

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004年10月14日 (14.10.2004)

PCT

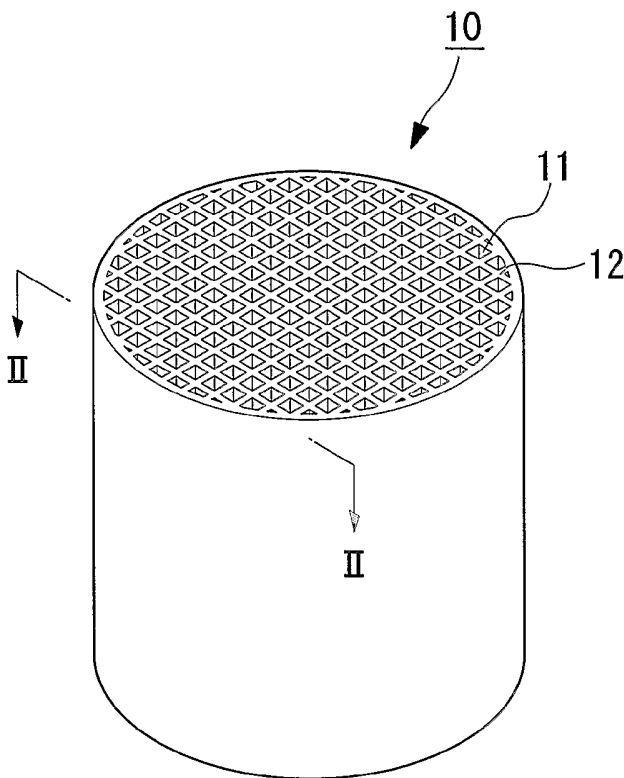
(10) 国際公開番号
WO 2004/087020 A1

- (51) 国際特許分類: A61F 2/28
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/004550
- (22) 国際出願日: 2004年3月30日 (30.03.2004)
- (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2003-095017 2003年3月31日 (31.03.2003) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): オリンパス株式会社 (OLYMPUS CORPORATION) [JP/JP]; 〒1510072 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 袴塚 康治 (HAKAMATSUKA, Yasuharu) [JP/JP]; 〒1960033 東京都昭島市東町3-2-13-603 Tokyo (JP). 高宮 裕
- (74) 代理人: 上田 邦生, 外(UEDA, Kunio et al.); 〒2200012 神奈川県横浜市西区みなとみらい3-3-1 三菱重工横浜ビル24F Kanagawa (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, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, 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, SD, SL,

/続葉有/

(54) Title: MATERIAL FOR REPAIRING BIOLOGICAL TISSUES AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 生体組織補填材及びその製造方法



(57) Abstract: It is intended to promote the growth of adhered cells and improve adhesiveness of stem cells. A cylindrical scaffold made of a porous calcium phosphate (for example, β -TCP) material in which a plural number of penetrating holes extending in a single direction are separated from each other by partition wall members having an almost uniform thickness. Namely, a material for repairing biological tissues wherein each penetrating hole has a quadrangular shape while each partition wall member has a plural number of concaves and a plural number of holes on the surface.

(57) 要約: 付着した細胞の成長を促進するとともに幹細胞の付着性を向上することを目的とする。リン酸カルシウム(例えば、 β -TCP)多孔体からなる円柱形状の足場材であって、一方方向に延びる複数の貫通孔をほぼ同一の厚さの隔壁部材によって相互に区画した形状を備えている。貫通孔は四角形状で形成されており、隔壁部材の表面には、凹

部と、孔部とが複数形成されている生体組織補填材及びその製造方法を提供する。

WO 2004/087020 A1



SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, 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

生体組織補填材及びその製造方法

5 技術分野

本発明は、生体組織欠損部を再生する際に使用される生体組織補填材及びその製造方法に関する。

背景技術

10 近年、骨腫瘍摘出や外傷等により生じた骨等の生体組織の欠損部に、骨補填材等の生体組織補填材を補填することにより、骨を再生させて欠損部を修復することが可能になってきている。骨補填材としては、ハイドロキシアパタイト（HAP）やリン酸三カルシウム（TCP）が知られているが、体内に異物を残さないとする考え方から、例えば、 β -TCPのようなリン酸カルシウム多孔体からなる足場材が使用される。 β -TCPを骨欠損部の骨細胞に接触させておくと、破

15 骨細胞が β -TCPを食べ、骨芽細胞が新しい骨を形成する、いわゆるリモデリングが行われる。すなわち、骨欠損部に補填された骨補填材は、経時的に自家骨に置換されていくことになる。

一方、術後の骨欠損部の修復速度を高めるために、患者から採取した骨髄液に

20 骨補填材を浸し、骨髄液に含まれる骨髄間葉系幹細胞を骨補填材とともに培養することにより製造される培養骨等の生体組織補填体を使用することが提案されている。培養されることにより骨補填材を足場にして増殖した多くの骨髄間葉系幹細胞を含む骨補填体を骨欠損部に補填するので、手術後に体内で細胞を増殖させる方法と比較すると、自家骨に置換されるまでの日数を大幅に短縮することができる（植村他2名、「生分解性 β -TCP多孔材料を用いた骨におけるティッシュエンジニアリングー生体内で強度を増す新しい材料オスフェリオンー」、メディカル朝日、朝日新聞社、2001年10月1日、第30巻、第10号、p. 46-49参照。）。

25

発明の開示

しかしながら、骨補填材として多孔体を用いても骨髓間葉系幹細胞は骨補填材表面に留まるのみとなってしまう、骨補填材内部まで骨髓間葉系幹細胞を十分に付着させることが困難であった。また、骨補填材に細胞を付着させても内部まで

5 細胞の成長に必要な成分等が浸透せず、一方、細胞老廃物が細胞周辺に貯留されてしまい細胞老廃物の円滑な交換が阻害されてしまう問題があった。

本発明は上記事情に鑑みて成されたものであり、付着した細胞の成長を促進するとともに幹細胞の付着性が高い生体組織補填材及びその製造方法を提供することを目的とする。

10 本発明は、上記課題を解決するため、以下の手段を採用する。

本発明の生体組織補填材は、一方向に延びる複数の貫通孔を略同一厚さの隔壁部材によって相互に区画した形状を有することを特徴とする。

この生体組織補填材は、前記形状を有することにより、大きな表面積を確保することが可能となり、より多くの細胞を表面に付着させることができる。また、

15 貫通孔を介して補填材内部まで細胞を付着させやすくするとともに、貫通孔を通して細胞老廃物の交換を容易にすることができる。

前記生体組織補填材は、ハニカム形状でもよい。

本発明は、前記生体組織補填材であって、前記隔壁部材に、凹部及び孔部のうち少なくとも1つが形成されていることが好ましい。

20 本発明の生体組織補填材の製造方法は、スラリ状に形成された原料に焼結温度より低い融点を有する粒状の固形体を混合する工程と、該固形体を混合した前記原料を成型型に供給し、複数の貫通孔を略同一厚さの隔壁部材によって相互に区画した成形体を形成する工程と、該成形体を焼結する工程とを備えることを特徴とする。

25 前記成形体は、ハニカム形状に形成したハニカム成形体としてもよい。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の一実施形態における生体組織補填材の外観を示す図である。

図2Aは、図1におけるII-II断面の一例を示す図である。

図2Bは、図1におけるII-II断面の他の例を示す図である。

図3は、本発明の一実施形態における生体組織補填材の製造フローを示す図である。

図4は、本発明の一実施形態におけるハニカム成形時に使用するハニカム成形用型の外観を示す図である。

図5は、本発明の一実施形態において固形体を含むハニカム成形体の断面を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

10 本発明の一実施形態に係る生体組織補填材について、図1から図5を参照して以下に説明する。

本実施形態に係る骨補填材（生体組織補填材）10は、リン酸カルシウム（例えば、 β -TCP）多孔体からなる円柱形状の足場材であって、図1に示すように、一方向に延びる複数の貫通孔11をほぼ同一の厚さ（例えば、0.05mm
15 ~0.5mm程度）の隔壁部材12によって相互に区画したハニカム形状を備えている。貫通孔11は主に四角形状で形成されており、隔壁部材12の表面には、図2に示すように、凹部13と、孔部14とが複数形成されている。

次に、以上の構成からなる本実施形態に係る骨補填材10の製造方法について説明する。

20 骨補填材10の製造工程は、図3に示すように、スラリ状に形成された原料に焼結温度より低い融点を有する図5に示すような粒状のワックスビーズ（固形体）15を混合する工程（S01）と、ワックスビーズ15を混合した原料を図4に示すようなハニカム成形型（成形型）16に流し込んで、図5に示すような複数の貫通孔11をほぼ同一厚さの隔壁部材12によって相互に区画したハニカム成形体17を形成する工程（S02）と、ハニカム成形体17を焼結する工程（S03）とを備えている。以下、各工程について説明する。

ワックスビーズ15を混合する工程（S01）では、まず、例えば、特開平5-237178号公報に開示されている方法によって、混合発泡させた水性の発泡スラリを調整したものに β -TCPから作製した顆粒状成形体を混合してスラ

リ状に形成した原料を作製する。

この原料にワックスビーズ15を混合する。

次に、ハニカム成形体17を形成する工程(S02)について説明する。

この工程では、ワックスビーズ15を混入した原料を図4に示すハニカム成形
5 型16に供給して図5に示すハニカム成形体17を作製する。

図4のハニカム成形型16の上部には、漏斗状に形成された原料注入口18が
形成されている。一方、下部の内部には、例えば、0.1mmの幅を有してハニ
カム成形型16の各辺に平行な方向にそれぞれ延びるスリット19が形成されて
おり、原料注入口18の下端部とスリット19の一端部とが通路20を介して連
10 通されている。

原料注入口18から注入した原料を通路20を介して各スリット19内に浸透
させる。すると、四角形状の貫通孔11と、各貫通孔11を離間させる隔壁部材
12とが形成されたハニカム形状のハニカム成形体17がハニカム成形型16の
下端面21から排出する。このときのハニカム成形体17の断面は、図5に示す
15 ように、隔壁部材12内部にワックスビーズ15が含有された構成となってい
る。

続いて、ハニカム成形体17を焼結する工程(S03)について説明する。

ハニカム成形体17を、例えば、特開平5-237178号公報に開示されて
いる方法によって、乾燥させた後に焼結する。このとき、ハニカム成形体17内
20 部に含まれるワックスビーズ15の融点が焼結温度よりも低温なので、焼結時の
加熱によって溶融後、隔壁部材12外部に流出して貫通孔11からハニカム成形
体17外部へ除去される。

こうして、図2A及び図2Bに示すように、隔壁部材12の表面及び内部に凹
部13及び孔部14を形成する。

25 こうして得られた骨補填材10に細胞を付与して骨補填体を作製する場合につ
いて説明する。

まず、腸骨等から骨髓液を抽出し、この骨髓液を遠心分離等の適宜の濃縮処理
後、培養容器内にMEM (Minimal Essential Medium: 最小必須培地)、FBS
(Fetal Bovine Serum: ウシ胎児血清) 等の成長因子を付加した培地を供給・混

合して一次培養を行い、不要成分を除去した間葉系幹細胞を含む細胞濃縮液を作成する。

続いて、この細胞濃縮液を上述した方法によって製造した骨補填材 10 の全体に浸透させる。そして骨芽細胞への分化誘導因子であるデキサメタゾン等を含む
5 骨形成培地に入れて二次培養する。

こうして、間葉系幹細胞から分化した骨芽細胞と産生された骨基質とを有し、骨形成作用が備えられた骨補填体を得る。

この骨補填材 10 によれば、ハニカム成形に構成されているので、大きな表面積を確保することができるとともに、孔径の制御が容易となって、最適な大きさ
10 の貫通孔 11 を自在に製造することができる。また、貫通孔 11 が備えられているので、間葉系幹細胞が骨補填材 10 の内部まで付着しやすくなるとともに、貫通孔を通して間葉系幹細胞に対する老廃物の交換を容易にすることができる。また、多孔体としての孔のみならず、凹部 13 が形成されているので、間葉系幹細胞が隔壁部材 12 の表面に付着しやすくなって、十分な量の細胞を付着させることができる。
15 さらに、孔部 14 は、貫通孔 11 の一方向の流通性を良くするだけでなく、複数の貫通孔 11 同士の連通性を良くして、間葉系幹細胞等の隔壁部材 12 への滞留や老廃物交換を円滑にすることができる。

なお、本発明の技術範囲は上記実施の形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨を逸脱しない範囲において種々の変更を加えることが可能である。

20 例えば、貫通孔の形状は四角形状に限られず、ハニカム形状である六角形や、三角形、或いは円形でも構わない。また、各貫通孔の大きさは均一である必要はなく、不均一な大きさであっても構わない。

さらに、固形体としてワックスビーズに限らず、プラスチックビーズ等、焼結温度に至るまでの温度で溶解するものであればよい。また固形体の形状は球状で
25 あっても角形状であっても構わない。

また、体液は、骨髄液に限らず、末梢血、臍帯血でも良く、ES細胞、体性幹細胞、骨細胞、軟骨細胞、神経細胞等の体細胞が含まれるものであれば良い。生体組織も、骨組織のみならず、軟骨組織、筋肉組織、あるいは皮下組織等任意の生体組織を再生するために利用することも可能である。

生体組織補填材としても、生体組織に親和性のある材料なら何でも良く、生体吸収性の材料なら更に良い。多孔体でも良い。

多孔体としては、 β -TCPのみならず、スラリを形成することができるものであれば、リン酸カルシウム系セラミックス、コラーゲン、ポリ乳酸等やこれら
5 を組み合わせたものでも構わない。

(実施例)

以下、上記実施形態に係る生体組織補填材の製造方法により製造した骨補填材を用いた実施例について説明する。

上記の実施形態に係る生体組織補填材の製造方法によって製造した骨補填材を
10 用いて、骨補填体としてラットの培養骨を作製した。

まず、ラットから骨髓液を抽出し、T型フラスコで10日間一次培養を行うことによって不要成分を除去した骨髓間葉系幹細胞を含む培養細胞を生成した。

上記培養細胞をトリプシン処理後、本実施形態に係る骨補填材に播種する。培地にMEM、FBSの他にデキサメタゾンを含めて混合して幹細胞の分化を開始しさら
15 に2週間程度二次培養した。

こうして、骨髓間葉系幹細胞から分化した骨芽細胞を備える骨補填体を得た。

この骨補填体をラットの皮下に移植し、4週間後に再び取り出したところ、新しい骨組織の形成を確認することができた。

20 産業上の利用可能性

本発明の生体組織補填材によれば、貫通孔内に浸透した細胞が隔壁部材の表面に付着する際に、隔壁部材に形成されている凹部又は孔部に捕らえられる。その結果、細胞の付着性を向上して十分な量の細胞を付着させることができる。

本発明の生体組織補填材の製造方法によれば、生体組織補填材の表面積が増大
25 し細胞の付着が容易となるので多数の細胞を表面に付着させることが可能になるとともに、貫通孔を通して細胞老廃物を円滑に交換できる生体組織補填材を製造することができる。さらに、成形時に貫通孔の制御が容易になるので、移植する生体に最適な形状のものを提供することができる。

請 求 の 範 囲

1. 一方向に延びる複数の貫通孔を略同一厚さの隔壁部材によって相互に区画した形状を有する生体組織補填材。
5
2. 前記隔壁部材に、凹部又は孔部の少なくとも一方が形成されている請求項1記載の生体組織補填材。
3. ハニカム形状を有する請求項1記載の生体組織補填材。
10
4. スラリ状に形成された原料に焼結温度より低い融点を有する粒状の固形体を混合する工程と、
該固形体を混合した前記原料を成型型に供給し、複数の貫通孔を略同一厚さの隔壁部材によって相互に区画した成形体を形成する工程と、
15 該成形体を焼結する工程とを備える生体組織補填材の製造方法。
5. 前記成形体をハニカム形状に形成する請求項4記載の生体組織補填材の製造方法。

1/4

図 1

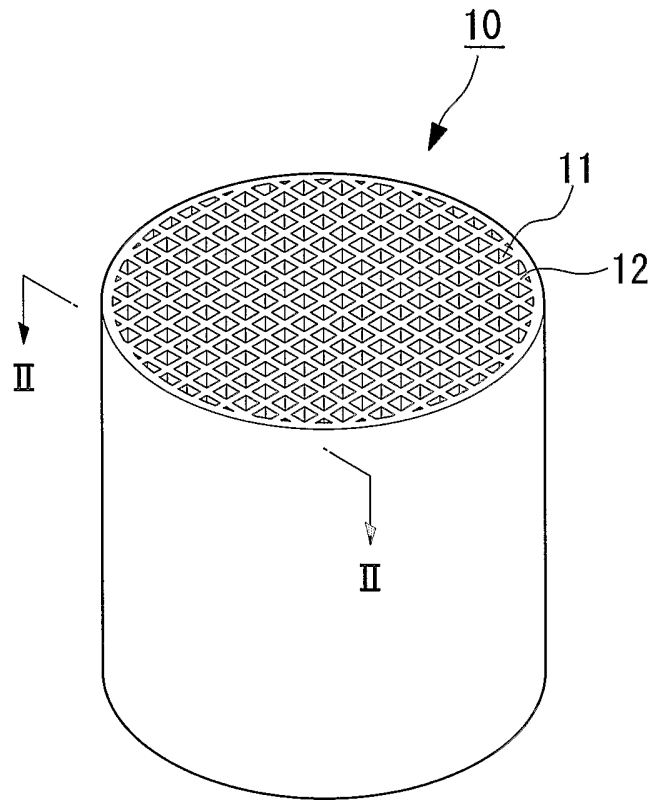


図 2 A

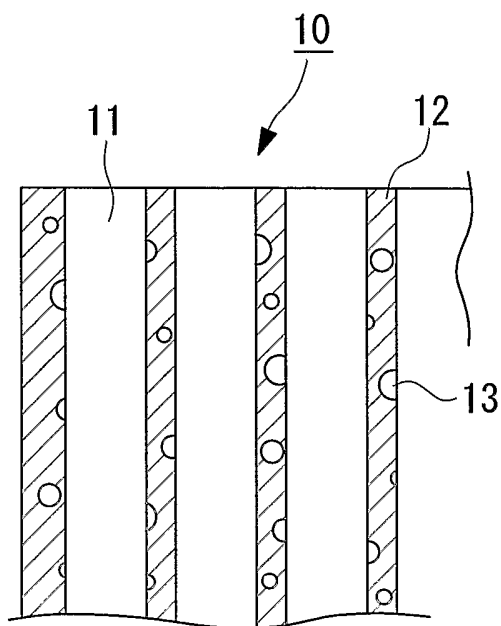


図 2 B

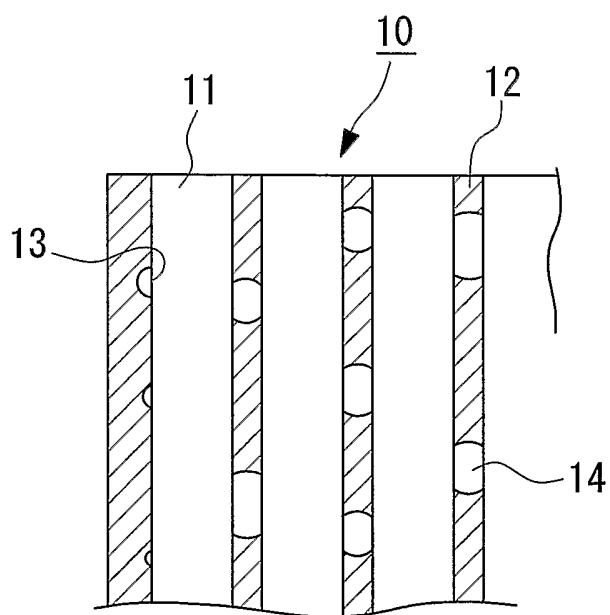


図 3

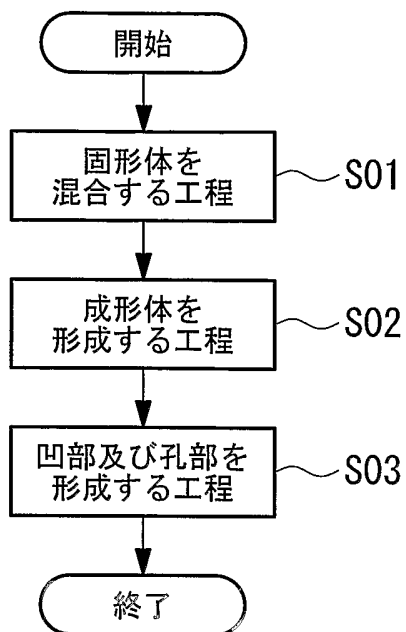


図 4

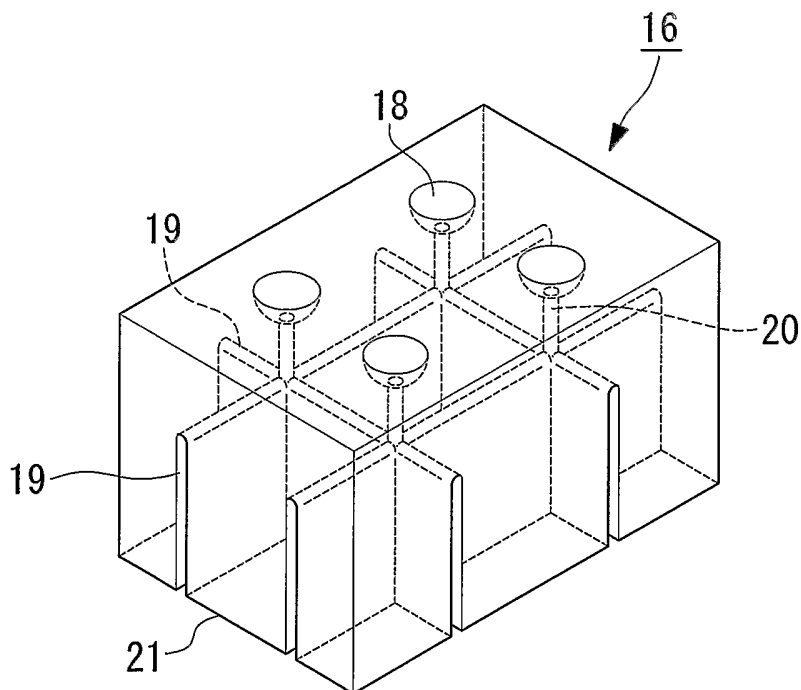
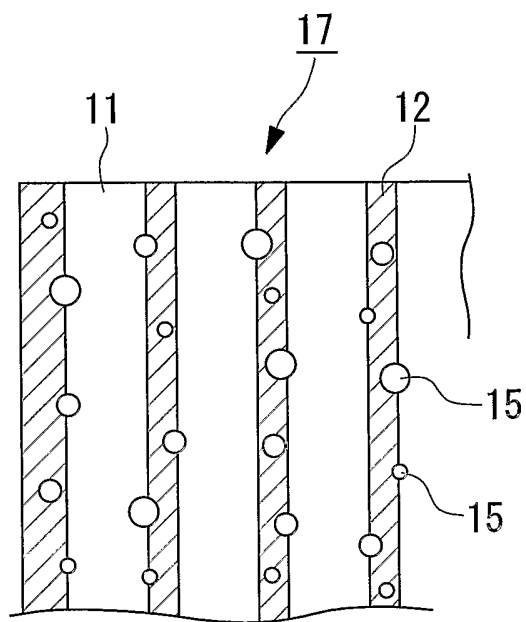


図 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/004550

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61F2/28

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)

Int.Cl⁷ A61F2/28-2/44, A61L27/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1940-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004

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 1-93473 A (Sumitomo Chemical Co., Ltd.), 12 April, 1989 (12.04.89), Full text; all drawings (Family: none)	1, 3 2, 4, 5
Y	JP 9-299472 A (NGK Spark Plug Co., Ltd.), 25 November, 1997 (25.11.97), Full text; all drawings (Family: none)	2, 4, 5
Y	JP 2003-19195 A (MMT Co., Ltd.), 21 January, 2003 (21.01.03), Full text; all drawings & US 2002/0022885 A1	2, 4, 5

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

24 May, 2004 (24.05.04)

Date of mailing of the international search report

08 June, 2004 (08.06.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int. Cl⁷ A61F 2/28

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. Cl⁷ A61F 2/28- 2/44
 A61L27/00

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 1940-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2004年
 日本国登録実用新案公報 1994-2004年
 日本国実用新案登録公報 1996-2004年

国際調査で利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 1-93473 A (住友化学工業株式会社)	1, 3
Y	1989. 04. 12, 全文, 全図 (ファミリーなし)	2, 4, 5
Y	J P 9-299472 A (日本特殊陶業株式会社) 1997. 11. 25, 全文, 全図 (ファミリーなし)	2, 4, 5
Y	J P 2003-19195 A (株式会社エム・エム・ティー) 2003. 01. 21, 全文, 全図 &US 2002/0022885 A1	2, 4, 5

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
 24. 05. 2004

国際調査報告の発送日
 08. 6. 2004

国際調査機関の名称及びあて先
 日本国特許庁 (ISA/J P)
 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)
 寺澤 忠司
 3 E 9 6 2 3
 電話番号 03-3581-1101 内線 3344