

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02008/065756

発行日 平成22年3月4日(2010.3.4)

(43) 国際公開日 平成20年6月5日(2008.6.5)

(51) Int.Cl. F 1 テーマコード(参考)
A 6 1 L 27/00 (2006.01) A 6 1 L 27/00 Y 4 C 0 8 1

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 24 頁)

出願番号 特願2008-546879 (P2008-546879)
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2007/001320
 (22) 国際出願日 平成19年11月29日(2007.11.29)
 (31) 優先権主張番号 特願2006-321450 (P2006-321450)
 (32) 優先日 平成18年11月29日(2006.11.29)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

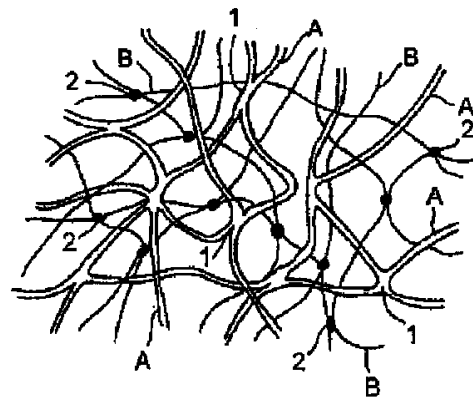
(71) 出願人 504173471
 国立大学法人北海道大学
 北海道札幌市北区北8条西5丁目
 (74) 代理人 100110766
 弁理士 佐川 慎悟
 (74) 代理人 100133260
 弁理士 小林 基子
 (74) 代理人 100145126
 弁理士 金丸 清隆
 (72) 発明者 安田 和則
 北海道札幌市北区北15条西7丁目
 国立大学法人 北海道大学 大学院医学研究科内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 軟骨組織再生治療用骨充填剤

(57) 【要約】

本発明は、自家軟骨組織、軟骨代替物あるいは未分化細胞の移植による治療法とは異なる、全く新規な概念に基づいた、新たな軟骨組織の再生治療法を可能にする医療材料を提供する。本発明は、2以上の架橋網目ポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目ポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる軟骨組織再生用骨充填剤を提供する。本発明の骨充填剤は、損傷を受けた軟骨組織の直下にある軟骨下骨に設けた孔ないし溝に充填されることで、軟骨組織又は軟骨組織と軟骨下骨の両方の再生を促すことが出来る。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

架橋網目構造を有する 2 以上のポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目構造を有するポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、軟骨組織再生治療用骨充填剤。

【請求項 2】

架橋網目構造を有するポリマー又は直鎖ポリマーが電荷を有する不飽和モノマー及び/又は電氣的に中性である不飽和モノマーの重合体である、請求項 1 に記載の骨充填剤。

【請求項 3】

電荷を有する不飽和モノマーが酸性基及び/又は塩基性基を有する不飽和モノマーである、請求項 2 に記載の骨充填剤。 10

【請求項 4】

酸性基がカルボキシル基、リン酸基又はスルホン酸基或いはそれらの基の塩である、請求項 3 に記載の骨充填剤。

【請求項 5】

酸性基を有する不飽和モノマーが 2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸又はそれらの塩である、請求項 3 に記載の骨充填剤。

【請求項 6】

電氣的に中性である不飽和モノマーが N, N - ジメチル - アクリルアミドである、請求項 2 に記載の骨充填剤。 20

【請求項 7】

2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N, N - ジメチル - アクリルアミドを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、請求項 1 に記載の軟骨組織再生治療用骨充填剤。

【請求項 8】

架橋網目構造を有する 2 以上のポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目構造を有するポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、軟骨又は軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 9】

2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N, N - ジメチル - アクリルアミド、アクリルアミド又は 2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパン硫酸ナトリウムを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、請求項 8 に記載の軟骨又は軟骨組織再生誘導剤。 30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、関節組織における軟骨組織の再生治療に有用な骨充填剤に関する。 40

【背景技術】

【0002】

膝関節や肩関節等に代表される関節組織において、関節によって連結されている骨の頂部は、骨同士が直接擦れ合うことのない様に軟骨組織で覆われている。加齢により又は過大な荷重負荷もしくは荷重の反復負荷などによってこの軟骨組織が損傷を受けると、関節内で炎症が起こり、いわゆる関節痛として自覚されることになる。関節の軟骨組織の損傷と関節痛は、若年者から高齢者に至るまで広くかつ高頻度に認められており、患者の QOL (Quality of Life) 向上の見地から、あるいは医療経済学的見地からも、有効かつ合理的な治療法の開発が求められている。 40

【0003】

損傷を受けた軟骨組織の治療において最も重要な問題は、軟骨組織は生体内では自然再 50

生せず、従って薬物投与等によって損傷した軟骨組織を再生させることが極めて困難であることである。例えば、軟骨下骨に多数の小穿孔を加えるマイクロフラクチャー法では線維軟骨が形成されるが、正常の関節軟骨である硝子軟骨は再生しない。そのため、損傷を受けた軟骨組織の治療は、専ら生体から採取される軟骨組織の移植によって行われているのが実情である。

【0004】

生体から採取される軟骨組織の移植による治療法は、自家軟骨移植法（モザイクプラスチック）と培養自家軟骨移植法の2種類に大きく分けることが出来る。自家軟骨移植法（モザイクプラスチック）は、損傷を受けた関節の健常部分または反対側の関節組織から自己の軟骨組織を骨プラグを付けて採取し、これを欠損部に自家移植する方法である。しかしこの治療法は、軟骨を採取する部位における正常な軟骨を傷つけてしまうという不可避の問題を有し、また軟骨組織の損傷部位が大きい場合には、移植に足る量の軟骨組織を生体から採取することができないという問題を有する。一方、培養自家軟骨移植法は、患者の自家軟骨（硝子軟骨）組織の一部を採取し、これを適当な培地及び/又は培養基材と共に培養することによって試験管内で軟骨組織を再生させ、これを患部に自家移植する方法である。培養自家軟骨移植法は、軟骨組織の無菌的培養のためのきわめて高額な設備の用意、軟骨組織の採取作業と移植という2度の処置、患者の長期間の入院などによる治療コストの増加、培養時の汚染による人獣共通疾患感染リスク、治療効果の不確実性という問題を有している。

10

【0005】

このような問題を回避するためにも、患者の体内での軟骨組織の自然再生を促す治療法の開発は、重要な課題である。現在、損傷を受けた軟骨組織を含む関節にb-FGFやOP-1などのサイトカインを担体と共に局所投与する方法や、自家間葉系幹細胞やES細胞を、損傷を受けた軟骨組織を含む関節に投与する方法も実験的に研究されている。しかしこれらの方法に関する効果や副作用等の問題点の確認は、今後の大きな課題であり、この種の治療法は全く実用化されていない。

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明は、自家軟骨組織、軟骨代替物あるいは未分化細胞の移植による治療法とは異なる、全く新規な概念に基づいた、新たな軟骨組織の生体内自然再生治療法を可能にする医療材料を提供するものである。

30

【0007】

本発明者らは、架橋網目構造を有するポリマーからなるハイドロゲルが特殊な外科的処置による軟骨組織の再生治療用骨充填剤として利用可能であることを見だし、下記の各発明を完成した。

【0008】

(1) 架橋網目構造を有する2以上のポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目構造を有するポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、軟骨組織再生治療用骨充填剤。

40

【0009】

(2) 架橋網目構造を有するポリマー又は直鎖ポリマーが電荷を有する不飽和モノマー及び/又は電氣的に中性である不飽和モノマーの重合体である、(1)に記載の骨充填剤。

【0010】

(3) 電荷を有する不飽和モノマーが酸性基及び/又は塩基性基を有する不飽和モノマーである、(2)に記載の骨充填剤。

【0011】

(4) 酸性基がカルボキシル基、リン酸基又はスルホン酸基或いはそれらの基の塩である、(3)に記載の骨充填剤。

【0012】

50

(5) 酸性基を有する不飽和モノマーが2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸又はそれらの塩である、(3)に記載の骨充填剤。

【0013】

(6) 電氣的に中性である不飽和モノマーがN,N-ジメチル-アクリルアミドである、(2)に記載の骨充填剤。

【0014】

(7) 2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N,N-ジメチル-アクリルアミドを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、(1)に記載の軟骨組織再生治療用骨充填剤。

【0015】

架橋網目構造を有する2以上のポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目構造を有するポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、軟骨又は軟骨組織再生誘導剤。

【0016】

2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N,N-ジメチル-アクリルアミド、アクリルアミド又は2-アクリルアミド-2-メチルプロパン硫酸ナトリウムを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、請求項8に記載の軟骨又は軟骨組織再生誘導剤。

【発明の効果】

【0017】

本発明の骨充填剤は、後に詳細に述べるように、損傷を受けた軟骨組織の直下にある下骨に設けた孔ないし溝に充填することで、軟骨組織又は軟骨組織と軟骨下骨の両方の再生を促すことが出来る。この様な治療法は、これまでの自家移植法や培養自家軟骨移植法について指摘されてきた前記の諸問題を全く伴わない、極めて有効な治療法となり得る。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】本発明の「相互侵入網目構造」(ダブルネットワーク型)を模式的に示した図である。図中、Aは一つの架橋網目ポリマー、Bは他方の架橋網目ポリマー、1及び2は各架橋網目ポリマーの架橋点を示す。尚、この図は網目構造中に溶媒(水)を含有しているゲルの概念図である。

【図2】本発明の「セミ相互侵入網目構造」(ダブルネットワーク型)を模式的に示した図である。図中、Cは架橋網目ポリマー、Dは直鎖ポリマー、3は架橋網目ポリマーの架橋点を示す。

【図3】骨欠損部の関節面から2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N,N-ジメチル-アクリルアミドを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲル(以下、PAMPS/PDMAAmゲルと表す)表面までの間隔が0.0mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図4】骨欠損部の関節面からPAMPS/PDMAAmゲル表面までの間隔が0.0mm~0.6mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図5】骨欠損部の関節面からPAMPS/PDMAAmゲル表面までの間隔が0.7mm~1.3mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。上下2種類の写真は、同条件の施術を受けた異なる個体についての染色像である。

【図6】骨欠損部の関節面からPAMPS/PDMAAmゲル表面までの間隔が1.4mm~2.0mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク

10

20

30

40

50

色に染色されている部分が軟骨組織を示す。上下2種類の写真は、同条件の施術を受けた異なる個体についての染色像である。

【図7】骨欠損部の関節面からPAMPSS/PDMAAmゲル表面までの間隔が2.1mm~2.8mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図8】骨欠損部の関節面からPAMPSS/PDMAAmゲル表面までの間隔が2.8mmより大きい場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図9】骨欠損部の関節面からPAMPSS/PAAmゲル表面までの間隔が0.7mm~1.3mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図10】骨欠損部の関節面からPAMPSS/PAAmゲル表面までの間隔が1.4mm~2.0mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図11】骨欠損部の関節面からPAMPSS/PAAmゲル表面までの間隔が2.1mm~2.7mmの場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図12】骨欠損部の関節面からPAMPSS/PAAmゲル表面までの間隔が2.8mmより大きい場合の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。図中、ピンク色に染色されている部分が軟骨組織を示す。

【図13】本発明の骨充填剤を用いた軟骨再生治療を模式的に表す。

【図14】実施例1の4)骨欠損部の関節面からPAMPSS/PDMAAmゲル表面までの間隔が1.4mm~2.0mmの場合の、1~4週間までの経時的な変化を示す組織学的染色像(サフラニン-O染色像)である。

【図15】実施例1の4)骨欠損部の関節面からPAMPSS/PDMAAmゲル表面までの間隔が1.4mm~2.0mmの場合の、再生部位における2型コラーゲンの免疫学的組織染色像である。

【図16】試験例2の再生部位における軟骨組織細胞におけるII型コラーゲン(パネルA)、アグリカン(パネルB)、Sox9(パネルC)のmRNA量を測定した結果を示すグラフである。レーン1、2は正常軟骨(ポジティブコントロール)、レーン3、4は本発明の充填剤を充填した検体、レーン5、6は骨欠損部に何も充填しない検体、レーン7、8はUltra High Molecular Weight Polyethylene(以下、UHMP Eと表す)を骨欠損部に充填した検体をそれぞれ表す。

【図17】比較例のポリビニルアルコールゲルを骨欠損部に充填した検体、UHMP Eを骨欠損部に充填した検体の組織学的染色像(サフラニン-O染色像)を示す。

【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

本発明の骨充填剤は、架橋網目構造を有する2以上のポリマー(以下、架橋網目構造を有するポリマーを架橋網目ポリマーと表す)によって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目ポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる。本発明における架橋網目構造とは、例えば国際特許出願公開W02006/013612の[図1](本明細書に図1として引用する)に示されるように、複数の架橋点を有するポリマーによって形成される網目構造をいう。また本発明における「相互侵入網目構造」とは、2以上の架橋網目ポリマーが互いの網目構造に進入するように絡みついており、結果として内部に複数の網目構造が形成されている構造ないし状態をいう。例えば図1に示すように、複数の架橋点1を有する架橋網目ポリマーAと、複数の架橋点2を有する架橋網目ポリマーBとから構成され、両架橋網目ポリマーが互いに網目に進入して物理的に絡まり合っている構造ないし状態である。

【0020】

本発明における「セミ相互侵入網目構造」とは、架橋網目ポリマーに直鎖ポリマーが架

10

20

30

40

50

橋網目ポリマーの網目に進入するように絡みついており、結果として内部に複数の網目構造が形成されているハイドロゲルの構造ないし状態をいう。例えば国際特許出願公開W O 2 0 0 6 / 0 1 3 6 1 2 [図 2] (本明細書に図 2 として引用する) に示すように、複数の架橋点 3 を有する架橋網目ポリマー C と直鎖ポリマー D とから構成され、架橋網目ポリマーの網目に直鎖ポリマー D が進入して物理的に絡まり合っている、ハイドロゲルの構造ないし状態である。

【 0 0 2 1 】

なお、本発明における「相互侵入網目構造」を有するハイドロゲルは、部分的にさらに直鎖ポリマーが絡んでなる上記のセミ相互侵入網目構造を含んでいてもよく、また本発明における「セミ相互侵入網目構造」は、部分的にさらに別の架橋網目ポリマーが絡んでなる「相互侵入網目構造」を含んでいてもよい。すなわち、一つのハイドロゲルが相互侵入網目構造とセミ相互侵入構造を同時に有していてもよい。

10

【 0 0 2 2 】

なお、図 1 及び図 2 において、第一の網目構造 A 及び C を、第二の網目構造 B 及び直鎖ポリマー D より太く描いたが、これは、便宜的に太さを変えて描いたものである。また、「相互侵入網目構造」及び「セミ相互侵入網目構造」は、2つのポリマーからなる構造(ダブルネットワーク型)のみでなく、3つ又はそれ以上のポリマーから構成される態様をも含む概念である。また、「2以上の」とは、「相互侵入網目構造」又は「セミ相互侵入網目構造」を形成するポリマーが2つ以上であることを意味し、種類の異なる、すなわち互いに異なる化学物質である2種以上のポリマーが網目構造を形成する場合も、化学物質として同じ種類である2つ以上のポリマーが網目構造を形成する場合も含む意味である。

20

【 0 0 2 3 】

本発明では、架橋網目構造を構成する2以上のポリマーは、正又は負に荷電し得る基を有する不飽和モノマーからなるポリマーと、電気的に中性の基を有する不飽和モノマーからなるポリマーとの組み合わせであることが好ましい。上記における正又は負に荷電し得る基を有する不飽和モノマーとしては、好適には、酸性基(例えば、カルボキシル基、リン酸基及びスルホン酸基)や塩基性基(例えば、アミノ基)を有する不飽和モノマー、例えば、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(A M P S)、アクリル酸(A A)、メタクリル酸又はそれらの塩を挙げることができる。また、電気的に中性な基を有する不飽和モノマーとしては、例えば、ジメチルシロキサン、スチレン(S t)、アクリルアミド(A A m)、N-イソプロピルアクリルアミド、N,N-ジメチル-アクリルアミド、ビニルピリジン、スチレン、メチルメタクリレート(M M A)、フッ素含有不飽和モノマー(例えば、トリフルオロエチルアクリレート(T F E))、ヒドロキシエチルアクリレート又は酢酸ビニルを挙げることができる。

30

【 0 0 2 4 】

本発明で利用可能なハイドロゲルの場合、正又は負に荷電し得る基を有する不飽和モノマーを重合させて第一の網目構造を先に形成しておき、この網目部分に電気的に中性の基を有する不飽和モノマーを含ませた後に、電気的に中性の基を有する不飽和モノマーを重合、または重合及び架橋させることで、「相互侵入網目構造」あるいは「セミ相互侵入網目構造」を形成させることができる。「相互侵入網目構造」及び「セミ相互侵入網目構造」のいずれの場合も、架橋網目ポリマーの架橋度は、第一の架橋網目において概ね0.1モル%~20モル%の範囲内で、第二の架橋網目は概ね0モル%~20モル%の範囲内で任意に設定することができる。好ましくは第一の架橋網目は、概ね0.5モル%~10モル%の範囲内で、第二の架橋網目は概ね0モル%~5モル%の範囲内で任意に設定することができる。さらに好ましくは第一の架橋網目は、概ね2モル%~6モル%の範囲内で、第二の架橋網目は概ね0モル%~2モル%の範囲内で任意に設定することができる。ここで「架橋度」とは、モノマーの仕込みモル濃度に対する架橋剤のモル濃度の比をパーセントで表した値をいう。また、「相互侵入網目構造」における2以上の架橋網目ポリマーの架橋度はそれぞれ独立して設定することができる。例えば、荷電し得る基を有する架橋網目ポリマーの架橋度を電気的に中性の基を有する架橋網目ポリマーの架橋度より大きく設

40

50

定してもよいし、またその逆でも良い。架橋剤は、モノマー成分に応じて適宜選択して使用すればよい。

【0025】

本発明で利用可能なハイドロゲルとその製造法は、いずれも本発明の発明者らによる発明にかかる、国際特許出願公開W02003/093337、国際特許出願公開W02006/013612、特開2006-42795、国際特許出願公開W02006/001313、特開2006/213868、さらにはJ. P. Gongら(Advanced Materials、2003年、第15巻、第1155-1158頁)などに、詳細に開示されている。本発明では、これらの先行文献に記載のゲルのいずれも利用することができる。なお、本発明の骨充填剤は、例えば国際特許出願公開W02006/013612に開示されている人工半月板として望まれる機械強度を特に必要とはしないので、国際特許出願公開W02006/013612において記載されている、ハイドロゲルの強度を高めるための種々の条件は、本発明における骨充填剤又はその製造法にとっては必ずしも必要とされない。

10

【0026】

本発明の好適な骨充填剤は、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(AMPS)を原料モノマーとする架橋網目ポリマー(PAMPS)と、N,N-ジメチル-アクリルアミド(DMAA)を原料モノマーとする架橋網目ポリマー(PDMAAm)とから構成される、相互侵入網目構造を有するハイドロゲル(以下、PAMPS/PDMAAmゲルとする)である。このPAMPS/PDMAAmゲルは、国際特許出願公開W02006/013612の実施例23に記載されている通りの方法によって製造されるハイドロゲルである。PAMPS/PDMAAmゲルは、摩擦係数は約 10^{-3} と軟骨のそれにほぼ等しく、6週間の皮下埋植試験において物性はほとんど変化せず、またペレット埋植試験で1週間後の炎症反応は陰性対照より有意に高く、陽性対照よりも有意に少ないが、4週間後および6週間後では陰性対照よりも炎症反応は少ないという特性を有している。

20

【0027】

また、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(AMPS)を原料モノマーとする架橋網目ポリマー(PAMPS)とアクリルアミドを原料モノマーからなる架橋網目ポリマー(PAAm)から構成される、相互侵入網目構造を有するハイドロゲル(PAMPS/PAAmゲル)、また2-アクリルアミド-2-メチルプロパン硫酸ナトリウム(Sodium 2-acrylamido-2-methylpropanesulfate、NaAMPS)を原料モノマーとする架橋網目ポリマー(PNaAMPS)とN,N-ジメチル-アクリルアミド(DMAA)を原料モノマーとする架橋網目ポリマー(PDMAAm)とから構成される、相互侵入網目構造を有するハイドロゲル(PNaAMPS/PDMAAmゲル)も、PAMPS/PDMAAmゲルと同様の軟骨組織の再生を促す働きを有する。

30

【0028】

なお、本発明の骨充填剤は、人口軟骨ほどの強度は特に必要とはされないが、骨に充填する際の操作性、また軟骨組織の再生促進能等を考慮すれば、ある程度の強度を有することが好ましい。例えば、上記の好ましい態様であるPAMPS/PDMAAmゲルとPAMPS/PAAmゲルに関する機械的強度は、次のように表すことができる。

40

【0029】

【表 1】

	PAMPS/PAAm ゲル	PAMPS/PDMAAm ゲル
正接弾性率 (Tangent Modulus) MPa	0.3 (0.05)	0.20(0.01)
破壊強度 (Ultimate Stress) MPa	11.40(2.60)	3.10(0.29)
破壊ひずみ (Strain at Failure) mm/mm	0.83(0.05)	0.73(0.01)
水分含量%	90.90(0.3)	94.00(0.00)

【0030】

次に、本発明に係る骨充填剤の使用方法について説明する。

【0031】

本発明の骨充填剤は、軟骨組織の再生治療を目的とした外科的処置において用いるための骨充填剤である。この外科的処置は、損傷を受けた軟骨組織の直下にある軟骨下骨を軟骨組織と共に削って適当な深さを有する孔ないし溝（以下、これを骨欠損部とする）を設け、ここに本発明の骨充填剤を適当な深さの骨欠損部が残るように充填するというものである。本発明の骨充填剤を用いた上記外科的処置を模式的に図13に表す。

【0032】

従来から存在した治療概念である人工軟骨は軟骨の再生を期待するものではなく、代替材料としての人工材料を骨欠損が残らないように軟骨面にあわせて充填するもので、本発明における人工材料の使用法はこれとまったく異なる。この本発明の骨充填剤を利用した外科的処置による軟骨組織の再生治療においては、生体から採取される軟骨組織の移植も、軟骨の再生を促す特別な液性因子の投与も必須ではなく、軟骨組織の自然再生のための生物学的および力学的環境を軟骨下骨にゲル材料を充填することで提供して、軟骨組織の自然再生を促すという、これまでに例を見ない軟骨組織の再生治療法である。特にこの治療方法によれば、軟骨組織を再生させることができることに加え、骨欠損部に埋め込んだ骨充填剤を覆い被さるように軟骨下骨組織を再生させ、この再生した軟骨下骨組織をさらに覆うように軟骨組織を再生させることができる。従来、軟骨組織を生体内で再生することは不可能であると考えられていたので、本発明の骨充填剤を利用することによって軟骨組織が再生するばかりでなく、軟骨下骨と軟骨組織が共に再生することは、他に例を見ない驚くべき結果である。

【0033】

本発明の骨充填剤を用いた外科的処置は、前記の通り、損傷を受けた軟骨組織の直下にある軟骨下骨を軟骨組織と共に削って骨欠損部を設け、ここに本発明の骨充填剤を適当な深さの骨欠損部が残るように充填するものである。この外科的処置において、骨欠損部周囲の軟骨組織の関節面（軟骨下骨と接する面とは反対側の面、単に関節面と表す）から当該関節面側に向いたハイドロゲルの表面（以下、単にハイドロゲル表面と表す）までの間隔が残るように、ハイドロゲルの充填量を調節することが望ましい。なお、例えば実施例で示される日本白色家兎においては、骨欠損部の関節面からハイドロゲル表面までの間隔を5mm以下、好ましくは0.7mm～2.8mm、より好ましくは0.7mm～2.1mmとすることが望ましい。なおこの間隔は、対象となる生物種や軟骨部位周辺の力学的環境によって、適宜調整することが好ましい。

【0034】

また、本発明の骨充填剤は、骨に充填されるという使用形態において生体にとって無毒であり、軟骨組織又は軟骨組織と軟骨下骨組織が再生した後に骨欠損部から除去することは必ずしも必要ではない。そのため、本発明の骨充填剤を用いた外科的処置を受ける患者は、骨欠損部を設けて骨充填剤を充填するという処置を一回受けるだけで済むので、複数回の処置が必要であった従来の治療法に比べて、患者の負担軽減をもたらすことができる。

【0035】

10

20

30

40

50

この様に、本発明の骨充填剤は、上記の通りに骨欠損部に埋め込まれることで軟骨下骨組織や軟骨組織の再生を誘導することができることから、本発明は、前記ハイドロゲルを軟骨及び/又は軟骨組織再生誘導剤、あるいは軟骨及び/又は軟骨組織再生促進剤として利用する発明も意図するものである。

【0036】

以下、本発明の骨充填剤の製造例と使用例を示して、本発明をさらに詳細に説明するが、これらの例は本発明を限定的に解釈させるものではない。

【実施例】

【0037】

<実施例1>

縦80mm×横80mm×厚さ5mm、幅5mmのシリコン板枠を用意し、板枠の1片に枠の外から内に向けた3mmの溝を空けた。このシリコン板枠を2枚の縦100mm×横100mm×厚さ3mmのガラス板で挟み、重合容器を組み立てた。

【0038】

2mol/Lの2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(A MPS)水溶液25mL、架橋剤である2mol/LのN,N'-メチレンビスアクリルアミド(MBAA)水溶液1mL、0.1mol/Lの2-オキソグルタル酸水溶液0.5mL、及び水を混合して水溶液50mLを調製した。窒素ガスを用いて脱酸素した水溶液を前記重合容器の溝から流し込み、溝部分をシールした後、波長365nmのUVランプ(22W、0.34A)を用いて紫外線を常温で6時間照射して重合させることにより、架橋度が4mol%のPAMPSゲル(第一の網目構造)を作製した。

【0039】

次に、6mol/LのN,N-ジメチル-アクリルアミド(DMAA)水溶液100mL、0.1mol/LのN,N'-メチレンビスアクリルアミド(MBAA)水溶液2mL、0.1mol/Lの過硫酸カリウム水溶液2mL及び水を混合して水溶液(浸漬溶液)200mLを得た。この浸漬溶液を、窒素ガスを用いて30分間脱酸素した。

【0040】

適当なバットに移した浸漬溶液に、重合容器から取り出した前記PAMPSゲルを浸して4の冷蔵庫にて時折軽く振蕩させながら2日間置き、前記浸漬溶液を前記PAMPSゲル中に拡散・浸透させた。

【0041】

次いで、前記浸漬液からゲルを取り出し、適当な大きさに裁断した後、このゲルを縦100mm×横100mm×厚さ3mmの2枚のガラス板の間に気泡が混入しないように挟持した。この2枚のガラス板の周囲4辺をシールした後、60のウォーターバス中で6時間DMAAの重合を行うことにより、ダブルネットワーク型のハイドロゲルである骨充填剤(PAMPS/PDMAAmゲル)を製造した。

【0042】

<試験例1>

実施例で製造した本発明の骨充填剤を用いて、軟骨組織再生のための外科的処置を次のようにして行った。

【0043】

成熟した日本白色家兔(3.0~4.2kg、20羽)の両膝大腿骨/膝蓋骨関節の大腿骨側に、垂直に径4.3mm×9.0mmの骨欠損部を作成し、実施例で作成したPAMPS/PDMAAmゲル(径4.5mm×9.0mm)を右膝の骨欠損にプレスフィットで充填した。このとき、骨欠損部の関節面からPAMPS/PDMAAmゲル表面までの間隔を、0.0~5.0mmに調節してPAMPS/PDMAAmゲルを充填した。ここで、間隔0.0mmとは関節面とPAMPS/PDMAAmゲル表面とが一致するようにPAMPS/PDMAAmゲルが充填された状態ないし処置群を意味し、間隔5.0mmとは関節面とPAMPS/PDMAAmゲル表面との間に5.0mmの隙間を設けるようにPAMPS/PDMAAmゲルが充填された状態ないし処置群を意味する。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 4 】

術後4週間ケージ内での飼育を行ってから屠殺し、膝関節を肉眼観察した後に、左右それぞれの膝を組織学的（サフラニン - O 染色：廣谷ら、臨床整形外科、1976年、第11巻、第12号、40頁 - 44頁）に評価した。組織学的評価に際し、大腿骨は円形の損傷部位の中心を通る矢状面で、膝蓋骨は正中矢状面で切片を作成した。なお骨欠損部の関節面から P A M P S / P D M A A m ゲル表面までの間隔（mm）の計測は、充填した P A M P S / P D M A A m ゲルの中心部、及び該中心部を挟んで対峙して位置するハイドロゲルの端二点の計三点で行い、その実測値の平均を骨欠損部の関節面から P A M P S / P D M A A m ゲル表面までの間隔とした。また、成熟した日本白色家兔（3.0 ~ 4.2 kg、20羽）の両膝大腿骨 / 膝蓋骨の大腿骨側に、垂直に骨欠損部（径4.3 mm、深さはランダムに1 mm、2 mm、3 mm、4 mm、5 mmとした）を作製し、そのまま何も充填せずにケージ内で4週間飼育した群を無処置対照群とした。

10

【 0 0 4 5 】

この結果、無処置対照群では、いずれの深さの骨欠損部においても、ほとんどの膝において骨欠損部は新生骨で充填されていたが、その表層は段差を残したまま線維組織で被われており、軟骨組織はまったく認められなかった。幾つかの膝では新生骨の表層の線維組織と線維軟骨様組織が混在していたが、それらの膝においても硝子軟骨細胞の再生は認められなかった。

【 0 0 4 6 】

これに対して、実施例で製造した P A M P S / P D M A A m ゲルを骨欠損部に充填した群では、関節面と P A M P S / P D M A A m ゲル表面との間隔によって、次のような結果が観察された。

20

【 0 0 4 7 】

1) 間隔 0.0 mm の場合 (図 3)

骨欠損部周囲には無処置対照群と比較して特別な変化は観察されず、また関節水腫なども確認されなかった。骨欠損部は P A M P S / P D M A A m ゲルで充填時と変化なく充填されていた。P A M P S / P D M A A m ゲルと骨欠損部との境界部において新生骨による骨壁が取り巻くように認められ、その一部に軟骨組織の再生が確認された。

【 0 0 4 8 】

2) 間隔が 0.0 mm ~ 0.6 mm の場合 (図 4)

P A M P S / P D M A A m ゲル表面は薄い線維組織で被われており、また P A M P S / P D M A A m ゲルと骨欠損部との境界部に軟骨様組織が認められた。

30

【 0 0 4 9 】

3) 間隔が 0.7 ~ 1.3 mm の場合 (図 5)

P A M P S / P D M A A m ゲル表面の上に設けた間隔は、再生した軟骨組織で完全に埋まっていた。この再生した軟骨組織はサフラニン - O でよく染色された。軟骨細胞は P A M P S / P D M A A m ゲル表面に近い部分で密に、関節面に近い部分で疎に存在し、正常軟骨に近い分布を示した。また、再生した軟骨組織の最表層には *L a m i n a s p l e n d e n s* 様の構造が認められた。

【 0 0 5 0 】

4) 間隔が 1.4 ~ 2.0 mm の場合 (図 6)

3) と同様に、P A M P S / P D M A A m ゲル表面の上に設けた間隔は再生した軟骨組織で完全に埋まっていた。さらに P A M P S / P D M A A m ゲル表面と再生した軟骨組織との間に、軟骨下骨の骨新生が確認された。

40

【 0 0 5 1 】

5) 間隔が 2.1 ~ 2.8 mm の場合 (図 7)

P A M P S / P D M A A m ゲル表面に軟骨下骨の骨新生が、さらにその上に軟骨組織の再生が認められた。また再生した軟骨組織の関節面に近い部位には線維組織と軟骨組織が混在した軟骨様組織の再生が確認された。この軟骨様組織内には新生骨が散在していた。

【 0 0 5 2 】

50

6) 間隔が2.8mmより大きい場合(図8)

無処置対照群と類似した所見であり、PAMPS/PDMAAmゲル表面の上に設けた間隔は新生骨で充填され、その表面部は段差を残したまま線維組織で被われており、軟骨組織の再生は認められなかった。幾つかの膝では、新生骨の表面に線維組織と線維軟骨様組織の混在が認められたが、軟骨細胞の配列構造は確認されず、線維軟骨様組織の内部が骨化している膝も確認された。

【0053】

<試験例2>

試験例1の4)の間隔を1.4~2.0mmとした検体について実験を繰り返し、1週間毎の軟骨組織再生の様子を、サフラニン-O染色によって確認した。その結果を図14に示す。

10

【0054】

<試験例3>

試験例2の検体の再生部位における2型コラーゲンの発現を、Kumagaiらの方法(Kumagaiら、J.Anat.,1994年、第185巻、第279-284頁)を参考にして確認した。具体的には、切片をProteinase Kで室温で6分間処理した後、PBSで洗浄し、1%過酸化水素/メタノールに30分間浸漬した。PBSで洗浄後、50倍希釈した一次抗体(マウス抗ヒトコラーゲンII型抗体、富士薬品工業)を用いて室温で60分間インキュベートした。PBSで再洗浄し、二次抗体(抗マウスIgG抗体、Envision)を用いて室温で30分間インキュベートした。その後、DAB DAKO(DAB基質セット)で発色させ、ヘマトキシリンで核を染色した。その染色像を図15に表す。

20

【0055】

<試験例4>

試験例2の再生部位、ならびにコントロール試験後の処置周辺部位から組織を回収し、Ribopure Kit(Ambion)を用いてRNAを抽出した。1µgのRNAに対して、PrimeScript RTTM Reagent Kit(TAKARA)を用いて逆転写反応(37 15分、次いで85 5秒)を行って一本鎖cDNAを合成した。さらに、軟骨細胞のマーカーとして知られるII型コラーゲン、アグリカン、Sox9であり、これらの3種類のタンパク質のmRNA量を、それぞれのタンパク質をコードする核酸の塩基配列情報を基にして設計したプライマーDNAを用い、SYBR(登録商標)Premix Ex Taq(Takara)を用いてThermal Cycler Dice(登録商標)TP800(Takara)でリアルタイムPCR(95 5秒及び60 30秒を40サイクル)を行い、Thermal Cycler Dice Real Time System Softwareにて解析した。プライマーDNAの塩基配列は、アグリカンがGCTACGACGCCATCTGCTAC(フォワード)とGTCTGGACCGTGATGTCCTC(リバース)、II型コラーゲンがGACCAATCAATGGCGGCTTC(フォワード)とCACGCTGTTCTTGCAGTGGTAG(リバース)、Sox9がAACGCCGAGCTCAGCAAGA(フォワード)とTGGTACTTGTAGTCCGGGTGGTC(リバース)である。

30

40

その結果を図16に示す。軟骨組織の再生が認められた組織では、上記3種類のマーカータンパク質のmRNAの発現が確認された。一方、対照群ではいずれのマーカータンパク質の発現は殆ど認められなかった。

【0056】

<実施例2>

実施例1の6mol/LのN,N-ジメチル-アクリルアミド(DMAA)を同モルのアクリルアミド(AAm)に変更する他は全て同じ条件で操作を行い、ダブルネットワーク型のハイドロゲルである骨充填剤(PAMPS/PAAmゲル)を製造した。

【0057】

<試験例5>

50

実施例 2 で製造した本発明の骨充填剤を用いて、軟骨組織再生のための外科的処置を試験例 1 の記載と同一の方法で行った。実施例 2 で製造した P A M P S / P A A m ゲルを骨欠損部に充填した群では、関節面と P A M P S / P A A m ゲル表面との間隔によって、次のような結果が観察された。

【 0 0 5 8 】

1) 間隔が 0 . 0 m m ~ 0 . 6 m m の場合

軟骨組織の再生は認められなかった。

【 0 0 5 9 】

2) 間隔が 0 . 7 ~ 1 . 3 m m の場合 (図 9)

P A M P S / P A A m ゲル表面の上に設けた間隔に、局所的な軟骨組織の再生が認められた。

10

【 0 0 6 0 】

3) 間隔が 1 . 4 ~ 2 . 0 m m の場合 (図 1 0)

骨表面の近くに少量の軟骨再生組織が存在していた。

【 0 0 6 1 】

4) 間隔が 2 . 1 ~ 2 . 8 m m の場合 (図 1 1)

P A M P S / P A A m ゲル表面に脂肪変性様の壊死と思われる組織像が認められたが、関節面に近い部位には関節面と並行に軟骨様組織の再生が確認された。

【 0 0 6 2 】

5) 間隔が 2 . 8 m m より大きい場合 (図 1 2)

P A M P S / P A A m ゲル表面に脂肪変性様の壊死と思われる組織像が認められたが、関節面に近い部位には関節面と並行に軟骨様組織の再生が確認された。

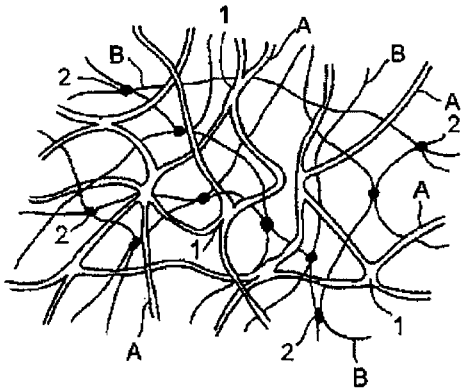
20

【 0 0 6 3 】

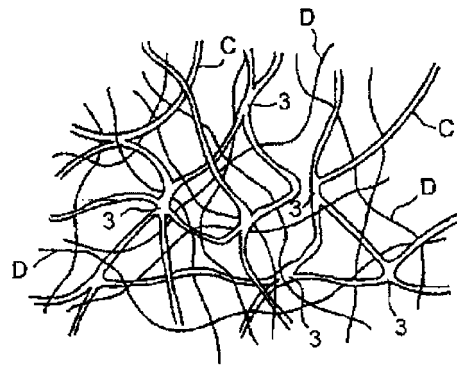
< 比較例 >

試験例 1 と同様の条件において、本発明の骨充填剤に代えてポリビニルアルコールゲルを骨欠損部に充填した検体、人工関節材料として利用されている Ultra High Molecular Weight Polyethylene (U H M P E) を骨欠損部に充填した検体は、いずれも軟骨組織の再生は観察されなかった (図 1 7) 。

【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



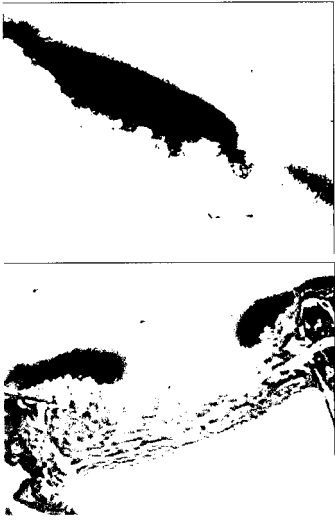
【 図 4 】



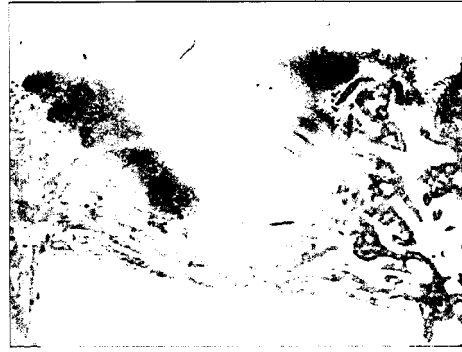
【 図 5 】



【 図 6 】



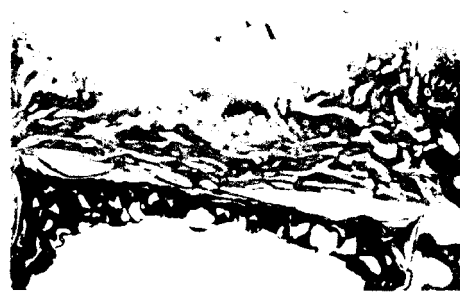
【 図 7 】



【 図 8 】



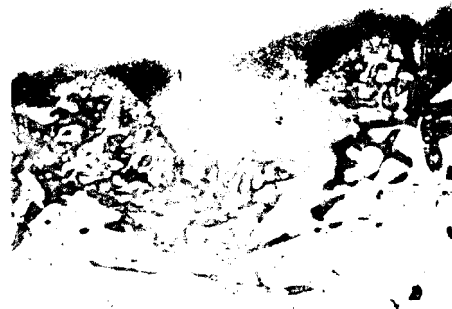
【 図 1 0 】



【 図 9 】



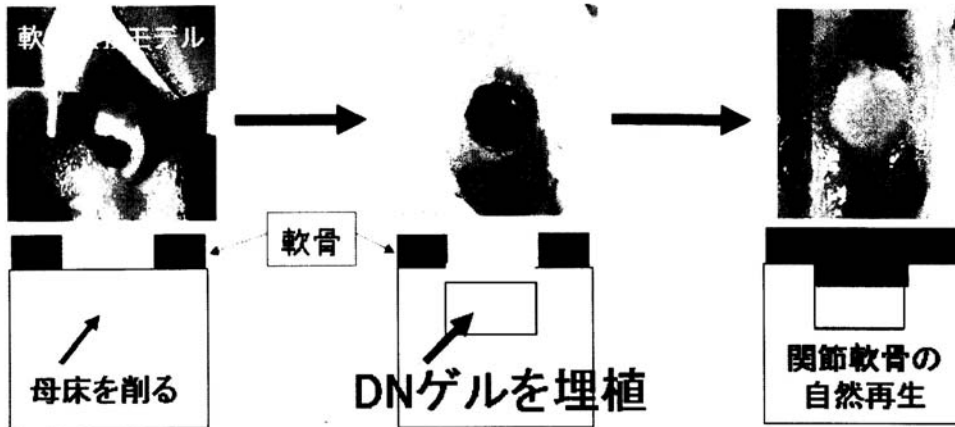
【 図 1 1 】



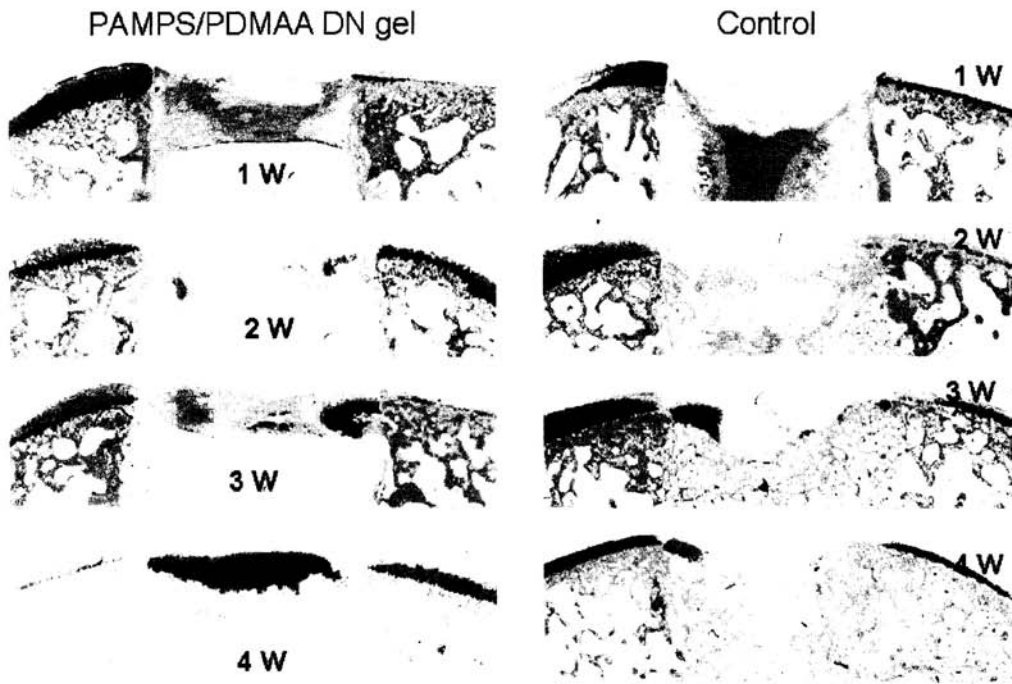
【図 1 2】



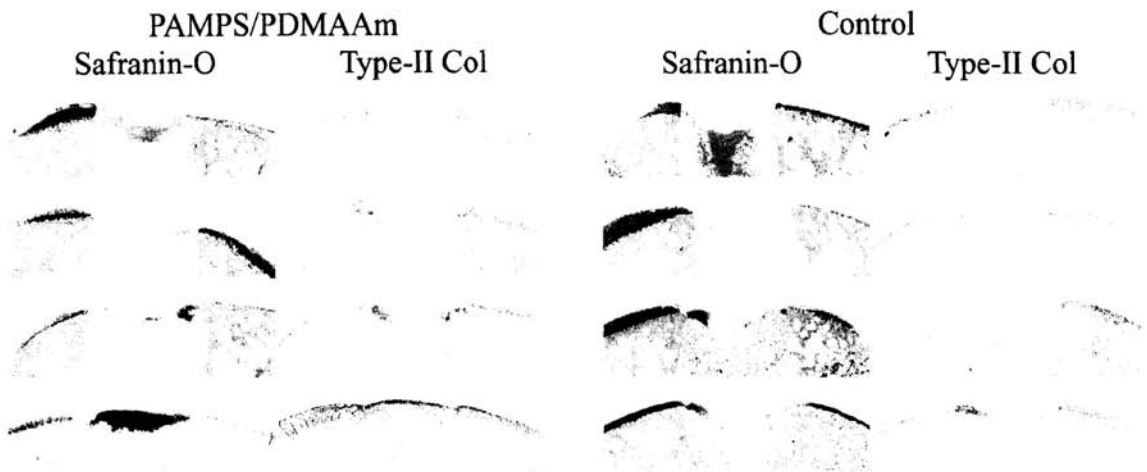
【図 1 3】



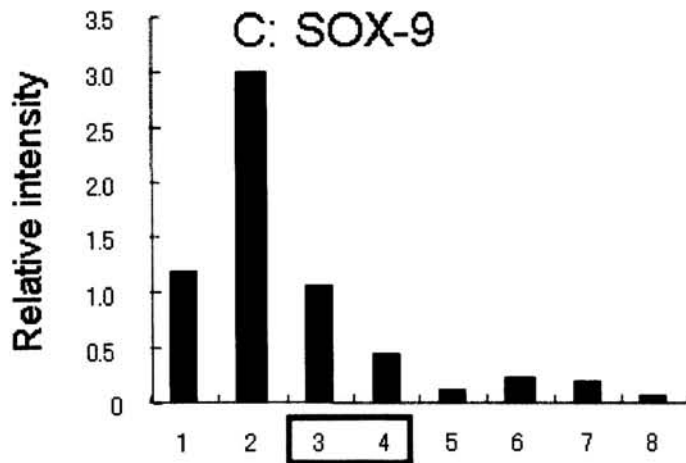
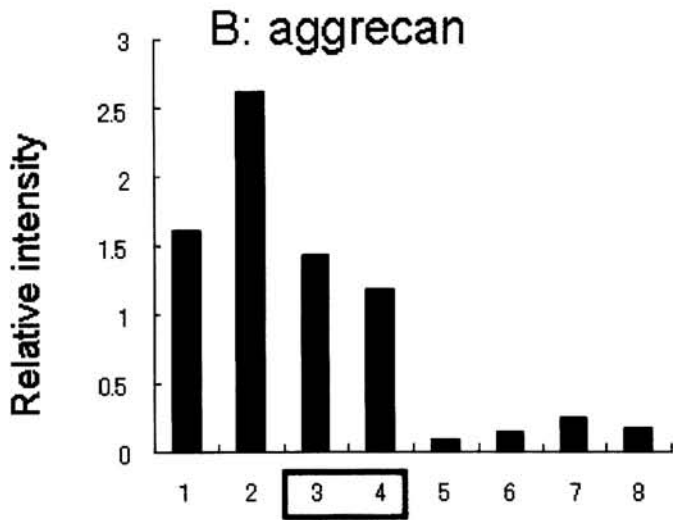
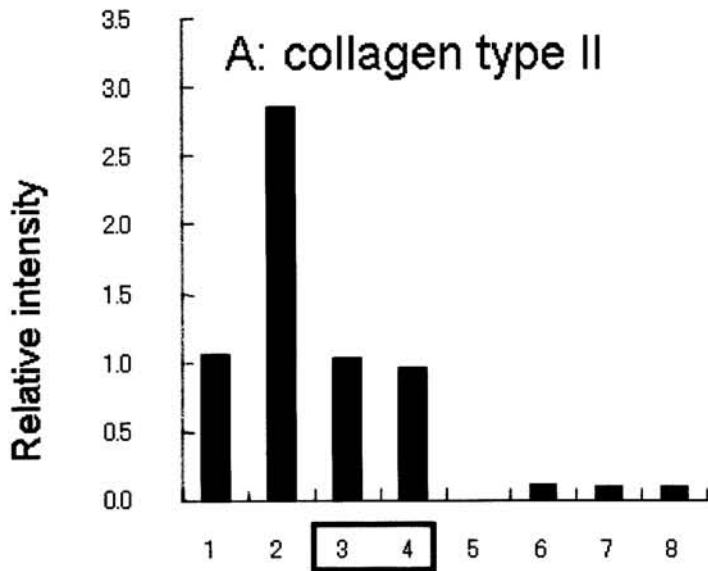
【 図 1 4 】



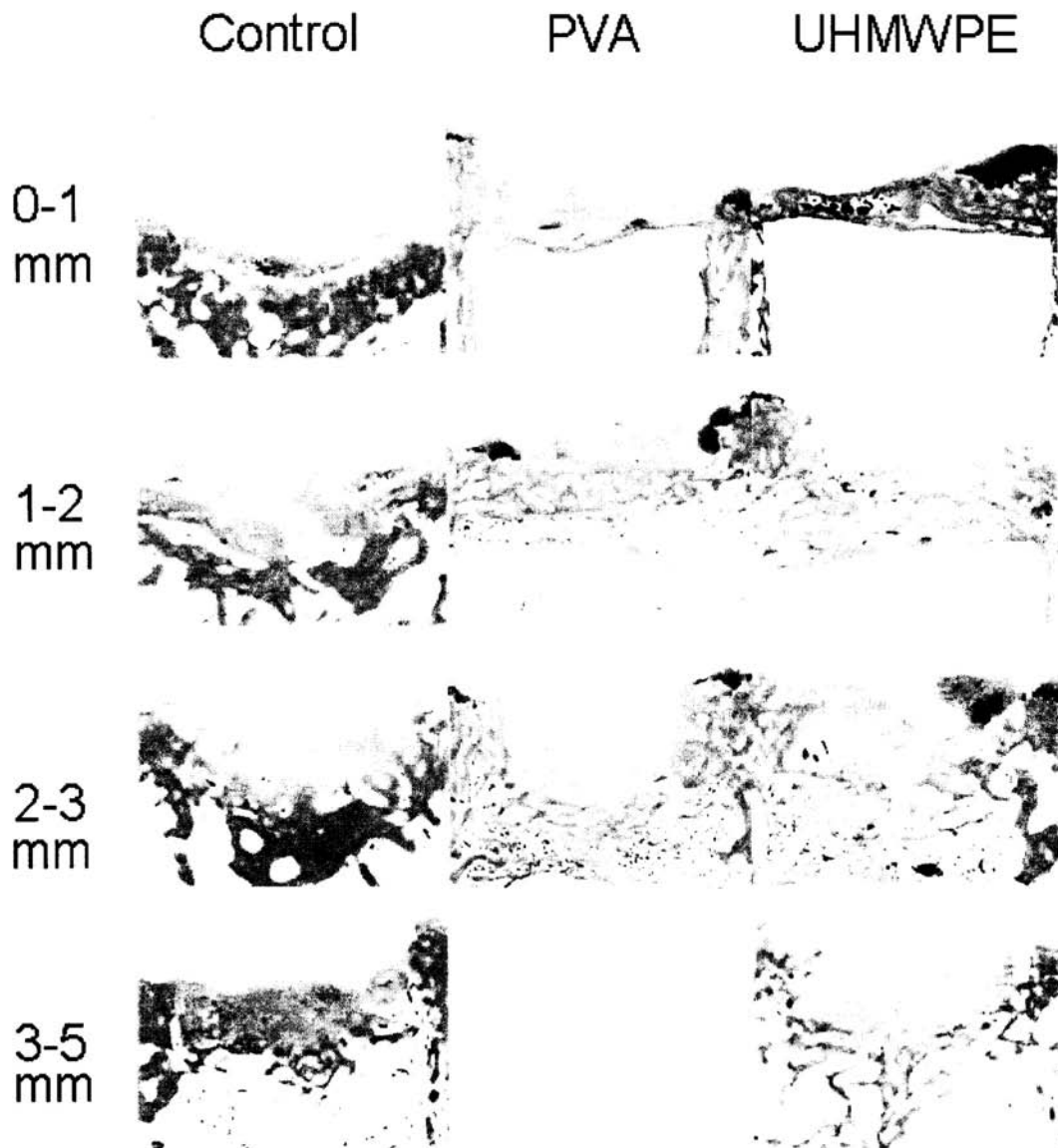
【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【図 17】



【手続補正書】

【提出日】平成20年7月9日(2008.7.9)

【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】

架橋網目構造を有する2以上のポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目構造を有するポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項2】

架橋網目構造を有するポリマー又は直鎖ポリマーが電荷を有する不飽和モノマー及び/又は電氣的に中性である不飽和モノマーの重合体である、請求項1に記載の骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 3】

電荷を有する不飽和モノマーが酸性基及び/又は塩基性基を有する不飽和モノマーである、請求項 2 に記載の骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 4】

酸性基がカルボキシル基、リン酸基又はスルホン酸基或いはそれらの基の塩である、請求項 3 に記載の骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 5】

酸性基を有する不飽和モノマーが 2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸又はそれらの塩である、請求項 3 に記載の骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 6】

電氣的に中性である不飽和モノマーが N, N - ジメチル - アクリルアミドである、請求項 2 に記載の骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 7】

2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N, N - ジメチル - アクリルアミドを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、請求項 1 に記載の骨充填型軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 8】

架橋網目構造を有する 2 以上のポリマーによって形成される相互侵入網目構造又は架橋網目構造を有するポリマーと直鎖ポリマーとによって形成されるセミ相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、骨充填型の軟骨又は軟骨組織再生誘導剤。

【請求項 9】

2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸をモノマーとする架橋網目構造を有するポリマーと、N, N - ジメチル - アクリルアミド、アクリルアミド又は 2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパン硫酸ナトリウムを原料モノマーとする架橋網目構造を有するポリマーとから構成される相互侵入網目構造を有するハイドロゲルからなる、請求項 8 に記載の骨充填型の軟骨又は軟骨組織再生誘導剤。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2007/001320
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61L27/00(2006.01) i 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) A61L27/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2008 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2008 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2008 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	V. R. Shastri et al, Osteocompatibility of photopolymerizable anhydride networks, Materials Research Society Symposium Proceedings, 1998, vol.530, pp.93-98, full text	1-2, 8 1-9
Y	Susan L. Riley et al, Formulation of PEG-based hydrogels affects tissue-engineered cartilage construct characteristics, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2001, vol.12, pp.983-990, full text	1-9
<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 05 February, 2008 (05.02.08)		Date of mailing of the international search report 26 February, 2008 (26.02.08)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/001320

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 98/52543 A1 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY), 26 November, 1998 (26.11.98), Full text & AU 726890 B2 & AU 7595698 A & CA 2290743 A1 & EP 1011633 A1 & JP 2002-503230 A & NZ 501339 A & US 6224893 B1	1-9
Y	WO 2006/013612 A1 (HOKKAIDO TECHNOLOGY LICENSING), 09 February, 2006 (09.02.06), Full text & EP 1779875 A1	1-9
Y	WO 03/093337 A1 (HOKKAIDO TECHNOLOGY LICENSING), 13 November, 2003 (13.11.03), Full text & AU 2002309026 A1 & AU 2003236042 A1 & CN 1649921 A & EP 1505093 A1 & US 2005/147685 A1 & WO 03/093327 A1	1-9
Y	WO 2006/001313 A1 (National University Corporation Hokkaido University), 05 January, 2006 (05.01.06), Full text (Family: none)	1-9
Y	JP 2006-213868 A (National University Corporation Hokkaido University), 17 June, 2006 (17.06.06), Full text (Family: none)	1-9

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2007/001320									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61L27/00(2006.01)i											
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. A61L27/00											
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>1971-2008年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2008年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2008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	1971-2008年	日本国実用新案登録公報	1996-2008年	日本国登録実用新案公報	1994-2008年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2008年										
日本国実用新案登録公報	1996-2008年										
日本国登録実用新案公報	1994-2008年										
国際調査で使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) CAplus/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (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 請求の範囲の番号									
X Y	V. R. Shastri et al, Osteocompatibility of photopolymerizable anhydride networks, Materials Research Society Symposium Proceedings, 1998, vol. 530, pp. 93-98 文献全体	1-2, 8 1-9									
<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 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「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 「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) 「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 「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 「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 「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 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 05.02.2008		国際調査報告の発送日 26.02.2008									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 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) 天野 貴子 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 9444								

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2007/001320

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
Y	Susan L. Riley et al, Formulation of PEG-based hydrogels affects tissue-engineered cartilage construct characteristics, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2001, vol.12, pp.983-990 文献全体	1-9
Y	WO 98/52543 A1 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY) 1998.11.26, 文献全体 & AU 726890 B2 & AU 7595698 A & CA 2290743 A1 & EP 1011633 A1 & JP 2002-503230 A & NZ 501339 A & US 6224893 B1	1-9
Y	WO 2006/013612 A1 (HOKKAIDO TECHNOLOGY LICENSING) 2006.02.09, 文献全体 & EP 1779875 A1	1-9
Y	WO 03/093337 A1 (HOKKAIDO TECHNOLOGY LICENSING) 2003.11.13, 文献全体 & AU 2002309026 A1 & AU 2003236042 A1 & CN 1649921 A & EP 1505093 A1 & US 2005/147685 A1 & WO 03/093327 A1	1-9
Y	WO 2006/001313 A1 (国立大学法人北海道大学) 2006.01.05, 文献全体 (ファミリーなし)	1-9
Y	JP 2006-213868 A (国立大学法人北海道大学) 2006.06.17, 文献全体 (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, NA, 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, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, 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, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 長田 義仁
北海道札幌市北区北10条西8丁目 国立大学法人 北海道大学 大学
院理学研究院内

(72)発明者 ゲン チェンピン
北海道札幌市北区北10条西8丁目 国立大学法人 北海道大学 大学
院理学研究院内

(72)発明者 北村 信人
北海道札幌市北区北15条西7丁目 国立大学法人 北海道大学 大学
院医学研究科内

Fターム(参考) 4C081 AB02 AB05 BA12 BA14 BB07 BB08 CA08 CA10 CB01 CC07
DA06 DA12 EA02

(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。