



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101880449 A

(43) 申请公布日 2010. 11. 10

(21) 申请号 201010225416. 5

A61L 27/56(2006. 01)

(22) 申请日 2006. 03. 10

A61L 27/18(2006. 01)

(30) 优先权数据

2005-080059 2005. 03. 18 JP

(62) 分案原申请数据

200680001342. 9 2006. 03. 10

(71) 申请人 株式会社 JMS

地址 日本广岛县

(72) 发明人 栈敷俊信 井手纯一 花木尚幸

松浦洋治

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

务所(普通合伙) 11277

代理人 刘新宇 李茂家

(51) Int. Cl.

C08L 67/04(2006. 01)

C08J 9/28(2006. 01)

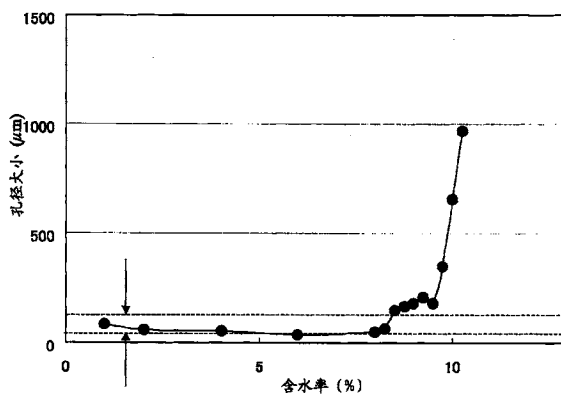
权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图 4 页

(54) 发明名称

多孔体的制造方法以及使用该方法的多孔体

(57) 摘要

本发明提供一种多孔体的制造方法,该方法可以调整孔径的大小,特别是不仅是调整小孔径大小,还可以调整大孔径大小。制备混合溶液,其包含:含丙交酯与己内酯的共聚物的聚合物、对所述聚合物的溶解度相对低的溶剂、以及对所述聚合物的溶解度相对高并且与所述溶解度低的溶剂具有相容性的溶剂,在冷冻干燥所述混合溶液来制造多孔体时,改变所述混合溶液中对所述聚合物的溶解度相对低的溶剂的含有率,并且在冷冻处理时,以 300℃ /hr 以下的速度冷却所述混合溶液,从而控制多孔体的孔径大小。由此,可得到孔径大小为 30 ~ 1800 μ m 的多孔体。



1. 一种多孔体,其通过如下所述的多孔体的制造方法制得,该方法包括:

制备混合溶液的工序,该混合溶液包含:含丙交酯与己内酯的共聚物的聚合物;对上述聚合物的溶解度相对低的溶剂;以及对上述聚合物的溶解度相对高并且与所述溶解度低的溶剂具有相容性的溶剂,其中,

对上述聚合物溶解度相对低的溶剂选自水、乙醇、叔丁醇,对上述聚合物溶解度相对高的溶剂为 1,4-二噁烷、碳酸二甲酯;

冷冻处理所述混合溶液的工序,

减压干燥所述混合溶液的冷冻处理物的工序,

其中,在所述混合溶液的制备工序中,改变对上述聚合物的溶解度相对低的溶剂在所述混合溶液中的含有率,所述含有率为超过 0 且 20 质量%以下,并且在所述冷冻工序中,以 300°C/hr 以下的速度冷却所述混合溶液,通过使所述冷却速度加快,从而使所制造的多孔体的孔径大小减小,通过使冷却速度减慢,从而使所制造的多孔体孔径大小增大。

2. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,以 300°C/hr 以下的相同的一定速度冷却所述混合溶液。

3. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,在所述冷冻工序中,将所述混合溶液放入容器中,从所述容器的底部冷却所述混合溶液。

4. 根据权利要求 3 所述的多孔体,其中,在所述冷冻工序中,在混合溶液的冷却中使用冷冻机,将装有所述混合溶液的所述容器放置于所述冷冻机的冷却架上,并控制成以 300°C/hr 以下的相同的一定速度降低所述冷却架的温度。

5. 根据权利要求 3 所述的多孔体,其中,所述容器为不锈钢制容器。

6. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,所述冷冻工序中的冷却速度为 3 ~ 180°C/hr 的范围。

7. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,对上述聚合物的溶解度相对低的溶剂为水。

8. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,对上述聚合物的溶解度相对高的溶剂为 1,4-二噁烷。

9. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,所述混合溶液中的所述溶解度相对低的溶剂的含有率为 6 ~ 12.5 质量%的范围。

10. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,在丙交酯与己内酯的共聚物中,丙交酯与己内酯的摩尔比为 90 : 10 ~ 10 : 90 的范围。

11. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,在所述冷冻工序中,所述混合溶液的最终冷冻处理温度在低共熔点以下。

12. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,在所述冷冻工序中,所述混合溶液的最终冷冻处理温度在 -10°C 以下。

13. 根据权利要求 12 所述的多孔体,其中,所述混合溶液的最终冷冻处理温度在 -50 ~ -10°C 的范围。

14. 根据权利要求 11 所述的多孔体,其中,在所述冷冻工序中,在最终冷冻处理温度下,以超过 0 小时且 12 小时以下的范围内处理所述混合溶液。

15. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,所述冷冻工序中,开始冷冻处理时的所述混合溶液的温度为 10°C ~ 室温的范围。

16. 根据权利要求 15 所述的多孔体,其中,开始冷冻处理时的所述混合溶液的温度为 10°C。

17. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,所述混合溶液中的所述聚合物浓度为 0.1 ~ 24 质量%的范围。

18. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,所述聚合物与对所述聚合物的溶解度相对高的溶剂的质量比为 0.1 : 99.9 ~ 24 : 76 的范围。

19. 根据权利要求 18 所述的多孔体,其中,所述聚合物与对所述聚合物的溶解度相对高的溶剂的质量比为 4 : 96。

20. 根据权利要求 1 所述的多孔体,其中,所述聚合物与对所述聚合物的溶解度相对低的溶剂的质量比为 3.2 : 20 ~ 4 : 0.5 的范围。

21. 根据权利要求 1 ~ 20 任一项所述的多孔体,其平均孔径大小为 30 ~ 1800 μm 的范围。

22. 根据权利要求 1 ~ 20 任一项所述的多孔体,该多孔体为培养细胞的支架材料。

23. 根据权利要求 1 ~ 20 任一项所述的多孔体,该多孔体为医疗用多孔体。

多孔体的制造方法以及使用该方法的多孔体

[0001] 本申请是申请日为 2006 年 3 月 10 日、申请号为 200680001342.9、发明名称为“多孔体的制造方法以及使用该方法的多孔体”的申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及多孔体、特别是在以组织工程学、再生医疗工程学为中心的医疗领域中用作细胞的支架 (scaffold) 材料的多孔体的制造方法。

背景技术

[0003] 在组织工程学和再生医疗工程学的领域中,为了增殖细胞,通常使用支架材料,特别是近年来,作为支架材料,期待使用由生物体吸收性材料构成的多孔体。如果是这样的生物体吸收性的多孔体,则在其孔内播种细胞使其增殖,并将其移植到生物体中,从而在生物体内引起组织再生,并且,作为支架的生物体吸收性材料在生物体内慢慢地被分解吸收。因此,可以将用于细胞增殖的支架直接与增殖细胞一起移植到生物体。

[0004] 作为这样的多孔体的制造方法,广泛使用冷冻干燥法,作为通常的方法,公开了例如将生物体吸收性聚合物溶解于二噁烷溶剂、并将其冷冻干燥而多孔化的方法(例如,参照专利文献 1)。但是,通过该方法得到的多孔体由于孔径大小在 $100\ \mu\text{m}$ 以下,因而难以得到例如适于细胞侵入到多孔体内的孔径大小 $100\ \mu\text{m}$ 以上的多孔体。

[0005] 此外,提出了在聚合物溶液中添加氯化钠、砂糖等颗粒并冷冻干燥,通过水等洗涤来洗脱除去前述颗粒,从而使其多孔化的方法(例如参照专利文献 2、专利文献 3)。根据这些方法,由于存在有颗粒的部分变成孔,因而可得到与所使用的颗粒同等程度的孔径大小的多孔体。但是,在这种方法中存在如下问题:由于必须进行颗粒的洗脱,因而制造工序变繁杂,此外,由于聚合物溶液中颗粒的沉降,因而难以确保所得到的多孔体的孔分布的均匀性。进而,为了提高孔径大小的均匀性,必须使用粒径均匀的颗粒,这导致高成本化。此外,由于难以完全除去颗粒,因而前述颗粒还可能会残留在多孔体内。这样,在制造多孔体时,实现期望的孔径大小、特别是大的孔径大小(数百 μm)是极其困难的。

[0006] 此外,作为控制孔径大小的方法,公开了如下方法:在冷冻干燥胶原溶液时,添加水和与水有相容性的有机溶剂,通过调整两者的添加比例来控制孔径大小的方法(例如,专利文献 4 等)。但是,即便根据该方法,所得的孔径大小也只有 $50\sim 80\ \mu\text{m}$ 左右,难以实现宽范围的孔径大小。此外,作为冷冻方法通常是采用液氮的急速冷冻法,存在孔径大小变小的趋势。

[0007] 专利文献 1:日本专利特开平 10-234844 号

[0008] 专利文献 2:日本专利特开 2001-49018 号

[0009] 专利文献 3:日本专利特表 2002-541925 号

[0010] 专利文献 4:日本专利特开平 02-265935 号

发明内容

[0011] 发明要解决的问题

[0012] 因此,本发明的目的在于提供一种多孔体的制造方法,该方法可以调整孔径的大小,特别是不仅是调整小孔径大小,还可以调整大孔径大小。

[0013] 用于解决问题的方法

[0014] 本发明的多孔体的制造方法的特征在于,包括:制备混合溶液的工序,该混合溶液包含含丙交酯与己内酯的共聚物的聚合物、对所述聚合物的溶解度相对低的溶剂、以及对所述聚合物的溶解度相对高并且与所述溶解度低的溶剂具有相容性的溶剂;冷冻处理所述混合溶液的工序;减压干燥所述混合溶液的冷冻处理物的工序,

[0015] 其中,在所述混合溶液的制备工序中,改变对所述聚合物的溶解度相对低的溶剂在所述混合溶液中的含有率,并且在所述冷冻工序中,以 300°C /hr 以下的速度冷却所述混合溶液,从而控制多孔体的孔径大小。此外,以下,将对前述聚合物的溶解度相对低的溶剂称为“不良溶剂”,将对前述聚合物的溶解度相对高的溶剂称为“良溶剂”,本发明中,这些术语只是为了通过对前述聚合物的相对溶解度来区别前述两者而使用的。

[0016] 发明效果

[0017] 根据本发明的多孔体的制造方法,通过改变混合溶液中的不良溶剂的含有率、并且以 300°C /hr 以下的速度冷却混合溶液来冷冻前述混合溶液,可以容易地调整宽范围的孔径大小,此外,还可以实现形成比较均匀的孔。

[0018] 如前述那样,通过调整像水这样的不良溶剂与像有机溶剂这样的良溶剂的比例来调整孔径大小是公知的(前述专利文献 4)。但是,本发明通过进一步将冷冻处理时的冷却速度设定在 300°C /hr 以下的速度,从而可以形成例如 30 ~ 1800 μm 这样的宽范围的孔径大小,并且还可以确保所形成的孔的均匀性。即,本发明人们发现,例如,即使是不良溶剂的含有率相同的混合溶剂,通过改变冷却速度(300°C /hr 以下)的设定,可以进一步改变所形成的孔的尺寸,结果,通过不仅设定前述含有率还组合设定冷却速度,可以进一步扩大孔径大小的范围。像这样可以设定宽范围的孔径大小,特别是还可以实现 100 μm 以上的孔径大小,这是本发明人们首次发现的。另外,由于采用不使用颗粒的现有方法得到的多孔体的孔径大小通常为 10 ~ 80 μm 左右,因而本发明也可以说是可以设定非常宽的范围的。此外,由于如前述那样不混合颗粒,因而也不存在因颗粒的沉降导致的分布不均匀、颗粒残存等问题。因此,根据本发明,通过只设定不良溶剂的含有率和冷却速度,可以实现各种孔径大小,例如可以得到相应于多孔体用途的孔径大小,因此可以说是组织工程学和再生医疗等中非常有用的多孔体的制造方法。

附图说明

[0019] 图 1 是表示本发明的实施例中混合溶液的含水率与所得多孔体的孔径大小的关系的图。

[0020] 图 2 是表示本发明的其它实施例中混合溶液的含水率与所得多孔体的孔径大小的关系的图。

[0021] 图 3 是表示本发明的另一个实施例中混合溶液的含水率与所得多孔体的孔径大小的关系的图。

[0022] 图 4 是前述实施例中的多孔体截面的照片。

[0023] 图 5 是表示本发明的另一个实施例中将多孔体植入生物体内之后的细胞染色结

果的照片。

具体实施方式

[0024] 如前所述,本发明的多孔体的制造方法的特征在于,该方法包括:制备混合溶液的工序,该混合溶液包含含丙交酯与己内酯的共聚物的聚合物、对所述聚合物的不良溶剂、以及与所述不良溶剂具有相容性的对所述聚合物的良溶剂;冷冻处理所述混合溶液的工序;减压干燥所述混合溶液的冷冻处理物的工序,

[0025] 其中,在所述混合溶液的制备工序中,改变对所述聚合物的溶解度相对低的溶剂在所述混合溶液中的含有率,并且在所述冷冻工序中,以 300°C /hr 以下的速度冷却所述混合溶液,从而控制多孔体的孔径大小。

[0026] 本发明中的共聚物如前述那样,是丙交酯与己内酯的共聚物,例如可以是无规聚合物、嵌段聚合物的任意一种。此外,前述共聚物还可以混合 2 种以上不同摩尔比的丙交酯-己内酯共聚物来使用。另外,本发明中的共聚物可以只含有前述共聚物,还可以在不影响本发明的范围内进一步包含其它聚合物、共聚物。

[0027] 前述共聚物的分子量(重均分子量)没有特别限制,例如为 5000 ~ 2000000,优选为 10000 ~ 1500000,更优选为 100000 ~ 1000000。此外,丙交酯与己内酯的摩尔比例例如为 90 : 10 ~ 10 : 90 的范围,优选为 85 : 15 ~ 20 : 80 的范围,更优选为 80 : 20 ~ 40 : 60 的范围。

[0028] 前述共聚物的制备方法没有特别限制,可以使用现有公知的方法。通常,可以使作为起始原料的丙交酯与己内酯通过开环聚合进行共聚,也可以由乳酸合成丙交酯(乳酸的环状二聚体)后将其与己内酯共聚。另外,使用了乳酸的丙交酯的合成方法也没有特别限制,可以使用现有公知的方法。作为前述的丙交酯没有特别限制,可以使用 L-丙交酯、D-丙交酯以及这些的混合物(D,L-丙交酯),此外,作为乳酸,可以使用 L-乳酸、D-乳酸、这些的混合物(D,L-乳酸)。如此使用乳酸作为起始原料时,优选将单聚体的乳酸换算成二聚体的丙交酯,换算后的丙交酯与己内酯的摩尔比在前述的范围内。此外,作为己内酯,可以举出例如 ϵ -己内酯、 γ -己内酯、 δ -己内酯等,其中优选 ϵ -己内酯。

[0029] 本发明中,只要前述不良溶剂为对前述聚合物溶解度相对低的溶剂、前述良溶剂为对前述聚合物溶解度相对高并且与前述溶解度低的溶剂具有相容性的溶剂,就都没有特别限制,通常可根据所使用的聚合物的种类来设定。作为前述不良溶剂,通常可以使用水、乙醇、叔丁醇(tBuOH)等,作为前述良溶剂,可以使用对前述不良溶剂显示相容性的 1,4-二噁烷、碳酸二甲酯等有机溶剂等,特别优选不良溶剂为水、良溶剂为 1,4-二噁烷的组合。

[0030] 以下,对本发明的多孔体的制造方法进行具体的说明。另外,关于孔径大小的调整方法在后面叙述。

[0031] (混合溶液的制备工序)

[0032] 将聚合物、不良溶剂以及良溶剂混合,以此制备混合溶液。各溶剂的添加顺序没有特别限制。

[0033] 前述混合溶液中的聚合物浓度没有特别限制,通常为 0.1 ~ 24 质量%的范围,优选为 2 ~ 8 质量%的范围,更优选为 3 ~ 5 质量%的范围。对于前述混合溶液中的良溶剂的添加比例,可根据例如后述的不良溶剂的添加量来适当决定,优选前述聚合物与前述良

溶剂的质量比（聚合物：良溶剂）为 0.1 : 99.9 ~ 24 : 76, 更优选为 2 : 98 ~ 6 : 94, 特别优选为 4 : 96。

[0034] 如后述那样, 可以根据所形成的多孔体的期望的孔径大小以及所采用的一定冷却速度来适当决定前述混合溶液中的不良溶剂的添加比例。混合溶液中的不良溶剂浓度为例如超过 0 且 20 质量% 以下, 优选为 0.1 ~ 20 质量%, 更优选为 6 ~ 12.5 质量% 的范围, 特别优选为 6 ~ 12.25 质量%。此外, 前述混合溶液中的聚合物浓度为 3.6 质量% 时, 混合溶液中的不良溶剂浓度为例如超过 0 且 12.5 质量% 以下, 优选为 6 ~ 12.5 质量% 的范围。前述聚合物与前述不良溶剂的质量比（聚合物：不良溶剂）没有特别限制, 例如为 3.2 : 20 ~ 4 : 0.5 的范围。

[0035] （冷冻处理工序）

[0036] 以 300°C /hr 以下的速度冷却前述混合溶液, 使前述混合溶液冷冻。冷冻工序中, 除了以前述范围的速度进行冷却之外, 没有任何限制, 例如, 可以使用市售的冷冻干燥机进行前述混合溶液的冷冻。作为前述冷冻干燥机, 优选为可控制冷冻速度的机器种类, 例如可以使用商品名 TF5-85ATANCS (宝制作所制造) 等。

[0037] 冷却前述冷冻溶液时, 优选例如将前述混合溶液放入容器, 从前述容器的底部冷却前述混合溶液。像这样, 从容器的底部冷却, 则可以以一定速度从底部向上部方向均匀地冷却前述混合溶液, 可以均匀缓慢地冷冻前述混合溶液。具体地说, 优选使用冷冻机或冷冻干燥机, 将装有前述混合溶液的前述容器放置于前述冷冻机的冷却架上, 并控制成以 300°C /hr 以下的相同的一定速度降低前述冷却架的温度。像这样, 以前述规定的速度降低冷却架自身的温度, 则可以将放置于前述冷却架的容器的底部冷却, 从而可以从混合溶液的底部向上部进行冷却。另外, 作为前述容器没有特别限制, 可以列举例如不锈钢制容器。

[0038] 前述冷却速度只要为 300°C /hr 以下则没有特别限制, 如后述那样, 可根据所形成的多孔体的期望的孔径大小以及前述混合溶液的不良溶剂浓度来进行适当选择。前述冷却速度为例如 3 ~ 300°C /hr 的范围, 优选为 3 ~ 250°C /hr 的范围, 更优选为 3 ~ 180°C /hr 的范围, 特别优选为 5 ~ 180°C /hr 的范围。另外, 如前述那样使用冷冻机时, 控制成以这样的范围的一定速度降低该冷却架的温度即可 (以下相同)。

[0039] 实施冷冻的混合溶液的温度没有特别限制, 例如为所使用的溶剂的凝固点以上, 优选为 10°C ~ 室温 (例如 : 20 ~ 37°C), 更优选为 10 ~ 20°C 的范围。特别是以 300°C /hr 的一定速度开始冷却时, 优选开始冷冻处理时的混合溶液温度为 10°C 附近。并且, 在像这样将开始冷冻处理时的混合溶液的温度设定在 10°C 附近时, 应该将前述混合溶液整体保持一定值 (例如 10°C), 优选为 : 将前述混合溶液放置在比前述开始时的温度 (例如 10°C) 更高的温度 (例如 +10°C) 下, 然后将其降温至前述开始时的温度。此时, 下降温度所需要的时间没有任何限制, 可以为例如 60 分钟左右 (或者 60 分钟以上的时间)。以一定速度冷却之前, 通过实施这样的处理, 可以再现性良好地制造多孔体。

[0040] 前述最终冷冻处理温度在例如低共熔点以下、优选为 -10°C 以下、更优选为 -10 ~ -50°C 的范围。前述最终冷冻处理温度没有特别限制, 例如设定为 -10°C 左右时, 可以进一步降低用于冷却的成本。

[0041] 前述混合溶液的温度达到最终冷冻温度时, 可以根据前述混合溶液的冷冻状态来适当继续进行最终冷冻温度下的处理。其可以继续进行至前述混合溶液完全冷冻为止, 例

如继续进行超过 0 小时且 12 小时以下、优选为 1 ~ 3 小时左右。

[0042] 另外,用于冷冻干燥的混合溶液的量没有特别限制,前述的条件是对将混合溶液放入容器时深度为 0.5 ~ 1cm 左右的液量特别优选的条件。

[0043] (减压干燥处理工序)

[0044] 通过将前述冷冻处理工序中所得到的混合溶液的冷冻处理物进行减压干燥,可以得到多孔体。减压干燥的条件没有特别限制,可以采用现有公知的方法来进行。

[0045] 接着,对多孔体的孔径大小的控制方法进行具体说明。根据本发明的控制方法,例如以一定的冷却速度对改变了不良溶剂的浓度的多个混合溶液进行了冷冻处理时,如后述图 1 所述那样,孔径大小随不良溶剂的浓度而变化。进而,设定了不同冷却速度时,例如,孔径大小的变化在各冷却速度下显示同样的行为,即,显示孔径大小在某不良溶剂浓度范围内变大、在某浓度范围内变小的行为,但在相同浓度下的孔径大小根据冷却速度而不同。即,通过在改变不良溶剂浓度的基础上改变冷却速度,可以进行更宽范围的孔设定。因此,通过例如改变冷却速度和不良溶剂浓度的条件来制作多孔材,并制作显示前述速度、浓度与所得孔径大小的关系的标准曲线,从而可以再现性良好地制造例如约 30 ~ 1800 μm 范围的期望的孔径大小的多孔体。

[0046] 当混合溶液包含前述共聚物、良溶剂和不良溶剂,并且前述共聚物和良溶剂的质量比为 4 : 96 时,可以通过例如将前述混合溶液的不良溶剂浓度和冷却速度设定为下表的条件,从而可以制得表中记载的孔径大小 (30 ~ 1800 μm) 的多孔体。

[0047] 表 1

冷却速度 3°C/hr

不良溶剂浓度(质量%)	孔径大小(μm)
6-9	30-200
9.25-9.75	<200-400
10	<400-800
10.25	<800-1000

冷却速度 5°C/hr

不良溶剂浓度(质量%)	孔径大小(μm)
6-9.5	30-200
4.75-10	<200-400
10.25-10.5	<400-800
10.75	<800-1200
11-11.5	<1200-1500

[0048]

冷却速度 10°C/hr

不良溶剂浓度(质量%)	孔径大小(μm)
6-10	30-200
10.25	<200-400
10.5-10.75	<400-800
11	<800-1200
11-11.75	<1200-1800

冷却速度 180°C/hr

	不良溶剂浓度(质量%)	孔径大小(μm)
[0049]	6-10.25	30-200
	10.5-11	<200-400
	11.25-12	<400-800

[0050] 通过上述方式,可以得到本发明的多孔体。由于通过本发明的制造方法可以设定前述那样宽范围的孔径大小,因而本发明的多孔体可以根据孔径大小而用于各种用途。特别是在用作培养细胞的支架材料时,优选为比较大的孔径大小的多孔体,例如孔径大小为 50 ~ 1000 μm 、优选孔径大小为 100 ~ 1000 μm 的多孔体是有用的。此外还可以用作各种医疗多孔体。此外,本发明的多孔体的大小、形状没有特别限制,可根据用途来选择。

[0051] 另外,本发明的多孔体中的孔径大小的测定方法没有特别限制,可以采用现有公知的方法。

[0052] 以下,通过实施例和比较例对本发明进行更具体的说明,但本发明并不限于这些。

[0053] 实施例 1

[0054] 改变混合溶液中的含水率,以此制作多孔体,并证实了孔径大小的控制。

[0055] 将 L-丙交酯与 ϵ -己内酯的组成比(摩尔比)为 50 : 50 的丙交酯-己内酯共聚物(P(LA/CL = 50/50))、1,4-二噁烷和水混合,制备 29 种含水率不同的混合溶液。另外,(P(LA/CL = 50/50))与 1,4-二噁烷的混合比例(质量比)为一定值(4 : 96),将前述混合溶液中的水的混合比例(含水率)改变为 1、2、4、6、8、8.25、8.5、8.75、9、9.25、9.5、9.75、10、10.25、10.5、10.75、11、11.25、11.5、11.75、12、12.25、12.5、12.75、13、14、16、18、20 质量%。然后将这些混合溶液(20g)分别供给到不锈钢培养皿(直径 5cm、深 1.5cm,以下相同)中。

[0056] 在冷冻干燥机(商品名 TF5-85ATANCS :宝制作所制造)内(室温)的冷却架中放置前述不锈钢培养皿,将前述冷却架设定为 10°C 并放置 1 小时,然后以 3°C /hr 的速度将冷却架的温度冷却至 -50°C,在 -50°C 下放置 180 分钟。另外,从 10°C 下处理开始至 -50°C 下处理结束为止的时间合计为 20 小时。然后,在冷却处理结束的同时,将冷冻干燥机内的温度调整至 25°C 并进行减压干燥处理,制作 29 种多孔体样品。

[0057] 从前述不锈钢培养皿中取出圆板状的多孔体样品,在厚度方向的正中间切断。通过以下方法对该切断面进行孔径大小的测定($n = 5$)。在电子显微镜下观察前述切断了的多孔体样品的切断面(0.5cm²),从全体切断面中选择出孔径大小比较大、出现频率高的孔径大小的孔,采用图像分析软件(NIH image)对所得的图像进行分析,计算出孔径大小。

[0058] (比较例 1)

[0059] 作为现有的方法,采用通过设定冷冻温度来改变孔径大小的方法,以此制作多孔体。将与前述实施例 1 相同的(P(LA/CL = 50/50))和 1,4-二噁烷以 4 : 96 的质量比混合,制备混合溶液。将该混合溶液(20g)供给到不锈钢培养皿中,将前述不锈钢培养皿在冷冻库内以规定的冷却温度(-80、-30、-15°C)静置 4 小时,将其冷冻。然后,将这些不锈钢培养皿放置于冷冻干燥机(商品名 Freeze dryer FDU-830 :EYELA 公司制造)中进行减压干燥。另外,将前述混合溶液(20g)供给到不锈钢培养皿中,使用液氮(-196°C)将其冷冻,

然后同样操作,进行减压干燥。由此制作 4 种多孔体样品。所得的多孔体样品的孔径大小示于下述表 2。

[0060] (比较例 2)

[0061] 作为现有的方法,采用通过聚合物含量来改变孔径大小的方法,以此制作多孔体。将与前述实施例 1 相同的 (P(LA/CL = 50/50)) 和 1,4-二噁烷分别以 2 : 98、4 : 96、6 : 94 的质量比混合,制备混合溶液。然后在 -60℃ 下使用干冰和乙醇冷冻混合溶液,除此以外,与前述比较例 1 同样操作,采用冷冻干燥机(商品名 Freeze dryer FDU-830 :EYELA 公司制造)进行减压干燥,制作多孔体样品。所得样品的孔径大小示于下述表 2。

[0062] 表 2

比较例 1	冷冻温度	孔径大小(μm)
	-196℃	12
	-80℃	33
	-30℃	56
[0063]	-15℃	82
比较例 2	质量比	孔径大小(μm)
	2:98	83
	4:96	56
	6:94	46

[0064] 前述混合溶液中的含水率和前述样品的孔径大小的关系示于图 1。此外,图 1 中,以点线(图中箭头的范围)表示前述比较例 1 和比较例 2 中得到的多孔体的孔径大小范围。如该图 1 所示那样,可知根据实施例 1 的方法,通过改变含水率并以相同的一定速度冷却,可以调节多孔体的孔径大小,并且可形成均匀的孔。特别是如前述表 2 所示那样,根据通过冷冻温度来调整孔径大小的现有方法的比较例 1,其只可以形成 10 ~ 80 μm 左右的孔径大小,根据通过聚合物含量来调整孔径大小的现有方法的比较例 2,其只可以形成 40 ~ 80 μm 左右的孔径大小,均无法形成 90 μm 以上的大的孔径大小。与此相对,根据实施例 1,可以实现 30 ~ 1800 μm 这样的宽范围的孔径大小,并且其均匀性也优异。

[0065] 实施例 2

[0066] 改变冷却速度,以此制作多孔体,并证实了孔径大小的控制。

[0067] 使用 L-丙交酯与 ε-己内酯的组成比为 51 : 49 的 P(LA/CL = 51/49),除此以外,与前述实施例 1 同样操作,制备多种含水率不同的混合溶液,并将前述混合溶液(20g)分别供给到不锈钢培养皿中。然后将前述不锈钢培养皿放置于冷冻干燥机(商品名 TF 5-85ATANCS :宝制作所制造)的冷却架上,将冷却架的温度降低至 10℃(所需时间 25 分钟),放置 60 分钟。放置后,以规定速度(180℃/hr、10℃/hr、5℃/hr、3℃/hr)将前述冷却架冷却至 -50℃,在 -50℃ 下处理 180 分钟。并且,在冷却处理结束的同时,将冷冻干燥机内的温度调整至 25℃,进行减压干燥处理,制作多孔体样品。对于这些多孔体样品,与前述实施例 1 同样测定孔径大小(n = 2)。前述混合溶液中的含水率和前述样品的孔径大小的关系示于图 2。另外已经证实:使用组成比为 51 : 49 的 P(LA/CL) 进行与实施例 1 同样的实验时,显示同样的行为。

[0068] 如图 2 所示那样,以任意冷却速度进行冷却时,多孔体的孔径大小都随着含水率的变化而发生变化,特别是孔径大小变大的含水率的范围也同样。此外,通过改变冷却速度,即便为相同含水率的混合溶液,也可以使孔径大小发生变化,得到了如下趋势:冷却速度越快,孔径大小变得越小,冷却速度越慢,孔径大小变得越大。由以上可知,通过调整含水率和冷却速度,可以容易地制造期望的孔径大小,尤其可以制造难以用现有的方法制造的大孔径大小的多孔体。此外,以冷却速度 180℃ /hr 得到的多孔体样品的截面照片示于图 4。如该图 4 所示可知,截面中孔均匀地分布,其孔径大小的均匀性也优异。

[0069] 实施例 3

[0070] 研究冷冻温度的变化对孔径大小的影响。

[0071] 将冷却速度设为 180℃ /hr,最终的冷却温度设为规定温度(-20℃、-30℃、-40℃),除此以外,与前述实施例 2 同样操作,制作多孔体样品,并测定孔径大小($n = 3$)。前述混合溶液中含水率和前述样品的孔径大小的关系示于图 3。

[0072] 如该图 3 所示可知,冷却速度为 180℃ /hr 时,相应于含水率的孔径大小的行为不会因为最终冷却温度的变化而产生大的变化,不受前述冷却温度的影响。由此可以说,只要设定为 -20℃ 的冷却温度,则无需过度的冷却,可实现低成本化。

[0073] 实施例 4

[0074] 将制成的多孔体植入大鼠体内,证实了前述多孔体的细胞·组织的侵入性。

[0075] 与前述实施例 1 同样操作,使用规定含水率(8.5 质量%、9.75 质量%、10.25 质量%)的混合溶液来制作多孔体,并切成 12×15mm 的大小,制成样品。所得样品的孔径大小为:8.5 质量%的样品为 130 μm、9.75 质量%的样品为 310 μm、10.25 质量%的样品为 790 μm。另外,前述样品的厚度分别为 5mm 左右。将这些样品植入大鼠背部的皮下,2 周后和 4 周后,对前述样品进行 H-E 染色(苏木精-伊红染色),证实了组织对前述样品的侵入状态。

[0076] 其结果如图 5 的照片(4 周)所示那样,在具有大孔径大小的多孔体样品(孔径大小 310 μm、710 μm)中,可看到特别显著的细胞侵入。如此,根据本发明的制造方法,可以得到适于细胞的载体(支架)的大孔径大小的多孔体,因而可以说对医疗领域极其有用。

[0077] 工业上的可利用性

[0078] 这样根据本发明,可以将多孔体的孔径大小设定在宽范围内。因此本发明可以设定符合目的的孔径,如细胞的支架材料等用途、可以说是以再生医疗为首的医疗领域中极其有用的制造方法。

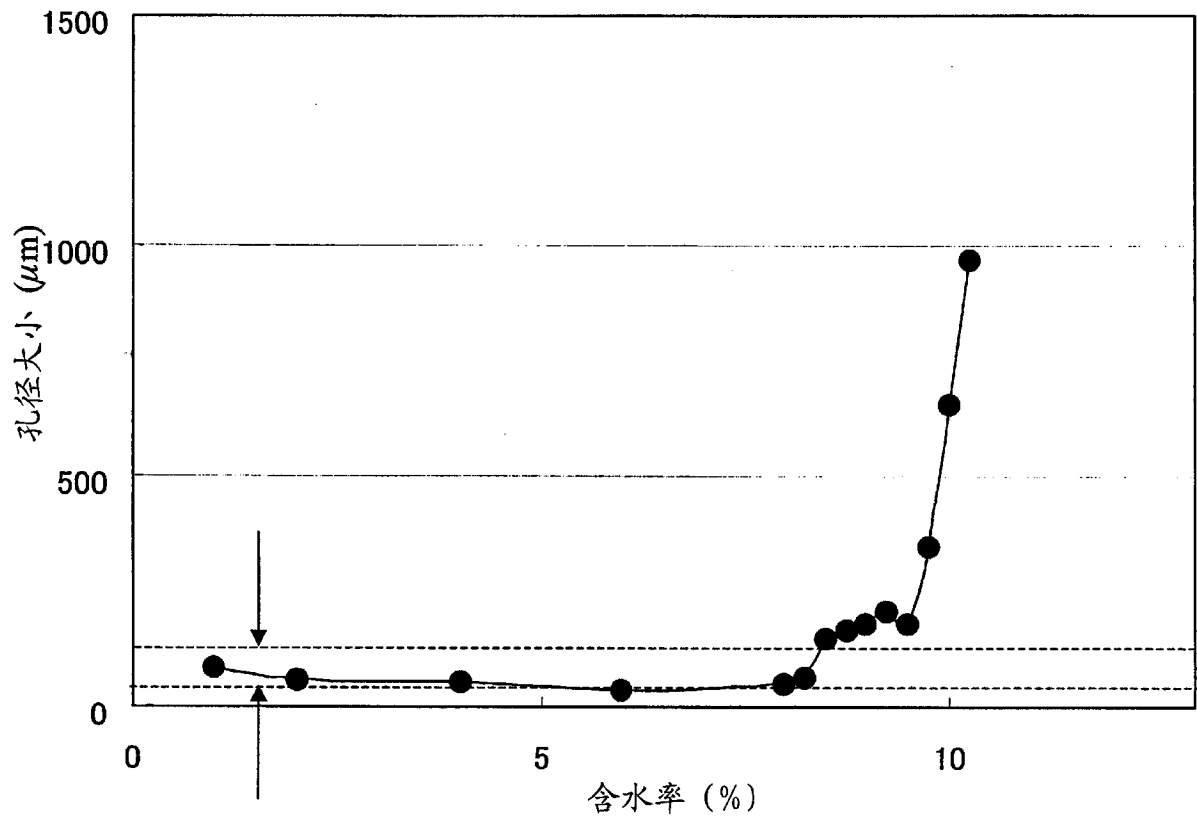


图 1

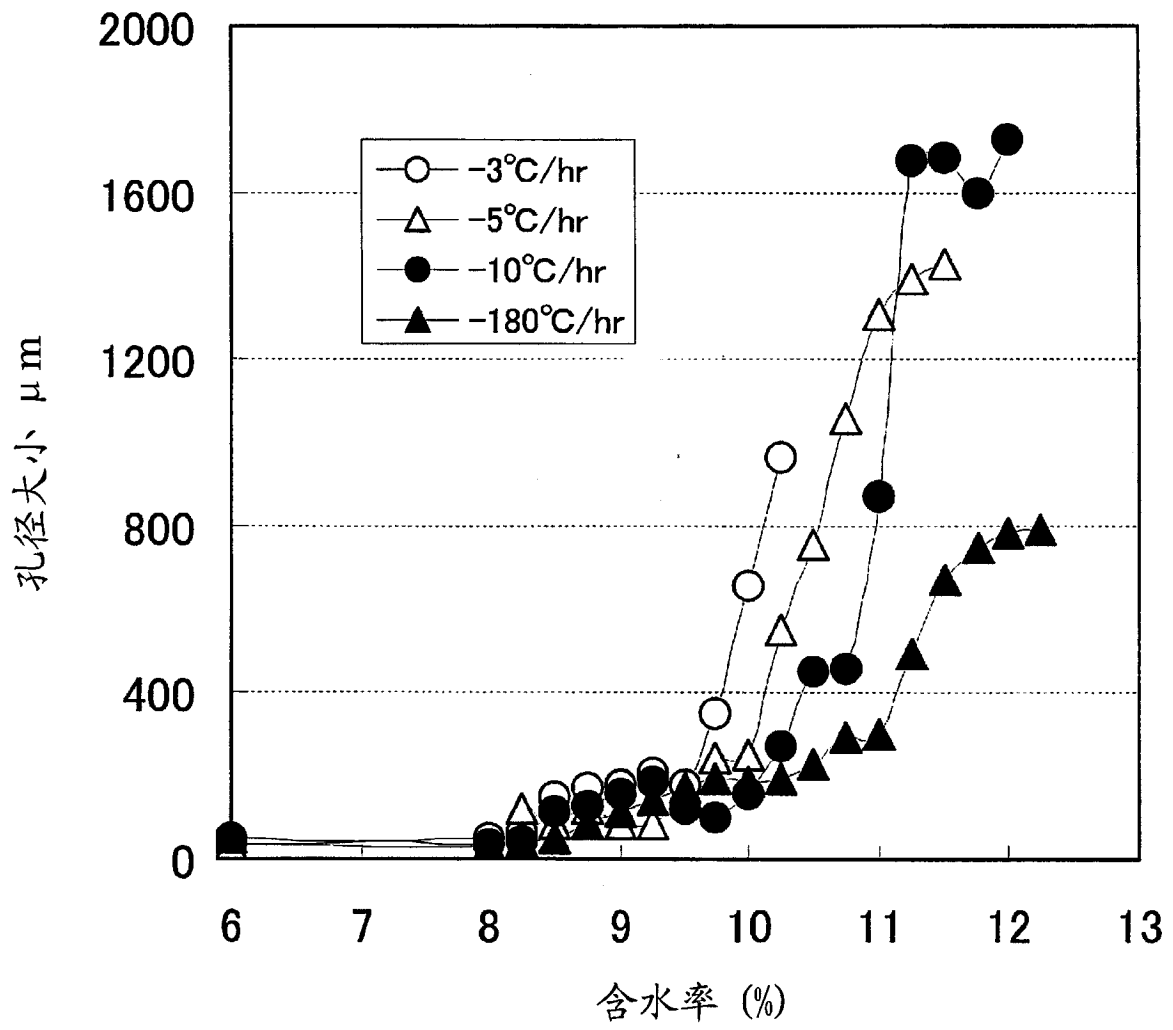


图 2

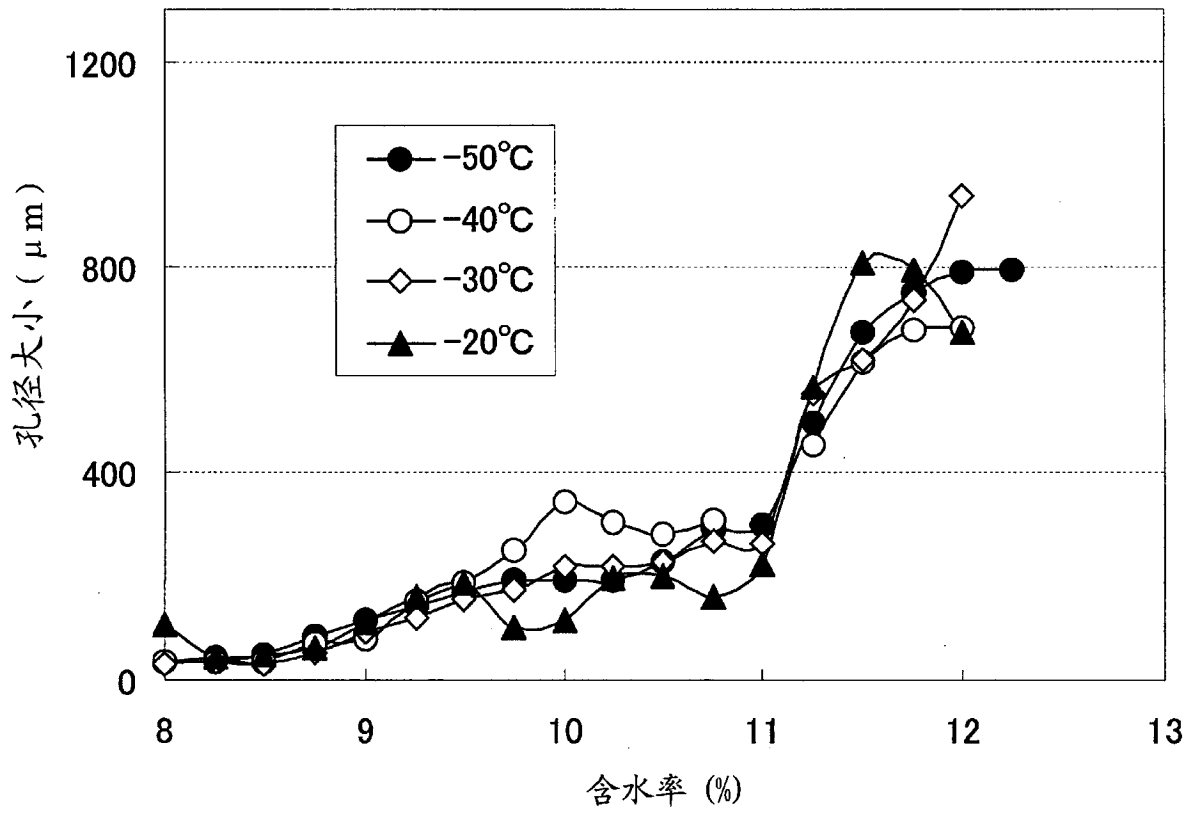


图 3

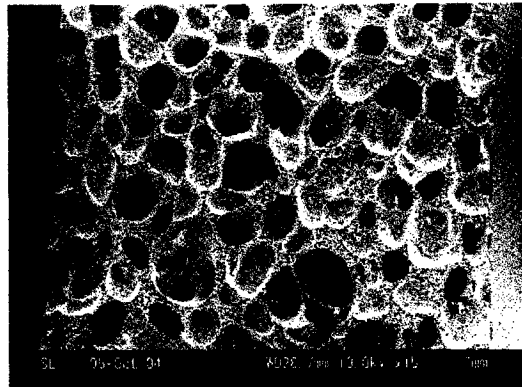
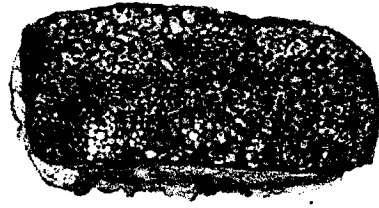


图 4

310 μm



710 μm



图 5