

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-535245

(P2004-535245A)

(43) 公表日 平成16年11月25日(2004.11.25)

(51) Int.Cl.⁷

A 6 1 L 27/00

F I

A 6 1 L 27/00

A 6 1 L 27/00

V

G

テーマコード (参考)

4 C O 8 1

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 82 頁)

(21) 出願番号	特願2003-513403 (P2003-513403)	(71) 出願人	501384115
(86) (22) 出願日	平成14年7月15日 (2002.7.15)		デビュイ・プロダクツ・インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成16年1月15日 (2004.1.15)		アメリカ合衆国インディアナ州46581
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/022393		ワーソー・オーソピーディックドライブ7
(87) 国際公開番号	W02003/007789		OO
(87) 国際公開日	平成15年1月30日 (2003.1.30)	(74) 代理人	100066474
(31) 優先権主張番号	60/305,786		弁理士 田澤 博昭
(32) 優先日	平成13年7月16日 (2001.7.16)	(74) 代理人	100088605
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 加藤 公延
(31) 優先権主張番号	60/388,761	(74) 代理人	100123434
(32) 優先日	平成14年6月14日 (2002.6.14)		弁理士 田澤 英昭
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100101133
			弁理士 濱田 初音

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多孔質細胞外基質支持骨格材料および方法

(57) 【要約】

損傷したまたは病気の組織を修復するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成するための方法が一定の細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中において懸濁する工程を含む。これらの細胞外基質材料および液体は一定の素材に形成される。その後、上記液体は上記素材中に複数の隙間を形成するために除去される。さらに、このような方法により製造される多孔質の移植可能な支持骨格材料も開示されている。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

一定の天然に発生する細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中に懸濁する工程、および前記天然に発生する細胞外基質材料および前記液体を凍結乾燥する工程を含む方法。

【請求項 2】

さらに、前記細胞外基質材料および前記液体を凍結して当該液体により氷の結晶を形成する工程を含み、この凍結工程が前記凍結乾燥工程の前に行なわれる請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記凍結乾燥工程がさらに前記氷の結晶を一定の真空の存在下に直接的に蒸気に昇華する処理を含む請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記凍結乾燥工程が前記液体を昇華することにより一定の多孔質な本体部分を形成する処理を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

さらに、前記細胞外基質材料をその部材片に粉碎する工程を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記細胞外基質材料が小腸粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、胃粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される材料を含む請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 7】

さらに、前記細胞外基質材料および前記液体を前記凍結乾燥工程の前にフラッシュ凍結する工程を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

さらに、前記天然に発生する細胞外基質材料の部材片を前記凍結乾燥工程の前に固める工程を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

さらに、前記天然に発生する細胞外基質材料の部材片を前記凍結乾燥工程の前に遠心分離する工程を含む請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 10】

さらに、前記天然に発生する細胞外基質材料および前記液体を一定の制御された温度降下の速度で凍結する工程を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記凍結工程が前記支持骨格材料の気孔寸法を変更するために可変の温度降下の速度を含む請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を添加する工程を含む請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 13】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

一定の天然に発生する細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中に懸濁する工程、前記天然に発生する細胞外基質の部材片および前記液体を一定の素材に形成する工程、および

前記素材の中に複数の隙間を形成するために前記液体を除去する工程を含む方法。

【請求項 14】

50

前記除去工程が前記液体を昇華する処理を含む請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記除去工程が前記液体を蒸発させる処理を含む請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 6】

さらに、一定の天然に発生する細胞外基質を一定の原料の形態で供給する工程、および前記天然に発生する細胞外基質材料を粉砕することにより前記天然に発生する細胞外基質の部材片を形成する工程を含み、当該天然に発生する細胞外基質の部材片が前記天然に発生する細胞外基質の原料の形態よりも小さい請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記天然に発生する細胞外基質材料が小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される材料を含む請求項 1 3 に記載の方法。

10

【請求項 1 8】

前記形成工程が前記天然に発生する細胞外基質材料の部材片を固める工程を含む請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 9】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を添加する工程を含む請求項 1 3 に記載の方法。

20

【請求項 2 0】

身体組織を修復または再生するための移植可能な支持骨格材料において、一定の天然に発生する細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中に懸濁する工程、および前記天然に発生する細胞外基質材料および前記液体を凍結乾燥する工程を含む一定の方法により調製されている一定の多孔質な本体部分を備えている移植可能な支持骨格材料。

【請求項 2 1】

前記多孔質な本体部分を調整するための方法がさらに前記天然に発生する細胞外基質材料および前記液体を凍結して当該液体により氷の結晶を形成する工程を含み、この凍結工程が前記凍結乾燥工程の前に行なわれる請求項 2 0 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 2 2】

前記凍結乾燥工程がさらに前記氷の結晶を一定の真空の存在下に直接的に蒸気に昇華する処理を含む請求項 2 1 に記載の移植可能な支持骨格材料。

30

【請求項 2 3】

前記凍結乾燥工程が前記液体を昇華する処理を含む請求項 2 0 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 2 4】

前記多孔質な本体部分を調製するための方法がさらに前記天然に発生する細胞外基質材料をその部材片に粉砕する工程を含む請求項 2 0 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 2 5】

前記天然に発生する細胞外基質材料が小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される材料を含む請求項 2 0 に記載の移植可能な支持骨格材料。

40

【請求項 2 6】

前記多孔質な本体部分を調製するための方法がさらに前記天然に発生する細胞外基質材料および前記液体を前記凍結乾燥工程の前にフラッシュ凍結する工程を含む請求項 2 0 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 2 7】

前記多孔質な本体部分を調製するための方法がさらに前記天然に発生する細胞外基質材料の部材片を前記凍結乾燥工程の前に固める工程を含む請求項 2 0 に記載の移植可能な支持骨格材料。

50

【請求項 28】

前記多孔質な本体部分を調製するための方法がさらに前記天然に発生する細胞外基質材料の部材片を前記凍結乾燥工程の前に遠心分離する工程を含む請求項 20 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 29】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を含む請求項 20 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 30】

身体組織を修復または再生するための移植可能な支持骨格材料において、一定の天然に発生する細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中に懸濁する工程、前記細胞外基質の部材片および前記液体を一定の素材に形成する工程、および前記素材の中に複数の隙間を形成するために前記液体を除去する工程を含む一定の方法により調製されている一定の多孔質な本体部分を備えている移植可能な支持骨格材料。

【請求項 31】

前記除去工程が前記液体を昇華する処理を含む請求項 30 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 32】

前記除去工程が前記液体を蒸発させる処理を含む請求項 30 に記載の移植可能な支持骨格材料。 20

【請求項 33】

前記多孔質な支持骨格材料を調製するための方法がさらに前記天然に発生する細胞外基質材料をその部材片に粉碎する工程を含む請求項 30 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 34】

前記天然に発生する細胞外基質材料が小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される材料を含む請求項 30 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 35】

前記形成工程が前記天然に発生する細胞外基質材料の部材片を固める処理を含む請求項 30 に記載の移植可能な支持骨格材料。 30

【請求項 36】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を含む請求項 30 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 37】

身体組織を修復または再生するための移植可能な支持骨格材料において、不規則な形状の一定の三次元的な形態を有する一定の内表面部を定めるように相互接続している天然に発生する細胞外基質の部材片による一定の多孔質な本体部分を備えている移植可能な支持骨格材料。 40

【請求項 38】

前記相互接続している天然に発生する細胞外基質の部材片が前記本体部分の中に複数の隙間を定めており、さらに前記隙間が、前記基質の部材片を水と共に混合して一定の湿った状態の素材を形成し、当該水をその凍った水の結晶の寸法を制御するための一定の制御された様式で凍結することにより、各隙間の寸法を制御することにより寸法付けられている請求項 37 に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項 39】

前記相互接続している天然に発生する細胞外基質の部材片の少なくとも一部が 100 ミク 50

ロン乃至700ミクロンの一定の公称の気孔寸法を有する気孔を定めている請求項37に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項40】

前記相互接続している天然に発生する細胞外基質の部材片の少なくとも一部が300ミクロン乃至700ミクロンの一定の公称の気孔寸法を有する気孔を定めている請求項39に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項41】

前記相互接続している天然に発生する細胞外基質の部材片の少なくとも一部が100ミクロンよりも小さい一定の公称の気孔寸法を有する気孔を定めている請求項37に記載の移植可能な支持骨格材料。

10

【請求項42】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも1種類を含む請求項37に記載の移植可能な支持骨格材料。

【請求項43】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な装置において、不規則な形状を有する三次元的な相互接続している通路を定めている複数の相互接続している気孔を含む一定の三次元的な連続気泡型の発泡体を備えており、この発泡体の少なくとも一部が天然に発生する生体再造形可能な膠原性(collageneous)組織の基質を含む移植可能な装置。

20

【請求項44】

前記発泡体が天然に発生する生体再造形可能な膠原性(collageneous)組織基質の相互接続している部材片を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

【請求項45】

前記発泡体が一定の内表面部を有しており、当該内表面部が一定の不規則な形状の三次元的な形態を有する天然に発生する生体再造形可能な膠原性(collageneous)組織基質を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

【請求項46】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも1種類を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

30

【請求項47】

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性(collageneous)組織基質が以下の、すなわち、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜の内の少なくとも1種類の少なくとも一部分を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

【請求項48】

前記装置の少なくとも一部分の公称の気孔寸法が100ミクロン乃至700ミクロンである請求項43に記載の移植可能な装置。

【請求項49】

前記装置の少なくとも一部分の公称の気孔寸法が300ミクロン乃至700ミクロンである請求項43に記載の移植可能な装置。

40

【請求項50】

前記装置の少なくとも一部分の公称の気孔寸法が100ミクロンよりも小さい請求項43に記載の移植可能な装置。

【請求項51】

前記発泡体が約0.005g/cc乃至0.5g/ccの一定の密度を有している請求項43に記載の移植可能な装置。

【請求項52】

身体組織を修復または再生するための移植可能な装置において、天然に発生する生体再造

50

形可能な膠原性 (collageneous) 組織の基質による一定の多孔質な網状の本体部分を備えている移植可能な装置。

【請求項 5 3】

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) 組織基質が以下の、すなわち、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜の内の少なくとも 1 種類の少なくとも一部分を含む請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。

【請求項 5 4】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を含む請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。 10

【請求項 5 5】

前記網状の本体部分の少なくとも一部分が 100 ミクロン乃至 700 ミクロンの一定の公称の気孔寸法を有している請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。

【請求項 5 6】

前記網状の本体部分の少なくとも一部分が 300 ミクロン乃至 700 ミクロンの一定の公称の気孔寸法を有している請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。

【請求項 5 7】

前記網状の本体部分の少なくとも一部分が 100 ミクロンよりも小さい一定の公称の気孔寸法を有している請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。 20

【請求項 5 8】

前記網状の本体部分の少なくとも一部分が不規則な形状を有している三次元的な相互接続している通路を定めている複数の相互接続している気孔を定めている請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。

【請求項 5 9】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な装置を作成する方法において、一定の天然に発生する細胞外基質材料を一定の原料の形態で供給する工程、前記原料の天然に発生する細胞外基質を一定の液体の存在下に粉碎して天然に発生する細胞外基質の一定のスラリーを形成する工程、および前記天然に発生する細胞外基質のスラリーを凍結乾燥して天然に発生する細胞外基質の一定の連続気泡型の発泡体を形成する工程を含む方法。 30

【請求項 6 0】

前記天然に発生する細胞外基質の連続気泡型の発泡体がコラーゲン以外の分子を含み、当該コラーゲン以外の分子が前記天然に発生する細胞外基質の原料の形態で存在している請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 1】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を添加する処理を含む請求項 5 9 に記載の方法。 40

【請求項 6 2】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

一定の天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) の組織基質を一定の原料の形態で供給する工程、

前記原料の天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) の組織基質を粉碎して天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) の組織基質の凝集性の部材片を形成する工程、および

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) の組織基質の凝集性の部材片を凍結乾燥して天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) の組織基質の 50

一定の網状の発泡体を形成する工程を含む方法。

【請求項 6 3】

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性 (collageneous) の組織基質の網状の発泡体がコラーゲン以外の分子を含み、当該コラーゲン以外の分子が前記天然に発生する細胞外基質の原料の形態で存在している請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を添加する処理を含む請求項 6 2 に記載の方法。

10

【請求項 6 5】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される組織から誘導されている一定の細胞外基質材料を供給する工程、

前記細胞外基質を物理的に粉碎して細胞外基質の凝集性の部材片を形成する工程、および前記細胞外基質の凝集性の部材片を凍結乾燥して細胞外基質の一定の連続気泡型の発泡体を形成する工程を含む方法。

【請求項 6 6】

前記細胞外基質が天然に発生する細胞外基質を含み、前記細胞外基質を物理的に粉碎する工程が前記天然に発生する細胞外基質を物理的に粉碎する処理を含む請求項 6 5 に記載の方法。

20

【請求項 6 7】

さらに、前記細胞外基質を物理的に粉碎する前に当該細胞外基質を精製する処理を含む請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 8】

さらに、前記細胞外基質を処理して種々の糖タンパク質、グリコシアミノグリカン、プロテオグリカン、脂質、非膠原性タンパク質および核酸を実質的に除去する処理を含む請求項 6 5 に記載の方法。

30

【請求項 6 9】

さらに、前記細胞外基質を物理的に粉碎する前に当該細胞外基質を処理してコラーゲン以外の実質的に全ての物質を除去する処理を含む請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記細胞外基質を物理的に粉碎する工程が当該細胞外基質を一定の液体の存在下に物理的に粉碎する処理を含む請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 7 1】

請求項 6 5 に記載の方法により作成されている製品。

【請求項 7 2】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を含む請求項 7 1 に記載の製品。

40

【請求項 7 3】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な装置を作成する方法において、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される一定の細胞外基質材料を供給する工程、および

前記細胞外基質を一定の液体の存在下に物理的に粉碎して細胞外基質の一定のスラリーを形成する工程を含む方法。

【請求項 7 4】

50

さらに、前記細胞外基質のスラリーを凍結乾燥して細胞外基質の一定の網状の発泡体を形成する処理を含む請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記細胞外基質材料が天然に発生する細胞外基質材料を含み、前記細胞外基質を一定の液体の存在下に物理的に粉碎する工程が天然に発生する細胞外基質を一定の液体の存在下に物理的に粉碎する処理を含む請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 6】

さらに、前記細胞外基質を物理的に粉碎する処理の前に当該細胞外基質を精製する処理を含む請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 7】

さらに、前記細胞外基質を処理して種々の糖タンパク質、グリコシアミノグリカン、プロテオグリカン、脂質、非膠原性タンパク質および DNA および RNA 等のような核酸を実質的に除去する処理を含む請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 8】

請求項 6 6 に記載の方法に従って作成されている製品。

【請求項 7 9】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を含む請求項 7 8 に記載の製品。

【請求項 8 0】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される一定の細胞外基質材料を供給する工程、

前記細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中において懸濁する工程、および

前記細胞外基質材料の部材片および前記液体を凍結乾燥する工程を含む方法。

【請求項 8 1】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を添加する処理を含む請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される一定の細胞外基質材料を供給する工程、

前記細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中において懸濁する工程、

前記天然に発生する細胞外基質の部材片および前記液体を一定の素材に形成する工程、および

前記素材の中に複数の隙間を形成するために前記液体を除去する工程を含む方法。

【請求項 8 3】

さらに、以下の、すなわち、一定の生体活性物質、一定の生物学的に誘導されている物質、種々の細胞、一定の生物学的な潤滑剤、一定の生体相容性の無機材料、および一定の生体相容性のポリマーの内の少なくとも 1 種類を添加する処理を含む請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

一定の液体中における天然に発生する細胞外基質の凝集性の部材片を含有しているスラリー。

10

20

30

40

50

【請求項 8 5】

一定の液体中における細胞外基質の凝集性の部材片を含有している細胞外基質材料のスラリーにおいて、前記細胞外基質材料が小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択されるスラリー。

【請求項 8 6】

一定の患者の関節内における欠陥のある軟骨を治療する方法において、前記関節において前記患者の体内に一定の生体相容性の装置を移植する工程を含み、前記装置が複数の相互接続している気孔を有する天然に発生する細胞外基質を含む一定の発泡体を備えており、前記相互接続している気孔を有する細胞外基質の少なくとも一部分が約 30 ミクロン乃至 100 ミクロンの一定の公称の気孔寸法を有している方法。 10

【請求項 8 7】

一定の患者の関節内における欠陥のある軟骨を治療する方法において、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される一定の細胞外基質材料を供給する工程、前記細胞外基質材料を複数の相互接続している気孔を有する一定の発泡体に形成する工程を含み、前記相互接続している気孔を有する細胞外基質の少なくとも一部分が 30 ミクロン乃至 100 ミクロンの一定の公称の気孔寸法を有しており、さらに前記患者の関節において前記発泡体を移植する工程を含む方法。 20

【請求項 8 8】

病気のまたは損傷した骨を治療する方法において、前記病気のまたは損傷した骨の中に一定の装置を移植する工程を含み、前記装置が複数の相互接続している気孔を有する天然に発生する細胞外基質を含む一定の発泡体を備えており、前記細胞外基質の少なくとも一部分が約 200 ミクロンよりも大きい一定の公称の気孔寸法を有する相互接続している気孔を有している方法。

【請求項 8 9】

病気のまたは損傷した骨を治療する方法において、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、消化管粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜から成る群から選択される一定の細胞外基質材料を供給する工程、前記細胞外基質材料を複数の相互接続している気孔を有する一定の発泡体に形成する工程を含み、前記相互接続している気孔が一定の不規則な形状を有していて三次元的に延在しており、当該相互接続している気孔を有する前記細胞外基質の少なくとも一部分が 200 ミクロンよりも大きい一定の公称の気孔寸法を有しており、さらに前記病気または損傷を有している骨の中に前記発泡体を移植する工程を含む方法。 30

【請求項 9 0】

身体組織を修復または再生するための移植可能な装置において、一定の多孔質な天然に発生する細胞外基質を備えており、当該多孔質な基質が 0.1 g/cc よりも低い一定の密度を有している移植可能な装置。 40

【請求項 9 1】

前記多孔質な基質が 0.04 g/cc よりも低い一定の密度を有している請求項 9 0 に記載の移植可能な装置。

【請求項 9 2】

前記多孔質な基質が 0.01 g/cc よりも低い一定の密度を有している請求項 9 1 に記載の移植可能な装置。

【請求項 9 3】

前記多孔質な天然に発生する細胞外基質が SIS を含む請求項 9 0 に記載の移植可能な装置。

【請求項 9 4】

前記多孔質な基質が一定の網状の発泡体を含む請求項 9 0 に記載の移植可能な装置。

【請求項 9 5】

前記多孔質な基質が一定の連続気泡型の発泡体を含む請求項 9 0 に記載の移植可能な装置。

【請求項 9 6】

前記多孔質な基質が不規則な形状を有する三次元的な相互接続している通路を定めている複数の気孔を含む請求項 9 0 に記載の移植可能な装置。

【請求項 9 7】

一定の細胞外基質材料を加工処理する方法において、前記細胞外基質材料を一定の液体の存在下に粉砕する工程を含む方法。

10

【請求項 9 8】

前記細胞外基質材料が小腸粘膜下組織を含み、

前記粉砕工程が前記小腸粘膜下組織を前記液体の存在下に粉砕する処理を含む請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記液体が水を含み、

前記粉砕工程が前記細胞外基質材料を水の存在下に粉砕する処理を含む請求項 9 7 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の内容の開示】

20

【0 0 0 1】

関連出願に対するクロス・リファレンス

同時係属の「メニスカス・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Meniscus Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 1 号, D E P - 7 4 5)、 「デバイス・フロム・ナチュラリー・オカーリング・バイオロジカル・デライブド・マテリアルズ (Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 2 号, D E P - 7 4 8)、 「カーティレイジ・リペア・アパレイタス・アンド・メソッド (Cartilage Repair Apparatus and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 3 号, D E P - 7 4 9)、 「ユニタリー・サージカル・デバイス・アンド・メソッド (Unitary Surgical Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号 D E P - 7 5 0)、 「ハイブリッド・バイオロジック/シンセチック・ポラス・エクストラセルラー・マトリクス・スキャフォールド (Hybrid Biologic/Synthetic Porous Extracellular Matrix Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 4 号, D E P - 7 5 1)、 「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Cartilage Repair and Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 5 号, D E P - 7 5 2)、 「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・スキャフォールド・アンド・メソッド (Cartilage Repair and Regeneration Scaffolds and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 8 0 号, D E P - 7 6 3)、 および「ポラス・デリバリー・スキャフォールド・アンド・メソッド (Porous Delivery Scaffold and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 2 0 7 号, D E P - 7 6 2) に対してクロス・リファレンスが行なわれており、これらのそれぞれは本特許出願と同一の譲受人に譲渡されており、これらのそれぞれは本特許出願と同時に提出されている、これらのそれぞれは本明細書に参考文献として含まれる。また、2 0 0 2 年 6 月 1 4 日に提出されている「ハイブリッド・バイオロジッ

50

ク・シンセチック・バイオアブソーバブル・スキヤフォルズ (Hybrid Biologic-Synthetic Bioabsorbable Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 172,347 号に対してもクロス・リファレンスが行なわれており、この特許出願は本特許出願と同一の譲渡人に譲渡されており、本明細書に参考文献として含まれる。

【0002】

開示の分野

本発明の開示は一般に一定の細胞外基質の支持骨格材料に関連しており、特に身体組織を修復および再生するための一定の多孔質な細胞外基質の支持骨格材料および当該支持骨格材料を作成するための一定の方法に関連している。

【0003】

発明の背景

天然に発生する種々の細胞外基質 (ECMs) が組織の修復および再生のために用いられている。一例のこのような細胞外基質は小腸粘膜下組織 (SIS) である。SIS は多様な解剖構造的な欠陥部分および外傷性の傷害部分を修復、支持、および安定化するために用いられている。市場において入手可能な SIS 材料は人間の軟質組織の中に移植された時にその宿主の品質を再造形するブタの小腸粘膜下組織から由来している。さらに、この SIS 材料が一定の三次元的な微小構造を伴う一定の天然基質および宿主の細胞増殖を容易にして組織の再造形を支援する生物化学的な組成物を提供することが教示されている。実際に、SIS は人体における軟質組織の修復を補助する種々の増殖因子およびグリコ

スアミノグリカン等のような種々の生物学的な分子を含むことが知られている。整形外科分野において現在用いられている SIS 材料は種々の腱、靱帯および回旋腱板等のような軟質組織を修復または再生するための一定のパッチの形態の一定の乾燥処理および層状化されている構成で供給されている。

【0004】

小腸の粘膜下組織は入手可能ではあるが、粘膜下組織の別の供給源も組織再造形において有効であることが知られている。これらの供給源は、胃、膀胱、消化管、呼吸器、または生殖器の粘膜、あるいは肝臓の基底膜を含むがこれらに限らない。例えば、米国特許第 6,379,710 号、6,171,344 号、6,099,567 号、および 5,554,389 号を参照されたく、これらのそれぞれは本明細書に参考文献として含まれる。

【0005】

さらに、上記 SIS は大抵の場合にブタから由来しているが、これらの種々の粘膜下組織材料はウシおよびヒツジの供給源を含むブタ以外の供給源から由来または誘導できる。加えて、上記の ECM 材料はまたその ECM 材料が誘導される供給源および離層処置等のような種々の要因により層状筋層粘膜、筋層粘膜、粘膜固有層、緻密層および / またはその他の組織材料の部分的な層も含むことができる。

【0006】

本明細書において用いられているように、一定の細胞外基質を洗浄、離層および / または粉砕すること、または当該細胞外基質の中にコラーゲンまたはその他の種々の成分を架橋することが一定の天然に発生する細胞外基質の定義に含まれる。また、上記の天然に発生する基質における 1 種類以上の成分または補助成分を完全にまたは部分的に除去することも天然に発生する細胞外基質の定義に含まれる。しかしながら、上記の天然の成分または補助成分を分離および精製してその精製した天然の成分または補助成分から一定の基質材料を再形成することは上記の一定の天然に発生する細胞外基質の定義には含まれない。また、SIS に対して参照が行なわれているが、別の天然に発生する細胞外基質 (例えば、胃、膀胱、消化管、呼吸器または生殖器の粘膜、および肝臓の基底膜)、またはこれに類似の供給源 (例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ) 等が本発明の開示の範囲に含まれることが理解されると考える。従って、この特許出願において、用語の「天然に発生する細胞外基質 (naturally occurring extracellular matrix)」または「天然に発生する ECM (naturally occurring ECM)」は洗浄、加工処理、滅菌処理、および随意的に架橋されている細胞外基質材料を意味することを目的としている。本明細書に参考文献として含まれる、

10

20

30

40

50

以下の米国特許、すなわち、米国特許第 6,379,710 号、6,187,039 号、6,176,880 号、6,126,686 号、6,099,567 号、6,096,347 号、5,997,575 号、5,993,844 号、5,968,096 号、5,955,110 号、5,922,028 号、5,885,619 号、5,788,625 号、5,762,966 号、5,755,791 号、5,753,267 号、5,733,337 号、5,711,969 号、5,645,860 号、5,641,518 号、5,554,389 号、5,516,533 号、5,460,962 号、5,445,833 号、5,372,821 号、5,352,463 号、5,281,422 号、および 5,275,826 号は種々の組織の再生および修復のための種々の ECM の使用を開示している。

10

【0007】

支持骨格材料の気孔寸法、多孔度、および相互連続性の操作は組織工学の分野に対して貢献している重要な技術であり（マー（Ma）およびツァング（Zhang），2001 年，ジャーナル・オブ・バイオメディカル・マテリアル・リサーチ（J Biomed Mater Res），56（4）巻，p. 469 - 477、マー（Ma）およびチョイ（Choi），2001 年，ティッシュ・エンジニアリング（Tissue Eng），7（1）巻，p. 23 - 33）、この理由は、支持骨格材料の気孔寸法および密度／多孔度の考察が種々の細胞の挙動および再生される組織の品質に影響を及ぼすと考えられるからである。実際に、数人の研究者が気孔寸法が種々の多孔質の三次元的な基質における細胞の挙動に影響を及ぼすことをこれまでに示している。例えば、適当な骨の再生を生じるために支持骨格材料の気孔寸法を少なくとも 100 ミクロンにする必要があることが当該技術分野において論証されている（クラヴィッター（Klawitter）他，1976 年，ジャーナル・オブ・バイオメディカル・マテリアル・リサーチ（J. Biomed. Mater. Res.），10（2）巻，p. 311 - 323）。この気孔寸法よりも小さい気孔寸法および相互連続性の場合においては、不十分な品質の骨が再生され、気孔寸法が 10 ミクロン乃至 40 ミクロンの場合には、骨の細胞が軟質の線維性脈管状の組織を形成することだけが可能である（ホワイト（White）およびショーズ（Shors），1991 年，デンタル・クリニカル・オブ・ノース・アメリカ（Dent Clin North Am），30 巻，p. 49 - 67）。骨の再生の研究において現在において一致している意見は骨の再生に必要な上記の気孔寸法が 100 ミクロン乃至 600 ミクロンであることを示している（ショーズ（Shors），1999 年，オルソペディクス・クリニカル・オブ・ノース・アメリカ（Orthop Clin North Am），30（4）巻，p. 599 - 613、ワング（Wang），1990 年，ニッポン・セイケイゲカ・ガッキ・ザッシ（Nippon Seikeigeka Gakki Zasshi），64（9），p. 847 - 859）。さらに、最適な骨の再生が 300 ミクロン乃至 600 ミクロンの気孔寸法において生じることが一般に受け入れられている。

20

30

【0008】

同様に、靱帯、腱、軟骨、および線維性軟骨等のような軟質の整形組織の再生の場合に、その支持骨格材料の気孔寸法が一定の実質的な影響を有すると考えられている。例えば、基礎的な研究により、種々の軟骨細胞（chondrocytes）が 20 ミクロン程度の気孔寸法を有する種々の支持骨格材料において適当なタンパク質発現（II 型コラーゲン）を示し、約 80 ミクロンの公称の多孔度を有する種々の支持骨格材料において I 型のコラーゲンを生成することが示されている（ネーラー（Nehrer）他，1997 年，バイオマテリアルズ（Biomaterials），18（11）巻，p. 769 - 776）。さらに最近において、種々の靱帯、腱および血管からの細胞（線維芽細胞および内皮細胞）が 5 ミクロン乃至 90 ミクロンの範囲の異なる気孔寸法を有する種々の支持骨格材料において培養した場合に有意義に異なる活性を示すことが示されている（セーラム（Salem）他，2002 年，ジャーナル・オブ・バイオメディカル・マテリアル・リサーチ（J Biomed Mater Res），61（2）巻，p. 212 - 217）。

40

【0009】

発明の概要

50

一例の実施形態によれば、損傷したまたは病気の組織を修復するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する一定の方法が提供されている。この方法は一定の天然に発生する細胞外基質材料の部材片を一定の液体の中に懸濁、混合、またはその他の方法により入れる工程を含む。これらの天然に発生する細胞外基質材料および液体は一定の素材に形成される。これに続いて、この液体は上記の素材中に複数の隙間を形成するために除去される。この例示的な実施形態の一例の特定の実施方法において、上記液体は上記の天然に発生する細胞外基質材料および当該材料を懸濁している液体を凍結乾燥することにより除去されている。このような様式において、上記液体は昇華し、これにより、上記素材中に複数の隙間が形成される。

【 0 0 1 0 】

10

上記支持骨格材料の密度および気孔寸法は上記懸濁液の凍結速度を制御することにより変更可能である。上記の天然に発生する細胞外基質材料の部材片を懸濁する水の量もまた結果として得られる支持骨格材料の密度および気孔寸法を制御するために変更できる。

【 0 0 1 1 】

別の例示的な実施形態によれば、上記の方法により調製した組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料が提供されている。

【 0 0 1 2 】

別の態様において、本発明の開示は身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を提供している。この支持骨格材料は相互連続することにより一定の本体部分の内表面部を定めている天然に発生する細胞外基質の部材片による一定の多孔質な本体部分を備えている。この内表面部は一定の三次元的な形態の不規則な形状を有している。

20

【 0 0 1 3 】

別の態様において、本発明の開示は身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な装置を提供している。この装置は複数の相互連続している気孔を含む一定の三次元的な網状の発泡体を備えている。これらの相互連続している気孔は種々の不規則な形状を有している三次元的な相互連続している通路を定めている。さらに、上記網状の発泡体の少なくとも一部は天然に発生する細胞外基質を含んでいる。

【 0 0 1 4 】

別の態様において、本発明の開示は身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な装置を作成する一定の方法を提供している。この方法は一定の天然に発生する細胞外基質材料を一定の原料の形態で供給する工程、当該原料の天然に発生する細胞外基質を一定の液体の存在下に粉碎して天然に発生する細胞外基質の一定のスラリーを形成する工程、およびこの天然に発生する細胞外基質のスラリーを凍結乾燥処理して天然に発生する細胞外基質の一定の網状の発泡体を形成する工程を含む。

30

【 0 0 1 5 】

別の態様において、本発明の開示は身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する一定の方法を提供している。この方法は一定の天然に発生する細胞外基質材料を一定の原料の形態で供給する工程、当該原料の天然に発生する細胞外基質を粉碎して天然に発生する細胞外基質の凝集性の部材片を形成する工程、およびこの天然に発生する細胞外基質の凝集性の部材片を凍結乾燥処理して天然に発生する細胞外基質の一定の網状の発泡体を形成する工程を含む。

40

【 0 0 1 6 】

本明細書において開示されている上記の移植可能な装置は S I S 等のような種々の E C M の三次元的な多孔質の支持骨格材料である。それゆえ、本発明の開示の教示に基づく一定の移植片が適当な生物化学的組成（種々の E C M 等において自然に見られる種々のコラーゲン、増殖因子、グリコシアミノグリカン等）だけではなく移植における所望の細胞活性を可能にするための適当な物理的微小構造も有する二重の利点を有することが明らかである。また、これらの移植可能な装置は、半月板等のような病気のまたは損傷した線維軟骨、病気のまたは損傷した関節軟骨、および病気のまたは損傷した骨の治療において用いる

50

種々の装置に対応する、外科分野における治療の用途において有用であると考えられる。

【0017】

本発明の開示の上記およびその他の特徴が以下の説明および添付の各図面により明らかになる。

【0018】

図面の詳細な説明

本発明の開示は損傷したまたは病気の組織を修復または再生するために一定の患者の体内に移植するための一定の多孔質な支持骨格材料に関連している。この多孔質な支持骨格材料は一定の天然に発生する細胞外材料により構成されている。例えば、この支持骨格材料はSISにより構成できる。本明細書において詳細に説明されているように、上記支持骨格材料の材料密度および気孔寸法の両方は一定の支持骨格材料の設計の要求に対して適合するように変更可能である。

10

【0019】

このような多孔質の支持骨格材料は一定の液体中に一定の細胞外基質材料の部材片を懸濁することにより製造できる。本明細書において用いられているように、用語の「部材片または破片 (piece)」は任意の線維、一片、リボン、裂片、フィラメント、細断片、小片、フラグメント、部分、フレーク、切片、切断片、切断部分、またはその他の固体または固体状の物質の部分の意味することを目的としている。同様に、本明細書において用いられているように、用語の「懸濁 (suspending)」は一定の実際の懸濁状態が形成されるか否かによらず一定の固体 (例えば、ECMの破片) を一定の液体中に入れる任意の動作を含むことを目的としている。それゆえ、この用語の「懸濁」は一定の固体を一定の液体中に混合する任意の動作または一定の固体を一定の液体中に入れる任意の別の動作を含むことを目的としている。この結果として、上記用語の「懸濁」は種々の懸濁液に限定されることを目的としておらず、むしろ、一定の液体中に存在している一定の固体を有する一定の素材を意味することを目的としている。

20

【0020】

いずれの場合においても、上記細胞外基質材料の部材片および液体の懸濁により、例えば、一定の「スラリー (slurry)」の形態の一定の素材が形成される。これに続いて、この液体は上記素材から除去されて当該素材の中に複数の隙間が形成される。この液体は多数の異なる様式で除去できる。例えば、以下において詳細に説明されているように、この液体は一定の凍結乾燥処理における昇華により除去することも可能である。あるいは、この液体は非加熱状態の真空処理または一定の制御された加熱処理における真空処理のいずれかに上記懸濁液をかけることにより除去することもできる。また、上記液体は超音波により上記懸濁液から除去することも可能である。さらに、マイクロ波エネルギー、RFエネルギー、UVエネルギー、または任意の別の種類のエネルギー (またはこれらの組み合わせ) もまた上記懸濁液から液体を除去するために利用できる。さらに、上記液体は上記懸濁液を通過する空気を強制的に加えるか吸引することにより当該懸濁液から除去することもできる。また、この懸濁液を遠心分離処理することにより上記液体を除去することも可能である。さらに、この液体は、例えば、一定のアルコールの使用等により、除去される一定の水溶性の充填剤を含むことができる。要するに、本発明の開示は任意の液体の除去処理による上記懸濁液からの液体の除去を含む。

30

40

【0021】

上記において示唆されているように、上記の懸濁液から液体を除去するための任意の方法が当該技術分野における熟練者により知られている任意の別の方法と共に利用可能であるが、本発明の開示の方法は一定の凍結乾燥処理 (すなわち、フリーズ・ドライ処理) に関連して本明細書において例示的に説明されている。しかしながら、このような説明が本質的に単に例示的であること、および上記の懸濁液から液体を除去するための種々の方法が一定の支持骨格材料の設計またはプロセス設計の種々の要求に適合するために利用可能であることが当然に理解され则认为する。

【0022】

50

また、上記において示唆されているように、本発明の開示の多孔質の支持骨格材料を製造するための一例の有用な方法は凍結乾燥処理による方法である。この場合に、一定の細胞外基質材料の部材片が一定の液体中に懸濁されている。その後、この懸濁液は凍結され、これに続いて、凍結乾燥処理される。この懸濁液の凍結処理により、その液体は氷の結晶になる。その後、これらの氷の結晶は上記凍結乾燥処理中に減圧下において昇華することにより、これらの氷の結晶によりそれまで占められていた各空間部分の中にその材料の隙間が残る。この結果として得られる支持骨格材料の密度および気孔寸法は、とりわけ、上記懸濁液の凍結速度および/または上記凍結処理の開始時において上記細胞外基質材料が懸濁している水の量を制御することにより変更可能である。

【0023】

上記方法の特定の実施例として、凍結乾燥処理による一定の多孔質なSISの支持骨格材料の製造が詳細に説明されている。しかしながら、本明細書において説明されているこの実施例が一定のSISの支持骨格材料に関連して説明されているが、別の種々の細胞外基質材料により構成されている一定の支持骨格材料の製造もまた一定の同様の様式で行なえることが当然に認識されると考える。

【0024】

一定の所望の気孔寸法および密度を有する一定の多孔質の支持骨格材料を製造する場合の第1の工程は粉碎したSISの調達である。例示的に、はさみで切断したSISのランナー片(約6インチの長さ)をアーシェル・ラボラトリーズ社(Urschel Laboratories)(バルパライソ、インディアナ州)から市場において入手可能な一定の1700シリーズ・コミトロール(Comitrol)(商標)装置の中に配置した。このSIS材料は一定の液体の存在下に加工処理された後に上記装置の出力口において一定の容器の中に収集される。その後、この材料に対して同様の条件下においてこの装置により2回目の処理が行なわれる。一例の方法において、一定の液体(例えば、水)が上記SIS材料と同時に上記装置の入力口の中に導入される。この結果として得られる材料は水中に一定の実質的に均一な様式で懸濁しているSIS材料(約200ミクロンの太さ×1乃至5mmの長さの細く長いSIS線維)の一定の「スラリー(slurry)」である。なお、この懸濁液は上記粉碎処理の一定の副産物として形成されているものとして本明細書において説明されているが、上記SISの部材片が当該技術分野における熟練者において知られている別の様式で上記液体(すなわち、水)中に懸濁可能であることが当然に認識されると考える。さらに、SISを粉碎するための別の方法が知られているが、本発明の開示の目的において、粉碎したSISがリボン状のまたはひも状の線維を含み、この場合に、このようなECMおよびSISの材料の個々の部材片の少なくとも一部がそれぞれの幅および厚さよりも大きな長さを有していることが理解されると考える。このような線維は、望まれる場合に、組み合わせることにより一定のフェルト状の材料を形成することが可能である。

【0025】

使用するブレードの選択、水を使用の有無、使用する水の量、各ブレードの回転速度、および材料が上記装置を通過する回数等を含む加工処理の種々のパラメーターが上記1700シリーズ・コミトロール(Comitrol)(商標)装置により変更可能である。一例として、毎分約2ガロンの水の一定の流量、および約9300rpmの一定速度におけるブレード動作を伴って、アーシェル・ラボラトリーズ社(Urschel Laboratories)からのカッティング・ヘッド140084-10および一定のベリカット(Vericut)シールド・インペラーが使用可能である。これらのパラメーターにおける上記装置内の最初の通過により、異なる寸法の線維性のSIS材料が製造され、2回目の通過により一定のさらに均一な寸法のSIS線維が製造される。例えば、このように粉碎処理した材料は、以下の処理、すなわち、上記粉碎処理したSISの懸濁液またはスラリーを遠心分離し、過剰の水を注ぎ除いて、残留しているスラリーを一定の皿の中に注ぎ入れることにより、本明細書において記載されている例示的な種々の実施形態に関連して使用する場合に望まれる材料に一致性を有しているか否かを決定するために試験することができる。すなわち、手により、上記皿の中の一定の少量の粉碎したSIS材料を親指と人差し指との間において摘んでそ

10

20

30

40

50

の皿から穏やかに持ち上げる。例示的に、上記の親指と人差し指との間に摘まれている部分から先において、少なくとも少量のさらに別のSISが上記の摘まれている材料と共に持ち上がる（「摘み試験（pinch test）」）。つまり、このさらに別のSIS材料は、粉碎したSIS材料の個々の部材片が混ざり合っているか相互に絡まっているために、上記の親指と人差し指との間の材料と共に持ち上がる。

【0026】

上記用語の「凝集性のECM（cohesive ECM）」、「凝集性のSIS（cohesive SIS）」、「凝集性のECM部材片（cohesive ECM pieces）」および「凝集性のSIS部材片（cohesive SIS pieces）」は、個々のECMまたはSISの部材片の1種類以上の形状にかかわらず、一部の条件下（すなわち、重力下）において一体に凝集した状態を維持するECMまたはSISの別々の部材片の一定の素材を形成するために（乾燥状態または湿潤状態において）混ざり合うか相互に絡み合うことが可能なECMまたはSISの部材片を製造するために粉碎またはその他の様式で物理的に処理されているECMまたはSISの材料をそれぞれ示すために本明細書において用いられている。このような凝集性の部材片を含むECMまたはSISの材料を示すための一例の方法は前段において説明されている「摘み試験（pinch test）」である。また、製造した最終的なECMまたはSISの製品の試験もその基本材料が凝集性のECMまたはSISの部材片により構成されていることの証拠を提供することができる。例示的に、上記ECMまたはSISの部材片は上記の発泡体構造を製造するために用いる処理の全体を通して一体化した状態を維持する程度に互いに対して（または上記の混合液またはスラリーにおける別の部材片に対して）十分に凝集性である。このような凝集性のSIS部材片の例が図9および図10の走査電子顕微鏡写真の各画像において示されている。

10

20

【0027】

その後、上記の粉碎したSIS懸濁液は凍結および凍結乾燥処理（すなわち、フリーズ・ドライ処理）される。特に、このSIS懸濁液は形成される氷の結晶の大きさを制御するために一定の制御された温度降下の速度で凍結される。この凍結の後に、その材料が自然に溶けないようにして、上記の凍結乾燥処理により氷の結晶が減圧および低温の条件下に一定の蒸気に直接的に昇華する。このことにより、複数の気孔または隙間が上記氷の結晶により占められていた空間部分の中に残る。

【0028】

上記懸濁液を一定の所望温度に凍結するための任意の市場において入手可能なフリーザーが使用可能である。同様に、任意の市場において入手可能な凍結乾燥装置が上記の凍結乾燥処理のために使用可能である。この凍結乾燥処理を行なうための一例の装置はニューヨーク州ガーデイナーのSPインダストリーズ社（SP Industries, Inc.）から市場において入手可能な一定のビルテイス・ゲネシス（Virtis Genesis）（商標）シリーズの凍結乾燥装置である。

30

【0029】

上記製造方法の種々の処理パラメーターは異なる気孔寸法および材料密度の種々の支持骨格材料を製造するために変更可能である。例えば、上記懸濁液を凍結する速度、当該懸濁液中に存在している水の量、または上記細胞外基質材料の緻密さを変えることにより異なる気孔寸法および材料密度を有する種々の支持骨格材料を製造することが可能である。

40

【0030】

例えば、一定の比較的に大きな気孔寸法および一定の比較的に低い材料密度を有する種々の支持骨格材料を製造するために、上記細胞外基質の懸濁液約 - 20 の一定温度まで一定の遅い制御された速度（例えば、 - 1 / 分以下）で凍結した後に、結果として得られた素材の凍結乾燥処理を行なうことができる。また、一定の比較的に小さな気孔寸法および一定の比較的に高い材料密度を有する種々の支持骨格材料を製造するためには、上記細胞外基質材料は凍結処理の前にこの材料を遠心分離処理してその液体（例えば、水）の一部分を一定の実質的に均一な様式で除去することにより緻密に固めることができる。その後、結果として得られた細胞外基質材料の素材が液体窒素によりフラッシュ凍結された後

50

に、その素材の凍結乾燥処理が行なわれる。また、一定の中程度の気孔寸法および一定の中程度の材料密度を有する種々の支持骨格材料を製造するためには、上記細胞外基質材料は最初に凍結処理の前にこの材料を遠心分離処理してその液体（例えば、水）の一部を一定の実質的に均一な様式で除去することにより緻密に固められる。その後、この結果として得られた細胞外基質材料の素材が約 - 80 の一定温度まで一定の比較的速い速度（例えば、- 1 / 分以上）で凍結された後に、その素材の凍結乾燥処理が行なわれる。

【 0 0 3 1 】

実施例 1

この実施例 1 は一定の比較的大きな気孔寸法および一定の比較的低い材料密度を有する一定の多孔質な S I S 支持骨格材料の製造方法を示している。このような支持骨格材料は - 20 まで一定の遅い制御された速度（- 1 / 分以下）で一定の粉碎した S I S の懸濁液を凍結することにより得られる。この手順は以下のようなものである。すなわち、まず、粉碎した S I S を上述したように製造する。具体的に言えば、はさみで切断した S I S のランナー片（約 6 インチの長さ）を上述したアーシェル・コミットロール（Urschel Comitrol）装置等のような一定の適当な粉碎装置の中に入れる。このように粉碎処理した S I S を上記装置の出力口において一定の容器の中に集める。その後、この集めた材料に対して前と同一の条件下において上記装置を通して 2 回目の処理を行なう。この結果として得られた素材は水中に比較的均一に懸濁している S I S 材料（約 200 ミクロンの太さ × 1 乃至 5 mm の長さの細く長い S I S 線維）の一定の「スラリー（slurry）」である。

【 0 0 3 2 】

次に、以下のように一定の低速凍結エタノール槽を調製した。すなわち、4 個の 24 個ウェル型培養プレートを保持するために十分に大きな一定の平底型のプラスチック容器の中に約 1 センチメートルのヘッド部分が得られるように十分なエタノールを注ぎ入れる。その後、この容器を一定の - 20 のフリーザーの中に入れる。さらに、これら 4 個の空の 24 個ウェル型プレートのそれぞれの質量を記録する。その後、無菌条件による一定の無菌フード下において、一定の約 3 ml 分量の上記の粉碎した S I S 材料を上記組織培養プレートの各ウェルまたは井戸の中に入れる。さらに、この材料の完充状態のプレートのそれぞれの質量を記録する。その後、これらの培養プレートを上記エタノール凍結槽の中に入れて一晩にわたり自然に凍結させた。

【 0 0 3 3 】

その後、上記の凍結プレートを上記エタノール槽から除去して、上述したビルテイス・ゲネシス（Virtis Genesis）シリーズの凍結乾燥装置等のような、一定の適当な凍結乾燥装置の中に入れた。次に、凍結した S I S 材料を自然に溶かすことなく、凍結乾燥処理により減圧および低温の条件下に氷の結晶を蒸気に直接的に昇華した。このことにより、複数の気孔または隙間がそれまでに上記氷の結晶により占められていた空間部分の中に残る。この場合に、この凍結乾燥処理において用いた各パラメーターは 8 時間にわたる 13 の一次乾燥温度における第 1 の期間に続き、4 時間にわたる 35 の二次乾燥温度における第 2 の期間を含む。

【 0 0 3 4 】

上記の凍結乾燥工程が完了した後に、上記の各プレートを凍結乾燥装置から除去して、各プレートの質量が決定して記録される。この処理における結果が以下の表においてまとめられている。

【 表 1 】

平均容積	平均質量	平均密度
1.249 ml	0.007396 g	0.006 (g/cc)

【 0 0 3 5 】

相対的な気孔寸法を可視化するために各サンプルの表面の一定の走査電子顕微鏡画像を撮

影した。これらの気孔寸法は約 600 ミクロン乃至約 700 ミクロンである。上記実施例 1 に従って調製した各サンプルを示す一定の画像が図 1 において示されている。

【0036】

種々の気孔寸法が図 1 乃至図 3 および図 8 におけるような一定の発泡体の外表面部および図 4 乃至図 7 におけるような一定の発泡体の断面のそれぞれの走査電子顕微鏡画像により決定できる。これらの画像はそれぞれの気孔寸法の範囲を決定するために標準的な市場において入手可能な画像分析ソフトウェアと共に使用可能である。図 4 乃至図 6 は一定の発泡体の中における気孔寸法を測定および推定するための適当な市場において入手可能なソフトウェアによる結果をそれぞれ示している。この技法を用いて上記実施例 1 の発泡体が 600 ミクロン乃至 700 ミクロンの範囲内の気孔を有していることが決定されている。10

【0037】

実施例 2

この実施例 2 は一定の比較的に中程度の気孔寸法および一定の比較的に中程度の材料密度を有する一定の多孔質な SIS 支持骨格材料の製造方法を示している。このような支持骨格材料は上記の粉碎した SIS 材料を遠心分離処理により固めて、一定の比較的に低い温度まで（すなわち、-80℃ まで）一定の比較的に速い速度で（上記実施例 1 に比較して）凍結した後に、結果として得られた素材を凍結乾燥処理することにより得られる。この手順は以下のものである。すなわち、最初に、粉碎した SIS を上記実施例 1 に関連して説明されているように製造した。具体的に言えば、はさみで切断した SIS のランナー片（約 6 インチの長さ）を一定の適当な粉碎装置の中に 2 回通すことにより水中において比較的10 に均一に懸濁している SIS 材料（約 200 ミクロンの太さ × 1 mm 乃至 5 mm の長さの細く長い SIS 線維）の一定の「スラリー（slurry）」を製造する。

【0038】

次に、4 個の空の 24 個ウェル型プレートのそれぞれの質量を記録する。その後、無菌条件による一定の無菌フード下において、一定の約 3 ml 分量の上記の粉碎した SIS 材料を上記組織培養プレートの各ウェル中に入れる。さらに、この材料の完充状態のプレートのそれぞれの質量を記録する。

【0039】

その後、以下の技法の使用により遠心分離処理するために各プレートの重量を釣り合わせる。すなわち、2 個のプレートを天秤に置き、これらの 2 個のプレートが釣り合うまで、比較的に軽いプレートの各ウェルの間の領域に RO 水を加える。その後、これら 2 個のプレートを遠心分離装置の中において互いに反対側に配置して、7 分間にわたり 3000 rpm において遠心分離処理する。この処理の終了後に、各プレートを遠心分離装置から除去して、これらから水を除く。次に、各プレートのそれぞれの質量を記録する。さらに、残りのプレートについてこの遠心分離および質量測定の処理を繰り返す。30

【0040】

その後、上記のプレートを各試料が完全に凍結するまで一定の -80℃ のフリーザーの中に入れる。それぞれの材料の量に応じて、完全に凍結する時間が、例えば、約 1 分乃至約 30 分等のように変わり得る。その後、凍結した各プレートを上記フリーザーから除去して、一定の適当な凍結乾燥装置の中に入れて上記実施例 1 に関連して説明されているものと同様のパラメーター（すなわち、8 時間にわたる 13℃ の一次乾燥温度における第 1 の期間に続き、4 時間にわたる 35℃ の二次乾燥温度における第 2 の期間）において凍結乾燥処理する。40

【0041】

上記凍結乾燥工程の完了後に、各プレートを凍結乾燥装置から除去して、各プレートの質量を決定して記録した。この方法による結果が以下の表においてまとめられている。

【表 2】

平均容積	平均質量	平均密度
0.285 ml	0.010104 g	0.035 g/cc

【 0 0 4 2 】

上記実施例 1 のサンプルの場合と同様に、相対的な気孔寸法を可視化するために上記実施例 2 に従って調製した各サンプルの表面の一定の走査電子顕微鏡画像を撮影した。さらに、この実施例 2 に従って調製した各サンプルを示す一定の画像が図 2 において示されている。また、気孔寸法を決定するための上述した技法により、このサンプルが約 1 0 0 ミクロン乃至 1 5 0 ミクロンの範囲内の気孔を有していることが分かった。

【 0 0 4 3 】

実施例 3

この実施例 3 は一定の比較的に小さな気孔寸法および一定の比較的に高い材料密度を有する一定の多孔質な S I S 支持骨格材料の製造方法を示している。このような支持骨格材料は上記実施例 2 におけるよりもさらに高い一定の密度に上記の粉碎した S I S 材料を固めて、液体窒素によりこれらのサンプルをフラッシュ凍結処理した後に、凍結乾燥処理を行なうことにより得られる。この手順は以下のものである。すなわち、最初に、粉碎した S I S を上記実施例 1 および 2 に関連して説明されているように製造した。具体的に言えば、はさみで切断した S I S のランナー片（約 6 インチの長さ）を一定の適当な粉碎装置の中に 2 回通すことにより水中において比較的に均一に懸濁している S I S 材料（約 2 0 0 ミクロンの太さ × 1 mm 乃至 5 mm の長さの細く長い S I S 線維）の一定の「スラリー（slurry）」を製造する。この処理の後に、結果として得られた素材を一定の積載重量下に遠心分離処理する。この積載重量は以下のように調製する。コバン（Coban）の 4 8 個の切片を 5 0 mm の長さで 5 mm の幅（無延伸状態）の部材片に切り出す。その後、これらの部材片を引き伸ばして 1 c m の直径で 2 mm の厚さの一定のポリエチレン・ディスクの外縁部の周りに巻き付ける。必要であれば、各切片を整形して、上記コバンの各切片を上記ディスクの周囲に 2 回巻き付けることもできる。

【 0 0 4 4 】

次に、4 個の空の 2 4 個ウェル型プレートのそれぞれの質量を記録する。その後、無菌条件による一定の無菌フード下において、一定の約 3 m l 分量の上記の粉碎した S I S 材料を上記組織培養プレートの各ウェル中に入れる。さらに、この材料の完充状態のプレートのそれぞれの質量を記録する。その後、上記実施例 2 に関連して説明されているように各プレートの重量を釣り合わせて遠心分離処理する。その後、水を各プレートから排出して、遠心分離処理したプレートのそれぞれの質量を記録する。

【 0 0 4 5 】

上記の処理の完了後に、各プレートの各ウェルを 2 : 1 の一定の比率で組み合わせることによりプレートの数を 4 個から 2 個に減らす。さらに、少量の材料のウェルを多量の材料の各ウェルと混合して各ウェルにおいてある程度に一貫している量の S I S 材料を得る試みを行なう。その後、このようにして完充したプレートの質量を記録した。次に、上記コバンを巻き付けた各ポリエチレン・ディスクを各ウェルの中に入れた。その後、上記 2 個のプレートを上記実施例 2 に関連して説明されている技法によりその重量を釣り合わせた。次に、これらのプレートを 5 分間にわたり 3 0 0 0 r p m で遠心分離処理した。その後、各プレートを遠心分離装置から除去して、水をこれらから排除し、ポリエチレン・ディスクも除去する。次に、各プレートの質量を再び記録する。さらに、これら 2 個のプレートの重量を（上記実施例 2 に関連して説明されているのと同様の一定の様式で）再び釣り合わせて、各プレートを 7 分間にわたり 3 0 0 0 r p m で再び遠心処理した。この処理の終了後に、水を再び各プレートから除去して、各プレートの質量を再び記録する。

【 0 0 4 6 】

上記の遠心分離処理と同時に、一定の液体窒素槽を一定の広口型の液体窒素容器の中に液

体室素を注ぎ入れることにより調製する。上記の各プレートはこの槽が準備されるまで遠心分離装置の中に保持されている。その後、各プレートがこの槽の中に浸漬されて、約 15 秒間にわたりこの液体の中に保持される。この室素槽から取り出す際に、各プレートは解凍を避けるために一定の - 80 のフリーザーの中に速やかに入れられる。その後、これらの凍結したプレートはフリーザーから取り出されて、一定の適当な凍結乾燥装置の中に配置されて上記実施例 1 および 2 に関連して説明されているのと同様のパラメーター（すなわち、8 時間にわたる 13 の一次乾燥温度における第 1 の期間に続き、4 時間にわたる 35 の二次乾燥温度における第 2 の期間）に従って凍結乾燥処理される。

【0047】

上記凍結乾燥工程の完了後に、各プレートを凍結乾燥装置から除去して、各プレートの質量を決定して記録した。この方法による結果が以下の表においてまとめられている。

【表 3】

平均容積	平均質量	平均密度
0.786 ml	0.071563 g	0.091 g/cc

【0048】

上記実施例 1 および 2 の各サンプルの場合と同様に、相対的な気孔寸法を可視化するために上記実施例 3 に従って調製した各サンプルの表面の一定の走査電子顕微鏡画像を撮影した。また、この実施例 3 に従って調製した各サンプルを示す一定の画像が図 3 において示されている。さらに、気孔寸法を決定するための上記の技法を用いて、上記サンプルが約 40 ミクロン乃至 60 ミクロンの範囲内の気孔を有していることが分かった。このような気孔寸法は図 4 乃至図 6 においてそれぞれ矢印により示されている。

【0049】

図 1 乃至図 8 の操作電子顕微鏡の各画像において示されているように、図示の各 ECM 発泡体は複数の相互接続している気孔を定めている網状の天然に発生する ECM による一定の三次元的な網状構造を含んでいる。この発泡体はその高さ、幅、および厚さの全体を通してこれらの気孔を有している。これらの気孔は連続状であり相互接続して上記発泡体の外表面部（図 1 乃至図 3 および図 8 を参照されたい）から当該発泡体の内部（図 4 乃至図 7 の各断面を参照されたい）まで延びている複数の不規則に形付けられた相互接続している通路を定めている。また、これらの相互接続している通路は三次元的である。なお、上述したように、各気孔の寸法、すなわち、上記の相互接続している通路に対応する最大の寸法は上記のような製造方法を制御することにより制御可能である。

【0050】

上記の相互接続している各通路はその移植片の内部における細胞の移動を容易にして、生体内における効率的な栄養素の交換を可能にしている。これらの相互接続している通路はまた種々の生体活性物質、生物学的に誘導されている物質（例えば、種々の刺激因子）、細胞および/または生物学的な潤滑剤、生体相容性の無機材料、合成ポリマーおよび生体ポリマー（例えば、コラーゲン）を移植の前に上記 ECM の長さ、幅および厚さの全体を通して伝達する一定の手段も提供している。また、このような気孔により定められている相互接続している通路は、上記発泡体を化学的に架橋するために用いられる種々の化合物等のような、上記の製造方法の途中において用いられる種々の材料のための通路としても作用する。さらに、これらの相互接続している通路ならびに上記発泡体の外表面部は上記種々の材料が担持される種々の部位としても作用できる。

【0051】

上記の各実施例において示されているように、上記処理の各パラメーターは特定の用途に対応する所望の多孔度を有する一定の ECM 発泡体を製造するために変更可能である。例えば、種々の骨細胞に関連する種々の用途に対応する比較的に低い密度（および比較的に高い多孔度）を有する一定の発泡体を製造すること、および種々の軟骨細胞に関連する種

々の用途に対応する比較的の高い密度（および比較的に低い多孔度）を有する一定の発泡体を製造することが望ましいと考えられる。

【0052】

さらに、本明細書において記載されている種々のECM発泡体は架橋することもできる。具体的に言えば、本明細書において記載されているECM発泡体は化学的にまたは物理的に架橋できる。

【0053】

上記の図1乃至図8の走査電子顕微鏡の各画像において見られるように、図示の各ECM発泡体は天然に発生する細胞外基質の相互接続している部材片を含んでいる。さらに、図4乃至図7の各ECM発泡体の断面の走査電子顕微鏡画像において示されているように、天然に発生する細胞外基質の相互接続している部材片は上記発泡体に不規則な形状の一定の三次元的な形態を有する一定の内表面部を備えている。また、上記ECM発泡体の各面部の走査電子顕微鏡画像において示されているように、上記の相互接続している天然に発生する細胞外基質の部材片は上記発泡体に不規則な形状の三次元的な形態を有する一定の外表面部を備えている。これらの不規則な三次元的な形態および相互接続している各通路により、本発明の開示の種々のECM発泡体は天然に発生するECMの一定の比較的に大きな表面積を形成している。さらに、このような天然に発生するECMの大きな表面積は種々の生物学的な物質、生物学的に誘導されている物質、細胞、生体相容性のポリマーおよび生体相容性の無機材料が移植前に固定することのできる一定の比較的に大きな表面積を提供していることにおいて有利であると言える。加えて、例示されている各ECM発泡体は種々の細胞が生体内において結合可能である天然に発生するECMの一定の比較的に大きな表面積を形成している。

10

20

【0054】

上記のECM発泡体の各製品は上記以外のECM製品の密度よりも実質的に低い密度を有して作成することができる。比較のために、市場において入手可能なレストア（RESTORE）（登録商標）製品である一定のECM積層体の密度は $0.466 \pm 0.074 \text{ g/cc}$ である。また、「デバイス・フロム・ナチュラリー・オカール・バイオロジカル・デライブド・マテリアルズ（Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials）」を発明の名称とする米国特許出願第XX/XXX,XXX号（代理人明細書番号第265280-71142号, DEP-748）において記載されているような粉碎および硬質化したSISにより構成されている一定のECM製品は $0.747 \pm 0.059 \text{ g/cc}$ の一定の密度を有して作成されている。さらに、「メニスカス・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド（Meniscus Regeneration Device and Method）」を発明の名称とする米国特許出願第XX/XXX,XXX号（代理人明細書番号第265280-71141号, DEP-745）において記載されているような増強したSIS積層体により構成されている一定のECM製品は $0.933 \pm 0.061 \text{ g/cc}$ の一定の密度を有して作成されている。

30

【0055】

上述したように、本発明の開示のECM発泡体は種々の生体活性物質、生物学的に誘導されている物質、細胞および/または刺激因子、生体相容性の無機材料および/または生体相容性のポリマー（例えば、種々の生体相容性の合成ポリマーおよび生体ポリマー）およびこれらの材料の2種類以上の組み合わせ物を製造時において組み合わせることができる。例示的に、種々の細胞が上記ECM発泡体の三次元的な空間全体に接種可能であり、種々の生物学的な材料が製造時に上記ECM発泡体において乾燥可能であり、種々の生物学的材料および上記ECM発泡体が同時に凍結乾燥可能であり、さらに、種々の生物学的材料が上記ECM発泡体に対して共役的に連結できる。なお、上記の各材料の1種類以上を上記ECM発泡体の形成前にその原料のECM材料に対して結合、架橋、またはその他の方法により組み込むことが考慮されている。あるいは、これらの材料は凍結乾燥処理後にその最終的なECM発泡体に対して結合、架橋、またはその他の方法により組み込むことも可能であると考えられる。さらに、上記の方法の種々の組み合わせが使用可能である。

40

50

例えば、共役的に連結しているECM発泡体および生物学的な潤滑剤の一定の移植片を移植して、さらに同一のまたは異なる1種類以上の生物学的な潤滑剤の付加的な関節内注射をその手術中、手術後、または手術中および手術後の両方において行なうことができる。

【0056】

上記の「生体活性物質 (Bioactive agents)」は以下のような、すなわち、種々の化学走性物質、治療剤 (例えば、種々の抗生物質、ステロイド系および非ステロイド系の鎮痛薬および抗炎症薬、免疫抑制剤および抗癌薬等のような拒絶物質)、種々のタンパク質 (例えば、種々の短鎖ペプチド、骨形態発生性タンパク質、糖タンパク質およびリポタンパク質)、細胞結合媒介物質、生物学的に活性なリガンド、インテグリン結合性シーケンス、種々のリガンド、種々の増殖および/または分化物質 (例えば、表皮増殖因子、IGF-I、IGF-II、TGF- β 1、TGF- β 2、増殖および分化の各因子、脈管内皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、インスリン由来増殖因子および形質転換増殖因子、副甲状腺ホルモン、副甲状腺関連タンパク質、bFGF、TGF- α 因子、BMP-2、BMP-4、BMP-6、BMP-12、ソニック・ヘッジホッグ (sonic hedgehog)、GDF5、GDF6、GDF8、PDGF)、特定の増殖因子のアップレギュレーションに影響を及ぼす小分子、テネイシンC、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、フィブロネクチン、デコリン (decorin)、トロンプエラスチン、トロンプ由来ペプチド、ヘパリン結合性ドメイン、ヘパリン、ヘパラン硫酸、DNAフラグメントおよびDNAプラスミドの1種類以上を含む。また、別の上記のような物質が整形外科の分野において治療的価値を有する場合には、これらの物質の少なくとも一部が本発明の開示の概念における有用性を有することが予想され、このような物質は特別に限定されない限りにおいて上記の「生体活性物質 (bioactive agent) および (bioactive agents)」の意味に当然に含まれると考えられる。

【0057】

上記の「生物学的に誘導されている物質 (Biologically derived agents)」は以下のような、すなわち、骨 (自家移植片、同種移植片および異種移植片) および骨の種々の誘導体、例えば、半月板組織を含む軟骨 (自家移植片、同種移植片および異種移植片) および種々の誘導体、靱帯 (自家移植片、同種移植片および異種移植片) および種々の誘導体、例えば、粘膜下組織を含む腸管組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、例えば、粘膜下組織を含む胃組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、例えば、粘膜下組織を含む膀胱組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、例えば、粘膜下組織を含む消化管組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、例えば、粘膜下組織を含む呼吸器組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、例えば、粘膜下組織を含む生殖器組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、例えば、肝臓基底膜を含む肝臓組織の種々の誘導体 (自家移植片、同種移植片および異種移植片)、皮膚組織の種々の誘導体、高濃度血小板血漿 (PRP)、低濃度血小板血漿、骨髓吸引液、鉍物質除去化骨基質、インスリン由来増殖因子、全血、フィブリンおよび血液クロットの1種類以上を含む。さらに、精製したECMおよびその他のコラーゲン供給源もまた上記の「生物学的に誘導されている物質」の中に含まれるべきであると考えられる。また、別の上記のような物質が整形外科の分野において治療的価値を有する場合には、これらの物質の少なくとも一部が本発明の開示の概念における有用性を有することが予想され、このような物質は特別に限定されない限りにおいて上記の「生物学的に誘導されている物質 (biologically derived agent) および (biologically derived agents)」の意味に当然に含まれると考えられる。

【0058】

上記の「生物学的に誘導されている物質 (Biologically derived agents)」はまた生体再造形可能な種々の膠原性 (collageneous) の組織基質も含む。さらに、この表現の「生体再造形可能な膠原性組織基質 (bioremodelable collagenous tissue matrix)」および「天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質 (naturally occurring bioremodelab

10

20

30

40

50

le collagenous tissue matrix)」は皮膚、動脈、静脈、心膜、心臓弁、硬膜、靱帯、骨、軟骨、膀胱、肝臓、胃、筋膜および腸管、腱、および同類の供給源から成る群から選択される天然組織から誘導されている種々の基質を含む。この「天然に発生する生体再造型可能な膠原性 (collagenous) 組織基質」は洗浄、加工、滅菌、および随意的に架橋されている基質材料を意味することを目的としているが、種々の天然の線維を精製して精製した天然の線維から一定の基質材料を再形成することは一定の天然に発生する生体再造型可能な膠原性 (collagenous) 組織基質の定義には含まれない。さらに、上記用語の「生体再造型可能な膠原性組織基質 (bioremodelable collagenous tissue matrices)」は「種々の細胞外基質 (extracellular matrices)」をその定義内に含む。

【0059】

上記の「細胞 (Cells)」は以下のような、すなわち、種々の軟骨細胞、線維軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、骨膜細胞、骨髄細胞、間葉細胞、間質細胞、幹細胞、胚芽幹細胞、脂肪組織から由来または誘導した前駆体細胞、末梢血液先祖細胞、成人組織から単離した幹細胞、遺伝的に形質転換した細胞、軟骨細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、骨細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、骨膜細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、骨髄細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、間葉細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、間質細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、幹細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、胚芽幹細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、成人組織から単離した前駆体細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、末梢血液先祖細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、成人組織から単離した幹細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物、および遺伝的に形質転換した細胞および別の細胞の一定の組み合わせ物の1種類以上を含む。さらに、別の細胞が整形外科の分野において治療的価値を有していることが分かった場合には、これらの細胞の少なくとも一部が本発明の開示の概念における有用性を有することが予想され、このような細胞は特別に限定されない限りにおいて上記の「細胞 ((cell) および (cells))」の意味に当然に含まれると考えられる。

【0060】

上記の「生物学的な潤滑剤 (Biological lubricants)」はヒアルロン酸ナトリウム等のようなヒアルロン酸およびその塩類、デルマタン硫酸等のようなグリコサミノグリカン、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸およびケラタン硫酸、種々のムチン糖タンパク質 (例えば、ルブリシン (lubricin)) を含む骨膜液および骨膜液の種々の成分、ビトロネクチン、トリボネクチン (tribonectins)、関節軟骨表面領域タンパク質、表面活性リン脂質、潤滑性糖タンパク質 I, II、および雄鶏冠 (rooster comb) ヒアルロネート等を含む。この「生物学的な潤滑剤」はまた英国リーズのデピュイ・インターナショナル社 (De Puy International, Ltd.) から欧州において入手可能であり、イスラエル国レボボットのバイオ・テクノロジー・ジェネラル (イスラエル) 社 (Bio-Technology General (Israel) Ltd.) により製造されているアースリース TM (ARTHREASETM) 高分子量ヒアルロン酸ナトリウム、ニュージャージー州リッジフィールドのバイオマトリクス社 (Biomatrix, Inc.) により製造されていて、ペンシルバニア州フィラデルフィアのワイエス・エイエルスト・ファーマシューティカルズ社 (Wyeth-Ayerst Pharmaceuticals) により配給されているシンビスク (SYNVISC) (登録商標) ハイラン (Hylan) G - F 20、ニューヨーク州ニューヨークのサノフィ・シンセラボ社 (Sanofi-Synthelabo, Inc.) から入手可能であり、イタリア国パジュアのフィデア S. p. A 社 (FIDIA S.p.A) により製造されているハイラガン (HYLAGAN) (登録商標) ヒアルロン酸ナトリウム、および 1%、1.4% および 2.3% (眼科学的使用用) の濃度でニュージャージー州ピーパックのファーマシア・コーポレーション社 (Pharmacia Corporation) から入手可能であるヘアロン (HEALON) (登録商標) ヒアルロン酸ナトリウム等のような種々の市販製品を含むことも目的としている。また、別の上記のような物質が整形外科の分野において治療的価値を有する場合には、これらの物質の少なくとも一部が本発明の開示の概念における有用性を有することが予想され、このような物質は特別に限定されない限りにおいて上記の「生物学的な潤滑剤 ((biological luburicant) および (biological luburicants))」の意味に

10

20

30

40

50

当然に含まれると考えられる。

【0061】

上記の「生体相容性のポリマー (Biocompatible polymers)」は種々の合成のポリマーおよび種々の生体ポリマー (例えば、コラーゲン等) の両方を含むことを目的としている。このような生体相容性のポリマーの例はポリ (L-ラクチド) (PLLA) およびポリグリコリド (PGA) 等のような種々の [アルファ] - ヒドロキシカルボン酸のポリエステル、ポリ - p - ジオキサノン (PDS)、ポリカプロラクトン (PCL)、ポリビニル・アルコール (polyvinyl alcohol) (PVA)、ポリエチレン・オキシド (PEO)、米国特許第 6, 333, 029 号および 6, 355, 699 号において開示されている種々のポリマー、および種々のプロテゼ移植片の構成において利用されている種々のポリマーまたはコポリマーの任意の別の生体吸収性で生体相容性のポリマー、コポリマーまたは種々のポリマーまたはコポリマーの混合物を含む。加えて、新しい生体相容性で生体吸収性の材料が開発される場合に、これらの材料の少なくとも一部がその材料により種々の固定手段が作成可能になる有用な材料になることが予想される。従って、上記の材料は例示のみを目的として示されており、本発明の開示が特許請求の範囲において特別に記載されていない限り任意の特定の材料に限定されないことが当然に理解されるべきである。

10

【0062】

上記の「生体相容性の無機材料 (Biocompatible inorganic materials)」はヒドロキシアパタイト、全てのリン酸カルシウム、リン酸アルファ - トリカルシウム、リン酸ベータ - トリカルシウム、炭酸カルシウム、炭酸バリウム、硫酸カルシウム、硫酸バリウム、種々のリン酸カルシウムの多形体、セラミック粒子、およびこれらの材料の組み合わせ物等のような種々の材料を含む。また、別の上記のような物質が整形外科の分野において治療的価値を有する場合には、これらの物質の少なくとも一部が本発明の開示の概念における有用性を有することが予想され、このような物質は特別に限定されない限りにおいて上記の「生体相容性の無機物質 (biocompatible inorganic material) および (biocompatible inorganic materials)」の意味に当然に含まれると考えられる。

20

【0063】

種々の生体活性物質、生物学的に誘導されている物質、細胞、生物学的な潤滑剤、生体相容性の無機材料、生体相容性のポリマーの種々の組み合わせ物が上記本発明の開示の種々の支持骨格材料と共に使用可能であることが予想される。

30

【0064】

また、標準的な種々の滅菌技法が本発明の開示の種々の製品と共に使用可能であることが予想される。

【0065】

例示的に、種々の軟骨細胞等のような生活細胞により接種する実施形態の一例において、一定の滅菌処理した移植片を種々の生活細胞により接種し、これに続いて、その使用した細胞型に対して適当な一定の培地内において包装することができる。例えば、ダルベッコ修飾イーグル培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (DMEM) を含む一定の細胞培養培地が、細胞型に対して適当と思われる濃度および輸送条件等において、種々の可欠アミノ酸、グルコース、アスコルビン酸、ピルビン酸ナトリウム、殺真菌薬、抗生物質等のような標準的な添加物と共に使用可能である。

40

【0066】

本発明の開示の ECM 発泡体が、2002 年 6 月 14 日に出願されている「ハイブリッド・バイオロジック - シンセチック・バイオアブソーバブル・スキャフォールド (Hybrid Biologic-Synthetic Bioabsorbable Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 172, 347 号と共に、本特許出願と同時に開示されている、それぞれの内容全体が本明細書に参考文献として含まれている、以下の特許出願、すなわち、「メニスカス・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Meniscus Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 XX / XXX, XXX 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71141 号, DEP - 745)、「デバイス・フロム・ナチュ

50

ラリー・オカーリング・バイオロジカリー・デライブド・マテリアルズ (Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 2 号, D E P - 7 4 8)、「カーティレイジ・リペア・アパレイタス・アンド・メソッド (Cartilage Repair Apparatus and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 3 号, D E P - 7 4 9)、「ユニタリー・サージカル・デバイス・アンド・メソッド (Unitary Surgical Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号 D E P - 7 5 0)、「ハイブリッド・バイオロジック/シンセチック・ポーラス・エクストラセルラー・マトリクス・スキャフォールド (Hybrid Biologic/Synthetic Porous Extracellular Matrix Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 4 号, D E P - 7 5 1)、「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Cartilage Repair and Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 5 号, D E P - 7 5 2)、「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・スキャフォールド・アンド・メソッド (Cartilage Repair and Regeneration Scaffolds and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 8 0 号, D E P - 7 6 3)、および「ポーラス・デリバリー・スキャフォールド・アンド・メソッド (Porous Delivery Scaffold and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 X X / X X X , X X X 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 2 0 7 号, D E P - 7 6 2) において開示されているそれぞれの概念と共に組み合わせることが可能であると予想される。例えば、整形外科の種々の用途において、移植処理がその移植部位へのヒアルロン酸の投与を含む一定の治療プログラムを伴うかこれに従うことが望ましいと考えられる。

【 0 0 6 7 】

上記から分かるように、本発明の開示の概念は多数の利点を提供している。例えば、本発明の開示の概念は一定の支持骨格材料の設計の要求に対して適合するために変更可能な種々の機械的特性を有することのできる一定の多孔質の移植可能な支持骨格材料の製造方法を提供している。例えば、気孔寸法および材料密度を変更して一定の所望の機械的な構成を有する一定の支持骨格材料を提供することができる。とりわけ、このような支持骨格材料の気孔寸法および材料密度の多様性は内部を通過する一定の所望量の細胞移動を提供すると共に、一定の所望量の構造的な剛性を提供する一定の支持骨格材料を設計する場合に特に有用である。加えて、本発明の開示の概念によれば、移植における所望の細胞活性を可能にする適当な物理的な微小構造を有するだけでなく、種々の E C M 等において天然に見られるような生物化学的組成 (種々のコラーゲン、増殖因子、グリコサミノグリカン等) を有している種々の移植可能な装置が製造可能になる。

【 0 0 6 8 】

天然に発生する細胞外基質は精製した細胞外基質に優る種々の利点を提供すると考えられるが、本発明の開示が精製した細胞外基質にも適用可能であることが考慮されている。従って、天然に発生する細胞外基質をその細胞外基質の物理的な粉碎の前に精製することが可能になると予想される。この精製は一定の細胞外基質を物理的に粉碎する前にコラーゲン以外の実質的に全ての物質を除去するためにその天然に発生する細胞外基質を処理することを含むと考えられる。また、この精製は種々の糖タンパク質、グリコサミノグリカン、プロテオグリカン、脂質、非膠原性タンパク質および核酸 (D N A および R N A) を実質的に除去するために実施できると考えられる。

【 0 0 6 9 】

上記の開示は種々の変更および代替的な形態が可能であるが、その特定の代表的な実施形態が各添付図面において例示のために示されていて詳細に説明されている。しかしながら、これらの開示されている特定の形態に本発明の開示を限定することを全く目的としてい

ないこと、および、これとは逆に、この目的が当該開示の趣旨および範囲に該当する全ての変更例、等価物、および代替物を含むことであることが当然に理解され则认为する。

【 0 0 7 0 】

本明細書において記載されている装置および方法の種々の特徴から生じる本発明の開示の複数の利点が存在している。さらに、本発明の開示における装置および方法の代替的な種々の実施形態が上記の記載されている特徴の全てを含まないがこれらの特徴の利点の少なくとも一部から依然として恩恵を受けている可能性があることに注目する必要がある。また、当該技術分野における通常の熟練者は本発明の開示における特徴の 1 個以上を含み、本発明の開示の趣旨および範囲内に該当する一定の装置および方法のそれぞれ固有の実施方法を容易に考え出すことができる。

10

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 7 1 】

上記の詳細な説明は特に以下の各図面に基づいている。

【 図 1 】 一定の比較的に大きな気孔寸法および一定の比較的に低い材料密度を有している一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の表面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像である。

【 図 2 】 一定の比較的に中程度の気孔寸法および一定の比較的に中程度の材料密度を有している一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の表面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像である。

【 図 3 】 一定の比較的に小さな気孔寸法および一定の比較的に高い材料密度を有している一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の表面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像である。

20

【 図 4 】 矢印により示されている気孔の一例を伴う一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の断面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像であり、この画像は図 1 乃至図 3 の各画像よりも大きな一定の倍率である。

【 図 5 】 矢印により示されている気孔の例を伴う一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の断面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像であり、この画像は図 1 乃至図 3 の各画像よりも大きな一定の倍率である。

【 図 6 】 矢印により示されている気孔の例を伴う一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の断面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像であり、この画像は図 1 乃至図 3 の各画像よりも大きな一定の倍率である。

30

【 図 7 】 一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の断面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像であり、この画像は図 1 乃至図 3 の各画像よりも大きな一定の倍率である。

【 図 8 】 一定の多孔質な網状の S I S の連続気泡型支持骨格材料の表面を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像であり、この画像は図 1 乃至図 3 の各画像よりも大きな一定の倍率である。

【 図 9 】 凝集性の S I S の部材片の一定の素材を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像である。

【 図 1 0 】 凝集性の S I S の部材片の一定の素材を示している一定の走査電子顕微鏡写真による画像である。

40

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
30 January 2003 (30.01.2003)

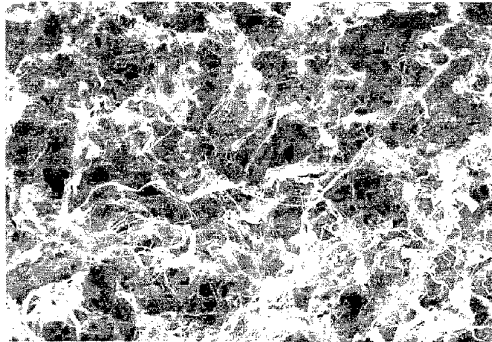
PCT

(10) International Publication Number
WO 03/007789 A2

- (51) International Patent Classification: **A61B** IN 46804 (US); SCHWARTZ, Herbert, Eugene [US/US]; 11702 Pennat Run, Fort Wayne, IN 46845 (US); PLOUHAR, Pamela, Lynn [US/US]; 17411 Battles Road, South Bend, IN 46614 (US); PELO, Mark, Joseph [US/US]; 14180 F 400 S, Macy, IN 46951 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US02/22393
- (22) International Filing Date: 15 July 2002 (15.07.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/305,786 16 July 2001 (16.07.2001) US
60/388,761 14 June 2002 (14.06.2002) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): **DEPUY PRODUCTS, INC.** [US/US]; 700 Orthopaedic Drive, Warsaw, IN 46581 (US).
- (74) Agent: **COFFEY, William, R.**; Barnes & Thornburg, 11 South Meridian Street, Indianapolis, IN 46204 (US).
- (81) Designated States (national): AI, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, GR, GU, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GI, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW).
- (72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): **MALAVIVA, Prasanna** [IN/US]; 3610 Winterfield Run, Fort Wayne,

[Continued on next page]

(54) Title: POROUS EXTRACELLULAR MATRIX SCAFFOLD AND METHOD



(57) Abstract: A method of making an implantable scaffold for repairing damaged or diseased tissue includes the step of suspending pieces of an extracellular matrix material in a liquid. The extracellular matrix material and the liquid are formed into a mass. The liquid is subsequently driven off so as to form interstices in the mass. Porous implantable scaffolds fabricated by such a method are also disclosed.

WO 03/007789 A2

WO 03/007789 A2

ES, IL, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BI, BJ, CI, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). *For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.*

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-1-

POROUS EXTRACELLULAR MATRIX SCAFFOLD AND METHOD

CROSS REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

Cross reference is made to copending U.S. patent applications Serial
5 No. XX/XXX,XXX entitled "Meniscus Regeneration Device and Method" (Attorney
Docket No. 265280-71141, DEP-745); Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Devices
from Naturally Occurring Biologically Derived Materials" (Attorney Docket No.
265280-71142, DEP-748); Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Cartilage Repair
Apparatus and Method" (Attorney Docket No. 265280-71143, DEP-749); Serial No.
10 XX/XXX,XXX entitled "Unitary Surgical Device and Method" (Attorney Docket No.
DEP-750); Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Hybrid Biologic/Synthetic Porous
Extracellular Matrix Scaffolds" (Attorney Docket No. 265280-71144, DEP-751);
Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Cartilage Repair and Regeneration Device and
Method" (Attorney Docket No. 265280-71145, DEP-752); Serial No. XX/XXX,XXX
15 entitled "Cartilage Repair and Regeneration Scaffolds and Method" (Attorney Docket
No. 265280-71180, DEP-763); and Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Porous
Delivery Scaffold and Method" (Attorney Docket No. 265280-71207, DEP-762),
each of which is assigned to the same assignee as the present application, each of
which is filed concurrently herewith, and each of which is hereby incorporated by
20 reference. Cross reference is also made to U.S. Patent Application Serial No.
10/172,347 entitled "Hybrid Biologic-Synthetic Bioabsorbable Scaffolds" which was
filed on June 14, 2002, which is assigned to the same assignee as the present
application, and which is hereby incorporated by reference.

25 FIELD OF THE DISCLOSURE

The present disclosure relates generally to an extracellular matrix
scaffold, and more particularly to a porous extracellular matrix scaffold for repairing
or regenerating body tissue and a method for making such a scaffold.

30 BACKGROUND OF THE INVENTION

Naturally occurring extracellular matrices (ECMs) are used for tissue
repair and regeneration. One such extracellular matrix is small intestine submucosa
(SIS). SIS has been used to repair, support, and stabilize a wide variety of anatomical

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-2-

defects and traumatic injuries. Commercially available SIS material is derived from porcine small intestinal submucosa that remodels to the qualities of its host when implanted in human soft tissues. Further, it is taught that the SIS material provides a natural matrix with a three-dimensional microstructure and biochemical composition that facilitates host cell proliferation and supports tissue remodeling. Indeed, SIS has been shown to contain biological molecules, such as growth factors and glycosaminoglycans that aid in the repair of soft tissue of the human body. The SIS material currently being used in the orthopaedic field is provided in a dried and layered configuration in the form of a patch to repair or regenerate soft tissue such as tendons, ligaments and rotator cuffs.

While small intestine submucosa is readily available, other sources of submucosa are known to be effective for tissue remodeling. These sources include, but are not limited to, stomach, bladder, alimentary, respiratory, or genital submucosa, or liver basement membrane. See, e.g., U.S. Patents Nos. 6,379,710, 6,171,344; 6,099,567; and 5,554,389, each of which is hereby incorporated by reference.

Further, while SIS is most often porcine derived, it is known that various submucosa materials may also be derived from non-porcine sources, including bovine and ovine sources. Additionally, the ECM material may also include partial layers of laminar muscularis mucosa, muscularis mucosa, lamina propria, stratum compactum and/or other such tissue materials depending upon factors such as the source from which the ECM material was derived and the delamination procedure.

As used herein, it is within the definition of a naturally occurring extracellular matrix to clean, delaminate, and/or comminute the extracellular matrix, or to cross-link the collagen or other components within the extracellular matrix. It is also within the definition of naturally occurring extracellular matrix to fully or partially remove one or more components or subcomponents of the naturally occurring matrix. However, it is not within the definition of a naturally occurring extracellular matrix to separate and purify the natural components or subcomponents and reform a matrix material from purified natural components or subcomponents. Thus, while reference is made to SIS, it is understood that other naturally occurring extracellular matrices (e.g., stomach, bladder, alimentary, respiratory, and genital submucosa, and liver basement membrane), whatever the source (e.g., bovine,

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-3-

porcine, ovine) are within the scope of this disclosure. Thus, in this application, the terms "naturally occurring extracellular matrix" or "naturally occurring ECM" are intended to refer to extracellular matrix material that has been cleaned, processed, sterilized, and optionally crosslinked. The following U.S. patents, hereby
5 incorporated by reference, disclose the use of ECMs for the regeneration and repair of various tissues: 6,379,710; 6,187,039; 6,176,880; 6,126,686; 6,099,567; 6,096,347; 5,997,575; 5,993,844; 5,968,096; 5,955,110; 5,922,028; 5,885,619; 5,788,625; 5,762,966; 5,755,791; 5,753,267; 5,733,337; 5,711,969; 5,645,860; 5,641,518; 5,554,389; 5,516,533; 5,460,962; 5,445,833; 5,372,821; 5,352,463; 5,281,422; and
10 5,275,826.

The manipulation of scaffold pore size, porosity, and interconnectivity is an important science contributing to the field of tissue engineering (Ma and Zhang, 2001, *J Biomed Mater Res*, 56(4):469-477; Ma and Choi, 2001 *Tissue Eng*, 7(1):23-33) because it is believed that the consideration of scaffold pore size and
15 density/porosity influences the behavior of cells and the quality of tissue regenerated. In fact, several researchers have shown that different pore sizes influence the behavior of cells in porous three-dimensional matrices. For example, it has been demonstrated in the art that for adequate bone regeneration to occur scaffold pore size needs to be at least 100 microns (Klawitter et al., 1976, *J Biomed Mater Res*, 10(2):311-323). For
20 pore sizes and interconnectivity less than that, poor quality bone is regenerated and if pore size is between 10-40 microns bone cells are able to form only soft fibro-vascular tissue (White and Shors, 1991, *Dent Clin North Am*, 30:49-67). The consensus of research for bone regeneration indicates that the requisite pore size for bone regeneration is 100 – 600 microns (Shors, 1999, *Orthop Clin North Am*,
25 30(4):599-613; Wang, 1990, *Nippon Seikeigeka Gakki Zasshi*, 64(9):847-859). It is generally known in the art that optimal bone regeneration occurs for pore sizes between 300 – 600 microns.

Similarly, for the regeneration of soft orthopaedic tissues, such as ligament, tendon, cartilage, and fibro-cartilage, scaffold pore size is believed to have a
30 substantial effect. For example, basic research has shown that cartilage cells (chondrocytes) exhibit appropriate protein expression (type II collagen) in scaffolds with pore sizes of the order of 20 microns and tend to dedifferentiate to produce type I collagen in scaffolds with nominal porosity of about 80 microns (Nehrer et al., 1997,

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-4-

Biomaterials, 18(11):769-776). More recently, it has been shown that cells that form ligaments, tendons, and blood vessels (fibroblasts and endothelial cells) exhibit significantly different activity when cultured on scaffolds with differing pore sizes ranging from 5 to 90 microns (Salem et al., 2002, J Biomed Mater Res, 61(2):212-217).

SUMMARY OF THE INVENTION

According to one illustrative embodiment, there is provided a method of making an implantable scaffold for repairing damaged or diseased tissue. The method includes the step of suspending, mixing, or otherwise placing pieces of a naturally occurring extracellular matrix material in a liquid. The naturally occurring extracellular matrix material and the liquid are formed into a mass. The liquid is subsequently driven off so as to form interstices in the mass. In one specific implementation of this exemplary embodiment, the liquid is driven off by freeze drying the naturally occurring extracellular matrix material and the liquid in which it is suspended. In such a manner, the liquid is sublimed thereby forming the interstices in the mass.

The material density and pore size of the scaffold may be varied by controlling the rate of freezing of the suspension. The amount of water into which the pieces of naturally occurring extracellular matrix material is suspended may also be varied to control the material density and pore size of the resultant scaffold.

In accordance with another exemplary embodiment, there is provided an implantable scaffold for repairing or regenerating tissue which is prepared by the process described above.

In another aspect, the present disclosure provides an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue. The scaffold comprises a porous body of naturally occurring extracellular matrix pieces that are interconnected to define an interior surface of the body. The interior surface has a three-dimensional topography of irregular shape.

In another aspect, the present disclosure provides an implantable device for repairing or regenerating body tissue. The device comprises a three-dimensional reticulated foam comprising a plurality of interconnected pores. The interconnected pores define three-dimensional interconnected passageways having

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-5-

irregular shapes. At least part of the reticulated foam comprises naturally occurring extracellular matrix.

In another aspect, the present disclosure provides a method of making an implantable device for repairing or regenerating body tissue. The method comprises the steps of providing a naturally occurring extracellular matrix material in a raw form, comminuting the raw naturally occurring extracellular matrix in the presence of a liquid to form a slurry of naturally occurring extracellular matrix, and lyophilizing the slurry of naturally occurring extracellular matrix to form a reticulated foam of naturally occurring extracellular matrix.

In another aspect, the present disclosure provides a method of making an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue. The method comprises the steps of providing a naturally occurring extracellular matrix material in a raw form, comminuting the raw naturally occurring extracellular matrix to form cohesive pieces of naturally occurring extracellular matrix, and lyophilizing the cohesive pieces of naturally occurring extracellular matrix to form a reticulated foam of naturally occurring extracellular matrix.

The implantable devices disclosed herein are three dimensional, porous scaffolds of ECMs like SIS. As such, it is evident that an implant based on the teachings of the present disclosure will have the dual advantage of having not only the appropriate biochemistry (collagens, growth factors, glycosaminoglycans, etc. naturally found in such ECMs) but also the appropriate physical microstructure to enable desired cellular activity upon implantation. These implantable devices are likely to find therapeutic use in the orthopaedic field, for devices used in the treatment of diseased or damaged fibro-cartilage such as the meniscus, diseased or damaged articular cartilage, and diseased or damaged bone.

The above and other features of the present disclosure will become apparent from the following description and the attached drawings.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The detailed description particularly refers to the accompanying figures in which:

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-6-

FIG. 1 is an image from a scanning electron microscope which shows the surface of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold having a relatively large pore size and a relatively low material density;

5 FIG. 2 is an image from a scanning electron microscope which shows the surface of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold having a relatively moderate pore size and a relatively moderate material density;

FIG. 3 is an image from a scanning electron microscope which shows the surface of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold having a relatively small pore size and a relatively high material density;

10 FIG. 4 is an image from a scanning electron microscope which shows a cross-section of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold, with an example of a pore indicated by the arrow, the image being at a greater magnification than the images of FIGS. 1-3;

15 FIG. 5 is an image from a scanning electron microscope which shows a cross-section of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold, with examples of pores indicated by the arrows, the image being at a greater magnification than the images of FIGS. 1-3;

20 FIG. 6 is an image from a scanning electron microscope which shows a cross-section of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold, with examples of pores indicated by the arrows, the image being at a greater magnification than the images of FIGS. 1-3;

FIG. 7 is an image from a scanning electron microscope which shows a cross-section of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold, the image being at a greater magnification than the images of FIGS. 1-3;

25 FIG. 8 is an image from a scanning electron microscope which shows a surface of a porous reticulated SIS open cell foam scaffold, the image being at a greater magnification than the images of FIGS. 1-3; and

FIGS. 9 and 10 are images from a scanning electron microscope which show a mass of cohesive SIS pieces.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-7-

DETAILED DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The present disclosure relates to a porous scaffold for implanting into the body of a patient to repair or regenerate damaged or diseased tissue. The porous scaffold is constructed from a naturally occurring extracellular material. For example, the scaffold may be constructed from SIS. As will be discussed herein in greater detail, both the material density and the pore size of the porous scaffold may be varied to fit the needs of a given scaffold design.

Such porous scaffolds may be fabricated by suspending pieces of an extracellular matrix material in a liquid. As used herein, the term "piece" is intended to mean any fiber, strip, ribbon, sliver, filament, shred, bit, fragment, part, flake, slice, cut, chunk, or other portion of solid or solid-like material. Also, as used herein, the term "suspending" is intended to include any placement of a solid (e.g., pieces of ECM) in a liquid whether or not an actual suspension is created. As such, the term "suspending" is intended to include any mixing of a solid in a liquid or any other placement of a solid in a liquid. As a result, the term "suspension" is likewise not intended to be limited to suspensions, but rather is intended to mean any mass having a solid present in a liquid.

In any event, the suspension of the pieces of extracellular matrix material and the liquid forms a mass in the form of, for example, a "slurry". The liquid may then be subsequently driven off of the mass so as to form interstices therein. The liquid may be driven off in a number of different manners. For example, as will herein be described in greater detail, the liquid may be driven off via sublimation in a freeze drying process. Alternatively, the liquid may also be driven off by subjecting the suspension to either an unheated vacuum process or a vacuum under a controlled heating process. The liquid may also be driven off from the suspension ultrasonically. Microwave energy, RF energy, UV energy, or any other type of energy (or combination thereof) may also be utilized to drive the liquid off of the suspension. Liquid may also be driven off of the suspension by forcing or drawing air through the suspension. The suspension may be centrifuged to drive off the liquid. Moreover, the liquid may include a water-soluble filler which is driven off, for example, by use of an alcohol. In short, the present disclosure contemplates the driving off of the liquid from the suspension by any liquid removal process.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-8-

As alluded to above, while any of the aforementioned processes for driving off the liquid from the suspension may be utilized, along with any other process known by one skilled in the art, the processes of the present disclosure will herein be exemplary described in regard to a lyophilization process (i.e., freeze
5 drying). However, it should be understood that such a description is merely exemplary in nature and that any one or more of the aforescribed processes for driving off the liquid from the suspension may be utilized to fit the needs of a given scaffold design or process design.

As alluded to above, one useful process for fabricating the porous
10 scaffolds of the present disclosure is by lyophilization. In this case, pieces of an extracellular matrix material are suspended in a liquid. The suspension is then frozen and subsequently lyophilized. Freezing the suspension causes the liquid to be turned to ice crystals. These ice crystals are then sublimed under vacuum during the lyophilization process thereby leaving interstices in the material in the spaces
15 previously occupied by the ice crystals. The material density and pore size of the resultant scaffold may be varied by controlling, amongst other things, the rate of freezing of the suspension and/or the amount of water in which the extracellular matrix material is suspended in at the on-set of the freezing process.

As a specific example of this process, fabrication of a porous SIS
20 scaffold by lyophilization will be described in detail. However, it should be appreciated that although the example is herein described in regard to an SIS scaffold, fabrication of a scaffold constructed from other extracellular matrix materials may also be performed in a similar manner.

The first step in fabricating a porous scaffold with a desired pore size
25 and density is the procurement of comminuted SIS. Illustratively, scissor-cut SIS runners (~6" long) are positioned in a 1700 series Comitrol™ machine, commercially available from Urschel Laboratories (Valparaiso, Indiana). The SIS material is processed in the presence of a liquid and thereafter collected in a receptacle at the output of the machine. The material is then processed through the machine a second
30 time under similar conditions. In one exemplary process, a liquid (e.g., water) is introduced into the input of the machine contemporaneously with the SIS material. The resultant material is a "slurry" of SIS material (thin, long SIS fibers ~200 microns thick x 1-5 mm long) suspended in a substantially uniform manner in water.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-9-

Although the suspension is herein described as being formed as a byproduct of the comminuting process, it should be appreciated that the pieces of SIS may be suspended in the liquid (i.e., water) in other manners known to those skilled in the art. Furthermore, while other methods are known for comminuting SIS, it is understood that for the purposes of the present disclosure, comminuted SIS comprises, ribbon-like or string-like fibers wherein at least some of the individual pieces of ECM and SIS material have lengths greater than their widths and thicknesses. Such fibers may be interlaced to provide a felt-like material, if desired.

Process parameters can be varied using the above-identified 1700 series Comitol™ machine, including the choice of blade used, whether water is used, the amount of water used, the speed at which the blades turn, and the number of times the material is passed through the machine. As an example, cutting head 140084-10 and a Vericut, sealed impeller from Urschel Laboratories may be used, with a flow of water of about two (2) gallons per minute, with the blade running at a constant speed of about 9300 rpm. A first pass through the machine at these parameters will produce fibrous SIS material of varying sizes, and a second pass will produce SIS fibers of a more uniform size. By way of example, the comminuted material may be tested to determine if it has the consistency of that which is desired for use in regard to the illustrative embodiments described herein by the following process: the comminuted SIS suspension or slurry is centrifuged, excess water is poured off and the remaining slurry is poured into a dish. By hand, a small amount of the comminuted SIS material in the dish is pinched between the thumb and index finger and gently lifted from the dish. Illustratively, at least a small amount of additional SIS, beyond the portion pinched between the thumb and index finger, will lift along with the material that has been pinched ("pinch test"). This additional comminuted SIS material lifts with the material that is between the thumb and index finger because the individual pieces of comminuted SIS material are commingled or intertwined.

The terms "cohesive ECM", "cohesive SIS", "cohesive ECM pieces" and "cohesive SIS pieces" are used herein to respectively denote ECM or SIS material that has been comminuted or otherwise physically processed to produce ECM or SIS pieces that are capable of comingling or intertwining (in the wet or dry state) to form a mass of discrete pieces of ECM or SIS that remain massed together under some conditions (such as under gravity), regardless of the shape or shapes of the individual

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-10-

ECM or SIS pieces. One method of demonstrating that the ECM or SIS material comprises cohesive pieces is the "pinch test" described in the preceding paragraph. Examination of the final ECM or SIS product produced may also provide evidence that the base material comprised cohesive ECM or SIS pieces. Illustratively, the

5 ECM or SIS pieces are sufficiently cohesive to each other (or to other pieces in the mix or slurry) that they remain unified throughout the process used to produce the foam structure. Examples of cohesive SIS pieces are shown in the scanning electron microscopic images of FIGS. 9 and 10.

Thereafter, the comminuted SIS suspension is frozen and lyophilized

10 (i.e., freeze dried). In particular, the SIS suspension is frozen at a controlled rate of temperature drop to control the size of the formed ice crystals. Once frozen, and without allowing the material to thaw, the lyophilization process sublimates the ice crystals directly to a vapor under vacuum and low temperatures. This leaves voids or interstices in the spaces previously occupied by the ice crystals.

15 Any commercially available freezer for freezing the suspension to a desired temperature may be used. Likewise, any commercially available lyophilizer may be used for the lyophilization process. One exemplary machine for performing the lyophilization process is a Virtis Genesis™ Series Lyophilizer which is commercially available from SP Industries, Inc. of Gardiner, New York.

20 The process parameters of the aforedescribed fabrication process may be varied to produce scaffolds of varying pore sizes and material densities. For example, the rate at which the suspension is frozen, the amount of water present in the suspension, or the compactness of the extracellular matrix material may be varied to produce scaffolds of varying pore sizes and material densities.

25 For instance, to produce scaffolds having a relatively large pore size and a relatively low material density, the extracellular matrix suspension may be frozen at a slow, controlled rate (e.g., $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ or less) to a temperature of about -20°C , followed by lyophilization of the resultant mass. To produce scaffolds having a relatively small pore size and a relatively high material density, the extracellular

30 matrix material may be tightly compacted by centrifuging the material to remove a portion of the liquid (e.g., water) in a substantially uniform manner prior to freezing. Thereafter, the resultant mass of extracellular matrix material is flash-frozen using liquid nitrogen followed by lyophilization of the mass. To produce scaffolds having a

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-11-

moderate pore size and a moderate material density, the extracellular matrix material is first tightly compacted by centrifuging the material to remove a portion of the liquid (e.g., water) in a substantially uniform manner prior to freezing. Thereafter, the resultant mass of extracellular matrix material is frozen at a relatively fast rate (e.g., > 5 -1°C/min) to a temperature of about -80°C followed by lyophilization of the mass.

EXAMPLE 1

Example 1 demonstrates the fabrication of a porous SIS scaffold having a relatively large pore size and a relatively low material density. Such scaffolds are obtained by freezing a comminuted SIS suspension at a slow, controlled 10 rate (-1°C/min or less) to -20°C, followed by lyophilization. The procedure is as follows. First, comminuted SIS is fabricated as described above. Specifically, scissor-cut SIS runners (~6" long) are placed in a suitable comminuting machine such as the Urschel Comitrol machine described above. The comminuted SIS is collected 15 in a receptacle at the output of the machine. The collected material is then processed through the machine a second time, under the same conditions as before. The resultant mass is a "slurry" of SIS material (thin, long SIS fibers ~200 microns thick x 1-5 mm long) suspended relatively uniformly in water.

Next, a slow-freeze ethanol bath is prepared as follows. Pour enough 20 ethanol to obtain about a 1 centimeter head in a flat-bottomed plastic container large enough to hold four 24-well culture plates. Place the container in a -20°C freezer. The mass of each of four empty twenty-four well plates is then recorded. Under a sterile hood using sterile conditions, an approximately 3ml aliquot of the comminuted SIS material is placed in each well of the tissue culture plates. The mass of each full 25 plate of material is then recorded. The four culture plates are then placed into the ethanol freeze bath and allowed to freeze overnight.

The frozen plates are then removed from the ethanol bath and placed in a suitable lyophilization machine such as the Virtis Genesis Series lyophilizer described above. Without allowing the frozen SIS material to thaw, the process of 30 lyophilization sublimates ice crystals directly to vapor under vacuum and low temperatures. This leaves voids or interstices in the spaces previously occupied by the ice crystals. In this case, the parameters used in the lyophilization process include

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-12-

a first period at a primary drying temperature of 13°C for 8 hours, followed by a second period at a secondary drying temperature of 35°C for 4 hours.

After the lyophilization cycle is complete, the plates are removed from the lyophilization machine and the mass of each plate is determined and recorded.

5 The results from this process are summarized in the following table:

Average Volume	Average Mass	Average Density
1.249 ml	0.007396 g	0.006 (g/cc)

A scanning electron image of the surface of the samples was taken to visualize the relative pore sizes. These pore sizes are about 600 microns to about 700
10 microns. An image indicative of the samples prepared in accordance with Example 1 is shown in FIG. 1.

Pore sizes can be determined from scanning electron microscope images of the exterior surface of the foam, as in FIGS. 1-3 and 8, and of cross-sections of the foam, as in FIGS. 4-7. These images may be used in conjunction with
15 standard commercially available image analysis software to determine the ranges of pore sizes. FIGS. 4-6 illustrate the results of using suitable commercially available software to measure or estimate the pore sizes in the foam. This technique was used to determine that the Example 1 foam had pores in the range of 600-700 microns. The sample may also include smaller pores.

20

EXAMPLE 2

Example 2 demonstrates the fabrication of a porous SIS scaffold having a relatively moderate pore size and a relatively moderate material density. Such scaffolds are obtained by compacting the comminuted SIS material by
25 centrifugation, freezing at a faster rate (relative to Example 1) and to a lower temperature (i.e., to -80°C), followed by lyophilization of the resultant mass. The procedure is as follows. First, comminuted SIS is fabricated as described above in regard to Example 1. Specifically, scissor-cut SIS runners (~6" long) is comminuted by two passes through a suitable comminuting machine to produce a "slurry" of SIS
30 material (thin, long SIS fibers ~200 microns thick x 1-5 mm long) suspended relatively uniformly in water.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-13-

Next, the mass of each of four empty twenty-four well plates is recorded. Under a sterile hood using sterile conditions, an approximately 3ml aliquot of the comminuted SIS material is placed in each well of the tissue culture plates. The mass of each plate full of material is then recorded.

5 The plates are then balanced for centrifuging by use of the following technique. The two plates are placed on the balance, and RO water is added to the area in between the wells of the lighter plate until the two plates are balanced. The two plates are then placed across from one another in the centrifuge, and centrifuged at 3000rpm for seven minutes. Once done, the plates are removed from the
10 centrifuge, and the water is emptied therefrom. The mass of each of the plates is then recorded. The centrifuging and mass measurement process is then repeated for the remaining plates.

The plates are then placed in a -80°C freezer until the specimen is fully frozen. Depending upon the bulk of the material, the time for full freezing can vary
15 from about 1 to about 30 minutes, for example. The frozen plates are then removed from the freezer and placed in a suitable lyophilization machine and lyophilized under similar parameters to as described above in regard to Example 1 (i.e., for a first period at a primary drying temperature of 13°C for 8 hours, followed by a second period at a secondary drying temperature of 35°C for 4 hours).

20 After the lyophilization cycle is complete, the plates are removed from the lyophilization machine and the mass of each plate is determined and recorded. The results from this process are summarized in the following table:

Average Volume	Average Mass	Average Density
0.285 ml	0.010104 g	0.035 g/cc

25 As with the samples of Example 1, a scanning electron image of the surface of each of the samples prepared in accordance with Example 2 was taken to visualize the relative pore sizes. An image indicative of the samples prepared in accordance with Example 2 is shown in FIG. 2. Using the technique described above for determining pore size, this sample was found to have pores in the range of about
30 100-150 microns.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-14-

EXAMPLE 3

Example 3 demonstrates the fabrication of a porous SIS scaffold having a relatively small pore size and a relatively high material density. Such scaffolds are obtained by compacting the comminuted SIS material to an even higher density than in Example 2, flash-freezing the samples using liquid nitrogen, followed by lyophilization. The procedure is as follows. First, comminuted SIS is fabricated as described above in regard to Examples 1 and 2. Specifically, scissor-cut SIS runners (~6" long) is comminuted by two passes through a suitable comminuting machine to produce a "slurry" of SIS material (thin, long SIS fibers ~200 microns thick x 1-5 mm long) suspended relatively uniformly in water. Once done, the resultant mass is centrifuged under a dead-weight. The dead weights are prepared as follows. Forty-eight strips of Coban are cut into pieces that measure 50mm in length and 5mm in width (unstretched). Thereafter, the pieces are stretched and wrapped around the outer edges of a polyethylene disk measuring 1cm in diameter and 2 mm in thickness. Each strip is trimmed, if need be, so that the Coban strips wrap around the disk two times.

Next, the mass of each of four empty twenty-four well plates is recorded. Under a sterile hood using sterile conditions, an approximately 3ml aliquot of the comminuted SIS material is placed in each well of the tissue culture plates. The mass of each full plate of material is then recorded. The plates are then balanced and centrifuged as described above in regard to Example 2. Thereafter, the water is drained from the plates, and the mass of each of the centrifuged plates is recorded.

Once this is completed, the wells of the plates are combined at a ratio of 2:1 thereby reducing the number of plates from four to two. An attempt is made to combine low material wells with high material wells in order to have a somewhat consistent amount of SIS material in each well. The mass of each full plate is then recorded. The Coban-wrapped polyethylene disks are then placed into each well. The two plates are then balanced using the technique described above in regard to Example 2. The plates are then centrifuged at 3000rpm for five minutes. Thereafter, the plates are removed from the centrifuge, the water is emptied therefrom, and the polyethylene disks are also removed. The mass of each plate is again recorded. The two plates are balanced once again (in a manner similar to as described above in regard to Example 2), and the plates are again centrifuged at 3000rpm for seven

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-15-

minutes. Once done, the water is emptied again from each of the plates, and the mass of each plate is again recorded.

Contemporaneously with the centrifuging process, a liquid nitrogen bath is prepared by pouring liquid nitrogen into a wide-mouthed liquid nitrogen container. The plates are kept in the centrifuge until the bath is ready. Thereafter, each plate is dipped into the bath and held in the liquid for approximately 15 seconds. Upon removal from the nitrogen bath, the plates are immediately placed in a -80°C freezer to prevent thawing. The frozen plates are then removed from the freezer and placed in a suitable lyophilization machine and lyophilized under similar parameters to as described above in regard to Examples 1 and 2 (i.e., for a first period at a primary drying temperature of 13°C for 8 hours, followed by a second period at a secondary drying temperature of 35°C for 4 hours).

After the lyophilization cycle is complete, the plates are removed from the lyophilization machine and the mass of each plate is determined and recorded. The results from this process are summarized in the following table:

Average Volume	Average Mass	Average Density
0.786 ml	0.071563 g	0.091 g/cc

As with the samples of Examples 1 and 2, a scanning electron image of the surface of each of the samples prepared in accordance with Example 3 was taken to visualize the relative pore sizes. An image indicative of the samples prepared in accordance with Example 3 is shown in FIG. 3. Using the technique described above for determining pore size, this sample was found to have pores in the range of about 40-60 microns. Such pore sizes are illustrated in FIGS. 4-6, indicated by the arrows.

As shown in the scanning electron microscope images of FIGS. 1-8, each of the illustrated ECM foams comprises a three-dimensional network of reticulated naturally occurring ECM defining a plurality of interconnected pores. The foam has these pores throughout its height, width, and thickness. The pores are open and interconnected to define a plurality of irregularly shaped interconnected passageways leading from the exterior surface of the foam (see FIGS. 1-3 and 8) into the interior of the foam (see cross-sections FIGS. 4-7). These interconnected passageways are three-dimensional. As discussed above, the sizes of the pores, and

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-16-

therefore the maximum size for the interconnected passageways, can be controlled by controlling the manufacturing process as described above.

These interconnected passageways facilitate cell migration through the implant and enable efficient nutrient exchange *in vivo*. These interconnected
5 passageways also provide a means of transmitting bioactive agents, biologically derived substances (e.g., stimulants), cells and/or biological lubricants, biocompatible inorganic materials, synthetic polymers and biopolymers (e.g., collagen) throughout the length, width and thickness of the ECM prior to implantation. The interconnected
10 passageways defined by the pores also serve as passageways for materials used during the manufacturing process, such as compounds used for chemically cross-linking the foam. These interconnected passageways as well as the outer surfaces of the foam may also serve as sites on which the above materials are carried.

As shown in the above examples, the process parameters can be varied to produce an ECM foam that has the desired porosity for the particular application.
15 For example, it may be desirable to produce a foam with lower density (and higher porosity) for applications involving osteocytes and to produce a foam with higher density (and lower porosity) for applications involving chondrocytes.

Moreover, the ECM foams described herein may be crosslinked. Specifically, the ECM foams described herein may be either chemically or physically
20 crosslinked.

As can be seen in the scanning electron microscopic images of FIGS. 1-8, each of the illustrated ECM foams comprises interconnected pieces of naturally occurring extracellular matrix. As shown in the scanning electron microscope images of cross-sections of the ECM foams of FIGS. 4-7, these interconnected pieces of
25 naturally occurring extracellular matrix provide the foam with an interior surface having an three-dimensional topography of irregular shape. As shown in the scanning electron microscope images of the surfaces of the ECM foam, these interconnected pieces of naturally occurring extracellular matrix provide the foam with exterior surfaces having three-dimensional topographies of irregular shapes. With these
30 irregular three-dimensional topographies and the interconnected passageways, the ECM foams of the present disclosure provide a relatively large surface area of naturally occurring ECM. Such a large surface area of naturally occurring ECM can be advantageous in providing a relatively large surface area to which biological

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-17-

agents, biologically derived agents, cells, biocompatible polymers and biocompatible inorganic materials can be affixed pre-implantation. In addition, the illustrated ECM foams provide a relatively large surface area of area of naturally occurring ECM to which cells may attach *in vivo*.

5 ECM foam products can be made with substantially lower densities than those of other ECM products. For comparison, the density of the commercially available RESTORE® product, an ECM laminate, is 0.466 +/- 0.074 g/cc. An ECM product consisting of comminuted and hardened SIS as described in U.S. Patent Application Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Devices from Naturally Occurring
10 Biologically Derived Materials" (Attorney Docket No. 265280-71142, DEP-748), has been made with a density of can be 0.747 +/- 0.059 g/cc. And, an ECM product consisting of toughened SIS laminate as described in U.S. Patent Application Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Meniscus Regeneration Device and Method" (Attorney Docket No. 265280-71141, DEP-745) has been made with a density of 0.933 +/-
15 0.061 g/cc.

As discussed above, the ECM foams of the present disclosure may be combined with bioactive agents, biologically derived substances, cells and/or stimulants, biocompatible inorganic materials and/or biocompatible polymers (e.g., biocompatible synthetic polymers and biopolymers) and combinations of two or more
20 of these materials at the time of manufacture. Illustratively, cells can be seeded throughout the three-dimensional volume of the ECM foam; the biological materials can be dried on the ECM foam at manufacture; the biological materials and the ECM foam can be co-lyophilized; and the biological materials can be covalently linked to the ECM foam. It is contemplated to bond, cross-link, or otherwise incorporate one
25 or more of these materials to the raw ECM material prior to formation of the ECM foam. Alternatively, the materials could be bonded, cross-linked, or otherwise incorporated to the final ECM foam after lyophilization. Finally, combinations of the above methods may be used. For example, an implant of covalently linked ECM foam and biological lubricant can be implanted and additional intra-articular
30 injections of the same or different biological lubricants can be made at surgery, post-operatively, or both at surgery and post-operatively.

"Bioactive agents" include one or more of the following: chemotactic agents; therapeutic agents (e.g., antibiotics, steroidal and non-steroidal analgesics and

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-18-

anti-inflammatories, anti-rejection agents such as immunosuppressants and anti-cancer drugs); various proteins (e.g., short chain peptides, bone morphogenic proteins, glycoprotein and lipoprotein); cell attachment mediators; biologically active ligands; integrin binding sequence; ligands; various growth and/or differentiation agents (e.g.,

5 epidermal growth factor, IGF-I, IGF-II, TGF- β I-III, growth and differentiation factors, vascular endothelial growth factors, fibroblast growth factors, platelet derived growth factors, insulin derived growth factor and transforming growth factors, parathyroid hormone, parathyroid hormone related peptide, bFGF; TGF β superfamily factors; BMP-2; BMP-4; BMP-6; BMP-12; sonic hedgehog; GDF5; GDF6; GDF8;

10 PDGF); small molecules that affect the upregulation of specific growth factors; tenascin-C; hyaluronic acid; chondroitin sulfate; fibronectin; decorin; thromboelastin; thrombin-derived peptides; heparin-binding domains; heparin; heparan sulfate; DNA fragments and DNA plasmids . If other such substances have therapeutic value in the orthopaedic field, it is anticipated that at least some of these substances will have use

15 in concepts of the present disclosure, and such substances should be included in the meaning of "bioactive agent" and "bioactive agents" unless expressly limited otherwise.

"Biologically derived agents" include one or more of the following:

bone (autograft, allograft, and xenograft) and derivatives of bone; cartilage (autograft,

20 allograft and xenograft), including, for example, meniscal tissue, and derivatives; ligament (autograft, allograft and xenograft) and derivatives; derivatives of intestinal tissue (autograft, allograft and xenograft), including for example submucosa; derivatives of stomach tissue (autograft, allograft and xenograft), including for example submucosa; derivatives of bladder tissue (autograft, allograft and xenograft),

25 including for example submucosa; derivatives of alimentary tissue (autograft, allograft and xenograft), including for example submucosa; derivatives of respiratory tissue (autograft, allograft and xenograft), including for example submucosa; derivatives of genital tissue (autograft, allograft and xenograft), including for example submucosa; derivatives of liver tissue (autograft, allograft and xenograft), including

30 for example liver basement membrane; derivatives of skin tissue; platelet rich plasma (PRP), platelet poor plasma, bone marrow aspirate, demineralized bone matrix, insulin derived growth factor, whole blood, fibrin and blood clot. Purified ECM and other collagen sources are also intended to be included within "biologically derived

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-19-

agents.” If other such substances have therapeutic value in the orthopaedic field, it is anticipated that at least some of these substances will have use in the concepts of the present disclosure, and such substances should be included in the meaning of “biologically derived agent” and “biologically derived agents” unless expressly

5 limited otherwise.

“Biologically derived agents” also include bioremodelable collagenous tissue matrices. The expressions “bioremodelable collagenous tissue matrix” and “naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix” include matrices derived from native tissue selected from the group consisting of skin, artery, 10 vein, pericardium, heart valve, dura mater, ligament, bone, cartilage, bladder, liver, stomach, fascia and intestine, tendon, whatever the source. Although “naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix” is intended to refer to matrix material that has been cleaned, processed, sterilized, and optionally crosslinked, it is not within the definition of a naturally occurring bioremodelable collagenous tissue 15 matrix to purify the natural fibers and reform a matrix material from purified natural fibers. The term “bioremodelable collagenous tissue matrices” includes “extracellular matrices” within its definition.

“Cells” include one or more of the following: chondrocytes; fibrochondrocytes; osteocytes; osteoblasts; osteoclasts; synoviocytes; bone marrow 20 cells; mesenchymal cells; stromal cells; stem cells; embryonic stem cells; precursor cells derived from adipose tissue; peripheral blood progenitor cells; stem cells isolated from adult tissue; genetically transformed cells; a combination of chondrocytes and other cells; a combination of osteocytes and other cells; a combination of synoviocytes and other cells; a combination of bone marrow cells and other cells; a 25 combination of mesenchymal cells and other cells; a combination of stromal cells and other cells; a combination of stem cells and other cells; a combination of embryonic stem cells and other cells; a combination of precursor cells isolated from adult tissue and other cells; a combination of peripheral blood progenitor cells and other cells; a combination of stem cells isolated from adult tissue and other cells; and a 30 combination of genetically transformed cells and other cells. If other cells are found to have therapeutic value in the orthopaedic field, it is anticipated that at least some of these cells will have use in the concepts of the present disclosure, and such cells

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-20-

should be included within the meaning of "cell" and "cells" unless expressly limited otherwise.

"Biological lubricants" include: hyaluronic acid and its salts, such as sodium hyaluronate; glycosaminoglycans such as dermatan sulfate, heparan sulfate, chondroitin sulfate and keratan sulfate; synovial fluid and components of synovial fluid, including as mucinous glycoproteins (e.g., lubricin), vitronectin, tribonectins, articular cartilage superficial zone proteins, surface-active phospholipids, lubricating glycoproteins I, II; and rooster comb hyaluronate. "Biological lubricant" is also intended to include commercial products such as ARTHREASETM high molecular weight sodium hyaluronate, available in Europe from DePuy International, Ltd. of Leeds, England, and manufactured by Bio-Technology General (Israel) Ltd., of Rehovot, Israel; SYNVISCO[®] Hylan G-F 20, manufactured by Biomatrix, Inc., of Ridgefield, New Jersey and distributed by Wyeth-Ayerst Pharmaceuticals of Philadelphia, Pennsylvania; HYLAGAN[®] sodium hyaluronate, available from Sanofi-Synthelabo, Inc., of New York, New York, manufactured by FIDIA S.p.A., of Padua, Italy; and HEALON[®] sodium hyaluronate, available from Pharmacia Corporation of Peapack, New Jersey in concentrations of 1%, 1.4% and 2.3% (for ophthalmologic uses). If other such substances have therapeutic value in the orthopaedic field, it is anticipated that at least some of these substances will have use in the concepts of the present disclosure, and such substances should be included in the meaning of "biological lubricant" and "biological lubricants" unless expressly limited otherwise.

"Biocompatible polymers" is intended to include both synthetic polymers and biopolymers (e.g., collagen). Examples of biocompatible polymers include: polyesters of [alpha]-hydroxycarboxylic acids, such as poly(L-lactide) (PLLA) and polyglycolide (PGA); poly-p-dioxanone (PDS); polycaprolactone (PCL); polyvinyl alcohol (PVA); polyethylene oxide (PEO); polymers disclosed in U. S. Pats. Nos. 6,333,029 and 6,355,699; and any other bioresorbable and biocompatible polymer, co-polymer or mixture of polymers or co-polymers that are utilized in the construction of prosthetic implants. In addition, as new biocompatible, bioresorbable materials are developed, it is expected that at least some of them will be useful materials from which the anchors may be made. It should be understood that the

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-21-

above materials are identified by way of example only, and the present invention is not limited to any particular material unless expressly called for in the claims.

“Biocompatible inorganic materials” include materials such as hydroxyapatite, all calcium phosphates, alpha-tricalcium phosphate, beta-tricalcium phosphate, calcium carbonate, barium carbonate, calcium sulfate, barium sulfate, polymorphs of calcium phosphate, ceramic particles, and combinations of such materials. If other such substances have therapeutic value in the orthopaedic field, it is anticipated that at least some of these substances will have use in the concepts of the present disclosure, and such substances should be included in the meaning of “biocompatible inorganic material” and “biocompatible inorganic materials” unless expressly limited otherwise.

It is expected that various combinations of bioactive agents, biologically derived agents, cells, biological lubricants, biocompatible inorganic materials, biocompatible polymers can be used with the scaffolds of the present disclosure.

It is expected that standard sterilization techniques may be used with the products of the present disclosure.

Illustratively, in one example of embodiments that are to be seeded with living cells such as chondrocytes, a sterilized implant may be subsequently seeded with living cells and packaged in an appropriate medium for the cell type used. For example, a cell culture medium comprising Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) can be used with standard additives such as non-essential aminoacids, glucose, ascorbic acid, sodium pyruvate, fungicides, antibiotics, etc., in concentrations deemed appropriate for cell type, shipping conditions, etc.

It is anticipated that the ECM foams of the present disclosure may be combined with the concepts disclosed in the following applications for U.S. patent, filed concurrently herewith, which are incorporated by reference herein in their entireties: Serial No. XX/XXX,XXX entitled “Meniscus Regeneration Device and Method” (Attorney Docket No. 265280-71141, DEP-745); Serial No. XX/XXX,XXX entitled “Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials” (Attorney Docket No. 265280-71142, DEP-748); Serial No. XX/XXX,XXX entitled “Cartilage Repair Apparatus and Method” (Attorney Docket No. 265280-71143, DEP-749); Serial No. XX/XXX,XXX entitled “Unitary Surgical Device and Method”

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-22-

(Attorney Docket No. DEP-750); Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Hybrid Biologic/Synthetic Porous Extracellular Matrix Scaffolds" (Attorney Docket No. 265280-71144, DEP-751); Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Cartilage Repair and Regeneration Device and Method" (Attorney Docket No. 265280-71145, DEP-752);

5 Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Cartilage Repair and Regeneration Scaffolds and Method" (Attorney Docket No. 265280-71180, DEP-763); and Serial No. XX/XXX,XXX entitled "Porous Delivery Scaffold and Method" (Attorney Docket No. 265280-71207, DEP-762), along with U.S. Patent Application Serial No. 10/172,347 entitled "Hybrid Biologic-Synthetic Bioabsorbable Scaffolds" which was

10 filed on June 14, 2002. For example, for orthopaedic uses, it may be desirable to accompany or follow implantation with a treatment regime involving administering hyaluronic acid to the implantation site.

As can be seen from the forgoing description, the concepts of the present disclosure provide numerous advantages. For example, the concepts of the

15 present disclosure provide for the fabrication of a porous implantable scaffold which may have varying mechanical properties to fit the needs of a given scaffold design. For instance, the pore size and the material density may be varied to produce a scaffold having a desired mechanical configuration. In particular, such variation of the pore size and the material density of the scaffold is particularly useful when

20 designing a scaffold which provides for a desired amount of cellular migration therethrough, while also providing a desired amount of structural rigidity. In addition, according to the concepts of the present disclosure, implantable devices can be produced that not only have the appropriate physical microstructure to enable desired cellular activity upon implantation, but also has the biochemistry (collagens, growth

25 factors, glycosaminoglycans, etc.) naturally found in such ECMs.

Although it is believed that naturally occurring extracellular matrix provides advantages over purified extracellular matrix, it is contemplated that the teachings of the present disclosure can be applied to purified extracellular matrix as well. Thus, it is expected that the naturally occurring extracellular matrix could be

30 purified prior to physically comminuting the extracellular matrix. This purification could comprise treating the naturally occurring extracellular matrix to remove substantially all materials other than collagen prior to physically comminuting the extracellular matrix. The purification could be carried out to substantially remove

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-23-

glycoproteins, glycosaminoglycans, proteoglycans, lipids, non-collagenous proteins and nucleic acids (DNA and RNA).

While the disclosure is susceptible to various modifications and alternative forms, specific exemplary embodiments thereof have been shown by way of example in the drawings and has herein be described in detail. It should be understood, however, that there is no intent to limit the disclosure to the particular forms disclosed, but on the contrary, the intention is to cover all modifications, equivalents, and alternatives falling within the spirit and scope of the disclosure.

There are a plurality of advantages of the present disclosure arising from the various features of the apparatus and methods described herein. It will be noted that alternative embodiments of the apparatus and methods of the present disclosure may not include all of the features described yet still benefit from at least some of the advantages of such features. Those of ordinary skill in the art may readily devise their own implementations of an apparatus and method that incorporate one or more of the features of the present disclosure and fall within the spirit and scope of the present disclosure.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-24-

CLAIMS:

1. A method of making an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
 - 5 suspending pieces of a naturally occurring extracellular matrix material in a liquid; and
 - freeze drying the pieces of naturally occurring extracellular matrix material and the liquid.
2. The method of claim 1, further comprising the step of freezing
10 the extracellular matrix material and the liquid to form ice crystals from the liquid, the freezing step being performed prior to the freeze drying step.
3. The method of claim 2, wherein the freeze drying step further comprises subliming the ice crystals directly to vapor in the presence of a vacuum.
4. The method of claim 1, wherein the freeze drying step
15 comprises subliming the liquid so as to form a porous body.
5. The method of claim 1, further comprising the step of comminuting the extracellular matrix material into the pieces.
6. The method of claim 1, wherein the extracellular matrix material comprises material selected from the group consisting of: small intestine
20 submucosa, bladder submucosa, stomach submucosa, alimentary submucosa, respiratory submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane
7. The method of claim 1, further comprising the step of flash-freezing the extracellular matrix material and the liquid prior to the freeze drying step.
8. The method of claim 1, further comprising the step of
25 compacting the pieces of naturally occurring extracellular matrix material prior to the freeze drying step.
9. The method of claim 1, further comprising the step of centrifuging the pieces of naturally occurring extracellular matrix material prior to the freeze drying step.
- 30 10. The method of claim 1, further comprising the step of freezing the naturally occurring extracellular matrix material and the liquid at a controlled rate of temperature drop.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-25-

11. The method of claim 10, wherein the freezing step comprises varying the rate of temperature drop so as to vary the pore size of the scaffold.
12. The method of claim 1, further comprising the step of adding at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a
5 biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.
13. A method of making an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
suspending pieces of a naturally occurring extracellular matrix material
10 in a liquid;
forming the pieces of the naturally occurring extracellular matrix and the liquid into a mass; and
driving off the liquid so as to form interstices in the mass.
14. The method of claim 13, wherein the driving off step comprises
15 subliming the liquid.
15. The method of claim 13, wherein the driving off step comprises vaporizing the liquid.
16. The method of claim 13, further comprising the steps of:
providing a naturally occurring extracellular matrix in a raw form, and
20 comminuting the naturally occurring extracellular matrix material to form the pieces of naturally occurring extracellular matrix, the pieces of naturally occurring extracellular matrix being smaller than the raw form of the naturally occurring extracellular matrix.
17. The method of claim 13, wherein the naturally occurring
25 extracellular matrix material comprises material selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, bladder submucosa, and liver basement membrane.
18. The method of claim 13, wherein the forming step comprises
30 compacting the pieces of naturally occurring extracellular matrix material.
19. The method of claim 13, further comprising the step of adding at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-26-

biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

20. An implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, comprising a porous body which is prepared by a process comprising the steps of:

5 of: suspending pieces of a naturally occurring extracellular matrix material in a liquid, and

freeze drying the naturally occurring extracellular matrix material and the liquid.

10 21. The implantable scaffold of claim 20, wherein the process for preparing the porous body further comprises the step of freezing the naturally occurring extracellular matrix material and the liquid to form ice crystals from the liquid, the freezing step being performed prior to the freeze drying step.

15 22. The implantable scaffold of claim 21, wherein the freeze drying step further comprises subliming the ice crystals directly to vapor in the presence of a vacuum.

23. The implantable scaffold of claim 20, wherein the freeze drying step comprises subliming the liquid.

20 24. The implantable scaffold of claim 20, wherein the process for preparing the porous body further comprises the step of comminuting the naturally occurring extracellular matrix material into the pieces.

25 25. The implantable scaffold of claim 20, wherein the naturally occurring extracellular matrix material comprises material selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, alimentary submucosa, respiratory submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane.

26. The implantable scaffold of claim 20, wherein the process for preparing the porous body further comprises the step of flash-freezing the naturally occurring extracellular matrix material and the liquid prior to the freeze drying step.

30 27. The implantable scaffold of claim 20, wherein the process for preparing the porous body further comprises the step of compacting the pieces of naturally occurring extracellular matrix material prior to the freeze drying step.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-27-

28. The implantable scaffold of claim 20, wherein the process for preparing the porous body further comprises the step of centrifuging the pieces of naturally occurring extracellular matrix material prior to the freeze drying step.

29. The implantable scaffold of claim 20, further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

30. An implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, comprising: porous body which is prepared by a process comprising the steps of:

suspending pieces of a naturally occurring extracellular matrix material in a liquid,

forming the pieces of the extracellular matrix and the liquid into a mass, and

driving off the liquid so as to form interstices in the mass.

31. The implantable scaffold of claim 30, wherein the driving off step comprises subliming the liquid.

32. The implantable scaffold of claim 30, wherein the driving off step comprises vaporizing the liquid.

33. The implantable scaffold of claim 30, wherein the process for preparing the porous scaffold further comprises the step of comminuting the naturally occurring extracellular matrix material into the pieces.

34. The implantable scaffold of claim 30, wherein the naturally occurring extracellular matrix material comprises material selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, alimentary submucosa, respiratory submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane.

35. The implantable scaffold of claim 30, wherein the forming step comprises compacting the pieces of naturally occurring extracellular matrix material.

36. The implantable scaffold of claim 30, further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-28-

37. An implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, the scaffold comprising:
a porous body of naturally occurring extracellular matrix pieces interconnected to define an interior surface having a three-dimensional topography of irregular shape.
38. The implantable scaffold of claim 37, wherein:
the interconnected naturally occurring extracellular matrix pieces define interstices in the body, and
the interstices are sized by mixing the matrix pieces with water to form a moistened mass and freezing the water in a controlled manner to control the size of the frozen water crystals, thereby controlling the size of the interstices.
39. The implantable scaffold of claim 37, wherein at least part of the interconnected naturally occurring extracellular matrix pieces defines pores having a nominal pore size of 100-700 microns.
40. The implantable scaffold of claim 39, wherein at least part of the interconnected naturally occurring extracellular matrix pieces defines pores having a nominal pore size of 300-700 microns.
41. The implantable scaffold of claim 37, wherein at least part of the interconnected naturally occurring extracellular matrix pieces defines pores having a nominal pore size of less than 100 microns.
42. The implantable scaffold of claim 37, further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.
43. An implantable device for repairing or regenerating body tissue, the device comprising a three-dimensional open cell foam comprising a plurality of interconnected pores defining three-dimensional interconnected passageways having irregular shapes, at least part of the foam comprising naturally occurring bioremodelable collageneous tissue matrix.
44. The implantable device of claim 43, wherein the foam comprises interconnected pieces of naturally occurring bioremodelable collageneous tissue matrix.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-29-

45. The implantable device of claim 43, wherein the foam has an interior surface, said interior surface comprising naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix having an irregularly shaped three-dimensional topography.
- 5 46. The implantable device of claim 43, further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.
- 10 47. The implantable device of claim 43, wherein the naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix comprises at least a portion of at least one of the following: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, alimentary submucosa, respiratory submucosa, genital submucosa and liver basement membrane.
- 15 48. The implantable device of claim 43, wherein the nominal pore size of at least part of the device is between 100-700 microns.
49. The implantable device of claim 43, wherein the nominal pore size of at least part of the device is between 300-700 microns.
50. The implantable device of claim 43, wherein the nominal pore size of at least part of the device is less than 100 microns.
- 20 51. The implantable device of claim 43, wherein the foam has a density of about 0.005 – 0.5 g/cc.
52. An implantable device for repairing or regenerating body tissue, the device comprising a porous reticulated body of naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix.
- 25 53. The implantable device of claim 52, wherein the naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix comprises at least a portion of at least one of the following: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, alimentary submucosa, respiratory submucosa, genital submucosa and liver basement membrane.
- 30 54. The implantable device of claim 52, further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-30-

55. The implantable device of claim 52, wherein at least part of the reticulated body defines pores having a nominal pore size of 100-700 microns.

56. The implantable device of claim 52, wherein at least part of the reticulated body defines pores having a nominal pore size of 300-700 microns.

5 57. The implantable device of claim 52, wherein at least part of the reticulated body defines pores having a nominal pore size of less than 100 microns.

58. The implantable device of claim 52, wherein at least part of the reticulated body defines a plurality of interconnected pores defining three-dimensional interconnected passageways having irregular shapes.

10 59. A method of making an implantable device for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
providing a naturally occurring extracellular matrix material in a raw form;

15 comminuting the raw naturally occurring extracellular matrix in the presence of a liquid to form a slurry of naturally occurring extracellular matrix; and
lyophilizing the slurry of naturally occurring extracellular matrix to form an open cell foam of naturally occurring extracellular matrix.

20 60. The method of claim 59 wherein the open cell foam of naturally occurring extracellular matrix includes molecules other than collagen, said molecules other than collagen being present in the raw form of the naturally occurring extracellular matrix.

61. The method of claim 59, further comprising adding at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

25 62. A method of making an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:

providing a naturally occurring bioremodelable collageneous tissue matrix in a raw form;

30 comminuting the raw naturally occurring bioremodelable collageneous tissue matrix to form cohesive pieces of naturally occurring bioremodelable collageneous tissue matrix; and

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-31-

lyophilizing the cohesive pieces of naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix to form a reticulated foam of naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix.

63. The method of claim 62, wherein the reticulated foam of
5 naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix includes molecules other than collagen, said molecules other than collagen being present in the raw form of the naturally occurring extracellular matrix.

64. The method of claim 62, further comprising adding at least one
10 of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

65. A method of making an implantable scaffold for repairing or
regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
providing a extracellular matrix material derived from tissue selected
15 from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane;

physically comminuting the extracellular matrix to form cohesive
pieces of extracellular matrix; and

20 lyophilizing the cohesive pieces of extracellular matrix to form an open cell foam of extracellular matrix.

66. The method of claim 65, wherein the extracellular matrix
comprises naturally occurring extracellular matrix, and the step of physically
comminuting the extracellular matrix comprises physically comminuting the naturally
occurring extracellular matrix.

25 67. The method of claim 65, further comprising purifying the extracellular matrix prior to physically comminuting the extracellular matrix.

68. The method of claim 65, further comprising treating the
extracellular matrix to substantially remove glycoproteins, glycosaminoglycans,
proteoglycans, lipids, non-collagenous proteins and nucleic acids.

30 69. The method of claim 65, further comprising treating the extracellular matrix to remove substantially all materials other than collagen prior to physically comminuting the extracellular matrix.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-32-

70. The method of claim 65, wherein the step of physically comminuting the extracellular matrix comprises physically comminuting the extracellular matrix in the presence of a liquid.
71. A product made by the process of claim 65.
- 5 72. The product of claim 71 further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.
73. A method of making an implantable device for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
- 10 providing a extracellular matrix material selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane; and
- physically comminuting the extracellular matrix in the presence of a
- 15 liquid to form a slurry of extracellular matrix.
74. The method of claim 73, further comprising lyophilizing the slurry of extracellular matrix to form a reticulated foam of extracellular matrix.
75. The method of claim 73, wherein the extracellular matrix material comprises naturally occurring extracellular matrix material and wherein the
- 20 step of physically comminuting the extracellular matrix in the presence of a liquid comprises physically comminuting naturally occurring extracellular matrix in the presence of a liquid.
76. The method of claim 73, further comprising purifying the extracellular matrix prior to physically comminuting the extracellular matrix.
- 25 77. The method of claim 73, further comprising treating the extracellular matrix to substantially remove glycoproteins, glycosaminoglycans, proteoglycans, lipids, non-collagenous proteins and nucleic acids such as DNA and RNA.
78. A product made according to the method of claim 66.
- 30 79. The product of claim 78 further comprising at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-33-

80. A method of making an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
- providing an extracellular matrix material selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane;
- suspending pieces of the extracellular matrix material in a liquid; and freeze drying the pieces of extracellular matrix material and the liquid.
81. The method of claim 80, further comprising adding at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.
82. A method of making an implantable scaffold for repairing or regenerating body tissue, the method comprising the steps of:
- providing an extracellular matrix material selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa and liver basement membrane;
- suspending pieces of the extracellular matrix material in a liquid; forming the pieces of the naturally occurring extracellular matrix and the liquid into a mass; and driving off the liquid so as to form interstices in the mass.
83. The method of claim 82, further comprising adding at least one of the following: a bioactive agent; a biologically derived agent; cells; a biological lubricant; a biocompatible inorganic material; and a biocompatible polymer.
84. A slurry comprising cohesive pieces of naturally occurring extracellular matrix in a liquid.
85. A slurry of extracellular matrix material comprising cohesive pieces of extracellular matrix in a liquid, the extracellular matrix material being selected from the group consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa, respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, and liver basement membrane.
86. A method of treating defective cartilage in a joint of a patient comprising:

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-34-

- implanting a biocompatible device in the patient at the joint;
the device comprising a foam comprising naturally occurring
extracellular matrix having a plurality of interconnected pores, at least part of the
extracellular matrix having interconnected pores having a nominal pore size of
5 between about 30 and 100 microns.
87. A method of treating defective cartilage in a joint of a patient
comprising:
providing an extracellular matrix material selected from the group
consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa,
10 respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, and liver basement
membrane;
forming the extracellular matrix material into a foam having a plurality
of interconnected pores, at least part of the extracellular matrix having interconnected
pores having a nominal pore size of between 30 and 100 microns; and
15 implanting the foam at the joint of the patient.
88. A method of treating diseased or damaged bone comprising:
implanting a device in the diseased or damaged bone;
the device comprising a foam comprising naturally occurring
extracellular matrix having a plurality of interconnected pores, at least part of the
20 extracellular matrix having interconnected pores having a nominal pore size greater
than about 200 microns.
89. A method of treating diseased or damaged bone comprising:
providing an extracellular matrix material selected from the group
consisting of: small intestine submucosa, stomach submucosa, bladder submucosa,
25 respiratory submucosa, alimentary submucosa, genital submucosa, and liver basement
membrane;
forming the extracellular matrix material into a foam having a plurality
of interconnected pores, the interconnected pores having an irregular shape and
extending in three dimensions, at least part of the extracellular matrix having
30 interconnected pores having a nominal pore size greater than 200 microns; and
implanting the foam in the bone having the disease or damage.

WO 03/007789

PCT/US02/22393

-35-

90. An implantable device for repairing or regenerating body tissue, the device comprising a porous naturally occurring extracellular matrix, the porous matrix having a density of less than 0.1 g/cc.
91. The implantable device of claim 90 wherein the porous matrix
5 has a density of less than 0.04 g/cc.
92. The implantable device of claim 91 wherein the porous matrix has a density of less than 0.01 g/cc.
93. The implantable device of claim 90 wherein the porous naturally occurring extracellular matrix comprises SIS.
- 10 94. The implantable device of claim 90 wherein the porous matrix comprises a reticulated foam.
95. The implantable device of claim 90 wherein the porous matrix comprises an open cell foam.
- 15 96. The implantable device of claim 90 wherein the porous matrix comprises a plurality of pores defining three-dimensional interconnected passageways having irregular shapes.
97. A method of processing an extracellular matrix material comprising the step of comminuting the extracellular matrix material in the presence of a liquid.
- 20 98. The method of claim 97, wherein:
the extracellular matrix material comprises small intestine submucosa,
and
the comminuting step comprises comminuting the small intestine submucosa in the presence of the liquid.
- 25 99. The method of claim 97, wherein:
the liquid comprises water, and
the comminuting step comprises comminuting the extracellular matrix material in the presence of water.

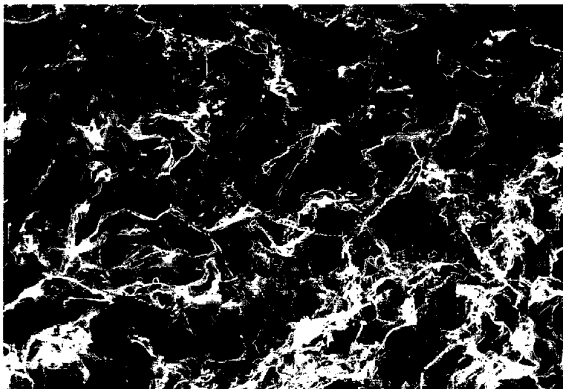


Fig. 1

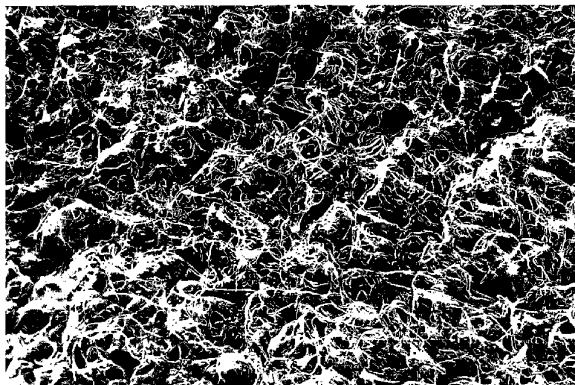


Fig. 2

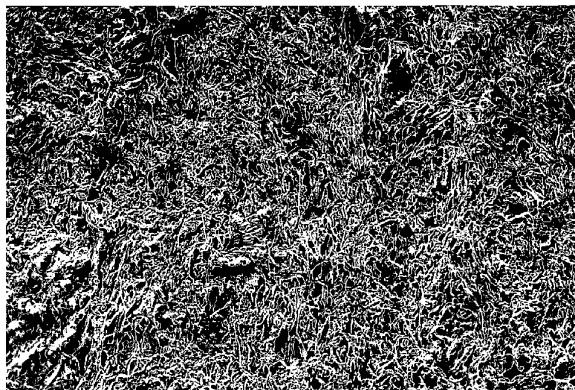


Fig. 3

WO 03/007789

PCT/US02/22393

4/8

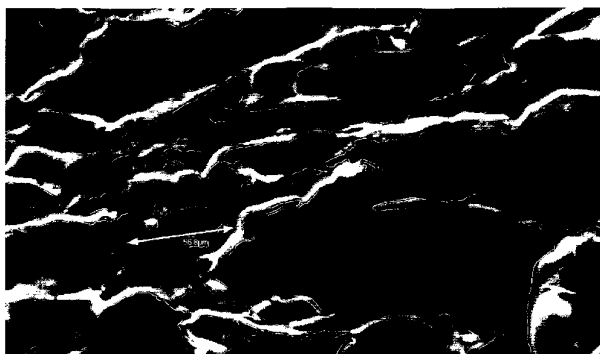


Fig. 4

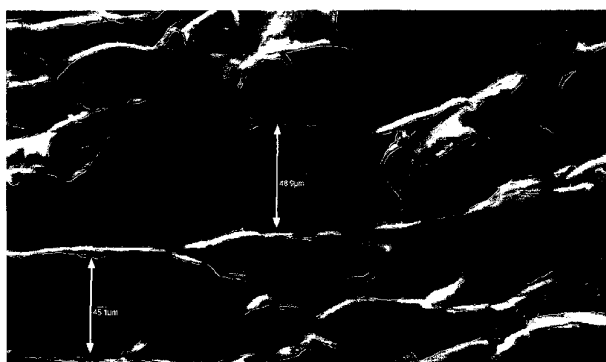


Fig. 5

WO 03/007789

PCT/US02/22393

5/8

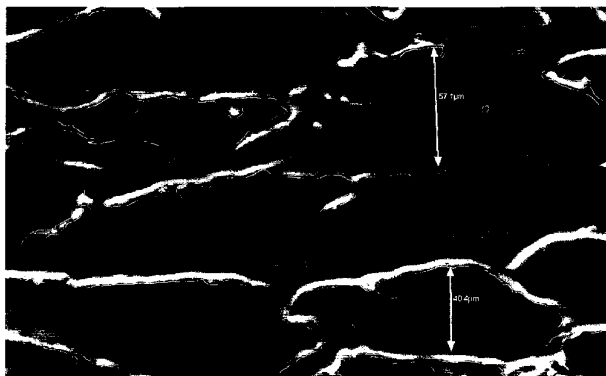


Fig. 6

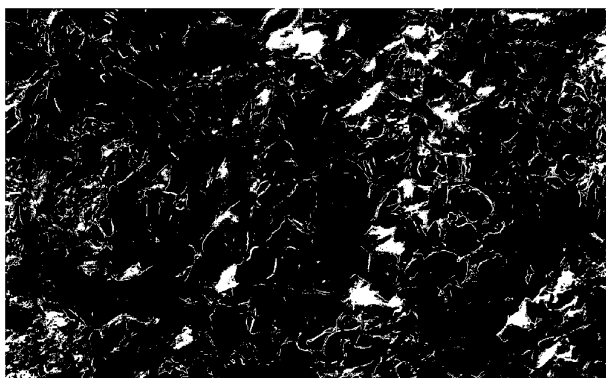


Fig. 7

WO 03/007789

PCT/US02/22393

6/8

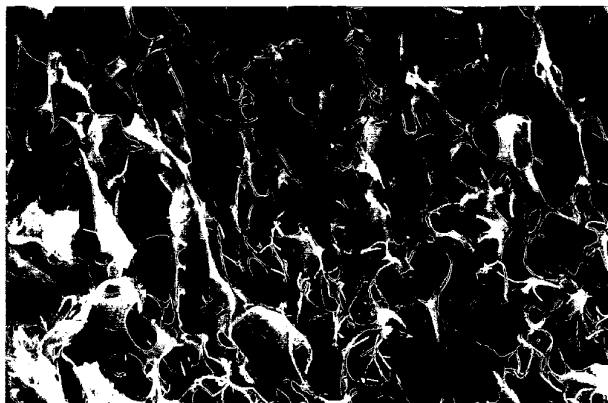


Fig. 8

WO 03/007789

PCT/US02/22393

7/8



Fig. 9

WO 03/007789

PCT/US02/22393

8/8

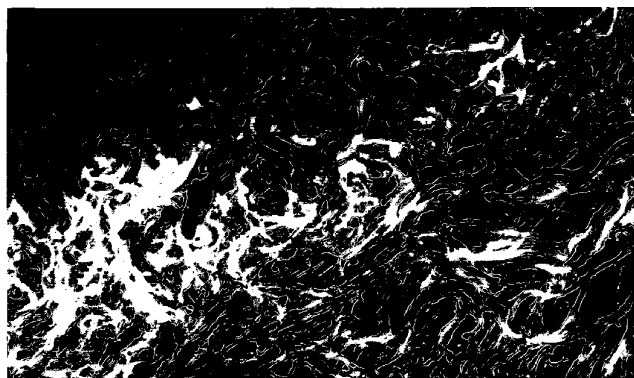


Fig. 10

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
30 January 2003 (30.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/007789 A3

- (51) International Patent Classification: A61K 35/38 (81) Designated States (*national*): AI, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) International Application Number: PCT/US02/22393
- (22) International Filing Date: 15 July 2002 (15.07.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/305,786 16 July 2001 (16.07.2001) US
60/388,761 14 June 2002 (14.06.2002) US
- (71) Applicant (*for all designated States except US*): DEPUY PRODUCTS, INC. [US/US]; 700 Orthopaedic Drive, Warsaw, IN 46581 (US).
- (72) Inventors; and
- (73) Inventors/Applicants (*for US only*): MALAVIYA, Prasanna [IN/US]; 3610 Winterfield Run, Fort Wayne, IN 46804 (US); SCHWARTZ, Herbert, Eugene [US/US]; 11702 Pennat Run, Fort Wayne, IN 46845 (US); PLOUHAR, Pamela, Lynn [US/US]; 17411 Battles Road, South Bend, IN 46614 (US); PELO, Mark, Joseph [US/US]; 14180 E 400 S, Maey, IN 46951 (US).
- (74) Agent: COFFEY, William, R.; Barnes & Thornburg, 11 South Meridian Street, Indianapolis, IN 46204 (US).
- (84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KR, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EL, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LU, MC, NL, PT, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
with international search report
- (88) Date of publication of the international search report: 22 May 2003
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.*



WO 03/007789 A3

(54) Title: POROUS EXTRACELLULAR MATRIX SCAFFOLD AND METHOD

(57) Abstract: A method of making an implantable scaffold for repairing damaged or diseased tissue includes the step of suspending pieces of an extracellular matrix material in a liquid. The extracellular matrix material and the liquid are formed into a mass. The liquid is subsequently driven off so as to form interstices in the mass. Porous implantable scaffolds fabricated by such a method are also disclosed.

【手続補正書】

【提出日】平成15年2月11日(2003.2.11)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項43

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項43】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な装置において、不規則な形状を有する三次元的な相互接続している通路を定めている複数の相互接続している気孔を含む一定の三次元的な連続気泡型の発泡体を備えており、この発泡体の少なくとも一部が天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織の基質を含む移植可能な装置。

【手続補正2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項44

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項44】

前記発泡体が天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質の相互接続している部材片を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

【手続補正3】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項45

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項45】

前記発泡体が一定の内表面部を有しており、当該内表面部が一定の不規則な形状の三次元的な形態を有する天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

【手続補正4】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項47

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項47】

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質が以下の、すなわち、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜の内の少なくとも1種類の少なくとも一部分を含む請求項43に記載の移植可能な装置。

【手続補正5】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項52

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項52】

身体組織を修復または再生するための移植可能な装置において、天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織の基質による一定の多孔質な網状の本体部分を備えている移植可能な装置。

【手続補正6】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項 5 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 5 3】

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質が以下の、すなわち、小腸粘膜下組織、胃粘膜下組織、膀胱粘膜下組織、消化管粘膜下組織、呼吸器粘膜下組織、生殖器粘膜下組織、および肝臓基底膜の内の少なくとも 1 種類の少なくとも一部分を含む請求項 5 2 に記載の移植可能な装置。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項 6 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 6 2】

身体組織を修復または再生するための一定の移植可能な支持骨格材料を作成する方法において、

一定の天然に発生する生体再造形可能な膠原性の組織基質を一定の原料の形態で供給する工程、

前記原料の天然に発生する生体再造形可能な膠原性の組織基質を粉碎して天然に発生する生体再造形可能な膠原性の組織基質の凝集性の部材片を形成する工程、および

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性の組織基質の凝集性の部材片を凍結乾燥して天然に発生する生体再造形可能な膠原性の組織基質の一定の網状の発泡体を形成する工程を含む方法。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 6 3】

前記天然に発生する生体再造形可能な膠原性の組織基質の網状の発泡体がコラーゲン以外の分子を含み、当該コラーゲン以外の分子が前記天然に発生する細胞外基質の原料の形態で存在している請求項 6 2 に記載の方法。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 1】

関連出願に対するクロス・リファレンス

同時係属の「メニスカス・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Meniscus Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 1 0 / 1 9 5 , 7 9 4 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 1 号, D E P - 7 4 5)、 「デバイス・フロム・ナチュラリー・オカール・バイオロジカル・デライブド・マテリアルズ (Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials)」を発明の名称とする米国特許出願第 1 0 / 1 9 5 , 7 1 9 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 2 号, D E P - 7 4 8)、 「カーティレイジ・リペア・アパレイタス・アンド・メソッド (Cartilage Repair Apparatus and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 1 0 / 1 9 5 , 3 4 7 号 (代理人明細書番号第 2 6 5 2 8 0 - 7 1 1 4 3 号, D E P - 7 4 9)、 「ユニタリー・サージカル・デバイス・アンド・メソッド (Unitary Surgical Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 1 0 / 1 9 5 , 3

44号(代理人明細書番号DEP-750)、「ハイブリッド・バイオロジック/シンセチック・ポラス・エクストラセルラー・マトリクス・スキャフォールド(Hybrid Biologic/Synthetic Porous Extracellular Matrix Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第10/195,341号(代理人明細書番号第265280-71144号, DEP-751)、「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド(Cartilage Repair and Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第10/195,606号(代理人明細書番号第265280-71145号, DEP-752)、「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・スキャフォールド・アンド・メソッド(Cartilage Repair and Regeneration Scaffolds and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第10/195,334号(代理人明細書番号第265280-71180号, DEP-763)、および「ポラス・デリバリー・スキャフォールド・アンド・メソッド(Porous Delivery Scaffold and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第10/195,633号(代理人明細書番号第265280-71207号, DEP-762)に対してクロス・リファレンスが行なわれており、これらのそれぞれは本特許出願と同一の譲受人に譲渡されており、これらのそれぞれは本特許出願と同時に提出されており、これらのそれぞれは本明細書に参考文献として含まれる。また、2002年6月14日に提出されている「ハイブリッド・バイオロジック・シンセチック・バイオアブソーバブル・スキャフォールズ(Hybrid Biologic-Synthetic Bioabsorbable Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第10/172,347号に対してもクロス・リファレンスが行なわれており、この特許出願は本特許出願と同一の譲渡人に譲渡されており、本明細書に参考文献として含まれる。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0004

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0004】

小腸の粘膜下組織は入手可能ではあるが、別のECMの供給源も組織再造形において有効であることが知られている。これらの供給源は、胃、膀胱、消化管、呼吸器、または生殖器の粘膜、あるいは肝臓の基底膜を含むがこれらに限らない。例えば、米国特許第6,379,710号、6,171,344号、6,099,567号、および5,554,389号を参照されたく、これらのそれぞれは本明細書に参考文献として含まれる。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0033】

その後、上記の凍結プレートを上記エタノール槽から除去して、上述したビルテイス・ゲネシス(Virtis Genesis)シリーズの凍結乾燥装置等のような、一定の適当な凍結乾燥装置の中に入れた。次に、凍結したSIS材料を自然に溶かすことなく、凍結乾燥処理により減圧および低温の条件下に氷の結晶を蒸気直接的に昇華した。このことにより、複数の気孔または隙間がそれまでに上記氷の結晶により占められていた空間部分の中に残る。この場合に、この凍結乾燥処理において用いた各パラメーターは8時間にわたる-13の一次乾燥温度における第1の期間に続き、4時間にわたる35の二次乾燥温度における第2の期間を含む。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0040

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0040】

その後、上記のプレートを各試料が完全に凍結するまで一定の - 80 のフリーザーの中に入れる。それぞれの材料の量に応じて、完全に凍結する時間が、例えば、約 1 分乃至約 30 分等のように変わり得る。その後、凍結した各プレートを上記フリーザーから除去して、一定の適当な凍結乾燥装置の中に入れて上記実施例 1 に関連して説明されているものと同様のパラメーター（すなわち、8 時間にわたる - 13 の一次乾燥温度における第 1 の期間に続き、4 時間にわたる 35 の二次乾燥温度における第 2 の期間）において凍結乾燥処理する。

【手続補正 13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0046

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0046】

上記の遠心分離処理と同時に、一定の液体窒素槽を一定の広口型の液体窒素容器の中に液体窒素を注ぎ入れることにより調製する。上記の各プレートはこの槽が準備されるまで遠心分離装置の中に保持されている。その後、各プレートがこの槽の中に浸漬されて、約 15 秒間にわたりこの液体の中に保持される。この窒素槽から取り出す際に、各プレートは解凍を避けるために一定の - 80 のフリーザーの中に速やかに入れられる。その後、これらの凍結したプレートはフリーザーから取り出されて、一定の適当な凍結乾燥装置の中に配置されて上記実施例 1 および 2 に関連して説明されているものと同様のパラメーター（すなわち、8 時間にわたる - 13 の一次乾燥温度における第 1 の期間に続き、4 時間にわたる 35 の二次乾燥温度における第 2 の期間）に従って凍結乾燥処理される。

【手続補正 14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0054

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0054】

上記の ECM 発泡体の各製品は上記以外の ECM 製品の密度よりも実質的に低い密度を有して作成することができる。比較のために、市場において入手可能なレストア (RESTORE) (登録商標) 製品である一定の ECM 積層体の密度は $0.466 \pm 0.074 \text{ g/cc}$ である。また、「デバイス・フロム・ナチュラリー・オカリング・バイオロジカル・デライブド・マテリアルズ (Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195,719 号 (代理人明細書番号第 265280-71142 号, DEP-748) において記載されているような粉碎および硬質化した SIS により構成されている一定の ECM 製品は $0.747 \pm 0.059 \text{ g/cc}$ の一定の密度を有して作成されている。さらに、「メニスカス・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Meniscus Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195,794 号 (代理人明細書番号第 265280-71141 号, DEP-745) において記載されているような増強した SIS 積層体により構成されている一定の ECM 製品は $0.933 \pm 0.061 \text{ g/cc}$ の一定の密度を有して作成されている。

【手続補正 15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0058

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0058】

上記の「生物学的に誘導されている物質 (Biologically derived agents)」はまた生体再造形可能な種々の膠原性の組織基質も含む。さらに、この表現の「生体再造形可能な膠原性組織基質 (bioremodelable collagenous tissue matrix)」および「天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質 (naturally occurring bioremodelable collagenous tissue matrix)」は皮膚、動脈、静脈、心膜、心臓弁、硬膜、靱帯、骨、軟骨、膀胱、肝臓、胃、筋膜および腸管、腱、および同類の供給源から成る群から選択される天然組織から誘導されている種々の基質を含む。この「天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質」は洗浄、加工、滅菌、および随意的に架橋されている基質材料を意味することを目的としているが、種々の天然の繊維を精製して精製した天然の繊維から一定の基質材料を再形成することは一定の天然に発生する生体再造形可能な膠原性組織基質の定義には含まれない。さらに、上記用語の「生体再造形可能な膠原性組織基質 (bioremodelable collagenous tissue matrices)」は「種々の細胞外基質 (extracellular matrices)」をその定義内に含む。

【手続補正 16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0060

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0060】

上記の「生物学的な潤滑剤 (Biological lubricants)」はヒアルロン酸ナトリウム等のようなヒアルロン酸およびその塩類、デルマトン硫酸等のようなグリコサミノグリカン、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸およびケラタン硫酸、種々のムチン糖タンパク質 (例えば、ルブリシン (lubricin)) を含む骨膜液および骨膜液の種々の成分、ピトロネクチン、トリボネクチン (tribonectins)、関節軟骨表面領域タンパク質、表面活性リン脂質、潤滑性糖タンパク質 I, II、および雄鶏冠 (rooster comb) ヒアルロネート等を含む。この「生物学的な潤滑剤」はまた英国リーズのデピュイ・インターナショナル社 (De Puy International, Ltd.) から欧州において入手可能であり、イスラエル国レホボットのバイオ・テクノロジー・ジェネラル (イスラエル) 社 (Bio-Technology General (Israel) Ltd.) により製造されているアースリース (ARTHREASE) (商標) 高分子量ヒアルロン酸ナトリウム、ニュージャージー州リッジフィールドのバイオマトリクス社 (Biomatrix, Inc.) により製造されていて、ペンシルバニア州フィラデルフィアのワイエス・エイエルスト・ファーマシューティカルズ社 (Wyeth-Ayerst Pharmaceuticals) により配給されているシンビスク (SYNVISC) (登録商標) ハイラン (Hylan) G - F 20、ニューヨーク州ニューヨークのサノフィ・シンセラボ社 (Sanofi-Synthelabo, Inc.) から入手可能であり、イタリア国パジュアのフィデア S.p.A 社 (FIDIA S.p.A) により製造されているハイラガン (HYLAGAN) (登録商標) ヒアルロン酸ナトリウム、および 1%、1.4% および 2.3% (眼科学的使用用) の濃度でニュージャージー州ピーパックのファーマシア・コーポレーション社 (Pharmacia Corporation) から入手可能であるヘアロン (HEALON) (登録商標) ヒアルロン酸ナトリウム等のような種々の市販製品を含むことも目的としている。また、別の上記のような物質が整形外科の分野において治療的価値を有する場合には、これらの物質の少なくとも一部が本発明の開示の概念における有用性を有することが予想され、このような物質は特別に限定されない限りにおいて上記の「生物学的な潤滑剤 (biological luburicant) および (biological luburicants)」の意味に当然に含まれると考えられる。

【手続補正 17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0061

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0061】

上記の「生体相容性のポリマー (Biocompatible polymers)」は種々の合成のポリマーおよび種々の生体ポリマー (例えば、コラーゲン等) の両方を含むことを目的としている。このような生体相容性のポリマーの例はポリ (L-ラクチド) (PLLA) およびポリグリコリド (PGA) 等のような種々の [アルファ] - ヒドロキシカルボン酸のポリエステル、ポリ - p - ジオキサノン (PDO)、ポリカプロラクトン (PCL)、ポリビニル・アルコール (PVA)、ポリエチレン・オキシド (PEO)、米国特許第 6, 333, 029 号および 6, 355, 699 号において開示されている種々のポリマー、および種々のプロテゼ移植片の構成において利用されている種々のポリマーまたはコポリマーの任意の別の生体吸収性で生体相容性のポリマー、コポリマーまたは種々のポリマーまたはコポリマーの混合物を含む。加えて、新しい生体相容性で生体吸収性の材料が開発される場合に、これらの材料の少なくとも一部がその材料により種々の整形外科装置が作成可能になる有用な材料になることが予想される。従って、上記の材料は例示のみを目的として示されており、本発明の開示が特許請求の範囲において特別に記載されていない限り任意の特定の材料に限定されないことが当然に理解されるべきである。

【手続補正 18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0066

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0066】

本発明の開示の ECM 発泡体が、2002 年 6 月 14 日に出願されている「ハイブリッド・バイオロジック・シンセチック・バイオアブソーバブル・スキャフォールズ (Hybrid Biologic-Synthetic Bioabsorbable Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 172, 347 号と共に、本特許出願と同時に開示されている、それぞれの内容全体が本明細書に参考文献として含まれている、以下の特許出願、すなわち、「メニスカス・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Meniscus Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 794 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71141 号, DEP - 745)、「デバイス・フロム・ナチュラリー・オカール・バイオロジカル・デライブド・マテリアルズ (Devices from Naturally Occurring Biologically Derived Materials)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 719 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71142 号, DEP - 748)、「カーティレイジ・リペア・アパレイタス・アンド・メソッド (Cartilage Repair Apparatus and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 347 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71143 号, DEP - 749)、「ユニタリー・サージカル・デバイス・アンド・メソッド (Unitary Surgical Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 344 号 (代理人明細書番号 DEP - 750)、「ハイブリッド・バイオロジック・シンセチック・ポラス・エクストラセルラー・マトリクス・スキャフォールド (Hybrid Biologic/Synthetic Porous Extracellular Matrix Scaffolds)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 341 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71144 号, DEP - 751)、「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・デバイス・アンド・メソッド (Cartilage Repair and Regeneration Device and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 606 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71145 号, DEP - 752)、「カーティレイジ・リペア・アンド・リジェネレーション・スキャフォールド・アンド・メソッド (Cartilage Repair and Regeneration Scaffolds and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 334 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71180 号, DEP - 763)、および「ポラス・デリバリー・スキャフォールド・アンド・メソッド (Porous Delivery Scaffold and Method)」を発明の名称とする米国特許出願第 10 / 195, 633 号 (代理人明細書番号第 265280 - 71207 号, DEP - 762) において開示されているそれぞれの概念と共に組み合わせることが可能で

あると予想される。例えば、整形外科の種々の用途において、移植処理がその移植部位へのヒアルロン酸の投与を含む一定の治療プログラムを伴うかこれに従うことが望ましいと考えられる。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/22393
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 35/38 US CL : 424/551 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/551 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,916,265 A (HU) 29 June 1999 (29.06.1999), see the entire document.	1-99
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and now in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered with two or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search: 14 December 2002 (14.12.2002)		Date of mailing of the international search report: 22 JAN 2003
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer: John C. Witz Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/U802/22393

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
CAPLUS, INPADOC, BIOSIS, MEDLINE, EAST
search terms: extracellular matrix, freeze dry?, lyophil?

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 マレイビア・プラサナ

アメリカ合衆国、4 6 8 0 4 インディアナ州、フォート・ウェイン、ウィンターフィールド・ラ
ン 3 6 1 0

(72)発明者 シュワルツ・ハーバート・ユージーン

アメリカ合衆国、4 6 8 4 5 インディアナ州、フォート・ウェイン、ペナット・ラン 1 1 7 0
2

(72)発明者 プロウハー・パメラ・リン

アメリカ合衆国、4 6 6 1 4 インディアナ州、サウス・ベンド、バトルズ・ロード 1 7 4 1 1

(72)発明者 ペロ・マーク・ジョゼフ

アメリカ合衆国、4 6 9 5 1 インディアナ州、メイシー、イー・4 0 0 ・エス 1 4 1 8 0

Fターム(参考) 4C081 AB02 AB11 BA12 BA16 CD131 DA11 DB03