

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02828237. X

A61K 38/00

A61K 38/17

C12P 21/00

C07K 1/00

C07K 1/00

C07K 14/00

A61M 1/00

[43] 公开日 2005 年 5 月 25 日

[11] 公开号 CN 1620306A

[22] 申请日 2002. 12. 20 [21] 申请号 02828237. X

[30] 优先权

[32] 2001. 12. 20 [33] US [31] 60/342,910

[86] 国际申请 PCT/US2002/040921 2002. 12. 20

[87] 国际公布 WO2003/053362 英 2003. 7. 3

[85] 进入国家阶段日期 2004. 8. 19

[71] 申请人 马克罗珀尔公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 J·K·弗拉赛尔

M·H·赫德里克 R·卢尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 李连涛 刘冬

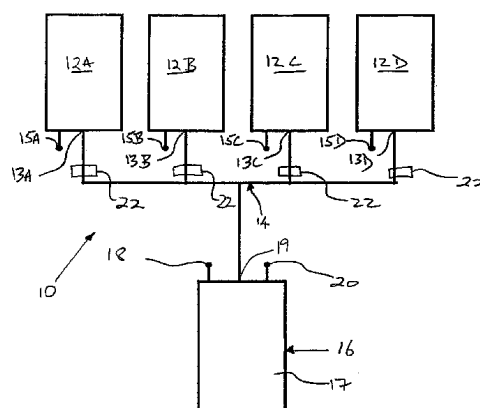
A61B 17/32

权利要求书 5 页 说明书 23 页 附图 2 页

[54] 发明名称 采用从脂肪组织中提取的富含胶原的物质治疗病人的系统和方法

[57] 摘要

本发明公开了使用来源于脂肪组织, 且与促进、产生或支持治疗性的、结构性、或美容性的效果所必须的添加剂一起直接置于受者体内的富含胶原的物质的组合物、方法和系统。所述组合物可从单一手术操作过程中获得, 并可在脂肪组织被从病人中除去后, 例如在被从病人中吸出后的几小时或几天之内, 立即对病人给药。



ISSN 1008-4274

1. 一种制备用于向病人给药的富含胶原的材料的方法，包括：
 - (a) 从病人中除去脂肪组织，所述的脂肪组织包括细胞、脂质和胶原成分；和
 - 5 (b) 将脂肪组织中存在的胶原与脂肪组织的细胞和脂质成分分离，从而形成一种适于向从中除去了脂肪组织的所述病人立即给药的富含胶原的物质。
2. 如权利要求1所述的方法，其中所述的富含胶原的物质包含少于约4%的细胞和细胞碎片。
- 10 3. 如权利要求2所述的方法，其中所述的富含胶原的物质实质上不含细胞和细胞碎片。
4. 如权利要求3所述的方法，其中所述的富含胶原的物质包含少于约0.1%的细胞和细胞碎片。
5. 如权利要求1所述的方法，其中富含胶原的物质中的网状细胞
- 15 组分相对于富含胶原的物质中的细胞组分总量的百分比，少于或等于被移除的脂肪组织中的网状细胞组分相对于存在于被移除的脂肪组织中的细胞组分总量的百分比。
6. 如权利要求1所述的方法，其中所述的富含胶原的物质既没有被干燥也没有被保存。
- 20 7. 如权利要求1所述的方法，其中所述的富含胶原的物质实质上不含细胞和细胞碎片。
8. 如权利要求1所述的方法，它进一步包括将所述富含胶原的物质给药至所述的从中除去了脂肪组织的病人。
9. 如权利要求8所述的方法，其中所述的富含胶原的物质实质上
- 25 不含细胞和细胞碎片。
10. 如权利要求1所述的方法，其中(b)包括一个或多个采用至少一种溶解液体来溶解所述脂肪组织中的细胞和脂质成分的步骤。
11. 如权利要求10所述的方法，其中(b)包括将脂肪组织与选自无菌水、含有去垢剂的溶液和乙醇的溶解液体混合的步骤。
- 30 12. 如权利要求11所述的方法，其中(b)包括如下单独的步骤：
 - (i) 将脂肪组织与无菌水混合；
 - (ii) 将脂肪组织与含有去垢剂的溶液混合；和

(iii) 将脂肪组织与乙醇混合。

13. 如权利要求 1 所述的方法，它还包括在将富含胶原的物质向病人给药之前，将富含胶原的物质悬浮在等渗溶液中的步骤。

14. 如权利要求 1 所述的步骤，它还包括分散所述富含胶原的物质从而形成比分散前更精细的富含胶原的物质的悬浮液的一步或多步步骤。

15. 一种含有通过权利要求 1 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

16. 一种含有通过权利要求 3 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

17. 一种含有通过权利要求 10 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

18. 一种含有通过权利要求 12 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

19. 一种制备用于向病人给药的富含胶原的物质的方法，包括：

(a) 从病人中除去脂肪组织，所述脂肪组织含有蛋白组分和非蛋白组分；和

(b) 采用至少一种溶解液体来溶解脂肪组织中的非蛋白组分从而获得适于向病人给药的富含胶原的物质。

20. 如权利要求 19 所述的方法，其中实质上全部的非蛋白组分都被溶解了。

21. 如权利要求 19 所述的方法，其中所述的液体包括无菌水、去垢剂和乙醇中的至少一种。

22. 如权利要求 19 所述的方法，其中所述的液体不是等渗溶液。

23. 如权利要求 19 所述的方法，其中富含胶原的物质为实质上不含细胞和细胞碎片。

24. 如权利要求 19 所述的方法，其中富含胶原的物质中的网状细胞组分相对于富含胶原的物质中的细胞组分总量的百分比，少于或等于被除去的脂肪组织中的网状细胞组分相对于存在于被除去的脂肪组织中的细胞组分总量的百分比。

25. 如权利要求 19 所述的方法，其中 (b) 包括如下单独的步骤：

(i) 将脂肪组织与无菌水混合；

(ii) 将脂肪组织与含有去垢剂的溶液混合; 和

(iii) 将脂肪组织与乙醇混合。

26. 如权利要求 25 所述的方法, 它还包括在将富含胶原的物质向病人给药之前, 将富含胶原的物质悬浮在等渗溶液中的步骤。

5 27. 如权利要求 19 所述的步骤, 它还包括分散所述的富含胶原的物质从而形成比分散前更精细的富含胶原的物质的悬浮液的一步或多步步骤。

28. 一种含有通过权利要求 19 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

10 29. 一种含有通过如权利要求 20 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

30. 一种含有通过权利要求 24 所述的方法制备的富含胶原的物质的组合物。

15 31. 一种用于加工从病人中得到的脂肪组织从而获得适于向病人给药的富含胶原的物质的装置, 包括:

一种被构造成用于盛装从病人中除去的脂肪组织的组织收集容器;

至少一个溶解液体的容器; 和

20 用于连接至少一个溶解液体的容器和组织收集容器的管道, 从而使容纳于至少一个溶解液体的容器中的溶解液体可从其中通过进入组织收集容器, 进而与组织收集容器中容纳的脂肪组织混合而形成一种或多种溶解的组分;

其中所述的组织收集容器包括一个布满许多小孔的过滤器, 其孔径适于留住富含胶原的物质并让脂肪组织的溶解组分通过。

25 32. 如权利要求 31 所述的装置, 其中许多小孔中的孔具有 20 微米至 5 毫米的开孔尺寸。

33. 如权利要求 31 所述的装置, 其中所述的组织收集容器包括:
弹性的腔体;

脂肪组织入口;

30 溶解液体入口; 和

富含胶原的物质的出口。

34. 如权利要求 31 所述的装置, 其中所述的至少一个溶解液体的

容器包括多个溶解液体的容器。

35. 如权利要求 34 所述的装置, 其中所述的至少一个溶解液体的容器包括 4 个溶解液体的容器, 每一个容器分别容纳了一种不同的溶解液体。

5 36. 如权利要求 35 所述的装置, 其中所述的装置限定了用于加工脂肪组织的封闭系统、包含阀门的管道和用于控制组织收集容器和 4 个溶解液体的容器之间的双向流动的阀门。

37. 如权利要求 34 所述的装置, 其中:

所述装置定义了用于加工脂肪组织的封闭系统, 并且

10 所述装置进一步包括多个位于组织收集容器和多个溶解液体的容器之间的流体控制装置, 从而控制组织收集容器和多个溶解液体容器之间的液体流动。

38. 如权利要求 37 所述的装置, 其中所述的流体控制装置包括阀门和夹子中的至少一种。

15 39. 如权利要求 31 所述的装置, 其中所述装置的元件被制成一次使用后即丢弃的形式。

40. 一种用于采用如权利要求 31 所述的装置加工从病人中除去的脂肪组织从而获得富含胶原的物质的自动化系统, 其包括:

20 一种包括至少一个用于保持组织收集容器的装置的基托, 所述组织收集容器被构造成用于盛装从病人中除去的脂肪组织;

一种针对基托配置的支架, 用以支持至少一个溶解液体的容器, 所述溶解液体的容器通过管道与组织收集容器相连;

一种被配置用来自动搅拌组织收集容器中的内容物的搅拌元件;
和

25 一种被配置用来选择性地控制脂肪组织收集容器中的脂肪组织加工从而获得适于向病人给药的富含胶原的物质的计算机。

41. 如权利要求 40 所述的系统, 它还包括置于基托上的一定位置用于将所述的至少一个溶解液体的容器中的溶解液体泵送至组织收集容器的泵。

30 42. 如权利要求 40 所述的系统, 它还包括至少一种流体控制装置, 用于控制所述的至少一个溶解液体的容器中的溶解液体的流动。

43. 如权利要求 42 所述的系统, 其中所述的至少一种流体控制装

置包括多个受计算机控制的阀门。

44. 如权利要求 40 所述的系统，其中所述的搅拌元件包括一种可沿组织收集容器移动的滚筒棒，用于搅拌组织收集容器中的内容物。

采用从脂肪组织中提取的富含胶原的物质治疗病人的系统和方法

相关申请的相互参考

- 5 本申请要求 2001 年 12 月 20 递交的名称为“来源于脂肪组织的含胶原物质的提取、存储和应用”的美国临时申请 60/342,910 的优先权，其全部内容在此并入参考。

发明背景

10 1. 发明领域

本发明一般涉及来源于脂肪组织的结缔组织物质，更特别地涉及来源于脂肪的富含胶原的物质，使用来源于脂肪的富含胶原的物质的方法，含有来源于脂肪的富含胶原的物质的组合物，以及制备和使用来源于脂肪的富含胶原的物质的系统。

15

2. 相关领域描述

- 胶原是人类身体的基本结构蛋白之一 (Bergeon 1967)。它提供了骨骼、结缔软组织、和皮肤的核心支架 (Uitto 1971; Liu, Yang et al. 1995)。胶原被逐渐地应用于医疗器材，尤其是软组织修复和增殖领域 (Kamer & Churukian 1984; Klein 2001; Sclafani & Romo 2001)。这包括用在止血海绵中 (Purna & Babu 2000)，用在药物给药中，作为基质用于基于细胞的产物 (Silver & Pins 1992; Scherberich and Beretz 2000)，皮肤修复，声带修复 (Ford, Staskowski et al. 1995; Remacle, Lawson et al. 1999)，眼睛敷剂 (Hamel, Shaarawy et al. 2001)，和用在软组织增殖中 (皱纹填充剂或其他载体功能) (Kamer & Churukian 1984)。尽管近来开发出了重组的胶原 (Bulleid, John et al. 2000; Myllyharju 2000)，然而用于这类应用的大多数胶原仍传统地为牛来源 (Aragona, D'Urso et al. 1998)。由于牛来源的胶原大多存在外源性因子 (Aragona, D'Urso et al. 1998)，从而诱导免疫应答，而重组的胶原仍为一未证实的实体，因此这两种来源均存在潜在的问题。

天然人胶原和提取自人皮肤 (Sclafani, Romo et al. 2002) 和

筋膜 (Shore 2000; Burres 2001) 的富含胶原的物质也已被用于美容性应用, 然而这些组织来源不能在病人的病床边迅速地依照“实时”加工成为可用的产物, 同时目前的商业化局限于其中将来源于单个个体, 几乎总是来源于尸体的组织配制用于注射入受者个体内的应用。

- 5 这种途径面临着将外源性生物体, 如肝炎病毒或 HIV 导入的风险。FDA 文献中包括了由于该原因导致的至少一例产品的产品召回 (2001 年 1 月 16 日, Alloderm; LifeCell Inc.) ——引自 FDA 网站。

牛或猪胶原的这种应用受到由变应性应答 (Boerner 1988; Mullins, Richards et al. 1996) 和免疫系统介导的植入物的快速
10 降解 (Aragona, D'Urso et al. 1998) 造成的美容性和治疗性应用中的有限的持续性应答 (Groutz, Blaivas et al. 2000; Yokoyama, Yoshimura et al. 2001; Block, Cooper et al. 2003) 的问题的困扰。

通过采用具有与异种的 (来源于另一物种) 或同种异体的 (来源
15 于同一物种的另一个体) 胶原相同特性的自体固有 (自身来源) 产物, 可以改善这类缺陷。一些研究者试图采用整个或破碎的脂肪组织作为软组织填充物质的来源用于通常应用牛胶原的许多应用中 (Boering and Huffstadt 1967; Asken 1990; Koufman 1991; Coleman, Lawrence et al. 1993; Carpaneda 1994; Haab, Zimmern et al. 1997; Hsiung,
20 Woo et al. 2000; Coleman 2001; Lee, Kung et al. 2001)。然而, 在这些应用中可能存在与针对植入脂肪的炎症和纤维化应答相关的问题, 其中由于缺乏血管供应和在脂肪肥大部位偶然产生的反相应答常常导致发生坏死, 并观察到由该问题造成的矫正过度 (Bartynski, Marion et al. 1990; Nguyen, Pasyk et al. 1990;
25 Latoni, Marshall et al. 2000; Miller and Popp 2002)。

在该领域仍存在对加工脂肪组织从而便宜和可靠地高产率地提供富含胶原的物质的新方法和装置的需求, 从而当对病人给药时不诱导显著的炎症和/或免疫应答, 如果存在任何诱导的话。

30 发明简述

本发明涉及使用来源于脂肪组织, 且与促进、产生或支持治疗性的、结构性、或美容性的效果所必须的添加剂一起直接置于受者体内

的富含胶原的物质的组合物、方法和系统。所述组合物可从单一手术操作过程中获得，并可在脂肪组织被从病人中除去后，例如在被从病人中吸出后的几小时或几天之内，立即对病人给药。

在一实施方式中，脂肪组织加工发生于一保持封闭、无菌的液体/组织通路的系统中。这可通过使用允许闭合通路中的组织和液体元素运输的一组预先装配、联接的封闭、无菌的容器和管道来实现。该加工组可与一系列插入可控制试剂的添加、温度和加工时间的装置中的加工试剂（如盐、去垢剂等）相联，从而减轻操作者的手动操作的需要。在一优选的实施方式中，从组织提取到加工和置于受者体内的全过程均在同一设备中完成，甚至在实施该操作的病人的同一房间内完成。

根据本发明的一个方面，未加工的脂肪组织被加工从而大体上除去细胞组分从而获得富含胶原且适合置于受者体内的由不同成分形成的结缔组织基质物质。富含胶原的物质可与细胞、组织、组织碎片、或其他的细胞生长和/或分化的刺激因子一起置于受者体内。在一优选的实施方式中，所述的物质与上述任一添加剂一起被置于通过单一手术步骤从其中得到该物质的个体体内，从而达到使受者产生治疗性、结构性或美容性疗效的目的。

在一实施方式中，一种治疗病人的方法包括如下步骤：a) 提供一种组织除去系统；b) 采用组织除去系统从病人中除去脂肪组织，所述脂肪组织包含一定浓度的富含胶原的物质；c) 加工至少一部分脂肪组织从而获得一定浓度的不同于加工前脂肪组织中的胶原浓度的胶原；和d) 将富含胶原的物质给药至病人，并且在对病人给药前无须从组织除去系统中移出该富含胶原的物质。

一种如本发明所公开的系统，包括：a) 一个组织收集容器，其包括 i) 一个构造成用于收集从病人中除去的脂肪组织的组织收集入口；和 ii) 一个位于容器内部的过滤器，其被构造成用于保留从病人中除去的脂肪组织同时让从病人中除去的非脂肪组织通过；b) 一个与组织收集容器相连的用于收集来自于脂肪组织的富含胶原的物质，并且无须从组织除去系统中移出该富含胶原的物质的混合容器，其还包括一添加入口，用于将至少一种添加剂与容器中含有的富含胶原的物质混合给药；和 c) 一个出口，其被构造成允许混合容器中的富含胶原的物质从组织收集系统中移出从而对病人进行给药。

本文描述的任何特征或特征的组合均落入本发明要求保护的范围之内，条件是包括在任何这类组合中的特征与本文上下文、本说明书和本领域普通技术人员知识范围不明显的相互矛盾。如下的详细描述将进一步阐明本发明的另外的优点和方面。

5

附图简述

图 1 描述了一种用于加工脂肪组织从而从脂肪组织中提取富含胶原的物质的组织除去系统；和

图 2 描述了一用于自动操作如图 1 所示的组织除去系统的处理装置。

10

本发明的优选的实施方式的详细描述

现在详细参考本发明目前的优选实施例，其例子示于附图中。如果可能，在附图和说明书中采用相同或类似的参考编号用于表示相同或类似的部分。应当注意所述附图是以简化形式表示，其不是按精确比例表示的。在参考本文说明书时，为了方便和清楚的目的，方向术语，例如顶部、底部、左、右、上、下、在上方、在上面、在下面、在下方、后面和前面均参考附图来使用。这种方向术语不应当解释为以任何方式限制本发明的范围。

15

虽然本文的说明书提到了特定的举例说明的实施方式，但应当理解这些实施方式是以举例子的形式，而不是以限制的形式呈现的。虽然论述了示范性的实施方式，然而下述详细描述的目的应当被解释为意图覆盖所有对实施方式的修改、替换和实施方式的等同替换，如所附权利要求所定义的那样，其均落入本发明的范围和主旨范围中。本发明可结合本领域传统采用的各种细胞或组织分离技术来实施，同时只有那些理解本发明所必须的常用的操作步骤才记载于本文中。

20

25

本发明涉及存在于脂肪组织中的富含胶原的物质，以及将该富含胶原的物质给药至人类或动物病体的系统和方法。

30

脂肪组织的富含胶原的物质可被用作一种用于治疗性和美容性应用的物质的来源。其中所述的物质可被用于再生性药物，例如可采用再生细胞来治疗疾病，其中富含胶原的物质作为再生或新生的组织或细胞的基底或支架。富含胶原的物质可与细胞添加剂或另外的结构组

分, 例如人工(塑料, 金属或其他复合物)植入物或载体、附加的或其他结缔组织一起对病人给药, 或者所述富含胶原的物质可与如本文所讨论的其他组织混合给药。将本文所公开的富含胶原的物质优选地对提供所述物质来源的病人给药。

- 5 研究发现, 脂肪组织是富含胶原的基质物质的丰富来源。这项发现可以至少部分地由于很容易除去脂肪组织中的主要细胞组分——脂肪细胞。因此, 在人和动物研究中, 加工过的无细胞脂质吸出物(一种典型的富含胶原的物质)为一种非水溶性的富含胶原的结缔组织基质物质, 其占未处理的脂肪组织干重的至少 2%, 更典型的多于 5%。换
10 句话说, 当将提取的未处理的脂肪组织干燥处理时, 多于约 5%的干组织重量典型地是富含胶原的结缔组织基质物质。

 如本文中的用法, “脂肪组织”是指含有包括脂肪细胞、网状细胞、微血管细胞在内的多种细胞类型的组织。脂肪组织包括干细胞和内皮前体细胞。相应地, 脂肪组织是指包括用于储存脂肪的结缔组织的脂肪。
15

 如本文中的用法, “脂肪组织单位”是指脂肪组织的一离散或可测量的数量。一脂肪组织单位可以通过确定单位的重量和/或体积来测量。参考本文的公开说明书, 一脂肪组织单位可以是指从一个病人中分离的脂肪组织的总量, 或一少于从一个病人中分离的脂肪组织总量的量。因此, 一脂肪组织单位可以与另一脂肪组织单位组合形成一重量或体积为单个单位之和的脂肪组织单位。一个“单位”的类似定义适用于术语, 如“富含胶原的物质”和“加工过的无细胞脂质吸出物”,
20 其中单位是这些物质的一个离散的量。

 如本文中的用法, “部分”是指一少于整体的物质的量。一较少部分是指一少于 50%的量, 同时一较大部分是指一多于 50%的量。因此, 一少于从病人中除去的脂肪组织总量的脂肪组织单位为分离的脂肪组织的一部分。
25

 如本文中的用法, “富含胶原的物质”是指采用除了最初的用无菌水漂洗从而从脂肪组织中除去至少一部分非胶原组分的步骤外的任何方式加工的脂肪组织。一方面, 富含胶原的物质是指采用除了最初的用无菌水漂洗从而从结缔脂肪组织中除去至少一部分细胞组分的步骤外的任何方式加工的脂肪组织。
30

如本文中的用法,“加工过的无细胞脂质吸出物”是指采用除了最初的用无菌水漂洗从而从脂肪组织中除去全部或大体上全部细胞组分(即细胞或细胞碎片)的步骤外的任何方式加工的脂肪组织。加工过的无细胞脂质吸出物可包括通过从脂肪组织中漂洗和分离结缔组织而获得的不溶于水的蛋白、蛋白多糖和其他结缔组织元素(呈颗粒状或重悬形式)。通过离心富含胶原的物质的悬浮液,从而使所述物质聚集在离心容器的底部来获得加工过的脂质吸出物颗粒。还可进一步纯化和提取加工过的无细胞脂质吸出物,从而产生一种特异性地富集一种或多种加工过的无细胞脂质吸出物的元素(例如胶原)的产物。类似地,加工过的无细胞脂质吸出物可与其他因子混合,通过化学反应添加或除去化学基团来修饰,从而改变加工过的无细胞脂质吸出物或其组分的溶解度或其他物理或生理学特性。

在实施本文公开的方法的过程中,对病人给药的物质来源于脂肪组织。脂肪组织可采用本领域熟练技术人员已知的任何方法来获得。例如,脂肪组织可通过抽吸辅助的抽脂术、超声波辅助的抽脂术和剪切脂肪切除术而从病人中分离。此外,该操作可包括这些操作的联用,例如联用剪切脂肪切除术和抽吸辅助的抽脂术。由于这些组织或其一些部分用于重新植入病人体内,因此应当采用能保持结缔组织组分活力完整性,同时使潜在的感染生物体,如细菌和/或病毒对组织的污染可能性最小化的方式来收集所述的脂肪组织。因此,组织提取应当以一消毒或无菌的方式来进行从而使污染最小化。由于其与其他技术,例如超声波辅助的抽脂术相比,抽吸辅助的抽脂术提供了一种伴随最小可能的结缔组织损伤的最小破坏性的组织收集方法,因此抽吸辅助的抽脂术可十分理想的用于从病人中除去脂肪组织。

对于抽吸辅助的抽脂术操作,通过向存在于病人中的脂肪组织堆积部位或附近插入一套管,并随后将脂肪组织吸入一抽吸装置来收集脂肪组织。在一具体实施方式中,小套管可与注射器相连,同时可通过手动力量来抽吸脂肪组织。采用注射器或其他类似的装置可理想地从病人中分离相对适中量的脂肪组织(例如,从 0.1ml 到几百毫升的脂肪组织)。采用这些相对小的装置进行的操作的优点在于,与全身麻醉相比,所述操作可在仅局部麻醉的情况下进行。超出该范围的较大体积的脂肪组织(例如,大于几百毫升)将需要根据供体和实施收

集操作的个体的判断力进行全身麻醉。当希望除去较大体积的脂肪组织时，则在操作中采用相对较大的套管和自动抽吸装置。

5 剪切脂肪切除术包括但并不仅限于其中含有脂肪组织的组织（例如，皮肤）作为操作的一附带部分被分离的操作；也就是，其中手术的首要目的是除去组织（例如肥胖病或美容外科手术中的皮肤），同时其中脂肪组织是随着主要感兴趣的组织而被除去的。

从病人中除去的脂肪组织被收集至一容器中用于进一步的处理。如本文中的论述，在一具体实施方式中，所述装置被设计和用于实现收集组织的目的，从而用于制备得到加工过的包括胶原的脂肪组织的
10 结缔组织组分。在另一实施方式中，所述装置可以是典型的用于通过主治医师进行提取操作而进行组织收集的任何传统装置。其优点在于，所述装置的元件可以以单次使用的元件的形式提供，从而所述装置可以用后即弃，或者换句话说，其不能在其他病人的另外的操作中再次使用。根据本发明的一个方面公开的用后即弃的装置可以避免与
15 现存装置相联系的对元件反复灭菌的需要，从而可降低潜在的感染。此外，与其他装置相比，本发明装置的无菌程度和/或可靠性更容易保持，这是因为，至少是部分地因为，相对少量的元件与本发明的装置相联系。作为相对少量的元件的另一结果，可用后即弃的装置的全部或大体上全部，其成本、组装时间、重量和/或物理体积都相对较小；
20 同时，从另一方面来说，装置的轻便性和/或可靠性相对较高。如本发明所述的装置通过增加脂肪组织的特定组分的溶解性，从而允许将溶解性的组分与非溶解性的组分分离来加工脂肪组织从而获得一个或多个单位的富含胶原的物质。该提取的脂肪组织的各种组分，如细胞和脂质组分的溶解性的增加，可提供相对较大的胶原产量。

25 收集的组织的量将由许多变量来决定，其包括但不限于供体的身体质量指数、可接近的脂肪组织收获位点的可用性、共存的和预先存在的药物治疗和情况（如抗凝剂治疗）以及为了收集组织的临床目的。采用牛胶原的经验表明为了美容目的的典型植入物提供大约 30mg 胶原/每毫升植入物，典型的操作为在 90mg 的总移植物体积中包括 2 至 3
30 毫升的物质。在本发明的一特定实施方式中，可进行相当大量的收获，从而病人可在收获时接受一次注射并有剩余的物质被保存，其可根据需要或愿望用于以后的应用。类似地，也有实施小体积收获（少于 1

毫升但多于 0.1 毫升) 的病人, 其只需少量的胶原或其可获得较大产量的胶原。

进行如本文所公开的治疗的病人可接受与采用未处理的脂肪组织自体脂肪移植的其他治疗相比不同浓度的富含胶原的物质 (Coleman 2001)。因此, 根据本发明的一个方面, 从病人中除去的脂肪组织可被加工以除去全部的、大体上全部的、大多数的或一部分的细胞组分, 因此改变给药至病人的胶原的量或浓度。在一实施方式中, 加工所述的脂肪组织从而使所述富含胶原的物质包含少于约 4% 的细胞和细胞碎片。更优选, 所述富含胶原的物质实质上不含细胞和细胞碎片。在另一实施方式中, 富含胶原的物质包含少于约 0.1% 的原始存在于组织中的细胞和细胞碎片。这具有减弱或消除因细胞组分存在而造成的负面影响 (其中包括坏死和肥大) 的进一步的优点 (Bartynski, Marion et al. 1990; Latoni, Marshall et al. 2000; Miller and Popp 2002)。实际上, 胶原物质中的细胞和细胞碎片的存在可不理想地导致局部的炎症应答和/或免疫应答。通过实施本文所公开的方法, 可十分有利地降低对病人给药富含胶原的物质而造成炎症和/或免疫应答的可能性。在一特定实施方式中, 富含胶原的物质中的网状细胞组分相对于富含胶原的物质中的细胞组分总量的百分比, 少于或等于分离的脂肪组织中的网状细胞组分相对于存在于分离的脂肪组织中的细胞组分总量的百分比。

在一本发明的实施方式中, 病人接受浓度高于典型的存在于脂肪组织移植中的胶原浓度的胶原。这是由于, 至少部分地由于本发明所述装置和系统中使用的组织收集容器的类型和构造造成的。本发明的一种组合物包括一高于在同等单位的未处理脂肪组织中存在的胶原浓度的胶原浓度。在特定实施方式中, 所述组合物具有一其中至少 60% 的物质 (干重) 为胶原的胶原组分。较高浓度的胶原, 例如至多 100%, 也包括在其他组合物中。含有胶原的组合物可与另外的组分一起给药, 所述组分不是原始存在于从病人中提取的脂肪组织之中的, 如细胞、细胞分化因子、生长促进剂、免疫抑制剂或医疗器材, 如本文所述。为了获得组合物中主要含有胶原的特定组合物, 任何用于分离存在于富含胶原的物质中的 (例如加工过的无细胞脂质吸出物) 不同蛋白类型的合适方法都可以采用, 例如, 采用在高盐浓度中的溶解度差异

或无水条件或其组合 (Davis and Mackle 1981; Ooi, Lacy et al. 1991)。

富含胶原的物质的制备将需要除去脂肪组织中贮存成熟脂肪的脂肪细胞组分。此外，富含胶原的物质优选地需要除去脂肪组织中的网状细胞组分。这可典型地通过一系列的洗涤和溶解作用步骤来实现，其中所述组织首先经漂洗从而降低游离脂质（裂解的脂肪细胞所释放的）和外周血元素（在组织收获过程中由血管开裂所释放的）的存在，并随后通过采用低渗裂解和/或去垢剂或高盐漂洗来溶解细胞组分。

漂洗是一任选的，但优选的步骤，其中将组织与溶液混合从而洗涤除去游离脂质和单个的细胞组分，例如那些存在于血液中的组分，留下完整的脂肪组织碎片。在一实施方式中，将所述的从病人中分离的脂肪组织与水、等渗盐水溶液或其他生理溶液（例如，Baxter Inc 出品的 Plasmalyte[®]，Abbott Labs 出品的 Normosol[®]）相混合。可通过本领域熟练技术人员已知的任何方法分离完整的脂肪组织碎片与游离的脂质和细胞，其包括但不限于，过滤、倾析、沉淀或离心技术。在本发明的示范性的实施方式中，如此处所述，通过采用置于组织收集容器中的过滤器将脂肪组织与非脂肪组织分离。在另外的实施方式中，通过采用应用倾析、沉淀和/或离心技术分离所述物质的组织收集容器来将脂肪组织与非脂肪组织分离。

随后，采用传统的技术或方法使完整的组织碎片溶解，其包括低渗裂解、高盐提取、采用去垢剂，例如 Tween 20、Triton X-100 或十二烷基磺酸钠（SDS）、有机溶剂，采用单一或组合的蛋白裂解酶例如胶原酶、胰蛋白酶、脂酶、如美国专利 5952215 所公开的释放酶 HI 和胃蛋白酶进行酶消化。在可以是比如成本更高的，仅部分地采用一次性设备和/或在一非封闭系统中实施的改进实施方式中，可单独采用切碎或剪切力或与上述传统技术和方法中的一种或多种联用来使完整的组织碎片溶解。

例如，作为本发明所述方法的概述，可通过将脂肪组织与无菌水混合（低渗溶液裂解），并随后采用稀释的去垢剂溶液漂洗（例如，0.1% Tween 20），并随后采用水漂洗以除去大体上的全部去垢剂的步骤来溶解完整组织碎片的细胞组分。随后可通过将所述物质与有机溶剂例如乙醇或丙酮混合来除去剩余的游离脂质。然后通过除去有机溶

剂和将富含胶原的沉淀物（加工过的无细胞脂质吸出物）制备成能注射至病人体内的形式来制备所述物质。通过调节所加工组织的量，通过调节最后一次洗涤后富含胶原的物质的重悬体积，和/或通过调节给药至病人的物质的量来控制对病人给药的胶原的量和浓度。举例来说，但非限定性地，在一需要特定高浓度的胶原的装置中，可加工较大的组织（例如>50ml），随后加工富含胶原的物质，将大约 1g 的富含胶原的物质重悬于一小于常规量的体积中（例如 1ml），从而产生一非常高的胶原浓度（大约 1g/ml）。这可通过采用机械分割富含胶原的物质纤维（也就是，加工过的无细胞脂质吸出物）来实现，其包括但不限于剪切力（例如，反复使其通过较小体积腔通路）、通过快速旋转的刀锋使其匀化或超声波作用。此外，富含胶原的物质可被重悬于盐溶液中从而产生富含胶原的悬浮液。从而富含胶原的物质既不用干燥也不用保存。

在一优选实施方式中，加工的步骤在一一次性使用后即弃的装置中进行。所述的装置包括一套具有允许从封闭系统中添加和从系统中移出物质的入口和出口孔的容器。这种方法可以消除一个样品与来源于另一样品的物质交叉感染的风险，同时可降低因子，如来源于组织加工的环境的细菌、真菌和病毒性病原的偶然导入。如下文中详细讨论的，具有该特征的系统的一实施例如图 1 所示。在另一实施方式中，加工步骤在一各种加工步骤被控制且可能自动控制的装置中实施。一种该装置的实施例示于图 2，并将在下文中更详细地讨论。

通过采用高盐缓冲液、低 PH 值，利用胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶或其他蛋白水解酶的酶解消化来溶解非胶原组分来实现富含胶原的物质的进一步纯化。这种方法的实施例记载于 Davis & Mackle 1981; Speranza & Valentini 1986; Takasaki, Fujiwara et al. 1995 中，和美国专利 5436135, 4969912 和 4597762 中。在另一示范性实施方式中，组织收集容器可以为一弹性袋，其被构造成置于一允许在组织加工混合步骤中搅动的装置中（例如，手动或机器带动）。在另一实施方式中则不采用弹性袋。在细胞组分溶解后，通过除去溶解的细胞组分，无细胞组分形成颗粒或形成团状物。随后，采用能溶解大体上无细胞的物质的各种组分的一种或多种添加的液体来重悬团状物。可通过各种合适的途径来提供溶解液。例如，可将液体注射入组

织收集容器的口中。

在一示范性实施方式中,采用 50-600ml 的无菌缓冲等渗盐溶液来漂洗 1 至 50 毫升的脂肪组织,并将其与 100-600ml 的无菌蒸馏水在室温下混合 20 分钟。随后,通过允许富含胶原的物质中的不溶解组分沉淀,和从容器中引导出溶解于水的可溶组分(例如,包含在混合物液相中的物质)来除去水分,例如,通过挤压容器从而迫使可溶组分流
5 出,或借助抽吸装置,例如注射器将可溶组分抽出。随后,容器中的不溶解组分可与 100-600ml 的 2.0%的 Triton X-100 去垢剂(Sigma Chemical Company, St. Louis, MO)混合。将组织在室温下(大约
10 20℃)混合 20 分钟。作为任选的步骤,可重复进行去垢剂漂洗。去垢剂漂洗增强了富含胶原的物质的细胞组分的溶解性。随后,采用与除去水分类似的方法除去溶解组分和去垢剂的混合物。随后采用 100-600ml 的无菌蒸馏水重悬所述物质两次,从而除去残留的去垢剂,其如上文所述被从容器中除去。然后,采用 100%乙醇漂洗加工过的组织以
15 除去残留的游离脂质。如上文所述,可从容器中除去大部分的溶解脂质和乙醇,同时通过蒸发,例如通过温和的加热组织和乙醇混合物除去残留的乙醇。随后富含胶原的物质(加工过的无细胞脂质吸出物)被重悬于盐溶液中,并通过 18G 针头被抽至注射器中。为了将富含胶原的物质破碎成为足够小的能通过 18G 针头的颗粒,可能需要液体反
20 复地通过针头。可采用更小尺寸的针来代替 18G 的针从而使加工过的无细胞脂质吸出物进一步破碎。在一优选实施方式中,通过采用较小的针来替代较大的针并重复该过程直至达到加工过的无细胞脂质吸出物能自由通过的足够小的尺寸的点,从而逐级减小针的大小,进而可以容易地注射至敏感部位,如脸部。在其他实施方式中,可采用其他
25 装置,如超声波仪来帮助破碎加工过的无细胞脂质吸出物的组分,使加工过的无细胞脂质吸出物匀化。

采用封闭系统中的剪切力可以破碎胶原,其通过借助 18G 针头的注射器反复抽取和重新插入所述物质进出容器,例如,通过插入注射器的针头至含有富含胶原物质的容器中,并将该物质抽入注射器,在
30 保持针头插入容器中的情况下,挤压注射器中的物质。一旦该物质能自由地流过注射器的 18G 针头,则移开该注射器并用另一具有更小尺寸针头的注射器替代,并再次重复抽取和重新插入所述物质的步骤。

采用逐渐减小的针头不断重复该过程，直至所述物质自由的流过希望采用的大小的针头。

在一示范性的实施方式中，一种溶解液体含有浓度为大约 0.1% 至大约 5% 的 Triton X-100 去垢剂，并与组织在大约 18℃ 至大约 38℃ 的温度下培养大约 20 至 60 分钟。这些参数将根据待消化的组织的量和任选的采用盐溶液和/或蒸馏水预先漂洗的程度而变化，其可通过经验研究来优化，从而验证该系统在合适的时间段中能有效地提取到理想的基质物质。一特别优选的浓度、时间和温度为在 37℃ 下、采用 2% Triton X-100 温育 45 分钟。也可以采用可替换的去垢剂，如 Tween 20 和十二烷基磺酸钠。

当细胞组分溶解后，可以漂洗/冲洗富含胶原的物质以除去残留的去垢剂和/或溶解过程的副产物（例如，溶解的细胞组分和新释放的游离脂质）。也可采用有机溶剂，如乙醇或丙酮来漂洗富含胶原的物质从而除去残留的游离脂质。然后，其可通过离心或如上文所述的本领域技术人员已知的其他方法来浓缩。这些后加工漂洗/浓缩步骤可分开或连续地进行。

除了上文所述的之外，还存在许多可用于进一步纯化富含胶原的物质的后漂洗方法。这些包括高盐浓度漂洗、采用不伤害胶原的蛋白水解酶，对物质进行化学修饰以改变物质的物理或生理学特性或其组合。

在一实施方式中，可加入苯酚、乙酸和水的组合并与加工过的无细胞脂质吸出物混合，从而使加工过的无细胞脂质吸出物中含有的非胶原组分溶解（Davis and Mackle 1981）。

在一可供选择的实施方式中，可采用对完整胶原只有有限消化能力的蛋白水解酶来消化加工过的无细胞脂质吸出物（例如木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶等）。

加工的最终步骤包括将所述富含胶原的物质制成制剂形式，也就是将其破碎至足够小的颗粒从而可通过小尺寸的针头或通过小尺寸的针头给药。该步骤是所述物质植入特定敏感的身体部位，如嘴唇和鼻翼褶中应用所必须的。这可通过机械作用如剪切力（例如，通过小体积的孔）或超声波作用来实现。在一例如可以是更昂贵的改进实施方式中，仅部分地使用一次性设备和/或在一非封闭系统中实施可采用快

速旋转的刀锋（切碎）来破碎完整的组织碎片。可供选择地，胶原可进行酯化修饰或采用稀释的酸溶液进行处理以增加溶解性从而获得可溶的胶原。

在一特定实施方式中，将富含胶原的物质直接给药至病人。换句话说，该物质可在无需从系统中移出或在对病人给药前暴露于系统的外部环境中的情况下对病人给药。闭合的系统可降低对病人给药的物质被污染可能性。因此，在闭合的系统中加工脂肪组织比现有的方法更有利，因为富含胶原的物质更容易被灭菌。在这样的实施方式中，所述物质暴露于外部环境或从系统中移出的唯一时间是当所述物质被抽出至一施用装置并被给药至病人时的时间。在一实施方式中，所述的施用装置也可以是闭合系统的一部分。

如上文所述，浓缩的物质无需进一步处理就可给药至病人，或在与其他组织或细胞混合后给药至病人。例如，所述的其他组织可包括一个或多个单位的脂质吸出物、富含胶原的物质或加工过的无细胞脂质吸出物。

在另一实施方式中，至少有一部分物质被储存用于随后的移植/输入。加工过的无细胞脂质吸出物可被分成多于一等份或单位的分量，从而一部分物质被保留用于以后的应用，而一部分则立即施用至病人。在保存库中中长期保存所有的或部分的物质也在本发明要求保护的范围之内，如要求了已被正常转让的、2001年9月14日递交的美国临时专利申请60/322,070的优先权的，名称为“来源于非造血组织的非胚胎细胞的保存”的申请号为10/242,094的美国专利申请中所公开的那样，其内容也清楚地并入本文作为参考。

在加工结束时，所述物质被装入一输入装置，例如注射器中，用于通过皮下的、肌内的、腹膜内或尿道周的技术置于受者体内。换句话说，细胞可通过本领域熟练技术人员已知的任何方式导入病人体内，例如，其可被注射入组织（例如，骨骼肌）、皮肤（皮下的、面部应用）、组织间隙（例如，声带）、或组织中（如，尿道周围的位置）或其他位置。优选实施方式包括采用针或导管，或通过直接手术移植与添加剂如一预先成型的基质一起导入。

所述物质可单独施用或与其他物质联合施用，所述的其他物质包括：细胞、组织、组织碎片、软化的骨骼、生长因子如胰岛素，或如

thiaglitazone 类的药物、生物活性或惰性化合物、可吸收的整型支架、或用于增强群体的输送、效力、相容性或功能的其他添加剂。为了实现美容、结构或治疗目的的衍生作用，所述物质还可以以一种改变、增强或补充所述物质的功能的方式通过化学途径进行修饰。例如，
5 如美国专利 4597762 中所公开的那样，可进行酯化和交联反应从而修饰所述物质的溶解特性和/或植入后的稳定性。

一方面，所述物质可被制成用于指导骨骼再生的三维结构（Schwartzmann 2000），或被制成用于三维组织工程的支架（Scherberich and Beretz 2000）。

10 所述物质也可基于美容目的而对病人进行给药，例如通过增强或提高物理特征，包括减少皱纹、增大器官体积及其类似的。

一组织除去系统的组件的特定实施方式示于图 1 和 2 中。用于从脂肪组织中除去富含胶原的物质的装置 10 示于图 1 中。装置 10 包括通过导管 14 与组织收集容器 16 相连的众多液体容器 12A, 12B, 12C, 15 和 12D。图解表明装置 10 具有 4 个容器 12A, 12B, 12C, 和 12D；然而根据从提取的脂肪组织中分离和溶解所述富含胶原的物质所需的试剂的数目，其可以包括更多或更少的液体容器。在一实施方式中，容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 为弹性袋，而在另一实施方式中，容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 为刚性容器。容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 上分别
20 包括至少一个用于添加和移出试剂的开口 13A, 13B, 13C, 和 13D。仅具有一个开口的容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 典型地被分别经开口 13A, 13B, 13C, 和 13D 输送至容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 中的试剂填充。

在容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 均容纳了足够体积的试剂后，每一开口 13A, 13B, 13C, 和 13D 均被连接至导管 14，从而允许试剂被
25 输送至组织收集容器 16。在示范性实施方式中，容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 分别具有众多的开口 13A, 15A, 13B, 15B, 13C, 15C, 13D, 15D。图例表明开口 13A, 13B, 13C 和 13D 与导管 14 相连，开口 15A, 15B, 15C 和 15D 用于允许向容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 中添加一种或多种试剂。例如开口 15A, 15B, 15C 和 15D 均可包括一个可反复密封的膜，其可允许针头插入通过，从而分别进入相应的容器 12A, 12B, 30 12C, 和 12D 的内部。如上文所述，针头可被用于添加一种或多种试剂，或用于从容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 中移出液体。导管 14 优选地为

闭合的无菌导管，或者换句话说，导管 14 不向装置 10 的外部环境打开，因此在液体容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 与组织收集容器 16 之间提供了一条闭合导管。导管 14 可采用任何可以灭菌的物质制成，同时如本文所述，其优选为腔大小可被一个或多个作用于导管的阀门所控制

5 制的弹性导管。在一实施方式中，导管和容器 12, 14 和 16 由聚乙烯管制成。在另一实施方式中，导管 14 的腔直径大于 2mm，并优选地大于 5mm。这些容器可为大约 200ml 至 1L 的体积。这样的系统具有处理至多 200ml 脂肪组织并产生数克富含胶原的物质的能力。

组织收集容器 16 包括一个或多个开口，例如被构造成具有能进入

10 组织收集容器 16 内部的开口 18 和 20。组织收集容器 16 是一用于收集和保留从病人中提取的脂肪组织的组织收集腔。更特别地，组织收集容器 16 包括一尺寸适合与一用于吸取脂肪组织的吸入装置相连的开口 18。开口 18 足够大，从而允许相对较大体积的脂肪组织进入脂肪组织收集容器 16。图 1 所示的组织收集容器 16 还包括一用于向组织收集容

15 器 16 内部添加一种或多种液体的第二开口 20。此外，或可供选择地，第二开口 20 也可被用于移出组织收集容器 16 中容纳的物质。如本文所述，组织收集容器 16 优选地具有一可压缩的腔体，例如，如本文所述的，允许搅拌组织收集容器 16 中的物质的腔体 17。在一实施方式中，组织收集容器 16 为一由可被灭菌的材料制成的弹性袋。组织收集

20 容器 16 还包括一个或多个开口，如允许容器 12 中的试剂被输送至组织收集容器 16 内部的开口 19。在示范性的实施方式中，组织收集容器 16 包括一通过导管 14 与全部的 4 个容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 相连的开口 19。

装置 10 还包括一个或多个元件（流量控制装置），用于控制试剂

25 从容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 流入组织收集容器 16。在示范性的实施方式中，装置 10 包括多个在组织收集容器 16 和容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 之间呈直线排列的阀门 22。换句话说，在容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 的每一流出路线上都有一个阀门 22。因此，通过独立地调整阀门 22，使用者可以选择性地控制将一种或多种试剂添加至组织收集容

30 器 16 中。优选阀门 22 的构造可以防止当那些容器的阀门闭合时，试剂倒流至另外的试剂容器中。例如，当容器 12A 内部的试剂被输送至组织收集容器 16 中时，容器 12A 的阀门处于打开的位置，而容器 12B,

12C 和 12D 的阀门则处于关闭的位置。作为替代,或除此之外,沿导管 14 也可布置一个或多个夹子从而选择性地控制试剂流入组织收集容器 16。

因此,在示范性的实施方式中,装置 10 是一种用于从病人中收集脂肪组织的装置,其不是构造成用于再次使用的装置;或者换句话说,其作为一种一次性使用或用后即弃的系统。因此,每一元件,如容器 12A, 12B, 12C, 和 12D, 导管 14, 和组织收集容器 16 均可被预先灭菌,并在单个病人使用后抛弃。

在本发明的一特定实施方式中,仅用于举例说明而非限定,一容器 12A 中含有无菌蒸馏水,第二容器 12B 中含有 2% TritonX-100 (Sigma, St. Louis, MO), 第三容器 12C 中含有 100%的醇,比如乙醇,第四容器 12D 中含有盐水,如溶于水的 0.9%NaCl。在该实施方式中,每一容器的尺寸均适合容纳大约 1L 或更少的溶液。

在使用过程中,将装置 10 的组织收集容器 16 与一用于吸出脂质的吸入装置相连。从病体中提取的脂肪被输送至组织收集容器 16,例如通过开口 18 的途径。作为一任选的步骤,如上文所述,提取的组织(包括脂肪组织和非脂肪组织)可经过滤和/或漂洗以除去游离的脂质和外周血。例如,组织收集容器 16 中可带有一过滤器。过滤器的一种实例包括许多尺寸相同或不同,大小为大约 20 μ m 至 5mm 的孔。在一优选实施方式中,所述过滤器为一医药品级的聚酯网,其大约为 200 μ m 厚,孔径大小约为 265 μ m,开口面积约占 47%。容纳在组织收集容器 16 中的完整脂肪组织的细胞组分采用由容器 12A 提供的无菌水来提取。通过位于容器 12A 和组织收集容器 16 之间的导管上的开口阀门 22,可选择性地将水输送至组织收集容器 16。将水和完整的脂肪组织混合足够长的一段时间从而提取脂肪组织的细胞组分。该最初步骤将除去大部分,优选大于 80%的脂肪组织中的细胞组分。随后挤压组织收集容器 16 以便从容器中移出溶解的组分、游离的脂质(由脂肪细胞裂解产生)和水。通过经开口,如开口 20 吸出溶有可溶性组分的水,可以从容器中移出水分、脂质和脂肪组织中的可溶组分。或者,通过经导管 14 将其挤压回容器 12A 来从容器中移出水分、脂质和可溶组分。因此,导管 14 在溶解液体的容器 12A, 12B, 12C, 和 12D 与组织收集容器 16 之间提供了一种双向的液体流动路径。

随后采用来源于容器 12B 的含有 Triton X-100 的溶液重悬沉淀物从而使脂肪组织的细胞组分进一步溶解。该去垢剂漂洗步骤将降低残留的细胞组分，优选至少再去除 80%。获得的上清液也采用上述方法以类似的方式除去。随后通过将富含胶原的物质与容器 12C 中的乙醇混合来溶解所获得的沉淀中的游离脂质组分（典型地，少于脂肪组织原始脂质含量的 1%）。然后，如上文所述，不溶解的组分与可溶解的组分分离，同时任何残留的乙醇通过蒸发被除去。最后，在采用容器 12D 提供的等渗盐溶液中重悬所沉淀得到的富含胶原的物质。随后将针或其它类似的抽取装置插入组织收集容器 16 中，例如通过开口 20 输入，从而移出重悬的富含胶原的物质。典型的胶原产量将占原始组织干重的 2-10%，其在很大程度上依赖于供体的身体质量指数（越超重的供体其每克组织将具有更多的脂肪，因此由于稀释效应则具有更少的胶原）。随后，可以将富含胶原的物质直接给药至病人，或可以经进一步加工以提供更精细的富含胶原的物质的悬浮液。例如，可以让富含胶原的物质的悬浮液反复地通过一系列不同大小的针，或通过各种孔径大小的过滤器从而使悬浮液中的颗粒裂解。修辞的问题：在上文中，哪些步骤为真实闭合系统的一部分，而那些不是。非修辞的问题：是否存在任何方式使其更加成为一闭合系统装置？在一其中所有的溶液被预先装载至容器 12A-D 中的实施方式中，系统中唯一的非闭合部分是脂肪组织的加入和富含胶原的物质的移出。

在本发明的一特定实施方式中，处理脂肪组织的一个或多个步骤可被自动控制。例如，如图 2 所示，装置 10 可被插入处理系统 40 中。如图所示，处理系统 40 包括一个基托 44 和一个带有一个或多个支架 58 的支架组件 42。如目前具体描述的，支架组件 42 具有 4 个支架 58，其被构造成用于支持装置 10 的容器 12A，12B，12C，和 12D。如图所示，处理系统 40 的基托 44 包括一前表面 46。许多装置 48 位于前表面 46 上，其相互之间被位于装置 48 之间的混合元件 50 分隔开。装置 48 被构造成用于保持装置 10 的组织收集容器 16。路径 52 被限定在装置 48 之间，从而使混合元件 50 可沿路径 52 运动而将组织收集容器 16 中的物质混合。在示范性的实施方式中，混合元件 50 为一种可沿路径 52 上下移动的滚筒棒，当其运动时挤压组织收集容器 16 的一个区域。这种运动和对组织收集容器 16 的挤压可导致对组织收集容器 16 中的

物质的搅拌或混合。装置 10 的导管 14 被置于处理系统 40 中，从而可通过泵 54 和阀门 56 来控制经过导管 14 的液体流动。虽然如图所示的系统显示具有 4 个阀门 56 和一个泵 54，但如上文所述可提供更多或更少数目的阀门或泵。例如，可为 4 个容器 12A，12B，12C，和 12D 中的每一个提供 4 个泵 54。类似地，可提供更多或更少的装置 48 用于将组织收集容器 16 保持于基托 44 上。

如上文所示，在本发明的特定实施方式中，该方法可通过添加一个或多个能自动实施本发明的步骤的附加装置来实现自动控制。在这样的实施方式中，处理装置（例如，微处理器或个人计算机）为如上文所述的能部分地或完全地使步骤自动化的装置。适用于这种自动操作的步骤的例子包括但不限于，通过控制系统或处理装置中的泵和阀门来控制液体和组织沿特定导管路径的流入和流出；采用压力传感器来检测堵塞；混合的机构，根据体积测定机构来测量沿特定路径运动的组织和/或液体的量；采用热控制装置保持各种组分的温度；漂洗富含胶原的材料，采用定时和软件原理整合该过程。在一种实施方式中，软件可以控制过程参数从而允许根据特定操作定义的参数来生产富含胶原的物质。因此，自动装置或多个装置提高了操作性能，同时实现了脂肪组织的自动收获和用于对病人给药的脂肪组织的自动处理。

当脂肪收集容器位于装置内部时或在放入装置中之前，可以将脂肪组织收集至脂肪收集容器。

在一进一步的实施方式中，合并到控制器中的软件将在必要的步骤中提示使用者向装置中正确地插入导管和其他元件。软件也会启动自动测试，以证实导管的正确插入、不存在堵塞等等。

在该装置中进行的处理的一般步骤将采用与那些在本说明书其他部分公开描述的用于手工组织处理的参数相同的参数。

对于本领域技术人员来说，用于组织处理的分步机制的许多其他的形式是显而易见的，本说明书仅作为一种实施例的情况包括在内。例如，在漂洗和溶解过程中组织和盐水溶液的混合可如本实施例所述通过搅拌或通过液体再循环而发生。如本文所述，组织的漂洗可通过运动的棒状机械，或通过摇动或其他机构来实现。实现上述功能的机构可被整合至如图 2 中所示的装置中或合并在一独立的装置中。

在本发明的一优选实施方式中，组织除去系统和加工设备被放置在接受治疗的病人的附近，比如操作室或门诊病人处理室（在病人身边十分有效）。这有利于快速、有效地收获组织和加工，减少发生样品处理/标记错误的机率，因此允许在单一的手术程序中完成整个过
5 程。

参考文献:

Aragona, F., L. D'Urso 等(1998). "Immunologic aspects of bovine injectable collagen in humans. A review. " Eur Urol 33
10 (2): 129-33.

Asken, S. (1990). "Microliposuction and autologous fat transplantation for aesthetic enhancement of the aging face." J Dermatol Surg Oncol 16 (10): 965-72.

Bartynski, J. , M. S. Marion 等(1990). "Histopathologic
15 evaluation of adipose autografts in a rabbit ear model." Otolaryngol Head Neck Surg 102 (4): 314-21.

Bergeon, M. T. (1967). "Collagen: a review." J Okla State Med Assoc 60 (6): 330-2.

Block, C. A. , C. S. Cooper 等(2003). "Long-Term Efficacy
20 of Periurethral Collagen Injection for the Treatment of Urinary Incontinence Secondary to Myelomeningocele." J Urol 169 (1) : 327-329.

Boering, G. & A. J. Huffstadt (1967). "The use of derma-fat grafts in the face." Br J Plast Surg 20(2):172-8.

25 Boerner, C. F. (1988). "Allergic response to a porcine collagen corneal shield. Case report." Arch Pphthalmol 106 (2): 171.

Bulleid, N. J. , D. C. John 等 (2000). "Recombinant expression systems for the production of collagen." Biochem
30 Soc Trans 28 (4): 350-3.

Burres, S. (2001). "Soft-tissue augmentation with Fascian." Clin Plast Surg 28 (1): 101-10.

Carpaneda, C. A. (1994). "Collagen alterations in adipose autografts. " *Aesthetic Plast Surg* 18 (1) : 11-5.

Coleman, S. R. (2001). "Structural fat grafts: the ideal filler ?" *Clin Plast Surg* 28 (1) : 111-9.

- 5 Coleman, W. P. , 第三版, N. Lawrence 等 (1993). "Autologous collagen? Lipocytic dermal augmentation. A histopathologic study. " *J Dermatol Surg Oncol* 19 (11): 1032-40.

Davis, P. F. & Z. M. Mackle (1981). "A simple procedure for the separation of insoluble collagen and elastin. " *Anal*
10 *Biochem* 115 (1) : 11-7.

Ford, C. N. , P. A. Staskowski 等 (1995). "Autologous collagen vocal fold injection: a preliminary clinical study." *Laryngoscope* 105 (9 Pt 1) : 944-8.

- Groutz, A. , J. G. Blaivas 等 (2000). "Outcome results of
15 transurethral collagen injection for female stress incontinence: assessment by urinary incontinence score." *J Urol* 164 (6):2006-9.

Haab, F., P. E. Zimmern 等 (1997). "Urinary stress incontinence due to intrinsic sphincteric deficiency:
20 experience with fat and collagen periurethral injections." *J urol* 157 (4):1283-6

Hamel, M. , T. Shaarawy 等 (2001). "Deep sclerectomy with collagen implant in patients with glaucoma and high myopia." *J Cataract Refract Surg* 27 (9):1410-7.

- 25 Hsiung, M. W., P. Woo 等 (2000). "Fat augmentation for glottic insufficiency." *Laryngoscope* 110 (6): 1026-33.

Kamer, F. M. & M. M. Churukian (1984). "Clinical use of injectable collagen. A three-year retrospective review. " *Arch Otolaryngol* 110 (2):93-8.

- 30 Klein, A. W. (2001). "Skin filling. Collagen and other injectables of the skin." *Dermatol Clin* 19 (3): 491-508, ix.

Koufman, J. A. (1991). "Lipoinjection for vocal cord

paralysis. " Laryngoscope 101(12 Pt1):1385

Latoni, J. D., D. M. Marshall 等 (2000). "Overgrowth of fat autotransplanted for correction of localized steroid-induced atrophy." Plast Reconstr Surg 106 (7): 1566-9.

- 5 Lee, P. E. , R. C. Kung 等 (2001). "Periurethral autologous fat injection as treatment for female stress urinary incontinence: a randomized double-blind controlled trial. " J Urol 165 (1) : 153-8.

Liu, S. H. , R. S. Yang 等 (1995). "Collagen in tendon,
10 ligament, and bone healing. A current review. " Clin Orthop (318): 265-78.

Miller, J. J. & J. C. Popp (2002). "Fat hypertrophy after autologous fat transfer." Ophthal Plast Reconstr Surg 18 (3):228-31

- 15 Mullins, R. J. ,C. Richards 等 (1996). "Allergic reactions to oral, surgical and topical bovine collagen. Anaphylactic risk for surgeons." Aust N Z J Ophthalmol 24 (3) :257-60.

Myllyharju, J. (2000). "recombinant collagen trimers from insect cells and yeast." Methods Mol Biol 139: 39-48.

- 20 Nguyen, A. , K. A. Pasyk 等 (1990). "Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. " Plast Reconstr Surg 85 (3):378-86; discussion 387-9.

Ooi, K., M. P. Lacy 等 (1991). "Salt-soluble collagen and
25 elastin in the human aorta and pulmonary artery. " Exp Mol Pathol 55 (1): 25-9.

Purna, S. K. & M. Babu (2000). "Collagen based dressings-a review." Burns 26 (1): 54-62

- Remacle, M., G. Lawson 等 (1999). "Correcting vocal fold
30 immobility by autologous collagen injection for voice rehabilitation. A short-term study." Ann Otol Rhinol laryngol 108 (8): 788-93.

Scherberich, A. & A. Beretz (2000). "Culture of vascular cells in tridimensional (3-D) collagen: a methodological review. " Therapie 55 (1): 34-41.

5 Schwartzmann, M. (2000). "Use of collagen membranes for guided bone regeneration: a review. " Implant Dent 9 (1): 63-6.

Sclafani, A. P. & T. Romo, 3rd (2001). "Collagen, human collagen, and fat: the search for a three-dimensional soft tissue filler." Facial Plast Surg 17 (1): 79-85.

10 Sclafani, A. P. , T. Romo, 3rd 等 (2002). "rejuvenation of the aging lip with an injectable acellular dermal graft (cymetra)." Arch Facial Plast Surg 4 (4):252-7.

Shore, J. W. (2000). "Injectable lyophilized particulate human fascia lata (Fascian) for lip, perioral, and glabellar enhancement." Ophthal Plast Reconstr Surg 16 (1) : 23-7.

15 Silver, F. H. & G. Pins (1992). "Cell growth on collagen: a review of tissue engineering using scaffolds containing extracellular matrix. " J Long Term Eff Med Implants 2 (1) : 67- 80.

20 Speranza, M. L. & G. Valentini (1986). "A simple procedure for the purification of neutral salt soluble type I collagen from skin." Ital J Biochem 35 (1) : 42-8.

25 Takasaki, S. , S. Fujiwara 等 (1995). "Human type VI collagen: purification from human subcutaneous fat tissue and an immunohistochemical study of morphea and systemic sclerosis." J Dermatol 22 (7): 480-5.

Uitto, J. (1971). "Collagen biosynthesis in human skin. A review with emphasis on scleroderma." Ann Clin Res 3 (5): 250-8.

30 Yokoyama, T. , N. Yoshimura 等 (2001). "Persistence and survival of autologous muscle derived cells versus bovine collagen as potential treatment of stress urinary incontinence. " J Urol 165 (1) : 271-6.

只要包括在任何这些组合中的特征与本文上下文、本说明书和本领域普通技术人员知识范围不明显地相互矛盾，则本文描述的任何特征或特征的组合均落入本发明要求保护的范围之内。为了总结本发明的目的，在此描述了本发明的特定方面、有益之处和新的特征。当然，应当理解，不是所有的这些方面、有益之处或特征都将体现在本发明的任意特定实施方式中。本发明的其他优点和方面将在如下的详细描述和权利要求中变得显而易见。

上文描述的实施方式是以实施例的形式提供的，本发明不仅限于这些实施例。本领域熟练技术人员根据上述说明书的描述进行思考，可以预见到多种不相互排斥的已公开的实施例的各种变化和改进。此外，在看到本文所公开的内容的情况下，对于本领域熟练技术人员来说，其他的组合、省略、取代和改进都是显而易见的。因此，本发明不受所公开的实施方式的限制，但应当参考附加的权利要求来进行限定。

本文中引用了许多出版物和专利文献。每一篇引用的出版物和专利文献在此通过参考文献整体并入。

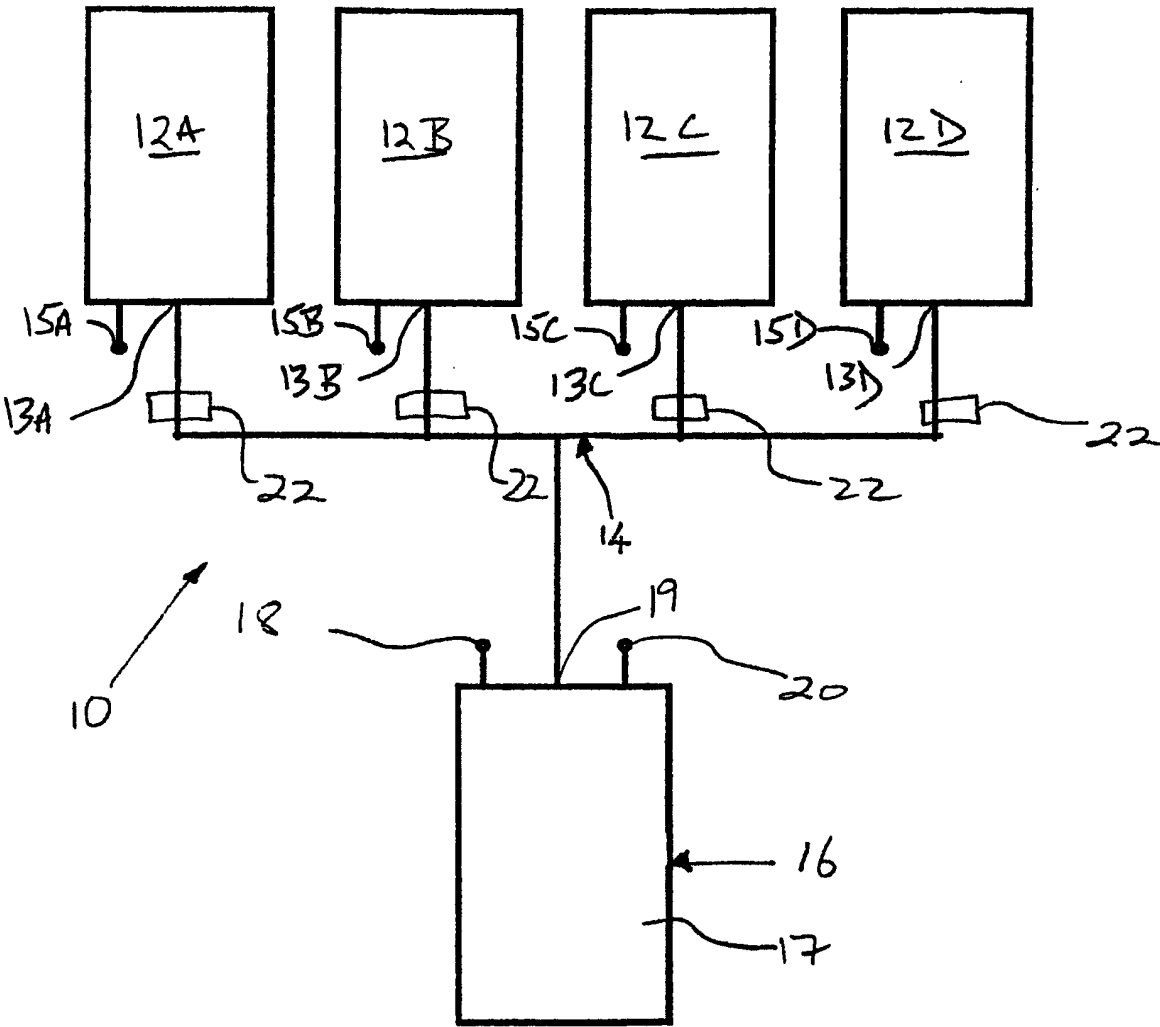


图 1

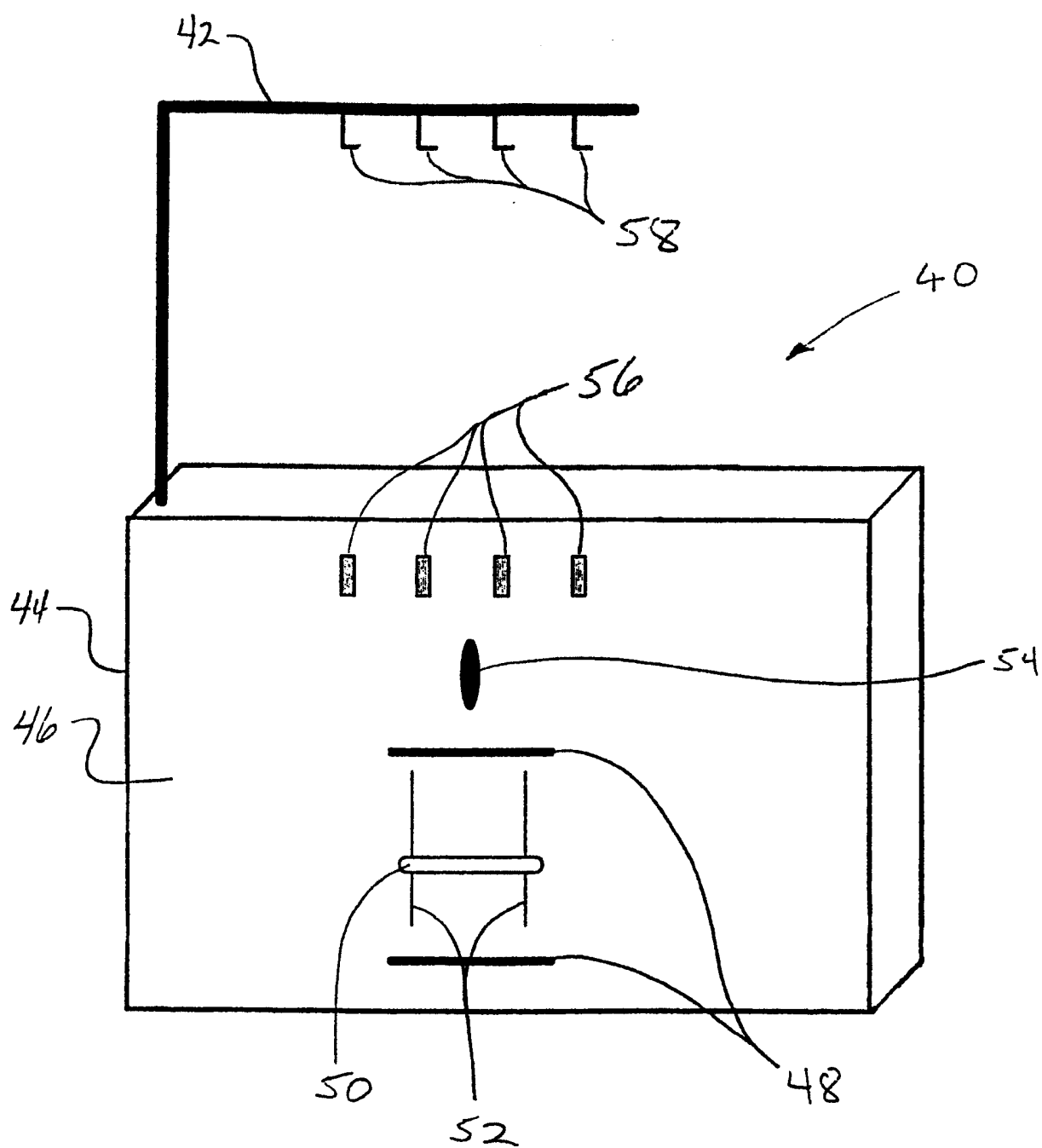


图 2