

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3653275号

(P3653275)

(45) 発行日 平成17年5月25日(2005.5.25)

(24) 登録日 平成17年3月4日(2005.3.4)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

A 6 1 F 2/08

F I

A 6 1 F 2/08

請求項の数 31 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願平5-519275	(73) 特許権者	リージェン バイオロジクス インコーポ レイテッド
(86) (22) 出願日	平成5年4月7日(1993.4.7)		アメリカ合衆国、94025 カリフォル ニア州、メンロ パーク、サンド ヒル ロード 2730、スウィート 200
(65) 公表番号	特表平7-505326	(74) 代理人	弁理士 朝日奈 宗太
(43) 公表日	平成7年6月15日(1995.6.15)	(74) 代理人	弁理士 佐木 啓二
(86) 国際出願番号	PCT/US1993/003328	(74) 代理人	弁理士 河村 洵
(87) 国際公開番号	W01993/021857	(74) 代理人	弁理士 日野 真美
(87) 国際公開日	平成5年11月11日(1993.11.11)		
審査請求日	平成12年3月29日(2000.3.29)		
(31) 優先権主張番号	872,636		
(32) 優先日	平成4年4月22日(1992.4.22)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 人工靱帯

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

1列に整列され、延伸された多数の  $0.05 \sim 0.40\text{g/cm}^3$  の低密度を有するフィラメントからなり、

前記フィラメントは、それぞれ乾燥され多孔質で嵩高く、生体適合性を有し、生体に分解吸収可能なフィブリルのマトリックスであり、前記フィブリルは、ポリマーの結合組織型成分の線維の短いセグメントであり、少なくとも前記フィブリルのいくつかは架橋されており、

前記フィラメントは、それぞれ靱帯線維芽細胞の内方成長に適應した生体に分解吸収可能な骨格を確立し、前記骨格および前記内方成長した線維芽細胞が本来の靱帯の張力を支持する

ものである人工靱帯。

【請求項2】

前記低密度フィラメントの密度が  $0.07 \sim 0.30\text{g/cm}^3$  である請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項3】

さらに  $1.0 \sim 1.3\text{g/cm}^3$  の密度を有する高密度フィラメントを含有する請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項4】

前記フィブリルが、それぞれコラーゲン、エラスチン、レチクリン、セルロース、アルギ

10

20

ン酸、キトサンおよびそれらの混合物よりなる群から選ばれたポリマーの結合組織型成分のセグメントである請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項5】

前記フィブリルが、コラーゲンのセグメントからなる請求の範囲第4項記載の人工靱帯。

【請求項6】

前記架橋が化学的架橋剤によって形成された請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項7】

前記架橋剤が、グルタルアルデヒド、ホルムアルデヒド、カルボジイミド、ヘキサメチレンジイソシアネート、ビスイミデート、ポリグリセロールポリグリシジルエーテル、グリオキザール、アジピルクロリドおよびそれらの混合物よりなる群から選ばれたものである請求の範囲第6項記載の人工靱帯。

10

【請求項8】

前記架橋剤がホルムアルデヒドである請求の範囲第7項記載の人工靱帯。

【請求項9】

前記フィラメントが、さらに前記フィブリルが散在した多数の多糖類分子からなるものである請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項10】

前記多糖類分子の少なくとも1部分が前記フィブリル間で架橋を与えるものである請求の範囲第9項記載の人工靱帯。

【請求項11】

前記フィブリルが7.5~100乾燥重量%の濃度で存在し、前記多糖類分子が0~25乾燥重量%の濃度で存在するものである請求項9記載の人工靱帯。

20

【請求項12】

前記多糖類分子が、コンドロイチン4-硫酸塩、コンドロイチン6-硫酸塩、ケラタン硫酸塩、デルマトン硫酸塩、ヘパラン硫酸塩、ヘパリン、アルギン酸、キトサン、ヒアルロン酸およびそれらの混合物よりなる群から選ばれたものである請求の範囲第9項記載の人工靱帯。

【請求項13】

前記多糖類分子が、前記マトリックス全体にわたって均一に分散されたものである請求の範囲第9項記載の人工靱帯。

30

【請求項14】

前記多糖類分子が、前記マトリックス全体にわたって不均一に分散されたものである請求の範囲第9項記載の人工靱帯。

【請求項15】

前記フィブリルが、前記フィラメント全体にわたってランダムな状態で配向されたものである請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項16】

前記フィブリルが、前記フィラメント全体にわたって整列された状態で配向されたものである請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

【請求項17】

さらに、前記フィラメントの外表面の1部分から延伸し、分解吸収可能であり、生体適合性を有するメッシュからなる請求の範囲第1項記載の人工靱帯。

40

【請求項18】

(a) コラーゲン、エラスチン、レチクリン、セルロース、アルギン酸、キトサンおよびそれらの混合物よりなる群から選ばれたポリマーの結合組織型成分の純粋な多数の線維を供給し、

(b) 前記線維を多数のセグメントに切断し、前記線維よりも短いフィブリルを形成し、

(c) 前記フィブリルを、多数の延伸された0.05~0.40g/cm<sup>3</sup>の低密度を有するフィラメントに集め、

(d) 前記フィラメント中の前記フィブリルの少なくとも1部分を架橋させ、それによっ

50

て前記フィラメントは、いずれも靱帯の線維芽細胞の内方成長に適應される、乾燥され、多孔質で生体に分解吸収可能で生体適合性を有する嵩高なマトリックスを形成し；そして（e）多数の前記フィラメントを相互に隣接した関係で一列に並べ、前記一列に並んだフィラメントで前記人工靱帯を形成するステップからなる人工靱帯を製造する方法。

【請求項19】

前記供給ステップ（a）が、さらに多糖類分子を供給することを含む請求の範囲第18項記載の方法。

【請求項20】

前記供給ステップ（a）が、さらにコンドロイチン4-硫酸塩、コンドロイチン6-硫酸塩、ケラタン硫酸塩、デルマトン硫酸塩、ヘパラン硫酸塩、ヒアルロン酸、アルギン酸、キトサンおよびそれらの混合物よりなる群から選ばれた多糖類分子を供給することを含む請求の範囲第19項記載の方法。

10

【請求項21】

前記切断ステップ（b）が、前記ポリマー線維を前記線維よりも小さいセグメントに機械的に分解させ、前記フィブリルを形成させることを含む請求の範囲第18項記載の方法。

【請求項22】

前記集めるステップ（c）が  
 （i）前記フィブリルの分散体を供給し；  
 （ii）前記フィブリルの分散体をフィラメントの形状に形成させ、；そして  
 （iii）前記フィラメントの形状を有する分散体を乾燥させ、フィラメントを形成させること  
 を含む請求の範囲第18項記載の方法。

20

【請求項23】

前記形成ステップ（ii）が、前記分散体をシリンジからコアルセルベーション槽に押し出すことを含む請求の範囲第22項記載の方法。

【請求項24】

前記形成ステップ（ii）が、前記フィブリルが成型型内で、前記分散体全体にわたってランダムに配向されたフィラメントの形状を有する成型型内に前記分散体を配置することを  
 含む請求の範囲第22項記載の方法。

30

【請求項25】

前記形成ステップ（ii）が、前記フィブリルが成型型内で、前記分散体全体にわたって均一に配向されたフィラメントの形状を有する成型型内に前記分散体を配置することを  
 含む請求の範囲第22項記載の方法。

【請求項26】

前記乾燥ステップ（iii）が、前記フィラメント形状の分散体を凍結乾燥させ、 $0.05 \sim 0.4 \text{ 0g/cm}^3$ の密度を有する低密度フィラメントを形成させることを含む請求の範囲第22項記載の方法。

【請求項27】

前記架橋ステップ（d）が、前記フィラメント中の前記フィブリルの少なくとも1部分を架橋させるのに十分な時間で前記フィラメントを化学架橋剤と接触させることを含む請求の範囲第18項記載の方法。

40

【請求項28】

前記架橋ステップ（d）が、前記フィブリルをグルタルアルデヒド、ホルムアルデヒド、生体適合性を有する2官能性アルデヒド、カルボジイミド、ヘキサメチレンジイソシアネート、ビス-イミデート、ポリグリセロールポリグリシジルエーテル、グリオキザールおよびそれらの混合物よりなる群から選ばれた化学的架橋剤と接触させることを含む請求の範囲第27項記載の方法。

【請求項29】

前記架橋ステップ（d）が、前記セグメントをホルムアルデヒドと接触させることを含む

50

請求の範囲第28項記載の方法。

【請求項30】

前記架橋ステップ(d)が、前記化学的に架橋されたフィラメントを、加熱および真空を含む加熱脱水架橋操作に供する付加的ステップをさらに含む請求の範囲第27項記載の方法。

【請求項31】

前記一列に整列させるステップ(e)が、多数の前記フィラメントをより合せるかまたは編み、人工靭帯を形成させることを含む請求の範囲第18項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

発明の背景

本発明は、移植可能な医療用具および人工器官の分野にある。さらに詳しくは、本発明は、人工靭帯および靭帯組織の再生のための生体内での骨格として有用なデバイスならびにそれらの製造方法および使用方法に関する。

靭帯は、ヒトおよび動物において、通常、関節を形成する1つの骨ともう1つの骨とを接続する。該靭帯は、関節で、関節の安定性の維持、関節の動きの誘導および関節の伸延力に対する耐性のための機構として作用する。靭帯なくしては、ヒトおよび動物は、直立姿勢を維持することができないであろう。靭帯の損傷は、正常な関節の機能的構造の回復、または関節の安定性の損失、異常な関節の挙動に対する不適切な修復およびばあいにより、異常な関節表面の摩損および裂傷の結果として痛みのある関節炎を導きうる標準的な生理学的修復方法に帰結する。一般に、関節の外側にあり、豊富な血管の供給のなかに浸された靭帯は、損傷後に正常に治癒するためのよい機会を有する。関節内靭帯と呼ばれている関節の内側にある靭帯は、一般に関節液中に浸されており、比較的乏しい血液の供給を有し、十分に癒されない。

先行技術において、傷ついた靭帯の治療は、一般にさらなる変形応力から靭帯を保護する試みおよびそれにより標準的な生理学的修復方法を行なうかまたは縫合、置換もしくは切除を伴う外科的修復を試みることによってなされている(ジョンソン、アール・ジェイ(Johnson, R.J.)ら(1992)ジャーナル・オブ・ボーン・アンド・ジョイント・サージャリー(J. Bone Joint Surg.) 74 - A:140 - 151;アーノルド(Arnold)ら(1979)アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン(Am. J. Sports Med.) 7:305;マックダニエル(McDaniel)ら(1983)クリニカル・オルソペディクス・アンド・リレーテッド・リサーチ(Clin. Orthop.) 172:158;ロベレ(Rovere)ら(1983)アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン(Am. J. Sports Med.) 104:205)。非手術的または手術的修復で、靭帯組織の治療および再生を行なってもよい。一般に、もし靭帯が関節内に位置しているのなら、修復された組織は、通常、最初の組織よりも劣り、正常の接合力に耐えるのに時折不適切である。数多くの初期修復の不適切さを考慮して、靭帯組織を天然および人工の材料に置き換えるために、以前よりいくつかの試みがなされている。不幸にも、これもまた、それらの置換材料に関する重大な問題に帰結した。

とくに、先行技術における靭帯の置換は、自己移植(フリードマン(Friedman)ら(1985)クリニカル・オルソペディクス・アンド・リレーテッド・リサーチ(Clin. Orthop.) 196:9)、異型移植(ウェブスター(Webster)(1983)クリニカル・オルソペディクス・アンド・リレーテッド・リサーチ(Clin. Orthop.) 181:238)、異種移植(「プロステティック・リガメント・レコンストラクション・オブ・ザ・ニー(Prosthetic Ligament Reconstruction of the Knee)」(フリードマン(Friedman)とフェーケル(Ferkel)(編者)、マックマスター(McMaster)(1988)、ダブリュー・ビー・サウンダーズ(W.B. Saunders)、フィラデルフィア(Philadelphia)、96 - 100頁)によってなされるか、または合成材料(ウッズ(Woods)(1985)オルソペディック・クリニクス・オブ・ノース・アメリカ(Orthop. Clin. North Am.) 16:227)を用いることによってなされる。自己移植、または傷ついた靭帯をそれ自身の組織に置換することは、今でも好ましい物理的療法である(アミエル(Amiel)ら(1986)アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン(Am. J. Sports Med.) 14:449 - 462;ワレン(Warren)ら(1990)エイエイオーエス(AA

10

20

30

40

50

OS) 57回アニュアル・ミーティング (Annual Meeting)、アナハイム (Anaheim)、カリフォルニア、84頁)。自己移植は、供給者と受容者とのあいだでの病気の伝染の危険、免疫合併症および果物反応からの合併症を軽減する。しかしながら、置換組織が取り出される靭帯部分が弱められること、供給者の組織を取り出し、かつ傷ついた組織を置換する大規模な外科的手法、ならびに置換された組織の不適切な機械的強度は、修復の他の方法の調査を促進させた。

異型移植、または傷ついた靭帯を他の者からの組織 (保存された生組織または化学的に加工が施された組織) で置換することが行なわれている (ノイエス (Noyes) ら (1990) ジャーナル・オブ・ボーン・アンド・ジョイント・サージャリー (J. Bone Joint Surg.) 72 - A:1125 - 1136; シャイン (Shine) ら (1990) アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン (Am. J. Sports Med.) 18:457 - 465; ウェブスター (Webster) (1983) クリニカル・オルソペディクス・アンド・リレーテッド・リサーチ (Clin. Orthop.) 181:23 8; ブライト (Bright) ら (1981) ジャーナル・オブ・ペディアトリック・オルソペディクス (J. Pediatr. Orthop.) 1:13)。この方法は、本来、宿主の移植に対する免疫応答および保存と殺菌工程の際の失敗により、長時間にわたってただ単に部分的に成功しているだけである (ジャクソン (Jackson) ら (1990) アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン (Am. J. Sports Med.) 18:1 - 10; ミナミ (Minami) ら (1982) ハンド (Hand) 14:111)。加えて、病気の伝染の危険は、異型移植にとくに重要である (プリウエット (Prewett) ら (1991) トランザクションズ・オブ・ザ・オルソペディック・リサーチ・ソサイエティ (Orthop. Res. Soc.) 16:456)。

異種移植または動物源からの組織を用いて傷ついた靭帯を置き換えることが試みられている。しかしながら、移植の際に、有毒で免疫学的な物質の存在を導く不適切な材料の加工のため、この方法は、ほとんど成功していない (テイツゲ (Teitge) (1988) ザ・クルーシャル・リガメント (The Crucial Ligament)、(フィーギン (Feagin) 編) ニュー・ヨーク (New York)、チャーチル・リビングストン (Churchill - Livingston)、529 - 534頁)。

ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレート、カーボン、ポリテトラフルオロエチレンなどの種々の合成ポリマーが靭帯の置換のためにつくられている (クラエス (Claes) ら (1991) トランザクションズ・オブ・ザ・オルソペディック・リサーチ・ソサイエティ (Orthop. Res. Soc.) 16:598)。靭帯置換デバイスは、永久移植片として機能することを意図しており、継続的に関節内摩耗および裂傷に供される。しかしながら、現在の合成ポリマーの靭帯デバイスは、首尾よく靭帯の代用品として機能していない。そのようなデバイスは、靭帯の破断、接合片減退と生成滑膜炎、反対の接合面の摩擦、伸縮性接合部の壊死組織の切除と靭帯の切除による感染、持続性滲出および骨の空洞の拡張のために失敗している (ウッズ (Woods) ら (1991) アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン (Am. J. Sports Med.) 19:48 - 55; ウッズ (Woods) (1985) オルソペディック・クリニックス・オブ・ノース・アメリカ (Orthop. Clin. North Am.) 16:227)。かくして人工材料は、一般に接合部の繰り返しの負荷に対して十分に耐えられないかまたは充分には機械的に適合せず、正常の接合部の機能を決して修復させるようなことは示さなかった。

組織の修復および再生に対する分解吸収可能な (resorbable) テンプレートまたは骨格の概念は、近年、厳格な注意を受けている。皮膚、神経などの組織および半月の修復は、合成および天然の吸収性ポリマーを用いて試みられている。たとえば、ヤナス (Yannas) ら (米国特許第4,060,081号明細書) は、グリコサミノグリカンおよび天然コラーゲンで内胚葉移植片をつくった。ニールス (Nyiles) ら (トランザクションズ・オブ・ザ・アメリカン・アソシエーション・フォー・アーティフィシャル・アンド・インターナル・オーガニズ (Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs) (1983) 29:307 - 312) は、末梢神経再生用に合成の分解吸収可能なポリエステルを使用することを報告した。リ (Li) (米国特許第4,963,146号明細書) は、神経再生用骨格として、多孔質半透性の分解吸収可能なコラーゲンの導管を用いた。

しかしながら、解剖学的構造の再構築に適用されている前記技術を用いたとしても、人工

10

20

30

40

50

靱帯として成功し、全体的に分解吸収可能な材料またはその類似物から構成された構造は、いまだ開発されていない。それゆえ、必要とされているものは、ソフトで強く分解吸収可能であり、靱帯の成長を支持しうる生体適合性を有する (biocompatible) 材料からなる骨格を含む人工靱帯である。

したがって、本発明の目的は、生体力学的に正常の接合力に耐え、周囲の軟骨を保護する負荷で機能しうる靱帯の代替物または人工器官を提供することである。

もう一つの目的は、生体力学的に関節に安定性を与えうる靱帯の代替物または人工器官を提供することである。

さらにもう一つの目的は、生体内で靱帯の線維芽細胞の浸潤および靱帯の再生のための骨格として一時的に作用する分解吸収可能な人工器官を提供することである。

さらなる目的は、靱帯の人工器官の挿入と固定の方法を提供することである。

もう一つの目的は、生体内で靱帯組織を再生する方法を提供することである。

さらなる目的は、人工靱帯をつくりうる方法を提供することである。

#### 発明の要約

本発明は、靱帯の形と役割を引き受ける関節の近傍および中に移植するための生体適合性を有し、生体に分解吸収可能 (bioresorbable) な構造を提供する。この人工靱帯は、本来の靱帯組織の物性を有する組織の再生のための骨格を促進し、かつ提供し、それにより、骨格および内方成長した線維芽細胞が本来の靱帯の張力を支持する。

本発明の人工靱帯は、相互に近接した関係で実質的に整列した、多数の実質的に整列し、延伸したフィラメントである。これらのフィラメントは、靱帯の線維芽細胞の内方成長に適合した生体に分解吸収可能な骨格を確立し、それらの内方成長した細胞とともに、本来の靱帯の張力を支持する。

各フィラメントは、乾燥された多孔質の嵩高く、生体適合性を有し、生体に分解吸収可能なフィブリルのマトリックスであり、少なくともいくつかのものは、架橋されている。ここで用いられる「フィブリル」は、人体、動物組織、植物、昆虫またはそれらの類似物などからえられたものであり、本来のポリマーの結合組織型成分のセグメントまたは線維の短斤である。好ましい結合組織型成分は、コラーゲン、エラスチン、レチクリン、セルロース、アルギン酸およびキトサンを含み、もっとも好ましいものは、I型コラーゲンである。

フィラメント中のフィブリルのうちのいくつかは、分子内および/または線維間架橋を介して結合されている。本発明の1つの態様において、これらの架橋は、グルタルアルデヒド、ホルムアルデヒド、カルボジイミド、ヘキサメチレンジイソシアネート、ビスイミデート、グリオキザール、ポリグリセロールポリグリシジルエーテルおよびアジピルクロリドよりなる群から選ばれた1種などの化学架橋剤によって形成される。好ましい化学薬品は、ホルムアルデヒドである。

本発明のいくつかの態様において、フィブリルは、マトリックスのいたるところでランダムに配向している。他の形態においては、これらのフィブリルは、フィラメントの軸に沿って広く配向している。

好ましい人工靱帯は、またフィブリルが散在した多糖類分子を含む。本発明の種々の形態において、これらの多糖類は、直接フィブリルと共有架橋の形成に加わるか、またはからみ合った形態や安定したフィブリル-多糖類複合物を形成するインターロック機構を介して機械的にフィブリルと相互に作用する。それだけで、これらの多糖類分子は、人工靱帯に潤滑性、親水性および強度を与える。好ましくは、これらの多糖類分子は、1000よりも大きい分子量を有し、コンドロイチン4-硫酸塩、コンドロイチン6-硫酸塩、ケラタン (keratan)、デルマタン (dermatan) 硫酸塩、ハパラン (haparan) 硫酸塩、ヘパリン、ヒアルロン酸、アルギン酸、キトサン、セルロースおよびそれらの混合物よりなる群から選ばれる。これらの多糖類は、それぞれの分子として人工靱帯全体に均一に分散されていてもよく、あるいはその構造が異なった領域で量を変えた状態で存在していてもよい。

そのマトリックスは、約75~100乾燥重量%の天然および/または合成繊維と約0~25乾燥重量%の多糖類分子を含み、その比率は、その構造全体で一定であっててもよく、あるいは

10

20

30

40

50

は変化していてもよい。

本発明の1つの好ましい態様において、人工靭帯は、主として、約0.05~0.4gマトリックス/cm<sup>3</sup>、そしてより好ましくは約0.07~0.3gマトリックス/cm<sup>3</sup>（ここで、「gマトリックス/cm<sup>3</sup>」は、そのマトリックスの1立方cmにおけるグラム数を示す単位である）の密度を有するより多孔性または「低密度」のフィラメントと、約1.0~約1.3gマトリックス/cm<sup>3</sup>の範囲の密度を有するより多孔性でないまたは「高密度」のフィラメントの2つの密度のフィラメントの複合物である。

1つの態様において、人工靭帯は、挿入および骨に固定する際に手助けとなる、一端でループを有するフィラメント状のブレードと他端で直線状のフィラメントの束の形態を有する。もう1つの態様において、多数のフィラメントは、たがいにより合わされている。

本発明のさらにもう1つの態様において、人工靭帯は、さらにマトリックスの外表面の部分について生体に分解吸収可能であり、生体適合性を有する材料から構成されたメッシュまたは膜からなる。そのメッシュまたは膜は、人工靭帯を仮りのアンカーリング（anchoring）機構を与えることにより、関節に移植する際に手助けとなる。

本発明は、また前記したタイプの人工靭帯をつくる方法を含む。一般に、その方法は、以下のステップを含む。ポリマーの結合組織成分の多数の基本的に純粋な線維が与えられ、多数のセグメントまたはその線維よりも短いフィブリルに切断される。切断は、たとえば機械的分解によってなされてもよい。そのフィブリルは、つぎに多数の延伸されたフィラメントに集められ、フィラメントのなかでフィブリルの少なくとも一部分が架橋するのに十分な時間で架橋剤と接触される。そのフィラメントは、つぎにたがいにより近接した関係に整列され、人工靭帯が形成される。多糖類分子は、多糖類含有人工靭帯を形成するために、集めるステップの前にフィブリルに加えてもよい。

本発明の1つの態様において、その集めるステップは、フィブリルの分散体を与え、その分散体をフィラメント状に形成させ、それを乾燥させてフィラメントを形成させることによってなされる。その形成のステップには、その分散体をシリンジから高濃度の中性塩のコアセルベーション槽に押出すことを含めることができる。あるいは、その分散体を、全体にわたってフィブリルがランダムにまたは均一に成型型の中で配向するようなフィラメント形状を有する成型型に入れる。コアセルベーション化されたフィブリルの部分は、凍結乾燥され、低密度フィラメントがえられ、他の部分は、風乾され、高密度フィラメントがえられる。低および高密度のフィラメントは、架橋され、強度および人工器具の生体内安定性が向上する。

本発明の好ましい態様において、架橋のステップは、フィブリル間および分子間架橋を形成する化学架橋剤を用いて行なわれる。本発明の他の態様においては、付加的な架橋ステップは、化学的に架橋したマトリックスを熱および真空を用いて加熱脱水架橋法に供することにより、行なわれる。

さらに、本発明は、生体内で靭帯組織を再生させる方法を含む。この方法は、本発明の人工靭帯を与え、該人工靭帯を公知の外科的手法によって関節内に移植することを含む。本発明は、つぎに実施態様と関連づけて記載されるであろう。しかしながら、種々の変更、追加および削除は、本発明の精神または範囲から逸脱しないかぎりなしうる。

#### 【図面の簡単な説明】

本発明それ自体と同様に、種々の特徴を有する本発明の前記および他の目的は、以下の図面とともに読めば以下の記載からより十分に理解されるであろう。

図1Aおよび1Bは、関節の靭帯の正常な位置（図1A）および傷ついた関節の靭帯（図2B）を示すヒトの膝の関節の概略説明図である。

図2A~2Eは、本発明による模範的な人工靭帯の透視図である。

図3は、図2Aの人工靭帯の透視断面図である。

図4は、本発明の低密度フィラメントの透視断面図である。および

図5は、本発明の高密度フィラメントの透視断面図である。

#### 発明の開示

靭帯の組織が再生するような正しい物理的および化学的環境が与えられたなら、靭帯の線

10

20

30

40

50

維芽細胞は、靭帯の組織を再生する能力を有する（フランク（Frank）ら、（1983）、ジャーナル・オブ・オルトパエディック・リサーチ（J.Orthopaed.Res.）、1、179～188）。さらに、靭帯の線維芽細胞は、フィブリンのかたまりで満たされた欠損に移動し、明らかに、靭帯に類似した組織を形成することが可能である（フランク（Frank）ら、（1983）、アメリカン・ジャーナル・オブ・スポーツ・メディスン（J.Sports Med.）、11、379～389）。適切なマトリックス骨格（scaffold）が靭帯の欠損に存在するとき、そのような靭帯の組織が形成されるであろう。他の健全な関節での損傷した靭帯の完全な再生は、正常な関節の動きと安定性を与え、それによって関節炎の変化が防がれる。

生体適合性を有し、生体に分解吸収可能なポリマーの結合組織成分の線維の短いセグメントからつくられた人工靭帯を、正常な関節の動きと安定性を与えるために、膝、肩またはほかの関節に外科的に移植しうることが見出されている。この人工靭帯は、また移植されたデバイスの物理的特性により内方成長が促される靭帯組織の再生のための骨格として作用する。

図1Aは、ヒトの膝関節10における本来の前十字靭帯10の正常な位置の図説を示す。この靭帯は、外側半月16と内側半月19とのあいだで大腿骨12から脛骨14までを結ぶ。本発明の人工靭帯は、そのような本来の靭帯の機能を置き換えるかまたは高めるために用いられうる。図1Bは、本発明の人工靭帯が修復に用いられうる、典型的な関節の靭帯の損傷50を示す。

模範的な人工靭帯10を図2Aに示す。人工靭帯10は、一般に中心軸11に沿って伸びる多数の実質的に一列に整列され、延伸されたフィラメント12である。この態様では、フィラメント12は編まれるかまたは軸11を中心にして編み合わされる。ブレース（brace）またはチューブ13は、フィラメント12を一体化させる。図2Cに示されたほかの態様では、フィラメント12は、より合わせられロープ状の構造を形成している。相互に隣接する関係で一列に整列されたフィラメントを含む構造のほかのタイプもまた有用である（図2B、2Dおよび2E）。

人工靭帯は、本来、合成または生合成のポリマーの結合組織または植物の結合組織状成分の、生体適合性を有し、生体に分解吸収可能ないかなる線維からつくられてもよい。そのような材料の例には、コラーゲン、レチクリン、エラスチン、セルロース、アルギン酸およびキトサンが含まれる。以下の手順は、ウシのアキレス腱からI型コラーゲンを調製するために用いられてもよい。

最初に腱から筋膜および外部組織を落とし、刻む。刻まれた腱をpH7.0の1M NaCl中で抽出し、非共有結合の相互作用を介してコラーゲンと関係した糖タンパク質およびプロテオグリカンのみならず、新たに合成され、安定なフィブリルにまだ含まれていない、少量のコラーゲン分子を除去する。塩化カリウムなどのようなほかの塩などを塩化ナトリウムの代わりとして用いることができる。

細胞膜またはコラーゲンの組織と関係のある脂質は、トリトン（Triton）X - 100（シグマ・ケミカル・カンパニー社（Sigma Chemical Co.）、セントルイス、ミズリー州）のような洗浄剤で最初に抽出し、ついでエーテル - エタノールの混合物で抽出することによって除去される。トリトンX - 100の濃度は、通常約2%～4%であるが、好ましくは約3%である。エーテル - エタノールの好ましい混合物は、通常約1:1の比率（v/v）である。抽出の期間は、通常約8時間～約96時間であるが、好ましくは約24～48時間である。

さらなる精製は、酸性および塩基性の条件下で腱を抽出することによって行なわれてもよい。酸性および塩基性の両者の抽出は、非共有結合の分子間の相互作用を弱め、非共有結合的に付着した糖タンパク質、グリコサミノグリカン（GAGs）およびほかの非コラーゲン分子の分離を促進する。

アルカリ条件下での腱の抽出は、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ または $\text{Na}_2\text{SO}_4$ などの構造的に安定な塩の存在下で $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、NaOHなどを用いてpH約13で8～96時間のあいだ腱を処理することによってなされ、潜在的なコラーゲンの変性の危険が最小にされる。アルカリ処理により、コラーゲンマトリックスから非共有結合的に結合した糖タンパク質およびGAGsが分離される。アルカリはまた、ケン化により残っている脂質を除去する。

10

20

30

40

50



酸抽出は、構造的に安定な塩の存在下で3よりも小さいpHで行なわれてもよい。酢酸、塩酸などの酸が用いられてもよい。アルカリ抽出のように、酸抽出は、非共有結合的に結合した糖タンパク質およびGAGsを除去する。

分子(テロペプチド)の非三重らせんの部分は、分子間の架橋形成が含まれる。それらは、弱い抗原であり、ペプシンやトリプシンなどのプロテアーゼによる攻撃を受けやすい。このようなプロテアーゼを用いた延長された消化(prolonged digestion)により、フィブリルが個々の分子に分離する。しかしながら、もし消化工程が、最大のテロペプチドが完全に分離せずに除去されるように適切に制御されれば、機械的な強度をほとんど有していなくてもフィブリルの免疫原性はさらに減少するであろう。たとえば、分子のコラーゲンを単離するために、ペプシンを用いて皮膚または腱を消化させることが、酵素：コラーゲンの比率が約1:10(w/w)で約24~96時間、室温よりも低い温度で通常行なわれる。たとえば、約1:100(酵素：コラーゲンw/w)の比率で約24~96時間、4でなされる限定されたペプシンの消化により、フィブリルがえられてもよい。

10

この方法によってえられるI型コラーゲンフィブリルは、本発明の人工靭帯をつくるために用いられる。しかしながら、生合成時に産出されるコラーゲンまたはその類似体などのほかの種からえられたコラーゲンが人工靭帯の製造の際に用いられてもよいということは、評価されるにちがいない。これらの線維は、線維の密度がマトリックス全体にわたって実質的に均一であるように実質的に縦方向に引き伸ばされるように配向されてもよい。

以下の一般的な手順は、人工靭帯の製造に用いられてもよい。

精製された結合組織の線維をリン酸緩衝生理食塩水溶液中でpH7.4で膨張させる。膨張させた繊維をつぎに均質化ステップに供し、タンパク質を変性させることなく、繊維をより短いフィブリルにまでさらに分解させる。分解ヘッドと適合させたシルバerson・ホモジナイザー(Silverson Homogenizer)を用いるような低剪断力下で均質化することが好ましい。均質化された結合組織をつぎに最初に40メッシュを介して、ついで100メッシュのステンレス鋼製スクリーンでろ過し、均質化されていない大きい線維を除去する。こうして、均一に分散された結合組織のフィブリルは、高密度および低密度のフィラメントをつくるのに用いることができる。

20

フィラメントを形成させる方法の1つに、押し出し法が含まれる。簡単に言えば、コラーゲンまたはほかのフィブリルの分散体(2%~4%w/v)を、一方にピストン-駆動デバイス(piston-driven device)が、他方にシリンジポンプデバイスなどのニードルが設けられたリザーバに供給する。分散体は、連続的で一定のピストン運動を通してニードルを介して押し出され、連続的で一定流量の分散体が生じる。1%NaClが存在したpH4.7の酢酸塩緩衝溶液のコアセルベーション槽に湿潤フィラメントを押し出してもよい。その代わりに、5~20%NaClを含有した塩の溶液槽に湿潤フィラメントを押し出してもよい。フィラメントを形成させるもう1つの方法には、分散体をフィラメントの形状を有する成形型に配置するかまたは集めることを含む。所望の適用に応じて分散体中のフィブリルを型内でランダムにまたは均一に配向させてもよい。型内での均一な配向は、たとえば剛毛ブラシを用いて分散体を型内に直接塗布することによって行なわれてもよい。

30

人工靭帯は、多孔質の低密度のフィラメントを含有し、また強度を増加させるために高密度のフィラメントを含有してもよい。典型的な人工靭帯は、約0.05~約0.4g/cm<sup>3</sup>、好ましくは約0.07~約0.3g/cm<sup>3</sup>の密度を有する低密度フィラメント約10%~約50%と、約1.0~約1.3g/cm<sup>3</sup>の密度を有する高密度フィラメント約50%~約90%とからなる。

40

低密度フィラメントを形成するためには、湿潤フィラメントをコアセルベーション槽から取り出し、凍結乾燥させる。これらの凍結乾燥されたフィラメントは、高多孔質であり、高引張強度を有しない。多孔性および強度は、フィラメントを伸ばし、ついでフィラメントを架橋剤にさらすことによって調節される。ホルムアルデヒドを用いた蒸気架橋が好ましい。その代わりに、伸ばされたフィラメントは、当該技術においてよく知られている方法で熱および真空中で加熱脱水処理によって架橋されてもよい。

高密度フィラメントは、つぎのようにしてえられる。フィラメントは、前記したように、分散体(2~4%w/v)から押し出される。しかしながら、湿潤フィラメントを集めたのち

50

、その湿潤フィラメントをフードの下で風乾させ、与えられた直径のコラーゲンフィラメントをうる。風乾されたフィラメントを、ひきつづきグルタルアルデヒド、ホルムアルデヒドなどの当該技術においてよく知られている架橋剤を用いて溶液相中で、またはホルムアルデヒド蒸気にさらすことによるという当該技術でよく知られている蒸気相中でもまた架橋される。

前記フィラメントは、そののうち高密度および/または低密度フィラメント12(図2A)の3またはそれ以上の束20のマルチフィラメントブレード、2またはそれ以上の束ヘリックス(図2B)、または1本のよりがかけられた束(図2C)あるいはよりがかけられていない束(図2D)を形成するのに用いることができるマルチフィラメントの束20などの望ましい形状に処理される。図2Eは、図2Dに示されたものと同様の態様20を示し、ループ22は、人体

10

内で人工靭帯を固定するのに用いるためにそれぞれ端部で形成されている。図2Aに示されるように、編まれたフィラメントの靭帯デバイスをつくるのに、以下の操作を用いてもよい。高密度フィラメント約100~300と低密度フィラメント約50~150を有する、2:1(w/w)の比の高密度および低密度フィラメントは小さい束に縦に結合される。3つの束は、最初に中間長さで編まれ、ついで編まれた領域で折りたたまれ、ひねりとループ22が形成される。6つの束は、そののうち編まれる。靭帯の端部は、ポリラクテートのメッシュチューブのような分解吸収可能なポリマーのメッシュチューブ13に封じられている。かくして編まれた靭帯は、コラーゲン分子に負担をかけることなく容易に10~15%伸びることができる。

架橋されたデバイスは、本来の靭帯の性質、すなわち機械的応力に耐え、そして関節を安定化させる能力に似させる親水性および弾性度を十分に保持する。加えて、その構造は、細胞浸潤、細胞外マトリックスの合成および付着に対して理想的な環境を与え、結果として本来の靭帯組織を再生する。

20

多糖類をフィラメント中のフィブリル全体に分散させてもよい。多糖類は、潤滑油としておよび/またはフィブリル間の分子間架橋として作用するであろう。有用な多糖類の架橋は、コンドロイチン4-硫酸塩、コンドロイチン6-硫酸塩、ケラタン硫酸塩、デルマトン硫酸塩、ヘパラン硫酸塩、ヘパリン硫酸塩、アルギン酸、キトサンおよびヒアルロン酸よりなる分子の群の少なくとも1つから典型的に構成される。前記多糖類の分散体は、フィブリルの分散体全体にわたって均一であることが好ましく、たとえば約1~25%(w/w)の範囲であってもよい。

30

分子間架橋結合は、当該技術でよく知られている加熱脱水法(加熱および真空)によってもまた行なうことができる。この手法は、強度を増加させるために、化学的架橋のあとで付加的ステップとして行なうことができる。

架橋されたデバイスは、生体内での安定性が充分である約55~85のあいだで、好ましくは約65~75のあいだで、比較的高い熱安定性を有する。このことは、試薬の濃度、温度、pHおよび時間を含む架橋条件の操作を介して行なってもよい。

前記および以下の例における方法によって、図2に示された形態の人工靭帯が以下の表1にあげられた特性を有することが解されるであろう。

表1

### 1. 物理的特性

40

#### a. 密度 (g/cm<sup>3</sup>)

低密度フィラメント	0.05~0.4
高密度フィラメント	1.0~1.3

#### b. 引張強度 (ニュートン)

初期	300~600
組織の内方成長後	1000~3000

c. 長さ (cm)	15~17
------------	-------

### 2. 成分

#### a. 線維

I型またはI型+II型

50

コラーゲン（重量％） 75～100  
 b.多糖類（重量％） 0～25

以下の非限定的な実施例は、本発明の製造方法および人工靱帯の生体内での試験を述べている。

#### 実施例 1

##### 精製された I 型コラーゲンの調製

###### A) 組織

ウシ、ブタまたはヒツジのアキレス腱をUSDAで認可された屠殺場からえる。動物の好ましい年齢は、12～18カ月のあいだである。細菌の混入および組織の分解を最小限にするために指定された工程を除く、精製工程では組織を保冷する。

10

###### B) 機械的な分解

注意深く選択した腱に付着組織を最初に機械的にそぎ取る。そののちに、腱を刻むかまたは切断して細片とし、過剰量（10倍量）の冷水で洗浄し、残余の血中タンパク質および水溶性物質を除去する。

###### C) 塩の抽出

洗浄した腱を10倍量のpH7.4の5%NaCl、0.1Mリン酸塩緩衝液で24時間抽出し、塩可溶性物質を除去する。塩で抽出された腱を約10倍量の水で繰り返して洗浄し、塩を除去する。

###### D) 脂質の抽出

材料を3%トリトン（Triton）X-100で24時間抽出する。洗浄剤は、水で広範囲にわたって洗浄することによって除去される。そののち、材料を3～4倍量のエーテル-エタノール（1:1vol/vol）で24（±2）時間抽出し、脂質含量をさらに最小限にする。脂質が抽出された材料を水中で広範囲にわたって洗浄し、エーテルおよびエタノールを除去する。

20

###### E) 酸および塩基抽出

材料を酸性および塩基性の抽出に供し、非コラーゲン物質を除去する。アルカリ抽出は、3～4倍量のpH13～13.8の0.5M NaOHを用いて1.0M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の存在下で室温中で24（±2）時間穏やかに攪拌しながら行なう。アルカリ抽出に続いて、HClを用いてpHを中和する。そののち、濃縮した乳酸を0.2Mの最終濃度のものに加えることによってpHを2.5に調整する。酸抽出は、攪拌しながら24（±2）時間続ける。

###### F) 制限されたタンパク質の消化

酸で膨張した腱をつぎにペプシンを用いて24（±2）時間で4で制限されたタンパク質の消化に供する（酵素：コラーゲン=1:100w/w）。ペプシンおよびテロペプチドは、透析により除去される。

30

1M NaOHまたはHClを用いて、つぎにその等イオン点にpHを調整するか、またはNaClを用いてイオン強度を0.7にまで調整することにより、膨張したフィブリルの材料をコアセルベーション化する。コアセルベーション化したコラーゲンのフィブリルをろ過によって集め、ろ過物を冷たい蒸留水で広範囲にわたって洗浄する。高度に精製されたI型コラーゲンを、使用するまで-20～-40で保存してもよい。あるいは、精製されたフィブリルの分散体を凍結乾燥してもよく、また乾燥フィブリルとして室温で保存してもよい。

#### 実施例 2

##### 低密度フィラメントの調製

40

精製したコラーゲンのフィブリル15gをリン酸塩緩衝生理食塩水（PBS）溶液500ml中で膨張させ、3%（w/v）コラーゲン分散体をつくる。膨張されたコラーゲンを分解ヘッドを用いてシルバーソン・ホモジナイザー（Silverson Homogenizer）で2分間均一化させる。均一化されたコラーゲンをつぎに真空下で最初に40メッシュのステンレス鋼製メッシュでろ過し、つづいて100メッシュのステンレス鋼製メッシュでろ過する。ろ過され、分散されたコラーゲンを真空下で脱気する。均一なコラーゲン分散体を、修飾された12ゲージのニードルを介して1ml/分の速度でコラーゲンを押し出すシリンジポンプに供給する。押し出されたコラーゲンのフィラメントは、1%NaClの存在下でpH4.7の酢酸塩緩衝液のコアセルベーションタンクの中に35で集められる。コアセルベーション化されたフィラメントをそののち凍結乾燥用トレイに置き、-40で凍結し、つづいて-10、150mmHgの

50

真空下で24時間乾燥する。最終的な乾燥は、凍結乾燥用トレイからフィラメントを取り出す前に、20℃で6時間行なう。凍結乾燥されたコラーゲンのフィラメントを架橋用チャンパーに置き、2%ホルムアルデヒド溶液から生じたホルムアルデヒドの蒸気下で、90分間で湿度95%の室温で架橋させる。架橋されたコラーゲンのフィラメントは、さらに使用するまで清潔なプラスチック製バッグに室温で保存する。

#### 実施例 3

##### 高密度フィラメントの調製

精製されたコラーゲンのフィブリル15gを500mlリン酸塩緩衝生理食塩水（PBS）溶液で膨張させ、3%（w/v）のコラーゲンをつくる。膨張されたコラーゲンを、分解ヘッドを用いてシルバーソン・ホモジナイザーで2分間均一化させる。均一化されたコラーゲンをつぎに真空下で最初に40メッシュのステンレス鋼製メッシュで、つづいて100メッシュのステンレス鋼でのろ過に通して真空下でろ過する。ろ過されたコラーゲン分散体を真空下で脱気する。均一なコラーゲン分散体を、修飾された12ゲージのニードルを通して1ml/分の速度でコラーゲンのフィラメントを押し出すシリンジポンプに供給する。押し出された湿潤コラーゲンのフィラメントは、pH4.7の1% NaClの存在下で酢酸塩緩衝液のコアセルベーションタンクの中で35℃で集められる。コアセルベーション化されたコラーゲンのフィラメントをフードの下に置き、24時間風乾させる。風乾したフィラメントを、0.1%グルタルアルデヒド溶液を含有するpH7.4のリン酸塩緩衝生理食塩水溶液で24時間、室温中で架橋させる。架橋されたフィラメントを水中で広範囲にわたって洗浄し、さらに使用するまで室温で保存する。

10

20

#### 実施例 4

##### 靱帯Iデバイスの製造

実施例 2 および 3 にしたがってつくられた高密度コラーゲンフィラメント100~300および低密度コラーゲンフィラメント50~150（2:1の比率）を、編むために小さい束に縦方向に結合させる。それぞれ40cm長さの3つの束の構成単位を最初に中間点で編む。ひきつづいて、それらを中間点で折り、小さいループを形成させる。6つの束の構成単位をつぎに編み、3分の1の低密度多孔性コラーゲン線維と、より合わせられた3分の2の高密度コラーゲン線維を含むコラーゲン靱帯の複合物を形成させる。靱帯の末端は、ポリラクテート製のメッシュチューブのような分解吸収可能なポリマー製のメッシュチューブで封じる。こうして編まれた靱帯は、コラーゲン分子の歪みなくして容易に10~15%伸ばすことができる。あるいは、編まれた束は、各末端にループを有するように折られてもよい。

30

#### 実施例 5

##### 靱帯IIデバイスの製造

高密度コラーゲンフィラメントが、ピュラック・アメリカ・インコーポレイテッド（Purac America, Inc.）、シカゴ、イリノイ州から入手したポリラクテート製モノフィラメントに置き換えるほかは実施例 4 と同様に行なう。

#### 実施例 6

##### 靱帯IIIデバイスの製造

精製したコラーゲンのフィブリル15gをヒアルロン酸0.189gおよびコンドロイチン硫酸塩0.189gを含有するリン酸緩衝生理食塩水（PBS）溶液500ml中で膨張させ、3%（w/v）のコラーゲン分散体および0.076%（w/v）のグリコサミノグリカンをつくる。残りの手順は、実施例 2 と同様である。精製したコラーゲンのフィブリル15gをヒアルロン酸0.189gおよびコンドロイチン硫酸塩0.189gを含有するリン酸塩緩衝生理食塩水溶液500ml中で膨張させ、3%（w/v）のコラーゲンフィブリルの分散体および0.076%（w/v）のグリコサミノグリカンをつくる。残りの手順は、コラーゲンフィラメントをpH4.7の1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド溶液で24時間架橋させることのほかは実施例 3 と同様である。カルボジイミドの添加は3~4時間ごとに行ない、各カルボジイミドの添加ののちにpHを4.7に調整する。

40

#### 実施例 7

##### デバイスの挿入の説明

50

大腿骨および脛骨の正常な十字靭帯の解剖学的な挿入部位に10mmの孔を開ける。大腿骨から脛骨までガイド縫合糸を通す。そののちに、人工靭帯の末端のループにガイド縫合糸を付着させ、関節を横切って靭帯を引張った。靭帯の末端でループを介して皮質骨および海綿骨にスクリューで孔をあけることにより、大腿骨および脛骨に靭帯を固定する。切開または関節鏡の技術によって直視下で膝が可動域を通り過ぎる。衝突する骨は、いずれも切除される。

#### 実施例 8

##### インビトロおよびインビボ試験

###### インビトロ試験

各人工靭帯を、各靭帯の末端のループを介して合釘を有する機械試験ジグ (MTS) に装着する。合釘は、MTS強制負荷装置の機械アゴ部に保持されている。移植片を15mm/秒の移動速度で引き裂き、通常の十字靭帯の強度 (約1500~2500ニュートンであると推定される) と比較する。

10

###### インビボ試験

各人工靭帯を動物の膝関節 (たとえば、イヌ、ヤギ、サル) に移植し、移植6カ月および12カ月後に試験をする。手術に引き続き、動物を制限のないかごに入れ、6カ月または12カ月間活発に運動させ、そのときに動物を安楽死させる。各膝から関節外組織を取り去る。大腿骨および脛骨を、アクチュエーターの軸にそって一列に並べられるACLを有するMTS機に入れ、負荷をかけた。関節を、マックカーシー (McCarthy) ら (オルソペデック・リサーチ・ソサイエティ・ミーティング (Orthopedic Reseaech Society Meeting)、ワシントン、ディーシー (1991)) に記載されているように、15mm/秒の移動速度で引き裂く。

20

本発明は、それらの精神または本質的な特性から逸脱することなく、他の特定の態様を具体化することも可能である。それゆえ、本発明の態様は、説明や限定のない点すべてに関して考慮されるものであり、本発明の範囲は、前記説明よりもむしろ付加したクレームによって示され、そして前記クレームの均等な意義および範囲内で生じるすべての変更は、それゆえそれらに包含されるものである。

【 図 1 A 】

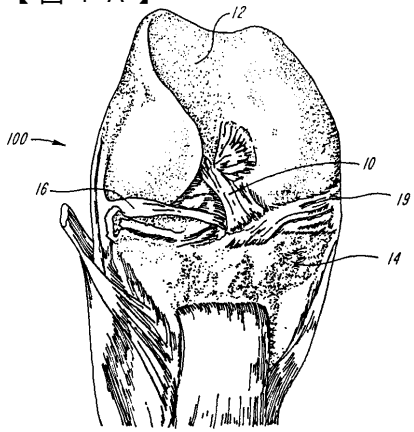


FIG. 1A

【 図 2 B 】



FIG. 2B

【 図 1 B 】

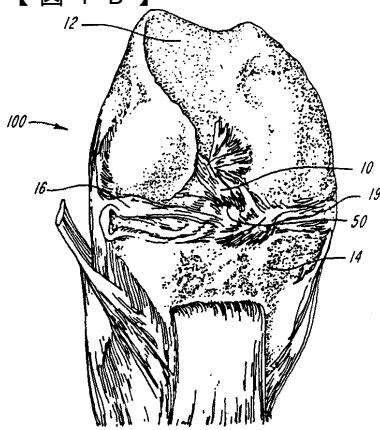
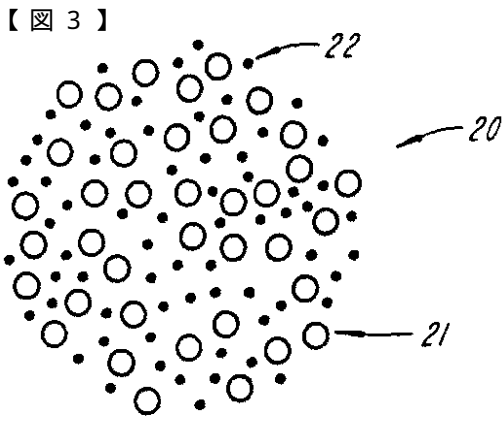


FIG. 1B

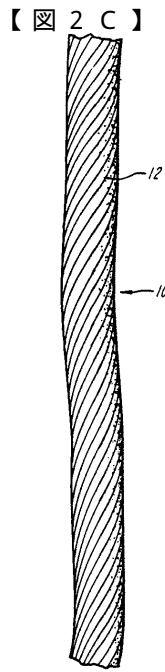
【 図 2 A 】



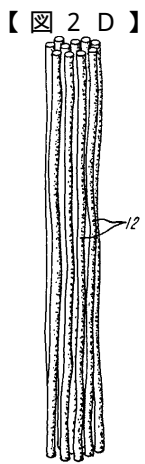
FIG. 2A



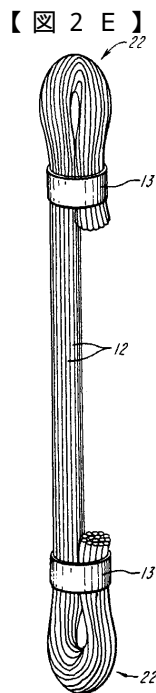
**FIG. 3**



**FIG. 2C**

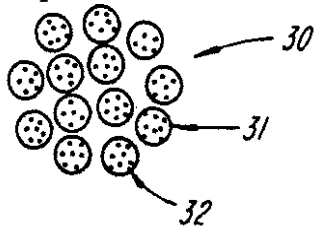


**FIG. 2D**



**FIG. 2E**

【 図 4 】



**FIG. 4**

【 図 5 】



**FIG. 5**



---

フロントページの続き

(72)発明者 リ、シュー - ツン

アメリカ合衆国、07436 ニュージャージー州、オークランド、キオワ テラス1

(72)発明者 ストーン、ケビン アール

アメリカ合衆国、94941 カリフォルニア州、ミル バレイ、スロックモートンレイン 1

審査官 渡辺 仁

(56)参考文献 米国特許第04772288(US, A)

米国特許第04255820(US, A)

特開昭52-030885(JP, A)

特表昭59-501319(JP, A)

米国特許第03114593(US, A)

米国特許第03551560(US, A)

英国特許出願公開第02151487(GB, A)

米国特許第05078744(US, A)

国際公開第85/000511(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)

A61F 2/08