



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104491928 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 08

(21) 申请号 201410708559. X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 06. 22

A61L 27/36(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61L 27/54(2006. 01)

61/074, 441 2008. 06. 20 US

A61L 31/16(2006. 01)

A61L 31/00(2006. 01)

(62) 分案原申请数据

200980129907. 5 2009. 06. 22

(71) 申请人 库克生物科技有限公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 D·M·J·埃恩斯特 C·E·约翰逊

A·奥弗比

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司

公司 11314

代理人 程伟 王锦阳

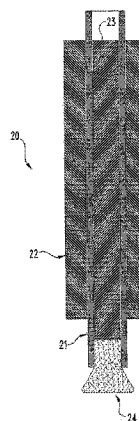
权利要求书2页 说明书24页 附图2页

(54) 发明名称

可压缩 / 可扩张医疗移植产品以及应用止血的方法

(57) 摘要

本发明提供可压缩 / 可扩张医疗移植产品以及应用止血的方法。具体地, 本发明的提供止血组织活检栓产品, 其包含: 当浸湿时弹性地扩张的干燥压缩的泡沫体, 所述泡沫体尺寸经调节用于在组织活检位点接收, 所述泡沫体通过压缩引入有化学交联剂的铸造体而形成, 其中通过如下方法制备铸造体: 使用碱性介质处理细胞外基质材料从而形成扩张的细胞外基质材料; 将其粉碎以形成粉碎的扩张的细胞外基质材料; 再将其在模具中冻干以形成干燥的冻干的细胞外基质材料; 以及使所述冻干的细胞外基质材料与化学交联剂接触以形成交联的细胞外基质材料, 其引入有足以提升所述泡沫体弹性的化学交联剂。这提供了抗收缩的形状更均匀的交联的栓。



1. 一种止血组织活检栓产品,其包含:

干燥压缩的泡沫体,当浸湿时所述泡沫体弹性地扩张,所述泡沫体的尺寸经调节用于在组织活检位点接收,所述泡沫体通过压缩引入有化学交联剂的铸造体而形成,其中所述铸造体通过包括如下的方法制备:使用碱性介质处理细胞外基质材料从而形成扩张的细胞外基质材料;粉碎所述扩张的细胞外基质材料以形成粉碎的扩张的细胞外基质材料;在模具中冻干所述粉碎的扩张的细胞外基质材料以形成干燥的冻干的细胞外基质材料;以及使所述冻干的细胞外基质材料与化学交联剂接触以形成交联的细胞外基质材料,其引入有足以提升所述泡沫体弹性的化学交联剂。

2. 根据权利要求 1 所述的止血组织活检栓产品,其中所述扩张的细胞外基质材料具有原始细胞外基质材料拉伸强度的 50% 以下的拉伸强度。

3. 根据权利要求 1 所述的止血组织活检栓产品,其中所述产品进一步包含至少一种生物活性试剂。

4. 根据权利要求 3 所述的止血组织活检栓产品,其中所述至少一种生物活性试剂包括生长因子、糖蛋白、葡萄糖胺聚糖或蛋白聚糖中的一种或多种。

5. 一种用于对活检位点施以止血的产品,其包含:

具有内腔的管状装置,所述管状装置可送入组织活检位点;以及在所述内腔中接收的如权利要求 2 所述的止血组织活检栓。

6. 一种可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其包括:

使细胞外基质材料与碱性介质接触以形成扩张的细胞外基质材料;

洗涤所述扩张的细胞外基质材料;

粉碎所述扩张的细胞外基质材料以形成粉碎的扩张的细胞外基质材料;

将所述粉碎的扩张的细胞外基质材料装入模具;

在模具中冻干所述扩张的细胞外基质材料以形成冻干的细胞外基质材料泡沫;

使所述冻干的细胞外基质材料泡沫与化学交联剂接触以形成交联的细胞外基质泡沫,其中所述交联的细胞外基质泡沫比所述冻干的细胞外基质材料泡沫更有弹性;以及

干燥所述交联的细胞外基质材料泡沫以形成可压缩医疗泡沫产品。

7. 根据权利要求 6 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述碱性介质包括含有氢氧离子源的水性介质。

8. 根据权利要求 7 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述氢氧离子源包括氢氧化钠。

9. 根据权利要求 6 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述扩张的细胞外基质材料的体积为其原始体积的至少 120%。

10. 根据权利要求 6 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述细胞外基质材料为去细胞的组织层。

11. 根据权利要求 10 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述去细胞的组织层包括粘膜下层。

12. 根据权利要求 11 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述粘膜下层为肠、膀胱或胃粘膜下层。

13. 根据权利要求 12 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述粘膜下层为小

肠粘膜下层。

14. 根据权利要求 6 所述的可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其中所述扩张的细胞外基质材料通过冻干进行干燥。

15. 一种可压缩医疗泡沫产品,其包含:

通过包括以下的方法所形成的压缩体:通过对构造体进行化学交联,并在所述化学交联之后压缩构造体所述构造体包含:

干燥的、可压缩泡沫体,所述泡沫体通过模塑细胞外基质材料形成,所述细胞外基质材料已使用足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质进行处理,之后所述细胞外基质材料已被粉碎以形成碎片;所述扩张的细胞外基质材料具有细胞外基质材料原始拉伸强度的 50% 以下的拉伸强度。

16. 根据权利要求 15 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述扩张的细胞外基质材料的体积为其原始体积的至少 120%。

17. 根据权利要求 15 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述细胞外基质材料为去细胞的组织层。

18. 根据权利要求 17 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述去细胞的组织层包括粘膜下层。

19. 根据权利要求 18 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述粘膜下层为肠、膀胱或胃粘膜下层。

20. 根据权利要求 19 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述粘膜下层为小肠粘膜下层。

21. 根据权利要求 15 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述扩张的细胞外基质材料由干燥冻干的材料组成。

22. 根据权利要求 15 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述构造体进一步包含至少一种生物活性试剂。

23. 根据权利要求 15 所述的可压缩医疗泡沫产品,其中所述至少一种生物活性试剂包括生长因子、糖蛋白、葡萄糖胺聚糖或蛋白聚糖中的一种或多种。

24. 细胞外基质材料在生产用于传送到瘘管以封堵瘘管的干燥可压缩泡沫体中的用途,所述细胞外基质材料已首先使用足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质处理,之后粉碎,然后模塑以形成泡沫体,再然后用化学交联剂进行处理以使得干燥可压缩泡沫体包含足以提升泡沫体弹性的引入的交联。

可压缩 / 可扩张医疗移植产品以及应用止血的方法

[0001] 本发明是申请号为 200980129907.5, 申请日为 2009 年 6 月 22 日, 发明名称为“可压缩 / 可扩张医疗移植产品以及应用止血的方法”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的引用

[0003] 本申请要求 2008 年 6 月 20 日提交的美国临时专利申请号 61/074,441 的权益, 其以全文特此并入本文。

技术领域

[0004] 本发明大体上涉及改进的细胞外基质材料, 在某些方面, 本发明涉及物理修饰的细胞外基质材料, 由其制得的医疗装置, 及其用途。

背景技术

[0005] 生物材料已用于多种医疗应用中, 包括关节修复和替换; 牙周重建; 受伤、患病或畸形骨骼和组织的修复或替换; 创伤修复; 以及烧伤和糖尿病性溃疡的治疗。细胞外基质 (ECM) 材料, 包括源自粘膜下层和其他组织的那些细胞外基质材料, 是用于这些医疗应用中的已知组织移植材料。参见, 例如, 美国专利号 4,902,508、4,956,178、5,281,422、5,372,821、5,554,389、6,099,567 和 6,206,931。这些材料通常源自多种生物来源, 包括例如小肠、胃、膀胱、皮肤、心包、硬脑膜、筋膜等。

[0006] 获得具有在植入患者中时所必需的物理性质以及生物性能性质的源自收集的动物 ECM 材料的最终医疗产品仍然是挑战。因此, 仍然需要改进的和可选择的生物材料和医疗产品, 以及制备和使用它们的方法。

发明内容

[0007] 在某些方面, 本发明的特征在于显示与植入持久性、组织产生、可压缩性和 / 或可扩张性, 和 / 或其他物理或生物性质, 以及与它们的制备和使用方法相关的有利性质的独特胶原基质材料。合意的基质材料包含变性的扩张的细胞外基质材料, 在被植入时具有持久能力并促进血管结构向内生长至基质中。

[0008] 在一个具体实施方案中, 本发明提供了一种使用应用性止血进行组织活检的方法, 其包括从患者的一个位置移出活检样品, 以及在该位置植入止血活检栓, 其中所述活检栓包括由细胞外基质材料形成的弹性泡沫体, 所述细胞外基质材料已使用足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质进行处理。在某些形式中, 这种方法可包括将活检装置送入患者组织, 从所述组织中的一个位置切下活检样品, 从患者移出活检样品, 以及在该位置植入止血活检栓。

[0009] 本发明的另一具体实施方案提供了一种止血组织活检栓产品, 其包含弹性止血细胞外基质泡沫体, 调节该弹性止血细胞外基质泡沫体的尺寸用于在组织活检位点接收, 所述泡沫栓由细胞外基质材料形成, 该细胞外基质材料已使用足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质进行处理, 所述泡沫栓可压缩至最大截面尺寸不超过约 5 毫米的压缩状态,

并可扩张至最大截面尺寸为至少约 10 毫米的扩张状态。优选地,所述栓的特征在于在少于 1 分钟内由压缩状态扩张至扩张状态的能力。

[0010] 在另一具体实施方案中,本发明提供了一种对活检位点施以止血的产品,其包含具有内腔的管状装置,该管状装置可送入组织活检位点。所述产品进一步包括在内腔内接收的本文所述的止血组织活检栓。

[0011] 在另一具体实施方案中,本发明提供了一种在手术位点提供止血的方法,其包括在患者的一个位点以引起位点出血的方式手术治疗组织,以及将止血细胞外基质泡沫施用至所述位点以引起止血,所述泡沫由细胞外基质材料形成,该细胞外基质材料已使用足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质进行处理。

[0012] 在又一具体实施方案中,本发明提供了一种使用应用性止血在患者中手术去除实质组织的方法,其包括在患者中进行部分肾切除或肝切除,从而分别引起患者的肾脏或肝脏的出血,以及将止血细胞外基质泡沫施用至肾脏或肝脏以引起止血,所述泡沫由细胞外基质材料形成,该细胞外基质材料已使用足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质进行处理。

[0013] 本发明也提供了一种可压缩医疗泡沫产品的制备方法,其包括冻干已使用碱性介质进行扩张的细胞外基质材料,以形成冻干的细胞外基质材料泡沫,以及使冻干的泡沫与交联剂接触以形成交联的泡沫。在某些具体实施方案中,这种方法可包括如下步骤:洗涤扩张的细胞外基质材料,将所述扩张的细胞外基质材料装入模具,在模具中冻干所述扩张的细胞外基质材料以形成冻干的细胞外基质材料泡沫,使所述冻干的细胞外基质材料泡沫与化学交联剂接触以形成交联的细胞外基质材料泡沫,以及干燥所述交联的细胞外基质材料泡沫。

[0014] 本发明也提供了一种可压缩的医疗泡沫产品,其包含干燥的可压缩泡沫体,所述泡沫体由细胞外基质固体材料形成,该细胞外基质固体材料已在有效生成扩张的细胞外基质胶原材料的条件下使用碱性介质进行处理,其中所述泡沫体具有足以增加泡沫体弹性的引入的化学交联。

[0015] 由本文的描述,本发明的另外的方面以及特征和优点对于本领域普通技术人员而言是显而易见的。

附图说明

[0016] 图 1A 显示了在 100x 放大倍数下拍摄的扩张的小肠粘膜下层材料的表面视图的显微照片。

[0017] 图 1B 显示了在 100x 放大倍数下拍摄的非扩张的小肠粘膜下层材料的表面视图的显微照片。

[0018] 图 1C 显示了在 100x 放大倍数下拍摄的扩张的小肠粘膜下层材料的截面视图的显微照片。

[0019] 图 1D 显示了在 100x 放大倍数下拍摄的非扩张的小肠粘膜下层材料的截面视图的显微照片。

[0020] 图 2A 提供了用于递送本文所述止血医疗产品的装置的透视图。

[0021] 图 2B 提供了图 2A 中所示装置的透视图,其中止血产品从装置中部分部署。

具体实施方式

[0022] 为了促进理解本发明方面的目的,将参照某些具体实施方案,并使用特定的语言描述所述具体实施方案。然而应了解这并不旨在限制本发明的范围。本发明相关领域的技术人员通常会想到在本文所述的说明性材料、构造体或方法中的任何改变和进一步的修改,以及本文所述的本发明原理的进一步应用。

[0023] 如上所述,本发明的某些方面涉及止血方法和可用于这种方法中的材料,以及能够压缩至压缩状态,并从该压缩状态弹性扩张的泡沫或海绵形式的装置。制备和使用这种装置的方法也构成本文公开的本发明的方面。

[0024] 本发明的产品和方法在本文公开,通过与碱性物质的受控接触将改进的物理特性赋予细胞外基质材料。值得注意地,这种处理可用于促进细胞外基质材料的显著扩张(即约20%以上的扩张)。根据本发明的某些方面,将该扩张的材料加工成多种可用的医疗材料和装置。在某些具体实施方案中,优选的是将材料扩张至其原总体积的至少约2倍,至少约3倍,至少约4倍,至少约5倍,或甚至至少约6倍。对本领域技术人员显而易见的是扩张的量级尤其与碱性物质的浓度、碱性物质暴露于材料的时间,以及温度相关。考虑到本文的公开,这些因素可通过常规实验进行变化以获得具有所需扩张水平的材料。这种扩张的材料可用于例如止血方法中以及本文进一步讨论的新型材料和装置形式的制备中。

[0025] 胶原原纤维由原胶原蛋白分子的四分之一交错排列组成。原胶原蛋白分子本身由三条多肽链形成,所述三条多肽链通过分子内共价键和氢键连接在一起形成三螺旋。此外,分子间共价键在胶原原纤维内的不同原胶原蛋白分子之间形成。多个胶原原纤维常常彼此聚集形成胶原纤维。据信将碱性物质加入本文所述的材料不会显著破坏分子内和分子间的键,但会将材料变性至如下程度:向材料提供经加工的厚度,该厚度为天然产生厚度的至少两倍。在此方面,将胶原材料变性至如上所述的程度能够制得新型胶原基质材料。胶原基质材料包含源自胶原动物组织层的无菌的经加工的胶原基质材料,所述胶原动物组织层具有天然产生的厚度,并包括具有天然产生的分子内交联和天然产生的分子间交联的胶原原纤维的网络。所述天然产生的分子内交联和天然产生的分子间交联保留于无菌的经加工的胶原基质材料中,足以使得无菌的胶原基质材料保持为完整的胶原片状材料,且当胶原原纤维存在于完整胶原片状材料中时,其变性至如下程度:向该完整的胶原片状材料提供经加工的厚度,该经加工的厚度比胶原动物组织层天然产生的厚度大得多(即至少大大约20%),且优选为胶原动物组织层天然产生的厚度的至少两倍。

[0026] 现在转向附图,图1A-D显示了扩张的和非扩张的细胞外基质材料片(猪小肠粘膜下层)的表面和截面视图,其中已将胶原染色使得其含量和结构可得以观察。所示的四个显微照片如下:(1A)扩张的ECM片材的表面,(1B)非扩张的ECM片材的表面,(1C)扩张的ECM片材的截面,和(1D)非扩张的ECM片材的截面。如显微照片所示,非扩张的材料表面和截面视图显示了紧密结合的胶原网络,而扩张材料的相同视图显示了变性的,但仍然完整的胶原网络,其导致材料的扩张。

[0027] 除了引起可重塑胶原材料的扩张之外,碱性物质的应用可改变材料的胶原堆积特性,如图1A-D所示。改变材料的这种特性可至少部分通过破坏紧密结合的胶原网络而引起。具有紧密结合的胶原网络的非扩张的可重塑胶原材料通常具有基本上均匀连续表

面,即使在放大倍数下,例如 100x 放大倍数下观察时,如附图所示。相反,扩张的可重塑胶原材料通常具有十分不同的表面,该表面通常不是连续的,而是在许多区域中存在胶原链或束,该胶原链或束由链或束之间材料中的大量缝隙分开。因此,扩张的可重塑胶原材料通常比非扩张的可重塑胶原材料显得更多孔。此外,扩张的可重塑胶原材料可例如通过测量其对水或其他流体通道的通透性而显示具有增加的孔隙率。扩张的可重塑胶原材料的更多泡沫和多孔的结构使得材料易于被铸造成用于制备医疗材料和装置的多种泡沫形状。其进一步提供了材料的压缩和随后的扩张,例如当材料需要被装入用于递送进入患者的部署装置时这是有用的。一旦被递送,材料可扩张至其原始形式。

[0028] 如上所述,非扩张的可重塑胶原 ECM 材料通常可包含多种生物活性组分,包括,例如,生长因子、糖蛋白、葡萄糖胺聚糖、蛋白聚糖、核酸和脂质。在本文所述的条件下用碱性物质处理材料可从材料显著降低(若非完全消除)这些生物活性组分。实际上,用碱性物质处理可重塑胶原材料可产生基本上不含生长因子、糖蛋白、葡萄糖胺聚糖、蛋白聚糖、核酸和脂质的可重塑胶原材料。因此,本文所述的用碱性物质处理可重塑胶原材料可引起材料扩张至其原始体积的至少约两倍,可改变材料的表面和/或孔隙率特性,并可耗尽材料的某些生物活性组分。在一些具体实施方案中,这能够完成而同时将材料保持为完整的胶原片,其中可将所述片进一步加工为任意多种医疗材料和/或装置。此外,如 ECM 片的可重塑胶原材料可使用碱性介质进行处理从而如本文所述使其扩张,而材料保留了源自 ECM 或其他胶原材料的来源组织的一定量的生长因子(如 FGF-2)或另一生物活性组分(如纤连蛋白和/或肝素)。

[0029] 在某些具体实施方案中,可使先前从可重塑胶原材料中去除的所选生物活性组分返回至材料。例如,本发明提供了一种扩张的可重塑胶原材料,其基本上不含核酸和脂质,但其重新补充了一种或多种生长因子、糖蛋白、葡萄糖胺聚糖或蛋白聚糖或其组合。这些生物活性组分可通过任何合适的方法返回至材料。例如,在某些形式中,可制得含有这些组分的组织提取物并将其施用至扩张的可重塑胶原材料。在一个具体实施方案中,扩张的可重塑胶原材料形式在组织提取物中培养充足的时间以使得包含于其中的生物活性组分与扩张的可重塑胶原材料结合。所述组织提取物可例如由非扩张的可重塑胶原组织获得,所述非扩张可重塑胶原组织的类型与用于制备扩张的材料相同。用于将生物活性组分返回或提供至扩张的可重塑胶原材料其他方式包括本领域公知的喷雾、浸渍、沉浸等。举例而言,扩张的可重塑胶原材料可通过加入一种或多种生长因子而进行改性,所述生长因子例如碱性成纤维细胞生长因子(FGF-2)、转化生长因子 β (TGF β)、表皮生长因子(EGF)、血小板源性生长因子(PDGF),和/或软骨源性生长因子(CDGF)。同样地,扩张的可重塑胶原材料可重新补充其他生物组分,如肝素、硫酸肝素、透明质酸、纤连蛋白等。因此,一般而言,扩张的可重塑胶原材料可包含直接或间接诱导细胞反应(如细胞形态、增殖、生长、蛋白质或基因表达的改变)的生物活性组分。

[0030] 粘膜下层提取物的制备描述于例如美国专利号 6,375,989 中。简单而言,粘膜下层提取物可通过将提取辅料(如尿素、胍、氯化钠、氯化镁或表面活性剂)加入粘膜下层组织而从组织分离生物活性组分而制得。然后从提取辅料分离生物活性组分。在一个优选的具体实施方案中,粘膜下层提取物通过将粘膜下层组织与磷酸盐缓冲溶液,如磷酸盐缓冲盐水(PBS)混合而制得。当施用缓冲循环和物理压力时,将该混合物加工成浆料。将存在

于组织中的生物活性组分引入溶液,并随后从浆料中分离。然后通过使用本领域公知的程序(如透析和/或色谱技术)从浆料中分离溶液中提取的生物活性组分而形成生物活性粘膜下层提取物。优选地,透析提取溶液以降低或去除提取辅料的浓度,从而提供提取的生物活性组分溶液。任何粘膜下层组织源可用于制备粘膜下层提取物。此外,类似的提取技术可应用于其他可重塑 ECM 材料以提供用于本发明的生物活性提取物。

[0031] 包含于粘膜下层和其他细胞外基质(ECM)提取物中的生物活性组分的性质和量取决于用于提取溶液的提取辅料的性质和组成。因此,例如,在 pH 7.4 缓冲液中的 2M 尿素提供富含碱性成纤维细胞生长因子和纤连蛋白的提取的粘膜下层组分,而在相同缓冲液中的 4M 胍提供富含显示 TGF- β 活性谱的化合物的提取的粘膜下层组分。其他提取辅料的使用提供了包含蛋白聚糖、糖蛋白和葡萄糖胺聚糖,如肝素、硫酸肝素、透明质酸、硫酸软骨素 A 和硫酸软骨素 B 的生物活性提取物。

[0032] 除了包含天然生物活性组分(如在粘膜下层或其他 ECM 提取物中提供的那些)之外,或者作为包含天然生物活性组分的替代,可将非天然生物活性组分(包括通过重组技术或其他方法合成制得的那些)掺入扩张的可重塑胶原材料。这些非天然生物活性组分可以是天然衍生的或重组制得的蛋白质,其对应于 ECM 组织中天然存在的蛋白质,但可能来自不同的物种(例如适用于来自如猪的其他动物的胶原 ECM 的人类蛋白质)。所述非天然生物活性组分也可为原料药。可掺入本发明所用的扩张的可重塑胶原材料之内和/或之上的举例性原料药包括,例如,抗生素、如血液凝固因子的血栓促进物质,例如凝血酶、纤维蛋白原等。正如先前描述的生物活性组分,可以作为预制造步骤,恰好在程序(例如通过将材料浸入含有如头孢唑啉的合适抗生素的溶液中)之前,或者在将材料移植入患者的过程中或之后将这些物质施用至扩张的可重塑胶原材料。

[0033] 扩张的可重塑胶原材料也可显示血管生成特性,并因此可有效诱导移植该材料的主体的血管生成。血管生成生长因子是本领域熟知的,包括例如血管生成素、血管生成素-1、De1-1、纤维原细胞生长因子(酸性或碱性)、卵泡抑素、粒细胞集落刺激因子、肝细胞生长因子、白介素-8(IL-8)、瘦素、中期因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子(PDGF)、多效生长因子、多育曲霉素、转化生长因子(α 和 β)、肿瘤坏死生长因子和血管内皮生长因子(VEGF)。血管生成是身体制造新血管从而产生增加的组织血液供给的过程。因此,当血管生成材料与主体组织接触时,其促进或激励新血管的形成。最近开发了对生物材料移植反应的体内血管生成的测量方法。例如,一个这种方法使用皮下移植模型测定材料的血管生成特性。参见 C. Heeschen 等人的 Nature Medicine 7(2001), No. 7, 833-839。当与荧光微血管造影技术结合时,该模型可提供生物材料内血管生成的定量和定性测量。C. Johnson 等人的 Circulation Research 94(2004), No. 2, 262-268。

[0034] 本文所述的扩张的可重塑胶原材料以及组织提取物可从例如胶原材料制得,该胶原材料来自温血脊椎动物,特别是哺乳动物的合适组织源分离。可加工这种分离的胶原材料以便具有可重塑性质并促进细胞侵入和向内生长。合适的可重塑材料可由具有向生体性质的胶原细胞外基质(ECM)材料提供。

[0035] 合适的生物可重塑材料可由具有向生体性质的胶原细胞外基质材料(ECM)(在某些形式中包括血管生成胶原细胞外基质材料)提供。例如,合适的胶原材料包括 ECM,如粘膜下层、肾小囊膜、真皮胶原、硬脑膜、心包膜、阔筋膜、浆膜、腹膜或基底膜层(包括肝基底

膜)。这些和其他类似的动物源性组织层可如本文所述进行扩张和加工。用于这些目的的合适的粘膜下层材料包括,例如肠粘膜下层(包括小肠粘膜下层)、胃粘膜下层、膀胱粘膜下层和子宫粘膜下层。

[0036] 用于本发明的粘膜下层或其他 ECM 组织优选为高度纯化的,如例如 Cook 等人的美国专利号 6,206,931 中描述的。因此,优选的 ECM 材料显示约 12 内毒素单位 (EU)/克以下,更优选约 5EU/克以下,且最优选约 1EU/克以下的内毒素水平。作为另外的优选,粘膜下层或其他 ECM 材料可具有约 1 集落形成单位 (CFU)/克以下,更优选约 0.5CFU/克以下的生物负载。真菌水平有利地同样较低,例如约 1CFU/克以下,更优选约 0.5CFU/克以下。核酸水平优选为约 5 微克/毫克以下,更优选为约 2 微克/毫克以下,且病毒水平优选为约 50 噬斑形成单位 (PFU)/克以下,更优选约 5PFU/克以下。美国专利号 6,206,931 中教导的粘膜下层或其他 ECM 组织的这些和另外的性质可为本发明所用的任何粘膜下层组织的特性。

[0037] 为了制备扩张的可重塑胶原材料,材料优选用消毒剂处理以制得消毒的扩张的可重塑胶原材料。用消毒剂处理可在从组织源分离可重塑胶原材料之前或之后完成,或者可在扩张之前或之后完成。在一个优选的具体实施方案中,组织源材料用溶剂(如水)漂洗,并随后在分层之前用消毒剂处理。已发现相比于在消毒之前剥离可重塑胶原材料,按照该消毒后-剥离程序更易于从粘附的组织分离可重塑胶原材料。此外,已发现最优选形式的所得可重塑胶原材料显示优良的组织学,这是因为相比于通过首先将来自其来源的粘膜下层分层,然后将材料消毒而获得的可重塑胶原材料,其在表面上存在更少的粘附组织和碎片。此外,更均匀的可重塑胶原材料可从该过程获得,具有相同或类似物理和生物化学性质的可重塑胶原材料可更一致地从每个分开的加工操作中获得。重要地,高度纯化的基本上消毒的可重塑胶原材料可通过该过程获得。关于此点,本发明的一个具体实施方案提供了一种扩张的可重塑胶原材料的制备方法。该方法包括提供包含可重塑胶原材料的组织源,将该组织源消毒,从该组织源分离可重塑胶原材料,并在将可重塑胶原材料有效扩张至其原始体积的至少约两倍的条件下使该消毒的可重塑胶原材料与碱性物质接触,由此形成扩张的可重塑胶原材料。当形成扩张的可重塑胶原材料时,可将材料进一步加工成医疗材料和/或装置,或者可在例如 4℃ 的高纯水中储存以供以后使用。

[0038] 优选的消毒剂有利地为氧化剂,如过氧化物,优选为有机过氧化物,更优选为过酸。可用的过酸化合物包括过乙酸、过丙酸或过苯甲酸。过乙酸是为了本发明目的的最优选的消毒剂。这种消毒剂有利地在液体介质中使用,优选是 pH 为约 1.5 至约 10,更优选 pH 为约 2 至约 6,最优选 pH 为约 2 至约 4 的溶液。在本发明的方法中,消毒剂通常在提供回收本文所述的特有的纯化的粘膜下层材料(其优选显示基本上为零的生物负载和/或基本上不含致热源)的条件下和一段时间内使用。就此而言,本发明的合意的方法包括将组织源或分离的可重塑胶原材料浸入(例如通过沉入或浇淋)含有消毒剂的液体介质中至少约 5 分钟时间,通常约 5 分钟至约 40 小时的范围,更通常约 0.5 小时至约 5 小时的范围。

[0039] 当使用时,将过乙酸有利地稀释至约 2 体积%至约 50 体积%的醇溶液中,优选为乙醇中。过乙酸的浓度可为例如约 0.05 体积%至约 1.0 体积%的范围。更优选地,过乙酸的浓度为约 0.1 体积%至约 0.3 体积%的范围。当使用过氧化氢时,浓度可为约 0.05 体积%至约 30 体积%的范围。更有利地,过氧化氢浓度为约 1 体积%至约 10 体积%,且最优选为约 2 体积%至约 5 体积%。溶液可以缓冲至或不缓冲至约 5 至约 9 的 pH,更优选的 pH

为约 6 至约 7.5。这些过氧化氢的浓缩物可在水中或在约 2 体积%至约 50 体积%的醇（最优选乙醇）的水溶液中稀释。

[0040] 对于用于制备扩张的可重塑胶原材料的碱性物质，可使用任何合适的本领域公知的碱性物质。合适的碱性物质可以包括，例如，在水性介质中提供氢氧离子的盐或其他化合物。优选地，碱性物质包括氢氧化钠（NaOH）。加入材料的碱性物质的浓度可为约 0.5 至约 4M 的范围。优选地，碱性物质的浓度范围为约 1 至约 3M。此外，碱性物质的 pH 范围通常为约 8 至约 14。在优选的具体实施方案中，碱性物质具有约 10 至约 14，最优选约 12 至约 14 的 pH。

[0041] 除了浓度和 pH 之外，如温度和暴露时间的其他因素将有助于扩张的程度。在此方面，优选的是将可重塑胶原材料暴露于碱性物质在约 4 至约 45℃ 的温度下进行。在优选的具体实施方案中，所述暴露在约 25 至约 37℃ 的温度下进行，最优选为 37℃。此外，暴露时间的范围为约数分钟直至约 5 小时或更长。在优选的具体实施方案中，暴露时间为约 1 至约 2 小时。在一个特别优选的具体实施方案中，在约 37℃ 的温度下将可重塑胶原材料暴露于 pH 为 14 的 NaOH 的 3M 溶液约 1.5 至 2 小时。这种处理引起可重塑胶原材料扩张至其原始体积的至少约两倍。如上所述，可改变这些加工步骤以获得所需的扩张水平。

[0042] 除了碱性物质之外，在加入碱性物质之前，加入碱性物质同时，或加入碱性物质之后，也可将脂质去除剂加入可重塑胶原材料。合适的脂质去除剂包括，例如，如醚和氯仿的溶剂或表面活性剂。其他合适的脂质去除剂对于本领域技术人员而言是显而易见的。因此，本文所列举的脂质去除剂仅为例子，因此并非限制性的。

[0043] 在优选的具体实施方案中，扩张的可重塑胶原材料，以及含有可任选加入扩张的可重塑胶原材料的生物活性组分的组织提取物使用常规灭菌技术（包括用戊二醛鞣制、在酸性 pH 下甲醛鞣制、环氧乙烷处理、环氧丙烷处理、气体等离子体灭菌、 γ 辐射和过乙酸灭菌）进行灭菌。优选使用不显著改变扩张的可重塑胶原材料的可重塑性质的灭菌技术。此外，在扩张的可重塑胶原材料包含天然或非天然生物活性组分的具体实施方案中，灭菌技术优选不显著改变扩张的可重塑胶原材料的生物活性。优选的灭菌技术包括将提取物暴露于过乙酸、低剂量 γ 辐射（2.5mRad）和气体等离子体灭菌。

[0044] 本发明的扩张的可重塑胶原材料以及用于本发明的扩张的可重塑胶原材料可以任何合适的形式提供，包括可流动水性组合物（例如流体化组合物）、粉末、凝胶、海绵、一个或多个片，或铸造体（case body）。在一个具体实施方案中，例如使用美国专利号 5,275,826 所述的技术将扩张的可重塑胶原材料加工成流体化组合物。就此而言，扩张的可重塑胶原材料的溶液或悬浮体可通过粉碎和 / 或用蛋白酶（例如胰蛋白酶或胃蛋白酶）消化该材料一段时间而制得，所述时间足以溶解材料并形成基本上均匀的溶液。扩张的可重塑胶原材料有利地通过撕裂、切割、研磨、剪切（例如与液体结合并在混合器中剪切）等粉碎。扩张的可重塑胶原材料通常具有海绵状和多孔的结构，因此这些技术无需达到溶解非扩张的可重塑胶原材料所需的程度。研磨冻结的或冷冻干燥态的材料是有利的，尽管好的结果也可通过使材料片的悬浮体经受高速混合器中的处理并脱水而获得，如需要，通过离心和倾析过量的废料而获得。粉碎的材料可进行干燥，例如冷冻干燥以形成颗粒。颗粒本身可用于治疗患者的例如创伤伤口，或者可被水合，即与水或缓冲盐水和任选的其他药学上可接受的赋形剂结合以形成例如在 25℃ 下粘度为约 2 至约 300,000cps 的流体化的扩张

的可重塑胶原材料。较高粘度的移植组合物可具有凝胶或糊状物的稠度。

[0045] 在本发明的一个具体实施方案中,从扩张的可重塑胶原材料分别形成的颗粒可重塑胶原材料可与流体化的扩张的可重塑胶原材料组合。这种颗粒可重塑胶原材料可通过切割、撕裂、研磨、剪切或粉碎可重塑胶原材料而制得。这种材料可为扩张的材料或非扩张的材料。同样地,扩张的或非扩张的颗粒可包括一种或多种添加剂以促进止血。合适的这种添加剂包括,例如海藻酸钙或沸石。这种添加剂可包括在植入之后使得颗粒粘附至所需位置(例如组织表面)的粘合性质。例如,具有平均粒子尺寸为约 50 微米至约 500 微米,更优选约 100 微米至约 400 微米的颗粒 ECM 材料可包含于流体化的扩张的可重塑胶原材料中。可重塑胶原颗粒可以以相对于流体化扩张的可重塑胶原材料的任何合适的量加入,优选的可重塑胶原颗粒与流体化的扩张的可重塑胶原材料的重量比(基于干固体)为约 0.1:1 至约 200:1,更优选为 1:1 至约 100:1 的范围。在这些具体实施方案中,可以以有效保留流体化的扩张的可重塑胶原材料的可注射特性的尺寸和量(例如通过经由尺寸为 18 至 31 标准度量(内径为 0.047 英寸至约 0.004 英寸)的针头进行注射)包含可重塑胶原颗粒材料。在最终流体化的扩张的可重塑胶原材料中包含这种可重塑胶原颗粒可用于提供另外的材料,该另外的材料能发挥作用从而给组合物提供生物活性(例如其本身包含如本文所述的生长因子或其他生物活性组分),充当组织向内生长的支架材料和/或促进压缩的可重塑胶原材料的扩张。此外,包含流体化的扩张的可重塑胶原材料和可重塑胶原颗粒材料的这种材料可任选地进行加工以形成掺入两种材料的干燥产品,例如可用于止血、包藏或其他目的,并可如本文所述任选交联的干燥泡沫产品。

[0046] 考虑到市售产品可构成任意这些形式的流体化扩张的可重塑胶原材料,例如 (i) 可在水性介质中复原形成凝胶的包装的无菌粉末,或 (ii) 包含扩张的可重塑胶原材料组分的包装的无菌水凝胶或糊状组合物。在本发明的一个具体实施方案中,医疗试剂盒包含包装的无菌干燥(例如冻干)的扩张的可重塑胶原材料粉末,以及分开包装的无菌水性复原介质。在使用中,扩张的可重塑胶原材料粉末可与复原介质进行复原以形成凝胶。

[0047] 由本文所述的扩张的可重塑胶原材料制得的流体化组合物可任选地进行干燥以形成海绵状固体材料或泡沫材料。通过干燥扩张的可重塑胶原材料凝胶制得的本发明的干燥海绵或泡沫形式的材料,可用于例如创伤愈合、组织重塑应用、封堵应用、止血应用、在细胞培养中,以及包括在本文其他部分公开的那些多种另外的应用中。

[0048] 在扩张的可重塑胶原 ECM 材料以片的形式提供的本发明的具体实施方案中,所述材料可具有约 0.2 毫米至约 2 毫米范围的厚度,更优选约 0.4 毫米至约 1.5 毫米,且最优选约 0.5 毫米至约 1 毫米。如需要,可使用多层材料。例如,可将扩张的可重塑胶原 ECM 材料的多个(即两个或两个以上)层结合或偶合在一起以形成多层结构。说明性地,可将扩张的可重塑胶原材料的两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个或更多层结合在一起以提供多层材料。在某些具体实施方案中,将从温血脊椎动物的肠组织(特别是小肠组织)分离的 2 至 6 个扩张的含粘膜下层的层结合在一起以提供医疗材料。为此目的,优选猪源性小肠组织。在可选择的具体实施方案中,可将非扩张的胶原材料(例如粘膜下层)的一个或多个片与扩张的可重塑胶原材料的一个或多个片结合或偶合。任何数目的层可用于该目的,并可以以任何合适的方式排列,其中将任何数目的非扩张的可重塑胶原材料的层结合至任何数目的扩张的可重塑胶原材料的层上。可以以任何合适的方式将胶原组织的层结合在一

起,所述合适的方式包括在加热、非加热或冻干的条件下脱水加热结合,使用本文所述的粘合剂,胶或其他结合剂、用化学试剂或辐射(包括UV辐射)交联,或这些彼此的任意组合或其他合适的方法。

[0049] 可使用多种脱水引发的结合方法从而将多层医疗材料的部分融合在一起。在一个优选具体实施方案中,在脱水条件下压缩材料的多个层。术语“脱水条件”可包括促进或引发从多层医疗材料中去除水的机械或环境条件。为了促进压缩材料的脱水,压缩基体结构的两个表面中的至少一个为透水的。可任选地通过在压缩表面的外部应用吸干(blotting)材料,加热基体结构或吹扫空气或其他惰性气体而进一步增进材料的脱水。脱水结合多层医疗材料的一个特别有用的方法为冻干,例如冷冻干燥或蒸发冷却条件。

[0050] 脱水结合的另一方法包括在组合物上抽真空而同时将组合物压制在一起。该方法已知为真空压制。在真空压制过程中,彼此强制接触的多层医疗材料的脱水有效地将材料彼此结合,甚至是在不存在用于获得所述结合的其他试剂下,尽管可使用这种试剂并同时也利用了至少部分脱水引起的结合。在充足的压缩和脱水下,可使得多层医疗材料形成通常单一的层压结构。

[0051] 在本发明的一些方面中,有利的是在相对温和的温度暴露条件下进行干燥操作,所述条件将对本发明的多层医疗材料(例如天然胶原结构和存在的潜在的生物活性物质)的有害影响最小化。因此,在本发明的一些形式中优选使用如下干燥操作,该干燥操作在不或基本上不持续暴露于人体温度或略微更高的温度以上,即不高于约38℃的温度下而进行。这些包括,例如,在约38℃以下的真空压制操作,在约38℃以下的鼓风干燥,或者不使用主动加热-在约室温(约25℃)下或使用冷却的这些过程的任一种。当然,相对低的温度条件也包括冻干条件。应了解将两种或两种以上多层医疗材料偶合在一起以形成层压材料的上述方法也适用于将腹膜和筋膜的一个或多个层偶合在一起(当这些层彼此独立分离时)。

[0052] 除了上述之外,本发明的扩张的可重塑胶原材料可用于制备模塑或成型的构造体,例如可用作封堵器装置或活检栓的海绵。一种制备这种装置的方法包括提供扩张的可重塑胶原材料、粉碎该扩张材料(例如提供扩张的可重塑胶原材料的层碎片)、将粉碎的扩张的可重塑胶原材料铸造为成型体(shape),以及冷冻并冻干铸造的扩张的可重塑胶原材料以形成构造体。冷冻可在约-80℃的温度下进行约1至约4小时,冻干可进行约8至约48小时。通常,用于制备构造体的材料为可任选地重新补充一种或多种生物活性组分的扩张的可重塑胶原材料。可将扩张的可重塑胶原材料铸造为任何所需的形状,例如将需要封堵的特定区域封堵或促进止血的大小和形状。在某些优选的具体实施方案中,形成并使用活检栓,例如,以填充在手术后组织(例如器官组织)中的空隙。当制得海绵形式的构造体时,可压缩冻干的扩张的可重塑胶原材料并将其装入部署(deployment)装置中以递送至患者中。一旦得以递送,该装置可扩张而在其部署的区域封堵或者提供止血。合适的部署装置是本领域普通技术人员公知的,并包括例如管状装置,如递送导管等。

[0053] 在某些具体实施方案中,有利的是在扩张的可重塑胶原材料中包含一种或多种添加剂以促进压缩材料的再扩张。可使用任何合适的添加剂。合适的添加剂包括,例如,盐,如氯化钠、乙酸钠、碳酸氢钠、柠檬酸钠、碳酸钙、乙酸钾、磷酸钾;水凝胶和水膨胀聚合物,如海藻酸盐、聚羟乙基甲基丙烯酸酯、聚羟丙基甲基丙烯酸酯、聚乙烯醇、聚乙二醇、羧甲基

纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮；蛋白质，如明胶和 SIS 颗粒；酸和碱，如乙酸和抗坏血酸；超吸收聚合物和胶凝剂，如聚丙烯酸、果胶、聚半乳糖醛酸、聚丙烯酸-丙烯酰胺共聚物、聚异丁烯-马来酸共聚物；单糖，多糖及其衍生物，如葡聚糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、蔗糖酯、蔗糖月桂酸酯、半乳糖、壳聚糖、聚-N-乙酰基葡萄糖胺、肝素、透明质酸和硫酸软骨素；以及其他潜在的添加剂，如盐酸胍、尿素、羟乙基纤维素、胆酸钠、牛磺胆酸钠、离子型洗涤剂（例如 SDS）和非离子型洗涤剂（例如 Triton）。在优选的具体实施方案中，一个或多个添加剂包括生物可相容的盐，如氯化钠、乙酸钠或碳酸氢钠；聚乙二醇（例如 MW 6000），和 / 或 SIS 或其他 ECM 颗粒。

[0054] 一般参照图 2A 和 2B，现在转向可用于递送本文所述干燥扩张材料的说明性部署装置和程序的简要概述，在某些方面，部署体系 20 可包括管状装置 21，例如可用于容纳并递送本文所述的止血栓 24 的导管、外套或其他管。例如，可将其中容纳栓 24 的管状装置 21 通过另一仪器 22 操纵。仪器 22 可为任意多种手术仪器，包括例如腹腔镜、内窥镜（包括例如肾镜），或外血管通道或递送外套。在仪器 22 为内窥镜仪器的具体实施方案中，仪器 22 当然也通常包括在其中延伸的另外的通路或通道，从而提供例如光纤光输入、观看功能（例如用望远镜或照相机）等。在这些具体实施方案中，内窥镜的冲洗或其他工作通道可用于穿过管状装置 21，将栓 24 递送至目标位置。

[0055] 可在管状装置 21 的内腔内提供反作用力（counterforce）和 / 或推进元件 23 以有利于将栓 24 递送出管状装置 21 的开放末端。元件 23 可向前前进至装置 21 内而从装置 21 中推动栓 24，或者元件 23 可保持在与栓 24 相对的位置，而将装置 21 回缩而从装置 21 中递送栓 24，或者可使用这两种功能的组合。在可选择的具体实施方案中，可使用其他方法而从管状装置 21 中递送栓 24，包括例如在压力下使用液体，从管状装置 21 的开放端压迫栓 24。

[0056] 说明性地，可将栓 24 装入管状装置 21 内，并可将其部署在止血位点（例如活检位点或经皮介入过程引起的穿过软组织的针道内），或者通过使用位于患者外部的一个或多个促动器构件将栓 24 部署在身体通道或空隙内，所述促动器构件控制管状装置 21 和反作用力 / 推进元件 23 的相对位置。一个或多个促动器构件可包括手动操作的触发器、可旋转把手，或可直接或通过控制电线、杆或本领域公知的其他合适构件连接至装置 21 和 / 或元件 23 的其他元件。在某些具体实施方案中，体系 20 可具有以逐步方式部署栓 24 的一个或多个促动器构件，使得促动器的第一手动操作可控地从管状装置 21 的开放端递送预定百分比的栓 24，留下部分递送状态的栓 24，促动器的第二手动操作从管状装置的开放端递送另外百分比的栓 24。这种另外百分比优选为栓 24 的全部剩余部分，尽管也可将体系设计为完全通过促动器的多次另外操作递送栓。在某些具体实施方案中，促动器构件的第一操作从管状装置 21 的末端部署约 10% 至约 70% 长度的栓 24，且促动器的第二操作从管状装置递送栓 24 的剩余部分。

[0057] 用于本发明的部署装置，包括递送外套、管状装置和推进器，均可为常规市售产品或其变型。例如，外套可由 PTFE（例如 Teflon）、聚酰胺（例如尼龙）或聚氨酯材料或材料的组合形成，所述材料的组合例如包括 PTFE 内层、在 PTFE 上的抗扭结的平坦线卷，和提供整个结构的完整性和光滑表面（例如在 Flexor 外套，Cook, Inc. 中）的聚酰胺（尼龙）外层的组装物。推进器可由常规材料，如聚乙烯、聚酰胺、聚氨酯或乙烯基、不锈钢或这些材料

的任意组合制得。导管可由常规材料,如聚乙烯、聚酰胺、PTFE、聚氨酯和其他材料制得。

[0058] 本文所述的扩张材料可在递送之前进行压缩,并在从导管部署之后扩张直至其接触身体通道或空隙的内表面、活检位点或其他手术产生的空隙。使用某些设计,在部署之后,该扩张和接触足以将材料保持在身体通道或空隙中的特定位置,尽管一些本发明的植入体引入一个或多个固定或紧固接合器(未显示)以减少装置从通道或空隙中或在通道或空隙内不合需要的移动。在一些情况中,当部署时,扩张材料的部分可将自身埋入围绕空隙或通道的组织中。可将任何数目的固定接合器(如钩(barbs)、扣(hooks)、肋(ribs)、突起和/或其他合适的表面改变)引入本发明的装置中,在部署过程中和/或在部署之后将它们固定。

[0059] 本文所述的止血产品可具有任何合适的长度,并通常具有足够的尺寸以实现在所需位置,例如手术位点的止血。在某些具体实施方案中,植入形式的装置具有至少约0.4厘米的长度,在许多情况中具有约1厘米至约30厘米范围,更通常约2厘米至约15厘米的长度。

[0060] 如上所述,一个或多个添加剂可提供多种功能,包括促进材料的扩张(一旦置入患者中)。例如,包括一种或多种添加剂的海绵形式的扩张的可重塑胶原材料可被压缩并置入递送装置。材料的压缩使得材料更易于被转移至患者。一旦递送,材料可扩张为至少约其压缩之前的原始尺寸。这通常使用封堵器装置或活检栓完成,其中合乎需要的是材料在递送之前具有较小直径,一旦递送,材料扩张。这种添加剂可包含于可重塑胶原材料中,从而以比不存在一种或多种添加剂时可获得的速率更快的速率扩张材料。例如,一种或多种添加剂可包含于压缩的可重塑胶原材料中,从而在植入后的至少约30秒、45秒、1分钟、2分钟、3分钟、4分钟或甚至至少约5分钟内将材料再扩张至其原始尺寸。正如先前描述的生物活性组分,作为预制造步骤,恰好在程序(例如通过将材料浸入含有如头孢唑啉的合适抗生素的溶液中)之前,或者在将材料移植入患者的过程中或之后将这些添加剂施用至扩张的可重塑胶原材料。

[0061] 如上所述,扩张的可重塑胶原材料可形成用于植入患者的海绵构造体。在某些具体实施方案中,构建海绵构造体,使得材料直至被递送至所需位点(例如组织缺损)之后才完全扩张。在这些情况中,扩张的可重塑胶原材料可部分或全部被包封,从而防止材料的过早扩张直至其到达其预期递送位点。例如,本文所述的干燥的海绵材料可被压缩,并被部分或全部包封至生物可降解的胶囊中。在这种具体实施方案中,胶囊可将材料保留为压缩状态,从而防止在递送过程中扩张的可重塑胶原材料的过早扩张。这允许在材料发生完全扩张之前将其递送至所需位置。在类似的具体实施方案中,粉末形式的扩张的可重塑胶原材料可在用于递送的生物可相容的生物可降解的胶囊中提供。这种具体实施方案将粉末保留在胶囊内,从而防止部分粉末被递送或移动至非预期的位置。适合用于形成生物可降解胶囊的生物可相容材料是本领域公知的,并可以包括,例如,明胶。

[0062] 在某些具体实施方案中,可交联任何形式的扩张的可重塑胶原材料。可在形成医疗装置之前或之后或之前和之后交联扩张的可重塑胶原材料。增加材料内或两个或两个以上材料层之间的交联量(或数目)可用于提高其强度。然而,当使用可重塑材料时,材料内交联的引入也可影响其再吸收性或可重塑性。因此,在某些具体实施方案中,可重塑胶原材料基本上保留其天然的交联水平,或者可取决于所需的治疗方案而明智地选择医疗装置内

加入的交联量。在许多情况中,材料显示可重塑性质,使得重塑过程在数天或数星期的过程中发生。在某些优选的具体实施方案中,重塑过程在约 5 天至约 12 个星期内发生。对于海绵形式的构造体,压缩的构造体的交联可以促进构造体在植入患者后的再扩张。

[0063] 对于本文所述的可压缩 / 可扩张的栓、海绵或其他构造体,可使用扩张添加剂和 / 或交联以提供合意的压缩 / 再扩张性质。在优选的形式中,当干燥时,构造体能够以至少 10:1 的比例 (即压缩形式占据其原始松弛的非扩张体积的不超过 10%), 更优选以至少 20:1 的比例进行体积压缩。同时,在优选的形式中,当构造体以它们的干燥压缩形式递送至一定体积的水中时,压缩的构造体能够基本上再扩张至它们的原始体积 (例如它们原始体积的至少约 80%, 更优选至少 90%, 最优选至少 95%)。

[0064] 为了在本发明中使用,引入的扩张可重塑胶原材料的交联可通过光交联技术,或通过应用交联剂 (如通过化学交联剂), 或通过由脱水或其他方式引起的蛋白质交联而获得。可使用的化学交联剂包括,例如,如戊二醛的醛,如碳二亚胺的二亚胺 (例如 1- 乙基 -3-(3- 二甲基氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC)), 如六亚甲基二异氰酸酯的二异氰酸酯,核糖或其他糖,酰基叠氮化合物,磺酸基 -N- 羟基琥珀酰胺,或聚环氧化合物 (包括例如聚缩水甘油醚,如可以商品名 DENACOL EX810 购自 Nagese Chemical Co., Osaka, Japan 的乙二醇二缩水甘油醚,还以商品名 DENACOL EX 313 购自 Nagese Chemical Co. 的甘油聚甘油醚)。通常,当使用时,聚甘油醚或其他聚环氧化合物每分子具有 2 至约 10 个环氧基团。

[0065] 当考虑多层层压材料时,层压材料的层可另外进行交联而将多层医疗材料的多个层彼此结合。多层医疗材料的交联也可通过将基体暴露于 UV 辐射,通过用如转谷氨酰胺酶和赖氨酰氧化酶的酶处理胶原基基体,以及通过光交联进行催化。因此,可在彼此耦合之前、在彼此耦合过程中和 / 或在彼此耦合之后将另外的交联加入单独的层。

[0066] 本发明的医疗材料、构造体和装置可以以适合用于医疗材料和装置的无菌包装提供。灭菌可通过例如辐射、环氧乙烷气体或任何其他合适的灭菌技术实现,可相应地选择医疗包装的材料和其他性质。

[0067] 在某些具体实施方案中,本发明提供了可压缩医疗泡沫产品及它们的制备方法。医疗泡沫产品包含由细胞外基质固体材料形成的干燥的可压缩泡沫体,该细胞外基质固体材料已在有效产生扩张的细胞外基质胶原材料的条件下用碱性介质进行处理。泡沫体已引入足以增加泡沫体弹性的化学交联。由扩张的细胞外基质胶原材料制得的无交联的泡沫体具有弹性,但对于某些应用,包括例如止血栓应用,已发现增加弹性是合乎需要的。已发现例如使用化学交联剂 (如戊二醛、碳化二亚胺或本文确定的其他化学交联剂) 引入胶原交联显著提高了泡沫栓的弹性,而同时留下可压缩至用于递送的小尺寸。当泡沫栓以压缩状态嵌入,然后在患者需要止血的位点处原位扩张时,增加的弹性转而提供对相邻组织的另外的压缩。在特定的本发明的应用中,本文公开的交联的弹性泡沫栓可用于提供在手术位点,包括活检位点的止血。这些活检或其他手术位点可位于实质 (parenchymal) 器官组织,如患者的肾脏、肝脏或脾脏的那些实质器官组织。

[0068] 因此,在本发明的某些形式中,提供了手术方法,其包括从如肝脏或肾脏的实质器官中切除组织,然后在切除位点植入本文所述的交联的弹性泡沫材料以促进止血。切除可例如作为肾切除或肝切除的一部分从而例如去除癌组织或其他患病组织而发生,或者作为使用活检针进行的肾脏或肝脏活检的一部分而发生。在如腹腔镜切除或针活检的最小侵入

性手术程序的情况中,交联的弹性泡沫栓可从如针或导管的管状装置内递送,和/或通过腹腔镜装置递送。弹性泡沫栓在递送过程中可为压缩状态,然后一旦递送至手术位点,则进行扩张。栓的扩张可压缩相邻组织以促进止血。为了这些目的,栓的扩张的尺寸可提供至少等于或优选大于活检或其他手术缺损体积的体积,以确保由递送的扩张的栓压缩周围组织。

[0069] 在本发明的其他具体实施方案中提供了方法,其包括在例如动脉或静脉的身体脉管内的位点处部署本文所述的交联的弹性泡沫材料,以引起脉管的封堵,并由此停止脉管内流体(例如血液)的流动。在如经皮程序的最小侵入性手术程序的情况中,交联的弹性泡沫栓可从如导管或外套的管状装置内递送。弹性泡沫栓在递送过程中可为压缩状态,然后一旦从管状装置内递送至所需的封堵位点,则进行扩张。栓的扩张可压缩脉管壁以促进封堵。为了这些目的,栓的扩张尺寸可大于所需封堵位点的脉管直径,以确保由递送的扩张的栓引起对周围脉管壁的向外压缩。除了血管脉管之外,其他可根据本发明封堵的脉管包括,例如输卵管。此外,穿过患者组织的其他开放通道可用本发明的交联的弹性泡沫栓封堵,包括例如针道(例如经皮介入静脉或动脉的结果)和瘘管,如肛门直肠瘘管、肠外瘘、直肠阴道瘘和其他。

[0070] 交联的弹性泡沫栓可根据本发明通过包括如下的方法制得:

[0071] (a) 使细胞外基质材料与碱性介质接触以形成扩张的细胞外基质材料;

[0072] (b) 洗涤该扩张的细胞外基质材料;

[0073] (c) 将所述扩张的细胞外基质材料装入模具;

[0074] (d) 在模具中冻干所述扩张的细胞外基质材料以形成冻干的细胞外基质材料泡沫;

[0075] (e) 使所述冻干的细胞外基质材料泡沫与化学交联剂接触以形成交联的细胞外基质泡沫;以及

[0076] (f) 干燥该交联的细胞外基质材料泡沫。

[0077] 在这种方法中,细胞外基质材料和化学交联剂可例如选自任意本文公开的那些细胞外基质材料和化学交联剂。洗涤可适当地用如盐水或水的水性介质进行。干燥可通过任何合适的方法进行,包括例如在环境温度下空气干燥、加热干燥或冻干。优选的是在形成冻干的细胞外基质材料泡沫之后使细胞外基质材料与化学交联剂接触(例如,与将化学交联剂掺入装入模具的材料中相反),因为已发现这提供了抗收缩的形状更均匀的交联的栓。此外,在这种制备方法中,可在装入模具之前粉碎扩张的细胞外基质材料。这种粉碎将提供例如随机生成的细胞外基质碎片,其将被掺入细胞外基质泡沫并成为细胞外基质泡沫的特征。在更优选的形式中,通过使用旋转刀片(例如在混合器中)剪切材料而粉碎材料。为了这些目的,已发现当使用作为收集的去细胞片的细胞外基质材料时,所述片可在足以基本上降低片的拉伸强度的条件下与碱性介质接触,使得片材被旋转刀片破坏。当不充分降低拉伸强度时,片材趋于缠绕在旋转刀片周围,由此阻碍粉碎过程。例如,在通过刀片或其他进行粉碎之前,可在足以将片的拉伸强度降低至其原始拉伸强度的约50%以下,更优选降低至其原始拉伸强度的约30%以下的条件下使用碱性介质处理片一段时间。这种方法可例如使用收集的片形式的ECM材料实施,所述收集的片形式的ECM材料例如获自小肠、胃或膀胱组织、心包膜组织、腹膜组织、筋膜、真皮组织的含粘膜下层的片和其他片形式的ECM

材料。

[0078] 在本发明的另外的具体实施方案中,使用生物活性复合细胞外基质材料产品。该复合产品包含由细胞外基质材料形成的干燥体,以及在所述干燥体中夹带的生物活性细胞外基质材料的颗粒,所述细胞外基质材料已在有效产生扩张的细胞外基质材料的条件下用碱性介质进行处理,其中所述生物活性细胞外基质材料的颗粒保留了来自用于颗粒细胞外基质材料的源组织的至少一种生长因子。所述复合产品可通过如下制得:

[0079] (a) 使细胞外基质材料与碱性介质接触以形成扩张的细胞外基质材料;

[0080] (b) 洗涤该扩张的细胞外基质材料;

[0081] (c) 制备包含液体、扩张的细胞外基质材料和颗粒细胞外基质材料的混合物,所述颗粒细胞外基质材料保留了一定量的来自颗粒细胞外基质材料的源组织的至少一种生长因子;以及

[0082] (d) 干燥该混合物以形成生物活性的复合细胞外基质材料构造体。

[0083] 在这种复合产品和制备方法中,扩张的细胞外基质材料和颗粒细胞外基质材料可例如选自任意本文公开的那些材料。洗涤可适当地用如盐水或水的水性介质进行。用于制备混合物的液体可为任何合适的液体,优选为生物可相容的,并通常为如水或盐水的水性液体。干燥步骤可通过任何合适的方法进行,包括例如在环境温度下空气干燥、加热干燥或冻干。此外,在这种制备方法中,在形成混合物之前或者形成混合物过程中有利地粉碎扩张的细胞外基质材料。在更优选的形式中,通过使用旋转刀片(例如在混合器中)单独地或者在生物活性颗粒细胞外基质材料的存在下剪切材料而粉碎材料。这种方法可例如使用收集的片形式的ECM材料实施,所述收集的片形式的ECM材料例如获自小肠、胃或膀胱组织、心包膜组织、腹膜组织、筋膜、真皮组织的含粘膜下层的片和其他片形式的ECM材料。扩张的ECM材料和生物活性颗粒ECM材料可来自相同的ECM原料或来自不同的ECM原料。颗粒ECM材料的掺入不仅用于提高泡沫产品的生物活性,而且它们也提高了泡沫产品的弹性。可使用这些方面以有利于本文所述的止血、封堵和其他医疗治疗。

[0084] 另外的具体实施方案使用复合细胞外基质材料产品,其包含细胞外基质片材和粘附至该细胞外基质片材的干燥材料,其中所述干燥材料由已经与碱性介质接触而形成扩张的细胞外基质材料的细胞外基质材料形成。这种复合产品可通过包括如下步骤的方法制得:

[0085] (a) 使细胞外基质材料与碱性介质接触从而形成扩张的细胞外基质材料;

[0086] (b) 洗涤该扩张的细胞外基质材料;

[0087] (c) 在细胞外基质片上铸造扩张的细胞外基质材料的可流动湿制剂以形成湿复合物;以及

[0088] (d) 干燥该湿复合物以形成干燥复合物。

[0089] 在这种复合片材产品和制备方法中,扩张的细胞外基质材料和颗粒细胞外基质材料可例如选自任意本文公开的那些材料。洗涤可适当地用如盐水或水的水性介质进行。用于制备湿制剂的液体可为任何合适的液体,优选为生物可相容的,并通常为如水或盐水的水性液体。干燥步骤可通过任何合适的方法进行,包括例如在环境温度下空气干燥、加热干燥或冻干。优选冻干,因为相比于空气干燥或加热干燥,其形成更多孔的弹性泡沫材料。此外,在这种制备方法中,有利地粉碎在可流动湿制剂中的扩张的细胞外基质材料。在更优选

的形式中,通过使用旋转刀片(例如在混合器中)剪切材料而粉碎材料。这种方法可例如使用收集的片形式的ECM材料实施,所述收集的片形式的ECM材料例如获自小肠、胃或膀胱组织、心包膜组织、腹膜组织、筋膜、真皮组织的含粘膜下层的片和其他片形式的ECM材料。扩张的ECM材料和片形式的ECM材料可来自相同的ECM原料或来自不同的ECM原料。片形式的ECM材料的掺入不仅用于提高整个产品的生物活性,而且也提供了粘附至干燥的扩张的ECM材料(例如泡沫)的屏障(barrier)材料和/或可缝合片。说明性地,这种构造体可用于提供手术位点或其他受伤组织的止血。在某些实施方式中,可将构造体置于出血组织上,其中干燥的扩张的ECM材料(尤其是泡沫)置于出血组织上。此外,片形式的ECM可提供另外的屏障(除了扩张的ECM材料之外)以保护出血组织,和或可提供可用于例如使用线或钉形式的缝合线将构造体固定在适当位置的可缝合片材。在特定的用途中,这种构造体可用于将止血施用至手术治疗的(例如进行切除)或受伤的实质器官组织(如肝脏或肾脏组织)。在这种情况下,干燥的扩张的ECM材料有利地压在受伤的实质组织上,片形式的ECM材料可任选地用于将构造体固定在合适的位置,如上所述。从本文的描述中,使用复合片形式的构造体的这些和其他方式的实施对于本领域普通技术人员而言是显而易见的。

[0090] 其他具体实施方案使用可植入医疗产品,其包含干燥的弹性泡沫体和覆盖至少一部分该干燥的弹性泡沫体的生物可降解的胶囊组分,所述干燥的弹性泡沫体使用由足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质处理的细胞外基质材料形成。干燥的弹性泡沫体可为本文公开的任何这种本体,并可以压缩形式在胶囊组分内接收。在某些形式中,胶囊组分至少覆盖泡沫体的前端,并可用于产生更有利的产品的递送属性。在另外的形式中,可优选以压缩状态完全在胶囊组分内接收泡沫体。在植入之后,随着胶囊组分的降解和变得脆弱,胶囊在压缩的泡沫体的压迫下裂开或破裂,由此释放泡沫体以进行扩张。然后,扩张的泡沫体可以用于在植入位点处提供止血、封堵和/或另一治疗作用。生物可降解的胶囊可由任何合适的生物可降解材料,包括例如明胶制得。

[0091] 另外的具体实施方案涉及包含粉末材料和包封该粉末材料的生物可降解胶囊的可植入医疗产品的用途。粉末材料的颗粒包括由足以形成扩张的细胞外基质材料的碱性介质处理的细胞外基质材料形成的干燥泡沫。这种胶囊装置可用于有效递送粉末细胞外基质材料并将其保留在植入位点,例如本文所述的止血或封堵的位点。粉末材料可用于在植入位点促进止血、组织向内生长或另一有利作用。生物可降解的胶囊可由任何合适的生物可降解材料,包括例如明胶制得。

[0092] 为了促进进一步理解本发明方面的目的,提供了如下特定实施例。应理解这些实施例并非限制本发明。

[0093] 实施例 1

[0094] 该实施例说明了用于制备可随后用于制备各种医疗材料和装置的消毒的小肠粘膜下层组织(即非扩张的SIS)的方法。材料的表面和截面显微照片示于图1B和1D中。

[0095] 提取猪整肠的十英尺切片并用水洗涤。在漂洗之后,在搅拌下在5体积%的乙醇水溶液中的0.2体积%过乙酸中处理粘膜下层肠胶原源材料的该切片约2.5小时。在用过乙酸溶液处理之后,在消毒的铸造机中将该粘膜下层从整个肠中剥落。然后用无菌水漂洗所得粘膜下层四(4)次。提取1厘米×1厘米的该材料的切片,并使用直接红溶液染色,该直接红溶液通过在100毫升高纯水中混合10毫克直接红而制得。将材料切片染色大约5

分钟。染色的材料用高纯水洗涤两次以去除任何未结合的着色。将该染色的材料置于玻璃片上并用盖玻片覆盖。在 100x 放大倍数下拍摄材料表面的显微照片 (Olympus 显微镜)。然后制备材料的截面,并拍摄类似的显微照片。所得显微照片使用 Spot RT 软件进行分析。表面和截面显微照片示于图 1B 和 1D 中。表面和截面显微照片均显示无扩张的紧密结合的胶原基质。

[0096] 实施例 2

[0097] 该实施例说明了用于制备可随后用于制备本文所述的各种医疗材料和装置的扩张的小肠粘膜下层组织 (即扩张的 SIS) 的方法。材料的表面和截面显微照片示于图 1A 和 1C 中。

[0098] 提取猪整肠的十英尺切片并用水洗涤。在漂洗之后,在搅拌下在 5 体积%的乙醇水溶液中的 0.2 体积%过乙酸中处理粘膜下层肠胶原源材料的该切片 2.5 小时。在用过乙酸处理之后,在消毒的铸造机中将该粘膜下层从整个肠中剥落。然后用无菌水漂洗所得粘膜下层四 (4) 次。在 37°C 下在搅拌下将 300 克该材料浸入 1 升 1M NaOH 溶液中 1 小时 45 分钟。移出该材料,在 1 升高纯水溶液中漂洗 5 分钟。重复该漂洗步骤另外 8 次。提取 1 厘米 × 1 厘米的该材料的切片,并使用直接红溶液染色,该直接红溶液通过在 100 毫升高纯水中混合 10 毫克直接红而制得。将材料切片染色大约 5 分钟。染色的材料用高纯水洗涤两次以去除任何未结合的着色。将该染色的材料置于玻璃片上并用盖玻片覆盖。在 100x 放大倍数下拍摄材料表面的显微照片 (Olympus 显微镜)。然后制备材料的截面,并拍摄类似的显微照片。所得显微照片使用 Spot RT 软件进行分析。表面和截面显微照片示于图 1A 和 1C 中。表面和截面显微照片均显示紧密结合的胶原基质的破坏和材料的扩张。

[0099] 如图 1A-1D 中可以观察到的,非扩张 SIS 的表面视图和截面视图显示紧密结合的胶原基质,其胶原含量基本上均匀。相反,扩张的 SIS 的表面视图和截面视图显示变性的胶原网络和材料的扩张。

[0100] 实施例 3

[0101] 进行该实施例以确定可包含于扩张的可重塑胶原材料的添加剂,其目的是促进植入患者之后材料的快速再扩张。

[0102] 扩张的可重塑材料通常如实施例 2 所述进行制备。简略地,提取猪整肠的十英尺切片并用水洗涤。在漂洗之后,在搅拌下在 5 体积%的乙醇水溶液中的 0.2 体积%过乙酸中处理粘膜下层肠胶原源材料的该切片 2.5 小时。在用过乙酸处理之后,在消毒的铸造机中将该粘膜下层从整个肠中剥落。然后用无菌水漂洗所得粘膜下层四 (4) 次。在 37°C 下在搅拌下将 300 克该材料浸入 1 升 3M NaOH 溶液中 2 小时。移出该材料,在 1 升高纯水溶液中漂洗 15 分钟。在 15 分钟之后,在搅拌下加入 1 升 0.2M 乙酸。在 15 分钟搅拌之后,材料用 1 升高纯水漂洗并摇动 5 分钟。该漂洗步骤重复四 (4) 次,总共五 (5) 次漂洗。

[0103] 使用混合器的脉冲设置机械搅拌该漂洗的材料直至混合的材料可使用一次性 25 毫升移液管转移的程度。使用手持式混合器将混合的材料样品与表 1 所确定的各种添加剂混合。然后将样品装入圆柱形模具,在 -80°C 冷冻 5 小时,并冻干 24 小时,得到长度为约 15 毫米至约 19 毫米范围的 14 毫米直径的圆柱形构造体。

[0104] 表 1

[0105]

添加剂种类	筛选的添加剂
盐	氯化钠
	乙酸钠
	碳酸氢钠

[0106]

	柠檬酸钠
	碳酸钙
	乙酸钾
	磷酸钾
水凝胶和水膨胀聚合物	海藻酸盐
	聚羟乙基甲基丙烯酸酯
	聚乙烯醇
	聚乙二醇
	羧甲基纤维素
	聚乙烯基吡咯烷酮
蛋白质	明胶
	SIS 颗粒
酸和碱	乙酸
	抗坏血酸
单糖和多糖	葡聚糖
	葡萄糖
	果糖
超吸收聚合物和胶凝剂	聚丙烯酸
	聚半乳糖醛酸
其他添加剂	盐酸胍
	尿素

[0107] 在测试之时,记录初始样品直径。然后用手压缩所有的圆柱形样品至 2.7 毫米至 6.7 毫米,记录压缩材料的最终直径。将室温下的大约 20 毫升高纯水转移至重量船 (weight boat)。使用镊子将压缩的材料置于高纯水的表面并沉浸以将材料的所有表面暴露于高纯水。在沉浸样品之时开始数字计时器。连续进行材料的目测评估直至样品返回初始样品直径,如通过目测检查所评估。当样品返回初始样品直径时,停止计时器,记录扩张时间。对于在分配的时间内未返回至初始样品直径的样品,在 15 分钟之后终止目测评估。结果总结于表 2-8 中。

[0108] 表 2

[0109]

添加剂	%干燥栓的干 重	初始直径（毫 米）	压缩直径（毫 米）	扩张时间 （分:秒）
氯化钠	2.5	12	4.0	1:41
	7.5	13	4.0	>15:00*
		14	3.7	>15:00*
乙酸钠	1.25	13	3.7	6:30
		13	3.7	6:00

[0110]

	2.5	13	4.7	0:45
		12	4.3	0:45
	5.0	13	4.7	1:30
		14	5.0	2:00
碳酸氢钠	2.5	13	4.0	2:00
		13	4.3	1:15
	5.0	13	6.7	3:00
		13	5.0	1:20
柠檬酸钠	2.5	14	5.3	8:00
		14	5.0	8:00
	5.0	14	5.0	12:00
		14	4.7	12:00
碳酸钙	2.5	14	4.7	>15:00*
		14	4.3	>15:00*
	5.0	14	5.3	8:00
		14	5.0	8:00
	12.5	14	4.7	>15:00*
		14	4.7	>15:00*
乙酸钾	2.5	13	5.3	>15:00*
		13	4.7	>15:00*
	5.0	14	4.3	>15:00*
		14	4.3	>15:00*
磷酸钾	2.5	10	3.0	13:00
		10	3.0	13:00
	5.0	13	3.0	14:00
		12	3.3	11:00

[0111] * 表示表现非典型的对照样品,说明扩张时间可能对于所测试添加剂不是代表性的。

[0112] 表 3

[0113]

添加剂	%干燥栓的 干重	初始直径 (毫米)	直径 (毫米)	扩张时间 (分:秒)
海藻酸盐	2.5	13	3.0	>15:00
聚羟乙基甲基丙 烯酸酯	2.5	13	3.0	8:50
		13	2.7	8:58
聚乙烯醇	2.5	14	3.0	5:48
聚乙二醇 (MW 400)	7.5	14	2.3	>15:00*
		14	2.3	>15:00*
聚乙二醇 (MW	2.5	13	3.0	3:22

[0114]

6000)				
羧甲基纤维素	2.5	13	3.7	7:03
聚乙烯基吡咯烷 酮	2.5	14	3.3	5:25

[0115] * 表示表现非典型的对照样品,说明扩张时间对于所测试添加剂可能不是代表性的。

[0116] 表 4

[0117]

添加剂	%干燥栓的干重	初始直径 (毫米)	直径 (毫米)	扩张时间 (分:秒)
明胶(100 布鲁姆 (bloom))	2.5	13	3.0	>15:00
45-90 微米 SIS 颗粒	5.0	14	4.7	2:38
		13	4.7	2:35
	10.0	13	5.0	1:32
		13	4.7	1:20
	20.0	14	6.3	0:37
		14	6.0	0:52
90-150 微米 SIS 颗粒	5.0	14	3.7	2:30
		13	3.7	2:00
	10.0	13	4.7	2:30
		14	5.0	3:00
	20.0	13	5.3	1:30
		13	6.3	1:42
150-200 微米 SIS 颗粒	5.0	14	4.0	2:45
		14	4.3	2:50
	10.0	14	4.7	2:30
		13	4.3	2:25
	20.0	13	5.7	1:55
		13	5.0	2:35

[0118] 表 5

[0119]

添加剂	%干燥栓的干重	初始直径 (毫米)	直径 (毫米)	扩张时间 (分:秒)
抗坏血酸	2.5	14	3.0	>15:00*
		14	3.0	>15:00*
	5.0	14	3.0	>15:00*
		14	3.3	>15:00*

[0120] * 表示表现非典型的对照样品,说明扩张时间对于所测试添加剂可能不是代表性的。

[0121] 表 6

[0122]

添加剂	%干燥栓的干重	初始直径 (毫米)	直径 (毫米)	扩张时间 (分:秒)
聚丙烯酸	2.5	13	3.3	8:24
		13	3.0	8:07
聚半乳糖醛酸	2.5	13	3.0	4:00
		13	3.0	4:35

[0123] 表 7

[0124]

添加剂	%干燥栓的干重	初始直径 (毫米)	直径 (毫米)	扩张时间 (分:秒)
葡聚糖	2.5	13	3.0	5:15
		13	3.3	4:16
葡萄糖	2.5	14	3.7	>15:00*
		14	3.7	>15:00*
	5.0	14	3.7	>15:00*
		14	3.0	>15:00*
果糖	2.5	14	3.7	>15:00*
		14	4.0	>15:00*
	5.0	14	3.3	>15:00*
		14	3.7	>15:00*

[0125] * 表示表现非典型的对照样品,说明扩张时间对于所测试添加剂可能不是代表性的。

[0126] 表 8

[0127]

添加剂	%干燥栓的干重	初始直径 (毫米)	压缩直径 (毫米)	扩张时间 (分:秒)
盐酸胍	2.5	14	3.0	4:16
		14	2.7	4:50
尿素	5.0	14	3.0	>15:00
		14	3.3	>15:00

[0128] 基于这些结果,优选的添加剂包括氯化钠、乙酸钠、碳酸氢钠、聚乙二醇 (MW6000) 和小肠粘膜下层颗粒。

[0129] 实施例 4

[0130] 进行该实施例以测量本文所述的各种形式的扩张的可重塑胶原材料的血管生成活性。

[0131] 扩张的可重塑材料通常如实施例 3 所述进行制备。简略地,提取猪整肠的十英尺切片并用水洗涤。在漂洗之后,在搅拌下在 5 体积%的乙醇水溶液中的 0.2 体积%过乙酸

中处理粘膜下层肠胶原源材料的该切片 2.5 小时。在用过乙酸处理之后,在消毒的铸造机中将该粘膜下层从整个肠中剥落。然后用无菌水漂洗所得粘膜下层四 (4) 次。在 37℃ 下在搅拌下将 300 克该材料浸入 1 升 3M NaOH 溶液中 2 小时。移出该材料,在 1 升高纯水溶液中漂洗 15 分钟。在 15 分钟之后,在搅拌下加入 1 升 0.2M 乙酸。在 15 分钟搅拌之后,材料用 1 升高纯水漂洗并摇动 5 分钟。该漂洗步骤重复四 (4) 次,总共五 (5) 次漂洗。从该材料制得三种不同形式的扩张的可重塑胶原材料:(1) 混合的扩张的可重塑胶原材料,(2) 与粘膜下层颗粒结合的扩张的可重塑胶原材料 (1:10),和 (3) 4 层冻干片形式的扩张的可重塑胶原材料。

[0132] 将来自组 (1) 和 (2) 的这些材料铸造为大约 1 毫米厚的厚膜,在 -80℃ 下冷冻 5 小时并冻干 24 小时。使用盘状冲床从每一组切割 10 个 15 毫米的盘以形成测试样品。在每个盘的顶部和底部缝合具有 0.22 微米孔的尼龙过滤器。对于每个样品使用低温环氧乙烷灭菌。将样品皮下植入小鼠的背部侧面。在使用氯胺酮 (87 毫克 / 千克) 和赛拉嗪 (13 毫克 / 千克) 麻醉之后,在小鼠后颈部制造一个小切口,使用止血钳钝器解剖造成背部皮下腔。接着进行样品放置和使用 5-0 缝合线的 4 个间断缝针关闭切口。每组六个小鼠进行盘植入。植入体在小鼠内保留 3 星期的时间,接着探查毛细管形成。

[0133] 使用双剂量麻醉处死小鼠以确保脉管系统的完整流动。在心脏仍然跳动时,暴露胸腔,切断腔静脉,使用 23ga 蝶型灌注装置将 10 毫升肝素化盐水注射入左心室以将小鼠放血。在转移注射器之后 (同时保留在左心室中的灌注针头),将 4 毫升荧光微球 (黄绿,0.1 微米直径, Molecular Probes, F-8803) 悬浮体 (悬浮体原液的 1:20 稀释物) 注射通过左心室,引起整个脉管系统的灌注。注意确保在注射过程中不引入气泡,因为气泡会引起微栓子妨碍均匀灌注。以轻柔解剖和总去除纤维囊收集样品。在此时也收集后肢肌肉的阳性对照物以证实正确的灌注。将收集的样品和对照物置于封闭容器中的冰上以保持组织完整性 (主要是湿度)。在最大血管浸润的区域中沿样品边缘使用共聚焦显微镜 (Biorad), $\lambda_{ex} = 488$ 纳米和 $\lambda_{em} = 530$ 纳米将微脉管系统成像。此外,对阳性对照物 (后肢肌肉) 的脉管系统成像以证实良好的灌注。

[0134] 除了上述荧光微血管造影术之外,收集样品,将其置于组织学盒中,并沉浸入 10% 缓冲的福尔马林 (Fisher)。通过 Portland Tissue Processing 进行组织学切片以及用苏木精和伊红染色。每个样品的盘边缘的 H&E 染色切片的影像使用带有 10x 物镜的显微镜 (Olympus) 拍摄。

[0135] 当进行荧光微血管造影术时,所有三个测试组的每个样品均显示一些血管生成活性。类似地,组织学分析证实所有三个样品组具有一些血管和细胞向内生长。

[0136] 该实施例说明了各种形式的扩张的可重塑胶原材料的每一种均显示体内血管生成活性。

[0137] 实施例 5

[0138] 进行该实施例以研究本文所述的交联的扩张的可重塑胶原材料的血管生成活性。

[0139] 扩张的可重塑材料通常如实施例 3 所述进行制备。简略地,提取猪整肠的十英尺切片并用水洗涤。在漂洗之后,在搅拌下在 5 体积%的乙醇水溶液中的 0.2 体积%过乙酸中处理粘膜下层肠胶原源材料的该切片 2.5 小时。在用过乙酸处理之后,在消毒的铸造机中将该粘膜下层从整个肠中剥落。然后用无菌水漂洗所得粘膜下层四 (4) 次。在 37℃ 下在

搅拌下将 300 克该材料浸入 1 升 3M NaOH 溶液中 2 小时。移出该材料,在 1 升高纯水溶液中漂洗 15 分钟。在 15 分钟之后,在搅拌下加入 1 升 0.2M 乙酸。在 15 分钟搅拌之后,材料用 1 升高纯水漂洗并摇动 5 分钟。该漂洗步骤重复四 (4) 次,总共五 (5) 次漂洗。将大约 250 毫升扩张的可重塑胶原材料与 250 毫升高纯水一起置入混合器中。将该混合物脉冲 10 次,每次脉冲 1 秒,接着进行 45 秒的混合。将所得材料装入厚度为大约 1 毫米的 5x10 厘米模具。将该模具置入 -80℃ 的冰柜中 5 小时,接着冻干 24 小时。从所得混合片上切割 15 毫米盘状样品。

[0140] 为了形成交联样品,在浅玻璃碟中将如上形成的样品与 200 毫升 50mM EDC 交联溶液结合。将带有样品的盘沉浸至溶液以下并在室温下置入旋转振荡器中 24 小时。然后用 200 毫升高纯水漂洗每个样品,挤压五 (5) 次。该步骤重复四 (4) 次,总共五 (5) 次漂洗。然后将漂洗的材料冻干大约 8 小时。

[0141] 当进行荧光微血管造影术时,每个样品显示一些血管生成活性。类似地,组织学分析确定所有三个样品组具有一些血管和细胞向内生长。实际上,交联材料具有强大的血管生成 (1442+108 微米),并仍然以栓形式存在。在外植体扩张的栓表明交联材料大量存在,并在植入后不瓦解。此外,在这些样品中不存在全身性或局部毒性的征兆,也不存在局部炎症增加的迹象。

[0142] 该实施例进一步说明了交联形式的扩张的可重塑胶原材料可显示体内血管生成活性。

[0143] 实施例 6

[0144] 进行该实施例以测定本文所述的扩张的可重塑胶原材料的 FGF-2 含量。

[0145] 扩张的可重塑材料通常如实施例 3 所述进行制备。简略地,提取猪整肠的十英尺切片并用水洗涤。在漂洗之后,在搅拌下在 5 体积%的乙醇水溶液中的 0.2 体积%过乙酸中处理粘膜下层肠胶原源材料的该切片 2.5 小时。在用过乙酸处理之后,在消毒的铸造机中将该粘膜下层从整个肠中剥落。然后用无菌水漂洗所得粘膜下层四 (4) 次。在 37℃ 下在搅拌下将 300 克该材料浸入 1 升 3M NaOH 溶液中 2 小时。移出该材料,在 1 升高纯水溶液中漂洗 15 分钟。在 15 分钟之后,在搅拌下加入 1 升 0.2M 乙酸。在 15 分钟搅拌之后,材料用 1 升高纯水漂洗并摇动 5 分钟。该漂洗步骤重复四 (4) 次,总共五 (5) 次漂洗。

[0146] 制备上述两批 (lots) 材料,每组使用一批。将一批材料制成单层冻干片,将其他材料与小肠粘膜下层颗粒 (~ 150 微米) 混合并制成单层冻干片。从每一批切下三 (3) 个样品 (2 厘米 x 2 厘米),得到每组三 (3) 个样品。对每个样品称重,记录其重量。将各个样品置于 1.5 毫升 eppendorf 管中,并将 400 微升无菌磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 加入每个管中。在 4℃ 下在 12000g 下离心带有样品的管 5 分钟。将所得上清液用 1x PBS 稀释至 1:1。使用 R&D Systems FGF-2ELISA 试剂盒,根据制造商的说明书一式两份地测试样品的 FGF-2 含量。

[0147] 所得 FGF-2 含量通过 FGF-2 含量除以样品重量计算。在片形式的扩张的可重塑胶原材料中的平均测量的 FGF-2 含量为 0 皮克 / 克。在包含粘膜下层颗粒的扩张的可重塑胶原材料中,平均测量的 FGF-2 含量为 4500 皮克 / 克 + 1600 皮克 / 克。

[0148] 该实施例说明了如该实施例所述制备和测试的片形式的扩张的可重塑胶原材料不含有可检测水平的 FGF-2,可通过在材料中包含粘膜下层颗粒而将 FGF-2 提供回扩张的

可重塑胶原材料。

[0149] 在描述本发明的上下文（特别是在权利要求书的上下文）中术语“一”和“所述”及类似引用的使用应解释为涵盖单数和复数，除非本文另外指出或上下文明确矛盾。本文数值范围的列举仅旨在用作单独提及落入该范围内的每个分立的值的速记方法，除非本文另外指出，且每个分立的值引入说明书中，就像其在本文单独列举一样。本文所述的所有方法可以以任何合适的顺序进行，除非本文另外指出或上下文明确矛盾。本文提供的任何和所有实施例，或示例性语言（例如“例如”）的使用仅旨在更好地说明本发明，而不对本发明的范围进行限制，除非另外声明。本说明书中的语言不应被理解为表示对于本发明的实施为必要的任何非声称的元素。

[0150] 本发明的优选具体实施方案在本文描述，包括发明人已知的对于实现本发明最好的方式。当然，在阅读前述说明书时，那些优选具体实施方案的变化对于本领域普通技术人员是显而易见的。发明人预期本领域技术人员在适当时采用这种变化，且发明人希望本申请以不同于本文所特别描述的实施例。因此，本发明包括由适用法律所允许的于此附加的权利要求列举主题的所有改变和等同。此外，本发明涵盖在其所有可能变化中的上述元素的任何组合，除非本文另外指出或上下文明确矛盾。此外，本文所述的所有公布表明本领域普通技术人员的能力，因此以全文引用方式并入本文，就像以引用方式单独并入且完全列出一样。

扩张的 SIS

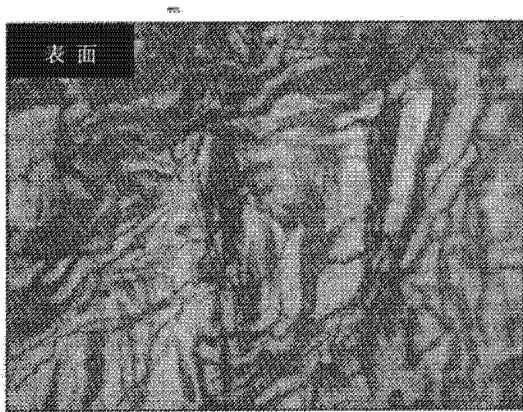


图 1A

非扩张的 SIS

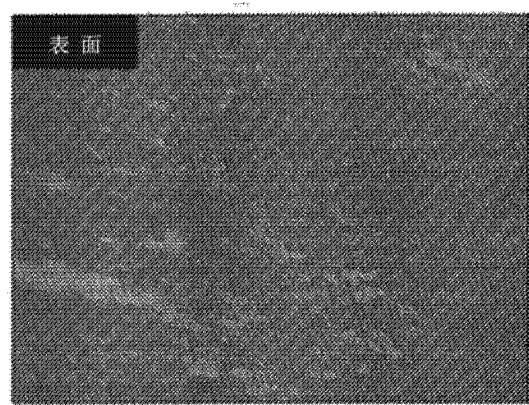


图 1B

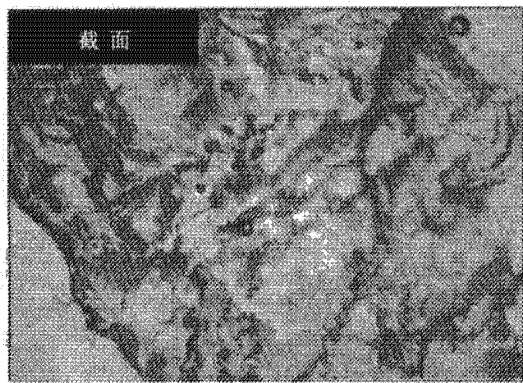


图 1C

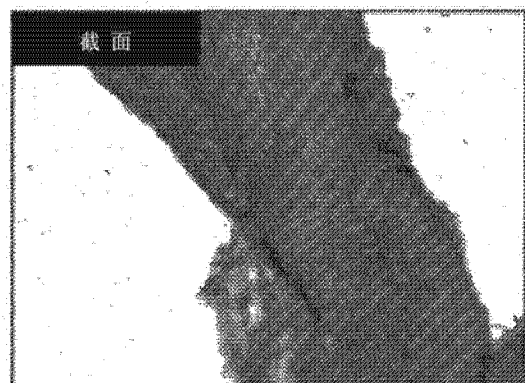


图 1D

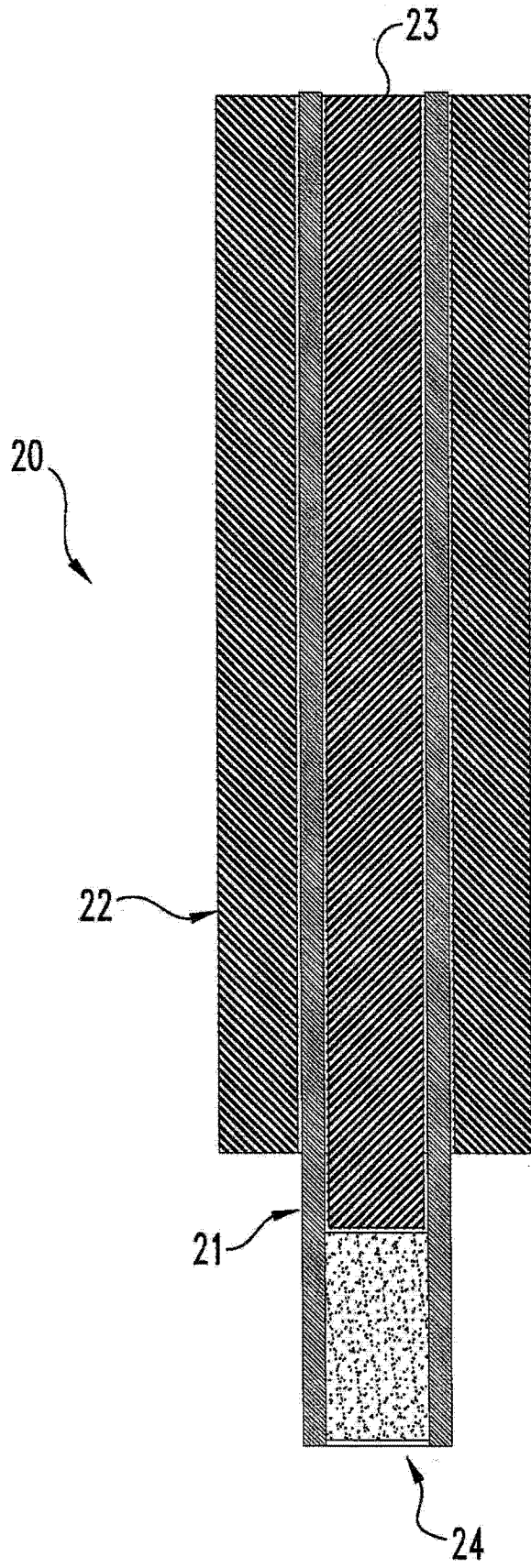


图 2A

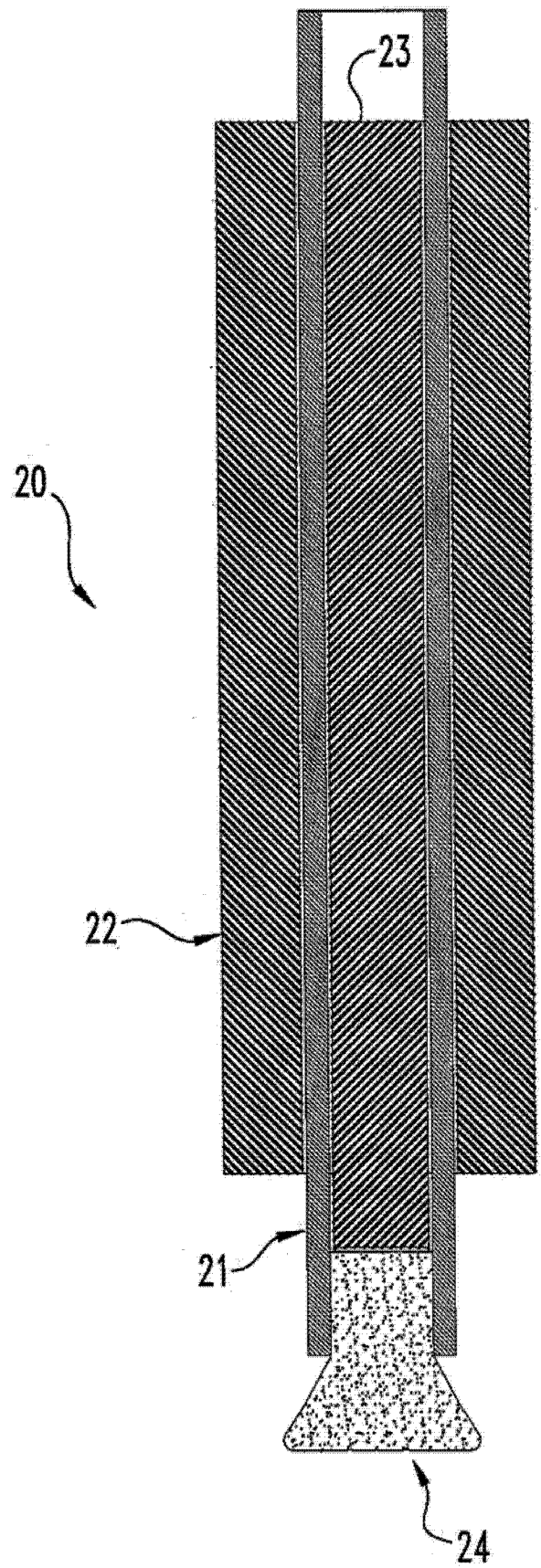


图 2B