

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-519387
(P2025-519387A)

(43)公表日 令和7年6月26日(2025.6.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 L	27/18 (2006.01)	A 6 1 L	27/18	4 C 0 5 2	
A 6 1 L	27/38 (2006.01)	A 6 1 L	27/38	1 1 1	4 C 0 8 1
A 6 1 L	27/60 (2006.01)	A 6 1 L	27/38	1 0 0	4 C 0 8 9
A 6 1 L	27/40 (2006.01)	A 6 1 L	27/38	1 1 0	4 C 0 9 7
A 6 1 L	27/08 (2006.01)	A 6 1 L	27/38	1 1 2	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全26頁) 最終頁に続く					
(21)出願番号 特願2024-570905(P2024-570905)			(71)出願人 519446469		
(86)(22)出願日 令和5年6月6日(2023.6.6)			エム・3 ヘルス インドウストリア エ		
(85)翻訳文提出日 令和7年1月31日(2025.1.31)			コメルシオ デ プロドゥーツス メージ		
(86)国際出願番号 PCT/BR2023/050185			コス, オドントロギコス エ コレッラ		
(87)国際公開番号 WO2023/235949			トス エス・エイ		
(87)国際公開日 令和5年12月14日(2023.12.14)			ブラジル国 サンパウロ州 1 3 2 1 2 -		
(31)優先権主張番号 63/349,344			2 1 3 ジュンディアイ マルチヴィアス		
(32)優先日 令和4年6月6日(2022.6.6)			2 ジャルジン エルミダ 1 アヴェニュー		
(33)優先権主張国・地域又は機関			ー アイン アタ 6 4 0		
米国(US)			(74)代理人 110001346		
(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ			弁理士法人MM & A		
,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),			(72)発明者 ブレイ、アルベルト		
EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(			ブラジル国 0 1 2 5 0 - 0 4 0 サンパ		
AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,			ウロ パカエンブウ ルア フェルディナ		
FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV			ンド ラボリアウ 1 1 5		
最終頁に続く			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 ポリジオキサノンを含む歯科／医療用デバイス、組織再建誘導及び／又は再生のための当該デバイスの使用、並びに当該デバイスの製造方法

(57)【要約】

本発明は、ポリ（ジオキサノン）（PDO又はPDS）を備え、好ましくは白色から灰色を呈する吸収性合成膜を有し、医科歯科領域に適用される歯科／医療用デバイスに関する。当該歯科／医療用デバイスは、骨欠損及び他の結合組織（例えば歯肉、皮膚、軟骨、角膜等）の組織再建誘導及び／又は組織再生誘導に使用される幹細胞及びグラフェンを有してもよい。さらに、本発明は、上記の関連用途のための前記デバイスの使用と、前記デバイスの製造方法に関する。

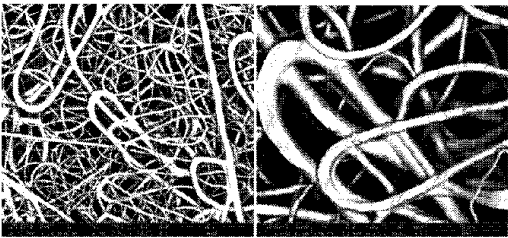


FIGURE 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨欠損及び他の結合組織（歯肉、皮膚、軟骨又は角膜を含む。）の組織再建誘導及び／又は組織再生誘導に特に用いられる歯科／医療用デバイスであって、
前記デバイスは、ポリ（ジオキサノン）に基づく吸収性合成膜を有し、
前記膜は、実質的に長方形の断面を有し、厚さが0.05mm～2.00mmの間であり、幅が15mm～200mmの間であり、長さが20mm～200mmの間である
ことを特徴とするデバイス。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のデバイスにおいて、
前記デバイスは、グラフェンを含む
ことを特徴とするデバイス。

10

【請求項 3】

請求項 2 に記載のデバイスにおいて、
0.52% から1.35% の濃度で酸化グラフェンを含む
ことを特徴とするデバイス。

【請求項 4】

請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のデバイスにおいて、
幹細胞を含む
ことを特徴とするデバイス。

20

【請求項 5】

請求項 3 に記載のデバイスにおいて、
前記幹細胞が、患者の皮膚パンチから得られた自己成体間葉系幹細胞である
ことを特徴とするデバイス。

【請求項 6】

請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のデバイスにおいて、
前記デバイスは、厚さが0.25mm～2.00mm、幅が15mm～30mm、長さが20mm～40mmで、実質的に長方形の断面を持つ歯科用デバイスである
ことを特徴とするデバイス。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のデバイスにおいて、
前記デバイスは、厚さが0.25mmから2.00mm、幅が最大200mm、長さが最大200mmの実質的に長方形の断面で、医療・整形外科用である
ことを特徴とするデバイス。

30

【請求項 8】

請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のデバイスの使用方法であって、
前記使用法は、骨欠損又は他の結合組織（歯肉、皮膚、軟骨若しくは角膜を含む。）の組織再建誘導及び／又は組織再生誘導に用いられる
ことを特徴とする使用方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の使用法であって、
前記使用法は、骨内及び軟組織のインプラント周囲及び歯周病性欠損の治療で用いられる
ことを特徴とする使用方法。

40

【請求項 10】

請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のデバイスの製造方法であって、前記製造方法は、
a. 原料を室温で真空温室に配置する工程と、
b. 前記原料を計量して有機溶媒による溶解液を調製する工程と、
c. 従業員が、操作に適したプログラムを挿入して機械のセットアップを行う工程と、
d. 前記機械にポリマー溶解液を投入した後、前記機械を作動させ、所定流量で膜の製

50

造を行う工程と、

e. 膜のブランケットが取り出され、残留有機溶媒除去用の真空温室に入れられる工程と、

f. 前記ブランケットがCO₂レーザー切断機に送られ、膜切断処理が行われる工程と、

g. 膜が密閉容器に保管される工程と、

h. 前記膜が個別に包装される工程と

を含むことを特徴とする製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

本発明は、ポリ（ジオキサノン）（PDO又はPDS）をベースとし、好ましくは白色から灰色を呈する吸収性合成膜を有し、医科歯科領域に適用される歯科／医療用デバイスに関する。当該歯科／医療用デバイスは、骨欠損及び他の結合組織（例えば歯肉、皮膚、軟骨、角膜等）の組織再建及び／又は再生に使用される幹細胞及びグラフェンを有してもよい。

【0002】

さらに、本発明は、上記関連用途のための前記デバイスの使用、及び上記デバイスの準備方法に関する。

【背景技術】

【0003】

20

組織再生誘導（GTR：guided tissue regeneration）の原理は、生体適合性のあるメンブレンを使用し、結合組織や上皮組織が傷口に移動するのを防ぐことで、歯根膜の細胞が根の表面に再増殖し、歯槽骨を再生することを可能にすることに基づいている。メンブレンは、組織再生において望ましくない細胞の移動を抑制する。組織再生のための生体材料の使用及び開発は、特に医療及び歯科の分野において非常に重要である。

【0004】

以下に、本事案に言及する先行技術のいくつかの教示を記載する。

【0005】

Christgau, M.他、「Guided tissue regeneration in intrabony defects using an experimental bioresorbable polydioxanone (PDS) membrane」、2002年。24カ月にわたるスプリットマウス試験。この前向きなスプリットマウス試験では、2種類の生体吸収性メンブレンを用いた組織再生誘導療法（GTN）後の深い骨内欠損の治療過程におけるX線所見と微生物学的所見が比較された。対側の骨内欠損を有する31人の患者を、実験的なポリジオキサノン（PDS）メンブレンとポリ乳酸（PLA）マトリックスバリアで無作為に治療した。各患者は、一対の対側に位置する深い骨内欠損、プロービングポケット深さ（PPD）が6mm以上の近心歯周間欠損を有しており、ベースラインにおいて4mm以上の角状骨欠損を示すX線の証拠が存在した。6ヵ月後、12ヵ月後、24ヵ月後において、治療結果を臨床検査で評価した。具体的には、歯肉退縮（REC）、プロービングポケット深さ（PPD）、臨床的アタッチメントレベル（CAL）、相対的垂直アタッチメントゲイン（V-rAG）、定量的デジタルX線サブトラクション（骨密度変化の量と面積）及び微生物学的分析である。術後のメンブレン露出は、PDS治療部位14カ所とPLA治療部位2カ所で発生した。術後6ヵ月、12ヵ月、24ヵ月の時点で、どちらのメンブレンもCALを有意に増加させた〔中央値：6ヵ月後（PDS対PLA：3.0mm対3.0mm）；12ヵ月後及び24ヵ月後（PDS対PLA：4.0mm対4.0mm）〕、これらは、24ヵ月後の57.1%（PDS）対62.5%（PLA）のV-rAGに相当した。PDSとPLAで治療した部位は、術後6ヵ月、12ヵ月、24ヵ月後に有意な骨密度増加を示した。12ヵ月後及び24ヵ月後の骨密度増加は、X線写真解析において、PDSの方がPLAよりも統計学的に有意に大きかった。治療24ヵ月後において、PDS部位では初期欠損部位の38.8%、PLA部位では初期欠損部位の41.8%で骨密度の増加が認められたが、これらの差は統計学的に有意ではなかった。微生物学的培養により、最初の12ヵ月間、PDS部位とPLA部位で同程

30

40

50

度の細菌負荷が認められた。結論として、PDS治療部位では術後メンブレンの露出がかなり多くなることが予想されたが、この24ヵ月間の研究から、PDSとPLAのメンブレンは深い骨内歯周欠損において同様の良好な再生結果が得られることが示された。

【0006】

Dörfer CE他、「Regenerative periodontal surgery in interproximal intrabony defects with biodegradable barriers」、2000年。2種類の分解性バリア（クエン酸ポリラクチドアセチルトリブチル、ポリジオキサノン-PDS）を用いた組織再生誘導（GTN）の骨内欠損に対する効果を比較した。15人の患者から15組の類似した対側の歯周欠損が提供された。各欠損は、クエン酸ポリラクチドアセチルトリブチル（コントロール[c]-Guidor Matrix Barrier、Guidor AB、Huddinge、スウェーデン）又はPDS（試験[t]-Mempol、Ethicon GmbH & Co. KG、Norderstedt、ドイツ）のデバイスによる治療に無作為に割り付けられた。治療段階で、片側の患者1名（PDS）が感染を発症した。術後6ヵ月後、臨床的測定：プラーク指数（PII）、歯肉指数（GI）、プロービングポケット深さ（PPD）、垂直プロービング挿入レベル（PAL-V）を行った。その結果、バリア露出は両群（コントロール/テスト）で共通して観察された。術後7日では5/4、14日では9/11、28日では11/12であった。術後4週間では、全バリアの77%がある程度露出していた。しかしながら、いずれの治療法においても、術後6ヵ月後にGIの有意な減少（ $p < 0.05$ ）、PPDの減少 $[-4.63 \pm 1.85 \text{ mm (t)}, -4.17 \pm 1.89 \text{ mm (c)}; p < 0.001]$ 、PAL-Vの増加 $[3.97 \pm 1.17 \text{ mm (t)}, 3.40 \text{ mm} + 1.40 \text{ mm (c)}; p < 0.001]$ が認められた。GIとPPDの減少、及びPAL-Vの増加に関しては、試験群とコントロール（対照）群との間に統計学的に有意な差や臨床的に重要な差は認められなかった。

【0007】

Eickholz, P.他、「Guided tissue regeneration with bioabsorbable barriers: intrabony defects and class II furcations」、2000年。著者らは、2つの異なる生体吸収性バリア（対照：クエン酸ポリラクチドアセチルトリブチル、試験：ポリジオキサノン）を用いた組織再生誘導（GTR）の効果を、22組の類似した対側欠損（骨内欠損30例、II級furcation病変14例）を有する患者21例において比較した。各欠損は、対照（c）デバイス（Guidor Matrix Barrier）又は試験（t）デバイス（Mempol、Ethicon）による治療に無作為に割り付けられた。ベースライン時及び術後12ヵ月に、プラーク指数（PI）、歯肉指数（GI）、プロービングデプス（PD）、垂直・水平方向の臨床的アタッチメントロス（CAL-V; CAL-H）などの臨床的測定値と標準化X線写真を入手した。その結果、バリア露出は両群で共通して観察された。術後4週では、全バリアの61%がやや露出していた。しかしながら、両治療法とも、術後12ヵ月の時点で、全ての欠損において、有意なGIの減少（ $P < 0.005$ ）、PDの減少 $(-3.08 \pm 2.29 \text{ mm [t]}, -3.52 \pm 2.67 \text{ mm [c]}; P < 0.001)$ 、及びCAL-Vの増加 $(2.44 \pm 2.29 \text{ mm [t]}, 2.80 \pm 2.21 \text{ mm [c]}; P < 0.001)$ を示した。骨内欠損では、骨充填は有意であり $(2.03 \pm 1.70 \text{ mm [t]}; 1.91 \pm 1.20 \text{ mm [c]}; P = 0.001)$ 、furcaの病変でも、わずかではあるが有意なCAL-Hの増加がみられた $(0.79 \pm 0.68 \text{ mm [t]}; 1.13 \pm 1.44 \text{ mm [c]}; P < 0.05)$ 。解析されたデータでは、術後12ヵ月における試験群と対照群との間に、統計的に有意な差や臨床的に重要な差は認められなかった。

【0008】

Kim, T. S.他、「Comparison of two types of synthetic biodegradable barriers for GTR in interproximal intrabony defects: clinical and radiographic 24-month results」、2003年。この研究では、3壁及び2壁の歯体内欠損において、クエン酸ポリラクチドアセチルトリブチルとポリジオキサノン（PDS）を用いた組織再生誘導（RTG）の有効性を比較した。15人の患者が15組の類似した対側の歯周欠損を提供した。主に2壁性の歯内欠損12例と主に3壁性の歯内欠損18例であった。各欠損は、クエン酸ポリラクチドアセチルトリブチル（対照-Guidorマトリックスバリア）又はポリジオキサノンデバイス（試験-Mempol）による治療に無作為に割り付けられ

た。ベースライン時、術後6ヵ月、12ヵ月、18ヵ月、24ヵ月後に臨床的測定を行い、標準化X線写真を入手した（18ヵ月後は入手せず）。両治療とも、術後24ヵ月目に歯肉指標の有意な減少、プロービングデプスの減少、垂直プロービングの挿入レベルの増加が認められた。両治療とも24ヵ月後に歯槽骨堤のわずかな吸収が認められたが、統計学的有意差には至らなかった。両治療法とも、24ヵ月後の歯槽骨内ポケットにおける骨の増加は統計的に有意であった。歯肉指標、及びプロービングデプスの減少、並びに垂直プロービング挿入レベル及び骨増生に関しては、テストバリアとコントロールバリアの間に統計的に有意な差や臨床的に関連する差は見られなかった。GTR治療における両生分解性バリアの使用は推奨できる。

【0009】

Eickholz, P.他、「Guided tissue regeneration with bioabsorbable barriers. II. Long-term results in infrabony defects」、2004年。この5年間の無作為化比較臨床試験の目的は、2種類の吸収性バリアーを用いた骨内欠損の組織再生誘導（GTN）治療後の長期成績を評価することであった。本研究では、一対の対側の骨内欠損と中等度から重度の歯周炎を有する15人の患者を対象とした。各患者は無作為割付けにより、ポリジオキサノン（試験：T）及びクエン酸アセチルトリブチルポリラクチドバリア（コントロール（対照）：C）を受けた。ベースライン時、術後12ヵ月後、60±3ヵ月後に、臨床パラメータ及び標準化X線写真を入手した。垂直的骨レベル（PBL-V）は、手術中と60±3ヵ月後に経歯肉的骨プロービングにより測定した。60ヵ月後の検査に参加できた患者は13人であった。GTRの12ヵ月後及び60±3ヵ月後に認められた垂直的挿入増加（CAL-V）は、両群とも統計的に有意であった（ $P \leq 0.001$ ）（T12：3.5±1.5mm、T60：2.2±1.8mm、C12：4.0±0.8mm、C60：2.0±0.8mm）。しかしながら、治療後12ヵ月から60ヵ月にかけては、両群ともCAL-Vが有意に低下した（ $P < 0.05$ ）。12ヵ月後のレビューと比較して、試験群では2例、対照群では3例の欠損でCAL-Vが2mmを超えて低下した。術後12ヵ月及び60±3ヵ月後、X線写真で測定した骨充填量は、両群とも統計的に有意であった（ $P < 0.05$ ）（T12：1.2±1.3mm、T60：1.5±2.2mm、C12：0.9±1.4mm、C60：1.0±1.6mm）。さらに、術後60ヵ月後に両群で認められたPBL-Vの増加（試験群：1.8±2.3mm、コントロール（対照）群：2.2±1.8mm）は有意であった（ $P < 0.05$ ）。術後60ヵ月におけるCAL-VとPBL-Vの増加に関しては、試験群と対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。結論として、両吸収性バリアーを用いた骨内欠損のGTR治療後に達成されたCAL-Vゲインは、26欠損中21欠損（81%）で5年後も安定していた。

【0010】

Pretzl, B.他、「Guided tissue regeneration with bioabsorbable barriers III 10-year results in infrabony defects」、2009年。この論文は、無作為化比較試験において、2種類の生体吸収性バリアーを用いた骨内欠損のLTR治療後の10年間の転帰を評価したものである。15人の歯周炎患者において、15組の骨内欠損が治療された。各患者について、一方の欠損部にはポリジオキサノン（試験：T）、もう一方にはアセチルトリブチルクエン酸ポリラクチド（対照：C）のバリアが無作為割付けにより投与された。ベースライン時、術後12ヵ月後、120±6ヵ月後に、臨床パラメータ及び標準化X線写真を入手した。120ヵ月後の検査には、初回15名のうち9名のみが参加した。治療から12ヵ月後と120±6ヵ月後に両群で認められた垂直プローブ挿入レベル（PAL-V）の増加（T12：3.9±1.6mm、T120：2.4±1.8mm、C12：4.0±1.1mm、C120：2.4±1.7mm）は、統計的に有意であった（ $p \leq 0.004$ ）。12ヵ月から120ヵ月にかけて、両群ともPAL-Vの喪失を経験した（T：1.4±1.5mm、 $p = 0.021$ ；C：1.6±2.5mm、 $p = 0.09$ ）。120ヵ月後、対照群では2本の歯が喪失した（1本は智歯周囲病変、もう1本は原因不明）。本研究では、術後120ヶ月のPAL-V獲得に関して、両群間に統計学的有意差は認められなかった。

【0011】

文献US2020/0330641は、酸化グラフェン（生体適合性、静菌作用、親水性による

10

20

30

40

50

）とポリマーからなる縫合膜を開示している。当該文献では、ポリマー繊維の製造にエレクトロスピニング技術を利用している。さらに、当該文献では、酸化グラフェンからなる生分解性の繊維状生体複合膜を、医療用ドレッシング、手術用縫合糸、薬剤担体として外科的に使用することもできる。

【0012】

文献KR 101636778には、組織再生用の生分解性ナノファイバーシートの製造方法が開示されている。同文献では、酸化グラフェンを使用する。酸化グラフェンは、その特性、特に親水性と柔軟性から、細胞の増殖と分化に重要な役割を果たす。同文献では、エレクトロスピニング技術を用いて酸化グラフェン繊維を生成し、合成ポリマーや天然ポリマーを用いて組織再生をサポートする。これらのポリマーの中にポリジオキサノンがある。

10

【0013】

文献CN105126167には、骨組織の修復及び再建が記載されており、特に、骨組織の修復及び再建のための、3Dプリントされたチタンベースの多孔質合金の表面を機能化した生物学的コーティングの調製及び支持方法が記載されている。3Dプリント金属製の機能化多孔質フレームは、酸化フィブロイン-グラフェンシルクの表面に機能化生物活性ナノ複合体コーティングを備えている。また、同文献では、ポリジオキサノンなどのポリマーも採用されている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0014】

以上より、先行技術においては、本発明が本明細書で提示するような、技術的な相違、経済的な利点、安全性及び信頼性を兼ね備えたものと同等の解決策は存在しない。

【0015】

従って、本発明は、骨欠損及び他の結合組織（歯肉、皮膚、軟骨、角膜等）の再建及び／又は組織再生誘導に使用するデバイスを提供することを目的とする。

【0016】

本発明の別の目的は、無菌状態で供給され、様々なモデル及び寸法で利用可能な1回使用の歯科用／医療用デバイスを提供することである。

【0017】

本発明の別の目的は、骨欠損及び他の結合組織（歯肉、皮膚、軟骨、角膜等）の組織再建誘導及び／又は再生を必要とする患者に適応される解決手段を提供することである。

30

【0018】

さらに、本発明の目的は、修復又は組織再生誘導の過程において、徐々に体内に再吸収され、新たに形成された骨組織及び／又は軟組織（歯肉、皮膚、軟骨又は角膜）と置換される解決手段を提供することである。

【0019】

本発明の目的は、細胞外マトリックスを模倣した形態と表面トポグラフィーを持つ、サブ及びマイクロメートルの繊維、機械的及び生物学的バリアを有する解決手段を提供することである。

40

【0020】

本発明の目的は、硬膜再建、骨膜置換、黄色靱帯置換（脊椎）、移植片維持のための機械的バリア、移植技術における生物学的バリア、外傷、骨組織再建、骨棘除去後の骨組織被覆、欠損部の再建又は頭蓋閉鎖のような、整形外科医療分野における様々なタイプの手術及び用途において使用することができ、物理力学的及び生物学的バリア機能性を有する解決手段を提供することである。

【0021】

本発明の目的は、意図された用途を満足させる機能的及び機械的特性を示す製品を提供することである。

【0022】

50

本発明の目的は、結合組織の細胞外マトリックスを模倣し、効率的な取り扱いのための機械的強度と、液体及び分子の高い吸収性を提供する製品を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0023】

本発明は、骨欠損及び他の結合組織の組織再建誘導及び／又は再生に特に用いられる歯科／医療デバイスにより上記の目的及び他の目的を達成する。この歯科／医療デバイスは、ポリ（ジオキサノン）を含む吸収性合成膜を有する。この膜は、実質的に長方形の断面を有し、厚さが0.05mm～2.00mmの間で変化し、幅が15mm～200mmの間で変化し、長さが20mm～200mmの間で変化する。

【0024】

本発明は、骨欠損及び他の結合組織（例えば、歯肉、皮膚、軟骨及び角膜）の組織再建（再生）誘導のために上記デバイスを使用することにより、上記及び他の目的を達成する。

【0025】

さらにまた、本発明は、以下の工程を含む本発明のデバイスを調製する方法によって、上記及び他の目的を達成する。すなわち、当該方法は、

- a. 原料を室温で真空ストーブに配置する工程と、
 - b. 前記原料を計量して有機溶媒による溶解液を調製する工程と、
 - c. 従業員が、操作に適したプログラムを挿入して機械のセットアップを行う工程と、
 - d. 前記機械にポリマー溶解液を投入した後、前記機械を作動させ、所定流量で膜の製造を行う工程と、
 - e. 膜のブランケットが取り出され、残留有機溶媒除去用の真空ストーブに入れられる工程と、
 - f. 前記ブランケットがCO₂レーザー切断機に送られ、膜切断処理が行われる工程と、
 - g. 膜が密閉容器に保管される工程と、
 - h. 前記膜が個別に包装される工程と
- を含む。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】本発明の構造を示す図である。

【図2】好適な実施形態（グラフェンを有する）における本発明の構造を示す図である。

【図3】（A）本発明が0.52%の還元酸化グラフェンを備え、（B）本発明が0.71%の還元酸化グラフェンを備え、（C）本発明が1.35%の還元酸化グラフェンを備える、好適な実施形態における本発明の構造を示す図である。

【図4】図3に示した構成における本発明の伸長応力と変形との関係を示すグラフである。

【図5】培養5日目（a及びb）及び11日目（c及びd）における、本発明による軟骨細胞統合－軟骨分化を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0027】

添付の図面に基づいて本発明を説明する。

【0028】

本発明は、第1の好適な実施形態において、ポリジオキサノン膜を含む歯科用及び／又は医療用デバイスに関する。さらに、前記膜は、物理化学的及び形態学的特性が生物学的流体の拡散及び細胞の接着を促進するサブ及びマイクロメートル繊維を有する。

【0029】

従って、本発明のデバイスは、例えば、骨欠損及び他の結合組織（歯肉、皮膚、軟骨又は角膜等）の再建及び／又は組織再生誘導に使用されることとなる。

【0030】

本発明のデバイスは、再吸収可能なアロプラスチック材料であるポリ（ジオキサノン

10

20

30

40

50

）から調製された膜（メンブレン）を有する。この種の材料は、新形成組織と同時に置換されるため、骨修復に適している。このように、本発明のデバイスは、欠損空間を維持する機械的バリアとして、且つ骨組織及び軟部組織の増量／再構築のためのメッシュとして使用することができる。膜の物理的構造及び組成により、3～12ヶ月と推定される期間内に吸収を制御することができる。

【0031】

従って、前記膜は、合成再吸収性ポリ（ジオキサノン）であると共に、空間の維持と効率的な組織修復又は再生処理とを促進する機械的バリアとして機能するメッシュ状の微細構造を有する。

【0032】

吸収性ポリマーを使用するという決定は、次の事実に基づく。すなわち、異種の天然ポリマーは、一般に取り扱いが困難であり、バッチごとに制御することが困難な物理化学的特性を有し、変更することが困難な分解速度を有し、その精製及び滅菌が単純ではないという事実である。加えて、異種の天然ポリマーは、原料の供給源（病原体やウイルス）からの交差汚染のリスクが高く、他の生物種で産生されたタンパク質の存在による免疫反応性の可能性が高い。さらに、コラーゲン膜の使用後、重篤な局所炎症反応が誘発されることが既に報告されている。

【0033】

本発明のデバイスは単回使用（使い捨て）であり、無菌状態で供給され、様々なデザイン及び寸法で入手可能である。

【0034】

本発明のデバイスは以下の寸法で提供されることが好ましい。すなわち、厚さは0.05 mm～2.00 mmの範囲、幅は15 mm～200 mmの範囲、長さは20 mm～200 mmの範囲である。

【0035】

本発明は、500ナノメートルから2マイクロメートルの間の直径を有するフィラメントによって形成されることが好ましい。

【0036】

さらに、本発明は、下表に示すように、成形／射出であるPDSプレートプロセスとの関係でより高い抵抗を付与するエレクトロスピニングによって製造されるので、技術的差異をもたらす。

【0037】

10

20

30

40

50

【表 1】

医療デバイス	原料	引張強度(MPa)	破断点伸び(%)
本発明	PDO	3.93±0.18	280.3±26.4
Bio Gide	コラーゲン	4.8±1.79	46.8
BioMend	コラーゲン	~4.5	X
Jason	コラーゲン	13	17.9
PDS	PDO	2.57 2.31	X

10

20

【0038】

第2の好適な実施形態において、本発明は、グラフェン、又はカーボン製の他の化合物（ナノカーボン、カーボンチューブ等）を有する。これらの化合物の存在は、本発明のデバイスに機械的強度を付加し、抗菌特性を付与する。

【0039】

第3の好適な実施形態において、本発明は幹細胞を含む。この幹細胞は、患者の皮膚パンチ（ダーマルパンチ（dermal punch））から得られた自家成体間葉系幹細胞であることが好ましい。

30

【0040】

本発明の第4の好適な実施形態において、本発明はグラフェン及び幹細胞を有する。この実施形態は、図5に示されている。ヒト脂肪由来幹細胞（hASCs：human adipose-derived stem cells）において、分化11日後に、軟骨分化繊維被覆及び形態変化が、両方の評価膜上で認められ、本発明において大きな構造組織化が認められた。

【0041】

幹細胞を含む本発明の複数の実施形態は、以下の特徴を有する。

40

- － カスタマイズされた製品であること、
- － 脂肪組織由来の成体間葉系幹細胞の使用であること（これは皮膚パンチから得られ、入手が容易な供給源／免疫調節作用／再生過程を促進する。）、
- － 用途の柔軟性（歯科及び／又は整形外科）、
- － 幹細胞を使用することにより、軟骨再生だけでなく、骨組織等の他の組織の再生にも本発明のデバイスを使用することが可能であること。

【0042】

本発明に係るデバイスの用途

本デバイスは、外来患者又は病院環境で適用されなければならない。

【0043】

50

本発明に係るデバイスの使用及び適用の技術は、外科医（医師又は歯科医師）の好みに応じて様々である。製品の治療的アプローチ、モデル及び寸法、適用技術、固定の使用又は補完的生体材料の使用、並びに手術の結果を監視及び評価する基準といったものの選択は外科医に任されている。

【0044】

適切な部位の準備（レシピエントベッド）には、デバイスで覆われる領域全体を治療することが含まれる。空洞及び／又は骨組織若しくは軟組織と移植部位は、均質な表面と、既に準備されている所望のレシピエントベッドの最終的な形状とを有していなければならない。これにより、デバイスは、レシピエントベッドに完璧に適応し、期待される結果を達成することができる。

10

【0045】

本発明のデバイスの操作及び移植手順において、外科医は、適切な且つ滅菌された手術器具のみを使用すべきである。また、外科的処置の前に、外科医（医師又は歯科医師）は、臨床検査及び画像検査（X線写真又はコンピュータ断層撮影）を通じて、厳密な術前計画を実行しなければならない。また、詳細なアナムネシスや、患者の一般的な健康状態に関する補足的な検査（全血球数、凝固像、カルシウム投与量等）の必要性も考慮すべきである。なぜなら、これらの情報は、本発明のデバイスの設置に対する生体の生物学的反応に直接影響するからである。その上で、患者の状態に最も適したデバイスのモデル及びサイズの選択を含む、事前の手術計画を定める必要がある。

20

【0046】

手術プロトコールは、外科医の参考文献や過去の経験に従って実施しなければならない。その際、デバイスのモデル及びサイズ、手技、設置順序、固定方法（縫合糸、鉗、ネジ）の使用等の最適な選択を常に考慮し、組織再生誘導や骨移植の従来から確立されている治療技術に常に基づくこととなる。

【0047】

本発明は、先行技術と比較した場合、多数の技術的及び経済的利点を提示するが、そのうちのいくつかを以下に列挙する。

- － 本発明のデバイスは、高い膨潤効率を保証する。
- － 本発明のデバイスは、空間維持及び効率的な組織再生誘導を促進する機械的バリアとして作用する。
- － 本発明のデバイスは、細胞外マトリックスに類似した形態及び表面形状を有し、その物理化学的及び形態学的特性は、生物学的流体の拡散及び細胞の接着を促進する。
- － 本発明のデバイスは、全身毒性に関する安全性及び有効性を保証するように設計及び製造される。
- － 本発明のデバイスは、生物学的適合性の点で安全且つ有効である。物理化学的分析及び前臨床試験により、その特性、性能及び機能性が保証される。
- － 吸収可能な製品であり、微量元素同定試験及びゲル浸透クロマトグラフィーによれば、そこから放出される物質による危険性はない。
- － 本発明のデバイスは、温度条件に関連するリスクを排除するように設計及び製造され、有効期間中の製品の完全性を保証する。
- － 合成膜はクロスコンタミネーション及び免疫反応性のリスクを低減する。
- － 本発明は、先天性、外傷後、外科手術後の問題、又は歯周病やインプラント周囲病変のような疾患の結果による骨内欠損に適応する組織再生誘導デバイスである。
- － 本発明は、組織再生誘導のための骨移植片又は合成骨代替物に伴う歯槽骨隆起の増大／再建を促進する。

30

40

【0048】

本発明は、骨腔の空間又は歯槽骨隆起の増大のために形成された空間の維持に有利なバリアとして作用する。

【0049】

本発明の好適な実施形態において、骨欠損及び他の結合組織（歯肉、皮膚、軟骨、又は

50

角膜を含む。)の組織再生誘導及び／又は再生に特に用いられる歯科／医療用デバイスは、グラフェン（還元酸化グラフェン）を有する。この好適な実施形態の構造上の違いは、図2と比較して図1で観察することができる。前記デバイスは、0.52%～1.35%の範囲の濃度のグラフェン、好ましくは還元酸化グラフェンを有することが好ましい。

【0050】

【表2】

	平均ファイバ 直径(μm)	引張応力(MPa)	引張変形(%)
rGO膜0%	2.20 μm	0.05	0.07
rGO膜0.52%	2.87 μm	0.0036	0.60
rGO膜0.71%	3.41 μm	0.0035	0.65
rGO膜1.35%	3.27 μm	0.005	1.98

10

20

【0051】

また、図3でこれらの濃度の構造的な違いを観察することは可能である。図3において、(A)は0.52%の還元グラフェン酸化物を有する本発明を示し、(B)は0.71%の還元グラフェン酸化物を有する本発明を示し、(C)は1.35%の還元グラフェン酸化物を有する本発明を示す。

30

【0052】

結果として、本発明に還元酸化グラフェンを添加した場合、コントロール膜（対照膜）は最も高い伸長応力と最も低い変形を示し、破断に有利であった。

【0053】

試験

1. 物理的及び機械的特性評価

ASTM D882:2012 - Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheets に基づいて機械試験を行った。試験片は、メッシュの長手方向に50mm×10mmの寸法で作製した。エチレンオキッド（EtO）滅菌又は非滅菌の試験片（各ロットからn=5）を、500Nのロードセルを備えたインストロン5569型万能試験機で、50mm/min-1の速度で、23℃、50% R.H.の条件下で試験した。得られた結果によれば、EtOによる滅菌は膜の機械的特性を変化させず、この製品にとって満足のいくものであることが判明した。加えて、コラーゲン膜に関連する文献に見られる結果によると、本発明のデバイスは、Bio-Gide（Geistlich社）、Jason（Botiss社）、BioMend（Zimmer社）で実施された試験と同等かそれ以上の引張強さを示し（1）、国内及び国際市場に存在する全てのコラーゲン膜より優れた破断時ひずみを示した（1-3）。Johnson & Johnson社のPDS膜に関しては、本発明に係るデバイスの機械的特性が、文献データと比較して優れていることが示された（2）。

40

【0054】

50

2. 化学的／物質的特性評価

微量元素

試験及び基準パラメータに使用した方法は、ISO10993-1、ISO10993-17、ISO10993-18及びABNT NBR ISO 13175-3:2013規格に基づくものである。これらの規格は、医療用途のリン酸カルシウムの特性評価に一般的に使用されているものであり、製品中の重金属の総量が以下の元素の合計であることを考慮する。以下の元素とは、鉛、水銀、ビスマス、ヒ素、アンチモン、スズ、カドミウム、銀、銅及びモリブデンである。その結果、全ての分析元素について、値は装置の定量限界（LQ: quantification limit）を下回ることが示された。パッチはABNT NBR ISO 13175-3:2013で定義された微量元素の許容レベルを示した。

10

【0055】

3. ASTM 570による膨潤率

膨潤率を測定するために、本発明のデバイスの各厚さ（0.25mm、0.5mm及び1.0mm）について5個のサンプルを用意した。実験で得られた値は、24時間浸漬後の各タイプの膜の乾燥質量に対して、0.25mm及び0.5mmの膜の平均膨潤率はそれぞれ436.55±22.62%及び425.23±14.99%であり、厚さ1mmのデバイスの平均膨潤率は239.46±11.54%であった。

【0056】

その結果、薄い膜（0.25及び0.5mm）では、浸漬の最初の1分間で膨潤率が最大となり、厚さ1mmの膜では、2時間後に膨潤が安定し、厚さ0.5及び0.25mmでは乾燥重量に対して平均400%を示し、厚さ1mmでは最大200%の膨潤率を示した。

20

【0057】

4. 走査型電子顕微鏡

SEM画像は、サブミクロンオーダーのファイバー（繊維）がランダムに織り込まれた形態構造を示す。レーザー切断は、SEMによって得られた画像において有効であることが証明され、その画像は、レーザー切断部位から遠い領域と近い領域における膜の形態の差が、30µmのオーダーの幅に制限されることを明らかにした。

【0058】

5. DSC（示差走査熱量測定、Differential Exploratory Calorimetry）

示差走査熱量測定（DSC-示差）走査熱量測定）は、キャップ付きアルミニウム試料ホルダーを使用して、試料（滅菌なし）のDSC曲線を分析することによって実施した。試料は以下の温度プログラムに供した。すなわち、10℃/分で-10℃から120℃まで加熱し、120℃で5分間等温とし、10℃/分で120℃から-10℃まで冷却し、-10℃で5分間等温とし、10℃/分で-10℃から350℃まで加熱した。このサイクルは、流速50mL/分の窒素ガス（N₂）の動的雰囲気下で実施された。実験は、ASTM D3418:2015に従い、Netzsch model DSC 214 Polyma装置を用いて実施した。その結果、滅菌していない本発明のデバイスのサンプルは、熱特性に関して満足のいく結果を示した。得られた製品の融解温度及び結晶化温度のデータは、PDOポリマーの文献データ(4,5)を裏付けるものであった。

30

【0059】

6. 製品の完全性

報告書AFK01834/20、AFK0476/21及びAFK0653/21に示された結果によると、試験された本発明のデバイスのサンプルは、文献データと同様に、満足のいく結晶化度の割合（%X_c）の結果を常に得た。結晶化度について得られた値（平均値及び標準偏差、T1=49±1.4%X_c；T2=44±0.8%X_c；T3=50±0.94%X_c）は、許容可能な値であり、その有効性を損なわない方法で、意図された使用に対して設計で決定された範囲内（40～60%X_c）である（適切な温度条件下に保管されることを条件とする。）。製造されたサンプルは、それぞれのトリプリケート間で、12ヶ月までの安定性及び再現性を示した。

40

【0060】

50

7. 最大経皮感作性

最大化経皮感作アッセイ (Maximized Dermal Sensitization assay) は、浮腫及び／又は紅斑の出現によって特徴付けられる、物質に対する免疫学的媒介皮膚反応を引き起こす物質の能力を分析することからなる。最大化法は、当該方法の感度を高めるために、免疫反応を刺激できるアジュバントを使用する (フロイント完全アジュバント-FCA)。固形物であるため、本発明のデバイスは、接種のために抽出工程を経る必要があった (ISO 10993-12: Sample preparation and reference materials, 2012を参照)。そのために、デバイスは、0.9%塩化ナトリウム溶液1mLに対して膜面積6cm²の割合で、37℃、100rpmのシェーカー・インキュベーターで72時間抽出した。この工程で得られた液体 (抽出液) は、均質で無色の外観を示した。抽出後、モルモット (*Cavia porcellus*-Dunkin Hartley) を用い、コントロール (対照物質) と被験物質の抽出物を希釈して皮内注射し、さらにこれらの製品を皮膚に曝露する試験を行った。その結果、実験群及びコントロール (対照) 群では皮膚反応は観察されず、試験は終了した。このように、ISO 10993-10 (Biological evaluation of medical devices of Tests for irritation and skin sensitization) に従って適用された方法によれば、被験物質は非感作性であることが判明した。

10

【0061】

8. 皮膚内反応性

皮内反応性試験 (Intracutaneous Reactivity test) は、ある物質を単回で経皮的に接種した後に生じる局所的な副作用を評価するものである。固形物であるため、本発明のデバイスは、接種のために抽出工程を経る必要があった (ISO 10993-12: Sample preparation and reference materials, 2012を参照)。試験は、無作為に選んだウサギ (*Oryctolagus cuniculus* - New Zealand) を用い、被験物質を投与する約24時間前に、約10 x 15 cmの面積で背部を剃毛した。剃毛後、水中ペンを用いて動物の背部を試験区と対照区に分け、試験区の5カ所に、1カ所あたり0.2mL、合計1mLのデバイス抽出物 (被験物質) を皮内投与した。対照 (コントロール) 部位には、抽出媒体 (extraction vehicle) (塩化ナトリウム0.9%) を、デバイスの適用と同じ条件で適用した。適用部位は適用後24、48、72時間で評価され、浮腫と紅斑の有無で分類された。その結果、いずれの動物も、適用部位 (試験) でも対照部位 (塩化ナトリウム0.9%) でも浮腫や紅斑を示さなかった。従って、ISO 10993-10 (Biological evaluation of medical devices - Tests for irritation and skin sensitization) に従って適用された方法によれば、被験物質は満足できるものであると認められた。

20

30

【0062】

9. 急性全身毒性

急性全身毒性とは、物質への1回の曝露によって生じる可能性のある健康リスク及び有害作用の評価である。これらの試験は、全身毒性作用に関する情報を提供し、物質の安全性を推定するための基礎となる。実施された試験は、ISO 10993-11: Biological evaluation of medical devices - part 11: Tests for systemic toxicity (2006) and its 2017 updateに基づいている。固形物質であるため、ISO 10993-12: Sample preparation and reference materials, 2012に従い、被験物質を0.9%塩化ナトリウム溶液で抽出し、接種する必要があった。被験物質抽出物を動物体重1kg当たり50mLの量で静脈内投与し、抽出媒体を対照 (コントロール) 群に、被験物質と同じ条件で10匹のマウス (*Mus musculus* - Swiss) に投与した。適用後、1、24、48及び72時間後に、毒性徴候の有無を定期的に観察した。毒性徴候には、皮膚、眼、呼吸器系、循環器系及び消化器系の変化、運動活性の変化、唾液分泌、痙攣、毛状勃起、体重減少及び死亡等が含まれる。試験物質は薬局方基準に従って評価された。同基準では、全ての動物が生存し、毒性の臨床的徴候を示さなければ、試験物質は採用された要件に適合しているとみなされる。試験後、試験群では全身毒性又は死亡の徴候は観察されなかったため、毒性を評価するための肉眼的剖検の必要はなかった。従って、ISO 10993-11: Biological evaluation of medical devices - Tests for systemic toxicityに従って適

40

50

用された方法によれば、被験物質は満足すべきものであると認められた。

【0063】

10. 亜慢性全身毒性

実施された試験は、ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices - part 6: Tests for local effects after implantation (2007) 及び ISO 10993-11: Biological evaluation of medical devices - part 11: Tests for systemic toxicity (2006) and update (2016) に基づくものであった。亜慢性全身毒性試験は、物質への反復及び／又は継続的な曝露によって引き起こされる可能性のある健康リスク及び／又は副作用の存在を評価するものである。移植アッセイは、被験物質が曝露された組織と被験物質が直接接触した後の局所的影響を評価する。これらのアッセイにより、全身及び標的臓器への毒性作用の可能性に関する情報が得られ、組織反応の履歴と進展が特徴付けられ、被験物質の生物学的安全性を推定するための基礎となる。この意味で、本試験は、骨組織に適用された本発明のデバイス製品の局所的及び全身的影響を（製品が意図する適応症と目的に従って）90日間評価することを目的とした。試験はウサギ（*Oryctolagus cuniculus* - New Zealand）を用い、特定のプロトコールの下、脛骨へのデバイスの挿入を行った。処置後、動物の体重を測定し、毒性の臨床徴候について、ベースライン時及び試験期間中毎週評価した。毒性の臨床徴候には、痙攣、突然変異、衰弱、運動失調、振戦、局所炎症、呼吸困難、流涙、唾液分泌、下痢、毛孔形成、悪液質を含むがこれらに限定されない。90日後、動物から血液サンプルを採取し、剖検と臓器の採取を行った。ここでの臓器には、肝臓、脾臓、左腎臓、左副腎、精巣／卵巣、近位（膝窩）及び遠位（腸間膜）リンパ節、移植部位が含まれる。分析の結果、ウサギにおいて局所的及び全身的な毒性作用がないことが示され、その安全性、有効性、使用目的に対する潜在的な性能を実証するのに十分であった。また、提示された結果は、以下の試験を実施する必要がないことを正当化するのに十分なものである。すなわち、血液適合性試験（ISO 10993-4）及び免疫毒性試験（ISO 10993-20）（血液及び免疫学的変化がない場合）、慢性毒性試験（ISO 10993-11）（長期間の追跡調査の必要性を示す全身性の変化がない場合）、生殖毒性試験（ISO 10993-3）（生殖器官における病理組織学的変化がない場合）、トキシコキネティクス試験（ISO 10993-16）（本発明のデバイスによって示される毒性の可能性がない場合）である。

【0064】

11. 動物モデルにおける試験-実施 180 日間

骨インプラント試験は、動物種における材料のインプラント後の局所的影響を評価するものであり、医療デバイスのインプラント後の組織反応の履歴と進化を特徴付けること、及びその生物学的安全性を評価することを目的とする。ウサギ（*Oryctolagus cuniculus* - New Zealand）の脛骨の結節に近い部位に直径3mmの丸い切り込みを入れ、本発明のデバイス（試験）と参照製品（コントロール（対照））の両方を挿入した。動物の骨組織は、試験部位において、新生骨組織の控えめから中程度の層で構成される局所的な広範な領域を示した。当該領域は、骨細胞の細胞数が多く、骨芽細胞の韻律が控えめから中程度で、繊維の向きが不定である。それに加えて、わずかにから中程度の量の非鉱物化骨基質が、ハバーシアン系を有するラメラ領域からセメンティングラインによって分離され、組織構造のわずかから中程度の変化が観察された。骨形成に伴う局所的な毛細血管増殖（1〜3芽）はごくわずかであった。局所骨反応の半定量的評価では、試験部位の平均値は13.6であり、対照部位の平均値は14.6であり、組織反応指数は-1.0（対照と比較して非反応）であった。実験期間中、動物に有意な変化は見られず、剖検においても巨視的な有意な変化は見られなかったことから、提示されたパラメータに毒性がないことが示された。

【0065】

12. 羊での試験

12.1 試験概要

本試験は、本発明試験品のヒツジにおける軟骨修復能及び関節炎症反応に対する作用の

安全性及び有効性を分析することを目的とした。本試験の方法として、雌成羊（Ovis aries）の軟骨病変の処置後の移植部位を、対照（コントロール）又は参照処置と比較した解剖病理学的分析によって評価した。

【0066】

骨関節又は全身の変化の徴候のない16頭のヒツジの軟骨下骨が露出するまで、直径10 mmの軟骨病変を直接及び左大腿骨の内側顆の支持中心に誘導した。病変の誘発後、各動物は左の骨盤肢の病変部に移植部位を受け、（右の骨盤肢の病変部において）対照治療を受けた（各治療につき8頭）。対照（コントロール）治療は、0.9% NaCl生理食塩水の浸潤（コントロール）、又は軟骨下骨への5回のマイクロフラクチャーの後、0.9% NaCl生理食塩水の浸潤（マイクロフラクチャー）であった。試験品及び参照品による治療は、本発明の膜（試験品）及びChondroGide（登録商標）（参照品）をフィブリン接着剤を用いてマイクロフラクチャーに固定することから成る。動物は26週間この治療にさらされた。期間終了後、全ての動物を麻酔して安楽死させ、巨視的に検査した。組織サンプルとインプラント部位の標本が処理され、画像化と巨視的分析のために送られた。

10

【0067】

12.2 分析方法

1. 巨視的評価

両顆と大腿骨転子で構成され、隣接する軟部組織が存在しない大腿骨の遠位セグメントを、写真と映像で撮影した。これらのうち、1つのビデオと3枚の写真が、整形外科手術の経験が豊富な獣医師1名と医師2名の計3名の評価者による「盲検試験」での巨視的評価に送られた。

20

【0068】

大腿骨内側顆の関節軟骨の巨視的（肉眼での）評価は、国際軟骨学会（ICRS：International Society of Cartilage Research）が提唱したガイドラインに従って行われ、正常、正常に近い、異常、重度の異常に分類された（表1）。

表. ICRSによる軟骨修復の評価

【0069】

30

40

50

【表 3】

軟骨修復の度合い	
隣接する正常軟骨と同レベル	4
75%の深さ充填	3
50%の深さ充填	2
25%の深さ充填	1
修復なし	0
病変端との一体化	
完全な癒合	4
1mm未満の癒合不全	3
3/4の一体化(1/4は1mmを超える一体化障害あり)	2
1/2の一体化(1/2は1mmを超える一体化障害あり)	1
1/4未満の一体化又は一体化なし	0
肉眼での外観	
無傷で滑らかな表面	4
小繊維状の表面	3
わずかなクラックとただれ	2
大きなクラックとただれ	1
部位の変性	0
修復の総合評価	
正常	12
正常に近い	11～8
異常	7～4
重度の異常／修復なし	3～1

10

20

30

40

【0070】

修復の総合評価に関する評価者間の一致を、フライスのカッパ係数 $\kappa(2)$ を用いて分析した。これは、評価方法がカテゴリー尺度で測定される場合に、2人以上の評価者間の一致のレベルを決定するために使用される尺度であるためである。

【0071】

修復の大域的評価に関して群を比較するために、ランダム効果を持つ順序多項ロジスティック回帰モデルが提案された。このモデルは、独立変数と、2を上回るレベルを持つ順序カテゴリー型の応答変数との関連付けを可能にする。また、このモデルは、同じ羊が膝DとEで分析されている可能性があるため、各サンプル単位について1を上回る尺度が存

50

在することを考慮する。また、このモデルは、左右と評価者によって調整される。

【0072】

全ての分析において、有意水準5%を採用した。

【0073】

12.3 骨密度測定

島津製作所製の装置（型式 SCT - 7800 CT、0.5mmスライス、mA 100及びKVP 120で標準化されている。）を介して解剖して隣接する軟部組織を除去した後、大腿骨の遠位セグメントからコンピュータ断層撮影画像を得た。本試験に含まれる32の膝からCT画像が得られた。評価のため、画像はSynapse PD-S Viewerソフトウェア（富士フイルム-東京、日本）により横断面で可視化された。軟骨下硬化は、ImageJソフトウェアを用いた骨密度測定分析により決定した。この目的のため、本試験で評価した膝のそれぞれについて3枚の画像を取得し（合計96枚）、顆部を選択してピクセルに分類した。外側顆（ネガティブコントロール）も全画像で評価し、その平均値から基底値119,198ピクセルを求めた。

10

【0074】

骨密度測定変数に関する群間及び時間間の比較のために、左右で調整された混合効果（ランダム効果及び固定効果）を持つ線形回帰モデルが提案された。線形混合効果モデルは、応答がグループ化され（同じ個体について複数の測定）、同じグループ内のオブザベーション間の独立性の仮定が適切でないデータ分析で使用される(3)。これらのモデルは、残差が平均0と一定の分散 σ^2 を持つ正規分布を持つと仮定し、ヒストグラム、分位数-分位数、分散などの適切なグラフによって検証されてきた。比較のために、直交対比事後検定が用いられた。

20

【0075】

12.4 結果

1. 全体的な巨視的評価

全体的な巨視的評価の結果を下表に示す。

表： 全体的な巨視的評価で得られた結果

【0076】

【表4】

30

修復の総合評価	コントロール	マイクロフラクチャー
ほぼ正常	2 (8.33%)	1 (4.17%)
異常	6 (25%)	14 (58.33%)
重度の異常／修復なし	16 (66.67%)	9 (37.5%)
修復の総合評価	試験品	比較品
ほぼ正常	10 (41.67%)	7 (29.17%)
異常	10 (41.67%)	9 (37.5%)
重度の異常／修復なし	4 (16.67%)	8 (33.33%)

40

【0077】

評価者の一致度を分析した結果を下表に示す。その結果、評価者間の一致は良好であった。

表．全体的な巨視的評価における評価者の一致度分析

【0078】

50

【表 5】

フライスのカップパ係数		p値	95%信頼区間	
0.183		0.205	0.174	0.192
区分	フライスのカップパ係数	p値	95%信頼区間	
ほぼ正常	0.395	0.053	0.382	0.408
異常	-0.067	-0.744	-0.079	-0.054
重度の異常／修復なし	0.25	0.221	0.237	0.263

10

【0079】

異なる処置間の比較の結果を下表に示す。マイクロフラクチャー処置とコントロール処置の巨視的評価の間、又はこれらの処置と比較項目との間に有意差はなかった。試験品と比較品との間には統計的な差はないが、比較項目とは異なり、試験項目は、コントロール及びマイクロフラクチャー治療と比較した場合に有意差を示した。

表 全体的な巨視的評価データの比較

【0080】

20

【表 6】

対比	オッズ比	p値	95%信頼区間	
マイクロフラクチャー 対 コントロール	2.52	0.12	0.80	7.98
試験品 対 コントロール	12.01	<0.01	1.89	76.26
試験品 対 比較品	2.43	0.29	0.47	12.71
試験品 対 マイクロフラクチャー	4.77	0.03	1.21	18.73
比較品 対 コントロール	4.93	0.08	0.84	28.96
比較品 対 マイクロフラクチャー	1.96	0.32	0.52	7.42

30

【0081】

2. 骨密度測定

骨密度測定の評価で得られた軟骨下硬化の中間値の結果を下表に示す。

表 骨密度測定の評価で得られた軟骨下硬化の中間値

【0082】

40

50

【表 7】

	試験品		比較品	
	平均(SD)	中間(最小;最大)	平均(SD)	中間(最小;最大)
ネガティブ	119.17(5.04)	119.24(108.27;128.89)	114.68(4.95)	114.27(106.46;124.08)
コントロール処理	134.88(8.7)	135.41(116.26;147.81)	136.33(6.52)	135.72(125.26;150.55)
	マイクロフラクチャー		コントロール	
	平均(SD)	中間(最小;最大)	平均(SD)	中間(最小;最大)
ネガティブ	120.47(8.05)	120.1(107.38;138.71)	122.37(7.54)	122.84(107.79;135.27)
コントロール処理	140.73(10.75)	143.81(123.14;154.17)	140.41(9.89)	138.59(123.53;158.18)

10

【0083】

骨密度測定データの比較分析の結果を下表に示す。ネガティブコントロール（陰性対照）と全ての処置との間に差があった。試験品は、軟骨下硬化の中間値がマイクロフラクチャー及び対照治療より低い、比較品との関係では統計的な差は示さなかった。比較品は、対照処置とマイクロフラクチャー処置に対して低い中間値を示したが、その差は有意ではなかった。マイクロフラクチャー処置と対照処置の間に統計的な差はなかった。

【0084】

試験結果は、試験品による骨軟骨病変の被覆が、軟骨下骨における炎症プロセス及び骨沈着を減少させることができ（4）、比較品の結果と同様の結果を示したことを表している。

20

表 骨密度測定データの比較

【0085】

【表 8】

対比	見込み偏差	p値	95%信頼区間	
試験品(C対T)	-15.71	<0.01	-18.80	-12.61
比較品(C対T)	-21.65	<0.01	-24.75	-18.56
マイクロフラクチャー(C対T)	-20.26	<0.01	-23.35	-17.17
コントロール(C対T)	-18.03	<0.01	-21.13	-14.94
T(試験品 対 比較品)	-1.93	0.31	-5.65	1.78
T(試験品 対 マイクロフラクチャー)	-6.56	0.04	-12.81	-0.32
T(試験品 対 コントロール)	-6.24	0.05	-12.49	0.01
T(比較品 対 マイクロフラクチャー)	-4.63	0.15	-10.88	1.62
T(比較品 対 コントロール)	-4.31	0.18	-10.55	1.94
T(マイクロフラクチャー 対 コントロール)	0.32	0.84	-2.77	3.42

30

40

【0086】

結論

実施された分析から、本発明は、対照処置及びマイクロフラクチャー処置との関係で優位性を示し、比較品による処置との関係では同等であった。

【0087】

50

また、本発明を用いたヒツジの関節では、副作用は観察されなかった。本発明及びコラーゲン足場(Chondro-Guide)は、対照(コントロール)群と比較して優れたICRSスコアを示した(それぞれ、 $P \leq 0.0001$ 及び $P \leq 0.01$)。本発明群の軟骨修復は、マイクロフラクチャーのみの群と比較して良好であり($P \leq 0.01$)、これは本発明がより優れた細胞支持を提供し、局所間葉系細胞の軟骨分化を促進することを示唆している。加えて、ヒツジ滑液のバイオマーカーには群間で統計学的な差はみられなかった。

【0088】

試験の結果は、本発明が、より良好な細胞支持を提供する安全な足場であること、及び軟骨分化において潜在的な改善を示し、軟骨修復の質を改善し得ることを示している。加えて、本発明の機械的及び物理化学的特性は、それらの宿主上での縫合によるパーソナライゼーション及び固定を可能にする。

10

【0089】

さらに、ヒツジにおけるマイクロフラクチャリング技術は囊胞形成を促進するが、本発明は保護効果を有し、SCBの囊胞形成及び硬化を減少させることができる。

【0090】

本発明に係るデバイスの製造工程

本発明に係るデバイスを調製する方法は、以下の工程からなる。すなわち、当該方法は、

- a. 原料を室温で真空ストーブに入れる工程と、
- b. 前記原料を計量して有機溶媒による溶解液を調製する工程と、
- c. 従業員が、操作に適したプログラムを挿入して機械のセットアップを行う工程と、
- d. 前記機械にポリマー溶解液を投入した後、前記機械を作動させ、所定流量で膜の製造を行う工程と、
- e. 膜のブランケットが取り出され、残留有機溶媒除去用の真空ストーブに入れられる工程と、
- f. 前記ブランケットがCO₂レーザー切断機に送られ、膜切断処理が行われる工程と、
- g. 膜が密閉容器に保管される工程と、
- h. 前記膜がポリエチレンテレフタレート(PET)のプリスター(泡)の形の1次包装に層流下で個別に包装され、その後、前記プリスターはタイベックタイプ(Tyvek type)の外科用グレードの紙でヒートシールされ、01(1つ)の製品のプリスターが、層流下でPET/アルミ小袋の形の2次包装に入れられ、前記製品が外科用グレードの紙でできた滅菌用包装物に入れられ、その包装物はサーモシールされ、EtOによる滅菌を示すラベルが貼られる工程と

20

30

を含む。この工程hは、EtOガスがパッケージ内部に効果的に浸透し、製品を滅菌するために行われる。

【0091】

本発明の好適な実施形態の例を説明したが、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲の内容(そこに含まれる可能な均等物を含む。)によってのみ限定され、記載された発明概念の他の可能な変形を包含することが理解されるべきである。

40

50

【図面】
【図 1】

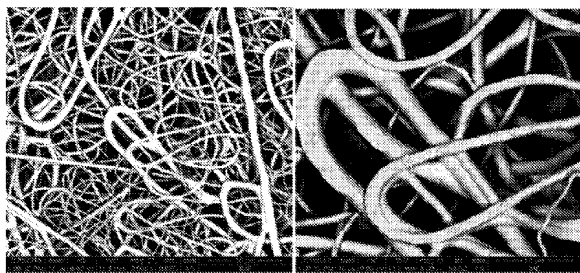


FIGURE 1

【図 2】

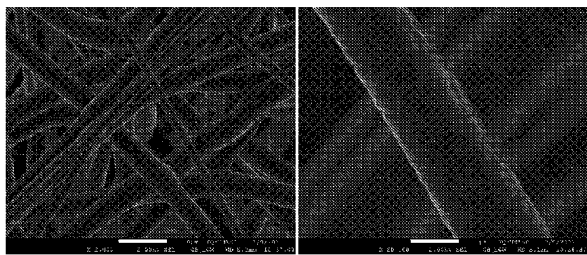


FIGURE 2

【図 3】

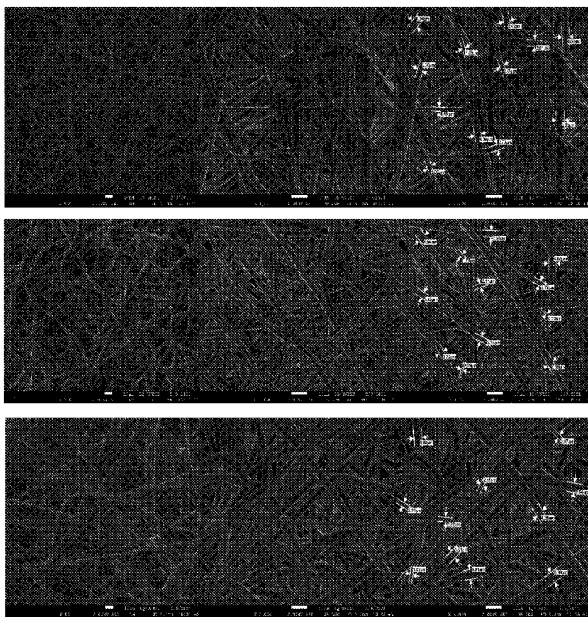


FIGURE 3

【図 4】

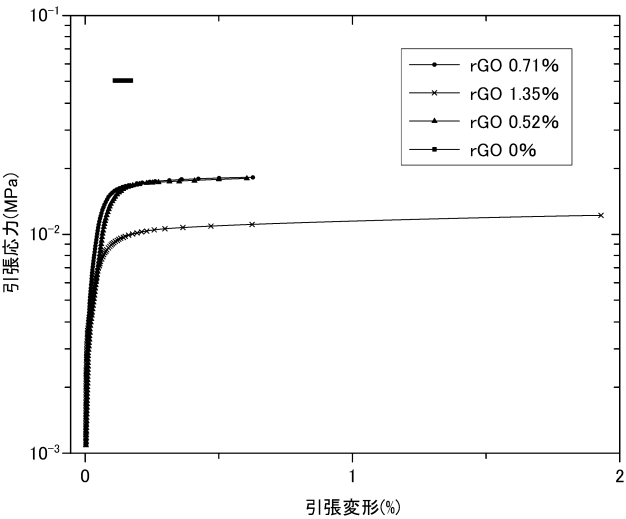


FIGURE 4

10

20

30

40

50

【図 5】

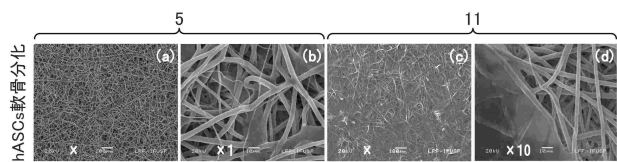


FIGURE 5

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/BR2023/050185
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61L 27/38 (2006.01)i; A61L 27/08 (2006.01)i; A61L 27/18 (2006.01)i; A61L 27/58 (2006.01)i; A61F 2/10 (2006.01)i; A61F 2/14 (2006.01)i; A61C 8/00 (2006.01); C01B 32/182 (2017.01)i; C12N 5/0775 (2010.01)i CPC: A61L 27/3834, A61L 27/08, A61L 27/18, A61L 27/3839, A61L 2300/412 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) A61L 27/38; A61L 27/08; A61L 27/18; A61L 27/58; A61C 8/00; A61F 2/10; A61F 2/14; C01B 32/182; C12N 5/0775 CPC: A61L 27/3834, A61L 27/08, A61L 27/18, A61L 27/3839, A61L 2300/412, A61L 2300/64, A61L 2430/06, A61L 2430/34, A61F 2/105, A61F 2/142, A61F 2/2846, A61F 2210/0004, A61F 2240/001, A61F 2002/30761, A61F 2002/30766, A61C 8/0006, A61C 8/0016, A61C 8/0083, C01B 32/182, C12N 5/0667 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched INPI-BR Database, PUBMED Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Derwent Innovation, Google Patents, Espacenet, STN (BIOSIS)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020155724 A1 (UNIV OXFORD INNOVATION LTD [GB]) 21 May 2020 (2020-05-21) Documento completo	1 - 10
X	US 2018326123 A1 (UNIV ARKANSAS [US]) 15 November 2018 (2018-11-15) Documento completo	1 - 10
X	US 2017021060 A1 (TEXAS A & M UNIV SYS [US]) 26 January 2017 (2017-01-26) Documento completo	1 - 10
X	US 2021244854 A1 (UNIV ARKANSAS [US]) 12 August 2021 (2021-08-12) Documento completo	1 - 10
X	WO 2022081697 A1 (UNIV PITTSBURGH COMMONWEALTH SYS HIGHER EDUCATION [US]) 21 April 2022 (2022-04-21) Documento completo	1 - 10
☒ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 July 2023		Date of mailing of the international search report 14 July 2023
Name and mailing address of the ISA/BR National Institute of Industrial Property (Brazil) Rua Mayrink Veiga, 9, 6º andar, CEP 20.090-910 Rio de Janeiro – RJ Brazil		Authorized officer Rodrigo BARBOSA FERRARO
Telephone No. (55 21) 3037-3742, 3037-3984		Telephone No. +55 21 3037 4528 - 3037 3319

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2023/050185

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Saska, S.; Pilatti, L.; Silva, E.S.d.S.; Nagasawa, M.A.; Câmara, D.; Lizier, N.; Finger, E.; Dyszkiewicz Konwińska, M.; Kempisty, B.; Tunchel, S.; et al. Polydioxanone-Based Membranes for Bone Regeneration. Polymers 2021, 13, 1685. https://doi.org/10.3390/polym13111685 All document	1 - 10
Y	Scaffaro, R.; Maio, A.; Lopresti, F.; Botta, L. Nanocarbons in Electrospun Polymeric Nanomats for Tissue Engineering: A Review. Polymers 2017, 9, 76. https://doi.org/10.3390/polym9020076 All document	1 - 10
Y	Yu Luo, He Shen, Yongxiang Fang, Yuhua Cao, Jie Huang, Mengxin Zhang, Jianwu Dai, Xiangyang Shi, and Zhijun Zhang Enhanced Proliferation and Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells on Graphene Oxide-Incorporated Electrospun Poly(lactic-co-glycolic acid) Nanofibrous Mats ACS Applied Materials & Interfaces 2015 7 (11), 6331-6339 DOI: 10.1021/acsami.5b00862 All document	1 - 10
Y	Shah, S., Yin, P.T., Uehara, T.M., Chueng, S.-T.D., Yang, L. and Lee, K.-B. (2014), Guiding Stem Cell Differentiation into Oligodendrocytes Using Graphene-Nanofiber Hybrid Scaffolds. Adv. Mater., 26: 3673-3680. https://doi.org/10.1002/adma.201400523 All document	1 - 10
Y	Yibo Xu, Chuanxin Chen, Peter B. Hellwarth, Xiaoping Bao, Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing, Bioactive Materials, Volume 4, 2019, Pages 366-379, https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.11.002 All document	1 - 10
Y	Bressan, E., Ferroni, L., Gardin, C. et al. Graphene based scaffolds effects on stem cells commitment. J Transl Med 12, 296 (2014). https://doi.org/10.1186/s12967-014-0296-9 All document	1 - 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/BR2023/050185

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
US	2020155724	A1	21 May 2020	US	11517646	B2	06 December 2022		
				CN	105979977	A	28 September 2016		
				CN	105979977	B	10 March 2020		
				EP	3052152	A1	10 August 2016		
				EP	3052152	B1	14 December 2022		
				GB	201317636	D0	20 November 2013		
				US	2016228608	A1	11 August 2016		
				US	10500310	B2	10 December 2019		
				WO	2015049524	A1	09 April 2015		
US	2018326123	A1	15 November 2018	CA	3061608	A1	15 November 2018		
				CA	3061608	C	09 May 2023		
				CN	110944685	A	31 March 2020		
				EP	3621666	A1	18 March 2020		
				EP	3621666	A4	20 January 2021		
				WO	2018208488	A1	15 November 2018		
US	2017021060	A1	26 January 2017	US	9925297	B2	27 March 2018		
US	2021244854	A1	12 August 2021	NONE					
WO	2022081697	A1	21 April 2022	NONE					

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 L 27/02 (2006.01)
 A 6 1 K 6/70 (2020.01)
 A 6 1 K 6/50 (2020.01)
 A 6 1 K 6/60 (2020.01)
 A 6 1 C 19/06 (2006.01)
 A 6 1 F 2/28 (2006.01)

A 6 1 L 27/60
 A 6 1 L 27/40
 A 6 1 L 27/08
 A 6 1 L 27/02
 A 6 1 K 6/70
 A 6 1 K 6/50
 A 6 1 K 6/60
 A 6 1 C 19/06
 A 6 1 F 2/28

Z

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,
 ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C
 O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I
 R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW
 ,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL
 ,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 サントス デ ソウザ シルバ、エドヴァルド

ブラジル国 1 3 2 1 4-1 9 2 ジュンディアイ ヴィラ オルトランジア ルア タウバテ 2 6

(72)発明者 ヨシコ マツバラ、エレイン

ブラジル国 0 1 3 0 7-0 1 2 サンパウロ ルア ドナ アントニア デ ケイロース 2 3 9 アブ
 ト 3 6

(72)発明者 アウド シブリ、ジャミール

ブラジル国 0 7 1 1 5-2 3 0 グアルーリョス ルア カエタノ アンドレア 1 8 2

(72)発明者 ピラッティ メンデス ダ シルバ、リヴィア

ブラジル国 1 3 2 0 6-6 5 0 ジュンディアイ パークエ ウニアン ルア ウニアン 4 5 2 ア
 ブト 9 2 ハッピー

(72)発明者 サスカ スペシアン、シベレ

ブラジル国 0 6 5 4 3-0 0 3 サンタナ デ パルナイーバ タンボレ アラメダ コレス ダ マタ
 ナンバー 1 9 7 3 アプト 7 3・ディ

(72)発明者 トウンチェル、サミー

ブラジル国 0 5 0 1 2-0 0 0 サンパウロ ペルジーゼズ ルア プロフェッサー ジョアン アル
 ーダ 3 0 4 アプト 1 1 2

(72)発明者 コーエン、モイゼス

ブラジル国 0 1 4 5 4-0 3 0 サンパウロ ルア フレデリック ショパン 2 1 0

F ターム (参考) 4C052 AA16

4C081 AB02 AB04 AB06 AB11 AB19 AB21 BA12 BA13 BA16 CA171
 CD34 CF21 CF22 DA02 EA02 EA14
 4C089 AA06 BA20 BE07 BE13 CA04 CA05
 4C097 AA01 BB01 BB09 CC02 CC05 DD15