

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6498186号
(P6498186)

(45) 発行日 平成31年4月10日(2019.4.10)

(24) 登録日 平成31年3月22日(2019.3.22)

(51) Int.Cl.

F 1

A 6 1 F 2/06 (2013.01)

A 6 1 F 2/06

請求項の数 7 (全 26 頁)

(21) 出願番号	特願2016-516262 (P2016-516262)	(73) 特許権者	515331772
(86) (22) 出願日	平成26年6月2日(2014.6.2)		ゼルティス ペーフェー
(65) 公表番号	特表2016-523604 (P2016-523604A)		オランダ王国 5 6 1 2 エイアール ア
(43) 公表日	平成28年8月12日(2016.8.12)		イントホーフエン リスモーテル 3 1
(86) 国際出願番号	PCT/IB2014/002054	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開番号	W02015/008152		弁理士 清水 初志
(87) 国際公開日	平成27年1月22日(2015.1.22)	(74) 代理人	100102118
審査請求日	平成29年5月30日(2017.5.30)		弁理士 春名 雅夫
(31) 優先権主張番号	61/829, 810	(74) 代理人	100160923
(32) 優先日	平成25年5月31日(2013.5.31)		弁理士 山口 裕孝
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
		(74) 代理人	100142929
			弁理士 井上 隆一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血管組織の修復および操作のための方法および構成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

罹患動脈の内表面に配置可能な合成された弾性内膜層を含む、動脈の罹患内膜層を再建するための人工層基材であって、該人工層基材は、単一層の該合成された弾性内膜層であり、該人工層基材は、円柱状またはシート状に前もって形成されており、

該合成された弾性内膜層が、100マイクロメートル未満の厚みを有するエレクトロスピンニングされた生体吸収性繊維ポリマー層であり；

該合成された弾性内膜層自体がその外表面付近に、動脈内に送達されると該外表面を罹患動脈の内表面の壁に接着させることを可能にする接着特徴を有し；

該合成された弾性内膜層が、動脈内に送達されると細胞の内方成長を可能にする細孔を有し；

該合成された弾性内膜層が動脈内に送達されると時間の経過とともに生体に吸収され；

かつ

細胞の内方成長と該外表面の該内表面の壁への接着の結果として、該生体吸収性の合成された弾性内膜層が、新たに再建された内膜層によって置換されることが可能である、人工層基材。

【請求項 2】

合成された弾性内膜層が、動脈内に送達されると該外表面を罹患動脈の内表面の壁に接着させることを可能にする機能化された外表面を有する、請求項 1 に記載の人工層基材。

【請求項 3】

10

20

機能化された外表面が、接着ペプチドを含む、請求項 2 に記載の人工層基材。

【請求項 4】

合成された弾性内膜層が、エラスチン様ポリマー(ELP)、ポリグリコール酸(PGA)、ポリ乳酸(PLA)、ポリカプロラクトン、ポリヒドロキシアルカノアート、ポリフマラート、およびこれらの誘導体から選ばれる吸収性のポリマーまたはコポリマーを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項記載の人工層基材。

【請求項 5】

コラーゲン、フィブリン、およびエラスチンから選ばれる生物学的材料をさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項記載の人工層基材。

【請求項 6】

前記合成された弾性内膜層が、50.8マイクロメートル未満の厚みを有する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項記載の人工層基材。

【請求項 7】

前記合成された弾性内膜層が、25.4マイクロメートル未満の厚みを有する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項記載の人工層基材。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

分野

本開示は、特に、罹患した、閉塞した、またはそうでなければ損傷した血管を治療するための、血管の修復、組織の再生、または操作のための構成物および方法に関する。

【背景技術】

【0002】

背景

アテローム性動脈硬化は、心血管疾患(CVD)の主な原因である。これは、内膜で始まり、最終的には血管全体の完全性およびその開存性を損なって、血流を妨害し、血液を供給される器官の虚血を引き起こす、進行性で慢性の動脈変性である。内膜は、動脈の最内層である。これは、血管の中膜から管腔までに及び、内弾性板および内皮細胞層で構成されている。これは、結合組織、特にプロテオグリカンに富んでいる。アテローム性動脈硬化では、内膜が肥厚し、そのために管腔が狭小化する。既に狭小化した動脈管腔に付着しているアテローム性動脈硬化プラークは、治療されなければ、血管の完全な閉塞を招き得るか、または崩壊して、管腔の遠位部を閉塞させる場合がある(図1)。

【0003】

悪化したアテローム性動脈硬化(管腔閉塞)は、不安定狭心症から心筋梗塞、重症虚血肢から下肢の壊疽、脳の一過性虚血発作から虚血性卒中まで、様々な症状発現をもたらす。世界規模の統計によって、アテローム性動脈硬化が、労働年齢および生殖可能年齢の者を含む若年者を冒していることが明らかにされた。アテローム性動脈硬化によって冒される器官は、脳および心臓だけに限られず、腎臓、消化管、および下肢を含む身体の他のすべての器官も同様に冒される。この疾患のリスクが最も高い集団は糖尿病患者、すなわち、末梢動脈閉塞が原因で下肢切断を受ける最大の患者集団であり、この処置は、今日でさえ、30秒毎に起こっている。

【0004】

慢性動脈閉塞の外科的治療法の目的は、動脈の流れを復旧することによって、結果として起こる虚血を軽減し、それらの動脈によって血液を送られる器官または組織の変性を予防すること、すなわち、虚血性の心臓、脳、腕、脚、および他の器官に血行を再建して、それらの喪失を回避することである。

【0005】

1950年代に確率された血行再建のための主要技術は、人工の管状グラフトを挿入することによって閉塞を「迂回する」こと、または自己の(native)静脈を移植して動脈流が閉塞を通り越すように経路変更して、罹患した動脈部分を単独で劣化させる(degenerate)こと

10

20

30

40

50

である。1970年代に新しい概念が導入され、急速に「血管形成」技術に発達した。この技術は、バルーンを高圧で膨らませて内膜プラークを移動させることにより、閉塞した動脈に再び経路を形成する(re-channel)ことを狙いとする。この行為は、より大きな血管管腔を作るために、動脈全体をいっばいに広げ、プラークを圧縮する。このようなプラークは、血管形成術の結果として分解して、そのうちに、下流に流れる碎片を生じ、より小さな血管を閉塞させて、最終的に(definitive)標的組織(例えば、足、脳、または心臓)を損傷させる。場合によっては、破片は、その下にある中膜から分離して、再び開放しようとしているまさにその血管を閉塞させる。通常、後者の現象は、「ステント」と呼ばれる管腔内器具を用いて調整され、ステントは、堅い支柱が与える半径方向の力によって、強制的に壁を広げた(opened)ままにする。バイパス手術をした場合は、自己静脈または人工グラフトは数年以内に閉塞し、血管形成術の場合は、処置した部分における疾患の再発(再狭窄)が、血管の長期の開存性に影響を及ぼすため、どの血行再建技術も、疾患の一時的な解決法を提供するにすぎない。さらに、これらの技術またはそれらを支持する理論のどれも、生来の(native)動脈を治癒または再生することを狙いとしていない。

10

【0006】

アテローム性動脈硬化は、先進諸国におけるCVDの主要原因および死亡原因の第1位であるだけでなく、びまん性(CV系全体に影響を及ぼす)、多病巣性(臨床的発生(eruption)が、単一の患者の多数の器官に影響を及ぼし得る)、かつ再発性であるという点で、独特な疾患でもある。

【0007】

20

したがって、必要とされているのは、冒された血管の罹患部分を再生することにより、CVDの徴候のいずれかの影響を受けている患者のために生体適合性かつ決定的な治療を提供する、組織工学的アプローチである。

【発明の概要】

【0008】

概要

本発明は、組織工学的操作に適した足場からできている生体適合性で吸収性の人工層を含み、かつ宿主細胞の接着のための要素を有する、構成物を提供する。1つの態様において、人工層は、組織再生を導くための、血管内表面に沿った足場を提供する。いくつかの態様において、人工層は、滑らかかつ均一な動脈内層を再建するために、アテローム性動脈硬化プラークまたは動脈壁の傷(defect)をふさぐ(fill)ことができる。さらなる態様において、この人工層は、アテローム性動脈硬化プラークの破裂または分解を防止または修復するために、アテローム性動脈硬化プラークと均質化することができる。この構成物は、インサイチューで血管中に人工層を形成するヒドロゲルを含んでよい。この構成物はまた、中空の円柱状複合体として前もって形成されている人工層を含んでもよい。いくつかの態様において、人工層は、複数の中空の管状複合体を含む。1つの態様において、人工層はポリマーを含む。いくつかの態様において、ポリマーは、生体適合性である。いくつかの態様において、ポリマーは、吸収性である。1つの特定の態様において、人工層は、血管において人工内膜層の役割を果たす。別の態様において、人工層は、内弾性板の役割を果たす。別の態様において、人工層は、血管を修復するための基材を提供する。

30

40

【0009】

本発明の人工層は、内表面および外表面を有し得る。1つの態様において、人工層の外表面は、血管の内表面に接着する。いくつかの態様において、人工層の外表面は、RGDペプチドを含む。別の態様において、外表面は、血管中膜層(media layer)の形成のための基材を提供する。1つの態様において、内表面は、内皮細胞または前駆細胞を含む組織層の形成のための基材を提供する。さらなる態様において、上記の組織層は、血管の内膜層である。別の態様において、組織層は、血管の内弾性板である。

【0010】

1つの局面において、本発明の人工層は、多孔性である。別の局面において、人工層は、弾性である。さらに別の局面において、人工層は、剪断応力に対して耐性である。

50

【0011】

1つの態様において、宿主細胞の接着のための要素は、シグナル伝達要素を含む。別の態様において、このシグナル伝達要素は、少なくとも1つの接着ドメインを含む生物活性ポリマーである。さらに別の態様において、宿主細胞の接着のための要素は、複数のナノスケールの細孔を含む。いくつかの態様において、血管組織細胞の接着のための要素は、少なくとも1つの細孔を含む。

【0012】

いくつかの態様において、人工層はヒドロゲルである。いくつかの態様において、人工層は、熱的または化学的に感受性である。いくつかの態様において、人工層は、体温で相転移を起こす。いくつかの態様において、人工層は、体温でゼリー状になるか、または凝固する。いくつかの態様において、人工層は、体温より低い温度では、液体である。

10

【0013】

1つの態様において、人工層は、ポリマーを含むメッシュを含む。いくつかの態様において、人工層は、ポリマーを含む多数のメッシュを含む。いくつかの態様において、ポリマーは、生体適合性である。いくつかの態様において、ポリマーは、吸収性である。いくつかの態様において、ポリマーは、生体吸収性である。

【0014】

本発明は、組織の修復または操作を必要とする血管を特定する段階;および本発明のある態様の構成物(例えば、構造を与えられた足場要素(structured scaffolding element))をその血管中に挿入する段階を含む、血管を組織工学的に操作する方法もさらに提供する。1つの態様において、この方法は、血管の内膜層を再生する。いくつかの態様において、人工層は、生来の血管中膜の細胞の増殖を制御する。いくつかの態様において、この方法はインビボで実施される。他の態様において、この方法はエクスピボで実施される。

20

【0015】

また、心血管疾患を有する患者を治療する方法も本明細書において提供され、組織の修復または操作を必要とする患者の血管を特定する段階、その血管の中心部分を取り除く(coring)段階、および本発明の構成物(例えば、構造を与えられた足場要素)をその血管中に挿入する段階を含む方法が、提供される。1つの局面において、中心部分を取り除く段階は、血管からプラークを少なくとも部分的に除去するための方法である。いくつかの局面において、中心部分を取り除く段階は、血管の内表面に沿って中膜層を露出させる、血管の根治的減量術(radical debulking)である。別の局面において、露出した中膜層は、本発明のある態様の構成物の挿入後に、構成物と接触する。別の局面において、中心部分を取り除く段階は、バルーン血管形成術、エンドアテレクトミー(endoatherectomy)、または根治的減量術であり得る。いくつかの態様において、本発明の方法のある態様によって治療される心血管疾患は、アテローム性動脈硬化である。いくつかの態様において、この方法はインビボで実施される。他の態様において、この方法はエクスピボで実施される。本発明の組織の再生または操作の方法は、インビボまたはエクスピボの両方で、例えば、移植される血管、組織、または器官において実施され得る。

30

【0016】

また、生体適合性で生体吸収性の人工層を含む構成物も本明細書において提供され、その際、人工層は、細胞または組織への接着のための要素を含み、組織形成を導くための足場を提供する。いくつかの態様において、人工層はヒドロゲルである。いくつかの態様において、人工層は多孔性である。1つの態様において、人工層は、細胞または組織に結合するための結合部分を含む。1つの態様において、結合部分は、細胞または組織に結合できるポリペプチドを含む。いくつかの態様において、構成物は、送達される際に液状形態であり、この構成物は、送達後に相転移を起こしてゲルまたは固体になる。いくつかの態様において、構成物は、温度感受性である。いくつかの態様において、構成物は、体温で凝固する。いくつかの態様において、構成物は、化学物質を添加すると凝固する。

40

【0017】

また、組織を修復するまたは操作する方法も本明細書において提供され、この方法は、

50

組織の修復または操作を必要とする組織を特定する段階、およびその組織の表面に本発明の構成物を送達する段階を含む。1つの態様において、送達される構成物は、送達前は液状形態であり、送達後は固体またはゲル形態である。

[本発明1001]

生体適合性で生体吸収性の人工層を含む構成物であって、該人工層が、血管組織細胞への接着のための要素を含み、該人工層が、組織形成を導くための足場を提供し、かつ該人工層が、血管の内表面に接着する、構成物。

[本発明1002]

人工層が、血管の内部に適用されるヒドロゲル配合物から形成され、該人工層が内表面および外表面を含み、該外表面が、該血管の内表面に接着し、該内表面が、内皮細胞または前駆細胞を含み、かつ該内表面および外表面が細孔を含む、本発明1001の構成物。

10

[本発明1003]

人工層が、インサイチューで血管中に該人工層を形成するヒドロゲルもさらに含む、本発明1001の構成物。

[本発明1004]

人工層が、前もって形成された中空の管状複合体を含む、本発明1001の構成物。

[本発明1005]

人工層がポリマーを含む、本発明1004の構成物。

[本発明1006]

ポリマーが生体適合性である、本発明1005の構成物。

20

[本発明1007]

ポリマーが吸収性である、本発明1006の構成物。

[本発明1008]

人工層が、複数の中空の管状複合体を含む、本発明1001の構成物。

[本発明1009]

人工層が、血管中で人工内膜層を形成する、本発明1001～1004のいずれかの構成物。

[本発明1010]

外表面および内表面を含む、本発明1001～1009のいずれかの構成物。

[本発明1011]

構成物の外表面が、血管の内表面に接着する、本発明1010の構成物。

30

[本発明1012]

外表面がRGDペプチドを含む、本発明1011の構成物。

[本発明1013]

構成物の外表面が、血管中膜層の形成のための基材を提供する、本発明1010の構成物。

[本発明1014]

構成物の内表面が、内皮細胞または前駆細胞を含む組織層の形成のための基材を提供する、本発明1010の構成物。

[本発明1015]

組織層が、血管の内膜層または内弾性板である、本発明1014の構成物。

[本発明1016]

人工層が多孔性である、本発明1001～1015のいずれかの構成物。

40

[本発明1017]

人工層が弾性である、本発明1001～1016のいずれかの構成物。

[本発明1018]

人工層が剪断応力に耐性である、本発明1001～1017のいずれかの構成物。

[本発明1019]

血管組織細胞の接着のための要素がシグナル伝達要素を含む、本発明1001～1018のいずれかの構成物。

[本発明1020]

シグナル伝達要素が、少なくとも1つの接着ドメインを含む生物活性ポリマーである、

50

本発明1019の構成物。

[本発明1021]

血管組織細胞の接着のための要素が少なくとも1つの細孔を含む、本発明1001～1020のいずれかの構成物。

[本発明1022]

人工層がヒドロゲルである、本発明1001～1021のいずれかの構成物。

[本発明1023]

人工層が熱的または化学的に感受性である、本発明1001～1022のいずれかの構成物。

[本発明1024]

人工層が体温で相転移を起こす、本発明1001～1022のいずれかの構成物。

10

[本発明1025]

人工層が体温でゼリー状になるか、または凝固する、本発明1001～1022のいずれかの構成物。

[本発明1026]

人工層が体温未満の温度で液体である、本発明1001～1022のいずれかの構成物。

[本発明1027]

人工層が、ポリマーを含む1つのメッシュまたは多数のメッシュを含む、本発明1001～1026のいずれかの構成物。

[本発明1028]

ポリマーが生体適合性である、本発明1027の構成物。

20

[本発明1029]

ポリマーが吸収性である、本発明1027の構成物。

[本発明1030]

以下の段階を含む、血管を組織工学的に操作する方法：

a. 組織の修復または操作を必要とする血管を特定する段階；および

b. 本発明1001～1029のいずれかの構成物を該血管中に挿入する段階。

[本発明1031]

血管の内膜層が再生される、本発明1030の方法。

[本発明1032]

人工層が、生来の血管中膜の細胞の増殖を制御する、本発明1030または1031の方法。

30

[本発明1033]

インビボまたはエキスビボで実施される、本発明1030～1032のいずれかの方法。

[本発明1034]

以下の段階を含む、心血管疾患を有する患者を治療する方法：

a. 組織の修復または操作を必要とする患者の血管を特定する段階；

b. 該血管の中心部分を取り除く(coring)段階；および

c. 本発明1001～1029のいずれかの構成物を該血管中に挿入する段階。

[本発明1035]

中心部分を取り除く段階が、血管からプラークを少なくとも部分的に除去するための方法である、本発明1034の方法。

40

[本発明1036]

中心部分を取り除く段階が、血管の内表面に沿って中膜層を露出させる、血管の根治的減量術(radical debulking)である、本発明1034の方法。

[本発明1037]

露出した中膜層が構成物と接触する、本発明1036の方法。

[本発明1038]

中心部分を取り除く段階が、バルーン血管形成術、外科的または閉鎖式(close)もしくは血管内のエンドアテレクトミー、および根治的アテローム性動脈硬化プラーク減量術からなる群より選択される方法によって実施される、本発明1034の方法。

[本発明1039]

50

心血管疾患がアテローム性動脈硬化である、本発明1034の方法。

[本発明1040]

インビボまたはエクスビボで実施される、本発明1034の方法。

[本発明1041]

生体適合性で生体吸収性の人工層を含む構成物であって、該人工層が、細胞または組織への接着のための要素を含み、該人工層が、組織形成を導くための足場を提供する、構成物。

[本発明1042]

人工層がヒドロゲルである、本発明1041の構成物。

[本発明1043]

人工層が多孔性である、本発明1041または1042の構成物。

[本発明1044]

人工層が、細胞または組織に結合するための結合部分を含む、本発明1041～1043のいずれかの構成物。

[本発明1045]

結合部分が、細胞または組織に結合できるポリペプチドを含む、本発明1044の構成物。

[本発明1046]

送達される際に液状形態であり、送達後に相転移を起こしてゲルまたは固体になる、本発明1041～1045のいずれかの構成物。

[本発明1047]

温度感受性である、本発明1046の構成物。

[本発明1048]

体温で凝固する、本発明1046の構成物。

[本発明1049]

化学物質を添加すると凝固する、本発明1046の構成物。

[本発明1050]

以下の段階を含む、組織を修復するまたは操作する方法:

a. 組織の修復または操作を必要とする組織を特定する段階;および

b. 該組織の表面に本発明1041～1049のいずれかの構成物を送達する段階。

[本発明1051]

構成物が、送達前は液状形態であり、送達後は固体またはゲル形態である、本発明1050の方法。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】血管におけるアテローム性動脈硬化の進行の段階。

【図2】正常期、閉塞期、および治療後の段階の血管の断面図。この図は、従来のバルーン血管形成術(血管管腔を拡大するためのプラーク破裂)後の血管(a)と根切的動脈内膜切除術(endo-arterectomy)または減量術(プラーク除去)後の血管(b)の比較を提供し、両方の図において、人工内膜層(SIL)が再生された内膜によって置き換えられた後に滑らかな内表面および再構成された内膜を直ちに実現するためにSILまたは人工内膜弾性層(SIEL)を適用した結果を提供する。

【図3】円柱状の層の内層および外層ならびに円柱状の層の中の補強繊維の図。

【図4】一重のメッシュまたは層状のメッシュとして前もって形成された円柱状人工層を血管中に挿入する際の図。図4Aは、円柱状人工層を導くのに使用される放射線不透過性マーカーの付いたバルーンカテーテルを介した、円柱状人工層の挿入を示す。図4Bは、ステントネットを用いる、血管中への円柱状層の挿入を示す。

【図5】血管表面に噴霧することによる、液相状態の足場のヒドロゲル配合物の配置を示す図。凝固した足場の内層および外層を描いている。これらの層の相対的な孔径を表しており、(血管の内壁に付着する)外層の方が、内層よりも大きな細孔を含んでいる。

【図6】温度感受性ヒドロゲル配合物の送達システムの態様の図。足場は、2つの二重コ

10

20

30

40

50

ンプライアントバルーンの間窓付き(windowed)カテーテル部分によって、液相状態で送達される。この設計された送達システムにより、治療しようとする動脈部分の血流を遮断している間に、足場の熱固化または自己固化するヒドロゲル配合物を安全に送達して、血管への送達後に足場ヒドロゲルが相転移、凝固、または反応するのに十分な時間を与えることが可能になる。

【図7】二重管腔フォガーティバルーン(Fogarty Balloon)、SIEL AR(Synthetic Intimal Elastic Layer for Arterial regeneration)噴霧系、およびガードワイヤー(Guardwire)を用いる液相足場送達システムの代替態様の図。

【図8】血管中に配置された後に、例えば、温度感受性であり得るか、自己固化し得るか、または化学的に固化し得るヒドロゲル足場の保管および送達の態様の図。パートA)において、標的血管中で放出するための、操作された(engineered)足場の送達バルーンカテーテル上への配置が示される。パートB)において、足場は、ヒドロゲルとして形成され、送達バルーン上に噴霧もしくは浸漬または重ねることによって配置される。保管のための選択的工程(例えば、凍結乾燥、脱水、または凝固)の後、足場は、パートC)に示すように標的血管に対して適切な大きさに作られたバルーンカテーテルを膨らませることによって、送達される。足場の表面は、血管への付着のための特殊な要素を含んでおり、送達バルーン材料から全面的に離れて血管内壁へ移動することが可能になる。足場が血管に全面的に移動することにより、パートD)に示すように、積み荷を降ろした(downloaded)送達システムを引っ込めることが可能になる。パートE)は、材料の均一な放出および移動を検査するために、メチレンブルーで色を付けられ、紙筒中に配置された、ヒドロゲル配合物の足場を示す。

【図9】生体吸収性足場(この場合、生来のウサギ大動脈上に送達され、自留する、エラスチン様組換えポリマー)の繊維メッシュを伴うウサギ大動脈の断面画像。A)大動脈内表面への足場外表面のRGD部分の効率的な超接着特性を示している、生来の大動脈に圧力を加えずに適用されたポリマーメッシュ。B)動脈壁への完全かつ全面的な接着を示している、低圧(2atm)で膨らませたバルーンを用いて配置されたポリマーメッシュ。この写真は、足場の超接着性および動脈内側の滑らかな層を作り出すその能力を示している。

【図10】生来のウサギ大動脈上に配置された、RGDによって強化したヒドロゲル足場(エラスチン様ポリマーを含む)の40倍に拡大した画像。配置は、組織に加えられる延伸力の非存在下で、低い膨張圧のバルーンカテーテルによって実施した。

【図11】薄いタイプの人工内膜弾性層を適用した後のウサギ大動脈の組織学的切片の20倍(a)および一部分(particular)の40倍(b)。この例において、生来のものと同じ厚さの人工内膜/弾性層を作製し、送達し、かつ保持する能力が示される。

【発明を実施するための形態】

【0019】

詳細な説明

本明細書において他に規定されない限り、本発明に関連して使用される科学用語および技術用語は、当業者によって一般に理解される意味を有する。さらに、文脈において特に指示がない限り、単数形用語は複数形の語を含むものとし、かつ複数形用語は単数形の語を含むものとする。本発明の方法および技術は、一般に、当技術分野において周知である従来方法に従って、かつ別段の定めが無い限り、本明細書の全体にわたって引用および考察される様々な一般的参考文献およびより具体的な参考文献において記載されているようにして、実施される。

【0020】

本明細書において言及する刊行物、特許、および他の参考文献はすべて、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0021】

以下の用語は、別段の定めが無い限り、以下の意味を有すると理解されるものとする。

【0022】

本明細書において使用される「生体適合性」とは、ある材料が特定の用途において適切

10

20

30

40

50

な宿主応答を伴って機能する能力を意味する。適切な応答には、宿主において有害または望まれない影響が無いが、または実質的に緩和されているものが含まれる。

【 0 0 2 3 】

本明細書において使用される「吸収性」とは、吸収(この用語は下記に定義する)を経ることができる物質を意味する。吸収プロセスが生物系で起こる場合、この物質は「生体吸収性」と呼ばれる。

【 0 0 2 4 】

本明細書において使用される「吸収」という用語は、化学的プロセス、生物学的プロセス、および/または生理学的プロセスを通じた物質減少を説明するものである。典型的には、この用語は、本明細書および当技術分野において、溶解、加水分解、および/または食作用などの例えば化学的分解または物理的分解による物質の分解を伴い、それに続いて、例えば代謝を介した、身体による分解産物の吸収および/または排出が起こり得るようなプロセスを説明するのに使用される。したがって、吸収という用語は、本明細書および当技術分野において「生体吸収」としばしば呼ばれる。

【 0 0 2 5 】

本明細書において使用される「人工の」または「人工構成要素」という用語は、通常は自然界に存在しない構成要素を意味する。一般に、人工構成要素は、生来の血管中に通常は存在しない。人工構成要素は、(下記に定義する)天然構成要素を任意で含み得る、本明細書において説明する組織工学的足場および/または組織工学的に操作された血管の一部であってよい。人工構成要素は、性質がエラストマー性または伸張性であってよい。1つの例において、人工構成要素は、生来の血管の生体力学的挙動を模倣しない。

【 0 0 2 6 】

本明細書において使用される「天然構成要素」という用語は、調製の様式にかかわらず、自然界に存在するか、または自然界に存在する物質に由来する、物質を意味する。したがって、例えば、「天然構成要素」は、その天然(native)供給源から単離および精製されたか、または組換え手段および/もしくは合成手段によって作製された、ネイティブ(native)ポリペプチドであってよい。天然構成要素は、生来の血管中に存在する場合があります。したがって、力学的挙動および細胞挙動に関して、生来の血管に似た特性を示す潜在能力を有する。特定の態様において、天然構成要素は、性質がエラストマー性または伸張性であってよい。

【 0 0 2 7 】

本明細書において使用される「血管組織細胞」とは、血管の組織を構成する任意の細胞を意味する。例えば、これは、血管の内膜層中の内皮細胞および前駆細胞を意味し得る。別の例において、血管組織細胞は、血管の中膜層の細胞を意味する。

【 0 0 2 8 】

本明細書において使用される「足場」という用語は、細胞もしくは組織に付着し、かつ/または細胞もしくは組織を成長させるための、三次元の支持構造体を意味する。

【 0 0 2 9 】

本明細書において使用される「ヒドロゲル」という用語は、相当な量の水を構成し(constituting)、かつポリマーまたはその混合物がその中に溶解または分散されている、半固形構成物を意味する。

【 0 0 3 0 】

本明細書において使用される「円柱状の」という用語は、円柱に非常によく似た形状についてであるか、または関係する。

【 0 0 3 1 】

「機能化」という用語は、通常、特定の細胞を選択し、引き寄せ、かつ特定の部分へと導く(homing)ことができる、「賢い(smart)」生物学的に活性なプラットフォームに足場原型を変換する、足場原型の改変プロセスを意味する。

【 0 0 3 2 】

血管の「内膜層」(または内膜)は、未改変の健常血管の最内層である。これは、内皮細胞

10

20

30

40

50

胞の一重の層から構成され、内弾性板によって支えられている。内皮細胞は、未変化の健常血管中の血流と直接接触している。

【 0 0 3 3 】

「中膜層」(または中膜)は、動脈または静脈の中間層である。これは、平滑筋細胞および弾性組織から構成され、内側の内膜と外側の外膜の間に位置している。

【 0 0 3 4 】

本明細書において使用される「シグナル伝達要素」という用語は、選択された細胞もしくは細胞型に結合できるか、またはそれらを動員できる、要素を意味する。例えば、人工層の一部としてのシグナル伝達要素は、予め選択されたタイプの細胞に結合するか、またはそれらを動員して、組織層を予想通りに形成させることができる。

10

【 0 0 3 5 】

本明細書において使用される「生物活性」という用語は、生物学的事象を誘発するか、またはそれに影響を及ぼす、分子を意味する。

【 0 0 3 6 】

一般に、「心血管疾患」(CVD)という用語は、心臓および循環系に影響を及ぼすいくつかの疾患を意味し、動脈瘤;狭心症;不整脈;アテローム性動脈硬化;心筋症;脳血管障害(脳卒中);脳血管疾患;先天性心疾患;うっ血性心不全;冠動脈疾患(CAD)とも呼ばれる冠動脈心疾患(CHD)、虚血性心疾患またはアテローム性動脈硬化性心疾患;拡張型心筋症;拡張機能障害;心内膜炎;心不全;高血圧症(高血圧);肥大型心筋症;僧帽弁逸脱;心筋梗塞(心臓発作);心筋炎;末梢血管疾患;リウマチ性心疾患;弁疾患;および静脈血栓塞栓症を含む。本明細書において使用される場合、「心血管疾患」という用語はまた、虚血;物理的損傷(動脈内膜切除術、バルーン血管形成術)に起因するか、または(アテローム性動脈硬化を含む)慢性的損傷の結果としての、動脈損傷(内皮系列への損傷);心筋損傷(心筋壊死);および筋壊死への言及も包含する。一般に、血管新生応答を誘発する任意の生理学的状態または病態生理学的状態が、本明細書において使用される「心血管疾患」という用語に包含される。

20

【 0 0 3 7 】

本明細書において使用される場合、「アテローム性動脈硬化」という用語は、大型または中型の動脈の壁の最内層への、コレステロールおよび脂質を含むアテローム性プラークの沈着を特徴とする、血管疾患の形態を意味する。アテローム性動脈硬化は、関連する医学分野の仕事をしている医師によって認識および理解される血管疾患および血管病態を包含する。血行再建処置後の再狭窄、冠動脈疾患(冠動脈心疾患または虚血性心疾患としても公知)を含むアテローム性動脈硬化性心血管疾患、多発梗塞性認知症を含む脳血管疾患、および勃起不全を含む末梢血管疾患は、すべてアテローム性動脈硬化の臨床症状であり、したがって、「アテローム性動脈硬化」および「アテローム性動脈硬化性疾患」という用語に包含される。

30

【 0 0 3 8 】

「中心部分を取り除くこと(coring)」とは、例えば芯のような、ある物体の内側部分をくりぬくか、またはそのサイズを広げるのに使用される任意の方法を意味する。血管の中心部分を取り除くという文脈において、この用語は、血管を中空にするか、または血管の横断面空隙の面積を増加させるのに使用される任意の方法を包含すると意図される。これはまた、プラークを中心から取り除くこと(coring)またはプラークの周辺の漸進的な(progressive)アブレーションを意味する、「アテレクトミー」または「エンドアテレクトミー」とも呼ばれ得る。これにより、血管を通る血流速度当たりの血圧が減少し得る。これらの方法はまた、血管を再生するための構成物または器具を植え込むために血管を準備するのにも使用され得る。血管の中心部分を取り除くための方法の例には、バルーン血管形成術、外科的または閉鎖式(close)もしくは血管内のエンドアテレクトミー、および根治的アテローム性動脈硬化プラーク減量術が含まれる。1つの態様において、中心部分を取り除くとは、罹患部分を除去するために適切に改良されたアテレクトミー器具の使用、およびまた、足場の型に経路を作り、成形する(shape)ためのその使用を意味する。

40

【 0 0 3 9 】

50

「対象」または「患者」という用語は、本明細書において同義的に使用され、生物；例えば、ヒト、非ヒト霊長類、マウス、ブタ、雌ウシ、ヤギ、ネコ、ウサギ、ラット、モルモット、ハムスター、ウマ、サル、ヒツジ、または他の非ヒト哺乳動物を含む哺乳動物；ならびに、例えば、トリ(例えば、ニワトリもしくはアヒル)、両生類、および魚などの哺乳動物ではない脊椎動物および哺乳動物ではない無脊椎動物を含む非哺乳動物を含むが、それらに限定されるわけではない。

【0040】

本開示は、血管を成長させるか、修復するか、または再生するために、血管を組織工学的に操作する(tissue engineering)ための器具を提供する。1つの態様において、器具は、生物活性があり、選択的に多孔性であり、生体吸収性であり、前もって成形されているか、またはインサイチューで構造を与えられる足場を提供し、この足場が、血管の内膜層の内層の修復を導く。いくつかの態様において、この器具は、血管の新しい内膜層の操作(engineering)を導く。1つの態様において、足場は、その外表面に健常な中膜層に由来する細胞が再集合し、かつその内表面が内皮細胞または前駆細胞によって裏打ちし直されるように設計される。いくつかの好ましい態様において、足場は、選択的シグナル伝達によって特定の内皮細胞および平滑筋細胞の制御された遊走を誘導し、かつ生物から着想を得た(bio-inspired)三次元形態学によって材料/宿主接着を増加させる。特定の態様において、足場は、組織の内部成長が完了すると、徐々に吸収される。

10

【0041】

特定の態様において、足場材料は、組織または血管の成長、修復、または再生のためのその生体適合性および再生能力に基づいて選択される天然または合成の複合性かつ/または機能化された(functionalized)材料を含む。この材料は、インサイチューでのゲル化および続いての(secondary)造形(modeling)のためにヒドロゲルを含んでよい。材料は、前もって成形された器具として適用するための複合体を含んでよい。材料は、ヒドロゲルおよび前もって形成された複合器具の組合せであってよい。

20

【0042】

血管を成長させるか、修復するか、または再生するために、血管を組織工学的に操作するための方法もまた、提供される。1つの態様において、この方法は、罹患した動脈内側の内膜のアブレーションおよび再生によって、心血管のアテローム性動脈硬化性閉塞性疾患を治療するためのアプローチを提供する。

30

【0043】

いくつかの態様において、足場の各層の表面は、機能化される。機能化を利用して、細胞外基質および細胞接着分子(すなわち、内皮細胞、内皮前駆体、および平滑筋細胞)への表面の接着性を増大させることができる。細胞接着分子は、循環血液細胞のプールに由来し得る。例えば、平滑筋細胞は、中膜層の残存している健常部分から遊走すると予想される。1つのこのような機能化は、RGD(Arg-Gly-Asp)またはREDV(Arg-Glu-Asp-Val)をベースとする接着ドメインを発現するように操作された生物活性ポリマーを使用すること、および生体吸収性基材に適切なナノメートルサイズの多孔性を与えることである。この目的のために、器具は、内皮細胞接着を促進するように設計される。1つの態様において、足場の内表面および外表面の両方が、機能化される。

40

【0044】

機能化の別の局面において、材料/宿主組織接着のための足場が提供される。1つの局面において、この機能化により、血管組織工学的足場の置き間違いが防止される。別の局面において、マイクロメートル~ナノメートルサイズの多孔性が、生体吸収性基材に与えられる。この局面は、内皮細胞接着のような細胞接着を改善するのに使用され得る。足場を機能化することにより、内膜組織の再生を促進することができる。1つの事例において、足場は、安全かつ効率的に動脈に植え込まれて、適切な機械的特性および弾性特性を維持することができる。

【0045】

いくつかの態様において、本明細書において説明する血管組織足場は、すくなくともそ

50

のうちのいくつかは、多孔性(マクロ多孔性、またはミクロ多孔性、またはナノ多孔性)であり、形態および材料に基づく制御された勾配を提供できる、生体適合性足場である。足場中で使用される層は、全面的にまたは部分的に機能的な組織の再生を最終的にもたらし得る細胞の侵入、増殖、および分化を容易にする構成を微細構造レベルで提供する構造を有することができる。組織足場の層は、例えば、組織の内方成長、組織修復、組織再生、および治療物質発見のための細胞ベースの研究を可能にし得る微細構造を有する。特に、足場は、生細胞に干渉して成長を制御するドメインと共に形成された表面を提供する。

【0046】

本明細書において説明する血管組織足場は、大きさおよび形状が異なる細胞開口部(cell openings)(例えば、1つまたは複数の表面の細孔を画定する細胞開口部を含んでよい。整った形状であるか不揃いな形状であるかを問わず、細胞開口部の直径は、約1ミクロン~約10,000ミクロンの間であってよい。例えば、細胞開口部は、約5ミクロン~9,500ミクロン;約10~10,000ミクロン;約25~約7,500ミクロン;約50~5,000ミクロン;約100~約2,500ミクロン;約100~約5,000ミクロン;約250~約2,500ミクロン;約250~約1,000ミクロン;約500~約1,000ミクロン;約750~約1,000ミクロン;またはその間の範囲であり得る。細胞の開口部は、細胞の内方成長および栄養物拡散のための通り道(pathway)を提供することができる。多孔性は制御することができ、約10%~95%の多孔度の範囲であってよい。細胞開口部および/またはチャンネル(channel)は、ミクロンの範囲の直径を有し得るため、有用な層および足場は、ミクロ多孔性と説明することができる。それらはまた、非多孔性であってよい。

【0047】

血管組織足場の特徴は、以下の特性を得るように特徴を選択することによって、所望の用途に合うように管理することができる:優先的な細胞培養のための三軸に沿った勾配;細胞侵入、血管新生、および栄養物拡散を増大させるための、足場を通り抜けるチャンネル;細胞構成をより良くするための、表面の層の微細な模様付け;細孔の大きさおよび形状を目的に合わせて調整できる能力;異方性の機械的特性;様々な材料に対する細胞応答を変更するためのポリマー組成勾配を有する複合性層状構造体;異なる速度で分解または吸収する部分を有する構造体を作り出すための、様々なポリマー組成物のブレンド;生物学的因子および増殖因子などが非限定的に含まれる生物活性物質(または「化合物」とブレンドされるか、またはそれらでコーティングされた層;制御された微細構造を有する三次元構造体を作製できる能力;ならびに複合構造体を提供するための、他の医療器具または医学的作用物質との組立て(assembly)。

【0048】

いくつかの態様において、生体適合性の足場は、実質的に制御可能な細孔構造体を含む。組成、堅さ、細孔構造、および生体吸収速度を含む群より選択される特徴が、管理され得る。足場は、吸収性ポリマーまたは非吸収性ポリマーで作られてよい。ポリマーのブレンドを利用して、1つの層から次の層への組成勾配を作り出すことができる。1つの組成が十分である用途では、足場は、組織の解剖学的特徴を模倣し得る1つまたは複数の層にまたがる構造的差異を有し得る、生体適合性足場を提供する。構造的差異があることにより、足場の全域で分解にばらつきが生じ得る。特に、足場は、その構造を維持するために、半径方向の力に依拠しない。

【0049】

1つの局面において、血管組織を修復または再生するための方法は、組織の成長を可能にするための適切な特徴を有する足場上のある位置において、足場細孔の勾配に第1の組織を接触させる段階を含む。足場において物理的特性および化学的特性ならびに/または微細構造的な特徴を管理しながら推移させるという概念によって、組織の成長または再生が容易になり得る。

【0050】

足場は、組織の2つまたはそれ以上の層の間に組織接合部を生じさせるために特に有用である。多細胞系の場合、あるタイプの細胞が、足場のある領域中に存在することができ

、別のタイプの細胞が、足場の別個の領域中に存在することができる。送達チャネルを利用して、作用物質、化合物、または細胞を足場の特定の領域に配置することができる。

【0051】

組織足場を作製するのに使用される材料は、接着性細胞株、非接着性細胞株、またはそれらの任意の組み合わせのいずれかの増殖を促進するのに適してよい。

【0052】

1つの事例において、足場を作製するのに使用される材料は、シートを含む。シートは、実質的に平面であってよい。材料は、少なくとも部分的に、層状の構築物からなっていてよい。1つの事例において、材料は、内層および外層を含み、一方の層の方が、他方の層よりも速い吸収速度を有する。内層および外層は、互いに隣接して配置されてよい。

10

【0053】

1つの局面において、外層は、罹患している血管中膜層の内表面と相互に作用するか、またはそれに付着する。内層は、血管の内膜層の再生を促進することができ、外層は、足場の中への血管中膜層の内方成長を促進し、かつ中膜層細胞の増殖を制御することができる。1つの態様において、人工層は、中心部分を取り除かれた中膜層に接着する。

【0054】

別の局面において、血管の組織再生のための望ましい細胞の動員は、足場に付着させたシグナル伝達要素を用いて達成され得る。この設計は、細胞外基質および細胞(内皮細胞、内皮前駆体、および平滑筋細胞)接着分子への足場の接着を増大させる機能化された足場を包含する。機能化は、例えば、生物活性ポリマーを用いて達成することができる。生物活性ポリマーの例には、RGD(Arg-Gly-Asp)およびREDV(Arg-Glu-Asp-Val)をベースとする接着ドメインが含まれる。シグナル伝達要素は、足場に適切な大きさの細孔を含めることによって補完することができる。1つの局面において、細孔は、ナノメートルサイズである。

20

【0055】

1つの態様において、材料は、組織の内方成長を促進するために、少なくとも部分的に多孔性である。内層および外層は、細孔密度が異なっていてよい。内層および外層は、細孔の大きさが異なっていてよい。1つの事例において、細孔のうちの少なくともいくつかは、密度が変動する少なくとも部分的な勾配を形成する。

【0056】

30

別の態様において、材料は、組織の内方成長を促進するために、少なくとも部分的に多孔性である。層は、選択領域において、より高い細孔密度を有してよい。中心領域の方が、外側領域よりも高い細孔密度を有してよい。1つの事例において、細孔のうちの少なくともいくつかは、1つの領域から次の領域までの少なくとも部分的な勾配を形成する。

【0057】

材料は、細孔のうちの少なくともいくつかを充填する抗接着充填物を含んでよい。材料は、材料の表面の少なくとも一部分に沿って、抗接着コーティングを含んでよい。あるいは、組織の付着および結合を促進するのに使用される材料が、足場とともに使用されてもよい。

【0058】

40

上述したように、細孔は寸法が異なっていてよく、層は厚さが異なっていてよく、かつ層は組成が異なっていてよく、これらすべてによって、治癒特徴および生物分解特徴が多様になる。その場合、足場を作製する方法は、第1の生体適合性ポリマーを押し出して第1の層または表面を形成させること;第1の層または表面に細孔を形成させること;第2の生体適合性ポリマーを押し出して第2の層または表面を形成させること;第2の層または表面に細孔を形成させること;および第1の層または表面を第2の層または表面に付着させて組織足場を作製すること、によって実施することができる。これらの層はそれぞれ、血管組織を再生または修復するために、形状は円柱状である。組織足場は、血管組織の制御された内方成長および組織の機械的特性を恒久的に変えるための再造形を用いて設計することができる。

50

【0059】

層が、作製されるよりむしろ、得られる場合、組織足場を作製する方法は、所与の層を提供することを必要とするだけでよく、次いでこの層が、所望の場合は、別の層に付着せられる(例えば、機械的力もしくは化学的力によって可逆的または不可逆的に結合される)か、かつ/または所与のサイズおよび配列の1つもしくは複数の細孔を含むように処理される。その場合、提供された単一の層(または接着性の多数の層)を、層内に細孔を形成する工程(例えば、レーザーアブレーションまたは鋳型打抜き(die punching)など)に供することができる。したがって、押出し工程または押出しに似た工程によって所与の生体適合性層を作製するのではなく、それを提供することによって、これらの方法のいずれかを実施することができる。足場層中で使用される層はまた、流し込み成形技術、注入成形技術、エレクトロスピンニング、または浸漬被覆技術を用いて作製することもできる。

10

【0060】

好ましくは、血管組織足場は、生体適合性である層を含んでよい。生体適合性の層とは、例えば、生物組織を感知できる程度に決して害することなく、その組織の隣に存在できるものである。上記のように、足場中で使用される層は、組織の内方成長および/または細胞の侵入を可能にする細孔(例えば、層の1つの表面から別の表面までの開放的な通り道)を含み得る。

【0061】

足場は、制御された多孔性、高い強度、および特定の材料含有量の組合せを提供することができる、かつ以下の利点のうちの1つまたは複数を有し得る。それらは、組織の統合を促進し炎症を軽減する細孔または多孔性構造体を含むことができる;それらは、隣接組織による(with)拒絶リスクを低下させることができる(これは、滑らかな表面および非外傷性の(例えば、滑らかな、先細り状の、または丸みを持たせた)輪郭を有する足場に特に当てはまる);それらは、修復または置換される血管組織の物理的特性をまねることができ、これは、より完全な治癒を促進し、患者の不快感を最小限にすると予想されている;先行技術の器具と比べて、表面積を小さくすることができる(少ない量の材料を有することにより、免疫応答または炎症応答の起こる可能性が減り得る)。さらに、薄くした(reduced profile)足場を作製し、低侵襲性の様式で植え込むこともできる;これらの足場は柔軟であるため、小さな外科的切開部を通して留置するか、または植え込むことができる。また、方法によって、視覚的特性を改善した足場を作製することもできる(例えば、下にある組織のより多くの部分を外科医が足場を通して可視化できる、足場)。実際には、足場を作製するのに使用できる微細加工技術が効率的かつ再現可能である。本明細書において説明する足場は、意図される目的のために必要な強度を維持しつつ、薄型の(low profile)外形で、高い生体適合性を提供するはずである。

20

30

【0062】

1つの態様において、層は、生分解性である生体適合性材料でできているか、またはそれを含む(すなわち、層は、認識可能な期間内(例えば、数ヶ月以内または数年以内)にヒト患者体内で分解する)。生体適合性材料は、身体によって少なくとも部分的に吸収され得る。生体適合性材料は、エラスチン様ポリマー(ELP)、ポリグリコール酸(PGA)、ポリ乳酸(PLA)、ポリカプロラクトン、ポリヒドロキシアルカノアート、またはポリフマラート、および前記ポリマーの誘導体など、吸収性のポリマーまたはコポリマーを含み得る。

40

【0063】

別の態様において、生体適合性材料は非吸収性であり、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリテトラフルオロエチレン、ポリアリールエーテルケトン、ナイロン、フッ化エチレンプロピレン、ポリブテステル(polybutester)、もしくはシリコンであってよい、またはそれらを含んでよい。血管組織足場はまた、コラーゲン、フィブリン、またはエラスチンなどの生物学的材料も含んでよい。これらのような生物学的材料は、組み立てて足場にされる層のうちの1つもしくは複数の(例えば、層の構成要素もしくは層上のコーティングとして)組み込むことができ、または足場内部の細孔、通り道、もしくはチャンネルのうちの1つもしくは複数の内部に含めることができる。

50

【0064】

層において有用な生体適合性材料には、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリテトラフルオロエチレン、ポリアリールエーテルケトン、ナイロン、フッ化エチレンプロピレン、ポリブテステル、およびシリコン、もしくはそれらのコポリマー(例えば、ポリプロピレンおよびポリエチレンのコポリマー)などの非吸収性ポリマー;ポリグリコール酸(PGA)、ポリ乳酸(PLA)、ポリカプロラクトン、およびポリヒドロキシアルカノアート、もしくはそれらのコポリマー(例えば、PGAおよびPLAのコポリマー)などの吸収性ポリマー;または組織をベースとする材料(例えば、足場を受け取ることになっている患者から得られるか、もしくは別の人物から得られた、コラーゲンもしくは他の生物学的な材料もしくは組織)が含まれ得る。これらのポリマーは、D-アイソフォーム、L-アイソフォーム、または両方の混合物からなつてよい。積層された構造体を作製するのに適した生体適合性層の例は、延伸ポリテトラフルオロエチレンである。

10

【0065】

多数の層から作られた血管組織足場の場合、それらの様々な層は、同じ材料または異なる材料からなつてよい。例えば、吸収性材料の場合、これらの層の材料は、様々な吸収速度を有するように選択されてよい。

【0066】

1つの態様において、生体適合性材料は、複数の細胞を有する。生体適合性材料は、複数の細胞を有してよく、それら複数の細胞の中の1つまたは複数の細胞は、細胞の最長軸に沿って測定された直径が、約10~約10,000ミクロンである。生体適合性材料は、複数の細胞を有してよく、それらの複数の細胞のうちの1つまたは複数の細胞は、本質的に、正方形、長方形、円形、楕円形、類洞、または菱形の形状である。

20

【0067】

1つの態様において、足場内の層のうちの1つまたは複数の厚さは、約0.25インチまたは約0.25インチ未満である。例えば、足場は、厚さが同じであるかまたは異なつていてよい、1つまたは複数の層から形成されてよい。例えば、それらの層は、約0.20インチもしくは約0.20インチ未満;約0.18インチもしくは約0.18インチ未満;約0.16インチもしくは約0.16インチ未満;約0.14インチもしくは約0.14インチ未満;約0.12インチもしくは約0.12インチ未満;約0.10インチもしくは約0.10インチ未満;約0.05インチもしくは約0.05インチ未満;約0.025インチもしくは約0.025インチ未満;約0.020インチもしくは約0.020インチ未満;約0.015インチもしくは約0.015インチ未満;約0.014インチもしくは約0.014インチ未満;約0.013インチもしくは約0.013インチ未満;約0.012インチもしくは約0.012インチ未満;約0.011インチもしくは約0.011インチ未満;約0.010インチもしくは約0.010インチ未満;約0.009インチもしくは約0.009インチ未満;約0.008インチもしくは約0.008インチ未満;約0.007インチもしくは約0.007インチ未満;約0.006インチもしくは約0.006インチ未満;約0.005インチもしくは約0.005インチ未満;約0.004インチもしくは約0.004インチ未満;約0.003インチもしくは約0.003インチ未満;約0.002インチもしくは約0.002インチ未満;または約0.001インチであつてよい。場合によっては、例えば、層が非多孔性である場合、それは、より厚くてよい(例えば、約0.5~1.0インチの厚さ)。上述したように、所与の足場は、複数の層を含んでよく、足場の全般的な厚さは、意図される用途に応じて、甚だしく異なり得る。

30

40

【0068】

組織足場は付着領域を含んでよく、これらの領域は、縫合糸またはステーブルなどを受け入れるように適合され得る。さらに、組織足場のための個々の層は、各層の細孔がきちんと一致するよう徹底するための整列領域も有してよい。

【0069】

前述の血管組織足場の医学的応用には、罹患または損傷した血管の修復および再生が含まれ得るが、それらに限定されるわけではない。図1を参照すると、罹患した血管とは、アテローム性動脈硬化の任意の病期の間の血管を意味し得る。血管の修復は、いくつかの技術、例えば、バルーン血管形成術、外科的または閉鎖式(close)もしくは血管内のエン

50

ドアテレクトミー、または根治的アテローム性動脈硬化プラーク減量術により、血管の中心部分を取り除くことによって、開始され得る。これらの技術の一部の結果の説明を、図2において提供している。アテローム性動脈硬化性血管の血管形成術(バルーンによるプラーク破壊)または中心部分を取り除く段階(プラークのプラーク周囲アブレーション)の後、説明した血管組織足場を血管内部に留置して、切開計画を遂行し(fill dissection plan)、表面または崩壊したプラークを平らにならし、かつ血管組織の再生および治癒を促進する。

【0070】

いくつかの場合において、血管の組織工学的操作は、血管グラフトを補うか、または置換するのに使用され得る。1つのアプローチにおいて、本発明は、組織工学的に操作されたおよび設計された生体材料を、血管の修復または治療のための低侵襲性アプローチと組み合わせる。この方法はまた、患者の動脈の再生に対するインサイチューの解決法も与える。1つの局面において、再生される血管の機能は、維持される。

10

【0071】

1つの態様において、方法は、血管内技術によってインサイチューで成形される、無定形状の高度な生体材料を使用する。これにより、現行の組織工学的アプローチに付随する複雑性および費用をさらに低減して、前もって形成された製品もしくは器具を成形し、血管床中に送達するという技術上の困難を解決することができる。この方法の別の利点は、インビトロで細胞および組織を操作する必要なく、インビボで組織工学的技術を使用することにある。1つの局面において、血管組織工学的器具は、動脈壁の残りによって維持されるため、動脈管腔を開存性に保つための破裂強度および疲労強度を有する。別の局面において、新しい内皮は、宿主自身の細胞によって形成され、血栓形成性でも免疫原性でもない。

20

【0072】

1つの態様において、器具は、罹患動脈のアテローム性動脈硬化プラークを破壊、アブレーション、または除去した後に、罹患動脈の機能的な弾性内膜層を再生する手段を提供する。プラークの部分的または全面的除去は、外科的または血管内の技術によって遂行され、間隙は、吸収性足場(植え込まれた後に、循環血中の細胞が定着して増殖し(seeded)、生来の動脈壁細胞によって満たされる)によって再び満たされて、最終的に、新しい動脈内膜層がインサイチューで形成されるのを可能にする。

30

【0073】

いくつかの態様において、人工層は、単独または接着性および支持を増強するために他の生分解性の天然ポリマーもしくは人工ポリマーと複合された、ヒトへの医学的応用に適する生体適合性で吸収性の(天然または人工)ポリマー(BRP)から作られた足場の薄膜によって形成される。BRPは、シグナル伝達ペプチド、タンパク質、または薬物を添加することによって機能化して、「賢い」特徴を実現することができ、それにより、BRPは、細胞の回遊(homing)、炎症反応、および長期の生体適合性を調整し得る。BRPは、多孔性構造体の配置前(研究室で予め形成される)または配置している間に(within)(「インビボ」適用)、組み立てられる。人工層に適した材料の例は、エラスチン様の組換えポリマー(ELRP)である。

40

【0074】

いくつかの態様において、ヒドロゲル足場は、送達される前は液状形態である。本発明のいくつかの局面において、ヒドロゲル足場は、特定の温度(例えば、「温度感受性」または「熱感受性(thermo sensible)」である)で相転移を起こす(例えば、凝固するか、またはゲル層を形成する)。好ましい態様において、この温度は、体温である。いくつかの態様において、人工層は、特定の化学物質または化合物の存在下で相転移を起こす。いくつかの態様において、人工層は、組織または血管への適用から一定時間経過後、相転移を起こす。好ましい態様において、ヒドロゲル足場は、血管または組織への適用後、相転移を起こす。血管に送達された後、液体は、相変化(phase shift)または凝固を起こして、ヒドロゲルまたは固体として血管中でより安定な足場を形成し得る。この液体は、血管中

50

に注入された後に、自動的に固化する場合があり、または液体は、注入後に固化するために、付加的な化学物質と相互に作用する必要がある場合がある。

【0075】

人工層は、液状形態を含む、いくつかの形態で保管されてよい。人工層はまた、保管および/または保存のために、凍結乾燥するか、脱水するか、または凝固させてよい。

【0076】

以下の実施例は例示のためのものであり、本発明の範囲を限定することを意図しない。

【実施例】

【0077】

実施例1

10

人工内膜層による、罹患した動脈内層の置換

機械的閉鎖式エンドアテレクトミーの現行技術は、閉塞性プラークの部分的(中央部の)除去を可能にする。本実施例は、アテローム性動脈硬化プラークを中膜の外層まで広範囲にアブレーションすることにより、アテレクトミーをプラークおよび罹患内膜の「根治的」アブレーションに発展させる可能性を与える。次いで、罹患部分を人工内膜層(SIL)または人工内部弾性層(SIEL)で置換する(図2)。SILまたはSIELは、動脈を「拡張する」ことを意図していない。逆に、それは、罹患し硬くなった領域を、柔らかくコンプライアントでインテリジェントな足場で置換することを狙いとする。これは、賢い分解性生体材料が、組織が有する生来の解剖学的構造の再生を推進しながら、再生プロセスの進行中に消失する、インサイチュー組織工学的操作の例である。

20

【0078】

実施例2

生体適合性かつ生体吸収性の足場材料でできた薄い壁の円柱としての、人工内膜層(SIL)または人工内部弾性層(SIEL)の作製

下記に提供する方法は、薄く(<100 μm)、生物活性があり、選択的に多孔性であり、生体吸収性である足場を作製する:この足場は、新しい内弾性板として動脈の健全な中膜層と接触して配置できる前もって成形された構造体において、注入可能なヒドロゲルとして、または複合体としてのいずれかで使用することができる。

【0079】

2つの異なる技術アプローチを使用することができる:

30

アプローチA:複合材料で作られた構造を与えられた(円柱およびシートの)SILまたはSIELは、動脈内膜切除を施される動脈において、完成しているが、なお成形可能な器具として、配置することができる。

アプローチB:注入可能な足場は、足場を沈着または噴霧し、続いて造形することにより、インサイチューでSILまたはSIELに成形することができる。

【0080】

この足場材料の特徴には、動脈の拍動性に対応して変形するための(compliance)弾性、剪断応力に対する耐性、および漸進的な層吸収が含まれる。前もって成形される態様において、この足場は、円柱状または管状であり、厚さが最小限の構造体の維持を可能にする接着特性の寄与により、それ自身で留まる。2番目の注入可能な態様において、足場の同じ機械的特徴は、「インビボ」ゲル化足場を噴霧し造形することによって、実現される。所望の多孔性を有する操作された材料が宿主組織と相互に連結することにより、生体材料が宿主の動脈壁に固定される。

40

【0081】

前もって成形された形態または注入可能な形態の足場の配置は、外科的技術および血管内技術によって実施する。

【0082】

アプローチAでは、多孔性および生理学的機械的特性を操作され、天然または組換えのポリマーまたはタンパク質で作られた管状器具を、開発する。この管状器具は、複合材料中の他の合成要素または天然要素と組み合わせられる(coupled with)。円柱状の形状の足

50

場を現実化するために、別の加工処理技術を検討することができる:この技術の目的は、長期間の機械的負荷に耐えることができ、かつ生物活性要素を提示できる材料を作り出すことである。いくつかの態様において、生物活性要素は、組換えタンパク質または材料複合体中に存在する。

【0083】

アプローチBでは、生物活性要素を有し得る、熱ゲル化する(thermogelizing)注入可能な材料またはポリマーを、2つの方法を用いて適用する。1つ目では、特別に設計されたカテーテルを用い、動脈表面にインサイチューでゲル化させて、噴霧を実施する。2つ目では、整った大きな中空構造体を得ることを目指して、注入した足場の型を、続いて機械的に成形する。

10

【0084】

凝固した材料のインサイチューでの経路形成および成形は、革新的な技術(すなわち、カテーテル)および臨床実践において一般に使用される機械的アテレクトミー器具を用いて実施する。この方法の1つの態様において、適切に変更したアテレクトミー器具は、罹患部分を除去し、また、足場の型に経路を形成し成形するのにも使用される。

【0085】

実施例3

アプローチA:構造を与えられたSILまたはSIEL-合成および送達

生体適合性の吸収性(天然または合成)ポリマー(例えばBRP)でできた薄い(<100 μm)シートまたは繊維メッシュ構築物(例えば、3D多孔性構造体を形成させるための多数の層)の形状で作られる、円柱状またはらせん体の人工層。この構造体は、同じポリマーもしくは異なる仕方で機能化されたポリマーの多数の層から、または厚い配置からなる巻き付け繊維(winding fiber)と組み合わせて作製することができ、または異なるBRPを作製する。繊維メッシュは、エレクトロスピンニングまたは他の配置技術によって送達カテーテル(バルーンカテーテルまたは拡張可能カテーテル)上で直接合成し、送達して、血管内壁との完全かつ十分な接触を可能にする(図11)。フィブリンをこの構造体中に加えるか、または生物学的接着剤として溶解状態で配置して、器具の接着を増強し、崩壊または内側に折り畳まるのを回避することができる。動脈中に一時的に残される特殊な金属ネットを用いて、円柱を安定させる(図3)。

20

【0086】

足場のナノ多孔性および機能化は、内表面と外表面とで区別する。内表面の方が、外表面より多孔性が低い。内表面は、細胞受容体を循環させるための細胞内シグナル伝達分子(例えば、REDV(Arg-Glu-Asp-Val)をベースとする接着ドメインを含む生体分子)を含む。外表面の方が、内表面より多孔性が高く、平滑筋細胞の増殖および足場の小柱状構造への付着のために場所を提供する(accommodate)。外表面は、特異的なシグナル伝達分子(例えば、RGD(Arg-Gly-Asp)をベースとする接着ドメインを含む生体分子)を含んで、平滑筋細胞の増殖および小柱状構造への付着を促進する。内側および外側の差のある構造は、足場の立体構造(conformations)が異なる2つの円柱を人工製造し(synthesizing)、一つにまとめることによって生じさせる(図3)。他の人工製造技術を使用してもよい。好ましい局面において、シート円柱は、2.5~40mmの範囲の可変直径を有する。

30

40

【0087】

人工層は、乾いた状態または湿潤溶液の状態で保存し、滅菌し、棚で保存することができる。送達システムに取り付けられる予定の円柱としてそれを保存する。あるいは、この器具を、送達システムに予め取り付ける。人工層は、弾性で、バルーン送達システムによって成形可能であり、かつ血管内層の壁に接着することにより、拡張した状態を維持する(例えば、崩壊を回避する)ことができる。フィブリンまたは生物学的接着剤を人工層と組み合わせることにより、接着を補助することができる。このフィブリンまたは生物学的接着剤は、外表面に接着させて複合材料足場の一部分として添加してもよく、または送達中に、人工層もしくは血管に添加してもよい。

【0088】

50

円柱状器具の層は、植え込み前(例えば、使用前の発送および保管の期間中)および植え込み後に、製造時の形状を維持する。植え込まれた円柱状器具は、生来の動脈壁に付着し、崩壊、破裂、および移動を回避する。足場材料の弾性特性のおかげで、円柱状器具が心臓収縮期の動脈拡張に対応して変形することが可能になり、したがって、ドップラー超音波検査によるインビボ実験において一定の間隔で評価した場合に、末梢部の(distal)ドップラー波の三相形状が保証される。この構造的特徴は、厚さがより薄い、理想的には20~40 μm 前後の足場シートによって、保持される。

【0089】

植え込み後、宿主細胞、外表面から遊走する平滑筋細胞、および内表面の内皮前駆細胞(EPC)または内皮細胞(EC)が、足場に再集合する。慢性炎症性反応、および内膜層の再構成を通じての完全な統合のレベルを、測定する。器具が成功裡に植え込まれた場合、生来の内膜に似ると考えられる。

【0090】

人工層は、外科的な動脈内膜切除処置の場合のように、外科的曝露によって所望の位置に送達する。あるいは、器具は、血管内送達システム、例えば、イントロデューサーおよびバルーンカテーテルによって、所望の位置に送達する。これらにより、配置の全過程において足場の完全性を維持しつつ、効率的かつ正確な送達が徹底される。人工層は、乾燥状態または湿潤溶液として利用可能である。人工層は、人工製造過程の間に滅菌し、植え込みするまで無菌性を維持する。人工層は、単一または多数の繊維メッシュシートを含む。

【0091】

人工層は、表面に器具を予め取り付け付けたバルーンカテーテルによって送達する。標的領域の前に動脈系の表面に接触することなく、人工層を送達する。送達システムは、その上に付けられ、放射線不透過性ではない器具の端を正確に示すマーカー(例えば、放射線不透過性マーカー)を用いて、正確な送達を確実にする。送達カテーテル/ダイレーターまたは送達イントロデューサーシートを用いて、器具をまったく付着させずに、完全に放す(図4A)。

【0092】

グランティング(granting)のためのシステムは、人工層を一時的にステント留置する(stent)ことができる。このシステムは、人工層が動脈壁に接着した後に除去する。所定の位置に残され、シートを前進させることによって回収される拡張可能な金属メッシュによって、このシステムを形成する。この金属メッシュは、その巧みな操作のいずれにおいても人工層に付着もせず、破壊もせず、動かしもしないように、扱う(図4B)。

【0093】

足場または予め形成された円柱のメッシュ層は、単一または多数の繊維メッシュシートを含む。足場は、エレクトロスピニングによって送達バルーン上で直接的に人工製造することができ(図4A)、または円柱メッシュとして人工製造し(図4B)、送達完了時に引っ込めて除去する金属ネットとして拡張式の送達システム上に取り付けることもできる。

【0094】

実施例4

アプローチB: 注入可能な足場-人工製造および送達

本発明者らは、特別に設計されたカテーテルによって液体状態で送達されるヒドロゲルとして、温度感受性であり吸収性であり注入可能であるポリマー足場を調製する。この液体は、注入後に、体温で、ポリマー足場ヒドロゲルへの相変化を起こす。

【0095】

続いて、これらの足場(例えば、人工の注入可能な層)の構造を、バルーンまたはカリパスで測られる機械的アテレクトミー器具により、所望の厚さおよびむらのない(coherent)血管管腔になるように、造形する。あるいは、前述の予め形成させた人工層に似させるための「二重相」配置を実施する。特殊な噴霧カテーテルおよび成形コンプライアントバルーンを作製する(図5)。

10

20

30

40

50

【0096】

人工層は、特別に設計された送達バルーンに液相状態で塗布される温度感受性ヒドロゲルである。ヒドロゲルは、最終的な所望の量および膨らませたバルーンおよび標的動脈の直径の幅に基づいて算出された所定の量および幅で、空気を抜かれたバルーンの一面で凝固する。温度感受性ゲルは、噴霧機によってバルーン上に配置することができ(placed)、この噴霧機は、異なるシグナル分子を含む2種の異なる温度感受性ヒドロゲル層を層状にすることができ、内側の一方の層は、特異的な内皮前駆細胞受容体(REDV)を含み、外側の他方の層は、結合性の平滑筋細胞特異的受容体(RGD)を含む。使用時に、ヒドロゲルを液体または半流動相に戻すための冷たい生理食塩水でバルーンを膨らませる。水を加えて元の状態に戻した足場は、膨らませたバルーンと動脈内壁の間に圧迫され、その場所で凝固して、動脈中での最終的な立体構造に至る。

10

【0097】

この技術は、孤立性病変ならびにびまん性病変の治療を対象とし、配置は、送達システムの長さの影響を受ける。人工の注入可能な層は、病変の大きさによって、2~30cmの範囲である。

【0098】

ヒドロゲルは、室温または少し冷却した温度で安定であり、滅菌バイアル中で保存される。血管内用途の場合、液相ポリマーをこのバイアルから無菌的に送達システムに移し、そこで放置して脱水することができる。開放性の外科的用途の場合、送達システムは、鼻/経口適用の場合のように、手動式の噴霧システムである。1つの態様において、噴霧キャップを保存バイアルに固定する(locked to)。

20

【0099】

ヒドロゲルが配置され凝固すると、足場は、遠位の塞栓形成を伴う初期および後期の移動、破裂、細断(chopping)に対して耐性になる。植え込み後、宿主細胞、外表面から遊走する平滑筋細胞、および内表面の内皮前駆細胞(EPC)または内皮細胞(EC)が、足場に再集合する。慢性炎症性反応、および内膜層の再構成を通じての完全な統合のレベルを測定する。器具が成功裡に植え込まれた場合、生来の内部内膜に似ると考えられる(図11)。

【0100】

噴霧器具を用いて動脈表面に直接配置することによって、ヒドロゲルを所望の位置に送達する。あるいは、特に血管内送達システム(例えば、イントロデューサーまたはバルーンカテーテル)によって、ヒドロゲルを送達する。この送達方法により、動脈壁への効率的かつ正確な送達が確実になる。液相状態の無菌ヒドロゲルを保管し、噴霧系に無菌的に移す。

30

【0101】

注入可能な足場の送達器具および方法1

送達システムは、バルーンカテーテルである。これらのカテーテルは、治療しようとする動脈部分の下流および上流の流れを確実に遮断する2つの二重コンプライアントバルーンを有するように設計する(図6)。それら2つのバルーンの間のカテーテル部分は、液相RBPヒドロゲル(例えば、エラスチン様組換えポリマー(ELRP))が動脈内表面上に噴霧されるのを可能にする微小な穴を有している。例えば2~30cmの様々な病変長に対応する(comply)ために、様々な長さの噴霧部分を作製する。この手順は、「一時的にステントを留置する」安全技術と組み合わせて実施してよい。

40

【0102】

足場は、2つの二重コンプライアントバルーンの間のカテーテル部分によって、液相状態で送達する。このように設計した送達システムにより、治療しようとする動脈部分の流れを遮断して、足場ヒドロゲルの相転移、凝固、または反応のための時間を与えながら、温度感受性(例えば、体温で相転移を起こす)または自己固化するRBPヒドロゲル配合物の足場を安全に送達することが可能になる。

【0103】

注入可能な足場の送達器具および方法2

50

あるいは、先端にコンプライアントバルーンが付いたワイヤー(例えば、Guardwire(登録商標)、Medtronic Inc))および二重管腔バルーン(例えば、二重管腔フォガーティバルーン(Fogarty balloon)(登録商標))として現在利用可能な技術の使用を、治療しようとする動脈壁部分における血流排除を実現するために用いる。広範囲に伸長する(1.5~30cmの長さ)ために遠い部分に穴を有するカテーテルを、注入可能なポリマーを噴霧するために、ガードワイヤーを通して挿入する(図7)。

【0104】

注入可能な足場の送達器具および方法3

温度感受性ヒドロゲルの別の代替配置システムは、2つの近位および遠位のコンプライアントな止血性バルーンならびにセミコンプライアントである1つの中央バルーンを有し、名目上の直径を大きくせずに水平方向に空間をふさぐために、部分によってコンプライアンス特徴が異なる、3バルーンカテーテルによる(図8A)。このバルーンを、液状の冷たい相において温度感受性RBPヒドロゲル足場によってコーティングし、システムをあたためて、足場をゲル相にし、所望の算出された量および幅に至らせる(図8B)。ヒドロゲル足場を半流動相に戻すために、冷たい液体でこのバルーンを膨らませる。これにより、ヒドロゲル足場は、膨張するバルーンによって、バルーン表面と動脈内壁(完全に膨張したバルーンの最大の名目上の直径よりわずかに大きな直径を有するため、バルーンには触れられない)との間で押され、圧迫される(図8C)。この巧みな操作において、体温で、システム全体があたためて、動脈内面の全面でヒドロゲル足場がゲル相に復帰する(図8D)。図8Eは、円柱中に成功裡に沈着した足場ヒドロゲルを示す。ヒドロゲルは、メチレンブルーで染色されている。

【0105】

実施例5

組織再生のための賢く効率的な基材を得るための、足場の機能化

生物学的接着剤の役割を果たす能力、内皮細胞の遊走およびコンフルエントな状態を促進する能力、ならびに循環血中の内皮前駆細胞を固着させる能力を向上させるために、生体適合性であると判明した足場を改変する。

【0106】

機能化の目的は、材料の生体接着(bio-glue)(すなわち、接着性の)特徴を増強して、細胞外基質および細胞(内皮細胞、内皮前駆体、および平滑筋細胞)接着分子への接着を最大にすることである。細胞の選択された部分集合が接着することにより、操作された組織が成長する。内皮および内皮前駆体は、循環血中の血液細胞のプールに由来すると予想されるのに対し、平滑筋細胞は、中膜層の残りの健常部分から遊走すると予想される。機能化の1つの局面は、中膜に由来する平滑筋細胞の制御不能な増殖を阻害するために生物活性ポリマーを使用することを含んでよい。内皮細胞接着を向上させることを狙いとする器具を構築するために、例えば、RGD(Arg-Gly-Asp)もしくはREDV(Arg-Glu-Asp-Val)をベースとする接着ドメインを発現するように操作された生物活性ポリマーを適用すること、および/または生体吸収性基材に適切なナノメートルサイズの多孔性を適用することによって、選択された接着を達成する。足場の内表面および外表面の両方を機能化する。

【0107】

機能化の別の局面は、アプローチAに由来する前もって成形されたSILまたはSIELの血管への接着を維持するための、材料/宿主組織接着の戦略に関する。前もって成形されたSILまたはSIELは、薄肉円柱であり、したがって、その構造を維持するのに、半径方向の力に依拠しない。この目的のために、戦略は、マイクロメートル~ナノメートルの大きさの多孔性を生体吸収性基材に適用することを含む。この機能化技術により、内皮細胞接着が向上する。前述の機能化された材料は、本実施例のSILまたはSIELの全体的な接着特性を増強する。

【0108】

実施例6

インビトロおよびインビボにおける、血管組織工学的構成物および方法の検証。

提案する材料はすべて、詳細なインビトロの特徴付けを受け、炎症性分子および化学誘引性分子の放出、細胞表現型、増殖、細胞外タンパク質発現、遺伝子発現を測定して、かつまた、従来の組織学的方法を用いて、単一培養と共培養の両方において単核細胞、マクロファージ、および内皮細胞の相互作用を調査することにより、従来の毒物学的方法およびさらに徹底的な材料の生体適合性評価の両方によって試験する。インサイチューの組織工学的操作に対する適性を判定する。細胞再集合の動態および生体高分子内の細胞の機能特性を測定し、生体高分子中に埋込まれた細胞における接着分子の発現を解析する。内皮細胞、内皮前駆細胞、および平滑筋細胞の接着、増殖、および活性化の状態を評価する。組織化学的解析を用いて、LDL取込み、Hoechst/TUNEL染色、およびアネキシンV染色によって、生存能力があり、機能的に活性な細胞を同定する。管腔のために使用する予定のEC播種した機能化生体材料およびECを播種していない機能化生体材料の両方の血栓形成性を、フローサイトメトリー、凝固測定法(coagulometry)、およびアセチル化プロトロンビン血小板含有血漿の使用を通じて血小板活性化および接触活性化(contact activation)を測定することによって評価する。

10

【0109】

アプローチAおよびBにおいて提案した材料を、ニュージーランド白ウサギの雄およびランドレース種のブタを用いる動物モデルにおいてインビボで試験する。インビボ試験には次の3段階がある:モデル準備段階、主要試験段階、およびGLPグレードの動物試験。

【0110】

段階1-モデル準備段階

20

モデル準備段階は、対照モデルおよび足場植え込み技術の設定を含む。対照モデルは、経皮的な経管的血管形成術でバルーンによって誘導した腸骨動脈および大動脈の内膜露出モデルによって、十分に確立されている再狭窄モデルを適応させることから成り立つ。このモデルは、2つの介入処置を含む。1つ目の介入処置は、慢性的閉塞性病変を作ること狙いとする。2つ目の介入処置は、誘導した閉塞性内膜肥厚の外科的除去である。これは、初期の実験段階において動脈内膜切除術を用いて、および前臨床の優良試験所基準実験において機械的アテレクトミーまたはレーザーアテレクトミーを用いる血管内技術によって、達成する。これらの技術は、光化学的作用およびフォトメカニカルな(photomechanical)作用を及ぼし、エネルギー散逸の深さの範囲は約50 μm であり、機械的動脈内膜切除術と比べて動脈外壁に引き起こす外傷が少ない。アブレーションは、「動脈の根治的減量術」の概念の場合のように、中膜層の「健常な」中央部分までさらに伸ばされる。この準備段階は、実験モデルの実現可能性、信頼性、および再現性を明らかにする。

30

【0111】

この第1段階において、この対照モデルは、今のところまだ調査されていないモデルによってチャレンジされ(challenged)、F.SerinoおよびS.Miyagawaによって提唱された新しいモデルに従う免疫異種(xeno)反応による動脈内膜露出の誘導に重点を置く。これを、バルーン内膜損傷の統合(consolidated)モデルと比較する。この設定により、動物の利用および苦痛を有意に減らして、同じ環境設定で病変段階および足場植え込み段階を実施することが可能になる。このモデルは、信頼性が高く、効率的で、古典的なモデルに負けないことが示されており、したがって、次の動物実験段階の基礎である。

40

【0112】

段階2-主要試験段階

主要試験段階は、小型および大型の動物モデル(すなわち、ブタ)における実現可能性調査および有効性調査である。第1に、ウサギにおける足場植え込みの実現可能性調査を実施して、足場候補物の炎症応答および血栓形成性を評価する。この実現可能性調査は、ウサギモデルにおいて最初に行われる短期および長期の有効性調査と共に、ありのままの(naked)材料および機能化材料に対して実施する。データから、各アプローチに由来する一対の足場候補物を選択し、さらに精密にし、かつ大型動物モデルにおける長期実験のために、ヒト血管サイズにスケール変更する。

【0113】

50

図9は、生来のウサギ大動脈上に送達され、自留する、生体吸収性足場(この場合、エラスチン様組換えポリマー)の繊維メッシュを示す。図9Aでは、生来の大動脈に圧力を加えずに、ポリマーメッシュを適用した。足場の外表面のアルギニルグリシルアスパラギン酸(RGDペプチド)は、大動脈の内層に強く結合する。図9Bでは、ポリマーメッシュを、低圧(2atm)で膨らませたバルーンを用いて配置した。これらの結果は、動脈壁への生体吸収性足場の完全かつ全面的な接着を示す。

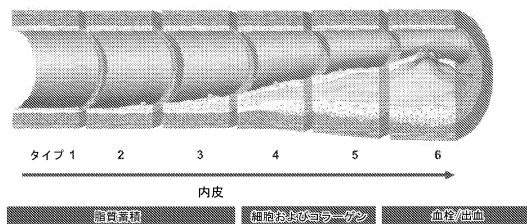
【0114】

外表面にRGDペプチドを有するエラスチン様ポリマーのヒドロゲルを、組織に加えられる延伸力の非存在下で、低い膨張圧のバルーンカテーテルによって、生来のウサギ大動脈上に配置した。結果として生じる、大動脈へのヒドロゲルの結合を図10に示す。ヒドロゲルの薄い層は、動脈壁にそのまま適合し、しっかりと付着して、人工内弾性板の役割を果たす。図11において、本出願で説明するようにして作製するSIL/SIELが、人工製造され、動物の正常な動脈中に配置され、保持され、かつ天然の(その下の)ものと同様の外観、寸法、および弾性を保持することが示されている。

10

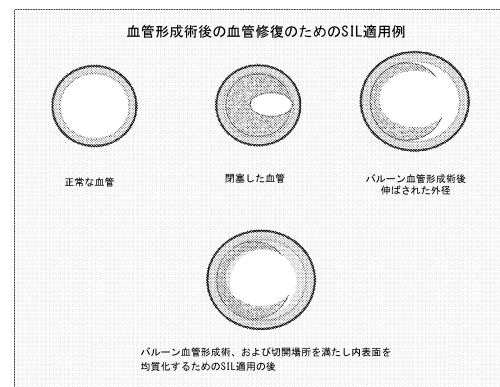
【図1】

アテローム性動脈硬化の進行

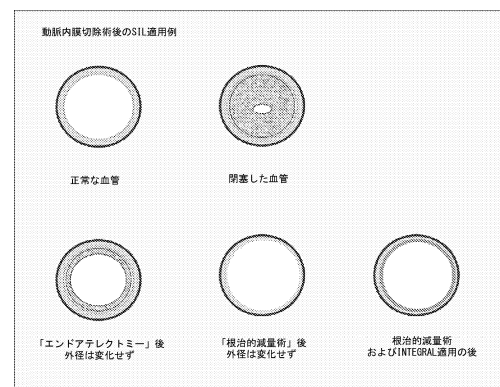


Atherosclerosis;Supplements 2(2001)9-14

【図2】

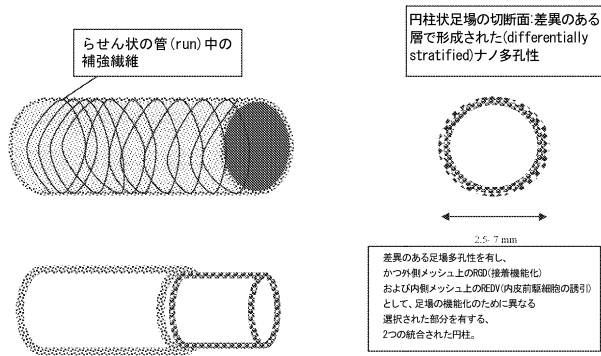


a)

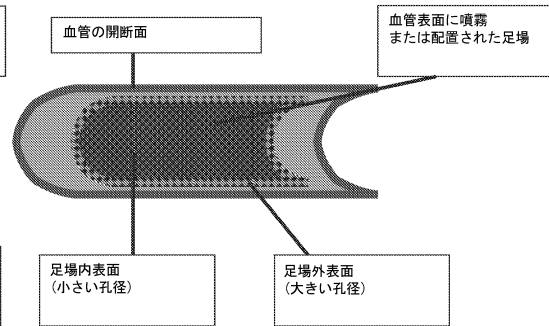


b)

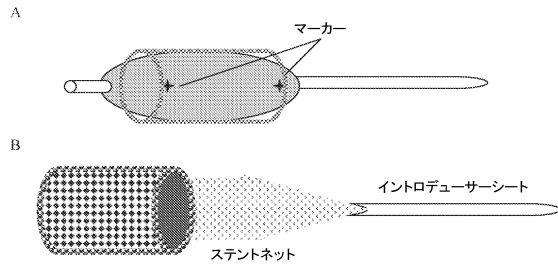
【図 3】



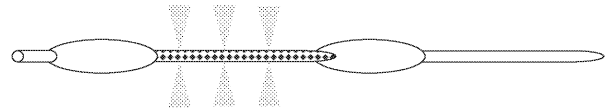
【図 5】



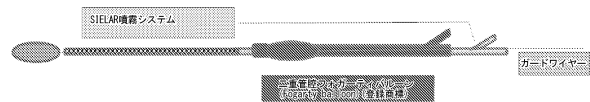
【図 4】



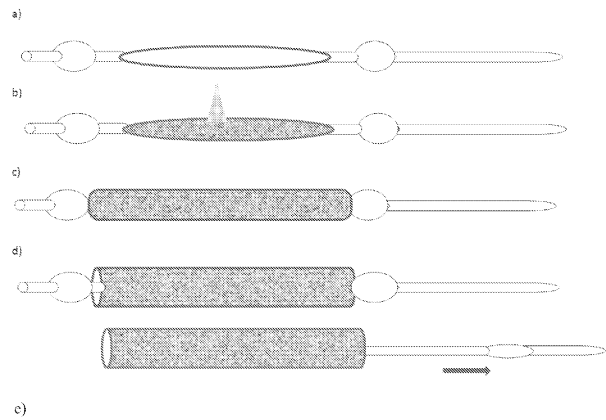
【図 6】



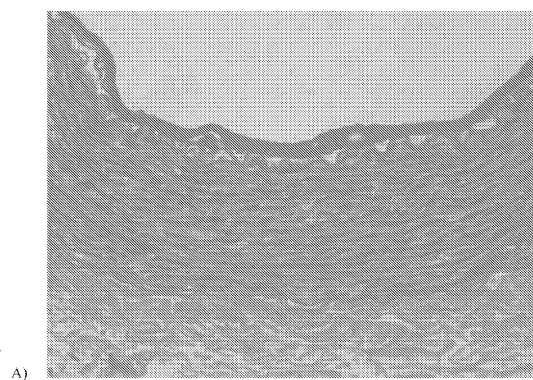
【図 7】



【図 8】



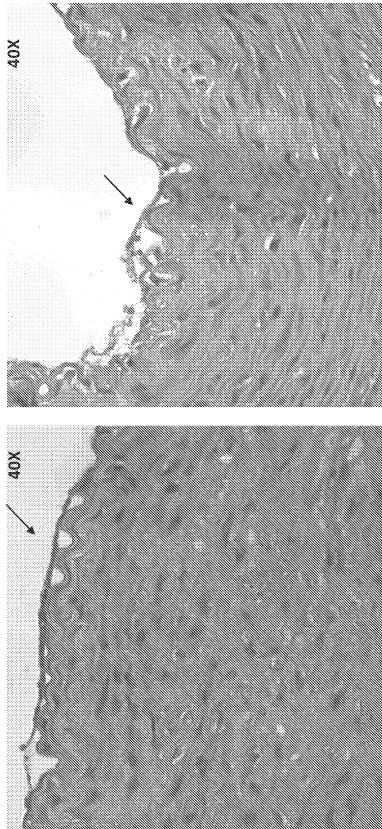
【図 9】



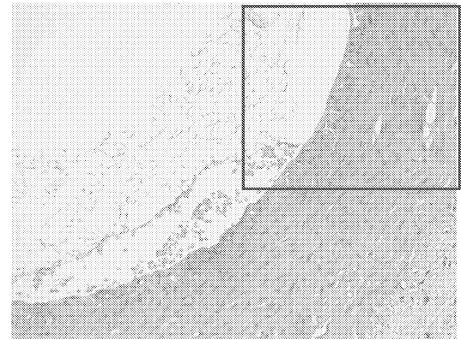
A)

B)

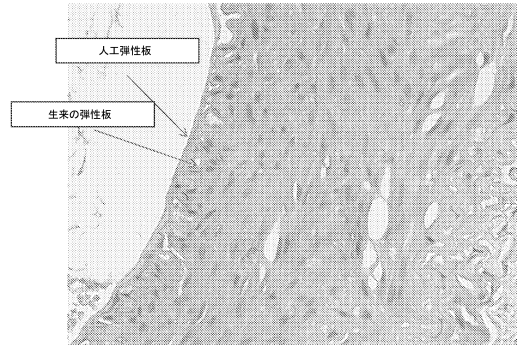
【図 10】



【図 11】



A) 組織学的試料 (20倍)。S.I.Lと生来の弾性板との寸法の相関を示すための、説明した方法によって生来の動脈内膜の全体に渡って配置した人工弾性板。



B) 上記の断面の一部分の拡大写真 (40倍)

【配列表】

0006498186000001.app

フロントページの続き

- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 セリーノ フランシスコ
アラバ首長国連邦 アブ ダビ ピー・オー・ボックス(クリーブランド クリニック) 1 1 2 4
1 2 リーハン ハイッ アpartment ディー 1 5 - 0 3

審査官 小原 一郎

- (56)参考文献 特表2002-540854(JP,A)
特表2011-519616(JP,A)
特開2007-307132(JP,A)
特表2015-513349(JP,A)
特表昭59-500702(JP,A)
米国特許出願公開第2010/0125330(US,A1)
Yanjun An, Jeffrey A. Hubbell, Intraarterial protein delivery via intinally-adherent bilayer hydrogels, journal of controlled release, 米国, Elsevier Science B.V., 2000年, 64, 205-215

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 6 1 F 2 / 0 4
A 6 1 F 2 / 0 6