

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-265593

(P2003-265593A)

(43)公開日 平成15年9月24日(2003.9.24)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テーマコード*(参考)

A 6 1 L 27/00

A 6 1 L 27/00

U 4 C 0 8 1

審査請求 未請求 請求項の数9 O L (全 7 頁)

(21)出願番号 特願2002-72438(P2002-72438)

(22)出願日 平成14年3月15日(2002.3.15)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成13年10月22日
発行の「第23回日本バイオマテリアル学会大会 予稿
集」に発表

(71)出願人 599029420

田畑 泰彦

京都府宇治市琵琶台3-8-16

(71)出願人 000003159

東レ株式会社

東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

(72)発明者 田畑 泰彦

京都府宇治市琵琶台3丁目8番地の16

(74)代理人 100088546

弁理士 谷川 英次郎

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 生体組織再生用繊維材料

(57)【要約】

【課題】 生体組織を再生させるための足場となる、材料内部に血管を誘導させることが可能な材料を提供すること。

【解決手段】 繊維径0.1μm以上40μm以下の繊維から実質的に成る繊維構造体の繊維間に、徐放性の血管新生誘導物質を含有する生体組織再生用繊維材料を提供した。

【効果】 本発明の血管誘導用繊維材料は、生体組織再生用の足場材料などの用途に用いられる。特に繊維構造体の繊維間に血管新生誘導物質を含有することにより、生体組織を再生させるための足場となる材料内部に血管を誘導させることができるものであり、この血管誘導用繊維材料を用いることにより材料内部での細胞の増殖、分化が促進し、生体組織、臓器の再生修復を効率よくすることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 繊維径 $0.1\mu\text{m}$ 以上 $40\mu\text{m}$ 以下の繊維から実質的に成る繊維構造体の繊維間に、徐放性の血管新生誘導物質を含有する生体組織再生用繊維材料。

【請求項 2】 前記繊維構造体が、繊維径 $10\mu\text{m}$ 以上 $20\mu\text{m}$ 以下の繊維から成る請求項 1 記載の生体組織再生用繊維材料。

【請求項 3】 繊維径 $7\mu\text{m}$ 以下の繊維と、空間保持材とから成る繊維構造体の繊維間に、徐放性の血管新生誘導物質を含有する生体組織再生用繊維材料。

【請求項 4】 前記空間保持材が、繊維径 $10\mu\text{m}$ 以上 $40\mu\text{m}$ 以下の繊維である請求項 3 記載の生体組織再生用繊維材料。

【請求項 5】 前記繊維構造体中の前記空間保持材の含量が $5\sim 20$ 重量%である請求項 3 又は 4 記載の生体組織再生用繊維材料。

【請求項 6】 前記繊維構造体の密度が $0.01\text{g}/\text{cm}^3$ 以上 $0.15\text{g}/\text{cm}^3$ 以下である請求項 1 ないし 5 のいずれか 1 項に記載の生体組織再生用繊維材料。

【請求項 7】 前記繊維構造体が不織布の形態にある請求項 1 ないし 6 のいずれか 1 項に記載の生体組織再生用繊維材料。

【請求項 8】 前記徐放性の血管新生誘導物質が、ゼラチン担体に塩基性線維芽細胞増殖因子を含有させたものである請求項 1 ないし 7 のいずれか 1 項に記載の生体組織再生用繊維材料。

【請求項 9】 血管誘導のために用いられる請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項に記載の生体組織再生用繊維材料。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生体組織再生用繊維材料に関する。本発明の生体組織再生用繊維材料は、生体組織、臓器の再生を目標とした細胞の移植床を作るために有用である。

【0002】

【従来の技術】生体内に大きな欠損空間が生じると、一般的にその部位は瘢痕性のコラーゲン組織によって補填される。瘢痕組織により占有された組織の欠損部では、本来の生体組織の再生を期待することは不可能である。組織を再生する 1 つの方法は、再生部位を占拠している瘢痕組織を除くことであり、もう一つの方法は、欠損部を瘢痕組織に占有されないように、あらかじめ欠損部の再生のスペースを確保し、細胞の分化や増殖を支援するための場を欠損部に作る必要がある。この場を作るためには、細胞の足場材料が必要である。

【0003】現在、生体内で組織の再生を目的とした細胞の足場材料として、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリエチレンテレフタレート、コラーゲン、テフロン（登録商標）などからなる 3 次元構造をもつ繊維、スポンジ

または膜などの材料が、すでに皮膚、歯周組織、顎骨などの組織再生用の足場として使用されている。

【0004】皮膚のような薄い組織、軟骨や角膜のように酸素や栄養分の補給を拡散により受けている組織、血管などのように多量の血液と接触している組織などでは、酸素と栄養分の補給が比較的容易であり、上記 3 次元構造材料のみによって、再生が可能となる場合もある。しかしながら、実質臓器などのような細胞の複雑に組み合わさった厚みのある、あるいは豊富な血流が必要となる組織、臓器の場合には、足場となる材料だけでは組織の再生は望めない。このような場合には、足場プラスその内部の血流が不可欠となる。血流によって、材料内部の細胞への酸素や栄養の供給が十分となり、細胞が増殖分化することによって、生体組織が再生される。

【0005】そこで、足場材料の内部における新生血管の誘導が必要となる。しかしながら、スポンジや不織布、膜などのみでは、それらの材料への炎症反応による材料周辺部での血管新生はしばしば見られるが、材料内部への血管侵入は認められない。一般に炎症部位では組織の秩序が乱れ、その部位では、通常、組織臓器の再生は望めない。そこで、生体組織の再生には材料周辺部での炎症を起こさない状態で、なおかつ材料内部における血管新生誘導することが必要である。しかしながら、これを目標とした研究はほとんど報告されていない。多孔質スポンジ内部への血管新生についての研究報告（Y. Tabata ら、J. Biomater. Sci. Polym. Ed.、10、957（1999））が見られる。また、不織布を用いた生体組織の再生研究（CA Vacanti ら、J. Pediatr. Surg.、29、201（1994））があるが、それらの材料内部への血管新生については調べられていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、かかる従来技術の欠点を改良し、生体組織を再生させるための足場となる、材料内部に血管を誘導させることが可能な材料を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本願発明者らは、鋭意研究の結果、特定の繊維径の繊維から成る繊維構造体の繊維間に、徐放性の血管新生誘導物質を含有させることにより、該繊維構造体内部に血管を新生誘導することができるを見出し本発明を完成した。

【0008】すなわち、本発明は、繊維径 $0.1\mu\text{m}$ 以上 $40\mu\text{m}$ 以下の繊維から実質的に成る繊維構造体の繊維間に、徐放性の血管新生誘導物質を含有する生体組織再生用繊維材料を提供する。また、本発明は、繊維径 $7\mu\text{m}$ 以下の繊維と、空間保持材とから成る繊維構造体の繊維間に、徐放性の血管新生誘導物質を含有する生体組織再生用繊維材料を提供する。

【0009】

【発明の実施の形態】上記の通り、本発明の生体組織再生用繊維材料は、該生体組織再生用繊維材料を構成する繊維構造体の繊維間に血管新生誘導物質を含有することが必要である。また、繊維間とは、繊維構造体を構成する繊維そのものが占める空間以外の空間を意味する。血管新生物質については、後述する。

【0010】生体組織再生用繊維材料を構成する繊維構造体は、繊維から構成されるものであれば、不織布、織布、スポンジ等のいずれでもよい。これらのうち、細胞の侵入、増殖分化の可能な空間を多く確保できる3次元構造を持つ構造体が好ましく、スポンジ及び不織布などの多孔質材料が好ましい。とりわけ、不織布は、材料内部の実質部の密度または足場材料の形状を制御できる点で優れており、好ましい。

【0011】繊維構造体は、繊維径（直径） $0.1\mu\text{m}$ 以上 $40\mu\text{m}$ 以下の繊維から実質的に成る。ここで、「実質的に成る」とは、本発明の目的が達成される範囲内であれば、上記範囲の繊維径以外の繊維を少量含んでいてもよいことを意味する。上記範囲の繊維径以外の繊維を少量含む場合、これらの繊維の含量は、20重量%以下が好ましく、さらには10重量%以下が好ましく、全く含まないことが最も好ましい。上記 $0.1\mu\text{m}$ 以上 $40\mu\text{m}$ 以下の範囲内でもとりわけ $3\mu\text{m}$ 以上 $40\mu\text{m}$ 以下、特に $10\mu\text{m}$ 以上 $20\mu\text{m}$ 以下の範囲で血管新生誘導効果が特に優れるので好ましい。

【0012】繊維構造体の密度は特に限定されないが、血管新生または組織再生のための空間保持の観点から、 $0.005\sim 0.30\text{g}/\text{cm}^3$ であることが好ましく、 $0.01\sim 0.15\text{g}/\text{cm}^3$ が更に好ましい。なお、密度は単位体積当たりの重量を示す。

【0013】本発明に使用する繊維は、特に限定されず、有機系繊維、天然繊維、金属繊維等を用いることができる。

【0014】有機系繊維として、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレートなどに代表される芳香族ポリエステル系、ポリε-カプロラクトン、ポリ-p-ヒドロキシ酪酸、ポリ-p-ジオキサノン、ポリリンゴ酸、ポリ乳酸、ポリグリコール酸などに代表される脂肪族ポリエステル系、ポリアミド系、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレンなどに代表されるポリオレフィン系、ポリフェニレンスルフィド系、ポリテトラフルオロエチレン、ポリフッ化ビニリデンなどに代表されるポリフッ化エチレン系、ポリビニールアルコール、ポリ酢酸ビニルなどに代表されるポリビニールアルコール系、ポリアクリル系のポリマー、ナイロン、ポリ酸無水物、ポリオルソエステルまたはその共重合系ポリマーが用いられる。また、該天然繊維として、ゼラチン、キチン、キトサン、ヒアルロン酸、セルロース、コラーゲン、アガロースまたはそれらの共重合体などのポリマーが用いられ

る。また、金属繊維として、ステンレス、チタン、白金などが用いられる。

【0015】上に列記した繊維構造体を構成する素材には、生体内で分解吸収されるものと分解吸収されない素材があるが、生体内で分解吸収可能な素材は、組織が再生されても除去する必要がないという利点がある。

【0016】生体内で分解吸収可能な素材としては、例えば、合成高分子であるポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリオルソエステル、ポリ酸無水物、あるいはゼラチン、キチン、コラーゲン、アガロースなどが挙げられ、これらを単独で用いてもよいし、混合して用いてもよい。また、これらをコポリマーとしてもよい。さらに、これらの材料を無機物質であるハイドロキシアパタイト、トルカルシウムホスフェートなどと複合化して用いてもよい。さらに生体内で分解不可能な素材と組み合わせられていてもよい。

【0017】生体内で分解不可能な素材としては、ポリエチレンテレフタレートなどの芳香族ポリエステル系、ポリプロピレン、ポリスチレンなどのポリオレフィン系、テフロン、ナイロン、あるいは金属のステンレス、チタン、白金などが挙げられる。これらも、単独、他の材料との混合、複合化して用いることも可能である。素材自身はそのまま用いられてもよいが、組織の再生を促進させるために素材表面が修飾されていてもよい。

【0018】以上に列挙した種々の素材の中で、生体組織再生用繊維材料を構成する繊維構造体の素材としてポリエチレンテレフタレートなどのポリエステル系及びポリプロピレン、ポリスチレンなどのポリオレフィン系ポリマーが特に好ましい。

【0019】該ポリマーを用いた直径が $7\mu\text{m}$ 以上の繊維は、熔融紡糸法や湿式紡糸法により、例えば次のようにして作製できる。熔融紡糸法の場合、該ポリマーを加熱容器中で該ポリマーの融点以上に加熱溶解し、容器下端の適正な孔から押し出し、冷却風で固化しながら巻き取ることによって該ポリマーの未延伸糸が得られる。得られた繊維を更に延伸した後、該延伸糸をクリンパーで捲縮付与し、 $25\sim 110\text{mm}$ の長さにカットしステープルを得る。該ステープルを開織しカードをかけクロスラッパーで不織布化後パンチングし、不織布を得る。該不織布の密度は、繊維の単位面積当たりの重量、ニードルパンチのパンチング回数による厚みを制御することによって、随意に設定することができる。

【0020】本発明において直径が $7\mu\text{m}$ 未満の極細繊維（本明細書において、直径 $7\mu\text{m}$ 未満の繊維を「極細繊維」と呼ぶことがある）を作製する場合は、特に好ましくは海島型複合繊維からつくられる。すなわち、ポリマーAの島成分を、海成分ポリマーBが取り囲んでなる海島型複合繊維Cとして紡糸し、その後に海成分のポリマーBを溶解などによって除去することによって得ることができる。なお、海島型複合繊維自体及びその製造方法

は、合成繊維の分野において周知であり、下記実施例にも一例が詳細に記載されている。

【0021】海島型複合繊維を用いる場合、海成分のポリマーBとしては、溶媒で容易に溶解するポリマーであればよく、ポリスチレン、アルカリ溶解性のポリエステルが好ましく使用されるがこれに限定されるものではない。また、島成分のAポリマーとしては、ポリエステル系、ポリアミド系、ポリオレフィン系、ポリフェニレンスルフィド系繊維が用いられ、特にポリエステル系やポリオレフィン系がより好ましい。また、該ポリマー中に

2種類以上の繊維を混合して用いることも好ましい。
【0022】該海島型複合繊維の島数は、好ましくは5～100個であるが、特に好ましくは10～50個がよく、海成分の割合は、該複合繊維の好ましくは70重量%以下、特に10～50重量%がより好ましい。

【0023】直径7μm未満の極細繊維を使用した不織布を作製する場合、密度の制御（特に低密度）が難しくなるが、その際は空間保持の役割を果たすものを空間保持材として2～40重量%程度、さらに好ましくは5～20重量%混合させることにより不織布の密度を制御しやすくなる。空間保持材は通常は、直径が10μm以上の繊維が好ましく用いられるが、空間保持材の役割を果たすものであれば、繊維でなくてもよい。以下に直径10μm以上の太径の繊維を空間保持材として用いる場合の極細繊維を含む不織布の作成方法の一例を記載する。

【0024】初めに紡糸によって得られた該海島型複合繊維と太径の繊維をカードマシンやクロスラッパーによってウェブ化し、更にニードルパンチされ海島型複合繊維を含有した不織布を作製する。該不織布の密度は、島繊維と太径繊維の混合比率、海島型複合繊維の海島比率、単位面積当たりの重量、ニードルパンチのパンチング回数による厚みを制御することによって、随意に設定することができる。

【0025】次に、得られた海島型複合繊維含有不織布中の海成分のポリマーBを適当な溶剤で除去し、7μm未満の繊維を含有した不織布を得る。

【0026】空間保持材に用いる直径が10μm以上の太径繊維のポリマーとしては、ポリエステル系、ポリアミド系、ポリオレフィン系、ポリフェニレンスルフィド系繊維が用いられる。該繊維の直径は、10μm以上が好ましく、10～40μmが更に好ましい。更に、該繊維の直径は、島繊維径の1.5倍以上が好ましく更に2倍以上が好ましい。

【0027】血管新生誘導物質としては、血管新生を誘導する物質をいい、特に限定されず、例えば、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）、塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）、酸性線維芽細胞増殖因子（aFGF）、血小板由来増殖因子（PDGF）、トランスフォーミング増殖因子-β（TGF-β）、オステオネクチン、アンジオポイエチン、肝細胞増殖因子（HGF）な

どが挙げられる。これらは単独で又は2種以上を組み合わせる用いることができる。

【0028】血管新生誘導物質は、単独では埋め込まれたときに容易に体内で流出してしまい、その効果が薄れてしまうため、徐放性にして用いる。血管新生誘導物質を徐放性にする方法は、医薬製剤の分野における常法に従い、血管新生誘導物質を徐放性の担体に含有させることにより行うことができる。

【0029】血管新生誘導物質を徐放性にするための担体としては、生体内で分解吸収するものであっても分解不可能なものであってもよいが、用いる血管新生誘導物質によって適宜選ばれるゼラチン担体が好ましい。特に血管新生誘導物質としてbFGFを用いる場合は、bFGFと主として電気的に相互作用をする性質をもつ酸性ゼラチンが望ましい。さらに徐放性の担体はグルタルアルデヒドなどの化学架橋剤、熱処理、紫外線処理などによって架橋して用いられてもよい。徐放速度は、架橋度、含水率、担体の性質（等電点、分子量など）によって制御することが可能である。

【0030】血管新生誘導物質を含有させた徐放性の担体の調製方法は特に限定されないが、担体に共有結合やイオン性相互作用などのような物理化学的な相互作用を利用して血管新生誘導物質を含有する方法や血管新生誘導物質を架橋ゼラチンマイクロスフェアやマイクロカプセル内に封入する方法などにより調製することができる。詳細な一例が下記実施例に記載されている。徐放性担体に含ませる血管新生誘導物質の量は、所望する血管新生などにより適宜調節することができ、例えば、徐放性担体1gあたりに含有させる血管新生誘導物質の量として0.05～50mg程度を例示できるがもちろんこの範囲に限定されるものではない。

【0031】あるいは、血管新生誘導物質を産生する遺伝子組換え細胞を繊維構造体の内部に含ませることによっても血管新生誘導物質を徐放性に行うことができる。すなわち、血管新生誘導物質として、骨髄細胞、CD34陽性細胞や上記血管新生作用をもつタンパクの遺伝子を導入した細胞などの種々の細胞を用いることも可能である。それらは自己のものであっても、他人のものであってもいずれでもよいが、拒絶反応を抑制するためには自己のものであることが望ましい。細胞供給源として、自己のものに問題がある場合は、提供者の細胞やES細胞由来のものを用いることができる。

【0032】上記の血管新生誘導物質を繊維間に含有させた繊維構造体は、そのまま埋め込んでもよいし、あらかじめ組織の再生に役立つ所望の細胞を播種しておいてから埋め込んでもよい。

【0033】また、血管を誘導させるとともに組織の再生を誘導させるための物質、例えば幹細胞増殖因子(SCF)、神経成長因子(NGF)、上皮細胞増殖因子(EGF)、トランスホーミング増殖因子(TGF)、インシュリン様増殖因

子(IGF)などの細胞を増殖させる作用をもつ細胞増殖因子、あるいは、インターロイキン6、コロニー刺激因子(CSF)などのサイトカイン、あるいは、幹細胞の増殖分化に効くようなペプチド、タンパク質性の液性因子等を繊維構造体の繊維間に組み込んでいてもよい。これらは、単独で又は2種以上を同時に使用することができる。これらも徐放性にすることが好ましく、徐放性担体としては、血管新生誘導物質の徐放性担体と共用することもできる。

【0034】材料となる繊維構造体の繊維間に徐放性の血管新生誘導物質を含有させるには、上記徐放性の血管新生誘導物質を繊維材料間に挟み込んでよいし、材料そのものに結合または含有させてもよい。徐放性の血管新生誘導物質を2枚の繊維構造体の間に挟み込むことにより繊維構造体の繊維間に徐放性の血管新生誘導物質を含有させる方法が簡便で好ましい。

【0035】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【0036】参考例1 繊維径7 μm 以上の繊維から成る不織布の製造

ポリマーとしてポリエチレンテレフタレートを用い、通常の熔融紡糸装置中で285 $^{\circ}\text{C}$ に加熱し、加熱容器下端の口金孔から押し出し、冷却風で固化しながら巻き取ることによって未延伸糸を作製した。単位時間あたりの口金からの吐出量を調節することにより、直径が21、40、77 μm の3種類の未延伸糸を得た。該未延伸糸を3.3倍に延伸し、各々12 μm 、22 μm 、42 μm の繊維を得た。

【0037】該延伸糸をクリンパーで捲縮付与した後、25~110mmの長さのカットしステーブルを得た。該ステーブルを開織しカードをかけクロスラッパーで不織布化後パンチングを900回行い、本発明の生体組織再生用の3種類の不織布(繊維径12 μm 、繊維径22 μm 、繊維径42 μm)を得た。

【0038】参考例2 極細繊維から成る不織布の製造

極細繊維を使用した本発明にかかる生体組織再生用の不織布を作製するため、ポリエチレンテレフタレートを島成分にポリスチレンを海成分(海成分比30wt%)にして海島型複合型紡糸で、島数16、フィラメント数21の口金を使用し285 $^{\circ}\text{C}$ に加熱紡糸し、更に延伸し0.95texの海島複合型繊維を得た。得られた該海島型複合繊維に捲縮を付与し、51mmにカットしステーブル化し、該ステーブルをカードマシンやクロスラッパーによってウェブ化し、更にニードルパンチをすることによって海島型複合繊維を含有した不織布を作製した。該不織布をトリクレン中に浸漬し、不織布中海島型複合繊維の海成分のポリスチレンを除去し、ポリエチレ

ンテレフタレート極細繊維を含有した不織布を得た。

【0039】得られた不織布を電子顕微鏡で測定した結果、2.0 μm の極細繊維からなる不織布であることを確認した。

【0040】実施例1

(1) 徐放性bFGFの調製

10wt%の酸性ゼラチン水溶液10mlに25wt%のグルタルアルデヒド水溶液を25 μl 加えた後、360rpmで攪拌下、375mlのオリーブオイル中に37 $^{\circ}\text{C}$ で滴下することによって、ゼラチンエマルジョンを作製した。系の温度を25 $^{\circ}\text{C}$ に下げ、24時間攪拌することによって架橋ゼラチンマイクロスフェアを作製した。作製した架橋ゼラチンマイクロスフェアを4 $^{\circ}\text{C}$ で5000rpm、5分遠心することにより回収し、アセトンで洗浄した。その後、0.1wt%のTween 80(登録商標)を含む0.1Nグリシン水溶液に37 $^{\circ}\text{C}$ で1時間、浸漬してグルタルアルデヒドの残存アルデヒド基をブロックした。0.1wt%のTween 80(登録商標)水溶液で37 $^{\circ}\text{C}$ で1時間、浸漬して洗浄後、凍結乾燥する。凍結乾燥した架橋ゼラチンマイクロスフェア(60~130 μm 、含水率95%)2mgに、bFGF(ヒト遺伝子組換え型、科研製薬社製)水溶液(100 μg bFGF/20 μl)を滴下し、25 $^{\circ}\text{C}$ 、1時間の条件で、架橋ゼラチンマイクロスフェアを膨潤させ、その内部へbFGFを含有させた。

【0041】(2) 生体組織再生用繊維材料の調製

参考例1で製造した、繊維径12 μm 、直径12mmの円形、厚み3.9mm、密度0.046 g/cm^3 のポリエチレンテレフタレート不織布2枚に、(1)で調製した、100 μg のbFGFを含有した架橋ゼラチンマイクロスフェア2mgを挟み込むことにより生体組織再生用繊維材料を調製した。

【0042】(3) 血管新生誘導試験

(2)で調製した生体組織再生用繊維材料を、ddYマウス(7週令、メス)の背部皮下に埋入し、埋入1週間後にマウスを犠牲死させた。組織切片をヘマトキシリンエオジン染色し、顕微鏡写真を撮り、組織切片から材料内部に誘導された血管数を測定した。また、この写真から細胞の核を見ることで不織布中の細胞を識別できるので、それにより不織布の面積に対する細胞の侵入している面積を切片上で測定した。この面積をもって「繊維性組織の侵入度」と定義した。1つのサンプルについて5匹のマウスの埋入試験を行い、切片観察を行った。

【0043】結果を下記表1に示した。表1より明らかなように、bFGF含有架橋ゼラチンマイクロスフェアを用いることで、不織布内へ新生血管が誘導されていた。また、上記組織切片の光学顕微鏡写真によれば、不織布内部で均一に血管が新生誘導されていることが明瞭に観察された。

【0044】比較例1

参考例1で製造した、繊維径12 μ m、直径12mmの円形、厚み3.9mm、密度0.046g/cm³のポリエチレンテレフタレート不織布2枚にリン酸緩衝液(pH=7.4)を挟み込んだ材料について実施例1と同様に評価を行った。結果を、実施例1と同様に表1に示した。

【0045】比較例2

参考例1で製造した、繊維径12 μ m、直径12mmの円形、厚み3.9mm、密度0.046g/cm³のポリエチレンテレフタレート不織布2枚にbFGFを含まないリン酸緩衝液(pH=7.4)含有架橋ゼラチンマ

* イクロスフェア2mgを挟み込んだ材料について実施例1と同様に評価を行った。結果を、表1に示した。

【0046】比較例3

繊維径12 μ m、直径12mmの円形、厚み3.9mm、密度0.046g/cm³のポリエチレンテレフタレート不織布2枚に100 μ gのbFGFを含む水溶液を挟み込んだ材料について実施例1と同様に評価を行った。結果を、表1に示した。

【0047】

【表1】

	繊維径	ゼラチン担体	bFGF	新生血管数(/cm ²)	線維性組織の侵入度(/cm ²)
実施例1	12 μ m	あり	あり	981 $\pm$ 72 *	470 $\pm$ 51 *
比較例1	12 μ m	なし	なし(PBS)	12.1 $\pm$ 8.1	48 $\pm$ 0
比較例2	12 μ m	あり	なし(PBS)	0	10.1 $\pm$ 2.32
比較例3	12 μ m	なし	あり	0	66.8 $\pm$ 15.5

* : p<0.05

【0048】実施例2

参考例1で製造した、繊維径22 μ m、直径12mmの円形、厚み3.9mm、密度0.046g/cm³のポリエチレンテレフタレート不織布2枚に、実施例1(1)で調製した、100 μ gのbFGFを含有した架橋ゼラチンマイクロクロスフェア2mgを挟み込んだ材料について材料内部に誘導された血管数(皮膚側と背筋側)を評価し、結果を図1に示した。図1中の検定結果はANOVAによるものである。

【0049】比較例4

参考例1で製造した、繊維径42 μ m、直径12mmの円形、厚み4.6mm、密度0.046g/cm³のポリエチレンテレフタレート不織布2枚に、実施例1(1)で調製した、100 μ gのbFGFを含有した架橋ゼラチンマイクロクロスフェアを2mg挟み込んだ材料について実施例2と同様に評価を行った。

【0050】実施例3

空間保持材として直径が12 μ mの繊維を20重量%混合した、直径12mmの円形、厚み2mm、密度0.046g/cm³の繊維径2 μ mのポリエチレンテレフタレート不織布2枚に、実施例1(1)で調製した、100 μ gのbFGFを含有した架橋ゼラチンマイクロクロスフェア2mgを挟み込んだ材料について実施例2と同様に評価を行った。なお、空間保持材としての直径が12 μ mの繊維を20重量%混合した繊維径2 μ mのポリエチレンテレフタレート不織布は、参考例2で調製した繊維径2 μ mのポリエチレンテレフタレート繊維に、全量に対して20重量%の直径12 μ mの繊維を混合し、参考例2に記載の方法により不織布を製造することにより製造した。

【0051】実施例4

実施例3の不織布(空間保持材として径が12 μ mの繊維を20重量%混合した密度0.046g/cm³である繊維径2 μ mの不織布)を体積にして2.0倍にほぐした不織布(密度0.023g/cm³)を作成し、直径12mmの円形、厚み2mmの不織布について実施例3と同様に評価を行ったところ、血管侵入数は、4 $\times$ 10²/cm²(皮膚側)、0.5/cm²(背筋側)であった。

30 【0052】以上までの検討により、bFGF含有架橋ゼラチンマイクロクロスフェアの存在により不織布内に血管が侵入した。その際、血管の侵入は皮膚側の方が背筋側に比べて強いこと、また、侵入数が不織布の繊維径に依存していることがわかった。実施例1～3および比較例1～4の実験では、不織布の密度を同じにして埋入している。そのため、繊維径の小さなものでは、空隙の大きさが小さくそのことが新生血管の侵入に抑制的に働いていることが考えられる。そこで、実施例4では、繊維径2 μ mのものに対して、より密度を下げた不織布を用いて埋入実験を行ったが、血管侵入数は、4 $\times$ 10²/cm²(皮膚側)、0.5/cm²(背筋側)であった。また、42 μ mの繊維径の不織布では血管の侵入に対して十分に大きな空隙が不織布内部に存在しているにもかかわらず、血管は新生できなかった。以上のことにより、新生血管の不織布内への侵入には、その繊維径が影響を与えていること、また12 μ m程度の繊維径をもつ不織布が、血管侵入の足場として優れていることがわかった。

【0053】表1(有意差は、ANOVAによる検定結果)

50 及び図1から、実施例の血管誘導用繊維材料は、いずれ

も血管の侵入数に優れた血管誘導用繊維材料であった。一方、繊維径40 μ mを超える繊維材料（比較例4）は、血管の侵入が見られなかった。また、bFGFを含まない比較例（比較例1、2）やbFGFを徐放性担体に含有させなかった比較例（比較例3）は、血管の侵入数が全く見られないか、非常に少なかった。

【0054】

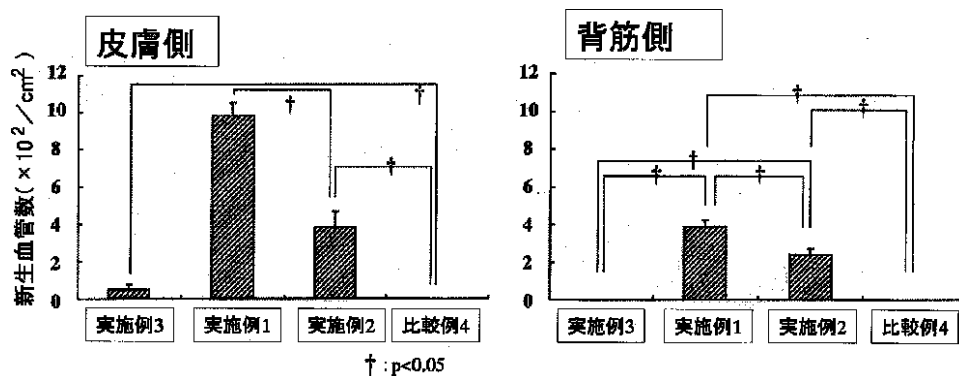
【発明の効果】本発明により、生体組織を再生させるための足場となる、材料内部に血管を誘導させることが可能な材料が提供された。本発明の血管誘導用繊維材料

＊は、生体組織再生用の足場材料などの用途に用いられる。特に繊維構造体の繊維間に血管新生誘導物質を含有することにより、生体組織を再生させるための足場となる材料内部に血管を誘導させることができるものであり、この血管誘導用繊維材料を用いることにより材料内部での細胞の増殖、分化が促進し、生体組織、臓器の再生修復を効率よくすることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】各実施例における生体組織再生用繊維材料中に誘導された新生血管数を示したグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 松名瀬 武雄
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社滋賀事業場内

(72)発明者 英加 善広
滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株式会社滋賀事業場内
Fターム(参考) 4C081 AB11 AB18 BA12 BA16 CA161
CC01 CD152 CE02 DA04
DA05 DC14