

(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
2020年5月14日(14.05.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/095974 A1

(51) 国際特許分類:

A61P 3/10 (2006.01) *A61K 35/12* (2015.01)
A61P 43/00 (2006.01) *A61K 35/39* (2015.01)
A61F 2/28 (2006.01) *A61K 47/36* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 47/42* (2017.01)

区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 長田 翔伍(NAGATA Shogo); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/043582

(22) 国際出願日: 2019年11月7日(07.11.2019)

(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 2018-211288 2018年11月9日(09.11.2018) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).

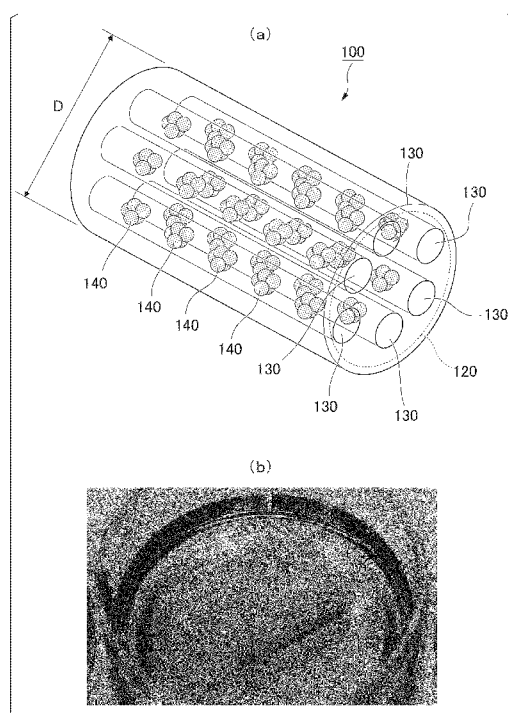
(72) 発明者: 竹内 昌治 (TAKEUCHI Shoji); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 小沢 文智 (OZAWA Fumisato); 〒1138654 東京都文京

(74) 代理人: 棚井 澄雄, 外 (TANAI Sumio et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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.

(54) Title: TRANSPLANT AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 移植片及びその使用



(57) Abstract: This transplant comprises: a shell part that comes into contact with a body fluid when the transplant is transplanted into a live body; and a core part that is located inside the shell part and substantially does not come into contact with the body fluid. The core part includes a plurality of first hydrogel fiber including cells, and the shell part includes a second hydrogel functioning as a semi-permeable film. The transplant has an outer diameter of greater than 1.5 mm.

(57) 要約: 移植片であって、前記移植片は、生体内に移植された場合に体液に接触するシェル部と、前記シェル部の内部に位置し、前記体液とは実質的に接触しないコア部とを有し、前記コア部は細胞を含む複数の第1のハイドロゲルファイバを含み、前記シェル部は半透膜として機能する第2のハイドロゲルを含み、前記移植片は外径1.5 mmを超える大きさを有する、移植片。

(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, ST, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：移植片及びその使用

技術分野

[0001] 本発明は、移植片及びその使用に関する。より詳細には、本発明は、移植片、移植片製造装置及び移植片の製造方法に関する。本願は、2018年11月9日に、日本に出願された特願2018-211288号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 近年、induced pluripotent stem cells (iPS細胞)、embryonic stem cells (ES細胞)等の多能性幹細胞から分化させた細胞、組織幹細胞から分化させた細胞、ヒトやブタから採取した細胞等を、生体内に安全に移植する技術が求められている。

[0003] 通常、同種他家又は異種の細胞を生体内に移植すると、宿主の免疫機構により移植細胞が拒絶され、移植した細胞の機能が低下してしまう。そこで、この問題を解決するために、カプセル化した細胞を移植片として移植する方法が検討されている（例えば、特許文献1を参照）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特表2006-503080号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、特許文献1に記載の方法では、緊急時等に移植片を取り出すことが困難な場合があり、また、異物反応による移植片の機能低下にまだ課題がある。また、大量の細胞を移植する場合に移植片が大きくなる傾向にあり、中心細胞壊死等により機能的な移植細胞が減少してしまう場合がある。

[0006] そこで、本発明は、免疫攻撃を受けることなく細胞を生体内に移植することができ、生体外に取り出すこともできる、移植片を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明は以下の態様を含む。

[1] 移植片であって、前記移植片は、生体内に移植された場合に体液に接触するシェル部と、前記シェル部の内部に位置し、前記体液とは実質的に接触しないコア部とを有し、前記コア部は細胞を含む複数の第1のハイドロゲルファイバを含み、前記シェル部は半透膜として機能する第2のハイドロゲルを含み、前記移植片は外径1 mm以上の大きさを有する、移植片。

[2] 前記半透膜の分画分子量が70,000～500,000である、請求項1に記載の移植片。

[3] 前記移植片は、生体内に移植した場合に体液が侵入する凹部を有する、[1]又は[2]に記載の移植片。

[4] 生体内に移植して2週間後において、表面に付着した前記生体由来の細胞の数が 5×10^5 個/cm²以下である、[1]～[3]のいずれかに記載の移植片。

[5] 前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞が、前記生体と同種他家又は異種である、[1]～[4]のいずれかに記載の移植片。

[6] 前記移植片の表面と、前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞との間の距離が、前記細胞が生存可能な距離である、[1]～[5]のいずれかに記載の移植片。

[7] 前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞が、内分泌細胞、外分泌細胞、神経系細胞、骨格筋系細胞、血液細胞及び間質細胞からなる群より選択された少なくとも1種の細胞である、[1]～[6]のいずれかに記載の移植片。

[8] 前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞が、複数種類の細胞を含む、[1]～[7]のいずれかに記載の移植片。

〔 9 〕 容器部と、前記容器部の内部に着脱可能に配置された複数の柱状冶具と、を含む、移植片製造装置。

〔 1 0 〕 〔 9 〕 に記載の移植片製造装置の前記容器部に第 2 のゾルを注入し、第 2 のハイドロゲルを形成する工程と、前記第 2 のハイドロゲルの形成後に前記複数の柱状冶具を除去し、前記柱状冶具が存在していた部分が凹部を形成した第 2 のハイドロゲルを得る工程と、前記凹部に細胞を含む第 1 のゾルを注入し、第 1 のハイドロゲルを形成する工程と、を含む、〔 1 〕 ～ 〔 8 〕 のいずれかに記載の移植片の製造方法。

〔 1 1 〕 第 1 の円筒部と、前記第 1 の円筒部の内部に配置された複数の第 2 の円筒部と、を含む、移植片製造装置。

〔 1 2 〕 〔 1 1 〕 に記載の移植片製造装置の一方から前記第 1 の円筒部に第 2 のゾルを供給し、前記移植片製造装置の他方から排出される、前記第 2 のゾルの層流を形成するとともに、前記第 2 のゾルをゲル化させて第 2 のハイドロゲルを形成する工程と、前記移植片製造装置の一方から前記第 2 の円筒部に細胞を含む第 1 のゾルを供給し、前記移植片製造装置の他方から排出される、前記第 1 のゾルの層流を形成するとともに、前記第 1 のゾルをゲル化させて第 1 のハイドロゲルを形成する工程と、を同時に行う、〔 1 〕 ～ 〔 8 〕 のいずれか一項に記載の移植片の製造方法。

発明の効果

〔 0008 〕 本発明によれば、免疫攻撃を受けることなく細胞を生体内に移植することができ、生体外に取り出すこともできる、移植片を提供することができる。

図面の簡単な説明

〔 0009 〕 〔 図 1 〕 (a) は移植片の一例を示す模式図である。(b) は、(a) に示す構造を有する移植片の写真である。

〔 図 2 〕 (a) は移植片の変形例の一例の構造を示す斜視図である。(b) は移植片の変形例の一例の構造を示す断面図である。

〔 図 3 〕 移植片製造装置の一例の構造を示す模式図である。

〔 図 4 〕 (a) は移植片製造装置の一例の構造を示す模式図である。(b) は移

植片製造装置の具体例を示す写真である。

[図5]ハイドロゲルファイバの製造過程の一例を説明する模式図である。

[図6]実験例2の結果を示すグラフである。

[図7]実験例4において、移植片をマウスに移植している様子を撮影した写真である。

[図8]実験例4において、マウスの血中グルコース濃度の推移を測定した結果を示すグラフである。

[図9]実験例4において、マウスの血中のヒトC-ペプチドの濃度を測定した結果を示すグラフである。

[図10]実験例5において、マウスの血中グルコース濃度の推移を測定した結果を示すグラフである。

[図11]実験例5において、マウスの血中のヒトC-ペプチドの濃度を測定した結果を示すグラフである。

[図12]実験例6において摘出した移植片の写真である。

[図13]実験例6における、C-ペプチド及びグルカゴンの濃度の測定結果を示すグラフである。

[図14](a)及び(b)は、実験例6における、移植片の薄切切片のヘマトキシリン・エオシン染色の結果を示す顕微鏡写真である。

発明を実施するための形態

[0010] 以下、場合により図面を参照しつつ、本発明の実施形態について詳細に説明する。なお、図面中、同一又は相当部分には同一又は対応する符号を付し、重複する説明は省略する。なお、各図における寸法比は、説明のため誇張している部分があり、必ずしも実際の寸法比とは一致しない。

[0011] [移植片]

1 実施形態において、本発明は、移植片であって、前記移植片は、生体内に移植された場合に体液に接触するシェル部と、前記シェル部の内部に位置し、前記体液とは実質的に接触しないコア部とを有し、前記コア部は細胞を含む複数の第1のハイドロゲルファイバを含み、前記シェル部は半透膜とし

て機能する第2のハイドロゲルを含み、前記移植片は外径1 mm以上の大きさを有する、移植片を提供する。

[0012] 図1(a)は本実施形態の移植片の一例を示す模式図である。図1(b)は、図1(a)に示す構造を有する移植片の写真である。図1(a)に示すように、移植片100は、シェル部110とコア部120とを有する。シェル部110は移植片の表面に位置し、生体内に移植された場合に体液に接触する。コア部120はシェル部110の内部に位置し、生体内に移植された場合においても実質的に体液に接触することはない。ここで、実質的に体液に接触しないとは、例えば移植片の端部においてはコア部が移植片の表面に露出している場合があり、この部分においてはコア部が体液に接触することを許容する意味である。

[0013] コア部120は、複数の第1のハイドロゲルファイバ130を含む。ハイドロゲルとは多量の水を含んだ三次元の網目構造をもつゲルである。ハイドロゲルは、水溶性高分子の水溶液等のゾルをゲル化することにより形成することができ、詳細は後述する。本明細書において、ハイドロゲルファイバとは、繊維状のハイドロゲルを意味する。

[0014] コア部120が複数の第1のハイドロゲルファイバ130を含むことにより、移植片が含む細胞140の数を増やすことができる。また、後述する外径Dを適切な大きさにし、かつ移植片100の表面と、細胞140との間の距離を、細胞140が生存可能な距離に調整しやすくなる。

[0015] ハイドロゲルファイバ130は、細胞140を含む。シェル部110は半透膜として機能する第2のハイドロゲルから構成されている。シェル部110は、分画分子量が70,000~500,000の半透膜として機能することが好ましい。これにより、移植片100を生体内に移植した場合、シェル部110は、酸素、栄養分、細胞140の分泌物質等を透過させるが、生体内の免疫細胞、抗体等を透過させない。

[0016] このため、移植片100を生体内に移植した場合、細胞140は宿主の免疫攻撃を受けることがない。また、細胞140の分泌物質はシェル部110

を透過し、生体内に分泌される。

- [0017] シェル部 110 の分画分子量は、第 2 のハイドロゲルの密度を調整すること等により、目的に応じて任意に制御することができる。
- [0018] 移植片 100 の軸方向に直行する面の断面形状は、特に限定されず、円形、楕円系、四角形や五角形等の多角形等であってもよい。ここで、移植片の軸方向は、移植片の長さ方向であってもよく、第 1 のハイドロゲルファイバ 130 の長軸方向であってもよい。
- [0019] 移植片 100 は外径 D を有する。ここで、外径 D は、移植片の軸方向に直行する面の断面積と同一面積を有する円の直径であってもよい。外径 D は、1 ~ 100 mm であってもよい。外径 D の下限値は 1.5 mm であってもよく、2 mm であってもよく、3 mm であってもよく、4 mm であってもよく、5 mm であってもよく、6 mm であってもよい。また、外径 D の上限値は、100 mm であってもよく、80 mm であってもよく、60 mm であってもよく、40 mm であってもよく、30 mm であってもよく、20 mm であってもよく、10 mm であってもよく、9 mm であってもよく、8 mm であってもよく、7 mm であってもよい。上記外径 D の下限値及び上限値は任意に組み合わせることができる。1 実施形態において、外径 D は 1.5 mm 超の大きさを有していてもよい。
- [0020] 実施例において後述するように、移植片の外径 D が上記の範囲であると、生体内に移植して 2 週間後においても、移植片の表面に付着した生体由来の細胞の数が 5×10^5 個 / cm^2 以下に保たれる傾向にある。このため、生体内の組織と移植片との癒着が抑制され、移植後長期間経過した後においても、必要に応じて移植片を容易に生体外に取り出すことができる。
- [0021] また、移植片の長さは移植対象の症状や移植目的に応じて適宜調整することができ、例えば 1 ~ 100 cm の範囲であることが好ましい。
- [0022] 移植片 100 の表面と、第 1 のハイドロゲルファイバ 130 に含まれる細胞 140 との間の距離は、細胞 140 が生存可能な距離であることが好ましい。ここで、移植片 100 の表面とは、生体内に移植片 100 を移植した場

合に、体液が接触する面である。上記距離は、2 mm以下であることが好ましく、1 mm以下であることがより好ましい。

[0023] 第1のハイドロゲルファイバ130に含まれる細胞140は、移植片110を移植する生体と同種他家又は異種であってもよい。

[0024] 再生医療では、自家の細胞を移植するよりも同種他家又は異種の細胞を移植することが現実的な場合が多い。しかしながら、生体に同種他家又は異種の細胞を移植すると、宿主の免疫機構により移植細胞が拒絶され、移植した細胞の機能が低下してしまう。これに対し、本実施形態の移植片によれば、細胞140が同種他家又は異種であっても宿主の免疫攻撃を受けることがない。

[0025] 第1のハイドロゲルファイバ130に含まれる細胞140としては、内分泌細胞、外分泌細胞、神経系細胞、骨格筋系細胞、血液細胞、間質細胞等が挙げられる。ここで、内分泌細胞としては、例えば、神経分泌細胞、下垂体細胞、甲状腺細胞、副甲状腺細胞、膵島細胞、胃腸内分泌細胞、心筋細胞、肝細胞、腎臓細胞、脂肪細胞、副腎細胞、性腺細胞等が挙げられる。また、外分泌細胞としては、例えば、消化管上皮細胞等が挙げられる。また、神経系細胞としては、神経幹細胞、中枢神経細胞、末梢神経細胞、グリア細胞等が挙げられる。また、骨格筋系細胞としては、骨細胞、軟骨細胞等が挙げられる。また、血液細胞としては、造血幹細胞、白血球、赤血球、血小板等が挙げられる。また、間質細胞としては、繊維芽細胞、血管細胞等が挙げられる。

[0026] これらの細胞はiPS細胞やES細胞等から分化誘導された細胞であってもよい。実施例において後述するように、例えば細胞140が膵島細胞である場合、本実施形態の移植片を生体内に移植することにより、糖尿病を治療することができる。

[0027] 第1のハイドロゲルファイバ130に含まれる細胞140は、複数種類の細胞を含んでいてもよい。これにより、互いに相互作用する細胞を移植片の内部に配置して、移植片の内部で相互作用させることができる。複数種類の

細胞は、上述したいずれかの細胞の混合物であってもよい。あるいは、複数種類の細胞は、内分泌細胞、外分泌細胞、神経系細胞、骨格筋系細胞又は血液細胞と、間質細胞との混合物であってもよい。互いに相互作用する細胞としては、例えば、膵島細胞と血管内皮細胞の組み合わせ、肝細胞と非実質細胞の組み合わせ等が挙げられる。

[0028] ハイドロゲルファイバ130に含まれる細胞が複数種類である場合、1本のハイドロゲルファイバ130に複数種類の細胞が混合して含まれていてもよいし、1本のハイドロゲルファイバ130は1種類の細胞を含んでおり、複数の第1のハイドロゲルファイバ130のうちの一部が他の第1のハイドロゲルファイバ130とは異なる種類の細胞を含んでいてもよい。

[0029] (変形例)

移植片100において、コア部120の内部における第1のハイドロゲルファイバ130の配置は、図1(a)に示すものに限られない。図1(a)では、コア部120の辺縁部に第1のハイドロゲルファイバ130が間隔をおいて配置されている。

[0030] これに対し、第1のハイドロゲルファイバ130の数を増加させて、コア部120の辺縁部に多数の第1のハイドロゲルファイバ130を密着させて配置してもよい。この場合、ハイドロゲルファイバ130は円環状に配置されることになる。これにより、移植片100が含む細胞140の数を増やすことができる。

[0031] また、移植片100において、シェル部110とコア部120の配置は図1(a)に示すものに限られない。図2(a)は移植片100の変形例の1つである、移植片100aの構造を示す斜視図である。図2(a)に示すように、移植片100aは、シェル部110とコア部120とを有する。

[0032] 移植片100aのシェル部110は外側と内側の二重構造になっている。外側シェル部110の内部にはコア部120が位置している。また、内側のシェル部110の内部にもコア部120が位置している。コア部120は、複数の第1のハイドロゲルファイバ130を含む。ハイドロゲルファイバ1

30は、細胞140を含む。

[0033] 移植片100aにおいて、外側のシェル部110と内側のシェル部110の間の空間は、移植片100aを生体内に移植した場合に体液が侵入する凹部を形成している。

[0034] 凹部の表面も移植片100aの表面である。凹部に体液が侵入することにより、移植片100aの表面と、第1のハイドロゲルファイバ130に含まれる細胞140との間の距離が、細胞140の生存可能な距離である領域を拡大することができる。これにより、移植片100a中で生存可能な細胞140の細胞数を増加させることができる。

[0035] 移植片100aの外面には、貫通孔150が設けられていてもよい。貫通孔150は、移植片100aの外面と、移植片100aの凹部とを連通している。移植片100aを生体内に移植した場合、貫通孔150からも体液が侵入することになる。

[0036] 図2(b)は移植片100の変形例の1つである、移植片100bの構造を示す断面図である。図2(b)に示すように、移植片100bは、シェル部110とコア部120とを有する。

[0037] 移植片100bは、内部に凹部を有している。この例では、凹部の断面形状は、凹部の中心から3つの直方体が放射状に並んだような形状となっている。移植片100bを生体内に移植した場合には、凹部に体液が侵入する。

[0038] 移植片100bにおいて、凹部に接する領域もシェル部110である。シェル部110の内部にはコア部120が位置している。コア部120は、複数の第1のハイドロゲルファイバ130を含む。ハイドロゲルファイバ130は、細胞140を含む。

[0039] [移植片製造装置]

(第1実施形態)

第1実施形態の移植片製造装置は、容器部と、前記容器部の内部に着脱可能に配置された複数の柱状冶具と、を含む。図3は、本実施形態の移植片製造装置の構造を示す模式図である。図3に示すように、移植片製造装置30

0は、容器部310と、容器部310の内部に着脱可能に配置された複数の柱状冶具320とを含む。第1実施形態の移植片製造装置によって、上述した移植片を製造することができる。

[0040] (第2実施形態)

第2実施形態の移植片製造装置は、第1の円筒部と、前記第1の円筒部の内部に配置された複数の第2の円筒部と、を含む。図4(a)は、本実施形態の移植片製造装置の構造を示す模式図である。図4(a)に示すように、移植片製造装置400は、第1の円筒部410と、第1の円筒部410の内部に配置された複数の第2の円筒部420とを含む。第1の円筒部410には、第1の円筒部410に第2のゾルを供給するチューブ411が接続されていることが好ましい。また、第2の円筒部420には、第2の円筒部420に第1のゾルを供給するチューブ421が接続されていることが好ましい。図4(b)は、第2実施形態の移植片製造装置の具体例を示す写真である。第2実施形態の移植片製造装置によって、上述した移植片を製造することができる。

[0041] [移植片の製造方法]

(第1実施形態)

第1実施形態に係る移植片の製造方法は、上述した第1実施形態の移植片製造装置を用いる製造方法である。本実施形態の方法では、まず、移植片製造装置300の容器部310に第2のゾルを注入し、第2のハイドロゲルを形成する。

[0042] 続いて、第2のハイドロゲルの形成後に複数の柱状冶具320を除去する。この結果、柱状冶具320が存在していた部分が凹部を形成した第2のハイドロゲルが得られる。続いて、第2のハイドロゲルの凹部に、細胞を含む第1のゾルを注入し、第1のハイドロゲルを形成する。細胞としては、上述したものをを用いることができる。この結果、上述した移植片を製造することができる。

[0043] 第1実施形態に係る移植片の製造方法は、第1のハイドロゲルを形成した

後に、第1のハイドロゲルの露出部分を第2のハイドロゲルで覆う工程を更に含むことが好ましい。これにより、細胞を含む第1のハイドロゲルを第2のハイドロゲルで完全に覆うことができる。この結果、細胞が第2のハイドロゲルで完全にカプセル化され、生体内に移植した場合に、細胞が免疫攻撃を受ける可能性を更に低下させることができる。

[0044] 本実施形態の製造方法において、ゾルとしては、金属イオンの存在下でゲル化してハイドロゲルを形成するゾル、温度に応答してゲル化しハイドロゲルを形成するゾル、pHに応答してゲル化しハイドロゲルを形成するゾル、光に応答してハイドロゲルを形成するゾル、磁場に応答してハイドロゲルを形成するゾル等を用いることができる。以下、ゾルとゲルを区別せずに呼称する場合がある。

[0045] ゾルをゲル化するためには、用いたゲルの特性に応じて、金属イオンを接触させる、温度をゲル化条件に調整する、pHをゲル化条件に調整する、ゲル化条件の光を照射する、ゲル化条件の磁場を与える等の操作を行えばよい。

[0046] 金属イオンの存在下でゲル化するハイドロゲルとしては、二価又は三価の金属イオンの存在下でゲル化するアルギン酸ゲル、カルシウムイオンやカリウムイオンの存在下でゲル化するカラギーナンゲル、ナトリウムイオンの存在下でゲル化するアクリル酸系合成ゲル等が挙げられる。

[0047] 温度応答性ハイドロゲルとしては、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）をポリエチレングリコールで架橋した温度応答性ハイドロゲル（市販名：メビオールゲル）、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリ乳酸とポリエチレングリコールの共重合体、ポリエチレングリコールとポリプロピレンオキシドのトリブロック共重合体（市販名：プルロニック、ポロキサマー）、アガロース、ポリビニルアルコール等が挙げられる。

[0048] pH応答性ハイドロゲルとしては、アルギン酸ゲル、キトサンゲル、カルボキシメチルセルロースゲル、アクリル酸系合成ゲル等が挙げられる。

[0049] 光応答性ハイドロゲルとしては、骨格にアゾベンゼンとシクロデキストリ

ンを組み合わせた合成ゲル、フマル酸アミドをスペーサーとした超分子からなるゲル、ニトロベンジル基を介して架橋されたないしは結合されているゲル等が挙げられる。

[0050] 磁場応答性ハイドロゲルとしては、磁性粒子を含有させた架橋ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）からなるゲル等が挙げられる。

[0051] （第2実施形態）

第2実施形態に係る移植片の製造方法は、上述した第2実施形態の移植片製造装置を用いる製造方法である。本実施形態の方法では、第1のゾルの層流と第2のゾルの層流を形成しゲル化することにより移植片を製造する。第1のゾルと第2のゾルは、いずれかが先にゲル化することが好ましい。

[0052] 具体的には、移植片製造装置400の一方（図4（a）における上側）から、第1の円筒部410に第2のゾルを供給し、移植片製造装置400の他方（図4（a）における下側）から排出される、第2のゾルの層流を形成するとともに、第2のゾルをゲル化させて第2のハイドロゲルを形成する工程と、移植片製造装置400の一方（図4（a）における上側）から第2の円筒部420に細胞を含む第1のゾルを供給し、移植片製造装置400の他方（図4（a）における下側）から排出される、第1のゾルの層流を形成するとともに、第1のゾルをゲル化させて第1のハイドロゲルを形成する工程と、を同時に行う。細胞としては、上述したものをを用いることができる。この結果、上述した移植片を製造することができる。

[0053] 第2実施形態に係る移植片の製造方法は、第2のハイドロゲルを形成する工程と第1のハイドロゲルを形成する工程とを同時に行う工程の前及び後に、第2のハイドロゲルのみを形成する工程を更に含むことが好ましい。

[0054] すなわち、まず、第2のゾルのみの層流を形成するとともに第2のゾルをゲル化させて第2のハイドロゲルを形成し、続いて、上述したように第2のハイドロゲルを形成する工程と第1のハイドロゲルを形成する工程とを同時に行い、続いて、第2のゾルのみの層流を形成するとともに第2のゾルをゲル化させて第2のハイドロゲルを形成することが好ましい。

[0055] この結果、製造される移植片は、細胞を含む第1のハイドロゲルを第2のハイドロゲルで完全に覆うことができる。この結果、細胞が第2のハイドロゲルで完全にカプセル化され、生体内に移植した場合に、細胞が免疫攻撃を受ける可能性を更に低下させることができる。

[0056] 第1の円筒部410への第2のゾルの供給は、チューブ411を通じて行うことができる。また、第2の円筒部420への第1のゾルの供給は、チューブ421を通じて行うことができる。

[0057] 第2実施形態の製造方法において、ゾル及びハイドロゲルとしては第1実施形態の製造方法におけるものと同様のものを用いることができる。

[0058] [その他の実施形態]

1実施形態において、本発明は、細胞の有効量を含む移植片を、治療必要とする患者に移植することを含む、疾患の治療方法であって、前記移植片は、生体内に移植された場合に体液に接触するシェル部と、前記シェル部の内部に位置し、前記体液とは実質的に接触しないコア部とを有し、前記コア部は前記細胞を含む複数の第1のハイドロゲルファイバを含み、前記シェル部は半透膜として機能する第2のハイドロゲルを含み、前記移植片は外径1.5mmを超える大きさを有する、治療方法を提供する。

[0059] 本実施形態の治療方法において、細胞の種類は疾患に応じて選択される。例えば、糖尿病の治療には膵島細胞を移植することが有効である。また、肝臓疾患の治療には肝細胞を移植することが有効である。また、パーキンソン病の治療には神経細胞を移植することが有効である。

実施例

[0060] 以下、実験例により本発明を説明するが、本発明は以下の実験例に限定されるものではない。

[0061] [実験例1]

(ハイドロゲルファイバの作製)

まず、ハイドロゲルファイバの作製方法を説明する。ハイドロゲルファイバの作製方法は特に限定されないが、例えば、図5に示すような二重の同軸

マイクロ流体装置 (coaxial microfluidic device) を用いることにより簡便に作製することができる。2つの流体を同軸となるようにコア部及びシェル部に分けて射出することができるマイクロ流体装置は、例えば、Wonje Jeong, et al., Hydrodynamic microfabrication via "on the fly" photopolymerization of microscale fibers and tubes, Lab Chip, 2004, 4, 576-580 の Fig. 1 にも具体的に説明されている。

[0062] 図5は、ハイドロゲルファイバ600の製造過程の一例を説明する模式図である。ここでは、コア部の材料にコラーゲン溶液を用い、シェル部の材料に架橋前のアルギン酸ナトリウム溶液を用いた場合について説明する。

[0063] まず、マイクロ流体装置500の導入口510から、コラーゲン溶液を導入して射出する。また、マイクロ流体装置500の導入口520から、架橋前のアルギン酸ナトリウム溶液を導入して射出する。また、マイクロ流体装置500の導入口530から、塩化カルシウム溶液を導入して射出する。すると、シェル部のアルギン酸ナトリウム溶液がゲル化し、コア部610がコラーゲンゲルであり、シェル部620がアルギン酸ゲルであるハイドロゲルファイバを製造することができる。

[0064] 導入口510及び520における溶液の射出速度は特に限定されないが、マイクロ流体装置500の口径が $50\mu\text{m}$ ～ 2mm 程度である場合には、 $10\sim 500\mu\text{L}/\text{分}$ 程度であってもよい。導入口510及び520における溶液の射出速度を調節することにより、コア部の直径及びシェル部の被覆厚みを適宜調節できる。導入口530における溶液の射出速度は特に限定されないが、例えば $1\sim 10\text{mL}/\text{分}$ 程度であってもよい。

[0065] 本実験例では、図5に示すマイクロ流体装置を用いて外径サイズがそれぞれ異なるハイドロゲルファイバを作製した。外径サイズは 0.35mm 、 0.5mm 、 1mm 、 1.5mm 、 2mm 、 3mm 、 6mm とした。また、ハイドロゲルファイバの長さは 3cm とした。

[0066] 図5に示すように、マイクロ流体装置の同軸マイクロ流路に、コア流体としてコラーゲン溶液又はアルギン酸を含むラミニン溶液を供給した。また、

シェル流体としてアルギン酸ナトリウム水溶液を供給した。また、シース流体として塩化バリウム水溶液を供給した。これにより、シェルとシースとの界面でゲル化が誘起され、ハイドロゲルファイバが得られた。ハイドロゲルファイバのシェルは、アルギン酸バリウムのゲルであった。

[0067] [実験例 2]

(ハイドロゲルの移植)

実験例 1 で作製した各ハイドロゲルファイバを、免疫機能を有する健常な C 5 7 B L / 6 マウスの腹腔内にそれぞれ移植し、その影響を検討した。

[0068] 各ハイドロゲルファイバの移植から 1 4 日間経過した後、各ハイドロゲルファイバをマウスの腹腔内から取り出した。なお、1 4 日間という期間は、移植された組織に対する異物反応 (F B R : F o r e i g n B o d y R e a c t i o n) を観察するのに適した期間とされている。

[0069] 続いて、各ハイドロゲルファイバの表面に付着した細胞の数を計測した。図 6 は、各ハイドロゲルファイバの表面に付着した細胞の数を計測した結果を示すグラフである。グラフの縦軸は細胞密度 (個 / c m ²) を示す。

[0070] その結果、外径が 0 . 3 5 m m 、 0 . 5 m m のハイドロゲルファイバへの細胞付着は多いが、外径が 1 m m 以上のハイドロゲルファイバへの細胞付着は少ないことが明らかとなった。この結果は、移植片の外径が 1 m m 以上であると、生体内の組織と移植片との癒着が抑制されることを示す。

[0071] [実験例 3]

(移植片の作製)

図 4 (a) 及び (b) に示す移植片製造装置を用いて移植片を作製した。第 1 のゾルとしてはコラーゲン溶液又はラミニン溶液を使用した。第 1 のゾルは、ある一定以上の温度条件下でゲル化するものであった。また、第 1 のゾルにはヒト i P S から分化誘導したヒト臍島細胞を混合した。また、第 2 のゾルとしてはアルギン酸溶液を使用した。第 2 のゾルは、多価カチオンを含む液体と反応するとゲル化するものであった。

[0072] 移植片製造装置の一方から第 1 の円筒部に第 2 のゾルを供給し、移植片製

造装置の他方から排出される、第2のゾルの層流を形成するとともに、第2のゾルをゲル化させて第2のハイドロゲルを形成する工程と、移植片製造装置の一方から第2の円筒部に細胞を含む第1のゾルを供給し、移植片製造装置の他方から排出される、第1のゾルの層流を形成するとともに、第1のゾルをゲル化させて第1のハイドロゲルを形成する工程と、を同時に行った。この結果、移植片製造装置の他方側に移植片が形成された。

[0073] 移植片は長さ20～30mmの円筒形をしており、外径は6mmであった。また、移植片1個あたり、 6×10^6 個又は 1.2×10^7 個の膵島細胞を含む2種類の移植片を作製した。

[0074] [実験例4]

(免疫不全糖尿病モデルマウスへの移植片の移植)

免疫不全糖尿病モデルマウスの腹腔内又は皮下に、実験例3で作製した移植片を移植し、血中グルコース濃度の推移を測定した。移植片としては、移植片1個あたり 1.2×10^7 個の膵島細胞を含むものを使用した。また、免疫不全糖尿病モデルマウスとしては、NOD-Scidマウスを使用した。図7は移植片をマウスに移植している様子を撮影した写真である。

[0075] 移植片を移植後のマウスの非空腹時の血中グルコース濃度を、少なくとも1日1回行った。血中グルコース濃度が 200 mg/dL 以下を正常血糖と判断した。図8は、マウスの血中グルコース濃度の推移を測定した結果を示すグラフである。

[0076] その結果、移植片の移植前に 200 mg/dL 以上であった血中グルコース濃度が、移植片の移植後に 200 mg/dL 以下に維持されたことが明らかとなった。また、移植から4か月後に移植片を除去すると、血中グルコース濃度が再び 200 mg/dL 以上に上昇した。この結果は、移植片の存在により血中グルコース濃度が 200 mg/dL 以下に維持されていたことを示す。

[0077] また、マウスの血中のヒトC-ペプチドの濃度を測定した。図9は、ヒトC-ペプチドの濃度を測定した結果を示すグラフである。なお、C-ペプチ

ドは、インスリンの前駆物質であるプロインスリンの構成成分である。膵島細胞内でインスリン部分とアミノ酸31個のC-ペプチド部分に分離されて血中に放出される。したがって、血中のヒトC-ペプチドの濃度は、移植片に含まれるヒト膵島細胞が分泌したヒトインスリンの量に対応するといえる。ヒトC-ペプチドは、抗ヒトインスリン抗体やマウスインスリンの存在下でも測定が可能である。

[0078] 図9の結果から、移植片の移植から24週間後においても、移植片に含まれるヒト膵島細胞の機能が維持されたことが確認された。

[0079] [実験例5]

(免疫機能を有する糖尿病モデルマウスへの移植片の移植)

免疫機能を有する糖尿病モデルマウスの腹腔内又は皮下に、実験例3で作製した移植片を移植し、血中グルコース濃度の推移を測定した。移植片としては、移植片1個あたり 6×10^6 個の膵島細胞を含むものを使用した。また、免疫機能を有する糖尿病マウスとしては、ストレプトゾシン(CAS番号: 18883-66-4)の投与により糖尿病を誘起したC57BL/6マウスを使用した。

[0080] 移植片を移植後のマウスの非空腹時の血中グルコース濃度を、少なくとも1日1回行った。血中グルコース濃度が 200 mg/dL 以下を正常血糖と判断した。図10は、マウスの血中グルコース濃度の推移を測定した結果を示すグラフである。

[0081] その結果、移植片の移植前に 200 mg/dL 以上であった血中グルコース濃度が、移植片の移植後に 200 mg/dL 以下に維持される傾向が認められた。この効果は移植後少なくとも180日間維持された。

[0082] また、マウスの血中のヒトC-ペプチドの濃度を測定した。図11は、マウスの血中のヒトC-ペプチドの濃度を測定した結果を示すグラフである。図11の結果から、移植片の移植から10週間後においても、移植片に含まれるヒト膵島細胞の機能が維持されたことが確認された。

[0083] [実験例6]

(移植片の検討)

実験例5で移植片を移植したC57BL/6マウスから、4か月後に移植片を摘出し、解析した。図12は摘出した移植片の写真である。

[0084] まず、移植片を培地中でインキュベートし、培地中のグルコース濃度を3 mg/mLに調整し、低血糖状態にした場合に培地中に分泌されたヒトC-ペプチド及びグルカゴンの濃度を測定した。続いて、培地中のグルコース濃度を22 mg/mLに調整し、高低血糖状態にした場合に培地中に分泌されたヒトC-ペプチド及びグルカゴンの濃度を測定した。続いて、培地中のグルコース濃度を3 mg/mLに調整し、再び低血糖状態にした場合に培地中に分泌されたヒトC-ペプチド及びグルカゴンの濃度を測定した。なお、グルカゴンはインスリンとは反対に血糖値が下がって糖を必要とするようになった場合に膵島細胞から分泌されるペプチドホルモンである。

[0085] 図13は、C-ペプチド及びグルカゴンの濃度の測定結果を示すグラフである。図13中、「low」は低血糖状態における測定結果であることを示し、「high」は高血糖状態における測定結果であることを示す。

[0086] 続いて、摘出した移植片の薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色した。図14(a)及び(b)は、ヘマトキシリン・エオシン染色の結果を示す顕微鏡写真である。図14(b)は図14(a)の一部を拡大して撮影した顕微鏡写真である。

[0087] その結果、移植片が4か月間マウスの体内に移植されていたにもかかわらず、移植片に含まれるヒト膵島細胞が生存していることが確認された。

[0088] また、実験例4で移植片を移植したNOD-Scidマウスからも4か月後に移植片を摘出して同様の解析を行った。その結果、本実験例と同様の結果が得られた。すなわち、NOD-Scidマウスにおいても、移植片が4か月間マウスの体内に移植されていたにもかかわらず、移植片に含まれるヒト膵島細胞が生存していることが確認された。更に、摘出した移植片に含まれるヒト膵島細胞は、培地中のグルコース濃度に応じてC-ペプチド及びグルカゴンの濃度を変化させることが確認された。

産業上の利用可能性

[0089] 本発明によれば、免疫攻撃を受けることなく細胞を生体内に移植することができ、生体外に取り出すこともできる、移植片を提供することができる。

符号の説明

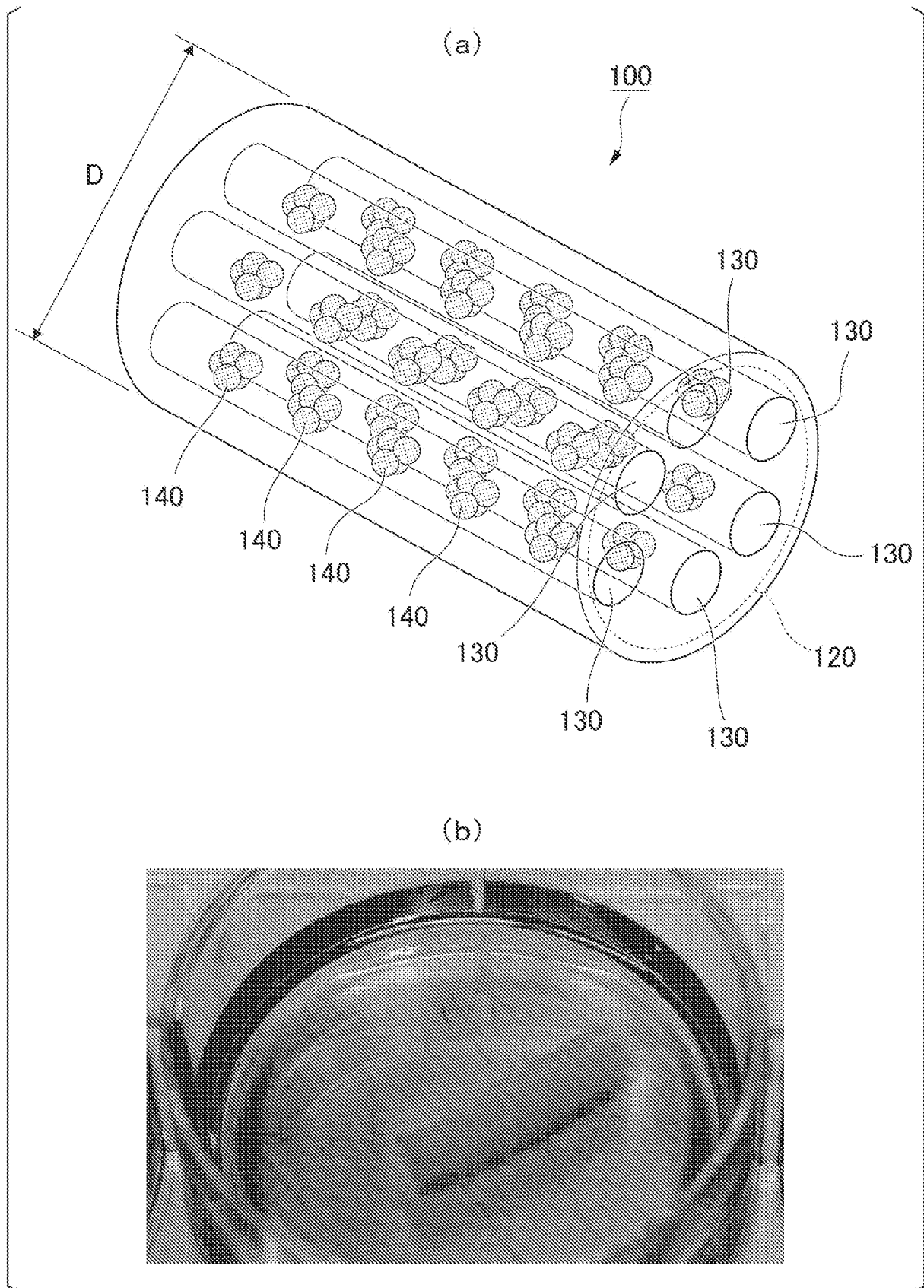
[0090] 100, 100a, 100b…移植片、110, 620…シェル部、120, 610…コア部、130…第1のハイドロゲルファイバ、140…細胞、150…貫通孔、300, 400…移植片製造装置、310…容器部、320…柱状冶具、410…第1の円筒部、420…第2の円筒部、411, 421…チューブ、500…マイクロ流体装置、510, 520, 530…導入口、600ハイドロゲルファイバ、D…外径。

請求の範囲

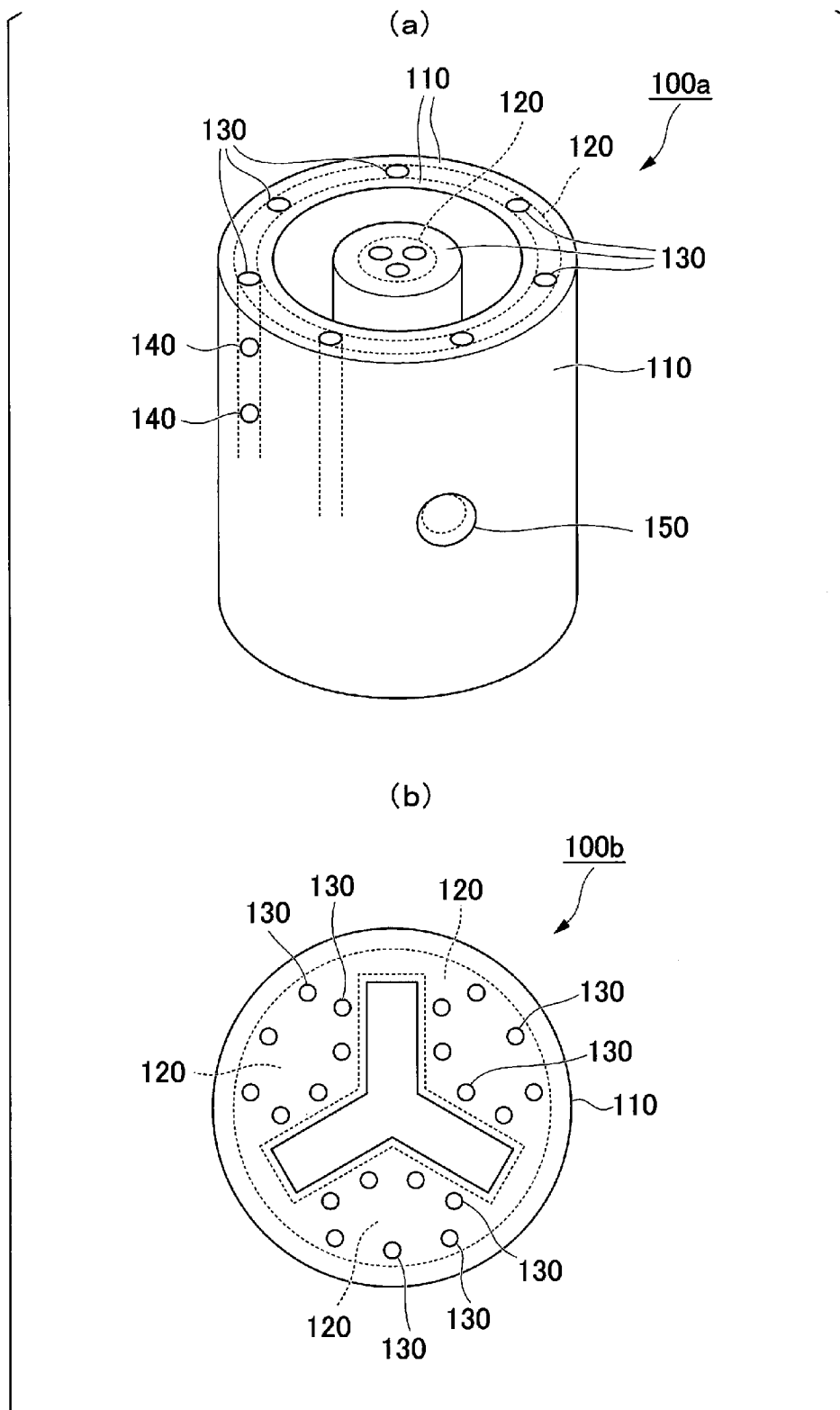
- [請求項1] 移植片であって、
- 前記移植片は、生体内に移植された場合に体液に接触するシェル部と、前記シェル部の内部に位置し、前記体液とは実質的に接触しないコア部とを有し、
- 前記コア部は細胞を含む複数の第1のハイドロゲルファイバを含み、
- 前記シェル部は半透膜として機能する第2のハイドロゲルを含み、
- 前記移植片は外径1 mm以上の大きさを有する、移植片。
- [請求項2] 前記半透膜の分画分子量が70,000～500,000である、請求項1に記載の移植片。
- [請求項3] 前記移植片は、生体内に移植した場合に体液が侵入する凹部を有する、請求項1又は2に記載の移植片。
- [請求項4] 生体内に移植して2週間後において、表面に付着した前記生体由来の細胞の数が 5×10^5 個/cm²以下である、請求項1～3のいずれか一項に記載の移植片。
- [請求項5] 前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞が、前記生体と同種他家又は異種である、請求項1～4のいずれか一項に記載の移植片。
- [請求項6] 前記移植片の表面と、前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞との間の距離が、前記細胞が生存可能な距離である、請求項1～5のいずれか一項に記載の移植片。
- [請求項7] 前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞が、内分泌細胞、外分泌細胞、神経系細胞、骨格筋系細胞、血液細胞及び間質細胞からなる群より選択された少なくとも1種の細胞である、請求項1～6のいずれか一項に記載の移植片。
- [請求項8] 前記第1のハイドロゲルファイバに含まれる細胞が、複数種類の細胞を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の移植片。

- [請求項9] 容器部と、
前記容器部の内部に着脱可能に配置された複数の柱状冶具と、
を含む、移植片製造装置。
- [請求項10] 請求項9に記載の移植片製造装置の前記容器部に第2のゾルを注入し、第2のハイドロゲルを形成する工程と、
前記第2のハイドロゲルの形成後に前記複数の柱状冶具を除去し、
前記柱状冶具が存在していた部分が凹部を形成した第2のハイドロゲルを得る工程と、
前記凹部に細胞を含む第1のゾルを注入し、第1のハイドロゲルを形成する工程と、
を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の移植片の製造方法。
- [請求項11] 第1の円筒部と、
前記第1の円筒部の内部に配置された複数の第2の円筒部と、
を含む、移植片製造装置。
- [請求項12] 請求項11に記載の移植片製造装置の一方から前記第1の円筒部に第2のゾルを供給し、前記移植片製造装置の他方から排出される、前記第2のゾルの層流を形成するとともに、前記第2のゾルをゲル化させて第2のハイドロゲルを形成する工程と、
前記移植片製造装置の一方から前記第2の円筒部に細胞を含む第1のゾルを供給し、前記移植片製造装置の他方から排出される、前記第1のゾルの層流を形成するとともに、前記第1のゾルをゲル化させて第1のハイドロゲルを形成する工程と、を同時に行う、請求項1～8のいずれか一項に記載の移植片の製造方法。

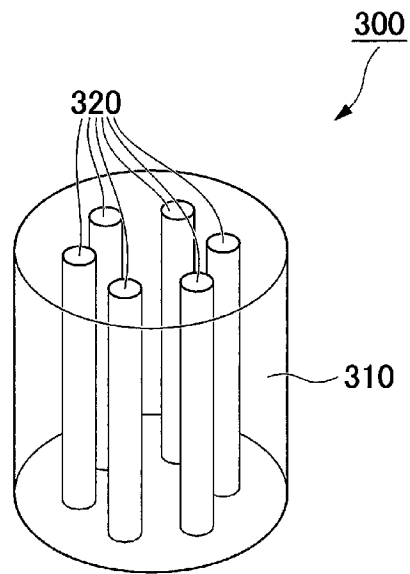
[図1]



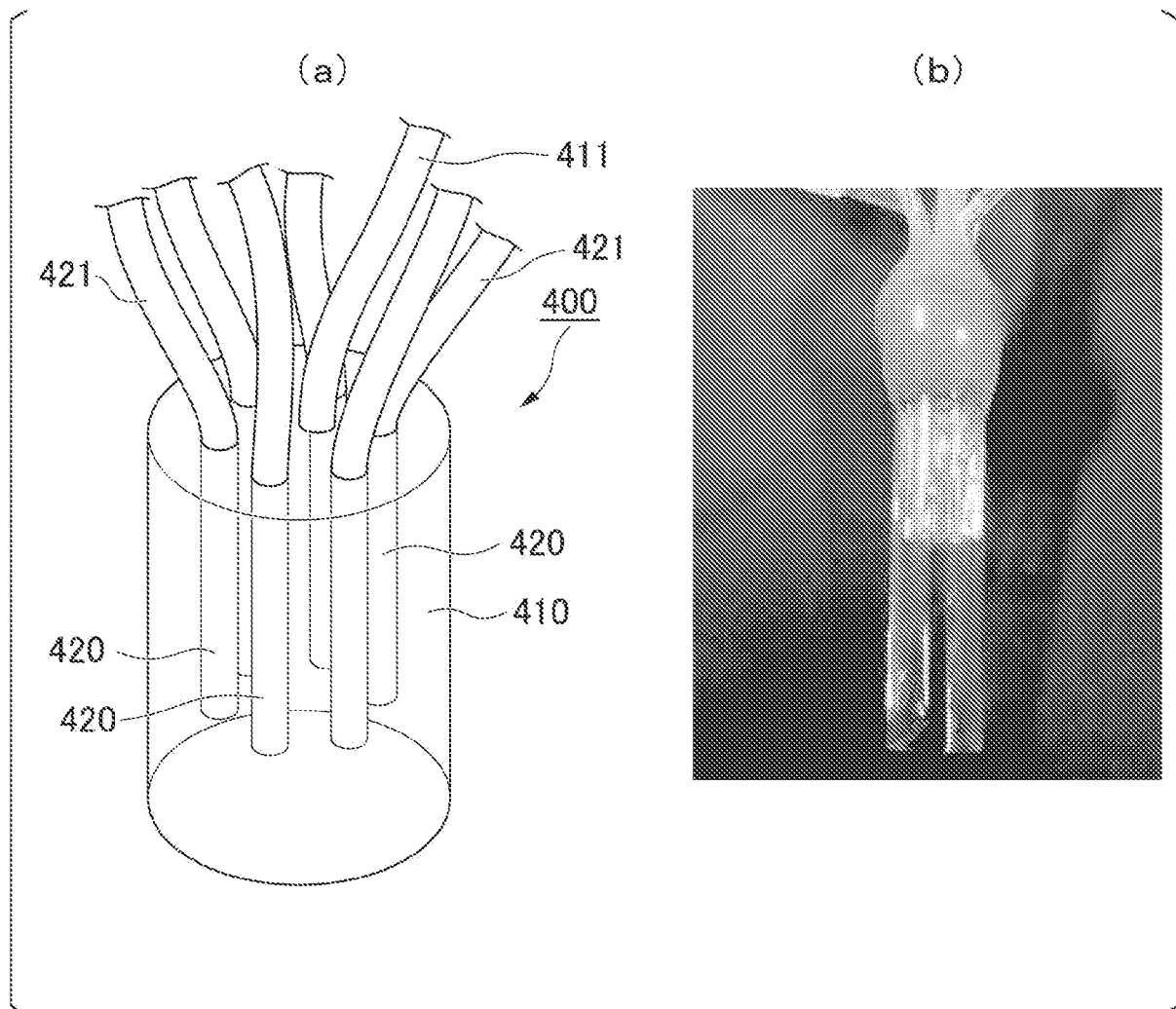
[図2]



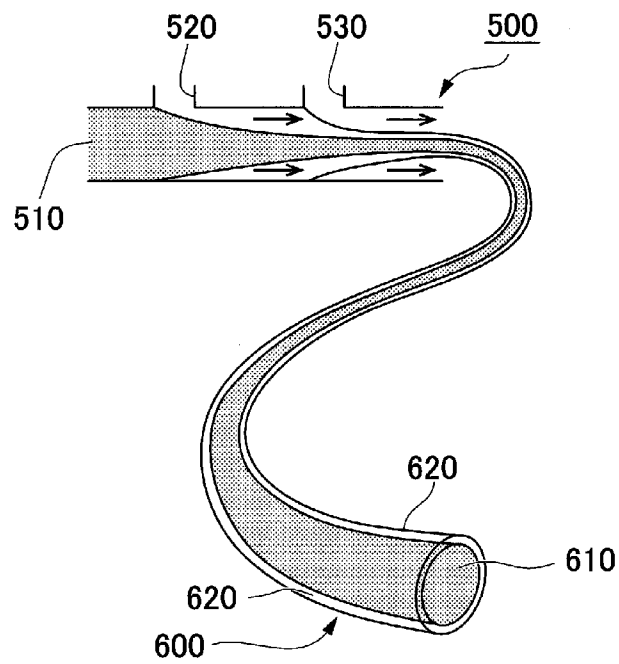
[図3]



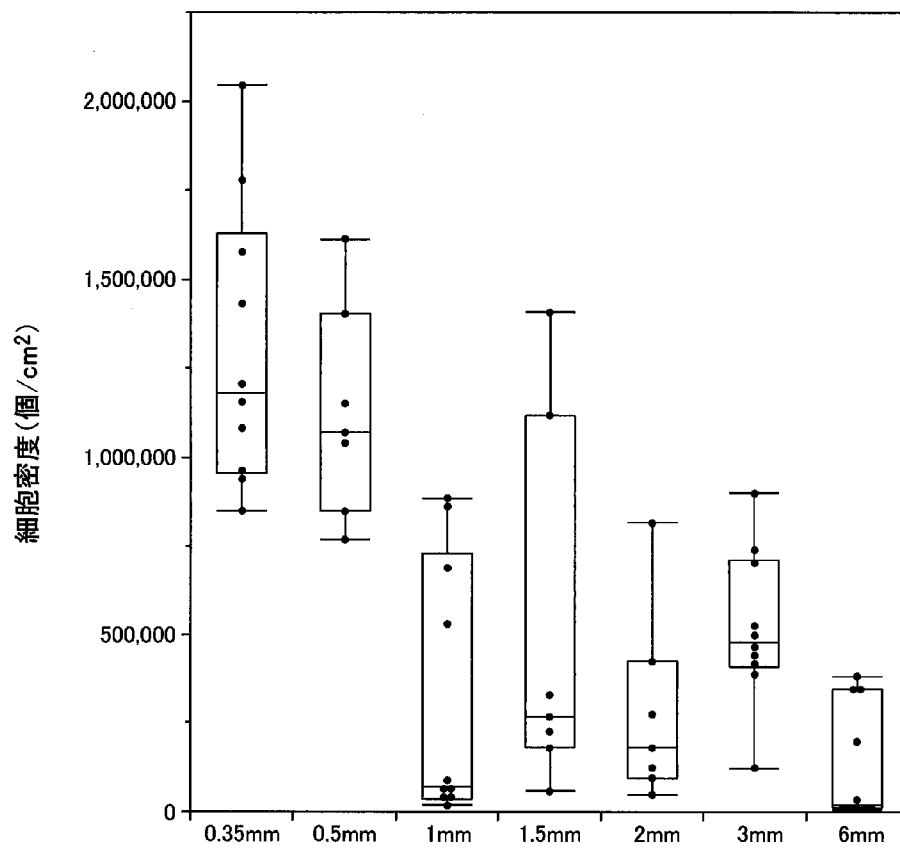
[図4]



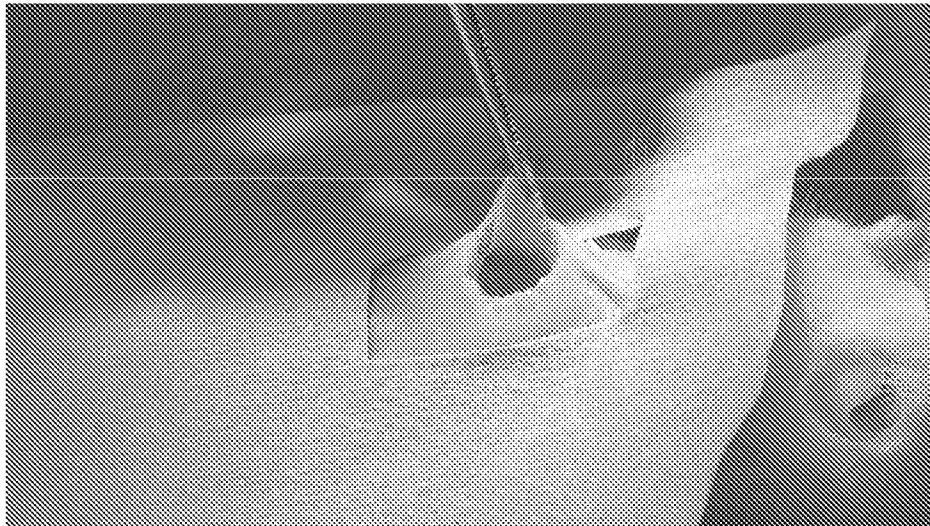
[図5]



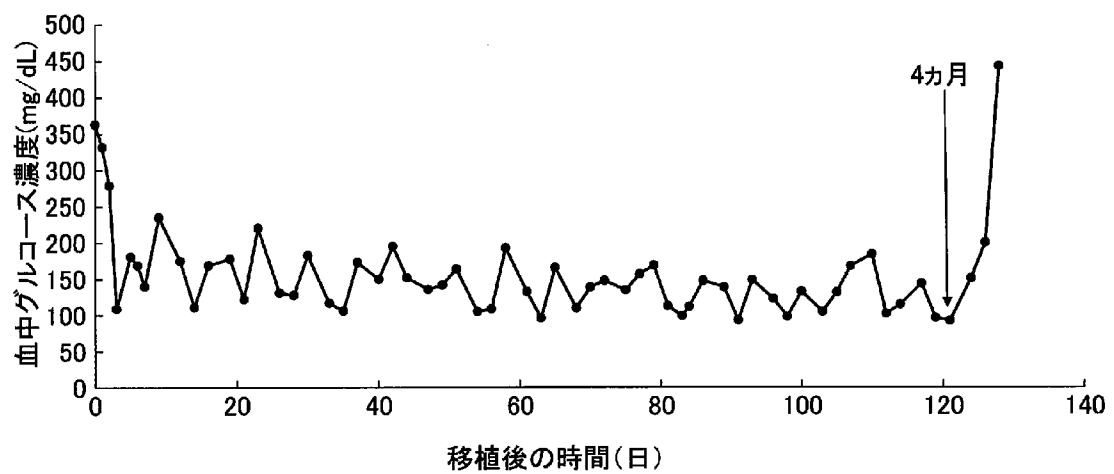
[図6]



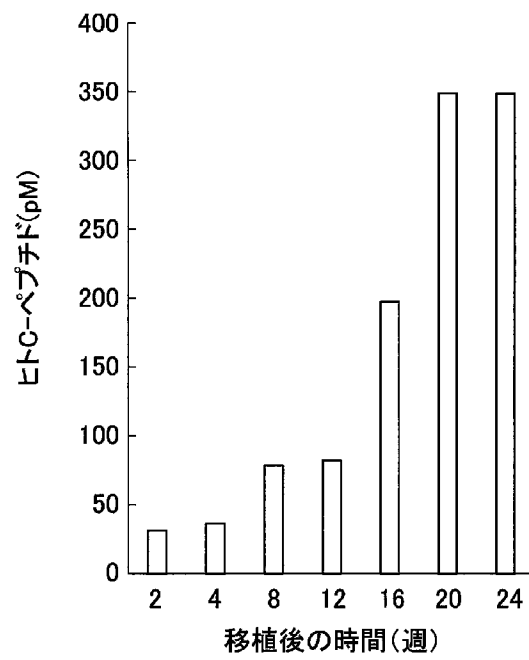
[図7]



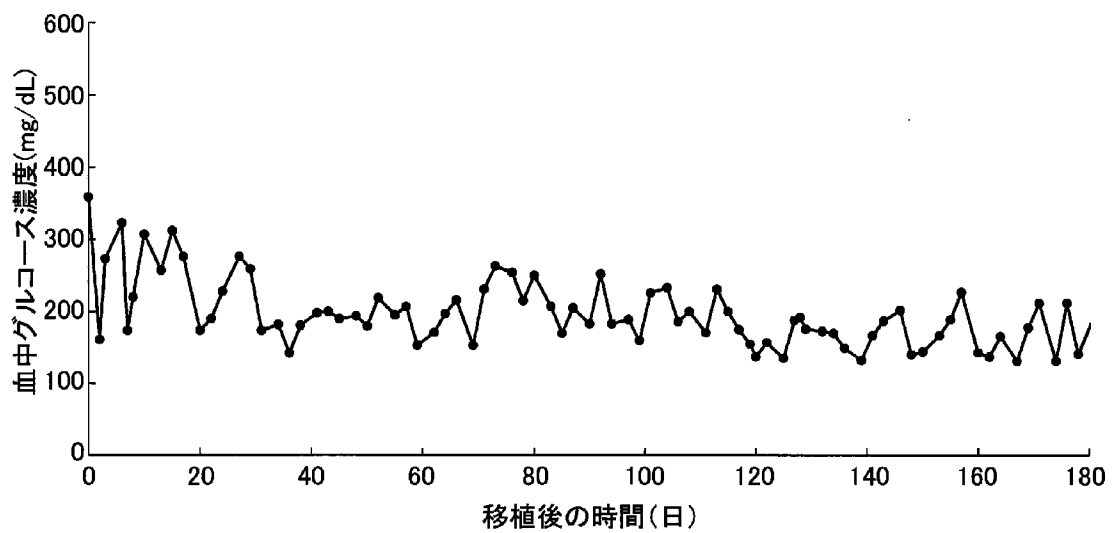
[図8]



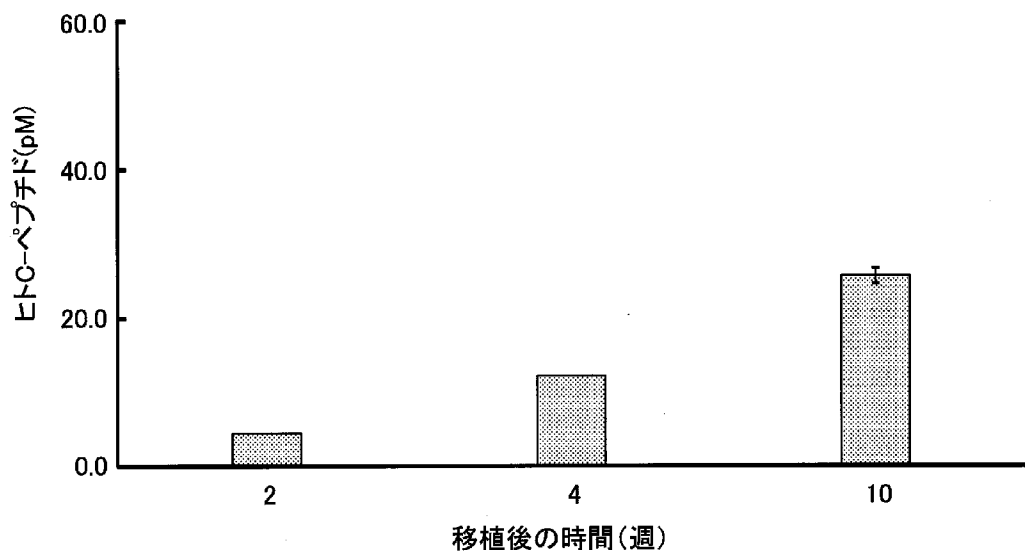
[図9]



[図10]



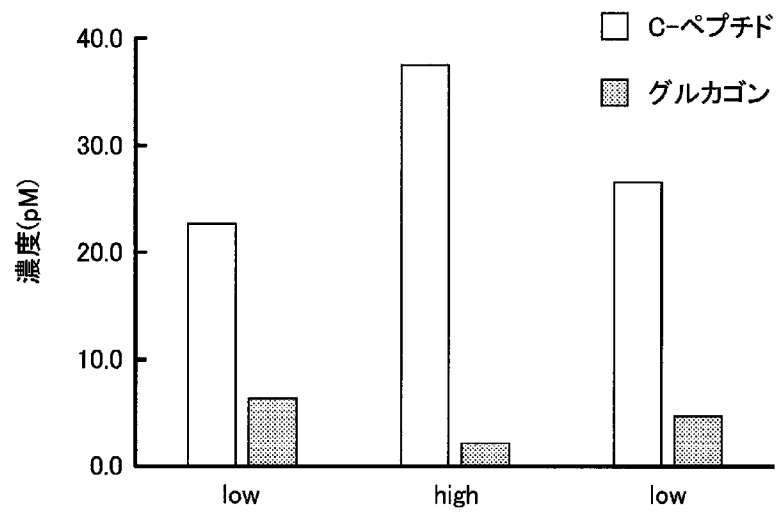
[図11]



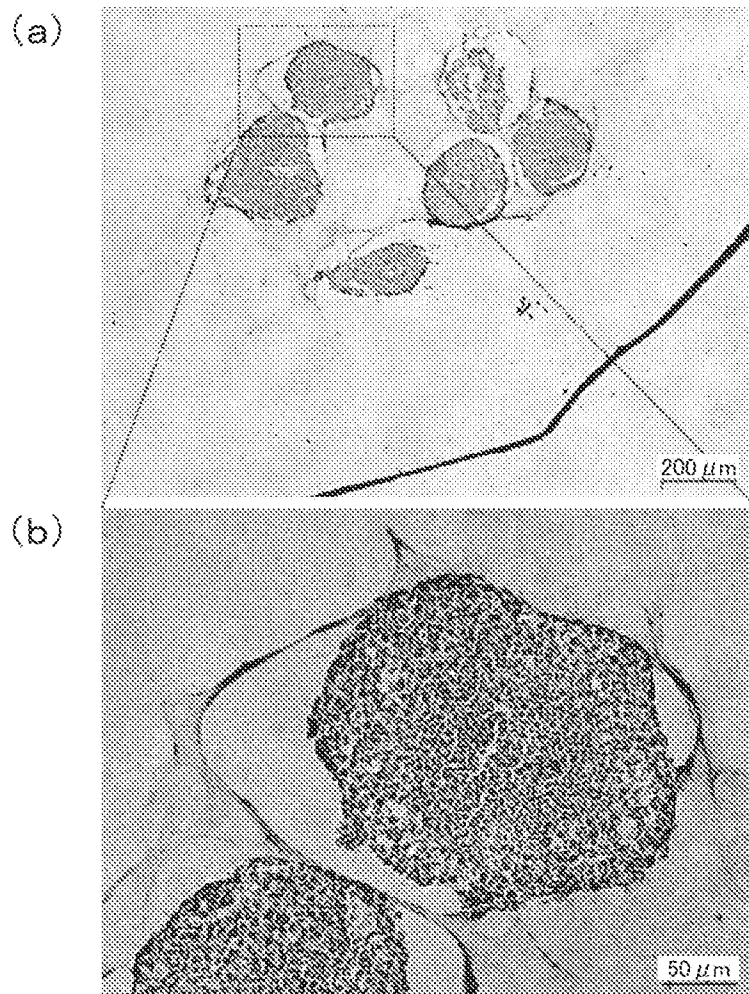
[図12]



[図13]



[図14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/043582

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61P 3/10(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; A61F 2/28(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61K 35/12(2015.01)i; A61K 35/39(2015.01)i; A61K 47/36(2006.01)i; A61K 47/42(2017.01)i
FI: A61K35/12; A61K35/39; A61K9/00; A61K47/36; A61K47/42; A61P43/00; A61P3/10; A61F2/28

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)

A61P3/10; A61P43/00; A61F2/28; A61K9/00; A61K35/12; A61K35/39; A61K47/36; A61K47/42

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2018-078917 A (THE FOUNDATION FOR THE PROMOTION OF INDUSTRIAL SCIENCE) 24.05.2018 (2018-05-24) claims, paragraphs [0021], [0029], [0045], [0046], [0060], [0061]	1-8 10, 12
Y A	JP 2014-136128 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 28.07.2014 (2014-07-28) claims, paragraphs [0008], [0010], [0028], [0044]	1-8 10, 12



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
29 January 2020 (29.01.2020)

Date of mailing of the international search report
10 February 2020 (10.02.2020)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/043582

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	小沢文智他, 細胞ファイバを用いた膵島移植片の開発, 再生医療, 日本再生医療学会雑誌, 2017, vol. 16, Supply, page 420, P-02-107 column P-02-107, non-official translation (OZAWA, Fumisato et al., "Development of islet transplantation graft using cell fiber", Regenerative Medicine, Journal of the Japanese Society for Regenerative Medicine)	1-8, 10, 12
A	小沢文智他, 3次元ヘテロ組織の高速形成に向けてマルチコアシェル細胞ファイバの作製, 第17回日本再生医療学会総会プログラム, March 2018, p. 567, P-02-095 column P-02-095, non-official translation (OZAWA, Fumisato et al., "Manufacturing of multi-core shell cell for rapid formation of three dimensional hetero-structure", Programs of the 17th congress of the Japanese Society for Regenerative Medicine)	1-8, 10, 12
A	CHENG, Y., et al., "Bioinspired Multicompartmental Microfibers from Microfluidics", Advanced Materials, 2014, vol.26, pp. 5184-5190 entire text	1-8, 10, 12
A	FUJIMOTO, K., et al., "Micro-tube mass production device for microbial culture", Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., 2016, vol. 2016, pp. 481-484 fig. 1-4	1-8, 10, 12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/043582

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-8, 10, 12

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2019/043582

Patent referred in the Report	Documents	Publication Date	Patent Family	Publication Date
--	-----------	------------------	---------------	------------------

JP 2018-078917 A		24 May 2018	(Family: none)	
------------------	--	-------------	----------------	--

JP 2014-136128 A		28 Jul. 2014	(Family: none)	
------------------	--	--------------	----------------	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/043582

<Continuation of Box No. III>

Document 1: JP 2018-078917 A (THE FOUNDATION FOR THE PROMOTION OF INDUSTRIAL SCIENCE) 24 May 2018, claims, paragraphs [0021], [0029], [0045], [0046], [0060], [0061] (Family: none)

Document 2: JP 2014-136128 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 28 July 2014, claims, paragraphs [0008], [0010], [0028], [0044] (Family: none)

(Invention 1) Claims 1-8, 10, and 12

Claims 1-8, 10 and 12 have the special technical feature of "including a plurality of first hydrogel fibers containing cells," at core portion and thus are classified as invention 1.

(Invention 2) Claim 9

Claim 9 shares the common technical feature of only "graft" with claim 1 classified as invention 1. However, said technical feature does not make a contribution over the prior art in light of the disclosure of documents 1 and 2, and thus cannot be considered a special technical feature. Also, there are no other identical or corresponding special technical features between these inventions.

In addition, claim 9 is not dependent on claim 1. Furthermore, claim 9 is not substantially identical or equivalent to any of the claims classified as invention 1.

Accordingly, claim 9 cannot be classified as invention 1.

(Invention 3) Claim 11

Claim 11 shares the common technical feature of only "graft" with claim 1 classified as invention 1 and claim 9 classified as invention 2. However, said technical feature does not make a contribution over the prior art in light of the disclosure of documents 1 and 2, and thus cannot be considered a special technical feature. Also, there are no other identical or corresponding special technical features between these inventions.

In addition, claim 11 is not dependent on claims 1 and 9. In addition, claim 11 is not substantially identical or equivalent to any of the claims classified as invention 1 or 2.

Therefore, claim 11 cannot be classified as either invention 1 or 2.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61P 3/10(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; A61F 2/28(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61K 35/12(2015.01)i; A61K 35/39(2015.01)i; A61K 47/36(2006.01)i; A61K 47/42(2017.01)i FI: A61K35/12; A61K35/39; A61K9/00; A61K47/36; A61K47/42; A61P43/00; A61P3/10; A61F2/28														
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）） A61P3/10; A61P43/00; A61F2/28; A61K9/00; A61K35/12; A61K35/39; A61K47/36; A61K47/42														
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2020年													
日本国実用新案登録公報	1996-2020年													
日本国登録実用新案公報	1994-2020年													
国際調査で利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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAlus/MEDLINE/EMBASE/Biosis/WPIDS (STN)														
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												
Y A	JP 2018-078917 A（一般財団法人生産技術研究奨励会）24.05.2018（2018-05-24） 特許請求の範囲、段落[0021]、段落[0029]、段落[0045]、段落[0046]、段落 [0060]、段落[0061]	1-8 10, 12												
Y A	JP 2014-136128 A（国立大学法人 東京大学）28.07.2014（2014-07-28） 特許請求の範囲、段落[0008]、段落[0010]、段落[0028]、段落[0044]	1-8 10, 12												
A	小沢文智 他、細胞ファイバを用いた臍島移植片の開発、再生医療、日本再生医療学 会雑誌、2017, Vol.16, Suppl, p.420, P-02-107 P-02-107欄	1-8, 10, 12												
A	小沢文智 他、3次元ヘテロ組織の高速形成に向けてマルチコアーシエル細胞ファイ バの作製、第17回日本再生医療学会総会 プログラム、2018.03, p.567, P-02-095 P-02-095欄	1-8, 10, 12												
☒ 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。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>“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抵 触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引 用するもの</td> </tr> <tr> <td>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“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抵 触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引 用するもの	“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	“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	“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	“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	“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）	“&” 同一パテントファミリー文献	“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	
* 引用文献のカテゴリー	“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抵 触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引 用するもの													
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	“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													
“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	“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													
“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）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“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														
国際調査を完了した日 29.01.2020	国際調査報告の発送日 10.02.2020													
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 佐々木 大輔 4U 3962 電話番号 03-3581-1101 内線 3452													

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
A	CHENG, Y., et al., Bioinspired Multicompartmental Microfibers from Microfluidics, Advanced Materials, 2014, Vol.26, pp.5184-5190 文献全体	1-8,10,12
A	FUJIMOTO, K., et al., Micro-tube mass production device for microbial culture, Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., 2016, Vol.2016, pp.481-484 Fig.1-Fig.4	1-8,10,12

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。

文献1：JP 2018-078917 A（一般財団法人生産技術研究奨励会）2018.05.24，特許請求の範囲、段落[0021]、段落[0029]、段落[0045]、段落[0046]、段落[0060]、段落[0061]（ファミリーなし）

文献2：JP 2014-136128 A（国立大学法人 東京大学）2014.07.28，特許請求の範囲、段落[0008]、段落[0010]、段落[0028]、段落[0044]（ファミリーなし）

（発明1）請求項1－8、10、12

請求項1－8、10、12は、コア部に「細胞を含む複数の第1のハイドロゲルファイバを含み」という特別な技術的特徴を有しているので、発明1に区分する。

（発明2）請求項9

請求項9は、発明1に区分された請求項1と、「移植片」に関する点でのみ共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、文献1、2の開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

さらに、請求項9は、請求項1の従属請求項ではない。また、請求項9は、発明1に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項9は発明1に区分できない。

（発明3）請求項11

請求項11は、発明1に区分された請求項1及び発明2に区分された請求項9と、「移植片」に関する点でのみ共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、文献1、2の開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

さらに、請求項11は、請求項1及び9の従属請求項ではない。また、請求項11は、発明1又は2に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項11は発明1又は2のいずれにも区分できない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。 請求項1－8、10、12

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2019/043582

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2018-078917	A	24.05.2018	(ファミリーなし)	
JP	2014-136128	A	28.07.2014	(ファミリーなし)	