

## 明 細 書

発明の名称：

ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含む繊維シート構造体

### 技術分野

[0001] 本発明は、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含む繊維シート構造体に関する。

### 背景技術

[0002] ゼラチンは、牛骨、牛皮、豚皮などから得られるコラーゲンの三重螺旋分子を酸処理又はアルカリ処理したのち熱湯で抽出して得られる変性コラーゲンであり、生体内に入れた場合に抗原性が低く、且つ従来の生体吸収性材料に比べてあらゆる酵素で分解されるため生体吸収性が各段に早いことから、生体吸収性材料として好適に使用されている。従来、ゼラチンは粉末、シートあるいはスポンジの形態で取り扱われ、主として食品素材、写真乳剤、医薬用カプセル等に用いられてきたが、最近ではゼラチンの優れた生体適合性（低抗原性及び高生体吸収性）が注目され、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等、医療用材料への応用が期待されている。生体内で細胞は３次元的に相互作用することで、機能が発揮されている。また、生体外３次元細胞培養の足場材を考えた場合、生体外で生体を模倣するには、３次元細胞培養が１手段であり、高次構造体が望ましい。上記のような観点から、医療用途での使用や細胞培養の足場材において、高い強度と破断伸度を有する長繊維（フィラメント糸）で織物、編物、組み紐といった高次構造体を作製することが望ましい。

[0003] 例えば、特許文献１には、ゼラチンとポリエチレングリコール等の水溶性直鎖状高分子を含む水溶液を、空气中に押し出して紡糸することが提案されている。特許文献２には、ゼラチン溶液を凝固浴に吐出させてゲル状繊維とし、取り出して延伸し、残存する溶液を除去するゼラチン繊維の製造法が提

案されている。特許文献3には、ゼラチン水溶液をゾル状態となるように加温し、空气中で紡糸した後、架橋剤溶液に浸漬して架橋させることが提案されている。特許文献4には、アミド化合物、アルカリ金属又はアルカリ土類金属のハロゲン塩を含む溶液を含むゼラチン溶液を湿式紡糸でアルコール溶液中へ押し出してゼラチン糸を凝固させ、架橋剤等の添加成分を洗浄するゼラチン繊維の製造方法が提案されている。

[0004] 高い強度と破断伸度を有する織物、編物、組み紐といった高次構造体を医療用材料として用いる場合には、この高次構造体に細胞を定着させ、増殖させることが必要となる。

## 先行技術文献

### 特許文献

[0005] 特許文献1：特開2012-167397号公報

特許文献2：特開2005-120527号公報

特許文献3：特開2005-163204号公報

特許文献4：特開2001-89929号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0006] しかし、前記のような従来技術で得られたゼラチン繊維からなる長繊維（フィラメント糸）は、巻き取った糸の解舒が困難でフィラメント糸を得ることができなかった。また、架橋剤等の添加成分を洗浄して毒性を下げようとする工程を経て作製したゼラチン繊維は引張強度や破断伸度が低く、編物、織物、組紐といった高次構造体を得ることが難しかった。

[0007] また、一般的にはゼラチンの細胞接着性は低いために、細胞を定着させて短時間で培養させることが難しいという課題があった。一方で、コラーゲンは、細胞接着性が高いが、特定の酵素でのみ分解されるため生体内での分解時間が長いという課題があった。また、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材として使用する場合には、生体組織と擦れ合っても炎症を生じ

難い、滑り性と適度な強度が必要であるが、ゼラチンスポンジやゼラチンシートは優れた滑り性を有している一方で、強度が低いという課題があった。熱可塑繊維からなる高次構造体は摺動に耐えうるだけの十分な強度を持つが、滑り性が低く生体組織と擦れ合って炎症を引き起こしたり、熱可塑繊維の分解で生じる酸により炎症を引き起こすなどの課題を有していた。

[0008] そこで、本発明は、従来のゼラチン繊維と比較して、風合いが良く、かつ高い引張強度と大きな破断伸度を持つゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含む繊維シート構造体を提供することを目的とする。

[0009] さらに、本発明は細胞を定着させるための細胞接着性に優れ、かつ生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難い滑り性を有するゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含む繊維シート構造体を提供することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0010] 前記課題を達成するための具体的手段には、以下の態様が含まれる。

(第1の形態)

《態様1》

ゼラチン繊維束を含む高次構造体。

《態様2》

前記ゼラチン繊維束の引張強度が $0.5 \sim 3.0 \text{ cN/dtex}$ であり、破断伸度が $30 \sim 300\%$ である、態様1に記載の高次構造体。

《態様3》

前記ゼラチン繊維束を $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率が $110 \sim 350\%$ である、態様1または2に記載の高次構造体。

《態様4》

前記高次構造体がさらに熱可塑性樹脂繊維束を含み、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とが合糸束である、態様1～3のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様5》

前記合糸束の引張強度が $1.0 \sim 10.0 \text{ cN/dtex}$ であり、破断伸度が $20 \sim 250\%$ である、態様4に記載の高次構造体。

## 《態様6》

前記合糸束を $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率が $110 \sim 350\%$ である、態様4または5に記載の高次構造体。

## 《態様7》

前記高次構造体を $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率が $3 \sim 30\%$ である、態様1～6のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様8》

前記高次構造体の厚みが $30 \sim 5000 \mu\text{m}$ である、態様1～7のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様9》

前記高次構造体の空孔率が $60 \sim 97\%$ である、態様1～8のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様10》

前記熱可塑性樹脂が生分解性樹脂にてコーティングされている、態様4または5に記載の高次構造体。

## 《態様11》

高次構造体が編物の形状である、態様1～10のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様12》

態様1～11のいずれか一項に記載の高次構造体と、生分解性樹脂からなる構造体と、を含む積層高次構造体。

## 《態様13》

前記生分解性樹脂からなる構造体が、不織布である、態様12に記載の積層高次構造体。

## 《態様 14》

前記積層高次構造体を 50℃のリン酸緩衝生理食塩水に 4 時間浸漬させた際の重量減少率が 3～30%である、態様 12 または 13 に記載の積層高次構造体。

## 《態様 15》

前記積層高次構造体の厚みが 30～5000  $\mu\text{m}$  である、態様 12～14 のいずれか一項に記載の積層高次構造体。

## 《態様 16》

前記積層高次構造体の空孔率が 10～90%である、態様 12～15 のいずれか一項に記載の積層高次構造体。

## 《態様 17》

平均摩擦係数が 0.15～0.60 である態様 1～11 のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様 18》

平均摩擦係数が 0.15～0.60 である態様 12～16 のいずれか一項に記載の積層高次構造体。

## 《態様 19》

摩擦係数の平均偏差が 0.40～1.80 である態様 1～11 のいずれか一項に記載の高次構造体。

## 《態様 20》

摩擦係数の平均偏差が 0.40～1.80 である態様 12～16 のいずれか一項に記載の積層高次構造体。

## (第 2 の状態)

## 《態様 21》

繊維シート構造体であって、  
前記繊維シート構造体が、編組織を含み、細胞載置表面と裏面とを有し、  
前記裏面の平均空孔径が、前記細胞載置表面の平均空孔径よりも小さく、  
前記編組織が、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含

み、

前記繊維シート構造体の厚みが30～5000 $\mu$ mであり、

前記ゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の本数が5～60本であり、ゼラチン繊維の織度が0.5～10d texであり、

前記合糸束におけるゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合計本数が2～20本であり、前記合糸束中のゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束との本数割合が5：1～1：5である、繊維シート構造体。

#### 《態様22》

繊維シート構造体が下記(1)～(4)のいずれかである、態様21に記載の繊維シート構造体

(1) 2つの層が積層した構造体であり、表面側の層及び裏面側の層が編組織であり、該編組織が天竺編又は平編みである構造体、

(2) 3つの層が積層した構造体であり、表面側の層が編組織であり、裏面側の層が不織布であり、該表面側の層と該裏面側の層との間の中間層が編組織であり、該編組織が天竺編又は平編みであり、該不織布がゼラチン繊維を含む構造体、

(3) 2つの層が積層した構造体であり、表面側の層が編組織であり、裏面側の層が不織布であり、該編組織がリブ編みであり、該不織布がゼラチン繊維を含む構造体、

(4) リブ編みからなる編組織の構造体。

#### 《態様23》

細胞載置表面の平均空孔径が5～123 $\mu$ mであり、かつ細胞載置表面のうち150 $\mu$ m以上の空孔数が35%以下であり、編組織の空孔数が600個/mm<sup>3</sup>以上である、態様21又は22に記載の繊維シート構造体。

#### 《態様24》

合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率が110～350%である、態様21～23のいずれか一項に記載の繊維シート構造体。

#### 《態様 25》

合糸束の引張強度が  $1.0 \sim 20.0 \text{ cN/dtex}$  であり、破断伸度が  $20 \sim 250\%$  である、態様 21～24 のいずれか一項に記載の繊維シート構造体。

#### 《態様 26》

繊維シート構造体を  $50^\circ\text{C}$  のリン酸緩衝生理食塩水に 4 時間浸漬させた際の重量減少率が  $3 \sim 30\%$  である、態様 21～25 のいずれか一項に記載の繊維シート構造体。

### 発明の効果

[0011] 本発明の繊維シート構造体は、風合いが良く、かつ高い引張強度と大きな破断伸度を持つゼラチン繊維束を含む。このため、ゼラチン繊維束を用いて繊維シート構造体を形成することが可能であり、本発明の繊維シート構造体は、かかる繊維束状のゼラチンを成分として含むことで、機械強度に優れた生体適合性（低抗原性及び高生体吸収性）を有する医療用材料となり、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来る。

[0012] 本発明の繊維シート構造体は、細胞を定着させるための細胞接着性、細胞培養性に優れる。ゼラチンは生体適合性（低抗原性及び高生体吸収性）を有する素材であるため、細胞の分化促進、細胞機能の増強、移植後の定着性などに優れる 3 次元細胞培養の足場材として好適に使用することが出来る。また、本発明の繊維シート構造体は、ウェット状態で生体組織に近い柔らかさと滑り性を有する。このため、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難い。

### 発明を実施するための形態

[0013] 以下、本発明に係る実施形態について詳細に説明する。但し、本発明は以下の実施形態に限定されるものではない。以下の実施形態において、その構成要素（要素ステップ等も含む）は、特に明示した場合を除き、必須ではな

い。数値及びその範囲についても同様であり、本発明を制限するものではない。

#### 《第1の実施形態》

##### ＜高次構造体＞

第1の実施形態の高次構造体は、ゼラチン繊維束を含む。

[0014] 第1の実施形態の高次構造体は、ゼラチン繊維束を含むものであれば如何なる構造体でも良いが、編物、織物、組紐が好ましく、収縮性（ハンドリング性）、寸法安定性、機械特性、細胞を増殖させる適度な空間を持つという観点から編物であることがより好ましい。

[0015] 編物をトリミングして培養液につけるとカールすることがある。カールを抑制する方法としては、リブ編みやガーター編みなどで編物を作製しても良いし、線対称にカールする2枚の編物を縫い付けてダブルニットにしても良い。ダブルニットにすることで、カールを抑制できるだけでなく、足場材として使用した際に、ゼラチンの高い親水性のために細胞培養液が編物網目に保持されやすく、細胞培養性が向上する利点もある。

[0016] 第1の実施形態の高次構造体を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率は、3～30%であることが好ましく、5～28%であるとより好ましく、7～26%であるとさらに好ましく、7～24%であると特に好ましく、7～22%であると最も好ましい。上記重量減少率は、高次構造体25cm<sup>2</sup>の重量を測定し10μmメンブレンフィルターで包み、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させ、高次構造体入りのメンブレンフィルターをリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、室温水に30分浸漬させた後、水分をキムタオルで吸水させ、高次構造体入りメンブレンフィルターを80℃で24時間乾燥させ、メンブレンフィルターから高次構造体を取り出し重量を測定し、下記式で算出した値である。

[0017] 重量減少率 [%] =  $100 - \left[ 100 \times \left( \frac{\text{浸漬後の重量}}{\text{浸漬前の重量}} \right) \right] / (\text{浸漬前の重量})$

第1の実施形態の高次構造体を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸

漬させた際の重量減少率が上記範囲内であると、細胞接着性に優れ、また、増殖した細胞の癌化を抑えることができる。細胞が高次構造体に強く接着する場合は、2次元様態に細胞が成長する傾向にあり、主として埋め込み型の医療用材料として好適に利用することができ、細胞が高次構造体に弱く接着する場合は、スフェロイドのような3次元様態に細胞が成長する傾向にあり、生体外3次元細胞培養の足場材として好適に利用することができる。また、生体内でゼラチンが容易に溶解してしまうことを防ぐことができ、さらに医療用材料、3次元細胞培養の足場材として使用した場合のハンドリング性に優れる。

- [0018] 上記重量減少率は、熱架橋、架橋剤を用いた化学架橋、紫外線や放射線、電子線を用いた物理架橋のいずれかの処理（耐水処理）をゼラチン繊維束前駆体に対して行うことによって制御することができる。
- [0019] 第1の実施形態の高次構造体の厚みは30～5000 $\mu$ mであることが好ましく、50～3000 $\mu$ mがより好ましく、100～2000 $\mu$ mがさらに好ましく、150～1000 $\mu$ mが特に好ましい。高次構造体の厚みが30 $\mu$ m未満であると、高次構造体の強度が低くなり破れやすくなるため好ましくない。5000 $\mu$ mを超えると、高次構造体はハンドリングするのに十分な強度を有するが、細胞培養の足場材として使用する際、高次構造体の厚みの中央付近で細胞が酸欠などで死んでしまうなどの問題を生じてしまう。上記厚みは、3cm角に切り出した高次構造体の端部に粘着テープを貼って高次構造体を固定し、接触式の厚み計を用いて測定できる。
- [0020] 第1の実施形態の高次構造体の空孔率としては、60～97%の範囲が好ましく、65～95%がより好ましく、70～93%がさらに好ましく、75～92%が特に好ましい。空孔率が60%未満であると高次構造体の伸縮性は著しく低くなり、例えば高次構造体を患部に沿わせて貼り付けることが難しくなる。一方で、空孔率が97%を超えると、空孔があまりにも大きいために細胞を高次構造体に定着させることが難しくなる。上記空孔率は、5cm角に切り出した高次構造体の厚み、重量を測定し、下記式を用いて算出

する。

$$\text{空孔率 (\%)} = 100 \times [1 - a \div \{ (b + c) \div (b \div d + c \div e) \} \div (f \times 25)]$$

a : 5 cm角に切り出した高次構造体の重量 (g)

b : ゼラチン繊維束の織度 (d t e x)

c : 熱可塑繊維束の織度 (d t e x)

d : ゼラチン繊維束密度 (g / c m<sup>3</sup>)

e : 熱可塑繊維束密度 (g / c m<sup>3</sup>)

f : 高次構造体の厚み (c m)

なお、ゼラチン繊維束密度には1.27 g / c m<sup>3</sup>、熱可塑繊維束密度としてポリグリコール酸繊維束密度に1.53 g / c m<sup>3</sup>、ポリ乳酸繊維束密度に1.25 g / c m<sup>3</sup>を用いる。また、熱可塑繊維束を用いず、ゼラチン繊維束のみで高次構造体を作製した場合は、上記c、eは計算に含めない。

[0021] 第1の実施形態の高次構造体は、編物、織物、組紐などの製造に用いられる公知の方法で製造することができる。

[0022] 第1の実施形態の高次構造体は、ゼラチン繊維束を含むことで、ウェット状態での触感が生体組織に近い状態になるため、熱可塑性樹脂繊維束のみからなる高次構造体対比で滑り易くなるという特徴を有する。熱可塑性樹脂繊維束の触感を生体組織に近づけるために、熱可塑性樹脂繊維束の表面にコラーゲン、ゼラチンなどをコーティングしても良い。

[0023] 一般的に、熱可塑性樹脂繊維束からなる高次構造体は疎水性であるために、細胞培養液を高次構造体に含侵させることが非常に難しいという問題がある。しかしながら、第1の実施形態の高次構造体は、親水性に優れるゼラチン繊維束を含むため、細胞培養液を容易に含侵させることが出来、容易に高次構造体の内部で細胞を定着させて、増殖させることが出来る。

以下、第1の実施形態の高次構造体について詳細に説明する。

(ゼラチン繊維束)

第1の実施形態のゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の本数は2～9

0本であると好ましく、3～60本であるとより好ましく、4～50本であるとさらに好ましい。

[0024] また、ゼラチン繊維束の繊度は、10～600 d t e xであると好ましく、30～500 d t e xであるとより好ましく、50～400 d t e xであるとさらに好ましい。ゼラチン繊維束の繊度は、10000 m当たりのグラム数を測定した値である。

[0025] ゼラチン繊維束を構成する繊維の本数とゼラチン繊維束の繊度が上記範囲内であると、高次構造体の風合い、伸縮性、寸法安定性などの品質を向上させることができる。

[0026] ゼラチン繊維束の繊度は、ゼラチン繊維束を構成する繊維の本数や、後述するゼラチン繊維の繊度にて制御することができる。

[0027] 第1の実施形態のゼラチン繊維束の引張強度は、0.5～3.0 c N / d t e xであると好ましく、0.7～2.8 c N / d t e xであるとより好ましく、1.0～2.5 c N / d t e xであるとさらに好ましい。

ゼラチン繊維束の引張強度は、例えばテンシロン（オリエンテック社製 R T C - 1 2 1 0 A）を用いて測定される。

[0028] また、ゼラチン繊維束の破断伸度は、30～300%であると好ましく、30～250%であるとより好ましく、40～200%であるとさらに好ましく、50～150%であると特に好ましい。ゼラチン繊維束の破断伸度は、テンシロン（オリエンテック社製 R T C - 1 2 1 0 A）を用いて測定される。

[0029] ゼラチン繊維束の引張強度と破断伸度が上記範囲内であると、繊維束の巻取、解舒、高次構造体の作製時に断糸するのを防ぐことができ、容易に高次構造体を作製することが可能である。

[0030] ゼラチン繊維束の引張強度や破断伸度は、後述するゼラチンの種類や紡糸条件にて制御することができる。

[0031] 第1の実施形態のゼラチン繊維束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率は、3～30%であることが好ましく、5～2

8%であるとより好ましく、7～26%であるとさらに好ましく、7～24%であると特に好ましく、7～22%であると最も好ましい。上記重量減少率は、ゼラチン繊維束100mmの重量を測定し10μmメンブレンフィルターで包み、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させ、ゼラチン繊維束入りのメンブレンフィルターをリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、室温水に30分浸漬させた後、水分をキムタオルで吸水させ、ゼラチン繊維束入りメンブレンフィルターを80℃で24時間乾燥させ、メンブレンフィルターから繊維束を取り出し重量を測定し、下記式で算出した値である。

[0032] 重量減少率 [%] =  $100 - [100 \times (\text{浸漬後の重量})] / (\text{浸漬前の重量})$

第1の実施形態のゼラチン繊維束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率が上記範囲内であると、細胞接着性に優れ、また、増殖した細胞の癌化を抑えることができる。細胞が高次構造体に強く接着する場合は、2次元様態に細胞が成長する傾向にあり、主として埋め込み型の医療用材料として好適に利用することができ、細胞が高次構造体に弱く接着する場合は、スフェロイドのような3次元様態に細胞が成長する傾向にあり、生体外3次元細胞培養の足場材として好適に利用することができる。また、生体内でゼラチンが容易に溶解してしまうことを防ぐことができ、さらに医療用材料、3次元細胞培養の足場材として使用した場合のハンドリング性に優れる。

[0033] ゼラチン繊維束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率は、後述する不溶化処理の度合いにより制御できる。

[0034] 第1の実施形態のゼラチン繊維束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率は、110～350%であると好ましく、120～300%であるとより好ましく、130～300%であるとさらに好ましい。上記膨潤率は、ゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の繊維径をH1ROX製の光学顕微鏡RH2000で測定し、ゼラチン繊維束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた後、ゼラチン繊維束をリン酸緩衝生理

食塩水から引き上げ、濡れた状態でゼラチン繊維の繊維径を測定し、下記式で算出した値である。

[0035] 膨潤率 [%] =  $100 \times (\text{浸漬後の繊維径}) / (\text{浸漬前の繊維径})$

第1の実施形態のゼラチン繊維束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率が上記範囲内であると、細胞接着性に優れ、また、増殖した細胞の癌化を抑えることができる。細胞が高次構造体に強く接着する場合は、2次元様態に細胞が成長する傾向にあり、主として埋め込み型の医療用材料として好適に利用することができ、細胞が高次構造体に弱く接着する場合は、スフェロイドのような3次元様態に細胞が成長する傾向にあり、生体外3次元細胞培養の足場材として好適に利用することができる。また、生体内でゼラチンが容易に溶解してしまうことを防ぐことができ、さらに医療用材料、3次元細胞培養の足場材として使用した場合のハンドリング性に優れる。

ゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の断面形状としては、中実の円、中空、扁平、星形、三角、中実の円+フィン、中空+フィンなどが挙げられる。3次元細胞培養の足場材として使用する場合、中実の円よりも扁平、星形、三角といった異形断面糸の方が好ましい場合がある。

[0036] 高次構造体から、上述したゼラチン繊維束の引張強度、破断伸度、重量減少率および膨潤率を測定する場合は、高次構造体を鋏で切り、その糸端をつまんで5cm以上糸を引き抜き、測定用サンプルとした。

(高次構造体の製造方法)

第1の実施形態の高次構造体の製造方法を以下に記載するが、特に限定されるものではない。

[0037] 高次構造体の製造方法としては、以下の工程1および2ならびに工程3-1または工程3-2を含むことが好ましい。

[0038] (工程1)ゼラチン原料を30～70重量%含むゼラチン溶液からなるドープを、ゼラチンドープのゾルゲル転移温度よりも1～15℃高温にて多ホールの紡糸口金から繊維状に押し出す工程；

（工程２）押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取りゼラチン繊維束前駆体を作製する工程；

（工程３－１）前記ゼラチン繊維束前駆体を不溶化した後、組織化することで高次構造体を作製する工程；

（工程３－２）前記ゼラチン繊維束前駆体を組織化した後、不溶化することで高次構造体を作製する工程。

[0039] 前記工程２において、押し出されたゼラチン繊維を、ボビンに巻き取る前に、搬送ローラーの周面に沿わせて搬送する搬送工程を含み、押し出されたゼラチン繊維が最初に到達する第一の搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率が５～２５重量％であることが好ましい。

[0040] 前記ゼラチン繊維束前駆体の水分率は５～２０重量％であることが好ましい。

[0041] 前記工程２において、ボビンに巻き取る前に、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセリンから選ばれる少なくとも１種と低級アルコールの混合溶液を押し出されたゼラチン繊維に付着させる工程を含む。

[0042] 前記工程１において、前記ゼラチンのゼリー強度が１００～３５０ｇ、ゼラチンドープのゾルーゲル転移温度が１５～６０℃であることが好ましい。

[0043] 第１の実施形態の高次構造体は、ゼラチン溶液からなるドープを、多ホールの紡糸口金から繊維状に押し出し、押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取りゼラチン繊維束前駆体を作製し、ゼラチン繊維束前駆体を不溶化することで、ゼラチン繊維束を作製した後、組織化することで高次構造体を作製することができる。また、上述のように、繊維束前駆体を作製し、繊維束前駆体を組織化した後、不溶化することでゼラチン繊維束からなる高次構造体を作製しても良い。

[0044] なお、組織化とは、繊維束もしくは繊維束前駆体から織物、編物または組み紐を作製することである。

[0045] ゼラチン溶液を構成するゼラチン原料は、牛骨、牛皮、豚皮、鳥や魚由来のコラーゲンの三重螺旋をほぐして、一本の分子鎖として得られるものであ

る。斯かるゼラチン原料の製造方法には、酸処理法や石灰処理法などがあるが、第1の実施形態において使用するゼラチン原料は、いずれの方法で製造されたゼラチン原料であってもよく、又は市販されているゼラチン原料であっても良い。また、市販されているゼラチン原料は、その製造工程において、抽出されるまでに種々の精製工程を経るため、タンパク質以外の成分は少なく、一般的には、タンパク質85%以上、水分8~14%、灰分2%以下、その他（脂質、多糖類など）1%以下という組成が一般的であるが、第1の実施形態は、かかる一般的なゼラチン原料を使用することもできる。ゼラチン原料はコラーゲンの熱変性物質であるため、そのアミノ酸組成はコラーゲンとほぼ同じであるが、他のたんぱく質と比較して非常に特異的であり、グリシンが全体の約3分の1を占め、アミノ酸配列では3個に1個の繰り返しとなっている。コラーゲンとゼラチンを判別する方法としては、例えば広角X線測定で得られる31.5度のシグナルを観察することで判別可能である。この31.5度のシグナルはコラーゲンの三重螺旋構造に由来した信号であり、コラーゲンを特徴づける三重螺旋構造がほぐれてゼラチンになると、このシグナルは消失する。

[0046] また、ゼラチン原料の分子量については特に限定されるものではないが、分子量と相関の高いゼリー強度については、紡糸性の観点から100~350gであることが好ましく、150~320gがより好ましく、220~310gであることがさらに好ましい。ゼリー強度は、6.67%ゼラチン水溶液を、10℃で17時間冷却し、島津製作所製の小型卓上試験機EZ-SXを用いて、調製したゼラチン溶液の表面を2分の1インチ（12.7mm）径のプランジャーで4mm押し下げるのに必要な荷重（g）である。

[0047] ゼラチン原料のゼリー強度が上記範囲内であると、ゼラチン繊維の曳糸性の著しい低下を防ぐことができ、さらに、繊維中の水分保持率を抑えることで、巻取り中に断糸することを防ぐことができる。

[0048] ゼラチン溶液に占めるゼラチン原料の含有量は、30~70重量%であることが好ましく、40~60重量%であることがより好ましい。ゼラチン溶

液に占めるゼラチン原料の含有量が上記範囲内であると、ゼラチン繊維の曳糸性の著しい低下を防ぐことができ、さらに、ゼラチン溶液製造過程で生じる泡を脱泡し易くなり、紡糸時の断糸を防ぐことができる。

[0049] ゼラチン原料を溶解させる溶媒は水であるが、必要に応じて粘度調整のために（多価）アルコール類、ジメチルスルホキシドなどを添加しても良い。

[0050] ゼラチン溶液のゾルーゲル転移温度は、15～60であることが好ましく、20～60℃であることがより好ましく、20～55℃であることがさらに好ましく、20～50℃であることが特に好ましい。上記ゾルーゲル転移温度は、例えばTAインストルメント製レオメータARESを用いて測定される。

[0051] ゾルーゲル転移温度が上記範囲内であると、粘着性が強くなることを抑え、ゼラチン繊維の製造時のハンドリング性が向上し、さらに、巻き取ったゼラチン繊維の癒着を防ぐことができる。また、紡糸温度でゼラチンが熱分解し、断糸を引き起こすことを防ぐことができる。

[0052] ゼラチン繊維束前駆体は、ゼラチン原料と水等の溶媒からなるドープを多ホールの紡糸口金から空気中に繊維状に押し出して、口金直下の延伸で解けたコラーゲンの三重螺旋分子の分子鎖を適度に配向させるとともに、繊維内の水分含有量を適度に制御することで製造される。この解けたコラーゲン三重螺旋分子の分子鎖の配向度と、繊維内の水分率を制御することにより、糸の引張強度と破断伸度を高めると同時に、繊維同士の癒着を抑制することが可能となる。

[0053] ドープを多ホールの紡糸口金から空気中に繊維状に押し出す紡糸は、乾式、半乾式、湿式のいずれの方法でも良いが、溶媒を乾燥除去させる過程で繊維の表面や内部に空孔を形成することを防ぐことができ、ゼラチン繊維の引張強度や破断伸度が低くなることを抑制できるので、乾式で製造することが好ましい。乾式の紡糸温度はドープのゾルーゲル転移温度より1～25℃高温であることが好ましく、5～20℃高温であることがより好ましい。上記範囲内であると、曳糸性の著しい低下を防ぐことができる。

- [0054] 第1の実施形態で使用するゼラチン繊維束前駆体の製造において、紡糸直後から急激に繊維内の水分含有率を5～25重量%の範囲にまで低下させることが好ましい。繊維内の水分含有率が上記範囲内であると、粘着性を抑えることができ、多ホールの口金から吐出されたゼラチン繊維同士の癒着や、ゼラチン繊維が製造工程中のローラーに張り付くことを防ぐことができ、また、ボビンも巻き取ったゼラチン繊維前駆体をボビンから容易に解舒することができる。さらに、糸の伸度の著しい低下を抑制でき、ゼラチン繊維束の製造工程、ボビンからの巻き返しての高次構造体の製造過程での断糸を防ぐことができる。
- [0055] 紡糸口金から押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取る前に、搬送ローラーの周面に沿わせて搬送する搬送工程を含んでも良い。
- [0056] 押し出されたゼラチン繊維が最初に到達する第一の搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率は、5～25重量%であることが好ましく、5～20重量%であることがより好ましい。上記水分率は、第一の搬送ローラーにゼラチン糸を巻き付け、巻き取った繊維0.5gを計測しカルフィッシャー式水分率測定器（HIRANUMA社製EV-2010）を用いて、150℃・N<sub>2</sub>雰囲気化にて測定される。
- [0057] 水分率が上記範囲内であると、ゼラチン繊維が搬送ローラーに張り付くことを防ぐことができ、また、糸の伸度の著しい低下を抑制でき、断糸を防ぐことができる。
- [0058] 水分率は、乾燥空気または乾燥熱風空気などにより乾燥させることで制御することができる。
- [0059] また、繊維同士の接触による癒着を防ぐために搬送ローラーを溝付きガイドローラーなどにしておくことが好ましい。
- [0060] ゼラチン繊維をボビンに巻き取ったゼラチン繊維束前駆体の水分率は、5～20重量%であることが好ましく、5～15重量%であることがより好ましい。上記水分率は、ボビンに巻き取った繊維束前駆体0.5gを計測しカルフィッシャー式水分率測定器（HIRANUMA社製EV-2010）

を用いて、150℃・N<sub>2</sub>雰囲気化にて測定される。

- [0061] 水分率が上記範囲内であると、ゼラチン繊維前駆体をボビンから容易に解舒することができ、また、糸の伸度の著しい低下を抑制でき、ボビンからの巻き返しての高次構造体の製造過程での断糸を防ぐことができる。
- [0062] 水分率は、乾燥熱風空気などにより乾燥させることで制御することができる。また、第一の搬送ローラーを通過後はワインダーで繊維束を適時乾燥させることができる。
- [0063] 第1の実施形態で使用するゼラチン繊維束は紡糸ドラフト（吐出線速度／巻取り速度）が0.01～2の範囲で製造する事が好ましく、0.05～1.5の範囲で製造する事がより好ましい。上記範囲内であると、解けたコラーゲンの三重螺旋分子の分子鎖の配向が十分となり引張強度の低下防ぐことができ、また繊維径が太くなりすぎることを抑制でき、第一の搬送ローラーに到達するまでにゼラチン繊維の水分率を十分に下げることができ、結果として、ローラーにゼラチン繊維が張り付くことを防ぐことができる。さらに、破断伸度が著しく低下することを抑制でき、ゼラチン繊維束の製造工程、ボビンからの巻き返しての高次構造体の製造過程での断糸を防ぐことができる。
- [0064] 紡糸口金から押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取る前に、ゼラチン繊維に油剤を付着させる工程を含んでも良い。繊維内の水分率が5～20重量%の範囲になった後、繊維表面に油剤を付着させることが好ましい。繊維表面に油剤を付着させることで複数本のゼラチン繊維を収束させてゼラチン繊維束として取り扱う事が可能となる。油剤の付着により、ゼラチン繊維束の製造工程、ボビンからの巻き返しての高次構造体の製造過程での糸のハンドリング性が著しく改善する。第1の実施形態の高次構造体は医療用材料として使用することから、生体適合性を有する油剤を用いることが好ましく、例えばエチレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセリンなどが挙げられる。これら化合物を例えばエタノールなどの低級アルコールで希釈し、混合溶液として繊維表面に付着させ、その後乾燥で低級アルコールを取

り除くのが好ましい。油剤は高次構造体作製後に洗浄で取り除いても良いし、付着させた状態にしておいても良い。油剤の付着量は複数本のゼラチン繊維を収束させて繊維束に出来る付着量であれば制限はないが、例えば0.5～5重量%が好ましい。

[0065] ゼラチン繊維の繊維断面形状はどのような形状でも良い。繊維断面形状としては中実の円、中空、扁平、星形、三角、中実の円+フィン、中空+フィンなどを挙げることができる。3次元細胞培養足場材として使用する場合、中実の円断面よりも扁平、星形、三角などの異形断面を持つ異形断面糸の方が好ましい場合がある。

[0066] ゼラチン繊維の引張強度は、0.5～3 cN/dtexであると好ましく、0.7～2.8 cN/dtexであるとより好ましく、1.0～2.5 cN/dtexであるとさらに好ましい。ゼラチン繊維の引張強度は、ゼラチン繊維束前駆体から単糸を取り出し、例えばテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。

[0067] また、ゼラチン繊維の破断伸度は、30～250%であると好ましく、40～200%であるとより好ましく、50～150%であるとさらに好ましい。ゼラチン繊維の破断伸度は、ゼラチン繊維束から単糸を取り出し、例えばテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。

[0068] ゼラチン繊維の引張強度と破断伸度が上記範囲内であると、ゼラチン繊維束製造や高次構造体作製に耐えることができる。

[0069] ゼラチン繊維束前駆体を不溶化する工程としては、ゼラチン繊維束前駆体を不溶化してゼラチン繊維束を作製してもよく、繊維束前駆体を組織化した後不溶化することでゼラチン繊維束からなる高次構造体を作製しても良い。不溶化（水に不溶になる処理）は、熱架橋、架橋剤を用いた化学架橋、紫外線や放射線、電子線を用いた物理架橋のいずれの方法でも良いし、適時組み合わせても良い。熱架橋する場合は、大気中であってもよく、真空であってもよい。熱架橋する際の温度は110～200℃、より好ましくは120～

190℃、更には130～180℃の範囲が好ましい。温度が100℃未満であると架橋が不十分であり、ウェット状態でゼラチンが水に溶けだして足場材として使えなくなるし、200℃より高温ではゼラチンが熱分解して繊維強度が著しく低下してしまうため好ましくない。熱処理温度と熱処理時間の組合せで架橋度合いを適時変化させることが出来るが、熱処理時間としては3～48時間が好ましく、4～24時間の範囲が生産性の観点から好ましい。

架橋剤を用いた化学架橋の場合、繊維中の架橋剤を取り除く洗浄過程で繊維に空孔が形成し、ゼラチン繊維の引張強度や破断伸度が低下してしまうことがある。この場合、不溶化処理したゼラチン繊維束から高次構造体を作製する過程で断糸を引き起こすことがある。このため、化学架橋で不溶化処理を施す場合は、繊維束前駆体を組織化してから化学架橋処理することが好ましい。化学架橋で用いる架橋剤としては、グルタルアルデヒド、ヘキサメチレンジイソシアネートなどが挙げられる。

[0070] 第1の実施形態で作製した高次構造体は、例えば20～80%グリセリン水溶液に浸漬させても良い。高次構造体をグリセリン水溶液に浸漬することで、患部への追従性がより高い、しっとりとした風合いの医療用材料にすることもできる。

[0071] 第1の実施形態の高次構造体は、添加剤を含んでもよい。添加剤としては、(無水)クエン酸、(無水)マレイン酸などの多価酸やγ酸化鉄などの磁性粒子、ヒドロキシアパタイトなどの無機物、細胞の増殖や分化を促進する内因性のタンパク質、コラーゲン等を例示できる。これら添加剤は、高次構造体にコーティングしてもよいし、ゼラチン繊維束、ゼラチン繊維束前駆体、ゼラチン繊維にコーティングしてもよいし、ゼラチン原料に添加してもよい。

(合糸束)

第1の実施形態の高次構造体は、さらに熱可塑性樹脂繊維束を含んでもよく、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束が合糸束であってもよい。

- [0072] 熱可塑性樹脂繊維束における熱可塑性樹脂としては、医療用材料として使用される樹脂であれば制限されるものではなく、例えばポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリ乳酸（PLLA、PLDLA）、ポリ-ε-カプロラクトン（PCL）、そしてそれらの（LA-CL）共重合体、ポリグリコール酸（PGA）、グリコール酸と乳酸の共重合体（PLGA）、ポリグルタミン酸などを挙げることが出来る。なかでも、熱可塑性樹脂繊維束の分解に伴う酸発生が比較的マイルドであり、炎症を引き起こし難いという観点からポリ乳酸（PLLA、PLDLA）、グリコール酸と乳酸の共重合体（PLGA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリグルタミン酸のいずれかが好ましい。
- [0073] 熱可塑性樹脂繊維束を構成する熱可塑性樹脂繊維の本数は、5～70本であると好ましく、7～50本であるとより好ましく、10～30本であるとさらに好ましい。
- [0074] 上記範囲内であるとゼラチンを含む高次構造体の強度を著しく改善できるため好ましい。
- [0075] 合糸束を構成するゼラチン繊維の本数と熱可塑性樹脂繊維の本数の合計は、10～300本であると好ましく、20～280本であるとより好ましく、25～250本であるとさらに好ましい。
- [0076] 上記範囲内であるとゼラチンを含む高次構造体が高強度になるだけでなく、湿潤下で適度な滑り性を有するため、例えば軟骨周辺への摺動部分への埋め込みや巻き付けが可能になる。
- [0077] 熱可塑性樹脂繊維束の繊維度は、10～100 d t e x であると好ましく、15～60 d t e x であるとより好ましく、20～50 d t e x であるとさらに好ましい。
- [0078] 上記範囲内であると高次構造体の風合い、伸縮性、寸法安定性などの品質を向上させる観点から好ましい。
- [0079] 合糸束の繊維度は、20～800 d t e x であると好ましく、40～700 d t e x であるとより好ましく、50～600 d t e x であるとさらに好ま

しい。

- [0080] 上記範囲内であるとゼラチンを含む高次構造体が高強度となり、風合い、伸縮性、寸法安定性などの品質を向上させることに加えて、軟骨周辺部などの摺動部分に適用可能な湿潤下での適度な滑り性を有するようになるため、好ましい。
- [0081] 合糸束の引張強度は、1. 0～20.0 cN/dtexであると好ましく、2. 0～18.0 cN/dtexであるとより好ましく、3. 0～15.0 cN/dtexであるとさらに好ましく、4. 0～12.0 cN/dtexであると特に好ましい。合糸束の引張強度は、例えばテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。
- [0082] また、合糸束の破断伸度は、20～250%であると好ましく、20～200%であるとより好ましく、20～150%であるとさらに好ましく、25～150%であると特に好ましい。合糸束の破断伸度は、テンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。
- [0083] 合糸束の引張強度と破断伸度が上記範囲内であると、合糸束の巻取、解舒、高次構造体の作製時に断糸するのを防ぐことができ、容易に高次構造体を作製することが可能である。
- [0084] 第1の実施形態の合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率は、3～30%であることが好ましく、5～28%であるとより好ましく、7～26%であるとさらに好ましく、7～24%であると特に好ましく、7～22%であると最も好ましい。上記重量減少率は、合糸束100mmの重量を測定し10μmメンブレンフィルターで包み、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させ、合糸束入りのメンブレンフィルターをリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、室温水に30分浸漬させた後、水分をキムタオルで吸水させ、合糸束入りメンブレンフィルターを80℃で24時間乾燥させ、メンブレンフィルターから合糸束を取り出し重量を測定し、下記式で算出した値である。
- [0085] 重量減少率 [%] =  $100 - [100 \times (\text{浸漬後の重量})] / (\text{浸$

漬前の重量)

第1の実施形態の合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率が上記範囲内であると、細胞接着性に優れ、また、増殖した細胞の癌化を抑えることができる。細胞が高次構造体に強く接着する場合は、2次元様態に細胞が成長する傾向にあり、主として埋め込み型の医療用材料として好適に利用することができ、細胞が高次構造体に弱く接着する場合は、スフェロイドのような3次元様態に細胞が成長する傾向にあり、生体外3次元細胞培養の足場材として好適に利用することができる。また、生体内でゼラチンが容易に溶解してしまうことを防ぐことができ、さらに医療用材料、3次元細胞培養の足場材として使用した場合のハンドリング性に優れる。

[0086] 合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率は、後述する不溶化処理の度合いにより制御できる。

[0087] 第1の実施形態の合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率は、110～350%であると好ましく、120～300%であるとより好ましく、130～300%であるとさらに好ましい。上記膨潤率は、合糸束を構成する合糸束の束径をHIROX製の光学顕微鏡RH2000で測定し、合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた後、合糸束をリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、濡れた状態で合糸束の束径を測定し、下記式で算出した値である。

[0088] 膨潤率 [%] =  $100 \times (\text{浸漬後の合糸束径}) / (\text{浸漬前の合糸束径})$

第1の実施形態の合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率が上記範囲内であると、増殖した細胞の癌化を抑えることができ、また生体内でゼラチンが容易に溶解してしまうことを防ぐことができ、さらに医療用材料、3次元細胞培養の足場材として使用した場合のハンドリング性に優れる。

[0089] 高次構造体から、上述した合糸束の引張強度、破断伸度、重量減少率および膨潤率を測定する場合は、高次構造体を鉋で切り、その糸端をつまんで5

c m以上糸を引き抜き、測定用サンプルとした。

- [0090] 熱可塑性樹脂繊維束を構成する熱可塑性樹脂繊維の繊維断面形状はどのような形状でもよく、中実の円、中空、扁平、星形、三角、中実の円＋フィン、中空＋フィンなどを挙げることが出来る。3次元細胞培養の足場材として使用する場合、中実の円断面よりも異形断面の方が好ましい場合がある。
- [0091] 第1の実施形態の高次構造体に使用される熱可塑性樹脂繊維は、添加剤を含んでいてもよい。添加剤としては、(無水)クエン酸、(無水)マレイン酸などの多価酸や $\gamma$ 酸化鉄などの磁性粒子、ヒドロキシアパタイトなどの無機物、細胞の増殖や分化を促進する内因性のタンパク質、コラーゲンや抗がん剤などの薬剤等を例示できる。これら添加剤は、熱可塑性樹脂繊維にコーティングしても良い。
- [0092] 熱可塑性樹脂繊維束にコラーゲンなどの生分解性樹脂をコーティングする方法としては、熱可塑性繊維束をリワインドしながら洗浄浴で油剤を落とし乾燥させた後に、熱可塑性繊維束をコラーゲン溶液に浸漬させて、コラーゲンを熱可塑性繊維束にコーティング・乾燥して巻き取る方法などを例示することが出来る。コラーゲンは熱変性しやすい性質があるため、40℃以下、好ましくは30℃以下、更に好ましくは25℃以下でコーティングして乾燥させるのが好ましい。コーティングや乾燥温度が低すぎると、コラーゲン溶液が凍ってしまいコーティングできなかつたり、乾燥が不十分となるため、0℃以上、好ましくは5℃以上、更に好ましくは10℃以上で処理するのが好ましい。コラーゲン溶液の濃度としては0.005～3重量%の酸溶液を用いるのが好ましい。コラーゲン溶液の濃度が0.005重量%未満であると、熱可塑性樹脂繊維束をコラーゲンで収束させることが出来ず、繊維束のハンドリングが難しくなる。一方、3重量%を超えると、熱可塑性樹脂繊維束が硬くなり著しくハンドリング性が悪くなる。コラーゲン溶液濃度のより好ましい範囲は0.01～2重量%である。なお、コラーゲンコーティングした熱可塑性繊維束を100～150℃で熱処理、または化学処理してコーティングしたコラーゲンを水に不溶にすることもできる。

[0093] コラーゲンは細胞接着性に非常に優れるという性質を持つことから、例えばコラーゲンコーティングした熱可塑樹脂繊維束とゼラチン繊維束からなる高次構造体は、その隙間から細胞が脱落することなく、繊維状に細胞が定着して細胞培養性に優れるという特徴を有する。また、コラーゲンをコーティングすることで触感が生体組織に近い状態になるため、ウェット状態での滑り性が非常に良くなるという特徴も有する。

[0094] なお、コラーゲン以外に生分解性樹脂として、ゼラチンのような生体由来の樹脂、ポリグリコール酸（PGA）、ポリ乳酸（PLA）、乳酸・グリコール酸共重合体（PLGA）、ポリグルタミン酸などの合成高分子が挙げられる合糸束におけるゼラチン繊維束と、熱可塑性樹脂繊維束の割合（ゼラチン繊維束の繊維度：熱可塑性樹脂繊維束の繊維度）は1：5～5：1である。

（合糸束の製造方法）

第1の実施形態の熱可塑性樹脂繊維は、熔融紡糸により作製することができ、市販品の熱可塑性樹脂繊維束を購入して使用することもできる。

[0095] 第1の実施形態の合糸束を含む高次構造体は、ゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束からなる合糸束前駆体を出発原料に製造される。ゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束からなる合糸束前駆体は、複数本の繊維束前駆体を合糸機にかけることで作製可能である。

[0096] ゼラチン繊維束前駆体の周りに螺旋状に熱可塑性樹脂繊維束を巻きつけながら撚糸してもよく、熱可塑性樹脂繊維束の周りに螺旋状にゼラチン繊維束前駆体を巻きつけながら撚糸してもよい。

[0097] 油剤が付着した状態にあるゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束を撚糸などで合糸しても良いし、インターレース等で各繊維束を絡ませて合糸しても良い。

[0098] 合糸束前駆体は、上述したゼラチン繊維束前駆体を不溶化する工程と同様の方法にて、合糸束前駆体から合糸束を作製した後、組織化することで高次構造体を作製することができる。また、合糸束前駆体を組織化した後、不溶化することで合糸束からなる高次構造体を作製しても良い。

[0099] 第1の実施形態の合糸束を含む高次構造体は、例えば不織布、編物、織物などのシートを積層されても良い。例えばゼラチンやコラーゲン不織布を積層する場合、合糸束前駆体を組織化した後に、合糸束前駆体の上にエレクトロスピンング等で不織布を積層する方法を例示することが出来る。積層したゼラチンやコラーゲン不織布は架橋処理により水に不溶にさせることができる。

(積層高次構造体)

第1の実施形態の高次構造体は、生分解性樹脂からなる構造体と、を含む積層高次構造体であってもよい。生分解性樹脂としては、ゼラチンやコラーゲンのような生体由来の樹脂、ポリグリコール酸(PGA)、ポリ乳酸(PLA)、乳酸・グリコール酸共重合体(PLGA)、ポリグルタミン酸などの合成高分子が挙げられる。また、積層する構造体としては、不織布、編物、織物などの形状が挙げられ、不織布であることが好ましい。高次構造体の隙間(編物の網目)は細胞の大きさに比べて随分大きい。このため、高次構造体を細胞培養の足場材として使用する場合、細胞が高次構造体の隙間から脱落、定着できずに細胞培養に時間を要する。これに対し、高次構造体と生分解性樹脂からなる構造体と、を含む積層高次構造体を細胞培養の足場材として使用すると、生分解性樹脂からなる構造体が細胞を捕捉して細胞を積層高次構造体に定着させ、細胞培養時間を短時間化できる。高次構造体と生分解性樹脂からなる構造体と、を含む積層高次構造体の製造方法としては、例えば高次構造体の巻物をリワインドしながら、高次構造体上にエレクトロスピンングやメルトブロー等で不織布を吹き付けながら搬送し、カレンダーロール等で熱プレスしてから巻き取る方法、切り出した高次構造体に生分解性樹脂からなる構造体を積層させた後、バッチで熱プレスする方法などを例示することが出来る。熱プレスの温度としては40～90℃が好ましく、圧力としては5kPa～3MPaの範囲が好ましい。熱プレス温度が40℃未満であると積層高次構造体を構成する高次構造体と生分解性樹脂からなる構造体が層間剥離しやすく、90℃より高温であると、高次構造体を構成するゼラチン織

維が融着してしまい、第1の実施形態の高次構造体の特徴である伸縮性が損なわれてしまうため、好ましくない。熱プレス温度の好ましい範囲としては40～80℃である。熱プレスの圧力が5 kPa未満であると積層高次構造体を構成する高次構造体と生分解性樹脂からなる構造体が層間剥離しやすく、3 MPaを超えると第1の実施形態の高次構造体の特徴である伸縮性が損なわれてしまうため、好ましくない。熱プレス圧力のより好ましい範囲は400 kPa～2 MPaの範囲が好ましい。

[0100] 第1の実施形態の積層高次構造体を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率は、3～30%であることが好ましく、5～28%であるとより好ましく、7～26%であるとさらに好ましい。

[0101] 上記範囲内であると、細胞接着性に優れ、また、増殖した細胞の癌化を抑えることができる。細胞が高次構造体に強く接着する場合は、2次元様態に細胞が成長する傾向にあり、主として埋め込み型の医療用材料として好適に利用することができ、細胞が高次構造体に弱く接着する場合は、スフェロイドのような3次元様態に細胞が成長する傾向にあり、生体外3次元細胞培養の足場材として好適に利用することができる。また、生体内でゼラチンが容易に溶解してしまうことを防ぐことができ、さらに医療用材料、3次元細胞培養の足場材として使用した場合のハンドリング性に優れる。

[0102] 第1の実施形態の積層高次構造体の厚みは30～5000 μmであることが好ましく、50～3000 μmであることがより好ましく、100～2000 μmであることがさらに好ましく、150～1000 μmであることが特に好ましい。積層高次構造体の厚みが30 μm未満であると、積層高次構造体の強度が低くなり破れやすくなるため好ましくない。5000 μmを超えると、積層高次構造体はハンドリングするのに十分な強度を有するが、細胞培養の足場材として使用する際、積層高次構造体の厚みの中央付近で細胞が酸欠などで死んでしまうなどの問題を生じてしまう。上記厚みは、3 cm角に切り出した積層高次構造体の端部に粘着テープを貼って積層高次構造体を固定し、接触式の厚み計を用いて測定できる。

[0103] 第1の実施形態の積層高次構造体の空孔率としては、60～97%の範囲が好ましく、65～95%がより好ましく、70～93%がさらに好ましく、75～92%が特に好ましい。空孔率が60%未満であると積層高次構造体の伸縮性は著しく低くなり、例えば積層高次構造体を患部に沿わせて貼り付けることが難しくなる。一方で、空孔率が97%を超えると、空孔があまりにも大きいために細胞を積層高次構造体に定着させることが難しくなる。上記空孔率は、5cm角に切り出した積層高次構造体の厚み、重量を測定し、下記式を用いて算出する。

$$\text{空孔率 (\%)} = 100 \times [1 - a \div \{ (b + c) \div (b \div d + c \div e) \} \div (f \times 25)]$$

a : 5cm角に切り出した積層高次構造体の重量 (g)

b : ゼラチン繊維束の繊度 (d t e x)

c : 熱可塑繊維束の繊度 (d t e x)

d : ゼラチン繊維束密度 (g / c m<sup>3</sup>)

e : 熱可塑繊維束密度 (g / c m<sup>3</sup>)

f : 積層高次構造体の厚み (cm)

なお、ゼラチン繊維束密度には1.27 g / c m<sup>3</sup>、熱可塑繊維束密度としてポリグリコール酸繊維束密度に1.53 g / c m<sup>3</sup>、ポリ乳酸繊維束密度に1.25 g / c m<sup>3</sup>を用いる。また、熱可塑繊維束を用いず、ゼラチン繊維束のみで高次構造体を作製した場合は、上記c、eは計算に含めない。

<高次構造体および積層高次構造体の特性>

第1の実施形態の高次構造体および積層高次構造体は、風合い、滑り性および細胞接着性に優れる。

[0104] 風合いは、乾いた手で高次構造体および積層高次構造体を触った際の触り心地で評価できる。5cm角に切り出した高次構造体の両端を両手で摘まんで引張ったり、摘まんだ片方の端を上側、もう片方の端を下側に引っ張る操作を3回繰り返すことで、風合いを評価した。伸縮性がないと硬い風合いになりやすく、生体組織に沿わせるのが難しくなるため、適度な伸縮性が必要

である。

- [0105] 滑り性は、カトーテック製の摩擦感テスター（型番：K E S - S E）で評価することが出来る。5 c m角に切り出した高次構造体および積層高次構造体を蒸留水に1時間浸漬させたのち、サンプルを測定台上に金属枠で固定し、荷重5 0 g、1 0 m m角シリコンセンサーを1. 0 m m/秒で這わせて、平均摩擦係数と摩擦係数の平均偏差を測定した。
- [0106] 第1の実施形態の高次構造体および積層高次構造体の平均摩擦係数は、0. 0 5 ~ 0. 6 0であることが好ましく、0. 1 0 ~ 0. 5 0であることがより好ましく、0. 1 5 ~ 0. 4 5であることがさらに好ましく、0. 2 0 ~ 0. 4 0であることが最も好ましい。上記範囲内であると生体組織に近い滑り性を有しており、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難い。
- [0107] 第1の実施形態の高次構造体および積層高次構造体の摩擦係数の平均偏差は、0. 4 0 ~ 1. 6 0であることが好ましく、0. 4 5 ~ 1. 4 5であることがより好ましく、0. 5 0 ~ 1. 4 0であることがさらに好ましく、0. 6 0 ~ 1. 3 0であることが最も好ましい。上記範囲内であると第1の実施形態の高次構造体は、ウェット状態で生体組織に近い柔らかさと滑り性を有する。このため、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難く好ましい。
- [0108] 第1の実施形態のゼラチン繊維束を含む高次構造体および積層高次構造体は、細胞を定着させるための細胞接着性に優れる。細胞接着性と細胞培養性は強く相関しており、細胞接着性が強ければ高次構造体に細胞が効率的に定着して細胞培養性に優れる。一方で、細胞接着性が低いと高次構造体に細胞が上手く定着できず、その結果細胞培養性が悪くなる傾向にある。
- [0109] ゼラチンは生体適合性（低抗原性及び高生体吸収性）を有する素材であるため、細胞の分化促進、細胞機能の増強、移植後の定着性などに優れる3次元細胞培養の足場材として好適に使用することが出来る。また、第1の実施形態の高次構造体および積層高次構造体は、ウェット状態で生体組織に近い

柔らかさと滑り性を有する。このため、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難く好ましい。

[0110] 高次構造体および積層構造体の細胞接着性と細胞培養性は、構造体上でHeLa細胞を3日間静置培養し蛍光標識された細胞を蛍光顕微鏡で観察し評価できる。

#### 《第2の実施形態》

##### ＜繊維シート構造体の構成＞

本発明の繊維シート構造体は、編組織を含み、細胞載置表面と裏面とを有し、裏面の平均孔径が、細胞載置表面の平均孔径よりも小さく、編組織が、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含み、繊維シート構造体の厚みが30～5000 $\mu$ mであり、ゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の本数が5～30本であり、ゼラチン繊維の繊度が0.5～10dtexであり、合糸束におけるゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合計本数が2～20本であり、合糸束中のゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束との本数割合が5：1～1：5である。

[0111] 本発明の繊維シート構造体は、編組織を含む。編組織とは、ループ（輪）を作りそのループに次のループをひっかけるということを連続して面を形成する布地組織である。編組織にはよこ編とたて編があり、よこ編は網目を緯方向に連続、たて編は網目を経方向に連続させて作製した編組織である。よこ編には平編（天竺編）、リブ編、パール編があり、たて編にはトリッコト・ラッセルがある。

[0112] 本発明の繊維シート構造体における編組織は、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含む。

[0113] 本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の本数は5～60本であると好ましく、10～40本であるとより好ましい。

[0114] また、本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン繊維束を構成するゼラ

チン繊維の繊度は、0.5～10 d t e xであると好ましく、1～8 d t e xであるとより好ましく、2～5 d t e xであるとより好ましい。ゼラチン繊維の繊度は、10000 m当たりのグラム数を測定した値である。ゼラチン繊維の繊度が上記範囲にあると、ゼラチン繊維自体が細くてしなやかな繊維になるため、糸切れによるゼラチン繊維束への毛羽発生を抑制できるだけでなく、ゼラチン繊維束が硬くなることを防ぐこともできる。

[0115] 本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の本数とゼラチン繊維の繊度が上記範囲内であると、繊維シート構造体の風合い、伸縮性、寸法安定性などの品質を向上させることができる。

[0116] 本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン繊維束の引張強度および破断伸度の好ましい範囲、測定方法は、上述した第1の実施形態の高次構造体におけるゼラチン繊維束の引張強度および破断伸度の好ましい範囲、測定方法と同じである。

[0117] 本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の断面形状としては、中実の円、中空、扁平、星形、三角、中実の円＋フィン、中空＋フィンなどが挙げられる。3次元細胞培養の足場材として使用する場合、中実の円よりも扁平、星形、三角といった異形断面糸の方が好ましい場合がある。

[0118] 繊維シート構造体におけるゼラチン繊維束の引張強度、破断伸度を測定する場合は、繊維シート構造体作製過程の不溶化と同条件で処理したゼラチン繊維束を測定用サンプルとしたり、鋏で切り、その糸端をつまんで5 cm以上糸を引き抜き、測定用サンプルとすることができる。

[0119] 本発明の繊維シート構造体における熱可塑性樹脂繊維束の熱可塑性樹脂としては、医療用材料として使用される樹脂であれば制限されるものではなく、例えばポリエチレンテレフタレート（P E T）、ポリ乳酸（P L L A, P L L D A）、ポリ-ε-カプロラクトン（P C L）、そしてそれらの（L A - C L）共重合体、ポリグリコール酸（P G A）、グリコール酸と乳酸の共重合体（P L G A）、ポリグルタミン酸などを挙げることが出来る。なかでも

、熱可塑性樹脂繊維束の分解に伴う酸発生が比較的マイルドであり、炎症を引き起こし難いという観点からポリ乳酸（PLLA、PLDLA）、グリコール酸と乳酸の共重合体（PLGA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリグルタミン酸のいずれかが好ましい。

[0120] 本発明の繊維シート構造体における熱可塑性樹脂繊維束を構成する熱可塑性樹脂繊維の本数は、5～70本であると好ましく、7～50本であるとより好ましく、10～30本であるとさらに好ましい。上記範囲内であると繊維シート構造体の強度を著しく改善できるため好ましい。

[0121] 本発明の繊維シート構造体における合糸束を構成するゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合計本数が2～20本であると好ましく、2～10本であるとより好ましい。上記範囲内であると、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸回数を減らすことが出来、生産効率を高めることが出来る。

[0122] 本発明の繊維シート構造体における合糸束中のゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束との本数割合が5：1～1：5であると好ましい。上記範囲内であると、合糸束が繊維シート構造体作製に耐えうる十分な強度を持つだけでなく、生体組織に近い滑り性を有しており、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難い。合糸束中のゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束との本数のより好ましい範囲は3：1～1：3である。

[0123] 本発明の繊維シート構造体における合糸束の引張強度、破断伸度、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率および、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率の好ましい範囲、測定方法、制御方法は、上述した第1の実施形態の高次構造体における合糸束の引張強度、破断伸度、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率および、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率の好ましい範囲、測定方法、制御方法と同じである。

[0124] 繊維シート構造体から、上述した繊維シート構造体における合糸束の引張強度、破断伸度、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率および、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨

潤率を測定する場合は、繊維シート構造体を鋏で切り、その糸端をつまんで5 cm以上合糸束を引き抜き、測定用サンプルとした。

[0125] 本発明の繊維シート構造体における熱可塑性樹脂繊維束を構成する熱可塑性樹脂繊維の繊維断面形状はどのような形状でもよく、中実の円、中空、扁平、星形、三角、中実の円+フィン、中空+フィンなどを挙げることが出来る。3次元細胞培養の足場材として使用する場合、中実の円断面よりも異形断面の方が好ましい場合がある。

[0126] 本発明の繊維シート構造体に使用される熱可塑性樹脂繊維は添加剤を含んでも良く、上述した第1の実施形態の高次構造体に使用される熱可塑性樹脂繊維に含んでも良い添加剤と同じである。

[0127] 本発明の繊維シート構造体は、細胞載置表面と裏面とを有し、細胞載置表面とは、細胞培養の為に細胞を載置し、細胞が侵入する面であり、細胞培養容器に設置した場合、上面となる面を指している。

[0128] 本発明の繊維シート構造体は、細胞載置裏面の平均孔径が、前記細胞載置表面の平均孔径よりも小さい。この場合、細胞の侵入を妨げない細胞載置表面から細胞が繊維シート構造体内部に侵入、定着し、細胞載置表面の平均孔径よりも小さい細胞載置裏面の網目から細胞が滑落することを抑制する効果がある。

[0129] 本発明の繊維シート構造体は、細胞載置表面の平均孔径が、5～123  $\mu\text{m}$ であることが好ましく、10～115  $\mu\text{m}$ であるとより好ましい。細胞載置表面の平均孔径が上記範囲内であると、繊維シート構造体の表面から構造体内部に細胞を容易に侵入させることができ、また、細胞が網目（空孔）から滑落するのを防ぐことができ、繊維シート構造体上に細胞を定着させることができる。本発明の繊維シート構造体における細胞載置表面の平均孔径は、5 cm角に切り出した繊維シート構造体の35倍像（画素数：1920×1200）をデジタルマイクロスコープ（株式会社ハイロックス製、RH-2000）を用いて得た後、得られた像を顕微鏡付属の2D計測ソフト「HRS-2D」を用いて、空孔と空孔以外の部分に二値化処理で分け、同ソフトで60～

300  $\mu\text{m}$ まで10  $\mu\text{m}$ 間隔で空孔径のヒストグラムを作成し、このヒストグラムを用いて、階級値と度数を用いて下記式で平均空孔径を算出できる。

平均空孔径 ( $\mu\text{m}$ ) = { (階級値×度数) の合計 } ÷ (度数の合計)

本発明の繊維シート構造体は、細胞載置裏面の平均空孔径が、5～115  $\mu\text{m}$ であることが好ましく、7～110  $\mu\text{m}$ であるとより好ましい。

[0130] 本発明の繊維シート構造体は、細胞載置表面のうち150  $\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合が35%以下であることが好ましく、25%以下であることがより好ましく、20%以下であることがさらに好ましく、15%以下であることが特に好ましい。上記の場合、細胞が網目（空孔）から滑落するのを防ぐことができ、繊維シート構造体上に細胞を定着させることができる。本発明の繊維シート構造体における細胞載置表面のうち150  $\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合は、上述した平均空孔径の算出に用いたヒストグラムを用いて空孔径150  $\mu\text{m}$ 以上の度数合計を60～300  $\mu\text{m}$ までの度数合計で除すことで、空孔径150  $\mu\text{m}$ 以上の割合を算出できる。

[0131] 本発明の繊維シート構造体の空孔率は60～97%であることが好ましく、65～95%がより好ましく、70～93%がさらに好ましく、75～92%が特に好ましい。空孔率が60%未満であると繊維シート構造体の伸縮性は著しく低くなり、例えば繊維シート構造体を患部に沿わせて貼り付けることが難しくなる。一方で、空孔率が97%を超えると、空孔があまりにも大きいために細胞を繊維シート構造体に定着させることが難しくなる。本発明の繊維シート構造体の空孔率の測定方法は、上述した第1の実施形態の高次構造体の空孔率の測定方法と同じである。

[0132] 本発明の繊維シート構造体は、編組織の空孔数が600個/ $\text{mm}^3$ 以上であることが好ましく、1.5×10<sup>3</sup>個/ $\text{mm}^3$ 以上であることが好ましく、1.8×10<sup>3</sup>個/ $\text{mm}^3$ 以上であることが好ましく、2.1×10<sup>3</sup>個/ $\text{mm}^3$ 以上であることが好ましい。上記の場合、繊維シート構造体内部に細胞を多く輸送することができ、効率的に繊維シート構造体に細胞を定着させることができる。本発明の繊維シート構造体における編組織の空孔数は、上述で求

めた平均空孔径と空孔率を用いて、下記式により算出した。

$$\text{空孔数/mm}^3 = a \times 0.01 \div (4/3 \times 3.14 \times (0.001 \times b/2)^3)$$

a : 空孔率(%)

b : 空孔径(μm)

本発明の繊維シート構造体は、2つの層が積層した構造体であり、細胞載置表面側の層及び裏面側の層が編組織であり、該編組織は天竺編又は平編みであることが好ましい。天竺編又は平編みは布地表面の凹凸が少ないために平面性が高く、表面性が滑らかという特徴がある。また、1層の天竺編又は平編みは通常カールしてシート構造体が円筒状になってしまう。このような場合、繊維シート構造体に細胞を均質に定着させることが難しいだけでなく、ハンドリング性も悪い。しかしながら、上に凸にカールするシートと下に凸にカールするシートの2つの層を張り合わせることで、作用する応力が互いに同程度になるのでカールを抑制することが出来る。カールを抑制することで、繊維シート構造体に均質に細胞を定着させることは可能になるだけでなく、ハンドリング性も向上する。更に、2つの層を積層することで、細胞が定着する面積を増やす、細胞が網目から滑落する頻度を大幅に低減する事が出来るため、結果的に細胞培養性に優れる繊維シート構造体になる。

[0133] 本発明の繊維シート構造体は、3つの層が積層した構造体であり、細胞載置表面側の層が編組織であり、裏面側の層が不織布であり、該表面側の層と該裏面側の層との間の中間層が編組織であり、該編組織が天竺編又は平編みであり、該不織布がゼラチン繊維を含む構造体であることが好ましい。不織布は残存応力がなくカールしないため、該表面側の層と該裏面側の層との間の中間層を編組織とすることで、作用する応力が互いに同程度になるのでカールを抑制することが出来る。カールを抑制することで、繊維シート構造体に均質に細胞を定着させることは可能になるだけでなく、ハンドリング性も向上する。また、不織布は編物構造よりも平均空孔径が圧倒的に小さいために、細胞載置表面側から侵入した細胞を繊維シート構造体内に留めることが出来るため、結果的に細胞培養性が非常に優れる繊維シート構造体になる。

- [0134] 本発明の繊維シート構造体は、2つの層が積層した構造体であり、細胞載置表面側の層が編組織であり、裏面側の層が不織布であり、該編組織がリブ編であり、該不織布がゼラチン繊維を含む構造体が好ましい。リブ編みは表裏面が同じ組織であるためにカールしない。不織布もカールしないため、不織布を積層した構造体はカールしない。このため、繊維シート構造体に均質に細胞を定着させることが可能になるだけでなく、ハンドリング性も向上する。不織布は編物構造よりも平均孔径が圧倒的に小さいために、細胞載置表面側から侵入した細胞を繊維シート構造体内に留めることが出来るため、結果的に細胞培養性が非常に優れる繊維シート構造体になる。また、2つの編組織の層を重ねた繊維シート構造体対比で、編組織が1層であるため厚みを薄くできるという特徴を有する。
- [0135] 本発明の繊維シート構造体は、リブ編からなる編組織の構造体が好ましい。上記の場合、リブ編みはカールしないため、繊維シート構造体に均質に細胞を定着させることが可能になるだけでなく、ハンドリング性も向上する。また、2つの編組織の層を重ねた繊維シート構造体対比で、編組織が1層であるため厚みを薄くできるという特徴を有する。
- [0136] 本発明の繊維シート構造体の厚みは、30～5000  $\mu\text{m}$ であることが好ましく、50～3000  $\mu\text{m}$ であることがより好ましく、100～2000  $\mu\text{m}$ であることがさらに好ましく、150～1000  $\mu\text{m}$ であることが特に好ましい。上記範囲である場合、繊維シート構造体の強度が高く破れにくくなり、また、細胞培養の足場材として使用する際、繊維シート構造体の厚みの中央付近で細胞が酸欠などで死んでしまうなどの問題が生じることを防ぐことができる。本発明の繊維シート構造体の厚みは、3cm角に切り出した繊維シート構造体の端部に粘着テープを貼って繊維シート構造体を固定し、接触式の厚み計を用いて測定できる。
- [0137] 本発明の繊維シート構造体を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率の好ましい範囲、測定方法、制御方法は、上述した第1の実施形態の高次構造体を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬さ

せた際の重量減少率の好ましい範囲、測定方法、制御方法と同じである。

[0138] 本発明の繊維シート構造体は、ゼラチン繊維束を含むことで、ウェット状態での触感が生体組織に近い状態になるため、熱可塑性樹脂繊維束のみからなる繊維シート構造体対比で滑り易くなるという特徴を有する。一般的に、熱可塑性樹脂繊維束からなる繊維シート構造体は疎水性であるために、細胞培養液を繊維シート構造体に含侵させることが非常に難しいという問題がある。しかしながら、本発明の繊維シート構造体は、親水性に優れるゼラチン繊維束を含むため、細胞培養液を容易に含侵、保液させることが出来るだけでなく、体内において酸素や栄養素を含む体液を拡散することが出来、容易に繊維シート構造体の内部で細胞を定着させて、増殖させることが出来る。

[0139] 本発明の繊維シート構造体の製造方法を以下に記載するが、特に限定されるものではない。

[0140] 本発明の繊維シート構造体の製造方法としては、以下の工程 1 および 2 ならびに工程 3-1、工程 3-2 または、工程 3-3 と工程 4-1 または工程 4-2 を含むことが好ましい。

[0141] (工程 1) ゼラチン原料を 30～70 重量%含むゼラチン溶液からなるドープを、ゼラチンドープのゾルーゲル転移温度よりも 1～15℃高温にて多ホールの紡糸口金から繊維状に押し出す工程；

(工程 2) 押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取りゼラチン繊維束前駆体を作製する工程；

(工程 3-1) 前記ゼラチン繊維束前駆体を熱可塑性樹脂繊維と合糸した後に、組織化することで第 2 高次構造体を作製する工程；

(工程 3-2) 前記ゼラチン繊維束前駆体を熱可塑性樹脂繊維と合糸した後に、組織化し、その後にゼラチン不織布を積層して第 2 積層高次構造体を作製する工程；

(工程 3-3) 前記ゼラチン繊維束前駆体を不溶化した後に熱可塑性樹脂繊維と合糸して、更に組織化することで第 2 高次構造体を作製する工程；

(工程 4-1) 工程 3-1 および工程 3-2 で得られた第 2 高次構造体およ

び第2積層高次構造体に含まれるゼラチンを不溶化した後にプレスして繊維シート構造体を作製する工程；

(工程4-2) 工程3-3で得られた第2高次構造体をプレスして繊維シート構造体を作製する工程；

前記工程2において、押し出されたゼラチン繊維を、ボビンに巻き取る前に、搬送ローラーの周面に沿わせて搬送する搬送工程を含み、押し出されたゼラチン繊維が最初に到達する第一の搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率が5～25重量%であることが好ましい。

[0142] 前記ゼラチン繊維束前駆体の水分率は5～20重量%であることが好ましい。

[0143] 前記工程2において、ボビンに巻き取る前に、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセリンから選ばれる少なくとも1種と低級アルコールの混合溶液を押し出されたゼラチン繊維に付着させる工程を含む。

[0144] 前記工程1において、前記ゼラチンのゼリー強度が100～350g、ゼラチンドープのゾルゲル転移温度が15～60℃であることが好ましい。

[0145] 本発明の繊維シート構造体は、ゼラチン溶液からなるドープを、多ホールの紡糸口金から繊維状に押し出し、押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取りゼラチン繊維束前駆体を作製し、ゼラチン繊維束前駆体を熱可塑樹脂繊維と合糸した後に組織化することで得られる第2高次構造体やこの第2高次構造体に不織布を積層した第2積層高次構造体を不溶化した後にプレスして繊維シート構造体を作製することが出来る。また、上述のように、事前に不溶化したゼラチン繊維束前駆体を熱可塑樹脂繊維と合糸した後に組織化することで得られる第2高次構造体をプレスして繊維シート構造体を作製しても良い。

[0146] なお、組織化とは、合糸束から織物、編物または組み紐を作製することである。

[0147] 本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン溶液を構成するゼラチン原料は、牛骨、牛皮、豚皮、鳥や魚由来のコラーゲンの三重螺旋をほぐして、一

本の分子鎖として得られるものである。斯かるゼラチン原料の製造方法には、酸処理法や石灰処理法などがあるが、本発明の繊維シート構造体におけるゼラチン原料は、いずれの方法で製造されたゼラチン原料であってもよく、又は市販されているゼラチン原料であっても良い。また、市販されているゼラチン原料は、その製造工程において、抽出されるまでに種々の精製工程を経るため、タンパク質以外の成分は少なく、一般的には、タンパク質 85% 以上、水分 8~14%、灰分 2% 以下、その他（脂質、多糖類など） 1% 以下という組成が一般的であるが、本発明は、かかる一般的なゼラチン原料を使用することもできる。ゼラチン原料はコラーゲンの熱変性物質であるため、そのアミノ酸組成はコラーゲンとほぼ同じであるが、他のたんぱく質と比較して非常に特異的であり、グリシンが全体の約 3 分の 1 を占め、アミノ酸配列では 3 個に 1 個の繰り返しとなっている。コラーゲンとゼラチンを判別する方法としては、例えば広角 X 線測定で得られる 31.5 度付近のシグナルを観察することで判別可能である。この 31.5 度のシグナルはコラーゲンの三重螺旋構造に由来した信号であり、コラーゲンを特徴づける三重螺旋構造がほぐれてゼラチンになると、このシグナルは消失する。

[0148] また、ゼラチン原料の分子量については特に限定されるものではないが、分子量と相関の高いゼリー強度については、紡糸性の観点から 100~350 g であることが好ましく、150~320 g がより好ましく、220~310 g であることがさらに好ましい。ゼリー強度は、6.67%ゼラチン水溶液を、10℃で 17 時間冷却し、島津製作所製の小型卓上試験機 EZ-SX を用いて、調製したゼラチン溶液の表面を 2 分の 1 インチ（12.7 mm）径のプランジャーで 4 mm 押し下げるのに必要な荷重（g）である。

[0149] ゼラチン原料のゼリー強度が上記範囲内であると、ゼラチン繊維の曳糸性の著しい低下を防ぐことができ、さらに、繊維中の水分保持率を抑えることで、巻取り中に断糸することを防ぐことができる。

[0150] ゼラチン溶液に占めるゼラチン原料の含有量は、30~70 重量%であることが好ましく、40~60 重量%であることがより好ましい。ゼラチン溶

液に占めるゼラチン原料の含有量が上記範囲内であると、ゼラチン繊維の曳糸性の著しい低下を防ぐことができ、さらに、ゼラチン溶液製造過程で生じる泡を脱泡し易くなり、紡糸時の断糸を防ぐことができる。

[0151] ゼラチン原料を溶解させる溶媒は水であるが、必要に応じて粘度調整のために（多価）アルコール類、ジメチルスルホキシドなどを添加しても良い。

[0152] ゼラチン溶液のゾルーゲル転移温度は、15～60であることが好ましく、20～60℃であることがより好ましく、20～55℃であることがさらに好ましく、20～50℃であることが特に好ましい。上記ゾルーゲル転移温度は、例えばTAインストルメント製レオメータARESを用いて測定される。

[0153] ゾルーゲル転移温度が上記範囲内であると、粘着性が強くなることを抑え、ゼラチン繊維の製造時のハンドリング性が向上し、さらに、巻き取ったゼラチン繊維の癒着を防ぐことができる。また、紡糸温度でゼラチンが熱分解し、断糸を引き起こすことを防ぐことができる。

[0154] ゼラチン繊維束前駆体は、ゼラチン原料と水等の溶媒からなるドープを多ホールの紡糸口金から空気中に繊維状に押し出して、口金直下の延伸で解けたコラーゲンの三重螺旋分子の分子鎖を適度に配向させるとともに、繊維内の水分含有量を適度に制御することで製造される。この解けたコラーゲンの三重螺旋分子の分子鎖の配向度と、繊維内の水分率を制御することにより、糸の引張強度と破断伸度を高めると同時に、繊維同士の癒着を抑制することが可能となる。

[0155] ドープを多ホールの紡糸口金から空気中に繊維状に押し出す紡糸は、乾式、半乾式、湿式のいずれの方法でも良いが、溶媒を乾燥除去させる過程で繊維の表面や内部に空孔を形成することを防ぐことができ、ゼラチン繊維の引張強度や破断伸度が低くなることを抑制できるので、乾式で製造することが好ましい。乾式の紡糸温度はドープのゾルーゲル転移温度より1～25℃高温であることが好ましく、5～20℃高温であることがより好ましい。上記範囲内であると、曳糸性の著しい低下を防ぐことができる。

- [0156] 本発明で使用するゼラチン繊維束前駆体の製造において、紡糸直後から急に繊維内の水分含有率を5～25重量%の範囲にまで低下させることが好ましい。繊維内の水分含有率が上記範囲内であると、粘着性を抑えることができ、多ホールの口金から吐出されたゼラチン繊維同士の癒着や、ゼラチン繊維が製造工程中のローラーに張り付くことを防ぐことができ、また、ボビンに巻き取ったゼラチン繊維前駆体をボビンから容易に解舒することができる。さらに、糸の伸度の著しい低下を抑制でき、ゼラチン繊維束の製造工程、ボビンからの巻き返しての繊維シート構造体の製造過程での断糸を防ぐことができる。
- [0157] 紡糸口金から押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取る前に、搬送ローラーの周面に沿わせて搬送する搬送工程を含んでも良い。
- [0158] 押し出されたゼラチン繊維が最初に到達する第一の搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率は、5～25重量%であることが好ましく、5～20重量%であることがより好ましい。上記水分率は、第一の搬送ローラーにゼラチン糸を巻き付け、巻き取った繊維0.5gを計測しカルフィッシャー式水分率測定器（HIRANUMA社製EV-2010）を用いて、150℃・N<sub>2</sub>雰囲気化にて測定される。
- [0159] 水分率が上記範囲内であると、ゼラチン繊維が搬送ローラーに張り付くことを防ぐことができ、また、糸の伸度の著しい低下を抑制でき、断糸を防ぐことができる。
- [0160] 水分率は、乾燥空気または乾燥熱風空気などにより乾燥させることで制御することができる。
- [0161] また、繊維同士の接触による癒着を防ぐために搬送ローラーを溝付きガイドローラーなどにしておくことが好ましい。
- [0162] ゼラチン繊維をボビンに巻き取ったゼラチン繊維束前駆体の水分率は、5～20重量%であることが好ましく、5～15重量%であることがより好ましい。上記水分率は、ボビンに巻き取った繊維束前駆体0.5gを計測しカルフィッシャー式水分率測定器（HIRANUMA社製EV-2010）

を用いて、150℃・N<sub>2</sub>雰囲気化にて測定される。

- [0163] 水分率が上記範囲内であると、ゼラチン繊維前駆体をボビンから容易に解舒することができ、また、糸の伸度の著しい低下を抑制でき、ボビンからの巻き返しての繊維シート構造体の製造過程での断糸を防ぐことができる。
- [0164] 水分率は、乾燥熱風空気などにより乾燥させることで制御することができる。また、第一の搬送ローラーを通過後はワインダーで繊維束を適時乾燥させることができる。
- [0165] 本発明で使用するゼラチン繊維束は紡糸ドラフト（吐出線速度／巻取り速度）が0.01～2の範囲で製造する事が好ましく、0.05～1.5の範囲で製造する事がより好ましい。上記範囲内であると、解けたコラーゲンの三重螺旋分子の配向が十分となり引張強度の低下防ぐことができ、また繊維径が太くなりすぎることを抑制でき、第一の搬送ローラーに到達するまでにゼラチン繊維の水分率を十分に下げることができ、結果として、ローラーにゼラチン繊維が張り付くことを防ぐことができる。さらに、破断伸度が著しく低下することを抑制でき、ゼラチン繊維束の製造工程、ボビンからの巻き返しての繊維シート構造体の製造過程での断糸を防ぐことができる。
- [0166] 紡糸口金から押し出されたゼラチン繊維をボビンに巻き取る前に、ゼラチン繊維に油剤を付着させる工程を含んでも良い。繊維内の水分率が5～20重量%の範囲になった後、繊維表面に油剤を付着させることが好ましい。繊維表面に油剤を付着させることで複数本のゼラチン繊維を収束させてゼラチン繊維束として取り扱う事が可能となる。油剤の付着により、ゼラチン繊維束の製造工程、ボビンからの巻き返しての繊維シート構造体の製造過程での糸のハンドリング性が著しく改善する。本発明の繊維シート構造体は医療用材料として使用することから、生体適合性を有する油剤を用いることが好ましく、例えばエチレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセリンなどが挙げられる。これら化合物を例えばエタノールなどの低級アルコールで希釈し、混合溶液として繊維表面に付着させ、その後乾燥で低級アルコールを取り除くのが好ましい。油剤は繊維シート構造体作製後に洗浄で取り除い

ても良いし、付着させた状態にしておいても良い。油剤の付着量は複数本のゼラチン繊維を収束させて繊維束に出来る付着量であれば制限はないが、例えば0.5～5重量%が好ましい。

[0167] ゼラチン繊維の繊維断面形状はどのような形状でも良い。繊維断面形状としては中実の円、中空、扁平、星形、三角、中実の円+フィン、中空+フィンなどを挙げることができる。3次元細胞培養足場材として使用する場合、中実の円断面よりも扁平、星形、三角などの異形断面を持つ異形断面糸の方が好ましい場合がある。

[0168] ゼラチン繊維の引張強度は、0.5～3 cN/dtexであると好ましく、0.7～2.8 cN/dtexであるとより好ましく、1.0～2.5 cN/dtexであるとさらに好ましい。ゼラチン繊維の引張強度は、ゼラチン繊維束前駆体から単糸を取り出し、例えばテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。

[0169] また、ゼラチン繊維の破断伸度は、30～250%であると好ましく、40～200%であるとより好ましく、50～150%であるとさらに好ましい。ゼラチン繊維の破断伸度は、ゼラチン繊維束から単糸を取り出し、例えばテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。

[0170] ゼラチン繊維の引張強度と破断伸度が上記範囲内であると、ゼラチン繊維束製造や繊維シート構造体作製に耐えることができる。

[0171] ゼラチン繊維束前駆体を不溶化する工程としては、ゼラチン繊維束前駆体を不溶化してゼラチン繊維束を作製してもよく、繊維束前駆体と熱可塑樹脂繊維とを合糸して組織化した後不溶化することでゼラチン繊維束からなる繊維シート構造体を作製しても良い。不溶化（水に不溶になる処理）は、熱架橋、架橋剤を用いた化学架橋、紫外線や放射線、電子線を用いた物理架橋のいずれの方法でも良いし、適時組み合わせても良い。熱架橋する場合は、大気中であってもよく、真空であってもよい。熱架橋する際の温度は110～200℃、より好ましくは120～190℃、更には130～180℃の範

囲が好ましい。温度が100℃未満であると架橋が不十分であり、ウェット状態でゼラチンが水に溶けだして足場材として使えなくなるし、200℃より高温ではゼラチンが熱分解して繊維強度が著しく低下してしまうため好ましくない。熱処理温度と熱処理時間の組合せで架橋度合いを適時変化させることができるが、熱処理時間としては3～72時間が好ましく、12～50時間の範囲が生産性の観点から好ましい。架橋剤を用いた化学架橋の場合、繊維中の架橋剤を取り除く洗浄過程で繊維に空孔が形成し、ゼラチン繊維の引張強度や破断伸度が低下してしまうことがある。この場合、不溶化処理したゼラチン繊維束から繊維シート構造体を作製する過程で断糸を引き起こすことがある。このため、化学架橋で不溶化処理を施す場合は、繊維束前駆体を組織化してから化学架橋処理することが好ましい。化学架橋で用いる架橋剤としては、グルタルアルデヒド、ヘキサメチレンジイソシアネートなどが挙げられる。

- [0172] 不溶化したゼラチン繊維のゼラチン繊維の引張強度や破断伸度はゼラチン繊維束前駆体を不溶化処理して得たゼラチン繊維束から単糸を引き抜き、この単糸を例えばテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いて測定される。不溶化した単糸の破断伸度は、30～250%であると好ましく、40～200%であるとより好ましく、50～150%であるとさらに好ましい。不溶化した単糸の引張強度と破断伸度が上記範囲内であると、繊維シート構造体作製に耐えることができる。
- [0173] 本発明の繊維シート構造体における熱可塑性樹脂繊維は、熔融紡糸により作製することができ、市販品の熱可塑性樹脂繊維束を購入して使用することもできる。
- [0174] 本発明の繊維シート構造体における合糸束は、ゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束からなる合糸束前駆体を出発原料に製造することができる。ゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束からなる合糸束前駆体は、複数本の繊維束前駆体を合糸機にかけることで作製可能である。
- [0175] ゼラチン繊維束前駆体の周りに螺旋状に熱可塑性樹脂繊維束を巻きつけな

がら撚糸してもよく、熱可塑性樹脂繊維束の周りに螺旋状にゼラチン繊維束前駆体を巻きつけながら撚糸してもよい。

[0176] 油剤が付着した状態にあるゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束を撚糸などで合糸しても良いし、インターレース等で各繊維束を絡ませて合糸しても良い。

[0177] また、編機に複数ボビンのゼラチン繊維束前駆体と複数ボビンの熱可塑性樹脂繊維束をセットし、編機の針まで搬送する過程でこれらゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束を合糸しても良い。

[0178] ゼラチン繊維束前駆体と熱可塑性樹脂繊維束から構成される合糸は事前に不溶化したゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の構成でも良い。合糸束を作製した後、組織化することで第2高次構造体を作製することができる。この第2高次構造体に不織布を積層させた第2積層高次構造体にしても良い。例えばゼラチンやコラーゲン不織布を積層する場合、第2高次構造体を組織化した後に、第2高次構造体の上にエレクトロスピンニング等で不織布を積層する方法を例示することが出来る。積層したゼラチンやコラーゲン不織布は架橋処理により水に不溶にさせることができる。

[0179] 第2高次構造体は例えば島津製作所製のホールガーメント（登録商標）で作製することが出来る。ゲージとしては5～20ゲージの範囲が良い。5ゲージ未満であると、合糸束の織度を高織度にする必要があるため、第2高次構造体の網目が詰まってしまい、細胞載置表面からの繊維シート構造体内部への細胞侵入を抑制し、一方20ゲージを超えると合糸束の織度を低織度にする必要があるため、合糸束の強度が弱いために第2高次構造体作製時に糸切れを起こすことがある。このため、10～20ゲージ、更には13～18ゲージの範囲が最も好ましい。

[0180] 第2高次構造体は1つの層（シート）からなるシングルニット布地で合っても良いし、2つの層が積層されたダブルニット布地であっても良い。2つの層が積層したダブルニット布地は例えば島津製作所製のホールガーメント（登録商標）で2つの層を別々に編みながら、一方で2つの層を繋ぐように

編みこむことで作製することが出来る。

[0181] 第2高次構造体の編地としては天竺編み又は平編み、リブ編みが好ましい。天竺編み又は平編みは布地表面の凹凸が少ないために平面性が高く、表面性が滑らかなため、生体組織に近い滑り性を有する。一方で、カールしてシート構造体が円筒状になってしまうため、繊維シート構造体に細胞を均質に定着させることが難しいだけでなく、ハンドリング性も悪くなる。このため、上に凸にカールする天竺編み又は平編みシートと下に凸にカールする天竺編み又は平編みシートの2つの層を編みこむことで、作用する応力を互いに同程度にしてカールを抑制した2つの層が積層した構造体にするのが好ましい。更に、2つの層を積層することで、細胞が定着する表面積を増やす、細胞が網目から滑落する頻度を大幅に低減する事が出来るため、結果的に細胞培養性に優れる繊維シート構造体になる。更に、平均空孔径が編物よりも圧倒的に小さい不織布を積層する事で、細胞載置表面側から侵入した細胞を繊維シート構造体内により多く留めることが出来るようになり、結果的に細胞培養性が非常に優れる繊維シート構造体になる。

[0182] リブ編みは表裏面が同じ組織であるためにカールしないが、天竺編み又は平編みと比べて布地表面の凹凸が多い。しかし、繊維シート構造体作製過程のプレス処理で、布地表面の凹凸を無くすことが出来、表面性が滑らかで生体組織に近い滑り性を持たせることが出来る。リブ編みはカールしないため、繊維シート構造体に細胞を均質に定着させることが出来る。このため2層にする必要はないが、平均空孔径が編物よりも圧倒的に小さい不織布を積層する事で、細胞載置表面側から侵入した細胞を繊維シート構造体内により多く留めることも出来る。更に、2つの編組織の層を重ねた繊維シート構造体と比べて、編組織が1層のため繊維シート構造体の厚みを薄くでき、より柔らかい風合いになる。

[0183] 繊維シート構造体の作製に用いられる第2高次構造体の平均空孔径は20～200 $\mu$ mの範囲が好ましい。繊維シート構造体は、40～100℃の温度を第2高次構造体や第2積層高次構造体（不織布面）の片面に付与しながら

らプレス処理する事で製造される。プレス処理により、第2高次構造体の表裏面の網目はいずれも潰れるが、温度を付与してない面よりも40～100℃の温度を付与した面の方がより網目が潰れて、細胞載置表面よりも平均空孔径の小さい裏面を有する、表裏非対称の繊維シート構造体になる。第2高次構造体の平均空孔径が20～200μmの範囲にあれば、プレス処理で細胞載置表面の平均空孔径が5～123μmであり、かつ細胞載置表面のうち150μm以上の空孔数が35%以下である、細胞培養性に優れる繊維シート構造体を得られる。第2高次構造体の平均空孔径が20μm未満であると、繊維シート構造体の網目がプレス処理で閉塞するため、細胞載置表面から繊維シート構造体内部への細胞侵入が抑制され、200μmを超えるとプレス処理で十分に網目を潰すことが出来ず、繊維シート構造体の網目から細胞が滑落してしまう。第2高次構造体の平均空孔径は25～150μm、更には30～130μmの範囲が好ましい。

[0184] 本発明の繊維シート構造体は細胞載置表面と裏面とを有し、前記裏面の平均空孔径が前記細胞載置表面の平均空孔径よりも小さく、両面が非対称の繊維シート構造体である。このような両面が非対称の繊維シート構造体は、例えば第2高次構造体や第2積層高次構造体に付着する油剤や編機油を洗浄で落とした後、第2高次構造体の片面又は第2積層高次構造体の不織布面に40～100℃の温度を付加しながらプレスすることで製造される。この理由は定かではないが、油剤や編機油の除去で繊維束の収束性が低下した状態で、ゼラチン繊維と熱可塑樹脂繊維の熱による線膨張の違いで、繊維束がさらに解け、プレスで繊維束が拡幅された為と推測される。この方法を用いることにより、細胞載置表面と裏面とを有し、前記裏面の平均空孔径が前記細胞載置表面の平均空孔径よりも小さい、両面が非対称の繊維シート構造体を作製することができる。片面にのみ温度を付与して繊維シート構造体をプレスする装置としては、温度変調可能な油圧プレス機やカレンダーロールなどを例示できる。

[0185] 本発明で作製した繊維シート構造体は、例えば20～80%グリセリン水

溶液に浸漬させても良い。繊維シート構造体をグリセリン水溶液に浸漬することで、患部への追従性がより高い、しっとりとした風合いの医療用材料にすることもできる。

- [0186] 本発明の繊維シート構造体は、添加剤を含んでいてもよい。添加剤としては、（無水）クエン酸、（無水）マレイン酸などの多価酸や $\gamma$ 酸化鉄などの磁性粒子、ヒドロキシアパタイトなどの無機物、細胞の増殖や分化を促進する内因性のタンパク質、コラーゲン等を例示できる。これら添加剤は、繊維シート構造体にコーティングしてもよいし、ゼラチン繊維束、ゼラチン繊維束前駆体、ゼラチン繊維にコーティングしてもよいし、ゼラチン原料に添加しても良い。

＜繊維シート構造体の特性＞

本発明の繊維シート構造体は、風合い、滑り性および細胞接着性、細胞培養性に優れる。

- [0187] 本発明の繊維シート構造体の風合いは、乾いた手で繊維シート構造体を触った際の触り心地で評価できる。5 c m角に切り出した繊維シート構造体の両端を両手で摘まんで引張ったり、摘まんだ片方の端を上側、もう片方の端を下側に引っ張る操作を3回繰り返すことで、風合いを評価した。伸縮性がないと硬い風合いになりやすく、生体組織に沿わせるのが難しくなるため、適度な伸縮性が必要である。

- [0188] 本発明の繊維シート構造体の滑り性は、カトーテック製の摩擦感テスター（型番：K E S - S E）で評価することが出来る。5 c m角に切り出した繊維シート構造体を蒸留水に1時間浸漬させたのち、サンプルを測定台上に金属枠で固定し、荷重50 g、10 m m角シリコンセンサーを1.0 m m/秒で這わせて、平均摩擦係数と摩擦係数の平均偏差を測定した。

- [0189] 本発明の繊維シート構造体の平均摩擦係数は、0.05～0.60であることが好ましく、0.10～0.50であることがより好ましく、0.15～0.45であることがさらに好ましく、0.20～0.40であることが最も好ましい。上記範囲内であると生体組織に近い滑り性を有しており、生

体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難い。

- [0190] 本発明の繊維シート構造体の摩擦係数の平均偏差は、0.40～1.60であることが好ましく、0.45～1.45であることがより好ましく、0.50～1.40であることがさらに好ましく、0.55～1.35であることが最も好ましい。上記範囲内であると本発明の繊維シート構造体は、ウェット状態で生体組織に近い柔らかさと滑り性を有する。このため、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難く好ましい。
- [0191] 本発明の繊維シート構造体は、細胞を定着させるための細胞接着性に優れる。細胞接着性と細胞培養性は強く相関しており、細胞接着性が強ければ繊維シート構造体に細胞が効率的に定着して細胞培養性に優れる。一方で、細胞接着性が低いと繊維シート構造体に細胞が上手く定着できず、その結果細胞培養性が悪くなる傾向にある。細胞培養性は24wellプレートに設置した繊維シート構造体上で、NIH3T3細胞を7日間静置培養した後、WST-1を100 $\mu$ L添加し、CO<sub>2</sub>インキュベータ（37℃、CO<sub>2</sub>濃度5%）に3時間静置した後、96wellプレートに300 $\mu$ L移し、プレートリーダー(VERSA Max)で吸光度測定(450nm, 対照波長630nm)することで得られる細胞培養数で評価できる。細胞培養数は10 $\times$ 10<sup>4</sup>cells/mL以上であることが好ましく、20 $\times$ 10<sup>4</sup>cells/mL以上、更には25 $\times$ 10<sup>4</sup>cells/mL以上であることがより好ましい。
- [0192] ゼラチンは生体適合性（低抗原性及び高生体吸収性）を有する素材であるため、細胞の分化促進、細胞機能の増強、移植後の定着性などに優れる3次元細胞培養の足場材として好適に使用することが出来る。また、本発明の繊維シート構造体は、ウェット状態で生体組織に近い柔らかさと滑り性を有する。このため、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来、生体組織と擦れ合った際に炎症を生じ難く好ましい。
- [0193] 繊維シート構造体の細胞接着性は、構造体上でNIH3T3細胞を7日間静置培

養し蛍光標識された細胞を蛍光顕微鏡で観察し、細胞の張り付き具合で評価できる。

- [0194] 本発明の繊維シート構造体はカールしないため、均質に細胞を定着させることが出来るだけでなく、ハンドリング性も優れる。カールの有無は、繊維シート構造体を穴開けポンチで打ち抜き、 $\Phi 14\text{ mm}$ の円状シートを作製し、該シートを $50^{\circ}\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水の入ったビーカーに4時間浸漬させ、カールの有無を目視で確認することで測定した。

### 実施例

- [0195] 以下に実施例を挙げて、本発明の繊維シート構造体をさらに具体的に説明する。以下の実施例に示す材料、使用量、割合、処理手順等は、本発明の趣旨を逸脱しない限り適宜変更することができる。したがって、本発明の繊維シート構造体の範囲は、以下に示す具体例により限定的に解釈されるべきではない。

#### <測定方法、評価方法>

実施例及び比較例で適用した測定方法及び評価方法は、以下のとおりである。

##### [繊維の繊維度]

オートバイプロ式繊維測定器 Denier Computer DC-77A (サーチ (株) 製) を用いて温度 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $65 \pm 2\%$ の雰囲気中で $N=3$ で熱可塑性樹脂繊維束の繊維度を測定して、その平均値を繊維度とした。熱可塑性樹脂繊維の繊維度は、熱可塑性樹脂繊維束の繊維度を、繊維束を構成する熱可塑性樹脂繊維の本数で除すことで算出した。

- [0196] ゼラチン繊維束前駆体または、ゼラチン繊維束を $100\text{ mm}$ にカットし電子天秤 (METTLER TOLEDO社製XP6V) で重量を $N=3$ で測定して平均値を $\text{d tex}$ に換算し繊維度とした。ゼラチン繊維の繊維度は、ゼラチン繊維束前駆体の繊維度またはゼラチン繊維束の繊維度を、繊維束を構成するゼラチン繊維の本数で除すことで算出した。

##### [繊維の機械強度]

ゼラチン繊維及び不溶化したゼラチン繊維の機械強度測定は、テンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いてN=5で測定した。なお、引張速度は20mm/min、チャック間50mmとし、ゼラチン繊維の引張強度及び破断伸度を測定した。

[繊維束および合糸束の機械強度]

ゼラチン繊維束または合糸束の機械強度測定はテンシロン（オリエンテック社製RTC-1210A）を用いてN=5で測定した。なお、引張速度は20mm/min、チャック間50mmとし、ゼラチン繊維束または合糸束の引張強度及び破断伸度、ゼラチン繊維束の上降伏応力と下降伏応力を測定した。

[ゼラチン繊維束および合糸束の重量減少率]

ゼラチン繊維束または合糸束100mmの重量を測定し10μmメンブレンフィルターで包み、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた。次に、ゼラチン繊維束または合糸束入りのメンブレンフィルターをリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、室温水に30分浸漬させた。その後、水分をキムタオルで吸水させ、ゼラチン繊維束または合糸束入りメンブレンフィルターを80℃で24時間乾燥させたのち、メンブレンフィルターから繊維束を取り出し重量を測定した。重量減少率は下記式で算出した。この操作をN=3でおこない、この平均値を重量減少率とした。

$$[0197] \quad \text{重量減少率} [\%] = 100 - [100 \times (\text{浸漬後の重量})] / (\text{浸漬前の重量})$$

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の重量減少率]

高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体25cm<sup>2</sup>の重量を測定し10μmメンブレンフィルターで包み、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させ、高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体入りのメンブレンフィルターをリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、室温水に30分浸漬させた後、水分をキムタオルで吸水させ、高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体入りメンブレンフィルターを80℃で24時

間乾燥させ、メンブレンフィルターから高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体構造体を取り出し重量を測定した。重量減少率は下記式で算出した。この操作を  $N = 3$  でおこない、この平均値を重量減少率とした。

$$[0198] \quad \text{重量減少率} [\%] = 100 - [100 \times (\text{浸漬後の重量})] / (\text{浸漬前の重量})$$

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の厚み]

3 cm角に切り出した高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の端部に粘着テープを貼って高次構造体、積層高次構造体または、繊維シート構造体を固定し、接触式の厚み計〔L I T E M A T I C V L - 5 0、(株) ミットヨ製〕を用いて測定した。測定端子として直径 5 mmの円柱状の端子を用い、測定中に 7 gの荷重が印加されるように調整した。高次構造体、積層高次構造体または、繊維シート構造体の任意の 5 点の厚さを測定し、その平均値を高次構造体、積層高次構造体または、繊維シート構造体の厚みとした。

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の平均空孔径]

細胞載置表面の平均空孔径は、5 cm角に切り出した高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の 3.5 倍像 (画素数: 1920 × 1200) をデジタルマイクロスコープ(株式会社ハイロックス製、RH-2000)を用いて得た後、得られた像を顕微鏡付属の 2D計測ソフト「HRS-2D」を用いて、空孔と空孔以外の部分に二値化処理で分け、同ソフトで 60 ~ 300 μmまで 10 μm間隔で空孔径のヒストグラムを作成し、このヒストグラムを用いて、階級値と度数を用いて下記式で平均空孔径を算出した。

$$[0199] \quad \text{平均空孔径} (\mu\text{m}) = \{ (\text{階級値} \times \text{度数}) \text{の合計} \} \div (\text{度数の合計})$$

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の細胞載置表面のうち 150 μm以上の空孔数の割合]

高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の細胞載置表面のうち 150 μm以上の空孔数の割合は、上述した平均空孔径の算出に用いたヒストグラムを用いて空孔径 150 μm以上の度数合計を 60 ~ 300 μmま

での度数合計で除すことで算出した。

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の空孔率]

空孔率は、5 cm角に切り出した高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の厚み、重量を測定し、下記式を用いて算出した。

$$[0200] \quad \text{空孔率}(\%) = 100 \times [1 - a \div \{ (b + c) \div (b \div d + c \div e) \} \div (f \times 25)]$$

a : 5 cm角に切り出した高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の重量 (g)

b : ゼラチン繊維束の織度 (d t e x)

c : 熱可塑繊維束の織度 (d t e x)

d : ゼラチン繊維束密度 (g / c m<sup>3</sup>)

e : 熱可塑繊維束密度 (g / c m<sup>3</sup>)

f : 高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の厚み (c m)

なお、ゼラチン繊維束密度には1.27 g / c m<sup>3</sup>、熱可塑繊維束密度としてポリグリコール酸繊維束密度に1.53 g / c m<sup>3</sup>、ポリ乳酸繊維束密度に1.25 g / c m<sup>3</sup>を用いる。また、熱可塑繊維束を用いず、ゼラチン繊維束のみで高次構造体を作製した場合は、上記c、eは計算に含めない。

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の空孔数]

高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の空孔数は、上述で求めた平均空孔径と空孔率を用いて、下記式により算出した。

$$\text{空孔数/mm}^3 = a \times 0.01 \div (4/3 \times 3.14 \times (0.001 \times b / 2)^3)$$

a : 空孔率(%)

b : 空孔径(μm)

[ゼラチン繊維束の膨潤率]

ゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の繊維径をH I R O X製の光学顕微鏡R H 2 0 0 0で測定した。次に、ゼラチン繊維束10～30 mmを50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた後、ゼラチン繊維束をリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、濡れた状態でゼラチン繊維束を構成するゼラ

チン繊維の繊維径を測定した。膨潤率は下記式で算出した。この操作を  $N = 3$  でおこない、この平均値を膨潤率とした。

$$[0201] \quad \text{膨潤率} [\%] = 100 \times (\text{浸漬後の繊維径}) / (\text{浸漬前の繊維径})$$

[合糸束の膨潤率]

合糸束の束径を H I R O X 製の光学顕微鏡 R H 2 0 0 0 で測定した。次に、合糸束 1 0 ～ 3 0 m m を 5 0 ° C のリン酸緩衝生理食塩水に 4 時間浸漬させた後、合糸束をリン酸緩衝生理食塩水から引き上げ、濡れた状態で合糸の繊維径を測定した。膨潤率は下記式で算出した。この操作を  $N = 3$  でおこない、この平均値を膨潤率とした。

$$[0202] \quad \text{膨潤率} [\%] = 100 \times (\text{浸漬後の合糸束径}) / (\text{浸漬前の合糸束径})$$

[繊維束前駆体の水分率]

ボビンに巻き取った繊維束前駆体 0. 5 g を計測しカルフィッシャー式水分率測定器 (H I R A N U M A 社製 E V - 2 0 1 0) で 1 5 0 ° C ・ N 2 雰囲気化で計測する。

[搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率]

第一の搬送ローラーにゼラチン糸を巻き付け、巻き取った繊維 0. 5 g を計測しカルフィッシャー式水分率測定器 (H I R A N U M A 社製 E V - 2 0 1 0) を用いて、1 5 0 ° C ・ N 2 雰囲気化で計測する。

[ゼリー強度]

6. 6 7 %ゼラチン水溶液を、1 0 ° C で 1 7 時間冷却した。次に、島津製作所製の小型卓上試験機 E Z - S X を用いて、調製したゼリーの表面を 2 分の 1 インチ (1 2. 7 m m) 径のプランジャーで 4 m m 押し下げるのに必要な荷重 (g) をゼリー強度とした。

[ゾル - ゲル転移温度]

ゼラチンドープを 2 0 - 7 0 ° C の温度範囲で 1 K / m i n で昇温した際の粘弾性の温度依存性を、T A インスツルメント製レオメータ A R E S を用いて測定し、貯蔵弾性率と損失弾性率の大小関係が入れ替わる温度をゾル - ゲル転移温度とした。

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の風合い]

風合いは乾いた手で高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の触り心地の官能評価とした。

◎：伸縮性のある柔らかい風合い

○：得られた構造体は伸縮性の失われた構造体であったが、60%グリセリン水溶液に浸漬させることで伸縮性のあるしっとりとした風合い

△：伸縮性はあるが、ざらつきがある風合い

×：構造体を作製できず、風合いも硬い

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差]

高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体の平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差は、カトーテック製の摩擦感テスター（型番：KES-E）を用いて評価した。5cm角に切り出した高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体を蒸留水に1時間浸漬させたのち、サンプルを測定台上に金属枠で固定し、荷重50g、10mm角シリコンセンサーを1.0mm/秒で這わせて、平均摩擦係数と、摩擦係数の平均偏差を測定した。この操作をN=3でおこなった後に、サンプルを90℃回転させて同操作を繰り返す。表面摩擦係数の幅（最小値と最大値）および、摩擦係数の平均偏差の幅（最小値と最大値）を測定値とした。

[高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体のカール測定]

高次構造体、積層高次構造体または繊維シート構造体を穴開けポンチで打ち抜き、Φ14mmの円状シートを作製し、該シートを50℃のリン酸緩衝生理食塩水の入ったビーカーに4時間浸漬させ、カールの有無を目視で確認して評価した。

[繊維シート構造体の細胞培養数の評価]

高次構造体、積層高次構造体および繊維シート構造体の細胞培養はNIH3T3細胞を用いて下記の手順で実施し、細胞培養7日後の細胞数をWST-1測定で評価した。まず、繊維シート構造体をΦ14mmのポンチで打ち抜き、ア

ルミパックに包んで電子線滅菌をした。滅菌した繊維シート構造体をMPCコートした24-well plateに細胞載置表面を上面にして配置し、リン酸緩衝生理食塩水1 mLを加えて10分静置して繊維シート構造体を膨潤させた。膨潤後、1000 mLピペットを用いてリン酸緩衝生理食塩水を除去し、 $1.5 \times 10^4$  cells/mLの細胞懸濁液を1 mL播種した。なお、細胞懸濁液は下記の手順で調整した。あらかじめCO<sub>2</sub>インキュベータ(37℃、CO<sub>2</sub>濃度5%)で細胞を培養していたT225フラスコから培地を除去し、リン酸緩衝生理食塩水22.5 mLで二回洗浄した後、0.25%トリプシン22.5 mLを添加し、CO<sub>2</sub>インキュベータ内に5分静置した。顕微鏡で剥離を確認した後、遠沈管に回収した。培地22.5 mLで共洗いをしたのちに、遠心処理(220 gで3分)して上清を除去した。得られた細胞ペレットを培地でほぐし、Museセルアナライザー(0500-3115)を用いて細胞数を測定し、細胞濃度が $1.5 \times 10^4$  cells/mLになるように細胞懸濁液を調整した。なお、培地はDMEM培地1000 mLにFBS 53 mL、カナマイシン1/1000量、ペニシリン-スプレトマイシン-アムホテリシンB懸濁液1/1000量を添加して調整した。播種後、CO<sub>2</sub>インキュベータ(MCO-170A I CUVH-PJ)(37℃、CO<sub>2</sub>濃度5%)内に静置し培養を開始した。3日後、6日後に培地を1000 mLピペットで除去し、培地を再び1 mL入れることで培地を交換した。7日目にWST-1を100  $\mu$ L添加し、CO<sub>2</sub>インキュベータ(37℃、CO<sub>2</sub>濃度5%)に3時間静置した後、96wellプレートに300  $\mu$ L移し、プレートリーダー(VERSA Max)で吸光度測定(450nm, 対照波長630nm)を行うことで、細胞数を評価した。なお、細胞数を評価するための検量線は上述の細胞懸濁液調整と同じ方法で $0.5 \times 10^4$ 、 $1.0 \times 10^4$ 、 $2.0 \times 10^4$ 、 $3.0 \times 10^4$ 、 $4.0 \times 10^4$ 、 $6.0 \times 10^4$ 、 $8.0 \times 10^4$  cells/mLに調整した懸濁液にWST-1を100  $\mu$ L添加し、CO<sub>2</sub>インキュベータ(37℃、CO<sub>2</sub>濃度5%)に3時間静置したのちに、96wellプレートに300  $\mu$ L移したのち、プレートリーダーで吸光度測定(450nm, 対照波長630nm)を行うことで作成した。

[繊維シート構造体の細胞接着性]

細胞接着性は、構造体上でNIH3T3細胞を7日間静置培養し蛍光標識された細胞を蛍光顕微鏡で観察し、細胞の張り付き具合で評価した。

◎：構造体に張り付くような2次元の細胞成長が認められ、細胞が構造体表面に固定化している。

○：構造体に張り付くような2次元の細胞成長が主だが、部分的に3次元的に細胞成長した細胞塊が構造体表面に緩く接着している。

△：3次元的に細胞成長した細胞塊が主であり、構造体表面に緩く接着している。

×：構造体と細胞の接着が認められない。

[高次構造体および積層高次構造体の細胞接着性と細胞培養性]

高次構造体および積層構造体の細胞接着性と細胞培養性は、構造体上でHeLa細胞を3日間静置培養し蛍光標識された細胞を蛍光顕微鏡で観察し評価した。MPCコートをした12-well plateに高次構造体及び積層構造体を静置し培地を加え、構造増体を膨潤させた。培地にはD-MEM/10%FBS, ペニシリン・ストレプトマイシンを用いた。膨潤ののちに余分な培地を捨て、HeLa細胞懸濁液 $2 \times 10^6/\text{ml}$ を $40 \mu\text{l}/\text{well}$ を播種した。構造体に $1\text{ml}/\text{well}$ を添加し、 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 環境下で3日間静置培養した。培養後、上清を捨てリン酸緩衝生理食塩水を $1\text{ml}/\text{well}$ で洗浄した。洗浄後、蛍光試薬であるCalcein AMを $2 \mu\text{M}$ 含むOPTI-MEM培地を $1\text{ml}/\text{well}$ 添加する。 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 環境下で2時間静置培養し、蛍光顕微鏡で定性観察することで細胞接着性と細胞培養性を評価した。

細胞接着性は高次構造体および積層高次構造体に接着した細胞の張り付き具合で評価した。

◎：構造体に張り付くような2次元の細胞成長が認められ、細胞が構造体表面に固定化している。

○：構造体に張り付くような2次元の細胞成長が主だが、部分的に3次元的に細胞成長した細胞塊が構造体表面に緩く接着している。

△：3次元的に細胞成長した細胞塊が主であり、構造体表面に緩く接着して

いる。

×：構造体と細胞の接着が認められない。

細胞培養性は蛍光試薬で染色した細胞からの発光を蛍光顕微鏡で定性観察することで評価した。

◎：構造体全面の強い蛍光発光が認められる。

○：構造体の隙間（編物の網目）を除く部分から強い蛍光発光が認められる。

△：構造体の隙間（編物の網目）を除く部分から弱い蛍光発光が認められる。

×：蛍光発光が認められない。

#### <製造例 1>

ゼリー強度 293 g のゼラチン（新田ゼラチン製 豚皮ゼラチン A タイプ）50 重量％に水 50 重量％を加えて 30 分放置した後に、真空タイプの泡取り練太郎（シンキー製 ARV-310P）で混練脱泡して紡糸用のゼラチンドープを作製した。ゼラチンドープのゾル-ゲル転移温度は 37℃であった。

[0203] 作製したゼラチンドープを 50℃に加温して孔径 150  $\mu\text{m}$ （真円）の 6 ホールの口金から 50℃の温度にて、繊維状に押し出し、押し出したゼラチン繊維を、押し出し口から 1.8 m に設置した搬送ローラーの周面に沿わせて、30 m/min で搬送し、巻き取りローラーによりボビンに巻き取り、ゼラチン繊維 6 本からなるゼラチン繊維束前駆体を得た。上記押し出したゼラチン繊維は、搬送の過程で、風乾し、油剤（エチレングリコール 10%、エタノール 90% の混合溶液）を付着してからボビンに巻き取った。搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率は 15 重量％であった。ゼラチン繊維束前駆体の水分率は 13 重量％であり、繊維束同士の融着は認められず、ボビンからの解舒性も良好であった。また、巻き取ったゼラチン繊維束前駆体の繊維度は 48 dtex、ゼラチン繊維束前駆体から取り出したゼラチン繊維の引張強度、引張り伸度はそれぞれ 1.1 cN/dtex、74%であった。

。

[0204] 巻き取ったゼラチン繊維束前駆体のボビンを大気中140℃で24時間熱処理し、水に不溶化させたゼラチン繊維束を得た。ゼラチン繊維束の繊度は48 d t e x、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 c N / d t e x、84%で、ゼラチン繊維1本の繊度は8 d t e xであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 c N / d t e x）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 c N / d t e x）から伸度84%まで伸びて破断（1.2 c N / d t e x）した。

また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束の重量減少率は18%、膨潤率は240%であった。

[0205] 次に、ゼラチン繊維束を用いて、丸編み機（丸善産業株式会社製の型番MR-1）により高次構造体を得た。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は18%であり、18%重量減少率の1.2%が油剤によるものであった。また、高次構造体の厚みは83 μ mであり、空孔率は91%であった。

#### <製造例2>

製造例1と同様の方法で熱処理前のゼラチン繊維6本からなるゼラチン繊維束前駆体（繊度48 d t e x）を作製した。このゼラチン繊維束前駆体を用いて、丸編み機で編物を作製した。次に、大気中140℃で24時間熱処理して、水に不溶化することでゼラチン繊維束からなる高次構造体を得た。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 c N / d t e x、84%で、ゼラチン繊維1本の繊度は8 d t e xであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 c N / d t e x）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 c N / d t e x）から伸度84%まで伸びて破断（1.2 c N / d t e x）した。

また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束の重量減少率は18%、膨潤率は240%であった。50℃のリン酸緩衝生理

食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は18%であった。また、高次構造体の厚みは83  $\mu\text{m}$ であり、空孔率は91%であった。

#### <製造例3>

製造例1と同様の方法で熱処理前のゼラチン繊維6本からなるゼラチン繊維束前駆体を作製した。このゼラチン繊維束前駆体を用いて、丸編み機で編物を作製した。次に、編物を12.5%のグルタルアルデヒド水溶液に5分浸漬させた後に、水で洗浄し、乾燥し、水に不溶化させることで、ゼラチン繊維束からなる高次構造体を得た。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維の引張強度、引張り伸度はそれぞれ0.8 cN/dtex、65%で、ゼラチン繊維1本の繊維度は8 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度4%で上降伏点（上降伏応力：0.8 cN/dtex）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.70 cN/dtex）から伸度65%まで伸びて破断（0.78 cN/dtex）した。

また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束の重量減少率は9%、膨潤率は138%であった。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は9%であった。また、高次構造体の厚みは83  $\mu\text{m}$ であり、空孔率は91%であった。

#### <製造例4>

孔径150  $\mu\text{m}$ （真円）の24ホールの口金から吐出される糸を90 m/minで搬送した以外は実施例1と同様の方法で熱処理前のゼラチン繊維24本からなるゼラチン繊維束前駆体を作製した。搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率は13重量%であった。ゼラチン繊維束前駆体の水分率は10重量%であり、繊維束同士の融着は認められず、ポビンからの解舒性も良好であった。また、巻き取ったゼラチン繊維束前駆体の繊維度は133.6 dtex、ゼラチン繊維の引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.6 cN/dtex、50%であった。このゼラチン繊維束前駆体を用いて、丸編み機で編物を作製した。次に、大気中140℃で24時間熱処理して、水に不溶化させることで、ゼラチン繊維束からなる高次構造体を得た。この高次構造体

を分解して得たゼラチン繊維束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ  $1.6 \text{ cN/dtex}$ 、 $50\%$ で、ゼラチン繊維1本の繊維度は  $5.6 \text{ dtex}$ であった。なお、ゼラチン繊維束は伸度  $5\%$ で上降伏点（上降伏応力： $1.2 \text{ cN/dtex}$ ）を迎え、伸度  $15\%$ の下降伏点（下降伏応力： $1.15 \text{ cN/dtex}$ ）から伸度  $50\%$ まで伸びて破断（ $1.6 \text{ cN/dtex}$ ）した。また、 $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束の重量減少率は  $17\%$ 、膨潤率は  $230\%$ であった。

$50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は  $19\%$ であった。また、高次構造体の厚みは  $132 \mu\text{m}$ であり、空孔率は  $84\%$ であった。

#### <製造例5>

巻き取ったゼラチン繊維束前駆体のボビンを大気中  $140^\circ\text{C}$ で24時間熱処理を、真空下  $180^\circ\text{C}$ で6時間熱処理に変更した以外は、製造例1と同様の方法でゼラチン繊維束からなる高次構造体を作製した。ゼラチン繊維束の繊維度は  $46 \text{ dtex}$ 、引張強度、引張り伸度はそれぞれ  $1.5 \text{ cN/dtex}$ 、 $62\%$ で、ゼラチン繊維1本の繊維度は  $8 \text{ dtex}$ であった。なお、ゼラチン繊維束は伸度  $5\%$ で上降伏点（上降伏応力： $1.15 \text{ cN/dtex}$ ）を迎え、伸度  $15\%$ の下降伏点（下降伏応力： $1.05 \text{ cN/dtex}$ ）から伸度  $62\%$ まで伸びて破断（ $1.5 \text{ cN/dtex}$ ）した。また、 $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束の重量減少率は  $9\%$ 、膨潤率は  $138\%$ であった。また、 $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は  $9\%$ であり、 $9\%$ 重量減少率の  $1.2\%$ が油剤によるものであった。また、高次構造体の厚みは  $83 \mu\text{m}$ であり、空孔率は  $91\%$ であった。

#### <製造例6>

孔径  $150 \mu\text{m}$ （真円）の15ホルルの口金から吐出される糸を  $60 \text{ m/min}$ で搬送した以外は実施例1と同様の方法で熱処理前のゼラチン繊維15本からなるゼラチン繊維束前駆体を作製した。巻き取ったゼラチン繊維束

前駆体の繊維度は58.6 d t e x、ゼラチン繊維の引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.1 c N / d t e x、77%であった。このゼラチン繊維束前駆体の周りに螺旋状にフィラメント数15本、繊維度35.0 d t e xであるポリグリコール酸からなる熱可塑性樹脂繊維束を巻きつけながら撚糸して、フィラメント数30本、繊維度93.6 d t e xの合糸束前駆体を作製した。この合糸束前駆体を用いて、丸編み機で編物を作製した。次に、大気中140℃で24時間熱処理して、水に不溶化させることで、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束からなる高次構造体を得た。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 c N / d t e x、35%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を大気中140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊維度は58.6 d t e x、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 c N / d t e x、79%で、ゼラチン繊維1本の繊維度は3.9 d t e xであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 c N / d t e x）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 c N / d t e x）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 c N / d t e x）した。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は12%であった。また、高次構造体の厚みは125 μ mであり、空孔率は87%であった。

#### <製造例7>

ゼラチン繊維束前駆体の周りに螺旋状にフィラメント数15本、繊維度35.0 d t e xであるポリグリコール酸からなる熱可塑性樹脂繊維束を巻きつけながら撚糸を、フィラメント数15本、繊維度35.0 d t e xであるポリグリコール酸からなる熱可塑性樹脂繊維束の周りに螺旋状にゼラチン繊維束前駆体を巻きつけながら撚糸に変更した以外は製造例6と同様の方法でゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束からなる高次構造体を作製し

た。合糸束前駆体のフィラメント数30本、織度93.6 d t e xであった。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 c N / d t e x、35%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を大気中140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の織度は58.6 d t e x、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 c N / d t e x、79%で、ゼラチン繊維1本の織度は3.9 d t e xであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 c N / d t e x）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 c N / d t e x）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 c N / d t e x）した。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は12%であった。また、高次構造体の厚みは125 μ mであり、空孔率は87%であった。

#### <製造例8>

大気中140℃で24時間熱処理を、真空下160℃で12時間熱処理に変更した以外は、製造例7と同様の方法でゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束からなる高次構造体を作製した。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ6.8 c N / d t e x、32%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を真空下160℃で12時間熱処理して得たゼラチン繊維束の織度は58.6 d t e x、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.3 c N / d t e x、65%で、ゼラチン繊維1本の織度は3.9 d t e xであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：1.0 c N / d t e x）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.95 c N / d t e x）から伸度65%まで伸びて破断（1.3 c N / d t e x）した。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は9%、膨潤率は135%であった。5

0℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は9%であった。また、高次構造体の厚みは125  $\mu\text{m}$ であり、空孔率は87%であった。

#### <製造例9>

孔径150  $\mu\text{m}$  (真円) の6ホールの口金を、孔径150  $\mu\text{m}$  (真円) の15ホールの口金に変更したこと、および、押し出したゼラチン繊維を、30 m/minで搬送を、60 m/minで搬送に変更した以外は製造例1と同様の方法で熱処理前のゼラチン繊維15本からなるゼラチン繊維束前駆体を作製した。巻き取ったゼラチン繊維束前駆体の繊度は58.6 d t e x、ゼラチン繊維束前駆体から取り出したゼラチン繊維の引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.1 c N / d t e x、77%であった。なお、搬送ローラー到達時のゼラチン繊維の水分率は12重量%であった。ゼラチン繊維束前駆体の水分率は10重量%であり、繊維束同士の融着は認められず、ボビンからの解舒性も良好であった。

次に、フィラメント数15本、繊度35.0 d t e xであるポリグリコール酸からなる熱可塑性樹脂繊維束を30 m/minで巻き出しながら40重量%のエタノールを含有する水溶液浴で洗浄して油剤を落とした後、70℃の熱ローラーで接触乾燥させ、続いて新田ゼラチン製のセルマトリックス (Type I-C) のコラーゲン水溶液に浸漬・乾燥させることで、コラーゲンがコーティングされた熱可塑性樹脂繊維束を得た。ゼラチン繊維束前駆体の周りに螺旋状にフィラメント数15本、繊度35 d t e xであるコラーゲンコーティングされた熱可塑性樹脂繊維束を巻きつけながら撚糸して、フィラメント数30本、繊度93.6 d t e xの合糸束前駆体を作製した。この合糸束前駆体を用いて、丸編み機で編物を作製した。次に、大気中140℃で24時間熱処理して、水に不溶化させることで、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束からなる高次構造体を得た。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 c N / d t e x、35%であった。なお、ゼラチン繊維束

前駆体を大気中140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊維度は58.6 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊維度は3.9 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 cN/dtex）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 cN/dtex）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 cN/dtex）した。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は12%であった。また、高次構造体の厚みは125 μmであり、空孔率は87%であった。

#### <製造例10>

フィラメント数15本、繊維度35.0 dtexであるポリグリコール酸を、フィラメント数15本、繊維度33.0 dtexであるポリ乳酸に変更した以外は製造例9と同様の方法でゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束からなる高次構造体を得た。合糸束前駆体のフィラメント数30本、繊維度91.6 dtexであった。この高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ5.5 cN/dtex、36%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を大気中140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊維度は58.6 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊維度は3.9 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 cN/dtex）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 cN/dtex）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 cN/dtex）した。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は12%であっ

た。また、高次構造体の厚みは $125\mu\text{m}$ であり、空孔率は $89\%$ であった。

#### <製造例 11>

製造例 6 で得られた高次構造体を電解紡糸装置（メック製NANO-04）の台座に張り付け、 $30$ 重量%の酢酸を含む酢酸水溶液にドーブ全重量の $20$ 重量%のゼラチンを溶解したゼラチンドーブを室温、電圧 $20\text{kV}$ 、吐出量 $0.3\text{cc/分}$ 、ノズル先端から高次構造体までの距離 $10\text{cm}$ の条件で $1$ 分間電解紡糸して、ゼラチン不織布と高次構造体からなる積層高次構造体前駆体を作製した。この積層高次構造体前駆体を真空下、室温で $24$ 時間乾燥させた後、ゼラチン不織布側の面に $70^\circ\text{C}$ で、 $800\text{KPa}$ で $60$ 秒プレス後、真空下 $160^\circ\text{C}$ で $12$ 時間熱処理することで、高次構造体にゼラチン不織布が積層された積層高次構造体を得た。この積層高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ $6.8\text{cN/dtex}$ 、 $32\%$ であった。また、 $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に $4$ 時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は $9\%$ 、膨潤率は $135\%$ であった。 $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に $4$ 時間浸漬させた積層高次構造体の重量減少率は $9\%$ であり、 $9\%$ 重量減少率の $1.0\%$ が油剤によるものであった。また、積層高次構造体の厚みは $125\mu\text{m}$ であり、空孔率は $87\%$ であった。

#### <製造例 12>

真空下 $160^\circ\text{C}$ で $12$ 時間熱処理を、大気中 $140^\circ\text{C}$ で $24$ 時間熱処理に変更した以外は、製造例 11 と同様の方法で高次構造体にゼラチン不織布が積層された積層高次構造体を得た。この積層高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ $7.2\text{cN/dtex}$ 、 $35\%$ であった。また、 $50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に $4$ 時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は $12\%$ 、膨潤率は $145\%$ であった。

$50^\circ\text{C}$ のリン酸緩衝生理食塩水に $4$ 時間浸漬させた積層高次構造体の重量減

少率は12%であり、12%重量減少率の1.0%が油剤によるものであった。また、積層高次構造体の厚みは125  $\mu\text{m}$ であり、空孔率は87%であった。

#### <製造例13>

製造例6で得られた高次構造体を電解紡糸装置（メック製NANON-04）の台座に張り付け、84重量%の酢酸を含む酢酸水溶液にドープ全重量の10重量%のコラーゲンを溶解したコラーゲンドープを室温、電圧20kV、吐出量0.3 cc/分、ノズル先端から高次構造体までの距離10 cmの条件で1分間電解紡糸して、コラーゲン不織布と高次構造体からなる積層高次構造体前駆体を作製した。この積層高次構造体前駆体を真空下、室温で24時間乾燥させた後、80℃、800 kPaで60秒プレス後、真空下140℃で24時間熱処理することで、高次構造体にコラーゲン不織布が積層された積層高次構造体を得た。この積層高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 cN/dtex、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。

50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた積層高次構造体の重量減少率は13%であり、13%重量減少率の1.0%が油剤によるものであった。また、積層高次構造体の厚みは125  $\mu\text{m}$ であり、空孔率は87%であった。

#### <製造例14>

孔径150  $\mu\text{m}$ （真円）のモノホール口金から吐出される糸を10 m/minで巻き取った以外は実施例1と同様の方法で熱処理前のゼラチンモノホール糸前駆体を作製した。巻き取ったゼラチンモノホール糸前駆体の水分率は17重量%であり、繊維同士の融着は認められず、ボビンからの解舒性も良好であった。また、巻き取ったゼラチンモノホール糸前駆体の繊度は128 dtex、ゼラチン繊維（ゼラチンモノホール糸前駆体）の引張強度、引

張り伸度はそれぞれ0.6 cN/dtex、63%であった。

- [0206] 巻き取ったゼラチンモノホール糸前駆体のボビンを大気中140℃で24時間熱処理して、水に不溶化させたゼラチンモノホール糸を得た。不溶化処理後のゼラチンモノホール糸の繊度は128 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ0.7 cN/dtex、122%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチンモノホール糸の重量減少率は19%、膨潤率は280%であった。

- [0207] 次に、ゼラチンモノホール糸を用いて、丸編み機で編物の作製を試みたが、編み抜けが多発して編物を得ることが出来なかった。

<製造例15>

繊度110 dtexの市販PETモノホール糸を用いて、丸編み機で編物の作製を試みたが、編み抜けが多発して編物を得ることが出来なかった。

<製造例16>

孔径150 μm（真円）のモノホール口金から吐出される糸を30 m/minで巻き取った以外は実施例1と同様の方法で熱処理前のゼラチンモノホール糸前駆体を作製した。ゼラチンモノホール糸前駆体の水分率は15重量%であり、繊維同士の融着は認められず、ボビンからの解舒性も良好であった。また、巻き取ったゼラチンモノホール糸前駆体の繊度は8 dtex、ゼラチン繊維（ゼラチンモノホール糸前駆体）の引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.0 N/cm、72%であった。

- [0208] 巻き取ったゼラチンモノホール糸前駆体のボビンを大気中140℃で24時間熱処理して、水に不溶化させたゼラチンモノホール糸を得た。ゼラチンモノホール糸の繊度は8 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、84%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させたゼラチンモノホール糸の重量減少率は18%であった。次に、ゼラチンモノホール糸を用いて、丸編み機で編物の作製を試みたが、糸強度が弱いために糸切れが多発して編物を得ることが出来なかった。

<製造例17>

フィラメント数15本、織度33.0 d t e xであるポリ乳酸からなる熱可塑性樹脂繊維束を用いて、丸編み機で高次構造体を作製した。この高次構造体を分解して得た熱可塑性樹脂繊維束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ4.5 c N / d t e x、33%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた熱可塑性樹脂繊維束の重量減少率は0%、膨潤率は100%であった。50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた高次構造体の重量減少率は0%であった。また、高次構造体の厚みは78 μ mであり、空孔率は85%であった。

#### <製造例18>

製造例6の合糸束前駆体を用いて、ホールガーメント（登録商標）（SWG（登録商標）041N2）で平編みを2層重ねた厚さ2040 μ m、平均孔径95 μ m、空孔率94%のダブルニット（第2高次構造体）を作製した。このダブルニットを真空下140℃で24時間熱処理し、不溶化した後、ダブルニットの片面側に70℃の温度を掛けて、800KPaで60秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この繊維シート構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 c N / d t e x、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を真空下140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の織度は58.6 d t e x、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 c N / d t e x、79%で、ゼラチン繊維1本の織度は3.9 d t e xであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 c N / d t e x）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 c N / d t e x）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 c N / d t e x）した。

#### <製造例19>

製造例6の合糸束前駆体を用いて、ホールガーメント（登録商標）（SWG（登録商標）041N2）で平編みを2層重ねた厚さ1670 μ m、平均孔径1

27  $\mu\text{m}$ 、空孔率93%のダブルニット（第2高次構造体）を作製した。このダブルニットを真空下140℃で24時間熱処理し、不溶化したのち、片面側に60℃の温度を掛けて、700KPaで60秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この繊維シート構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 cN/dtex、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を真空下140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊度は58.6 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊度は3.9 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 cN/dtex）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 cN/dtex）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 cN/dtex）した。

#### <製造例20>

製造例6の合糸束前駆体を用いて、ホールガーメント（登録商標）（SWG（登録商標）041N2）で平編みを2層重ねた厚さ1940  $\mu\text{m}$ 、平均孔径150  $\mu\text{m}$ 、空孔率95%のダブルニット（第2高次構造体）を作製した。このダブルニットを真空下140℃で24時間熱処理し、不溶化したのち、片面側に70℃の温度を掛けて、800KPaで60秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この第2高次構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 cN/dtex、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を真空下で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊度は58.6 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊度は3.9 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 c

N/dtex)を迎え、伸度15%の下降伏点(下降伏応力:0.80cN/dtex)から伸度79%まで伸びて破断(1.2cN/dtex)した。

#### <製造例21>

製造例7の合糸束前駆体を用いて、ホールガーメント(登録商標)(SWG(登録商標)041N2)で平編みを2層重ねた厚さ2040 $\mu$ m、平均孔径95 $\mu$ m、空孔率94%のダブルニット(第2高次構造体)を作製した。このダブルニットを真空下140℃で24時間熱処理し、不溶化し、片面側に70℃の温度を掛けて、800KPaで60秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この繊維シート構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2cN/dtex、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を真空下140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊度は58.6dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊度は3.9dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点(上降伏応力:0.85cN/dtex)を迎え、伸度15%の下降伏点(下降伏応力:0.80cN/dtex)から伸度79%まで伸びて破断(1.2cN/dtex)した。

#### <製造例22>

製造例6の合糸束前駆体4本と熱可塑性樹脂繊維束4本を用いてゼラチン繊維束前駆体4本と熱可塑性樹脂繊維束4本を含む合糸束前駆体を作製し、ホールガーメント(登録商標)(SWG(登録商標)041N2)を用いてリブ編みで厚さ940 $\mu$ m、平均孔径125 $\mu$ m、空孔率94%のシングルニット(第2高次構造体)を作製した。このシングルニットを真空下140℃で24時間不溶化し、片面側に70℃の温度を掛けて、800KPaで60秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この繊維シート構造体を分解して

得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 cN/dtex、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を大気中140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊度は58.6 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊度は3.9 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 cN/dtex）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 cN/dtex）から伸度79%まで伸びて破断（1.2 cN/dtex）した。

#### <製造例23>

製造例19のダブルニット（第2高次構造体）を電解紡糸装置（メック製NANON-04）の台座に張り付け、30重量%の酢酸を含む酢酸水溶液にドープ全重量の20重量%のゼラチンを溶解したゼラチンドープを室温、電圧20kV、吐出量0.3cc/分、ノズル先端から第2高次構造体までの距離10cmの条件で1分間電解紡糸して、ゼラチン不織布と第2高次構造体からなる第2積層高次構造体を作製した。この第2積層高次構造体を真空下140℃で24時間熱処理し、不溶化したのち、片面側に60℃の温度を掛けて、700KPaで60秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この繊維シート構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ7.2 cN/dtex、35%であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた合糸束の重量減少率は12%、膨潤率は145%であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を大気中140℃で24時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊度は58.6 dtex、引張強度、引張り伸度はそれぞれ1.2 cN/dtex、79%で、ゼラチン繊維1本の繊度は3.9 dtexであった。なお、ゼラチン繊維束は伸度5%で上降伏点（上降伏応力：0.85 cN/dtex）を迎え、伸度15%の下降伏点（下降伏応力：0.80 cN/dtex）から伸度79%ま

で伸びて破断 ( $1.2 \text{ cN/dtex}$ ) した。

#### <製造例 24>

製造例 22 のシングルニット (第 2 高次構造体) を電解紡糸装置 (メック製 NANON-04) の台座に張り付け、30 重量%の酢酸を含む酢酸水溶液にドーブ全重量の 20 重量%のゼラチンを溶解したゼラチンドープを室温、電圧 20kV、吐出量 0.3cc/分、ノズル先端から第 2 高次構造体までの距離 10cm の条件で 1 分間電解紡糸して、ゼラチン不織布と第 2 高次構造体からなる第 2 積層高次構造体を作製した。この第 2 積層高次構造体を真空下 160℃で 12 時間熱処理し、不溶化したのち、ゼラチン不織布側の面に 70℃の温度を掛けて、800KPa で 60 秒プレスすることで、繊維シート構造体を得た。この繊維シート構造体を分解して得たゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束を含む合糸束の引張強度、引張り伸度はそれぞれ  $6.8 \text{ cN/dtex}$ 、32% であった。また、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に 4 時間浸漬させた合糸束の重量減少率は 9%、膨潤率は 135% であった。なお、ゼラチン繊維束前駆体を真空下 160℃で 24 時間熱処理して得たゼラチン繊維束の繊度は  $52.5 \text{ dtex}$ 、引張強度、引張り伸度はそれぞれ  $1.1 \text{ cN/dtex}$ 、70% で、ゼラチン繊維 1 本の繊度は  $3.5 \text{ dtex}$  であった。なお、ゼラチン繊維束は伸度 5% で上降伏点 (上降伏応力:  $0.82 \text{ cN/dtex}$ ) を迎え、伸度 14% の下降伏点 (下降伏応力:  $0.75 \text{ cN/dtex}$ ) から伸度 56% まで伸びて破断 ( $0.9 \text{ cN/dtex}$ ) した。

#### <参考例 1>

製造例 1 で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150 \mu\text{m}$  以上の空孔数の割合 (%)、空孔数、カールの有無および HeLa 細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

#### <参考例 2>

製造例 2 で得られた高次構造体において、風合いの評価を実施した。

#### <参考例 3>

製造例 3 で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

<参考例 4>

製造例 4 で得られた高次構造体において、風合いの評価を実施した。

<参考例 5>

製造例 5 で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

<参考例 6>

製造例 6 で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

<参考例 7>

製造例 7 で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

<参考例 8>

製造例 8、平均空孔径、 $150\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

<参考例 9>

製造例 9、平均空孔径、 $150\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合（％）、空孔数、

カールの有無で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

〈参考例 10〉

製造例 10 で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\text{ }\mu\text{m}$  以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

〈参考例 11〉

製造例 11 で得られた積層高次構造体において、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\text{ }\mu\text{m}$  以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

〈参考例 12〉

製造例 12 で得られた積層高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\text{ }\mu\text{m}$  以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

〈参考例 13〉

製造例 13 で得られた積層高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、平均空孔径、 $150\text{ }\mu\text{m}$  以上の空孔数の割合（％）、空孔数、カールの有無およびHeLa細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価を実施した。

[0209] 参考例 1 ～ 13 の評価結果は表 1、表 2 に示す。

〈実施例 1〉

製造例 18 で得られた繊維シート構造体において、 $50^{\circ}\text{C}$  のリン酸緩衝生理食塩水に 4 時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、 $150\text{ }\mu\text{m}$  以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数

の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養数の評価を実施した。

<実施例2>

製造例19で得られた繊維シート構造体において、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、150  $\mu$ m以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養数の評価を実施した。

<実施例3>

製造例20で得られた繊維シート構造体において、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、150  $\mu$ m以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養数の評価を実施した。

<実施例4>

製造例21で得られた繊維シート構造体において、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、150  $\mu$ m以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養数の評価を実施した。

<実施例5>

製造例22で得られた繊維シート構造体において、50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、150  $\mu$ m以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養数の評価を実施した。

<実施例6>

製造例23で得られた繊維シート構造体において、50℃のリン酸緩衝生

理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、  
150  $\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数  
の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養  
数の評価を実施した。

<実施例7>

製造例24で得られた繊維シート構造体において、50℃のリン酸緩衝生  
理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率、厚み、空孔率、平均空孔径、  
150  $\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合、空孔数、風合い、平均摩擦係数、摩擦係数  
の平均偏差、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養  
数の評価を実施した。

<比較例1>

製造例14における繊維の風合いの評価を実施した。

<比較例2>

製造例15における繊維の風合いの評価を実施した。

<比較例3>

製造例16における繊維の風合いの評価を実施した。

<比較例4>

製造例17で得られた高次構造体において、風合い、平均摩擦係数、摩擦  
係数の平均偏差、平均空孔径、150  $\mu\text{m}$ 以上の空孔数の割合(%)、空孔  
数、カールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞培養性の評価  
を実施した。

<比較例5>

ガイストリッヒ社のバイオガイド(コラーゲンシートとコラーゲン不織布  
の2層構造体)のコラーゲンシート面を用いて、平均摩擦係数、摩擦係数の  
平均偏差、およびカールの有無およびNIH3T3細胞を用いた細胞接着性と細胞  
培養数の評価を実施した。実施例および比較例の評価結果は表3、4に示す  
。



[0211] [表2]

|         | 高次構造体または、積層高次構造体の特性 |           |                 |       |       |            |
|---------|---------------------|-----------|-----------------|-------|-------|------------|
|         | 風合い                 | 平均摩擦係数    | 表面摩擦係数の<br>平均偏差 | 細胞接着性 | 細胞培養性 | カールの<br>有無 |
| 参考例 1   | ◎                   | 0.27～0.39 | 0.64～1.22       | △     | △     | 有          |
| 参考例 2   | ◎                   | —         | —               | —     | —     | —          |
| 参考例 3   | ○                   | 0.22～0.40 | 0.61～1.10       | ○     | ○     | 有          |
| 参考例 4   | ◎                   | —         | —               | —     | —     | —          |
| 参考例 5   | ◎                   | 0.29～0.42 | 0.66～1.26       | ○     | ○     | 有          |
| 参考例 6   | ◎                   | 0.29～0.35 | 1.08～1.27       | ○     | ○     | 有          |
| 参考例 7   | ◎                   | 0.23～0.42 | 0.58～1.18       | △     | △     | 有          |
| 参考例 8   | ◎                   | 0.28～0.38 | 1.02～1.23       | ○     | ○     | 有          |
| 参考例 9   | ◎                   | 0.23～0.35 | 0.85～1.27       | ◎     | ○     | 有          |
| 参考例 1 0 | ◎                   | 0.27～0.38 | 0.96～1.25       | ◎     | ○     | 有          |
| 参考例 1 1 | ◎                   | 0.25～0.39 | 0.62～1.21       | ◎     | ◎     | 有          |
| 参考例 1 2 | ◎                   | 0.26～0.38 | 0.62～1.21       | ○     | ◎     | 有          |
| 参考例 1 3 | ◎                   | 0.25～0.37 | 0.60～1.16       | ◎     | ◎     | 有          |

[0212]



[0213] [表4]

|       | 繊維シート構造体の特性 |           |                 |       |                                    |            |
|-------|-------------|-----------|-----------------|-------|------------------------------------|------------|
|       | 風合い         | 平均摩擦係数    | 表面摩擦係数の<br>平均偏差 | 細胞接着性 | 細胞培養数<br>( $\times 10^4$ cells/mL) | カールの<br>有無 |
| 実施例 1 | ◎           | 0.29～0.35 | 0.88～1.12       | ◎     | 33.8                               | 無          |
| 実施例 2 | ◎           | 0.29～0.34 | 0.86～1.14       | ◎     | 25.3                               | 無          |
| 実施例 3 | ◎           | 0.29～0.35 | 0.88～1.12       | ◎     | 10.2                               | 無          |
| 実施例 4 | ◎           | 0.23～0.38 | 0.58～1.08       | ◎     | 33.8                               | 無          |
| 実施例 5 | ◎           | 0.29～0.35 | 0.98～1.32       | ◎     | 28.5                               | 無          |
| 実施例 6 | ◎           | 0.29～0.34 | 0.88～1.11       | ◎     | 30.6                               | 無          |
| 実施例 7 | ◎           | 0.29～0.35 | 0.58～1.08       | ◎     | 33.7                               | 無          |
| 比較例 1 | ×           | —         | —               | —     | —                                  | —          |
| 比較例 2 | ×           | —         | —               | —     | —                                  | —          |
| 比較例 3 | ×           | —         | —               | —     | —                                  | —          |
| 比較例 4 | △           | 0.25～0.47 | 0.64～2.43       | ×     | 0.2                                | 有          |
| 比較例 5 | —           | 0.83～1.33 | 1.38～1.78       | ◎     | 33.5                               | 無          |

[0214] 表 4 に示す結果より、実施例にて得られた繊維シート構造体は風合いがよく、適度な滑り性を有し、さらに細胞接着性および、細胞定着後の培養性に優れることが分かった。SEM画像からは、繊維シート構造体の内層部に細胞が侵入し、定着出来た箇所から繊維に這うように、繊維と繊維のつなぎ目を埋めるように細胞が成長していることが確認された。

#### 産業上の利用可能性

[0215] 本発明の繊維シート構造体は、機械強度に優れた生体適合性（低抗原性及び高生体吸収性）を有する医療用材料となり、創傷・火傷治療用素材や人工皮膚用マトリクス材等として好適に使用することが出来る。また、細胞の分化促進、細胞機能の増強、移植後の定着性などに優れる 3 次元細胞培養の足場材として好適に使用することが出来る。

### 請求の範囲

- [請求項1] 繊維シート構造体であって、  
前記繊維シート構造体が、編組織を含み、細胞載置表面と裏面とを有し、  
前記裏面の平均空孔径が、前記細胞載置表面の平均空孔径よりも小さく、  
前記編組織が、ゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束とからなる合糸束を含み、  
前記繊維シート構造体の厚みが30～5000  $\mu\text{m}$ であり、  
前記ゼラチン繊維束を構成するゼラチン繊維の本数が5～60本であり、ゼラチン繊維の繊度が0.5～10 d t e xであり、  
前記合糸束におけるゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束の合計本数が2～20本であり、前記合糸束中のゼラチン繊維束と熱可塑性樹脂繊維束との本数割合が5：1～1：5である、繊維シート構造体。
- [請求項2] 繊維シート構造体が下記（1）～（4）のいずれかである、請求項1に記載の繊維シート構造体  
（1）2つの層が積層した構造体であり、表面側の層及び裏面側の層が編組織であり、該編組織が天竺編又は平編みである構造体、  
（2）3つの層が積層した構造体であり、表面側の層が編組織であり、裏面側の層が不織布であり、該表面側の層と該裏面側の層との間の中間層が編組織であり、該編組織が天竺編又は平編みであり、該不織布がゼラチン繊維を含む構造体、  
（3）2つの層が積層した構造体であり、表面側の層が編組織であり、裏面側の層が不織布であり、該編組織がリブ編であり、該不織布がゼラチン繊維を含む構造体、  
（4）リブ編からなる編組織の構造体。
- [請求項3] 細胞載置表面の平均空孔径が5～123  $\mu\text{m}$ であり、かつ細胞載置表面のうち150  $\mu\text{m}$ 以上の空孔数が35％以下であり、編組織の空

孔数が600個/mm<sup>3</sup>以上である、請求項1又は2に記載の繊維シート構造体。

[請求項4] 合糸束を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の膨潤率が110～350%である、請求項3に記載の繊維シート構造体。

[請求項5] 合糸束の引張強度が1.0～20.0cN/dtexであり、破断伸度が20～250%である、請求項3に記載の繊維シート構造体。

[請求項6] 繊維シート構造体を50℃のリン酸緩衝生理食塩水に4時間浸漬させた際の重量減少率が3～30%である、請求項3に記載の繊維シート構造体。