

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2018年7月5日(05.07.2018)



(10) 国際公開番号

WO 2018/123307 A1

(51) 国際特許分類:

A61L 27/50 (2006.01) D04H 1/4382 (2012.01)
A61L 27/40 (2006.01) D04H 1/728 (2012.01)
B32B 5/24 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2017/040985

(22) 国際出願日: 2017年11月14日(14.11.2017)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2016-252791 2016年12月27日(27.12.2016) JP

(71) 出願人: グンゼ株式会社 (GUNZE LIMITED)
[JP/JP]; 〒6238511 京都府綾部市青野町
膳所1番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 中山 英隆 (NAKAYAMA, Hidetaka);
〒6238512 京都府綾部市井倉新町石風呂
1番地 グンゼ株式会社 Q O L 研究所内
Kyoto (JP). 新岡 俊治 (SHINOKA, Toshiharu);
〒1560051 東京都世田谷区宮坂三丁目3
6-11 Tokyo (JP). 宮地 秀樹 (MIYACHI,
Hideki); 〒2510037 神奈川県藤沢市鵠沼海岸1
-12-3 Kanagawa (JP). 太良 修平 (TARA,
Shuhei); 〒1130024 東京都文京区西片1-4-
7-302 Tokyo (JP). 杉浦 唯久 (SUGIURA,
Tadahisa); 〒1920373 東京都八王子市上柚木
2-63-6-312 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所 (SAEGUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪

府大阪市中央区道修町1-7-1 北
浜T N Kビル Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: POROUS BASE MATERIAL FOR TISSUE RECONSTRUCTION, ARTIFICIAL BLOOD VESSEL AND METHOD FOR PRODUCING SAME

(54) 発明の名称: 多孔質組織再生基材、人工血管、及びそれらの製造方法

(57) Abstract: Provided are a porous base material for tissue reconstruction, said porous base material having excellent cell infiltration properties and thus exhibiting excellent tissue reconstruction ability, and an artificial blood vessel. Also provided is a production method whereby the porous base material for tissue reconstruction or the artificial blood vessel can be easily produced. The porous base material for tissue reconstruction according to the present invention is a laminate consisting of at least two layers formed of bioabsorbable materials, characterized by comprising at least one ultrafine fiber nonwoven fabric layer and at least one porous layer having an average pore size of 0.1-800 μm , said porous layer being disposed on the surface of said ultrafine fiber nonwoven fabric layer.

(57) 要約: 本発明は、細胞浸潤性に優れることにより、組織再生性に優れた多孔質組織再生基材及び人工血管を提供する。また、本発明は、これらを容易に製造することができる製造方法を提供する。本発明は、生体吸収性材料からなる少なくとも2層の積層体である多孔質組織再生基材であって、少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、前記極細繊維不織布層の表面に、平均孔径が0.1~800 μm である少なくとも1層の多孔質層を有する、ことを特徴とする多孔質組織再生基材を提供する。

WO 2018/123307 A1

明 細 書

発明の名称：

多孔質組織再生基材、人工血管、及びそれらの製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、多孔質組織再生基材、人工血管、及びそれらの製造方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、医療の分野において、ヒト細胞等の動物細胞の培養が行われており、それらの細胞を用いてヒトの組織や器官等を再生する、再生医療が行われている。

[0003] 上述の再生医療では、組織再生基材を患者の体内に埋め込み、当該再生基材中に細胞を侵入させて増殖分化させ、組織又は器官が再生される。

[0004] 上述のような組織再生基材として、生体吸収性高分子からなる多孔質組織再生基材が用いられている。多孔質組織再生基材を体内に埋め込むことにより、孔に細胞が侵入して増殖分化し、早期に組織が再生される。また、多孔質組織再生基材を生体吸収性高分子により形成することで、組織再生後に手術により取り出さなくても、多孔質組織再生基材が分解されて体内に吸収される。

[0005] このような生体吸収性高分子からなる多孔質基材として、例えば血管組織を構成している細胞外基質の構造を模倣できるエレクトロスピンニング技術（以下、「ESD」という）を使用したナノファイバーチューブ（ESDチューブ）が注目されており、ナノファイバーの平滑性が優れていることから、血栓が付き難いことが報告されている（非特許文献1参照）。

[0006] しかしながら、上述のようなナノファイバーチューブのポアサイズは小さいため、細胞浸潤性に劣り、組織再生に時間がかかるという問題がある（非特許文献2参照）。

[0007] 上記問題を解決するために、予め細胞特異的接着ペプチドや繊維芽細胞増

殖因子等の細胞成長因子を導入し、組織再生を早めることが試みられている。しかしながら、これらの細胞成長因子が血流の条件の中ナノファイバークューブに留まっているかが明確ではなく、また、過剰な細胞成長因子が周辺組織の増殖を促すことによる悪影響が懸念されるという問題がある。また、細胞成長因子が存在しなくなった場合に細胞浸潤性が改善されず、組織再生性に劣るという問題がある（特許文献 1 及び 2 参照）。

[0008] 従って、細胞浸潤性に優れることにより、組織再生性に優れた多孔質組織再生基材及び人工血管の開発が望まれており、これらを製造することができる製造方法の開発が望まれている。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：特許第 4 4 1 7 9 0 9 号公報

特許文献2：特許第 5 7 9 2 4 4 2 号公報

非特許文献

[0010] 非特許文献1：Acta Biomaterialia, 8(2012), 4349-4356

非特許文献2：Biomaterials, 33(2012)38-47

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] 本発明は、細胞浸潤性に優れることにより、組織再生性に優れた多孔質組織再生基材及び人工血管を提供することを目的とする。また、本発明は、これらを容易に製造することができる製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0012] 本発明者は、上記課題を解決するために鋭意研究を行った結果、生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層の積層体である多孔質組織再生基材において、少なくとも 1 層の極細繊維不織布層を有し、当該極細繊維不織布層の表面に、平均孔径が特定の範囲の少なくとも 1 層の多孔質層を有する構成、又は、生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層のチューブ状の人工血管において

、最内層に少なくとも 1 層の極細繊維不織布層を有し、当該極細繊維不織布層の外側の表面に平均孔径が特定の範囲の少なくとも 1 層の多孔質層を有する構成とすることにより、上記目的を達成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0013] 即ち、本発明は下記の多孔質組織再生基材、人工血管、及びそれらの製造方法を提供する。

1. 生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層の積層体である多孔質組織再生基材であって、

少なくとも 1 層の極細繊維不織布層を有し、

前記極細繊維不織布層の表面に、平均孔径が $0.1 \sim 800 \mu\text{m}$ である少なくとも 1 層の多孔質層を有する、

ことを特徴とする多孔質組織再生基材。

2. 前記極細繊維不織布層は、平均繊維径が $0.1 \sim 10 \mu\text{m}$ の極細繊維からなる、項 1 に記載の多孔質組織再生基材。

3. 前記極細繊維不織布層は、生体吸収性の異なる 2 種以上の生体吸収性高分子からなる、項 1 又は 2 に記載の多孔質組織再生基材。

4. 生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層の多孔質組織再生基材の製造方法であって、

(1) 高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して積層体を得る工程 1、

(2) 前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、前記積層体の前記高分子層を膨潤させる工程 2、(3) 前記積層体の膨潤させた前記高分子層と前記極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程 3、

(4) 生体吸収性高分子と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒 1 と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、前記生体吸収性高分子に対する溶解度よりも前記極細繊維不織布層に対する溶解度が低く前記溶媒 1 と相溶しない溶媒 2 と、前記溶媒 1 及び前記溶

媒 2 と相溶する共溶媒 3 とを用いて、前記生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程 4、

(5) 前記均一溶液を、前記積層体の前記極細繊維不織布層の表面に塗工する工程 5、(6) 前記積層体の表面の前記均一溶液を冷却して、前記積層体の前記極細繊維不織布層の表面に前記生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて複合体を形成する工程 6、(7) 前記複合体の前記高分子層を、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、前記高分子層を前記複合体から取り除き、前記極細繊維不織布層及び前記多孔質層からなる複合多孔体を得る工程 7、

(8) 前記複合多孔体を凍結乾燥して多孔質組織再生基材を得る工程 8、を有することを特徴とする多孔質組織再生基材の製造方法。

5. 前記共溶媒 3 を 2 種以上用い、前記 2 種以上の共溶媒 3 の配合比を調整することにより、得られる多孔質層の平均孔径を制御する、項 4 に記載の多孔質組織再生基材の製造方法。

6. 生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層のチューブ状の人工血管であって、

最内層に少なくとも 1 層の極細繊維不織布層を有し、

前記極細繊維不織布層の外側の表面に平均孔径が $0.1 \sim 800 \mu\text{m}$ である少なくとも 1 層の多孔質層を有する、ことを特徴とする人工血管。

7. 前記極細繊維不織布層は、平均繊維径が $0.1 \sim 10 \mu\text{m}$ の極細繊維からなる、項 6 に記載の人工血管。

8. 前記極細繊維不織布層は、生体吸収性の異なる 2 種以上の生体吸収性高分子からなる、項 6 又は 7 に記載の人工血管。

9. 生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層のチューブ状の人工血管の製造方法であって、

(1-1) 棒状体上に高分子層を形成する工程 1-1、

(1-2) 前記高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して棒状積層体を得る工程1-2、

(2) 前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、前記棒状積層体の前記高分子層を膨潤させる工程2、

(3) 膨潤させた前記高分子層と前記極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程3、

(4) 生体吸収性高分子と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒1と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、前記生体吸収性高分子に対する溶解度よりも前記極細繊維不織布層に対する溶解度が低く前記溶媒1と相溶しない溶媒2と、前記溶媒1及び前記溶媒2と相溶する共溶媒3とを用いて、前記生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程4、

(5) 前記均一溶液を、前記棒状積層体の前記極細繊維不織布層の表面に塗工する工程5、

(6) 前記棒状積層体の表面の前記均一溶液を冷却して、前記棒状積層体の前記極細繊維不織布層の表面に前記生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて棒状複合体を形成する工程6、

(7) 前記棒状複合体の前記高分子層を、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、前記棒状体及び前記高分子層を前記棒状複合体から取り除き、前記極細繊維不織布層及び前記多孔質層からなるチューブ状の複合多孔体を得る工程7、

(8) 前記チューブ状の複合多孔体を凍結乾燥してチューブ状の人工血管を得る工程8、

を有することを特徴とする人工血管の製造方法。

10. 前記棒状体は、金属からなる、項9に記載の人工血管の製造方法。

発明の効果

[0014] 本発明の多孔質組織再生基材及び人工血管は、細胞浸潤性に優れており、優れた組織再生性を示すことができる。また、本発明の多孔質組織再生基材の製造方法及び人工血管の製造方法によれば、上記多孔質再生基材及び人工血管を容易に製造することができる。

図面の簡単な説明

[0015] [図1]本発明の人工血管の製造方法において、工程 1 - 1 を電界紡糸法により行う場合を示す模式図である。

[図2]本発明の人工血管の製造方法において、工程 1 - 1 により、棒状体上に高分子層が形成された状態を示す図である。

[図3]本発明の人工血管の製造方法における工程 1 - 2 を示す模式図である。

[図4]本発明の人工血管の製造方法の工程 1 - 2 により得られる棒状積層体を示す図である。

[図5]本発明の人工血管の製造方法において、工程 3 により、膨潤させた高分子層と極細繊維不織布層とを圧着させる状態を示す断面模式図である。

[図6]本発明の人工血管の製造方法において、工程 5 により、均一溶液を、棒状積層体の極細繊維不織布層の表面に塗工する状態を示す図である。

[図7]本発明の人工血管の製造方法において、工程 6 により得られた棒状複合体を示す図である。

[図8]本発明の人工血管の製造方法において、工程 7 により得られたチューブ状の複合多孔体を示す図である。

[図9]実施例 1 で得られた人工血管の電子顕微鏡写真である。

[図10]比較例 1 で得られた人工血管の電子顕微鏡写真である。

[図11]実施例 1 において得られた人工血管の術後 8 週目の埋植部分を摘出して得られた標本を H E 染色して撮影した顕微鏡写真である。

[図12]比較例 1 において得られた人工血管の術後 8 週目の埋植部分を摘出して得られた標本を H E 染色して撮影した顕微鏡写真である。

発明を実施するための形態

[0016] 本発明の多孔質組織再生基材は、生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層

の積層体である多孔質組織再生基材であって、少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、上記極細繊維不織布層の表面に、平均孔径が0.1～800 μm である少なくとも1層の多孔質層を有する多孔質組織再生基材である。また、本発明の人工血管は、生体吸収性材料からなる少なくとも2層のチューブ状の人工血管であって、最内層に少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、上記極細繊維不織布層の外側の表面に平均孔径が0.1～800 μm である少なくとも1層の多孔質層を有する人工血管である。本発明の多孔質組織再生基材及び人工血管は、上記構成を備えているので、多孔質層の空隙部分に細胞が侵入して増殖し易くなっており、早期に組織が再生される。特に、本発明の多孔質組織再生基材をチューブ状にして、最内層に少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、極細繊維不織布層の外側の表面に平均孔径が0.1～800 μm である少なくとも1層の多孔質層を有する構成とした本発明の人工血管では、最内層の極細繊維不織布層の表面が平滑性に優れていることから、血栓等が付着し難く、血管の詰まりが抑制されるので、人工血管として好適に用いることができる。

[0017] また、本発明の多孔質組織再生基材の製造方法、及び人工血管の製造方法によれば、上記多孔質組織再生基材及び人工血管を容易に製造することができる。

[0018] 以下、本発明の多孔質組織再生基材、人工血管、及びそれらの製造方法について詳細に説明する。

[0019] 1. 多孔質組織再生基材

本発明の多孔質組織再生基材は、生体吸収性材料からなる少なくとも2層の積層体である多孔質組織再生基材であって、少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、上記極細繊維不織布層の表面に、平均孔径が0.1～800 μm である少なくとも1層の多孔質層を有する。上記多孔質組織再生基材の層構成は、上記少なくとも2層の積層体であり、後述する極細繊維不織布層及び多孔質層を少なくともそれぞれ1層ずつ有していれば特に限定されない。

[0020] 多孔質組織再生基材の形状は特に限定されず、平面状、チューブ状等の種々の形状であってもよい。多孔質組織再生基材を平面状に形成した場合、皮膚等の比較的平面性を要求される組織の多孔質組織再生基材として好適に用いることができる。

[0021] 本発明の多孔質組織再生基材を、極細繊維不織布層が最内層となるようにチューブ状に形成した場合、本発明の人工血管となる。

[0022] (極細繊維不織布層)

極細繊維不織布層は、生体吸収性材料からなる、極細繊維により形成される不織布層である。特に、多孔質組織再生基材において、極細繊維不織布層を血液に接触する層とした場合、血栓形成を抑制し、且つ、血液中からの細胞浸潤を容易にすることができる。また、極細繊維不織布層を設けることにより多孔質組織再生基材の強度を向上させることができる。

[0023] 極細繊維不織布層を構成する生体吸収性材料としては生体吸収性を有していれば特に限定されず、例えば、生体吸収性高分子を好適に用いることができる。生体吸収性高分子としては、ポリグリコール酸、ポリグリコリド、ポリラクチド、ポリ- ϵ -カプロラクトン、ラクチド-グリコール酸共重合体、グリコリド- ϵ -カプロラクトン共重合体、ラクチド- ϵ -カプロラクトン共重合体、ポリジオキサノン、ポリクエン酸、ポリリンゴ酸、ポリ- α -シアノアクリレート、ポリ- β -ヒドロキシ酸、ポリトリメチレンオキサレート、ポリテトラメチレンオキサレート、ポリオルソエステル、ポリオルソカーボネート、ポリエチレンカーボネート、ポリ- γ -ベンジルーレーグルタメート、ポリ- γ -メチルーレーグルタメート、ポリ- ϵ -アラニン、ポリグリコールセバスチン酸等の合成高分子；デンプン、アルギン酸、ヒアルロン酸、キチン、ペクチン酸及びその誘導体等の多糖類；ゼラチン、コラーゲン、アルブミン、フィブリン等のタンパク質等の天然高分子等が挙げられる。

[0024] 上記生体吸収性材料は1種単独で用いてもよいし、2種以上を混合して用いてもよい。特に、生体吸収性の異なる2種以上の生体吸収性高分子を組み

合わせて用いることが好ましい。生体吸収性の異なる2種以上の生体吸収性高分子を組み合わせ、極細繊維不織布層を構成することにより、極細繊維不織布層への細胞の侵入をより一層容易にすることができ、血管再生の遅延や、石灰化の原因となることをより一層抑制することができる。例えば、相対的に生体吸収性の高いポリグリコリドと、相対的に生体吸収性の低いポリラクチドとを組み合わせ、極細繊維不織布層を構成するとする。この場合、特に強度が求められる移植直後の比較的初期においては、2種の生体吸収性高分子のいずれもが分解せずに存在することから、高い強度向上効果を発揮できる。その後、徐々に生体吸収性の高いポリグリコリドが分解され吸収されていくに従って、極細繊維不織布層に空隙が生成する。この空隙により細胞の侵入がより一層容易となり、血管再生がより一層促進され、石灰化をより一層抑制することができる。

[0025] 極細繊維不織布層を形成する繊維の繊維径は $0.1\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ が好ましい。上記繊維系を $0.1\mu\text{m}$ 以上とすることで、繊維間と繊維間の距離が適度に広くなり細胞浸潤性がより一層優れ、 $10\mu\text{m}$ 以下とすることで、極細繊維不織布層の表面の平滑性がより一層向上して、血栓形成の一因である血小板の付着をより一層抑制することができる。上記繊維径は $0.3\mu\text{m}\sim 8.0\mu\text{m}$ がより好ましく、 $0.3\mu\text{m}\sim 5.0\mu\text{m}$ が更に好ましい。

[0026] 本明細書において、上記極細繊維不織布層を形成する繊維の平均繊維径は、多孔質組織再生基材をその表面とは垂直方向に切断し、得られた電子顕微鏡像の任意の10点の繊維の直径を測定し、その平均値を算出することにより測定される。同様に、本発明の多孔質組織再生基材が人工血管である場合は、チューブ状の人工血管を長手方向と直交する方向で切断し、人工血管の壁面の断面の中央付近を電子顕微鏡を用いて電子顕微鏡像を撮影し、得られた電子顕微鏡像の任意の10点の繊維の直径を測定し、その平均値を算出することにより測定される。

[0027] 極細繊維不織布層の厚みは $10\sim 1000\mu\text{m}$ が好ましい。極細繊維不織布層の厚みが上記範囲内であると、より一層強度向上効果を発揮することが

できる。

[0028] 極細繊維不織布層は、少なくとも1層形成されていればよく、複数層形成されていてもよい。

[0029] (多孔質層)

多孔質層は、組織再生を早めるため、極細繊維不織布層の表面に配置される層である。多孔質層は、極細繊維不織布層の少なくとも片面の表面に形成されていればよく、両面の表面に形成されていてもよいが、通常は片面の表面にのみ形成される。

[0030] 多孔質層の平均孔径は、 $0.1 \sim 800 \mu\text{m}$ である。平均孔径が $0.1 \mu\text{m}$ より小さいと細胞浸潤性が劣り、 $800 \mu\text{m}$ より大きいと侵入してきた細胞を補足することが困難となる。多孔質層の平均孔径は、 $1.0 \sim 700 \mu\text{m}$ が好ましく、 $10 \sim 600 \mu\text{m}$ がより好ましい。

[0031] 本明細書において、上記多孔質層の平均孔径は、多孔質組織再生基材をその表面とは垂直方向に切断し、多孔質組織再生基材の断面の中央付近を電子顕微鏡を用いて電子顕微鏡像を撮影し、得られた電子顕微鏡像の多孔質層の任意の10点の孔の直径（長径）を測定して、その平均値を算出することにより測定される。同様に、本発明の多孔質組織再生基材が人工血管である場合は、チューブ状の人工血管を長手方向と直交する方向で切断し、人工血管の壁面の断面の中央付近を電子顕微鏡を用いて電子顕微鏡像を撮影し、得られた電子顕微鏡像の多孔質層の任意の10点の孔の直径（長径）を測定して、その平均値を算出することにより測定される。

[0032] 多孔質層は、生体吸収性高分子により形成されていることが好ましい。多孔質層を形成する生体吸収性高分子としては特に限定されず、上述した極細繊維不織布層を構成する生体吸収性高分子と同様の生体吸収性高分子を用いることができる。

[0033] 多孔質層の厚みは、上記極細繊維不織布層の厚みとのバランス、所望の形状、及び人工血管である場合は所望の口径を勘案して設定すればよい。多孔質層の厚みは特に限定されず、 $10 \sim 1000 \mu\text{m}$ が好ましく、 $50 \sim 60$

0 μ m がより好ましい。

[0034] 多孔質層は、少なくとも1層形成されていればよく、複数層形成されていてもよい。

[0035] 本発明の多孔質組織再生基材は、各層に、ヘパリン等の血栓の形成を防止する剤や、bFGF等の血管の再生を促進する成長因子等を含有してもよい。更に、移植に先立って、間葉系幹細胞等の細胞が播種されていてもよい。

[0036] 2. 人工血管

本発明の人工血管は、生体吸収性材料からなる少なくとも2層のチューブ状の人工血管であって、最内層に少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、上記極細繊維不織布層の外側の表面に平均孔径が0.1～800 μ mである少なくとも1層の多孔質層を有する。上記多孔質組織再生基材を、極細繊維不織布層が最内層となるようにチューブ状に形成した場合、本発明の人工血管となる。

[0037] 本発明の人工血管において、上記極細繊維不織布層は最内層の直接血液に接触する層であり、血栓形成を抑制し、且つ、血液中からの細胞浸潤を容易にする層である。また、極細繊維不織布層を設けることにより人工血管の強度を向上させることができる。

[0038] 本発明の人工血管において、上記多孔質層は、極細繊維不織布層の外側の表面に形成される。上記構成とすることで、最内層の直接血液に接触する層が極細繊維不織布層となり、血栓形成を抑制し、且つ、血液中からの細胞浸潤を容易にすることができる。

[0039] 人工血管の内径は特に限定されず、一般的な血管の内径から、好ましい下限は0.5 mm、好ましい上限は8.0 mm程度である。また、上記人工血管の外径は特に限定されず、一般的な血管の外径から、好ましい下限は1.0 mm、好ましい上限は10.0 mm程度である。とりわけ内径が2.0～5.0 mm程度の抹消血管の再生にも利用可能な人工血管は、従来の方法では製造が困難であったが、後述する本発明の人工血管の製造方法によれば容易に製造することができる。

[0040] 本発明の人工血管の上記以外の構成については、上記多孔質組織再生基材と同一である。

[0041] 本発明の人工血管は、人工血管以外にも神経再生に用いることができる。また、本発明のチューブ状の人工血管を長手方向と平行方向に切開し、血管欠損部の組織再生を促すパッチ等の組織再生基材として用いることができる。

[0042] 3. 多孔質組織再生基材の製造方法

本発明の多孔質組織再生基材の製造方法は、生体吸収性材料からなる少なくとも2層の多孔質組織再生基材の製造方法であって、

(1) 高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して積層体を得る工程1、

(2) 上記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、上記高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、上記積層体の前記高分子層を膨潤させる工程2、(3) 上記積層体の膨潤させた上記高分子層と上記極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程3、

(4) 生体吸収性高分子と、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒1と、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、上記生体吸収性高分子に対する溶解度よりも上記極細繊維不織布層に対する溶解度が低く上記溶媒1と相溶しない溶媒2と、上記溶媒1及び上記溶媒2と相溶する共溶媒3とを用いて、上記生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程4、

(5) 上記均一溶液を、上記積層体の上記極細繊維不織布層の表面に塗工する工程5、(6) 上記積層体の表面の上記均一溶液を冷却して、上記積層体の上記極細繊維不織布層の表面に上記生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて複合体を形成する工程6、(7) 上記複合体の上記高分子層を、上記高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ上記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、上記高分子層を上記複合体から取り除き、上記極細繊維不織布層及び上記多孔質層からなる複合多孔

体を得る工程 7、

(8) 上記複合多孔体を凍結乾燥して多孔質組織再生基材を得る工程 8、
を有する製造方法である。

[0043] 本発明の多孔質組織再生基材の製造方法により製造される多孔質組織再生基材の形状がチューブ状である場合、本発明の人工血管となる。このため、後述するように、本発明の多孔質組織再生基材の製造方法において、棒状体上に高分子層、極細繊維不織布層及び多孔質層を形成し、棒状体及び高分子層を取り除く工程を有する製造方法とすることにより、本発明の人工血管の製造方法となる。先ず、以下に本発明の多孔質組織再生基材の製造方法について説明する。

[0044] (工程 1)

工程 1 は、高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して積層体を得る工程である。

[0045] 高分子層は、後述する多孔質層を形成するための生体吸収性高分子の均一溶液が、極細繊維不織布層の高分子層を形成する側の表面へ侵入することを抑制する層であり、最終的に取り除かれる層である。

[0046] 高分子層を形成する高分子としては、多孔質層を形成するための生体吸収性高分子の均一溶液の極細繊維不織布層への侵入を抑制でき、形成された高分子層を容易に取り除くことができれば特に限定されない。このような高分子としては、例えば、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキサイド、ポリエチレングリコール、HEMA、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリルアミド、ポリエチレンイミン、ポリビニルピロリドン、ポリグルタミン酸、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、でんぷん、キサンタンガム、ゼラチン等が挙げられる。これらの中でも、生体吸収性高分子の均一溶液の極細繊維不織布層への侵入をより一層抑制することができ、且つ、形成された高分子層を容易に取り除くことができる点で、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸ナトリウムが好ましい。

[0047] 上記高分子は、1 種単独で用いてもよいし、2 種以上を混合して用いても

よい。

- [0048] 高分子層の形態は特に限定されず、高分子フィルム等の平面状の層であってもよいし、ナノファイバー等の繊維状の高分子の不織布層であってもよい。中でも、高分子のナノファイバーの不織布層であることが好ましい。高分子層を高分子のナノファイバーの不織布層とすることにより、高分子層を均一な厚みに形成し易く、且つ、後工程で極細繊維不織布層を電界紡糸法により形成する場合、高分子層の密度を $0.3 \sim 0.8 \text{ g/cm}^3$ 程度に調整することができるため電圧がかかり易くなり、極細繊維不織布層をより一層形成し易くなる。
- [0049] 高分子層の厚みは、後工程での電界紡糸法等の方法による極細繊維不織布層の形成を阻害しなければ特に限定されず、 $10 \sim 800 \mu\text{m}$ が好ましく、 $30 \sim 500 \mu\text{m}$ がより好ましい。
- [0050] 高分子層の形成方法としては特に限定されず、例えば、高分子層を形成する高分子を適当な溶媒に溶解させ、平面状体、棒状体等の基材上にディップコーティング、スプレーコーティング、電界紡糸法（エレクトロスピニング）等の方法により形成する方法が挙げられる。高分子層を形成後、後工程で電界紡糸法により極細繊維不織布層を積層するため、生産性の観点から同様な装置で均一な高分子層を形成させることが望ましく、上記方法の中でも、電界紡糸法が好適である。
- [0051] 高分子層の形成を電界紡糸法で行う場合、電界紡糸の条件は特に限定されず、電圧 $-5 \sim -25 \text{ kV}$ 、ノズル径 $18 \sim 32 \text{ G}$ の条件で行うことが好ましい。
- [0052] 上記基材として平面状体を用いれば、製造される多孔質組織再生基材が平面状となり、皮膚等の比較的平面性を要求される組織に好適に用いられる多孔質組織再生基材を製造することができる。また、上記基材として棒状体を用いれば、製造される多孔質組織再生基材がチューブ状となり、本発明の人工血管を製造することができる。
- [0053] 工程1では、上記高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる

繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成する。電界紡糸法は、ノズルとコレクタ電極との間に高電圧をかけた状態で、ノズルから生体吸収性高分子を溶解した溶液をターゲットに向けて吐出する方法である。ノズルから発射された溶液は、電気力線に沿って極細繊維状となり、ターゲット上に付着する。

[0054] 極細繊維不織布層の形成を電界紡糸法で行う場合、電界紡糸の条件は特に限定されず、電圧 $-5 \sim -25 \text{ kV}$ 、ノズル径 $18 \sim 32 \text{ G}$ の条件で行うことが好ましい。

[0055] 工程1で用いられる極細繊維不織布層を形成する生体吸収性材料としては、上述の本発明の多孔質組織再生基材の極細繊維不織布層の説明において説明した生体吸収性高分子を好適に用いることができる。工程1で好適に用いられる生体吸収性高分子は、後述する工程4において用いられる良溶媒（溶媒2）及び共溶媒3に溶解しないことが好ましく、例えば、工程4において良溶媒としてメチルエチルケトン（MEK）、共溶媒としてアセトンを用いる場合、これらの溶媒の溶解度パラメーター（sp値）がそれぞれ9.3及び10であることから、それらよりも溶解度パラメーターが高いことが好ましい。このような生体吸収性高分子としては、ポリラクチド、ポリグリコール酸、ラクチド-グリコール酸共重合体、グリコリド-ε-カプロラクトン共重合体、ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体、ポリジオキサノン、コラーゲン等が挙げられる。これらの中でも、ポリラクチド、ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体が好ましい。ポリラクチドの中でも、ポリ-L-ラクチド（PLLA）は溶解度パラメーターが19であるので好適に用いることができ、ポリ-D,L-ラクチド（PDLLA）は、D-ラクチドとL-ラクチドとの混合比を適宜調整することにより溶解度パラメーターを調整することができ、好適に用いることができる。また、ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体は、ラクチドとε-カプロラクトンとの共重合比LA/CLを75/25~100/0の範囲とすることにより結晶性が高くなり、好適に用いることができる。

[0056] 工程 1 において生体性高分子は、後述する工程 4 で用いられる良溶媒（溶媒 2）及び共溶媒 3 に溶解しないよう耐溶剤性を向上させてもよく、熱処理（アニーリング）されていてもよい。

[0057] 以上説明した工程 1 により、高分子層上に極細繊維不織布層が形成された積層体を得ることができる。

[0058] （工程 2）

工程 2 は、極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、積層体の高分子層を膨潤させる工程である。上記工程 1 により得られた積層体では、高分子層と極細繊維不織布層とは界面で密着しておらず、当該界面に、後工程により多孔質層を形成する生体吸収性高分子を溶解させた均一溶液（高分子溶液）が侵入し、極細繊維不織布の高分子層が形成される側の表面にも高分子層が形成されてしまう。本発明では、上記工程 2 において、積層体の高分子層を溶解させない程度に膨潤させることにより、高分子層と極細繊維不織布層とを密着させることができ、これらの界面への高分子溶液の侵入を抑制することができる。

[0059] 上記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒とは、高分子層よりも極細繊維不織布層を溶解しにくい性質を有する溶媒であることを意味する。このような溶媒としては、例えば、水、メタノール、エタノール、アセトニトリル、テトラヒドロフラン等が挙げられる。上記溶媒は 1 種単独で用いてもよいし、2 種以上を混合して用いてもよい。

[0060] 上記溶媒を用いて高分子層を膨潤させる方法としては特に限定されず、例えば、工程 1 により得られた積層体を上記溶媒に浸漬する方法が挙げられる。浸漬時間は特に限定されず、1～60 分が好ましく、5～30 分がより好ましい。浸漬の際の溶媒の温度は上記溶媒の沸点を超えない程度であればよく、5～60℃が好ましく、10～50℃がより好ましい。

[0061] 以上説明した工程 2 により、上記積層体の高分子層が膨潤される。

[0062] (工程3)

工程3は、積層体の膨潤させた高分子層と極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程である。上述のように、工程1により得られた積層体では、高分子層と極細繊維不織布層との界面は密着しておらず、当該界面に、後工程により多孔質層を形成する生体吸収性高分子を溶解させた高分子溶液が侵入し、極細繊維不織布の高分子層が形成される側の表面にも多孔質層が形成されてしまう。このため、上記工程2により積層体の高分子層を膨潤させた後、工程3により高分子層と極細繊維不織布層とを密着させる。

[0063] 積層体の膨潤させた高分子層と極細繊維不織布層とを圧着させる圧着方法としては特に限定されず、従来公知の方法により圧着させればよい。このような方法としては、例えば、上記工程2により高分子層を膨潤させた積層体全体を、シリコン板等で均一にロールプレスする方法が挙げられる。また、工程3においては、超音波溶着により極細繊維不織布層を損傷させない程度に、高分子層だけを溶融させて圧着してもよい。

[0064] 上記圧着方法として、シリコン板等で均一にロールプレスする方法を採用する場合、ロールプレスの際の圧力は、0.01～10MPaが好ましく、0.2～5.0MPaがより好ましい。

[0065] 工程3では、積層体の高分子層と極細繊維不織布層とを圧着させた後、積層体を乾燥させる。積層体を乾燥させることにより、後工程で極細繊維不織布層の表面に多孔質層を好適に形成することができる。上記乾燥方法としては特に限定されず、従来公知の方法を用いることができる。このような方法としては、例えば、積層体を20～100℃程度の乾燥オーブンに1～60分間程度入れて乾燥させる方法が挙げられる。また、極細繊維不織布層の表面をキムワイプ等で拭きとる方法により乾燥させてもよい。

[0066] 以上説明した工程3により、積層体の膨潤させた高分子層と極細繊維不織布層とが圧着され、乾燥される。

[0067] (工程4)

工程4は、生体吸収性高分子と、生体吸収性高分子に対して相対的に溶解

度が低い溶媒 1 と、生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、生体吸収性高分子に対する溶解度よりも極細繊維不織布層に対する溶解度が低く溶媒 1 と相溶しない溶媒 2 と、溶媒 1 及び溶媒 2 と相溶する共溶媒 3 とを用いて、生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程である。

[0068] 工程 4 において用いられる生体吸収性高分子は、上記均一溶液を調製できるものであれば特に限定されず、例えば、上述の本発明の多孔質組織再生基材を構成する極細繊維不織布層の説明において説明した生体吸収性高分子の中から適宜選択して用いることができる。これらの中でも、ポリε-カプロラクトン、ポリジオキサノン、ポリクエン酸、ポリリンゴ酸、ポリ-α-シアノアクリレート、ポリ-β-ヒドロキシ酸、ポリトリメチレンオキサレート、ポリテトラメチレンオキサレート、ポリオルソエステル、ポリオルソカーボネート、ポリエチレンカーボネート、ポリ-γ-ベンジル-L-グルタメート、ポリ-γ-メチル-L-グルタメート、ポリ-L-アラニン、ポリグリコールセバシン酸等のグリコール酸共重合体、グリコリド-ε-カプロラクトン共重合体、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)共重合体、ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体等を好適に用いることができる。特に、ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体は、ラクチドとε-カプロラクトンとの共重合比 LA/CL を 75/25 ~ 0/100 の範囲とすることにより上記均一溶液をより一層容易に調製することができ、より好適に用いることができる。

[0069] 溶媒 1 は、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い、いわゆる貧溶媒である。ここで、「生体吸収性高分子に対し相対的に溶解度が低い」とは、上記溶媒 2 よりも上記生体吸収性高分子を溶解しにくい性質を有することを意味する。

[0070] 溶媒 1 としては、生体吸収性高分子が合成高分子である場合には、例えば、水、メタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、n-ブタノール等を用いることができる。なかでも、取り扱い性に優れることから、水が好適である。

- [0071] 溶媒 2 は、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高いいわゆる良溶媒であって、且つ、生体吸収性高分子に対する溶解度よりも極細繊維不織布層に対する溶解度が低い溶媒である。ここで、「生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高い」とは、上記溶媒 1 よりも上記生体吸収性高分子を溶解しやすい性質を有することを意味する。
- [0072] 溶媒 2 は、溶媒 1 と相溶しないものである。ここで相溶しないとは、25℃の室温下で混合、攪拌しても相分離することを意味する。
- [0073] 溶媒 2 としては、工程 4 で用いられる生体吸収性高分子が合成高分子であって、溶媒 1 として水を選択した場合には、例えば、メチルエチルケトン、ジエチルケトン、メチルプロピルケトン、メチルイソブチルケトン、メチルアミノケトン、シクロヘサノン、酢酸エチル等の有機溶媒を用いることができる。なかでも、安価で比較的取扱い容易なメチルエチルケトンが好適である。
- [0074] 共溶媒 3 は、溶媒 1 と溶媒 2 とのいずれとも相溶する。このような共溶媒 3 を組み合わせることにより、溶媒 1 と溶媒 2 とが非相溶であっても相分離法による多孔質層を製造することが可能となり、溶媒 1 と溶媒 2 との組み合わせの選択肢が飛躍的に広がる。ここで相溶するとは、25℃の室温下で混合、攪拌しても相分離しないことを意味する。
- [0075] 得られる多孔質層の孔径は、溶媒 1 と溶媒 2 との配合比を調整することにより制御することができる。具体的には、溶媒 1 の比率を高くすると得られる多孔質層の孔径が大きくなり、溶媒 2 の比率を高くすると得られる多孔質層の孔径が小さくなる。溶媒 1 と溶媒 2 との配合比は特に限定されず、溶媒 1 と溶媒 2 とが重量比で 1 : 1 ~ 1 : 100 の範囲内であることが好ましい。この範囲内であると、均一な多孔質層を製造することができる。より好ましくは、1 : 10 ~ 1 : 50 の範囲内である。
- [0076] 溶媒 1 及び溶媒 2 の合計と共溶媒 3 との配合比は特に限定されないが、溶媒 1 及び溶媒 2 の合計と共溶媒 3 とが重量比で 1 : 0.01 ~ 1 : 0.5 の範囲内であることが好ましい。この範囲内であると、より一層均一な多孔質

層を製造することができる。より好ましくは、 $1 : 0.02 \sim 1 : 0.3$ の範囲内である。

[0077] 工程4で用いられる生体吸収性高分子として合成高分子を用い、溶媒1として極細繊維不織布層に対して溶解度が低い溶媒である水を選択し、上記溶媒2として有機溶媒を選択した場合には、共溶媒3としては、例えば、アセトン、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、2-ブタノール、イソブタノール、テトラヒドロフラン等を用いることができる。

[0078] 工程4では、共溶媒3を2種以上組み合わせて用いることが好ましい（以下、共溶媒3に含まれる2種以上の溶媒を「共溶媒3-1」、「共溶媒3-2」、・・・ともいう。）。上記共溶媒3を2種以上組み合わせて、例えば、共溶媒3-1と共溶媒3-2の配合比を調整することにより、得られる多孔質層の平均孔径を制御することができる。即ち、溶媒1と溶媒2と共溶媒3の配合比を一定としたまま、共溶媒3に含まれる共溶媒3-1と共溶媒3-2との配合比を調整することにより、得られる多孔質層の平均孔径を制御することができる。これは、得られる多孔質層のかさ密度をほぼ一定として、孔径のみを調整可能なことを意味する。このような本発明の多孔質組織再生基材の製造方法によれば、任意の孔径とかさ密度を有する多孔質層を製造することがより一層容易になる。

[0079] 極細繊維不織布層、工程4で用いられる生体吸収性高分子、及び各溶媒の組み合わせとしては特に限定されず、各溶媒が極細繊維不織布層に対して溶解度が低く生体吸収性高分子に対して溶解度が高い溶媒の組み合わせとすればよい。例えば、極細繊維不織布層がポリラクチドからなり、工程4で用いられる生体吸収性高分子としてのラクチド- ϵ -カプロラクトン共重合体に対して、溶媒1が水、溶媒2がメチルエチルケトンである組み合わせ；極細繊維不織布層がポリグリコライドからなり、生体吸収性高分子としてのポリラクチドに対して、溶媒1が水、溶媒2がクロロホルムである組み合わせ；極細繊維不織布層がポリグリコライドからなり、工程4で用いられる生体吸

収性高分子としてのポリラクチドに対して、共溶媒 3-1 がテトラヒドロフラン、共溶媒 3-2 がエタノールである組み合わせ；極細繊維不織布層がポリグリコライドからなり、工程 4 で用いられる生体吸収性高分子としてのポリラクチドに対して、溶媒 1 が水、溶媒 2 がクロロホルム、共溶媒 3-1 がアセトン、共溶媒 3-2 がエタノールである組み合わせ等が挙げられる。

[0080] 工程 4 においては、生体吸収性高分子と溶媒 1 と溶媒 2 と共溶媒 3 とを用いて、生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する。より具体的に上記均一溶液を調製する方法としては、例えば、生体吸収性高分子と、上記溶媒 1、溶媒 2 及び共溶媒 3 を含む混合溶媒（以下、単に「混合溶媒」ともいう。）を混合した後、加熱する方法が挙げられる。また、より容易に均一溶液を調製する方法として、例えば、上記混合溶媒を予め加熱し、該加熱した混合溶媒に生体吸収性高分子を加える方法や、生体吸収性高分子をいったん溶媒 2 に溶解した後、加熱しながら溶媒 1 及び共溶媒 3 を加える方法等も挙げられる。混合方法は特に限定されず、例えば、スターラチップ、攪拌棒等を用いた公知の混合方法を用いることができる。

[0081] 工程 4 における上記加熱の温度としては、生体吸収性高分子が均一に溶解する温度であれば特に限定されず、溶媒 1、溶媒 2 及び共溶媒 3 のいずれの沸点よりも低い温度が好ましい。加熱温度をこのような温度とすることにより、加熱温度を沸点以上の温度とすることによる各溶媒の配合比の変動を抑制することができ、得られる多孔質組織再生基材の孔径、かさ密度をより一層制御し易くなる。

[0082] 以上説明した工程 4 により、均一溶液が調製される。

[0083] (工程 5)

工程 5 は、上記均一溶液を、積層体の極細繊維不織布層の表面に塗工する工程である。上記均一溶液を極細繊維不織布層の表面に塗工する方法としては特に限定されず、例えば、極細繊維不織布層が形成された積層体を均一溶液中に 1 回又は複数回ディップする方法等が挙げられる。

[0084] 以上説明した工程 5 により、上記均一溶液が、積層体の極細繊維不織布層

の表面に塗工される。

[0085] (工程 6)

工程 6 は、積層体の表面の均一溶液を冷却して、積層体の極細繊維不織布層の表面に生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて複合体を形成する工程である。積層体を冷却することにより、不溶となった生体吸収性高分子からなる多孔質層が析出する。これは、いわゆる一般的な熱融起相分離の冷却による多孔質高分子の析出であるが、析出された多孔質層は細胞浸潤性にとって望ましい連通孔となっている。これは、生体吸収性高分子が結晶化され析出する前に、生体吸収性高分子が結晶化する温度以上で、液体状態の生体吸収性高分子と各溶媒とがまず熱力学的不安定性により相分離（液－液相分離）するためと考えられる。

[0086] 工程 6 における冷却の温度としては、生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出できる温度であれば特に限定されないが、4℃以下であることが好ましく、−24℃以下であることがより好ましい。なお、得られる多孔質組織再生基材の孔径は冷却速度にも影響される。具体的には、冷却速度が早いと孔径が小さくなり、冷却速度が遅いと孔径が大きくなる傾向がある。従って、特に孔径の小さい多孔質組織再生基材を得る場合には、冷却温度を低く設定して急速に冷却することが考えられる。また、冷却温度の下限は特に限定されず、−40℃が好ましく、−70℃がより好ましい。

[0087] 工程 6 における冷却時間としては特に限定されず、5～480分が好ましく、10～120分がより好ましい。

[0088] 冷却方法としては特に限定されず、従来公知の冷却方法により冷却すればよい。このような冷却方法としては、例えば、積層体を冷凍庫に保管する方法が挙げられる。

[0089] 以上説明した工程 6 により、積層体の極細繊維不織布層の表面に生体吸収性高分子からなる多孔質層が析出して複合体が形成される。

[0090] (工程 7)

工程 7 は、複合体の高分子層を高分子層に対して相対的に溶解度が高く且

つ極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、高分子層を複合体から取り除き、極細繊維不織布層及び多孔質層からなる複合多孔体を得る工程である。

[0091] 高分子層に対し相対的に溶解度が高く且つ極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒としては、例えば、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、ブタノール、*t*-ブチルアルコール等が挙げられる。ここで、高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低いとは、高分子層よりも極細繊維不織布層を溶解しにくい性質を有することを意味する。

[0092] 高分子層を上記溶媒を用いて溶解させる方法としては特に限定されず、上記溶媒に複合体を浸漬する方法等が挙げられる。このような方法により高分子層を溶解させる場合、浸漬時間は、1分～24時間であることが好ましい。

[0093] 工程7における溶媒の温度は、5～60℃が好ましく、20～40℃がより好ましい。

[0094] 工程7では、より具体的には、上記高分子層を形成する高分子としてポリビニルアルコールを用いた場合、溶媒として水を用いることが好ましく、例えば、複合体を37℃の水に約20～60分間浸漬させ、これを数回繰り返すことで、複合体から高分子層を容易に取り除くことができる。

[0095] 以上説明した工程7により、高分子層を複合体から取り除き、極細繊維不織布層及び多孔質層からなる複合多孔体を得ることができる。

[0096] (工程8)

工程8は、複合多孔体を凍結乾燥して多孔質組織再生基材を得る工程である。凍結乾燥の条件としては特に限定されず、従来公知の条件で行うことができる。

[0097] 凍結乾燥の凍結温度としては特に限定されず、-100℃～-10℃が好ましく、-50℃～-30℃がより好ましい。

[0098] 凍結乾燥の際の圧力としては特に限定されず、1～400Paが好ましく

、5～100Paがより好ましい。

[0099] 凍結乾燥の乾燥時間としては特に限定されず、12～96時間が好ましく、24～52時間がより好ましい。

[0100] 以上説明した工程8により、複合多孔体が凍結乾燥されて、多孔質組織再生基材を得ることができる。

[0101] 本発明の多孔質組織再生基材の極細繊維不織布層を複数層形成する場合は、上記工程1において、電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成する工程を複数回繰り返して行い、極細繊維不織布層を所望の層数で形成すればよい。

[0102] 本発明の多孔質組織再生基材の多孔質層を複数層形成する場合は、上記工程4及び5を複数回繰り返して行い、多孔質層を所望の層数で形成すればよい。

[0103] 上記多孔質組織再生基材の製造方法により製造される多孔質組織再生基材の形状は特に限定されず、平面状、チューブ状等の種々の形状であってもよい。上記工程1において、高分子層の形状を所望の形状にすることにより、多孔質組織再生基材の形状を所望の形状にすることができる。上記多孔質再生基材の製造方法により、多孔質組織再生基材を極細繊維不織布層が最内層となるようにチューブ状に製造した場合、後述する本発明の人工血管の製造方法となる。

[0104] なお、本発明の多孔質組織再生基材は、後述する本発明の人工血管の製造方法において、製造されたチューブ状の人工血管を長手方向と平行方向に切開することによっても製造することができる。このようにして製造された本発明の多孔質組織再生基材は、血管欠損部の組織再生を促すパッチ等として用いることができる。

[0105] 4. 人工血管の製造方法

本発明の人工血管の製造方法は、生体吸収性材料からなる少なくとも2層のチューブ状の人工血管の製造方法であって、

(1-1) 棒状体上に高分子層を形成する工程1-1、

(1-2) 上記高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して棒状積層体を得る工程 1-2、

(2) 上記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、上記高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、上記棒状積層体の上記高分子層を膨潤させる工程 2、

(3) 膨潤させた上記高分子層と上記極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程 3、

(4) 生体吸収性高分子と、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒 1 と、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、上記生体吸収性高分子に対する溶解度よりも上記極細繊維不織布層に対する溶解度が低く上記溶媒 1 と相溶しない溶媒 2 と、上記溶媒 1 及び上記溶媒 2 と相溶する共溶媒 3 とを用いて、上記生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程 4、

(5) 上記均一溶液を、上記棒状積層体の前記極細繊維不織布層の表面に塗工する工程 5、

(6) 上記棒状積層体の表面の前記均一溶液を冷却して、上記棒状積層体の上記極細繊維不織布層の表面に上記生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて棒状複合体を形成する工程 6、

(7) 上記棒状複合体の上記高分子層を、上記高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ上記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、上記棒状体及び上記高分子層を上記棒状複合体から取り除き、上記極細繊維不織布層及び上記多孔質層からなるチューブ状の複合多孔体を得る工程 7、

(8) 上記チューブ状の複合多孔体を凍結乾燥してチューブ状の人工血管を得る工程 8、を有することを特徴とする製造方法である。

[0106] 本発明の人工血管の製造方法は、上記多孔質組織再生基材の製造方法において、多孔質組織再生基材をチューブ状に製造する製造方法である。このため、本発明の人工血管の製造方法では、上記多孔質組織再生基材の製造方法

の工程 1 において棒状体を用い、棒状体上に高分子層を形成した後、当該高分子層上に順次極細繊維不織布層及び多孔質層を形成して、工程 7 において棒状体及び高分子層を取り除くこととなる。

[0107] 以下、本発明の人工血管の製造方法について、上記多孔質組織再生基材の製造方法との相違点を中心に、図を用いて説明する。以下の本発明の人工血管の製造方法の説明において、記載のない事項は、上記多孔質組織再生基材の製造方法と同一である。

[0108] (工程 1 - 1)

工程 1 - 1 は、棒状体上に高分子層を形成する工程である。棒状体上に高分子層を形成する方法としては特に限定されず、高分子層を含有する樹脂組成物を塗布し、乾燥させる方法や、電界紡糸法等が挙げられる。中でも、後述する棒状体を用いて効率よく高分子層を形成することができる点で、電界紡糸法により形成することが好ましい。

[0109] (棒状体)

棒状体は、高分子層をチューブ状に成形するための部材である。棒状体としては特に限定されず、従来公知の棒状の部材を用いることができる。棒状体としては、例えば、ステンレスや樹脂被覆ステンレス等の金属からなる棒状体が挙げられる。棒状体として金属からなる導電性の棒状体を用いることにより、電界紡糸法において棒状体をコレクタ電極として、高分子層及び極細繊維不織布層を効率よく形成することができる。

[0110] 棒状体の直径は、0.4 ~ 5.0 mm が好ましく、0.5 ~ 4.0 mm がより好ましい。棒状体の直径を上記範囲とすることで、人工血管の内径を、体内の所望の部位に好適に用いることができる。また、棒状体の長さは、製造する血管の長さに合わせて適宜設定すればよい。

[0111] 図 1 は、工程 1 - 1 を電界紡糸法により行う場合を示す模式図である。図 1 では、棒状体 1 をコレクタ電極として、棒状体 1 を回転させて、ノズル 2 を往復させながら高分子層を形成する高分子を吐出している。工程 1 - 1 により、図 2 に示すように、棒状体 1 上に高分子層 3 が形成される。

[0112] (工程 1 - 2)

工程 1 - 2 は、高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して棒状積層体を得る工程である。

図 3 は、工程 1 - 2 を示す模式図である。図 3 では、工程 1 で形成された高分子層 3 上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維が吐出されている。工程 1 - 2 により、図 4 に示すように、高分子層 3 上に極細繊維不織布層 4 が形成され、棒状積層体 5 が得られる。

[0113] (工程 2)

工程 2 は、極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、棒状積層体の高分子層を膨潤させる工程である。工程 2 については、上記多孔質組織再生基材の製造方法と同一である。

[0114] (工程 3)

工程 3 は、工程 2 により膨潤させた高分子層と極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程である。図 5 は、工程 3 において、膨潤させた高分子層と極細繊維不織布層とを圧着させる状態を示す断面模式図である。図 5 において、棒状積層体 5 は、シリコン板 6 によりロールプレスされており、これにより、高分子層 3 と極細繊維不織布層 4 とが界面 7 において密着する。当該密着により、界面 7 に、後工程により多孔質層を形成する生体吸収性高分子を溶解させた高分子溶液が侵入することを抑制して、極細繊維不織布の高分子層が形成されている側の表面への多孔質層の形成を抑制することができる。

[0115] (工程 4)

工程 4 は、生体吸収性高分子と、上記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒 1 と、生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、生体吸収性高分子に対する溶解度よりも極細繊維不織布層に対する溶解度が低く溶媒 1 と相溶しない溶媒 2 と、溶媒 1 及び溶媒 2 と相溶する共溶媒 3 とを用いて、生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程であ

る。工程 4 については、上記多孔質組織再生基材の製造方法と同一である。

[0116] (工程 5)

工程 5 は、工程 4 により調製した均一溶液を、棒状積層体の極細繊維不織布層の表面に塗工する工程である。図 6 は、工程 5 において、均一溶液を、棒状積層体の極細繊維不織布層の表面に塗工する状態を示す図である。図 6 において、棒状積層体 5 は、当該棒状積層体 5 の内径よりも内径が大きい筒状体 8 であるガラス管の中に配置され、棒状積層体 5 と筒状体 8 との隙間に工程 4 により調製した均一溶液 9 が流し込まれ、充填されている。

[0117] 筒状体を形成する素材としては特に限定されず、ガラス管、ステンレス管、アルミニウム管等を用いることができる。中でも、多孔質層の形成過程を確認できる点で、ガラス管が好ましい。

[0118] 筒状体の内径は、棒状積層体の直径に応じて適宜設定すればよい。棒状積層体と筒状体との隙間は、0.01～10mm が好ましく、0.1～8.0mm がより好ましい。

[0119] 後述する工程 6 において、棒状積層体 5 の極細繊維不織布層の表面に析出する多孔質層は、若干収縮することから、筒状体の抜き取りは容易であるが、より一層筒状体の抜き取りを容易にするために、予め筒状体の内側の表面にコーティング等の滑り加工を施しておいてもよい。

[0120] (工程 6)

工程 6 は、棒状積層体の表面の均一溶液を冷却して、棒状積層体の極細繊維不織布層の表面に生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて棒状複合体を形成する工程である。図 7 は、工程 6 により得られた棒状複合体を示す模式図である。図 7 において、棒状複合体 10 は、棒状積層体 5 の極細繊維不織布層 4 の表面に多孔質層 9 が形成されている。

[0121] (工程 7)

工程 7 は、棒状複合体の高分子層を、高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、棒状体及び前記高分子層を棒状複合体から取り除き、極細繊維不織布

層及び多孔質層からなるチューブ状の複合多孔体を得る工程である。図8は、工程7により得られたチューブ状の複合多孔体を示す模式図である。図8において、複合多孔体11は、図7で示される棒状複合体の中心に存在していた棒状体及び高分子層3が取り除かれて空洞12となっており、極細繊維不織布層の表面に多孔質層が積層された、チューブ状の複合多孔体となっている。

[0122] 以下の本発明の人工血管の製造方法の説明において、記載のない事項は、上記多孔質組織再生基材の製造方法と同一である。以上説明した人工血管の製造方法により、細胞浸潤性に優れており、優れた組織再生性を示すことができる本発明の人工血管を、容易に製造することができる。

実施例

[0123] 以下に、本発明を、実施例及び比較例を用いてより詳細に説明するが、本発明はこの実施例に限定されるものではない。

[0124] 実施例1

(工程1-1)

ポリビニルアルコール（和光純薬工業株式会社製、平均重合度1500～1800）を水に溶解させて、ポリビニルアルコール濃度が10質量%のポリビニルアルコール水溶液を調製した。棒状体としてφ0.7mmのステンレス棒を用意してコレクタ電極とし、電界紡糸装置を用いて、棒状体の表面にポリビニルアルコール水溶液を吐出させた。この際、棒状体を回転させて、調製されたポリビニルアルコール水溶液をノズルに充填して複数回往復させながら吐出することにより塗布し、高分子層を形成した。なお、電界紡糸の条件は、電圧-20kV、ノズル径25Gであった。これにより、棒状体上に外径約900μm、厚み100μmの高分子層を形成した。

[0125] (工程1-2)

ポリラクチドをヘキサフルオロイソプロパノールに溶解させて、ポリラクチド濃度が10質量%のヘキサフルオロイソプロパノール溶液を調製した。工程1-1により調製された、高分子層が形成された棒状体をコレクタ電極

として、電界紡糸装置を用いて、棒状体の表面にヘキサフルオロイソプロパノール溶液を吐出させた。この際、棒状体を回転させて、調製されたヘキサフルオロイソプロパノール溶液をノズルに充填して複数回往復させながら吐出することにより塗布し、高分子層上に極細繊維不織布層を形成して、棒状積層体を得た。なお、電界紡糸の条件は、電圧 -15 kV 、ノズル径 $26\text{ }\mu\text{m}$ であった。棒状積層体の外径は約 $1000\text{ }\mu\text{m}$ であった。

[0126] (工程2)

工程1-2により調製された棒状積層体を 37°C の水に5分間浸漬させて、高分子層を膨潤させた。

[0127] (工程3)

高分子層が膨潤した棒状積層体をシリコン板で 0.1 MPa の条件で軽くロールプレスして、高分子層と極細繊維不織布層を圧着した。次いで、 60°C のオーブンで約5分間乾燥させて、極細繊維不織布層の表面の水分を除去した。

[0128] (工程4)

生体吸収性高分子として、L-ラクチド- ϵ -カプロラクトン共重合体（モル比 $50:50$ ）を用意した。 25°C の室温下で、L-ラクチド- ϵ -カプロラクトン共重合体 0.25 g 、溶媒1として水 0.3 mL 、溶媒2としてメチルエチルケトン 2.0 mL 、共溶媒3としてアセトン（共溶媒3-1）とエタノール（共溶媒3-2）との混合物 1.0 mL を混合した。次いで、 60°C に加熱したところ、L-ラクチド- ϵ -カプロラクトン共重合体が溶解した均一溶液が得られた。

[0129] (工程5)

工程3により得られた、圧着、乾燥後の棒状積層体を、内径 1.1 mm のガラス管の中に配置し、棒状積層体とガラス管との隙間に、工程4により得られた均一溶液を流し込んだ。

[0130] (工程6)

工程5により、棒状積層体とガラス管との隙間に工程4により得られた均

一溶液を流し込んだ状態で、冷凍庫内に入れて -30°C で120分間冷却したところ、棒状積層体の表面にL-ラクチド- ϵ -カプロラクトン共重合体からなる多孔質層が析出して、棒状複合体が得られた。

[0131] (工程7)

得られた棒状複合体を、50 mLのエタノール槽中に -30°C 、12時間浸漬した。次いで、50 mLの水槽中に 37°C 、30分の条件で2回浸漬し、高分子層を取り除くと同時に棒状体を取り除いた。次いで、50 mLの水槽中に 37°C 、30分の条件で2回浸漬した後、洗浄を行った。

[0132] (工程8)

最後に、 -40°C の条件で凍結乾燥を行い、最内層に極細繊維不織布層を有するチューブ状の人工血管を製造した。得られた人工血管の極細繊維不織布層の厚みは約 $50\text{ }\mu\text{m}$ であり、多孔質層の厚みは約 $250\text{ }\mu\text{m}$ であった。

[0133] 比較例1

ポリラクチドをヘキサフルオロイソプロパノールに溶解して、ポリラクチド濃度が10重量%のヘキサフルオロイソプロパノール溶液を調製した。 $\phi 0.6\text{ mm}$ のステンレスの棒状体をコレクタ電極として、電界紡糸装置を用いて、棒状体の表面に該ヘキサフルオロイソプロパノール溶液を吐出させた。このとき、棒状体を回転させ、調製されたヘキサフルオロイソプロパノール溶液をノズルに充填して複数回往復させながら吐出することにより塗布し、棒状体上に極細繊維不織布層を形成した。なお、電界紡糸の条件は、電圧 -15 kV 、ノズル径 $26\text{ }\mu\text{m}$ であった。

[0134] 最後に、棒状体を引き抜いて、外径約 $900\text{ }\mu\text{m}$ 、内径約 $600\text{ }\mu\text{m}$ のチューブ状の人工血管を製造した。

[0135] 上述のようにして調製された実施例及び比較例の人工血管を用いて、以下の測定及び評価を行った。

[0136] <平均孔径の測定>

チューブ状の人工血管を長手方向と直交する方向で切断し、人工血管の壁面の断面の中央付近を倍率1000倍又は8000倍の電子顕微鏡を用いて

電子顕微鏡像を撮影した。得られた電子顕微鏡像の多孔質層の任意の10点の孔の直径（長径）を測定し、その平均値を平均孔径とした。

[0137] ＜平均繊維径の測定＞

チューブ状の人工血管を長手方向と直交する方向で切断し、人工血管の壁面の断面の中央付近を倍率8000倍の電子顕微鏡用いて電子顕微鏡像を撮影した。得られた電子顕微鏡像の任意の10点の繊維の直径を測定し、その平均値を平均繊維径とした。なお、実施例1においては極細繊維不織布層の断面の箇所の繊維の直径を測定した。

[0138] ＜血管組織再生性の評価＞

マウスの腹部大動脈の一部を切除し、実施例及び比較例の人工血管に置換した。術後8週間でマウスが生存しているか否かを確認した。評価は、合計10検体で行った。また、実施例及び比較例において、術後8週目に、ペントバルビタール過剰量の腹腔内投与によりマウスを安楽死させ、埋植部分を摘出して標本を得た。得られた標本をヘマトキシリン－エオシン染色（HE染色）して顕微鏡写真を撮影した。

[0139] （結果）

図9に実施例1で得られた人工血管の電子顕微鏡写真を示し、図10に比較例1で得られた人工血管の電子顕微鏡写真を示す。図9の結果から、実施例1の人工血管は、最内層に極細繊維不織布層を有しており、極細繊維不織布層の外側の表面に相対的に孔径が大きな多孔質層を有しており、2層構造であることが確認できた。また、極細繊維不織布層の平均繊維径は $0.5\mu\text{m}$ であり、多孔質層の平均孔径は $23.2\mu\text{m}$ であった。また、図10から、比較例1の人工血管は、極細繊維不織布層のみ形成されており、多孔質層が形成されていない構成であることが確認できた。

[0140] 実施例1及び比較例1において、術後8週間の時点で10検体全てが生存しており、血管の閉塞は全く認められなかった。

[0141] 図11に、実施例1において得られた人工血管の術後8週目の埋植部分を摘出して得られた標本をHE染色して撮影した顕微鏡写真を示す。また、図

1 2 に、比較例 1 において得られた人工血管の術後 8 週目の埋植部分を摘出して得られた標本を H E 染色して撮影した顕微鏡写真を示す。図 1 1 及び図 1 2 の結果から、実施例 1 の人工血管では比較例 1 の人工血管よりも明らかに細胞が浸潤していることが分かる。これにより、実施例 1 の人工血管は組織再生速度が速く、組成再生性に優れていることが分かった。

符号の説明

- [0142] 1 …棒状体
2 …ノズル
3 …高分子層
4 …極細繊維不織布層
5 …棒状積層体
6 …シリコン板
7 …高分子層と極細繊維不織布層との界面
8 …ガラス管
9 …均一溶液
1 0 …棒状複合体
1 1 …複合多孔体
1 2 …空洞

請求の範囲

- [請求項1] 生体吸収性材料からなる少なくとも2層の積層体である多孔質組織再生基材であって、
- 少なくとも1層の極細繊維不織布層を有し、
- 前記極細繊維不織布層の表面に、平均孔径が $0.1 \sim 800 \mu\text{m}$ である少なくとも1層の多孔質層を有する、
- ことを特徴とする多孔質組織再生基材。
- [請求項2] 前記極細繊維不織布層は、平均繊維径が $0.1 \sim 10 \mu\text{m}$ の極細繊維からなる、請求項1に記載の多孔質組織再生基材。
- [請求項3] 前記極細繊維不織布層は、生体吸収性の異なる2種以上の生体吸収性高分子からなる、請求項1又は2に記載の多孔質組織再生基材。
- [請求項4] 生体吸収性材料からなる少なくとも2層の多孔質組織再生基材の製造方法であって、
- (1) 高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して積層体を得る工程1、
- (2) 前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、前記積層体の前記高分子層を膨潤させる工程2、(3) 前記積層体の膨潤させた前記高分子層と前記極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程3、
- (4) 生体吸収性高分子と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒1と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、前記生体吸収性高分子に対する溶解度よりも前記極細繊維不織布層に対する溶解度が低く前記溶媒1と相溶しない溶媒2と、前記溶媒1及び前記溶媒2と相溶する共溶媒3とを用いて、前記生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程4、
- (5) 前記均一溶液を、前記積層体の前記極細繊維不織布層の表面に塗工する工程5、(6) 前記積層体の表面の前記均一溶液を冷却して

、前記積層体の前記極細繊維不織布層の表面に前記生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて複合体を形成する工程 6、

(7) 前記複合体の前記高分子層を、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、前記高分子層を前記複合体から取り除き、前記極細繊維不織布層及び前記多孔質層からなる複合多孔体を得る工程 7、

(8) 前記複合多孔体を凍結乾燥して多孔質組織再生基材を得る工程 8、

を有することを特徴とする多孔質組織再生基材の製造方法。

[請求項5] 前記共溶媒 3 を 2 種以上用い、前記 2 種以上の共溶媒 3 の配合比を調整することにより、得られる多孔質層の平均孔径を制御する、請求項 4 に記載の多孔質組織再生基材の製造方法。

[請求項6] 生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層のチューブ状の人工血管であって、

最内層に少なくとも 1 層の極細繊維不織布層を有し、

前記極細繊維不織布層の外側の表面に平均孔径が $0.1 \sim 800 \mu\text{m}$ である少なくとも 1 層の多孔質層を有する、
ことを特徴とする人工血管。

[請求項7] 前記極細繊維不織布層は、平均繊維径が $0.1 \sim 10 \mu\text{m}$ の極細繊維からなる、請求項 6 に記載の人工血管。

[請求項8] 前記極細繊維不織布層は、生体吸収性の異なる 2 種以上の生体吸収性高分子からなる、請求項 6 又は 7 に記載の人工血管。

[請求項9] 生体吸収性材料からなる少なくとも 2 層のチューブ状の人工血管の製造方法であって、

(1-1) 棒状体上に高分子層を形成する工程 1-1、

(1-2) 前記高分子層上に電界紡糸法により生体吸収性材料からなる繊維を吐出して、極細繊維不織布層を形成して棒状積層体を得る工

程 1 - 2、

(2) 前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低く、且つ、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高い溶媒を用いて、前記棒状積層体の前記高分子層を膨潤させる工程 2、

(3) 膨潤させた前記高分子層と前記極細繊維不織布層とを圧着させ、乾燥させる工程 3、

(4) 生体吸収性高分子と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が低い溶媒 1 と、前記生体吸収性高分子に対して相対的に溶解度が高く、且つ、前記生体吸収性高分子に対する溶解度よりも前記極細繊維不織布層に対する溶解度が低く前記溶媒 1 と相溶しない溶媒 2 と、前記溶媒 1 及び前記溶媒 2 と相溶する共溶媒 3 とを用いて、前記生体吸収性高分子を溶解した均一溶液を調製する工程 4、

(5) 前記均一溶液を、前記棒状積層体の前記極細繊維不織布層の表面に塗工する工程 5、

(6) 前記棒状積層体の表面の前記均一溶液を冷却して、前記棒状積層体の前記極細繊維不織布層の表面に前記生体吸収性高分子からなる多孔質層を析出させて棒状複合体を形成する工程 6、

(7) 前記棒状複合体の前記高分子層を、前記高分子層に対して相対的に溶解度が高く且つ前記極細繊維不織布層に対して相対的に溶解度が低い溶媒を用いて溶解させ、前記棒状体及び前記高分子層を前記棒状複合体から取り除き、前記極細繊維不織布層及び前記多孔質層からなるチューブ状の複合多孔体を得る工程 7、

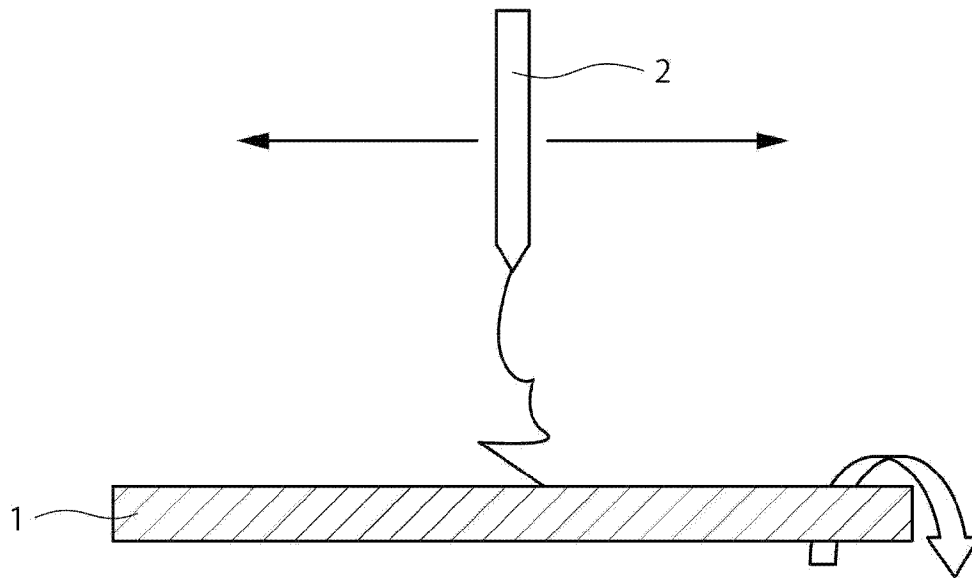
(8) 前記チューブ状の複合多孔体を凍結乾燥してチューブ状の人工血管を得る工程 8、

を有することを特徴とする人工血管の製造方法。

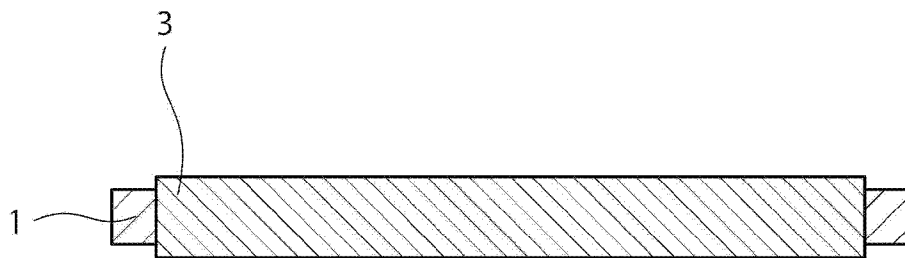
[請求項10]

前記棒状体は、金属からなる、請求項 9 に記載の人工血管の製造方法。

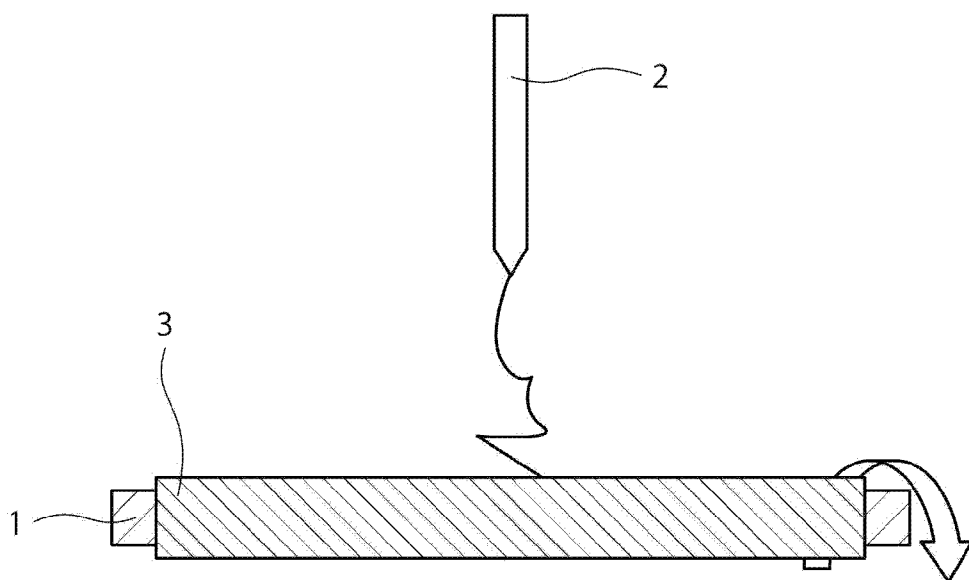
[図1]



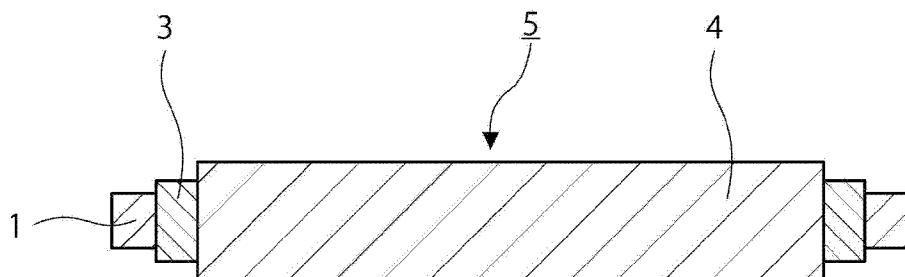
[図2]



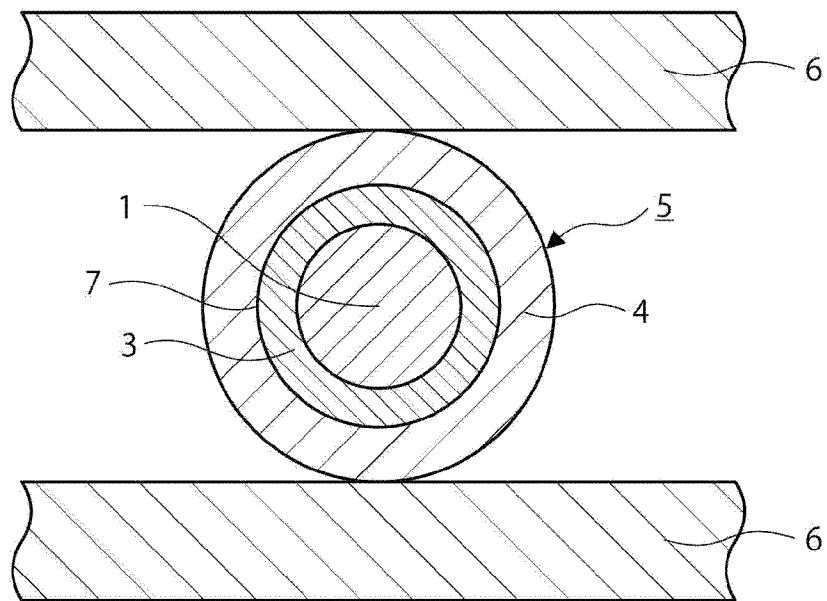
[図3]



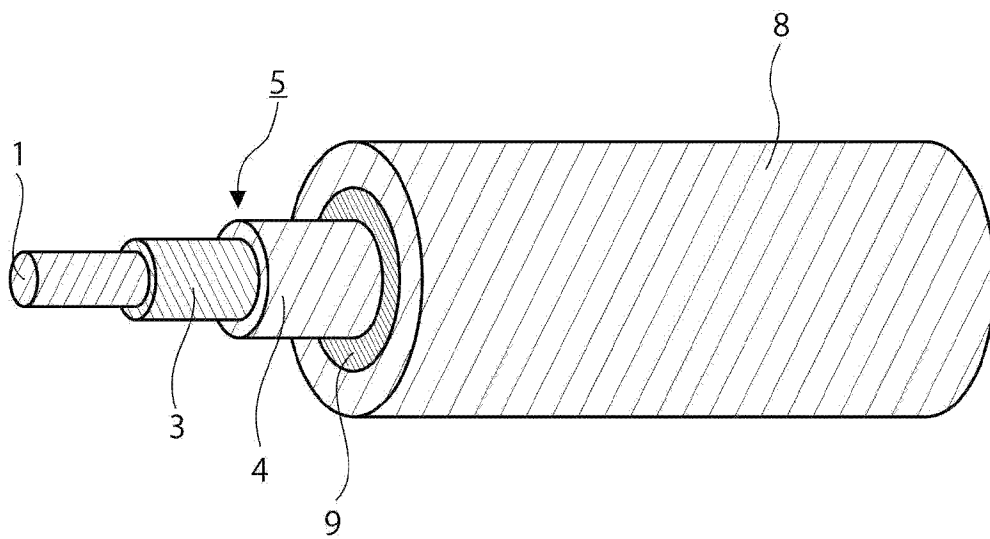
[図4]



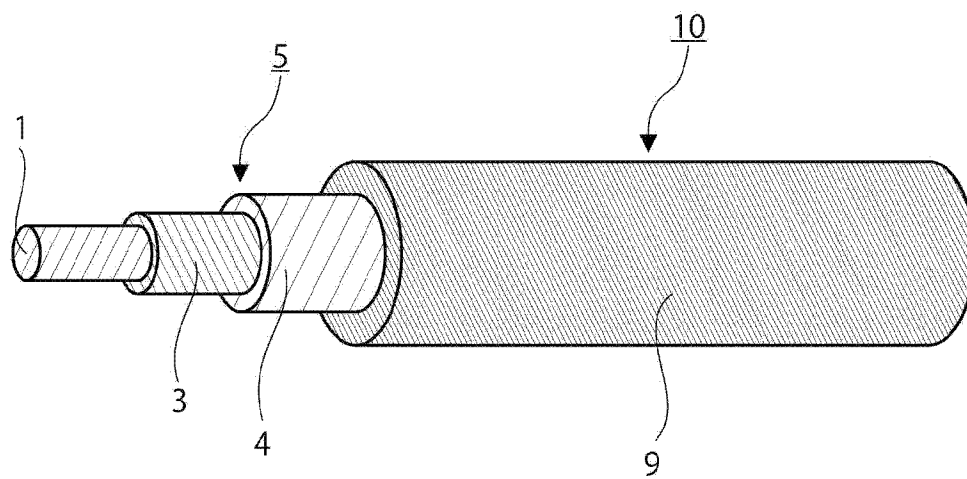
[図5]



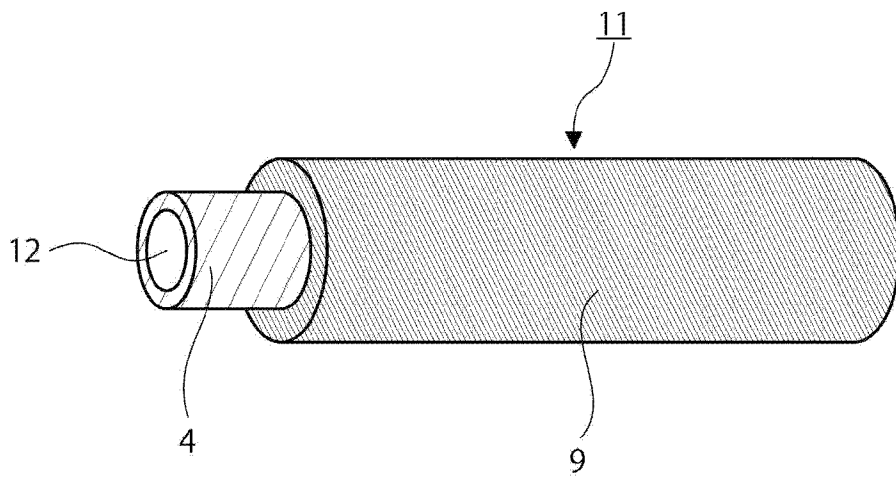
[図6]



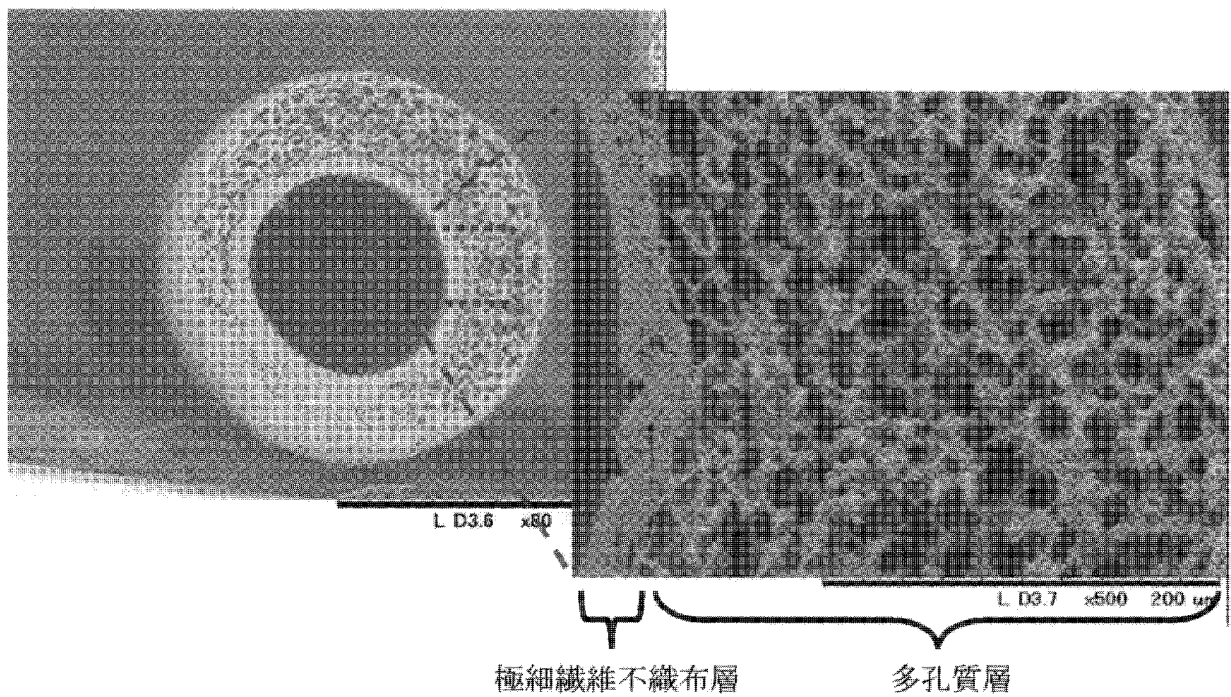
[図7]



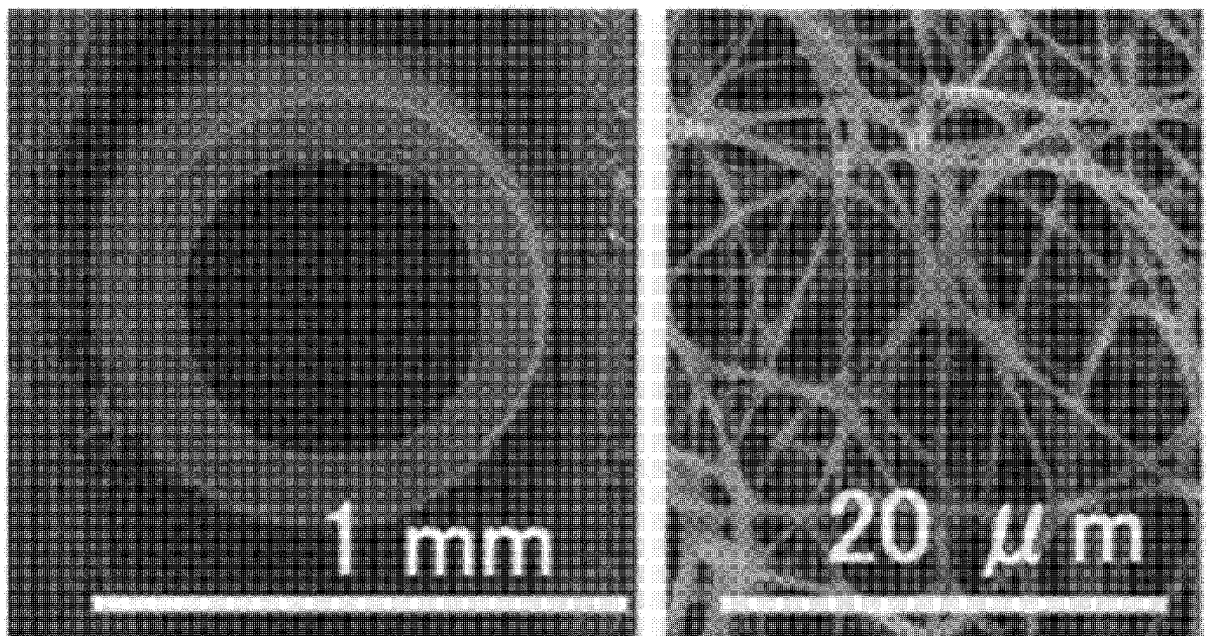
[図8]



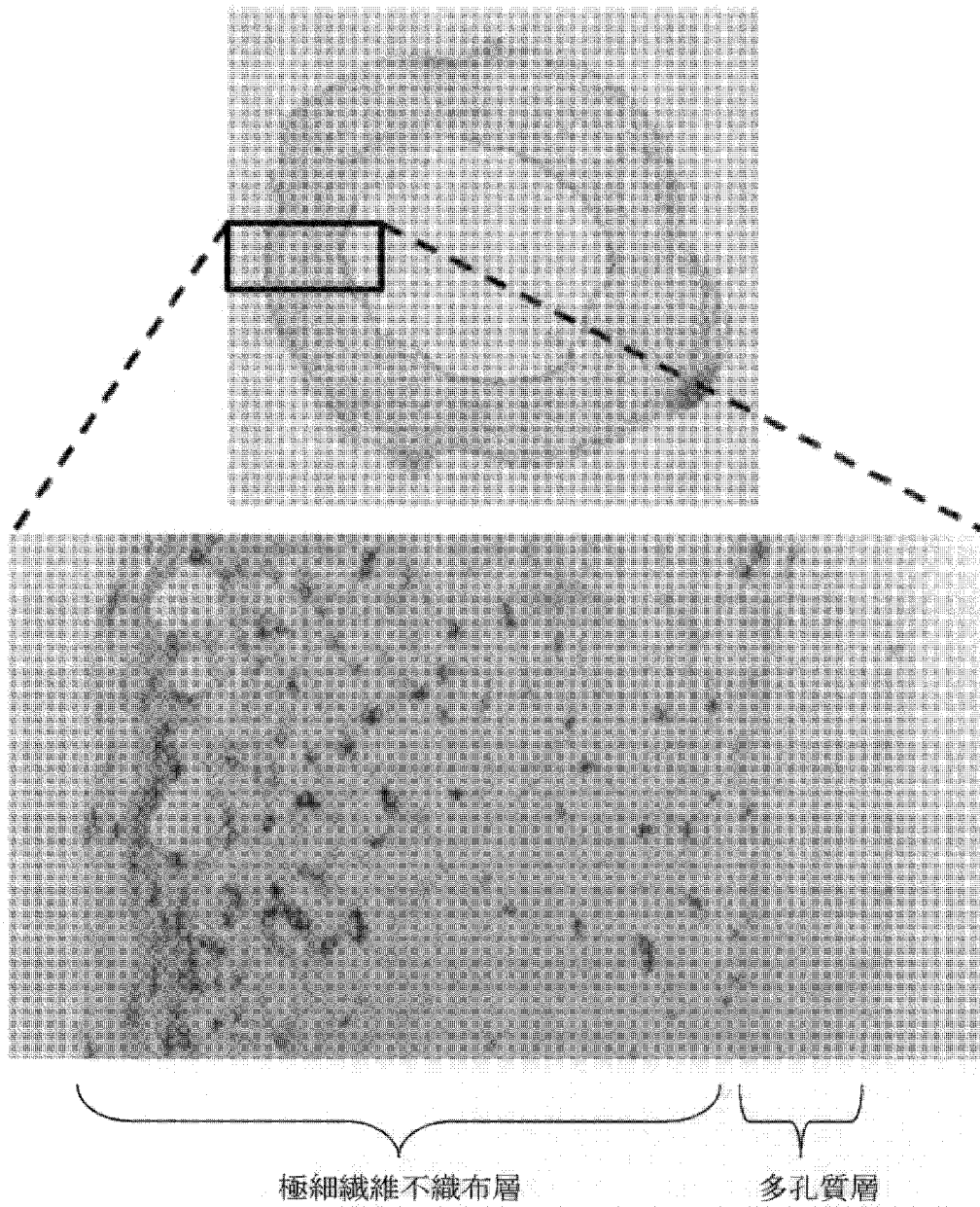
[図9]



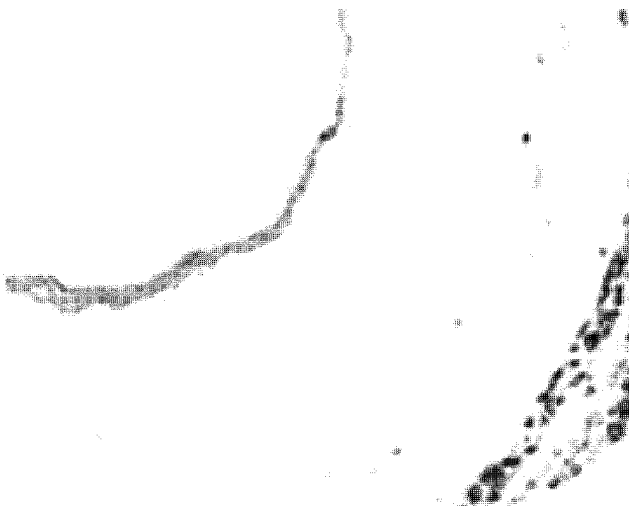
[図10]



[図11]



[図12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/040985

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61L27/50 (2006.01) i, A61L27/40 (2006.01) i, B32B5/24 (2006.01) i, D04H1/4382 (2012.01) i, D04H1/728 (2012.01) i

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)

Int.Cl. A61L27/50, A61L27/40, B32B5/24, D04H1/4382, D04H1/728

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2018
Registered utility model specifications of Japan	1996-2018
Published registered utility model applications of Japan	1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2011-509786 A (SMITH & NEPHEW PLC) 31 March 2011, claims, paragraph [0035], example 4 & WO 2009/093023 A2, claims, page 7, paragraph 5, example 4 & US 2011/0287082 A1	1-3 4-10
X A	JP 2016-87100 A (GUNZE LTD.) 23 May 2016, claims, paragraphs [0017], [0021], [0023], examples (Family: none)	1-3 4-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search
08 February 2018

Date of mailing of the international search report
20 February 2018

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/040985

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2009/019995 A1 (GUNZE LTD.) 12 February 2009, claims, paragraphs [0017], [0022], example 2 & EP 2174619 A1, claims, paragraphs [0017], [0022], example 2 & US 2011/0038911 A1	1-3 4-10
P, X P, A	WO 2017/022750 A1 (GUNZE LTD.) 09 February 2017, claims, examples (Family: none)	1-3 4-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61L27/50(2006.01)i, A61L27/40(2006.01)i, B32B5/24(2006.01)i, D04H1/4382(2012.01)i, D04H1/728(2012.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61L27/50, A61L27/40, B32B5/24, D04H1/4382, D04H1/728

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2018年
日本国実用新案登録公報	1996-2018年
日本国登録実用新案公報	1994-2018年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	JP 2011-509786 A (スミス アンド ネフュー ピーエルシー) 2011.03.31, 特許請求の範囲、[0035]、実施例4 & WO 2009/093023 A2, Claims, p.7 第5段落, Example4 & US 2011/0287082 A1	1-3 4-10
X A	JP 2016-87100 A (グンゼ株式会社) 2016.05.23, 特許請求の範囲、 [0017]、[0021]、[0023]、実施例 (ファミリーなし)	1-3 4-10

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08.02.2018

国際調査報告の発送日

20.02.2018

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

馬場 亮人

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

4U

4043

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	WO 2009/019995 A1 (グンゼ株式会社) 2009.02.12, 請求の範囲、[0017]、[0022]、実施例2 & EP 2174619 A1, Claims, [0017], [0022], Example2 & US 2011/0038911 A1	1-3 4-10
P, X P, A	WO 2017/022750 A1 (グンゼ株式会社) 2017.02.09, 請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1-3 4-10