

(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
2006年3月2日 (02.03.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/022430 A1

(51) 国際特許分類:

D04H 1/42 (2006.01) A61L 27/00 (2006.01)
D04H 1/72 (2006.01)

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2005/015958

(22) 国際出願日:

2005年8月25日 (25.08.2005)

(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2004-246432 2004年8月26日 (26.08.2004) 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一丁目6番7号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 福平由佳子 (FUKUHIRA, Yukako) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘四丁目3番2号 帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP). 北薙英一 (KITAZONO, Eiichi) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘四丁目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四丁目3番2号 帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 三原秀子 (MIHARA, Hideko); 〒1000011 東京都千代田区内幸町二丁目1番1号 株式会社帝人知的財産センター内 Tokyo (JP).

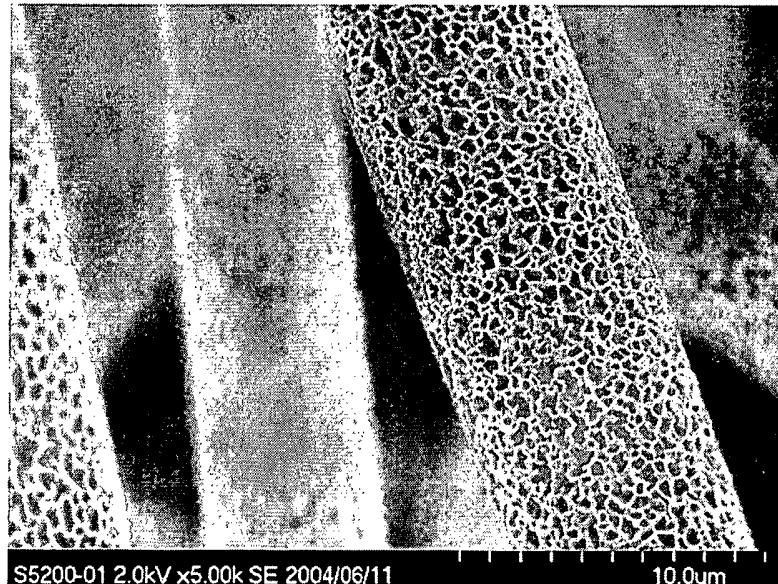
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,

[続葉有]

(54) Title: FIBER STRUCTURE CONTAINING PHOSPHOLIPID

(54) 発明の名称: リン脂質を含有する繊維構造体



(57) Abstract: Disclosed is a fiber structure characterized by containing 0.01-100 parts by weight of a phospholipid per 100 parts by weight of an aliphatic polyester and having an average fiber diameter of 0.05-50 μ m. Preferably, the fiber structure has pores in the fiber surface and is suitably used as a base for cell cultivation.

(57) 要約: 脂肪族ポリエステル 100重量部に対して、リン脂質を 0.01 ~ 100 重量部含有し、平均繊維径が 0.05 ~ 50 μ mであることを特徴とした繊維構造体。さらに好ましくは繊維表面に孔を有し、細胞培養に適した基材となる繊維構造体。

WO 2006/022430 A1



CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

- 国際調査報告書

明 細 書

リン脂質を含有する纖維構造体

5 技術分野

本発明はリン脂質を含有する纖維構造体に関する。さらに好ましくは纖維表面に孔を有し細胞培養に適した基材となる纖維構造体に関する。

背景技術

10 再生医療分野においては、細胞を培養する際に基材として多孔体が用いられることがある。多孔体としては凍結乾燥による発泡体や纖維構造体が知られている。これら多孔体は細胞との親和性や生体内分解性、安全性などが必要とされる。
15 ポリ乳酸は、これら生体内分解性や安全性が知られている材料の中でも比較的安価に入手可能である。特に、L-乳酸成分を主とするポリ乳酸は、最近大量に製造されている。

例えば、生体内分解性、安全性が知られているポリ乳酸の多孔体を細胞培養基材に用いることが検討されている（例えば大野典也、相澤益男監訳代表「再生医学」株式会社エヌ・ティー・エス、2002年1月31日、262頁参照。）。

しかしながら、これら方法は、細胞が接着できる面積は不十分であり、より表面積の大きい多孔体が望まれており、その一つとして纖維径の小さい纖維構造体が検討してきた。

20 繊維径の小さい纖維構造体を製造する方法として、静電紡糸法が知られている（例えば、特開昭63-145465号公報および特開2002-249966号公報参照）。静電紡糸法は、液体、例えば纖維形成物質を含有する溶液等を電場内に導入し、これにより液体を電極に向かって曳かせ、纖維状物質を形成させる工程を包含する。普通、纖維形成物質は溶液から曳き出される間に硬化させる。硬化は、例えば冷却（例えば、紡糸液体が室温で固体である場合）、化学的硬化（例えば、硬化用蒸気による処理）、または溶媒の蒸発などにより行われる。ま

た、得られる纖維状物質は、適宜に配置した受容体上に捕集され、必要ならばそこから剥離することも出来る。また、静電紡糸法は不織布状の纖維状物質を直接得ることが出来るため、一旦纖維を製糸した後、さらに纖維構造体を形成する必要がなく、操作が簡便である。

5 静電紡糸法によって得られる纖維構造体を、細胞を培養する基材に用いることも知られている。例えばポリ乳酸よりなる纖維構造体を静電紡糸法により形成し、この上で平滑筋細胞を培養することにより血管の再生が検討されている（例えば Joel D. Stitzel, Kristin J. Pawlowski, Gary E. Wnek, David G. Simpson, Gary L. Bowlin 著、Journal of Biomaterials Applications 2001, 16, 2
10 2-3 参照）。

しかしながら、これまでの報告ではまだ要求を満たすほどの細胞接着効果は得られていない。

発明の開示

15 本発明の課題は、再生医療分野において細胞培養に適した基材を提供することにある。

すなわち、本発明は、脂肪族ポリエステル 100 重量部に対して、リン脂質を 0.01～100 重量部含有し、平均纖維径が 0.05～50 μm であることを特徴とした纖維構造体に関するものである。本発明はさらに好ましくは纖維構造体の纖維表面の平均多孔化率が 3%～90% である纖維構造体に関するものである。

発明の効果

本発明のリン脂質を含有する纖維構造体により、細胞接着性が向上した纖維構造体を提供することができ、再生医療分野においてとくに有効である。

図面の簡単な説明

図1 本発明の製造方法のなかで、紡糸液を静電場中に吐出する静電紡糸法で用いる装置の一例である。

図2 本発明の製造方法のなかで、紡糸液の微細滴を静電場中に導入する静電紡糸法で用いる装置の一例である。

5 図3 実施例1で得られた纖維構造体の走査型電子顕微鏡写真

図4 実施例2で得られた纖維構造体の走査型電子顕微鏡写真

図5 実施例3で得られた纖維構造体の走査型電子顕微鏡写真

図6 実施例4で得られた纖維構造体の走査型電子顕微鏡写真

図7 実施例5で得られた纖維構造体の走査型電子顕微鏡写真

10 図8 比較例1で得られた纖維構造体の走査型電子顕微鏡写真

図9 実施例6と比較例2のAlamarblueの測定の結果である。

符号の説明

1. ノズル
2. 紡糸液
- 15 3. 紡糸液保持槽
4. 電極
5. 繊維状物質捕集電極
6. 高電圧発生器
7. ノズル
- 20 8. 紡糸液
9. 紡糸液保持槽
10. 電極
11. 繊維状物質捕集電極
12. 高電圧発生器

以下、本発明について詳述する。なお、これらの実施例等および説明は本発明を例示するものであり、本発明の範囲を制限するものではない。本発明の趣旨に合致する限り他の実施形態も本発明の範疇に属し得ることは言うまでもない。

本発明は、脂肪族ポリエステル100重量部に対して、リン脂質を0.01～5 100重量部含有した纖維構造体である。脂肪族ポリエステル100重量部に対してリン脂質の含有量は、好ましくは0.1～20重量部、さらに好ましくは0.1～10重量部である。リン脂質の含有量が100重量部以上であると、纖維の安定性に欠ける場合がある。

本発明に用いる纖維構造体の平均纖維径は0.05～50 μmであることが好ましい。平均纖維径が0.05 μmより小さいと、細胞培養時や細胞培養後生体内に移植した際の分解が速すぎるため好ましくない。また、平均纖維径が50 μmより大きいと、細胞培養に十分な表面積を得ることができず、好ましくない。平均纖維径は0.1～20 μmがより好ましい。

本発明に用いる纖維構造体の平均多孔化率は3～90%が好ましく、より好ましくは11～90%であり、さらに好ましくは30～90%である。

ここでいう平均多孔化率とは、纖維表面全体の面積に対する細孔面積の割合を意味し、纖維構造体の2万倍の走査型電子顕微鏡写真を画像処理ソフト(next New Qube)を用いて2値化処理を行い、求めたものをいう。

平均多孔化率が3～11%の場合は、十分な細胞接着効果が得られない場合があるので、さらに表面に凹凸を持たせることで、好ましく十分な細胞接着効果を提供できる。平均多孔化率が11%以上の場合も、さらに表面に凹凸を有するとさらに優れた細胞接着効果が得られ好ましい。

平均多孔化率が30%より大きいと、より優れた細胞接着効果が得られる。

また平均多孔化率が90%より大きいと、纖維としての強度を保つことができないことがある。

纖維構造体表面の凹み部の平均孔径(直径)は0.001～10 μmであることが好ましい。より好ましくは、0.005～5 μm、より好ましくは0.01～1 μmである。凹み部の平均孔径は走査型電子顕微鏡写真を撮影し、その写

真から $n = 20$ にて、凹み部の直径を測定した平均値を算出することにより求めることができる。

本発明に用いる脂肪族ポリエステルとしては、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、
ポリカプロラクトン、ポリブチレンサクシネート、ポリエチレンサクシネート、
5 およびこれらの共重合体などが挙げられる。これらのうち、脂肪族ポリスチルと
しては、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、乳酸ーグリコール酸共重合体、ポリカプ
ロラクトン、乳酸ーカプロラクトン共重合体が好ましく、特にポリ乳酸、ポリカ
プロラクトンが好ましい。

脂肪族ポリエステルの重量平均分子量は 2 万～100 万であることが好ましい。
10 より好ましくは重量平均分子量は 5 万～50 万である。

本発明に用いるリン脂質は、動物組織から抽出したものでも、また人工的に合
成して製造したものでもその起源を問うことなく使用できる。リン脂質としては
ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリ
ン、ホスファチジルグリセロールおよびそれらの誘導体からなる群から選択され
15 てなるものを利用することが望ましい。好ましくはホスファチジルエタノールア
ミンまたはホスファチジルコリンである。さらに好ましくは L- α -ホスファチ
ジルエタノールアミンジオレオイル、または L- α -ホスファチジルコリンジオ
レオイルである。

本発明に用いる纖維構造体とは、1種または複数種の纖維が積層され、織り、
20 編まれ若しくはその他の手法により形成された3次元の構造体を指すが、短纖維
であるフィラメントおよびフィラメントを複数集めたヤーンも包含するものとす
る。具体的な纖維構造体の形態としては、例えば不織布、織布、編布、チューブ、
メッシュ、などが好ましく挙げられる。より好ましい形態は、不織布である。

リン脂質を含有する纖維と、リン脂質を含有しない纖維の複合体も含む。

25 纖維構造体の平均見掛け密度は 10～350 kg/m³ であることが好ましい。
ここで平均見掛け密度とは、纖維構造体の面積、平均厚、質量から割り出した密
度を意味する。

平均見掛け密度が 350 kg/m^3 より大きいと、細胞培養時に栄養分などを含む溶液が纖維構造体の内部まで十分に浸透しないため纖維構造体表面にしか細胞が培養されない場合がある。また、平均見掛け密度が 10 kg/m^3 より小さいと、細胞培養時に必要な力学強度を保つことが出来ない場合がある。好ましい

5 平均見掛け密度は $10 \sim 250 \text{ kg/m}^3$ である。

本発明の纖維構造体を製造する方法としては、静電紡糸法、スパンボンド法、メルトブロー法、フラッシュ紡糸法等が挙げられる。その中でも、静電紡糸法が操作性や簡便性から好ましい。以下静電紡糸法により製造する方法について詳細に説明する。

10 本発明で用いる静電紡糸法では脂肪族ポリエステルを、揮発性溶媒に溶解した溶液を電極間に形成された静電場中に吐出し、溶液を電極に向けて曳糸し、形成される纖維状物質を捕集基板に累積することによって纖維構造体を得ることができる。纖維状物質とは既に溶液の溶媒が完全に留去されて纖維構造体となっている状態のみならず、いまだ溶液の溶媒を含んでいる状態も示している。

15 まず静電紡糸法で用いる装置について説明する。本発明で用いられる電極は、金属、無機物、または有機物のいかなるものでも導電性を示しさえすれば良い。また、絶縁物上に導電性を示す金属、無機物、または有機物の薄膜を持つものであっても良い。本発明における静電場は一対又は複数の電極間で形成されており、いずれの電極に高電圧を印加しても良い。これは例えば電圧値が異なる高電圧の電極が 2 つ（例えば 15 kV と 10 kV ）と、アースにつながった電極の合計 3 つの電極を用いる場合も含み、または 3 本を超える数の電極を使う場合も含むものとする。

20 次に静電紡糸法による本発明の纖維構造体の好ましい製造手法について詳細に説明する。まず脂肪族ポリエステル、リン脂質、および揮発性溶媒からなる溶液を製造する段階がある。本発明の製造方法における溶液中の脂肪族ポリエステルの濃度は $1 \sim 30$ 重量%であることが好ましい。脂肪族ポリエステルの濃度が 1 重量%より小さいと、濃度が低すぎるため纖維構造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%より大きいと溶液の粘度が増大するために、

電極間により高電圧をかける必要が生じるため好ましくない。より好ましい脂肪族ポリエステルの濃度は2～25重量%である。

本発明の揮発性溶媒としては、脂肪族ポリエステルを溶解することができれば特に限定されない。揮発性溶媒としては、例えば非水溶性である塩化メチレン、
5 クロロホルム、四塩化炭素などのハロゲン元素含有炭化水素や、任意の割合で水を溶解することができるアセトン、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、トルエン、テトラヒドロフラン、1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロイソプロパノール、水、1,4-ジオキサン、シクロヘキサン、シクロヘキサン、N,N-ジメチルホルムアミド、アセトニトリルなどが挙げられる。
10 これらのうち、纖維表面の多孔化を促進させるには、特に揮発性の高い塩化メチレン、クロロホルム、アセトン、テトラヒドロフランが特に好ましい。

これらの溶媒は単独で用いても良く、複数の溶媒を組み合わせても良い。また本発明の目的を損なわない範囲で、他の溶媒を併用しても良い。

次に前記溶液を静電紡糸法にて紡糸する段階について説明する。該溶液を静電場中に吐出するには、任意の方法を用いることが出来る。例えば、一例として図1を用いて以下説明する。溶液2をノズルに供給することによって、溶液を静電場中の適切な位置に置き、そのノズルから溶液を電界によって曳糸して纖維化させる。このためには適宜な装置を用いることができ、例えば注射器の筒状の溶液保持槽3の先端部に適宜の手段、例えば高電圧発生器6にて電圧をかけた注射針状の溶液噴出ノズル1を設置して、溶液をその先端まで導く。接地した纖維状物質捕集電極5から適切な距離に該噴出ノズル1の先端を配置し、溶液2が該噴出ノズル1の先端を出るときにこの先端と纖維状物質捕集電極5の間にて纖維状物質を形成させる。

また当業者には自明の方法で該溶液の微細滴を静電場中に導入することができ
25 る。一例として図2を用いて以下に説明する。その際の唯一の要件は液滴を静電場中に置いて、纖維化が起こりうるような距離に纖維状物質捕集電極11から離して保持することである。例えば、ノズル7を有する溶液保持槽9中の溶液8に直接、直接纖維状物質捕集電極11に対抗する電極10を挿入しても良い。

該溶液をノズルから静電場中に供給する場合、数個のノズルを用いて纖維状物質の生産速度を上げることもできる。電極間の距離は、帯電量、ノズル寸法、紡糸液流量、紡糸液濃度等に依存するが、10 kV程度のときには5～20 cmの距離が適当であった。また、印加される静電気電位は、一般に3～100 kV、
5 好ましくは5～50 kV、一層好ましくは5～30 kVである。所望の電位は任意の適切な方法で作れば良い。

上記説明は、電極が捕集基板を兼ねる場合であるが、電極間に捕集基板となりうる物を設置することで、電極と別に捕集基板を設け、そこに纖維構造体を捕集することが出来る。この場合、例えばベルト状物質を電極間に設置して、これを
10 捕集基板とすることで、連続的な生産も可能となる。

本発明において、ノズルと捕集基板の間の相対湿度を20%以上に維持すると、上記表面構造を有する纖維を簡便に得ることができ、好ましい。より好ましい相対湿度は25～95%である。

最後に捕集基板に累積される纖維積層体を得る段階について説明する。本発明においては、該溶液を捕集基板に向けて曳糸する間に、条件に応じて溶媒が蒸発して纖維状物質が形成される。通常の室温であれば捕集基板上に捕集されるまでの間に溶媒は完全に蒸発するが、もし溶媒蒸発が不十分な場合は減圧条件下で曳糸しても良い。また、曳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、通常は、0～50°Cである。
15

20 本発明の纖維構造体は、上記纖維構造体単独で構成されていても良いが、他の部材と組み合わされていても良い。また、本発明の細胞培養基材は、その特徴を損なわない範囲であれば、細胞成長因子や細胞増殖因子などの蛋白質や、コラーゲン等の細胞外マトリクス等を組み合わせても良い。

25 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、これらは本発明の発明を制限するものではない。

平均多孔化率は、得られた纖維構造体の2万倍の走査型電子顕微鏡写真を画像

処理ソフト（next New Qube）を用いて2値化処理を行い、求めた。纖維表面の孔径は、得られた纖維構造体の2万倍の走査型電子顕微鏡写真からn=20にて、孔の直径を測定した平均値を算出した。

5 実施例1

ポリ乳酸（島津製作所：商品名「Lacty 9031」、重量平均分子量168,000）100重量部とホスファチジルエタノールアミン ジオレオイル（和光純薬）0.5重量部を塩化メチレン（和光純薬工業、特級）899.5重量部に室温（29°C）にて溶解し、溶液を作成した。図1にしめす装置を用いて、
10 該溶液を纖維状物質捕集電極5に15分間吐出した。噴出ノズル1の内径は0.8mm、電圧は12kV、噴出ノズル1から纖維状物質捕集電極5までの距離は20cm、相対湿度39%であった。得られた纖維構造体を走査型電子顕微鏡（日立製作所S-2400）で測定したところ、平均纖維径は10μm、平均多孔化率は36.7%、平均孔径は0.52μm、見かけ密度は209kg/m³で
15 あった。図3に走査型電子顕微鏡写真を示す。

実施例2

ポリ乳酸（島津製作所：商品名「Lacty 9031」、重量平均分子量168,000）100重量部とホスファチジルエタノールアミン ジオレオイル（和光純薬）10重量部を塩化メチレン（和光純薬工業、特級）890重量部に室温（26°C）にて溶解し、溶液を作成した。図1にしめす装置を用いて、該溶液を纖維状物質捕集電極5に15分間吐出した。噴出ノズル1の内径は0.8mm、電圧は12kV、噴出ノズル1から纖維状物質捕集電極5までの距離は20cm、相対湿度39%であった。得られた纖維構造体を走査型電子顕微鏡（日立製作所S-2400）で測定したところ、平均纖維径は10μm、平均多孔化率は66.1%、平均孔径は0.98μm、見かけ密度は212kg/m³であった。図4に走査型電子顕微鏡写真を示す。

実施例 3

ポリ乳酸（島津製作所：商品名「Lacty 9031」、重量平均分子量 1
68,000）100重量部とホスファチジルコリン ジオレオイル（和光純
薬）0.5重量部を塩化メチレン（和光純薬工業、特級）899.5重量部に室
5 温（29°C）にて溶解し、溶液を作成した。図1にしめす装置を用いて、該溶液
を纖維状物質捕集電極5に15分間吐出した。噴出ノズル1の内径は0.8mm、
電圧は12kV、噴出ノズル1から纖維状物質捕集電極5までの距離は20cm、
相対湿度39%であった。得られた纖維構造体を走査型電子顕微鏡（日立製作所
S-2400）で測定したところ、平均纖維径は8μm、平均多孔化率は25.
10 8%、平均孔径は0.11μm、見かけ密度は208kg/m³であった。図5に
走査型電子顕微鏡写真を示す。

実施例 4

ポリ乳酸（島津製作所：商品名「Lacty 9031」、重量平均分子量 1
68,000）100重量部とホスファチジルエタノールアミン ジオレオイル
（和光純薬）0.5重量部を塩化メチレン（和光純薬工業、特級）449.75
重量部、N,N-ジメチルホルムアミド449.75重量部に室温（29°C）に
て溶解し、溶液を作成した。図1にしめす装置を用いて、該溶液を纖維状物質捕
集電極5に15分間吐出した。噴出ノズル1の内径は0.8mm、電圧は12k
20 V、噴出ノズル1から纖維状物質捕集電極5までの距離は10cm、相対湿度3
9%であった。得られた纖維構造体を走査型電子顕微鏡（日立製作所 S-240
0）で測定したところ、平均纖維径は0.7μm、平均多孔化率は3%、平均孔
径は0.032μm、見かけ密度は210kg/m³であった。図6に走査型電子
顕微鏡写真を示す。

実施例 5

ポリ乳酸（島津製作所：商品名「Lacty 9031」、重量平均分子量 1
68,000）100重量部とホスファチジルエタノールアミン ジオレオイル

(和光純薬) 0. 1 重量部を塩化メチレン (和光純薬工業、特級) 899. 9 重量部に室温 (29°C) にて溶解し、溶液を作成した。図1にしめす装置を用いて、該溶液を纖維状物質捕集電極5に13分間吐出した。噴出ノズル1の内径は0. 8 mm、電圧は12 kV、噴出ノズル1から纖維状物質捕集電極5までの距離は5 20 cm、相対湿度33%であった。得られた纖維構造体を走査型電子顕微鏡 (日立製作所S-2400) で測定したところ、平均纖維径は8 μm、平均多孔化率は35. 4%、平均孔径は0. 63 μm、見かけ密度は214 kg/m³であった。図7に走査型電子顕微鏡写真を示す。

10 比較例1

ポリ乳酸 (島津製作所:商品名「Lacty 9031」、重量平均分子量168,000) 10 重量部を塩化メチレン (和光純薬工業、特級) 90 重量部に室温 (22°C) にて溶解し、溶液を作成した。図1にしめす装置を用いて、該溶液を纖維状物質捕集電極5に13分間吐出した。噴出ノズル1の内径は0. 8 m 15 m、電圧は12 kV、噴出ノズル1から纖維状物質捕集電極5までの距離は20 cm、相対湿度36%であった。得られた纖維構造体を走査型電子顕微鏡 (日立製作所S-2400) で測定したところ、平均纖維径は3 μm、平均多孔化率は10. 5%、見かけ密度は215 kg/m³であった。図8に走査型電子顕微鏡写真を示す。

20

実施例6：細胞培養評価

実施例1で得られた纖維構造体を直径12 mmの円形に切り出し、滅菌のために70%エタノール水溶液 (和光純薬工業) に浸漬し風乾させた後、細胞培養器内で0. 25 × 105 C e l l s / m l / well でPAE (豚大動脈由来血管内皮細胞) を播種し、6 ウェルプレート内に收め、5%CO₂、37°Cの条件でインキュベーター内で培養を行った。細胞増殖能をAlamarblueにて1日目および4日目に測定した。測定は、波長530nmの励起光を用いて出現した蛍光590nmを検出した。

結果を図 9 に示す。

比較例 2

比較例 1 の繊維構造体を使用した以外、実施例 6 と同様の操作を行った。結果
5 を図 9 と共に示す。

2 標本による有意差検定を行った結果、培養後 1 日間経過では、実施例 6 は比較
例 2 との 2 標本間において、0.001% の危険率で統計的有意差をもって接着
性及び増殖性がよいとの結果が得られた。培養後 4 日間経過では実施例 6 は比較
10 例 2 との 2 標本間において 0.001% の危険率で統計的有意差をもって接着性
及び増殖性がよいとの結果が得られた。

請求の範囲

1. 脂肪族ポリエステル100重量部に対して、リン脂質を0.01～100重量部含有し、平均纖維径が0.05～50μmであることを特徴とした纖維構造体。
5
2. 脂肪族ポリエステル100重量部に対して、リン脂質を0.01～20重量部含有した請求項1に記載の纖維構造体。
- 10 3. 前記纖維構造体の纖維表面の平均多孔化率が3%～90%であることを特徴とする請求項1に記載の纖維構造体。
4. 該脂肪族ポリエステルがポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリカプロラクトン、ポリブチレンサクシネート、ポリエチレンサクシネート、およびこれらの共重合体からなる群から選択される少なくとも一つの高分子である請求項1に記載の纖維構造体。
15
5. 該リン脂質がホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、カルジオリビン、ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、ホスファチジン酸、プラズマローゲンおよびそれらの誘導体からなる群から選択されてなる請求項1に記載の纖維構造体。
20
6. 該リン脂質がホスファチジルエタノールアミンまたはホスファチジルコリンであることを特徴とする請求項1に記載の纖維構造体。
25

7. 該リン脂質が L- α -ホスファチジルエタノールアミンジオレオイルまたは L- α -ホスファチジルコリンジオレオイルであることを特徴とする請求項 6 に記載の纖維構造体。

5 8. 脂肪族ポリエステルおよびリン脂質を揮発性溶媒に溶解した溶液を製造し、該溶液を静電紡糸法にて紡糸し、捕集基板上に累積される纖維構造体を得る段階を含む、請求項 1 に記載の纖維構造体の製造方法。

1 / 5

図 1 .

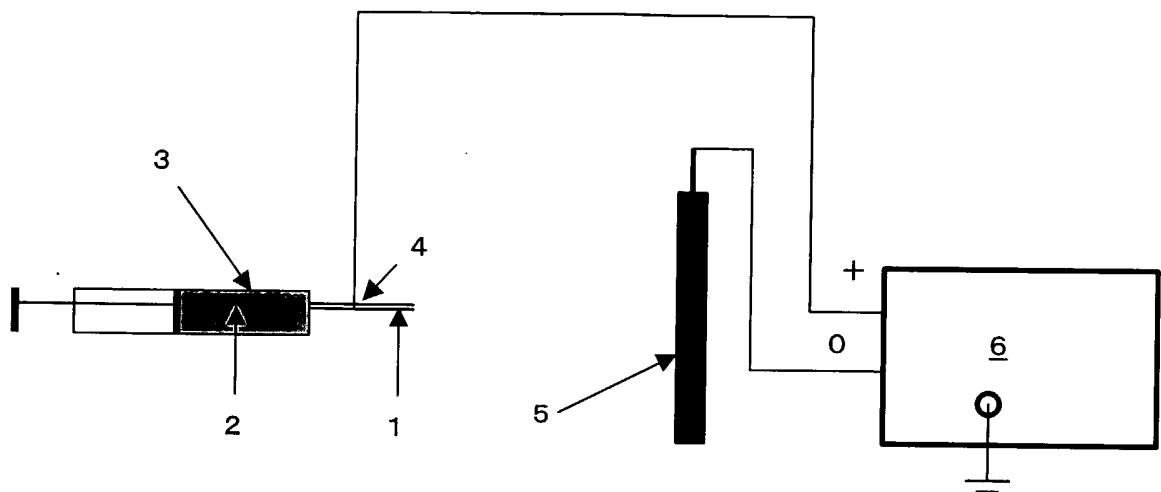
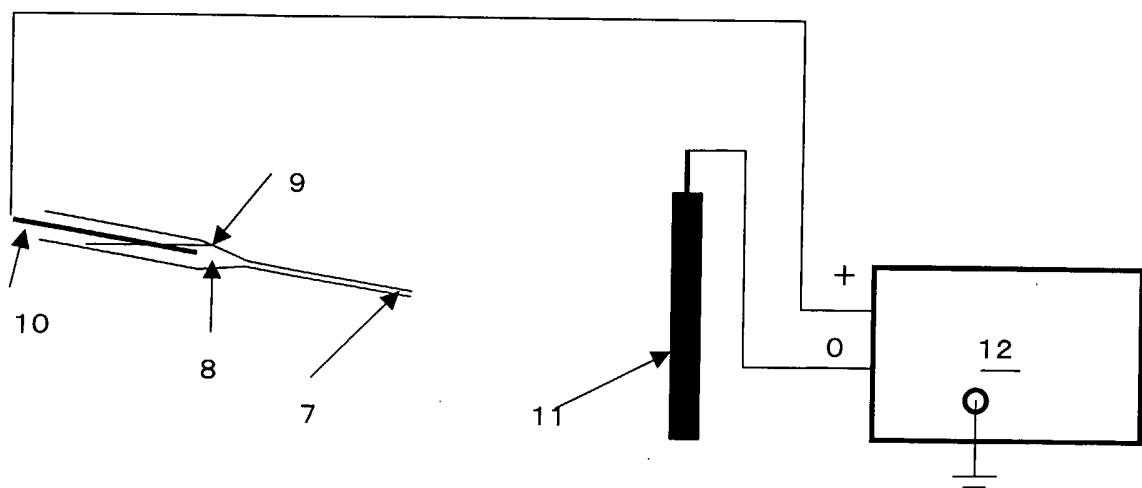
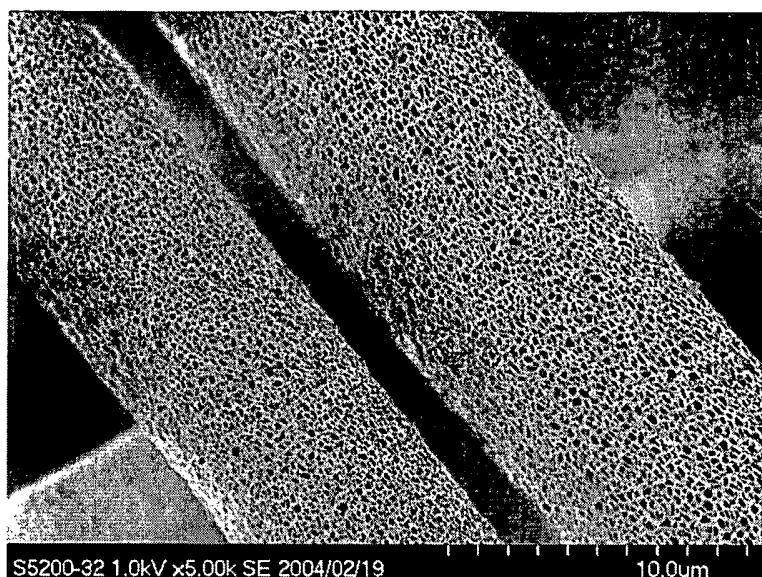


図 2 .



2 / 5

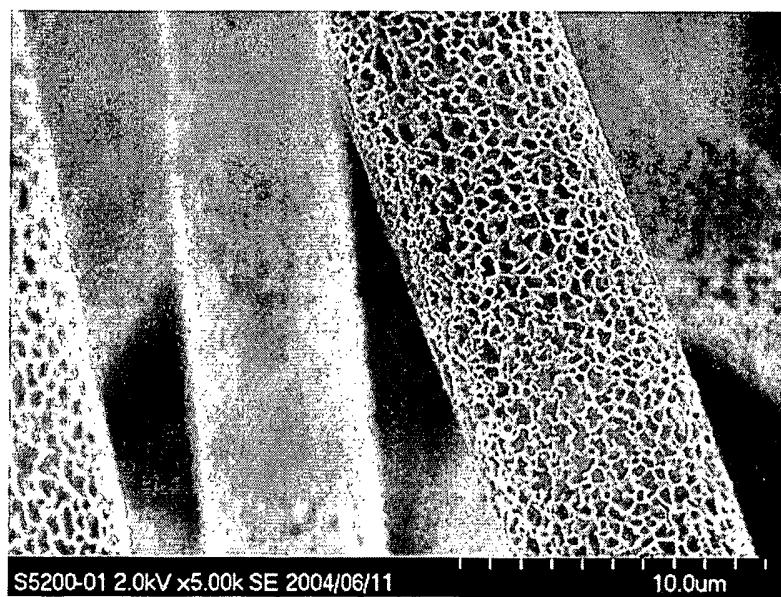
図 3



S5200-32 1.0kV x5.00k SE 2004/02/19

10.0μm

図 4

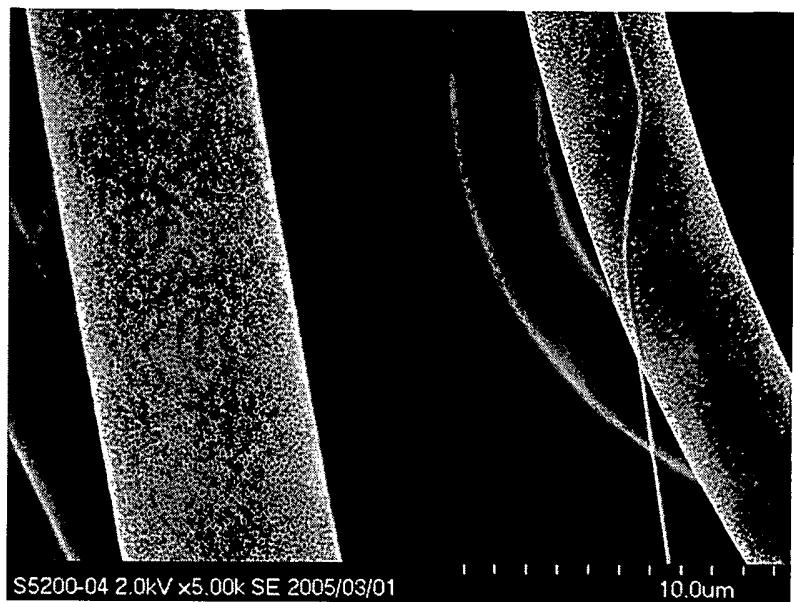


S5200-01 2.0kV x5.00k SE 2004/06/11

10.0μm

3 / 5

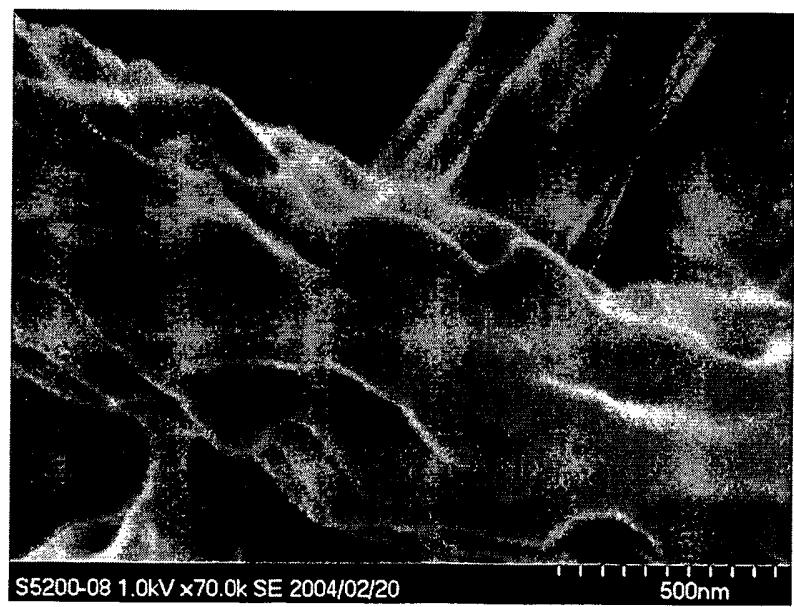
図 5



S5200-04 2.0kV ×5.00k SE 2005/03/01

10.0μm

図 6



S5200-08 1.0kV ×70.0k SE 2004/02/20

500nm

4 / 5

図 7

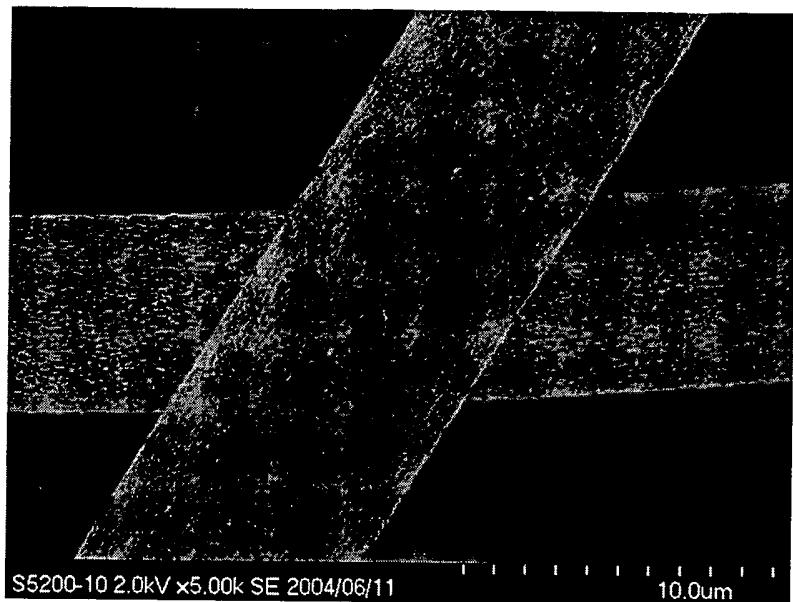


図 8

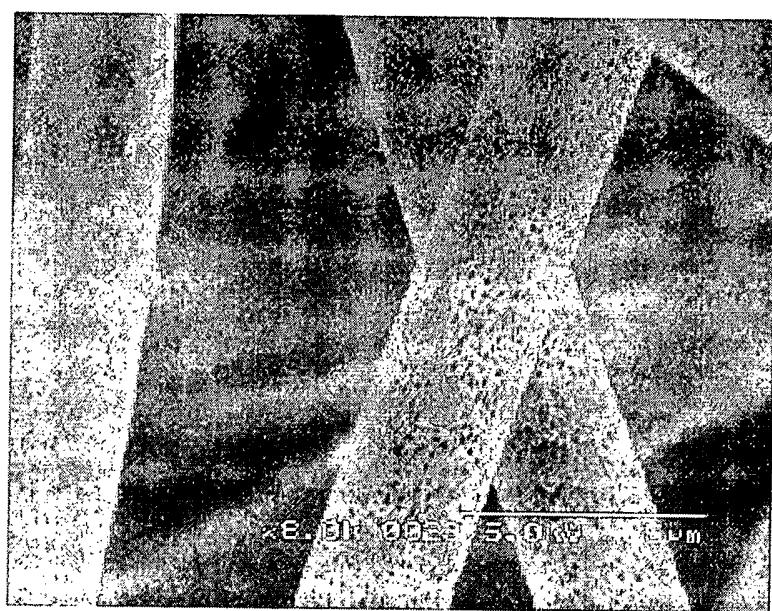
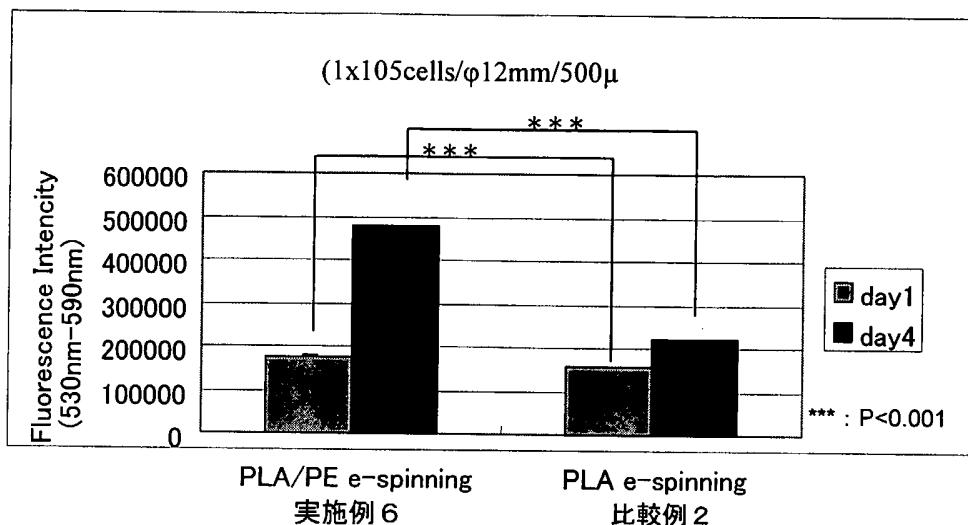


図 9

多孔化の細胞増殖に及ぼす影響 day1～day4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015958

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
D04H1/42 (2006.01), *D04H1/72* (2006.01), *A61L27/00* (2006.01)

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)

D04H1/00-18/00 (2006.01), *A61L27/00* (2006.01)

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	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

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.
X Y	JP 10-504583 A (Monsanto Co.), 06 May, 1998 (06.05.98), Claims 1, 7; page 6, lines 18 to 22; page 7, lines 2 to 6; page 8, line 27 to page 9, line 1; page 13, lines 12 to 16 & WO 95/34599 A & US 6005066 A & EP 765360 A & GB 9411792 A	1, 2, 4-7 3, 8
X Y	JP 2002-371174 A (Mitsui Chemicals, Inc.), 26 December, 2002 (26.12.02), Claim 10; Par. Nos. [0009] to [0011], [0021] (Family: none)	1, 2, 4-7 3, 8

 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
 21 November, 2005 (21.11.05)

 Date of mailing of the international search report
 06 December, 2005 (06.12.05)

 Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015958

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2002-249966 A (Korea Institute of Science and Technology), 06 September, 2002 (06.09.02), Claims 1, 7; Par. Nos. [0002], [0006], [0025] & US 2002/100725 A & KR 2002/63020 A	3, 8
Y	US 2004/13873 A (Wendoroff et al.), 22 January, 2004 (22.01.04), Claim 4; Par. No. [0002]; example 1 & WO 02/16680 A & EP 1311715 A & DE 10040897 A	3, 8

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. D04H1/42 (2006.01), D04H1/72 (2006.01), A61L27/00 (2006.01)

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. D04H1/00-18/00 (2006.01), A61L27/00 (2006.01)

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	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005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 請求の範囲の番号
X	J P 10-504583 A (モンサント・カンパニー) 1998.05.06, 請求項1、請求項7、第6頁第18行-第 22行、第7頁第2行-第6行、第8頁第27行-第9頁第1行、 第13頁第12行-第16行	1, 2, 4- 7
Y	& WO 95/34599 A & U S 6005066 A & E P 765360 A & G B 9411792 A	3, 8

 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

21. 11. 2005

国際調査報告の発送日

06. 12. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

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）

平井 裕彰

4S 3647

電話番号 03-3581-1101 内線 3474

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 請求の範囲の番号
X	J P 2002-371174 A (三井化学株式会社) 2002. 12. 26, 請求項10、段落0009-0011、段落0021 (ファミリーなし)	1, 2, 4-7 3, 8
Y	J P 2002-249966 A (コリア インスティテュート オブ サイエンス アンド テクノロジー) 2002. 09. 06, 請求項1、請求項7、段落0002、段落0006、段落0025 & US 2002/100725 A & KR 2002/63020 A	3, 8
Y	US 2004/13873 A (Wendoroff et al.) 2004. 01. 22, 請求項4、段落0002、実施例1 & WO 02/16680 A & EP 1311715 A & DE 10040897 A	3, 8