

(19) 日本国特許庁(JP)

再 公 表 特 許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2004/075939

発行日 平成18年6月1日(2006.6.1)

(43) 国際公開日 平成16年9月10日(2004.9.10)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 L 27/00 (2006.01)	A 6 1 L 27/00 Z B P F	4 C 0 5 9
A 6 1 C 8/00 (2006.01)	A 6 1 C 8/00 Z	4 C 0 8 1
C 0 8 L 101/00 (2006.01)	C 0 8 L 101/00	4 J 0 0 2
C 0 8 K 3/24 (2006.01)	C 0 8 K 3/24	4 J 2 0 0
C 0 8 L 101/16 (2006.01)	C 0 8 L 101/16	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 16 頁)

出願番号	特願2005-502881 (P2005-502881)	(71) 出願人	302050123 トライアル株式会社 神奈川県秦野市平沢349番地
(21) 国際出願番号	PCT/JP2004/002121	(74) 代理人	100101719 弁理士 野口 恭弘
(22) 国際出願日	平成16年2月24日(2004.2.24)	(72) 発明者	菅野 弦 神奈川県鎌倉市笛田二丁目22番3号
(31) 優先権主張番号	特願2003-48804 (P2003-48804)	(72) 発明者	須佐 憲三 東京都西多摩郡日の出町平井2196の8 1
(32) 優先日	平成15年2月26日(2003.2.26)	F ターム (参考)	4C059 AA08 4C081 AB02 BA16 CA161 CA231 CB01 CF02 4J002 AB021 CF031 CF181 CF191 CG041 DH046 GB01
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生分解性樹脂及びリン酸カルシウムを含む再生医療用材料及びその製造方法

(57) 【要約】

本発明は、欠損した骨組織や歯組織、その他の生体組織を再生させる際に好適に用いられる、吸収性がある再生医療用材料に関する。本発明の再生医療用材料は、生分解性樹脂99.9～10重量%と、前記生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム0.1～90重量%とを含有することを特徴とする。本発明によれば、組織修復物質の鍵となるリン酸カルシウムを基材に任意の比率で含有させることができ、また、安全性、機能性及び生体適合性に優れる。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

生分解性樹脂 99.9～10重量%と、
前記生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム 0.1～90重量%とを含有することを特徴とする
再生医療用材料。

【請求項 2】

請求項 1 記載の再生医療用材料であって、その形状が微小球状である再生医療用材料。

【請求項 3】

請求項 2 記載の再生医療用材料であって、粒子径が平均値で $1\mu\text{m}$ 以上 $300\mu\text{m}$ 以下である再生医療用材料。

【請求項 4】

請求項 1 記載の再生医療用材料であって、その形状が繊維状若しくは不織布状、スポンジ状、又は微小球体を合体させた特定形状のいずれかである再生医療用材料。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の再生医療用材料であって、繊維又は骨格の太さは平均値で $1\mu\text{m}$ 以上 $500\mu\text{m}$ 以下である再生医療用材料。

【請求項 6】

請求項 1～5 のいずれか 1 つに記載の再生医療用材料であって、リン酸カルシウムがヒドロキシアパタイト、 α -リン酸カルシウム、 β -リン酸カルシウム、 γ -リン酸カルシウム又はリン酸八カルシウムより選ばれた少なくとも 1 つである再生医療用材料。

【請求項 7】

請求項 1～6 のいずれか 1 つに記載の再生医療用材料の表面が、更にリン酸カルシウムで被覆されている再生医療用材料。

【請求項 8】

請求項 1～7 のいずれか 1 つに記載の再生医療用材料であって、更にリン酸カルシウム以外の生理活性物質を含んでいる再生医療用材料。

【請求項 9】

次の工程 (i)～(iii)、すなわち、

- (i) (a) 生分解性樹脂 99.9～10重量部、
 - (b) リン酸カルシウム 0.1～90重量部、及び
 - (c) 前記生分解性樹脂及び前記リン酸カルシウムと相溶しない適量の水溶性分散媒、を含む混合物を、前記生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合する工程、
 - (ii) 前記軟化点より低い温度に冷却する工程、及び
 - (iii) 水性の展開溶媒を用いて前記水溶性分散媒を除去する工程、
- を含んでなることを特徴とする、

生分解性樹脂 99.9～10重量%と、前記生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム 0.1～90重量%とを含有する再生医療用材料の製造方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】**

本発明は、欠損した骨組織や歯組織、その他の生体組織を再生させる際に好適に用いられる、吸収性がある再生医療用材料（「組織修復材」ともいう。）に関する。

【背景技術】

近年、顎骨の欠損や歯組織の欠損等の組織欠損・障害の治療法として、欠損した顎骨や歯組織を再生させる再生医療が注目されている。このような再生医療においては、通常、生体適合性がありかつ生体内で徐々に分解・吸収される生分解性材料がマトリックス（基材）として用いられる。

一方、生分解性プラスチックとしては、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリカプロラクトンなどの多くのものが知られている（生分解性プラスチック研究会編、編者代表土肥義治、「生分解性プラスチックハンドブック」、株式会社エヌ・ティー・エス、1995年

30

40

50

5月26日初版第1刷発行)。

また、ポリ乳酸、及びこれと他の生体分解吸収性ポリマーとの共重合体(又はD体、L体のステレオコンプレックス)を織成もしくは多孔質状に成形し、あるいはこれをハイドロキシアパタイトで被覆した下顎再建材や下顎再建用網トレも提案されている(特開平5-42202号公報および特開平5-309103号公報参照)。

しかし、上記公開特許に開示されている材料(再建材)は、生分解性を有するが、その生体内での分解速度を制御することは困難である。また、生体内におけるこれらの生分解性樹脂の分解速度は、時間の経過と共に加速され、マトリックス内部の酸性度が高くなり、そのマトリックスを埋め込んだ部位が炎症を起こしやすくなる問題がある。さらに、通常、マトリックス中には組織の修復に必要な物質のリン酸カルシウムを含有させるが、その含有率が低いという問題がある。 10

【発明の開示】

本発明が解決しようとする課題は、このようなリン酸カルシウムを任意の比率で含有することができ、安全性、機能性及び生体適合性に優れた再生医療用材料(組織修復材)を提供することにある。また別の課題はそのような再生医療用材料の簡便な製造方法を提供することにある。

上記課題を解決するため、本発明者らは種々検討した結果、本発明者らの一人が先に開発した「球状複合粉体の製造方法」(特開2002-114901号公報)の技術を発展させることで、本発明を完成することができた。すなわち、本発明は、

生分解性樹脂99.9~10重量%と、その生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム0.1~90重量%とを含有することを特徴とする再生医療用材料、である。 20

また、本発明は、このような再生医療用材料の簡便な製造方法も提供する。すなわち、その製造方法は、次の工程(i)~(iii)、

(i)(a)生分解性樹脂99.9~10重量部、

(b)リン酸カルシウム0.1~90重量部、及び

(c)前記生分解性樹脂及び前記リン酸カルシウムと相溶しない適量の水溶性分散媒、を含む混合物を、前記生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合する工程、

(ii)前記軟化点より低い温度に冷却する工程、及び

(iii)水性の展開溶媒を用いて前記水溶性分散媒を除去(水洗)する工程、を経て行うものである。 30

本発明によれば、組織修復物質の鍵となるリン酸カルシウムを基材に任意の比率で含有させることができ、また、安全性、機能性及び生体適合性に優れ、長時間経過後には、それ自身は吸収されて消失する再生医療用材料(組織修復材)を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

本発明の再生医療用材料は、先に述べたように、生分解性樹脂99.9~10重量%と、その生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム0.1~90重量%とを含有する再生医療用材料である。以下、本発明を更に詳細に説明する。

〔生分解性樹脂(基材)〕

本発明で使用する生分解性樹脂(基材)は、本発明の再生医療用材料を簡便に製造し、また、安全性を高めるため、生分解性かつ熱可塑性樹脂(生分解性熱可塑性樹脂)であることが好ましい。 40

そのような生分解性熱可塑性樹脂としては、脂肪酸ポリエステル(ポリ乳酸を含む)、天然原料を化学的に変成した特定の生分解性熱可塑性樹脂、微生物生産プラスチック及び合成プラスチックが典型的な樹脂であるが、これらに限定されるものではない。

脂肪族ポリエステルとは、分子内のすべての炭素原子が一行の鎖状に繋がる構造で、分子内の炭素原子は枝分かれ構造を有していても良いが、環式構造を含まないポリエステルをいう。脂肪族ポリエステルは工業的な規模で生産されており、本発明の実施に好ましい脂肪族ポリエステルとしては開環重合法によるポリ乳酸(PLA)、及び発酵法によるポリヒドロキシブチレート/ヴァリレート共重合体(PHB/V)があげられる。

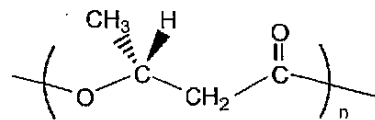
天然原料を化学的に変成した特定の生分解性熱可塑性樹脂の例としては、セルロースア 50

セテートが挙げられる。アセテート置換度が、2.5以下のセルロースアセテートは生分解性熱可塑性樹脂として用いることができる。このセルロースアセテートを使用する場合には可塑剤を併用しても良い。

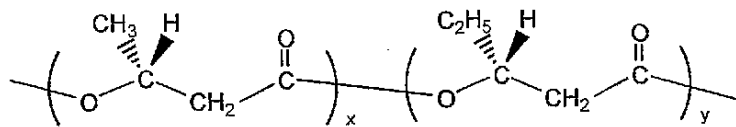
微生物生産プラスチックとしては、微生物ポリエステル、微生物多糖及び微生物ポリアミノ酸が代表的であり、微生物ポリエステルが本発明に好ましい。

微生物ポリエステルの例としては、ポリ〔(R)-3-ヒドロキシブチラート(略して、P(3HB))〕が挙げられる。微生物共重合ポリエステル、例えば3-ヒドロキシブチラートと3-ヒドロキシバリラートの共重合体(略して、P(3HB-co-3HV))等は、単量体組成に依存してその物性を幅広く変化させることができるので、更に好ましく使用できる。

10



P(3HB)



P(3HB-co-3HV)

20

本発明で使用する生分解性熱可塑性樹脂として、その他に、特定の変性した合成プラスチックも使用することができる。これらの変性した合成プラスチックとしては、ポリ(3-ヒドロキシアルカノエート)、(略して、P(3HA))、生分解性を付与したメタクリル酸エステル樹脂、その他生分解性コポリマー等が挙げられる。

生分解性を付与したメタクリル酸エステル樹脂の例としては、ピリジニウム基を導入したポリメタクリル酸メチルがある。

生分解性コポリマーには、コポリエステル、コポリエステルエーテル、コポリエステルカーボネイト、コポリエステルアミドがある。

上記生分解性熱可塑性樹脂については、生分解性プラスチック研究会編、編者代表土肥 30 義治、「生分解性プラスチックハンドブック」、株式会社エヌ・ティー・エス、1995年5月26日初版第1刷発行、に詳細に記載されている。

入手可能な生分解性熱可塑性樹脂の種類とその製造メーカーを表1に列挙する。

表 1

化学構造	製造企業	商品名
天然原料から得られる生分解性熱可塑性樹脂		
ポリ乳酸 (PLA)	Cargill Dow Polymers	EcoPLA
	三井化学	LACEA (レイシア)
	島津製作所	Lacty (ラクティ)
	ユニチカ	エリエーテル
セルロースアセテート (CA)	Mazzuchelli	Bioceta
	ダイセル化学工業	Celgreen (セルグリーン CA)
石油化学原料から得られる生分解性熱可塑性樹脂		
ポリカプロラクトン (PCL)	Union Carbide Corp.	Tone
ポリブチレンサクシネート (PBS)	昭和高分子	Bionolle #1000 (バイオノーレ#1000)
ポリブチレンサクシネート・アジペート (PBSA)		Bionolle (バイオノーレ #3000シリーズ)
ポリエチレンサクシネート (PES)	日本触媒	Lunale (ルナーレSE)
ポリエステルアミド	Bayer	BAK
コポリエステル	BASF	Ecoflex
ポリエステルカーボネート (PEC)	三菱ガス化学	
修飾PET	Du Pont	BioMax

10

20

30

40

50

以上の生分解性樹脂の中で、脂肪族ポリエステル又は2種以上の脂肪酸ポリエステルのブレンドを用いることが好ましく、中でも、ポリ乳酸が最も好ましく用いられる。

また、生分解性樹脂と他の樹脂とをブレンドして用いてもよく、種々の充填剤を含有するものであってもよい。

〔リン酸カルシウム〕

本発明の再生医療用材料又はその製造方法では、生分解性樹脂と共にリン酸カルシウムを用いる。リン酸カルシウムとしては、ヒドロキシアパタイト、 α -リン酸カルシウム、 β -リン酸カルシウム、 γ -リン酸カルシウム、リン酸八カルシウム等を用いることができる。用いるリン酸カルシウムは2種類以上を混合して用いてもよい。

なお、リン酸カルシウムは、骨組織や歯組織の主要な無機塩の供給源となる作用のほかに、基材への細胞の付着を助け、細胞増殖を促進する作用がある。また、生分解性樹脂が分解して生じる酸を緩和する作用もある。

本発明で用いるリン酸カルシウムの製造方法には特に制限はないが、乾式法、水熱法、

湿式法で製造され、熱処理を行ってもよい。

本発明で用いるリン酸カルシウムの平均粒子径は、特に限定されないが $0.01\mu\text{m}$ 以上 $500\mu\text{m}$ 以下が好ましく、 $0.1\mu\text{m}$ 以上 $500\mu\text{m}$ 以下が更に好ましく使用できる。

本発明の再生医療用材料におけるリン酸カルシウムの含有率としては、 $0.1\sim 90$ 重量%、好ましくは $1\sim 5$ 重量%、より好ましくは $2\sim 3$ 重量%である。

本発明の再生医療用材料の好ましい形状（構造）の一つは微小球状である。また、本発明の再生医療用材料の別の好ましい形状（構造）は、繊維状若しくは不織布状、スポンジ状、又は微小球体を合体させた特定形状である。

ここで、形状が微小球状であるときの粒子径は、平均値で $1\mu\text{m}$ 以上 $300\mu\text{m}$ 以下が好ましい。

また、形状が繊維状若しくは不織布状であるときの繊維の太さ（直径）、又は形状がスポンジ状あるいは（微小球体を合体させた）特定形状であるときの骨格の太さ（直径）は、いずれの場合も平均値で $1\mu\text{m}$ 以上 $500\mu\text{m}$ 以下が好ましい。

次に、本発明の再生医療用材料の製造方法を詳細に説明する。

本発明のいずれの再生医療用材料も、生分解性樹脂（好ましくは、生分解性で熱可塑性）と、リン酸カルシウムと、必要に応じて添加する添加剤からなる組成物を、これと相溶性のない水溶性分散媒と共に生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合し、分散し、軟化点以下に冷却した後、水性の展開溶媒を用いて水溶性分散媒を除去することにより得ることができる。

このとき、得られる再生医療用材料の形状が繊維状若しくは不織布状となるか、スポンジ状となるか、あるいは微小球状となるかは、通常、生分解性樹脂（ o ）と水溶性分散媒（ w ）との体積比によって決まってくる。水溶性分散媒が生分解性樹脂よりも多い場合、例えば水溶性分散媒と樹脂との体積比が $6:4$ 以上では、生分解性樹脂は完全に島状となり、 o/w 型の2相分離構造（海島構造）を示して、得られる再生医療用材料の形状は微小球状となる。生分解性樹脂と水溶性分散媒との体積比が半々に近い場合、例えば水溶性分散媒と樹脂との体積比がほぼ $5:5$ では、島（微小球）は互いに陸続きとなり、得られる再生医療用材料の形状はスポンジ状物（又はこれに近いもの）となる。更に生分解性樹脂の量が水溶性分散媒の量よりやや多めの場合、例えば樹脂と水溶性分散媒との体積比が $5.5:4.5$ 近くでは、得られる再生医療用材料の形状は繊維状若しくは不織布状となる。

本発明者らの一人が先に開発した球状複合粉体の製造方法（特開 $2002-114901$ 号公報）によれば、熱可塑性樹脂及び少なくとも1種の充填剤からなる組成物をこれと相溶性のない水溶性分散媒と共に組成物の軟化点以上に加熱混合し、微粒子として分散した後、冷却することにより、 $0.01\mu\text{m}$ 以上 $1,000\mu\text{m}$ 以下の球状複合粉体が得られる。目的とする球状粒子は、水性展開溶媒を用いて水洗することにより、水溶性分散媒から分離できる。

本発明に使用する水溶性分散媒の好ましい例は、ポリアルキレンオキシド（ポリエチレングリコール等）、ポリアルケンカルボン酸の単独重合体若しくは共重合体又はこれらの塩（例えばポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリアクリル酸ナトリウム）、ポリアルケンアミドの単独重合体又は共重合体（ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド）等であり、これらを単独で、あるいは組み合わせて使用することができる。

生分解性樹脂としてポリ乳酸を使用する場合には、水溶性分散媒としては、ポリアクリル酸を使用することが特に好ましい。

本発明で、生分解性樹脂とリン酸カルシウムと水溶性分散媒とを混合して、水溶性分散媒中に生分解性樹脂及びリン酸カルシウムを分散するための方法・装置は特に限定されない。例えば、ロール、パンバリーミキサー、ニーダー、短軸押出機、二軸押出機等によって分散することができる。

水溶性分散媒中に生分解性樹脂及びリン酸カルシウムを加熱・混合する場合、使用する生分解性樹脂の軟化点よりも、 10°C ないし 200°C 高い温度に加熱し、好ましくは 20

℃ないし150℃高い温度に加熱して、混合することが好ましい。

生分解性熱樹脂とリン酸カルシウムと水溶性分散媒とを混合した後に、この混合物を、生分解性樹脂の軟化点より低い温度に冷却する。その後、通常は、生分解性樹脂及びリン酸カルシウムの貧溶媒でかつ水溶性分散媒の良溶媒である展開溶媒とこの混合物を混合し、水溶性分散媒を除去する。この場合、冷却後の成形物を、クラッシャー等で粉碎したのち、展開溶媒中に浸漬してもよい。また、冷却後の微小球状物をペレタイザーでペレット化してもよい。冷却前の熱い混合物を、押出機、ロール等でシート状又は目的とする構造に成形してから展開溶媒中に浸漬してもよい。

ここで、展開溶媒としては、水、又は水性有機溶媒を用いることができる。水溶性分散媒がポリアルキレンオキシド又はポリアルキレンカルボン酸である場合、水を展開溶媒として使用することができる。 10

遠心分離、濾過、又はこれらの方法を組み合わせて、展開溶媒と共に水溶性分散媒を除去する。その後、必要に応じて、乾燥してから使用する。

生分解性樹脂、リン酸カルシウム、及び適量の水溶性分散媒を含む混合物を、前記生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合する工程、続いて前記生分解性樹脂の軟化点より低い温度に冷却する工程、更には水性の展開溶媒を用いて前記水溶性分散媒を除去する工程を経て、繊維状若しくは不織布状、スポンジ状、又は微小球体を合体させた特定形状の再生医療用材料を製造する方法に代えて、生分解性樹脂及びリン酸カルシウムを含む混合物を、その生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合し、これを紡糸し、これを用いて繊維状若しくは不織布状の再生医療用材料を製造することもできる。また、種々の発泡剤（窒素、フロン 20 等のガスや炭化水素ナトリウム等の化学発泡剤）を添加して、発泡体とし、スポンジ状再生医療用材料を製造することもできる。

球状粒子を合体して特定形状にする方法として、化学的、物理的および機械的な手段が採りうる。例えば、化学結合による合体、接着剤を用いた接着、磁気による合体があげられる。

本発明の再生医療用材料は、更に、Caイオンおよびリン酸イオンを含む水溶液中に30℃以上の温度で12時間以上分散又は浸漬することにより、その表面をリン酸カルシウムからなる層で被覆することができる。

上記水溶液には、少なくともCaイオン及びリン酸イオン(HPO_4^{2-})を含有させることが必要である。好ましくは、Caイオンやリン酸イオンを含有した擬似体液を用いる。 30

上記水溶液は、リン酸カルシウムが過飽和の状態であることが必要である。過飽和状態を実現するためには、水溶液を中性以上のpHに保つことが重要である。pHが下がると、リン酸カルシウムの溶解度が上がるため、結晶は析出しなくなる。

Caイオン濃度は1.0 (mM/L)以上であることが好ましく、2.0～7.5 (mM/L)であることが更に好ましい。

リン酸イオン濃度は0.4 (mM/L)以上であることが好ましく、0.8～3.0 (mM/L)であることが更に好ましい。

水溶液として擬似体液を用いる場合は、擬似体液中の各種イオン濃度 (mM/L) は、 Ca^{2+} : 2.5、 HPO_4^{2-} : 1.0、 Na^+ : 142、 K^+ : 5.0、 Mg^{2+} : 1.5、 Cl^- : 147.8、 HCO_3^- : 4.2、 SO_4^{2-} : 0.5および緩衝剤 (CH_2OH)₃ CNH_2 の濃度50 (mM/L) からなる標準濃度のものや、これらの1～3倍濃度の水溶液を用いることができる。 40

浸漬中の水溶液のpH値を7.2～8.0、好ましくは7.4～7.6、温度を30～80℃、好ましくは36～38℃、浸漬時間を12時間以上、好ましくは3～10日とする。

Caイオンやリン酸イオンを含む水溶液に浸漬する工程において、被覆前の再生医療用材料を水溶液中に浮遊させることが好ましい。浮遊させることでバラツキのない被覆が可能となる。浮遊させる手段としては、例えば水溶液に機械的な回転や循環の運動をあたえることで攪拌することが好ましい。また、攪拌操作を間歇的に行っても良い。 50

上記の方法によれば、表面をリン酸カルシウムからなる層で被覆した再生医療用材料を製造することができる。

被覆層となるリン酸カルシウムとしては、リン酸八カルシウム ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) やヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) があるが、ヒドロキシアパタイトであることが好ましい。ヒドロキシアパタイトの中でも、ボーンライクアパタイトであることが更に好ましい。ボーンライクアパタイトとは、ヒドロキシアパタイトの PO_4^{3-} イオンの一部を CO_3^{2-} イオンが置換し、電気的中性を保つために Ca^{2+} イオンの一部を Na^+ イオンが置換し、その結果 Ca/P 比が 1.67 よりも小さくなっているアパタイトのことである。

本発明の再生医療用材料は、細胞分化及び細胞間質の産生を促進し、かつそれ自体徐々に分解される基材として用いることができる。 10

組織欠損・障害を再生させるためには、生体適合性があり、かつ徐々に生分解される基材であって、適当な条件下に導入した細胞の分化を可能なものとし、特異的な細胞間質を顕著に生成するものであることが好ましい。

上記目的を達成するために、本発明で得られる再生医療用材料と共に、生体に対する適合性を持たせるための他の材料を用いることができる。生体に対する適合性を持たせるための他の材料としては、ヒアルロン酸誘導体、ゼラチンが例示できる。

本発明により得られる再生医療用材料の好ましい形状（構造）の一つは、先に述べたように、スポンジ状（多孔質）である。スポンジ状（多孔質）であるときのその細孔（空隙）の大きさは、平均直径が $1 \sim 500 \mu\text{m}$ であり、特に $50 \sim 500 \mu\text{m}$ が好ましい。細孔が $500 \mu\text{m}$ を超えると、細胞を取り込んだ場合マトリックスからの細胞逸失・欠損が生じやすくなる。細孔が $1 \mu\text{m}$ より小さいと、細胞をマトリックスの深部域内にまで取り込むことができなくなる。微小球体を熱融着することにより、特定形状を有する多孔質の再生医療材料を得ることができる。 20

本発明の再生医療材料は、化学的に架橋させることもできる。架橋剤としては、シアナミドが例示できる。

本発明における再生医療材料は、少なくとも 1 種類の生理活性物質を含有していてもよい。生理活性物質としては、例えば、取り込まれた細胞のマトリックス特性を最適化させる化合物があり、例えば抗生物質、細胞接着性を改善する化合物、誘導因子などがあげられる。 30

抗生物質は、移植時の拒絶反応からくる炎症を軽減するために用い、クロキサシリン、リファンピシンなどが例示できる。

細胞接着性を改善する化合物としては、ポリ-L-リジン、フィブロネクチンなどが例示できる。

誘導因子としては、線維芽細胞成長因子 (bFGF)、インスリン様成長因子 (IGF)、形質転換成長因子 ($\text{TGF}-\beta$)、血管内皮細胞成長因子 (VEGF) などが例示できる。これらの誘導因子を含有する基材は、軟骨細胞、間葉幹細胞とその前駆細胞、結合組織細胞、及び／又は骨芽細胞から、インビトロおよびインビボで分化組織を発生・生成させるために特に適している。

基材に取り込まれる細胞としては、妊娠中絶などから得られる胎性軟骨細胞、骨髄又は骨膜から得られる成体の間葉幹細胞およびその前駆細胞、さい帯から得られる胎性の間葉幹細胞およびその前駆細胞が例示できる。 40

本発明により得られる再生医療材料は、インビトロでの事前培養を伴うか又は伴うことなく、インビボでの分化を行わせて、種々の組織型の結合・支持器官、特に軟骨組織や骨組織を得るために適している。

本発明の再生医療用材料の形状は、繊維状若しくは不織布状、スポンジ状、微小球状、又は微小球体を合体させた特定形状である。これらは、再生医療の用途にあわせて使い分けることができる。

本発明のスポンジ状の形状を有する再生医療用材料は、リジッドな構造物なので、耳や指などの形を明確にとどめたい組織の再生医療に用いることができる。 50

本発明の、繊維状若しくは不織布状の形状を有する再生医療用材料は、例えば、次のような場合に用いる。 β -リン酸カルシウムで被覆した繊維状若しくは不織布状の再生医療用材料に肝臓の幹細胞を取り込ませ、肝臓の幹細胞をインビトロで増殖させた後に、人工肝臓として用いる。

本発明の再生医療材料の一実施態様として、微小球状粒子を用いることができる。本発明における微小球状粒子は、本発明者が先に開発した微小球状粒子の製造方法（特開2001-114901号公報）に従って製造することができる。1 μ m以上300 μ m以下の球状粒子が好ましい。

繊維状若しくは不織布状の再生医療用材料と同様に、本発明の微小球状粒子を、Caイオンおよびリン酸イオンを含む水溶液中に30℃以上の温度で12時間以上分散又は浸漬することにより、粒子表面をリン酸カルシウムからなる層で被覆することができる。 10

得られた微小球状粒子は、繊維状若しくは不織布状又はスポンジ状の再生医療用材料と同様に、細胞分化及び細胞間質の産生を促進し、かつそれ自体徐々に分解される材料として用いることができる。

本発明により得られる微小球状粒子からなる再生医療用材料は、少なくとも1種類の生理活性物質を含有させることができる。

繊維状若しくは不織布状又はスポンジ状の再生医療用材料と微小球状粒子からなる再生医療用材料は、その生理的機能という点では差異はないが、その用途の点で区別される。すなわち、微小球状粒子からなる再生医療用材料は、繊維状若しくは不織布状又はスポンジ状の再生医療用材料よりも粒子径が小さいために、精密さが要求される人工組織、例えば人工血管や人工筋肉などの材料として適している。 20

また、微小球状粒子を熱融着し特定形状にした再生医療用材料を使うことができる。骨の一部を再生するために、欠損形状にあわせて球状粒子を合体し、間隙に生理活性物質を充填することができる。

微小球状粒子を熱融着しフィルター状としたものを再生医療用材料として利用する方法もある。例えば、100 μ mの粒子径を有する粒子を熱融着させ、10 μ mの間隙を持つフィルター状の再生医療用材料である。

【実施例】

以下に実施例を挙げるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【実施例1】

ユニチカ（株）製のポリ乳酸ペレット（PLA4031DK）1kgに β -リン酸カルシウム30gを加え、日本純薬（株）製のポリアクリル酸ペレット（ジュリマーAC-103AP）1.3kgとよく混合した後、加圧混練機中で180℃において10分間混練し、190℃で安定静置を5分間行った。その後、加圧混練機から押出すとともに、120℃まで冷却し、その後、分散水約20リットル中にてポリアクリル酸を溶解・除去した。その結果、 β -リン酸カルシウムを包含した繊維状若しくは不織布状のポリ乳酸（厚み約10mm）が得られた。

＜筋肉修復材としての応用＞

β -リン酸カルシウムを包含した上記繊維状若しくは不織布状ポリ乳酸（厚み約10mm）の β -リン酸カルシウム部分に、ラットの大腿筋より分離した筋肉の幹細胞を植え付け、24時間培養し、ある程度成長させる。この時、ポリ乳酸の繊維部分に沿って筋肉の幹細胞が成長する。これを同じラットの筋肉損傷部位に移植する。1週間後に、移植部位の組織を一部切除し、組織切片を電子顕微鏡で観察する。その結果、移植部位は元の組織に完全に癒着し、かつ β -リン酸カルシウムを包含したポリ乳酸は完全に分解している。 40

【実施例2】

ユニチカ（株）のポリ乳酸ペレット（PLA4031DK）2kgに β -リン酸カルシウム200gを加え、日本純薬のポリアクリル酸ペレット（ジュリマーAC-109）3.0kgと混合した後、押出機にて200℃にて混練押出しし190℃で3分間安定静置した。120℃まで冷却後、分散水約40リットル中にてポリアクリル酸を溶解・除去した。その結果、 β -リン酸カルシウムを包含したポリ乳酸の平均5 μ mの微小球状体を得 50

た。

＜自家骨修復材としての応用＞

得られた微小球状体（粉体）を、ラットの、骨を傷つけた部分に埋め込み、1ヶ月後にレントゲン検査で骨の破断部分を視察すると、ポリ乳酸は溶解して破断部分は消滅し、自家骨の成長が見られる。

【実施例3】

加圧混練機から押出される熱い混合物をステンレスのバットに薄く（約0.5mm）受けた以外は、実施例1と同様に操作し、 β -リン酸カルシウムを包含した厚さ約0.5mmのポリ乳酸のシート状不織布を得た。

＜培養皮膚への応用＞

10

得られた上記シート状不織布を適当な大きさに切り取り、これを培養用シャーレに入れる。ウシ胎児血清10%（容量）入りRPMI1640培地を加えるとともに、別トリプシン等で処理しバラバラにした動物の皮膚細胞を少量加え、細胞培養インキュベータ中、37℃で、培養する。シート状不織布の上に、皮膚細胞が増殖するのが観察される。

【手続補正書】

【提出日】平成17年9月21日(2005.9.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

次の工程(i)～(iii)、すなわち、

(i) (a) 生分解性樹脂99.9～10重量部、

(b) リン酸カルシウム0.1～90重量部、及び

(c) 前記生分解性樹脂及び前記リン酸カルシウムと相溶しない適量の水溶性分散媒、を含む混合物を、前記生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合する工程、

(ii) 前記軟化点より低い温度に冷却する工程、及び

(iii) 水性の展開溶媒を用いて前記水溶性分散媒を除去する工程、を含む、

前記生分解性樹脂と前記水溶性分散媒との体積比が、(水溶性分散媒/生分解性樹脂) = (6/4)未満であり、

生分解性樹脂99.9～10重量%と、前記生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム0.1～90重量%とを含有し、形状がスポンジ状、繊維状又は不織布状であることを特徴とする

再生医療用材料の製造方法。

【請求項2】

前記生分解性樹脂と前記水溶性分散媒との体積比が、(水溶性分散媒/生分解性樹脂) = (4.5/5.5)以上(6/4)未満である請求項1記載の再生医療用材料の製造方法。

【手続補正書】

【提出日】平成17年12月21日(2005.12.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

次の工程 (i) ~ (iii)、すなわち、

(i) (a) 生分解性樹脂 99.9 ~ 100 重量部、

(b) リン酸カルシウム 0.1 ~ 90 重量部、及び

(c) 前記生分解性樹脂及び前記リン酸カルシウムと相溶しない適量の水溶性分散媒、を含む混合物を、前記生分解性樹脂の軟化点以上に加熱混合する工程、

(ii) 前記軟化点より低い温度に冷却する工程、及び

(iii) 水性の展開溶媒を用いて前記水溶性分散媒を除去する工程、
を含み、

前記水溶性分散媒が、ポリアルキレンオキシド、ポリアルケンカルボン酸の単独重合体、共重合体及びこれらの塩、ポリアルケンアミドの単独重合体及び共重合体、並びに、それらの混合物よりなる群から選ばれたものであり、

前記生分解性樹脂と前記水溶性分散媒との体積比が、(水溶性分散媒/生分解性樹脂) = (6/4) 未満であり、

生分解性樹脂 99.9 ~ 100 重量%と、前記生分解性樹脂に練り込まれたリン酸カルシウム 0.1 ~ 90 重量%とを含有し、形状がスポンジ状、繊維状又は不織布状であることを特徴とする

再生医療用材料の製造方法。

【請求項 2】

前記生分解性樹脂と前記水溶性分散媒との体積比が、(水溶性分散媒/生分解性樹脂) = (4.5/5.5) 以上 (6/4) 未満である請求項 1 記載の再生医療用材料の製造方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2004/002121
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ A61L27/46 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) Int.Cl ⁷ A61L27/46 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN), JSTPlus/JMEDPlus (JOIS)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 10-130952 A (Dainippon Ink And Chemicals, Inc.), 19 May, 1998 (19.05.98), Claim 1; Par. Nos. [0001], [0048]; example 1 (Family: none)	1, 4-6, 8 2, 3, 7, 9
X Y	JP 04-500013 A (Henkel KGaA), 09 January, 1992 (09.01.92), Claims 1, 6; page 8, lower left column, lines 5 to 7 & AU 8939724 A & BR 8907595 A & DK 9100221 A & EP 428554 A1 & FI 9100600 A & FR 134223 B1 & US 5552454 A & WO 90/01342 A1	1, 6, 8 2-5, 7, 9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 24 May, 2004 (24.05.04)		Date of mailing of the international search report 08 June, 2004 (08.06.04)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/002121

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	QIU, Qing-Qing et al., Bioactive, degradable composite microspheres; Effect of filler material on surface reactivity Annals of the New York Academy of Sciences, 2002, Vol.974, pages 556 to 564	1-3, 6, 8 4, 5, 7, 9
Y	JP 07-508433 A (Draenert, Klaus), 21 September, 1995 (21.09.95), Claims 1, 6 & DE 4219321 A1 & EP 644780 A1 & ES 2101320 T3 & WO 93/25245 A1	2-5, 7, 9
Y	JP 11-005751 A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 12 January, 1999 (12.01.99), Claim 1; Par. No. [0052] & AU 9870800 A & EP 1023044 A2 & US 6344209 B1 & WO 98/47485 A2	7
Y	JP 2002-327066 A (Kabushiki Kaisha Technology Resources Inc.), 15 November, 2002 (15.11.02), Claim 1; Par. No. [0038] (Family: none)	9
Y	JP 2000-262608 A (Mitsubishi Materials Corp.), 26 September, 2000 (26.09.00), Claim 1 (Family: none)	1-9

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2004/002121	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))			
Int. Cl ⁷ A61L27/46			
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))			
Int. Cl ⁷ A61L27/46			
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			
日本国実用新案公報 1926-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2004年 日本国実用新案登録公報 1996-2004年 日本国登録実用新案公報 1994-2004年			
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)			
CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN) JSTPlus/JMEDPlus (JOIS)			
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 請求の範囲の番号	
X Y	JP 10-130952 A (大日本インキ化学工業株式会社) 1998.05.19, 請求項1、【0001】段落、【0048】段落実施例1等参照 (ファミリーなし)	1,4-6,8 2,3,7,9	
X Y	JP 04-500013 A (ヘンケル・コマンデイツトゲゼルシャフト・アウ フ・アクチエン) 1992.01.09, 請求項1,6、第8頁左下欄第5-7行等参照 & AU 8939724 A & BR 8907595 A & DK 9100221 A & EP 428554 A1 & FI 9100600 A & KR 134223 B1 & US 5552454 A & WO 90/01342 A1	1,6,8 2-5,7,9	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献	
「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの		「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矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	
「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		「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	
「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)		「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	
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」 同一パテントファミリー文献	
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願			
国際調査を完了した日 24.05.2004		国際調査報告の発送日 08.6.2004	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 安川 聡	4C 3039
		電話番号 03-3581-1101	内線 3451

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 4 / 0 0 2 1 2 1
C (続き) . 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 請求の範囲の番号
X Y	QIU, Qing-Qing et al, Bioactive, degradable composite microspheres: Effect of filler material on surface reactivity, Annals of the New York Academy of Sciences, 2002, Vol.974, p.556-564	1-3, 6, 8 4, 5, 7, 9
Y	JP 07-508433 A (ドレネルト、クラウス) 1995.09.21, 請求項1, 6等参照 & DE 4219321 A1 & EP 644780 A1 & ES 2101320 T3 & WO 93/25245 A1	2-5, 7, 9
Y	JP 11-005751 A (武田薬品工業株式会社) 1999.01.12, 請求項1、【0052】段落等参照 & AU 9870800 A & EP 1023044 A2 & US 6344209 B1 & WO 98/47485 A2	7
Y	JP 2002-327066 A (株式会社テクノロジー・リソース・インコーポレーテッド) 2002.11.15, 請求項1、【0038】段落等参照 (ファミリーなし)	9
A	JP 2000-262608 A (三菱マテリアル株式会社) 2000.09.26, 請求項1参照 (ファミリーなし)	1-9

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4J200 AA02 AA04 BA07 BA14 BA18 BA20 BA29 DA22 EA04

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	有机金属络合物，使用该络合物的电致发光材料，以及使用该络合物的电致发光器件		
公开(公告)号	JPWO2004081019A1	公开(公告)日	2006-06-08
申请号	JP2004564078	申请日	2004-02-05
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社半导体能源研究所		
申请(专利权)人(译)	半导体能源研究所有限公司		
[标]发明人	瀬尾 哲史 井上 英子 德田 篤史		
发明人	瀬尾 哲史 井上 英子 德田 篤史		
IPC分类号	C09K11/06 C07D265/38 C07D279/26 H01L51/50 C07F15/00 C07D213/74		
CPC分类号	C07D213/74 C07D413/04 C07D417/04 C07F15/0033 C09K11/06 C09K2211/1033 C09K2211/1037 C09K2211/185 H01L51/0085 H01L51/5016 Y10S428/917		
FI分类号	C09K11/06.660 C07D265/38 C07D279/26 H05B33/14.B C07F15/00.E		
F-TERM分类号	3K007/AB03 3K007/AB14 3K007/AB18 3K007/DB03 4C036/AA02 4C036/AA14 4C056/AA02 4C056/AB01 4C056/AC03 4C056/AD05 4C056/AE03 4C056/EA01 4C056/EB01 4C056/EC11 4H050/AA01 4H050/AA03 4H050/AB92 4H050/WB11 4H050/WB13 4H050/WB14 4H050/WB21		
优先权	2003035969 2003-02-14 JP 2003188960 2003-06-30 JP		
其他公开文献	JPWO2004081019A5 JP4628108B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的一个目的是提供一种通过使用易于合成的配体而可以以良好收率获得的新型有机金属配合物。特别是，本发明的目的是提供一种具有优异耐热性的有机金属配合物。另一个目的是通过使用有机金属配合物制造电致发光器件来提供具有高发光效率的电致发光器件。因此，合成由通式(1)表示的有机金属配合物。这也适用于电致发光器件。

