



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118121632 A

(43) 申请公布日 2024.06.04

(21) 申请号 202311809844.6

A61M 5/178 (2006.01)

(22) 申请日 2015.11.26

A61K 35/28 (2015.01)

(30) 优先权数据

14210132 2014.11.26 GB

(62) 分案原申请数据

201580073651.6 2015.11.26

(71) 申请人 安托万·图瑞兹

地址 瑞士莫伦斯

(72) 发明人 安托万·图瑞兹

(74) 专利代理机构 北京中济纬天专利代理有限

公司 11429

专利代理师 郝东晖

(51) Int. Cl.

A61K 35/16 (2015.01)

A61M 1/02 (2006.01)

权利要求书1页 说明书33页 附图14页

(54) 发明名称

用于制备血浆浓缩液或骨髓离心分离液的
容器

(57) 摘要

本发明公开了一种用于制备血浆浓缩液或骨髓离心分离液的容器,涉及组织再生领域。更具体地,其涉及用于制备单独的或者与生物材料或细胞提取物结合的A-PRP、PRP、BMC、脂肪组织的新标准和医疗器械。

1. 一种容器,用于与至少一种生物材料结合来制备PC和/或BMC,其特征在于:
 - a) 所述容器包括或预填充有生物材料,所述生物材料选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或丝素蛋白、细胞提取物或其任何组合;和
 - b) 所述容器进一步包括或预填充有凝固活化剂,所述凝固活化剂选自:凝血酶血清、葡萄糖酸钙和/或氯化钙。
2. 根据权利要求1所述的容器,其中,所述容器的内容物包括基本上由生物材料和凝固激活剂构成或仅预先填充有生物材料和凝固激活剂。
3. 根据权利要求1或2所述的容器,其中,所述容器用于与至少一种生物材料结合制备作为可缝合膜的PC和/或BMC。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的容器,其中,所述容器是注射器。
5. 根据权利要求1至3中任一项所述的容器,其中,所述容器是管。
6. 根据权利要求5所述的容器,其中,所述容器预填充有约0.2ml至约1ml抗凝剂。
7. 根据权利要求6所述的容器,其中,所述抗凝剂是柠檬酸钠。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的容器,其中,所述容器包含约1ml至5m的透明质酸。
9. 根据权利要求8所述的容器,其中,所述透明质酸为凝胶形式。
10. 根据权利要求1至9中任一项所述的容器,其中所述透明质酸存在于缓冲剂中。
11. 根据权利要求10所述的容器,其中,所述透明质酸是磷酸盐缓冲剂。
12. 根据权利要求1至7中任一项所述的容器,其中,所述透明质酸以40mg至约200mg的量存在于所述容器中。
13. 根据权利要求1至12中任一项所述的容器,其中,所述透明质酸具有分子量为约1000KDa至约2000KDa。

用于制备血浆浓缩液或骨髓离心分离液的容器

[0001] 本申请是2015年11月26日提交的申请号为201580073651.6、发明名称为“用于制备单独的或结合透明质酸的富血小板血浆 (PRP) 或骨髓离心分离液 (BMC) 的新标准和医疗器械”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及组织再生领域。更具体地,其涉及旨在制备单独的或者结合生物材料或细胞提取物的PRP、A-PRP、BMC、脂肪组织的新标准和医疗器械。

背景技术

[0003] 通过离心分离过程制备富血小板血浆 (PRP) 的多种技术已经发展起来。然而,由于血小板细胞的敏感性和分离血小板与红细胞的方法的效率的差异性,用于制备血小板浓缩液的方法之间存在很大差异。在使用旧的经验或半自动设备制备PRP时,患者也有重要的生物组织的严重缺损。此外,为了获得血小板浓缩液,需要使用相对复杂的工具包和昂贵的专用机器,并且需要同样昂贵的专业技术人员的参与。

[0004] 因此,需要开发具有医药级标准的血液管,使得能够实现血液的安全采集,排除所有红细胞,以及制备具有高产率的血小板和白细胞的浆细胞,其中该血液管易于使用并且有成本效益。还需要开发实现能够大量制备与其他组合物(像细胞提取物或生物材料)结合的PRP的医疗器械。

[0005] 此外,需要开发用于用于制造药物级标准的血液管的新机器,并且具有恒定的、可预测的以及可靠的生物学结果。

发明内容

[0006] 本发明涉及组织再生领域。更具体地,其涉及用于凝血酶、血小板浓缩液和伤口修补剂的制备、组合物、PRP或A-PRP组合物、BMC或A-BMC组合物及其应用的新标准、管和医疗器械。

[0007] 在第一方面,本发明提供用于制备骨髓浓缩液 (BMC) 和/或血浆浓缩液 (PC) 的容器,其特征在于所述容器(1)包括或者预充有:

[0008] i) 至少一种抗凝剂,和/或

[0009] ii) 至少一个过滤器和/或允许分离红细胞 (RBC) 的组合物。

[0010] 在第二方面,本发明提供用于制备与至少一种生物材料结合的PC和/或BMC的容器,该至少一种生物材料优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合,其特征在于所述容器包括或者预充有生物材料,优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合。

[0011] 在第三方面,本发明提供用于制备与至少一种生物材料结合的PC和/或BMC的注射器,该至少一种生物材料优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合,其特征在于所述注射器包括或者预充有生物材料,优选或可选地选

自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合。

[0012] 在第四方面,本发明提供医疗器械或工具包,包括根据任意前述方面的至少一个容器和/或至少一个注射器,或者由其组成。

[0013] 在第五方面,本发明提供用于使用根据任意前述方面的至少一个容器和/或注射器来制备组合物的方法,该组合物是优选为可选地与至少一种生物材料结合的PC和/或BMC。

[0014] 在第六方面,本发明提供使用根据任意前述方面的至少一个容器和/或注射器获得的组合物,该组合物是优选为可选地与至少一种生物材料结合的PC和/或BMC。

[0015] 在第七方面,本发明提供根据任意前述权利要求的组合物、方法、医疗器械、工具包、容器或注射器在治疗、皮肤医学、牙科学、骨科学、运动医学、化妆品、美容、外科手术、眼科学、美索疗法、注射、渗透、皮下应用、伤口护理、体积增强、体积校正、机械支持和/或黏弹性补充治疗中的应用。

[0016] 在进一步的方面,本发明提供脂肪采集套管,允许混合不同物质或组合物的多连接器设备,包括该套管和/或多连接器设备的医疗器械,在封闭线路中,使用该器械用于脂肪采集、脂肪洗涤、脂肪丰富及其应用的方法。

附图说明

[0017] 本文中包含的且形成本说明书一部分的附图示出了本发明的优选实施例,并且与说明书一起用于解释本发明的原理。

[0018] 图1是用于制备PRP的管以及血液采集设备和辅助设备的示意图。

[0019] 图2是用于制备PRP的管的示意图,其显示在离心分离之后获得的不同的层,其中第一层是红细胞(RBC),接着是细胞选择器胶体(CSG)或者触变性胶体,随后是细胞沉淀物,最后在顶部是包含血浆浓缩液(PC)或PRC的血浆上清液。类似的管可用于制备BMC。

[0020] 图3是用于制备PRP的第一管和包括或预充有生物材料(例如,在图中为透明质酸)的第二管以及用于将第一管的PRP输送至第二管内以获得包括PRP和生物材料的组合物的设备的示意图。当第二管在真空条件下时,该输送可以自动地发生。

[0021] 图4是用于制备PRP的管和包括或预充有生物材料(例如,在图中为透明质酸)的注射器以及用于将管的PRP输送至注射器内以获得包括PRP和生物材料的组合物的设备的示意图。

[0022] 图4至7是实现高粘度胶体的制备/分配的机器的示意图,其特征在于用于机械压力的无止境螺旋体。在周围环境条件下进行对胶体的操作。该机械压力允许保持胶体的原始粘度。

[0023] 图8是具有连接至多个(包含将被同时地或顺序地混合在一起的不同组合物或物质的)注射器和(例如由于采集废物的)包的多个(用于控制流量的释放的)分接头的多连接器设备的示意图。

[0024] 图9是连接至注射器(以便采集由套管采集的脂肪组织)的套管(脂肪采集套管)的示意图。图9的这种注射器可以例如被连接至图8的多连接器设备。

[0025] 图10是脂肪采集套管的示意图。

具体实施方式

[0026] 以下段落提供根据本发明的术语的定义,并且旨在统一应用于整个说明书和权利要求,除非另有明确规定的定义提供更宽泛的定义。

[0027] 词语“触变性的”意指由于搅动或压力而变得流动性较大的胶体,即,由于搅动或压力而粘度降低的胶体。术语粘度指的是确定凝胶化程度的特定材料的这些特征:例如,材料的坚度或硬度,材料像流体一样抵抗流动的程度。根据本发明的触变性胶体包括聚酯胶体或其混合物,其不溶于水并且对于根据本发明可以使用的血液成分是化学惰性的。出于诊断和蛋白质组学的目的,典型的触变性胶体被用在血细胞分离中。触变性胶体在本文中也称为“细胞选择器胶体。”在本发明中可以使用其他胶体。因此,这样的胶体允许“分离红细胞。”

[0028] 词语“即时检验”意指在床边提供给患者的所有服务。根据本发明的任意方面或实施例的所有容器、管、注射器和/或医疗器械可被用于即时检验。

[0029] 词语“放血辅助设备”或“静脉穿刺辅助设备”意指允许出于抽血的目的使用针刺静脉的辅助设备。根据本发明的任意方面或实施例的所有容器、管、注射器和/或医疗器械还可以包括放血辅助设备或静脉穿刺辅助设备。

[0030] “伤口修补剂”或“伤口密封剂”或“组织修补剂”或“组织密封剂”或“伤口愈合组合物”或“组织愈合组合物”的替代表达是“生物粘附密封剂”或“纤维蛋白胶。”

[0031] 词语“伤口修补剂”或“伤口密封剂”或“组织修补剂”或“组织密封剂”或“伤口愈合组合物”或“组织愈合组合物”或“生物粘附密封剂”或“纤维蛋白胶”意指能够促进和/或增加伤口愈合的速度和/或质量的试剂或者组合物。伤口修补剂或密封剂能够促进组织再生。词语“伤口”意指任何受损的组织,例如,下述创伤或手术。哺乳动物的伤口,例如包括褥疮、溃疡、撕裂伤和烧伤、移植部位(移植供体和受体部位)、瘘管、牙周组织损伤、糖尿病非愈合的伤口、创伤的或者任何手术行为的后果。一般意义上,该词语旨在还包含皮肤损伤,其中皮肤表面呈现一些凹陷而不一定是其表面上的切口,诸如与年龄相关的组织损伤(如皱纹)和瘢痕(如痤疮(特别是在磨皮治疗之后)或者风疹瘢痕)。

[0032] 词语“PRP”意指富血小板血浆,优选为哺乳动物来源或人类来源,更优选为自体血浆,该富血小板血浆由本发明的方法制备以便制成丸状,并且与原来的全血相比去除了红细胞以及就白细胞、血小板和吸附蛋白而言浓缩了血浆。词语“自体的”或“自主的”或“自生的”意指体内法,其中使用单个供体的血液、组织和/或细胞,并且其中,从该供体提取出的血液、组织和/或细胞旨在用于相同的供体。本文中A-PRP意指自体富血小板血浆。相反,“异体”方法使用来自一个或多个第三方的血液、组织和/或细胞用于供体(“同源的”或“异种的”)。自体产品避免了与使用来自第三方的生物材料相关联的一些常见问题,例如,筛选以确保供体与患者在生物学上或免疫学上相容,以及潜在地感染上肝炎、HIV、朊病毒、克雅二氏病等。“血浆浓缩液”可以指包含(与全血相比)具有更高浓度的血小板的组合物,如完全血浆(complete plasma)或PRP。

[0033] 词语“BMC”意指由取自骨髓的液体的浓缩物组成的骨髓浓缩液。可以使用针从骨头内去除骨髓。这可以在镇静或全身麻醉下实现。髓可以从骨盆取得但也可以从其他部位取得。骨髓的样本被去除,然后在离心机中自旋向下以分离细胞,从而获得具有高浓度的干细胞的液体(本文中称为BMC)。外科医生可以将干细胞或BMC直接注射到手术部位内。干细

胞或BMC可被用于帮助骨和关节愈合、软骨修复以及新血管形成。使用干细胞或BMC可以治疗骨折的延迟愈合或不愈合、软骨缺损、骨坏死、慢性跟腱问题或者慢性伤口。

[0034] 词语“凝固激活剂”意指能够触发或激活血浆凝固与血小板聚集的试剂,例如酶。凝固激活剂包括凝血酶激活剂和/或纤维蛋白原激活剂和/或凝血酶和/或自体凝血酶和/或自体凝血酶血清和/或氯化钙和/或葡萄糖酸钙和/或糖二酸钙。可以结合凝固从而改变组合物的刚度。

[0035] 词语“凝血酶激活剂”意指能够激活凝血酶并且触发凝固的试剂。典型的凝血酶激活剂是某种辅助因子,诸如钠或钙。在实施本发明时,优选地,凝血酶激活在钙离子存在的情况下进行。通常钙离子随盐溶液被添加至血小板浓缩液,以提供最终浓度大体为或大约为0.1mg/mL的血小板浓缩液。适合的钙盐包括但不限于CaCO₃、CaSO₄或CaCl₂。本发明中使用的优选钙盐为葡萄糖酸钙(CaGL)。CaGL可以作为钙胶体注射剂,USP 10%。词语“纤维蛋白原激活剂”意指能够激活纤维蛋白原到纤维蛋白的转化并且触发凝块形成的试剂。典型的纤维蛋白原激活剂是凝血酶或巴曲酶。术语凝血酶可以包括钙化凝血酶,特别地,每1mL的10%葡萄糖酸钙水溶液约100到约10单位的凝血酶;其可以包括钙化牛凝血酶、异体凝血酶或重组人凝血酶,优选为自体凝血酶。纤维蛋白原激活剂可以是浓缩的凝血酶组合物,诸如在US 6472162中描述的凝血酶组合物或者根据本发明的自体凝血酶血清。在本发明的任意方面或实施例中,纤维蛋白原激活剂在本文中可被用于代替凝固激活剂或者与其组合。

[0036] 词语“治疗有效量”意指促进伤口愈合所需要的组成元素或其组合的量,例如伤口体积或表面积的增加、肉芽组织或促进胶原蛋白存储(lay down)的其他生物材料的量的增加、血管生长、成纤维细胞增殖或者整体治愈。本文描述的本发明的所有变体被认为具有组成元素或其组合的治疗有效量。词语“药学上可接受的载体”意指在药学上可接受的附加成分,诸如稳定剂、抗菌剂、缓冲溶液、佐剂、麻醉剂、激素等。词语“修饰可接受的载体”(cosmetically acceptable carrier)意指修饰可接受的附加成分,诸如稳定剂、缓冲溶液、着色剂、增香剂、佐剂等。

[0037] 词语“环烯烃共聚物”(COC)或“环烯烃聚合物”(COP)意指无定形聚合物、乙烯共聚物、COC、COP、环烯烃共聚物、环烯烃聚合物、乙烯-降冰片烯共聚物。COP使用单一类型的单体,而COC使用不同类型的单体。本发明包含基于不同类型的环状单体和聚合方法的环烯烃共聚物。本发明的环烯烃共聚物或聚合物可以通过环状单体的链共聚而产生(诸如,降冰片烯(8,9,10-trinorborn-2-ene)或者1,2,3,4,4a,5,8,8a-八氢-1,4:5,8-二甲桥与乙烯Ticona的TOPAS,三井化学的APEL),或者通过多种循环单体的开环易位聚合然后加氢而产生(例如,日本合成橡胶的ARTON,Zeon化学的Zeonex和Zeonor)。本发明的所有容器、管、注射器、辅助设备可以由COC或COP组成。

[0038] 词语“透明质酸”或“HA”(也称为玻尿酸或透明质酸盐)意指在结缔、上皮和神经组织各处广泛分布的阴离子非硫酸化的糖胺聚糖(nonsulfated glycosaminoglycan)。这在糖胺聚糖中是独特的,因为它非硫酸化的、以质膜的形式代替高尔基体的形式,并且可以非常大,其分子量经常达到百万。细胞外基质的主要成分之一,透明质酸,特别有助于细胞增殖和迁移。透明质酸提供组织的水合性和弹性。富血小板血浆包含促进和加快治愈硬组织和软组织的生长因子(PDGF、TGF-β、IGF、EGF、VEGF)、当将生物材料(例如HA)和PRP均施加在受损组织上时,其增强了弹性并且加快了愈合。

[0039] 词语“壳聚糖”意指由随机分布的 β - (1-4) 连结的D-氨基葡萄糖(胶去乙酰基单元)和N-乙酰-D-氨基葡萄糖(乙酰化单元)组成的线性多糖。壳聚糖根据甲壳素的脱乙酰作用而商业化地生产,该甲壳素是甲壳类动物(蟹、虾等)的外骨骼以及真菌细胞壁中的结构元素。可以由核磁共振波谱来确定脱乙酰度(%DD),并且商业上的壳聚糖的%DD在60-100%的范围内。商业生产的壳聚糖的分子量平均在3800至20000道尔顿之间。用于合成壳聚糖的常用方法是使用过量氢氧化钠作为试剂并且使用水作为溶剂进行甲壳素脱乙酰。该反应途径在能够反应完全时(完全脱乙酰)产生高达98%的生成物。壳聚糖中的氨基具有~6.5的pKa值,其引起(电荷密度取决于pH和%DA值的)酸性到中性溶液中的质子化反应。这使得壳聚糖可溶于水并且成为生物粘合剂,其容易地结合到带负电荷的表面(诸如粘膜)。壳聚糖增强了极性药物通过上皮表面的输送,并且是生物可相容和生物可降解的。

[0040] 本文可以将血液、骨髓、细胞和/或血小板保存和/或刺激溶液定义为这样的溶液其能够保持形状、功能和/或效率或者血液或骨髓成分,和/或能够活化、刺激或增强血液或骨髓成分的活性度、效率、功能,增强、刺激或活化在血液或骨髓成分中存在的细胞和/或血小板的生长因子或者其他因子的释放,从而刺激细胞或血小板增殖。

[0041] BCT在本文中代表血液细胞疗法或者血液采集管。

[0042] 本发明涉及实现(优选以大容量)制备单独的或者与诸如透明质酸的生物材料结合的血小板浓缩液(PC)或骨髓浓缩液(BMC)的新的方法和医疗器械。

[0043] 本发明的优点和新颖特征将部分地在下文的描述中陈述,并且一部分将根据对以下说明书的审查而对本领域技术人员变得显而易见,或者可以通过实践本发明而得知。本发明的目标和优点可以所附权利要求中特别指出的工具、组合、组合物和方法来实现和获得。

[0044] 本发明涉及无菌和无热原容器,优选为允许混合PC(例如富血小板血浆(PRP))或BMC与诸如透明质酸(HA)的生物材料的管,其中采用相同比例是有益的(例如,对于4ml的HA使用4ml的PRP),可选地,使用大体积是有益的。在一个实施例中,本发明涉及医疗器械,其包括用于制备PC或BMC的一个管以及预充有透明质酸的一个管,优选通过设备的方式连接管,该设备实现了将PC或BMC输送至预充有生物材料的管内。优选地,该输送自动地发生,例如,由于包含生物材料的管中的真空而自动地发生。本发明的方面和实施例实现了制备血小板浓缩液(PC)或骨髓浓缩液(BMC)与生物材料或细胞提取物的组合,其容量为至少3ml、4ml、5ml、6ml、7ml、8ml、9ml、10ml或更多。

[0045] PC/BMC管(允许制备PC和/或BMC的管)可以允许制备4mL的PRP/BMC,并且可以包含惰性聚酯细胞选择器胶体和液体抗凝剂。HA管专用于从PRP/BMC管直接输送PRP/BMC,以及其与透明质酸的混合。HA管可以仅包含透明质酸的胶体,约4mL。优选地,两个管仅用于单独使用,并且被设计为与在相同工具包中提供的无菌和单独使用的放血材料一起使用。

[0046] 在第一方面,本发明提供用于制备骨髓浓缩液(BMC)和/或血浆浓缩液(PC)的容器(图1、图2、图3的上部、图4的上部),其特征在于:

[0047] a) 所述容器包括或预充有:

[0048] i) 至少一种抗凝剂,和/或

[0049] ii) 至少一个过滤器和/或允许分离红细胞(RBC)的组合物,优选或可选地为细胞选择器胶体(CSG),优选或可选地为触变性胶体,优选或可选地为惰性聚酯CSG,以及

[0050] iii) 可选的至少一种生物材料, 优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合, 以及

[0051] iv) 可选的至少一种血液、骨髓、细胞和/或血小板保存和/或刺激溶液, 优选或可选地为勃脉力A, 以及

[0052] b) 可选地, 采集设备(可选或优选为包括采集夹持器和辅助设备或者由其组成, 该辅助设备优选或可选地为安全锁和蝴蝶针(图1)) 可被接附至所述容器以便将血液和/或骨髓采集至所述容器内, 并且其中, 所述采集优选或可选地为发生在封闭线路中, 优选或可选地为自动地发生, 优选或可选地为通过真空发生, 以及

[0053] c) 可选地, 采集设备可被接附至所述容器以将凝血酶血清采集至所述容器内, 该凝血酶血清优选或可选地为自体凝血酶血清, 并且其中, 所述采集优选或可选地为发生在封闭线路中, 优选或可选地为自动地发生, 以及

[0054] d) 可选地, 输送设备(图3、图4) 可被接附至所述容器以将所述PC和/或所述BMC输送至另一容器内, 其中所述容器优选或可选地为管或注射器, 优选或可选地为在真空条件下, 其中, 所述输送优选或可选地为发生在封闭线路中, 优选或可选地为自动地发生, 优选或可选地为通过真空发生, 优选或可选地为通过两个容器之间的直接接触或者通过设备的方式发生, 以及

[0055] e) 可选地, 还包括用于分离其他血液成分和/或骨髓成分的至少一个过滤器或物质, 可选或优选为分离淋巴细胞,

[0056] f) 所述容器可选地为在真空条件下,

[0057] 并且可以适用于:

[0058] i) 将骨髓和/或全血采集至所述容器内, 以及

[0059] ii) 离心分离, 以及

[0060] iii) 可选的真空和/或混合和/或反转所述容器,

[0061] 以及可以分别或者同时适用于:

[0062] iv) 从所述容器采集所述PC和/或BMC, 和/或

[0063] v) 将所述PC和/或BMC输送至另一容器内。

[0064] “适用于”在本文中(在本发明的任意方面或实施例中)可以由“在……情况下使用”代替。

[0065] 根据本发明的这一方面, 容器可以包含以下之一:

[0066] i) 至少一种抗凝剂, 或者

[0067] ii) 至少一个过滤器和/或允许分离所述红细胞(RBC)的组合物, 优选或可选地为细胞选择器胶体(CSG), 或者

[0069] iii) 至少一种抗凝剂与下述的组合:

[0070] a. 至少一个过滤器, 或者

[0071] b. 允许分离红细胞(RBC)的组合物, 优选或可选地为细胞选择器胶体(CSG), 或者

[0072] c. 至少一个过滤器和允许分离红细胞(RBC)的组合物, 其中, 组合物优选或可选地为细胞选择器胶体(CSG)。

[0073] 在第二方面, 本发明提供用于制备与至少一种生物材料结合的PC和/或BMC的容器(图3的下部), 该至少一种生物材料优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋

白、细胞提取物或者其任意组合,其特征在于:

[0074] a) 所述容器(图3的下部)包括或者预充有生物材料,优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合,以及

[0075] b) 可选地,采集设备(图3)(优选或可选地为包括采集夹持器)可以被接附至所述容器以将PC和/或BMC采集至所述容器中,以及

[0076] c) 可选地,与至少一种生物材料结合的所述PC和/或BMC可被采集,优选或可选地为在封闭线路中,以及

[0077] d) 可选地,所述容器还包括或者预充有凝固激活剂,优选或可选地选自凝血酶血清、葡萄糖酸钙和/或氯化钙,以及

[0078] e) 所述容器可选地为在真空条件下,

[0079] f) 所述容器可选地为包含两个或更多的室,其中每个室可以包含选自物质、生物材料、细胞提取物、PC或BMC和/或凝固激活剂的组合物,其中,所述组合物在它们各自的室内彼此隔离,并且其中,所述组合物可以可选地为在所述容器内和或在所述容器外彼此实现接触或者混合在一起,其中,所述室由化学或生物物质、膜或者任何其他分离机构分离,其中该分离机构可以可选地为随时间分解或者是生物可降解的,

[0080] 并且可以适用于:

[0081] i) 从PC和/或BMC容器(优选或可选地为从第一方面的容器)采集PC和/或BMC,其中,所述输送可选地为发生在封闭线路中,优选或可选地为自动地发生,优选或可选地为通过真空发生,优选或可选地为通过两个容器之间的直接接触或者通过采集设备的方式发生,以及

[0082] ii) 可选地,离心分离,以及

[0083] iii) 将与至少一种生物材料结合的所述PC和/或BMC采集或输送至另一设备内,优选或可选地为注射器,优选或可选地为在封闭线路中采集或输送,优选或可选地为自动地采集或输送,以及

[0084] iv) 可选地,混合和/或反转。

[0085] 在第三方面,本发明提供用于制备与至少一种生物材料结合的PC和/或BMC的注射器(图4的下部),该至少一种生物材料优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合,其特征在于:

[0086] a) 所述注射器(图4的下部)包括或者预充有生物材料,优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白、细胞提取物或者其任意组合,

[0087] b) 可选地,采集设备(图4)(优选或可选地为采集夹持器)可以被接附至所述注射器以将PC和/或BMC采集至所述注射器内,

[0088] c) 可选地,所述注射器包括或者预充有凝固激活剂,优选或可选地选自凝血酶血清、葡萄糖酸钙和/或氯化钙,

[0089] d) 所述注射器可选地为包含两个或更多的室,其中每个室可以包含选自物质、生物材料、细胞提取物、PC或BMC和/或凝固激活剂的组合物,其中,所述组合物在它们各自的室内彼此隔离,并且其中,所述组合物可以可选地为在所述注射器内和或在所述注射器外彼此实现接触或者混合在一起,其中,所述室由化学或生物物质、膜或者任何其他分离机构分离,其中该分离机构可以可选地为随时间分解或者是生物可降解的,

[0090] 并且可以适用于:

[0091] i) 从PC和/或BMC容器(优选或可选地为从本发明第一方面的容器)采集PC和/或BMC,其中,所述采集优选或可选地为发生在封闭线路中,通过所述注射器和所述容器之间的直接接触或者通过采集设备的方式发生,优选或可选地为自动地发生,以及

[0092] ii) 可选地,反转,以及

[0093] iii) 可选地,将所述结合至少一种生物材料的PC和/BMC施加或注射到人或动物之上或者之内,优选或可选地为在封闭线路中进行,优选或可选地为自动地进行。

[0094] 在进一步的实施例中,本发明提供根据任意前述方面的容器或注射器,还预充有或包括:

[0095] i) 至少一种抗凝剂,和/或

[0096] ii) 至少一个过滤器和/或允许分离红细胞(RBC)的组合物,优选或可选地为细胞选择器胶体(CSG),优选或可选地为触变性胶体,优选或可选地为惰性聚酯CSG,和/或

[0097] iii) 可选的至少一种生物材料,优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合,和/或

[0098] iv) 可选的至少一种PC或BMC保存溶液,优选或可选地为勃脉力A,和/或

[0099] v) 可选的至少一种凝固激活剂、凝血酶血清、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、透明质酸组合物、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、壳聚糖、蚕丝蛋白、丝素丝蛋白或丝素蛋白、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、乳脂、脂肪细胞、脂肪组织、骨髓浓缩液、润滑素(lubricin)、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物,优选为自体细胞提取物,该细胞提取物选自角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、干细胞、间质干细胞(MSC)、前脂肪细胞、脂细胞、前内皮细胞、雪旺细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物。

[0100] 在进一步的实施例中,本发明提供根据任意前述方面或实施例的容器或注射器,其特征还在于:

[0101] a) 可以通过连接设备的方式将至少两个容器、至少一个容器和至少一个注射器或者至少两个注射器连接在一起,该连接设备实现任意物质、材料、PC、BMC、细胞提取物或组合物从一个容器或注射器到另一个容器或注射器的传输,

[0102] b) 所述容器是管,和/或

[0103] c) 所述管或注射器允许约1ml至约20ml(优选或可选地为约2ml至约10ml,优选或可选地为约4ml)的全血、骨髓、PC或BMC的采出量。

[0104] d) 所述容器和/或注射器是无菌的和/或无热原的,和/或

[0105] e) 所述容器适用于制备PRP、自体PRP、PC、自体PC和/或自体BMC,和/或

[0106] f) 所述容器适用于制备约2ml至约10ml(优选或可选地为约3ml至约6ml,优选或可选地为约4ml)的PRP、自体PRP、自体PC和/或自体BMC,和/或

[0107] g) 所述注射器预充有或包括约0.5ml至约5ml的生物材料,优选或可选地为约2ml的生物材料,和/或

[0108] h) 所述容器预充有或包括约1ml至约4ml的细胞选择器胶体,优选或可选地为约1.5ml至约3.5ml的细胞选择器胶体,优选或可选地为约1.5ml、约2ml、约2.5ml或约3ml的细胞选择器胶体,和/或

- [0109] i) 所述容器包括或预充有约0.2ml至约1ml的抗凝剂,优选或可选地为约0.6ml的抗凝剂,优选或可选地为约2%至约6% (优选或可选地为约4%)的枸橼酸钠,和/或
- [0110] j) 所述容器或注射器包含约1ml至约5ml的透明质酸,优选或可选地为约2ml的透明质酸,和/或
- [0111] k) 所述透明质酸是胶体的形式,和/或
- [0112] l) 所述透明质酸存在于缓冲剂中,优选或可选地为磷酸盐缓冲剂,优选或可选地为包括氯化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、氯化钾和水,或者由其组成,和/或
- [0113] m) 所述透明质酸适用于注射、美索疗法和/或施加,和/或
- [0114] n) 每个容器存在约40mg至约200mg的所述透明质酸,优选或可选地为每容器约80mg,和/或
- [0115] o) 所述透明质酸具有约1000kDa至约2000kDa的分子量,优选或可选地为约1550kDa,和/或
- [0116] p) 所述透明质酸占约0.1%至约3%,优选为约1%至约2%,和/或
- [0117] q) 所述透明质酸通过发酵而获得,和/或
- [0118] r) 所述容器:
- [0119] 1. 在制造过程期间预充,和/或
- [0120] 2. 在离心分离之前预充,在将血液或骨髓采集至所述容器内之前预充和/或在将血液或骨髓采集至所述容器内之后预充,和/或
- [0121] 3. 预充有至少一种物质、生物材料、胶体和/或抗凝剂或者其任意组合,并且被包含在工具包或医疗器械中。
- [0122] 在第四方面,本发明提供医疗器械或工具包,包括以下项或由以下项组成:
- [0123] a) 根据任意方面或实施例的至少一个容器和/或至少一个注射器。
- [0124] b) 本发明第一方面的至少一个容器、本发明第二方面的至少一个容器和/或本发明第三方面的至少一个注射器,或者其任意组合,
- [0125] c) 本发明第一方面的至少一个容器和本发明第二方面的至少一个容器,
- [0126] d) 本发明第一方面的至少一个容器和本发明第三方面的至少一个注射器,
- [0127] e) 本发明第一方面的至少一个容器、本发明第二方面的至少一个容器和本发明第三方面的至少一个注射器,
- [0128] f) 本发明第二方面的至少一个容器和本发明第三方面的至少一个注射器,
- [0129] g) 本发明第一方面的用于制备PC的至少一个容器和本发明第一方面的用于制备BMC的至少一个容器,
- [0130] h) 本发明第一方面的用于制备PC的至少一个容器和/或本发明第一方面的用于制备BMC的至少一个容器,以及本发明第二方面的包括或预充有细胞提取物的至少一个容器,以及本发明第二方面的包括或预充有透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合的至少一个容器,
- [0131] i) 本发明第一方面的用于制备PC的至少一个容器和/或本发明第一方面的用于制备BMC的至少一个容器,以及本发明第二方面的包括或预充有细胞提取物的至少一个容器,以及本发明第三方面的包括或预充有透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合的至少一个注射器,

[0132] j) 本发明第一方面的用于制备PC的至少一个容器和/或本发明第一方面的用于制备BMC的至少一个容器,以及本发明第三方面的包括或预充有细胞提取物的至少一个注射器,以及本发明第二方面的包括或预充有透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合的至少一个容器,

[0133] 其中,所述医疗器械或工具包可选地为还包括:

[0134] k) 本发明第一方面的至少一个容器、本发明第二方面的容器和/或本发明第三方面的注射器,或者其任意组合,和/或

[0135] l) 用于制备凝血酶血清(优选为自体凝血酶血清)的至少一个容器,和/或

[0136] m) 连接设备,实现任意物质、材料、PC、BMC、细胞提取物或组合物从一个容器或注射器到另一个容器或注射器的输送。

[0137] 在进一步的实施例中,本发明提供医疗器械或工具包,包括:

[0138] a) 根据本发明第一方面的容器,以及

[0139] b) 本发明第一方面的容器、本发明第二方面的容器或本发明第三方面的注射器,以及

[0140] c) 可选的用于采集血液或骨髓的采集设备,优选或可选地为包括采集夹持器以及优选或可选的安全锁和蝴蝶针或者由其组成,以及

[0141] d) 可选的采集设备,优选或可选地为包括采集夹持器和用于将PC和/或BMC采集至所述本发明第一方面的容器、所述本发明第二方面的容器和/或所述本发明第三方面的注射器的输送设备,或者由其组成,以及

[0142] e) 可选的辅助设备和/或单独使用的放血材料。

[0143] 在进一步的实施例中,本发明提供医疗器械或工具包,包括:

[0144] a) 用于在真空条件下制备PRP或BMC的管,其允许约4ml的血液或骨髓的采出量,其包含:

[0145] ii. 约2.5ml的惰性细胞选择器胶体

[0146] iii. 约0.6ml的抗凝剂,优选或可选地为占约4%的枸橼酸钠,

[0147] b) 在真空条件下、允许从所述管a) 采出约4ml的PRP或BMC的管,其包含约2ml的在磷酸盐缓冲剂中的透明质酸,该磷酸盐缓冲剂优选或可选地为氯化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、氯化钾和注射用水,

[0148] c) 用于采集血液和/或骨髓的、由采集夹持器以及安全锁和蝴蝶针组成的采集设备,

[0149] d) 采集设备,优选或可选地为由采集夹持器和用于将来自所述管a) 的PC和/或BMC采集至所述管b) 内的输送设备组成。

[0150] 在进一步的实施例中,本发明提供医疗器械或工具包,包括:

[0151] a) 用于在真空条件下制备PRP或BMC的管,其允许约4ml的血液或骨髓的采出量,其包含:

[0152] i. 约2.5ml的惰性细胞选择器胶体

[0153] ii. 约0.6ml的抗凝剂,优选或可选地为占约4%的枸橼酸钠,

[0154] b) 允许从所述管a) 采出约4ml的PRP或BMC的注射器,其包含约2ml的在磷酸盐缓冲剂中的透明质酸胶体,该磷酸盐缓冲剂优选或可选地为氯化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、

氯化钾和注射用水,

[0155] c) 用于采集血液和/或骨髓的、由采集夹持器以及安全锁和蝴蝶针组成的采集设备,

[0156] d) 采集设备, 优选或可选地为由采集夹持器和用于将来自所述管a) 的PC和/或BMC采集至所述注射器b) 内的输送设备组成。

[0157] 在进一步的实施中, 本发明提供根据任意前述方面或实施例的医疗器械或工具包, 还包括: 组织采集套管, 优选或可选地为脂肪组织采集套管; 用于注射的套管, 该套管优选或可选地为呈直的或凹形的; 活塞阻塞物; 至少一个自粘盘; 鲁尔连接器; 麻醉剂; 注射辅助设备, 诸如针和/或注射器; 用于组织采集和混合的注射器, 优选或可选地为鲁尔锁注射器; 至少一个输送套管; 夹紧设备; 具有用于分配PC和/或BMC的分液器的容器; 套管针; 诸如氯化钙或葡萄糖酸钙的凝固激活剂安瓿; 纸面膜; 用于同时释放PC和凝血酶血清或者PC、BMC、物质、生物材料或凝固激活剂的任意其他组合的设备; 其中, 所述设备包括至少一个注射器、用于喷射应用的喷嘴、双活塞阻塞物、涂抹注射器夹持器和/或连接器, 或者其任意组合。

[0158] 在第五方面, 本发明提供用于使用根据任意前述方面或实施例的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或者更多容器和/或注射器来制备组合物的方法, 该组合物优选为PC和/或BMC可选地与至少一种生物材料的结合, 该生物材料优选或可选地选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白, 或者其任意组合, 其中, 该方法优选或可选地应用于如下方面: 治疗、皮肤医学、牙科学、骨科学、运动医学、化妆品、美容、外科手术、眼科学、美索疗法、注射、渗透、皮下应用、伤口护理、体积增强、体积校正、机械支持和/或黏弹性补充治疗。

[0159] 在第六方面, 本发明提供使用根据任意前述方面或实施例的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或者更多容器和/或注射器获得的、或者通过使用根据任意前述方面或实施例的方法获得的组合物, 优选为PC和/或BMC可选地与至少一种生物材料的结合, 该生物材料优选为选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合, 可选地, 所述组合物还与以下进行结合: 凝固激活剂、凝血酶血清、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、透明质酸组合物、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、壳聚糖、蚕丝蛋白、丝素丝蛋白或丝素蛋白、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、乳脂、脂肪细胞、脂肪组织、骨髓浓缩液、润滑素、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物, 可选或优选为自体细胞提取物, 该细胞提取物选自角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、干细胞、间质干细胞(MSC)、前脂肪细胞、前内皮细胞、雪旺细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物, 其中, 所述组合物优选或可选地应用于如下方面: 治疗、皮肤医学、牙科学、骨科学、运动医学、化妆品、美容、外科手术、眼科学、美索疗法、注射、渗透、皮下应用、伤口护理、体积增强、体积校正、机械支持和/或黏弹性补充治疗。

[0160] 在另一方面, 本发明提供用于使用根据任意前述方面或实施例的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或者更多容器和/或注射器的治疗方法, 以用于伤口或组织的愈合, 或者用于促进骨或牙周组织生长和/或骨和/或组织再生, 其中, 组织诸如是皮肤、软骨、肌肉、肌腱、韧带、脂肪组织、角膜、周围神经、脊椎或骨。

[0161] 在第七方面,本发明提供根据任意前述方面或实施例的组合物、方法、医疗器械、工具包、容器或注射器的应用,其应用在治疗、皮肤医学、牙科学、骨科学、运动医学、化妆品、美容、外科手术、眼科学、美索疗法、注射、渗透、皮下应用、伤口护理、体积增强、体积校正、机械支持和/或黏弹性补充治疗中;其应用在伤口、受损组织、受损骨或者牙周缺损或空腔上/用于伤口、受损组织、受损骨或者牙周缺损或空腔;其用于细胞再生,用于组织粘附,用于促进人类或动物的伤口愈合或组织愈合和/或组织和/或软骨和/或骨和/或伤口或组织中的神经的密封和/或再生;或者用于诱导具有牙周病的哺乳动物的伤口或牙周缺损中的牙周组织再生或者需要牙周组织再生的其他情况;或者用于韧带和/或软骨重建;或者用于促进瘢痕或皱纹中的皮肤再生;或者用于增加具有真皮脂肪移植物的哺乳动物的脂肪组织体积,或者需要脂肪组织再生的其他情况;或者用于引导具有心肌缺陷的哺乳动物中的心肌再生,或者需要心肌再生组织再生的其他情况;或者用于引导具有角膜缺陷的哺乳动物中的角膜再生,或者需要角膜再生的其他情况;或者用于引导具有关节或软骨缺损的哺乳动物中的关节或软骨再生,或者需要关节或软骨组织再生的其他情况;或者用于促进来自人类或低等动物的瘢痕、皱纹或脂肪缺陷中的皮肤再生;或者用于引导具有周围神经损伤、神经缝合或脊椎损伤的哺乳动物中的周围神经再生,或者需要周围神经再生的其他情况;或者用于引导具有骨损伤、骨缺损的哺乳动物中的骨再生,或者需要骨再生的其他情况;或者用于整形注射和美学注射;或者用于皮肤组织的再生和/或新生(特别是促进和/或开始皮肤再生,诸如减少皮肤皱纹、深度皱纹、痤疮、烧伤、风疹或天花疤痕、白癜风和脂肪萎缩,改善鼻唇线,以及治疗诸如皮肤烧伤、卡波西肉瘤、皮肤瘢痕疙瘩或杜普征氏掌纤维瘤病的皮肤损害或紊乱;以及,特别是减轻与皮肤和组织再生相关联的疼痛);或者用于伤口或组织愈合或再生治疗(特别地,诸如在适应和/或控制和/或密封本体或假体移植中,对心里创伤或手术伤口的治疗;对血管炎,诸如糖尿病神经性溃疡或褥疮性溃疡、糖尿病溃疡、穿孔性溃疡或者糖尿病穿孔性溃疡的溃疡,关节炎,骨关节炎,假关节炎,放射性皮炎和闭合瘘管的治疗);或者用于心脏疾病,诸如在治疗心脏衰竭、慢性心衰、缺血性和非缺血性心衰以及心肌病中的心脏再生;或者用于骨、软骨和关节疾病,诸如软骨损伤、软骨和/或骨损害(诸如深度软骨损伤和/或侵蚀/和/或关节镜检查),肌腱撕裂以及肩膀中的肩袖损伤;或者用于角膜疾病,诸如干眼症,(诸如由化学烧伤引起的、被史蒂文斯约翰逊综合症折磨的)角膜混浊、角膜瘢痕以及角膜溃疡;或者用于周围神经损伤,神经缝合和脊椎损伤,糖尿病伤口,大血管伤口,深度注射,真皮内注射,关节内渗透,眼内检查,眼睛洗眼液,洗眼水;用于关节,肌肉损伤;用作激光后、剥离后,单一疗法的面膜,用于闪光、光泽、光亮或明亮。

[0162] 在一个实施例中,本发明涉及医疗器械,包括以下项或由以下项组成:

[0163] a. 与采集夹持器组装在一起的安全锁蝴蝶针,

[0164] b. 预装的输送设备

[0165] c. 在真空条件下允许采出血液的管,其包含:

[0166] i) 约2.5ml的惰性细胞选择器胶体,

[0167] ii) 约0.6ml的抗凝剂(例如,4%的枸橼酸钠)

[0168] d. 在真空条件下允许采出PRP的管,其包含约2ml的在磷酸盐缓冲剂(氯化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、氯化钾和注射用水)中的透明质酸胶体,透明质酸优选为每管约80mg,具有约1550KDa的分子量,并且优选为由发酵获得。

[0169] 本发明的容器和注射器可被施加在大或深的伤口上,或者作为生物胶。

[0170] 优选地,包含生物材料的本发明的容器和注射器通过湿蒸汽进行杀菌,并且优选地,在低菌环境下进行包装。本发明的其他容器、注射器或组件(例如,用于制备PC的管、基本放血材料)在优选的双泡壳包装之后,优选地,通过暴露在最低剂量为约25kGy的伽玛辐照下进行杀菌。

[0171] 为了获得最有效的结果并且较长时间地缓解疼痛,建议每次治疗施加一剂的生物材料与PRP或PC,例如约8mL的HA/PRP混合物。在外科手术的情况下该治疗可以是唯一的,或者在深部伤口的情况下可以根据医生的决定每周重复治疗。可以同时治疗数个区域。

[0172] 在另一方面,本发明提供用于制备与PC或BMC结合的生物材料的方法,包括如下步骤:

[0173] i) 将全血采集至根据任意前述方面或实施例的至少一个容器或注射器中,优选地,通过:

[0174] a. 优选使用连接至采集夹持器的蝴蝶针执行静脉穿刺,

[0175] b. 可选地,使用采集系统的内部针刺穿容器的阻塞物以用全血填充该容器。优选地,容器内的真空将实现对必要血量(例如,约8ml)的自动采集,

[0176] c. 可选地,小心地倒置容器,优选倒置数次,

[0177] d. 可选地,关闭血液采集针,优选使用安全锁系统,

[0178] ii) 离心分离,优选地,进行约5分钟至约10分钟,优选以约1500g的离心力进行离心分离,

[0179] iii) 可选地,使PC或BMC均匀化,优选地,通过和缓地反转容器数次来实现,优选地,使细胞沉积重新悬浮在上清液中(可以获得约4ml的PC或BMC),

[0180] iv) 可选地,将PC或BMC输送至包含生物材料和/或细胞提取物的容器或注射器中,优选地,通过:

[0181] a. 将PC或BMC容器连接到输送设备,

[0182] b. 反转PC或BMC容器以使PC或BMC接触容器的阻塞物,

[0183] c. 将包含生物材料和/或细胞提取物的容器或注射器连接到输送设备,

[0184] d. 等待,直到PC或BMC被全部输送至包含生物材料和/或细胞提取物的容器或注射器中,

[0185] e. 将包含生物材料和/或细胞提取物的容器或注射器从输送设备断开。

[0186] v) 可选地,使PC/BMC与生物材料/细胞提取物产生的混合物均匀化,优选地,通过和缓地反转容器或注射器数次来实现,优选地,通过搅拌PC/BMC与生物材料/细胞提取物的混合物来实现(可以获得约8ml的混合物),

[0187] vi) 可选地,施加PC/BMC与生物材料/细胞提取物,优选地,通过采集(harvesting)来施加,优选为在注射器中(要施加的部分或全部剂量)。

[0188] 在进一步的方面,本发明提供脂肪采集套管、允许混合不同物质或组合物的多连接器设备、包括该套管和/或多连接器设备的医疗器械、使用该器械以用于脂肪采集、洗脂、脂肪丰富及其应用的方法。有利地,这些方法与传统方法相比涉及较少以及较简单的步骤(较少的时间消耗并且更经济),完全在封闭线路中执行。有利地,该方法涉及单个程序(可以执行所有步骤而无需中断)、内科医生或外科医生的即时检验。

[0189] 在另一方面,本发明提供用于制备与PC结合的脂肪细胞的方法,包括如下步骤:

[0190] i) 制备脂肪提取物,优选地,通过:

[0191] a. 将采集套管(例如,如图9和10所示)连接至注射器(例如,10ml的鲁尔锁),切入套管的插入位点,并且采集脂肪组织,

[0192] b. 可选地,纯化脂肪组织,优选通过洗涤、沉降和/或离心分离来进行纯化

[0193] ii) 与步骤i)同时地或顺序地,将全血采集到根据本发明的容器或注射器中,优选地,通过:

[0194] a. 优选使用连接至采集夹持器的蝴蝶针执行静脉穿刺,

[0195] b. 可选地,优选使用采集系统的内部针刺穿容器的阻塞物以用全血填充该容器。优选地,容器内的真空将实现对必要血量(例如,约8ml)的自动采集。优选地,使用自粘盘堵塞覆盖容器的保护膜中的孔。

[0196] c. 可选地,小心地将管倒置数次,

[0197] d. 可选地,关闭血液采集针,优选使用安全锁系统,

[0198] iii) 离心分离,优选地,进行约5分钟至约10分钟,优选以约1500g的离心力进行离心分离,

[0199] iv) 可选地,使PC均匀化,优选地,通过和缓地反转容器数次来实现,优选地,使上清液中的细胞沉积重新悬浮(可以获得约4ml的PC),

[0200] v) 制备并且结合脂肪细胞与PC,优选地,通过:

[0201] a. 将输送设备连接至包含纯化的脂肪组织的注射器(例如,10ml)

[0202] b. 将PC容器引入输送设备中,

[0203] c. 采集期望量的PC,

[0204] d. 优选地,将鲁尔连接器连接至注射器,并且随后,优选地将第二注射器连接至鲁尔连接器的另一端,

[0205] e. 将内容物从一个注射器输送到另一个注射器以混合PC和纯化的脂肪组织,优选地,使用(直的或凹形的)套管来注射混合物。

[0206] 在另一个方面,本发明提供用于制备包含干细胞的组合物的方法,包括如下步骤:

[0207] i) 采集生物组织(优选为脂肪组织)或者生物流体(优选为骨髓),以及

[0208] ii) 处理所述生物组织(优选为脂肪组织)或者所述生物流体(优选为骨髓),直到获得适当的组织/细胞(例如,具有期望干细胞的脂肪细胞或组织)或者骨髓浓缩液(BMC),以及

[0209] iii) 执行以下两者之一:

[0210] a. 使用生物材料、PC、PRP、与透明质酸结合的PC、透明质酸、与壳聚糖结合的PC、与丝结合的PC、壳聚糖或丝之一,来丰富或者混合所述组织细胞、脂肪细胞或所述BMC,或者

[0211] b. 将步骤i)、ii)、iv)或v)的所述脂肪组织培养在20-80%的PC、PRP、生物材料、与透明质酸结合的PC、透明质酸、与壳聚糖结合的PC、与丝结合的PC、壳聚糖或丝之一中,以及

[0212] iv) 可选地,注射从步骤iii-a)或iii-b)产生的包含干细胞的组合物,优选地,经由皮肤注射或施加到期望的位置。

[0213] 在另一个方面,本发明提供用于制备与PC结合的脂肪细胞的方法,包括如下步骤:

[0214] i) 使用套管采集脂肪组织,例如,使用如图9和10所示的套管以及使用在封闭线路

中连接到如图9所示的该套管的注射器,以及

[0215] ii) 以与步骤i) 同时或顺序的方式,通过套管将脂肪组织抽入注射器;在另一个实施例中,通过除抽吸之外的其他方式将脂肪组织从套管输送至注射器,以及

[0216] iii) 可选地,将具有连接器的所述注射器连接至另一个注射器,

[0217] iv) 可选地,优选通过前后运动混合所述脂肪组织,直到成体脂肪细胞破裂或者运动15秒、30秒、1分钟、2分钟、3分钟、4分钟或5分钟,以及

[0218] v) 可选地,使用洗涤液(该洗涤液优选为磷酸盐缓冲盐水(PBS)或生理血清溶液)洗涤脂肪组织,优选地,直到消除甘油三酯或形成“干净的”脂肪组织,或者洗涤15秒、30秒、1分钟、2分钟、3分钟、4分钟或5分钟,优选为30秒,以及

[0219] vi) 执行以下两者之一:

[0220] a. 使用生物材料、PC、PRP、与透明质酸结合的PC、透明质酸、与壳聚糖结合的PC、与丝结合的PC、壳聚糖或丝,来丰富(例如,20秒、30秒、40秒、1分钟、2分钟,优选为30秒)或混合所述脂肪组织,或者

[0221] b. 将步骤i)、ii)、iv) 或v) 的所述脂肪组织培养在20-80%的PC、PRP、生物材料、与透明质酸结合的PC、透明质酸、与壳聚糖结合的PC、与丝结合的PC、壳聚糖或丝中,以及

[0222] vii) 可选地,注射产生的组合物,优选地,经由皮肤注射或施加到期望的部位。

[0223] 优选地,通过前后运动混合所述脂肪组织直到成体脂肪细胞破裂的步骤实现了对干细胞巢和/或周细胞的基质的采集。

[0224] 在一个实施例中,由如图4或图5所示的系统执行使用洗涤液(优选为磷酸盐缓冲盐水(PBS)或生理血清溶液)洗涤脂肪组织的步骤,其中,一个注射器包含PBS或生理血清溶液,并且另一个注射器包含脂肪组织。可选地,在优选的实施例中,通过使用如图8所示的多连接器设备执行该洗涤步骤,该设备有利地允许经由分隔混合多种组合物,并且使用在封闭线路中执行的完整程序实现废物处理。

[0225] 在另一方面,本发明提供实现混合至少2、3、4、5、6种或更多物质或组合物的多连接器设备,其特征在于:

[0226] i) 至少2、3、4、5、6或更多容器(优选为注射器)可被连接至(优选地,在封闭线路中)多连接器设备的不同的分隔位置(这些分隔位置与不同的输入相对应),参见图8的实施例,具有编号为1-4从而具有4个输入的4个注射器,

[0227] ii) 可选的至少一个包、两个包、三个包、四个包、五个包、六个包或更多包,用于以同时或顺序的方式采集废物和/或采集来自一个或多个容器的物质或组合物,其中,优选以封闭线路连接所述包;参见图8的实施例,其仅具有连接至多设备连接器的一个包;在一个实施例中,包可针对每个容器被连接至多设备连接器(在一个实施例中,我们具有五个包,包1用于注射器1,包2用于注射器2,包3用于注射器3,包4用于注射器5,以及如图8所示的包;包可以位于注射器的相对端,作为直接的延续或者在两个注射器之间;该包可以采集仅来自一个注射器的废物,或者优选地,来自两个或更多注射器的废物,优选为两个注射器)

[0228] iii) 可选地,至少一个设备、两个设备、三个设备、四个设备、五个设备、六个设备或更多设备,该设备优选为位于所述多连接器设备上的分接头:

[0229] a. 在多连接器设备上的i) 的每个容器的末端处,例如如图8所示,和/或(二选一或者组合)

[0230] b. 在多连接设备上的i)的容器之间,其中该设备实现对于在多个容器(例如,注射器)中包含的组合物或物质的释放的控制,其还有利地实现了在该设备例如位于每个连接器之间的情况下(例如,与多连接器设备上的容器距离相等),多连接器设备的不同区域的分隔(分段)。

[0231] 有利地,容器末端处的分接头实现了对所述注射器中包含的组合物或物质的释放的控制,其中两个注射器之间的分接头实现了对源于2、3、4、5、6个或更多容器的组合物或物质的流量控制(对来自多个容器或注射器的不同组合物或物质的混合物的流量控制)。

[0232] 注射器可以在形式和尺寸上有差异。注射器的容量也可以从例如1ml变化至60ml容量。

[0233] 在一个实施例中,设备或分接头位于图8的多连接器设备上的注射器2和注射器3之间,这实现了图8中注射器1和2与注射器3和4的分隔/分段,这实现了对流量的控制。有利地,操作者因此可以决定停止或启动这两个分隔之间的流量或者甚至所控制的流量(在分隔之间从弱到强的流出量)。有利地,操作者可以因此在一个实施例中顺序地但优选为同步地:将(i)在注射器1和2中包含的物质或组合物混合在一起,以及将(ii)在注射器3和4中包含的物质或组合物混合在一起,而不是将注射器1、2、3和/或4中包含的物质或组合物混合在一起。

[0234] 在一个实施例中,这些分隔可以甚至被分离或者与连接器设备连接在一起。换句话说,在一个实施例中,多连接器设备可被连接在一起,例如,实现两个容器的连接的多连接器设备被连接至另一个相同的多连接器设备,从而获得可能具有四个连接的容器的组合多连接器设备。这对操作者执行如下操作来说具有优势:针对特定需求的步骤单独地处理多连接器设备,并且之后针对需要例如混合(位于单独的多连接器设备上的容器中包含的)物质或组合物的步骤而组装它们。

[0235] 在一个实施例中,分接头实现“开/关”模式(完全释放或者完全不释放),或者允许精确地控制在每个容器(注射器)中包含的组合物或物质从打开(完全释放)到关闭位置(完全不释放)的释放或流出量。

[0236] 可在容器或注射器中存在的物质或组合物有:PC、PRP、生物材料、与透明质酸结合的PC、透明质酸、与壳聚糖结合的PC、与丝结合的PC、壳聚糖、丝蛋白、蚕丝蛋白、抗凝剂、PC或BMC保存溶液、勃脉力A、凝固激活剂、凝血酶血清、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、具有干细胞的生物组织(例如,脂肪组织)、具有干细胞的生物流体(例如,骨髓浓缩液)、乳脂、脂肪细胞、干细胞、骨髓浓缩液、润滑素(lubricin)、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物,优选为自体细胞提取物,该细胞提取物例如选自角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、间质干细胞(MSC)、前脂肪细胞、脂细胞、前内皮细胞、雪旺细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物。

[0237] 本文中限定了对于将连接到多连接器设备的不同容器或注射器中包含的物质或组合物的不同的可能配置的实施例。本发明包含其他类型的配置。

[0238] 在一个实施例中,多连接器设备被连接至三个注射器和一个包,参见图8,但是少用一个注射器(例如,注射器4)。在该实施例中,使用编号为1到3的3个注射器和包(参见图

8)。注射器1包含：(优选为选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合的)生物材料、血小板浓缩液、PRP、BMC或者生物材料与血小板浓缩液 (PRP) 的结合 (优选为PRP与透明质酸)。注射器2包含：具有干细胞的生物组织 (例如, 脂肪组织)、具有干细胞的生物流体 (例如, 骨髓浓缩液)、脂肪细胞、干细胞、骨髓浓缩液和/或一个或多个细胞提取物, 优选为自体细胞提取物, 该细胞提取物选自例如角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、间质干细胞 (MSC)、前脂肪细胞、脂细胞、前内皮细胞、雪旺细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物。注射器3包含洗涤液, 如PBS或生理血清。在该实施例中, 洗涤液被用于洗涤在注射器2中包含的物质或组合物 (优选为包含干细胞的脂肪组织组合物), 其中如图8所示, 在包中采集废物。

[0239] 当包含在注射器2中的物质或组合物被洗涤后, 将其与注射器1的组合物 (优选为PRP) 混合。注射器1中的组合物可以是范围为20%至80%的稀释组合物, 例如20%至80%的PRP。在本发明中, 混合注射器2与注射器1的组合物或物质的方法可被称为丰富。在一个实施例中, 注射器2的洗涤后的脂肪组织与注射器1的PRP混合。一旦混合被执行 (10秒、20秒、30秒、40秒、1分钟、2分钟或更久), 则产生的包括PRP和脂肪组织的组合物可被施加至人或动物上或者注射至人或动物中。本文中, 该产生的组合物可被称为伤口或组织愈合组合物。

[0240] 在另一个实施例中, 多连接器设备被连接至四个注射器和一个包, 参见图8。在该实施例中, 使用编号为1到4的4个注射器和包 (参见图8)。注射器1包含凝固激活剂, 如葡萄糖酸钙、凝血酶血清 (优选为自体凝血酶血清) 或者葡萄糖酸钙与凝血酶血清的结合。注射器2包含：(优选为选自透明质酸、壳聚糖、丝蛋白或蚕丝蛋白或者其任意组合的) 生物材料、血小板浓缩液、PRP、BMC或者生物材料与血小板浓缩液 (PRP) 的结合 (优选为PRP与透明质酸)。注射器3包含：具有干细胞的生物组织 (例如, 脂肪组织)、具有干细胞的生物流体 (例如, 骨髓浓缩液)、脂肪细胞、干细胞、骨髓浓缩液和/或一个或多个细胞提取物, 优选为自体细胞提取物, 该细胞提取物选自例如角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、间质干细胞 (MSC)、前脂肪细胞、脂细胞、前内皮细胞、雪旺细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物。注射器4包含洗涤液, 如PBS或生理血清。在该实施例中, 洗涤液被用于洗涤在注射器3中包含的物质或组合物 (优选为包含干细胞的脂肪组织组合物), 其中如图8所示, 在包中采集废物。当包含在注射器3中的物质或组合物被洗涤后, 将其与注射器2的组合物 (优选为PRP) 混合。注射器2中的组合物可以是范围为20%至80%的稀释组合物, 例如20%至80%的PRP。在本发明中, 混合注射器3与注射器2的组合物或物质的方法可被称为丰富。在一个实施例中, 注射器3的洗涤后的脂肪组织与注射器2的PRP混合。一旦混合被执行 (10秒、20秒、30秒、40秒、1分钟、2分钟或更久), 则产生的包括PRP和脂肪组织的组合物可以随后与注射器1的组合物或物质 (例如, 葡萄糖酸钙、自体凝血酶血清或其组合) 混合。该最后的混合将实现PRP的凝固激活。产生的组合物 (例如, PRP、脂肪组织和凝固激活剂) 可被施加至人或动物上, 或者被注射至人或动物中。本文中, 该产生的组合物可被称为伤口或组织愈合组合物。

[0241] 在本发明的一个实施例中, 所有前述的方法部分或仅使用多连接器设备, 以用于混合 (包含在各个容器或注射器中的) 物质或组合物, 用于处理 (包含在各个容器或注射器

中的)任何物质或组合物(例如,酶处理,洗涤处理等),和/或用于移除任何废物。

[0242] 在另一个方面,本发明提供用于组织(例如,脂肪)处理的套管,如图9和图10所示。本文中,该套管可以被替换地称为“组织采集套管”或“抽脂套管。”在另一个方面,本发明提供组织采集或抽脂套管,包括:

[0243] a) 具有远端和近端的筒状管,该筒状管的近端可被插入组织或腔;

[0244] b) 多个旋切孔(peeling aperture),每个旋切孔表现为螺旋开口或螺旋孔(或者蜗牛形开口或孔)。

[0245] 可以通过如下方式获得该螺旋开口或孔(参见图10B和10C):

[0246] (i) 在筒状管上制造开口,以及

[0247] (ii) 将筒状管同时地挤压或推送至与每个开口的轴向垂直的两个相对的位点。

[0248] 在另一个实施例中,螺旋或蜗牛形开口或孔可以表现为半径递减。螺旋或蜗牛形开口或孔的特征可在于:i) 与筒状管的其他部分相比,挤压位点的位置更接近轴孔(axial hole),或者在于,与筒状管的其他部分相比该挤压位点具有更小的直径;和/或

[0249] ii) 孔的一边的虚拟延伸部分将位于该孔的另一边之下。

[0250] 有利地,该螺旋或蜗牛形开口实现了对生物组织的无创伤引导式剥离。该结构实现了对生物组织的薄层的采集,与软采集或软剥离以及在脂肪组织情况下的软抽脂相对应,其保留了细胞的完整性(无损伤采集)。这些层可被认为是组织(脂肪)粒面或碎片。随着被剥离的生物组织(凭借正在进入的被剥离生物组织)被逐渐地转移至套管的远端,这还实现了生物组织更为容易地输送至连接至套管的容器或注射器(参见图9)。

[0251] 在另一个实施例中,套管还可以表现为:孔位于套管的近端,全部位于套管近端的1/3、1/4或1/5处(参见图10)。在一个实施例中,套管具有三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个或更多孔,优选为五个孔。有利地,这实现了对表示用于组织采集的适当表面的生物组织的局部剥离。另外,有利地,这还实现了深度采集手术部位的生物组织(如位于近端处)。

[0252] 在另一个实施例中,套管还可以表现为所有孔被轴向地、径向地和/或有角度地布置。优选地,以螺旋状的方式布置孔或开口(图10)。由约30°、32°、34°、36°、38°或40°的角度(优选为36°)分离每个开口或孔。有利地,该开口或孔的布置还实现了无损伤的组织采集。由于生物组织更容易地前进至套管的远端,这还实现了将生物组织更为容易地输送到连接至套管的容器或注射器(参见图9)。

[0253] 在另一个实施例中,套管的特征还在于:抽吸软管被连接至套管的远端以便抽出被剥离的生物组织。

[0254] 在另一个实施例中,套管(例如,脂肪采集套管)可被连接至容器或注射器(优选为在封闭线路中),其中,最后采集生物组织的薄层以进一步处理(图9)。图9的这种注射器可例如被连接至图8的多连接器设备。可以通过来自容器或注射器的机械吸引,和/或通过使用吸气式管道和/或容器或注射器内的真空产生的自动吸引,来增强从套管近端至所述连接的容器或注射器的对生物组织的采集。

[0255] 孔的尺寸可以为约10mm,每个孔或开口之间的距离为约4mm,整个套管为约170mm,套管的外径为约2.5mm,套管的内径为约2.1mm(参见图10)。

[0256] 在另一个实施例中,可以通过延伸开口的边缘而使得套管的开口变形(图10D)。

[0257] 在一个实施例中,可以由操作者分别或单独地关闭旋切孔。在另一个实施例中,可以由操作者(例如,外科医生)通过使用例如从套管远端到近端的滑动设备来逐步地关闭旋切孔。该滑动设备向套管近端推进的越多,则被关闭的孔越多。在该实施例中,操作者可以从远端关闭仅第一孔、前两个孔、前三个孔、前四个孔,或者在终止脂肪采集时关闭所有孔。这具有根据要采集的区域大小为操作这提供灵活性的优点(如果尺寸重要则打开所有孔;如果仅需要小的采集区域则可以关闭一些孔)。在这种可以关闭孔的实施例中,筒状管可以包含更多的孔或者相对于图10在整个管上包含更多的孔。

[0258] 在另一个方面,本发明提供通过使用一个或多个所述多连接器设备(例如,如图8所示)和/或所述套管(例如,如图9和10所示)获得的组合物(例如,i)PRP/生物材料与ii)脂肪组织/生物组织或生物流体;或者,i)PRP/生物材料、ii)脂肪组织/生物组织/流体与iii)凝固激活剂)。

[0259] 在另一个方面,本发明提供用于通过使用一个或多个所述多连接器设备(例如,如图8所示)和/或所述套管(例如,如图9和10所示)制备组合物、伤口愈合组合物或组织愈合组合物(例如,i)PRP/生物材料与ii)脂肪组织/生物组织或生物流体;或者,i)PRP/生物材料、ii)脂肪组织/生物组织/流体与iii)凝固激活剂)的方法。

[0260] 在另一个方面,本发明提供组合物、伤口愈合组合物或组织愈合组合物(例如,i)PRP/生物材料与ii)脂肪组织/生物组织或生物流体;或者,i)PRP/生物材料、ii)脂肪组织/生物组织/流体与iii)凝固激活剂)在皮肤护理,骨关节炎,关节,肌腱和/或韧带,治疗,皮肤医学,牙科学,骨科学,运动医学,化妆品,美学,外科学,眼科学,美索疗法,注射,渗透,皮下应用、伤口护理、体积增强、体积校正、机械支持和/或黏弹性补充治疗中的应用。本文描述了进一步的应用。

[0261] 在另一个方面,本发明提供包括一个或多个所述套管(例如,如图9和10所示)或者由其组成的医疗器械。在另一个方面,本发明提供包括一个或多个所述多连接器设备(例如,如图8所示)或者由其组成的医疗器械。在另一个方面,本发明提供包括一个或多个所述多连接器设备以及一个或多个所述套管或者由其组成的医疗器械。在另一个方面,本发明提供包括一个或多个所述多连接器设备以及一个或多个注射器或者由其组成的医疗器械。在另一个方面,本发明提供包括一个或多个所述套管以及一个或多个注射器或者由其组成的医疗器械。在另一个方面,本发明提供包括一个或多个所述多连接器设备、一个或多个所述套管以及一个或多个注射器或者由其组成的医疗器械。其他设备或容器可被包含在所述医疗器械中,如放血辅助设备、针、如本文中结合图8提到的容器和/或管、预充有生物材料、抗凝剂和/或细胞选择器胶体的容器和/或管(例如,具有触变性胶体和抗凝剂的管,或者具有触变性胶体、抗凝剂和透明质酸的管)。

[0262] 在另一个方面,本发明提供用于制备洗眼剂的方法,包括如下步骤:

[0263] i) 将全血采集至根据任意前述方面或实施例的至少一个容器或注射器中,优选地,通过:

[0264] a. 执行静脉穿刺,优选使用连接至采集夹持器的蝴蝶针,

[0265] b. 可选地,使用采集系统的内部针刺穿容器的阻塞物以用全血填充该容器。优选地,容器内的真空将实现对必要血量(例如,约8ml)的自动采集,

[0266] c. 可选地,小心地倒置容器,优选倒置数次,

- [0267] d. 可选地, 关闭血液采集针, 优选使用安全锁系统,
- [0268] ii) 离心分离, 优选地, 进行约5分钟至约10分钟, 优选以约1500g的离心力进行离心分离,
- [0269] iii) 可选地, 使PC均匀化, 优选地, 通过和缓地反转容器数次来实现, 优选地, 使上清液中的细胞沉积重新悬浮(可以获得约4ml的PC),
- [0270] iv) 可选地, 优选在单独使用的点滴分液器中制备包含PC或BMC的洗眼剂, 优选地, 通过:
- [0271] a. 从PC容器抽出PC, 优选使用至少一个注射器(例如, 5ml)以及至少一个输送设备,
- [0272] b. 将PC输送至洗眼剂容器, 优选地, 通过将至少一个套管连接至注射器,
- [0273] c. 将分液器接附或放置到容器内, 并且可选地, 密封分液器和容器。
- [0274] 在另一个方面, 本发明提供用于制备与PC结合的葡萄糖酸钙的方法, 包括如下步骤:
- [0275] i) 将全血采集至根据任意前述方面或实施例的至少一个容器或注射器中, 优选地, 通过:
- [0276] a. 优选使用连接至采集夹持器的蝴蝶针执行静脉穿刺,
- [0277] b. 可选地, 使用采集系统的内部针刺穿容器的阻塞物以用全血填充该容器。优选地, 容器内的真空将实现对必要血量(例如, 约8ml)的自动采集,
- [0278] c. 可选地, 小心地倒置容器, 优选倒置数次,
- [0279] d. 可选地, 关闭血液采集针, 优选使用安全锁系统
- [0280] ii) 离心分离, 优选地, 进行约5分钟至约10分钟, 优选以约1500g的离心力进行离心分离,
- [0281] iii) 可选地, 使PC均匀化, 优选地, 通过和缓地反转容器数次来实现, 优选地, 使上清液中的细胞沉积重新悬浮(可以获得约4ml的PC),
- [0282] iv) 将PC采集至注射器(例如, 3ml)中, 优选地, 通过拧合至输送设备,
- [0283] v) 可选地, 将葡萄糖酸钙添加至PC, 优选通过将针(17G)连接至PC注射器, 以及优选添加约10%至约30%的葡萄糖酸钙。优选地, 在注射器中使PC与葡萄糖酸钙均匀化, 优选通过和缓地反转注射器来实现。
- [0284] 在另一个方面, 本发明提供用于制备与PC和/或凝血酶血清(例如, ATS)结合的BMC的方法, 包括如下步骤:
- [0285] i) 使用至少一个注射器采取髓内血, 优选在无菌环境中,
- [0286] ii) 输送至至少一个管内, 优选地, 通过将包含髓内血的每个注射器连接至输送设备, 优选地, 通过将其小心地放置在管的阻塞物上并且通过保护膜施加轻微压力(该血液将由管直接抽出, 该管实现约8ml的最终容量),
- [0287] iii) 可选地, 重复这一程序以填充每个可用的管
- [0288] iv) 可选地, 一旦填充完成, 应用自粘盘以堵塞覆盖管的保护膜中的孔,
- [0289] v) 可选地, 和缓地反转管以获得抗凝剂的均匀扩散,
- [0290] vi) 离心分离该管, 优选地, 使用两次离心分离, 第一离心分离以约2600g持续约2分钟并且第二离心分离以2000g持续6分钟(在离心分离之后, 髓内血被分馏, 红细胞被捕获

在胶体下并且细胞组分位于胶体表面上),

[0291] vii) 制备最终量的骨髓浓缩物, 优选通过小心地处理管, 优选地, 通过:

[0292] a. 可选地, 移除保持管的无菌性的保护膜,

[0293] b. 可选地, 使用优选与套管适配的注射器通过刺穿管的阻塞物抽取 (优选和缓地抽取) 过量的上清液 (约2ml),

[0294] c. 可选地, (优选和缓地) 反转管, 以使位于胶体上的细胞重新悬浮,

[0295] d. 使用注射器 (优选为与输送设备适配的注射器) 采出细胞浓缩液。

[0296] viii) 与前述步骤同时地或顺序地制备具有可选的自体凝血酶血清 (ATS) 的PC, 包括如下步骤:

[0297] vi) 将全血采集至根据任意前述方面或实施例的至少一个容器或注射器中, 优选地, 通过:

[0298] a. 优选使用连接至采集夹持器的蝴蝶针执行静脉穿刺,

[0299] b. 可选地, 使用采集系统的内部针刺穿容器的阻塞物以用全血填充该容器。优选地, 容器内的真空将实现对必要血量 (例如, 约8ml) 的自动采集,

[0300] c. 可选地, 小心地倒置容器, 优选倒置数次,

[0301] d. 可选地, 关闭血液采集针, 优选使用安全锁系统,

[0302] e. 可选地, 针对ATS的采集重复相同的过程,

[0303] vii) 离心分离, 优选地, 进行约5分钟至约10分钟 (优选9分钟), 优选以约1500g的离心力进行离心分离 (在PC/BMC管中, 在离心分离之后, 血液被分馏并且细胞组分位于管中的胶体表面上; 在ATS管中, 在离心分离之后, 凝块位于胶体上, 液体部分构成激活的凝血酶血清), 以及

[0304] viii) 可选地, 使PC均匀化, 优选地, 通过和缓地反转容器数次来实现, 优选地, 使上清液中的细胞沉积重新悬浮 (可以获得约4ml的PC), ix) 采集PC和/或ATS溶液并且混合溶液, 优选地, 通过

[0305] a. 优选使用与输送设备 (8) 适配的注射器采取管内的PC, 和/或

[0306] b. 优选使用与套管 (例如, 80mm) 适配的约1ml的无菌注射器采取ATS管内的上清液血清 (自体凝血酶血清),

[0307] c. 可选地, 混合所有制品。

[0308] 可以顺序地或同时地预充生物材料、透明质酸和/或壳聚糖、聚合物和/或抗凝剂, 可选地为在制造过程中预充, 可选地为通过一个或多个注射器预充。优选地, 顺序地预充透明质酸和/或壳聚糖、聚合物和/或抗凝剂。

[0309] 在另一个方面, 本发明提供自动地制造根据本发明任意方面或实施例的容器或注射器的方法, 包括:

[0310] a. 将容器、管或注射器填充以下任一种:

[0311] i. 抗凝剂,

[0312] ii. 聚合物和抗凝剂,

[0313] iii. 生物材料和抗凝剂, 或者

[0314] iv. 生物材料、聚合物和抗凝剂,

[0315] b. 可选地, 允许容器、管或注射器的可控真空和/或堵塞。

[0316] 本文中,细胞选择器胶体可被称为聚合物。

[0317] 可以在本发明的制造方法的一个或多个步骤中结合本文描述的其他物质。

[0318] 在另一个方面,本发明提供通过包括容器或血液管的受控真空和堵塞的充填机自动制造容器或血液管的方法。

[0319] 在一个实施例中,根据本发明任意方面或实施例的容器或注射器预充有选自琼胶、琼脂、胶原、壳聚糖、生长因子、抗坏血酸、白蛋白、蚕丝蛋白、丝蛋白或丝素蚕丝蛋白或者透明质酸的物质。

[0320] 琼胶、琼脂、胶原、抗坏血酸、白蛋白、丝蛋白或丝素蚕丝蛋白都可以显示对于本发明的组合物有用的稳定性和/或粘度特性。在一个实施例中,透明质酸或壳聚糖可以由琼胶、琼脂、胶原、抗坏血酸、白蛋白、蚕丝蛋白和/或丝蛋白或者丝素蚕丝蛋白代替或者与其结合。优选地,透明质酸或壳聚糖可以由蚕丝蛋白或丝蛋白或者丝素蚕丝蛋白代替或者与其结合。在一个实施例中,蚕丝蛋白或丝蛋白或者丝素蚕丝蛋白可以与PC和/或BMC结合。在另一个实施例中,蚕丝蛋白或丝蛋白或者丝素蚕丝蛋白可以与结合了PC和/或BMC的壳聚糖和/或HA结合。在另一个实施例中,白蛋白可以与PC和/或BMC结合。在另一个实施例中,白蛋白可以与结合了PC和/或BMC的壳聚糖和/或HA结合。在另一个实施例中,白蛋白可以与壳聚糖和/或HA、丝蛋白或丝素蚕丝蛋白结合,并且进一步与PC和/或BMC结合。

[0321] 在一个实施例中,可以在根据本发明任意方面或实施例的容器或注射器中预充选自琼胶、琼脂、胶原、壳聚糖、生长因子、抗坏血酸、白蛋白、蚕丝蛋白、丝蛋白或丝素蚕丝蛋白或者透明质酸和/或其任意组合的物质。

[0322] 在一个实施例中,可以使用或结合类似的物质以取代透明质酸或者与透明质酸结合,例如,琼脂、琼胶、胶原、壳聚糖、白蛋白和/或丝蛋白或丝素蚕丝蛋白,和/或其任意组合。

[0323] 优选地,抗凝剂是枸橼酸或枸橼酸钠。

[0324] 优选地,聚合物是触变性胶体。

[0325] 优选地,容器、管、注射器、工具包或器械用于人类使用或人类治疗。在一个实施例中,容器、管、注射器、工具包或器械可用于动物,或者适用于兽医使用或动物治疗。

[0326] 优选地,在受控的层流和/或生物负载下执行根据任意前述方面的制造方法。

[0327] 容器、管或注射器可以是不同的形状并且由水晶、玻璃、塑料或金属制成。优选地,容器、管或注射器可以由塑料制成,优选为COP或COC,优选为没有邻苯二甲酸酯。

[0328] 在另一个实施例中,本发明提供浓度为约1.5%至约2.5%的约1000KDa至约2000KDa的透明质酸(HA),浓度为约1.8%至约2.2%的约1400KDa至约1600KDa的透明质酸(HA),浓度为约1.8%至约2.2%(更优地,浓度为约1.7%至约2%)的约1550KDa的透明质酸(HA)。该HA特别适用于注射或渗透、皮内注射、皮下应用、关节内渗透、瘘管和/或作为生物胶。

[0329] 该透明质酸的组合物还特别适用于与血小板浓缩液结合,优选与富血小板血浆(PRP)结合。

[0330] 在另一个方面,本发明提供浓度为约1.5%至约2.5%的至少约4000KDa(约4000KDa或超过4000KDa)的透明质酸,浓度为约1.8%至约2.2%的至少约4000KDa(约4000KDa或超过4000KDa)的透明质酸(更优地,浓度为约2%的约4000KDa的透明质酸),浓度

为约1.8%至约2.2%的约4000KDa至约6000KDa的透明质酸。该组合物特别适用于机械支持、皮内注射、皮下应用、体积校正和或黏弹性补充治疗。

[0331] 在一个实施例中,本发明包含分子量和浓度不同的至少两种透明质酸的组合。

[0332] 在另一个方面,本发明提供包括至少一种低分子量透明质酸和至少一种高分子量透明质酸的透明质酸组合物,其特征在于:

[0333] -低分子量透明质酸低于600KDa或者约为600KDa,以及

[0334] -高分子量透明质酸约为4000KDa或者高于4000KDa(至少约4000KDa)。

[0335] 在另一个方面,本发明提供包括一种低分子量透明质酸和一种高分子量透明质酸的透明质酸组合物,其特征在于:

[0336] -低分子量透明质酸低于600KDa或者约为600KDa,以及

[0337] -高分子量透明质酸约为4000KDa或者高于4000KDa(至少约4000KDa)。

[0338] 至少一种透明质酸具有低于600KDa的分子量或者约为600KDa的分子量,并且至少一种透明质酸具有高于4000KDa的分子量或者约为4000KDa的分子量。在一个实施例中,至少一种透明质酸具有约400KDa至约600KDa的分子量,并且至少一种透明质酸具有约4000KDa至约6000KDa的分子量。

[0339] HA可以是网状的或者非网状的。

[0340] 优选地,在总浓度为约2.2%至约2.8%的情况下,各自的比例为约2:3(低分子量透明质酸比高分子量透明质酸;即,低于600KDa或者约为600KDa的透明质酸比高于4000KDa或者约为4000KDa的透明质酸)。替代地,在总浓度为约3%至约3.5%的情况下,各自的比例为约8:3。该配方特别适用于机械支持、皮内注射、皮下应用、体积校正和或黏弹性补充治疗。

[0341] 有利地,该透明质酸组合达到对于操作来说适当的粘度。有利地,在分子量不同的HA组合中,高分子量HA可以增加适用于机械支持的粘度,并且低分子量HA可以通过保护细胞及其活动性促进细胞增殖/再生。

[0342] 由于其稳定特性以及粘度的保持性,壳聚糖可以特别适用于与HA和/或血小板浓缩液的组合。壳聚糖还可以增强PRP-HA组合物的稳定性和/或效用。此外,壳聚糖在生理温度(即,约37°C)具有凝固特性。在室温时该凝固特性不存在,使得壳聚糖特别有益于人类使用。有利地,在本发明的配方中,可以不需要除壳聚糖之外的其他凝固激活剂。因此,壳聚糖可以不仅在其稳定性和粘度保持特性上具有益处,还可以作为凝固激活剂。因此,针对富血小板血浆的制备,壳聚糖可以特别有益于需要凝固激活剂的所有配方。壳聚糖的存在使得该配方特别适用于涉及软骨的所有适应症或者治疗。在本发明的一个实施例中,本发明的凝固激活剂可以由壳聚糖代替或者与壳聚糖结合。

[0343] 本文中,HA或壳聚糖可以由蚕丝蛋白和/或丝蛋白或丝素蚕丝蛋白或者任何其他生物材料代替,或者与其结合。

[0344] 优选地,透明质酸位于管或注射器的底部,接下来是触变性胶体,并且上面是抗凝剂,优选为枸橼酸钠。

[0345] 本发明的抗凝剂可以是枸橼酸,例如,约0.10M的枸橼酸钠缓冲溶液,或者约3.5mg/ml的无水枸橼酸钠。优选为约0.109M的枸橼酸钠。

[0346] 在优选的方面,本发明提供容器,优选为管,其包括1550KDa的约2.0g的透明质酸、

约1.9g的聚合物胶体(触变性胶体),以及约0.109M的约0.7ml的枸橼酸钠溶液。

[0347] 优选地,容器(优选为管)包含约1ml至约2ml的透明质酸,约2g的细胞选择器或触变性胶体,以及0.109M的约1ml的枸橼酸钠。

[0348] 在进一步的实施例中,本发明提供容器,优选为管,其可被用于制备伤口修补组合物或者组织修补组合物,其选自:

[0349] i) 包括透明质酸和/或壳聚糖、聚酯型触变胶体和约0.10M的枸橼酸钠缓冲溶液的玻璃分离管,

[0350] ii) 包括透明质酸和/或壳聚糖、由高分子混合物形成的高触变性胶体和约3.5mg/m的无水枸橼酸钠的聚对苯二甲酸乙二醇酯分离管,

[0351] iii) 包括透明质酸和/或壳聚糖、聚酯型触变胶体和约0.10M的枸橼酸钠缓冲溶液的环烯烃共聚物(COC)或环烯烃聚合物(COP)分离管,或者

[0352] iv) 包含透明质酸和/或壳聚糖,以及约0.10M的枸橼酸钠缓冲溶液或约3.5mg/ml的无水枸橼酸钠的环烯烃共聚物(COC)或环烯烃聚合物(COP)过滤分离管。

[0353] 优选地,HA在磷酸盐缓冲液(PBS)中是混合的或浓缩的,优选为约2%。

[0354] 在另一个方面,对生物材料(优选为HA)进行蒸汽杀菌。在一个实施例中,从持续约8分钟的105°C到持续约20分钟的约121°C,对生物材料(优选为HA)进行蒸汽杀菌。优选地,在约105°C通过蒸汽对生物材料(优选为HA)持续杀毒8分钟。在一个实施例中,对包括HA配方的容器、注射器或管进行蒸汽杀菌。

[0355] 在另一个方面,本发明提供包括根据本发明的组合物的伤口修补剂或组织修补剂。

[0356] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的用于治疗的内组合。

[0357] 在另一个方面,本发明提供用于制备包括血小板浓缩液或富血小板血浆或BMC的伤口修补剂或组织修补剂的方法或过程,包括如下步骤:

[0358] a) 离心分离容器中的全血或骨髓,其中该容器优选为根据本发明的容器、管或注射器,以及

[0359] b) 采集包括血小板浓缩液或富血小板血浆或BMC的伤口修补剂或组织修补剂。

[0360] 优选地,以约1500g至约2000g的离心力(该速度以约20cm的半径采用约2500至约3000rpm的转速)执行离心分离步骤。优选地,在足够长度的时间内执行离心分离步骤,以便形成在包含血小板、淋巴细胞和单核细胞的血浆与包含红细胞的胶体之间的阻隔。优选地,离心分离时间为约3分钟至约15分钟,优选为5分钟至约10分钟。在一个优选的实施例中,离心分离速度为约1500g,采用约5分钟或约9分钟的离心分离时间。离心分离时间和速度取决于在设备中存在的配方。技术人员可以根据所使用的组合物确定适当的离心分离时间和速度。

[0361] 在一个实施例中,首先通过移除约一半的包含血小板血浆的上清液,将伤口修补剂或组织修补剂与全血浆分离。

[0362] 可选地,在离心分离步骤之后,将血小板浓缩液或富血小板血浆与透明质酸和/或壳聚糖混合。

[0363] 可选地,可以使用套管以启动均匀化、为了获得具有较高细胞浓度或较高粘度的混合物,在进入血小板重新悬浮之前,可以使用长套管精细地移除约0.5ml、约1ml或约

1.5ml的贫血小板血浆 (PPP) 上清液的上层。接着,可以通过管的和缓反转来执行将细胞沉淀物(均匀化)重新悬浮在剩余PRP中。

[0364] 在另一个方面,本发明提供用于制备包括血小板浓缩液或富血小板血浆或BMC的伤口修补组合物或组织修补组合物的过程或方法,包括如下步骤:

[0365] a) 离心分离根据本发明的容器、管或注射器中的全血或骨髓:

[0366] b) 可选地,移除贫血小板血浆,优选为约1ml的贫血小板血浆的上层,

[0367] c) 可选地,均匀化产生的组合物和/或重新悬浮上清液中的细胞沉淀物,优选地通过反转容器、管或注射器来实现,

[0368] d) 采集包括血小板浓缩液或富血小板血浆或BMC的伤口修补剂或组织修补剂,

[0369] e) 可选地,进一步混合所述伤口修补剂或组织修补剂,

[0370] f) 可选地,进一步结合所述伤口修补剂或组织修补剂与至少一个附加物质和/或一个或多个细胞提取物。

[0371] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的方法制备的伤口修补或组织修补组合物。

[0372] 优选地,根据本发明的容器、管或注射器被用于根据本发明的方法或工程中。优选地,容器、管或注射器不包含邻苯二甲酸酯。

[0373] 在一个实施例中,可以将伤口修补剂或组织修补剂与至少一个附加物质结合,诸如,凝固激活剂、凝血酶血清、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、透明质酸组合物、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、壳聚糖、蚕丝蛋白、丝素丝蛋白或丝素蚕丝蛋白、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、乳脂、脂肪细胞、脂肪组织、骨髓浓缩液、润滑素、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物,优选为自体细胞提取物,优选为选自角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、干细胞、间质干细胞(MSC)、前脂肪细胞、前内皮细胞、雪旺细胞、胶质细胞、神经细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物。

[0374] 在一个实施例中,为了感染部位的适当的凝固,可以添加约1%至约10%的葡萄糖酸钙。在一个实施例中,可以使用氯化钙。更优地,可以使用约10%的葡萄糖酸钙。替代地,可以使用糖二酸钙。在一个实施例中,可以使用葡萄糖酸钙与糖二酸钙的结合。例如,对于100ml的溶液,可以使用约9.5g的葡萄糖酸钙和约360mg的糖二酸钙。例如,对于2ml的单剂量安瓿,约0.19g的葡萄糖酸钙和约7.2mg的糖二酸钙可用于实现每2ml安瓿约0.463mmol的钙含量。例如,对于5ml的单剂量安瓿,约0.47g的葡萄糖酸钙和约18mg的糖二酸钙可用于实现每5ml安瓿约1.148mmol的钙含量。技术人员根据具体应用可以容易地确定适当的钙含量。

[0375] 本发明的组合物或配方提供体积效应,具有令人期望的在皮肤上的长期效果。细胞被平滑化或平整化。纤维母细胞被刺激,纤维母细胞的活动性被保持。本发明的组合物或配方允许保持纤维母细胞的结构。

[0376] 配方可以适用于具体应用,对于注射和/或渗透,可以使用该配方而不需要作为粘性配方的附加物质。

[0377] 作为对于技术人员/医生来说有用的其他应用,使用与生物材料结合的PC、A-PRP或PRP可以获得生物胶,而无需附加的物质。分液需要使用双分液器,其允许当PC加生物材

料物质被同时注射至手术部位时形成胶。在一个实施例中,双分液器可用于注射本发明的配方。

[0378] 为了获得更强的生物胶,可以将本发明的组合物或配方与凝固激活剂结合,该凝固激活剂如钙盐(优选为 CaCl_2)或凝血酶(优选为自体凝血酶)。代替地,或者除了 CaCl_2 或凝血酶之外,可以将本发明的组合物或配方与葡萄糖酸钙和/或糖二酸钙结合。

[0379] 针对对于技术人员来说显而易见的其他应用,缝合膜(suturable membrane)可能更适用。为了获得缝合膜,可以将本发明的组合物或配方与较高浓度的凝固激活剂结合,如自体或同源凝血酶、诸如 CaCl_2 的钙盐,但优选为葡萄糖酸钙。代替地,或者除了 CaCl_2 或凝血酶之外,可以将本发明的组合物或配方与TCP(磷酸三钙)结合。可将本发明的组合物或配方与TCP结合以用于深度注射和/或体积增强。

[0380] 还可以将单独的HA或HA的组合与壳聚糖、胶原、白蛋白或其他生物材料结合。壳聚糖可以来源于动物来源(例如,甲壳类动物)或者植物来源(例如,巴黎蘑菇)。

[0381] 本发明的容器、管、注射器、组合物或医疗器械可被用作眼睛的洗眼液(洗眼水)、用于关节(例如膝盖)、运动医学、肌肉损伤或者肩袖损伤。

[0382] 本发明的容器、管、注射器、组合物或医疗器械可被用于美学,美索疗法,皱纹填充(表面的和深度的),用作激光后、剥离后或单一疗法的面膜(例如,闪光、光泽、光亮或明亮),或者用于勃起功能障碍。

[0383] 本发明的容器、管、注射器、组合物或医疗器械可被用于伤口护理、糖尿病伤口或者大血管伤口。

[0384] 本发明的容器、管、注射器、组合物或医疗器械可被用于眼科学。

[0385] 可以采用数种方法来结合和/或实施配方或组合物。在一个实施例中,可以在如W02011/10948所描述的程序中,将根据本发明的配方或组合物与PC结合或者混合。W02011/10948被全部包含于本文中。

[0386] 在另一个方面,本发明提供还与如下物质结合的根据本发明的组合物:凝固激活剂、凝血酶血清、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、透明质酸组合物、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、壳聚糖、蚕丝蛋白、丝素丝蛋白或丝素蚕丝蛋白、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、乳脂、脂肪细胞、脂肪组织、骨髓浓缩液、润滑素、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物,优选为自体细胞提取物,优选为选自角质细胞、骨髓、纤维母细胞、骨膜或角膜细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞、脂肪细胞、诸如成肌细胞和卫星细胞的肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脐带细胞、干细胞、间质干细胞(MSC)、前脂肪细胞、前内皮细胞、雪旺细胞、胶质细胞、神经细胞或者阿基里斯腱细胞的提取物。

[0387] 在一个实施例中,在根据本发明任意方面的容器、管或注射器中预充、注入或插入凝固激活剂、凝血酶血清、细胞选择器胶体、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、透明质酸组合物、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、壳聚糖、蚕丝蛋白、丝素丝蛋白或丝素蚕丝蛋白、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、乳脂、脂肪细胞、脂肪组织、骨髓浓缩液、润滑素、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物,或者其任意组合。

[0388] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械;通过使用根据任意前述方面的容器、管、注射器或医疗器械获得的或者通过根据任意前述方面的方法获得的伤口修补组合物、组织修补组合物、细胞组合物、组合物、血小板浓缩液组合物、HA

组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试剂,以用于牙科学、骨科学、运动医学、化妆品、美容、外科手术、眼科学和/或美索疗法。

[0389] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械,以及通过使用根据任意前述方面的容器、管、注射器或医疗器械获得的或者通过根据任意前述方面的方法获得的伤口修补组合物、组织修补组合物、细胞组合物、血小板浓缩液组合物、HA组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试剂在如下领域的应用:其用于细胞再生,用于组织粘附,用于促进人类或动物的伤口愈合或组织愈合和/或组织和/或软骨和/或骨和/或伤口或组织中的神经的密封和/或再生,或者用于诱导具有牙周病的哺乳动物的伤口或牙周缺损中的牙周组织再生或者需要牙周组织再生的其他情况,或者用于韧带和/或软骨重建,或者用于促进瘢痕或皱纹中的皮肤再生,或者用于增加具有真皮脂肪移植物的哺乳动物的脂肪组织体积或者需要脂肪组织再生的其他情况,或者用于引导具有心肌缺陷的哺乳动物中的心肌再生或者需要心肌再生组织再生的其他情况,或者用于引导具有角膜缺陷的哺乳动物中的角膜再生或者需要角膜再生的其他情况,或者用于引导具有关节或软骨缺损的哺乳动物中的关节或软骨再生或者需要关节或软骨组织再生的其他情况,或者用于促进来自人类或低等动物的瘢痕、皱纹或脂肪缺陷中的皮肤再生,或者用于引导具有周围神经损伤、神经缝合或脊椎损伤的哺乳动物中的周围神经再生或者需要周围神经再生的其他情况,或者用于引导具有骨损伤、骨缺损的哺乳动物中的骨再生或者需要骨再生的其他情况,或者用于整形注射和美学注射,或者用于皮肤组织的再生和/或新生(特别是促进和/或开始皮肤再生,诸如减少皮肤皱纹、深度皱纹、痤疮、烧伤、风疹或天花疤痕、白癜风和脂肪萎缩,改善鼻唇线,以及治疗诸如皮肤烧伤、卡波西肉瘤、皮肤瘢痕疙瘩或杜普征氏掌纤维瘤病的皮肤损害或紊乱;以及,特别是减轻与皮肤和组织再生相关联的疼痛),或者用于伤口或组织愈合或再生治疗(特别地,在适应和/或控制和/或密封本体或假体移植中对心理创伤或手术伤口的治疗;对血管炎,诸如糖尿病神经性溃疡或褥疮性溃疡、糖尿病溃疡、穿孔性溃疡或者糖尿病穿孔性溃疡的溃疡,关节炎,骨关节炎,假关节炎,放射性皮炎和闭合瘻管的治疗),或者用于心脏疾病、诸如在治疗心脏衰竭、慢性心衰、缺血性和非缺血性心衰以及心肌病中的心脏再生,或者用于骨、软骨和关节疾病(诸如软骨损伤、软骨和/或骨损害(诸如深度软骨损伤和/或侵蚀/和/或关节镜检查)、肌腱撕裂以及肩膀中的肩袖损伤,或者用于诸如干眼症、(诸如由化学烧伤引起的、被史蒂文斯约翰逊综合症折磨的)角膜混浊、角膜瘢痕以及角膜溃疡的角膜疾病,或者用于周围神经损伤,神经缝合和脊髓损伤。

[0390] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械,以及通过使用根据任意前述方面的容器、管、注射器或医疗器械获得的或者通过根据任意前述方面的方法获得的伤口修补组合物、组织修补组合物、组合物、细胞组合物、血小板浓缩液组合物、HA组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试剂在伤口、受损组织、受损骨或者牙周组织缺损或口腔上的应用。

[0391] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械,以及通过使用根据任意前述方面的容器、管、注射器或医疗器械获得的或者通过根据任意前述方面的方法获得的伤口修补组合物、组织修补组合物、组合物、细胞组合物、血小板浓缩液组合物、HA组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试

剂在如下领域的应用:制造用于伤口或组织愈合或者用于促进骨或牙周生长和/或骨和/或组织再生(例如皮肤、软骨、肌肉、肌腱、韧带、脂肪组织、角膜、周边神经、脊椎或骨再生)的药物。

[0392] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械,以及通过使用根据任意前述方面的容器、管、注射器或医疗器械获得的或者通过根据任意前述方面的方法获得的伤口修补组合物、组织修补组合物、组合物、细胞组合物、血小板浓缩液组合物、HA组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试剂在如下领域的应用:制造用作抗老化试剂或皮肤修复试剂(诸如,瘢痕修复试剂,脂肪萎缩修复试剂,皱纹填充和/或修复试剂)、用于美学制剂、老化管理、体积校正剂和/或头发刺激剂的化妆品制剂。

[0393] 在另一个方面,本发明提供根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械,以及通过使用根据任意前述方面的容器、管、注射器或医疗器械获得的或者通过根据任意前述方面的方法获得的伤口修补组合物、组织修补组合物、组合物、细胞组合物、血小板浓缩液组合物、HA组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试剂在如下领域的应用:制造用于牙科,骨科,关节炎,骨关节炎,假性关节炎等的化妆品制剂。在一个实施中,在牙齿牙腔中、在糖尿病溃疡、穿孔性溃疡、糖尿病穿孔性溃疡或其他溃疡上施加伤口修补组合物或组织修补组合物。

[0394] 在一个实施例中,优选地,在形成凝块前,可以将伤口修补组合物、组织修补组合物、组合物、细胞组合物、血小板浓缩液组合物、HA组合物、壳聚糖组合物、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物、凝血酶血清或者止血试剂与磷酸三钙(TCP)、任意骨替代材料和/或透明质酸/壳聚糖结合。该组合物可被用作体积校正剂(10-30微米的TCP),用在牙科学、骨科学(50微米的TCP)中。

[0395] 组合包括TCP、透明质酸/壳聚糖和PRP组合物。优选的组合包括TCP、透明质酸/壳聚糖和A-PRP组合物。组合包括具有A-PRP组合物或PRP组合物的TCP、透明质酸、琼脂、壳聚糖、白蛋白、甘露醇、生长因子、抗坏血酸、胶原和/或丝蛋白或蚕丝蛋白。

[0396] 凝块的形成是多步骤过程或者多步骤级联,并且,这些步骤中的一些需要钙离子的存在。通过移除在全血中存在的钙离子,如同血液被采集到枸橼酸中的效果,血液可以避免凝结。钙螯合剂(在本文中也称为抗凝剂)是与血液中存在的钙起反应的化学品,该反应采用这样的方式:即钙不再能够对血液凝固起作用。最常见的螯合剂是枸橼酸盐(枸橼酸),因为其对凝血系统的组分具有最小的副作用。通过将血液采集至包含钙螯合剂(诸如,枸橼酸)的介质中,可以在多达数小时的时间段上执行样品采集以及进一步的枸橼酸样品的制备。优选的钙螯合剂是枸橼酸钠。

[0397] 可以使用约0.10M的枸橼酸钠缓冲溶液或者约3.5mg/mL的无水枸橼酸钠。

[0398] 替代地,水蛭素、苯甲酰基-DL-精氨酸-对硝基酰胺盐酸盐(BAPA)、肝素、枸橼酸、枸橼酸葡萄糖(ACD)、枸橼酸一茶碱一腺苷一潘生丁(CTAD)或者乙二氨四乙酸(EDTA)可被用作抗凝剂。可以使用抗凝剂的组合,并且经由多种或相同的注射器顺序地或者同时地将抗凝剂的组合注入血液管。

[0399] 在一个实施例中,可以使用替换的凝固激活剂来代替凝血酶血清,例如氯化钙或糖二酸钙,优选为葡萄糖酸钙。

[0400] 在一个实施例中,可以组合使用多种凝固激活剂,优选为凝血酶血清与葡萄糖酸钙,以及可选地为糖二酸钙。

[0401] 有利地,本发明的方法允许在整个过程期间(从制造过程、血液采集、操作直到向患者施加或注射),在完全封闭的线路中操作血液。因此,所有设备和工具包都适用于完全封闭线路操作,从而避免血液和血液管与空气直接接触。

[0402] 进一步的应用可以包括伤口愈合,或者用于促进骨或牙周组织生长和/或骨和/或组织再生。

[0403] 进一步的应用可以包括制造用作抗老化试剂或皮肤修复试剂(诸如,瘢痕修复试剂、皱纹填充和/或修复试剂)的化妆品制剂。

[0404] 进一步的应用可以包括制造用作美学制剂、老化管理、体积校正剂、皱纹填充物、褐斑减少和/或头发刺激剂的化妆品制剂。可以在眼睛、嘴唇、眼睑、脸、脖子、胸部、头皮、头发、手和身体的所有其他部分和/或男性和女性的生殖器上施加组合物,和/或在其周围施加组合物。在一个实施例中,将化妆品制剂和/或美学制剂与化妆品试剂、化妆品乳脂或化妆品面膜结合。进一步的应用包括美学,例如作为填充物。

[0405] 本配方可被施加到面膜上。

[0406] 进一步的应用可以包括韧带和/或软骨重建。有利地,与已知方法的相比,使用本发明的组合物的韧带和/或软骨重建时间要除以因子2或3。

[0407] 进一步的应用可以包括组织、骨和/或软骨的再生和/或新生。进一步的应用可以包括治疗:糖尿病神经性溃疡或褥疮性溃疡;诸如深关节软骨或软骨损伤(诸如对撕裂肌腱的手术修复)的骨和软骨损伤;由外伤或由老化引起的关节炎;肩袖疾病;例如在马的下肢中的难愈合的伤口,诸如血管炎诱发的伤口;牙周病;种植手术;心血管、胸部、移植、头颈部、口腔、肠胃、骨科、神经外科和整形手术;美索疗法和/或美索疗法注射;心肌损害,诸如慢性心力衰竭、心力衰竭、缺血性和非缺血性疾病、心肌症;胃食管反流病;肛门或尿失禁;面部手术,诸如面部手术引起的脱发(由于在侧烧伤区域中的毛囊损失导致的脱发),毛发缺损,秃头症,面部拉皮手术(除皱术),隆鼻术,(在治疗面部增大,诸如先天性鼻软骨萎缩的先天性面部偏侧萎缩和诸如患HIV/AIDS的患者的脂肪萎缩,生殖功能障碍,糜烂以及关节镜检查过程中的)真皮脂肪移植;诸如在眼睑整容术之后的伤口愈合并发症;角膜疾病,诸如由化学烧伤引起的、受史蒂文斯约翰逊综合症折磨的角膜混浊,以及角膜溃疡;角膜瘢痕;干眼症;诸如地中海贫血症的血液疾病;周围神经损伤;神经缝合和脊髓损伤;诸如骨移植或骨折的骨缺陷或疾病,诸如痤疮(特别是在磨皮治疗之后)、烧伤、风疹或天花瘢痕、白癜风、脂肪萎缩、卡波西肉瘤、皮肤瘢痕疙瘩或杜普征氏掌纤维瘤病的皮肤损伤或疾病。

[0408] 进一步的应用可以包括组织愈合,包括骨再生和修复、有丝分裂、血管生成和/或巨噬细胞激活。

[0409] 特别地,进一步的应用可以包括止血,组织的再生、新生、水合和/或刺激,作为生物胶,生物粘附胶或者生物填充物。

[0410] 特别地,进一步的应用可以包括伤口护理、手术、整形注射和美学注射、美容或者体积校正。

[0411] 进一步的应用可以包括皮肤组织的再生和/或新生,特别是促进和/或开始皮肤再生,诸如减少皮肤皱纹、深度皱纹、痤疮(特别是在磨皮治疗之后)、烧伤、风疹或天花瘢痕、

白癜风和脂肪萎缩(例如,抗衰老组合物和皮肤再生组合物),改善鼻唇线,以及在降低与皮肤和组织再生相关联的疼痛的情况下,对皮肤损伤或疾病(例如,皮肤烧伤、卡波西肉瘤、皮肤瘢痕疙瘩或杜普征氏掌纤维瘤病)的治疗;可以用于痔缓解,勃起功能障碍,腔(caverna),海绵体纤维化,拉佩罗尼疾病,阴道和/或阴唇。

[0412] 进一步的应用可以包括伤口或组织愈合;用于膝盖、肘,(撕裂的)肌肉、脊椎,椎间盘、肌腱、韧带的再生治疗或运动医学;对在适应和/或控制和/或密封本体或假体移植(尤其是皮肤、骨移植和/或牙修复体或移植物等,还包括移植供区)中的心理创伤或手术伤口的治疗;对关节炎、骨关节炎、膝关节炎、肌腱炎、肩袖损伤的治疗;对血管炎、溃疡(诸如,糖尿病神经性溃疡或褥疮性溃疡)、辐射性皮炎(例如,在对表皮样皮肤癌辐射之后)和闭合瘘管(诸如对于骑自行车的人)的治疗。

[0413] 进一步的应用可以包括对心脏疾病的治疗,诸如在治疗心脏衰竭、慢性心衰、缺血性和非缺血性心衰以及心肌病中的心脏再生。

[0414] 进一步的应用可以包括对尿和/或肛门失禁的治疗。

[0415] 进一步的应用可以包括对回流性食管炎和/或胃食管反流病的治疗。

[0416] 进一步的应用可以包括:对诸如在由辐射损伤的皮肤(辐射性皮炎或太阳损伤的皮肤)、老化的皮肤或烧伤的皮肤中的,和/或在改善面部皱纹、皱纹、痤疮(尤其是在磨皮治疗之后)、烧伤、风疹或天花瘢痕、白癜风、脂肪萎缩或脂肪代谢障碍、卡波西肉瘤、皮肤瘢痕疙瘩或者杜普征氏掌纤维瘤病中的,和/或在皮肤新生治疗中的皮肤损伤的治疗。

[0417] 进一步的应用可以包括对脂肪萎缩的治疗,诸如在HIV/AIDS患者中,或者在其他先天性面部偏侧萎缩(诸如,先天性鼻软骨萎缩)中。进一步的应用可以包括对骨、软骨和关节疾病的治疗,诸如软骨损伤、关节炎,骨关节炎、软骨和/或骨损伤(诸如,深度软骨损伤和/或侵蚀和/或关节镜检查)、肌腱撕裂以及肩膀中的肩袖损伤。

[0418] 进一步的应用可以包括对诸如地中海贫血症的血液疾病的治疗。

[0419] 进一步的应用可以包括治疗诸如干眼症的角膜疾病;诸如由化学烧伤引起的、受史蒂文斯约翰逊综合症折磨的角膜混浊;角膜瘢痕和角膜溃疡。

[0420] 特别地,进一步的应用可以包括对周围神经损伤、雪旺细胞损伤、胶质细胞损伤、神经损伤、神经缝合和脊髓损伤的治疗。

[0421] 特别地,进一步的应用可以包括对I型糖尿病、胰岛素依赖型糖尿病和/或高血糖症的治疗。

[0422] 进一步的应用可以包括对诸如骨移植或骨折的骨缺陷或疾病的治疗。

[0423] 可以在应用前并且根据治疗目标进一步修改对本发明产生的组合物的应用。

[0424] 本发明的组合物可以与骨填充材料,尤其是与可再次吸收的填充材料一起使用。可再次吸收的填充材料诸如是羟磷灰石(用作生物材料的磷酸钙陶瓷)或者去除矿物质的骨;或者在骨的再生长过程中(例如,在颅面和整形程序中)被用作具有骨提取物的混合物。

[0425] 进一步的应用可以包括整形术,如黏弹性补充治疗,或者用于使用本配方与干细胞、细胞提取物和/或TCP的组成的骨重建。

[0426] 进一步的应用可以包括如整形手术中的伤口密封材料,该整形手术包括烧伤植皮和其他自由皮肤移植应用(例如在肿瘤学中),该伤口密封材料用于促进组织再生,包括加速(新)血管形成。进一步的应用可以包括在皮肤移植供体部位处的伤口中的愈合治疗。

[0427] 进一步的应用可以包括作为生物胶的伤口护理,例如用于烧伤或糖尿病溃疡。

[0428] 特别地,进一步的应用可以包括对慢性伤口的治疗,该慢性伤口可能缺乏足够的血液循环来促进伤口愈合级联(cascade)。

[0429] 进一步的应用可以包括对牙周病的治疗,其中观察牙周组织的缺损和/或损坏,该治疗例如包括:在需要牙周组织再生的人类或低等动物的牙周部位或口腔处放置根据本发明的组合物。

[0430] 进一步的应用可以包括消除或极大地减少术后出血和溢出,或者在这些应用中损失的浆液或其他流体;降低由大部分细菌引起的感染风险;和/或与自然愈合(即,没有添加的外源试剂)相比提高结缔组织的形成,或者促进通过使用采用已知方法制备的其他血小板浓缩液、PRP组合物获得的愈合。

[0431] 特别地,进一步的应用可以包括促进和/或开始伤口愈合和/或组织再生,或者用于制备美学组合物以用于皮肤再生,诸如减少皮肤皱纹、痤疮(尤其在磨皮治疗之后)、风疹或天花瘢痕、白癜风和脂肪萎缩(例如,抗老化组合物和皮肤再生组合物)。

[0432] 由根据本发明的容器、注射器、管或医疗器械通过本发明的制造过程获得的组合物可被本地实施,或者被注射到伤口中或者被注射到移植器官中或其附近,或者被皮下注射。本地实施可以:通过在损伤或缺陷部位处注射,或者通过在部位处插入或接附固体载体,或者通过与乳脂或乳剂混合,或者通过包含在组织或者纸质或水凝胶载体中,或者通过直接、局部地施加本发明的组合物(诸如以眼药水的形式)。优选地,组合物是可容易注射的组合物。实施的模式,被实施到个体的剂量(如单个或多个剂量)将根据多个因子而变化,该因子包括药物动力学特性,患者条件和特征(性别、年龄、体重、健康、大小),症状的范围、并发治疗,治疗的频率和期望的效果。

[0433] 可以结合以下物质来实施本发明的组合物:诸如愈合试剂的有益于治疗组织再生的联合试剂,皱纹填充材料,诸如抗老化复合维生素的抗老化试剂,抗生素试剂,抗生素,皮质类固醇试剂,镇痛剂和镇痛试剂,或者如肾上腺素等的麻醉剂。通过本发明的制造过程获得的组合物可以与有益于治疗组织再生的联合试剂结合,以在诸如伤口愈合、骨和牙周生长修复的组织再生治疗中同时、单独或顺序地使用。

[0434] 进一步的应用可以包括治疗应用,特别是作为止血系统中的自体生物胶,其旨在加速例如在牙种植术、皮肤和骨科手术、软骨和肌腱手术、整形手术,角膜和周围神经再生以及心脏手术中的组织再生的生理过程。特别地,进一步的应用可以包括美容应用,特别是作为自体新生材料,其旨在单独地或者与至少一种抗老化试剂结合地用作例如皱纹、瘢痕或脂肪缺陷填充材料。

[0435] 特别地,进一步的应用可以包括加速和/或促进伤口(甚至慢性难愈合伤口)的愈合过程,从而导致成功的闭合(其中数周的常规疗法已经失败),并且实现了感染风险的降低、患者恢复和舒适度的提高、医疗成本的减少以及更好的美学最终结果。

[0436] 本发明的组合物、容器、管或者注射器还可以使用来源于数个确定供体的血浆。本发明不限于自体生物材料,诸如对来自受伤者自己的生物材料的浓缩血小板的采集。本发明包含使用来源于一个或多个第三方的生物材料,该第三方不需要与正使用本文描述的组合物治疗伤口的患者是相同物种,除非使用该第三方的生物材料会导致生物不相容。

[0437] 进一步的应用可以包括:一旦血小板浓缩液、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物

已开始胶化,通过向伤口施加适当量的血小板浓缩液、BMC组合物、PRP组合物、A-PRP组合物来密封手术伤口。此外,由于针对制造过程存在高质量标准,并且由于可以仅根据来源于将接收伤口或组织修补组合物的患者的血液组合物来制备伤口或组织修补组合物,因此将新的血液传播疾病传染给该患者的概率为零。

[0438] 可以将多种具有其他生物活性的药物或蛋白质添加至本文描述的组合物。(例如,在添加血清之前)被添加至组合物的试剂的示例包括但不限于:止痛剂化合物,抗菌化合物(包括杀菌和抑菌化合物),抗生素(例如,阿霉素、红霉素、庆大霉素、青霉素、妥布霉素),抗真菌化合物,抗炎药,抗寄生虫化合物,抗病毒化合物,酶,酶抑制剂,糖蛋白,生长因子,重组物(例如淋巴因子、细胞因子),激素,类固醇,糖皮质激素,免疫调节剂,免疫球蛋白,矿物质,神经抑制剂,蛋白质,肽,脂蛋白,肿瘤的化合物,破坏肿瘤的化合物,肿瘤静态化合物、毒素和维生素(例如,维生素A、维生素E、维生素B、维生素C、维生素D或其衍生物)。可预期的是,可以使用上述一些或全部的选定片段、部分、衍生物或类似物。

[0439] 在一个实施例中,本文描述的组合物可以与以下混合:凝固激活剂、凝血酶血清、磷酸三钙(TCP)、骨替代材料、透明质酸组合物、葡萄糖酸钙、糖二酸钙、壳聚糖、蚕丝蛋白、丝蛋白或丝素蛋白、生长因子、甘露醇、胶原、白蛋白、抗坏血酸、乳脂、脂肪细胞、脂肪组织、骨髓浓缩液、润滑素、cd-明胶、肉毒杆菌毒素和/或一种或多种细胞提取物。如本文所描述的,可以在制备血液管或注射器的期间,或者在在制备血液管或注射器之后(经由例如注射器)结合这些物质。

[0440] 可被用于本发明的任意方面或实施例中的生物材料可以选自:合成可降解的聚合物、聚乳酸/乙交酯、聚己内酯、聚羟基脂肪酸酯、聚(富马酸丙二醇酯)、聚氨脂、天然生物聚合物、蛋白质、胶原、弹性蛋白、纤维蛋白/纤维蛋白原,丝蛋白或蚕丝蛋白、多糖、藻酸盐、壳聚糖、透明质酸、生物活性陶瓷、磷酸钙、生物活性玻璃、复合材料、合成聚合物/生物活性陶瓷、生物聚合物/生物活性陶瓷、组织来源的ECM、小肠粘膜下层、皮肤细胞外基质、琼胶、甘露醇、白蛋白、琼脂和/或胶原。优选的生物材料为透明质酸、壳聚糖、丝蛋白、蚕丝蛋白和聚乳酸。这些生物材料可被用于代替透明质酸或者与透明质酸结合。

[0441] 根据本发明的任意方法权利要求获得的组合物或者本发明的容器或注射器还可以包括或者预充有松弛素,藻酸盐,富组蛋白,血管内皮生长因子(VEGF),阿伏特明(重组、活跃、人类TGFbeta3),双层皮肤替代物(GG-EGF/TEECM),脂质水胶敷料(Urgotul),包含天然黄酮类二氢槲皮素、磷脂卵磷脂和两性离子氨基酸甘氨酸的脂质体,Cepan乳脂,局部曲安奈德(TAC),普萘洛尔,辅酶Q10(CoQ10),2-[4-(2,4-二甲氧基-苯甲酰)-苯氧基]-1-[4-(3-吡啶-4-yl-丙基)-哌啶-1-yl]-乙醇衍生物,胶原,经皮的壳聚糖-葡聚糖衍生物胶体,马鞭草L,亚油酸乳剂,Corpitol乳剂,番木瓜属Candamarcensis,具有超吸收粒子、收敛性多叶Mart和收敛性硕首垂头菊广藿香的Flivasorb敷料,柑皮提取物,洋葱提取物,康瑞保凝胶,基于凡士林的油膏,基于水氯镁石的油膏,银泡沫敷料UrgoCell银,等离子皮肤再生(PSR),作为药用蘑菇的绣球菌(SC),拓扑异构酶I抑制剂喜树碱(CPT),包含三乙醇胺的外用乳剂(Biafine),含羞草,紫草赤松(Nordm.)草木樨的根(紫草科),碘,10-羟基喜树碱(HCPT),甘油三硝酸酯(GTN)油膏,P物质(SP),臭氧橄榄油,槐花蜂蜜,颠茄L.(AB)水提取物,肺衣属肺草属(L.)西洋参,Pteleopsis栓Engl,et Diels正丁醇部分,卤室木属薰衣草薄荷香(林仙科),破布木属辽东蒿丝裂霉素C(MMC),5-氟尿嘧啶,5%咪喹莫特乳乳脂,三

七。

[0442] 优点在于,所获得的产量具有可预测性,产生的组合物具有较高容量,完全密封的线路系统,和/或自动地将PRP/BMC输送至生物材料管或注射器内。

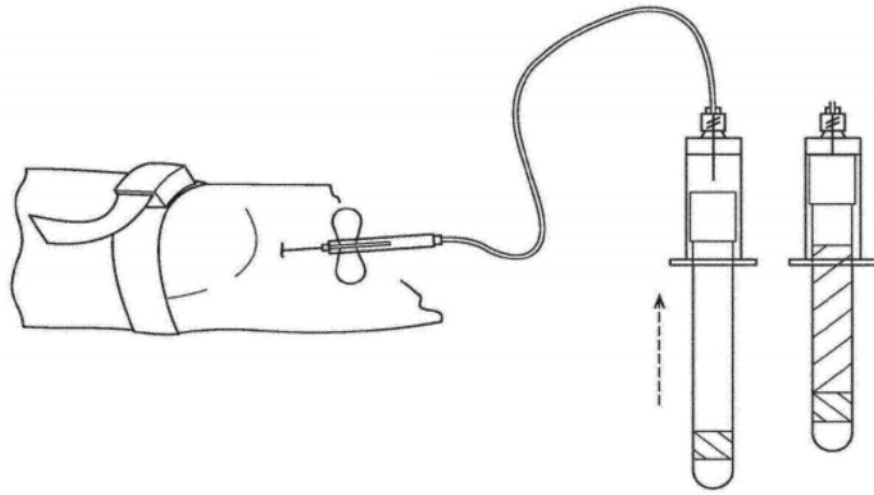


图1

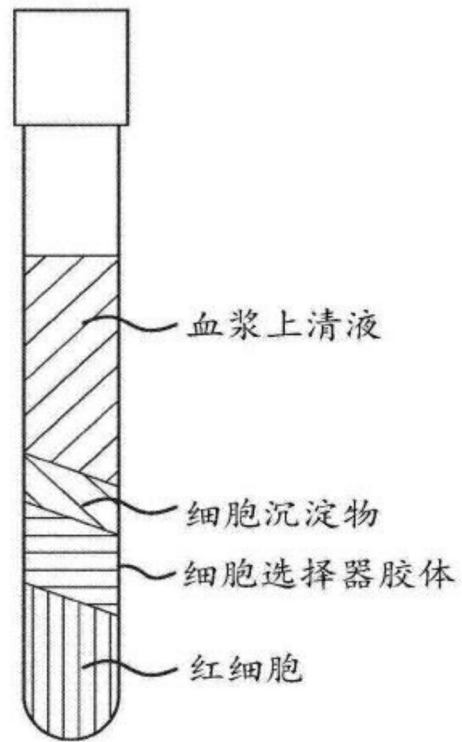


图2

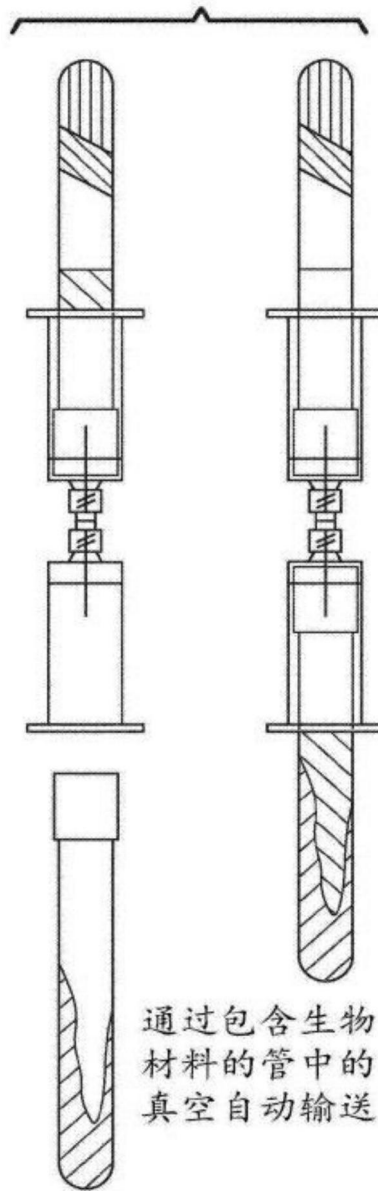


图3

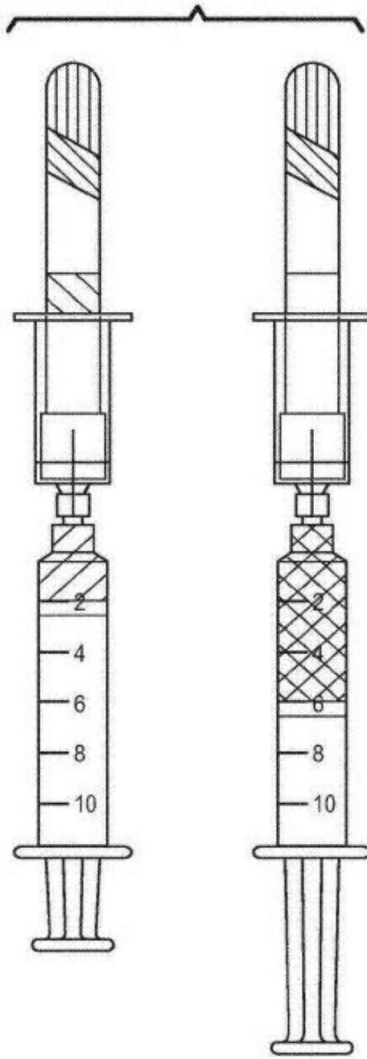


图4

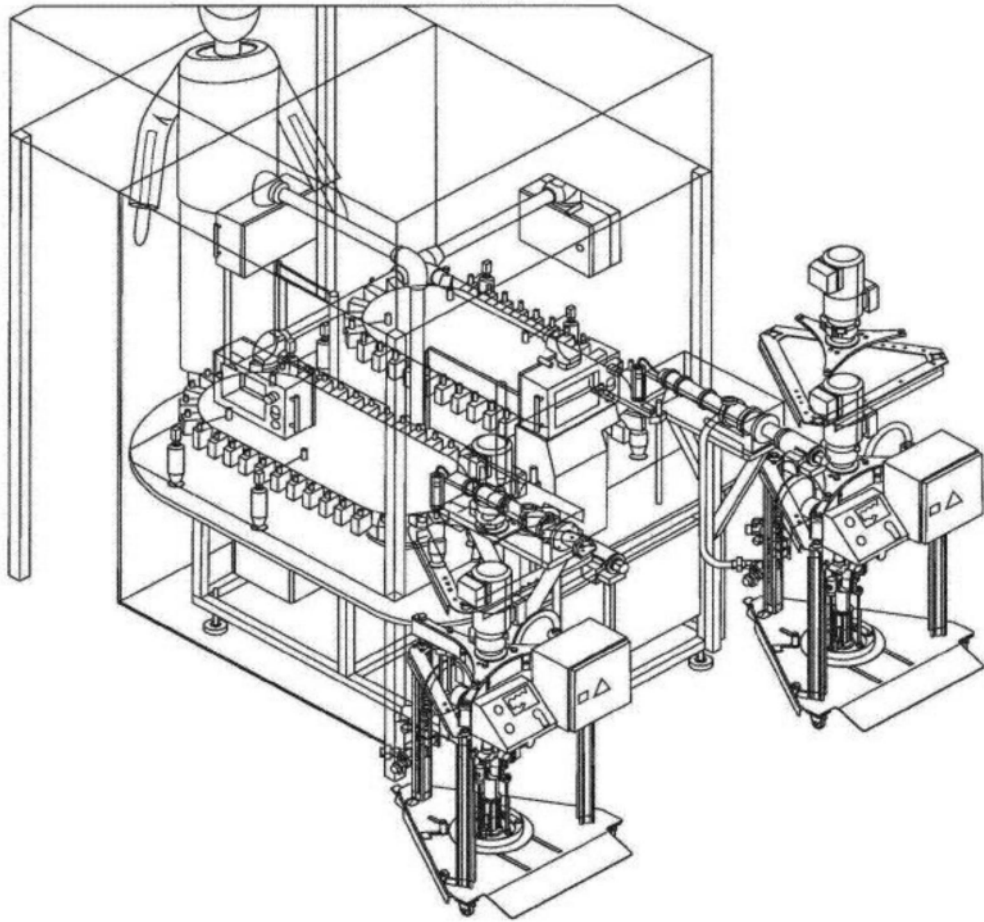


图5

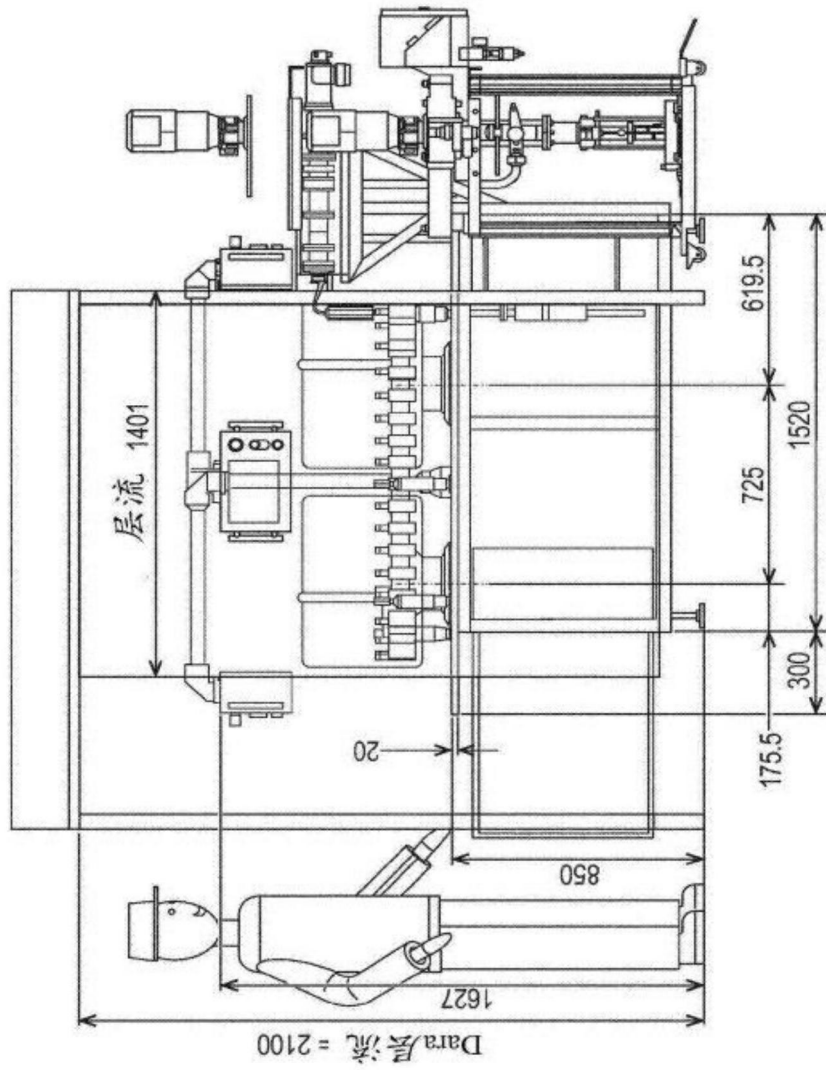


图9

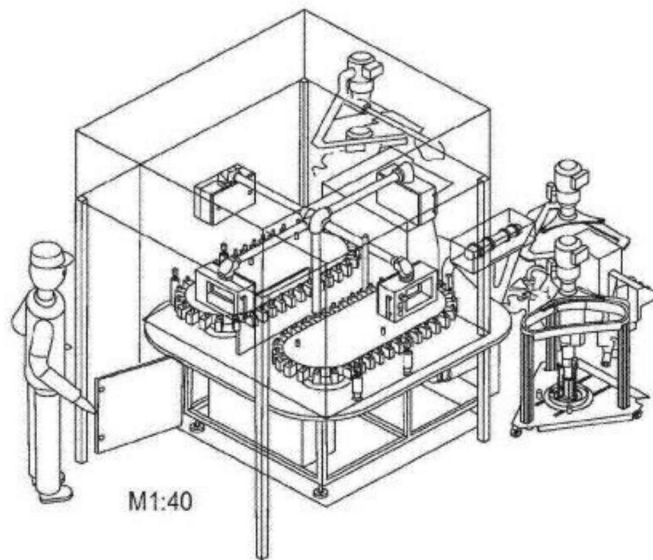
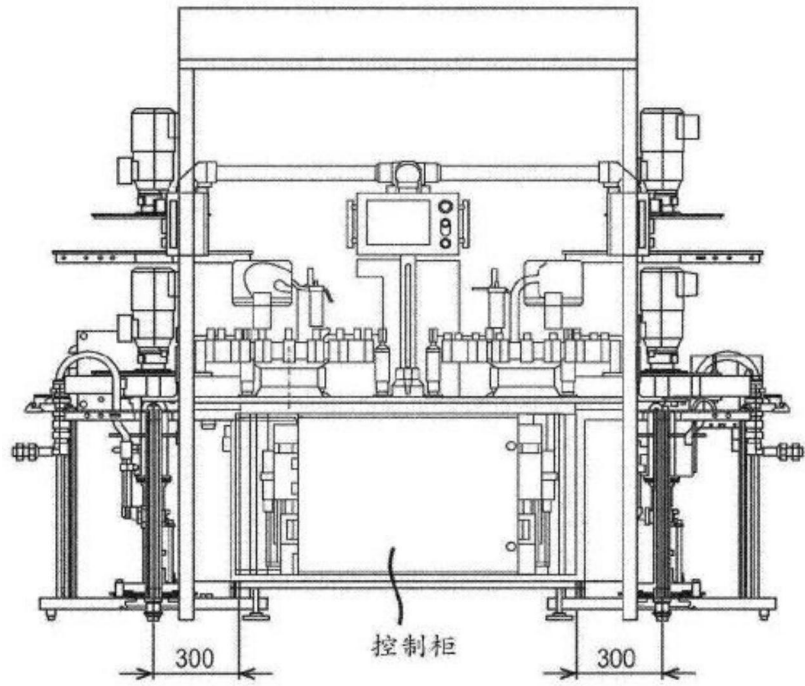


图6(续)

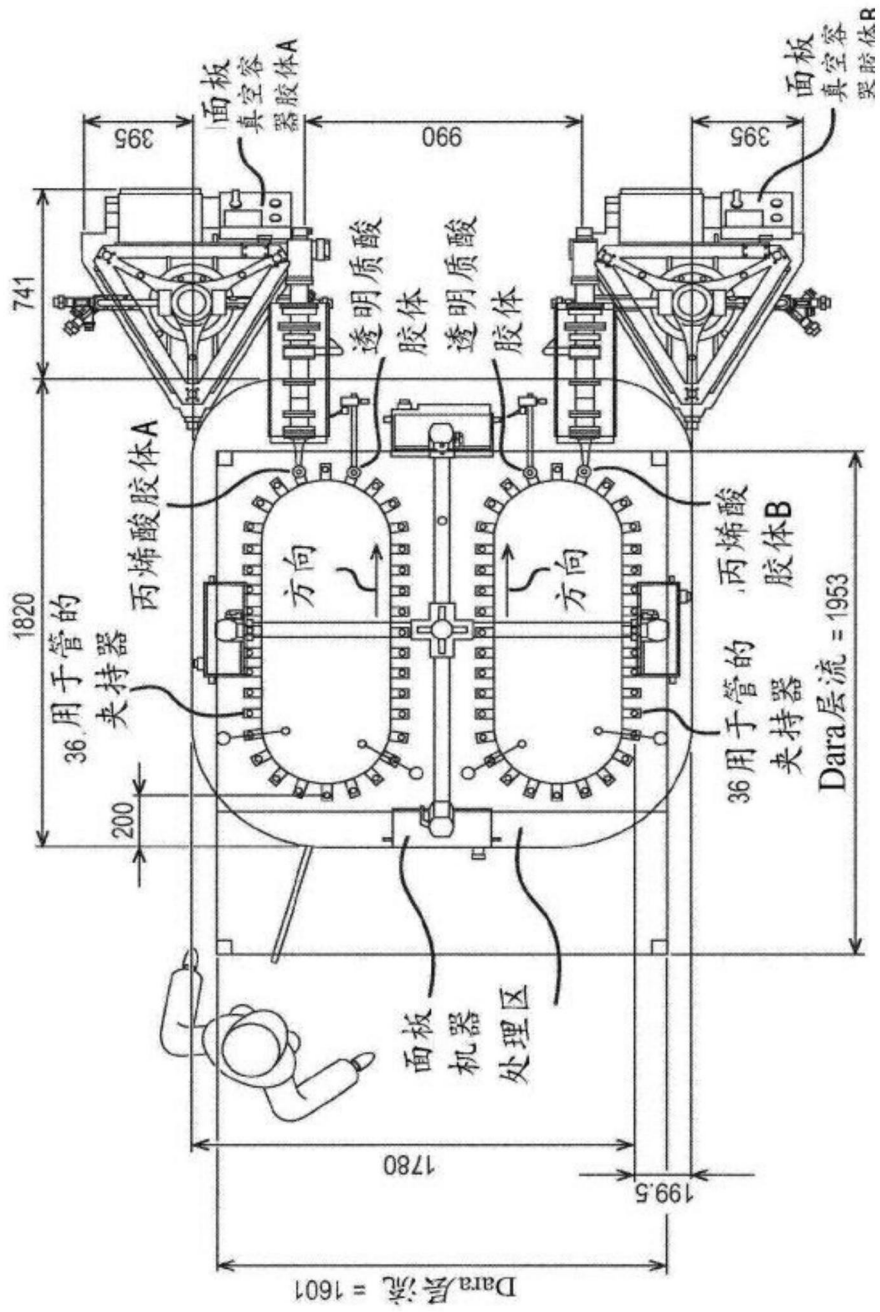


图6(续)

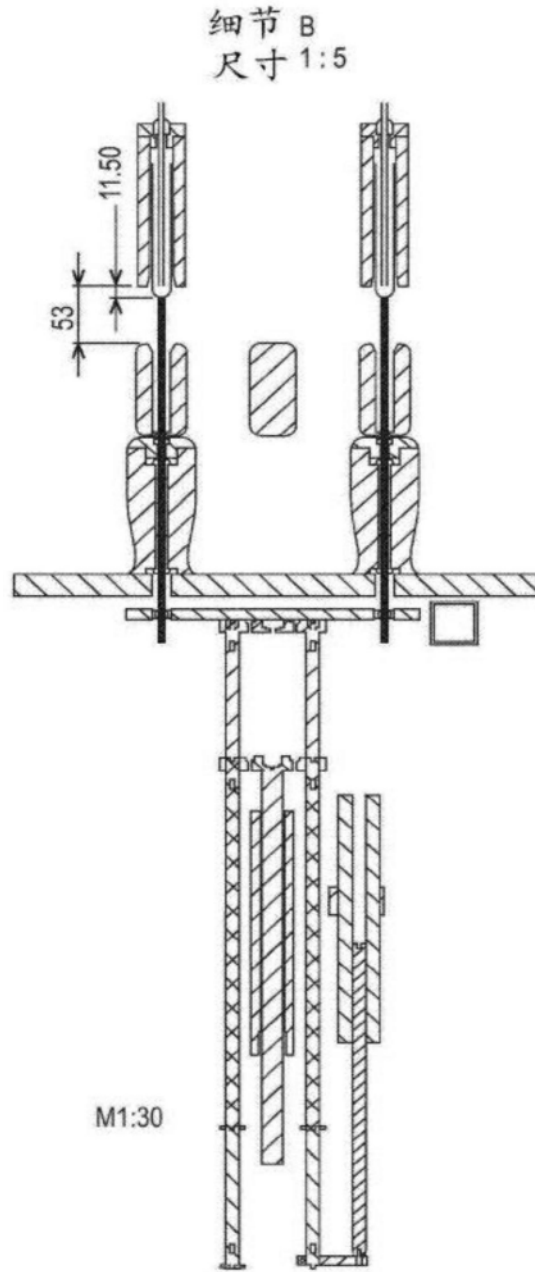


图7

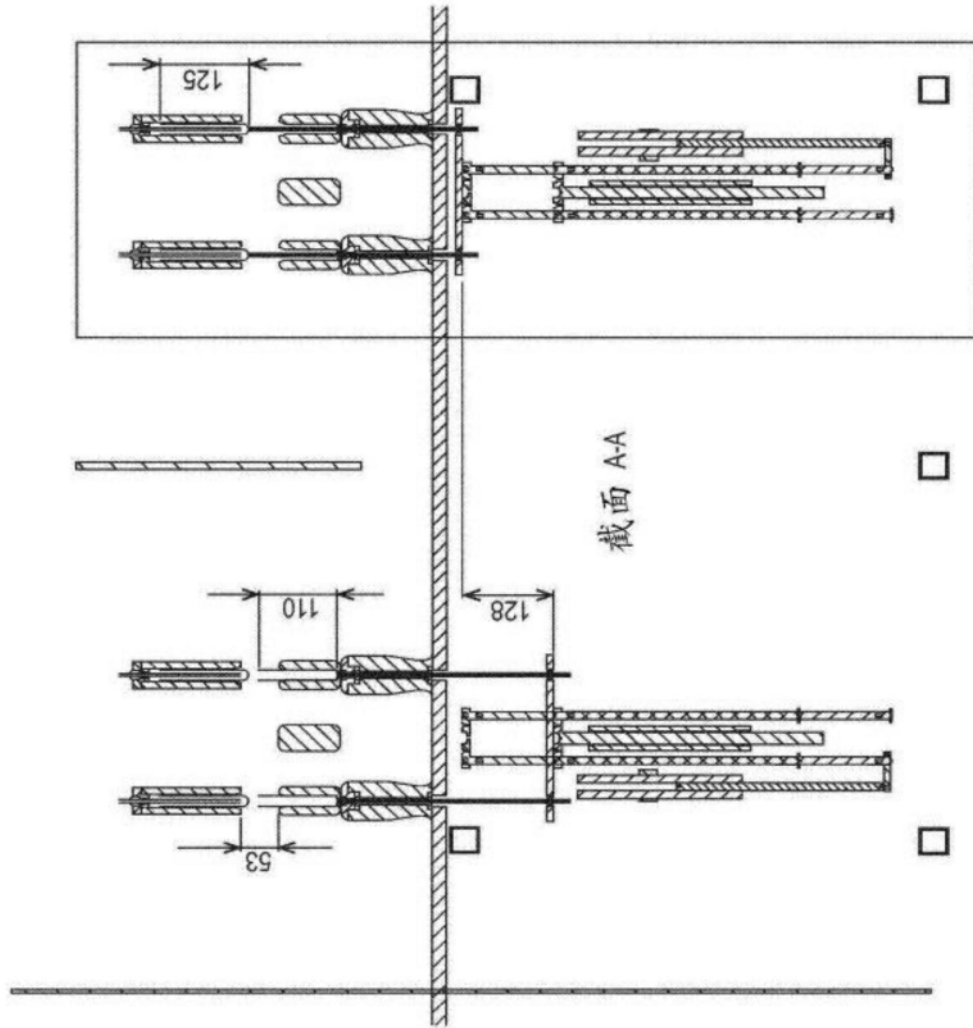


图7(续)

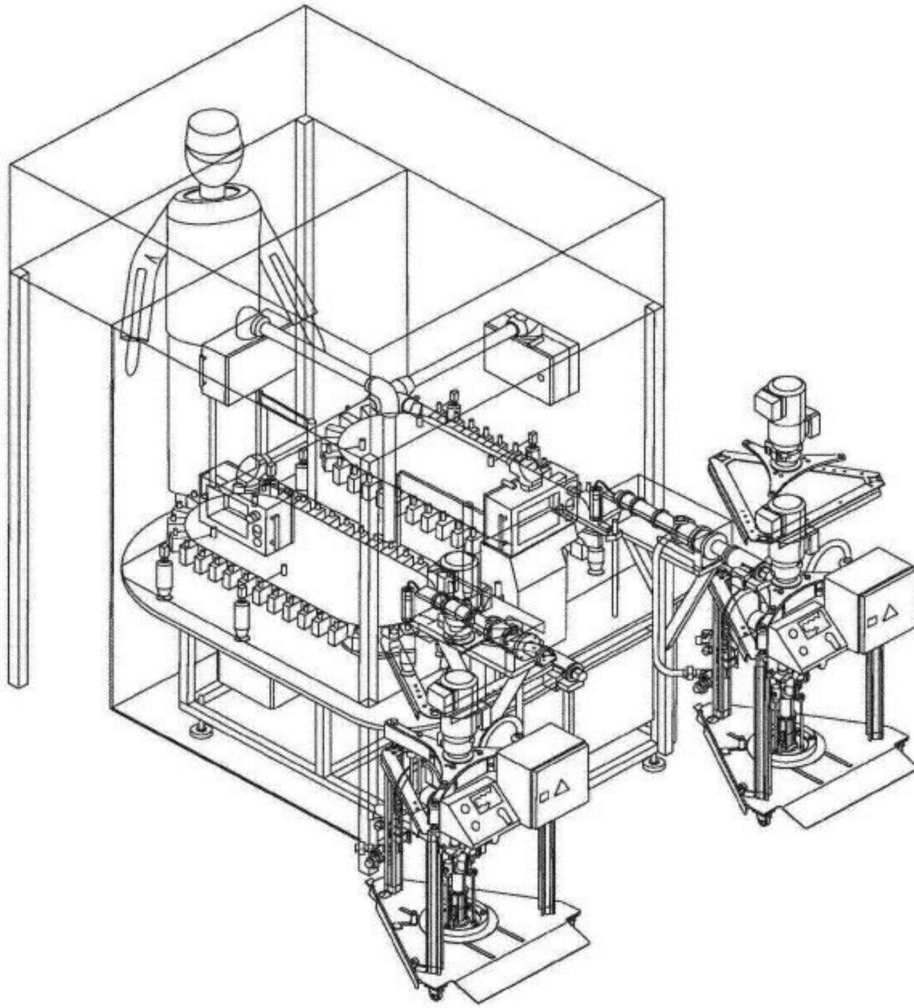


图7(续)

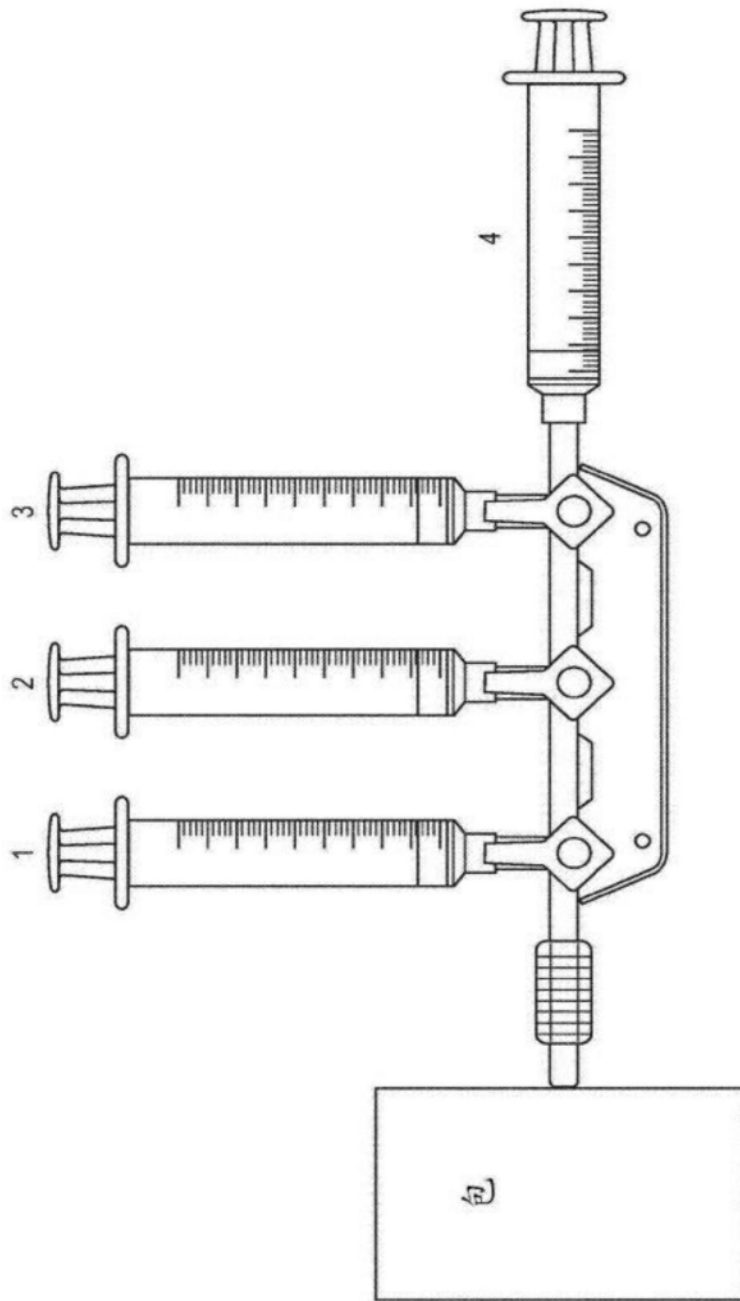


图8

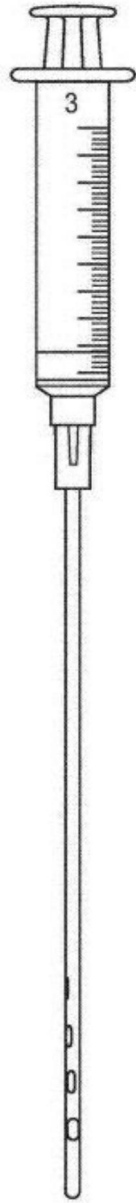


图9

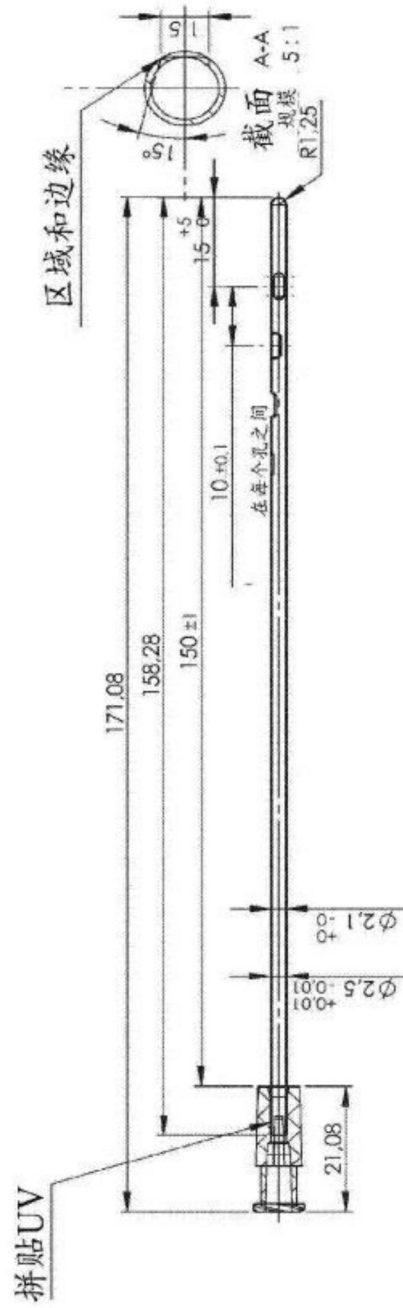


图10(A)

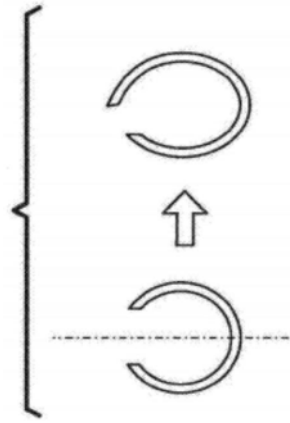


图10(B)

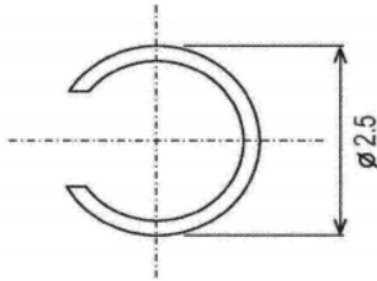


图10(C)

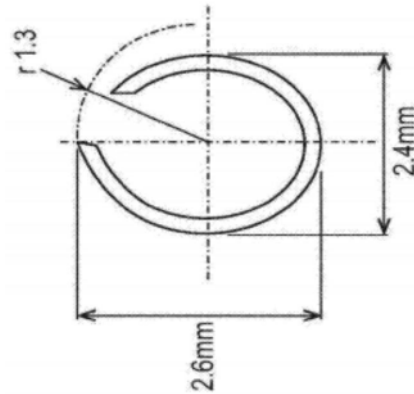


图10(D)