

(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
2013年10月3日(03.10.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/147299 A1

- (51) 国際特許分類:
A61L 27/00 (2006.01) A01N 1/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/059842
- (22) 国際出願日: 2013年4月1日(01.04.2013)
- (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 2012-083367 2012年3月31日(31.03.2012) JP
- (71) 出願人: 学校法人早稲田大学(WASEDA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1698050 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 岩▲崎▼ 清隆(IWASAKI, Kiyotaka); 〒1698050 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 学校法人早稲田大学内 Tokyo (JP). 梅津 光生(UMEZU, Mitsuo); 〒1698050 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 学校法人早稲田大学内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 榎本 英俊(ENOMOTO, Hidetoshi); 〒1920071 東京都八王子市八日町8-1-1413 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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: METHOD FOR TREATING BIOLOGICAL TISSUE AND BIOLOGICAL TISSUE

(54) 発明の名称: 生体組織の処理方法及び生体組織

(57) Abstract: The present invention minimizes any strength reduction or tissue degeneration from before treatment, even when a drying treatment or sterilization treatment is carried out, for tissue comprising bio-derived components and the like. More specifically, biological tissue is immersed in a trehalose solution and shaken, thereby impregnating the biological tissue with the trehalose solution. The trehalose solution used herein is one obtained by dissolving trehalose in a phosphate-buffered physiological saline, the concentration of trehalose preferably being in the range of 20-35 wt%. Thereafter, a drying treatment for the biological tissue is carried out to remove moisture in the biological tissue, and a sterilization treatment for the tissue by ethylene oxide gas sterilization is carried out.

(57) 要約: 本発明は、生体由来成分等からなる組織について、乾燥処理や滅菌処理を行っても、処理前からの強度低下や組織変性を抑制する。すなわち、生体組織をトレハロース溶液に浸漬させ、振とうさせることで、生体組織にトレハロース溶液を含浸させる。ここでのトレハロース溶液は、リン酸緩衝生理食塩水にトレハロースを溶解したものが用いられ、好ましくは、トレハロースの濃度が、20重量%~35重量%の範囲内のものが用いられる。その後、生体組織の乾燥処理を行い当該生体組織の水分を除去し、エチレンオキサイドガス滅菌による組織の滅菌処理を行う。



WO 2013/147299 A1

明 細 書

発明の名称：生体組織の処理方法及び生体組織

技術分野

[0001] 本発明は、生体組織の処理方法及び生体組織に係り、更に詳しくは、滅菌処理による組織変性や強度低下を抑制する生体組織の処理方法及び当該処理方法によって得られる生体組織に関する。

背景技術

[0002] 本出願人らは、ウシやブタ等の動物から採取した心膜、腱等の動物組織を人体に移植するために、当該動物組織を無細胞化させる方法を既に提案している（特許文献1等参照）。ここで、動物から採取して無細胞化された生体組織（以下、「無細胞化組織」と称する）は、無細胞化処理後、直ぐに利用されずに、滅菌処理を施した上で、一旦保存しておく場合がある。このような動物由来の無細胞化組織の実用化には、無細胞化組織を滅菌する処理が不可欠である。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：国際公開第2011/142407号パンフレット

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、生体由来成分等からなる組織（以下、「生体組織」と称する。）に滅菌処理を施すと、生体組織の著しい損傷を招来し、処理前に比べて組織の強度が低下する。また、本発明者らは、鋭意実験研究を行った結果、生体組織を凍結乾燥して滅菌した後に再水和すると、処理前の生体組織に対し、含有水分が減少して組織が硬くなる組織変性を招来することを見出した。そこで、本発明者らは、生体組織の滅菌処理前に、トレハロース溶液を生体組織に含浸させたところ、滅菌処理前の生体組織に対する強度低下や組織変性を抑制可能になることを知見した。

[0005] 本発明は、このような知見に基づいて案出されたものであり、その目的は、生体由来成分等からなる組織について、滅菌処理を行っても、処理前からの強度低下や組織変性を抑制することができる生体組織の処理方法及び当該処理方法によって得られる生体組織を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明では、生体由来成分等からなる組織（以下、「生体組織」と称する。）をトレハロース溶液に浸漬させ、24時間程度振とうさせることで、生体組織にトレハロース溶液を含浸させる。ここでのトレハロース溶液は、リン酸緩衝生理食塩水にトレハロースを溶解したものが用いられ、好ましくは、トレハロースの濃度が、20重量%～35重量%の範囲内のものが用いられる。

その後、生体組織の乾燥処理を行い当該生体組織の水分を除去する。ここでの乾燥処理は、特に限定されるものではないが、-45℃程度の温度で、24時間程度行われる。

そして、エチレンオキサイドガス滅菌による組織の滅菌処理を行う。ここでの滅菌処理の条件としては、特に限定されるものではなく、コラーゲン変性を抑制する目的で温度を30℃程度とし、作用時間を12時間程度、エアレーションを20時間程度とする。なお、過酸化水素低温プラズマ滅菌等の他の滅菌手法の採用も可能である。なお、本発明においては、トレハロースの代わりに、スクロース、ラクトース、マルトース等の他の二糖類のオリゴ糖を用いることもできる。つまり、前述と同様にして、二糖類のオリゴ糖溶液を生体組織に含浸させてから、乾燥処理、滅菌処理を行う限りにおいて、種々の態様を採ることができる。

発明の効果

[0007] 本発明によれば、生体組織に滅菌処理を行っても、処理前に対する組織変性や強度低下を抑制することができる。

[0008] しかも、トレハロース溶液中のトレハロース濃度を20重量%～35重量%とすると、処理前の生体組織における組織構造と強度をほぼ同程度に維持

することが可能になる。

発明を実施するための形態

[0009] (実施例1)

先ず、採取されたウシ心膜について、縦横5cm×7cm、厚さ約300 μ m、質量1.5gの大きさの長方形シート状にし、抗生物質入りのリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で洗浄した。

そして、洗浄後のウシ心膜について、本発明者らが既に提案している手法(特開2011-05043号公報参照)により、無細胞化処理を行った。

次に、PBSにトレハロースを添加することで得られたトレハロース溶液40mlを用意し、50ml遠沈管内に、当該トレハロース溶液とともに無細胞化処理後のウシ心膜(無細胞化組織)を入れ、トレハロース溶液にウシ心膜を浸漬させた状態で振とう処理を行った。本実施例では、トレハロース溶液中のトレハロースの濃度を1重量%とした。また、振とう処理は、37 $^{\circ}$ Cに温めておいたバイオシェーカーを用い、回転数180rpmで24時間行った。

その後、凍結乾燥器を使い、ウシ心膜を-45 $^{\circ}$ C程度で24時間程度放置し、ウシ心膜の水分を除去した。

そして、エチレンオキサイドガス滅菌器を使い、エチレンオキサイドガスによるウシ心膜の滅菌処理を行い、ウシ心膜の乾燥滅菌処理組織が得られた。ここでは、作用温度を30 $^{\circ}$ C、作用時間を12時間、エアレーションを20時間とした。

[0010] (実施例2~9)

実施例1に対し、溶液中のトレハロースの濃度のみを変えてウシ心膜の乾燥滅菌処理組織を得た。すなわち、前述と同様に無細胞化処理されたウシ心膜を、トレハロースの濃度が5、10、20、25、30、35、40、50重量%にそれぞれ設定された各トレハロース溶液中に入れて前述の振とう処理を行い、その後、前述の乾燥滅菌処理を行って実施例2~9に係るウシ心膜の乾燥滅菌処理組織を得た。

なお、温度 37℃ の PBS 中で溶解するトレハロースの濃度は、約 50% 程度であることから、トレハロースの最高濃度を 50% とした。

[0011] (実施例 10～18)

実施例 1～9 に対し、無細胞化処理を行わない他は、前述と同一の条件でウシ心膜の乾燥滅菌処理組織を得た。

[0012] (実施例 19～36)

実施例 1～18 に対し、処理対象組織をウシ心膜からウシ腱に代えた他は、前述と同一の条件でウシ腱の乾燥滅菌処理組織を得た。

ここでのウシ腱は、長さ 10 cm、厚さ 10 mm 程度のものを用いた。

[0013] (比較例 1)

実施例 1 に対し、無細胞化処理後のウシ心膜をトレハロース溶液に含浸させずに、前述の乾燥処理及び滅菌処理を行ってウシ心膜の乾燥滅菌処理組織を得た。

[0014] (比較例 2)

比較例 1 に対し、無細胞化処理を行わない他は、トレハロース溶液に含浸させない比較例 1 と同一の条件でウシ心膜の乾燥滅菌処理組織を得た。

[0015] (比較例 3、4)

比較例 1、2 に対し、処理対象組織をウシ心膜から実施例 19 等と同一のウシ腱に代えた他は、トレハロース溶液に含浸させない比較例 1、2 と同一の条件でウシ腱の乾燥滅菌処理組織を得た。

[0016] 次に、本発明の効果を実証するための実験を行った。

[0017] 第 1 の実験として、前記各実施例と前記各比較例で得られた乾燥滅菌処理組織について、組織変性における本発明の抑制効果の実証実験を行った。

[0018] すなわち、各乾燥滅菌処理組織それぞれについて、50 ml 遠沈管内に、抗生物質入りの PBS 40 ml を加えて各乾燥滅菌処理組織を入れる。そして、37℃ に温めておいたバイオシェーカーを用い、回転数 180 rpm で 24 時間振とうすることで再水和された各乾燥滅菌処理組織の質量を電子天秤で計測する。そして、各実施例の乾燥滅菌処理組織について、トレハロ-

ス溶液に含浸させない対応比較例の乾燥滅菌処理組織に対する質量の増加率を算出した。なお、実施例 1～9 については、比較例 1 が対応比較例となり、実施例 10～18 については、比較例 2 が対応比較例となり、実施例 19～27 については、比較例 3 が対応比較例となり、実施例 28～36 については、比較例 4 が対応比較例となる。

[0019] 第 2 の実験として、前記各実施例と前記各比較例で得られた乾燥滅菌処理組織について、組織の強度低下における本発明の抑制効果を実証するための引張試験を行った。

[0020] 当該実験において、処理対象組織としてウシ心膜を用いた実施例 1～18 及び比較例 1、2 については、以下の条件で行った。

[0021] ウシ心膜の乾燥滅菌処理組織について、第 1 の実験の同一条件で再水和を行った後に、幅 3 mm の短冊状形状の試験片を作製し、初期のチャック間距離を 7 mm として引張試験を行った。ここでの引張試験の条件は、初期引張荷重 0.5 N、試験片の伸び 20%、引張試験速度を 120 mm/min、繰り返し回数を 3000 回とした。そして、各試験片について、初期荷重から 3000 回経過後の荷重を引いた値を初期荷重で割って算出した経時的な応力緩和率を求め、前記対応比較例の乾燥滅菌処理組織の応力緩和率からの増加率を算出した。なお、ここでの応力緩和率は、粘弾性特性（柔軟性）を表す指標であり、応力緩和率が大きい程、柔軟性があることを意味する。生体組織を滅菌処理すると、応力緩和率が処理前に比べ低下することが判明している。

[0022] また、処理対象組織としてウシ腱を用いた実施例 19～36 及び比較例 3、4 については、以下の条件で行った。

[0023] 前述の形状の各試験片について、第 1 の実験の同一条件で再水和を行った後に、前記試験片の幅を 4 mm とし、初期のチャック間距離を 45 mm として引張試験を行った。ここでの引張試験の条件は、まず、初期引張荷重 66.7 N で 15 分間作用させた後、引張荷重 100 N を、引張試験速度 300 mm/min で 10000 回繰り返し作用させた。そして、各試験片につい

て、100回ごとのひずみの増加が0.15%未満となることを求め、10000回までのひずみの値から100回ごとのひずみの増加が0.15%未満に到達するところのひずみの値を引くことにより、組織を構成するコラーゲン等のクリンプ構造の影響をできるだけ排除し、組織構造そのもののひずみの変化率を算出した。なお、ここでのひずみの変化率は、同様に粘弾性特性を表す値である。そして、各試験片について、前記対応比較例の乾燥滅菌処理組織に対するひずみ変化率の増加率を算出した。

[0024] 以上の各実験結果を下表に示す。

[0025] [表1]

	組織	無細胞化処理	トレハロース濃度 (%)	質量増加率 (%)	応力緩和率増加率 (%)
実施例 1	ウシ心膜	○	1	5	11
実施例 2	ウシ心膜	○	5	5	11
実施例 3	ウシ心膜	○	10	5	21
実施例 4	ウシ心膜	○	20	8	34
実施例 5	ウシ心膜	○	25	13	52
実施例 6	ウシ心膜	○	30	16	95
実施例 7	ウシ心膜	○	35	12	34
実施例 8	ウシ心膜	○	40	12	33
実施例 9	ウシ心膜	○	50	9	30
比較例 1	ウシ心膜	○	0	0	0

[表2]

	組織	無細胞化処理	トレハロース濃度 (%)	質量増加率 (%)	応力緩和率増加率 (%)
実施例 10	ウシ心膜	×	1	3	8
実施例 11	ウシ心膜	×	5	5	16
実施例 12	ウシ心膜	×	10	16	17
実施例 13	ウシ心膜	×	20	21	23
実施例 14	ウシ心膜	×	25	51	25
実施例 15	ウシ心膜	×	30	57	60
実施例 16	ウシ心膜	×	35	50	43
実施例 17	ウシ心膜	×	40	27	37
実施例 18	ウシ心膜	×	50	19	42
比較例 2	ウシ心膜	×	0	0	0

[表3]

	組織	無細胞化処理	トレハロース 濃度 (%)	質量増加率 (%)	ひずみ変化率 増加率 (%)
実施例 19	ウシ腱	○	1	1	1
実施例 20	ウシ腱	○	5	4	3
実施例 21	ウシ腱	○	10	5	3
実施例 22	ウシ腱	○	20	5	14
実施例 23	ウシ腱	○	25	6	32
実施例 24	ウシ腱	○	30	4	18
実施例 25	ウシ腱	○	35	1	14
実施例 26	ウシ腱	○	40	1	9
実施例 27	ウシ腱	○	50	1	6
比較例 3	ウシ腱	○	0	0	0

[表4]

	組織	無細胞化処理	トレハロース 濃度 (%)	質量増加率 (%)	ひずみ変化率 増加率 (%)
実施例 28	ウシ腱	×	1	9	11
実施例 29	ウシ腱	×	5	14	7
実施例 30	ウシ腱	×	10	17	9
実施例 31	ウシ腱	×	20	18	52
実施例 32	ウシ腱	×	25	18	54
実施例 33	ウシ腱	×	30	18	57
実施例 34	ウシ腱	×	35	15	23
実施例 35	ウシ腱	×	40	10	18
実施例 36	ウシ腱	×	50	5	10
比較例 4	ウシ腱	×	0	0	0

[0026] 従来法の処理がなされた生体組織（以下、「従来の処理組織」と称する）は、未処理組織に比べて質量が低下するが、以上の実験結果によれば、本発明の処理がなされた生体組織（以下、「本発明の処理組織」と称する）は、従来の処理組織に対し、質量を増大させることが可能になった。しかも、トレハロース濃度を20重量%～35重量%の範囲内にとすると、本発明の処理組織の中で最も高い質量のピークを得ることができ、未処理組織の質量とほぼ同一レベルにすることが可能になった。この結果、本発明によれば、処理前の組織微細構造を破壊する現象の抑制効果があるものと推測でき、従来法に比べ、処理前後での生体組織の変性が抑制されることが実証された。

[0027] また、従来の処理組織は、未処理組織に比べて柔軟性の低下によって強度低下を招来するが、以上の実験結果によれば、本発明の処理組織は、従来の処理組織に比べ、柔軟性を増大させることができ、強度を高めることが可能になった。しかも、トレハロース濃度を20重量%～35重量%の範囲内にとすると、本発明の処理組織の中で最も高い柔軟性のピークを得ることができ、未処理組織の柔軟性とほぼ同一レベルにすることが可能になった。この結果、本発明によれば、従来法に比べ、処理前後での生体組織の強度低下が抑制されることが実証された。

[0028] 更に、本発明によれば、生体組織を無細胞化処理した場合でも、乾燥及び滅菌処理による処理前からの組織変性や強度低下が抑制されることが実証された。

[0029] なお、本発明は、生体由来成分等からなる組織であれば、前記実施例の組織に限定されずに同様に適用可能となる。

産業上の利用可能性

[0030] 本発明は、動物から採取された組織を人体の移植用組織として、加工や保存を工業的に行うための処理に用いることができる。

請求の範囲

- [請求項1] 生体組織を滅菌する工程を含む処理方法において、
前記滅菌工程前に、二糖類のオリゴ糖溶液を前記生体組織に含浸させることを特徴とする生体組織の処理方法。
- [請求項2] 生体組織を乾燥した後で滅菌する工程を含む処理方法において、
前記乾燥工程前に、二糖類のオリゴ糖溶液を前記生体組織に含浸させることを特徴とする生体組織の処理方法。
- [請求項3] 無細胞化した生体組織を滅菌する工程を含む処理方法において、
前記滅菌工程前に、二糖類のオリゴ糖溶液を前記生体組織に含浸させることを特徴とする生体組織の処理方法。
- [請求項4] 前記オリゴ糖溶液は、トレハロース溶液であることを特徴とする請求項1、2又は3記載の生体組織の処理方法。
- [請求項5] 前記トレハロース溶液中の前記トレハロースの濃度は、20重量%～35重量%であることを特徴とする請求項4記載の生体組織の処理方法。
- [請求項6] 生体組織に二糖類のオリゴ糖溶液を含浸させてから乾燥及び滅菌することで得られる生体組織。
- [請求項7] 無細胞化された生体組織に二糖類のオリゴ糖溶液を含浸させてから乾燥及び滅菌することで得られる生体組織。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/059842

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L27/00 (2006.01) i, A01N1/02 (2006.01) i

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)

A61L27/00, A01N1/02

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	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN),
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2007/013331 A1 (ArBlast CO., Ltd.), 01 February 2007 (01.02.2007), entire text; particularly, claims 17 to 19; paragraphs [0005], [0063] to [0069]; example 1, '1.', '2.' & US 2009/0175954 A1 & US 2012/0276080 A1 & EP 1944045 A1	1, 2, 4-6 1-7
X Y	NAKAMURA, T. et al, The use of trehalose-treated freeze-dried amniotic membrane for ocular surface reconstruction, Biomaterials, 2008, Vol.29, p.3729-3737, entire text, particularly, abstract, page 3730, 2.1, page 3731, fig. 1, page 3731, 3.2	1, 2, 4-6 1-7

 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
09 May, 2013 (09.05.13)Date of mailing of the international search report
21 May, 2013 (21.05.13)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/059842

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2000-511519 A (QUADRANT HOLDINGS CAMBRIDGE LTD.), 05 September 2000 (05.09.2000), entire text; particularly, claims 1, 7; page 18, lines 7, 8; page 14, 3rd line from the bottom to page 15, line 2; claim 1; page 13, lines 16 to 18 & US 6632648 B1 & US 2003/0211592 A1 & EP 914166 A & WO 1997/042980 A1	1, 2, 4-6
X Y	JP 6-261933 A (LIFECCELL CORP.), 20 September 1994 (20.09.1994), entire text; particularly, claims 1, 3, 7; each example & US 5336616 A & US 6194136 B1 & EP 475409 A2	6, 7 1-7
X Y	JP 2011-5043 A (WASEDA UNIVERSITY), 13 January 2011 (13.01.2011), entire text; particularly, each example; paragraph [0044] (Family: none)	6, 7 1-7
X Y	KAWABE, H. et al, Influence of sterilization on mechanical properties and thermal stability of bovine pericardium, Proceedings of the Bioengineering Conference annual meeting of BED/JSME, 07 January 2011 (07.01.2011), vol.23rd, pages 505 to 506, entire text	6, 7 1-7
X	JP 2006-526413 A (STRATATECH CORP.), 24 November 2006 (24.11.2006), entire text; particularly, claims 39, 40; paragraph [0093]; example 7 & US 2005/0186185 A1 & EP 1633858 A & WO 2004/110372 A2	6
A	WO 2011/142407 A1 (WASEDA UNIVERSITY), 17 November 2011 (17.11.2011), entire text (Family: none)	1-7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61L27/00(2006.01)i, A01N1/02(2006.01)i

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. A61L27/00, A01N1/02

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	1971-2013年
日本国実用新案登録公報	1996-2013年
日本国登録実用新案公報	1994-2013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)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

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 請求項の番号
X Y	WO 2007/013331 A1 (ArBlast CO., Ltd.) 2007.02.01, 全文、特に、請求項 17-19, 段落[0005],[0063]-[0069]、 実施例 1 の「1.」, 「2.」 & US 2009/0175954 A1 & US 2012/0276080 A1 & EP 1944045 A1	1, 2, 4-6 1-7

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

09.05.2013

国際調査報告の発送日

21.05.2013

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)

関 景輔

4 U

3 8 4 2

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

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 請求項の番号
X Y	NAKAMURA, T. et al, The use of trehalose-treated freeze-dried amniotic membrane for ocular surface reconstruction, Biomaterials, 2008, Vol.29, p.3729-3737 全文、特に、ABSTRACT, 3730 頁 2.1、3731 頁 Fig.1, 3731 頁 3.2	1, 2, 4-6 1-7
X	JP 2000-511519 A (QUADRANT HOLDINGS CAMBRIDGE LIMITED) 2000.09.05, 全文、特に、請求項 1, 7、18 頁 7, 8 行、14 頁下から 3 行~15 頁 2 行、請求項 1, 13 頁 16-18 行 & US 6632648 B1 & US 2003/0211592 A1 & EP 914166 A & WO 1997/042980 A1	1, 2, 4-6
X Y	JP 6-261933 A (LIFECCELL CORPORATION) 1994.09.20, 全文、特に、請求項 1, 3, 7, 各実施例 & US 5336616 A & US 6194136 B1 & EP 475409 A2	6, 7 1-7
X Y	JP 2011-5043 A (WASEDA UNIVERSITY) 2011.01.13, 全文、特に、各実施例、段落[0044] (ファミリーなし)	6, 7 1-7
X Y	KAWABE, H. et al, Influence of sterilization on mechanical properties and thermal stability of bovine pericardium, バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 2011.01.07, Vol.23rd, p.505-506 全文	6, 7 1-7
X	JP 2006-526413 A (STRATATECH CORPORATION) 2006.11.24, 全文、特に、請求項 39, 40、段落[0093]、実施例 7 & US 2005/0186185 A1 & EP 1633858 A & WO 2004/110372 A2	6
A	WO 2011/142407 A1 (WASEDA UNIVERSITY) 2011.11.17, 全文 (ファミリーなし)	1-7