



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103917168 B

(45)授权公告日 2018.02.27

(21)申请号 201280053911.X

(22)申请日 2012.09.05

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103917168 A

(43)申请公布日 2014.07.09

(30)优先权数据
61/531,424 2011.09.06 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.04.30

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/053793 2012.09.05

(87)PCT国际申请的公布数据
W02013/036531 EN 2013.03.14

(73)专利权人 干细胞外科手术有限责任公司
地址 美国马里兰州

(72)发明人 理查德·H·斯佩德恩
卢·C·舍恩 玛格丽特·E·索普

(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限
责任公司 11287

代理人 章蕾

(51)Int.Cl.
A61B 17/00(2006.01)

审查员 李倩

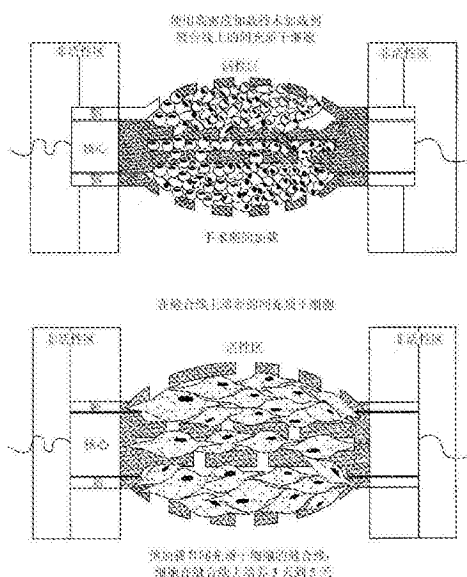
权利要求书2页 说明书23页 附图4页

(54)发明名称

手术缝合线和其制造和使用方法

(57)摘要

在一个实施例中提供缝合线,其包含:包含一定体积的孔或间隙的多孔内部组件,所述体积包含结合表面;和分散于所述体积中的第一数量的生物细胞;其中所述体积中的生物细胞的所述第一数量大于代表所述生物细胞在所述结合表面上100%融合的第二数量的阈值数量。



1. 一种缝合线,其包含:
包含多个孔或间隙的多孔内部组件,所述多个孔或间隙包含结合表面;和
分散于所述多个孔或间隙中的第一数量的生物细胞;
其中所述多个孔或间隙中的生物细胞的所述第一数量大于代表所述生物细胞在所述结合表面上100%融合的第二数量的阈值数量。
2. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述第一数量比所述阈值数量大至少2倍。
3. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述第一数量比所述阈值数量大至少4倍。
4. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述第一数量比所述阈值数量大至少10倍。
5. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述阈值数量介于2000个细胞/平方厘米与3000个细胞/平方厘米之间。
6. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述第一数量是按照所述缝合线的长度测定且为每一所述缝合线的直径大于7,500,000个细胞。
7. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述生物细胞通过离子结合、共价结合、吸附、吸收、陷获、缠结、或挟带或其组合保留在所述孔或间隙中。
8. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述生物细胞包含具有近似球形构形的祖细胞或干细胞。
9. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述多个孔和间隙中的所述生物细胞存在于介质中,所述介质是粘性液体、泡沫、凝胶和乳液中的至少一者。
10. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述生物细胞包含间充质干细胞。
11. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述多孔内部组件进一步包含:
 - (a) 复丝或编织或织造长丝的基质,其包含安置在所述长丝之间的所述多个间隙;或
 - (b) 多孔单丝,其包含所述多个孔,并且其中所述生物细胞保留在至少一些所述多个孔或间隙中。
12. 根据权利要求1所述的缝合线,其进一步包含承载区段和连续的前导区段,其中所述承载区段包含一定长度的包含治疗有效水平的生物细胞的缝合线材料。
13. 根据权利要求1所述的缝合线,其沿所述缝合线的长度包含多个区段,所述多个区段具有多个疏水性水平。
14. 根据权利要求1所述的缝合线,其中所述多孔内部组件包含:
多孔内部核心;和
相对于所述内部多孔核心在外部的外部组件,
其中所述内部多孔核心的至少一部分是亲水的且所述外部组件的至少一部分是疏水的。
15. 一种缝合线在制备医疗装置中的用途,所述医疗装置用于目标性地引入多个生物细胞到有需要的个体中,其中所述缝合线包含含有多个孔或间隙的多孔内部组件,所述多个孔或间隙包含结合表面和第一数量生物细胞,所述生物细胞的所述第一数量分散于所述多个孔或间隙中;
其中所述生物细胞的所述第一数量大于代表所述生物细胞在所述结合表面上100%融合的第二数量的阈值数量。
16. 根据权利要求15所述的用途,其中所述阈值数量介于2000个细胞/平方厘米与3000

个细胞/平方厘米之间。

17. 根据权利要求15所述的用途,其中至少一些所述生物细胞保持近似球形构形。

18. 一种缝合线,其包含:

包含孔或间隙的多孔内部组件;和

分散于多个所述孔或间隙中的第一数量的生物细胞;

其中多个所述孔或间隙中的生物细胞的所述第一数量大于阈值数量,所述阈值数量代表所述生物细胞在结合表面上100%融合的第二数量;且

其中所述缝合线具有多个部分,所述部分具有多个疏水性水平。

19. 根据权利要求18所述的缝合线,其中所述多孔内部组件包含多根长丝的编织结构,至少一些所述长丝是亲水的且至少一些所述长丝是疏水的。

20. 根据权利要求18所述的缝合线,其中所述多孔内部组件包含:

多孔内部核心;和

相对于所述多孔内部核心的外部组件,

其中所述多孔内部核心的至少一部分是亲水的且所述外部组件的至少一部分是疏水的。

21. 根据权利要求18所述的缝合线,其中所述多个部分是在所述缝合线的长度上。

22. 根据权利要求18所述的缝合线,其中所述缝合线包含沿所述缝合线的长度夹在至少两个疏水区段之间的亲水部分。

23. 根据权利要求18所述的缝合线,其中所述缝合线包含沿所述缝合线的长度夹在两个疏水区段之间的亲水部分,且其中所述第一数量的所述生物细胞分散于所述亲水部分中。

手术缝合线和其制造和使用方法

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请案主张对2011年9月6日提出申请的美国临时申请案第61/531,424号的优先权,其全文以引用方式并入本文中。

背景技术

[0003] 手术缝合线已在宽范围的医疗程序中找到常见用途,以将人体的组织在因伤害或手术而切断之后保持在一起。除用作组织紧固件以外,缝合线和其它细长的线状医疗装置也可充当组织支架或结构支撑件用于在患者的目标组织位点处生长新的组织或在此期间使用(例如在肌腱修复中)。

[0004] 极少能在缝合线(和与其相关联的生物活性材料)所需的必要时间期间内在目标位点处维持足够浓度和强度的生物活性材料以发挥其有益效应。尽管此效应可通过提供具有超丰富的生物活性材料的缝合线表面来抵消,但如果不小心处理,高局部浓度的生物活性材料可导致有害、甚至毒性效应。而且,考虑到某些生物活性材料、特别地天然和合成生长因子的高制造成本,这并不是一个成本有效的解决方案。

发明内容

[0005] 鉴于上述,本发明者已认识到且了解到加载有受控的高密度生物细胞和/或在其不同部分中具有变化的疏水性的手术缝合线和/或多孔医疗植入物的优点。

[0006] 因此,在一个实施例中提供缝合线,其包含:包含一定体积的孔或间隙的多孔内部组件,所述体积包含结合表面;和分散于所述体积中的第一数量的生物细胞;其中所述体积中的生物细胞的所述第一数量大于代表所述生物细胞在所述结合表面上100%融合的第二数量的阈值数量。

[0007] 另一实施例提供在有需要的个体中植入缝合线的方法,其包含:将缝合线暴露于包含一定浓度的生物细胞的培养基,所述缝合线包含含有一定体积的孔或间隙的多孔内部组件,所述体积包含结合表面,以使第一数量的生物细胞分散于孔或间隙的体积中;和将所述缝合线植入到个体中;其中所述生物细胞的浓度足够高,以使所述生物细胞的所述第一数量大于代表所述生物细胞在所述结合表面上100%融合的第二数量的阈值数量。。

[0008] 另一实施例提供缝合线,其包含:包含孔或间隙的多孔内部组件;和分散于多个所述孔或间隙的第一数量的生物细胞;其中所述缝合线具有多个具有多个疏水性水平的部分。

[0009] 应了解,将前述概念和下文将更详细讨论的额外概念(其限制条件是这些概念不互相矛盾)的所有组合考虑作为本文中所揭示的发明标的物的一部分。具体来说,涵盖在本发明结尾处出现的所主张标的物的所有组合作为本文所揭示的发明性标的物的一部分。还应了解,在本文中所明确采用的也可出现于以引用方式并入的任一揭示内容中的术语应被赋予与本文中所揭示的特定概念最一致的意义。

附图说明

[0010] 所属领域的技术人员将了解,图示主要用于说明性目的且并不打算限制本文所揭示的本发明标的物的范围。图示未必按比例绘制;在一些情况中,本文所揭示的本发明标的物的各个方面在图示中可夸大或放大展示以促进理解不同的特征。在图示中,相同的参考字符通常指相同的特征(例如,功能相似和/或结构相似的元件)。

[0011] 图1提供如图解说明展示在一个实施例中由于其较大表面积,比未附着(球形)间充质干细胞(“MSC”)少的粘着MSC可抑制缝合线的示意图,这是因为物理上不能为粘着MSC提供足够空间以固定在缝合线上。

[0012] 图2提供一个实施例的示意图,其图解说明一旦放置于组织中,未结合MSC便可迁移出缝合线的孔或间隙并进入周围组织中;一旦在修复位点处释放,MSC便可经历分化并分泌细胞因子以帮助组织愈合和宿主细胞的募集。

[0013] 图3提供肌腱修复位点的显微照片(10x),其比较在本文所述的一个实施例中在不同时间点处现有常规缝合修复术、利用注射到修复附近的组织中的干细胞的缝合修复术和利用高加载水平的干细胞的缝合线的效应。

[0014] 图4展示在一个实施例中具有直接在缝合线上培养3天和5天的细胞的缝合线和过加载有间充质干细胞(“MSC”)的缝合线递送到修复位点的细胞数量的比较数据。

具体实施方式

[0015] 在下文更详细的描述与相关的加载有高密度生物细胞的本发明手术缝合线和多孔医疗植入物的各种概念和其实施例。应了解,以上所介绍和下文更详细讨论的各种概念可以许多途径中的任一者来实施,因为所揭示概念并不限于任何特定实施方式。提供特定实施和应用的实例主要用于说明性目的。

[0016] 一个实施例提供用于经改进干细胞承载手术缝合线的方法和装置,特别地其中医疗植入装置(例如缝合线(例如,手术缝合线))以高于在可持续培养或活体内可获得的浓度加载有生物细胞(例如,干细胞)的方法和装置。在一个实施例中,手术缝合线所加载的细胞的量超过在细胞融合时植入物的可用结合表面可支撑的细胞数量。

[0017] 本文中的术语“医疗装置”可涵盖打算用于暂时引入的装置(例如,生物可蚀解缝合线或组织支架)以及打算长期或永久插入的装置(例如,人工韧带或肌腱)二者。在一个实施例中,术语“医疗装置”可是指打算用于诊断、预防、监测、治疗或缓解疾病、损伤或缺陷的任何设备、器械、仪器、器具、材料、机器、用具、植入物、活体外试剂或其它类似或相关物件,包括组件部分或附件。所述术语也可涵盖以下任何物件:打算影响人类或其它动物的身体的结构或功能,且并不排他性地通过药理学、免疫学或新陈代谢途径在身体内或身体上实现其主要预期作用,但通过这些途径可帮助其功能。医疗装置的说明性实例包括(但不限于)针、导管(例如,静脉内、尿和血液导管)、支架、分流器(例如,脑积水分流器、透析移植)、管(例如,鼓膜切开术管、鼓膜造孔术管)、植入物(例如,乳房植入物、人工晶体)、假体和人造器官以及与其相关联的电缆、导线、电线和电极(例如,心律调整器和可植入除颤器的导线、双极和单极RF电极、血管导丝)。还涵盖诸如以下装置:伤口敷料、缝合线、肘钉、吻合装置、椎间盘、骨针、缝合线锚钉、止血屏障、夹具、螺钉、板、夹子、血管植入物、组织粘合剂和

密封剂、组织支架、各种类型的敷料、骨替代物、韧带或肌腱植入装置、管腔内装置、血管支撑件和可受益于纳入治疗性材料(例如治疗剂、生物活性分子和生物细胞或组织的)的其它身体接触装置。

[0018] 术语“缝合线”在本文中可是指提供有近端、远端和纵轴的细长的、大体管状和线状医疗装置,其中沿纵轴的长度等于或大于在任一其它轴上的长度的两倍,且其中该装置沿纵轴是柔性的。在一些实施例中,使用缝合线来接合组织或医学假体。在一些实施例中,也可采用缝合线用于将治疗性材料固定并递送到组织位点或用作组织生长的支架。

[0019] 术语“结构性质”在缝合线的情况下在本文中可是指以下性质:允许装置承受在纵向、周向或径向上的张力而不会过早失效或没有将阻止装置在装置的预计功能寿命内以其预期方式发挥作用的屈服水平。

[0020] 术语“多孔”在本文中可是指在材料基质中功能相关大小的空隙或开口,例如那些在一个实施例的内部组件中的鞘和/或核心中者。在一个实施例中,空隙可是指孔或间隙。在鞘或核心中的开口或穿过或在鞘或核心外面的通路的情况中,功能相关大小是允许或抑制细胞、治疗性材料或原本可能具有迁移性的构造的其它材料穿过的大小。在涉及生物细胞的一个实施例中,允许单一细胞通过的功能相关大小可是指大于细胞大小的大小,其通常在 $5\mu\text{m}$ 到 $50\mu\text{m}$ 范围内。在其中一个目标是抑制流动(且因此不需要完全阻止流动)的另一实施例中,可采用大得多的直径的开口以提供所要的结果。此在其中任何间隙流体(或细胞载体介质)具有足以阻滞流动的粘度、流动路径相对较长或盘绕的情况中或其中流体中存在的其它材料具有阻滞流动的大小或密度的情况中可特别地有效。在一些实施例中,特别地利用编织或织造基质(如在本文一个实施例中所述的缝合线或鞘中常见的),多孔介质(例如鞘)中的开口不需要为圆形,在许多情形中,几何形状可随介质所经受的应力类型而变;在所述情形中,相关尺寸可为跨越开口的最小尺寸。孔或间隙可具有允许生物细胞保留在孔或间隙内的大小。或者(或另外),大小可适于细胞从缝合线的一个区域或区迁移或穿过到达另一个区域或区。

[0021] 在疏松介质(bulk media)(例如在包含生物细胞的缝合线的核心中)的情形中,相关孔隙度可是指具有在介质中包括治疗性材料的总量以具有治疗效应的空隙、或允许在介质中包含生物细胞所需大小的空隙。在一个实施例中,在缝合线核心的情形中,相关空隙可包括复丝核心中的纤维之间的空间、核心与鞘之间的空间、微粒-承载核心中的粒子之间的空间或核心中实际疏松材料(例如,海绵样材料)中的空隙。米金特T. (Mygind, T.) 等人(“间充质干细胞在珊瑚羟基磷灰石支架上的向内生长和分化(Mesenchymal stem cell ingrowth and differentiation on coralline hydroxyapatite scaffolds)”,生物材料(Biomaterials), 28(6):1036-1047 (2007年2月))已指示,在 $100\mu\text{m}$ 到 $500\mu\text{m}$ 范围内的孔大小对干细胞增殖和分化是有益的。可也采用超出此范围的孔大小,此取决于应用。

[0022] 医疗装置、特别地手术缝合线可从宽范围的材料来制作。材料可为生物可降解和/或生物相容的。生物可降解聚合物可包括(但不限于)聚酯家族(例如聚乙交酯和聚丙交酯)、聚原酸酯家族、聚酸酐家族、聚磷腈家族和聚羟基链烷酸酯。生物相容聚合物的更具体实例包括:[α]-羟基羧酸的聚酯,例如聚(L-丙交酯)(PLLA)和聚乙交酯(PGA);聚-对二氧环己酮(PDO);聚己内酯(PCL);聚乙烯醇(PVA);聚环氧乙烷(PEO);美国专利第6,333,029号和第6,355,699号中揭示的聚合物;和用于医疗植入装置的构造中的任何其它生物可吸收和

生物相容聚合物、共聚物或聚合物或共聚物的混合物。

[0023] 材料可为天然材料,例如胶原蛋白或丝线。或者,所述材料可为合成材料。在一个实施例中,这些生物相容材料中的一些可视应用使用任何适宜技术与生物活性分子(例如,生长因子)偶联。生物可降解材料也可包括可适于或可不适于与生物活性分子偶联的材料。在一些实施例中,生物活性分子可纳入医疗装置的构造或外科装置构造中,而不必与装置材料偶联或化学键结。此外,随着新的生物相容、生物可吸收材料的研发,其中的至少一些可为本文所述实施例中的有用材料。应了解,以上材料仅以举例的方式鉴别且除非权利要求书中明确要求,否则并不限于任何特定材料。

[0024] 用于临床用途的骨髓可使用注射器型装置作为从目标患者的骨头提取的抽出物获得。通常,使用髌骨作为来源,此部分地由于其大的大小且接近身体表面。在一些应用中,使用未经改变的骨髓,但在许多情形中可使用某种形式的分离技术(例如离心)来浓缩骨髓的所需部分。生物活性分子(包括细胞因子,例如生长因子)通常是此分离过程的目标物。干细胞、祖细胞或其它细胞也可是所要的目标物。感兴趣的细胞和分子也可从脂肪(adipose)(也称为脂肪(fat))组织以及来自体内的各种流体获得。其它适宜组织可包括肌肉和神经组织以及与生殖过程相关联的组织也特别感兴趣。从患者提取的材料可具有超过其它来源的若干优点,例如固有的生物相容性、潜在地较低成本和提供可具有协同效应的有用化合物的较宽范围。在目前的外科实践中,通常将骨髓衍生物通过注射器注射到所要活性的区中而重新引入到体内。通常,可使用多孔保留介质(例如胶原蛋白海绵)来将材料保留在所述区中。

[0025] 术语“细胞”或“生物细胞”可是指能够在活的有机体中实施有用的生物功能、特别地复制以形成组织结构的任何细胞。生物细胞可包括来自预期宿主有机体的细胞或那些来自供体有机体的细胞。生物细胞可包括来自重组或基因工程改造技术的细胞。本文所用术语可包括干细胞(例如,间充质干细胞)、祖细胞和完全分化细胞。实例包括以下中的一者或一者以上:软骨细胞;纤维软骨细胞;骨细胞;成骨细胞;破骨细胞;滑膜细胞;骨髓细胞;间充质细胞;基质细胞;干细胞;胚胎干细胞;源自脂肪组织的前体细胞;外周血祖细胞;从成体组织分离的干细胞;基因转化细胞;软骨细胞和其它细胞的组合;骨细胞和其它细胞的组合;滑膜细胞和其它细胞的组合;骨髓细胞和其它细胞的组合;间充质细胞和其它细胞的组合;基质细胞和其它细胞的组合;干细胞和其它细胞的组合;胚胎干细胞和其它细胞的组合;从成体组织分离的前体细胞和其它细胞的组合;外周血祖细胞和其它细胞的组合;从成体组织分离的干细胞和其它细胞的组合;和基因转化细胞和其它细胞的组合。具有治疗价值的任何其它细胞可用作本文所述的生物细胞。

[0026] 术语“干细胞”可是指具有自我更新能力同时保持不同的潜力以形成分化细胞和组织的一股群组的未分化细胞。干细胞可为全能性、多能性或专能性的。也存在已丧失分化能力的衍生干细胞且可称为“失能性(nullipotent)”干细胞。全能性干细胞是具有形成在完整有机体中所发现的所有细胞和组织(包括胚胎外组织(即,胎盘))的能力的细胞。全能性细胞包含极早期胚胎(8个细胞)且具有形成完整有机体的能力。多能性干细胞是具有形成在完整有机体中所发现的所有组织的能力的细胞,但多能性干细胞不可能形成完整有机体。专能性细胞具有形成分化细胞和组织的受限制能力。在一个实施例中,成体干细胞是专能性干细胞且是具有形成一些细胞或组织并补充衰老或受损细胞/组织的能力的前体干细

胞或谱系受限干细胞。干细胞的额外说明可在W008/007,082中发现。

[0027] 术语“祖细胞”在本文中可是指单能性或专能性细胞,其包含在干细胞与完全分化细胞之间的细胞分化的阶段。

[0028] 术语“生物活性分子”在本文中可是指具有在活体内、活体外或离体以在有机体、组织、器官或细胞中展现或诱导生物活性的方式与活的组织或系统相互作用的能力的任何分子。在一个实施例中术语“生物活性分子”延伸到其前体形式。前体蛋白质(例如BMP前体)可无活性,直到其经历内源性蛋白裂解为止。在一些实施例中,前体蛋白质也可包括在生物活性分子中。

[0029] 在一些实施例中,生物活性分子可包括触发或调节生物功能的肽。适用于本文中的生物活性分子的说明性实例包括(但不限于)生长因子蛋白质,例如TGF β 、BMP-2、FGF和PDGF。

[0030] 术语“生长因子”在本文中可是指控制或调节各种内源性生物和细胞过程的广泛类型的生物活性多肽,例如细胞周期进程、细胞分化、繁殖功能、发育、迁移、粘附、神经元生长、骨形态发生、伤口愈合、免疫监督和细胞凋亡。生长因子可通过结合到目标细胞的表面上的特异性受体位点来操作。生长因子可包括(但不限于)细胞因子、趋化因子、多肽激素和其受体结合拮抗剂。生长因子的实例可包括:骨形态发生蛋白(BMP);转化生长因子 β (TGF- β);白介素-17;转化生长因子 α (TGF- α);软骨寡聚基质蛋白(COMP);细胞密度信号因子(CDS);结缔组织生长因子(CTGF);表皮生长因子(EGF);促红细胞生成素(EPO);成纤维细胞生长因子(FGF);胶质源性神经生长因子(GDNF);粒细胞集落刺激因子(G-CSF);粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);生长分化因子(GDF);筒箭毒碱(GDF-8);肝细胞生长因子(HGF);胰岛素样生长因子(IGF);巨噬细胞抑制细胞因子-1(MIC-1);胎盘生长因子(PlGF);血小板源性生长因子(PDGF);血小板浓缩物(PRP);血小板生成素(TPO);血管内皮生长因子(VEGF);激活素和抑制素;凝固蛋白原;促滤泡素;促性腺激素和促黄体素;苗勒管抑制物质(Mullerian Inhibiting Substance,MIS),还称为:抗苗勒管激素(AMH)、苗勒管抑制因子(MIF)和苗勒管抑制激素(MIH);Nodal和Lefty;和头蛋白(Noggin)。

[0031] 调节、诱导或参与体内有用生物过程的分子(包括上文所列举的那些)可根据其特定结构或功能进行划分或分类。举例来说,由免疫系统的细胞分泌的免疫调节蛋白质(例如白介素和干扰素)可称为细胞因子。调节分子的其它类别包括(但不限于):形态发生素(例如,调节或控制组织和器官的形成和分化的分子);趋化因子(例如,由各种细胞如在发炎位点处产生的细胞因子群组中的任一者,其刺激白细胞(例如嗜中性粒细胞和T细胞)中的趋化性);激素(例如活细胞的产物,其在体液(例如血液)中循环并通常远离其起源点对细胞的活性产生特定、通常刺激效应);受体(例如细胞表面上或细胞内部存在的对特定化学实体具有亲和性的分子,所述化学实体包括内源性物质(例如激素和配体)以及外来物质(例如病毒粒子)二者,其作为刺激剂和对所述刺激剂的下游生理或药理学反应之间的中间物);受体结合激动剂(例如,能够与细胞上的特异性受体结合并引发通常由内源性结合物质(例如激素)产生的相同反应或活性的化学物质);和受体结合拮抗剂(例如,通过结合并阻断与其相关联的一种或一种以上受体来降低另一种化学物质(例如激素)的生理学活性的一种化学物质)。

[0032] 术语“生长因子”在本文中也可指在其经历内源性蛋白裂解之前可无活性的生长

因子的前体形式以及提供一部分或全部与天然存在生长因子相同或类似功能的合成和重组形式。因此,在一个实施例中,本文所述的分子可涵盖生长因子的前体、类似物和功能等效物,条件是所得分子(例如)通过结合到与野生型或内源性部分相关联的目标细胞的表面上的特异性受体位点而保留调节体内的有用生物过程的一些或所有功能。

[0033] 如本文所用,术语“治疗剂”在本文中可是指具有治疗潜力、更特别地具有医药活性的任何分子、化合物或组合物。特别有用的治疗和/或医药活性的实例可包括(但不限于)抗凝血活性、抗粘附活性、抗细菌活性、抗增殖活性和生物模拟活性。

[0034] 术语“抗微生物剂”在本文中可是指具有限制或干扰细菌、真菌或病毒病原体或毒素的生物功能的能力的任何分子。抗微生物剂可涵盖抗菌剂、抗生素、杀菌剂、消毒剂和其组合。

[0035] 术语“生物模拟”在本文中可是指展现表面性质、包括(但不限于)分子结构(例如氨基酸和碳水化合物序列)的材料,其提供具有特性、且特定地分子结合或生物识别特征的表面,其与具有所述表面打算代表的生物材料(例如组织且特别地细胞)的生物特征的功能类似物有共同之处或提供所述功能类似物。在一个实施例中,术语生物模拟是指表面复制所模拟生物材料的所有功能或结合模式。待模拟的所述结构的实例包括病原体结合蛋白和免疫识别序列(例如,多糖标签)。粒子部分是否具有所需生物模拟活性可使用任何适宜技术来分析。举例来说,可利用免疫分析技术(例如ELISA)与内源性宿主组织相比来分析所推荐生物模拟物的结合活性。或者,可利用免疫反应分析(例如通过中尺度发现(Meso Scale Discovery, MSD)(马里兰州盖瑟斯堡(Gaithersburg, Md.)购得的多路复用的趋化因子和细胞因子分析)来与未处理组织相比评价所推荐生物模拟物的风险并分析潜在免疫原性。

[0036] 术语“治疗性材料”在本文中可是指包含以下任一者的任何组合物:治疗剂、生物活性分子、干细胞、祖细胞或生物细胞。术语“生物活性溶液”可是指部分地包含生物活性材料的液体组合物。

[0037] 术语“组织”在本文中可是指生物组织。在一个实施例中,所述术语是指在有机体内实施类似功能的互连细胞的集合。在所有动物(包括人类和较低级多细胞有机体(例如昆虫))的体内通常可发现四种类型的组织,包括上皮细胞、结缔组织、肌肉组织和神经组织。在一个实施例中,术语“组织”可是指所有生物组份,包括(但不限于)皮肤、肌肉、神经、血液、骨、软骨、肌腱、韧带和由其组成或含有其的器官。

[0038] 术语“骨”可是指形成脊椎动物的内骨骼的一部分且起到移动、支撑和保护身体各种器官、产生红细胞和白细胞并储存矿物质的作用的刚性器官。构成骨的一种类型的组织是矿化骨质组织或骨组织,其骨为提供刚性和蜂窝状三维内部结构。骨中发现的其它类型的组织包括骨髓、骨内膜和骨外膜、神经、血管和软骨。在一个实施例中,软骨是含有胶原蛋白纤维和/或弹性蛋白纤维的致密结缔组织,其可为关节骨的移动提供光滑表面。软骨发现于体内的许多地方,包括关节、胸腔、耳朵、鼻子、支气管和椎间盘。存在三种主要类型的软骨:弹性软骨、透明软骨和纤维软骨。

[0039] 术语“分离”如(例如)在“从生物组织或细胞分离”中可是指以保存感兴趣的治疗性材料的结构和功能的方式从组织或细胞膜分离感兴趣的治疗性材料的任何过程。如本文所用,术语“分离”可与例如术语“提取”和“收获”同义。除从天然来源分离、收获或提取以外,适用于本文所述的实施例中的治疗性材料也可“衍生自”生物来源,例如根据熟知和常

规技术以合成方式产生或通过基因工程改造植物和动物(包括细菌和其它微生物)产生。在一个实施例中,分离也可包括纯化来自生物来源的生物材料。

[0040] “粘性材料”在本文中可是指具有高粘度系数或高测量表面张力或二者的可流动或柔韧材料,由此粘性力和表面张力中的任一者或二者用于将材料保留在孔或空隙空间内,以由此阻塞所述孔或空间并阻止流体流动穿过其。

[0041] 术语生物活性分子(例如生物细胞)的“固定”可是指范围在离子或共价结合到吸附或吸收到简单的物理捕获(包括陷获、缠结或挟带)的任何“捕获”和“保留”机制。

[0042] 缝合线配置

[0043] 本文所述的材料和方法可使得医疗人员、且更特别地外科手术团队能够利用可需要立即使用或具有限制性储存要求的治疗性材料、特别地所收获的干细胞。所述材料可为医疗程序的预期接受者的患者提取(在本文中是指自体移植物或自生组织);实例包括干细胞、祖细胞和其它生物细胞、生物活性分子和其它治疗性材料。干细胞、祖细胞和其它细胞和生物活性分子可源自存在所述材料的体内的任何组织,包括骨髓、脂肪组织、肌肉组织和神经组织和与这些组织相关联的任何流体。或者或另外,细胞和分子可部分包括源自其它来源的材料,包括同种和异种移植材料,例如同种异体移植物、异种移植物(xenografts)(也称为异种移植物(zenografts))、组织的合成模拟物或基因工程改造分子或细胞,且所述材料可包括生物活性分子和干细胞、祖细胞和其它细胞。或者,本文所述的细胞和分子可源自人类或哺乳动物生殖系统的产物,包括其自体移植物、同种异体移植物和异种移植物。在其中缝合线为自体移植物的一个实施例中,生物活性材料(例如,生物细胞)可由外科手术团队提取并引入到本文所述的手术缝合线或前体构造中,随后再重新引入到患者(或个体)中。在一个实施例中,此可利用一个手术程序来实现。

[0044] 本文所述的缝合线可为手术缝合线。可采用本文所述的缝合线以在相邻组织之间提供结构连接。一个实施例提供缝合线,其包含:包含一定体积的孔或间隙的多孔内部组件,所述体积包含结合表面;和分散于所述体积中的第一数量的生物细胞。术语“结合表面”进一步描述于下文中。在一个实施例中,所述体积中的生物细胞的第一数量大于代表所述生物细胞在缝合线的结合表面上原本在100%融合下的第二数量的阈值数量。

[0045] 缝合线、特别地其内部组件可含有生物细胞。颁予斯佩登(Spedden)等人的美国申请案第12/489,557号提供含有生物细胞的手术缝合线的说明。本文所述的缝合线结构可具有任何类型的配置和组件,包括上述申请案中所描述者。

[0046] 视应用而定,缝合线可具有任何适宜形状和尺寸。在一个实施例中,缝合线的形状可为圆柱形(或管状)。缝合线可采取单丝或复丝材料的形式,所述长丝包括那些近似圆柱形几何形状以及其它横截面几何形状,包括膜或带状几何形状。缝合线可采取手术缝合线、线状组织支架或前体构造的形式。缝合线可包含不同组件。举例来说,缝合线可具有可为多孔的内部组件。在一个实施例中,多孔内部组件可进一步包含多孔内部核心;和相对于所述内部多孔核心在外部的的外部组件。在替代组件中,内部组件可仅包含多孔内部核心且没有外部组件。多孔内部组件的外部组件可为任何形式,例如鞘、涂层、套管等。在一个实施例中,缝合线可包含在内部组件外部的额外组件;此一组件可称为“外组件”,其在内部组件的外部。换句话说,在内部组件具有覆盖内部核心的外部组件(鞘)的情况下,外组件将相对于外部组件在外部。

[0047] 在其中内部组件包含多孔内部核心和相对于核心在外部的鞘的一个实施例中,鞘和内部核心可采用许多替代形式。举例来说,鞘和核心可包含相同或不同材料(例如,从相同或不同材料制作)。在一个实施例中,这两个组件可包含材料混合物,以使鞘和核心的元件是连续的或连接的。鞘和/或核心组件可展现变化的生物降解程度或在组织中相对惰性。如下文进一步描述,其可具有不同的疏水性(或亲水性)水平。

[0048] 在一个实施例中,外部鞘可包含迅速吸收材料和吸收能力降低的结构长丝材料的基质。此一构造可具有许多令人惊讶地益处。举例来说,如果核心中存在生物细胞,那么可能需要转变到较多孔的状态的较少孔的缝合线鞘。较多孔的状态可允许细胞生长或存活所需的分子渗透到缝合线的主体中以到达细胞,同时细胞仍留在所需支架配置中。另一方面,在缝合线被处置或引入到组织中时,迅速吸收材料和结构长丝材料的基质可存在相对光滑表面和较少孔的表面,且一旦将其植入到个体中,缝合线表面然后便可转变为较多孔的表面。在一个实施例中,较少孔的表面在将其引入到组织中时可存在较少拖曳。较少孔的表面在引入到组织中之前也可呈现获取不想要分子或生物制剂的倾向降低的外部表面。在缝合线植入组织之后形成的较多孔表面可促使核心中的分子扩散离开缝合线而用于额外治疗或抗微生物目的。迅速吸收材料可至少部分地包括具有抗微生物或治疗价值的分子,而结构长丝材料可维持构造的结构或支架性质。

[0049] 一些令人惊讶地益处可包括当在植入期间缝合线穿过组织时,迅速吸收材料和结构长丝材料的基质可呈现相对光滑的表面。迅速吸收材料开始消散之后,缝合线可展现其它表面性质,例如表面粗糙度。增加的粗糙度可是降低缝合线在组织中的移动所需的,由此降低缝合线“锯”或切割且由此进一步使组织留下疤痕的倾向。进一步,迅速吸收材料和结构长丝材料的基质所呈现的表面可在使缝合线穿过组织期间不会容易地结合到周围组织,且然后在迅速吸收材料开始消散之后,可暴露具有结合到周围组织的表面性质的结构长丝或其它材料,此提供将缝合线固定就位的益处。表面可含有可固定在具有适当组织结合性质的缝合线表面上的任何分子,例如植物凝集素和肝素化合物。可采用用于将所述分子固定在(例如)聚合物表面上的宽范围的技术。

[0050] 本文中形成手术缝合线(或在一些情况中前体构造)的鞘的材料可包括两种不同的合成聚合物、合成聚合物与天然材料或两种天然材料,其任一者或所有这些任选地可生物可降解。可采用任何适宜技术以将这些材料组合成织造、非织造或膜状构造。在一个实施例中,使结构纤维和较可生物降解的纤维交织。在另一实施例中,将结构纤维和较可生物降解的纤维织造成两层,其中较可生物降解的纤维在外部表面上。在另一实施例中,将结构纤维进行织造(或铺设成非织造结构)且然后将生物可降解的材料作为涂层施加以填充空隙或降低鞘结构中的高点(high spot)。在另一实施例中,将结构纤维与从结构纤维垫突出的柔韧附件或短、尖或毛状纤维一起进行织造(或铺设为非织造结构)。在此实施例中,以可迫使所述附件或短纤维铺设在表面上的方式施加可从可模制形式转变成更坚固或凝胶形式的材料并随着生物可降解材料转变成更坚固或凝胶形式而保持在那里。

[0051] 形成手术缝合线的鞘的材料可包含多孔织造、非织造或膜类型构造,所述构造在其多孔基质内或在其外部表面、其内部表面中一者或二者上可含有介质。介质可为乳液、悬浮液、液体和/或凝胶,其展现足以固定或保留在其中达一定时期的粘性、表面张力或粘附性质。在一个实施例中,所述时期可足以允许将本文所述的缝合线植入有需要的

个体的位点处。可采用额外的固定时间以允许在细胞和/或缝合线与宿主组织相互作用之前在缝合线的界限内发生细胞的某些生物活动,例如,细胞的复制或分化。

[0052] 经包埋或浸渍的介质可或者、或进一步至少部分地包括具有治疗价值的某些分子。这些分子可包括抗微生物、镇痛或抗炎分子,同时下伏表面可含有具有治疗价值的其它分子或细胞,包括生物活性材料(例如干细胞)。在表面处或接近表面的抗微生物分子提供处理可能与缝合线一起引入到个体中的细菌或病毒的即时功能。保留在下伏表面中的生物活性分子可在较长时间跨度内扩散或者以其它方式释放,其在即使任何感染已由抗微生物剂处理之后仍具有效应。介质可包括乳液、悬浮液、液体或凝胶,其可包括与生物活性分子具有潜在协同治疗益处的材料。介质可包含油酸和/或亚油酸。这些分子可具有与生物活性肽(例如骨形态发生蛋白)协作的抗菌性和益处。

[0053] 在一个实施例中,手术缝合线包含内部组件,其包含编织、织造或非织造且包括膜、纤维状或多孔材料的外部鞘和含有生物细胞和/或生物活性分子(在本文中统称为“生物活性材料”)的多孔内部核心。缝合线可任选地包含单丝或复丝聚合材料或其组合。外部鞘可任选地为多孔和/或至少部分地提供有疏水材料,所述疏水材料可提供降低的核心中的极性液体到缝合线的外部以及宿主组织的流体沿缝合线二者的虹吸作用的优点。一个实施例提供具有引入到其孔中的疏水(也称为非极性或较小极性)液体或凝胶的多孔鞘。此种材料可(i)用作细胞和治疗性材料从缝合线的核心到缝合线外部的过早迁移的屏障;(ii)降低处置期间不想要材料到缝合线核心的渗入;和/或(iii)当多孔缝合线牵拉穿过组织时降低其摩擦且另外改进缝合线的处置特性。

[0054] 在一个实施例中,缝合线可包含单一编织或织造构造作为内部组件的内部核心。内部核心可任选地由内部组件中的外部组件覆盖。外部组件可包含屏障材料。屏障材料可为疏水液体或凝胶,但也可可为生物可降解固体、粘性膜或具有足够高表面张力的材料。

[0055] 在另一实施例中,在手术缝合线中,外部组件以约束内部核心沿其纵向轴相对于外部组件移动的方式结合到内部核心材料或其自身。此结合可视应用而定通过任何适宜结合来实现,包括跨越缝合线的半径机械缠结、热或化学粘结缝合线的材料或通过诸如肘钉等粘结材料。

[0056] 另一实施例提供具有内径和外径的呈中空管状结构形式的外部鞘,所述鞘沿其长度以一定间隔配置有缩颈(constriction),所述缩颈使内径降低到可降低或阻止保留在缝合线的内部核心的材料的纵向迁移或移动的点。所述缩颈可在开始形成手术缝合线之前或之后形成。在一个实施例中,缩颈是在将感兴趣的生物活性材料引入到内部核心中之后引入。缩颈可由任何适宜技术形成,包括机械变形(例如,压轧或扭曲)、热改性(例如,熔融)或将除生物活性材料以外的材料引入到核心中,其中所述额外材料在一些外部刺激下形成堵塞物。在一个实施例中,赋予缝合线构造中的特定点压轧或扭曲作用的机械装置也可用于赋予缝合线本身机械牵引力,由此提供允许缝合线组装所需的力。

[0057] 在一个实施例中,缝合线的内部组件的外部组件(例如,鞘)提供至少部分流动屏障以及保护益处,且可在缝合线处置和植入期间帮助将细胞和流体介质保留在核心中。因此,内部核心可包含在缝合线中不会另外充分固定实际使用的生物细胞和治疗剂的材料。举例来说,复丝核心由于其长丝周围的限流路径可用于缠结细胞和/或治疗剂。另外,也可利用包含粘性液体、泡沫、凝胶和/或乳液的介质。

[0058] 在一个实施例中,可采用含有细胞、生物活性分子和具治疗价值的其它材料的生物可降解粒子来形成缝合线的内部核心,同时可采用编织或织造结构的缝合线长丝以形成外部鞘。生物可降解粒子可包括聚合物或天然构造,其具有包埋或表面表达的生物活性分子、抗微生物分子或治疗感兴趣的其它分子。粒子可具有任何大小和几何结构,所述大小和几何结构有助于将粒子引入到缝合线核心中,其允许在将缝合线植入到患者中的同时大多数粒子保留在核心中。粒子可具有粘着到其表面或在基质中的干细胞或其它生物细胞,或其可具有结合到细胞的部分。

[0059] 另一实施例提供纳米线、纳米纤维和/或微纤维,其作为缝合线的内部核心中的结合或缠结构造或作为多孔鞘中的流动阻碍构造。而且,所述纳米线可复丝缝合线结构中展现一定程度的缠结,其展现保留生物细胞的益处。另外,纳米线可经诱导以形成水凝胶,其可为缝合线的核心的一部分。

[0060] 在另一实施例中,多孔内部组件可包含(a)复丝或编织或织造长丝的基质,其包含安置在所述长丝之间的多个间隙;或(b)包含多个孔的多孔单丝,且其中所述生物细胞保留在至少一些的多孔或间隙中。本文的孔或间隙可是指离散或互连的孔或间隙或二者的混合物。

[0061] 在一个实施例中,缝合线可进一步包含承载区段和连续的前导区段,其中承载区段包含一定长度的包含治疗有效水平的生物细胞的缝合线材料。

[0062] 具有生物细胞的缝合线

[0063] 本文所述的缝合线可含有生物细胞或任一上述生物活性分子。在一个实施例中,提供缝合线,缝合线包含:包含一定体积的孔或间隙的多孔内部组件,所述体积包含结合表面;和分散于所述体积中的第一数量的生物细胞。在一个实施例中,所述体积中的生物细胞的第一数量大于代表在结合内部表面上原本100%融合的生物细胞的第二数量的阈值数量。

[0064] 缝合线以及其配置和组件可为上述中的任一者。体积可是指缝合线的特定体积。体积可是指缝合线的一分部或缝合线整体。所述部分可以任何适宜方式规定和指定。

[0065] 生物细胞可为上述生物细胞中的任一者。举例来说,生物细胞可包含祖细胞、干细胞或其组合。其它细胞也是可能的。干细胞可为上述干细胞中的任一者,包括(例如)间充质干细胞。细胞可从任何适宜来源(包括那些上文所述者)获得。

[0066] 视所涉及的细胞而定,细胞可具有任何适宜大小或几何形状。在本文所述的一个实施例中,生物细胞具有球形(或近似球形)形状。“近似球形”形状可是指球形形状,但具有一些微量不规则,但不足以使所属领域的技术人员认为所述形状不为球形。一些生物细胞(包括干细胞,包括MSC)当其悬浮于介质中时可展现(近似)球形形状。介质可为上述中的任一者,包括粘性液体、泡沫、凝胶、乳液或其组合。在一些情况中,生物细胞(例如干细胞)在其培养某一时期之后可倾向于改变其形态。在干细胞的情形中,干细胞在其培养之后倾向于扩展开,以使其变得粘着到表面。因此,在一个实施例中,本文所述介质中的近似球形或球形生物细胞可为那些还未经历所述转化的那些细胞。

[0067] 在一个实施例中,术语“融合”在本文中是指在细胞培养皿或瓶的表面上的细胞数量的量度,且是指培养皿或瓶的表面被粘着细胞覆盖。在一个实施例中,术语“经粘着”和“粘着”在本文中在细胞的情况下是指细胞到表面的生物附着。在一个实施例中,在MSC的情

况下,在MSC变得附着到表面(即,变成“粘着”细胞)之后,MSC倾向于使其形态结构从在悬浮液状态中发现的球形(或近似球形)改变到在表面上的较扁平或扩散结构。因此,在一个实施例中,细胞“100%融合”可是指表面(培养皿)大约由粘着细胞完全覆盖(100%)(即,没有更多的空间用于细胞生长),而“50%融合”是指约一半的表面(培养皿)被覆盖(即,有细胞生长的空间)。在一个实施例中,植入缝合线装置可经设计以(i)使细胞结合和所得组织生长最小化(例如,在组织生长可能损害植入物功能的情形中);(ii)降低对植入物的免疫反应;或(iii)使细胞结合最大化,特别地在期望支架或其它植入物纳入相邻组织中的情形中。一股相信缝合线过加载细胞并不优选,因为否则细胞将倾向于死亡或可存在其它毒性效应。换句话说,正常地将希望具有100%融合或更少的细胞数量。然而,本发明者发现对于某些细胞,缝合线以高密度过加载细胞将令人惊讶地具有有益结果。

[0068] 在本文所述的一个实施例中,表面可是指“结合表面”,在一个实施例中可是指沿打算用于生物细胞加载的缝合线区段的长度的表面积。表面积可是指缝合线的内部表面或外部表面。视上下文而定,结合表面可是指缝合线的内部表面。在另一实施例中,结合表面可是指沿打算用于生物细胞加载的缝合线区段的长度的内部表面和外部表面二者。

[0069] 内部表面在本文中可共同地指细胞可附着到其表面的内部组件(包括内部核心和外部组件)的间隙或孔的内表面(任一部分)。外部表面可是指缝合线暴露于周围区的缝合线的最外表面(任一部分);在缝合线具有覆盖内核心的鞘的情形中,如果相对于此组件在外部没有其它组件,那么外部表面可是指缝合线的最外表面。缝合线的给定配置的结合表面可接达生物细胞,以使一部分细胞可以可引发细胞到表面的结合的方式接触表面;因此,在适当培养条件下,可接着发生细胞发育而融合。

[0070] 仅包含已知抑制结合的表面的缝合线可具有极小的有效结合面积或甚至实际上为零的结合面积。在此情况中,具有已知或认为阻止结合的材料缝合线仍认为具有结合表面,即使在任何计算的实践方面中有效面积视为零。通常,不代表潜在结合表面的表面区(且因此没有具有潜在结合表面积的区域)可是指其中不存在一部分感兴趣的生物细胞可物理接触所讨论表面区的缝合线配置的那些区,例如过小大小的孔或完全封闭孔的内部表面。举例来说,活性炭在分子层次上可具有极高的表面积。然而,在生物层次上,潜在结合表面显著较小,因为大多数表面可包含太小而不能接达生物细胞的孔。然而,即使在此实例中,较大的外部表面仍可存在将可接达生物细胞的区。在一个实施例中,结合表面可是指可容易地支撑细胞的结合和/或生长的材料的表面。在一个实施例中,在植入物的情况下,结合表面可是指用以支撑生物细胞的结合和/或存活达一段时期的材料的区。所述时期可超过12小时,例如超过24小时、36小时、38小时或更长。在一个实施例中,结合表面可是指植入物的表面结构材料,包括可促进或抑制结合的表面涂层。

[0071] 在一个实施例中,内部核心和/或外部组件包含一个或一个以上代表细胞或治疗分子的潜在结合或粘结位点的表面分子或膜。这些分子可存在于这些组件的任何地方,例如在其结合表面处。结合或粘结可通过化学偶联、吸收、和/或疏水相互作用或用于将细胞或分子粘结到底物材料的其它机制引起。在一个实施例中,生物细胞、特别地干细胞结合到某些材料、最主要的聚合物(也称为塑料)。也可使用蛋白质涂覆聚合物,此部分地是由于其促进细胞的结合和生长的习性。

[0072] 在一个实施例中,融合时的细胞密度至少部分地取决于结合表面处材料的结合性

质。术语“结合”在本文中可是指细胞到结构表面的化学结合、物理结合或其组合。在一个实施例中，结合可用于描述细胞如何保留在表面上。结合可是指离子结合、共价结合、吸附、吸收、陷获、缠结或挟带或其组合。在一个实施例中，其中缝合线包含经蜡涂覆的丝线（作为外部组件），100%融合时的细胞极低。然而，在其中缝合线包含未经拉涂覆的丝线的另一实施例中，细胞的数量接近约2000个到3000个细胞/cm²。

[0073] 因此，100%融合时结合表面上的细胞数量可用作阈值的指示器，其指示缝合线是否在给定体积中过加载生物细胞。视所涉及细胞和缝合线的材料（和结合表面的性质）而定，阈值数量可变化且可为任何数量。举例来说，阈值数量可介于约100个细胞/cm²与约10,000个细胞/cm²之间，例如介于约200个细胞/cm²与约9,000个细胞/cm²之间、约500个细胞/cm²与约8,000个细胞/cm²之间、约600个细胞/cm²与约7,000个细胞/cm²之间、约800个细胞/cm²与约6,000个细胞/cm²之间、约1,000个细胞/cm²与约4,000个细胞/cm²之间、约2000个细胞/cm²与约3000个细胞/cm²之间、约2200个细胞/cm²与约2,600个细胞/cm²之间。

[0074] 缝合线无需在含有孔和/或间隙的给定体积中过加载有生物细胞。在一些实施例中，细胞的数量使得细胞在结合表面处（在给定体积中）可小于100%融合。举例来说，细胞的数量可为细胞少于或等于约90%，例如小于或等于约95%、约90%、约85%、约80%、约70%、约60%、约50%或更低。

[0075] 在一些实施例中，本文所述的缝合线过加载有生物细胞，例如干细胞（例如MSC）。在一个实施例中，含有比细胞的阈值数量高至少约2倍的第一数量（生物细胞）的缝合线将认为实现100%融合，例如至少4倍、10倍、20倍、50倍、100倍、200倍或更多。在一个实施例中，第一数量可介于约2倍与约1000倍之间，例如介于约4倍与约800倍之间、介于约10倍与约600倍之间、介于约20倍与约600倍之间、介于40倍与约400倍之间、介于约60倍与约200倍之间、介于约80倍与约100倍之间。

[0076] 生物细胞的数量可以各种方式来表示。举例来说，数量可呈现为通过缝合线的尺寸正规化。尺寸可为任何尺寸，包括长度、宽度、直径等。在一个实施例中，数量是根据缝合线的长度测定，且为每一缝合线的直径大于约1百万个细胞，例如大于约2百万、2.5百万、3百万、3.5百万、4百万、4.5百万、5百万、5.5百万、6百万、6.5百万、7百万、7.5百万、8百万、8.5百万、9百万、9.5百万、10百万或更多个细胞。更大或更小的细胞数量也是可能的。换句话说，数量可由表达式 $N/L > 1$ 百万（细胞）/D来表示，其中N、L、D每一者是代表细胞的数量、缝合线的长度、直径的实数。

[0077] 具有不同的疏水性水产的缝合线

[0078] 本文所述的缝合线在缝合线的不同组件中可具有不同的疏水性水平。一个实施例提供缝合线，其包含：包含孔或间隙的多孔内部组件；和分散于多个孔或间隙中的第一数量的生物细胞；其中缝合线具有多个具有多个疏水性水平的部分。缝合线可具有上述任一配置。

[0079] 在一个实施例中，疏水性也可根据亲水性来描述，因为低疏水性可是指高亲水性，且反之亦然。可以各种途径使缝合线中存在不同的疏水性水平。举例来说，缝合线可包含多个纵向区段，且这些区段可具有不同的疏水性水平。举例来说，缝合线的疏水区段可夹于两个亲水区段之间，且反之亦然。或者，缝合线可包含疏水区段和亲水区段的交替区段。

[0080] 疏水性水平在缝合线的组件中也可有所变化。在一个实施例中，其中内部组件包

含多孔内部核心和外部鞘,内部多孔核心的至少一部分是亲水的且鞘的至少一部分是疏水的。部分可为任何大小,此取决于应用。在一个实施例中,整个内部多孔核心是亲水的且整个鞘是疏水的。核心和鞘的疏水性可与上述相反。在一个实施例中,多孔内部组件包含多根长丝的编织结构,至少一些长丝是亲水的,而至少一些长丝是疏水的。在一个实施例中,缝合线具有鞘和核心,且鞘包含疏水材料且核心至少部分地包含亲水材料。

[0081] 一个实施例提供多孔手术缝合线,其中在缝合线的孔中所暴露的是亲水(结合)表面。在一个实施例中,与这些表面的亲水相互作用可为包含生物细胞(例如干细胞或其它祖细胞)的极性液体介质。在一个实施例中,缝合线过加载有生物细胞,即,这些细胞以超过在给定体积中在结合表面上100%融合时的等效细胞加载的总数量存在于缝合线的所述给定体积的孔中。

[0082] 一个实施例提供在具有高加载生物细胞(例如,干细胞或其它祖细胞)的手术缝合线的编织构造,所述编织物可包含亲水性纤维和疏水性纤维二者。可采用此配置来提供具有编织长丝的缝合线,所述长丝通过亲水相互作用将细胞保持在孔中,同时为缝合线提供通常具有疏水缝合线材料的增强拉伸强度特性。

[0083] 一个实施例提供内部孔的亲水性还可通过以下来实现:将亲水材料作为涂层引入到疏水材料长丝(在编织之前或之后),或通过(例如)利用纳米线、粒子或水凝胶缠结或陷获引入保留在编织结构中的亲水元件。

[0084] 一个实施例提供缝合线可沿其长度包含不同区段,其中某些区段为本质上疏水的材料或经处理具有疏水性,且其它区段至少部分地本质上为亲水的。另外,亲水区段也可包含浓度比相邻疏水区段高的生物细胞,包括干细胞和/或祖细胞。在一个实施例中,缝合线的长度中的前导和/或尾部区段本质上可为疏水的且长度的中间区段本质上可为亲水的。可采用此配置以使生物活性细胞集中在将定位于组织中的缝合线的中心部分(也称为中间区段)中,而前导和/或尾部区段可用于在缝合期间打结或促进处置。

[0085] 而且,在一个实施例中,缝合线的所述长度的前导和/或尾部区段可具有增强缝合线在强度、打结和耐磨损方面的性能的额外性质,而这些性质无需与所述长度的中间区段一样。特别地,前导和尾部区段可具有与一些缝合线的典型热处理一致的结构以降低缝合线在切割时磨损的倾向。

[0086] 在某些应用中,期望当缝合线穿过组织边界时使沿缝合线的虹吸最小化或使其降低。在一个实施例中,当流体表面张力吸取液体沿亲水材料的长度从高液体含量的区域到较干燥区时发生虹吸。在穿透组织边界(例如皮肤)的缝合修复术中虹吸可是一个挑战,其中亲水缝合线可导致缝合线穿透点处的伤口渗出液体。一个实施例提供缝合线,其中加载细胞的亲水区域沿缝合线的长度可包含具有疏水性与亲水性的交替区。举例来说,亲水区可包含较高加载的生物活性细胞,且任一给定亲水区的长度可经限制以便降低跨越所关注组织边界的虹吸可能性。在此情形中,虹吸潜力可由单一亲水区的组织边界的任一侧的亲水流动面积来建立。

[0087] 在另一实施例中,为限制虹吸的可能性,亲水区段可经设计以不超过所关注组织边界的厚度。举例来说,人类皮肤(至少在一些情况中)为约2mm厚且因此如果缝合线的两个疏水之间的亲水区不超过约2mm长(例如,1mm、0.5mm或更小),那么将极大地降低跨越组织的液压桥接的可能性。同样可使用其它尺寸,此取决于所涉及的组织 and 缝合线。在一个实施

例中,大小为4-0的手术缝合线直径最多约2mm,且因此在缝合线的活性部分中可采用一系列2mm直径×2mm长的亲水区。在一个实施例中,仅需要足够长度的中间疏水区以最小化(或甚至防止)亲水区之间的液压突破。此至少部分地取决于疏水区的稳定性和制造疏水区的能力。

[0088] 在一个实施例中,相邻亲水与疏水区之间的差异可在形成(例如,编织)基本缝合线构造之后产生。特定区可经涂覆或处理以赋予疏水或亲水性,此取决于下伏构造分别是亲水的还是疏水的。举例来说,缝合线的亲水区段可通过用蜡或其它疏水材料涂覆某些区来分割成多个区。在另一实施例中,这些诱导亲水或疏水性的处理可包括目视指示器(例如阴影或颜色),以提供缝合线中的哪个区可含有或经制作含有生物活性细胞的指示。而且,一个实施例提供含有生物活性细胞的介质也可包含染料或其它指示剂,其帮助鉴别哪个区可能含有生物活性细胞或甚至缝合线是否已加载生物活性细胞。

[0089] 植入

[0090] 在一些实施例中提供使用本文所述缝合线的方法。所述使用可涉及植入到有需要的个体中。在一个实施例中,所述缝合线可采用利用从缝合线加载细胞开始在一段时期内暂时降低或阻滞细胞活动的方法。所述时期可为任何长度,此视应用而定。举例来说,所述时期可为至少约6小时、至少约8小时、至少约10小时、至少约12小时、至少约14小时或更多。

[0091] 本文所述的一个实施例提供将缝合线植入到有需要的个体的方法。所述方法包含:将缝合线暴露于包含一定浓度的生物细胞的介质,以使第一数量的生物细胞分散于孔或间隙的体积中;和将所述缝合线植入到个体中。缝合线可为本文所述的任一缝合线。介质可为本文所述的任一介质。

[0092] 在本文所述的植入方法期间暴露的步骤可实施任何适宜时间,此取决于所涉及的细胞、材料等。在其中细胞具有至少近似球形构形的一个实施例中,暴露步骤实施地足够快,以使至少一些生物细胞将没有机会改变其形态且因此保持至少近似球形构形。在一个实施例中,时间使得至少实质上所有(例如完全所有)生物细胞保持至少近似球形形状。

[0093] 不限于任何特定理论,但由于缝合线过加载生物细胞(干细胞,例如在一个实施例中MSC),因此缝合线可比原本未加载如此多细胞的缝合线递送较大数量的细胞到组织位点。细胞可促进组织修复(包括再生),且因此具有大量可提高组织修复的所述细胞。此一方法与常规想法相矛盾,常规想法认为由于生物系统当加载过量时其将失效的自然倾向,应避免高于在细胞培养中可实现的细胞浓度;在过去此特别展示于间充质干细胞的情形中,间充质干细胞当浓度太高时触发群体中的细胞凋亡(也称为程序性死亡)。此新的方法是首次由本发明者在本文中报告。

[0094] 本文所述的干细胞承载缝合线加载有呈其未附着(球形)形式的密集集中的MSC。当细胞为球形时,其可在小空间中极紧密堆积;当MSC经粘着时,其具有比其呈球形形式时大得多的表面积。不限于任何特定理论,但由于其较大表面积,因此比未附着(球形)MSC少的粘着MSC可抑制缝合线,因为物理上没有足够的空间使粘着MSC以如此高密度固定在缝合线上(参见图1)。当缝合线加载有极高数量的密集集中的MSC且试图在缝合线上培养这些细胞时,MSC开始扩散以附着。不可避免地,一些MSC将由于缺乏空间或而死亡或将被推出缝合线并进入活体外环境,且因此其绝不会到达修复位点。

[0095] 另一方面,当使用高密度干细胞加载方法时,MSC可占据缝合线的内部核心内的孔

或间隙、或在多层缝合线构造中层之间的任何空间。在一个实施例中，在细胞加载于缝合线中之后，立即将缝合线引入到患者个体中的修复位点。一旦植入，至少一些MSC便可迁移出缝合线的间隙并进入周围病理组织(参见图2)。植入的MSC可经历分化并分泌细胞因子以帮助组织愈合和宿主细胞的募集。通过在细胞加载到缝合线中之后在相对短时间内植入缝合线，可降低(或甚至最小化)在缝合线植入到在其中细胞可开始迁移出缝合线的环境(例如，个体的目标组织)之前基于细胞密度的细胞凋亡。

[0096] 在其它实施例中，细胞可在即将植入之前加载到缝合线，但可采取多个步骤以降低生物(例如，细胞)活性以预先阻止不期望的基于细胞密度的细胞凋亡。这些步骤可包括引入到低温环境(例如，冷冻)、化学处理或其组合。

[0097] 试剂盒

[0098] 一个实施例提供在包装试剂盒中包含一个或一个以上手术缝合线针或类似物装置用于与缝合线材料组合使用。针可促进穿透组织并牵引缝合线材料穿过组织，且因此在包装中时，其可与缝合线材料整合在一起或附着到缝合线材料，以减轻将缝合线材料穿线于针中或附着到针的需要。在一个实施例中，针的尖端可提供有尖保护器，例如一片所述尖无法轻易刺穿的材料。或者，针可以降低在处置或打开包装期间潜在刺伤的方式安装在包装中。

[0099] 包装试剂盒可包括呈允许以顺序方式而不会缠在一起分配缝合线材料的任何配置的缝合线材料。所述分配系统可与那些常规用于分配缝合线材料、线、丝、牙线和牙带、线股和类似材料者类似。在一个实施例中，包装可含有适用于单一患者或单一伤口的长度的缝合线材料。或者，包装可含有多个离散长度或可分成离散长度的连续长度的缝合线材料。

[0100] 本文所述的试剂盒和包装可包括在无菌包装内或外部的区，在其中从预期患者提取的材料(例如那些经推测包括干细胞、感兴趣的其它生物细胞和/或具治疗价值的分子(生物活性材料)者)可引入作为介质的一部分，例如液体溶液和/或生物活性溶液。包装设计可使得缝合线材料在其在包装中或当其从包装取出供使用时与此介质物理接触。一个实施例提供所述生物活性溶液与缝合线材料之间的接触区可采取单独或分离区的形式，例如包装内的无菌区，其经设计以接受通过皮下注射针或类似分配装置引入到一个区中的介质，所述区经配置以使溶液与缝合线材料之间的接触最大化(在包装中时或随着缝合线材料从包装中取出时)。此配置可采取含有缝合线材料的可扩展区的形式，以使缝合线材料在溶液引入到包装中时立即接触溶液。此配置也可涉及管状或其它几何形状区段，其保持介质且当缝合线从包装抽出时必须穿过其。可采用此配置以使含生物活性分子的流体停留在非生产性袋中的可能性最小化，所述非生产性袋不会受缝合线材料穿过包装的所述区的干扰。也可以采用更复杂的机构以使含有生物活性分子的流体与缝合线材料接触。

[0101] 一个实施例提供包含在无菌包装内的手术缝合线或前体构造可包括缝合线材料的前导区段。前导区段是一定长度的缝合线材料，其并不打算包括生物活性材料，但与包括生物活性材料的缝合线材料的剩余部分邻接。前导区段可以从缝合线材料于生物活性分子溶液相接触的区延伸到所述区的外部区，其中前导区段是手或工具可接近以抓住的，并且拉动以从所述接触区抽出缝合线经生物活性分子涂覆的区段。

[0102] 而且，前导区段可任选地经处理以在伤口修复中提供缝合线的更有效终止，例如

利用展现经改进打结固持 (knot holding) 特性的材料。缝合线的尾端 (或远端) 可存在于缝合线的生物活性材料区的相对侧上, 其中所述尾端具有与前导区段类似的性质。缝合线材料的前导部分且任选地尾部部分可通过以下区分: (a) 视觉鉴别, 如颜色、阴影、纹理和图案的差异, 和/或 (b) 一种或一种以上物理性质的差异, 例如生物活性材料的浓度、打结固持特性和处置特性。因此, 缝合线材料可位于包装中, 以便缝合线材料形成连续链, 所述连续链从储存大批缝合线材料的区 (例如通过可添加生物活性材料的区, 其可以与储存大批缝合线材料的区相同或不同), 进入包装的前导区 (其中任选地可包装针或其它所述装置, 且其中所述包装在使用时可由使用者方便地打开)。因此, 在一个实施例中, 所述包装可通过一些进入前导区的机制打开, 所述进入可以是在前导区处切割或撕开包装以暴露缝合线前导材料或外科针。

[0103] 手术缝合线可液压连接到分配注射器 (也称为皮下注射器) 针、管或其它类似装置的内部, 其进而附接到可含有生物活性材料的容器, 或在一个实施例中在试剂盒中连接到其中引入生物活性材料的包装区。在一个实施例中, 生物活性材料可直接注射到缝合线的内部核心中。在另一实施例中, 生物活性材料可通过诱导材料流动穿过多孔缝合线外部并进入内部引入到缝合线的内部核心中的孔和间隙中。因此, 生物活性材料到缝合线的内部孔或间隙中的流动可通过流体沿缝合线的纵轴流动、沿缝合线的半径向内流动或二者来诱导。

[0104] 在一个实施例中, 待引入到缝合线中的高浓度干细胞可通过利用离心将细胞浓缩到高浓度 (例如浓缩到形成沉淀物的程度) 来获得。移除过量流体并任选地重新引入不同介质或已知体积的相同介质, 并搅动经浓缩细胞以使其以所要浓度以较均匀方式分散。

[0105] 非限制性工作实例

[0106] 实例1:

[0107] 人类MSC是使用常规技术从骨髓抽出物获得。然后使MSC在组织培养瓶上在37℃下利用5%CO₂经一周的时期生长到90%融合。将MSC用3mL PBS冲洗, 且然后从培养瓶抽取过量PBS。将1.5mL胰蛋白酶-EDTA添加到组织培养瓶中的MSC且然后将烧瓶在37℃下培育5分钟。然后胰蛋白酶-EDTA用3mL间充质干细胞基础培养基中和。将溶液转移到15mL圆锥管中并在离心机中以2500rpm快速离心10分钟。抽取出上清液, 且然后将细胞承载沉淀物重新悬浮于1mL间充质干细胞基础培养基中。然后使用血球计数器对MSC进行计数。然后将含有大约2百万MSC的溶液介质在离心机中以2500rpm快速离心10分钟, 抽取出上清液并将细胞承载沉淀物重新悬浮于15μL间充质干细胞基础培养基中, 以获得用于加载到缝合线中的介质。

[0108] 缝合线是通过将20丹尼尔 (denier) 丝线以81PPI在18量规PTFE核心上编织成2层编织物来形成。将编织丝线从核心材料移除。将20cm长度的此材料拉入15cm长度的相同材料的中心中以形成2号大小缝合线的鞘和核心丝线缝合线。此缝合线构造的前导和尾部区段用医疗级蜡处理, 在中心留出2.54cm未经涂覆丝线缝合线的区段。将缝合线拉入4cm18量规PTFE管状物区段中; 然后将管状物定位于缝合线的未经涂覆丝线部分上方。将15μL MSC-承载溶液注射到PTFE管中, 以使得未经涂覆丝线缝合线的区段的内部饱和, 此时将PTFE管从缝合线移除。在管中未观察到残留的MSC-承载介质。然后测试缝合线的生物活性细胞承载区段以测定实际活细胞加载 (即, 细胞含量)。发现在2.54cm区段缝合线内包含1.4百万个

细胞。

[0109] 实例2:

[0110] 如实例1中所述构造2号干细胞承载缝合线,除细胞加载为在介质中1百万个细胞以外,其中在缝合线中平均实际保留770,000个细胞。然后使用所述缝合线以在适当实验室协议下修复实验室大鼠的后腿及臀部肌腱中切出的3mm缺口。第二后腿及臀部肌腱中的3mm缺口使用没有MSC的缝合线修复,作为阴性对照。在第28天,将经修复肌腱进行比较。发现利用加载有MSC的缝合线修复的肌腱具有发育较强壮且较有序地组织(较少瘢痕组织)。特别地,实例2更详细地描述于下文中:

[0111] 实施动物研究以在大鼠阿基里斯(Achilles)肌腱修复模型中评价2号干细胞承载缝合线对促进肌腱愈合性质的效力。

[0112] 用于此研究的人类MSC是根据机构审查委员会批准(Institutional Review Board approval)从一个人类供体的骨髓抽出物获得。使用3mm具有闭孔器针的套管针以从跟骨、胫骨近端和/或髂嵴抽取骨髓。将骨髓抽出物(“BMA”)与基于柠檬酸盐的抗凝剂(13-17%v/v)混合以防止凝固。从每一患者收集 55 ± 14 mL抗凝BMA。BMA使用MarrowStim™浓缩系统(巴奥米特生物制剂有限公司(Biomet Biologics, LLC),印第安纳州沃索(Warsaw, IN))进行处理。随后1400xg在下15分钟离心,将3-6mL抽出细胞浓缩物(“ACC”)转移到实验室用于MSC分离、培养和扩增。

[0113] 将样品经处理以移除红血球并分离单核细胞。此处理是使用Ficoll-Paque™ PLUS(干细胞技术(STEMCELL Technologies),加拿大温哥华(Vancouver, Canada))实施,其是用于分离单核细胞的密度梯度介质。将新鲜的骨髓抽出物以1:1比率用磷酸盐缓冲盐水(“PBS”)pH7.4(西格玛-奥德里奇(Sigma-Aldrich),密苏里州圣路易斯(St. Louis, MO))稀释,所述磷酸盐缓冲盐水具有2%用于人类间充质干细胞的胎牛血清(“FBS”) (干细胞技术,加拿大温哥华)。然后使经稀释骨髓抽出物在50mL圆锥管中在Ficoll-Paque™ PLUS密度梯度介质顶部上分层并在室温下以400xg离心30分钟,其中离心制动关闭。然后移除在血浆-Ficoll界面处含有MSC单核细胞的层并将单核细胞用含2%FBS的PSB洗涤一次,然后以4000个细胞/cm²的密度铺于新的T-75cm²组织培养瓶中。将分离的MSC在补充有 MesenCult® 间充质干细胞刺激补充剂(干细胞技术,加拿大温哥华)的 MesenCult® MSC基础培养基(干细胞技术,加拿大温哥华)中培养。使细胞在空气中具有5%CO₂且>95%湿度的37℃加湿培养箱中扩增14天或直到其60-80%融合为止,此时使用0.25%胰蛋白酶-EDTA(GIBCO®英杰(Invitrogen), Cat编号15050-057)从细胞培养瓶分离粘着细胞单层。将经分离MSC在500xg下离心10分钟,计数并以4000个细胞/cm²的密度重新铺于新的T-75cm²组织培养瓶中。

[0114] MSC利用补充有 MesenCult® 间充质干细胞刺激补充剂的 MesenCult® MSC基础培养基扩增并保持在37℃下空气中具有5%CO₂且>95%湿度的组织培养箱中。每3天更换培养基直到MSC达60-80%融合为止,此时使用0.25%胰蛋白酶-EDTA从细胞培养瓶将其分离,在500xg下离心10分钟并计数。每英寸干细胞缝合线浸渍浓缩于15μL中的 1×10^6 个第2代间充质干细胞,其中每英寸缝合线中平均保留770,000个MSC并递送到修复位点。

[0115] 在此研究中测试三种不同的缝合修复术类型:仅使用缝合线修复(仅缝合线),使用缝合线加在所修复肌腱周围注射 1×10^6 个干细胞修复(缝合线+SC注射),或使用浸渍有1

$\times 10^6$ 个干细胞的缝合线修复(SC缝合线)。所有缝合线均通过将20丹尼尔丝线以81PPI在18量规PTFE核心上编织成2层编织物来构造。将编织丝线从核心材料移除。将20cm长度的此材料拉入15cm长度的相同材料的中心中以形成2号大小缝合线的鞘和核心丝线缝合线。此缝合线构造的前导和尾部区段用医疗级蜡处理,在中心留出2.54cm未经涂覆丝线缝合线的区段。将缝合线拉入4cm18量规PTFE管状物区段中;然后将管状物定位于缝合线的未经涂覆丝线部分上方。对于干细胞缝合修复术类型,将15 μ L含有 1×10^6 MSC的介质(如上所述)注射到PTFE管中,以使得未经涂覆丝线缝合线的所述区段的内部饱和。将PTFE管从缝合线移除。在管中未观察到残留的MSC-承载介质。对于仅缝合线和缝合线加干细胞注射修复类型,在即将用于动物中之前将PTFE管从缝合线移除;未经涂覆丝线缝合线的区段没有变化。

[0116] 在开始程序之前,将每一后肢随机化以接受三种修复类型中的一者。在切口之前通过腹膜内注射耐波他(Nembutal)(戊巴比妥(pentobarbital))将54只平均重量370gm(在326到600范围内)的成年雄性斯普拉-道来氏(Sprague-Dawley)大鼠麻醉;然后将双侧后肢剃毛并交替用酒精和氯己定(chlorhexidine)擦拭三次来准备。沿阿基里斯肌腱作纵向后正中切口以暴露阿基里斯肌腱。一旦鉴别并分离,将阿基里斯肌腱在肌肉肌腱相接点远端3mm处横切。在第一横切远端3mm处实施随后第二横切,此使得移除3mm肌腱区段。使用适当缝合修复术类型通过具有三个结的8字形(*figure-of-eight*)缝合使阿基里斯肌腱末端松散地接近。在系结所述结之前,将3mm宽度的仪器置于肌腱末端之间以维持所述3mm缺口。对于所有大鼠,伤口均经冲洗,且皮肤用4-0单丝缝合线以表皮下方式闭合。

[0117] 在修复后14天和28天实施组织学和生物力学测试。生物力学强度(失效负荷)是测试期间的修复的主要结果,而组织学分析是次要结果。基于来自大鼠肌腱愈合的先前报告的生物力学数据的事前功效分析(*a priori power analysis*)确定,每治疗组每时期需要12个肌腱来建立90%置信度,其中1类错误为5%。每治疗组每时期额外使用6个肌腱用于组织学评价。所有组织学和生物力学结果均表示为平均值和标准偏差。由于委员会认证的病理学家(Board Certified Pathologist)是单一评论者,因此随机选择20个切片并盲目分级两次。计算施测者内信度的科恩卡帕值(Cohen's Kappa value)。利用图基事后分析(Tukey's post hoc analysis)使用单向ANOVA分析在三个治疗组之间每一时间点的生物力学数据。还使用双尾t测试作为(测量)时间点的函数来比较每一治疗组的生物力学数据。利用邦费罗尼事后校正(Bonferroni post-hoc correction)使用克鲁斯卡尔-沃利斯测试(Kruskal-Wallis test)分析三个治疗组之间每一时间点处的组织学有序数据。使用卡方分析(chi-square analysis)比较每一时间点之间每一治疗组的组织学数据。统计显著性设定为 $p < 0.05$,显著性为 $p < 0.016$ 的邦费罗尼校正除外。使用JMP9.0.0统计软件(SAS研究有限公司(SAS Institute, Inc.),北卡罗来纳州卡里(Cary, North Carolina))实施统计分析。

[0118] 生物力学和组织学结果展示于图3中。图3证实,利用加载有大量MSC的缝合线修复的肌腱具有发育较强壮且较有序地肌腱组织(较少瘢痕组织)。在第14天,使用干细胞缝合线修复的肌腱比其它修复类型中的任一者在统计学上更健康且显示更多天然样肌腱。在第28天,使用具有干细胞的缝合线修复的肌腱比仅缝合线缝合在统计学上更健康且显示更多天然样肌腱(表1)。表1中所示的分级方案是根据罗森鲍姆(Rosenbaum)等人,在试验性肌腱修复模型中使愈合的组织学阶段与拉伸强度的恢复相关联(Histologic Stages of

Healing Correlate with Restoration of Tensile Strength in a Model of Experimental Tendon Repair), HSSJ (2010) 6:164-170中所提供的方案。也就是说,表1中的值是基于其中0代表健康肌腱且3代表患病肌腱的标度。生物力学结果揭示,在两个时间点,使用干细胞缝合修复方法修复的肌腱比其它修复类型中的任一者具有统计学上显著较高的峰值应力(表2)。

[0119] 表1.每一肌腱修复类型的平均生物力学等级

时间点	分量	仅缝合线	缝合线+SC 注射	SC 缝合线
14 天	胶原蛋白等级	1.9±0.8	1.6±0.9	0.4±0.3
	血管发生	0.8±0.2	0.9±0.3	1±0
	软骨形成	0	0	0
	总得分	2.7±0.8	2.5±0.8	1.4±0.3*
28 天	胶原蛋白等级	2.4±0.6	2.1±0.7	1.1±0.2
	血管发生	1±0	0.7±0.4	0.9±0.3
	软骨形成	0	0.1±0.1	0
	总得分	3.4±0.6	2.8±0.6	2.1±0.3†‡

SC=干细胞
 *= 统计学上不同于仅缝合线和缝合线+SC 注射组
 †= 统计学上不同于仅缝合线组
 ‡= 统计学上不同于第 14 天时间点

[0121] 表2.每一肌腱修复类型的生物力学性质

时间点	性质	仅缝合线	缝合线+SC 注射	SC 缝合线
14 天	最终失效负荷(N)	22.3±5.3	22.3±7.0	19.0±5.9
	面积(mm ²)	18.8±5.1	9.7±5.0†	8.2±4.8†
	峰值应力(Mpa)	1.2±1.0	2.3±1.4	2.3±1.2†
28 天	最终失效负荷(N)	21.8±5.4	20.7±6.8	18.8±4.3
	面积(mm ²)	18.3±3.9	14.3±5.8‡	9.0±2.8*
	峰值应力(Mpa)	1.2±0.4	1.6±0.9‡	2.3±0.8†

SC=干细胞
 †= 统计学上不同于仅缝合线组
 *= 统计学上不同于仅缝合线和缝合线+SC 注射组
 ‡= 统计学上不同于第 14 天时间点

[0123] 实例3:

[0124] 实施活体外研究以研究在上述实施例中的一者中使用高密度加载技术构造的2号干细胞承载缝合线用以将MSC递送到手术修复位点的效力。在此研究中测试加载于2号干细胞承载缝合线上的MSC的三个不同干细胞培养时间点:(1) 30cm长度加载有平均33,333个MSC/cm的2号干细胞承载缝合线,干细胞在缝合线上培养3天;(2) 18cm长度加载有平均55,555个MSC/cm的2号干细胞承载缝合线,干细胞在缝合线上培养5天;(3) 18cm长度加载有平均535,871个MSC/cm的2号干细胞承载缝合线,高密度干细胞承载缝合线立即用于手术修复位点处。

[0125] 使用如上述相同的协议构造2号干细胞承载缝合线。用于此研究的人类MSC是根据机构审查委员会批准(Institutional Review Board approval)使用实例2中所述的技术从一个人类供体的骨髓抽出物获得。将分离的MSC在补充有 MesenCult®间充质干细胞刺激

补充剂(干细胞技术,加拿大温哥华)的 MesenCult®MSC基础培养基(干细胞技术,加拿大温哥华)中培养。使细胞在空气中含有5%CO₂且>95%湿度的37℃加湿培养箱中扩增14天或直到其60-80%融合为止,此时使用0.25%胰蛋白酶-EDTA(GIBCO®英杰(Invitrogen), Cat编号15050-057)从细胞培养瓶分离粘着细胞单层。将经分离MSC在500xg下离心10分钟,计数并以4000个细胞/cm²的密度重新铺于新的T-75cm²组织培养瓶中。

[0126] MSC利用补充有 MesenCult®间充质干细胞刺激补充剂的 MesenCult®MSC基础培养基扩增并保持在37℃下空气中含有5%CO₂且>95%湿度的组织培养箱中,每3天更换培养基直到MSC达60-80%融合为止,此时使用0.25%胰蛋白酶-EDTA从细胞培养瓶将其分离,在500xg下离心10分钟并计数。

[0127] 在第3天培养时间点,将 1×10^6 个第2代MSC浓缩于60μL间充质干细胞基础培养基中,以获得用于加载于缝合线中的培养基。每英寸干细胞缝合线浸渍存于2μL中的33,333个MSC。然后将干细胞浸渍缝合线置于具有 MesenCult®间充质干细胞基础培养基(干细胞技术,加拿大温哥华)的100mm无菌组织培养皿中,所述基础培养基补充有 MesenCult®间充质干细胞刺激补充剂(干细胞技术,加拿大温哥华)。将MSC在空气中含有5%CO₂且>95%湿度的37℃加湿培养箱中在缝合线上培养3天。在第3天,将干细胞浸渍缝合线从培养箱中移除并当其将用于手术时进行组装。使用填充有500μL PBS的2mL塑料埃彭道夫管(eppendorf tube)来刺激手术修复位点。将整个长度的干细胞承载缝合线置于埃彭道夫中,并使用荧光测定递送到PBS和留在缝合线上的干细胞的数量以测试活细胞。此被视为活的模型,因为在手术设置中,干细胞承载缝合线将组装用于手术且然后立即植入手术位点。缝合线上的活干细胞将被递送到修复位点的周围组织或留在缝合线上。

[0128] 在第5天培养时间点,将 1×10^6 个第2代MSC浓缩于25μL间充质干细胞基础培养基中,以获得用于加载于缝合线中的培养基。每英寸干细胞缝合线浸渍存于平均1.39μL中的55,555个MSC。然后将干细胞浸渍缝合线置于具有 MesenCult®间充质干细胞基础培养基(干细胞技术,加拿大温哥华)的100mm无菌组织培养皿中,所述基础培养基补充有 MesenCult®间充质干细胞刺激补充剂(干细胞技术,加拿大温哥华)。将MSC在在空气中含有5%CO₂且>95%湿度的37℃加湿培养箱中在缝合线上培养5天,其中3天之后更换培养基。在第5天,将干细胞浸渍缝合线从培养箱中移除并当其将用于手术时进行组装。使用填充有500μL PBS的2mL塑料埃彭道夫管来刺激手术修复位点。将整个长度的干细胞承载缝合线置于埃彭道夫中并使用荧光测定递送到PBS和留在缝合线上的干细胞的数量以测试活细胞。

[0129] 对于立即在手术修复位点处使用的高密度加载干细胞承载缝合线,将平均1,444,444个第2代MSC浓缩于12.7μL间充质干细胞基础培养基中,以获得用于加载于缝合线中的培养基。每英寸极稠密加载干细胞缝合线浸渍存于0.7μL中的平均535,871个MSC。当干细胞浸渍缝合线将用于手术时立即进行组装。使用填充有500μL PBS的2mL塑料埃彭道夫管来刺激手术修复位点。将整个长度的干细胞承载缝合线置于埃彭道夫中并使用荧光测定递送到PBS和留在缝合线上的干细胞的数量以测试活细胞。

[0130] 使用Cell Titer Glo荧光细胞活力分析(普洛麦格(Promega))测定缝合线上的活细胞的数量。将500μL Cell-Titer Glo添加到含有干细胞承载缝合线和500μL PBS的每一

埃彭道夫。将埃彭道夫的内容物遮蔽光,混合2分钟且然后在室温下培育10分钟。10分钟培育之后,使用荧光测定缝合线上或经刺激修复位点处的活细胞的数量。使用具有发光模块的GloMax Multi Jr(普洛麦格)记录荧光。

[0131] 结果展示于图4中。如图4中所示,立即在手术修复位点处使用的高密度加载干细胞承载缝合线将平均354,411个MSC/cm缝合线递送到手术修复位点。当干细胞在缝合线上培养3天时,具有在其上培养的MSC的干细胞承载缝合线将平均502个MSC/cm缝合线递送到手术修复位点,且当干细胞在缝合线上培养5天时1,161个MSC/cm缝合线递送到手术修复位点。利用图基事后分析使用单向ANOVA分析三个干细胞承载缝合线组之间的数据。统计分析揭示,当使用高密度干细胞加载方法时比将MSC直接在缝合线上培养3或5天时明显将更多MSC递送到修复位点。

[0132] 当将MSC加载到缝合线上时,其以未附着(球形)形式存在于培养基溶液中。在3天和5天培养时间点,分别将33,333个/cm和55,555个MSC/cm加载到缝合线上且然后将这些MSC直接在缝合线上培养72小时和120小时。在缝合线上培养MSC允许其附着到缝合线纤维并经历增殖。当MSC采取其粘着形式时,发现其伸长并扩散。如上所述且基于本文的结果,最终递送到个体的组织的细胞的数量低于过加载有MSC的缝合线中所递送的数量。

[0133] 结论

[0134] 此申请案中列举的所有文献和类似材料(包括但不限于)专利、专利申请案、文章、书籍、论文和网页)无论所述文献和类似材料的格式如何,其整体均以引用的方式明确并入。在所并入文献和类似材料中的一者或一者以上与本申请案不同或矛盾的情况下(包括但不限于)所定义术语、术语使用、所述技术等等),则以本申请案为准。

[0135] 尽管已结合各实施例和实例描述本发明的教导,但并不打算将本发明教导限于所述实施例或实例。与此相反,本发明教导涵盖各种替代、修改和等效物,如所属领域的技术人员将了解。

[0136] 尽管在本文中已描述并图解说明数个发明性实施例,但所属领域的技术人员将容易地想象用于实施本文所述的功能和/或获得结果和/或优点中的一者或一者以上的各种其它构件和/或结构,且所述变化和/或修改形式中的每一者均认为在本文所述的发明性实施例的范围内。更一般地说,所属领域的技术人员将易于了解,本文所述的所有参数、尺寸、材料和配置打算是实例性的且实际参数、尺寸、材料和/或配置将取决于使用发明性教导的一个或多个特定应用。所属领域的技术人员仅使用例行实验即可认识或能够断定本文所述的发明性具体实施例的许多等效内容。因此,应理解前述实施例仅是以举例方式呈现且在所附权利要求书和其等效物的范围内,发明性实施例可与所具体描述和主张不同地实施。本发明的发明性实施例是针对本文所述的每一个别特征、系统、物件、材料、试剂盒和/或方法。另外,如果所述特征、系统、物件、材料、试剂盒和/或方法不相互矛盾,那么两个或两个以上所述特征、系统、物件、材料、试剂盒和/或方法的任何组合包括在本发明的发明范围内。

[0137] 而且,本文所述的技术可体现为方法,其中已提供至少一个实例。作为方法的一部分实施的行动可以任何适宜方式进行排序。因此,可构造其中行动以不同于所说明的顺序实施的实施例,其可包括同时实施一些行动,尽管在说明性实施例中展示为依序行动。

[0138] 本文中所定义且使用的所有定义应理解为控制在辞典定义、以引用方式并入的文

献中的定义和/或所定义术语的普遍意义以内。

[0139] 除非明确指示为相反,否则如本文在说明书和权利要求书中使用的不定冠词“一(a和an)”应理解为意指“至少一个”。包括本文所列举的任何范围。

[0140] 在整个说明书中所用的术语“实质上”和“约”用于描述并计及小的波动。举例来说,其可是指小于或等于 $\pm 5\%$,例如小于或等于 $\pm 2\%$,例如小于或等于 $\pm 1\%$,例如小于或等于 $\pm 0.5\%$,例如小于或等于 $\pm 0.2\%$,例如小于或等于 $\pm 0.1\%$,例如小于或等于 $\pm 0.05\%$ 。

[0141] 如本文在说明书和权利要求书中所使用,片语“和/或”应理解为意指如此联合的元件中的“任一者或两者”,即,在一些情形下以联合方式存在和在其它情形下以分离方式存在的元件。以“和/或”列出的多个元件应认为以相同形式构造,即,如此联合的元件中的“一者或一者以上”。可任选地存在除由“和/或”从句所特定鉴别的元件之外的其它元件,无论与所特定鉴别的那些元件相关还是不相关。因此,作为非限制性实例,当结合诸如“包括”等开放式语言使用时,对“A和/或B”的提及在一个实施例中可是指仅A(任选地包含除B以外的元件);在另一实施例中,是指仅B(任选地包含除A以外的元件);在再一实施例中,指A和B两者(任选地包括其它元件);等等。

[0142] 如本文在说明书和权利要求书中所使用,“或”应被理解为具有与上文所定义的“和/或”相同的意义。举例来说,当分离清单中的物项时,“或”或者“和/或”应解释为是包括性的,即,包括若干元件或元件清单中的至少一者(但也包括一个以上)和任选地额外的未列出物项。术语仅(only)明确指示相反情形,诸如“.....的仅一个”或“.....的恰好一个”或当用于权利要求书中时,“由.....组成”将指包括若干元件或元件清单中的恰好一个元件。一般来说,本文所使用的术语“或”在前面有排他性术语(例如,“或者”、“其中的一者”、“其中的仅一者”或“其中的恰好一者”)时应仅将其解释为指示排他选择(即,“一者或另一者而非两者”)。“基本上由.....组成”当在权利要求书中使用时应具有如其用于专利法律领域中的普通意义。

[0143] 如本文中在说明书和权利要求书中所使用,在提及一个或一个以上元件的清单时的片语“至少一者”应理解为意指从所述元件清单中的所述元件中的任何一者或一者以上选择的至少一个元件,但未必包括所述元件清单内所特定列出的每一元件中的至少一者,且不排除所述元件清单中的若干元件的任一组合。此定义还允许可任选地存在除片语“至少一者”指代的所述元件清单内特定鉴别的元件以外的元件,无论与特定识别的所述元件相关还是不相关。因此,作为非限制性实例,“A和B中的至少一者”(或等效地,“A或B中的至少一者”,或等效地“A和/或B中的至少一者”)在一个实施例中可指至少一个、任选地包括一个以上A,而不存在B(且任选地包括除B以外的元件);在另一实施例中,是指至少一个、任选地包括一个以上B,而不存在A(且任选地包括除A以外的元件);在又一实施例中,是指至少一个、任选地包括一个以上A和至少一个、任选地包括一个以上B(且任选地包括其它元件);等等。

[0144] 在权利要求书中以及在上文说明书中,所有过渡性片语(诸如“包含”、“包括”、“搭载”、“具有”、“含有”、“涉及”、“固持”、“由...构成”等等)应理解为开放式,即,意指包括(但不限于)。仅过渡性片语“由...组成”和“基本上由...组成”应分别为封闭式或半封闭式过渡性片语,如美国专利局专利审查程序手册第2111.03节中所陈述。

[0145] 不应将权利要求书解读为限于所述顺序或元件,除非陈述了此意思。应了解,可由所属领域的技术人员在形式和细节方面作出各种变化,而并不背离所附权利要求书的精神和范围。在所附权利要求书和其等效物的精神和范围内的所有实施例也请求保护。

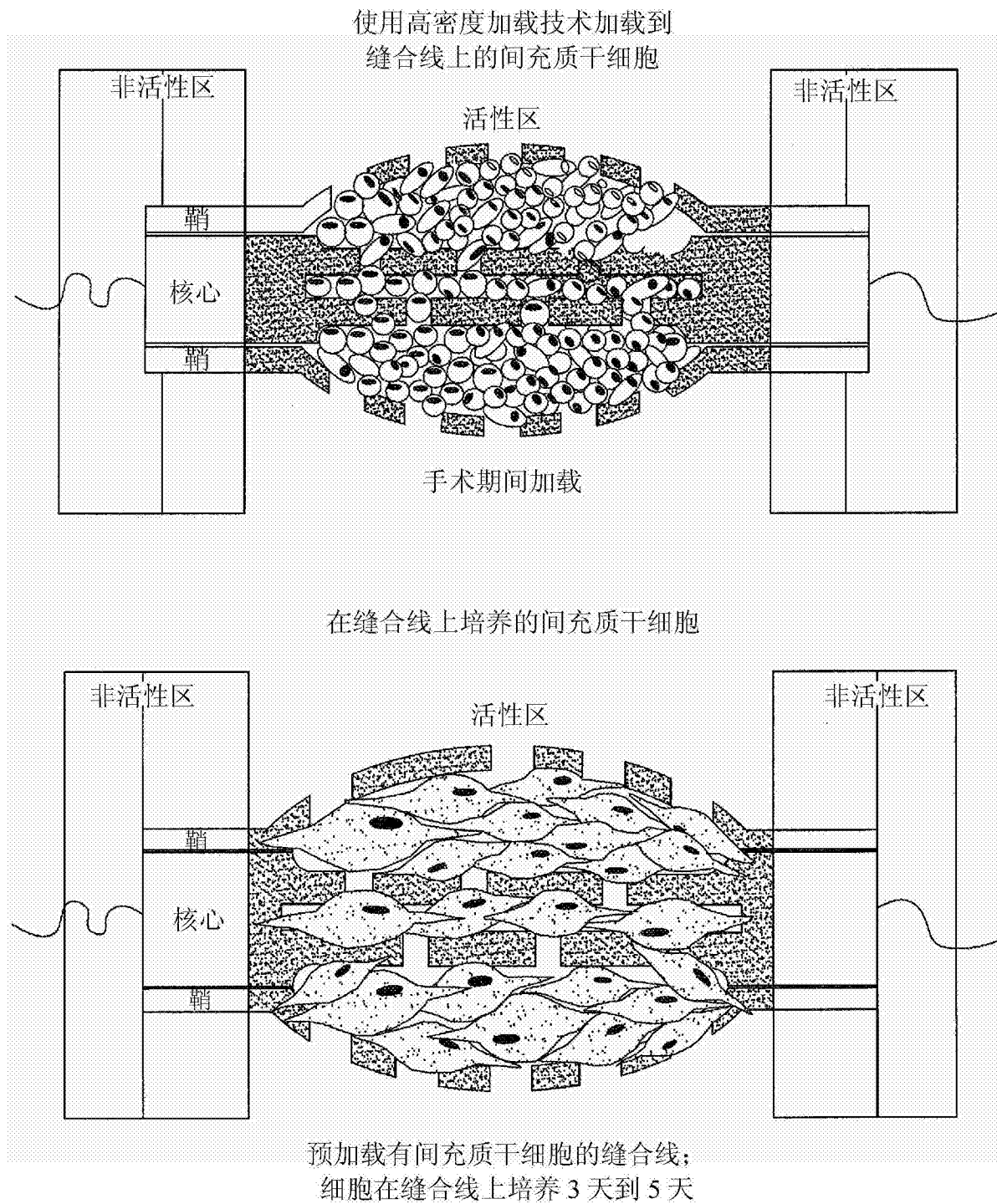


图1

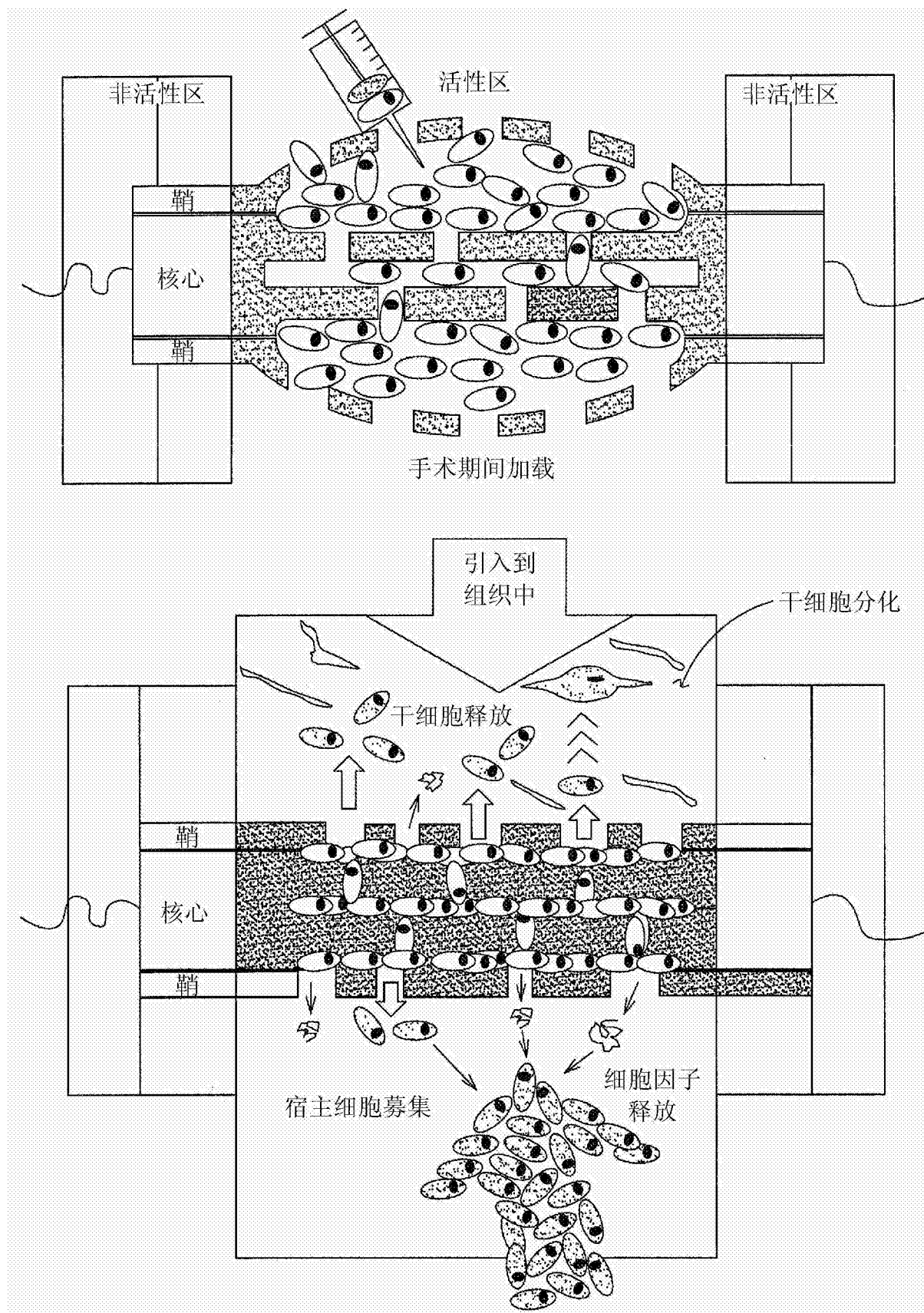


图2

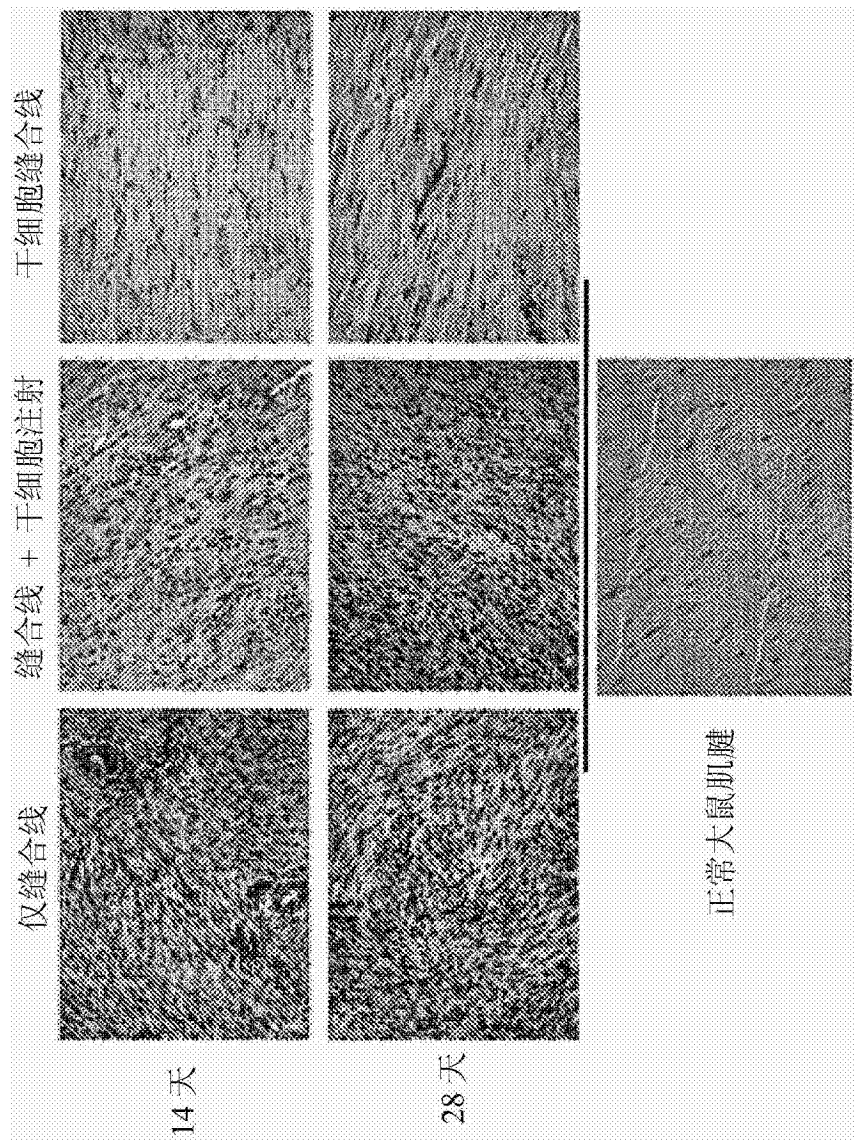


图3

间充质干细胞经由干细胞缝合线到修复位点的递送：
在缝合线上培养间充质干细胞对高密度加载技术

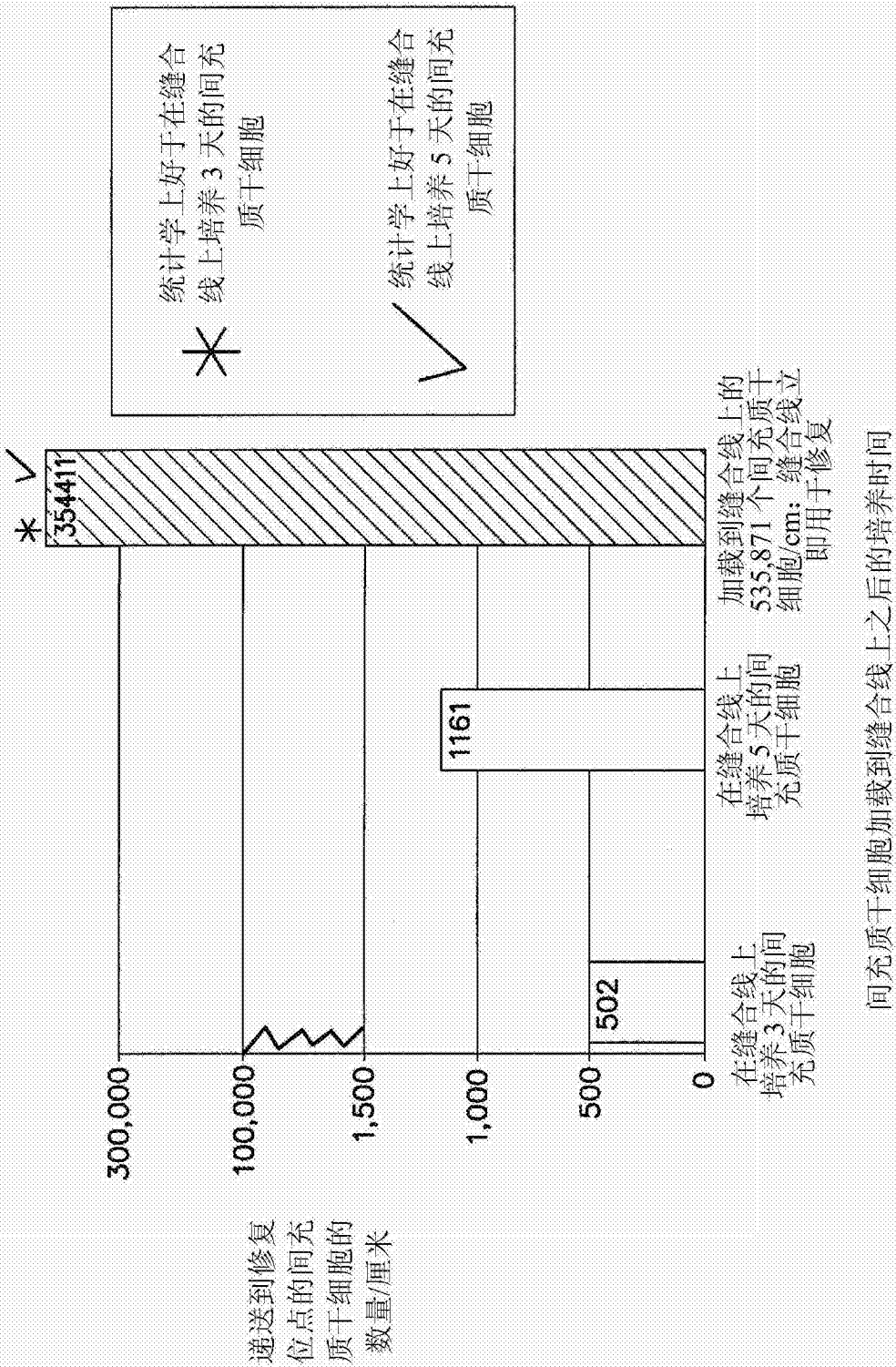


图4