

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4717459号
(P4717459)

(45) 発行日 平成23年7月6日 (2011.7.6)

(24) 登録日 平成23年4月8日 (2011.4.8)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 F 2/00 (2006.01)	A 6 1 F 2/00
A 6 1 L 27/00 (2006.01)	A 6 1 L 27/00 Z

請求項の数 27 外国語出願 (全 33 頁)

(21) 出願番号	特願2005-32058 (P2005-32058)	(73) 特許権者	504202690
(22) 出願日	平成17年2月8日 (2005.2.8)		デビュイ・ミテック・インコーポレイテッド
(65) 公開番号	特開2005-237956 (P2005-237956A)		DePuy Mitek, Inc.
(43) 公開日	平成17年9月8日 (2005.9.8)		アメリカ合衆国、02062 マサチュー
審査請求日	平成20年2月6日 (2008.2.6)		セッツ州、レインハム、パラマウント・ド
(31) 優先権主張番号	10/775034		ライブ 325
(32) 優先日	平成16年2月9日 (2004.2.9)		249 Vanderbilt Avenue, Norwood, MA 02062
(33) 優先権主張国	米国 (US)		, U. S. A.
		(74) 代理人	100088605
			弁理士 加藤 公延

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 患者の組織の欠陥を修復するための組み合わせ移植片および組織の欠陥を修復する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者の組織の欠陥を修復するための組み合わせ移植片であって、

生物再吸収性の合成ポリマー材料から作られていて生存可能な組織を収容するように適合された少なくともひとつのポケットが形成された多孔性の楔形組織スカホルドを有し、

前記生存可能な組織が前記スカホルドに移住可能な在来組織からの細胞および前記細胞の細胞外基質を含み、前記生存可能な組織は、細かく切り刻まれた組織の破片の形態である、組み合わせ移植片。

【請求項 2】

前記生存可能な組織に適用されていて細胞の成長を活発にするのに有効な少なくともひとつの生物活性物質をさらに有する、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

10

【請求項 3】

前記生物活性物質が、血餅、多血小板血漿、軟骨由来の形態発生たんぱく、組み換え型のヒト成長因子、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される、請求項 2 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 4】

前記組織スカホルドが上部部分および底部部分を含む、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 5】

前記上部部分および前記底部部分が少なくとも部分的に結合されている、請求項 4 記載

20

の組み合わせ移植片。

【請求項 6】

前記組織スカホルドの前記上部部分および前記底部部分が前記上部部分および前記底部部分の周縁部で互いに熱融着されて前記上部部分および前記底部部分の間に閉じたポケットが形成されている、請求項 4 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 7】

前記ポケットが前記組織スカホルドに形成された中空内部からなる、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 8】

前記ポケットが前記組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 9】

前記組織スカホルドが血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部を含む、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 10】

少なくともひとつの前記表面特徴部が前記組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャンネルからなる、請求項 9 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 11】

患者の組織の欠陥を修復するための組み合わせ移植片であって、
少なくともひとつのポケットが形成された多孔性の楔形組織スカホルドと、
上記組織スカホルドの上記少なくともひとつのポケット内に配置され上記組織スカホルド内に移住して上記組織スカホルドを取り囲む在来の組織と一体化するのに有効な生存可能な組織であって、前記生存可能な組織が前記在来の組織からの細胞および前記細胞の細胞外基質を含み、細かく切り刻まれた組織の破片の形態である生存可能な組織とを有する、組み合わせ移植片。

【請求項 12】

前記組織スカホルドが、天然ポリマー、合成ポリマー、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択された少なくともひとつの材料から作られている、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 13】

前記生存可能な組織に適用されていて細胞の成長を活発にするのに有効な少なくともひとつの生物活性物質をさらに有する、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 14】

前記生物活性物質が、血餅、多血小板血漿、軟骨由来の形態発生たんぱく、組み換え型のヒト成長因子、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される、請求項 13 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 15】

前記組織スカホルドが上部部分および底部部分を含む、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 16】

前記上部部分および前記底部部分が少なくとも部分的に結合されている、請求項 15 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 17】

前記組織スカホルドの前記上部部分および前記底部部分が前記上部部分および前記底部部分の周縁部で互いに熱融着されて前記上部部分および前記底部部分の間に前記生存可能な組織を収容する閉じたポケットが形成されている、請求項 15 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 18】

前記ポケットが上記組織スカホルドに形成された中空内部からなる、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

10

20

30

40

50

【請求項 19】

前記ポケットが上記組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 20】

前記組織スカホルドが血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部を含む、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 21】

少なくともひとつの前記表面特徴部が前記組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャンネルからなる、請求項 20 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 22】

前記組織スカホルドの前記ポケット内の前記生存可能な組織からの細胞が前記組織スカホルドの少なくとも一部で増殖する、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 23】

前記在来の組織からの細胞が前記組織スカホルドの少なくとも一部で増殖する、請求項 1 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 24】

前記組織の破片の厚みが 200 μm から 3 mm までの範囲にある、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 25】

前記組織の破片の粒子サイズが 0.5 mm^3 から 3 mm^3 までの範囲にある、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 26】

前記組織スカホルドの前記ポケット内の前記生存可能な組織からの細胞が前記組織スカホルドの少なくとも一部で増殖する、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【請求項 27】

前記在来の組織からの細胞が前記組織スカホルドの少なくとも一部で増殖する、請求項 11 記載の組み合わせ移植片。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、断裂しまたは損傷を受けた組織の修復 (repairing) および置換 (replacing) のための方法および装置に関し、より詳しく言うと、組織を再生できかつ修復されるべき領域の周囲の組織と一体化できる生存可能な組織を備えた組織移植片およびそのような組織移植片の使用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

組織が損傷を受けたまたは外傷を与えられた軟骨、皮膚、筋肉、骨、腱、および靱帯のような組織の損傷は損傷を修復し治癒を促進するために外科的な介入を必要とすることが多い。そのような外科的な修復には、縫合または公知の手術用器具を用いた損傷を受けた組織の修復、損傷を受けた組織の別の組織を用いた強化 (augmenting)、移植片 (implant)、グラフト (graft) の使用、およびそれらの方法の任意の組み合わせなどがある。これらの従来の組織修復方法にもかかわらず、新たな健康な組織の再生を促進して長期間に亘るより信頼できる修復を行いかつ損傷を受けたまたは外傷を与えられた組織を治癒する外科的な解決法が引き続き必要とされている。

【0003】

組織を再生するための生存可能な細胞の信頼性の高い供給源が長年に亘って探索されてきた。組織を修復するための最近の組織エンジニアリング技術は、典型的には新たな組織の成長を活発にするために生体外で (ex vivo) 操作された細胞を用いて損傷を受けたまたは外傷を与えられた組織を置換 (replacing) または再建 (reconstructing) することを含んでいた。その細胞は新たな組織が成長することになる組織部位に配置するための輸

10

20

30

40

50

送ベヒクル（例えば、スカホールド（scaffold：骨格）または手術用移植片）に通常組み込まれている。さまざまな手術用移植片が知られていてそれらの手術用移植片の利益の獲得を援助するために手術手技で用いられてきた。例えば、輸送ベヒクルに載せられた分離された細胞を備えた移植片を生み出すためのさまざまな装置および方法を用いることが知られている。そのような細胞が播種された移植片は、生物分解性の生体適合性の繊維性高分子基質および膠原材料から発達した基質に播種された軟骨細胞（chondrocytes）からなる軟骨質構造の成長によって軟骨を管内で（in vitro）形成および／または修復する方法で用いられてきた。そのような方法は軟骨細胞を高分子基質に播種する前に軟骨組織から軟骨細胞を最初に分離することを必要とする。損傷を受けた組織を修復するための別の方法は所望の組織を生み出すために用いられる幹細胞または先祖細胞を備えた移植片を用いる。例えば、脂肪細胞、筋肉、骨髄、または胎児性細胞のような細胞内の幹細胞または先祖細胞を用いて患者の骨、軟骨、およびその他の軟組織を再生することが知られている。例えば、脂肪からの幹細胞が患者から取り出されて軟骨の形成に望ましい環境に置かれ、それによって軟骨の細胞（cartilage cells）のような異なるタイプの細胞を増殖および生み出すために幹細胞が培養される。

10

【0004】

組織を修復するために組織エンジニアリング方法を用いる傾向は長期間に亘る利益を患者に提供することを主な理由として人気を得続けているが、これらの現在の技術には課題がないわけではない。現在の組織エンジニアリング技術のひとつの課題は、その技術が時間を費やすことである。典型的なプロセスは、第1の手術手技で患者から組織サンプルを回収することを含み、回収された組織サンプルは次に細胞の分離、培養、および増幅のために実験室に運ばれる。細胞サンプルが標準的な細胞培養技術を用いて3週間から4週間に亘って成長させられて細胞バンクが生み出される。細胞数が目標数に到達すると、細胞は第2の手術手技の間に植え込むために外科医に戻される。この手作業による労力を費やすプロセスは非常に高価であり時間を費やす。臨床データは患者への長期間の利益を示すが、この手順のひどく高いコストは2度の手術手技の外傷を伴う衝撃と組み合わせられて、これらの技術が採用されることを妨げてきた。さらに、同種移植片が組織を修復するために過去に用いられてきたが、この解決方法はグラフトの材料の入手可能性が限定されていることおよび疾病が伝染する可能性があることのために理想的ではない。

20

【特許文献1】米国特許第206,200号

30

【特許文献2】米国特許第224,226号

【特許文献3】米国特許第259,260号

【特許文献4】ロシア連邦特許第2,187,261号

【特許文献5】ソビエト連邦特許第1,535,542号

【特許文献6】米国特許第5,306,311号

【特許文献7】米国特許第5,624,463号

【特許文献8】米国特許第5,656,492号

【特許文献9】米国特許第5,681,353号

【特許文献10】米国特許第6,042,610号

【特許文献11】米国特許第6,530,956号

40

【特許文献12】米国特許第6,569,172号

【特許文献13】米国特許第6,592,588号

【特許文献14】米国特許出願公開第2002/009805号

【特許文献15】米国特許出願公開第2003/036797号

【特許文献16】オーストラリア特許第717,552号

【特許文献17】米国特許出願公開第2002/150604号

【特許文献18】米国特許出願公開第2003/075822号

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

50

これらの理由から、この分野ではより時間を費やさずより実施が容易な組織を再生するための新規な装置および方法が引き続き必要とされている。信頼性の高い生存可能な細胞の供給源として働くことができ手術中にすぐに用いるために迅速かつ効率よく作ることができる移植片を提供することも望ましい。したがって、上述した組織を修復するための従来の利用可能な装置および方法の課題を伴わない組織の欠陥または外傷を修復するためのより低コストの解決方法が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、大まかに言って患者の組織の欠陥を修復するための組み合わせ移植片を提供する。ある実施の形態では、本発明の組み合わせ移植片は、生存可能な組織を収容するように適合された少なくともひとつのポケットが形成された多孔性の組織スカホルドからなる。その組織スカホルドはさまざまな形状および構造を有してよく、ある実施の形態では上部部分および底部部分を含んでいる。上部部分および底部部分は少なくとも部分的に互いに結合されていてよく、ある実施の形態では上部部分および底部部分は互いに周縁部で熱融着されていて互いの間に閉じたポケットが形成されている。熱融着は生存可能な組織がスカホルドに充填される前または充填された後に行われてよい。別の実施の形態では、組織スカホルドは実質的に楔形で、ポケットは組織スカホルド内に形成された中空内部からなり、および/または。ポケットは組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる。組織スカホルドは必要な場合には血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部をさらに含んでいてよい。非限定的な例として、表面特徴部は組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャネルの形態であってよい。

【0007】

本発明の別の実施の形態では、組織スカホルドはポケット内に配置された生存可能な組織を含んでいる。その生存可能な組織はスカホルド内に移住してスカホルドを取り囲む従来の組織 (native tissue) と一体化するのに有効でなければならない。少なくともひとつの生物活性物質が細胞の成長を活発にするために生存可能な組織に適用されてよい。適切な生物活性物質には、例えば、血餅 (blood clots)、多血小板血漿 (platelet rich plasma)、軟骨由来の形態発生たんぱく (cartilage-derived morphogenetic proteins)、組み換え型のヒト成長因子 (recombinant human growth factor)、およびそれらの組み合わせなどがある。別の実施の形態では、生物活性物質はさらにまたは代わりに組織スカホルドに適用されてよい。

【0008】

本発明は組織の欠陥を修復するための方法を提供し、その方法は、生存可能な組織を収容するように適合された少なくともひとつのポケットが形成され組織スカホルドを提供する過程と、生存可能な組織を獲得する過程と、生存可能な組織を組織スカホルドの少なくともひとつのポケット内に充填する過程と、生存可能な組織が配置された組織スカホルドを患者の欠陥部位に植え込む過程とを含んでいる。その方法は細胞の成長を促進するために少なくともひとつの生物活性物質を生存可能な組織に適用する過程をさらに含んでいてよい。

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、より時間を費やさずより実施が容易に組織を再生できる効果がある。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

本発明が添付の図面を参照して以下の詳細な説明からより十分に理解される。

【0011】

本発明は大まかに言って少なくともひとつのポケットが形成された組織スカホルドおよび組織スカホルドのポケット内に配置された生存可能な組織を含む組み合わせ移植片を提供する。ポケットを使用することは生存可能な組織を組み合わせ移植片内に保持することを助けかつ患者の欠陥部位に配置した後に生存可能な組織が失われるのを最小にする点で

特に有益である。ポケットは生存可能な組織がスカホルドに移住しスカホルドで増殖でき、それによって在来の組織と組み合わせ移植片との一体化を増強する点でさらに有益である。

【0012】

当業者は、本発明の生体適合性の組み合わせ移植片が以下に限定されないが組織の再建、組織の充填 (tissue bulking)、美容的な処置、治療的な処置、組織の改造 (remodeling) または強化 (augmentation)、および組織の密封などのさまざまな目的のためにさまざまなタイプの組織の治療に用いられる。例示的な実施の形態では、移植片は疾病のまたは損傷を受けた組織の修復および/または再生のために用いられる。

【0013】

本発明の組み合わせ移植片を形成するために用いられる組織スカホルドはさまざまな構造、形状、および寸法であってよい。図1から図7はさまざまな例示的な組み合わせ移植片が図示されていて、各移植片は生存可能な組織を収容している少なくともひとつのポケットが形成された組織スカホルドから形成されている。上述したように、ポケットによって生存可能な組織がスカホルド内でスカホルド全体に亘って成長して、生存可能な組織がスカホルド内に植え込まれスカホルドと一体化できる。

【0014】

図1および図2では、組み合わせ移植片10は実質的に楔形の、より詳しく言うと向かい合う上部壁12aおよび底部壁12b、上部壁12aおよび底部壁12bの間に延在する向かい合う側面壁12cおよび側面壁12d、および上部壁12a、底部壁12b、側面壁12c、および側面壁12dを結合する端部壁12eを含む組織スカホルド12から形成されていて、組み合わせ移植片20は、実質的に楔形の、より詳しく言うと向かい合う上部壁22aおよび底部壁22b、上部壁22aおよび底部壁22bの間に延在する向かい合う側面壁22cおよび側面壁22d、上部壁22a、底部壁22b、側面壁22c、および側面壁22dを結合する端部壁22eを含む組織スカホルド22から形成されている。組織スカホルド12のポケット14は組織スカホルド12の端部壁12eから内側に延在する内腔として形成され、組織スカホルド22のポケット24は組織スカホルド22の端部壁22eから内側に延在する内腔として形成されている。ポケット14およびポケット24の開口は移植片10および移植片20のいずれの壁に形成されてもよいが、端部壁12eおよび端部壁22eに開口を設けることは組み合わせ移植片10への生存可能な組織16の充填および組み合わせ移植片20への生存可能な組織26の充填を簡単化するので特に有益である。さらに、組み合わせ移植片10および組み合わせ移植片20が植え込まれると、スカホルド12およびスカホルド22を取り囲む在来の組織がポケットの開口に当接して生存可能な組織16および生存可能な組織26をポケット内に保持することを助ける。

【0015】

図1および図2をさらに参照すると、移植片10のポケット14および移植片20のポケット24は実質的にどのような形状および寸法でもよいが、図1に示されたポケット14の開口は実質的に長方形の形状で、図2に示されたポケット24の開口は十字の形状である。各ポケットは図示されているようにスカホルド12およびスカホルド22の端部壁12eおよび端部壁22eの実質的に中央に配置されているのが好ましく、各ポケットはスカホルド12およびスカホルド22の大部分を通して延在しているのが好ましい。この構造によって生存可能な組織がスカホルド12およびスカホルド22の全体を通して全ての向きに移住するのが促進される。

【0016】

図3は組み合わせ移植片30の別の実施の形態を示している。この実施の形態では、組織スカホルド32は互いの間に形成されたポケット34内に生存可能な組織36を挟むように構成された上部部分すなわち上部層32aおよび底部部分すなわち底部層32bを含んでいる。生存可能な組織36は上部層32aおよび底部層32bの一方、例えば底部層32bに単に配置されて、次に上部層32aが生存可能な組織36の上に位置決めされて

10

20

30

40

50

組み合わせ移植片が形成される。当業者には図示された上部層 3 2 a および下部層 3 2 b は実質的に長方形であるが上部層 3 2 a および下部層 3 2 b は実質的にどのような形状および寸法でもよいことが理解される。

【0017】

図 4 は互いの間に形成されたポケット 4 4 内に生存可能な組織 4 6 が配置された上部層 4 2 a および底部層 4 2 b を含む組織スカホルド 4 2 を備えた組み合わせ移植片 4 0 であるさらに別の実施の形態を示している。上部層 4 2 a および底部層 4 2 b は一方の端部のみで互いに結合されている。したがって、スカホルド 4 2 は実質的に楔形でありながら、図 1 および図 2 に示されているように互いに結合された側部壁を含まない。

【0018】

本発明の別の実施の形態では、組織スカホルドのひとつまたは複数のエッジが少なくとも部分的に互いに密封されていて生存可能な組織を収容するように適合されたポケットが形成されている。非限定的な例として、図 5 A および図 5 C は互いの間に配置された生存可能な組織 5 6 を保持するために周縁部に沿って互いに密封された上部層 5 2 a および底部層 5 2 b を備えた組織スカホルド 5 2 から形成された組み合わせ移植片 5 0 を示している。実質的にどのような技術が用いられて上部層 5 2 a および底部層 5 2 b を互いに結合してもよいが、例示的な実施の形態では上部層 5 2 a および底部層 5 2 b は互いに熱融着されている。熱融着は生存可能な組織 5 6 が上部層 5 2 a および底部層 5 2 b の間に配置される前または配置された後に実施されてよいが、生存可能な組織 5 6 に損傷を与えることを回避するよう配慮されなければならない。非限定的な例として、図 5 B は上部層 5 2 a および底部層 5 2 b の間に生存可能な組織 5 6 を配置した状態で上部層 5 2 a および底部層 5 2 b を据え付けるのに有効な下側部材すなわち下側トレー 1 0 2 b を含む熱融着装置 1 0 0 を示している。熱融着装置 1 0 0 はレバーすなわちヒンジ 1 0 4 によって下側部材 1 0 2 b に好ましくは結合され組織スカホルド 5 2 の周縁部に熱を加えて上部層 5 2 a および底部層 5 2 b を互いに密封して図 5 C に示された組み合わせ移植片 5 0 を形成するのに有効な上側部材 1 0 2 a をさらに含んでいる。使用時には、熱融着されたスカホルドは生存可能な組織がスカホルドから移住するのを防止する点でさらに縫合または移植片を周囲の組織に固定するためのその他の取り付け機構を受容するための機械的な補強を移植片に与える点で特に有益である。当業者にはさまざまな技術が上部層および底部層を互いに結合するために用いられ、例えば接着、縫合、折り曲げ密封または巻き付け密封 (fold or roll seal)、機械的な圧力密封などの方法が用いられることが適切に評価される。

【0019】

本発明の別の実施の形態では、血管の形成を促進および / または導くために組織スカホルドに形成されたひとつまたは複数の表面特徴部を含んでいてよい。図 6 および図 7 は表面特徴部が形成された例示的な移植片 6 0 および移植片 7 0 を示している。図示されているように、移植片 6 0 は移植片 6 0 が実質的に楔形となるように互いに一方の端部で結合された上部部分 6 2 a および底部部分 6 2 b から形成された組織スカホルド 6 2 を大まかに言って含み、移植片 7 0 は移植片 7 0 が実質的に楔形となるように互いに一方の端部で結合された上部部分 7 2 a および底部部分 7 2 b から形成された組織スカホルド 7 2 を大まかに言って含む。生存可能な組織 6 6 は上部部分 6 2 a および底部部分 6 2 b の間に形成されたポケット 6 4 内に配置されていて、生存可能な組織 7 6 は上部部分 7 2 a および底部部分 7 2 b の間に形成されたポケット 7 4 内に配置されている。図 6 に示された実施の形態では、表面特徴部は上部部分 6 2 a および底部部分 6 2 b に形成されていて、表面特徴部は上部部分 6 2 a および底部部分 6 2 b 全体に亘って延在すると共に互いに間隔を置いて配置されたチャネル 6 8 の形態である。図 7 に示された実施の形態では、表面特徴部は上部部分 7 2 a および底部部分 7 2 b に形成されているが、表面特徴部は上部部分 7 2 a および底部部分 7 2 b に形成されたポア 7 8 の形態である。当業者には表面特徴部の位置および個数は変更できることが適切に評価される。

【0020】

本発明の組み合わせ移植片を形成するために用いられる材料も変更でき、組織スカホル

10

20

30

40

50

ドを形成するためのさまざまな材料および技術が当業者には知られていて、本発明で用いられてよい。しかし、例示的な実施の形態では、組織スカホルドは生体適合性であって十分な構造的な一体性を有し手術室の環境で容易に取り扱えるようにする物理的および/または機械的な性質を有する材料または輸送ベヒクルを用いて形成されている。十分な強度および物理的な性質はスカホルドを形成するのに用いられ材料および製造プロセスを選択することによってスカホルド内で発揮される。さらに、スカホルドはスカホルド内の細胞の成長を可能にするように十分に多孔性であることが好ましい。好ましくは、孔の寸法の中央値は約100 μm から500 μm までの範囲内にある。スカホルドは必要な場合にはスカホルドを植え込みの目標部位の寸法に合わせられるようにするために、および/または、組織の成長をスカホルドの内側の領域内に収容するために、十分に柔軟で、スカホルドの形状が組織の内殖の増加に応じて改造 (remodel) できるようにされていてもよい。

10

【0021】

例示的な実施の形態では、スカホルドは生物再吸収性 (bioresorbable) または生物吸収性 (bioabsorbable) の材料から作られていて、より好ましくは、体の環境内で適切な期間内で再吸収される生物再吸収性または生物吸収性の材料から作られている。生体内 (in vivo) の条件下での吸収時間の違いは本発明のスカホルドを形成するときに2つの異なるポリマーを組み合わせるための基礎とすることができる。例えば、35:65の ϵ -カプロラクトンおよびグリコリド (glycolide: 比較的吸収の速いポリマー) のコポリマーが、40:60の ϵ -カプロラクトンおよびL-ラクチド (比較的吸収の遅いポリマー) のコポリマーと混合されて生体適合性のスカホルドが形成される。使用される処理方法に応じて、2つの成分はランダムに連続した2つの連続相 (randomly inter-connected bicontinuous phases) であるか、2つの成分は2つの成分の層の間に十分に一体化された境界を備えた積層タイプの複合物の形態の階調度に類似した構造 (gradient-like architecture) を有している。これらのスカホルドの微細構造は再成長させられる組織の望ましい解剖学的構造の特徴を再生または修復するように最適化されている。

20

【0022】

本発明のある実施の形態では、スカホルドは生体適合性のポリマーから作られていてよい。さまざまな生体適合性のポリマーが本発明に基づく生体適合性の組織移植片すなわちスカホルド器具を作るために用いることができる。生体適合性のポリマーは合成ポリマー、天然ポリマー、またはそれらの組み合わせであってよい。本明細書で用いられる用語「合成ポリマー」は自然界に見出されないポリマーを意味し、自然界に存在する生体材料から作られているポリマーでもそのポリマーが自然界に見出されなければ合成ポリマーに分類される。用語「天然ポリマー」は自然界に存在するポリマーを意味する。

30

【0023】

スカホルドが少なくともひとつの合成ポリマーを含む実施の形態では、適切な生体適合性の合成ポリマーには、脂肪族ポリエステル、ポリアミノ酸、エーテルおよびエステルのコポリマー、ポリアルキレンオキサレート、ポリアミド、チロシン誘導ポリカーボネート、ポリイミノカーボネート、ポリオルトエステル、ポリオキサエステル、ポリアミドエステル、ポリオキサエステル含有アミン基、ポリ無水物、ポリフォスファゼン、ポリフマル酸プロピレン、ポリウレタン、ポリエステルウレタン、ポリエーテルウレタン、およびそれらの混合物およびコポリマーからなる集合から選択されたポリマーなどがある。本発明で用いるのに適切な合成ポリマーには、コラーゲン、ラミニン、グリコサミノグリカン、エラスチン、トロニン、フィブロンectin、デンプン、ポリアミノ酸、ゼラチン、アルギン酸塩、ペクチン、フィブリン、酸化セルロース、キチン、キトサン、トロポエラスチン、ヒアルロン酸、絹、リボ核酸、デオキシリボ核酸、ポリペプチド、蛋白、多糖類、ポリヌクレオチド、およびそれらの組み合わせで見出されるシーケンスに基づく生合成ポリマーなどもある。

40

【0024】

本発明の目的のためには、脂肪族ポリエステルには、以下に限定されないが、ラクチド

50

(乳酸、D-ラクチド、L-ラクチド、およびメソラクチドを含む。) ; グリコリド(グリコール酸を含む。) ; -カプロラクトン ; p-ジオキサノン(1, 4-ジオキサン-2-オン) ; トリメキレンカーボネート(1, 3-ジオキサン-2-オン) ; トリメチレンカーボネートのアルキル誘導体 ; -バレロラクトン ; -ブチロラクトン ; -ブチロラクトン ; -デカラクトン ; ヒドロキシブチレート ; ヒドロキシバレレート ; 1, 4-ジオキセパン(dioxepan)-2-オン(その2量体の1, 5, 8, 12-テトラオキサシクロテトラデカン-7, 14-ジオンを含む。) ; 1, 5-ジオキセパン-2-オン ; 6, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2-オン ; 2, 5-ジケトモルフォリン(diketomorpholine) ; ピバロラクトン(pivalolactone) ; , ジエチルプロピオラクトン ; エチレンカーボネート ; エチレンオキサレート ; 3-メチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオン ; 3, 3-ジエチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオン ; 6, 6-ジメチル-ジオキセパン-2-オン ; 6, 8-ジオキサピシクロオクタン-7-オン ; およびそれらの混合物のポリマーのホモポリマーおよびコポリマーなどがある。本発明で用いられる脂肪族ポリエステルは直線状構造、枝分かれした構造、または星型構造のホモポリマーまたはコポリマー(ランダム共重合体、ブロック共重合体、セグメント(segmented)共重合体、テーパー(tapered)共重合体、グラフト共重合体、トリブロック(triblock)共重合体など。)であってよい。その他の有益なポリマーには、ポリフォスファゼン、および、L-ラクチド、D, L-ラクチド、乳酸、グリコリド、グリコール酸、パラ-ジオキサノン、トリメチレンカーボネート、および -カプロラクトンから作られたコポリマー、ターポリマー、およびより高い次元の混合されたモノマーをベースとするポリマーなどがある。

【0025】

スカホルドが少なくともひとつの天然ポリマーを含む実施の形態では、適切な天然ポリマーの例には、以下に限定されないが、フィブリンをベースとする材料、コラーゲンをベースとする材料、ヒアルロン酸をベースとする材料、糖たんぱく質をベースとする材料、セルロースをベースとする材料、絹、およびそれらの組み合わせなどがある。非限定的な例として、生体適合性のスカホルドはコラーゲンをベースとする小腸粘膜下組織から作られている。

【0026】

さらに別の実施の形態では、軟骨、半月、腱、靱帯、および皮膚の修復を含む組織の修復のための好ましいスカホルドは、動物の胃、膀胱、消化管、気道、尿路、外皮の管、生殖器の管、または肝臓の基底膜などの自然界に存在する細胞外基質(ECM)から作られている。好ましくは、ECMはヤギ、羊、犬、猫、のような動物の消化管に由来し、最も好ましくは豚の腸管に由来する。ECMは、好ましくは、粘膜の基底部分とりわけ粘膜筋板および緻密層と共に粘膜下組織を含めた小腸粘膜下組織(SIS)からなる。

【0027】

本発明の目的のために、自然界に存在するECMの定義には、ECMの洗浄および/または微粉碎も含まれ、または、コラーゲン線維(膠原線維)のECM内での架橋でさえも含まれる。さらに、SISについて言及されているが、その他の自然界に存在するECMも本発明の範囲内に含まれる。したがって、本明細書で用いられているように、用語「自然界に存在する細胞外基質」または用語「自然界に存在するECM」は、洗浄された、消毒された(disinfected)、滅菌された(sterilized)、および必要に応じて架橋された細胞外基質を意味する。

【0028】

SISが用いられる場合、SISのグラフトは当業者に理解されるようにさまざまな方法で回収される。その結果得られたグラフトの材料は、例えば渦巻き状、螺旋状、ばねに類似の形状、乱塊化された(randomized)形状、枝分れした(branched)形状、シート状、管状、球状、断片化された(fragmented)形状、流体化された(fluidized)形状、微粉碎された形状、液化された形状、発泡化された形状、懸濁化された形状、ゲルに類似の形状、注入可能な形状、粉状、すり碎かれた(ground)形状、剪断された(sheared)形

10

20

30

40

50

状などを含めたさまざまな外形および硬度（コンシステンシー）を有してよい。

【 0 0 2 9 】

本発明のさらに別の実施の形態では、スカホルドは、自己由来の組織、同種異系の組織、および異種の組織から得られたもののような組織グラフトを用いて形成される。非限定的な例として、皮膚、軟骨、靱帯、腱（tendon）、骨膜、軟骨膜、滑膜、筋膜、腸間膜、および腱（sinew）などの組織が生体適合性のスカホルドを形成するための組織グラフトとして用いられる。同種異系の組織が用いられるいくつかの実施の形態では、胎児または新生児からの組織がある種の成人の組織に関連する免疫原性を回避するために用いられる。

【 0 0 3 0 】

本発明の別の実施の形態では、組織スカホルドは、例えば、ヘキサフロオロイソプロパノール（HFIP）中で1デシリットル当たり0.1gのポリマーの溶液で温度25で測定されたときに約1.2dl/g（デシリットル/グラム）から4dl/gまでの、より好ましくは約1.2dl/gから2dl/gまでの、最も好ましくは約1.4dl/gから2dl/gまでの範囲内のインヘレント粘度を有するポリマーのような弾性ポリマーから作られている。適切なエラストマーは高い伸び率パーセントおよび低い弾性率を示しながら、良好な引張強さおよび良好な回復特性をも有する。本発明の好ましい実施の形態では、エラストマーは約200パーセントより大きい伸び率パーセントを示し、好ましくは約500パーセントより大きい伸び率パーセントを示す。これらの伸びおよび弾性率の特性に加えて、適切なエラストマーは約35185g/cm²（500psi）より大きい引張強さをも有するべきであり、好ましくは約70370g/cm²（1000psi）より大きい引張強さを有し、約8937g/cm（50ポンド/インチ）より大きい引裂強さを有するべきであり、好ましくは約14299.2g/cm（80ポンド/インチ）より大きい引裂強さを有する。

【 0 0 3 1 】

例示的な生体適合性のエラストマーには、以下に限定されないが、
 - カプロラク톤のグリコリドに対するモル比が約35：65から約65：35までの、より好ましくは45：55から35：65までの
 - カプロラク톤およびグリコリドの弾性コポリマー；
 - カプロラク톤のラクチドに対するモル比が約95：5から約30：70までの、より好ましくは45：55から30：70までの、または約95：5から約85：15までの
 - カプロラク톤およびラクチド（L-ラクチド、D-ラクチド、それらの混合物、乳酸ポリマー、および乳酸コポリマーを含む。）の弾性コポリマー；
 p-ジオキサノンのラクチドに対するモル比が約40：60から約60：40までのp-ジオキサノン（1，4-ジオキサノン-2-オン）およびラクチド（L-ラクチド、D-ラクチド、それらの混合物、乳酸ポリマー、および乳酸コポリマーを含む。）の弾性コポリマー；
 - カプロラク톤のp-ジオキサノンに対するモル比が約30：70から約70：30までの
 - カプロラク톤およびp-ジオキサノンの弾性コポリマー；
 p-ジオキサノンのトリメチレンカーボネートに対するモル比が約30：70から約70：30までのp-ジオキサノンおよびトリメチレンカーボネートの弾性コポリマー；
 トリメチレンカーボネートのグリコリドに対するモル比が約30：70から約70：30までのトリメチレンカーボネートおよびグリコリド（ポリグリコール酸を含む。）の弾性コポリマー；
 トリメチレンカーボネートのラクチドに対するモル比が約30：70から約70：30までのトリメチレンカーボネートおよびラクチド（L-ラクチド、D-ラクチド、それらの混合物、乳酸ポリマー、および乳酸コポリマーを含む。）の弾性コポリマー；
 およびそれらの混合物などがある。
 適切な生体適合性のエラストマーの別の例が米国特許第5,468,253号に記載されている。

【 0 0 3 2 】

本発明の別の実施の形態では、スカホルドは、ジオキサノン溶液内に形成されポリジオキサノンメッシュを含んでいる35：65の
 - カプロラク톤およびグリコリドのコポリマーからなるエラストマーから形成されている。他の実施の形態では、組織スカホルドを

10

20

30

40

50

形成するために用いられるエラストマーは40：60の - カプロラクトンおよびラクチドのコポリマーでポリジオキサノンメッシュを含んでいる。さらに別の実施の形態では、エラストマーは35：65の - カプロラクトンおよびグリコリドのコポリマーと40：60の - カプロラクトンおよびラクチドのコポリマーの50：50の混合物である。ポリジオキサノンメッシュは一層の厚みの2次元メッシュまたは多層の厚みの3次元メッシュの形態であってよい。

【0033】

本発明の別の実施の形態では、組織スカホルドは生体適合性のセラミック材料から作られている。適切な生体適合性のセラミック材料には、例えば、ヒドロキシアパタイト、
- リン酸三カルシウム、 - リン酸三カルシウム、生物活性ガラス、リン酸カルシウム、
硫酸カルシウム、炭酸カルシウム、外因性の（異種の）または同種異系の骨材料、またはそれらの組み合わせなどがある。本発明で用いるのに適切な生物活性ガラスには、シリケート含有リン酸カルシウムガラス、または吸収時間を調節するためにさまざまな量の固体粒子が加えられたリン酸カルシウムガラスなどがある。生物活性のリン酸カルシウムガラスに組み込まれる適切な化合物には、以下に限定されないが、酸化マグネシウム、酸化ナトリウム、酸化カリウム、およびそれらの組み合わせなどがある。

【0034】

本発明のさらに別の実施の形態では、スカホルドは開いたセルの構造の複数の小孔を備えた高分子材料の発泡コンポーネントから作られていてよい。小孔の寸法はさまざまな大きさでよいが、好ましくは小孔は組織の内殖が可能な大きさである。より好ましくは、小孔の寸法は約50 μm から約1000 μm までの範囲内にあり、さらにより好ましくは約50 μm から約500 μm までの範囲内にある。高分子材料の発泡コンポーネントには必要な場合には例えば上記のテキスタイル（メッシュ）のような補強コンポーネントが含まれていてよい。高分子材料の発泡コンポーネントが補強コンポーネントを含んでいるいくつかの実施の形態では、発泡コンポーネントは発泡コンポーネントの小孔が補強コンポーネントのメッシュに入り込み補強コンポーネントと結合するように補強コンポーネントと一体化されていてよい。

【0035】

ポリマーの混合物を用いてある成分からもうひとつの成分へ階層に類似した構造で移行するスカホルドを形成することも望ましい。この階層に類似した構造を有するスカホルドは、軟骨（関節の軟骨、半月の軟骨、鼻中隔軟骨、気管軟骨、耳介軟骨、肋軟骨など）、腱、靭帯、神経、食道、皮膚、骨、および血管組織のような自然界に存在する組織の構造を修復または再生するために組織エンジニアリング（組織作成）の用途に用いるのにとりわけ適している。例えば、 - カプロラクトンおよびグリコリドのコポリマーを - カプロラクトンおよびラクチドのコポリマーとエラストマーとして混合する（例えばモル比5：95で）ことによって、柔らかいスポンジ材料からより硬い硬質材料へと、例えば軟骨から骨へ移行するのと同じように移行するスカホルドが形成される。明らかに、当業者には別のポリマーの混合物が同様の階層の効果をもたらすために、または異なる階層（例えば、吸収率の異なる分布、応力応答の分布、または弾性率の異なる分布）をもたらすために用いられてよいことが適切に評価される。

【0036】

当業者には本発明の生体適合性のスカホルドを形成するための適切な材料はいくつかの要因に応じて選択されることが適切に評価される。これらの要因には、生体内での（*in vivo*）機械的な性能；細胞の吸着、増殖、移動、および分化に関する材料に対する細胞の反応；生体適合性；および必要な場合には、生物吸収性（または生物分解）の動力学などがある。その他の関連性のある要因には、化学的組成、成分の空間的な分布、ポリマーの分子量、および結晶性の程度などがある。

【0037】

組み合わせ移植片を形成するために用いられる組織スカホルド、例えば織物、編物、縦編みの構造（例えばレースに類似した。）、不織布、および編組構造の任意の吸収性また

10

20

30

40

50

は非吸収性のテキスタイルからなる補強材料を含んでいてよい。ある実施の形態では、補強材料はメッシュに類似した構造である。上記の構造のいずれでも、補強材料の機械的な性質は材料の密度または精粗 (texture)、材料の編み方または織り方、材料の厚みを変えることによって、または材料に粒子を埋め込むことによって変更することができる。材料の機械的な性質は、繊維が互いに物理的に結合したまたは例えば接着剤またはポリマーのような別の作用剤と物理的に結合した部位をメッシュ内に作ることによって変更することができる。

【0038】

補強コンポーネントを作るために用いられる繊維は、単繊維、紡ぎ糸 (yarn)、より糸 (thread)、組みひも (braid)、または繊維の束であってよい。これらの繊維は、ポリ乳酸 (PLA)、ポリグリコール酸 (PGA)、ポリカプロラクトン (PCL)、ポリジオキサノン (PDO)、トリメチレンカーボネート (TMC)、それらのコポリマーまたは混合物のような生物吸収性の材料を含む任意の生体適合性の材料で作られていてよい。これらの繊維は、絹およびコラーゲンをベースとする材料を含む天然のポリマーをベースとする任意の生体適合性の材料から作られていてもよい。これらの繊維は、例えばポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリテトラフルオロエチレン、ポリカーボネート、ポリプロピレン、およびポリビニルアルコールのような非再吸収性の任意の生体適合性の繊維で作られていてもよい。ある実施の形態では、繊維は 95 : 5 のラクチドおよびグリコリドのコポリマーから作られている。

【0039】

別の実施の形態では、補強材料 (補強コンポーネント) を形成する繊維は生物吸収性のガラスから作られていてよい。吸収時間を調節するためにさまざまな量の固体粒子が加えられたバイオガラス、シリケート含有燐酸カルシウムガラス、または燐酸カルシウムガラスは、ガラス繊維内に紡がれ補強材料として用いられる材料の例である。加えられる適切な固体粒子の例には、鉄、マグネシウム、ナトリウム、カリウム、およびそれらの組み合わせなどある。

【0040】

補強材料だけでなく生体適合性のスカホールドも、組織の内殖が可能のように孔または穿孔を備えた薄くて穿孔を含む弾性シートから形成されていてもよい。そのようなシートはポリ乳酸 (PLA)、ポリグリコール酸 (PGA)、ポリカプロラクトン (PCL)、およびポリジオキサノン (PDO) の混合物またはコポリマーで作られていてよい。

【0041】

当業者にはひとつまたは複数の補強材料の層が本発明の組み合わせ移植片を補強するために用いられることが適切に評価される。さらに、構造および化学的性質が等しいまたは異なる例えばメッシュのような生物分解性のテキスタイルからなる複数のスカホールドが、より優れた機械的強度の生体適合性の組織移植片を製造するために互いに積み重ねられてよい。

【0042】

生存可能な組織の供給源も変更されてよく、組織はさまざまな構造を有していてよい。しかし、ある実施の形態では、組織は再成長および治癒反応の有効性を増強する細かく切り刻まれた組織の破片の形態である。別の実施の形態では、2003年12月5日に出願された米国特許出願第10/729,046号「生存可能な組織の修復移植片およびその使用方法 (Viable Tissue Repair Implants and Methods of Use)」に記載されているように、生存可能な組織は組織の再生および/または改造が可能な生存可能な細胞を収容している健康な組織から回収された組織スライスまたは組織ストリップの形態である。組織スライスは好ましくは損傷または欠陥の部位に植え込むのに適した形状を有するように回収され、回収された組織スライスは好ましくは組織スライス内に収容された生存可能な細胞が外に移住し増殖して修復部位を取り囲む組織と一体化できるようにする寸法を有している。

【0043】

生存可能な組織を得るために用いられる適切な組織には、例えば、軟骨組織、半月組織、靱帯組織、腱組織、皮膚組織、骨組織、筋肉組織、骨膜組織、心膜組織、滑液膜組織、神経組織、脂肪組織、腎臓組織、骨髄、肝臓組織、膀胱組織、脾臓組織、脾臓組織、椎間円板組織、胎児性組織、歯周組織、血管組織、血液、およびそれらの組み合わせなどがある。組織移植片を構成するのに用いられる組織は自原性の（自己由来の）組織、同種異系の組織、または、異種の（外因性の）組織であってよい。

【 0 0 4 4 】

組織の各破片の粒子サイズはさまざまでよい。非限定的な例として、組織の寸法は約 0.1 mm^3 から約 3 mm^3 までの範囲内であってよく、約 0.5 mm^3 から約 1 mm^3 までの範囲内であってよく、約 1 mm^3 から約 2 mm^3 までの範囲内であってよく、約 2 mm^3 から約 3 mm^3 までの範囲内であってよく、しかし好ましくは組織の粒子は 1 mm^3 より小さい。

【 0 0 4 5 】

生存可能な組織は必要に応じて、ゲル様のキャリアまたは接着剤のようなキャリアを含むさまざまな別の材料と結合されていてよい。非限定的な例として、ゲル様のキャリアは、ヒアルロン酸、フィブリンゲル、フィブリンクロット、コラーゲンゲル、コラーゲンをベースとする接着剤、アルギン酸塩ゲル、架橋アルギン酸塩、キトサン、合成アクリレートベースとするゲル、多血小板血漿（PRP）、乏血小板血漿（PPP）、多血小板血漿（PRP）のクロット、乏血小板血漿（PPP）のクロット、血液、血餅、血液コンポーネント、血液コンポーネントのクロット、マトリゲル（Matrigel）、アガロース、キチン、キトサン、多糖類、ポリオキシアルキレン、ポリエチレンオキシドおよびポリプロピレンオキシドのコポリマー、ポリビニルアルコール、ラミニン、エラスチン、プロテオグリカン、可溶性基底膜、または、それらの組み合わせなどの生物学的または合成ヒドロゲルであってよい。適切な接着剤には、以下に限定されないが、ヒアルロン酸、フィブリンゲル、フィブリンクロット、コラーゲンゲル、コラーゲンをベースとする接着剤、アルギン酸塩ゲル、架橋アルギン酸塩、ゼラチン - レゾルシン - ホルマリンをベースとする接着剤、イガイをベースとする接着剤、ジヒドロキシフェニルアラニン（DOPA）をベースとする接着剤、キトサン、トランスグルタミナーゼ、ポリアミノ酸をベースとする接着剤、セルロースをベースとする接着剤、多糖類をベースとする接着剤、合成アクリレートベースとする接着剤、多血小板血漿（PRP）、乏血小板血漿（PPP）、PRPのクロット、PPPのクロット、血液、血餅、血液コンポーネント、血液コンポーネントのクロット、ポリエチレングリコールをベースとする接着剤、マトリゲル、モノステアロイル・グリセロール・コスクシネート（MGSA）、モノステアロイル・グリセロール・コスクシネートおよびポリエチレングリコール（MGSA/PEG）のコポリマー、ラミニン、エラスチン、プロテオグリカン、およびそれらの組み合わせなどがある。

【 0 0 4 6 】

生存可能な組織は生存可能な組織を取り囲む細胞外の基質から組織が外に移住するのを容易にするために基質消化酵素と接触させられてよい。その酵素は細胞外の基質から組織の欠陥または損傷へまたはスカホールド材料へ細胞が移住する速度を加速するのに用いられる。本発明に用いられる適切な基質消化酵素には、以下に限定されないが、コラゲナーゼ、コンドロイチナーゼ、トリプシン、エラスターゼ、ヒアルロニダーゼ、ペプチダーゼ、サーモリシン（thermolysin）、基質メタロプロティナーゼ、ゼラチナーゼ、およびプロテアーゼなどがある。好ましくは、ゲルキャリア中の切り刻まれた組織の破片の濃度は約 $1 \text{ mg} / \text{cm}^3$ から $1000 \text{ mg} / \text{cm}^3$ までの範囲内にあり、より好ましくは約 $1 \text{ mg} / \text{cm}^3$ から $200 \text{ mg} / \text{cm}^3$ までの範囲内にある。

【 0 0 4 7 】

その他の生存可能な組織の供給源および生存可能な組織を準備する方法は2003年1月26日に出版されその全体が本明細書で参照文献として引用される米国特許出願第10/723,982号「注射による送り出しが可能な形状を適合できる組織修復移植片（Conformable Tissue Repair Implant Capable Of Injection Delivery）」に開示されて

10

20

30

40

50

いる。

【 0 0 4 8 】

使用時には、組み合わせ移植片は好ましくは生存可能な組織を回収し、必要な場合には組織を準備し、その組織を組織スカホルドの（ひとつまたは複数の）ポケットに充填することによって準備される。生存可能な組織のサンプルを得るために用いられる組織は変更されてよい。しかし、ある例示的な実施の形態では、生存可能な組織は再成長および治癒反応の有効性を増強する細かく切り刻まれた組織の破片から得られるか組織の破片を含んでいる。切り刻まれた組織の破片は、例えば生検またはその他の外科的な除去によるなどさまざまな通常の方法のいずれかを用いて得られてよい。好ましくは、組織のサンプルは修復手術の間に得られて患者に対して行われる外科手術の全体の回数が最小にされる。生きた組織のサンプルが得られると、そのサンプルは次に滅菌状態の下で処理されて少なくともひとつの切り刻まれた組織の粒子または細かく分割された組織の粒子を含む懸濁液が作られる。ゲル様キャリアまたは接着剤のようなキャリアが必要に応じて用いられて懸濁液が作られてよい。さらに処理する必要をなくするために組織を切り刻まれた形態で回収することもできる。

10

【 0 0 4 9 】

生存可能な組織が準備されると、スカホルドに生存可能な組織が充填され、必要な場合にはスカホルドが密封される。次に組み合わせ移植片（組織移植片）は欠陥部位に植え込まれて周囲の組織によって組織移植片に加えられる圧縮力によって欠陥部位に維持される。例えば、組織移植片は、植え込まれたときに組織移植片が欠陥内で緊密な締め込みを形成するように欠陥の領域より全体の寸法がわずかに大きくなるような大きさであってよい。代わりに、組織移植片は維持要素または接着剤を用いるなどの任意の通常の方法を用いて欠陥に固定されてもよい。維持要素は、例えば、締結具、ステープル、組織タック（tissue tack）、縫合糸、接着剤、またはそれらの任意の組み合わせなどであってよい。当業者には組織移植片を周囲の組織に取り付けるためにさまざまな方法が用いられることが適切に評価される。

20

【 0 0 5 0 】

本発明の別の実施の形態では、生物活性剤が組織スカホルド内に組み込まれている、および／または、組織スカホルドに適用されている、および／または、生物活性剤が生存可能な組織に適用されている。好ましくは、生物活性剤は生存可能な組織が組織スカホルドに加えられる前に組織スカホルドに組み込まれ、または塗布される。生物活性剤は、損傷の部位に存在するときに影響を及ぼされた組織の治癒および／または再生を促進するさまざまなエフェクターから選択される。治癒を実際に促進するまたははかどらせる化合物または薬剤であることに加えて、エフェクターは感染を防止する化合物または薬剤（例えば抗菌物質および抗生物質）、炎症を減らす化合物または薬剤（抗炎症剤）、酸化再生セルロース（例えば、エシコン・インコーポレイテッドから販売されているINTERCEED：登録商標およびSURGICEL：登録商標）およびヒアルロン酸のような癒着が形成されるのを防止するまたは最小にする化合物、および免疫系を抑制する化合物または薬剤（例えば免疫抑制剤）であってよい。

30

【 0 0 5 1 】

非限定的な例として、本発明の移植片内に配置される別のタイプのエフェクターには、異種または自己由来の成長因子、蛋白（マトリックス蛋白を含む。）、ペプチド、抗体、酵素、血小板、多血小板血漿、糖蛋白、ホルモン、サイトカイン、グリコサミノグリカン、核酸、鎮痛薬、ウイルス、ウイルス粒子、および細胞のタイプ（cell types）などがある。同じまたは異なる機能性のひとつまたは複数のエフェクターが移植片に組み込まれてよいことが理解される。

40

【 0 0 5 2 】

適切なエフェクターの例には、傷ついたまたは損傷を受けた組織の治癒および／または再生を促進することが知られている多数の異種または自己由来の成長因子などがある。これらの成長因子はスカホルドに直接組み込まれてよく、または代わりにスカホルドは

50

例えば血小板のような成長因子の供給源を含んでいてよい。本明細書で用いられている「生物活性剤」には、以下のひとつまたは複数のもの、すなわち、白血球遊走剤；治療薬（例えば、抗生物質、ステロイド性鎮痛剤および非ステロイド性鎮痛剤および抗炎症剤、免疫抑制剤のような抗拒絶性剤、および抗がん剤）；さまざまな蛋白（例えば、短期ペプチド（short term peptides）、骨形態形成蛋白質、糖蛋白質、リボ蛋白質）；細胞取り付け媒介物（cell attachment mediators）；生物学的に活性なリガンド；インテグリン結合配列（integrin binding sequence）；リガンド；成長剤および／または分化剤およびそれらの破片（例えば、上皮成長因子（EGF）、肝細胞成長因子（HGF）、血管内皮成長因子（VEGF）、線維芽細胞成長因子（例えば、bFGF）、血小板由来成長因子（PDGF）、インスリン由来成長因子（例えば、IGF-1、IGF-II）、および形質転換成長因子（例えば、TGF- β 1、TGF- β 2）、副甲状腺ホルモン、副甲状腺ホルモン関連ペプチド、骨形態形成蛋白質（例えば、BMP-2、BMP-4、BMP-6、BMP-12）、音性のハリネズミ（sonic hedgehog）、成長分化因子（例えば、GDF5、GDF6、GDF8）、組換え型ヒト成長因子（例えばMP52）、軟骨由来形態形成蛋白（CDMP-1））；特定の成長因子の増加（アップレギュレーション）に影響を及ぼす小さな分子；テネシン-C；ヒアルロン酸；硫酸コンドロイチン；フィブロネクチン；デコリン（decorin）；トロンプオエラスチン；トロンプビン由来ペプチド；ヘパリン結合ドメイン；ヘパリン；硫酸ヘパリン；DNAフラグメント；およびDNAプラスミドなどが含まれている。適切なエフェクターには、同様に上記の生物活性剤のアゴニストおよびアンタゴニストなどがある。成長因子には、上記の成長因子の組み合わせもある。さらに、成長因子には血液中の血小板から供給された自原性の成長因子もある。この場合には、血小板からの成長因子はさまざまな成長因子の定義されていないカクテルとなる。その他のそのような物質が整形外科の分野で治療的な効果を備えている場合には、それらの物質の少なくともあるものが本発明で用いられることが考えられるので、そのような物質はそうでないと明瞭に限定されていない限り「生物活性の薬剤」および「複数の生物活性の薬剤」に含まれるべきである。

【0053】

エフェクターとして用いるのに適した生物学的に由来する薬剤には、以下のひとつまたは複数のもの、すなわち、骨（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）および骨の誘導体；例えば半月組織などの軟骨（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）および軟骨の誘導体；靱帯（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）およびその誘導体；例えば粘膜下組織などの腸管組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；例えば粘膜下組織などの胃組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；例えば粘膜下組織などの膀胱組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；例えば粘膜下組織などの消化管組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；例えば粘膜下組織などの気道組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；例えば粘膜下組織などの生殖器組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；例えば肝臓の基底膜などの肝組織の誘導体（自己由来の移植片、同種異系移植片、異種移植片）；皮膚組織の誘導体；多血小板血漿（PRP）；乏血小板血漿（PPP）；骨髓吸引液；脱塩骨基質；インスリン由来成長因子；全血；フィブリン；および血餅などがある。精製されたECMおよびその他のコラーゲンの供給源も適切な生物学的に由来する薬剤である。その他のそのような物質が整形外科の分野で治療的な効果を備えている場合には、それらの物質の少なくともあるものが本発明で用いられることが考えられるので、そのような物質はそうでないと明瞭に限定されていない限り「生物学的に由来する薬剤」および「複数の生物学的に由来する薬剤」に含まれるべきである。

【0054】

生物学的に由来する薬剤には生物改造可能（bioremodelable）な膠原組織の基質もある。用語「生物改造可能な膠原組織の基質」および「自然界に存在する生物改造可能な膠原組織の基質」には、皮膚、動脈、静脈、心膜、心臓弁、硬膜、靱帯、骨、軟骨、肺、肝臓

10

20

30

40

50

、胃、筋膜、腸、およびその他の供給源からなる集合から選択された在来の組織に由来する基質がある。用語「自然界に存在する生物改造可能な膠原組織の基質」は洗浄、処理、滅菌、および必要に応じて架橋された基質材料を意味するが、天然繊維を精製することおよび精製された天然繊維から基質材料を再形成することは自然界に存在する生物改造可能な膠原組織の基質の定義には含まれない。

【 0 0 5 5 】

本発明の移植片中に存在する蛋白には、分離された形態で移植片中に存在する蛋白だけでなく移植片中に収容された例えば血小板のような細胞またはその他の生物学的供給源から分泌された蛋白もある。分離された形態の蛋白は典型的には約 55 % 以上の純度であり、すなわちその他の細胞蛋白、分子、残屑 (debris) などから分離されている。より好ましくは、分離された蛋白は少なくとも 65 % の純度であり、最も好ましくは少なくとも約 75 % から約 95 % の純度である。上記の記載にもかかわらず、当業者は約 55 % 未満の純度の蛋白も本発明の範囲内に含まれることを適切に評価する。本明細書では、用語「蛋白」は、糖蛋白、リポ蛋白、プロテオグリカン、ペプチド、およびそれらの破片を含む。エフェクターとして有用な蛋白の例として、以下に限定されないが、プレイオトロフィン (pleiotrophin)、エンドセリン、テネイシン、フィブロネクチン、フィブリノーゲン、ビトロネクチン、V - C A M、I - C A M、N - C A M、セレクトリン、カドヘリン、インテグリン、ラミニン、アクチン、ミオシン、コラーゲン、細糸、中間フィラメント、抗体、エラスチン、フィブリリン、およびそれらの破片などがある。

【 0 0 5 6 】

グリコサミノグリカンは細胞接着の役割を果たす大きく帯電した多糖類であり、本発明に基づくエフェクターとして働く。エフェクターとして有用なグリコサミノグリカンの例として、以下に限定されないが、硫酸ヘパリン、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、ケラタン硫酸、ヒアルロン酸 (ヒアルロン酸としても知られている。)、およびそれらの組み合わせなどがある。

【 0 0 5 7 】

本発明の組織スカホールドは、組織スカホールドに組み込まれた細胞をも有してよい。本発明に基づくエフェクターとして働くことができる適切な細胞のタイプは、以下に限定されないが、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、線維芽細胞、幹細胞、多能性細胞、軟骨細胞の先祖、軟骨細胞、内皮細胞、マクロファージ、白血球、脂肪細胞、単球、血漿細胞、マスト細胞、臍帯細胞、間質細胞、間葉幹細胞、上皮細胞、筋芽細胞、腱細胞 (tenocytes)、靱帯の線維芽細胞、ニューロン、骨髄細胞、滑膜細胞、胎児幹細胞、脂肪細胞に由来する前駆細胞、末梢血始原細胞、成人の組織から分離された幹細胞、遺伝的に形質転換された細胞、軟骨細胞およびその他の細胞の組み合わせ、骨細胞およびその他の細胞の組み合わせ、滑膜細胞およびその他の細胞の組み合わせ、骨髄細胞およびその他の細胞の組み合わせ、間葉細胞およびその他の細胞の組み合わせ、間質細胞およびその他の細胞の組み合わせ、幹細胞およびその他の細胞の組み合わせ、胎児幹細胞およびその他の細胞の組み合わせ、成人の組織から分離された前駆細胞およびその他の細胞の組み合わせ、末梢血始原細胞およびその他の細胞の組み合わせ、成人の組織から分離された幹細胞およびその他の細胞の組み合わせ、および、遺伝的に形質転換された細胞およびその他の細胞の組み合わせなどがある。その他の細胞が整形外科の分野で治療的な効果を備えている場合には、それらの細胞の少なくともあるものが本発明で用いられることが考えられるので、そのような細胞は明瞭に限定されていない限り「細胞」および「複数の細胞」に含まれるべきである。

【 0 0 5 8 】

細胞は典型的には同種のリガンド (例えば、刺激物質) に反応するレセプタ分子をその表面に有する。刺激物質はその同種のレセプタに接触するとそのレセプタを所有する細胞に特定の生物学的行動を起こさせるリガンドである。例えば、刺激物質 (またはリガンド) に反応して細胞は有意のレベルの Ca^{2+} のような第 2 のメッセンジャーを生み出し、そのメッセンジャーが次に (本明細書中の例と一致した) プロテインキナーゼ C のような蛋

10

20

30

40

50

白のリン酸化のような細胞プロセスへの二次の効果を及ぼす。ある場合には、細胞が固有の刺激物質によって刺激されると、その細胞は通常は蛋白の形態の細胞のメッセンジャー（糖蛋白、プロテオグリカン、およびリボ蛋白を含む。）を分泌する。この細胞のメッセンジャーは抗体（例えば、血漿細胞から分泌された。）、ホルモン（例えば、パラクリン、オートクライン、または外分泌のホルモン）、サイトカイン、または、それらの天然または合成の破片であってよい。

【 0 0 5 9 】

本発明の組織移植片は、核酸、ウイルス、またはウイルス粒子が少なくともひとつの目標の遺伝子生成物をエンコードする目標の遺伝子を特定の細胞または細胞のタイプへ運ぶ遺伝子治療法に用いることもできる。したがって、生物学的エフェクターは核酸（例えば、DNA、RNA、またはオリゴヌクレオチド）、ウイルス、ウイルス粒子、非ウイルス性ベクターであってよい。ウイルスおよびウイルス粒子はDNAまたはRNAウイルスであってよく、またはDNAまたはRNAウイルスに由来してよい。目標の遺伝子生成物は好ましくは蛋白、ポリペプチド、インターフェレンス・リボ核酸（interference ribonucleic acids: iRNA）、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される。

【 0 0 6 0 】

用いることができる核酸および/またはウイルスの薬剤（すなわち、ウイルスまたはウイルス粒子）が組織修復移植片の生体適合性のスカホルドに組み込まれると、その移植片は次にあるタイプの生物学的反応を顕すために特定の部位に移植できる。核酸またはウイルスの薬剤は次に細胞によって吸収され、核酸またはウイルスがエンコードした任意の蛋白が細胞によって局部的に産生される。ある実施の形態では、核酸またはウイルスの薬剤は細かく切り刻まれた組織の懸濁液の組織の破片中の細胞によって吸収され、または別の実施の形態では、核酸またはウイルスの薬剤は傷ついた組織の部位を取り囲む組織中の細胞によって吸収される。当業者には産生された蛋白が上記のタイプの蛋白であってよく、または組織が傷または損傷を治癒する、感染と闘う、または炎症反応を低減する能力を増強するのを容易にする類似の蛋白であってよいことを認識する。核酸は組織の修復プロセスまたはその他の正常な生物学的プロセスに負の作用を及ぼすかもしれない望ましくない遺伝子の生成物の発現を遮断するのにも用いられる。DNA、RNA、およびウイルスの薬剤は遺伝子発現ロックアウトとしても知られている発現遮断機能などを行うためにも用いられることが多い。

【 0 0 6 1 】

当業者は生物活性剤のアイデンティティ（種類）が医療技術の原理および用いることができる治療器具に基づいて外科医によって決められることが適切に理解される。組織修復移植片の生物活性剤またはエフェクターは、組織スカホルドを作る前にまたは組織スカホルドを作った後に組織スカホルドに組み込まれてよく、または、移植片を手術によって配置する前にまたは配置した後に組織スカホルドに組み込まれてよいことが理解される。

【 0 0 6 2 】

手術によって配置する前に、組織スカホルドは生物活性剤を含む適切な容器内に配置されていてよい。適切な条件の下で適切な期間が経過すると、組織スカホルドには生物活性剤が含浸されることになる。代わりに、生物活性剤は例えば適切なゲージの注射器を用いて組織スカホルドに生物活性剤を注入することによって組織スカホルド内に組み込まれてもよい。生物活性剤を組織スカホルドに混合し、圧縮し、拡散させ、遠心力を加えて配置するなどの組織スカホルドに適切な生物活性剤を充填するための当業者に知られたその他の方法が用いられてもよい。代わりに、生物活性剤は組織スカホルドに注入する前にゲル様のキャリアと混合されてもよい。

【 0 0 6 3 】

手術によって配置された後に、組織スカホルドが生物活性剤を含んでいない移植片には生物活性剤が導入され、または、組織スカホルドが少なくともひとつの生物活性剤を含んでいる移植片にはその生物活性剤が補足的な量だけ追加されてよい。生物活性剤を手術によって配置された移植片に組み込む方法のひとつは、適切なゲージの注射器を用いて注入

10

20

30

40

50

するものである。

【0064】

生体適合性のスカホルドに含まれる生物活性剤の量は、スカホルドの寸法、スカホルドが作られている材料、スカホルドの多孔度、生物学的コンポーネント（生物活性剤）のアイデンティティー（種類）、組織修復移植片の意図される目的などを含むさまざまな要因に応じて変えられてよい。当業者は、組織の治癒を容易にするおよび／または促進するために所定の用途で生体適合性のスカホルドに含まれる生物活性剤の適切な量を容易に決めることができる。生物活性剤の量はもちろん生物活性剤のアイデンティティーおよび所定の用途に応じて変えることができる。

【0065】

以下の実施例は本発明の原理および実施を例示したものである。本発明の範囲および真髄に含まれるさまざまな別の実施の形態が当業者には明らかであろう。

【実施例】

【0066】

実施例 1 .

小腸粘膜下組織（SIS）の組織スカホルドへのウシの切り刻まれた半月組織（BMT）の細胞の移住および新たな基質の形成が評価され比較された。半月組織は成体のウシの半月の白色および赤白色ゾーンから回収され、半月組織が切り刻まれて生存可能な組織の供給源が形成された。スカホルドが小腸粘膜下組織（SIS）から準備され、スリットがスカホルドに作られてポケットが形成された。切り刻まれた組織 $20 \text{ mg} / \text{cm}^2$ がスリットを通してSISスカホルド内に充填されて組み合わせ移植片が形成された。組み合わせ移植片はマウスのひとつの皮膚の切開部を通して半胸郭に形成されたポケット内に配置された。タッキング縫合糸 5 - 0 Ethibond Excel（登録商標）が用いられて皮下への移住を防止するために皮膚を各組み合わせ移植片の周囲の筋系に取り付けた。

【0067】

4週間後に組み合わせ移植片は組織学的な評価のために10%のホルマリン緩衝溶液中で移植片を固定し、移植片をサンプルに分割し、サンプルをヘマトキシリン - エオシン（H/E）で染色することによって準備された。組み合わせ移植片の顕微鏡写真が図8Bに示されていて、図8Aに示された対照のサンプルの顕微鏡写真と比較される。対照は上述された同じ手順で準備されたが切り刻まれた組織はスカホルド内に充填されなかった。

【0068】

図8Aは対照の組織スカホルド80aが在来の組織細胞を有しないことを示している。一方図8Bは移植片に移住し切り刻まれたBMT82bの間に存在する在来の半月組織の細胞84bを示し、切り刻まれたBMT82bが在来の半月組織の細胞84bによって改造（remodel）されていることをも示している。

【0069】

実施例 2 .

小腸粘膜下組織（SIS）の組織スカホルドへのウシの切り刻まれた半月組織（BMT）の細胞の移住および新たな基質の形成が評価され比較された。半月組織は成体のウシの半月の白色および赤白色ゾーンから回収され、半月組織が切り刻まれて生存可能な組織の供給源が形成された。スカホルドが小腸粘膜下組織（SIS）から準備され、スリットがスカホルドに作られてポケットが形成された。切り刻まれた組織が多血小板血漿（PRP）と組み合わせられて、切り刻まれた組織とPRPの組み合わせ $20 \text{ mg} / \text{cm}^2$ がスリットを通してSISスカホルド内に充填されて組み合わせ移植片が形成された。組み合わせ移植片はマウスのひとつの皮膚の切開部を通して半胸郭に形成されたポケット内に配置された。タッキング縫合糸 5 - 0 Ethibond Excel（登録商標）が用いられて皮下への移住を防止するために皮膚を各組み合わせ移植片の周囲の筋系に取り付けた。

【0070】

4週間後に組み合わせ移植片は組織学的な評価のために10%のホルマリン緩衝溶液中

で移植片を固定し、移植片をサンプルに分割し、サンプルをヘマトキシリン - エオシン (H / E) で染色することによって準備された。組み合わせ移植片の顕微鏡写真が図 8 C に示されている。参照符号 8 2 c は移植片に移住している在来の半月組織の細胞 8 4 c によって改造された切り刻まれた B M T および P R P を示している。

【 0 0 7 1 】

実施例 3 .

小腸粘膜下組織 (S I S) の組織スカホルドへのウシの切り刻まれた半月組織 (B M T) の細胞の移住および新たな基質の形成が評価され比較された。半月組織は成体のウシの半月の白色および赤白色ゾーンから回収され、半月組織が切り刻まれた。 P R P が切り刻まれた B M T に加えられた。次に生存可能な組織の供給源が B M T および P R P を 5 0 : 5 0 の比率で生物再吸収性ポリマー製のスカホルド (「 F P V 」 と呼ばれる。) と組み合わせることによって準備された。使用された生物再吸収性のスカホルドは不織繊維 (P D S (ポリジオキサノン : Polydioxanone) およびビクリル (Vicryl) の混合物) で補強された凍結乾燥発泡スカホルド (6 5 % のポリグリコール酸 / 3 5 % のポリカプロラクトン) であった。スカホルドは小腸粘膜下組織 (S I S) から準備され、スリットがスカホルドに作られてポケットが形成された。生存可能な組織の供給源である F P V 、 B M T 、および P R P が $20 \text{ mg} / \text{cm}^2$ でスリットを通して S I S スカホルド内に充填されて組み合わせ移植片が形成された。組み合わせ移植片はマウスのひとつの皮膚の切開部を通して半胸郭に形成されたポケット内に配置された。タッキング縫合糸 5 - 0 E t h i b o n d E x c e l (登録商標) が用いられて皮下への移住を防止するために皮膚を各組み合わせ移植片の周囲の筋系に取り付けた。

【 0 0 7 2 】

4 週間後に組み合わせ移植片は組織学的な評価のために 1 0 % のホルマリン緩衝溶液中で移植片を固定し、移植片をサンプルに分割し、サンプルをヘマトキシリン - エオシン (H / E) で染色することによって準備された。組み合わせ移植片の顕微鏡写真が図 8 D に示されていて、図 8 D は有意な量の在来の半月組織の細胞 8 4 d が F P V スカホルド 8 0 d 内、および B M T および P R P の組織の供給源 8 2 d の周囲および間に移住していることを示している。

【 0 0 7 3 】

実施例 4 .

小腸粘膜下組織 (S I S) の組織スカホルドへのウシの切り刻まれた軟骨組織 (B C T) の細胞の移住および新たな基質の形成が評価され比較された。軟骨組織は成体のウシの大腿骨の関節顆から回収され、軟骨組織が切り刻まれた。 P R P が切り刻まれた B C T に加えられた。次に生存可能な組織の供給源が B C T および P R P を 5 0 : 5 0 の比率で生物再吸収性ポリマー製のスカホルド (「 P V 」 と呼ばれる。) と組み合わせることによって準備された。使用された生物再吸収性のスカホルドは不織布スカホルド (P D S (ポリジオキサノン : Polydioxanone) およびビクリル (Vicryl) の混合物) であった。スカホルドは小腸粘膜下組織 (S I S) から準備され、スリットがスカホルドに作られてポケットが形成された。生存可能な組織の供給源である P V 、 B C T 、および P R P が $20 \text{ mg} / \text{cm}^2$ でスリットを通して S I S スカホルド内に充填されて組み合わせ移植片が形成された。組み合わせ移植片はマウスのひとつの皮膚の切開部を通して半胸郭に形成されたポケット内に配置された。タッキング縫合糸 5 - 0 E t h i b o n d E x c e l (登録商標) が用いられて皮下への移住を防止するために皮膚を各組み合わせ移植片の周囲の筋系に取り付けた。

【 0 0 7 4 】

4 週間後に組み合わせ移植片は組織学的な評価のために 1 0 % のホルマリン緩衝溶液中で移植片を固定し、移植片をサンプルに分割し、サンプルをヘマトキシリン - エオシン (H / E) で染色することによって準備された。組み合わせ移植片の顕微鏡写真が図 8 E に示されている。いくつかの在来の軟骨組織の細胞 8 4 e が組織スカホルド 8 0 e 内、および生存可能な組織の供給源 8 2 e の周囲および間に移住していることが示されている。

【 0 0 7 5 】

実施例 5 .

組織スカホルドに移住する在来の半月の細胞に対する生物活性物質を使用することの効果が評価された。半月がウシの膝から回収されて、4 mmの外植片が白色および赤白色領域から取り出された。2 mmのパンチ生検がスカホルドを挿入する前に外植片の中央から取り除かれた。直径2 mmの生物再吸収性の発泡スカホルド（60%のポリ乳酸および40%のポリカプロラクトン）が血液、多血小板血漿（PRP）、または8倍の濃縮PRPで処理され、外植片の中央に挿入された。スカホルドが挿入された外植片が一日おきに培地を交換して標準的な細胞培養条件の下で2週間および3週間に亘って培養された。2週間および3週間の時点で、外植片内のスカホルドが取り除かれて、細胞の個数がシクワント（CyQuant）検定を用いてDNAの量によって見積もられた。

10

【 0 0 7 6 】

図9Aは生物活性剤を用いる利益を示していて、より詳しく言うと、在来の半月細胞のスカホルドへの移住が多血小板血漿（PRP）のような生物活性剤を用いることで有意に改善されていることを示している。図示されているように、2週間および3週間の後に移植片に移住している在来の組織の量は対照および血液を収容している移植片と比較してPRPを収容している移植片で有意に増加している。

【 0 0 7 7 】

実施例 6 .

組織スカホルドに移住する在来の細胞に対する生物活性物質を使用することの効果が評価された。半月がウシの膝から回収されて、4 mmの外植片が白色および赤白色領域から取り出された。2 mmのパンチ生検がスカホルドを挿入する前に外植片の中央から取り除かれた。PDS（ポリジオキサノン）メッシュで補強された直径2 mmの生物再吸収性の発泡スカホルド（65%のポリグリコール酸および35%のポリカプロラクトン）が濃度10 ng/ml、濃度100 ng/ml、および濃度300 ng/mlの100 μlのCDMP-1中に浸漬された。スカホルドが一晩に亘って凍結乾燥されて成長因子がスカホルド内で凍結乾燥され、スカホルドが外植片の中央に挿入された。スカホルドが挿入された外植片が一日おきに培地を交換して標準的な細胞培養条件の下で3週間に亘って培養された。2週間および3週間の時点で、外植片内のスカホルドが取り除かれて、細胞の個数がシクワント（CyQuant）検定を用いてDNAの量によって見積もられた。

20

30

【 0 0 7 8 】

図9Bは14日後および21日後にPDS（登録商標）メッシュで補強された65%のポリグリコール酸および35%のポリカプロラクトンで形成された移植片内に移住する在来の半月組織の細胞の量を示している。図示されているように、CDMP-1を収容していない移植片および10 ng/mlのみのCDMP-1を収容している移植片は14日後および21日後に100 ng/mlのCDMP-1を収容している移植片および300 ng/mlのCDMP-1を収容している移植片ほど多くの在来の組織の細胞を受容せず、このことは在来の半月組織の細胞の移住が有意に改善されたことを示している。

【 0 0 7 9 】

実施例 7 .

組織スカホルドに移住する在来の細胞に対する生物活性物質を使用することの効果が評価された。半月がウシの膝から回収されて、4 mmの外植片が白色および赤白色領域から取り出された。2 mmのパンチ生検がスカホルドを挿入する前に外植片の中央から取り除かれた。PDS（ポリジオキサノン）メッシュで補強された直径2 mmの生物再吸収性の発泡スカホルド（65%のポリグリコール酸および35%のポリカプロラクトン）が濃度150 ng/mlの100 μlのCDMP-1中に浸漬された。スカホルドが一晩に亘って凍結乾燥されて成長因子がスカホルド内で凍結乾燥され、スカホルドが外植片の中央に挿入された。スカホルドが挿入された外植片が一日おきに培地を交換して標準的な細胞培養条件の下で3週間に亘って培養された。3週間の時点で、外植片が取り除かれて、ヘマトキシリン-エオシン（H/E）で染色するために組織学的に処理された。

40

50

【 0 0 8 0 】

図 1 0 A および図 1 0 B は外植片の顕微鏡写真を示している。図 1 0 A は対照として働く処理されていない第 1 の外植片の顕微鏡写真を示していて、図 1 0 B は C D M P - 1 を備えた半月の外植片の顕微鏡写真を示している。図示されているように、図 1 0 B の外植片は図 1 0 A の外植片に比べて有意な量の在来の組織の細胞を収容している。

【 0 0 8 1 】

当業者は上述された実施の形態に基づいて本発明の別の特徴および利点を適切に評価するだろう。従って、本発明は特許請求の範囲に記載された以外は、特定して例示され記載されたものに限定されるべきではない。本明細書で引用された全ての刊行物および参考文献はそれらの全体が明らかに本明細書で参考文献として引用される。

10

【 0 0 8 2 】

この発明の具体的な実施態様は以下の通りである。

(1) 患者の組織の欠陥を修復するための組み合わせ移植片であって、

生物再吸収性の合成ポリマー材料から作られていて生存可能な組織を収容するように適合された少なくともひとつのポケットが形成された多孔性の組織スカホルドを有する、組み合わせ移植片。

(2) 組織スカホルドの少なくともひとつのポケット内に配置され上記組織スカホルド内に移住して上記組織スカホルドを取り囲む在来の組織と一体化するのに有効な生存可能な組織をさらに有する、上記実施態様 (1) 記載の組み合わせ移植片。

(3) 生存可能な組織に適用されていて細胞の成長を活発にするのに有効な少なくともひとつの生物活性物質をさらに有する、上記実施態様 (2) 記載の組み合わせ移植片。

20

(4) 生物活性物質が、血餅、多血小板血漿、軟骨由来の形態発生たんぱく、組み換え型のヒト成長因子、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される、上記実施態様 (3) 記載の組み合わせ移植片。

(5) 組織スカホルドが上部部分および底部部分を含む、上記実施態様 (1) 記載の組み合わせ移植片。

【 0 0 8 3 】

(6) 上部部分および底部部分が少なくとも部分的に結合されている、上記実施態様 (5) 記載の組み合わせ移植片。

(7) 組織スカホルドの上部部分および底部部分が上記上部部分および上記底部部分の周縁部で互いに熱融着されて上記上部部分および上記底部部分の間に閉じたポケットが形成されている、上記実施態様 (5) 記載の組み合わせ移植片。

30

(8) 閉じたポケット内に配置された生存可能な組織をさらに有する、上記実施態様 (7) 記載の組み合わせ移植片。

(9) 組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルドに形成された中空内部からなる、上記実施態様 (1) 記載の組み合わせ移植片。

(1 0) 組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる、上記実施態様 (1) 記載の組み合わせ移植片。

【 0 0 8 4 】

40

(1 1) 組織スカホルドが血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部を含む、上記実施態様 (1) 記載の組み合わせ移植片。

(1 2) 少なくともひとつの表面特徴部が組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャンネルからなる、上記実施態様 (1 1) 記載の組み合わせ移植片。

(1 3) 患者の組織の欠陥を修復するための組み合わせ移植片であって、

少なくともひとつのポケットが形成された多孔性の組織スカホルドと、

上記組織スカホルドの上記少なくともひとつのポケット内に配置され上記組織スカホルド内に移住して上記組織スカホルドを取り囲む在来の組織と一体化するのに有効で、切り刻まれた組織の破片、スライスされた組織の破片、および細長く切られた組織の破片からなる集合から選択された生存可能な組織と

50

を有する、組み合わせ移植片。

(14) 組織スカホルドが、天然ポリマー、合成ポリマー、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択された少なくともひとつの材料から作られている、上記実施態様(13)記載の組み合わせ移植片。

(15) 生存可能な組織に適用されていて細胞の成長を活発にするのに有効な少なくともひとつの生物活性物質をさらに有する、上記実施態様(13)記載の組み合わせ移植片。

【0085】

(16) 生物活性物質が、血餅、多血小板血漿、軟骨由来の形態発生たんぱく、組み換え型のヒト成長因子、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される、上記実施態様(15)記載の組み合わせ移植片。

10

(17) 組織スカホルドが上部部分および底部部分を含む、上記実施態様(13)記載の組み合わせ移植片。

(18) 上部部分および底部部分が少なくとも部分的に結合されている、上記実施態様(17)記載の組み合わせ移植片。

(19) 組織スカホルドの上部部分および底部部分が上記上部部分および上記底部部分の周縁部で互いに熱融着されて上記上部部分および上記底部部分の間に生存可能な組織を収容する閉じたポケットが形成されている、上記実施態様(17)記載の組み合わせ移植片。

(20) 組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルドに形成された中空内部からなる、上記実施態様(13)記載の組み合わせ移植片。

20

【0086】

(21) 組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる、上記実施態様(13)記載の組み合わせ移植片。

(22) 組織スカホルドが血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部を含む、上記実施態様(13)記載の組み合わせ移植片。

(23) 少なくともひとつの表面特徴部が組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャンネルからなる、上記実施態様(22)記載の組み合わせ移植片。

(24) 組織の欠陥を修復する方法であって、

30

生物再吸収性の合成ポリマー材料から作られていて生存可能な組織を収容するように適合された少なくともひとつのポケットが形成された組織スカホルドを提供する過程と、

上記生存可能な組織を得る過程と、

上記組織スカホルドの上記少なくともひとつのポケット内に上記生存可能な組織を装填する過程と、

上記生存可能な組織が配置された上記組織スカホルドを患者の体の欠陥部位に植え込む過程と

を有する、組織の欠陥を修復する方法。

(25) 細胞の成長を促進するために少なくともひとつの生物活性物質を生存可能な組織に適用する過程をさらに有する、上記実施態様(24)記載の方法。

40

【0087】

(26) 生物活性物質が、血餅、多血小板血漿、軟骨由来の形態発生たんぱく、組み換え型のヒト成長因子、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される、上記実施態様(25)記載の方法。

(27) 組織スカホルドが上部部分および底部部分を含む、上記実施態様(24)記載の方法。

(28) 上部部分および底部部分が少なくとも部分的に結合されている、上記実施態様(27)記載の方法。

(29) 組織スカホルドの上部部分および底部部分が上記上部部分および上記底部部分の周縁部で互いに熱融着されて上記上部部分および上記底部部分の間に生存可能な組織を

50

収容する閉じたポケットが形成されている、上記実施態様（２７）記載の方法。

（３０）組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルドに形成された中空内部からなる、上記実施態様（２４）記載の方法。

【００８８】

（３１）組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる、上記実施態様（２４）記載の方法。

（３２）組織スカホルドが血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部を含む、上記実施態様（２４）記載の方法。

（３３）少なくともひとつの表面特徴部が組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャンネルからなる、上記実施態様（３２）記載の方法。

（３４）組織の欠陥を修復する方法であって、
生存可能な組織を収容するように適合された少なくともひとつのポケットが形成された組織スカホルドを提供する過程と、

上記生存可能な組織を得る過程と、

上記生存可能な組織を準備して、切り刻まれた組織の破片、スライスされた組織の破片、および細長く切られた組織の破片からなる集合から選択された組織の破片を形成する過程と、

上記組織スカホルドの上記少なくともひとつのポケット内に上記組織の破片を装填する過程と、

上記組織の破片が配置された上記組織スカホルドを患者の体の欠陥部位に植え込む過程と
を有する、組織の欠陥を修復する方法。

（３５）組織スカホルドが、天然ポリマー、合成ポリマー、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択された少なくともひとつの材料から作られている、上記実施態様（３４）記載の方法。

【００８９】

（３６）細胞の成長を促進するために少なくともひとつの生物活性物質を組織の破片に適用する過程をさらに有する、上記実施態様（３４）記載の方法。

（３７）生物活性物質が、血餅、多血小板血漿、軟骨由来の形態発生たんぱく、組み換え型のヒト成長因子、およびそれらの組み合わせからなる集合から選択される、上記実施態様（３６）記載の方法。

（３８）組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルドに形成された中空内部からなる、上記実施態様（３４）記載の方法。

（３９）組織スカホルドが実質的に楔形の形状を有し、ポケットが上記組織スカホルド内に延在する少なくともひとつの内腔からなる、上記実施態様（３４）記載の方法。

（４０）組織スカホルドが血管の形成を促進するために形成された少なくともひとつの表面特徴部を含む、上記実施態様（３４）記載の方法。

（４１）少なくともひとつの表面特徴部が組織スカホルドの外側面に形成された複数のチャンネルからなる、上記実施態様（４０）記載の方法。

【産業上の利用可能性】

【００９０】

本発明は、患者の組織の欠陥または外傷を修復する分野で用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【００９１】

【図１】本発明に基づく組み合わせ移植片のある実施の形態の斜視図である。

【図２】本発明に基づく組み合わせ移植片の別の実施の形態の斜視図である。

【図３】本発明の別の実施の形態に基づく組み合わせ移植片の斜視図である。

【図４】本発明に基づく組み合わせ移植片のさらに別の実施の形態の斜視図である。

【図５Ａ】本発明の別の実施の形態に基づく上部部分および生存可能な組織が配置された底部部分を有する組み合わせ移植片を示す図である。

10

20

30

40

50

【図 5 B】本発明に基づく熱融着装置を示す図である。

【図 5 C】図 5 B の熱融着装置を用いて融着された後の図 5 A の組み合わせ移植片を示す図である。

【図 6】本発明の別の実施の形態に基づく表面特徴部が形成された組み合わせ移植片のさらに別の実施の形態の斜視図である。

【図 7】表面特徴部が形成された組み合わせ移植片の別の実施の形態を示す図である。

【図 8 A】対照として働く小腸粘膜下組織 (S I S) の組み合わせ移植片の顕微鏡写真を示す図である。

【図 8 B】在来の半月組織細胞が移植片に移住している様子を示すウシの切り刻まれた半月組織 (B M T) から形成された生存可能な組織を収容しているポケットを備えた S I S の組み合わせ移植片の顕微鏡写真を示す図である。

10

【図 8 C】在来の組織細胞の移植片への移住および一体化が改善されたことを示す B M T から作られた生存可能な組織および多血小板血漿 (P R P) を収容しているポケットを備えた S I S の組み合わせ移植片の顕微鏡写真を示す図である。

【図 8 D】在来の半月組織の細胞の移植片への移住および一体化が改善されたことを示す 50 : 50 の比率で B M T および P R P を生物再吸収性ポリマーのスカホルド (F P V と呼ばれる。) と組み合わせることによって準備された生存可能な組織の供給源を収容しているポケットを備えた S I S の組み合わせ移植片の顕微鏡写真を示す図である。

【図 8 E】在来の組織細胞の移植片への移住および一体化が改善されたことを示す 50 : 50 の比率で B C T および P R P を生物再吸収性ポリマーのスカホルド (P V と呼ばれる。) と組み合わせることによって準備された生存可能な組織の供給源を収容しているポケットを備えた S I S の組み合わせ移植片の顕微鏡写真を示す図である。

20

【図 9 A】生物活性物質を含まない移植片を血液で処理された移植片、P R P で処理された移植片、および 8 倍の濃度の P R P で処理された移植片と比較した、65 % のポリグリコール酸 / 35 % のポリカプロラクトンから形成され P D S (登録商標) メッシュで補強された移植片への生存可能な半月組織の細胞の移住の棒グラフを示す図である。

【図 9 B】さまざまな量の軟骨由来の形態発生たんぱく (C D M P - 1) で処理された生存可能な組織を収容している移植片と比較した、65 % のポリグリコール酸 / 35 % のポリカプロラクトンから形成され P D S (登録商標) メッシュで補強された移植片への生存可能な組織細胞の移住の棒グラフを示す図である。

30

【図 10 A】対照として働く切り刻まれた半月組織から形成された移植片の顕微鏡写真を示す図である。

【図 10 B】在来の組織細胞の移植片への移住を示す C D M P - 1 が装填された切り刻まれた半月組織から造られた移植片の顕微鏡写真を示す図である。

【符号の説明】

【0092】

10 組み合わせ移植片

12 組織スカホルド

12 a 上部壁

12 b 底部壁

12 c 側面壁

12 d 側面壁

12 e 端部壁

14 ポケット

16 生存可能な組織

20 組み合わせ移植片

22 組織スカホルド

22 a 上部壁

22 b 底部壁

22 c 側面壁

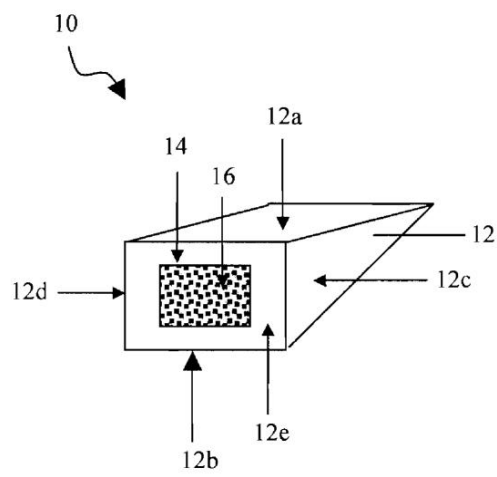
40

50

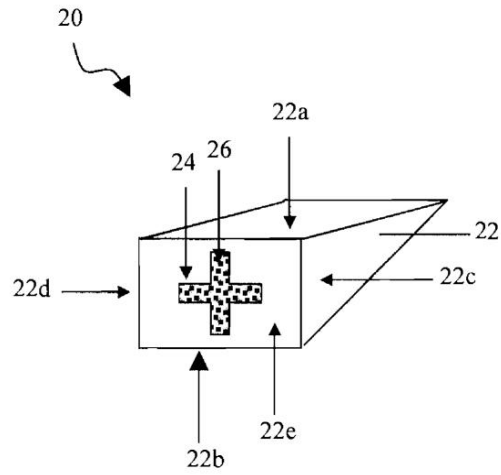
2 2 d	側面壁	
2 2 e	端部壁	
2 4	ポケット	
2 6	生存可能な組織	
3 0	組み合わせ移植片	
3 2	組織スカホルド	
3 2 a	上部部分	
3 2 b	底部部分	
3 4	ポケット	
3 6	生存可能な組織	10
4 0	組み合わせ移植片	
4 2	組織スカホルド	
4 2 a	上部層	
4 2 b	底部層	
4 4	ポケット	
4 6	生存可能な組織	
5 0	組み合わせ移植片	
5 2	組織スカホルド	
5 2 a	上部層	
5 2 b	底部層	20
5 4	ポケット	
5 6	生存可能な組織	
6 0	移植片	
6 2	組織スカホルド	
6 2 a	上部部分	
6 2 b	底部部分	
6 4	ポケット	
6 6	生存可能な組織	
6 8	チャネル	
7 0	移植片	30
7 2	組織スカホルド	
7 2 a	上部部分	
7 2 b	底部部分	
7 4	ポケット	
7 6	生存可能な組織	
7 8	ボア	
8 0 a	対照の組織スカホルド	
8 0 d	F P V スカホルド	
8 0 e	組織スカホルド 8 0 e	
8 2 b	B M T	40
8 2 c	B M T および P R P	
8 2 d	B M T および P R P の組織の供給源	
8 2 e	生存可能な組織の供給源	
8 4 b	在来の半月組織の細胞	
8 4 c	在来の半月組織の細胞	
8 4 d	在来の半月組織の細胞	
8 4 e	在来の軟骨組織の細胞	
1 0 0	熱融着装置	
1 0 2 a	上側部材	
1 0 2 b	下側トレ	50

1 0 4 ヒンジ

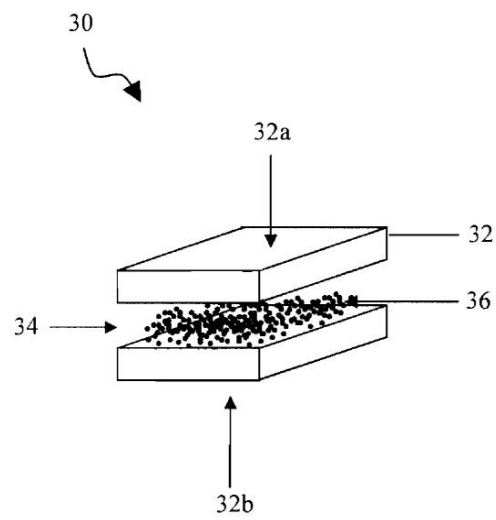
【図 1】



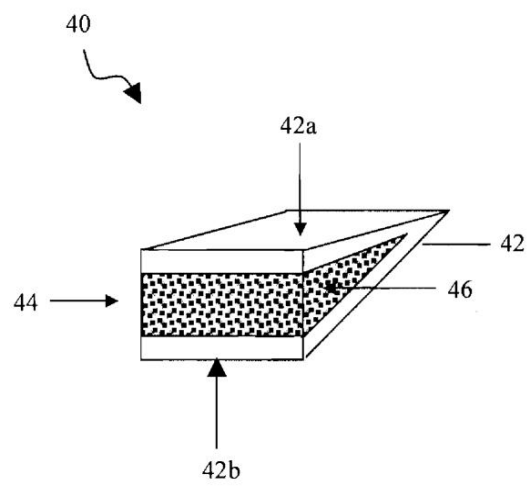
【図2】



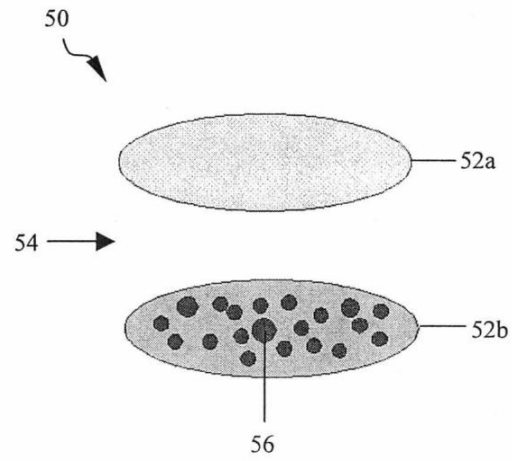
【図3】



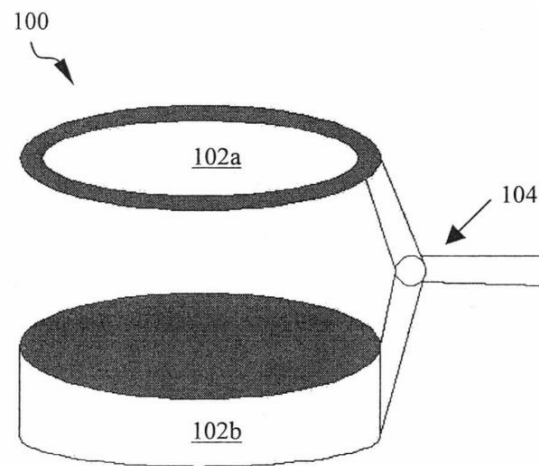
【図4】



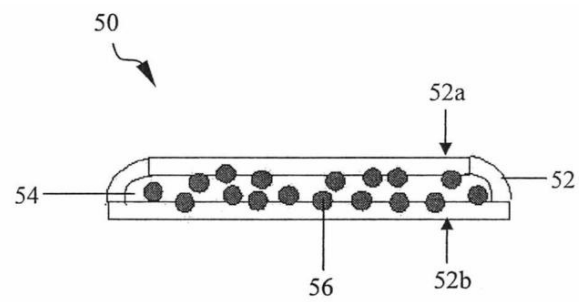
【図 5 A】



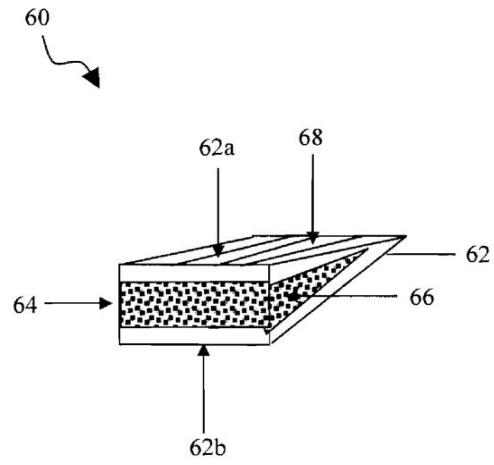
【図 5 B】



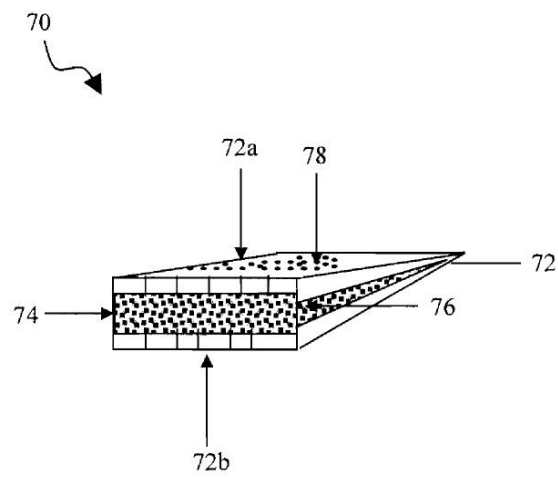
【図 5 C】



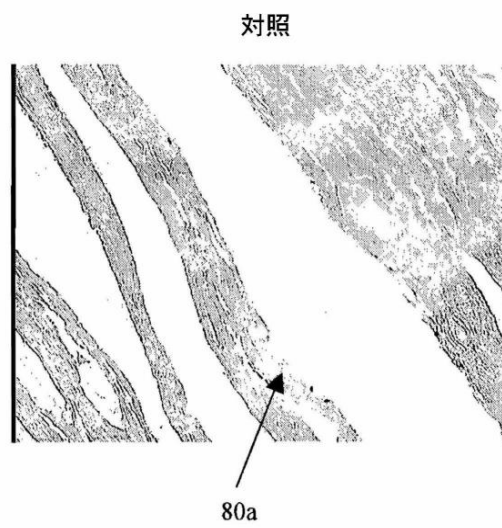
【図 6】



【図 7】

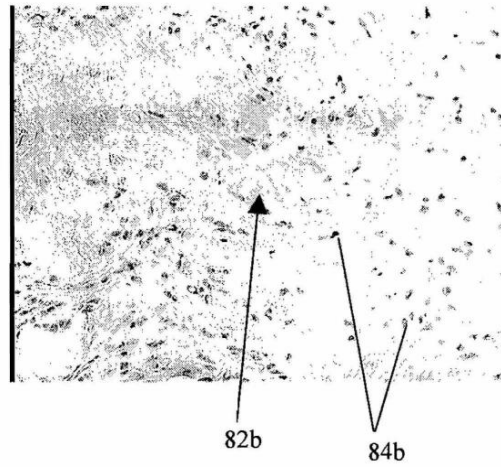


【図 8 A】



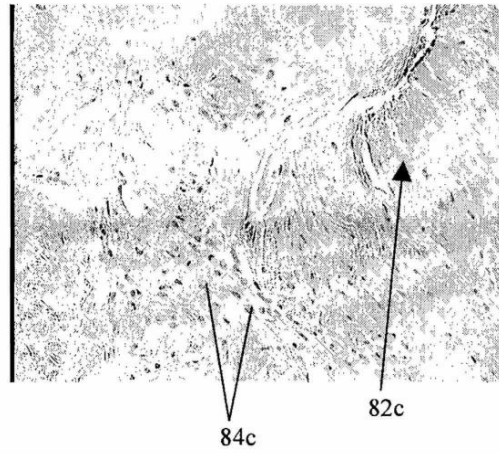
【図 8 B】

スカホルド+BMT



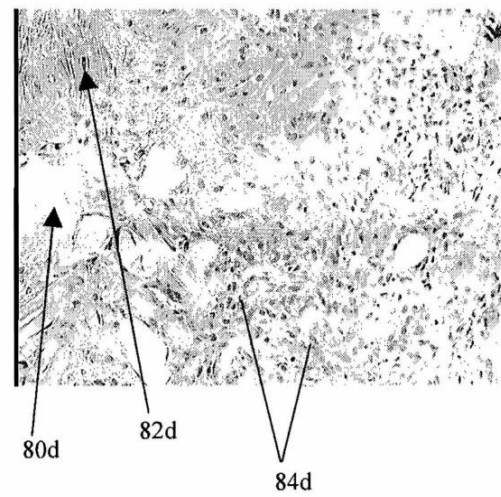
【図 8 C】

スカホルド+BMT+PRP

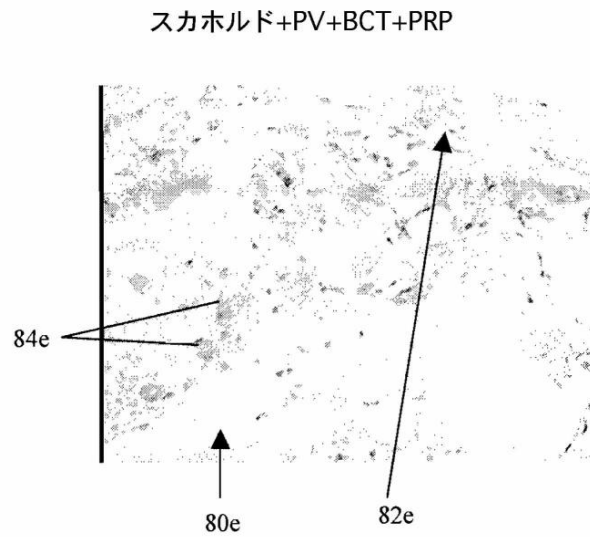


【図 8 D】

スカホルド+FPV+BMT+PRP

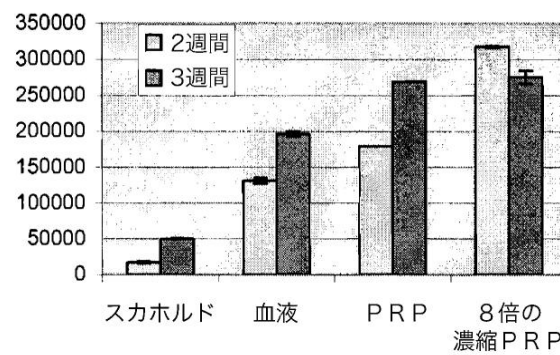


【図 8 E】



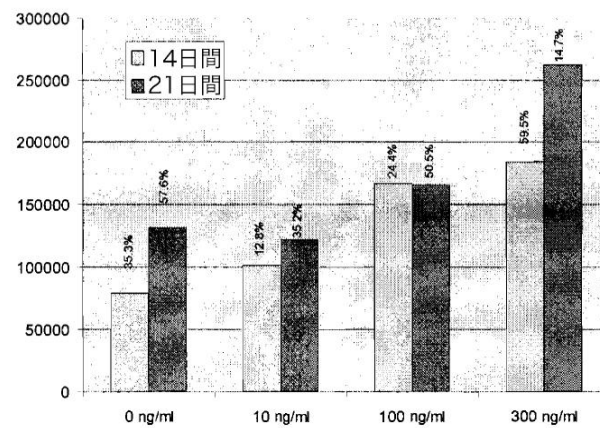
【図 9 A】

PRPが生物再吸収性のスカホールド内への
細胞の移住を活発にする様子



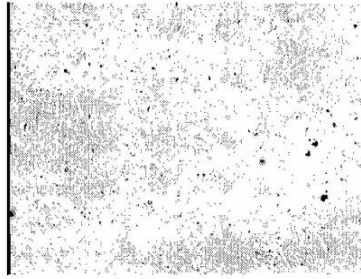
【図 9 B】

CDMP-1が生物再吸収性のスカホールド内への
細胞の移住を活発にする様子



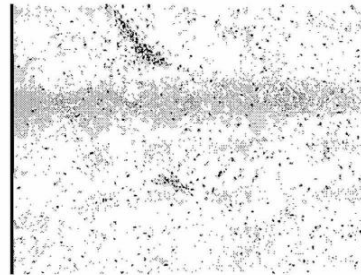
【図 10 A】

対照



【図 10 B】

150ngのCDMP-1



フロントページの続き

- (72)発明者 ステファニー・エム・クラダキス
アメリカ合衆国、02472 マサチューセッツ州、ウォータータウン、ボイルストン・ストリート 56
- (72)発明者 スリデビ・ダナラジ
アメリカ合衆国、08869 ニュージャージー州、ラリタン、ローデレア・ドライブ 3
- (72)発明者 ロバート・ブック
アメリカ合衆国、02184 マサチューセッツ州、ブレインツリー、ナンバー208、マシュー・コート 802

審査官 川島 徹

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2002/0022883(US, A1)
米国特許出願公開第2003/0036797(US, A1)
特開2004-136096(JP, A)
特表2002-501418(JP, A)
特表2002-502822(JP, A)
特開2004-008437(JP, A)
国際公開第2003/007788(WO, A2)
米国特許出願公開第2002/0150604(US, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61F 2/00
A61L 27/00