



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201836621 A

(43) 公開日：中華民國 107 (2018) 年 10 月 16 日

(21) 申請案號：107106254

(22) 申請日：中華民國 107 (2018) 年 02 月 23 日

(51) Int. Cl. :

*A61K35/00 (2006.01)**A61K35/12 (2015.01)**A61K35/28 (2015.01)**A61K35/32 (2015.01)**A61K35/30 (2015.01)**A61K47/00 (2006.01)**A61K9/00 (2006.01)**A61P37/00 (2006.01)**A61P3/00 (2006.01)**A61P5/00 (2006.01)**A61P39/00 (2006.01)**C12N5/07 (2010.01)*

(30) 優先權：2017/02/23 日本

2017-032742

(71) 申請人：日商日本瓦姆珀巴爾股份有限公司 (日本) JAPAN VAM & POVAL CO., LTD. (JP)

日本

國立大學法人東北大學 (日本) TOHOKU UNIVERSITY (JP)

日本

(72) 發明人：小原田明信 OHARUDA, AKINOBU (JP)；木村佳弘 KIMURA, YOSHIHIRO (JP)；

後藤昌史 GOTO, MASAFUMI (JP)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：6 共 51 頁

(54) 名稱

細胞或組織包埋裝置

(57) 摘要

本發明之課題在於：於製作含有活細胞或活體組織之 PVA 凝膠之製程中，藉由抑制活細胞或活體組織之減少，而供給生理活性物質之供給能力較高之細胞或組織包埋裝置。本發明將間規性以三元組表示而為 32 ~ 40% 之聚乙烯醇樹脂作為成分而構成用以形成細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層的水性凝膠。

【發明說明書】

【中文發明名稱】

細胞或組織包埋裝置

【技術領域】

本發明係關於一種用以形成細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層之水性凝膠，該細胞或組織包埋裝置藉由向患者移植產生及/或分泌對活體有用之激素或蛋白質等生理活性物質之活體組合物、或具有對有害之物質進行解毒之作用之活體組合物，而對內分泌疾病、代謝疾病等包括人在內之動物之疾病之預防及/或治療發揮效果。

【先前技術】

所謂細胞或組織包埋裝置係指含有活細胞或活體組織等，且以藉由向患者供給與代謝功能相關之激素或蛋白質等生理活性物質代替患有疾病之人或動物之器官等，或對有害物質進行解毒，而預防及/或治療患者之疾病為目的之裝置。細胞或組織包埋裝置由於可利用免疫隔離層而保護活細胞或活體組織免受活體之防禦機制之傷害，故而與活體器官移植相比，無需投予免疫抑制劑，故而不必擔心由免疫抑制劑所引起之副作用，並且由於治療為低侵入，不僅可進行來自屍體供體之同種人工器官移植，而且亦可進行各種再生幹細胞或異種人工器官移植，具有可解決供體不足之能力，故而優異。

近年來，業界正不斷研究將通用高分子或金屬、陶瓷等材料與活細胞或活體組織及具有該等之細胞製劑組合而成之細胞或組織包埋裝置，藉由變更其中所含之細胞等之種類，可應對各種疾病之治療。

例如，生物人工胰島於其中具有胰島素分泌細胞(例如胰島細胞)，用

於向患者供給由胰島細胞分泌之胰島素激素而謀求血糖值之修正。

除此以外，亦於血友病、腦下垂體性侏儒症(pituitary dwarfism)、副甲狀腺機能減退症(hypoparathyroidism)、帕金森氏症等疾病之治療中不斷研究凝血因子生產型生物人工器官、生長激素生產型生物人工器官、副甲狀腺激素產生型生物人工器官、多巴胺產生型生物人工器官等生物人工器官。

細胞或組織包埋裝置有各種形狀，作為其一例，可列舉使用有利用高分子聚合物包入有活細胞或活體組織之微膠囊型或大膠囊型之製劑(例如細胞製劑)者。該等之特徵在於：藉由高分子聚合物所具有之牢固之交聯結構，保護其中所含之細胞或組織免受活體之防禦機制之傷害，進而利用高分子聚合物所具有之分子透過能力，向活體供給由細胞或組織分泌之激素等。

作為使用大膠囊型細胞製劑之生物人工器官等中所使用之高分子聚合物，近年來，聚乙烯醇(以下，亦簡稱為PVA)不斷受到關注。

PVA為安全性較高之材料，藉由實施化學或物理處理而進行凝膠化，PVA凝膠之凝膠強度相對較高，可成形為各種形狀。作為化學處理，例如使用有向包含PVA之水溶液中添加戊二醛(交聯劑)及鹽酸(觸媒)之方法等(例如參照非專利文獻1)。又，作為物理處理，例如使用有於約-20℃之低溫下將包含PVA之水溶液急冷而進行凝膠化之方法等(專利文獻1)。

先前技術文獻

專利文獻

專利文獻1：日本專利特開平10-43286號公報

專利文獻2：日本專利特開2004-331643號公報

非專利文獻

非專利文獻 1：Krystyna Burczak et. Al, Long-term in vivo performance and biocompatibility of PVA hydrogelmacrocapsules for hybrid-type artificial pancreas、Biomaterials、1996年、第17卷、p2351-2356

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

上述利用化學處理之凝膠化方法存在如下問題：因由殘留於PVA凝膠中之交聯劑或觸媒添加引起之低pH值化等導致細胞受到損傷，因存活細胞數之減少或生理活性物質之供給能力降低，而無法獲得所需之治療效果。

另一方面，於利用物理處理之凝膠化方法中，未使用藥劑，無由交聯劑或觸媒所引起之損傷，但由於在低溫下進行急冷，故而產生存活細胞數之減少或生理活性物質之供給能力降低。

作為解決該等問題之方法，揭示有於低溫下製作PVA凝膠時，使活細胞與細胞保存劑共存之方法(專利文獻2)。然而，於該方法中，為了製造PVA凝膠，仍然於低溫(-80℃)下處理24小時，故而未能充分地解決存活細胞數之減少與伴隨於其之生理活性物質之供給能力降低之問題。

鑒於上述現狀，本發明之課題在於：於製作含有活細胞或活體組織之PVA凝膠之製程中，藉由抑制活細胞或活體組織之減少，而供給生理活性物質之供給能力較高之細胞或組織包埋裝置。

[解決問題之技術手段]

本發明者等人為了達成上述目的而反覆進行努力研究，結果發現，

若使用可於 -5°C 以上之溫度下形成凝膠的主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠而形成高分子材料，則可不使用交聯劑，且於所需(即，所包埋之活細胞或活體組織不易受到損傷)之pH值、溫度下進行凝膠化，故而可於最適合活細胞或活體組織之條件下進行凝膠化。於使用作為最佳態樣之一的具有特定之間規性之PVA樹脂(較佳為間規性以三元組表示而為32~40%之PVA樹脂)之實際驗證中，確認到獲得PVA凝膠中之細胞或組織之存活率及生理活性物質之供給能力較高之PVA凝膠細胞(或組織)製劑，進而反覆進行研究，從而完成本發明。

即，本發明係關於以下之(1)至(23)。

(1)一種細胞或組織包埋裝置，其具有水性凝膠作為免疫隔離層，該水性凝膠包含間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)作為成分。

(2)如上述(1)所記載之細胞或組織包埋裝置，其特徵在於：水性凝膠具有於 -5°C 以上之溫度下之凝膠化歷程。

(3)如上述(1)或(2)所記載之細胞或組織包埋裝置，其特徵在於：水性凝膠具有0.3~30 kPa之應力。

(4)如上述(1)至(3)中任一項所記載之細胞或組織包埋裝置，其中聚乙烯醇樹脂(A)之皂化度為90~99.99莫耳%，聚合度為100~10000。

(5)如上述(1)至(4)中任一項所記載之細胞或組織包埋裝置，其中聚乙烯醇樹脂(A)係以新戊酸乙烯酯作為聚合成分之聚合物之皂化物，且包含新戊酸乙烯酯單元。

(6)如上述(1)至(5)中任一項所記載之細胞或組織包埋裝置，其中於免疫隔離層中封入有活體組合物(B)及細胞培養成分(C)。

(7)如上述(6)所記載之細胞或組織包埋裝置，其中活體組合物(B)係選自由胰島細胞、胰管細胞、肝臟細胞、神經細胞、甲狀腺細胞、副甲狀腺細胞、腎細胞、腎上腺細胞、腦下垂體細胞、脾細胞、脂肪細胞、骨髓細胞、間質幹細胞、ES細胞(embryonic stem cells，胚胎幹細胞)及iPS細胞(induced pluripotent stem cells，誘導性多功能幹細胞)所組成之群中之1種以上。

(8)如上述(6)所記載之細胞或組織包埋裝置，其中活體組合物(B)為胰島細胞或肝臟細胞。

(9)如上述(6)至(8)中任一項所記載之細胞或組織包埋裝置，其中細胞培養成分(C)係含有選自由Na、K、Cl、Ca及葡萄糖(Glucose)所組成之群中之1種以上之乙酸或磷酸緩衝液。

(10)如上述(1)至(9)中任一項所記載之細胞或組織包埋裝置，其含有支持基材(D)。

(11)如上述(10)所記載之細胞或組織包埋裝置，其中支持基材(D)之素材係選自由PET(Polyethylene Terephthalate，聚對苯二甲酸乙二酯)、PE(Polyethylene，聚乙烯)、PP(Polypropylene，聚丙烯)、鐵氟龍(註冊商標)及金屬所組成之群中之1種以上。

(12)如上述(1)至(11)中任一項所記載之細胞或細胞包埋裝置，其特徵在於：具有0.3~30 kPa之應力。

(13)一種如上述(6)至(12)中任一項所記載之細胞或組織包埋裝置之製造方法，其包括如下步驟：於將包含聚乙烯醇樹脂(A)之水溶液與細胞培養成分(C)加以混合後，混合活體組合物(B)，並使所獲得之混合物凝膠化。

(14)如上述(13)所記載之細胞或組織包埋裝置之製造方法，其中將製作水性凝膠時之溫度設為-5°C以上。

(15)一種細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層形成劑，其含有包含間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)之水性凝膠。

(16)如上述(15)所記載之劑，其中聚乙烯醇樹脂(A)之皂化度為90~99.99莫耳%，聚合度為100~10000。

(17)如上述(16)所記載之劑，其中聚乙烯醇樹脂(A)係以新戊酸乙酯作為聚合成分之聚合物之皂化物，且包含新戊酸乙酯單元。

(18)一種細胞或活體組織包埋裝置，其具有水性凝膠作為免疫隔離層，該水性凝膠之特徵在於：包含聚乙烯醇樹脂(A)，並且使所封入之活體組合物(B)之分泌成分透過，且抑制免疫相關細胞或免疫相關物質之透過。(此處，活體組合物(B)之分泌成分較佳為對活體有用之激素或蛋白質等生理活性物質)

(19)一種如上述(1)至(12)及(15)至(17)中任一項所記載之水性凝膠之用途，其係用以製造如上述(1)至(12)中任一項所記載之裝置。

(20)一種人或動物之疾病之預防或治療方法，其特徵在於：向人或動物投予如上述(1)至(12)中任一項所記載之裝置。

(21)如上述(1)至(12)中任一項所記載之裝置，其係用於人或動物之疾病之預防或治療。

(22)一種混合物，其含有間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)、活體組合物(B)及細胞培養成分(C)，其特徵在於：具有於-5°C以上之溫度下進行凝膠化之性質。

(23)一種針對生理活性物質產生細胞或組織之保護凝膠層之形成方

法，其係直接針對生理活性物質產生細胞或組織，或針對利用支持材料支持該生理活性物質產生細胞或組織而成者，應用包含主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料之保護凝膠層形成材料之水溶液或者溶膠，其後於-5°C以上之溫度下形成凝膠。

[發明之效果]

本發明之細胞或組織包埋裝置由於使用有主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料，故而於應用於活體內之情形時可獲得長期之裝置壽命，並且無需交聯劑成分，又，由於可在所包埋之活細胞或活體組織不易受到損傷、或可抑制所包埋之活細胞或活體組織之死亡的pH值、溫度(較佳為-5°C以上)下形成水性PVA凝膠，故而對患者有用之激素或蛋白質等生理活性物質之供給能力較高。再者，主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料視需要可利用交聯劑成分進行交聯。

即，本發明之細胞或組織包埋裝置耐受長期使用，且所包埋之細胞或組織之存活率較高。

又，藉由向患者投予本發明之細胞或組織包埋裝置，可進行內分泌疾病、代謝疾病、糖尿病、神經退化性疾病、血友病、骨病、癌症等疾病之預防及/或治療，且可於穩定之狀態下長時間於活體內保有細胞或組織，因此可實現較高之治癒率，並且可降低細胞或組織包埋裝置之移植頻度。

進而，作為本發明之代表性之態樣的水性PVA凝膠等水性凝膠(於本說明書中，亦稱為本發明之水性凝膠)除可阻礙白血球或抗體等之透過以外，亦可阻礙補體之透過，故而除可進行與免疫相關之細胞或抗體之隔離以外，亦可進行輔助免疫作用之補體之隔離。即，本發明之水性PVA凝膠

具有使應透過之氧、無機有機之營養成分、假定為各種激素中最大之直徑 5 nm 左右之分子(例如包含胰島素等激素之生理活性物質)透過，且不使應阻止透過之免疫相關細胞或假定為免疫相關物質中最小之直徑 50 nm 左右之分子(例如抗體、補體等)透過之選擇性，故而可用作免疫隔離層，具有優異之免疫抑制作用。

【圖式簡單說明】

圖1係表示移植有實施例1之生物人工胰島裝置之糖尿病模型動物之血糖值之經時變化的圖。

圖2係表示移植有比較例1~5之凍結融解式胰島裝置的糖尿病模型動物之血糖值之經時變化的圖。

圖3係表示移植有比較例6~11之凍結融解式胰島裝置的糖尿病模型動物之血糖值之經時變化的圖。

圖4係以圖式記載自胰臟取得胰島細胞之方法之一態樣者。

圖5係表示具有包含聚乙烯醇樹脂(A)作為成分之水性凝膠作為免疫隔離層的細胞或組織包埋裝置之一態樣。

圖6係模式性地表示向新生血管內投予本發明之裝置並收納之狀態之一態樣。

【實施方式】

以下，詳細地說明本發明。

本發明包含一種細胞或組織包埋裝置，其具有水性凝膠作為免疫隔離層，該水性凝膠於製備時可製成水溶液或者溶膠，且包含可於-5℃以上之溫度下形成凝膠的主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料、代表地而言為間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)

作為成分。

本發明之水性凝膠之代表性態樣係如下水性凝膠，其於製備時為水溶液或者溶膠，且包含藉由降低至 -5°C 以上之溫度而進行凝膠化之控制了間規性之PVA樹脂(進而，間規性以三元組表示而為32~40%之PVA樹脂)作為成分，而用以形成細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層。

於本發明中，溶膠較佳為水溶膠。

[主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料]

本發明中所使用之主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料不同於基於相同目的而使用之作為水系凝膠形成材料之明膠或海藻酸等，較佳為主鏈不會被活體內之酶所切斷之高分子材料，例如只要為主要部分不被切斷者，則亦可追加性地包含會在單末端或兩末端被切斷之主鏈。作為此種材料之代表例，可列舉具有乙烯結構作為重複單元之主鏈的聚合物、尤其是聚乙烯醇系樹脂或聚丙烯酸系樹脂，其中較佳為於其側鏈具有水溶性及進行凝膠形成之功能性官能基者。於使用此種材料之情形時，即便使之長時間存在於活體內，主鏈亦不會被活體內之酶所切斷，因此可長時間保持裝置形狀。

又，本發明中所使用之主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料較佳為如下凝膠形成高分子材料：若暫時設為水溶液或溶膠之狀態，則於應用於活細胞時之溫度、即 $0\sim 60^{\circ}\text{C}$ 之間之任一溫度下均可作為水溶液或者溶膠而使用，其後可藉由在 -5°C 以上之溫度下進行放置，而成為凝膠狀態，且主鏈不會被活體內之酶所切斷。眾所周知，利用溫度變化之水性凝膠之形成係藉由因高分子材料之側鏈之功能性官能基間之物理相互作用所引起之交聯形成而產生。作為物理相互作用，代表性而言係由具

有活性氫之極性基間之氫鍵、尤其是羥基間之氫鍵所引起者，除此以外，亦有利用由親水性高分子內所含之疏水基所引起之疏水性相互作用者等。

凝膠形成溫度之控制可藉由功能性官能基相對於樹脂整體之存在量、或樹脂間之結構性相互作用之促進等而進行，對於PVA樹脂，可藉由向側鏈導入進行相互作用之特別之官能基之方法，此外控制樹脂之主鏈之立體規整性，而容易引起樹脂之羥基間之相互作用，而於相對較高之溫度下形成凝膠。

以下，對使用有作為本發明之代表性態樣之間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂之情形加以具體說明。

[PVA樹脂(A)]

本發明中所使用之作為主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料之代表性態樣的PVA樹脂(A)之間規性以三元組表示通常為32~40%，較佳為33~39%，進而較佳為34~38%。若間規性為32%以上，則容易成為水性凝膠，若為40%以下，則水性凝膠之製作變得容易。

再者，三元組表示之間規性可使PVA樹脂(A)溶解於氘化DMSO(dimethylsulfoxide，二甲基亞砜)中，根據利用質子NMR(Nuclear Magnetic Resonance，核磁共振)測定所測得之羥基之波峰而求出。

本發明中所使用之PVA樹脂(A)之製法只要以三元組表示之間規性成為32~40%，則無特別限定，可藉由將利用先前公知之方法所獲得之乙烯酯聚合物進行皂化之方法而容易地獲得。即，本發明中所使用之PVA樹脂為乙烯酯聚合物之皂化物。

作為乙烯酯聚合物之製造方法，只要為使乙烯酯系單體聚合之方法，則無特別限定，可依據先前公知之方法。

於聚合時，聚合容器之形狀、聚合攪拌機之種類、進而聚合溫度、或聚合容器內之壓力等均可採用公知方法者。作為聚合方法，可為先前公知之塊狀聚合、溶液聚合、懸浮聚合、乳化聚合等各種聚合方法。若考慮聚合度之控制或於聚合後進行之皂化反應等，則較佳為將醇作為溶劑之溶液聚合、或將水或水及醇作為分散介質之懸浮聚合，但並不限定於該等。

作為乙烯酯系單體，例如可列舉：脂肪酸乙烯酯、非脂肪酸系乙烯酯(例如甲酸乙烯酯、芳香族羧酸乙烯酯等)等乙烯酯等，就可獲得間規性較高之PVA等觀點而言，可列舉： C_{3-15} 脂肪酸乙烯酯[例如丙酸乙烯酯、丁酸乙烯酯、新戊酸乙烯酯等直鏈或支鏈之 C_{3-15} 脂肪酸乙烯酯、較佳為 C_{3-10} 脂肪酸乙烯酯(例如直鏈或支鏈之 C_{3-10} 脂肪酸乙烯酯等)等]、具有取代基(例如鹵基)之 C_{3-15} 脂肪酸乙烯酯[例如三氟乙酸乙烯酯、三氯乙酸乙烯酯等]、甲酸乙烯酯等。該等乙烯酯可單獨使用一種，或將兩種以上組合而使用。

作為PVA樹脂(A)之製法之一例，具體而言，可列舉：於使具有大體積之側鏈之丙酸乙烯酯、丁酸乙烯酯、新戊酸乙烯酯等乙烯酯進行均聚合或共聚合後，利用鹼性觸媒進行皂化之方法；或於使甲酸乙烯酯、三氟乙酸乙烯酯、三氯乙酸乙烯酯等高極性之乙烯酯進行均聚合或共聚合後，利用鹼性觸媒進行皂化之方法。其中可適宜地使用於使新戊酸乙烯酯聚合後，利用鹼性觸媒進行皂化之方法。於下述實施例中記載有利用三元組表示之間規性為37.1%之製造例。使利用三元組表示之間規性小於37.1%例如可藉由如下方式達成：於新戊酸乙烯酯之聚合時，使乙酸乙烯酯共存而獲得新戊酸乙烯酯與乙酸乙烯酯之共聚物或提高聚合溫度。又，使利用三元組表示之間規性大於37.1%例如可藉由降低上述製造例中之聚合溫度而

達成。任一情形時，所獲得之PVA樹脂(A)之利用三元組表示之間規性均可使PVA樹脂(A)溶解於氘化DMSO中，根據利用質子NMR測定所測得之經基之波峰而求出，因此可選擇適當處於32~40%之範圍內者而用於本發明。

又，於乙烯酯聚合物中，除可含有上述乙烯酯以外，亦可於不阻礙本發明之效果之範圍內，含有可與乙烯酯進行共聚合之其他不飽和單體。

作為其他不飽和單體，例如可列舉選自含羧基之不飽和單體[例如(甲基)丙烯酸、順丁烯二酸、順丁烯二酸酐、反丁烯二酸、丁烯酸、伊康酸、十一碳烯酸等]、不飽和二元酸單烷基酯類(例如順丁烯二酸單甲酯、伊康酸單甲酯等)、含醯胺基之不飽和單體(例如丙烯醯胺、二甲基丙烯醯胺、二甲基胺基乙基丙烯醯胺、二乙基丙烯醯胺、二甲基胺基丙基丙烯醯胺、異丙基丙烯醯胺、N-羥甲基丙烯醯胺、N-乙基乙醯胺等)、鹵化乙烯類(例如氯乙烯、氟乙烯等)、具有縮水甘油基之不飽和單體(例如烯丙基縮水甘油醚、甲基丙烯酸縮水甘油酯等)、含內醯胺基之不飽和單體[例如N-乙基吡咯啉酮類[例如N-乙基-2-吡咯啉酮、N-乙基-烷基吡咯啉酮(例如N-乙基-3-丙基-2-吡咯啉酮、N-乙基-5-甲基-2-吡咯啉酮、N-乙基-5-乙基-2-吡咯啉酮、N-乙基-5,5-二甲基-2-吡咯啉酮、N-乙基-3,5-二甲基-2-吡咯啉酮等N-乙基-單或二C₁₋₄烷基吡咯啉酮)等]、N-烯丙基吡咯啉酮類(例如N-烯丙基-2-吡咯啉酮等)、N-乙基哌啉酮類[例如N-乙基-2-哌啉酮、N-乙基-烷基哌啉酮(例如N-乙基-6-甲基-2-哌啉酮、N-乙基-6-乙基-2-哌啉酮等N-乙基-單或二C₁₋₄烷基哌啉酮)等]、N-乙基己內醯胺類[例如N-乙基-ε-己內醯胺、N-乙基-烷基己內醯胺(例如N-乙基-7-甲基-2-己內醯胺、N-乙基-7-乙基-2-己內醯

胺等N-乙烯基-單或二C₁₋₄烷基己內醯胺等]]、烷基乙烯醚類[例如C₁₋₂₀烷基乙烯醚(例如甲基乙烯醚、正丙基乙烯醚、異丙基乙烯醚、正丁基乙烯醚、異丁基乙烯醚、第三丁基乙烯醚、月桂基乙烯醚、十二烷基乙烯醚、硬脂基乙烯醚等)]、腈類(例如丙烯腈、甲基丙烯腈等)、含羥基之不飽和單體[例如C₁₋₂₀單烷基烯丙醇(例如烯丙醇、異丙烯基烯丙醇等)、C₁₋₂₀二烷基烯丙醇(例如二甲基烯丙醇等)、羥基C₁₋₂₀烷基乙烯醚(例如羥基乙基乙烯醚、羥基丁基乙烯醚等)]、含乙醯基之不飽和單體[例如乙酸C₁₋₂₀烷基烯丙酯(例如乙酸烯丙酯、乙酸二甲基烯丙酯、乙酸異丙烯基烯丙酯等)]、(甲基)丙烯酸酯類{例如(甲基)丙烯酸烷基酯[例如(甲基)丙烯酸甲酯、(甲基)丙烯酸乙酯、丙烯酸2-乙基己酯、丙烯酸正丁酯等(甲基)丙烯酸C₁₋₂₀烷基酯]等}、乙烯基矽烷類(例如三甲氧基乙烯基矽烷、三丁基乙烯基矽烷、二苯基甲基乙烯基矽烷等)、聚氧伸烷基(甲基)丙烯酸酯類[例如聚氧乙烯(甲基)丙烯酸酯、聚氧丙烯(甲基)丙烯酸酯等]、聚氧伸烷基(甲基)丙烯醯胺類[例如聚氧乙烯(甲基)丙烯醯胺、聚氧丙烯(甲基)丙烯醯胺等]、聚氧伸烷基乙烯醚類(例如聚氧乙烯乙烯醚、聚氧丙烯乙烯醚等)、聚氧伸烷基烷基乙烯醚類(例如聚氧乙烯烯丙醚、聚氧丙烯烯丙醚、聚氧乙烯丁基乙烯醚、聚氧丙烯丁基乙烯醚等)、 α -烯烴類(例如乙烯、丙烯、正丁烯、1-己烯等)、丁烯類(例如3,4-二羥基-1-丁烯、3,4-二醯氧基-1-丁烯、3-醯氧基-4-羥基-1-丁烯、4-醯氧基-3-羥基-1-丁烯、3,4-二醯氧基-2-甲基-1-丁烯等)、戊烯類(例如4,5-二羥基-1-戊烯、4,5-二醯氧基-1-戊烯、4,5-二羥基-3-甲基-1-戊烯、4,5-二醯氧基-3-甲基-1-戊烯等)、己烯類(例如5,6-二羥基-1-己烯、5,6-二醯氧基-1-己烯等)、胺系不飽和單體[例如N,N-二甲基烯丙基胺、N-烯丙基哌啶、3-哌啶丙烯酸乙酯、2-乙烯

基吡啶、4-乙烯基吡啶、2-甲基-6-乙烯基吡啶、5-乙基-2-乙烯基吡啶、5-丁烯基吡啶、4-戊烯基吡啶、2-(4-吡啶基)烯丙醇等]、具有四級銨化合物之不飽和單體(例如丙烯酸二甲基胺基乙酯氯化甲基四級鹽、N,N-二甲基胺基丙基丙烯醯胺氯化甲基四級鹽、N,N-二甲基胺基丙基丙烯醯胺甲基苯磺酸四級鹽等)、芳香族系不飽和單體(例如苯乙烯等)、含有磺酸基之不飽和單體(例如2-丙烯醯胺-2-甲基丙磺酸或者其鹼金屬鹽、銨鹽或有機胺鹽；2-丙烯醯胺-1-甲基丙磺酸或者其鹼金屬鹽、銨鹽或有機胺鹽；2-甲基丙烯醯胺-2-甲基丙磺酸或者其鹼金屬鹽、銨鹽或有機胺鹽；乙烯基磺酸或者其鹼金屬鹽、銨鹽或有機胺鹽；烯丙基磺酸或者其鹼金屬鹽、銨鹽或有機胺鹽；甲基烯丙基磺酸或者其鹼金屬鹽、銨鹽或有機胺鹽等)、甘油單烯丙醚、2,3-二乙醯氧基-1-烯丙氧基丙烷、2-乙醯氧基-1-烯丙氧基-3-羥基丙烷、3-乙醯氧基-1-烯丙氧基-3-羥基丙烷、3-乙醯氧基-1-烯丙氧基-2-羥基丙烷、甘油單乙烯醚、甘油單異丙烯醚、丙烯醯基嗎啉、碳酸乙烯基伸乙酯、乙烯基咪唑、乙烯基呋唑等中之1種以上等。作為其他不飽和單體之含量，並無特別規定，例如相對於乙烯酯系單體100莫耳而為10莫耳以下即可。

又，於聚合時，可使用聚合觸媒。作為聚合觸媒，並無特別限定，通常可使用偶氮系化合物或過氧化物。

又，於聚合時，亦可為了防止脂肪族乙烯酯之水解，而添加酒石酸、檸檬酸、乙酸等有機酸。

又，聚合之結束並無特別限定，可使用聚合終止劑。聚合終止劑並無特別限定，例如可列舉間二硝基苯等。

聚合溫度並無特別限定，可為公知之聚合溫度，就容易獲得間規性

較高之PVA樹脂等觀點而言，例如為 $-50\sim 200^{\circ}\text{C}$ ，較佳為 $-50\sim 150^{\circ}\text{C}$ ，進而較佳為 $0\sim 120^{\circ}\text{C}$ 等。

藉由上述方式而獲得乙烯酯聚合物。所獲得之聚合物之皂化反應方法並無特別限定，可依據先前公知之方法，例如可應用使用先前公知之氫氧化鈉、氫氧化鉀、甲醇鈉等鹼性觸媒、或鹽酸、硫酸、對甲苯磺酸等酸性觸媒的醇解或水解反應。再者，於皂化反應之前後，通常聚合物之間規性幾乎不變動。

作為皂化反應中所使用之溶劑，可列舉：甲醇、乙醇等醇類；乙酸甲酯、乙酸乙酯等酯類；丙酮、甲基乙基酮等酮類；苯、甲苯等芳香族烴類；四氫呋喃等，該等可單獨使用，或將兩種以上組合而使用。又，皂化溫度、時間等並無特別限制。

又，皂化物之乾燥、粉碎、洗淨方法亦無特別限制，可使用公知之方法。

如此，可獲得乙烯酯聚合物之皂化物、即本發明中之PVA樹脂(A)。可於不阻礙本發明之效果之範圍內，使用公知之方法，藉由縮醛化、胺基甲酸酯化、醚化、接枝化、磷酸酯化、乙醯乙醯化、陽離子化等反應對所獲得之PVA樹脂(A)進行後改性。

PVA樹脂(A)之皂化度較佳為 $90\sim 99.99$ 莫耳%，更佳為 $98\sim 99.99$ 莫耳%(例如 $98.0\sim 99.97$ 莫耳%)，進而較佳為 $99\sim 99.99$ 莫耳%(例如 $99\sim 99.95$ 莫耳%)。再者，PVA樹脂之皂化度可於氘化DMSO溶液中測定 $^1\text{H-NMR}$ 而求出。

PVA樹脂(A)之聚合度較佳為 $100\sim 10000$ ，更佳為 $500\sim 8000$ ，進而較佳為 $1000\sim 5000$ ，就相對容易操作之方面而言，尤佳為 $1000\sim 3000$ 。

例如，作為PVA樹脂之聚合度，例如可列舉包含於1000~2000、2000~3000、3000~4000、4000~5000之範圍內者等。若聚合度為100以上，則樹脂強度(應力)較高，容易製作具有保形性之水性凝膠。若聚合度為10000以下，則水溶液容易使用。再者，聚合度係皂化前之樹脂於JISK6725中所記載之苯溶液中於30°C下之聚乙酸乙烯酯換算之聚合度。

關於本發明之水性PVA凝膠之交聯率、空隙率及/或平均孔徑，只要於不會阻礙使應透過之氧、無機有機之營養成分、假定為各種激素中最大之直徑5 nm左右之分子(例如包含胰島素等激素之生理活性物質)透過，且不使應阻止透過之免疫相關細胞或假定為免疫相關物質中最小之直徑50 nm左右之分子(例如抗體、補體等)透過的有選擇性之效果之範圍內進行調整即可。作為有助於調整之方法，可列舉阻止補體透過之試驗等。

本發明之水性PVA凝膠之平均孔徑例如為5 nm以上且未達500 nm，較佳為5 nm以上且未達200 nm，進而較佳為5 nm以上且未達50 nm。

上述平均孔徑例如可藉由如下方式求出：利用掃描式電子顯微鏡(日立S-4000型、日立製作所製造)拍攝凝膠表面之照片(SEM照片、倍率1,000倍~5,000倍)，將所獲得之照片輸入至圖像處理裝置(本體名：NIPPON AVIONICS股份有限公司製造之TV IMAGE PROCESSOR TVIP-4100II，控制軟體名：Ratoc System Engineering股份有限公司製造之TV IMAGE PROCESSOR Image Command 4198)中，測定特定數之所獲得之像中之孔徑，並對其進行運算處理，而求出平均孔徑。

或者，可藉由大氣壓掃描電子顯微鏡(例如Hitachi High-Technologies公司製造之AeroSurf 1500、日本電子股份有限公司製造之JASM-6200)、動態光散射法(例如堀場製作所股份有限公司製造之nano

Partica SZ-100 Plus)或掃描式顯微光散射法等而求出。

[活體組合物(B)]

可藉由在本發明之水性凝膠中封入活體組合物(B)，而形成細胞或組織包埋裝置。

作為活體組合物(B)，並無特別限定，可根據所製作之細胞或組織包埋裝置之使用目的而適當加以選擇。

作為活體組合物(B)，只要為可於本發明中較佳地製造水性凝膠之溫度(即， $-5\sim 60^{\circ}\text{C}$)下穩定地保存之細胞(較佳為活細胞)或活體組織，則無論細胞或活體組織之種類如何，均可獲得生理活性物質之供給能力較高之細胞或組織包埋裝置，故而較佳。

作為此種細胞，例如可使用來自外胚層、中胚層或內胚層之分化細胞或幹細胞等。

作為分化細胞，例如可使用表皮細胞、平滑肌細胞、骨細胞、骨髓細胞、軟骨細胞、骨骼肌成肌細胞(Skeletal muscle myoblasts)、胰臟實質細胞、胰島細胞、胰臟內分泌細胞、胰臟外分泌細胞、胰管細胞、肝臟細胞(例如肝細胞)、甲狀腺細胞、副甲狀腺細胞、腎上腺細胞、腦下垂體細胞、脾細胞、松果體細胞、腎臟細胞(腎細胞)、脾臟細胞、前葉細胞、生長激素分泌細胞、多巴胺產生細胞、血液細胞、心肌細胞、骨骼肌細胞、成骨細胞、神經細胞、色素細胞、脂肪細胞等。上述細胞不僅可為自活體單離之細胞，亦可為由下述幹細胞分化誘導而成者。

關於幹細胞(iPS細胞等)等能夠被分化誘導之細胞，可將供分化誘導之細胞導入至裝置中，於投予後於活體內進行分化誘導，亦可將經分化誘導之細胞導入至裝置中而使用。

又，作為幹細胞，可使用組織幹細胞(例如表皮幹細胞、毛囊幹細胞、胰臟幹細胞、胰臟前驅細胞、肝幹細胞、神經幹細胞、視網膜幹細胞、造血幹細胞、間質幹細胞等)、胚胎幹細胞(ES細胞)、iPS細胞(induced pluripotent stem cell)等，但並不限定於該等。

該等細胞係來自人、豬、大鼠或小鼠等哺乳動物，較佳為產生及/或分泌對患者等活體有用之激素或蛋白質等生理活性物質之細胞，細胞之種類之選擇可根據進行移植之患者等活體之疾病之種類而決定。又，於該等細胞為人類細胞以外之情形時，可為基於治療目的而導入有人類基因之細胞。再者，所謂對活體有用之激素，可例示：胰島素、甲狀腺刺激激素、甲狀腺激素、副甲狀腺激素、生長激素、甲狀腺素、糖皮質激素、胰高血糖素、雌二醇、或睾酮等。所謂對活體有用之蛋白質，具體而言，可例示：凝血因子、補體、白蛋白、球蛋白、各種酶(代謝酶或澱粉酶、蛋白酶、或脂肪酶等消化酶)。作為其他生理活性物質之例，例如可列舉多巴胺等神經傳導物質等。

具體而言，較佳為胰臟細胞(胰島細胞)、肝細胞、多巴胺產生細胞及該等之幹細胞、前驅細胞，更佳為胰臟細胞(胰島細胞)、肝細胞、及該等之幹細胞、前驅細胞，更佳為胰臟細胞(胰島細胞)及胰臟前驅(幹)細胞。

本發明中所使用之上述活體組合物(B)可為實驗室用中所確立之細胞或活體組織、或自活體組織分離之細胞等中之任一種，較佳為經分化之非分裂細胞。再者，作為該分離方法，並無特別限定，可依據先前公知之方法。又，自活體組織分離之細胞較理想為去除了病原性病毒等病原體。

於本發明之細胞或組織包埋裝置中，活體組合物(B)之含量可根據活體組合物(B)之種類而適當加以變更，並無特別限定，相對於凝膠裝置包

埋空間 1 mm^3 ，細胞數例如為1000~1000000個，較佳為10000~100000個，更佳為20000~50000個。

投予量係醫師考慮患者之年齡、性別、症狀、副作用等而決定，故而無法一概而論，通常對於每位成人，可向體內移植約1~10個裝置。例如於針對糖尿病患者之情形時，患者之體重每1 kg通常可移植含有1000~100000 IEQ(胰島量之國際單位：將直徑150 μm 之胰島之體積定義為1 IEQ)、較佳為含有5000~40000 IEQ、更佳為含有10000~20000 IEQ之胰島之裝置。

裝置之形狀並無特別限定。包括圓盤狀、球狀、圓柱狀、橢圓球狀等，較佳為圓盤狀。於裝置為圓盤狀之情形時，若以厚度與直徑之積進行表現，則厚度通常為0.1 mm~10 cm，較佳為0.1~5 mm，更佳為0.5~2 mm，直徑通常為1 mm~50 cm，較佳為1 mm~10 cm，更佳為2~4 cm左右。

材質可使用先前公知者。

再者，作為本發明中之活體組合物(B)，除包含上述細胞或活體組織以外，亦可包含其他來自活體之成分。

又，本發明包括將本發明之細胞或組織包埋裝置中之細胞或組織係來自微生物活菌體之情形除外之情形。

[細胞培養成分(C)]

藉由將活體組合物(B)與細胞培養成分(C)一併封入至本發明之水性凝膠中，可形成細胞或組織包埋裝置。

作為細胞培養成分(C)，並無特別限定，例如可列舉含有Na、K、Cl、Ca、葡萄糖等之乙酸或磷酸緩衝液等。

於細胞培養成分(C)含有Na之情形時，Na濃度較佳為調整為20~150 mEq/L，更佳為調整為80~140 mEq/L。

於含有K之情形時，K濃度較佳為調整為2.5~130 mEq/L，更佳為調整為3.5~40 mEq/L。

於含有Cl之情形時，Cl濃度較佳為調整為15~170 mEq/L，更佳為調整為100~150 mEq/L。

於含有Ca之情形時，Ca濃度較佳為調整為0.5~5 mEq/L，更佳為調整為1~3 mEq/L。

於含有葡萄糖之情形時，葡萄糖濃度較佳為調整為1~11 mM，更佳為調整為3~7 mM。

作為細胞培養成分(C)，並無特別限定，例如可列舉：公知之細胞培養基(例如HBSS(漢克氏平衡鹽溶液)等)、市售之保存液(例如歐洲柯林(Euro-Collins)液、CELLBANKER、UW液(University of Wisconsin solution，器官保存溶液)等)、細胞保護成分(例如二甲基亞砷(DMSO)、血清白蛋白等)、阻止混入雜菌之成分(例如抗生素等)、維持細胞活性之成分(例如菸鹼醯胺等維生素類等)等，較佳為公知之細胞培養基等。該等可單獨使用一種，或將兩種以上併用。

又，細胞培養成分(C)亦可與其他成分(例如緩釋性賦予劑、等張劑、pH值調整劑等)組合而使用。

於本發明之裝置中，由於在PVA樹脂(A)及細胞培養成分(C)接觸之狀態下存在，故而於其之製作時添加細胞培養成分(C)之情形時之細胞培養成分(C)宜在濃縮為「含聚乙烯醇樹脂(A)之水溶液之體積及細胞培養成分(C)之體積之和/細胞培養成分(C)之體積」倍之狀態下添加。

此種狀態之細胞培養成分(C)之含量並無特別限定，為不會阻礙細胞或活體組織之增殖、存活及/或生理活性物質之分泌等之範圍，較佳為無損本發明之目的之範圍。

上述狀態之細胞培養成分(C)之添加量相對於PVA樹脂(A)100質量份，例如可為100~2000質量份、較佳為150~1000質量份(例如200~300質量份、175~300質量份等)左右。

例如，相對於PVA樹脂(A)之水溶液9 mL，可為10倍濃度之細胞培養成分(C)1 mL。

進而，於細胞或組織包埋裝置之製作中，亦可使用PVA樹脂(A)、活體組合物(B)及細胞培養成分(C)以外之其他成分。

作為其他成分，例如可列舉：作為促進或控制活細胞增殖之物質的細胞生長因子、作為由細胞產生之活性物質之細胞激素、其他生理活性物質、促進向細胞或組織包埋裝置之血流之血液循環促進物質、神經營養因子等。該等可單獨使用一種，或將兩種以上併用。

作為細胞生長因子，例如可列舉：血小板源性生長因子(PDGF)、表皮生長因子(EGF)、纖維母細胞生長因子(FGF)、肝細胞生長因子(HGF)、血管內皮生長因子(VEGF)、胰島素等。

作為細胞激素，例如可列舉：造血因子(例如介白素類、趨化因子類、菌落刺激因子等)、腫瘤壞死因子、干擾素類等。

作為其他生理活性物質，例如可列舉：胺基酸(例如甘胺酸、苯丙胺酸、離胺酸、天冬胺酸、麩胺酸等)、維生素類(例如生物素、泛酸、維生素D等)、血清白蛋白、抗生素等。

作為血液循環促進物質，例如可列舉：瓜胺酸或其鹽、辣椒素、辣

椒鹼(Capsaicinoid)類。

作為神經營養因子，例如可列舉：NGF(nerve growth factor，神經生長因子)、BDNF(brain-derived neurotrophic factor，腦源性神經營養因子)、NT-3(neurotrophin-3，神經營養素-3)、NT-4(neurotrophin-4，神經營養素-4)、GDNF(Glial-Cell Derived Neurotrophic Factor，神經膠質細胞源性神經營養因子)、neurturin、artemin、persephin等。

再者，上述其他成分之添加量並無特別限定。

[水性凝膠]

本發明之細胞或組織包埋裝置中所使用之水性凝膠只要使用使PVA樹脂(A)於水性溶劑中溶液化(溶解)進行凝膠化而成之水性凝膠，則可無特別限定地製作。PVA樹脂(A)之溶解方法並無特別限定，例如可藉由進行加熱或攪拌等而進行溶解。又，溶解可於密閉下進行，視需要亦可進行加壓。再者，通常使用水作為水性溶劑。

本發明之水性凝膠例如可藉由將PVA樹脂(A)於水性溶劑中加熱至90℃以上進行溶液化，其後進行冷卻而獲得。

溶液化之條件只要為PVA樹脂(A)於水中進行溶解之條件，則無特別限定，加熱溫度例如為90～250℃，較佳為105～230℃，更佳為110～200℃。若加熱溫度為100℃以上，則PVA樹脂容易溶解。又，若為250℃以下，則不易產生PVA樹脂之分解。

又，溶液化之時間可根據溫度或壓力、溶液濃度而適當加以變更，例如為1分鐘～12小時、30分鐘～10小時等。

本發明之水性凝膠在溶解於水中時可使用任意裝置。具體而言，可使用能夠進行加熱之攪拌型或旋轉型之高壓釜，於水之含量較少之情形時

亦可使用擠壓機等。

活體組合物(B)可於製作水性凝膠後與水性凝膠混合，亦可向PVA樹脂(A)之水溶液中添加活體組合物(B)而進行混合。

關於細胞培養成分(C)，可於製作水性凝膠後，將水性凝膠浸漬於包含細胞培養成分(C)之溶液中，為了抑制存活細胞數之減少，亦可於凝膠化前與PVA樹脂(A)之水溶液(進而，視需要之活體組合物(B))混合而製作。

作為水性凝膠之製作方法，可例示如下態樣：於將PVA樹脂(A)之水溶液、及細胞培養成分(C)加以混合後，混合活體組合物(B)，使所獲得之混合物(可為溶膠狀態)凝膠化。

又，於本發明中可使用之上述其他成分可與活體組合物(B)及/或細胞培養成分(C)一起加以混合，或分別添加至PVA樹脂(A)、含PVA樹脂(A)之水溶液、及/或水性凝膠中再加以混合。

又，PVA樹脂(A)之水溶液較理想為藉由高壓釜處理、UV(Ultra Violet，紫外線)或 γ 射線之處理等先前公知之方法進行殺菌處理，且較理想為於與活體組合物(B)之混合時或其後之細胞或組織包埋裝置之製造中，於不會混入雜菌之環境下進行作業或保管。

PVA樹脂(A)(進而，視需要混合有活體組合物(B)及/或細胞培養成分(C))之混合液之pH值較佳為使用HEPES(2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid，2-[4-(2-羥乙基)-1-哌啶]乙磺酸)等緩衝液調整為6.0~8.0，更佳為6.2~7.7，進而較佳為6.5~7.5。若為此種範圍，則細胞或組織包埋裝置內所包埋之活細胞或活體組織不易受到損傷，存活細胞數之減少較少，故而較佳。

於水性凝膠之製作中，可放置PVA樹脂(A)之水溶液(視需要混合有活體組合物(B)及/或細胞培養成分(C)之狀態)。

作為放置溫度，只要為適於保存活細胞之溫度，則無特別限制，例如為-5°C以上，較佳為-5~60°C(例如0~60°C)，更佳為-3~50°C(例如0~50°C)，進而較佳為0~40°C。若為此種範圍，則存活細胞數之減少較少，故而較佳。又，放置溫度較佳為不會使PVA樹脂(A)水溶液(可為溶膠狀態)、或水性凝膠凍結，可利用該水溶液、或凝膠包埋活細胞或活體組織之溫度。於本發明中，藉由使用具有特定之間規性之PVA樹脂(A)，可於如適於活細胞或活體組織之保存之相對較低之溫度(例如上述範圍之溫度)下製作水性凝膠。

製作水性凝膠時之放置時間可根據PVA樹脂(A)之濃度、放置溫度等而適當加以選擇，通常為1小時~3、4天左右，較佳為1小時~2天左右，進而較佳為2~12小時左右。若為1小時以上，則就於將細胞或組織包埋裝置留置於體內時不容易崩解等觀點而言較佳。

於水性凝膠、或細胞或組織包埋裝置中之存活細胞數相對於封入至水性凝膠中之前之活體組合物(B)之全部活細胞數的比率大於不含本發明中所使用之PVA樹脂(A)作為成分之水性凝膠、或細胞或組織包埋裝置中之存活細胞數相對於封入至水性凝膠中之前之活體組合物(B)之全部活細胞數的比率之情形時，可判斷為本發明之細胞或組織包埋裝置於所包埋之細胞或組織之存活率方面較高。

水性凝膠、或細胞或組織包埋裝置中之存活細胞數相對於封入至水性凝膠中之前之活體組合物(B)之全部活細胞數的比率例如為60~100%，較佳為70~100%，更佳為80~100%。活細胞數例如可藉由利用二乙酸螢

光素(Fluorescein diacetate)試劑所進行之細胞質染色及利用碘化丙啉(propidium iodide)所進行之細胞核染色而加以測定(有時亦簡稱為FDA/PI測定)。

水性凝膠之固形物成分濃度例如為0.3~20%，較佳為0.5~10%，更佳為1~8%(例如3~8%)。若為此種範圍，則就於將細胞或組織包埋裝置移植至動物後可於體內長期地維持裝置形態、保持免疫隔離能力等觀點而言較佳。於本說明書中，固形物成分濃度之測定方法並無特別限定，例如可為如下述實施例中所記載之方法般使用加熱乾燥式水分計(A&D、MS-70)等之方法。

所獲得之水性凝膠為了可作為下述免疫隔離層而發揮功能，而具有穩定地保持細胞，並且使氧或葡萄糖、胰島素等對活體有用之激素、其他生理活性物質透過，且不使免疫系統之蛋白質透過之結構。

又，水性凝膠通常具有移植時不容易崩解之強度(應力)。應力根據PVA樹脂(A)之聚合度、立體規整性、及水性凝膠之固形物成分濃度而異，故而無法一概而論，例如應力為0.3~30 kPa，較佳為0.4~25 kPa，更佳為0.5~20 kPa，進而較佳為0.5~15 kPa。

水性PVA凝膠之應力例如可使用島津製作所製造之小型桌上試驗機EZTest EZ-SX，並依據其使用說明書而加以測定。

水性凝膠之形狀並無特別限制，例如可列舉：片狀、板狀、盤狀、棒狀、管狀、珠狀等。

又，作為該水性凝膠之成形方法，例如可列舉：將包含PVA樹脂(A)(進而，視需要較佳為活體組合物(B)及細胞培養成分(C))之水溶液(可為溶膠狀態)於進行凝膠化前澆注至目標形狀之模具中之方法；利用刀具

等將所獲得之凝膠加工為目標形狀之方法等。

再者，通常包含PVA樹脂(A)(進而，視需要較佳為活體組合物(B)及/或細胞培養成分(C)等)之水溶液於達到凝膠狀態前會經過溶膠狀態。可理解為此種溶膠狀態亦作為本發明之水性凝膠等效物而為本發明之範圍內。

包含PVA樹脂(A)之水溶液(可為溶膠狀態)之固形物成分濃度例如為0.3~20%，較佳為0.5~10%，更佳為1~8%。若為此種範圍，則就於將細胞或組織包埋裝置移植至動物後可於體內長期地維持裝置形態、保持免疫隔離能力等觀點而言較佳。

[細胞或組織包埋裝置]

本發明之水性凝膠可用作細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層。

所謂「免疫隔離層」係指使例如葡萄糖；胰島素、甲狀腺刺激激素、甲狀腺激素、副甲狀腺激素、生長激素、甲狀腺素、糖皮質激素、胰高血糖素、雌二醇、或甾酮等激素；凝血因子、白蛋白、球蛋白、各種酶(代謝酶或澱粉酶、蛋白酶、或脂肪酶等消化酶)等蛋白質；多巴胺等神經傳導物質等透過，並且不使例如抗體、補體、或白血球等免疫系統之蛋白質透過的層。

細胞或組織包埋裝置只要包埋或含有活體組合物(B)即可，例如可為生物人工器官等。

細胞或組織包埋裝置之製造方法並無特別限定，例如可藉由將含有包含活體組合物(B)及細胞培養成分(C)之上述PVA樹脂(A)之水溶液或水性凝膠於目標形狀之模具中，於0~40℃(例如4℃)下進行保存(例如保存1小時~3、4天左右、2~48小時或3~24小時左右)，而製造細胞或組織包埋裝置。

細胞或組織包埋裝置通常具有移植時不容易崩解之強度(應力)。應力根據PVA樹脂(A)之聚合度、立體規整性、細胞培養成分(C)之添加量、及組織包埋裝置之固形物成分濃度而異，故而無法一概而論，例如應力為0.3~30 kPa，較佳為0.4~25 kPa，更佳為0.5~20 kPa，進而較佳為0.5~15 kPa。

細胞或組織包埋裝置之應力例如可使用島津製作所製造之小型桌上試驗機EZTest EZ-SX，並依據其使用說明書而加以測定。

本發明之細胞或組織包埋裝置可含有支持基材(D)。

水性凝膠亦可為了其補強及/或操作性之簡便化，而組合使用可用作補強材之支持基材(D)。

例如於將水性凝膠製成薄膜片狀之情形時，為了其之補強及操作性之簡便化，宜固定於樹脂製網片等基材(補強材)再進行凝膠化。

支持基材(D)之素材並無限定，例如可列舉：高分子[例如PET(聚對苯二甲酸乙二酯)、PE(聚乙烯)、PP(聚丙烯)、鐵氟龍(註冊商標)等]、金屬等，較佳為不會於活體內分解、變質，但亦可為經過一定期間後於活體內分解者。

關於網片之網格(網眼)尺寸，為了使應透過之氧、無機有機之營養成分、假定為各種激素中最大之直徑5 nm左右之分子(例如包含胰島素等激素之生理活性物質)透過，且不使應阻止透過之免疫相關細胞或假定為免疫相關物質中最小之直徑50 nm左右之分子(例如抗體、補體等)透過，通常為5~100 nm，較佳為10~50 nm，更佳為20~30 nm。

作為本發明之細胞或組織包埋裝置之一態樣，例如如下構成者為較佳之實施態樣，即：於載玻片上，載置上述包含細胞培養成分(C)之含

PVA 樹脂 (A) 之水溶液或水性凝膠，於其上覆蓋 PET 網狀物 (例如 SANPLATEC 股份有限公司製造，商品名：PET MESH SHEET (名稱 TN120) 等) 等支持基材 (D)，於該 PET 網狀物上載置使活體組合物 (B) 懸浮於含 PVA 樹脂 (A) 之水溶液或水性凝膠中而獲得之懸浮液，使用凝膠加樣吸頭 (gel loading tip) 等使該懸浮液於 PET 網狀物上擴散，並以夾住該懸浮液之方式進而將 PET 網狀物覆蓋於其上，進而於 PET 網狀物上載置上述包含細胞培養成分 (C) 之含 PVA 樹脂 (A) 之水溶液或水性凝膠，自其上方覆蓋載玻片，並自所構建者拆去載玻片。再者，細胞或組織包埋裝置較佳為於拆去上述載玻片前，於 0~40°C (例如 4°C) 下靜置 2~48 小時、更佳為靜置 3~24 小時者。

本發明之細胞或組織包埋裝置可藉由留置於包括人在內之動物之皮下、肌膜下、肝表面、脾表面、大網膜內或腹腔內等體內而進行移植。該留置方法並無特別限定，可依據先前公知之方法。例如，移植用設備亦可為公知者。

本發明之細胞或組織包埋裝置可藉由移植至患有內分泌疾病 (例如甲狀腺疾病、副甲狀腺疾病、腎上腺疾病、腦下垂體疾病、松果體疾病等)、代謝疾病 (例如鳥胺酸-胺甲醯基轉移酶 (Ornithine Transcarbamylase) 缺陷、高氨血症、高膽固醇血症、高胱胺酸尿症、肝糖儲積症、克果納傑氏症候群 (Crigler-Najjar syndrome) 等、威爾遜氏病)、糖尿病 (例如 1 型糖尿病、2 型糖尿病、胰性糖尿病等)、神經退化性疾病 (例如帕金森氏症、阿茲海默氏症、肌萎縮性側索硬化症、脊髓小腦變性症等)、血友病、骨病 (例如骨質疏鬆症)、癌症 (例如白血病等) 等疾病之包括人在內之動物，而進行該等疾病之預防及/或治療。本發明之細胞

或組織包埋裝置由於可於穩定之狀態下長時間於活體內保有細胞，故而能夠以較高之治癒率治療該等疾病，又，可降低細胞或組織包埋裝置之移植頻度。

又，由於本發明之水性凝膠可阻礙粒徑為 $5\sim 50\ \mu\text{m}$ 之粒子[例如白血球(例如巨噬細胞等)、淋巴球、(例如T淋巴球)等]之透過，除此以外，亦可阻礙粒徑為 $0.1\sim 1\ \mu\text{m}$ 之粒子(例如補體等)之透過，故而本發明之細胞或組織包埋裝置可進行與免疫相關之細胞及補體之隔離，可作為優異之免疫隔離層而使用。

作為較佳之實施態樣，例如對細胞為胰島細胞之情形進行說明。

如圖4所示，自胰臟分離優質之胰島細胞，而準備移植用胰島(參照圖4)。為了防止胰島細胞彼此之凝聚，利用上述網狀物(2片)固定胰島細胞。如此利用所準備之經固定之胰島細胞與PVA樹脂(A)製造本發明之裝置，最內層為胰島細胞，釋放出胰島素。第2層係利用網狀物層支持細胞。最外層為凝膠表面，形成有免疫隔離膜。該免疫隔離膜於活體相容性方面較高，使胰島素通過，但免疫相關物質不會通過(參照圖5)。

本發明之裝置可直接於活體內應用，例如收納至依據公知技術容易地設置之使用新生血管所構建之網中，而發揮醫療效果。裝置可容易地取出或更換(參照圖6)。

該裝置可發揮下述特徵之至少一種。

- (1)將所包埋之細胞之品質維持為較高。
- (2)將移植胰島適當地與主體患者之免疫系統隔開。
- (3)供給氧、葡萄糖，且可進行適當之胰島素應答。
- (4)可進行低侵入之移植，且視需要可容易地取出至體外或更換。

本發明之細胞或組織包埋裝置較佳為不具備半透膜。

實施例

其次，列舉實施例更具體地說明本發明，但本發明並不受該等實施例之任何限定，具有本領域中一般知識者可於本發明之技術思想內進行大量變化。再者，例中之「份」及「%」只要未特別指定，則表示「質量份」及「質量%」。

[PVA樹脂(A)之物性]

(1)間規性

於 d_6 -DMSO溶液中測定 $^1\text{H-NMR}$ ，並求出三元組表示之間規性(%)。

再者，所謂三元組表示之間規性(%)係根據4~5 ppm之3個羥基質子(自低磁場側起同排[I]、雜排[H]、對排[S])比率而求出者，且基於下述計算式。

$$\text{三元組表示之間規性(\%)} = \frac{[\text{S}]}{([\text{I}] + [\text{H}] + [\text{S}])} \times 100$$

(2)皂化度

於 d_6 -DMSO溶液中測定 $^1\text{H-NMR}$ ，並求出皂化度(莫耳%)。

(3)聚合度

對在JISK6725中所記載之苯溶液中於30°C下之聚乙酸乙烯酯換算之聚合度進行測定。

(PVA樹脂(A)之製作)

[合成例1]

向安裝有攪拌機、溫度計、滴液漏斗及回流冷凝器之燒瓶中，添加新戊酸乙烯酯800份、甲醇190份，於進行系統內之氮氣置換後將套管加

熱至80°C，於產生回流之時刻添加使2,2'-偶氮雙(2,4-二甲基戊腓)0.07份溶解於甲醇10份中而成之溶液，而開始聚合，6小時後添加作為聚合終止劑之間二硝基苯而停止聚合。聚合產率為58%。

自所獲得之反應物去除甲醇、新戊酸乙酯後，添加丙酮使聚新戊酸乙酯溶解，而獲得40%丙酮溶液。

向該40%丙酮溶液250份中添加氫氧化鉀之25%甲醇溶液110份並充分混合，於50°C下進行皂化反應2小時。將所獲得之凝膠狀物加以粉碎，於丙酮150份、氫氧化鉀之25%甲醇溶液340份中進而於50°C下進行皂化反應4小時。反應後利用乙酸加以中和，並進行固液分離，利用甲醇、水進行洗淨並加以乾燥後，獲得30 g之PVA樹脂1。

所獲得之PVA樹脂1之皂化前之聚合度為1450，皂化度為99.91莫耳%。又，利用三元組表示之間規性為37.1%。

[合成例2]

將新戊酸乙酯800份變更為新戊酸乙酯685份，並追加乙酸乙酯115份，除此以外，以與合成例1同樣之方式製作PVA樹脂2。再者，莫耳比(新戊酸乙酯/乙酸乙酯)為80/20。所獲得之PVA樹脂2之皂化前之聚合度為1510，皂化度為99.90莫耳%。又，利用三元組表示之間規性為35.7%。

[合成例3]

將新戊酸乙酯800份變更為新戊酸乙酯553份，並追加乙酸乙酯247份，除此以外，以與合成例1同樣之方式製作PVA樹脂3。再者，莫耳比(新戊酸乙酯/乙酸乙酯)為60/40。所獲得之PVA樹脂3之皂化前之聚合度為2030，皂化度為99.89莫耳%。又，利用三元組表示之間規性為

34.0%。

[合成例4]

向安裝有攪拌機、溫度計、滴液漏斗及回流冷凝器之燒瓶中，添加新戊酸乙酯2000份、甲醇38份，於進行系統內之氮氣置換後將套管加熱至80℃，於產生回流之時刻添加使2,2'-偶氮雙(2,4-二甲基戊腈)0.03份溶解於甲醇2份中而成之溶液而開始聚合，3小時後添加作為聚合終止劑之間二硝基苯而停止聚合。聚合產率為17%。

自所獲得之反應物去除甲醇、新戊酸乙酯後，添加丙酮使聚新戊酸乙酯溶解，而獲得25%丙酮溶液。

向該25%丙酮溶液200份中添加氫氧化鉀之25%甲醇溶液54份並充分混合，於50℃下進行皂化反應2小時。將所獲得之凝膠狀物加以粉碎，於丙酮150份、氫氧化鉀之25%甲醇溶液168份中進而於50℃下進行皂化反應4小時。反應後利用乙酸加以中和，並進行固液分離，利用甲醇、水進行洗淨並加以乾燥後，獲得17 g之PVA樹脂4。

所獲得之PVA樹脂4之皂化前之聚合度為4440，皂化度為99.86莫耳%。又，利用三元組表示之間規性為36.7%。

[合成例5]

將新戊酸乙酯2000份變更為新戊酸乙酯1600份，並追加乙酸乙酯268份，除此以外，以與合成例4相同之方式製作PVA樹脂5。再者，莫耳比(新戊酸乙酯/乙酸乙酯)為80/20。所獲得之PVA樹脂5之皂化前之聚合度為4530，皂化度為99.93莫耳%。又，利用三元組表示之間規性為35.5%。

(溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液A之製作)

製作2種包含細胞培養成分(C)之溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液作為溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液A。以下，亦將製作而獲得之溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液記載為溶膠A-1、及溶膠A-2。

[溶膠A-1]

將1.425 g之上述PVA樹脂1與蒸餾水23.575 g加以混合，以不會產生燒焦等之方式於160°C、35 rpm下旋轉攪拌3小時而進行溶解，將於冷卻至90°C後所獲得之溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液回收至預先加熱至90°C之玻璃製小玻璃瓶中，於90°C下進行保溫。其後，將所製作之溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液添加至42度之水浴中，向溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液8.8 mL中添加10倍濃度HBSS(漢克氏平衡鹽溶液)1.0 mL、1 M HEPES0.2 mL，將管上下振盪而進行攪拌。其後，利用離心機(久保田商事股份有限公司製造，商品名：混合高速冷卻離心機6200)進行短暫離心，並於42°C下靜置，藉此獲得溶膠A-1(PVA樹脂濃度：5 w/v%)。將所獲得之溶膠A-1轉移至3.5 cm皿中。

[溶膠A-2]

將1.135 g之上述PVA樹脂1與蒸餾水23.865 g混合，以不會產生燒焦等之方式於160°C、35 rpm下旋轉攪拌3小時而進行溶解，將於冷卻至90°C後所獲得之溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液回收至預先加熱至90度之玻璃製小玻璃瓶中，於90°C下進行保溫。其後，將所製作之溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液添加至42°C之水浴中，向溶膠狀態之PVA樹脂(A)水溶液8.8 mL中添加10倍濃度HBSS(漢克氏平衡鹽溶液)1.0 mL、1 M HEPES0.2 mL，將管上下振盪而進行攪拌。其後，利用離心機(久保田商事股份有限公司製造，商品名：混合高速冷卻離心機6200)進行短暫離

心，並於42°C下靜置，藉此獲得溶膠A-2。將所獲得之溶膠A-2轉移至3.5 cm皿中。

(溶膠A-1及A-2之固形物成分濃度測定)

對上述中所製作之溶膠A-1及A-2，依據下述方式測定固形物成分濃度。

溶膠之固形物成分濃度係使用加熱乾燥式水分計(A&D、MS-70)而進行測定。於水分計之試樣皿中放置玻璃纖維片材，使各溶膠約1 g均勻地浸入片材中，並於試樣皿溫度120°C、測定時間(加熱時間)15分鐘之條件下對各溶膠之固形物成分進行測定。測定時之水分計之顯示係選擇固形物成分(%)。算出固形物成分之計算式為乾燥後質量/乾燥前質量×100(%)。溶膠A-1之固形物成分濃度算出為6.5質量%，溶膠A-2之固形物成分濃度算出為5.5質量%。

(胰島細胞之製備)

將11~14週齡之雄性Lewis大鼠(Japan SLC)用於胰島分離。將自大鼠總膽管注入溶解有0.8 mg/mL之V型膠原酶(collagenase type V)(Sigma-Aldrich公司製造)之冷漢克氏緩衝液(HBSS)後之胰臟於37°C下消化12分鐘，並自胰臟組織分離胰島。使用Histopaque-1119(Sigma-Aldrich公司製造)與Lymphoprep(AXIS-SHIELD、Norway)進行濃度梯度離心，而回收胰島。胰島係於包含5.5 mmol/l葡萄糖與10%胎牛血清(FBS，Fetal Bovine Serum)之RPMI1640培養基中於37°C、5%CO₂下培養一晚後，用於實施例及比較例之研究。

(胰島包埋裝置之製作)

將60 μL之上述製作完畢之溶膠A-1或A-2載置於載玻片上，並於4°C

下靜置10分鐘。於其上覆蓋直徑15 mm之圓形PET網狀物(SANPLATEC股份有限公司製造，商品名：PET MESH SHEET(名稱TN120))，儘可能地自上述中所製備之胰島細胞去除培養基成分，將所獲得者懸浮於60 μ L之溶膠A-1或A-2中，並將所獲得之懸浮液載置於上述PET網狀物上。使用凝膠加樣吸頭使胰島細胞之懸浮液於PET網狀物上擴散，並以夾住胰島細胞之懸浮液之方式進而將PET網狀物覆蓋於其上。進而於PET網狀物上載置250 μ L之溶膠A-1或A-2，自其上覆蓋載玻片。將藉由上述方式構建之溶膠留置於濕箱中，於4 $^{\circ}$ C下靜置3小時，而獲得胰島包埋裝置(水性凝膠)。再者，上述胰島包埋裝置之胰島量均為800 IEQs。

(胰島包埋裝置之保存步驟)

[實施例1]

自載玻片拆下上述中所構建之使用溶膠A-1之胰島包埋裝置(水性凝膠)，於6孔板中以5 mL/孔之比率浸漬於保存培養基(將葡萄糖濃度調整為5.5 mM，且含有10%FBS之RPMI1640培養基)中，並於4 $^{\circ}$ C下保存2小時。

試驗例1(移植試驗1)

藉由在鏈佐黴素(streptozotocin)誘發糖尿病C57BL/6J小鼠之皮下，留置上述於4 $^{\circ}$ C下保存2小時後之使用溶膠A-1之胰島包埋裝置(水性凝膠)而進行移植。

(糖尿病治癒評價)

上述移植後，經時地測定血糖值而確認治癒效果(n數=4)。將其平均值 \pm 標準偏差示於圖1及表1。再者，將血糖值為200 mg/dl以下判定為○(糖尿病治癒)，將超過200 mg/dl判定為x(糖尿病狀態)。

如圖1所示，移植有本發明之胰島包埋裝置之糖尿病模型動物自剛移植後確認到血糖值之降低，於移植後經過185天之時刻，亦於糖尿病模型動物體內確認到血糖值之改善。

又，於留置於皮下180天後嘗試摘取胰島包埋裝置，於實施例1之n數4中之任一實例中，裝置均未崩解而良好地保持形態，判明本發明之細胞或組織包埋裝置係於體內亦不易分解之牢固者。

於將PVA樹脂(A)設為6 w/v%之情形時，亦自剛移植後確認到血糖值之降低，於移植後經過185天之時刻，亦於糖尿病模型動物體內確認到血糖值之改善。

[比較例1]

(PVA溶液組成)

使用聚合度5000、皂化度99.3莫耳%、利用三元組表示之間規性為29.5%之PVA，以PVA成為3%、FBS(Fetal bovine serum，胎牛血清)成為10%、二甲基亞砜(Dimethyl sulfoxide)成為5%、菸鹼醯胺(Nicotinamide)成為10 mM之方式溶解於ETK(ET-Kyoto)溶液中，將所獲得之PVA溶液用於凍結融解式胰島裝置之製作。

(胰島細胞之包埋步驟)

僅將儘可能地去除了培養基成分之Lewis大鼠之胰島細胞加入至1.5 mL試管中，添加4℃之CELLBANKER(JUJI FIELD股份有限公司製造)1.0 mL使胰島細胞懸浮，於冰浴冷卻下放置1分鐘後，去除CELLBANKER。於附有1 mm間隔件之載玻片上，載置上述塗佈有PVA溶液之PET網狀物(SANPLATEC股份有限公司製造，商品名：PET MESH SHEET(名稱TN120)、10×15 mm)，使僅使胰島細胞懸浮於160

μL 之PVA溶液中所獲得之懸浮液於該PET網狀物上擴散後，進而覆蓋塗佈有PVA溶液之PET網狀物。於其上載置載玻片，而製作厚度1 mm之凍結融解式胰島裝置。

(凍結、融解、保存步驟)

將所製作之凍結融解式胰島裝置於 -80°C 下靜置24小時後，自模具拆下並於冰浴冷卻UW溶液(University of Wisconsin solution，器官保存溶液)中進行融解。進而，每5分鐘於冰浴冷卻UW溶液中浸漬3次，將凝膠內之溶液組成置換成UW溶液後，於UW溶液中於 4°C 下保存24小時。

(培養步驟)

利用冰浴冷卻後之胰島培養用培養基(RPMI1640培養基：含有5.5 mM葡萄糖、10%FBS、抗生素)10 mL將裝置表面之UW溶液洗淨後，每5分鐘於培養基(冰浴冷卻)中浸漬3次，將凝膠內之溶液組成置換成培養基後，於3 mL之培養基中於 37°C 下培養24小時。

(移植步驟)

於已知與皮下相比移植更容易存活之鏈佐黴素誘發糖尿病C57BL/6J小鼠之腹腔內，留置上述保存後之凍結融解式胰島裝置，藉此進行移植。

(糖尿病治癒評價)

移植後，與實施例1同樣地經時地測定血糖值並評價治癒效果。將其結果示於表1及圖2。

[比較例2~18]

如表2所示，變更移植胰島量及所移植之裝置之個數，除此以外，與比較例1同樣地製作、移植凍結融解式胰島裝置，並進行糖尿病治癒評價。將其結果示於表1、圖2及圖3。

再者，表1中，關於實施例1，揭示移植185天後之血糖值，關於比較例1～18，揭示移植28天後之血糖值。

[表1]

	移植185天後或28天後之血糖值(mg/dl)	糖尿病治療評價
實施例1	116	○
比較例1	501	×
比較例2	501	×
比較例3	461	×
比較例4	432	×
比較例5	501	×
比較例6	475	×
比較例7	436	×
比較例8	481	×
比較例9	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×
比較例10	492	×
比較例11	448	×
比較例12	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×
比較例13	由於死亡故而無資料 (移植2天後死亡)	×
比較例14	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×
比較例15	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×
比較例16	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×
比較例17	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×
比較例18	由於死亡故而無資料 (移植1天後死亡)	×

[表2]

比較例	胰島量(IEQs)	所移植之裝置之個數(個)
1	1,300	1
2		
3		
4	1,500	1
5		
6	3,000	1
7		
8	6,000	1
9		
10		
11		
12		
13	6,000	2
14	6,000	2
15	6,000	1
16		
17	12,000	2
18		

於比較例1~18之凍結融解式生物人工胰島裝置中，於使PVA凝膠凍結融解之時刻，引起已包埋於其中之胰島細胞之形態之崩解，雖然存在實際上即便嘗試對糖尿病模型動物實施移植實驗，亦如圖2及圖3所示於剛移植後確認到由移植崩解所引起之短暫性之血糖值降低的例子，但至移植後2週為止所有例子中血糖值均再次上升，判明利用凍結融解式胰島裝置無法治癒糖尿病。

又，如表1所明示，實施例1之本發明之細胞或組織包埋裝置藉由包埋胰島細胞，而顯示出糖尿病治療效果，相對於此，於比較例1~18中完全未觀察到糖尿病治療效果。於比較例1~18中移植時胰島移植顯著地受到了抑制，因此儘管向已知為移植效果最高之移植部位之腹腔內進行了移植，但完全未觀察到糖尿病治療效果。另一方面，值得特別記載的是，實施例1之本發明之細胞或組織包埋裝置係對作為最不易出現移植效果之移植部位而廣為人知之皮下進行了移植，但顯示出了糖尿病治療效果。

再者，實施例1之結果顯示出免疫隔離能力得到保證，良好地保持包埋細胞之活性，因此於使用其他細胞或活體組織作為活體組合物(B)之情形時，亦可獲得免疫隔離能力之保證與包埋細胞活性之保持效果。

試驗例2(移植試驗2)

於溶膠A-1之製造方法中，使用PVA樹脂2或3代替PVA樹脂1，除此以外，以同樣之方式獲得胰島包埋裝置(水性凝膠)。使用所獲得之水性凝膠，與試驗例1同樣地進行移植試驗，結果於使用任一種水性凝膠之情形時均獲得了與使用PVA樹脂1之情形實質上相同之效果。

試驗例3(移植試驗3)

又，於溶膠A-1之製造方法中，使用以利用三元組表示之間規性成為36.5%或39.1%之方式變更聚合溫度而製備之PVA樹脂代替PVA樹脂1，除此以外，以同樣之方式獲得胰島包埋裝置(水性凝膠)。使用所獲得之水性凝膠，與試驗例1同樣地進行移植試驗，結果於使用任一種水性凝膠之情形時均獲得了與使用PVA樹脂1之情形實質上相同之效果。

[實施例2~5]

(FDA/PI測定)

變更為表3所示之PVA樹脂(A)、濃度，藉由與實施例1中所使用之胰島裝置相同之方法而製作胰島裝置，利用3 mL/孔之PBS(Phosphate Buffer Solution，磷酸鹽緩衝液)(室溫)每3分鐘洗淨2次。將以5 mg/mL溶解於丙酮(和光純藥工業、東京、日本)中而成之二乙酸螢光素(FDA：Calbiochem、San Diego、USA)15 μ L、及以0.5 mg/mL溶解於蒸餾水中而成之碘化丙啶(PI：Sigma-Aldrich, St. Louis、MO、USA)20 μ L添加至加入至6孔板中之3 mL之PBS中，而製成FDA/PI染色溶液，將利用PBS

洗淨後之胰島裝置轉移至其中，於暗處染色5分鐘後，利用3 mL之PBS溶液洗淨3分鐘。將胰島裝置載置於覆蓋玻璃(松浪玻璃工業股份有限公司、大阪、日本)上，使用螢光顯微鏡(BZ-900：基恩士、東京、日本)，觀察FDA(激發波長470/40 nm、吸收波長525/50)與PI(激發波長540/25 nm、吸收波長605/60)於胰島內之局部存在情況。

於任一實施例中均於FDA測定(染色)中確認到活細胞之存在(FDA(+))，且幾乎未觀察到死細胞。另一方面，明確於PI測定中細胞核未被染色(PI(-))，且與FDA染色之結果同樣地幾乎不存在死細胞。

[表3]

實施例	PVA樹脂(A)	PVA樹脂(A)濃度	FDA/PI測定
2	合成例2	6	+/-
3	合成例2	7	+/-
4	合成例3	8	+/-
5	合成例3	9	+/-

PVA樹脂(A)濃度…裝置中之PVA樹脂(A)之濃度(w/v%)

FDA/PI測定評價基準 FDA：(+)存在活細胞、(-)細胞質死亡、

PI：(+)細胞核死亡、(-)存在活細胞

[比較例19]

藉由與實施例相同之方法，對比較例1中所製作之胰島裝置進行FDA/PI測定。於FDA測定中未能確認到染色圖像之存在，於PI測定中可見清晰之細胞核之染色，根據兩測定結果確認到比較例中之裝置內之胰島大範圍地發生壞死。

[實施例6]

(水性凝膠、細胞或組織包埋裝置之固形物成分濃度、應力測定)

使用PVA樹脂1與水，於160℃下進行溶解，冷卻至90℃後，填充至直徑34 mm之圓柱容器內，其後於42℃下放置30分鐘，並於4℃下放置3

小時，藉此製作直徑34 mm×高度17 mm之水性凝膠。

所獲得之水性凝膠之固形物成分濃度(PVA樹脂1濃度)為5.0%，於20℃下之應力為0.7 kPa。

固形物成分濃度係使用加熱乾燥式水分計(A&D、MS-70)而加以測定。於水分計之試樣皿中放置玻璃纖維片材，使水性凝膠約1 g均勻地浸入片材中，並於試樣皿溫度120℃、測定時間(加熱時間)15分鐘之條件下對水性凝膠之固形物成分進行測定。測定時之水分計之顯示係選擇固形物成分(%)。算出固形物成分之計算式為乾燥後質量/乾燥前質量×100(%)。

應力測定係使用島津製作所製造之小型桌上試驗機EZTest EZ-SX，並依據其使用說明書而加以測定。具體而言，使用直徑20 mm之圓柱夾具，對直徑34 mm×高度17 mm之水性凝膠求出壓入20%時之應力。

[實施例7～11]

如表4所示，適當變更PVA樹脂(A)之種類、濃度，且變更於4℃下之放置時間，除此以外，與實施例6同樣地製作水性凝膠，並求出固形物成分濃度、應力。

[表4]

實施例	PVA樹脂(A)	於4℃下之放置時間	固形物成分濃度(%)	應力(kPa)
6	1	3小時	5.0	0.7
7	1	90小時	5.0	1.2
8	4	3小時	5.0	1.2
9	1	3小時	9.6	7.2
10	1	70小時	9.7	11.5
11	5	43小時	9.9	6.4

[實施例12～14]

如表5所示，適當變更PVA樹脂(A)之種類、濃度，使用HBSS(漢克氏平衡鹽溶液)，變更於4℃下之放置時間，除此以外，與實施例6同樣地

製作細胞或組織包埋裝置，並求出固形物成分濃度、應力。

[表5]

實施例	PVA樹脂(A)	PVA樹脂(A) 濃度	HBSS添加量	於4°C下之放 置時間	固形物成分 濃度(%)	應力(kPa)
12	1	5.0	1.0	3小時	5.8	0.8
13	1	7.0	1.0	3小時	7.8	2.0
14	4	10.0	1.0	45小時	10.9	8.5

PVA樹脂(A)濃度…裝置中之PVA樹脂(A)之濃度(wt%)

HBSS添加量…混合液中之漢克氏平衡鹽溶液濃度(wt%)

[產業上之可利用性]

根據本發明，由於可使用毒性較低之成分簡便地形成於所包埋之活細胞或活體組織不易受到損傷之pH值、溫度條件下維持牢固之結構之水性凝膠，故而可提供對患者有用之激素或蛋白質等生理活性物質之供給能力較高，且將所含之細胞或活體組織隔開使其免受與活體之防禦功能影響之細胞或組織包埋裝置。



201836621

【發明摘要】

【中文發明名稱】

細胞或組織包埋裝置

【中文】

本發明之課題在於：於製作含有活細胞或活體組織之PVA凝膠之製程中，藉由抑制活細胞或活體組織之減少，而供給生理活性物質之供給能力較高之細胞或組織包埋裝置。

本發明將間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂作為成分而構成用以形成細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層的水性凝膠。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種細胞或組織包埋裝置，其具有水性凝膠作為免疫隔離層，該水性凝膠包含間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)作為成分。

【第2項】

如請求項1之細胞或組織包埋裝置，其中水性凝膠具有於-5°C以上之溫度下之凝膠化歷程。

【第3項】

如請求項1或2之細胞或細胞包埋裝置，其中水性凝膠具有0.3~30 kPa之應力。

【第4項】

如請求項1至3中任一項之細胞或組織包埋裝置，其中聚乙烯醇樹脂(A)之皂化度為90~99.99莫耳%，聚合度為100~10000。

【第5項】

如請求項1至4中任一項之細胞或組織包埋裝置，其中聚乙烯醇樹脂(A)係以新戊酸乙烯酯作為聚合成分之聚合物之皂化物，且包含新戊酸乙烯酯單元。

【第6項】

如請求項1至5中任一項之細胞或組織包埋裝置，其中於免疫隔離層中封入有活體組合物(B)及細胞培養成分(C)。

【第7項】

如請求項6之細胞或組織包埋裝置，其中活體組合物(B)係選自由胰

島細胞、胰管細胞、肝臟細胞、神經細胞、甲狀腺細胞、副甲狀腺細胞、腎細胞、腎上腺細胞、腦下垂體細胞、脾細胞、脂肪細胞、骨髓細胞、間質幹細胞、ES細胞及iPS細胞所組成之群中之1種以上。

【第8項】

如請求項6之細胞或組織包埋裝置，其中活體組合物(B)為胰島細胞或肝臟細胞。

【第9項】

如請求項6至8中任一項之細胞或組織包埋裝置，其中細胞培養成分(C)係含有選自由Na、K、Cl、Ca及葡萄糖所組成之群中之1種以上之乙酸或磷酸緩衝液。

【第10項】

如請求項1至9中任一項之細胞或組織包埋裝置，其含有支持基材(D)。

【第11項】

如請求項10之細胞或組織包埋裝置，其中支持基材(D)之素材係選自由PET、PE、PP、鐵氟龍(註冊商標)及金屬所組成之群中之1種以上。

【第12項】

如請求項1至11中任一項之細胞或細胞包埋裝置，其具有0.3～30 kPa之應力。

【第13項】

一種如請求項6至12中任一項之細胞或組織包埋裝置之製造方法，其包括如下步驟：於將包含聚乙烯醇樹脂(A)之水溶液與細胞培養成分(C)加以混合後，混合活體組合物(B)，並使所獲得之混合物凝膠化。

【第14項】

如請求項13之細胞或組織包埋裝置之製造方法，其中將製作水性凝膠時之溫度設為-5°C以上。

【第15項】

一種細胞或組織包埋裝置之免疫隔離層形成劑，其含有包含間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)之水性凝膠。

【第16項】

如請求項15之劑，其中聚乙烯醇樹脂(A)之皂化度為90~99.99莫耳%，聚合度為100~10000。

【第17項】

如請求項16之劑，其中聚乙烯醇樹脂(A)係以新戊酸乙烯酯作為聚合成分之聚合物之皂化物，且包含新戊酸乙烯酯單元。

【第18項】

一種細胞或活體組織包埋裝置，其具有水性凝膠作為免疫隔離層，該水性凝膠之特徵在於：(1)包含聚乙烯醇樹脂(A)，(2)使所封入之活體組合物(B)之分泌成分透過，且抑制免疫相關細胞或免疫相關物質之透過。

【第19項】

一種混合物，其含有間規性以三元組表示而為32~40%之聚乙烯醇樹脂(A)、活體組合物(B)及細胞培養成分(C)，其特徵在於：具有於-5°C以上之溫度下進行凝膠化之性質。

【第20項】

一種針對生理活性物質產生細胞或組織之保護凝膠層之形成方法，其係直接針對生理活性物質產生細胞或組織，或針對利用支持材料支持該

生理活性物質產生細胞或組織而成者，應用包含主鏈不會被活體內之酶所切斷之凝膠形成高分子材料之保護凝膠層形成材料之溶液或者溶膠，其後於-5°C以上之溫度下形成凝膠。

