

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-512902

(P2010-512902A)

(43) 公表日 平成22年4月30日 (2010.4.30)

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

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 39 頁)

(21) 出願番号	特願2009-542261 (P2009-542261)	(71) 出願人	509174532
(86) (22) 出願日	平成19年12月21日 (2007.12.21)		ヌーマット・アーエス
(85) 翻訳文提出日	平成21年8月18日 (2009.8.18)		ノルウェー・N-1309・ラド・ポスト
(86) 国際出願番号	PCT/IB2007/004062		ボックス・54
(87) 国際公開番号	W02008/078164	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開日	平成20年7月3日 (2008.7.3)		弁理士 村山 靖彦
(31) 優先権主張番号	60/876, 150	(74) 代理人	100064908
(32) 優先日	平成18年12月21日 (2006.12.21)		弁理士 志賀 正武
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100089037
			弁理士 渡邊 隆
		(74) 代理人	100110364
			弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 金属酸化物製足場

(57) 【要約】

本発明は、酸化チタンを含む金属酸化物製足場に関する。本発明の足場は、組織再生のための対象への埋込みに、および、再生中の組織への細胞成長用および安定化用の枠組みの提供に、有用である。本発明はさらに、そのような金属酸化物製足場を作製する方法およびその使用にも関する。

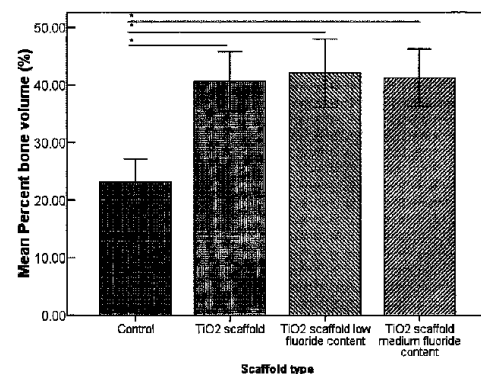


Fig. 4

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

圧縮強度が約0.1～150MPaである、酸化チタンを含む金属酸化物製足場。

【請求項 2】

前記圧縮強度が約5～15MPaである、請求項1に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 3】

孔隙率が約40～99%、好ましくは70～90%である、請求項1または2に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 4】

孔径が約10～3000 μm 、好ましくは約20～2000 μm 、より好ましくは約30～1500 μm 、さらにより好ましくは約30～700 μm である、請求項1から3のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

10

【請求項 5】

約2.0～3.0、好ましくは約2.2～2.3のフラクタル次元支柱を有する、請求項1から4のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 6】

内部支柱の容積が約0.001～3.0 μm^3 、好ましくは約0.8～1.2 μm^3 である、請求項1から5のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 7】

前記孔が、相互連結しているか、または部分的に相互連結している、請求項1から6のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

20

【請求項 8】

Zr、Hf、V、Nb、Taおよび/またはAlの少なくとも1つの酸化物をさらに含む、請求項1から7のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 9】

前記酸化チタンが、前記足場中に存在する前記金属酸化物の40～100重量%、好ましくは60～90重量%を構成する、請求項1から8のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 10】

フッ化物および/またはフッ素で少なくとも部分的に覆われた少なくとも1つの表面を備える、請求項1から9のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

30

【請求項 11】

前記フッ化物が、HF、NaFおよび/または CaF_2 を含む水溶液中で、気相の形態で、および/または蒸気として施される、請求項10に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 12】

前記酸化チタンが、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含む、請求項1から11のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 13】

前記酸化チタンが TiO_2 を含む、請求項1から12のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 14】

前記金属酸化物が、 TiO_2 、 Ti_3O 、 Ti_2O 、 Ti_3O_2 、 TiO 、 Ti_2O_3 または Ti_3O_5 から選択される1種または複数種の酸化チタンを含む、請求項1から13のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

40

【請求項 15】

前記金属酸化物が、1種または複数種のチタン酸化物から成る、請求項1から14のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 16】

前記チタン酸化物が TiO_2 から成る、請求項15に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 17】

骨などの組織の再生、修復、代替および/または回復用の、請求項1から16のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

50

【請求項 18】

請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場を含む医療用インプラント。

【請求項 19】

酸化チタン粉末の水溶液を含み、前記酸化チタン粉末が第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含む、請求項1から18のいずれかに記載の金属酸化物製足場を調製するためのスラリー。

【請求項 20】

添加剤および/または界面活性剤が加えられていない、請求項19に記載のスラリー。

【請求項 21】

請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場を作製する方法であって、

10

a)酸化チタンを含む金属酸化物のスラリーを調製する工程であって、前記スラリーがフッ化物イオンおよび/またはフッ素を場合により含む工程と、

b)工程a)の前記スラリーを多孔質ポリマー構造体に施す工程と、

c)工程b)の前記スラリーを凝固させる工程と、

d)前記凝固した金属酸化物スラリーから前記多孔質ポリマー構造体を除去する工程とを含む方法。

【請求項 22】

工程a)における前記酸化チタンが、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含む、請求項21に記載の方法。

【請求項 23】

20

工程a)における金属酸化物の前記スラリーが、一切の有機添加剤を含有しない酸化チタンスラリーである、請求項21または22に記載の方法。

【請求項 24】

工程a)における前記スラリーのpH値が約1.0から4.0、好ましくは約1.5～2.0である、請求項21から23のいずれかに記載の方法。

【請求項 25】

前記多孔質ポリマー構造体が有機スポンジ構造体である、請求項21から24のいずれかに記載の方法。

【請求項 26】

前記有機スポンジが、有機多孔質ポリマースポンジ、好ましくは、ポリエチレン、シリコーン、セルロースまたはポリ塩化ビニルのスポンジである、請求項25に記載の方法。

30

【請求項 27】

工程a)の前記スラリーが、前記多孔質ポリマー構造体を前記スラリー中に浸漬させることにより工程b)の前記多孔質ポリマー構造体に施される、請求項21から26のいずれかに記載の方法。

【請求項 28】

工程d)が、前記凝固した金属酸化物スラリーから、加熱により前記多孔質ポリマー構造体を除去することにより実施される、請求項21から27のいずれかに記載の方法。

【請求項 29】

工程d)が、

40

i)前記凝固した金属酸化物スラリーが施された前記多孔質ポリマー構造体を約500℃にゆっくり焼結させ、前記温度を少なくとも30分間維持することと、

ii)最低約1500℃または約1750℃におよそ3K/分で急速焼結させ、前記温度を少なくとも10時間維持することと、

iii)少なくとも3K/分で室温に急速冷却することと

により実施される、請求項21から28のいずれかに記載の方法。

【請求項 30】

フッ化物および/またはフッ素で前記金属酸化物製足場を処理する工程をさらに含む、請求項21から29のいずれかに記載の方法。

【請求項 31】

50

前記フッ化物および/またはフッ素が、HF、NaFおよび/またはCaF₂を含む水溶液中で、気相の形態で、および/または蒸気として施される、請求項30に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記溶液中のフッ化物および/またはフッ素の濃度がおよそ0.001～2.0重量%、好ましくは0.05～1.0重量%である、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 3】

医療用インプラントとして使用するための、請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 3 4】

組織の再生に使用するための、請求項33に記載の医療用インプラント。

10

【請求項 3 5】

骨の再生に使用するための、請求項33または34に記載の医療用インプラント。

【請求項 3 6】

組織の再生、修復、代替および/または回復用の医療用インプラントを調製するための、請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場の使用。

【請求項 3 7】

骨の再生、修復、代替および/または回復用の医療用インプラントを調製するための、請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場の使用。

【請求項 3 8】

骨充填材として顆粒化されている、請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場の使用。

20

【請求項 3 9】

顆粒化されている請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場を含む骨充填材。

【請求項 4 0】

請求項1から17のいずれかに記載の金属酸化物製足場または請求項18に記載の医療用インプラントを、前記金属酸化物製足場または前記医療用インプラントを必要とする対象に埋め込むことを含む、組織の再生、修復、代替および/または回復のための方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0 0 0 1】

本発明は、対象に埋め込んだ場合の機械的安定性および生体適合性の点で向上した特性を有する材料を含むインプラントの分野に関する。とりわけ、本発明は、多孔質の金属含有セラミック材料を含むインプラント、ならびに、骨伝導性および骨結合性を有する材料として使用するためのそのような材料を作製する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

外傷、腫瘍、癌、歯周炎および骨粗鬆症などの病態は、骨の喪失や、骨成長および骨量の低下につながることもある。さまざまな理由から、骨成長を向上させ骨組織を回復するための方法を見出すことは重要である。足場は、骨再生の過程に関与する細胞のための枠組みとしてだけでなく、失われた骨構造体の代替物としての枠組みとしても使用し得る。埋め込まれた構造体が治癒過程後に骨によりコーティングされるように骨細胞を刺激して成長させる表面構造を有する、対象に埋め込まれる足場がもたらされることも興味深い。

40

【0 0 0 3】

整形外科用インプラントは、筋骨格系、とりわけ関節および骨における機能の維持および回復(これらの構造体における疼痛の緩和を含む)のために利用される。血管ステントは、限局的に血流が妨げられるのを防止または妨害するために血管中に挿入するように構成された管状のインプラントであり、すなわち、このようなステントは、血管の直径が著しく小さくなることを妨害するものである。

【0 0 0 4】

50

整形外科用インプラントは、生体環境中で安定で、物理的応力に耐え、変形が最小限である材料から一般に作製される。このような材料は、強度、耐食性をもち、良好な生体適合性を有し、良好な磨耗性を有していなければならない。このような要件を満たす材料としては、チタンおよびコバルトクロム合金などの生体適合性材料が挙げられる。

【0005】

組織工学の目的のためには、細胞の成長を補助する足場を使用することがこれまでに知られている。足場の孔径、孔隙率および相互連結性は、細胞の振舞いおよび再生される組織の質に影響する重要な要素であると考えられている。先行技術の足場は、リン酸カルシウム、ヒドロキシルアパタイトで、また、異なる種類のポリマーで、典型的に作製されている。

10

【0006】

組織工学の一原則は、細胞を採取し、必要に応じin vitroで細胞集団を拡大させ、細胞が完全な組織または器官に成長できる三次元の支持足場上にそれらを植え付けることである[1~5]。大部分の臨床用途にとって、足場の材料および構造の選択は決定的に重要である[6~8]。足場内での高い細胞密度を実現するために、材料は、容積に対する表面積比率が高いことが必要である。孔は、細胞が足場中に遊走できるように十分開口した大きなものでなければならない。細胞が材料表面に付着した際に、栄養分の送達、老廃物の除去、材料または細胞の除外およびタンパク質輸送が可能になるだけ十分な空間およびチャンネルがなければならず、そのような空間およびチャンネルは、孔の相互連結によるネットワークがある場合にのみ得られる[9、10]。埋め込まれた足場に対する生体応答は、三次元のミクロ構造など足場のデザイン要素によっても影響される[11]。材料の構造特性に加え、細胞を付着させるための材料表面の物性もきわめて重要である。

20

【0007】

チタンおよびチタン合金は、骨組織との生体適合性、および骨組織と直接強固な付着を形成する性向から、歯科および整形外科の手術におけるインプラント材料として頻繁に使用される。このような強固な付着をもたらす、骨組織と金属との間のこうした相互作用は、「骨結合」と呼ばれる。

【0008】

チタン、ジルコニウム、ハフニウム、タンタル、ニオブまたはそれらの合金など、骨インプラント用に使用される金属または合金のいくつかは、骨組織との比較的強い結合(骨組織それ自体と同程度に強いこともあれば、時にはそれより強いことさえある結合)を形成する能力がある。

30

【0009】

金属(例えばチタン)と骨組織との間の結合は比較的強いと考えられるとはいえ、この結合を強化することが望ましい場合はよくある。

【0010】

今までのところ、インプラントのより良好な付着、ひいては強化された骨結合を得るために金属性インプラントを処理する方法はいくつかある。こうした方法の中には、例えば、未処理表面と比較して表面粗さを増加させるために、インプラント表面上に比較的大きな不規則性を作り出すことにより、インプラントのモフォロジーを変化させることを含むものもある。表面粗さが増すと、インプラントと骨組織との間のより大きな接触領域および付着領域が与えられ、それによって、より良好な機械的保持性および強度を得ることができる。表面粗さは、例えば、プラズマ溶射、吹付けまたはエッチングにより得てもよい。

40

【0011】

インプラント表面のラフエッチングは、フッ化水素酸(HF)または塩化水素(HCl)と硫酸(H_2SO_4)との混合物などの還元性の酸を用いて実施してよい。このようなラフエッチングプロセスの目的は、孔の直径が2~10 μm の範囲内、孔の深さが1~5 μm の範囲内といった、不規則性が相当大きいインプラント表面を得ることである。

【0012】

50

他の方法は、インプラント表面の化学特性を変化させることを含む。こうした方法は、例えば、低濃度のフッ化物溶液、例えばHFまたはNaFを用いて、表面の化学的性質だけでなく同時に表面のナノ構造を改変させることにより行ってよい。例えばそのような一方法は、とりわけ、骨組織の再生を刺激するためにヒドロキシアパタイトなどのセラミック材料の層をインプラント表面に施用することを含む。しかしながら、セラミックコーティングは脆いことがあって、インプラント表面から剥がれ落ちたり外れたりすることがあり、それが続くとインプラントが最終的に破損する結果となる可能性がある。

【0013】

インプラント表面の改変に関する上述の開示された方法の他に、酸素と接触すると、チタン、ジルコニウム、ハフニウム、タンタル、ニオブおよびそれらの合金は即座に薄い酸化物層で覆われることに注目すべきである。チタン製インプラントの酸化物層は、二酸化チタン(IV)(TiO_2)と少量の Ti_2O_3 およびTiOとから主に成る。酸化チタンの厚さは、一般に約4~8nmである。

【0014】

W095/17217およびW094/13334には、フッ化物を含む水溶液を用いて金属性インプラントを処理するための異なるプロセスが記載されている。これらの先行出願には両方とも、生体適合性が向上した金属性インプラント、および、そのような金属性インプラントを作製する方法が記載されている。具体的には、骨組織の付着速度が増し、インプラントと骨組織との間のより強い結合が得られる。これらのインプラントの生体適合性向上は、インプラント表面上のフッ素および/またはフッ化物が保持されていることによると考えられている。

【0015】

J E Ellingsen、「Pre-treatment of titanium implants with fluoride improves the ir retention in bone」、Journal of Material Science、Materials in Medicine、6(1995)、749~753頁によれば、フッ素および/またはフッ化物は表面の酸化チタン層と反応し、チタンに結合した酸素を置換してフッ化チタン化合物を形成すると推測されている。in vivoでは、組織液中のリン酸の酸素は酸化物層中のフッ化物を置換することができ、次いで、そのリン酸がチタン表面に共有結合することになる。これにより、骨中のリン酸がチタン製インプラントに結合する骨形成が誘導されると考えられる。さらに、放出されたフッ化物がこの反応を触媒し、周囲の骨中におけるフッ化ヒドロキシアパタイトおよびフルオロアパタイトの形成を誘導すると考えられる。

【0016】

W004/008983およびW004/008984では、インプラントの生体適合性を向上させるためのさらなる方法が開示されている。W004/008983では、インプラント表面上にフッ素および/またはフッ化物を施すこと、平方根平均二乗粗さ(R_q および/または S_q)が $\leq 250\text{nm}$ の微小粗さを表面上にもたらすこと、および/または、孔の直径が $\leq 1\mu\text{m}$ 、孔の深さが $\leq 500\text{nm}$ である孔をもたらすことを含む、インプラントを処理する方法が開示されている。W004/008984には、孔の直径が $\leq 1\mu\text{m}$ 、孔の深さが $\leq 500\text{nm}$ 、孔の深さの半値幅が孔の直径の15から150%である孔を有する微小粗さをもたらすための、金属性インプラント表面を処理する方法が開示されている。

【0017】

骨の内方成長は、セルサイズが骨梁骨のものと大体同じ(およそ0.25~0.5mm)で、直径が大体 $100\mu\text{m}$ (0.1mm)の支柱を有する、孔隙率が高く開口したセル構造中で優先的に起こることが知られている。したがって、孔隙率が高く制御されたマイクロ構造をもつ材料は、整形外科用インプラントの製造者および歯科用インプラントの製造者の両方にとって関心のあるものである。整形外科市場の場合、骨の内方成長および表面成長の選択肢としては、現在のところ以下が挙げられる:(a)DePuy Inc.は、金属ビーズをインプラント表面に焼結させることにより、骨の内方成長用に制御され、それに適した孔径のマイクロ構造がもたらされるが、骨の内方成長に最適な孔隙率には満たない;(b)Zimmer Inc.は、目の粗い繊維を拡散結合させることにより作製された繊維金属パッドを使用しており、このパッドは

次いでインプラントに拡散結合されるか、または、複合構造体中でインサート射出成型されるが、これも骨の内方成長に最適な密度には満たない;(c)Biomet Inc.は、結果的に粗表面となるプラズマ溶射表面を使用しており、これにより表面成長は実現されるが、骨の内方成長は実現されない;および(d)Implex Corporationは、タンタルコーティングされた炭素のミクロ構造体(金属発泡体とも呼ばれている)を作製するための化学蒸着プロセスの使用を実現している。調査によれば、この「骨梁状金属」は質の高い骨の内方成長をもたらすことが示されている。骨梁状金属は、骨の内方成長を促す、高い孔隙率、オープンセル構造およびセルサイズという利点を有する。しかしながら、骨梁状金属は、制御の困難な化学的性質およびコーティング厚を有する。骨梁状金属は、材料およびプロセスにコストがかかり加工時間が長く、主に化学蒸着(chemical vapor deposition、CVD)を伴うことから、非常に高価である。さらに、CVDは非常に有毒な化学薬品の使用を必要とし、このことは、製造においても生物医学的な用途にとっても敬遠される。

10

【0018】

今日入手可能な足場は吸収性であることが多いが、それは、足場が対象への埋込み後に分解することを意味する。このことはいくつかの事例においては好ましいこともあるが、他の事例では、インプラント自体の安定化機能が失われる結果にもなることから、そうした性質が不利となる場合もある。さらに、先行技術の足場は、炎症応答の引き金となることが多く、感染症を引き起こす。例えば、動物由来の骨インプラントの足場は、別の動物体内に埋め込むとアレルギー反応を引き起こすことがある。不動態化用の酸化物層を備える金属インプラントは良好な生体適合性を有するが、このことは、そのような材料製のインプラントの使用により上述の欠点が克服される可能性があることを意味する。しかしながら、実用に耐える十分高い機械的安定性を有する、酸化チタンを含む金属酸化物製足場を作製することはこれまで不可能であった。

20

【0019】

この意味で最も有望な生体適合性材料の1つは生体活性セラミックのTiO₂であることが、過去の試験において証明されている[25~28]。この材料は、炎症応答または被包化の兆候を一切示さないまま足場が55週間ラットの体内に埋め込まれていたという、際立った生体適合性を示した[28]。二酸化チタンの三次元の開口孔の加工においては、研究がほとんど行われていない[29、30]。本研究の目的は、マクロ構造、ミクロ構造およびナノ構造と定義される構造を有するセラミック発泡体を作製すること、および、細胞培養のための足場としてセラミック発泡体の可能性のある用途を示すことであった。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0020】

【特許文献1】W095/17217

【特許文献2】W094/13334

【特許文献3】W004/008983

【特許文献4】W004/008984

【特許文献5】US2006/0155384

【非特許文献】

40

【0021】

【非特許文献1】J E Ellingsen、「Pre-treatment of titanium implants with fluoride improves their retention in bone」、Journal of Material Science、Materials in Medicine、6(1995)、749~753頁

【非特許文献2】Maniatopoulosら、Cell Tissue Res 254、317~330頁、1988

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0022】

したがって、本発明の目的は、対象への埋込み用の医療用インプラントとして使用するための金属酸化物製足場を提供することであり、この足場は、上述の欠点を克服するもの

50

、すなわち、良好な生体適合性を有し、対象に埋め込んだ際に有害反応を一切引き起こさないもの、三次元の足場中への細胞成長を可能にするもの、および、足場を安定化用の構造体として実用に耐えさせる機械的安定性を依然として有するものである。さらに、この足場は、足場表面上でのより速い骨成長およびそれに次ぐ骨梁の相互連結網をもたらす、造骨細胞にとっての条件向上につながる表面特性を有していなければならないことも、本発明の目的である。

【課題を解決するための手段】

【0023】

上述の目的は、酸化チタンを含む金属酸化物で作られた、圧縮強度が約0.1~150MPaの金属酸化物製足場を提供することにより達成される。より好ましくは、本発明の金属酸化物製足場の圧縮強度は、5~15MPaである。

10

【0024】

第2の態様では、本発明は、そのような金属酸化物製足場を備える医療用インプラントを提供する。

【0025】

別の態様では、本発明は、

a)酸化チタンを含む金属酸化物のスラリーを調製する工程であって、前記スラリーがフッ化物イオンおよび/またはフッ素を場合により含む工程と、
b)工程a)のスラリーを多孔質ポリマー構造体に施す工程と、
c)工程b)のスラリーを凝固させる工程と、
d)凝固した金属酸化物スラリーから多孔質ポリマー構造体を除去する工程とを含む、金属酸化物製足場を作製する方法に関する。

20

【0026】

さらに別の態様では、本発明は、骨、軟骨、セメント質および歯組織などの組織の再生、修復、代替および/または回復用の、本明細書中に開示する医療用インプラントの使用に関する。

【0027】

さらに、本発明は、骨充填材としての顆粒状の金属酸化物製足場の使用にも関する。

【0028】

加えて、本発明は、本発明の金属酸化物製足場または医療用インプラントを、それを必要とする対象に埋め込むことを含む、組織の再生、修復、代替および/または回復のための方法に関する。

30

【0029】

本発明の金属酸化物製足場は、良好な生体適合性を有する酸化チタンを含む金属酸化物で作られているため、アレルギー反応などの有害反応を引き起こすことなく、対象に埋め込むことができる。本発明の足場は、足場が作られている材料および足場の表面構造に起因する、組織の再生に対する有益な効果もある。加えて、本発明の金属酸化物製足場は、硬化するまでの間に安定化機能を発揮するだけ十分な安定性を有する医療用インプラント中での使用にとりわけ適した安定性を有する。そのような安定性は、第二リン酸および/または第三リン酸が混入していない酸化チタンを使用することにより達成し得る。

40

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】熱板成型(hot plate moulding、HPM)を示す図である。板の中のくぼみは、粘性のある物体が成形プロセス中に平面化することを防止する。上部は、内部の水蒸気圧と粘度との組合せにより自由に成形される。

【図2】ポリマースポンジ法のフローチャートである。

【図3】金属酸化物製足場の支柱を示す写真である。この支柱は、焼結時間が短すぎたことから崩壊していない(A)。この写真は、三面支柱の壁の一面が崩壊して、以前は存在した、内部の中空の空間がなくなっていることを示す(B)。

【図4】足場を設置した中空の空洞内部の骨の比率(%)を示すグラフであり、この比率は

50

、新しく形成された骨の量を表す。Shamは対照であり、中空の空洞に中身がないままとしたものである。酸化チタン製足場、フッ化物含有量が低い酸化チタン製足場およびフッ化物含有量が中程度の酸化チタン製足場は全て、足場内部での骨形成が有意に($p<0.001$)増加していた。エラーバーは平均値の標準偏差を表し、バーの高さは測定値の平均を表す($*p<0.001$ 、 $n=13$)。

【図5】足場内部に新しく形成された骨の質を表す、骨梁幅の箱ひげ図である。フッ化物含有量が低い酸化チタン製足場およびフッ化物含有量が中程度の酸化チタン製足場は全て、足場内部の骨の質が有意に($p<0.001$)向上していた。エラーバーは平均値の標準偏差を表し、バーの高さは測定値の平均を表す($*p<0.001$ 、 $**p<0.05$ 、 $n=12$)。

【図6】 TiO_2 が80重量%、 Al_2O_3 が20重量%の比率のEDX混合物を示す写真である。

【図7】混合率の異なる TiO_2 - Al_2O_3 複合材料のビッカース硬度を示すグラフである。

【図8】 ZrO_2 と TiO_2 とを混合した複合材料のビッカース硬度を示すグラフである。

【図9】 TiO_2 が60重量%/ ZrO_2 が40重量%の試料の光学顕微鏡画像である。塊が視認でき(白い領域)、マトリックスは灰色～黒色の区域にある。

【発明を実施するための形態】

【0031】

定義

セラミックスとは、本明細書で言う場合、無機粉末材料を熱処理して凝固した構造体を形成させた物を意味する。

【0032】

本明細書で言う場合の「金属酸化物」は、Ti、Zr、Hf、V、Nb、Taおよび/またはAlの酸化物など、金属の酸化物に関する。本発明に適した金属酸化物の例としては、 TiO_2 、 Ti_3O 、 Ti_2O 、 Ti_3O_2 、 TiO 、 Ti_2O_3 、 Ti_3O_5 、 ZrO_2 、酸化タンタル(例えば TaO_2)および Al_2O_3 またはこれらの組合せが挙げられるが、こうしたものに限定されない。

【0033】

本明細書で言う場合の「足場」は、開口した多孔質構造体に関する。本明細書で言う場合の足場構造体は、典型的には、およそ $10\sim3000\mu\text{m}$ 、好ましくは $20\sim2000\mu\text{m}$ 、より好ましくは $30\sim1500\mu\text{m}$ 、さらにより好ましくは $30\sim700\mu\text{m}$ のミクロ孔径およびマクロ孔径が組み合わされている。好ましくは、孔径は $40\mu\text{m}$ 超であり、少なくとも $20\mu\text{m}$ の相互連結した孔を伴う。

【0034】

孔の直径厚とは、正味の孔直径、すなわち孔の正味の直径(周囲の壁を含めない)の平均を意味する。

【0035】

フラクタル次元支柱は、非常に微小な規模まで拡大していくとどれだけ完全にフラクタルが空間を占めるように見えるかの指標となる統計学的な量である。フラクタル次元については多くの具体的な定義があり、そのいずれをも普遍的なものとして扱うべきではない。1という値は、直線に付随する。数字が大きいほど、表面構造はより複雑である。

【0036】

全孔隙率は、本明細書で言う場合、本体内の、材料ではない全ての区画(例えば、いかなる材料によっても占有されていない空間)と定義される。全孔隙率には、閉鎖孔および開口孔の両方が含まれる。

【0037】

支柱内部容積とは、支柱の内腔の容積を意味する。

【0038】

第二リン酸および/または第三リン酸の混入は、本明細書に開示するスラリーが理想的なIEPに応答しないときに存在することと定義される(例えば、 TiO_2 のIEPが1.7より高い場合には、酸化チタン粒子の混入が存在する)。

【0039】

「焼結」とは、その粒子が互いに接着するまで材料を加熱する(その融点未満で)ことに

10

20

30

40

50

より粉末から物を作製する方法を意味する。焼結は、セラミック物の製造に伝統的に用いられ、粉末冶金のような分野においても用途が見出されている。

【0040】

本明細書で言う場合の「医療用インプラント」は、哺乳動物(例えばヒト)などの脊椎動物の体内に埋め込むことを意図した器具に関する。本明細書で言う場合のインプラントは、組織を代替するため、および/または、体の任意の機能を回復させるために使用し得る。インプラントの例としては、歯科用インプラントおよび整形外科用インプラントが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で言う場合、「整形外科用インプラント」という用語は、その範囲内に、筋骨格系、とりわけ関節および骨の機能の維持および回復(これらの構造体における疼痛の緩和を含む)のために脊椎動物、とりわけ、ヒトなどの哺乳動物の体内に埋め込むことを意図した任意の器具を包含する。本明細書で言う場合、「歯科用インプラント」という用語は、その範囲内に、歯の回復術において、脊椎動物、とりわけ、ヒトなどの哺乳動物の口腔中に埋め込むことを意図した任意の器具を包含する。歯科用インプラントは、歯科用の人工器具を意味することもある。一般に、歯科用インプラントは、1つまたは複数のインプラント部分から成る。例えば、歯科用インプラントは、橋脚歯などの二次的なインプラント部分、および/または、歯冠、ブリッジまたは義歯などの歯科用修復物に連結される歯科用取付具を通常含む。しかし、歯科用取付具など、埋込みを意図した任意の器具を(その器具には他の部分が接続されることになっているとしても)単独でインプラントと呼ぶことがある。

10

【0041】

本明細書で言う場合、「対象」は、鳥類、爬虫類、哺乳動物、霊長動物およびヒトなどの任意の脊椎動物に関する。

20

【0042】

足場の機械的強度は、200Nの加圧セル上で、圧縮テスト(Zwicki、Zwick/Roell、Ulm、ドイツ)において定量した。足場には、2Nの力を予めかけることとした。圧縮速度を100mm/分に設定した。testXpert2.0.DIN EN ISO3386、1998でテストデータを分析した。

【0043】

本発明は、医療用インプラントにおいて有用となる、向上した生体適合性および機械的安定性を有する金属酸化物製足場に関する。本発明はさらに、そのような足場を作製する方法およびその使用にも関する。

30

【0044】

足場インプラントは、主に機能を回復するために組織を代替する固形のインプラント(例えば歯科用インプラントおよび人工股関節)とは対照的に、組織の量が喪失した後で組織を再生するために使用される。大部分の先行技術の足場は吸収性であるため、このような足場は対象への埋込み後に分解する。このことは、このような足場は、再生された組織の成長のための枠組みとして作用するという機能を有するにすぎないことを意味する。しかし、場合によっては、細胞成長のための枠組みとして機能することに加え安定化機能も備える足場を有することが好ましいこともある。しかしながら、これまでに論じたように、生体適合性が低い(例えば、アレルギー反応を引き起こす)という点で、これまでに入手可能であった足場には問題がある。さらに、対象に埋め込んだ際、硬化するまでの間に安定化機能を発揮するだけ十分安定な酸化チタンを含む金属酸化物製足場を作製することは、これまでは不可能であった。

40

【0045】

本発明者らは、驚くべきことに、組織を再生させることだけでなく、足場自体を対象に残して、再生された組織に機械的安定性を与えることでも実用に耐えさせる安定性を併せもつ生体適合性の良好な材料で作られた足場の提供を可能にする、という問題に対する解決策を見出した。

【0046】

この目的は、酸化チタンを含む金属酸化物を含む金属酸化物製足場を提供することにより達成される。酸化チタンは骨結合するのみならずアンギオネーゼ(angione)を形成す

50

る能力も有しているため、酸化チタンを含む金属酸化物製足場を作製できることが望ましい。

【0047】

上述のように、医療用インプラントとしての使用に適した安定性を有する酸化チタンを含む足場を作製することは、これまでは不可能であった。しかし、本発明の酸化チタンを含む金属酸化物製足場は、医療用インプラントとしての使用に好適な強度である約0.1~150MPaの機械的強度を有する。好ましい一実施形態では、機械的強度は約5~15MPaである。本発明の足場の圧縮強度は、上述による公知の方法により測定する。

【0048】

本発明はさらに、組織、とりわけ骨組織の再生、修復、代替および/または回復のための本明細書中で開示される酸化チタンを含む金属酸化物製足場に関する。

10

【0049】

大部分の市販の酸化チタン粉末は、第二リン酸および/または第三リン酸が表面に混入している。このようなリン酸混入物は、金属酸化物製足場の調製中にその適切な焼結を妨げることから、酸化チタン製足場を作製するために使用すると、結果として得られる足場は十分な機械的強度をもたない。

【0050】

しかし、驚くべきことに、本発明者らは、第二リン酸および/または第三リン酸が混入していない(すなわち、追って記載するように、そのような混入物を10ppm未満含有する)酸化チタン粉末を酸化チタン粒子の表面上に利用することにより、酸化チタンを含む金属酸化物製足場を調製できることを見出した。酸化チタン粒子の表面上に第二リン酸および/または第三リン酸が含まれていない酸化チタンは、そのような混入物がすでに存在していない酸化チタン粉末(例えば、Sachtleben製の酸化チタン)を使用することにより入手してもよい。あるいは、リン酸混入物を含む酸化チタン粉末を、リン酸混入物を除去するためにNaOH(例えば1M)などで洗浄してもよい。

20

【0051】

リン酸混入物を含まない酸化チタンで作られた酸化チタン製足場は、これまで作製されていなかった。結果として、実用に耐える機械的強度を有する酸化チタン製足場は、これまで作製できなかった。本明細書で言う場合、酸化チタンは、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を10ppm未満含む。そのような酸化チタンは、本明細書で言う場合、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物が存在しないとみなされる。

30

【0052】

本明細書中で開示する金属酸化物製足場の強度は、足場の孔隙率を変化させることにより変え得る。孔隙率を低下させると、足場の強度は増すことになる。

【0053】

Kimら(24)は、ヒドロキシアパタイト(HA)層を備える ZrO_2 の足場を開示した。このような足場は、 ZrO_2 とHA層に基づく生体適合性表面とによる機械的強度の利点を組み合わせたものとみなされた。しかしながら、これらの足場においては、埋込み中にHA層が剥落/磨滅したり、または、 ZrO_2 とHAとの間の機械的特性に差があることが原因で、使用により足場に荷重がかかった際に細かいひびが入ったり裂けたりインプラントの表面から外れることすらある。そのようなHA断片は、足場構造体の骨結合を妨げる異物応答を有効に開始する、小さな隔絶された物体を形成する。さらに、このような ZrO_2 足場の別の欠点は、 ZrO_2 表面自体は、HA層中における断層に曝された場合には本来の骨伝導効果をほとんど発揮せず、さらに、それが原因で、これらの足場が骨中で適切に結合できないことである。対照的に、酸化チタンは ZrO_2 より骨誘導性が高く、また、酸化チタンは本発明の足場とは切り離せない部分であることから、足場に荷重がかかった際に、この骨誘導性材料が失われるリスクはない。

40

【0054】

本発明の足場が有する、先行技術の足場を超えるその他の利点は、製造コストの低下および作製の容易化である。

50

【0055】

前記金属酸化物製足場は、哺乳動物対象(例えばヒト対象)などの対象への埋込み(すなわち医療用インプラントとして)を意図したものである。本発明の金属酸化物製足場インプラントは、その生体適合性を向上させ、細胞の成長およびインプラントの付着を刺激する表面特性の向上した多孔質構造体を含む。この多孔質構造体は、足場中への細胞の内方成長を可能にすることにより、組織の再生を可能にする。金属酸化物製足場の表面積が大きいことも、構造中への細胞の成長を、また、それによる足場の付着および組織の再生を容易にする。この足場は、それ自体良好な生体適合性を有する材料で作られているため、対象へ埋め込んだ際の足場への有害反応は低下している。

【0056】

本発明は、マクロ孔と相互連結とを備えるマクロ多孔質の足場を提供する。本発明の金属酸化物製足場のマクロ孔は、およそ10~3000 μm の間の範囲、好ましくは約20~2000 μm 、より好ましくは約30~1500 μm 、さらにより好ましくは約30~700 μm である。より好ましくは、マクロ孔の直径は約100 μm 超である。最も好ましくは、マクロ孔の直径は約30~700 μm である。骨の場合、孔径は最適には30~100 μm である。しかし、足場は、血管および骨梁骨などの大きめの構造体の内方成長も可能にすること、すなわち、約100 μm 以上の孔も有することが重要である。本発明の足場の少なくともいくつかの孔は相互連結していることが重要である。

【0057】

孔径は、足場の作製に使用する構造体の選択により、例えばスポンジの選択および金属酸化物を含むスラリー中にこの構造体を浸す回数の選択(このプロセスは本文書中の別の箇所を開示する)により、調節し得る。孔径を変化させることにより、足場中への細胞成長の速度および程度、ひいては、その結果得られる組織の構成に影響を与え得る。別の好ましい実施形態では、この金属酸化物製足場は、相互連結した、または部分的に相互連結した孔を含む。このことは、この孔が、「行き止まりの」または閉鎖した孔を有する孔ではなく、2方向以上における栄養分および老廃物の通過を可能にする少なくとも2つの開口端を有することを意味する。それにより、壊死組織が形成されるリスクが低下する。このマクロ多孔質系は、好ましくは、足場の容積の少なくとも50%を占める。足場中のマクロ孔およびミクロ孔の容積は、足場の機能により変わってよい。治療に伴う目的が多く、骨構造体を代替することであり、治癒時間中は足場に荷重がかからない状態を維持することができる場合は、この足場は、足場の容積全体の最大90%を占めるマクロ多孔質系を用いて作製してよい。

【0058】

好ましくは、本発明による金属酸化物製足場の全孔隙率は約40~99%、好ましくは70~90%である。

【0059】

好ましくは、本発明による金属酸化物製足場は、約2.0~3.0、好ましくは約2.2~2.3のフラクタル次元支柱を有する。支柱の厚さは足場の強度に影響し、足場中の支柱が厚いほど、足場は強度が高くなる。

【0060】

好ましくは、本発明による金属酸化物製足場の支柱内部容積は、約0.001~3.0 μm^3 、好ましくは約0.8~1.2 μm^3 である。容積が小さく、フラクタル値が高くなれば、より強度の高い足場がもたらされる。

【0061】

本発明の本足場の表面は、ミクロレベルで、およびナノレベルでの構造体も有することは、当業者には理解されよう。このミクロ構造体およびナノ構造体は、製造条件により改変し得る。製造プロセスにより作り出される孔は、1~10 μm の範囲のミクロレベルである。ナノレベルの孔は、直径が1 μm 未満である。

【0062】

本明細書で言う場合の足場構造体は、典型的には、およそ10~3000 μm 、好ましくは20

10

20

30

40

50

～2000 μm 、より好ましくは30～1500 μm 、さらにより好ましくは30～700 μm のマイクロ孔径およびマクロ孔径の組合せを有する。好ましくは孔径は40 μm 超であり、少なくとも20 μm の相互連結した孔を伴う。

【0063】

追って明らかになるだろうが、足場を作製する様式により、本発明の足場は、中で骨が成長し、相互連結した骨梁を作り出すことになる中空細管の構造体を有する。細胞はこの細管の内側および外側の両方の上で成長することになる。

【0064】

金属酸化物製足場のサイズおよび形状は、その使用意図によって決まる。足場を作製する際に使用する多孔質構造体のサイズおよび形状を変化させることにより(以下を参照)、その結果得られる足場のサイズおよび形状を変え得る。したがって、足場は特定の対象におけるその特定の使用に容易に合わせ得る。

【0065】

別の態様では、本発明は、フッ化物および/またはフッ素も含む酸化チタンを含む金属酸化物製足場に関する。形成されるフッ化チタンが酸化チタン自体より化学的に安定である(すなわち、表面からの溶解性が低いため、より安定な足場が形成される)ことから、そのような足場は、さらにより安定である。また、足場へのフッ素添加は、さらに向上した生体適合性をもたらすというさらなる利点を有する。このことは、フッ化物が酸化チタンと反応するとされる事実によるものと考えられる。in vivoでは、組織由来のリン酸はフッ化物を次々に置換することができ、このリン酸が、足場中のチタンに結合することになる。こうして、骨中のリン酸がチタン製インプラントに結合する骨形成が誘導されると考えられる。さらに、放出されたフッ化物がこの反応を触媒し、周囲の骨中でのフッ化ヒドロキシアパタイトおよびフルオロアパタイトの形成を誘導すると考えられる。したがって、本発明の一実施形態は、フッ化物および/またはフッ素で少なくとも部分的に覆われた少なくとも1つの表面を備える金属酸化物製足場である。

【0066】

一実施形態では、この金属酸化物製足場は、フッ化物イオンおよび/またはフッ素を含む水溶液で処理する。この目的のためには、好ましくは、HF、NaFおよび/または CaF_2 を含む水溶液を使用する。あるいは、フッ化物/フッ素は、気相を介して、および/または蒸気として施してよい。水溶液中のフッ化物および/またはフッ素の濃度は、約0.001～2.0重量%、好ましくは0.05～1.0重量%である。フッ化物および/またはフッ素を含む水溶液のpHは、好ましくはおよそpH0～7、好ましくはpH2～6、より好ましくはpH2～4である。

【0067】

別の実施形態では、フッ化物イオンおよび/またはフッ素は、金属酸化物製足場を調製するために使用されるスラリー中で施される。それにより、フッ化物/フッ素は、金属酸化物製足場の切り離せない部分として施される。

【0068】

金属酸化物製足場のフッ素添加により、足場の安定性のさらなる向上が達成される。それにより、骨量喪失分を足場で代替することができ、新しい骨が再生でき、次いで新しい骨構造体が構築できるように、高い生体適合性が、向上した機械的安定性および強度と組み合わせられている利点を有する足場を提供することが、本発明により可能である。

【0069】

本発明の金属酸化物製足場中で使用するためのチタン酸化物は、 TiO_2 、 Ti_3O 、 Ti_2O 、 Ti_3O_2 、 TiO 、 Ti_2O_3 または Ti_3O_5 から選択される1種または複数種の酸化チタンを含む。好ましい一実施形態では、この金属酸化物製足場中の酸化チタンは TiO_2 を含む。好ましい一実施形態では、この金属酸化物は、 Ti_3O 、 Ti_2O 、 Ti_3O_2 、 TiO 、 Ti_2O_3 または Ti_3O_5 から選択される1種または複数種の酸化チタンを TiO_2 と組み合わせて含む酸化チタンである。好ましくは、本発明の金属酸化物製足場中で使用するための金属酸化物は、 TiO_2 、 Ti_3O 、 Ti_2O 、 Ti_3O_2 、 TiO 、 Ti_2O_3 または Ti_3O_5 から選択される1種または複数種の酸化チタンから成る。別の好ましい実施形態では、酸化チタンは TiO_2 から成る。

【0070】

酸化チタンに加え、この金属酸化物製足場は、Zr、Hf、V、Nb、Taおよび/またはAlの酸化物の1つまたは複数を、混合した状態で、さらに含んでよい。

【0071】

本発明による金属酸化物製足場の酸化チタン含有率は、好ましくは、足場中に存在する金属酸化物の重量に対し約40~100%、より好ましくは60~90%である。

【0072】

別の実施形態では、この金属酸化物製足場はZrO₂を含む。この実施形態では、好ましくは、前記金属酸化物のおよそ90%以上がZrO₂である。

【0073】

別の実施形態では、この金属酸化物製足場は、MgO、CaOまたはY₂O₃の1つまたは複数と組み合わせてZrO₂を含む。これにより、足場の機械的特性が向上することになる。

【0074】

別の実施形態は、金属酸化物がAl₂O₃を含む、金属酸化物製足場に関する。この実施形態では、好ましくは、前記金属酸化物の90%以上がAl₂O₃である。

【0075】

本発明のさらに別の好ましい実施形態では、この金属酸化物製足場は、Al₂O₃とTiO₂との複合材料を含む。複合材料は、TiO₂およびZrO₂から構成されていてもよい。そのような足場は、向上した強度を有することになる。

【0076】

本発明による金属酸化物製足場は、金属酸化物製足場の調製中に金属酸化物スラリーと混合される金属酸化物の粒子(粒径がおよそ10nm~100 μm)を含んでもよい。このようにして調製される、金属酸化物中に散在した金属酸化物の粒子を含む足場は、向上した安定性を有する。

【0077】

本発明の金属酸化物製足場は、CaPO₄、Cl⁻、F⁻および/または炭酸塩を場合により含んでもよい。そのような添加剤は、足場の生体適合性をさらに一層向上させ、足場の骨結合を向上させると考えられる。

【0078】

別の態様では、本発明は、金属酸化物製足場を含む医療用インプラントに関する。本発明による医療用インプラントは、本発明の任意の実施形態における金属酸化物製足場そのものであってよい。あるいは、この医療用インプラントは、本発明の金属酸化物製足場を、整形外科用の、歯科用の、または他の任意の取付器具もしくはインプラントなどの別の構造体と組み合わせて含んでもよい。本発明はさらに、組織、とりわけ骨組織の再生、修復、代替および/または回復用の酸化チタンを含む金属酸化物製足場を備える医療用インプラントに関する。

【0079】

別の態様では、本発明は、酸化チタンを含む金属酸化物製足場を調製するためのスラリーに関する。このスラリーは、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含む酸化チタン粉末の水溶液を含む。この水溶液は、溶媒として、普通の水または脱イオン水を含む。酸化チタン粉末対水の含有比(重量比)は、少なくとも2:1である。このスラリーは、本明細書中で開示される他の金属酸化物を含んでもよい。場合により、このスラリーは、フッ化物イオンまたはフッ化物(例えば、濃度が0.01重量%のHFの形態で)を含んでもよい。場合により、このスラリーは、CaPO₄、Cl⁻、F⁻、炭酸塩、MgO、CaOおよび/またはY₂O₃など、この金属酸化物製足場中に含まれると興味深い他の構成成分を含んでもよい。このスラリーは、好ましくは水性スラリーであり、500℃以上の温度に耐える。

【0080】

このスラリーの調製に使用する酸化チタン粉末は、非晶質、鋭錐石、ブルッカイトまたは金紅石の結晶相の形態であってよい。

【0081】

このスラリー中の金属酸化物の粒径は、適切な焼結を確実にするためにできるだけ小さいことが有利である(焼結プロセスに関する詳細については以下を参照)。したがって、この金属酸化物粒子は、焼結の前に、より小さい小片にサイズを落として均等に分布させる必要がある。スラリー調製時に、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含有する酸化チタンを使用することにより、酸化チタン粒子は、抗凝集有機化合物を添加しなくても適切な焼結が可能になるだけ十分に小さい。この結果、作製プロセスがより容易になる。したがって、本発明の好ましい一実施形態は、有機添加剤などの添加剤および/または界面活性剤が加えられていない酸化チタンを含むスラリーに関する。しかし、酸化チタン以外の他の金属酸化物が足場中に存在する場合には、凝集を減らしスラリーを安定化させるために、例えば多糖の結合剤(例えば、Product KB1013、Zschimmer&Schwarz GmbH、Lahnstein、ドイツ)といった結合剤などの有機添加剤を加える必要があると考えられる。 10

【0082】

本発明において使用する典型的なスラリーは、水、金属酸化物粒子、ならびに、場合により、結合剤および/または界面活性剤など表面張力を低下させるための有機部分を含む。

【0083】

好ましい一実施形態は、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含有する TiO_2 を含む金属酸化物製足場に関する。別の好ましい実施形態は、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含有する TiO_2 のみを足場中の金属酸化物として含有する金属酸化物製足場に関する。 20

【0084】

酸化チタンを含む金属酸化物製足場を調製するためのスラリーのpH値は、約1.0から4.0、好ましくは約1.5~2.0である。酸化チタンの理論上の等電点を得られるpH値にできるだけ近付けて酸化チタン粒子の粒径を小さくすることが好ましい。 TiO_2 の場合、このpH値は1.7である。酸化チタン粒子の平均粒径は、好ましくは $10\mu\text{m}$ 以下、より好ましくは $1.4\mu\text{m}$ 以下である。好ましくは、酸化チタン粒子は単分散している。

【0085】

本発明の金属酸化物製足場を作製する際、金属酸化物(複数も)を含む出発スラリーは水性であり、 500°C 以上の温度での焼成に耐えることが重要である。 30

【0086】

本発明の金属酸化物製足場を作製する方法は、

- a)酸化チタンを含む金属酸化物のスラリーを調製する工程であって、前記スラリーがフッ化物イオンおよび/またはフッ素を場合により含む工程と、
- b)工程a)のスラリーを多孔質ポリマー構造体に施す工程と、
- c)工程b)のスラリーを凝固させる工程と、
- d)凝固した金属酸化物スラリーから多孔質ポリマー構造体を除去する工程とを含む。

【0087】

このプロセスで使用するスラリーの組成の詳細は、本文書中の別の箇所に記載する。 40

【0088】

このスラリーは、使用する溶媒中に金属酸化物および他の任意選択的な構成成分を分散させることにより調製する。好ましくは、この金属酸化物は、攪拌しながら、および、溶媒を好ましいpH値に維持するために例えば1M HClを用いてpHを再調節しながら、溶媒に徐々に加える。次にスラリーを、例えば、金属刃、好ましくはチタン刃を備えた回転式ディスペーマットを用いてさらに分散させる。好ましくは、これを、少なくとも4000rpmの速度で少なくとも4時間実施する。より好ましくは、この工程を、5000rpmで5時間以上実施する。スラリーのpHは、選択したpH値に定期的に調節する。

【0089】

次に、このスラリーを多孔質ポリマー構造体に施す。この多孔質ポリマー構造体は、例 50

えば、合成スポンジなどのスポンジ構造体であってよい。多孔質ポリマー構造体が作られている材料は、好ましくは、燃焼による足場からの多孔質ポリマー構造体の除去を容易にするために、有機材料である。したがって、この多孔質ポリマー構造体は、有機スポンジ構造体、好ましくは有機多孔質ポリマースポンジ、好ましくはポリエチレン、シリコーン、セルロースまたはポリ塩化ビニルのスポンジである。好ましい多孔質ポリマー構造体の一例は、45または60ppiのBulbrenポリウレタン発泡体(Bulbren S、Eurofoam GmbH、Wiesbaden、ドイツ)である。この多孔質ポリマー構造体は、好ましくは、スラリーをこの構造体に施す前に、残留物および/または混入物を除去するために水で洗浄する。スラリーは、スラリー中に多孔質ポリマー構造体を浸漬させることにより、多孔質ポリマー構造体に施してよい。浸漬後、スラリー中に浸漬した多孔質ポリマー構造体を圧搾および/または遠心分離することにより、過剰なスラリーを除去してよい。次に、例えば、スラリー中に浸漬した多孔質ポリマー構造体を少なくとも5時間、より好ましくは約24時間乾燥させることにより、多孔質ポリマー構造体上でスラリーを凝固させる。工程b)~d)を実施する回数を変化させることにより、足場のマクロ孔の径を変えてよい。

10

【0090】

作製される金属酸化物製足場のサイズおよび形状は、使用する多孔質ポリマー構造体のサイズおよび形状を調節することにより調節してよい。それにより、特定の対象の、意図した特定の埋込み部位用にあつらえた足場を作製することが可能である。

【0091】

金属酸化物製足場の調製における次の工程は、その後すぐ、凝固したスラリーから多孔質ポリマー構造体を除去して足場構造体を得ることである。

20

【0092】

本発明の好ましい一方法では、工程d)は、凝固した金属酸化物スラリーから、加熱により多孔質ポリマー構造体を除去することにより実施する。

【0093】

好ましくは、この多孔質ポリマー構造体は、燃えやすい構造体である。それにより、上述の方法における工程d)は、例えば、凝固した金属酸化物スラリーから多孔質ポリマー構造体を焼除することにより実施してよい。このプロセスを実施するために必要な温度および時間は、当業者には容易に理解されるように、多孔質ポリマー構造体を作られている材料によって決まることになろう。重要なことは、この温度および時間は、多孔質ポリマー構造体のほぼ完全な除去が可能になるように選択されるべきである。特定の多孔質ポリマー構造体および足場がこうした結果に到達するために必要な時間および温度の選択方法は、当業者には公知であろう。

30

【0094】

好ましい一方法では、工程d)は、

i)凝固した金属酸化物スラリーが施された多孔質ポリマー構造体を約500℃にゆっくり焼結させ、この温度を少なくとも30分間維持することと、

ii)最低約1500℃または約1750℃におよそ3K/分で急速焼結させ、この温度を少なくとも10時間維持することと、

iii)少なくとも3K/分で室温に急速冷却することとにより実施する。

40

【0095】

金属酸化物製足場に対する生体応答は、異なる様式で変化してよい。一例は、コーティングされた酸化チタン層の結晶相を変化させることである。この結晶相は、コーティングされた層の焼結を異なる温度で終了させることにより変化させることができる。960±20℃を超える焼結では金紅石相が得られ、915±20℃未満での焼結では鋭錐石相が得られる。

。

【0096】

最後に、結果として得られた足場の表面を、例えば、フッ化物イオンおよび/またはフッ化物をその上に施すことにより、改変させてよい。フッ化物および/またはフッ素は、H

50

F、NaFおよび/または CaF_2 を含む水溶液中で施してよく、この場合、溶液中のフッ化物および/またはフッ素の濃度はおよそ0.001~2.0重量%、好ましくは0.05~1重量%であり、フッ化物および/またはフッ素は、この溶液中に足場を浸漬させることにより、足場の表面に施される。理想的には、これを、0.1重量%のフッ化物および/またはフッ素を含む溶液中で120秒を超えて実施しない。あるいは、フッ化物/フッ素は、気相を介して、および/または蒸気として施してよい。

【0097】

さらに、足場の表面に生体分子を施してもよい。生体分子を金属酸化物製足場に施す場合、このような分子は上述の方法の工程d)の後で施してよい。生体分子が存在すると、足場の生体適合性および細胞の成長および付着の速度がさらに増すことがある。生体分子は、本明細書で言う場合、天然生体分子(すなわち、天然源由来の天然に存在する分子)、合成生体分子(すなわち、合成により調製される天然に存在する生体分子、および、合成により調製される天然に存在しない分子または分子形態)または組換え生体分子(組換え手法を用いることにより調製される)など、多種多様な生物活性分子を含む。興味深い生体分子の例としては、生体接着物質、細胞付着因子、生体ポリマー、血液タンパク質、酵素、細胞外マトリックスのタンパク質および生体分子、成長因子および成長ホルモン、核酸(DNAおよびRNA)、受容体、合成生体分子、ビタミン、薬物、生体活性イオン、マーカー生体分子他(生体鉱物化作用および骨形成を刺激するスタチンおよびタンパク質またはペプチドなどのタンパク質およびペプチドを含む)など、US2006/0155384中で開示されている生体分子が挙げられるが、これらに限定されない。生体分子は、例えば、生体分子を含む溶液中に浸すことにより、または、当業者に公知のプロセスなどの電気化学的プロセスにより、足場の表面に付着させてよい。

【0098】

別の態様では、本発明は、医療用インプラントとして使用するための、本明細書中で開示する金属酸化物製足場に関する。一実施形態は、組織の再生用に使用するための医療用インプラントに関する。別の実施形態は、骨の再生用に使用するための医療用インプラントに関する。

【0099】

別の態様では、本発明は、骨組織などの組織の再生、修復、代替および/または回復用の医療用インプラントを調製するための、本明細書中で開示する金属酸化物製足場の使用に関する。

【0100】

本発明の金属酸化物製足場は、顆粒化し、骨充填材として使用してもよい。顆粒状の足場を充填材として使用する利点は、骨の空隙(骨の存在しないポケット状の部分であり、ここに、足場を顆粒化させて中身の無い部分の全容積を埋めてよい)に充填するために足場を使用し得ることである。したがって、別の態様では、本発明は、本発明による金属酸化物製足場を含む顆粒状の骨充填材に関する。この目的のために、粉碎した金属酸化物製足場粒子を粒径により選別してよい。骨の空洞に充填するためには、粒径は、最適には0.05~5mm(平均直径)、好ましくは0.1~2mm、最も好ましくは0.2~1mmの範囲である。同じ径の粒子、または、異なる径が混ざったものを使用してよい。

【0101】

別の態様では、本発明は、骨充填材としての使用のために顆粒化されている本明細書中で開示する金属酸化物製足場に関する。さらに別の態様では、本発明は、骨充填材の調製に向けて顆粒化されている本明細書中で開示する金属酸化物製足場の使用に関する。

【0102】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書中で開示する金属酸化物製足場または医療用インプラントを、それを必要とする対象に埋め込むことを含む、組織の再生、修復、代替および/または回復のための方法に関する。

【0103】

組織工学には、機能的な組織等価物をもたらすための、生体組織との特異的な相互作用

10

20

30

40

50

能力のある新世代の生体材料の開発が含まれる。基本的なコンセプトは、細胞を患者から単離し、細胞培養物中で拡大させ、および特定の生体材料から調製した足場上に植え付けて「TE構造物」と呼ばれる足場/生体複合材料を形成することができるというものである。次に、この構造物を同じ患者の体内に移植して、代替組織として機能させることができる。そのような系の中には、ドナー器官の入手可能性が限られている場合、または、事例によっては(例えば若年患者)不十分な自然交換しか得られない場合の器官組織の代替に有用なものがある。足場自体が、成長因子、遺伝子および薬物由来の生体活性部分の送達媒体として作用することがある。外科手術へのこの革新的アプローチは、患者の幸福および医療システムの進歩の両方にとって利益のある広範な用途を有する。

【0104】

10

本発明の足場は、細胞が足場構造体中に成長すると思われる対象に埋め込んでよい。埋込み前にインプラント上に細胞を植え付けて成長させることも可能である。本発明の金属酸化物製足場の新規の相互連結したマクロ多孔質構造体は、組織工学、および特に骨組織工学、現時点で利用可能な骨修復療法に対する興味深い代替療法に特に適している。これに関し、骨髄由来細胞の金属酸化物製足場への植付けは、当業者に周知の従来の方法(Maniatopoulosら、Cell Tissue Res 254、317~330頁、1988に記載のような)を用いて実施される。細胞を金属酸化物製足場上に植え付けて適当な成長条件下で培養する。この培養物には、その成長を確実なものとするために適切な培地を与える。

【0105】

20

上述のとおり、本発明の金属酸化物製足場を通して多様な種類の細胞を成長させることができる。より正確には、細胞の種類としては、造血幹細胞または間葉系幹細胞が挙げられ、さらに、心血管組織、筋組織または任意の結合組織をもたらす細胞も挙げられる。細胞は、ヒト由来または他の動物由来のものであってよい。しかし、本発明の金属酸化物製足場は、骨形成原細胞、特に骨マトリックスを産生する細胞の成長にとりわけ適している。組織工学の場合、細胞は、任意の由来のものであってよい。細胞は、有利には、ヒト由来のものである。本発明による三次元の金属酸化物製足場中で細胞を成長させる本発明の方法は、植え付けた骨形成原細胞を、例えば、in vitro段階中に金属酸化物製足場を透過させて、金属酸化物製足場の構造体中において広範囲に分布する骨マトリックスを産生させる。骨形成原細胞の透過、および、結果として骨マトリックスの産生は、機械的手段、超音波手段、電界手段または電子手段により促進させることができる。

30

【0106】

本発明の足場は、組織の再生のためなど、細胞の成長のための枠組みとして作用する構造体が必要とされる場合にはいつでも有用である。本発明の足場は、骨構造体および軟骨構造体の再生にとりわけ有用である。そのような構造体の再生が必要と考えられる状況の例としては、外傷、骨もしくは歯の外科的除去、または癌療法に関わるものが挙げられる。したがって、本発明は、別の態様ではさらに、骨、軟骨、セメント質および歯組織などの組織の再生のための本明細書中で開示する医療用インプラントの使用、および、そのような医療用インプラントを、それを必要とする対象に埋め込むことを含む、そのような組織を再生する方法にも関する。

【0107】

40

完全または部分的に代替し得る対象の構造体の例としては以下が挙げられるが、これらに限定されない:頭蓋顔面の骨(頬骨弓を含む)、内耳の骨(とりわけ、つち骨、あぶみ骨およびきぬた骨)、上顎および下顎の歯槽隆線、眼窩壁および眼窩床、洞壁および洞床、頭蓋骨および頭蓋骨中の欠損、例えば股関節形成異常の症例における股関節窩(寛骨臼窩)、長骨の複雑骨折(上腕骨、橈骨、尺骨、大腿骨、脛骨および腓骨、脊椎骨、手足の骨、手足の指の骨を含むがこれらに制限されない)、摘出窩(抜歯に由来)の充填、歯周部欠損の修復および歯周インプラント欠損の修復。

【0108】

加えて、本発明の足場は、腫瘍、癌、感染症、外傷、外科手術、先天性奇形、遺伝性の病態、代謝性疾患(例えば骨粗鬆症および糖尿病)(の除去)が原因で生じるあらゆる種類の

50

骨欠損部の充填に有用である。

【0109】

(実施例)

(実施例1)

TiO₂スラリーの処方

使用するスラリーは、静電氣的に安定化したTiO₂懸濁液から成り、さらなる添加剤を含まない。このスラリーの成分は、脱イオン水、TiO₂粉末(バッチ番号1170117、Sachtleben Hombitan Anatase FF-Pharma、Duisburg、ドイツ)および1mol/l HCl(Merck Titrisol、O slo、ノルウェー)である。この懸濁液をHClによりpH2.2に設定した。最適な分散を達成するため、セラミック(ス)のダブルミールディスク(double meal disk)を備えた攪拌粉碎器中で懸濁液を調製した。すりつぶし用の物として、直径0.4~0.7mmのZirconox CE粉碎用ビーズ(Jyoti GmBH、Drebber、ドイツ)600gを使用した。スラリーの作製は、以下の様式で行った:

1. 脱イオン水118.8gと1mol/l HCl 1.2gとを、粉碎用ビーズの入った水冷容器中に入れる。
2. 総量210gのそのTiO₂粉末の添加を徐々に行う。TiO₂-Pulverを、約1000RPMの攪拌速度で液体中に段階的に加える。懸濁液の粘度がゆっくり上昇する。この振舞いは、液体からのプロトンが粉末のTiO₂のOH基に積み重なる事実によるものであるはずである。したがって、懸濁液中のpH値は、pH4.2に変化する。粘度を再度低下させるため、ピペットを用いて1 M HFを懸濁液中に滴下する。通常はHF 1mlで十分である。このようにして、スラリー中への追加のHClを用いて粘度を制御する。
3. HCl滴下は、総量210gのTiO₂が完全に分散するまで続ける。この量を得るには、通常、全部で約8mLの1M HClが必要である。したがって、この懸濁液中の固形分は、合計30容積%となる。
4. この分散の後、より速い4000RPMの速度で粉碎することにより、塊および凝集体を破壊する。およそ5~6時間後、最適な結果が得られる。
5. この懸濁液の粘度は、適用目的によっては、固形分またはpH値の変化に強く影響されることがある。高めの粘度は厚めの足場の作製を目的としたものであり、より薄く微細な構造体用には低めの粘度が必要である。
6. 小気泡はセラミックの作製を妨げることがあるため、排除すべきである。このことは、例えば回転蒸発または超音波浴により行うことができる。加えて、スラリーを、孔径が100 μmおよび50 μmのネットを用いて濾過してよい。この手順により、不均質性も低下させる。
7. 適切なセラミックスラリーを得た後で足場を作製する手段がいくつかある。以下の2つの項では、2つの方法、すなわち、Eckardtらが報告した熱板成型法[12]およびHaugenらが記載したポリマースポンジ法[13]について記載する。

【0110】

(実施例2)

フッ化物添加を伴うTiO₂スラリーの処方

使用するスラリーは、静電氣的に安定化したTiO₂懸濁液から成り、さらなる添加剤を含まない。このスラリーの成分は、脱イオン水、TiO₂粉末(バッチ番号1170117、Sachtleben Hombitan Anatase FF-Pharma、Duisburg、ドイツ)および1mol/l HCl(Merck Titrisol、O slo、ノルウェー)である。この懸濁液をHClによりpH2.2に設定した。最適な分散を達成するため、セラミック(ス)のダブルミールディスクを備えた攪拌粉碎器中で懸濁液を調製した。すりつぶし用の物として、直径0.4~0.7mmのZirconox CE粉碎用ビーズ(Jyoti GmBH、Drebber、ドイツ)600gを使用した。スラリーの作製は、以下の様式で行った:

1. 脱イオン水118.8gと1mol/l HCl 1.2gとを、粉碎用ビーズの入った水冷容器中に入れる。
2. 総量210gのそのTiO₂粉末の添加を徐々に行う。TiO₂粉末は、約1000RPMの攪拌速度で液体中に段階的に加える。懸濁液の粘度がゆっくり上昇する。この振舞いは、液体からのブ

ロトンが粉末の TiO_2 のOH基に積み重なる事実によるものであるはずである。したがって、懸濁液中のpH値は、pH4.2に変化する。粘度を再度低下させるため、ピペットを用いて1M HFを懸濁液中に滴下する。通常はHF 1mlで十分である。このようにして、スラリー中への追加のHClを用いて粘度を制御する。

3.HF酸をスラリー中に加えることも、フッ化チタン含有化合物中に TiO_2 を添加するために効果がある。

4.HF滴下は、総量210gの TiO_2 が完全に分散するまで続ける。この量を得るには、通常、全部で約8mLの1M HFが必要である。したがって、この懸濁液中の固形分は、合計30容積%となる。

5.添加量はスラリーに加えるHFの量により制御し、1M HClにより置換してフッ化物濃度を低下させることができる。

6.この分散の後、より速い4000RPMの速度で粉碎することにより、塊および凝集体を破壊する。およそ5~6時間後、最適な結果が得られる。

7.この懸濁液の粘度は、適用目的によっては、固形分またはpH値の変化に強く影響されることがある。高めの粘度は厚めの足場の作製を目的としたものであり、より薄く微細な構造体用には低めの粘度が必要である。

8.小気泡はセラミックの作製を妨げることがあるため、排除すべきである。このことは、例えば回転蒸発または超音波浴により行うことができる。加えて、スラリーは、孔径が10 μm および50 μm のネットを用いて濾過してよい。この手順により、不均質性も低下させる。

【0111】

(実施例3)

足場作製-熱板成型

熱板成型は、水蒸気の効果を利用して、セラミック原料を含有する懸濁液の液滴を中空球の形状に成型する成形プロセスである(図1)。ポリエチレンコポリマー粉末6.0g(Terpolymer3580、Plastlabor、スイス)とフェノール樹脂粉末5.0g(FP226、Bakelite、ドイツ)とを混合して、フッ化物添加 TiO_2 スラリーを調製した(実施例2を参照)。球状のくぼみを有する真鍮板を320℃に加熱した。次に、2ml注射器を用いて、スラリーの液滴を各くぼみの中に入れた。板から液滴への熱伝達の結果、水蒸気が放出され、次いでこの水蒸気が液滴内で泡を形成した。この水蒸気の泡が合体して液滴の中心に大きな空洞が作り出され、乾燥を進めることにより、構造体が崩壊することを防止した。継続的に水蒸気圧を上げると、最終的に、未だ粘性のある液滴最上部の破裂に至った。表面張力は、この開口部の縁周囲に作用した。さらに、熱板からの熱伝達により、形成された物の中のポリマー粉末が融解および熱分解され、これにより中空の球形状が安定化し、熱板からの取外しが可能になる。5時間以内に800℃に加熱することによりポリマーを除去した。予め火にかけておいた試料を電気炉に入れて1620℃で15分間焼結させた結果、多孔質のセラミックを得た[12]。

【0112】

(実施例4)

足場作製-ポリマースポンジ法

多孔質ポリマー構造体を複製することにより、網状の開口孔セラミックスを作製する。

「複製」法または「ポリマースポンジ」法と呼ばれるこの手法に関する特許は、1963年、SchwartzwalderおよびSomersにより最初に出願された[14]。同手法は、アルミナ、ジルコニウム、炭化ケイ素および他のセラミック発泡体を作製する標準的な方法である[15~19]。この発泡体は、調製したフッ化物添加 TiO_2 スラリー(実施例2を参照)でポリウレタン発泡体をコーティングすることにより製造する。所望のマクロ構造をすでに有しているポリマーは、セラミックコーティングのための犠牲的な足場としてのみ働く。スラリーは、構造体に浸透し、ポリマーの表面に付着する。過剰なスラリーを搾り出して、発泡体支柱上のセラミックコーティングを残す。乾燥後、多孔質のコーティングに対する損傷を最小限にするために、ポリマーをゆっくり焼き尽くす。ポリマーが一旦除去されたら、セラミックを所望の密度に焼結させる。このプロセスは、ポリマーのマクロ構造を複製し、支柱内

の相当に特徴的なマイクロ構造が結果として得られる。このプロセスのフローチャートを(図2)に示す。

【0113】

(実施例5)

足場作製-コーティングを施すポリマースポンジ法

多孔質ポリマー構造体を複製することにより、網状の開口孔セラミックスを作製する。「複製」法または「ポリマースポンジ」法と呼ばれるこの手法に関する特許は、1963年、SchwartzwalderおよびSomersにより最初に出願された[14]。同手法は、アルミナ、ジルコニウム、炭化ケイ素および他のセラミック発泡体を作製する標準的な方法である[15~19]。この発泡体は、調製したTiO₂スラリー(実施例1を参照)でポリウレタン発泡体をコーティングすることにより製造する。所望のマクロ構造をすでに有しているポリマーは、セラミックコーティングのための犠牲的な足場としてのみ働く。スラリーは、構造体に浸透し、ポリマーの表面に付着する。過剰なスラリーを搾り出して、発泡体支柱上のセラミックコーティングを残す。乾燥後、多孔質のコーティングに対する損傷を最小限にするために、ポリマーをゆっくり焼き尽くす。ポリマーが一旦除去されたら、セラミックを所望の密度に焼結させる。ここでは、実施例2に記載のフッ化物添加TiO₂スラリー中に発泡体を浸し、次いで乾燥および焼結させた。この浸漬手順は、フッ化物添加TiO₂の均一なコーティングがTiO₂足場を覆うまで続ける。

【0114】

(実施例6)

スラリーの処方

使用するスラリーは、水ベースの静電的に安定化したTiO₂懸濁液から成り、さらなる有機添加剤を一切含まない。このスラリーの成分は、滅菌水、TiO₂粉末(Pharma FP Hobit am、Sachtleben GmbH、Duisburg、ドイツ)および1mol/L HCl(Merck、Oslo、ノルウェー)である。この懸濁液をHClによりpH1.7に設定した。最適な粒径を達成するため、特注のチタンローター刃を備えた高速溶解機(Dispermat Ca-40、VMA-Getzmann GmbH、Reichshof、ドイツ)を用いて、セラミックスラリーを分散させた。スラリーの作製は、以下の様式で行った:

1. 添加用のTiO₂粉末72グラムを、水冷容器中で、1000rpmの低速回転で攪拌しながら、pH1.7の脱イオン水29.7ml中に徐々に加えた。
2. TiO₂粉末は、温度を20℃から25℃の間に維持しながら、徐々に加えなければならなかった。回転速度を4000rpmに上げた時点で、温度を10℃~18℃に下げた。
3. スラリーが均質化した時点で、回転速度を5時間、5000rpmに上げた。
4. pHは30分毎に制御し、1mol/L HClによりpH1.7に再調節した。

【0115】

(実施例7)

足場作製-ポリマースポンジ、第2例

ポリマースポンジ構造体を複製することにより、網状の開口孔セラミックスを作製する。この方法を「schwartzwald法」またはポリマースポンジ法という[14]。この試験では、完全に網状化された60ppiのポリエステルベースのポリウレタン発泡体(Bulbren S、Eurofoam GmbH、Wiesbaden、ドイツ)を用いた。厚さ8mmの大きな板の中にこの発泡体を供給し、金属スタンプを用いてこれを打ち抜くことにより、直径12mmの大きさの円柱にカットした。次に、脱イオン化したH₂O 1lおよびDeconex 10ml(Burer Chemie AG、Zuchwill、スイス)中で2分間、次いでエタノール(Absolute、Arcus、Oslo、ノルウェー)中で、このタブレットを洗浄した。次に、このタブレットを室温で24時間乾燥させてから、PE袋に入れて保管した。実施例6に記載の要領でスラリーを調製した。次に、ポリマー発泡体をこのセラミックスラリー中に浸した。その次に、18℃にて1500rpmで2分間、この発泡体を遠心分離した(Biofuge 22R Heraeus Sepatech、Osterode、ドイツ)。次に、この試料を多孔質のセラミック板上に載せ、焼結前に室温で少なくとも24時間乾燥させた。ポリマーの焼除およびセラミック部分の焼結の加熱スケジュールは、以下のように選択した:0.5K/分で450

℃にゆっくり加熱、450℃で1時間の維持時間、3K/分で1500℃に加熱、50時間の維持時間、6K/分で室温に冷却(HTC-08/16、Nabertherm GmbH、Bremen、ドイツ)。

【0116】

【表1】

表1

順序	温度範囲 (℃)	加熱速度 (K/分)	持続時間 (分)
1	25-450	0.5	850
2	450	0	60
3	450-1500	3	350
4	1500	0	3000
5	1500-50	6	242

10

【0117】

焼結手順

最高温度である1500℃に達したとき、および、この温度が20時間超にわたって維持されたとき、セラミック支柱の崩壊に至った。エネルギーが足場に伝わっている間に、崩壊したポリマー発泡体を焼除することにより中空の空間が作られ、より締まった、はるかに強度の高い構造体を作製された(図3)。

20

【0118】

この焼結プロセスにより、溶融したTiO₂粒子上にナノ構造表面が生まれた。溶融が生じた粒界は視認できる。倍率を高くすると、ナノ構造化した波状の表面が視認できる(図には示していない)。

【0119】

焼結した酸化チタン粒子上の構造は、表2に示す、以下の粗さのパラメーターを有していた。

【0120】

【表2】

30

【表2】

表 2. 酸化チタン製足場の表面形状およびモフォロジー(n=5)。単一の粒子に適用される、酸化チタン製足場の表面の粗さのパラメーター。

	Sa	Sq	Ssk	Sku	Sfd(1)	Sci
	μm	μm	<単位 なし>	<単位 なし>	<単位 なし>	<単位 なし>
平均	0.89	1.12	-0.87	3.28	2.35	0.53
標準偏差	0.42	0.56	0.31	0.79	0.06	0.26

40

【0121】

この酸化チタン製足場上の表面粗さ(Sa)は890nmであり、平方根平均二乗(Sq)は1.12 μmであった。歪み度(Ssk)はわずかにマイナスであるため、山よりは谷を有する表面が多い。尖り度から、この山は急傾斜であることがわかる。フラクタル値(Sfd)は表面が複雑であることを示し、液体保持値(Sci)は、骨の付着と正の相関があった範囲の値である。

【0122】

典型的に、Saは0.3~1.1 μm、Sqは0.4~1.4 μm、Sskは-1.2から1.2まで、Skuは1~4、Sciは0.2~1.5 μmである。好ましくは、Saは約0.9である。好ましくは、Sqは約1.2である

50

。好ましくは、Sskは-0.9である。好ましくは、Skuは3である。好ましくは、Sciは0.63である。

【0123】

フッ化物を添加した酸化チタン製足場の特徴付け
孔構造

この構造は、記載のTiO₂足場と同様のものである。

【0124】

(実施例8)

足場作製-ポリマースポンジ、二重コーティング

足場を作製し、実施例7に記載の要領で焼結させた。次に、この足場を実施例6に記載の要領でスラリー中に浸し、次いで、18℃にて1500rpmで2分間、遠心分離した(Biofuge 22R Heraeus Sepatech、Osterode、ドイツ)。次に、この試料を多孔質のセラミック板上に載せ、焼結前に室温で少なくとも24時間乾燥させた。第2焼結段階を3K/分の速度で1500℃に実施し、1500℃で30時間維持した。

【0125】

(実施例9)

足場作製-ポリマースポンジ、フッ化物添加、二重コーティング

実施例8に記載の要領で足場を調製した。次に、この足場を0.2重量%のフッ化水素酸中に浸した。20本の足場を90秒間浸し、20本の足場を120秒間浸した。その後、この足場を滅菌水中で1分間すすぎ、層流中で風乾させてから、滅菌済の容器中に詰めた。

【0126】

(実施例10)

実施例8および9により作製した酸化チタン製足場の特徴付け

解像度7μmボクセル(倍率50倍)、X線管の電流量173μA、電圧60kV、0.5mmアルミニウムフィルター付きの卓上X線CTスキャナー、Skyscan1072(Skyscan、Aartselaar、ベルギー)を用いて、この足場(n=49)を分析した。試験品をプラスチックの支持体上に垂直に載せ、試料の長軸(z軸)方向に180°にわたって回転させた。0.300°回転毎に4点の吸収画像を記録した。この投影X線写真を標準的な円錐ビーム再構成ソフトウェアにおいて使用して、8ビットの一連の1024軸位断画像(それぞれ1024×1024ピクセル)を生成したところ、その画像は、断画像内のピクセル間隔に等しいZ次元間隔を有していた。したがって、結果として得られた3Dデータセットは等方性で、1024³の空間的範囲全体にわたりボクセル間隔が7μmであった。この軸位のビットマップ画像を用いて内部孔のモフォロジーの3D再構成を実施し、グレースケール閾値を55から230の間に設定したCTanおよびCTvol(Skyscan、Aartselaar、ベルギー)によりこれを分析した。「スペckル除去」機能により、余分なノイズを除去した。さらなる分析の前に、そのようにして50ボクセル未満の白い物体を全て除去した。全ての画像に対し3D分析を行い、続いて「シュリンクラップ」機能を用いて中空の支柱の容積を測定させた。同じソフトウェアを用いて足場支柱の密度を測定し、1.25および1.75g/cm³での較正を行った。グレースケールから密度への較正は、ハウンスフィールド単位への較正を実施した。この関係が直線的なものであることを前提とした。

【0127】

液体窒素(TriStar3000、Micromeritics、Monchengladbach、ドイツ)を用いて分析した際、BET表面積は5.0664m²/gであることがわかった。

【0128】

in vivoでの実験

実施例8および9に記載の要領で3種類の足場をテストした。二重コーティングした酸化チタン製足場を、本文書中ではTiO₂と呼ぶ。0.2重量%HF中に90秒間浸した、二重コーティングした酸化チタン製足場を、本文書中ではTOSと呼ぶ。0.2重量%HF中に120秒間浸した、二重コーティングした酸化チタン製足場を、本文書中ではTHFと呼ぶ。

【0129】

動物および外科手術

本試験では、生後6カ月、3.0～3.5kgの雌のニュージーランドシロウサギ18匹を使用した(ESF Produkter Estuna AB、Norrtälje、スウェーデン)。実験期間中、動物はケージ中で維持した。室温は $19 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に調節し、湿度は $55 \pm 10\%$ であった。

【0130】

この実験は、Norwegian Animal Research Authority(NARA)により承認されており、この機関により登録されていた。したがって、手術は、1974年12月20日付けの「動物福祉法(Animal Welfare Act)」、第73号、第VI章、第20～22節、および1996年1月15日付けの「動物実験に関する規定(Regulation on Animal Experimentation)」にしたがって実行した。ケージから出す10分前に、1kg当り0.05～0.1mlのフルアニソン/フェンタニル(Hypnorm(登録商標)、Janssen、ベルギー)を皮下注射、体重1kg当り2mgのミダゾラム(Dormicum(登録商標)、Roche、スイス)を静脈内注射することによりウサギを鎮静化させた。何らかの覚醒の兆候があれば、十分な効果が達成されるまで、希釈したHypnorm(登録商標)をゆっくり静脈内注射した。リドカイン/アドレナリン(Xylocain/Adrenalin(登録商標)、AstraT ech AB、Molndal、スウェーデン)1.8ml s.p.を、手術部位に局所投与した。術前に、手術部位を除毛し、軟石鹸で洗浄した。手術台上に動物を仰向けに置き、滅菌布で覆い、5mg/mlのクロルヘキシジングルコネート(Klorhexidin、Galderma Nordic AB、スウェーデン)で手術部位を消毒した。

【0131】

脛骨の近位前部に対して切開を行い、全ての軟部組織層を貫通した。骨膜を持ち上げ、自己保持型の開創器により保持した。標準的で正確な位置決めを確保するためにドリルガイドを用い、ツイストドリル(Medicon(登録商標)、CMS、ドイツ)で4つのガイド穴を設けた。チタン製インプラント用のプラットフォームを作るために、低速の歯科用インプラントドリル中に搭載された特注のステンレス鋼のバー(直径6.25mm)を使用した。中心のガイド穴の中に固定した別のドリル(直径3mm)を使用して中央部の骨を除去し、骨髄を露出させておいた。次に、足場(実施例8および9に記載のもの)を以下の要領で骨髄中に配置した:同一の動物において内部対照を有するように、一方の脚には1本の対照 TiO_2 (T)および1本の中身の無い不完全品(SHAM)、他方の脚中には2本のフッ化物添加足場(TOSまたはTHF)。TOSおよびTHFの試料は一緒には配置しなかった。骨の粉碎は全て、大量の生理食塩水溶液で灌注しながら行った。テフロン(登録商標)栓および予め成形されているチタン製の顎顔面用骨プレート(Medicon(登録商標)、CMS、ドイツ)で覆い2本のチタンスクリュー(Medicon(登録商標)、CMS、ドイツ)で保持した、機械加工したコイン型のチタン製インプラント(直径6.25mmおよび1.95mm)を、足場用の安定具として皮質骨上に据えた。軟部組織を再配置してから、Dexon(登録商標)II(Sherwood-Davis&Geck、UK)で縫合した。手術に続き、各動物は、体温に温めたNaCl 20mlの皮下注射および1kg当り0.02～0.05mgのブプレノルフィン(Temgesic(登録商標)、Reckitt&Colman、英国)皮下注射を受けた。1回目/前回のTemgesic注射の少なくとも3時間後に、1kg当り0.05mgの2回目のTemgesic皮下注射も実施した。試験期間中は健康状態をモニターし、創傷治癒が完了するまで、手術部位を毎日慎重に検査した。8週間の治癒期間の後、フルアニソン/フェンタニル(Hypnorm(登録商標)、Janssen、ベルギー)1.0mlの静脈注射、次いで体重1kg当り1mlのペントバルビタール(Mebumal(登録商標)、Rikshospitalets Apotek、ノルウェー)の静脈注射を用いて、ウサギを安楽死させた。安楽死後、速やかに、脛骨上の軟部組織を介して切開を行った。インプラントを覆っているチタンプレートを露出させ除去した。中空針を用いてPTFE栓の中心に孔をあけてから、加圧空気をあてて、栓を除去し、チタン製インプラントの裏の部分を露出させた。

【0132】

解像度 $7\mu\text{m}$ ボクセル(倍率50倍)、X線管の電流量 $173\mu\text{A}$ 、電圧60kV、0.5mmアルミニウム/銅フィルター付きの卓上X線CTスキャナー、Skyscan1072(Skyscan、Aartselaar、ベルギー)にて、全ての骨を走査した。試験品をプラスチックの支持体上に垂直に載せ、試料の長軸(z軸)方向に 180° にわたって回転させた。 0.400° 回転毎に4点の吸収画像を記録した。この投影X線写真を標準的な円錐ビーム再構成ソフトウェアにおいて使用して、8ビットの一連の1024軸位断画像(それぞれ 1024×1024 ピクセル)を生成したところ、その画像は、

断画像内のピクセル間隔に等しいZ次元間隔を有していた。したがって、結果として得られた3Dデータセットは等方性で、 1024^3 の空間的範囲全体にわたりボクセル間隔が $7\mu\text{m}$ であった。全ての足場を水平面および垂直面の両方で並べた。この軸位のビットマップ画像を用いて内部孔のモフォロジーの3D再構成を実行し、グレースケール閾値を21から90の間に設定したCTan(Skyscan、Aartselaar、ベルギー)によりこれを分析した。この閾値により、酸化チタン製足場をノイズ除去した。このようにして、足場構造体を空隙として、骨梁骨の内部孔モフォロジーを実施した。興味深い領域を、骨梁骨区域の内部の円柱(直径5mm、長さ10mm)として選択した。この円柱の形状は、全ての試料の分析について一定であった。その後、統計ソフトウェア(Windows(登録商標)用SPSS v15、US)を用い、データを処理した。

10

【0133】

結果

酸化チタン製足場、フッ化物含有量が低い酸化チタン製足場およびフッ化物含有量が中程度の酸化チタン製足場は全て、対照(sham)と比較した場合、足場内部での骨形成が有意に高く($p<0.001$)増加していた(図4)。

【0134】

対照と比較した場合、足場内部の骨の質において高い有意差があった($p<0.001$)が、フッ化物の含有量が中程度の足場と純粋な酸化チタン製足場との間にも有意差があり($p<0.05$)(図5)、このことにより、フッ化物が骨の成熟および成長を刺激したことが示唆された。

20

【0135】

(実施例11)

スラリーの処方 酸化チタンと酸化アルミニウムとの複合材料

材料および方法:

TiO_2 (Pharma、Sachtleben、ドイツ)が80重量%、 Al_2O_3 (番号713-40 II/973、Fa.Nabaltec、ドイツ)が20重量%の比率で、乾燥条件で酸化チタン粉末と酸化アルミニウム粉末とを混合した。この混合物を乳鉢中で完全に均質化させてから、脱イオン水24ml、結合剤として5%メチルセルロース溶液2.0g(Tylopor C30、Hoechst、ドイツ)およびポリカルボン酸0.2g(Dolapix CE64、Zschimmer&Schwarz、ドイツ)から成る液体中に分散させた。次に、電気攪拌器を用いて5分間、このスラリーを均質化させた。最適な粒径を達成するため、特注のチタンローター刃を備えた高速溶解機(Dispermat Ca-40、VMA-Getzmann GmbH、Reichshof、ドイツ)を用いて、セラミックスラリーを分散させた。実施例8および9に記載の要領で多孔質構造体の調製および焼結を実施した。記載の重量比(%)に加え、30重量%、40重量%および50重量%の Al_2O_3 も試験した。

30

【0136】

結果

TiO_2 が80重量%、 Al_2O_3 が20重量%の混合比の場合に、最も安定な固形物が得られた。異なる材料はよく分散し、その様子はEDX画像で見ることができる(図6)。試料の硬さ(ビッカーステストによる)を図7に示す。

【0137】

(実施例12)

スラリーの処方 酸化チタンと酸化アルミニウムとの複合材料

材料および方法:

TiO_2 粉末(Pharma、Sachtleben、ドイツ)が80重量%、市販の ZrO_2 粉末(3mol% Y_2O_3 、Cera Inc.、WI、USA)が20重量%の比率で、乾燥条件で混合した酸化チタンおよび酸化アルミニウムの粉末を用いてスラリー混合物を調製した。この粉末100gを、トリエチルリン酸6g(TEP、 $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}_4$ 、Aldrich、USA)を分散させた蒸留水150ml中で24時間、勢いよく攪拌した。結合剤として、ポリビニルブチル6g(PVB、Aldrich、USA)を別のビーカー中で溶解させ、次いでこれをスラリーに加え、さらに24時間攪拌した。実施例8および9に記載の要領で、多孔質構造体の調製および焼結を実施した。記載の重量比(%)に加え、40重量%、60重

50

量%および80重量%の ZrO_2 粉末も試験した。

【0138】

結果：

この構造体の硬さは、 ZrO_2 の量が増えるに従って増した。最高の硬さは、80重量%の ZrO_2 を含む試料の場合に見出された。図8は、 ZrO_2 と TiO_2 とを混合した複合材料のビッカース硬度を示すものである。顕微鏡画像も示す(図9)。

【0139】

(実施例13)

混合物の組成を実施例11および12に記載するが、この混合はボールミル中で湿潤条件で実施する。

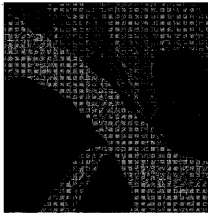
[参考文献 1 A]

1. Iwatsuki S, Honda MJ, Harada H, Ueda M. Cell proliferation in teeth reconstructed from dispersed cells of embryonic tooth germs in a three-dimensional scaffold. *European journal of oral sciences* 2006 Aug;114(4):310-317.
2. Li WJ, Tuli R, Okafor C, Derfoul A, Danielson KG, Hall DJ, et al. A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 2005 Feb;26(6):599-609.
3. Rodriguez A, Cao YL, Ibarra C, Pap S, Vacanti M, Eavey RD, et al. Characteristics of cartilage engineered from human pediatric auricular cartilage. *Plastic and reconstructive surgery* 1999 Apr;103(4):1111-1119. 10
4. Shieh SJ, Terada S, Vacanti JP. Tissue engineering auricular reconstruction: in vitro and in vivo studies. *Biomaterials* 2004 Apr;25(9):1545-1557.
5. Sodian R, Hoerstrup SP, Sperling JS, Martin DP, Daebritz S, Mayer JE, Jr., et al. Evaluation of biodegradable, three-dimensional matrices for tissue engineering of heart valves. *Asaio J* 2000 Jan-Feb;46(1):107-110.
6. Du C, Cui FZ, Zhu XD, de Groot K. Three-dimensional nano-HAp/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture. *Journal of biomedical materials research* 1999 Mar 15;44(4):407-415. 20
7. Rekow D. Informatics challenges in tissue engineering and biomaterials. *Advances in dental research* 2003 Dec;17:49-54.
8. Stiehl JB. Trabecular metal in hip reconstructive surgery. *Orthopedics* 2005 Jul;28(7):662-670.
9. Nygren P-A, Uhlen M. Scaffolds for engineering novel binding sites in proteins. *Current Opinion in Structural Biology* 1997 1997/8;7(4):463-469. 30
10. Nygren H, Tengvall P, Lundstrom I. The initial reactions of TiO₂ with blood. *Journal of Biomedical Materials Research* 1997 1997/3/15;34(4):487-492.
11. Grikscheit TC, Ochoa ER, Ramsanahie A, Alsberg E, Mooney D, Whang EE, et al. Tissue-engineered large intestine resembles native colon with appropriate in vitro physiology and architecture. *Annals of surgery* 2003 Jul;238(1):35-41.
12. Eckert KL, Mathey M, Mayer J, Homberger FR, Thomann PE, Groscurth P, et al. Preparation and in vivo testing of porous alumina ceramics for cell carrier applications. *Biomaterials* 2000;21(1):63-69. 40
13. Haugen H, Will J, Kohler A, Hopfner U, Aigner J, Wintermantel E. Ceramic TiO₂-foams: characterisation of a potential scaffold. *Journal of the European Ceramic Society* 2004;24(4):661-668.
14. Schwartzwalder K, Somers AV, inventors. Method of Making a Porous Shape of Sintered Refractory Ceramic Articles. United States Patent No. 3090094, 1963.

15. Gibson LJ, Ashby MF. Cellular solids - structure and properties. 2. Auflage ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p. 205.
16. Luyten J, Cooymans J, De Wilde A, Thijs I. Porous materials, synthesis and characterization. Key Engineering Materials 2002;206-213(2):1937-1940.
17. Peng HX, Fan Z, Evans JRG, Busfield JJC. Microstructure of Ceramic Foams. Journal of the European Ceramic Society 2000 2000/6;20(7):807-813.
18. Powell SJ, Evans J. The structure of ceramic foams prepared from polyurethane ceramic suspensions. Materials and Manufacturing Processes 1995;10(4):757-771. 10
19. Saggiowoyanski J, Scott CE, Minnear WP. Processing of porous ceramics. American Ceramic Society Bulletin 1992 1992/11;71(11):1674-1682.
20. WO 95/17217
21. WO 94/13334
22. WO 04/008983
23. WO 04/008984
24. Kim H-W, Lee S-Y, Bae C-J, Noh Y-J, Kim H-E, Kim H-M and Ko JS. Porous ZrO₂ bone scaffold coated with hydroxyapatite with fluoroapatite intermediate layer. Biomaterials 2003 24: 3277-3284. 20
25. Jokinen M, Päätsi M, Rahiala H, Peltola T, Ritala M, Rosenholm JB. Influence of sol and surface properties on in vitro bioactivity of sol-gel-derived TiO₂ and TiO₂-SiO₂ films deposited by dip-coating method. Journal of Biomedical Materials Research 1998;42(2):295-302.
26. Nygren H, Tengvall P, Lundstrom I. The initial reactions of TiO₂ with blood. Journal of Biomedical Materials Research 1997 1997/3/15;34(4):487-492. 30
27. Nygren H, Eriksson C, Lausmaa J. Adhesion and activation of platelets and polymorphonuclear granulocyte cells at TiO₂ surfaces. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1997 1997/1;129(1):35-46.
28. Wintermantel E, Cima L, Schloo B, Langer R. Angiopolarity of cell carriers, Directional angiogenesis in resorbable liver cell transplantation devices. In: Steiner R, Weisz B, Langer R, editors. Angiogenesis: Principles-Science-Technology-Medicine. Basel: Birkhaeuser Verlag, 1992.
29. Piskin E. Biomaterials in Different Forms for Tissue Engineering: An Overview. Materials Science Forum 1997;250:1-14. 40
30. Polonchuk L, Elbel J, L. E, J. B, Wintermantel E, Eppenberger HM. Titanium dioxide ceramics control the differentiated phenotype of cardiac muscle cells in culture. Biomaterials 2000;21(6):539-550.

【図 3 A】

A



【図 3 B】

B



【図 6】

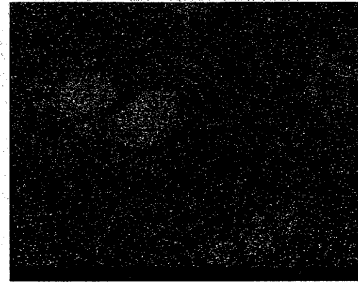


Fig. 6

【図 9】

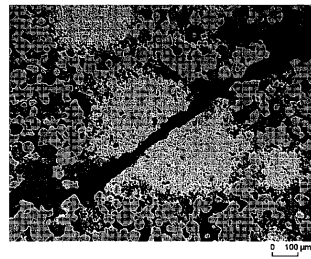


Fig. 9

【図 1】

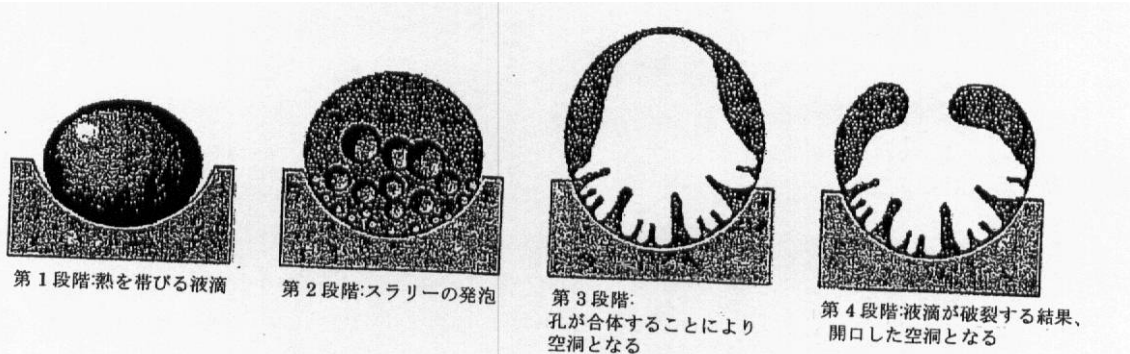


Fig. 1

【図 2】

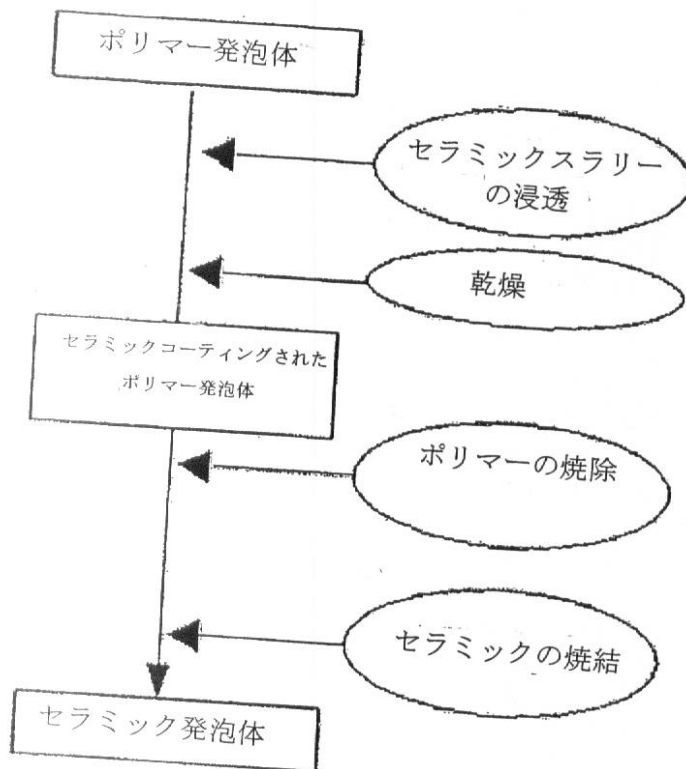
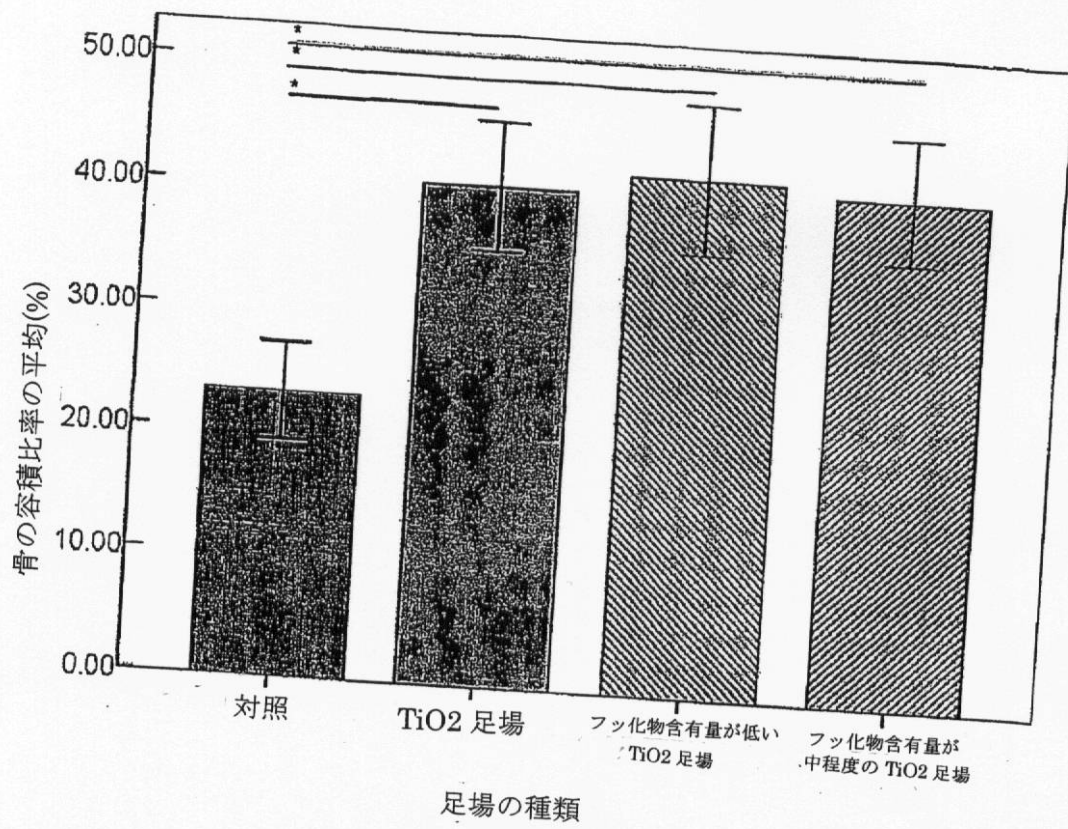


Fig. 2

【図 4】



【図 5】

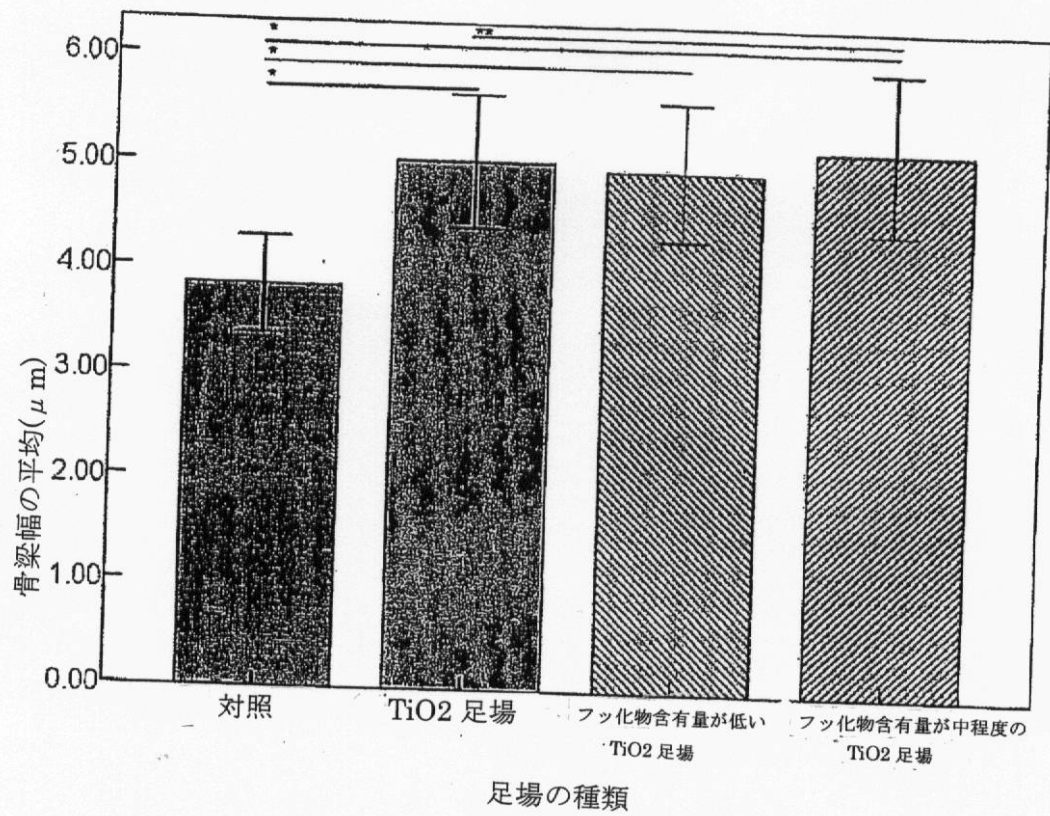


Fig. 5

【図 7】

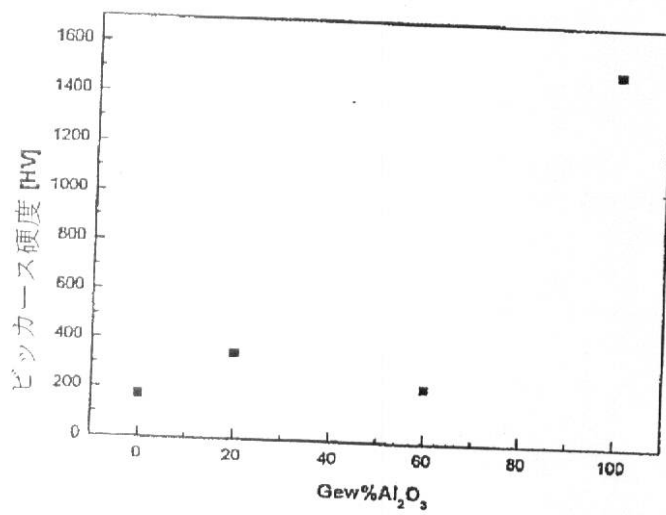


Fig. 7

【図 8】

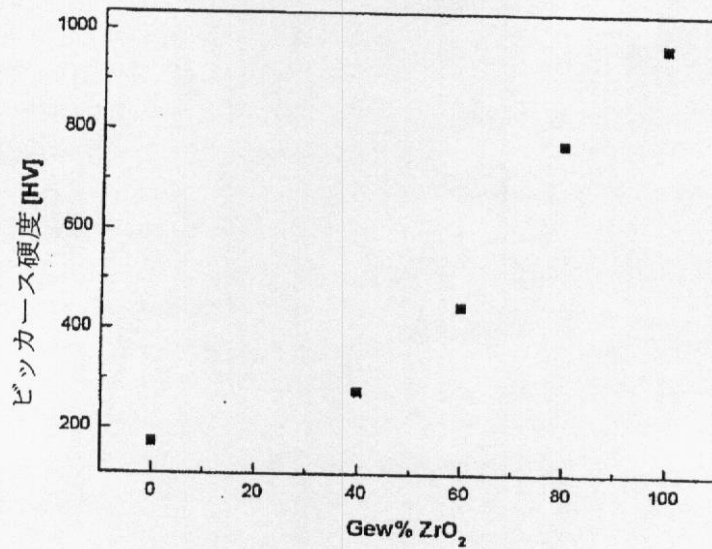


Fig. 8

【手続補正書】

【提出日】平成21年8月20日(2009.8.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

圧縮強度が約0.1～150MPaである、酸化チタンを含む金属酸化物製足場。

【請求項 2】

前記圧縮強度が約5～15MPaである、請求項1に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 3】

孔隙率が約40～99%、好ましくは70～90%である、請求項1または2に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 4】

孔径が約10～3000 μm 、好ましくは約20～2000 μm 、より好ましくは約30～1500 μm 、さらにより好ましくは約30～700 μm である、請求項1から3のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 5】

約2.0～3.0、好ましくは約2.2～2.3のフラクタル次元支柱を有する、請求項1から4のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 6】

内部支柱の容積が約0.001～3.0 μm^3 、好ましくは約0.8～1.2 μm^3 である、請求項1から5のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 7】

前記孔が、相互連結しているか、または部分的に相互連結している、請求項1から6のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 8】

Zr、Hf、V、Nb、Taおよび/またはAlの少なくとも1つの酸化物をさらに含む、請求項1から7のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 9】

前記酸化チタンが、前記足場中に存在する前記金属酸化物の40～100重量%、好ましくは60～90重量%を構成する、請求項1から8のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 10】

フッ化物および/またはフッ素で少なくとも部分的に覆われた少なくとも1つの表面を備える、請求項1から9のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 11】

前記フッ化物が、HF、NaFおよび/またはCaF₂を含む水溶液中で、気相の形態で、および/または蒸気として施される、請求項10に記載の金属酸化物製足場。

【請求項 12】

前記酸化チタンが、第二リン酸および/または第三リン酸の混入物を約10ppm未満含む、請求項1から11のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 13】

前記酸化チタンがTiO₂を含む、請求項1から12のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 14】

前記金属酸化物が、TiO₂、Ti₃O、Ti₂O、Ti₃O₂、TiO、Ti₂O₃またはTi₃O₅から選択される1種または複数種の酸化チタンを含む、請求項1から13のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 15】

骨などの組織の再生、修復、代替および/または回復用の、請求項1から14のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 16】

請求項1から15のいずれかに記載の金属酸化物製足場を含む医療用インプラント。

【請求項 17】

請求項1から15のいずれかに記載の金属酸化物製足場を作製する方法であって、

a)酸化チタンを含む金属酸化物のスラリーを調製する工程であって、前記スラリーがフッ化物イオンおよび/またはフッ素を場合により含む工程と、
b)工程a)の前記スラリーを多孔質ポリマー構造体に施す工程と、
c)工程b)の前記スラリーを凝固させる工程と、
d)前記凝固した金属酸化物スラリーから前記多孔質ポリマー構造体を除去する工程とを含む方法。

【請求項 18】

工程d)が、

i)前記凝固した金属酸化物スラリーが施された前記多孔質ポリマー構造体を約500℃にゆっくり焼結させ、前記温度を少なくとも30分間維持することと、
ii)最低約1500℃または約1750℃におよそ3K/分で急速焼結させ、前記温度を少なくとも10時間維持することと、
iii)少なくとも3K/分で室温に急速冷却することとにより実施される、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

フッ化物および/またはフッ素で前記金属酸化物製足場を処理する工程をさらに含む、請求項17または18に記載の方法。

【請求項 20】

前記フッ化物および/またはフッ素が、HF、NaFおよび/またはCaF₂を含む水溶液中で、気相の形態で、および/または蒸気として施される、請求項19に記載の方法。

【請求項 21】

前記溶液中のフッ化物および/またはフッ素の濃度がおよそ0.001～2.0重量%、好ましくは0.05～1.0重量%である、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

医療用インプラントとして使用するための、請求項1から15のいずれかに記載の金属酸化物製足場。

【請求項 23】

組織の再生に使用するための、請求項22に記載の医療用インプラント。

【請求項 24】

骨の再生に使用するための、請求項22または23に記載の医療用インプラント。

【請求項 25】

組織及び/又は骨の再生、修復、代替および/または回復用の医療用インプラントを調製するための、請求項1から15のいずれかに記載の金属酸化物製足場の使用。

【請求項 26】

骨充填材として顆粒化されている、請求項1から15のいずれかに記載の金属酸化物製足場の使用。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/004062

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61L27/02 A61L27/56		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 102 44 439 A1 (MATHYS ORTHOPAEDIE GMBH [DE]) 25 March 2004 (2004-03-25) page 2, paragraph 14 claim 1	1, 4-8, 12-20, 33-37, 40
X	EP 1 270 533 A (ZELLWERK GMBH [DE]) 2 January 2003 (2003-01-02) page 5, paragraph 51 - paragraph 56 page 5, paragraph 60 claims 1, 2, 7, 13	1-40
X	EP 0 116 298 A (OSBORN JOHANNES FRIEDRICH DR) 22 August 1984 (1984-08-22) claims 1, 4	1, 4-7, 9, 13-18, 33-37, 40
-/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 1 April 2009		Date of mailing of the international search report 08/04/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Heck, Georg

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/004062

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2005/161440 A1 (ELLINGSEN JAN E [NO] ET AL) 28 July 2005 (2005-07-28) claims 1,27,34,55 -----	1-40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2007/004062

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10244439	A1	25-03-2004	AU 2003253340 A1	04-05-2004
			CN 1684720 A	19-10-2005
			WO 2004032986 A1	22-04-2004
			EP 1562651 A1	17-08-2005
			JP 2006500183 T	05-01-2006
			US 2005187638 A1	25-08-2005
EP 1270533	A	02-01-2003	NONE	
EP 0116298	A	22-08-1984	DE 3301122 A1	19-07-1984
US 2005161440	A1	28-07-2005	US 7048870 B1	23-05-2006
			US 2008014243 A1	17-01-2008

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 シュテール・ペッター・リングシュタダース
ノルウェー・N-1 4 5 0・ネソタンゲン・ハーコン・ヴェイ・5

(72)発明者 ハヴァルド・ジョシュテイン・ハウゲン
ノルウェー・N-0 2 6 4・オスロ・フリッツナーゲート・1 9

(72)発明者 ジャン・エイリック・エリングセン
ノルウェー・N-1 3 5 6・ベッケスチュア・キャロライン・オーバーランズ・ヴェイ・1 9

Fターム(参考) 4C081 AB02 AC03 BA13 BB08 CA021 CA041 CA271 CF141 DB03 DB07
EA12