



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105555327 B

(45)授权公告日 2018.10.26

(21)申请号 201480043278.5

(22)申请日 2014.06.02

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105555327 A

(43)申请公布日 2016.05.04

(30)优先权数据

61/829,810 2013.05.31 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.01.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2014/002054 2014.06.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/008152 EN 2015.01.22

(73)专利权人 谢尔蒂斯有限公司

地址 荷兰埃因霍温

(72)发明人 弗朗西斯科·塞里诺

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司
31100

代理人 张静

(51)Int.Cl.

A61L 27/38(2006.01)

A61L 27/50(2006.01)

A61L 27/52(2006.01)

A61L 27/58(2006.01)

审查员 张凌

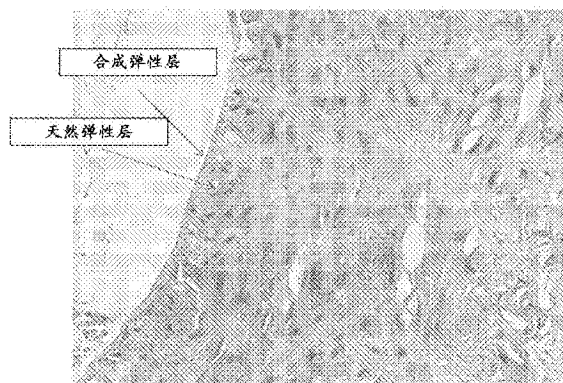
权利要求书1页 说明书15页 附图8页

(54)发明名称

用于血管组织修复与工程化的方法和组合物

(57)摘要

本公开提供了用于改造、修复和/或工程化血管组织的方法和组合物,特别是使用这种组合物治疗患病的血管的用途。



B)以上切片的放大(x40)细节

1. 一种用于改造、修复和/或工程化患病的动脉内膜层的组合物，
所述组合物包含生物相容的、可生物吸收的合成层，
其中，所述合成层在动脉中形成合成的内膜层，
其中，所述合成的内膜层是弹性的；
其中，所述合成的内膜层粘附到患病的动脉的内表面，
其中，所述合成的内膜层是厚度小于0.003英寸的聚合物层；
其中，所述合成的内膜层在其外表面附近具有粘结特征以允许在动脉中递送后所述外表面粘附于患病的动脉的内表面壁；
其中，所述合成的内膜层具孔以允许在动脉中递送后细胞向内生长；
其中，所述合成的内膜层是在动脉中递送后随时间可生物吸收的；和
其中，由于细胞向内生长以及所述外表面面对所述内表面壁的粘附，所述可生物吸收的合成内膜层能够被新的重建的内膜层替代。

用于血管组织修复与工程化的方法和组合物

技术领域

[0001] 本公开涉及用于血管修复、组织再生或工程化,特别是用于治疗患病的、阻塞的或另外受损的血管的组合物和方法。

背景技术

[0002] 动脉粥样硬化是心血管疾病 (CVD) 的主要原因。它是动脉的进行性的、慢性退化,其在内膜中开始并最终损害整个血管的完整性及其开放性、阻碍血液流动并引起被供给的器官的缺血。内膜是动脉的最内层。它从血管中层延伸到血管腔并且由内弹性层和内皮细胞层组成。它富含结缔组织,特别是蛋白聚糖。在动脉粥样硬化中,内膜增厚,这引起管腔变窄。附着到已经变窄的动脉管腔的动脉粥样硬化斑块(如果不治疗)可导致血管的完全阻塞或可能破裂而远端阻塞管腔(图1)。

[0003] 复杂的动脉粥样硬化(管腔阻塞)产生一系列临床表现,从不稳定型心绞痛到心肌梗塞,从严重的肢体缺血到下肢坏疽,从短暂性脑缺血发作到缺血性脑卒中。全球统计数据已经证实,动脉粥样硬化正在影响更年轻的人,包括工作和生育年龄的那些。受动脉粥样硬化影响的器官并非仅限于脑和心脏,而是也影响身体的所有其他的器官也一样,包括肾脏、胃肠道和下肢。处于这种疾病的最高风险中的人群是糖尿病患者,由于外周动脉阻塞而接受下肢截肢(即使在今天每30秒发生的手术过程)的绝大多数患者群体。

[0004] 慢性动脉阻塞手术治疗的目的是通过重新建立动脉血流减轻由此产生的缺血和防止由动脉供血的器官或组织的退化,即重建缺血性心脏、脑、胳膊、腿和其他器官的血液供应以避免他们的损失。

[0005] 建立于二十世纪五十年代的用于血管重建的主要技术是通过插入合成的管状移植物或移植原始的静脉来重建经过阻塞物的动脉血流而“绕过”阻塞物,因而使患病的动脉段孤立地退化。在二十世纪七十年代,一个新的概念被引入,并迅速发展为“血管成形术”的技术,其目的是通过在高压下使球囊膨胀以移除内膜斑块来重新开通阻塞的动脉。该活动延伸整个动脉并压缩斑块以便建立更大的血管腔。作为血管成形术的结果,该斑块被瓦解,有时形成向下流动并阻塞较小的血管的碎片而具有明确的靶组织损伤(如,脚、脑或心脏)。在某些情况下,碎片从下层的血管中层脱离而阻塞我们正试图重新打开的相同血管。后一现象通常使用称为“支架”腔内装置调节,其通过由刚性支柱传送的径向力强制管壁保持张开。所有的血管重建技术只向所述疾病提供了暂时的解决方案,因为通过搭桥手术,原始的静脉或合成的移植物在数年内阻塞,和在血管成形术中,被治疗的节段中疾病的复发(再狭窄)影响血管的长期开放性。此外,这些技术或他们的支持理论中没有一种目的在于治愈或再生原生动脉。

[0006] 动脉粥样硬化不仅是发达国家中心血管疾病的主要原因和死亡的首要原因,而且也是一种扩散的(影响整个CV系统)、多病灶的(临床爆发可以影响一个病人的多个器官)和复发的独特疾病。

[0007] 因此,所需要的是通过再生受影响血管的患病节段,向受到任何心血管疾病的临

床表现影响的患者提供生物相容的和确定性的治疗的组织工程化方法。

发明内容

[0008] 本发明提供了一种组合物,其包含生物相容的、可再吸收的合成层,其由适于组织工程化和具有用于宿主细胞的粘附的成分的支架制成。在一个实施方式中,该合成层提供了沿血管内表面的支架用于指导组织再生。在一些实施方式中,合成层可以填充动脉粥样硬化斑块或动脉壁缺陷,以重建平滑的和均匀的内动脉层。在进一步的实施方式中,该合成层可以与粥样硬化斑块均质化以防止或修补其破裂或损坏。该组合物可包含在血管中原位形成合成层的水凝胶。该组合物还可以包含被预成型为中空圆筒状复合物的合成层。在一些实施方式中,该合成层包含多个中空管状复合物。在一个实施方式中,该合成层包含聚合物。在一些实施方式中,该聚合物是生物相容的。在一些实施方式中,该聚合物是可再吸收的。在一个具体的实施方式中,该合成层作为血管中的合成内膜层发挥作用。在另一个实施方式中,该合成层作为内弹性层发挥作用。在另一个实施方式中,该合成层提供用于修复血管的基底。

[0009] 本发明的合成层可具有内表面和外表面。在一个实施方式中,该合成层的外表面粘附到血管的内表面。在一些实施方式中,合成层的外表面包含RGD肽。在另一个实施方式中,外表面提供了用于形成血管中层的基底。在一个实施方式中,内表面提供了用于形成包含内皮细胞或祖细胞的组织层的基底。在进一步的实施方式中,上述组织层是血管的内膜层。在另一个实施方式中,该组织层是血管的内弹性层。

[0010] 在一个方面,本发明的合成层是多孔的。在另一个方面,所述合成层是弹性的。而在又一个方面,合成层是抗剪切应力的。

[0011] 在一个实施方式中,用于宿主细胞的粘附的成分包含信号传导成分。在另一个实施方式中,这种信号传导成分是生物活性聚合物,其包含至少一个粘附结构域。而在又一个实施方式中,用于宿主细胞的粘附的成分包括多个纳米级孔。在一些实施方式中,用于血管组织细胞的粘附的成分包含至少一个孔。

[0012] 在一些实施方式中,该合成层是水凝胶。在一些实施方式中,合成层是热或化学敏感的。在一些实施方式中,所述合成层在体温下经历相变。在一些实施方式中,所述合成层在体温下凝胶化或固化。在一些实施方式中,所述合成层在低于体温的温度下是液体。

[0013] 在一个实施方式中,所述合成层包含含有聚合物的丝网。在一些实施方式中,所述合成层包含含有聚合物的多个丝网。在一些实施方式中,该聚合物是生物相容的。在一些实施方式中,该聚合物是可再吸收的。在一些实施方式中,该聚合物是生物可吸收的。

[0014] 本发明进一步提供了一种对血管进行组织工程化的方法,包括识别需要进行组织修复或工程化的血管;和向血管中插入本发明的组合物的实施方式(例如,结构化支架成分)。在一个实施方式中,该方法再生血管的内膜层。在一些实施方式中,该合成层控制原生血管中层的细胞的增殖。在一些实施方式中,在体内进行该方法。在其他的实施方式中,在活体外进行该方法。

[0015] 本文还提供了治疗患有心血管疾病的患者的方法,该方法包括识别患者中需要组织修复或工程化的血管,去除该血管的核(coring),并向血管插入本发明的组合物(例如,结构化支架成分)。在一个方面,去除核是用于从所述血管中至少部分地去除斑块的方法。

在一些方面,去除核是彻底减积血管使得沿血管的内表面暴露中间层。在另一个方面,在插入本发明的实施方式的组合物后,所述暴露的中间层接触所述组合物。在另一个方面,去除核可以是球囊血管成形术、内旋切术或彻底减积。在一些实施方式中,由本发明的方法的实施方式治疗的心血管疾病是动脉粥样硬化。在一些实施方式中,在体内进行该方法。在其他的实施方式中,在活体外进行该方法。本发明的组织再生或工程化的方法可在体内或活体外进行,例如,在将被移植的血管、组织或器官中。

[0016] 本文还提供了包含生物相容的、可生物吸收的合成层的组合物,其中该合成层包含用于粘附至细胞或组织的成分,其中该合成层提供了用于指导组织形成的支架。在一些实施方式中,合成层是水凝胶。在一些实施方式中,合成层是多孔的。在一个实施方式中,该合成层包含用于结合细胞或组织的结合部分。在一个实施方式中,该结合部分包含能结合细胞或组织的多肽。在一些实施方式中,该组合物在递送时为液体形式,和其中所述组合物在递送后经历相变成为凝胶或固体。在一些实施方式中,该组合物是温度敏感的。在一些实施方式中,该组合物在体温下固化。在一些实施方式中,该组合物在加入化学品时固化。

[0017] 本文还提供了修复或工程化组织的方法,该方法包括识别需要进行组织修复或工程化的组织和递送本发明的组合物到组织的表面上。在一个实施方式中,递送的组合物在递送前是液体形式并且在递送后是固体或凝胶形式。

附图说明

[0018] 图1:血管中动脉粥样硬化进展的阶段。

[0019] 图2:在正常、阻塞和治疗期的血管的剖面示意图。该图提供了常规的球囊血管成形术(斑块破裂以扩大血管腔)之后的血管(a)和彻底内旋切术或减积(移除斑块)之后的血管(b)之间的比较及两图中应用合成内膜层(SIL)或合成内膜弹性层(SIEL)以在SIL被再生的内膜所替换而立即获得平滑的内表面和重建的内膜的效果。

[0020] 图3:圆筒状层的内层和外层及圆筒状层的增强纤维的示意图。

[0021] 图4:向血管中插入作为单一的或分层的丝网的预成形圆筒状合成层的示意图。图4A示出通过带有用于引导层的放射不透性标记的球囊导管插入圆筒状合成层。图4B示出了用支架网将圆筒状层插入到血管中。

[0022] 图5:通过喷射到血管表面上部署液相的支架水凝胶制剂的图示。描绘了固化支架的内层和外层。表示出层的相对孔大小,外层(粘附在血管的内壁上)含有比内层大的孔隙。

[0023] 图6:温度敏感的水凝胶制剂的递送系统的实施方式的示意图。该支架在两个双重柔性球囊之间的带窗口导管段以液相递送。此设计的递送系统允许安全地递送热或自身固化的支架水凝胶制剂,同时阻止被治疗的动脉段的血流以便递送至血管后有足够的时间用于支架水凝胶的相变、固化或反应。

[0024] 图7:液相支架递送系统的可选实施方式的示意图,其使用双腔Fogarty球囊(Double Lumen Fogarty Balloon)、SIEL AR(用于动脉再生的合成内膜弹性层)喷射系统和Guardwire。

[0025] 图8:储存和递送水凝胶支架的实施方式的示意图,其一旦部署在血管中,可以是例如温度敏感的、自身固化的或化学固化的。在部分A)中,示出工程化支架在递送球囊导管上部署用于在靶血管中释放。在部分B)中,支架形成为水凝胶并通过在递送球囊上喷射或

浸渍或成层来部署。在用于存储的选择性处理(例如,冷冻干燥、脱水或固化)后,支架通过充气对于部分C)中所示的靶血管适当调整大小的球囊导管来递送。所述支架的表面包含用于粘附到血管的特定成分,使得从递送球囊材料的总的脱离转移到血管内壁。支架总体转移到血管允许下载的递送系统撤回,如部分D)所示。部分E)示出水凝胶制剂的支架,用亚甲基蓝色和部署在纸筒中以证明均质材料释放和转移。

[0026] 图9:带有生物可吸收支架的纤维网的兔主动脉的横截面图像(在这种情况下,重组弹性蛋白样聚合物递送和自身保持在天然兔主动脉上)。A)在无压力情况下施加在原生主动脉上的聚合物网,示出支架外表面上RGD部分对主动脉内表面的有效超粘附性质。B)用低压(2个大气压)充气的球囊部署的聚合物网,显示对动脉壁的完全和总体的粘附。这张照片显示了支架的超级粘附性及其产生动脉内平滑层的能力。

[0027] 图10:RGD-增强的水凝胶支架的40X的放大图像(具有弹性蛋白样聚合物),其部署在天然兔主动脉上。部署通过球囊导管在低膨胀压力下,在没有应用于组织的拉伸力的情况下进行。

[0028] 图11:应用合成内膜弹性层的薄形式后,兔主动脉组织学切片的20X(a)和40X细节(b)。在本实施例中示出了产生、递送和保持与天然内膜/弹性层相同厚度的合成内膜/弹性层的能力。

具体实施方式

[0029] 除非本文另有定义,所使用的与本发明相关的科学和技术术语应具有那些本领域普通技术人员通常所理解的含义。此外,除非上下文另有要求,单数术语应包括复数,和复数术语应包括单数。除非另有说明,本发明的方法和技术通常根据本领域所熟知,和如在整个本说明书中所引用和讨论的各种一般和更具体的参考文献中所述的常规方法进行。

[0030] 本文提及的所有的出版物、专利和其它参考文献在此全部通过引用而引入。

[0031] 除非另有说明,下面的术语应理解为具有以下含义:

[0032] 如本文所用的“生物相容的”是指材料在特定应用中执行合适的宿主反应的能力。合适的反应包括其中在宿主中不利的或不希望的影响不存在或者基本上减轻的反应。

[0033] 如本文所用的“可再吸收的”是指可发生再吸收的物质,如该术语在下文中所定义的。当再吸收过程发生在生物系统中时,该物质被称为“生物可吸收的”。

[0034] 如本文所用的术语“再吸收”描述了物质通过化学的、生物的和/或生理的过程减少。通常在本文中和在本领域中使用该术语来描述涉及物质通过例如化学的或物理降解(如溶解、水解和/或吞噬作用)的分解,随后可以经由例如新陈代谢通过人体吸收和/或排泄分解产物的过程。因此,在本文和本领域中术语再吸收通常被称为“生物吸收”。

[0035] 如本文所用的术语“合成的”或“合成成分”是指通常不存在于自然界中的成分。一般地,合成的成分通常不存在于天然血管中。合成成分可以是可任选地包括天然成分(定义如下)的组织工程支架和/或组织工程血管的部分,如本文所述。合成成分性质上可以是弹性体的或可拉伸的。在一个实施例中,合成成分不模拟天然血管的生物力学行为。

[0036] 如本文所用的术语“天然成分”是指存在于自然界或从存在于自然界的物质来源的物质,不管其制备模式。因此,例如,“天然成分”可以是从其天然来源分离和纯化的,或通过重组和/或合成手段制备的天然多肽。天然成分可以存在于天然血管中,和因此具有相对

于机械和细胞行为表现出天然血管样特性的潜力。在某些实施方式中,天然成分性质上可以是弹性体的或可拉伸的。

[0037] 如本文所用的“血管组织细胞”是指构成血管组织的任何细胞。例如,这可能是指血管的内膜层中的内皮细胞和祖细胞。在另一实例中,血管组织细胞指血管中层的细胞。

[0038] 如本文所用的术语“支架”是指用于粘附于细胞或组织和/或生长细胞或组织的三维支持结构。

[0039] 如本文所用的术语“水凝胶”是指由聚合物或它们的混合物溶解或分散在其中的大量的水构成的半固体组合物。

[0040] 如本文所用的术语“圆筒状的”是指近似圆筒形状或与其相关。

[0041] 术语“官能化”一般是指修饰支架原型的过程,从而将它们转化成“智能的”、生物活性的平台,其能够选择、吸引和引导特定细胞到特定片段上。

[0042] 血管的“内膜层”(或内膜)是未改变的健康血管的最内层。它是由一层内皮细胞组成的,并由内弹性层支持。在未改变的健康血管中内皮细胞与血流直接接触。

[0043] “中间层”(或中膜)是动脉或静脉的中间的层。它是由平滑肌细胞和弹性组织组成,并且它位于内侧的内膜和外侧的外膜之间。

[0044] 如本文所用的术语“信号传导成分”是指能够结合或募集所选的细胞或细胞类型的成分。例如,信号传导成分作为合成层的部分可以结合或募集预选类型的细胞以可预见地形成组织层。

[0045] 如本文所使用的术语“生物活性的”是指引发或影响生物事件的分子。

[0046] 术语“心血管疾病”(CVD)通常是指许多影响心脏和循环系统的疾病,包括动脉瘤;心绞痛;心律不齐;动脉粥样硬化;心肌病;脑血管意外(中风);脑血管疾病;先天性心脏病;充血性心力衰竭;冠心病(CHD),也称为冠状动脉疾病(CAD)、缺血性心脏病或动脉粥样硬化心脏病;扩张型心肌病;心脏舒张功能障碍;心内膜炎;心力衰竭;高血压(血压高);肥厚型心肌病;二尖瓣脱垂;心肌梗死(心脏病发作);心肌炎;周围血管疾病;风湿性心脏病;瓣膜病;和静脉血栓栓塞。如本文所用的术语“心血管疾病”也包括对缺血;由于物理损伤(内旋切术、球囊血管成形术)导致的或作为慢性损伤(包括动脉粥样硬化)的结果的动脉损伤(对内皮谱系的损害);心肌损伤(心肌坏死);和肌坏死。在一般情况下,任何引起新血管生成反应的生理或病理生理学状况被包含在本文所使用的术语“心血管疾病”中。

[0047] 如本文所用的术语“动脉粥样硬化”是指其特征是含有胆固醇和脂质的动脉粥样化斑块在大和中型动脉壁的最内层上沉积的血管疾病形式。动脉粥样硬化包括医学相关领域的执业医师所认识 and 理解的血管疾病和病症。动脉粥样硬化性心血管疾病(包括血管重建术后的再狭窄)、冠状动脉疾病(也称为冠心病或缺血性心脏病)、脑血管疾病(包括多发脑梗塞性痴呆)和外周血管疾病(包括勃起功能障碍)都是动脉粥样硬化的临床表现,并且因此包含于术语“动脉粥样硬化”和“动脉粥样硬化性疾病”中。

[0048] “去除核”是指用来挖空或增加物体内部部分例如其核心的尺寸的任何方法。在去除血管核的情况中,该术语是指包括用于挖空血管或增加血管的截面空白区域的任何方法。它也可以称为“斑块旋切术”或“内旋切术”,意为斑块的去核或圆周的进行性的消融。这可能导致按照血流通过血管的速度降低的血压。这些方法也可用于制备用于植入用于血管再生的组合物或装置的血管。去除血管核的方法的实例包括球囊血管成形术、外科的或封

闭的或血管内的内旋切术和彻底粥样硬化斑块减积。在一个实施方式中,去除核是指使用适当修改的旋切装置以去除患病段,并且还指其用于开通和成形支架铸件(scaffold cast)的用途。

[0049] 术语“受试者”或“患者”可在本文中互换使用,并且包括但不限于,生物体;哺乳动物,包括,例如,人、非人灵长类、小鼠、猪、牛、山羊、猫、兔、大鼠、豚鼠、仓鼠、马、猴、绵羊或其他的非人类哺乳动物;和非哺乳动物,包括,例如,非哺乳动物的脊椎动物,如鸟(例如,鸡或鸭)、两栖动物和鱼以及非哺乳动物的无脊椎动物。

[0050] 本公开提供了一种用于对血管进行组织工程化以用于生长、修复或再生血管的装置。在一个实施方式中,该装置提供了生物活性的、选择性多孔的、生物可吸收的、预成形的或原位结构化的支架,它指导血管内膜层的内层的修复。在一些实施方式中,该装置指导血管的新内膜层的工程化。在一个实施方式中,该支架被设计成由来自健康血管中层的细胞沿外表面重新填充和由内皮或祖细胞沿着内表面重新内衬。在一些优选的实施方式中,支架通过选择性信号传导诱导特定的内皮细胞和平滑肌细胞的受控迁移,和通过三维仿生形态增加材料/宿主的粘合。在某些实施方式中,当组织内生完成时,支架被逐渐吸收。

[0051] 在某些实施方式中,支架材料包含根据其生物相容性和再生能力选择的天然的或合成的复合材料和/或功能化材料用于组织或血管生长、修复或再生。该材料可以包含用于原位胶凝和二次建模的水凝胶。所述材料可以包含用作预成型的装置的复合材料。该材料可以是水凝胶和预成型的复合装置的组合。

[0052] 还提供了用于血管的组织工程化以用于血管生长、修复或再生的方法。在一个实施方式中,该方法提供了通过患病的动脉内膜的消融和再生用于治疗心血管动脉粥样硬化闭塞性疾病的方法。

[0053] 在一些实施方式中,支架层的表面被功能化。功能化可用于提高表面与细胞外基质和细胞粘附分子(即,内皮细胞,内皮前体细胞和平滑肌细胞)的粘性。细胞粘附分子可以来自循环血液细胞的集合。例如,预计平滑肌细胞从中层的剩余健康部分迁移。一种这样的功能化是利用工程化以表达基于RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)或REDV(精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸-缬氨酸)的粘附结构域的生物活性聚合物和应用合适的纳米尺寸多孔性于可生物吸收的基质。对于这一目的,设计了装置以用于增强内皮细胞粘附。在一个实施方式中,所述支架的内和外表面被功能化。

[0054] 在功能化的另一方面,提供了用于材料/宿主组织粘连的支架。在一个方面,这种功能化阻止血管组织工程化支架的错位。在另一个方面,向生物可吸收的基质提供了微-纳米尺寸的多孔性。该方面可以用于提高细胞粘附,如内皮细胞粘附。支架的功能化可以促进内膜组织再生。在一种情况下,支架能够被安全和有效地植入动脉中,从而保持合适的机械和弹性性质。

[0055] 在一些实施方式中,本文中所描述的血管组织支架是生物相容的支架,其中至少一些是多孔的(宏观多孔或微观多孔或纳米多孔),并且其可以提供受控的形态和基于材料的梯度。在支架中使用的层可以具有提供了在微观结构水平的组织化的结构,其促进可以最终导致全部或部分功能性组织的再生的细胞侵入、增殖和分化。组织支架的(多个)层具有可以例如允许组织内生、组织修复、组织再生和用于治疗剂发现的基于细胞的研究的微结构。特别地,该支架提供了用与活细胞接触来控制生长的结构域形成的(多个)表面。

[0056] 本文所述的血管组织支架可以包括大小和形状不同的细胞开口(例如,限定在一个或更多表面中的孔的细胞开口)。无论是规则的或不规则的形状,细胞开口的直径可以在约1至约10,000微米之间。例如,细胞开口可以是约5微米至9,500微米;从约10至10,000微米;从约25至约7,500微米;从约50至5,000微米;从约100至约2,500微米;从约100至约5,000微米;从约250至约2,500微米;从约250至约1,000微米;从约500至约1,000微米;从约750至约1,000微米;或其间的范围。细胞开口可以为细胞内生和营养物质扩散提供途径。孔隙率可以被控制且范围可以从约10%至95%。因为细胞开口和/或通道可以具有微米范围内的直径,有用的层和支架可以被描述为多微孔的。它们也可以是非多孔的。

[0057] 可以控制血管组织支架的特征通过选择获得以下特性的特征而适合所需的应用:用于优先细胞培养的沿着三个轴的梯度;用于增强细胞侵入、血管重建和营养物扩散的贯穿支架的通道;用于改进的细胞组织化的表面上层的微图案化;孔大小和形状的可修整性;各向异性的机械性能;用于改变对于不同材料的细胞反应的具有聚合物组成梯度的复合层状结构;不同的聚合物组成的共混物以形成具有以不同速率降解或再吸收的部分的结构;生物活性剂(或“化合物”)共混或用其涂覆的层,生物活性剂包括但不限于生物因子、生长因子等;产生具有受控的微结构的三维结构的能力;以及与其他医疗装置或药剂装配以提供复合结构。

[0058] 在一些实施方式中,生物相容的支架包括基本上可控的孔结构。选自于包括组成、刚度、孔隙结构和生物吸收率的特征可以被控制。所述支架可以由可吸收的或不可吸收的聚合物制成。聚合物的混合物可应用于形成从一层到下一层的组成梯度。在其中一种组成足够的应用中,该支架提供了可以具有跨一个或多个层的结构变异的生物相容的支架,其可以模拟组织的解剖学特征。结构变化可以导致在整个支架中降解的变异。特别是,该支架不依赖于径向力以保持其结构。

[0059] 在一个方面,用于修复或再生血管组织的方法包括:将第一组织在具有允许组织生长的合适特性的支架上的位置处与支架孔隙梯度接触。物理和化学性质的受控过渡和/或支架的微观结构特征的概念可以促进组织生长或再生。

[0060] 该支架特别可用于产生组织的两个或更多个层之间的组织连接。对于多细胞系统,一种类型的细胞可以存在于所述支架中的一个区域中和第二种类型的细胞可以存在于该支架的一个单独的区域中。递送通道可以被用来在所述支架的某些区域中定位药剂、化合物或细胞。

[0061] 用于产生组织支架的材料可以适合于促进粘附的或者非粘附的细胞系或它们的任意组合的生长。

[0062] 在一种情况下,用于产生支架的材料包括片材。所述片材可以是大体上平面的。该材料可以是至少部分层状的结构。在一种情况下,该材料包含内层和外层,一层比另一层具有更高的吸收率。内层和外层可彼此相邻定位。

[0063] 在一个方面,外层与患病血管中层的内表面相互作用或粘附于到患病血管中层的内表面。内层可以促进血管内膜层的再生,且外层可以促进血管的中层内生到支架中和控制中层细胞增殖。在一个实施方式中,合成层附着到去除核的中层。

[0064] 在另一个方面,用于血管组织再生的所需细胞的募集可以通过附着至支架的信号传导成分来实现。这样的设计包含功能化的支架,其增进了支架粘合至细胞外基质和细胞

(内皮细胞、内皮前体细胞和平滑肌细胞)粘附分子。例如,通过使用生物活性聚合物可以实现功能化。生物活性聚合物的实例包括基于RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)和REDV(精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸-缬氨酸)的粘附结构域。信号传导成分可以通过在支架中包括适当大小的孔来补充。在一个方面,孔是纳米尺寸的。

[0065] 在一个实施方式中,材料是至少部分多孔的以促进组织内生。内层和外层可具有不同的孔隙密度。内层和外层可具有不同的孔尺寸。在一种情况下,至少一些孔形成具有不同密度的至少部分梯度。

[0066] 在另一个实施方式中,材料是至少部分多孔的以促进组织内生。所述层可在选定区域中具有更高的孔密度。中心区域可以具有比外部区域更高的孔密度。在一种情况下,至少一些孔形成从一个区域到下一个区域的至少部分梯度。

[0067] 该材料可以包含填充至少一些孔的抗粘合填充剂。该材料可以沿材料表面的至少部分包含抗粘合涂层。可选择地,用来促进组织附着和粘合的材料可以与该支架一起使用。

[0068] 如上所述,孔可以具有不同的尺寸,所述层可以具有不同的厚度,并且所述层可以具有不同的组成,其全都改变愈合和生物降解特性。在这种情况下,可以通过以下步骤进行制造该支架的方法:挤出第一生物相容聚合物以形成第一层或表面;在第一层或表面中形成孔;挤出第二生物相容聚合物以形成第二层或表面;在第二层或表面中形成孔;和将第一层或表面附着到第二层或表面上以产生组织支架。这些层在形状上各自是圆筒状的用于再生或修复血管组织。组织支架可以被设计有受控的血管组织内生和重建以永久地改变组织的机械性能。

[0069] 在获得而非制造层的情况中,制造组织支架的方法可以仅仅需要提供给定的层,其然后在需要时附着(例如,通过机械或化学力可逆或不可逆地结合)到另一个层和/或被加工以包含一个或多个给定尺寸和排列的孔。然后可以对该单一提供的层(或粘合的多个层)进行在(多个)层内形成孔的处理(例如,激光烧蚀、冲模等)。因此,可以通过提供给定的生物相容层来实施任何的方法,而不是通过由挤出或挤出样过程来生产它。在支架层中使用的层也可以用铸造、注塑、静电纺丝或浸涂技术产生。

[0070] 优选地,血管组织支架可以包括生物相容的层。生物相容的层是可以,例如,存在于生物组织旁边而不以任何可察觉的程度损害组织的一个层。如上所述,在支架中使用的(多个)层可包括孔(例如,从该层的一个表面到另一个的开放通道),其允许组织内生和/或细胞浸润。

[0071] 该支架可以提供受控孔隙率、高强度和特定材料含量的组合,并且它们可具有一个或更多的以下的优点。它们可以包括刺激组织整合和降低炎性的孔隙或多孔结构;它们可以降低与相邻组织排斥的风险(对于具有平滑的表面和防创伤的(例如,平滑的、变细的或圆形的)支架特别是如此);它们可以模拟被修复或更换的血管组织的物理性质,从而有望促进更完全的愈合并最小化病人的不适;它们的表面积可以相对于现有技术的装置被减少(具有减小的量的材料可以降低免疫或炎性反应的可能性)。此外,具有减小轮廓的支架可以被生产和以微创方式植入;因为它们是柔软的,它们可以通过较小的手术切口被放置或植入。方法还可以产生具有改进的光学性质的支架(例如,外科医生可以通过该支架看到更多的底层组织)。实际上,可用于制备支架的微机械加工技术是有效的和可再现的。本文所述的支架应当低轮廓构造提供增强的生物相容性,同时保持达到预定的目的必要的强

度。

[0072] 在一个实施方式中,该层是由生物可降解的生物相容性材料(即,它在可辨别的时间段内(例如,几个月或几年内)在人类患者体内降解)制成或包括该材料。生物相容的材料可以至少部分地可由身体吸收。生物相容的材料可以包含可吸收的聚合物或共聚物,例如弹性蛋白样聚合物(ELP)、聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸(PLA)、聚己内酯、聚羟基烷酸酯或聚富马酸和上述聚合物的衍生物。

[0073] 在另一个实施方式中,所述生物相容的材料是不可吸收,并且可以是,或可包括,聚丙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚四氟乙烯、聚芳醚酮、尼龙、氟化乙烯丙烯、聚丁烯酯(polybutester)或聚硅氧烷。该血管组织支架还可以包括生物材料,如胶原蛋白、纤维蛋白或弹性蛋白。生物材料,例如这些可以被结合至被组装成所述支架(例如,作为层的成分或在其上的涂层)的一个或多个层中,或者可以被包含在支架内的一个或多个孔、通路或通道内。

[0074] 层中可用的生物相容材料可包括不可吸收的聚合物,如聚丙烯、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚四氟乙烯、聚芳醚酮、尼龙、氟化乙烯丙烯、聚丁烯酯和聚硅氧烷,或它们的共聚物(例如,聚丙烯和聚乙烯的共聚物);可吸收的聚合物,例如聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸(PLA)、聚己内酯和聚羟基链烷酸酯,或它们的共聚物(例如,PGA和PLA的共聚物);或基于组织的材料(例如,从将接受所述支架的患者获得的或获自另一个人的胶原蛋白或其他生物材料或组织)。该聚合物可以是D型异构体、L-异构体或两者的混合物。适用于制造层压结构的生物相容层的实例是发泡的聚四氟乙烯。

[0075] 在血管组织支架由多个层制成的情况下,各个层可以是相同的或不同的材料。例如,在可吸收的材料的情况下,这些层的材料可以被选择为具有不同的吸收率。

[0076] 在一个实施方式中,所述生物相容的材料具有多种细胞。所述生物相容的材料可具有多种细胞,和多种细胞中的一种或多种细胞具有沿着细胞的最长轴测定为约10至约10,000微米的直径。所述生物相容的材料可具有多种细胞,和多种细胞中的一种或多种细胞基本上是正方形、长方形、圆形、椭圆形、正弦形或菱形的。

[0077] 在一个实施方式中,支架内的一个或多个层的厚度约为0.25英寸或小于约0.25英寸。例如,所述支架可以由一个或多个可以相同或不同厚度的层形成。例如,该层可以是约或者小于约0.20英寸;约为或者小于约0.18英寸;约为或者小于约0.16英寸;约为或者小于约0.14英寸;约为或者小于约0.12英寸;约为或者小于约0.10英寸;约为或者小于约0.05英寸;约为或者小于约0.025英寸;约为或者小于约0.020英寸;约为或者小于约0.015英寸;约为或者小于约0.014英寸;约为或者小于约0.013英寸;约为或者小于约0.012英寸;约为或者小于约0.011英寸;约为或者小于约0.010英寸;约为或者小于约0.009英寸;约为或者小于约0.008英寸;约为或者小于约0.007英寸;约为或者小于约0.006英寸;约为或者小于约0.005英寸;约为或者小于约0.004英寸;约为或者小于约0.003英寸;约为或者小于约0.002英寸;或者约0.001英寸。在一些情况下,例如,在其中层是非多孔的情况下,它可以更厚(例如,约0.5-1.0英寸厚)。如所指出的,给定的支架可以包括一个以上的层和支架的总厚度可变化极大,这取决于其预期的应用。

[0078] 组织支架可包含粘附区域,其可以适于接受缝线、缝钉等。此外,对于该组织支架的单个层可以具有对准区域以确保在该层中的孔正确匹配。

[0079] 上述的血管组织支架的医学应用可以包括但不限于修复和再生患病的或受损的血管。参看图1, 患病的血管可以指在动脉粥样硬化的任何阶段的血管。血管的修复可以通过利用几种技术, 例如, 球囊血管成形术、外科或封闭或血管内的内旋切术或者彻底粥样硬化斑块减积来去除血管的核而开始。在图2中提供了一些这些技术的结果的描述。在动脉粥样硬化血管的成形术(通过球囊的斑块破坏)或去除核(斑块的斑块环状消融)后, 如所描述的血管组织支架被放置在血管内以填充解剖面, 即使破坏的斑块的表面, 和促进血管组织的再生和愈合。

[0080] 在一些情况下, 血管的组织工程化可以用来补充或替换血管移植物。在一种方法中, 本发明将组织工程化和设计的生物材料与微创方法结合用于血管修复或治疗。该方法还提供了原位方案来再生病人的动脉。在一个方面中, 再生血管的功能被保留。

[0081] 在一个实施方式中, 该方法采用了先进的非晶状态的生物材料以通过血管内技术原位成形。这可以进一步降低复杂性和与当前的组织工程化方法相关的成本, 从而解决成形和向血管床中递送预成型的产品或装置的技术困难。这种方法的另一个优点是, 使用体内组织工程化技术而不需要体外细胞和组织操作。在一个方面中, 血管组织工程化装置具有破裂强度和疲劳强度以保持动脉管腔开放, 因为它是由动脉壁的其余部分支撑的。在另一个方面, 新的内皮由宿主自身的细胞形成, 并且不是血栓形成性或免疫原性的。

[0082] 在一个实施方式中, 该装置提供了在破坏、消融或移除它们的动脉粥样硬化斑块后再生患病动脉的功能性的、弹性内膜层的方法。将由外科或血管内技术完成部分或全部斑块去除和由可再吸收的支架再填充间隙, 其一旦被植入, 将由循环细胞接种并由天然动脉壁细胞填充, 从而最终允许原位形成新的动脉内膜层。

[0083] 在一些实施方式中, 通过由生物相容的、可再吸收的(天然或合成的)聚合物(BRP)(适合于人类医学应用), 单独或与其它增加粘合性和支撑的可生物降解的天然的或合成的聚合物复合制成的支架的薄膜形成合成层。BRP可用添加信号传导肽、蛋白质或药物功能化以实现“智能”特征, 为此, 他们可以调节细胞归巢、炎症反应和长期生物相容性。BRP在部署前(在实验室中预成型)或在部署中(“体内”应用)构成多孔结构。用于合成层的合适材料的实例是弹性蛋白样重组聚合物(ELRP)。

[0084] 在一些实施方式中, 水凝胶支架在递送之前是液体形式的。在本发明的某些方面中, 所述水凝胶支架在一定温度下经历相变(例如, 固化或形成凝胶层)(例如, 为“温度敏感的”或“热敏的”)。在一个优选的实施方式中, 该温度是体温。在一些实施方式中, 该合成层在一定的化学品或化合物的存在下经历相变。在一些实施方式中, 合成层在施用于组织或血管之后的一定时间之后经历相变。在优选的实施方式中, 水凝胶支架在被应用到血管或组织之后经历相变。一旦递送到血管中, 液体可经历相移或凝固以在血管中形成作为水凝胶或固体的更稳定的支架。一旦被注入血管中, 这种液体可以自动地固化, 或该液体可能需要与另外的化学品相互作用以在注射后固化。

[0085] 合成层可以以数种形式被存储, 包括液体形式。合成层也可通过冷冻干燥、脱水或固化用于存储和/或保存。

[0086] 以下实施例是用于说明的目的并且不旨在限制本发明的范围。

[0087] 实施例1

[0088] 用合成的内膜层替换患病的动脉内层

[0089] 用于机械封闭内旋切术的现有技术允许部分(中心)去除阻塞性斑块。本实施例提供了通过广泛消融粥样硬化斑块直到中层的外层将斑块旋切术扩展至斑块和患病内膜的“彻底”消融的可能性。然后用合成内膜层(SIL)或合成内弹性层(SIEL)替换患病区段(图2)。SIL或SIEL并不旨在“支撑”动脉。相反,它的目的是用柔软的和柔顺的智能支架替换患病的和变硬的区域。这是原位组织工程的实例,其中智能的可降解生物材料驱动具有天然解剖结构的组织的再生而同时在再生过程中消失。

[0090] 实施例2

[0091] 生产合成内膜层(SIL)或合成内弹性层(SIEL)作为生物相容的和生物可吸收的支架材料的薄壁圆筒

[0092] 下面提供的方法产生薄($<100\mu\text{m}$)的生物活性的、选择性多孔的、生物可吸收的支架:所述支架可以用作可注射的水凝胶或在预成形结构中的复合物,其可以与动脉的健康中层接触作为新的内弹性层部署。

[0093] 可以采用两种不同的技术途径:

[0094] 途径A:由复合材料制成的结构化SIL或SIEL(圆筒状和片状)可部署为被内旋切的动脉中的完整而仍然可塑的装置。

[0095] 途径B:可以通过支架的沉积或者喷射和二次建模将可注射支架原位成形成SIL或SIEL。

[0096] 该支架材料的特征包括弹性以顺应动脉搏动,抵抗剪切应力和渐进性的层吸收。在预成形的实施方式中,该支架是圆筒状的或管状的,并且由于其允许维持具有最小厚度的结构的粘性性能而自保持。在二次注射实施方式中,支架的相同的机械特征是通过喷射和“体内”胶凝支架的建模来实现的。用所需的孔隙率工程化的材料与宿主组织的互连将生物材料固定于宿主的动脉壁。

[0097] 预成形的或可注射形式的支架的部署是通过外科手术和血管内技术进行的。

[0098] 在途径A中,研制了具有工程化的孔隙率和生理机械性能和由天然的或重组的聚合物或蛋白质制成的管状装置。管状装置与复合物材料的其它合成的或天然的元件耦合。可以考虑不同的处理技术来实现形成圆筒状的支架:该技术的目的是为了产生能够承受长期的机械应力和能够呈现生物活性元件的材料。在一些实施方式中,生物活性元件以重组蛋白或材料复合物存在。

[0099] 在途径B中,使用两种方法来应用可能具有生物活性元件的热胶凝的、可注射的材料或聚合物。第一种中,采用专门设计的导管来实施喷射和原位胶凝到动脉表面上。第二种中,实施注射支架铸件的二次机械成形,目的是获得规则的大的中空结构。

[0100] 使用创新的技术(如导管)和在临床实践中常用的机械内旋切设备进行固化材料的原位通道形成和成形。在该方法的一个实施方式中,适当修改的内旋切设备移除患病区段,并且也用于支架铸件的通道形成和成形。

[0101] 实施例3

[0102] 途径A:结构化SIL或SIEL-合成和递送

[0103] 由生物相容的、可再吸收的(天然或合成的)聚合物(如,BRP)的薄的($<100\mu\text{m}$)片材或纤维网状结构(例如,多个层以形成三维多孔结构)制成的圆筒状的或螺旋形的合成层。该结构可以由多层相同或不同功能化的聚合物或与由较厚的部署制成的卷绕纤维结合制

成或产生不同的BRP。通过电纺丝或其它部署技术直接在递送导管(球囊或可膨胀导管)上合成纤维网,并被递送以允许与血管内壁完整和充分地接触(图11)。纤维蛋白可以被添加到结构中或使用在溶液中作为生物胶,以增加该装置的粘附力和避免崩塌或内折叠。用暂时留在动脉中的特殊的金属网稳定圆筒(图3)。

[0104] 内表面和外表面之间支架的纳米孔隙率和功能化是差异化的。内表面比外表面具有较低孔隙率性。所述内表面包含用于循环细胞受体(例如,包含基于REDV(精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸-缬氨酸)的粘附结构域的生物分子)的细胞内信号传导分子。外表面比内表面具有更大的孔隙率以适应平滑肌细胞的生长和与支架小梁结构的粘附。外表面包含特定的信号传导分子(例如,包含基于RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)的粘附结构域的生物分子以刺激平滑肌细胞的生长和与架小梁结构的粘附)。经由合成和统一具有不同支架构象的两个圆筒产生不同的内和外结构(图3)。可以使用其他的合成技术。在优选的方面,片状圆筒将具有范围从2.5到40mm的可变直径。

[0105] 合成层将在干燥的状态或湿溶液中保存、灭菌并能够在架上保存。它将被保存为安装在递送系统上的圆筒。或者,该装置将被预先安装在递送系统中。合成层将是弹性的,可通过球囊递送系统模制的,和能够通过粘附于血管内层的壁维持膨胀状态(例如,避免塌陷)。可通过或者纤维蛋白或者生物胶与合成层的组合来协助粘附。此纤维蛋白或生物胶可作为粘着到其外表面的复合材料支架的部分被加入,或者可以在递送过程中加入到合成层或血管中。

[0106] 圆筒状装置层在植入前(例如,在使用前的运输和储存过程中)和植入后保持其加工的形状。植入的圆筒状装置将粘附到天然的动脉壁和避免塌陷、破裂和迁移。支架材料的弹性特性将允许圆筒状装置符合动脉的收缩期膨胀,从而确保远端多普勒波的三相形状,如在体内实验中通过多普勒超声探测以固定的间隔评估的。这种结构特征将通过支架片的较小厚度被保留,理想约20至40 μm 。

[0107] 植入后,支架将被宿主细胞定居,从外表面迁移的平滑肌细胞和内表面上的内皮前体细胞(EPC)或内皮细胞(EC)。测量慢性炎症反应和通过重建内膜层的完全整合的水平。装置的成功植入将类似于天然的内膜。

[0108] 合成层将通过外科暴露被递送至需要的位置,如外科动脉内旋切术干预。可替代地,装置将由血管内递送系统被递送至所需的位置,例如导引物和球囊导管。这些确保高效和精准的递送而同时保持支架在部署的整个过程中的完整性。合成层将干燥地或作为湿溶液利用。合成层将在合成过程中被灭菌和保持无菌直至植入。合成层包含单个或多个纤维网片。

[0109] 将通过装置被预安装在其上的球囊导管递送合成层。合成层将被递送而不在目标区域之前接触动脉系统的表面。递送系统将通过设置在其上并精确地指示射线不透装置的边缘的标记(例如,射线不透性标记)保证精确的递送。进行完全释放而不使装置与递送导管/扩张器或递送导引片有任何粘附(图4A)。

[0110] 让渡系统可以暂时支撑合成层。在合成层粘附到动脉壁上之后该系统将被除去。该系统将通过将被留在适当位置并通过导引片而缩回的可膨胀金属网形成。处理此金属网以使其在其任何操作中不附着、破坏或移位合成层(图4B)。

[0111] 该支架或预成形圆筒的网状层包含单一或多个纤维网片。该支架可以在递送球囊

上通过电纺丝直接合成(图4A)或合成作为圆筒状网(图4B)和安装在扩张递送系统上作为金属网(其将在递送完成时缩回并除去)。

[0112] 实施例4

[0113] 方法B:一种可注射的支架-合成和递送

[0114] 我们制备了作为水凝胶的温度敏感的、可吸收的、可注射的、聚合物支架,它通过特殊设计的导管以液体的状态递送。该液体在体温下注射后经历至聚合物骨架水凝胶的相变。

[0115] 随后通过球囊或卡钳机械旋切装置塑造这些支架的结构(例如,合成的可注射层)以便达到所希望的厚度和连贯的血管腔。可替代地,进行“双相”部署,类似于上面描述的预成形的合成层。产生特殊喷射导管和模制柔顺的球囊(图5)。

[0116] 合成层是以其液相应用在专门设计的递送球囊上的温度敏感的水凝胶。水凝胶将以确定的量和宽度(在膨胀的球囊和目标动脉的直径中最终所需量和宽度的基础上计算的)在放气的球囊上固化。可以通过喷涂机将该温度敏感的凝胶放置在球囊上,其可将温度敏感水凝胶分层为两个不同的层,其含有不同的信号传导分子,内部的一个,具有特定的内皮祖细胞受体(REDV),外部的另一个,具有结缔组织平滑肌细胞特异性受体(RGD)。在使用时,用冷盐水膨胀球囊以还原水凝胶为液体或半液体相。再水化的支架挤压在膨胀的球囊和动脉内壁之间,在那里其将固化成其在动脉中的最终构型。

[0117] 该技术将被用于治疗独立的病灶以及弥漫性病变,且部署将受递送系统的长度的影响。根据病灶的大小,合成的可注射层的范围从2至30厘米。

[0118] 该水凝胶将在室温或轻度的冷藏温度下稳定且保存在无菌小瓶中。在血管内应用中,液相聚合物从这个小瓶被无菌转移到递送系统,其中它可以被保持脱水。在开放性手术应用中,递送系统将是人工喷射系统,如对于鼻腔/口腔应用。在一个实施方式中,喷射帽被锁定在保存小瓶中。

[0119] 一旦水凝胶被部署和固化,支架将抗早期和晚期迁移、破裂、与远端栓塞一起碎裂。植入后,支架将被宿主细胞定居,从外表面迁移的平滑肌细胞和内表面上的内皮前体细胞(EPC)或内皮细胞(EC)。将对慢性炎症反应和通过重建内膜层的完全整合水平进行测量。该装置的成功植入类似于天然的内膜(图11)。

[0120] 通过用喷雾装置直接部署到动脉表面上,水凝胶被递送至需要的位置。可选地,水凝胶将通过特殊的血管内递送系统(例如,导引或球囊导管)递送。递送方法将确保高效、精准地递送至动脉壁。液相的无菌水凝胶将被无菌地存储并转移至喷射系统。

[0121] 可注射支架递送装置及方法1

[0122] 该递送系统是球囊导管。该导管将被设计成具有两个双柔顺球囊,这将确保待治疗动脉段下面和上方的流阻塞(图6)。这两个球囊之间的导管部分具有允许该液相RBP水凝胶(例如,弹性蛋白样重组聚合物(ELRP))被喷射到动脉内表面上的微孔。将产生不同长度的喷射段以便符合不同病灶长度,例如,从2至30厘米。此过程可以与“临时支架”安全技术组合进行。

[0123] 支架通过两个双柔顺的球囊之间的有窗口的导管段以液相递送的。此设计的递送系统允许安全递送支架的温度敏感的(例如,在体温下经历相变)或自固化的RBP水凝胶制剂,同时阻断被治疗的动脉段中的流动,以给出用于支架水凝胶相变、固化或反应的时间。

[0124] 可注射支架递送装置和方法2

[0125] 可替代地,利用当前可用的技术作为在其顶部具有顺应性球囊的导线(例如Guardwire®,Medtronic Inc)和2管腔球囊(例如The Dual lumen Fogarty balloon®)将用于获得待治疗的动脉壁的节段中的血流排除。在用于宽范围延伸(从1.5到30厘米的长度)的远端部分中具有孔的导管将被插入在保护线上用于喷射可注射聚合物(图7)。

[0126] 可注射支架递送装置和方法3

[0127] 用于温度敏感水凝胶的另一个可选的部署系统是通过三球囊导管,其中具有两个近端和远端的、柔顺的、止血球囊和一个半柔顺的中心球囊,在其部分中具有不同顺应特性,以水平地填充空间而不增加其公称直径(图8A)。这种球囊将被冷液体相的温度敏感的RBP水凝胶支架涂覆,并让系统升温以便使该支架成为凝胶相,达到需要的计算数量和宽度(图8B)。用冷液体填充该球囊,以便使得水凝胶支架回到半液相,为此它将被扩张球囊推和挤压在球囊表面和内动脉壁之间(不接触具有稍微大于完全膨胀球囊的最大公称直径的直径的球囊(图8C)。在该操作中,在体温下,整个系统将在动脉内面上升温,使得水凝胶支架恢复其凝胶相(图8D)。图8E示出了成功沉积成圆筒的支架水凝胶。水凝胶被亚甲基蓝染色。

[0128] 实施例5

[0129] 支架的功能化以获得智能的和高效的底物用于组织再生。

[0130] 证明是生物相容的支架被改性以提高其作为生物胶发挥作用、促进内皮细胞的迁移和汇合及锚定循环内皮祖细胞的能力。

[0131] 功能化的目的是提高材料的生物胶(即,粘附)特性,而最大化对细胞外基质和细胞(内皮细胞、内皮前体细胞和平滑肌细胞)粘附分子的粘附。选定的细胞子集的附着导致工程化组织的生长。尽管内皮及内皮前体细胞预期从循环血液细胞池获取,平滑肌细胞预计从中层的剩余健康部分迁移。功能化的一个方面可包括使用生物活性聚合物以抑制来自中层的平滑肌细胞的不受控制的增殖。例如,通过应用工程化以表达基于RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)或REDV(精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸-缬氨酸)的粘附结构域的生物活性聚合物和/或应用合适的纳米尺寸的孔隙率到生物可吸收的基质来构造旨在改善内皮细胞粘附的装置而实现选择的粘附。支架的内和外表面被功能化。

[0132] 功能化的另一个方面涉及用于材料/宿主组织粘附的策略以保持来自途径A的预成型的SIL或SIEL对血管的粘附。预成型的SIL或SIEL是薄壁的圆筒,且因而不依赖于径向力来保持其结构。为达到这一目的,该策略涉及将微-纳米大小的孔隙率应用至可生物吸收的基质。此功能化技术改善内皮细胞的粘附。上述功能化材料增加了本实施例的SIL或SIEL的整体粘合性能。

[0133] 实施例6

[0134] 体外和体内验证血管组织工程化组合物和方法。

[0135] 所有提出的材料经历充分的体外表征和通过常规毒理学方法和更深入的材料生物相容的评价,通过调查单核细胞、巨噬细胞和内皮细胞的相互作用(无论是在单和共培养中),测量炎症的和趋化分子的释放、细胞表型、增殖、细胞外蛋白质表达、基因表达和也使用常规的组织学方法进行测试。测定原位组织工程化的适宜性。测量了(多个)生物聚合物中细胞重定居的动力学和细胞的功能特性,和分析嵌入生物聚合物中的细胞中粘附分子的表达。对内皮细胞、内皮祖细胞和平滑肌细胞的粘附、增殖和激活状态进行了评价。用组

织化学分析来通过LDL摄取、Hoechst/TUNEL和膜联蛋白V染色来识别存活的功能活性的细胞。通过流式细胞仪、凝固测定仪和使用含乙酰化的凝血素血小板的血浆测定血小板活化和接触活化而评价将用于管腔的EC-接种和未接种的功能化生物材料的血栓形成。

[0136] 使用新西兰白色雄兔和长白猪在动物模型中体内测试途径A和B的提出的材料。体内测试有三个阶段：模型准备阶段、主要测试阶段和GLP级动物试验。

[0137] 第1阶段-模型准备阶段

[0138] 模型准备阶段包含建立对照模型和支架植入技术。对照模型由通过髂动脉和主动脉的经腔内血管成形术球囊诱导的内膜剥脱模型的良好建立的再狭窄模型的适应组成。该模型包括两个干预措施。第一个干预的目的是产生慢性阻塞性病灶。第二个干预是手术切除引起的阻塞性内膜增生。这是在较早的实验阶段使用内旋切术,和在临床前良好药品实验研究规范实验中使用机械或激光旋切术通过血管内技术实现的。这些技术利用光化学和光机械(photomechanical)作用,能量耗散深度范围约50 μ m和与机械内旋切术比较在血管外壁上诱导较小的创伤。消融进一步向中层的“健康”的中间部分延伸,如“动脉彻底减积”的概念中。该准备阶段显示了实验模型的可行性、可靠性和可重复性。

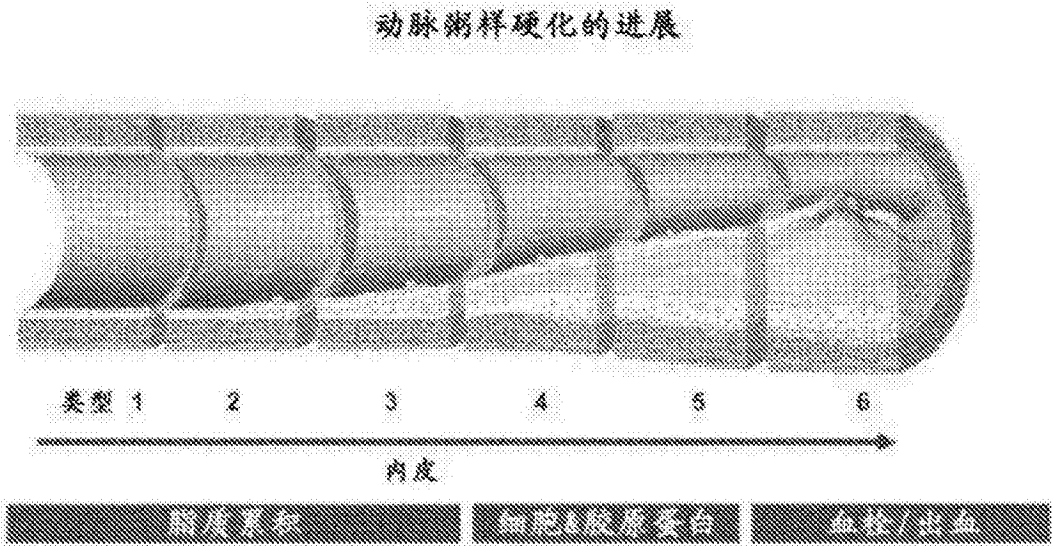
[0139] 在该第一阶段中,该对照模型由尚未开发的模型激发,和将集中于根据F.Serino和S.Miyagawa所提出的新模型由免疫异种反应诱导动脉内膜剥脱。这与球囊内膜损伤的综合模型相比。这种设置使我们能够在相同环境中进行损伤阶段和支架植入阶段,而具有显著减少的动物利用和痛苦。该模被证明是可靠的、有效的和比传统的模型有竞争力的,且因此是以下动物实验阶段的基础。

[0140] 第2阶段-主要测试阶段

[0141] 主要测试阶段是在小型和大型动物(即,猪)模型中的可行性研究和有效性研究。首先,实施支架植入兔的可行性研究以评估支架候选物的炎症反应和促凝性。用短期和长期的疗效研究在空白的和功能化的材料上进行了该可行性研究,首先在兔模型中进行。从数据上看,来自每种途径的一对支架候选物被选择和进一步优化,并放大到人的血管大小用于在大动物模型中的长期实验。

[0142] 图9示出了递送和在宿主兔主动脉中自我保持的生物可吸收支架(在此情况下,重组弹性样聚合物)的纤维网。在图9A中,应用聚合物网而未施加压力于天然主动脉。在支架的外表面上的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD肽)强烈结合主动脉的内层。在图9B中,聚合物网用低压(2个大气压)充气的球囊部署。结果表明,该生物可吸收的支架完整和全部附着至动脉壁。

[0143] 在外表面上具有RGD肽的弹性蛋白样聚合物的水凝胶在低充气压力下不存在施加在组织上的拉伸力的情况下通过球囊导管被部署在天然的兔主动脉上。所得的水凝胶与主动脉的结合示于图10中。水凝胶薄层完整地适应于并牢固地附着在动脉壁上,作为合成内弹性层发挥作用。在图11中,示出如本申请中所描述地产生的SIL/SIEL被合成、部署并保留在动物正常动脉中并保留自然的(底层的)层的类似面貌、尺寸和弹性。



Atherosclerosis: Supplements 2(2001)9-14

图1

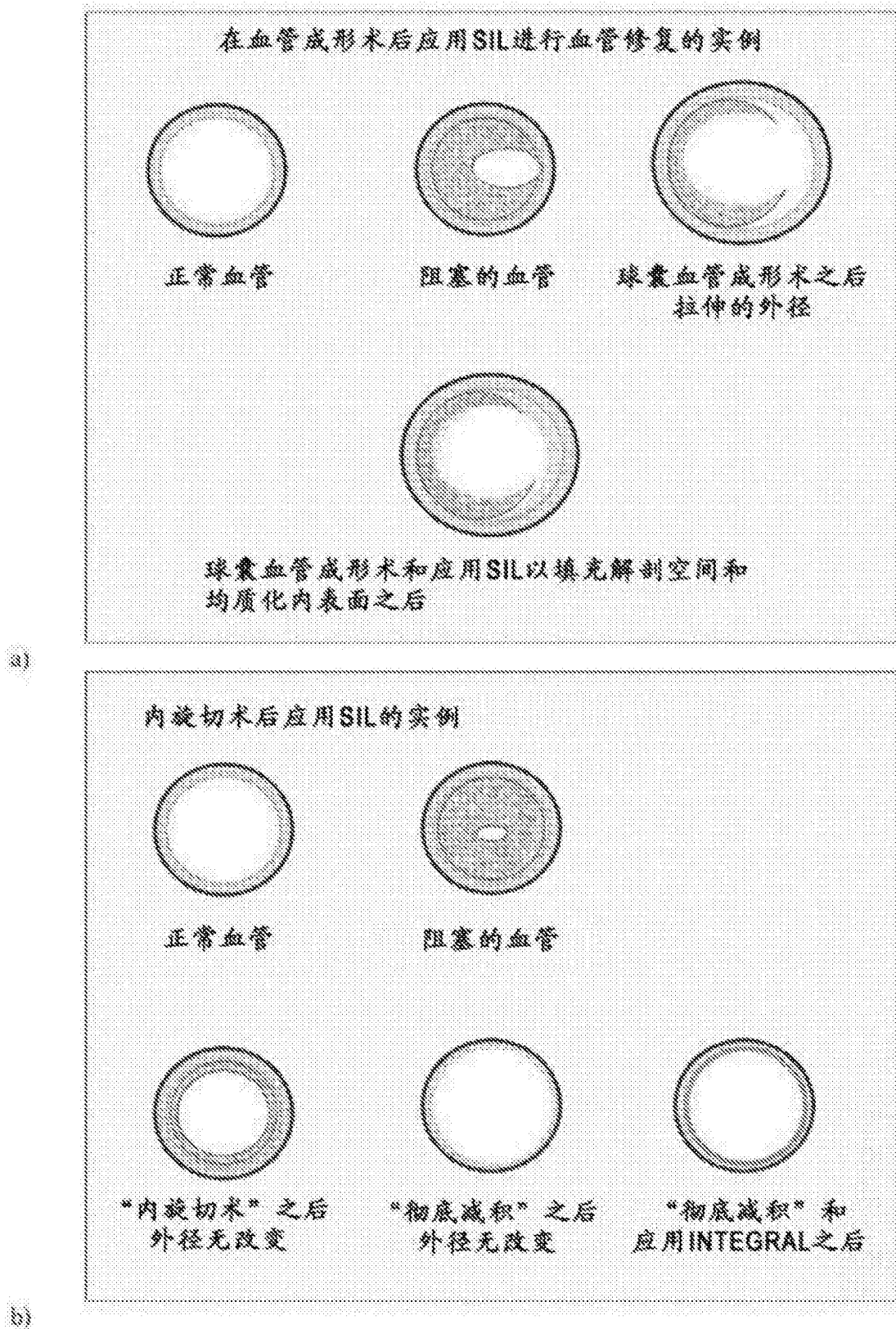


图2

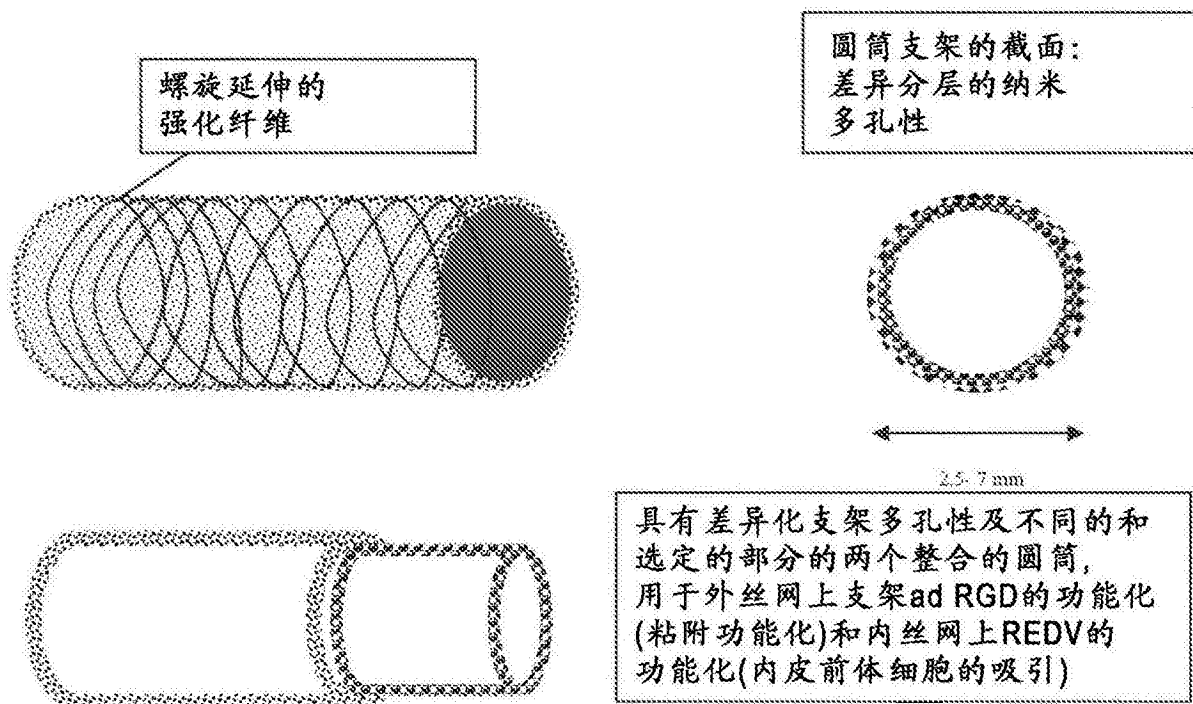


图3

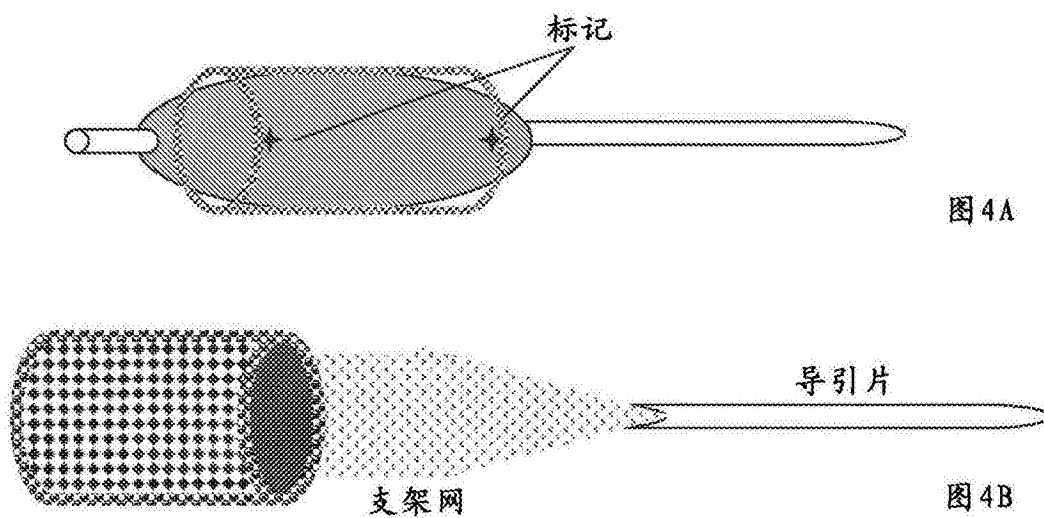


图4

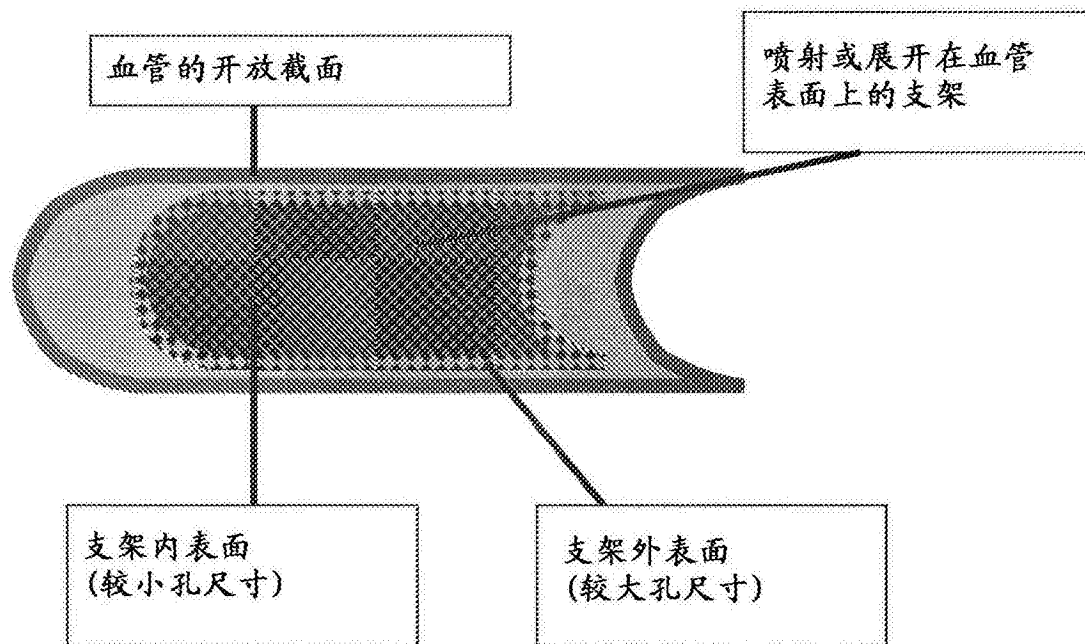


图5

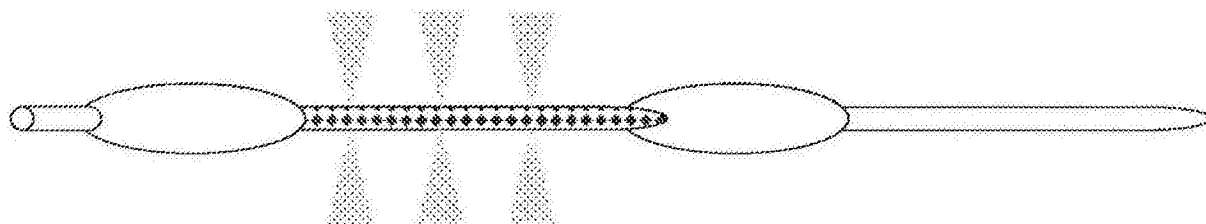


图6



图7

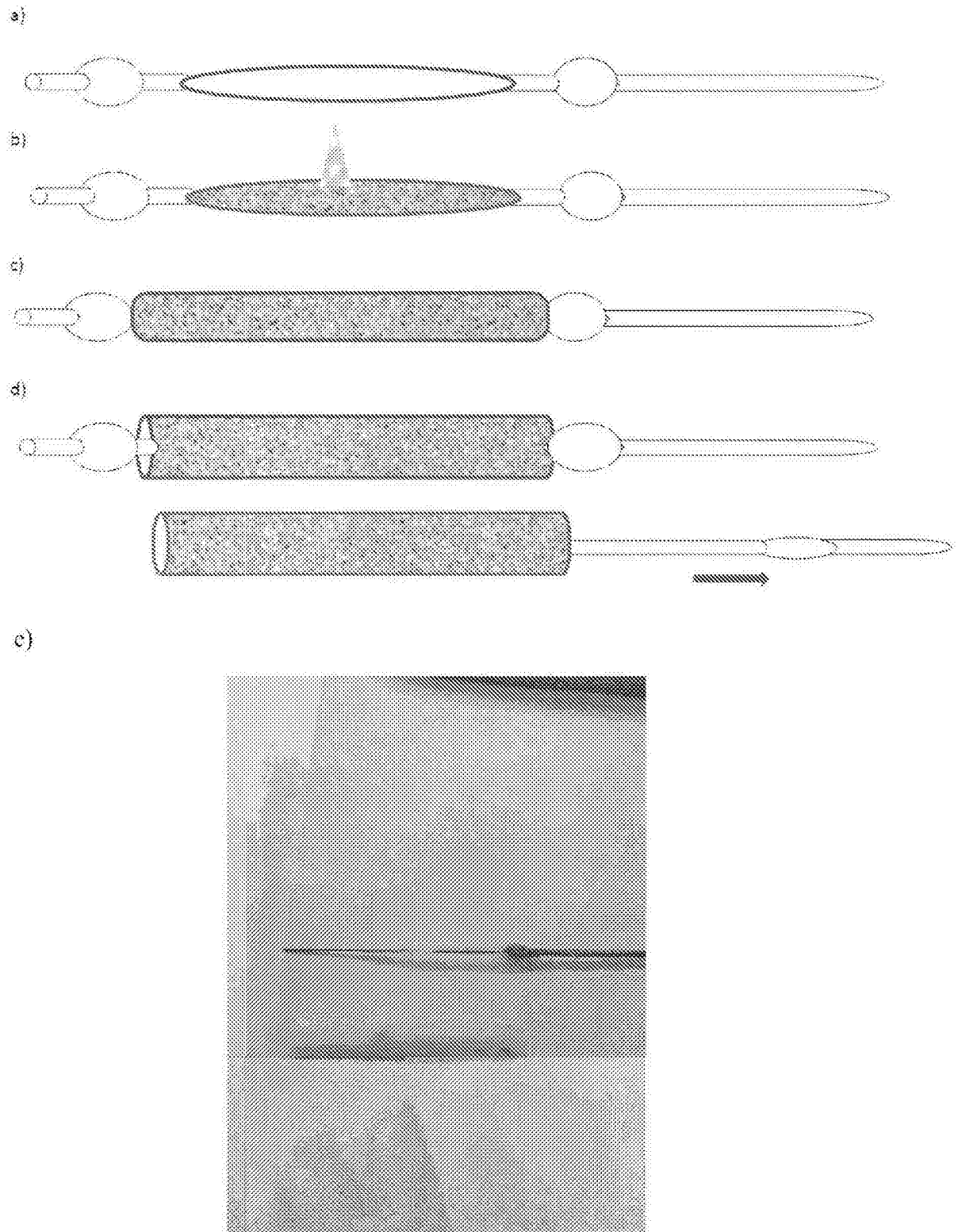


图8

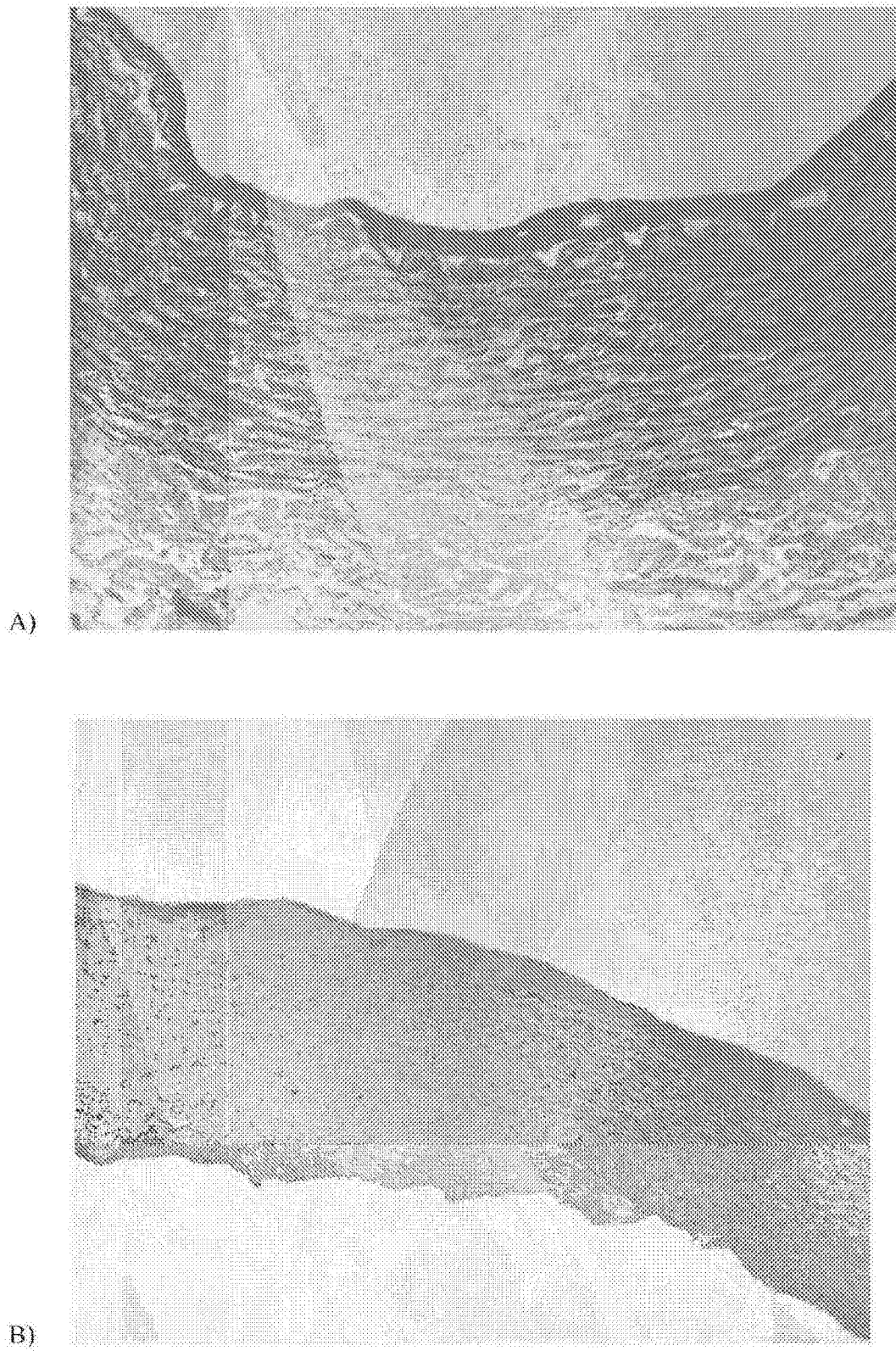


图9

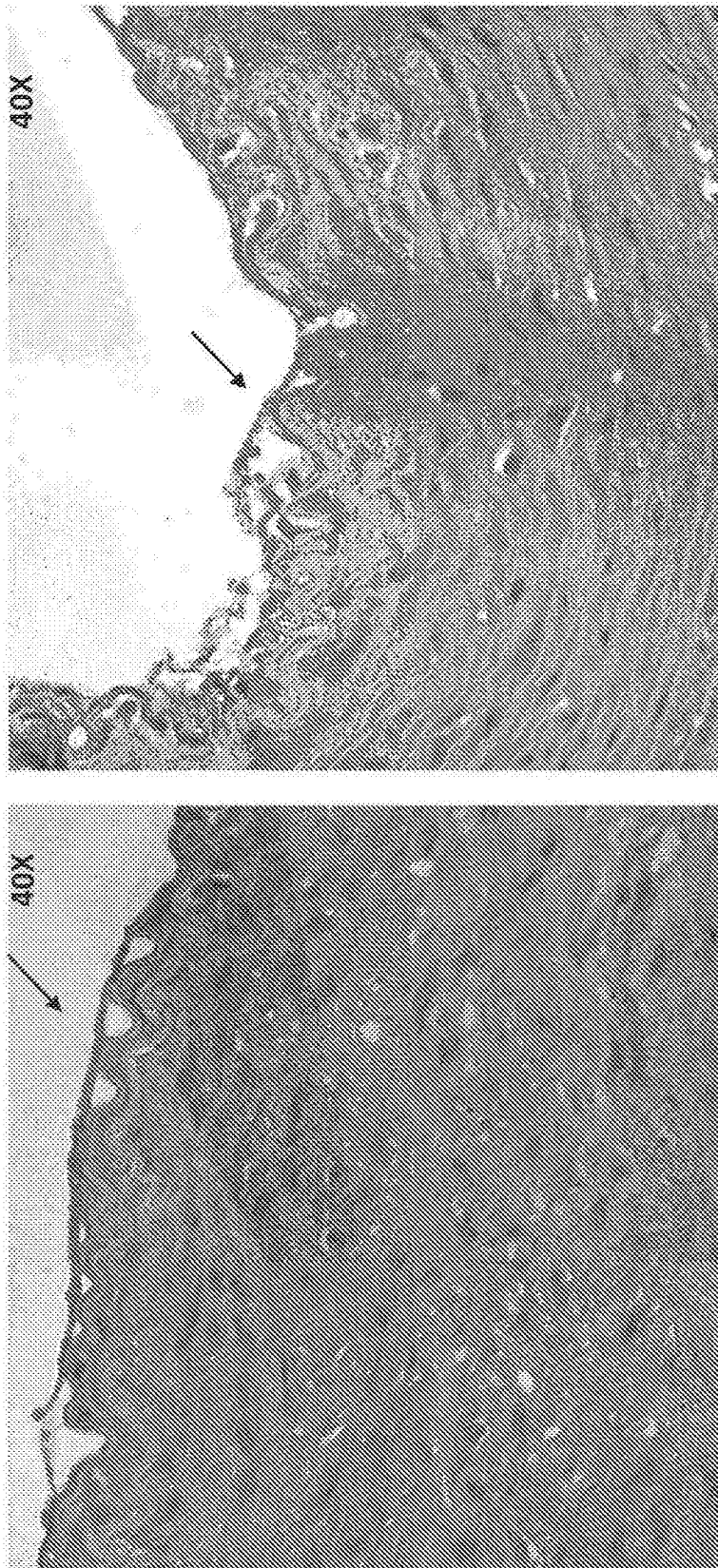
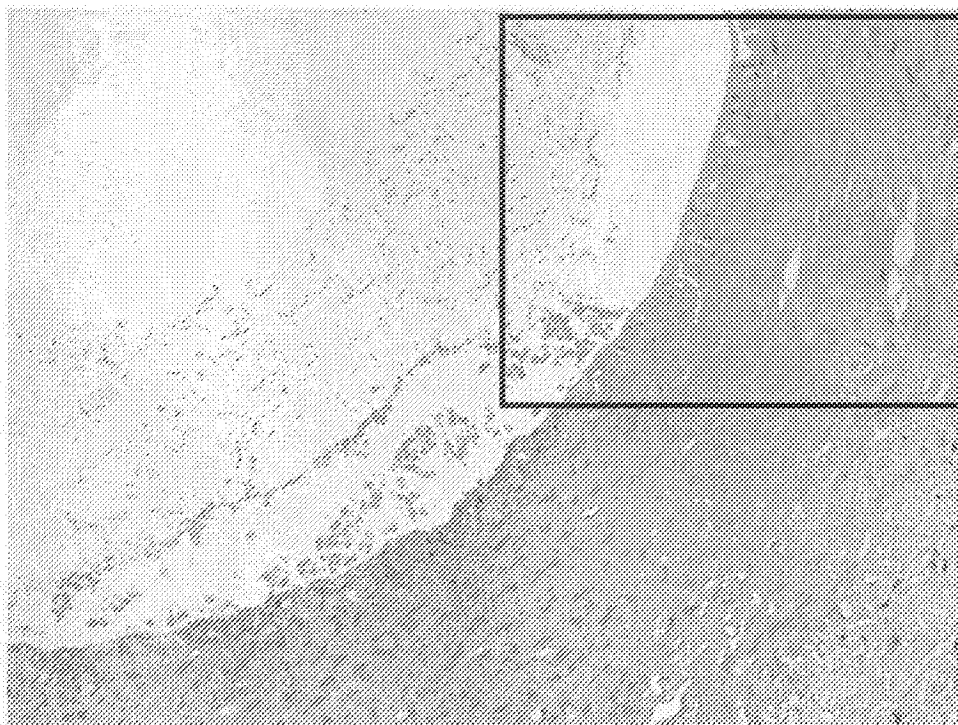
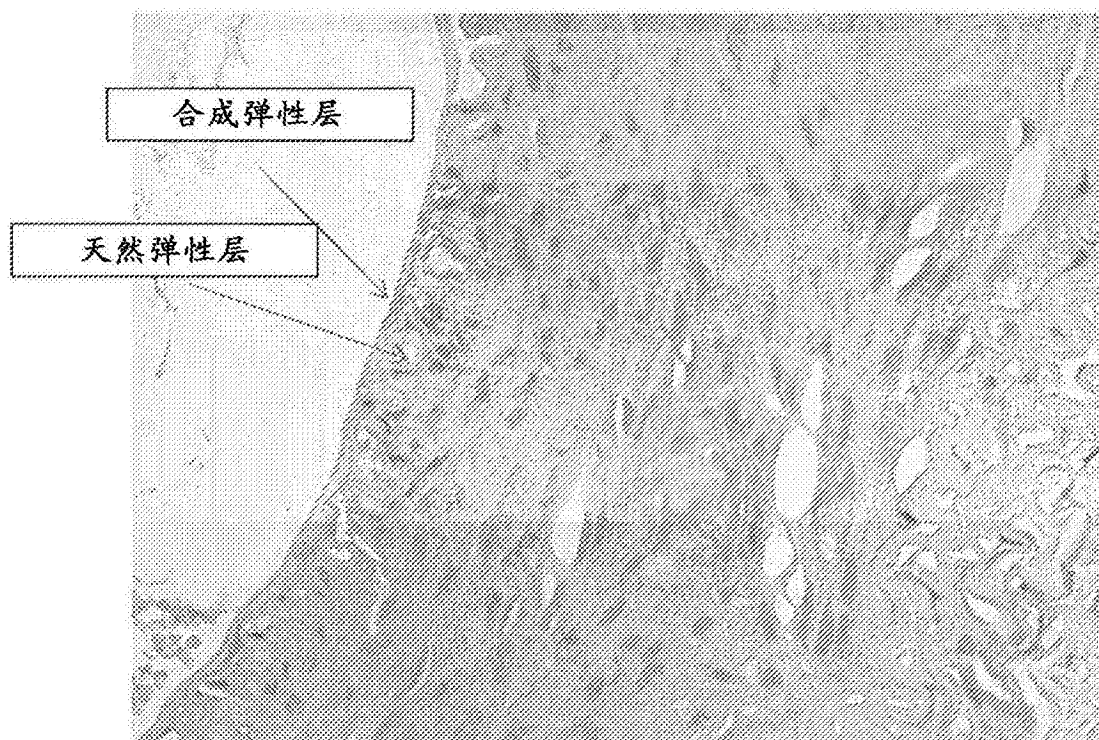


图10



A)组织学样品x20。用所描述的方法在天然动脉内膜上部署的合成弹性层以显示S.I.L与天然弹性层之间的关联



B)以上切片的放大(x40)细节

图11