(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2014-14697
(P2014-14697A)
(43)公開日　平成26年1月30日(2014.1.30)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61L 27/00	(2006.01)	A61L 27/00	Q	4C081
A61F 2/06	(2013.01)	A61F 2/06		4C097

審査請求 有　請求項の数 4　ＯＬ　（全 18 頁）

(21)出願番号　特願2013-176485 (P2013-176485)
(22)出願日　平成25年8月28日 (2013.8.28)
(62)分割の表示　特願2009-117335 (P2009-117335)の分割
原出願日　平成21年5月14日 (2009.5.14)
(31)優先権主張番号　特願2008-292820 (P2008-292820)
(32)優先日　平成20年11月14日 (2008.11.14)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

(71)出願人　504132881
国立大学法人東京農工大学
東京都府中市晴見町３－８－１
(74)代理人　110000084
特許業務法人アルガ特許事務所
(74)代理人　100077562
弁理士　高野　登志雄
(74)代理人　100096736
弁理士　中嶋　俊夫
(74)代理人　100117156
弁理士　村田　正樹
(74)代理人　100111028
弁理士　山本　博人

最終頁に続く

(54)【発明の名称】人工血管の製造方法

(57)【要約】
【課題】生体適合性など絹本来の特性を有し、末梢血管など小口径の血管へ利用できる管状構造物の提供。
【解決手段】絹フィブロイン溶解液を用いてエレクトロスピニング法により形成された絹ナノファイバーを、樹脂製チューブを被せた回転支持棒の周囲に収集させて管状に構成することを特徴とする管状構造物の製造方法。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
絹フィブロインからなる管状構造物を、絹フィブロインスポンジでコーティングすることを特徴とする絹フィブロインスポンジコーティング管状構造物の製造方法。
【請求項２】
管状構造物が、絹フィブロインをニット編みして管状に形成したものである請求項１記載の絹フィブロインスポンジコーティング管状構造物の製造方法。
【請求項３】
管状構造物が、その内壁表面及び／又は外壁表面に起毛処理が施されてなるものである請求項１又は２記載の絹フィブロインスポンジコーティング管状構造物の製造方法。
【請求項４】
コーティングを、絹水溶液とポリグリコールを含有する溶液に管状構造物を浸漬した後、凍結し、次いでポリグリコールを除去することにより行う請求項１～３のいずれか１項記載の絹フィブロインスポンジコーティング管状構造物の製造方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、管状構造物、特に小口径人工血管の製造方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
近年、動脈硬化症など血管疾患の増加に伴い人工血管の重要性は確実に高まっている。
人工血管においては、（１）安全性（急性毒性、皮内反応試験、溶血性試験、発熱性物質試験、皮膚感作性試験、細胞毒性など）、（２）機能性（伸縮性、縫合し易さ、柔軟性、切断端のほつれ難さ、人工血管壁からの出血し難さ）、（３）耐久性などが要求される。
また、人工血管は、体内に移植する部位によって様々な種類が必要とされる。
【０００３】
人工血管のうち大口径のものは既に実用化され臨床使用に耐えられるものとなっている。しかしながら、口径５ｍｍ以下の小口径人工血管は、ポリエチレンテレフタレートやＰＴＦＥなど代表的な人工素材の生体不適合性による血管内膜の肥厚や血栓形成による閉塞が原因で、未だ実用化されるに至っていない。そのため、現行では、膝関節末梢などへのバイパス術は自家静脈移植が行われているが、患者への負担が大きいこと、適合する血管を持たず自家静脈移植を行うことができない患者が多数いるなど問題は多い。近年、患者の高齢化や糖尿病の増加に伴い、細小血管の再生治療は増加している。従って、特に末梢血管など小口径の血管に利用できる抗血栓性のある人工血管の開発が以前から強く望まれていた。
【０００４】
一方、絹糸は、高い生体親和性を有しており、細くて強く適度な弾性と柔軟性を持ち、糸の滑りがよく、結びやすくほつれ難い特性を持っていることから、手術用の縫合糸として用いられる天然繊維である。これまでに絹の高い生体適合性を利用した様々な再生絹材料が開発され、医療、生化学、食品、化粧料など幅広い分野での利用が期待されている。特に、再生医療のための材料として注目されている。
再生絹材料の絹を用いた人工血管作製の試みとしては、組紐作製原理により編み込む動作を組み合わせて巻かれ、且つ繭糸相互や混繊維相互が繭糸表面に保有されているセリシンにより膠着されてなる繭糸構造物が知られている（特許文献１）。この繭糸構造物は繭糸相互がセリリンで膠着されることで、実用に耐え得る引っ張り強度になっているが、セリシンはアレルギー反応を引き起こす可能性が高いため、そのリスクを低減する観点からセリシンを除去することが望ましい。また、前記繭糸構造物は柔軟性・弾力性が十分ではなく、切断端もほつれ易いため、生体適合性と術時の要求特性など絹本来の特性を保持しつつもより機能性に優れた人工血管が要望されていた。

【先行技術文献】
【特許文献】
【０００５】
【特許文献１】特開２００４－１７３７７２号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
本発明は、上記実情に鑑みなされたものであり、生体適合性など絹本来の特性を有し、末梢血管など小口径の血管へ利用できる管状構造物を提供することに関する。
【課題を解決するための手段】
【０００７】
本発明者は、絹の特性を活かした管状構造物について種々検討したところ、絹フィブロイン溶解液からエレクトロスピニング法により形成される絹ナノファイバーを用いれば、柔軟で弾力のある管状構造物が得られることを見出した。エレクトロスピニング法は電場内でナノファイバーを発生させて電極上に収集させる。この時、回転電極上の周囲にナノファイバーを収集させればナノファイバーの管状構成物が得られるが、絹フィブロイン溶解液から形成される絹ナノファイバーには粘性があり、金属への接着性が良いため回転電極上に強固に密着していまい、剥離し難いことが判明した。剥離時に破れ・解れ等が発生すると、特に小口径人工血管として使用する際、血液の漏出や血栓形成が懸念される。
そこで、本発明者は更に検討したところ、絹ナノファイバーを収集させる回転電極に樹脂製チューブを被せて用いれば、破れ・解れ等を生じることなく容易に剥離でき、且つ電場に影響を与えないことを見出した。
【０００８】
一方、本発明者は、繭糸や生糸などを精練して得られる絹フィブロイン繊維を用いた管状構造物はセリシンによるアレルギーリスクが低く、生体適合性に優れるものの、機能性、特に弾力性の点で十分ではないため、これを改善する方法について種々検討したところ、絹水溶液にポリグリコールを混合した水溶液から得られる絹フィブロインスポンジが、絹フィブロインからなる管状構造物の弾力性を向上させるのに好適であることを見出した。そして、当該絹フィブロインスポンジで管状構造物をコーティングすればより機能性に優れた管状構造物が得られることを見出した。
【０００９】
更に、本発明者は、当該絹フィブロインスポンジが、絹フィブロイン溶解液からエレクトロスピニング法により形成された絹ナノファイバーを用いた上記管状構造物のコーティング被膜としても好適であり、当該絹フィブロインスポンジで管状構造物をコーティングすれば、より優れた弾力性を付与できることを見出し、本発明を完成した。
【００１０】
すなわち、本発明は、絹フィブロイン溶解液を用いてエレクトロスピニング法により形成された絹ナノファイバーを、樹脂製チューブを被せた回転支持棒の周囲に収集させて管状に構成することを特徴とする管状構造物の製造方法を提供するものである。
また、本発明は、上記により得られた管状構造物を、絹フィブロインスポンジでコーティングすることを特徴とする、絹フィブロインスポンジコーティング管状構造物の製造方法を提供するものである。
また、本発明は、絹フィブロインからなる管状構造物を、絹フィブロインスポンジでコーティングすることを特徴とする絹フィブロインスポンジコーティング管状構造物の製造方法を提供するものである。
【発明の効果】
【００１１】
本発明によれば、十分な弾力性を有し、柔軟で血管吻合し易く、切断端のほつれや血液の漏出が極めて少ない管状構造物を提供することができる。この管状構造物は、絹本来の特性、すなわち高い生体適合性を有し、抗血栓性に優れるため、特に直径５ｍｍ以下の小

口径人工血管に好適である。
【図面の簡単な説明】
【００１２】
【図１ａ】エレクトロスピニング法により絹フィブロイン溶解液から絹ナノファイバーを形成させ、樹脂製チューブを被せた回転支持棒の周囲に積層させる操作を行う装置の一例である。
【図１ｂ】孔を設けた樹脂製チューブを被せた回転支持棒を示す図である。
【図２】精練後の絹フィブロイン繊維の走査型電子顕微鏡像を示す図である。
【図３】３ｍｍφ家蚕絹人工血管の走査型電子顕微鏡像を示す図である。
【図４ａ】絹フィブロインスポンジでコーティングした人工血管の外壁表面の走査型電子顕微鏡像を示す図である。
【図４ｂ】絹フィブロインスポンジでコーティングした人工血管の内壁表面の走査型電子顕微鏡像を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００１３】
本発明の管状構造物は、先ず絹フィブロイン溶解液を用いてエレクトロスピニング法により形成された絹ナノファイバーを、樹脂製チューブを被せた回転支持棒の周囲に収集させることにより得られる。
本発明で用いる絹フィブロイン溶解液は、公知の方法により調製することができ、例えば、繭層や繭糸、生糸などを精練して絹フィブロインを得、これを有機溶媒に溶解して得られる。また、溶解性を高めるため、絹フィブロインを中性塩水溶液に溶解、加熱した後、得られた絹フィブロイン／塩水溶液を脱塩処理して絹水溶液とし、次いで該絹水溶液を有機溶媒に溶解してもよい。
【００１４】
ここで、中性塩水溶液としては、例えば臭化リチウム、塩化リチウム、塩化カルシウム、チオシアン酸リチウムなどが挙げられる。また、脱塩処理の方法としては、公知の方法、例えば透析法、逆浸透法などを採用することができる。脱塩後、必要に応じて水溶液から水を除去し乾燥物としてもよい。この場合、通常は水溶液をプレートに展開し、水を蒸発させて絹フィブロインのフィルムを作製したり、スプレー乾燥などを行ったりして粉末状とする。また、蒸留水を加えて、例えば絹フィブロイン濃度２ｗ／ｖ％以下の水溶液を調製し、凍結乾燥を行ってスポンジ状（多孔質状）としてもよい。これらのうち、取扱性・保存性の点から、凍結乾燥するのが好ましい。
【００１５】
精練方法は、特に制限されず、公知の方法を使用できる。例えば１００℃に加熱した１２ｗ／ｖ％マルセル石鹸、８ｗ／ｖ％炭酸ナトリウム混合水溶液、及び上述した繭層や繭糸、生糸などを入れ、操糸後、撹拌しながら１２０分煮沸し、その後２ｗ／ｖ％炭酸ナトリウム水溶液で１０分煮沸、更に１００℃に加熱した蒸留水中で洗浄する操作を３回行った後、乾燥することでフィブロインを覆う蛋白質（セリシン）や、その他脂肪分などを除去できる。
【００１６】
有機溶媒としては、例えばヘキサフロロイソプロパノール（ＨＦＩＰ）、ヘキサフロロアセトン（ＨＦＡ）が挙げられる。通常、ＨＦＡは水和物として安定に存在するため、ＨＦＡ水和物を用いるのが好ましい。ＨＦＩＰとＨＦＡはそれぞれ単独で用いてもよいし、混合して用いてもよい。
有機溶媒に溶解する絹フィブロイン濃度は、通常３～２０ｗ／ｖ％程度であり、好ましくは４～１５ｗ／ｖ％である。
【００１７】
エレクトロスピニング法は、高い電圧（１０～３０ｋＶ）を用いて紡糸を行う方法であり、この方法では高電圧によって絹フィブロイン溶解液表面に電荷が誘発・蓄積される。この電荷は互いに反発し、この反発力は表面張力に対抗する。電場力が臨界値を超えると

、電荷の反発力が表面張力を超え、荷電した溶解液のジェットが噴射される。噴射されたジェットは体積対して表面積が大きいため、溶媒が効率良く蒸発し、また体積の減少により電荷密度が高くなるため、更に細いジェットへと分散する。この過程により、数十～数百ナノメートルの均一な絹ナノファイバーが形成される。絹ナノファイバーの繊維径は好ましくは３００～２０００ｎｍであり、さらに好ましくは３００～１０００ｎｍである。

【００１８】

絹ナノファイバーを収集させる回転支持棒は、導電性のものであればよく、例えばステンレス、アルミニウムなどの金属棒などを用いることができる。また、目的とする管状構造物の大きさに応じて、外径１～５ｍｍ、好ましくは２～５ｍｍのものを用いることができる。

【００１９】

回転支持棒に被せる樹脂製チューブは、当該樹脂製チューブからの管状構造物の剥離が容易なもので、電場に影響を与えないものであれば特に制限されないが、例えばポリエチレン、ポリプロピレンなどのポリオレフィン；ポリエチレンテレフタレート、ポリトリメチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリ乳酸などのポリエステル；ポリテトラフルオロエチレン、ポリフッ化ビニリデンなどのフッ素樹脂；ポリスチレンなどの熱可塑性樹脂の１種又は２種以上を用いて形成されたものが挙げられる。特に剥離性の点からフッ素樹脂製のチューブを用いるのが好ましい。

【００２０】

樹脂製チューブの外径は、目的とする管状構造物の大きさに応じて、外径１～５ｍｍ、好ましくは２～５ｍｍのものを用いることができる。このとき、樹脂製チューブの内径を回転支持棒の外径に合わせるのが好ましい。また、樹脂製チューブの厚みは、収集効率の点から、３００～１５００μｍ、好ましくは３００～１０００μｍとするのが好ましい。

【００２１】

また、樹脂製チューブには０．１～５ｍｍφの孔を設けるのが収集効率の点から好ましい。孔の大きさは好ましくは０．１～３ｍｍφ、より好ましくは０．５～１．５ｍｍφである。孔は樹脂製チューブにランダムに、或いは螺旋状に１～５ｍｍの間隔を開けて設けるのが好ましい。

【００２２】

絹ナノファイバーを回転支持棒に収集させる方向を適宜設定することで、絹ナノファイバーを任意の方向に概ね配向させた管状構造物を製造することができる。例えば、円周方向に配向させたい場合は、シリンジ液滴供給部から絹ナノファイバーが噴射する方向に対して直角方向に移動するシリンジの移動であるトラバースのスピードをゆっくりとし、かつ回転支持棒の回転を速くして円周方向に絹ナノファイバーを巻きつけ、長手方向に配向させたい場合は、その逆にトラバーススピードを上げ、かつ回転支持棒の回転スピードを落として製造する。

【００２３】

当該管状構造物は単層構造であってもよいが、引っ張り強度及び柔軟性の点から、好ましくは２～４層、より好ましくは３～４層の多層構造であることが好ましい。また、管状構造物の平均厚みは１００～３００μｍ、好ましくは１００～１５０μｍであることが好ましい。

【００２４】

本発明においては、回転支持棒に絹糸を巻き付けながら絹ナノファイバーを収集させるのが好ましい。絹糸を絹ナノファイバーと絡ませながら巻き付けることで、より引っ張り強度を向上させることができる。絹糸の割合は、管状構造物中の１０～２０質量％、好ましくは１０～１５質量％の範囲とするのが、柔軟性や弾力性、引っ張り強度の点から好ましい。

絹糸を用いる場合、例えば管状構造物を２層構造とする時は、先ず絹ナノファイバーのみを積層させて内層を形成し、次いで絹糸を巻き付けながら絹ナノファイバーを積層させて中層を形成するのが、細胞の透過性及び走性の確保、引っ張り強度の点から好ましい。

また、管状構造物を３層構造とする時は、先ず絹ナノファイバーのみを積層させて内層を形成し、次いで絹糸を巻き付けながら絹ナノファイバーを積層させて中層を形成し、さらに絹ナノファイバーのみを積層させて外層を形成するのが、細胞の透過性及び走性の確保、柔軟性、弾力性並びに引っ張り強度の点から好ましい。

【００２５】

図１ａに、絹フィブロイン溶解液からエレクトロスピニング法により絹ナノファイバーを形成させ、樹脂製チューブを被せた回転支持棒の周囲に収集させる操作を行う装置の一例を示す。当該装置は、シリンジ１、シリンジトラバース及びシリンジポンプ２、樹脂製チューブを被せた回転支持棒３、回転モーター４、可変電圧器５、絹フィブロイン溶解液６、液滴供給部７、電極８から構成されている。

先ず、シリンジ針などの液滴供給部７と絹フィブロイン溶解液６を充填したシリンジ１を接続し、シリンジトラバース及びシリンジポンプ２に取り付ける。樹脂製チューブを被せた回転支持棒３を回転モーター４に接続する。ここで、回転支持棒３とシリンジの間の距離は好ましくは５～１２ｃｍである。一方、液滴供給部７を可変電圧器５の陽極に、電極８を可変電圧器５の陰極に接続する。

【００２６】

次いで、可変電圧器５により、液滴供給部７と電極８との間に電場を発生させ、液滴供給部７から絹フィブロイン溶解液６のジェットを電極８へ向けて噴射する。噴射されたジェットは更に細いジェットへと分散し、絹ナノファイバーが形成される。該絹ナノファイバーは、回転モーター４を回転させることでこれに接続した樹脂製チューブを被せた回転支持棒３の周囲に収集され、管状に構成されて管状構造物となる。

【００２７】

電圧は、好ましくは１０～３０ｋＶであり、絹フィブロイン溶解液の吐出速度は、０．０３～０１ｍｍ／ｍｉｎ、好ましくは０．０４～０．０８ｍｍ／ｍｉｎ、シリンジトラバース速度は、１０～２０ｃｍ／ｍｉｎ、好ましくは１２～１６ｃｍ／ｍｉｎである。また、回転支持棒の回転速度は、５～１５ｍ／ｍｉｎ、好ましくは６～１０ｍ／ｍｉｎである。

絹フィブロイン溶解液の吐出速度、回転支持棒の回転速度を変化させることで、管状構造物の密度や絹ナノファイバーの配向性を任意に設定できる。

【００２８】

このようにして得られた管状構造物を、樹脂製チューブに被せたまま回転支持棒から引き抜いた後、さらに絹フィブロイン溶解液に浸漬し、絹ナノファイバー相互あるいは混繊維相互を絹フィブロインにより膠着させるのが好ましい。溶解液中の絹フィブロイン濃度は、好ましくは０．１～５ｗ／ｖ％程度であるが、低濃度の場合は浸漬と乾燥を繰返し行ってもよい。

あるいは、管状構造物をメタノール、エタノール、イソプロピルアルコールなどのアルコール類へ浸漬してもよく、これにより絹ナノファイバーがゲル化し、管状構造物へ滅菌効果を付加することができる。また、水に不溶となる。

【００２９】

管状構造物は、樹脂製チューブから抜いて剥離させ、例えば８０～１１０℃の乾熱滅菌若しくは１２１℃２０分間でのオートクレーブ滅菌をするのが好ましい。

【００３０】

さらに、得られた管状構造物を、絹フィブロインスポンジでコーティングすれば、より弾力性が向上した管状構造物が得られる。

ここで、絹フィブロインスポンジとは、絹フィブロインが不溶化し微細な多孔質構造となったものである。当該絹フィブロインスポンジで管状構造物をコーティングするには、絹水溶液とポリグリコールを含有する溶液に管状構造物を浸漬した後、凍結し、次いでポリグリコールを除去すればよい。当該溶液には、さらにヘパリンなどの抗血栓剤を含有させることもできる。

【００３１】

絹水溶液とは、前述したように絹フィブロインを中性塩水溶液に溶解、加熱した後、得られた絹フィブロイン／塩水溶液を脱塩処理したものである。水溶液中の絹フィブロイン濃度は、通常３～１５ｗ／ｖ％程度であり、塩濃度は、通常２００ｗ／ｖ％～２５０ｗ／ｖ％程度である。

【００３２】

また、ポリグリコールとしては、ポリアルキレングリコール、ポリアルキレングリコールのエーテル化物及びそれらの変性化合物等が挙げられる。

ここで、ポリアルキレングリコールとしては、エチレンオキシド、プロピレンオキシド、ブチレンオキシド等のアルキレンオキシドを単独重合あるいは共重合したものが挙げられる。なお、ポリアルキレングリコールにおいて、構造の異なったアルキレンオキシドが共重合している場合、オキシアルキレン基の重合形式に特に制限はなく、ランダム共重合体、ブロック共重合体のいずれであってもよい。

【００３３】

また、ポリアルキレングリコールのエーテル化物としては、上記のポリアルキレングリコールの水酸基をエーテル化したものが挙げられる。なお、ポリアルキレングリコールのエーテル化物において、水酸基との間にエーテル結合を形成する末端基の種類は特に制限されず、また、全ての水酸基がエーテル化されていてもよく、一部が水酸基のまま存在していてもよいが、好ましい態様としては、モノメチルエーテル、モノエチルエーテル、モノプロピルエーテル、モノブチルエーテル、モノペンチルエーテル、モノヘキシルエーテル、モノヘプチルエーテル、モノオクチルエーテル、モノノニルエーテル、モノデシルエーテル、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、ジプロピルエーテル、ジブチルエーテル、ジペンチルエーテル、ジヘキシルエーテル、ジヘプチルエーテル、ジオクチルエーテル、ジノニルエーテル、ジデシルエーテル、ジデシルエーテル、ジグリシジルエーテル等が挙げられる。

【００３４】

また、ポリグリコールの変性化合物としては、ポリオールのアルキレンオキシド付加物、あるいはそのエーテル化物等が挙げられる。

【００３５】

より好ましいポリグリコールとしては、ポリエチレングリコールジグリシジルエーテル、ポリプロピレングリコールジグリシジルエーテル　、ポリテトラメチレングリコールジグリシジルエーテル等が挙げられる。

【００３６】

絹水溶液とポリグリコールの配合比（質量比）は、９９：１～１：９の範囲とすることが弾力性向上の点から好ましく、特に、５０：１～１：２が好ましい。

【００３７】

浸漬処理は、特に制限されないが、常温、常圧下或いは減圧下で行われる。浸漬時間は、３０秒～３０分間程度が好ましい。浸漬後、－３０℃～－５℃で３０分～２時間凍結させる。これにより、コーティング用溶液中のポリグリコールは微細に凝固して均一に分散する。一方、絹水溶液中の絹フィブロインはβ化を起こし水に不溶となり、固化分散したポリグリコール又はその誘導体と絹フィブロインとが層分離する。

次いで、解凍後、純水中に浸漬又は純水で水流することによりポリグリコールが除去され、これにより、管状構造物の内部及び／又は外部が絹フィブロインスポンジによりコーティングされる。

【００３８】

また、本発明の管状構造物は、絹フィブロインからなる管状構造物を、絹フィブロインスポンジでコーティングすることにより得られる。これにより、絹フィブロインからなる管状構造物の弾力性を向上させることができる。

当該絹フィブロインスポンジによるコーティングは、前記と同様に行われる。すなわち、絹水溶液とポリグリコールを含有する溶液に管状構造物を浸漬した後、凍結し、次いでポリグリコールを除去することにより行われる。浸漬処理は前記と同じように行われる。

ここで、絹水溶液及びポリグリコールは前述したものを挙げることができる。

【００３９】

絹フィブロインからなる管状構造物としては、例えば絹フィブロイン繊維が編、組、織及び絡から選ばれる１又は２以上の方法により巻かれてなる管状構造物が挙げられる。絹フィブロイン繊維を管状に構成するには、公知の編法、組法、織法、絡法を用いることができる。また、絹フィブロイン繊維を用いて予め作製した編物や織物、その筒状物などを用いてもよい。繭糸、生糸を用いる場合は、管状に形成した後、セリシンを除去するのが好ましい。

【００４０】

例えば、絹フィブロイン繊維を編組する方法としては、特に制限されず、例えば八つ打ち、十二打ち、十六打ちなど公知の組紐技術を用いることができる。具体的には、煮繭から解いた繭糸又は精錬糸を熱可塑性樹脂製芯棒などに巻き付け、絹フィブロイン繊維を組むことにより行われる。ここで、熱可塑性樹脂製芯棒は、目的とする管状構造物の大きさに応じて、外径１～５ｍｍ、好ましくは２～５ｍｍのものを用いることができる。熱可塑性樹脂としては、特に制限されず、例えばポリオレフィン、ポリエステル、フッ素樹脂、塩化ビニル樹脂等が挙げられる。

【００４１】

また、絹フィブロイン繊維をニット編みして管状に形成すれば、弾力性に富み、且つ柔軟で、引っ張り強度に優れ、切断端のほつれ難い管状構造物とできる。ニット編みには、例えば、丸編（横編）、縦編、フルファッション、ラッシェル、トリコット等がある。ニット編み機は、特に制限されない。得られた絹布を前記熱可塑性樹脂製芯棒などに巻き付けて管状に形成すればよい。

【００４２】

また、管状構造物の内壁表面及び／又は外壁表面に起毛処理を施すのが、弾力性、柔軟性をより向上させる点から好ましい。ここで、起毛処理は、管状構造物表面の絹フィブロイン繊維を解繊し、繊維相互を絡ませられるものであればよく、繊維を管状構造物の表面に引き出すことで、表面を毛羽だった状態にする。起毛の程度は管状構造物の形状が保持されておれば特に制限されないが、起毛の長さを１～３ｃｍ程度とするのが好ましい。処理は、例えば研磨剤による研磨、ブラシ状物でブラッシングすることができる。これらのうち、作業性の点から、金属、プラスチック、豚毛などの各種ブラシ状物を用いてブラッシングするのが好ましい。

【００４３】

本発明の管状構造物は、さらに元の６０～８０％程度の長さになるまで長手方向に捻りを加えるのが好ましい。これにより、柔軟性や弾力性、伸縮性、耐久性を向上させることができる。捻り処理は、絹フィブロインスポンジでコーティングする前、コーティングした後のいずれでもよい。

また、管状構造物は、絹フィブロインスポンジでコーティングした後、さらに前記絹水溶液に浸漬してもよい。

【００４４】

本発明の管状構造物は、例えば人工血管、人工気管、ステントグラフト、その他生体の管状構造物の代用品として用いることができる。特に、絹の優れた生体適合性及び抗血栓性から、直径５ｍｍ以下、好ましくは１～５ｍｍ以下の小口径人工血管に好適である。

【実施例】

【００４５】

以下、本発明について実施例をあげて具体的に説明するが、本発明はこれらによって何等限定されるものではない。

【００４６】

参考例＜家蚕絹フィブロイン溶解液の調製＞

家蚕繭を鋏で細かく切断し（約２ｍｍ×１０ｍｍ程度）、定法により精練して、フィブロインを覆うタンパク質（セリシン）やその他脂肪分などを除去した絹フィブロインを得

た。セリシンの残留付着物の確認のため、走査型電子顕微鏡観察を行った。測定にはリアルサーフェイスビュー顕微鏡ＶＥ－７８００（Ｋｅｙｅｎｃｅ社製）を用い、カーボンテープでサンプルを固定し、非蒸着にて測定した。加速電圧は、１．３ｋＶ、Ｗｏｒｋｉｎｇ　ｄｉｓｔａｎｃｅは７．３ｍｍで測定した（以下、同じ）。得られた絹フィブロインを図２に示す。

次いで、この絹フィブロインを９Ｍ臭化リチウム水溶液に１５ｗ／ｖ％となるように溶解した。この水溶液を、セルロース透析膜（ＶＩＳＫＡＳＥＳＥＬＥＳ　ＣＯＡＰ社製　Ｓｅａｍｌｅｓｓ　Ｃｅｌｌｕｌｏｓｅ　Ｔｕｂｉｎｇ　３６／３２）を用いて、３日間純水で透析を行い、塩化リチウムを取り除き、さらに遠心分離にて、溶け残りやゴミなどを除去して絹水溶液とした。この絹水溶液を、絹フィブロイン濃度が４．５ｗ／ｖ％となるようにヘキサフロロイソプロパノール（ＨＦＩＰ）に溶解し、家蚕絹フィブロイン溶解液を得た。

【００４７】

実施例１

エレクトロスピニング装置はカトウテック社製のものを用いた。ポリテトラフルオロエチレン製チューブ（長さ１２ｃｍ、内径２ｍｍφ、外径３ｍｍφ、サンプラテック社製）に５ｍｍ間隔で１ｍｍφの孔を開け、ステンレス製の回転支持棒（１４ｃｍ、外径２ｍｍφ）に被せた（一例を図１ｂに示す）。これを図１ａに示すように、エレクトロスピニング装置の回転部に装着した。

一方、上記参考例で得た家蚕絹フィブロイン溶解液をシリンジ（テルモ社製）へ充填し、回転支持棒との距離が９ｃｍとなるように装置へ取り付けた。また、絹糸供給ノズル管口はシリンジ下１～２ｃｍに固定した。電圧は２３ｋＶとした。

回転支持棒を８ｍｍ　／ｍｉｎの速度で回転させながら、シリンジトラバース速度１４ｃｍ／ｍｉｎ、家蚕絹フィブロイン溶解液吐出速度０．０６ｍｍ／ｍｉｎで１０分間噴射させた。

先ず、絹ナノファイバーのみを収集させて内層を形成した。次いで、絹糸をシリンジトラバース速度２ｃｍ／ｍｉｎの条件で同時に巻き付けながら積層させて中層を形成した後、更に絹ナノファイバーのみを積層させて外層を形成した。回転支持棒から分離することで、内径３ｍｍφ家蚕絹人工血管を得た。この際、絹ナノファイバーの破れ・解れ等を生じることなく容易に剥離できた。

【００４８】

上記参考例で作製した絹フィブロイン溶解液中に３ｍｍφ家蚕絹人工血管を浸漬し、－６０ｍｍＨｇ圧力下にて５回の減圧浸透を行った後、１１０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。

乾燥後、５０％エタノール水溶液に人工血管を浸漬し絹フィブロインを定着させた後、１１０℃に設定した乾燥機中にて再度乾燥した。

このようにして得られた３ｍｍφ家蚕絹人工血管は、柔軟で弾力性に富み、任意な方向に切り込んでも切断端には解れが無いものであった。また、３ｍｍφ家蚕絹人工血管の形態観察を走査型電子顕微鏡を用いて行った（図３）。絹ナノファイバーの繊維径は７００～１０００μｍであった。

【００４９】

実施例２

家蚕絹フィブロイン溶解液吐出速度０．０６ｍｍ／ｍｉｎで１時間噴射させた以外は実施例１と同様にして、ポリテトラフルオロエチレン製チューブを被せた回転支持棒の周囲に絹ナノファイバーを収集させて管状に構成した。回転支持棒から分離することで、内径３ｍｍφ家蚕絹人工血管を得た。この際、絹ナノファイバーの破れ・解れ等を生じることなく容易に剥離できた。

次いで、３ｍｍφ家蚕絹人工血管を９８％メタノール水溶液へ浸漬した後、１１０℃に設定した乾燥機中にて再度乾燥した。

このようにして得られた３ｍｍφ家蚕絹人工血管は、柔軟で弾力性に富むものであった

。

【００５０】

実施例３

家蚕絹フィブロイン溶解液吐出速度０．０６ｍｍ／ｍｉｎで１時間噴射させた以外は実施例１と同様にして、ポリテトラフルオロエチレン製チューブを被せた回転支持棒の周囲に絹ナノファイバーを収集させて管状に構成した。

次いで、管状構造物をポリテトラフルオロエチレン製チューブに被せたまま、９８％メタノール溶液へ浸漬した後、風乾した。これを、４ｗ／ｖ％絹水溶液にポリエチレングリコールジグリシジルエーテル（アルドリッヒ社製、以下同じ）を３ｗ／ｖ％となるように混合したコーティング溶液に常圧下で１分間浸漬し、－２０℃で１時間静置した。

室温で解凍した後、回転支持棒から分離することで、内径３ｍｍφ家蚕絹人工血管を得た。得られた３ｍｍφ家蚕絹人工血管を水中で３日間浸漬し、１１０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。

このようにして得られた内径３ｍｍφ家蚕絹人工血管は、柔軟で、特に長軸方向に対し弾力性に富むものであった。

【００５１】

実施例４

熱可塑性樹脂製芯棒（塩化ビニル製芯棒）に家蚕絹製筒状トーションレース（二渡レース製）を被せて内径２ｍｍφの人工血管を作製した。

次いで、内径２ｍｍφ家蚕絹人工血管を９８％メタノール水溶液へ浸漬した後、８０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。これを、４ｗ／ｖ％絹水溶液にポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを３ｗ／ｖ％となるように混合したコーティング溶液に常圧下で１分間浸漬し、－２０℃で１時間放置した。室温で解凍後、水中に３日間浸漬しポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを除去して、８０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。

このようにして得られた内径２ｍｍφ家蚕絹人工血管は、柔軟で、特に長軸方向に対し弾力性に富むものであった。

【００５２】

実施例５

ニット編み機は筒網機（ＫＵＮＯ社製）を用いた。２１～２７デニールの太さで２～６本縒り合わせた絹糸を用いて管状の絹布を作製した。熱可塑性樹脂製芯棒（塩化ビニル製芯棒）に絹布を被せて内径３ｍｍφの人工血管を作製した。

次いで、上記参考例で作製した絹水溶液とポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを１：１となるように混合したコーティング溶液に、人工血管を－６０ｍｍＨｇの圧力下で１分間減圧浸漬した。浸漬を３回繰り返した後、上記参考例で作製した絹水溶液に浸漬した。絹水溶液中で－２０℃で２時間放置した。蒸留水で解凍後、水中に３日間浸漬しポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを除去して、８０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。

【００５３】

このようにして得られた内径３ｍｍφ家蚕絹人工血管は、柔軟で、特に長軸方向に対し弾力性に富むものであった。

また、作製した人工血管をＭ０５培地に一晩浸漬させ、その一部を加えた同じ培地でＶ７９細胞を培養して細胞の増加を観察したところ、異常は見られず、よって毒性は認められなかった。

【００５４】

実施例６

実施例５と同様にして作製した絹布を熱可塑性樹脂製芯棒（塩化ビニル製芯棒）に被せて内径３ｍｍφの人工血管を作製した。これをリョウビ社製電動ドリルに固定し、３００ｒｐｍで回転させつつ金属製ブラシを外壁表面に接触させて起毛の長さが約２ｃｍになるまで起毛させた。芯棒から人工血管を抜き取り、１２ｗ／ｖ％マルセル石鹸で洗浄後、純

水ですすいで
乾燥させた。
次いで、上記参考例で作製した絹水溶液とポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを１：１～３：２となるように混合したコーティング溶液に、人工血管を－６０ｍｍＨｇの圧力下で１分間減圧浸漬した。浸漬を３回繰り返した後、再度芯棒に被せ、元の７０％の長さになるまで捻りを加えた。これを上記参考例で作製した絹水溶液に３回減圧浸漬した後、絹水溶液中で－２０℃で２時間放置した。蒸留水で解凍後、水中に３日間浸漬しポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを除去して、８０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。

【００５５】

得られた人工血管の形態観察を走査型電子顕微鏡を用いて行った（図４）。また、上記において捻り処理をしない人工血管を作製し、捻り処理をしたものと柔軟性を比較した。柔軟性は、長さＬの作製した人工血管の片端を固定し、もう一方の端が垂直方向へ曲がったときの高さＨとした場合、Ｈ／Ｌの値で求めた。結果を表１に示す。

【００５６】

【表１】

	捻り処理あり	捻り処理なし
柔軟性	0.6	0.2
厚み(mm)	0.5	0.4
重量(g)	0.9	0.9

【００５７】

表１に示すとおり、本発明の人工血管は、柔軟性に優れるものであった。また、捻りを長手方向加えることで、より柔軟性が向上することが確認された。

【００５８】

実施例７

実施例５と同様にして作製した絹布の両面を、金属製ブラシを接触させて起毛の長さが約２ｃｍになるまで起毛させた。これを熱可塑性樹脂製芯棒（塩化ビニル製芯棒）に被せて内径３ｍｍφの人工血管を作製した。次いで、片方を固定して元の約７０％の長さになるまで捻りを加えた。

得られた人工血管を、実施例６と同様にしてコーティング溶液に浸漬した後、さらに絹水溶液に浸漬後－２０℃で２時間放置した。蒸留水で解凍後、水中に３日間浸漬しポリエチレングリコールジグリシジルエーテルを除去して、８０℃に設定した乾燥機中にて乾燥した。

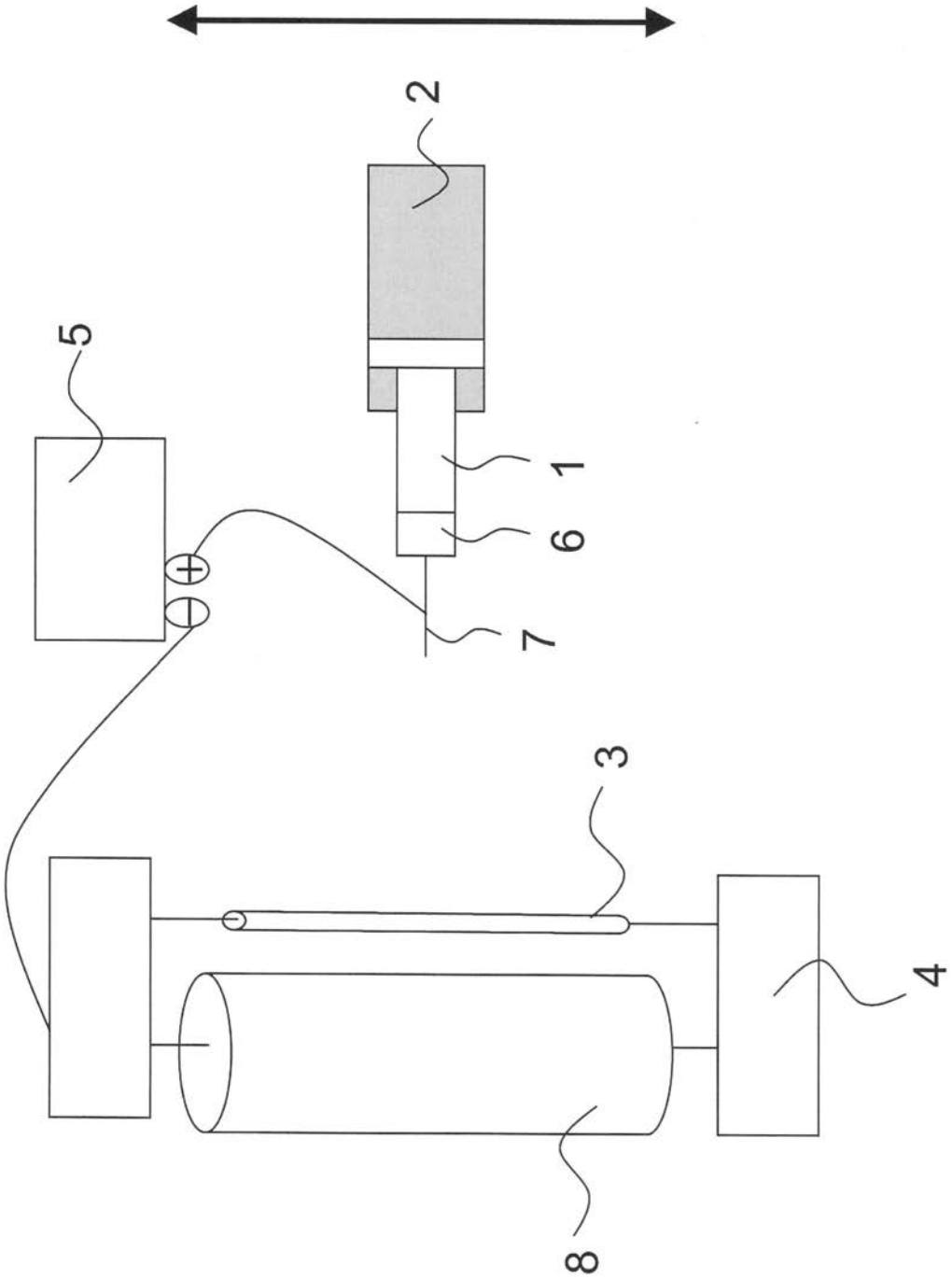
このようにして得られた内径３ｍｍφ家蚕絹人工血管は、より柔軟で弾力性に富み、特に側面からの血液の漏洩が軽減した。

【符号の説明】

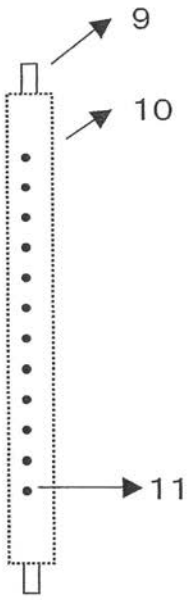
【００５９】

１　シリンジ
２　シリンジトラバース及びシリンジポンプ
３　樹脂製チューブを被せた回転支持棒
４　回転モーター
５　可変電圧器
６　絹フィブロイン溶解液
７　液滴供給部
８　電極
９　回転支持棒
１０　樹脂製チューブ
１１　樹脂製チューブに設けた孔

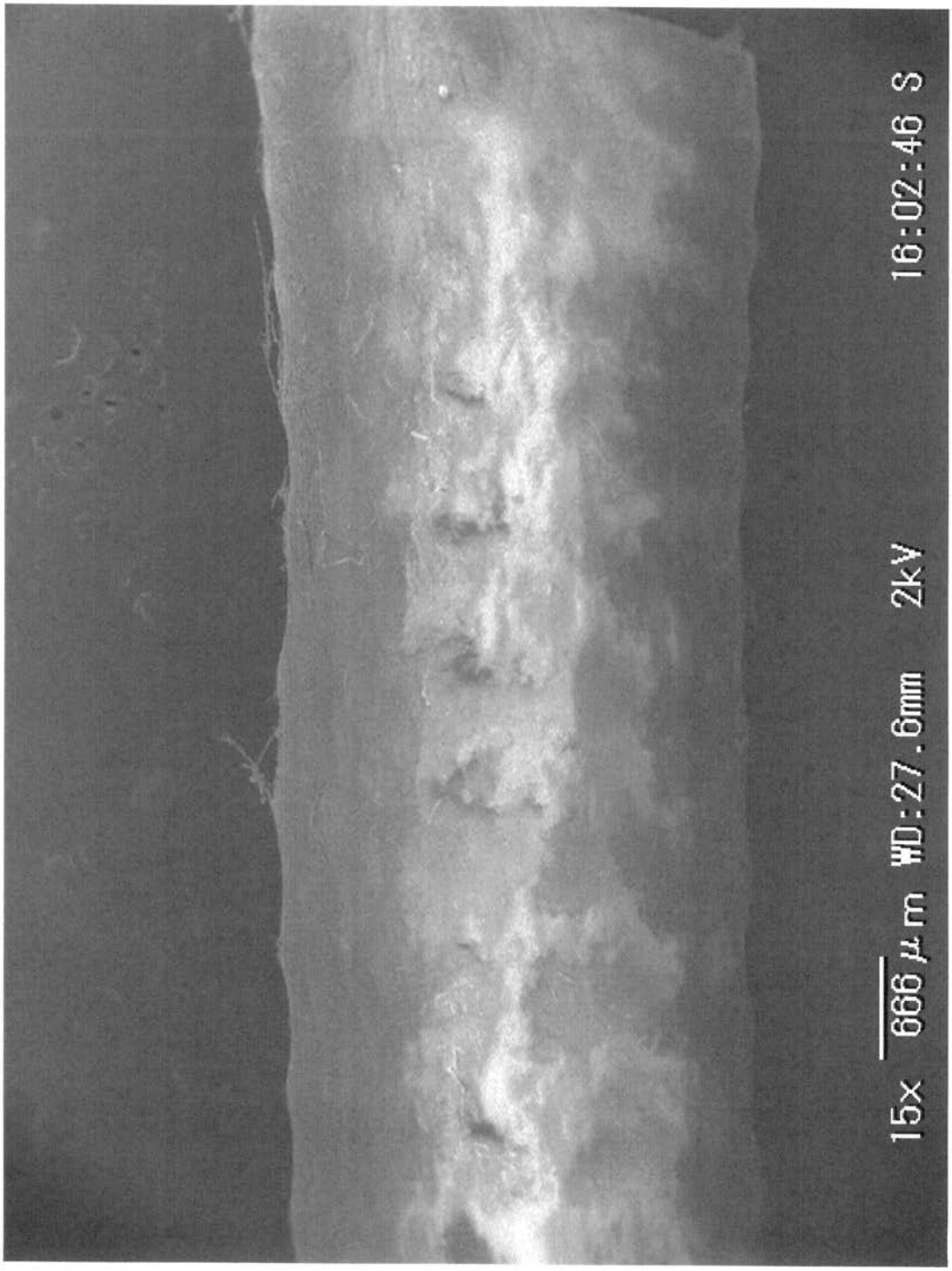
【図１ａ】



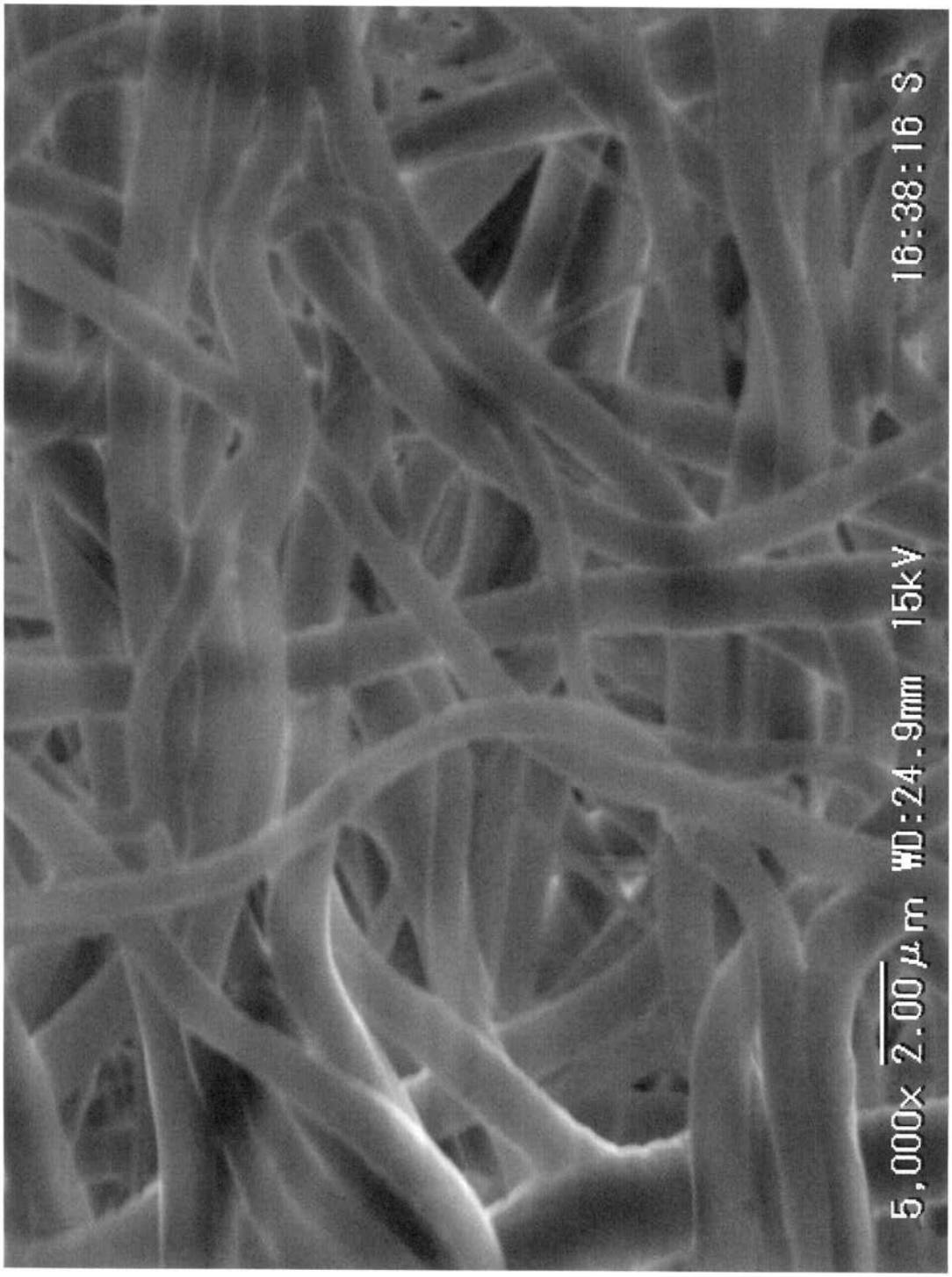
【図１ｂ】



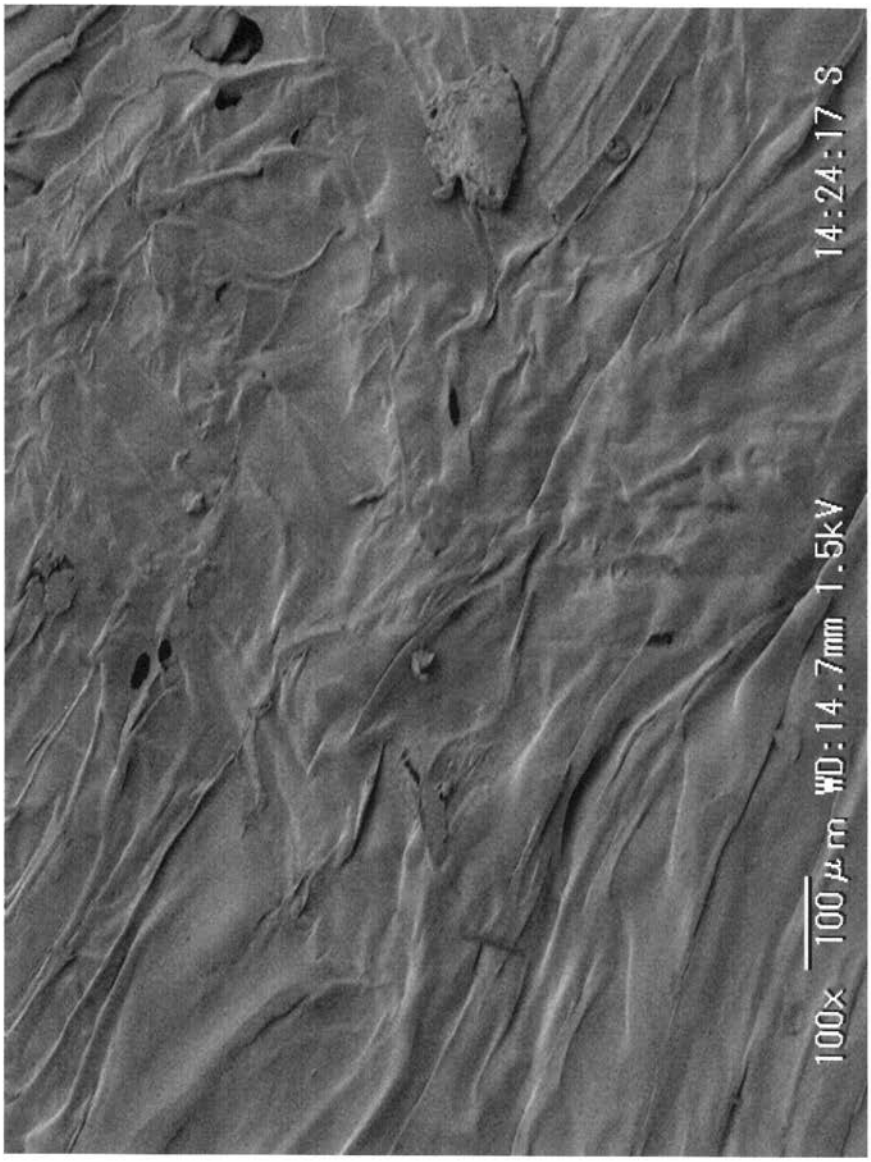
【図２】



【図３】



【図４ａ】



【図４ｂ】



フロントページの続き

(72)発明者　朝倉　哲郎
東京都府中市晴見町３－８－１　国立大学法人東京農工大学内

Ｆターム(参考) 4C081 AB13 BB07 BB08 CD11 CD33 DA03 DC03 EA02
4C097 AA15 BB01 CC02 CC03 CC12 DD01 DD11 DD13 FF11 MM04