(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)公開番号
特開2024-101015
(P2024-101015A)
(43)公開日　令和6年7月26日(2024.7.26)

(51)国際特許分類		FI		
A61L 27/18 (2006.01)		A61L	27/18	
C12N 5/074(2010.01)		C12N	5/074	
C12M 3/00 (2006.01)		C12M	3/00	Z
A61L 27/38 (2006.01)		A61L	27/38	
A61L 27/40 (2006.01)		A61L	27/40	

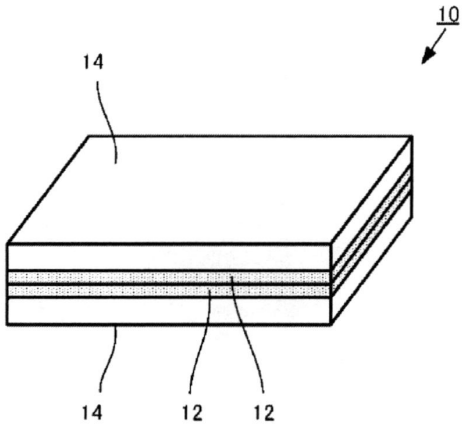
審査請求　未請求　請求項の数　7　ＯＬ　（全11頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-86757(P2024-86757)
(22)出願日　令和6年5月29日(2024.5.29)
(62)分割の表示　特願2023-54932(P2023-54932)の分割
原出願日　令和5年3月30日(2023.3.30)
(31)優先権主張番号　特願2022-100731(P2022-100731)
(32)優先日　令和4年6月22日(2022.6.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関　日本国(JP)

(71)出願人　000163774
金井重要工業株式会社
兵庫県伊丹市奥畑４丁目１番地
(71)出願人　000125381
学校法人藤田学園
愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪１番地９８
(74)代理人　100167689
弁理士　松本 征二
(72)発明者　堀 秀生
愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪１番地９８
学校法人藤田学園藤田医科大学内
(72)発明者　藤田 順之
愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪１番地９８
学校法人藤田学園藤田医科大学内
(72)発明者　川端 走野
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　組織再生促進シート

(57)【要約】
【課題】幹細胞を安定的に保持することが可能な組織再生促進シートを提供する。
【解決手段】組織再生促進シート１０は、ポリカプロラクトンを主成分とする繊維を含み、幹細胞を含む細胞懸濁液を浸透させることが可能な不織布である細胞保持シート１２を備える。不織布を構成する繊維の繊維径は、３００ｎｍ～２μｍの範囲内であってもよい。不織布の目付は、１ｇ／m^2～３ｇ／m^2の範囲内であってもよい。不織布の厚みは、３００μｍ以上であってもよい。組織再生促進シート１０は、不織布に積層され、細胞懸濁液を浸透させることが可能な補強シート１４をさらに備えてもよい。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ポリカプロラクトンを主成分とする繊維を含み、幹細胞を含む細胞懸濁液を浸透させることが可能な不織布を備える組織再生促進シート。
【請求項２】
前記不織布を構成する繊維の繊維径は、３００ｎｍ～２μｍの範囲内である、
請求項１に記載の組織再生促進シート。
【請求項３】
前記不織布の目付は、１ｇ／ｍ^2～３ｇ／ｍ^{2}の範囲内である、
請求項１又は２に記載の組織再生促進シート。
【請求項４】
前記不織布の厚みは、３００μｍ以上である、
請求項１又は２に記載の組織再生促進シート。
【請求項５】
前記不織布に積層され、前記細胞懸濁液を浸透させることが可能な補強シートをさらに備える、
請求項１又は２に記載の組織再生促進シート。
【請求項６】
前記補強シートは、前記不織布を構成する繊維よりも太い繊維で構成された他の不織布である、
請求項５に記載の組織再生促進シート。
【請求項７】
前記不織布は、第１の不織布と、前記第１の不織布に積層され、前記第１の不織布よりも変形しにくい第２の不織布と、を備える、
請求項１又は２に記載の組織再生促進シート。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、組織再生促進シートに関する。
【背景技術】
【０００２】
近年、再生医療分野において、内部に細胞を保持でき、体内に埋設されることにより組織再生を促進する組織再生促進材の開発が進んでいる。例えば、特許文献１には、白血球及び血小板からなる群の少なくとも１つが表面に存在するシート状の組織再生促進材が開示されている。また、特許文献２には、高分子材料の粉と細胞とを混合して得られる液状の組織再生促進材が開示されている。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００３】
【特許文献１】特許第４８４７１２９号公報
【特許文献２】特開２０１５－１１２２６２号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００４】
しかしながら、特許文献１、２に開示された組織再生促進材では、多孔質体や高分子材料の粉を用いているため、細胞の中でも組織再生能力が高い間葉系幹細胞を安定的に保持することが難しい、という問題がある。このような問題は、組織再生促進材で間葉系幹細胞を保持する場合に限られず、他の幹細胞を保持する場合にも存在している。
【０００５】
本発明は、このような背景に基づいてなされたものであり、幹細胞を安定的に保持する

ことが可能な組織再生促進シート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】
【０００６】
上記目的を達成するために、本発明に係る組織再生促進シートは、
ポリカプロラクトンを主成分とする繊維を含み、幹細胞を含む細胞懸濁液を浸透させることが可能な不織布を備える。
【０００７】
前記不織布を構成する繊維の繊維径は、３００ｎｍ～２μｍの範囲内であってもよい。
【０００８】
前記不織布の目付は、１ｇ／ｍ^2～３ｇ／ｍ^{2}の範囲内であってもよい。
【０００９】
前記不織布の厚みは、３００μｍ以上であってもよい。
【００１０】
前記不織布に積層され、前記細胞懸濁液を浸透させることが可能な補強シートをさらに備えてもよい。
【００１１】
前記補強シートは、前記不織布を構成する繊維よりも太い繊維で構成された他の不織布であってもよい。
【００１２】
前記不織布は、第１の不織布と、前記第１の不織布に積層され、前記第１の不織布よりも変形しにくい第２の不織布と、を備えてもよい。
【発明の効果】
【００１３】
本発明によれば、幹細胞を安定的に保持することが可能な組織再生促進シートを提供できる。
【図面の簡単な説明】
【００１４】
【図１】本発明の実施の形態に係る組織再生促進シートの構成を示す斜視図である。
【図２】本発明の実施の形態に係る組織再生促進シートを製造する様子を示す正面図である。
【図３】本発明の変形例に係る組織再生促進シートの構成を示す斜視図である。
【図４】本発明の他の変形例に係る組織再生促進シートの構成を示す斜視図である。
【図５】実施例１における各サンプルによる間葉系幹細胞の捕捉率を示す図である。
【図６】実施例２における各サンプルによる間葉系幹細胞の捕捉率を示す図である。
【図７】実施例３におけるラット頸椎のＣＴ画像を示す図である。
【図８】実施例３における骨移植後６週経過時点の免疫染色像を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００１５】
以下、本発明の実施の形態に係る組織再生促進シートを、図面を参照しながら詳細に説明する。各図面では、同一又は同等の部分に同一の符号を付す。
【００１６】
実施の形態に係る組織再生促進シートは、体内の損傷箇所に埋設されることにより損傷箇所での組織再生を促進するシートである。実施の形態に係る組織再生促進シートは、幹細胞が付着する細径の繊維、例えば、マイクロファイバーで構成された不織布を備える。不織布は、細径の繊維を織らずに絡み合わせたシートである。不織布は、自由自在に変形させることができるため、損傷箇所の形状に合わせて埋め込んだり貼り付けたりするのに好適である。組織再生促進シートは、任意の臓器や器官に、例えば、心臓、血管、肺、気管、食道、胃、小腸、大腸、肝臓、腎臓、膀胱、骨、筋肉、皮膚に貼り付けたり埋め込んだりできる。組織再生促進シートは、体内において特定の細胞の増殖を促す足場（スキャフォールド）として機能させることができる。

【００１７】
図１に示すように、組織再生促進シート１０は、幹細胞を保持する細胞保持シート１２と、細胞保持シート１２を上下から挟むように接合され、細胞保持シート１２を補強する一対の補強シート１４と、を備える。細胞保持シート１２を一対の補強シート１４で挟んで補強するのは、細胞保持シート１２を構成する不織布が後述する原料の性質ゆえに濡れると簡単に丸まりやすいためである。細胞保持シート１２及び補強シート１４は、接着剤や熱融合により互いに接合されてもよく、不織布の製造時に繊維同士を絡み合わせることで接合されてもよい。
【００１８】
一対の補強シート１４の間に配置される細胞保持シート１２の数は、幹細胞を含む細胞懸濁液をろ過可能な範囲で任意であるが、細胞懸濁液をろ過する際に後述するホルダーから細胞懸濁液が漏れることを防ぐため、２枚以上積層することが好ましい。細胞懸濁液は、体内に投与可能な液体に細胞を浮遊させた液である。細胞保持シート１２が複数積層される場合には、細胞保持シート１２及び補強シート１４を積層する場合と同様の手法で互いを接合すればよい。なお、図１では、理解を容易にするため、組織再生促進シート１０の厚み方向を誇張して図示している。組織再生促進シート１０の厚みは、細胞懸濁液をろ過できる程度に設定されている。
【００１９】
細胞保持シート１２は、ポリカプロラクトンを主成分とする繊維を含む不織布である。発明者が鋭意検討した結果、ポリカプロラクトンを主成分とする繊維を含む不織布では、幹細胞を含む細胞懸濁液をろ過した際に高効率で幹細胞を捕捉できると共に、付着した幹細胞での活性が促進されることを見いだした。ポリカプロラクトンは、半結晶性で生分解性の熱可塑性ポリエステルであり、不織布の製造にも好適である。ポリカプロラクトンは、例えば、ポリ－ε－カプロラクトンである。ポリカプロラクトンの分子量は、射出成型に適した分子量であってもよく、例えば、７０，０００～１００，０００の範囲内である。
【００２０】
ポリカプロラクトンを主成分とする繊維は、ポリカプロラクトンのみで形成されてもよく、他の物質を含んでもよい。他の物質としては、例えば、組織再生を促進する薬剤や他の生分解性ポリマーを用いてもよい。組織再生を促進する薬剤は、例えば、ハイドロキシアパタイト（水酸化リン酸カルシウム）、リン酸三カルシウムである。他の生分解性ポリマーは、例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリジオキサノン、及びこれらの共重合体である。
【００２１】
細胞保持シート１２を構成する繊維は、繊維径が細くなるほど幹細胞の捕捉率が向上するが、細胞保持シート１２が水分を吸収した際に簡単に丸まりやすくなる。細胞保持シート１２を構成する繊維の繊維径は、幹細胞の捕捉率とハンドリング性とを考慮して、例えば、１００ｎｍ～３μｍの範囲内であり、５００ｎｍ～１μｍの範囲内であることが好ましい。
【００２２】
細胞保持シート１２は、目付が大きくなるほど付着する幹細胞の量を増やせるが、次第に細胞懸濁液のろ過が困難になる。細胞保持シート１２の目付は、幹細胞の付着量と製造時の容易性とを考慮して、例えば、１ｇ／ｍ^2～３ｇ／ｍ^{2}の範囲内であり、１．５ｇ／ｍ^2～２．５ｇ／ｍ^{2}の範囲内であることが好ましく、２ｇ／ｍ^{2}であることがより好ましい。
【００２３】
細胞保持シート１２の厚みは、ピンセットによるハンドリング性を考慮すると、例えば、３００μｍ以上であることが好ましく、５００μｍ以上であることがより好ましい。ただし、細胞保持シート１２の厚みが大きくなるほど、細胞懸濁液のろ過が困難になることに留意が必要である。

【００２４】
細胞保持シート１２に付着させる幹細胞は、間葉系幹細胞（Ｍｅｓｅｎｃｈｙｍａｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ：ＭＳＣ）又は間葉系幹細胞から分化した細胞であることが好ましい。間葉系幹細胞は、間葉系に属する細胞への分化能を有する体性幹細胞であり、脂肪由来、骨膜由来、滑膜由来、海綿骨由来、骨髄由来、羊膜由来、臍帯血由来、胎盤由来のいずれであってもよい。また、不織布に付着させる幹細胞は、例えば、ＥＳ（Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ Ｓｔｅｍ）細胞やｉＰＳ（ｉｎｄｕｃｅｄ Ｐｌｕｒｉｐｏｔｅｎｔ Ｓｔｅｍ）細胞であってもよい。不織布には、複数種類の幹細胞を一緒に付着させてもよい。
【００２５】
細胞保持シート１２に付着させる幹細胞は、患者から採取したものを培養するとよい。幹細胞をｉｎ ｖｉｔｒｏで培養するには、例えば、ウシ胎児血清（Ｆｅｔａｌ Ｂｏｖｉｎｅ Ｓｅｒｕｍ：ＦＢＳ）若しくはヒト血清、好ましくは患者由来のヒト血清を含む培地、又は無血清培地を用いるとよい。培地にて培養された幹細胞はそのまま不織布に付着させてもよく、幹細胞を分化させて特定の細胞、例えば、骨芽細胞を発現させてから不織布に付着させてもよい。特定の細胞を発現させるには、例えば、幹細胞の培地に分化誘導因子を添加すればよい。
【００２６】
なお、細胞保持シート１２には、必ずしも事前に幹細胞を付着させる必要はなく、組織再生促進シート１０を体内の損傷箇所に配置した後に、脈管系に幹細胞を含む細胞懸濁液を投与することで、体内で細胞保持シート１２に幹細胞を捕捉させてもよい。
【００２７】
補強シート１４は、生体適合性ポリマーを主成分とする繊維を含み、細胞懸濁液を通過させることが可能な不織布である。補強シート１４は、丸まりやすく容易に変形しやすい細胞保持シート１２を補強するために細胞保持シート１２に接合されている。補強シート１４を構成する生体適合性ポリマーは、ポリカプロラクトンよりも強度がある生体適合性ポリマー、例えば、キチン、キトサン、ポリ乳酸、ポリグリコール酸といった生分解性ポリマーであり、その中でもキチンであることが好ましい。補強シート１４のマイクロファイバーの繊維径は、細胞保持シート１２のマイクロファイバーの繊維径よりも太いことが好ましい。なお、補強シート１４には、幹細胞を付着させる必要がないが、細胞保持シート１２に幹細胞を付着させる工程で補強シート１４に幹細胞が付着しても構わない。
以上が、組織再生促進シート１０の構成である。
【００２８】
次に、実施の形態に係る細胞保持シート１２に幹細胞を付着させる具体的な手順を説明する。細胞保持シート１２に幹細胞を付着させるには、幹細胞含む細胞混濁液をしばらくの間接触させればよいが、幹細胞培養時の成長因子産生能の低下を抑制するには以下の手順で行うことが好ましい。
【００２９】
まず、図２に示すように、ろ過装置を構成する一対のホルダー２０の間に互いに積層された細胞保持シート１２及び補強シート１４をセットする。各ホルダー２０は、細胞混濁液が流出又は流入可能に構成され、一方のホルダー２０から他方のホルダー２０に向けて細胞懸濁液を流す際に細胞混濁液が細胞保持シート１２に接触する。なお、図２では、それぞれに隙間が存在しているが、実際には互いに接合している２枚の細胞保持シート１２を一対の補強シート１４で挟んで接合させた状態で一対のホルダー２０を密着させている。
【００３０】
次に、幹細胞を含む細胞混濁液を上から１滴ずつゆっくりと滴下させ、２枚の細胞保持シート１２で細胞混濁液をろ過する。ろ過速度は、例えば、２分～３分かけて細胞混濁液１ｍｌを滴下する速度である。このとき滴下された細胞懸濁液に含まれる幹細胞が自ら細胞保持シート１２の繊維に付着する。厳密なメカニズムは不明であるが、幹細胞を含む細胞混濁液を、少しずつポリカプロラクトンを主成分とする繊維で構成された不織布にろ過

させると、各繊維に幹細胞が安定的に付着すると共に、付着した幹細胞が活性化して成長因子の産生が促進される。
以上が、細胞保持シート１２に幹細胞を付着させる具体的な手順である。
【００３１】
なお、細胞保持シート１２に幹細胞が付着してさえいれば、多少なりとも幹細胞からの成長因子の産生を期待できるため、必ずしも上記の手順を用いなくてもよい。
【００３２】
以上説明したように、実施の形態に係る組織再生促進シート１０は、ポリカプロラクトンを主成分とする繊維を含み、幹細胞を含む細胞懸濁液を浸透させることが可能な細胞保持シート１２と、細胞保持シート１２に積層され、細胞懸濁液を浸透させることが可能な補強シート１４と、を備える。このため、細胞保持シート１２で幹細胞を安定的に保持できると共に、ユーザによるハンドリング性を向上させることができる。
【００３３】
本発明は上記実施の形態に限られず、以下に述べる変形も可能である。
【００３４】
（変形例）
上記実施の形態では、一対の補強シート１４の間に２枚の細胞保持シート１２を配置していたが、これに限られない。一対の補強シート１４の間に挟まれる細胞保持シート１２は１枚であってもよく、３枚以上であってもよい。
【００３５】
上記実施の形態では、補強シート１４が不織布であったが、本発明はこれに限られない。例えば、補強シート１４は、細胞懸濁液を浸透させることができる多孔質体であってもよい。
【００３６】
上記実施の形態では、細胞保持シート１２に対して上下から補強シート１４を挟んでいたが、本発明はこれに限られない。例えば、図３に示すように、細胞保持シート１２の一方の面に補強シート１４を積層して組織再生促進シート１０を構成してもよい。補強シート１４を省略しても組織再生促進シート１０の強度を確保できる場合や組織再生促進シート１０の強度を確保することが不要な場合には、補強シート１４を省略してもよい。組織再生促進シート１０の強度を確保することが不要な場合は、例えば、インプラント内の空間に収容する場合や体内の損傷箇所に丸めて埋め込む場合である。
【００３７】
補強シート１４を省略しても組織再生促進シート１０の強度を確保するには、例えば、細胞保持シート１２を構成する繊維の繊維径、繊維密度及び細胞保持シート１２の厚みの少なくとも１つを大きくすればよい。また、組織再生促進シート１０は、図４に示すように、第１の細胞保持シート１２Ａと、第１の細胞保持シート１２Ａよりも変形しにくい第２の細胞保持シート１２Ｂと、を積層させてもよい。第２の細胞保持シート１２Ｂは、例えば、第１の細胞保持シート１２Ａよりも繊維径を太くするか、繊維密度を大きくすればよい。第１の細胞保持シート１２Ａは、第１の不織布の一例であり、第２の細胞保持シート１２Ｂは、第１の不織布よりも変形しにくい第２の不織布の一例である。
【００３８】
上記実施の形態は例示であり、本発明はこれらに限定されるものではなく、特許請求の範囲に記載した発明の趣旨を逸脱しない範囲でさまざまな実施の形態が可能である。実施の形態や変形例で記載した構成要素は自由に組み合わせることが可能である。また、特許請求の範囲に記載した発明と均等な発明も本発明に含まれる。
【００３９】
以下、実施例を挙げて本発明を具体的に説明する。ただし、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。
【実施例】
【００４０】

（実施例１）
実施例１では、上記実施の形態に係る手法を用いてポリカプロラクトン（Poly Caprolactone：ＰＣＬ）不織布とキチン不織布とを積層したシートを作製し、それぞれにおける間葉系幹細胞の捕捉率を評価した。具体的に説明すると、まず、図１に示すように２枚のＰＣＬ不織布を上下から１枚ずつキチン不織布で挟んで接合した。ＰＣＬ不織布は、繊維径０．５～１μｍ、繊維密度２ｇ／ｍ^{2}であり、キチン不織布は、繊維径８μｍ、繊維密度３０ｇ／ｍ^{2}である。次に、ろ過滅菌用ホルダーに挟んだ状態でヒト間葉系幹細胞を含む細胞懸濁液を通過させることで、ＰＣＬ不織布に間葉系幹細胞を付着させ、間葉系幹細胞の捕捉率を評価した。ホルダーとしては、スウィネクスフィルターホルダー（メルクミリポア）を用いた。比較例として、２枚のキチン不織布のみを積層したシートに対しても、それぞれ同様の実験を行った。それぞれ３つのサンプルに対して実験を行った。
【００４１】
その結果を図５に示す。キチン不織布のみを積層したシートでは、細胞捕捉率の平均が４３．６％であったのに対し、ＰＣＬ不織布とキチン不織布とを積層したシートでは、細胞捕捉率の平均が１００％であった。以上から、ＰＣＬ不織布が幹細胞を高効率に付着させることが確認できた。
【００４２】
（実施例２）
実施例２では、ＰＣＬ不織布とポリエステル（Polyester：ＰＥｓ）不織布とを積層したシート、ＰＣＬ不織布単独のシート、２つの特性の異なるＰＣＬ不織布を積層させたシートを作製し、ハンドリング性を検証した。また、各サンプルに細胞懸濁液を滴下し、細胞捕捉率を計測した。
【００４３】
ＰＣＬ不織布単独のシートをホルダーにセットしようと試みたところ、ＰＣＬ不織布の繊維径が２００μｍ以下の場合には、ＰＣＬ不織布単独でホルダーにセットできないことが判明した。そこで、ＰＣＬ不織布の繊維径が２００μｍ以下の場合は、ＰＣＬ不織布とＰＥｓ不織布とを積層することとし、ＰＣＬ不織布の繊維径を３００μｍ以上の場合にＰＣＬ不織布単独のシートをホルダーにセットすることにした。また、繊維径０．５μｍ、繊維密度２ｇ／ｍ^2、厚み１００μｍＰＣＬ不織布と、繊維径４．９μｍ、繊維密度１０ｇ／ｍ^2、厚み５００μｍのＰＣＬ不織布とを積層させたシートを作製したところ、このシートはホルダーにセットできた。その他の手順は、実施例１と同様である。条件毎に３つのサンプルを用いて実験を行ったが、繊維径０．５μｍ、繊維密度２ｇ／ｍ^2、厚み１００μｍ、ＰＥｓ積層数２、ＰＣＬ積層数３～６のシートについては１つのサンプルのみで実験を行った。
【００４４】
その結果を図６に示す。ＰＥｓ積層数２、ＰＣＬ積層数２、厚み２００μｍのデータ群に注目すると、繊維径が細いほど細胞捕捉率が高いことが判明した。繊維径０．５μｍの場合、細胞捕捉率が１００±０．０％であるのに対し、繊維径２．８μｍの場合、細胞捕捉率が７３．４±１８．８％であった。また、繊維径４．９μｍのデータ群に注目すると、厚みが大きいほど細胞捕捉率が高いことが判明した。具体的には、厚み２００μｍの場合、細胞捕捉率が７４．９±９．５％であるのに対し、厚み５００μｍの場合、細胞捕捉率が９９．４±３．６％であった。以上から、繊維径が細く、厚みが大きいほど、間葉系幹細胞の捕捉率が高くなることが確認できた。
【００４５】
（実施例３）
実施例３では、免疫不全モデルラット３匹の頸椎に骨片と併用してＰＣＬ不織布とキチン不織布とを積層したシートを移植し、移植後６週経過時点で徒手的に骨融合を評価した。また、骨融合の評価は、免疫不全モデルラットの頸椎を撮影したＣＴ（Computed Tomography）像や採取した組織片の免疫染色像を用いても実施した。免疫染色像は、ＤＮＡ（Deoxyribonucleic acid）に結合する蛍光色素であるＤＡＰＩ（4',6-diamidi

no-2-phenylindole）を用いて染色した組織片を蛍光顕微鏡により撮影することで得られる。ＰＣＬ不織布とキチン不織布とを積層したシートには、ヒト間葉系幹細胞が付着したものを使用した。比較例として、免疫不全モデルラット５匹の頸椎に骨移植のみを行い、同様に骨融合を評価した。

【００４６】

その結果、ＰＣＬ不織布とキチン不織布とを積層したシートを併用した不織布併用群では、３匹中３匹において骨融合がなされており、骨融合率は１００％であった。他方、比較例の骨単独移植群では、骨融合がなされたのは５匹中１匹にとどまり、骨融合率は２０％であった。また、骨移植６週間経過時点でＣＴ像により骨融合を評価すると、図７に示すように骨移植単独群では、骨と骨の間に隙間が存在しており、骨癒合がなされていなかったが、不織布併用群では骨癒合がなされていることが確認できた。

【００４７】

骨移植６週間経過時点で免疫染色像により骨融合を評価すると、ＰＣＬ不織布併用群ではラット体内でヒトＭＳＣが生着していることを確認できた。具体的に説明すると、ＨＮＡ(Human Nuclear Antigen)とＤＡＰＩとが共に陽性の細胞がヒト間葉系幹細胞であり、ＤＡＰＩのみ陽性の細胞がラットの細胞である。図８に示すように、左側のＨＮＡの像と真ん中のＤＡＰＩの像とを重ね合わせると、右側の像が得られる。この像を観察するとＨＮＡとＤＡＰＩが共に陽性の細胞が多数存在していた。このため、ＰＣＬ不織布併用群では、細胞レベルでも骨融合が行われていることが確認できた。

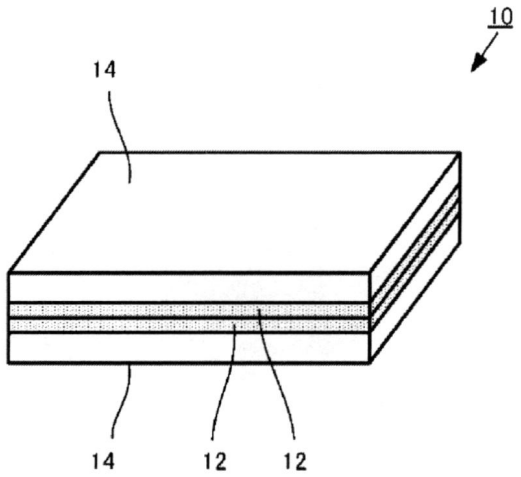
【符号の説明】

【００４８】

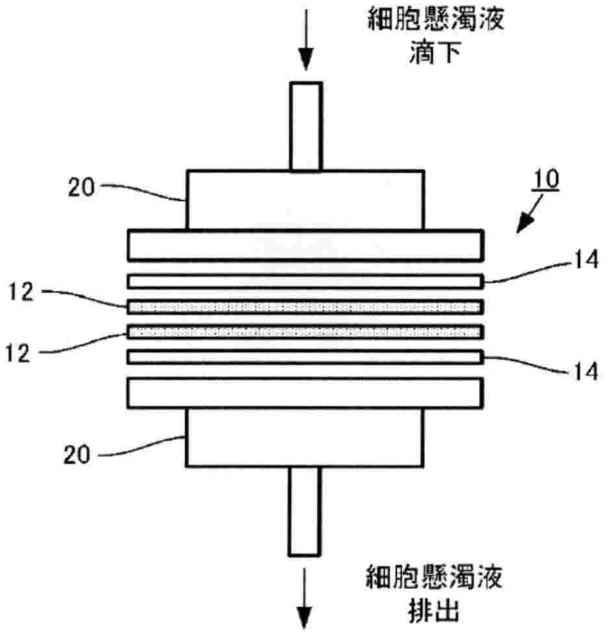
１０　組織再生促進シート
１２　細胞保持シート
１２Ａ　第１の細胞保持シート
１２Ｂ　第２の細胞保持シート
１４　補強シート
２０　ホルダー

【図面】

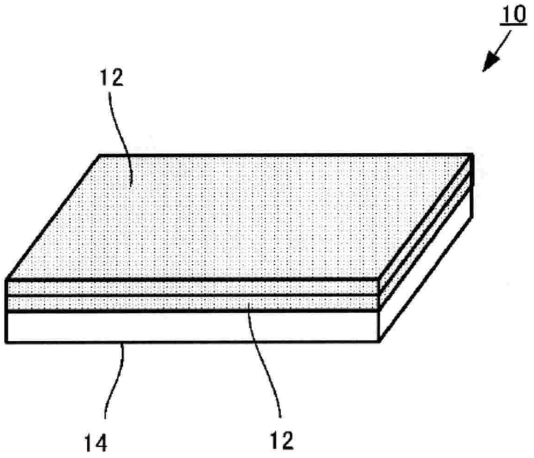
【図１】



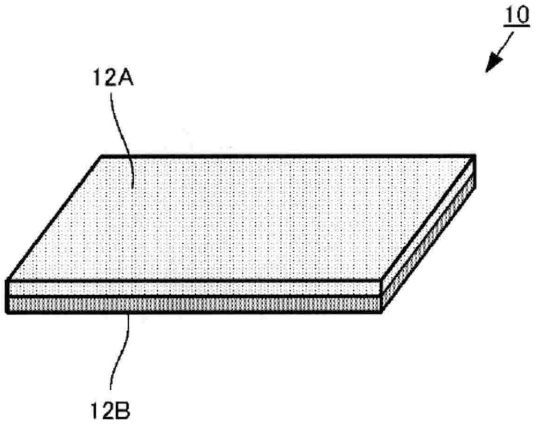
【図２】



【図３】



【図４】



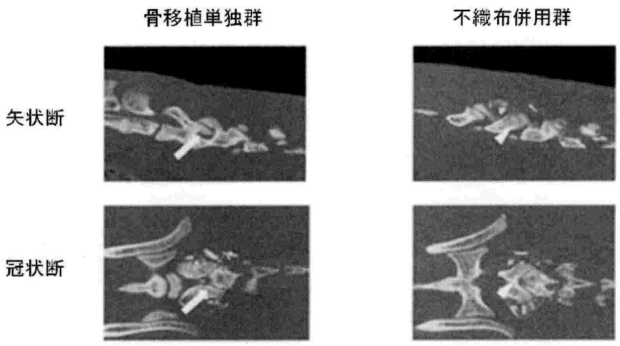
【図５】

サンプル	積層数	捕捉率	平均
キチン不織布	2	42.6	43.6
		47.9	
		40.4	
キチン不織布 +PCL ($2g/m^2$)	2+2	100.0	100.0
		100.0	
		100.0	

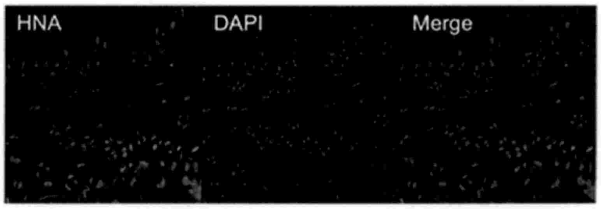
【図６】

繊維径（μm）	繊維密度（g/m^2）	厚み（μm）	PEs積層数	PCL積層数	捕捉率（%）
	15		2	0	19.5±9.4
0.5	2	100	2	2	100±0.0
0.5	2	100	2	3	100
0.5	2	100	2	4	100
0.5	2	100	2	5	100
0.5	2	100	2	6	100
1.2	2	100	2	2	98.2±2.6
1.2	3	150	2	2	100.0±0.0
2.8	2	100	2	2	73.4±18.8
2.8	3	150	2	2	100.0±0.0
2.8	4	200	2	2	100.0±0.0
2.8	6	300	0	2	100±0.0
4.9	4	200	2	2	74.9±9.5
4.9	6	300	0	2	95.2±4.9
4.9	10	500	0	2	99.4±3.6
0.5 4.9	2 10	100 500	0	2	100.0±0.0

【図７】



【図８】



フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ａ６１Ｌ　27/20　(2006.01)

ＦＩ
Ａ６１Ｌ　27/20

愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪１番地９８　学校法人藤田学園藤田医科大学内