

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 2 区分

【発行日】平成25年7月4日 (2013.7.4)

【公表番号】特表2012-527283(P2012-527283A)

【公表日】平成24年11月8日 (2012.11.8)

【年通号数】公開・登録公報2012-046

【出願番号】特願2012-511342(P2012-511342)

【国際特許分類】

A 6 1 L 27/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/78 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

【F I】

A 6 1 L 27/00 D

C 0 7 K 14/78

C 1 2 N 5/00 2 0 2 A

【手続補正書】

【提出日】平成25年5月15日 (2013.5.15)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

人工眼上皮と塑性圧縮コラーゲンゲル基材を含む人工眼組織であって、角膜幹細胞又は角膜幹細胞を含有する組成物を塑性圧縮コラーゲンゲル基材上で培養する段階を含む方法により取得されるか又は取得可能であり、塑性圧縮コラーゲンゲル基材上に人工眼上皮を産生する角膜上皮細胞集団を提供するような条件下で前記細胞又は組成物を培養する前記人工眼組織。

【請求項 2】

角膜幹細胞又は角膜幹細胞を含有する組成物を塑性圧縮コラーゲンゲル基材上で培養する段階を含む人工眼上皮の製造方法であって、基材上に人工眼上皮を産生する角膜上皮細胞集団を提供するような条件下で前記細胞又は組成物を培養する前記方法。

【請求項 3】

(A) その後に人工眼上皮を基材から分離するか；

(B) その後に人工眼上皮をヒト組織の保存と防腐に適した培地に保存し、眼上皮を塑性圧縮コラーゲンゲル基材から分離するか又は分離せずに保存するか；

(C) 角膜幹細胞が輪部角膜上皮幹細胞、好ましくはヒト輪部角膜上皮幹細胞であるか；

(D) 間質液中にコラーゲンフィブリルのマトリックスを含むコラーゲンゲルを準備した後に、

(i) ゲルの表面もしくは縁部の一つ以上に圧縮力を加える方法、

(i i) ゲルの表面もしくは縁部の一つ以上に脱水力を加える方法、

(i i i) 1 面もしくは 2 面にゲルを延伸する方法、又は

(i v) (i) ～ (i i i) の 1 種以上の組合せ

によりゲルを塑性圧縮し、

場合により、

(a) ゲルの軸方向に一軸荷重を加える工程と、

(b) 前記荷重を除去する工程

からなる1サイクル以上の反復サイクルを圧縮後のゲルに実施する方法により、塑性圧縮コラーゲンゲル基材を製造するか；

(E) ゲルの表面又は縁部の一つ以上に間質液吸収材を付着させる方法と上記(D)の(i)～(iv)の1種以上を組合せるか；

(F) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材が長さ1～60mm、好ましくは長さ20～40mm及び／又は幅0.5～60mm、好ましくは幅20～40mmであるか；

(G) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材が厚さ10～1000μm、好ましくは厚さ20～100μmであるか；

(H) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材におけるコラーゲンフィブリルが直径10～100nmであり、及び／又はフィブリルの間隔が1～200nmであるか；

(I) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材のコラーゲン含有率が3～4%であるか；

(J) 圧縮コラーゲンゲルの少なくとも一つの表面にラミニン又は一つ以上のラミニンドメインをコートし、角膜幹細胞又は組成物をラミニン／ラミニンドメイン表面上で培養するか；

(K) 圧縮コラーゲンゲルが間質前駆細胞、好ましくは角膜線維芽細胞をゲル内に封入しているか；

(L) 圧縮コラーゲンゲルにおけるコラーゲンが好ましくはリボフラビンとUV照射を使用して架橋されているか；

(M) ゲル内への角膜幹細胞の内方増殖を防ぐ程度まで塑性圧縮コラーゲンゲルを圧縮するか；

(N) 塑性圧縮コラーゲンゲルが可撓性で非剛性であるか；又は、

(O) その後に人工眼上皮を基材上に保持し、人工眼組織を形成するか、のいずれかである請求項2に記載の方法。

【請求項4】

請求項2又は3に記載の方法により取得されるか又は取得可能な人工眼上皮。

【請求項5】

基底細胞の内側及び下側の基底膜成分と共に、CK3分化マーカーとCK14未分化マーカーの双方を発現する3～7層の細胞層からなる連続重層化上皮を含み、好ましくは請求項2又は3に記載の方法により取得されるか又は取得可能な人工眼上皮。

【請求項6】

一部もしくは全基底細胞に半接着斑が存在しており、及び／又は一部もしくは全隣接上皮細胞が接着斑構造を介して相互に結合している請求項4又は5に記載の人工眼上皮。

【請求項7】

請求項3の(O)に記載の方法により取得されるか又は取得可能な人工眼組織。

【請求項8】

(i) 請求項4から6のいずれか一項に記載の人工眼上皮と；

(ii) 請求項2又は3に記載の塑性圧縮コラーゲンゲル基材を含む人工眼組織。

【請求項9】

人工眼上皮又は人工眼組織に及ぼす試験化合物の効果を評価する方法であって、

(a) 請求項4から6のいずれか一項に記載の人工眼上皮又は請求項7又は8に記載の人工眼組織を準備する段階と；

(b) 人工眼上皮又は人工眼組織を一定量の試験化合物と接触させる段階と；

(c) 人工眼上皮又は人工眼組織に及ぼす化合物の効果を評価する段階を含む前記方法。

【請求項10】

請求項4から6のいずれか一項に記載の人工眼上皮又は請求項7又は8に記載の人工眼組織の使用であって、

(a) 哺乳動物角膜に対する試験化合物の毒性の指示を提供するため；

(b) 人工角膜として；又は

(c) 細胞の送達を必要とする組織への細胞送達剤としての前記使用。

【請求項 1 1】

治療方法、好ましくは眼損傷の治療方法で使用するための請求項 4 から 6 のいずれか一項に記載の人工眼上皮又は請求項 7 又は 8 に記載の人工眼組織であって、より好ましくは、眼損傷が幹細胞機能を維持するために不十分な間質微小環境に関連するもの（例えば無虹彩症、角膜炎、神経栄養性角膜炎及び慢性角膜輪部炎）；又は輪部幹細胞を破壊する外部因子に関連するもの（例えば化学もしくは熱傷害、スティーブンス・ジョンソン症候群、眼瘢痕性類天疱瘡、コンタクトレンズ使用又は広範な微生物感染症）である前記人工眼組織。

【請求項 1 2】

外科処置方法で使用するための請求項 4 から 6 のいずれか一項に記載の人工眼上皮又は請求項 7 又は 8 に記載の人工眼組織であって、好ましくは哺乳動物対象の角膜を前記人工眼上皮又は組織で置換する前記人工眼上皮又は組織。

【請求項 1 3】

角膜細胞の増殖用基材としての塑性圧縮コラーゲンゲルの使用。

【請求項 1 4】

間質液中にコラーゲンフィブリルのマトリックスを含むコラーゲンゲルを準備した後に

、

(i) ゲルの表面もしくは縁部の一つ以上に圧縮力を加える方法；

(i i) ゲルの表面もしくは縁部の一つ以上に脱水力を加える方法；

(i i i) 1 面もしくは 2 面にゲルを延伸する方法；又は

(i v) (i) ～ (i i i) の 1 種以上の組合せ

によりゲルを塑性圧縮し、

場合により、

(a) ゲルの軸方向に一軸荷重を加える工程と、

(b) 前記荷重を除去する工程

からなる 1 サイクル以上の反復サイクルを圧縮後のゲルに実施する方法により、塑性圧縮コラーゲンゲル基材を製造する請求項 1 3 に記載の使用。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 に記載の使用であって、

(A) ゲルの表面又は縁部の一つ以上に間質液吸収材を付着させる方法と (i) ～ (i v) の 1 種以上を組合せるか；

(B) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材が長さ 1 ～ 60 mm、好ましくは長さ 20 ～ 40 mm であり、及び／又は幅 0.5 ～ 60 mm、好ましくは幅 20 ～ 40 mm であるか；

(C) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材が厚さ 10 ～ 1000  $\mu$ m、好ましくは厚さ 20 ～ 100  $\mu$ m であるか；

(D) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材におけるコラーゲンフィブリルが直径 10 ～ 100 nm であり、及び／又はフィブリルの間隔が 1 ～ 200 nm であるか；

(E) 塑性圧縮コラーゲンゲル基材のコラーゲン含有率が 3 ～ 4 % であるか；

(F) コラーゲンゲルの少なくとも一つの表面にラミニンをコートするか；又は

(G) コラーゲンゲルが好ましくはリボフラビン／UV を使用して架橋されている、前記使用。

【請求項 1 6】

コラーゲン繊維リボフラビン処理により架橋されている塑性圧縮コラーゲンゲルであって、好ましくは、ゲルが請求項 2 又は 3 に記載のものである前記塑性圧縮コラーゲンゲル。

【請求項 1 7】

人工眼上皮を増殖させるための基材としての請求項 1 6 に記載の塑性圧縮コラーゲンゲルの使用。