

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5582702号
(P5582702)

(45) 発行日 平成26年9月3日 (2014.9.3)

(24) 登録日 平成26年7月25日 (2014.7.25)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 L 27/00 (2006.01)	A 6 1 L 27/00 H
	A 6 1 L 27/00 J
	A 6 1 L 27/00 G

請求項の数 58 (全 35 頁)

(21) 出願番号	特願2008-530197 (P2008-530197)	(73) 特許権者	513002625
(86) (22) 出願日	平成18年9月8日 (2006.9.8)		アグノヴォス ヘルスケア, エルエルシー
(65) 公表番号	特表2009-507575 (P2009-507575A)		アメリカ合衆国, ニューヨーク州 100
(43) 公表日	平成21年2月26日 (2009.2.26)		05, ニューヨーク, ブロードウェイ 1
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/034854		40, 46番 フロア
(87) 国際公開番号	W02007/030616	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開日	平成19年3月15日 (2007.3.15)		弁理士 平木 祐輔
審査請求日	平成21年8月11日 (2009.8.11)	(74) 代理人	100118773
(31) 優先権主張番号	60/715,542		弁理士 藤田 節
(32) 優先日	平成17年9月9日 (2005.9.9)	(74) 代理人	100122389
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 新井 栄一
(31) 優先権主張番号	11/530,085	(74) 代理人	100111741
(32) 優先日	平成18年9月8日 (2006.9.8)		弁理士 田中 夏夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100125508
			弁理士 藤井 愛

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 合成骨移植片代用セメントおよびそれから製造された製品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

水溶液との混合に際して骨移植片代用セメントを形成させるのに適合させた粒子状組成物であって、

i) 粒子状組成物の総重量に基づいて50～90重量%の濃度で存在する硫酸カルシウム半水化物粉末；

ii) リン酸一カルシウム一水和物粉末；ならびに

iii) 20 μm未満の中央粒子径を有するリン酸β-トリカルシウム粉末、を含む、前記組成物。

【請求項 2】

硫酸カルシウム半水化物粉末が、粒子状組成物の総重量に基づいて、少なくとも70重量%の濃度で存在する、請求項 1 に記載の粒子状組成物。

【請求項 3】

硫酸カルシウム半水化物粉末が二峰性粒子分布を有する、請求項 1 または 2 に記載の粒子状組成物。

【請求項 4】

硫酸カルシウム半水化物粉末が5～20 μmの中央粒子径を有する、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 5】

少なくとも75 μmの中央粒子径を有するリン酸β-トリカルシウム顆粒をさらに含む、請

求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 6】

リン酸 β -トリカルシウム顆粒が 75～1,000 μm の中央粒子径を有する、請求項 5 に記載の粒子状組成物。

【請求項 7】

リン酸 β -トリカルシウム顆粒が粒子状組成物の総重量に基づいて最大で 20 重量 % の濃度で存在する、請求項 5 または 6 に記載の粒子状組成物。

【請求項 8】

リン酸 β -トリカルシウム顆粒が粒子状組成物の総重量に基づいて最大で 12 重量 % の濃度で存在する、請求項 7 に記載の粒子状組成物。

10

【請求項 9】

硫酸カルシウム半水化物が硫酸 α -カルシウム半水化物である、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 10】

硫酸カルシウム半水化物粉末が、硫酸カルシウム半水化物粉末の総体積に基づいて、1.0～3.0 μm の最頻値を有する 30～60 体積 % の粒子および 20～30 μm の最頻値を有する 40～70 体積 % の粒子を含む二峰性粒子分布を有する、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 11】

硫酸カルシウム半水化物が少なくとも 75 重量 % の濃度で存在する、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

20

【請求項 12】

リン酸 α -カルシウム一水和物粉末とリン酸 β -トリカルシウム粉末の混合濃度が、粒子状組成物の総重量に基づいて、3～30 重量 % である、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 13】

リン酸 β -トリカルシウム粉末が、リン酸 β -トリカルシウム粉末の総体積に基づいて、2.0～6.0 μm の最頻値を有する 30～70 体積 % の粒子および 40～70 μm の最頻値を有する 30～70 体積 % の粒子を含む二峰性粒子径分布を有する、請求項 1～12 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

30

【請求項 14】

リン酸 β -トリカルシウム粉末が、リン酸 β -トリカルシウム粉末の総体積に基づいて、4.0～5.5 μm の最頻値を有する 50～65 体積 % の粒子および 60～70 μm の最頻値を有する 35～50 体積 % の粒子を含む二峰性粒子径分布を有する、請求項 13 に記載の粒子状組成物。

【請求項 15】

硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤をさらに含む、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 16】

前記反応促進剤が、硫酸カルシウム二水和物粒子、硫酸カリウム粒子、および硫酸ナトリウム粒子からなる群より選択され、必要に応じてスクロースで被覆されたものである、請求項 15 に記載の粒子状組成物。

40

【請求項 17】

前記反応促進剤が、粒子状組成物の総重量に基づいて、最大で 1 重量 % の濃度で存在する、請求項 15 または 16 に記載の粒子状組成物。

【請求項 18】

粒子状組成物が、水溶液との混合の際に 3～25 分で硬化した塊に固化する、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物。

【請求項 19】

i) 粒子状組成物の総重量に基づいて、少なくとも 75 重量 % の濃度で存在する、二峰性粒子分布および 5～20 μm の中央粒子径を有する硫酸カルシウム半水化物粉末；

50

ii)リン酸一カルシウム一水和物粉末；
 iii)20 μ m未満の中央粒子径を有するリン酸 β -トリカルシウム粉末；
 iv)少なくとも75 μ mの中央粒子径を有し、粒子状組成物の総重量に基づいて、最大で20重量%の濃度で存在するリン酸 β -トリカルシウム顆粒；ならびに
 v)粒子状組成物の総重量に基づいて、最大で1重量%の濃度で存在する、硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤、
を含み、前記ii)のリン酸一カルシウム一水和物粉末と前記iii)のリン酸 β -トリカルシウム粉末が、粒子状組成物の総重量に基づいて、合わせて3～30重量%の濃度で存在する、
 請求項1に記載の粒子状組成物。

【請求項20】

10

i)硫酸カルシウム半水化物粉末が粒子状組成物の総重量に基づいて少なくとも75重量%の濃度で存在し、硫酸カルシウム半水化物粉末が、硫酸カルシウム半水化物粉末の総体積に基づいて1.0～3.0 μ mの最頻値を有する30～60体積%の粒子および20～30 μ mの最頻値を有する40～70体積%の粒子を含む二峰性粒子分布を有する、二峰性粒子分布および5～20 μ mの中央粒子径を有する硫酸 α -カルシウム半水化物粉末；

ii)リン酸一カルシウム一水和物粉末；

iii)20 μ m未満の中央粒子径を有するリン酸 β -トリカルシウム粉末、粒子状組成物の総重量に基づいて10～20重量%の混合濃度で存在するリン酸一カルシウム一水和物粉末およびリン酸 β -トリカルシウム粉末；

iv)100～400 μ mの中央粒子径を有し、粒子状組成物の総重量に基づいて最大で12重量%の濃度で存在するリン酸 β -トリカルシウム顆粒；ならびに

20

v)粒子状組成物の総重量に基づいて最大で1重量%の濃度で存在する、硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤、
 を含む、請求項1に記載の粒子状組成物。

【請求項21】

生物活性物質をさらに含む、請求項1、19および20のいずれか1項に記載の粒子状組成物。

【請求項22】

生物活性物質が、海綿状骨チップ、増殖因子、抗生物質、殺虫剤、化学療法剤、抗ウイルス剤、鎮痛剤、および抗炎症剤からなる群より選択される、請求項21に記載の粒子状組成物。

30

【請求項23】

生物活性物質が骨形成誘導性材料である、請求項21に記載の粒子状組成物。

【請求項24】

骨形成誘導性材料が脱塩された骨マトリックスである、請求項23に記載の粒子状組成物。

【請求項25】

生物活性物質が、線維芽細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、骨形態形成タンパク質、骨形成タンパク質、トランスフォーミング増殖因子、LIM石灰化タンパク質、類骨誘導因子、アンギオジェニン、エンドセリン；増殖分化因子、ADMP-1、エンドセリン、肝細胞増殖因子およびケラチノサイト増殖因子、ヘパリン結合増殖因子、ヘッジホッグタンパク質、インターロイキン、コロニー刺激因子、上皮増殖因子、インスリン様増殖因子、サイトカイン、オステオポンチン、およびオステオネクチンからなる群より選択される増殖因子である、請求項21に記載の粒子状組成物。

40

【請求項26】

請求項1、19、および20のいずれか1項に記載の粒子状組成物を、水溶液と混合することにより形成された、硫酸カルシウム二水和物とブラッシャイトを含む反応生成物を含む骨移植片代用セメント。

【請求項27】

少なくとも75 μ mの中央粒子径を有するリン酸 β -トリカルシウム顆粒をさらに含む、請

50

求項 2 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 2 8】

前記セメントが所定の形状に成形される、請求項 2 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 2 9】

前記の所定の形状が、ペレット、顆粒、くさび、ブロック、およびディスクからなる群より選択される、請求項 2 8 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 0】

前記セメントが、粒子状組成物と水溶液との混合後、周囲空気中で1時間硬化させた後、少なくとも4 MPaの直径張力強度を示す、請求項 2 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 1】

前記セメントが、周囲空気中で1時間硬化させた後、少なくとも6 MPaの直径張力強度を示す、請求項 3 0 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 2】

前記セメントが、粒子状組成物と水溶液との混合後、周囲空気中で24時間硬化させた後、少なくとも8 MPaの直径張力強度を示す、請求項 2 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 3】

前記セメントが、周囲空気中で24時間硬化させた後、少なくとも10 MPaの直径張力強度を示す、請求項 3 2 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 4】

前記セメントが、1日あたりに失われる重量の平均割合(%)として表され、37℃で蒸留水中に3.3 mmの長さを有する4.8 mmのODペレットを浸すことにより測定される、硫酸カルシウムからなる粒子状組成物を用いて形成されるセメントの平均分解速度よりも少なくとも25%低い平均分解速度を示す、請求項 2 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 5】

前記セメントが、硫酸カルシウムのみからなる粒子状組成物を用いて形成されるセメントよりも少なくとも30%低い平均分解速度を示す、請求項 3 4 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 6】

前記水溶液がカルボン酸を含む、請求項 2 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 7】

カルボン酸がヒドロキシカルボン酸である、請求項 3 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 8】

ヒドロキシカルボン酸がグリコール酸である、請求項 3 7 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 3 9】

カルボン酸を6.5~7.5のpHに中和する、請求項 3 6 に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項 4 0】

請求項 1、1 9、および 2 0 のいずれか 1 項に記載の粒子状組成物を封入する1個以上の容器、滅菌水溶液を封入する別の容器、ならびにキットの使用方法を記載する説明書セットを含む、骨移植片代用キット。

【請求項 4 1】

粒子状組成物を水溶液と混合するために適合させた混合装置をさらに含む、請求項 4 0 に記載の骨移植片代用キット。

【請求項 4 2】

骨移植片代用セメントを骨欠損の部位に送達するために適合させた送達デバイスをさらに含む、請求項 4 0 に記載の骨移植片代用キット。

【請求項 4 3】

- i) リン酸一カルシウム一水和物粉末を封入する第1の容器；
- ii) 20 μm未満の中央粒子径を有するリン酸β-トリカルシウム粉末を封入する第2の容器；

10

20

30

40

50

iii)別の容器内に封入されるか、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末およびリン酸β-トリカルシウム粉末の一方もしくは両方と混合された、粒子状組成物の総重量に基づいて50～90重量%の濃度で存在する硫酸カルシウム半水化物粉末；

iv)別の容器内に封入された水溶液；ならびに、

v)水溶液内に溶解されるか、または結晶性粉末の形態で存在するカルボン酸であって、カルボン酸を水溶液に溶解する場合、それを水溶液の照射滅菌後に該溶液に添加するという前提で、カルボン酸結晶粉末を別の容器内に封入するか、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸β-トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末のいずれか1種以上と混合する、前記カルボン酸、を含む、請求項40に記載の骨移植片代用キット。

10

【請求項44】

前記キットが、γ線への曝露により滅菌される、請求項43に記載の骨移植片代用キット。

【請求項45】

カルボン酸が、グリコール酸ナトリウム、グリコール酸カリウム、乳酸ナトリウム、および乳酸カリウムからなる群より選択される中和された塩の形態にある、請求項43に記載の骨移植片代用キット。

【請求項46】

カルボン酸結晶粉末が、水溶液をリン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸β-トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末の1種以上と混合する前に、該水溶液と混合することにより再構成することができるよう、別の容器内に封入される、請求項43に記載の骨移植片代用キット。

20

【請求項47】

硫酸カルシウム半水化物粉末が、混合物中、硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤をさらに含む、請求項43に記載の骨移植片代用キット。

【請求項48】

反応促進剤が、硫酸カルシウム二水和物粒子、硫酸カリウム粒子、および硫酸ナトリウム粒子からなる群より選択され、必要に応じてスクロースで被覆されたものである、請求項47に記載の骨移植片代用キット。

30

【請求項49】

別の容器中、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸β-トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末の1種以上との混合物中に少なくとも75μmの中央粒子径を有するリン酸β-トリカルシウム顆粒をさらに含む、請求項43に記載の骨移植片代用キット。

【請求項50】

別の容器内に封入されるか、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸β-トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末の1種以上と混合された生物活性物質をさらに含む、請求項43に記載の骨移植片代用キット。

【請求項51】

生物活性物質が、海綿状骨チップ、増殖因子、抗生物質、殺虫剤、化学療法剤、抗ウイルス剤、鎮痛剤、および抗炎症剤からなる群より選択される、請求項50に記載の骨移植片代用キット。

40

【請求項52】

i)リン酸一カルシウム一水和物粉末を封入する第1の容器；
ii)20μm未満の中央粒子径を有するリン酸β-トリカルシウム粉末を封入する第2の容器；
iii)二峰性粒子分布および5～20μmの中央粒子径を有する、別の容器内に封入されるか、または第2の容器中のリン酸β-トリカルシウム粉末と混合された硫酸α-カルシウム半水化物；
iv)別の容器内に封入された水溶液；

50

v)結晶粉末の形態のカルボン酸であって、カルボン酸結晶粉末が別の容器内に封入され、カルボン酸が中和したアルカリ金属塩の形態にある、前記カルボン酸；
vi)硫酸 α -カルシウム半水化物粉末との混合物中での硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤；ならびに
vii)少なくとも75 μ mの中央粒子径を有する、別の容器中またはリン酸 β -トリカルシウム粉末および硫酸カルシウム半水化物粉末の一方もしくは両方との混合物中のリン酸 β -トリカルシウム顆粒、
を含む、請求項40に記載の骨移植片代用キット。

【請求項53】

骨欠損の部位に適用することにより骨欠損を治療するための、請求項26～39のいずれか1項に記載の骨移植片代用セメント。

【請求項54】

水とカルボン酸の存在下で反応してブラッシャイトを形成するリン酸カルシウム粉末を含む粒子状組成物と、それと混合して骨移植片代用セメントを形成させるのに適合させた水溶液とを含むキットの保存安定性を改善するための方法であって、

i)キット中の別々の容器中にリン酸一カルシウム一水和物粉末とリン酸 β -トリカルシウム粉末を包装すること；および

ii)硫酸カルシウム半水化物粉末を、キット中のさらに別の容器に包装するか、あるいはリン酸一カルシウム一水和物粉末とリン酸 β -トリカルシウム粉末の一方または両方と混合すること

を含み、硫酸カルシウム半水化物粉末が、粒子状組成物の総重量に基づいて50～90重量%の量で存在する、前記方法。

【請求項55】

カルボン酸が、グリコール酸ナトリウム、グリコール酸カリウム、乳酸ナトリウム、および乳酸カリウムからなる群より選択される中和した塩の形態にある、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

滅菌のためにキットの成分に γ 線を照射することをさらに含む、請求項54または55に記載の方法。

【請求項57】

キットが水溶液とは別の容器に包装されたカルボン酸結晶粉末を含む、請求項54～56のいずれか1項に記載の方法。

【請求項58】

カルボン酸結晶粉末を、リン酸一カルシウム一水和物粉末を含む容器またはリン酸 β -トリカルシウム粉末を含む容器中に包装する、請求項54～56のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、水溶液との混合に際して骨移植片代用セメントを形成させるために適合した粒子状組成物、それから作製された骨移植片代用セメント、該粒子状組成物を含む骨移植片代用物キット、該粒子状組成物を作製および使用する方法、ならびに該骨移植片代用セメントから作製された製品に関する。

【背景技術】

【0002】

骨構造における欠損は、外傷、疾患、および外科手術などの様々な環境において生じる。顎顔面-頭蓋顔面外科学、歯周療法学、および整形外科学などの様々な外科分野において、骨欠損の効率的な修復の必要性が存在する。骨欠損の部位での治癒を刺激するために、多くの天然および合成の材料および組成物が用いられてきた。他の型の組織を修復するのに用いられる組成物に関しては、骨修復材料の生物学的および機械的特性が、任意の特

10

20

30

40

50

定の適用における前記材料の有効性および好適性の決定において重要である。

【0003】

血液の後、骨は二番目に最も一般的な移植材料である。自己海綿質骨は、それが骨誘導性かつ非免疫原性であるため、最も有効な骨修復材料であると長く考えられてきた。しかしながら、十分な量の自己海綿質骨はあらゆる環境下で入手可能であるわけではなく、ドナー部位の病的状態および外傷がこの手法にとって重大な欠点である。同種移植骨の使用により、患者において第2の手術部位を作製する問題は回避されるが、自分自身のいくつかの欠点に苦しむ。例えば、典型的には、同種移植骨は自家移植骨よりも骨形成能が低く、より高い吸収率は骨欠損の部位での少ない再血管新生を作り、典型的には、より高い免疫原性応答をもたらす。特定の疾患の運搬も同種移植片を用いる場合には危険である。

10

【0004】

自家移植骨および同種移植骨に関連する問題を回避するために、天然の骨の代わりに用いることができる合成骨代用材料の領域でかなりの研究が行われてきた。例えば、脱塩骨マトリックス、リン酸カルシウム、および硫酸カルシウムを含む種々の組成物および材料が提唱された。

【0005】

硫酸カルシウムを含むセメントは、骨移植片代用物としての使用の長い歴史を有する。現代の外科等級の硫酸カルシウムセメントは、高い初期強度、良好な取り扱い特性を提供し、多くの用途において骨により一貫して置換される。しかしながら、硫酸カルシウムセメントは、身体による比較的迅速な吸収を特徴とし、特定の用途においては望ましくない

20

【0006】

ヒドロキシアパタイトは、骨移植片材料において最も一般的に用いられるリン酸カルシウムの1つである。その構造は、骨の鉱物相と類似し、優れた生体適合性を示す。しかしながら、ヒドロキシアパタイトは、極端に遅い吸収速度を有し、特定の用途においては望ましくない場合がある。ヒドロキシアパタイトよりも速い吸収速度を示すが、機械的強度が低い、他のリン酸カルシウム材料、例えば、リン酸 β -トリカルシウムなども当業界で用いられてきた。水溶液と混合した場合に反応してヒドロキシアパタイトを形成する、リン酸四カルシウムとリン酸ジカルシウム無水物もしくは二水和物の混合物などのin situで固化する特定のリン酸カルシウム材料も試みられた。

30

【0007】

現在利用可能な合成骨修復材料は、あらゆる骨移植適用にとって理想的な機能特性を提供しない。上述のように、いくつかの組成物は、遅すぎるか、または速すぎる吸収速度を示す。さらに、多くの骨移植片セメントは、固化するのに失敗するか、または注入することができないため、埋め込むのが難しい。他の欠点は、不十分な強度および制御された放出のための生物活性物質を添加するのが難しいことである。これらの理由から、所望の吸収速度と、高い機械的強度、取り扱いの容易性、および骨誘導性とを併せ持つ骨移植片セメント組成物の必要性が当業界に依然として存在する。

【発明の開示】

【0008】

本発明は、水溶液との混合に際して骨移植片代用セメントを形成させるのに適合した粒子状組成物、ならびにそれから作製された硬化骨移植片代用セメントを提供する。本発明はまた、該粒子状組成物を含むキット、ならびに該組成物を作製し、使用方法に関する。本発明の粒子状組成物は、硫酸カルシウム半水化物粉末と、ブラッシャイト(brushite)形成リン酸カルシウム混合物とを含む。前記粒子状組成物と水性混合溶液との混合に際して、ブラッシャイトおよび硫酸カルシウム二水和物を含む硬化二相セメントが形成される。硫酸カルシウム二水和物は、良好な機械的強度を提供し、その比較的速い吸収速度のため、得られるセメント中で骨組織と迅速に置換されるが、ブラッシャイトは、硫酸カルシウム二水和物のみを含むセメント組成物と比較して、該セメントの全体の吸収速度を低下させるのに役立つ。本発明の骨代用セメントの特定の実施形態は、高い圧縮強度および

40

50

直径張力強度などの高い機械的強度を示し、合理的な時間内に硬化した組成物中で固化し、骨欠損の部位での高い品質の骨の発達を容易にし、許容可能な取り扱い特性を示す。

【0009】

一態様においては、本発明は、並数(bimodal)粒子分布および約5～約20 μm の中央粒子径を有する硫酸カルシウム半水化物粉末と、ブラッシャイト形成リン酸カルシウム組成物との混合物を含む粒子状組成物を提供する。ブラッシャイト形成リン酸カルシウム混合物は、リン酸一カルシウム一水和物粉末およびリン酸 β -トリカルシウム粉末を含む。リン酸 β -トリカルシウム粉末は、約20 μm 未満の中央粒子径を有する。硫酸カルシウム半水化物粉末は、粒子状組成物の総重量に基づいて、少なくとも約50重量%、より好ましくは、少なくとも約70重量%、および最も好ましくは、少なくとも約75重量%の濃度で存在する。ブラッシャイト形成リン酸カルシウム組成物は、典型的には、粒子状組成物の総重量に基づいて、約3～約30重量%の濃度で存在する。

10

【0010】

粒子状組成物のリン酸 β -トリカルシウム粉末部分は、リン酸 β -トリカルシウム粉末の総体積に基づいて、約2.0～約6.0 μm の最頻値を有する約30～約70体積%の粒子および約40～約70 μm の最頻値を有する約30～約70体積%の粒子を特徴とする並数粒子径分布を有するのが好ましい。別の実施形態においては、並数粒子径分布は、リン酸 β -トリカルシウム粉末の総体積に基づいて、約4.0～約5.5 μm の最頻値を有する約50～約65体積%の粒子および約60～約70 μm の最頻値を有する約35～約50体積%の粒子を含む。

20

【0011】

粒子状組成物の硫酸カルシウム半水化物部分は、好ましくは、硫酸 α -カルシウム半水化物を含み、並数粒子分布は、好ましくは、硫酸カルシウム半水化物粉末の総体積に基づいて、約1.0～約3.0 μm の最頻値を有する約30～約60体積%の粒子、および約20～約30 μm の最頻値を有する約40～約70体積%の粒子を含む。

【0012】

粒子状組成物混合物はさらに、約75～約1,000 μm などの、少なくとも約75 μm の中央粒子径を有するリン酸 β -トリカルシウム顆粒を含んでもよい。リン酸 β -トリカルシウム顆粒は、典型的には、粒子状組成物の総重量に基づいて、最大約20重量%の濃度、より好ましくは、最大約12重量%の濃度で存在する。

30

【0013】

粒子状組成物は、硫酸カルシウム半水化物から硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤などのさらなる添加物を含んでもよい。そのような反応促進剤の例は、スクロースによりコーティングされた硫酸カルシウム二水和物粒子である。さらに、前記組成物は、海綿骨チップ、増殖因子、抗生物質、殺虫剤、化学療法剤、抗ウイルス剤、鎮痛剤、抗炎症剤、および骨形成誘導(osteoinductive)材料または骨誘導(osteconductive)材料などの生物活性物質を含んでもよい。

【0014】

一実施形態においては、本発明の粒子状組成物は、水溶液との混合に際して、約3～約25分で硬化した塊に固化する。かくして、本発明の別の態様においては、本発明の粒子状組成物と、水溶液とを混合することにより形成されたペーストを含む、骨移植片代用セメントが提供される。骨移植片代用セメントは、リン酸 β -トリカルシウム顆粒(存在する場合)と、本発明の粒子状組成物を水溶液と混合することにより形成される、硫酸カルシウム二水和物とブラッシャイトを含む反応生成物とを含んでもよい。骨移植片代用セメントを、適用の時点で所望の形状に成型された、ペレット、顆粒、くさび、ブロック、およびディスクなどの所定の形状に成形するか、または単に注入するか、またはさもなければ予備成型もしくは形状化を用いずに骨欠損の部位に送達することができる。また、本発明のセメントを、典型的には、外側コーティングの形態で、または埋め込まれたデバイスの領域中での骨成長を容易にするためのそのようなデバイスの多孔性の外側層における充填材料として適用される、任意の様々な整形外科用埋め込みデバイスに組み入れることができる。

40

50

【0015】

硬化した骨移植片代用セメントは、好ましくは、粒子状組成物と水溶液との混合後に外気(周囲空気)中で1時間硬化させた後、少なくとも約4 MPaの直径張力強度、より好ましくは、少なくとも約5 MPaの直径張力強度、最も好ましくは、少なくとも約6 MPaの直径張力強度などの特定の機械的強度特性を示す。さらに、骨移植片代用セメントの好ましい実施形態は、粒子状組成物と水溶液との混合後に外気中で24時間硬化させた後、少なくとも約8 MPaの直径張力強度、より好ましくは、24時間硬化させた後、少なくとも約9 MPaの直径張力強度、最も好ましくは、少なくとも約10 MPaの直径張力強度を示す。

【0016】

骨移植片代用セメントの好ましい実施形態はまた、粒子状組成物を水溶液と混合した後、外気中で1時間硬化させた後、少なくとも約15 MPaの圧縮強度、より好ましくは、少なくとも約40 MPaの圧縮強度などの高レベルの圧縮強度を示す。さらに、骨移植片代用セメントの好ましい実施形態は、粒子状組成物を水溶液と混合した後、外気中で24時間硬化させた後、少なくとも約50 MPaの圧縮強度、より好ましくは、少なくとも約80 MPaの圧縮強度を示すであろう。

10

【0017】

骨移植片代用セメントの好ましい実施形態はまた、1日あたりに失われる重量の平均割合(%)として表され、37℃で蒸留水中に3.3 mmの長さを有する4.8 mmのODペレットを浸すことにより測定される、硫酸カルシウムからなる粒子状組成物を用いて形成されるセメントの平均分解速度よりも少なくとも約25%低い平均分解速度を示す。より好ましくは、平均分解速度は、少なくとも約30%低いか、または少なくとも約35%低い。

20

【0018】

さらに別の態様においては、本発明は、本発明に従う粒子状組成物を同封する少なくとも1個の容器、滅菌水溶液を同封する別の容器、およびキットを使用する方法を記載する説明書セットを含む、骨移植片代用キットを提供する。骨移植片代用キットはさらに、水溶液を粒子状組成物と混合するための混合器具、および骨欠損の部位に骨移植片代用セメントを送達するための装置、例えば、注入装置(例えば、シリンジ)を含んでもよい。

【0019】

本発明のさらなる態様においては、骨欠損を治療するための方法が提供される。この方法は、上記の骨移植片代用セメントを骨欠損の部位に適用することを含む。上述のように、骨移植片代用セメントを、骨欠損の大きさおよび形状に基づいて、投与直前に所望の形状に成型された、プレキャスト成型された形態で投与するか、または注入装置もしくは予備成型せずに骨欠損に直接的に組成物を送達するための他の手段を用いて投与することができる。

30

【0020】

本発明のさらなる態様においては、本発明の粒子状組成物を形成させる方法が提供される。この方法は、典型的には、均一な混合物を形成するために、粒子状組成物の各粉末または顆粒成分を混合またはブレンドすることを含む。かくして、一実施形態においては、粒子状組成物を形成させる方法は、リン酸 β -トリカルシウム粉末、硫酸カルシウム半水化物粉末(必要に応じて、上述の反応促進剤の添加により加速することができる)、リン酸一カルシウム一水和物粉末、およびリン酸 β -トリカルシウム顆粒(存在する場合)を混合することを含む。種々の粉末または顆粒状成分の混合は、好ましくは、粒子状組成物を水溶液と混合する直前に行うのが好ましい。

40

【0021】

固化セメントを形成させるために粒子状組成物と混合した水溶液は、滅菌水を含むのが好ましく、その中に少なくとも1種のカルボン酸を含んでもよい。例えば、カルボン酸は、グリコール酸または他のヒドロキシカルボン酸であってよい。好ましくは、この酸を、約6.5~7.5の中性pHに中和する。

【0022】

本発明の別の態様においては、本発明の骨移植片代用組成物の成分の保存安定性を増強

50

するための方法、組成物、およびキットが提供される。一実施形態においては、ブラッシャイト形成リン酸カルシウム材料(すなわち、リン酸 β -トリカルシウム粉末およびリン酸一カルシウム一水和物粉末)を、骨移植片代用セメントの調製の前に別々に保存する(例えば、キット中の別々の容器中に入れる)か、または2つのリン酸カルシウム化合物の反応を防止するために完全に乾燥した環境中で密封包装する。別の実施形態においては、水性混合溶液と関連して上記で考察された有機カルボン酸成分を、溶液中よりもむしろキットの残存する粒子状成分を含む結晶粉末(例えば、アルカリ金属塩などの中和した塩の形態)として包装する。粉末形態で酸成分を用いることにより、本発明の骨移植片代用セメントの固化時間の望ましくない増加をもたらす得る、 γ 照射を用いる前記組成物の滅菌の際の酸の分解が回避される。

10

【0023】

かくして、一実施形態においては、本発明は、粒子状組成物と、混合に際して骨移植片代用セメントを形成させるために適合させた水溶液とを含み、水およびカルボン酸の存在下でブラッシャイトを形成するように反応するリン酸カルシウム粉末を含むキットの保存安定性を改善するための方法であって、i)キット中の別々の容器中にリン酸一カルシウム一水和物粉末とリン酸 β -トリカルシウム粉末とを包装すること；およびii)結晶粉末の形態で、またはカルボン酸を水溶液中に溶解する場合、それを水溶液の照射滅菌後に該溶液に添加するという条件で、水溶液中に溶解して、キット中にカルボン酸を包装することを含む前記方法を提供する。このキットはさらに、硫酸カルシウム半水化物粉末を含み、前記方法はさらに、別々の容器中に、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末およびリン酸 β -トリカルシウム粉末の一方もしくは両方と混合して、硫酸カルシウム半水化物粉末を包装することを含んでもよい。前記方法は、典型的には、滅菌のための γ 照射を用いて、キットの成分を照射することをさらに含むであろう。

20

【0024】

カルボン酸粉末として用いることができるカルボン酸の中和された塩の例としては、グリコール酸ナトリウム、グリコール酸カリウム、乳酸ナトリウム、および乳酸カリウムが挙げられる。カルボン酸結晶粉末を、典型的には、容器中に別々に包装するか、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末を含む容器中、もしくはリン酸 β -トリカルシウム粉末を含む容器中に包装する。

【0025】

本発明の別の実施形態においては、i)リン酸一カルシウム一水和物粉末を同封する第1の容器；ii)リン酸 β -トリカルシウム粉末を同封する第2の容器；iii)別々の容器内に同封されたか、もしくはリン酸一カルシウム一水和物粉末およびリン酸 β -トリカルシウム粉末の一方もしくは両方と混合した硫酸カルシウム半水化物；iv)別々の容器内に同封された水溶液；ならびにv)該水溶液内に溶解したか、またはカルボン酸を水溶液に溶解する場合、それを水溶液の照射滅菌後に該溶液に添加するという条件で、別々の容器内に同封されるか、もしくはリン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸 β -トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末のいずれか1種以上と混合された、結晶粉末の形態で存在するカルボン酸を含む骨移植片代用キットを提供する。特定の実施形態においては、水溶液と、リン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸 β -トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末の1種以上とを混合する前に該水溶液を混合することにより、カルボン酸結晶粉末を再構成することができるように、カルボン酸結晶粉末を別々の容器内に同封する。

30

40

【0026】

硫酸カルシウム半水化物粉末は、混合物中、硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤をさらに含んでもよい。さらに、前記キットは、別々の容器中に、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末、リン酸 β -トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末のうちの1種以上との混合物中に、リン酸 β -トリカルシウム顆粒をさらに含んでもよい。生物活性物質を、前記キット中に含有させ、別々の容器内に同封するか、またはリン酸一カルシウム一水和物粉末、リ

50

ン酸 β -トリカルシウム粉末、および硫酸カルシウム半水化物粉末のいずれか1種以上と混合することもできる。

【0027】

さらに別の実施形態においては、i)リン酸一カルシウム一水和物粉末を同封する第1の容器；ii)約20 μm 未満の中央粒子径を有するリン酸 β -トリカルシウム粉末を同封する第2の容器；iii)別々の容器内に同封されたか、または第2の容器中のリン酸 β -トリカルシウム粉末と混合された硫酸 α -カルシウム半水化物粉末であって、並数粒子分布および約5～約20 μm の中央粒子径を有する前記粉末；iv)別々の容器内に同封された水溶液；v)別々の容器内に同封され、中和されたアルカリ金属塩の形態にある、結晶粉末の形態にあるカルボン酸；vi)硫酸 α -カルシウム半水化物粉末との混合物中での硫酸カルシウム半水化物の硫酸カルシウム二水和物への変換を加速するために適合させた反応促進剤；ならびにvii)別々の容器中、またはリン酸 β -トリカルシウム粉末および硫酸カルシウム半水化物粉末の一方もしくは両方との混合物中のリン酸 β -トリカルシウム顆粒であって、少なくとも約75 μm の中央粒子径を有する前記顆粒を含む、骨移植片代用キットが提供される。

10

【0028】

図面の簡単な説明

かくして、一般的な用語で本発明を説明してきたが、ここで、添付の図面を参照する(図面の簡単な説明については別節を参照)。

【発明を実施するための最良の形態】

【0029】

20

ここで、本発明を添付の図面を参照してより完全に説明する。本発明を多くの異なる形態で具体化することができるが、本明細書に記載される実施形態に限定されるものとして解釈されるべきではなく、むしろ、これらの実施形態は、この開示が適用可能な合法的要件を満足するように提供される。本明細書および特許請求の範囲で用いられる、単数形の「a」、「an」および「the」は、本文が明確に指摘しない限り、複数の指示対象を含む。

【0030】

本発明は、水溶液との混合に際して硬化するか、または固化する骨移植片代用セメントとして有用な粒子状組成物を提供する。粒子状組成物は、硫酸カルシウム半水化物(以後「CSH」と呼ぶ)粉末ならびにリン酸一カルシウム一水和物(以後「MCPM」と呼ぶ)粉末およびリン酸 β -トリカルシウム(以後「 β -TCP」と呼ぶ)粉末を含むブラッシャイト形成リン酸カルシウム混合物を含む。

30

【0031】

本発明の粒子状組成物の使用は、CSHと水との反応の生成物である、硫酸カルシウム二水和物(以後「CSD」と呼ぶ)を含む骨移植片代用セメントをもたらす。該セメントのCSD成分は、該セメントに良好な機械的強度を与え、骨成長を刺激し、セメント中の多孔性構造が埋め込みの際に迅速に作製されるように、in vivoでの比較的速い吸収速度を提供する。かくして、前記セメントのCSD成分は、埋め込まれた部位で骨組織成長と迅速に置換され得る。

【0032】

2つのリン酸カルシウム成分が反応して、水溶液との混合に際してブラッシャイトを形成する。セメント中のブラッシャイトの存在により、CSDのみを含むセメントと比較して、骨移植片代用セメントの吸収速度が遅延する。かくして、本発明の二層骨移植片代用セメントは、CSDセメントとブラッシャイト成分により定義される二重の吸収速度を提供する。

40

【0033】

より遅い吸収速度に加えて、本発明の粒子状組成物の実施形態は、高い機械的強度、良好な取り扱い特性、および合理的な固化時間を示す骨移植片代用セメントを提供することができる。さらに、本発明の骨移植片代用セメントの特定の実施形態は、骨欠損を治療するのに用いる場合、高い品質の骨を産生することができる。

【0034】

50

本発明において用いられるCSH粉末は、並数粒子分布を有するのが好ましい。当業界で理解されるように、並数粒子分布とは、粒子径对各サイズの粒子の体積%のプロットにおける2つのピークを特徴とする粒子分布を指す。図1は、並数粒子径分布プロットの例を示す。好ましい実施形態においては、CSH粉末の並数粒子分布は、CSH粉末の総体積に基づいて、約1.0～約3.0 μm の最頻値を有する約30～約60体積%の粒子および約20～約30 μm の最頻値を有する約40～約70体積%の粒子を特徴とする。さらに別の実施形態においては、前記並数粒子分布は、約1.0～約2.0 μm の最頻値を有する約40～約60体積%の粒子および約20～約25 μm の最頻値を有する約40～約60体積%の粒子を含む。CSH粉末の中央粒子径は、好ましくは、約5～約20 μm 、より好ましくは、約8～約15 μm 、および最も好ましくは、約10～約15 μm である。

10

【0035】

本明細書で用いられる「中央粒子径」とは、集団中の粒子の体積の半分が、中央径の上であり、半分が下であるような、粒子の集団を半分に分割する粒子径を指す。中央粒子径を、高分解能レーザー回折法を介して獲得されたデータの線形補間を用いて測定する。より具体的には、レーザー回折法を、632.8 nmの一定周波数を有し、5ミリワットの出力を示す平行光を用いて実施する。レーザー回折の測定値を、32チャンネルの検出器配列を介して獲得する。測定系への粒子送達を、-3.5バールのゲージ圧を作る気流などの最適な分散媒体を用いる比較的一定な質量流量を介して実施する。レーザー回折粒子分析のための市販の機械は、OASIS(Sympatec; Clausthal-Zellerfeld, Germany)分散ユニットである。OASIS系を、VIBRIモデルHDD200およびRODOS Mを介して乾燥モードで用いる。VIBRIモデルを、75%の供給速度および3.0 mmのギャップで用いる。-3.5バールのゲージ圧を、4 mmのインジェクターを介して作製する。硫酸カルシウム半水化物の粒子径を測定するためには、R2レンズ(0.25/0.45.....87.5 μm)が好ましく、リン酸トリカルシウム成分のためには、R4レンズ(0.5/1.8.....350 μm)が好ましい(両方ともSympatec社製)。

20

【0036】

本発明における粒子状組成物は、好ましくは、粒子状組成物の総重量に基づいて、少なくとも約50重量%、より好ましくは、少なくとも約70重量%、および最も好ましくは、少なくとも約75重量%の量のCSH粉末を含む。特定の実施形態においては、CSH粉末は、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、または少なくとも約90重量%の量で存在する。典型的には、CSH粉末は、約70重量%～約99重量%、より好ましくは、約70重量%～約90重量%の量で存在する。

30

【0037】

CSHは、好ましくは、CSDを形成させるための固定に際して、 β 形態と比較してより高い機械的強度を示す、硫酸 α -カルシウム半水化物である。前記粒子状組成物のCSH部分は、得られる骨移植片代用セメントへの機械的強度の提供、ならびに比較的短時間で固化もしくは硬化する能力への寄与にとって重要である。当業界で公知のように、CSHは式 $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ を有し、水と反応して硫酸カルシウム二水和物($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)を形成するであろう。本発明の骨移植片代用セメント中でのCSDの存在は、骨欠損の部位での骨組織の迅速な再生に寄与すると考えられる。

【0038】

40

CSH粉末を、加熱による二水和物の脱水により形成させることができる。加熱方法に依存して、 α または β 形態が得られる。この2つの形態は、結晶学的および粒子形態学的差異を示す。より高い密度を有する、好ましい α 形態は、典型的には、コンパクトであり、鋭い端部を有するよく形成された、大きく六角形の棒状一次結晶を特徴とする。

【0039】

好ましい実施形態においては、CSH粉末を、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるものとする米国特許第2,616,789号に開示されたプロセスにより作製する。このプロセスは、硫酸カルシウム二水和物を、水および無機塩の溶液中に浸すことを含む。好ましい塩としては、塩化マグネシウム、塩化カルシウム、および塩化ナトリウムが挙げられる。しかしながら、塩化アンモニウム、臭化アンモニウム、ヨウ化アンモニウム、硝酸ア

50

ンモニウム、硫酸アンモニウム、臭化カルシウム、ヨウ化カルシウム、硝酸カルシウム、臭化マグネシウム、ヨウ化マグネシウム、硝酸マグネシウム、臭化ナトリウム、ヨウ化ナトリウム、硝酸ナトリウム、塩化カリウム、臭化カリウム、ヨウ化カリウム、硝酸カリウム、塩化セシウム、硝酸セシウム、硫酸セシウム、塩化亜鉛、臭化亜鉛、ヨウ化亜鉛、硝酸亜鉛、硫酸亜鉛、塩化第2銅、臭化第2銅、硝酸第2銅、硫酸第2銅、およびその混合物などの他の無機塩を、本発明を逸脱することなく用いることができる。好ましい塩は生体適合性のものであり、任意の塩を、その無水または水和物形態で用いることができる。塩に対する参照は、無水および水和物形態の両方を包含すると意図される。硫酸カルシウム二水和物およびその溶液を、硫酸カルシウム二水和物の実質的な部分がCSHに変換されるまで、大気圧で実質的に沸点まで加熱する。得られるCSHは、他の熱水プロセスにより製造されたCSHとは異なる結晶構造を有し、粉碎後により低い水を担持する能力を有する。特に、この方法に従って作製されたCSHの結晶構造は、厚く、ずんぐりした、棒状の結晶を特徴とする。

10

【0040】

一実施形態においては、CSH粉末は、CSHの二水和物形態への変換を加速することによって、それから作製された骨移植片代用セメントのより迅速な固化を引き起こすことができる反応促進剤をさらに含む。操作の理論により束縛されることを望むものではないが、反応促進剤粒子は、CSHの硫酸カルシウム二水和物への変換のための結晶核生成部位として働くと考えられる。反応促進剤の例としては、硫酸カルシウム二水和物、硫酸カリウム、硫酸ナトリウム、または他のイオン性塩が挙げられる。好ましい反応促進剤は、スクロース(VWR Scientific Productsから入手可能)でコーティングされた硫酸カルシウム二水和物結晶(U.S.Gypsumから入手可能)である。スクロースを用いるコーティングにより二水和物結晶を安定化させる方法は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるものとする。米国特許第3,573,947号に記載されている。典型的には、前記反応促進剤は、粒子状組成物の総重量に基づいて、最大約1.0重量%の量で存在する。いくつかの実施形態においては、前記粒子状組成物は、約0.001~約0.5重量%の反応促進剤、より典型的には、約0.01~約0.3重量%の反応促進剤を含む。2種以上の反応促進剤の混合物を用いることができる。

20

【0041】

本発明の粒子状組成物のリン酸カルシウム部分は、MCPM粉末($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)および β -TCP粉末($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)を含む。当業界で理解されるように、MCPMと β -TCPの主な反応生成物はブラッシャイトであり、さもなければ、リン酸二カルシウム二水和物($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (DCPD)として知られる。ブラッシャイト形成粉末は、ヒドロキシアパタイト、リン酸オクタカルシウムなどの、DCPDよりも高い熱力学的安定性を有する特定のリン酸カルシウムの形成をもたらす他の反応に関与してもよい。また、特定量の β -TCP粉末は、前記セメント中で未反応のままであってもよい。

30

【0042】

β -TCP粉末は、好ましくは約20 μm 未満の中央粒子径、より好ましくは、約18 μm 未満の中央粒子径、および最も好ましくは、約15 μm 未満の中央粒子径を有する。典型的には、 β -TCP粉末は、約10~約20 μm の中央粒子径を有するであろう。 β -TCP粉末の大きさは、骨移植片代用セメント中で形成されるブラッシャイトの量に影響し得る。より小さい粒子径の β -TCPは、ブラッシャイト形成速度の増加をもたらす、より大きい粒子径は、ブラッシャイト形成速度の低下をもたらすであろう。典型的には、ブラッシャイト形成反応速度を増加させるために、より小さい β -TCP粒子を用いるのが好ましい。

40

【0043】

粒子状組成物の β -TCP粉末部分は、好ましくは、リン酸 β -トリカルシウム粉末の総体積に基づいて、約2.0~約6.0 μm の最頻値を有する約30~約70体積%の粒子および約40~約70 μm の最頻値を有する約30~約70体積%の粒子を特徴とする並数粒子径分布を有する。一実施形態においては、 β -TCP粉末は、リン酸 β -トリカルシウム粉末の総体積に基づいて、約4.0~約5.5 μm の最頻値を有する約50~約65体積%の粒子および約60~約70 μm の

50

最頻値を有する約35～約50体積%の粒子を特徴とする並数粒子径分布を有する。

【0044】

MCPM粉末は、水に比較的可溶性であり、これは粒子径が比較的重要ではないことを意味する。典型的には、MCPM粉末は、約350 μm 未満の粒子径を有するであろうが、他の粒子径も本発明を逸脱することなく用いることができる。理解されるように、MCPMはリン酸一カルシウム(MCP)の水和形態である。本明細書で用いられるように、MCPMに対する参照は、MCPを包含することが意図され、これは、単に溶液中に同じ数のカルシウムおよびリン酸イオンを放出するMCPMの無水形態である。しかしながら、MCPをMCPMの代わりに用いる場合、骨移植片代用セメントを形成させるのに用いられる水の量を、MCPから水分子が失われる原因となるように、増加させる必要がある(MCPMを用いる場合に形成されるのと正確に同じ分解産物を製造することが望ましい場合)。

10

【0045】

上述のように、本発明の骨移植片代用セメントのブラッシャイト成分は、硫酸カルシウムセメントと比較して、骨移植片代用セメントのin vivoでの吸収を遅延させるのに役立つ。同様に、より遅い吸収速度は、より長い時間、骨欠損の部位での構造的支持を骨移植片代用セメントに提供し、特定の用途における治癒プロセスを援助することができる。操作の任意の特定の理論によって束縛されるものではないが、本発明の骨移植片代用セメントは、混合物の硫酸カルシウム成分の比較的高速な吸収に起因して、in vivoで投与された後にリン酸カルシウム材料の高度に多孔性のマトリックスになると考えられる。リン酸カルシウムの残りの多孔性のマトリックスは、自然の治癒プロセスの間に骨成長のための優れた足場を提供する。

20

【0046】

粒子状組成物中に存在するMCPM粉末および β -TCP粉末の量は、主に骨移植片代用セメントにおいて望まれるブラッシャイトの量に応じて変化してもよい。ブラッシャイト形成リン酸カルシウム組成物(すなわち、混合した量のMCPMおよび β -TCP粉末)は、典型的には、粒子状組成物の総重量に基づいて、約3～約30重量%、より好ましくは、約10～約20重量%、最も好ましくは、約15重量%の濃度で存在するであろう。MCPMと β -TCPの相対量を、ブラッシャイト形成反応におけるその等モル、化学量論的關係に基づいて選択することができる。一実施形態においては、MCPM粉末は、粒子状組成物の総重量に基づいて、約3～約7重量%の濃度で存在し、 β -TCPは約3.72～約8.67重量%の量で存在する。

30

【0047】

MCPMおよび β -TCP粉末は、残留湿気の存在下で保存中に時期を早めて反応して、ブラッシャイトおよび／またはブラッシャイトの望ましくない無水類似体であるモネタイトを形成し得ることが発見された。かくして、均一な混合物と一緒にブラッシャイト形成リン酸カルシウム粉末を保存することは、骨移植片代用セメントを形成させるための粒子状組成物と水性混合溶液との混合に際して生成されるブラッシャイトの量の減少をもたらす、同様に、望ましくない様式で骨移植片代用セメントの特性を変化させ得る。結果として、好ましい実施形態においては、2つのリン酸カルシウム成分を、乾燥環境と一緒に包装し、保存中の湿気の侵入に対して密閉するか、または保存中に別々に包装する。一実施形態においては、2つのリン酸カルシウム粉末を別々に包装し、ここで、それぞれの粉末を、補発明の粒子状成分の他の成分を用いずに単独で包装するか、または残りの成分(例えば、C

40

【0048】

特定の実施形態においては、本発明の粒子状成分はまた、 β -TCP粉末の中央粒子径よりも大きい中央粒子径を有する複数の β -TCP顆粒を含むであろう。典型的には、 β -TCP顆粒は、約75～約1,000 μm 、より好ましくは、約100～約400 μm 、および最も好ましくは、約180～約240 μm の中央粒子径を有する。この顆粒は、骨移植片代用セメントの吸収速度をさらに低下させるのに役立ち、足場形成に寄与する。典型的には、 β -TCP顆粒は、粒子状組成物の総重量に基づいて、最大約20重量%、より好ましくは、該組成物の総重量に基づいて、最大約15重量%、および最も好ましくは、最大約12重量%の濃度で存在する。1つの

50

好ましい実施形態においては、 β -TCP顆粒は、約8～約12重量%の濃度で存在する。 β -TCP顆粒は、MCPMと β -TCP粉末の反応により形成されるブラッシャイトよりもさらに遅い吸収速度を示す最終的なセメント中で相対的に不活性な第3相を提供することができる。かくして、前記顆粒の存在は、得られる骨移植片代用セメントの吸収プロフィールをさらに変化させ得る。

【0049】

本発明で用いられる β -TCP顆粒および β -TCP粉末は両方とも、出発材料として、Plasma Biotall Ltd.(Derbyshire, UK)から入手可能な β -TCP粉末などの、市販の β -TCP粉末を用いて形成させることができる。一実施形態においては、まず、ボールミル中で市販の β -TCP粉末を1.0 μ m未満の中央粒子径まで湿式粉碎した後、ストレイナーを介して得られるスラリーを吸引して粉碎用媒体を除去することにより、粒子状組成物の β -TCP成分を形成させる。その後、遠心分離、重力分離、フィルタープレス、蒸発などの当業界で公知の様々な技術のいずれかを用いて、任意の残存する液体成分から β -TCPの固体ケーキを分離することができる。次いで、ドライケーキを一連の篩を通して処理して、異なる中央粒子径を有する2種の別々の β -TCP成分を製造する。典型的には、 β -TCPの乾燥ケーキを、篩にかける間またはその前に粉碎して、該ケーキを断片化する。1つの好ましい実施形態においては、篩の系は、緑の状態(すなわち、不焼成の状態)の約125～約355 μ mの粒子径範囲を有する β -TCP成分および緑の状態の約75～約355 μ mの粒子径範囲を有する別の β -TCP成分をもたらす。その後、加熱炉中での熱処理により、2種の β -TCP成分を焼結し、それによって圧縮する。一実施形態においては、加熱炉処理は、約1100～1200 $^{\circ}$ Cの温度で約3時間、アルミナ板上で β -TCP粉末成分を加熱することを含む。所望の焼結温度まで温度を傾斜させ、冷却期間の間に、1分あたり約5～6 $^{\circ}$ C以下の速度で温度を下に戻すことが典型的である。

【0050】

焼結プロセスの後、約125～約355 μ mの緑状態の粒子径を有する圧縮された β -TCP顆粒を、粒子状組成物の顆粒成分として用いることができる。約75～約355 μ mの緑の状態(すなわち、不焼成の状態)の粒子径を有する焼結した β -TCP成分を、ボールミル中で約1～4時間、乾燥粉碎して、約20 μ m未満の中央粒子径を有する β -TCP粉末を形成させた後、上記のような粒子状組成物中で用いることができる。

【0051】

本発明の粒子状組成物と混合した水性成分を選択して、所望のコンシステンシーおよび硬化または固化時間を有する組成物を提供する。典型的には、前記水溶液を、少なくとも約0.2、より好ましくは、少なくとも約0.21、および最も好ましくは、少なくとも約0.23の液体：粉末質量比(L/P)を達成するのに必要な量で提供する。好ましいL/P比の範囲は、約0.2～約0.3であり、より好ましくは、約0.2～約0.25である。

【0052】

好適な水性成分の例としては、必要に応じて、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫酸ナトリウム、硫酸カリウム、EDTA、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、および酢酸ナトリウムからなる群より選択される1種以上の添加物を含む、水(例えば、滅菌水)およびその溶液が挙げられる。1つの好ましい実施形態においては、用いる水性混合溶液は、塩溶液またはリン酸緩衝生理食塩溶液である。水溶液の例は、Baxter International (Deerfield, IL)などから入手可能な0.9% NaCl塩溶液である。

【0053】

一実施形態においては、水溶液は、必要に応じて、好適な塩基を用いて中性pHに滴定され(例えば、水酸化ナトリウムもしくは水酸化カリウムなどのアルカリ金属塩基を用いて約6.5～約7.5のpHに中和する)、混合に際して骨移植片代用セメント組成物の水要求性、流動性、および／もしくは粘度を変化させ得る、 α 炭素上にヒドロキシル基を含んでも含まなくてもよい1種以上の有機または無機カルボン酸含有化合物(以後、カルボン酸またはカルボン酸化合物と呼ぶ)をさらに含む。カルボン酸の例としては、グリコール酸および乳酸が挙げられる。好ましいカルボン酸は、1～合計約10個の炭素原子(例えば、カルボニ

ル炭素を含む1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個の炭素原子)の1個のカルボン酸基、および炭素鎖に結合した0~5個のヒドロキシル基(例えば、0、1、2、3、4、もしくは5個)を有する。一実施形態においては、混合溶液は、NaOHを用いて7.0のpHに中和されたグリコール酸の0.6 M溶液である。本明細書に記載のカルボン酸化合物に対する参照は、遊離の酸および塩形態の両方を包含する。

【0054】

実施例3に記載のように、 γ 照射滅菌前の水溶液中のカルボン酸成分の存在は、放射線曝露の結果生じる酸の分解に起因して、セメント固化時間中の「ドリフト」などの一貫性のない骨移植片代用セメント特性を誘導し得ることが見出された。かくして、1つの好ましい実施形態においては、水性混合溶液と関連して上記で考察されたカルボン酸化合物を、溶液中よりもむしろ、1種以上の他の粉末成分との混合物中、または別々の容器中で、キットの残存する粒子状成分と共に結晶粉末(例えば、遊離の酸もしくは塩形態)として包装する。粉末形態で酸成分を用いることにより、 γ 照射を用いる組成物の滅菌の際の酸の分解を回避することができる。あるいは、カルボン酸が溶液中にありながら滅菌照射に曝露されないように、該溶液を照射により滅菌した後、カルボン酸成分を水溶液に添加する。

10

【0055】

一実施形態においては、本発明における使用のためのカルボン酸を、例えば、上記のアルカリ金属塩基を用いて、溶液中で約6.5~約7.5のpHに中和した後、溶媒(例えば、水)の蒸発により結晶粉末として単離する。典型的には、この結晶粉末を、アルカリ金属塩形態(例えば、リチウム、ナトリウム、またはカリウム塩)などの塩形態で単離する。本発明における使用のための、塩形態のカルボン酸の乾燥結晶粉末の例としては、グリコール酸ナトリウム、グリコール酸カリウム、乳酸ナトリウム、および乳酸カリウムが挙げられる。粉末化されたカルボン酸塩を、CSH成分またはリン酸カルシウム成分のいずれかなどの、骨移植片代用セメントの粒子状部分を一緒になって形成する任意の他の粉末成分に添加することができる。しかしながら、特定の実施形態においては、粉末化されたカルボン酸を、水溶液と前記組成物の残存する粒子状成分とを混合する前に該溶液を用いて再構成することができるように、別々の容器中に保存する。

20

【0056】

本発明の骨移植片代用セメントは、当業界で公知の他の添加物をさらに含んでもよい。この添加物を、本発明の粒子状組成物または水性混合溶液に、固体または液体として添加することができる。硫酸カルシウム組成物のための添加物の一例は、前記組成物のコンシステンシーおよび固化時間を変化させるように設計された可塑剤である。そのような可塑化成分は、硫酸カルシウム半水化物ペーストの固化を遅延させることによって、前記組成物が水溶液との混合後に固化するのにかかる時間を増加させることができる。可塑剤の例としては、グリセロールおよび他のポリオール、ビニルアルコール、ステアリン酸、ヒアルロン酸、セルロース誘導体およびその混合物が挙げられる。アルキルセルロースは、可塑剤成分として特に好ましい。アルキルセルロースの例としては、メチルヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、セルロースアセテートブチレート、およびその混合物または塩が挙げられる。

30

40

【0057】

添加物の例としては、生物活性物質も挙げられる。本明細書で用いられる用語「生物活性物質」とは、in vivoまたはin vitroで証明することができるいくらかの薬理学的影響をもたらす任意の薬剤、薬物、化合物、物質または混合物の組成物を指す。生物活性物質の例としては、限定されるものではないが、ペプチド、タンパク質、酵素、小分子薬剤、染料、脂質、ヌクレオシド、微粒子、およびミセルが挙げられる。それは、患者において局所作用または全身作用をもたらす薬剤を含む。

【0058】

50

特に好ましいクラスの生物活性物質としては、骨形成誘導材料または骨誘導材料、抗生物質、化学療法剤、殺虫剤(例えば、抗菌剤および抗寄生虫剤)、抗ウイルス剤、抗炎症剤、および鎮痛剤が挙げられる。抗生物質の例としては、シプロフロキサシン、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、クロロテトラサイクリン、セファロスポリン、アミノグリコシド(例えば、トブラマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、エリスロマイシン、バンコマイシン、ゲンタマイシン、およびストレプトマイシン)、バシトラシン、リファンピシン、N-ジメチルリファンピシン、クロロマイセチン、ならびにその誘導体が挙げられる。化学療法剤の例としては、シスプラチン、5-フルオロウラシル(5-FU)、タキソールおよび／またはタキソテール、イフォスファミド、メトトレキサート、および塩酸ドキソルビシンが挙げられる。鎮痛剤の例としては、塩酸リドカイン、ビピバカインおよびケトラクトロメタミンなどの非ステロイド系抗炎症剤が挙げられる。抗ウイルス剤の例としては、ガンシクロビル、ジドブジン、アマンチジン、ビダラビン、リバラビン、トリフルリジン、アシクロビル、ジデオキシウリジン、ウイルス成分もしくは遺伝子産物に対する抗体、サイトカイン、およびインターロイキンが挙げられる。抗寄生虫剤の例は、ペンタミジンである。抗炎症剤の例としては、 α -1-抗トリプシンおよび α -1-抗キモトリプシンが挙げられる。

10

【0059】

有用な抗菌剤としては、ジフルカン、ケタコニゾール、ナイスタチン、グリセオフルビン、マイコスタチン、ミコナゾールおよび教示全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする米国特許第3,717,655号に記載のその誘導体；クロルヘキシジンなどのビスジグアニド；ならびにより具体的には、臭化ドミフェン、塩化ドミフェン、フッ化ドミフェン、塩化ベンズアルコニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化デクアリニウム、1-(3-クロラルル)-3,5,7-トリアザ-1-アゾニアアダマンタンクロリドのシス異性体(商標Dowicil 200の下でDow Chemical Companyから入手可能である)および教示全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする米国特許第3,228,828号に記載のその類似体、教示全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする米国特許第2,170,111号；第2,115,250号；および第2,229,024号に記載のものなどのセチルトリメチルアンモニウムブロミドならびに塩化ベンズエトニウムおよび塩化メチルベンズエトニウム；3,4,4'-トリクロロカルバニリド、および3,4,5-トリブromoサリチルアニリドなどのカルバニリドおよびサリチルアニリド；ジクロロフェン、テトラクロロフェン、ヘキサクロロフェン、および2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテルなどのヒドロキシジフェニル；ならびにシンクピリチオン、銀スルファジアゾン、銀ウラシル、ヨウ素、ならびに教示全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする米国特許第2,710,277号および第2,977,315号に記載のものなどの非イオン性界面活性剤、および教示全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする米国特許第2,706,701号、第2,826,532号および第2,900,305号に記載のものなどのポリビニルピロリドンから誘導されたヨードフォアなどの有機金属性およびハロゲン性防腐剤が挙げられる。

20

30

【0060】

本明細書で用いられる用語「増殖因子」は、他の細胞、特に、結合組織前駆細胞の増殖または分化を調節する任意の細胞産物を包含する。本発明に従って用いることができる増殖因子としては、限定されるものではないが、線維芽細胞増殖因子(例えば、FGF-1、FGF-2、FGF-4)；PDGF-AB、PDGF-BBおよびPDGF-AAなどの血小板由来増殖因子(PDGF)；BMP-1からBMP-18までのいずれかなどの骨形態形成タンパク質(BMP)；骨形成タンパク質(例えば、OP-1、OP-2、またはOP-3)；トランスフォーミング増殖因子- α 、トランスフォーミング増殖因子- β (例えば、 β 1、 β 2、または β 3)；LIM石灰化タンパク質(LMP)；類骨誘導因子(OLF)；アンギオジェニン；エンドセリン；増殖分化因子(GDF)；ADMP-1；エンドセリン；肝細胞増殖因子およびケラチノサイト増殖因子；オステオジェニン(骨形態形成タンパク質-3)；HBGF-1およびHBGF-2などのヘパリン結合増殖因子(HBGF)；インディアン、ソニック、およびデザートヘッジホッグなどのヘッジホッグファミリーのタンパク質；IL-1~IL-6などのインターロイキン(IL)；CSF-1、G-CSF、およびGM-CSFなどのコロニー刺激因子(CSF)

40

50

；上皮増殖因子(EGF)；ならびにインスリン様増殖因子(例えば、IGF-Iおよび-II)；脱塩骨マトリックス(DBM)；サイトカイン；オステオポンチン；ならびに上記のタンパク質の任意のアイソフォームなどのオステオネクチンが挙げられる。粒子状DBMが好ましい骨形成誘導添加物である。

【0061】

生物活性物質はまた、抗体であってもよい。好適な抗体としては、例えば、STRO-1、SH-2、SH-3、SH-4、SB-10、SB-20、およびアルカリホスファターゼに対する抗体が挙げられる。そのような抗体は、Haynesworthら、Bone (1992), 13:69-80; Bruder, S.ら、Trans Ortho Res Soc (1996), 21:574; Haynesworth, S. E.ら、Bone (1992), 13:69-80; Stewart, K.ら、J Bone Miner Res (1996), 11(Suppl.):S142; Flemming J Eら、「ヒト胚の皮膚、発生力学(Embryonic Human Skin. Developmental Dynamics)」、212:119-132, (1998); およびBruder S Pら、Bone (1997), 21(3): 225-235(教示全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする)に記載されている。

10

【0062】

生物活性物質の他の例としては、骨髄穿刺液、血小板濃縮物、血液、同種移植骨、海綿骨チップ、リン酸カルシウムもしくは炭酸カルシウムなどの鉱物の合成的に誘導されるか、もしくは天然由来のチップ、間葉幹細胞、ならびに硫酸カルシウムの塊、破片および／もしくはペレットが挙げられる。

【0063】

本発明に従う骨移植片代用セメントを、当業界で公知の手動的または機械的混合技術および装置を用いて、粒子状組成物と水溶液とを混合することにより形成させることができる。前記セメントの成分を、大気圧以下(例えば、減圧下)で、かつ混合物の水性成分の凍結または有意な蒸発をもたらさない温度で混合することが望ましい。混合後、典型的には、均一な組成物はペースト様のコンシステンシーを有するが、混合物の粘度および流動性はそこに含まれる添加物に依存して変化し得る。骨移植片代用セメント材料を、シリンジなどの送達デバイスに移し、例えば、骨欠損の亀裂または間隙に充填するために標的部位に注入することができる。いくつかの実施形態においては、前記材料を、例えば、10 cmの長さの11~16ゲージの針を通して注入することができる。

20

【0064】

本発明の骨移植片代用セメントは、一般的には、以下に説明するVicatの針滴定試験により定義されるように、約3~約25分、より好ましくは、約10~約20分で固化するであろう。本発明の骨移植片代用セメント材料は、典型的には、約30~約60分以内に、骨と同等か、または骨以上の硬さに達するであろう。前記材料の固化は、空気、水、in vivo、および任意数のin vitro条件下などの様々な環境において起こり得る。

30

【0065】

硬化した骨移植片代用セメントは、特に、直径張力強度および圧縮強度を特徴とする、特定の機械的強度特性を示すのが好ましい。前記セメントの好ましい実施形態は、粒子状組成物と水溶液との混合後に周囲空気中で1時間の硬化後に、少なくとも約4 MPaの直径張力強度、より好ましくは、少なくとも約5 MPa、最も好ましくは、少なくとも約6 MPaの直径張力強度を示す。さらに、骨移植片代用セメントの好ましい実施形態は、粒子状組成物と水溶液との混合後に周囲空気中で24時間の硬化後に、少なくとも約8 MPaの直径張力強度、より好ましくは、24時間の硬化後に少なくとも約9 MPa、最も好ましくは、少なくとも約10 MPaの直径張力強度を示す。

40

【0066】

骨移植片代用セメントの好ましい実施形態はまた、粒子状組成物と水溶液との混合後に周囲空気中で1時間の硬化後に、少なくとも約15 MPaの圧縮強度、より好ましくは、少なくとも約40 MPaの圧縮強度などの高レベルの圧縮強度を示す。さらに、骨移植片代用セメントの好ましい実施形態は、粒子状組成物と水溶液との混合後に周囲空気中で24時間の硬化後に、少なくとも約50 MPaの圧縮強度、より好ましくは、少なくとも約80 MPaの圧縮強度を示すであろう。

50

【0067】

本発明の骨移植片代用セメントはまた、実質的に完全に硫酸カルシウムから作製された同等の骨移植片代用セメントよりも有意に遅い分解速度を示すであろう。特定の好ましい実施形態においては、本発明のセメントは、硫酸カルシウムからなる粒子状組成物を用いて形成されるセメントの平均分解速度よりも少なくとも約25%低い、1日あたりに失われる重量の平均割合(%)として表される平均分解速度を示し、この平均分解速度を、以下により詳細に記載するように、37℃で、蒸留水中に3.3 mmの長さを有する4.8 mmのODペレットを浸すことにより測定する。より好ましくは、本発明の骨移植片代用セメントは、硫酸カルシウムセメントよりも少なくとも約30%低く、最も好ましくは、少なくとも約35%低く、いくつかの実施形態においては、40%以上低い平均分解速度を有する。以下に説明する試験手順を用いて測定される、1日あたりに失われる重量の平均割合として表される好ましい範囲の分解は、約5%～約15%、より好ましくは、約7%～約13%である。記述される平均分解速度を、以下に説明する手順を用いて決定された0、1、2、3、および4日目からのデータを用いて、1日あたりに失われる重量%を直線回帰することにより決定する。

10

【0068】

本発明はまた、本発明の粒子状組成物を含む骨移植片代用キットも提供する。典型的には、このキットは、上記の粒子状組成物を同封する1個以上の容器および滅菌水溶液を同封する別々の容器を含む。このキットは、典型的には、キットの使用方法を記載する説明書セットを含むであろう。さらに、本発明の骨移植片代用キットは、前記粒子状組成物を、前記水溶液と混合して、骨移植片セメントを形成させるための装置、例えば、減圧混合装置を含むのが好ましいであろう。さらに、前記キットは、典型的には、骨移植片セメントを骨欠損の部位に送達するためのデバイス、例えば、注入デバイス(例えば、針およびシリンジ)を含むであろう。典型的には、特定の組成物および滅菌水性溶液を、照射により滅菌した後、キット中に包装することができる。

20

【0069】

以前に注記したように、特定の実施形態においては、本発明のキットは、2種のリン酸カルシウム粉末成分を、異なる容器中に分割して、保存中の反応を回避することができる。この目標を達成することができるいくつかの包装配置が存在する。例えば、一実施形態においては、前記キットは、CSH粉末のための1個の容器、β-TCP粉末のための1個の容器、およびMCPM粉末のための1個の容器を含む。別の実施形態においては、前記キットは、1個はβ-TCP粉末およびCSH成分の一部を含み、2番目はMCPM粉末およびCSH成分の一部を含む、粒子状組成物のための2個の容器を含む。さらに別の実施形態においては、MCPM粉末を、それ自身、別々の容器に包装し、β-TCP粉末およびCSH粉末と一緒に包装する。さらなる実施形態においては、β-TCP粉末を、それ自身、別々の容器に包装し、MCPM粉末およびCSH粉末と一緒に包装する。上記実施形態のいずれにおいても、粉末容器はいずれも、カルボン酸塩成分の結晶粉末および／もしくはβ-TCP顆粒をさらに含んでもよく、またはこれらの成分を、それ自身の容器中に別々に包装することができる。存在する場合、CSHからCSDへの変換を加速するのに適させた反応促進剤は、典型的にはCSH粉末との混合物中にある。1つの好ましい実施形態においては、前記キットは、MCPM粉末を同封する1個の容器、およびCSH粉末、CSH反応促進剤、β-TCP粉末、β-TCP顆粒、およびカルボン酸結晶粉末の1種以上などの、混合物中の残存する粒子状成分を同封する第2の容器を含む。

30

40

【0070】

1つの好ましい実施形態においては、粉末形態のカルボン酸を、必要に応じて、水溶液を残存する粒子状成分と混合する前に、該溶液中で再構成できるように、別々に包装する。しかしながら、以前に注記したように、前記キットの水溶液はまた、カルボン酸をキットの水溶性成分の照射滅菌後に添加する場合、溶液形態でカルボン酸成分を含んでもよい。

【0071】

キット中に包装された全ての水溶液を用いて、一貫した固化時間が達成されることを確保することが重要である。一実施形態においては、前記水溶液を、骨移植片代用セメント

50

の性能特性の変化を引き起こし得る量の残留溶液の保持する傾向が低い、ガラスシリンジまたは他のガラス容器などの、高度に疎水性の容器中に包装する。

【0072】

本発明はまた、骨欠損を治療するための方法も提供する。本発明の方法は、上記の骨移植片代用セメントを、骨欠損の部位に適用することを含む。骨移植片代用セメントを、注入デバイスなどを介して、粒子状組成物と、水溶液との混合後に流動可能な形態で適用した後、該組成物を固化させることができる。あるいは、骨移植片代用セメントを、ペレット、顆粒、くさび、ブロック、もしくはディスクなどの所定の形状で提供し、プレキャスト硬化した形態で用いるか、またはセメント塊をより小さい小片に機械的に破壊することにより作製された無作為な形状の破片の形態で用いることができる。さらなる実施形態においては、医師であれば、骨移植片代用セメントを形成させ、該混合物を、適用前に特定の骨欠損を充填するにに必要な形状などの所望の形状に手動で成型することができるであろう。

10

【0073】

別の実施形態においては、本発明の骨移植片代用セメントを、関節置換のために適合させた種々のデバイスのいずれかなどの、整形外科用埋め込み物に組込むことができる。典型的には、骨移植片代用セメントを、外側のコーティングまたはデバイスの多孔性の外側成分の孔の中の充填材料として、そのようなデバイスに組込む。この実施形態においては、骨移植片代用セメントは、埋め込まれたデバイスの周囲の領域での骨成長を容易にする。整形外科用埋め込み物の例としては、膝置換デバイス(例えば、拘束性もしくは非拘束性膝埋め込みデバイス、ヒンジ化膝デバイス、金属プラトー膝デバイス、および膝蓋骨デバイス)、臀部置換デバイス(例えば、寛骨臼成分および大腿骨成分)、肘置換デバイス(例えば、拘束性、半拘束性、および非拘束性デバイス)、上大腿骨デバイス、上腕骨デバイス、手首置換デバイス(例えば、半拘束性2および3部分関節デバイス)、肩デバイス、受動性の腱デバイス、脊髄デバイス(例えば、胸腰椎髄固定デバイス、脊椎頸部固定デバイス、および脊椎固定ゲージ)、手指/足指デバイス、および骨幹デバイスが挙げられる。

20

【0074】

本発明を、以下の非限定的な実施例によりさらに説明する。

【実施例】

【0075】

30

実験

実施例1は、本発明の骨移植片代用セメントのin vivoでの使用を例示するものであり、特に、本発明の組成物により示される吸収速度の低下(硫酸カルシウム組成物と比較する)、良好な機械的特性、および許容可能な固化時間を説明する。実施例2は、本発明の組成物の実施形態が、従来のCaSO₄ペレットの使用と比較して、修復された骨の量、強度、および堅さを増加させる能力を説明する。実施例3は、溶液中のグリコール酸に対するγ照射の分解効果および骨移植片代用セメントの固化時間に対するそのような分解の効果を証明する。実施例4は、粒子状組成物におけるグリコール酸塩形態の置換が、特定の取り扱い特性および機械的強度特性などの他の有利な特性を犠牲にすることなく、骨移植片代用セメントの性能に対する照射の効果を減少させることを証明する。

40

【0076】

固化時間の測定

全てASTM C-472あたり、直径1 mm、5 cmの長さであり、総重量300 gを有し、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるものとするVicat針を用いて、固化時間を測定することができる。試験するサンプルを、均一で流動可能なペーストが作製されるような様式で混合するべきである。Vicat針滴定試験のためのサンプルの大きさは、約3 cc~約5 ccの材料であり、約20 mLのポリエチレンカップ中のケーキにタッピングする；水溶液がVicat針の滴定および除去以外の粒子状組成物に接触した1分後に、材料に対して攪拌を与えないように、サンプルを取り扱うべきである。このカップは、ケーキが、約1/4~3/8の高さを測定する短く平らなシリンダーであるような寸法のものであるべきである。

50

【0077】

Vicat針滴定試験による固化時間を、水溶液が粒子状組成物に接触する時間と、Vicat針がサンプルの上表面から滴定されるセメントサンプルの50%の高さを通過しない時間との間で経過した時間量として定義する。針を、それ自身の重さの下で、重力のみで、シリンダー形状のサンプルケーキの頂上部および底部の平たい面に対して垂直の線を通して落とさせる。針を、最初の滴下後30秒毎に滴下する。針を、試験期間中、6回より多く滴下すべきではない。6回目の滴下後、針がサンプルの50%を超える高さを通過し続ける場合、新鮮な材料；新しく清潔なカップ；および特に、以前の試験から放置された、デブリを含まない清潔なVicat針を用いて、試験を繰り返さなければならない。カップ、混合装備、および材料移動装備は再使用すべきではない。試験の間に用いられる全ての材料および装備は、21～27℃であるべきであり、20～50%の相対湿度を含む環境に曝露すべきである。

10

【0078】

圧縮強度の測定

前記材料の圧縮強度を、以下の試験方法を介して決定する。8個の標本を許容するステンレススチール製割型を用いて、ASTM F451(外側直径6 mm x長さ12 mm)(参照によりその全体が本明細書に組み入れられるものとする)あたりのサイズに標本を成形する。

【0079】

この割型を、シリンダー形状の間隙、標本スロット、直立スタンドを備えたガラスプレート上に置く。材料を混合した後、裏込め法を用いることができるように、材料をスロットに送達するためのデバイスに載せる；一般的には、ジャムシディ型針を備えたシリンジを用いる。各標本スロットの底部から上端部まで、裏込め様式で充填する。過剰の材料が割型の寸法を超えて押出するように、型を過剰に充填するのが慣用的であるが、これにより標本スロット内に捕捉される空気の排除が確保される。材料がガラスプレートと型の間で標本スロットの底部から押出されるのを防止するために投入する間、型をガラスプレートの上に下を向けて保持することが必要である。

20

【0080】

各標本スロットを充填する際に、別のガラスプレートを、型の上端部に位置する過剰の材料の上に手で押し、標本の上端部と割型自体を横切るフラッシングの薄いシートを作製する。このガラスプレートは、材料が硬化する過剰の圧力または加圧環境をもたらさない大きさのものである。全ての標本を成形し、水溶液が粒子状成分と接触するようになる2分以内にフラッシングを作製する。

30

【0081】

水溶液が粒子状成分と接触するようになった30分後に、標本を離型する。最初に、標本面を含む割型の両側から取り除く；投入の際に低い方のガラスプレートに対して型を保持するにも拘らず、フラッシングの薄いフィルムを、型の低い方の表面上で作製する。一般的には、剃刀の刃を用いて、フラッシングを削り取り、そのようにして標本上に平滑な面を作製する。割型を分離し、標本を取り出す。水溶液が粒子状成分と接触するようになる32分以内に、全ての標本を取り出すべきである。標本を取り出しに際して、試験の時間まで室内条件(21～27℃；20～25%の相対湿度)で空気中で硬化を継続させるべきである。

40

【0082】

水溶液が粒子状成分と接触するようになった後、所定の時間に材料の試験を実施する。一般的には、試験を1時間および24時間で実施する。ASTM D695(その全体が参照により本明細書に組み入れられるものとする)あたり圧縮試験固定具上で試験を実施する。圧縮試験固定具を、50 Hz以上で運転するデータ獲得を介して置換および力を置換制御し、モニターすることができる機械試験フレーム上に置く。

【0083】

圧縮試験フレーム上で、標本を個々に試験する。シリンダー面がプラテンの対面に配置されるような様式でプラテンの間に標本を配置する。標本を含む圧縮試験フレームを、失敗するまで0.333 mm/秒の速度で圧縮に負荷する。力および置換を、試験を通してモニタ

50

一し、失敗時の最大の力を注記する。適切な失敗は、標本の高さを横切る破碎をもたらすであろう。失敗時の最大圧縮力を注記する。失敗を、負荷の突然の落下、標本の負荷により作製される最初の傾斜からの荷重曲線の偏差、および／または標本の視覚的な失敗の際に注記された力と定義する。

【0084】

次いで、圧縮強度(MPa)を、以下のように算出する： $(P_{max})/(\pi \cdot R^2)$ ；(式中、 P_{max} は失敗時の負荷(ニュートン)であり、 π は約3.14であり、 R は標本の半径(mm)(3)である)。

【0085】

圧縮強度標本調製を実施する場合、用いる全ての装備からあらゆる破片、特に、目的の硬化した材料を除去することが重要である。

【0086】

直径張力強度の測定

以下の試験方法を介して、直径張力強度を決定する。約5/8インチ(15.8 mm)の外側直径円筒状間隙および側部除去のための切り込みを有する10 lb/ft³のクローズドセルポリウレタンフォーム(General Plastic Manufacturing Company, Tacoma, WA社製Last-A-Foam(登録商標)として入手可能)の1キューブを、標本成型として用いる。約5/8インチの外側直径円筒状間隙を、5/8インチのドリルビットを用いてトリルプレスを一押し下げて、キューブの反対の面を通して垂直にドリルで穴を開けることにより作製する。間隙はキューブの長さ全体に走り、両方の反対のドリルで開けた面が、ドリルからそれらの中に作製された丸い間隙と同じ中心を共有するように中心にする。残りの4個の完全な側面とは反対の2個の側面を、最終的な標本の開いた側面になるように設計する；これらの側面を、切り込みを介して除去することができる。これらの側面に、側面1個あたり2個の切り込みとなるように、試験の直前に除去することができ、サンプルの完全性に影響しないように切り込みを入れる。切り込みはキューブの長さ全体に走り、除去の際に50%を超える高さの標本が曝露される様式で分離すべきである。一般的には、直立式帯のこぎりを用いて、切り込みを作製する。図2a～2cは、直径張力試験型20の例を示す。図2aは、型20の上端部および底部を示す。図2bは、型20の側面図を示す。図2cは、型20の前面図および後面図を示し、その中の16 mmの外側直径円筒状間隙30を示す。

【0087】

試験する材料を、均一なペーストになるまで混合し、16 mmの外側直径円筒状間隙にペーストを注入するのに好適なデバイスに載せる。一般的には、このためには1 cmの開口部を有する30 ccのシリンジを用いる。反対の、切り込みのある側面に配置された親指および中指を用いて、手で型を保持する。型を保持するのに用いた手の人差し指を、丸い開口部の1つの上に配置する。次いで、材料を、人差し指からの間隙の反対側から間隙に注入する；1 cmの開口部を示すシリンジの全体の面を、型の丸い開口部に対して軽く押し上げる。型に材料を注入する際、射出された材料から背面開口部を覆う人差し指上に、圧力を感じるであろう。充填を続けながら、人差し指をゆっくりと除去し、間隙と同じ16 mmの外側直径を用いる押し出し中で型の後ろからペーストを流出させる。間隙全体が充填され、過剰の材料がフォームの元のキューブの寸法の外側に位置するまで、シリンジからのさらなる射出を介してペーストの戻し充填を行いながら、前面開口部からシリンジをゆっくりと戻す。標本の前面および背面を滑らかに拭き取り、スパーテルを用いて型の前面および背面をフラッシュする。試験する全ての標本を、粒子状組成物と接触ようになる水溶液により定義される、混合の開始から2分以内に作製すべきである。

【0088】

所定の時間量、通常は1時間または24時間、室内条件(21～27℃；20～50%の相対湿度)で空気に曝露された型の前面および背面を有する型において空気中で垂直に標本を硬化させる。この所定量の時間は、水溶液が混合プロセスの開始時に粒子状組成物と接触ようになる時点で始まる。

【0089】

置換制御し、20 Hz以上の速さで走るデータ獲得を介して置換および力をモニターする

ことができる機械的試験フレーム上で試験を実施する。標本型の側面を、試験の直前に除去する；切り込み間の領域のみを除去する。

【0090】

側面の除去は、通常、ナイフを用いて実施する。型の上端部および底部を、わずかに圧力をかけて2本の指の間に保持して、標本表面と型の境界面の損傷を防止する。ナイフの刃を、一方の切り込みに入れた後、ねじって切り込みを含まない間の領域を破壊する；同じ様式で他の側面についてもこれを繰り返す。型の上端部および底部を静置し、標本を保持し、表面上でのせん断応力を防止する。標本を2つの平らで平行なプラテンの間に置く；その一方は、自由に旋回してローディングトレインとの整列を可能にする。旋回プラテンは、標本接触点を横切る負荷の等しい分布を確保する。標本を、失敗するまで5 mm/分の速度で横に載せる。適切な失敗は、標本の長さを通して完全に垂直な破砕をもたらすであろう。失敗時の最大の力を注記する。

10

【0091】

力対置換の荷重曲線を作製して、失敗時の最大の力を決定するが、ここで置換および力は正の値である。荷重曲線の最初の部分は、フォームの負荷、次いで、その圧縮を示す。フォームの圧縮は、力が実質的に増加しない継続的な置換により明らかであろう；これを試験の間に視覚的に見ることもできる。フォームが完全に圧縮された後、力は再び上昇し始め、荷重曲線上に増加する傾斜を作り、次いで、負荷が標本に移るにつれて一定の傾斜を作る。増加する傾斜は、一般的には、「トーチン」として知られる。失敗を、負荷の突然の落下、標本負荷からの一定の傾斜が確立された後の荷重曲線の傾斜の減少、および／または試験を行いながら標本の視覚的な失敗の際に注記された力と定義する。

20

【0092】

次いで、直径張力強度(MPa)を、以下のように算出する： $(2 \cdot P_{\max}) / (\pi \cdot L \cdot H)$ ；(式中、 $P_{\max}$ は失敗時の負荷(ニュートン)であり、 π は約3.14に等しく、 L は標本の長さ(mm)(25.4)であり、 H は標本の高さ(mm)(16)である)。以下のうちの1つ以上が生じる場合、直径張力強度に関して標本を失格とする：破砕が垂直ではない、破砕が標本の長さを完全に走らない、標本の長さが失敗するか、または材料中の間隙が標本の破砕した壁上に認められる。

【0093】

直径張力強度標本調製を実施する場合、用いる全ての装備からあらゆる破片、特に、目的の硬化した材料を除去することが重要である。

30

【0094】

分解速度の測定

材料の分解速度を、以下の方法を介して決定する。標本を、4.8 mmの外側直径および3.3 mmの高さのシリンダーの大きさのシリコン型に成形する。円筒状間隙を含むシリコンの3.3 mmの厚さのシートを、型として用いる。円筒状の間隙は外側直径が4.8 mmであり、高さが3.3 mmであり、間隙の丸い面が平行であり、シリコンシートの表面と同じ平面中にあるような向きにある。

【0095】

ポリエチレンの薄いシートをテーブル上に横たえる。ポリエチレンメッシュをポリエチレンシートの上に置く；シートとメッシュは同じ寸法(厚さを除く)であり、メッシュが上端部からシートを隠すように配置する。次に、より小さい寸法のシリコン型を、メッシュの上端部に置く(厚さを除く)。メッシュまたはシートの端部から吊るされる型の部分はない。

40

【0096】

試験する材料と一緒に混合して、均一なペーストを形成させる。次いで、間隙が材料で包装される様式でスパテルを用いて型の上端部を横切ってペーストを拭き取る。メッシュにより、型が充填されるにつれて空気が間隙から置換除去されるであろう。数回の拭き取りを行って、材料が型の底部に完全に浸透し、メッシュを通して、低い方のポリエチレンシート状に押出されることを確保する。スパテルを用いて型の上端部を横切って最後の拭き取りを行って、過剰の材料の大部分を除去し、標本のために滑らかな上端面を作製

50

する。

【0097】

次いで、最初と同じ寸法の別のポリエチレンシートを、それが型の上端部を完全に覆うように、型の上端部を横切って配置する。次いで、このシートを、優しく擦る動作で指を用いて、型に対して優しく圧力をかける。上端部のポリエチレンシートと標本の間の密接な接触を作製する。

【0098】

次いで、全体の系、シート、メッシュ、型、およびシートを全体として拾い、元の上端部が下を向くような様式で反転させる。この系を、手により保持し、型の中に捕捉された空気が材料により置換除去されるような様式で、テーブル上で繰り返し軽く叩く；系を叩く力も反復性も過剰であるべきではない。大部分の空気を除去する際、系を上下逆の向きで、シートおよびメッシュの側を上にしてテーブルに戻す。上端部のポリエチレンシート、元の底部、およびメッシュを除去し、再びスパーテルを用いて、空気の除去から作製された標本の上端部(以前は底部であった)中の間隙中の材料を拭き取る。スパーテルを用いる型の上端部を横切る最後の拭き取りを行って、過剰の材料の大部分を除去する。シート(メッシュではない)を型の上端部に戻す。次いで、シートを、優しく擦る動作で指を用いて型に対して圧力をかける。上端部および底部のポリエチレンシートと標本の間の密接な接触を作製した。

【0099】

標本を型の中に静置して、第2のポリエチレンシートを標本および型(メッシュなし)と直接接触させた後、最大8時間硬化させる。少なくとも8時間が経過した後、標本を手により離型させる。ペレット面に付着した残存するフラッシュを、指の間で標本を転がすことにより除去する。欠陥のある標本は全て、試験から失格として除外する。欠陥のある標本を、捕捉された空気により引き起こされ得るシリンダー形状を示さない標本、離型の際に作られた欠陥、および／または標本自体に対する物理的損傷として定義する。

【0100】

欠陥のない全ての標本を、単層中にステンレススチール製パンを横切って拡散させる。次いで、このパンおよび標本をオープン中、40℃で最少4時間乾燥させた後、オープンから取り出し、室内条件(21~27℃；20~50%の相対湿度)中、30分間冷却させる。

【0101】

作製された標本から、5つの標本を任意に選択して、分解試験に用いる。選択した各標本を、以下の寸法：90.25 mmの全長、金属筒の上端部から80 mmの位置にある4 mmの溶解ガラス基剤(40~60 μm孔径)、25 mmの外側直径、および22 mmの内部直径の清潔なシリンダー溶解ガラス円筒濾紙と対にする。それぞれの円筒濾紙の質量を測定し(0.01 mg)、注記する。それぞれの標本の質量を測定し(0.01 mg)、注記する。ポリエチレンボトル(300 mL)をそれぞれの対(標本と金属筒)に割り当てる。このボトルは、金属筒と標本を、容易にボトルの中に入れ、ボトルから取り出すことができ、275 mLの水で充填する際に、金属筒より高い水のカラムを作るような寸法を有する。このボトルに、室温(21~27℃)で275 mLの蒸留水を充填する。標本をその対応する金属筒中に入れ、金属筒をボトル中に降ろす；材料の任意の部分が金属筒から逃げないように注意を払う。ボトルにキャップを付し、攪拌せずに37℃で水浴中に入れ、時間を注記する。

【0102】

標本を水中に入れた24時間後、標本を含む金属筒を回収する。溶解ガラス基剤を介して金属筒から水を吸引除去する。次いで、標本を含む金属筒を、40℃のオープン中で4時間、または完全に乾燥するまで(重量測定法により決定する)乾燥させる。次いで、標本を含む金属筒を、室内条件(21~27℃；20~50%の相対湿度)で30分間冷却させる。

【0103】

次いで、ペレットを含む金属筒を、0.01 mgの精度まで重量を測る。組合せの質量から既知の空の金属筒の質量を減算すれば、標本のみの質量が得られるであろう。最初の標本の質量からこの質量を減算すれば、分解されて失われた質量が得られるであろう。この質

10

20

30

40

50

量の損失を標本の最初の質量で除算し、100を乗算したものにより、分解に由来する質量損失(%)が得られるであろう。

【0104】

この時点で、ペレットを含む金属筒を、室温(21~27℃)で新鮮な蒸留水(275 mL)を含むボトルに戻し、ボトルにキャップを付し、水浴に戻す。24時間後、乾燥および重量測定プロセスを繰り返す。この動作を、試験が終わるか、または材料が完全に溶解するまで、24時間毎に浸した後、新鮮な蒸留水を用いて繰り返す。

【0105】

実施例1

新しい骨成長および本発明の骨移植片セメントの残留材料の直径張力強度、分解特性、およびin vivoでの評価を、市販の硫酸カルシウム材料と比較した。全ての実験のための実験群は、74.906重量%の硫酸カルシウム半水化物、0.094重量%の反応促進剤(スクロースでコーティングされた硫酸カルシウム二水和物)、6.7重量%のリン酸一カルシウム一水和物、8.3重量%のリン酸β-トリカルシウム粉末、10重量%のリン酸β-トリカルシウム顆粒、および10規定水酸化ナトリウム溶液で7.00のpHに中和した0.6 Mグリコール酸の水溶液からなるセメントを含む本発明の実施形態であった(以後「SR」と呼ぶ)。MIIG(登録商標)X3 Bone Graft Substitute(以後「X3」と呼ぶ)(Wright Medical, Arlington, TN)硫酸カルシウムを、全ての実験の対照として用いた。SR材料は、14~19分以内に固化するように製剤化したが、X3材料は7~10分以内に固化するように製剤化した。

【0106】

中間の吸収する硫酸カルシウム、リン酸カルシウム複合セメントも、この研究において評価した。新しい骨成長および残留材料の分解特性、圧縮強度、およびin vivoでの評価を、この材料について評価した。この材料はまた、本発明の実施形態でもあり、84.999重量%の硫酸カルシウム半水化物、6.7重量%のリン酸一カルシウム一水和物、8.3重量%のリン酸β-トリカルシウム粉末、0.0013重量%の反応促進剤(スクロースでコーティングされた硫酸カルシウム二水和物)、および水の水性成分を含む。この中間材料を、11~16分以内に固化するように製剤化した。

【0107】

圧縮強度を、上記の様式で成形された減圧混合標本上で測定した。標本(n=6)を、周囲空気中で1時間硬化させた。標本(n=3)を、周囲空気中で24時間硬化させた。0.333 mm/秒の一定速度で、MTS 858 Bionix試験系を用いて、標本を縦方向に載せた。圧縮強度(MPa)を、式 $(P_{max})/(\pi * R^2)$ を用いて算出した。

【0108】

直径張力強度(DTS)を、上記の様式で投入された減圧混合標本上で測定した。フォームブロックの側面を試験前に除去した。標本(n=4)を室温で周囲空気中、1時間および24時間硬化させた。5 mm/分の一定速度でMTS 858 Bionix試験系を用いて、圧縮における失敗に対して横方向に載せた。DTSを、式 $DTS = (2 * P_{max})/(\pi * L * H)$ から算出した。

【0109】

分解試験を、4.8 mmのOD X 3.3 mmシリンダー状ペレット(n=5)上で実施した。標本を37℃で275 mLの蒸留水中に入れた。溶液を毎日交換した。標本を乾燥させ、最初の30日間は毎日、その後、5%未満の残留質量を達成するまで5日毎に重量を計測した。X線回折(XRD)を用いて残留材料を同定した。

【0110】

結果：

図3は、DTSの結果を示す。一方向ANOVAを、JMPソフトウェア(SAS, Cary, NC)を用いて実施した。空気中で硬化したSRについては1時間と24時間の硬化時間の間で有意な差異が認められたが($p < 0.001$)、X3については差異は認められなかった($p = 0.508$)。SR反応は1時間で不完全であるが、X3固化時間は本質的に完全であることが空気により硬化したデータから明らかである。この結果は、固化時間の差異に基づいて予想されたものであった。

【0111】

中間材料の平均、最大、および最小圧縮強度値を決定した。1時間の硬化時間データは、19.4 MPaの平均強度、16.2 MPaの最小強度、および21.4 MPaの最大強度をもたらした。24時間の硬化データは、69.9 MPaの平均強度、61.4 MPaの最小強度、および77.3 MPaの最大強度をもたらした。

【0112】

分解の結果を図4に示す。曲線の0～4日目の直線回帰を用いて、分解速度を評価した。平均SR速度は10.7%/日であったが、X3速度は17.8%/日であった。中間材料の平均速度は13.5%/日であった。95%の骨移植片代用セメント材料が分解された後、残りのSR材料のXRDにより、それが公知の生体吸収可能であり、骨形成誘導性の材料であるリン酸β-トリカルシウムであることが示された。

10

【0113】

6週間のin vivoでのパイロット試験を、動物実験委員会(IACUC)により認可されたプロトコルの下で行った。3匹のイヌのそれぞれにおいて、9 mm X 15 mmを測定する2つの欠損を、それぞれの上腕骨近位において作製した。各部位に、SR(1~1.5 cc)、SRの4.8 mm OD X 3.3 mmペレット、X3の4.8 mm X 3.3 mmペレットのボーラス注射、または中間吸収硫酸カルシウム、リン酸カルシウム複合セメントのボーラス注射を用いて充填した。埋め込み物をγ照射により滅菌した。それぞれのイヌは、それぞれの材料の1つの埋め込み物を受容した。欠損の治癒およびペレットおよびボーラスの吸収を、0、2、および4週間後に得られたラジオグラフならびに6週間後に得られた接触ラジオグラフから評価した。欠損部における新しい骨の形成および残留する埋め込まれた材料を、塩基性フクシンおよびトルイジンブルーで染色された、脱灰されていない、プラスチックに埋め込まれた組織切片の光学顕微鏡観察を用いて評価した。欠損部における新しい骨および残留する材料の面積画分を、組織形態計測を用いて決定した。

20

【0114】

in vivo試験においては、ラジオグラフデータおよび組織学的データは、両方の型のペレットおよびボーラスが、新しく形成された類骨、線維性骨、および以前に埋め込まれた部位の同心層中で形成された層板骨と置換されたことを示していた。6週間で、新しい骨の形成の面積画分は、SRペレットを埋め込まれた欠損については $35.9 \pm 6.1\%$ であり、X3ペレットを埋め込まれた欠損については $26.7 \pm 10.0\%$ であった。6週間で、埋め込まれたペレット材料の大部分は吸収されたが、X3ペレット欠損と比較して、SRペレット欠損において残存する埋め込み物材料がわずかに多かった。SRボーラス埋め込み物については、新しい骨の形成は $15.6 \pm 5.6\%$ であり、残存する埋め込み物材料については $29.9 \pm 11.9\%$ であった。中間吸収硫酸カルシウム、リン酸カルシウム複合セメントのボーラスについては、新しい骨の形成は $23.4 \pm 7.1\%$ であり、残存する埋め込み物材料については $19.3 \pm 8.0\%$ であった。ペレットのものと比較して、より大きい残存する材料の割合およびより小さい表面積と埋め込み物の容量との比に起因して、初期の時点でボーラス材料について、新しい骨の形成の小さい方の画分を予想することができる。

30

【0115】

本発明の複合セメントは、対照のものと類似する一貫した固化特性および強度特性を示した。分解速度を遅らせる目的が達成され、早いin vivoでの骨成長は、純粋な硫酸カルシウム対照と同等であるか、またはそれより優れていた。

40

【0116】

実施例2

材料および方法：

IACUCに認可されたプロトコルの下で、10匹の骨格が成熟した、オスのイヌ(25~32 kg)は、上腕骨近位で左右対称に作製された、臨界サイズの、軸方向の延髄の欠損(13 mm直径 X 50 mm)を有し、13週間(n=5)および26週間(n=5)試験した。一方の上腕骨中の欠損に、6 ccの試験材料(実施例1に記載のSRセメント)を注入した。反対側の上腕骨中の同一の欠損は、等量のCaSO₄ペレット(OSTEOSET(登録商標)ペレット、Wright Medical)を受容した。0、2、6、13および26週でラジオグラフを取得した。横軸の、脱灰されていない骨の染色切

50

片を調製した。欠損中の新しい骨および埋め込まれた残存材料の面積画分を、標準的な点計測技術を用いて定量した。中間レベルの各欠損から芯を取った8 mm直径 X 20 mm試験シリンダーの降伏強度および係数を、一軸圧縮試験において0.5 mm/分のクロスヘッド速度で決定した。組織形態形成データおよび生体力学データを、FriedmanおよびMann-Whitney検定を用いて分析した。データを、平均および標準偏差として提供する。

【0117】

結果：

臨床ラジオグラフおよび検視ラジオグラフにより、骨移植片代用物の顕著に異なる吸収速度および欠損中の骨との置換が示された。CaSO₄ペレットの吸収は、見かけは2週で開始し、実質的に6週までに完了した。SRセメントについては吸収がより遅く、これも2週で開始したが、いくつかのセメントは26週でも持続した。

【0118】

全ての染色した組織切片において、線維組織の病巣領域のみを有する骨および骨髄による欠損の修復ならびに比較的低容量の残存する埋め込まれた材料が存在した。13週で新しく石灰化した骨の面積画分は、従来のCaSO₄ペレットで処理した欠損(17.3±4.3%)と比較して、SRセメントで処理した欠損(39.4±4.7%)において2倍高かった(p=0.025)。26週で、骨はより正常な構造に再モデリングされたが、ペレット(11.2±2.6%)と比較してセメント(18.0±3.4%)で処理した欠損において、より多い骨が存在した(p=0.025)。

【0119】

残存マトリックスおよびβ-TCP顆粒を、骨梁に組み入れた。骨により覆われなかった材料の表面は、いくらかは微粒子を含む破骨細胞様細胞による再モデリングを受けるようであった。残存マトリックスの面積画分は、ペレットで処理された欠損(13および26週で0.0%)と比較して、13週(2.9±2.8%)および26週(0.6±0.8%)でセメントで処理された欠損においてより大きかった(それぞれ、p=0.025および0.083)。残存マトリックスは、セメントで処理された欠損において時間と共に減少した(p=0.047)。残存するβ-TCP顆粒の面積画分はまた、13週(3.6±1.0%)から26週(0.8±1.4%)まで減少した(p=0.016)。β-TCP顆粒の最大寸法は、13週の348±13 μmから26週の296±29 μmまで減少した(p=0.008)。

【0120】

前記セメントで処理した欠損に由来する芯のある骨サンプルは、13週および26週の両方でCaSO₄ペレットで処理されたものよりもかなり強く、堅かった。比較のために、8つの正常な上腕骨近位に由来する同様の芯のある骨梁標本は、1.4±0.66 MPaの降伏強度および17±72 MPaの係数を有していた。

【表1】

表1

	時間(wks)	SR セメント	CaSO ₄ ペレット
降伏強度 (MPa)	13	5.3 (2.6)*	.90 (.44)
降伏強度 (MPa)	26	2.2 (.41)**	.47 (.46)
係数 (MPa)	13	283 (217)	40.8 (35.6)
係数 (MPa)	26	150 (73)*	15.8 (23.6)

*p = 0.025, **p=.046, ペレットと異なる

【0121】

結論：

様々な吸収速度を有するいくつかのカルシウムに基づく材料をうまく混合して、調整された、より遅い吸収プロファイルを有するセメントを製造した。このセメントにおいては、硫酸カルシウムおよびリン酸二カルシウム二水和物マトリックスの大部分は、素早く吸

収され、セメントのポーラス中で深く骨形成を促進するが、分布した β -TCP顆粒は、足場を提供し、新しい骨に取り込まれた後、ゆっくり吸収される。設計されたセメントは、13週および26週後に従来の CaSO_4 ペレットと比較した場合、修復された骨の量、強度および堅さを増加させた。このセメントは、強力で注入可能で高度に生体適合性の骨移植片代用物が有利である場合、臨床適用にとって有望である。

【0122】

実施例3

材料および方法：

250 mLの混合溶液、水酸化ナトリウムで中和した0.6 Mグリコール酸を作製し、補正されたpHメーターを用いてpHを注記した。結晶性グリコール酸(Alfa Aesar Part # A12511; Ward Hill, MA)、10 N水酸化ナトリウム溶液(EMD Chemicals Part # SX0607N-6; Darmstadt, Germany)、および洗浄用のUSP水(Baxter Healthcare Corporation Part # 2F7112; Deerfield, IL)を用いて、この溶液を作製した。

【0123】

次いで、この溶液を2つの約125 mLのアリコートに分割した後、個々に再度ボトルに詰めた。ボトルの1本を、25~32 kGy用量のバルク γ 照射滅菌に送り、他のボトルは非滅菌対照として保持した。滅菌溶液を戻す際に、滅菌溶液および非滅菌溶液の両方のpHを、補正されたpHメーターを用いて調べ、注記した。

【0124】

実施例1で用いられた型の単一ロットのSR粉末を、この試験において用いて、固化時間および注入力におけるロット間の変動性を回避した。

【0125】

3本のバイアルに、6.9 mLの非滅菌溶液を充填し、バイアル1本あたり30 gを含む非滅菌SR粉末の3本のバイアルと対にした。この群は対照として役立つ。

【0126】

中和したグリコール酸の個々の単位の任意的な無菌的充填を行うために、別の群を作製した。この群は、125 mLのバルク滅菌溶液から充填された6.9 mLのグリコール酸の3本のバイアルおよび30 gに十手されたSR粉末の3本のバイアルからなっていた。粉末バイアルを、 γ 照射滅菌に送った。これは、バルク溶液の滅菌後の無菌的充填および粉末の既に滅菌されたユニットを含むキット中でのカップリングを表す。

【0127】

第3および最後の群は、好ましい製造状況である：バルク溶液の γ 照射滅菌後、個々のユニットの γ 照射滅菌を行う。溶液の3本のバイアルに、滅菌されたバルク溶液を6.9 mL充填した。別の3本のバイアルに、30 gのSR粉末を充填した。これらのバイアルの6本全部を、滅菌に送った。これは、バルク滅菌溶液から前記溶液を充填すること、バルク滅菌溶液と共に非滅菌粉末を含むキットを包装すること、および次いで、最後の滅菌に該キットを送ることを表す。

【0128】

全ての群を戻す際に、以下の試験を実施した。残りのバルク溶液などの、全ての溶液を、補正されたpHメーターを用いてpHについて調べ、注記した。9セットのユニット(3ユニットの非滅菌溶液および非滅菌粉末、3ユニットの1回バルク滅菌溶液およびユニット滅菌粉末、ならびに3ユニットの2回滅菌溶液(バルク中で1回、ユニットとして1回))を混合して、減圧下で均一なペーストを形成させた。25 mLプラスチックカップ中の約1/4インチ厚のペーストのアリコートの固化時間を、300 gのVicat針の使用を介して決定した。6 cmの11ゲージ非先細の、ポートjamshidi型針に付着させた3 ccシリンジからの注入力を、粉末および溶液が互いに接触するようになった3~5分後に決定した。注入力を、4.4 mm/秒で置換される15 mmのプランジャー置換で認められる力として報告する。注入試験を、置換対照中の材料試験フレームを用いて実施し、データ獲得を50 Hzの力および置換で行った。

【0129】

結果：

pHドリフトが、全ての溶液について認められた。結果は、群内で一致していたが、2回滅菌された溶液は対照および1回滅菌群のものとは異なるpHをもたらした。特に、2回滅菌溶液は、約6.3の平均pHをもたらしたが、他の溶液群は約5.5のpHを示した。

【0130】

全ての群についての注入力は同じであった。3分の時点で、注入力は約25 Nであり、5分の時点では、注入力は約40 Nであった。

【0131】

非滅菌群および1回滅菌群の固化時間は、1ユニットの1回滅菌群が19.75分であることを除いて、一貫して約18.5分であった。2回溶液滅菌群および1回滅菌粉末についての固化時間測定値は、一貫して約22分にシフトした。

10

【0132】

結論：

2回滅菌溶液群におけるpHおよび固化時間シフトは、 γ 照射滅菌を介する中和したグリコール酸溶液の分解を示す。その効果は1回滅菌溶液においては断言できないが、照射分解が付加的プロセスであるため、その群において分解が起こったに違いない。

【0133】

実施例4材料および方法：

最初に、0.6 M水酸化ナトリウム(NaOH)の保存溶液を用いて、材料の酸-塩基滴定曲線に対する結晶性グリコール酸(GA)の γ 滅菌の効果を試験した。次いで、物理的特性比較を、前駆体粉末中で混合した固体グリコール酸ナトリウム(Na-GA)を含むセメント粉末の照射滅菌サンプルと、非照射材料との間で行った。各配置からの固化セメントの直径張力強度、注入力、Vicat固化時間、および形態学的(SEM)比較を行った。さらに、Vicat固化時間比較を、各生成物配置の非滅菌サンプル間で行った。

20

【0134】

約50 gのGA(Dupont社から入手可能なGLYPURE(登録商標))を、 γ 照射滅菌(25~32 kGy用量)に供した。2つのGAの約1 M溶液を等量で作製し、一方は γ 照射されたGAであり、他方は同じ製造ロットの照射されていないGAであった。液体移動中、および蒸発に由来する材料の損失を避けるために、3.803 gのGAを、250 mLビーカー中で50.000 gのDI水を用いて溶解することにより、用いる直前に溶液を作製した。

30

【0135】

500 mLの0.6 M NaOH保存溶液を、500 mLの容量フラスコ中で30 mLの10 N NaOHをDI水で希釈することにより作製した。この保存溶液を、両方のGA溶液の滴定剤として用いた。

【0136】

栓を備えた50 mLのビュレット(0.1 mL増分)を用いて、約1 MのGA溶液を含む250 mLビーカー中に直接的に種々の増分でNaOH保存溶液を分注した。滴定中に、GA溶液を、ポリテトラフルオロエチレン被覆磁気攪拌棒およびプレートを用いて攪拌した。分注したNaOH保存液の容量をモニターし、滴定を通して記録した。GA溶液のpHもモニターし、添加したNaOH保存液の各増分と共に記録した。pH測定値を、pHメーター(VWR Scientific; Model 8000)および標準的なバッファー溶液(VWR Scientific, それぞれP/N 34170-130および34170-127)を用いてpH=4.00~7.00に補正された電極(VWR Scientific, P/N 14002-780)の使用を介して決定した。アルカリ範囲でのpHの最少の変化が保存溶液の連続的添加と共に認められるまで、滴定を実行した。滴定曲線(GA溶液のpH対0.6 M NaOH(mL))をプロットし、比較を行って、結晶性GAに対する γ 照射の効果を検出した。

40

【0137】

300 gバッチの実施例1に記載のSR材料(溶液中でNA-GAを有する配置1)を、60 Hz P-K Twin-Shell Yoke混合装置(Patterson-Kelley Co.; East Stroudsburg, PA)を用いて1 qtのアクリル製V-Shell中で20分間混合した。配置1で作製された全てのペーストを、0.23の液体重量と粉末重量の比(L/P)で0.6 M Na-GA溶液を用いて作製した。

50

【0138】

改変されたSR材料(1.290重量%の45 μ m以下のNa-GA粉末を含む配置2)の25個の15 ccの注入可能なキットを、60 Hz P-K Twin-Shell Yoke混合装置を用いて2 qtのステンレス製V-Shell中で20分間混合した1013.071 gバッチから調製した(35.00 g $\pm$ 0.01 g粉末および7.59 g $\pm$ 0.01 g洗浄用滅菌水)。移動中のバイアルにおける溶液損失の原因となる水を0.10 gにより過剰充填した。キットを γ 照射滅菌(25~32 kGy用量)に供した。これらのキットの4つを、この試験に用いた。

【0139】

配置2のL/P値は0.214である。2つの配置のL/P値の差異は、溶液から粉末へのNa-GAの移動に起因するものである。

10

【0140】

結果：

Vicat固化時間の結果は、配置2が少量によってVicat固化時間をシフトさせたことを示していた。2つの配置内のNa-GAの位置以外に、唯一の他の変数は、配置2のキットが照射されたが、配置1の材料は照射されなかったことである。これらの2つの変数を扱うために、各配置の2つのさらなるサンプルのVicat固化時間を取得したが、配置2のサンプルを滅菌に供しなかった。

【0141】

2つの35 g単位の配置1の粉末を、Vicat固化時間について試験した。混合物全体を、50 mLのポリスチレンビーカーカップ(VWR Scientific P/N 13916-015)に移した；ペーストを水平にし、テーブル上でカップを軽くタッピングすることにより、主要な空気ポケットを除去した。Vicat固化時間を、両サンプルに対して上記のように実施されたのと同じ方法を介して決定した。

20

【0142】

2単位の配置2の粉末を試験し、混合物全体を用いて、以前のパラグラフにおいて実施されたようにVicat固化時間を決定した。材料が不足したため、混合物の1つを、30 gの粉末を用いて実施した。

【0143】

用量以外に標本の処理における差異がなかったため、配置1について得られた新しいデータを、以前のVicat試験の結果と合わせた。配置2に関する新しいデータを独立に用いて、配置1の結果に対して比較した。

30

【0144】

図5は、 γ 滅菌を用いた、および用いない結晶性GAから作製された1 MのGA溶液の滴定のオーバーレイ曲線を示す。実施例3に記載のように、配置1のキットの製造において用いられるNa-GAの溶液は、 γ 照射滅菌後にpHシフトを示した。しかしながら、このpHにおける変化は、結晶型の γ 照射されたGAを用いて作製された溶液については認められなかった。この結果は、グリコール酸イオンの γ 照射による分解が、完全ではないとしても、多くは、結晶型での曝露によって軽減されることを示唆している。これは、配置2における結晶性Na-GA成分も、 γ 照射によってあまり影響されないという強力な証拠である。

【0145】

40

以下の表2は、平均が各配置の24時間の乾燥DTS試験から得られることを示す。両配置は、各群内で10%未満の変動係数と共に9 MPaに近いDTS値を示した。配置2は9.29 MPaのわずかに高い平均強度値を示したが、2つの配置間の差異は統計学的に有意ではなかった($p=0.25$)。観察された差異は、試験方法に固有の誤差に帰することができる。これらの結果は、両配置の最終的な固化セメントが、同じ機械的強度を示すことを示している。

【表 2】

表 2

24 時間 DTS (MPa), n=6	
配置	平均 [SD]
1	8.80 [0.62]
2	9.29 [0.75]

【0146】

以下の表3は、平均が、各配置の4日間の分解試験から得られることを示している。2つの配置は、4日後に63%の平均重量%残存値と共にほとんど同一の分解結果を示した。各配置について示された測定値における類似性はさらに、同じ反応化合物および反応の程度をもたらす両方の系のさらなる正当化である。

10

【表 3】

表 3

4 日間の分解(残存重量%), n=5	
配置	平均 [SD]
1	63.24 [3.72]
2	62.55 [1.94]

20

【0147】

それぞれの配置から作製されたDTSの破砕表面から取得された固化セメントのバルクを通して認められる典型的な特徴のSEM顕微鏡写真を精査した。それぞれの配置の最終生成物は、この顕微鏡評価に基づけば実質的に同一である。

【0148】

以下の表4は、それぞれの配置について得られる平均注入力およびVicat固化時間を示している。両方の配置は、全体の平均の3%未満である、10 N未満異なる平均と共に、非常に類似する注入力の結果を示す。両測定値についての変動係数は6%未満であり、前記方法における良好な再現性を証明している。配置2の平均注入力、336.9 Nは、配置1のものよりもわずかに(2.6%)低かった。これらの結果は、両配置から作製されたペーストの粘度および流動特性における等価性を示している。

30

【表 4】

表 4

注入力及び Vicat 固化時間, n=3		
配置	平均注入力 (N) [SD]	平均固化時間 (mm:ss) [SD]
1	346.0 [19.6]	15:00 [00:30]
2	336.9 [13.4]	17:40 [01:26]

40

【0149】

2つの配置は、Vicat固化時間測定値の差異を示した。配置2に関する平均Vicat固化時間は17:40(mm:ss)であり、配置1について認められたものよりも2:40長かった。30秒の標準偏差と共に、配置1の測定値は、配置2のデータと比較して、非常に密接なばらつきをもたし、その標準偏差は1:26であった。配置1のVicat固化時間と、 γ 滅菌された配置2の間には明確な差異が存在する。

【0150】

照射された配置2のキットについて認められるVicat固化時間におけるシフトを扱うために、2つのさらなるVicat固化時間測定値を、各配置から取得した。滅菌前に保持された配置2の粉末を用いて、シフトが照射によるか、またはNa-GAの再配置から誘導された場合に

50

決定した。以下の表5は、2つの配置について得られる平均Vicac固化時間を示す。配置1について提供された結果は、2つのさらなる単位ならびに上記に提供される3つの測定値から合わせた結果である。

【表 5】

表 5

非滅菌配置の Vicat 固化時間, n=5 配置 1; n=2 配置 2	
配置	平均固化時間(mm:ss) [SD]
1	14:18 [01:02]
2	14:45 [00:21]

10

【0 1 5 1】

このシナリオにおいては、それぞれの配置のVicac固化時間は、照射された配置2のデータについて上記で見られるものと違って、30秒以下の平均間の差異と非常に良好に一致していた。これは、2つの配置に関する反応速度論が、非常に類似したVicac固化時間をもたらし、さらに、2つの配置間の等価性を証明する。先に提供されたデータにおいて認められたVicac固化時間におけるシフトは、 γ 照射の結果であり、2つの配置間で差異はなかった。

【0 1 5 2】

20

γ 照射が配置2のVicac固化のシフトを誘導するという観察は予想外ではなかった。この観察は、実施例3と一致し、配置1型ブレンドの粉末が、同じ用量範囲で、Na-GA溶液の γ 照射の連続的の用量と共に平均Vicac固化時間を増加させることを示した。

【0 1 5 3】

結論：

2つの生成物配置の間では、DTS、分解、および注入力値の間で統計学的な有意差は観察されなかった。照射された配置2のデータを評価する場合(p値=0.04)、Vicac固化時間における統計学的差異が観察されたが、滅菌されていない配置2のデータを用いて分析を行う場合(p値=0.59)は差異は認められなかった。第2のVicac固化時間比較が有意差をもたらし、同様にNa-GAの再配置が原因である場合、この差異を配置の変化のせいに行うことができる。かくして、この試験は、両方のペーストにおける2つの配置と、固化セメント型との間の化学的、物理的、機械的、および形態学的等価性を示す。

30

【0 1 5 4】

前述の説明および関連する図面中に提供される教示の利益を有する、本明細書に記載の本発明の多くの改変および他の実施形態については、これらの発明が属する当業者が想到するであろう。従って、本発明は開示された特定の実施形態に限定されるものではなく、改変および他の実施形態も添付の特許請求の範囲内に含まれると意図されることが理解されるべきである。本明細書では特定の用語を用いているが、それらは一般的かつ説明的な意味でのみ用いられるものであり、限定する目的のためのものではない。

【図面の簡単な説明】

40

【0 1 5 5】

【図 1】図1は、高分解能レーザー回折に基づく、並数粒子径分布プロットの概念を図式的に示す。

【図 2】図2a、2b、および2cは、例示的な直径張力強度標本型のいくつかの図を提供する。

【図 3】図3は、本発明に係る骨移植片セメントと市販の硫酸カルシウムセメントとの直径張力強度の比較を図式的に示す。

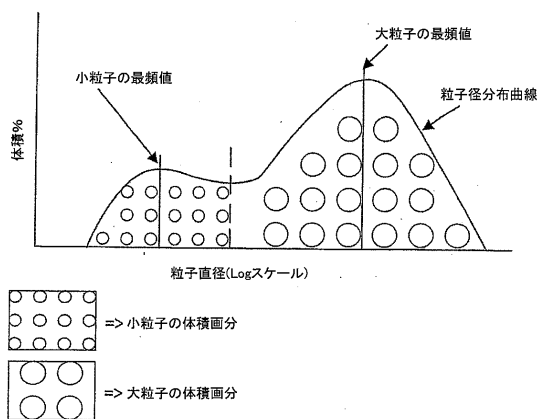
【図 4】図4は、市販の硫酸カルシウムと比較した、本発明に係る2つの骨移植片セメントのin vitroでの分解特性を図式的に示す。

【図 5】図5は、非照射および γ 照射された結晶性グリコール酸を用いて作製された溶液

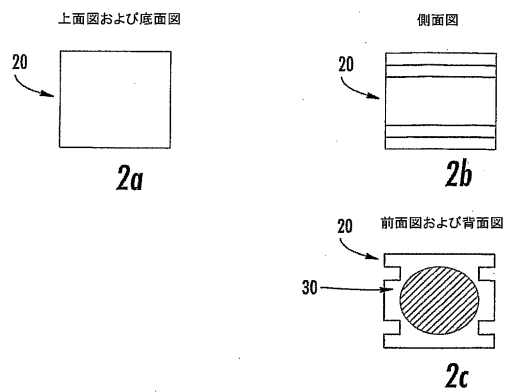
50

に関する滴定曲線を図式的に示す。

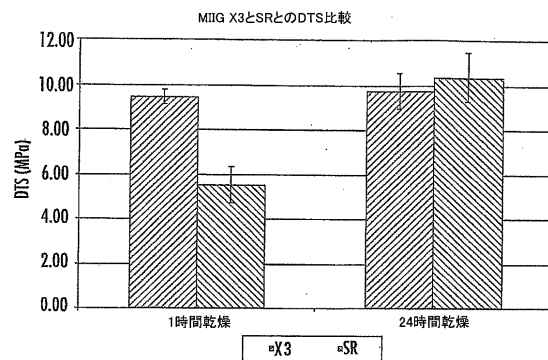
【図 1】



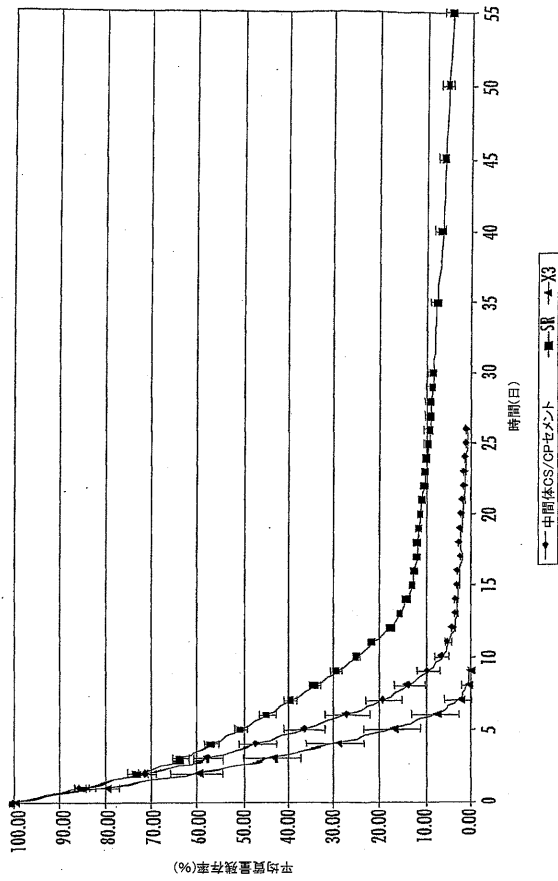
【図 2】



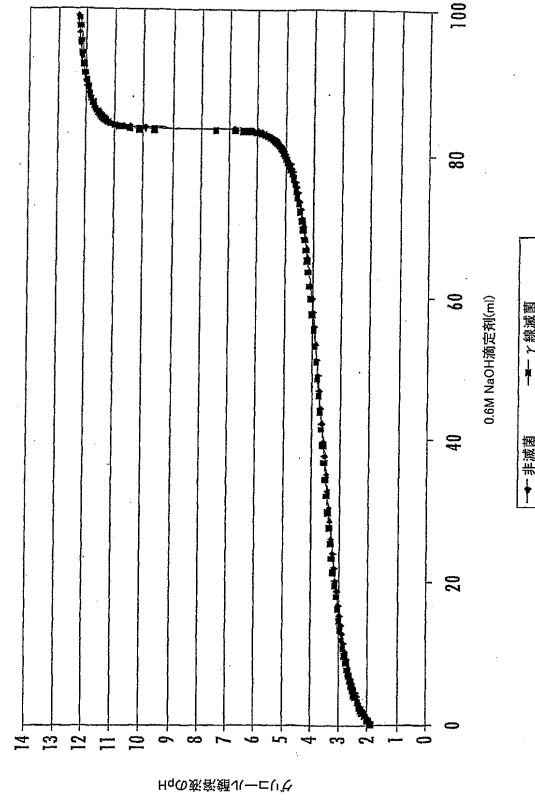
【図 3】



【図 4】



【図 5】



フロントページの続き

- (72)発明者 モスレー, ジョン, ピー.
アメリカ合衆国 38002-9306 テネシー州, アーリントン, チェスター ストリート
6075
- (72)発明者 キャロル, マイケル, イー.
アメリカ合衆国 38117-2507 テネシー州, メンフィス, バーフィールド ロード 4
691
- (72)発明者 マッカンスレス, ジョナサン, ディー.
アメリカ合衆国 38018-6557 テネシー州, コルドバ, ロッキー ポイント ロード
8827

審査官 常見 優

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2002/0055143 (US, A1)
国際公開第2004/103419 (WO, A1)
特開平10-151188 (JP, A)
国際公開第99/017710 (WO, A1)
特表2008-541958 (JP, A)
L. LEROUX, BONE, 1999年, V25 N2, P31S-34S
MIRTCHI, A.A., et al., Calcium phosphate cements: action of setting regulators on the
properties of the β -tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements, BIOMATERIALS
, 英国, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., 1989年11月 1日, Vol.10, No.9, p.634-
638
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61L15/00-33/18
Caplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)