



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0055149
(43) 공개일자 2020년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/42 (2006.01) A61K 38/18 (2006.01)
A61L 27/36 (2006.01) A61L 27/54 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/425 (2013.01)
A61K 38/1858 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7013423(분할)
(22) 출원일자(국제) 2011년12월13일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2018-7031242
원출원일자(국제) 2011년12월13일
심사청구일자 2018년11월27일
(85) 번역문제출일자 2020년05월11일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/064698
(87) 국제공개번호 WO 2012/082773
국제공개일자 2012년06월21일
(30) 우선권주장
61/422,649 2010년12월13일 미국(US)

(71) 출원인
바이오미메틱 세라퓨틱스, 엘엘씨
미국 37067 테네시주 프랭클린 니콜 밀 레인 389
(72) 발명자
런치, 사무엘 이.
미국 37064 테네시 프랭클린 사우스울 로드 3340
스넬, 레오 비.
미국 37069 테네시 프랭클린 템플 크레스트 드라이브 1218
히, 크리스토퍼 케이.
미국 37174 테네시 스프링 힐 크레스트우드 레인 137
(74) 대리인
양영준, 김영

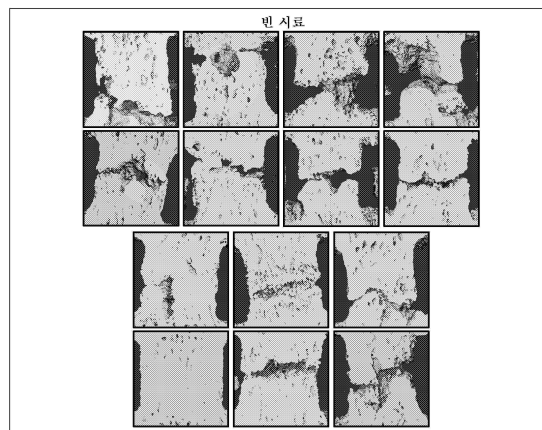
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 척추 유합 절차를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 척추 유합 절차에서 골 유합을 촉진하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차를 수행하는 방법은 생체적합성 매트릭스내에 배치된 PDGF를 포함하는 조성물을 제공하는 것 및 요망되는 척추 유합 부위에 조성물을 적용하는 것을 포함한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61L 27/3608 (2013.01)

A61L 27/54 (2013.01)

A61L 27/56 (2013.01)

A61L 2300/414 (2013.01)

A61L 2430/24 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

요망되는 척추 유합 부위에 생체적합성 매트릭스 및 혈소판유래 성장인자(PDGF) 포함 용액을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 용액은 생체적합성 매트릭스내에 혼입되고, 생체적합성 매트릭스는 골 지지체(scaffolding) 물질을 포함하고, 골 지지체 물질은 다공성 칼슘 포스페이트 또는 동종이식편을 포함하는 것인, 척추 유합 절차에서 골 유합을 촉진하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 척추 유합 절차에 유용한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

[0002] 관련 출원의 상호 참조

[0003] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2010년 12월 13일에 출원된 미국 가특허 출원 제61/442,649호의 이익을 주장하며, 그의 전체 내용이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0004] 척추 유합은 척추 변형을 교정하기 위해 및 골절된 척추골, 척추 불안정증, 또는 만성 요통의 치료를 위해 사용된다. 미국 정형외과학회(American Academy of Orthopaedic Surgeons)에 따르면, 325,000건 초과인 척추 유합술이 2003년에 수행되었고, 그중 대략 162,000건이 요추골에서였다(*Spinal Fusion. Your Orthopaedic Connection* September 2007 [cited 2009 January 20]; Available from: <http://orthoinfo.aaos.org/topic.cfm?topic=A00348>). 척추 유합 절차의 하나의 유형은 추간판의 전부 또는 일부를 제거하고, 척추체 사이의 지지를 위해 및 골 성장을 용이하게 하기 위한 지주 스페이스(spacer)를 삽입하는 것인, 추체간 유합이다. 골 성장은 스페이스 내부에 배치된 이식 재료로 더욱 향상된다. 보통 장골능선(ilial crest)으로부터 얻은 자가 조직 골 이식편이 척추 유합을 용이하게 하는데 사용된다. 자가이식편은 용이성, 공여부 이환율, 통증, 감염, 신경 손상, 및 출혈을 포함하는, 그의 사용과 관련된 제한이 있음에도 불구하고, 그의 골 전도성 및 골 유도성 성질로 인해 "금본위제"로 사료된다(문헌[Fowler, B.L., B.E. Dall, and D.E. Rowe, *Complications associated with harvesting autogeneous iliac bone graft*. American Journal of Orthopedics, 1995. 24: p. 895-903; Goulet, J., et al., *Autogenous iliac crest bone graft: complications and functional assessment*. Clinical Orthopedics and Related Research, 1997.339: p. 76-81; Vaccaro, A, The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. Orthopedics, 2002. 25(5 Suppl): p. s571-s578]). 동종이식편은 공여부 이환율과 관련된 합병증을 없애는 자가이식편에 대한 대안이지만, 동종이식편의 처리 및 멸균이 생물학적 활성을 자가이식편에 비해 감소시킬 수 있다(문헌[Khan, S.F., et al., *The biology of bone grafting*. Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2005. 13: p. 77-86]).

[0005] 자가조직의 및 동종이식편의 골 이식편과 관련된 어려움의 측면에서, 대안적인 골원성 재생 시스템을 제공하는 것이 바람직할 것이다.

발명의 내용

[0006] 발명의 개요

[0007] 본 발명은 척추 유합 절차에서 사용하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 이러한 조성물 및 방법은 척추 뼈의 유합을 촉진한다. 본 조성물 및 방법은 예컨대, 유합 부위에서 골 결합(bony union)을 용이하게 함으로써 척추 유합 절차에서 치유반응을 촉진할 수 있다.

[0008] 발명의 한 측면에서, 척추 유합 절차에서 골 유합을 촉진하는 방법은 요망되는 척추 유합 부위로 생체적합성 매

트릭스 및 혈소판유래 성장인자 (platelet derived growth factor (PDGF)) 포함 용액을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 용액은 생체적합성 매트릭스내에 혼입되고, 생체적합성 매트릭스는 골 지지체 (scaffolding) 물질을 포함하고, 골 지지체 물질은 다공성 칼슘 포스페이트 또는 동종이식편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 칼슘 포스페이트를 포함한다. 일부 실시양태에서, 칼슘 포스페이트는 β -트리칼슘 포스페이트를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 동종이식편을 포함한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 약 0.01 mg/ml 내지 약 10.0 mg/ml의 농도로 용액내에 존재한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 약 0.05 mg/ml 내지 약 5.0 mg/ml의 농도로 용액내에 존재한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 약 0.1 mg/ml 내지 약 1.0 mg/ml의 농도로 용액내에 존재한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 약 0.2 mg/ml 내지 약 0.4 mg/ml의 농도로 용액내에 존재한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 약 0.3 mg/ml의 농도로 용액내에 존재한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, 또는 그의 혼합물 또는 유도체를 포함한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 PDGF-BB를 포함한다. 일부 실시양태에서, PDGF는 PDGF-BB로 이루어진다. 일부 실시양태에서, PDGF-BB는 65% 이상의 무손상 PDGF-BB 호모이합체(homodimer)를 포함한다. 일부 실시양태에서, PDGF-BB는 재조합 인간 (rh)PDGF-BB이다. 일부 실시양태에서, 용액은 완충제 중의 PDGF를 포함한다. 일부 실시양태에서, 용액은 완충제 중의 PDGF로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 완충제는 나트륨 아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 50 마이크로미터 내지 약 5000 마이크로미터 크기 범위의 입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 50 마이크로미터 내지 약 5000 마이크로미터 크기 범위의 입자로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 100 마이크로미터 내지 약 5000 마이크로미터 크기 범위의 입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 100 마이크로미터 내지 약 5000 마이크로미터 크기 범위의 입자로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 100 마이크로미터 내지 약 300 마이크로미터 크기 범위의 입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 100 마이크로미터 내지 약 300 마이크로미터 크기 범위의 입자로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 1000 마이크로미터 내지 약 2000 마이크로미터 크기 범위의 입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 1000 마이크로미터 내지 약 2000 마이크로미터 크기 범위의 입자로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 250 마이크로미터 내지 약 1000 마이크로미터 크기 범위의 입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 250 마이크로미터 내지 약 1000 마이크로미터 크기 범위의 입자로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 1000 마이크로미터 내지 약 3000 마이크로미터 크기 범위의 입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 1000 마이크로미터 내지 약 3000 마이크로미터 크기 범위의 입자로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 25% 초과와 다공성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 40% 초과와 다공성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 50% 초과와 다공성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 80% 초과와 다공성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 90% 초과와 다공성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 거대다공성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 매트릭스내로의 세포 이동을 용이하게 하는 다공성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 상호연결된 기공을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 골 지지체 물질의 80% 이상이 이식된 1년 내에 재흡수되도록 재흡수성이다. 일부 실시양태에서, 용액은 골 지지체 물질로 흡수되거나 흡착된다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 골 지지체 자체 중량의 약 25% 이상과 동등한 양의 용액을 흡수할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 골 지지체 자체 중량의 약 50% 이상과 동등한 양의 용액을 흡수할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 골 지지체 자체 중량의 약 100% 이상과 동등한 양의 용액을 흡수할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 골 지지체 자체 중량의 약 200% 이상과 동등한 양의 용액을 흡수할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 골 지지체 자체 중량의 약 300% 이상과 동등한 양의 용액을 흡수할 수 있다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 생체적합성 결합제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 결합제는 콜라겐을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질 및 콜라겐은 약 80:20의 비율로 존재한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 칼슘 포스페이트로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 칼슘 포스페이트 및 콜라겐으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 동종이식편으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 동종이식편 및 콜라겐으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 척추 유합 절차를 수행하는 것; 요망되는 척추 유합 부위에 조성물을 적용하는 것; 및 상기 부위에 골 유합이 발생하도록 하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 추체간 유합 절차이다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 요추 유합 절차이다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 경추 유합 절차이다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 골 결합을 가속화하는 것을 포함한다.

[0009]

또 다른 측면에서, 달리 언급되지 않는다면 또는 특정 문맥에서 명백한 것처럼, 본원에 기재된 방법과 연관된

본원에 기재된 조성물의 용도를 본원에서 제공한다. 본원에 기재된 조성물은 또한 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한 약제의 제조에서 사용될 수 있다.

[0010] 또 다른 측면에서, 본 발명은 생체적합성 매트릭스 (또는 하나 이상의 생체적합성 매트릭스 성분)를 제1 패키지 내에, 및 PDGF를 포함하는 용액을 제2 패키지 내에 포함하는, 척추 유합 절차에서 사용하기 위한 키트를 제공한다. 키트는 척추 유합 절차를 수행하는 방법에서 사용하기 위한 설명서를 추가로 제공할 수 있다. 일부 실시양태에서, 용액은 미리 결정된 농도의 PDGF를 포함한다. PDGF의 농도는 수행될 척추 유합 절차(들)의 요건에 따라 미리 결정될 수 있다. 추가로, 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 키트 내에 미리 결정된 양으로 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트 내 생체적합성 매트릭스는 골 지지체 물질, 또는 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 칼슘 포스페이트, 예컨대 β -TCP를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 동종이식편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 결합제는 콜라겐을 포함한다. 키트에 의해 제공된 생체적합성 매트릭스의 양은 수행될 척추 유합 절차(들)의 요건과 관련될 수 있다. 일부 실시양태에서, PDGF 용액을 함유하는 제2 패키지는 바이알을 포함한다. 일부 실시양태에서, PDGF 용액을 함유하는 제2 패키지는 주사기를 포함한다. 주사기는 수술 부위, 예컨대 척추 유합 절차에서 골 유합 부위에 적용할 생체적합성 매트릭스상에 또는 그 내부에 PDGF 용액을 배치하는 것을 용이하게 할 수 있다. 일부 실시양태에서, PDGF 용액이 생체적합성 매트릭스 내에 혼입되면, 생성된 조성물은 요망되는 척추 유합 부위로 전달할 주사기 및/또는 캐놀러에 놓인다. 다르게는, 조성물은 다른 적용 수단, 예컨대 수술 기구, 주걱, 숟가락, 칼, 또는 등가의 기구로 요망되는 부위에 적용될 수 있다.

[0011] 본 발명은 추가로 척추 유합 절차에서 사용하기 위한 조성물을 제조하는 방법뿐 아니라 척추 유합 절차를 수행하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 조성물을 제조하기 위한 방법은 PDGF를 포함하는 용액을 제공하는 것, 생체적합성 매트릭스를 제공하는 것, 및 생체적합성 매트릭스 내에 PDGF 용액을 배치하거나 또는 혼입시키는 것을 포함한다.

[0012] 또 다른 실시양태에서, 척추 유합 절차를 수행하는 방법은 생체적합성 매트릭스 내에 배치된 PDGF 용액을 포함하는 조성물을 제공하는 것 및 요망되는 척추 유합 부위로 조성물을 적용하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차를 수행하는 방법은 다수의 척추골 중에서 요망되는 골 유합 부위의 한 곳 이상에 조성물을 적용하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 요망되는 골 유합 부위로 조성물을 적용하는 것은 요망되는 골 유합 부위에 조성물을 주사하는 것을 포함한다.

[0013] 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차를 수행하는 방법은 요망되는 척추 유합 부위로 수술적으로 접근하는 것, 생체적합성 매트릭스 내에 배치된 PDGF 용액을 포함하는 조성물을 혼입시키는 것, 요망되는 골 유합 부위내로 조성물을 적용하는 것, 조성물 위에 연조직을 봉합하는 것, 및 차후 골 형성을 위해 조성물 내로 세포의 이동, 내성장 및 침투를 가능하게 하는 것을 포함한다.

[0014] 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 추체간 유합 절차를 포함한다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 후측방(posterolateral) 유합 절차를 포함한다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 요추 유합 절차이다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 경추 유합 절차이다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 흉추 유합 절차이다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차는 천골 유합 절차이다.

[0015] 따라서, 본 발명의 목적은 생체적합성 매트릭스 내에 혼입된 PDGF를 포함하는 조성물을 제공하는 것이고, 여기서 조성물은 척추 유합 절차에서 골 유합을 용이하게 하는데 유용한 것이다.

[0016] 본 발명의 다른 목적은 생체적합성 매트릭스 내에 PDGF를 포함하는 조성물을 사용하는 척추 유합 절차를 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 목적은 척추 유합 절차에서 골 유합과 연관된 치유를 가속화하는 것이다.

[0018] 본 발명의 이러한 및 다른 실시양태는 하기 설명에서 더 상세하게 기재된다. 본 발명의 이러한 및 다른 목적, 특징, 및 이점은 하기 개시된 실시양태 및 청구항의 상세한 설명을 검토한 후 자명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1a 및 1b는 처리에 따라 나눈 각 시료로부터의 대표적인 마이크로CT(microCT) 영상을 보여준다.

도 2a 및 2b는 갓-제조한 ABG, 정상 골, 갓-제조한 AIBG, 및 ABG-, AIBG- 및 자가이식편-치리군의 시료로부터의 대표적인 차등 밀도 분석 마이크로CT 영상을 보여준다.

도 3a 및 3b는 각 처리군으로부터의 대표적인 조직학적 영상을 보여준다.

도 4는 ABG 및 AIBG 처리군으로부터의 대표적인 조직학적 영상을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 특허, 특허 출원 및 과학 참고문헌을 제한 없이 포함하는, 본원에 인용된 모든 참고문헌은 인용에 의해 그의 전체 내용이 본원에 참조로 포함된다.
- [0021] 본 발명은 생체적합성 매트릭스 내에 혼입된 PDGF 용액을 포함하는 조성물, 및 척추 유합 절차에서 골 유합을 촉진하기 위한 방법을 제공한다. 척추고정술(spondylodesis) 또는 척추유착술(spondylosyndesis)로도 알려진 척추 유합은, 둘 이상의 척추골을 연결하는데 사용되는 외과 기술이다. 척추 유합의 유형은 추체간 유합, 후측방 유합, 및 경추 원판절제(discectomy) 및 유합을 포함하지만 그에 한정되지 않는다.
- [0022] 추체간 유합은 골 이식편 (예를 들어, 본 발명의 조성물)을 척추골 사이에 보통 추간판이 차지하는 부위에 배치한다. 척추 유합을 위한 준비중에, 추간판은 완전히 제거될 수 있다. 척추 배열 및 추간판 높이를 유지하기 위해, 척추골 사이에 기구가 배치될 수 있다. 추간 기구는 예를 들어 스페이서일 수 있다. 추간 기구는 예를 들어 플라스틱 또는 티타늄으로 만들어질 수 있다. 유합은 그 후 척추골의 종판 사이에서 일어난다. 추체간 유합의 유형은 전방 요추 추체간 유합 (ALIF), 후방 요추 추체간 유합 (PLIF), 및 경궁(Transforaminal) 요추 추체간 유합 (TLIF)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유합은 척추골을 안정시키기 위한 금속성 나사 (흔히 티타늄으로 만들어진 척추경 나사못), 막대 또는 판, 스페이서, 또는 케이지(cages)의 장착을 의미하는 소위 고정 (fixation) 과정에 의해 증대되어 골 유합을 용이하게 한다. 유합 과정 동안, 외부 보조기 (교정용 지지대)가 사용될 수 있다.
- [0023] 후측방 유합은 척추 뒤쪽의 횡돌기 사이에 골 이식편을 배치한다. 그 후, 이러한 척추골은 그 후, 각 척추골의 척추경을 관통하여 척추골의 각 측면상의 금속성 막대에 부착하는 나사 및/또는 와이어를 사용하여 제자리에 고정될 수 있다.
- [0024] 정의
- [0025] 본원에서 사용된 바와 같이, 척추 유합을 "촉진하는 것" 또는 "용이하게 하는 것"은 척추 유합 절차의 임상적 진행에 바람직하게 영향을 미치도록 고안된 임상적 개입을 나타낸다. 임상적 개입의 바람직한 효과는 예를 들어 유합 부위에서 골 밀도 정도의 증가 및/또는 골 형성의 가속화 (예컨대, 골 밀도의 가속화); 유합 부위에서 골 결합 또는 골 가교 정도의 증가 및/또는 골 결합 또는 골 가교의 가속화; 골 유합 부위에서 골의 조성 및/또는 구조의 향상 (예를 들어, 골 유합 부위에서 천연 골에 매우 흡사함) 중 하나 이상을 포함하지만 그에 제한되지 않는다.
- [0026] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "유효량"은 요망되는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 기간 동안 투여량으로 효과적인 최소의 양을 나타낸다. 유효량은 1회 이상의 투여로 제공될 수 있다.
- [0027] 본원에서 값 또는 변수에 대한 "약"의 언급은 그 값 또는 변수 자체에 관한 실시양태를 또한 포함한다 (및 기재한다).
- [0028] 본원 및 첨부된 청구항에서 사용된 바와 같이, 단수 "a", "an", "the"는 문맥이 명백하게 다르게 표시하지 않는 한 복수의 언급을 포함한다. 예를 들어, "PDGF 호모이합체"의 언급은 하나 또는 다수의 PDGF 호모이합체에 대한 언급이며, 당업계 숙련자에게 공지된 그의 등가물 따위를 포함한다.
- [0029] 본원에 기재된 바와 같은 발명의 모든 측면 및 실시양태는 측면 및 실시양태를 "포함하는 것", 측면 및 실시양태로 "이루어진 것", 및 "본질적으로 이루어진 것"을 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 인용된 요소로 "본질적으로 이루어진" 방법 또는 조성물은 오직 특정된 단계 또는 물질, 및 상기 방법 및 조성물의 기본적인이고 신규한 특성에 실질적으로 영향을 주지 않는 것만을 포함하는 것으로 이해해야 한다.
- [0030] "골 지지체 물질" 및 "골 대체제"는 본원에서 교체하여 사용될 수 있다.
- [0031] PDGF 용액
- [0032] 한 측면에서, 본 발명에 의해 제공된 척추 유합 절차를 위한 조성물은 PDGF를 포함하는 용액 및 생체적합성 매트릭스를 포함하고, 여기서 용액은 생체적합성 매트릭스 내에 배치되거나 또는 혼입된다. 일부 실시양태에서, PDGF는 약 0.01 mg/ml 내지 약 10 mg/ml, 약 0.05 mg/ml 내지 약 5 mg/ml, 또는 약 0.1 mg/ml 내지 약 1.0

mg/ml 범위의 농도로 용액내에 존재한다. PDGF는 각 범위의 상한 및 하한을 포함하는 상기 명시된 범위 중 임의의 농도로 용액내에 존재할 수 있다. 다른 실시양태에서, PDGF는 약 0.05 mg/ml; 약 0.1 mg/ml; 약 0.15 mg/ml; 약 0.2 mg/ml; 약 0.25 mg/ml; 약 0.3 mg/ml; 약 0.35 mg/ml; 약 0.4 mg/ml; 약 0.45 mg/ml; 약 0.5 mg/ml; 약 0.55 mg/ml; 약 0.6 mg/ml; 약 0.65 mg/ml; 약 0.7 mg/ml; 약 0.75 mg/ml; 약 0.8 mg/ml; 약 0.85 mg/ml; 약 0.9 mg/ml; 약 0.95 mg/ml; 또는 약 1.0 mg/ml의 농도 중 임의의 하나의 농도로 용액내에 존재한다. 상기 농도는 단순히 특정 실시양태의 예시이며, PDGF의 농도는 각 범위의 상한 및 하한을 포함하는 상기 명시된 임의의 농도 범위 내일 수 있다는 것을 이해해야 한다.

[0033] 다양한 양의 PDGF가 본 발명의 조성물 내에 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 사용된 PDGF의 양은 약 1 µg 내지 약 50 mg, 약 10 µg 내지 약 25 mg, 약 100 µg 내지 약 10 mg, 또는 약 250 µg 내지 약 5 mg 범위의 양을 포함한다.

[0034] 본 발명의 일부 실시양태에서 PDGF 또는 다른 성장 인자의 농도는 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,221,625호, 제5,747,273호, 및 제5,290,708호에 기재된 바와 같이 효소 결합 면역검정을 사용하여, 또는 PDGF 농도를 결정하기 위한 당업계에 공지된 임의의 다른 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 본원에서 제공된 경우에 있어서, PDGF의 몰농도는 PDGF 이합체의 분자량 (MW)에 근거하여 결정된다 (예컨대, PDGF-BB; MW 약 25 kDa).

[0035] PDGF는 PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, 및 그의 혼합물 및 유도체를 포함하는, PDGF 호모이합체 및/또는 헤테로이합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PDGF는 PDGF-BB를 포함한다. 다른 실시양태에서, PDGF는 재조합 인간 (rh) PDGF, 예컨대 rhPDGF-BB를 포함한다.

[0036] 일부 실시양태에서, PDGF는 천연 공급원으로부터 얻어질 수 있다. 다른 실시양태에서, PDGF는 재조합 DNA 기술에 의해 제조될 수 있다. 다른 실시양태에서, PDGF 또는 그의 단편은 당업계 숙련자에게 공지된 펩티드 합성 기술, 예컨대 고체상 펩티드 합성을 사용하여 제조될 수 있다. 천연 공급원으로부터 얻어지는 경우, PDGF는 생물학적 유체로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에 따른 생물학적 유체는 혈액을 포함하는 생물과 관련한 임의의 처리 또는 비처리 유체를 포함할 수 있다.

[0037] 다른 실시양태에서, 생물학적 유체는 또한 혈소판 농축액 (PC), 성분채집(apheresed) 혈소판, 혈소판 풍부 혈장 (PRP), 혈장, 혈청, 신선 동결 혈장 (FFP), 및 연막 (BC)을 포함하는 혈액 성분을 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 생물학적 유체는 혈장으로부터 분리되고 생리학적 유체 중에 재현탁된 혈소판을 포함할 수 있다.

[0038] PDGF가 재조합 DNA 기술에 의해 제조되는 경우, 단일 단위체 (예컨대, PDGF B-쇄 또는 A-쇄)를 코딩하는 DNA 서열은 일부 실시양태에서, 차후 호모이합체 (예컨대 PDGF-BB 또는 PDGF-AA)를 생산하는 발현을 위해 배양된 원핵 또는 진핵 세포 내로 삽입될 수 있다. 다른 실시양태에서, PDGF 헤테로이합체는 헤테로이합체의 두 단위체 단위 모두를 코딩하는 DNA 서열을 배양된 원핵 또는 진핵 세포 내로 삽입하고 번역된 단위체 단위를 헤테로이합체 (예컨대 PDGF-AB)를 생성하는 세포에 의해 처리되도록 함으로써 발생될 수 있다. 상업상 이용가능한 GMP 재조합 PDGF-BB는 키론 코퍼레이션(Chiron Corporation) (Emeryville, CA)으로부터 얻을 수 있다. 연구 등급 rhPDGF-BB는 R&D 시스템, 인크. (R&D Systems, Inc.) (Minneapolis, MN), BD 바이오사이언시즈 (BD Biosciences) (San Jose, CA), 및 케미콘, 인터내셔널 (Chemicon, International) (Temecula, CA)을 포함하는 다수의 공급원으로부터 얻을 수 있다.

[0039] 본 발명의 일부 실시양태에서, PDGF는 PDGF 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, rhPDGF-B는 전체 B-쇄의 아미노산 서열 1-31, 1-32, 33-108, 33-109, 및/또는 1-108인 단편을 포함한다. PDGF의 B-쇄의 완전한 아미노산 서열 (1-109)은 미국 특허 제5,516,896호의 도 15에서 제공되고, 그의 개시내용은 전체 내용이 본원에 참조로 포함된다. 본 발명의 rhPDGF-BB 조성물이 무손상 rhPDGF-B (1-109) 및 그의 단편의 조합을 포함할 수 있다는 것을 이해해야 한다. PDGF의 다른 단편은 미국 특허 제5,516,896호에 개시된 것이 사용될 수 있다. 한 실시양태에 따라, rhPDGF-BB는 65% 이상의 무손상 rhPDGF-B (1-109)를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, rhPDGF-BB는 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 이상의 무손상 rhPDGF-B (1-109)를 포함한다.

[0040] 본 발명의 일부 실시양태에서, PDGF는 정제될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 정제된 PDGF는 본 발명의 용액 내에 혼입되기 이전에 약 95 중량% 초과 PDGF를 갖는 조성물을 포함한다. 용액은 임의의 제약상 허용되는 용액일 수 있다. 다른 실시양태에서, PDGF는 실질적으로 정제될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 실질적으로 정제된 PDGF는, 본 발명의 용액내로 혼입되기 이전에 약 5 중량% 내지 약 95 중량%의 PDGF를 갖는 조성물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 실질적으로 정제된 PDGF는 본 발명의 용액내로 혼입되기 이전에 약 65 중량% 내지 약 95 중량%의 PDGF를 갖는 조성물을 포함한다. 다른 실시양태에서, 실질적으로 정제된 PDGF는 본 발명의

용액내로 혼입되기 이전에 약 70 중량% 내지 약 95 중량%, 약 75 중량% 내지 약 95 중량%, 약 80 중량% 내지 약 95 중량%, 약 85 중량% 내지 약 95 중량%, 또는 약 90 중량% 내지 약 95 중량%의 PDGF를 갖는 조성물을 포함한다. 정제된 PDGF 및 실질적으로 정제된 PDGF는 지지체 및 결합제 내에 혼입될 수 있다.

[0041] 다른 실시양태에서, PDGF는 부분적으로 정제될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 부분적으로 정제된 PDGF는, 혈소판 풍부 혈장 (PRP), 신선 동결 혈장 (FFP), 또는 PDGF를 제조하기 위한 수집 및 분리를 필요로 하는 임의의 다른 혈액 생성물의 상황에서 PDGF를 갖는 조성물을 포함한다. 본 발명의 실시양태는 호모이합체 및 헤테로이합체를 포함하는 본원에 제공된 임의의 PDGF 이소형(isoforms)이 정제되거나 또는 부분적으로 정제될 수 있다는 것을 고려한다. PDGF 혼합물을 함유하는 본 발명의 조성물은 PDGF 이소형 또는 PDGF 단편을 부분적으로 정제된 비율로 함유할 수 있다. 부분적으로 정제된 및 정제된 PDGF는, 일부 실시양태에서, 미국 특허 출원 일련번호 제11/159,533호 (공개 번호: 제20060084602호)에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0042] 일부 실시양태에서, PDGF를 포함하는 용액은 PDGF를 수성매질 내 또는 하나 이상의 완충제 내에 가용화함으로써 형성된다. 본 발명의 PDGF 용액에서 사용하기 위해 적합한 완충제는 카보네이트, 포스페이트 (예컨대 염류 완충된 포스페이트), 히스티딘, 아세테이트 (예컨대 나트륨 아세테이트), 아세트산 및 HCl과 같은 산성 완충제, 및 유기 완충제, 예컨대 리신, 트리스 완충제 (예컨대 트리스(히드록시메틸)아미노에탄), N-2-히드록시에틸피페라진-N'-2-에탄술포산 (HEPES), 및 3-(N-모폴리노) 프로판술포산 (MOPS)을 포함할 수 있지만 그에 한정되지 않는다. 완충제는 PDGF와의 생체적합성 및 바람직하지 않은 단백질 변형을 저지하는 완충제의 능력에 근거하여 선택될 수 있다. 완충제는 숙주 조직과의 적합성에 근거하여 추가로 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 나트륨 아세테이트 완충제가 사용된다. 완충제는 여러 몰농도로, 예를 들어, 약 0.1 mM 내지 약 100 mM, 약 1 mM 내지 약 50 mM, 약 5 mM 내지 약 40 mM, 약 10 mM 내지 약 30 mM, 또는 약 15 mM 내지 약 25 mM, 또는 상기 범위 내의 임의의 몰농도로 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 아세테이트 완충제는 약 20 mM의 몰농도로 사용된다.

[0043] 또 다른 실시양태에서, PDGF를 포함하는 용액은 물 중에 동결건조한 PDGF를 가용화함으로써 형성되며, 여기서 가용화 이전에 PDGF는 적절한 완충제로부터 동결건조된다.

[0044] 본 발명의 실시양태에 따른 PDGF를 포함하는 용액은 약 3.0 내지 약 8.0 범위의 pH를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, PDGF를 포함하는 용액은 약 5.0 내지 약 8.0, 약 5.5 내지 약 7.0, 또는 약 5.5 내지 약 6.5 범위의 pH, 또는 상기 범위 내의 임의의 값을 갖는다. PDGF를 포함하는 용액의 pH는, 일부 실시양태에서, PDGF 또는 임의의 다른 요망되는 생물학적 활성제의 장기간 안정성 및 효능에 적합할 수 있다. PDGF는 산성 환경에서 더욱 안정적일 수 있다. 그러므로, 한 실시양태에 따라, 본 발명은 PDGF 용액의 산성 저장 제제를 포함한다. 본 실시양태에 따라, PDGF 용액은 바람직하게는 약 3.0 내지 약 7.0 또는 약 4.0 내지 약 6.0의 pH를 갖는다. 그러나 PDGF의 생물학적 활성은 중성 pH 범위를 갖는 용액에서 최적화될 수 있다. 따라서, 다른 실시양태에서, 본 발명은 PDGF 용액의 중성 pH 제제를 포함한다. 본 실시양태에 따라, PDGF 용액은 약 5.0 내지 약 8.0, 약 5.5 내지 약 7.0, 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH를 갖는다. 본 발명의 방법에 따라, 산성 PDGF 용액은 중성 pH 조성물로 다시 제제화된다. 본 발명의 바람직한 실시양태에 따라, 용액에서 이용된 PDGF는 rh-PDGF-BB이다. 또 다른 실시양태에서, PDGF 함유 용액의 pH는 생체적합성 매트릭스에 대한 PDGF의 결합 역학을 최적화하기 위해 변경될 수 있다.

[0045] 일부 실시양태에서, PDGF를 포함하는 용액의 pH는 본원에서 인용된 완충제에 의해 조절될 수 있다. 다양한 단백질은 이들이 안정한 여러 pH 범위를 입증한다. 단백질 안정성은 단백질에서의 등전점 및 전하가 주로 반영된다. pH 범위는 단백질의 형태 (conformational) 구조, 및 단백질 분해, 가수분해, 산화, 및 단백질의 구조 및/또는 생물학적 활성을 변형시킬 수 있는 다른 처리에 대한 단백질의 민감성에 영향을 줄 수 있다.

[0046] 일부 실시양태에서, PDGF를 포함하는 용액은 추가의 성분, 예컨대 다른 생물학적 활성제를 추가로 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, PDGF를 포함하는 용액은 세포 배양 매질, 다른 안정화 단백질, 예컨대 알부민, 항박테리아제, 프로테아제 억제제 [예컨대, 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 에틸렌 글리콜-비스(베타-아미노에틸 에테르)-N, N, N', N'-테트라아세트산 (EGTA), 아프로티닌, ε-아미노카프로산 (EACA), 등] 및/또는 다른 성장 인자, 예컨대 섬유모세포 성장 인자 (FGFs), 표피 성장 인자 (EGFs), 전환 성장 인자 (TGFs), 케라티노사이트 성장 인자 (KGFs), 인슐린-유사 성장 인자 (IGFs), 골 형태형성 단백질 (BMPs), 또는 PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC 및/또는 PDGF-DD의 조성을 포함하는 다른 PDGF를 추가로 포함할 수 있다.

[0047] 생체적합성 매트릭스

- [0048] 이식 재료의 생체적합성 매트릭스는 하나 이상의 골 대체제이거나, 또는 하나 이상의 골 대체제를 추가로 포함한다. 매트릭스는 임의로 생체적합성 결합제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0049] 골 지지체 물질
- [0050] 본 발명의 일부 실시양태에 따른 생체적합성 매트릭스는 골 지지체 물질을 포함한다. 용어 골 지지체 물질 및 골 대체제는 본 특허 출원에서 통용되는 것으로 이해되어야 한다. 골 지지체 물질은 새로운 골 및 조직 성장이 일어나기 위한 뼈대 또는 지지체를 제공한다. 골 대체제는 영구적으로 또는 일시적으로 골을 대체하는데 사용될 수 있는 것이다. 이식 후, 골 대체제는 신체에 의해 유지될 수 있거나 또는 신체에 의해 재흡수되어 골을 대체할 수 있다. 예시적인 골 대체제는 예컨대, 칼슘 포스페이트 (예컨대, 트리칼슘 포스페이트 (예컨대, β -TCP), 히드록시아파타이트, 거의 결정화되지 않은 히드록시아파타이트, 무정형 칼슘 포스페이트, 칼슘 메타포스페이트, 디칼슘 포스페이트 디히드레이트, 헵타칼슘 포스페이트, 칼슘 피로포스페이트 디히드레이트, 칼슘 피로포스페이트, 및 옥타칼슘 포스페이트), 칼슘 술페이트, 및 동종이식편 (예컨대 미네랄화된 골, 미네랄화된 탈단백 이종이식편, 또는 탈미네랄화된 골 (예컨대, 탈미네랄화된 동결건조 피질골 또는 해면골))을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 칼슘 포스페이트를 포함한다. 일부 실시양태에서, 칼슘 포스페이트는 β -TCP를 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 동종이식편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 칼슘 포스페이트 입자를 생체적합성 결합제 또는 골 동종이식편, 예컨대 탈미네랄화된 동결건조 골 동종이식편 (DFDBA) 또는 미립자 탈미네랄화 골 매트릭스 (DBM)와 함께 포함하거나 또는 없이 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 골 동종이식편, 예컨대 DFDBA 또는 DBM을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 담체 물질은 생체재흡수성이다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 칼슘 포스페이트를 하나 이상 포함한다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질은 다수의 칼슘 포스페이트를 포함한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질로서의 용도에 적합한 칼슘 포스페이트는 0.5 내지 2.0 범위의 칼슘 대 인 원자 비율을 갖는다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 동종이식편, 예컨대 DFDBA 또는 미립자 DBM을 포함한다.
- [0051] 골 지지체 물질로서의 용도에 적합한 칼슘 포스페이트의 제한적이지 않은 예는 무정형 칼슘 포스페이트, 모노칼슘 포스페이트 모노히드레이트 (MCPM), 무수 모노칼슘 포스페이트 (MCPA), 디칼슘 포스페이트 디히드레이트 (DCPD), 무수 디칼슘 포스페이트 (DCPA), 옥타칼슘 포스페이트 (OCP), α -트리칼슘 포스페이트, β -TCP, 히드록시아파타이트 (OHAp), 거의 결정화되지 않은 히드록시아파타이트, 테트라칼슘 포스페이트 (TTCP), 헵타칼슘 테카포스페이트, 칼슘 메타포스페이트, 칼슘 피로포스페이트 디히드레이트, 칼슘 피로포스페이트, 탄산 칼슘 포스페이트, 또는 그의 혼합물을 포함한다.
- [0052] 또 다른 실시양태에서, 골 대체제는 다공성 조성을 갖는다. 다공성은 이식 재료 내로의 세포 이동 및 침투를 용이하게 하여 침투 세포가 세포외 골 매트릭스를 분비할 수 있도록 하기 때문에 바람직한 특성이다. 다공성은 또한 혈관신생(vascularization)을 위한 접근을 제공한다. 다공성은 또한 활성 물질의 흡수 및 방출을 향상시킬뿐 아니라 세포-매트릭스 상호 작용을 증가시키는, 넓은 표면적을 제공한다. 조성물은 이식에 적합한 형태 (예컨대, 구형, 원통형, 또는 블럭형)로 제공될 수 있거나 또는 사용전에 사이징화 및 형태화될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 골 대체제는 칼슘 포스페이트 (예컨대, β -TCP)이다. 일부 실시양태에 따른 다공성 골 지지체 물질은 약 1 μm 내지 약 1 mm 범위의 직경을 갖는 기공을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 100 μm 내지 약 1 mm 범위의 직경을 갖는 거대기공을 포함한다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 10 μm 내지 약 100 μm 범위의 직경을 갖는 메조기공을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질은 약 10 μm 미만의 직경을 갖는 마이크로기공을 포함한다. 본 발명의 실시양태는 거대기공, 메조기공, 및 마이크로기공 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 골 지지체 물질을 고려한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 상호연결된 기공을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 비-상호연결된 기공을 포함한다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 상호연결된 및 비-상호연결된 기공을 포함한다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 다공성 골 지지체 물질은 약 25% 초과 또는 약 40% 초과 다공성을 갖는다. 다른 실시양태에서, 다공성 골 지지체 물질은 약 50% 초과, 약 60% 초과, 약 65% 초과, 약 70% 초과, 약 80% 초과, 또는 약 85% 초과 다공성을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 다공성 골 지지체 물질은 약 90% 초과 다공성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 다공성 골 지지체 물질은 지지체 물질 내로의 세포 이동을 용이하게 하는 다공성을 포함한다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 다수의 입자를 포함한다. 예를 들어, 골 지지체 물질은 다수의 칼슘 포

스페이스트 입자를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질의 입자는 골 지지체를 위해 본원에 제공된 임의의 기공 직경 및 다공성을 개별적으로 입증할 수 있다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질의 입자는 골 지지체 물질을 위해 본원에 제공된 임의의 기공 직경 또는 다공성을 갖는 매트릭스를 제조하기 위한 연계를 형성할 수 있다.

[0055] 골 지지체 입자는 mm, μm 또는 마이크로미터 미만 (nm)의 크기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 1 μm 내지 약 5 mm 범위의 평균 직경을 갖는다. 다른 실시양태에서, 입자는 약 1 mm 내지 약 2 mm, 약 1 mm 내지 약 3 mm, 또는 약 250 μm 내지 약 750 μm 범위의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 100 μm 내지 약 300 μm 범위의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 입자는 약 75 μm 내지 약 300 μm 범위의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 25 μm 미만, 약 1 μm 미만, 및 일부 경우에 약 1 mm 미만의 평균 직경을 갖는다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 100 μm 내지 약 5 mm 또는 약 100 μm 내지 약 3 mm 범위의 평균 직경을 갖는다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 250 μm 내지 약 2 mm, 약 250 μm 내지 약 1 mm, 약 200 μm 내지 약 3 mm 범위의 평균 직경을 갖는다. 또한, 입자는 약 1 nm 내지 약 1000 nm, 약 500 nm 미만, 또는 약 250 nm 미만의 범위일 수 있다.

[0056] 일부 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 1 μm 내지 약 5 mm 범위의 직경을 갖는다. 다른 실시양태에서, 입자는 약 1 mm 내지 약 2 mm, 약 1 mm 내지 약 3 mm, 또는 약 250 μm 내지 약 750 μm 범위의 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 100 μm 내지 약 300 μm 범위의 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 입자는 약 75 μm 내지 약 300 μm 범위의 직경을 갖는다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 25 μm 미만, 약 1 μm 미만, 및 일부 경우에 약 1 mm 미만의 직경을 갖는다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 100 μm 내지 약 5 mm 또는 약 100 μm 내지 약 3 mm 범위의 직경을 갖는다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 입자는 약 250 μm 내지 약 2 mm, 약 250 μm 내지 약 1 mm, 약 200 μm 내지 약 3 mm 범위의 직경을 갖는다. 입자는 또한 약 1 nm 내지 약 1000 nm, 약 500 nm 미만 또는 약 250 nm 미만의 범위 내일 수 있다.

[0057] 일부 실시양태에 따른 골 지지체 물질은, 이식에 적합한 형태 (예를 들어, 구형, 원통형, 또는 블록형)로 제공될 수 있다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질은 성형가능하고/하거나, 사출성형가능하고/하거나, 주사가능하다. 성형가능하고/하거나, 사출가능하고/하거나, 주사가능한 골 지지체 물질은 척추 유합 절차 동안 요망되는 골 유합 부위에서 골의 표적 부위 및 주위에, 및 골 사이에 본 발명의 조성물을 효율적으로 배치하는 것을 용이하게 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 성형가능한 골 지지체 물질은 주각 또는 등가의 기구로 골 유합 부위에 적용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 유동성이다. 일부 실시양태에서, 유동성 골 지지체 물질은 주사기 및 바늘 또는 캐놀라를 통해 골 유합 부위로 적용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 생체내에서 경화된다.

[0058] 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 생체재흡수성이다. 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 생체내 이식 후 1년 안에 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75% 또는 90% 이상 재흡수될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질은 생체내 이식 후 1, 3, 6, 9, 12, 또는 18 개월 안에 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75% 또는 90% 이상 재흡수될 수 있다. 생체재흡수성은 (1) 매트릭스 물질의 특성 (즉, 그의 화학적 구성(make up), 물리적 구조 및 크기); (2) 매트릭스가 배치되는 신체내의 위치; (3) 사용된 매트릭스 물질의 양; (4) 환자의 대사 상태 (당뇨병성/비-당뇨병성, 골다공증성, 흡연자, 노령, 스테로이드 사용 등); (5) 치료받은 상처의 규모 및/또는 유형; 및 (6) 매트릭스에 추가로 다른 물질, 예컨대 다른 골 동화작용, 이화작용 및 항이화작용 인자의 사용에 따라 의존할 것이다.

[0059] 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합제

[0060] 또 다른 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합제를 포함한다. 생체적합성 결합제를 추가로 포함하는 생체적합성 매트릭스의 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 본원의 상기에서 제공된 것과 일치한다.

[0061] 일부 실시양태에 따른 생체적합성 결합제는 결합된 물질 사이의 응집을 촉진하는데 사용될 수 있는 물질을 포함할 수 있다. 생체적합성 결합제는, 예를 들어, 생체적합성 매트릭스 형성에서 골 지지체 물질의 입자 사이의 부착을 촉진할 수 있다. 특정한 일부 실시양태에서, 동일 물질이 결합된 물질들 사이의 응집을 촉진하는 역할을 하면서 신규 골 성장이 일어날 뼈대를 제공하는 경우, 이러한 동일 물질은 지지체 물질 및 결합제의 둘 다를로서 역할을 할 수 있다.

- [0062] 일부 실시양태에서, 생체적합성 결합체는 콜라겐, 폴리사카리드, 핵산, 탄수화물, 단백질, 폴리펩티드, 합성 중합체, 폴리(α -하이드록시산), 폴리(락톤), 폴리(아미노산), 폴리(안히드리드), 폴리우레탄, 폴리(오르토에스테르), 폴리(안히드리드-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, 폴리카르복실산, 폴리(알릴아민 히드로클로리드), 폴리(디알릴디메틸암모늄 클로리드), 폴리(에틸렌이민), 폴리프로필렌 푸마레이트, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 탄소 섬유, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리(비닐 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(에틸옥사졸린), 폴리(에틸렌 옥사이드)-코-폴리(프로필렌 옥사이드) 블록 공중합체, 폴리(에틸렌 테레프탈레이트)폴리아미드, 및 그의 공중합체 및 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0063] 다른 실시양태에서, 생체적합성 결합체는 알긴 산, 아라빅 검, 구아 검, 크산탐 검, 젤라틴, 키틴, 키토산, 키토산 아세테이트, 키토산 락테이트, 콘드로이틴 술페이트, 레시틴, N,O-카르복시메틸 키토산, 포스파티딜콜린 유도체, 텍스트란 (예컨대, α -시클로텍스트린, β -시클로텍스트린, γ -시클로텍스트린, 또는 나트륨 텍스트란 술페이트), 피브린 글루(fibrin glue), 레시틴, 글리세롤, 히알루론산, 나트륨 히알루로네이트, 셀룰로스 (예컨대, 메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스, 또는 히드록시에틸 셀룰로스), 글루코사민, 프로테오글리칸, 전분 (예컨대, 히드록시에틸 전분 또는 가용성 전분), 락트산, 플루론산, 나트륨 글리세로포스페이트, 글리코젠, 케라틴, 실크, 및 그의 유도체 및 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0064] 일부 실시양태에서, 결합체는 콜라겐을 포함한다. 일부 실시양태에서, 콜라겐은 I 형 콜라겐을 포함한다. 일부 실시양태에서, 콜라겐은 소 I 형 콜라겐을 포함한다. 일부 실시양태에서, 생체적합성 결합체는 히알루론산을 포함한다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 생체적합성 결합체는 수용성이다. 수용성 결합체는 생체적합성 매트릭스로부터 그의 이식 직후에 용해할 수 있고, 그렇게 함으로써 생체적합성 매트릭스 내에 거대다공성을 도입할 수 있다. 본원에 논의된 것과 같은 거대다공성은 접근성을 향상시킴으로써, 및 따라서 이식 부위에서 파골세포(osteoclasts) 및 조골세포(osteoblasts)의 리모델링 활성을 향상시킴으로써 이식 재료의 골 전도성을 증가시킬 수 있다.
- [0066] 일부 실시양태에서, 생체적합성 결합체는 생체적합성 매트릭스의 약 1 중량% 내지 약 70 중량%, 약 5 중량% 내지 약 50 중량%, 약 10 중량% 내지 약 40 중량%, 약 15 중량% 내지 약 35 중량%, 또는 약 15 중량% 내지 약 25 중량% 범위의 양으로 생체적합성 매트릭스 내에 존재할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 생체적합성 결합체는 생체적합성 매트릭스의 약 20 중량%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0067] 일부 실시양태에 따른 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합체를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 유동성이고/이거나, 성형가능하고/하거나, 압출성형가능할 수 있다. 그러한 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 페이스트(paste) 또는 퍼티(putty)의 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 페이스트 또는 퍼티 형태의 생체적합성 매트릭스는 생체적합성 결합체에 의해 서로 부착된 골 지지체 물질의 입자를 포함할 수 있다.
- [0068] 페이스트 또는 퍼티 형태의 생체적합성 매트릭스는 요망되는 이식 형태로 성형되거나 또는 이식 부위의 외형으로 성형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 페이스트 또는 퍼티 형태의 생체적합성 매트릭스는 주사기 또는 캐놀라를 사용하여 이식 부위내로 주사될 수 있다.
- [0069] 일부 실시양태에서, 페이스트 또는 퍼티 형태의 생체적합성 매트릭스는 경화되지 않으며, 이식 후 유동성 및 성형가능한 형태를 유지한다. 다른 실시양태에서, 페이스트 또는 퍼티는 이식 후 경화될 수 있으며, 따라서 매트릭스 유동성 및 성형성을 감소시킨다.
- [0070] 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합체를 포함하는 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에서, 또한 블럭형, 구형, 또는 원통형 또는 임의의 요망되는 형태, 예를 들면 곱팡이 또는 적용 부위에 의해 정의된 형태를 포함하는 미리결정된 형태로 제공될 수 있다.
- [0071] 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합체를 포함하는 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에서, 상기한 바와 같이 생체흡수성이다. 생체적합성 매트릭스는, 그러한 실시양태에서, 생체내 이식의 1년 내에 재흡수될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질 및 생체적합성 결합체를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 생체내 이식의 1, 3, 6, 또는 9개월 내에 재흡수될 수 있다. 생체재흡수성은 (1) 매트릭스 물질의 특성 (즉, 그의 화학적 구

성, 물리적 구조 및 크기); (2) 매트릭스가 배치되는 신체내의 위치; (3) 사용된 매트릭스 물질의 양; (4) 환자의 대사 상태 (당뇨병성/비-당뇨병성, 골다공증성, 흡연자, 노령, 스테로이드 사용 등); (5) 치료받은 상처의 규모 및/또는 유형; 및 (6) 매트릭스에 추가로 다른 물질, 예컨대 다른 골 동화작용, 이화작용 및 항이화작용 인자의 사용에 따라 의존할 것이다.

[0072] 다음은 β -TCP 및/또는 콜라겐을 포함하는 생체적합성 결합체를 포함하는 골 지지체 물질에 관한 특정 실시양태를 기재하는 반면, 발명의 다른 실시양태는 β -TCP에 대한 다른 골 지지체 물질(들) (예를 들면, 또 다른 칼슘 포스페이트, 칼슘 술페이트, 또는 동종이식편)을 대체하고/하거나 콜라겐에 대한 다른 결합체(들)을 대체함으로써 생성될 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

[0073] β -트리칼슘 포스페이트를 포함하는 골 지지체

[0074] 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스로 사용하기 위한 골 지지체 물질은 β -TCP를 포함할 수 있다. β -TCP는, 일부 실시양태에 따라, 다양한 직경의 다중지향성 및 상호연결된 기공을 갖는 다공성 구조를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, β -TCP는 상호연결된 기공에 추가로 다양한 직경의 다수의 주머니(pocket) 및 비-상호연결된 기공을 포함한다. β -TCP의 다공성 구조는, 일부 실시양태에서, 약 100 μm 내지 약 1 mm의 범위의 직경을 갖는 거대기공, 약 10 μm 내지 약 100 μm 의 범위의 직경을 갖는 메조기공, 및 약 10 μm 미만의 직경을 갖는 마이크로기공을 포함한다. β -TCP의 거대기공 및 마이크로기공은 골유도 및 골전도를 촉진시킬 수 있는 반면, 거대기공, 메조기공 및 마이크로기공은 β -TCP 생체적합성 매트릭스에 걸쳐 골 재성장을 지지하기 위해 유체 소통 및 영양소 운반을 가능하게 할 수 있다.

[0075] 다공성 구조를 포함함에 있어, β -TCP는, 일부 실시양태에서, 25% 초과 또는 약 40% 초과와 다공성을 가질 수 있다. 다른 실시양태에서, β -TCP는 50% 초과, 약 60% 초과, 약 65% 초과, 약 70% 초과, 약 75% 초과, 약 80% 초과, 또는 약 85% 초과와 다공성을 가질 수 있다. 추가의 실시양태에서, β -TCP는 약 90% 초과와 다공성을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, β -TCP는 β -TCP 내로의 세포 이동을 촉진하는 다공성을 가질 수 있다.

[0076] 일부 실시양태에서, 골 지지체 물질은 β -TCP 입자를 포함한다. β -TCP 입자는, 일부 실시양태에서, β -TCP에 대해 본원에 제공된 임의의 기공 직경 및 다공성을 개별적으로 입증할 수 있다. 다른 실시양태에서, 골 지지체 물질의 β -TCP 입자는 임의의 골 지지체 물질에 대해 본원에 제공된 임의의 기공 직경 또는 다공성을 갖는 매트릭스를 생성하기 위한 연관성을 형성할 수 있다. 다공성은 후속적 골 형성을 위해 매트릭스 내로의 세포 이동 및 침투를 촉진할 수 있다.

[0077] β -TCP 입자는, 일부 실시양태에서, 약 1 μm 내지 약 5 mm의 범위의 평균 직경을 갖는다. 다른 실시양태에서, β -TCP 입자는 약 1 mm 내지 약 2 mm, 약 1 mm 내지 약 3 mm, 약 250 μm 내지 약 750 μm , 약 250 μm 내지 약 1 mm, 약 250 μm 내지 약 2 mm, 또는 약 200 μm 내지 약 3 mm의 범위의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, β -TCP 입자는 약 100 μm 내지 약 300 μm 의 범위의 평균 직경을 갖는다. 추가의 실시양태에서, β -TCP 입자는 약 75 μm 내지 약 300 μm 의 범위의 평균 직경을 갖는다. 추가의 실시양태에서, β -TCP 입자는 약 25 μm 미만의 평균 직경, 약 1 μm 미만, 또는 약 1 mm 미만의 평균 직경을 갖는다. 일부 실시양태에서, β -TCP 입자는 약 100 μm 내지 약 5 mm 또는 약 100 μm 내지 약 3 mm의 범위의 평균 직경을 갖는다.

[0078] β -TCP 입자를 포함하는 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에서, 이식을 위해 적합한 형태 (예를 들면, 구형, 원통형, 또는 블록형)로 제공될 수 있다. 다른 실시양태에서, β -TCP 골 지지체 물질은 성형가능하고/하거나, 압출성형가능하고/하거나, 주사가 가능하며, 따라서 척추 유합 절차 동안 요망되는 골 유합의 표적 부위 내 및 주위부의 매트릭스의 배치를 촉진시킨다. 유동성 매트릭스는 주사기, 튜브, 또는 주걱 또는 등가의 기구를 통해 적용될 수 있다. 유동성 β -TCP 골 지지체 물질은, 일부 실시양태에서, 주사기 및 바늘 또는 캐놀라를 통해 골 유합의 부위에 적용될 수 있다. 일부 실시양태에서, β -TCP 골 지지체 물질은 생체내에서 경화된다.

[0079] β -TCP 골 지지체 물질은, 일부 실시양태에 따라, 생체흡수성이다. 일부 실시양태에서, β -TCP 골 지지체 물질은 생체내 이식 1년 후 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 또는 85% 이상 재흡수될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, β -TCP 골 지지체 물질은 생체내 이식 1년 후 약 90% 초과로 재흡수될 수 있다.

[0080] β -TCP 및 콜라겐을 포함하는 생체적합성 매트릭스

[0081] 일부 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 β -TCP 골 지지체 물질 및 생체적합성 콜라겐 결합체를 포함할 수 있다. 콜라겐 결합체와의 조합을 위해 적합한 β -TCP 골 지지체 물질은 상기 본원에 제공된 β -TCP 골 지지체 물질과 일치한다.

- [0082] 콜라겐 결합제는, 일부 실시양태에서, I 형, II 형, 및 III 형 콜라겐을 포함하는 임의의 유형의 콜라겐을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 콜라겐 결합제는 콜라겐의 혼합물, 예를 들면 I 형 및 II 형 콜라겐의 혼합물을 포함한다. 다른 실시양태에서, 콜라겐 결합제는 생리학적 조건하에 가용성이다. 골 또는 근골격 조직 내에 존재하는 다른 유형의 콜라겐이 사용될 수 있다. 재조합, 합성 및 자연적으로 발생하는 형태의 콜라겐이 본 발명에서 사용될 수 있다.
- [0083] 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에 따라, 콜라겐 결합제와 서로 부착된 다수의 β -TCP 입자를 포함할 수 있다. 콜라겐 결합제와의 사용을 위해 적합한 β -TCP 입자는 본원에 기재된 임의의 β -TCP 입자를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 콜라겐 결합제와의 조합을 위해 적합한 β -TCP 입자는 약 1 μm 내지 약 5 mm의 범위의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 콜라겐 결합제와의 조합을 위해 적합한 β -TCP 입자는 약 1 μm 내지 약 1 mm, 약 1 mm 내지 약 2 mm, 약 1 mm 내지 약 3 mm, 약 250 μm 내지 약 750 μm , 약 250 μm 내지 약 1 mm, 약 250 μm 내지 약 2 mm, 약 200 μm 내지 약 1 mm, 또는 약 200 μm 내지 약 3 mm의 범위의 평균 직경을 갖는다. β -TCP 입자는, 다른 실시양태에서, 약 100 μm 내지 약 300 μm 의 범위의 평균 직경을 갖는다. 추가의 실시양태에서, 콜라겐 결합제와의 조합을 위해 적합한 β -TCP 입자는 약 75 μm 내지 약 300 μm 의 범위의 평균 직경을 갖는다. 추가의 실시양태에서, 콜라겐 결합제와의 조합을 위해 적합한 β -TCP 입자는 약 25 μm 미만 및, 약 1 mm 미만 또는 약 1 μm 미만의 평균 직경을 갖는다. 일부 실시양태에서, 콜라겐 결합제와의 조합을 위해 적합한 β -TCP 입자는 약 100 μm 내지 약 5 mm 또는 약 100 μm 내지 약 3 mm의 범위의 평균 직경을 갖는다.
- [0084] β -TCP 입자는, 일부 실시양태에서, 다공성 구조를 갖는 생체적합성 매트릭스를 생성하기 위해 콜라겐 결합제에 의해 서로 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 약 1 μm 내지 약 1 mm의 범위의 직경을 갖는 기공을 포함할 수 있다. β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 약 100 μm 내지 약 1 mm의 범위의 직경을 갖는 거대기공, 약 10 μm 내지 100 μm 의 범위의 직경을 갖는 메조기공, 및 약 10 μm 미만의 직경을 갖는 마이크로기공을 포함할 수 있다.
- [0085] β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 약 25% 초과 또는 40% 초과 다공성을 가질 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 약 50% 초과, 약 60% 초과, 약 65% 초과, 약 70% 초과, 약 80% 초과, 또는 약 85% 초과 다공성을 가질 수 있다. 추가의 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 약 90% 초과 다공성을 가질 수 있다. 다공성은 후속적 골 형성을 위해 매트릭스 내로의 세포 이동 및 침투를 촉진한다.
- [0086] β -TCP 입자를 포함하는 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에서, 콜라겐 결합제를 생체적합성 매트릭스의 약 1 중량% 내지 약 70 중량%, 약 5 중량% 내지 약 50 중량%, 약 10 중량% 내지 약 40 중량%, 약 15 중량% 내지 약 35 중량%, 또는 약 15 중량% 내지 약 25 중량%의 범위의 양으로 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, 콜라겐 결합제는 생체적합성 매트릭스의 약 20 중량%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0087] β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에 따라, 유동성이고/이거나, 성형가능하고/하거나, 압출성형가능할 수 있다. 그러한 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 페이스트 또는 퍼티의 형태일 수 있다. 페이스트 또는 퍼티는 요망되는 이식 형태로 성형되거나 또는 이식 부위의 외형으로 성형될 수 있다. 일부 실시양태에서, β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 페이스트 또는 퍼티 형태의 생체적합성 매트릭스는 주사기 또는 캐놀라를 사용하여 이식 부위내로 주사될 수 있다.
- [0088] 일부 실시양태에서, β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 페이스트 또는 퍼티 형태의 생체적합성 매트릭스는 이식되는 경우 유동성이고 성형가능한 형태를 보유할 수 있다. 다른 실시양태에서, 페이스트 또는 퍼티는 이식 후 경화될 수 있으며, 따라서 매트릭스 유동성 및 성형성을 감소시킨다.
- [0089] β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에서, 미리결정된 형태, 예를 들면 블럭형, 구형, 또는 원통형으로 제공될 수 있다.
- [0090] β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 재흡수가 가능할 수 있다. 일부 실시양태에서, β -TCP 입자 및 콜라겐 결합제를 포함하는 생체적합성 매트릭스는 생체내 이식 1년 후 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 또는 90% 이상 재흡수될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 이 매트릭스는 생체내 이식 후 1, 3, 6, 9, 12, 또는 18개월 내에 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75% 또는 90% 이상 재흡수될 수 있다.
- [0091] PDGF를 포함하는 용액을 포함하는 용액은 본 발명의 실시양태에 따라 척추 유합 절차에서의 골 유합을 촉진시키기 위한 조성물을 생성하기 위한 생체적합성 매트릭스 내에 배치될 수 있다.

[0092] 생체적합성 매트릭스 내로의 PDGF 용액의 혼입

[0093] 본 발명은 척추 유합 절차에서 사용하기 위한 조성물을 생산하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 골의 유합을 촉진하기 위한 조성물을 생산하는 방법은 PDGF를 포함하는 용액의 제공, 생체적합성 매트릭스의 제공, 및 생체적합성 매트릭스 내로의 용액의 혼입을 포함한다. 조합을 위해 적합한 PDGF 용액 및 생체적합성 매트릭스는 상기 본원에 기재된 PDGF 용액 및 생체적합성 매트릭스와 일치한다.

[0094] 일부 실시양태에서, PDGF 용액은 생체적합성 매트릭스를 PDGF 용액 중에 적심으로써 생체적합성 매트릭스 내에 혼입될 수 있다. PDGF 용액은, 또 다른 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스를 PDGF 용액으로 주사함으로써 생체적합성 매트릭스 내에 혼입될 수 있다. 일부 실시양태에서, PDGF 용액을 주사함은 생체적합성 매트릭스를 포화시키기 위해 주사기로의 PDGF 용액의 혼입 및 PDGF 용액의 생체적합성 매트릭스 내로의 방출을 포함할 수 있다.

[0095] 생체적합성 매트릭스는, 일부 실시양태에 따라, PDGF 용액을 받기 전에 미리결정된 형태, 예를 들면 벽돌(brick) 또는 원통의 형태일 수 있다. PDGF 용액을 받은 후, 생체적합성 매트릭스는 유동성이고/이거나, 압출 성형가능하고/하거나, 주사가능한 페이스트 또는 퍼티 형태를 가질 수 있다. 다른 실시양태에서, 생체적합성 매트릭스는 PDGF를 포함하는 용액을 받기 전에 유동성 페이스트 또는 퍼티 형태를 이미 입증할 수 있다.

[0096] 생물학적 활성제를 추가로 포함하는 조성물

[0097] 척추 유합 절차에서의 골 유합을 촉진하고/하거나 용이하게 하기 위한 본원에 기재된 조성물은, 일부 실시양태에 따라, PDGF에 추가로 하나 이상의 생물학적 활성제를 추가로 포함할 수 있다. PDGF에 추가로 본 발명의 조성물 내에 혼입될 수 있는 생물학적 활성제는 유기 분자, 무기 물질, 단백질, 펩티드, 핵산(예를 들면, 유전자, 유전자 단편, 작은 삽입(small insert) 리보핵산[si-RNA], 유전자 조절 서열, 핵 전사 인자, 및 안티센스 분자), 핵단백질, 폴리사카리드(예를 들면, 헤파린), 글리코단백질, 및 리포단백질을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물 내에 혼입될 수 있는 예를 들면, 항암제, 항생제, 진통제, 항-염증제, 면역억제제, 효소 억제제, 항히스타민제, 호르몬제, 근육 이완제, 프로스타글란딘, 영양 요소, 골전도성 단백질, 성장 인자, 및 백신을 포함하는 생물학적 활성 화합물의 비-제한적 예는, 미국 특허 출원 일련 번호 제11/159,533호(공개 번호: 제20060084602호)에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물 내에 혼입될 수 있는 생물학적 활성 화합물은 골전도성 인자, 예를 들면 인슐린-유사 성장 인자, 섬유아세포 성장 인자, 또는 다른 PDGF를 포함한다. 다른 실시양태에 따라, 본 발명의 조성물 내에 혼입될 수 있는 생물학적 활성 화합물은 바람직하게는 골전도성 및 골자극성(osteostimulatory) 인자, 예를 들면 골 형태형성 단백질(BMP), BMP 모방제, 칼시토닌, 칼시토닌 모방제, 스타틴, 스타틴 유도제, 또는 부갑상선 호르몬을 포함한다. 바람직한 인자는 또한 비스포스포네이트, 및 NF- κ B 리간드(RANK) 리간드의 수용체 활성제에 대한 항체를 포함하는 골 재흡수를 감소시키는 프로테아제 억제제, 및 골다공증성 치료를 포함한다.

[0098] 추가의 생물학적 활성제의 전달을 위한 표준 프로토콜 및 요법은 당업계에 공지되어 있다. 추가의 생물학적 활성제는 이식 부위에의 제제의 적절한 투여량의 전달을 가능하게 하는 본 발명의 조성물 내에 도입될 수 있다. 대부분의 경우, 투여량은 의사에게 공지되고, 논의되는 특정 제제에 적용되는 지침을 사용하여 결정된다. 본 발명의 조성물 내에 포함되어야 하는 추가의 생물학적 활성제의 양은 변수, 예를 들면 상태의 유형 및 정도, 특정 환자의 종합적인 건강 상태, 생물학적 활성제의 제제, 방출 역학, 및 생체적합성 매트릭스의 생체재흡수성에 의존할 수 있다. 표준 임상 시험은 임의의 특정 추가의 생물학적 활성제에 대한 투여량 및 투여 빈도를 최적화시키기 위해 사용될 수 있다.

[0099] 척추 유합 절차에서의 골 유합을 촉진시키기 위한 조성물은, 일부 실시양태에 따라, 자가 골수, 자가 혈소판 추출물, 및 합성 골 매트릭스 물질을 포함하는 PDGF와의 다른 골이식 물질의 첨가를 추가로 포함할 수 있다.

[0100] 척추 유합 절차의 수행 방법

[0101] 본 발명은 또한 척추 유합 절차를 수행하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 척추 유합 절차를 수행하는 방법은 생체적합성 매트릭스 내에 혼입된 PDGF 용액을 포함하는 조성물을 제공하고, 조성물을 요망되는 척추 유합 부위에 적용시키는 것을 포함한다. 생체적합성 매트릭스 내에 혼입된 PDGF 용액을 포함하는 조성물은, 예를 들면 요망되는 척추 유합 부위 내에 패키징될 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 조성물이 골 유합 부위에서의 골의 전체 표면적과 접촉되도록 패키징될 수 있다. 조성물은 유합된 골을 추가로 강화시키기 위해 골 유합 부위의 부근에 추가로 적용될 수 있다.

- [0102] 척추의 임의의 부분에서의 척추 골은 경추, 흉추, 요추, 및 엉치 영역을 포함하는 조성물 및 본 발명의 방법을 사용하여 유합될 수 있다.
- [0103] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 척추 유합 절차에서의 골 결합을 가속화시키는 것을 포함하며, 여기서 골 결합을 가속화시키는 생체적합성 매트릭스 내에 배치된 PDGF 용액을 포함하는 조성물을 제공하고, 조성물을 적어도 하나의 척추 유합 부위에 적용시키는 것을 포함한다.
- [0104] 다음 실시예는 동시에, 그러나, 임의로 그의 제한을 이루지 않고 본 발명의 추가 설명을 제공할 것이다. 반면, 다양한 실시양태, 그의 변형 및 등가에 의지할 수 있다는 것이 명백히 이해될 것이며, 본원의 기재를 읽은 후, 당업자에게 이들을 본 발명의 사상으로부터 벗어나지 않고 제안할 수 있다.
- [0105] 실시예 1
- [0106] PDGF의 용액 및 생체적합성 매트릭스를 포함하는 조성물의 제조
- [0107] β -TCP의 PDGF의 용액 및 생체적합성 매트릭스를 포함하는 조성물을 다음 절차에 따라 제조하였다. β -TCP는 약 1000 μm 내지 약 2000 μm 의 범위의 평균 직경을 갖는 β -TCP 입자를 포함하였다.
- [0108] rhPDGF-BB를 포함하는 용액을 수득하였다. rhPDGF-BB는 키론 코포레이션으로부터 나트륨 아세테이트 완충제 중의 10 mg/ml (즉, 로트(Lot) # QA2217)의 스톡 농도로 시판된다. rhPDGF-BB는 키론 코포레이션에 의한 효모 발현 시스템에서 생산되며, 미국 식품의약국에 의해 인간 사용에 대해 허가된 상품 REGRANEX, (Johnson & Johnson) 및 GEM 21S (BioMimetic Therapeutics)에서 이용되는 rhPDGF-BB와 동일 생산 시설로부터 유래된다. 이 rhPDGF-BB는 또한 유럽 연합 및 캐나다에서 인간 사용에 대해 허가되었다. rhPDGF-BB 용액은 아세테이트 완충제 중에 0.3 mg/ml로 희석되었다. rhPDGF-BB 용액은 본 발명의 실시양태에 따라 1.0 mg/ml를 포함하는 임의의 요망되는 농도로 희석될 수 있다.
- [0109] 약 3 ml의 rhPDGF-BB 용액 대 약 1 g 건조 중량의 β -TCP 생체적합성 매트릭스의 비율을 조성물을 제조하기 위해 사용하였다. rhPDGF-BB 용액을 주사기로 생체적합성 매트릭스의 β -TCP 입자 상에 방출하고, 생성된 조성물을 혼합하고 성형하였다.
- [0110] 실시예 2
- [0111] PDGF의 용액, 생체적합성 매트릭스 및 생체적합성 결합제를 포함하는 조성물의 제조
- [0112] 콜라겐, 생체적합성 결합제를 함유하는 생체적합성 매트릭스 및 PDGF의 용액을 포함하는 조성물을 다음 절차에 따라 제조하였다.
- [0113] β -TCP 및 콜라겐을 포함하는 생체적합성 매트릭스의 예비-중량을 쟈블럭을 수득하였다. β -TCP는 약 100 μm 내지 약 300 μm 의 범위를 갖는 평균 직경을 갖는 β -TCP 입자를 포함하였다. β -TCP 입자를 대략 20 중량% 가용성 소 콜라겐 결합제로 제제화하였다. β -TCP/콜라겐 매트릭스는 상업적으로 켄세이 내쉬(Kensey Nash) (Exton, Pennsylvania)로부터 수득될 수 있다.
- [0114] rhPDGF-BB를 포함하는 용액을 수득하였다. rhPDGF-BB는 키론 코포레이션으로부터 나트륨 아세테이트 완충제 중의 10 mg/ml (즉, 로트 # QA2217)의 스톡 농도로 시판된다. rhPDGF-BB는 키론 코포레이션에 의한 효모 발현 시스템에서 생산되며, 미국 식품의약국에 의해 인간 사용에 대해 허가된 상품 REGRANEX, (Johnson & Johnson) 및 GEM 21S (BioMimetic Therapeutics)에서 이용되는 rhPDGF-BB와 동일 생산 시설로부터 유래된다. 이 rhPDGF-BB는 또한 유럽 연합 및 캐나다에서 인간 사용에 대해 허가되었다. rhPDGF-BB 용액은 아세테이트 완충제 중에 0.3 mg/ml로 희석되었다. rhPDGF-BB 용액은 본 발명의 실시양태에 따라 1.0 mg/ml를 포함하는 임의의 요망되는 농도로 희석될 수 있다.
- [0115] 약 3 ml의 rhPDGF-BB 용액 대 약 1 g 건조 중량의 β -TCP/콜라겐 매트릭스의 비율을 조성물을 제조하기 위해 사용하였다. rhPDGF-BB 용액을 주사기로 β -TCP/콜라겐 매트릭스 상에 방출하고, 생성된 조성물을 혼합하고 성형하였다.
- [0116] 실시예 3
- [0117] 증대 골 이식편(Augment Bone Graft)의 제조 및 투여
- [0118] 증대TM 골 이식편 (rhPDGF-BB/ β -TCP)은 재조합 인간 혈소판-유래 성장인자 BB (20 mM 나트륨 아세테이트 완충제 중의 0.3 mg/ml) 및 베타-트리칼슘 포스페이트 과립으로 구성된 완전 합성 골 이식편 대체제이다. 베타-트리칼

습 포스페이트 입자 크기는 대략 1000 내지 2000 마이크로미터의 범위의 직경을 갖는다 (캠 바이오세라믹스(Cam Bioceramics) (Leiden, Netherlands)로부터 구입함).

[0119] 증대TM 골 이식편TM의 성분은 2개의 멸균 트레이 중에 제공되었다: 큰 트레이는 rhPDGF-BB 용액 (3 ml, 0.3 mg/ml)으로 무균성 충전된 바이알, 일회용 주사기 및 일회용 바늘을 함유하였다. 큰 트레이는 에틸렌 옥사이드에 의해 멸균되었다. 작은 트레이는 건조 β -TCP 과립으로 충전된 밀봉된 컵을 함유하였다. 작은 트레이는 감마 방사선에 의해 멸균되었다.

[0120] 조성물을 다음과 같이 제조하였다:

[0121] 1) 멸균 기술을 사용하여, 컵 (β -TCP 과립을 함유함) 및 바이알 (rhPDGF-BB 용액을 함유함)을 멸균 필드에 전달하였다.

[0122] 2) 컵을 열고, β -TCP 과립을 멸균 수술 보울(bowl)에 전달하였다.

[0123] 3) 주사기 및 바늘을 사용하여, 바이알의 내용물 전체를 뽑아내고, 모든 유체를 β -TCP 과립을 함유하는 수술 보울에 전달하였다. 다중 키트가 사용된 경우 (9cc를 초과하지 않음), 내용물을 합하였다.

[0124] 4) 2개의 성분을 함께 대략 30초 동안 주걱, 쿼레트 또는 유사한 기구를 사용하여 약하게 교반하였다.

[0125] 5) 혼합물은 β -TCP 입자의 최적의 포화를 보장하기 위해 이식 전 10분 동안 건드리지 않고 놓아두었다.

[0126] 6) 생성물을 2개의 성분을 혼합한 후 한 (1) 시간 내에 이식하였다.

[0127] 조성물을 다음과 같이 투여하였다:

[0128] 사용 당시, 2개의 주요 성분 전체를 합하고, 상기한 바와 같이 혼합하고, 수술 부위에 적용시켰다.

[0129] • 관절 표면의 괴사 조직을 제거하고, 생육가능한(viable) 골을 노출시키기 위해 결절제거하였다.

[0130] • 실용적인 경우, 이식편 부위의 수술 조작을 이식 재료를 이식하기 전에 완료하였다.

[0131] • 수술 부위를 관주하였다

[0132] • 증대TM 골 이식편을 수동으로 관절에 걸쳐 모든 연골 밑 공백 및 표면 불규칙성(irregularity) 내로 패킹(packed) 하였다. 골 결함(들)의 과충전을 충분한 고정, 봉합 및 물질의 근절을 달성하기 위해 피하였다.

[0133] • 관절을 감소시키고, 단단한 고정을 적용시켰다.

[0134] • 임의의 남아있는 증대TM 골 이식편TM을 관절의 주변에 패킹하였다.

[0135] • 모든 남아있는 rhPDGF-BB 용액을 수술 부위에 적용시켜 이식편이 계속 수화되도록 보장하였다.

[0136] • 골막 및 피개 연조직은 이식 재료를 둘러싸서 담기위해 조심스럽게 증화시켰다. 이식편 부위를 증대TM 골 이식편의 이식 후 관주하지 않았다.

[0137] 실시예 4

[0138] 증대 주사가능한 골 이식편(Augmented Injectable Bone Graft)의 제조 및 투여

[0139] 증대TM 주사가능한 골 이식편 (rhPDGF-BB/ β -TCP/소 1 형 콜라겐)은 재조합 인간 혈소판-유래 성장인자 BB, 베타-트리칼슘 포스페이트 과립 및 가용성 소 1 형 콜라겐으로 이루어진 합성 골 이식편 대체제이다. 베타-트리칼슘 포스페이트 입자 크기는 대략 100 내지 300 마이크로미터의 범위의 직경을 갖는다. 베타-트리칼슘 포스페이트 및 콜라겐을 켄세이 내쉬로부터 구입하였다. 베타-트리칼슘 포스페이트:콜라겐의 비율은 80:20 (w/w)이었다. 소 I 형 콜라겐 성분을 생성물의 취급 특징을 증대시키기 위해 첨가하였다. 콜라겐 성분은 생성물이 유동성 페이스트를 수득하기 위해 0.3 mg/ml rhPDGF-BB (20 mM 나트륨 아세테이트 완충제 중) 용액으로 제제화되도록 허용한다.

[0140] 증대TM 주사가능한 골 이식편의 성분이 2개의 멸균 용기로 이루어진 키트 중에 제공되었다: (1) 트레이는 rhPDGF-BB 용액 (3 ml, 0.3 mg/ml)으로 무균성 충전된 바이알을 함유하였다. 트레이는 에틸렌 옥사이드에 의해 멸균되었다. (2) 1 그램의 β -TCP/소 1 형 콜라겐 매트릭스를 함유하는 이중 포일/투명 주머니(pouch). 주머니

니는 감마 방사선에 의해 멸균되었다.

[0141] 조성물을 다음과 같이 제조하였다:

[0142] 1. 증대TM 주사가능한 골 이식편은 β -TCP/콜라겐 매트릭스를 rhPDGF-BB 용액으로 멸균 수술 보울 내에 무균 기술 하에 완전히 포화시킴으로써 제조하였다. 다중 키트가 요구된 경우 (총 3개의 키트를 초과하면 안됨), 내용물을 합하였다.

[0143] 2. β -TCP/콜라겐 매트릭스를 완전히 포화시킨 후, 혼합물을 대략 2분 동안 건드리지 않고 놓아두었다. 혼합물을 이어서 매끈한 페이스트가 형성되기까지 비-유리 주걱으로 3분 동안 혼합하였다. 제대로 혼합된 물질은 고체 물질의 큰 덩어리 또는 조각 없이 균일한 일관성을 가졌다.

[0144] 조성물을 다음과 같이 투여하였다:

[0145] 사용 당시, 2개의 주요 성분 전체를 합하고, 상기한 바와 같이 혼합하고, 수술 부위에 적용시켰다. 골의 결합의 노출 후, 골의 공백의 괴사 조직을 충분히 제거하고, 표준 골이식 절차에 따라 제조하였다.

[0146] 1. 포화 매트릭스를 골이식 부위에 조심스럽게 적용시켰다. 더 정확한 배치를 위해, 증대 주사가능한 골 이식편을 캐놀라 또는 큰 보어(bore) 바늘 (16 게이지의 크기보다 더 좁지 않음)을 사용하여 멸균 주사기 내에 패킹하고, 표적 부위(들) 내에 주입하고/밀어넣었다.

[0147] 2. 새로운 골의 형성을 증대시키기 위해, 증대 주사가능한 골 이식편을 잘-혈관분포된 골과 직접 접촉시켰다. 겹칠 골에, 증대 주사가능한 골 이식 재료의 배치 전에 구멍을 내었다.

[0148] 3. 물질을 이식 재료가 유합되는 전체 골 표면과 접촉되도록 수동으로 골 결합 내에 놓았다.

[0149] 4. 증대 주사가능한 골 이식편을 또한 성장 인자가 골막 골 형성을 증대시킬 수 있도록 고정 후 유합 부위 주위에 놓았다.

[0150] 5. 증대TM 주사가능한 골 이식 재료가 유합 공간 내에 함유되는 것을 보장하기 위해 주의하였다.

[0151] 6. 증대 주사가능한 골 이식편이 결합 부위 내에 패킹된 후, 골막 및 피개 연조직을 이식 재료를 둘러싸서 함유하기 위해 조심스럽게 충화시켰다. 이는 수술 부위에서의 세척, 골막하 재흡수, 외골증, 및 궤양화를 최소화시켰다. 증대TM 주사가능한 골 이식편의 이식 후 이식편 부위를 관주하지 않기 위해 주의하였다.

[0152] 7. 절차를 완료하기 위해 표준 수술 기술을 사용하였다.

[0153] 실시예 5

[0154] 증대 주사가능한 골 이식편의 제조 및 투여

[0155] 증대 주사가능한 골 이식편 (rhPDGF-BB/유동성 β -TCP)은 제조합 인간 혈소판-유래 성장인자 BB, 베타-트리칼슘 포스페이트 과립 및 가용성 소 I 형 콜라겐으로 이루어진 합성 골 이식편 대체제이다. rhPDGF-BB는 20 mM 나트륨 아세테이트 완충제의 용액으로 0.3 mg/mL의 농도로 제공된다. 베타-TCP 입자 크기는 대략 100 내지 300 마이크로미터의 범위의 직경을 갖는다. 자른(shredded) 소 I 형 콜라겐을 생성물의 처리 특징을 증대시키기 위해 첨가하였다. rhPDGF-BB 용액으로의 수화 후, 콜라겐은 β -TCP와 조합되어, 유동성 페이스트를 수득하였다. 콜라겐 및 베타-TCP는 쉐세이 내쉬로부터 구입하였다.

[0156] 증대 주사가능한 골 이식편은 2개의 주요 멸균 성분으로 이루어진다: (1) rhPDGF-BB 용액 (3 ml, 0.3 mg/ml)을 함유하는 무균성 충전된 바이알을 함유하는 트레이. 트레이는 에틸렌 옥사이드에 의해 멸균된다. (2) 10 cc 폴리프로필렌 주사기 내의 1 그램의 β -TCP/소 I 형 콜라겐 매트릭스 (80%/20% w/w)를 함유하는 포일/투명 주머니, 빈 폴리프로필렌 주사기, 1개의 18 게이지 둔단(blunt tip) 바늘, 1개의 14 게이지 둔단 바늘 및 암컷/암컷 루어(luer) 연결기. 주머니는 감마 방사선에 의해 멸균되었다.

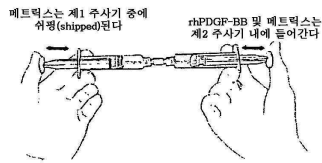
[0157] 조성물을 다음과 같이 제조하고 투여하였다:

[0158] 사용 당시, 2개의 주요 성분 전체를 합하고, 혼합하고 수술 부위에 적용시켰다.

[0159] 수술 부위의 노출 후, 관절(들)을 충분히 괴사 조직 제거하고, 표준 수술 기술에 따라 제조하였다. 모든 남아있는 연골을 제거하고, 대립하는 골의 표면을 건강한, 혈관분포된 골의 부가를 최적화시키기 위해 충분히 준비하였다. 이를 남아있는 연골 밑 플레이트를 이식편의 삽입 전에 노출된 출혈 골의 표면적을 최대화시키는 수단

으로서 쿼레트, 천공기, 드릴에 끼우는 날 또는 골절단기의 표준 사용으로 페터링(feathering)하고/하거나 구멍을 뚫으로써 수행하였다.

[0160] 증대 주사가능한 골 이식편을 이어서 다음 도해에 나타난 바와 같이 β -TCP/콜라겐 매트릭스를 rhPDGF-BB 용액으로 완전히 포화시킴으로써 제조하고, 다음과 같이 투여하였다:



[0161]

[0162] 1. rhPDGF-BB 용액을 함유하는 바이알의 내용물을 빈 주사기 및 18 게이지 바늘을 사용하여 완전히 빼내었다. 모든 유체가 바이알로부터 추출된 후, 바늘을 제거하고, 주사기 내에 남아있는 임의의 공기를 대체하였다.

[0163] 2. β -TCP/콜라겐 매트릭스를 함유하는 주사기로부터의 뚜껑을 제거하였다. 플런저를 10 ml 표시에 당기고, 주사기를 매트릭스를 느슨하게 하기 위해 가볍게 두드렸다. 플런저를 8 ml 표시에 되돌려놓았다.

[0164] 3. rhPDGF-BB 용액을 함유하는 주사기를 매트릭스를 함유하는 주사기와 암컷-대-암컷 루어-록(lock) 연결기를 사용하여 연결시켰다.

[0165] 4. rhPDGF-BB 용액을 매트릭스를 함유하는 주사기 내에 전달하였다. 모든 rhPDGF-BB 용액을 전달한 후, 수화 매트릭스를 함유하는 주사기 상의 플런저를 10 ml 표시에 당겼다.

[0166] 5. 수화 매트릭스를 함유하는 주사기의 플런저를 방출하였다. 주사기를 최소 90초 동안 건드리지 않고 놓아두게 하였다.

[0167] 6. 매트릭스를 수화시킨 후, 내용물을 2개의 주사기 사이에서 (20) 20회의 주기 이상 동안 왔다갔다 전달하였다. 주기는 매트릭스를 빈 주사기에 전달하고, 되돌림으로서 정의된다. 완료 후, 매트릭스는 균일 페이스트를 형성한다.

[0168] 7. 모든 페이스트를 주사기 중 하나에 전달하고, 혼합 절차 중에 형성된 임의의 압력은 매트릭스를 함유하는 플런저를 약하게 당김으로써 완화되었다.

[0169] 8. 페이스트를 함유하는 주사기로부터의 빈 주사기 및 암컷-대-암컷 루어-록 연결기의 연결을 끊었다. 주사기 내에 남아있는 임의의 공기를 대체하고, 14 게이지 바늘을 연결시켰다. 수화 매트릭스를 공백 내에 제공하였다. 필요한 경우, 초기 힘을 페이스트가 14 게이지 바늘을 통해 흐르게 하도록 적용시켰다. 그러나, 페이스트가 흐르기 시작한 후 흐름을 유지하기 위해 요구되는 힘은 감소되었다.

[0170] 9. 수화 매트릭스를 수술 부위 (즉, 전체 관절에 걸쳐 가시화된 연골밀 공백, 및 표면 불규칙성)에 관절 감소 및 유합 부위의 나사 고정 후 즉시 조심스럽게 적용시켰다. 임의의 남아있는 (사용되지 않음) 증대 주사가능한 골 이식편을 유합 구축물의 외부 주변 주위에 패킹하였다.

[0171] 10. 새로운 골의 형성을 증대시키기 위해, 증대 주사가능한 골 이식편을 잘-혈관분포된 골과 직접 접촉시켰다. 결절 골에 증대 주사가능한 골 이식 재료의 배치 전에 구멍을 내었다.

[0172] 11. 증대 주사가능한 골 이식편을 결함 부위 내에 패킹한 후, 골막 및 피개 연조직을 이식 재료를 둘러싸고 함유하기 위해 조심스럽게 증화시켰다. 이는 수술 부위에서의 세척, 골막하 재흡수, 외골증, 및 궤양화를 최소화시킨다. 증대 주사가능한 골 이식편의 이식 후 이식편 부위를 관주하지 않기 위해 주의하였다.

[0173] 12. 표준 수술 기술을 절차를 완료하기 위해 사용하였다.

[0174] 13. 임의의 남아있는 이식 재료를 폐기하였다.

[0175] 실시예 6

[0176] 증대TM 골 이식편 및 증대TM 주사가능한 골 이식편으로의 처리 후 양에서의 추체 간 척추 유합의 결정

[0177] 목적

[0178] 이 연구의 목적은 자가이식편과 비교하여 양 척추 유합 모델에서의 rhPDGF-BB (β -TCP, β -TCP/콜라겐)를 함유하는 L2/L3 및 L4/L5 척추체의 추체간 유합 (골의 가교)을 촉진하기 위한 상이한 매트릭스의 능력을 결정하기

위한 것이었다.

[0179] 시험 시설

[0180] 수술, 목숨이 있는 동안(in-life) 후속-조치, 방사선 영상화 및 부검을 포함하는 연구의 생체내 부분을 포트 콜린스(Fort Collins), 콜로라도 소재의 콜로라도 주립대(Colorado State University)의 디파트먼트 오브 클리니컬 사이언시즈(Department of Clinical Sciences)의 스몰 루미넌트 컴퍼러티브 오쏘피딕 라보라토리(Small Ruminant Comparative Orthopedic Laboratory)에서 수행하였다. 마이크로CT(MicroCT) 영상화 및 조직학 공정 및 평가를 바이오미메틱 थे라퓨틱스, 인크.(BioMimetic Therapeutics, Inc.) 프랭클린, 테네시(Franklin, TN) 시설에서의 알앤디 라보라토리(R&D Laboratory)에서 수행하였다.

[0181] 연구 고안

[0182] 이십-이 (22) 마리의 양이 척추 스페이서로서 폴리폴리에테르에테르케톤 (PEEK) 스페이서를 사용하여 비-기구화(un-instrumented), 이중-수준, 외측 추체 간 척추 유합 절차를 받기로 예정되었다.

[0183] PEEK 척추 스페이서를 다음 매트릭스 중 하나로 패키징하였다: 군 1 - 비어있음; 군 2 - 장골능선 자가이식편; 군 3 - 증대 골 이식편 (ABG; β -TCP + 0.3 mg/mL rhPDGF-BB); 군 4 - 증대 주사가능한 골 이식편 (AIBG; β -TCP/콜라겐 + 0.3 mg/mL rhPDGF-BB). 군 3 및 4는 평가된 시험 품목이었고; 군 2는 양성 대조군이었고, 군 1은 음성 대조군이었다.

[0184] 동일 처리를 수준 사이의 가능한 확산을 방지하거나, 또는 생물학적 물질의 전신성 효과를 방지하기 위해 L2/L3 및 L4/L5 수준 둘 다에서 각각의 양 내에서 사용하였다. 군 2-4에서 평가된 10 유합 수준에 상응하는 5마리의 동물이 있었고, 군 1에서 평가된 14 유합 수준에 상응하는 7마리의 동물이 있었다. L1 내지 L6으로부터의 요추 골의 외측 및 전후상 방사선사진을 수술 후 0, 12 및 24주차에서 촬영하였다. 모든 동물을 수술 후 24 주차에서 희생시키고, 유합 부위를 일괄적으로 제거하였다. 유합을 마이크로CT 및 조직학적 분석에 의해 평가하였다.

[0185] 종

[0186] 이십-이 (22) 마리의 성숙, 암컷 람부일레트(Rambouillet) x 콜럼비아(Columbia) 양을 이 연구를 위해 사용하였다. 모든 양을 단일 상업적 공급원으로부터 획득하고, 연구의 참여 전에 최소 28일의 순응 기간을 가졌다. 양의 귀에 독특한 개별 동물 확인을 위해 꼬리표를 붙였다. 신체 검사를 임의의 건강하지 않은 동물을 확인하고 대체하기 위해 수행하였다. 모든 동물을 구충하고, 수술 시간 즈음에 큰 동물 연구 헛간 내에 보관하고, 이어서 목장 내에 보관하였다. 모든 동물에게 풀/알팔파 건초 혼합물의 식단을 순응 및 연구 기간에 걸쳐 먹였다. 매일 동물 케어(care)가 SRCOL 직원 일원 및 씨에스유 라보라토리 애니 멀 리소시즈(CSU Laboratory Animal Resources) 그룹에 의해 제공되었다.

[0187] 살아있는 동물의 사용에 관련된 모든 절차는 콜로라도 주립대 IACUC에 의해 허가되었다.

[0188] 샘플 크기

[0189] 총 22마리의 동물은 척추 스페이서로서 폴리폴리에테르에테르케톤 (PEEK) 스페이서를 사용하여 척추 유합을 받았다. 동물은 L2/L3 및 L4/L5 수준 둘 다에서의 동일 처리로 다음 중 하나로 패키징된 PEEK 스페이서를 받았다: 군 1 - 비어있음 (n = 7마리의 동물; 14 유합 부위); 군 2 - 자가이식편 (n = 5마리의 동물; 10 유합 부위); 군 3 - ABG (n = 5마리의 동물; 10 유합 부위); 군 4 - AIBG (n = 5마리의 동물; 10 유합 부위).

[0190] 수술 방법

[0191] 수술을 연구 시설 장소에서 수행하였다. 연구 스폰서로부터의 대표자는 수술 절차를 위해 참석하였다. 수술 기록 데이터 양식을 수술시에 완성하고, 이는 외과전문의, 처리 할당 군, 절개에서 봉합까지의 시간, 및 수술에서의 임의의 혼치않은 결과/사건을 포함하였다.

[0192] 수술 당일, 아세프로마진 말레에이트 (0.05 mg/kg IM) 및 브프레놀핀 (0.005 - 0.01 mg/kg IM)을 마취 유도 전에 투여하였다. 디아제팜 (0.22 mg/kg) 및 케타민 (10 mg/kg)으로 이루어진 IV 주사가 일반적인 마취의 유도를 위해 주어졌다. 커프트(cuffed) 기관내 튜브를 놓고, 일반적인 마취를 100% 산소 (2 L/분)에서 재호흡 시스템을 통해 할로탄 (1.5% 내지 3.0%)으로 유지시켰다. 동물을 호흡을 돕기 위해 환풍기 상에 놓았다.

[0193] 우측 외측 기댐에 동물을 놓고, 털을 좌측 외측 요추 부위로부터 제거하였다. 좌측 외측 요추 부위 및 장골능선 부위 상의 피부 (자가이식편 군 만)를 무균 수술을 위해 포비돈-요오드 (베타딘) 및 알코올의 교대 스크럽

(scrubs)을 사용하여 준비하였다. 부위를 이어서 무균 수술을 위해 걸치고, L2/L3 및 L4/L5의 디스크 공간에의 외측 복막후 접근을 수행하였다. 먼저, L4/L5의 디스크 공간을 확인하고, 어눌로톰(anulotomy)를 수행하였다. 미다스-렉스(Midas-Rex) 버르(burr)를 사용하여, 말단플레이트를 척추 스페이스-CR 스페이스를 받아들이기 위한 크기로 제조하였다.

[0194] 척추 스페이스의 삽입 전, 척추 스프레더(spreader)를 디스크 공간을 열기 위해 사용하였다. 스페이스, 및 그의 내용물 (0.4 mL)을 위치에 밀어넣었다. 동일 절차를 L2/L3에서, L4/L5 수준에서 사용된 바와 같이 동일 시험 품목으로 실험적 설계를 기반으로 수행하였다. 외부 안구 근막 (0 폴리소르브 흡수가능한 봉합선, 피하 조직 (2/0 폴리소르브) 및 피부 (2/0 모노필라멘트 비-흡수가능한 봉합선, 포드(Ford) 교합 패턴)의 일상적인 봉합을 수행하였다. 수술 전후 항생제 (세파졸린 나트륨)를 투여하였다.

[0195] 물질의 제조

[0196] 장골능선 자가이식편 수거. 후방 및 후외방 요추 및 장골능선 부위를 포비돈-요오드의 다중 스크럽으로 이소프로필 알코올과 교대하여 무균 수술을 위해 준비하였다. 부위를 접촉도포하고, 3-cm 절개를 장골능선 상에 수행하였다. 둔부근의 부분적 반사 후, 양성 대조군 양의 L2/L3 및 L4/L5에서의 척추 스페이스-CR 스페이스 내에 나중에 삽입되는 대략 1 cc의 자가 해면골을 제거하기 위해 큐레트를 사용하였다. 병변내 모르핀 술페이트 (1.5 mL (총 22.5 mg))를 장골능선 절개의 봉합 전에 투여하였다. 장골능선 상의 절개를 피하 조직에 대해 2/0 폴리소르브를 사용하고, 피부에 대해 스테인리스강 스테이플(staple)을 사용하여 일상적으로 닫았다.

[0197] ABG. 이식 전에, ABG 이식 재료를 실시예 3에 따라 제조하였다. 수화 ABG를 실온에서 5 - 15분 동안 놓아두도록 하고, 이어서 말단이 제거된 주사기에 전달하였다. 주사기를 PEEK 스페이스 (0.4 mL)의 내부에 정확한 부피를 분배하기 위해 사용하였다.

[0198] AIBG. 이식 전에, AIBG 이식 재료를 실시예 4에 따라 제조하였다. 수화 AIBG를 실온에서 5 - 15분 동안 놓아두도록 하고, 이어서 말단이 제거된 주사기에 전달하였다. 주사기를 PEEK 스페이스 (0.4 mL)의 내부에 정확한 부피를 분배하기 위해 사용하였다.

[0199] 후치료

[0200] 수술 직후, 양을 적절한 PEEK 스페이스 이식 배치를 확인하기 위한 요추골의 수술후 방사선사진 및 유합 평가를 위한 기준 방사선 영상화를 제공하기 위해 수술대에서 방사선과로 전달하였다. 이들을 이어서 알루미늄 스톱 트레이일러(trailer)로 이동시켰으며, 여기서 이들을 복장 기댐 내에 위치시켰다. 하루의 종말에, 모든 작동되는 양을 베테리너리 메디컬 센터(Veterinary Medical Center)의 연구 헛간에 이동시켰다. 모든 양은 수술 및 마취로부터 무사한 회복을 하였다. 양을 실내에 치유 절개 부위를 모니터링하기 위해 연구의 처음 2주 동안 보관하였다. 수술후 진통제를 펜타닐 패치 및 3일의 구강 페닐부타존과 함께 제공하였다. 동물을 정상적으로 24주의 연구 기간 동안 이동하도록 하였다.

[0201] 목숨이 있는 동안의 관찰 및 영상화

[0202] 임상적 관찰. 모든 양은 수술 및 마취로부터 무사한 회복을 하였다. 동물을 매일 2회 수술-후 연구 기간에 걸쳐 일반적인 태도, 식욕, 수술 부위의 모습, 신경학적 징후 및 호흡성 스트레스에 대해 관찰하였다. 일일 관찰 및 임의의 유해 사례는 SRCOL 직원에 의해 엑셀 스프레드시트에 기록되었다. 모든 동물은 24주 연구 기간을 생존하였으며, 이 연구 동안 예정되지 않은 동물 사멸은 없었다.

[0203] 방사선사진. 수술-후 즉시, 요추골의 외측 및 전후경 방사선사진을 2개의 수술 부위 (L2/L3 및 L4/L4)를 포함하여 기준 판독 및 이식 배치를 평가하기 위해 찍었다. 방사선사진을 수술 후 12주차 (생체내) 및 24주차 (외식된 척추)에서 또한 수득하였다. 영상화 후 모든 동물을 그들의 보관 단위(unit)로 돌려보냈다.

[0204] 부검 및 시료 수집 및 처리

[0205] 모든 동물을 AVMA 2007 지침에 따라, 수술 후 이십-사 (24)주차에서 펜토바비톤 나트륨의 정맥내 과다복용에 의해 안락사시켰다. 요추골을 안락사 후 외식시키고, 연조직을 제거하였다. 각각 척추 단위를 상기한 바와 같이 방사선촬영하였다.

[0206] 마이크로CT 분석

[0207] 마이크로CT 스캔 및 분석을 μ CT 80 시스템 (SCANCO USA, Southeastern, PA) 상에서 제조자의 분석 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 마이크로CT 분석을 위한 종말점은 척추 스페이스의 중앙강에 걸친 골의 가교 평가 및

중앙강의 골 부피/총 부피 (BV/TV)를 포함한다.

- [0208] 추가로, 감별 밀도 분석을 군 2 (자가이식편), 3 (ABG), 및 4 (AIBG)에서 복구 조직에서의 잔여 β -TCP의 존재를 얻기 위해 수행하였다.
- [0209] 조직학적 분석
- [0210] 수거하고 잘라낸 시료를 10% 중성 완충 포르말린 (NBF) 중에 밤새 놓고, 신선한 10% NBF로 변경하고, 이어서 고정을 완료하고, 탈회되지 않은 조직학을 제조하기 위해 바이오미메틱 세라퓨틱스 (BMTI)에 밤새 운송하였다.
- [0211] BMTI에 도착 후, 시료를 첨가(accessioned)하고, 필요한 경우 다시 자르고, 신선한 10% NBF로 변경하고, 여기서 이들은 진공하에 대략 1주 동안 남아있었다. 시료를 차등 EtOH 용액의 다수의 변화로 탈수시키고, 크실렌 및 메틸 메타크릴레이트 (MMA)로 맑게하였다. 다음, 시료를 MMA 및 디부틸 프탈레이트 (DBP)를 함유하는 3개의 용액 (침투 용액 I, II, 및 III)을 사용하여 진공하에 침투시켰다. 완료 후, 시료를 MMA + DBP 및 페르카독스-16의 신선한 용액 중에 묻고, 중합화되도록 하였다.
- [0212] 척추 스페이스의 중심 영역에 걸친 대표적인 조직학 절편 (1차 종말점)을 EXAKT 절단/분쇄(Cutting/Grinding) 시스템 (EXAKT Technologies, Inc., Oklahoma City, OK)을 사용하여 각각 수준으로부터 수득하였다. 추가의 절편을 척추 스페이스를 둘러싸는 부위로부터 채취하였다 (2차 종말점). 모든 절편을 이어서 적절한 두께로 "분쇄"하고, 이염색성 염료 (Sanderson's Rapid Bone Stain)를 단독으로 사용하고/하거나 대조염색법 (Van Gieson picrofuschin)과 조합하여 염색하였고, 골 형태학의 평가에서 사용되는 전통적인 트리크롬 염료를 수득하였다.
- [0213] 처리, 절편화, 및 염색 후, 개별적으로 표지된 절편 (독특한 식별 번호를 가짐)을 다음 점수매김 방법을 기반으로 등급별로 나누었다 (문헌 [Toth, J., et al., Evaluation of 70/30 poly (L-lactide-co-D,L-lactide) for use as a resorbable interbody fusion cage. Journal of Neurosurgery: Spine, 2002. 97(4 Suppl): p.423-432]; [Sandhu, H.S., et al., Histologic evaluation of the efficacy of rhBMP-2 compared with autograft bone in sheep spinal anterior interbody fusion. Spine, 2002. 27(6): p. 567575]; [Toth, J.M., Wang, M., Estes, B.T., Scifert, J.L., Seim, H.B., Turner, AS., *Polyetheretherketone as a biomaterial for spinal applications*. Biomaterials, 2006. 27(3 (Special Issue)): p. 324-334.]):
- [0214] 총 유합: 슬라이드의 50% 초과는 연속적인 골의 가교를 나타냄;
- [0215] 부분적 유합: 슬라이드의 50% 미만은 연속적인 골의 가교를 나타냄;
- [0216] 비-유합: 연속적인 골의 가교는 없었음.
- [0217] 통계학적 방법
- [0218] 처리군의 비교를 비 지표 데이터에 대한 사후 던스(Dunn's) 시험 (마이크로CT 및 조직학 유합 점수) 및 지표 데이터 (총 부피 및 무기질 밀도에 대한 골 부피)에 대한 홀름-시닥 사후 시험으로의 일방 ANOVA로 군 사이의 차이를 결정하기 위해 ANOVA 온 랭크스(on ranks)를 사용하여 수행하였다.
- [0219] 결과
- [0220] 마이크로CT
- [0221] 통계학적 분석은 빈 대조군보다 유의하게 더 높은 유합 속도를 갖는 ABG를 갖는 군 (ANOVA 온 랭크스; $p=0.021$) 사이에서의 차이를 밝혔다 (사후 던스 시험). 유의한 차이는 자가이식편, ABG 또는 AIBG 상의 유합 점수 사이에서 검출되지 않았다.
- [0222] 모든 처리군은 성공적인 유합을 갖는 적어도 하나의 시료를 가졌다 (2.00의 점수). ABG- 및 AIBG-처리군은 둘 다 완전히 유합된 것으로 점수가 매겨진 6개의 시료를 가진 반면 (표 2), 비어있음 및 자가이식편 군은 각각 2개 및 3개 만을 가졌다.
- [0223] 각각 처리군에 대한 마이크로CT 유합 점수의 요약은 표 1에 나타낸다; 개별 마이크로CT 유합 점수는 표 2에 나타낸다. 각각 시료로부터의 대표적인 마이크로CT 영상은 도 1a 및 1b에 나타낸다.

표 1

각각 처리군에 대한 마이크로CT 유합 점수.

군	평균	표준 편차	중위값	최대	최소
비어있음	0.72	0.62	0.61	2.00	0.00
자가이식편	1.63	0.48	1.81	2.00	0.67
ABG*	1.58	0.78	2.00	2.00	0.00
AIBG	1.44	0.74	2.00	2.00	0.22

*: 비어있음과 상이함; $p = 0.021$

표 2

각각 개별 시료에 대한 마이크로CT 유합 점수.

비어있음		자가이식편		ABG		AIBG	
ID	점수	ID	점수	ID	점수	ID	점수
02A	0.00	28A	1.78	48A	1.72	54A	0.22
02B	1.00	28B	0.89	48B	2.00	54B	0.83
08A	0.89	34A	2.00	49A	2.00	55A	2.00
08B	0.61	34B	1.67	49B	0.00	55B	2.00
15A	0.61	41A	0.67	50A	2.00	56A	0.94
15B	0.11	41B	1.94	50B	2.00	56B	0.44
18A	0.50	47A	1.83	51A	2.00	57A	2.00
18B	0.39	47B	1.50	51B	2.00	57B	2.00
22A	2.00	53A	2.00	52A	1.89	58A	2.00
22B	2.00	53B	2.00	52B	0.22	58B	2.00
23A	0.89						
23B	0.61						
25A	0.39						
25B	0.06						

PEEK 스페이서 내의 총 부피 (BV/TV; %) 상의 골 부피의 분석은 처리군 (일방 ANOVA, $p = 0.308$) 사이에서 차이를 밝히지 않았다. 각각 처리군에 대한 값의 요약은 표 3에 나타내며, 여기서 개별 BV/TV 값은 표 4에 나타낸다.

표 3

각각 처리군에 대한 총 부피(%)에 비교한 골 부피.

군	평균	표준 편차
비어있음	64.46%	11.69%
자가이식편	67.22%	14.77%
ABG	75.82%	15.39%
AIBG	63.59%	22.68%

표 4

각각 개별 시료에 대한 총 부피(%)에 비교한 골 부피.

비어있음		자가이식편		ABG		AIBG	
ID	BV/TV	ID	BV/TV	ID	BV/TV	ID	BV/TV
02A	53.60%	28A	82.14%	48A	68.33%	54A	27.53%
028	69.42%	288	79.18%	488	76.94%	548	39.69%
08A	64.53%	34A	63.36%	49A	77.41%	55A	60.92%
088	64.14%	348	70.81%	498	47.70%	558	83.14%
15A	56.97%	41A	35.87%	50A	77.15%	56A	42.26%
158	60.24%	418	65.14%	508	95.22%	568	47.88%
18A	52.34%	47A	73.74%	51A	90.59%	57A	84.98%
188	69.05%	478	76.83%	518	93.12%	578	87.84%
22A	80.48%	53A	48.33%	52A	75.59%	58A	84.59%
228	93.96%	538	76.80%	528	56.18%	588	77.08%
23A	58.91%						
23B	64.07%						
25A	56.43%						
25B	49.23%						

[0228]

[0229]

스페이서 내의 골 밀도의 분석은 군 (일방 ANOVA, $p < 0.001$) 사이의 차이를 밝혔다. ABG 군에서의 밀도는 다른 군 (사후 홀름-시탁(Holm-Sidak) 시험)보다 더 높았으며; AIBG 및 자가이식편은 비어있음보다 더 낮은 밀도를 가졌고, 서로 상이하지 않았다. 개별 골 밀도 값 ($\text{mg HA}/\text{cm}^3$)은 표 5에 나타내며; 각각 군에 대한 값의 요약은 표 6에 나타낸다.

표 5

각각 개별 시료에 대한 골 밀도 값($\text{mg HA}/\text{cm}^3$).

비어있음		자가이식편		ABG		AIBG	
ID	밀도	ID	밀도	ID	밀도	ID	밀도
02A	637.77	28A	621.59	48A	647.25	54A	626.59
028	648.86	288	646.98	488	671.65	548	632.76
08A	645.28	34A	628.83	49A	670.67	55A	613.63
088	649.03	348	672.10	498	712.87	558	662.62
15A	686.85	41A	591.72	50A	712.07	56A	624.98
158	663.97	418	604.24	508	701.96	568	624.72
18A	634.10	47A	619.71	51A	680.15	57A	609.43
188	652.43	478	638.57	518	675.05	578	629.01
22A	657.35	53A	617.83	52A	684.98	58A	636.52
22B	671.03	538	614.70	528	649.75	588	595.84
23A	269.63						
23B	655.11						
25A	696.69						
25B	678.90						

[0230]

표 6

각각 처리군에 대한 골 밀도 값(mg HA/cm³).

군	평균	표준 편차
미어있음 #	657.64	19.85
자가이식편	625.63	22.69
ABG*#	680.64	23.05
AIBG	625.61	17.78

*: 미어있음과 상이함; $p < 0.001$

#: AIBG 및 자가이식편과 상이함; $p < 0.001$

[0231]

[0232]

PEEK 스페이서 (표 7 및 도 2a 및 2b) 내의 골의 무기질 밀도의 상세한 분석은 ABG-처리 시료는 잔여 β -TCP에 상응할 가능성이 있는 높은 무기질 밀도 ($> 900 \text{ mg HA/cm}^3$)를 갖는 부위를 나타냈다는 것을 밝혔다. 이들 부위는 AIBG-처리 시료에서는 눈에 잘 띄지 않았으며, 자가이식편-처리 시료 또는 빈 시료에 존재하지 않았다. ABG-처리 시료의 물질 밀도는 정상 골의 물질 밀도와 가장 밀접하게 유사한 물질 밀도이다. 표 7은 자가이식편, ABG, 및 AIBG 처리군, 및 신선하게 제조된 ABG 및 AIBG에서의 밀도의 비교를 나타낸다.

표 7

각각 처리군에 대한 골 밀도(mg HA/cm³) 분포

군	450 – 600	600 – 750	750 – 900	900 - 1,200	> 1,200
자가이식편	61%	37%	2%	0%	0%
ABG	39%	47%	10%	4%	0%
AIBG	64%	34%	2%	0%	0%
정상 골	47%	50%	10%	4%	0%
갓-제조한 ABG	15%	14%	14%	28%	28%
갓-제조한 AIBG	47%	26%	10%	4%	0%

[0233]

[0234]

조직학

[0235]

통계학적 분석은 군 (랭크(Ranks) 상의 ANOVA; $p = 0.008$) 사이의 차이를 밝혔으며, ABG-처리군의 유합 점수는 빈 대조군의 유합 점수보다 유의하게 더 높았다 (사후 던스 시험).

[0236]

모든 처리군은 적어도 하나의 성공적인 유합을 갖는 시료를 가졌다 (2.00의 점수). ABG-처리군은 완전히 유합된 것으로 점수가 매겨진 7개의 시료를 가졌고 (표 9); AIBG-처리군 및 자가이식편-처리군은 이들 시료 중 5개를 가졌으며, 빈 군은 14개의 시료 중 하나만을 가졌고; 빈 군은 또한 0으로 점수가 매겨진 시료를 갖는 유일한 군이었다. 각각 처리군으로부터의 대표적인 조직학 영상은 도 3a 및 3b에 나타낸다. 잔여 β -TCP 입자는 ABG- 및 AIBG-처리군에서 눈에 보였다. 이들 입자는 우선적으로는 복구 조직의 특정 부위에 위치하지 않았으며, 이들은 무작위로 위치한 것으로 보였다. 입자는 섬유 피막형성의 임의의 징후 없이 골에 의해 둘러싸였다 (도 4). 일부 경우, β -TCP 입자를 유합 실패 부위에서 발견하였다. 이는 ABG-처리군에서의 시료 중 2개의 경우였으며, 이 부위에서 발견된 입자는 가장 큰 크기의 입자인 것으로 나타났다. AIBG-처리 시료에서의 유합되지 않은 일부 부위는 연골 조직을 제시하였으며; 이들 중 하나에서 이 조직은 β -TCP 입자 주위에서 발견되었다.

[0237]

각각 군에 대한 조직학 유합 점수의 요약은 표 8에 나타내며; 개별 조직학 유합 점수는 표 9에 나타낸다.

표 8

각각 처리군에 대한 조직학 유합 점수.

군	평균	표준 편차	중위값	최대	최소
비어있음	0.61	0.51	0.58	2.00	0.00
자가이식편	1.45	0.64	1.67	2.00	0.33
ABG*	1.62	0.73	2.00	2.00	0.17
AIBG	1.43	0.70	1.92	2.00	0.50

[0238]

표 9

각각 개별 시료에 대한 조직학 유합 점수, 각각 3명의 독립적인 관찰자에 의해 평가된 2개의 절편의 평균 점수의 평균.

비어있음		자가이식편		ABG		AIBG	
ID	점수	ID	점수	ID	점수	ID	점수
02A	0.17	28A	1.17	48A	1.67	54A	0.67
02B	0.67	28B	0.33	48B	2.00	54B	0.67
08A	1.00	34A	2.00	49A	2.00	55A	2.00
08B	0.33	34B	1.33	49B	0.17	55B	1.83
15A	0.00	41A	1.00	50A	2.00	56A	0.50
15B	0.00	41B	2.00	50B	2.00	56B	0.67
18A	0.33	47A	2.00	51A	2.00	57A	2.00
18B	0.67	47B	0.67	51B	2.00	57B	2.00
22A	1.00	53A	2.00	52A	2.00	58A	2.00
22B	2.00	53B	2.00	52B	0.33	58B	2.00
23A	0.67						
23B	0.67						
25A	0.50						
25B	0.50						

[0239]

[0240] 결론

[0241] ABG-처리 시료는 평가된 모든 군 중 가장 높은 유합 점수를 가졌다. ABG는 추체간 척추 유합을 빈 PEEK 스페이서와 비교하여 유의하게 촉진하였다.

[0242] 참고문헌

[0243] 문헌 [Sandhu, H.S., et al., Distractive Properties of a Threaded Interbody Fusion Device: An In Vivo Model. Spine, 1996.21(10): p. 1201-1210.]

[0244] [Sandhu, H.S., et al., Animal models of spinal instability and spinal fusion, in Animal Models in Orthopaedic Research, Y.H. An and R.J. Friedman, Editors. 1999, CRC Press: Boca Raton.]

[0245] [Toth, J.M., et al., Direct current electrical stimulation increases the fusion rate of spinal fusion cages. Spine, 2000. 25(20): p. 2580-2587.]

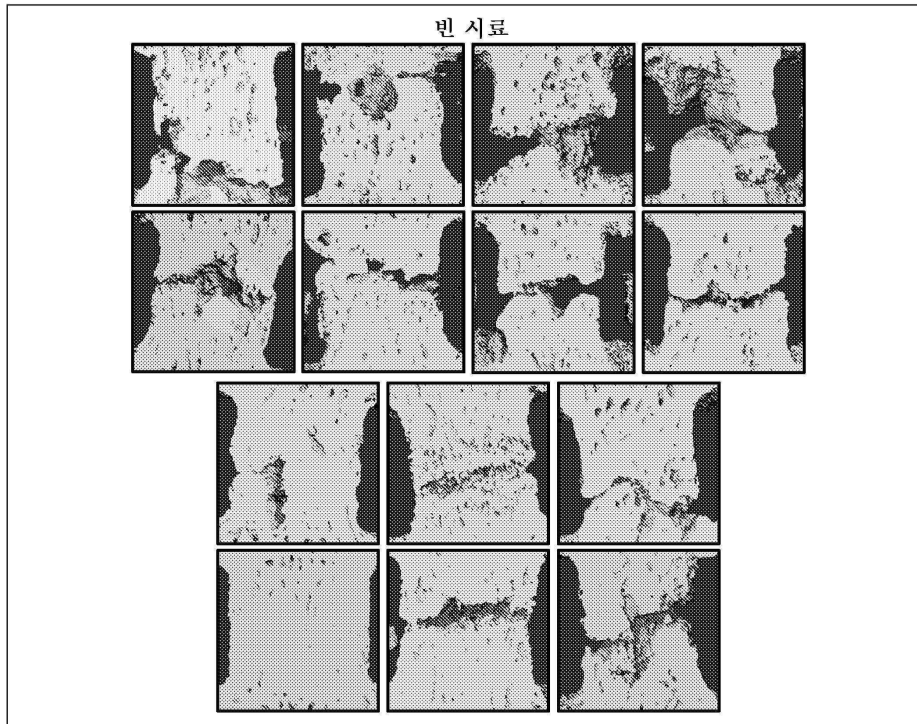
[0246] [Wilke, H., A Kettler, and L. Claes, Are sheep spines a valid biomechanical model for huma spines? Spine, 1997.22(20): p. 2365-2374.]

[0247] [Wilke, H.-J., et al., Anatomy ofthe sheep spine and its comparison to the huma spine. The Anatomical Record, 1997.247(4): p. 542-555.]

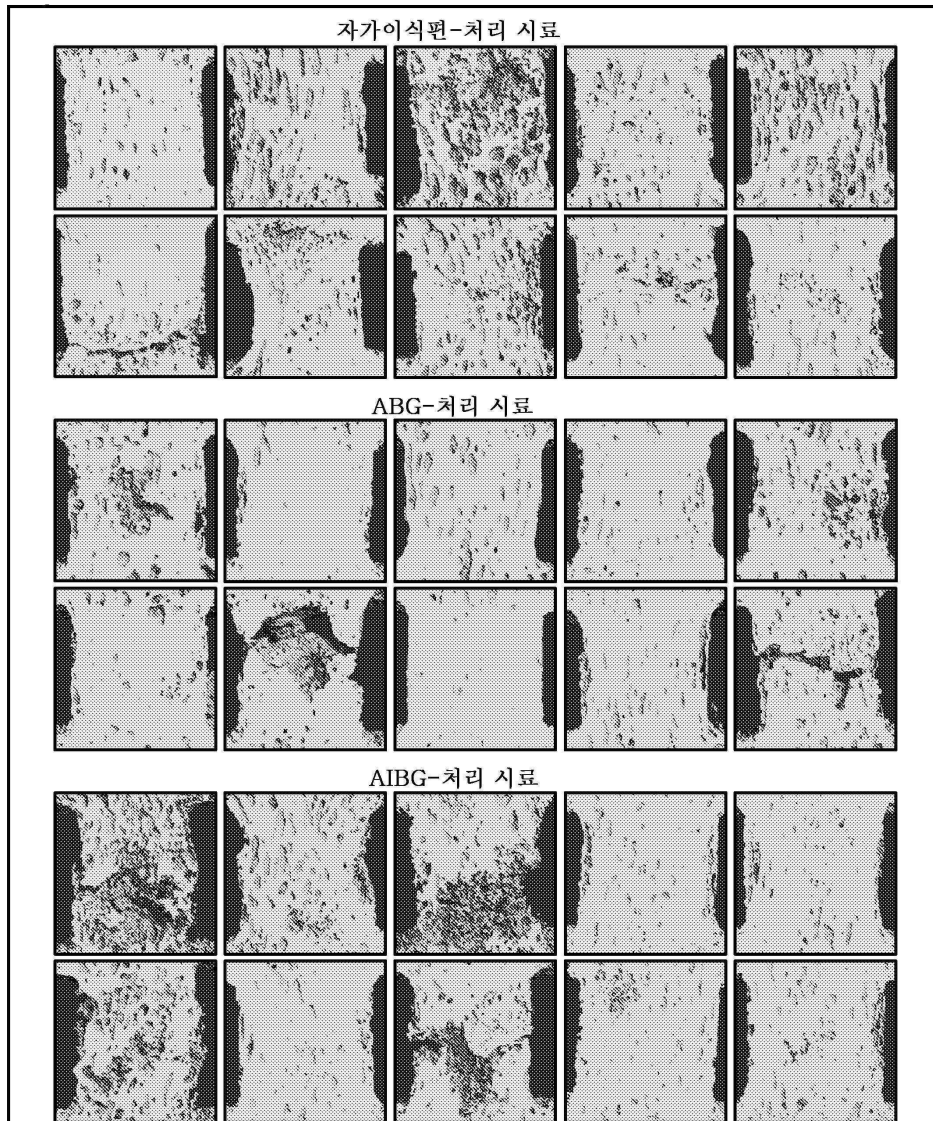
[0248] 상기 인용된 모든 특허, 발행물 및 요약서는 그 전문이 본원에 참조로 도입되었다. 상기는 바람직한 본 발명의 실시양태에만 관련되며, 그의 많은 변형 또는 변경이 하기 특허청구범위에 정의된 바와 같이 본 발명의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않고 수행될 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

도면

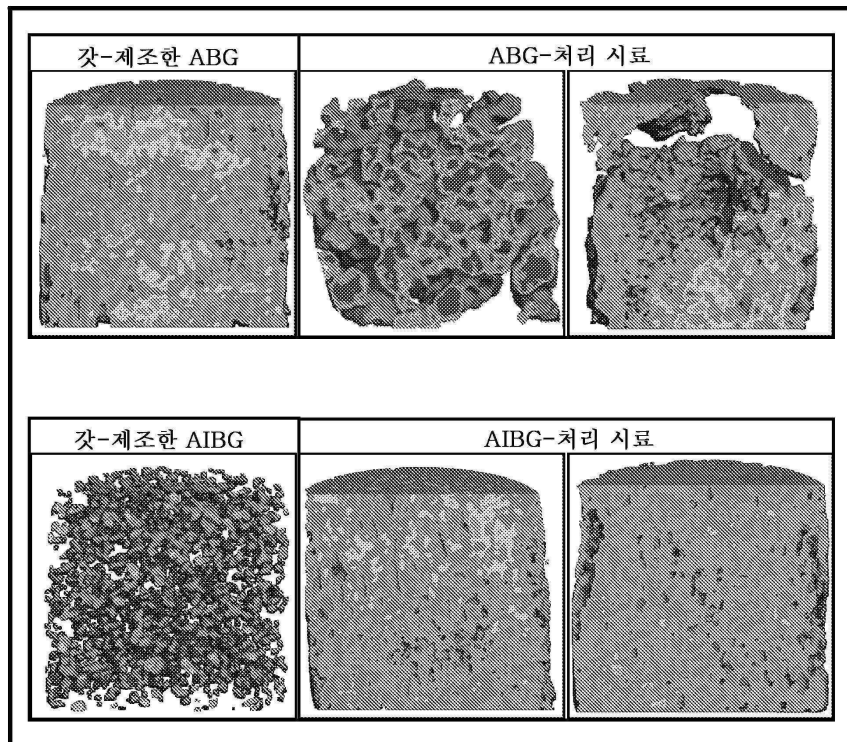
도면1a



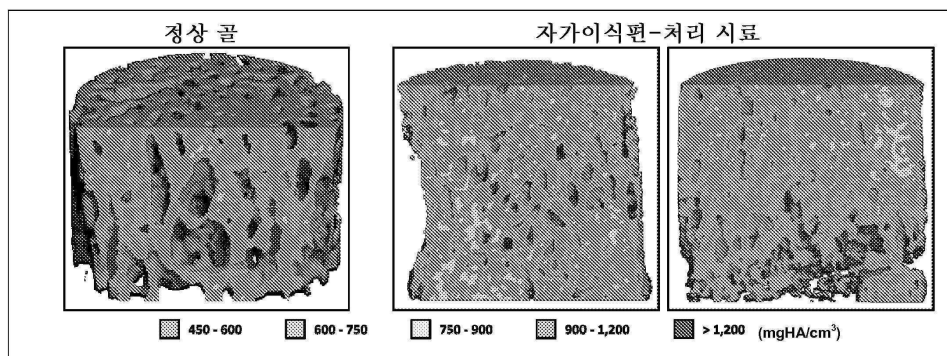
도면1b



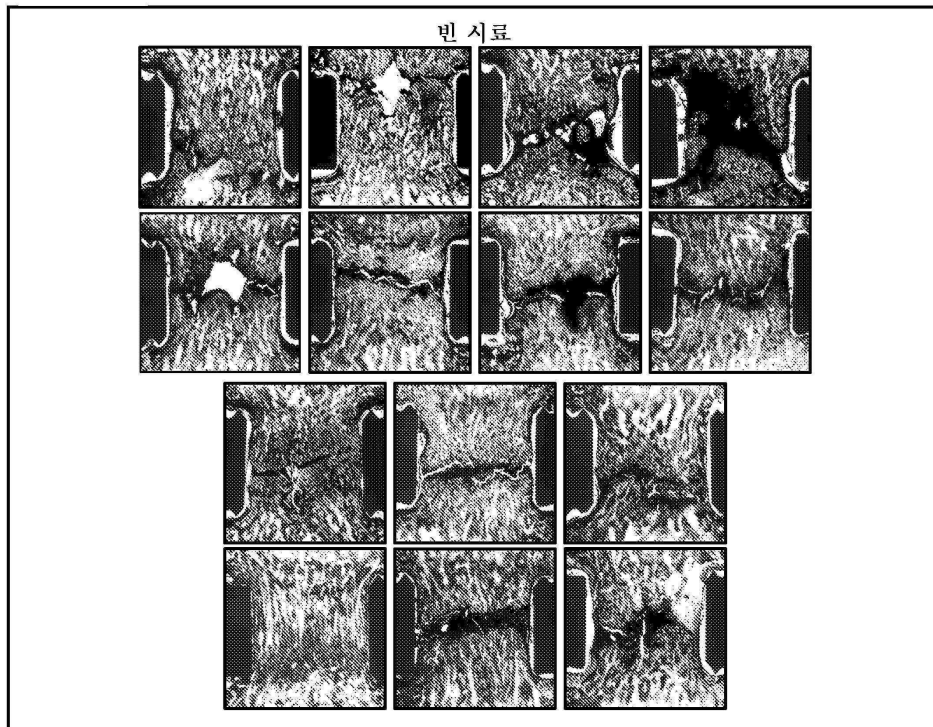
도면2a



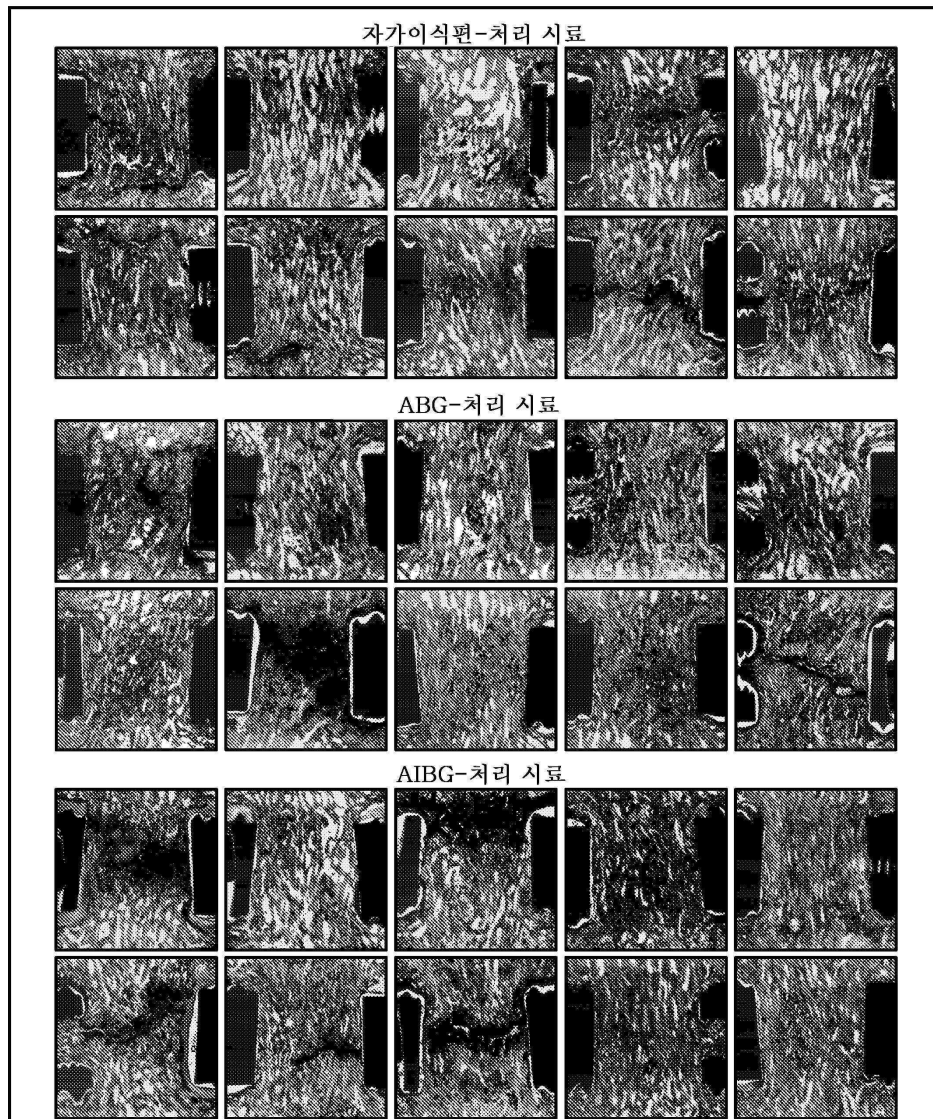
도면2b



도면3a



도면3b



도면4

