(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0058762
(43) 공개일자 2013년06월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/18 (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61P 19/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7011627(분할)
(22) 출원일자(국제) 2005년10월12일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2007-7010708
원출원일자(국제) 2005년10월12일
심사청구일자 2010년10월12일
(85) 번역문제출일자 2013년05월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/036447
(87) 국제공개번호 WO 2006/044334
국제공개일자 2006년04월27일
(30) 우선권주장
10/965,319 2004년10월14일 미국(US)
11/159,533 2005년06월23일 미국(US)

(71) 출원인
바이오미메틱 세라퓨틱스, 인크.
미국 37067 테네시주 프랭클린 니콜 밀 레인 389
(72) 발명자
린치, 사무엘, 이.
미국 37067 테네시주 프랭클린 새들뷰 드라이브 6015
(74) 대리인
양영준, 양영환

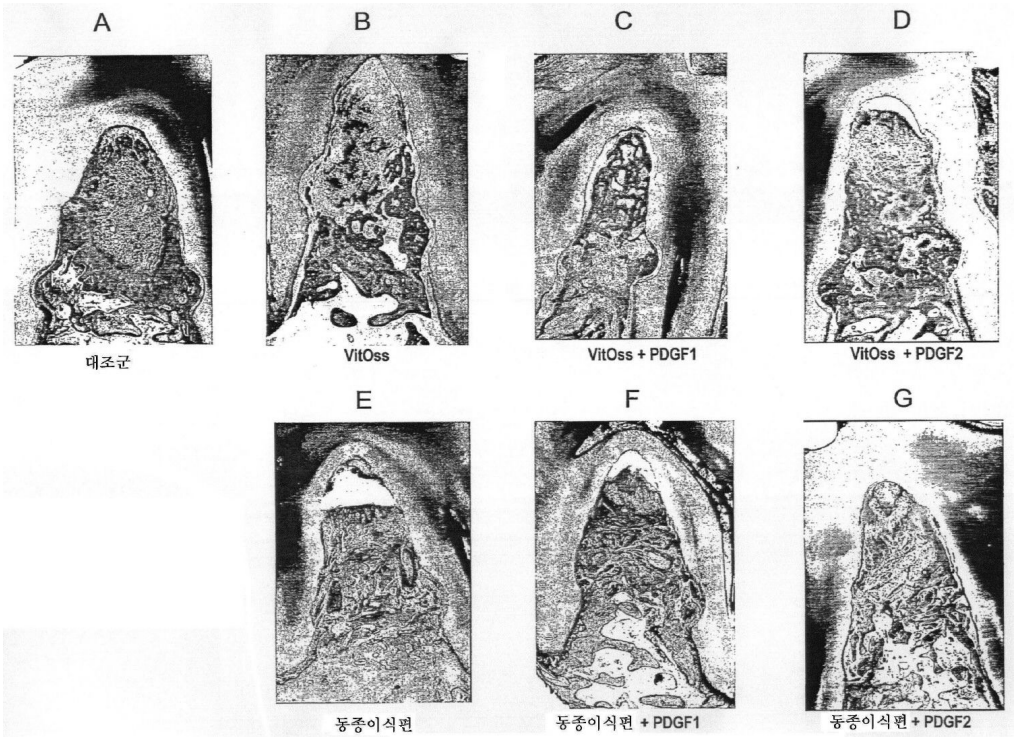
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **혈소판-유도된 성장인자 조성물 및 그의 사용방법**

(57) 요 약

본 발명은 약제학적으로 허용되는 액체 담체 및 약제학적으로 허용되는 고체 담체 중에 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 혈소판-유도된 성장인자를 포함하는 조성물을 골, 치주조직, 인대 또는 연골에 적용함으로써 포유동물에서 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키는 방법에 관한 것이다.

대 표 도



특허청구의 범위

청구항 1

약제학적으로 허용되는 액체 담체 및 약제학적으로 허용되는 고체 담체 중에 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)를 포함하며, 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키는 이식물질을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키는 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 골 및 결합조직의 치유에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 성장인자는 세포표면 상의 수용체에 결합하여 일차적으로 세포 증식 및/또는 분화를 활성화시키는 결과를 갖는 단백질이다. 대부분의 성장인자들은 다수의 상이한 세포 타입에서 매우 다양하게 세포분화를 촉진시키는 반면에 다른 것들은 특정의 세포-타입에 대해서 특이적이다. 성장인자의 예로는 혈소판-유도된 성장인자 (PDG), 인슐린-유사 성장인자 (IGF-I 및 II), 변형성장인자 베타 (TGF-β), 표피성장인자 (EGF) 및 섬유아세포 성장인자 (FGF)가 포함된다. PDGF는 순환 혈소판의 과립, 혈관근육세포, 내피세포, 대식세포 및 각질세포를 포함하는 다양한 세포 타입에 존재하는 양이온성, 열안정성 단백질이며, 섬유아세포에 의한 시험관내 단백질 합성 및 콜라겐 생산을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 이것은 또한, 섬유아세포, 평활근 세포, 골아세포 및 신경교세포에 대한 시험관내 미토젠 및 화학주성제로 작용하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 재조합체 인간 PDGF-BB (rhPDGF-BB)는 동물 및 인간 둘 다에서 창상 치유 및 골재생을 촉진시키는 것으로 나타났다. 이것은 미국 및 유럽 모두에서 만성 당뇨병성 족통 (foot sore)의 치유를 가속화시키기 위하여 국소 적용하여 인간에게서 사용하도록 승인되었다. 재조합체 hPDGF-BB는 또한, 단독으로 또는 다른 성장인자와 함께 치주 재생, 즉 골, 시멘트질 및 치아 주위의 인대의 재성장을 개선시키는데 효과적인 것으로 나타났다 (참조예: 미국 특허 제 5,124,316 호, 이것은 본 명세서에 참고로 포함되어 있다).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명에 따라서 본 발명자들은 저용량의 rhPDG (~0.1 내지 1.0 ㎎/㎖)가 골, 치주조직, 인대 및 연골의 복구를 촉진시키는 것을 입증하였다. 저용량의 rhPDG는 β-TCP에 흡착될 수 있으며, 이것은 생체내에서 rhPDG가 방출되도록 복구부위에 이식시킬 수 있다. β-TCP에 대한 rhPDG의 첨가는 비처리된 β-TCP에 비해서 골아세포 부착 및 증식을 증진시키는 것으로 나타났다.

과제의 해결 수단

[0005] 첫번째 관점에서, 본 발명은 혈소판-유도된 성장인자 (PDG)를 약 1.0 ㎎/㎖ 미만의 농도로 함유하는 이식물질을 투여하여 이러한 이식물질이 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키도록 함으로써 포유동물, 예를 들어, 인간에게서 골, 치주조직, 인대 또는 연골 성장을 촉진시키는 방법을 특징으로 한다. 구체예에서, PDGF는 0.3 ㎎/㎖ 또는 그 미만의 양으로 투여된다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 약 0.1 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 양으로 투여된다. 몇가지 구체예에서, PDGF는 약 0.2 내지 약 0.75 ㎎/㎖, 약 0.25 내지 약 0.6 ㎎/㎖, 및 약 0.25 내지 약 0.5 ㎎/㎖의 양으로 투여된다. 구체예에서, PDGF는 약 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖, 또는 1.0 ㎎/㎖, 바람직하게는 0.3 ㎎/㎖의 양으로 투여된다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 부분적으로, 또는 실질적으로 정제된다. 추가의 또 다른 구체예에서, PDGF는 다른 오염물질로부터 분리 또는 정제된다. 추가의 구체예에서, PDGF는 투여후 이식물질로부터 0.3 ㎎/일의 평균 비율로 방출된다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 투여후 이식물질로부터 300 ㎍/일의 평균 비율로 방출된다. 추가의 또 다른 구체예에서, PDGF는 이식물질로부터 100 ㎍/일 미만, 50 ㎍/일 미만, 10 ㎍/일 미만, 또는 1 ㎍/일 미만의 평균 비율로 방출된다. 바람직하게는, PDGF는 몇일, 예를

들어, 1, 2, 5, 10, 15, 20 또는 25일에 걸쳐서, 또는 28일 또는 그 이상까지에 걸쳐서 송달된다.

[0006] 본 발명의 두번째 관점은 이식물질이 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키도록 약 1.0 ㎎/㎖ 미만의 양의 혈소판-유도된 성장인자 (PDG) 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 이식물질을 투여하고, 골, 치주조직, 인대 또는 연골이 성장하도록 함으로써 포유동물, 예를 들어, 인간에게서 골, 치주조직, 인대 또는 연골 성장을 촉진시키는 방법을 특징으로 한다. 바람직하게는, PDGF는 0.3 ㎎/㎖ 또는 그 미만이다. 구체예에서, PDGF는 약 0.1 내지 약 1.0 ㎎/㎖의 범위로 투여된다. 또 다른 구체예에서, PDGF의 양은 약 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖, 또는 1.0 ㎎/㎖, 바람직하게는 0.3 ㎎/㎖이다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 부분적으로, 또는 실질적으로 정제된다. 추가의 또 다른 구체예에서, PDGF는 다른 오염물질로부터 분리 또는 정제된다. 이식물질을 포유동물에게 투여하기 전에, 이 방법은 추가로 피부의 외과적 피판 (surgical flap)을 생성시켜 골, 치주조직, 인대 또는 연골을 노출시키고, 피판을 대체하는 투여단계를 수행하는 포함할 수 있다. 또 다른 추가의 구체예에서, 외과적 피판을 생성시킨 후에, 그러나 이식물질을 골, 치주조직, 인대 또는 연골에 투여하기 전에, 이 방법은 추가로 골 또는 치주조직을 평활화하여 골 또는 치주조직으로부터 유기물질을 제거하는 단계를 더 포함할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 이 방법은 손상되거나 병에 걸린 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시킨다. 또 다른 구체예에서, 이 방법은 예를 들어, 발치, 치조제 증대술 (ridge augmentation), 심미적 이식술 (esthetic grafting) 및 상악동 거상술 (sinus lift)과 같은 외과적 개입의 결과로 새로운 골 형성이 필요한 위치에서 골의 성장을 촉진시킨다.

[0007] 본 발명의 세번째 관점은 포유동물, 예를 들어, 인간에게서 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키기 위한 이식물질을 특징으로 한다. 이식물질은 약제학적으로 허용되는 담체 (예를 들어, 생체적합성 결합제, 골치환제, 액체 또는 겔), 및 약 1.0 ㎎/㎖의 농도로 존재하는 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)를 포함한다. 바람직하게는, PDGF는 약 0.3 ㎎/㎖ 또는 그 미만의 농도로 이식물질 중에 존재한다. 구체예로, PDGF는 약 0.1 내지 1.0 ㎎/㎖의 범위로 투여된다. 또 다른 구체예에서, PDGF의 양은 약 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖ 또는 1.0 ㎎/㎖이다. 한가지 구체예에서, 이식물질의 약제학적으로 허용되는 담체는 PDGF를 포함하는 용액 (즉, PDGF를 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 함유하는 용액)을 흡수할 수 있는, 생체적합성 결합제 (예를 들어, 카복시메틸셀룰로즈) 또는 골치환제 (β-TCP)로 구성된 골격 (scaffold) 또는 매트릭스 (matrix)를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 약제학적으로 허용되는 담체는 그 자신의 중량의 약 25% 이상에 해당하는 양의 PDGF 용액을 흡수할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 약제학적으로 허용되는 담체는 그 자신의 중량의 약 50%, 75%, 100%, 200%, 250% 또는 300% 이상에 해당하는 양의 PDGF 용액을 흡수할 수 있다. 한가지 구체예에서, PDGF는 PDGF를 함유하는 용액에 약제학적으로 허용되는 담체를 침지시킴으로써 이식물질의 약제학적으로 허용되는 담체에 의해서 흡수된다. 바람직하게는, PDGF는 약 1.0 ㎎/㎖ 미만의 농도로 용액 중에 존재한다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 약 0.3 ㎎/㎖ 또는 그 미만의 농도로 용액 중에 존재한다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 약 0.1 내지 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 용액 중에 존재한다. 그 밖의 또 다른 구체예에서, PDGF는 약 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖ 또는 1.0 ㎎/㎖, 바람직하게는 0.3 ㎎/㎖의 양으로 용액 중에 존재한다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 부분적으로 또는 실질적으로 정제된다. 추가의 또 다른 구체예에서, PDGF는 다른 오염물질로부터 분리 또는 정제된다.

[0008] 본 발명의 네번째 관점은 포유동물, 예를 들어, 인간에게서 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 성장을 촉진시키기 위한 이식물질을 제조하는 방법을 특징으로 한다. 이 방법은 부분적으로 정제되거나 정제된 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)를 약 1.0 ㎎/㎖ 미만의 양으로 약제학적으로 허용되는 담체 물질과 배합시키는 단계를 포함한다. 바람직하게는, PDGF는 약 0.3 ㎎/㎖ 또는 그 미만의 농도로 약제학적으로 허용되는 담체 물질과 배합시킨다. 구체예로, PDGF는 약 0.1 내지 1.0 ㎎/㎖의 범위의 양으로 약제학적으로 허용되는 담체 물질과 배합시킨다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖ 또는 1.0 ㎎/㎖의 양으로 혼합시킨다. 또 다른 구체예에서, PDGF는 0.3 ㎎/㎖의 양으로 혼합시킨다. 추가의 또 다른 구체예에서, PDGF는 약제학적으로 허용되는 담체에 의해서 흡수되어 이식물질을 생성시킨다.

[0009] 본 발명의 다섯번째 관점은 약제학적으로 허용되는 액체 중에 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)를 갖는 바이알을 특징으로 한다. 본 발명의 이러한 관점의 구체예에서, 액체는 멸균 나트륨 아세테이트 완충액이다. 또 다른 구체예에서, 바이알은 약 0.3 ㎎/㎖의 농도로 PDGF를 함유한다. 추가의 또 다른 구체예에서, PDGF는 PDGF-BB이다. 그 밖의 또 다른 구체예에서, PDGF는 약 2℃ 내지 80℃ 범위의 온도에서 저장할 때에 나트륨 아세테이트 완충액 중에서 약 12개월 이상, 바람직하게는 약 18개월 이상, 더욱 바람직하게는 약 24개월 이상, 가장 바람직하게는 약 36개월 이상 동안 안정하다.

[0010] 본 발명의 여섯번째 관점은 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)를

함유하는 액체가 안에 흡착되어 있는 다공성 칼슘 포스페이트를 포함하는 이식물질을 특징으로 한다. 몇가지 구체예에서, PDGF의 농도는 약 0.3 ㎎/㎖이고, 칼슘 포스페이트는 트리칼슘 포스페이트, 하이드록시아파타이트, 불량한 결정성의 하이드록시아파타이트, 무정형 칼슘 포스페이트, 칼슘 메타포스페이트, 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트, 헵타칼슘 포스페이트, 칼슘 파이로포스페이트 디하이드레이트, 칼슘 파이로포스페이트, 및 옥타칼슘 포스페이트로부터 선택되고, PDGF는 멸균 액체, 예를 들어, 나트륨 아세테이트 완충액 중에 제공된다.

[0011] 본 발명의 일곱번째 관점은 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 1.0 ㎎/㎖ 범위의 농도로 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)를 포함하는 멸균 액체 내에 칼슘 포스페이트 물질을 포화시킴으로써 이식물질을 제조하는 방법을 특징으로 한다. 몇가지 구체예에서, PDGF의 농도는 약 0.3 ㎎/㎖이고, 칼슘 포스페이트는 트리칼슘 포스페이트, 하이드록시아파타이트, 불량한 결정성의 하이드록시아파타이트, 무정형 칼슘 포스페이트, 칼슘 메타포스페이트, 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트, 헵타칼슘 포스페이트, 칼슘 파이로포스페이트 디하이드레이트, 칼슘 파이로포스페이트, 및 옥타칼슘 포스페이트로부터 선택된다.

[0012] 본 발명의 모든 관점의 구체예에서, PDGF는 PDGF 호모- 및 헤테로다이머, 예를 들어, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, 및 PDGF-DD, 및 이들의 배합물 및 유도체를 포함한다.

[0013] 본 발명의 모든 관점의 구체예에서, 이식물질의 약제학적으로 허용되는 담체 물질은 다음의 성분들 중의 하나 또는 그 이상이거나, 추가로 이들을 포함한다: 생체적합성 결합제 (예를 들어, 천연 또는 합성 중합체), 골치환제, 액체 및 겔. 또 다른 바람직한 구체예에서, 이식물질은 약제학적으로 허용되는 고체 담체에 의해서 흡착된 약제학적으로 허용되는 액체 담체 내에 존재하는 PDGF를 포함한다.

[0014] 본 발명의 모든 관점의 또 다른 구체예에서, 이식물질은 분리되거나, 부분적으로 정제되거나, 실질적으로 정제되거나, 정제된 PDGF를 0.1 내지 1.0 ㎎/㎖ 범위의 양, 더욱 바람직하게는 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖, 또는 1.0 ㎎/㎖, 가장 바람직하게는 0.3 ㎎/㎖, 또는 0.1 ㎎/㎖ 미만까지의 양으로 약제학적으로 허용되는 담체 물질, 예를 들어, 천연 또는 합성 중합체 (예를 들어, 콜라겐, 폴리글리콜산, 및 폴리락트산)와 같은 생체적합성 결합제, 골치환제 (예를 들어, 칼슘 포스페이트 (예를 들어, 트리칼슘 포스페이트 또는 하이드록시아파타이트), 칼슘 설페이트, 또는 탈회된 골 (예를 들어, 탈회된 동결건조된 피질 또는 해면모양의 골)), 또는 시판품으로 이용할 수 있는 겔 또는 액체 (즉, 점성 또는 불활성 겔 또는 액체)와 배합시킴으로써 제조된다.

[0015] 몇가지 구체예에서, 이식물질의 담체 물질은 하나 또는 그 이상의 생체적합성 결합제이거나, 이들을 추가로 포함한다. 생체적합성 결합제는 결합된 물질들 사이의 응집 (cohesion)을 발생시키거나 촉진시키는 성분이다. 적합한 생체적합성 결합제의 비-제한적 예로는 폴리사카라이드, 핵산, 탄수화물, 단백질, 폴리펩타이드, 폴리(α-하이드록시산), 폴리(락톤), 폴리(아미노산), 폴리(안하이드라이드), 폴리(오르토에스테르), 폴리(안하이드라이드-코-이미드), 폴리(오르토카보네이트), 폴리(α-하이드록시 알카노에이트), 폴리(디옥사논), 폴리(포스포에스테르), 폴리락트산, 폴리(L-락티드) (PLLA), 폴리(D,L-락티드) (PDLLA), 폴리글리콜리드 (PGA), 폴리(락티드-코-글리콜리드) (PLGA), 폴리(L-락티드-코-D,L-락티드), 폴리(D,L-락티드-코-트리메틸렌 카보네이트), 폴리글리콜산, 폴리하이드록시부티레이트 (PHB), 폴리(ε-카프로락톤), 폴리(δ-발레로락톤), 폴리(γ-부티로락톤), 폴리(카프로락톤), 폴리아크릴산, 폴리카복실산, 폴리(알릴아민 하이드로클로라이드), 폴리(디알릴디메틸암모늄클로라이드), 폴리(에틸렌이민), 폴리프로필렌 푸마레이트, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 탄소섬유, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리(비닐 알콜), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(에틸옥사졸린), 폴리(에틸렌 옥사이드)-코-폴리(프로필렌 옥사이드) 블록 코폴리머, 폴리(에틸렌 테레프탈레이트)폴리아미드, 및 이들의 코폴리머 및 혼합물로부터 선택된 중합체가 포함된다. 추가의 결합제로는 알긴산, 아라비아 고무, 구아 고무, 잔탄 고무, 젤라틴, 키틴, 키토산, 키토산 아세테이트, 키토산 락테이트, 콘드로이틴 설페이트, N,O-카복시메틸 키토산, 덱스트란 (예를 들어, α-사이클로덱스트린, β-사이클로덱스트린, γ-사이클로덱스트린, 또는 나트륨 덱스트란 설페이트), 피브린 글루 (fibrin glue), 글리세롤, 히알우론산, 나트륨 히알우로네이트, 셀룰로즈 (예를 들어, 메틸셀룰로즈, 카복시 메틸셀룰로즈, 하이드록시프로필 메틸셀룰로즈, 또는 하이드록시에틸 셀룰로즈), 글루코사민, 프로테오글리칸, 전분 (예를 들어, 하이드록시에틸 전분 또는 가용성 전분), 락트산, 플루로닉, 나트륨 글리세로포스페이트, 콜라겐, 글리코겐, 케라틴, 실크, 및 이들의 유도체 및 혼합물이 포함된다. 일부의 구체예에서, 생체적합성 결합제는 수용성이다. 수용성 결합제는 이식물질을 생체내에 이식한 지 잠시 후에 이식물질로부터 용해함으로써 이식물질 내로 마크로다공성 (macroporosity)을 도입시킨다. 이러한 마크로다공성은 이식부위에서 파골세포 및 골아세포의 어세스 (access) 및 따라서, 리모델링 (remodeling) 활성을 증진시킴으로써 이식물질의 골전도성을 증가시킨다.

[0016] 생체적합성 결합제는 조성물의 제조 중의 다양한 단계에서 다양한 양으로 이식물질에 첨가될 수 있다. 본 기술

분야에서 숙련된 전문가는 소정의 적용을 위해서 필요한 결합제의 양 및 포함시키는 방법을 결정할 수 있을 것이다.

[0017] 한가지 구체예에서, 담체 물질은 물, 완충제 및 세포배양매질로부터 선택된 액체이거나, 이것을 포함한다. 액체는 어떤 pH 범위에서도 사용될 수 있으나, 가장 흔하게는 pH 5.0 내지 pH 8.0의 범위에서 사용될 수 있다. 한가지 구체예에서, pH는 이식물질 내에 존재하는 PDGF의 장기간 안정성 및 효능과, 또는 또 다른 원하는 생물학적 활성제의 장기간 안정성 및 효능과 상화적일 수 있다. 대부분의 구체예에서, 액체의 pH는 pH 5.5 내지 pH 7.4의 범위일 수 있다. 적합한 완충제에는 카보네이트, 포스페이트 (예를 들어, 포스페이트 완충된 식염수), 및 트리스 (Tris), HEPES 및 MOPS와 같은 유기 완충제가 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다. 가장 흔하게는 완충제는 숙주조직과의 그의 상화성 및 생물학적 활성제와의 그의 상화성을 위해서 선택될 수 있다. 핵산, 펩타이드 또는 항생제가 이식물질 내에 포함되는 대부분의 적용을 위해서는 간단한 포스페이트 완충된 식염수가 충분할 것이다.

[0018] 본 발명의 모든 관점의 또 다른 구체예에서, 이식물질의 담체 물질은 하나 또는 그 이상의 골치환제이거나, 이것을 추가로 포함한다. 골치환제는 영구적으로 또는 일시적으로 골을 대체하기 위하여 사용될 수 있는 것이다. 이식한 후에 골치환제는 신체에 의해서 보유될 수 있거나, 신체에 의해서 다시 흡수되어 골로 대체될 수 있다. 골치환제의 예로는 예를 들어, 칼슘 포스페이트 (예를 들어, 트리칼슘 포스페이트 (예를 들어, β-TCP), 하이드록시아파타이트, 불량한 결정성의 하이드록시아파타이트, 무정형 칼슘 포스페이트, 칼슘 메타포스페이트, 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트, 헵타칼슘 포스페이트, 칼슘 파이로포스페이트 디하이드레이트, 칼슘 파이로포스페이트, 및 옥타칼슘 포스페이트), 칼슘 설페이트, 또는 탈회된 골 (예를 들어, 탈회된 동결건조된 피질 또는 해면모양의 골)가 포함된다. 한가지 구체예에서, 담체 물질은 생체흡수성이다. 또 다른 구체예에서, 골치환제는 미크론- 또는 서브미크론-크기 입자, 예를 들어, 나노-크기 입자의 매트릭스로 제공된다. 입자는 크기가 약 100 ㎛ 내지 약 5000 ㎛의 범위, 더욱 바람직하게는 약 200 ㎛ 내지 약 3000 ㎛의 범위, 가장 바람직하게는 약 250 ㎛ 내지 약 2000 ㎛의 범위일 수 있거나, 입자가 약 1 nm 내지 약 1000 nm의 범위, 바람직하게는 약 500 nm 미만, 더욱 바람직하게는 약 250 nm 미만일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 골치환제는 다공성 조성물을 갖는다. 조성물의 다공성은 세포가 세포외 골 매트릭스를 분비할 수 있도록 조성물 내로의 세포 이동 및 침윤을 촉진시키기 때문에 바람직한 특징이다. 이것은 또한, 혈관신생을 위한 어세스를 제공한다. 다공성은 또한, 활성성분의 증진된 흡수 및 방출뿐만 아니라 증가된 세포-매트릭스 상호작용을 위한 큰 표면적을 제공한다. 바람직하게는, 조성물은 40% 초과, 더욱 바람직하게는 65% 초과, 가장 바람직하게는 90% 초과의 다공성을 갖는다. 조성물은 이식에 적합한 형상 (예를 들어, 구형, 실린더 또는 블럭)으로 제공될 수 있거나, 사용하기 전에 크기 및 형상을 만들 수 있다. 바람직한 구체예에서, 골치환제는 칼슘 포스페이트 (예를 들어, β-TCP)이다.

[0019] 골치환제는 또한, 유동성의 성형가능한 페이스트 (paste) 또는 퍼티 (putty)로 제공될 수도 있다. 바람직하게는, 골치환제는 생체내 이식하기 전 또는 후에 경화된 칼슘 포스페이트를 형성하도록 자체-경화하는 칼슘 포스페이트 페이스트이다. 본 발명의 칼슘 포스페이트 성분은 본 기술분야에서 공지되어 있는 어떤 생체적합성 칼슘 포스페이트 물질이라도 될 수 있다. 칼슘 포스페이트 물질은 적합한 출발물질을 사용하여 다양한 방법들 중의 어느 하나에 의해서 생산될 수 있다. 예를 들어, 칼슘 포스페이트 물질은 무정형의 아파타이틱 (apatitic) 칼슘 포스페이트를 포함할 수 있다. 칼슘 포스페이트 물질은 결정성 하이드록시아파타이트 고체를 형성하는 결정성 칼슘 포스페이트 반응물의 고체상 산-염기 반응에 의해서 생산될 수 있다. 칼슘 포스페이트 물질을 제조하는 다른 방법도 본 기술분야에서 공지되어 있으며, 이들 중의 일부는 이하에 기술된다.

[0020] 칼슘 포스페이트 물질은 불량한 결정성의 아파타이틱 (PCA) 칼슘 포스페이트 또는 하이드록시아파타이트 (HA)일 수 있다. PCA 물질은 모두 본 명세서에 참고로 포함되어 있는 출원들 미국 특허 제 5,650,176; 5,783,217; 6,027,742; 6,214,368; 6,287,34; 6,331,312; 및 6,541,037 호에 기술되어 있다. HA는 예를 들어, 미국 특허 제 Re. 33,221 및 Re. 33,161 호에 기술되어 있다. 이들 특허는 칼슘 포스페이트 광물질재보급 (remineralization) 조성물, 및 동일한 칼슘 포스페이트 조성물을 기초로 하는 미세결정성이고 비-세라미성이며 서서히 재흡수성인 하이드록시아파타이트 담체 물질의 제조를 시사한다. 테트라칼슘 포스페이트 (TTCP) 및 모노칼슘 포스페이트 (MCP) 또는 그의 모노하이드레이트 형태 (MCPM)로 구성된 유사한 칼슘 포스페이트 시스템은 미국 특허 제 5,053,212 및 5,129,905 호에 기술되어 있다. 이 칼슘 포스페이트 물질은 결정성 하이드록시아파타이트 고체를 형성하는 결정성 칼슘 포스페이트 반응물의 고체상 산-염기 반응에 의해서 생산된다.

[0021] 결정성 HA 물질 (통상적으로는 다알라이트 (dahllite)로 불림)은 이들이 유동성이고, 성형가능하며 그 자리에서 경화할 수 있도록 제조될 수 있다 (참조: 미국 특허 제 5,962,028 호). 이들 HA 물질 (통상적으로는 탄소화된 하이드록시아파타이트로 불림)은 반응물을 비-수성 액체와 배합하여 실질적으로 균일한 혼합물을 제공하고, 혼

합물을 필요에 따라서 성형하고, (예를 들어, 이식하기 전 또는 후에) 혼합물을 물의 존재하에서 경화하도록 함으로써 형성될 수 있다. 경화하는 중에, 혼합물은 고체이며 본질적으로 모노리식 (monolithic) 아파타이틱 구조로 결정화한다.

[0022] 반응물은 일반적으로, 포스페이트 공급원, 예를 들어, 실질적으로 물을 함유하지 않는 인산 또는 포스페이트 염, 알칼리 금속염, 특히 칼슘 공급원, 임의로 결정성 핵, 특히 하이드록시아파타이트 또는 칼슘 포스페이트 결정, 칼슘 카보네이트, 및 본 명세서에 기술된 비-수성 액체와 같은 생리적으로 허용되는 윤활제로 구성될 수 있다. 건조 성분들은 혼합물로 전-제조되고, 이어서 실질적으로 균일한 혼합이 일어나는 조건 하에서 비-수성 액체 성분과 배합될 수 있다.

[0023] 칼슘 포스페이트 물질은 그의 생물학적 재흡수성, 생체적합성, 및 그의 최소 결정도에 의해서 특정화된다. 그의 결정성 특징은 천연적인 골과 실질적으로 동일하다. 바람직하게는, 칼슘 포스페이트 물질은 5시간 미만에 경화하며, 생리적 조건 하에서는 실질적으로 약 1 내지 5시간에 경화한다. 바람직하게는, 이 물질은 실질적으로 약 10-30분 이내에 경화된다. 생리적 조건 하에서의 경화율은 본 명세서에 참고로 포함되어 있는 미국 특허 제 6,027,742 호에 기술된 바와 같이 몇가지 간단한 파라메터를 변형시킴으로써 치료학적 필요성에 따라서 변화될 수 있다.

[0024] 구체예로, 생성된 생체흡수성 칼슘 포스페이트 물질은 하이드록시아파타이트에 대한 약 1.67의 이상적 화학량론적 값에 비해서 약 1.6 미만의 칼슘 대 포스페이트 몰비를 가지고 "칼슘 결핍성 (calcium deficient)"일 수 있다.

[0025] 바람직한 칼슘 포스페이트는 습식환경 하에 체온 또는 대략 체온에서 5시간 이내, 바람직하게는 10-30분 이내에 경화할 수 있다. 바람직한 물질은 1-5 g의 펠릿으로 이식하면 1년 이내에 80% 이상이 재흡수되는 것이다. 바람직하게는, 이 물질은 완전히 재흡수될 수 있다.

[0026] 본 발명의 모든 관점의 몇가지 구체예에서, 이식물질은 추가로 하나 또는 그 이상의 생물학적 활성제를 포함할 수 있다. 본 발명의 이식물질에 혼입될 수 있는 생물학적 활성제로는 유기분자, 무기물질, 단백질, 펩타이드, 핵산 (예를 들어, 유전자, 유전자 단편, 유전자 조절서열, 및 안티센스 분자), 뉴클레오프로테인, 폴리사카라이드, 글리코프로테인 및 리포프로테인이 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명의 이식물질에 혼입될 수 있는 생물학적 활성화합물의 부류에는 항암제, 항생물질, 진통제, 진경제, 호르몬, 근육이완제, 항경련제, 안과용제, 프로스타글란딘, 항우울제, 항정신병성 물질, 영양인자 (trophic factors), 골유도성 단백질, 성장인자 및 백신이 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다.

[0027] 항암제는 알킬화제, 백금제, 항대사물질, 토포이소머라제 억제제, 항종양성 항생물질, 항유사분열제, 아로마타제 억제제, 티미딜레이트 신타제 어제제, DNA 길항제, 파르네실트랜스퍼라제 억제제, 펌프 억제제, 히스톤 아세틸트랜스퍼라제 억제제, 메탈로프로테이나제 억제제, 리보뉴클레오사이드 리덕타제 억제제, TNF 알파 작용제/길항제, 엔도텔린 A 수용체 길항제, 레티노산 수용체 작용제, 면역조절제, 호르몬제 및 항호르몬제, 광역학제 및 타이로신 키나제 억제제를 포함한다.

[0028] 표 1에 열거된 생물학적 활성제 중의 어떤 것이라도 사용될 수 있다.

표 1

알킬화제	사이클로포스파마이드 부설판 이포스파마이드 멜파란 헥사메틸멜라민 티오테파 클로람부실 다카르바진 카르무스틴	로무스틴 프로카르바진 알트레타민 에스트라무스틴 포스페이트 메클로레타민 스트렙토조신 테모졸로마이드 세무스틴
백금제	시스플라틴 옥살리플라틴 스피로플라티늄 카복시프탈라토플라티늄 테트라플라틴 오르미플라틴 이프로플라틴	카보플라티늄 ZD-0473 (AnorMED) 로바플라틴 (Aeterna) 사트라플라틴 (Johnson Matthey) BBR-3464 (Hoffmann-La Roche) SM-11355 (Sumitomo) AP-5280 (Access)
항대사물질	아자사이티딘 젬시타빈 카페시타빈 5-플루오로우라실 플록스유리딘 2-클로로데옥시아데노신 6-머캅토푸린 6-티오구아닌 사이타라빈 2-플루오로데옥시 사이티딘 메토트렉세이트 이다트렉세이트	토무덱스 트리메트렉세이트 데옥시코포르마이신 플루다라빈 펜토스타틴 랄티트렉시드 하이드록시우레아 데시타빈 (SuperGen) 클로파라빈 (Bioenvision) 이로풀벤 (MGI Pharma) DMDC (Hoffmann-La Roche) 에티닐사이티딘 (Taiho)
토포이소머라제 억제제	암사크린 에피루비신 에토포사이드 테니포사이드 또는 미토크산트론 이리노테칸 (CPT-11) 7-에틸-10-하이드록시-캄프토테신 토포테칸 덱스라족사네트 (Topo Target) 픽산트론 (Novuspharma) 레베카마이신 동족체 (Exelixis) BBR-3576 (Novuspharma)	루비테칸 (SuperGen) 엑사테칸 메실레이트 (Daiichi) 퀴나메드 (ChemGenex) 지마테칸 (Sigma-Tau) 디플로모테칸 (Beaufour-Ipsen) TAS-103 (Taiho) 엘사미트루신 (Spectrum) J-107088 (Merck & Co) BNP-1350 (BioNumerik) CKD-602 (종근당) KW-2170 (Kyowa Hakko)

[0029]

[0030]

항종양성 항생물질	닥티노마이신 (액티노마이신 D) 독소루비신 (아드리아마이신) 데옥시루비신 발루비신 다우노루비신 (다우노마이신) 에피루비신 테라루비신 이다루비신 루비다존 폴리카마이신 포르피로마이신 시아노모르폴리노독소루비신 미토크산트론 (노반트론)	암모나파이드 아조나파이드 안트라피라졸 옥산트라졸 로족산트론 블레오마이신 설페이트 (블레녹산) 블레오마이신산 블레오마이신 A 블레오마이신 B 미토마이신 C MEN-10755 (Menarini) GPX-100 (Gem Pharmaceuticals)
항유사분열제	파클리탁셀 도세탁셀 콜히친 빈블라스틴 빈크리스틴 비노렐빈 빈데신 돌라스타틴 10 (NCI) 라이족신 (Fujisawa) 미보불린 (Warner-Lambert) 세마도틴 (BASF) RPR 109881A (Aventis) TXD 258 (Aventis) 에포틸론 B (Novartis) T 900607 (Tularik) T 138067 (Tularik) 크립토파이신 52 (Eli Lilly) 빈플루닌 (Fabre) 아우리스타틴 PE (Teikoku Hormone) BMS 247550 (BMS) BMS 184476 (BMS) BMS 188797 (BMS) 탁소프렉신 (Protarga)	SM 408075 (GlaxoSmithKline) E7010 (Abbott) PG-TXL (Cell Therapeutics) IDN 519 (Bayer) A 105972 (Abbott) A 204179 (Abbott) LU 223651 (BASF) D 24851 (ASTAMedica) ER-86526 (Eisai) 콤브레타스타틴 A4 (BSM) 이소호모할리콘드린-B (PharmaMar) ZD 6126 (AstraZeneca) PEG-파클리탁셀 (Enzon) AZ10992 (Asahi) IDN-5109 (Indena) AVLB (Prescient NeuroPharma) 아자에포틸론 B (BMS) BNP-7787 (BioNumerik) CA-4 프로드럭 (OXiGENE) 돌라스타틴-10 (NIH) CA-4 (OXiGENE)
아로마타제 억제제	아미노글루테트이미드 레트로졸 아나스트라졸 포르메스탄	엑세메스탄 아타메스탄 (BioMedicines) YM-511 (Yamanouchi)
티미딜레이트 신타제 억제제	페메트렉시드 (Eli Lilly) ZD-9331 (BTG)	놀라트렉시드 (Eximias) 코팩터 (CoFactor™) (BioKeys)

[0031]

DNA 길항제	트라벡테딘 (PharmaMar) 글루포스파미드 (Baxter International) 알부민+32P (Isotope Solutions) 타이멕타신 (NewBiotics) 에토트레오티드 (Novartis)	마포스파미드 (Baxter International) 아자퀴논 (Spectrum Pharmaceuticals) O6 벤질 구아닌 (Paligent)
파르네실트랜스퍼라제 억제제	아르글라빈 (NuOncology Labs) 로나파르니브 (Schering-Plough) BAY-43-9006 (Bayer)	티피파르니브 (Johnson & Johnson) 페리릴 알콜 (DOR BioPharma)
펌프 억제제	CBT-1 (CBA Pharma) 타리퀴다르 (Xenova) MS-209 (Schering AG)	조수퀴다르 트리하이드로클로라이드 (Eli Lilly) 비리코다르 디시트레이트 (Vertex)
히스톤 아세틸트랜스퍼라제 억제제	타세디날린 (Pfixer) SAHA (Aton Pharma) MS-275 (Schering AG)	피발로일옥시메틸 부티레이트 (Titan) 덴시쿼타이드 (Fujisawa)
메탈로프로테이나제 억제제	네오바스타트 (Aeterna Laboratories) 마리마스타트 (British Biotech)	CMT-3 (CollaGenex) BMS-275291 (Celltech)
리보뉴클레오사이드 리덕타제 억제제	갈리움 말톨레이트 (Titan) 트리아뮌 (Vion)	테자시타빈 (Aventis) 디독스 (Molecules for Health)
TNF 알파 작용제/길항제	비룰리진 (Lorus Therapeutics) CDC-394 (Celgene) 인플릭시마브 (Centocor, Inc.) 아달리무마브 (Abbott Laboratories)	레비미드 (Celgene) 엔타너셉트 (Immunex Corp.)
엔도텔린 A 수용체 길항제	아트라센탄 (Abbott) ZD-4054 (AstraZeneca)	YM-598 (Yamanouchi)
레티노산 수용체 작용제	팰레티니드 (Johnson & Johnson) LGD-1550 (Ligand)	알리트레티노인 (Ligand)
면역조절제	인터페론 온코파지 (Antigenics) GMK (Progenics) 선암 백신 (Biomira) CTP-37 (AVI BioPharma) IRX-2 (Immuno-Rx) PEP-005 (Peplin Biotech) 신크로박스 백신 (CTL Immuno) 흑색종 백신 (CTL Immuno) p21 RAS 백신 (GemVax)	텍소좀 치료법 (Anosys) 펜트릭스 (Australian Cancer Technology) ISF-154 (Tragen) 암 백신 (Intercell) 노렐린 (Biostar) BLP-25 (Biomira) MGV (Progenics) β-알레틴 (Dovetail) CLL 치료법 (Vasogen)

호르몬제 및 항호르몬제	에스트로젠 컨쥬게이트된 에스트로젠 에티닐 에스트라디올 클로르트리아니센 이덴에스트롤 하이드록시프로제스테론 카프로에이트 메드록시프로제스테론 테스토스테론 테스토스테론 프로피오네이트 플루옥시메스테론 메틸테스토스테론 디에틸스틸베스트롤 메제스트롤 타목시펜 토레모핀 덱사메타존	프레드니손 메틸프로드니손 프레드니솔론 아미노글루테트이미드 로이프롤리드 고세렐린 로이포렐린 비칼루타미드 플루타미드 옥트레오티드 닐루타미드 미토테인 P-04 (Novogen) 2-메톡시에스트라디올 (EntreMed) 아르족시펜 (Eli Lilly)
광역학제	탈라포르핀 (Light Sciences) 테라록스 (Theratechnologies) 모텍사핀 가돌리늄 (Pharmacyclics)	Pd-박테리오페오포르바이드 (Yeda) 루테튬 텍사피린 (Pharmacyclics) 하이페리신
타이로신 키나제 억제제	이마티니브 (Novartis) 레플루노미드 (Sugen/Pharmacia) ZD1839 (AstraZeneca) 에를로티니브 (Oncogene Science) 카네르티니브 (Pfizer) 스쿠알라민 (Genaera) SU5416 (Pharmacia) SU6668 (Pharmacia) ZD4190 (AstraZeneca) ZD6474 (AstraZeneca) 바탈라니브 (Novartis) PKI166 (Novartis) GW2016 (GlaxoSmithKline) EKB-509 (Wyeth) EKB-569 (Wyeth)	카할라이드 F (PharmaMar) CEP-701 (Cephalon) CEP-751 (Cephalon) MLN518 (Millenium) PKC412 (Novartis) 페녹소디올 트라스투주마브 (Genetech) C225 (ImClone) rhu-Mab (Genentech) MDX-H210 (Medarex) 2C4 (Genentech) MDX-447 (Medarex) ABX-EGF (Abgenix) IMC-1C11 (ImClone)

[0032]

[0033] 항생물질에는 아미노글리코사이드 (예를 들어, 겐타마이신, 토브라마이신, 네틸마이신, 스트렙토마이신, 아미카신, 네오마이신), 바시트라신, 코르바페넴 (예를 들어, 이미페넴/시스라스타틴), 세팔로스포린, 콜리스틴, 메테나민, 모노박탐 (예를 들어, 아즈트레오남), 페니실린 (예를 들어, 페니실린 G, 페니실린 V, 메티실린, 나트실린, 옥사실린, 클록사실린, 디클록사실린, 암피실린, 아목시실린, 카르베니실린, 티카르실린, 피페라실린, 메즐로실린, 아즐로실린), 폴리믹신 B, 퀴놀론, 및 반코마이신; 및 클로람페니콜, 클린다나이안, 마크로라이드 (예를 들어, 에리트로마이신, 아지트로마이신, 클라리트로마이신), 린코마이신, 니트로푸란토인, 설폰아미드, 테트라사이클린 (예를 들어, 테트라사이클린, 독시사이클린, 미노사이클린, 데메클로사이클린), 및 트리메토프림과 같은 정균제가 포함된다. 또한, 메트로니다졸, 플루오로퀴놀론 및 리탐핀도 포함된다.

[0034] 효소 억제제는 효소적 반응을 억제하는 물질이다. 효소 억제제의 예로는 에드로포늄 클로라이드, N-메틸피조스티그민, 네오스티그민 브로마이드, 피조스티그민 설페이트, 타크린, 1-하이드록시 말리에이트, 요오도튜베르시딘, p-브로모테트라미졸, 10-(알파-디에틸아미노프로피오닐)-페노티아진 하이드로클로라이드, 칼미다졸륨 클로라이드, 헤미콜리늄-3, 3,5-디니트로카테콜, 디아실글리세롤 키나제 억제제 I, 디아실글리세롤 키나제 억제제 II, 3-페닐프로파길아민, N^6-모노메틸-L-아르기닌 아세테이트, 카비도파, 3-하이드록시벤질하이드라진, 하이드랄라진, 클로르질린, 데프레닐, 하이드록실아민, 이프로니아지드 포스페이트, 6-MeO-테트라하이드로-9H-피리도-인돌, 니알라마이드, 파르질린, 퀴나크린, 세미카르바지드, 트래닐사이프로민, N,N-디에틸아미노에틸-2,2-디페닐발레레이트 하이드로클로라이드, 3-이소부틸-1-메틸잔탄, 파파베린, 인도메타신드, 2-사이클로옥틸-2-하이드록시에틸아민 하이드로클로라이드, 2,3-디클로로-a-메틸벤질아민 (DCMB), 8,9-디클로로-2,3,4,5-테트라하이드로-1H-2-벤즈아제핀 하이드로클로라이드, p-아미노글루테트이미드, p-아미노글루테트이미드 타트레이트, 3-요오도타이로신, 알파-메틸타이로신, 아세타졸라마이드, 디클로르펜아미드, 6-하이드록시-2-벤조티아졸설폰아미드 및 알로푸리놀이 포함된다.

[0035] 항히스타민제에는 특히 피릴라민, 클로르페니라민, 및 테트라하이드라졸린이 포함된다.

[0036] 항염증제로는 코르티코스테로이드, 비스테로이드성 항염증성 약물 (예를 들어, 아스피린, 페닐부타존, 인도메타신, 술린닥, 톨메틴, 이부프로펜, 피록시캄 및 페나메이트), 아세트아미노펜, 페나세틴, 금 염류, 클로로퀸, D-

페니실라민, 메토트렉세이트 콜히친, 알로푸리놀, 프로베네시드 및 설핀피라존이 포함된다.

[0037] 근육이완제는 메페네신, 메토카브로말, 사이클로벤자프린 하이드로클로라이드, 트리헥실페니딜 하이드로클로라이드, 레보도파/카비도파, 및 비페리덴을 포함한다.

[0038] 항경련제에는 아트로핀, 스코폴라민, 옥시페노늄 및 파파베린이 포함된다.

[0039] 진통제에는 아스피린, 페닐부타존, 인도메타신, 술린닥, 톨메틱, 이부프로펜, 피록시캄, 페나메이트, 아세트아미노펜, 페나세틴, 모르핀 설페이트, 코데인 설페이트, 메페리딘, 날로르핀, 오피오이드 (예를 들어, 코데인 설페이트, 펜타닐 시트레이트, 하이드로코돈 비타트레이트, 로페라마이드, 모르핀 설페이트, 노스카핀, 노르코데인, 노르모르핀, 테바인, 노르-비날토르피민, 부프레노르핀, 클로르날트렉사민, 푸날트렉사미온, 날부핀, 날로르핀, 날록손, 날록소나진, 날트렉손 및 날트린돌), 프로카인, 리도카인, 테트라카인 및 디부카인이 포함된다.

[0040] 안과용제는 나트륨 플루오레세인, 로즈 벤갈 (rose bengal), 메타콜린, 아드레날린, 코카인, 아트로핀, 알파-카이모트립신, 히알우로니다제, 베탁사롤, 필로카르핀, 티모롤 염류 및 이들의 배합물이 포함된다.

[0041] 프로스타글란딘은 인식되고 있는 기술이며, 다양한 생물학적 효과를 갖는 것으로, 천연적으로 존재하는 화학적으로 관련된 장쇄 하이드록시 지방산의 부류이다.

[0042] 항우울제는 우울증을 예방 또는 완화시킬 수 있는 물질이다. 항우울제의 예로는 이미프라민, 아미트리프틸린, 노르트리프틸린, 프로트리프틸린, 데시프라민, 아목사핀, 독세핀, 마프로틸린, 트래닐사이프로민, 펜넬진 및 이소카르복사지드가 포함된다.

[0043] 성장인자는 그의 지속적인 존재가 세포의 생존도 또는 수명을 개선시키는 인자이다. 영양인자는 호중구-활성화 단백질, 단핵세포 화학주성 단백질 (monocyte chemoattractant protein), 마크로파지-염증성 단백질, 혈소판 인자, 혈소판 기본 단백질, 및 흑색종 성장자극활성; 표피성장인자, 변형성장인자 (알파), 섬유아세포 성장인자, 혈소판-유도된 내피세포 성장인자, 인슐린-유사 성장인자 (IGF, 예를 들어, IGF-I 또는 IGF-II), 신경교 유도된 성장 신경영양인자, 섬모신경영양인자, 신경성장인자, 골 성장/연골-유도성 인자 (알파 및 베타), 골 형성 단백질 (BMPs), 인터로이킨 (예를 들어, 인터로이킨 1 내지 인터로아킨 10을 포함한 인터로이킨 억제제 또는 인터로이킨 수용체), 인터페론 (예를 들어, 인터페론 알파, 베타 및 감마), 에리트로포이에틴을 포함한 조혈인자, 과립구 콜로니 자극인자, 대식세포 콜로니 자극인자 및 과립구-대식세포 콜로니 자극인자; 종양괴사인자, 베타-1, 베타-2, 베타-3을 포함한 변형성장인자 (베타), 변형성장인자 (알파), 인히빈 및 액티빈; 및 OP-1, BMP-2 및 BMP-7과 같은 골 형성 단백질을 포함하나, 이들로 제한되지는 않는다.

[0044] 호르몬에는 에스트로젠 (예를 들어, 에스트라디올, 에스트론, 에스트리올, 디에틸스틸베스트롤, 퀴네스트롤, 클로로트리아니센, 에티닐 에스트라디올, 메스트라놀), 안티-에스트로젠 (예를 들어, 클로미펜, 타목시펜), 프로제스틴 (예를 들어, 메드록시프로제스테론, 노르에틴드론, 하이드록시프로제스테론, 노르제스트렐), 안티프로제스틴 (미페프리스톤), 안드로젠 (예를 들어, 테스토스테론 사이피오네이트, 플루옥시메스테론, 다나졸, 테스토락톤), 안티-안드로젠 (예를 들어, 사이프로테론 아세테이트, 플루타미드), 갑상선 호르몬 (예를 들어, 트리요오도타이론, 타이록신, 프로필티오우라실, 메티마졸, 및 요오딕소드), 및 뇌하수체 호르몬 (예를 들어, 코르티코트로핀, 수무토트로핀, 옥시토신 및 바소프레신)이 포함된다. 호르몬은 통상적으로 호르몬 대체요법으로 및/또는 산아제한을 목적으로 사용된다. 프레드니손과 같은 스테로이드 호르몬도 또한 면역억제제 및 항염증제로 사용된다.

[0045] 생물학적 활성제는 또한 바람직하게는 액티빈, 인히빈, 및 골 형성 단백질 (BMPs)를 포함하는 단백질의 변형성장인자-베타 (TGF-β) 슈퍼패밀리 (superfamily)로 알려진 단백질의 패밀리 (family)로부터 선택된다. 한가지 구체예에서, 활성제는 골형성 활성, 및 그 밖의 다른 성장 및 분화 타입 활성을 갖는 것으로 기술된, 일반적으로 BMPs로 알려진 단백질의 서브클래스로부터 선택된 하나 이상의 단백질을 포함한다. 이들 BMPs는 BMP 단백질인 미국 특허 제 5,108,922, 5,013,649, 5,116,738, 5,106,748, 5,187,076 및 5,141,905 호에 기술된 BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6 및 BMP-7; PCT 공개 WO91/18098에 기술된 BMP-8; 및 PCT 공개 WO93/00432에 기술된 BMP-9, PCT 출원 WO 94/26893에 기술된 BMP-10; PCT 출원 WO94/26892에 기술된 BMP-11, 또는 PCT 출원 WO 95/16035에 기술된 BMP-12 또는 BMP-13; BMP-14; 미국 특허 제 5,635,372에 기술된 BMP-15; 또는 미국 특허 제 5,965,403 호에 기술된 BMP-16을 포함한다. 본 발명의 칼슘 포스페이트 조성물에서 활성제로서 유용할 수 있는 그 밖의 다른 TGF-β 단백질에는 Vgr-2 (Jones et al., *Mol. Endocrinol.* 6:1961 (1992)), 및 PCT 출원 WO94/15965, WO94/15949, WO95/01801, WO95/01802, WO94/21681, WO94/15966, WO95/10539, WO96/01845, WO96/02559 등에 기술된 것을 포함한 성장 및 분화인자 (GDFs) 중의 어떤 것이라도 포함된다. 본 발명에서 또

한 유용한 것은 WO94/01557에 기술된 BIP; JP 공개 제 7-250688에 기술된 HP00269; 및 PCT 출원 WO93/16099에 기술된 MP52일 수도 있다. 상기 출원의 모든 기술내용은 본 명세서에 참고로 포함되어 있다. 본 발명에서 사용될 수 있는 BMPs의 서브셋트 (subset)는 BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12, BMP-13, BMP-14 및 MP52를 포함한다. 활성제는 가장 바람직하게는 그의 서열이 미국 특허 제 5,013,649 호 (그의 기술내용은 본 명세서에 참고로 포함되어 있다)에 기술되어 있는 BMP-2이다. 특히, 테리파라티드 (포르테오 (Forteo™)), 크리살린 (Chrysalin™), 프로스타글란딘 E2, LIM 단백질, 오스테오제닌, 또는 탈회된 골 매트릭스 (DBM)와 같은 본 기술분야에서 공지되어 있는 그 밖의 다른 골형성제가 사용될 수도 있다.

[0046] 생물학적 활성제는 화학적으로 합성될 수 있거나, 재조합적으로 생산될 수 있거나, 또는 생물학적 활성제가 천연적으로 존재하는 공급원으로부터 정제될 수 있다. 활성제가 BMP 또는 그 밖의 다른 다이머성 단백질과 같은 TGF-β라면, 이것은 호모다이머일 수 있거나, 다른 BMPs (예를 들어, BMP-2 및 BMP-6 각각의 하나의 모노머로 구성된 헤테로다이머)와, 또는 액티빈, 인히빈 및 TGF-β1와 같은 TGF-β 슈퍼패밀리의 다른 구성원 (예를 들어, BMP와 TGF-β 슈퍼패밀리의 관련된 구성원 각각의 하나의 모노머로 구성된 헤테로다이머)과의 헤테로다이머일 수 있다. 이러한 헤테로다이머 단백질의 예는 예를 들어, 공개된 PCT 특허출원 WO 93/09229 (그의 명세서는 본 명세서에 참고로 포함된다)에 기술되어 있다.

[0047] 추가의 생물학적 활성제에는 헤지호그 (Hedgehog), 프래즐드 (Frazzled), 코르딘 (Chordin), 노긴 (Noggin) 및 폴리스타틴 (Follistatin) 단백질이 포함된다. 단백질의 이들 패밀리는 일반적으로 문헌 (Sasai et al., Cell 79:779-790 (1994) (Chordin); PCT 특허공개 WO94/05800 (Noggin); 및 Fukui et al., *Devel. Biol.* 159:131 (1993) (Follistatin))에 기술되어 있다. 헤지호그 단백질은 WO96/16668; WO96/17924; 및 WO95/18856에 기술되어 있다. 단백질의 프래즐드 패밀리는 프리즐드 (Frizzled)로 알려진 수용체 단백질 패밀리의 세포외 결합영역에 대해서 높은 상동성을 갖는 단백질의 최근에 발견된 패밀리이다. 유전자 및 단백질의 프리즐드 패밀리는 문헌 (Wang et al., *J. Biol. Chem.* 271:4468-4476 (1996))에 기술되어 있다. 활성제는 또한, PCT 특허공개 WO95/07982에 기술된 절두상 (truncated) 가용성 수용체와 같은 다른 가용성 수용체를 포함할 수도 있다. WO95/07982의 지침으로부터 본 기술분야에서 숙련된 전문가는 절두상 가용성 수용체가 다른 수많은 수용체 단백질을 위해서 제조될 수 있음을 인식할 수 있을 것이다. 상기 공개공보들은 본 명세서에 참고로 포함되어 있다.

[0048] 원하는 활성, 예를 들어, 존재하거나 침윤성인 조상세포 또는 다른 세포의 증가된 골형성 활성을 자극하는데 효과적인 생물학적 활성 단백질, 예를 들어, 골형성 단백질의 양은 치료할 결손 (defect)의 크기 및 성질뿐만 아니라 사용되는 담체에 따라서 좌우될 수 있다. 일반적으로, 송달되는 단백질의 양은 약 0.1 내지 약 100 ㎎; 바람직하게는 약 1 내지 약 100 ㎎; 가장 바람직하게는 약 10 내지 약 80 ㎎의 범위이다.

[0049] 상기-열거된 약제의 송달을 위한 표준 프로토콜 및 레지멘은 본 기술분야에서 공지되어 있다. 생물학적 활성제는 약제의 적절한 투액량이 이식부위에 송달되도록 하는 양으로 이식물질 내에 도입된다. 대부분의 경우에, 투약량은 의사에게 공지되어 있으며 해당하는 특정 약제에 적용할 수 있는 지침을 사용하여 결정된다. 본 발명의 이식물질 내에 포함되는 생물학적 활성제의 예시적인 양은 이상상태의 타입 및 정도, 특정 환자의 전반적인 건강상태, 활성제의 제형, 및 사용된 송달 비히클의 생체흡수성과 같은 변수에 따라 좌우될 수 있다. 표준 임상실험을 사용하여 특정의 생물학적 활성제에 대한 용량 및 투약빈도를 최적화시킬 수 있다.

[0050] 본 발명의 모든 관점의 구체예에서, 조성물은 추가로 자가유래 골수 또는 자가유래 혈소판 추출물을 함유할 수 있다.

[0051] 상기한 모든 관점의 또 다른 구체예에서, PDGF 및/또는 그 밖의 다른 성장인자는 천연 공급원 (예를 들어, 혈소판)으로부터 수득될 수 있거나, 또는 더욱 바람직하게는 재조합 DNA 기술에 의해서 생산될 수 있다. 천연 공급원으로부터 수득되는 경우에, PDGF 및/또는 그 밖의 다른 성장인자는 생물학적 유체로부터 수득될 수 있다. 생물학적 유체에는 살아있는 유기체와 연관된 처리되거나 비처리된 유체 (현탁액 포함), 특히 전혈액, 온 또는 냉혈액, 및 저장되거나 신선한 혈액; 식염수, 영양소 및/또는 항응고 용액을 포함한 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 하나 이상의 생리적 용액으로 희석한 혈액과 같은 처리된 혈액; 혈소판 농축물 (PC), 성분채집된 (apheresed) 혈소판, 혈소판-풍부 혈장 (PRP), 혈소판-빈약 혈장 (PPP), 혈소판-부재 혈장, 혈장, 혈청, 새로 동결된 혈장 (FFP), 혈장으로부터 수득된 성분, 농축적혈구 (packed red cells; PRC), 백혈구연층 (buffy coat; BC)과 같은 혈액 성분; 혈액 또는 혈액 성분으로부터 유도되거나 골수로부터 유도된 혈액 생성물; 혈장으로부터 분리되어 생리적 유체에 재현탁된 적혈구; 및 혈장으로부터 분리되어 생리적 유체에 재현탁된 혈소판을 포함한 혈액이 포함된다. 생물학적 유체는 본 발명에 따라서 가공되기 전에 일부의 백혈구를 제거하도록 처리될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 것으로, 혈액 생성물 또는 생물학적 유체는 상술한 성분, 및 다른 방법에

의해서 수득되고 유사한 특성을 갖는 유사한 혈액 생성물 또는 생물학적 유체를 의미한다. 구체예에서, PDGF는 혈소판-풍부 혈장 (PRP)으로부터 수득된다. PRP의 제조는 예를 들어, 본 명세서에 참고로 포함되어 있는 미국 특허 제 6,649,072, 6,641,552, 6,613,566, 6,592,507, 6,558,307, 6,398,972 및 5,599,558 호에 기술되어 있다.

[0052] 본 발명의 모든 관점의 구체예에서, 이식물질은 1일 이상의 지속기간 동안 이식부위에서 PDGF를 송달한다. 몇 가지 구체예에서, 이식물질은 7, 14, 21 또는 28일 이상 동안 이식부위에서 PDGF를 송달한다. 바람직하게는, 이식물질은 약 1일 내지 7, 14, 21 또는 28일 사이의 시간 동안 이식부위에서 PDGF를 송달한다. 또 다른 구체예에서, 이식물질은 약 1일 이상, 약 14일 미만의 기간 동안 이식부위에서 PDGF를 송달한다.

[0053] "생체흡수성 (bioresorbable)"은 생체내에서 재흡수되거나 리모델링되는 이식물질의 능력을 의미한다. 재흡수 과정은 체액, 효소 또는 세포의 작용을 통한 원래의 이식물질의 분해 및 제거를 수반한다. 재흡수된 물질은 숙주에 의해서 새로운 조직의 형성에 사용될 수 있거나, 이것은 숙주에 의해서 다른 식으로 재이용될 수 있거나, 배설될 수도 있다.

[0054] "분화인자 (differentiation factor)"는 하나 또는 그 이상의 표적세포의 연골 또는 골 형성 잠재력을 갖는 세포로의 분화를 자극하는, 6개 이상의 아미노산의 쇄를 포함하는 폴리펩타이드를 의미한다.

[0055] "나노미터-크기 입자"는 일반적으로 1000 나노미터 이하의 입자로 정의되는 서브미크론-크기 입자를 의미한다. 나노미터-크기 입자는 분자와 마크론 (macron) 물질 사이의 중간 상태인 고체 입자물질이다. 나노미터는 미터의 10억분의 1 (1 나노미터 = 10^{9} m)로 정의된다. 나노미터 물질은 나노스케일 크기를 갖는 분말, 섬유, 필름 또는 블럭으로 알려져 있다.

[0056] "치주조직"은 치아를 둘러싸고 지지하는 조직을 의미한다. 치주조직은 치아를 지지하고, 보호하며, 치아에 영양분을 제공한다. 치주조직은 골, 시멘트질, 상악골과 하악골의 치조돌기, 치주 인대 및 치은으로 구성된다. 시멘트질은 치근의 상아질을 완전히 덮는 조직의 얇고 석회질화된 층이다. 시멘트질은 치근의 발달 중에 및 치아의 수명 전체에 걸쳐서 형성되며, 치주 인대섬유를 위한 부착영역으로 작용한다. 치조돌기는 치아가 매립되며, 치근이 지지되는 상악골과 하악골의 골질 (bony) 부분이다. 치조 (alveolar socket)는 치조돌기 내의 공동이며, 여기에서 치아의 뿌리가 치주 인대에 의해서 유지된다. 하나의 치조를 다른 것으로부터 구분하는 골을 치간중격 (interdental spetum)이라 부른다. 다근성 치아가 존재하는 경우에 골은 근간중격 (interradicular septum)이라 부른다. 치조돌기는 피질판 (cortical plate), 치조정 (alveolar crest), 수질골 (trabecular bone) 및 고유 치조골 (alveolar bone proper)을 포함한다.

[0057] "성장 촉진"은 골, 치주조직, 인대 또는 연골의 치유, 및 이러한 조직 및 구조의 재생을 의미한다. 바람직하게는 골, 치주조직, 인대 또는 연골은 손상되거나 상처를 입고, 재생 또는 치유를 필요로 한다.

[0058] "치주조직 성장을 촉진"은 질병 또는 외상에 의해서 손상된 치조골, 시멘트질 및 삽입된 치주 인대를 포함한 치아의 지지조직의 재생 또는 치유를 의미한다.

[0059] "정제된"은 담체 물질과 혼합시키기 전에 95 중량% 또는 그 이상인 성장 또는 분화 인자, 예를 들어, PDGF를 의미하며, 즉 인자는 천연적으로 결합되어 있는 다른 단백질, 지질 및 탄수화물을 실질적으로 함유하지 않는다. 용어 "실질적으로 정제된"은 예를 들어, 중량을 기준으로 하여 단지 5%-95%, 바람직하게는 65-95%의 인자를 갖는 더 낮은 순도의 인자를 의미한다. 정제된 단백질 제제는 일반적으로 폴리아크릴아미드 겔 상에서 단일의 주밴드를 수득할 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명의 이식물질에서 사용된 정제된 인자는 아미노-말단 아미노산 서열 분석에 의해서 판단되는 것으로서 순수하다. 용어 "부분적으로 정제된"은 생산을 위해서 예를 들어, 원심분리에 의한 수집 및 분리가 필요한 PRP, PPP, FFP, 또는 그 밖의 다른 혈액 생성물과 관련하여 제공되는 PDGF를 의미한다.

[0060] 예를 들어, ~50% 순수한 경우에 ~1.0 ㎎/㎖의 PDGF를 갖는 용액은 ~2.0 ㎎/㎖의 총단백질을 구성한다.

[0061] 본 발명의 이식물질은 결합조직, 골 및 시멘트질의 성장을 촉진시킴으로써 적어도 부분적으로 치주조직의 재생을 돕는다. 이식물질은 이들이 결합조직, 골 및 시멘트질을 생산하는 세포의 성장 및 분화를 직접적으로 촉진시키도록 제조될 수 있다. 대신으로, 이식물질은 예를 들어, 결합조직, 골 및 시멘트질의 성장을 촉진시키는데 필요한 세포를 유인함으로써 간접적으로 작용하도록 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물을 사용한 재생은 전신적 항생제 또는 외과적 창면절제술을 단독으로 사용하여 수득되는 것보다 치주질환 또는 골 창상에 대한 더 효과적인 치료법이다.

[0062] PDGF, 폴리펩타이드 성장인자, 및 분화인자는 고체상 펩타이드 합성에 의해서, 또는 재조합체 DNA 기술에 의해서 인체 조직 또는 세포, 예를 들어, 혈소판으로부터 수득될 수 있다. 따라서, 용어 "폴리펩타이드 성장인자" 또는 "분화인자"는 조직 또는 세포-유도되거나, 재조합체이거나, 합성된 물질을 의미한다. 인자가 다이머, 예를 들어, PDGF인 경우에, 재조합체 인자는 배양된 원핵 또는 진핵세포에 인자의 서브유니트 (subunit) 둘 다를 코드화한 DNA 서열을 삽입한 다음에, 해독된 서브유니트를 세포에 의해서 처리되어 헤테로다이머 (예를 들어, PDGF-AB)를 형성하도록 함으로써 제조된 재조합체 헤테로다이머일 수 있다. 대신으로, 서브유니트 중의 단지 하나 (예를 들어, PDGF B-쇄 또는 A-쇄)를 코드화한 DNA를 세포 내에 삽입시킨 다음에, 배양하여 호모다이머 인자 (예를 들어, PDGF-BB 또는 PDGF-AA 호모다이머)를 생성시킬 수 있다. 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 PDGF는 PDGF 호모- 및 헤테로다이머, 예를 들어, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC 및 PDGF-DD, 및 이들의 배합물 및 유도체를 포함한다.

[0063] 본 발명의 PDGF 또는 다른 성장인자의 농도는 예를 들어, 본 명세서에 참고로 포함되어 있는 미국 특허 제 6,221,625, 5,747,273 및 5,290,708 호에 기술된 바와 같은 효소-결합된 면역측정법, 또는 단백질 농도를 측정하기 위하여 본 기술분야에서 공지되어 있는 그 밖의 다른 측정방법을 사용함으로써 측정될 수 있다. 본 명세서에 제공된 경우에, PDGF의 몰농도는 PDGF 다이머 (예를 들어, PDGF-BB; MW = 약 25 kDa)의 분자량을 기준으로 하여 측정된다.

[0064] 본 발명의 방법 및 이식물질을 사용하여 포유동물의 골의 창상, 예를 들어, 골절, 이식물 수용부위, 및 치주질환의 부위를 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 이식물질은 결합조직 성장 및 복구를 촉진시키며, 자연적인 치유 (즉, 첨가되는 외인적 약제가 없는 경우) 또는 전신적 항생제의 첨가에 의해서 보강된 치유에 비해서 골 형성을 증진시킨다. 자연적 치유, 통상적인 외과적 치료법 또는 항생제와는 달리, 본 발명의 이식물질은 손상되거나 질병에 걸린 조직 또는 치주질환 감염부위에 적용하는 경우에 증가된 골, 결합조직 (예를 들어, 연골 및 인대) 및 시멘트질 형성을 촉진시킨다. 이들 조직의 복구는 병에 걸린 영역에 대하여 개선된 예후를 유도한다. 새로운 골 형성을 자극하는 이들 인자의 능력은 또한, 이들을 다른 타입의 감염 또는 외과적 또는 사고에 의한 외상에 의해서 야기된 골의 결손을 치료하기 위하여 적용될 수 있게 한다.

[0065] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 그의 구체예에 대한 이하의 설명으로부터, 및 특허청구범위로부터 명백해 질 것이다.

발명의 효과

[0066] 본 발명에 따라, 저용량(~0.1 내지 1.0 ㎎/㎖)의 rhPDG를 β-TCP에 흡착시켜 생체내 rhPDG가 방출되도록 함으로써 골, 치주조직, 인대 및 연골의 복구를 촉진시킬 수 있게 되었으며, β-TCP에 대한 rhPDG의 첨가는 비처리된 β-TCP에 비해서 골아세포 부착 및 증식을 증진시키는 것으로 나타났다.

도면의 간단한 설명

[0067] 도 1A-1G는 치료한 지 8주일 후에 골 형성에 대한 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1A는 골 형성에 대한 수술 단독의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1B는 골 형성에 대한 β-TCP 단독의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1C는 골 형성에 대한 β-TCP + 0.3 ㎎/㎖ PDGF의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1D는 골 형성에 대한 β-TCP + 1.0 ㎎/㎖ PDGF의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1E는 골 형성에 대한 탈회된 동결건조된 동종이식편 (DFDBA) 단독의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1F는 골 형성에 대한 탈회된 동결건조된 동종이식편 (DFDBA) + 0.3 ㎎/㎖ PDGF의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 1G는 골 형성에 대한 탈회된 동결건조된 동종이식편 (DFDBA) + 1.0 ㎎/㎖ PDGF의 효과를 나타내는 현미경사진이다.

도 2A-2C는 치료한 지 16주일 후에 골 형성에 대한 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 2A는 골 형성에 대한 β-TCP 단독의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 2B는 골 형성에 대한 β-TCP + 0.3 ㎎/㎖ PDGF의 효과를 나타내는 현미경사진이다. 도 2C는 골 형성에 대한 β-TCP + 1.0 ㎎/㎖ PDGF의 효과를 나타내는 현미경사진이다.

여기서 사용된 β-TCP는 Vitoss(등록상표)β-TCP로서, 당업계에서 골 결손의 복구를 위한 재흡수성 골 공극 충진제인 다공성 칼슘 포스페이트인 것으로 알려져 있다. Vitoss(등록상표)β-TCP는 인간 골해면질의 다방면으로 상호연결된 다공성과 유사한 섬유주 구조를 갖는 골 전달성의 다공성 이식물질이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0068] 본 발명자들은 이하에서 본 발명의 몇가지 구체예를 기술한다. 골 및 치주조직 치료제로서의 PDGF의 용도를 입증하는 두가지 실시예는 이하에 제시한다.

[0069] ***실시예 I: PDGF의 제조***

[0070] 부분적으로 정제되거나 정제된 PDGF를 상술한 약제학적으로 허용되는 담체 물질과 배합시킴으로써 본 발명에 따라, 예를 들어, 치주질환 또는 외상 이후의 골의 창상을 치료하고, 골, 시멘트질 및 결합조직을 포함하는 치주조직을 재생시킨다. 정제된 PDGF는 재조합체 공급원으로부터, 또는 인간 혈소판으로부터 수득할 수 있다. 시판품으로 이용할 수 있는 재조합체 PDGF는 알앤드디 시스템스 인코포레이티드 (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN), 비디 바이오사이언시즈 (BD Biosciences, San Jose, CA) 및 케미콘, 인터내쇼날 (Chemicon, International, Temecula, CA)로부터 수득할 수 있다. 부분적으로 정제 및 정제된 PDGF는 또한 다음과 같이 제조될 수도 있다:

[0071] 500 내지 1000 단위의 세척된 인간 혈소판 펠릿을 1 M NaCl (2 ㎖/혈소판 단위)에 현탁시키고, 100℃에서 15분 동안 가열한다. 그 후, 상등액을 원심분리에 의해서 제거하고, 침전을 1 M NaCl로 2 회 추출한다.

[0072] 추출물을 합하여 0.08 M NaCl/0.01 M 나트륨 포스페이트 완충액 (pH 7.4)에 대해서 투석하고, 4℃에서 밤새 완충액으로 평형화된 CM-세파덱스 (Sephadex) C-50과 혼합시킨다. 그 후, 혼합물을 칼럼 (5×100 ㎝)에 붓고, 0.08 M NaCl/0.01 M 나트륨 포스페이트 완충액 (pH 7.4)으로 광범하게 세척하고, 1 M NaCl로 용출시키면서 10 ㎖ 분획을 수거한다.

[0073] 활성분획을 모아서 0.3 M NaCl/0.01 M 나트륨 포스페이트 완충액 (pH 7.4)에 대해서 투석하고, 원심분리하고, 4℃에서 0.3 M NaCl/0.01 M 나트륨 포스페이트 완충액 (pH 7.4)으로 평형화된 블루 세파로즈 (blue sepharose; Pharmacia)의 2.5×25 ㎝ 칼럼을 통과시킨다. 그 후, 칼럼을 완충액으로 세척하고, 부분적으로 정제된 PDGF는 1 M NaCl과 에틸렌글리콜의 1:1 용액으로 용출시킨다.

[0074] 부분적으로 정제된 PDGF 분획을 1 M NaCl로 희석하고 (1:1), 1 M 아세트산에 대해서 투석하고, 동결건조시킨다. 동결건조된 샘플을 0.8 M NaCl/0.01 M 나트륨 아세테이트 완충액 (pH 7.4)에 용해시키고, 완충액으로 평형화된 CM-세파덱스 C-50의 1.2×40 ㎝ 칼럼을 통과시킨다. 그 후, PDGF를 NaCl 구배 (0.08 내지 1 M)로 용출시킨다.

[0075] 활성분획을 합하여 1 M 아세트산에 대해서 투석하고, 동결건조시켜 작은 용적의 1 M 아세트산에 용해시킨다. 0.5 ㎖ 부분을 1 M 아세트산으로 평형화된 바이오겔 (Biogel) P-150 (100 내지 200 메쉬)의 1.2×100 ㎝ 칼럼에 적용한다. 그 후, PDGF를 1 M 아세트산으로 용출시키면서 2 ㎖ 분획을 수거한다.

[0076] 100 내지 200 ㎎의 단백질을 함유하는 각각의 활성분획을 동결건조시키고, 100 ㎖의 0.4% 트리플루오로아세트산에 용해시키고, 페닐 본다팩 칼럼 (phenyl Bondapak column; Waters) 상에서의 역상 고성능 액체 크로마토그라피에 적용한다. 선형 아세토니트릴 구배 (0 내지 60%)로 용출시켜 순수한 PDGF를 수득한다.

[0077] *재조합체 DNA 기술에 의해서 만들어지는 PDGF는 다음과 같은 제조될 수 있다*:

[0078] 인간 혈소판으로부터 유도된 혈소판-유도된 성장인자 (PDGF)는 두개의 폴리펩타이드 서열 (PDGF-B 및 PDGF-A 폴리펩타이드; Antoniades, H.N. and Hunkapiller, M., *Science* 220:963-965, 1983)을 함유한다. PDGF-B는 염색체 7 (Betsholtz, C. et al., *Nature* 320:695-699) 상에 국재화된 유전자에 의해서, PDGF-A는 염색체 22 (Dalla-Favera, R., *Science* 218:686-688, 1982) 상에 국재화된 sis 종양유전자 (Doolittle, R. et al., *Science* 221:275-277, 1983)에 의해서 코드화된다. sis 유전자는 PDGF-2 폴리펩타이드에 밀접하게 관련된 시미안 육종 바이러스 (Simian Sarcoma Virus; SSV)의 변형성 단백질을 코드화한다. 인간 세포성 c-sis는 또한 PDGF-A 쇄를 코드화한다 (Rao, C.D. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:2392-2396, 1986). PDGF의 두개의 폴리펩타이드 쇄는 별개의 염색체에서 국재화된 두개의 상이한 유전자에 의해서 코드화되기 때문에, 인간 PDGF가 PDGF-B와 PDGF-A의 디설파이드-결합된 헤테로다이머, 또는 두개의 호모다이머 (PDGF-BB 호모다이머 및 PDGF-AA 호모다이머)의 혼합물, 또는 헤테로다이머와 두개의 호모다이머의 혼합물로 구성될 가능성이 존재한다.

[0079] PDGF-A 쇄를 코드화하는 유전자를 함유하는 시미안 육종 바이러스에 의해서 감염된 배양물 내의 포유동물 세포는 PDGF-A 폴리펩타이드를 합성하고, 이것을 디설파이드-결합된 호모다이머로 가공하는 것으로 나타났다 (Robbins et al., *Nature* 305:605-608, 1983). 또한, PDGF-A 호모다이머는 인간 PDGF에 대항하여 야기된 항혈청과 반응한다. 또한, 분비된 PDGF-A 호모다이머의 기능적 특성은 이것이 배양된 섬유아세포에서 DNA 합성을 자극하고, 185 kD 세포막 단백질의 타이로신 잔기에서 포스포릴화를 유도하며, 특이적 세포 표면 PDGF 수용체에 결합하기 위하여 인간 (^{125}I)-PDGF와 경쟁할 수 있다는 점에서 혈소판-유도된 PDGF의 특성과 유사하다 (Owen, A.

et al., *Science* 225:54-56, 1984). 유사한 특성은 배양된 정상 인간 세포 (예를 들어, 인간 동맥 내피세포)로부터, 또는 sis//PDGF-2 유전자를 발현하는 인간 악성세포로부터 유도된 sis/PDGF-A 유전자 생성물에 대해서 나타났다 (Antoniades, H. et al., *Cancer Cells* 3:145-151, 1985).

[0080] 재조합체 PDGF-B 호모다이머는 c-sis/PDGF-B 유전자의 cDNA 클론을 발현벡터를 사용하여 마우스 세포 내로 도입시킴으로써 수득된다. 발현을 위해서 사용된 c-sis/PDGF-B 클론은 정상 인간 배양된 내피세포로부터 수득되었다 (Collins, T., et al., *Nature* 216:748-750, 1985).

[0081] *PDGF의 용도*

[0082] PDGF는 단독으로 또는 다른 성장인자와 함께 골의 치유, 골 성장, 및 외상 또는 질병에 의해서 손상된 치아의 지지구조의 재생 또는 치유를 촉진시키는데 유용하다. 이것은 또한, 발치 부위의 치유를 촉진시키거나, 하악 치조제 증대를 위해서, 또는 치아 이식부위에서 유용할 수 있다. 골 치유는 또한, 골절 부위에서 또는 감염된 영역, 예를 들어, 골수염에서, 또는 종양부위에서 증진될 수도 있다. PDGF는 또한, 인대, 예를 들어, 치주 인대, 및 시멘트질의 성장 및 치유를 촉진시키는데 유용할 수 있다.

[0083] 사용시에 PDGF 또는 그 밖의 다른 성장 또는 분화 인자는 치유 또는 재생이 필요한 영역에 직접 적용된다. 일반적으로, 이것은 액체 또는 고체인 재흡수성 또는 비-재흡수성 담체 내에서 적용된 다음에, 그 부위를 붕대 또는 인접한 조직으로 덮어준다. 골 성장을 촉진시키는데 충분한 양은 일반적으로, 1 ㎠ 영역에 대해서 500 ng 내지 5 ㎎ 사이이지만, 상한선은 실제로 1 ㎠ 영역에 대해서 1 ㎎이며, 적용되는 PDGF의 바람직한 양은 0.3 ㎎/㎖이다.

[0084] ***실시예 II: rhPDGF-BB 처리된 골전도성 골격에 의한 치주 재생***

[0085] 치주조직 및 골 성장을 촉진시키는데 있어서의 PDGF의 유효성은 이하의 시험에 의해서 입증된다.

[0086] **생체내 개 시험**

[0087] 비글 개는 추정상의 치주 재생물질 및 방법을 시험하기 위하여 가장 광범하게 사용되는 동물 모델이다 (Wikesjo et al., *J. Clin. Periodontol.* 15:73-78, 1988; Wikesjo et al., *J. Clin. Periodontol.* 16:116-119, 1999; Cho et al., *J. Periodontol.* 66:522-530, 1995; Giannobile et al., *J. Periodontol.* 69:129-137, 1998; 및 Clergeau et al., *J. Periodontol.* 67:140-149, 1996). 플라크 및 치석 축적은 변연골 상실 (marginal bone loss)을 야기할 수 있는 치은염증을 유도할 수 있으며, 개 및 인간에게서 치주염의 병인원은 동등할 수 있다. 그러나, 자연적으로 존재하는 질환에서는 결손 사이에 균일성이 결여된다. 추가로, 개 종축 집단에서의 구강 건강에 더 주의를 기울여야 하기 때문에, 자연적인 치주질환을 갖는 동물을 수득하는 것은 실행불가능하게 되었다. 따라서, 외과적으로-유도된 수평적 클래스 III 치근분기모델 (surgically-induced horizontal Class III furcation model)이 치주 치유 및 재생을 연구하기 위하여 가장 통상적으로 사용되는 모델 중의 하나가 되었다.

[0088] 수평적 클래스 III 치근분기 결손을 갖는 비글 개를 본 발명의 PDGF 조성물을 사용하여 치료하였다. 15 마리의 성숙한 비글 개는 60 개의 치료된 결손을 제공하였다. 42 개의 결손을 치료한 지 2개월 후에 생검하고, 15 개의 결손은 치료한 지 4개월 후에 생검하였다.

[0089] *결손 준비*

[0090] 다수의 연구자에 의해서 기술된 바와 같은 "임계-크기 (critical-size)" 치주결손 모델이 이용되었다 (참조예: Wikesjo, 1988 및 1999, *supra*; Giannobile, *supra*, 및 Park et al., *J. Periodontol.* 66:462-477, 1995). 전반적 및 구강 건강의 문제가 없는 16 마리의 비글 개 (2-3 세)에서 하악골 4분할부 두개가 사용되었다. 투약하기 1개월 전에, 동물은 펜토바르비탈 나트륨 (25 ㎎/㎏)을 IV 주사하여 마취시키기 약 30분 전에 아트로핀 (0.02 ㎎/㎏) 및 아세프로마진 (0.2 ㎎/㎏)을 피하주사하여 진정시켰다. 리도카인 HCl + 에피네프린 1:100,000으로 외과적 영역을 국소 침윤시킨 후에, 점막성골막 피판 (mucoperiosteal flap)의 전체 두께를 반전시키고, 첫번째 및 세번째 소구치 (P1 및 P3)를 발치하였다. 추가로, 첫번째 대구치의 크라운 (crown)의 중앙부분을 절제하였다.

[0091] 그 후, 치조골을 끌 및 수-냉각된 카바이드 및 다이아몬드 버 (bur)를 사용하여 치근분기 영역을 포함한 P2 및 P4의 전체 원주 주위에서 제거하였다. 수평적 골 결손은 치근분기의 원개 (fornix)로부터 골의 크레스트 (crest) 사이에 5 ㎜의 간격이 있도록 생성되었다. 결손은 치아의 폭에 따라서 약 1 ㎝ 폭이었다. 모든 실험

치아의 뿌리는 큐렛 및 초음파 장치에 의해서 편평하게 하고, 테이퍼드 (tapered) 다이아몬드 버를 설치하여 시멘트질을 제거하였다. 표준화된 골 결손을 발생시킨 후에 치은피판 (gingival flap)을 봉합하여 일차적 폐쇄를 달성하였다. 동물에게 연식을 공급하고, 시험기간 중에는 매일 클로르헥시딘 세정을 수행하였다.

[0092] *이식물질의 적용*

[0093] 15 마리의 동물의 각각의 하악골 4분할부에서 P2 및 P4의 치주결손은 밀봉된 봉투를 사용하여 처리하기 전에 무작위화하였다. 결손을 준비한 지 약 4주일 후에, 동물을 상술한 바와 같이 재마취시키고, 전체 두께의 피판을 두개의 하악골 4분할부 모두에서 반전시켰다. 1/2 라운드 버를 사용하여 나머지 골의 크레스트에서 치근 표면에 노치 (notch)를 배치시켜 추후의 조직학적 기준점으로 사용하였다. 이 부위를 멸균 식염수로 관주하고, 치근을 오염물제거 및 도말층의 제거의 목적으로 전술한 바와 같이 시트르산으로 처리하였다 (참조예: Cho, *supra*, 및 Park, *supra*). 이 기간 중에 치주결손을 충진시키기에 충분한 양의 β-TCP 또는 DFDBA를 rhPDGF-BB 용액 (0.3 또는 1.0 mg/mℓ)으로 포화시키고, rhPDGF-BB/이식물 혼합물을 약 10분 동안 멸균 수술대 상에서 정치시켰다. 그 후, rhPDGF-BB 포화된 이식물을 골 재생의 이상적인 레벨까지 온화하게 압력을 가하면서 결손에 충전시켰다.

[0094] 이식물질을 이식한 후에, 점막성골막 피판을 인접면 사이의 단절된 4.0 팽창 폴리테트라플루오로에틸렌 (ePTFE) 봉합사를 사용하여 대략 시멘트질에나멜질 경계 (cementoenamel junction; CEJ) 까지의 레벨을 봉합하였다. 피판을 봉합한 후에 클로르헥시딘 글루코네이트 겔을 치아 및 치은 주위에 부드럽게 배치시켰다.

[0095] *처리군 및 대조군*

[0096] 결손은 다음 중의 하나를 수용하였다:

[0097] 1. β-TCP

[0098] 2. β-TCP + rhPDGF-BB (0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB)

[0099] 3. β-TCP + rhPDGF-BB (1.0 mg/mℓ rhPDGF-BB)

[0100] 4. 개 DFDBA

[0101] 5. 개 DFDBA + rhPDGF-BB (0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB)

[0102] 6. 개 DFDBA + rhPDGF-BB (1.0 mg/mℓ rhPDGF-BB)

[0103] 7. 샴수술 (Sham surgery; 이식물이 없이 개방 피판 창면절제술 만으로 처리됨).

[0104] 처리군당 6 개의 결손을 2개월째에 생검하였다 (총 42 개의 부위). 또한, 처리군 1, 2, 및 3에서의 5 개의 결손을 4개월째에 생검하였다 (총 15 개의 부위).

표 2

[0105]

실험 디자인			
군 번호	시험부위의 수	처리	시점
1	11	β-TCP 단독	8 및 16주일 8주일에는 n = 6 16주일에는 n = 5
2	11	β-TCP + 0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB	8 및 16주일 8주일에는 n = 6 16주일에는 n = 5
3	11	β-TCP + 1.0 mg/mℓ rhPDGF-BB	8 및 16주일 8주일에는 n = 6 16주일에는 n = 5
4	6	DFDBA 단독	8주일
5	6	DFDBA + 0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB	8주일
6	6	DFDBA + 1.0 mg/mℓ rhPDGF-BB	8주일
7	6	수술, 이식물 없음	8주일

[0106] 따라서, 8주일째에는 11 마리의 개에서 42 개의 부위를 7 개의 군으로 나누었다. 16주일째에는 4 마리의 개에서 15 개의 부위를 3 개의 군으로 나누었다 (한마리의 개가 8주일의 시간 간격을 두고 두가지의 처리 수술을 받았으며, 따라서 8 및 16주일 시점 각각에 대한 두개의 부위를 제공하였다).

[0107] *수술-후 처리*

[0108] 수술부위는 개에게 수술-후의 처음 4주일 동안 연식 (soft diet)을 공급함으로써 보호하였다. 최적의 치유를 보장하기 위해서, 페니실린 G 벤자틴에 의한 전신적 항생체 처리를 처음 2주일 동안 제공하고, 플라크 대조군은 실험 전과정에 걸쳐서 2% 클로르헥시딘 글루코네이트를 매일 관주함으로써 유지시켰다. 봉합은 3주일 후에 제거하였다.

[0109] **데이타 수집**

[0110] *데이타 수집점에 대한 이론적 설명*

[0111] 8주일 시점은 이것이 문헌에서 이 모델에 대해서 보고된 가장 통상적인 시점이고 따라서 여기에서 실질적인 역사적 데이타가 있기 때문에, 선택되었다. 예를 들어, 문헌 (Wikesjo et al., *supra*, 및 Giannobile et al., *supra*)에서는 또한, 동일한 모델에서 BMP-2 및 OP-1의 재생효과를 각각 평가하기 위하여 8주일을 선택하였다. 추가로, 문헌 (Park et al., *supra*)에서는 8주일째에 비글 개 모델에서 CTR 막의 존재 및 부재 하에서 컨디쇼닝된 치근 표면에 직접 적용된 rhPDGF-BB의 효과를 평가하였다. 이들 연구는 8주일 기간이 다양한 처리 양식 중에서 잠재적인 중요한 효과를 설명하는데 최적임을 강력히 시사한다.

[0112] 16주일 시점은 성장인자 처리의 장기간 효과를 평가하기 위해서 선택되었다. 이전의 연구 (Park et al., *supra*)는 이 시점에서는 골의 결손의 실질적인 자발적 치유가 있음을 시사한다. 그럼에도 불구하고, rhPDGF-BB 처리가 변화된 골 리모델링, 종양형성 또는 치근흡수와 같은 일상적이지 않거나 비정상적인 조직반응을 유도하는지 여부를 평가할 수 있다.

[0113] *생검 및 처리 평가*

[0114] 생검시에 동물은 4% 파라포름알데히드로 관류시키고, 치사시켰다. 그 후, 하악골을 분리하여 고정액에 넣었다. 치근단 방사성사진을 찍고, 처리된 부위를 다이아몬트 톱을 사용하여 각각의 블럭으로 절단하였다. 코드화된 (맹검) 블럭을 거어즈로 싸고, 4% 포름알데히드의 용액에 액침시키고, 처리하여 분석하였다.

[0115] 처리하는 중에 생검은 에탄올 중에서 탈수시키고, 침윤시켜 메틸메타크릴레이트 내에 매립하였다. 냉매와 함께 저속 다이아몬드 톱을 사용하여 두께가 약 300 ㎛인 석회질이 제거되지 않은 절편을 수득하였다. 이 절편을 유백색의 아크릴 글래스 상에 접착제로 접착시키고, 대략 80 ㎛의 최종 두께로 연마하여 톨루이딘 블루 및 염기성 푸크신으로 염색하였다. 단계적 연속 절편을 근심원심평면에서 수득하였다.

[0116] 조직형태학적 분석은 차폐된 슬라이드 (masked slide) 상에서 수행하였다. 다음의 파라메터가 평가되었다:

[0117] 1. CNAA (Complete New Attachment Apparatus)의 길이: 새로운 골과 새로운 시멘트질 사이에 기능적으로 배열된 치주 인대와 함께 새로운 시멘트질에 인접한 새로운 골만을 포함한, 오래된 골의 치관측 레벨과 새로운 골의 치관측 레벨 사이의 간격으로 측정된 치주 재생.

[0118] 2. NB (New Bone Fill): 치근분기 내에 형성된 새로운 골의 단면적으로 측정됨.

[0119] 3. CT (Connective Tissue Fill): 치은결합조직에 의해서 점유된 치근분기 내의 면적으로 측정됨.

[0120] 4. VO (Void): 조직이 존재하지 않는 퇴축부 (recession)의 면적.

[0121] **결과**

[0122] *A. 임상적 관찰결과*

[0123] 임상적으로 모든 부위는 잘 치유되었다. rhPDGF-BB로 처리된 부위는, 수술후 1주일 이내에 단단한 분홍색의 치은의 존재에 의해서 나타나는 바와 같이 더 빨리 치유되었다는 결과가 있었다. 처리된 부위의 시각적 검사에 의해서 평가되는 바와 같이 어떠한 처리군에서도 부작용이 나타나지 않았다. β-TCP 또는 DFDBA를 단독으로 투여한 군에서는 치은퇴축이 증가되는 것으로 나타났다.

[0124] *B. 방사선사진 관찰결과*

[0125] 방사선사진에 의해서는, 다른 군들에 비해서 2군, 3군 (각각 β-TCP + rhPDGF-BB 0.3 및 1.0 ㎎/㎖) 및 6군 (DFDBA + rhPDGF-BB 1.0 ㎎/㎖)군에서의 증가된 방사선비투과성에 의해서 판단되는 바와 같이 2개월째에 증가된 골 형성이 입증되었다 (도 1A-G). 4개월째에는 2개월 시점에 비해서 모든 군에서 증가된 골 형성이

입증되었다. 어떤 군에서도 어떠한 비정상적인 골 리모델링, 치근 흡수 또는 강직증의 방사선사진 증거는 나타나지 않았다.

표 3

[0126]

방사성사진 결과 (등급 순위)	
8주일째에 골 충진의 정성적 평가*	처리
6	β-TCP 단독
1	β-TCP + 0.3 mg/mℓ rhPDGF
2	β-TCP + 1.0 mg/mℓ rhPDGF
7	DFDBA 단독
5	DFDBA + 0.3 mg/mℓ rhPDGF
3	DFDBA + 1.0 mg/mℓ rhPDGF
4	수술, 이식 없음
* 1 = 최대 충진; 7 = 최소 충진	

[0127] *C. 조직형태학적 분석*

[0128] 새로운 골 충진, 결합조직 충진, 및 공극 공간뿐만 아니라 새로운 시멘트질, 새로운 골 및 새로운 치주 인대 (CNAA)의 길이의 조직형태학적 평가치를 평가하였으며, 백분율로 나타낸다. CNAA의 경우에 각각의 시험군에 대한 값은 CNAA 측정치 (㎜로 나타낸 길이) / 이용가능한 CNAA 총길이 (㎜) × 100%로 나타낸다. 골 충진, 결합조직 충진 및 공극 공간을 평가하였으며, 전체 치근분기 결손면적의 백분율로서 나타낸다.

[0129] 일원분산분석 (one-way analysis of variance; ANOVA)을 사용하여 처리군들 사이의 전반적 차리에 대해서 시험하였으며, 쌍대비교 (pairwise comparison)는 스투던트 t-시험 (student's t-test)을 사용하여 이루어졌다. 코드화된 슬라이드의 분석에 의해서 군들 사이의 유의적인 차이가 나타났다. 표 4는 2개월째의 결과를 나타낸다.

표 4

[0130]

2개월째의 조직학적 분석					
군 번호	처리	% CNAA 치주 재생	% 골 충진	% 결합조직 충진	% 공극
1	β-TCP 단독	37.0±22.8**	28.0±29.5	36.0±21.5	12.0±17.9
2	β-TCP + 0.3 mg/mℓ rhPDGF	59.0±19.1*,†	84.0±35.8†,‡	0.0±0.0	8.0±17.9
3	β-TCP + 1.0 mg/mℓ rhPDGF	46.0±12.3*	74.2±31.7‡	0.0±0.0	0.0±0.0
4	DFDBA 단독	13.4±12.0	6.0±8.9	26.0±19.5	30.0±27.4
5	DFDBA + 0.3 mg/mℓ rhPDGF	21.5±13.3	20.0±18.7	36.0±13.4	18.0±21.7
6	DFDBA + 1.0 mg/mℓ rhPDGF	29.9±12.4	46.0±23.0≠	26.0±5.48	8.0±13.04
7	삽수술, 이식없음	27.4±15.0	34.0±27.0	48.0±35.64	10.0±22.4
* 2군 및 3군은 4군 및 7군보다 유의적으로 더 크다 (p<0.05).					
** 1군은 4군보다 유의적으로 더 크다 (p<0.05).					
† 2군은 5군보다 유의적으로 더 크다 (p<0.05).					
‡ 2군 및 3군은 1군, 4군 및 7군보다 유의적으로 더 크다.					
≠ 6군은 4군보다 유의적으로 더 크다.					

[0131] 이식이 없는 수술군 및 수술+β-TCP 단독군에서 치주 재생 (CNAA)의 평균 퍼센트는 각각 27% 및 37%였다. 반대로, rhPDGF-BB를 함유하는 β-TCP 군은 이식이 없는 수술 또는 DFDBA 단독인 경우에 비해서 유의적으로 더 큰 치주 재생을 나타내었다 ($p<0.05$) (0.3 및 1.0 mg/mℓ 농도의 경우에 각각 59% 및 46%에 대비하여 수술 단독인 경우는 27%이고 DFDBA 단독인 경우는 13%임). 마지막으로, 0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB를 함유하는 β-TCP 군은 동종이식편과 배합된 동일한 농도의 rhPDGF-BB인 경우보다 유의적으로 더 큰 치주 재생을 나타내었다 ($p<0.05$) (59% 대 21%).

[0132] 골 충진은 β-TCP 단독 (28.0%), 수술 단독 (34%) 또는 DFDBA 단독 (6%) 처리군에서 보다 β-TCP + 0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB (84.0%) 및 β-TCP + 1.0 mg/mℓ rhPDGF-BB (74.2%)에서 유의적으로 더 컸다 ($p<0.05$). 또한, DFDBA + 0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB 군에 비해서 β-TCP + 0.3 mg/mℓ rhPDGF-BB 군의 경우에 골 충진이 유의적으로 더 컸다 ($p<0.05$) (각각 84% 및 20%).

[0133] DFDBA 군 및 수술 단독군 (4, 5, 6 및 7 군)으로부터의 8-주일 데이타를 조사하는 분석군은 DFDBA 군과 수술 단

독군 사이에 치주 재생 (CNAA)에 있어서 통계학적으로 유의적인 차이가 없음을 나타내었다. DFDBA 단독인 경우에 비해서 1.0 ㎎/㎖ rhPDGF-BB 증강된 DFDBA로 처리된 부위에서 더 큰 재생이 나타나는 경향이 있었다. DFDBA 단독인 경우보다 DFDBA + 1.0 ㎎/㎖ rhPDGF-BB로 처리된 부위에 대해서 유의적으로 더 큰 골 충진이 있었다 ($p<0.05$) (각각 46% 및 6%). DFDBA 단독이거나 수술 단독인 경우에 비해서 0.3 ㎎/㎖ rhPDGF-BB를 함유하는 DFDBA로 처리된 부위에서 더 큰 골 충진이 나타나는 경향이 있었다. 그러나, DFDBA 단독으로 처리된 부위는 수술 단독인 경우보다 결손에 대한 골 충진이 더 적었음을 나타내었으며 (각각 6 및 34%), 대부분의 결손은 어떤 충진물도 치은 (연질) 결합조직으로 구성된 충진물도 결여되어 있다.

[0134] 처리 후의 4개월째에 치주 재생에 있어서의 유의적인 차이는 유지되었다. β-TCP 단독인 경우는 광범한 강직의 결과로 36% 재생을 제공한 반면에, rhPDGF-BB를 함유하는 β-TCP로 처리된 부위는 0.3 및 1.0 ㎎/㎖ rhPDGF-BB 농도에서 58% 및 49%의 평균 재생을 가졌다. 실질적인 골 충진은 3가지 처리군 모두에 존재하였다. β-TCP 단독인 경우는 70% 골 충진을 제공하였으며, β-TCP + 0.3 ㎎/㎖ rhPDGF는 100% 충진을 제공한 반면에 1.0 ㎎/㎖ rhPDGF 군은 75% 충진을 나타내었다.

[0135] *D. 조직학적 평가*

[0136] 처리하는 중에 직면하게 된 어려움으로 인하여 평가가 불가능하였던 한가지를 제외하고 모든 생검에 대해서 조직학적 평가가 수행되었다.

[0137] 대표적인 현미경사진은 도 1A-G 및 2A-C에서 나타내었다. 도 1A는 수술 단독 (이식 없음)으로 처리한 부위로부터의 결과를 나타낸 것이다. 이 검체는 노치 및 치관측으로 단지 짧은 거리를 연장한 영역에서 입증되는 바와 같이 제한된 치주 재생 (새로운 골 (NB), 새로운 시멘트질 (NC) 및 치주 인대 (PDL))을 나타낸다. 치근분기의 영역은 주로, 최소의 새로운 골 (NB) 형성과 함께 조밀한 연질 결합조직 (CT)에 의해서 점유된다.

[0138] β-TCP 단독으로 처리된 부위 (도 1B)의 경우에는 수술 단독인 경우의 검체에 대해서 관찰된 것과 유사한 것으로 노치의 기부로부터 치관측으로 짧은 거리를 연장한 치주 재생이 있다. 수술 단독인 검체에서 볼 수 있는 바와 같이, 새로운 골 형성은 매우 적었으며 치근분기의 최대 영역은 연질 결합조직에 의해서 점유되었다.

[0139] 이와는 달리, 도 1C는 β-TCP + 0.3 ㎎/㎖ rhPDGF-BB로 처리한 부위에 대해서 수득된 결과를 나타낸 것이다. 치근분기의 전체 표면을 따라서 연장된 새로운 골, 새로운 시멘트질 및 치주 인대를 갖는 유의적인 치주 재생이 나타났다. 추가로, 치근분기의 영역은 치근분기의 전체 높이를 원개까지 연장하는 새로운 골로 충진된다.

[0140] β-TCP + 1.0 ㎎/㎖ rhPDGF-BB로 처리된 부위에 대한 대표적인 결과는 도 1D에 나타내었다. 치근분기에서 유의적인 치주 재생이 있지만, 이것은 치근분기의 전체 표면을 따라서 연장되지는 않는다. 새로운 골 형성은 치근분기의 원개에서 어떤 조직도 없는 작은 공간과 함께 결손의 치관측 부분에서 관찰되는 연질 결합조직과 함께 존재한다.

[0141] 도 2A, 2B 및 2C는 동종이식편 처리군에 대해서 수득된 결과를 나타낸 것이다. DFDBA 단독군에 대한 대표적인 결과 (도 2A)는 치관측 방향으로 단지 약간 연장되는 노치의 영역으로 제한된 매우 불량한 치주 재생을 나타낸다. 새로운 골 형성은 제한되며, 잔류하는 DFDBA 이식물질의 표면을 따라 소량의 골 형성으로 구성된다 (더 연한 분홍색 섬을 따라서 암갈색 염색). 추가로, 새로운 골은 치관측으로 연장하여 치근분기 내에서 상당한 영역을 충진시키는 광범한 연질 결합조직에 의해서 둘러싸인다. 마지막으로, 큰 공극 공간이 연질 결합조직의 치관측 범위에서부터 치근분기의 원개까지 연장된다.

[0142] DFDBA + 0.3 및 1.0 ㎎/㎖ rhPDGF-BB에 대한 조직학적 결과는 각각 도 2B 및 2C에 나타내었다. 두가지 군은 모두 DFDBA 단독인 경우에 비해서 치근부에서 노치의 기부로부터 치관측으로 (화살표) 짧은 거리를 연장하는 완전히 새로운 부착장치 (새로운 골, 새로운 시멘트질 및 치주 인대)를 가지고 더 큰 치주 재생을 나타낸다. 이들은 또한, 치근분기의 영역에서 더 큰 골 충진을 가졌지만, 연질 결합조직에 의해서 치근분기의 상당부분이 충진되었다.

[0143] **결론**

[0144] 시험의 결과를 기초로 하여, 적합한 담체 물질 (예를 들어, β-TCP)과 함께 0.3 ㎎/㎖ 또는 1.0 ㎎/㎖의 rhPDGF-BB를 사용한 치주 결손의 치료는 β-TCP 또는 골 동종이식편 단독에 의한 이식, 또는 이식이 없는 치주 수술과 같은 현재의 제품 또는 방법보다 더 큰 치주 재생을 제공한다.

[0145] 0.3 ㎎/㎖ 및 1.0 ㎎/㎖ 농도의 rhPDGF에 의한 치료는 치주 재생을 제공하였다. 0.3 ㎎/㎖ 농도의 rhPDGF는 β

-TCP와 혼합한 경우에 1.0 ㎎/㎖ 농도의 rhPDGF에 비해서 더 큰 치주 재생 및 골 충진율을 나타내었다.

[0146] β-TCP는 어떤 노도의 rhPDGF-BB와 혼합한 경우에도 동종이식편보다 더 효과적이었다. 새로운 골은 모든 군에서 통상적으로 시간이 경과함에 따라서 (0, 8 및 16주일) 성숙하였다 (리모델링되었다). rhPDGF 군에서 강직증 또는 치근흡수의 증가는 없었다. 실제로, rhPDGF-BB를 투여한 부위는 대조부위보다 강직을 덜 나타내는 경향이 있다. 이러한 소견은 rhPDGF-BB가 치주 인대세포에 대해서 유사분열촉진성 및 화학주성이라는 사실에 기인할 수 있다.

[0147] **물질 및 방법**

[0148] *이용된 물질: 시험 및 대조 제품*

[0149] 이용된 β-TCP는 치주에 사용하도록 최적화된 입자-크기 (0.25 ㎜-1.0 ㎜)를 가졌다. 개 모델을 사용한 시험을 기초로 하여, 투여된 β-TCP는 3개월 이내에 ~80% 재흡수되며, 치유과정 중에 자가유래하는 골에 의해서 대체된다.

[0150] DFDBA는 MTF (Musculoskeletal Transplant Foundation)에 의해서 공급되었다. 물질은 골격조직에 대한 효과를 갖지 않는 것으로 생각되는 수술방법을 시험한 또 다른 시험의 완료 후에 치사시킨 개의 골로부터 만들어진 개 동종이식편이었다.

[0151] 재조합체 hPDGF-BB는 바이오미메틱 파마슈티칼스 (BioMimetic Pharmaceuticals)에 의해서 공급되었으며, 인간에게 사용하기 위한 FDA-승인 rhPDGF-BB의 유일한 공급자인 카이론, 인코포레이티드 (Chiron, Inc.)에 의해서 제조되었다. 이 rhPDGF-BB는 상품명 레그라넥스 (Regranex™)인 창상치유제품으로 FDA에 의해서 승인되었다.

[0152] 두개의 별개의 농도의 멸균 rhPDGF-BB 0.5 ㎖를 함유하는 1 ㎖ 시린지는 인체 물질을 위한 FDA 기준에 순응하고, 현재 이용가능한 우수의약품제조방법 (current applicable Good Manufacturing Processes; cGMP)에 따라 제조되었다. 시험된 농도는 0.3 ㎎/㎖ 및 1.0 ㎎/㎖를 포함하였다.

[0153] β-TCP는 0.5 ㏄의 멸균 입자를 함유하는 바이알로 제공되었다.

[0154] DFDBA는 1.0 ㏄의 멸균된 탈회된 동결건조된 개 골 동종이식편을 함유하는 2.0 ㎖ 시린지로 제공되었다.

[0155] *물질 제조*

[0156] 수술절차의 시기에 최종 이식된 이식물은 rhPDGF-BB 용액을 매트릭스 물질과 혼합시킴으로써 제조되었다. 간략하게, 골의 결손을 완전히 충진시키기에 충분한 양의 TCP 또는 동종이식편을 멸균 디쉬 (sterile dish) 내에 배치하였다. 그 후, 매트릭스를 완전히 포화시키는데 충분한 rhPDGF-BB 용액을 첨가하고, 물질을 혼합하여 골의 결손 내에 배치하기 전에 약 10분 동안 실온에서 외과적 트레이 (surgical tray) 상에 정치시켰다.

[0157] β-TCP 물질과의 10분의 배양시간은 성장인자의 최대 흡착을 수득하기에 충분하다 (참조: 부록 A). 이것은 또한, 임상적 셋팅 (clinical setting)에서 제품을 치주 결손에 배치시키기 전에 외과의사가 갖도록 하는데 적절한 양의 시간이다. 마찬가지로, 상업적 시장에서 rhPDGF-BB 및 매트릭스 물질은 키트 내의 별도의 용기에서 공급될 수 있으며, 이 물질은 배치시키기 직전에 혼합될 수 있다. 이러한 키트 개념은 제품 저장수명/안정성 문제를 매우 단순화시킬 수 있다.

[0158] ***실시예 III: 인간에게서 치주골 결손의 치료를 위한 PDGF의 용도***

[0159] 재조합체 인간 PDGF-BB (rhPDGF-BB)는 인간 피검자에게서 치주골의 재생에 대한 그의 효과에 대해서 시험하였다. 두개의 시험군에는 0.3 ㎎/㎖ (I 군) 또는 1.0 ㎎/㎖ (II 군)로 rhPDGF-BB를 투여하였다. rhPDGF-BB는 나트륨 아세테이트 완충액 중에서 제조되었으며, 베타-트리칼슘 포스페이트 (β-TCP)의 비히클 중에서 투여되었다. 대조군인 III 군은 나트륨 아세테이트 완충액 중의 β-TCP 만을 투여하였다.

[0160] 임상시험의 목적은 1 내지 3 개의 벽 골내 치주 결손 (wall intra-osseous periodontal defects)의 관리시에 0.3 ㎎/㎖ 또는 1.0 ㎎/㎖의 rhPDGF-BB 및 β-TCP를 포함하는 이식물질의 안전성 및 유효성을 평가하고, 골 및 연조직에서 그의 재생능을 평가하기 위한 것이었다.

[0161] *시험 디자인 및 치료기간*

[0162] 시험은 자연적인 치아상태에 인접한 골 결손을 치료하기 위한 외과적 개입을 필요로 하는 피검자에게서 이중-맹검식의 조절되고 예기되는 무작위화, 평행 디자인된 멀티-센터 임상실험 (double-blind, controlled, prospective, randomized, parallel designed, multi-center clinical trial)이었다. 피검자는 동일한 비율로

무작위 분류하여 각각 대략 60명씩으로 3 개의 치료군을 제공하였다 (총 180 명). 시험의 지속기간은 시험장치를 이식한 후 6개월이었다. 시험에는 180 명의 피검자가 참여하였다.

[0163] *진단 및 주요 도입기준 (entry criteria)*

[0164] 골 결손을 교정하기 위하여 외과적 치료를 필요로 하는 하나 이상의 부위에서 진행된 치주질환을 갖는 25-75 세의 남성 및 여성 피검자가 시험에 참여하였다. 그 밖의 다른 포함기준에는 다음이 포함된다: 1) 기준선 방문시에 7 ㎜ 또는 그 이상으로 측정되는 프로빙 포켓 (probing pocket) 깊이; 2) 외과적 창면절제술 후에 하나 이상의 골벽 (bony wall)을 갖는 4 ㎜ 또는 그 이상의 수직 골 결손 (BD); 3) 결손의 완전한 조직 보호를 허용하도록 충분히 케라틴화된 조직; 및 4) 치아의 첨단부까지 치관측으로 3 ㎜ 이상의 결손의 방사선사진 기부. 하루에 한 갑까지 흡연을 하고, 클래스 I 및 II 치근분기 침습이 있는 치아를 갖는 피검자가 특정적으로 허용되었다.

[0165] *투여량 및 투여의 모드*

[0166] 모든 치료 키트는 0.25 g의 β-TCP (능동적 대조군) 및 0.5 ㎖ 나트륨 아세테이트 완충용액 단독 (III 군), 0.3 mg/㎖ rhPDGF-BB (I 군), 또는 1.0 mg/㎖ rhPDGF-BB (II 군)를 함유하였다.

[0167] 철저한 창면절제술 및 치근 평활화 이후에, 시험용액을 멸균 용기 내에서 β-TCP가 완전히 포화되도록 β-TCP와 혼합시켰다. 치근 표면은 테트라사이클린, EDTA, 또는 시트르산을 사용하여 컨디쇼닝하였다. 그 후, 수화된 이식물을 골의 결손에 충전시키고, 조직 피판은 치간 봉합에 의해서 고정시켜 수술부위의 완전한 보호가 달성되도록 하였다.

[0168] *유효성 측정*

[0169] 일차적 유효성 측정은 기준선과 수술-후 6개월 사이의 임상적 부착레벨 (clinical attachment level; CAL)의 변화를 포함하였다 (I 군 대비 III 군). 이차적 유효성 측정은 다음의 결과로 구성되었다: 1) 방사선사진 평가를 기초로 한 기준으로부터 수술-후 6개월까지의 선형 골 성장 (linear bone growth; LBG) 및 골 충진 % (%BF) (I 군 및 II 군 대비 III 군); 2) 기준선과 수술-후 6개월 사이에서의 CAL의 변화 (II 군 대비 III 군); 3) 기준선과 수술-후 6개월 사이에서의 프로빙 포켓 깊이 감소 (PDR) (I 군 및 II 군 대비 III 군); 4) 기준선과 수술-후 6개월 사이에서의 치은퇴축 (GR) (I 군 및 II 군 대비 III 군); 5) 수술-후 처음 3주일 동안에 수술부위의 창상 치유 (WH) (I 군 및 II 군 대비 III 군); 6 기준선과 3개월 및 6개월 사이에서의 CAL의 변화에 대한 곡선하면적 (I 군 및 II 군 대비 III 군); 7) 수술-후 6개월째에 %BF에 대한 95% 신뢰하한선 (lower confidence bound; LCB) (문헌 (Parashis et al., J. Periodontol. 69:751-758, 1998)에 공개된 바와 같이 I, II 및 III 군 대비 탈회된 동결건조된 골 동종이식편 (DFDBA)); 8) 수술-후 6개월째에 선형 골 성장에 대한 95 % LCB (문헌 (Persson et al., J. Clin. Periodontol. 27:104-108, 2000)에 공개된 바와 같이 I, II 및 III 군 대비 탈회된 동결건조된 골 동종이식편 (DFDBA)); 9) 기준선과 6개월 사이에서 CAL에서의 변화에 대한 95% LCB (I, II 및 III 군 대비 엠도게인 (EMDOGAIN™) - PMA P930021, 1996); 및 10) 기준선과 6개월 사이에서 CAL에서의 변화에 대한 95% LCB (I, II 및 III 군 대비 펩진 (PEPGEN) P-15™ - PMA P990033, 1999).

[0170] *통계학적 방법*

[0171] 안전성 및 유효성 데이타는 기술통계학에 의해서 검사하고 요약하였다. 카테고리별 측정치는 카운트 (counts) 및 퍼센트 (percents)로 나타내었으며, 연속변수 (continuous variables)는 평균치, 중앙값, 표준편차 및 범위로 나타내었다. 시험제품 치료군 (I 및 II 군)과 대조군 (III 군) 사이의 통계학적 비교는 카테고리별 변수에 대해서는 카이-스퀘어 (Chi-Square) 및 피셔 이그잭트 (Fisher's Exact) 시험을 사용하고, 연속변수에 대해서는 t-시험 또는 분산분석방법 (Analysis of Variance Methods; ANOVA)를 사용하여 이루어졌다. 순위변수 (ordinal variables)에 대한 치료군들 사이의 비교는 코르란-만텔-헨스젤 방법 (Cochran-Mantel-Haenszel method)을 사용하여 이루어졌다. CAL, LBG 및 %BF의 경우에 $p \leq 0.05$ (one-sided)는 통계학적으로 유의적인 것으로 간주되었다.

[0172] 안전성 데이타는 임상적으로 및 방사선사진에 의해서 평가되는 것으로 부작용의 빈도 및 중증도에 의해서 평가되었다. 기준선에서는 3 개의 치료군들 사이에서 유의적인 차이가 없었다. 또한, 3 개의 치료군들 중에서 부작용 (AEs; 모든 원인)의 발생빈도에서 관찰되는 통계학적으로 유의적인 차이도 없었다. 안전성 분석은 피검자에 대하여 이식물질의 이식에 기인한 어떤 증가된 위험도 확인하지 못하였다.

[0173] *유효성 결과의 요약*

[0174] 통계학적 분석으로 인한 결과는 β-TCP 단독인 능동적 대조군 (III 군) 및 DFDBA, 엠도게인 (EMDOGAIN™) 및 펩진 (PEPGEN) P-15™를 포함한 역사적 대조군에 비해서 두개의 치료군 (I 및 II 군)에 대해서 임상적 및 통계학적으로 모두 유의적인 이점을 나타내었다.

[0175] 수술-후 3개월째에 기준선으로부터 통계학적으로 유의적인 CAL 증가가 III 군에 대비하여 I 군에서 바람직하게 관찰되었으며 ($p = 0.041$), 이것은 CAL의 증가에 대하여 PDGF가 유의적으로 빠른 이점이 있음을 시사하는 것이다. 수술-후 6개월째에 이러한 경향은 III 군보다 I 군에서 유리하게 계속되었으나, 이러한 차이는 통계학적으로 유의적이지 않았다 ($p = 0.200$). 기준선과 6개월 사이에서 CAL 증가에 대한 누적효과 (즉, 속도)를 나타내는 곡선하면적분석 (area under the curve analysis; AUC)은 III 군에 비해서 I 군에 바람직한 통계학적 유의성에 근접하였다 ($p = 0.054$). 또한, 모든 치료군에 대한 95% 신뢰하한선 (LCB) 분석은 엠도게인 (EMDOGAIN™) 및 펩진 (PEPGEN) P-15™에 대하여 6개월째에 관찰된 CAL 증가에 비해서 I 및 II 군의 유효성을 입증하였다.

[0176] CAL의 관찰된 임상적 이점 이외에도, 선형 골 성장 (Linear Bone Growth; LBG) 및 골 충진 퍼센트 (Percent Bone Fill; %BF)를 포함한 방사선사진 분석은 III 군에 대비하여 I 및 II 군에서 골 증가에 있어서의 통계학적으로 유의적인 개선을 나타내었다. %BF는 방사선사진에 의해서 측정된 것으로 새로운 골로 충진된 원래의 골 결손의 퍼센트로 정의되었다. LBG는 III 군 (0.9 ㎜, $p<0.001$)에 비해서 I 군 (2.5 ㎜)에서 유의적인 개선을 나타내었다. LBG는 또한, III 군에 비해서 II 군 (1.5 ㎜)의 경우에 유의적이었다 ($p = 0.021$).

[0177] 골 충진 퍼센트 (%BF)는 III 군 (18%)에 비해서 I 군 (56%) 및 II 군 (34%)에서 수술-후 6게월째에 유의적으로 증가하였다 (각각 $p<0.001$ 및 $p = 0.019$). 선형 골 성장 및 골 충진% 둘 다의 경우에 수술-후 6개월째의 신뢰구간의 95% 하한선은 치주 이식방법을 위해서 가장 광범하게 사용된 DFDBA에 대한 공개된 방사선사진 결과에 비해서 I 군 및 II 군의 유효성을 입증하였다.

[0178] 3개월째에 CAL에 의해서 관찰된 유익한 효과와 일치하여 III 군에 비해서 I 군의 경우에 유의적으로 더 적은 치은퇴축 (GR)($p=0.041$)이 존재하였다. 6개월째에 PDR 및 GR에서 통계학적으로 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 3개월째에 완전한 창상치유 (WH)를 나타내는 부위의 수에 대한 기술적 분석 (descriptive analysis)은 II 군 (60%) 및 III 군 (55%)에 비해서 I 군 (72%)에서의 개선을 나타내었으며, 이것은 개선된 치유경향을 시사하는 것이다.

[0179] 임상적 및 방사선사진 결과에 대한 누적 유익효과를 평가하기 위해서, 복합적 유효성 분석을 수행하여 6개월째에 CAL > 2.7 ㎜ 및 LBG > 1.1 ㎜로 정의되는 바와 같은 성공적인 결과를 갖는 환자를 퍼센트를 측정하였다. 성공에 대한 CAL 및 LBG 벤치마크 (benchmark)는 상기 "유효성 측정" 항목에서 나타낸 바와 같이, 이식된 이식물에 의해서 이들 파라메터에 대해 달성된 평균 레벨에 의해서 설정되었다. 결과는 I 군 환자의 61.7% 및 II 군 환자의 37.9%가 III 군 환자의 30.4%에 비해서 성공에 대한 복합적 벤치마크를 충족시키거나, 이를 초과하여 I 군 대비 III 군의 통계학적으로 유의적인 이점을 제공하였다 ($p<0.001$). %BF는 0.003의 p-값으로 III 군 (44.6%)에 비해서 I 군 (70.0%)에서 유사한 이점을 나타내었다.

[0180] 요약하면, I 군은 β-TCP 단독의 능동적 대조군 (III 군)에 비해서 3개월째의 CAL 및 GR뿐만 아니라, 6개월째의 LBG 및 %BF에 대해서 통계학적으로 이로운 결과를 달성하였다. 이들 결과의 임상적 유의성은 역사적 대조군과 비교함으로써 더 확인된다. PDGF-함유 이식물질은 치주골 결손의 치료에 관해서 6개월까지 임상적 및 방사선사진에 의한 유효성을 달성하는 것으로 나타났다고 결론이 내려진다.

표 5

[0181]

PDGF 이식물 유효성의 요약				
엔드포인트 (endpoint)		I 군	II 군	III 군
CAL 증가 (㎜): 3개월		3.8 (p = 0.04)	3.4 (p = 0.40)	3.3
CAL: AUC 분석 (㎜×wk)		67.5 (p = 0.05)	61.8 (p = 0.35)	60.1
CAL (㎜): 95% LCB 6개월 (엠도게인에 대한 2.7 ㎜ 및 펩젠에 대한 1.1 ㎜와 대비)		3.3	3.2	3.1
GR (㎜): 3개월		0.5 (p = 0.04)	0.7 (p = 0.46)	0.9
LBG (㎜): 6개월		2.5 (p<0.001)	1.5 (p = 0.02)	0.9
%BF: 6개월		56.0 (p<0.001)	33.9 (p = 0.02)	17.9
복합적 분석 (% 성공율)	CAL-LBG	61.7% (p<0.001)	37.9% (p = 0.20)	30.45
	CAL-%BF	70.0% (p = 0.003)	55.2% (p = 0.13)	44.6%

[0182] PDGF를 0.3 ㎎/㎖ 및 1.0 ㎎/㎖로 함유하는 이식물질 (즉, β-TCP)은 6개월까지의 기간 동안 시험한 180 명의 피검자가 포함된 대규모 무작위 임상실험에서 치조골의 복구 및 중등도 내지 진행된 치주염을 갖는 치아 주위의 임상적 부착에 안전하고 효과적인 것으로 나타났다. 이들 결론은 이하에 요약하는 바와 같이 인증된 방사선사진 및 임상적 측정치를 기초로 한 것이다.

[0183] 상기 언급한 PDGF-함유 이식물질의 생체적합성 데이타 및 각각의 개개 성분 (즉, β-TCP 단독 또는 PDGF 단독)의 역사적인 안전한 사용과 일치해서 이 시험은 국소적이거나 전신적인 부작용의 증거를 나타내지 않았다. 이 식물질에 기인하는 해로운 결과는 없었으며, 안전한 것으로 밝혀졌다.

[0184] *결론*

[0185] PDGF를 0.3 ㎎/㎖ 및 1.0 ㎎/㎖로 함유하는 β-TCP의 이식은 능동적 대조군에 비해서 3개월째에 유의적으로 개선된 CAL에 의해서 나타나는 바와 같이 연조직 부착 레벨 및 골의 복구에 효과적인 치료법인 것으로 확인되었다. 본 발명자들의 소견은 또한, 기준선과 6개월 사이에 CAL 증가의 개선을 나타낸 AUC 분석과 일치한다. PDGF를 0.3 ㎎/㎖ 및 1.0 ㎎/㎖로 함유하는 β-TCP의 이식은 또한, 능동적 대조군에 비해서 유의적으로 개선된 LBG 및 %BF를 기초로 하여 효과적인 치료법인 것으로 확인되었다. β-TCP 단독인 능동적 대조군에 비해서 연조직 및 경조직 측정치 둘 다의 복합적 분석에 의해서 나타나는 바와 같은 유의적으로 개선된 임상적 결과는 또한, 상술한 치료 프로토콜의 유효성을 입증한다. 마지막으로, PDGF를 0.3 ㎎/㎖ 및 1.0 ㎎/㎖로 함유하는 β-TCP를 투여한 결과는 임상적으로 및 방사선사진 둘 다에 의해서 유효성의 설정된 벤치마크를 초과하는 것으로 확인되었다.

[0186] 시험관내, 동물 및 인간 시험으로부터의 광범하고 확증적인 데이타와 함께 이 실험의 결과는 PDGF-함유 이식물질이 치주 결손에서 연조직 및 경조직 재생을 자극하는 것을 입증하지만, 효과는 0.1 내지 1.0 ㎎/㎖ 범위 (예를 들어, 0.1 ㎎/㎖, 0.3 ㎎/㎖, 또는 1.0 ㎎/㎖)의 PDGF를 이식물질에서 투여한 경우에 더 유의적이었다. 또한, 이식물질에서 0.3 ㎎/㎖의 양으로 투여된 PDGF는 연조직 및 골을 효과적으로 재생시켰다.

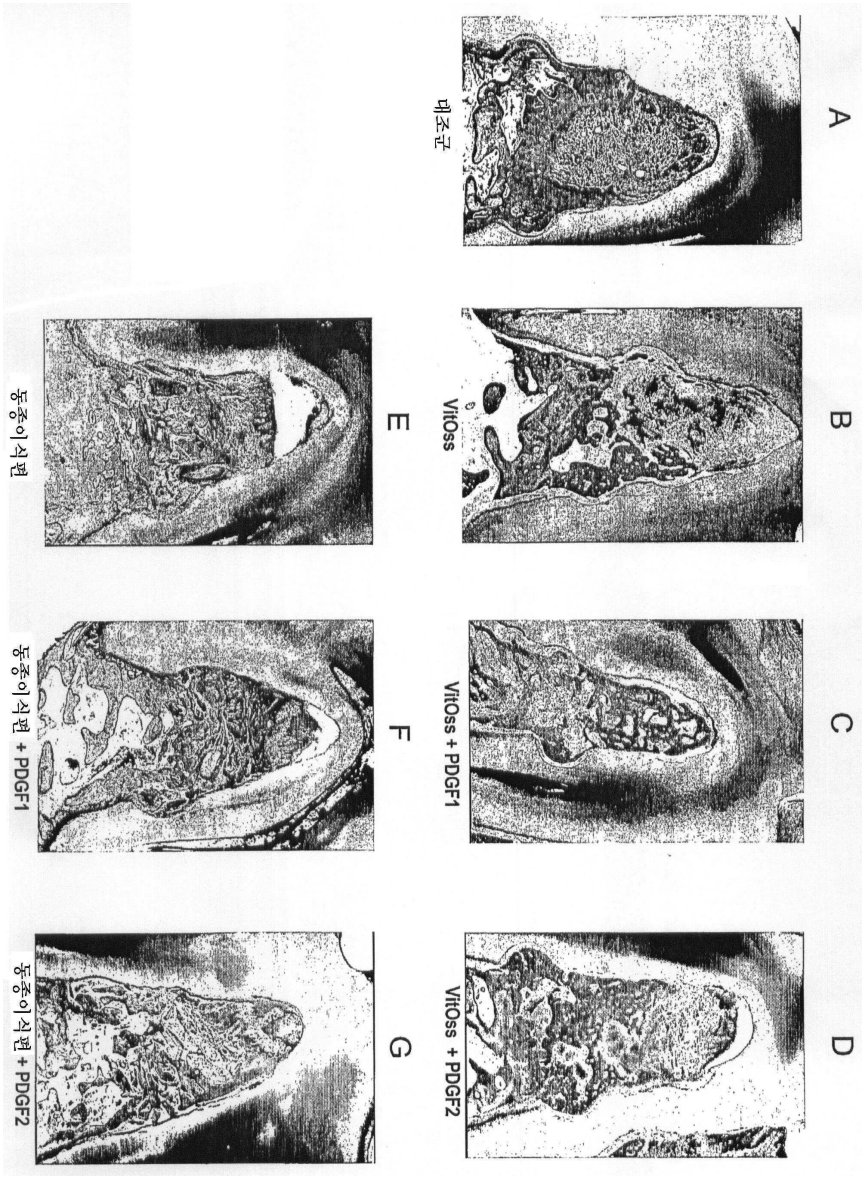
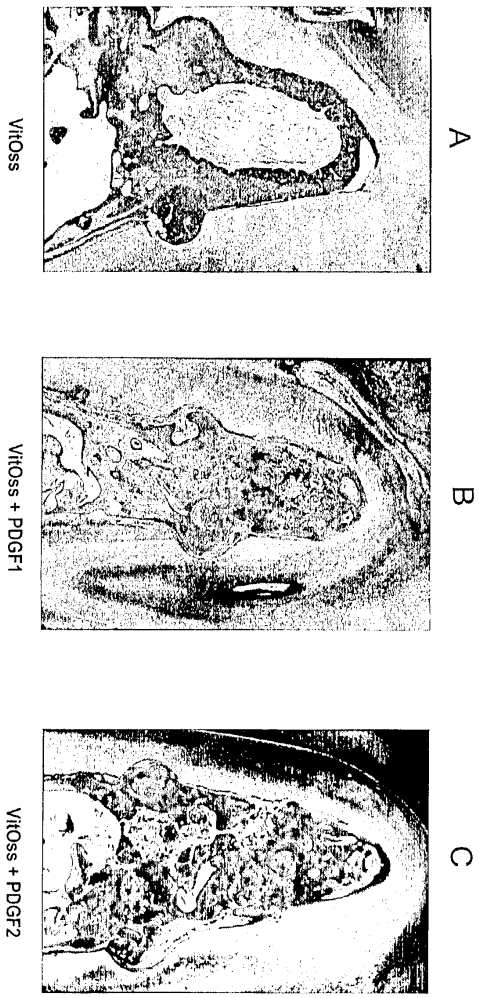
[0187] 그 밖의 다른 구체예는 이하의 특허청구범위에 포함된다.

부호의 설명

[0188] PDGF: 혈소판-유도된 성장인자

도면

도면1


A
대조군
B
VitOss
C
VitOss + PDGF1
D
VitOss + PDGF2
E
동종이식편
F
동종이식편 + PDGF1
G
동종이식편 + PDGF2

도면2