

(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2009-22480

(P2009-22480A)

(43) 公開日 平成21年2月5日(2009.2.5)

(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 F	4 C 0 8 1
	A 6 1 L 27/00 Z	

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 20 頁)

(21) 出願番号	特願2007-187558 (P2007-187558)	(71) 出願人	301023238
(22) 出願日	平成19年7月18日 (2007.7.18)		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
(出願人による申告) 平成18年度文部科学省 科学技術試験研究委託研究 産業再生法第30条の適用を受ける特許出願		(72) 発明者	菊池 正紀
			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 AB02 AB11 BB07 CA081 DA01 DA04 DB01 DB03

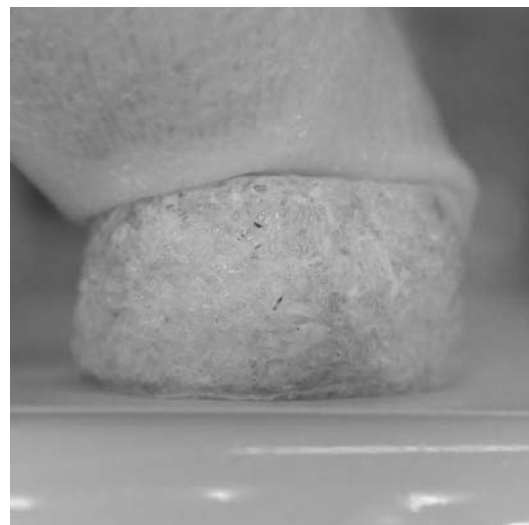
(54) 【発明の名称】 生体用足場材

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 生体内で多孔体となる足場材を提供すること。

【解決手段】 非水溶性生体適合性材料中に生体適合性水溶性高分子繊維が混合分散されてなる生体用足場材。即ち、熱可塑性樹脂であり生体許容性のあるポリメチルメタクリレート (PMMA) と、水溶性高分子であるカルボキシメチルセルロース (CMC) からなる繊維 (繊維径 100 ~ 150 μ m) を特定の体積比で粉碎ミルにて 180 で30分混練した後、165、30MPaの加熱圧縮によって厚さ3mm、5cm角の板状に成形した。これらを5×10mmに切り出し、純水中に72時間浸漬した後、102で一晩乾燥して作成することができる。

【選択図】 図36



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

細胞や組織を保持する為の生体用足場材であって、非水溶性生体適合性材料中に生体適合性水溶性高分子繊維が混合されてなることを特徴とする生体用足場材。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、細胞や組織を保持する為の生体用足場材に関する。

10

【背景技術】**【0002】**

従来より、生体用足場材としては、細胞や組織を入れる多孔質体で構成されていた。

この結果、術者の手術時の操作によって気孔構造が壊れてしまう。また、パテ状の生体材料では、ベッドサイドで材料自体が変形されあるいは練り込まれるため、あらかじめ気孔を作成していても気孔構造が破壊されてしまうという問題があった。

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】****【0003】**

本発明は、このような実情に鑑み、生体内で多孔体となる足場材を提供することを目的とする。

20

【課題を解決するための手段】**【0004】**

発明 1 の生体用足場材は、非水溶性生体適合性材料中に生体適合性水溶性高分子繊維が混合分散されてなることを特徴とする。

【発明の効果】**【0005】**

本発明により、生体適合性水溶性高分子からなる繊維は、生体内で溶出し、オンデマンドで多孔体となり、これに細胞や組織を浸透させることで足場材として機能することが出来る。

30

この結果、生体への適合時に与えられる外力によって孔が壊れるような恐れが無くなった。

【発明を実施するための最良の形態】**【0006】**

本発明の生体適合性の高い水溶性高分子繊維は、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルキチン、カルボキシメチルキトサン、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコールなど、あるいはそれらの混合物をはじめとするあらゆる生体適合性の高い水溶性高分子を使用することができる。

【0007】

非水溶性生体適合性材料は、熱可塑性樹脂、熱硬化性樹脂を含むあらゆる樹脂で、重合前あるいは重合後に加熱、非極性溶媒（アセトン、ジクロロメタンなど）への溶解等の手段により前記生体適合性水溶性高分子と混練する事が可能な材料を含む。たとえば、ポリ乳酸、その共重合体及びそれを含む生体適合性生分解性ポリエステル、ポリメチルメタクリレートなどである。また、それ以外にも生体適合性セラミックスの粒子が前記樹脂あるいは非極性溶液に分散したものを含む。たとえば、エタノールやアセトンでパテ状にしたアパタイト／コラーゲン複合体、ポリ乳酸／リン酸カルシウム複合体、ポリエチレン／アパタイト複合体等である。

40

【実施例 1】**【0008】**

熱可塑性樹脂であり生体許容性のあるポリメチルメタクリレート（PMMA）と、水溶

50

性高分子であるカルボキシメチルセルロース（ＣＭＣ）からなる繊維（繊維径１００～１５０μｍ）を表１の通りの体積比でラボプラストミル（東洋精機製）にて１８０で３０分混練した後、１６５、３０ＭＰａの加熱圧縮によって厚さ３ｍｍ、５ｃｍ角の板状に成形した。これらを５×１０ｍｍに切り出し、純水中に７２時間浸漬した後、１０２で一晩乾燥して５種類のサンプルを作成した。これの圧縮面および横断面に食品用着色料を滴下し、気孔への侵入状態を色によって連通性を確認した（カメラにより撮影）。

【０００９】

【表１】

作成した試料及びその連通性と気孔率

サンプル No	CMC Vol%	PMMA Vol%	1) 0分	浸透時間					連通 状態	気孔率 (%)
				0.5分	1分	30分	60分			
1	17	83	横断面 図1	-	図2	-	図3	不完全	16	
			圧縮面 図4	-	図5	-	図6			
2	18	82	横断面 図7	-	図8	-	図9	連通	28	
			圧縮面 図10	-	図11	-	図12			
3	25	75	横断面 図13	-	図14	図15	-	連通	38	
			圧縮面 図16	-	図17	図18	-			
4	30	70	横断面 図19	図20	-	-	-	連通	46	
			圧縮面 図21	図22	-	-	-			
5	50	50	横断面 図23	図24	-	-	-	連通	61	
			圧縮面 図25	図26	-	-	-			

1): 液滴下面

【００１０】

サンプル１については、食品用着色料溶液が６０分経っても上面から下面まで気孔を通じて浸透していないが、途中までは浸透していることから、不完全連通と判断した。サンプル２については、６０分静置後にどちらの面から色素液を滴下した場合でも上面から下面まで色素液が浸透しているため、連通していると判断した。以下、静置時間は異なるものの、同一基準で判定した。これらを見ると、水溶性繊維添加量が多い方が連通性が高い（浸透時間が早い）と結論づけられ、また、最低添加量（気孔率）は１８体積％（２８体積％）で十分に連通する事が結論づけられる。

【００１１】

純水中に静置後、水溶性繊維が肉眼的に内部に至るまで溶出していることを確認し、試料の重量 m を測定した。また、試料の外形から見かけの体積 V_a を求め、見かけの密度 D_a を計算した。この密度と使用したPMMA緻密体の実測密度１．１６から、下記の計算にて気孔率 P を求めた。（計算式は以下に示す）

$$D_a = m/V_a \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

$$P = (1.16 - D_a) / 1.16 \times 100 \text{ (\%)}$$

【実施例２】

【００１２】

粘弾性を持つポリマーであるポリ乳酸-グリコール酸-εカプロラクトン共重合体（以下PLGC）と水溶性高分子であるカルボキシメチルセルロース（ＣＭＣ）からなる繊維（繊維径１００～１５０μｍ）を表２の通りの体積比でラボプラストミル（東洋精機製）にて１２０で３０分混練した後、１２０、３０ＭＰａの加熱圧縮によって厚さ１０ｍｍ、直径１２ｍｍの円筒に成形した。これらを、純水中に７２時間浸漬した後、－５で一晩乾燥して３種類のサンプルを作成した。これの圧縮面に食品用着色料を滴下し、気孔への侵入状態を色によって連通性を確認した（カメラにより撮影）。

【００１３】

【表 2】

作成した試料及びその連通性と気孔率

サンプル No.	CMC Vol%	PLGC Vol%	浸漬時間 (分)				連通状態	気孔率 (%)
			0	1	3	20		
6	18	82	図 27	図 28		図 29	不完全	19
7	25	75	図 30	図 31		図 32	完全	38.6
8	50	50	図 33	図 34	図 35		完全	76.8

10

【0014】

サンプル 6 については、食品用着色料溶液が 20 分経っても上面から下面まで気孔を通じて浸透していないが、途中までは浸透していることから、不完全連通と判断した。サンプル 7 については、20 分静置後に上面から下面まで色素液が浸透しているため、連通していると判断した。サンプル 8 についても、静置時間は異なるものの、同一基準で判定した。これらを見ると、水溶性繊維添加量が多い方が連通性が高い（浸透時間が早い）と結論づけられ、また、添加量（気孔率）は少なくとも 25 体積 %（38.6 体積 %）で十分に連通する事が結論づけられる。

【0015】

純水中に静置後、水溶性繊維が肉眼的に内部に至るまで溶出していることを確認し、試料の重量 m を測定した。また、試料の外形から見かけの体積 V_a を求め、見かけの密度 D_a を計算した。この密度と使用した PLGC 緻密体の密度 1.2 から、下記の計算にて気孔率 P を求めた。（計算式は以下に示す）

$$D_a = m/V_a \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

$$P = (1.2 - D_a) / 1.2 \times 100 \text{ (\%)}$$

【0016】

PLGC は元々粘弾性があるが、多孔体とすることで、指で押さえれば半分程度の体積になるほどに変形（図 36）するが、開放すると直ちに元の大きさに復元した（図 37 参照）

【実施例 3】

【0017】

特許第 3379088 号に記載の水酸アパタイトとコラーゲンの自己組織化繊維からなる骨類似のナノ構造を持った HAp/Col 複合体の短繊維を合成し、凍結乾燥した。その後、この HAp/Col 複合体と CMC 繊維（体積比が複合体：繊維で 6:4）をエタノール中で混連の後、圧縮脱エタノール成形した。得られた成型物を 0.5% グルタルアルデヒド溶液中で脱 CMC 繊維とコラーゲンへの架橋を同時に行った。得られた多孔体の写真は図 38 に示す。

この多孔体を用い、足場材料としての評価を行った。

MG63 細胞を 10% のウシ胎児血清、1% の抗生物質を加えたダルベッコモディファイド培地（以下 DMEM）で培養し、増殖させた。

作製した HAp/Col 多孔体に上記 MG63 を DMEM で懸濁した細胞懸濁液を滴下し、真空で懸濁液を多孔体中に導入後、1 時間静置した。その後、DMEM を所定量加え、7 日間培養した。

図 39 は得られた複合体を固定、パラフィン包埋後薄切し、HE 染色したものである。細胞が多孔体表面及び内部に侵入し、良好に成育していることが判る。

【産業上の利用可能性】

【0018】

各種体組織の細胞/組織再生用足場材料として利用可能である。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図 1】サンプル 1 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真

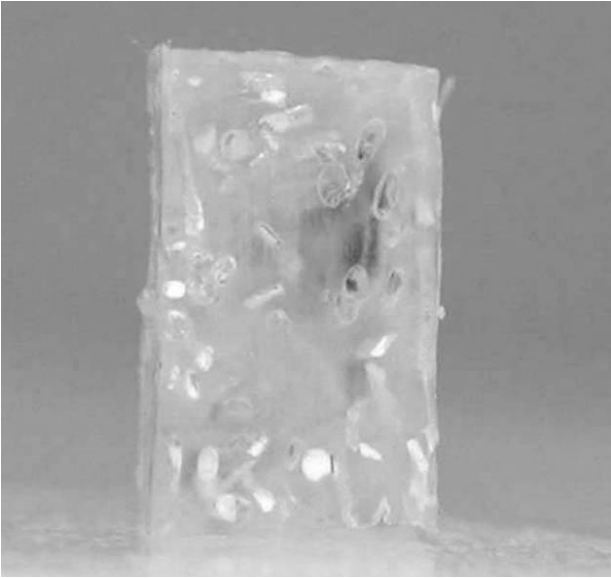
【図 2】サンプル 1 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真

【図 3】サンプル 1 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 60 分での状態を示す写真

50

- 【図 4】サンプル 1 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 5】サンプル 1 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 6】サンプル 1 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 6 0 分での状態を示す写真
- 【図 7】サンプル 2 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 8】サンプル 2 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 9】サンプル 2 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 6 0 分での状態を示す写真
- 【図 1 0】サンプル 2 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 1 1】サンプル 2 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 1 2】サンプル 2 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 6 0 分での状態を示す写真
- 【図 1 3】サンプル 3 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真 10
- 【図 1 4】サンプル 3 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 1 5】サンプル 3 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 3 0 分での状態を示す写真
- 【図 1 6】サンプル 3 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 1 7】サンプル 3 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 1 8】サンプル 3 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 3 0 分での状態を示す写真
- 【図 1 9】サンプル 4 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 2 0】サンプル 4 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 . 5 分での状態を示す写真
- 【図 2 1】サンプル 4 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 2 2】サンプル 4 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 . 5 分での状態を示す写真 20
- 【図 2 3】サンプル 5 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 2 4】サンプル 5 の横断面からの食品用色素溶液浸透時間 0 . 5 分での状態を示す写真
- 【図 2 5】サンプル 5 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 2 6】サンプル 5 の圧縮面からの食品用色素溶液浸透時間 0 . 5 分での状態を示す写真
- 【図 2 7】サンプル 6 の食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 2 8】サンプル 6 の食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 2 9】サンプル 6 の食品用色素溶液浸透時間 2 0 分での状態を示す写真 30
- 【図 3 0】サンプル 7 の食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 3 1】サンプル 7 の食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 3 2】サンプル 7 の食品用色素溶液浸透時間 2 0 分での状態を示す写真
- 【図 3 3】サンプル 8 の食品用色素溶液浸透時間 0 分での状態を示す写真
- 【図 3 4】サンプル 8 の食品用色素溶液浸透時間 1 分での状態を示す写真
- 【図 3 5】サンプル 8 の食品用色素溶液浸透時間 3 分での状態を示す写真
- 【図 3 6】実施例 2 の足場材を指にて押し潰した写真
- 【図 3 7】図 36 の状態から指を離し、自力で復元した状態を示す写真
- 【図 3 8】実施例 3 の足場材を示す写真
- 【図 3 9】図 36 に示す多孔質足場材に MG63 細胞を含浸し培養した後の足場材の断面写真 40

【 図 1 】



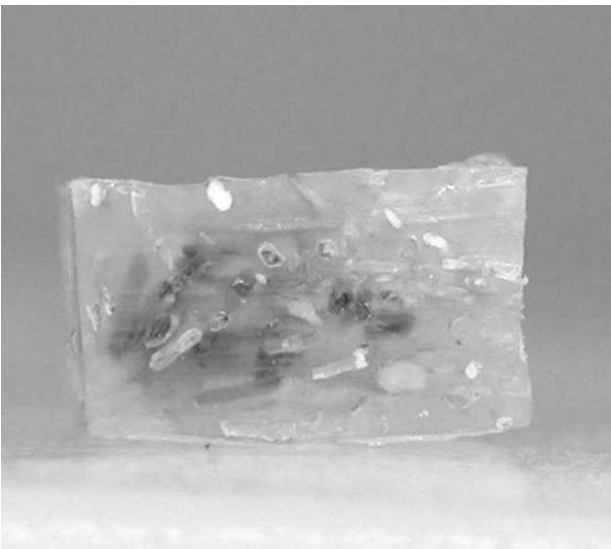
【 図 2 】



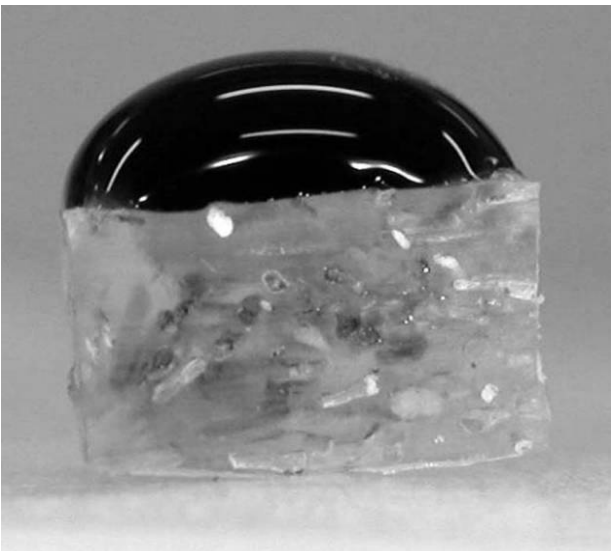
【 図 3 】



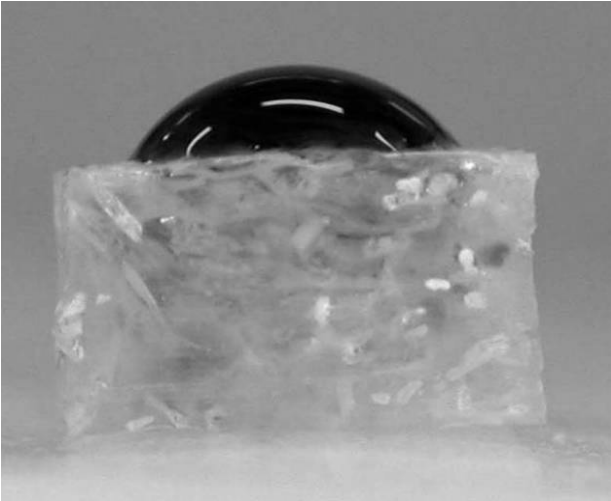
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



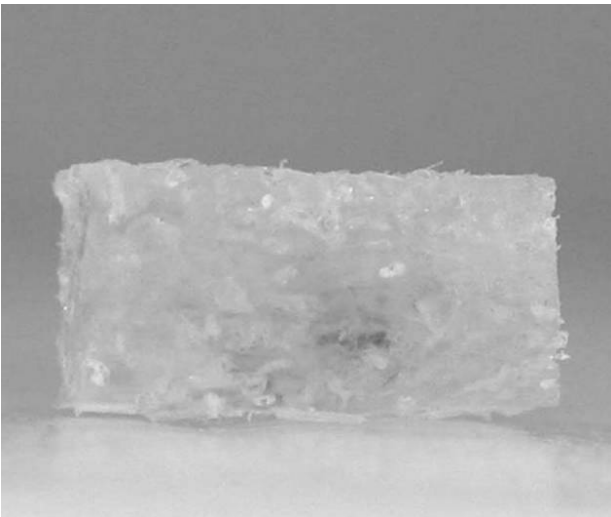
【 図 8 】



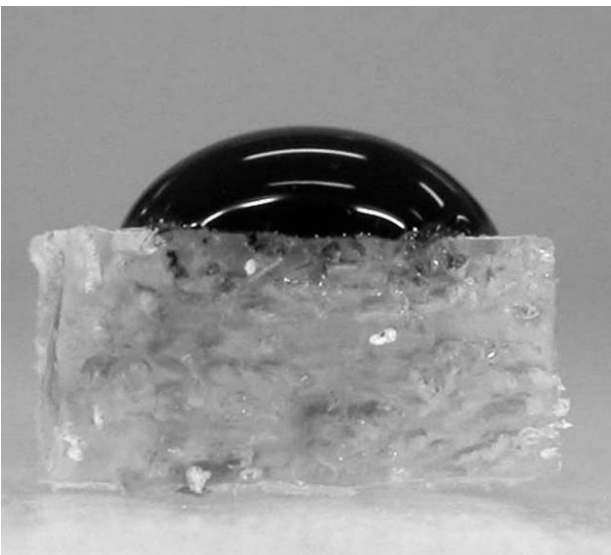
【図 9】



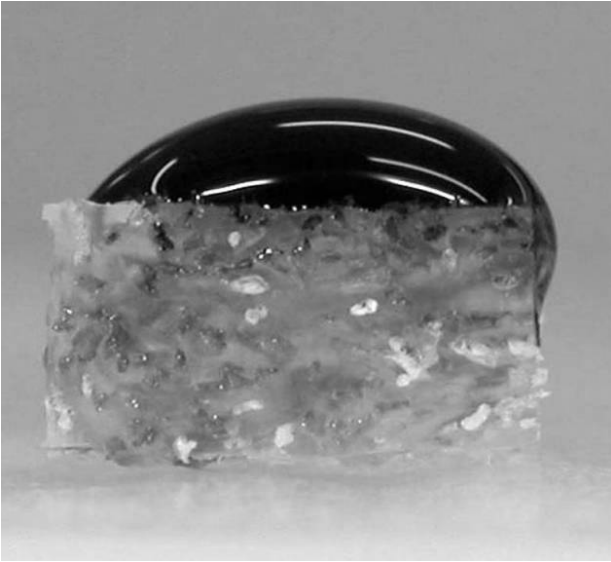
【図 10】



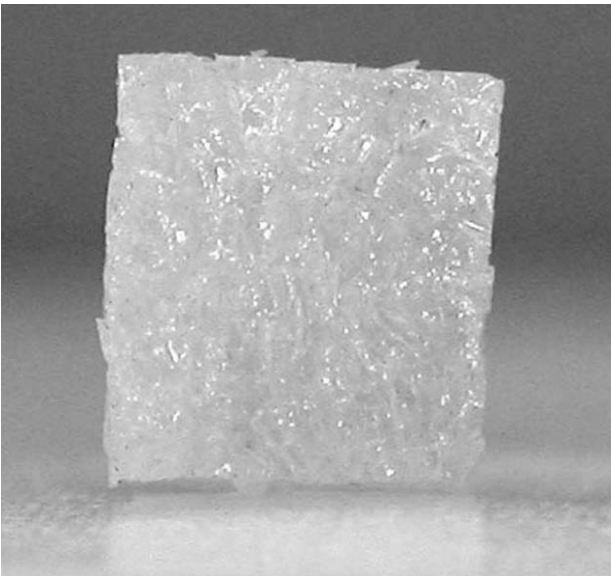
【図 11】



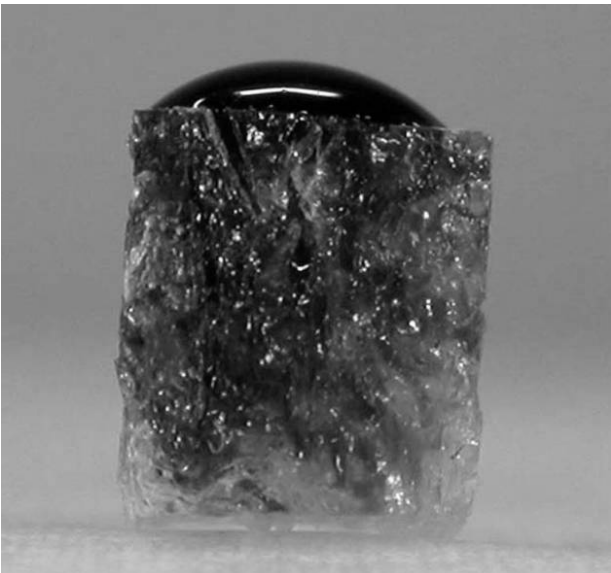
【図 1 2】



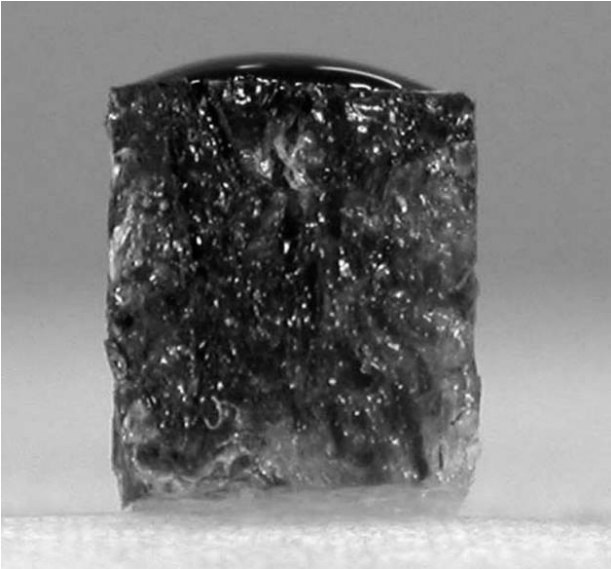
【図 1 3】



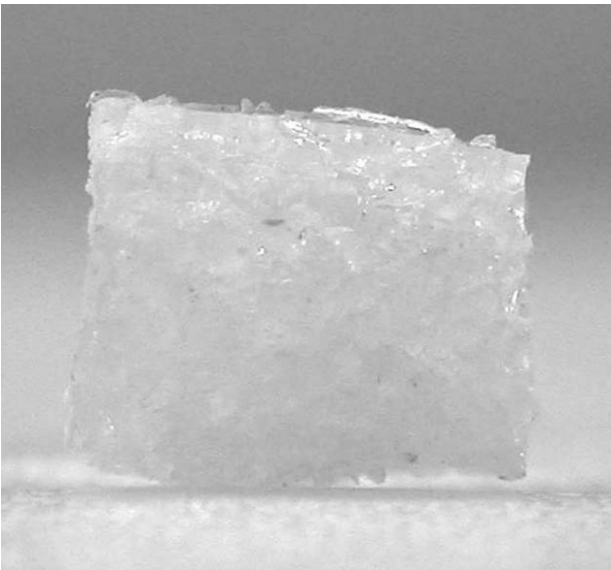
【図 1 4】



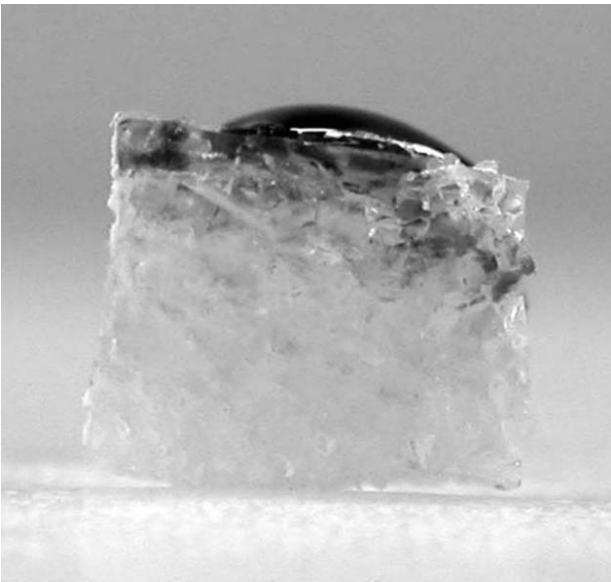
【図 1 5】



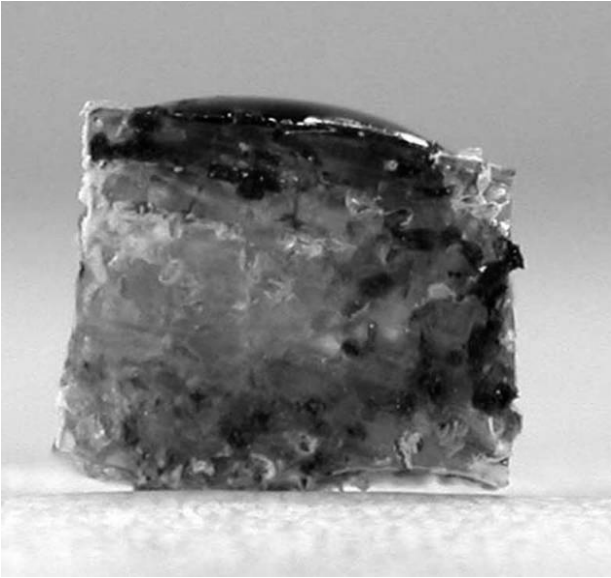
【図 1 6】



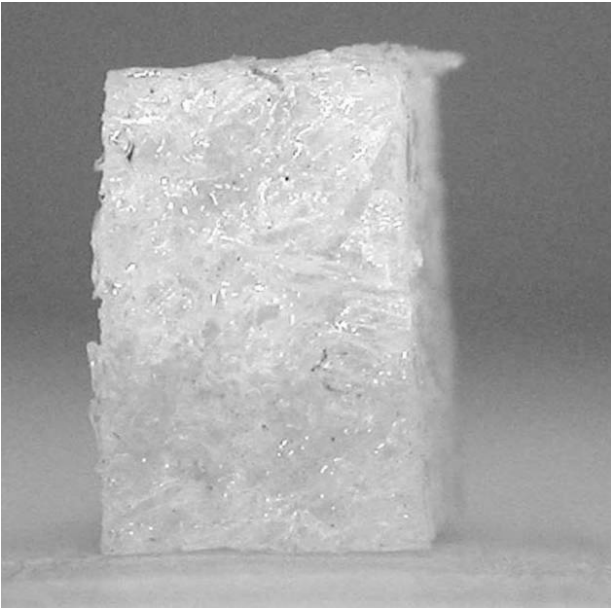
【図 1 7】



【図 18】



【図 19】



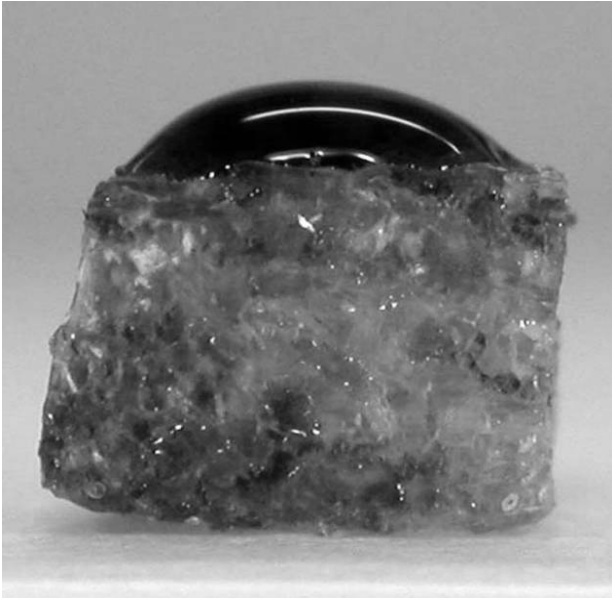
【図 2 0】



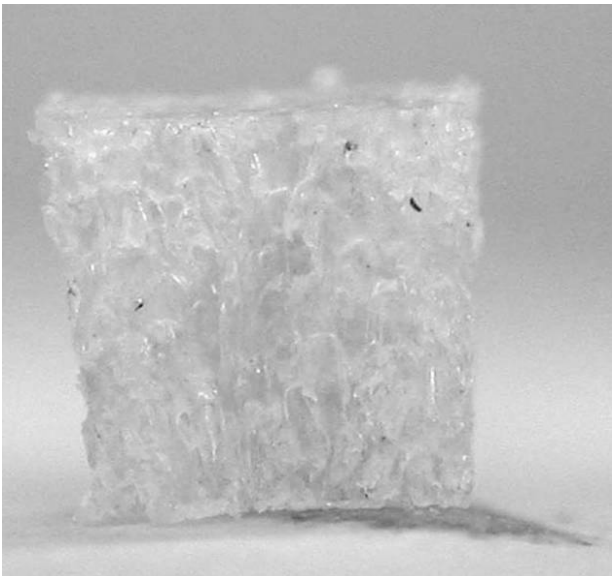
【図 2 1】



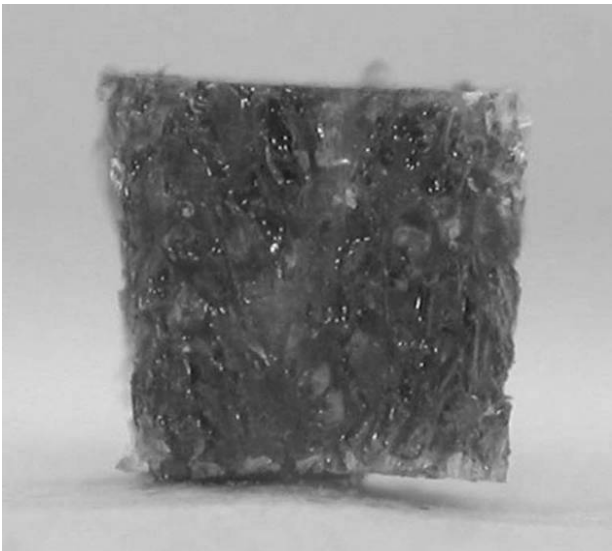
【 図 2 2 】



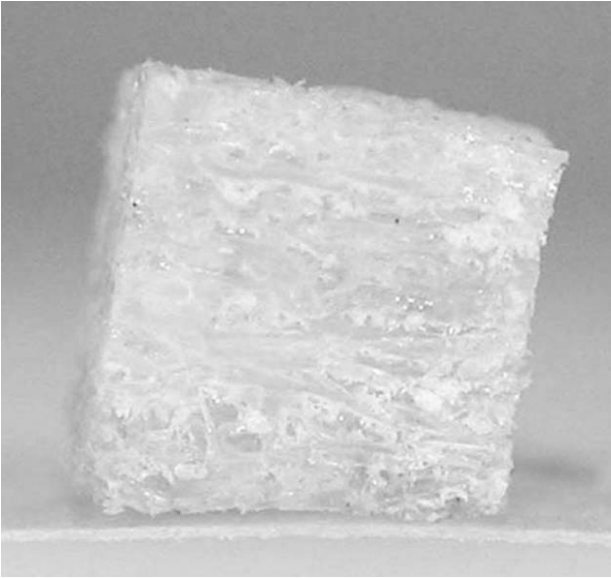
【 図 2 3 】



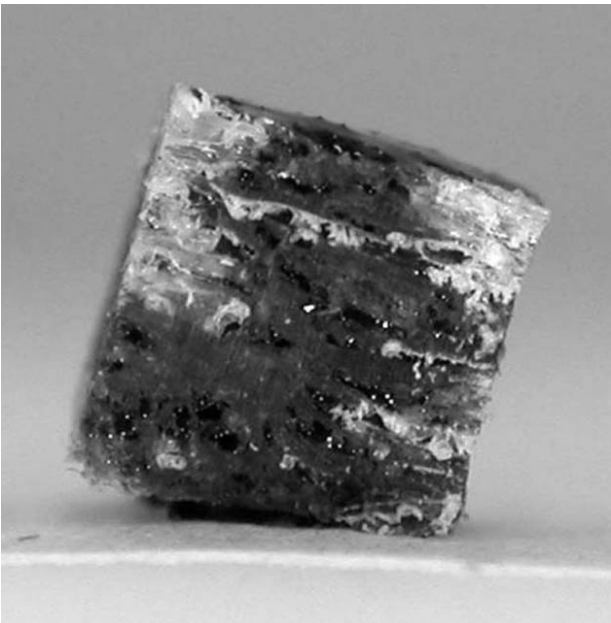
【 図 2 4 】



【図 2 5】



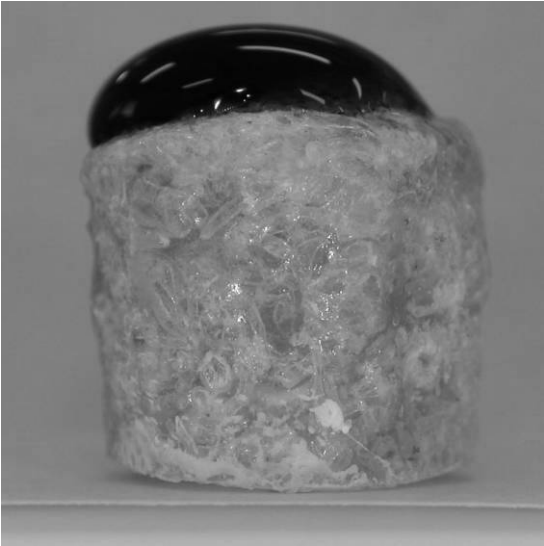
【図 2 6】



【図 2 7】



【図 2 8】



【図 2 9】



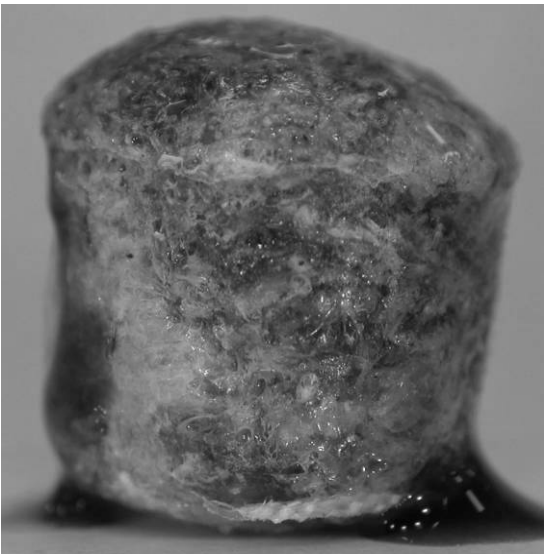
【図 3 0】



【図 3 1】



【図 3 2】



【図 3 3】



【図 3 4】



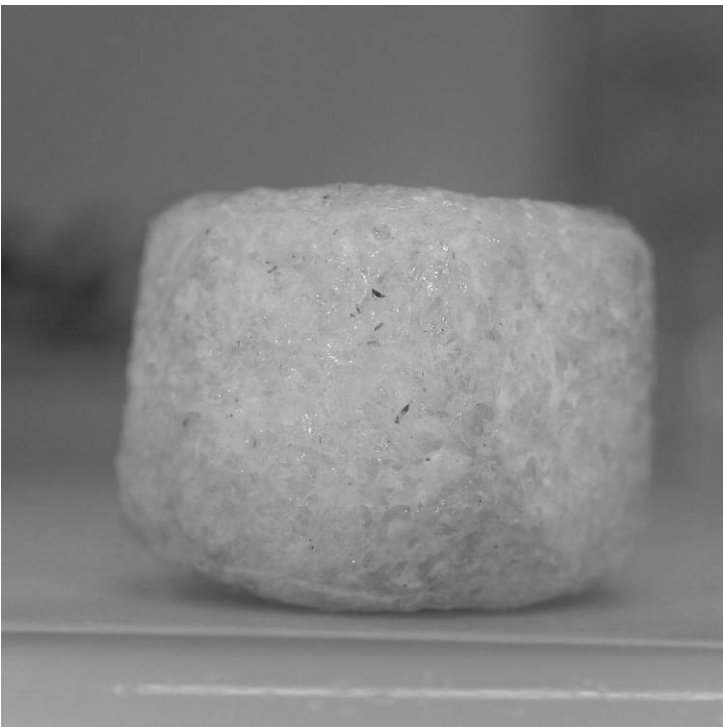
【図 3 5】



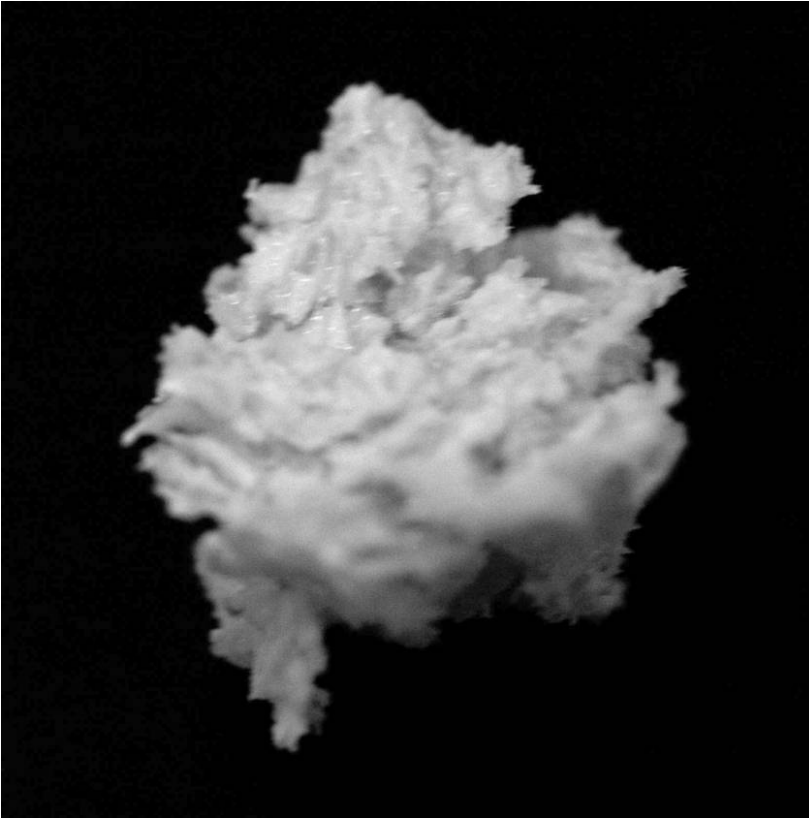
【図 3 6】



【図 3 7】



【図 38】



【図 39】

