



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119451707 A

(43) 申请公布日 2025.02.14

(21) 申请号 202380050671.6

(22) 申请日 2023.04.27

(30) 优先权数据

2022-075173 2022.04.28 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.12.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/016713 2023.04.27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/210765 JA 2023.11.02

(71) 申请人 株式会社可乐丽

地址 日本冈山县仓敷市酒津1621番地

申请人 可乐丽可乐富丽世株式会社

(72) 发明人 小林悟朗 绫野贤 藤田明士

松下和宏 友居正典

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

专利代理师 马倩 蔡晓茵

(51) Int.Cl.

A61L 27/16 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

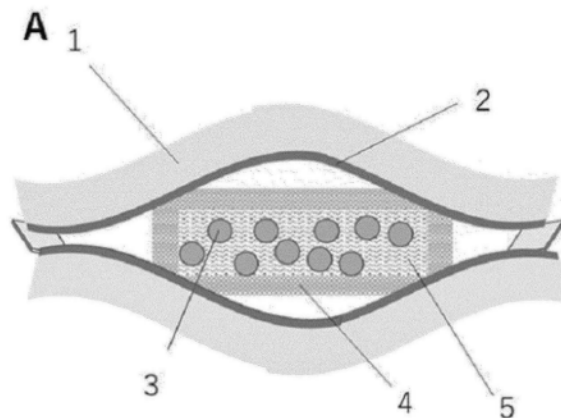
权利要求书2页 说明书19页 附图4页

(54) 发明名称

免疫隔离装置

(57) 摘要

本发明的一个目的是提供一种免疫隔离装置:其既实现扩散距离的减小以有效地改进物质如生理活性物质和营养素的渗透率,又实现耐久性的改进以经得住长期移植;并且包含能够防止细胞或细胞簇逸出的细胞捕获层。提供一种免疫隔离装置,其包含细胞捕获层(A)和覆盖所述细胞捕获层(A)的免疫隔离层(B)。所述细胞捕获层(A)包含纤维结构(a1)。



1. 一种免疫隔离装置,其包含细胞捕获层(A)和免疫隔离层(B),其覆盖所述细胞捕获层(A),所述细胞捕获层(A)包含纤维结构(a1)。
2. 根据权利要求1所述的免疫隔离装置,其中所述纤维结构(a1)具有90%以上的孔隙率。
3. 根据权利要求1或2所述的免疫隔离装置,其中所述纤维结构(a1)具有100至2000 μm 的厚度。
4. 根据权利要求1至3任一项所述的免疫隔离装置,其中所述纤维结构(a1)包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员。
5. 根据权利要求1至4任一项所述的免疫隔离装置,其中所述细胞捕获层(A)包含所述纤维结构(a1)和致密纤维结构(a2),和所述致密纤维结构(a2)布置在所述纤维结构(a1)周围并具有35 μm 以下的平均孔径。
6. 根据权利要求5所述的免疫隔离装置,其中所述致密纤维结构(a2)具有1500 μm 以下的厚度。
7. 根据权利要求5或6所述的免疫隔离装置,其中所述致密纤维结构(a2)包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员。
8. 根据权利要求1所述的免疫隔离装置,其中所述细胞捕获层(A)包含布置在所述纤维结构(a1)周围的致密纤维结构(a2)并且能够防止捕获在所述纤维结构(a1)中的细胞或细胞簇逸出,和所述致密纤维结构(a2)具有防止细胞或细胞簇逸出的功能。
9. 根据权利要求1至8任一项所述的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离层(B)包含多孔膜(b1)或纤维结构(b2),和所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员。
10. 根据权利要求9所述的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离层(B)是包含所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)以及水凝胶(b3)的免疫隔离多层(B')。
11. 根据权利要求10所述的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离多层(B')具有500 μm 以下的厚度。
12. 根据权利要求10或11所述的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离多层(B')的最外层是所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2),和最内层是所述水凝胶(b3)。
13. 根据权利要求10或11所述的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离多层(B')的最外层是所述水凝胶(b3),和最内层是所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)。
14. 根据权利要求10至13任一项所述的免疫隔离装置,其中所述水凝胶(b3)包含聚乙烯醇,和所述聚乙烯醇的平均聚合度为300至10000。
15. 一种生产免疫隔离装置的方法,所述免疫隔离装置包含含有纤维结构(a1)的细胞

捕获层(A)和覆盖所述细胞捕获层(A)的免疫隔离多层(B'),

所述方法包括步骤:

(1) 将水溶胶溶液施加到多孔膜(b1);

(2) 通过热、温度、光或化学作用将所述水溶胶溶液转化成水凝胶以形成免疫隔离多层

(B');和

(3) 通过热熔合将所述免疫隔离多层(B')模制成袋形。

16. 根据权利要求15所述的生产免疫隔离装置的方法,其中

步骤(1)中的所述水溶胶溶液包含聚乙烯醇,

所述聚乙烯醇具有300至10000的聚合度,和

所述水溶胶溶液具有3至15质量%的固体浓度。

17. 根据权利要求15或16所述的生产免疫隔离装置的方法,其中

在将树脂置于所述免疫隔离多层(B')的两个片材之间的情况下进行步骤(3)中的热熔合,

在水凝胶表面彼此面对的情况下放置所述免疫隔离多层(B')的两个片材,和

所述树脂包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员。

免疫隔离装置

技术领域

[0001] 本发明涉及一种免疫隔离装置。

背景技术

[0002] 免疫隔离装置已被开发为一种无需施用免疫抑制剂而进行细胞移植治疗的手段。特别地,例如,在担心癌变风险的源自iPS细胞的体细胞的移植中或在移植细胞的功能降低时,大胶囊化(macroencapsulation)免疫隔离装置被认为是一种有效的方法,因为可以确认移植部位并且可以更换该装置。大胶囊化免疫隔离装置所需的重要功能如下:细胞或细胞簇可以均匀分散和固定而不引发细胞或细胞簇的结合;该装置允许氧气和营养成分容易地渗透到移植细胞;该装置允许根据细胞响应由细胞容易地释放治疗效果所需的预期生理活性物质(细胞因子、激素、生长因子等);防止免疫应答细胞和免疫应答因子的渗透;移植装置具有优异的生物相容性,并且不太可能与周围组织粘连,并且不太可能诱发炎症反应,如肉芽形成。

[0003] 已经研究了许多使用多孔膜的免疫隔离装置(专利文献(PTL)1),并且已经被认为具有一个问题,即由于蛋白质吸附到多孔膜材料上和/或纤维化而导致渗透率降低、或由于与周围组织粘连而导致渗透率降低。

[0004] 当直径超过500 μm 时,认为会诱导细胞簇等的内部坏死。为了容易维持包埋细胞向受者的植入和释放生理活性物质,必须适当地控制这样的免疫隔离装置的总厚度,并且希望构成该装置的免疫隔离层尽可能薄。另一方面,为了移植到体内,必须改进膜的强度和耐久性以防止装置破裂或扭曲。但是,同时实现膜厚度的减小和耐久性的改进并不容易。

[0005] 引文列表

[0006] 专利文献

[0007] PTL 1:JP2012-508584A

发明内容

[0008] 技术问题

[0009] 本发明的一个目的是提供一种免疫隔离装置,其在长期移植中高度耐久并且适用于改进移植所需的生理活性物质的扩散效率,同时保持免疫隔离效果。

[0010] 本发明的另一个目的是提供一种发明,其同时实现装置中的扩散距离的减小和耐久性的改进,同时具有优异的生物相容性并保持免疫隔离性质而不干扰待移植材料,如细胞和细胞簇的植入。

[0011] 此外,本发明的另一个目的是提供一种免疫隔离装置,其包含能够防止细胞或细胞簇逸出的细胞捕获层。

[0012] 对问题的解决方案

[0013] 本发明提供以下免疫隔离装置。

[0014] [1]

- [0015] 一种免疫隔离装置,其包含
- [0016] 细胞捕获层(A)和
- [0017] 免疫隔离层(B),其覆盖所述细胞捕获层(A),
- [0018] 所述细胞捕获层(A)包含纤维结构(a1)。
- [0019] [2]
- [0020] 根据[1]的免疫隔离装置,其中所述纤维结构(a1)具有90%以上的孔隙率。
- [0021] [3]
- [0022] 根据[1]或[2]的免疫隔离装置,其中所述纤维结构(a1)具有100至2000 μm 的厚度。
- [0023] [4]
- [0024] 根据[1]至[3]任一项的免疫隔离装置,其中所述纤维结构(a1)包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸钠纤维素的至少一员。
- [0025] [5]
- [0026] 根据[1]至[4]任一项的免疫隔离装置,其中
- [0027] 所述细胞捕获层(A)包含所述纤维结构(a1)和致密纤维结构(a2),和
- [0028] 所述致密纤维结构(a2)布置在所述纤维结构(a1)周围并具有35 μm 以下的平均孔径。
- [0029] [6]
- [0030] 根据[5]的免疫隔离装置,其中所述致密纤维结构(a2)具有1500 μm 以下的厚度。
- [0031] [7]
- [0032] 根据[5]或[6]的免疫隔离装置,其中所述致密纤维结构(a2)包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸钠纤维素的至少一员。
- [0033] [8]
- [0034] 根据[1]的免疫隔离装置,其中
- [0035] 所述细胞捕获层(A)包含布置在所述纤维结构(a1)周围的致密纤维结构(a2)并且能够防止捕获在所述纤维结构(a1)中的细胞或细胞簇逸出,和
- [0036] 所述致密纤维结构(a2)具有防止细胞或细胞簇逸出的功能。
- [0037] [9]
- [0038] 根据[1]至[8]任一项的免疫隔离装置,其中
- [0039] 所述免疫隔离层(B)包含多孔膜(b1)或纤维结构(b2),和
- [0040] 所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸钠纤维素的至少一员。
- [0041] [10]
- [0042] 根据[9]的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离层(B)是包含所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)以及水凝胶(b3)的免疫隔离多层(B')。
- [0043] [11]
- [0044] 根据[10]的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离多层(B')具有500 μm 以下的厚度。
- [0045] [12]
- [0046] 根据[10]或[11]的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离多层(B')的最外层由所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)组成,最内层由所述水凝胶(b3)组成。

[0047] [13]

[0048] 根据[10]或[11]的免疫隔离装置,其中所述免疫隔离多层(B')的最外层由所述水凝胶(b3)组成,最内层由所述多孔膜(b1)或所述纤维结构(b2)组成。

[0049] [14]

[0050] 根据[10]至[13]任一项的免疫隔离装置,其中所述水凝胶(b3)包含聚乙烯醇,并且所述聚乙烯醇的平均聚合度为300至10000。

[0051] [15]

[0052] 一种生产免疫隔离装置的方法,所述免疫隔离装置包含细胞捕获层(A)和免疫隔离多层(B'),

[0053] 所述细胞捕获层(A)包含纤维结构(a1),和

[0054] 所述免疫隔离多层覆盖所述细胞捕获层(A),

[0055] 所述方法包括步骤:

[0056] (1) 将水溶胶溶液施加到多孔膜(b1);

[0057] (2) 通过施加热、温度、光或化学作用将所述水溶胶溶液转化成水凝胶以形成免疫隔离多层(B');和

[0058] (3) 通过热熔合将所述免疫隔离多层(B')模制成袋形。

[0059] [16]

[0060] 根据[15]的生产免疫隔离装置的方法,其中步骤(1)中的所述水溶胶溶液包含聚乙烯醇,

[0061] 所述聚乙烯醇具有300至10000的聚合度,和

[0062] 所述水溶胶溶液具有3至15质量%的固体浓度。

[0063] [17]

[0064] 根据[15]或[16]的生产免疫隔离装置的方法,其中

[0065] 在将树脂置于所述免疫隔离多层(B')的两个片材之间的情况下进行步骤(3)中的热熔合,和在它们的水凝胶表面彼此面对的情况下放置所述免疫隔离多层(B')的两个片材,和

[0066] 所述树脂包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员。

[0067] 发明效果

[0068] 本发明可以提供一种免疫隔离装置,其既实现扩散距离的减小以有效地改进物质如生理活性物质和营养素的渗透率,又实现耐久性的改进以经得住长期移植,所述免疫隔离装置具有优异的生物相容性并且进一步包含能够防止细胞或细胞簇逸出的细胞捕获层。

附图说明

[0069] 图1是袋状免疫隔离装置的透视图。

[0070] 图2是管状免疫隔离装置的横截面视图。

[0071] 图3A是使用纤维结构(非织造物)作为细胞捕获层的免疫隔离装置的概念图。

[0072] 图3B是使用纤维结构(非织造物)作为细胞捕获层的免疫隔离装置的概念图。

[0073] 图4是细胞捕获层的概念图。

[0074] 图5是致密纤维结构(a2)的透射光显微术图像。

- [0075] 图6是具有由多孔膜和水凝胶组成的双层结构的免疫隔离层的横截面视图。
- [0076] 图7是由非织造物和水凝胶形成的免疫隔离多层的横截面视图。
- [0077] 图8是在生产实施例1中获得的免疫隔离层(B)的横截面的SEM图像。
- [0078] 图9是材料渗透率试验的概要。

具体实施方式

[0079] 单数形式(“一”和“该”)在本说明书中的使用应该被解释为包括单数和复数,除非上下文清楚地指出仅意指单数。

[0080] 在本说明书中,术语“包含”是涵盖“基本由…组成”和“仅由…组成”的概念。

[0081] 本发明的免疫隔离装置包含能够捕获作为待移植材料的细胞的细胞捕获层(A),和免疫隔离层(B),其中细胞捕获层(A)被免疫隔离层(B)覆盖,由此抑制免疫细胞和细胞因子侵入细胞捕获层(A)。细胞捕获层(A)包含纤维结构(a1)。免疫隔离层(B)优选由多孔膜(b1)或纤维结构(b2)和水凝胶(b3)组成。

[0082] 细胞捕获层(A)

[0083] 纤维结构(a1)

[0084] 细胞捕获层(A)中所含的纤维结构(a1)充当用于捕获是待移植材料的细胞或细胞簇的支架。细胞捕获层(A)的免疫隔离层(a1)的纤维结构是例如非织造物、机织织物或针织物,优选是非织造物。

[0085] 纤维结构(a1)的材料优选含有选自乙烯-乙烯醇共聚物和乙酸纤维素的至少一员,更优选含有乙烯-乙烯醇共聚物。这样的材料可以单独使用以形成纤维结构(a1),或其中两种或更多种可以组合使用以形成纤维结构(a1)。纤维结构(a1)可以是细胞支架材料,如胶原纤维。

[0086] 乙烯-乙烯醇共聚物通常可以通过将乙烯-乙烯酯共聚物皂化获得。乙烯-乙烯酯共聚物的生产和皂化可以通过已知方法进行。乙烯酯的代表性实例是乙酸乙烯酯,但也可以使用其它脂肪酸乙烯酯,如甲酸乙烯酯、丙酸乙烯酯、戊酸乙烯酯、癸酸乙烯酯、月桂酸乙烯酯、硬脂酸乙烯酯、新戊酸乙烯酯和叔碳酸乙烯酯。

[0087] 乙烯-乙烯醇共聚物的乙烯单元含量优选为20摩尔%以上,更优选25摩尔%以上。乙烯-乙烯醇共聚物中的乙烯单元含量优选为60摩尔%以下,更优选55摩尔%以下,再更优选50摩尔%以下。

[0088] 乙烯-乙烯醇共聚物的皂化度优选为80摩尔%以上,更优选90摩尔%以上,再更优选95摩尔%以上。乙烯-乙烯醇共聚物的皂化度可为100摩尔%以下,或者可为99.99摩尔%以下。乙烯-乙烯醇共聚物的皂化度可以通过进行¹H-NMR测量和测量乙烯酯结构中含有的氢原子的峰面积和乙烯醇结构中含有的氢原子的峰面积来计算。

[0089] 此外,乙烯-乙烯醇共聚物可含有衍生自乙烯、乙烯酯及其皂化产物以外的其它单体的单元,只要不损害本发明的目的。当乙烯-乙烯醇共聚物含有这样的其它单体单元时,基于乙烯-乙烯醇共聚物的总单体单元计,这样的其它单体单元的含量优选为30摩尔%以下,更优选20摩尔%以下,再更优选10摩尔%以下,特别优选为5摩尔%以下。当乙烯-乙烯醇共聚物含有衍生自这样的其它单体的单元时,含量的下限可为0.05摩尔%或者可为0.10摩尔%。这样的其它单体的实例包括烯烃,如丙烯、丁烯、戊烯和己烯;具有酯基团的烯烃,

如3-酰氧基-1-丙烯、3-酰氧基-1-丁烯、4-酰氧基-1-丁烯、3,4-二酰氧基-1-丁烯、3-酰氧基-4-甲基-1-丁烯、4-酰氧基-2-甲基-1-丁烯、4-酰氧基-3-甲基-1-丁烯、3,4-二酰氧基-2-甲基-1-丁烯、4-酰氧基-1-戊烯、5-酰氧基-1-戊烯、4,5-二酰氧基-1-戊烯、4-酰氧基-1-己烯、5-酰氧基-1-己烯、6-酰氧基-1-己烯、5,6-二酰氧基-1-己烯和1,3-二乙酰氧基-2-亚甲基丙烯(1,3-diacetoxy-2-methyleneprylene)或其皂化产物;不饱和酸,如丙烯酸、甲基丙烯酸、巴豆酸和衣康酸,或其酸酐、盐或单烷基酯或二烷基酯;腈,如丙烯腈和甲基丙烯腈;酰胺,如丙烯酰胺和甲基丙烯酰胺;烯基磺酸,如乙烯基磺酸、烯丙基磺酸和甲基烯丙基磺酸,或其盐;烯基硅烷化合物,如乙烯基三甲氧基硅烷、乙烯基三乙氧基硅烷、乙烯基三(β-甲氧基-乙氧基)硅烷和γ-甲基丙烯酰氧基丙基甲氧基硅烷;和烷基乙烯基醚、乙烯基酮、N-乙烯基吡咯烷酮、氯乙烯、偏二氯乙烯等。

[0090] 乙烯-乙烯醇共聚物可以通过氨基化、缩醛化、氰乙基化、氧化烯化等进行后改性。

[0091] 乙烯-乙烯醇共聚物可以单独使用或两种或更多种组合使用

[0092] 纤维结构(a1)可以由乙烯-乙烯醇共聚物与聚酯等组合形成。纤维结构(a1)也可以由具有皮芯结构的复合纤维组成,其中该纤维的芯是聚酯,皮是乙烯-乙烯醇共聚物。复合纤维的横截面结构可为平行型(并列型或多层粘合型)或偏芯皮芯型。在这样的情况下,优选的是,乙烯-乙烯醇共聚物覆盖纤维表面的50%以上。此外,纤维结构(a1)优选含有50质量%以上的该复合纤维,并且可以进一步含有由其它材料制成的纤维。其它材料的实例包括聚酯。

[0093] 纤维结构(a1)中所用的纤维优选具有1.0至10dtex的平均细度。在上述范围内的细度是优选的,因为容易获得用于捕获细胞或细胞簇的空间。

[0094] 对纤维结构(a1)中所用的纤维的平均纤维长度没有特别限制,并且该纤维可以是长纤维或短纤维。当纤维结构(a1)通过CAD法生产时,从可纺性的角度看,平均纤维长度优选为32至62mm。

[0095] 纤维结构(a1)可以由一种纤维结构组成,或由两种或更多种纤维结构的层压件组成。

[0096] 纤维结构(a1)优选具有90%以上,更优选为93%以上,再更优选95%以上的孔隙率。在上述范围内的纤维结构(a1)中的纤维之间的孔隙率是优选的,因为其使得细胞或细胞簇容易捕获在纤维结构(a1)中。对纤维结构(a1)的孔隙率的上限没有特别限制,但是优选为例如99.9%以下,更优选99.5%以下,再更优选99.0%以下。例如,纤维结构(a1)的孔隙率优选为90.0至99.9%,更优选93.0至99.5%,再更优选95.0至99.0%。

[0097] 在本说明书中,孔隙率可以由纤维结构的基重C(g/m²)、厚度D(cm)和平均比重E(g/cm³)根据以下公式计算。

[0098] 孔隙率(%) = 100 - ((C/D/E) × 10⁻⁴ × 100)

[0099] 纤维结构(a1)的厚度优选为100至2000μm,更优选300至1500μm,再更优选300至1000μm。在上述范围内的厚度是优选的,因为可以保留足够数量的细胞并且不太可能阻碍向细胞供给氧气等。

[0100] 纤维结构(a1)的基重优选为20至300g/m²,更优选30至200g/m²,再更优选40至100g/m²。

[0101] 对纤维结构(a1)的面积没有特别限制,但是优选为1.5至150cm²。

[0102] 对生产纤维结构(a1)的方法没有特别限制。但是,优选通过热粘合形成纤维之间的粘合点,并且优选使用蒸汽喷射法提供可以捕获细胞或细胞簇的空间并且获得抗压缩的硬度。

[0103] 致密纤维结构(a2)

[0104] 细胞捕获层(A)优选除了纤维结构(a1)外还包含致密纤维结构(a2),其具有防止捕获在纤维结构(a1)中的细胞或细胞簇逸出的功能。致密纤维结构(a2)可以以致密纤维结构(a2)/纤维结构(a1)的顺序或纤维结构(a1)/致密纤维结构(a2)的顺序层压在纤维结构(a1)的一侧,或可以层压在纤维结构(a1)的两侧以形成致密纤维结构(a2)/纤维结构(a1)/致密纤维结构(a2)的多层。致密纤维结构(a2)可以布置在纤维结构(a1)周围以使纤维结构(a1)的一部分或全部被致密纤维结构(a2)覆盖。为了防止捕获在纤维结构(a1)中的细胞或细胞簇逸出,形成致密纤维结构(a2)/纤维结构(a1)/致密纤维结构(a2)的层压件或将致密纤维结构(a2)布置在纤维结构(a1)周围以覆盖整个纤维结构(a1)是优选的。更优选的是布置致密纤维结构(a2)以覆盖纤维结构(a1)的整个周边。当进行致密纤维结构(a2)/纤维结构(a1)/致密纤维结构(a2)的层压时,优选将致密纤维结构(a2)层压在纤维结构(a1)上以覆盖纤维结构(a1)的整个周边。

[0105] 防止细胞或细胞簇逸出的功能意味着细胞或细胞簇被捕获而不从细胞捕获层逸出。例如,其意味着在下文的实施例中评估的细胞活力为80%以上。

[0106] 致密纤维结构(a2)可以是非织造物、机织织物或针织物,其中非织造物是优选的,因为可以容易地通过生产条件控制孔径。致密纤维结构(a2)的材料优选含有选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员,更优选含有乙烯-乙醇共聚物。可优选使用的乙烯-乙醇共聚物的实例是纤维结构(a1)的解释中描述的那些。致密纤维结构(a2)也可以由具有皮芯结构的复合纤维组成,其中该纤维的芯是聚酯,皮是乙烯-乙醇共聚物。

[0107] 致密纤维结构(a2)优选具有 $5\mu\text{m}$ 以上且 $35\mu\text{m}$ 以下,更优选 $5\mu\text{m}$ 以上且 $25\mu\text{m}$ 以下的平均孔径。当致密纤维结构(a2)的平均孔径为 $5\mu\text{m}$ 以上时,不太可能阻碍向捕获在纤维结构(a1)中的细胞或细胞簇供给氧气等。 $35\mu\text{m}$ 以下的致密纤维结构(a2)的平均孔径是优选的,因为捕获在纤维结构(a1)中的细胞或细胞簇不太可能从纤维结构(a1)中逸出。

[0108] 在本说明书中,可以通过以下程序测量平均孔径。使用立体显微镜在透射光照射下以10倍的放大倍率拍摄纤维结构(a2)的表面的照片。使用图像分析软件,从显微照片中提取50个或更多个透光的亮点,并测量每个亮点的面积。作为正圆的面积计算的直径被取为亮点的孔径。通过计算50个或更多个亮点的平均孔径来测定平均孔径。

[0109] 致密纤维结构(a2)优选具有 $1500\mu\text{m}$ 以下,更优选 $1000\mu\text{m}$ 以下,再更优选 $500\mu\text{m}$ 以下,特别优选 $300\mu\text{m}$ 以下的厚度。致密纤维结构(a2)的厚度优选为 $50\mu\text{m}$ 以上,更优选 $100\mu\text{m}$ 以上。 50 至 $1500\mu\text{m}$ 的厚度是优选的,因为不太可能阻碍向细胞供给氧气等。

[0110] 致密纤维结构(a2)优选具有 3 至 $300\text{g}/\text{m}^2$,更优选 10 至 $100\text{g}/\text{m}^2$ 的基重。在上述范围内的基重是优选的,因为可以实现优选的平均孔径和优选的厚度。

[0111] 致密纤维结构(a2)优选具有小于90%,更优选87%以下,再更优选85%以下,特别优选80%以下的孔隙率。致密纤维结构(a2)的孔隙率优选为30%以上,更优选50%以上,再更优选60%以上,特别优选70%以上。在上述范围内的致密纤维结构(a2)中的纤维之间的孔隙率是优选的,因为其倾向于增强防止细胞或细胞簇逸出的功能。例如,致密纤维结构

(a2)的孔隙率优选为30.0至89.9%，更优选50.0至87.0%，再更优选60.0至85.0%，特别优选70.0至80.0%。

[0112] 对致密纤维结构(a2)的面积没有特别限制，但是优选为1.0至400cm²，更优选1.0至200cm²，再更优选1.5至150cm²。致密纤维结构(a2)的面积优选大于纤维结构(a1)的面积，以使致密纤维结构(a2)可以覆盖纤维结构(a1)。

[0113] 对生产致密纤维结构(a2)的方法没有特别限制，但是优选使用熔喷法以实现合适的平均孔径。可以对致密纤维结构(a2)的表面施以压延。

[0114] 对保留在细胞捕获层(A)中的细胞数没有特别限制，但是优选为1×10⁵至1×10⁷个细胞/cm³，更优选1×10⁶至1×10⁷个细胞/cm³。

[0115] 免疫隔离层(B)

[0116] 本发明的免疫隔离装置包含覆盖细胞捕获层(A)的免疫隔离层(B)。在典型实施方案中，从获得足够的免疫隔离效果的角度看，优选的是，本发明的装置中的免疫隔离层(B)覆盖细胞捕获层(A)的整个表面。由于相同的原因，该免疫隔离层优选不具有贯穿该膜的任何孔隙，如针孔。

[0117] 免疫隔离层(B)优选是包含多孔膜(b1)或纤维结构(b2)和水凝胶(b3)的免疫隔离多层(B')。

[0118] 多孔膜(b1)

[0119] 免疫隔离层(B)的多孔膜(b1)是具有多个孔隙的膜。可以通过膜横截面的扫描电子显微镜(SEM)或透射电子显微镜(TEM)图像确认膜是多孔膜。多孔膜优选是半透膜。

[0120] 对多孔膜(b1)的厚度没有特别限制，但优选为300μm以下，更优选15μm至290μm，再更优选30μm至150μm。在上述范围内的厚度是优选的，因为不太可能阻碍向细胞供给氧气和其它物质，同时保持免疫隔离层(B)的强度。

[0121] 对多孔膜(b1)的平均孔径没有特别限制，但是优选为0.01μm至10μm，更优选0.01μm至5μm，再更优选0.01至3μm。可以由SEM图像或TEM图像测定平均孔径。例如，使用SEM观察多孔膜的表面，并且从表面上形成的孔隙中随机选择50个孔隙。测量各孔隙的长径，并且计算50个孔隙的长径的平均值以获得平均孔径。

[0122] 对多孔膜(b1)的最大孔径没有特别限制，但是优选为0.01μm至10μm，更优选0.01μm至5μm，再更优选0.01μm至4μm。当最大孔径在上述范围内时，可以抑制免疫应答细胞和免疫系统体液因子侵入该装置，同时允许营养素如氨基酸、维生素、无机盐、葡萄糖等碳源和生理活性物质如氧气、二氧化碳、细胞因子、激素和胰岛素充分渗透。最大孔径可以由SEM图像或TEM图像测定。例如，使用SEM观察多孔膜的表面，并且从表面上形成的孔隙中随机选择50个孔隙。测量各孔隙的长径，并且将50个长径中的最大值定义为最大孔径。

[0123] 由于必须具有抑制来自受者的细胞浸润的功能以及防止作为待移植材料的细胞的泄漏，多孔膜(b1)的平均孔径或最大孔径理想地小于细胞尺寸并且为5μm以下。

[0124] 多孔膜(b1)包含聚合物。优选地，多孔膜(b1)基本由聚合物组成。

[0125] 该聚合物的实例包括热塑性树脂或热固性树脂。该聚合物的具体实例包括乙烯-乙醇共聚物、聚砜、乙酸纤维素类如乙酸纤维素、硝化纤维素、磺化聚砜、聚醚砜、聚丙烯腈、苯乙烯-丙烯腈共聚物、苯乙烯-丁二烯共聚物、聚乙烯醇、聚碳酸酯、有机硅氧烷-聚碳酸酯共聚物、聚酯碳酸酯、有机聚硅氧烷、聚苯醚、聚酰胺、聚酰亚胺、聚酰胺酰亚胺、聚苯并

咪唑和聚四氟乙烯 (PTFE)。考虑到溶解度、光学性质、电性质、强度、弹性等,该聚合物可以是均聚物或可以是共聚物、聚合物共混物、聚合物合金等。构成多孔膜的聚合物可以含有亲水聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素或聚乙二醇。组合亲水聚合物和疏水聚合物可以改进生物相容性。

[0126] 用于形成多孔膜 (b1) 的聚合物优选是不太可能导致粘连到移植部位周围的受者组织或引发炎症等的高度生物相容的材料。多孔膜 (b1) 优选含有选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸钠纤维素的至少一员,更优选含有乙烯-乙醇共聚物。可优选使用的乙烯-乙醇共聚物的实例是在纤维结构 (a1) 的解释中描述的那些。

[0127] 多孔膜 (b1) 可以由一种类型的多孔膜组成,或者可以由两种或更多种类型的多孔膜的层压件形成。当多孔膜 (b1) 包含两个或更多个多孔膜时,这些多孔膜可以直接层压,或者可以将水凝胶或纤维结构夹在两个多孔膜之间。

[0128] 在一个优选实施方案中,多孔膜是由一种组合物形成的单层。在一个优选实施方案中,多孔膜不具有包含多个层的层压结构。

[0129] 纤维结构 (b2)

[0130] 免疫隔离层 (B) 的纤维结构 (b2) 是例如非织造物、机织织物或针织物。纤维结构 (b2) 优选是非织造物。通过热、机械或化学作用将纤维粘合或缠结在一起以形成该纤维结构。可以通过调节纤维直径和/或纤维量来调节基重 (单位面积重量),以致除了强度之外,还可以控制渗透率、过滤等。纤维结构 (b2) 优选具有 10 至 100g/m² 的基重。考虑到生理活性物质从待移植材料的扩散效率,纤维结构 (b2) 的厚度优选为 300μm 以下,更优选为 200μm 以下并且尽可能薄。对纤维结构 (b2) 的厚度的下限没有特别限制,但是例如优选为 50μm 以上,更优选 100μm 以上。

[0131] 纤维结构 (b2) 的纤维材料的实例包括明胶、胶原、甲壳质、壳聚糖、纤连蛋白、葡聚糖、纤维素、聚乙烯 (PE)、聚丙烯 (PP)、聚氨酯、聚酰胺、聚酯、聚乙烯醇 (PVA)、乙烯-乙醇共聚物、聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸-聚乙醇酸共聚物、用单体改性的 PVA (如甲基丙烯酸改性 PVA 和丙烯酸改性 PVA)、聚己内酯、聚癸二酸甘油酯、聚羟基链烷酸、聚丁二酸丁二醇酯、聚碳酸亚甲酯、二醋酸纤维素、三醋酸纤维素、甲基纤维素、丙基纤维素、苄基纤维素、乙酸钠纤维素如羧甲基纤维素、丝心蛋白和丝。与多孔膜 (b1) 一样,该纤维结构的纤维材料优选是生物相容的。纤维结构 (b2) 优选含有选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸钠纤维素的至少一员,更优选含有乙烯-乙醇共聚物。可优选使用的乙烯-乙醇共聚物的实例包括在纤维结构 (a1) 的解释中描述的那些。优选通过热、机械或化学处理使该纤维结构的表面平滑化。

[0132] 水凝胶 (b3)

[0133] 用于生产免疫隔离层 (B) 的水凝胶 (b3) 的水凝胶的实例包括在金属离子存在下胶凝以形成水凝胶的溶胶;响应 pH 而胶凝以形成水凝胶的溶胶;和响应光而胶凝以形成水凝胶的溶胶。金属离子和 pH 是化学作用的实例。为了使这些水凝胶胶凝,可以根据所用凝胶的特性进行操作,如使金属离子与水凝胶接触、调节温度至胶凝条件,调节 pH 至胶凝条件、在胶凝条件下施加光照或在胶凝条件下提供磁场。

[0134] 通过在金属离子存在下的胶凝可获得的水凝胶的实例包括通过在二价或三价金属离子,优选碱土金属离子,如钙离子或镁离子存在下的胶凝可获得的藻酸盐凝胶;通过在钙离子和/或钾离子存在下的胶凝可获得的角叉菜胶凝胶;和通过在钠离子存在下的胶凝

可获得的丙烯酸基合成凝胶。

[0135] pH响应型水凝胶的实例包括藻酸盐凝胶、壳聚糖凝胶、羧甲基纤维素凝胶和丙烯酸基合成凝胶等。

[0136] 光响应型水凝胶的实例包括其中偶氮苯和环糊精结合在骨架中的合成凝胶、由具有富马酸酰胺作为间隔基的超分子组成的凝胶、通过经硝基苄基交联或键合可获得的凝胶以及由改性聚乙烯醇组成的凝胶。

[0137] 改性聚乙烯醇可以是例如(甲基)丙烯酸基改性聚乙烯醇。(甲基)丙烯酸基可以通过使聚乙烯醇的侧链上的羟基与含有烯属不饱和基团的化合物在碱存在下发生酯化反应或酯交换反应而引入。含有烯属不饱和基团的化合物的实例包括(甲基)丙烯酸或其衍生物,如(甲基)丙烯酸、(甲基)丙烯酸酐、(甲基)丙烯酸卤和(甲基)丙烯酸酯。

[0138] 水凝胶(b3)的优选实例包括聚乙烯醇、聚乙二醇、壳聚糖、藻酸盐等。水凝胶(b3)优选含有选自聚乙烯醇和聚乙二醇的至少一员,更优选含有聚乙烯醇。聚乙烯醇系聚合物可以例如通过聚乙烯酯的皂化和将聚乙烯酯中的酯基团转化为羟基生产,所述聚乙烯酯可通过乙烯酯系单体的聚合获得。

[0139] 乙烯酯系单体的实例包括脂族乙烯酯,如甲酸乙烯酯、乙酸乙烯酯、丙酸乙烯酯、正丁酸乙烯酯、异丁酸乙烯酯、新戊酸乙烯酯、叔碳酸乙烯酯、己酸乙烯酯、辛酸乙烯酯、癸酸乙烯酯、月桂酸乙烯酯、肉豆蔻酸乙烯酯、棕榈酸乙烯酯、硬脂酸乙烯酯和油酸乙烯酯;和芳族乙烯酯,如苯甲酸乙烯酯。这些乙烯酯系单体可以单独使用或两种以上组合使用。

[0140] 在乙烯酯系单体中,从生产成本的角度看,脂族乙烯酯是优选的,乙酸乙烯酯更优选。换言之,聚乙烯酯优选是可通过乙酸乙烯酯的聚合获得的聚乙酸乙烯酯。

[0141] 聚乙烯酯可任选含有衍生自乙烯酯单体以外的单体的结构单元,只要不损害本发明效果。这样的其它单体的实例包括 α -烯炔,如乙烯、丙烯、正丁烯和异丁烯;丙烯酸或其盐;丙烯酸烷基酯化合物,如丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、丙烯酸正丙酯、丙烯酸异丙酯、丙烯酸正丁酯、丙烯酸异丁酯、丙烯酸叔丁酯、丙烯酸2-乙基己酯、丙烯酸十二烷基酯和丙烯酸十八烷基酯;甲基丙烯酸或其盐;甲基丙烯酸烷基酯化合物,如甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸正丙酯、甲基丙烯酸异丙酯、甲基丙烯酸正丁酯、甲基丙烯酸异丁酯、甲基丙烯酸叔丁酯、甲基丙烯酸2-乙基己酯、甲基丙烯酸十二烷基酯和甲基丙烯酸十八烷基酯;丙烯酰胺衍生物,如丙烯酰胺、N-甲基丙烯酰胺、N-乙基丙烯酰胺、N,N-二甲基丙烯酰胺、双丙酮丙烯酰胺、丙烯酰氨基丙磺酸或其盐、丙烯酰氨基丙基二甲胺或其盐或季盐、和N-羟甲基丙烯酰胺或其衍生物;甲基丙烯酰胺衍生物,如甲基丙烯酰胺、N-甲基甲基丙烯酰胺、N-乙基甲基丙烯酰胺、甲基丙烯酰氨基丙磺酸或其盐、甲基丙烯酰氨基丙基二甲胺或其盐或季盐、N-羟甲基甲基丙烯酰胺或其衍生物;N-乙烯基酰胺衍生物,如N-乙烯基甲酰胺和N-乙烯基乙酰胺;乙烯基醚化合物,如甲基乙烯基醚、乙基乙烯基醚、正丙基乙烯基醚、异丙基乙烯基醚、正丁基乙烯基醚、异丁基乙烯基醚、叔丁基乙烯基醚、十二烷基乙烯基醚和硬脂基乙烯基醚;腈化合物,如丙烯腈和甲基丙烯腈;乙烯基卤,如氯乙烯和氟乙烯;亚乙烯基卤,如偏二氯乙烯和偏二氟乙烯;烯丙基化合物,如乙酸烯丙酯和烯丙基氯;马来酸或其盐、酯或酸酐;乙烯基甲硅烷基化合物,如乙烯基三甲氧基硅烷;和乙酸异丙烯酯。这些可以单独使用或两种以上组合使用。

[0142] 聚乙烯醇的平均聚合度优选为300至10000,更优选500至5000,再更优选1000至

5000,再更优选1500至5000,特别优选2000至5000。考虑到物质的渗透率和在多层形成中的易操作性,在上述范围内的厚度是优选的。

[0143] 聚乙烯醇的平均聚合度在本说明书中是指根据JIS K 6726:1994测得的平均聚合度。具体而言,可以由原材料PVA已经皂化和纯化后在30°C水中测得的特性粘度测定平均聚合度。

[0144] 从改进聚乙烯醇的水溶解度的角度看,聚乙烯醇的皂化度优选为50摩尔%以上,更优选60摩尔%以上,再更优选65摩尔%以上。

[0145] 从抑制水溶胶溶液具有高粘度和改进水溶胶溶液的储存稳定性的角度看,聚乙烯醇的皂化度优选为99.9摩尔%以下,更优选99.5摩尔%以下,再更优选99.0摩尔%以下。

[0146] 在本说明书中,聚乙烯醇的皂化度是指乙烯醇单元的摩尔数相对于原材料PVA中可通过皂化转化为乙烯醇单元的结构单元(例如乙酸乙烯酯单元)和乙烯醇单元的总摩尔数的比率(摩尔%)。可以根据JIS K 6726:1994测量皂化度。

[0147] 对水凝胶(b3)的厚度没有特别限制,但是优选为1至300 μm ,更优选5至200 μm ,再更优选10至100 μm 。

[0148] 水凝胶(b3)的交联使得能够调节营养素如葡萄糖、生理活性物质如胰岛素和免疫系统体液因子的渗透率、强度等。

[0149] 水凝胶(b3)的凝胶强度优选为20至300kPa,更优选50至200kPa。可以使用拉力试验机通过以下程序测量凝胶强度。

[0150] 首先,将水溶胶溶液倒在通过在它们之间插入1mm厚的间隔物而彼此分开的两个玻璃板之间,并在预定胶凝条件下处理以获得厚度为1mm的凝胶片。使用JIS K 6251-3中规定的哑铃切割机(dumbbell cutter)从该凝胶片上切割出试件。将该试件设置在Instron Co.,Ltd.生产的拉力试验机(型号5566)上,并在采集图像数据的同时测量断裂应力和断裂应变。将试件断裂时的应力定义为凝胶强度。

[0151] 免疫隔离层(B)等的构造

[0152] 免疫隔离层(B)优选是包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸纤维素的至少一员的多孔膜(b1),或包含选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸纤维素的至少一员的纤维结构(b2)。此外,免疫隔离层(B)可具有多层结构,其除了多孔膜(b1)或纤维结构(b2)之外还含有一个或多个不同于多孔膜(b1)和纤维结构(b2)的层。不同于多孔膜(b1)和纤维结构(b2)的层的一个优选实例是水凝胶(b3)。在本说明书中,包含多孔膜(b1)或纤维结构(b2)和水凝胶(b3)的免疫隔离层可以称为免疫隔离多层(B')。

[0153] 形成具有水凝胶(b3)的多层不仅改进免疫隔离,还提高免疫隔离层(B)的强度。可以通过调节多孔膜的孔径和水凝胶(b3)的凝胶强度和/或交联度来调节渗透率和免疫隔离。

[0154] 可以通过多孔膜(b1)抑制细胞渗入和细胞泄漏。但是,在不降低必需的生理活性物质的渗透率的同时抑制免疫系统体液因子如IgG抗体的渗入是不容易的。因此,通过调节与多孔膜(b1)形成多层的水凝胶(b3)的凝胶强度或交联密度,可以抑制免疫系统体液因子如IgG抗体的渗入,而不降低生理活性物质的渗透率。

[0155] 当所用纤维结构层(b2)是单层时,在不降低必需的生理活性物质的渗透率的同时抑制免疫系统体液因子如IgG抗体的渗入以及细胞渗入和细胞泄漏是不容易的。因此,通过

调节与多孔膜 (b2) 形成多层的水凝胶 (b3) 的凝胶强度或交联密度,可以抑制免疫系统液体因子如IgG抗体的渗入以及细胞渗入和细胞泄漏,而不降低生理活性物质的渗透率。

[0156] 多孔膜 (b1)、纤维结构 (b2) 和水凝胶 (b3) 各自形成层,并且这些层可以在它们的边界处清晰地分离,或者两个相邻层之间的边界可以不是清晰分明的,或者两个或三个不同类型的层可以整合以形成一个层。

[0157] 例如,当免疫隔离层包含两种类型的层,即纤维结构 (b2) 和水凝胶 (b3) 时,免疫隔离层可具有其中纤维结构 (b2) 和水凝胶 (b3) 清晰分离的结构,或者在纤维结构和水凝胶之间可存在纤维结构和水凝胶的混合层,或者纤维结构和水凝胶可以完全整合为一个层。

[0158] 当免疫隔离层包含两种类型的层,即纤维结构 (b2) 和多孔膜 (b1) 时,免疫隔离层可具有其中纤维结构和多孔膜清晰分离的结构,或者在纤维结构和水凝胶之间可存在纤维结构和多孔膜的混合层,或者纤维结构和多孔膜可以完全整合为一个层。

[0159] 当免疫隔离层包含两种类型的层,即水凝胶 (b3) 和多孔膜 (b1) 时,免疫隔离层可具有其中水凝胶和多孔膜清晰分离的结构,或者在水凝胶和多孔膜之间可存在水凝胶和多孔膜的混合层,或者水凝胶和多孔膜可以完全整合为一个层。

[0160] 根据本发明的一个特别优选实施方案的免疫隔离装置由以下三种多层结构 (i) 至 (iii) 的任一种组成:

[0161] (i) 使用多孔膜 (b1) 作为基底,并且将水凝胶 (b3) 施加至多孔膜 (b1) 或用水凝胶 (b3) 浸渍多孔膜 (b1) 以形成多层结构。

[0162] (ii) 使用纤维结构 (b2) 作为基底,并且将水凝胶 (b3) 施加至纤维结构 (b2) 或用水凝胶 (b3) 浸渍纤维结构 (b2) 以形成多层结构。

[0163] (iii) 使用结构纤维 (b2) 作为基底,并且在结构纤维 (b2) 上形成多孔膜 (b1)。此外,将水凝胶 (b3) 施加至多孔膜 (b1) 或用水凝胶 (b3) 浸渍多孔膜 (b1) 以形成多层结构。

[0164] 当免疫隔离层 (B) 包含多个层时,这些层可以通过胶粘剂、热、压力等结合。当相邻层由高度相容的材料形成时,这些层可以通过顺序形成层而结合。

[0165] 具体地,使用多孔膜 (b1) 作为基底,并且将水凝胶溶液直接施加至该多孔膜并通过热、温度、光或化学作用形成为水凝胶,以形成多层结构。或者,使用纤维结构 (b2) 作为基底,并且将水凝胶溶液直接施加至该纤维结构并通过热、温度、光或化学作用形成为水凝胶,以形成多层结构。当使用涂有水凝胶 (b3) 的纤维结构 (b2) 如非织造物代替多孔膜 (b1) 时,可以形成具有比多孔膜 (b1) 更高的物质渗透率和更高的强度的免疫隔离层 (B),同时水凝胶 (b3) 确保免疫隔离。

[0166] 水凝胶溶液优选具有3至15质量%,更优选3至10质量%,再更优选3至8质量%,特别优选3至5质量%的固体浓度。在上述范围内的固体浓度是优选的,因为可以抑制免疫系统液体因子如IgG的渗透率,同时保持物质如葡萄糖和胰岛素的渗透率。

[0167] 或者,使用水凝胶 (b1) 作为基底,并且将作为多孔膜 (b1) 的原材料的聚合物溶液直接施加至该基底。多孔膜 (b1) 的原材料通过相分离 (其是一种相变现象) 固化,由此形成多孔膜 (b1)。多孔膜 (b1) 的一些原材料可能需要预处理以通过预干燥水凝胶 (b3) 而降低含水量。

[0168] 在本发明的一个优选实施方案中,使用具有优异耐久性的纤维结构 (b2) 作为基底;并且在纤维结构上形成单独的水凝胶 (b3) 或多孔膜 (b1) 和水凝胶 (b3),由此实现装置

厚度的减小以改进生理活性物质的扩散效率,以及由于强度提高而实现耐久性,同时保持免疫隔离效果。

[0169] 对免疫隔离层(B)的厚度没有特别限制,但是优选为10 μm 以上且500 μm 以下,更优选300 μm 以下,再更优选200 μm 以下,再更优选170 μm 以下,特别优选150 μm 以下。甚至当免疫隔离层(B)是免疫隔离多层(B')时,免疫隔离层的优选厚度也在上述范围内。考虑到生理活性物质从待移植材料的质量扩散效率,免疫隔离多层(B)的厚度优选为500 μm 以下,更优选300 μm 以下,再更优选100 μm 以下,并且尽可能薄。

[0170] 对免疫隔离层(B)的面积没有特别限制,但是优选为1.0至400 cm^2 ,更优选1.0至200 cm^2 ,再更优选1.5至150 cm^2 。免疫隔离层(B)的面积优选等于或大于细胞捕获层(A)的面积以覆盖细胞捕获层(A)。

[0171] 免疫隔离层(B)的最外层优选是生物相容的,以防止免疫隔离层被识别为外来物。免疫隔离层需要具有必要的渗透率以允许氧气和营养素充分渗透到存在于该装置内部的待移植材料中。

[0172] 免疫隔离层(B)的最外层可以是多孔膜(b1)、纤维结构(b2)或水凝胶(b3)的任一种,或其中两种或三种的混合物。免疫隔离膜(B)的最内层可以是多孔膜(b1)、纤维结构(b2)或水凝胶(b3)的任一种,或其中两种或三种的混合物。在本说明书中,免疫隔离层(B)的最外层是指在免疫隔离层(B)中构成本发明的免疫隔离装置的外部的层,即接触移植部位(宿主)周围的组织的层,免疫隔离层(B)的最内层是指构成免疫隔离层(B)的接触本发明的免疫隔离装置中的细胞捕获层(A)的部分(内侧部分)的层。

[0173] 当免疫隔离层(B)的最外层是多孔膜(b1)时,多孔膜(b1)理想地由比水凝胶(b3)更生物相容的材料制成,并且也用于防止水凝胶(b3)与受者的组织粘连或引发炎症等。

[0174] 当免疫隔离层(B)的最外层是纤维结构(b2)时,纤维结构(b2)理想地是生物相容性高于水凝胶(b3)的材料。由于最外层也用于防止水凝胶与移植部位处的受者的组织粘连并引发炎症等,理想地通过热、机械或化学处理使作为最外层的纤维结构(b2)的表面平滑化。

[0175] 通过将水凝胶(b3)改性以抑制诱发炎症反应,也可能使用水凝胶(b3)作为最外层并使用多孔膜(b1)作为最内层。在这种情况下,有可能将生理活性物质加载在水凝胶上并发挥功能,如诱导血管生成。

[0176] 免疫隔离层(B)的材料渗透率

[0177] 透过免疫隔离层(B)的葡萄糖、胰岛素、免疫系统体液因子的渗透量可以通过将免疫隔离层(B)插入具有相同体积的两个玻璃室之间的连接点、将已知浓度的胰岛素等的样品溶液倒入室a、将水倒入室b并在一段时间后通过ELISA等在37 $^{\circ}\text{C}$ 下在搅拌下量化从室b取样的液体中所含的胰岛素等的量来测量(图9)。要注意,在将样品溶液倒入室a时将室a和b中的液体量调节至相等。

[0178] 葡萄糖、胰岛素、免疫系统体液因子等透过免疫隔离层的渗透率表示为百分比,其代表如通过上述方法在20小时后测得的已经渗入室b的各物质的量相对于达到平衡时的浓度,即倒入室a的物质浓度的一半计。更具体地,例如,渗透率可以根据以下公式获得:

[0179] 各物质的渗透率(%) = 测量20小时后在室b中的各物质的浓度 / (测量开始时在室a中的各物质的浓度 \div 2) \times 100

[0180] 本发明的免疫隔离层 (B) 的胰岛素和葡萄糖渗透率优选为50%以上,更优选90%以上,再更优选95%以上。

[0181] 本发明的免疫隔离层 (B) 的免疫系统体液因子渗透率优选为30%以下,更优选10%以下。

[0182] 可以通过多孔膜 (b1) 的孔径、纤维结构 (b2) 的纤维基重或水凝胶 (b3) 的凝胶强度和交联度控制各材料的渗透率。为了表现出免疫隔离功能,希望多孔膜 (b1) 的孔径等于或小于不允许细胞透过的尺寸。希望水凝胶 (b3) 不抑制生理活性物质的渗透,但可以抑制免疫应答因子如细胞和抗体的渗透。

[0183] 免疫应答细胞的实例包括巨噬细胞、细胞毒性T细胞、自然杀伤细胞、树突细胞和辅助T细胞。免疫系统体液因子的实例包括抗体、补体和细胞因子。

[0184] 免疫隔离装置

[0185] 根据本发明的一个优选实施方案的免疫隔离装置为袋、管、圆柱体、矩形管、球体、立方体、长方体、片或中空纤维的形式,并且细胞捕获层 (A) 封装在该装置中。将待移植材料引入细胞捕获层 (A)。待移植材料的实例包括细胞、细胞簇、细胞片层 (cell sheet)、移植物等。待移植材料的其它实例包括非细胞的生理活性物质,如酶、激素、细胞因子和药物。优选的细胞、细胞簇和植入物是从免疫隔离装置中释放出生理活性物质的那些。也就是说,在一个优选实施方案中,细胞、细胞簇和移植物包括产生生理活性物质的细胞。

[0186] 为了将待移植材料引入细胞捕获层 (A),用移液管等将待移植材料的悬浮液均匀地注射和接种到纤维结构 (a1) 中。在接种后,将具有较小孔隙的不同规格的致密纤维结构 (a2) 布置在纤维结构 (a1) 周围,以使纤维结构 (a1) 被致密纤维结构 (a2) 覆盖,由此防止待移植材料从细胞捕获层逸出。也就是说,致密纤维结构 (a2) 的孔隙率优选小于纤维结构 (a1) 的孔隙率。

[0187] 该免疫隔离装置可以例如以下列方式生产。在将免疫隔离层 (B) 布置在通过上述方法制备的细胞捕获层 (A) 周围以使细胞捕获层 (A) 被免疫隔离层 (B) 覆盖之后,通过热熔合密封外周部分以将该装置模制成袋形。或者,在使用免疫隔离层 (B) 预先制备的装置中提供开口并从该开口插入细胞捕获层 (A) 之后,封闭该开口以由此阻断免疫应答细胞和免疫系统体液因子从该开口侵入。由于氧气、营养素等可以在开口以外的部分渗透免疫隔离层,可以封闭开口以抑制包括营养素在内的物质的渗透。

[0188] 在热熔合中,可以将树脂夹在免疫隔离层 (B) (免疫隔离多层 (B')) 之间,然后可以进行热熔合。通过在夹入树脂的状态下进行热熔合,即使在免疫隔离装置中的上方和下方免疫隔离层 (B) 的最内层都是水凝胶时 (当上方和下方免疫隔离层 (B) 的水凝胶彼此面对时) 也可以容易地进行热熔合。对热熔合中所用的树脂没有特别限制,但是优选选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸的至少一员,更优选是乙烯-乙醇共聚物。或者,可以在致密纤维结构 (a2) 夹在免疫隔离层 (B) 之间的情况下进行热熔合。

[0189] 在将本发明的免疫隔离装置植入活体后,可以取出功能已经降低的移植材料,并且可以引入新的待移植的功能材料。这一操作可以重复。免疫隔离装置可以重复用于引入待移植材料,或者免疫隔离装置可以与移植材料一起取出。

[0190] 由于本发明的免疫隔离装置具有足够的强度,可以稳定存在于受者体内,并且可以抑制免疫活性细胞侵入细胞捕获层 (A),也可以同时抑制存在于细胞捕获层 (A) 内的待移

植材料侵入受者体内。因此,即使源自 iPS 的细胞(对其担心待移植材料的癌变风险)也可以安全地使用。

[0191] 在一个优选实施方案中,本发明的免疫隔离装置优选具有形状保持性,以确保在体内足够的强度。

[0192] 为了保持作为免疫隔离装置的功能性,希望用作细胞捕获层(A)的纤维结构(a1)和致密纤维结构(a2)以及用作免疫隔离层(B)的多孔膜(b1)、纤维结构(b2)和水凝胶(b3)都由安全且高度生物相容的材料制成。

[0193] 为了防止与周围组织的粘连和防止纤维化,免疫隔离层(B)理想地由生物相容性优异的材料组成。当免疫隔离层(B)由多种材料组成时,希望将生物相容性优异的材料布置在移植侧,即,在与受者体内的移植部位接触的最外层的接触表面上。生物相容性优异的材料实例是乙烯-乙醇共聚物。

[0194] 本发明的免疫隔离装置的厚度随受者的组织、待移植材料等而变,并且不受特别限制,但是优选为400至2000 μm 。本发明的免疫隔离装置的面积也随受者的组织、待移植材料等而变,并且不受特别限制,但是优选为1.0至200 cm^2 。

[0195] 下面参照附图描述本发明的优选实施方案。

[0196] 图1是通过将免疫隔离层(B)模制成袋形而制成的装置的示意图。图2是通过将免疫隔离层模制成管形而制成的装置的示意图。通过施加热、超声、高频或电子束以熔合下示(x3)免疫隔离多层(B)的两个片材(x1和x2)而模制袋状装置(图1),在这两个片材之间具有一定距离(x4)以确保用于将细胞捕获层(A)封装在其中的空间。可以提供间隔物以确保一定距离(x4)。

[0197] 管状装置(图2)由各自模制成管形的免疫隔离层(y1、y2和y3)组成。将细胞捕获层(A)封装在管状部分(y4)的内部并施加热、超声、高频、电子束等以通过熔合密封管的两端,由此模制管状装置。

[0198] 图3A和3B是根据本发明的一个实施方案的免疫隔离装置的概念图。在图3A和3B中,免疫隔离层(B)的最外层与移植部位接触,而最内层与细胞捕获层(A)接触。

[0199] 如图3A和3B(它们是免疫隔离装置的概念图)中所示,各免疫隔离装置具有袋形或管形,并且待移植材料分散在其中的细胞捕获层封装在该装置内。在这一实施方案中,显示了细胞捕获层(A)含有待移植材料,如细胞或细胞簇,以使待移植材料均匀地分散并固定到存在于细胞捕获层(A)内的纤维结构(a1)(5)上。纤维结构(a1)(5)优选含有选自乙烯-乙醇共聚物和乙酸钠纤维素的至少一员,其具有优异的生物相容性,或者可以是细胞支架材料,如胶原纤维。

[0200] 作为纤维结构(a1)(5),可以使用任何已灭菌的纤维结构。纤维结构(a1)(5)可以在将待移植材料引入细胞捕获层(A)之前存在于被免疫隔离层(B)包围的细胞捕获层(A)中,或者可以稍后将待移植材料和纤维结构(a1)(5)作为细胞捕获层(A)引入由免疫隔离层(B)组成的免疫隔离装置中。

[0201] 此外,在将待移植材料分散在构成细胞捕获层(A)的纤维结构(a1)中时,可以将基于聚乙烯醇或聚乙二醇的水凝胶粒子、块状结构(blocked structures)等与待移植材料一起悬浮以防止作为待移植材料的细胞或细胞簇之间的聚集或结合。

[0202] 图4是细胞捕获层(A)的概念图。细胞捕获层(A)优选包含两种类型的组件,即纤维

结构(a1)和致密纤维结构(a2),并且其结构为将具有较小孔隙的致密纤维结构(a2)布置在用于捕获待移植材料的纤维结构(a1)周围以使纤维结构(a1)被致密纤维结构(a2)覆盖,以防止捕获的待移植材料从该纤维结构逸出。

[0203] 图5是致密纤维结构(a2)的透射光显微术图像。获得如图5中所示的图像,并使用图像分析软件测量透光的每个亮点的面积。在所得面积为正圆的面积的假设下计算的直径被取为亮点的孔径。将50个或更多个亮点的孔径的平均值被定义为平均孔径。

[0204] 图6和7中所示的免疫隔离层(B)由多种材料的组合组成。最外层要与移植部位处的受者的组织接触,最内层要与细胞捕获层(A)接触。将这样的免疫隔离层成型为袋形(图1)或管形(图2),并且将其上固定有作为待移植材料的细胞或细胞簇的细胞捕获层(A)封装在其内,由此制成免疫隔离装置。

[0205] 图6显示多孔膜(b1)(6)和水凝胶(b3)(8)的多层的形成。多孔膜(b1)(6)用水凝胶(b3)浸渍以形成多层(7),其中最外层表面(9)由多孔膜(b1)组成,且最内层表面(10)由水凝胶(b3)组成。

[0206] 图7显示纤维结构(b2)(11)和水凝胶(b3)(12)的多层的形成。将水凝胶(b3)(12)施加至纤维结构(b2)(11),或用水凝胶(b3)(12)浸渍纤维结构(b2)(11)以形成多层(7),其中最外层表面(13)由纤维结构(b2)组成,且最内层表面(14)由水凝胶(b3)组成。

[0207] 实施例

[0208] 免疫隔离多层(B')的生产

[0209] 生产实施例1

[0210] 通过以下程序将使用乙烯-乙烯醇共聚物(下文称为EVOH)形成的多孔膜和含有甲基丙烯酸酯改性聚乙烯醇(下文称为MA-PVA)作为主要组分的水凝胶层压以形成多层。

[0211] (1)通过对EVOH(EVAL(注册商标),F101A,由Kuraray Co.,Ltd.生产)施以聚合物相分离反应而生产多孔膜(平均孔径:1.8 μm ,最大孔径:3.4 μm ,厚度:100 μm)。

[0212] (2)将苯基(2,4,6-三甲基苯甲酰基)次膦酸锂作为水溶性光自由基聚合引发剂添加到10质量%的MA-PVA(平均聚合度:1700,皂化度:98.0至99.0摩尔%,甲基丙烯酸酯改性率:1.2摩尔%,下文称为MA-PVA)水溶液中以实现0.1质量%的浓度,由此制备溶胶。

[0213] (3)使用棒涂布机将这种溶胶施加到PET膜上直至50 μm 的厚度。

[0214] (4)将多孔膜放置在溶胶上,并将溶胶和多孔膜使用层压机彼此紧密粘附。

[0215] (5)将溶胶表面放在最上面,用365nm光以15mW/cm²的强度进行照射3分钟,以在多孔膜上形成水凝胶,由此获得免疫隔离多层(B')。图8显示所得免疫隔离多层(B')的横截面的SEM图像。发现水凝胶已经渗透多孔膜至大约3至6 μm 的深度。

[0216] 生产实施例2

[0217] 使用4质量%的MA-PVA(平均聚合度:3500,皂化度:87.0至89.0摩尔%,甲基丙烯酸酯改性率:1.2摩尔%)水溶液,以与生产实施例1中相同的方式在多孔膜上形成水凝胶以制备免疫隔离多层(B')。

[0218] 材料渗透率试验

[0219] 以下列方式测量在生产实施例1中制成的多孔膜和在生产实施例1或2中获得的免疫隔离多层(B')的葡萄糖、胰岛素和IgG渗透率。

[0220] (1)将多孔膜或免疫隔离多层各自置于室a和b之间(图9)。在室a中制备含有胰岛

素(30U/L)、葡萄糖(5mg/mL)和IgG(0.5 μ g/mL)的水溶液(65mL),而水(65mL)置于室b中。

[0221] (2)用搅拌器在37°C的恒定温度下进行搅拌。在20小时后,从室b中将液体取样,并通过ELISA测量胰岛素、葡萄糖和IgG的浓度变化。

[0222] (3)由(2)的结果计算各物质的渗透率(表1)。

[0223] 各物质的渗透率(%) = 测量20小时后在室b中的各物质的浓度 / (测量开始时在室a中的各物质的浓度 \div 2) \times 100

[0224] 表1

		20 小时后的渗透率(%)			
		葡萄糖	胰岛素	IgG	
[0225]	参比例 1	EVOH 多孔膜	72	25	3
	生产实施例 2	免疫隔离多层	60	8	0
	生产实施例 3	免疫隔离多层	69	17	0

[0226] 细胞捕获层的制备

[0227] 生产实施例3

[0228] 纤维结构(a1)的制备

[0229] (1)使用包含聚酯作为芯材料和乙烯-乙醇共聚物作为皮材料的皮芯型复合纤维(细度:3.3dtex,比重:1.25,商品名称:“Sophista”S-220,由Kuraray Co.,Ltd.生产,乙烯-乙醇共聚物的乙烯含量:44摩尔%,皂化度:98.4摩尔%)通过梳理法(card method)生产被称为网幅(web)的纤维片。

[0230] (2)在该网幅夹在一对输送辊之间的情况下,对该网幅进行模制。

[0231] (3)随后,对模制的网幅施以蒸汽喷射,以通过热和蒸汽射流将纤维粘合在一起,由此获得具有50g/m²的基重和1mm的厚度的无纺布片材。

[0232] (4)通过使用直径15mm的打孔器将无纺布片材切割成圆形,制备用于捕获细胞的纤维结构(a1)(孔隙率:96%)。由纤维结构的基重C(g/m²)、厚度D(cm)和纤维的平均比重E(g/cm³)根据以下公式计算孔隙率:

[0233] 孔隙率(%) = 100 - ((C/D/E) \times 10⁻⁴ \times 100)

[0234] 生产实施例4

[0235] 致密纤维结构(a2)的制备

[0236] (1)使用一般的熔喷设施,将熔融乙烯-乙醇共聚物(乙烯含量:44摩尔%,皂化度:99.3摩尔%,Kuraray Co.,Ltd.生产的“E105”)从模头挤出以获得纤维直径为8 μ m的熔喷无纺布片材。

[0237] (2)通过使熔喷无纺布片材在40kg/cm的压力和3m/min的速度下通过100°C加热的金属辊和橡胶辊来压延该片材。在压延过程后获得的熔喷非织造织物具有76.6g/m²的基重、0.24mm的厚度和73%的孔隙率。由致密纤维结构的基重C(g/m²)、厚度D(cm)和纤维结构的平均比重E(g/cm³)根据以下公式计算孔隙率:

[0238] 孔隙率(%) = 100 - ((C/D/E) \times 10⁻⁴ \times 100)

[0239] (3)将熔喷无纺布切割成24mm正方形,以制备用于防止细胞逸出的致密纤维结构体(a2)(平均孔径:11 μ m)。使用图像分析软件由致密纤维结构(a2)的透射光显微术图像(图

5) 测量透光的每个亮点的面积。在所测量的面积为正圆的面积的假设下计算的(50个点的)平均直径被定义为平均孔径。

[0240] 细胞制备

[0241] 生产实施例5

[0242] MIN6(小鼠胰岛样细胞系)用于证实细胞捕获层的细胞和细胞簇捕获功能。将MIN6以 2.8×10^5 个细胞/cm²的密度接种在含有DMEM培养基的悬浮细胞培养瓶(由Sumitomo Bakelite Co.,Ltd.生产)中,在37°C下培养7天以产生直径为大约100至200 μ m的细胞簇。从烧瓶中收集1mL细胞悬液,并用1mL胰蛋白酶-EDTA处理以将细胞簇分散成单个细胞,使用血球计数器测量细胞密度。基于测得的细胞密度,当在以下实施例中接种细胞时,调节液体量以将 5×10^5 个细胞接种在纤维结构中并进行测试。

[0243] 免疫隔离装置的生产 and 评估

[0244] 实施例1

[0245] 1) 细胞接种和细胞封装到免疫隔离装置中

[0246] (1) 将制备实施例2中制备的免疫隔离多层(B')切割成24mm正方形,并以水凝胶表面侧朝上放置。将生产实施例4中制成的致密纤维结构(a2)置于其上,并且将实施例3中制成的纤维结构(a1)进一步在中心置于其上。

[0247] (2) 随后,使用微量移液管将生产实施例5中制成的MIN6细胞簇悬液(在50 μ l DMEM培养基中含有 5×10^5 个细胞)从顶部接种到纤维结构(a1)上,并使其静置30秒以使细胞簇悬液渗透纤维结构(a1)。

[0248] (3) 将生产实施例4中制成的致密纤维结构(a2)放置在其中已接种细胞的纤维结构(a1)的顶部,然后将生产实施例2中制成的免疫隔离多层(B')以水凝胶表面侧朝下放置在顶部。使用热封机(Clip Sealer Z-1,由Technoimpulse Co.,Ltd.生产)将叠加的免疫隔离层(B')和致密纤维结构(a2)的四个边缘熔合在一起,以产生免疫隔离装置(图3B)。

[0249] 2) 细胞活力的评估

[0250] 将前一部分中制成的免疫隔离装置置于6孔板中,加入7mL DMEM培养基,并将该装置在37°C下培养1周。每天更换一半培养基(3.5mL)。作为比较对照,将7mL DMEM培养基添加到具有超低粘附表面的6孔板(由Corning生产)中,并将前一部分中制备的细胞簇悬液以等于试验装置中的量的按细胞数计的量添加到该6孔板中,并在37°C下培养1周,同时每天更换一半量(3.5mL)的培养基。

[0251] 在培养1周后,完全除去培养基。在加入1mL新鲜培养基后,加入1mL ATP活性测定试剂(CellTiter-Glo(注册商标),由Promega K.K.生产)。使用平板振荡器将板振荡2分钟。然后使该混合物在室温下静置10分钟,取样100 μ L上清液并转移到白色96孔板中。使用读板仪(ARVO X2;PerkinElmer生产)测量发光强度。结果,在将获自对照细胞簇的发光强度定义为100%活力时,获自封装在该装置中的细胞簇的发光强度显示103%的活力。

[0252] 实施例2

[0253] 以与实施例1中相同的方式生产免疫隔离装置,只是将纤维结构(a1)的基重变成100g/m²(孔隙率:92%)。以与实施例1中相同的方式测量细胞活力并且发现为88%。

[0254] 实施例3

[0255] 以与实施例1中相同的方式生产免疫隔离装置,只是将纤维结构(a1)的基重变成

25g/m²并且将厚度变成0.5mm(孔隙率:96%)。以与实施例1中相同的方式测量细胞活力并且发现为103%。

[0256] 实施例4

[0257] 以与实施例1中相同的方式生产免疫隔离装置,只是将致密纤维结构(a2)的基重变成22.3g/m²并且将厚度变成0.12mm(平均孔径23.5μm,孔隙率84%)。以与实施例1中相同的方式测量细胞活力并且发现为96%。

[0258] 表2

	细胞捕获层(A)								免疫隔离多层(B')		细胞活力(%)
	纤维结构(a1)				致密纤维结构(a2)				最外层	最内层	
	基重(g/m ²)	厚度(mm)	密度(g/cm ³)	孔隙率(%)	基重(g/m ²)	厚度(mm)	平均孔径(μm)	孔隙率(%)			
[0259] 实施例1	50	1	0.05	96	76.6	0.24	11	73	EVOH多孔膜	水凝胶	103
实施例2	100	1	0.1	92	76.6	0.24	11	73	EVOH多孔膜	水凝胶	88
实施例3	25	0.5	0.05	96	76.6	0.24	11	73	EVOH多孔膜	水凝胶	103
实施例4	50	1	0.05	96	22.3	0.12	23.5	84	EVOH多孔膜	水凝胶	96

[0260] 从表2中的结果清楚看出,在实施例1至4中,可以捕获细胞簇而不使细胞簇从细胞捕获层(A)中逸出。

[0261] 此外,具有适当孔隙率的纤维结构(a1)可以在保持高活力的同时捕获细胞簇。此外,具有适当平均孔径的致密纤维结构(a2)可以防止细胞簇从纤维结构(a1)中逸出。

[0262] 工业适用性

[0263] 本发明涉及用于细胞移植疗法等的移植装置,特别涉及用于保护待移植材料免受免疫排斥反应的免疫隔离装置。

[0264] 该免疫隔离装置被认为主要用作用于细胞移植疗法的再生医学产品。但是,该免疫隔离装置也可用于非细胞的生理活性物质,如酶、激素和药物的移植。

[0265] 附图标记的解释

[0266] x1 免疫隔离层(B)

[0267] x2 免疫隔离层(B)

[0268] x3 熔合

[0269] x4 一定距离

[0270] y1 免疫隔离层(B)

[0271] y2 免疫隔离层(B)

[0272] y3 免疫隔离层(B)

[0273] y4 管状内部

- [0274] 1 多孔膜 (b1)
- [0275] 2 水凝胶 (b3)
- [0276] 3 待移植材料
- [0277] 4 致密纤维结构 (a2)
- [0278] 5 纤维结构 (a1)
- [0279] 6 多孔膜 (b1)
- [0280] 7 浸渍和成型
- [0281] 8 水凝胶 (b3)
- [0282] 9 最外层表面
- [0283] 10 最内层表面
- [0284] 11 纤维结构 (b2)
- [0285] 12 水凝胶 (b3)
- [0286] 13 最外层表面
- [0287] 14 最内层表面

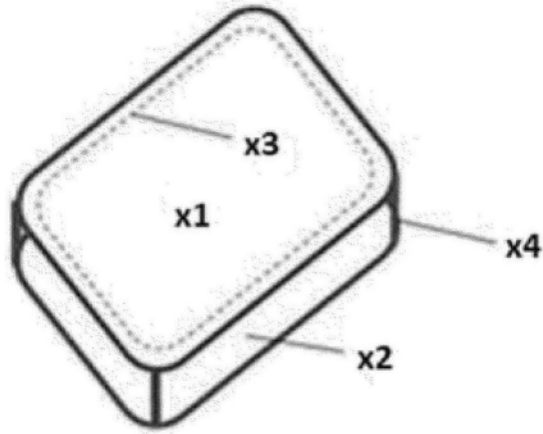


图1

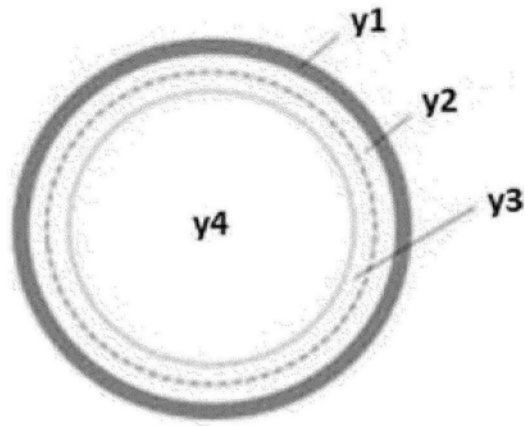


图2

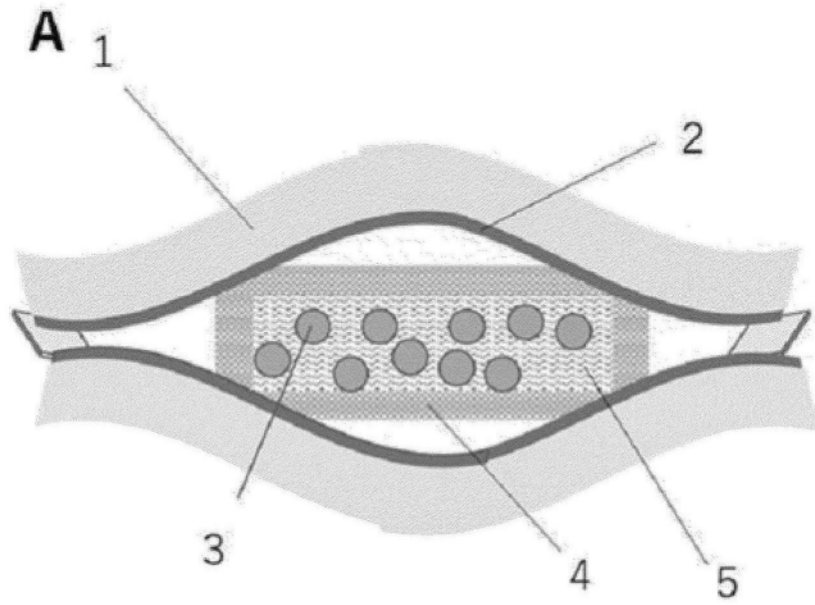


图3A

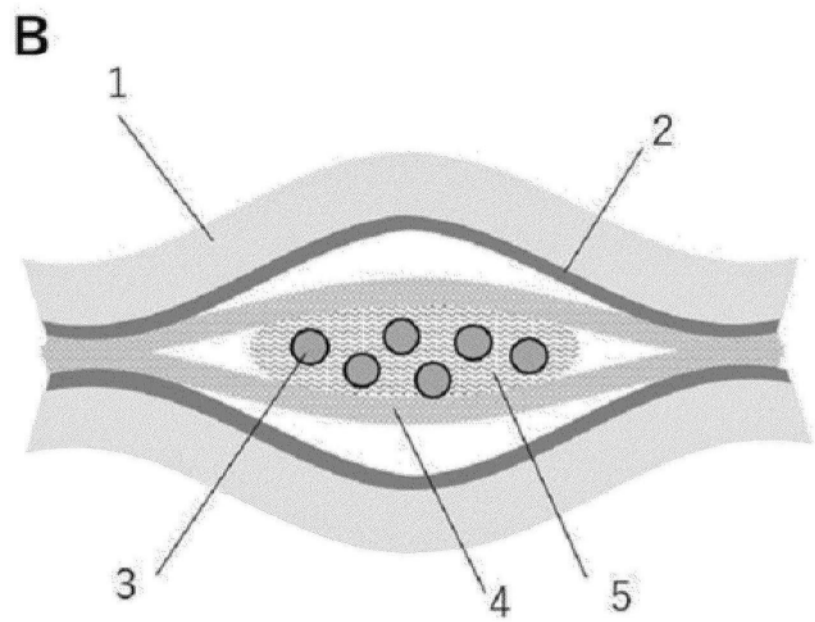


图3B

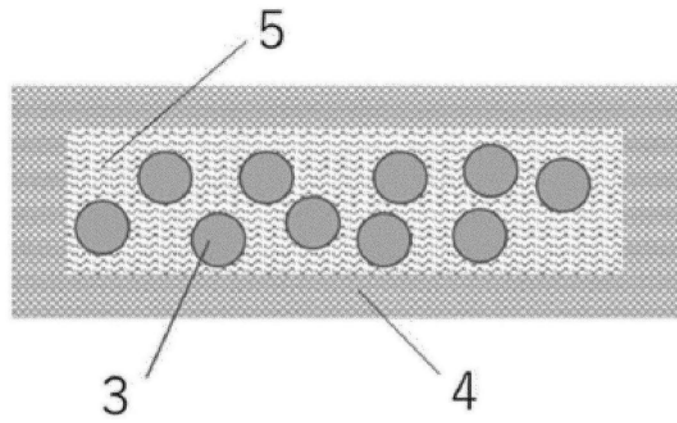


图4

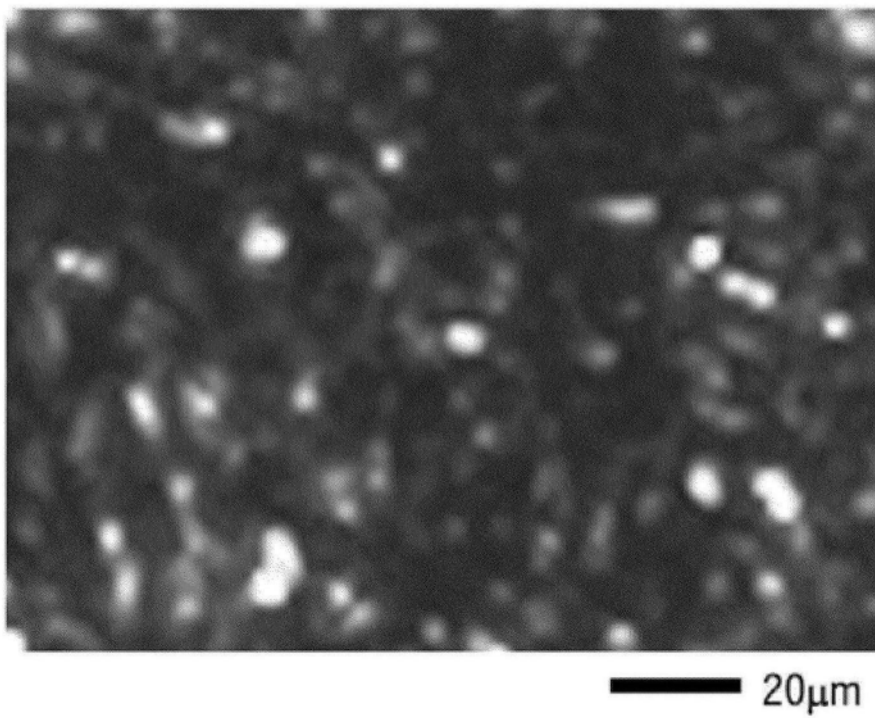


图5

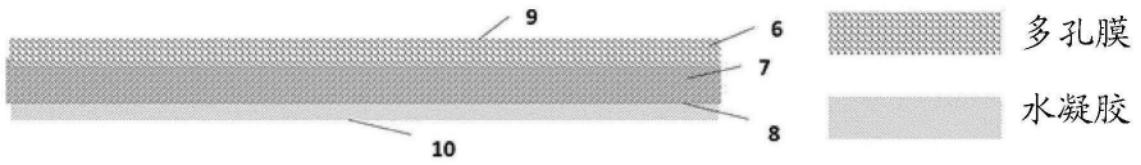


图6

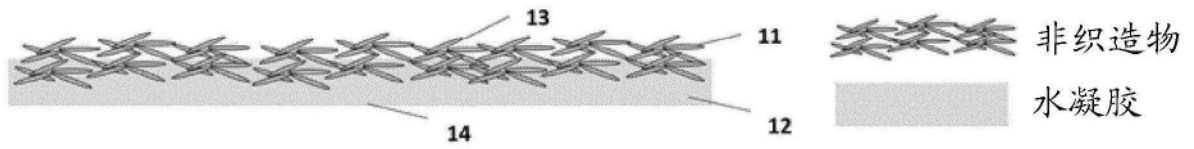


图7

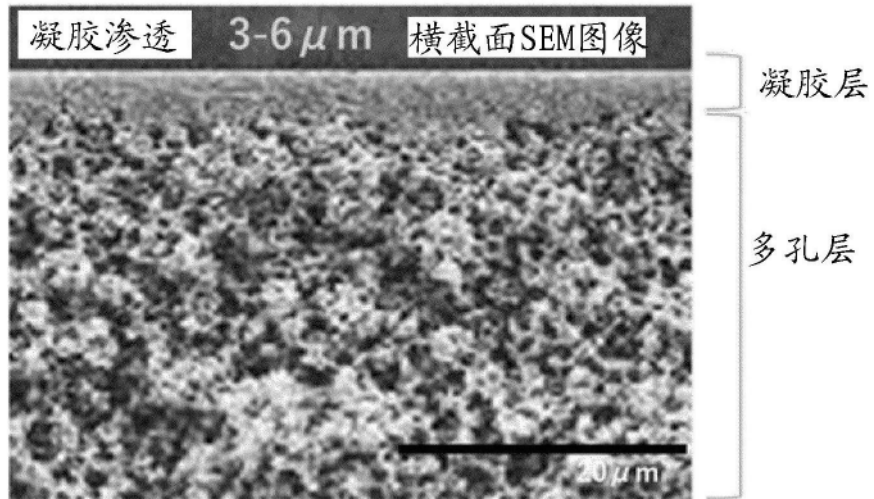


图8

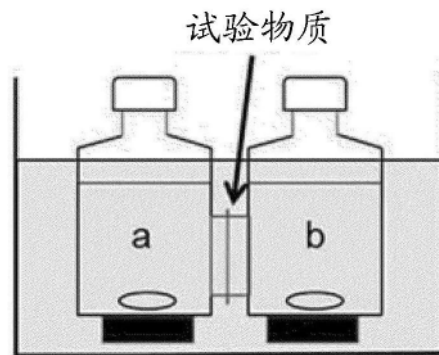


图9