

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-187186

(P2012-187186A)

(43) 公開日 平成24年10月4日 (2012.10.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 L 27/00 (2006.01)	A 6 1 L 27/00 V	4 C 0 8 1
	A 6 1 L 27/00 Y	

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2011-51475 (P2011-51475) (22) 出願日 平成23年3月9日 (2011.3.9)	(71) 出願人 000107907 セーレン株式会社 福井県福井市毛矢1丁目10番1号
(出願人による申告) 平成22年度、科学技術振興機構、地域イノベーション創出総合支援事業、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願	(71) 出願人 301023238 独立行政法人物質・材料研究機構 茨城県つくば市千現一丁目2番地1
	(74) 代理人 100095407
	弁理士 木村 満
	(74) 代理人 100109449
	弁理士 毛受 隆典
	(74) 代理人 100132883
	弁理士 森川 泰司
	(72) 発明者 宮川 雅年 福井県福井市毛矢1丁目10番1号 セーレン株式会社内
	最終頁に続く

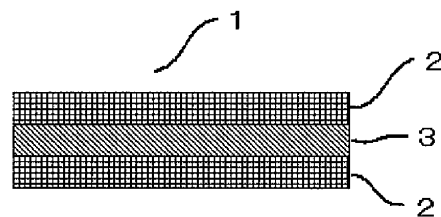
(54) 【発明の名称】 再生医療用基材シート

(57) 【要約】

【課題】 生体内分解吸収性基材の寸法特性を調節することによって、複合化されるコラーゲンの層の厚みなどのバラツキを抑え、播種される細胞の増殖性等に優れた再生医療用基材シートを提供する。

【解決手段】 表面及び／又は内部にコラーゲンの層を形成された生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物であって、前記織物の開口率が15～50%である再生医療用基材シートであり、メッシュ織物の開口幅がタテ方向、ヨコ方向とも200～500μmであることが好ましく、メッシュ織物開口幅のタテ方向とヨコ方向の比が0.60～1.40であることが好ましい。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

開孔率が 15～50%である生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物と、前記メッシュ織物の表面及び／又は内部に形成されたコラーゲンの層とからなる再生医療用基材シート。

【請求項 2】

メッシュ織物のメッシュ開口幅がタテ方向、ヨコ方向とも 200～500 μmである請求項 1 に記載の再生医療用基材シート。

【請求項 3】

メッシュ織物開口幅の（タテ方向／ヨコ方向）の比が 0.60～1.40である請求項 2 に記載の再生医療用基材シート。 10

【請求項 4】

生体内分解吸収性材料が、ポリ-L-乳酸、ポリ-D-乳酸、ポリグリコール酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、又は、ポリグリコール酸とポリ乳酸の混合物から選ばれる一種以上である請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の再生医療用基材シート。

【請求項 5】

コラーゲンの層が、多孔質状である請求項 1 乃至 4 のいずれかに記載の再生医療用基材シート。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】**

20

【0001】

本発明は再生医療用基材シートに関する。より詳細には、表面及び／又は内部にコラーゲンの層を形成してなる生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物であって、人工皮膚、人工器官、人工臓器などに利用される再生医療用基材シートに関する。

【背景技術】**【0002】**

生体組織などに異常が生じたり、機能不全となった場合に、人工物をもってそれを代替することは古くから考えられていた。このような医用材料においては、生体親和性のあること、血液などの体液や組織に対する適合性があること、毒性や抗原性のないこと、移植部位によっては所定の機械的強度のあることなどの種々の条件が要求される。一般に、移植後、所期の目的を達成したのちには、生体に吸収されるか又は生体と同化するものが好ましいとされている。 30

【0003】

生体由来材料であるコラーゲンは生体親和性及び組織適合性に優れ、抗原性が低く、更に生体内で安全に吸収されることから、理想的な医用材料素材と考えられており、これを用いた医用材料がさまざま研究されている。コラーゲンは上記の特性のほか、細胞培養の培地として利用されているように宿主細胞の伸展・増殖を促進させる作用を有し、この点からも好ましい素材と考えられている。更に、コラーゲンを多孔質状としたコラーゲンスポンジはコラーゲンの層内に細胞が侵入し、活発に増殖して組織の再生を図ることができるので有用な材料であり、既に創傷治癒などに利用できることが明らかになっている。 40

【0004】

しかし、コラーゲンスポンジは機械的強度が低く、コラーゲン単独では、細胞侵入性や増殖性が高く且つある程度の機械的強度を有する材料に成形することが困難である。そのため、従来は、シリコンなどの合成高分子材料との複合材料として使用されていたが、このような材料を生体内に移植すると、合成高分子材料が異物として生体内に残存し、組織反応を起すなどの障害をもたらすことが多かった。

【0005】

このような問題を解決するものとして、例えば特許文献 1 には、生体内分解吸収性材料の表面にコラーゲンの層が形成されてなる医用材料が開示されており、実施例では、生体内分解吸収性材料からなる不織布の表面に多孔質状のコラーゲンを被覆している。しかし、 50

この場合、複合化されるコラーゲンの厚みや細孔分布にバラツキが生じやすく、その結果、播種された細胞の増殖等にもバラツキが生じるおそれがある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開平6-292716号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は上記の問題を解決することにある。

10

本発明者らは上記問題点を解決すべく鋭意検討した結果、選択された寸法特性をもつ生体内分解吸収性基材を用いることによって、複合化されるコラーゲンの層の厚みなどのバラツキを抑え、播種される細胞の増殖性等にも優れた再生医療用基材シートが得られることを知見し、本発明に到達した。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、第1に、開孔率が15～50%である生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物と、前記メッシュ織物の表面及び／又は内部に形成されたコラーゲンの層とからなる再生医療用基材シートである。

【0009】

20

本発明は、第2に、メッシュ織物の開口幅がタテ方向、ヨコ方向とも200～500μmである上記第1に記載の再生医療用基材シートである。

【0010】

本発明は、第3に、メッシュ織物開口幅のタテ方向とヨコ方向の比が0.60～1.40である上記第2に記載の再生医療用基材シートである。

【0011】

本発明は、第4に、生体内分解吸収性材料が、ポリ-L-乳酸、ポリ-D-乳酸、ポリグリコール酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、又は、ポリグリコール酸とポリ乳酸の混合物から選ばれる一種以上である上記第1乃至上記第3のいずれかに記載の再生医療用基材シートである。

30

【0012】

本発明は、第5に、コラーゲンの層が、多孔質状である上記第1乃至第4のいずれかに記載の再生医療用基材シートである。

【発明の効果】

【0013】

本発明の再生医療用基材シートは、開孔率が15～50%である生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物と、前記メッシュ織物の表面及び／又は内部に形成されたコラーゲンの層とからなり、この基材シートは細胞を生体外で培養する際において、コラーゲンの層との複合化性がよく、また、コラーゲンの層が均一に形成されるため、播種された細胞が均一に定着・増殖しやすく、また、培養した組織を生体内に移植した際にも効率よく自己修復が行われる。その間、生体内分解吸収性材料は機械的強度を維持し、自己修復を支持する。そして、移植の目的が達成された後には、コラーゲン及び生体内分解吸収性材料は吸収され、生体内に異物として残存することがないので、従来の合成高分子材料のように肉芽形成、炎症などの障害を生ずるおそれがない。従って、本発明によれば、極めて安全性が高く且つ利用範囲の広い医用材料を得ることができるという効果を奏する。

40

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】本発明の再生医療用基材シートの断面概略図

【図2】本発明の再生医療用基材シートの別の断面概略図

【発明を実施するための形態】

50

【0015】

本発明の再生医療用シート基材は、開孔率が15～50%である生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物と、前記メッシュ織物の表面及び／又は内部に形成されたコラーゲンの層とからなるものである。積層するコラーゲンの層は多孔質状に形成されているものが好ましく、またコラーゲンとしては抗原性が低減されたアルカリ可溶化コラーゲン又は酵素可溶化コラーゲンが好ましい。

【0016】

本発明において、用いられる生体内分解吸収性材料としては、生体内で加水分解、酵素分解などにより分解し吸収され、所望の機械的強度を有するものであれば種々の材料を用いることができるが、好適にはポリ-L-乳酸、ポリ-D-乳酸、ポリグリコール酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、又は、ポリグリコール酸とポリ乳酸の混合物などが挙げられる。

【0017】

本発明では、組織の安定性、強度やコラーゲンの層との密着性の点から、上記した生体内分解性材料からなる組織を用いたメッシュ織物が用いられる。

その開口率は15～50%であることが必要である。この場合、開口率は、 $(\text{タテ糸間の間隔} \times \text{ヨコ糸間の間隔}) / ((\text{タテ糸間の間隔} + \text{糸径}) \times (\text{ヨコ糸間の間隔} + \text{糸径}))$ で算出される。開口率が15%未満であると、メッシュ織物とコラーゲンの層と十分な複合化がなされないおそれがあり、50%より大きいと、支持体として十分な強度を保持できなくなるおそれがある。

【0018】

また、そのメッシュ織物の開口幅はタテ方向、ヨコ方向とも200～500 μm であることが好ましい。開口幅が200 μm 未満であるとコラーゲンの層と十分な複合化が不可能なおそれがあり、500 μm より大きいと支持体として十分な強度を保持できなくなるおそれや、ホツレのおそれがある。

【0019】

また、メッシュ織物の開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は0.60～1.40であることが好ましい。メッシュ織物開口幅のタテ方向とヨコ方向の比が範囲外であると、開口部形状が不均一な形状になり、コラーゲンの層との複合化が不均一になるおそれがある。

【0020】

尚、本発明において、上記した開口率、開口幅及び開口幅のタテ方向とヨコ方向の比と幅をもって記載したが、個々のメッシュ織物においては、それぞれの値は実質上単一の値を示すものである。

【0021】

また、本発明のメッシュ織物は、生体組織やコラーゲン溶液との親和性を高めるため、親水化処理を行うことができる。親水化処理としてはプラズマ照射などが挙げられる。

【0022】

また、本発明のメッシュ織物は、保水性を有することが好ましい。コラーゲンの層は、後述するように、その製造過程においてコラーゲン水溶液を使用するため、前記メッシュ織物が保水性を有することにより、メッシュ織物とコラーゲンの層が安定的に複合化されることが考えられる。保水性は一般に水との接触角で判断され、接触角が大きいほど保水性に優れると言える。そのためメッシュ織物と水との接触角は100°以上であることが好ましい。なお、理由は定かではないが、保水性は、開口率、開口幅に関係すると思われる。

【0023】

本発明の再生医療用基材シートは、上述のように生体内分解吸収性材料からなるメッシュ織物の表面及び／又は内部にコラーゲンの層が形成される。コラーゲンの層は、メッシュ織物の一面のみに形成してもよく、また両面に形成してもよい。コラーゲンの層の原料となるコラーゲンとしては、従来用いられている各種コラーゲンを用いることができ、例えば、中性塩可溶性コラーゲン、酸可溶性コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲン、酵素可溶化コラーゲンなどが挙げられる。これらのうち、アルカリ可溶化コラーゲン及び酵素

可溶化コラーゲンは、不溶性コラーゲンを、それぞれアルカリ処理又は酵素（例えば、ペプシン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、プロナーゼ等）処理したもので、抗原性が低減されているので、好適に使用される。上記のコラーゲンの由来は特に限定されず、一般に哺乳動物（例えば、ウシ、ブタ、ウサギ、ヒツジ、ネズミ等）の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などから得られるコラーゲンが用いられる。また、魚類、鳥類などから得られるコラーゲン様蛋白も用いることができる。

【0024】

本発明の再生医療用基材シートにおいて、メッシュ織物とコラーゲンの層の複合化は、コラーゲン溶液の塗布、流し込みなどの従来公知の方法にて、メッシュ織物の表面及び／又は内部にコラーゲン溶液による層を形成し、次いで凍結乾燥などの手段によりコラーゲン溶液層を固層化させることにより形成することができる。凍結乾燥は常法に準じて行うことができる。この際、コラーゲンの層の強度を高めるため、凍結乾燥に先立ち、コラーゲンを線維化しておくのが好ましく、この線維化は、コラーゲン溶液のpHの変化（例えば、酸性溶液の中和等）、温度上昇などにより行うことができる。

【0025】

コラーゲン溶液層の厚さは、最終的に固層化したコラーゲンの層の厚さが0.5 μm～20 mm程度、好ましくは1～10 mmとなるように調整されることが好ましい。コラーゲンの層の厚さが0.5 μm未満であると、生体内でのコラーゲンの吸収が速く、十分な効果が得られず、また20 mmを超えても効果的には格別の問題はないが、作業性などの点で問題を生ずるおそれがある。ここで使用されるコラーゲン溶液の濃度は、所望するコラーゲンの層の厚さ、密度などにより適宜調整することができるが、 $1 \times 10^{-2} \sim 3 \times 10^2 \text{ mg/mL}$ が好ましい。

【0026】

コラーゲンの層は、生体内に移植したときに細胞の侵入・伸展・増殖が容易になるように、多孔質状に形成するのが好ましい。この際、コラーゲンの層を多孔質状（スポンジ状）とする場合には、コラーゲン溶液は攪拌して起泡させたものも用いることができる。

【0027】

前記コラーゲンの層は、生体に移植した際のコラーゲンの吸収が早すぎないように、必要に応じてコラーゲンを架橋処理するのが好ましい。コラーゲンの架橋処理は、架橋剤を用いる方法、γ線照射による方法、紫外線照射による方法や加熱処理による方法などが挙げられる。

【0028】

本発明の再生医療用基材シートは、従来から検討されている各種の皮膚、靱帯、血管、臓器などに応用することができ、生体内で分解吸収されるので、特に生体内に埋設される人工器官、人工臓器などに好適に用いられる。また、縫合面の補強などにも利用することができる。

【0029】

〔実施例〕

以下実施例に基づいて詳細に説明する。ただし、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。また、評価方法は以下の通りである。

〔開口幅、開口率〕

メッシュ織物をマイクロスコープにて100倍に拡大し、タテ糸間の間隔（タテ方向開口幅）、ヨコ糸間の間隔（ヨコ方向開口幅）及び糸径を測定し、

$$\left(\text{タテ糸間の間隔} \times \text{ヨコ糸間の間隔} \right) / \left(\left(\text{タテ糸間の間隔} + \text{糸径} \right) \times \left(\text{ヨコ糸間の間隔} + \text{糸径} \right) \right) \times 100$$
にて算出した。

〔メッシュ織物の開孔幅の（タテ方向・ヨコ方向）の比〕

上記で測定したタテ糸間の間隔とヨコ糸間の間隔から、
$$\left(\text{タテ糸間の間隔} \right) / \left(\text{ヨコ糸間の間隔} \right)$$
で算出した。

〔メッシュ織物の保水性〕

動的接触性測定システム（共和界面化学（株）製 DCA-WZ）にメッシュ織物をセ

10

20

30

40

50

ットし、3 μlの水を滴下し、水滴とメッシュ織物の接触角θを測定し、下記のように判断した。

保水性良 $\theta \geq 100^\circ$

保水性不良 $\theta < 100^\circ$

〔コラーゲンの層の状態〕

作成した再生医療基材シートの表面及び側面を走査型電子顕微鏡で1000倍で撮影し、コラーゲンの層表面の細孔のバラツキと厚みを確認した。

○ 無孔部分も認められず、細孔部分は均一に分布しており、厚みもそろっていた。

× 無孔部分が認められる、或いは、細孔分布に多少のバラツキが見られる、或いは、厚みにバラツキが見られる。

【実施例1】

【0030】

ポリ乳酸繊維150dtex30f (Concordia Medical社製)をZ560T/Mで追撚したものを経糸及び緯糸に用いて、経密度45本/インチ、緯密度45本/インチの平組織からなるメッシュ織物を製織した。この織物の開口率は44%で、タテ方向のメッシュ開口幅が430 μm、ヨコ方向のメッシュ開口幅が430 μm、線径214 μm、メッシュ開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は1.00であった。

次に、メッシュ織物とコラーゲンの層(コラーゲンスポンジ)との複合化の方法を示す。まず、銅板をパラフルオロアルコキシ(PFA)フィルムで包み、その表面に純水を20回噴霧し、これを-30℃で凍結することにより、平均粒径400 μmの水微粒子を作製した。次に、作製した水微粒子の鑄型を-3℃の低温チャンバー内に1時間静置し、水微粒子の温度を-3℃に保持した。一方、1.0(w/v)%ブタタイプIコラーゲン水溶液を-1℃で24時間静置した。コラーゲンスポンジの厚みを制御するために、厚さが1.0mmのシリコンフレームを用いた。-3℃の低温チャンバー内で、水微粒子の鑄型の上にシリコンフレームを載せ、フレームの中に上記のコラーゲン水溶液を流し込み、メッシュ織物とポリ塩化ビニリデンラップで覆ったガラスプレートを順にコラーゲン水溶液の上に載せて-3℃で1時間凍結した。さらに-80℃で5時間凍結した後、ポリ塩化ビニリデンラップで覆ったガラスプレートを除いて凍結物を銅板から外し、これを24時間凍結乾燥し、メッシュ織物とコラーゲンの層との複合体を得た。該複合体を25%グルタルアルデヒド水溶液で飽和した蒸気中で4時間処理しコラーゲンを架橋させた。その後、該複合体を純水で3回洗浄し、0.1Mグリシン水溶液に12時間浸漬することにより、未反応のアルデヒド基をブロックした。その後、純水で6回洗浄した。洗浄した複合体を凍結乾燥し、再生医療用基材シートを作成した。評価結果を表1に示す。

【実施例2】

【0031】

ポリ乳酸繊維150dtex30f (追撚無し) (Concordia Medical社製)を用いて経密度45本/インチ、緯密度42本/インチの平組織からなるメッシュ織物を製織した。この織物の開口率は18%で、タテ方向のメッシュ開口幅が210 μm、ヨコ方向のメッシュ開口幅が320 μm、線径347 μm、メッシュ開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は0.66であった。次に、実施例1と同様にして、メッシュ織物とコラーゲンスポンジを積層し再生医療用基材シートを作成した。評価結果を表1に示す。

【0032】

〔比較例1〕

ポリ乳酸繊維150dtex30f (追撚無し) (Concordia Medical社製)を用いて経密度60本/インチ、緯密度64本/インチの平組織からなるメッシュ織物を製織した。この織物の開口率は1.5%で、タテ方向のメッシュ開口幅が65 μm、ヨコ方向のメッシュ開口幅が120 μm、線径627 μm、メッシュ開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は0.54であった。次に、実施例1と同様にしてメッシュ織物とコラーゲンスポンジを積層し再生医療用基材シートを作成した。評価結果を表1に示す。

【0033】

10

20

30

40

50

〔比較例 2〕

ポリ乳酸繊維 150 dtex 30 f（追撚無し）（Concordia Medical 社製）を用いて経密度 60 本／インチ、緯密度 31 本／インチの平組織からなるメッシュ織物を製織した。この織物の開口率は 14 %で、タテ方向のメッシュ開口幅が 430 μ m、ヨコ方向のメッシュ開口幅が 120 μ m、線径 329 μ m、メッシュ開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は 3.58 であった。次に、実施例 1 と同様にして、メッシュ織物とコラーゲンスポンジを積層し再生医療用基材シートを作成した。評価結果を表 1 に示す。

【0034】

〔比較例 3〕

ポリ乳酸繊維 150 dtex 30 f（追撚無し）（Concordia Medical 社製）を用いて経密度 45 本／インチ、緯密度 64 本／インチの平組織からなるメッシュ織物を製織した。この織物の開口率は 7 %で、タテ方向のメッシュ開口幅が 65 μ m、ヨコ方向のメッシュ開口幅が 300 μ m、線径 341 μ m、メッシュ開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は 0.21 であった。次に、実施例 1 と同様にして、メッシュ織物とコラーゲンスポンジを積層し再生医療用基材シートを作成した。評価結果を表 1 に示す。

【0035】

〔比較例 4〕

ポリ乳酸繊維 150 dtex 30 f（追撚無し）（Concordia Medical 社製）を用いて経密度 120 本／インチ、緯密度 80 本／インチの平組織からなる織物を製織した。この織物の開口率は 0 %で、タテ方向のメッシュ開口幅が 0 μ m、ヨコ方向のメッシュ開口幅が 0 μ m、線径 237 μ m、メッシュ開口幅のタテ方向とヨコ方向の比は 0 であった。次に、実施例 1 と同様にして、平組織織物とコラーゲンスポンジを積層し再生医療用基材シートを作成した。評価結果を表 1 に示す。

【符号の説明】

【0036】

1. 再生医療用基材シート
2. コラーゲンの層
3. メッシュ織物

【0037】

10

20

【表 1】

		実施例 1	実施例 2	比較例 1	比較例 2	比較例 3	比較例 4
メッシュ繊維物	開孔率 (%)	44	18	1.5	14	7	0
	開孔幅 (μm)	415	210	65	430	65	0
	ヨコ	430	320	120	120	300	0
	開孔幅比率	1.00	0.66	0.54	3.58	0.21	0
	メッシュ繊維物保水性	○	○	×	×	×	×
コーラゲンの層の状態		○	○	×	×	×	×

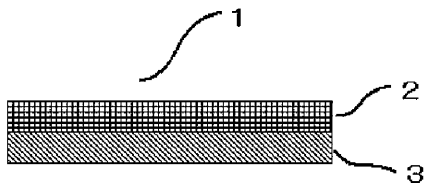
10

20

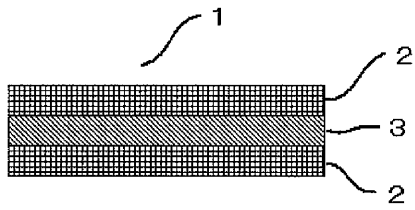
30

40

【図 1】



【図 2】



フロントページの続き

- (72)発明者 山岸 宏造
福井県福井市毛矢1丁目10番1号 セーレン株式会社内
- (72)発明者 多田 秀行
福井県福井市灯明寺町5字1-1 セーレンケーピー株式会社内
- (72)発明者 陳 国平
茨城県つくば市千現一丁目2番地1 独立行政法人物質・材料研究機構内
- (72)発明者 川添 直輝
茨城県つくば市千現一丁目2番地1 独立行政法人物質・材料研究機構内
- Fターム(参考) 4C081 AB11 AB19 AB31 BA16 CA241 CD121 DA02 DB03 DC04