

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第6104818号
(P6104818)

(45) 発行日 平成29年4月5日 (2017.4.5)

(24) 登録日 平成29年3月10日 (2017.3.10)

(51) Int. Cl.

F I

C 1 2 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 K 8/02 (2006.01)

A 6 1 K 8/65 (2006.01)

A 6 1 K 9/06 (2006.01)

A 6 1 K 35/44 (2015.01)

C 1 2 P 21/00 Z

A 6 1 K 8/02

A 6 1 K 8/65

A 6 1 K 9/06

A 6 1 K 35/44

請求項の数 3 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-548330 (P2013-548330)	(73) 特許権者	506204243
(86) (22) 出願日	平成23年2月17日 (2011.2.17)		セウォン セロンテック カンパニー リ
(65) 公表番号	特表2014-507135 (P2014-507135A)		ミテッド
(43) 公表日	平成26年3月27日 (2014.3.27)		SEWON CELLONTECH CO
(86) 国際出願番号	PCT/KR2011/001040		., LTD.
(87) 国際公開番号	W02012/099293		大韓民国 ソウル特別市 ヨンドンボグ
(87) 国際公開日	平成24年7月26日 (2012.7.26)		ウィサダンデロ 83、韓国HPビルディ
審査請求日	平成25年7月4日 (2013.7.4)		ング (ヨイドドン)
審査番号	不服2015-19151 (P2015-19151/J1)	(74) 代理人	100108671
審査請求日	平成27年10月23日 (2015.10.23)		弁理士 西 義之
(31) 優先権主張番号	10-2011-0005588	(72) 発明者	ユ・ジ Chol
(32) 優先日	平成23年1月19日 (2011.1.19)		大韓民国 ギョンギド ナミョンジュシ
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		ジンジョブプ ジャンヒョンニ 710
			ナムグアンハウストリ 103-301

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】放射線架橋化されたコラーゲンゲルの製造方法と使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造する方法において、
コラーゲン 3 % (W/V) を含む水に対して、ポリオキシプロピレン鎖 (POP) とそれ
を挟む 2 個のポリオオキシエチレン鎖 (POE) からなるブロック共重合体であるプルロ
ニック (BASF 社商標名; Pluronic、F-127) 3 % (W/V)、PEO (polyethylene o
xide、M. W. = 100,000) 1 % (W/V)、又はハイドロキシアパタイト (Hydr
oxyapatite) 3 % (W/V) を混合後、

放射線の線量 (線率×時間) が 1 kGy/hr を基準に 0.1 ~ 40 キログレー (kGy) でガンマ線を照射して架橋させることによって、

コラーゲンに生体適合した物質を混合して剤形化することを特徴とする、放射線架橋化されたコラーゲンゲルの製造方法。

【請求項 2】

液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造する方法において、
コラーゲン 3 % (W/V) を含む水に対して、生体高分子であるヒアルロン酸 (hyaluronic acid) (M. W. = 2,000K) 3 % (W/V)、又はコンドロイチンサルフェート (Chondroitin sulfate) 3 % (W/V) を混合後、

放射線の線量 (線率×時間) が 1 kGy/hr を基準に 0.1 ~ 40 キログレー (kGy) でガンマ線を照射して架橋させることによって、

コラーゲンに生体適合した物質を混合して剤形化することを特徴とする、放射線架橋化

されたコラーゲンゲルの製造方法。

【請求項3】

液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造する方法において、
コラーゲン3%（W/V）を含む水に対して、2液型シリコン系エラストマーであるダ
ウコーニング7-9800（Dow Corning 製品記号7-9800）シリコン原液3%（W/V）
を混合後、

放射線の線量（線率×時間）が1kGy/hを基準に0.1～40キログレイ（kGy）でガンマ線を照射して架橋させることによって、

コラーゲンに生体適合した物質を混合して剤形化することを特徴とする、放射線架橋化
されたコラーゲンゲルの製造方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、放射線架橋化されたコラーゲンゲル及びその製造方法と使用方法に関するものであって、より詳しくは、化学的架橋による方法でない物理的な架橋方法を用いて剤形化されたコラーゲンゲルを製造することができ、特に生体適合した物質を混合して剤形化する一方、架橋化されてハイドロゲル化されたコラーゲンを創傷被覆材、移植材、そして細胞培養などに使用可能な方法を提供するようになり、したがって、産業的に簡便で、かつ安全な製造方法を提供するようになるものであり、これによって製品の品質と信頼性を大幅向上させて消費者をしてよいイメージを植え付けることができるようにしたものである。

20

【背景技術】

【0002】

周知のように、コラーゲンは構造蛋白質成分であるが、真皮（dermis）、腱／靱帯（tendon／ligament）、血管などの軟組織、そして骨のような硬組織で構成されて、哺乳類の場合、全体蛋白質の1／3位を占めている。

【0003】

コラーゲンの形態は20種以上が知られており、皮膚や腱／靱帯、骨などを構成するコラーゲン1型（type1）がコラーゲンのうちの90%位を占めている。

【0004】

30

コラーゲンの構造は3本筋で構成された分子量（molecular weight）300,000ダルトン（dalton）（1本筋100,000dalton位）の蛋白質であり、アミノ酸のうち、最も小さい単位（分子量の最も小さい）であるグリシン（Glycine）が反復的に（-GX Y-；Glycineは継続反復的に、X、Yは変わる構成）連結されている。

【0005】

コラーゲンを現在医療用に使っている分野は、材料分野は止血剤、創傷被覆材、人工血管、皺改善用材料などに使われており、止血剤の場合には1974年、牛皮（calf skin）から抽出したコラーゲン粉末形態であるアビテン（Aviten）という製品が最初に開発されて現在までも使われている。

【0006】

40

このようなコラーゲンは、低い抗原性／高い生体適合性、及び生体吸収性／細胞の付着、成長、及び分化誘導／血液凝固／止血効果／他の高分子との適合性などの長所を有している。

【0007】

しかしながら、コラーゲンを純粋に用いて作る製品の場合には、物性（引張強度、弾性、分解性など）が弱くて物性が要求される施術には多少困難性がある。したがって、他の高分子の物性を活用して引張強度や裂かれ強度を生体適合物質（合成高分子、生体蛋白質、炭水化物、及びその他の化合物）を混合して製品化されている。

【0008】

また、製品の物性の補強は化学物質を用いて剤形化しているが、使われる化合物の多く

50

は人体に有害な物質である。

【0009】

従来の先行技術文献には、大韓民国特許登録第0837858号（出願番号第2006-0129466号）（名称：放射線照射による豚皮コラーゲンの水溶性オリゴペプチドの製造方法）が登録されたことがある。

【0010】

即ち、前述した従来の技術は豚皮コラーゲンを50～300kGy範囲γ-rayの放射線照射を実施し、前記放射線照射を実施した豚皮コラーゲンを豚皮コラーゲンの5～10倍量（W/V）の0.05～0.1MのNaCl溶液下で湧出させて水溶化させるステップと、水溶化されたコラーゲンに酵素としてパパインを0.5～1%添加し、0.5～4時間の間処理して分子量が各々10,000～5,000dalton、5,000～3,000dalton、3,000～1,000daltonの合わせ型オリゴペプチドに分画させるステップとを含むことを特徴とする、放射線照射による豚皮コラーゲンの水溶性オリゴペプチドの製造方法を提供する。

10

【0011】

前記の従来技術は、

（第1ステップ；豚皮コラーゲンの水溶化技術）

豚皮コラーゲンの水溶化は豚皮に付いている挟雑物（過度な脂肪及び不純物）を除去した後に水洗する工程と、水洗した豚皮を適当なサイズに細切して超音波を用いて粗粉碎する工程と、粗粉碎された豚皮を50～300kGyで放射線照射して試料の5～10倍量（W/V）の0.10MのNaCl溶液、以下、好ましくは0.05～0.1MのNaCl溶液の塩濃度で湧出する工程で構成される。この際、水溶化の適正条件は100kGy以上で表れた。既存の方法は多量の酸とアルカリの化学物質を使用しなければならないことに反して、酸または塩を使用しなくても非常に高い収率（既存の4倍以上）の水溶性低分子物質を生産することができる。

20

【0012】

（第2ステップ；酵素を用いた合わせ型オリゴペプチドの製造）

放射線処理した豚皮にパパインのような加水分解酵素を添加して水溶化成分を分離するものである。放射線処理した豚皮に0.5～1%のパパインを添加して0.5～4時間の間処理すれば、従来の方法より低分子化が早く起こるようにする工程と、低分子化された成分は限外濾過法を用いて分子量別に分画する工程と、各々の分画されたペプチド成分を凍結乾燥して豚皮コラーゲン由来合わせ型オリゴペプチドを製造する工程とを含む。

30

【0013】

しかしながら、前記の従来の技術も次のような多い問題点が発生した。即ち、前記従来の技術はコラーゲンを高分子化させたものではなく、低分子化する技術であるので、コラーゲン自体の剤形化及び生体適合した物質と混合して剤形化できないという大きな問題点が発生した。

【0014】

したがって、前記従来の技術はコラーゲンが低分子化されてハイドロゲル化された剤形を作られないので、創傷被覆材、移植材、そして細胞培養などに使用可能な方法を提供できないという大きな問題点も発生した。

40

【0015】

結果的に、前記従来の技術は産業的に目的に一致し、簡便で、かつ安全な製造方法を提供できないという問題点も発生した。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0016】

【特許文献1】大韓民国特許登録第0837858号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

【0017】

本発明は、前記のような従来技術の諸問題を解消するために案出したものであって、液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造することを第1の目的としたものであり、前記した技術的構成による本発明の第2の目的は、化学的架橋による方法でない物理的な架橋方法を用いて剤形化されたコラーゲンを製造することができるようにしたものであり、第3の目的は、特に生体適合した物質を混合して剤形化する一方、架橋化されてハイドロゲル化されたコラーゲンを創傷被覆剤、移植材、そして細胞培養などに使用可能な方法を提供するようになり、第4の目的は、産業的に簡便で、かつ安全な製造方法を提供するようになるものであり、第5の目的は、これによって、製品の品質と信頼性を大幅向上させて消費者をしてよいイメージを植え付けることができるようにした放射線架橋化されたコラーゲングル及びその製造方法と使用方法を提供することにある。

10

【課題を解決するための手段】

【0018】

このような目的の達成のために、本発明は、液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造することを特徴とする、放射線架橋化されたコラーゲングルの製造方法を提供する。

【0019】

また、生体適合した物質を液状のコラーゲンと混合して放射線照射して架橋化物質を製造する方法と得られた架橋化物質を傷治癒のための組織修復材、皮膚移植材、骨移植材などに使用することができる方法を提供する。

20

【0020】

また、得られた架橋化物質を化粧品成分と混合してハイドロゲルに使用したり、または化粧品成分をハイドロゲルに混合してマスクパックに使用したり、またはハイドロゲル創傷被覆剤に使用する方法を提供する。

【0021】

また、本発明は、損傷された皮膚に使用したり、または皮膚移植に使用するための培養された製造物の製造方法において、液状のコラーゲンに電子線を照射して、低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じて部分架橋化を誘導し、かつ部分架橋化されたコラーゲンとゲル化溶液を鋳型に注いでゲル化させた後、前記ゲル化させたゲルに細胞と培養液を注いでゲルの上に細胞を培養することを特徴とする、放射線架橋化されたコラーゲングルの使用方法を提供する。

30

【0022】

また、本発明は、膜に培養して眼球に移植して使用するための培養された角膜細胞の製造方法において、液状のコラーゲンに電子線を照射して、低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じて部分架橋化を誘導し、かつ部分架橋化されたコラーゲンはゲル化溶液と混合してゲルを形成し、前記ゲルを乾燥してフィルムのような薄膜を形成し、以後、前記膜に細胞と培養液を注いで細胞培養することを特徴とする、放射線架橋化されたコラーゲングルの使用方法を提供する。

【0023】

また、本発明は、注射容器に入れて注入状の皮膚または骨の移植材に使用するための培養された製造物の製造方法において、液状のコラーゲンに電子線を照射して、低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じて部分架橋化を誘導し、かつ部分架橋化されたコラーゲンとゲル化溶液、そして細胞を相互混合して培養し、以後、前記培養された製造物を細かく粉砕することを特徴とする、放射線架橋化されたコラーゲングルの使用方法を提供する。

40

【発明の効果】

【0024】

前述したように、本発明は液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造するものである。

【0025】

50

前記した技術的構成による本発明は、化学的架橋による方法でない物理的な架橋方法を用いて剤形化されたコラーゲンゲルが製造できるようにしたものである。

【0026】

特に、本発明は生体適合した物質を混合して剤形化する一方、架橋化されてハイドロゲル化されたコラーゲンを創傷被覆材、移植材、そして細胞培養などに使用可能な方法を提供する。

【0027】

したがって、本発明は産業的に簡便で、かつ安全な製造方法を提供するようになる。

【0028】

本発明は、前記した効果によって製品の品質と信頼性を大幅向上させて消費者をしてよいイメージを植え付けることができるようにした非常に有用な発明である。

10

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】本発明の放射線を用いたコラーゲン架橋化概念図である。

【図2】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲルの図面代用写真である。

【図3】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲルの図面代用写真である。

【図4】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲルの図面代用写真である。

【図5】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲルの図面代用写真である。

【図6】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲルの図面代用写真である。

【図7】本発明の部分架橋化されたコラーゲンを用いたハイドロゲル化の図面代用写真である。

20

【図8】本発明の部分架橋化されたコラーゲンを用いたハイドロゲル化の図面代用写真である。

【図9】本発明の放射線線量に従うコラーゲンの部分架橋化された程度比較表である。

【図10】本発明の放射線線量に従うコラーゲンの部分架橋化された程度比較表である。

【図11】本発明の放射線線量に従うコラーゲンの部分架橋化された程度比較表である。

【図12】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンハイドロゲンの図面代用写真である。

【図13】本発明の放射線架橋化されたコラーゲンフィルムの図面代用写真である。

【図14】本発明の放射線を用いたハイドロゲルをパーティクル化した移植材の図面代用写真である。

30

【図15】本発明の放射線を用いたハイドロゲルをパーティクル化した移植材の図面代用写真である。

【図16】本発明の放射線を用いたハイドロゲルをパーティクル化した移植材の図面代用写真である。

【図17】本発明の細胞と混合してゲル化させる各々の方法を示す構成図である。

【図18】本発明の細胞と混合してゲル化させる各々の方法を示す構成図である。

【図19】本発明の細胞と混合してゲル化させる各々の方法を示す構成図である。

【発明を実施するための形態】

【0030】

以下、このような効果の達成のための本発明の好ましい実施形態を添付した図面に従って詳細に説明すれば、次の通りである。

40

【0031】

本発明に適用された放射線架橋化されたコラーゲンゲル及びその製造方法と使用方法は、図1乃至図19に図示したように構成されるものである。

【0032】

以下、本発明を説明するに当たって、関連した公知機能または構成に対する具体的な説明が本発明の要旨を曖昧にすることができると判断される場合には、その詳細な説明は省略する。

【0033】

そして、後述する用語は本発明での機能を考慮して設定された用語であって、これは生

50

産者の意図または慣例によって変わることがあるので、その定義は本明細書の全般に亘る内容に基づいて定義されるべきである。

【0034】

まず、本発明の放射線を活用して剤形化する技術は、自由ラジカルの架橋化として説明することができるが、放射線架橋化に使用できる方法は、ガンマ線照射、電子線照射、X-ray照射などがある。

【0035】

ガンマ線はコバルト-60放射線同位元素から出る短波長光であって、高浸透力を有する波長であり、主に医療用製品の滅菌だけでなく、高分子素材の物性改善及び宝石の着色など、多様な分野に使われている。

10

【0036】

電子線は電氣的に高熱で加熱されたタングステンで生成される熱電子に高電圧を加えて加速することによって、高い運動エネルギーを有する光束の電磁波である。電子線はガンマ線やX線のようなイオン化エネルギーであって、活用目的によって線量を調節することができ、多様な産業分野に適用できる。

【0037】

放射線照射は化学的物質が添加されない条件で、温度、湿度、圧力の影響をほとんど受けない状態で照射が可能であり、滅菌方法が簡単であるので処理費用も安いので経済的に有用な方法である。

【0038】

20

放射線を用いる方法は、他の一般的なホルムアルデヒドなどを使用する化学的架橋反応と比較して有害な残留架橋剤を除去する必要がなく、固体状態や低温にても化学反応を起こすことができる。そして、放射線照射量を調節して組成物を変化させず、物理的特性を自由に活用可能であるので、放射線を用いた高分子加工方法は傷及び火傷治療用ハイドロゲル、生体材料産業など、多様な分野で研究開発されている。

【0039】

水溶性溶媒の内の一般的な放射線化学理論に従ってコラーゲン溶液は放射線照射により生成されたヒドロキシラジカル (Hydroxylradical (OH)) で架橋反応が生じ、放射線を用いたコラーゲン架橋が可能である。

【0040】

30

架橋反応はラジカル重合 (Radical polymerization) により進行されるが、連鎖反応であるラジカル重合は、一般的に、開始、伝播または成長、停止及び移動などの反応に進行される。この際、ラジカルを用いて物質を高分子化するための開始反応で、開始剤としてラジカル生成をしなければならないが、容易に制御するための過氧化物やアゾ化合物のような化学物質を使用する。一方、開始剤として化学物質を使用せず、熱、光、及び放射線などのエネルギーによってもラジカルが生成されるが、化学物質は使用しないで架橋化が可能である。放射線によるラジカルは液状の水分子にエネルギーが供給されるか、物質にエネルギーが供給されて自由ラジカルが生成されるが、この自由ラジカルが物質の架橋化に影響を及ぼす。放射線照射線量によって架橋化の程度が進行され、生成された自由ラジカルが消耗されれば停止／移動されるステップを経るようになる。このように、放射線照射線量を調節することによって、物質の架橋化程度を調節することができる。

40

【0041】

放射線処理された物質は架橋化程度によって高分子化された溶液の形態やハイドロゲルの形態を帯びるようになる。

【0042】

コラーゲンは相転移高分子の特性を有する。相転移高分子は、温度、pH、電気場、そして光などのような外部刺激に敏感に感応して物性が変化する高分子をいう。この際、温度により物性が変化する高分子を温度感応性高分子という。特に、コラーゲンは温度感応性高分子の特性を有する。コラーゲンは温度が低ければ液状であったが、低温臨界温度範囲に置かれれば不透明のゲル状に変わる。

50

【0043】

これは、低温臨界溶液温度（LCST）以下の温度では水と水素結合により溶解されているから、温度が増加するにつれて水素結合が解離されて高分子同士固まりながらゲル化または沈殿が形成されることと解釈されている。この際、ゲルが形成される時の結合は物理的な結合であって、共有結合のような強い結合でない疎水性結合や極性結合などの分子間には力に起因し、一般的に中性化された高分子においては疎水性相互作用により生成されるものと知られている。

【0044】

放射線により部分的に架橋されたコラーゲン溶液も温度感応性高分子の特性を有する。特に、部分的に架橋されたコラーゲン溶液は高分子化されてゲルを形成した時、透明／半透明な剤形だけでなく、相対的に高い弾性を表している。

10

【0045】

部分架橋化されたコラーゲン溶液は細胞培養のための道具として利用できる。一般の純粋なコラーゲンをを用いた剤形では、ゲル化された時、不透明な剤形と低い弾性を表している。また、ゲル化時間も部分架橋化されたコラーゲン溶液を使用すれば短縮できる長所がある。

【0046】

部分的に架橋化されたコラーゲン溶液は、組織工学分野と化粧品分野などで使用することができる。特に、組織工学分野で細胞培養を通じた支持体として使用可能であり、コラーゲンゲルを生成して培養する方法、コラーゲン膜を生成して培養する方法、そして細胞と混合してゲル化させて培養する方法に活用できる。特に、このように培養された培養物は細胞の特性及び剤形によって各々の意図した用途に使われている。

20

【0047】

放射線架橋を通じたコラーゲンハイドロゲルは、クリスタル化されたコラーゲン（Crystallized collagen）形態を帯びようになるが、生体適合性、合成物の柔軟な物性、及び要求される物性への剤形化等により、創傷被覆、化粧品、及び再生医学など、多様な分野でバイオティッシュ（Bio-Tissue）概念として使われている。物理的架橋により形成されたゲルは人体に有害な化学的架橋剤を使用しないので、医療用材料として注目されている。このような方法により製造された製品は、製品化し易く、人間及び環境に安全な物質形態であり、多様な剤形化が可能であるという長所がある。

30

【0048】

したがって、このような高分子は、薬物伝達体、細胞伝達体、注入型細胞外基質により、組織工学分野に使用できるよい材料である。

【0049】

放射線を用いた技術は物質に基づいて医療機器の開発も期待することができる。コラーゲンを応用した物質と放射線を活用した機器（例として、X-rayやガンマナイフ）が適用される施術が研究開発されれば、組織工学的に大きい発展に導くことができることと判断される。

【0050】

前記放射線架橋化されたコラーゲンゲルは、次の通り構成される。

40

【0051】

即ち、本発明は、図1に示すように、液状のコラーゲンに放射線を照射してコラーゲン架橋物質を製造することを特徴とする。

【0052】

この際、前記放射線は、ガンマ線、電子線、またはX-rayのうちから選択されたいずれか1つを使用することができることは勿論である。

【0053】

そして、前記本発明に適用されたコラーゲンの濃度は0.1～10%（W/V）が含まれ、放射線の線量（線率×時間）は1 kGy/hを基準に0.1～40 キログレー（kGy）が含まれることが好ましい。

50

【0054】

この際、前記コラーゲンの濃度が0.1%以下の場合には部分架橋されたコラーゲンがゲル化させることに架橋程度が低いため、使用目的から外れる問題点があり、前記コラーゲンの濃度が10%以上の場合には、現在の技術には一定の分布の濃度を混合することに困難性があるため、前記コラーゲンの濃度は0.1～10% (W/V) が含まれることが好ましい。

【0055】

そして、前記放射線の線量が0.1以下の場合には部分架橋されたコラーゲンがゲル化させることに架橋程度が低いため、使用目的から外れる問題点があり、前記放射線の線量が40以上の場合にはコラーゲンが部分的に架橋でない分解が起こる現象が発生するため、前記放射線の線量は0.1～40キログレー (kGy) が含まれることが好ましい。

10

【0056】

一方、前記本発明に適用された放射線架橋化されたコラーゲンゲルの製造方法は、次の通りである。

【0057】

即ち、コラーゲン3% (W/V) を含む水に対して、合成高分子、すなわちポリオキシプロピレン鎖 (POP) とそれを挟む2個のポリオキシエチレン鎖 (POE) からなるブロック共重合体であるプルロニック (BASF社商標名; Pluronic、F-127) 3% (W/V)、PEO (Polyethylen oxide、M. W. = 100,000) 1% (W/V)、又は ハイドロキシアパタイト (Hydroxyapatite) 3% (W/V) を混合後、ガンマ線を照射して架橋させてコラーゲンゲルを製造することができる。

20

【0058】

また、前記本発明に適用された放射線架橋化されたコラーゲンゲルの他の製造方法は、次の通りである。

【0059】

即ち、コラーゲン3% (W/V) を含む水に対して、生体高分子であるヒアルロン酸 (hyaluronic acid) (M. W. = 2,000K) 3% (W/V)、又は コンドロイチンサルフェート (Chondroitin sulfate) 3% (W/V) を混合後、ガンマ線を照射して架橋させてコラーゲンゲルを製造できることは勿論である。

【0060】

30

また、前記本発明に適用された放射線架橋化されたコラーゲンゲルの更に他の製造方法は、次の通りである。

【0061】

即ち、コラーゲン3% (W/V) を含む水に対して、2液型シリコン系エラストマーであるダウコーニング7-9800 (Dow Corning 製品記号7-9800) シリコン原液3% (W/V) を混合後、放射線の線量 (線率×時間) が1kGy/hを基準に0.1～40キログレー (kGy) でガンマ線を照射して架橋させることによって、放射線架橋化されたコラーゲンゲルを製造することができる。

【0062】

本発明は、前述した方法により図2乃至図6のような放射線架橋化されたコラーゲンゲルを得ることができるようになる。

40

【0063】

一方、本発明は上記の構成部を適用するに当たって、多様に変形されることができ、さまざまな形態を取ることができる。

【0064】

そして、本発明は上記の詳細な説明で言及される特別な形態に限定されるのでないことと理解されるべきであり、むしろ添付した請求範囲により定義される本発明の精神と範囲内にある全ての変形物と均等物及び代替物を含むことと理解されるべきである。

【0065】

上記のように構成された本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲル及びその製造方法

50

と使用方法の作用効果を説明すれば、次の通りである。

【0066】

まず、本発明は化学的架橋による方法でない物理的な架橋方法を用いて剤形化されたコラーゲンを製造することができ、特に生体適合した物質を混合して剤形化する一方、架橋化されてハイドロゲル化されたコラーゲンを創傷被覆剤、移植材、そして細胞培養などに使用可能な方法を提供するようになり、したがって、産業的に簡便で、かつ安全な製造方法を提供するようになる。【0067】

(第1実施形態)

A. 放射線照射量、5－40kGyに従う3％～10％コラーゲンの架橋化程度分析

目的：コラーゲン濃度とガンマ線照射線量に従う物性分析

[方法]

- 1) 濃度3％、6％、10％のコラーゲンをコンテナ(container)に用意する。
- 2) 各々のコラーゲンは5、25、40kGyの線量でガンマ線照射する。
- 3) 各条件別の架橋化されたコラーゲンの物性分析を進行する。
- A) 性状(透明度、ゲル化傾向)を肉眼確認する。
- B) ハイドロゲルの収縮率(体積減少率)を確認する。
- C) 物性測定機を用いてゲル強度(最大応力)を確認する。
- －機器：レオメータ(Rheo meter CR-500DX)
- －条件：測定項目(ゲル強度)、進入距離(2.5mm)、テーブルスピード(50mm/min)、アダプタ(No. 1φ15mm)
- D) 分解性をコラーゲナーゼ条件で残留日数にて確認する。
- －コラーゲナーゼ濃度：0.1mg/mL in PBS
- E) 架橋されたコラーゲンを凍結乾燥後の重量と水化させた後の重量とを比較して水分含有量(含水可溶比)を分析する。

【0068】

[結果]

- 1) 性状：透明なゲル状(40kGyでは弱い黄色を帯びる)
- 2) 収縮率(体積減少率)(%) = (ガンマ照射された検体の総重量(g)－ゲル塊りの重量(g)) / ガンマ照射された検体の総重量(g) × 100

【0069】

【表1】

収縮率	ガンマ線照射量(kGy)		
濃度(%)	5	25	40
3	0.0	2.8	18.0
6	0.0	0.0	0.0
10	0.0	0.0	0.0

【0070】

3) ゲル強度(最大応力)

【0071】

【表2】

ゲル強度(N)	ガンマ線照射量(kGy)		
濃度(%)	5	25	40
3	23.9	40.9	35.0
6	6.9	45.2	39.7
10	9.8	58.6	79.6

【0072】

4) 分解度 (残留日数)

【0073】

【表3】

分解度	ガンマ線照射量 (kGy)		
濃度 (%)	5	25	40
3	**	**	*
6	***	***	***
10	***	****	****

分解度 (残留日数) - * 1 日以内、** 2 日以内、*** 7 日以内、**** 7 日以上

10

【0074】

5) 水分含有量 (含水可溶比) = (水分含水重量 (g) - 凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量 (g)) / 凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量 (g)

【0075】

【表4】

水分含有量 (含水可溶比、倍)	ガンマ線照射量 (kGy)		
濃度 (%)	5	25	40
3	36.9	26.3	26.7
6	20.2	8.3	21.1
10	18.8	9.1	8.8

20

【0076】

(第2実施形態)

B. 放射線照射量、5～40 kGy に従う 3%～10%ゼラチンの架橋化程度分析

目的：ゼラチン濃度とガンマ線照射線量に従う物性を分析しようとする。

[方法]

1) 濃度 3%、6%、10%のゼラチンをコンテナ (container) に用意する。

2) 各々のゼラチンは 5、25、40 kGy の線量でガンマ線照射する。

30

3) 各条件別の架橋化されたゼラチンの物性分析を進行する。

A) 性状 (透明度、ゲル化傾向) を肉眼確認する。

B) ハイドロゲルの収縮率 (体積減少率) を確認する。

C) 物性測定機を用いてゲル強度 (最大応力) を確認する。

- 機器：レオメータ (Rheo meter CR-500DX)

- 条件：測定項目 (ゲル強度)、進入距離 (2.5 mm)、テーブルスピード (50 mm/min)、アダプタ (No. 1φ15 mm)

D) 分解性をコラーゲナーゼ条件で残留日数にて確認する。

- コラーゲナーゼ濃度：0.1 mg/mL in PBS

E) 架橋されたゼラチンを凍結乾燥後の重量と水化させた後の重量とを比較して水分含有量 (含水可溶比) を分析する。

40

【0077】

[結果]

1) 性状 (透明度)

【0078】

【表5】

性状	ガンマ線照射量 (k G y)		
濃度 (%)	5	25	40
3	**	*	*
6	***	***	***
10	****	****	****

性状（透明度）－*不透明、**半透明、***透明、****透明（黄色）

【0079】

2) 収縮率（体積減少率）（%）＝（ガンマ照射された検体の総重量（g）－ゲル塊りの重量（g））／ガンマ照射された検体の総重量（g）×100 10

【0080】

【表6】

収縮率 (%)	ガンマ線照射量 (k G y)		
濃度 (%)	5	25	40
3	4.8	31.0	35.1
6	2.1	22.1	32.5
10	0.0	9.9	15.6

20

【0081】

3) ゲル強度（最大応力）

【0082】

【表7】

ゲル強度 (%)	ガンマ線照射量 (k G y)		
濃度 (%)	5	25	40
3	4.5	2.9	2.6
6	4.9	9.6	7.1
10	3.2	4.8	8.6

30

【0083】

4) 分解度（残留日数）

【0084】

【表8】

分解度	ガンマ線照射量 (k G y)		
濃度 (%)	5	25	40
3	*	*	*
6	*	*	*
10	*	*	*

40

分解度（残留日数）－*1日以内、**2日以内、***7日以内、****7日以上

【0085】

5) 水分含有量（含水可溶比）＝（水分含水重量（g）－凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量（g））／凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量（g）

【0086】

【表9】

水分含有量（含水可溶比、倍）	ガンマ線照射量（kGy）		
濃度（％）	5	25	40
3	33.1	25.7	26.2
6	25.9	11.7	15.1
10	13.1	9.8	9.3

【0087】

(第3実施形態)

C. コラーゲンと合成高分子の混合物質の放射線架橋製造物

10

目的：コラーゲンと合成高分子の混合物質を混合して剤形化可能性を確認しようとする。

〔方法〕

1) コラーゲン3% (W/V) を含む水に対して、プルロニック (pluronic) (F-127) 3% (w/v)、PEO (Polyethylen oxide、M. W. = 100,000) 1% (W/V)、又はハイドロキシアパタイト (Hydroxyapatite) 3% (w/v) を混合後、ガンマ線 (5、25 kGy) 架橋させる。

2) 架橋化された混合物の物性分析を進行する。

A) 性状 (透明度、ゲル化傾向) を肉眼確認する。

B) ハイドロゲルの収縮率 (体積減少率) を確認する。

20

C) 物性測定機を用いてゲル強度 (最大応力) を確認する。

ー機器：レオメータ (Rheo meter CR-500DX)

ー条件：測定項目 (ゲル強度)、進入距離 (2.5 mm)、テーブルスピード (50 mm/min)、アダプタ (No. 1φ15 mm)

D) 分解性をコラーゲナーゼ条件で残留日数にて確認する。

ーコラーゲナーゼ濃度：0.1 mg/mL in PBS

E) 架橋された混合物を凍結乾燥後の重量と水化させた後の重量とを比較して水分含有量 (含水可溶比) を分析する。

【0088】

〔結果〕

30

1) 性状 (透明度)

【0089】

【表10】

性状	コラーゲンと混合された合成高分子		
ガンマ線照射量(kGy)	Hydroxyapatite	PEO(M.W.=100K)	Pluronic F-127
5	** (Hap分布)	**	**
25	-	**	**

性状 (透明度) ー*不透明、**半透明、***透明、****透明 (黄色)

40

【0090】

2) 収縮率 (体積減少率) (%) = (ガンマ照射された検体の総重量 (g) - ゲル塊りの重量 (g)) / ガンマ照射された検体の総重量 (g) × 100

【0091】

【表11】

収縮率(体積減少率)(%)	コラーゲンと混合された合成高分子		
ガンマ線照射量	Hydroxyapatite	PEO(M.W.=100K)	Pluronic F-127
5	0.0	0.0	0.0
25	-	2.1	0.0

【0092】

3) ゲル強度(最大応力)

【0093】

【表12】

10

ゲル強度(最大応力)(N)	コラーゲンと混合された合成高分子		
ガンマ線照射量(kGy)	Hydroxyapatite	PEO(M.W.=100K)	Pluronic F-127
5	11.3	40.3	3.9
25	-	57.3	16.0

【0094】

4) 分解度(残留日数)

【0095】

【表13】

20

分解度(残留日数)	コラーゲンと混合された合成高分子		
ガンマ線照射量(kGy)	Hydroxyapatite	PEO(M.W.=100K)	Pluronic F-127
5	**	*	*
25	-	*	*

分解度(残留日数) - * 1日以内、** 2日以内、*** 7日以内、**** 7日以上

【0096】

5) 水分含有量(含水可溶比) = (水分含水重量(g) - 凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量(g)) / 凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量(g)

30

【0097】

【表14】

水分含有量(含水可溶比、倍)	コラーゲンと混合された合成高分子		
ガンマ線照射量(kGy)	Hydroxyapatite	PEO(M.W.=100K)	Pluronic F-127
5	13.6	22.8	45.6
25	-	22.4	27.0

【0098】

(第4実施形態)

D. コラーゲンと生体高分子の混合物質の放射線架橋製造物

40

目的: コラーゲンと生体高分子の混合物質を混合して剤形化可能性を確認しようとする。

[方法]

1) コラーゲン3%(W/V)を含む水に対して、アルロン酸(Hyaluronic acid)(M.W. = 2,000K)3%(W/V)、又はコンドロイチンサルフェート(Chondroitin sulfate)3%(W/V)を混合後、ガンマ線(5、25kGy)架橋させる。

2) 架橋化された混合物の物性分析を進行する。

A) 性状(透明度、ゲル化傾向)を肉眼確認する。

B) ハイドロゲルの収縮率(体積減少率)を確認する。

C) 物性測定機を用いてゲル強度(最大応力)を確認する。

50

－機器：レオメータ(Rheo meter CR-500DX)

－条件：測定項目（ゲル強度）、進入距離（2.5mm）、テーブルスピード（50mm/min）、アダプタ（No. 1φ15mm）

D）分解性をコラーゲナーゼ条件で残留日数にて確認する。

－コラーゲナーゼ濃度：0.1mg/mL in PBS

E）架橋された混合物を凍結乾燥後の重量と水化させた後の重量とを比較して水分含有量（含水可溶比）を分析する。

【0099】

[結果]

1）性状（透明度）

10

【0100】

【表15】

性状	コラーゲンと混合された生体高分子	
ガンマ線照射量(kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	**	*
25	**	*

性状（透明度）－*不透明、**半透明、***透明、****透明（黄色）

【0101】

20

2）収縮率（体積減少率）（％）＝（ガンマ照射された検体の総重量（g）－ゲル塊りの重量（g））／ガンマ照射された検体の総重量（g）×100

【0102】

【表16】

収縮率（体積減少率）（％）	コラーゲンと混合された生体高分子	
ガンマ線照射量(kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	0.0	0.0
25	0.0	0.0

30

【0103】

3）ゲル強度（最大応力）

【0104】

【表17】

ゲル強度（最大応力）（N）	コラーゲンと混合された生体高分子	
ガンマ線照射量(kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	2.5	0.9
25	13.5	20.8

40

【0105】

4）分解度（残留日数）

【0106】

【表18】

分解度（残留日数）	コラーゲンと混合された生体高分子	
ガンマ線照射量(kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	**	**
25	**	*

分解度（残留日数）－* 1 日以内、** 2 日以内、*** 7 日以内、**** 7 日以上

【0107】

5) 水分含有量（含水可溶比）＝（水分含水重量（g）－凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量（g））／凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量（g）

10

【0108】

【表19】

水分含有量（含水可溶比、倍）	コラーゲンと混合された生体高分子	
ガンマ線照射量(kGy)	Hyaluronic acid	Chondroitin sulfate
5	33.3	39.0
25	23.6	20.5

【0109】

（第5実施形態）

20

E. コラーゲンと化学物質の混合物質の放射線架橋製造物

目的：コラーゲンと化学物質の混合物質を混合して剤形化可能性を確認しようとする。

〔方法〕

1) コラーゲン3%（W/V）を含む水に対して、1 X シリコン原液（Dow corning、7-9800）、グリセリン、又はPBSを3%（W/V）混合後、ガンマ線（5 kGy）架橋させる。PBS成分は最終体積の1 mL 当たり磷酸ナトリウム（2.8 mg）と塩化ナトリウム（7.6 mg）が含まれている。

2) 架橋化された混合物の物性分析を進行する。

A) 性状（透明度、ゲル化傾向）を肉眼確認する。

B) ハイドロゲルの収縮率（体積減少率）を確認する。

30

C) 物性測定機を用いてゲル強度（最大応力）を確認する。

－機器：レオメータ（Rheo meter CR-500DX）

－条件：測定項目（ゲル強度）、進入距離（2.5 mm）、テーブルスピード（50 mm/min）、アダプタ（No. 1 φ 15 mm）

D) 分解性をコラーゲナーゼ条件で残留日数にて確認する。

－コラーゲナーゼ濃度：0.1 mg/mL in PBS

E) 架橋された混合物を凍結乾燥後の重量と水化させた後の重量とを比較して水分含有量（含水可溶比）を分析する。【0110】

〔結果〕

1) 性状（透明度）

40

【0111】

【表20】

性状	コラーゲンと混合された化学物質		
	シリコン	グリセリン	PBS
ガンマ線照射量(5kGy)	*	***	*

性状（透明度）－*不透明、**半透明、***透明、****透明（黄色）

【0112】

2) 収縮率（体積減少率）（%）＝（ガンマ照射された検体の総重量（g）－ゲル塊りの

50

重量 (g)) / ガンマ照射された検体の総重量 (g) × 100

【0113】

【表21】

収縮率 (体積減少率) (%)	コラーゲンと混合された化学物質		
	シリコン	グリセリン	PBS
ガンマ線照射量(5kGy)	0.0	0.0	0.0

【0114】

3) ゲル強度 (最大応力)

10

【0115】

【表22】

ゲル強度 (最大応力) (N)	コラーゲンと混合された化学物質		
	シリコン	グリセリン	PBS
ガンマ線照射量(5kGy)	-	2.1	11.5

【0116】

4) 分解度 (残留日数)

【0117】

【表23】

20

分解度 (残留日数)	コラーゲンと混合された化学物質		
	シリコン	グリセリン	PBS
ガンマ線照射量(5kGy)	****	**	***

分解度 (残留日数) - * 1 日以内、** 2 日以内、*** 7 日以内、**** 7 日以上

【0118】

5) 水分含有量 (含水可溶比) = (水分含水重量 (g) - 凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量 (g)) / 凍結乾燥されたコラーゲン架橋化ゲル重量 (g)

30

【0119】

【表24】

水分含有量 (含水可溶比、倍)	コラーゲンと混合された化学物質		
	シリコン	グリセリン	PBS
ガンマ線照射量(5kGy)	11.4	55.9	13.9

【0120】

(第6実施形態)

F. 電子線を用いたコラーゲン架橋

40

目的：低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じた部分架橋化を誘導しようとする。部分架橋化されたコラーゲンを用いてゲル化溶液を混合して濃度及び線量に従う条件別にゲル化されることを確認する (図9乃至図11)。

[方法]

- 1) 0.5、1.0%濃度のコラーゲン溶液 (pH3.0) を用意する。
- 2) 1.0%コラーゲンは、0.1、0.5、1.0kGy電子線量を照射する。
- 3) 0.5%コラーゲンは、0.5、1.0、3.0kGy電子線量を照射する。
- 4) 電子線照射された検体の性状を比較する。
- 5) 部分架橋された溶液とゲル化溶液とを混合してゲル化現象を観察する。

(ゲル化溶液：2.2g NaHCO₃ 0.05N NaOHを100mLとHEPESを

50

200 mM中)

A) ゲル化性状を肉眼及び分光測光器 (Spectrophotometer) (410 nm) で確認する。

B) 物性測定機を用いてゲル強度 (最大応力) を確認する。

【0121】

【表25】

溶液性状	電子線照射量(kGy)			
濃度 (%)	0.1	0.5	1.0	3.0
1.0	*	*	**	-
0.5	-	*	***	****

溶液性状—*透明溶液、**透明溶液 (粘度上昇)、***部分塊り、****全体塊り

10

【0122】

1) ゲル化性状 (肉眼観察)

【0123】

【表26】

ゲル化性状	電子線照射量(kGy)				
濃度 (%)	0.0	0.1	0.5	1.0	3.0
1.0	***	***	***	*	*
0.5	***	*	**	*	*

ゲル化性状—*ゲル形成不可、**半透明ゲル、***不透明ゲル

20

【0124】

2) ゲル化性状 (Spectrophotometer、410 nm)

【0125】

【表27】

ゲル化性状	電子線照射量(kGy)		
濃度 (%)	0.0	0.1	0.5
1.0	2.34	2.22	1.72
0.5	1.70	-	0.92

30

【0126】

3) ゲル強度 (最大応力)

【0127】

【表28】

ゲル強度 (最大応力、N)	電子線照射量(kGy)		
濃度 (%)	0.0	0.1	0.5
1.0	0.01	0.06	0.11
0.5	0.00	-	0.25

40

【0128】

(第7実施形態)

G. 電子線を用いたコラーゲン部分架橋化傾向確認

目的：電子線を用いてコラーゲンの部分架橋化されて高分子化されることを確認しようとする。

[方法]

1) 1.0%濃度のコラーゲンを0.1、0.5 kGy電子線量を照射する。

2) 次のような条件で各検体をHPLC分析する。

50

- A) 機器：waters HPLC system
 B) コラム：Ultrahydrogel 250、1000
 C) サンプル濃度：0.1% (1mg/mL)
 D) 注入容量：50μL
 E) 流れ速度：1mL/min
 F) 分析時間：15分

【0129】

(第8実施形態)

H. 放射線架橋されたコラーゲンのハイドロゲル化及び回復率、創傷被覆剤、化粧品（マスキングパック）用途などへの使用可能性

10

目的：放射線架橋されたコラーゲンがハイドロゲル化に製造されることと、乾燥時、フィルム型に製造可能であることを確認しようとする。また、フィルム型に製造された剤形が水分を含まれて回復されることを確認しようとする。本実験はハイドロゲルの形態に適用するための基礎実験として進行しようとする。

[方法]

- 1) 3%、6%コラーゲンをdishに用意する。
- 2) 各々のコラーゲンは5、25kGyの線量でガンマ線照射する。
- 3) ハイドロゲル化されたコラーゲンを室温乾燥させる。
- 4) フィルム形態の弾性確認後、蒸留水を含めてハイドロゲル化させて回復率を確認する。

20

[結果]

【0130】

【表29】

		フィルム剤形の弾性	水分回復率 (%)
3%	5kGy	***	80
	25kGy	***	30
6%	5kGy	**	100
	25kGy	*	40

フィルム剤形の弾性程度—*砕ける、**硬い、***曲がる

30

【0131】

水分回復率 (%) = (水分吸収されたハイドロゲルの厚さ (mm) / 乾燥前のハイドロゲルの厚さ (mm)) × 100

【0132】

(第9実施形態)

I. 放射線架橋されたコラーゲンの移植材としての使用

目的：放射線架橋されたハイドロゲル剤形をパーティクル化して移植材として剤形化するか否かを確認しようとする。

[方法]

- 1) 放射線架橋されたハイドロゲル剤形をホモゲナイザーを用いて粉碎する。
 - 2) ハイドロゲルを粉碎する条件は、次の通りである。
- A) 機器：Homogenizer (IKA T25 digital ultra-turrax)
 B) 粉碎条件：rpm = 4,000 – 24,000、1/min × 100
 3) シリンジに充電させた後、注射針を装着して注射する。

40

【0133】

(第10実施形態)

J. 放射線架橋化されたコラーゲンの熱安全性

目的：放射線架橋されたコラーゲンの熱による安全性を確認しようとする。この際、熱による変性及び熱処理後、ハイドロゲルの特性を維持程度も確認する。

[材料及び実験条件]

50

- 1) 材料：3 % コラーゲン (pH 3.0)
- 2) 架橋条件：コラーゲン溶液、5 kGy、25 kGy、40 kGy (ガンマ架橋)
- 3) 熱処理条件：40、60、80℃ (熱処理時間：1時間)

[方法]

- 1) 放射線架橋されたコラーゲンを適当サイズに用意して重量測定する。
- 2) 適当サイズに用意した架橋化コラーゲンを容器に入れて水槽で1時間の間各々の温度条件を加える。
- 3) 温度加熱後、コラーゲンゲルの性状及び重量を確認する。
- 4) 熱処理に従う重量変化を確認する。但し、架橋化されないコラーゲンの変性したか否かは冷蔵温度条件でゲル化されることによって確認する。

10

(残存率(%)) = $100 - \{ (\text{最初重量} - \text{熱処理重量}) / \text{最初重量} \times 100 \}$

- 5) 変形されたコラーゲンゲルの水化したか否かを確認する。水化条件は水で1時間及び24時間の間進行する。

(回復含水率(%)) = $\text{回復含水重量} / \text{コラーゲンハイドロゲル最初重量} \times 100$

- 6) 60℃条件では水が含まれた状態でゲル性状が変化したか否かを確認する。

[結果]

【0134】

【表30】

40℃	熱処理後の性状	残存率 (%)	回復率 (%、 1時間)	回復率 (%、 24時間)	備考
0kGy	粘度減少	-	-	-	コラーゲン変性
5kGy	透明縮小ゲル	64.5	128.5	142.3	
25kGy	透明縮小ゲル	70.1	97.2	107.9	
40kGy	透明縮小ゲル	73.2	91.3	104.3	

20

【0135】

【表31】

60℃	熱処理後の性状	残存率 (%)	回復率 (%、 1時間)	回復率 (%、 24時間)	備考
0kGy	粘度減少	-	-	-	コラーゲン変性
5kGy	柔軟物性	-	-	-	変性進行
25kGy	透明縮小ゲル	33.0	60.4	85.8	
40kGy	透明縮小ゲル	34.2	59.0	84.5	

30

【0136】

【表32】

80℃	熱処理後の性状	残存率 (%)	回復率 (%、 1時間)	回復率 (%、 24時間)	備考
0kGy	粘度減少	-	-	-	コラーゲン変性
5kGy	液状物性	-	-	-	コラーゲン変性
25kGy	透明縮小ゲル	29.0	64.7	98.6	
40kGy	透明縮小ゲル	31.2	59.3	90.6	

40

【0137】

【表33】

60℃／水含み	熱処理後の性状	残存率 (%)	回復率 (%、24時間)	備考
0kGy	粘度減少	-	-	コラーゲン変性
5kGy	液状変化	-	-	コラーゲン変性
25kGy	透明縮小ゲル	55.4	99.5	
40kGy	透明縮小ゲル	67.2	99.3	

【0138】

前述した本発明は放射線を用いてコラーゲンを架橋化させる方法であって、ハイドロゲル化させて、創傷被覆材、移植材等に活用することを目的とする。全ての架橋化は室温条件下で進行される。

10

【0139】

このために本発明は、次のような多様な使用方法により放射線架橋化されたコラーゲンゲルを使用するようになる。

【0140】

第1に、図17のように低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じて部分架橋化を誘導し、かつ部分架橋化されたコラーゲンとゲル化溶液を鋳型に注いでゲル化させた後、前記ゲル化させたゲルに細胞と培養液を注いでゲルの上に細胞を培養し、このように培養された製造物を化粧品成分と混合してハイドロゲルに使用したり、または化粧品成分をハイドロゲルに混合してマスクパックに使用したり、またはハイドロゲル創傷被覆剤に使用したり、または損傷された皮膚に使用したり、または皮膚移植に使用できるようにすることは勿論である。

20

【0141】

第2に、図18のように、低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じて部分架橋化を誘導し、かつ部分架橋化されたコラーゲンはゲル化溶液と混合してゲルを形成し、前記ゲルを乾燥してフィルムのような薄膜を形成し、以後、前記膜に細胞と培養液を注いで細胞培養をし、このように培養された角膜細胞を膜に培養して眼球に移植して使用できるようにすることは勿論である。

【0142】

第3に、図19のように、低線量を用いたコラーゲンの放射線架橋を通じて部分架橋化を誘導し、かつ部分架橋化されたコラーゲンとゲル化溶液、そして細胞を相互混合して

30

培養し、以後、前記培養された製造物を細かく粉碎して注射容器に入れて注入状の皮膚または骨の移植材に使用できるようにすることは勿論である。

【0143】

この際、前記本発明に適用された前記ゲル化溶液は、炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3)、水酸化ナトリウム (NaOH)、及びヘPes (HEPES) が混合されることが好ましい。

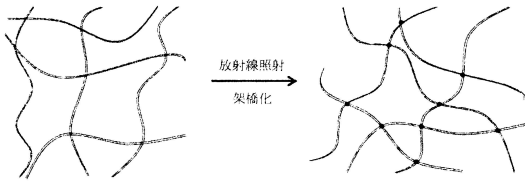
【産業上の利用可能性】

【0144】

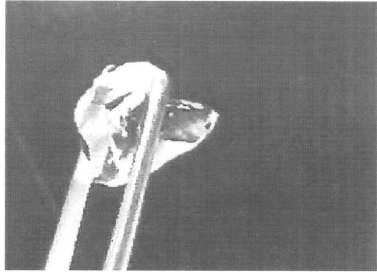
本発明の放射線架橋化されたコラーゲンゲル及びその製造方法と使用方法の技術的思想は、実際に同一結果を反復実施可能なものであって、特にこのような本願発明を実施することによって技術発展を促進して産業発展に貢献することができるので、保護する価値が充分にある。

40

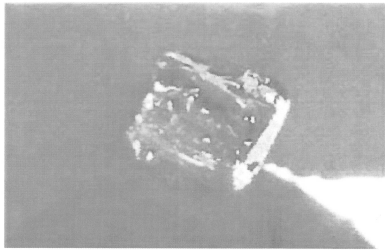
【図 1】



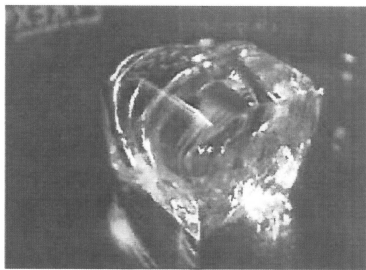
【図 2】



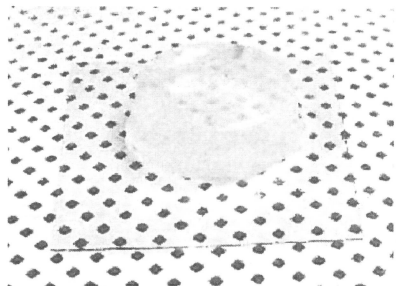
【図 3】



【図 6】



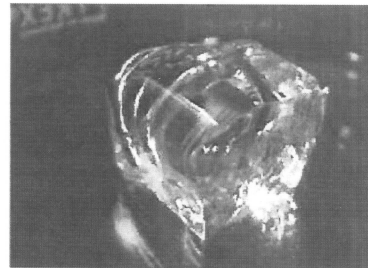
【図 7】



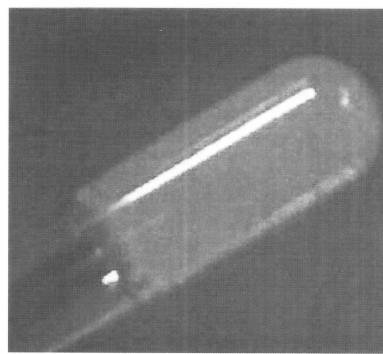
【図 4】



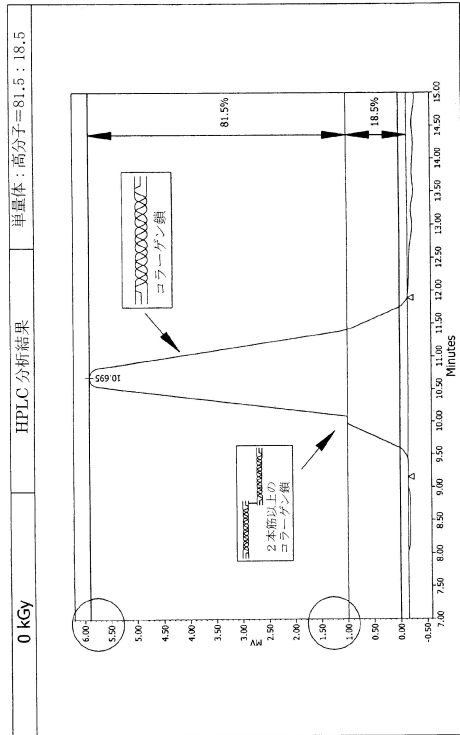
【図 5】



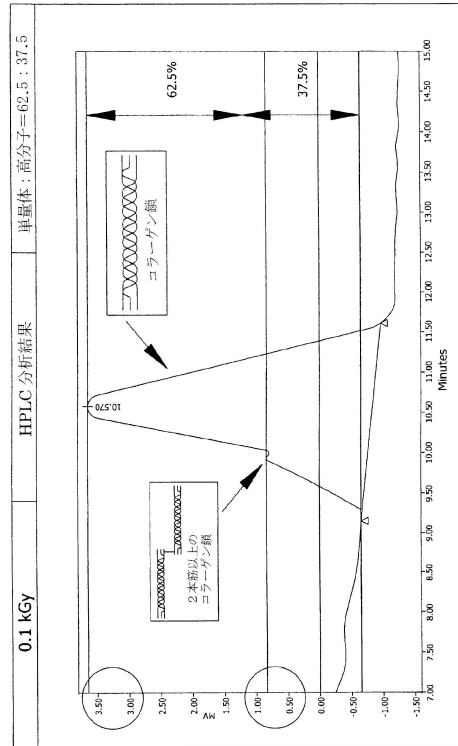
【図 8】



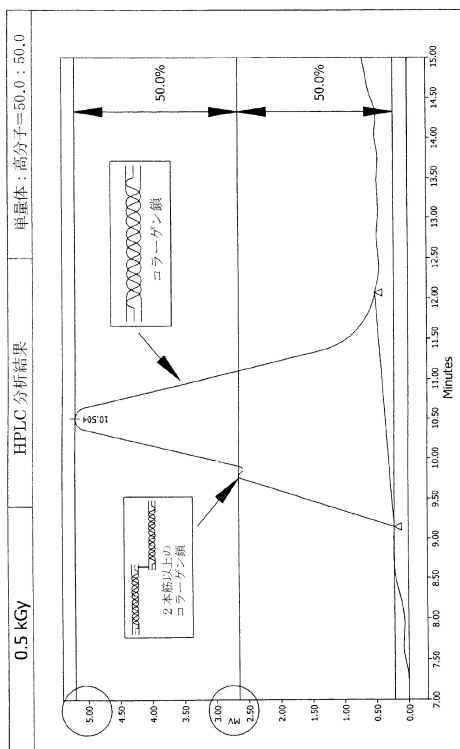
【図 9】



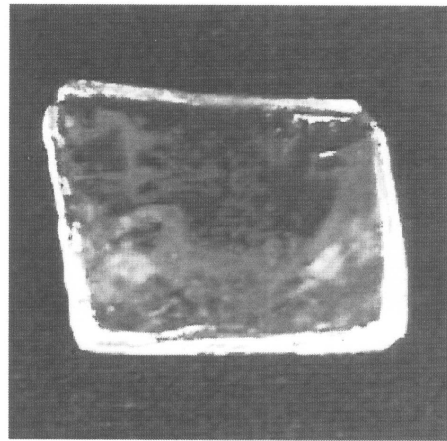
【図 10】



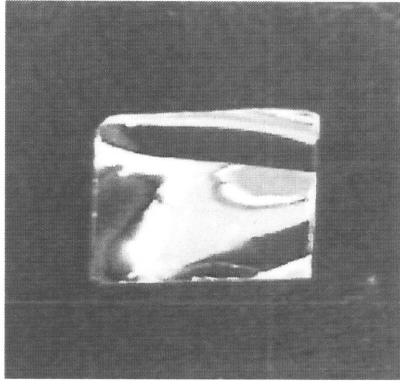
【図 11】



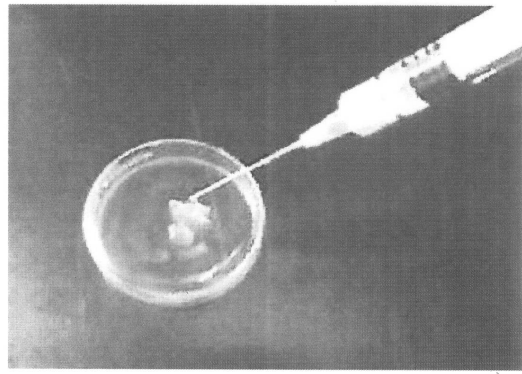
【図 12】



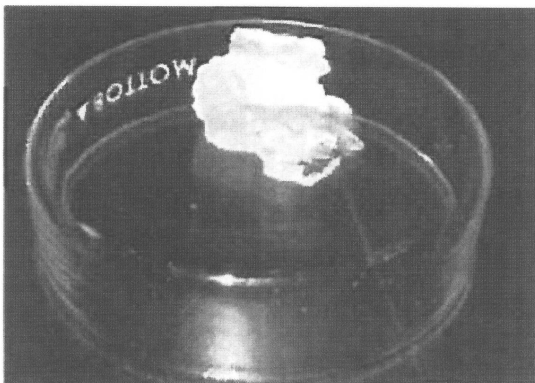
【図 1 3】



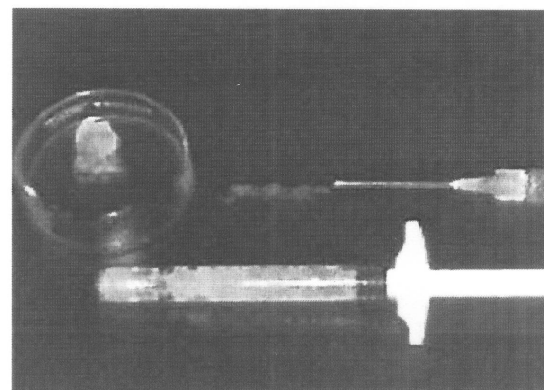
【図 1 4】



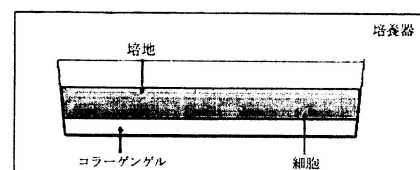
【図 1 5】



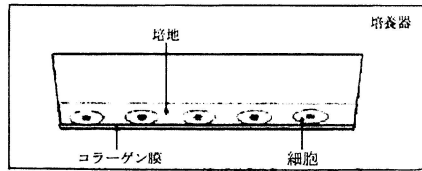
【図 1 6】



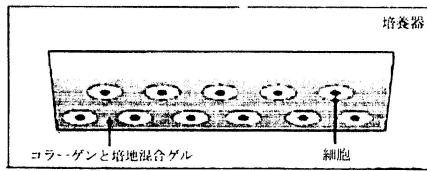
【図 1 7】



【図 18】



【図 19】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 47/02	(2006.01)	A 6 1 K 47/02
A 6 1 K 47/20	(2006.01)	A 6 1 K 47/20
A 6 1 L 15/16	(2006.01)	A 6 1 L 15/16
A 6 1 L 27/00	(2006.01)	A 6 1 L 27/00
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02
C 0 7 K 14/78	(2006.01)	C 0 7 K 14/78
C 1 2 N 5/071	(2010.01)	C 1 2 N 5/071
C 1 2 N 11/02	(2006.01)	C 1 2 N 11/02

- (72)発明者 ヨ・セグン
大韓民国 ギョンギド ヨンインシ キフング ヨンドクトン ドジンアパート 104-508
- (72)発明者 キム・テヒョン
大韓民国 ソウル特別市 ジュンナング シンネドン デシアンアパート 104-906
- (72)発明者 ソ・ドンサム
大韓民国 ソウル特別市 ノウォング ジュンゲ1ドン チョング3チャアパート 103-403
- (72)発明者 ジャン・ジョンホ
大韓民国 ソウル特別市 ソチョグ バンポ1ドン サムホガーデンアパート 1チャ 803号

合議体

審判長 中島 庸子

審判官 山崎 利直

審判官 高堀 栄二

- (56)参考文献 特開2002-80501 (JP, A)
特表2002-526167 (JP, A)
特表2008-504933 (JP, A)
Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2008年, Vol. 275, No. 1, p. 125-131

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
IPC C12P21/00-21/04
A61L15/00-15/64
A61L27/00-27/60
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)