

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5286076号
(P5286076)

(45) 発行日 平成25年9月11日 (2013.9.11)

(24) 登録日 平成25年6月7日 (2013.6.7)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 9/50 (2006.01)
A 6 1 K 47/34 (2006.01)
A 6 1 K 47/42 (2006.01)
A 6 1 K 47/36 (2006.01)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 9/50
A 6 1 K 47/34
A 6 1 K 47/42
A 6 1 K 47/36
A 6 1 K 45/00

請求項の数 14 (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-500831 (P2008-500831)
(86) (22) 出願日 平成18年3月7日 (2006.3.7)
(65) 公表番号 特表2008-533015 (P2008-533015A)
(43) 公表日 平成20年8月21日 (2008.8.21)
(86) 国際出願番号 PCT/US2006/008025
(87) 国際公開番号 W02006/096688
(87) 国際公開日 平成18年9月14日 (2006.9.14)
審査請求日 平成21年2月26日 (2009.2.26)
(31) 優先権主張番号 11/073, 433
(32) 優先日 平成17年3月7日 (2005.3.7)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 500332814
ボストン サイエнтиフィック リミテ
ッド
バルバドス国 クライスト チャーチ ヘ
イスティングス ココナッツヒル #6
ビー. オー. ボックス 1317
(74) 代理人 100078282
弁理士 山本 秀策
(74) 代理人 100113413
弁理士 森下 夏樹
(72) 発明者 フレイマン, トビー, エム
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
2453, ウォルサム, ウォーレン スト
リート 200

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腔内組織工学のためのマイクロカプセル化された組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

患者の身体管腔の内面に適用される組織工学組成物であって、前記身体管腔は、循環系の管腔であり、前記組成物は

(a) 前記身体管腔に接着し、かつ前記管腔内に置かれると凝固し得る流体、を含む運搬媒体と、

(b) (i) 成熟内皮細胞および未成熟内皮細胞から選ばれた一つまたは複数の生細胞、ならびに細胞外マトリックス構成要素および分離細胞外マトリックス構成要素から選ばれた材料を含むコアと

(ii) 生分解性高分子を含み、前記コアを取り囲んでいるシェルと
を含む、前記運搬媒体内に分散しているマイクロカプセルと
を含む、

前記運搬媒体が、ポリ(オキシアルキレン)ポリマーまたはポリ(エチレンオキシド)ポリ(プロピレンオキシド)コポリマーを含むコポリマーを含む下限臨界溶解温度高分子である、組織工学組成物。

【請求項2】

前記運搬媒体がフィブリノゲン、ムチン、アルギン酸塩、フィブロネクチンおよびそれらの組み合わせから選ばれた接着促進構成要素をさらに含む請求項1の組織工学組成物。

【請求項3】

前記運搬媒体が抗生物質、抗ウイルス剤、麻酔薬、成長因子、細胞外マトリックス構成要

10

20

素およびそれらの組み合わせから選ばれた生体活性剤をさらに含む請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 4】

前記運搬媒体が粘度調整剤、緩衝液、浸透圧性薬剤、栄養剤、造影剤およびそれらの組み合わせから選ばれた薬剤をさらに含む請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 5】

大部分の前記マイクロカプセルの直径が 10 から 1000 ミクロンの範囲である請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 6】

前記マイクロカプセルの少なくとも一部が単一の生細胞または生細胞の集合を取り囲む高分子電解質絶縁コーティングを含む請求項 1 の組織工学組成物。 10

【請求項 7】

前記高分子電解質コーティングがポリアニオン層とポリカチオン層とを含む請求項 6 の組織工学組成物。

【請求項 8】

前記コアと前記シェルが界面カプセル形成技術を用いて同時に形成される請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 9】

前記コアがまず形成されて次に前記シェルが形成される請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 10】

前記コアが重合、架橋または熱ゲル化により形成される請求項 9 の組織工学組成物。 20

【請求項 11】

前記シェルが多孔性の粘膜下層、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ（乳酸グルコール複合）酸およびそれらの組み合わせから選ばれた材料を含む請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 12】

前記シェルがポリアニオン層とポリカチオン層とを含む請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 13】

前記マイクロカプセルの外面が接着種をさらに含む請求項 1 の組織工学組成物。

【請求項 14】

前記接着種が粘膜付着性物質、抗体、接着リガンド、接着タンパク質、細胞表面分子およびそれらの組み合わせから選ばれる請求項 13 の組織工学組成物。 30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は組織工学組成物、特に管腔に適用される組織工学組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

過去十年間にわたって、組織工学は様々な分野のまとまりのない集合から独自にバイオテクノロジーという分野へ進化してきた。遺伝学、外科処置、またその他の専門分野の情報を含めて、化学工学と細胞生物学を組み合わせた組織工学は、生細胞、生体物質および人工物質を人体で機能することが可能なインプラントへと結合させる。研究者は生きた肝細胞、心筋細胞、膵島細胞のコロニーを培養することで、それぞれ肝臓、心臓、膵臓などの半人工の生体臓器を作り出すための第一歩を踏み出してきた。 40

【0003】

腔内処置とは、身体の空洞または管腔などの箇所にて行われる医療処置である。これらの処置は特に血管、胃腸（GI）または気管支の管腔などで行われ、病気の診断および／または治療が伴うこともある。毎年何百万もの腔内処置が世界中の病院で実施されており、腔内処置は内視鏡やカテーテルといった装置を使用して頻繁に実施される。

【0004】

研究者は人工組織のマイクロカプセル化を 1970 年代後半に発表している。マイクロカ 50

プセルは製造し易く、農薬、化粧品や香水だけでなく、製薬や医薬品などあらゆるものの供給に使用されてきた。一般的にマイクロカプセル化された人工組織の使用は、治療用物質を生み出す（例：インシュリンを分泌するために膵島細胞を使用）、あるいは代謝機能を行う（例：血漿解毒のために肝細胞を使用）組織インプラントに免疫分離をもたらすことに限定される。マイクロカプセルの製造者は通常、分子量 50,000 ダルトンまで分子が拡散できる程の核膜孔の大きさを目標にしている。このような大きさは一般に、免疫細胞や免疫分子による侵入を防ぐだけ十分小さく、栄養素や酸素の流入、また細胞副産物の流出を可能にするだけ十分大きいものである。このような形をとったカプセル化は一般に、カプセル化された組織の寿命の間および／または所定の治療期間存続するように意図されている。

10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は組織工学、マイクロカプセル化および腔内技術の様々な側面を組み合わせたものである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の側面によると、患者の身体管腔の内面に適用するために用いられる組織工学組成物が提供される。組成物は、循環して組成物を身体管腔に安定して接着させるために用いる (a) 運搬媒体と、運搬媒体内に分散しており、また生分解性高分子を有する膜材内に包まれた一つあるいは複数の生細胞を含む (b) マイクロカプセルとで構成される。組成物は管腔への適用後に管腔表面の細胞の成長を促す。

20

【0007】

これらのまたその他の実施形態および本発明の利点は、以下の詳細解説と請求項を検討することで直ちに技術分野における当業者にとって明白なものとなる。

【実施例】

【0008】

本発明をより完全に理解するために以下の実施形態の詳細説明を参照する。以下の実施形態の詳細説明は本発明を説明するものであって、本発明を限定するものではない。発明の適用範囲は付随する請求項で定義する。

30

【0009】

本発明は組織工学組成物、特に様々な身体管腔の内面に適用される組織工学組成物に関する。本発明の組成物は運搬媒体を含み、この媒体は媒体内に分散するマイクロカプセルを含む。このマイクロカプセルには、生分解性膜材内でカプセルに包まれた一つあるいは複数の生細胞を含む芯材が含まれる。本発明の組成物は身体管腔の内面に接着して、その後管腔表面またはその付近で細胞の成長を促すために用いられる。

【0010】

そのような組織工学組成物 100 の具体例は、運搬媒体 110 と複数のマイクロカプセル 120 を示した図 1 に略図化する。

【0011】

40

本発明の組成物は次のようなものを含む幅広い腔内表面へ供給するために用いられる：心臓、動脈（例：冠状動脈、大腿動脈、大動脈、回腸動脈、頸動脈、椎骨脳底動脈）および静脈といった循環系の腔内、尿道（尿道前立腺部を含む）、膀胱、尿管、膣、子宮、精巣および卵管といった泌尿生殖器系の腔内、鼻涙管、耳管、気管、気管支、鼻腔および副鼻腔といった呼吸器の腔内、食道、腸管、十二指腸、小腸、大腸、結腸、胆管および膵管系といった消化管の腔内、リンパ系の腔内、主な体腔（腹膜、胸膜、心膜）など

【0012】

本発明の組成物においてカプセル化されている細胞には成熟内皮細胞、未成熟内皮細胞、筋細胞、結合組織細胞および神経細胞が含まれる。組成物に使用するための具体的な細胞は治療をする管腔組織に応じて選択される。細胞の例には以下のような分化と未分化（

50

成熟と未成熟)細胞の両方が含まれる:

(a) 分化全能、多能性、多能、前駆幹細胞を含む分化細胞とその原基、SP 細胞、CD34 陰性細胞、CD34 陽性細胞および cKit 陽性細胞のような系統陰性細胞、間葉幹細胞、5-aza の間葉幹細胞、臍帯血細胞、心臓およびその他の組織由来の幹細胞、骨髄全体、骨髄単核細胞、内皮前駆細胞、多能性成体前駆細胞、骨格筋芽細胞(衛星細胞としても知られる)、筋肉由来細胞、go 細胞、5-aza の成体心線維芽細胞、MyoD 瘢痕線維芽細胞、また歩調取り細胞、ES 細胞(胚幹細胞)、ES 細胞クローン、胎児/新生児細胞、奇形腫由来細胞などの遺伝子組み換えが行われている分化細胞

(b) 非角質化扁平内皮細胞などの扁平上皮細胞、例えば肺胞および上部消化管の内皮膜(例:頬および食道)、また主な体腔の中皮膜(例:腹膜、胸膜、心膜)、また心臓、血管、類洞およびリンパ管の内皮膜

(c) 頻繁に腺管の内側を覆う立方上皮細胞

(d) 以下のような部位を覆う円柱上皮細胞:消化管(例:胃および小腸)、女性生殖器管(例:子宮および卵管)、またその他様々な表面

(e) 以下のような部位を覆う多列円柱上皮細胞:呼吸器(例:気管)および男性生殖器の管

(f) 尿道(例:腎盂、尿管、膀胱、尿道)の膨張壁を覆うような移行上皮細胞

(g) 腺上皮

(h) 血管系、泌尿生殖器系、呼吸器および消化管に見られる多くの身体管腔の下に位置する平滑筋細胞

心筋細胞

(j) 線維芽細胞のような結合組織細胞

【0013】

本発明の使用に適したマイクロカプセルのサイズは幅広く、単一細胞の寸法(例:5 ~ 20 ミクロン)から 1000 ミクロンまでに及ぶ。

【0014】

一般に本発明の組成物と併せて使用するマイクロカプセルは、栄養素、酸素、その他細胞の通常の代謝機能を維持するために必要な物質に対する透過性をもつ。細胞膜もまた一般的に、様々な代謝副産物を含む細胞生産物に対して透過性をもつ。このようにして細胞を培養媒体または宿主生物などの適切な環境内で保存すると細胞は生存し続けることができる。細胞膜には好ましくは、リンパ球、巨大タンパク質、また宿主の免疫系から細胞が拒絶されてしまう免疫反応に付随するその他の実体の侵入を十分に防ぐことができる透過性を備える。さらにマイクロカプセル化を行うことで、包まれた細胞が身体への投与中に(例:カテーテルなどの医療機器から)発生する恐れのある圧力低下およびせん断応力による機械的なダメージを受けることを防ぎ、また得られるマイクロカプセルは本発明の組成物が治療部位で接着・付着領域を形成する手助けをするマトリックスを形成する。

【0015】

哺乳類細胞のカプセル化は数十年にわたって実施され、数々のカプセル化技術が長年にわたり開発されている。既知の技術とは、直接多層カプセル化技術、界面カプセル形成技術(例:複合コアセルベーション、界面析出、界面重合)およびその他の技術において得られるカプセル化でのコア形成(例:熱可逆性ゲル化、架橋重合などによるもの)を対象とする。

【0016】

生細胞のカプセル化技術の多くには逆帯電した種との相互作用が伴う。これらは水溶性をもつため、荷電種(例:カチオン、アニオン、両性イオンおよび高分子電解質)は、カプセル化する細胞と比較的生体適合する水性カプセル化システムの開発を実現可能にし、これにより処置の間に細胞が死んだり重大な破損を受けたりすることを防ぐ。

【0017】

高分子電解質とは多数の帯電した(イオンで解離された)基を有する高分子である。通常、高分子電解質にあるこれらの基の数が大きいため、解離形態の高分子は水溶性をもつ

10

20

30

40

50

。解離性基の種別によって、一般に高分子電解質は多塩基酸と多酸塩基に分類される。

【0018】

解離されたときに、カプセル化する細胞の生理的 pH レベルで、多塩基酸は分離されているプロトンでポリアニオンを形成する。多塩基酸には無機高分子、有機高分子および生体高分子がある。多塩基酸には例えば、ポリリン酸、ポリビニル硫酸、ポリビニルスルホン酸、ポリビニルリン酸およびポリカルボン酸が含まれる。この例に対応する塩はポリ塩あるいはポリアニオンとも呼ばれ、ポリリン酸塩、ポリビニル硫酸塩、ポリビニルスルホン酸塩、ポリビニルリン酸塩およびポリカルボキシ酸塩である。一方多酸塩基は、カプセル化する細胞の生理的 pH レベルで塩を酸と反応させることによって、プロトンを受け入れることができる基を有する。解離性基を有する多酸塩基には例えば、ポリアリルアミン、

10

【0019】

発明で使用する高分子電解質に適するものには、生体高分子に基づくものと合成高分子に基づくものがある。直鎖または分岐鎖の高分子電解質を使用することが可能である。分岐鎖の高分子電解質を使用すると多孔性の優れた壁をもつ密度の低い高分子電解質の高分子層が得られる。適切な高分子電解質には、比較的分子量の低い高分子電解質（例：数百ダルトンの分子量をもつ高分子電解質）から巨大分子の高分子電解質（例：一般に数百万ダルトンの分子量をもつ高分子電解質）まで含まれる。

【0020】

20

正電荷を帯びた高分子電解質の具体例には、正電荷を帯びたゼラチン、スペルミジン、ポリ（オルニチン）、ポリ（アルギニン）、ポリ（ヒスチジン）、その他のポリペプチドおよびタンパク質など、またキトサンなどの正電荷を帯びた多糖類といった生理的 pH レベルで正味正電荷を帯びたポリエルリジンおよびその他のポリアミノ酸が含まれる。負の電荷を帯びた高分子電解質の具体例には、アルギン酸ナトリウムなどのアルギン酸塩、ポリグリコール酸（PGA）、ポリ乳酸（PLA）、ポリ-2-ヒドロキシ酪酸（PHB）、ポリカプロラクトン（PCL）、ポリ（乳酸グルコール複合）酸（PLGA）、硫酸プロタミン、アルブミン、カラギナン、フルセララン、ペクチン、キサンタン、ヒアルロン酸、カルボキシルメチル・セルロース・ナトリウム、ヘパリン、ヘパラン硫酸、負電荷のゼラチン、様々なセルロース誘導体（例：カルボキシルメチル・セルロース・ナトリウム、コンドロイチン硫酸、デルマトラン硫酸、デキストラン硫酸、DNA および RNA）などが含まれる。

30

【0021】

生体吸収性のある高分子電解質を使用してカプセル化を行うことで、高分子電解質層の分解速度に応じて様々な実施形態での細胞の放出を制御することが可能になる。本文書で使用する「成体吸収性」材料とは、ある期間にわたる患者への投与において分解、吸収および／または消失過程を辿る材料である。治療する状況に応じて一般的に、1 年未満で 1 日から 2 日間、4 日間、1 週間、2 週間、1 ヶ月間、2 ヶ月間、4 ヶ月間、6 ヶ月間、8 ヶ月間から 1 年までの期間、またその間すべての時点までの期間（消失期間）行われる。

【0022】

40

発明の特定の実施形態では、既知の様々な多層技術を用いて個別細胞と細胞集合体が適切に保護されている。多層技術には静電自己集合による高分子電解質材料を用いたコーティング基質（ここでは細胞または細胞の集合体）が伴う。多層技術において一般に、第一正味電荷を帯びた最初の高分子電解質層が下層の基質の上に堆積し、続いて最初の高分子電解質層の正味電荷と反対の符号をもつ第二正味電荷を帯びた二番目の高分子電解質層のように堆積される。外層の帯電は各高分子電解質層の順次堆積によって逆転される。

【0023】

つまり、細胞表面は頻繁に正味負電荷を帯びることになる。よって正電荷を帯びた高分子電解質を含む溶液で細胞を培養すると、負電荷を帯びた細胞表面に帯電した高分子電解質の層を堆積させることができる。一般に、溶液には生存細胞に悪影響を与えることのな

50

い適切な水性溶媒が含まれる。そのような溶媒は周知のもので、緩衝食塩水や培養媒体などが含まれる。溶液に浸した後、余分なポリカチオンを取り除くために細胞の表面を洗い、次にポリアニオン層を形成するために負電荷を帯びた高分子電解質の溶液にさらす。このようにして多重層を提供することができる。逆帯電した高分子電解質の溶液へ連続して浸すことで所望する多重層を形成することができる。

【0024】

具体的例としては、ポリ（スチレンスルホン酸塩）をポリアニオンにポリ（アリルアミン塩酸塩）をポリカチオンに使用して出芽酵母がカプセル化されている。Diaspro その他、ナノバイオサイエンスにおける IEEE トランザクション、第 1 巻、第 3 号、2002 年 9 月、110 ～ 1115 ページを参照のこと。出芽酵母 はまた硫酸セルロースナトリウムをポリアニオンとして、ポリ（ジメチルジアリルアンモニウムクロライド）をポリカチオンとして用いてカプセル化されている。この結果、カプセル化された微生物には遊離細胞培養と同程度の成長傾向があるということが分かった。Mei LH および Yao SJ の「NaCS-PDAMAAC 高分子電解質複合体でカプセル化された出芽酵母の培養およびモデリング」 マイクロカプセル化ジャーナル、2002 年 7 ～ 8 月；19(4)：397 ～ 405 ページを参照のこと。

【0025】

その他の実施形態では、多孔性シェル内でカプセル化された内部芯材に複数の細胞あるいは細胞集合体が提供される。この種類のマイクロカプセル 200 の具体的な例を図 2 の略図に示す。マイクロカプセル 200 の中には内部芯材 220（例：水性液体芯材、架橋または重合芯材、ゲル芯材のようなその他の種類の芯材）がある。複数の細胞 210（例：扁平上皮細胞のような上皮細胞）が内部芯材 220 にあり、内部芯材 220 は多孔性シェル 30（例：多孔性高分子電解質のシェル）によってカプセル化され、このシェルには略図で示したように気孔 230p がある。

【0026】

このようなマイクロカプセルを形成するために、界面カプセル形成技術（例：複合コアセルベーション、界面析出、界面重合）およびその他の技術において得られるカプセル化でのコア形成（例：熱可逆性ゲル化、架橋、重合によるものなど）を含む様々なカプセル化技術が開発されてきた。

【0027】

例えば、複合コアセルベーションとは二つの逆帯電した高分子電解質の静電相互作用が伴う技術である。この技術では、二つの巨大分子の種において静電相互作用させることで、高分子の多い相または「コアサルベート」と高分子の少ない相または「浮遊物」に分けることができる。カプセル化処理は常温の水性溶液で行うことが可能であり、架橋反応は必要としない。

【0028】

具体的な例として、適切な水性溶媒で第一電荷の第一高分子電解質を分解して形成される第一溶液内で細胞を提供することが可能である。第一高分子電解質と逆帯電した第二高分子電解質を含む第二溶液にこの第一溶液の溶滴をさらすことで、第一溶液と第二溶液との界面でカプセルが形成される。このようにしてマイクロカプセルが形成されると、例えば前に述べたような多層集合を用いて層を追加することができる。第一高分子電解質の溶液の溶滴を第二高分子電解質に加えるなどして、高分子電解質の適切な一致を容易に確認することができる。高分子電解質が適切に一致する場合、第一溶液と第二溶液との界面でマイクロカプセルがすぐに形成される。標準細胞培養体を用いた生体外試験によって、得られたカプセル化構造に十分透過性があるかどうかを簡単に判断することができる。詳細については、Yu その他の米国特許出願公開第 2002/0094569 号を参照すること。上記で述べたように多層自己集合を用いてさらに層を提供することができる。

【0029】

コアセルベーション技術によるカプセル化はポリアニオンとポリカチオンとの様々な組み合わせを用いて実施されてきた。カルボキシルメチル・セルロース、コンドロイチン硫

10

20

30

40

50

酸 A、キトサンおよびポリガラクトロン酸を用いて形成されたあるカプセル化構造はアルギン酸塩とポリリシンのマイクロカプセル（以下に詳述）よりも優れており、また肝臓の内皮細胞の長期生存と成長を助けるということが分かっている。H.W. Matthew その他、「哺乳類細胞の培養および人工臓器の開発のための複合コアサルベートマイクロカプセル」バイオテクノロジーの進歩、1993 年 9 ~ 10 月； 9(5)：510-9 ページを参照のこと。

【0030】

別の研究では、ポリジメチルジアリルアンモニウムクロライドと硫酸セルロースを高分子電解質として用いて雄のウィスターラットの肝細胞をカプセル化している。対照単層培養にみられる減少に反して、アミノ酸の代謝率と細胞の尿素合成は調査期間において増加した。Stange その他、「カプセル化された肝細胞の長期にわたる生化学的および形態学的安定性新しい方法」生体材料人工細胞固定バイオテクノロジー、1993 年；21(3)：343-52 ページを参照のこと。

10

【0031】

別の研究では、マウスの肝細胞をカプセル化するためにアルギン酸ナトリウム、硫酸セルロースおよびポリ（メチレングアニジン複合）塩酸塩の高分子電解質錯体形成が用いられている。これらのカプセルには細胞毒性がなく、また一次マウス肝細胞に対して高い生体適合性を示した。Canaple L, その他、「マルチコンポーネント高分子カプセルにおける第一マウスの肝細胞の保持：生体外冷凍保存研究」肝臓病医学ジャーナル、2001 年；34：11-8 を参照のこと。

【0032】

最後に、キトサンとアルギン酸塩との静電相互作用によって形成されたキトサン／アルギン酸塩カプセル内で肝細胞スフェロイドと肝細胞が固定された。Yu その他、「人工肝臓の開発のためのマウス肝細胞のカプセル化」バイオテクノロジー技術、13 (9)：609-614 ページ、1999 年 9 月を参照のこと。

20

【0033】

複数の細胞または細胞集合体を含む芯材の周辺にカプセルを形成するコアセルベーション以外にも周知の技術がある。例えば、哺乳類細胞のマイクロカプセルを形成するために界面析出が用いられている。この方法では、二つの同心円状に構成された針状物のようなものにて細胞懸濁液と高分子溶液が個別に押し出され、それによって取り囲んでいる高分子溶液の液体シェルを含む細胞懸濁液の芯材が形成される。芯材・シェルの溶滴を槽に落として高分子溶媒を抽出し、固体シェルへと凝固させることができる。ジメチル・スルホキシド（DMSO）、ジメチル・ホルムアミド（DMF）、ジメチル・アセトアミド（DMAc）、フタル酸ジエチルおよびアセトンのような有機溶媒は有機高分子を分解するために使用される。有機溶媒と細胞との接触を避けることはできないが、様々な共押し出し方式を用いて接触を最小限に抑えることができる。詳細については、Hasan Uludag その他、「哺乳類細胞のカプセル化技術」最新薬剤投与のレビュー、42（2000 年）、29 ~ 64 ページを参照のこと。固体シェルが形成されると、高分子電解質層の自己集合技術などによって追加の層を提供することができる。

30

【0034】

架橋剤を含む溶液へ細胞を含む高分子電解質溶液の溶滴を落として、高分子電解質溶液を架橋させて固体層を形成するということも周知である。上記のように、固体層は形成されると高分子電解質層の自己集合技術などによって一つあるいは複数の層でカプセル化することができる。架橋剤にはイオンおよび共有結合の架橋剤が含まれる。

40

【0035】

例えば、高分子電解質が多価イオンなどとイオンで架橋している実施形態もある。適切な架橋イオンには、カルシウム、マグネシウム、バリウム、ストロンチウム、ホウ素、ベリリウム、アルミニウム、鉄、銅、コバルト、鉛および銀の陽イオンから成る基から選ばれた多価カチオンなどがある。多価アニオンにはリン酸塩、クエン酸塩、ホウ酸塩、コハク酸エステル、マレイン酸エステル、アジピン酸塩およびシュウ酸塩のアニオンが含まれる。

50

【0036】

その他の実施形態では、高分子構造において官能基と反応性をもつ多官能性架橋剤などを用いて高分子を共有結合で架橋させる。多官能性架橋剤は高分子の官能基に対して反応性のある官能基を最低でも二つ有する化合物となりえる。一般的な架橋剤にはグルタルアルデヒドがある。多官能性架橋剤は本質的にイオン架橋剤よりも化学的に活性である。

【0037】

イオンおよび／または共有結合での架橋に適した高分子（多くはコアセルベーションにも適した高分子電解質である）は、次のようなものから選ばれる：ポリ（アクリル酸）；ポリ（メタクリル酸）；ポリ（アクリルアミド）；ポリ（N-アルキルアクリルアミド）；ポリ（アルキレン酸化物）；ポリ（エチレンオキシド）；ポリ（酸化プロピレン）；ポリ（ビニルアルコール）；ポリ（ビニル芳香族）；ポリ（ビニルピロリドン）；ポリ（エチレンイミン）；ポリ（エチレンアミン）；ポリ（アクリロニトリル）；ポリ（ビニルスルホン酸）；ポリ（アミド）；ポリ（L-リジン）；親水性ポリウレタン；無水マレイン酸重合体；タンパク質；コラーゲン；エラスチン；メチルセルロース、エチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、酢酸セルロースおよび硫酸セルロースナトリウム塩を含むセルロースとその誘導体；デキストラン；カルボキシメチルデキストラン；変性デキストラン；アルギン酸塩；アルギン酸；ペクチン酸；ヒアルロン酸；ヒアロビウロン酸；ヘパリン；キチン；プルラン；アガロース；アガー；ゼラチン；ジェラン；キサントラン；カードラン；カルボキシメチル澱粉；ヒドロキシメチル澱粉；コンドロイチン硫酸；グアー；澱粉；カラギナン塩；混合物およびその誘導体

【0038】

ある既知の技術に従って、細胞または細胞集合体およびアルギン酸ナトリウムを含む溶液を二価カチオン（例：カルシウムまたはバリウムイオン）の溶液に落とすと、アルギン酸塩がビーズへとゲル化される。アルギン酸塩は負の電荷を帯びているため、ビーズを洗浄してポリカチオン溶液に注入するだけでポリエリジンなどのポリカチオン材料の層を加えることができる。Hasan Uludag その他、「哺乳類細胞のカプセル化技術」最新薬剤投与のレビュー、42（2000年）、29～64ページを参照のこと。

【0039】

さらに別の実施形態では、最初の温度では液体であるが、冷却するとビーズを生成する材料に細胞または細胞集合体が分散されている。そのような材料の周知の例にはアガロースがある。前に述べたように、ビーズが形成されると一つあるいは複数の層が提供される。

【0040】

さらに別の実施形態では逆に、最初の温度では液体として存在するが、過熱するとゲルに変化する材料に細胞または細胞集合体が分散されている。液体からゲルへの遷移が起こる温度は時に下限臨界溶解温度（LCST）と呼ばれ、特定の温度とは異なり狭い温度範囲を有する。LCSTを有する材料はLCST材料と呼ばれることが多い。本発明の実施における代表的なLCSTの範囲は例えば10℃から40℃である。適切なLCST材料には、ポリ（エチレンオキシド）ポリ（酸化プロピレン）（PEO-PP0）共重合体などのポリ（オキシアルケン）高分子と共重合体、また乳酸、グルコールおよびヒドロキシ酪酸といったポリ（ α -ヒドロキシ酸）などの高分子と共重合体との混合物、ポリカプロラクトンおよびポリバレロラクトンなどが挙げられる。ポリオキシアルキレン共重合体はBASFおよびその他の会社がPluronicTMという商標名で販売している。分子量が12,600および14,600である二つの適切な化合物は、PEO-PP0ブロック高分子である各分子量がそれぞれ12,600および14,600のPluronic酸F127およびF108である。各化合物はニュージャージー、マウント・オリブのBASF社から入手可能である。リン酸緩衝食塩水（PBS）の濃度20～28%のPluronic酸F108は適切なLCST材料の例の一つである。PBSの22.5%のPluronic酸F108は有益な調合であり、PBS22%のPluronic酸F108調合におけるLCSTは37℃である。PBSの濃度20～35%のPluronic酸F127は適切なLCST材料のまた別の例であり、PBS20%のPluronic酸F127調合におけるLCSTは37℃である

。代表的な分子量は 5,000 から 25,000 であり、上記で特定した二つの固有の化合物の分子量は 12,600 および 14,600 である。Pluronic 酸 F67 もまたゲル材料との混合物に使用できる。また別の例としては、Polymer Concept Technologies 社の C-flex™ のスチレン-ブタジエンスチレンブロック共重合体がある。LCST 材料に関する詳しい情報については Sahatjian その他の米国特許第 6,565,630号 B2 および第 6,544,227 号 B2、また Slepian その他の米国特許出願公開第 2001/0047147 号で得られ、参照することにより本書に含む。ビーズが形成されると一つあるいは複数の所望するカプセル化層を提供することができる。

【0041】

特に有益な（細胞以外の）芯材には以下のような細胞外物質がある。；粘膜下層、骨髄 ECM および基底膜などの細胞外物質、繊維性材料と基質（例：グリコサミノグリカン、プロテオグリカンおよび糖タンパク質）を含む細胞外物質の様々な構成要素、例えばコラーゲン、ラミニン、エラスチン、フィブロネクチン、ヘパリン硫酸、ヒアルロンデルマタン硫酸、ケラチン硫酸およびコンドロイチン硫酸など；およびポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ-2-ヒドロキシ酪酸、ポリカプロラクトンを含む様々な生分解性高分子、またそれらを含むポリ（乳酸グルコール複合）酸などの共重合体、またその他の材料など。これらの材料はコア形成（例：高分子電解質など）で使用した材料に対応しているか、またはそのような材料を提供することができる。

【0042】

特に有益なシェル材料のうちいくつかは上記で挙げられているが、粘膜下層（多孔性）および前項で挙げられたものを含む様々な生分解性高分子が含まれる。

【0043】

発明の特定の実施形態に従って、マイクロカプセルの外面には、運搬媒体または隣接した管腔組織、あるいはその両方にある実体に対する接着を強化する接着種が提供される。例えばカプセル化構造（つまりシェル）を、細胞への接着を促進する一つあるいは複数の接着種と、管腔壁に見られるその他の構成要素とで（例：カプセル化構造に別々に提供するか、あるいはカプセル化構造で他の材料と結合させるなどして）構成することができる。

【0044】

接着種の例には、アンキリン、カドヘリン（カルシウム依存性接着分子）、N-CAM（カルシウム依存性接着分子）、コネキシン、免疫グロブリン、粘膜付着性物質、シアリル Lex、植物または細菌レクチン（特に上皮細胞膜の糖成分に結合する接着分子）、インテグリン、ラミニン、デルマタン硫酸、エンタクチン、フィブリン、フィブロネクチン、ビメンチン、コラーゲン、糖脂質、グリコホリン、糖タンパク質、ヘパラン硫酸、ヘパリン硫酸、ヒアルロン酸、ケラタン硫酸、プロテオグリカン、スペクトリン、フォン・ヴィレブランド因子、ビンキュリン、ビトロネクチン、また RGD トリペプチド（例：フィブロネクチン、ラミニン、コラーゲン I、コラーゲン IV、トロンプスポンジンおよびテネシンの細胞接着性の一部を担うと特定されているArgGlyAsp）、REDV テトラペプチド（例：内皮細胞を助けると言われる Arg-Glu-Asp-Val、しかし平滑筋細胞、線維芽細胞、血小板の内皮細胞を除く）および YIGSR ペンタペプチド（例：上皮細胞の接着を促進する Try1 leGlySerArg、しかし血小板接着を除く）を含むポリペプチドおよびタンパク質などがある。RGD、REDV および YIGSR ペプチドに関する詳細は米国特許第 6,156,572 号および米国特許出願公開第 2003/0087111 号で得られる。

【0045】

これらの種の多くはリガンド受容体または抗体抗原タイプの相互作用など高選択性の相互作用を示す。様々な粘膜付着性物質を含むものでより幅広い接着を示すものもある。粘膜付着性物質は通常、遊離カルボン酸またはその他のアニオン性基（例：スルホン酸基）をもつ。粘膜付着性物質の具体的例としては、前項で挙げられた粘膜付着性物質の他に次のようなものを含む：アクリル酸高分子および共重合体（例：カルボマー、またカルボポル、ポリカルボフィルなどの誘導体）、ポロキサマー、メチルセルロースなどのセルロー

10

20

30

40

50

ス、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロースおよびその塩、カルボキシエチルセルロースおよびその塩、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、キチン、キトサン、ヒアルロン酸およびその他のグリコサミノグリカン、ペクチン、ゼラチン、グアーガム、キサンタンガム、アラビアガムなどのガム、トラガント、アガロース、アルギン酸塩

【0046】

これらの種の多くはポリアニオンであるため、上記のカプセル化またはコア形成技術の多くに使用することができる。さらに、前に述べたように温度遷移によってその他の種（例：ポロキサマー、アガロースなど）をビーズへ凝固させることが可能である。

【0047】

前に述べたように、発明の組成物では、特に胞組成物の管腔への接着を促す運搬媒体と伴ってカプセル化された哺乳類細胞が身体管腔へ投与される。運搬媒体はまた、マイクロカプセル内に包まれた細胞および適用される管腔細胞と生理学的な適合性をもつように選択される。

【0048】

本発明と共に使用される特に有益な運搬媒体とは、組成物が循環して管腔壁に適合できるような形態で管腔表面へ投与され、投与部位で大量に留まるものである。

【0049】

一般に運搬媒体は高分子であり、よって高分子やマクロマなどを含む一つあるいは複数の高分子で構成されることになる。これらの材料は可溶性または不溶性、天然または人工、生体吸収性または生体非吸収性（生体吸収性が望ましい）となりえる。高分子にはホモポリマー、共重合体またはポリマーブレンドなどが考えられる。様々な実施形態において、運搬媒体で使用される高分子はヒドロゲルである。（これは上記のカプセル化／コア形成技術の多くに当てはまる。）本書で使用するヒドロゲルという用語は少なくとも 10 wt % の水分を含む高分子相を意味する。

【0050】

本発明に伴って使用する運搬媒体は、溶液、懸濁液、分散液、ペースト、ゲルその他様々な流動体（つまり流動できる形態）で提供される。運搬媒体内の高分子材料は様々なメカニズムによって固体に近い状態にすることが可能である。例えば、運搬媒体は温度の変化によって凝固させることができ、またイオンあるいは遊離基の形成に応じて重合可能（例：光重合などによって）となり、また共有結合あるいはイオンによって架橋することができる。

【0051】

結果として、運搬媒体の高分子材料を架橋、重合また次のような様々な方法を用いて凝固させることができる：

(a) 外因性手段の適用、例えば加熱、冷却、超音波、放射線（例：赤外線、可視、紫外線など）の適用、重合剤、架橋剤、キレート剤または触媒などの適用

(b) 内生因子の使用、例えば pH を生理学的 pH へ変化、内因性化学種をカルシウムイオン（例：アルギン酸塩に対して）またはホウ酸イオン（例：ポリビニルアルコールに対して）などの高分子材料へ拡散、温度を体温へと変化させるなど。詳しい情報は Splepian その他の米国特許出願公開第 2001/0047147 号にて得られる。

【0052】

例えば本発明に従った運搬媒体は、最初の温度では液体であるが加熱すると凝固する代表的な高分子材料を用いて形成することが可能である。本目的に適したいくつかの LCST 材料は前に述べられている。運搬媒体として使用すると、これらの材料は室温以下で粘性流体として適用され、管腔表面への適用後に身体の高温で凝固する。

【0053】

その他の運搬媒体は、高温では液体であるが体温で固体になる、代表的な高分子のような材料を含む。例えば、生体内に使用する熱硬化性生分解性高分子が Dunn その他の米国特許第 4,938,763 号で開示されている。

【0054】

別の実施形態では、運搬媒体が多価イオンの存在下で架橋する材料で構成される。イオンで架橋する様々な高分子および本目的に適した多価イオンは上記の通りである。本目的に特に有益な高分子には、カルシウム、バリウム、マグネシウム、銅および鉄などの内因性イオンの存在下で架橋するアルギン酸塩がある。もう一つの方法として、組成物を管腔へ適用する前、あるいは適用した後にこれらのイオンを投与することができる。

【0055】

共有結合の架橋に関して、高分子を含むアミノはいずれも二官能性試薬（例：グルタルアルデヒド、サクシンジアルデヒドなどのジアルデヒド）を用いて共有結合で架橋する。高分子を含む有益なアミノには例えば、ポリペプチドおよびタンパク質が含まれる。

【0056】

光重合を用いて重合、グラフト化および／または架橋することが可能な材料とは、一般に二重結合あるいは三重結合を含む不飽和材料である。適切な材料の例には、ポリ（アクリル酸）（例：様々な CarbopolTM 製品）、ポリ（アクリル酸塩）、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、アクリル化ポリエチレングリコール、エチレン酢酸ビニルなどへ重合することができるモノマーおよびマクロマがある。光重合では通常、光線感作物質、光開始剤、および／または重合を助けるその他の物質の存在が不可欠である。適切な波長をクマル酸およびケイ皮酸の誘導体などの環状二量体化系へ放射することにより光重合は開始される。オレフィンモノマーの放射線分解によりカチオン、アニオンおよび遊離基が形成され、これらすべては連鎖重合、グラフト化および架橋を開始させ、また光重合と同様のモノマーおよびマクロマを重合するために使用される。 α ヒドロキシ酸のバックボーンを重合のためにカルボニウムイオンへ活性化することができる。 $-COOH$ および $-SO_3H$ 官能性を挿入または提供することができ、これは結果としてリガンドを含むアミンに対して反応する。

【0057】

一つあるいは複数の接着種を含めることで、細胞あるいは管腔表面に見られるその他の構成要素と運搬媒体の接着を高めることができる。適切な接着種は例えば上記で挙げられたものから選択できる。そのような種は個別に与える、または運搬媒体内で他の材料と連携させるなどして含めることができる。

【0058】

本発明の運搬媒体で使用するその他の接着種には、内部付着と管腔接着の両方を助ける様々な接着剤がある。例えば、患者自身の体液を用いる、またはトロンビンおよび塩化カルシウムを追加するなどして容易に形成できるという点で、フィブリン接着剤が有利である。

【0059】

粘液（例：ムチンおよび塩分の溶液）を運搬媒体へ用いることも可能である。

【0060】

運搬媒体の粘度を高め、また組成物の定着を助けるために、投与後に本発明の組成物に乾燥剤を提供する実施形態も考えられる。

【0061】

本発明で使用する運搬媒体は、増粘剤または粘度調整剤、適切な pH および浸透圧環境（例：緩衝液、生理食塩水など）を作り出す薬剤、細胞栄養を供給する薬剤、可視性を高める造影剤（例：変色指示薬、超音波造影剤、NMR造影剤、放射線造影剤）、および／または一つあるいは複数の生体活性剤を任意で構成することも可能である。

【0062】

「生体活性剤」「治療薬」「薬学的活性剤」「薬剤」その他関連する用語は本文書では同じ意味で用いられ、遺伝的生体活性剤と非遺伝的生体活性剤を含む。生体活性剤は単独で使用される、または併用される。

【0063】

本発明に関連して使用する非遺伝的生体活性剤の代表的なものは以下の通りである：

(a) ヘパリン、ヘパランの誘導体、ウロキナーゼおよびPPack（デキストロフェニルアラ

10

20

30

40

50

- ニン・プロリン・アルギニン・クロロメチルケトン)などの抗血小板剤
- (b) デキサメタゾン、プレドニゾロン、ブデソニド、エストロゲン、スルファサラジンおよびメサラミンなどのステロイド系および非ステロイド系抗炎症薬
- (c) パクリタキセル、5-フルオロウラシル、シスプラチン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、エポチロン、エンドスタチン、アンギオスタチン、アンギオペプチン、平滑筋細胞の増殖を防ぐ効果をもつ単クローン抗体およびチミジンキナーゼ抑制剤などの抗腫瘍薬、抗増殖剤および抗縮腫薬
- (d) リドカイン、ブピバカイン、ロピバカインなどの麻酔薬
- (e) D-Phe-Pro-Arg クロロメチルケトン、RGD ペプチド含有化合物、ヘパリン、ヒルジン、抗トロンビン化合物、血小板受容体拮抗薬、抗トロンビン抗体、血小板受容体抗体、アスピリン、プロスタグランジン阻害薬、抗血小板薬およびダニ抗血小板ペプチドなどの抗凝血剤
- (f) 成長因子、転写活性因子および翻訳促進剤などの血管細胞成長促進剤
- (g) 成長阻害因子、成長因子受容体拮抗薬、転写抑制体、翻訳抑制体、複製阻害剤、阻害抗体、成長因子に対する抗体、成長因子および細胞毒素で構成される二官能性分子、抗体および細胞毒素で構成される二官能性分子などの血管細胞成長阻害薬
- (h) タンパク質キナーゼおよびチロシンキナーゼ阻害剤（例：チルホスチン、ゲニステイン、キノキサリン）
- (i) プロスタサイクリンおよびプロスタサイクリン類似体
- (j) コレステロール降下薬
- (k) アンジオポイエチン
- (l) トリクロサン、セファロスポリン、アミノグリコシド抗生物質およびニトロフラントインなどの抗菌剤
- (m) 細胞毒性薬、細胞増殖抑制剤および細胞増殖影響因子
- (n) 血管拡張剤
- (o) 内因性血管作用メカニズムを妨害する薬剤
- (p) 単クローン抗体などの白血球動員の阻害薬
- (q) サイトカイン
- (r) ホルモン
- (s) ゲルダナマイシンを含む HSP 90 タンパク質の阻害薬（つまり、分子シャペロンまたはハウスキーピング・タンパク質であり、細胞の成長および生存に關与するその他のクライアントタンパク質やシグナル変換タンパク質の機能および安定性のために必要な熱ショックタンパク質）
- (t) β 遮断薬
- (u) bARKct 阻害薬
- (v) ホスホランバン阻害薬
- (w) Serca 2 遺伝子／タンパク質
- (x) 抗生物質
- (y) 抗ウイルス剤
- (z) チャンネル遮断薬などの鎮痙薬
- (aa) 組織プラスミノゲン活性化因子（TPA）、アニソイル化プラスミノゲン活性化因子（APA）およびアニソイル化プラスミノゲン・ストレプトキナーゼ活性化因子（APSAC）
- (bb) 細胞外物質構成要素、それらの誘導体および受容体
- (cc) 細胞の状態、機能および介入後の臓器障害に対する治療反応を調整するその他の薬剤

【0064】

本発明に關連して使用する典型的な遺伝的生体活性剤には、アンチセンスの DNA と RNA だけでなく様々なタンパク質を暗号化する DNA（またタンパク質それ自体）が含まれる。

- (a) アンチセンスの RNA

- (b) 欠陥または欠損のある内因性分子を置き換える tRNA または rRNA
- (c) 酸性および塩基性の心線維芽細胞成長因子、血管内皮成長因子、内皮細胞分裂増殖因子、表皮成長因子、形質転換成長因子 α および β 、血小板由来内皮成長因子、血小板由来成長因子、腫瘍壊死因子 α 、肝細胞成長因子およびインシュリン様成長因子などの成長因子を含む血管新生因子およびその他の因子
- (d) CD阻害物質を含む細胞周期阻害物質
- (e) チミジンキナーゼ ("TK") および細胞増殖を妨げるその他の薬剤

【0065】

遺伝的生体活性剤を供給するベクターには以下のようなものがある。：アデノウイルス、gutted アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、 α ウイルス（セムリキ森林熱ウイルス、シンドビスウィルなど）、レンチウイルス、単純ヘルペスウイルス、複製構成体ウイルス（例：ONYX-015）およびハイブリッドベクターなどのウイルスベクター；人工染色体およびミニ染色体、プラスミド DNA ベクター（例：pCOR）、カチオン高分子（例：ポリエチレンイミン、ポリエチレンイミン（PEI））、グラフト共重合体（例：ポリエーテル-PEI およびポリエチレンオキシド-PEI）、ポリビニルピロリドン（PVP）また SP1017（SUPRATEK）などの中性高分子、カチオン性脂質、リポソーム、リポプレックスなどの脂質、ナノ粒子またはマクロ粒子のタンパク質形質導入ドメイン（PTD）などの配列を標的としたものと標的としていないもの

【0066】

多様な生体活性剤は前に挙げたものを必ずしも除くとは限らないが、血管治療方法の対象として認識されている。このような薬剤は本発明を実施する上で有益であり、以下のようなものを一つあるいは複数含む：

- (a) ジルチアゼムおよびクレンチアゼムなどのベンゾジアゼピン、ニフェジピン、アムロジピンおよびニカルザピンなどのジヒドロピリジン、ベラパミルなどのフェニルアルキルアミンを含む Ca-チャンネル遮断薬
- (b) ケタンセリンおよびナフチドロフリールなどの 5-HT 拮抗薬、またフルオキセチンなどの 5-HT 吸収阻害剤を含むセロトニン経路調節因子
- (c) シロスタゾールおよびジピリダモールなどのホスホジエステラーゼ阻害剤、ホルスコリンなどのアデニル酸／グアニル酸シクラーゼ刺激剤、またアデノシン類似体を含む環状ヌクレオチド経路エージェント
- (d) プラゾシンおよびブナゾジンなどの α -拮抗薬、プロプラノロールなどの β -拮抗薬、またラベタロールおよびカルベジロールなどの α/β -拮抗薬を含むカテコールアミン調節因子
- (e) エンドセリン受容体拮抗薬
- (f) 以下のものを含む酸化窒素供与体／放出分子：ニトログリセリン、硝酸イソソルビドおよび亜硝酸アミルなどの有機硝酸塩／亜硝酸塩、ニトロプルシドナトリウムなどの無機ニトロソ化合物、モルシドミンおよびリンシドミンなどのシドノニイミン、ジアゼニウムジオレートおよびアルカンジアミンの NO 付加体などのNONOate、低分子量高分子化合物（例：カプトプリル、グルタチオンおよびN-アセチルペニシラミンの S-ニトロソ誘導体）および高分子量高分子化合物（例：タンパク質、ペプチド、オリゴ糖、多糖類、人工高分子／オリゴマーおよび天然高分子／オリゴマーの S-ニトロソ誘導体）を含む S-ニトロソ化合物、また C-ニトロソ化合物、O-ニトロソ化合物、N-ニトロソ化合物および L アルギニン
- (g) シラザプリル、フォシノプリルおよびエナラプリルなどの ACE 阻害剤
- (h) サララシンおよびロサルチンなどの ATII-受容体拮抗薬
- (i) アルブミンおよびポリエチレンオキシドなどの血小板接着阻害剤
- (j) シロスタゾール、アスピリンおよびヴチエノピリジン（チクロピジン、クロピドグレル）を含む血小板凝集阻害剤、またアブシキシマブ、エピチフィバチドおよびチロフィバンなどの GP IIb/IIIa 阻害剤
- (k) ヘパリン、低分子量のヘパリン、デキストラン硫酸および β -シクロデキストリンテ

10

20

30

40

50

トラデカサルフェートなどのヘパリノイドを含む凝固経路調節因子、ヒルジン、ヒルジン類似体、PPACK (D-phe-L-propyl-L-arg-クロロメチルケトン) およびアルガトロバンなどのトロンビン阻害剤、アンチスタチンおよびTAP (ダニ抗凝固剤ペプチド) などの FXa 阻害剤、ワルファリンなどのビタミン K 阻害剤、また活性タンパク質 C

(l) アスピリン、イブプロフェン、フルルビプロフェン、インドメタシンおよびスルフィンピラゾンなどのシクロオキシゲナーゼ経路阻害剤

(m) デキサメタゾン、プレドニゾロン、メタプレドニゾロン、ヒドロコルチゾンなどの天然および人工コルチコステロイド

(n) ノルジヒドログアヤレト酸、カフェ酸などのリポキシゲナーゼ

(o) ロイコトリエン受容体類似体

(p) E および P-セレクチンの類似体

(q) VCAM-1 および ICAM-1 相互作用の阻害剤

(r) プロスタグランジンおよび PGE1 PGI2 などのプロスタグランジンを含むその類似体、またシプロステン、エポプロステノール、カルバサイクリン、イロprostおよびベラprostなどのプロスタサイクリン類似体

(s) ビスホスフォネートを含むミクロファージ活性化阻害剤

(t) ロバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチンシンバスタチンおよびセリバスタチンなどの HMG-CoA 還元酵素阻害剤

(u) 魚油およびオメガ-3-脂肪酸

(v) プロブコール、ビタミンCおよびE、エブセレン、トランス-レチノイン酸および SOD 模倣体などの遊離基捕捉剤/酸化防止剤

(w) 様々な成長因子に影響を与える薬剤には以下のようなものがある。: bFGF 抗体およびキメラ融合タンパク質などの FGF 経路阻害剤、トラピジルなどの PDGF 受容体類似体、アンジオペプチン、オクトレオチドなどのソマトスタチンを含む IGF 経路エージェン、ポリアニオン性のエージェン (ヘパリン、フコイジン)、デコリンおよびTGF-β 抗体などの TGF-β 経路阻害剤、EGF 抗体、受容体類似体およびキメラ融合タンパク質などの EGF 経路阻害剤、サリドマイドなどの TNF-α 経路阻害剤およびそれらの類似体、スロトロバン、バピprost、ダゾキシベンおよびリドグレルなどの トロンボキサン A2 (TXA2) 経路調節因子、またチルホスチン、ゲニステインおよびキノキサリン誘導体などのタンパク質チロシンキナーゼ

(x) マリマスタット、アイロマスタットおよびメタスタットなどの MMP 経路阻害剤

(y) サイトカラシン B などの細胞運動阻害剤

(z) プリン類似体 (例: 塩化プリンスクレオシド類似体である6-メルカプロプリンまたはクラドリピン)、ピリミジン類似体 (例: シタラビンおよび5-フルオロウラシル)、メトトレキサート、ナイトロジェンマスタード、アルキルスルホン酸塩、エチレンイミン、抗生物質 (例: ダウノルビシン、ドキソルビシン)、ニトロソウレア、シスプラチン、微小管動態に影響を与えるエージェン (例: ビンブラスチン、ビンクリスチン、コルヒチン、Epo D、タキソールおよびエポチロン)、カスパーゼ活性剤、プロテアソーム阻害剤、血管形成阻害剤 (例: エンドスタチン、アンギオスタチンおよびスクアラミン)、ラパマイシン、セリバスタチン、フラボプリドール、スラミンなどの代謝拮抗物質を含む抗増殖剤/抗腫瘍薬

(aa) ハロフジノン、またはその他のキナゾリノン誘導体、トラニラストなどのマトリックス堆積/組織化経路阻害剤

(bb) VEGF および RGD ペプチドなどの内皮細胞増殖促進剤、および

(cc) ペントキシフィリンなどの血液レオロジー調節因子

【0067】

本発明の実施において有益である追加の多様な生体活性剤は NeoRx 社に与えられた米国特許第 5,733,975 号で開示されており、その全開示は参照することにより本文書に含まれる。

【0068】

10

20

30

40

50

本発明の投与形態に関連して、幅広い生体活性剤の負荷を薬学的に有効な量で行うことが可能である。この有効量は当業者により容易に決定され、最終的には生体活性剤自体の性質、つまり投与形態が適用される組織に基づくなどして決定される。

【0069】

多様な医療機器および技術を用いて本発明の組成物を適用することが可能である。例えば、治療を受けている特定の管腔に応じた性質の組成物がその管腔へ適用される。

【0070】

適切な医療機器とは治療用組成物を腔内へ提供するためのもので、溶射、押し出し、物理的転送（例：ブラッシング、ローリングなど）するなどして本発明に従った治療用組成物が管腔表面へ適用される。場合によって、複数の組成物（例：マイクロカプセル内に分散している運搬媒体を含む組成物、また架橋・重合組成物などの凝固組成物）を投入するための医療機器が備えられる。

10

【0071】

適用された組成物の凝固を促進するエネルギーを加えたり取り除いたりするための医療機器が備えられる実施形態も考えられる。例えば、冷却流動体を噴射したり、冷却流動体をカテーテルバルーンへ取り入れることで熱を取り除くことができ、また加熱流動体を噴射したり、加熱流動体をカテーテルバルーンへ取り入れることで熱を加えることができる。赤外線、可視、紫外線の放射、または高周波（例：マイクロウェーブ）その他の種類の組成物への放射に適している、放射コンポーネントを装置へ取り入れるなどしてエネルギーを加えることができる。

20

【0072】

ある実施形態では、それぞれ異なる種類のマイクロカプセル化された細胞、異なるマイクロカプセルの芯材、および／または異なる運搬媒体材料を有する本発明の多重層の組成物が身体管腔へ適用され、適用された組成物にて置き換える細胞の生理的機能を上手く模倣することが可能になる。例えば、治療中の血管の局部で ECM コンポーネント、カプセル化された心線維芽細胞および／または平滑筋細胞を含む最初の層が適用され、カプセル化された扁平上皮細胞、血管細胞または内皮細胞、あるいは幹細胞などの親細胞を含む第二の層が適用される。

【0073】

この具体的な例は図 3A-3D に関連している。図 3A を参照すると、食道表面の粘膜 316 と粘膜下層 314 の組織層にある開孔 318 が示されており、これは胃食道逆流症に苦しむ患者の下部食道括約筋の部分から異常な円柱細胞（つまり、バレット上皮）を外科切除することによって生じたものである。また筋層 312 および漿膜 310 も略図で示されている。

30

【0074】

ここで図 3B を参照すると、適切な運搬媒体 110 に分散したカプセル化された扁平上皮細胞 120 を含む本発明に従った組織工学組成物 100 が、図 3A で示した開孔 318 を埋めるために用いられている。組織工学組成物 100 は例えば、内視鏡（図示されていない）の作業管にて組織障害まで導かれたカテーテルを用いて適用される。例えば、カテーテルの近位端に組織工学組成物で満たされた注射器が取り付けられており、カテーテルの遠位端から組織障害箇所まで押し出す場合もある。そのような方法の利点は、十分に柔軟性のある運搬媒体（例：ヒドロゲル）を選択すると、蠕動を阻害することなく組成物が蠕動中に食道壁に伴って（引き離されることなく）移動するという点である。組成物は食道壁の表面の起伏にも適合する。

40

【0075】

時間とともにマイクロカプセル 120 内の細胞は分裂を始め、外側のシェルは図 3C で示されるように扁平上皮細胞 120 を放出しながら徐々に失われる。培養された細胞は、組織および／または宿主により供給される栄養素および成長ホルモンの影響下で増殖し続け、自身を処置部位に取り込ませる。同時に、障害箇所の周囲の健康な細胞もまた、増殖するように刺激され、図3Cに示されるように、最終的に健康な内皮組織層318が形成され

50

る。

【0076】

多様な実施形態を本文書で特に図示および説明しているが、本発明の修正および差異は前に述べた技術によって網羅されており、またこれらは本発明の主旨および意図される主旨から外れることなく付随する請求項の趣旨の範囲内であるものとする。

【図面の簡単な説明】

【0077】

【図1】本発明の実施形態に従う組織工学組成物の概略図である。

【図2】本発明の組織工学組成物で使用されるマイクロカプセルの概略図である。

【図3A】胃食道逆流症に苦しむ患者の下部食道括約筋の部分から異常な円柱細胞（つまり、バレット上皮）を外科切除することによって生じた局部への治療に対する、本発明の組織工学組成物の使用を示す概略図である。

10

【図3B】胃食道逆流症に苦しむ患者の下部食道括約筋の部分から異常な円柱細胞（つまり、バレット上皮）を外科切除することによって生じた局部への治療に対する、本発明の組織工学組成物の使用を示す概略図である。

【図3C】胃食道逆流症に苦しむ患者の下部食道括約筋の部分から異常な円柱細胞（つまり、バレット上皮）を外科切除することによって生じた局部への治療に対する、本発明の組織工学組成物の使用を示す概略図である。

【図3D】胃食道逆流症に苦しむ患者の下部食道括約筋の部分から異常な円柱細胞（つまり、バレット上皮）を外科切除することによって生じた局部への治療に対する、本発明の組織工学組成物の使用を示す概略図である。

20

【図1】

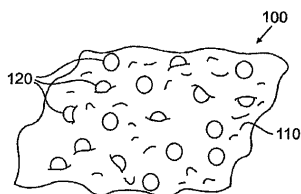


FIG. 1

【図2】

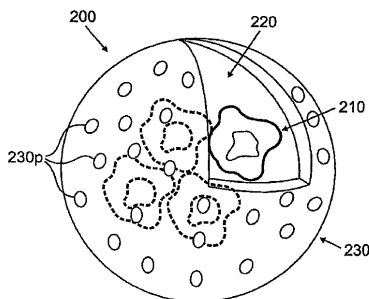


FIG. 2

【図3B】

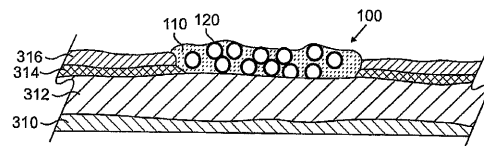


FIG. 3B

【図3C】

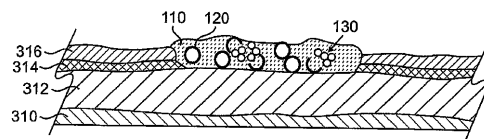


FIG. 3C

【図3D】

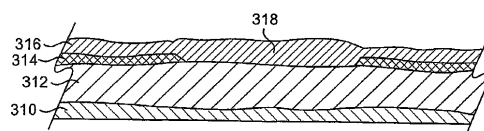


FIG. 3D

【図3A】

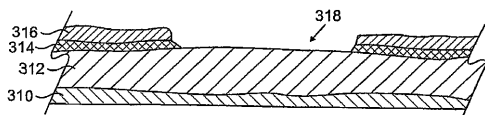


FIG. 3A

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 38/27 (2006.01) A 6 1 K 37/36
A 6 1 P 9/00 (2006.01) A 6 1 P 9/00

(72)発明者 レベンダスキー, ジョセフ, エー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 04150, グロトン, ナシュア ロード 34

審査官 辰己 雅夫

(56)参考文献 国際公開第2004/058305 (WO, A1)
国際公開第2004/032881 (WO, A1)
特表平09-510703 (JP, A)
特表2002-543109 (JP, A)
特表平06-508369 (JP, A)
特表2005-500085 (JP, A)
国際公開第2004/110347 (WO, A1)
米国特許出願公開第2002/0094569 (US, A1)
特表平11-501514 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 6 1 K 9/00- 9/72
A 6 1 K 47/00-47/48
A 6 1 L 15/00-33/00