. J. Immunol.</i> , 18:193, 1988
人 IL-7	Goodwin et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 86:302, 1989
鼠 IL-7	Namen et al., <i>Nature</i> , 333:571, 1988
人 IL-8	Schmid et al., <i>J. Immunol.</i> , 139:250, 1987 ; Matsushima et al., <i>J. Exp. Med.</i> , 167:1883, 1988; Lindley et al., <i>Proc.</i>

	<i>Natl. Acad. Sci. USA</i> , 85:9199, 1988
人 IL-9	Renauld et al., <i>J. Immunol.</i> , 144:4235, 1990
鼠 IL-9	Renauld et al., <i>J. Immunol.</i> , 144:4235, 1990
人血管生成素	Kurachi et al., <i>Biochemistry</i> , 24:5494, 1985
人 GRO	Richmond et al., <i>EMBO J.</i> , 7:2025, 1988
鼠 MIP-1	Davatelis et al., <i>J. Exp. Med.</i> , 167:1939, 1988
鼠 MIP-1	Sherry et al., <i>J. Exp. Med.</i> , 168:2251, 1988
人 MIF	Weiser et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 86:7522, 1989
人 G-CSF	Nagata et al., <i>Nature</i> , 319:415, 1986; Souza et al., <i>Science</i> , 232:61, 1986
人 GM-CSF	Cantrell et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 82:6250, 1985; Lee et al., <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 82:4360, 1985; Wong et al., <i>Science</i> , 228:810, 1985
鼠 GM-CSF	Gough et al., <i>EMBO J.</i> , 4:645, 1985
人 M-CSF	Wong, <i>Science</i> , 235:1504, 1987; Kawasaki, <i>Science</i> , 230:291, 1985; Ladner, <i>EMBO J.</i> , 6:2693, 1987
人 EGF	Smith et al., <i>Nuc. Acids Res.</i> , 10:4467, 1982; Bell et al., <i>NAR</i> , 14:8427, 1986
人 TGF-	Derynck et al., <i>Cell</i> , 38:287, 1984
人 FGF 酸性	Jaye et al., <i>Science</i> , 233:541, 1986; Gimenez-Gallego et al., <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> , 138:611, 1986; Harper et al., <i>Biochem.</i> , 25: 4097, 1986
人-ECGF	Jaye et al., <i>Science</i> , 233:541, 1986
人 FGF 碱性	Abraham et al., <i>EMBO J.</i> , 5:2523, 1986; Sommer et al., <i>Biochem. Biophys. Res. Comm.</i> , 144:543, 1987
鼠 IFN-	Higashi et al., <i>J. Biol. Chem.</i> , 258:9522, 1983; Kuga, <i>NAR</i> , 17:3291, 1989
人 IFN-	Gray et al., <i>Nature</i> , 295:503, 1982; Devos et al., <i>NAR</i> , 10:2487, 1982; Rinderknecht, <i>J. Biol. Chem.</i> , 259:6790, 1984

人 IGF-I	Jansen et al., <i>Nature</i> , 306:609, 1983; Rotwein et al., <i>J. Biol. Chem.</i> , 261:4828, 1986
人 IGF-II	Bell et al., <i>Nature</i> , 310:775, 1984
人-NGF 链	Ullrich et al., <i>Nature</i> , 303:821, 1983
人 NT-3	Huang EJ. Et al., <i>Development</i> . 126(10):2191-203, 1999 May
人 PDGF.A 链	Betsholtz et al., <i>Nature</i> , 320:695, 1986
人 PDGF B 链	Johnsson et al., <i>EMBO J.</i> , 3:921, 1984; Collins et al., <i>Nature</i> , 316:748, 1985
人 TGF-1	Derynck et al., <i>Nature</i> , 316:701, 1985
人 TNF-	Pennica et al., <i>Nature</i> , 312:724, 1984; Fransen et al., <i>Nuc. Acids Res.</i> , 13:4417, 1985
人 TNF-	Gray et al., <i>Nature</i> , 312:721, 1984
鼠 TNF-	Gray et al., <i>Nucl. Acids Res.</i> ; 15:3937, 1987
人 E-选择蛋白	Bevilacqua et al., <i>Science</i> , 243:1160, 1989; Hensley et al., <i>J. Biol. Chem.</i> , 269:23949, 1994
人 ICAM-1	Simmons et al., <i>Nature</i> , 331:624, 1988
人 PECAM	Simmons et al., <i>J. Exp. Med.</i> , 171:2147, 1990
人 VCAM-1	Hession et al., <i>J. Biol. Chem.</i> , 266:6682; Osborn et al., <i>Cell</i> , 59:1203, 1989
人 L-选择蛋白(膜结合)	Ord et al., <i>J. Biol. Chem.</i> , 265:7760, 1990; Tedder et al., <i>J. Exp. Med.</i> , 170:123, 1989
人 L-选择蛋白(溶解型)	Ord et al., <i>J. Biol. Chem.</i> , 265:7760, 1990; Tedder et al., <i>J. Exp. Med.</i> , 170:123, 1989
人降钙素	Le Moullec et al., <i>FEBS Lett.</i> , 167:93, 1984
人水蛭素(大肠杆菌优化)	Dodt et al., <i>FEBS Lett.</i> , 165:180, 1984

G. 多核苷酸

加入到本发明聚合物纤维中的多核苷酸扩展至所有种类的核酸分子。所述核酸因此包括基因组 DNA、cDNA、单链 DNA、双链 DNA、三链 DNA、寡核苷酸、Z-DNA、mRNA、tRNA 和其它 RNA。一般优选 DNA 分子,即便在 DNA 用于表达治疗性 RNA 如核酶或反义 RNA 的情况下也是如此。

编码选定蛋白或 RNA 的“基因”或 DNA 段一般指含编码选定蛋白或 RNA 的序列的 DNA 段,但其分离或纯化至不含获得该 DNA 的物种的总基因组 DNA。术语“基因”和“DNA 段”包括 DNA 段及其较小片段以及重组载体,包括例如质粒、粘粒、噬菌体、逆转录病毒、腺病毒等。

术语“基因”简单地用于指功能蛋白或肽编码单位。正如本领域技术人员所理解的,该功能术语包括基因组序列和 cDNA 序列。

“与其它编码序列基本分离的”是指目的基因构成了 DNA 段编码区的重要部分,而该 DNA 段不含有大部分天然编码 DNA,例如大染色体片段或其它功能基因或 cDNA 编码区。当然,这是指最初分离的 DNA 段,未排除基因或编码区,例如前导肽编码序列或靶向序列,后者人工加入到该 DNA 段中。

本发明不需要使用高度纯化的 DNA 或载体,只要使用的任何编码段编码选择的蛋白或 RNA,且不包括任何对靶细胞具有显著副作用的编码序列或调节序列。因此,还应当理解,有用的核酸序列可包括额外的残基,例如在编码区 5'或 3'部分侧面的额外非编码序列,或者可包括各种已知存在于基因中的内部序列,即内含子。

许多合适的 DNA 段可得自现有资源,包括商业来源。人们还可以使用本领域技术人员周知的各种分子生物学技术中的任何一种或多种,获得编码目的蛋白的新 DNA 段。例如,可使用具有设计序列的引物或探针筛选 cDNA 或基因组文库。还可以使用聚合酶链反应(PCR)产生目的蛋白编码 DNA 段。

在鉴别出合适的选定基因或 DNA 分子之后,可将其插入到本领域

域目前已知的众多载体中的任一种中，以便其在整合入靶细胞后控制选定蛋白的表达和生产。在重组表达载体中，DNA 段编码区的位置处于启动子/增强子元件控制之下。启动子可为与选定基因天然相关的启动子形式，可使用例如重组克隆和/或 PCR 技术，通过分离位于编码段或外显子上游的 5'非编码序列获得。

在其它实施方案中，设想通过将编码 DNA 段定位于受重组或外源启动子控制的位置，获得某些优势。本文使用的重组或外源启动子意指在其天然环境中与选定基因通常无关的启动子。这种启动子可包括一般与其它选定基因相关的启动子和/或分离自任何其它细菌、病毒、真核生物或哺乳动物细胞的启动子。当然，重要的是使用有效控制 DNA 段在选择的靶细胞中表达的启动子。

使用重组启动子实现蛋白表达是分子生物学领域技术人员周知的，参见例如 Sambrook et al. (1989; 通过引用结合到本文中)。使用的启动子可为组成型或诱导型，可在合适条件下用于引导导入的 DNA 段高水平或可调节地表达。在组成型启动子控制下的基因表达不需要存在特异性底物来诱导基因表达，并在细胞培养的所有条件下都发生。相反，由诱导型启动子控制的基因表达对诱导剂的存在或不存在起反应。

因此，可使用自哺乳动物细胞中生长的病毒的基因组分离的启动子，例如 RSV、痘苗病毒 7.5K、SV40、HSV、腺病毒 MLP、MMTV LTR 和 CMV 启动子，以及通过重组 DNA 或合成技术产生的启动子。目前优选的启动子例如为 CMV、RSV LTR、单独的 SV40 启动子以及与 SV40 增强子组合的 SV40 启动子。

具有组织特异性的代表性组织特异性启动子/增强子元件和转录控制区包括但不限于：在胰腺泡细胞中有活性的弹性蛋白酶 I 基因控制区；在胰腺细胞中有活性的胰岛素基因控制区；在淋巴细胞中有活性的免疫球蛋白基因控制区；在肝脏中有活性的白蛋白、1-抗胰蛋白酶和-甲胎蛋白基因控制区；在骨髓细胞中有活性的-球蛋白基因控

制区；在大脑少突胶质细胞中有活性的髓鞘碱性蛋白基因控制区；在骨骼肌中有活性的肌球蛋白轻链-2 基因控制区；以及在下丘脑有活性的促性腺素释放激素基因控制区。

为充分翻译插入的蛋白编码序列，可能还需要特异性起始信号。这些信号包括 ATG 起始密码子和邻近序列。对于将包括起始密码子和邻近序列的完整编码序列插入到合适表达载体中的情况，可能不需要额外的翻译控制信号。但是，对于仅插入部分编码序列的情况，应提供外源翻译控制信号，包括 ATG 起始密码子。起始密码子必须与蛋白编码序列可读框协调，以确保整个插入序列的翻译。这些外源翻译控制信号和起始密码子可为各种来源，既可以是天然的，也可以是合成的。可通过包含转录弱化序列、增强子元件等增强表达的效率和控制。

可使用各种载体，包括但不限于来源于重组噬菌体 DNA、质粒 DNA 或粘粒 DNA 的载体。例如，可使用质粒载体如 pBR322、pUC 19/18、pUC 118、119 和 M13 mp 系列载体。噬菌体载体可包括 gt10、gt11、gt18-23、ZAP/R 和 EMBL 系列噬菌体载体。可使用的粘粒载体包括但不限于：pJB8、pCV 103、pCV 107、pCV 108、pTM、pMCS、pNNL、pHSG274、COS202、COS203、pWE15、pWE16 和克隆粒 9 系列的载体。允许体外转录 RNA 的载体如 SP6 载体也可用于产生可加入到基质中的大量 RNA。

选定的基因和 DNA 段还可为位于重组病毒基因组中的 DNA 插入片段形式，所述重组病毒例如为重组疱疹病毒、逆转录病毒、痘苗病毒、腺病毒、腺相关病毒或牛乳头瘤病毒。尽管可使用整合型载体，但通常优选非整合系统，其不会将基因产物传输到许多代的子细胞中。这样，基因产物在限定的生物过程如伤口愈合过程中表达，随着基因在子代中被稀释，基因产物的表达量减少。

在这种实施方案中，为使基因与靶细胞接触，应制备其基因组包括基因插入片段的重组病毒颗粒，经由本发明聚合物纤维释放去

接触靶细胞或组织，由此病毒感染细胞并传递遗传物质。

序列与文献所述不同的基因也被设想用于本发明，只要改变或修饰的基因其编码的蛋白仍具有以需要(直接或间接)的方式作用于靶细胞的功能。这些序列包括由点突变产生的序列、由于遗传编码简并性或天然等位基因变体以及通过遗传工程(即人工)导入其它修饰而产生的序列。

在核苷酸序列中导入变化用来改变编码蛋白或多肽的功能特性的技术在本领域众所周知。这种修饰包括碱基的缺失、插入或置换，由此改变氨基酸序列。改变可用于增加蛋白活性、增加其生物稳定性或半衰期、改变其糖基化模式、赋予温度敏感性或改变蛋白表达模式等。所有这些对核苷酸序列的修饰都包含在本发明中。

本发明的一个优势是在基因转移方法和组合物中可使用一种或一种以上的选定基因。因此，核酸传递方法必须可以给予一种、两种、三种或更多种选定基因。可应用的最大基因数仅受实际考虑因素的限制，例如同时制备大量基因构建物所涉及的困难乃至激发有害的细胞毒性作用的可能性。可选择特别的基因组合来改变相同或不同的生化途径。例如，生长因子基因可与激素基因组合；或者激素和/或生长因子基因可与编码细胞表面受体的基因组合，该细胞表面受体能够与第一种基因的多肽产物相互作用。

在使用多个基因时，可将其组合在单个基因构建物上，处于一个或多个启动子控制下，或者可将其制备为相同或不同类型的单独基因构建物。因此，可使用几乎无穷多组合的不同基因和基因构建物。某些基因组合可设计为实现对细胞刺激和组织生长的协同作用，或其应用可导致这种协同作用，这种组合的任一种和全部都完全属于本发明的范围。实际上，在科学文献中已经描述了许多种协同作用，使得本领域技术人员能够容易地鉴别合适的协同基因组合乃至基因-蛋白组合。

还应当理解的是，如果有需要，核酸片段或基因可与其它物质

联合给予，所述其它物质例如为蛋白或多肽或各种药理学活性物质。只要遗传物质构成了组合物的一部分，则实际上对还可包含的其它组分没有限制，前提是其它物质在接触靶细胞或组织时不会引起显著的副作用。因此，核酸可随同各种其它物质一起传递，例如在某些实施方案中，人们可能希望给予血管生成因子，如美国专利 5,270,300 所公开的，该专利通过引用结合到本文中。

因为基因的化学特性即核苷酸的串必须是不变的，并且因为基因转移和表达过程基本上是相同的，所以应当理解的是，由本发明纤维基质转移的基因类型实际上是无限的。这就由用于 DNA 免疫接种的遗传物质(表达抗原性或免疫原性片段)混合物的转移延伸至细胞功能刺激(如伤口愈合过程中)、细胞杀伤方面(如将肿瘤抑制基因、反义癌基因或凋亡诱导基因转移至癌细胞中)。

仅作为实例，本发明提供的基因包括但不限于编码和表达以下物质的基因：激素、生长因子、生长因子受体、干扰素、白介素、趋化因子、细胞因子、集落刺激因子和趋化因子、转录和延伸因子、细胞周期控制蛋白(包括激酶和磷酸酶)、DNA 修复蛋白、凋亡诱导基因、凋亡抑制基因、癌基因、反义癌基因、肿瘤抑制基因、血管生成和抗血管生成蛋白、免疫应答刺激和调节蛋白、细胞表面受体、辅助信号转导分子和转运蛋白、酶以及抗细菌和抗病毒蛋白。

H. 试剂盒

本发明各个方面所需的所有基本材料和试剂都可一起组装在试剂盒中。本发明的试剂盒通常还包括含小瓶的装置，例如将需要的小瓶保持在其中的注模或吹模塑料容器，其中所述小瓶为市场销售用的封闭限制式结构，内含需要的组分。不考虑容器的数量或类型，本发明的试剂盒通常装有试剂盒组分使用说明书。

工作实施例

包含以下的实施例是为了阐明本发明的优选实施方案，无意以任何方式限制本发明的范围。本领域技术人员应当理解的是，以下实施例公开的技术表示本发明的发明人开发的技术可良好地用于实施本发明，因此可被认为等同于其优选实施模式。但是，根据本说明书的公开内容，本领域技术人员应当认识到可对本文公开的具体实施方案进行多种改变，并仍可获得类似或相似结果而不偏离本发明精神和范围。

实施例 1

3.2. 挤出凝胶或水凝胶芯纤维

在本发明的一个实施方案中，使用以下方法产生凝胶或水凝胶芯药物释放纤维。使用的装置示于图 7，该图详示了一种纤维喷丝头，在该喷丝头中凝固芯液通过小直径皮下管流动，该皮下管位于平端皮下针的中央。但是，任何相似的构型，包括放大版和特别构建的装置，都包括在本发明的范围内。该构型可使聚合物环流过喷丝头，以水基凝胶或水凝胶为芯。首先，将生物可降解聚合物，如聚(L-乳酸)(PLLA)、聚(DL-乳酸)、聚己内酯、聚(乙醇酸)、聚酞或这些或其它生物可降解聚合物的共聚物或混合物，取决于聚合物类型，以 5-30% 重量的浓度范围溶解在某些合适的溶剂(A)中，200 kD 分子量的 PLLA 优选 10% 重量。在本实施方案中，溶剂(A)与水的混溶性低，与凝固浴溶剂(B)高度混溶，但与芯中凝胶或水凝胶中的水不混溶。水在该应用中不起溶剂或非溶剂的作用。优选的溶剂(A)包括氯仿和二氯甲烷。聚合物一溶解在选定溶剂中，通常就将非溶剂(溶剂 C)以合适的浓度加入到聚合物溶液中，以降低溶剂体系的溶剂化能力，但不能使溶液达到其浊点。该非溶剂与溶剂(A)和溶剂(B)高度混溶，在某些情况下可与溶剂(B)相同。典型的选择包括异辛烷、环己烷和己烷。该非溶剂使聚合物溶液接近其浊点，使得溶液更快速沉淀，在挤入凝固浴溶剂(B)中时形成纤维。

使用本领域实际操作人员已知的标准方法制备凝胶或水凝胶。作为实例，为在内部胶凝藻酸盐芯液，首先将藻酸钠粉末溶解在蒸馏的去离子水中，获得的浓度为 0.5-50%重量，本实施例需要 1%重量。一溶解就将溶液除菌过滤，获得适用于凝胶挤出方法的母液。为促进藻酸盐的内部胶凝，向溶液中加入合适量的碳酸钙 CaCO_3 ，并通过涡旋、声处理或匀浆彻底混合。碳酸钙不溶于中性 pH 的水，所以粉末最终悬浮在藻酸盐溶液中。向该溶液中加入合适量的 D-葡萄糖酸- δ -内酯(GDL)，以缓慢降低溶液 pH，启动 CaCO_3 释放出游离 Ca^{++} ，以交联藻酸盐中的古洛糖醛酸残基，由此形成水凝胶。胶凝速率和凝胶特性可通过溶液中使用的 CaCO_3 浓度以及 GDL 对 CaCO_3 的比率来控制。

然后，通过图 7 所示的喷丝头装置，立即将制备的凝胶溶液和聚合物溶液挤入含溶剂(B)的凝固浴中，使得聚合物环绕着含凝胶或水凝胶的中心管流动，如果有需要，将选择的药物溶解在凝胶中，或包埋入纳米球体或脂质体中并悬浮在凝胶中。将聚合物溶液和凝胶或水凝胶内核按照需要纤维的尺寸通过喷丝头挤入到凝固浴中，因为这些纤维通常未被拉伸，所以最终的纤维尺寸接近于喷丝头尺寸。环外径对凝胶或水凝胶内径的最佳比率需要通过实验确定。例如，为获得外径接近 500 μm 的纤维，本发明发明人的实验室对芯液使用的外腔为 18 号(gage)，内腔为 24 或 25 号。任何水基凝胶、前体水凝胶组分或水凝胶都可以通过中心管传递。内部凝胶或水凝胶经常携带与有机溶剂不相容的药物，或者凝胶或水凝胶不耐受存在的有机溶剂。因此，一般优选用于凝胶或水凝胶的溶剂(一般为水)与溶剂(A)、(B)和(C)不混溶。溶剂(B)必须与溶剂(A)和(C)高度混溶，与芯液中的水组分不混溶，必须为聚合物的非溶剂；己烷和戊烷是最典型的选择，但任何满足以上标准并将溶剂由聚合物溶液中快速提取出来的溶剂在理论上都可。因此，氯仿和戊烷与作为非溶剂加入的异辛烷组合，成为了良好的溶剂和凝固浴。因为溶剂(A)与凝

固浴溶剂(B)高度混溶, 所以其由聚合物溶液流自由扩散至凝固浴中, 将聚合物溶液的溶剂化能力降低到浊点以下, 这使聚合物开始沉淀, 形成固体聚合物外层。有时候, 聚合物外层必须在暴露于内腔中流动的凝胶或水凝胶的压力之前开始沉淀和形成。这需要内腔的轴向位置突出在外环的出口以下(在本发明发明人的实验室中通常为 0-2 mm), 以确保聚合物溶液就在凝胶或水凝胶芯液接触聚合物之前暴露于凝固浴。加入到聚合物溶液中的非溶剂(C)加速了沉淀过程。由于溶剂(A)或(B)都不能自由扩散至芯液中, 所以随着聚合物脱离喷丝头, 产生了仅有单纯凝固剂的前端, 由此包埋凝胶或水凝胶芯。纤维落入凝固浴的距离对纤维形成及其最终特性很重要, 通常为 10-30 cm。在本发明发明人的实验室中, 纤维已可以自由降落, 并在凝固浴容器底部收集; 但是, 也包括其它设计, 包括将纤维由凝固浴中拉出来, 作为本发明的一部分。挤出的纤维可后处理, 并以多种方式储存, 包括冻干、冷冻或烘箱干燥, 并放置在干燥器(desecrator)或冰箱中, 具体取决于载荷的生物分子的推荐储存条件以及凝胶或水凝胶的特性。

实施例 2

3.3. 挤出凝胶包被的聚合物纤维

在本发明的另一个实施方案中, 产生包被水凝胶的 PLLA 或其它生物可降解聚合物纤维。挤出过程类似于所描述的, 除了使用的凝固浴含有用于水凝胶的凝固剂或交联剂。与前述类似, 聚合物和水凝胶通过喷丝头中挤出, 聚合物溶液(可能在水或凝胶分散相中含有药物)通过喷丝头内芯挤出, 而凝胶或水凝胶(可能含有药物)溶液通过喷丝头外环挤出。如所述或如本领域实际操作者已知的其它方法制备溶液, 同时通过喷丝头挤出。对于双腔喷丝头的情况, 聚合物溶液在不直接接触凝固剂的情况下被挤出。在此情况下, 聚合物溶剂必须通过后处理步骤去除, 或者如果没有理由反对的话, 凝固

浴可含有溶剂混合物，其中至少一种可同时与水和聚合物溶剂混溶；其实例包括异丙醇、丙酮等。这使得聚合物溶剂(通常为氯仿和二氯甲烷)通过水可混溶溶剂携带的凝胶或水凝胶外层离开。凝固浴还含有本领域实际作者已知的以交联或其它方式形成凝胶的溶液。对于藻酸盐水凝胶，凝固浴可为合适浓度的 CaCl_2 的水溶液。由喷丝头流出聚合物溶液和藻酸盐溶液时，藻酸盐溶液(可含有如上所述的 CaCO_3 和 GDL)接触凝固剂，并通过溶液中的钙离子交联。如果使用聚合物凝固剂，则聚合物/乳状液中的溶剂将扩散入凝固剂中，聚合物将形成纤维。如果没有使用凝固剂，则聚合物溶液由快速交联藻酸盐溶液包埋，以至形成藻酸盐包裹的纤维。聚合物中残余的溶剂可通过合适的后处理技术去除。

实施例 3

挤出使用凝固剂芯液的凝胶或水凝胶在外表面的中空纤维

在本发明的一个实施方案中，使用以下的方法产生凝胶或水凝胶在外表面的中空纤维。装置包括一个三腔喷丝头，这也就意味着有三个泵。凝固浴由垂直固定的玻璃管组成，一端插入到凝固液池中，另一端用隔膜密封。用针刺穿隔膜，并用大容量注射器吸出管中的空气，将凝固剂由池中引入管中。注满时，取下注射器针头，用隔膜密封管。和实施例 2 一样，凝固剂必须包括胶凝外层凝胶或水凝胶的手段。再者，对于例如藻酸盐的情况，氯化钙溶液可能合适。凝胶或水凝胶溶液流过最外腔，生物可降解聚物流过内腔，而如上定义的用于聚合物的凝固剂流过最内腔。以确定的速率由凝固浴中拉出纤维。在实验室中，本发明的发明人使用附在改良可变速车床上的滚筒，该车床可精确保持其角速度。然后在不毁坏纤维的情况下，将拉伸和挤出的纤维由滚筒和纤维中心的凝固剂上移出。残余的凝固剂和水通过冻干、冷冻或烘箱干燥纤维去除，并根据推荐的储存条件将其置于干燥器或冰箱中。

实施例 4

挤出使用水作为芯液(水芯纤维)的中空纤维

在本发明的一个实施方案中,使用以下方法产生水芯药物释放性纤维。装置和实施例 1 使用的类似。该构型可使聚合物环流过喷丝头,以水基液体为芯。首先,将生物可降解聚合物,如聚(L-乳酸)(PLLA)、聚(DL-乳酸)、聚己内酯、聚(乙醇酸)、聚酞或这些或其它生物可降解聚合物的共聚物或混合物,取决于聚合物类型,以 5-30%重量的浓度范围溶解在某些合适的溶剂(A)中,200 kD 分子量的 PLLA 优选 10%重量。在本实施方案中,溶剂(A)与水的混溶性低,与凝固浴溶剂(B)高度混溶,但与芯中的水不混溶。水在该应用中不起溶剂或非溶剂的作用。优选的溶剂(A)包括氯仿和二氯甲烷。聚合物一溶解在选择的溶剂中,就将非溶剂以合适的浓度加入到聚合物溶液中,以降低聚合物溶剂体系的溶剂化能力,但不使该溶液达到其浊点。该非溶剂(溶剂 C)与溶剂(A)和溶剂(B)高度混溶。典型的选择包括异辛烷、环己烷和己烷。该非溶剂使聚合物溶液接近其浊点,使得溶液在挤入凝固浴中时更快速地形成纤维。

然后,通过喷丝头装置将聚合物溶液挤入含溶剂(B)的凝固浴中,使得聚合物环绕着含水的中心管流动,如果有需要,可将选择的药物溶解在水中,或包埋入纳米球体或脂质体中并悬浮在水中。通过尺寸范围为 16 号到 27 号的喷嘴将聚合物溶液挤入凝固浴中,含水芯液的皮下管的尺寸要合适,以匹配选择的喷嘴。任何水基液体都可以通过中心管传递,只要该溶液不与溶剂(A)混溶。溶剂(B)必须与溶剂(A)和(C)高度混溶,必须为聚合物的非溶剂;己烷和戊烷是最典型的选择,但任何为聚合物的非溶剂并与溶剂(A)和(C)高度混溶的溶剂都可用于该用途,只要其可将溶剂由聚合物溶液中快速提取出来。例如,戊烷与氯仿和异辛烷高度混溶,也是聚合物的非溶剂。因此,氯仿、异辛烷和戊烷构成了一个良好的溶剂、非溶剂和凝固

浴组合。因为溶剂(A)与凝固浴溶剂(B)高度混溶,所以其由聚合物溶液流自由扩散至凝固浴中。调节内部皮下管和喷嘴的相对轴向位置,以确保聚合物溶液环在水芯接触聚合物前就暴露于凝固浴。加入到聚合物溶液中的非溶剂加速了沉淀过程,以至在聚合物中形成了夹裹芯溶液的外层。由于溶剂(A)或(C)都不能自由扩散至芯液中,所以随着聚合物脱离喷丝头,产生了仅有单纯凝固剂的前端。另外,溶剂与芯的不混溶性保护了其及其含量。用于该用途的凝固浴由 250 ml 或更大的烧杯组成,纤维可落入其中,并随着其凝固而缠绕。落下的高度对纤维形成很重要,通常为 10-30 cm。将挤出的纤维由烧杯取出,冻干、冷冻或烘箱干燥,并放置在干燥器或冰箱中,具体取决于推荐的储存条件。

3.4. 实施例 5

实施例 1 的其它制作技术,用于亲水纤维

唯一的差异是使用低分子量(通常在 200-600 Da 的范围内)的分子如聚(乙二醇)(PEG)作为凝固浴。该聚合物与氯仿和二氯甲烷混溶,也是聚合物的非溶剂,如 PLLA。因此,其有资格作为凝固浴,但是,此独特的凝固浴在纤维壁中产生了 PEG 互穿网络,使其在接触水性环境时亲水。这对植入来说是一个有意思的暗示,可改变针对纤维的细胞反应。

实施例 6

神经组织工程

在本发明的此方面,将纤维平行阵列装入管中,并载荷用于轴突生长的神经营养蛋白。该管可以是本发明要求保护的组合物纤维的非常大版本,其中凝胶或水凝胶内核的浓度可为零,或者可设计成具有凝胶或水凝胶外层、多组分凝胶或水凝胶内核以及由生物可降解聚合物组组成的中间层。最内部的凝胶或水凝胶的浓度可为零,

生物可降解聚合物层可载荷治疗剂，治疗剂或者在分散相中，或者与聚合物直接混合。外部凝胶或水凝胶还可以含有治疗剂，内部凝胶或水凝胶也可以含有治疗剂。管内是纤维的平行阵列，本发明或我们以前的发明可有或没有描述过其组成。对于本实施例，至少一种组分，或者为管，或者至少一种纤维，必须为本发明描述的组合物。将管内部的纤维阵列放置于断裂的外周或中枢神经中。治疗剂可以线性或某些其它合适的梯度载入载荷其的装置元件中(管的外部凝胶或水凝胶、中间的生物可降解聚合物层或最内部的管内核以及管内的单个纤维，为本文所述的任一种和所有可能的组成方式)，但装置中每次出现的梯度根据需要可有所不同。植入该装置来桥接神经干末端之间的空隙。随着该装置释放其可由神经营养蛋白、抗炎剂、血管生成因子、具体趋化剂或化学排斥剂等组成的治疗剂，轴突、脉管系统和其它支持细胞和组织开始迁移至病灶。一旦轴突到达远端，则由存在的 Schwann 或神经胶质细胞提供导向信号，然后可产生重接。先前发现轴突接受这些纤维束的接触导向，并能够使用非载荷纤维在大鼠坐骨神经切除部位中横贯至少 1.8 cm。对于大鼠坐骨神经生长来说，管中未载荷纤维的最优密度为在 1.5 mm 直径管中有约 32 根纤维。

实施例 7

制备和使用聚合物纤维支架

在另一个实施方案中，纤维可载荷目的药物，并用于要求机械强度的支架或其它医学装置。如果需要机械特性，则可以载荷纤维和未载荷纤维混合的方式机织支架。

纤维还可与市售支架联合使用，以传递安放位置的药物。在此情况下，纤维应不提供任何机械支撑，而是仅用作药物传递池。

实施例 8

制备和使用伤口敷料

在另一个实施方案中，可由这些纤维制备纱布或敷料。该敷料具有两面，上表面释放用于上皮再形成的分子，并提供这些细胞的基质。下表面促进皮肤组织的再生。该敷料设计用于皮肤伤口愈合，包括烧伤、全厚度皮肤伤口(full thickness dermal wound)以及慢性或非愈合伤口和溃疡。每根纤维都可具有多组分、多层构型，以提供大概对应于皮肤伤口愈合的三个阶段的药物或因子的时序性释放。

作为一个实例，对于设计用于外伤患者的敷料，首先要释放的化学物质可以是促凝剂，以帮助终止出血。然后下一层可释放细胞因子，以帮助募集用于下一个阶段伤口愈合的嗜中性粒细胞和巨噬细胞。最后，释放因子来帮助减少过多的伤疤组织和抑制收缩，烧伤患者尤其不能出现收缩。

3.5. 实施例 9

制作人工动脉

使用本文描述的技术可以构建人工动脉。用载荷各种生物剂的纤维，可针织、机织、编织或使用非织造技术制作一系列中空、同心的圆柱状节段。最内侧圆柱体优选紧密机织，并含有促进完整内皮细胞层迁移、扩散和功能化的药物或因子。下一个圆柱体由机织或针织的纤维结构组成，这些纤维主要沿圆周盘绕在内部圆柱体周围。该层诱导平滑肌纤维迁移和增殖，并促进弹性蛋白表达，以产生内部弹性介质。下一个圆柱体由针织或非织造的纤维组成，含有促进成纤维细胞、巨噬细胞向内生长和胞外基质产生的药物。最后一层包括纵向纤维，其通过由 VEGF 释放性纤维或其它血管生成促进剂产生人工血管滋养管，促进动脉细胞血管化。

3.6. 实施例 10

3.7. 药物传递支架

在另一个应用实施方案中，这些纤维可在适于纤维结构的位置用作药物传递支架。例如，在微球体或其它结构更有可能干扰患者视力的眼内，纤维可用小钉固定，不会漂浮在视野中。纤维能够停留在优于微球体或其它结构如纳米颗粒、水凝胶等的位置。

3.8. 实施例 11

3.9. 原位引导血管生成

在本实施方案中，将一种或多种纤维沿着需要引导血管生成的路径置于体内，其中所述纤维含有一个或多个家族的血管生成因子，例如 VEGF、bFGF、血管紧张素或其它已知诱导血管生成的物质。随着纤维开始释放血管生成因子，将诱导内皮细胞按照类似于正常血管生成的过程由周围脉管系统向着纤维迁移。使用的纤维可为本发明描述的一种或多种组合物，或者可为具有 VEGF 或类似的对内部内皮细胞具有趋化作用的生长因子以及用于外部平滑肌的不同因子的管。这样，可以确定产生的血管的尺寸。在该应用中，细胞由细胞特异性生长因子引导入最初无细胞的支架中。

3.10. 实施例 12

3.11. 骨折愈合

在另一个伤口愈合实施方案中，将已知增强骨折愈合的蛋白载入纤维中。然后将该纤维包裹在骨折部位的骨四周，其释放生长因子并增强骨折修复速率。

这些纤维或者可以为螺旋结构(单螺旋或多螺旋)，或者可将其机织成宽松开放的式样。将螺旋或机织结构的纤维置于骨碎片四周，保持它们在原位，同时释放其生长因子。

对于非愈合性骨折，由于骨折部位的血液供应没有或很少，可使用含 VEGF 或其等同物的纤维或纤维组增强骨折区域的血液供应。

在该实施方案中，相比于未治疗的骨折，骨折加速愈合，在某

些情况下，骨不连合也可愈合。

除此之外，在第三个骨愈合应用中，可在骨折的局部区域使用释放止痛药物的纤维。这样，纤维可用于植入板、螺钉或其它矫形装置的病例或其它进行骨外科操作的病例。局部疼痛缓解可使患者更快速地将载荷物应用于骨折部位，并可产生更强和更快速的好转，又使患者更舒适。

3.12. 实施例 13

3.13. 皮肤溃疡愈合

和实施例 8 描述的一类皮肤伤口愈合相类似，该技术的另一个重要实施例是治愈各种起源的慢性皮肤溃疡(例如糖尿病足溃疡、静脉溃疡和全身褥疮性溃疡)的潜力。基于创建的非机织纤维网可治愈这些病症和潜在的其它类似病症，其中所述非机织纤维网释放已知加速皮肤伤口愈合的因子，例如血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子 β (TGF- β)和 VEGF 或类似蛋白。该非机织网可直接插入或装入溃疡或伤口中，其中这些生长因子可有助于加速伤口的愈合过程。这些敷料可设计用于愈合皮肤疮和溃疡。在此情况下，几乎不需要减少出血；这反而是这些患者的最大需要之一，特别是那些伤口部位缺乏血液供应的糖尿病溃疡患者。因此，诱导血管生成的因子能够增加循环，并帮助疮或溃疡部位的组织复原。

针对各种类型的伤口或疮的特别需要，通过改变释放的生物分子以及释放它们的动力学，可设计出各种敷料。

3.14. 实施例 14

3.15. 肌肉移植术

在另一个实施方案中，纤维平行阵列可载荷肌肉干细胞。这些干细胞可为心肌、平滑肌或骨骼肌来源。这些肌肉干细胞一接种到纤维阵列上，就可将纤维在体外机械伸展，以帮助这些细胞正确地

排列和分化。还可以使用非常小直径的纤维实现排列。我们采用轴突的实验表明，直径大约 50 μm 的纤维倾向于帮助细胞平行于纤维轴排列。该束中的其它纤维可释放血管生成因子，以产生供应肌细胞的血管。对于骨骼肌或平滑肌组织，还可包含用于神经生长的纤维，以诱导形成神经肌肉接合。用于收获、分离、再生和分化这些干细胞的各种实验条件是本领域技术人员已知的，不是本发明的一部分。

实施例 15

治疗青光眼

与实施例 10 描述的眼中药物传递和实施例 6 简述的神经支架相类似，通过组合眼内药物传递和应用用于视神经的神经治疗，可治疗青光眼。视网膜神经节细胞经历凋亡，导致视神经轴突死亡。假设如果细胞可在眼内以及沿着视神经的路径都得到支持，则细胞应当能够存活。通常，可将释放生长因子如 NT-4、BDNF、CNTF 的纤维束局部应用于视神经外部。同时，将释放凋亡抑制剂或视网膜神经节细胞支持因子的纤维植入眼中。这种组合作用可延长或保持青光眼患者的视力。

由前述实施例可见，一旦理解了基本的生理结构，就可能机织其它的组织、器官或结构。这可延伸至消化系统、骨骼肌系统、泌尿系统、循环系统和神经系统的器官。

实施例 16

在含有水分散相的生物可降解聚合物外层中产生凝胶或水凝胶内核

在本发明的另一个实施方案中，凝胶芯纤维也可以在生物可降解聚合物纤维壁中的水、凝胶或水凝胶分散相中含有治疗剂。装置和挤出条件类似于实施例 1，本实施例描述的除外。

聚合物一溶解在溶剂(A)中，就将含目的生物分子和表面活性剂

的水溶液或凝胶或水凝胶(包括前体)加入到聚合物溶液中。另外,可将表面活性剂加入到溶剂(A)中。水相的浓度通常在 1-70%体积/体积聚合物溶液的范围内,对于充满凝胶或水凝胶的 PLLA 纤维最通常为 4-20%。表面活性剂可为本领域技术人员熟知的一种或组合物,例如牛血清白蛋白(BSA)、聚(乙烯醇)、Pluronic 或生物表面活性剂,如磷脂家族。本文没有具体提及但本领域技术人员已知的其它表面活性剂通过扩展包括在本发明中。在典型应用中,用作表面活性剂的 BSA 的浓度大约是目的生物分子 10-100 倍高,水相的通常浓度为 2%重量至 50%重量。要注意地是,本发明发明人的实验证明,对于凝胶或水凝胶难以获得高蛋白浓度,因此,表面活性剂的选择可能取决于分散相的类型。

使用某些类型的机械能如声处理、涡旋或使液体通过小孔产生的剪切力,在水相和有机相之间形成油包水型乳状液。根据水溶液相对于聚合物溶液的体积,使用分部加入的水相,分阶段完成乳化,直至将总体积加入到聚合物溶液中。该乳状液的稳定时期必须远超过挤出所需的时间,以确保整个挤出过程中乳化的均一性。水分散相液滴的大小主要取决于表面活性剂的量和形成乳状液时施加于体系的机械能总量。水相大小对于纤维的释放动力学和机械特性是一个重要变量。然后该乳状液用作聚合物溶液,所有其它细节都与实施例 1 的阐述一样。

实施例 17

产生外部为凝胶或水凝胶、内核为生物可降解聚合物纤维的纤维,在纤维壁中含有水、凝胶或水凝胶分散相

该实施例和实施例 2 在所有细节上都类似,除了如实施例 16 所述将分散相加入到聚合物溶液中以外。

实施例 18

产生外部为凝胶或水凝胶的中空纤维，在纤维壁中含有凝胶或水凝胶分散相

该实施例和实施例 3 在所有细节上都类似，除了如实施例 16 所述将分散相加入到聚合物溶液中以外。

实施例 19

产生水芯纤维，在纤维壁中含有水、凝胶或水凝胶分散相

该实施例和实施例 4 在所有细节上都类似，除了如实施例 16 所述将分散相加入到聚合物溶液中以外。

按照本发明，在没有不适当实验的情况下，本文公开的和要求保护的所有组合物和方法都可被制备和实行。尽管根据优选实施方案描述了本发明的组合物和方法，但对本领域技术人员显而易见的是，可对组合物和方法进行各种改变，并可应用于本文描述方法的步骤或步骤顺序中，而不偏离本发明的原则、精神和范围。更具体地说，显然可用某些物理和化学相关的物质取代本文描述的物质，同时获得相同或相似的结果。所有这些对本领域技术人员显而易见的相似替代和修饰实际上属于所附权利要求书所限定的本发明的精神、范围和原则。

参考文献

以下的参考文献，在其提供代表性程序和其它细节补充本文所述内容的程度上，特别地通过引用结合到本文中。

Aigner, Tegeler, Hutzler, Campoccia, Pavesio, Hammer, Kastenbauer, Naumann, "Cartilage tissue engineering with novel nonwoven structured biomaterial based on hyaluronic acid benzyl ester," *J. of Biomed. Materials Res.*, 42(2):172-81, 1998.

Auerbach and Auerbach, "Angiogenesis inhibition: a review," *Pharmac. Ther.*, 63:265, 1994.

Breitbart, Grande, Kessler, Ryaby, Fitzsimmons, Grant, "Tissue

engineered bone repair of calvarial defects using cultured periosteal cells,” *Plastic & Reconstructive Surgery*, 101(3):567-74, 1998.

Cao, Rodriguez, Vacanti, Ibarra, Arevalo, Vacanti, “Comparative study of the use of poly (glycolic acid), calcium alginate and pluronics in the engineering of autologous porcine cartilage,” *J of Biomaterials Sci., Polynier Edition*, 9(5):475-87, 1998.

Dillon, Yu, Sridharan, Ranieri, Bellamkonda, “The influence of physical structure and charge on neurite extension in a 3D hydrogel scaffold,” *J. of Biomaterials Sci., Polymer Ed.*, 9(10):1049-69, 1998.

Elcin, Dixit, Lewin, Gitnick, “Xenotransplantation of fetal porcine hepatocytes in rats using a tissue engineering approach,” *Artificial Organs*, 23(2):146-52, 1999.

Fauza, Fishman, Mehegan, Atala, “Videofetoscopically assisted fetal tissue engineering: skin replacement,” *J. of Pediatric Surgery*, 33(2):357-61, 1998.

Fidler and Ellis, “The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis,” *Cell*, 79:185, 1994.

Folkman and Klagsbrun, “Angiogenic factors,” *Science*, 235:442-447, 1987.

Folkman, “How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue,” *Cancer Res.*, 46:467, 1986.

Folkman, J., “Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease,” *Nature Med.*, 1:27, 1995.

Grande, Halberstadt, Naughton, Schwartz, Manji, “Evaluation of matrix scaffolds for tissue engineering of articular cartilage grafts,” *J. of Biomed. Mat. Res.*, 34(2):211-20, 1997.

Gutsche, Lo, Zurlo, Yager, Leong, “Engineering of a sugar-derivatized porous network for hepatocyte culture,” *Biomaterials*, 17(3):387-93, 1996.

Hoerstrup, Zund, Lachat, Schoeberlein, Uhlschmid, Vogt, Turina, "Tissue engineering: a new approach in cardiovascular surgery-seeding of human fibroblasts on resorbable mesh," *Swiss Surgery*, (Suppl.), 2:23-5, 1998.

Hoerstrup, Zund, Schoeberlein, Ye, Vogt, Turina, "Fluorescence activated cell sorting: a reliable method in tissue engineering of a bioprosthetic heart valve," *Annals of Thoracic Surgery*, 665(5):1653-7, 1998.

Isogai, Landis, Kim, Gerstenfeld, Upton, Vacanti, "Formation of phalanges and small joints by tissue-engineering," *J. of Bone & Joint Surgery*, American Azol., 81(3):306-16, 1999.

Martin, Padera, Vunjak-Novakovic, Freed, "In vitro differentiation of chick embryo bone marrow stromal cells into cartilaginous and bone-like tissues," *J. of Orthopaedic Res.*, 16(2):181-9, 1998.

Nagy et al., "Pathogenesis of ascites tumor growth: vascular permeability factor, vascular hyperpermeability, and ascites fluid accumulation," *Cancer Res.*, 55:360, 1995.

Peppas and Langer, "New challenges in biomaterials," *Science*, 263:1715-1720, 1994.

Peter, Miller, Yasko, Yaszemski, Mikos, "Polymer concepts in tissue engineering," *J. of Biomed. Materials Res.*, 43(4):422-7, 1998.

Sacks, Chuong, Petrol, Kwan, Halberstadt, "Collagen fiber architecture of a cultured dermal tissue," *J. of Biomed. Engineering*, 119(1):124-7, 1997.

Sambrook et al., *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989.

Shinoka, Shum-Tim, Ma, Tanel, Isogai, Langer, Vacanti, Mayer, "Creation of viable pulmonary artery autografts through tissue engineering," *J. of Thoracic & Cardiovascular Surgery*, 115(3):536-45, 1998.

Sims, Butler, Cao, Casanova, Randolph, Black, Vacanti, Yaremchuk, "Tissue engineered neocartilage using plasma derived polymer substrates and chondrocytes," *Plastic & Reconstructive Surgery*, 101(6):1580-5, 1998.

Vunjak-Novakovic, Obradovic, Martin, Bursac, Langer, Freed, "Dynamic cell seeding of polymer scaffolds for cartilage tissue engineering," *Biotechnology Progress*, 14(2):193-202, 1998.

Whang, Tsai, Nam, Aitken, Sprague, Patel, Healy, "Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbably polymer scaffolds," *J. of Biomed. Materials Res.*, 42(4):491-9, 1998.

Wong and Mooney, "Synthesis and properties of biodegradable polymers used in tissue engineering," *In: Synthetic Biodegradable Polymer Scaffolds*, (Atala and Mooney, eds.), Birkhauser Press, Boston, MA, pp. 51-82, 1997.

Yoo and Atala, "A novel gene delivery system using urothelial tissue engineered neorgans," *J. of Urology*, 158(3 Pt2):1066-70, 1997.

图 1A

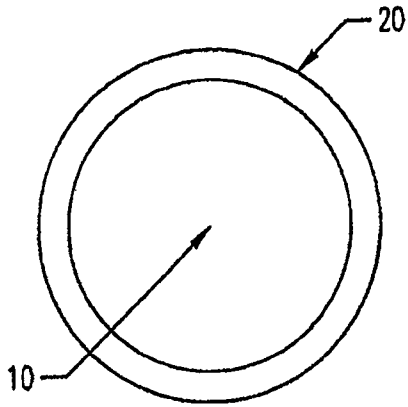


图 1C

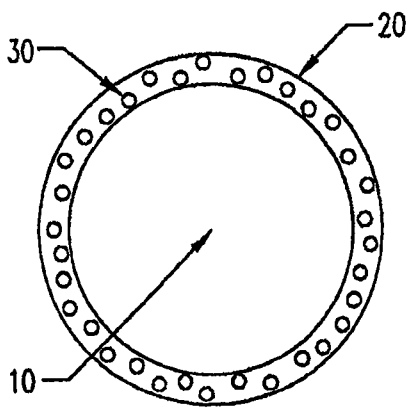
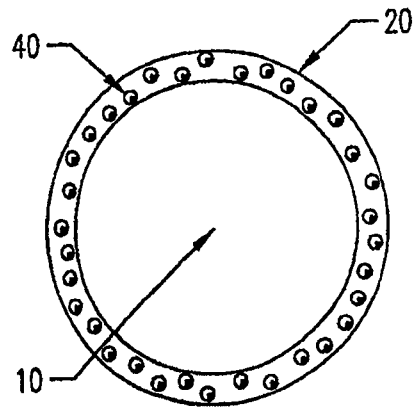


图 1B

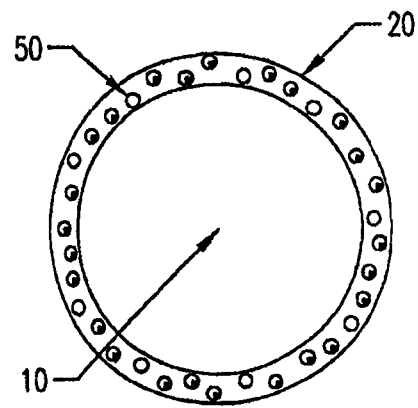


图 1D

图 2A

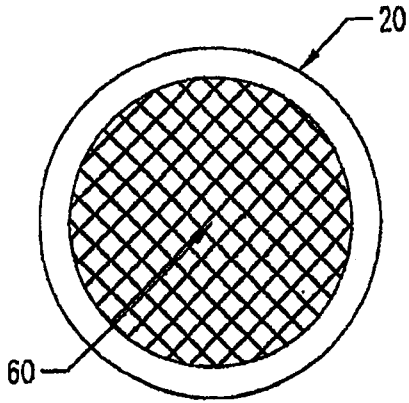


图 2C

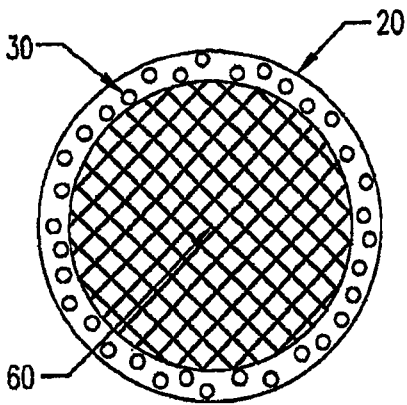
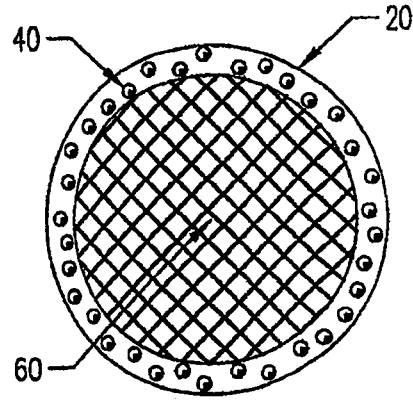


图 2B

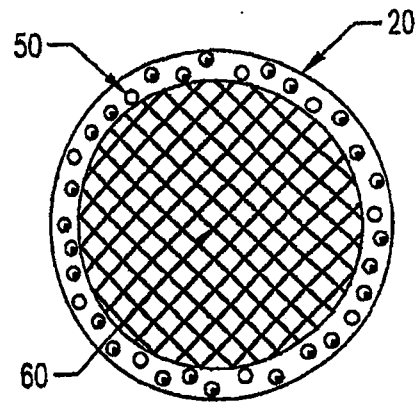


图 2D

图 3A

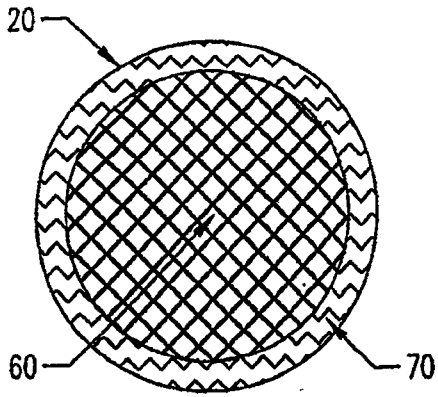


图 3C

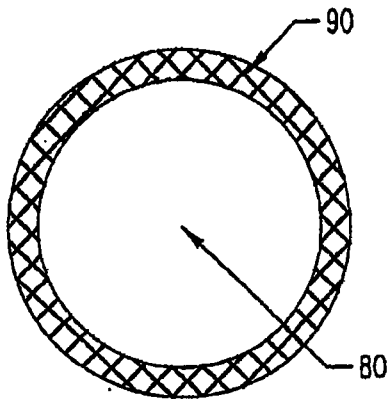
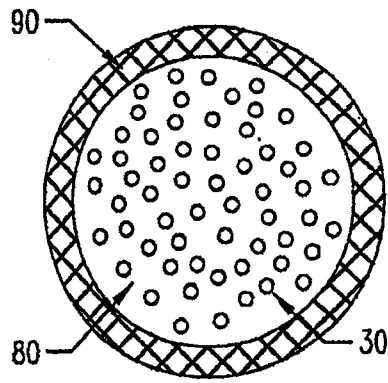


图 3B

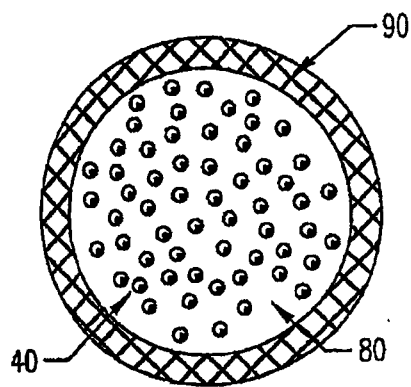


图 3D

图 4A

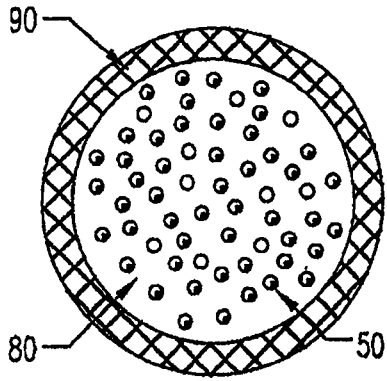


图 4C

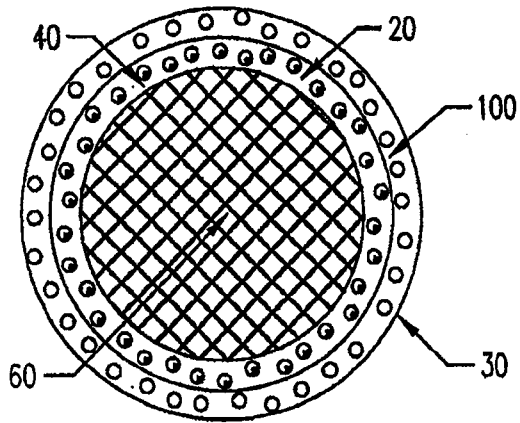
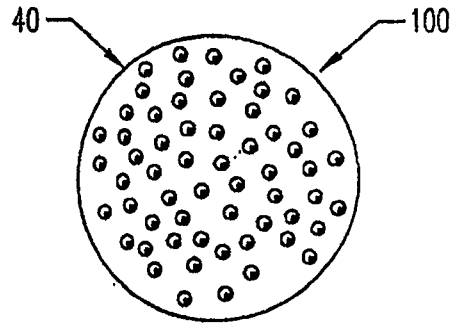


图 4B

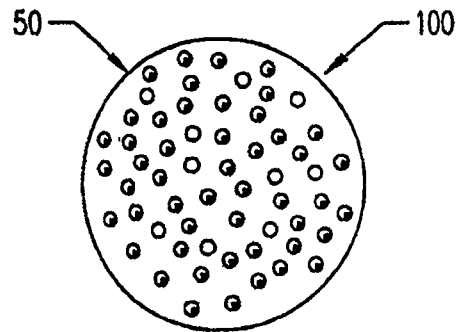


图 4D

图 5A

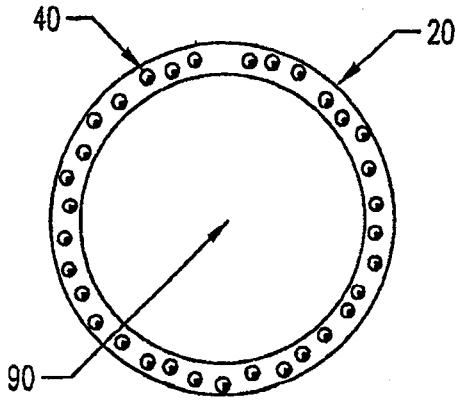


图 5C

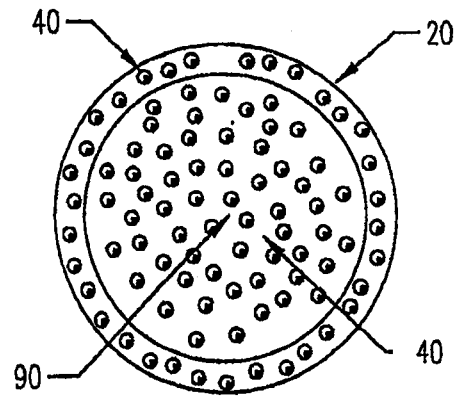
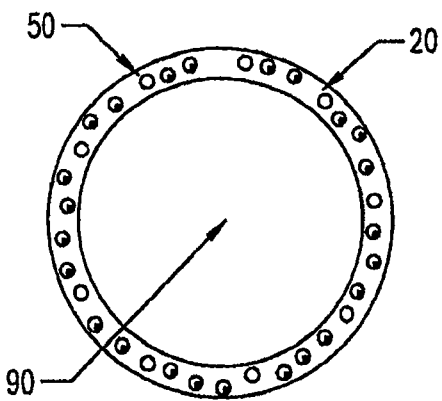
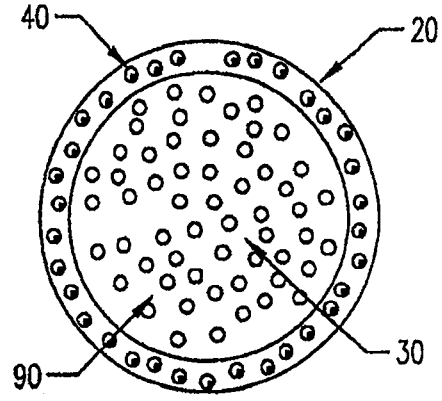


图 5B

图 5D

图 6A

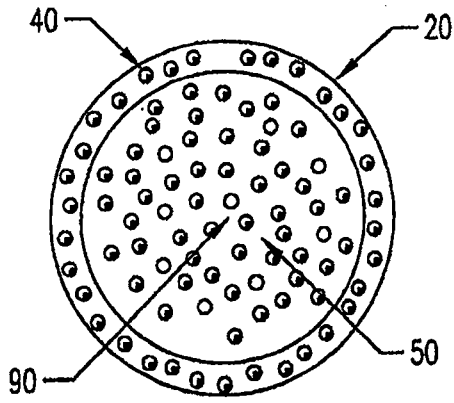


图 6C

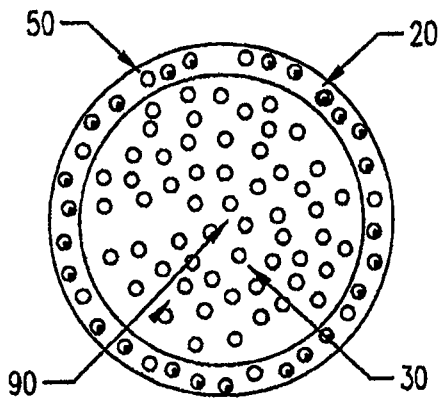
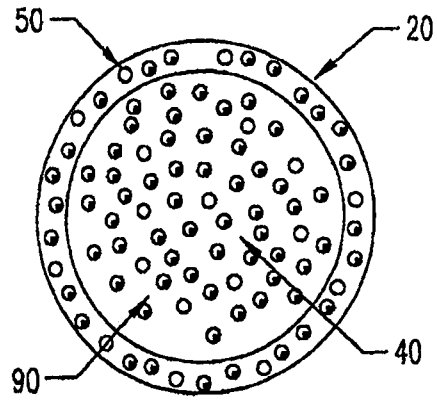


图 6B

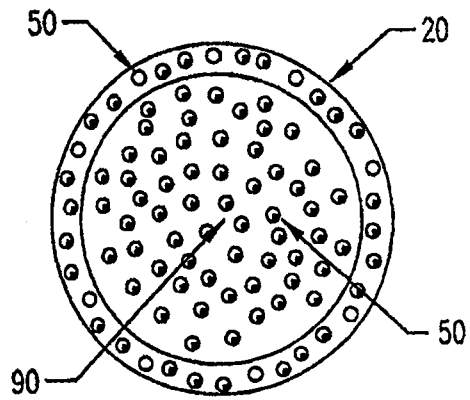


图 6D

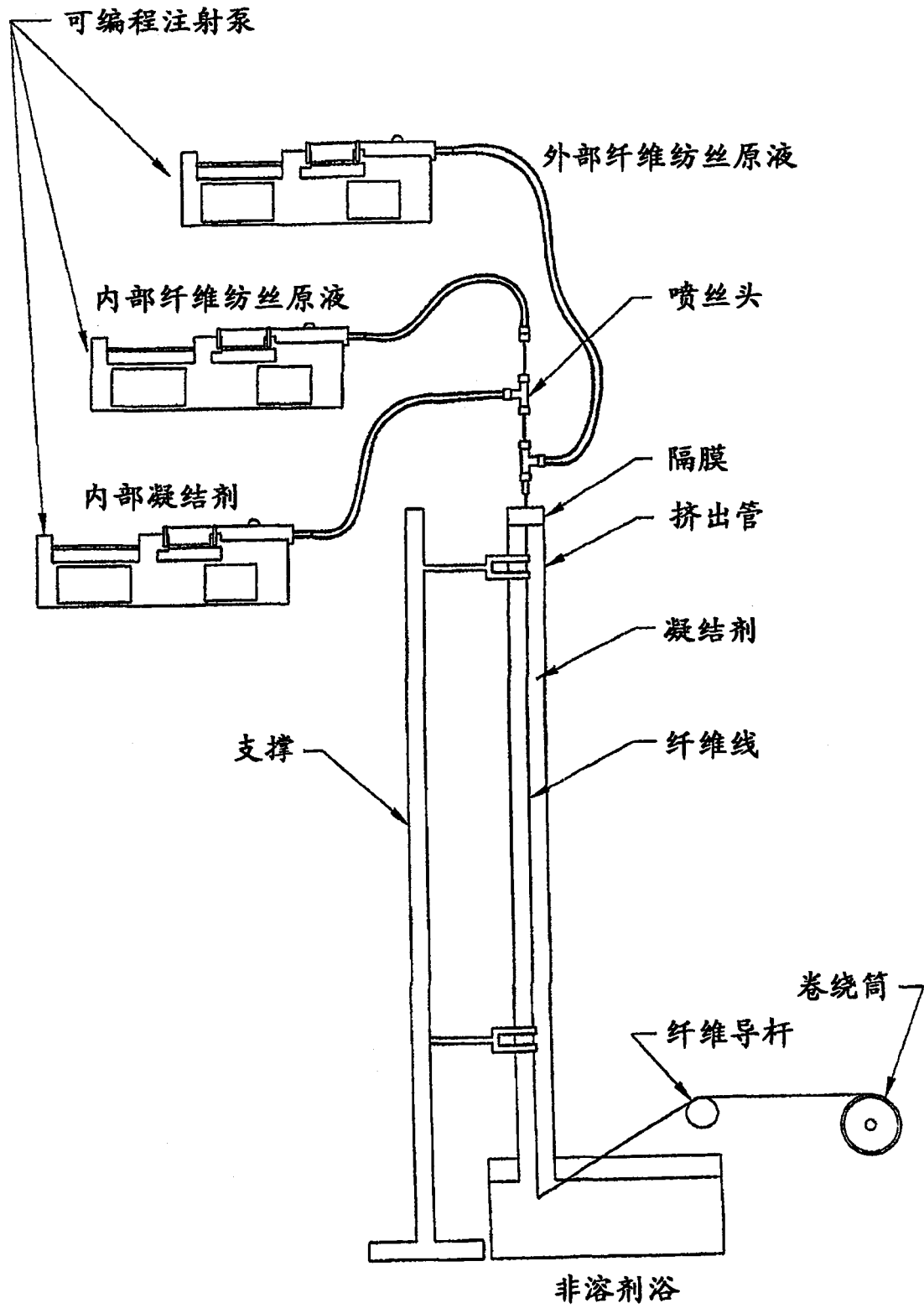


图 7

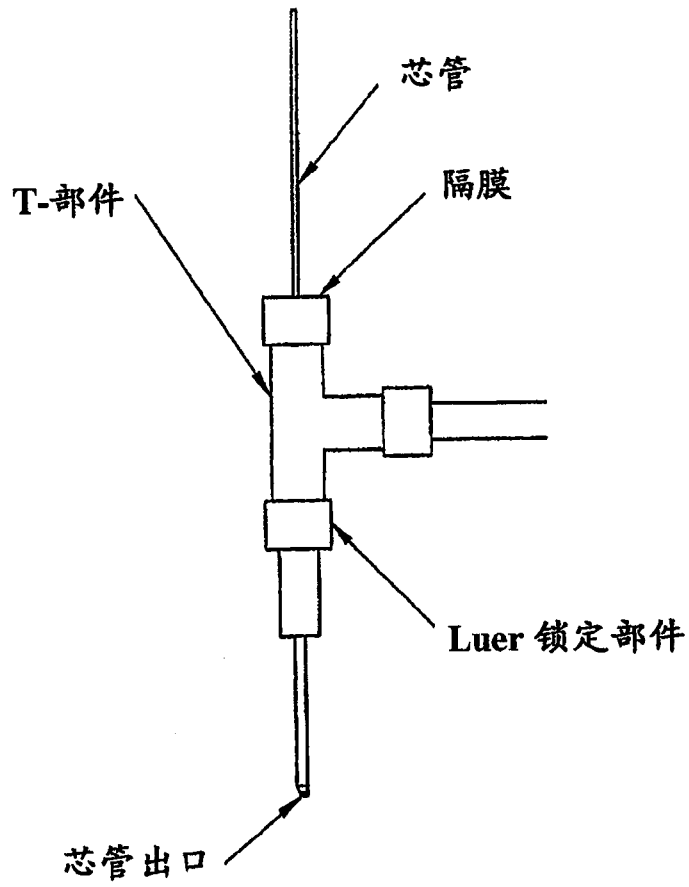


图 8

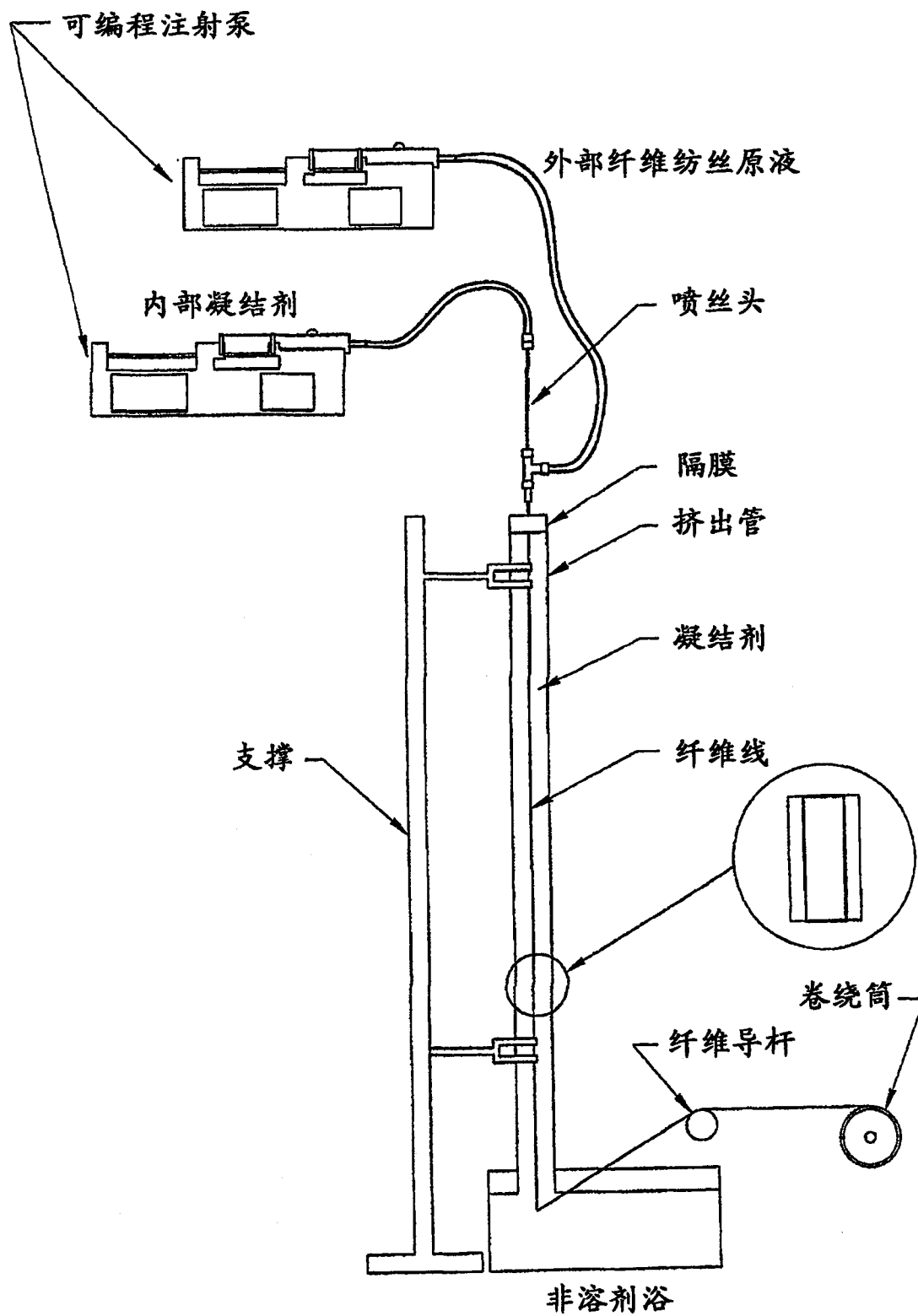


图 9

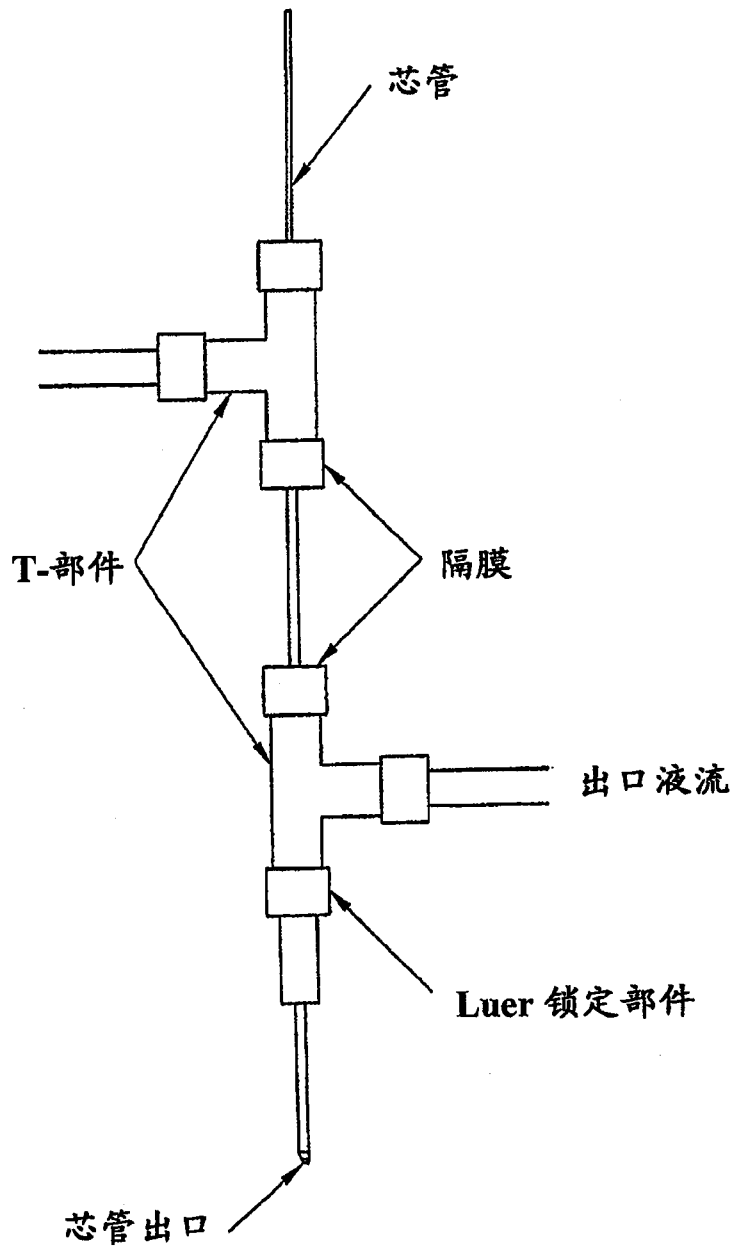


图 10

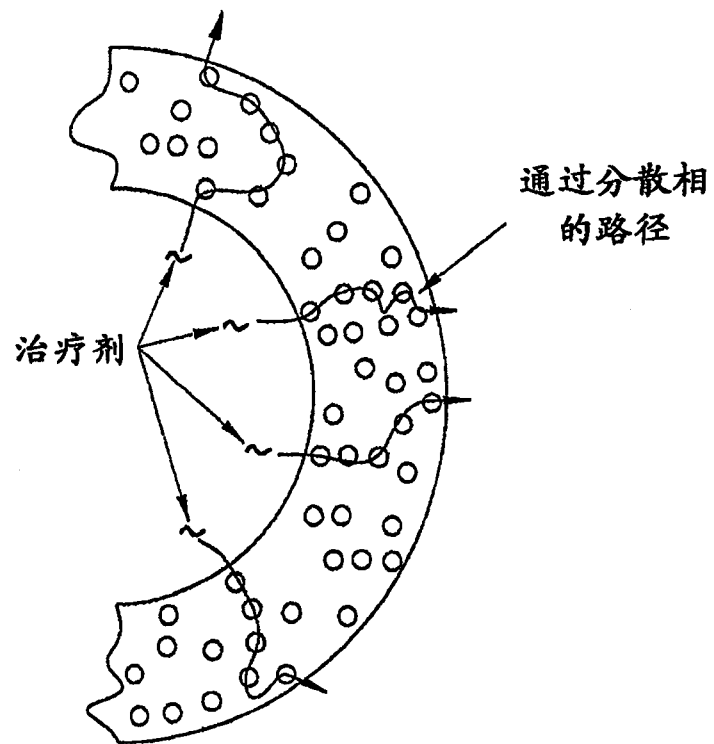


图 11