(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5256035号
(P5256035)

(45)発行日　平成25年8月7日(2013.8.7)　(24)登録日　平成25年4月26日(2013.4.26)

(51)Int.Cl.　F I
A61L 27/00 (2006.01)　A61L 27/00 Z
A61F 2/08 (2006.01)　A61F 2/08
A61L 27/00 G

請求項の数 4　(全 7 頁)

(21)出願番号　特願2008-523107(P2008-523107)
(86)(22)出願日　平成18年7月27日(2006.7.27)
(65)公表番号　特表2009-502268(P2009-502268A)
(43)公表日　平成21年1月29日(2009.1.29)
(86)国際出願番号　PCT/CN2006/001879
(87)国際公開番号　WO2007/012281
(87)国際公開日　平成19年2月1日(2007.2.1)
審査請求日　平成20年7月8日(2008.7.8)
(31)優先権主張番号　200510036174.4
(32)優先日　平成17年7月29日(2005.7.29)
(33)優先権主張国　中国(CN)

(73)特許権者　508026205
▲広東▼冠昊生物科技有限公司
中華人民共和国　５１０６６３　▲広東▼省▲広▼州市科学城国▲際▼企▲業▼孵化器二期Ｄ区４０８室
(74)代理人　100103207
弁理士　尾崎　隆弘
(72)発明者　徐　国▲風▼
中華人民共和国　５１０６３０　▲広東▼省▲広▼州市石牌▲暨▼南大学羊城苑３１▲棟▼５０１房

審査官　淺野　美奈

最終頁に続く

(54)【発明の名称】生物型人工靭帯及びその調製方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｉ　材料選択ステップ：新鮮動物の腱又は靭帯を収集して基材（1）とする、
II　事前処理ステップ：ブロードスペクトラム、高効率、低毒の滅菌剤を使って、基材（1）に対して予備的滅菌処理を行ってから、余分の夾雑物及び要らない部分を切り外す、
III　脂肪除去ステップ：有機溶剤で基材（1）中の脂肪を抽出する、
IV　抗原除去ステップ：活性試料を使って、基材（1）中の蛋白質中の－OH、$-NH_2$、－SHの特定の活性基を閉鎖し、水素との結合力の強い試料を利用して基材（1）中の蛋白質分子の螺旋チェーン中の特異構造の原因となる水素結合を置換する、前記活性試料は、小分子の有機酸無水物、塩化アシル、酸アミド、シングルエポキシ化物質で、水素との結合力の強い試料はグアニジン類化合物である、
V　固定ステップ：固定剤を使って基材（1）中の蛋白質分子を架橋反応により固定する、前記固定剤は、蛋白質分子と架橋反応が発生し易いエポキシ化物質、アジピン酸ジニトリル、ヘキサメチレンジイソシアネート、又は、カルボジイミドの試料である、
VI．表面修飾ステップ：
前記基材（1）の表面にはカップリング剤を通じて、増殖因子が附着できる特定のポリペプチド又はグリコサミノグリカン類活性成分をカップリング剤によりカップリングすることによって、活性表面層（2）を形成する、前記特定のポリペプチド中の一種は、16のリジン（K16）、グリシン（G）、アルギニン（R）、アスパラギン酸（D）、セリン（S）

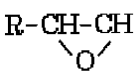
、プロリン（P）及びシステン（C）のみから成るポリペプチドであり、前記グリコサミノグリカン類活性成分は、ヒアルロン酸や、コンドロイシン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、ヘパリン、ヘパリン/ヘパラン硫酸(HS)、又はケラチン硫酸塩であり、前記カップリング剤は、アジピン酸ジニトリル、無水二酸、又はダブルエポキシ化物質、若しくは、－NH_2、－OH、－COOHと縮合反応が発生できる二官能基試料である、

を含む生物型人工靭帯の調製方法。

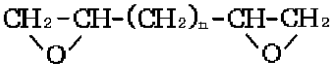
【請求項２】

前記固定剤として使われるエポキシ化物質は、

シングルエポキシ化物質



又は、ダブルエポキシ化物質



のいずれかを使うことができ、ここで、R=C_nH_{2n+1}-で、ｎ＝0～10であり、ポリプロピレンオキシドの低重合エポキシ化物質も使えることを特徴とする請求項1に記載されている生物型人工靭帯の調製方法。

【請求項３】

前記II　事前処理ステップで使用されるブロードスペクトラム滅菌剤は、ベンザルコニウムブロマイド、アジ化ナトリウム、クロルヘキシジンを選択できることを特徴とする請求項1に記載されている生物型人工靭帯の調製方法。

【請求項４】

前記III　脂肪除去ステップで使用される有機溶剤は、クロロフォルム、アセトン、酢酸エステル、エーテル、無水アルコール又はこれらの混合物を使用できることを特徴とする請求項1に記載されている生物型人工靭帯の調製方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、靭帯断裂患者が新しく靭帯を修復させるための装置として使用し、人体内に移植する医療器機である人工靭帯及びその調製方法に関する。

【背景技術】

【０００２】

靭帯断裂は常に見られる運動損傷の一種で、特に膝関節前部に位置する交差靭帯は、運動中の断裂の発生率が非常に高く、結果が比較的深刻となり、もしも治療の機会に間に合わない、又は不当な治療を受けたならば、更に関節内の軟骨磨耗などの構造性損傷が引き起こされ、関節機能が悪化し、ひいては障害者になる可能性もある。早期、外科医師は縫合による方法を用い治療を試みたが、靭帯の接合癒合能力に比較的差があることにより、全ての試みはほとんど失敗となり、放置されている。そこで、学者たちは代替移植体を用い靭帯を再建する方法に希望を寄せている。研究された代替移植体は3種類ある。その一つ目は自分の体の大して機能が重要でない腱又は靭帯を取り移植する。この方法の最大の欠点は自分の身体に傷がつき、恒常的に後遺症を残し、甚だしく引き合わないことになることもある。例えば、膝蓋骨の腱（通常それと連結されている骨も一緒に取り出す、即ち骨－膝蓋骨の腱－骨の形式）を取って代替移植に使う場合、膝前の痛み、膝蓋骨の腱の痙攣、膝蓋骨の腱炎等の後遺症、しかも、うまく処理できなかった場合、100％活着しにくくなる。二つ目は同種異体（すなわち新鮮な死体）の腱又は靭帯を代替移植体とする方法で、この方法は二つの欠点がある。（1）出所が困難であり、遺体を寄付する人は非常に少なく、（2）対応する処理技術が立ち遅れており、サンプルを取った後、ただ簡単に低温冷蔵庫に入れて保存するか或いは一般消毒液に入れて簡単な消毒処理を行った後に、移植に用いるので、有効な抗原の除去や提供者体内に存在している病原菌やウイルスなどを効果的に殺し滅することは難しく、移植後の拒絶反応や疾病感染の危険を避けることはで

きない。三つ目は人工靭帯を代替移植体とする方法で、一般的に合成高分子化合物、例えば、ポリエステル、ポリテトラフロロエチレン、ナイロンなどで作られた棒状又はベルト状ものが使われているが、これらの代替体を移植した後、短期的な効果は優れているが、これらの高分子化合物は、あくまでもその構成や構造の面で人体と異なっているので、慢性拒絶反応による無菌性炎症の危険が終始存在しており、更に重要なこととして高分子化合物は固有的クリープ性があるため、一定期間の靭帯役割を果たしてから、不可逆に伸ばされ、靭帯の牽引機能を失ってしまう。近年では、牛の腱を利用して人工腱及び靭帯を製造することを試みているが、ただ簡単な低温（-80℃）冷凍、脂肪除去及びグルタルアルデヒドによる固定処理を経てから使用している。グルタルアルデヒドはアセタールを形成することによって蛋白質を架橋固定しているが、アセタールの安定性が高くないので、固定産物の耐生分解性も悪く、生分解によってあるべき力学強度を失ってしまう。また、生分解の際は緩やかにグルタルアルデヒドを放出し、アルデヒド類は残留毒性があり、しかも、有効な抗原除去処理を行っておらず、抗原性を効果的に除去しないので、人体移植後、慢性拒絶反応による失敗の可能性があり、これらの研究は今も実質的な成果が見られない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００３】

本発明の目的は安全に使用でき、高い生物融合性や、安定性及び耐生分解性に優れており、身体の再生修復を加速化できる生物型人工靭帯及びその調製方法を提供することである。

【０００４】

本発明の技術的解決方法：生物型人工靭帯は、固定剤による架橋固定及び抗原除去処理を経た動物靭帯又は腱で形成された基材である。

【課題を解決するための手段】

【０００５】

一つの優れた方法として、基材の表面に活性表面層を設けるが、この活性表面層には、増殖因子の附着できる特定のポリペプチド又はグリコサミノグリカン (GAG)類活性成分が含ませると言うことである。

【０００６】

動物靭帯又は腱組織は微生物によって生分解又は分解され易いので、固定剤で架橋固定する必要があり、伝統的にはグルタルアルデヒドを固定剤として使用しているが、残留毒性があるので、我々はエポキシ化物質や、アジピン酸ジニトリル、ヘキサメチレンジイソシアネート、又はカルボジイミドなどの非アルデヒド類固定剤を使用する場合、前記の欠点はない。エポキシ化物質をアルデヒド類の代わりに固定剤とする場合、エポキシ化物質は開環反応によって蛋白質分子を架橋するので、一旦開環されると再びエポキシ化物質を形成することは難しく、その生分解物は人体によって代謝できるグリコール又はポリオールで、アルデヒド類のような毒性がなく、処理後の動物靭帯の安定性もアルデヒド類で固定したものより高い。近代的免疫理論によると、動物組織の抗原性は主に蛋白質中のある特殊位置の活性グループ及び特異構造によるもので、これらの活性グループには主に－OHや、$－NH_2$、－SHなどが含まれており、特異構造は一般的に蛋白質分子の螺旋チェーン中のある特殊の水素結合によるものと言われている。動物靭帯の処理において、一種又は多種のこれらの活性グループと反応を起こし易い活性試料（例えば、酸無水物、塩化アシル、酸アミド、エポキシ化物質など）を用いてこれらのグループと結合させることによって、これらを閉鎖し、その抗原を除去する。と同時に、水素との結合力の強い試料（グアニジン類化合物など）を利用して特異構造の原因となる水素結合を置換し、その構造を変えることによって、その抗原性を効果的に除去する。動物靭帯がエポキシ化物質によって架橋固定された後、その組織は微生物によって生分解又は分解し難く、新生組織が分泌するプラスミノーゲンはカリクレインの協同作用下のみ、コラーゲンは蚕食分解されるので、新生の靭帯組織の成長及び形成に十分な時間が保証でき、残留毒性もない。しかも、蛋白

質中の活性グループの閉鎖とその構造の変化を通じて、その免疫抗原性を効果的に除去することができ、それによって形成された基材は、慢性免疫拒絶反応もなく、優れた生物融合性を持っている。また、表面修飾を通じてその表面に特定のポリペプチド又はその他GAGなどの活性成分を導入することによって、その組織の融合性を向上する。これらの特定のポリペプチド又はGAGは、成長因子に対して、ブロードスペクトラムの附着及び吸収作用又は未分化細胞の指向性分化を激発する作用があるので、靭帯の再生と修復を促進することができる。

【０００７】

本発明の生物型人工靭帯の調製方法には、次のステップが含まれる。

（1）材料選択：新鮮動物の腱又は靭帯を収集する。

（2）事前処理：ブロードスペクトラム、高効率、低毒の滅菌剤で予備的滅菌処理を行ってから、余分の夾雑物及び要らない部分を切り外す。

（3）脂肪除去：有機溶剤で基材中の脂肪を抽出する。

（4）抗原除去：活性試料を使って、基材蛋白質中の特異性活性グループ、例えば－OH、$-NH_2$、－SHなどを閉鎖し、水素との結合力の強い試料を利用して基材蛋白質分子の螺旋チェーン中の特殊水素結合を置換して、特異性構造を変える。

（5）固定：固定剤を使って基材中の蛋白質分子を架橋固定する。

一つの優れた方法として、基材の表面にカップリング剤を通じて増殖因子が附着できる特定のポリペプチド又はGAG活性成分のカップリングによって活性表面層を形成させる。

【０００８】

生物型人工靭帯の調製方法において、前記ブロードスペクトラム滅菌剤は、ベンザルコニウムブロマイド、アジ化ナトリウム、クロルヘキシジンなどを使うことができる。

【０００９】

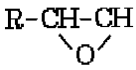
生物型人工靭帯の調製方法において、前記有機溶剤は、クロロフォルム、酢酸エステル、無水アルコール又はこれらの混合物を使うことができる。

【００１０】

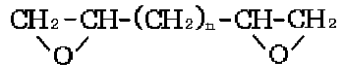
生物型人工靭帯の調製方法において、前記活性試料は、小分子の酸無水物、塩化アシル、酸アミド、シングルエポキシ化物質などを使うことができ、水素との結合力の強い試料はグアニジン類化合物を使うことができる

【００１１】

生物型人工靭帯の調製方法において、前記固定剤は、蛋白質分子と架橋反応が発生し易い非アルデヒド類試料、例えばエポキシ化物質や、アジピン酸ジニトリル、ヘキサメチレンジイソシアネート、又はカルボジイミド中の1種又は2種の試料である。前記エポキシ化物質は、シングルエポキシ化物質



を使っても良いし、ダブルエポキシ化物質



を使っても良い。こちらでの$R=C_nH_{2n+1}-$で、ｎ＝0－10である。また、低重合エポキシ化物質、例えばポリプロピレンオキシドも使うことができる。

【００１２】

生物型人工靭帯の調製方法において、前記特定のポリペプチド中の一種は、16のリジン（K16）、グリシン（G）、アルギニン（R）、アスパラギン酸（D）、セリン（S）、プロリン（P）及びシステン（C）のみから成るポリペプチドであり、前記GAGはヒアルロン酸や、コンドロイシン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、ヘパリン、ヘパリン/ヘパラン硫酸(HS)又はケラチン硫酸塩などである。

【００１３】

生物型人工靭帯の調製方法において、特定のポリペプチド又はGAG活性成分のカップリングに使われるカップリング剤には、アジピン酸ジニトリル、無水二酸、又はダブルエポ

キシ化物質、若しくはその他－NH_2、－OH、－COOHなどと縮合反応が発生できる二官能基試料が含まれる。

【発明の効果】

【００１４】

本発明の効果：1、生物融合性が良く、免疫拒絶反応がなく、その構成はヒトの靭帯と似ており、生分解産物は新生の靭帯組織によって吸収利用できる。2、安定性が高く、一般条件下では生分解し難く、新生組織の分泌するプラスミノーゲンの作用下でカリクレインと協同する場合のみ生分解され、生分解と新しい組織の成長はほとんど一致する。3、力学的強度が高く、力学的強度は靭帯の力学要求を完全に満たすことができる。4、表面の活性修飾を通じて、特定のポリペプチド又はGAGなどをカップリングした活性成分は、成長因子に対して、吸収作用又は未分化細胞の指向性分化を激発する作用があり、靭帯再生能力を促進するので、靭帯修復の優れたベアラーとキャリアであり、その性能は合成材料の人工靭帯よりはるかに優れている。

【発明を実施するための最良の形態】

【００１５】

実施例：添付図1と2に示されているとおり、生物型人工靭帯は、エポキシ化物質の架橋固定及び抗原除去処理を経た動物靭帯又は腱によって形成された基材1、及び基材1表面において、成長因子が附着できる特定のポリペプチド又はGAG類活性成分とのカップリングによって形成された活性表面層2で構成されている。こちらでの特定ポリペプチド中の一種は、16のリジン（K16）、グリシン（G）、アルギニン（R）、アスパラギン酸（D）、セリン（S）、プロリン（P）及びシステン（C）のみから成るポリペプチドであり、前記GAGはヒアルロン酸や、コンドロイシン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、ヘパリン、ヘパリン/ヘパラン硫酸(HS)又はケラチン硫酸塩などである。

【００１６】

生物型人工靭帯の調製方法では、天然動物の靭帯又は腱を基材としているが、次のステップが含まれている。

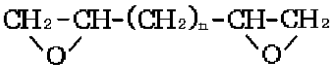
（1）材料選択：専門の担当者により規範化管理が行われている屠殺場から新鮮な動物の腱又は靭帯を収集し、なるべく汚染物に接触しないようにする。

（2）事前処理：ベンザルコニウムブロマイド、アジ化ナトリウム、クロルヘキシジンなどのブロードスペクトラムの高効率消毒剤を使って、予備的滅菌処理を行ってから、余分の夾雑物及び要らない部分を切って除去する。

（3）脂肪除去：有機溶剤、例えばクロロフォルム、アセトン、酢酸エステル、エーテル、無水アルコール又はこれらの混合物で基材1中の脂肪を抽出する。

（4）抗原除去：小分子の有機酸無水物、塩化アシル、酸アミド、シングルエポキシ化物質などの活性試料を使って、基材蛋白質中の特異性活性グループ、例えば－OH、－NH_2、－SHなどを閉鎖し、水素との結合力の強い試料を利用して基材蛋白質分子の螺旋チェーン中の特殊水素結合を置換する。

（5）固定：ダブルエポキシ化物質



を固定剤として、基材1中の蛋白質分子を架橋固定するが、その中のｎ=0-10である。

（6）表面修飾：基材1の表面において、アジピン酸ジニトリル、無水二酸、又はダブルエポキシ化物質、若しくはその他－NH_2、－OH、－COOHなどと縮合反応が発生できる二官能基試料などのカップリング剤を通じて、特定のポリペプチド又はGAG類活性成分をベース1の表面にカップリングすることによって、活性表面層2を形成する。

【図面の簡単な説明】

【００１７】

【図１】図1は、本発明実施例構造の略図である。

【図２】図2は、本発明実施例の垂直断面図である。

【符号の説明】

【００１８】
1…基材、2…活性表面層

【図１】

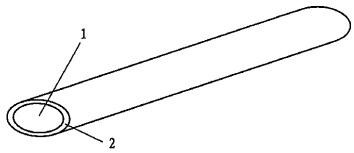


図1

【図２】

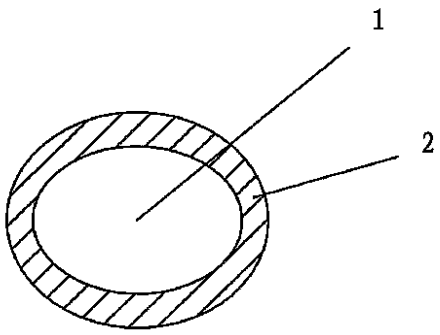


図2

フロントページの続き

(56)参考文献 特表２００２－５３６１１０（ＪＰ，Ａ）
特表２００２－５０５１４４（ＪＰ，Ａ）
特表２００２－５０７９０７（ＪＰ，Ａ）
特表２００１－５２４３５８（ＪＰ，Ａ）
特表２００３－５３５６５３（ＪＰ，Ａ）
特表２００２－５３２１３４（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｌ　２７／００
Ａ６１Ｆ　２／０８