



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년05월02일  
(11) 등록번호 10-2803665  
(24) 등록일자 2025년04월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61L 15/42 (2006.01) A61F 13/00 (2024.01)  
A61L 15/40 (2006.01) A61L 15/44 (2006.01)  
A61L 15/64 (2006.01) A61L 27/36 (2006.01)  
A61L 27/54 (2006.01) A61L 27/56 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61L 15/425 (2013.01)  
A61F 13/05 (2024.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7038783
- (22) 출원일자(국제) 2020년05월08일  
심사청구일자 2023년05월08일
- (85) 번역문제출일자 2021년11월26일
- (65) 공개번호 10-2022-0018481
- (43) 공개일자 2022년02월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/032022
- (87) 국제공개번호 WO 2020/227601  
국제공개일자 2020년11월12일
- (30) 우선권주장  
62/845,015 2019년05월08일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
JP2016521592 A\*  
JP2018127490 A\*  
KR1020100041027 A\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
머스쿨로스켈레탈 트랜스플랜트 파운데이션  
미국, 뉴저지 08837, 에디슨, 스위트 300, 메이 스트리트 125, 에디슨 코퍼레이트 센터
- (72) 발명자  
니콜스 크리스토퍼 엠  
미국 98465 워싱턴주 타코마 사우스 윌튼 로드 1542  
웍스 아비가일  
미국 08816 뉴저지주 이스트 브런즈윅 폴 스트리트 8  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 김윤기

전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 한인호

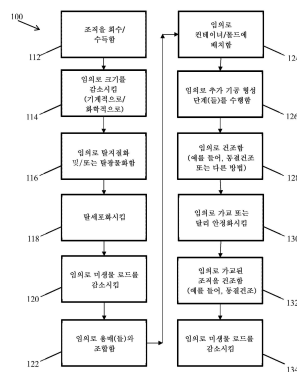
(54) 발명의 명칭 조직 유도된 다공질 매트릭스 및 그의 제조 및 사용 방법

(57) 요약

상처를 치료하기 위한 조직 유래 다공성 매트릭스, 뿐만 아니라 이를 제조 및 사용하는 방법이 제공된다. 조직 유래 다공성 매트릭스는 임의의 여러 유형의 프로세싱된 조직, 예컨대 태반, 진피 등을 포함하고, 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖는다. 조직 유래 매트릭스는 천연 조직으로

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



리모델링되고, 상처 치유 프로세스 동안 매트릭스로의 세포 침윤 및 조직 내성장을 촉진 및 향상시키며, 이에 의해 환자에게 이식될 때 상처 치유 및 조직 리모델링을 향상시키는, 생체적합성 재흡수가 가능한 매트릭스이다. 조직 유래 매트릭스는 반복적으로 치료 부위를 재방문하고 이전에 이식된 매트릭스를 제거할 필요 없이 음압 상처 치유 방법 및 시스템에 유용하다.

(52) CPC특허분류

*A61L 15/40* (2013.01)

*A61L 15/44* (2013.01)

*A61L 15/64* (2013.01)

*A61L 27/3604* (2013.01)

*A61L 27/3612* (2013.01)

*A61L 27/54* (2013.01)

*A61L 27/56* (2013.01)

*A61L 27/58* (2013.01)

*A61L 2430/34* (2013.01)

(72) 발명자

**마단스 엔드류**

미국 07302 뉴저지주 저지 시티 크리스토퍼 콜럼버스  
스 드라이브 205 아파트먼트 1

**우 케빈**

미국 07751 뉴저지주 모건빌 놀란 로드 17

**취나리 에반젤리아**

미국 07076 뉴저지주 스카치 플레인스 블랙버치 로  
드 10

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

재흡수가가능하고 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법이며, 방법은:

- (A) 진피, 지방, 근막 및 이들의 조합으로부터 선택된 포유류 조직의 샘플을 수득하는 단계;
- (D) 상기 포유류 조직을 탈세포화하는 단계;
- (H) 세공을 형성 또는 변형하는 단계;
- (I) 상기 포유류 조직을 건조하여 다공성 구조를 갖는 건조된 포유류 조직을 생성하는 단계;
- (J) 상기 건조된 포유류 조직을 일정 기간 동안 가교 용액과 접촉시켜 적어도 부분적으로 가교시키는 단계, 및 이어서 1회 이상의 행균을 수행하여 과량의 가교 용액을 제거하는 단계, 및 상기 가교된 포유류 조직을 적어도 부분적으로 압축시켜 상기 가교된 포유류 조직으로부터 추가적인 과량의 가교 용액을 분리하는 단계에 의해 상기 건조된 포유류 조직을 안정화시키는 단계이며, 이는 부분적으로 붕괴된 다공성 구조를 갖는 가교된 포유류 조직을 생성하는 단계; 및
- (K) 상기 가교된 포유류 조직을 일정 기간 동안 수성 용매와 접촉시키는 단계, 및 이어서 동결건조에 의해 제2 시간 동안 상기 가교된 포유류 조직을 건조하는 단계에 의해 상기 부분적으로 붕괴된 다공성 구조 중 적어도 일부를 복원하는 단계이며, 이는 안정화시키는 단계 (J)에 의해 생성된 가교된 포유류 조직과 비교하여 증가된 두께 및 증가된 다공도를 갖는 다공성 구조를 갖는 건조되고 가교된 포유류 조직을 생성하는 단계

를 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법.

**청구항 2**

제1항의 방법에 의해 생성되고, 진피, 지방, 근막 및 이들의 조합으로부터 선택된 포유류 조직의 샘플로부터 유래된 3차원 스캐폴드인 탈세포화된 조직을 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스이며, 매트릭스는 재흡수가가능하고, 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖고, 적어도 부분적으로 가교되어 이식 후에 제어된 재흡수 속도를 제공하고 매트릭스를 안정화시키고, 조직 유래 다공성 매트릭스는 가교가 수행된 후에 수성 용매와의 접촉 및 건조가 수행되지 않은 적어도 부분적으로 가교된 포유류 조직과 비교하여 증가된 두께 및 증가된 다공도를 갖는 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 매트릭스가 대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 이식되는 경우, 매트릭스가 적어도 부분적으로 분해되거나, 상처 부위에서 천연 조직으로 부분적으로 리모델링되거나 또는 둘 모두이고, 여기서 매트릭스의 어떠한 부분도 상처와 함께 배치된 후 상처 부위로부터 제거될 필요가 없는 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 4**

제2항 또는 제3항에 있어서, 매트릭스가 동결건조된 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 5**

제4항에 있어서, 매트릭스가 원하는 형상을 갖고, 원하는 형상을 갖는 컨테이너 또는 몰드에서 동결건조된 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 6**

제2항 또는 제3항에 있어서, 대상체의 상처 부위와 근접 또는 접촉하여 이식될 때, 상처 부위로부터 및 매트릭

스를 통한 유체 유동이 음압의 적용 여부에 관계없이 상처 부위에 치유 동안 발생하는 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 7**

제2항 또는 제3항에 있어서, 성장 인자, 세포외 매트릭스 구성성분, 영양소, 생물학적 활성 분자, 비타민, 및 인테그린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 내인성 유익한 성분을 추가로 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 8**

제2항 또는 제3항의 조직 유래 다공성 매트릭스 및 하나 이상의 추가적인 생체적합성 물질을 포함하는 생체적합성 조성물.

**청구항 9**

상처를 치료하기 위한 상처 드레싱이며,

제2항 또는 제3항의 조직 유래 다공성 매트릭스를 포함하는 다공성 구성성분; 및

다공성 구성성분 및 상처 드레싱으로 치료될 상처 부위를 덮도록 크기화 및 형상화된 반투과성 장벽 구성성분을 포함하는 상처 드레싱.

**청구항 10**

제1항에 있어서,

(B) 포유류 조직의 크기를 감소시키는 단계;

(C) 포유류 조직을 탈지질화 또는 탈광물화하는 단계;

(E) 포유류 조직을 소독하는 단계;

(F) 용매를 포유류 조직과 조합하는 단계;

(G) 포유류 조직을 컨테이너 또는 몰드에 배치하는 단계; 및

(L) 가교된 포유류 조직을 소독하는 단계

의 단계들 중 하나 이상을 더 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 조직을 소독하는 단계 (E)가 수행되고, 상기 단계 (E)는 건조하는 단계 (I) 전에 또는 후에 또는 둘 모두에 조직을 멸균하는 것을 포함하는 것인 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법.

**청구항 12**

제10항에 있어서, 용매를 조직과 조합하는 단계 (F)가 건조하는 단계 (I) 전에 수행되고, 용매가 물이고, 여기서 조직 및 물 혼합물이 형성되고, 세공을 형성 또는 변형하는 단계 (H) 및 조직을 건조하는 단계 (I)가 조직 및 물 혼합물을 동결건조함으로써 동시에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법.

**청구항 13**

제2항 또는 제3항에 있어서, 대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 조직 유래 다공성 매트릭스를 이식하는 것을 포함하는 상처를 치료하기 위한 조직 유래 다공성 매트릭스이며, 매트릭스의 탈세포화된 조직은 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖고, 매트릭스는 재흡수가 가능한 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 탈세포화된 조직이 진피, 태반, 지방, 근막 및 이들의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 조직

유형으로부터 유래된 것인 조직 유래 다공성 매트릭스.

**청구항 15**

제10항에 있어서, 조직 유래 다공성 매트릭스를 다른 물질 또는 다른 합성 또는 천연 유래 매트릭스와 혼합, 부착 또는 달리 조합함으로써 제형화하는 단계를 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법.

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2019년 5월 8일에 출원된 미국 가출원 번호 62/845,015의 이익을 주장하며, 그 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 발명의 분야
- [0004] 본 발명은 일반적으로 상처 치료에 유용한 조직 유래 다공성 매트릭스에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 상처 드레싱 또는 이식편으로 유용한 생체적합성 재흡수가능한 매트릭스에 관한 것이며, 이는 공여자 조직으로부터 유래되고 환자에게 이식될 때 상처 치유 및 조직 리모델링을 향상시키기 위한 세공을 갖는다.

**배경 기술**

- [0005] 상처 치료 및 치유는 수세기 동안 연구되어 왔다. 신체의 치유 메커니즘의 이해가 높아짐에 따라 상처 치유를 향상 및 가속화하기 위한 보다 효과적인 기술이 개발되었다. 상처 치유를 향상 및 가속화하기 위해 사용되는 다양한 기술은 하기를 포함한다: 과편, 독소 및 박테리아를 제거하기 위해 상처를 관주 및/또는 변연절제함; 과량의 유체 제거; 국소 및 전신 항생제 및 마취제 공급; 스캐폴드 (예를 들어, 천연, 생물학적, 합성 등)를 상처에 적용하여 새로운 조직 성장을 위한 기질을 제공함; 상처에 세포, 성장 인자 또는 다른 단백질을 제공함; 및 다른 조직 지지 요법, 예컨대 세포, 성장 인자 및 다른 단백질을 상처 부위에 공급함. 이러한 기술의 조합이 종종 상처 치유를 향상시키기 위해 적용된다.
- [0006] 감압 (즉, 음압, 대기압 이하, 저기압 등) 요법은 완전 치유가 느리거나 실패한 연조직 상처의 상처 치유를 촉진 및 향상시키기 위한 성공적인 기술이다. 감압 요법 (때때로 진공 보조 봉합 (또는 "V.A.C.")으로도 지칭됨)은 일반적으로 상처 부위에 치유 및/또는 조직 성장을 촉진하기에 충분한 크기로 및 기간 동안 감압, 즉, 주위 압력보다 낮은 압력의 적용을 포함한다. 상처 부위에 적용되는 감압은 혈액/산소의 관류 및 유체의 유동의 증가, 상처 삼출물의 사출, 및 상처 부위에서 새로운 피하 조직의 형성 및 이를 향한 상피 조직의 이동을 보조하는 것으로 믿어진다. 개방형 격자 스폰지 (예를 들어, 상호연결된 세공을 가짐)와 커플링될 때, 감압 상처 요법 기술은 또한 잘 기술된 상당한 상처 치유 이점과 함께 조직 손실 구역에 거대변형률 및 미세변형률 (및 미세변형)을 둘 모두 부여한다. 이들 유익한 효과는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 상처 주변 조직의 조직 크리프 및 응력 완화 및 조직 확장을 통한 상처 크기의 기계적 감소 (거대변형률), 뿐만 아니라 다수의 유익한 세포 치유 프로세스를 강화 및 상향조절하는 미세변형률 치유 세포에 적용하는 미세변형률. 감압 요법은 단독으로, 또는 전술한 임의의 상처 치료 기술과 조합하여 사용될 수 있다.

- [0007] 감압 요법 시스템 및 방법은 일반적으로 상처 부위 위에 또는 내에 드레싱을 배치한 후, 드레싱을 통해 상처 부위와 유체 소통하는 감압 공급원을 사용하여 상처 부위에 감압을 적용하는 것을 포함한다. 드레싱은 상처 부위 전체에 감압을 분포시켜, 이에 의해 건강한 조직으로부터 상처 부위로의 유체, 상피 조직 및 피하 조직의 유동 및 이동을 촉진하는 매니폴드로서 역할을 한다.
- [0008] 감압 요법을 수행하기에 적합한 드레싱은 일반적으로 적어도 다공성 구성성분 및 반투과성 (즉, 반폐쇄성 또는 불침투성) 장벽 구성성분을 포함하며, 여기서 다공성 구성성분은 부분적으로 또는 완전히 상처 부위와 직접 접촉하여 위치되어 종종 상처 부위를 충전하고, 반투과성 장벽 구성성분은 다공성 구성성분을 포함한 전체 상처 부위를 덮도록 배치된다. 반투과성 장벽 구성성분은 시트-유사 형상을 갖는 경향이 있고, 그의 둘레에 대해 상처 부위에 밀봉식으로 고착된다. 드레싱의 반투과성 장벽 구성성분을 통해 다공성 구성성분 위로 통과하는 도관은 드레싱을 통해 감압 공급원과 상처 부위 사이에 유체/공기 및 압력 소통을 제공한다.
- [0009] 감압 요법을 실행하기 위한 장치 및 방법의 초기 실시양태는 미국 특허 번호 5,636,643 및 5,645,081에 기재되어 있으며, 그 개시내용은 본원에 참조로 완전히 포함된다. 이러한 초기 버전은 생물학적 조직으로 생체내에서 생체재흡수 또는 리모델링이 불가능하거나 부분적으로만 가능한 물질로 만들어진 다공성 구성성분이 있는 드레싱을 사용하였다. 이는 완전 치유 전에 상처 부위로부터 다공성 구성성분의 제거를 필요로 하였다. 또한, 치유 프로세스의 일부로서, 다공성 구성성분을 적어도 부분적으로 침윤하여 제거될 때 새로운 및/또는 건강한 조직이 또한 제거되거나 손상되어, 이에 의해 치유 동안 상처 부위에 추가적인 외상 및 환자에게 통증을 유발하는 조직 내성장이 종종 있었다. 더 크거나 더 깊은 상처 부위의 경우, 다공성 구성성분의 제거 및 신선한 새로운 다공성 구성성분 (예를 들어, 부분적으로 치유된 상처 부위에 더 잘 맞는 더 작은 크기 또는 상이한 형상)으로의 대체가 반복적으로 수행되어, 상처 부위에 계속되는 손상 및 외상을 초래하며, 이에 의해 치유 진행을 잠재적으로 늦추거나 지연시킨다. 또한, 재흡수불가능한 발포체의 사용은 중요한 장기, 신경 또는 혈관 옆에 배치하여 사용될 때 침식의 위험을 갖는다는 것이 확인되었다.
- [0010] 다공성 구성성분의 적어도 일부가 제거될 필요가 없는 새로운 조직 내성장을 위한 스캐폴드를 제공하는 재흡수 가능한 물질을 포함하는 감압 요법을 실행하기 위한 개선된 장치 및 방법이 개발되었다. 여러 이러한 개선된 장치 및 방법은 미국 특허 번호 8,163,974 및 8,197,806에 기재되어 있으며, 그 개시내용이 또한 본원에 참조로 완전히 포함된다.
- [0011] 보다 구체적으로, 미국 특허 번호 8,163,974는 감압 요법과 함께 사용하기 위한 변형된 드레싱을 기재한다. 한 실시양태는 생체재흡수가능한 세포-성장 향상 매트릭스가 그 위에 이식 또는 중첩된, 통상적으로 비-생체재흡수가능한 개방-세포 발포체 패드를 포함하는 드레싱이다. 미국 특허 번호 8,163,974는 생체재흡수가능한 매트릭스에 적합한 여러 생체재흡수가능한 물질을 개시하며, 심지어 특정 실시양태에서, 개방-세포 발포체 패드 및 생체재흡수가능한 매트릭스가 둘 모두 생체재흡수가능한 분지형 중합체로 제조될 수 있다는 것을 개시한다. 또한, 미국 특허 번호 8,163,974는 상처 부위와 접촉하여 위치되고 세포 침윤 및 조직 내성장을 촉진하는 비-생체재흡수가능한 다공성 매니폴드 구성성분 및 생체재흡수가능한 다공성 스캐폴드 구성성분을 포함하는 또 다른 개선된 드레싱을 개시한다. 이 드레싱은 또한 매니폴드와 스캐폴드 구성성분 사이에 위치되고 "방출" 물질로 제조된 중간 방출층을 포함하며, 이는 매니폴드 구성성분으로의 조직 내성장에 대한 장벽으로서 역할을 하고, 수화 시 용해되어, 이에 의해 비-생체재흡수가능한 다공성 매니폴드 구성성분으로부터 매니폴드 구성성분의 분리를 용이하게 한다. 미국 특허 번호 8,163,974에 기재된 드레싱의 임의의 구성성분을 제조하는데 사용하기 위해 개시된 생체재흡수가능한 물질 중 어느 것도 조직이 아니거나 공여자로부터 회수된 조직으로부터 유래되지 않는다. 미국 특허 번호 8,163,974에 기재된 생체재흡수가능한 다공성 스캐폴드 구성성분의 세공은 전형적으로 약 50 내지 500 마이크로미터, 및 더욱 바람직하게는 약 100 내지 400 마이크로미터의 세공 크기를 갖는다. 50 마이크로미터 미만의 세공 크기는 조직 내성장을 억제하거나 방지하는 경향이 있다. 한 실시양태에서, 스캐폴드 내의 세공의 바람직한 평균 세공 크기는 약 100 마이크로미터이다.
- [0012] 미국 특허 번호 8,197,806은 감압 요법과 함께 사용될 때 조직 부위에서 연골 형성을 자극하는 것으로 알려진 변형된 드레싱을 개시한다. 보다 구체적으로, 미국 특허 번호 8,197,806의 드레싱은 감압을 조직 부위에 분포시키기 위한 다공성 매니폴드 구성성분 및 조직 부위에 인접하게 배치하기 위한 다공성 스캐폴드를 갖는 것으로 기재되어 있다. 연골세포 및/또는 시토키인은 또한 조직 부위에 직접적으로 또는 다공성 스캐폴드 구성성분 내에 제공된다. 미국 특허 번호 8,197,806은 매니폴드 및 스캐폴드 물질 중 하나 또는 둘 모두가 생체재흡수가능한 물질로 제조될 수 있고, 또한 스캐폴드 구성성분이 임의의 중합체 가공 기술, 예컨대 용융-방사, 압출 또는 캐스팅을 사용하여 가공된 동종이계이식 물질을 포함한 여러 합성 및 천연 중합체 물질 중 임의의 것으로 제조될 수 있음을 제공한다. 미국 특허 번호 8,197,806에 기재된 드레싱의 생체재흡수가능한 다공성 스캐폴드 구성

성분의 세공은 25 내지 500 마이크로미터, 예컨대 50 내지 250 마이크로미터, 또는 50 내지 150 마이크로미터 범위의 세공 크기를 갖는다.

[0013] 상처 부위를 치료하여 치유를 향상시키고 특히 감압 요법과 함께 사용하는데 유용한 드레싱에 대한 추가 개선은 환자 및 전문가에게 환영받을 것이다. 예를 들어, 개선 및/또는 가속화된 세포 침윤, 증식, 성장 및 활성을 통한 것과 같은 효과적이고 효율적인 상처 치유를 촉진하는 향상된 능력을 갖는 변형된 상처 드레싱이 계속해서 추구되고 있다.

**발명의 내용**

[0014] 발명의 요약

[0015] 본원에 기재되고 고려된 본 발명은 탈세포화된 조직을 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스에 관한 것이며, 여기서 매트릭스는 재흡수가능하고, 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖는다. 매트릭스가 대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 이식될 때, 매트릭스는 적어도 부분적으로 분해되거나, 상처 부위에서 천연 조직으로 부분적으로 리모델링되거나 또는 둘 모두이고, 여기서 매트릭스의 어떠한 부분도 상처와 함께 배치된 후 상처 부위로부터 제거될 필요가 없다. 대상체의 상처 부위와 근접 또는 접촉하여 이식될 때, 상처 부위로부터 및 매트릭스를 통한 유체 유동은 음압의 적용 여부에 관계없이 상처 부위에서 치유 동안 발생한다.

[0016] 일부 실시양태에서, 전술한 조직 유래 다공성 매트릭스 및 하나 이상의 추가적인 생체적합성 물질을 포함하는 생체적합성 조성물이 제공된다.

[0017] 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법이 또한 제공되며, 여기서 매트릭스는 재흡수가능하고, 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 가지며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: (A) 조직의 샘플을 취득하는 단계; (B) 임의로, 조직의 크기를 감소시키는 단계; (C) 임의로, 조직을 탈지질화 또는 탈광물화하는 단계; (D) 조직을 탈세포화하는 단계; (E) 임의로, 조직을 소독하는 단계; (F) 임의로, 용매를 조직과 조합하는 단계; (G) 임의로, 조직을 컨테이너 또는 몰드에 배치하는 단계; (H) 세공을 형성 또는 변형하는 단계; (I) 임의로, 조직을 건조하는 단계; (J) 임의로, 조직을 가교 또는 다른 안정화시키는 단계; (K) 임의로, 가교된 조직을 건조하는 단계; 및 (L) 임의로, 가교된 조직을 소독하는 단계. 방법의 일부 실시양태에서, 조직은 진피, 태반, 지방, 근막 및 이들의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 조직 유형을 포함한다.

[0018] 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법의 일부 실시양태에서, 조직을 소독하는 단계 (E)는 건조 단계 (I) 전에 또는 후에 또는 둘 모두에 조직을 멸균하는 것을 포함한다. 방법의 일부 실시양태에서, 용매를 조직과 조합하는 단계 (F)는 건조 단계 (I) 전에 수행되고, 용매는 물이고, 여기서 조직 및 물 혼합물이 형성되고, 여기서 세공을 형성 또는 변형하는 단계 (H) 및 조직을 건조하는 단계 (I)는 조직 및 물 혼합물을 동결건조함으로써 공동으로 수행된다. 방법의 일부 실시양태에서, 방법은 조직 유래 다공성 매트릭스를 다른 물질 또는 다른 합성 또는 천연 유래 매트릭스와 혼합, 부착 또는 달리 조합함으로써 제형화하는 단계를 추가로 포함한다.

[0019] 조직 유래 다공성 매트릭스를 대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 이식하는 것을 포함하는 상처를 치료하는 방법이 또한 제공되며, 여기서 매트릭스는 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖는 탈세포화된 조직을 포함하고 매트릭스는 재흡수가능하다. 조직 유래 다공성 매트릭스의 일부가 이식 후 일정 기간 동안 재흡수되지 않았을 때, 상처를 치료하는 방법은 후속 절차에서 상처 부위로부터 매트릭스의 재흡수되지 않은 부분의 적어도 일부를 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이식 후 기간은 적어도 약 7일 일 수 있다. 일부 실시양태에서, 탈세포화된 조직은 진피, 태반, 지방, 근막 및 이들의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 조직 유형으로부터 유래된다.

[0020] 전술한 조직 유래 다공성 매트릭스를 포함하는 다공성 구성성분; 및 다공성 구성성분 및 상처 드레싱으로 치료될 상처 부위를 덮도록 크기화 및 형상화된 반투과성 장벽 구성성분을 포함하는 상처 드레싱이 또한 제공된다.

[0021] 전술한 상처 드레싱을 사용하여 상처를 치료하는 또 다른 방법은 하기를 포함한다: 대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 다공성 구성성분을 배치하는 단계; 다공성 구성성분 및 상처를 덮도록 다공성 구성성분 위에 반투과성 장벽 구성성분을 배치하는 단계; 제한된 투과성의 포켓을 생성하기 위해 반투과성 장벽 구성성분을 상처의 둘레 주변의 건강한 조직에 밀봉식으로 고착시키는 단계; 및 포켓에 음압을 적용하고 상처로부터 조직 유래 다공성 매트릭스를 통해 포켓의 밖으로 유체가 유동하도록 유발하는 단계.

**도면의 간단한 설명**

[0022] 본 발명은 첨부된 도면을 참조하여 추가로 설명될 것이며, 여기서:

도 1은 본 발명에 따른 조직 유래 다공성 매트릭스를 제조하기 위한 예시적인 방법에서 기본 단계를 나타내는 순서도이고;

도 2는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법의 여러 가능한 대안적인 예시적인 실시양태를 나타내는 순서도이고;

도 3은 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스의 유체 유통(flow-through)을 평가하기 위해 사용되는 시험 챔버 기구의 개략도이고;

도 4는 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스의 유체 유통을 평가하기 위해 사용된 도 3의 시험 챔버를 포함하는 음압 상처 치료 (NPTW) 시스템의 개략도이고;

도 5는 본 발명에 따른 태반 조직 (태반 바이오스폰지)을 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스를 제조하기 위한 예시적인 방법의 기본 단계를 나타내는 순서도이고;

도 6은 본 발명에 따른 진피 조직 (진피 바이오스폰지)을 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스를 제조하기 위한 예시적인 방법의 기본 단계를 나타내는 순서도이고;

도 7은 본 발명에 따른 진피 조직 (진피 바이오스폰지)을 포함하는 조직 유래 다공성 매트릭스를 제조하기 위한 예시적인 방법의 단계를 나타내는 순서도이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0023] 발명의 상세한 설명

[0024] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 상세한 설명이 본원에 개시되어 있다. 개시된 실시양태는 단지 다양한 형태로 구현될 수 있는 본 발명을 예시하는 것임을 이해해야 한다. 또한, 본 발명의 다양한 실시양태와 관련하여 주어진 각각의 예는 예시를 위한 것이며 제한적인 것이 아니다. 또한, 수치가 반드시 일정한 비율로 표시되는 것은 아니며, 일부 특징은 특정 구성성분의 세부사항을 나타내기 위해 과장될 수 있다. 또한, 도면에 표시된 임의의 측정, 사양 등은 예시를 위한 것이며 제한적인 것이 아니다. 따라서, 본원에 개시된 구체적인 구조적 및 기능적 세부사항은 제한적으로 해석되어서는 안되며, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 본 발명을 다양하게 채용할 수 있도록 교시하기 위한 예시에 불과하다.

[0025] 본원에 기재되고 고려된 조직 유래 다공성 매트릭스 (이하 "바이오스폰지"로도 지칭됨)는 다공성이므로 상처 부위로부터 과량의 유체의 탈출을 허용하면서 조직 내성장을 위한 3차원 스캐폴드를 제공하기 때문에 상처 부위에 적용될 때 상처 치유를 향상시킨다. 본원에 기재되고 고려된 다공성 매트릭스는 세공의 격자를 가지며 압축성이다. 이러한 압축성 성질 및 세공의 격자는 각각 거대변형률 및 미세변형률을 부여할 것이다. 이들 힘은 상처 치유의 속도 및 품질을 개선하는 것으로 공지되어 있으며, 그러므로 조직 유래 다공성 매트릭스의 급속 드노보 조직 내성장에 기여할 것으로 예상된다. 이들은 조직 유래이기 때문에, 다공성 매트릭스는 또한 생체적합성이고 천연 조직으로 리모델링되며, 이는 상처 부위에 초기 배치 후 이를 제거 또는 대체할 필요가 없음을 의미하므로, 치유 프로세스 동안 새로이 형성된 조직에 대한 손상, 뿐만 아니라 추가 조작, 통증, 환자에 대한 시술 위험을 방지한다. 이전에 이식된 매트릭스를 제거하기 위해 치료 부위를 반복적으로 재방문할 필요성을 감소시키는 것은 환자를 위한 요법의 보다 편리하고 편안하고 더 적은 자원 (예를 들어, 입원환자 또는 외래환자 간호, 가정 건강 관리, 다른 건강 또는 개인 간병 제공자 등) 집중 과정을 제공할 것이다. 조직 유래 다공성 매트릭스는 무세포이므로, 면역원성이 결여되고 고도로 생체적합성이다. 또한, 조직 유래 다공성 매트릭스는 원인에 관계없이 이전에 조직 손실 및/또는 파괴를 경험한 대상체에게 필요한 벌크, 지지, 장벽 기능 및 패딩을 제공할 것이다. 전술한 특징 및 이점은 또한 조직 유래 다공성 매트릭스를 감압 상처 요법용 드레싱으로 유용하게 만든다.

[0026] 조직 유래 다공성 매트릭스는 또한 중합체 (천연 또는 합성), 세라믹, 금속, 자연 유래 또는 동물 유래 생체적합물질을 포함하나 이에 제한되지는 않는 생체적합성 비-조직 물질을 소량 또는 상당한 백분율로, 보다 구체적으로 20 내지 80% 포함할 수 있다. 조직 유래 다공성 매트릭스는 또한 내인성 유익한 성분, 예컨대 성장 인자, 세포외 매트릭스 구성성분, 영양소, 생물학적 활성 분자, 비타민, 또는 인테그린을 함유할 수 있으며, 이는 세

포외 매트릭스 생성 및 침착, 세포 침윤 및 증식, 병원체 장벽 및 감소, 및 혈관신생을 제한 없이 포함하는 다양한 조직 치유 및 리모델링 메커니즘을 촉진한다. 또한, 조직 유래 다공성 매트릭스는 세포, 성장 인자, 세포 외 매트릭스 구성성분, 영양소, 인테그린, 항미생물제, 항감염제, 정균제, 또는 다른 성분, 예컨대 세포 이동, 부착, 증식, 성장 및 활성을 촉진하는 것 (이에 제한되지는 않음)을 제한 없이 포함하는 외인성 성분 또는 물질로 코팅되거나, 주입되거나, 또는 달리 포함할 수 있다. 예를 들어, 제한 없이, 일부 성장 인자는 세포 동원을 촉진하고 염증을 조정하는 등으로 공지되어 있고/거나 믿어진다. 조직 유래 다공성 매트릭스를 제조하고 이를 상처 치료에 사용하는 방법이 또한 본원에 하기 기재되어 있다.

[0027] 전술한 조직 유래 다공성 매트릭스는 감압 요법 상처 치료를 수행하기에 유용한 특정 실시양태로서 이하에서 상세히 설명될 것이지만, 이러한 실시양태 및 용도에 제한되지 않는다. 오히려, 통상의 기술자는 조직 유래 다공성 매트릭스가 상처 부위에 적용되는 드레싱, 이식편, 스캐폴드 등으로 유용하고 감압 요법의 부재하에서도 상처 치유를 촉진 및 향상시킬 것임을 인식할 것이다. 이러한 용도는 일반적으로 본원에 기재되고 고려된 바와 같은 조직 유래 다공성 매트릭스를 대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 배치 (즉, 이식)하는 것을 포함하며, 여기서 매트릭스는 재흡수가능하고, 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하는 복수의 상호연결된 세공을 갖는다. 조직 유래 다공성 매트릭스의 이러한 이식은 음압의 적용 여부에 관계없이 상처 부위에서 치유 동안 상처 부위로부터 및 매트릭스를 통한 유체 유동을 허용하고 촉진한다. 또한, 본원에 기재되고 고려된 조직 유래 다공성 매트릭스는 지지, 복원, 재생, 향상 또는 대체가 필요한 대상체의 신체의 임의의 구역에서 조직을 복원, 향상, 추가 또는 대체하기 위한 대상체의 치료에 유용하다.

[0028] 일부 실시양태에서, 조직 유래 다공성 매트릭스의 적어도 일부는 이식 후 일정 기간 동안 (예를 들어, 적어도 약 7일, 또는 적어도 약 14, 또는 적어도 약 21일, 또는 적어도 약 6주, 또는 적어도 약 10주, 또는 최대 약 3개월 등) 상처 부위에서 재흡수될 것이다. 일부 실시양태에서, 조직 유래 다공성 매트릭스의 일부가 이식 후 일정 기간 동안 재흡수되지 않았을 때 (상처 부위를 치료하는 의료 전문가의 재량으로), 이러한 재흡수되지 않은 부분의 적어도 일부 (즉, 일부 또는 전부)는 예를 들어, 상처 또는 자가이식편에서 천연 내인성 조직의 변연 절제와 유사한 후속 변연절제 절차에서 상처 부위로부터 제거될 수 있다. 또한, 일부 실시양태에서 이러한 재흡수되지 않은 부분은 상처 부위로부터 제거되지 않을 수 있고 오히려 상처 부위에서 이식된 상태로 남아있을 것이다. 이식된 조직 유래 다공성 매트릭스의 재흡수되지 않은 부분을 제거할지 여부는 관련 기술분야의 통상의 기술자 (예를 들어, 의료 전문가)의 능력 및 재량에 속한다. 일부 실시양태에서, 관련 기술분야의 통상의 기술자 (예를 들어, 의료 전문가)의 재량으로, 재흡수되지 않은 조직 유래 다공성 매트릭스의 적어도 일부는 매트릭스의 임의의 부분 (또는 전혀)이 재흡수되었는지 여부에 관계없이 이식 후 임의의 시간에 (즉, 이식 후 약 7보다 훨씬 더 일찍) 상처 부위로부터 제거될 수 있다.

[0029] 또한, 일부 실시양태에서, 조직 유래 다공성 매트릭스를 사용한 대상체의 상처 (또는 상처 부위)의 치료는 대상체에서 제1 조직 유래 다공성 매트릭스의 제1 이식 (상처와 접촉 또는 근접하여 배치), 및 제1 이식 후 일정 기간 동안 제2 조직 유래 다공성 매트릭스의 제2 이식 (상처와 접촉 또는 근접하여 배치)을 포함할 수 있다. 사실, 본원에 기재되고 고려된 매트릭스를 사용하는 방법의 일부 실시양태는 대상체의 상처에 또는 그 근처에서 다중 이러한 매트릭스의 다중 이식을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조직 유래 다공성 매트릭스를 사용한 상처의 치료는 대상체에서 2개 이상의 조직 유래 다공성 매트릭스의 제1 이식 (대상체의 상처 부위와 접촉 또는 근접하여 배치)을 포함할 수 있다. 2개 이상의 매트릭스는 공동으로, 순차적으로, 또는 둘의 조합으로 이식될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자가 쉽게 이해할 수 있는 바와 같이, 본원에서 기재되고 고려된 조직 유래 다공성 매트릭스의 전술한 용도의 추가 변경 및 조합이 가능하고 유용하다. 본원에서 사용된 바와 같이, 이식 후 기간에 적용되는 용어 "약"은 18시간을 의미한다.

[0030] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "상처" 및 "상처 부위"는 예컨대 외상, 상해, 질환, 감염, 외과적 시술 (예를 들어, 절제 등) 등에 의해 조직이 손상, 손실 또는 퇴행된 신체 내부 또는 위의 장소 또는 위치를 의미한다. 여러 질환, 외상, 상해 및 외과적 시술은 신체 조직의 손상, 손실 또는 퇴행 중 하나 이상을 초래하여, 이에 의해 외부, 내부 또는 둘 모두에 위치될 수 있는 상처 부위의 형성을 초래한다. 예를 들어, 연조직 종양 및 종괴의 외과적 제거는 종종 별크 조직의 손실을 초래한다. 다른 외과적 및 미용적 시술은 다양한 정도로 조직 손상, 손실 및/또는 퇴행을 야기하여 기능성 뿐만 아니라 미적 외관을 손상시킬 수 있다. 조직 손상, 손실 또는 퇴행은 또한 우발적인 및 의도적인 것을 포함하여 외상, 예컨대 둔기 충격 및 무기 상해로 인해 발생할 수 있다. 최종적으로, 급성 및 만성 감염 및 소모성 질환을 포함한 여러 질환은 신체 조직에 상당한 손상, 손실 및/또는 퇴행을 야기할 수 있다. 임의의 및 모든 이러한 상황 및 사건에 의해 신체 조직이 손상, 손실 및/또는 퇴행된 임의의 장소는 "상처" 및 "상처 부위"의 의미 내에 제한 없이 포함되는 것으로 의도된다.

- [0031] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "치유" 및 "상처 치유"는 손상, 손실 또는 퇴행된 조직이 새로운 조직에 의해 복구 및/또는 대체되는 프로세스를 의미한다. 상처 치유는 현재 세 가지 일반적인 단계: 염증, 증식 및 성숙을 포함하는 것으로 이해된다. 이들 단계는 순차적으로 발생하는 경향이 있지만, 또한 종종 서로 겹친다. 지혈 및 염증을 포함한 초기 "염증" 단계는 대부분 종종 조직 상해 또는 손상에 대한 신체의 반응이다. 그 다음에는 상피화, 혈관신생, 육아 조직 형성, 및 콜라겐 침착이 전형적으로 발생하는 제2 단계가 이어진다. 마지막 단계는 성숙 및 조직 리모델링으로 이루어지는 경향이 있다. 3단계 상처 치유 프로세스는 실제로 전술한 설명보다 더 복잡하지만, 완전 치유가 일어날 때 표재성, 심부 및 만성 상처를 포함한 대부분의 상처에 대해 일반적으로 정확하다. 상처 치유는 허혈, 부종 및 감염과 같은 국부적 인자, 뿐만 아니라 예를 들어, 당뇨병, 연령, 갑상선기능저하증, 영양실조 및 비만을 포함한 전신적 인자에 의해 영향을 받고 종종 복잡해진다.
- [0032] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "혈관신생"은 전형적으로 내피 세포의 이동 및 새로운 모세혈관의 형성으로 시작되는 새로운 혈관의 발생 및 발달 (즉, 성장)을 의미한다. 혈관신생은 새로운 및 기존 조직 성장 및 확대의 증가하는 대사 요구사항을 충족시켜 이러한 조직이 산소, 영양소 및 노폐물 배출을 제공하기 위한 적절한 혈액 공급을 갖도록 하는데 필요하다. 이 프로세스는 신체 조직의 치유, 성장, 발달 및 유지에 필수적이다.
- [0033] 상처 치유의 속도 제한 단계는 종종 혈관신생이다. 상처 치유에서, 혈관신생은 내피 세포 이동에 의해 달성되고, 모세혈관이 상처 층으로 발아하는 것은 상처 부위에서 조직의 재생에 중요하다. 이러한 모세혈관에 의해 공급되는 영양소에 의해 상처 부위에서 육아 및 조직 형성이 가능하게 되고 지지된다. 따라서 상처 혈관신생의 손상은 만성 비-치유 상처로 이어질 수 있다.
- [0034] 혈관신생 표현형의 발현은 순차적인 단계에서 발생하는 수많은 세포 및 분자 사건을 요구하는 복잡한 프로세스이다. 이들 활동 중 일부는 내피 세포 증식, 주변 기저막의 분해, 결합 조직 기질을 통한 내피 세포의 이동, 관형 구조의 형성, 및 내피-라이닝된 튜브의 새로운 혈관 (혈관개통)으로의 성숙을 포함한다. 혈관신생은 양성 및 음성 조절인자에 의해 제어된다. 내피 세포 이외에, 조직 복구와 연관된 세포, 예컨대 혈소판, 단핵구 및 대식세포는 혈관신생을 개시하는 손상된 부위로 혈관신생 성장 인자, 예컨대 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)를 방출한다.
- [0035] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "스캐폴드"는 세포의 성장 및/또는 조직의 형성을 향상 또는 촉진하기 위해 사용되는 성분 또는 구조를 지칭한다. 상처 치료 및 치유의 본 문맥에서, 스캐폴드는 전형적으로 세포 성장을 위한 주형을 제공하는 3차원 다공성 구조이다.
- [0036] 다공성 매트릭스를 설명하기 위해 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "조직 유래"는 이들이 하나 이상의 공여자로부터 조직을 회수하고 회수된 조직을 처리하여 혈액, 파편, 바이오버든, 대부분의 내인성 세포 및 세포 물질을 제거함으로써 생성된 프로세싱된 조직을 포함함을 의미하며, 따라서 이들은 본질적으로 면역원성이 결여되어 있지만, 세포에 의한 침윤 및 새로운 조직에 의한 내성장이 가능한 3차원 스캐폴드를 제공하기에 충분한 조직의 초기에 존재하는 자연적으로 형성된 물리적 구조의 비율을 유지한다. "대부분의 내인성 세포 및 세포 물질"은 프로세싱 전에 회수된 조직에 초기에 존재하는 세포 DNA 물질의 총 중량을 기준으로 약 50 중량% (wt%) 초과인 세포 DNA 물질을 의미한다. 회수된 조직은 자가유전 (즉, 의도된 수용자와 동일한 개체로부터 회수됨), 동종이계 (즉, 의도된 수용자와 동일한 종의 상이한 개체로부터 회수됨), 또는 이종 (즉, 의도된 수용자와 상이한 종의 개체로부터 회수됨)일 수 있다. 또한, 회수된 조직은 지방, 근막, 진피, 뼈, 연골/半月판, 근육, 힘줄/인대, 태반 (양막, 융모막, 양막융모막, 와튼 젤리 및 태줄 포함), 태반 디스크, 및 이들의 조합일 수 있다.
- [0037] 본원에서 사용된 바와 같이, 조직 유래 매트릭스를 설명하기 위해 사용된 용어 "다공성"은 매트릭스가 복수의 상호연결된 세공 (즉, 작은 구멍, 간극, 세포, 공동 또는 개구)을 가지며, 그 중 적어도 일부는 유체가 이를 통해 유동할 수 있게 하고 따라서 매트릭스를 통해서도 유동할 수 있도록 서로 유체 소통한다는 것을 의미한다. 세공은 또한 상처 치유 프로세스 동안 매트릭스로의 세포 침윤 및 조직 내성장을 촉진 및 향상시킨다. 세공의 크기, 형상 또는 상호연결성은 균일하거나 무작위이거나 패턴화될 수 있고, 하나 이상의 프로세스, 예컨대 제한 없이 새로운 조직 형성, 조직 리모델링, 세포 침윤 및 증식, 혈관신생, 및 숙주 통합을 향상 또는 제어하도록 변형될 수 있다.
- [0038] 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 쉽게 이해되고 실행가능한 바와 같이, 세공의 크기 및 형상, 뿐만 아니라 다공도를 변화시키는 것은 조직 유래 다공성 매트릭스를 통해 통과하는 유체의 유동 특징의 변화 및 제어를 생성할 수 있다. 일반적으로, 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스는 약 75 마이크로미터 내지 약 1500

마이크로미터, 예컨대 약 400 마이크로미터 내지 약 600 마이크로미터의 평균 세공 크기를 갖는다.

[0039] 일반적으로, 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스는 약 50% 내지 약 99%, 예컨대 약 80% 내지 약 99%, 또는 약 80% 내지 약 90%의 다공도를 갖는다. 이러한 상대적으로 높은 다공도는 새로운 조직 형성을 유도하기 위해 침윤성 세포의 부착을 허용할 뿐만 아니라 원하는 조직 유형의 형성을 촉진하기 위해 미리 원하는 유형의 세포로 세공이 시딩되도록 허용해야 한다.

[0040] 용어 "재흡수가능한," "흡수가능한" 및 "생체흡수가능한" 및 이들의 문법적 변형은 매트릭스 또는 이식편을 설명하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용되고, 이는 매트릭스 또는 이식편, 예를 들어, 이들이 만들어지는 물질이 살아있는 조직에 인접하거나 접촉하거나 이에 이식된 것과 같은 생물학적 환경에 이식 또는 배치 후 제한된 기간 내에 분해, 리모델 또는 둘 모두의 조합할 것임을 의미하며, 이는 매트릭스 또는 이식편이 이식 또는 배치 후 제거될 필요가 없음을 의미한다. 해당 제한된 기간 후, 매트릭스 또는 이식편은 더 이상 그의 초기 형태로 존재하는 것으로 인식가능하지 않다. 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편은 임의의 다양한 메커니즘에 의해 재흡수될 수 있다. 예를 들어, 제한 없이, 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편은 세포 활성의 작용을 통해, 예컨대 재흡수가능한 재생 매트릭스를 분해하는 대식세포의 작용을 통해 재흡수될 수 있다. 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편은 기계적, 화학적, 대사적 및/또는 효소적 분해에 의해 분해된 후 재흡수될 수 있다. 재생 매트릭스의 분해 생성물이 신체에 의해 재흡수 및/또는 신체로부터 배설될 수 있는 한, 재흡수성의 정밀한 메커니즘은 중요하지 않다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 특정 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편이 살아있는 조직에 배치 또는 이식된 후 존재하는 제한된 기간은 예를 들어 제한 없이, 몇 시간, 며칠, 몇 주, 몇 달 또는 몇 년일 수 있다. 전형적으로, 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 이러한 제한된 기간은 생물학적 환경 및 인접한 조직의 유형, 이식되는 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편의 크기 또는 질량, 생물학적 환경에 존재하는 조건 (온도, 압력, pH 등), 뿐만 아니라 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편의 크기, 질량, 밀도 및 다른 특징을 포함한 다양한 인자에 의해 결정될 것이다. 예를 들어, 제한 없이, 이식 후 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편이 존재할 수 있는 제한된 기간은 생물학적 환경에 배치될 때 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180일 또는 그 이상, 또는 그 사이의 임의의 값일 수 있다. 예를 들어, 실제 적용 파라미터로서, 이식 후 재흡수가능한 매트릭스 또는 이식편이 존재해야 하는 제한된 기간은 상처 부위에 추가 드레싱을 배치할 필요성을 최소화하기 위해 (즉, 드레싱 교체를 최소화함) 적어도 약 4-7일인 것으로 믿어진다.

[0041] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "감압"은 일반적으로 치료를 받는 조직 부위에 존재하는 주위 압력보다 낮은 압력을 의미한다. 대부분의 경우, 이러한 감압은 환자가 위치한 대기압보다 낮을 것이며, 저기압, 대기압 이하 및 음압을 제한 없이 포함한다. 유사하게, 감압은 조직 부위에서 조직과 연관된 정수압보다 낮을 수 있다. 용어 "진공" 및 "음압"이 상처 부위에 적용되는 압력을 설명하기 위해 본원에서 사용될 수 있지만, 적용되는 실제 압력 감소는 일반적으로 완전한 진공과 연관된 압력 감소보다 유의하게 낮을 수 있다. 감압은 초기에 상처 부위 및 주변 조직에 유체 유동을 생성할 수 있다. 상처 부위 주변의 정수압이 미리 결정된 원하는 감압에 접근함에 따라, 유체 유동이 감소 또는 본질적으로 중단될 수 있으며, 그 결과 감압이 일정 기간 동안 유지된다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에 언급된 압력의 값은 게이지 압력이다. 유사하게, 감압의 증가에 대한 언급은 전형적으로 절대 압력의 감소를 지칭하는 반면, 감압의 감소는 전형적으로 절대 압력의 증가를 지칭한다.

[0042] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "감압 공급원"은 약 -0.1 mm Hg 내지 약 -500 mm Hg의 감압을 생성할 수 있는 임의의 장치, 예컨대 진공 펌프, 벽 흡입 등을 지칭하며, 상처 치료를 위한 감압 요법을 수행하는데 사용하기에 적합한 상처 드레싱에 유체 연결하기 위한 가요성 도관을 포함한다. 감압 공급원은 연속적으로 또는 간헐적으로 또는 주기적으로 작동하여 상처 부위에 적용 및 비-적용의 기간이 교대로 있을 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 감압 공급원은 또한 상처 부위에 감압 치료의 적용을 더욱 용이하게 하는 센서, 프로세싱 유닛, 경보 표시기, 메모리, 데이터베이스, 소프트웨어, 디스플레이 유닛, 및 사용자 인터페이스를 포함할 수 있다. 또한, 감압 공급원은 상처 부위의 유체의 전달을 위해 추가 도관을 연결하도록 구성된 추가 특징 및 구성성분, 예컨대, 제한 없이, 하나 이상의 추가 입구, 출구, 또는 둘 모두 (예컨대, 상처 부위의 관주 또는 점적주입, 또는 감압 공급원의 플러싱 및 클리닝을 위해)를 가질 수 있다. 유체는 상처 부위 (예를 들어, 행균, 세정, 관류) 또는 감압 공급원 (예를 들어, 행균, 세정, 소독)으로 유체를 전달하는 의도된 목적을 성취하는데 적합한 임의의 유체일 수 있다.

[0043] 감압 요법을 포함하나 이에 제한되지는 않는 상처 치료 방법에 적합한 드레싱의 구성성분을 설명하기 위해 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "반투과성"은 포켓에 적용된 음압이 상처 또는 조직 부위 및 주변 조직으로부터 유

체의 제어된 제거를 용이하게 하고 촉진하도록 상처 또는 드레싱 (즉, 수증기가 통과할 수 있음)으로 치료될 다른 부위에서 충분히 기밀한 포켓 (예를 들어, 상처/다공성 구성성분 복합체를 함유함)을 제공 또는 형성할 수 있는 일반적으로 시트-유사 형상을 갖는 구성성분을 의미한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "반투과성"의 특징은 상대적 불침투성 (즉, 비다공성이거나 낮은 수분 증기 투과를 갖음) 뿐만 아니라 반폐쇄성 (즉, 수분 또는 증기 투과성)을 모두 포함한다. 이러한 드레싱의 반투과성 구성성분은 그의 둘레에 대해 상처 부위에 밀봉식으로 고착되어, 이에 의해 본원에 기재된 바와 같이 감압의 제어된 적용을 위해 상처 부위에 제한된 투과성의 포켓을 제공한다. 그러므로, 드레싱의 불침투성 구성성분이 절대적으로 모든 유체 및 다른 물질의 통과를 방지할 필요는 없지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 이 구성성분의 투과성이 낮을수록, 상처 부위에서의 감압의 적용이 더 효과적이다.

[0044] 감압 요법과 함께 사용하기에 적합한 드레싱의 구성성분을 설명하기 위해 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "불침투성"은 일반적으로 시트-유사 형상을 갖고 적어도 액체 유체 및 임의로 또한 기체의 이를 통한 투과가 본질적으로 금지되도록 적어도 오직 반투과성인 구성성분을 의미한다.

[0045] 감압 요법 치료 기술을 수행하기에 적합한 드레싱의 실시양태의 하기 설명은 드레싱이 조직 유래 다공성 매트릭스 및 불침투성인 제2 구성성분을 포함하는 것으로 설명한다. 그럼에도 불구하고, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이러한 드레싱을 위한 제2 구성성분이 반투과성, 예를 들어 제한 없이 반폐쇄성일 수 있고, 투과성 (즉, 반투과성, 불침투성, 반폐쇄성 등)의 정도가 감압의 적용 여부에 관계없이 이러한 드레싱을 사용하여 치료될 상처 또는 다른 조직 부위의 유형, 및 이러한 치료의 원하는 결과에 기초하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정가능함을 쉽게 이해할 것이다.

[0046] 감압 요법을 수행하기에 적합한 드레싱은 전형적으로 적어도 다공성 구성성분 및 불침투성 구성성분을 포함하며, 여기서 다공성 구성성분은 부분적으로 또는 완전히 상처 부위와 직접 접촉하여 배치되고 (종종 상처 부위를 충전함), 불침투성 구성성분은 다공성 구성성분 (및 때때로 또한 상처 부위 주변의 정상 조직의 일부 포함)을 포함한 전체 상처 부위를 덮도록 배치된다. 이러한 드레싱의 불침투성 구성성분은 전형적으로 상처 부위 및 다공성 구성성분을 완전히 덮도록 상처 부위의 가장자리를 넘어 연장하도록 크기화된 시트-유사 형상 (이것이 필수는 아님)을 갖는다. 불침투성 구성성분은 예를 들어 제한 없이 생체적합성 접착제를 사용하여 상처 둘레 또는 원주 주위의 건강한 조직에 밀봉식으로 고착된다. 이러한 배열은 상처 부위 및 그에 인접한 건강한 조직에 감압의 제어된 적용을 위해 상처 부위에 제한되고 한정된 투과성의 영역 또는 포켓을 제공한다. 바람직하게는, 불침투성 구성성분은 가요성이고 수증기의 확산을 허용하지만 (증기-폐색을 방지함) 기밀한 봉입을 제공하는 불투과성 성분으로 제조된다.

[0047] 감압 공급원은 불침투성 구성성분을 통해 (또는 아래로) 통과하고 적어도 부분적으로 드레싱의 다공성 구성성분 위에 또는 이와 접촉 또는 근접하여 통과하는 도관을 통해 드레싱 및 상처 부위와 유체 소통하여 고착된다. 통상의 기술자에 의해 인식되는 바와 같이, 도관의 통과를 허용하고 상처 부위와 외부 환경 (및/또는 음압 공급원) 사이의 유체 소통을 허용하기 위해 불침투성 장벽 구성성분을 통해 개구가 제공될 수 있지만, 도관은 또한 불침투성 구성성분 및 도관 및 상처 부위에 밀봉식으로 고착된 불침투성 구성성분 아래를 통과할 수 있으며, 도관은 도관 주위의 유체 유동 또는 누수를 최소화하는 방식으로 상처 부위에 근접한 대상체에 대해 유지된다. 조직 부위에 적용되는 감압의 양 및 성질은 전형적으로 적용, 반투과성 구성성분의 투과성, 및 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 친숙한 다른 인자에 따라 달라질 것이나, 감압은 전형적으로 -5 mm Hg 내지 -500 mm Hg 및 보다 전형적으로 -50 mm Hg 내지 -200 mm Hg일 것이다. 감압 치료에 사용되는 특정 프로토콜은 상처 부위의 위치, 감압 드레싱, 및 사용 중인 임의의 약리학적 작용제에 의존한다. 또한, 감압은 시간 경과에 따라 압력을 진동시키도록 실질적으로 연속적 또는 주기적 적용일 수 있다.

[0048] 일반적으로, 드레싱은 상처 부위 위에 또는 내부에 배치 전에 다른 추가적인 임의의 구성성분 여부에 관계없이 함께 이미 어셈블리, 연결 또는 일체로 형성된 다공성 및 반투과성 구성성분을 가질 수 있다. 대안적으로, 다공성, 반투과성 및 다른 임의의 구성성분 중 하나 이상은 서로 분리되고, 상처 부위 위에 또는 내부에 순차적으로 배치될 수 있으며, 반투과성 구성성분은 상처 부위 및 상처 부위와 직접 접촉하는 다공성 구성성분을 완전히 덮는다. 드레싱은 종종 상처 부위 위에 또는 내부에 맞도록 크기화 및 형상화된다. 일부 실시양태에서, 드레싱은 치료될 상처 또는 조직 부위의 둘레 또는 구역을 넘어 연장하도록 크기화 및 형상화될 수 있다. 드레싱의 조직 유래 다공성 구성성분은 또한 초기 적용 시 또는 필요에 따라 치료 구역에 부피 또는 벌크를 추가하기 위한 후속 적용 시 층에 연속적으로 적용될 수 있다.

[0049] 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스는 상처 드레싱의 다공성 구성성분으로서 사용하기에 적합하고, 전체

다공성 구성성분 또는 이의 부분을 포함할 수 있다. 또한, 다공성 구성성분은 각각 하나 이상의 조직 유래 다공성 매트릭스를 포함하는 하나 이상의 부분, 섹션 또는 층을 포함할 수 있으며, 여기서 조직 유래 매트릭스는 동일한 또는 상이한 유형의 회수된 조직으로부터 생성된 것일 수 있다.

[0050] 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스는 만성, 급성, 외상성, 아급성, 열개 상처, 부분 두께 화상, 궤양, 욕창, 터널링 상처, 노출된 누공 및 피관을 제한 없이 포함하는 다양한 유형의 상처를 치료 (즉, 음압 기구 및 기술의 유무에 관계없이 내부 및 근처에 배치)하는데 유용하고 유익하다. 본원에 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스를 사용하여 유리하게 치료될 수 있는 추가 유형의 상처는 외과적 상처, 예컨대 제한 없이 공여자 부위, 모스 수술 후 (post-Moh's surgery), 레이저 수술 후, 및 족료학 (예를 들어, 개입, 절단), 압 또는 종양 제거 또는 적출술, 및 배액 상처를 포함한다.

[0051] 상기 기재된 바와 같이, 조직 유래 다공성 매트릭스는 실질적으로 무세포이며, 이는 대부분의 내인성 세포 및 세포 물질 (즉, 원래 존재하는 세포 DNA 물질의 50 wt% 초과)이 프로세싱 동안 회수된 조직으로부터 제거되었음을 의미한다. 따라서, 세포 침윤 및 새로운 조직 내성장을 위한 재흡수가능한 3차원 스캐폴드를 제공하는 것 외에도, 조직 유래 다공성 매트릭스는 면역원성이 결여되어 있어 고도로 생체적합성이다. 일부 실시양태에서, 제한 없이, 원래 존재하는 세포 DNA 물질의 약 80 wt% 초과, 또는 약 90 wt% 초과, 또는 약 95 wt% 초과가 조직 유래 다공성 매트릭스로부터 제거되었으며, 이는 매트릭스가 이들의 원래 존재하는 세포 DNA 물질의 약 20 wt% 미만, 또는 약 10 wt% 미만, 또는 약 5 wt% 미만을 함유함을 의미한다.

[0052] 또한, 하기 상세히 기재될 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법은 전형적으로 세포외 매트릭스 생성 및 침착, 세포 침윤 및 증식, 및 혈관신생을 제한 없이 포함하는 다양한 조직 치유 및 리모델링 메커니즘을 촉진하는 충분한 유익한 내인성 성분을 보유하는 매트릭스를 생성한다. 음압으로 상처 부위를 치료하는데 사용될 때 혈관신생을 촉진하고 새로운 조직 형성을 지원하는 조직 유래 다공성 매트릭스의 능력은 이전에 이용가능한 음압 상처 드레싱으로 이전에 볼 수 없었고 실현되지 못한 이점으로 믿어진다. 조정된 세공 크기, 다공도 및 분해 속도를 통해 세포 침윤 및 조직 재생을 위해 최적화되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 능력은 이전에 이용가능한 표준 상처 드레싱으로 이전에 볼 수 없었고 실현되지 못한 이점으로 믿어진다. 또한, 조직 유래 다공성 매트릭스는 외인성 세포, 성장 인자, 세포외 매트릭스 구성성분, 영양소, 인테그린, 또는 다른 성분, 예컨대 세포 이동, 부착, 증식, 성장 및 활동을 추가로 촉진하는 물질 (이에 제한되지는 않음)로 코팅되거나 주입되거나, 그렇지 않으면 이를 포함할 수 있다.

[0053] 조직 유래 다공성 매트릭스는 또한 생물학적으로 활성일 수 있거나 또한 그렇지 않을 수 있는 하나 이상의 외인성 생체적합성 물질을 포함하거나 이와 조합될 수 있다. 이러한 외인성 물질은 중합체 (천연 및 합성), 세라믹, 금속, 다른 생체적합물질, 및 이들의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 조직 유래 다공성 매트릭스를 하나 이상의 이러한 추가 물질과 조합하는 것은 예를 들어 제한 없이, 혼합, 블렌딩, 적층, 코팅, 및 달리 접촉 중 하나 이상에 의해 수행될 수 있고, 균질한 조합을 형성하거나 형성하지 않을 수 있다. 하나 이상의 외인성 물질과의 이러한 조합은 임의의 여러 이유로, 예컨대 제한 없이 취급 특징 또는 다른 특성 (예를 들어, 유동성, 수동 형상화성, 성형성, 형상 체류 또는 기억의 정도, 점착성, 뭉침, 유동성, 다공도 등)의 변형, 또는 기능성 (수용자에 대한 접착, 수용자 내부 또는 위의 체류, 외인성 조직-형성 잠재성 추가, 감염 예방, pH 변형, 질량 및/또는 이용가능한 표면적 증가, 다른 생물활성 등)의 향상 또는 추가의 이유로 수행될 수 있다.

[0054] 조직 유래 다공성 매트릭스와의 조합에 적합한 세라믹은 생체적합성이며, 현재 및 미래에 공지된 것들, 예컨대 제한 없이 산화알루미늄, 산화칼슘, 알루미늄노실리케이트, 수산화인회석, 인산삼칼슘, 폴리테트라플루오로 에틸렌 (PTFE) - 탄소 복합체, 산화지르코늄, 탄화규소, 질화티타늄, 질화붕소, 카바이드 및 복합체 및 이들의 조합을 포함한다. 조직 유래 다공성 매트릭스와의 조합에 적합한 금속은 또한 생체적합성이며, 현재 및 미래에 공지된 것들, 예컨대 제한 없이 티타늄, 크롬, 탄탈럼, 지르코늄, 마그네슘, 스테인리스강 및 합금 및 이들의 조합을 포함한다.

[0055] 적합한 천연 및 합성 중합체는 생체적합성이며, 현재 및 미래에 공지된 것들을 포함한다. 중합체는 생분해성일 수 있고, 이식물 및 조직 유래 다공성 매트릭스의 다양한 바람직한 분해 및 재흡수 속도를 갖는 이식편을 제공하도록 선택된 비율로 조직 유래 다공성 매트릭스를 갖는 조성물에 존재할 수 있다. 적합한 합성 중합체는 생체흡수가능한 중합체, 예컨대 폴리락트산 (PLA), 폴리글리콜산 (PGA), 폴리락트산-코글리콜리드산 (PLGA), 및 다른 폴리히드록시산, 폴리카프로락톤, 폴리카르보네이트, 폴리아미드, 폴리무수물, 합성 폴리아미노산, 폴리오르토 에스테르, 폴리아세탈, 분해성 폴리시아노아크릴레이트 및 분해성 폴리우레탄, 뿐만 아니라 폴리락티드-코글리콜리드 (PLGA) 중합체 또는 폴리에틸렌 글리콜-PLGA 공중합체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 천연

중합체의 예는 단백질, 예컨대 알부민, 콜라겐, 피브린 및 폴리아미노산, 올리고당 (예를 들어, 키토산), 및 당류 (예를 들어, 알기네이트, 히알루론산 및 그의 유도체, 헤파린, 및 당 단위의 다른 자연 발생 생분해성 중합체)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 중합체성 블렌드는 또한 제한 없이 폴리카르보네이트, 폴리푸마레이트 및 카프로락톤을 포함할 수 있다.

- [0056] 이제 도 1을 참조하여, 상기 기재된 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법이 이제 설명될 것이다. 공여자로부터 조직을 회수하는 것을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있는 세포의 매트릭스를 갖는 조직의 샘플을 수득한 후 (112), 조직 유래 다공성 매트릭스를 생산 (제조)하는 방법 (100)은 조직에서 실질적으로 모든 내인성 세포 및 세포 물질을 감소 또는 제거하기 위해 조직을 탈세포화 (118)시키는 것을 필요로 한다. 조직을 탈세포화 (118)시키는 기술 또는 방법은 특별히 제한되지 않으며, 조직의 세포의 매트릭스의 구조를 완전히 파괴하지 않는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 임의의 기술을 포함할 수 있다.
- [0057] 임의로 및 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 탈세포화 (118) 전에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 기계적 또는 화학적 기술에 의해 조직의 크기를 감소시키는 단계 (112)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0058] 임의로 및 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 탈세포화 (118) 전에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 각각 조직의 지질 또는 광물의 양을 감소시키거나 실질적으로 모두 제거하기 위해 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 기술을 사용하여 조직을 탈지질화 또는 탈광물화하는 단계 (116)를 추가로 포함할 수 있다. 조직을 탈지질화 또는 탈광물화하는 단계 (116)가 수행되는지 여부는 일반적으로 치료될 조직의 유형 (예를 들어, 각각 지방 또는 뼈) 및 조직 유래 다공성 매트릭스의 궁극적인 의도된 용도에 따라 결정될 것이다.
- [0059] 임의로 및 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 탈세포화 (118) 후에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 조직으로부터 미생물, 박테리아 및 다른 감염성 성분의 양을 감소시키거나 실질적으로 모두 제거하기 위해 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 기술에 의해 소독하는 단계 (즉, 조직의 미생물 로드를 감소시키는 단계) (120)를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 기술은 제한 없이 화학적, 기계적, 방사선 노출 등 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다.
- [0060] 또한, 방법 (100)은 생성된 조직 유래 다공성 매트릭스를 재현탁하거나, 고르게 분포시키거나, 이의 부피를 증가시키거나 또는 달리 이의 취급 및 다른 특징을 변경하기 위해 조직을 하나 이상의 용매, 예컨대 제한 없이 물, 염수, 포스페이이트 완충 용액 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 염 용액 또는 생체적합성 용매와 조합하는 단계 (122)를 추가로 포함할 수 있다. 조직을 하나 이상의 용매와 조합하는 단계는 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 탈세포화 (118) 후에 수행된다. 임의로 및 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 조직을 하나 이상의 용매와 조합하는 단계 (122) 후에 수행되는 방법 (100)은 조직, 또는 조직 및 용매의 조합 (및 임의로 추가 내인성 물질)을 컨테이너 또는 몰드에 배치하는 단계 (124)를 추가로 포함할 수 있다. 컨테이너 또는 몰드는 조합된 조직 및 용매가 컨테이너 또는 몰드에 배치되고 건조 단계 (128) 및/또는 가교 단계 (130)를 거친 후와 같이 조직에 부여되는 원하는 또는 미리 선택된 형상을 가질 수 있지만 필수는 아니다.
- [0061] 탈세포화 (118) 후, 조직은 이미 복수의 세공을 가질 수 있음에 유의한다. 임의로 및 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 탈세포화 (118) 후에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 하나 이상의 세공 형성 단계를 수행하는 단계 (126)를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 세공 형성 단계 (126)는 본원에 기재된 기술을 제한 없이 포함하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 임의의 기술에 의해 수행될 수 있다. 세공 형성 단계 (126)는 세공을 형성 (즉, 생성)하거나 조직에 존재하는 세공을 변형하기 위해 수행될 수 있고, 1회 초과 수행될 수 있다.
- [0062] 하기에 더 상세히 기재되는 바와 같이, 임의로 및 전형적으로 탈세포화 (118) 후에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 조직으로부터 수분 (예를 들어, 물)의 양을 감소시키거나 실질적으로 모두 제거하기 위해 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 임의의 기술에 의해 조직을 건조하는 단계 (128)를 추가로 포함할 수 있다. 방법 (100)은 종종 이러한 건조 단계 (128)를 포함할 것이고, 이는 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 이하 추가로 상세히 기재되는 바와 같이 동결건조에 의해 수행된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 동결건조(lyophilizing) (동결건조(lyophilization)로도 지칭됨)는 전형적으로 2 단계 - 동결 단계 및 건조 단계를 포함한다. 조직을 건조하는 단계 (128)는 조직 (용매 및/또는 추가 외인성 물질의 유무에 관계없이)이 컨테이너 또는 몰드에 있는 동안 수행될 수 있고, 조직을 원하는 형상 (즉, 컨테이너 또는 몰드의 형상)으로 형상화하는 것을 성취할 수 있다. 또 다른 건조하는 기술은 예

를 들어 제한 없이 진공 하에 열의 적용을 포함하는 탈수열 프로세스를 포함할 수 있다.

- [0063] 임의로 및 전형적으로 (반드시 그렇지는 않음) 건조 (128) 후에 수행되는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 이하에서 기재된 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 기술을 사용하여 조직 유래 다공성 매트릭스를 가교 또는 달리 안정화시키는 단계 (130)를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인식되는 바와 같이, 다른 안정화 기술은 제한 없이 가열 및 조사 (예를 들어, 감마선, 자외선 에너지, 전자빔 ("e-빔") 방사선 등에 대한 노출)을 포함한다. 가교 또는 다른 안정화 단계 (130)가 수행되는지 여부는 일반적으로 치료될 조직의 유형 및 조직 유래 다공성 매트릭스의 궁극적인 의도된 용도에 따라 결정될 것이다. 가교되거나 달리 안정화된 조직 유래 다공성 매트릭스는 임의로 추가 건조 단계 (132) (예컨대 제한 없이 동결건조에 의해)를 거칠 수 있다. 또한, 가교되거나 달리 안정화된 조직 유래 다공성 매트릭스는 임의로 예를 들어 (반드시 그렇지는 않음) 추가 건조 단계 (132) 후에 미생물 로드를 감소시키는 추가 단계 (134)를 거칠 수 있다. 예를 들어, 제한 없이, 가교 단계 (130)가 수행된 후, 및 추가 건조 단계 (132)가 수행된 후, 최종 멸균화 단계 (즉, 미생물 로드의 또 다른 감소, 또는 소독 단계) (134)는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 임의의 기술에 의해 수행될 수 있다.
- [0064] 동결건조는 세공의 형성 (예를 들어, 단계 126)을 성취하기 위해, 건조 (즉, 단계 128)를 성취하기 위해, 추가의 또는 부가적인 건조 (예를 들어, 단계 132)를 성취하기 위해, 또는 이러한 단계 126, 128, 132의 조합으로 수행될 수 있다. 그러므로, 일부 실시양태에서 세공을 형성하는 단계 (126)는 동결건조에 의한 건조 단계 (128)와 동일하거나 이와 공동으로 수행될 수 있다. 이론에 제한되지 않고, 특정 파라미터 내에서 동결건조를 수행하는 것은 이제 기재되는 바와 같이 일관되고 제어가능한 방식으로 세공을 형성하는 것으로 믿어진다.
- [0065] 예를 들어, 동결건조 전에, 조직을 용매와 조합하는 단계 (122)는 물 (또는 또 다른 수성 용매)을 조직과 첨가 (조합)하여 총 조직 및 물 혼합물 100 부를 기준으로 약 1:99 내지 약 99:1의 조직 대 물의 비율을 갖는 조직 및 물 혼합물을 형성하는 단계를 포함할 수 있다. 이러한 "과량의" 물은 동결건조의 동결 단계 동안 조직에서 물 결정의 형성을 촉진한 후, 동결건조의 건조 단계 동안 제거되어, 동결건조된 조직에 세공 (즉, 빈 공간)을 남긴다. 일부 실시양태에서 바이오스폰지를 제조하도록 프로세싱될 조직에 세공을 형성하기 위해 동결건조가 수행되는 경우, 조직 대 물의 비율은 일반적으로 약 1:99 내지 약 60:40, 또는 그 사이의 임의의 비율 또는 값, 예컨대 약 1:99 내지 50:50, 또는 약 1:99 내지 40:60, 또는 약 5:95 내지 약 60:40, 또는 약 10:90 내지 약 60:40, 또는 약 10:90 내지 약 50:50일 수 있다.
- [0066] 동결건조 전에 조직과 조합된 물의 양 (즉, 조직 대 물의 비율)은 통상의 기술자에 의해 결정가능한 바와 같이 조직 유래 다공성 매트릭스 (바이오스폰지)를 제조하는데 사용되는 조직의 유형에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어 제한 없이, 사용되는 조직 유형이 태반인 경우, 조직 대 물의 비율은 약 1:99만큼 낮을 수 있다. 예를 들어 제한 없이, 조직 유형이 진피인 경우, 조직 대 물의 비율은 약 1:99 내지 약 40:60, 또는 그 사이의 임의의 비율 또는 값, 예컨대 약 10:90 내지 약 40:60, 또는 약 10:90 내지 약 30:70, 또는 약 15:85 내지 약 30:70일 수 있다.
- [0067] 일부 실시양태에서 바이오스폰지를 제조하도록 프로세싱될 조직에 세공을 형성하기 위해 동결건조가 수행되는 경우, 동결건조 동안 (즉, 그의 동결 단계 동안) 동결 속도는 전형적으로 약 0.1 °C/분 내지 약 2 °C/분의 범위 또는 그 사이의 임의의 범위 또는 값이어야 한다. 예를 들어 제한 없이, 동결건조 동안 동결 속도는 약 0.1 °C/분 내지 약 2 °C/분, 예컨대 약 0.1 °C/분 내지 약 1 °C/분, 또는 약 0.02 °C/분 내지 약 0.5 °C/분, 약 0.3 °C/분 내지 약 0.4 °C/분일 수 있다.
- [0068] 일부 실시양태에서 바이오스폰지를 제조하도록 프로세싱될 조직에 세공을 형성하기 위해 동결건조가 수행되는 경우, 동결건조의 건조 단계에 대한 건조 시간은 전형적으로 약 720분 (0.5일) 내지 약 10,080분 (7일), 또는 그 사이의 임의의 범위 또는 값, 예컨대 약 1440분 (1일) 내지 약 10,080분 (7일), 또는 약 4320분 (3일) 내지 약 8640분 (6일), 약 7200분 (5일) 내지 약 8640분 (6일)의 범위 내에 있어야 한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 건조 시간은 건조될 바이오스폰지의 치수에 따라 7일보다 훨씬 길 수 있다.
- [0069] 도 2는 다양한 순서로 상기 기재된 단계 중 여러 단계를 사용한 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (200)의 여러 가능한 대안적인 실시양태를 제공한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 자명한 것들 뿐만 아니라 이들 실시양태 (200) 모두는 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법을 수행하기 위한 본 개시내용의 범위 내에 있다.
- [0070] 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100)은 하나 이상의 포장 단계 (표시되지 않음)를 추가로 포함할 수

있다. 방법 (100)은 또한 하나 이상의 조합 또는 제형화 단계 (표시되지 않음)를 포함할 수 있으며, 이에 의해 조직 유래 다공성 매트릭스는 세포, 성장 인자, 다른 성분 (예를 들어, 항생제, 항미생물, 제약상 유효한 화합물, 부형제, 담체 등), 다른 유형의 합성 또는 천연 유래 매트릭스 (예를 들어, 뼈 유래 매트릭스 또는 합성 용해가능한, 재흡수가능한 매트릭스 등과 조합된 지방 유래 다공성 매트릭스), 및 다른 유형의 물질 (예를 들어, 재흡수가능한 모놀리식 또는 메쉬 스캐폴드 등)을 제한 없이 포함하는 다른 물질과 혼합, 부착 또는 달리 조합된다.

[0071] 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 담체는 생물학적으로 비활성 또는 불활성일 수 있다. 담체는 예를 들어, 조직 유래 다공성 매트릭스의 조직-형성 잠재성을 향상시키는 방식으로 생물학적으로 활성일 수 있거나, 담체는 조직 유래 다공성 매트릭스의 조직-형성 잠재성과 비관련, 상보적 또는 보충적일 수 있는 또 다른 생물학적 활성, 특성 또는 효과를 제공 또는 유도할 수 있다.

[0072] 적합한 생체적합성 담체는 자연 발생이거나, 이로부터 유래되거나, 합성이거나, 이러한 물질의 조합일 수 있다. 일반적으로, 적합한 생체적합성 담체는 예를 들어, 제한 없이, 완충 용액, 글리세롤, 히알루로네이트, 폴리에틸렌 글리콜, 스테아레이트, 셀룰로스-유래된 물질 (예를 들어, 키토산, 알기네이트, 히드록시프로필 셀룰로스 (HPC), 카르복시메틸 셀룰로스 (CMC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 (HPMC) 등), 및 이들의 조합을 포함한다. 조직 유래 다공성 매트릭스와 함께 사용하기에 특히 적합한 생체적합성 담체는 히알루로네이트, 글리세롤 및 완충 용액을 제한 없이 포함한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 담체는 히알루론산나트륨을 포함한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 담체는 히알루론산나트륨 및 완충된 염수 용액을 포함한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 담체는 글리세롤을 포함한다.

[0073] 일부 실시양태에서, 담체는 등장성 용액, 염화나트륨 용액, 젖산 링거 용액, 포스페이스트-완충된 염수 용액 (PBS), 혈소판 풍부 혈장 (PRP), 골수 흡인물 (BMA), 및 히알루론산 (HA) 또는 이의 유도체, 예컨대 히알루론산나트륨 중 적어도 하나를 포함한다. 실시양태에서, 담체는 약 0.1% 내지 약 1% 농도의 염화나트륨 용액이다. 일부 이러한 실시양태에서, 염화나트륨 용액은 약 0.9%의 농도이다. 일부 실시양태에서, 담체는 히알루론산나트륨 및 수용액의 혼합물이다. 일부 실시양태에서, 히알루론산나트륨은 약  $5.0 \times 10^3$  내지 약  $3.0 \times 10^6$  달톤, 예컨대 약  $6.0 \times 10^5$  내지 약  $3.0 \times 10^6$  달톤의 분자량을 갖고, 수용액과 혼합되어 약 1000 센티포아즈 내지 약 275,000 센티포아즈, 예컨대 약 6,000 내지 약 275,000 센티포아즈 범위의 점도를 갖는 매트릭스-담체 혼합물을 형성한다. 일부 실시양태에서, 히알루론산나트륨을 포함하는 담체의 수용액은 예를 들어 제한 없이, 물, 염수, 포스페이스트 완충 용액 (PBS), 등장성 염수 등 중 하나 이상이다.

[0074] 일부 실시양태에서, 담체는 트롬빈을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 피브리원을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 글리세린을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 젤라틴을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 콜라겐을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 레시틴을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 당을 포함한다. 일부 실시양태에서, 당은 다당류를 포함한다. 일부 실시양태에서 담체는 2개 이상의 담체 구성성분의 조합을 포함한다.

[0075] 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되고 실행가능한 바와 같이, 방법 (100)의 하나 이상의 단계가 방법 (100)의 또 다른 단계 "이전" 또는 "이후" 수행되는 것으로 본원에 기재되어 있는 경우, 이러한 하나 이상의 단계는 다른 단계가 이러한 하나 이상의 단계와 상기 또 다른 단계 사이에서 수행될 수 있도록 상기 또 다른 단계 직전 또는 직후에 수행될 수 있지만 반드시 그럴 필요는 없다. 또한, 방법 (100, 200)은 적어도 조직의 샘플을 수득하는 단계 (112) 및 조직을 탈세포화하는 단계 (118)를 포함해야 하지만, 상기 기재된 "임의의" 단계는 각각 수행될 수 있거나, 특정 실시양태로부터 생략될 수 있다. 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법 (100, 200)은 전술한 수득 및 탈세포화 단계 (112, 118)에 추가하여, 상기 기재된 임의의 단계 (114, 116, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134)의 임의의 조합을 포함할 수 있고, 처리 단계 (114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134) 중 임의의 하나 이상은 임의의 순서로 수행될 수 있고 1회 초과 수행될 수 있다.

[0076] 공여자로부터 회수된 조직 (즉, "회수된 조직")은 정의된 치수, 다공도, 기계적 특성 및 제어된 재흡수 속도의 조직 유래 다공성 매트릭스를 생성하기 위해 물리적 및 화학적 방법의 조합을 사용하여 프로세싱된다. 방법은 탈세포화 및 임의로 미생물/바이러스 로드의 감소를 위한 프로세스 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 최종 "건조" 생성물을 제공하기 위해 부분적 또는 완전한 건조 또는 탈수를 추가로 포함할 수 있다. 보다 구체적으로, 최종 "건조" 조직 유래 다공성 매트릭스는 조직 유래 다공성 매트릭스의 총 중량을 기준으로 약 20 wt% 미만의 물/수분, 예컨대 약 15 wt% 미만, 또는 약 10 wt% 미만, 또는 약 8 wt% 미만, 또는 약 6 wt% 미만, 또는 약 5 wt% 미만의 물/수분을 함유한다. 일부 실시양태에서, 방법은 건조/탈수를 포함하지 않고, 조

직 유래 다공성 매트릭스는 포장, 저장 및 사용을 통해 수화 상태로 유지되어, 사용 시에 재수화될 필요가 없다. 부분적으로 건조되거나 건조되지 않은 조직 유래 다공성 매트릭스는 조직 유래 다공성 매트릭스의 총 중량을 기준으로 약 20 wt% 초과, 예컨대 약 25 wt% 초과, 또는 약 30 wt% 초과, 또는 약 35 wt% 초과를 함유한다.

[0077] 조직 유래 다공성 매트릭스는 가교될 수 있고, 일부 실시양태에서, 이러한 가교된 매트릭스는 조직 유래 다공성 매트릭스의 총 중량을 기준으로 약 20 wt% 초과, 예컨대 약 25 wt% 초과, 또는 약 30 wt% 초과, 또는 약 35 wt% 초과를 함유한다. 가교된 조직 유래 다공성 매트릭스는 다른 실시양태에서 조직 유래 다공성 매트릭스의 총 중량을 기준으로 약 20 wt% 미만, 예컨대 약 15 wt% 미만, 또는 약 10 wt% 미만, 또는 약 8 wt% 미만, 또는 약 6 wt% 미만, 또는 약 5 wt% 미만의 물/수분을 함유하는 최종 "건조" 생성물로서 제공될 수 있다.

[0078] 제한하고자 하는 것은 아니지만, 수분 포화 조직 유래 다공성 매트릭스가 그의 원래의 비압축 두께의 적어도 50%로 압축될 때, 약 2 킬로파스칼 (kPa) 내지 약 20kPa 범위의 압축력 편향 (CFD)을 갖는 조직 유래 다공성 매트릭스가 전문가 (예를 들어, 내과 의사, 외과 의사, 간호사, 의료 보조원 등)에게 가장 친숙하고 유용할 것으로 믿어진다. 예를 들어, 다공성 매트릭스를 제조하는데 사용되는 회수된 조직이 진피인 경우, 약 2 내지 약 10 kPa의 CFD가 전형적으로 허용 가능할 것이나, 회수된 조직이 태반 조직인 경우, 최대 약 20 kPa의 CFD가 허용 가능할 가능성이 높을 것이다.

[0079] 상처 치유를 향상시키기 위해 사용될 때 상기 언급된 이점 중 일부를 최대화하기 위해, 상처 부위에 배치되고 약 -50 mm Hg 내지 약 -200 mm Hg 범위의 감압에 적용받을 때, 조직 유래 다공성 매트릭스는 최소 약 96시간 동안 원래의 질량 및 다공성 구조의 적어도 25%를 유지해야 한다고 믿어진다.

[0080] 바이오스폰지의 재료는 지방, 진피, 태반 조직, 근막, 뼈, 연골, 근육 또는 지방/근막 또는 지방/진피/근막의 복합체, 또는 이중 공급원으로부터의 복합체를 포함하나 이에 제한되지는 않는 유형의 탈세포화된 조직으로부터 수득된 화학적으로 가공된, 기계적으로 감소된 또는 무손상 세포의 매트릭스 (ECM)로부터 유래될 수 있다. 탈세포화는 하기 기술 중 하나 또는 조합을 제한 없이 사용하여 달성될 수 있다: 고도로 산성인 용액, 고도로 염기성인 용액, 고장성 용액, 저장성 용액, 알코올, 세제, 및 물리적 방법, 예컨대 압력 및 순환 동결-해동.

[0081] 이러한 물질은 또한 하기 기술 중 하나 또는 조합을 제한 없이 사용하여 달성될 수 있는 미생물/바이러스 로드 감소 (예를 들어, 멸균화) 단계를 거칠 수 있다: 화학적 멸균제, 에틸렌 옥시드와의 접촉, 감마 조사, 전자빔 조사, 초임계 이산화탄소와의 접촉, 열에 대한 노출, 고도로 산성인 용액과의 접촉, 또는 고도로 염기성인 용액과의 접촉. 예를 들어, 제한 없이, 본원에 기재된 방법 단계 중 임의의 단계 이전 또는 이후에 수행될 수 있지만 제한 없이 다른 모든 프로세싱 단계가 완료된 후와 같이 실제적인 만큼 많은 이러한 단계 후에 수행될 때 가장 효과적인 것으로 예상되는 하나 이상의 멸균화 단계. 일부 실시양태에서, 화학적 멸균제가 사용되지 않고, 오히려 전자빔, 감마 방사선 또는 열 중 하나 이상을 조직 유래 다공성 매트릭스에 적용함으로써만 사용된다. 일부 실시양태에서, 화학적 멸균제 및 다른 기술이 모두 적용된다.

[0082] 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법은 임의로 또한 현재 또는 미래에 공지된 세공 형성 기술 중 하나 또는 조합에 의해 매트릭스에서 복수의 세공 (즉, 다공성 구조)을 형성하거나 복수의 기존 세공을 변형하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 제한 없이, 세공은 하기 기술 중 하나 또는 조합에 의해 조직 유래 다공성 매트릭스에서 형성 또는 변형될 수 있다: 동결 (제어된 또는 비제어된 속도); 수용액과 다양한 비율로 혼합하거나 혼합하지 않고 개방형 몰드 또는 제거가능한 격자-유사 구조 주위의 동결-건조 (즉, 동결건조); 포로젠 침출; 기체 발포; 3D 프린팅; 전기분무; 및 제거가능한 격자-유사 구조 주위의 공기 건조.

[0083] 일부 실시양태에서, 가교는 열 가교, 하기 언급된 다양한 가교제를 사용한 용액 또는 증기 가교 방법, 탈수열 (진공 하에 열 처리) 가교, 자외선 (UV) 조사, 전자빔 조사, 리보플라빈 또는 아스코르브산 유무에 관계없이 감마 조사를 포함한 다양한 광-가교 방법, 글루타르알데히드 (GA)에 대한 노출, 아미노산 리신의 존재 여부에 관계없이 N-히드록시술포숙신이미드 (NHS)가 있거나 없는 1-에틸-3-[3-디메틸아미노프로필] 카르보디이미드 (EDC)에 대한 노출, 제니핀 또는 다른 천연 유래 가교제에 대한 노출, 주로 프로안토시아닌 (PA)으로 구성된 포도씨 추출물에 대한 노출, 아실 아지드, 예컨대 히드라진 또는 디페닐포스포릴아지드 (DPPA)에 대한 노출, 헥사메틸렌 디이소시아네이트 (HMDIC)에 대한 노출을 포함하나 이에 제한되지는 않는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 수단에 의해, 바이오스폰지의 안정성을 유지하고 일단 상처 부위에 적용된 바이오스폰지의 재흡수 비율을 제어하기 위해 매트릭스 상에서 수행될 수 있다.

[0084] 일부 실시양태에서, 가교는 균일하지 않고, 다공성 구조는 가교되어 구조 단면 전체에 걸쳐 가교 정도의 구배를

수득할 수 있으며, 이는 다양한 정도의 안정성 및 콜라겐의 재흡수를 생성한다.

- [0085] 한 실시양태에서, 바이오스폰지는 화학적으로/물리적으로 결합된 다양한 다공성 정도의 ECM 스폰지의 2개 이상의 층으로 구성된다.
- [0086] 일부 실시양태에서, 바이오스폰지는 또한 직경이 약 0.5 내지 약 2.0 밀리미터 (mm), 예컨대 제한 없이 약 0.5 내지 약 1.5 mm인 횡방향 채널이고 가교 전에 또는 후에 도입될 수 있는 스폰지의 표면 전체에 걸쳐 고르게 분산된 거대세공을 가질 수 있다.
- [0087] 실시예
- [0088] 하기 설명, 순서도 및 표는 인간 태반 및 인간 진피를 포함하는 특정 회수된 조직 유형으로부터의 조직 유래 다공성 매트릭스의 제조 방법의 예시적인 실시양태를 제공한다.
- [0089] 특정화를 위한 시험 방법
- [0090] 하기 설명은 각 실시양태 (즉, 태반 및 진피)에 대한 바이오스폰지 시험 매트릭스 표에서 하기 제공된 특정화 데이터 및 정보를 생성하는데 사용된 각 시험 방법에 대한 설명을 제공한다.
- [0091] 압축 편향력 시험 (ASTM D3574 기반)
- [0092] 1. 스폰지의 높이를 측정한다.
- [0093] 2. 스폰지의 길이 및 폭, 또는 직경을 측정한다.
- [0094] 3. 스폰지가 완전히 젖고 포화될 때까지, 과량의 유체가 스폰지 밖으로 누수되기 시작할 때, 시뮬레이션된 만성 상처 유체 (sCWF) [pH 8-8.5로 적정된 50% TrisHCl + 50% FBS, 2% w/v 펩톤 + 40mg/L 엘라스타제]를 천천히 첨가한다.
- [0095] 4. 포화된 스폰지를 시험 스테이지 위에 배치한다.
- [0096] 5. 이전 측정에 기초하여 스폰지 높이의 50%를 계산한다.
- [0097] 6. 평평한 시험 플레이트를 갖는 포스 게이지를 사용하여, 시험 스테이지와 시험 플레이트 사이의 간격이 계산된 50% 높이와 동등해질 때까지 플레이트를 아래쪽으로 이동시켜, 스폰지를 그의 원래의 높이의 50%로 압축한다.
- [0098] 7. 시험 동안 포스 게이지에 의해 기록된 피크 힘 (N)을 필기한다.
- [0099] 8. 피크 힘을 스폰지의 상단 면의 표면적으로 나눈 후, 공지된 변환 값 당  $N/mm^2$  단위를 kPa 단위로 변환한다.
- [0100] 무한정 압축 시험
- [0101] 1. 샘플을 1.5 x 1.5 x 2 cm의 균일한 크기로 절단하였다.
- [0102] 2. 샘플을 PBS에서 1분 동안 재수화하였다.
- [0103] 3. 시험 프레임 (일렉트로포스(ElectroForce) 5500, TA 인스트루먼트(TA Instruments))에서 0.1 mm/초의 변형률로 60% 변형률 (12mm)에 대한 압축 램프 시험을 수행하였다.
- [0104] 4. 물질 응력 ( $\sigma$ )은 로드를 단면적으로 나누어 계산하였다.
- [0105] 5. 물질 변형률 ( $\epsilon$ )은 높이의 변화를 초기 높이로 나누어 계산하였다.
- [0106] 6. 탄성 압축 모듈러스 (E)는 응력-변형률 곡선의 상부 영역의 기울기로부터 계산하였다.
- [0107] 7. 리질리언스는 60% 변형률을 통한 응력-변형률 곡선 아래 면적으로 계산하였다.
- [0108] 압축 응력-완화 시험
- [0109] 1. 샘플을 1.5 x 1.5 x 2 cm의 균일한 크기로 절단하였다.
- [0110] 2. 샘플을 PBS에서 1분 동안 재수화하였다.
- [0111] 3. 일반적인 음압 장치와 함께 사용하는 동안 적용되는 로드를 시뮬레이션하기 위해, 125mmHg의 일반적인 설정을 주어진 샘플 기하학에서 3.6N의 로드로 변환하였다.

- [0112] 4. 무한정 압축 시험으로부터의 데이터를 사용하여, 3.6N을 각 샘플에 적용될 변형률 ( $\epsilon'$ )로 변환하였다.
- [0113] 5. 시험 프레임을 사용하여, 변위 램프를 4mm/초로  $\epsilon'$ 까지 샘플에 적용하였다.
- [0114] 6. 샘플을 4mm/초의 속도로 언로딩 전에 180초 동안 이 변형률에서 유지하였다.
- [0115] 7. 또 다른 반복을 위해 단계 5 및 6에서 변형률 램프를 적용하고 해제하기 전에 샘플이 언로딩된 상태로 완전히 완화할 때까지 약간의 시간이 허용되었다.
- [0116] 8. 생성된 데이터는 방정식  $\sigma(t) = Ae^{-t/\tau} + B$ 에 따라 샘플의 시간-의존적 거동을 모델링하고 계수 및 시간 상수 ( $\tau$ )를 실험 데이터에 적합화하는데 사용하였다.
- [0117] 레올로지 시험
- [0118] 1. 샘플을 1.5 x 1.5 x 2 cm의 균일한 크기로 절단하였다.
- [0119] 2. 샘플을 PBS 또는 BSA에서 1분 동안 재수화하였다.
- [0120] 3. 샘플의 전단 특성은 레오미터 (안톤 파(Anton Paar) MCR 301)를 사용하여 측정하였다.
- [0121] 4. 25 mm 직경 평행 플레이트 기하학을 사용하여 8.5 mm의 측정 높이에서 전단을 적용하였다.
- [0122] 5. 진동 진폭 스위프는 변형률 ( $\epsilon$ )의 함수로서 전단 응력 ( $\sigma$ )을 측정하기 위해 일정한 각 주파수 (1 rad/s 및 10 rad/s에서 0.1% 내지 100% 변형률)에서 각 샘플에 대해 수행되었다.
- [0123] 6. 전단 모듈러스 (G)는 이 데이터 및 방정식  $\sigma = G \times \epsilon$ 을 사용하여 계산하였다.
- [0124] 분해 시험
- [0125] 1. 1.5 x 1.5 x 2 cm 샘플을 PBS 또는 1 g/dL 알부민 농도 (문헌에서 발견된 상처 삼출물의 일반적인 농도)의 BSA를 갖는 PBS에서 재수화하였다
- [0126] 2. 각 샘플을 별도의 50 mL 원추형 튜브에 배치하고, 15 mL의 용액을 각각에 첨가하였다.
- [0127] 3. 샘플을 정적 인큐베이터에서 37°C에서 7 또는 14일 동안 저장하였다.
- [0128] 4. 샘플을 상기 상세히 설명된 바와 같이 무한정 압축 및 레올로지에 대해 시험하였다.
- [0129] 유체 유동 시험
- [0130] 1. 샘플을 28 mm 직경으로 절단하여 26.72 mm 내경을 갖는 60mL 시린지에 단단히 맞추었다.
- [0131] 2. 샘플을 가장자리에 초강력 접착제로 코팅하고, 각각을 시린지의 기저에 배치하였다.
- [0132] 3. 시린지를 드와이어(Dwyer) 압력 게이지와 PBS가 있는 비이커 사이의 3-방향 스톱콕 분할로 이어지는 튜브가 있는 시린지 펌프에 배치하였다.
- [0133] 4. 시린지 펌프를 사용하여 유속을 설정하여 샘플을 통해 유체를 회수하였다.
- [0134] 5. 30, 40, 50, 60, 70 mL/분의 유속을 설정하고, 일단 안정화되면 각 속도에서 압력을 기록하였다.
- [0135] 6. 샘플 저항을 이 압력 및 유동 데이터의 최량 적합 라인의 기울기로 계산하였다 (저항 = 압력 변화 / 유동 변화).
- [0136] 수화 시험
- [0137] 1. 샘플을 1.5 x 1.5 x 2 cm의 균일한 크기로 절단하였다.
- [0138] 2. 건조 질량을 각 샘플에 대해 기록하였다 ( $M_d$ ).
- [0139] 3. 샘플을 15mL의 PBS를 갖는 개별 50mL 원추형 튜브에 배치함으로써 수화하고 37°C에서 24시간 동안 유지하였다.
- [0140] 4. 샘플을 원추형 튜브로부터 제거하고, 수화 질량을 기록하였다 ( $M_w$ ).
- [0141] 5. 수화율을 질량 변화 백분율 =  $(M_w - M_d) / M_d \times 100$ 으로 계산하였다.

- [0142] 유체 유통 시험 (시뮬레이션된 NPWT 시스템)
- [0143] 1. 시뮬레이션된 NPWT 시스템 설정:
- [0144] a. 시험이 짧은 지속시간이므로 임의로 엘라스타제 없이 sCWF를 준비한다.
- [0145] b. 입구/출구/압력 측정을 위한 포트를 갖는 재밀봉가능한 파우치를 포함하는 시험 챔버를 준비한다 (도 3 참조).
- [0146] c. 흡인기 플라스크의 측면 포트에 진공 펌프를 연결한다. 스톱퍼를 갖는 흡인기 플라스크의 상단 포트에 흡입 패드/튜브를 연결하여 밀봉한다 (도 4 참조).
- [0147] d. 흡입 패드를 출구 포트에 배치하고 드레이프로 밀봉한다.
- [0148] e. 압력 측정 포트에 진공 게이지를 연결한다.
- [0149] f. 입구 포트에 밸브를 갖는 튜브를 연결한다.
- [0150] g. 펌프를 켜고, 펌프 게이지를 사용하여 진공을 원하는 수준 (-50mmHg 게이지 압력)으로 조정하고, 시스템에 누출이 없는지 보장한 다음 끈다.
- [0151] h. 시험 챔버를 열고, 출구와 측정 포트 사이에 미리 적신 시험 스폰지를 배치한다.
- [0152] i. 시험 챔버를 재밀봉한다.
- [0153] 2. 입구 밸브가 닫힌 상태에서 진공을 켜고, 진공 하에 파우치가 완전히 붕괴되도록 허용한다.
- [0154] 3. 200mL의 sCWF를 함유하는 컨테이너에 입구 튜브를 배치한 후, 입구 밸브를 연다.
- [0155] a. sCWF가 입구 튜브로 유동하지 않으면, 액체가 유동하기 시작할 때까지 펌프의 진공 수준을 조정한다.
- [0156] 4. 시뮬레이션된 NPWT 시스템을 통해 200mL의 sCWF를 끌어당기는데 필요한 시간을 기록한다.
- [0157] a. 200mL 부피 및 시간을 사용하여, 평균 부피/분 유속을 계산한다.
- [0158] 5. 임의로, 유체가 시스템을 통해 끌어당겨진 후, 흡인기 플라스크에 수집된 sCWF의 양을 측정한다.
- [0159] 음압의 전달 (시뮬레이션된 NPWT 시스템)
- [0160] 1. 스폰지는 삽입되었지만 입구는 여전히 닫힌 유체 유통 시험 동안, 게이지에 의해 측정된 진공을 기록한다.
- [0161] 2. 스폰지가 삽입되고 입구가 열린 유체 유통 시험 동안, 게이지에 의해 측정된 진공을 기록한다.
- [0162] 내구성 - 정성 (절단)
- [0163] 1. 수술용 가위를 사용하여 건조 스폰지를 절단하고, 임의의 파손 또는 균열을 관찰한다
- [0164] 2. 수술용 가위를 사용하여 적신 스폰지를 절단하고, 임의의 파손 또는 균열을 관찰한다.
- [0165] 내구성 - 정성 (고진공)
- [0166] 1. 유체 유통 시험이 완료된 후, 펌프의 진공 수준을 -200mmHg로 증가시키고, 라인을 통해 더 많은 sCWF를 끌어당기도록 허용한다.
- [0167] 2. 1분 후, 펌프를 끄고 스폰지를 제거한다.
- [0168] 3. 조직 미립자의 존재에 대해 흡인기 플라스크에 수집된 유체를 육안으로 점검한다.
- [0169] 4. 파손 또는 균열에 대해 스폰지를 육안으로 점검한다.
- [0170] 재흡수 - 시뮬레이션된 만성 상처 유체 효소 분해
- [0171] 1. sCWF로 포화된 스폰지를 작은 밀봉가능한 컨테이너에 배치하고, 스폰지가 만성 상처 유체 효소 분해에 노출되는 것을 시뮬레이션한다.
- [0172] 2. 최악의 경우, 추가의 sCWF를 첨가하고, 스폰지를 완전히 침지한다.
- [0173] 3. 컨테이너를 밀봉하고, 37°C로 설정된 수조에 배치한다.

- [0174] 4. 5일 동안 수조에 포화 및/또는 침지된 스폰지를 유지한다.
- [0175] 5. 수조로부터 컨테이너를 제거한다.
- [0176] 6. 컨테이너를 열고 스폰지를 제거한다.
- [0177] 7. 조직 미립자의 존재에 대해 컨테이너에 남아있는 유체를 육안으로 점검한다.
- [0178] 8. 유체 유통 시험 방법에 따라 포화된 및/또는 침지된 스폰지를 시험한다.
- [0179] 세공 크기 - 주사 전자 현미경법 (SEM)
- [0180] 1. 스폰지로부터 샘플을 절단하여 수직 및 수평 단면을 생성한다.
- [0181] 2. SEM 표본 핀 스텝에 양면 탄소 테이프를 배치한다.
- [0182] 3. 각 샘플을 스텝의 노출 탄소 테이프에 배치하고, 샘플이 완전 접촉제 접촉이 되도록 허용한다.
- [0183] 4. 스퍼터 코팅기 [라이카(Leica) EM ACE600 스퍼터 코팅기]를 사용하여 각 샘플을 대략 5nm의 이리듐 침착으로 코팅하고, 임의로 전체 표본 커버리지를 보장하기 위해 0-45° 기울기를 포함하는 스퍼터링 시퀀스를 사용한다.
- [0184] 5. 주사 전자 현미경 [XL30 FEG-SEM]을 사용하여 표본을 영상화한다.
- [0185] 6. 이미지제이(ImageJ) 소프트웨어를 사용하여 분석한다:
- [0186] a. 스케일 설정
- [0187] b. 자동 역치 적용
- [0188] c. 입자 측정 (500um<sup>2</sup> 이상)
- [0189] d. 요약 (페렛 평균)
- [0190] 다공도 (액체 변위)
- [0191] 1. 50mL 절대 에탄올 (V<sub>1</sub>)을 입구가 넓은 100mL 눈금 실린더에 첨가하여, 실린더가 스폰지 샘플을 수용할 만큼 충분히 넓은지 보장한다.
- [0192] 2. 에탄올에 잠기도록 눈금 실린더에 발포체 시험 샘플을 배치한다.
- [0193] 3. 눈금 실린더에서 진공 끌어당겨 스폰지에서 기포를 빼내고, 내부 세공이 완전히 젖는 것을 보장한다.
- [0194] 4. 샘플이 잠긴 상태에서 에탄올의 부피를 측정한다 (V<sub>2</sub>).
- [0195] 5. 샘플로부터 액체가 배출되는 것을 방지하기 위해 샘플을 압축하지 않고 스폰지 샘플을 조심스럽게 제거한다.
- [0196] 6. 눈금 실린더에 남아있는 에탄올 부피를 측정한다 (V<sub>3</sub>).
- [0197] 7. 공식 (V<sub>1</sub>-V<sub>3</sub>)/(V<sub>2</sub>-V<sub>3</sub>)에 의해 샘플의 다공도를 계산한다.
- [0198] 매트릭스 조성물 - 생물학적 인자
- [0199] 1. 스폰지로부터 샘플을 절단한다.
- [0200] 2. 스폰지 샘플을 포매, 절개 및 이어서 조직학적 또는 면역조직화학적 (IHC) 염색을 위해 제3자 조직학 실험실에 보낸다:
- [0201] a. H&E 염색
- [0202] b. 사프라닌 O 염색을 통한 글리코사미노글리칸 (GAG)
- [0203] c. IHC를 통한 콜라겐 III
- [0204] d. IHC를 통한 콜라겐 IV
- [0205] e. IHC를 통한 히알루론산 (HA)

- [0206] f. IHC를 통한 PDGF-bb
- [0207] g. IHC를 통한 VEGF
- [0208] 3. 양성 및 음성 대조군 슬라이드와 비교하여 양성 염색의 존재에 대해 슬라이드를 육안으로 평가한다.
- [0209] USP<731> 건조시 손실에 따라 결정된 잔류 수분 함량
- [0210] 1. 1-2 그램의 스폰지를 분석을 위해 보냈다.
- [0211] 2. 오븐을 105°C ±2°C로 예열한다.
- [0212] 3. 샘플 접시를 30분 동안 오븐에 배치하고, 데시케이터에 배치하여 냉각시킨다.
- [0213] 4. 접시를 저울에 배치하고 중량을 측정한다. 저울의 용기의 중량을 측정한다.
- [0214] 5. 샘플을 접시에 배치하고 중량을 측정한다.
- [0215] 6. 샘플이 담긴 접시를 가열된 오븐에 24시간 동안 배치한다.
- [0216] 7. 24시간 후, 접시를 데시케이터에 배치하여 냉각시킨다.
- [0217] 8. 저울에 배치하고 중량을 측정한다.
- [0218] 9. 퍼센트 잔류 수분 (%)은 (초기 중량-건조 샘플 중량)/초기 중량 x 100으로 계산한다.
- [0219] 동물 모델에서의 전임상 효능
- [0220] 동물 모델에서 바이오스폰지의 효능을 평가하도록 의도된 전임상 연구를 수행하고, 하기 기재되고, 이어서 연구 평가 파라미터 및 스케일을 나열한다. 연구는 상처 층 육아 및 바이오스폰지의 상처 층으로의 조직 혼입을 평가하기 위해 돼지 모델에서 수행될 것이다. 치유는 대조군으로 NPWT에 대해 현재 이용가능한 합성 발포체와 비교될 것이다. 이 연구의 결과는 합성 발포체 대조군에 비해 바이오스폰지 시험군에서 더 빠르고/거나 더 완전한 육아 조직 형성을 보여줄 것으로 예상된다.
- [0221] 프로토콜 설계 개요:
- [0222] · 1마리의 돼지가 총 7일 동안 실행될 이 연구에 사용될 것이다.
- [0223] · 실험 절차
- [0224] o 메스 날 및 검자를 사용하여 각 돼지에 16개의 전체-두께, 3cm x 3cm 정사각형 상처를 손으로만 생성할 것이다 (돼지의 각 측면에 8개).
- [0225] o 상처는 이 연구에서 감염되지 않을 것이다 (가능한 수술 전후 항생제 사용)
- [0226] o 상처 드레싱:
- [0227] · 행 A: 대조군 - 합성 NPWT 발포체 드레싱 (KCI 그라누폼(KCI GranuFoam))
- [0228] · 발포체 물질 및 드레이프/흡입 패드를 각 드레싱 교체시 대체할 것이다.
- [0229] · 행 B: 치료 1 - 바이오스폰지 제형 #1
- [0230] · 각 드레싱 교체시 드레이프/흡입 패드만을 대체할 것이다.
- [0231] · 행 C: 치료 2 - 바이오스폰지 제형 #2
- [0232] · 각 드레싱 교체시 드레이프/흡입 패드만을 대체할 것이다.
- [0233] · 행 D: 치료 3 - 합성 NPWT 발포체 드레싱과 함께 현재 이용가능한 메쉬형 무세포 진피 매트릭스
- [0234] · 각 드레싱 교체시 드레이프/흡입 패드만을 대체할 것이다.
- [0235] · 드레싱 적용 당 N=4 데이터 포인트
- [0236] o 적절한 포트를 발포체 드레싱 위에 적용할 것이고, 상업적으로 이용가능한 NPWT 장치를 연결할 것이다.
- [0237] · 장치를 켜고 연구 전반에 걸쳐 -125mmHg 연속 설정에서 실행할 것이다.

- [0238] ○ 돼지를 7일차에 희생시킬 것이다.
- [0239] · 평가 파라미터는 하기를 포함한다:
- [0240] ○ 상처 크기 및 깊이에 대한 디지털 캘리퍼스 측정: D0, D2, D4 및 D7
- [0241] ○ 디지털 사진 촬영 일자: D0, D2, D4 및 D7
- [0242] ○ 조직학
- [0243] · 각 상처를 1cm 주변 정상 조직으로 둘레로 및 상처 깊숙이 절제하고, 10% 중성 완충된 포르말린에 고정시킬 것이다.
- [0244] · 트리밍, 포매, 절개, 염색 및 조직병리학/조직형태계측 평가를 위해 샘플을 조직병리학 실험실로 보낼 것이다.
- [0245] ○ 조직병리학:
- [0246] · H&E:
- [0247] · 유해 조직 반응 스코어링 (하기 루브릭)
- [0248] · 콜라겐 성숙 스코어링 (루브릭 당 반정량적)
- [0249] ○ 조직형태계측:
- [0250] · H&E:
- [0251] · 육아 조직 두께 (상처 층을 가로질러 3개의 고르게 이격된 간격으로 측정됨)
- [0252] · 드레싱 물질로의 육아 조직 내성장 (적용가능한 경우)
- [0253] · CD31:
- [0254] · 관심 영역 (ROI) 내의 혈관 밀도 정량화
- [0255] 전형적인 조직병리학 평가 파라미터:

<ul style="list-style-type: none"> <li>· 전체 염증 (상처 층)</li> <li>· 전체 염증 (간류 시험 물품 또는 대조군 물품 물질 주변), 적용가능한 경우             <ul style="list-style-type: none"> <li>· 부종/혈정종 형성</li> <li>· 상처 표면의 혈청 세포 파편                 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 출혈</li> <li>· 상처 층 내의 피사</li> </ul> </li> <li>· 농양 형성 (표제성 상처 층)                 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 육아종 형성</li> <li>· 미세육아종 형성</li> <li>· 광물화</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>	<p>0 = 부제</p> <p>1 = 최소</p> <p>2 = 경증</p> <p>3 = 중간</p> <p>4 = 현저한/중증</p>
<p>염증 반응:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· 호중구</li> <li>· 호산구</li> <li>· 림프구</li> <li>· 형질 세포</li> <li>· 대식세포</li> <li>· 다핵 거대 세포 (MNGC)</li> </ul>	<p>0 = 부제</p> <p>1 = 희귀, 1-5/hpf (MNGC = 1-2/hpf)</p> <p>2 = 6-10/hpf (MNGC = 3-5/hpf)</p> <p>3 = 중간, 중질 침윤물</p> <p>4 = 패킹된 (MNGC = 시트)</p> <p>(/hpf = 고배율 (400x) 시야 당)</p>
<p>새로이 침착된 콜라겐의 성질:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· 표제성 상처 층의 콜라겐 성숙</li> <li>· 심부 상처 층의 콜라겐 성숙</li> </ul>	<p>0 = 콜라겐 침착 없음.</p> <p>1 = 느슨하고 불량하게 조직화된 기질로서 빈약한 콜라겐 침착.</p>

[0256]

	<p>2 = 스코어 1보다 더 현저한 콜라겐 침착, 대부분의 기질이 여전히 느슨하고 피부 표면에 평행 및 수직으로 우세하게 배향된 콜라겐 섬유로 불량하게 조직화된 상태임.</p> <p>3 = 스코어 2보다 더 현저한 콜라겐 성숙, 대부분의 기질이 피부 표면에 평행하게 배향된 콜라겐 섬유로 조직화되고 조밀하게 나타남.</p> <p>4 = 스코어 3보다 더 현저한 콜라겐 성숙, 대부분의 기질이 천연 진피 콜라겐의 외관을 가짐.</p>
상처 가장자리의 상피화	<p>0 = 상처 가장자리 너머로 상피의 내성장 없음.</p> <p>1 = 상처의 한쪽 또는 양쪽 측면에서 상처 가장자리 너머로 1 mm 미만의 상피의 내성장.</p> <p>2 = 상처의 양쪽 측면에 상처 가장자리 너머로 1 mm 초과인 상피의 내생장이 있지만 완전히 재상피화되지는 않음.</p> <p>3 = 상피에 의해 완전히 덮인 상처의 표면.</p>
상처 층의 육아 조직 증진	<p>0 = 상처 층의 육아 조직 증진 없음.</p> <p>1 = 상처 층의 ~1% - 25% 증진됨.</p> <p>2 = 상처 층의 ~26% - 50% 증진됨.</p> <p>3 = 상처 층의 ~51% - 75% 증진됨.</p> <p>4 = 상처 층의 ~76% - 100% 증진됨.</p> <p>5 = 상처 층의 &gt; 100% 증진됨 (과도한 육아 조직).</p>
상처 층 내의 혈관화	<p>0 = 부재.</p> <p>1 = 상처 층 전체에 걸쳐 흩어져 있는 매우 적은 수의 소혈관.</p>
	<p>2 = 상처 층 전체에 걸쳐 대부분 적은 수의 혈관과 함께 소수의 구역에 수많은 혈관.</p> <p>3 = 전체적으로 산재된 더 낮은 혈관 밀도의 구역과 함께 상처 층의 부분에 걸쳐 산재된 중간 정도의 수많은 혈관.</p> <p>4 = 상처 층 전체에 걸쳐 산재된 현저한, 수많은 혈관.</p>
기타 소견: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 외래 파편</li> <li>• 박테리아</li> </ul>	<p>P = 존재</p> <p>A = 부재</p>
섬유성 피막	<p>존재하는 경우, 섬유성 피막은 접안 마이크로미터를 사용하여 슬라이드 당 3개의 무작위 위치에서 측정될 것이다.</p>

[0257]

[0258]

[0259]

[0260]

[0261]

[0262]

[0263]

[0264]

[0265]

실시예 1: 회수된 인간 태반 조직으로부터 제조된 태반 바이오스폰지

도 5에 표시된 일반적인 방법에 따라 인간 태반 조직으로부터 태반 바이오스폰지를 제조하였으며, 하기 기재된 특정 파라미터를 수행하였다.

탈세포화를 통한 초기 프로세싱:

태반 디스크 및 임의로 또한 탯줄 및 양막/융모막을 먼저 물에서 클리닝하였다. 그 후, 조직을 세분하고, 고장성 용액과 블렌딩하여 조직/고장성 용액 혼합물을 생성하였다. 혼합물을 진탕하여 조직 구성성분을 탈세포화하였다. 그 후, 혼합물을 원심분리한 다음, 물에 재현탁하고 진탕하여 고장성 용액을 제거하였다.

1. 추가로 디스크, 탯줄 및 막을 포함하는 태반을 수득하였다.

2. 조직을 실온의 물에 담그고 마사지하여, 과량의 혈액을 배출하고 혈병을 제거하는데 도움을 주었다.

3. 그 후, 메스를 사용하여 조직을 더 작은 조각으로 절단하였다.

- [0266] 4. 과량의 액체의 이동을 방지하기 위해, 조직 조각을 대형 블렌더 [경고]에서 1L 1M NaCl 용액과 조합하였다.
- [0267] 5. 조직 혼합물을 대략 1분 동안 고속으로 2회 블렌딩하였다.
- [0268] 6. 그 후, 조직 혼합물을 2L 플라스크로 옮기고, 대략 2시간 동안 90 내지 150 rpm에서 오비탈 진탕기에서 진탕하였다.
- [0269] 7. 조직 혼합물을 원심분리기 병으로 옮기고, 4600RPM에서 10분 동안 원심분리한 후, 상청액을 부었다.
- [0270] 8. 총 1L의 물을 나머지 조직 펠렛과 조합하고, 2L 플라스크로 옮기고, 오비탈 진탕기에서 90rpm에서 대략 5분 동안 진탕하였다.
- [0271] 9. 조직 혼합물을 원심분리기 병으로 옮기고, 4600RPM에서 5분 동안 원심분리한 후, 상청액을 부었다.
- [0272] 10. 총 1L의 물을 나머지 조직 펠렛과 조합하고, 2L 플라스크로 옮기고, 오비탈 진탕기에서 90rpm에서 대략 5분 동안 진탕하였다.
- [0273] 11. 조직 혼합물을 원심분리기 병으로 옮기고, [4600RPM에서 10분 동안] 원심분리한 후, 상청액을 부었다.
- [0274] 12. 조직 펠렛을 회수하고, 소독 전 단계를 위해 -20℃에서 동결하였다.
- [0275] 소독 (즉, 미생물 로드 감소):
- [0276] 탈세포화된 조직을 과산화아세트산-기반 소독 용액과 블렌딩한 후, 진탕하여 조직을 소독하였다. 조직 혼합물을 일련의 원심분리 단계에 적용한 후, 각각 물에서 진탕하여 소독 용액을 제거하였다. 나머지 조직을 다양한 잠재적 비율로 물과 조합하여 조직 혼합물을 생성한 후, 이를 동결건조 전에 동결하였다.
- [0277] 1. 조직을 대형 블렌더 (경고)에서 1L의 과산화아세트산 기반 소독 용액과 조합하였다.
- [0278] 2. 조직 혼합물을 대략 1분 동안 고속으로 블렌딩하였다.
- [0279] 3. 그 후, 조직 혼합물을 2L 플라스크로 옮기고, 오비탈 진탕기에서 90rpm에서 대략 2시간 동안 진탕하였다.
- [0280] 4. 조직 혼합물을 원심분리기 병으로 옮기고, 4600RPM에서 10분 동안 원심분리한 후, 상청액을 폐기를 위해 부었다.
- [0281] 5. 총 1L의 물을 대형 블렌더에서 나머지 조직 펠렛과 조합하고, 대략 1분 동안 고속으로 블렌딩하였다.
- [0282] 6. 조직을 PAA 잔류물을 제거하기에 충분한 진탕과 함께 여러 번 (8)의 행굼에 적용하였다. 조직을 7번째 행굼 후 및 최종 행굼 전에 높음에서 1-분 블렌딩 단계에 적용하였다.
- [0283] 7. 조직 혼합물을 원심분리기 병으로 옮기고, 4600RPM에서 10분 동안 원심분리한 후, 상청액을 부었다.
- [0284] 8. 조직 펠렛을 회수하고, 더 균질한 혼합물을 만들기 위해 교반한 후, 용기의 중량이 측정된 컨테이너에서 중량을 측정하였다. 이는 기준선 "100% 조직 혼합물"로 간주되었다.
- [0285] 9. 물을 조직 혼합물과 조합하여 50% 조직 혼합물을 수득하였다.
- [0286] 10. 그 후, 최종 조직 혼합물을 2개의 6-웰 플레이트 및 작은 알루미늄 컵으로 이루어진 동결건조에 적합한 컨테이너에 분취하였다.
- [0287] 건조 / 동결건조:
- [0288] 조직 혼합물을 동결건조에 의해 건조하였다: 조직을 동결건조기에 배치하고, 하기 차트에 제공된 동결건조 사이클을 실행하여 건조된 조직 형태를 수득하였다.

[0289] 동결건조 사이클 - 태반 바이오스폰지 레시피

레시피 단계	온도 (°C)	시간 (분)	진공 (mTorr)	램프/유지
열 처리				
단계 1	-40	240		유지
동결 온도	-40			유지
추가 동결 시간		30		
응축기 설정점	-40			
진공 설정점			600	
건조 단계				
단계 1	-5	5,760	600	유지
이차 건조 단계				
사후 가열 단계	24	720	600	유지

[0290]

[0291] 가교:

[0292] 화학적 가교 용액을 제조하였다 (예를 들어, 하기 참조). 용액을 건조된 조직 형태에 첨가하고, 조직을 가교시키도록 허용하였다. 가교 후, 용액을 제거하고, 조직을 물에서 행귀서 잔류 가교 용액을 제거하였다.

[0293] 1. 가교 용액의 제조.

[0294] a. 물 중 60 mM 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 (EDC라고도 함) 및 24 mM n-히드록시숙신이미드 (NHS라고도 함).

[0295] 2. 조직이 완전히 침지될 때까지 조직에 직접 분배하는 것을 피하면서, 가교 용액을 함유된 동결건조된 조직에 천천히 첨가하였다. 아직 가교되지 않은 구조의 붕괴를 피하기 위해 아래로 누르는 것을 피하면서 용액에 의한 조직의 습윤을 보장하였다.

[0296] 3. 60분 동안 실온에서 가교를 허용하였다.

[0297] 4. 과량의 가교 용액을 제거하고, 조직을 과량의 물이 담긴 컨테이너로 옮기고, 15분 동안 행켰다. 총 4회의 물 행굼을 위해 이를 반복하였다.

[0298] 5. 행균 조직은 형상 및 스폰지로서 액체를 흡수하는 능력을 유지하였다.

[0299] 최종 건조 / 동결건조 단계 (임의의 단계):

[0300] 가교된 스폰지를 다시 동결건조하여 포장 및 장기간 저장에 적합한 건조 스폰지를 얻었다.

[0301] 1. 스폰지를 적합한 컨테이너에 배치하고, 다시 동결건조하였다 [상기 차트에 제공된 것과 동일한 동결건조 사이클을 사용하여].

[0302] 2. 가교 및 동결건조된 스폰지를 적절하게 포장하였다.

[0303] 태반 바이오스폰지를 생성한 전술한 실험의 세부사항은 하기 표 1A 및 1B에 제시되어 있고, 결과 및 생성물 특징은 표 1B의 "결과" 컬럼에 보고되어 있다.

표 1A - 태반 시험 매트릭스

계량	시양	방법	참조점
기계적 특성	음선 1: 압축 권항력 2-4 kPa, 2-10 kPa (범위)	CFD ASTM D3574-08 50% 두께에서 피크 압축 (N) 2인치 직경 압축 압반 사용	2-4 kPa에 가까운 현재 스펙지 값
기계적 특성 (계속)	음선 2: 현재 NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 필적하는 압축 강도	압축 강도 ASTM D1621	1) "낮은 내지 중간 양의 삼출물" = 37.5ml/일 2) SNAP 단위 사용 시스템용 KCI 알고리즘 = ~26ml/일 (<180ml/주) 3) 노보포어 510k 수용 기준 4) KCI 스펙지 + 풀만겐 드레싱 수용 기준 5) 점적주입을 사용한 NPWT는 15분 사이클 동안 최대 100cc의 점적주입 유체 (염수 또는 기타)에 노출될 수 있다
유체 유통	한 번에 전달되고 25 ml의 증분으로 전달된 적어도 200cc의 SWF는 50, 125, 200 mmHg (KCI)의 진공 압력 범위에서 사출될 수 있다. 최악의 경우: 50mmHg 또한 모니터링함: 배출되는 유체의 %	시험관내 진공 시스템	

[0304]

[0305]

표 1A - 태반 시험 매트릭스 (계속)

계량	시양	방법	참조점
대구성 - 정성	0, 24, 48, 72시간에 30초 이내에 움직인 25 ml 유체 (KCl 그레누폼과 비교한 노모포어 510K) - NPWT 후색 발포체 또는 백색 발포체에 대한 비교만을 위한-정보용	시물레이션된 쥐급 시험관내 진공 시스템	임상 사용 동안 정상적인 쥐급
제품수	1) 기위로 절단될 때 균열되지 않음 2) 젖고 200mmHg에서 진공에 노출될 때 균열 또는 붕괴하지 않음	SWF에서 흡수적 분해 - 0, 24, 48, 72, 96, 120시간 동안 37°C에서 SWF에서 잠긴 후, 진공 시스템에 노출됨	48-72시간 변화는 오늘날 VAC 요법에 대한 표준인, 5일은 드레싱 변화물 제거형 (Nichols) 7일은 단회 사용 NPWT 시스템의 만기인 (SNAP 요법 KCI)
세공 크기	SWF에 노출될 때 적어도 5일 동안 안정, "안정" = 유체 유통 사양 충족	SEM	Loh et al. 2013 인용, "Arteri et al. 2011 태막 160 내지 270 μm의 보다 큰 세공 크기가 스캐폴드를 통한 혈관신생을 용이하게 하였음을 보여줌"

[0306]

[0307]

[0308] 표 1A - 태반 시험 매트릭스 (계속)

계량	시양	방법	참조점
다공도	퍼센트 다공도 - 사양 없음, NPWT 흡재 발포체와의 비공률 계공하기 위한 정보인 뿐인	액체 면위	
매트릭스 조성물	육아 조직 형성, 혈관신생을 지원하는 인자를 함유하고 형질 증인자를 함유할 수 있음	IHC	

[0309]

표 1B - 태반 시험 매트릭스

계량	참조	시험 물품 설명	결과
<p>기계적 특성 (계속)</p>	<p>(1) Lessing et al., NPWT with Controlled Saline Instillation, Wounds 2011; 23(1): pp. 309-319</p>	<p>"100%" 조직 혼합물로서 마지막 프로세스 단계로부터의 최종 조직 수율로, 동결 건조물과의 50% 혼합물을 사용하고, 4x 15분 물로 행구면서 물 중 60mM EDC/ 24mM NHS에서 1시간 가교 및 계동결 건조 후;</p>	<p>50% 압축 및 액체로 포화에서:                      1) 포화 샘플 이전 17.048kPa, 5일 후 9.633kPa                      2) 찰지 샘플 이전 13.721 kPa, 5일 후 5.415kPa</p> <p>0시 (5-일 인큐베이션 이전)                      1) 포화 샘플: 0.7108g, 중심 높이 11.64mm, 가장자리 높이 9.67, 9.92, 9.80mm 직경 31.28, 31.19, 31.51mm, 피크 힘 13.14N                      2) 찰지 샘플 0.7384g, 중심 높이 11.59mm, 가장자리 높이 11.02, 11.14, 11.21 mm 직경 31.01, 31.39, 31.69mm, 피크 힘 10.60N</p> <p>5-일 인큐베이션 이후                      1) 포화 샘플 높이 9.97mm, 직경 33.91mm, 피크 힘 8.7N                      2) 찰지 샘플 높이 12.22mm, 직경 34.63mm, 피크 힘 5.1N</p> <p>N/A</p>

[0310]

[0311]

표 1B - 태반 시험 매트릭스 (계속)

개량	참조	시험 물품 설명	결과
유체 유통	(2) FDA 510k K161432 (3) Accelity NPWT algorithm webinar/brochure (4) FDA 510k K132936 (5) Westmoreland et al., An in vitro evaluation of a collagen/ORC/silver wound dressing under NPWT, SAWC Fall 2017 (6) Detmers et al., Negative Pressure Wound Therapy With Instillation and Dwell Time Used to Treat Infected Orthopedic Implants: A 4-patient Case Series, 2016, 62(9): pp. 30-40	-	보고된 임상 샘플물 수준보다 훨씬 더 높은 200mL의 시물레이션된 상처 유체 (높은 단백질 및 프로테아제 함량을 갖는 높은 pH 완충제)를 끌어당기는 유속  1) 95mmHg에서 T0는 47분 소요 (4.26mL/분) 포화 및 침지 샘플은 모두 시물레이션된 CWF에서 5일 후 200cc의 SWF를 통해 끌어당길 수 있음. 2) 포화 샘플은 18분 35초 소요 (10.76mL/분) 3) 침지 샘플은 76분 소요 (2.63mL/분)
대구성 - 정성		-	50mL/분과 동등한 사양, 상기 테이블 참조 1) 젖은 상태로 절단될 수 있음, 건조 상태로 절단시 크림/막편이 생성되고 균열될 수 있음 2.1) T0 샘플은 200mmHg를 끌어당긴 후 균열 없음 2.2) 포화 샘플은 200mmHg를 끌어당긴 후 균열 없음 2.3) 침지 샘플은 200mmHg 후 표제성 균열을 갖지만, 구조적 완전성의 손실이 없고, 라인으로 끌어당긴 조직이 없음

[0312]

[0313]

[0314] 표 1B - 태반 시험 매트릭스 (계속)

계량	참조	시험 물품 설명	결과
제형수	(9) 공동 발명자 논의 2017		포화 및 친지 샘플은 모두 안정하였고, 라인으로 끌어당긴 조직이 없음
세공 크기	(7) Loh QL et al., Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size. Tissue Eng Part B Rev. 2013;19(6):485-502.		SEM 영상화 및 이미지 제이 분석을 통한 가교, 건조 세공 크기: 158.59µm 평균 펠렛 직경, 범위 37.82-1482.81µm, SD 19.266µm
다공도	(8) Ho et al., A comparison of micro CT with other techniques used in the characterization of scaffolds, Biomaterials. 2006 v27, pp1362-1376		본문 표지의 제한된 해상도에 기초한 범위: 그레누폼: 88.9%-100% 백색 발포체: 92.3%-100% 마이오스폰지는 80%-85.7%로 추정
매트릭스 조성물			본문 수준의 Col IV, 유비쿼터스 Col III HA, 낮은 수준의 GAG, 3명의 공여자 중 1명에서 주목된 PDGFB 없음 및 미량의 VEGF

[0315] 실시예 2: 회수된 인간 진피 조직으로부터 제조된 진피 바이오스폰지

[0316] 도 6에 표시된 일반적인 방법에 따라 인간 진피 조직으로부터 진피 바이오스폰지를 제조하였으며, 하기 기재된 특정 파라미터를 수행하였다.

[0317] 탈세포화를 통한 초기 프로세싱:

[0318] 망상 진피의 깊은 층 (심부 진피)을 전체 두께 진피로부터 먼저 단리하였다. 조직을 손으로 더 작은 조각으로 절단한 후, 나이프 밑에서 고장성 용액과 함께 블렌딩하여 혼합물을 생성하였다. 혼합물을 진탕하여 조직 구성 성분을 탈세포화하였다. 그 후, 혼합물을 나이프 밑에서 다시 블렌딩한 다음 원심분리하였다. 펠렛을 계면활성제 용액에 재현탁하고 진탕하여 조직 구성성분을 추가로 탈세포화하였다. 그 후, 조직을 물에서 일련의 진탕에 적용하여 계면활성제 용액을 제거하였다.

[0319] 1. 심부 진피를 전체 두께 진피로부터 단리하였다.

[0320] 2. 심부 진피를 추가 프로세싱까지 -70°C에서 동결하였다.

- [0322] 3. 심부 진피를 실온에서 해동하였다.
- [0323] 4. 가위 또는 롤링 블레이드 커터를 사용하여 심부 진피를 더 작은 조각으로 절단하였다.
- [0324] 5. 절단된 조직을 1M NaCl과 함께 조직 대 용액의 1:4 중량비로 나이프 밀 (GM200)의 컨테이너에 첨가하였다.
- [0325] 6. 조직 혼합물을 7000 rpm에서 10초 동안, 이어서 10000 rpm에서 20초 동안, 이어서 10000 rpm에서 20초 동안 블렌딩하였다.
- [0326] 7. 조직 혼합물을 2L 플라스크로 옮기고, 오비탈 진탕기에서 150 rpm에서 12-24시간 동안 진탕하였다.
- [0327] 8. 조직 혼합물을 나이프 밀의 컨테이너에 직접 부었다.
- [0328] 9. 이전에 언급된 파라미터를 사용하여 조직 혼합물을 다시 블렌딩하였다.
- [0329] 10. 조직 혼합물을 원심분리하였다.
- [0330] 11. 펠렛화된 조직을 0.1% 트리톤 X 용액에 재현탁하였다.
- [0331] 12. 조직 혼합물을 2L 플라스크로 옮기고, 오비탈 진탕기에서 150 rpm에서 24-28시간 동안 진탕하였다.
- [0332] 13. 원심분리기 또는 체를 사용하여 0.1% 트리톤 X 용액으로부터 조직을 분리하였다.
- [0333] 14. 조직을 핵을 위해 물에 첨가하고, 오비탈 진탕기에서 150 rpm에서 5분 동안 진탕하였다.
- [0334] 15. 원심분리기 또는 체를 사용하여 물로부터 조직을 분리하였다.
- [0335] 16. 총 8회의 물 핵을 위해 이를 반복하였다.
- [0336] 17. 조직을 추가 프로세싱까지 -70°C (또는 -20°C 또는 -80°C)에서 동결하였다.
- [0337] 소독 (즉, 미생물 로드 감소):
- [0338] 탈세포화된 조직을 해동하고, 과산화아세트산-기반 소독 용액과 진탕하여 조직을 소독하였다. 그 후, 조직 혼합물을 나이프 밀에서 블렌딩한 후, 1X DPBS 용액에서 4회의 중화 핵을 수행하고, 각각 후에 원심분리를 수행하였다. 나머지 조직을 다양한 잠재적 비율로 물과 조합하여 조직 혼합물을 생성한 후, 이를 동결건조 전에 몰드로 옮겼다.
- [0339] 11. 조직을 실온에서 해동하였다.
- [0340] 12. 조직을 1L의 과산화아세트산 기반 소독 용액이 담긴 2L 플라스크에 첨가하였다.
- [0341] 13. 조직 혼합물을 오비탈 진탕기에서 150 rpm에서 2-4시간 동안 진탕하였다.
- [0342] 14. 조직 혼합물을 나이프 밀의 컨테이너에 직접 첨가하고, 이전에 언급된 파라미터를 사용하여 블렌딩하였다.
- [0343] 15. 조직 혼합물을 원심분리하여 소독 용액을 제거하고 펠렛을 생성하였다.
- [0344] 16. 펠렛을 2L 플라스크에서 1X DPBS에 재현탁하고, 오비탈 진탕기에서 150 rpm에서 5-20분 동안 진탕하였다.
- [0345] 17. 조직 혼합물을 원심분리하여 1X DPBS를 제거하였다.
- [0346] 18. 총 4회의 1X DPBS 중화 핵을 위해 이를 반복하였다.
- [0347] 19. 조직을 물과 함께 조직 대 물의 25:75 중량비로 손으로 혼합하였다.
- [0348] 20. 조직 혼합물을 몰드로 옮겨 원하는 형상을 생성하였다.
- [0349] 건조 / 동결건조:
- [0350] 조직 혼합물을 동결건조에 의해 건조하였다: 몰드 내의 조직을 동결건조기에 배치하고, 하기 동결건조 사이클을 실행하여 건조된 조직 형태 (스폰지)를 수득하였다.
- [0351] 1. 사용된 동결건조 파라미터는 하기와 같았다:
- [0352] a. 1°C/분으로 -40°C까지 램프
- [0353] b. 48시간 초과 동안 -5°C 이하에서 일차 건조

[0354]

c. 적어도 8시간 동안 25℃에서 이차 건조

[0355]

가고 및 최종 건조/동결건조:

[0356]

실시에 1의 가고 섹션에 기재된 바와 같이 가고 및 최종 동결건조를 수행하였다.

[0357]

진피 바이오스폰지를 생성한 실험의 세부사항은 하기 표 2A 및 2B에 제시되어 있고, 결과 및 생성물 특징은 표 2B의 "결과" 컬럼에 보고되어 있다.

[0358]

표 2A - 진피 시험 매트릭스

계량	사양	방법	참조점
기계적 특성 (계속)	음선 1: 압축 변형력 2-4 kPa, 2-10 kPa (범위)	CFD ASTM D3574-08 50% 두께에서 피크 압축 (N) 2인치 직경 압축 압반 사용	2-4 kPa에 가까운 현재 스폰지 값
유체 유통	한 번에 전달되고 25 ml의 중분으로 전달된 적어도 200cc의 SWF는 50, 125, 200 mmHg (KCI)의 진공압력 범위에서 사출될 수 있다. 최악의 경우: 50mmHg 또한 모니터링할: 배출되는 유체의 %	시험관내 진공 시스템 압축 강도 ASTM D1621	1) "낮은 내지 중간 양의 삼출물" = 37.5ml/일 2) SNAP 단위 사용 시스템용 KCI 알코리졸 = ~26ml/일 (<180ml/주) 3) 노보포어 510k 4) KCI 스폰지 + 콜라겐 드레싱 수용 기준 5) 점적주입을 사용한 NPWT는 15분 사이클 동안 최대 100cc의 점적주입 유체 (염수 또는 기타)에 노출될 수 있다

[0359]

표 2A - 진공 시험 매트릭스 (계속)

계량	시양	방법	참조점
유체 유동 (계속)	0, 24, 48, 72시간에 30초 이내에 응집인 25 ml 유체 (KCl 그레인들과 비교한 노모포어 510K) - NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 대한 비교만을 위한 정보용	시물레이션된 취급 시험관내 진공 시스템	인장 사용 동안 정상적인 취급
내구성 - 청정	1) 가위로 절단될 때 균열되지 않음 2) 최고 200mmHg에서 진공에 노출될 때 균열 또는 붕괴하지 않음	SEM	48-72시간 변화는 오늘날 VAC 요법에 대한 표준인, 5일은 드레싱 변화를 제거함 (Nichols) 7일은 단위 사용 NPWT 시스템의 만기인 (SNAP 요법 KCI)
제합수	SWF에 노출될 때 적어도 5일 동안 안정, "안정" = 유체 유동 사양 충족	SEM	"구축물의 현관화는 300 µm 초과의 세공을 필요로 함"
세공 크기	적어도 100µm, 300-400µm에 가까운 평균 표적	SEM	SEM

[0360]

[0361]

표 2B - 진피 시험 매트릭스

계량	참조	시험 물품 설명	결과
기계적 특성 (계속)	(1) Lessing et al., NPWT with Controlled Saline Instillation, Wounds 2011; 23(1): pp. 309-319  (2) FDA 510k K161432 (3) Acelity NPWT algorithm webinar/brochure (4) FDA 510k K132936 (5) Westmoreland et al., An in vitro evaluation of a collagen/ORC/silver wound dressing under NPWT, SAWC Fall 2017 (6) Dettmers et al., Negative Pressure Wound Therapy With Instillation and Dwell Time Used to Treat Infected Orthopedic Implants: A 4-patient Case Series, 2016, 62(9): pp. 30-40	마지막 프로세스 단계로부터의 최종 조적 수율은 "100%" 조적 혼합물임. 0시 측정: 1.5cm 두께 30:70 조적:물 습윤 중량 EDC-NHS로 1시간 xlink	0시: 4.24 kPa 시간 5일: 2.66 kPa  N/A
유체 유통		-	0시: 100mmHg에서, 175 ml (200cc, 그러나 25 ml가 시스템에서 멈춤)는 17분 14초 소요 (10.16 ml/분)  시간 5일: 100 mmHg에서, 57 ml (80cc, 그러나 23 ml가 시스템에서 멈춤)는 5분 소요 (11.4ml/분)

[0362]

[0363]

[0364] 표 2B - 진피 시험 매트릭스 (계속)

계량	참조	시범 물품 설명	결과
대구성 - 청정			상기 참조
제습수	(9) 공동 발명자 논의 2017		1) 젖은 상태로 절단될 수 있음, 메스 (권장)로 건조 상태로 절단될 수 있음 2) 200 mmHg에서 끌어당길 때 균열 없음 2.1) SWF에서의 시간 5 일: 200 mmHg에서 끌어당길 때 균열 없음
세공 크기	(7) Loh QL et al., Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size. Tissue Eng Part B Rev. 2013;19(6):483-502.		SEM 영상화 및 이미지 처리 분석에 의한 가교, 건조 세공 크기: 149.25 $\pm$ 8.49 평균 페렛 직경, min 85.28

[0365]

[0366]

실시예 3: 진피 바이오스폰지 특징화

[0367]

도 6에 표시된 일반적인 방법에 따라 인간 진피 조직으로부터 또 다른 진피 바이오스폰지를 제조하였다. 또 다른 진피 바이오스폰지를 생성한 이 실험의 세부사항은 하기 표 3A 및 3B에 제시되어 있고, 결과 및 생성물 특징은 표 3B의 "결과" 컬럼에 보고되어 있다.

[0368]

특히, 이 실시예 3의 경우, 하기를 사용하여 진피 조직으로부터 조직 유래 다공성 매트릭스를 생성하였음에 유의한다:

[0369]

- 실시예 2에서와 같이 1:4가 아닌 1:8 (중량 기준)의 조직 대 NaCl 용액의 비율;

[0370]

- 실시예 2에서와 같이 25:75가 아닌 30:70 조직 대 물 희석; 및

[0371]

- 실시예 2에서와 같이 60 mM EDC / 24 mM NHS에서 30분이 아닌 6 mM EDC / 2.4 mM NHS 가교 용액에서 2시간 안정화 (가교).

[0372] 표 3A - 진피 시험 매트릭스

계량	사양	방법
무한정 압축	현재 NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 필적함	무한정 압축 시험
응력-완화	현재 NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 필적함	압축 응력-완화 시험
레올로지	현재 NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 필적함	레올로지 시험
유체 유통	현재 NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 필적함	유체 유통 시험 (시린지 펌프 사용)
재흡수	BSA에 노출 후 안정함	분해 시험 - 37°C에서 BSA에서 7 또는 14일 동안 저장, 이어서 상기와 같은 압축 및 레올로지 시험
수화	현재 NPWT 흡색 발포체 또는 백색 발포체에 필적함	수화 시험 (PBS에서 저장 후 퍼센트 질량 변화)

[0373]

[0374] 표 3B - 진피 시험 매트릭스

계량	시험 물품 설명	결과
무한정 압축	1.5 x 1.5 x 2 cm PBS에서 재수화됨	압축 모듈러스: 바이오스폰지: 32.56 +/- 5.87 kPa 그래누폼: 8.80 kPa 리질리언스: 바이오스폰지: 2.44 +/- 0.33 J/m <sup>3</sup> 그래누폼: 0.95 J/m <sup>3</sup>
응력-완화	1.5 x 1.5 x 2 cm PBS에서 재수화됨	시간 상수 값 (τ): 바이오스폰지: τ <sub>1</sub> = 1.07 +/- 0.34, τ <sub>2</sub> = 1.07 +/- 0.41
레올로지	1.5 x 1.5 x 2 cm PBS에서 재수화됨	1rad/s에서 전단 모듈러스 (kPa): 바이오스폰지: 3.21 +/- 0.94 그래누폼: 3.96 10rad/s에서 전단 모듈러스 (kPa): 바이오스폰지: 3.25 +/- 0.88 그래누폼: 4.69
유체 유통	28mm 직경 샘플	유통 저항 (psi 분/L): 바이오스폰지: 6.47 +/- 0.97 그래누폼: 6.68
재흡수	1.5 x 1.5 x 2 cm BSA에서 재수화됨	오른쪽 플랫 참조
수화	1.5 x 1.5 x 2 cm	평균 % 질량 변화: 바이오스폰지: 2157 +/- 136 그래누폼: 2413 +/- 199

[0375]

[0376] 실시예 4: 회수된 인간 진피 조직으로부터 제조된 진피 바이오스폰지

[0377] 도 7에 표시된 보다 상세한 방법에 따라 인간 진피 조직으로부터 또 다른 진피 바이오스폰지를 제조하였으며, 하기 기재된 특정 파라미터를 수행하였다.

[0378] 절단 및 탈세포화

[0379] 망상 진피의 깊은 층 (심부 진피)을 전체 두께 진피로부터 먼저 단리하였다. 그 후, 심부 진피를 추가 프로세싱까지 임의로 -70°C에서 동결할 수 있다.

[0380] 롤링 블레이드 커터를 사용하여 대략 2x2cm 이하 크기의 더 작은 조각으로 심부 진피를 절단하였다. 절단된 조직을 나이프 밀 (GM300, 렛치(Retsch))의 컨테이너에 1M NaCl 용액에 첨가하였다. 조직 및 용액을 먼저 2500

rpm에서 20초 동안 블렌딩한 후, 후속적으로 20초 간격으로 2분 동안 4000 rpm에서 블렌딩하였다. 그 후, 블렌딩된 조직 혼합물을 플라스크로 옮기고, 150 rpm에서 진탕기에서 12-48시간 동안 1M NaCl에 담겼다. 담그기 완료 후, 조직 혼합물을 나이프 밀로 옮기고, 먼저 20초 동안 2500rpm에서 블렌딩한 후, 후속적으로 20초 간격으로 2분 동안 4000 rpm에서 블렌딩하였다. 블렌딩 후, 조직 혼합물을 4600 rpm에서 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 부었다. 펠렛화된 조직을 0.1% 트리톤 용액에 첨가하고, 150rpm에서 24-48시간 동안 담겼다. 담그기 후, 90-110 μm 체를 사용하여 용액으로부터 조직을 분리하였다. 그 후, 조직을 150 rpm에서 진탕기에서 8회의 5분 물 행굼에 적용하였다. 90-110 μm 체를 사용하여 각 행굼 후 물로부터 조직을 분리하였다. 행굼이 완료되면, 조직을 추가 프로세스까지 -70°C에서 동결하였다.

[0381] 소독 및 동결건조의 시작

[0382] 동결된 조직을 해동하고, 90-110 μm 체를 사용하여 조직으로부터 과량의 물을 분리하였다. 과산화아세트산, 에탄올 및 프로필렌 글리콜을 함유하는 용액에 조직을 첨가하고, 150 rpm에서 진탕기에서 2-4시간 동안 담겼다. 담그기 완료 후, 조직 혼합물을 10X DPBS와 함께 나이프 밀로 옮겨 산을 중화하였다. 조직 혼합물을 20초 간격으로 2분 동안 4000 rpm에서 블렌딩하였다. 블렌딩 후, 조직 혼합물을 4600 rpm에서 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 부었다. 그 후, 조직을 150 rpm에서 진탕기에서 1X DPBS에서 3회의 5분 행굼에 적용하였으며, 각 행굼 후 5분 동안 4600 rpm에서 원심분리기 단계를 거쳐 행굼액으로부터 조직을 분리하였다. 행굼이 완료되면, 조직을 물로 희석하여 조직 슬러리를 생성하였다 (즉, 30:70 조직 대 물, w:w). 조직 슬러리를 물드로 옮기고, 동결건조기에 배치하였다. 적절한 동결건조 사이클을 실행하여 건조된 조직 형태를 수득하였다. 동결건조를 수행하는 기술은 특별히 제한되지 않으며, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 현재 또는 미래에 공지된 임의의 기술일 수 있다.

[0383] 안정화 및 제2 동결건조의 시작

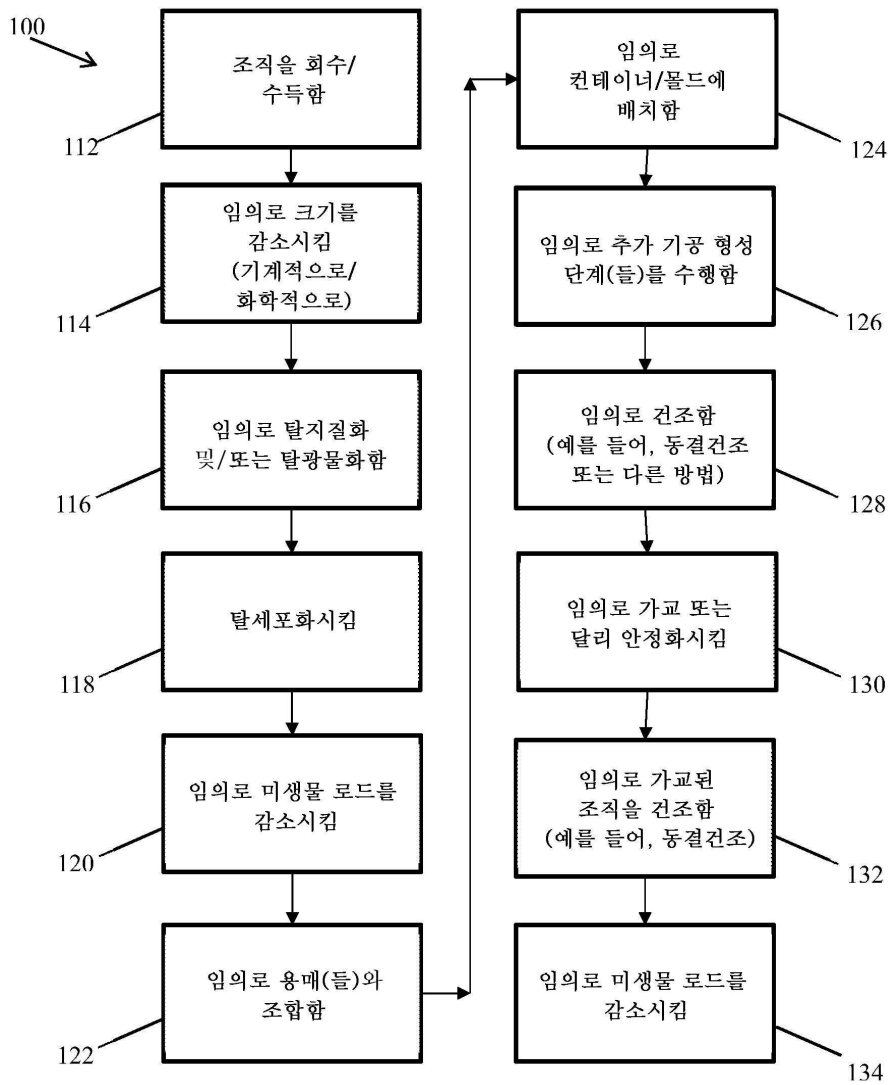
[0384] 실시예 1의 가교 섹션에 기재된 바와 같이 안정화를 수행하였다. 가교가 완료되면, 조직을 물과 함께 그의 물드에 다시 배치하고, 동결건조기에 배치하였다. 이전과 동일한 레시피를 실행하여 건조된 최종 조직 형태를 수득하였다. 건조 조직을 장기간 저장에 적합한 포장에 저장하였다.

[0385] \* \* \*

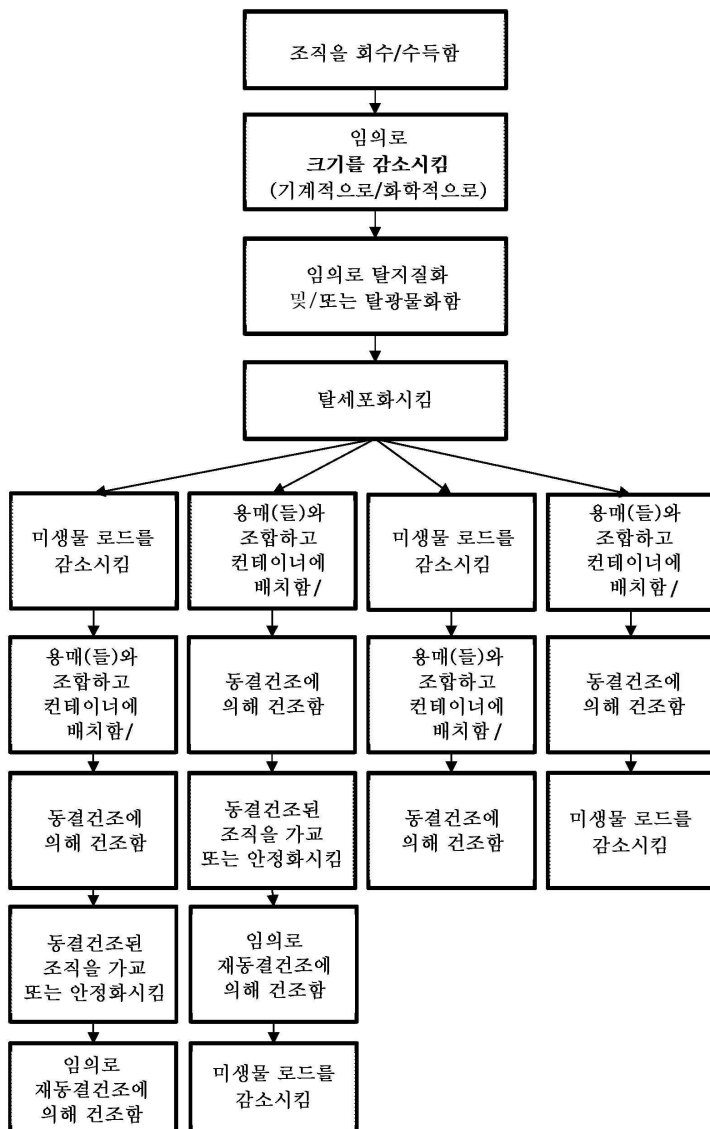
[0386] 상기 본원에 기재된 본 발명의 실시양태는 단지 예시적이며, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 변경 및 변형을 만들 수 있음이 이해될 것이다. 이러한 모든 변경 및 변형은 본 발명의 범위 내에 포함되도록 의도된다.

도면

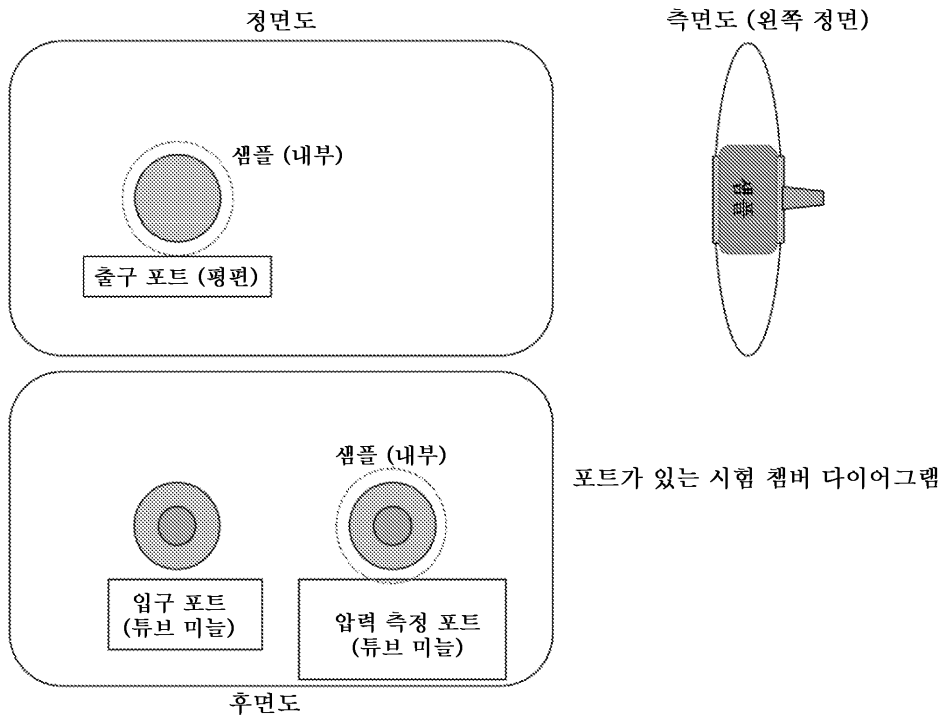
도면1



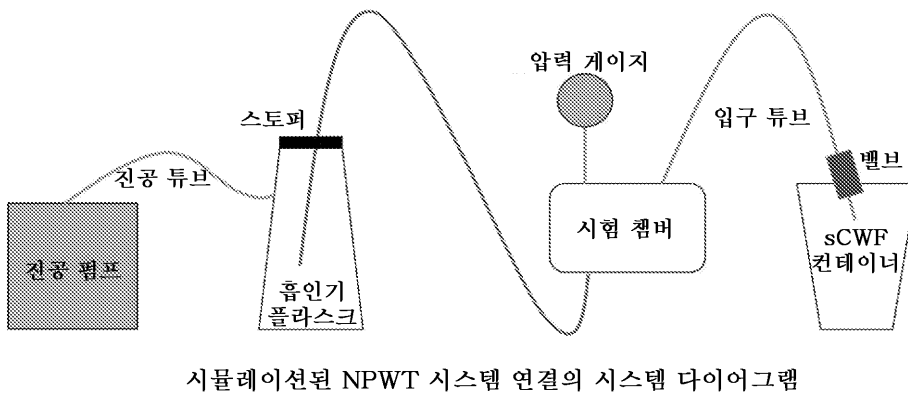
도면2



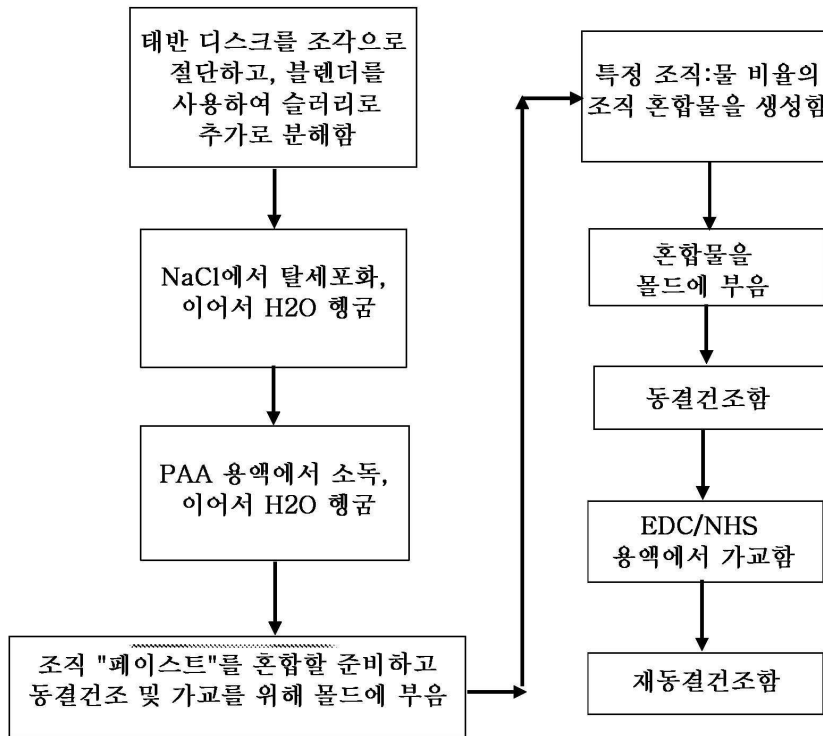
도면3



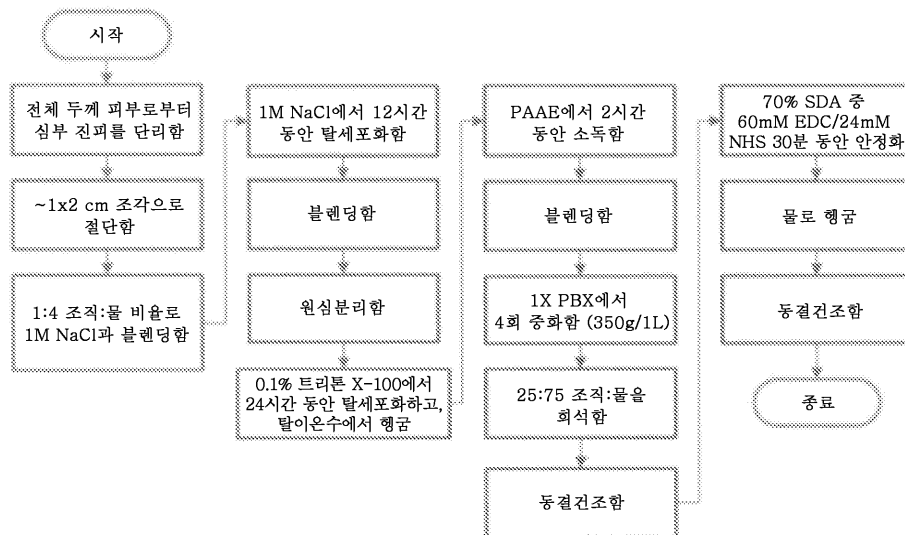
도면4



도면5



도면6



도면7

