

(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
2012年3月8日(08.03.2012)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2012/029971 A1

- (51) 国際特許分類:
A61L 15/16 (2006.01) A61L 15/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/070093
- (22) 国際出願日: 2011年8月30日(30.08.2011)
- (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 2010-193615 2010年8月31日(31.08.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 帝人株式会社(TEIJIN LIMITED) [JP/JP]; 〒5410054 大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号 Osaka (JP). 一般財団法人化学及血清療法研究所 (THE CHEMO-SERO-THERAPEUTIC RESEARCH INSTITUTE) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一丁目6番1号 Kumamoto (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 景山 由佳子(KAGEYAMA, Yukako) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP). 本多 勸(HONDA, Susumu) [JP/JP]; 〒7400014 山口県岩国市日の出町2番1号 帝人株式会社 岩国研究センター内 Yamaguchi (JP). 佐竹 真(SATAKE, Makoto) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP). 兼子 博章(KANEKO, Hiroaki) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP).

宮柱 澄香(MIYABASHIRA, Sumika) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一丁目6番1号 一般財団法人化学及血清療法研究所内 Kumamoto (JP).

- (74) 代理人: 大島 正孝(OHSHIMA Masataka); 〒1600022 東京都新宿区新宿1丁目17番11号 BN御苑ビル 大島特許事務所 Tokyo (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, 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, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, 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: COMPOUND MATERIAL OF FIBRIN GLUE AND FIBER MOLDING

(54) 発明の名称: フィブリン糊と繊維成形体との複合体

(57) Abstract: The compound material is obtained from a fiber molding and fibrin glue. The fiber molding is obtained from fiber comprising phospholipid-containing biodegradable polymer, having fiber surface smoothness of 1.07 or less, and containing 0.1 to 10 weight% of phospholipid with respect to biodegradable polymer. The invention provides a compound material of high strength and excellent tissue adhesiveness that is obtained from fibrin glue and a biodegradable fiber molding.

(57) 要約: 繊維成形体とフィブリン糊とからなる複合体であって、繊維成形体がリン脂質を含む生分解性ポリマーよりなる繊維であって、繊維表面の平滑度が1.07以下でありそしてリン脂質を生分解性ポリマーに対して0.1から10重量%含有する繊維よりなる。本発明は、強度が高く組織接着性に優れたフィブリン糊と生分解性繊維成形体からなる複合体を提供する。



WO 2012/029971 A1

明 細 書

フィブリン糊と繊維成形体との複合体

5 技術分野

本発明は、フィブリン糊と繊維成形体との複合体に関する。具体的には、リン脂質を0.1～10%含有し、繊維表面が平滑な繊維からなる繊維成形体と、フィブリン糊との複合体に関する。本発明の複合体は、医療用品、とりわけ組織表面や創傷部位の保護材、被覆材、シール材として、人工硬膜、癒着防止材、止血材などとして好ましく用いられる。

背景技術

生分解性のシート材料は、医療材料として近年様々な検討が行われている。既に製品化されているものとしては、縫合部の補強及び空気漏れの防止を目的としたポリグリコール酸よりなる不織布であるネオベール（登録商標）や、乳酸とグリコール酸の共重合体よりなる歯周疾患に使用される組織誘導再生膜であるジーシーメンブレン（登録商標）などがある。これらはいずれも組織再生の過程で分解される性質を持ち、生体組織の再生において、損傷部位の保護やシール材として作用している。この様に生分解性の材料は、その特徴を活かし、様々な方面で応用が検討されている。

特開2002-204826号公報には、生体吸収性および／または生分解性の合成繊維布を骨格とし、これにフィブリン糊を被覆した人工代用生体膜が開示されている。しかしながら、水圧に対する耐性試験に基づく膜自体の強度に関するデータは示されているものの、生体材料に対する接着力や生体組織欠損部の閉鎖力については何ら記載されていない。また、実施例に記載の硬膜欠損部の閉鎖試験において、本代用生体膜による閉鎖時にナイロン縫合糸による縫合が行われていることから、本生体膜の組織接着性は十分ではないことが予想される。

縫合を必要としない方法として、WO2006/025150号パンフレット

には、ポリグリコール酸繊維成形体とフィブリン糊よりなる腸管欠損部閉塞用デバイスが記載されている。しかし血管など圧力のかかる組織に対する強度としては十分ではない。

5 上述したような人工生体膜等の基材となる繊維を作製する方法として、エレクトロスピニング法（静電紡糸法、電界紡糸法やエレクトロスプレー法ともよばれる）が知られている。このエレクトロスピニング法で作製されるナノファイバーは、従来の成形方法よりも繊維径の細い糸を簡便に作製できるメリットがあり、より表面積の広い繊維成形体を得るための簡便な方法として注目されている。

10 このようなナノファイバーを用いた例として、WO 2006/022430号パンフレットには、リン脂質を含有したナノファイバーに関する記載がある。リン脂質を加えることで繊維表面が凹凸形状を有することにより細胞接着性が向上することを目的としている。しかしながら、フィブリン糊との複合体における組織表面との接着性については何ら検討も示唆もされていない。

15 US 2004/0013873号明細書には、繊維表面が多孔性（凹凸を有する）のナノファイバーに関する記載があり、その効果として、マトリクスと複合体として用いた際に複合体の強度が上昇するという記載がある。しかしながら、繊維表面の平滑性とフィブリン糊との複合体の強度については示唆も検討もされていない。

20 発明の開示

本発明が解決しようとする課題は、フィブリン糊との親和性に優れた生分解性繊維の繊維成形体とフィブリン糊とからなり、強度が高く、組織接着性に優れた複合体を提供することである。

25 発明者らは、組織表面との接着性に優れた生分解性繊維の繊維成形体とフィブリン糊との複合体について鋭意検討した。その結果、リン脂質を含有し、表面が平滑である繊維を有する生分解性繊維の成形体とフィブリン糊との複合体が組織接着性に優れることを見出し、本発明を完成するに至った。

これまで、リン脂質を含有した構造体の表面に凹凸がある場合、US 2004

／0013873号明細書に記載されているとおり複合体の強度に優れるものと予想されたが、驚くべきことに、繊維表面が平滑な繊維成形体が複合体の強度に優れていることを見出し、本発明を完成したものである。

- すなわち本発明は、繊維成形体とフィブリン糊からなる複合体であって、繊維成形体がリン脂質を含む生分解性ポリマーよりなる繊維であって、繊維表面の平滑度が1.07以下でありそしてリン脂質を生分解性ポリマーに対して0.1から10重量%で含有する繊維よりなることを特徴とする複合体である。

図面の簡単な説明

- 10 図1は、本発明の繊維複合体の破断強度を測定する装置の概念図である。

図2は、実施例9で得られた人工生体膜をフィブリンゲル層が脳実質側になるようにビーグル大腦に被せ、1ヶ月後の剖検で得られた組織のHE染色標本の写真である。

- 15 発明を実施するための最良の形態

- 本発明の複合体は、繊維成型体とフィブリン糊より形成される。本発明で用いられる繊維成形体は、リン脂質を生分解性ポリマーに対して0.1～10重量%で含有する。リン脂質の含有量が0.1重量%より少ないと、フィブリン糊との親和性に効果を示さず、10重量%よりも多いと、繊維成形体自体の耐久性が低下し、好ましくない。より好ましい含有量は0.2～5重量%であり、さらに好ましくは、0.3～1重量%である。

- 本発明で用いられるリン脂質は、動物組織から抽出したものでも、人工的に合成して製造したものでもよい。かかるリン脂質としては、例えばホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールなどが挙げられる。これらは1種類を選択してもよいし、2種類以上の混合物として用いてもよい。これらのうち、ホスファチジルコリンまたはホスファチジルエタノールアミンが好ましく、これらのうち、さらに好ましくはホスファチジルコリンジラウロイルまたはホスファチジルエタノールアミンジ

オレオイルである。

本発明で用いられる生分解性ポリマーは、具体的にはポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリカプロラクトン、ポリジオキサノン、乳酸－グリコール酸共重合体、乳酸－カプロラクトン共重合体、ポリグリセロールセバシン酸、ポリヒドロキシ
5 アルカン酸、ポリブチレンサクシネートなどの脂肪族ポリエステル、ポリメチレンカーボネートなどの脂肪族ポリカーボネート、セルロースジアセテート、セルローストリアセテート、メチルセルロース、プロピルセルロース、ベンジルセルロース、カルボキシメチルセルロースなどの多糖類誘導体、フィブロイン、ゼラチン、コラーゲンなどのたんぱく質やこれらの誘導体が挙げられる。

10 さらに好ましくは、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、乳酸－グリコール酸共重合体などの脂肪族ポリエステルであり、最も好ましいのはポリ乳酸、乳酸－グリコール酸共重合体である。

このとき、ポリ乳酸の共重合体は、伸縮性を付与するモノマー成分が少ないほうが好ましい。ここで伸縮性を付与するモノマー成分とは、例えばカプロラク
15 トンモノマー、エチレングリコール、1，2－プロピレングリコール、1，3－プロピレングリコール、1，2－ブタンジオール、1，4－ブタンジオール、ポリカプロラクトンジオール、ポリアルキレンカーボネートジオール、ポリエチレングリコールユニットなどの軟質成分である。これらの軟質成分はポリマー比で20重量%未満であることが好ましい。これよりも軟質成分が多いとポリマーは自己支持性を失いやすく、やわらかすぎて取り扱いにくい繊維成形体を与える。
20

ポリ乳酸におけるポリマーを構成するモノマーとしてはL－乳酸およびD－乳酸があり、特に制限なく用いられる。またポリマーの光学純度や分子量、L体とD体の組成比、配列には特に制限はないが、好ましくはL体の多いポリマーである。ポリL乳酸とポリD乳酸のステレオコンプレックスを用いることもできる。

25 また、生分解性ポリマーの重量平均分子量は、好ましくは $1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^6$ であり、より好ましくは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 、さらに好ましくは $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ である。また、ポリマーの末端構造やポリマーを重合する触媒は任意に選択できる。

本発明で用いられる繊維成形体には、その目的を損なわない範囲で、他のポリマーや他の化合物を併用してもよい。例えば、ポリマー共重合、ポリマーブレンド、化合物混合として併用することができる。

5 本発明で用いる生分解性ポリマーは高純度であることが好ましく、とりわけポリマー中に含まれる添加剤や可塑剤、残存触媒、残存モノマー、成型加工や後加工に用いた残留溶媒などの残留物は、少ないほうが好ましい。特に医療に用いる場合は、安全性の基準値未満に抑える必要があることはいうまでもない。

繊維表面が平滑な繊維とは、繊維表面を走査型電子顕微鏡などで観察した際に、表面に凹凸などが見られないものを指す。例えばUS 2004/0013873
10 号明細書には、繊維表面が凹凸の繊維成形体が表示されているが、このような凹凸をもたない繊維をいう。具体的には、繊維の表面形態が、原子間力顕微鏡AFMを用いて、AFM観察視野範囲 $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ における表面積率（平滑度）により評価され、この平滑度が1.07以下、好ましくは1.05以下、より好ましくは1.03以下である繊維をいう。

15 後述する実施例では、AFMとして、デジタルインスツルメント社製Nano Scope IIIaを使用した。カンチレバーはAC-240TS（シリコン製：ばね定数 2 N/m ）を使用した。観察に際して分解能低下を防ぐため、カンチレバーは探針の汚染、磨耗がない新品を使用した。また、探針－試料表面間に働く力は必要最小限の力に設定し、走査中の試料の破損、探針の磨耗を防いだ。
20 観察は、探針が繊維中心部にコンタクトするようにし、探針走査方向が繊維軸と一致するように観察視野 $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ で行った。走査速度は0.7 Hzとした。分解能は $256 \times 256 \text{ pixels}$ 以上とした。繊維は曲率をもっているため、AFM観察後、装置に付属している傾き補正ソフト等を用いて繊維が有する曲率、マクロな形態上のうねりをキャンセルした。傾き補正は、探針が完全に繊維中心部にコンタクトし、走査方向と繊維軸方向が一致した場合は二次傾き補正を行なったが、そうでない場合は三次傾き補正処理、フラット処理を行なった。傾き補正後、装置付属の表面粗さ解析を行い、表面積率を算出した。表面積率とは、
25 観察面が理想的にフラットであると仮定したときの面積 S_0 に対する実際の表面

積 S の比率 $S\ ratio$ のことであり、 $S\ ratio = S / S_0$ で表される。評価はランダムに行った観察視野20点の平均値をもって行った。

本発明で用いる繊維成形体の繊維径は0.1～10 μm である。ここで平均繊維径が0.1 μm よりも小さいか、または10 μm よりも大きいと、所望のフィ
5 ブリン糊との親和性が得難い。好ましい平均繊維径は1.0～8.0 μm であり、さらに好ましくは、2.0～7.0 μm である。繊維径とは繊維断面の直径のことである。繊維断面の形状は円形に限らず、楕円形や異形になることもありうる。この場合の繊維径とは、該楕円形の長軸方向の長さの平均をその繊維径として算出する。また、繊維断面が円形でも楕円形でもないときには円
10 または楕円に近似して繊維径を算出する。

本発明で用いられる繊維成形体は長繊維よりなる。長繊維とは具体的には紡糸から繊維成形体への加工にいたるプロセスの中で、繊維を細かく切断する工程を加えずに形成される繊維成形体のことをいい、例えばエレクトロスピニング法、
15 スパンボンド法、メルトブロー法などで形成することができる。エレクトロスピニング法が好ましく用いられる。ここで、エレクトロスピニング法とは、静電紡糸法、エレクトロスプレー法などともよばれる方法も原理的には同じであり、これらも本発明でいうエレクトロスピニング法に含まれる。

エレクトロスピニング法は、ポリマーを溶媒に溶解させた溶液に高電圧を印加することで、電極上に繊維成形体を得る方法である。工程としては、高分子を溶
20 媒に溶解させて溶液を製造する工程と、該溶液に高電圧を印加させる工程と、該溶液を噴出させる工程と、噴出させた溶液から溶媒を蒸発させて繊維成形体を形成させる工程と、任意工程として、形成された繊維成形体の電荷を消失させる工程と、電荷消失によって繊維成形体を累積させる工程を含む。

本発明で用いられる繊維成形体の全体の厚みは、特に制限はないが、好ましくは25 μm ～200 μm 、さらに好ましくは50～100 μm である。
25

エレクトロスピニング法における、有機高分子を溶媒に溶解させて溶液を製造する段階について説明する。本発明の製造方法における溶液中の溶媒に対する生分解性ポリマーの濃度は1～30重量%であることが好ましい。生分解性ポリマ

一の濃度が1重量%より小さいと、濃度が低すぎるため繊維成形体を形成することが困難となり、好ましくない。また、30重量%より大きいと得られる繊維成形体の繊維径が大きくなり、好ましくない。より好ましい溶液中の溶媒に対する生分解性ポリマーの濃度は2～20重量%である。

- 5 溶媒は一種を単独で用いてもよく、複数の溶媒を組み合わせてもよい。前記溶媒としては、生分解性ポリマーとを溶解可能で、かつ紡糸する段階で蒸発し、繊維を形成可能なものであれば特に限定されず、例えばアセトン、クロロホルム、エタノール、2-プロパノール、メタノール、トルエン、テトラヒドロフラン、水、ベンゼン、ベンジルアルコール、1,4-ジオキサン、1-プロパノール、
10 ジクロロメタン、四塩化炭素、シクロヘキサン、シクロヘキサノン、フェノール、ピリジン、トリクロロエタン、酢酸、蟻酸、ヘキサフルオロ-2-プロパノール、ヘキサフルオロアセトン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、アセトニトリル、N-メチル-2-ピロリジノン、N-メチルモルホリン-N-オキシド、1,3-ジオキサラン、メチルエチルケトン、上記溶媒
15 の混合溶媒が挙げられる。これらのうちでも、取扱い性や物性などから、ジクロロメタン、エタノールを用いることが好ましい。

次に、溶液に高電圧を印加させる段階と、溶液を噴出させる段階と、噴出された溶液から溶媒を蒸発させて繊維成形体を形成させる段階について説明する。

- 本発明の繊維成形体の製造方法においては、生分解性高分子を溶解した溶液を
20 噴出させ、繊維成形体を形成させるために、溶液に高電圧を印加させる必要がある。電圧を印加させる方法については、生分解性高分子を溶解した溶液を噴出させ、繊維成形体が形成されるものであれば特に限定されない。溶液に電極を挿入して電圧を印加させる方法や、溶液噴出ノズルに対して電圧を印加させる方法などがある。

- 25 また、溶液に印加させる電極とは別に補助電極を設けることも可能である。また、印加電圧の値は、前記繊維成形体が形成されれば特に限定されないが、好ましくは5～50kVの範囲である。印加電圧が5kVより小さい場合は、溶液が噴出されずに繊維成形体が形成されないため好ましくなく、印加電圧が50kV

より大きい場合は、電極からアース電極に向かって放電が起きるために好ましくない。より好ましくは7～30 kVの範囲である。所望の電位は従来公知の任意の適切な方法で作ればよい。

そして、生分解性高分子を溶解した溶液を噴出させた直後に生分解性高分子を溶解させた溶媒が揮発して繊維成形体が形成される。通常、紡糸は大気下、室温で行われるが、揮発が不十分である場合には陰圧下で行うことや、高温の雰囲気下で行うことも可能である。また、紡糸する温度は溶媒の蒸発挙動や紡糸液の粘度に依存するが、好ましくは0～50℃の範囲である。

次に、前記電荷消失によって繊維成形体を累積させる段階について説明する。

10 前記電荷消失によって繊維成形体を累積させる方法は特に限定を受けないが、通常の方法として、電荷消失により繊維成形体の静電気を失わせ、自重により落下、累積させる方法が挙げられる。また必要に応じて、静電気を消失させた繊維成形体を吸引してメッシュ上に累積させる方法、装置内の空気を対流させてメッシュ上に累積させる方法などを行うこともできる。

15 繊維表面が平滑な繊維の作製方法としては、紡糸する際の雰囲気を低湿度に設定することで作製することができる。好ましくは相対湿度25%以下、さらに好ましくは20%以下である。

本発明で用いられる繊維成形体の表面に、さらに綿状の繊維構造物を積層することや、綿状構造物を該繊維成形体ではさんでサンドイッチ構造にするなどの加工は、本発明の目的を損ねない範囲で任意に実施しうる。

本発明で用いられる繊維成形体は、その表面の親水性や疎水性、電気特性や帯電性を改質するために、界面活性剤などの化学薬品による表面処理を施されてもよい。医療応用においては、さらに抗血栓性を付与するためのコーティング処理、抗体や生理活性物質で表面をコーティングすることも任意に実施できる。このとき、25 きのコーティング方法や処理条件、その処理に用いる化学薬品は、繊維の構造を極端に破壊せず、本発明の目的を損なわない範囲で任意に選択できる。

本発明で用いられる繊維成形体の繊維内部にも任意に薬剤を含ませることができ、エレクトロスピンニング法で成形する場合は、揮発性溶媒に可溶であり、溶

解によりその生理活性を損なわないものであれば、使用する薬剤に特に制限はない。

かかる薬剤の具体例としては、タクロリムスもしくはその類縁体、スタチン系またはタキサン系抗癌剤が例示できる。

- 5 また、上記薬剤は、揮発性溶媒中において活性を維持することが可能であればタンパク質製剤、核酸医薬であってもよい。また薬剤以外のものも含んでよく、金属、多糖、脂肪酸、界面活性剤、揮発性溶媒耐性微生物であってもよい。

本発明は、前記繊維成形体とフィブリン糊とからなる複合体である。かかるフィブリン糊としては、例えばフィブリン糊の前駆体である、フィブリノゲン凍結乾燥粉末、フィブリノゲン溶解液、トロンビン凍結乾燥粉末、およびトロンビン溶解液から構成されたものを挙げることができる。そして、フィブリン糊の通常の使用態様は、フィブリノゲン凍結乾燥粉末をフィブリノゲン溶解液で溶解してA液とし、トロンビン凍結乾燥粉末をトロンビン溶解液で溶解してB液とし、両液を接着部位に重層または混合して適用する。

- 15 フィブリン糊は、血液凝固の最終段階を利用した生理的組織接着剤であり、含有するフィブリノゲンはトロンビンの作用により可溶性フィブリン塊となり、さらにカルシウムイオン存在下でトロンビンにより活性化された血液凝固第XIII因子により、物理的強度をもった尿素不溶性の安定なフィブリン塊となり、組織を接着・閉鎖する。この安定化したフィブリン塊内で、例えば線維芽細胞が増殖し、膠原線維や肉芽基質成分が産生され、組織修復を経て治癒に至る。

20 本発明におけるフィブリン糊は、上述した可溶性フィブリン塊の状態にあるもの、安定フィブリン塊の状態にあるもの、さらには可溶性フィブリン塊もしくは安定フィブリン塊を形成する前駆体および／またはその混合物、のいずれであってもよい。ただし、本発明の複合体の製造過程では、フィブリン糊前駆体が用いられる。

25 本発明で用いられるフィブリン糊には、所望により、成長因子、医薬品、薬剤などの活性因子を含有させることができる。活性因子としては水溶性の化合物が好ましく、抗体や成長因子などのたんぱく質を好ましい例として挙げることがで

きる。

フィブリン糊と繊維成形体との複合体を得る方法は、特に制限はなく、繊維成形体にあらかじめフィブリノゲンやトロンビンなどの前駆体のいずれかを塗布、コーティング、含浸させるなどの処理を行い、その後他の前駆体を混合することによる複合化を行うことができる。好ましくは、本発明の繊維成形体はフィブリン糊との親和性に優れているため、繊維成形体に直接フィブリノゲンとトロンビンの両溶液をスプレーなどの方法で混合噴霧する方法が簡便に複合体を形成できて良い。

フィブリン糊と繊維成形体の形状としては、特に制限はなく、繊維成形体をフィブリン糊で包埋した形状、繊維成形体の片面にフィブリン糊を塗布または含浸させた形状、繊維成形体の一部にフィブリン糊を塗布させた形状などが挙げられる。

実施例

以下、実施例により本発明の実施の形態を説明するが、これらは本発明の範囲を制限するものではない。

1. 平均繊維径：

得られた繊維成形体の表面を走査型電子顕微鏡（キーエンス株式会社：商品名「VE8800」）により、倍率2000倍で撮影して得た写真から無作為に20箇所を選んで繊維の径を測定し、すべての繊維径の平均値を求めて平均繊維径とした。 $n=20$ である。

2. 平均厚：

高精度デジタル測長機（株式会社ミットヨ：商品名「ライトマチックVL-50」）を用いて測長力0.01Nにより $n=10$ にて繊維成形体の膜厚を測定した平均値を算出した。なお、本測定においては測定機器が使用可能な最小の測定力で測定を行った。

3. 平均見掛け密度：

繊維成形体の質量を測定し、上記方法により求めた面積、平均厚をもとに平均

見掛け密度を算出した。

4. 繊維表面の平滑度：

原子間力顕微鏡（デジタルインスツルメント社：商品名「Nano Scope IIIa」）を用いて繊維成形体の繊維表面 $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ を測定し、 $n = 20$ の平滑度を算出した。

5. 繊維成形体とフィブリン糊複合体の複合体強度試験：

生体組織としてウサギの皮膚を採取し、図1の装置表面に平面状に設置した。ウサギの皮膚3の中央に穴（5mmΦ）をあけ、外枠5と内枠6で固定した後、その周りにフィブリノゲンの溶液を塗布し、その上に、繊維成形体を穴がふさがるように設置し、さらに上からフィブリン糊1（ボルヒール（登録商標））のスプレーを吹き付けた。スプレーに用いたフィブリノゲンの溶液とトロンビンの溶液は、ボルヒールのキットをそのまま使用した。フィブリン糊のゲルが固まるまで数分放置した後、外部より圧4を加えていき、複合体（繊維成形体＋フィブリン糊）2が破断したときの内圧を測定した。フィブリノゲン溶液が繊維成形体に自然に浸透し、複合体が破断した際の内圧が120mmHg以上であるものを合格と評価した。

実施例1

1重量%のホスファチジルコリンジラウロイルを添加したポリ乳酸（重量平均分子量13万7千、多木化学製）10重量部を90重量部のジクロロメタン溶液で溶解し、均一な溶液を得た。エレクトロスピンング法により紡糸を行い、シート状の繊維成形体を得た。噴出ノズルの内径は0.8mm、電圧は15kV、噴出ノズルから平板までの距離は15cmであった。上記平板は、紡糸時は陰極として用いた。得られた繊維成形体の平均繊維径は4.4μmであり、厚さは106μm、平均見掛け密度153mg/cm³であった。繊維表面の平滑度は、1.024であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、286mmHgであった。

比較例1

ポリ乳酸（重量平均分子量15万2千、PURAC製）7.5重量を80重量

部のジクロロメタン溶液と10重量部のエタノールで溶解した以外は、実施例1と同様に繊維成形体を調製した。

得られた繊維成形体の平均繊維径は $5.0\ \mu\text{m}$ であり、厚さは $86\ \mu\text{m}$ 、平均見掛け密度は $157\ \text{mg}/\text{cm}^3$ であった。繊維表面の平滑度は、 1.032 であった。フィブリノゲン溶液は繊維成形体に自然に浸透することはなかった。複合体が破断したときの内圧は、 $66\ \text{mmHg}$ であった。

実施例2

5重量%のホスファチジルエタノールアミンジオレオイルを添加したポリ乳酸（重量平均分子量13万7千、多木化学製）10重量部を90重量部のジクロロメタン溶液で溶解した以外は、実施例1と同様に繊維成形体を調製した。

得られた繊維成形体の平均繊維径は $4.0\ \mu\text{m}$ であり、厚さは $99\ \mu\text{m}$ 、平均見掛け密度は $165\ \text{mg}/\text{cm}^3$ であった。繊維表面の平滑度は、 1.014 であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、 $294\ \text{mmHg}$ であった。

15 実施例3

1重量%のホスファチジルエタノールアミンジオレオイルを用いた以外は、実施例1と同様にサンプルを調製した。得られた繊維成形体の平均繊維径は $4.3\ \mu\text{m}$ であり、厚さは $63\ \mu\text{m}$ 、平均見掛け密度は $210\ \text{mg}/\text{cm}^3$ であった。繊維表面の平滑度は、 1.017 であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、 $192\ \text{mmHg}$ であった。

比較例2

WO2006/022430号パンフレットに記載の方法（高湿度下（相対湿度 $42\sim 55\%$ ））で1重量%のホスファチジルエタノールアミンジオレオイルを添加したポリ乳酸よりなる繊維表面に凹凸構造のある繊維成形体を調製した。

25 得られた繊維成形体の平均繊維径は $3.0\ \mu\text{m}$ であり、厚さは $50\ \mu\text{m}$ 、平均見掛け密度は $136\ \text{mg}/\text{cm}^3$ であった。繊維表面の平滑度は、 1.074 であった。フィブリノゲン溶液は繊維成形体に自然に浸透することはなかった。複合体が破断したときの内圧は、 $68\ \text{mmHg}$ であった。

実施例 4

10 重量%のホスファチジルエタノールアミンジオレオイルを用いた以外は、
実施例 1 と同様にサンプルを調製した。得られた繊維成形体の平均繊維径は 4.
3 μm であり、厚さは 84 μm 、平均見掛け密度は 142 mg/cm^3 であった。
5 繊維表面の平滑度は、1.018 であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体
に自然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、238 mmHg であった。

実施例 5

ホスファチジルコリンジラウロイルの濃度が 0.1 重量%、ポリ乳酸が重量平
均分子量 15 万 2 千の PURAC 製である以外は実施例 1 と同様にサンプルを調
10 製した。得られた繊維成形体の平均繊維径は 4.1 μm であり、厚さは 78 μm 、
平均見掛け密度 156 mg/cm^3 であった。繊維表面の平滑度は、1.011
であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自然に浸透した。複合体が破断
したときの内圧は、230 mmHg であった。

実施例 6

15 0.4 重量%のホスファチジルコリンジラウロイルを添加した乳酸-グリコー
ル酸共重合体（数平均分子量 20 万 4 千、PURAC 製）8 重量部を 92 重量部
のジクロロメタンで溶解し、均一な溶液を得た。エレクトロスピンング法により
紡糸を行い、シート状の繊維成形体を得た。噴出ノズルの内径は 0.8 mm 、電
圧は 8.5 kV 、噴出ノズルから平板までの距離は 25 cm であった。上記平板
20 は、紡糸時は陰極として用いた。得られた繊維成形体の平均繊維径は 4.6 μm
であり、厚さは 82 μm 、平均見掛け密度 153 mg/cm^3 であった。繊維表
面の平滑度は、1.0088 であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自
然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、223 mmHg であった。

25 実施例 7

0.4 重量%のホスファチジルコリンジラウロイルを添加したポリグリコール
酸（重量平均分子量 10 万、Polysciences 製）10 重量部を 90 重
量部のヘキサフルオロ-2-プロパノール溶液で溶解し、均一な溶液を得た。エ

レクトロスピニング法により紡糸を行い、シート状の繊維成形体を得た。噴出ノズルの内径は0.8 mm、電圧は15 kV、噴出ノズルから平板までの距離は25 cmであった。上記平板は、紡糸時は陰極として用いられた。得られた繊維成形体の平均繊維径は2.5 μm であり、厚さは122 μm 、平均見掛け密度156 mg/cm³であった。繊維表面の平滑度は、1.022であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、178 mmHgであった。

実施例 8

0.4重量%のホスファチジルコリンジラウロイルを添加したポリ乳酸（重量平均分子量13万3千、PURAC 製）11重量部を79重量部のジクロロメタンと10重量部のエタノールで溶解し、均一な溶液を得た。エレクトロスピニング法により紡糸を行い、シート状の繊維成形体を得た。噴出ノズルの内径は0.8 mm、電圧は15 kV、噴出ノズルから平板までの距離は25 cmであった。上記平板は、紡糸時は陰極として用いた。得られた繊維成形体の平均繊維径は3.9 μm であり、厚さは78 μm 、平均見掛け密度147 mg/cm³であった。繊維表面の平滑度は、1.004であった。フィブリノゲン溶液は、繊維成形体に自然に浸透した。複合体が破断したときの内圧は、256 mmHgであった。

以上の結果により、本発明で用いられる繊維表面が平滑なリン脂質を含有する繊維成形体は、フィブリン糊との親和性に優れることが示された。

20 実施例 9

生体に埋め込むための人工生体膜の作製には、市販の生体組織接着剤であるボルヒール（登録商標）を使用した。実施例 8 で作製した繊維成形体を2 cm×2 cm（4 cm²）の大きさに切断し、10 cmプラスチックシャーレ中に置いた。3 cm×3 cm（9 cm²）の大きさの透明なプラスチックフィルムの中央部に1 cm×1 cm（1 cm²）の穴を開け、繊維成形体の上にプラスチックフィルムを被せた。ボルヒール中の凍結乾燥フィブリノゲン240 mgおよび第XIII因子225単位を含むバイアルにアプロチニン（3000 KIE）を含む溶液3 mLを添加して混合し、3 mLのフィブリノゲン液を作製し、0.2 mL

のフィブリノゲン液を1 mLの噴霧用シリンジに吸い込んだ。トロンビン（750単位）の粉末を、塩化カルシウム17.7 mgを含む溶液3 mLで溶解して、そのうちの0.2 mLを1 mLのシリンジに吸い込んだ。それぞれのシリンジをボルヒールスプレーセット（秋田住友ベーク（株））に装着した。このスプレー
5 セットを用いてフィブリノゲン液とトロンビン液各0.2 mLを同時に繊維成形体に重ねたプラスチックフィルムの上から均等に噴霧した。この後、5分間以上静置した後、プラスチックフィルムを除去することによって、繊維成形体の中央部に1 cm×1 cm（1 cm²）の大きさのフィブリンゲル層とその周囲に0.5 cmの幅ののりしろ部分を持つ人工生体膜を形成した。この人工生体膜をシャ
10 ーレから剥離して動物実験に使用した。

実施例10

以下の方法を用いて、ビーグル成犬での動物実験を行った。

（i）硬膜の貼り付け

ビーグル成犬を挿管管理による全身麻酔下におき、両側頭頂前頭開頭を行い、
15 左右に各々1箇所、1 cm四方の正方形の硬膜欠損部を作製した。一箇所の欠損部に対して、欠損部周囲の硬膜にフィブリノゲン溶液を0.1 mL滴下して指ですり込み、その上から実施例9に記載した人工生体膜をフィブリンゲル層が脳実質側になるように被せた。次にボルヒールスプレーセットを用いてボルヒール各液0.3 mLを人工生体膜の上から噴霧し、人工生体膜を硬膜欠損部に接着させ
20 た。3分間以上静置した後、閉頭を行った。

（i i）術後1ヶ月の病理所見

図2に示したように、術後1ヵ月の時点でのヘマトキシリン・エオジン染色（HE染色）標本では、硬膜欠損部において本発明の人工生体膜の上部及び下部に自己の結合組織の層が確認された。また、人工生体膜の繊維間にも結合組織が
25 増生していた。また、脳組織は正常所見を呈していた。なお、術後より剖検時の1ヶ月まで、手術部位からの髄液の漏れはなかった。

以上の結果により、本発明で用いられる繊維表面が平滑なリン脂質を含有する繊維成形体は、フィブリン糊との親和性に優れることが示され、生体組織に接着

し、硬膜を含む自己組織層の再生を促す人工生体膜になり得ることが確認された。

発明の効果

- 本発明によれば、生分解性とともにより高い強度をもち、組織接着性に優れた繊維
- 5 成形体とフィブリン糊との複合体が提供される。

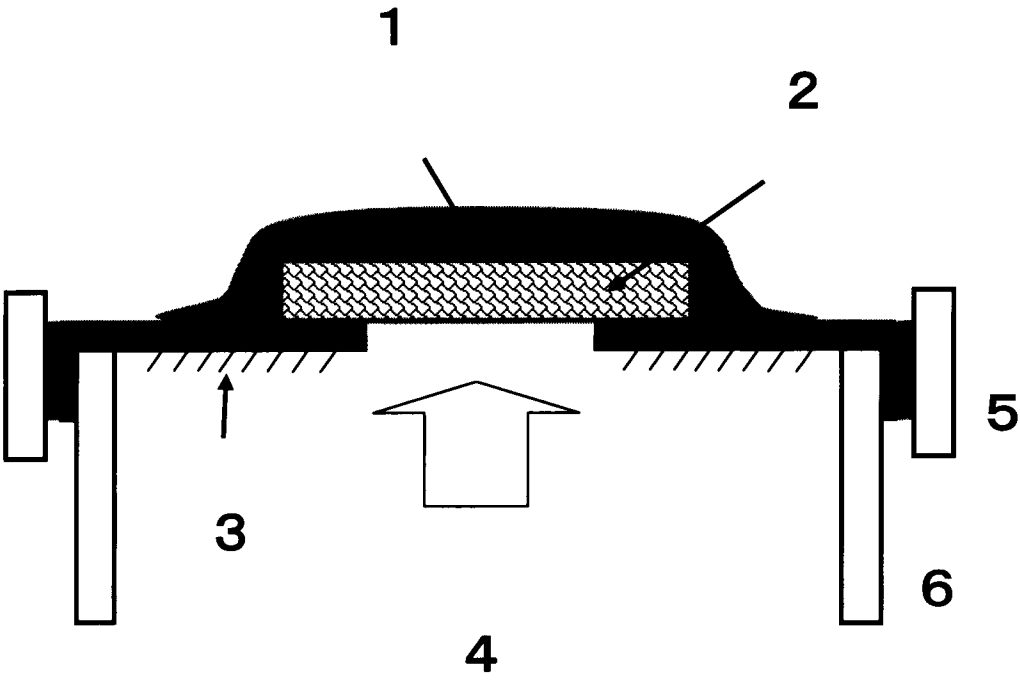
産業上の利用可能性

- 本発明のフィブリン糊と繊維成形体の複合体は、医療用品、とりわけ組織表面
- や創傷部位の保護材、被覆材、シール材として、人工硬膜、癒着防止材、止血材
- 10 などに有用である。

請 求 の 範 囲

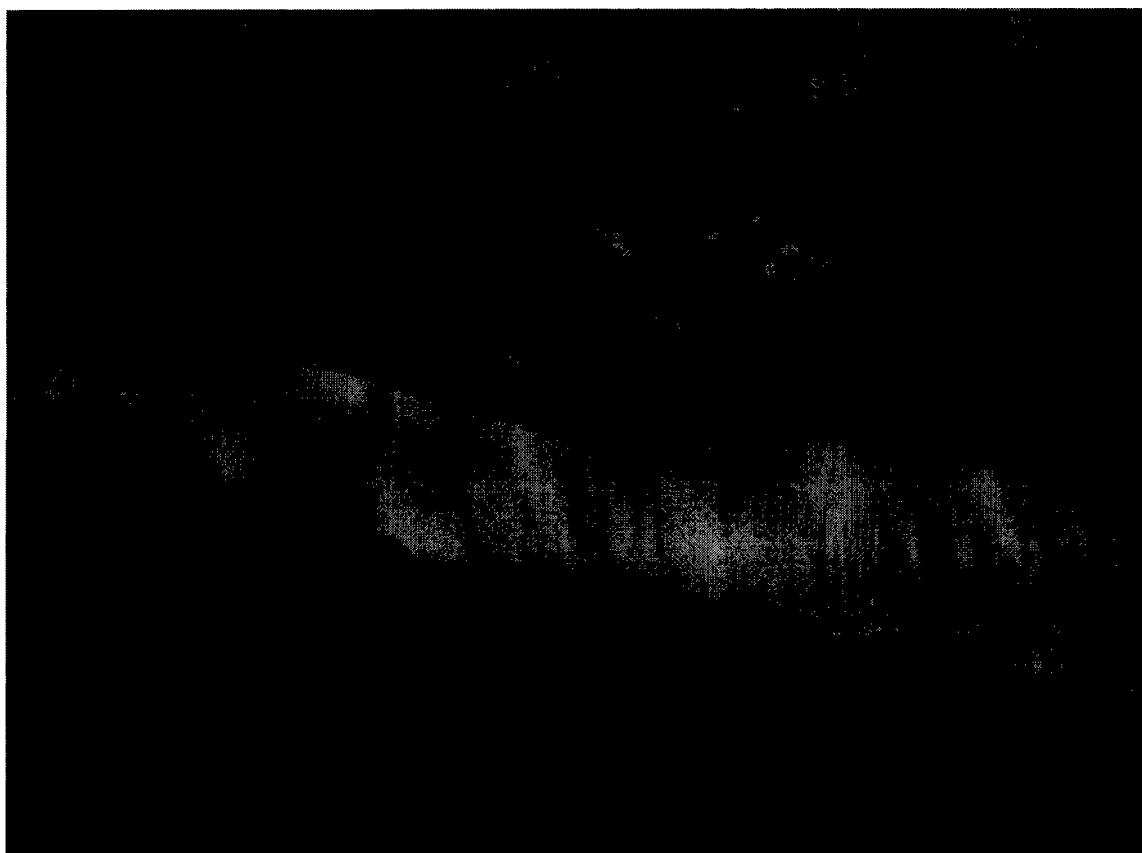
1. 繊維成形体とフィブリン糊からなる複合体であって、繊維成形体がリン脂質を含む生分解性ポリマーよりなる繊維であって、繊維表面の平滑度が1.07
5 以下でありそしてリン脂質を生分解性ポリマーに対して0.1から10重量%で含有する繊維よりなることを特徴とする複合体。
2. 繊維表面の平滑度が1.05以下である請求項1に記載の複合体。
- 10 3. 生分解性ポリマーが脂肪族ポリエステルである請求項1または2に記載の複合体。
4. 生分解性ポリマーがポリ乳酸、ポリ乳酸の共重合体、またはポリグリコール酸である請求項1または2に記載の複合体。
- 15 5. リン脂質がホスファチジルコリンまたはホスファチジルエタノールアミンである請求項1から4のいずれかに記載の複合体。
6. 繊維成形体がエレクトロスピニング法にて作製されたものである請求項1
20 から5のいずれかに記載の複合体。
7. リン脂質を含む生分解性ポリマーからなり、繊維表面の平滑度が1.07以下であり且つリン脂質を生分解性ポリマーに対して0.1から10重量%で含有する繊維よりなる繊維成形体と、フィブリン糊との組合せからなる生体膜再生
25 のための治療キット。

図 1



2 / 2

図 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/070093

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L15/16(2006.01) i, A61L15/64(2006.01) 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)

A61L15/16, A61L15/64

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/28244 A1 (Teijin Ltd.), 16 March 2006 (16.03.2006), page 1; page 6, line 22; page 12, line 18 & JP 4481994 B	1-7
Y	WO 2006/25150 A1 (Niigata University), 09 March 2006 (09.03.2006), paragraphs [0009], [0010] (Family: none)	1-7
P, A	WO 2011/59102 A1 (Teijin Ltd.), 19 May 2011 (19.05.2011), entire text (Family: none)	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ 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 but 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 not 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 combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 September, 2011 (15.09.11)

Date of mailing of the international search report
27 September, 2011 (27.09.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/070093

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2006/22430 A1 (Teijin Ltd.), 02 March 2006 (02.03.2006), entire text & JP 4354996 B	1-7
A	JP 2005-15504 A (Teijin Ltd.), 20 January 2005 (20.01.2005), entire text (Family: none)	1-7
A	JP 2002-204826 A (Hokkaido Technology Licensing Office Co., Ltd.), 23 July 2002 (23.07.2002), entire text (Family: none)	1-7
A	JP 2-206457 A (Terumo Corp.), 16 August 1990 (16.08.1990), entire text & EP 382158 A1 & DE 69007999 C	1-7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61L15/16(2006.01)i, A61L15/64(2006.01)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 (I P C))

Int.Cl. A61L15/16, A61L15/64

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 1 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 1 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 1 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)

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
Y	WO 2006/28244 A1 (帝人株式会社) 2006.03.16, 第1頁、第6頁第22行、第12頁第18行目 & JP 4481994 B	1-7
Y	WO 2006/25150 A1 (国立大学法人新潟大学) 2006.03.09, [0009]、[0010] (ファミリーなし)	1-7
P A	WO 2011/59102 A1 (帝人株式会社) 2011.05.19, 全文 (ファミリーなし)	1-7

☒ 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

1 5 . 0 9 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

2 7 . 0 9 . 2 0 1 1

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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)

辰己 雅夫

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

2 9 4 1

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
A	WO 2006/22430 A1 (帝人株式会社) 2006.03.02, 全文 & JP 4354996 B	1-7
A	JP 2005-15504 A (帝人株式会社) 2005.01.20, 全文 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2002-204826 A (北海道ティー・エル・オー株式会社) 2002.07.23, 全文 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2-206457 A (テルモ株式会社) 1990.08.16, 全文 & EP 382158 A1 & DE 69007999 C	1-7