

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-144158

(P2013-144158A)

(43) 公開日 平成25年7月25日(2013.7.25)

(51) Int. Cl.			F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 L	27/00	(2006.01)	A 6 1 L	27/00	Q	4 C 0 8 1
A 6 1 K	35/12	(2006.01)	A 6 1 K	35/12		4 C 0 8 7
A 6 1 L	29/00	(2006.01)	A 6 1 L	29/00	W	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00		
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 O 7	
審査請求 有 請求項の数 22 O L 外国語出願 (全 12 頁)						
(21) 出願番号 特願2013-83133 (P2013-83133)			(71) 出願人 508011658			
(22) 出願日 平成25年4月11日 (2013. 4. 11)			ティシュー・ジェネシス・インコーポレー			
(62) 分割の表示 特願2009-529200 (P2009-529200)			テッド			
原出願日 平成19年9月13日 (2007. 9. 13)			アメリカ合衆国・ハワイ・96813・ホ			
(31) 優先権主張番号 60/846, 468			ノルル・アラ・モアナ・ブルヴァード・			
(32) 優先日 平成18年9月21日 (2006. 9. 21)			677・スイート・1100			
(33) 優先権主張国 米国 (US)			(74) 代理人 100108453			
			弁理士 村山 靖彦			
			(74) 代理人 100064908			
			弁理士 志賀 正武			
			(74) 代理人 100089037			
			弁理士 渡邊 隆			
			(74) 代理人 100110364			
			弁理士 実広 信哉			
最終頁に続く						

(54) 【発明の名称】細胞送達用マトリックス

(57) 【要約】

【課題】本開示は、脂肪由来の内皮細胞を限局させる細胞送達用マトリックスを対象に移植することを含む、再生治療を提供する。

【解決手段】標的とする組織、体腔、もしくは関節への、脂肪由来内皮細胞の限局的な送達を促進するための細胞送達用マトリックス及び方法が記載される。細胞送達用マトリックスは、患者自身の体由来のフィブリンを含む3次元のマトリックスの足場であってもよい。細胞送達用マトリックスは生体適合性かつ半浸透性であってもよい。本発明の方法において使用される細胞送達用マトリックスは、分解性、生体吸収性もしくは非分解性、生体適合性のポリマーのいずれかを含んでよい。脂肪由来の内皮細胞を限局させる細胞送達用マトリックスを対象中に移植することを含む再生治療が記載される。細胞送達用マトリックスは、治療に有効な期間、標的において脂肪由来の内皮細胞を保持する。脂肪由来の内皮細胞は対象に対して同種もしくは同系であり得る。内皮細胞を単独もしくは他の治療剤と組合せて送達してもよい。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

微小血管内皮細胞を含むペレットを包む 3 次元の半浸透性の生体適合性細胞送達用マトリックスを含む細胞送達用組成物であって、前記マトリックスが内皮細胞を限局させ、治療に有効な期間、対象の標的で内皮細胞を保持させるように構成される組成物。

【請求項 2】

前記マトリックスがフィブリンを含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記マトリックスがコラーゲンを含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記マトリックスがポリマーを含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記ポリマーが発泡ポリテトラフルオロエチレンである、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記ポリマーがポリエチレンテレフタレートである、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記内皮細胞が対象に対して同種である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記内皮細胞が対象に対して同系である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 9】

微小血管内皮細胞の製品を産生するために組織を処理するための収集容器を準備する工程であって、前記容器が分離した廃棄用チャンバーと流体接続しているすすぎ用かつ消化用チャンバーならびに前記すすぎ用かつ消化用チャンバーに接続した単離用チャンバーを有し、ふるいが少なくとも前記すすぎ用かつ消化用チャンバーと前記廃棄用チャンバーを分離する工程、

前記すすぎ用かつ消化用チャンバー中に処理すべき組織を導入する工程、

前記すすぎ用かつ消化用チャンバー中にすすぎ用溶液を導入する工程、

前記すすぎ用溶液の処理すべき組織にふるいをかけることを容器に開始させて、すすぎ溶液を廃棄用チャンバー中に運ばせる工程、

前記すすぎ用かつ消化用チャンバー中に酵素を導入する工程、

前記すすぎ用かつ消化用チャンバーを攪拌して酵素で組織を消化しながら、十分な時間及び温度で、組織及び酵素を加熱する工程、

前記すすぎ用かつ消化用チャンバーからの消化した組織由来の細胞を単離用チャンバー中に移動するために、容器を遠心分離機にかける工程、

微小血管内皮細胞のペレットとして細胞を単離する工程、並びに

微小血管内皮細胞の前記ペレットを前記マトリックスで包む工程

を含む、請求項 1 に記載の細胞送達用組成物の調製方法。

【請求項 10】

前記細胞送達用マトリックスがフィブリンを含む請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記細胞送達用マトリックスがコラーゲンを含む請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞送達用マトリックスがポリマーを含む請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

前記ポリマーが発泡ポリテトラフルオロエチレンである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記ポリマーがポリエチレンテレフタレートである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記内皮細胞が対象に対して同種である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

前記内皮細胞が対象に対して同系である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 17】

限局的に前記細胞送達用組成物をヒトを除く対象内の標的に送達する工程をさらに含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 18】

バルーン血管形成を用いて前記標的に細胞送達用マトリックスを送達する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

持続性低圧ソディング技法を用いて前記標的に細胞送達用マトリックスを送達する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

近位端及び遠位端を有するカテーテルを準備し、液体リザーバーを含む前記カテーテルの近位端、複数のすき間を有する膨張可能なバルーンを含む前記カテーテルの遠位端の間の内腔を既定する工程、

細胞送達用組成物及び液体で前記液体リザーバーを満たす工程、

前記カテーテルの近位端に圧力をかける工程、

前記液体リザーバーから前記カテーテルの内腔まで前記細胞送達用組成物および前記液体を前進させる工程、

前記管状組織の内腔表面に隣接した前記バルーンを膨張させる工程、

前記バルーンのすき間を介して、前記細胞送達用組成物及び液体を前記管状組織の内腔表面に送達する工程、

前記バルーンへの前記圧力を持続させることにより、前記カテーテルの内腔及び前記管状組織の内腔表面の間の圧力勾配を維持し、ならびに前記管状組織の内腔表面上に前記カテーテルの内腔からの前記細胞送達用組成物を前進させる工程、

前記カテーテルの内腔への前記圧力を解除する工程、並びに

前記バルーンをしぼませる工程

を含む、ヒトを除く対象の管状組織の前記内腔表面に請求項 1 に記載の細胞送達用組成物を送達する方法。

【請求項 21】

前記細胞送達用組成物がフィブリンを含む請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記細胞送達用組成物を内皮細胞とつなぐ、請求項 20 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連特許出願書類との相互参照及び優先権の主張

本出願は、2006年9月21日に提出された米国特許仮出願第60/846,468号の優先権を主張しており、その内容が参照によって本明細書に取り入れられる。

【0002】

本開示は、概して、送達部位からの細胞の移動を著しく緩和する組成物の使用を介した細胞ベースの治療の有効性を改善するための組成物及び方法に関する。より具体的には、本開示は、脂肪由来の内皮細胞を限局させる細胞送達用マトリックスに関し、内皮細胞の、標的とする組織、体腔、もしくは関節への接着性を改善させる。

【背景技術】

【0003】

近年、多様な幹細胞を利用し、遺伝性、悪性、及び変性状態のための代替細胞療法を提供するための、胚及び体細胞起源由来の幹細胞を利用することを約束する、再生医療と呼ばれる新型の専門技術の出現を予感させる、たくさんの治療法が開発されている。脂肪由来の内皮細胞は、非特許文献1に記載されたように、平滑筋または他のタイプの細胞へと分化する能力を有する、多能性幹細胞であり、非特許文献1は、参照により、その全てが

10

20

30

40

50

本明細書に取り込まれる。そのようなものとして、これらの細胞は、急性及び慢性の虚血における心機能の保持または回復に有用である。脂肪組織内の細胞は、心筋または内皮の表現型や血管新生及び抗アポトーシス性の成長因子を発現する細胞へと分化することが可能である。

【 0 0 0 4 】

細胞の直接注射または移植により、損傷の小領域を効率的に回復させることが可能であるが、例えば、冠状大動脈の閉塞から生じる、損傷組織に対する深刻な損傷を再建するためには、莫大な分化した細胞を伴う大規模な治療を必要とする。このような治療は、治療に有効な期間、標的部位に内皮細胞を保持させることによって促進され、その期間は数時間から数日間であってもよい。複数の実施態様において、治療に有効な期間は、数週間から数ヶ月である。

10

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 5 】

【 特許文献 1 】 米国特許第 5 , 3 7 2 , 9 4 5 号

【 特許文献 2 】 米国特許第 3 , 9 4 9 , 0 7 3 号

【 特許文献 3 】 米国特許第 5 , 7 0 9 , 8 5 4 号

【 特許文献 4 】 米国特許第 5 , 7 4 4 , 5 1 5 号

【 特許文献 5 】 米国特許第 5 , 5 5 9 , 0 2 2 号

【 特許文献 6 】 米国特許第 5 , 6 7 2 , 3 4 6 号

20

【 特許文献 7 】 米国特許第 5 , 8 2 7 , 7 3 5 号

【 特許文献 8 】 米国特許第 4 , 9 6 3 , 4 8 9 号

【 特許文献 9 】 米国仮特許出願第 6 0 / 8 4 1 , 0 0 9 号

【 特許文献 1 0 】 米国特許仮出願第 6 0 / 8 4 6 , 4 6 8 号

【 非特許文献 】

【 0 0 0 6 】

【 非特許文献 1 】 Oliver Kocher and Joseph A. Madri, Modulation of Actin mRNAs in Cultured Vascular Cells By Matrix Compounds and TGF- β , In Vitro Cellular & Development Biology, Vol. 25, No. 5. May 1989

【 非特許文献 2 】 Knapp et al., Plastic and Reconstr. Surg. 60:389 405, 1977

30

【 非特許文献 3 】 Fagien, Plastic and Reconstr. Surg. 105:362 73 and 2526 28, 2000

【 非特許文献 4 】 Klein et al., J. Dermatol. Surg. Oncol. 10:519 22, 1984

【 非特許文献 5 】 Klein, J. Amer. Acad. Dermatol. 9:224 28, 1983

【 非特許文献 6 】 Watson et al., Cutis 31:543 46, 1983

【 非特許文献 7 】 Klein, Dermatol. Clin. 19:491 508, 2001

【 非特許文献 8 】 Klein, Pediatr. Dent. 21:449 50, 1999

【 非特許文献 9 】 Skorman, J. Foot Surg. 26:511 5, 1987

【 非特許文献 1 0 】 Burgess, Facial Plast. Surg. 8:176 82, 1992

【 非特許文献 1 1 】 Laude et al., J. Biomech. Eng. 122:231 35, 2000

【 非特許文献 1 2 】 Frey et al., J. Urol. 154:812 15, 1995

40

【 非特許文献 1 3 】 Rosenblatt et al., Biomaterials 15:985 95, 1994

【 非特許文献 1 4 】 Griffey et al., J. Biomed. Mater. Res. 58:10 15, 2001

【 非特許文献 1 5 】 Stenborg et al., Scand. J. Urol. Nephrol. 33:355 61, 1999

【 非特許文献 1 6 】 Sclafani et al., Facial Plast. Surg. 16:29 34, 2000

【 非特許文献 1 7 】 Spira et al., Clin. Plast. Surg. 20:181 88, 1993

【 非特許文献 1 8 】 Ellis et al., Facila Plast. Surg. Clin. North Amer. 9:405 11, 201

【 非特許文献 1 9 】 Alster et al., Plastic Reconstr. Surg. 105:2515 28, 2000

【 非特許文献 2 0 】 Middleton et al., Biomaterials 21:2335 2346, 2000

【 非特許文献 2 1 】 Middleton et al., Medical Plastics and Biomaterials, March/Apr

50

il 1998, 30から37ページ

- 【非特許文献22】Handbook of Biodegradable Polymers, Domb, Kost, and Domb, eds., 1997, Harwood Academic Publishers, Australia
- 【非特許文献23】Rogalla, Minim. Invasive Surg. Nurs. 11:67 to 69, 1997
- 【非特許文献24】Klein, Facial Plast. Surg. Clin. North Amer. 9:205 18, 2001
- 【非特許文献25】Klein et al., J. Dermatol. Surg. Oncol. 11:337 39, 1985
- 【非特許文献26】Frey et al., J. Urol. 154:812 15, 1995
- 【非特許文献27】Peters et al., J. Biomed. Mater. Res. 43:422 27, 1998
- 【非特許文献28】Kujipers et al., J. Biomed. Mater. Res. 51:136 45, 2000
- 【非特許文献29】Richardson et al., Nat. Biotechnol. 19:1029-1034, 2001 10
- 【非特許文献30】Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (2002年3月からの付録を含む)、John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1989
- 【非特許文献31】Sambrook et al., Molecular Cloning
- 【非特許文献32】A Laboratory Manual, 2.sup.nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989
- 【非特許文献33】Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3.sup.rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001
- 【非特許文献34】Beaucage et al., Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, John Wiley & Sons, New York, N.Y., 2000(2000年3月からの付録を含む) 20
- 【非特許文献35】Short Protocols in Molecular Biology, 4. sup. th Ed., Ausbel, Brent, and Moore, eds., John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1999
- 【非特許文献36】Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology, McGraw Hill Professional Publishing, 1995
- 【非特許文献37】Molecular Biology Protocols (highveld.comウェブサイトを参照)
- 【非特許文献38】Protocol Online (protocol_online.net)
- 【非特許文献39】Embryonic Stem Cells, Method and Protocols, Turksen, ed., Humana Press, 2002
- 【非特許文献40】Weisman et al., Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 17:387 403
- 【非特許文献41】Pittinger et al., Science, 284:143 47, 1999 30
- 【非特許文献42】Animal Cell Culture, Masters, ed., Oxford University Press, 2000
- 【非特許文献43】Jackson et al., PNAS 96(25): 14482 86, 1999
- 【非特許文献44】Zuk et al., Tissue Engineering, 7:211 228, 2001 (“Zuk et al.”)
- 【非特許文献45】Atala et al., 特に33章から41章
- 【非特許文献46】Prockop, Science, 276:71 74, 1997
- 【非特許文献47】Theise et al., Hepatology, 31:235 40, 2000
- 【非特許文献48】Current Protocols in Cell Biology, Bonifacino et al., eds., John Wiley & Sons, 2000(2002年3月よりの付録を含む) 40
- 【発明の概要】
- 【発明が解決しようとする課題】
- 【0007】

細胞送達用マトリックスは、脂肪由来の内皮細胞及びその他の治療剤の、標的とする組織、体腔、もしくは関節への限局的な送達を維持させるものとして記載される。細胞送達用マトリックスは、患者自身の体由来のフィブリンを含む3次元のマトリックスの足場であってもよい。本発明の方法において使用される細胞送達用マトリックスは、分解性、生体吸収性もしくは非分解性であってもよい。一実施態様において、細胞送達用マトリックスは、人工的な、FDAによって承認された合成ポリマーである。一実施態様において、細胞送達用マトリックスは、発泡ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)を含む。別の実

施態様において、細胞送達用マトリックスはポリエチレンテレフタレート（PET）を含む。細胞送達用マトリックスは、生体適合性かつ半浸透性であってよい。細胞送達用マトリックスの表面は、固定化した接着分子を含んでもよい。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本開示は、脂肪由来の内皮細胞を限局させる細胞送達用マトリックスを対象に移植することを含む、再生治療を提供する。細胞送達用マトリックスは、治療に有効な時間量、標的での脂肪由来の内皮細胞を保持させる。脂肪由来の内皮細胞は対象と同種もしくは同系であり得る。内皮細胞を単独でもしくは他の治療剤と組合せて送達してもよい。

【0009】

当業者であれば、本発明の対象が、両生類、鳥類、魚類、哺乳類及び有袋類を含む任意の動物であってよいが、好ましくは哺乳類（例えば、ヒト、家畜であって猫、犬、猿、マウス及びラットなど、または商業用動物であって牛、馬もしくは豚など）であることを理解するであろう。さらに、本発明の対象は、胎児、胚、幼児、及び成人を含む、任意の年齢であってよい。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】細胞送達用マトリックスを描写する図である。矢印は、限局した内皮細胞及び多孔質の生体材料を示す。

【発明を実施するための形態】

【0011】

当業者であれば、以下の詳細な説明が単なる例示であって、いかなる制限をも意図するものではないことを理解するであろう。他の実施態様において、当業者であれば、それ自身が本開示の利点を有するものであることが容易に示唆されるであろう。

【0012】

本明細書及び付属の特許請求の範囲において使用されるように、単数形である「a」、「an」及び「the」は、その内容が明らかに明示しない限り、複数形を含有する。本明細書で言及される全ての出版物、特許出願書類、特許、及びその他の参考文献は、参照によってその全体が取り込まれる。さらに、本明細書で使用される区分の見出しは、構成上の目的のためのみであって、記載される主題を制限するものとして解釈してはならない。本出願書類において引用される全ての参考文献は、任意の目的のために、参照によって特に取り込まれる。

【0013】

本明細書において、その全体が参照によって取り込まれる特許文献1は、平滑筋へと分化する能力を有する大量の内皮細胞の容易な単離において使用してもよい方法及び装置を開示する。一実施態様において、皮下脂肪を、改良された脂肪吸引術を用いて患者から取り除き、必要となるまで無菌条件下において脂肪が貯蔵可能な、内蔵型の密封装置に移動させる。脂肪を消化装置に無菌的に移動し、初めに赤血球およびその他の残屑を洗って除き、次いで、約37℃で約20分間、制御されたコラゲナーゼ消化を行う。次いで、再び無菌条件下において、脂肪のスラリーを内皮細胞の単離装置に移動させ、単離された内皮細胞の自動的な回収を可能とさせる単離装置中に、内皮細胞を沈殿させる。次いで、細胞懸濁液を無菌的に処理ユニットへ移動させ、そこで細胞を、無菌条件下で移植片（graft）の表面上に素早く過する。内皮細胞の単離及び沈殿物の処理には、完了のためには約40分のみを必要とする。培養期に続いて、移植片を患者内に移植する準備が整う。この系により、例えば、50ccの脂肪からは約 $5.14 \times 10^6 \sim 4.24 \times 10^7$ 細胞数の範囲にある、連続した高密度の播種を可能にし、移植片の表面に接着することが可能な数の内皮細胞の製品が産生される。この装置により、分散解析によって比較されるように、細胞濃度における重大な相違のない、一貫した全長及び直径を有する移植片に従って細胞が沈殿される。

【0014】

図 1 に描写されるように、これらの細胞は、単離後、細胞マトリックスによって限局させてもよい。内皮細胞を限局させる細胞送達用マトリックスは、25 で、液体、ゲル、半固体、または固体である、3次元の培養物であってよい。3次元の培養物は、生分解性または非生分解性であってよい。

【0015】

本発明の方法において使用される細胞送達用マトリックスは、任意の分解性、生体吸収性または非分解性、生体適合性のポリマーを含んでもよい。例示的な3次元の培養物の材料には、コラーゲン、フィブリン、キトサン、マトリゲル、ポリエチレングリコール、化学的に架橋可能である、もしくは光学的に架橋可能であるデキストランを含むデキストランなどを含むポリマー及びヒドロゲルが含まれる。一実施態様において、3次元の培養物は、同種の成分、自己の成分または、同種の成分及び自己の成分の両方を含む。一実施態様において、3次元培養物は、合成もしくは半合成の材料を含む。一実施態様において、3次元の培養物は、フィブリン由来の足場などの、フレームワークまたは支持体を含む。本明細書において使用される足場という用語は、多様な種類の3次元のフレームワークを含み、それだけには限られないが、例えば、メッシュ、グリッド、スポンジ、泡などが含まれる。

10

【0016】

本明細書において広い意味で使用される用語「ポリマー」もまた、広範囲の生体適合性ポリマー、例えば、それだけには限られないが、ホモポリマー、コポリマー、ブロックポリマー、架橋が可能であるポリマー、もしくは架橋したポリマー、光開始ポリマー、化学的に開始されるポリマー、生分解性ポリマー、非生分解性ポリマーなどを含むことを意図している。他の実施態様において、血管新生前の構築物は、重合されていないポリマーマトリックスを含み、それにより、導入によって、例えば、液体もしくは半液体状態での組織、器官、もしくは工学的組織を組み合わせることが可能になる。特定の実施態様において、液体マトリックスを含む血管新生前の構築物は、「*in situ*」で重合し、または実質的に重合してもよい。特定の実施態様において、血管新生前の構築物を、導入に先立ち、重合させ、または実質的に重合させる。このような導入可能な組成物を、当該技術分野において既知の従来の材料及び方法を利用して調製し、限定はされないが、それには非特許文献2～19及び特許文献1及び2が含まれる。

20

【0017】

細胞送達用マトリックスは、接触性及び非接触性のコラーゲンゲルを含むコラーゲン、制限はされないが、例えば、フィブリン、アルギン酸塩、アガロース、ゼラチン、ヒアルロン酸塩、ポリエチレングリコール(PEG)、化学的な架橋、光学架橋、もしくはそれらの両方に好適であるデキストランを含むデキストランを含むヒドロゲル、アルブミン、ポリアクリルアミド、ポリグリコール酸、塩化ポリビニル、ポリビニルアルコール、ポリ(n-ビニル-2-ピロリドン)、ポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリル酸)、親水性ポリウレタン、アクリル誘導体、ポリプロピレン酸化物やポリエチレン酸化物のコポリマーなどのブルニックなどを含んでもよい。フィブリンまたはコラーゲンは、患者に関して自己の、または同系のものであってよい。マトリックスは非分解性の材料を含んでもよく、制限はされないが、例えば、発泡ポリテトラフルオロエチレン(ePTFE)、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)、ポリエチレンテレフタレート(PET)、ポリ(ブチレンテレフタレート)(PBT)、ポリウレタン、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリスチレン、シリコンなど、あるいは選択的に分解性の材料、例えばポリ(乳酸-co-グリコール酸; PLGA)、PLA、またはPGAなどが含まれる(非特許文献20～28)。

30

40

【0018】

細胞送達用マトリックスの表面は、参照によってその全体が本明細書に取り込まれる特許文献4に記載されるように、固定化した接着分子を含んでもよい。特定の実施態様において、固定化した接着分子を、フィブロンectin、ラミニン及びコラーゲンからなる群から選択する。接着分子を、光化学の手段を用いて、マトリックスの表面の微細孔を含む表

50

面に固定化させてもよい。

【0019】

細胞送達用マトリックスは、内皮細胞を限局させるのに加えて、少なくとも1つのサイトカイン、少なくとも1つのケモカイン、抗菌剤などの少なくとも1つの抗生物質、少なくとも1つの薬剤、少なくとも1つの鎮痛剤、少なくとも1つの抗炎症剤、少なくとも1つの免疫抑制剤、またはこれらの様々な組合せ物を限局させてもよい。少なくとも1つのサイトカイン、少なくとも1つの抗生物質、少なくとも1つの薬剤、少なくとも1つの鎮痛剤、少なくとも1つの抗炎症剤、少なくとも1つの免疫抑制剤、またはこれらの様々な組合せ物は、当該技術分野において通常知られているような、制御放出フォーマット、例えば、制限はされないが、非特許文献29において知られるものを含んでよい。

10

【0020】

例示的なサイトカインには、アンジオジェニン、血管内皮成長因子(VEGF、制限はされないがVEGF-165を含む)、インターロイキン、繊維芽細胞成長因子、制限はされないが、例えばFGF-1及びFGF-2、肝細胞成長因子(HGF)、軽質転換成長因子β(TGF-β)、エンドセリン(例えばET-1、ET-2、及びET-3)、インスリン様成長因子(IGF-1)、アンジオポエチン(例えばAng-1、Ang-2及びAng-3/4)、アンジオポエチン様タンパク質(例えばANGPTL-1、ANGPTL-2、ANGPTL-3、及びANGPTL-4)、制限はされないが、PDGF-AA、PDGF-BB及びPDGF-ABを含む血小板由来成長因子(PDGF)、表皮成長因子(EGF)、ECGSを含む内皮細胞成長因子(ECGF)、血小板由来内皮細胞成長因子(PD-ECGF)、胎盤成長因子(PLGF)などが含まれる。組換えサイトカインを含むサイトカイン、及びケモカインは、通常多くの供給元より商業的に入手可能であり、例えば、R&Dシステムズ社(Minneapolis, Minn.); Endogen(Woburn, Wash.); 及びシグマ社(セントルイス, Mo.)がある。当業者は、特定の血管新生前の構築物中への取り込み用ケモカイン及びサイトカインの選択が、部分的に、血管新生され、または血管再新生されるべき標的の組織または器官に依存することを理解するであろう。

20

【0021】

特定の実施態様において、細胞送達用マトリックスは、少なくとも1つの遺伝子工学によって作られた細胞をさらに限局させる。例示的な遺伝子工学技術の記述は、他の文献における、非特許文献30~38中に発見することが可能である。本発明の遺伝子工学によって作られた細胞を遺伝的に改変させるための例示的な遺伝子産物には、プラスミノーゲンアクチベーター、可溶性CD4、ファクターVIIII、ファクターIX、フォン・ウィレブランド因子、ウロキナーゼ、ヒルジン、α-、β-及びγ-インターフェロンを含むインターフェロン、腫瘍壊死因子、インターロイキン、造血成長因子、抗体、グルコセレブロシダーゼ、アデノシンデアミナーゼ、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、ヒト成長ホルモン、インスリン、エリスロポエチン、VFGF、アンジオポエチン、肝細胞成長因子、PLGFなどが含まれる。

30

【0022】

特定の実施態様において、細胞送達用マトリックスはさらに、適切な間質細胞、幹細胞、またはこれらの組合せを含む。本明細書で使用されるように、用語「幹細胞」には、従来の幹細胞、前駆細胞、前駆細胞の前段階の細胞、補充細胞などが含まれる。例示的な幹細胞には、胚幹細胞、成人幹細胞、多能性幹細胞、神経幹細胞、肝幹細胞、筋幹細胞、筋前駆体幹細胞、内皮前駆細胞、骨髓幹細胞、軟骨幹細胞、リンパ幹細胞、間葉幹細胞、造血幹細胞、中枢神経系幹細胞、末梢神経系幹細胞などが含まれる。それらを単離し培養するための方法を含む、幹細胞の記述は、他の文献においては、非特許文献39~45及び特許文献5~7に見出してもよい。それらを単離するための方法を含む間質細胞の記述は、他の文献において、非特許文献46~48及び特許文献8に見出してもよい。

40

【0023】

細胞送達用マトリックスによって限局され得る治療剤には、幹細胞の再生及び分化を調

50

節するための、軽質転換成長因子 β (TGF β) 及びTGF - β 関連タンパク質を含んでもよい。

【0024】

使用してもよいさらなる治療剤には、抗血栓形成剤または、狭窄もしくは晩発性再狭窄を抑制するための他の薬剤を含んでもよく、例えばそれは、ヘパリン、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、組織プラスミノゲンアクチベーター、抗トロンボキサン B^2 剤、抗トロンボグロブリン、プロスタグランジンE、アスピリン、ジピリジモール (dipyridimol)、抗トロンボキサン A_2 剤、マウスモノクローナル抗体7E3、トリアゾロピリミジン、シプロステン、ヒルジン、チクロピジン、ニコランジルなどを含む。抗血小板由来成長因子を治療剤として使用して、内膜下線維筋過形成を、動脈の狭窄部位で抑制させてもよく、狭窄部位での細胞成長の任意の他の阻害剤を使用してもよい。

10

【0025】

内皮細胞とともに使用してもよい他の治療剤は、血管けいれんを是正するための血管拡張剤を含んでもよく、例えば、パバペリンなどの抗けいれん薬などである。治療剤は、通常、カルシウムアンタゴニスト、または α および β アドレナリン作用性のアゴニストもしくはアンタゴニストなどの、血管作用剤であってよい。さらに、治療剤は、5 - フルオロウラシルなどの抗腫瘍剤または、任意の既知の抗腫瘍剤であってよく、腫瘍部位に対して持続性の制御放出性抗腫瘍剤の適用のために、薬剤に対して制御放出性担体を混合させるのが好ましい。

20

【0026】

治療剤は抗生物質であってもよく、抗生物質は、体内の、感染したステントまたは任意の限局した感染源に適用してもよい。同様に、炎症を抑制する目的または限局した組織部位におけるその他の理由のために、治療剤はステロイドを含んでもよい。

【0027】

さらに、グルココルチコステロイドまたはオメガ - 3 脂肪酸を、特に狭窄の用途のために、細胞送達様マトリックスによって限局させてもよい。任意の治療剤は、持続性を延長させるために、制御放出剤を含んでもよい。

【0028】

治療剤は、活性剤を組合せて適用するために、個々の薬剤などの、任意の所望の混合物を構成要素としてもよい。薬剤によって細胞の生存を支持してもよい (例えば、炭水化物、サイトカイン、ビタミンなど)。細胞送達用マトリックスを、標的の組織、体腔もしくは関節に、当該技術分野において周知の任意の限局送達手段を用いて送達することが可能である。本明細書に参照によってその全体が取り込まれる、「細胞送達用カテーテル」と題名を付けられた、出願人の米国仮特許出願第60/841,009号は、本開示の細胞送達用マトリックスの限局送達に適切な方法及び装置を開示する。一実施態様において、細胞を局所的に送達するために使用される細胞送達用システムはカテーテルを含む。カテーテルは、幹細胞の限局送達を可能にする空気袋 (bladder) の内側及び空気袋の多孔性の外側を含んでもよい。空気袋の内側は、ステントを配置するために、圧力を伝える管の使用を介して膨張させてもよい。内皮細胞を含む細胞マトリックスを、空気袋の内側と空気袋の外側の間に導入してもよい。空気袋の内側をさらに膨張させて、空気袋の多孔性の外側に圧力をかけ、空気袋の外側の隙間を介して細胞を前進させてもよい。空気袋の内側に圧力をかけ続けて血管壁に対して空気袋の外側を保持することにより、細胞を特定の標的部位に向けてもよい。一実施態様において、特許文献9に開示される方法に従って、フィブリンを含む3次元のマトリックスの足場を細胞なしで限局的に送達する。

30

40

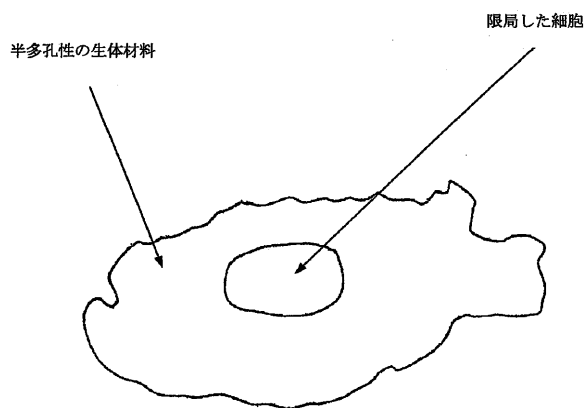
【0029】

本発明の様々な態様のさらなる改変及び代替的な実施態様は、本記載の観点から、当業者であれば明確であろう。従って、本記載は例示としてのみ解釈され、本発明を実施する一般的な態様を当業者に教示する目的のためにある。本明細書で示されかつ記載される本発明の形態は、本発明の好ましい実施態様として受け取られるべきであるものと理解される。要素及び材料を、本明細書で例示され記載されるものと交換してもよく、部分及びブ

50

プロセスを逆転させてもよく、本発明の特定の特徴を独立に利用してもよく、それらの全てが、本発明の本開示の利点を有するものとして当業者に明らかになるであろう。本明細書に記載される要素に変更をしてもよく、その変更は、以下の特許請求の範囲に記載される発明の趣旨及び範囲から逸脱するものではない。

【 図 1 】



フロントページの続き

(72)発明者 ユージーン・ディー・ボランド

アメリカ合衆国・ハワイ・ 9 6 8 2 5 ・ホノルル・アフキニ・ストリート・ 8 5 8

(72)発明者 ステュアート・ケー・ウィリアムズ

アメリカ合衆国・アリゾナ・ 8 5 7 1 8 ・トゥーソン・ノース・サーキュロ・ソブリオ・ 5 1 8 1

(72)発明者 ポール・イー・コスニック

アメリカ合衆国・ハワイ・ 9 6 8 1 3 ・ホノルル・アイルナ・ストリート・ 9 4 5

F ターム(参考) 4C081 AB13 AC10 BA12 BA13 CA021 CA161 CD112 CD121 CD18 CD34

EA02

4C087 AA01 AA02 BB63 BB64 CA04 MA05 NA05 NA13 ZA36 ZB22

【外国語明細書】

2013144158000001.pdf