

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4781494号
(P4781494)

(45) 発行日 平成23年9月28日 (2011.9.28)

(24) 登録日 平成23年7月15日 (2011.7.15)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 L 27/00 (2006.01)	A 6 1 L 27/00 J
C O 4 B 12/02 (2006.01)	C O 4 B 12/02

請求項の数 105 (全 72 頁)

(21) 出願番号	特願平10-518575	(73) 特許権者	エテックス コーポレイション
(86) (22) 出願日	平成9年10月16日 (1997.10.16)		アメリカ合衆国 02138 マサチュー
(65) 公表番号	特表2001-502215 (P2001-502215A)		セッツ, ケンブリッジ, シドニーストリ
(43) 公表日	平成13年2月20日 (2001.2.20)		ト 38
(86) 国際出願番号	PCT/US1997/018631	(74) 復代理人	アクシス国際特許業務法人
(87) 国際公開番号	W01998/016268	(74) 代理人	弁理士 倉内 基弘
(87) 国際公開日	平成10年4月23日 (1998.4.23)	(72) 発明者	リー, ドースク ディー.
審査請求日	平成16年10月18日 (2004.10.18)		アメリカ合衆国 02146 マサチュー
(31) 優先権主張番号	08/732,016		セッツ, ブルックライン, ロングウッド
(32) 優先日	平成8年10月16日 (1996.10.16)		アベニュー 50, アpartment 51
(33) 優先権主張国	米国 (US)		8
(31) 優先権主張番号	08/729,344		
(32) 優先日	平成8年10月16日 (1996.10.16)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 不完全結晶性カルシウムホスフェートの製造法及びその使用法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記を含有する自硬化の生物学的適合性セラミック組成物であり：

(a) 反応性非晶質カルシウムホスフェート；

(b) 反応性非晶質カルシウムホスフェートから不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェートへの変換を促進する消極的促進剤又は関与性促進剤であり、前記消極的促進剤は、金属、金属酸化物、セラミックス、シリケート、糖、塩及び高分子粒子の群から選択され、及び前記関与性促進剤は、カルシウム及びホスフェート源の群から選択される促進剤；並びに

(c) 生体吸収性重合体、生体活性ガラス、非生体吸収性材料、潤滑剤、バインダー、及び放射線用材料の群から選択される補助材料；
水性液体の存在下で吸熱反応で自硬化して PCA カルシウムホスフェートを形成する組成物。

【請求項 2】

更に、注入可能又は形成可能な粘稠度を有するペースト又はパテを形成するために充分な量の水性液体を含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記ペースト又はパテは 22 において 10 分以上注入可能又は形成可能であり、37 において 10 ~ 60 分で硬化する請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

10

20

前記硬化が 30 分以上 5 時間以内で起こる請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記水性液体が、水、生理学的に許容可能な pH 緩衝液、食塩水、並びに血清及び組織培養媒体から成る群から選択される請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記消極的促進剤は、非晶質カルシウムホスフェート (ACP) : 促進剤比が 5 : 1 ~ 1 : 1 で存在する請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記消極的促進剤は、 SiO_2 、マイカ、 Al_2O_3 、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリグリコリド(PGA)及びポリ(ラクチドコグリコリド)(PLGA)共重合体の群から選択される請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 8】

前記関与性促進剤は、カルシウムメタリン酸塩、ジカルシウムホスフェート二水和物(DCPD)、ヘプタカルシウムデカホスフェート、トリカルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩二水和物、結晶性ヒドロキシアパタイト(HA)、不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩、モネタイト、オクタカルシウムホスフェート、酸化カルシウム(CaO)、炭酸カルシウム(CaCO_3)、酢酸カルシウム、リン酸(H_3PO_4)、及び非晶質カルシウムホスフェートの群から選択される請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 9】

20

前記促進剤は、ジカルシウムホスフェート二水和物(DCPD)を含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 DCPD の平均粒径は $200\text{ }\mu\text{m}$ 未満である請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

前記 DCPD の平均粒径は $95\text{ }\mu\text{m}$ 未満である請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記 DCPD の平均粒径は $35 \sim 45\text{ }\mu\text{m}$ であり、最大粒径は $110\text{ }\mu\text{m}$ 未満である請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 13】

30

前記組成物の硬化が 4 において 24 時間より長い時間内に起こる請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記液体の量は、 $0.5 \sim 2.0\text{ mL}$ 液体 / g カルシウムホスフェートである請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェートは、2 が 26° 及び 32° の広いピーク及び 2 が 29° と 33.6° の広い肩を示す X 線回折スペクトルを有する請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 16】

40

少なくとも 1 g の前記 PCA カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 PCA カルシウムホスフェートの少なくとも 80 % が 1 年以内に吸収される、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 17】

少なくとも 1 g の前記 PCA カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 PCA カルシウムホスフェートの少なくとも 80 % が 9 ヶ月以内に吸収される、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

少なくとも 1 g の前記 PCA カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 PCA カルシウムホスフェートの少なくとも 80 % が 6 ヶ月以内に吸収される、請

50

求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

少なくとも 1 g の前記 PCA カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 PCA カルシウムホスフェートの少なくとも 80 % が 3 ヶ月以内に吸収される、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

少なくとも 1 g の前記 PCA カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 PCA カルシウムホスフェートの少なくとも 80 % が 1 ヶ月以内に吸収される、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

6 ヶ月以内に新しい骨が PCA カルシウムホスフェートを置換するように処方された、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 22】

6 ヶ月以内に新しい骨が PCA カルシウムホスフェートを置換するように処方された、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 23】

前記補助材料は；

コラーゲン、シルク、脱無機質化骨マトリックス、ヒアルロン酸及びその誘導体、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリグリコール酸、アルギン酸塩、ポリ乳酸、 α -ヒドロキシカルボン酸のポリエステル、ポリ(アンヒドライドコイミド)、生体活性ガラス組成物の群から選択される生体吸収性材料である請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 24】

前記 α -ヒドロキシカルボン酸のポリエステルは、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリ(D, L-ラクチド)(PDLLA)、ポリグリコリド(PGA)、ポリ(ラクチドコグリコリド)(PLGA)、ポリ(D, L-ラクチドコトリメチレンカーボネート)及びポリヒドロキシブチレート(PHB)の群から選択される請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

前記補助材料は；

デキストラン、ポリエチレン、ポリメチルメタクリレート(PMMA)、炭素繊維、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリ(エチレンテレフタレート)ポリアミド、生体ガラス、カルシウムスルフェート及びカルシウムホスフェートの群から選択される非生体吸収性材料である請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 26】

前記補助材料は；

シリコーン油、ポリマーワックス、脂質、界面活性剤及び脂肪酸の群から選択される潤滑剤である請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 27】

前記潤滑剤は 0.1 ~ 30 重量%の濃度で存在する請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 28】

前記補助材料はフォーム、スポンジ、メッシュ、フィルム、粒子、繊維、ゲル及びフィラメントの群から選択される形状を有する請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記繊維は 1 ~ 20 重量%の割合で存在する請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェートは、2 θ が 26° 及び 32° の広いピーク及び 2 θ が 29° と 33.6° の広い肩を示す X 線回折スペクトルを有することを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 31】

2 θ が 26° 及び 32° の広いピーク及び 2 θ が 29° と 33.6° の広い肩を示す X 線回折スペクトルを有することを特徴とする不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウム

10

20

30

40

50

ホスフェート及び補助材料を含む生物学的適合性セラミック組成物であり：

前記補助材料は、生体吸収性重合体、生体活性ガラス、非生体吸収性材料、潤滑剤、バインダー、放射線用材料及び生体吸収性材料の群から選択され；

前記生体吸収性材料は；

コラーゲン、シルク、脱無機質化骨マトリックス、ヒアルロン酸及びその誘導体、ポリオルトエステル、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、及びこれらの共重合体、 α -ヒドロキシカルボン酸のポリエステル、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリ(D, L-ラクチド)(PDLLA)、ポリグリコリド(PGA)、ポリ(ラクチドコグリコリド)(PLGA)、ポリ(D, L-ラクチドコトリメチレン炭酸塩)及びポリヒドロキシブチレート(PHB)、ポリ無水物、ポリ(アンヒドライドコイミド)及びそれらの共重合体の群から選択される、組成物。

10

【請求項 3 2】

前記非生体吸収性材料は；

デキストラン、ポリエチレン、ポリメチルメタクリレート(PMMA)、炭素繊維、ポリビニルアルコール(PVA)及びポリ(エチレンテレフタレート)ポリアミドの群から選択され、及び/又は

前記潤滑剤は、シリコーン油、ポリマーワックス、脂質及び脂肪酸の群から選択され；

前記補助材料は強度、(生体)吸収時間、接着性、摩擦性、放出速度、引張強度、硬度、破碎強さ、弾性、及びイメージ能力の群から選択される性質を前記組成物へ付与するに十分な量で存在する請求項 3 1 に記載の組成物。

20

【請求項 3 3】

前記補助材料はフォーム、スポンジ、メッシュ、フィルム、粒子、繊維、ゲル及びフィラメントの群から選択される形状を有する請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記補助材料は脱無機質化骨マトリックスである請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 5】

(a) 反応性非晶質カルシウムホスフェート、(b) 非晶質カルシウムホスフェートの不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェートへの変換を促進する消極的促進剤又は関与性促進剤であり、前記消極的促進剤は、金属、金属酸化物、セラミックス、シリケート、糖、塩及び高分子粒子の群から選択され、及び前記関与性促進剤は、カルシウム及びホスフェート源の群から選択される促進剤、(c) 補助材料、及び(d) 注入可能又は形成可能な粘稠度を有するペースト又はパテを形成するために十分な量の水性液体をいかなる順序であっても混合する段階から成る生物学的適合性セラミック組成物の製造方法であり；

30

上記(c)補助材料は、生体吸収性重合体、生体活性ガラス、非生体吸収性材料、潤滑剤、バインダー、及び放射線用材料の群から選択され；

上記ペースト又はパテは不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェートへ変換され、その変換は吸熱反応によるペースト又はパテの硬化である製造方法。

【請求項 3 6】

前記ペースト又はパテは 2 2 において 1 0 分以上注入可能又は形成可能であり、3 7 において 1 0 ~ 6 0 分で硬化する請求項 3 5 に記載の方法。

40

【請求項 3 7】

前記硬化が 3 0 分以上 5 時間以内に起こる請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記水性液体が、水、生理学的に許容可能な pH 緩衝液、食塩水、並びに血清及び組織培養媒体から成る群から選択される請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記消極的促進剤は、非晶質カルシウムホスフェート(ACP)：促進剤比が 5 : 1 ~ 1 : 1 で存在する請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 4 0】

50

前記消極的促進剤は、 SiO_2 、マイカ、 Al_2O_3 、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリグリコリド(PGA)及びポリ(ラクチドコグリコリド)(PLGA)共重合体の群から選択される請求項35に記載の方法。

【請求項41】

前記関与性促進剤は、カルシウムメタリン酸塩、ジカルシウムホスフェート二水和物(DCPD)、ヘプタカルシウムデカホスフェート、トリカルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩二水和物、結晶性ヒドロキシアパタイト(HA)、不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩、モネタイト、オクタカルシウムホスフェート、酸化カルシウム(CaO)、炭酸カルシウム(CaCO_3)、酢酸カルシウム、リン酸(H_3PO_4)、及び非晶質カルシウムホスフェート(ACP)の群から選択される請求項35に記載の方法。

10

【請求項42】

前記促進剤は、ジカルシウムホスフェート二水和物(DCPD)を含む請求項35に記載の方法。

【請求項43】

前記DCPDの平均粒径は200 μm 未満である請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記DCPDの平均粒径は95 μm 未満である請求項43に記載の方法。

【請求項45】

前記DCPDの平均粒径は35～45 μm であり、最大粒径は110 μm 未満である請求項44に記載の方法。

20

【請求項46】

前記組成物の硬化が4 において24時間より長い時間内に起こる請求項35に記載の方法。

【請求項47】

前記液体の量は、

0.5～2.0 mL 液体 / g カルシウムホスフェートである請求項35に記載の方法。

【請求項48】

前記不完全結晶性リン灰石系(PCA)カルシウムホスフェートは、2 が26°及び32°の広いピーク及び2 が28.5°と33°の広い肩を示すX線回折スペクトルを有する請求項35に記載の方法。

30

【請求項49】

少なくとも1 g の前記PCAカルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記PCAカルシウムホスフェートの少なくとも80%が1年以内に吸収される、請求項35に記載の方法。

【請求項50】

少なくとも1 g の前記PCAカルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記PCAカルシウムホスフェートの少なくとも80%が9ヶ月以内に吸収される、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

少なくとも1 g の前記PCAカルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記PCAカルシウムホスフェートの少なくとも80%が6ヶ月以内に吸収される、請求項50に記載の方法。

40

【請求項52】

少なくとも1 g の前記PCAカルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記PCAカルシウムホスフェートの少なくとも80%が3ヶ月以内に吸収される、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

少なくとも1 g の前記PCAカルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記PCAカルシウムホスフェートの少なくとも80%が1ヶ月以内に吸収される、請

50

求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

6 ヶ月以内に新しい骨が P C A カルシウムホスフェートを置換するように処方された、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 5 5】

6 週間以内に新しい骨が P C A カルシウムホスフェートを置換するように処方された、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記補助材料は；

コラーゲン、シルク、脱無機質化骨マトリックス、ヒアルロン酸及びその誘導体、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリグリコール酸、アルギン酸塩、ポリ乳酸、 α -ヒドロキシカルボン酸のポリエステル、ポリ（アンヒドライドコイミド）及び生体活性ガラス組成物の群から選択される生体吸収性材料である請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記 α -ヒドロキシカルボン酸のポリエステルは、ポリ（L-ラクチド）（PLLA）、ポリ（D, L-ラクチド）（PDLLA）、ポリグリコリド（PGA）、ポリ（ラクチドコグリコリド）（PLGA）、ポリ（D, L-ラクチドコトリメチレンカーボネート）及びポリヒドロキシブチレート（PHB）の群から選択される請求項 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記補助材料は；

デキストラン、ポリエチレン、ポリメチルメタクリレート（PMMA）、炭素繊維、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリ（エチレンテレフタレート）ポリアミド、生体ガラス、カルシウムスルフェート及びカルシウムホスフェートの群から選択される非生体吸収性材料である請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記補助材料は；

シリコン油、ポリマーワックス、脂質、界面活性剤及び脂肪酸の群から選択される潤滑剤である請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記潤滑剤は 0 . 1 ~ 3 0 重量 % の濃度で存在する請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記補助材料はフォーム、スポンジ、メッシュ、フィルム、粒子、繊維、ゲル及びフィラメントの群から選択される形状を有する請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記繊維は 1 ~ 2 0 重量 % の割合で存在する請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 3】

予め決められた形の粉末圧縮物を含有する生体セラミック組成物であり；

前記粉末圧縮物は；

i) 不完全結晶性リン灰石系（PCA）カルシウムホスフェートを含有する乾燥粉末；又は

ii) 反応性非晶質カルシウムホスフェート及び消極的促進剤若しくは関与性促進剤を含有する乾燥粉末

を含有し、前記消極的促進剤は、金属、金属酸化物、セラミックス、シリケート、糖、塩及び高分子粒子の群から選択され、及び前記関与性促進剤は、カルシウム及びホスフェート源の群から選択される促進剤であり、前記促進剤は前記カルシウムホスフェートから強生体吸収性、不完全結晶性リン灰石系（PCA）カルシウムホスフェートへの変換を促進するために選択される組成物。

【請求項 6 4】

少なくとも 1 g の前記強生体吸収性、PCAカルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記PCAカルシウムホスフェートの少なくとも 9 0 % が 1 年以内に吸

10

20

30

40

50

収される、請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 6 5】

前記変換は吸熱反応の特徴を有する請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 6 6】

更に生物活性剤を含有する請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 6 7】

前記生物活性剤は、抗生物質、骨形態発生性蛋白質、骨再生性蛋白質、及びワクチンの群から選択される請求項 6 6 に記載の組成物。

【請求項 6 8】

前記促進剤は、ジカルシウムホスフェート二水和物 (DCPD) を含む請求項 6 3 に記載の組成物。

10

【請求項 6 9】

前記促進剤は、カルシウムメタリン酸塩、ジカルシウムホスフェート二水和物 (DCPD)、ヘプタカルシウムデカホスフェート、トリカルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩二水和物、結晶性ヒドロキシアパタイト (HA)、不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩、モネタイト、オクタカルシウムホスフェート、酸化カルシウム (CaO)、炭酸カルシウム (CaCO₃)、酢酸カルシウム、リン酸 (H₃PO₄)、及び非晶質カルシウムホスフェートの群から選択される請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 7 0】

20

前記組成物は更に補助材料を含有する請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 7 1】

前記補助材料は脱無機質化骨マトリックスである請求項 7 0 に記載の組成物。

【請求項 7 2】

前記不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェートは、2 が 26° 及び 32° の広いピーク及び 2 が 28.5 と 33 の広い肩を示す X 線回折スペクトルを有する請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 7 3】

少なくとも 1 g の前記強生体吸収性、PCA カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 PCA カルシウムホスフェートの少なくとも 90% が 1 年以内に吸収される、請求項 6 3 に記載の組成物。

30

【請求項 7 4】

前記粉末圧縮物は 1.23 g/cm³ ~ 1.99 g/cm³ の範囲の密度を有する請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 7 5】

生体セラミック組成物の製造方法であり：

(a) 不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェートを含有する乾燥粉末又は、反応性非晶質カルシウムホスフェート及び消極的促進剤若しくは関与性促進剤を含有する乾燥粉末であり、前記消極的促進剤は、金属、金属酸化物、セラミックス、シリケート、糖、塩及び高分子粒子の群から選択され、及び前記関与性促進剤は、カルシウム及びホスフェート源の群から選択される促進剤である乾燥粉末を混合する段階；

40

(b) 前記乾燥粉末を圧縮して予め決められた形の粉末圧縮物を形成する段階を含有する方法。

【請求項 7 6】

前記方法はさらに乾燥粉末を、水、生理学的に許容可能な pH 緩衝液、食塩水、並びに血清及び組織培養媒体から成る群から選択される水性液体で水和させることを含む請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記水和後に、反応性非晶質カルシウムホスフェート及び消極的促進剤若しくは関与性促進剤を含む圧縮物は吸熱反応で硬化する反応生成物を形成して不完全結晶性リン灰石系 (

50

P C A) カルシウムホスフェートを形成する請求項 7 6 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記水和は更に圧縮物を 3 7 でインキュベーションする段階を含有する請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 9】

更に前記反応生成物を凍結乾燥する段階を含有する請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 0】

更に前記乾燥粉末を生物活性剤と接触させる段階を含有する請求項 7 5 に記載の組成物。

【請求項 8 1】

前記生物活性剤は、抗生物質、骨形態発生性蛋白質、骨再生性蛋白質、及びワクチンの群から選択される請求項 8 0 に記載の組成物。

10

【請求項 8 2】

前記促進剤は、カルシウムメタリン酸塩、ジカルシウムホスフェート二水和物 (D C P D)、ヘプタカルシウムデカホスフェート、トリカルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩二水和物、結晶性ヒドロキシアパタイト (H A)、不完全結晶性リン灰石系 (P C A) カルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩、モネタイト、オクタカルシウムホスフェート、酸化カルシウム (C a O)、炭酸カルシウム (C a C O ₃)、酢酸カルシウム、リン酸 (H ₃ P O ₄)、及び非晶質カルシウムホスフェートの群から選択される請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記促進剤は、ジカルシウムホスフェート二水和物 (D C P D) を含む請求項 7 5 に記載の方法。

20

【請求項 8 4】

更に補助材料を前記乾燥粉末と混合する段階を含有する請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記補助材料は脱無機質化骨マトリックスである請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記不完全結晶性リン灰石系 (P C A) カルシウムホスフェートは、2 が 2 6 ° 及び 3 2 ° の広いピーク及び 2 が 2 8 . 5 ° と 3 3 ° の広い肩を示す X 線回折スペクトルを有する請求項 7 5 又は 7 7 に記載の方法。

30

【請求項 8 7】

少なくとも 1 g の前記 P C A カルシウムホスフェートがラットの筋肉内に置かれた場合に、前記 P C A カルシウムホスフェートの少なくとも 8 0 % が 1 年以内に吸収される、請求項 7 5 又は 7 7 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記乾燥粉末は液圧プレスを使用して圧縮される請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記乾燥粉末は、5 0 0 p s i ~ 4 7 0 0 p s i の圧力範囲で圧縮される請求項 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 0】

請求項 1 ~ 3 4 及び 6 3 ~ 7 4 いずれか 1 項に記載の組成物を含有する整形外科用器具。

40

【請求項 9 1】

前記器具はピン、釘、スクリュー、プレート又はアンカーである、請求項 9 0 に記載の整形外科用器具。

【請求項 9 2】

前記補助材料は、粒子又は繊維の形状を有する請求項 9 0 に記載の整形外科用器具。

【請求項 9 3】

前記補助材料は 1 ~ 2 0 重量%の割合で存在する請求項 9 1 に記載の整形外科用器具。

【請求項 9 4】

請求項 1 ~ 3 4 いずれか 1 項に記載の組成物を含有する、骨セメント。

50

【請求項 9 5】

前記補助材料はセメントの圧縮性又は負荷特性を増すように選択される、請求項 9 4 に記載の骨セメント。

【請求項 9 6】

前記補助材料は繊維形状を有する請求項 9 4 に記載の骨セメント。

【請求項 9 7】

前記補助材料はバインダーを含有する請求項 9 4 に記載の骨セメント。

【請求項 9 8】

請求項 1 ~ 3 4 及び 6 3 ~ 7 4 いずれか 1 項に記載の組成物、又は請求項 9 4 ~ 9 7 いずれか 1 項に記載の骨セメントの、骨欠損治療用器具の製造への使用であり、前記器具がインプラントされると、PCAカルシウムホスフェートは生体吸収されて新しい骨により置換され、非生体吸収性補助材料は骨欠損部分に残る使用。

10

【請求項 9 9】

前記器具は、注入可能又は形成可能な粘稠度を有するペースト若しくはパテ、又は所望の形の成形体である請求項 9 8 に記載の使用。

【請求項 1 0 0】

前記インプラント部位が歯ソケット、非癒合骨、骨補てつ、骨粗しょう症の骨、脊椎間空間、顎堤、又は骨折部位を含む請求項 9 8 に記載の使用。

【請求項 1 0 1】

下記を含有する組成物の、骨欠損治療用器具の製造への使用であり：

20

(a) 反応性非晶質カルシウムホスフェート、

(b) 第二カルシウムホスフェートと反応性非晶質カルシウムホスフェートの割合が、生体吸収性、不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェートを形成する割合である第二カルシウムホスフェート、及び

(c) 注入可能又は形成可能な粘稠度を有するペースト又はパテを形成する量の水性液体、
上記ペースト又はパテは吸熱反応で自硬化する使用。

【請求項 1 0 2】

前記ペースト又はパテは 2 2 において 1 0 分以上注入可能又は形成可能であり、3 7 において 1 0 ~ 6 0 分で硬化する請求項 1 0 1 に記載の使用。

30

【請求項 1 0 3】

前記水性液体が、水、生理学的に許容可能な pH 緩衝液、食塩水、並びに血清及び組織培養媒体から成る群から選択される請求項 1 0 1 に記載の使用。

【請求項 1 0 4】

下記段階による骨欠損治療用器具の製造のための反応性非晶質カルシウムホスフェート及び消極的促進剤又は関与性促進剤の使用であり：

前記消極的促進剤は、金属、金属酸化物、セラミックス、シリケート、糖、塩及び高分子粒子の群から選択され、及び前記関与性促進剤は、カルシウム及びホスフェート源の群から選択される促進剤であり、

(a) 反応性非晶質カルシウムホスフェート及び促進剤の粉末を混合する段階；及び

40

(b) 前記粉末を圧縮して予め決められた形の粉末圧縮物を形成する段階、

ただし、圧縮物はインプラント部位で水和されて、生体吸収性の不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェートへ変換される使用。

【請求項 1 0 5】

前記不完全結晶性リン灰石系 (PCA) カルシウムホスフェートは、2 が 2 6 ° 及び 3 2 ° の広いピーク及び 2 が 2 8 . 5 ° と 3 3 ° の広い肩を示す X 線回折スペクトルを有する請求項 1 0 1 又は 1 0 4 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

技術分野

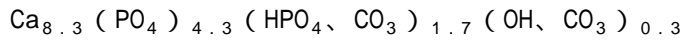
この発明は、整形外科及び歯科用途用並びにその他の目的のための、人間又は動物に移植

50

可能な生体セラミックとして有用な不完全結晶性リン灰石系（アパタイト系）カルシウムホスフェートを含む硬組織移植材料に関する。更に本発明は、生体再吸収可能な複合物、細胞療法、並びに人間及び動物の治療において有用な治療用物質供給器具に関する。

従来技術

カルシウムホスフェートは、硬組織（骨、軟骨、歯エナメル及び象牙質）の主要な成分である。生物学的組織においてカルシウムホスフェートは一般にリン灰石系形態である。たとえば、骨無機質組成は下式で表される：



理想的な化学量論的結晶性ヒドロキシアパタイト（ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ）又はホスフェートに対するカルシウムの比率（Ca/P）が1.67である一般式（ $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$ ）の化学量論的アパタイトとは異なり、骨無機質は非化学量論的アパタイト（リン灰石）である。その非化学量論は主に、三価の PO_4^{3-} イオンを置換する二価のイオン（例えば、 CO_3^{2-} 及び HPO_4^{2-} ）の存在のためである。 HPO_4^{2-} 及び CO_3^{2-} イオンによる置換は、Ca/P比率の変化をもたらす。Ca/P比率は年齢及び骨の位置により1.50～1.70の間で変化することになる。一般に、Ca/P比率は骨の年齢とともに増加し、炭酸塩種の量が古い骨ほど増加することを示唆している。自然発生の骨無機質は、nmサイズのリン灰石系構造を有する不完全結晶性カルシウムホスフェートから成る。骨の不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェートは、より結晶性のヒドロキシアパタイト（HA）や非化学量論的ヒドロキシアパタイトから図7に示すような特徴的XRDパターンによって区別できる。骨無機質の特定の可溶性性質をもたらすのは、ナノ結晶性粒径と不完全結晶性に連動するCa/P比率である。骨組織が、無機質を再吸収する細胞（破骨細胞）及び無機質を製造する細胞（造骨細胞）によって調節される一定の組織修復を経るため、これらの細胞活動の間の繊細な代謝のバランスを維持する際に、無機質の可溶性挙動は重要である。

合成骨移植材料は、自然の骨無機質によく似ているため、自然の骨の有用な置換材である。許容可能な合成骨は、自家組織の骨（患者自身の骨）の有効性及び取り入れの問題、並びに同種移植片骨（死体からの骨）に付随する危険性（例えば、ウィルスの伝送の危険）及び複雑性の問題を避けることができる。理想的な合成骨移植は、少なくとも以下の4つの性質を有していなければならない。：（1）それは、化学的に生物学的適合性でなければならない。；（2）それは、その周りの患者自身の骨が直るまで、移植物が定置にあり無傷であるように、構造上の完全性を提供するものでなければならぬ。；（3）患者自身の骨が最終的に移植物に置き換わるように、それは再吸収可能でなければならない；及び（4）細胞及び/又は生体分子を合成骨材料に組み込むことが必要であるため、材料を形成するために用いられるプロセスの条件は、低温及び化学的に穏やかな条件であることが望ましい。また、同様の基準は、他の硬組織移植（例えば、軟骨）にとって重要である。

Ca/P比率、結晶の粒径、結晶度、多孔性、密度、熱安定性及び材料純度のようなパラメータが制御された材料によって、これらの基準を満たすことができる。インプラントとして用いるためにセラミック材料を合成する多くの努力が成されてきたが、化学式が骨内に自然に形成される無機質と非常に似ているため、合成ヒドロキシアパタイトが最も頻繁に使われてきた。LeGeros R.Z., "Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine", Karger Pub. Co., New York, 1991は、高温（800～1200℃）で焼結することによって溶液沈降によって生じる高度に結晶性形態のヒドロキシアパタイトを教示している。高温処理することにより、結晶サイズが数ミクロン程度である、Ca/Pが1.67の高度に化学量論的なヒドロキシアパタイトが生じる。このような高度に結晶性のヒドロキシアパタイトは、本質的に生体内で再吸収性ではない。それは、生きている骨組織と置換されず、望ましくない長期間の間患者の中に無傷のまま残る。

骨置換材料を製造するこの他の多くのアプローチにおいて、結晶性カルシウムホスフェート反応物の固体酸性反応によって製造されるヒドロキシアパタイトが主に用いられてきた。これらのヒドロキシアパタイト骨置換材料は、不完全に反応し、均質でなく、顕著な結晶性ヒドロキシアパタイト含量を有することがしばしばである。

米国特許第4,880,610号においてConstantzは、高濃度のリン酸とカルシウム源を塩基の存在下で反応させてカルシウムホスフェート無機質を製造することについて報告している。その結果生じる生成物は、ヒドロキシアパタイト無機質の結晶性形態を含む多結晶材料である。同様に、Constantzらの米国特許第5,053,212号は、酸/塩基混合物の実行可能性と混合可能性を改善するために、粉末酸源の使用を開示しているが、米国特許第4,880,610号と同様の混合相カルシウムホスフェート材料を報告している。最近ConstantzらはScience (Vol. 267, pp. 1796-9 (24 March, 1995)) において、リン酸ナトリウム溶液中でモノカルシウムホスフェート水和物、トリカルシウムホスフェート、トリカルシウムホスフェート及び炭酸カルシウムを反応させて炭酸塩化されたリン灰石を形成し、自然に生成する骨無機質よりも実質的に結晶性であるカルシウムホスフェート材料を提供することを報告している。

10

同様に、Brownらの米国再発行特許第33,221号は、結晶性テトラカルシウムホスフェート (Ca/Pが2.0) と酸性カルシウムホスフェートの反応について報告している。Liuらの米国特許第5,149,368号は、酸性のクエン酸塩と結晶性カルシウムホスフェート塩との反応を開示する。

多くのカルシウムホスフェート骨充填材及びセメントは「再吸収可能物」として記載されている。一般に、これらは、トリカルシウムホスフェート、テトラカルシウムホスフェート若しくはヒドロキシアパタイトを含む化合物又はこれらから誘導された化合物である。これらの材料はせいぜい弱再吸収性にすぎないと考えられる。これらの中で、トリカルシウムホスフェート化合物は最も再吸収可能であることが証明されてきたが、長年の研究の後にもそれらはまだ臨床場面で広く使われてはいない。トリカルシウムホスフェートは、たいへん長く予測不能の再吸収性 (一般に再吸収のために1年以上の期間を必要とする) を有することは公知である。更に、非常に多孔性が溝をつけたサンプルを製造する段階をとらない限り、トリカルシウムホスフェートは骨と交換されない。最近、“TCPの生分解 (HAP (ヒドロキシアパタイト) より高い) は充分ではない” と結論された (Berger et al., Biomaterials, 16:1241 (1995))。テトラカルシウムホスフェート及びヒドロキシアパタイトから誘導された化合物もまた弱再吸収性である。テトラカルシウムホスフェート充填材は、30ヵ月後に再吸収が80%程度の長期間にわたる部分的再吸収性を示す (Horioglu et al., Soc. for Biomaterials, March 18-22, pg 198 (1995))。18ヵ月後に、正面の副鼻洞に移植された微晶質ヒドロキシアパタイトの約30%が猫中に残っていた。これらの引例の全ては、カルシウムホスフェートの結晶性固体を反応させることによって結晶性形態のヒドロキシアパタイト固体を生成する化学反応を開示する。非晶質カルシウムホスフェートはカルシウムホスフェート類の中で最も理解されていない固体であり、非晶質カルシウムホスフェートは伝統的に比較的不活性で非反応性固体であると考えられてきたので、反応物のうちの1つとして非晶質カルシウムホスフェート (Ca/Pが約1.5) を使用することはほとんど報告されていない。

20

30

非晶質カルシウムホスフェート (ACP) 材料は、一般に高温処理により高度に結晶性のヒドロキシアパタイト化合物を形成するための直接の前駆体として用いられてきた。生理的な条件ではよく溶解しないので、このような高度に結晶性材料は合成骨のためには不適當である。Chowらの米国特許第5,525,148号は、多くの反応機構におけるACP前駆体の試験結果を報告しているが、ACP単独若しくはACP混合物を含む種々の混合物のスラリーは、設置セメントを形成しないし、効果的な再鉱化剤としても機能しないと述べている。

40

Brownらの米国再発行特許第33,221号は、特にテトラカルシウムホスフェート (Ca/Pが2.0) に限定された歯科用セメントのための非晶質相と、少なくとも一つのより酸性のカルシウムホスフェートを反応させて、結晶性ヒドロキシアパタイトを形成することを報告している。更に、Brownらはこのような非晶質テトラカルシウムホスフェートの製造法やその性質を開示していない。Tungの米国特許第5,037,639号は、歯の再無機質化のための標準の非晶質カルシウムホスフェートペーストの使用法及び用途を開示している。Tungは、チューインガム、ロリンス又は練り歯磨きで混合又はこれらを通して供給される標準不活性非晶質カルシウムホスフェートを使用し、経口流体を入れると、歯エナメルを再無機質化

50

するために有用であるヒドロキシアパタイトを含む結晶性フッ化物に変換することを提案している。SimkissのPCT出願GB93/01519は、非晶質カルシウムホスフェートと混合して生組織に移植されるマグネシウムイオン又はニリン酸塩のような抑制剤の使用法を記載している。例えばマグネシウムイオンが周囲の体液へ浸出すると、非晶質のカルシウム-マグネシウムホスフェートはより結晶性形態に変わる。

硬組織内の自然発生無機質の性質により近似する性質を有する新しい合成材料を開発する必要がある。特に、低温で形成することが可能で、nmサイズの結晶を有する不完全結晶性である、完全に生体再吸収可能である合成骨材料を提供する必要がある。

発明の概要

この発明は、生物学的適合性であり、生体再吸収可能であって、長期間室温で使用可能な、バイオ活性セラミック材料を提供する。このバイオ活性セラミック材料は、低温で形成されてもよく、直ちに形成可能及び/又は注入可能であり、更なる反応により高強度に硬化することができる。このバイオ活性セラミック材料は、自然に生じる骨無機質に匹敵するCa/P比率、並びに自然の骨と同様の硬度及び破砕強さを有する不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェート固体を含む。このバイオ活性セラミック複合物は強度に生体再吸収可能であり、その生体吸収性及び反応性を特定の療法及び/又はインプラント位置の要求に応ずるように調整することができる。

この材料は、骨プレート、骨スクリュー及びその他の治具並びに獣医用途を含む医療用器具として製造することができる。それは強生体再吸収性であり及び/又は骨化するものである。これら又はこの他の本発明は、カルシウムホスフェートの水和前駆体及びペースト又はパテを形成するためにカルシウムホスフェートを水和するのに十分な量の水性液体から成り、この水和前駆体の硬化が吸熱反応に関連することを特徴とする、自硬化の生体セラミック組成物である。また本発明は、非晶質カルシウムホスフェート及びペースト又はパテを形成するためにカルシウムホスフェートを水和するのに十分な量の水性液体から成る水和前駆体を含み、この水和前駆体の硬化が10分より長時間で起こることを特徴とする、自硬化の生体セラミック組成物である。

別の観点から見ると本発明は、非晶質カルシウムホスフェート及びペースト又はパテを形成するためにカルシウムホスフェートを水和するのに十分な量の水性液体から成る水和前駆体の硬化を促進することによって製造された不完全結晶性カルシウムホスフェートを含み、その硬化が吸熱反応及び非晶質カルシウムホスフェートから不完全結晶性カルシウムホスフェートへの変換に関連する、生体セラミック組成物である。

本発明の生体セラミック組成物を、(a)非晶質カルシウムホスフェート、(b)促進剤、及び(c)ペースト又はパテを形成するのに十分な量内の水性液体、をいかなる順序であっても混合して製造してもよく、このペースト又はパテは不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェートに変換され、この変換は吸熱反応においてこのペーストの硬化と関連する。

定義

ここで用いられる「非晶質」とは、顕著に非晶質の特徴を有することを意味する。顕著な非晶質は、非晶質含量が75%以上、好ましくは90%以上であることを特徴とし、広く特色のないX線回折パターンによって特徴づけられる。小程度の結晶度がその材料の中に存在してもよいことが認識される。しかし、この発明の非晶質前駆体材料の結晶度は生成物材料において要求される結晶度未満であることが好ましい。

「バイオ活性」とは、インプラントの中又はそれについて硬組織形成を促進することに関する。軟組織に移植する場合、このバイオ活性は成長又は栄養因子の存在を必要とするか、又はインプラントに硬組織形成細胞型の種まきを必要とする。

ここで用いられる「生物学的適合性」とは、そのホストに実質的な有害な反応を誘導しないことを意味する。異物が生体に導入された場合に、その異物が例えばホストに負の影響を及ぼす炎症性反応のような免疫反応を促進することには常に関心がある。例えば、ヒドロキシアパタイトは一般に「生物学的適合性」であると考えられているにもかかわらず、結晶性ヒドロキシアパタイトマイクロキャリアが動物の筋肉内に挿入された場合に、顕著

10

20

30

40

50

な炎症及び組織壊死が観察された（例えば、Ijntema et al., Int. J. Pharm 112:215 (1994) を参照のこと）。

「生体再吸収」とは、生体内で再吸収されることに関する。「充分な」再吸収とは、細胞外断片が顕著には残らないことを意味する。再吸収プロセスは、体液、酵素又は細胞の活動を通してオリジナルのインプラント材料が除去されることを含む。再吸収されたカルシウムホスフェートは、例えば、骨無機質として再沈澱するか、その体内の他で再利用されるか、又は排出されてもよい。「強生体再吸収性」とは、筋肉内又は皮下に移植されたインプラント材料の全量の少なくとも80%、好ましくは95~99%、最も好ましくは99%以上が1年以内に再吸収されることをいう。本発明の好ましい実施態様において、強く再吸収している不完全結晶性リン灰石系（PCA）カルシウムホスフェートは、少なくとも1g（好ましくは1~5g）のPCA材料が筋肉内又は皮下に移植された場合に、その材料の少なくとも80%が1年以内に再吸収されることを特徴とする。より好ましい実施態様において、この材料は、9ヵ月、6ヵ月、3ヵ月又は理想的には1ヵ月以内に再吸収される。更に、特に好ましい材料は、それらが定められた期間内に十分に再吸収され得ることを特徴とする。また「弱い」再吸収とは、出発材料の80%未満が1年以後に再吸収されることをいう。補助材料の「効果的な量」とは、所望の機械的又は化学的性質をその複合物に付与するのに十分な量である。

「硬化」とは、水和された前駆体が硬化PCA材料に変わるプロセスをいう。このPCA材料は、それが実質的に形成可能でない固体である場合に「硬化された」とみなされる。このような硬化されたPCA材料は、最小の圧縮性を有し、弾性変形に対して可塑性である傾向がある。

ここで用いられる「水和された前駆体」とは、わずかな量の水性溶液（即ち、1gの前駆体粉末に対して水性溶液が1mL以下）の存在下で乾燥前駆体を水和することにより形成されるペースト又はパテのことをいう。この水和された前駆体は、この変換の進行程度によって、多様な組合せの反応物及び製造物の両方を含んでもよい。「注入可能な」及び「形成可能な」前駆体ペーストは水和された前駆体である。好ましい「注入可能な」水和された前駆体は、18ゲージ針を通して供給するのに適した粘度を有する。

ここで用いられる「不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェート」、「PCAカルシウムホスフェート」及び「PCA材料」とは、合成不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェートのことをいう。このPCA材料は、それが特徴的なXRD及びFTIRパターンを有する限り、必ずしも単一のカルシウムホスフェート相に限定されるわけではない。PCAカルシウムホスフェートは、実質的に骨と同じX線回折スペクトルを有する。このスペクトルは一般に20~35度の範囲における2つのみのブロードなピークにより特徴づけられ、その一方のピークは26度、もう一方のピークは32度にある。更にそれは、 563cm^{-1} 、 1034cm^{-1} 、 1638cm^{-1} 及び 3432cm^{-1} （ $\pm 2\text{cm}^{-1}$ ）のFTIRピークによって特徴づけられる。更に 1422cm^{-1} 及び 1457cm^{-1} に最大値がある二重ピークを有する 603cm^{-1} 及び 875cm^{-1} の鋭い肩が観察される。

ここで用いられる「促進剤」とは、水和された前駆体の硬化を促進し、ACPをPCAカルシウムホスフェートに変換することを促進する材料又は処理をいう。いくつかの促進剤はこの変換に関与し、生成物であるPCA材料に組み込まれる。「消極的」促進剤として知られているこの他の促進剤は関与しない。

「反応性」とは、水和された前駆体を形成するために液体と混合する場合に、前駆体材料の硬化に関連する促進剤の存在下で、非晶質カルシウムホスフェートがこの発明のPCA材料への変換を行う能力をいう。好ましいACPIは、完全に変換する能力、急速に硬化を伴い変換する能力、それ以外には不活性な化合物と共に変換を行う能力、及び/又は実質的に均一なPCA材料に変換する能力によって特徴づけられる。このACPが第2のカルシウムホスフェートと反応する場合、この「変換」は、ACP及び第2のカルシウムホスフェートの両方の変換をも含む。硬化の程度及び硬化プロセスの速度もまた反応性の重要な要素である。いくつかのACPは他より反応性である。例えば $100\text{ }\mu\text{m}$ 以上の顕著な粒子部分を含む粒径分布を有するジカルシウムホスフェート二水和物（DCPD）のような、弱い促進剤の存在下でPCA材料への変換及び硬化が行われる場合には、ACPIは「高度に反応性」とみなされる。好

10

20

30

40

50

ましい高度に反応性のACPIは、弱促進性DCPD及び水の存在下で37℃において12時間以内に硬化されたPCA材料を製造し、この硬化は約1～5時間及び理想的には10～30分で実質的に完了する。

【図面の簡単な説明】

図1は、比較的是っきりしない境界を有し部分的に無形状に浸漬された（矢印）クラスター内のnmサイズの粒子を示す反応性非晶質カルシウムホスフェートの高解像度の透過電子放射線写真である。

図2は、Ca/Pが1.58になるような真空加熱手順の後のこの発明の反応性非晶質カルシウムホスフェートのエネルギー分散電子マイクロプローブスペクトルである。

図3は、この発明の非晶質カルシウムホスフェートから誘導された不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェート生成物の溶解曲線を、結晶性ヒドロキシアパタイトと比べたものである。37℃の溶液に解離するカルシウムイオンの量を測定すると、より結晶性形態のヒドロキシアパタイトに比べて、この発明の材料の溶解度が高いことに注目されたい。

図4は、（a）反応性非晶質カルシウムホスフェート及び（b）本発明の骨置換材料を形成する反応に用いられるジカルシウムニリン酸塩のX線回折パターンである。

図5a～dは、反応性非晶質カルシウムホスフェート及びジカルシウムニリン酸塩の混合物が反応してこの発明のPCA材料を形成する進行を追跡したX線回折パターンである。

図6は、（a）ジカルシウムホスフェート二水和物、（b）本発明の活性化されたACP、及び（c）この発明のPCA材料の赤外線のスเปクトルである。

図7は、自然に生じる骨のX線回折パターンである。

図8は、実施例10に記載されている多様な調合物の粒子径分布を示す棒グラフである。

図9は、（9a）無治療又は（9b）この発明の供給ビヒクルで治療された、脛骨の欠陥の顕微鏡写真を示す。図9aにおいて、小さい矢印は欠陥の1つのエッジを示し、大きい矢の先端は架橋されていない欠陥を示す。図9bにおいて、大きい矢の先端は欠陥の1つのエッジを示す。両方の図において、拡大率は4倍であり、骨は脱石灰されており、スライドはヘマトキシリン及びエオシンで治療されている。

図10は、この発明のPCA材料で治療された欠陥に成長した犬の小柱の骨の顕微鏡写真である（拡大率10倍；脱石灰；ヘマトキシリン及びエオシン）。

図11は、この発明のPCA材料で治療された犬の円錐の骨欠陥の顕微鏡写真である（拡大率4倍；脱石灰されていない；薄緑色の塩基性フクシン）。

図12は、（図12a）無治療及び（図12b）手術後4週間目に治療されたウサギ脛骨欠陥の顕微鏡写真を示す（拡大率4倍；脱石灰；マッソン三色染色法）。

図13は、A1203消極的促進剤から製造されるPCAカルシウムホスフェートのX線回折パターンである（A1203のピークは線で示されている）。

図14は、実施例1-2の記載のように製造されたPCAカルシウムホスフェートのX線回折パターンである。

図15は、実施例1-4の記載のように製造されたPCAカルシウムホスフェートのX線回折パターンである。

図16は、反応性ACPとDCPDの反応が吸熱性であることを示す示差走査熱量計（DSC）プロット線である。

図17は、（図17a）熱処理前、及び（図17b）熱処理後の非晶質カルシウムホスフェート材料の赤外線のスเปクトルである。

図18は、本発明のPCAカルシウムホスフェートの広幅XRDである。

図19は、癒着不能の骨部位に導入される本発明のインプラントを示す。

図20は、砕けた骨部位に導入される本発明のインプラントを示す。

図21は、骨粗しょう症の骨部位に導入される本発明のインプラントを示す。

図22は、骨粗しょう症の脊椎骨に注入器により導入されるインプラントを示す。

図23は、腰プロステーゼを固定するために骨セメントとして用いられる本発明のインプラントを示す。

図24は、歯ソケットに導入される本発明のインプラントを示す。

図25は顎堤に導入される本発明のインプラントを示す。

図26は、この発明のPCAカルシウムホスフェートで治療された犬の歯ソケット欠陥の顕微鏡写真である（拡大率4倍；脱石灰されていない；薄緑色の塩基性フクシン）。

図27は、人の死体の骨粗しょう症の脊骨の示している配置のX線写真であり、PCAカルシウムホスフェートの注入前の針の配置を示す。

図28は、PCAカルシウムホスフェートの（図28a）注入前、及び（図28b）注入後の人の死体の脊椎骨の平面図の写真である。

発明の詳細な説明

この発明は、再吸収性整形外科及び歯科用の治具の製作を含む硬組織の修復及び成長促進に用いるために適した生物学的適合性セラミック組成物に関する。この組成物は、しばしば適切な生物学的適合性マトリックス又は添加物と結合した、生物学的適合性及び高度に生体再吸収性の不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェート（PCAカルシウムホスフェート）を含む。このPCAカルシウムホスフェートは、歯科、整形外科、薬供給、細胞療法、及びその他の治療用途に用いることができる。

この発明の組成物を、補てつ器具の骨に接触している表面に骨セメントとして適用してもよい。それを充填材として直接骨欠陥に適用してもよく、それは新しい骨組織の成長を促進することができる。この組成物を、同様に、軟骨組織の修復、成長又は製造のために適用してもよい。またこの組成物を、適当な状況下で再吸収されて骨又は軟骨と交換されるスクリューやプレートのような治具又は器具を組み立てるために用いてもよい。またこの組成物を軟組織中に遊離放置して用いてもよい。薬学的に活性な試薬をこの組成物に加えると、それは薬供給器具として機能し、移植後長期間にわたってこの組成物がゆっくり生分解するに従ってこの試薬を解放する。

本発明はまた、予想どうり硬化するペースト又はパテの形態で、制御された方法で、ACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換を促進するための方法を提供する。

本発明のPCAカルシウムホスフェート生体セラミックは一般的に、ヒドロキシアパタイトのための理想的な化学量論的カルシウム／ホスフェート比率である約1.67と比較すると、その比率が1.5未満でありカルシウムが不十分である。それらは、その生物学的生体再吸収性及び最小の結晶度によって更に特徴づけられる。それらは、速生体再吸収性、高多孔性及び／若しくは低密度であってもよく、又は遅生体再吸収性、低多孔性及び／若しくは高密度であってもよい。それらの結晶性の特徴は、この技術分野で公知の骨置換材料で見られるようなより高度の結晶度を有せず、実質的に自然の骨と同じである。この発明のPCAカルシウムホスフェートはまた生物学的適合性であり、即ち、移植された材料によってホストに顕著な有害な反応（例えば、炎症又は線維症）が引き起こされることはない。炎症又は線維症が医学的に許容範囲内であることをもたらす材料は、生物学的適合性であると考えられる。このPCAカルシウムホスフェートを湿潤前駆体形態（即ち、水和された前駆体）で用いてもよく、破碎のような手術部位にセメントとして直接適用してもよく、またそれを生体外で硬化させその後移植してもよい。

この発明のPCAカルシウムホスフェートの再吸収性は、密度、多孔性、化学組成及び結晶構造の組合せに起因している。リン灰石の低結晶度は、この他のより結晶性の種と比較すると、水性系に対する幾分高い溶解度と関連している。そのためこの発明のPCAカルシウムホスフェートの低い結晶度及び／又は安定した非晶質のリン灰石系ドメインの存在が、生物学的系におけるその再吸収性と関連していると思われる。多孔性は、細胞の生体セラミックマトリックスへの浸透、及び細胞プロセスをマトリックス内部への／からの物質の分散を促進する。従って、多孔性の低いPCAカルシウムホスフェート組成物は、多孔性の高いPCAカルシウムホスフェート組成物よりゆっくりと生体内に再吸収される。ある実施態様において、制御された粒子径を有する反応物を用いると、制御された多孔性を有するPCAカルシウムホスフェート材料が得られる。化学的又は物理的なエッチング及び浸出のような、多孔性を促進するその他の方法を用いてもよい。

この発明のPCAカルシウムホスフェートを、1年（弱再吸収性ヒドロキシアパタイト骨充填材及びこの技術分野で公知の骨代替材では典型的な値である。）以上の遅い再吸収時間が

ら、1~2ヵ月に数グラム（例えば、1~5g）の速い再吸収率まで、いろいろな再吸収率を有するように製作してもよい。したがって、密度、多孔性、使われる反応物、反応生成物の最終の結晶度、及び用いられる結晶化抑制剤の量によって、1グラムの器具が2週間から1月、3月又は6月更に1年、2年又は3年までの所望の期間内に十分に再吸収するように調合物を製造することができる。本発明の強再吸収性PCAカルシウムホスフェートは、出発材料の80%以上（好ましくは95~99%、より好ましくは99%以上）又はその少なくとも1g（好ましくは、1~5g）が1年以内、好ましくは6ヵ月以内、より好ましくは3ヵ月以内、最も好ましくは1~2ヵ月以内に再吸収されるような生体内再吸収率を有する。

負荷状況で新しい骨を作る場合、約6~8週間で十分に再吸収されて骨と交換されるようにすると、12週間までに組織構造的に通常の骨をもたらすことがわかった。いくつかの負荷状況においては、再吸収をよりゆっくり行うことが望ましい場合もある。さらに、硬組織が異所で製造されるか、又は既存の硬組織の形を拡大する場合には、よりゆっくり再吸収するPCAカルシウムホスフェートを用いることが望ましいかもしれない。

生成するPCAカルシウムホスフェートの密度又は多孔性を調整すること、又は固化の速度及び硬さに影響を及ぼす反応パラメータを用いることはすべて、この発明のPCAカルシウムホスフェートの生体内再吸収時間を変化させるための有用なアプローチである。特定の用途に必要なように、これらのパラメータを単独又は組合せて調節してもよい。

高密度、低多孔性PCAカルシウムホスフェート並びに/又は急速反応及び急速硬化時間を用いる場合には、遅い再吸収（3ヵ月以上）が好ましい。低密度、高多孔性PCAカルシウムホスフェート並びに/又は遅い反応及び遅い硬化時間を用いる場合には、速い再吸収（3月以下）が好ましい。PCAカルシウムホスフェートを形成する反応速度及び反応性を調整する指針はこの明細書中にどこかに記載されている。生体内で異なる再吸収性速度を有する硬化PCAカルシウムホスフェートセメントをもたらす好ましいPCAカルシウムホスフェート前駆体の製造法を以下に記載する。

速再吸収のPCAカルシウムホスフェートは、100 μ mより大きい粒径の粒子をかなりの含量で含む粒径分布（例えば、表3の分布B1）を有するDCPDを促進剤として使用して、実施例5の高度に反応性ACPを変換することにより得られる。この粉末は、実施例8に記載のように水和された前駆体として製造される。

遅再吸収のPCAカルシウムホスフェートは、100 μ mより大きい粒径の粒子を最少含量で含む粒径分布（例えば、表3の分布B3）を有するDCPDを促進剤として使用して、実施例5の高度に反応性ACPを変換することにより得られる。この粉末は、実施例9に記載のように水和された前駆体として製造される。

この発明のPCAカルシウムホスフェートは骨形成を行う。この骨形成とは、移植された合成カルシウムホスフェートを、組織構造的に自然の骨と全く同じ又はそれに類似した骨で置換することをいう。この発明のPCAカルシウムホスフェートの骨形成は、より自然らしい組織が確立する前に現れるより未組織の骨の段階で起きる傾向がある。この発明のPCAカルシウムホスフェートは、骨形成がインプラントの外端のみで起こるわけではないので、従前の骨充填材及びセメントとは異なり、おそらく再吸収プロセスと同時にインプラントの全体にわたってその骨形成を開始する。脛骨又は橈骨のような負荷領域へのPCA材料の移植後2~3週以内に、無機質化された類骨形成（針状体）の小さい発生点の形成により、予備的骨形成が観察される。4週間までに、この針状体はレース状外観の薄い海綿状の小柱骨及び薄い皮質性骨に変わる。6週間目に、小孔を含む骨細胞を有する規則正しい正常又は厚いコンパクトな皮質性骨が観察される。6週間以後に最終的な改造が生じ、12週間までには新しく骨化された骨が自分の骨と見分けがつかなくなる。

したがって、PCAカルシウムホスフェートの存在下での骨形成は一般に完成に達し、通常の骨成長より速く生じるように見える。骨形成のこの急速な速度は、この発明のPCAカルシウムホスフェートが骨の治癒を促進していることを示唆する。新しい骨は早くも2週間で観察され、6週間以内（いかなる場合においても3~6ヵ月まで）に組織構造的に十分に構成される状態に達することができる。最高3gの水和された前駆体のインプラントを用いた羊分節性骨折破砕モデルにおいて、骨折していない骨の強さの100%を有する骨が3ヵ

10

20

30

40

50

月以内に観察された。骨形態形成タンパク質のような栄養又は成長因子の存在下においては、このプロセスはより促進される。

好ましい実施態様において、骨形成を最適化するために、本発明の器具、ペースト及びパテに骨形成細胞の種まきをしてよい。これは、その器具（PCAカルシウムホスフェート又は水和されたその前駆体を含む）を患者自身の骨形成細胞の源と接触させることにより最も容易に行うことができる。このような細胞は骨に付随する血又は液体中に見出される。これには、骨又は骨材料若しくは領域に接触した外因性流体が含まれ、また骨膜、皮質性骨、海綿状骨又は髄が含まれる。それらはまた皮質性若しくは海綿状骨、骨髄又は骨膜を含む組織中に存在する。スクリュー及びピンのような器具の場合、それを骨へ導入すると出血するので、更なる種まきは必要ではない。皮質性の骨のみに対するプレートの場合には、その器具に接触する骨膜の障害の誘導が推奨される。また他の実施態様において、インプラント部位の円錐形の骨の一部を除去することによって外科的に骨内に台座を製造することは有用である。また骨形成を促すために、患者から採取した骨形成細胞を移植物に導入したり、その器具の中又は上へ栄養因子又は骨成長誘導タンパク質を編入することなど、この他の手段を用いてもよい。骨形成細胞に対するホストの拒絶が起きる前に所望量の骨の再生が生じるならば、自家組織でない骨細胞もまた本発明の範囲内である。したがって、一次源、細胞線又は細胞バンクから得られる細胞又は組織を一定の実施態様において用いてもよい。同様の考え方を、軟骨形成及び治癒並びに軟骨細胞及び／又はその他の軟骨形成細胞をこの発明のPCAカルシウムホスフェートに種まきするために応用できる

。

この発明のPCAカルシウムホスフェートの好ましい調合物を製造するために用いる反応の性質のために、外科手術固化におけるインプラント材料としての使い易さは、この技術分野で公知の他の骨置換材料よりも顕著に改善されている。特に、反応が体外で開始して、ゆっくり室温で進行し、それによってその材料が固化して外科手術部位に用いる前に使えなくなる可能性を最小にする。この反応は体温で顕著に速まり、その材料はその場所で硬化する。更に、治療上の必要性に従って2、3の簡単なパラメータを変えることによって、発明のPCAカルシウムホスフェートの粘稠度及び形成性並びに反応速度を変えることができる。

PCAカルシウムホスフェートの製造 多くの非晶質カルシウムホスフェートは、時間とともににより結晶性形態に自然発生的に変わる傾向がある。ヒドロキシアパタイトは、カルシウムホスフェートの熱力学的に有利な形態であって、たびたびこのような変換の生成物である。本発明は、制御の下にACPをより結晶性形態（例えば、PCAカルシウムホスフェート）に、更に顕著な結晶化を生ぜずに、変換するという価値を認識した（特に、この変換がわずかな量の水の存在下で行われ硬化反応を伴う場合）。本発明は、PCAカルシウムホスフェートの形成をもたらす反応を提供する。これらの反応は、有利には、ペースト又はパテの粘稠度を有する前駆体を使用して、体外で開始され、37℃で顕著に促進し硬化されたカルシウムホスフェート生成物を生じてよい。いくつかの実施態様において、硬化されたPCAカルシウムホスフェートは従来の黒板チョークと同様の硬度及びモジュラスを有する。いくつかの例では、硬化されたPCA材料は、未反応前駆体、促進剤、及び／又は補助材料、副生成物等の存在を伴う。

本発明の方法によれば、ペースト又はパテ状の水和された前駆体は、水の添加によってカルシウムホスフェート前駆体を形成する。次に水和された前駆体は約37℃まで加熱され、図16の示差走査熱量計（DSC）データにより示されるように、ペースト又はパテの硬化によって特徴づけられる実質的に正味の吸熱反応を開始する。好ましい実施態様において、PCAカルシウムホスフェート材料は、促進剤の存在下で反応性非晶質カルシウムホスフェートをPCAカルシウムホスフェートへ変換することにより、水和された前駆体から製造される。吸熱反応によるペーストの硬化を伴う、ペースト形態のACPからよく結晶化したヒドロキシアパタイトへの変換を促進することは、本発明の範囲内である。

吸熱的に固化する骨セメントは、公知技術であるカルシウムホスフェート骨セメント及び充填材に比べていくつかの重要な利点を有する。反応が熱を放出しないので、インプラ

ント領域の細胞及び組織に対する熱に関連した損傷の危険がない。さらに、反応の吸熱性質は、反応の進行をその反応を支えることができる熱量を調節することによって制御することができることを意味する。水和された前駆体は、室温以下ではわずかししか反応しない。このことは、この技術分野で公知の外科手術用セメント及び充填材に付随する取扱い上の問題の多くが避けられることを意味する。

好ましい実施態様において、反応物は体外で混合され、外科手術部位に適用するのに適した水和されたPCAカルシウムホスフェート前駆体材料を生じる。いくつかの実施態様においてはこの反応は生体外で完了するにもかかわらず、外科手術部位に適用した後一般にこの反応は完了する。本発明のPCAカルシウムホスフェート反応は、一般に5時間以内に水和された前駆体の硬化に至り、生理的な条件下では約1~5時間、好ましくは約10~30分で実質的に硬化する。好ましい実施態様内において、この反応は厚いペーストを形成するために生理食塩水を2つの乾燥成分の混合物に加えることによって開始し、37℃における約30分の吸熱反応に伴って硬化する。水、緩衝液、漿液又は組織培養媒体のようなこの他の水性試薬をこの食塩水の代わりに使ってもよいが、これらに限定されるわけではない。

いかなる反応機構においても、変換前にこのACPが顕著な非晶質の特徴を保持することは重要である。特に、出発ACP内の全体の結晶度は最終製品において要求される結晶度を上回ることができない。したがって、一定の反応機構において、反応全期間にわたってこのACPの非晶質の性質が安定することを必要としてもよい。この技術分野で公知の結晶形成に対する適切な抑制剤の例には、炭酸塩、ピロリン酸塩及びマグネシウムがある。結晶化の抑制剤の使用のための追加的ガイダンスには、Elliot, Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates, Elsevier, The Netherlands, 1994があるので、参照されたい。

促進剤のタイプ 促進剤の目的は、水和された前駆体の硬化を促進することであり、好ましくはACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換を促進することである。この目的にかなういかなる材料又は方法も、この反応の範囲内であると考えられる。これは、変換を起こさずに硬化が起きる場合、即ちPCAカルシウムホスフェート前駆体を出発材料として用いる場合のような限られたケースを含む。

ACPの変換に関して、促進剤は全体の反応又は変換又は硬化プロセスに含まれるいかなる中間反応をも促進することができる。これについて、好ましい促進剤は、変換又は硬化プロセスの一以上の特定段階の活性化エネルギーを下げる。

反応性ACPをこの発明のPCAカルシウムホスフェートに変換するために用いる促進剤自体は、PCAカルシウムホスフェートカルシウムホスフェートに変換されてもよく、そうでなければ変換過程において化学的若しくは物理的反応に関与してもよい。このような促進剤を、ここでは「関与性」促進剤と呼ぶ。

一方、ある促進剤は、この反応性PCAが核形成及び硬化を触媒作用するか又は開始若しくは促進する役割をする際に、実質的に不変のままであってもよい。これらの促進剤を「消極的」促進剤と呼ぶ。

熱、圧力、反応性ガス、溶媒、イオン性溶液又は放射性薬品の使用のようなこの他の手段を用いることにより硬化及び反応性ACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換を促進することもまた本発明の範囲内であるとみなされる。このような促進手段は、反応強化又は「強化」促進剤と呼ばれる。

促進剤は、ACPから硬化されたPCAカルシウムホスフェートを製造することを促進する場合に異なる能力又は強度を有してもよい。同様に、全てのACPが等しく反応性であるとは限らない。したがって、弱い促進剤は低反応性でACPと反応する際に常に効果的であるとは限らない。このような状況においては、より強い促進剤が好ましい。促進剤の強度は、実施例8に記載の方法を用いて、熱で活性化された高度に反応性形態又はその熱で活性化されない形態の両方において、本発明の好ましい炭酸塩化ACPに対する所与の促進剤の反応性を比較することによって簡便に試験することができる。反応物を手で攪拌することは、高度に反応性の促進剤を識別するために特に適している。低反応性の促進剤は、実施例9に記載のような自動化されたミルで攪拌すると有利である。これらの方法を用いることに

10

20

30

40

50

より、実施例10のB1の粒径分布を有するDCPDは弱い促進剤であることが示され、粒径が100 μ m未満であるものは強反応促進剤であることがわかった。

特定の促進剤を所与のACPIに整合させるための上記のガイダンスに加えて、このような整合は、経験的に、約1.0mL水/1g粉末の存在下で所与のACPを選択された促進剤と混合し、この混合物を湿潤環境で37℃に加熱することによって行ってもよい。適切な促進剤は、これらの条件下でPCAカルシウムホスフェートの形成及びペースト硬化を示す。

促進剤及び/又はACPの製造方法は、水和された前駆体がPCA材料に変換される容易さに影響を及ぼす。上記のように、粉末の反応物を液体の添加の前に混合する方法は、系の反応性に影響を及ぼす。したがって、乳鉢及び乳棒を使用する手混合は、反応物粉末の機械による長時間の粉砕と同じ反応性の系をもたらさない。したがって、促進剤を比較する場合

10

には、標準化された製造条件を用いることが重要である。ACPから反応性PCAカルシウムホスフェートへの変換に付随する硬化は表面で触媒作用された現象であると仮定される。もしそうならば、再生可能な表面を有する促進剤を製造することが望ましい。ACP及び促進剤粉末の比表面積を制御して、反応条件及び最終的なPCA材料性能を制御することができる。したがって、反応再現性を制御するために、公知の粒径分布を有する促進剤を提供することは有利である。標準ふるい技術が、特定の粒径を選択するために適している。比表面積は、PCA材料の耐圧強度並びにおそらく多孔性及び再吸収性と相関していることが示された。

多くのカルシウム又はホスフェートを含む化合物を硬化反応の関与性促進剤として用いることができる。カルシウムホスフェート促進剤はいかなる結晶性構造のものであってもよく、直接又は促進剤を用いるかのいずれにおいてもACPと反応するように選択されなければならない。好ましい関与性促進剤は、中間体のPCAカルシウムホスフェート相を通じて、それ自体をヒドロキシアパタイトへ変換する。

20

適当な関与性カルシウムホスフェート促進剤は中性、塩基性及び酸性のカルシウムホスフェート、好ましくはリン灰石系ホスフェートを含み、それはリン灰石系カルシウムホスフェートを得る反応のために適当な化学量論を提供する。適切なカルシウムホスフェート促進剤には、カルシウムメタリン酸塩、ジカルシウムホスフェート二水和物、モネタイト、ヘプタカルシウムホスフェート、トリカルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩二水和物、ヒドロキシアパタイト、不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェート、テトラカルシウムホスフェート、カルシウムピロリン酸塩、オクタカルシウムホスフェート、及び二級ACPが含まれるが、これらに制限されるわけではない。CaO、CaCO₃、カルシウムアセテート及びH₃PO₄のような（これらは単なる例示にすぎない）ホスフェート又はカルシウムの他の源を混合して自然の骨が所望のCa/P比率となるような最終生成物を形成してもよい。また、非晶質又は不完全結晶性の第2の成分を加えてもよい。

30

好ましい実施態様において、粒径が200 μ m未満、より好ましくは95 μ m未満、最も好ましくは平均粒径が約35~45 μ mであって、最大粒径が約110 μ m未満である関与性促進剤としてDCPDが用いられる。

非晶質カルシウムホスフェートをこの発明のPCAカルシウムホスフェートを製造するための単一の前駆体として用いる場合、ACPを高度に結晶性ヒドロキシアパタイトに変換する自然の傾向を制御することが重要である。他方、転換及び硬化の速度は、外科手術用途に十分な程速くなければならない。1つの方法は、結晶形成の抑制剤を含むACP前駆体（例えば、実施例5のACP）を結晶形成の抑制剤を含まないACP（例えば、促進剤）と結合することである。その反応物を、適当な粒径であって、抑制剤を含むACPの過剰量と混合してもよい。次にこの反応物を水を添加するような結晶を形成する条件にさらし、加温（例えば、体内に入れた場合に起こるような）を行い、この反応物を本発明のPCAカルシウムホスフェートに変換する。更にこの反応を促進するような段階をとらない限り、単独の促進剤としてACPを使用すると、例外的に良く硬化する傾向にないPCAカルシウムホスフェートをもたらす。

40

関与性促進剤がACPとともに同様にPCAカルシウムホスフェートに変換されることは、この発明の反応の興味深くかつ予想外の特徴である。これは、DCPD及び化学量論的ヒドロキシ

50

アパタイトにおいて実験的に証明された。したがって、結晶性カルシウムホスフェートが実質的に吸熱反応により結晶性でない状態へ変換することがまず示された。

ACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換が上記のように証明された一方で、その代替材料がまたPCAカルシウムホスフェートに変換されうることも認識される。したがって、37 °Cでの正味の吸熱反応によりわずかな量の水の存在下で結晶性カルシウムホスフェート（PCAカルシウムホスフェートを含むこと）からの水和された前駆体ペーストを製造し、それに伴いペーストが硬化することは本発明の範囲内であると考えられる。このアプローチの好ましい実施態様において、PCAカルシウムホスフェート及びDCPDは、PCAカルシウムホスフェート生体セラミックを製造するため反応物としての特徴を有する。ヒドロキシアパタイトは、カルシウムホスフェートの熱力学的に有利な形態である。

それゆえ、それ自体はPCAカルシウムホスフェート（又はヒドロキシアパタイト）に変わらない促進剤を用いて、水和された前駆体の硬化を伴って、反応性ACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換を促進することもまた本発明の範囲内である。適当なこのような促進剤は「消極的」と呼ばれ、核形成を起こす物質及び触媒を含むが、これに限定されるわけではない。不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェートを製造するためにリン灰石系結晶化を弱くしか促進しない反応性表面を提供する物質は、この観点から特に適している。

ある観点では、本発明は、ACPを水和させるために用いられる水性液体に不溶又はあまり溶解しない消極的促進剤を用いることを特徴とする。適切な促進剤には、金属、金属酸化物、セラミックス、シリケート、糖、塩又は高分子粒子があるが、これらに限定されるわけではない。多くの用途において、好ましい促進剤はそれ自体で生物分解性である。一般に、これらの物質は粒径が1~500 μm 、好ましくは1~300 μm 、最も好ましくは1~200 μm の顆粒状である。用いられる実際の粒径は、特定の物質の反応促進性を改良するために変更されてもよい。

実施例3の表2は、わずかな容積の水の存在下でのACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換における種々の消極的促進剤の効果を示す。一般に、この促進剤はACPの量以下で存在し、特にACP：促進剤は約1：1~約5：1である。2つの乾燥成分の全重量にほぼ等しい量の水が（ここで、水の密度は1であるのでこの重量は容積に等しい。）ペーストを製造するために用いられる。ACP、促進剤及び水の実際の割合は、成分の量を変化させ、処方を選択して成分を混合することにより、簡便に決定することが可能であり、37 °Cにおいて所望の時間内に硬化されたPCAカルシウムホスフェートをもたらす。好ましい消極的促進剤には、顆粒状の SiO_2 、マイカ、 Al_2O_3 、ポリ（L-ラクチド）（PLLA）、ポリグリコリド（PGA）及びポリ（ラクチドコグリコシド）（PLGA）共重合体があるが、これらに限定されるわけではない。

最後に適当な強化促進剤には、水、熱、塩及び追加のカルシウムホスフェート源があるが、これらに限定されるわけではない。一般にこれらの物質は、ACPと第2のPCAカルシウムホスフェートとの反応を促進し、ACPからPCAカルシウムホスフェートへの変換を促進する。変換反応には、酸/塩基、変位、置換、及び加水分解反応が含まれる。

この発明の反応は、生成物の化学組成物を設計及び変成し、それにより最終生成物のバイオ活性を制御モードを提供することを可能にする。非晶質カルシウムホスフェートは完全に他の固体と反応する傾向があるので、生成する固体のCa/Pは出発材料として存在する全てのカルシウム及びホスフェートによって決定される。これは、単に出発非晶質及び二次のカルシウムホスフェートの相対割合を選択することによって、PCAカルシウムホスフェートを安定して製造することを可能にする。ホスフェートに対するカルシウムの比を、一般に約1.1~1.9、好ましくは1.5未満、最も好ましくは約1.4未満に保つことが望ましい。特に有用な方法は、前駆体ペーストをおよその形又は粒径にして、次に37 °Cの湿潤環境の試験管内でその材料を硬化させることである。望むならば、外科手術固化に用いる前に、硬化された材料を所望の形に正確にミル又は機械加工してもよい。硬化された材料を貯蔵することを望む場合には、この発明のPCAカルシウムホスフェートの安定性を強化することが有用であろう。そのような場合に、プリフォームされた対象物をヒドロキシアパタイ

ト結晶化の抑制剤に曝露することは有効である。この発明のPCAカルシウムホスフェートカルシウムホスフェートを製造するために用いられる水性媒体に、抑制剤を加えてもよい。その代わりに、それから作られる最終材料又は目的物を抑制物質に曝露してもよい。適当なこのような抑制剤には、マグネシウム、炭酸塩、ピロリン酸塩、ポリL-グルタミン酸塩、ポリアクリレート、ホスピチン、カゼイン及びたんぱく質-多糖類があるが、これらに限定されるわけではない。このような化合物を使用するためのガイダンスにはTerminéらのArch. Biochem. Biophys. 140:318-325 (1970)があるので、参照されたい。4 又は好ましくは-20 若しくは-75 のような低温での貯蔵はまた結晶化を遅くする。

上記の実施態様において、ペースト又はパテは37 で硬化する。37 での硬化は水和された前駆体の生体内用途のための重要であるが、反応はより高温又は低温でも進行する。ペースト又はパテを体外で硬化する場合には、この反応性範囲が有利である。そのような場合に、更に硬化プロセスを速めるためにより高温を用いてもよい。これについては温度は約48 未満が好ましい。

試験管内で硬化するためには、この反応は水を消費する傾向があるので、湿潤環境でおこなうことが有効である（但し決定的ではない。）。それに加えて、それが硬化する間、サンプルの蒸気による水の損失を避けることが望ましい。したがって、高湿度（湿度が80%以上、好ましくは100%）の反応チャンバーを使用することが好ましい。その代わりに、しばしば反応及び硬化プロセスを水中で行ってもよい。

本発明のPCAカルシウムホスフェート材料及び複合物は多孔性である。空気乾燥されたサンプルは一般的に全容積の少なくとも20%以上の水を吸収することができる。多くの実施態様において、サンプルの全容積の30%以上好ましくは40%以上、より好ましくは50%以上の水が吸収されてもよい。

体外で作成するための制御された圧縮を行う方法や、体外又は体内のいずれの硬化のために特定の粒径の促進剤を使用する方法も好ましいアプローチであるが、硬化されたサンプルの多孔性に影響を及ぼすいかなる方法を用いてもよい。この反応を、少なくとも5トンまでのいかなる圧において、チャンバー又は型の中で行ってもよい。この発明の材料の新しい処方確立の際に、この反応の性質及び限界を知ることは有用である。反応製造物及び反応完了を識別するために多くの試験を行われるであろう。

反応生成物の簡単な調査又は手で調べるにより硬さを決定してもよいが、ロードセル及び力変換器を用いて定量的測定を行うことが好ましい。この発明の反応を変換に硬化が伴って起こるように設計することができるが、必ずしも硬さのみで変換が完了したことを確認できない。

この発明のPCAカルシウムホスフェートのX線スペクトルを図18に示す。この図から分かるように、このスペクトルは2 が約26及び32の広いピークによって特徴づけられる。追加的に広い肩が約 $2\theta = 29$ にあり、別の肩が約 $2\theta = 33.6$ にある。このスペクトルには、より結晶性のリン灰石の特徴ある2 が27~34における追加的な鋭いピークと鋭い肩がない。特に、ヒドロキシアパタイトのミラーインデックスの210、112又は300に相当する鋭いピーク又は肩がない。

FTIRスペクトルは、 563cm^{-1} 、 1034cm^{-1} 、 1638cm^{-1} 及び 3432cm^{-1} ($\pm 2\text{cm}^{-1}$) におけるピークで特徴づけられる。 603cm^{-1} 及び 875cm^{-1} に最大値のあるダブルットを有する 1422cm^{-1} 及び 1457cm^{-1} の鋭い肩が観察される（図6c）。

いくつかの実施態様において、変換に続いていくつかの未反応結晶性カルシウムホスフェートが実際に存在することが望ましいかもしれない（例えば、DCPD又はヒドロキシアパタイト）。このような状況において、存在するACPの量に対する第2のカルシウムホスフェートの量を調節してもよい。その代わりに、より弱い促進剤又はより低い反応性のACPを用いると、いくつかの未反応出発材料が結果として生じるかもしれない。PCAカルシウムホスフェート及びDCPDの混合物、PCAカルシウムホスフェート及びヒドロキシアパタイトの混合物又はPCAカルシウムホスフェート及び他の反応物の混合物は本発明の範囲内である。いくらかの限られたケースにおいて、ACPの代わりにPCAカルシウムホスフェート自体を用いてもよい（それが顕著な非晶質の性質を有する限り）。

移植可能な生体セラミック材料を、前駆体材料へ流体を添加して混合することにより、ペースト又はパテのような前駆体形態で製造してもよい。必要ならば、前駆体材料はACP、促進剤及び追加の補助材料を含んでもよい（いくつかの場合においては、これらの成分の中のいくつか又は全てを部分的に予め水和してもよい。）。成分の混合はいかなる都合のよい順序で行ってもよい。体を添加する前に、これらの成分を混合したり及び／又は物理的に粉末化してもよい。その代わりに、流体を単一の乾燥成分に加えて、次に追加の乾燥成分を加えてペーストを完成させてもよい。

反応物を広範囲の割合で用いてもよい。ほとんどの場合、成分の絶対比は意図された使用状況に依存する。ACP及び関与性促進剤だけを用いる系においては、一般的に反応物は等重量で用いられる。また水は他の乾燥反応物の合計重量に等しい重量で添加される。

好ましい実施態様においては、実施例10の分布B3と同じ粒径分布のDCPD及びACP：DCPD比率が0.5g：0.5gである実施例5の高度に反応性の炭酸塩化ACPを、0.7～1.3mLの範囲の水と結合してもよい。

消極的促進剤及びACPのみの関与する反応の場合、ACP：促進剤比が約5:1～1:1の場合に良く機能することが分かった。反応物の合計重量1gにつき0.5～1.5mLの水を用いてもよい。反応物及び水の適切な量は、(a) 使用可能なペースト又はパテを形成するための乾燥成分及び水の比率を確立し、(b) 37℃で適当な時間（20～60分）で硬化する処方を選択し、及び／又は(c) 適当なモデル系において（例えば、生体内皮下再吸収又は試験管内組織培養再吸収モデル）選択した処方物の性能を試験することにより、経験的に決定してもよい。

いくらかの好ましい実施態様（例えば、実施例8～10）において、反応は室温でゆっくり進行するが、18又は19℃以下ではほとんど進行しない（DSCデータを参照のこと）。この反応はより高温（特に体温）で促進される。この性質は、反応物を少量の水と混合して形成させた水和された前駆体ペーストは、蒸発して水分が失われないように注意している限り、室温に保つ間かなり時間（数時間まで）注入可能及び／又は形成可能のままであるため、特に外科手術において有用である。したがって、空中の室温（約22℃）において、このペーストは1時間以上後に硬化し、10分以上、好ましくは1時間以上、最も好ましくは3時間以上形成可能及び／又は注入可能のままである。インプラント部位（約37℃）に注入した後、このペーストは約1時間以内、好ましくは約10～30分で硬化する。このペーストは、4℃に保たれた場合、水分が蒸発しないように注意すれば数日後にも硬化しない。一方、一旦この材料が移植されたならば、硬化は熱がインプラントに伝わって硬化は促進される。身体を局部的に加温又は冷却するために、レーザー、超音波等、又は医薬を使用することを含むその他の方法により、熱を加えてもよい。

加える流体の量を変えることで、ACP及び促進剤の混合物は、粘稠度を変化させた水和された前駆体混合物をもたらす。反応物に加える液体の量を適切に選ぶことにより、前駆体ペーストの粘性を必要に応じて調節することができる。このペーストを、注入可能又は形成可能な粘稠度のどちらでも作成してもよく、また注入可能でかつ形成可能な粘稠度で作成してもよい。一般的に、この反応物を、注入するための所望の粘度となるのに十分な量の水又は緩衝液と混合して、注入可能なペーストを製造する。このペーストをできるだけ粘稠にしてかつ16～18ゲージの注入器を通過可能であるようにするのが一般である。直接固体組織（例えば、骨粗鬆症患者の円錐骨）に、注入する必要がある調合物の場合、より低い粘稠度（例えば、1.5mL H₂O/1g乾燥前駆体）が望まれる。ペースト中の固体成分の結晶度が低いため、この材料は従来技術の組成物よりも流動性が顕著に改善されている。従来技術の材料は顆粒又はオートミールのような粘稠度を有するのに対し、生成物であるペーストの流動特性は練り歯磨きのようなものである。室温で保ちかつ蒸発による水の損失を最小にするならば、このペーストを使用前（数時間前）に作成してもよい。蒸発を最小にする段階を行う場合であっても、室温に保持することは、水和された材料の乾燥を伴う。このような場合、少量の水を加えて混合し、所望の粘稠度に戻してもよい。水分の蒸発を最小に抑える段階をとる限り、冷蔵庫内の1～10℃の低温にペーストを保つことにより貯蔵時間を延ばすことができる。

別の好ましい実施態様において、インプラント部位に導入することのできる形成可能なペースト又はパテを製造してもよい。一般に乾燥反応物を、形成するための所望の粘稠度をもたらすのに十分な量の水又は緩衝液と混合して、形成可能な前駆体を製造する。多くの用途においてより流動性の低粘稠度が望ましいが、通常できるだけ粘稠にしてかつ手で形成可能であるようにする。多くの実施態様において、好ましい粘稠度は、クレイ又はうわぐすりの粘稠度と同様である。室温以下で保ちかつ蒸発による水の損失を最小にするならば、水和された材料を使用の数時間前に製造してもよい。水分の蒸発を最小に抑える段階をとる限り、冷蔵庫内の1~10℃の低温に水和された材料を保つことにより貯蔵時間を延ばすことができる。

インプラント部位への応用は、外科医特定の指示及びその好みに従って行われる。骨の場合と同様の考慮が軟骨のインプラントの場合にも適用される。この発明のPCAカルシウムホスフェート前駆体を直接硬組織（例えば、骨粗鬆症患者のための）又は小破砕部に供給するために注入技術が採用される。より大型の破砕部の場合には、パテのような粘稠度が好ましく、手又はスパチュラ等を用いて移植される。復元にはパテのような形態をよく用いるが、いくつかの例においては、プリフォームし、硬化させ、生体外でその材料を形成し、硬化された形態を移植することがより有利である。この材料を血又は体液に曝露するか又はこれらと混合することは許容範囲内であって、多くの場合において骨又は軟骨形成を促進するために好ましい。軟組織への移植は上記の方法のいずれをも用いて行うことができる。

反応性非晶質カルシウムホスフェートの形成 好ましい実施態様において、ACPは促進剤及び水の存在下でPCAカルシウムホスフェートに変わる。非晶質カルシウムホスフェートを使用すると、急速に反応して更に顕著に結晶化せずに完全に生成物PCAカルシウムホスフェートになるが、それは高度に再吸収性のカルシウムホスフェートの種々の医学用使用法を含む新規な用途を提供する。本発明の促進剤は、ACPと共に反応物として直接関与するか、又は触媒、核形成剤若しくは反応促進剤又はこれらの組み合わせとして消極的に、変換及び硬化を促進する。

全てのACPは所与の促進剤に対して同じ反応性を有するというわけではなく、それらの反応性は、表3のB1に似た粒径分布のDCPDとの反応性に比例する。実施例10及び11は、反応性のためのこのようなDCPDとの反応性を試験されたいろいろなACPを記載している。より小さい粒径を有するより強いDCPD促進剤を用いると、弱反応性又は非反応性のACPとの反応を促進する。一般に弱反応性ACPにはより強い促進剤が必要であり、いくつかのケースにおいては複数の促進剤の組み合わせを要する。

好ましい実施態様においては、高度に反応性のACPが用いられる。このACPを含む水和された前駆体は、粒径の小さい（例えば、63 µm未満）DCPDのような強い促進剤の存在下、又は100 µm以上の大きい顆粒を相当量を含むDCPDサンプル（例えば、分布B1）のような比較的弱い促進剤の存在下で、硬化及び変換を行うことができる。高度に反応性のACPの一例は、460℃で約1時間熱処理されて活性化された炭酸塩化ACPである。

本発明はまたこの発明のPCAカルシウムホスフェートのために適当な反応性前駆体を識別するための試験法を提供する。この試験は、非晶質カルシウムホスフェート、DCPD及び水を結合して、水和されたPCAカルシウムホスフェート前駆体物質を製造する段階、及び体温近辺において約10~60分で硬化させる能力を証明する段階からなる。次にこの試験において硬化されたPCAカルシウムホスフェートを製造することがわかった反応物を試験動物の筋肉内に置き、生物学的再吸収性をチェックする。このように製造された100mg、好ましくは300mgのPCAカルシウムホスフェートは、ネズミ筋肉において12ヵ月未満、好ましくは6ヵ月未満、最も好ましくは2ヵ月未満で再吸収される。更に、筋肉内に1gを置くとその80%が同じ時間で再吸収される。その代わりに、ネズミの皮下に少なくとも2gを置くと、12ヵ月未満、好ましくは6ヵ月未満、最も好ましくは2ヵ月未満内で完全に再吸収される。より低反応性形態のACPを識別するために、弱いDCPD促進剤を用いることが好ましい。この他の関与性又は消極的促進剤を用いて同様の試験を行ってもよい。

この発明の方法は、1000℃未満、好ましくは200~500℃、最も好ましくは300℃の非晶質

10

20

30

40

50

カルシウムホスフェート粒子を最初に形成し、この生成物を溶液から急速に沈降させてその更なる成長を抑える。図1は、本発明の好ましい反応性非晶質カルシウムホスフェートの形態上の特徴及びオングストロームスケールの性質を例証する高解像度透過電子放射線写真を示す。結晶性材料とは対照的に、不鮮明な境界が小球体のようなクラスターを分離しており、明確なエッジ及び表面がないことに注意されたい。

カルシウム及びホスフェートイオン源が反応して非晶質カルシウムホスフェートが形成される間に、第3のイオンを溶液に加えて三価の PO_4^{3-} 基の代わりに非晶質の沈殿構造に組み込んでもよい。いくつかの PO_4^{3-} がこの第3イオンに置換されるので、全体の PO_4^{3-} は減少し、（標準の非晶質カルシウムホスフェートに比べて）非晶質の沈殿物のCa/P比率を増加させ、カルシウムホスフェートの原子価又は電荷状態負を変更する。次にその材料の化学的及び物理的性質を保存するため、この非晶質固体を凍結乾燥してもよい。次にその第3イオンの少なくとも一部の除去を促進するために選択された特定条件下で、この非晶質固体を処理してもよい。炭酸塩の場合、特定の温度及び圧力条件において非晶質性を維持しながら、全炭素原子は減少する。恐らく非晶質固体から二酸化炭素ガスとして除去される。

強化された反応性の原因は完全には理解されていないが、それは非晶質性（結晶度の不足）と関連しており、いくつかの実施態様においてはこの発明のプロセスによってつくられた材料内の空格子点に関連しているものと考えられる。ここで空格子点とは、多くのイオンペアを含む材料内において、 CaCO_3 から失ったイオンペア（例えば、 CO_3^{2-} ）の一組の不足のことをいう。空格子点の存在は、引き続く反応のための反応部位を提供するものといえる。この化学量論的アンバランスは、非晶質カルシウムホスフェートの反応性の増加に寄与するものと考えられる。この反応性ACPIは、典型的な非晶質カルシウムホスフェートより高いCa/P比率を有する非晶質固体であり、そのCa/P比率は一般に約1.50であると報告されている。

非晶質状態は、沈降プロセスの速度及び期間を制御することにより促進される。この発明の非晶質ヒドロキシアパタイトは、最初の沈降が急速であるような条件下で溶液から沈殿させられる。急速な結晶又は粒子の成長は各粒子内の欠陥数を増加させ、それにより可溶性が良くなる。スペクトルの末端において、結晶又は粒子の成長が急速であり、欠陥密度が顕著であるので、非晶質カルシウムホスフェートが結果として生じる。非晶質カルシウムホスフェートはゲル状であり、様々な組成を有する固体溶液を含む。オングストロームスケールで測定すると、これらのゲルは長範囲構造を有せず均一である。生理的条件において、これらの非晶質化合物は、高い可溶性、高い形成速度、及びPCAカルシウムホスフェートへの速い変換速度を有する。

この方法によって製造される非晶質カルシウムホスフェート固体は、最終反応に実質的な非晶質固体として加えられるのに十分長い非晶質性を保持している。

本発明の実施例において、カルシウム及びホスフェートイオン並びに第3のイオンを含む溶液は、急速な核形成及びカルシウムホスフェートの沈降を促進するようなpH及び温度で、製造される。沈降が十分に速い場合、非晶質ゲル状カルシウムホスフェートが形成される。熱力学的に有利なヒドロキシアパタイトの結晶性形態は遅い反応速度で促進されるので、非晶質化合物が得られることを確実にするために、反応速度を増加させるような一定のプロセス段階を導入してもよい。この発明の非晶質カルシウムホスフェートの急速な沈降のための溶液を設計する場合、以下に記載する因子を他の因子よりも考慮すべきである。

好ましい条件： カルシウムとホスフェート源を急速に混合すると反応速度が増加する。生成物として非安定相をもたらすためにこの反応速度を増加する。各イオンを正しく並べて固体を形成するためにより長い反応時間をかけると、より熱力学的に有利な結晶及び安定な構造を結果としてもたらす。

好ましいカルシウム及びホスフェート源： 高濃度又は過飽和に近い溶液を使用すると、より急速な反応が確実に起こる。

好ましい温度： この反応を室温で行うことは可能であるが、1つの反応物の濃度を増加

10

20

30

40

50

させるために沸点に近い温度を用いることは反応速度を増加させるための可能な手段である。

ある実施態様において、非晶質カルシウムホスフェート固体を含む炭酸塩を得るために、カルシウムイオン、ホスフェートイオン及び炭酸塩イオンから成る水性溶液を急速に混合する。所望のCa/P比率を有する沈殿物を得るために、各イオンの相対濃度を選択する。炭酸塩イオンは、非晶質カルシウムホスフェートのホスフェートイオンを置換する。炭酸塩化非晶質カルシウムホスフェートは、沈降によって水性炭酸塩溶液から得られる。適当な水性炭酸塩溶液には、重炭酸塩溶液、炭酸ナトリウム溶液、カリウム炭酸塩溶液があるが、これらは単に例示にすぎない。非水性溶液を用いることも本発明の範囲内であると考えられる。

10

炭酸塩化材料を使用することは、 PO_4^{3-} を CO_3^{2-} で置換してCa/P比率を操作できるようにするため、望ましい。それに加えて、 CO_3^{2-} の存在が非晶質カルシウムホスフェートの結晶度の進行を遅らせることが知られている。しかし、他のイオン又はイオンの混合物は、Ca/P比率を変更し、非晶質カルシウムホスフェートへ反応性空格子点を導入する場合に、炭酸塩を置換するか又は炭酸塩に付加するのに適当であり、この例には、硝酸塩、亜硝酸塩、アセテート、 Mg^{+2} 及び $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ イオンが挙げられるが、これらは単なる例示にすぎない。非晶質カルシウムホスフェート沈殿物を活性化する前に集めて濾過してもよい。集められた沈殿物の非晶質状態を維持するために、冷蔵室の中又は周囲温度以下でこの段階を行うことが好ましい。この集めることを典型的にいかなる従来手段で行ってもよい。この手段には重力ろ過、真空ろ過又は遠心分離があるが、これらに限定されるわけではない。集められた沈殿物はゼラチン状で、一回以上蒸留水で洗浄される。

20

次にこの材料の非晶質性質を維持するようないかなる条件下で、この洗浄された沈殿物を乾燥する。このために凍結乾燥は適した技術であるが、これに限定されるわけではない。凍結の際、冷凍状態に保持されている間その沈殿物は乾燥されて、含まれた液体の多くが除去される。この凍結沈殿物を真空小室に一定時間置くことによってこの手順は完了する。液体室素温度において、12~78時間、好ましくは約24時間で、 10^{-1} ~ 10^{-4} トル(torr)、好ましくは 10^{-2} トルの真空下で、冷凍乾燥が典型的に起こる。凍結乾燥に典型的に用いられる極低温は材料が更に結晶化することを抑制するので、凍結乾燥は好ましい方法である。この結果、得られた非晶質カルシウムホスフェートは極めて微細な自由流動性粉末である。

30

次にこの乾燥されたACPを活性化して高度に反応性ACPにしてもよい。炭酸塩がACP中に存在する好ましい実施態様において、ACP粉末を加熱して、残留する自由水(水和水)を除去し、(恐らく CO_3^{2-} を CO_2 及び酸素に分解して)炭素原子を除去する。非晶質カルシウムホスフェートが結晶性ヒドロキシアパタイトに変換することを防ぐために、425~500における加熱段階を行う。加熱は、450~460で1~6時間、より好ましくは50~90分行うことが好ましい。

ACPを製造するここに記載されたほとんどの実施態様において、大気圧を用いるのが簡便である。しかし、適当な温度で真空を使用することも本発明の範囲内であると考えられる。

高度に反応性のACPを製造するために、ACP合成の全体にわたって材料の非晶質性質を維持することが望ましい。このプロセス中又は最終生成物中に、その全体(一つの結晶性領域)中又は部分的領域(微晶質領域)中に顕著な結晶度が導入されたならば、その固体はより低反応性になることが分かった。結果として生じた高度に反応性のカルシウムホスフェートは非晶質で、ホスフェートに対するカルシウムの比率は1.55~1.65である。好ましい実施態様において、非晶質カルシウムホスフェートは約1.58のCa/P比率を有する。

40

低結晶度及び空格子点(多孔性及び/又は化学量論的变化)は、この発明の非晶質カルシウムホスフェートが高反応性であることの説明となりうる。これは、以下の観察で裏づけられる:a) 525 まで加熱された炭酸塩を含む非晶質カルシウムホスフェートの結晶性含量が大きく、それに対応して反応性が低いことが観察されている。b) 400 まで加熱された非晶質カルシウムホスフェートは非晶質特徴を保持するが、その反応性は低い。c) 460

50

まで加熱された非炭酸塩化ACPをDCPD反応を用いて調べると（実施例8）、強いDCPD促進剤とは反応性であるが、弱いDCPD促進剤とは反応性でない。

これらの観察は、非晶質及び炭素原子の低含量（空の反応性部位）が反応性に影響する因子であることを示唆する。これは、反応性の根拠の排他的な説明であることを目的としない。観察された反応性のためのこの他の根拠も本発明の範囲内であると考えられる。

この結果生じた非晶質カルシウムホスフェート粉末は、Ca/P比率が1.1~1.9、好ましくは約1.55~1.65、最も好ましくは約1.58の高度に反応性の非晶質カルシウムホスフェート材料である。図17a及び17bは、凍結乾燥プロセス後（図17a）、及びそれに続く450℃で1時間熱処理の後（図17b）の非晶質カルシウムホスフェートの赤外線のスペクトルを示す。

材料中に局所的な化学基が存在することを示す赤外線ピークにおいて、H-O-H（約3,400 cm^{-1} 及び1640 cm^{-1} ）及び CO_3^{2-} 基（1420~1450 cm^{-1} ）が熱処理後顕著に減少する。しかし、熱で活性化されたACPのX線回折パターン（図4a）は、加熱及び凍結乾燥後、非晶質状態が保持されていることを示す。このXRDパターンは、広いピーク及び未確定のバックグラウンドを有しており、公知の結晶性カルシウムホスフェートに対応する $2\theta = 20 \sim 35$ °はいかなる回折角度における鋭いピークがないことを特徴とする。

熱処理後のその材料を電子マイクロプローブの波長分散性X線分析器具を用いてCa/Pの測定を行い、Ca/P比として1.59を得た（図2）。これらのキャラクタリゼーションは、非晶質カルシウムホスフェート固体中のある基を有する局所的部分に変化があるにもかかわらず、全体の非晶質性がプロセス全体にわたって維持されていることを示している。

本発明のPCAカルシウムホスフェートをいろいろな調合物及び用途に用いてもよく、それらのうちのいくつかを以下に記す。

複合物

強生体再吸収性のセラミック組成物を骨組織（骨置換複合物）の修復及び成長促進に用いてもよい。この組成物は、適当な生物学的適合性マトリックス又は添加物と結合した生物学的適合性であり強生体再吸収性の不完全結晶性リン灰石系（PCA）カルシウムホスフェートを含む。

ある観点では、本発明は、生体再吸収性のPCAカルシウムホスフェート及び追加の生体再吸収性補助材料から成る強生体再吸収性複合物であって、室温又は体温（例えば、20~40℃）のような穏やかな条件で製造されうる複合物を提供する。骨セメントとしての用途のため、この複合物を補てつ器具の骨に接触する表面に適用することができる。それを直接充填材として骨欠陥部に適用してもよく、それは新しい骨組織の成長を促進することができる。その代わりに、この複合物を治具又は器具（例えば、スクリュー及びプレート）を組み立てるために用いてもよく、それは適当な状況下で再吸収され骨と置換される。またこの複合物を非骨組織内に固定されない状態で用いてもよい。薬学的に活性な成分をこの複合物に加えてた場合には、それは薬供給器具として機能する。移植後この複合物がゆっくり生分解するにつれて、その試薬は長期間にわたって解離する。その詳細については、同時係属出願U.S.S.N. 08/729,342「供給ビヒクル」を参照されたい。

本発明は、生体吸収性カルシウムホスフェートが必要な骨の障害・怪我並びにこの他の生物学的治療のための移植可能な生体セラミックとして使用できる、強生体吸収性及び骨化するPCAカルシウムホスフェートを提供する。「充分な」再吸収とは細胞外断片が顕著に残らないことを意味する。再吸収プロセスは、体液、酵素又は細胞の作用を通して、オリジナルのインプラント材料の除去を含む。再吸収されたカルシウムホスフェートは、例えば、骨無機質として再沈澱するか又は体内で再利用されるか若しくは排出される。ここで開示される複合物は、移植されたPCA材料の全量（少なくとも1g、好ましくは1~5g）の再吸収（即ち、少なくとも80%、好ましくは95~99%、最も好ましくは99%以上）を、好ましくは1年以内、より好ましくは9ヵ月若しくは6ヵ月以内、更に好ましくは3ヵ月以内、最も好ましくは1ヵ月以内に行うことができる。

本発明のPCAカルシウムホスフェートは、すでに議論したようにその生物学的再吸収性及び結晶性が実質的に欠如していることに特徴がある。この技術分野で公知の骨置換材料に見られるようなより高い結晶度と比べて、その結晶性特徴は実質的に自然の骨と同じであ

10

20

30

40

50

る。この発明のPCAカルシウムホスフェートはまた生物学的適合性であり、即ち、移植された複合物によってホストに顕著な有害反応（例えば、炎症又は線維症）が誘発されない。医学的に許容範囲の炎症又は線維症しか誘発しない材料は生物学的適合性であると考えられる。それに加えて、ホスト/複合物の層間での新しい骨の付加が起こるという点で、材料はまたバイオ活性である。

本発明の重要な観点から見ると、外科手術用又は製造用固化にこの発明の移植可能な生体セラミック材料を使う場合の容易さは、公知技術である他の骨置換複合物よりも大幅に改善されている。特にPCAカルシウムホスフェートの形成に関連した固化反応は体外で開始し、室温でゆっくり進行し、従って材料が加熱前（例えば、外科手術部位へ応用する前又は製造用室温放置の前）に「セットアップされる」可能性を最小にすることができる。固化は約37℃で顕著に速くなり、材料の硬化を引き起こす。硬化されたPCAカルシウムホスフェートのみの硬度及びモジュラスは従来の黒板チョークと同様である。いくつかの事例では、硬化されたPCA材料は、未反応前駆体、促進剤、補助材料、及び副生成物等を含む。

PCA材料を複合物として処方することによって、材料の機械的性質を改良することができる。いくつかの調合物において、硬化されたPCAカルシウムホスフェート単独ではもろくて、従来の黒板チョークと同様の硬度及びバルクモジュラスを有する。医学用用途のための機械的性質を変えるために、複合物としてPCAカルシウムホスフェートを製造することが好ましい。更に、PCAカルシウムホスフェートの粘稠度、形成可能性、硬さ及び反応速度を、本発明の移植可能な生体セラミック複合物をそれから製造する適当な補助材料を選択することによって、治療に必要なように変更してもよい。

移植可能な生体セラミック複合物の製造 この発明の複合物は、選ばれた補助材料と本発明のPCAカルシウムホスフェートを結合することによって製造される。このPCAカルシウムホスフェートは、補強材、マトリックス又はその両方として機能する。最初のペースト形態の（即ち、水和された前駆体としての）本発明のPCAカルシウムホスフェートは典型的に約6~7のpHを維持し、有害な効果なしに広範囲の添加物と適合性である。補助材料は、カルシウムホスフェートとの適合性及びその複合物に特定の治療目的のための望ましい性質（生物学的、化学的、又は機械的性質）を付与する能力を基に選択される。例えば、引張強さ及び硬さを改良するため、破碎強さを増加させるため、弾性を変えるため、イメージ能力を付与するため、並びに/又はPCAカルシウムホスフェートの流動性及び固化時間を変えるために、この補助材料を選択してもよい。

想定される治療用途によって、この補助材料を、種々の量及び種々の物理的形態で、このPCAカルシウムホスフェートに加えてもよい。例えば、この補助材料は、スポンジ（多孔性構造）、メッシュ、フィルム、繊維、ゲル、フィラメント、又は μm 及び nm サイズの粒子を含む粒子形状であってもよい。この補助材料自体が複合物であってもよい。再吸収性PCAカルシウムホスフェートと完全に混合されるような粒状若しくは液体添加物又はドーピング試薬として、補助材料を用いてもよい。この補助材料はPCAカルシウムホスフェートのためのマトリックスとして機能してもよく、それはマトリックス内に包埋されるか又は分散する。その代わりに、PCAカルシウムホスフェートをその中で分散する補助材料のためのマトリックスとして機能させてもよい。例えば、補助材料をPCAカルシウムホスフェートボディへのコーティングとして適用してもよく、再吸収時間を遅らせるため又は生体セラミック材料性質に影響を及ぼすために制作後コーティングとして適用してもよい。最後に、この補助材料をPCAカルシウムホスフェートで被覆してもよい。

この補助材料は望ましくは生物学的適合性であり、即ちホストに導入する場合にその材料により誘発される有害な反応がない。多くの例において、補助材料も生体再吸収性であることが望ましい。多くの好ましい実施態様において、この補助材料は、PCAカルシウムホスフェート/補助材料の界面の強度を改良するカルシウム、ホスフェート又はカルシウムホスフェートに対する親和性を有する。この親和力は特異性又は非特異性イオン相互作用を通じて媒介性である。例えば、複合物のマトリックスとして用いるのに適当なバイオ腐食性ポリマーには、コラーゲン、グリコゲン、キチン質、セルロース、澱粉、ケラチン

、シルク、核酸、脱無機質化骨マトリックス、誘導化ヒアルロン酸、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリグリコール酸、及びそれらの共重合体が挙げられるがこれらに限定されるわけではない。特に、例えば、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリ(D,L-ラクチド)(PDLLA)、ポリグリコリド(PGA)、ポリ(ラクチドコグリコリド)(PLGA)、ポリ(D,L-ラクチドコトリメチレン炭酸塩)及びポリヒドロキシブチレート(PHB)のような -ヒドロキシカルボン酸のポリエステル、並びに、例えば、ポリ(アンヒドライドコイミド)及びその同重合体のようなポリ無水物はバイオ腐食性であって本発明に用いるのに適している。それに加えて、 SiO_2 、 Na_2O 、 CaO 、 P_2O_5 、 Al_2O_3 及び/又は CaF_2 を含む組成物のようなバイオ活性ガラス組成物を本発明のPCAカルシウムホスフェートと組み合わせることができる。この他の有用なバイオ腐食性ポリマーには、多糖類、ペプチド及び脂肪酸が含まれる。

10

バイオ腐食性ポリマーは、骨部位における移植用の伸介用釘、ピン、スクリュー、プレート及び錨のような生体再吸収性ハードウェアの製造において有利に用いられるが、これらに制限されるわけではない。好ましい生体再吸収性なハードウェアの実施態様において、補助材料自体が生体再吸収性であって、粒子又は繊維形状で1~50容積%、好ましくは1~20重量%の割合でPCAカルシウムホスフェートに加えられる。いくつかの好ましい実施態様において、この生体再吸収性繊維は、この分野で公知の複合物設計の原則に従ってカルシウムホスフェートと相互作用するウィスカ形状である。PCAカルシウムホスフェート及びポリマーの粉末粒子混合物を圧縮することによって、このようなハードウェアを形成することができる。ある実施態様において、Tormalaらの生物分解可能な自己補強複合物

20

(Clin. Mater. 10:29-34 (1992))に記載されたものと同様のPLLA繊維を用いて、PCAカルシウムホスフェートマトリックスをPLLA繊維で補強する。詳細についてはその記載を参照されたい。

移植可能な生体セラミック複合物を、PCAカルシウムホスフェート及び補助材料の混合物へ流体(例えば、水又は生理的液体)を添加することによってペースト状に製造してもよい。その代わりに、PCAカルシウムホスフェートと水和された前駆体粉末を有する補助材料との混合物をペースト又はパテとして製造してもよい。補助材料がPCAカルシウムホスフェートマトリックス中に分散されるか又はPCAカルシウムホスフェートマトリックスと反応する場合、水和された前駆体ペーストを形成するために前駆体カルシウムホスフェートのうちの1つに水を加えてもよく、その結果生じるペーストを補助材料と混合し、次に

30

第2のカルシウムホスフェート源を加える。その代わりに、PCAカルシウムホスフェート前駆体粉末を形成するカルシウムホスフェート源をブレミックスし、次に水を加えて、更に補助材料を加えてもよい。補助材料をマトリックスとして機能させることが望ましい場合、充分硬化されたPCAカルシウムホスフェートを所望の形態(制御された粒子径)で製造し、マトリックスを形成する反応に(例えば、ゲル化しているコラーゲンに)直接加える。次にこれらの材料を型に入れるか又は所望の形に成形し、約35~100 で硬化してもよい。特に有用なアプローチは、この複合物前駆体ペーストをおよその形又は粒径に成形し、次にこの材料を37 における湿潤状態で硬化させることである。次に硬化された複合物を、外科手術固化に用いるために所望の形状に正確にミル又は機械加工してもよい。補助材料マトリックスに組み込まれる特定PCAカルシウムホスフェートの量は、この分野で公知の規格に従って硬化された複合物の物理的性質を試験することによって経験的に決定される。

好ましい実施態様において、反応物は体外で混合され、外科手術部位へ応用するために適当な物理的完全性を有する水和された前駆体材料から成る形成可能な複合物を生じる。外科手術部位へ応用した後、PCA材料への変換は一般に完了する。ペーストに加えられるモノマー及び前駆体を用いることも本発明の範囲内であると考えられるが、PCAカルシウムホスフェート又は水和された前駆体ペーストに加えられる場合、この補助材料は一般に最終形態である。好ましい実施態様において、この変換反応は蒸留水を乾燥前駆体成分の混合物に加えることによって開始し、ペースト又はパテの形状の濃い水和された前駆体を形成する。蒸留水の代わりに、緩衝液、食塩水、漿液又は組織培養媒体のようなこの他の水

40

50

性試薬を用いてもよい。この他の好ましい実施態様において、容易に18ゲージ針で注入可能なペーストを形成するために、十分な水を前駆体粉末に加えてもよい。本発明の生体セラミック複合物は一般に、生理的な条件下で約1~5時間、好ましくは約10~30分で実質的に硬化する。この結果生じる生体再吸収性PCAカルシウムホスフェートは、ヒドロキシアパタイトのための理想的な化学量論的カルシウム/ホスフェート比率値である約1.67と比較すると、その比率はしばしば1.5未満でありカルシウムが不足である。

本発明はまた本発明の複合物に用いるのに適当な反応性PCAカルシウムホスフェート及び反応性前駆体を識別するための試験法を提供する。特に、前駆体を結合し、ペースト又はパテを形成するように少量の水で水和し、そして硬化してPCA材料にする。前駆体は湿潤環境において、体温近辺の温度で、5時間以内、好ましくは10-30分に硬化することが望ましい。次にこのように硬化した成分を試験動物の筋肉内又は皮下に置き、生物学的再吸収性をチェックする。望ましい材料は、1~5個のペレットとして移植する場合、その少なくとも80%、好ましくは95~99%、最も好ましくは99%以上が1年以内に再吸収されるものである。一般に、皮下部位における材料の再吸収のグラム量を試験することは容易である。

10

全ての生体再吸収性な補助材料を用いてこの発明の複合物から製造される医療用器具は、それ自体が再吸収性であり、好ましい実施態様においては強生体再吸収性である。これらの器具に用いられる複合物は、所望の機械的性質をその器具に付与するように設計されており、それを外科手術固化（例えば、整形外科用ピン及びスクリュー）に用いる場合に有効にする。ホストに設置すると、それに続いてこの器具は徐々に骨に置き換えられ、即ち骨部位の骨形成が起こる。これは、器具がその表面における骨の付着を促進するが、再吸収されずインプラント部位を骨化することのない単なる生物学的適合性材料とは対照的である。20容積%未満の補助材料を含むこれら複合物において、生体内の再吸収時間は一般に補助材料の実質的同一性、粒径及び位置に依存するが、PCAカルシウムホスフェートの再吸収及びインプラント部位での骨形成は、一般に6ヵ月以内、最もたびたび約1ヵ月以内に完了する。いくつかのケースにおいて、再吸収性補助材料は、新しく形成された骨に埋め込まれて存在し、従ってPCAカルシウムホスフェートより長時間にわたって再吸収される。再吸収性ハードウェアを使用すると、この器具を除去する次の外科手術手順の必要がない。

20

本発明の移植可能な生体セラミック複合物の再吸収性は、多孔性、結晶度及びその成分材料の化学組成に部分的に起因している。本発明の生体セラミック複合物は、自然の骨に見られるものと実質的に同様の不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェートを含む。リン灰石内の結晶度の不足は、他のより結晶性種に比べて水性系への可溶性がいくぶん大きいことと関連しており、この低結晶度及び/又は安定非晶質リン灰石系ドメインの存在が生物学的系におけるその再吸収性を促進すると考えられる。多孔性は、骨置換材料マトリックスへの細胞の浸透、及びそのマトリックス内部への物質の分散の両方を促進する。従って、低多孔性の複合物は、高多孔性のものよりゆっくりと生体内に再吸収される。

30

好ましい実施態様において、骨形成を最適化するために、この器具及び目的物に骨形成細胞を種まきしてもよい。これは、器具を患者自身の骨形成細胞源と接触するように置くことによって最も簡単に行われる。このような細胞は、骨に関連する組織、血、又は骨、骨材料又は骨膜、海綿状骨若しくは髄を含む領域に接触する外因性流体を含む液体中に見出され得る。スクリュー及びピンのような器具において、これらを骨へ導入することが、骨膜の割れ及び/又は出血を伴う場合には、更なる種まきが必要でない。皮質性の骨に対してのみ用いられるプレートの場合、この器具に接触する骨膜障害の誘導が推奨される。また他の実施態様において、インプラント部位で円錐形の骨部分を除去することによって、外科的に骨内に台座を製造することは有用である。また、患者から取った骨形成細胞をこの移植体へ導入する段階、又は栄養因子若しくは骨成長誘導タンパク質をこの器具の上若しくは中に組み入れる段階のような、骨形成を増加させるこの他の段階を行ってもよい。所望量の骨再生がホストにおける骨形成細胞の拒絶の前に起こるならば、自家組織でない骨細胞を用いることもまた本発明の範囲内である。したがって、一次源、細胞線又は細胞

40

50

バンクから得られる細胞又は組織は一定の実施態様において全く有用である。米国特許出願U.S.S.N. 08/729,354「セラミック組成物における細胞種まき」を参照されたい。

また生体再吸収性ポリマーを、負荷のかかった状態で用いるための骨接着剤又はパテを製造する場合に用いてもよい。骨接着剤の圧縮性及び負荷特性を強化するために補助材料を複合物に加えてもよい。特に、炭素繊維又は他の補強繊維を複合物に加えてもよい。繊維で補強された骨置換接着剤を製造する場合、その品質及びカルシウムホスフェート/繊維界面の強度を改善するために、この繊維にプラズマエッチングを施すと有利である。PCAカルシウムホスフェートを37℃で硬化し、微粉化又は分解し、そして骨接着剤セメント、充填材、プラスタ、エポキシ、その他のカルシウムホスフェートような公知のバインダー、又はカルシウム硫酸塩、トリカルシウムホスフェート、テトラカルシウムホスフェート、アルギン酸塩、コラーゲンのようなゲル、又はEndobone (Merck), Hapset (Lifecore Biomedical), SRS (Norian), Bonesource (Leibinger), Collograft (Zimmer), Osteograf (CereMed), 及びSimplex (Howmedica)のような市販の製品と混合してもよいが、これらに限定されるわけではない。硬化されたPCAカルシウムホスフェートがバインダー物質内に分散されるような用途において、実際の割合は所望の粘稠度、取扱性及び接着性を有する組成物を製造するこの分野で公知の方法によって変わるが、通常このバインダーは技術分野にとって公知の方法によって製造され、粒子状PCAカルシウムホスフェートとほぼ等容積で混合される。

また別の実施態様において、生物学的適合性を改良するために、(典型的にはポリエステルから製造される)編み縫合物を本発明のPCAカルシウムホスフェートで被覆してもよい。被覆縫合物は、この縫合物を微細に分離された粒子状PCAカルシウムホスフェートを含むスラリーに浸すことによって製造することができる。縫合物、PCAカルシウムホスフェート粒子又はこれら双方を表面処理することにより、このPCAカルシウムホスフェートコーティングに対する縫合物の親和力は改良される。この表面処理には、プラズマエッチング及び/又は化学的グラフト化がある。

この他の実施態様において、複合物はPCAカルシウムホスフェート及び非再吸収性又は不完全再吸収性材料を含む。適当な非腐食性又は不完全腐食性材料には、デキストラン、ポリエチレン、ポリメチルメタクリレート (PMMA)、炭素繊維、ポリビニールアルコール (PVA)、ポリ (エチレンテレフタレート) ポリアミド、生体ガラス、及び骨接着剤又はパテに用いるために既に記載した化合物が挙げられる。ある実施態様において、炭素繊維をこのPCAカルシウムホスフェートを補強するために用いてもよい。このような応用において、予定する用途に従って繊維長が0.05 μm ~ 20cm及び繊維含量が0.01 ~ 50容積%の繊維が典型的に用いられる。

また別の使用法は、骨自体へ有効な目的物 (例えば、ピン又は補強メッシュ) を埋め込むことである。この目的物は自然の骨への安定した付着物のための錨として機能する。これは、特に骨に靱帯及び腱を付着させるのに有効である。生体再吸収性で骨化又は歯科用補てつ台座PCAカルシウムホスフェート及び適当な非再吸収性ハードウェアを骨の中に置いてもよく、それは更に骨接着剤調合物中の追加のPCAカルシウムホスフェート材料又は複合物で固定され得る。次にPCAカルシウムホスフェートの再骨形成に続いてこのハードウェアは骨に包埋される。

特に複合物の生物学的適合性を維持するために、ヒドロキシアパタイト、トリカルシウムホスフェート及びテトラカルシウムホスフェートなどのカルシウムホスフェートを、この発明の複合物の非再吸収性補助材料として用いてもよい。これらの実施態様において、このカルシウムホスフェートは非再吸収性であって粒子状、繊維状又はプリフォーム形状で硬化される。これらの固体カルシウムホスフェート添加物をPCAカルシウムホスフェートと混合する前に更に圧縮し、焼結し、又は変成してもよい。

本発明のまた別の実施態様において、この組成物は、PCAカルシウムホスフェートとこの複合物の再吸収性質、固化時間及び/又は流動特性を変えるような添加物を完全に混合することによって製造される。例えば、シリコン油又はその他の潤滑ポリマー若しくは液体をこの複合物に添加して、注入器によってホストへ供給するために複合物の流動特性を

改善してもよい。この潤滑剤は生物学的適合性であって、生体内でのPCAカルシウムホスフェートの固化に続いて骨置換材料複合物から急速に浸出するのが好ましい。適当な潤滑剤には、例えば、ポリマーワックス、脂質、界面活性剤及び脂肪酸があるが、これらは例示にすぎない。この潤滑剤を約0.1～約30重量%の濃度で用いてもよい。

本発明のもう一つの実施態様において、この複合物はPCAカルシウムホスフェート及び生体内インプラントを撮像するための放射線用補助材料を含む。適当な高電子密度材料には、臨床に関連した濃度のこの分野で公知の材料（例えば、チタン及びバリウムオキシド）がある。

好ましい実施態様において、本発明の再吸収性PCAカルシウムホスフェートを含むポリエチレン複合物を製造することによって、骨と同様のヤング率を持つ生体セラミック材料を製造してもよい。その他の好ましい実施態様において、通常の骨に類似した性質を有する複合物を製造するために、ポリ（L-ラクチド）又はコラーゲンのような再吸収性ポリマーを用いてもよい。もう一つの好ましい実施態様内の、粒子状PCAカルシウムホスフェートを所望の形に圧縮し、圧縮されたボディに補助材料を含浸させる。またもう一つの好ましい実施態様において、PCAカルシウムホスフェートの水和された前駆体材料と補助材料を混合し、生体セラミック材料への変換を補助材料の存在下で開始する。一般に、この発明のPCAカルシウムホスフェートは、複合物中の容積部分が0.7未満、好ましくは0.5未満で存在する。

本発明の組成物を、複合物の製造において有用な、混合、アロイ、ラミネート、巻上げ及び出し成形を含む、いかなる従来の方法においても製造することができる。ポリマー/無機複合物、繊維及びマトリックス樹脂の設計及び製作並びにその他の補強技術は有用であり、この分野で知られてゆくであろう。HA/ポリエチレン複合物の製造に関するガイダンスには、BonfieldのIntroduction of Bioceramics pp. 299-303があり、詳細についてはその内容を参照されたい。更に追加的ガイダンスには以下があり、詳細についてはその内容を参照されたい：Jang, Advanced. Polymer Composites: Principles and Applications, ASTM Int'l, Materials Park, OH (1994) ; Opila et al. Eds., Polymer/Inorganic Interfaces, Materials Research Soc., Pittsburgh, PA (1993) ; Saifullin, Physical Chemistry on Inorganic, Polymeric and Composite Materials, Ellis Horwood, N. Y. (1992) ; Ducheyne et al. in Introduction to Bioceramics, Hench and Wilson, Eds. World Scientific Publishing, N. J. pp 281-298 (1993) ;及び

Törmälä,

Clin. Materials 10:29-34 (1992)。

また生体セラミック複合物を多孔性の程度を変化させて製造してもよい。ある実施態様において、制御された粒子径を有する反応物の乾燥混合物を使用すると多孔性複合物が得られる。化学的又は物理的エッチング及び浸出のような多孔性を促進する他の方法を用いてもよい。

また別の実施態様において、チューブ、繊維、その他の形を形成するために、PCAカルシウムホスフェート及びポリマー状補助材料の混合物を従来のポリマー押出成形技術によって押出成形してもよい。押出成形の場合補助材料は有機ポリマーであることが好ましい。高い引張強さ及びモジュラス並びに剛性が望まれるいくつかの場合において、ポリマー鎖を一系列に並べて複合物の強度を上げるために、この複合物を押出成形してもよく、又は機械的に変形させてもよい。またこの複合物を加圧及び/又は加熱して硬化させて、より高密度で、より強靱で、生体内でより遅い速度で再吸収される複合物を得てもよい。一般に、PCAカルシウムホスフェートからより結晶性のHAへの急速な変換を引き起こすような条件は避けなければならない。

いくつかの実施態様において、2つの材料間の界面状態を改良するため及び/又は複合物への薬学的活性試薬（例えば、タンパク質）の親和力を改良するために、PCAカルシウムホスフェート及び/又は補助材料の表面を変成することが望ましい。例えば、この発明のカルシウムホスフェートを、タンパク質及び他の有機分子に対する親和力を示す部分でグラフト化してもよい。その代わりに、この複合物に表面処理（例えば、2つの）相間の界

10

20

30

40

50

面状態を改善するためにこの技術分野では公知のプラズマエッチング)を施してもよい。外科手術に使用する前に複合物を製造し、硬化し、その貯蔵を望むような場合には、その複合物の不完全結晶性状態の安定性を改良することが望ましい。そのような場合に、プリフォームされた複合物を結晶化抑制剤に曝露することが有効である。この発明のPCAカルシウムホスフェートを製造するために用いられる水性媒体に抑制剤を加えてもよいし、又は製作に続いてそれから作られた完成複合物又は目的物を抑制物質に曝露してもよい。適当なこのような抑制剤には、マグネシウムイオン、炭酸塩イオン、ポリ(L-グルタメート)、ポリアクリレート、ホスピチン、カゼイン及びタンパク質-多糖類があるが、これらに限定されるわけではない。このような化合物を使用するためのガイダンスには、LeGerosのMonographs in Oral Science Vol. 15 pp 84-107; LeGeros Prog. Crystal Growth Character. 4:1-45 (1981) 及びTerminらのArch. Biochem. Biophys. 140:318-325 (1970) があるので、詳細についてはその内容を参照されたい。

またこの発明の複合物を、生物活性材料を複合物に組み合わせて、薬供給系として用いてもよい。更に詳細については同時係属出願U.S.S.N. 09/72,342 “Drug Delivery Device” を参照されたい。

整形外科用及び歯科用器具

強生体再吸収性セラミック材料を骨の組織の修復及び成長促進に、即ち骨置換材料として、用いてもよい。ある観点では、整形外科又は歯科用インプラントをインプラント部位に導入すると、強生体再吸収性、優秀な再骨形成性、及びインプラント部位において円錐及び小柱骨の骨内部への成長を示すことが証明される。この発明の整形外科又は歯科用インプラントは合成強生体再吸収性不完全結晶性リン灰石系カルシウムホスフェート材料から成る。好ましい実施態様におけるこの材料は、同時係属出願U.S.S.N. 08/650,764及び/又はU.S.S.N. 08/446,182 (米国特許第5,650,176号) 及び/又は “Method and Products Related to the Physical Conversion of Reactive Amorphous Calcium Phosphate”, U.S.S.N. 09/729,344等に記載されているので、詳細についてはその内容を参照されたい。

本発明は、骨及び歯の障害・怪我並びにこの他の生物学的治療のための移植可能な生体セラミックとして、強生体再吸収性及び再骨化するPCAカルシウムホスフェートを用いる。このインプラントはいろいろな治療に有効である。例えば、セラミック材料を補てつ器具の骨に接触する表面に骨セメントとして適用してもよいが、これに限定されるわけではない。それを直接骨欠陥部に充填材として適用してもよく、それは新しい骨組織の成長を促進することができる。ドライソケットのような抜歯に関連する問題を避けるために、及び/又はその上に置換歯をアンカーするための固定基板を提供するために、それを歯槽に応用してもよい。その代わりに、PCA材料をスクリュー及びプレートのような治具又は器具を組み立てるために用いてもよく、それは再吸収されて骨で置換される。成長因子又は抗生物質のような薬学的に活性な成分をこの複合物に加えた場合、それは薬供給器具として機能する。PCA材料がゆっくりと生分解するにつれて、移植後長期間にわたって試薬の解離が起こる。これに関連する同時係属出願U.S.S.N. 08/729,342 “Delivery Vehicle” を参照されたい。

この発明のPCA材料を用いて製造されたインプラントは、強生体再吸収性であり、移植されたPCA材料の少なくとも80%、好ましくは95~99%、最も好ましくは99%以上が1年以内に再吸収される。PCA材料の特徴、即ち、多孔性、組成、結晶度等を変えることによって、再吸収性を変化させることができ、少なくとも1g、好ましくは1~5gのPCA材料の少なくとも80%は移植から12ヵ月、9ヵ月、6ヵ月、3ヵ月又は理想的には1ヵ月以内に再吸収される。

それに加えて、この発明のPCAカルシウムホスフェートから製造されたインプラントは、インプラント部位の内部への新しい骨の成長を強く促進する。多くの従来の骨インプラント材料、例えば、生体再吸収性有機ポリマー、は単にインプラント表面での骨の付着を促進するだけである。これと対照的に、この発明のインプラントは、インプラント自体の内部において新しい骨の成長を促進する。小柱骨及び皮質性骨(外骨層)の成長の起こることが証明されている。骨内部への顕著な成長は移植後数日以内に起きる。移植後6ヵ月以

内、理想的には1ヵ月以内に、実質的に全インプラント部位は新しい骨によって包含された。加重負荷の骨は非負荷の骨より速く骨を再生する傾向がある。したがって、後者の骨内部への成長はいくぶんよりゆっくり起こる。

この発明のPCAカルシウムホスフェートは骨形成を行う。ここで骨形成とは、移植された合成カルシウムホスフェートを、組織構造的に自然の骨と同じ又は類似する骨で置換することをいう。この発明のPCAカルシウムホスフェートの骨形成は、より自然な外観の組織を形成する前に現れるより未組織の骨で段階で起こる傾向がある。この発明のPCAカルシウムホスフェートは、骨形成がインプラントの外端のみでは起こらないので、従来の骨充填材やセメントとは異なるが、その骨形成は恐らく再吸収プロセスと同時にインプラントの全体にわたって始まる。負荷地域（例えば、脛骨又は半径）へのPCA材料の移植に続く2～3週以内に、無機化骨形成（針状体）の小さい点の形成により、予備的骨形成が観察される。4週間までに、この針状体はレース状外観の薄い海綿状の小柱骨及び薄い皮質性骨に変わる。6週間で、小孔を含む骨細胞を有する、規則正しい正常な（又は正常より厚い）コンパクトな皮質性骨が観察される。6週間以後には最終の改造が起き、12週間までには新しく骨化された骨が自分の骨と区別ができなくなる。

したがって、PCAカルシウムホスフェートの存在下での骨形成は一般に完了に達し、通常の骨成長より速く起きるように見える。この急速な骨形成の速度は、この発明のPCAカルシウムホスフェートが骨の治癒を促進することを示す。新しい骨は2週間程度で観察され、6週間以内に、いかなる場合でも3～6ヵ月までに、十分に組織構造的に構成される状態になることができる。水和された前駆体を最高3g含むインプラントを用いた羊断片の欠陥破砕モデルにおいて、この骨は3ヵ月以内に骨折していない骨の強度の100%の強度を有することがわかった。このプロセスは骨形態形成のタンパク質のような栄養又は成長因子の存在下で加速される。

好ましい実施態様において、骨形成を最適化するために、本発明の器具、ペースト及びパテに骨形成細胞の種まきをしてもよい。これは、その器具（PCAカルシウムホスフェート又は水和されたその前駆体を含む）を患者自身の骨形成細胞の源と接触させることにより最も容易に行うことができる。このような細胞は骨に付随する血又は液体中に見出される。これには、骨又は骨材料若しくは領域に接触した外因性流体が含まれ、また骨膜、皮質性骨、海綿状骨又は髄が含まれる。それらはまた皮質性若しくは海綿状骨、骨髄又は骨膜を含む組織中に存在する。スクリュー及びピンのような器具の場合、それを骨へ導入すると出血するので、更なる種まきは必要ではない。皮質性の骨のみに対するプレートの場合には、その器具に接触する骨膜の障害の誘導が推奨される。また他の実施態様において、インプラント部位の円錐形の骨の一部を除去することによって外科的に骨内に台座を製造することは有用である。また骨形成を促すために、患者から採取した骨形成細胞を移植物に導入したり、その器具の中又は上へ、栄養因子又は骨成長誘導タンパク質を編入することなど、この他の手段を用いてもよい。骨形成細胞に対するホストの拒絶が起きる前に、所望量の骨の再生が生じるならば、自家組織でない骨細胞もまた本発明の範囲内である。したがって、一次源、細胞線又は細胞バンクから得られる細胞又は組織を一定の実施態様において用いてもよい。同様の考え方を、軟骨形成及び治癒並びに軟骨細胞及び/又はその他の軟骨形成細胞をこの発明のPCAカルシウムホスフェートに種まきするために応用できる。

またインプラントは有害な反応が骨ギャップの中で起こるのを妨ぐ。例えば、繊維状組織はしばしば骨欠陥部位で形成し、骨内部への成長を阻害する。本発明のインプラントは生物学的適合性であり、骨欠陥部において繊維形成の成長を減らすことが証明されている。この発明の整形外科又は歯科用インプラントは、ペースト又はパテ形態（水和された前駆体として）で患者に移植することができる。PCA材料を製造するこの発明の反応は体外で開始し、室温でゆっくり進行するので、その材料が外科手術部位へ適用する前に「セットアップ」して使えなくなることを最小限にする。この反応は体温で顕著に加速され、材料は正しい場所で硬化する。特にこの特徴は、器具をインプラント位置に客ごとにぴったり合わせることが典型的に必要な外科手術固化において有用である。その代わりに、こ

10

20

30

40

50

の発明の整形外科又は歯科用インプラントを体外で予め硬化して、あとで移植してもよい。この方法は、客ごとの形状が必須でない場合や、大量のインプラントを製造することを望む場合に有用である。

骨部位へのインプラントの適用方法 本発明のインプラントを身体の外で種々の形状で調製し、インプラントの形状及び疾患の性状に対して適切な方法を使用して移植部位で患者に導入することができる。

一つの具体例では、インプラントは、注入可能なペーストとして調製することができる。前記のように、生体再吸収性 P C A リン酸カルシウムに生体内で変換できる注入可能な水和前駆体を形成させるために、前駆体粉末に液体が添加される。液体の正確な量は、ペーストの所望の稠度並びに P C A 材料を調製するのに使用する前駆体粉末の性状に依存して変わる。典型的には、粉末 1 g 当たり約 0 . 7 5 ~ 1 . 1 m L の液体が使用される。望ましくは、ペーストは、注射器により、好ましくは 1 6 番又は 1 8 番ゲージの注射器を使用して移植部位に注入される。ある具体例では、それは、早めにペーストを調製し、このペーストを注射器内に必要となるまで周囲温度よりも低い温度で貯蔵するのが望ましいであろう。また、ある具体例では、注射器による身体空隙又は髄質間空間への注入は、真空を使用して流体又はガスの置換を促進させることによって助成することができる。最もしばしばであるが、真空は、意図した注入部位の近傍に第二の針を挿入することによって適用することができる。次いで、穏やかな真空を第二の針より適用することができる。注入によるインプラントの適用は、材料が骨片を結合し適所に保持し又は例えば股関節補てつ材の密着を改善させるための骨セメントとして使用される状況にとって特に望ましい。また、切開のない外科的整復での移植も望ましい。

別の具体例では、インプラントは、成形可能なパテとして調製することができる。液体が前駆体粉末に添加されて、生体再吸収性 P C A リン酸カルシウムに生体内で変換できるパテ様水和前駆体が形成される。液体の正確な量は、パテの所望の稠度並びに P C A 材料を調整するのに使用する前駆体粉末の性状に依存して変わる。典型的には、粉末 1 g 当たり約 1 . 0 m L 以下の液体が使用される。水和前駆体のパテは、インプラントの形状に近似させるように調製し成形することができる。次いで、パテは、骨、歯槽又はその他の部位の間隙を充填するように適所にプレスすることができる。骨用パテの使用は、治癒していない骨の骨欠損部の修復に或いは充填すべき間隙が大きくて間隙の充填とその形状の保持の双方を行うのにインプラント材料のある程度の機械的一体性を要求するようなその他の状況に特に望ましい。

さらに別の具体例では、乾燥前駆体粉末を骨欠損部に直接適用することができる。前駆体の P C A 材料への水和と変換が、血液又はその他の生理学的流体に直接曝されることによって骨欠損部位で起きる。このような適用は、骨欠損部が過剰な出血を伴う場合に特に望ましいであろう。前駆体粉末の吸湿性が体液を再吸収するように働き、負傷部位を保護し且つ欠損部位での骨の内方成長を促進させる骨代替材料を与えるための物理的バリアーを提供する。

本発明のさらに他の具体例では、インプラントは、所望の形状に成形してある予備硬化した P C A リン酸カルシウムから調製することができる。これは、水和前駆体を前記のようにパテ又はペーストとして調製し、水和前駆体を型に注入し又はプレスし、前駆体材料を P C A リン酸カルシウムに変換し硬化させることによって達成することができる。別法として、P C A リン酸カルシウムは、固形ブロック又はこのようなその他の幾何学的形状物として調製し、ドリル又は当業者に知られたこのようなその他の賦形用器具を使用して所望の物品に賦形することができる。この方法は、歯科インプラントの固定材、顎部融合用のスパーサー、再吸収可能なネジ及びプレート、増殖用の遅再吸収性形状物のような再吸収性物品を製造するのに特に望ましい。

整形外科及び歯科用のインプラント 上で説明したインプラントは、種々の整形外科の障害及び歯科の障害の治療に有用である。インプラントの調製に使用される材料は望ましくは無菌であり、ガンマ線照射、ろ過及びエチレンオキシド（これらに限定されない）を含めて慣用の技術を使用して殺菌することができる。

骨折及び骨欠損部の治癒。P C A リン酸カルシウムは、骨折によって残された間隙又は骨折の結果としての圧迫損傷により生じた空間を充填させることによって2個以上の骨片を結合させ及び(又は)骨折の治癒を向上させるように使用することができる。

癒合しない骨折を伴う状況においては、インプラントは、これが生体内で適所に硬化するために骨欠損部を安定化するのに使用することができる。本発明のインプラントは、骨の間隙が切開手術なしで充填できる場合に特に有益である。このためには、骨欠損部位は、注射針の適切な位置決定を確保するようにX線により観察することができる。次いで、インプラントを欠損部位に直接注入することができる。所望ならば、配置を確認するためにX線又はMRIにより画像化を使用することができる。図19は、インプラント材料が骨欠損部に注入される顎骨欠損部へのインプラントの適用を絵によって例示するものである。間隙が特に大きいときは、まず欠損部を不動化又は“固定”し、次いでインプラント材料により間隙を充填させることが望ましいであろう。欠損部は、チタン製のネジ、ピン及びプレートのような慣用の固定器具を使用して固定することができる。好ましい具体例では、欠損部は、それ自体が生体再吸収性であり、従って欠損部位での完全な骨の内方成長を可能にし、器具を取り出すためのその後の外科的処置を要求しない硬化したP C A 材料又はその複合物から調製されたネジ又はプレートにより固定される。

骨が挫傷し又は破断した状況では、骨片を再組立し、インプラント材料を使用して骨片を適所に保持すると共に骨基質を骨折部位で再成長させることができる。図20は、再組立した破断した骨を絵により例示したものである。水和前駆体ペーストが骨片の周囲に注入され、骨片はペーストがP C A リン酸カルシウムに変換するやいなや固く保持される。骨の再成長が起って骨組織を再生させ、元の骨片を新しい骨基質内に埋め込ませる。

また、インプラントは、顎骨の圧迫のような圧迫断片を治癒させるのに使用することができる。皮質の骨表面を再整列させ、機械的固定を使用して適所に固定し、インプラントを使用して骨の圧迫破壊により作られた空隙を充填することができる。

本発明のさらに他の具体例では、P C A リン酸カルシウムインプラントは、骨を適所に保持するのに使用するピン、ネジ及びその他のさらに複雑な補綴器具を固定するノンに使用することができる。器具を使用して骨折を不動化し、器具をP C A ペースト内に埋め込むことによって、潜在的な空隙が充填され、これによってネジの周囲の新しい骨形成が促進される。さらに、インプラントは大きい表面積にわたってネジの力を分配させるように作用し、これにより移動又は早期の骨再吸収の恐れを減少させる。この方法は、股関節部補てつ材が体重のかかる大腿骨頸を補強するのに使用されるような破断した股関節部の骨を修復するのに最もしばしば使用される。

外科的介入を最小限することを望む場合には、P C A 材料をペーストとして使用し、インプラントを注射器により骨欠損部に導入することが好ましい。もちろん、最小の介入が関心事でない場合に、即ち、切開による外科手術の間にインプラントはパテとして使用することができる。事実、このことは、P C A パテの成形適性が加わってインプラント器具の最終形状について医師による制御が増え、近傍の骨表面とのインプラントの適合性が向上するので、ある場合には好ましいであろう。

骨粗鬆症の治療 骨は年齢を重ねるにつれて、質量を失い、これによって多孔質となり、脆くなる。P C A インプラント材料は骨の成長を促進し骨を緻密にするのに使用することができる。図21は、柱状骨の規則的で緻密な網状構造を有する正常な骨60の絵による例示を含む。また、図21は、有意の骨量が失われた骨粗鬆症の骨62を例示する。骨粗鬆症の骨は、骨を緻密にし且つ骨折及び欠損に対して保護するように本発明の再骨形成性P C A 材料により処理することができる。骨の強度・密度は水和前駆体ペーストを骨の内部に注入することによって向上させることができる。前駆体は、骨をいくつかの方法で向上させるように働く。まず、水和前駆体は、強く且つすでに脆い骨を補強するように働くP C A リン酸カルシウムに硬化する。第二に、P C A リン酸カルシウムは新たな骨成長を順応させ且つ刺激する生体適合性の基質であるから、それが生体浸食されるにつれて新しい骨がそれを置換するように形成される。第三に、浸食性のP C A リン酸カルシウムは、新しい骨の形成に有用な骨芽細胞のための生体利用可能なカルシウム源である。

インプラントは、椎骨の崩壊を予防するのに特に有効であろう。図 2 2 は、椎骨 7 0、7 1 及び 7 2 と円板 7 3 及び 7 4 を含む脊柱の一部の絵による例示である。椎骨 7 0 は健康であり、緻密な柱状骨基質を示す。椎骨 7 2 は、多孔性の増大のために押しつぶされ、骨密度が減少した骨粗鬆症の椎骨である。椎骨 7 1 は、骨を強化させ且つ骨基質を再生させるために P C A リン酸カルシウムの移植を受ける骨粗鬆症の椎骨である。

脊椎及び頸部の融合 原則として、円板及び椎体が変性的な疾病、傷害又は腫瘍の治療のために切除されるときは、それらは患者の頸部の整列を保持するために構造用移植片によって置き換える必要がある。通常は、骨移植片が椎体の融合を容易にさせ且つ身長を元通りにするために椎骨間にスペーサーとして配置される。慣用のスペーサー（そのいくつかは“ ケージ ”として知られる）はチタン又は自家組織の若しくは同種移植片の骨から作られる。しかし、これらの従来技術の器具のそれぞれは、欠点を有する。自家組織の骨は常に入手できるわけではなく、同種移植片の骨は感染及び病原体への露出の危険を有し、チタンは身体により再吸収されず、いずれも残存するか又は外科的に除去されなければならない。

従来技術のインプラントのこれらの欠点を克服するために、P C A リン酸カルシウムを頸部の融合操作のスペーサーとして使用することができる。P C A リン酸カルシウムの円板を隣接椎骨の融合のために硬化した遅再吸収性のスペーサーとして使用することができる。好ましい具体例では、スペーサーは中空リングの形状にある。リングの中心部は、迅速な生体再吸収性及び骨の内方成長のために処方された P C A リン酸カルシウムで充填することができる。

脊椎の融合は側方からの方法により行われる。例えば、サンダブ他、S p i n e , v o l . 2 0 : 2 6 6 9 - 2 6 8 2 , 1 9 9 5 を参照されたい。

補てつ材 関節部の代替物、特に股関節部代替物用の補てつ材が広く使用されており、それらを受ける患者にとってクオリティオブライフを相当に向上させることができる。しかし、現在の結合技術は、補てつ材と移植を受ける天然骨との間のすべての“ 微細運動 ” 及び間隙を予防できず、時間が経つにつれて関節部代替物の緩み及び破損の発生の増加があると共に付随的な痛みや患者への不快感を伴う。

図 2 3 は、P C A リン酸カルシウムを骨接合剤として使用して天然骨中にしっかりと固定される股関節部補てつ材の絵による例示である。しかして、股関節部の球及び腔は、これらを受けるように準備された空間に天然骨内で位置させることができる。位置させたならば、水和前駆体ペーストを補てつ材の周囲に注入して骨壁と補てつ材との間の間隙を充填させ且つ補てつ材を患者自身の骨に強固に結合させることができる。別法として、骨表面を水和前駆体で被覆し、補てつ材を P C A 材料を被覆した骨内に所定の位置に挿入することができる。水和前駆体は硬化し固化して補てつ材を適所に強固に固定させる。両シナリオにおいて、P C A 材料はゆっくりと生体再吸収され、天然骨により弛緩され、しかして補綴器具と関連した間隙及び微細運動は最小限になる。

別の具体例では、補てつ材は、P C A 材料により被覆することができる。しかして、水和前駆体は身体の外で補てつ材の表面に適用することができ、P C A リン酸カルシウムに固化変換せしめられる。この被覆は補てつ材のホストによる受け入れを容易にさせ、補てつ材の表面での骨の成長を促進させる。

また、本発明のインプラント材料は、補てつ材 - 骨界面で膿胞が生成した予め移植された補てつ材器具の生体内での処置として使用することができる。この膿胞は慣用の技術により除去できるが、しかしこの方法は補てつ材に接して大きい間隙を残す。これらの間隙は、本発明のインプラント材料をこの間隙に注入することによって充填することができる。

自家組織の骨インプラントのための代替材料 種々の理由のために、P C A 材料はインプラントとして使用するには好ましくはないかもしれないが、患者自身の骨が好ましい（例えば、患者自身の腸骨稜から取得した自家組織の骨）。これはしばしば骨癌の治療における場合である。しかし、P C A 材料は、骨切除部位で使用して骨取得部位で骨の再成長を迅速に促進させて美容上の欠陥を防ぎ又は将来使用するための新しい骨を作ることができる。

再建的な整形外科 所望の形状の予備硬化した P C A リン酸カルシウムを水和前駆体ペー

10

20

30

40

50

ストを使用して結合させることができる。別法として、水和前駆体ペーストを形成し、生体内で成形し、水和前駆体ペーストを使用して適所に固定することができる。合成骨移植片が医学的に不適切であるときは、患者自身の骨を取得し、水和前駆体ペースト又はパテを使用して移植部位に固定することができる。上で説明したように、前駆体は、徐々に再吸収され且つ移植部位内で新しい骨の成長を促進させるPCAリン酸カルシウムに変換される。好ましい具体例では、存在する骨膜が閉じる前にインプラント表面上に引き出される。

歯周の欠陥 PCAリン酸カルシウムは、抜歯と関連する問題点、例えばドライソケット、感染及び線維の成長を回避するために歯槽にインプラントとして使用することができる。図24は、インプラントを注入により受ける歯槽の絵による例示である。インプラントがPCAリン酸カルシウムに変換し、6ヶ月内に、好ましくは6週間内に、理想的には3週間ほどに早く新しい骨で置き換えられる。新しい骨は、歯科補てつ材（代替用の歯）を移植すべき高められた表面を提供する。

10

顎堤の欠損 損傷、先天性の異常又は病気により歯槽を含む顎部分に骨損失が起こり、歯科補てつ材の移植が行われる前に稜の再構築が必要になる。顎堤の欠損の処理は、骨の欠損部の大きさが抜歯から生じるものよりもしばしば大きく且つ十分な量の骨組織の弛緩（又は再成長）を要求しうるために難問を提起する。

慣用の方法は、鼻床の上昇、骨の移植及び骨の再生を要求するであろう。歯科補てつ材の移植前の骨の再生は、移植のために大きい骨量、従って向上したインプラントの整列及び強度を提供するという利点を有する。しかし、この方法は、典型的には長時間のために段階的な間隔で行われ、しかして骨のインプラントを取り扱うのに十分な強度の骨を発生させるためには慣用の骨の再生が要求される。従って、二段階方法は、インプラントの弛緩の前に長い取り扱い時間（約9ヶ月）並びに再生した組織の劣った骨量という欠点を有する。CM・ミッシュ及びC・E・ミッシュ、Implant Dentistry, 4(4): 261(1995)を参照されたい。

20

本発明のインプラントは、顎堤の増成及び歯科移植をもっと短時間で、しばしば単一工程で行うのを可能にさせる。インプラントは稜部位にペースト又はパテとして導入され、そこでそれはその現場でセットされ、硬化する。数時間以内又は数分以内でもこのインプラントは歯科インプラントを受け入れるのに十分に固いものである。6ヶ月以内に、インプラントは天然骨を徐々に発生し、これにより歯科インプラントを固い骨部位中に結合させる。しかして、稜の増成及び歯科補てつ材の移植が互いに同時に又は数日以内に起こりうる。また、歯科インプラントは硬化の前に水和前駆体中に導入することができる。また、本発明のPCAリン酸カルシウムは、骨インプラントへの及びその周囲での骨の内方成長を増大させるための伝統的な方法と併用してインプラント中に注入することができる。

30

同様に、本発明のインプラントは、天然骨が薄すぎて補てつ材を受け入れることができない鼻腔のそばの稜を増強させるのに使用することができる。しかして、図25に絵により例示するように、空洞に接した顎堤にドリルで穴をあけることができ、空洞の嚢を上昇させ、インプラント材料を部位に注射により導入し、硬化させる。硬化及び骨形成により、その稜は歯科補てつ材の移植を行える状態にある。

止血剤としての使用 また、乾燥前駆体粉末は止血剤又は再吸収剤として適用することができる。体液と接したならば、この材料は、生体外で調製した水和前駆体と同様に、水和し、次いで適所で硬化する。この性質は硬質組織及び軟質組織の双方での出血を制御するのに特に有用である。一つの適用例では、材料は脊椎穿刺又は脊椎手術の後の開口に斑を形成しCSFの漏れを防止するように適用される。

40

頭蓋の修復 頭蓋の修復は、頭蓋の再建手術に関連する骨の治癒が遅いために特別の問題を提起している。本発明のPCA材料は、頭蓋骨を修復し及びその成長を促進させるのに使用することができる。さらに、インプラントに成長因子又は骨原性細胞を含めて治癒を刺激させることができる。

軟骨の成長 PCAリン酸カルシウムインプラントは新しい軟骨の成長を促進させるのに使用することができる。軟骨形成性細胞（例えば、一次軟骨細胞、又は軟骨細胞の細胞系

50

統)をインプラントと併用することができる。インプラントは細胞の成長及び増殖のための基質並びにその他の組織表面(例えば、骨又は軟骨)を結合させる手段を提供する。

この目的のためには、軟骨嚢が破られ、P C Aリン酸カルシウムが軟骨部位に注入される。P C A材料は、望ましくは、軟骨の成長を促進させる軟骨細胞を含有する。組織マトリックスの細胞接種についてのさらなる情報については、“セラミックス組成物の細胞接種”、米国特許出願第08/729,354号を参照されたい(これをここで参照することによって中に含めるものとする)。

骨の伸延 本発明のP C Aリン酸カルシウムは骨の伸延として知られた方法に有用である。骨の伸延は骨を究極的に強化させる整形外科手術である。この方法では、骨が切断され、整形外科用クランプを使用して徐々に離間される。P C A材料は経皮的に注入し又は外科的に移植して骨の膨張により生じた骨の間隙を充填させることができる。この適用例で使用するときは、P C Aリン酸カルシウムは骨の成長及び修復を促進させる。P C A材料は共に骨組みとして、またカルシウム源としても作用するために、伸延速度は従前の方法よりも有意に促進されうる。現在のプラクテスを使用しての最大の伸延速度は、ほぼ1mm/日に限られる。P C Aリン酸カルシウムを使用すると、伸延速度は、これよりも大きく、ある場合には2~5mm/日まで増大させることができる。

一時的な骨構造体 本発明のインプラントは、身体の骨部位以外で 사용할 ことができる。例えば、インプラントは、身体の種々の器官のための保護構造体として使用されるようにP C Aリン酸カルシウムから調製することができる。本発明によれば、P C A材料は感受性の器官を保持し、遮蔽し又は枠にはめるように使用することができる。例示すれば、P C A材料は、心臓病の治療では硬化した血管ステントとして又はクローン病の治療では胃腸ステントとして身体以外で調製することができよう。別法として、インプラントは、縫合した又はステーブルで止めた修復体、バイパス、或いは器官又は組織の移植片又はインプラントのための一時的な支持体を提供するように使用することができる。水和前駆体を支持体の必要時に構造体の周囲に配置することができ、そこでそれは適所に硬化して再吸収が起こるまで支持又は機械的な保護を与える。

本発明のP C Aリン酸カルシウムの再吸収性並びにこれが蛋白、核酸及びその他の物質と穏和に相互作用してこれらを再吸収する性質は、これを治療用物質を身体に移送するのに使用するための移植可能な補給所として使用するのに理想的な材料にさせる。一般に、主な要件は、移送されるべき薬剤が製造中に及び(又は)負荷中にビヒクルの存在下に活性を留め、或いはその後に活性化又は再活性化できることである。特定の薬剤の本発明の材料との安定性及び(又は)相容性並びに製造の戦略は、インビトロで実験的に試験することができる。有用な生物学的薬剤の代表的ないくつかの部類は、有機分子、蛋白、ペプチド、核酸、核蛋白、多糖類、糖蛋白、リポ蛋白、並びにこれらの合成類似体及び生物学的に設計された類似体を含む。

本発明の一つの観点から、骨再生性蛋白(BRP)を本発明のP C Aリン酸カルシウムに包含させることができる。BRPは、骨の成長速度を増大させ及び骨の治癒を促進させることが証明された。本発明のP C Aリン酸カルシウム及びBRPを含む骨移植片は、本発明のP C Aリン酸カルシウムを単独で使用する移植片よりもさらに迅速に骨の治癒を促進させることが期待される。BRPの効能は、P C Aリン酸カルシウムの再吸収を、それがBRP、カルシウム及びリンを骨の成長のために最適な量で移送させる割合で溶解するように制御することによってさらに高められる。BRPを包含させるこのような方法は、蒸留水の代わりに、蛋白活性を保持するであろうその最適なpHでBRPを含有する緩衝溶液を混合することを包含するが、これに限定されない。BRPの例としては、形質転換成長因子-、細胞連結因子、内皮成長因子及び骨形態発生因子が含まれるが、これらに限定されない。このようなBRPは、現在ジェネチック・インスチテューツ社(ケンブリッジ、MA)、ジェネンテック社(パロアルト、CA)及びクリエーチブ・バイオモレキュールズ社(ホプキントン、MA)により開発されつつある。

本発明の別の具体例では、非晶質リン酸カルシウム及びその混合物に抗生物質又はその他の薬剤を包含させることが意図される。臨床的な意味からは、骨移植手術より生じる主な

10

20

30

40

50

関連事項の一つは、術後の炎症又は感染を制御することの必要性である。本発明のPCAリン酸カルシウム及び抗生物質を含有する骨移植片は、手術部位での局所的な感染の機会を減少させ、感染のない状態に寄与し、しかして骨治療の過程を早めることが期待される。抗生物質の効能は、PCAリン酸カルシウム移送用ビヒクルからのそれらの放出を、それが組織修復部位に抗生物質ペプチド又はその活性成分を最も有効な量で移送させる割合で溶解するように再吸収速度を調節することによって、制御することによりさらに高められる。抗生物質の例は、ペニシリン、クロルテトラサイクリン塩酸塩（オーレオマイシン）、クロラムフェニコール及びオキシテトラサイクリン（テラマイシン）を包含するが、これらに限定されない。抗生物質、大抵はポリペプチド及び骨再生性蛋白は共に本発明のPCAリン酸カルシウム材料と混合して骨組織の修復のための最適な条件を容易にするのに必要な成分の全部又は大部分を局所的に移送することができる。

10

また、非再吸収性アパタイト系骨充填剤及びセメントは、本発明の方法によってACPをPCAリン酸カルシウムよりもさらに結晶質状態への変換を促進させることによって調製することができる。一般に、大きいヒドロキシアパタイト化学量論的Ca/P比の使用は結晶化抑制剤の使用を削減させ、高められた温度のような結晶化促進条件はより結晶質の生成物に変換させる傾向がある。

固体PCAリン酸カルシウム器具

本発明の別の適用では、固体PCAリン酸カルシウム組成物は生体内か又は生体外のいずれかで調製される。固体を製造する第一の方法は、PCA材料の未反応前駆体を圧縮することである。ペレットが水性の環境（例えば、生体内での移植）に曝されたならば、ACPはPCAリン酸カルシウムに変換する。第二の製造法は、既に変換されたPCA顆粒を所望の形状に圧縮することを含む。また、この材料は、製薬工業で知られた任意のその他のペレット製造法により成形することができる。成型物が作られたならば、それは次の方法で変性することができる。被覆を賦形した材料に被覆を付加することができる。治療用物質が固体材料に再吸収される。また、ペレットの形状及び表面組織をさらに変性することができる。無菌のペレットは、予備無菌性成分の使用により又はペレットを最後に殺菌することにより調製することができる。固体PCAリン酸カルシウムへの全ての変更は本発明の範囲内にあるとみなされる。

20

ペレットの製造法 一つの具体例では、PCA材料の未反応前駆体を圧縮すると予備硬化したペレットが生じる。第一の成分は非晶質リン酸カルシウムである。第二の成分は促進剤である。好ましい促進剤はリン酸ジカルシウム二水和物（DCPD）である。その他の場合には、促進剤は、結晶性HAのようなその他のリン酸カルシウムであってよい。二つの成分が圧縮され、任意の好適な方法により所望の形状に成形される。圧縮及び成形の好ましい具体例は、例32及び33に記載のような手動のプレス及び液圧プレスを包含する。圧縮の圧力はどんな特性がペレットに望ましいかに依存する。例えば、迅速に再吸収されるペレットには低い圧力が好ましい。製薬工業で知られた他のペレット製造法も満足できる。所望の形状の圧縮物品は、最も好ましくは生体内で37℃で吸熱的に反応してPCAリン酸カルシウムを形成する。促進剤の存在下でのACPの変換は、この反応中にこれらの条件下で起こってPCAリン酸カルシウムを形成する。

30

別の具体例では、PCAリン酸カルシウムはインピトロで形成される。促進剤及び限られた量の水性媒体の存在下での非晶質リン酸カルシウムは、不完全結晶性アパタイト系リン酸カルシウムに変換される。最も好ましい具体例では、PCA材料は37℃で硬化される。PCA材料が固体になったならば、それは凍結乾燥される。次いで、乾燥材料は粉碎室で特定の時間にわたり粉碎される。乳鉢及び乳棒のようなその他の粉碎方法も満足できる。粉末は次いで上記した方法によってペレット又はその他の所望の形状に成形される。

40

また、PCA材料は、非晶質リン酸カルシウムを促進剤及び生物学的に好適な水性媒体と混合することによって調製することができる。このときは、PCA材料は、ペースト又はパテの稠度を有するものとして、任意の好適な方法により所望の形状に成形される。この材料が成形されたならば、次いでそれは最も好ましくは37℃で硬化される。37℃前後の温度範囲も満足できる。成型品が固体になったならば、それは次いで凍結乾燥される。

50

ペレット内の水の存在は材料をさらに不安定にし且つより結晶性になる傾向があるために、成型品は凍結乾燥される。

P C A 材料が製造されたならば、それは上記のように成形され硬化され、次いで凍結乾燥される。ある場合には、それは不安定であり、さらに結晶性になる傾向があり、場合によってはヒドロキシアパタイトに変換するかもしれない。調製した固体 P C A リン酸カルシウムは次いで湿ったまま又は乾燥したままのいずれかで貯蔵することができる。P C A 材料の貯蔵にまつわる安定性の問題点として、温度、凍結乾燥、抑制剤の使用並びに材料が湿っているか又は乾燥しているかどうかという点がある。凍結乾燥は P C A 材料の安定性を向上させる。何故ならば、水の存在は変換反応の原因となるからである。低温は、室温又は生体内での安定性と比べて、P C A 材料をさらに安定にさせよう。理想的な条件は、湿分に曝すことなくペレットを室温で乾燥貯蔵することである。また、P C A 材料は水性媒体中で室温及び $pH = 7$ で 30 日間まで貯蔵することができる。P C A 材料について貯蔵期間中の P C A 材料の安定性を監視するために F T I R 及び X R D 分析を実施することができる。563 cm^{-1} 、1034 cm^{-1} 、1638 cm^{-1} 及び 3432 cm^{-1} (F T I R) のピークの存在は変化しないでそのままであるべきである。

ペレットの医学的な使用 固体 P C A リン酸カルシウム材料は、状況の詳細に応じて多くの異なった応用例に使用することができる。第一に応用例は、整形外科への使用である。ペレット、プレート、ネジ、顆粒、骨空隙充填材及びその他の形態が整形外科の応用例に適切である。

骨空隙充填材は、外科的に作られた欠損部であるか或いは外傷、腫瘍又はその他の疾病から作られた欠損部である骨内の空隙に穏やかに充填される。また、P C A リン酸カルシウムの砂粒大の顆粒 (1 ~ 2 mm) も追加的な硬質組織部位に使用することができる。この顆粒は、顎堤の修復及び毛髪様骨折に特に有用である。しかし、その他の応用例として、顎骨の骨折、上顎骨及び頭蓋の適応症、抜歯の歯槽空隙及び後期脊柱融合があるが、これらの限定されない。顆粒の有意義な利点は、骨の再生が必要である小さい領域に適合するようにそれらを配列できるということである。また、砂粒大の顆粒は、それらが移植される領域に移動してそこに落ち着き且つ種々の医療器具を適所に保持するように働くことができるので、補てつ材を結合させるのに使用される。さらに、ペレットは移植目的のために P C A ペーストと混合することができる。また、これらの固体再吸収性インプラントの使用は身体への金属インプラントの必要性を排除する。

固体 P C A リン酸カルシウムの第二の応用例は、生きている組織のための支持体基質を提供することである。これらの基質は細胞の成長、細胞の移植及び細胞療法を促進するために使用することができる。予備硬化した P C A 材料の支持体基質に適当な細胞を供給することによって、その細胞は所望の移植部位に有効に移送される。細胞は、所定の適応症のために何が適切であるかによって P C A 中にインビトロで又は生体内で播種することができる。体内に生きている細胞を使用することは組織の再生を通して自己治癒を促進させる。

固体 P C A 材料インプラントの多孔度は骨組織を再生させるために細胞の内方成長にとって重要な因子である。支持体基質は P C A 材料からなるので、それらはまた体内で十分に再吸収可能であり、従って移植された基質は再吸収されながら細胞の成長を開始させる。さらに、固体 P C A 材料の第三の応用例は、移送用ビヒクルとしての使用である。固体 P C A リン酸カルシウムは、抗生物質、ワクチン、骨形態発生性蛋白又はその他の医療的に有用な物質と併用することができる。それぞれの生物活性剤を製造の前駆体段階で又は変換反応が起こった後に添加することができる。また、ペレットを移送すべき因子に浸漬し又はそれによって被覆することができる。

使用の変形例 予備硬化した P C A リン酸カルシウムは、骨代替材料のためのその他の変形例に適応するように変化させることができる。第一の変形例は、P C A 材料を複合物として使用することである。バインダー、重合体、充填剤及び被覆材のような物質並びにその他の物質が P C A 材料の物理的及び (又は) 機械的性質を変化させるように該材料に添加される。バインダー及び重合体は、P C A の機械的特性及び再吸収特性を変化させるた

めにそれに添加される。充填剤は、P C A リン酸カルシウムを低い圧縮力でペレット形態に成形するのを可能にさせる。また、バインダー及び充填剤は、P C A 材料に強度、嵩さ及び密着性を付加させる。充填剤又はバインダーの添加後では、充填剤又はバインダーが固体基質を形成させるのに十分な骨組みを提供しうるので、P C A 材料をペレット形態に圧縮する必要性はないかもしれない。P C A 材料上の被覆材は、この材料に緩衝体を提供し、場合により A C P から P C A への変換を生じるであろう湿分への暴露から内部表面を保護する。

好ましい具体例では、P C A 材料は移植後に骨により置換される。骨以外の組織による固体 P C A の置換は、P C A に幹細胞若しくは拘束された幹細胞又は軟骨のようなその他の組織の前駆体を播種することにより誘発させることができる。さらに、移植部位の特性は置換組織も指令する（例えば、減少した酸素は軟膏形成をもたらす）。

10

さらに、P C A リン酸カルシウムの製造法の第三の変形例は、促進剤を変えることである。促進剤は、所望の結果に応じて異なった役割を引き受ける。

本発明を以下の実施例を参照してさらに例示するが、これらは例示のためにのみ示すものであって、本発明を制限するものとみなすべきではない。

例 1

A C P 及び関与性促進剤を使用する P C A リン酸カルシウムの製造。この例は、多数の種々の関与性促進剤を使用する A C P から P C A リン酸カルシウムの形成及び硬化性を証明する。高活性 A C P は例 5 に従って調製した。

試料 1 - 1、1 - 2 及び 1 - 3 のナノ結晶性ヒドロキシアパタイトを、以下のように結晶化抑制剤なしで調製した。218 g のオルトリン酸水素ジナトリウム ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) を 1200 mL の蒸留水溶液に溶解した。試料 1 - 1 及び 1 - 2 の炭酸塩化 P C A リン酸カルシウムについては、80 g の NaHCO_3 をこの溶液に添加した。70 g の硝酸カルシウム [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] を 500 mL の蒸留水に溶解した。このカルシウム溶液をリン酸塩溶液に絶えず攪拌しながら室温で素早く注入した。沈澱が直ちに起こり、実質的に完了した。沈澱の pH は酸性リン酸カルシウムの形成を回避するために水酸化ナトリウム溶液の添加によって 7.4 に調節した。沈澱をブフナーフィルター（全表面積約 0.1 m^2 ）によりろ過することにより溶液から直ちに分離し、約 3 L の蒸留水で洗浄した。フィルター上に低結晶性リン酸カルシウムのゲル状ケーキを得た。ゲル状ケーキの一部を試料 1 - 2 及び 1 - 3 のために直ちに凍結乾燥した。

20

30

試料 1 - 1 のためにゲル状ケーキを次のように処理した。ろ過し洗浄した後、ゲル状沈澱に適当量（5 ~ 80 重量%）の蒸留水を添加した。ゲルを数分間高速攪拌することにより均質化した。次いで、これをポリテトラフルオルエチレン（PTFE）製の型（直径 60 mm、高さ 2 mm）に注型し、ゲル中に捕捉された気泡を放出させるために数分間音波処理した。

成型物を室で制御した温度（5 ~ 37 °C）及び湿度（10 ~ 95 % RH）で乾燥した。試料は乾燥するとゆっくりと収縮し、その水の大部分を放出した。試料の乾燥速度及び収縮は初期の水分に依存した。該材料は乾燥すると硬化し、ガラス状になった。それは約 10 % の残留水を含有した。

残りのヒドロキシアパタイト及びカルシウム減は商業的供給源からのものをそのまま使用した。

40

表 1

関与性促進剤を使用するACPの変換

試料	関与性促進剤	37℃でのインキュベーション	硬化の程度	FTIRによるPCA*	XRDによるPCA*
1-1	炭酸塩化ナノ結晶性ヒドロキシアパタイト、風乾	30分 2時間	固化開始 硬い	有り	ND
1-2	炭酸塩化ナノ結晶性ヒドロキシアパタイト、凍結乾燥	30分 2時間	硬い 硬い	有り	有り
1-3	非炭酸塩化ナノ結晶性ヒドロキシアパタイト、凍結乾燥	30分 2時間	固化開始 硬い	有り	ND
1-4	アルドリッチヒドロキシアパタイト、粒度< 15-30 μm	30分	硬い	有り	有り
1-5	クラークソンヒドロキシアパタイト、粒度> 250 μm	30分	固化開始	有り	ND
1-6	モネタイトー未焼成粒度	30分 15時間	軟らかい 固化開始	有り	ND
1-7	CaCO_3	30分 15時間	固化開始	有り	ND
1-8	Ca(OH)_2	30分 15時間	軟らかい 固化開始	有り及び Ca(OH)_2	ND
1-9	$\text{Ca(CH}_3\text{COO)}_2$	30分 15時間	軟らかい 軟らかい	有り	ND

PCA* = 不完全結晶性アパタイト系リン酸カルシウム

ND = 分析せず

ACPをSPEX実験室用ミルで特定の促進剤と約50:50(表1を参照)の比(wt/wt)で5分間混合した。ほぼ0.8mLの H_2O /g乾燥粉末を乾燥前駆体混合物に添加し、混合してペーストにした。次いでこの混合物を球体に成形し、湿ったティッシュペーパーにより包み、37℃に少なくとも30分間加熱した。30分間後及びその後は種々の時点でペーストを硬度について監視した。図14及び15は反応1-2及び1-4からの代表的なXRDである。関与性促進剤として2種の異なった粒度のヒドロキシアパタイトを使用すると異なった粒度のDCPDの場合と類似の結果が生じた(例10を参照)

。即ち、大きい粒度のヒドロキシアパタイトは小さい粒度のヒドロキシアパタイトよりも遅く硬化し、それほど完全には硬化しない。

例 2

この例は、天然アパタイト系リン酸カルシウムを A C P から本発明の P C A リン酸カルシウムに変換させるための促進剤として使用して生体内での骨の成長を促進させることを立証する。化学量論的な量のヒドロキシアパタイトを例 1 - 4 に記載のように反応性 A C P と反応させる。水和前駆体ペーストを例 1 5、1 6 又は 1 9 に記載のように動物被検体に適用する。骨の治癒及び生体適合性を指示した時点で記載のように監視する。

例 3

この例は、多くの異なった消極的促進剤を使用して A C P から P C A リン酸カルシウムの調製を証明する。

高活性 A C P を例 5 に従って調製した。A C P を S P E X 実験室用ミルで特定の促進剤と約 5 : 1 又は 1 : 1 (表 2 を参照) の比 (w t / w t) で 5 分間混合した。水 (0 . 7 5 ~ 0 . 8 5 m L) を添加し、混合してパテにした。次いでこの混合物を球体に成形し、湿ったティッシュペーパーにより包み、3 7 °C に少なくとも 3 0 分間加熱した。3 0 分間後及びその後は種々の時点でペーストを硬度について監視した。図 1 3 は、アルミナ促進剤を使用する試料 2 - 4 からの代表的な X R D である。この図では、標準 P C A リン酸カルシウムプロファイル上に重なったアルミナピークを見ることができる。

表 2

消極的促進剤を使用する A C P の変換

研究#	消極的促進剤 (ACP:促進剤)	3 7 °C での インキュベ ーション	硬化の程度	FTIR によ る P C A *	XRD によ る P C A *
2 - 1	S i O ₂ (5 : 1)	3 0 分 3 時間	軟らかい 非常に硬い	有り	有り
2 - 2	雲母 (5 : 1)	3 0 分 1 2 時間	軟らかい 非常に硬い	有り	有り
2 - 3	A l ₂ O ₃ (1 : 1)	3 0 分 1 2 時間	軟らかい 非常に硬い	有り	有り
2 - 4	A l ₂ O ₃ (5 : 1)	3 0 分 1 2 時間	軟らかい 非常に硬い	有り	有り

P C A * = 不完全結晶性アパタイト系リン酸カルシウム

例 4

この例は、走査示差熱量計 (D S C) を使用して活性 A C P 及び D C P D 前駆体を使用する好ましい具体例反応の温度感受性及び正味吸熱性を監視することを立証する。

等量の A C P 及び D C P D を含有する乾燥前駆体混合物を例 9 に記載のように調製した。ほぼ 4 °C に予備冷却した水 (0 . 0 5 m L) を 4 7 . 2 7 m g の乾燥前駆体混合物に添加し、直ちに熱量計に移した。D S C (パーキンエルマー 7 シリーズ熱分析装置) を 5 °C / 分の走査速度で 0 °C の攪拌温度に設定した。結果を図 1 6 に示す。プロットは、最初の 7 分間の反応性の監視の結果を表し、0 . 0 °C とほぼ 2 0 °C (この点で吸熱性の熱移動の開始が起こる) の間には本質的に熱移動がないことを示す。熱移動性は、3 7 °C では反応は本質的に吸熱性であり、使用した条件下では反応は 2 0 °C 以上の温度では少しあるとしても非常にゆっくりとしか起こらないことを示している。従って、系の正味の反応性、即ち

系の吸熱性及び発熱性の熱移動の和は吸熱性である。

例 5

この例は、本発明の高反応性非晶質リン酸カルシウムの段階的調製及び合成法を説明する。

激しく攪拌している溶液 A (1 . 3 L の蒸留水に 5 5 g の $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (リン酸ナトリウム)、5 0 g の NaOH (水酸化ナトリウム)、3 0 g の NaHCO_3 (重炭酸ナトリウム) 及び 2 g の $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ を溶解したもの) に溶液 B (0 . 5 L の蒸留水に 4 3 g の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (硝酸カルシウム四水和物及び 1 g の $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を溶解したもの) を迅速に添加することによって不活性な炭酸塩化非晶質リン酸カルシウムを調製した。このようにして形成されたゲル様非晶質リン酸カルシウムの沈澱を中間ろ紙速度及び約 10^{-2} トールの真空圧でろ紙 (0.05m^2) を使用して直ちにろ過した。生成した物質は薄いケーキであり、ほぼ 4 L の蒸留水を使用してろ過ポートにこれを添加することにより洗浄した。次いで、洗浄した物質をスパチュラを使用して集め、2 . 5 L の容器内の液体窒素に浸漬した。硬い冷凍片の形成に続いて、容器を真空室に 2 4 時間 ($10^{-1} \sim 10^{-2}$ トール) 微細な乾燥粉末が得られるまで移した。

上で説明した操作は室温で達成できるが、好ましくは全体的な方法は、非晶質状態がより安定な結晶性形態に変換するのをさらに防止するように周囲温度以下で行われる。

この方法の時点での不活性な非晶質材料の赤外線スペクトルを図 1 7 a に示す。このスペクトルは、P - O 基 (570 及び 1040cm^{-1})、 CO_3^{2-} 基 ($1,420\text{cm}^{-1}$ 及び 450cm^{-1}) に特徴的なピークと比較的大きい O - H 基のピーク ($\sim 3,530\text{cm}^{-1}$) を含む。同じ材料の X 線回折図形は、 $2\theta = 20 \sim 35$ の範囲にどんな鋭いピークもないことにより示されるように材料の非晶質性を立証する。

上記の非晶質材料を次いで $450 \pm 3^\circ\text{C}$ で 6 0 分間加熱することによって高活性形態に活性化した。加熱された材料の IR を図 1 7 b に示す。このスペクトルは、特に O - H 及び CO_3^{2-} 基の減少を示し、 H_2O 及び CO_3^{2-} が CO_2 及び H_2O として相当に減少することを示している。同様に調製した試料では、炭素含有量はほぼ 6 0 % に低下することが認められ、全炭酸塩比は 1 . 5 6 % から 0 . 5 % に減少した。しかし、材料の非晶質性は、図 4 a に示されるように、この方法中に失われなかったことに注目されたい。熱処理後のこの材料の Ca / P 比の測定値は、定量電子マイクロプローブ分析法を使用して 1 . 5 7 5 であると決定された。非晶質材料の全体的な形態学的及び超構造的性質を、図 1 に示すように、透過電子顕微鏡によって確認した。それぞれの顆粒を分離する鋭い縁がなく、ある部分が形のない形態 (矢印) を示すこの材料の “ 非晶質性 ” の外観に注目されたい。

例 6

上記の例 5 に記載のようにするが、ただし溶液 A 及び B を次の方法で調製したことを除いて、ACP を合成した。溶液 A は 9 0 . 6 8 g の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ を 1 . 2 L の炭酸塩化蒸留 H_2O に迅速に溶解することによって室温で調製した。溶液 B は 4 0 . 5 7 g の K_2HPO_4 を 1 . 5 3 L の蒸留 H_2O に溶解することによって調製したもので、2 4 mL の 4 5 容量 % の KOH 溶液を含有する。この操作から生じた生成物の非晶質リン酸カルシウムの化学的及び物理的性質は例 5 に従って調製した材料のものと類似していた。

例 7

上記の例 5 に記載のようにするが、ただし溶液 A 及び B を次の方法で調製したことを除いて、ACP を合成した。溶液 A は 1 0 . 5 8 g の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を 0 . 1 5 L の炭酸塩化蒸留 H_2O に、NaOH により調節して 9 . 0 よりも高い pH で迅速に溶解することによって室温で調製した。溶液 B は 7 . 8 g の $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ を 0 . 3 5 L の蒸留 H_2O に溶解することによって調製した。

例 8

この例は、乾燥反応体の手動による混合を使用する本発明の PCA リン酸カルシウムの調製を説明する。

溶液 A (1 0 g の $\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4\text{P}$ (リン酸水素ジアンモニウム) を 5 0 0 mL の蒸留水に 4 . 6 ~ 4 . 8 の pH で溶解したもの) に溶液 B (1 7 . 1 g の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

(硝酸カルシウム四水和物)を250 mLの蒸留水に溶解したものを絶えず攪拌しながら迅速に添加することによって室温でリン酸ジカルシウム二水和物(DCPD)を調製した。その後直ちに、試料を中間ろ紙速度及び約 10^{-2} トールの真空圧でろ紙(0.05 m²)を使用してろ過した。生成した物質は薄いケーキであり、約2 Lの蒸留水により洗浄し、次いで室温で24~72時間乾燥した。

例5から調製した反応性非晶質リン酸カルシウム材料をリン酸ジカルシウム二水和物($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)と50:50重量%で乳鉢と乳棒を使用して3~5分間にわたり物理的に乾式混合した。次いで、粉末混合物に水(1 mL/g 混合材料)を添加してペースト状稠度を生じさせた。 H_2O の添加量は、濃いペーストか又は薄いペーストのどちらを望むかによって変えた。次いで、水和前駆体材料を湿ったティッシュペーパーにより緩く包み、37 に加熱した。この温度では、ペーストは実質的に吸熱反応によって固体物体に硬化した。硬化の過程は、試料を4 で冷蔵することによって数時間遅延させることができた。硬化した物質は、合成ヒドロキシアパタイトについて報告された溶解度を越えた固有の溶解度特性を持ったPCAリン酸カルシウムからなっていた。これは図3で立証される。ここに、制御したpHの緩衝溶液中で37 で24時間にわたり上昇したカルシウムイオンの濃度が本発明のPCAリン酸カルシウム材料(曲線50)について標準結晶性ヒドロキシアパタイト材料(曲線52)よりも相当に高かった。

10

例9

この例は、乾燥前駆体の自動化された混合を使用する本発明のPCAリン酸カルシウムの調製を説明する。

20

例8に記載のように、乾燥ACP及びDCPD前駆体を調製した。乳鉢及び乳棒による混合に代えて、SPEX 8505 アルミナセラミックス粉碎室を有するSPEX 8510 実験室用ミルを使用して2分間混合した。混合乾燥前駆体1 g 当たり0.7~1.5 mLの水を添加することにより水素化前駆体の調製を達成した。

例10

この例は、特定の粒度分布のDCPDを使用するPCAリン酸カルシウムの調製を立証する。

DCPDを例8に記載のように調製した。乾燥材料をSPEX 8505 アルミナセラミックス粉碎室を有するSPEX 8510 実験室用ミルを使用して2分間粉碎した。粉碎に続いて、この材料をタイラー試験篩振動機によって連続的に篩い分けして表3及び図8に示すような8種の異なった粒度分布を有するDCPDを生じさせた。

30

表 3

DCPDの粒度分布

試料	粒度分布	37℃で30分間の硬化の程度
10-1	< 25 μm	硬い
10-2	25 ~ 35 μm	硬い
10-3	35 ~ 53 μm	硬い
10-4	53 ~ 63 μm	硬い
10-5	分布B3 (図8)	硬い
10-6	106 ~ 125 μm	十分に硬化しない
10-7	分布B2 (図8)	十分に硬化しない
10-8	篩い分けされない 分布B1 (図8)	十分に硬化しない

篩分け前のDCPDの予備粉碎が乳鉢及び乳棒を使用する簡単な手動粉碎により結果を大きく変化させることなく代替できることがわかった。

例5から調製された活性な非晶質リン酸カルシウム材料を表3からのDCPD試料のそれぞれと1:1 (wt/wt)でSPEX8505アルミナセラミックス粉碎室を有するSPEX8510実験室用ミルを使用して10分間にわたり物理的に乾式混合した。次いで、各粉末混合物に水(0.8~1.0 mL/g 乾燥混合物)を添加してペースト様稠度を持った水和PCAリン酸カルシウム前駆体を生じさせた。表3に示した8個の試料のうち

例 1 1

この例は、本発明の二つの好ましい具体例を記載する。

(a) 例5に従って調製された反応性の非晶質リン酸カルシウム材料を表8のB3の粒度分布を持つDCPD試料と50:50重量%でSPEX8505アルミナセラミックス粉碎室を有するSPEX8510実験室用ミルを使用して2分間にわたり物理的に乾式混合し、次いで150 μm 未満の粒度に篩い分けした(タイプ2粉末)。この粉末混合物に水(0.8 mL/g 混合材料)を添加して水和前駆体を形成させた。

(b) この好ましい具体例は、(a)のようにするが、ただし試料を乾式混合し、次いで10分間粉碎したことを除いて、調製した(タイプ10粉末)。

(タイプ2粉末)及び(タイプ10粉末)について軟質組織において異なった再吸収挙動が観察された(例16を参照されたい)。しかし、硬質組織(骨)における両粉末タイプの再吸収は類似している。これは軟質組織と硬質組織で再吸収機構が異なるためであろう。軟質組織の試験はより感度があり、従って新規なPCA材料の再吸収性を評価するとき

例 1 2

この例は、水和PCAリン酸カルシウム前駆体を調製するための別の方法を記載する。

(a) 反応性のACP及びDCPDを、例9に記載のようにするが、ただし乾燥前駆体を混合しなかったことを除いて、調製した。ACP(0.5g)に水(0.8mL)を添加し、スパチュラにより均質になるまで十分に混合してペーストを形成させた。次いで、このペーストにDCPD(0.5g)を添加し、ペーストをほぼ2分間混合した。生じたペーストを湿った環境に37℃で30分間置いた。

(b) 反応性のACP及びDCPDを例8に記載のように調製した。DCPD(0.5g)に水(0.8mL)を添加し、スパチュラにより均質になるまで十分に混合してペーストを形成させた。次いで、このペーストにACP(0.5g)を添加し、ペーストをさらに2分間混合した。生じたペーストを湿った環境に37℃で30分間置いた。

双方の場合とも、ペーストは30分後に硬化し、上首尾の反応を示した。

例13

この例は、PCAリン酸カルシウムの硬度試験を記載する。

例9に従ってPCAリン酸カルシウムを調製してペーストを形成させた。このペーストを、37℃の水に浸漬した6mm(直径)×10mm(深さ)の中空テフロンチューブに30分間入れた。次いで、硬化したPCAリン酸カルシウムをチューブから取り出し、37℃の水に1時間入れ、次いで複式の10kg/15トン荷重セルを有するインストロン試験機4206に垂直に入れた。圧縮試験を使用して圧縮性を決定した。試料を破損に至らせるにはほぼ200~250Nが要求された。この力は7~9Mpaの圧縮強度に相当する。

ポリ(ラクチド)ホイスカーを約5~100μm直径×10~250μmの平均寸法で調製する。ホイスカーを上記のように調製した不完全結晶性ヒドロキシアパタイトペーストと10%wt/wtの濃度で混合する。この複合物ペーストを湿った環境で37℃で終夜硬化させる。圧縮性について試験すると、この材料は複合していないPCAリン酸カルシウムよりも向上した圧縮性を有することがわかった。

例14

この例は、骨代替材料の形成に使用すべき注入可能なペーストの稠度及び反応性に対する流体容積の効果を証明する。ペーストのそれぞれを例8に記載のように調製し、室温及び37℃での稠度及び反応速度を決定した。得られた結果を表4に示す。

10

20

表 4

水和前駆体の成形適性、注入適性及び反応性

試料No	水の容積 (mL)	成形適性	注入適性	種々の温度での硬化時間 (4℃/RT/37℃)
14-1	0.7	— 脆い	—	—/—/—
14-2	0.8*	+++ 容易に成形されたペースト	+	>60分/>60分/30分
14-3	0.9*	++ 練歯磨	++	>60分/>60分/30分
14-4	1.0	+ 液状練歯磨	+++	>60分/>60分/30分

*ある環境下（例えば、蒸発）では、これらの試料は室温で1時間にわたり多少乾燥しうる。このような場合には、元の稠度を回復するために追加の水を添加することができる。

例 15

皮下部位でのPCAリン酸カルシウムの移植及び再吸収。この例は、ラットに皮下移植したときの本発明のPCAリン酸カルシウムの再吸収を立証する。また、それは、バイオセラミックインプラント材料及び複合物の新規な処方物の再吸収特性を試験するための有用なスクリーニング操作を証明する。

80匹の雄及び80匹の雌のスプラグ・ダウレイラットのそれぞれの背側の皮膚下に4mL(2~4g)の本発明のPCA(例8に従って調製)を移植した(kgあたりに基準でヒトの場合に最大であるとみなされる量の10倍以上)。対照例動物を等容積の食塩水により処理した。手術操作は例16に記載する。ラットを以下の表5に示した予定に従って犠牲にした。移植部位を例16に記載のように検査した。

表 5
犠牲を実施するスケジュール

犠牲の時点	P C A リン酸カルシウムインプラント
1 週間	5 m / 5 f
2 週間	5 m / 5 f
1 ヶ月	5 m / 5 f
3 ヶ月	5 m / 5 f
1 年	20 m / 20 f

10

臨床病理学的分析のための血液を、動物をCO₂により麻酔させながら眼窩後方洞より又は心臓穿刺により集めた（全て同じ方法による）。予定された犠牲を行う前に各動物群から血液試料を集めた。動物を一般的健康及び健全性についての臨床的観察を3ヶ月まで少なくとも毎週、次いで毎月行った。

20

1週目にP C A材料は移植部位に存在し、再吸収過程と関連すると推測できる中程度ないし著しい肉芽腫と関連していることがわかった。2週間では、少量のP C A材料が移植部位にまだ存在し、関連した肉芽腫は軽度ないし中程度であった。4週間までは、大部分の組織は正常に見え、移植部位に少しの軽度の肉芽腫が残存した。12週目に、インプラントの証拠は残らなかった。

例 16

筋肉内部位でのP C Aリン酸カルシウムの移植及び再吸収。この例は、粉碎時間の変更の結果として生体内での再吸収時間が変化したP C Aリン酸カルシウムの調製を記載する。個々の乾燥前駆体、A C P及びD C P Dを例8に記載のように調製した。次いで、D C P D及びA C Pの数個の異なった処方物をi) D C P DをS P E X粉碎機で15秒、30秒、1分間、2.5分間又は5分間粉碎し、ii) 粉碎したD C P DをA C Pと1:1で混合し、iii) この混合物をさらにそれぞれ15秒、30秒、1分間、2.5分間又は5分間粉碎することによって調製した。異なった調製物についての総粉碎時間は、従って30秒、1分間、2分間（“タイプ2”粉末）、5分間、及び10分間（“タイプ10”粉末）であった。

30

ほぼ2.5 Mradのガンマ線により粉末状で滅菌処理したP C Aリン酸カルシウムを、材料を粉末状にし、無菌水又は食塩水と混合し、それを2mmの厚みのほぼ1cm円板に成型することによって調製し、37℃で最低30分間インキュベーションした。円板を、製作した後直ちに、成熟した雄のニュージーランドホワイトラビットに移植した。

40

動物は合計で15頭について雄3頭を含む投薬グループに割り当てた。インプラントは、ウサギにランダムに割り当てた。外科手術の10～15分前に、動物にキシラジン（10mg/mg、i.m.）を前もって投薬した。次いで、動物にケタミン（50mg/mg、i.m.）を与えた。動物の背側表面から毛を摘み、ベタジン手術用溶液及びアルコールにより洗浄した。手術前に、動物を適切に麻酔されていることを確認すべく監視した。これを行うには、圧力を足パッドに加えた。応答がないときには、動物は適切に麻酔された。操作中ずっと、動物はひげの引張及び足指のつねりに対する反射（これらは動物が目覚めていないことを示すものである）について監視した。

無菌技術及び小刀の刃を使用して、m. longissimus lumborum（これは脊椎の両側に沿って存在する）の上の皮膚に長さ1～2cmの切開を入れた。切開を

50

入れたときに、下層の筋膜及び筋肉も切断して試料を筋肉内に通した。試料の円板を筋肉内に直接入れ、インプラントの全体が筋肉内に埋設されるのを確実にした。筋肉を1本の再吸収性縫合糸により閉じ、皮膚を皮下で縫い合わせて閉じた。外部皮膚表面の切開を閉じるのに金属製皮膚ステープルを使用した。この方法で5個の試料をそれぞれの側に置いた。各資料を切開の端部に入れ、それらを互いに1 cm離間させた(図を参照されたい)。試料は、重量が約150 mgである7 mm × 2 mmの円板の形態であった。動物を監視し、目覚めたならばバプレノルフィン(0.02 ~ 0.05 mg/kg、s.q.)を与えた。外科手術の3日後に毎日2回鎮痛剤を投与した。

動物は、手術の直後及びその後は2週毎にX線撮影をした。材料の再吸収を追跡するためにX線写真を比較した。X線写真については時点の間のどんな変化も最小限にするために標準化方法を使用した。

安楽死させた後、移植部位をまず全体検査により評価した。目視できるインプラントのある部位では、インプラントは灰色ないし黄色の固体円板として見えた。インプラントが再吸収された部位では、筋肉の赤色ないし黄褐色の変色領域が観察された。

インプラントを乱さないように注意して、筋肉をインプラントと共に、切除した。組織及び識別マークを10%の中性緩衝ホルマリンを満たした標識ジャーに入れた。全てのインプラント部位を処理し、顕微鏡で評価した。観察事項は、病巣線維症、病巣肉芽腫性炎症及びインプラントの外観(ある場合には)を含んだ。線維症はまず線維細胞及びコラーゲンとして見えた。大きな再吸収のある動物は線維症及び最小ないし中程度の肉芽腫性の病巣炎症を有した。肉芽腫性病巣炎症は、マクロファージ及び巨細胞(しばしば細胞質内結晶を持つ)と、ヘテロフィル及びリンパ球の病巣集合体として見えた。再吸収されなかったインプラントの周囲の炎症は主として最小ないし軽度の線維症及び(又は)肉芽腫性炎症であり、その両者とも筋肉内インプラントにとって満足できる範囲内にある。

4週目に、30秒間、1分間又は2分間粉碎することによって調製したPCAリン酸カルシウムインプラントから作ったペレットは、完全に再吸収された。5分間又は10分間粉碎することによって調製したものは、完全に再吸収されなかった。

例 17

反応性非晶質リン酸カルシウム材料を例5のように調製し、例8に記載の方法に従うが、ただし下記の修正を行って、その他のリン酸カルシウム化合物と乾式混合する。DCPDに代えて、 $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ (メタリン酸カルシウム)、 $\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$ (リン酸ヘプタカルシウム)、 $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (ピロリン酸カルシウム)、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (リン酸トリカルシウム)を含めて(これらの限定されない)、他のリン酸カルシウム化合物を使用する。乾式混合比は、反応性非晶質リン酸カルシウムと混合する化合物のCa/Pモル比に依存して、1.5 ~ 1.70のCa/Pモル比となるように適当に計算する。次いで、生じた材料のPCAリン酸カルシウムの同一性をXRD及びFTIRを使用することにより確認する。

例 18

この例は、X線回折及びフーリエ変換赤外線分光法を使用して水和前駆体の硬化と関連して生じる変換反応を追跡する。

水和前駆体を例9に記載のように調製した。反応混合物を湿った環境に37 °Cで入れ、異なった時点でX線回折分光計により検査した。図5a ~ 5dはDCPDと例5に記載のような反応性非晶質リン酸カルシウムとの反応生成物のX線回折スペクトルである。X線走査条件は、(a)銅アノード、(b) $\theta = 1.4540598^\circ$ 及び(c) 0.02° のステップ及び2秒のステップ間隔で走査範囲20 - 35 °である。図6は、リン酸ジカルシウム二水和物(図6a)、本発明の活性化されたACP(図6b)及び本発明の不完全結晶性ヒドロキシアパタイト(図6c)の赤外スペクトルを示す。

図5a ~ 5dに示す試料をそれぞれ0分、20分間、75分間及び5時間インキュベーションした。試料を指定した時間に取り出し、化学的特性を保存するように凍結乾燥した。反応開始時にとった図5aは、出発物質PCA及びジリン酸ジカルシウム(成分XRDパターンについて図4を参照)に起因するピークの結合を表す。結晶性ジリン酸ジカルシ

10

20

30

40

50

ウムについて約 20.25° 、 23.5° 、 29.5° 、 30.75° 及び 34.2° での鋭いピークが容易に観察される。反応時間を増加させると、鋭い結晶性ピークは小さくなり、広い（非晶質）ピークは 26° 、 28.5° 、 32.0° 及び 33.0° で中心として現れる。興味のあることは、75分の反応後にはスペクトルに変化がなく、反応はほとんど1時間くらいで本質的に完了することを示していることである。本発明の骨代替材料のX線回折図形（図5d）は図7に示した天然産の骨のそれと比較することができる。二つのスペクトルはほぼ同一である。

例 19

骨部位へのPCAリン酸カルシウムの移植及び再吸収

この研究の目的は、骨移植部位でのPCAリン酸カルシウムの再吸収及び骨形成を検査することであった。また、この方法は、本発明のPCAリン酸カルシウム処方物及び複合物の再吸収及び骨形成性を試験するのに有用である。

使用した試験片は、例8に記載のように調製したPCAリン酸カルシウム処方物であった。ACPとDCPDを特定の割合で混合し、SPFX粉碎装置で1分30秒間粉碎した。成熟した（>生後5ヶ月）のNZWの雄のウサギを、試験の開始前に最低で10日間、隔離状態にし、気候順化させた。動物を個々に吊したステンレス鋼製のかごに収容した。かごの下に落下物受け皿内に木材かな屑を使用した。研究の開始前に、動物をランダムにグループ又は処理に振り分け、番号を付けた耳の入れ墨及び相当するかごカードにより身元確認した。全ての動物が一つの頸骨に入れた1個の欠損部を有した。評価のための時点は、2週、4週及び8週間である（各時点で2頭の動物）。外科手術は完全な麻酔及び無菌の手術条件下で達成した。

適切な麻酔（効果があるためには例えばケタミン/キシラジン）を得た後に、無菌技術を使用して、側方近位の頸骨の上を切開した。軟質組織を横にそらし、骨を露出させた。必要時に灌注（0.9%の生理学的食塩水）しながら低速歯科用ハンドピースにほぼ5mm直径のトレフィンを使用して、 ~ 5.5 mmの孔を骨の皮質部分を抜くように作った。骨小板を皮質がないように解剖し、部位を移植のために準備した。ペースト状の水和前駆体材料を欠損部に置いた。対照例動物における欠損部は、未処理のままにした。次いで、軟質組織を層状に閉じた。この方法を使用して動物1頭当たり一つの試料を調製した。

動物の一般的な健康及び健全性、特に歩行応力に關しての臨床学的観察を少なくとも毎週行なった。全ての動物が良好な健康状態にあるように見られた。研究の終了時に、麻酔剤を過剰投与して動物を安楽死させ、移植部位を集めた。手術後及び解剖検査時を含めて予定された間隔で頸骨の放射線透過写真を撮った。

移植部位をホルマリン中で固定し、ヘマトキシリン及びエオシン、メーソンの三色により染色するか、或いは脱灰した試料からのスライドをボンコーサで染色した。脱灰してない組織学的試料も調製し、淡い緑色の塩基性フシンにより染色した。スライドを実験動物組織学で経験のある協会認定獣医組織学者（ACVP）により顕微鏡で評価した。骨の形態を主観的に観察し、組織化した骨及び検出可能なPCAリン酸カルシウム材料の有無を記録した。

組織学的結果は2週間で若干の鉱物化を示した。4～6週間までは、移植を受けた動物は移植部位に正常な小柱骨を有し、残留PCAリン酸カルシウムの証拠はなかった。未処理の対照例は、それらがそれほど完全でない内方成長を有し及び（又は）非皮質性型の骨を有するという点で完全に治癒しなかった。図9a及び図9bは、手術して2週間後のそれぞれ未処理及び処理頸骨欠損部の顕微鏡写真である。わかるように、未処理試料の欠損部の縁の右側にある骨（図9a）は薄い小柱骨であり、処理試料の欠損部の縁の右側にある新しい骨（図9b）は厚い小柱骨である。

例 20

この例は、異なったDCPD粒度分布を持つ2個の前駆体処方物の間の再吸収速度の相違を証明する。PCAリン酸カルシウム前駆体材料を例10に従って調製する。2種の前駆体混合物を調製する。試料Aは試料10-6に相当し、試料Bは試料10-1、10-2、10-3及び10-4の2:4:3:1の混合物に相当する。2種の試料の水和前駆体

10

20

30

40

50

ペーストを例 1 5 の皮下試験で齧歯類で試験する。再吸収を種々の時点で監視する。

例 2 1

この例は、高反応性の A C P と反応性の A C P の双方の変換における二つの異なった粒度分布を持つ D C P D の促進活性の相違を証明する。

A C P を、例 5 におけるようにするが、ただし試料のいくつかについては最終加熱活性化工程を省くことを除いて、調製する。例 1 0 の B 1 及び B 3 に相当する粒度分布を持つ D C P D の 2 種の試料を調製した。次いで、A C P 及び D C P D を手動で又は S P E X 粉砕機により 5 分間混合する。次いで、硬化特性を決定する。機械粉砕した試料は手動で粉砕した試料よりも優れた硬化性を示したことが明らかである。また、小さい粒度を持つ試料 (B 3) は大きい粒度を持つ試料 (B 1) よりも優れた硬化性を示すことが明らかである。

10

表 6

異なった強度の促進剤を使用する反応

A C P	D C P D	粉砕	3 0 分間の硬化
加熱	B 3	乳鉢及び乳棒	++
加熱せず	B 3		(実施せず)
加熱	B 1		+ / -
加熱せず	B 1		-
加熱	B 3	S P E X 5 ~ 1 0 分間	+++
加熱せず	B 3		+++
加熱	B 1		+
加熱せず	B 1		(実施せず)

20

30

例 2 2

この例は、P C A リン酸カルシウム材料の比表面積及び多孔度を決定する。

A C P を例 5 に従って調製した。最終加熱活性化工程の前後の試料を、篩い分けしていない D C P D (例 8 に記載のような) を使用してインビトロでの硬化試験においてそれらの活性について比較した。また、比表面積及び平均多孔度も測定した。結果を下記の表 7 に要約する。

表 7

本発明のACPの比表面積及び多孔度

試料	比表面積 (m^2/g)	平均多孔度 (Å)	DCPD反応性
加熱前	120.5	130	—
加熱後	76.8	129	+

10

例 2 3

この例は、促進剤の不存在下でのACPからPCAリン酸カルシウムへの変換を記載し、新たに形成されたPCAリン酸カルシウムが硬化し損なうことを証明する。同様に、促進剤DCPDは独力では硬化又は変換し損なうことも立証する。

DCPD並びに種々のACP及びその他のリン酸カルシウムを水と混合し、それらが37で硬化する能力を試験した。表8は、これらの結果並びに試験期間後のあるとすれば反応生成物の同定を要約する。どんなことがあっても3日までは硬化は観察されなかった。ACPからPCAリン酸カルシウムへの変換が起こりうるが、促進剤の存在は固化及び硬化を達成させるのに望ましいことが結論された。

20

表 8

促進剤の不存在下でのACPの変換

ACP	H ₂ O (g)	インキュベーション	硬化	FTIR	XRD
ACP (例5)	0.8	30分間 12時間	軟らかい 軟らかい	ACP PCA*	ACP PCA*
DCPD (例8) 38~53 μm	0.7	30分間 12時間	軟らかい 軟らかい	DCPD DCPD	ND
ACP (例7) 加熱活性化せず	1.5	30分間 12時間	軟らかい 軟らかい	PCA* HA	ND
ACP (例5) 炭酸塩化せず	1.5	30分間	軟らかい	ACP	ND
ACP (例6) 加熱活性化せず	1.5	30分間	軟らかい	ACP	ND
ACP (例5) 炭酸塩化せず、加熱活性化	1.5	30分間	軟らかい	PCA*	ND

30

40

PCA* =不完全結晶性アパタイト系リン酸カルシウム

ND =分析を実施せず

例 2 4

50

硬化及び最終生成物に対する異なった水和剤の効果。

水和前駆体（ACP及びDCPD）を、例8、9又は10に記載のようにして、ただし種々の水和剤を使用することを除いて、調製した。次いで、試料を種々の時点での硬度及び反応の完全性について試験した。全ての場合に、1gの混合前駆体を0.75～1.0mLの水和媒体により水和させてペーストを生じさせた。表9は結果を要約し、種々の水を主体とした液体、特に生理学的に許容できる媒体がPCAリン酸カルシウムの調製に使用できることを立証する。

表 9
水和剤の効果

水和用媒体	インキュベーション時間	硬化
Tris	30分間	硬い
0.9M NaCl	30分間	硬い
MEM	30分間	硬い
MOPS	30分間	硬い
HEPES	30分間	硬い
BUFFERALL	30分間	硬い
PBS	30分間	硬い

例 2 5

ACPを、例5に記載のようにするが、ただし450℃でのACPの加熱を1時間か又は6時間行うことを除いて、調製した。加熱に続いて、ACPを例8に記載のようにDCPDとの反応のために準備した。6時間加熱したACPにより調製された水和PCAリン酸カルシウム前駆体は37℃で2時間後に硬化しないことがわかった。

例 2 6

例10-5に従って調製したPCAリン酸カルシウムの硬化した試料の多孔度を決定した。

湿ったインキュベーターから取り出した直後にPCAリン酸カルシウムの硬化した試料（1g）を秤量し、次いで室温で12時間風乾した。乾燥試料を注意深く秤量し、次いで容積を計算した。試料を20mLの試料水中に入れた。1分後に、およそその置換容積が認められた。乾燥試料は、その乾燥重量の50～60%までH₂Oを再吸収することがわかった。これらの結果は、試料が50～60%まで多孔質であることを意味するものと説明される。密度はほぼ1.65g/cm³であった。

例 2 7

この例は、ACPからPCAリン酸カルシウムへの変換を促進させるために再吸収性の重合体の使用を証明する。

顆粒状PLLAを調製し、100μmの粒度に篩い分けする。このようにして得られた粉末を例9のACP（5：1のACP：PLLA）と混合し、SPEX実験室用ミルで5分間粉碎する。1gの混合物に水を添加して加工可能なペーストにする。このペーストを球体に成形し、湿った環境で37℃に1時間加熱する。硬化した試料をFTIR及びXRDを使用して分析する。

例 2 8

この例は、周囲温度以下の温度での水和前駆体の硬化特性を研究する。

水和前駆体を例 9 に記載のように水を使用して調製し、次いで蒸発損失を避けるためにパラフィンか又はアルミニウムチューブ内にしっかりと密封した。次いで、試料を 1 時間、24 時間及び 6 日間保持した。指定した時点で、37 の湿った環境に置いた冷蔵庫から水和試料を取り出した。全ての場合に、試料は 30 分間以内に硬化した。

例 2 9

この例は、大きい動物モデルにおける体重保持四肢の完全分節欠損部の治癒を促進させる際の本発明の P C A リン酸カルシウム の 効 能 を 立 証 す る 。

水和前駆体タイプ 2 及びタイプ 10 を例 16 に記載のように手術直前に調製し、処理した。

動物は麻酔前に 24 時間断食させたが、この間に水は任意に得ることができた。動物を完全に麻酔させる 15 分前にケタミン (A e s c o k e t (登録商標)、10 mg / kg、i . m .) 及びアトロピン (1 . 5 mg、i . m .) を前投薬として投与した。麻酔剤としてエトミデート (H y p n o m i d a a t (登録商標)、0 . 3 mg / kg、i . v .) を使用した。挿管した後、麻酔を 2 % のイソフルランを追加して O₂ / N₂O 混合物 (1 : 1、v o l / v o l) により維持した。

外科手術を完全麻酔の下で無菌状態で達成した。毛を剃り、皮膚を沃素化した後、頸骨の前方内側上に切開を作った。筋肉をぶっさらぼうに解剖し、可能な限り組織のない頸骨軸を調製した。髄質腔を拡げた後、骨髓内用釘 (直径 8 mm) を孔を介して前方頸骨平坦部に挿入した。挿入した釘を 2 本の近位のボルト及び 2 本の末端ボルトにより締めた。次いで、頸骨の中央軸に糸鋸及び振動鋸によって 20 mm の骨膜分節欠損部を作った。

処理群に従って欠損部を充填した。一方の群では、自己骨を同側腸骨稜から採取し、欠損部に入れた。他方の群では、ほぼ 2 ~ 4 g の水和 P C A リン酸カルシウム前駆体 (タイプ 2 又はタイプ 10) を手により適用して欠損部に充填した。軟質組織及び皮膚を再吸収性縫合材料により層状に閉じた。

動物は、術後 3 日間にリンコマイシン / スペクチノマイシン (V u a l i n P l u s (登録商標)、5 mg / 10 mg / kg / 日) を筋肉内注射により受けた。動物は、手術した肢の全体重の保持が可能になるやいなや放牧場の外で飼った。頸骨の外移植の前に動物を以下のように犠牲にした。前投薬として、ケタミン (A e s c o k e t (登録商標)、500 mg、i . m .) 及びキシラジン (P o m p u n (登録商標)、40 mg、i . m .) を与えた。次いで、0 . 5 mg のくえん酸フェンタニル (F e n t a n y l (登録商標))、10 mg のエトミデート (H y p n o m i d a t e (登録商標))、4 mg の臭化パンクロニウム (P a v u l o n (登録商標)) 及び 1 . 4 g の塩化カリウムを静脈内投与した。

本発明の P C A リン酸カルシウムを受ける動物は、3 ヶ月で完全な治癒を証明した。次いで、試験骨を動物から解剖し、強度について試験した。予備的な結果は、本発明の P C A リン酸カルシウムが 3 ヶ月以内に再吸され収骨化されて自家骨と同等か又はこれよりも良好な骨を生じることを示した。

例 3 0

この研究の目的は、イヌの下顎骨部位における本発明の P C A リン酸カルシウムの二つの処方物の再吸収、骨形成及び生体適合性を評価することであった。予備硬化した P C A リン酸カルシウムを、増殖モデルとしても使用することができるイヌの下顎骨アンレーモデルに移植した。

試験片は例 11 に記載したタイプ 2 及びタイプ 10 に相当する二つの処方物における P C A リン酸カルシウムであった。P C A リン酸カルシウムを、移植の直前に湿った環境でほぼ 40 で予備硬化した。対照例インプラントはシリコーン及び多孔質ヒドロキシアパタイトのそれぞれ 3 mm x 4 mm の円筒体であった。

研究には 2 頭の雌の獵犬 (20 ~ 25 kg) を使用した。2 頭のイヌの双方は、下顎骨の右側に 2 個の対照例インプラント (それぞれ 1 個) を、左側 (反対側) にタイプ 2 及びタ

10

20

30

40

50

タイプ 10 の P C A リン酸カルシウムの処方物のそれぞれ 1 個を受けた。

移植は完全な麻酔及び無菌手術条件したに達成した。動物にはトランキライザー及びアトロピン型薬剤を前投薬し、バルビツレートにより導入させた。動物の生命サイン（体温、心拍数、呼吸数）を操作の前及び操作中ずっと監視した。動物を足指の採り及び角膜の刺激により適当な麻酔の深さについて試験した。適切な麻酔を得た後に、無菌技術を使用して、下顎骨及び近位の首（下顎骨の下方の縁上）の中間側方表面上の皮膚に切開を作った。軟質組織を横にそらし、骨を露出させた。外側下顎骨表面上の骨膜を上げ、骨表面をバール又はドリルによってそれが円筒状インプラントを受けるための形状で粗く且つ血だらけになるまで粗くされた。対照例物品及び予備硬化した P C A リン酸カルシウムを欠損部に入れた。この方法を使用して、側面毎に動物 1 頭当たり 2 個の試料をそれぞれの外側下顎骨表面上に載せた（2 個の実験用 P C A リン酸カルシウム試料及び 2 つの対照例）。試料は、互いに並ばないようにするため約 1 c m 離して置いた。まず、3 . 0 ピクリルを使用して骨膜を閉じた。次いで、軟質組織を 3 - 0 ピクリル再吸収性縫合系により層状に閉じた。皮膚を 5 - 0 ナイロンの単純なとぎれた縫合系により閉じた。動物は予定された期間にわたって治癒させた。一方のイヌを 3 週間目に、他方のイヌを 3 ヶ月目に犠牲にし、試験部位を組織学的研究のために切除した。全ての動物を安楽死させ、同定用のマークを集めた。

10

移植部位を脱灰してない切片として調製した。切片を生体同化性、生物分解性及び生体適合性について評価した。

結果は次の通りである。全ての時点で、優れた生体適合性が認められた。巨細胞及び最小マクロファージは観察されなかった。P C A リン酸カルシウムインプラントの基部には数個の細胞厚にすぎない最小の反応層だけが存在した。これは、対照例のいずれについても観察されたよりも相当に良好である。

20

3 週間目に、タイプ 2 の材料の大部分は再吸収された。12 週目に、タイプ 2 は元の骨の表面に完全に再吸収された。さらに、ソケットにおける骨は十分に差異が認められなかった。

タイプ 10 試料は、骨同化と、新しい骨の内方成長及びインプラントへの細胞の移動を立証した。インプラント自体は、12 週間後にほぼ 10 % 再吸収された。

再吸収性ではないシリコーン対照例インプラントは、小さいし中程度の異物反応を示した。空隙は 3 週間で充填されなかったが、12 週までに繊維組織により充填された。ヒドロキシアパタイト対照例インプラントは、最初の 12 週間以内に再吸収又は骨同化性を示さなかった。

30

この実験は、本発明の P C A リン酸カルシウムの優れた生体適合性を確認するものである。さらに、2 種の P C A リン酸カルシウム処方物の間の再吸収時間の相違が、前駆体を長時間にわたって混合 / 粉碎した試料（タイプ B）について延長された再吸収時間の経過と共に観察された。

また、これらの結果は、例 29 の迅速骨形成過重保持の適用例と比較して、非荷重保持の下顎骨インプラント部位で観察された遅い再吸収及び骨形成性を指摘している。最後に、結果は、増殖整形外科において適切な骨同化のためには P C A をゆっくりと再吸収する必要性を立証している。

40

例 3 1

この例は、室温でカバーしないで水和前駆体を保持する効果を証明する。

乾燥前駆体を例 11（b）に記載のように調製した。乾燥前駆体を指定量の水と混合し、室温で種々の時間にわたりカバーしないで放置した後に 16 番ゲージの針により硬化及び注入適性について試験した。結果を表 10 に記載する。

表 10

室温で放置後のペーストの注入適性

試料重量 (g)	添加水 (mL)	混合時間 (s)	放置時間 (分)	室温 (℃)	16番ゲージ針の注入 適性	硬化 30分/ 37℃
1	0.8	20	10	25	非常に良好	非常に良好
1	0.8	20	20	24	非常に良好	非常に良好
1	0.8	20	30	25	非常に良好	非常に良好
1	0.8	20	40	25	良好	非常に良好
1	0.8	20	50	24	劣る	非常に良好
5	4.2	40	10	24	非常に良好	非常に良好
5	4.2	40	20	25	非常に良好	非常に良好
5	4.2	40	30	25	良好	非常に良好
5	4.2	40	40	25	劣る	非常に良好

これらの結果は、1 g の試料が 45 分間まで周囲温度で注入できるペーストとして安定であり得ること、5 g の試料が周囲温度（空气中、25℃）で 30 分間まで注入できるペーストとして安定であり得ることを立証する。

例 3 2

液圧プレスを使用する前駆体の圧縮。この例は、液圧プレスによりペレットを調製する方法を例示する。

カルバー実験室用プレスを使用する。特定の量の粉末を重量で測定する。次いで、この粉末をダイセット付きの型に入れる。高さ又は厚みを型に使用した材料の重量部で決定する。材料がダイセットにあるときに、型を液圧プレス上に置く。所望の荷重をプレスにセットする。次いで、材料を特定の時間にわたって圧縮する。時間が経過した後、生じたペレットをダイセットから保持用容器に排出させる。

ロット AB971002 からの 0.5 g の試料、ID = ABCOM1 をカルバー実験室用プレスで 500 psi（ポンド／平方インチ）で 5 分間圧縮した。生じたペレットの物理的外形は、直径 = 13 mm、高さ = 3 mm であり、密度は 1.27 g/cm^3 であった。

機械的強度は硬く且つ手により破壊できるものと記載された。FTIR 分析の後、ペレットは、湿った組織内に 70% の PCA、20 mL の蒸留水中に 90% の PCA、炭酸塩緩衝溶液（ $\text{CO}_3 - 20.2$ モル）中に 100% の PCA であった。ロット AB971002 からの 0.5 g の第二の試料、ID = ABCOM2 をカルバー実験室用プレスで 4700 psi で 5 分間圧縮した。ペレットは、次の結果：直径 = 13 mm、高さ = 2 mm を有し、密度は 1.99 g/cm^3 であった。機械的強度は硬く且つ手により破壊できるものと記載された。ペレットを 37℃ で 60 時間インキュベーションし、FTIR 分析により分析すると、次の結果が分かった。湿った組織内に 60% の PCA、20 mL の蒸留水中に 60% の PCA、炭酸塩緩衝溶液（ $\text{CO}_3 - 20.2$ モル）中に 60% の PCA であった。

例 3 3

手動プレスを使用する前駆体の圧縮。この例は、手動プレスによりペレットを調製する方法を立証する。

パーキンエルマークイックプレスを使用する。クイックプレスと組み合わせた選定したダイセットを使用して直径が7 mmのペレットを作る。また、所望の測定によっては、種々の直径の他のダイセットも使用することができる。ペレットの表面は、型の形状によっては、平らに又は丸くすることができる。試料を選定したダイセットに装入する。試料の量が増大するにつれて、ペレットの厚みも増大する。次いで、参照位置をクイックプレスの頂部にセットした種々の手動位置から選定する。ダイセットをクイックプレスの所定の位置に入れる。定常圧力をクイックプレスのハンドルに選定した時間にわたり適用する。時間が切れたならば、底キャップをダイセットから外し、ペレットをダイセットから引っ張り出すために頂部ダイに圧力を適用することによってペレットを型から取り出す。

ロットA B 9 7 1 0 0 2からの0.08 gの試料、ID = A B c o m 3を7 mm直径のダイセット中で測定する。クイックプレスの手動位置を20に設定し、1分間圧縮した。生じたペレットは7 mmの直径及び1.5 mmの高さを有し、密度は1.39 g / cm³であった。ロットA B 9 7 1 0 0 2からの0.1 gの第二の試料、ID = A B c o m 4を7 mm直径のダイセット中で測定する。クイックプレスの手動位置を20に設定し、30秒間圧縮した。7.0 mmの直径及び2.0 mmの高さを有するペレットが形成され、密度は1.23 g / cm³であった。

例 3 4

異なった媒体によるPCAペレットの挙動。この例は、異なった媒体中でのPCAリン酸カルシウムペレットの挙動を説明する。

選定された4種の媒体は、- MEM (最低必須媒体)、TBS (T r i s ウシ血清: 50 mMのT r i s + 150 mMのNaCl)、- MEM + FBS (胎生ウシ血清10%)及び完全媒体 (TBSに37 で2時間浸漬、次いで(- MEM + FBS)に浸漬)であった。

混合前駆体ACP及びDCPDの0.3 g試料をカルバー実験室用プレスを使用して7トンで1分間圧縮した。生じたペレット(a)は12 mmの直径及び1 mmの高さを有した。このペレットを10 mLの蒸留水に37 で30分間入れた。インキュベーションした後、ペレットを6 mLの異なった媒体に37 で24時間及び48時間入れた。

混合前駆体ACP及びDCPDの第二の1 g試料を0.8 mmの蒸留水と混合した。混合物を球体にロール加工し、10 mmの蒸留水に37 で30分間落下させた。次いで、球体を乳鉢と乳棒を使用して粉碎して微細粉末を得た。この粉末をカルバー実験室用プレスを使用して7トンで1分間圧縮した。生じたペレット(b)は12 mmの直径及び1 mmの高さを有した。次いで、このペレットを異なった媒体に37 で24時間及び48時間入れた。

37 でインキュベーションした後に、媒体溶液のpHを0時間、24時間及び48時間の異なった時間で測定した(25 で)。この研究の結果を表11に示す。

表 1 1

溶液のpH

試料の調製	α - MEM			TBS			α - MEM + FBS			完全		
	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h
a	7.6	8.1	7.9	7.5	7.0	6.8	7.5	7.7	8.2	7.6	7.9	7.9
b	7.3	7.3	7.1	7.3	6.5	6.0	7.4	7.5	7.5	7.5	7.5	7.3

例 3 5

反応性前駆体、凍結乾燥、粉碎、圧縮。

本例は、PCAリン酸カルシウムペーストからペレットを形成する方法を例示するものである。

促進剤としてACP及びDCPDを使用してPCAを作る。生物学的に適した水性媒体として食塩水を使用する。調製したPCAペーストを次いでインピトロで37℃でリオホル（lyophil）硬化させ、その後に凍結乾燥させる。硬化したPCA物質を次いで手によって粉碎する。一旦粉碎してから、PCA物質を例32及び33に記載の方法によってペレットに成形する。

例 3 6

賦形、硬化、粉碎せずに凍結乾燥。

本例は、PCAリン酸カルシウムペーストからペレットを形成する方法を示す。

前駆体として、ACP及びDCPDを選択する。適正量の食塩水を使用してPCAペーストを作る。PCAペーストを所望の形態に賦形する。次いで、それをインピトロにおいて37℃で30分間インキュベーションする。硬化した物を次いで凍結乾燥する。

例 3 7

各方法を比較する生体内での実験。

本例は、生体内での実験によってペレットを製造する各方法を比較するものである。

例32に従ってペレットを作る。2個のペレットをイヌの大腿骨に移植する。動物を犠牲にし、そして3、4及び6週間目の時点において移植部位を残留物について分析する。各時点において、移植部位の脱灰した及び未脱灰のスライドを調製しそして着色する。これらのスライドを組織形態学的に分析して、調製したペレットとPCAリン酸カルシウムペーストのものとの類似点を調べる。

例 3 8

充填剤又はバインダーの組み込み。

本例は、充填剤を使用するの塑性流れの研究、特にペレットの引張強度に及ぼす影響を例示するものである。

ペレットの製造に関連して、圧縮性砂糖を充填剤として使用する。砂糖を圧縮前に前駆体ACP及びDCPDと1:1:1の比率で混合する。全圧縮サイクルの期間及び最大圧縮力の期間を変更して例33に従ってペレットを製造する。ペレットの引張強度を比較することによって砂糖充填剤の有効性を測定する。引張強度を計算するのに使用した等式は、

$$\sigma = 2 F / \pi d t$$

[式中、 σ は強度であり、Fは錠剤を割るのに要する力であり、dはペレットの直径であり、そしてtは錠剤の厚さ又は高さである]

である。

例 3 9

ペレット中のワクチンの送出。

本例は、ワクチン用の送出ビヒクルとしてペレットを使用する方法を説明するものである。

棘皮動物であるカサガイのヘモシアニンをpH7のリン酸塩緩衝食塩水中において0.5 mg/mLの濃度で調製する。この溶液の0.8 mLを活性ACDとDCPDとの1:1混合物1 gに添加し、そして混合してパテを作る。調製したPCAパテを次いで凍結乾燥させる。SPEX 8505 アルミナセラミック粉碎室を持つSPEX 8510 実験室用ミルを使用して、乾燥物質を10分間粉碎して粉末にする。次いで、粉末にしたPCAを例32に記載の如くしてペレットに調製する。例32によって形成したペレットをラットに皮下移植する。このプロセスを月1回の基準で4ヶ月間反復する。定期的な基準で血液試料を採取し、そして抗棘皮動物カサガイヘモシアニン抗体滴定量をELISAによって測定する。

例 4 0

本例は、別の第二のリン酸カルシウム源を使用するPCAリン酸カルシウムの製造を記載

10

20

30

40

50

するものである。予備硬化PCAリン酸カルシウム及び結晶質ヒドロキシアパタイトの両方を反応性非結晶質ACPと反応させてPCAリン酸カルシウムを製造する。

(a) 1995年11月7日付け出願の米国特許出願08/554817に記載される如くして開始剤(Mg⁺⁺又はピロリン酸塩を有しない)として炭酸塩のみを使用して不完全結晶性HAを調製する。ここにかかる米国特許出願を参照の対象として挙げる。得られた粉末を次いで凍結乾燥した。

(b) オールドリッチ・ケミカルズから粉末形態のヒドロキシアパタイトを入手した(#28、936-6; ロット00325AQ)。

2種の粉末の各々に例5に記載の如くして製造した反応性非晶質リン酸カルシウムを1:1で混合し、そして水を混合した。両方の混合物は37℃において30分以内に硬化し、そして反応生成物のIRスペクトルは例8に従って製造したPCAリン酸カルシウムのものと実質上同じであった。

例41

本例は、本発明の複合物中に使用することができる粒状PCAリン酸カルシウムの製造を記載するものである。

例5及び8に記載の如くして反応性非晶質リン酸カルシウム及びDCPDを調製し、そしてこれらを使用して例8に記載の如くして不完全結晶性ヒドロキシアパタイトを調製する。硬化したPCAリン酸カルシウムを夜通し凍結乾燥し、粉碎機で微粉碎し、次いで1個以上の篩に通して所望の粒度を得る。次いで、粒子をPLGA中に導入する。次の如き種々の複合物マトリックス、

(a) PLGA中における25µm平均粒度PCAリン酸カルシウム(10%wt/wt)、

(b) PLGA中における25µm平均粒度PCAリン酸カルシウム(5%wt/wt)

、

(c) PLGA中における100µm平均粒度PCAリン酸カルシウム(5%wt/wt)、及び

(d) PLGA中における200µm平均粒度PCAリン酸カルシウム(5%wt/wt)

を調製する。

上記の如くして調製した複合物を齧歯類の筋肉内に置き、そして例16に従って吸収速度を測定して吸収性バイオセラミック複合物で使用するのに適合する複合物を同定する。

例42

本例は、吸収性PCAリン酸カルシウム複合物の製造及び試験を記載するものである。

例1及び2に従ってPCAリン酸カルシウムを調製してペーストを形成させた。このペーストを、37℃の水に浸漬した6mm(直径)×10mm(深さ)の中空テフロンチューブに30分間入れた。次いで、硬化したPCAリン酸カルシウムをチューブから取り出し、37℃の水に1時間入れ次いで、湿っている間に、複式の10kg/15トン荷重セルを有するインストロン試験機4206に垂直に入れた。圧縮試験を使用して圧縮性を決定した。試料を破損に至らせるにはほぼ200~250Nが要求された。この力は7~9MPaの圧縮強度に相当する。

ポリ(ラクチド)ホイスカーを約5~100µm直径×10~250µmの平均寸法で調製する。ホイスカーを上記のように調製した不完全結晶性ヒドロキシアパタイトペーストと10%wt/wtの濃度で混合する。この組成物ペーストを湿った環境で37℃で終夜硬化させる。圧縮性について試験すると、この組成物は組成物としてないPCAリン酸カルシウムよりも向上した圧縮性を有することがわかった。

例43

本例は、吸収性PCAリン酸カルシウム組成物の製造及び試験を記載するものである。

例13又は例41に記載の如くしてPCAリン酸カルシウム/ポリ(ラクチド)複合物ペーストを調製する。ペーストを骨髄間用くぎ、支持プレート及びネジの形状にある型に充填する。型を湿った環境中において37℃で3時間加熱し、そして硬化した物を型から取

10

20

30

40

50

り出す。例 19 に記載した操作に従って複合物からなる物を動物のモデルに移植するが、すべての場合にその物を骨形成細胞と確実に接触させる。6 ヶ月以内に完全に吸収されて骨化することが判明した複合物は、生物吸収性バイオセラミック複合物インプラント材料として使用するのに適合する。

例 4 4

本例は、骨充填剤又はセメントとして使用するための吸収性複合物を記載するものである。

例 8 に記載の如くして先ずペーストを調製することによって P C A リン酸カルシウム / デキストラン複合物を調製することができる。ペーストに 10 % vol/vol の多分散デキストランを十分に混合し、湿った環境中で硬化させると、向上した強度及び圧縮性を有することを示すことができる。次いで、硬化した複合物を例 19 に従って動物のモデルの骨折部位に導入することができる。吸収及び骨化の時間を測定する。例 29 に従ったスクリーニングを使用して、吸収性バイオセラミックインプラント材料としての複合物の適合性を決定する。

例 4 5

本例は、生物分解性外部被膜による P C A リン酸カルシウム粒子の被覆を記載するものである。この態様で製造された粒子は、P C A リン酸カルシウム単独と比較して初期の遅れ期間の経過後に吸収され且つ（又は）骨化する。

P C A リン酸カルシウム粒子は、例 8 に記載の如くして調製されることができる。かかる粒子は、例 11 で使用される方法に従って 60 ~ 100 ミクロンの範囲内の平均粒度を有する一連の均一なロットで製造することができる。次いで、これらの粒子は、ポリ（ラクチド）で均一に浸漬被覆することができる。被覆粒子は吸収速度を評価するために筋肉内に置かれるが、この速度は未被覆粒子と比較して遅らされる可能性がある。

例 4 6

本例は、P C A リン酸カルシウム / ヒドロキシアパタイト複合物を使用して新しい骨を形成することを記載するものである。この形態の骨は、増殖療法において有用である。

結晶質ヒドロキシアパタイトは、50 ~ 200 ミクロン粒子として調製する又は得ることができる。これらの粒子を P C A リン酸カルシウムペースト中に約 1 ~ 50 重量%で導入し、そして十分に混合することができる。得られた複合物ペーストを所望の形状に成形し、骨形成性細胞を播種し、皮質骨に隣接して移植し、そして縫合及び軟質組織近置法によって固定することができる。また、複合物は、例 19 の方法に従って外科的に形成された受容体の骨の上に座着させることもできる。3 ヶ月後、移植部位を例 19 における如くして調べて、粒状ヒドロキシアパタイトを含浸させた新しい骨が形成インプラント材料の形で形成されることを立証することができる。

例 4 7

本例は、滑剤を含む P C A リン酸カルシウム複合物の形成を記載するものである。

例 8 に従って P C A リン酸カルシウムペーストを調製することができる。そのペーストにシリコーン油を 0.1 ~ 30 重量%の範囲内の濃度で混合することができる。硬化反応が起こる前に、16 ~ 22 ゲージ針を通してペーストを注入することができ、そして未処理ペーストと比較して有意に向上した注入適性を有することが分かる。

例 4 8

本例は、P C A リン酸カルシウム複合物を使用して目的物を受容体の骨に埋め込むことを例示するものである。固定装置の配置の他に同様の方法を使用してほとんど任意の所望の物質を受容体の骨に埋め込むことができ、そしてその例として支持棒及び繊維、造影剤、及びテフロンプレートの如き摩擦減少物質が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

2 cm ダクロン縫合系の上に直径約 1 mm のダクロンループを形成することができる。ループから約 2 mm 離れた縫合系内に結節を置くことができる。次いで、縫合系を結節のところでトリミングして 2 mm 結節尾部を持つループを残すことができる。受容体の骨に 1 mm 直径の穴を約 3 mm あけることができる。縫合系の結節端を穴の中に入れ、次いで穴

10

20

30

40

50

に P C A リン酸カルシウムペーストを充填することができる。6 ヶ月後に、縫合部位を P C A 物質の吸収について調べて吸収性バイオセラミック複合物のとしての複合物の適合性を評価する。

上記の操作は、次の修正と共に第二の被験物において反復することができる。穴の中に結節縫合系を置いた後に、予備硬化された P C A リン酸カルシウムプラグを穴の中に確実に押し込み、これによって縫合系をその場所に機械的に固定させることができる。次いで、穴を不完全結晶性ヒドロキシアパタイトペーストで封止することができる。6 ヶ月後、縫合部位を P C A 物質の吸収について調べてその複合物の吸収性バイオセラミック複合物としての適合性を評価する。

例 4 9

この研究の目的は、イヌの下顎骨部位における本発明の P C A リン酸カルシウムの二つの処方物の吸収、骨形成及び生体適合性を評価することであった。予備硬化した P C A リン酸カルシウムを、増殖モデルとしても使用することができるイヌの下顎骨アンレーモデルに移植した。

試験物は例 1 8 に記載したタイプ 2 及びタイプ 1 0 に相当する二つの処方物である P C A リン酸カルシウムであった。P C A リン酸カルシウムを、移植の直前に湿った環境でほぼ 4 0 で予備硬化した。対照例インプラントはシリコーン及び多孔質ヒドロキシアパタイトのそれぞれ 3 mm x 4 mm の円筒体であった。

研究には 2 頭の雌のハウンド型成犬 (2 0 ~ 2 5 k g) を使用した。双方のイヌは、下顎骨の右側に 2 個の対照例インプラント (それぞれ 1 個) を、左側 (反対側) にタイプ 2 及びタイプ 1 0 の P C A リン酸カルシウムの処方物のそれぞれ 1 個を受けた。

移植は完全な麻酔及び無菌手術条件下に達成した。動物にはトランキライザー及びアトロピン型薬剤を前投薬し、バルビツレートにより導入させた。動物の生命サイン (体温、心拍数、呼吸数) を操作の前及び操作中ずっと監視した。動物を足指の抓り及び角膜反射により適当な麻酔の深さについて試験した。適切な麻酔を得た後に、無菌技術を使用して、下顎骨及び近位の首 (下顎骨の下方の縁上) の中間側方表面上の皮膚に切開を作った。軟質組織を横にそらし、骨を露出させた。外側下顎骨表面上の骨膜を上げ、骨表面をボール又はドリルによってそれが円筒状インプラントを受けるための形状で粗く且つ血だらけになるまで粗くされた。対照例物品及び予備硬化した P C A リン酸カルシウムを欠損部に入れた。この方法を使用して、側面毎に動物 1 頭当たり 2 個の試料をそれぞれの外側下顎骨表面上に載せた

(2 つの P C A リン酸カルシウム実験試料及び 2 つの対照試料) 。各試料を約 1 c m 離してそれらが互いに並ばないようにした。最初に 3 . 0 のピクリルを使用して骨膜を閉じた。次いで、軟質組織を 3 - 0 のピクリル吸収性縫合系を使用して層状で閉じた。皮膚を 5 - 0 ナイロンの簡単な断続縫合系で閉じた。動物を健康回復のために予定の期間の間放置した。一方のイヌを 3 週間目に、他方のイヌを 3 ヶ月目に犠牲にし、そして試験部位を組織学的検査のために取り出した。すべての動物を安楽死させ、そして識別マークを集めた。

移植部位を未脱灰切片として準備した。各切片を生体同化性、生物分解性及び生体適合性について評価した。

結果は次の通りであった。すべての時点において、優秀な生体適合性が観察された。巨大細胞及び最小マクロファージは全く観察されなかった。P C A リン酸カルシウムインプラント材料の底部に僅か数個の細胞の厚さの最小反応層だけが存在していた。これは、対照試料のどちらかで観察されるよりも有意に良好である。

3 週間目において、タイプ 2 材料の大半が吸収された。1 2 週間目において、タイプ 2 は、元の骨の表面へ完全に吸収された。加えて、腔 (ソケット) にある骨は完全には分化されなかった。

タイプ 1 0 試料は、新しい骨の内部成長及びインプラント材料への細胞移行によって骨同化を示した。インプラント材料それ自体は、1 2 週間後にほぼ 1 0 % 吸収された。

吸収性でないシリコン対照例インプラント材料は、軽ないし中程度の異物反応を示した。

10

20

30

40

50

空隙は3週間目で満たされなかったが、しかし12週間目までに繊維組織で満たされた。ヒドロキシアパタイト対照インプラント材料は、最初の12週間内に吸収又は骨同化の徴候を全く示さなかった。

この実験は、本発明のPCAリン酸カルシウムの優秀な生体適合性を確認するものである。加えて、2つのPCA処方物間の吸収時間の差が観察され、そして前駆体がより長い期間の間混合ノ粉碎された試料(タイプB)では長い吸収時間が観察された。

また、結果は、例21の急速骨形成負荷応用例と比較して無負荷顎移植部位ではより遅い吸収及び骨化特性が観察されることを指摘している。最後に、結果は、増殖形成外科において適切な骨同化性を得るためにはPCAを徐々に吸収することの必要性を示している。

例50

イヌの歯槽増殖ノ歯槽モデルにおけるPCAの効能研究。

本例は、抜き取ったイヌの犬歯槽において本発明のPCAを使用して骨組織を回復させることを示すものである。

各動物にトランキライザー及びアトロピン系薬剤を前投薬し、そしてバルビツレートで誘発維持する。操作の前に且つその間に動物の生命サイン(体温、心拍数、呼吸数)を監視する。次いで、動物を足指のつねり及び隔膜の刺激によって適切な麻酔の深度について試験する。

適切な麻酔を得た後に、各前臼歯の周辺から歯肉の軟質組織を静かに横にそらす。前臼歯の半分に低速歯科ドリルで穴をあけ、そして歯の口表面から歯根間の下方表面まで食塩水を移行させる。次いで、各歯の半部分を抜歯鉗子でしっかり掴み、そして歯のアタッチメントが壊れるまで静かにしっかりと回転させる。次いで、各歯の半分を取り除く。出血を圧力及び時間によって止める。すべての前臼歯を上記のようにして抜き取る。歯の除去後でPCAリン酸カルシウムの配置後に、少なくとも3つの位置において舌から口腔歯槽の厚さを測定して記録する。これらの測定をPCAリン酸カルシウム配置後に且つ検死時に反復し、そして骨の内部成長の尺度として使用する。

例11に記載の如くしてPCAリン酸カルシウムをタイプ10として調製する。前臼歯が以前に占めていた腔にある下顎骨の片側に沿って空の歯槽を位置づける。すべてのイヌにその下顎骨の片側にPCAリン酸カルシウムを移植し、そしてその反対側は未充填対照試料として未処理のままに残す。次いで、歯肉軟質組織を3-0縫合糸で層状に閉じる。外科手術操作の後に、動物をそれらが安定になるまで監視する。

各動物を健康回復のために予定の期間の間放置する。3週間目に2匹のイヌを犠牲にし、そして2ヶ月目に2匹のイヌを犠牲にする。

すべての動物を安楽死のために使用される市販品(ナトリウムペンタバルビタールの如き)で安楽死させ、次いで下顎骨及び識別マークを集め、そして10%中性緩衝ホルマリン中に又は脱灰した及び未脱灰の骨切片用の他の固定剤中に保存する。下顎骨を上記の如くして測定し、そしてX線写真を撮る。その後、試験部位を組織学的検査のために取り出す。

移植部位を脱灰した及び未脱灰の切片として準備する。切片を生体同化性、生物分解性及び生体適合性について評価する。

一匹のイヌに対して同様の操作を実施した。インプラント材料は、生体吸収性でありそして4週間内に骨同化を示すことが分かった。図26は、外科手術から4週間後の歯槽移植部位の組織学的スライドの写真であって、歯槽への骨の内部成長の程度を示している。大きい矢印は、生来の骨1と移植部位2との間の境界を示す。部位2における骨組織の広範囲の内部成長に注目されたい。歯肉組織は参照数字3で示される。

例51

骨粗鬆症脊髄腱。

本例は、骨粗鬆症椎骨の治療に使用される操作を例示するものである。

骨粗鬆症患者の死体から脊髄腱を得た。水和剤としてPCA1g当たり1.5mLの水を使用して例11に記載の如くして注入可能なPCAをタイプ10として調製した。小柱椎骨中に16番ゲージの骨生検針(この目的に対してQuantic骨針も有用である)を挿入し

10

20

30

40

50

た（例 27）。空の 50cc 注射器に取り付けた第二の 16 ゲージ針を同じ椎骨の反対側に挿入した。針の位置を X 線によって確認した（図 27）。針の位置の確認後、新たに水和した PCA を収容する注射器を骨生検針に取り付けた。生検針を徐々に抜き取りそして 50cc 注射器によって静かな吸引を適用すると同時に注射器から生検針で PCA リン酸カルシウムを徐々に注入した。注入した PCA は、移植前の骨粗鬆症椎骨（図 28a）と比較して、図 28b において X 線で椎骨内に電子稠密領域として見ることができる。これらの結果は、骨粗鬆症患者の脊髄に本発明の PCA リン酸カルシウムペーストを注入できることを確認している。

例 52

イヌの腹側腰椎の椎体内融合。

10

本例は、イヌの脊髄椎骨の融合における PCA リン酸カルシウムの使用を記載するものである。

動物に麻酔をかけ、右側面位の位置に位置づけし、腹側から背部の中間線まで毛を剃り、かくして胸部中央から骨盤まで広げた。無菌プレブ及びドレイプの後に、腹側腰椎脊髄に対する標準左側腹膜接近を L3 - L6 椎骨の露出と共にに行った。L4 及び L5 の上にある分節性血管を結紮して分け、しかして L3 - 4、L4 - 5 及び L5 - 6 円板の前外側露出を可能にした。平衡の対刃を持つ振動型のこぎり（Aesculap）を使用して、出血する肋軟骨下の骨に対して平行して調製した終板で椎間板切除を各レベルにおいて行った。椎間板切除後に、PCA リン酸カルシウム若しくは自己骨のどちらかを収容する円筒状チャンケージ又は未充填のケージを各円板腔に挿入した。ケージへの充填及び円板腔への挿入の直前に別の切開によって左腹側腸骨稜から自原性腸骨稜骨移植片を得た。3 個のすべてのケージを挿入した後に、L3 ~ L6 から 4.5 mm 椎骨身体ネジ及び 6 mm 直径縦ロッドを使用して内部固定を適用した。次いで、吸収性縫合糸及び皮膚ステープルを使用して、腹の創傷及び腸骨稜移植部位の閉鎖を層状で行った。

20

イヌを 2 週間目及び 12 週間目で犠牲にし、そして未脱灰切片の組織を新しい骨の成長及び椎骨融合の徴候について調べる。体外移植組織に対して視覚的検査を行うと、本発明の PCA リン酸カルシウムを使用した脊髄腱は融合していることが明らかであった。

他の具体例

上記の説明は本発明のある種の好ましい具体例を単に記載したものであって、いかなる点においても本発明を限定するものではないことを理解されたい。次の請求項は、ここに本明細書及び添付図面に記載した本発明の一般的及び特定の特徴のすべてを網羅するものである。

30

【図 1】

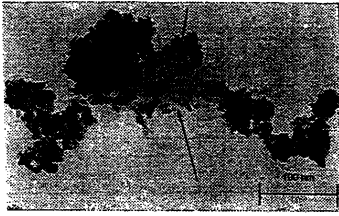


FIG. 1

【図 2】

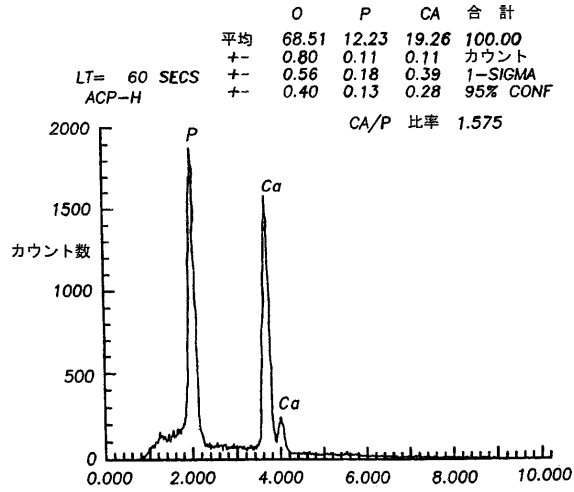


FIG. 2 エネルギー (keV)

【図 3】

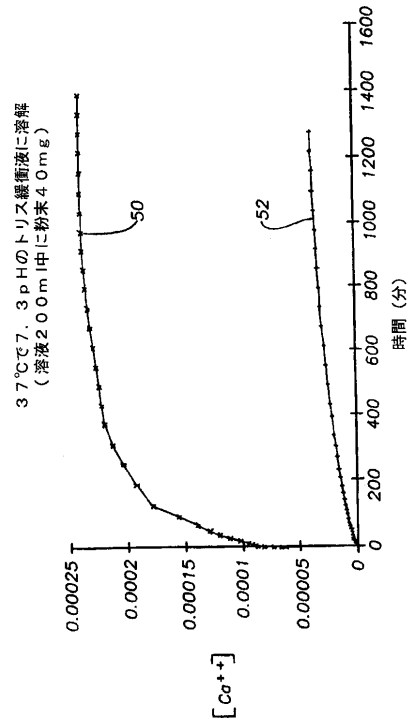


FIG. 3

【図 4 A】

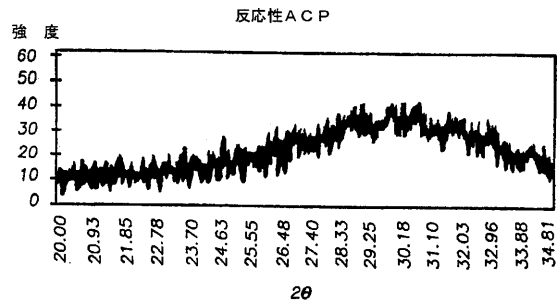


FIG. 4 A

【図 4 B】

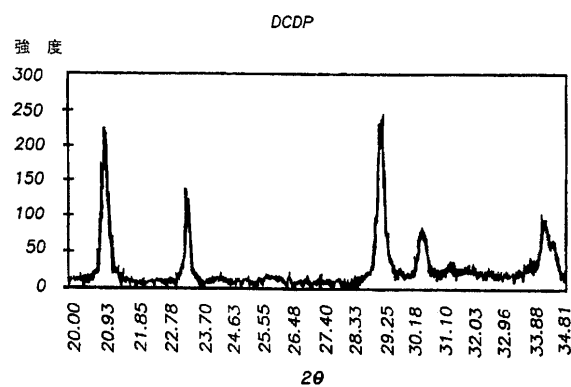


FIG. 4 B

【図 5 A】

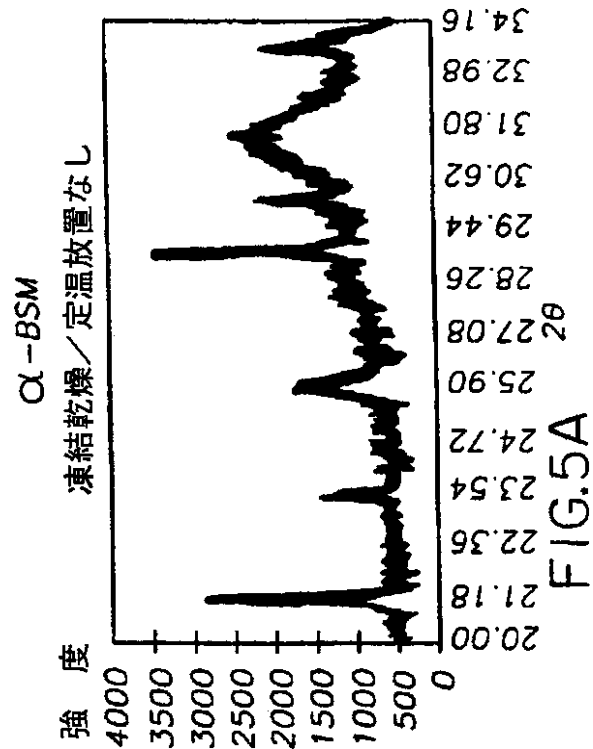
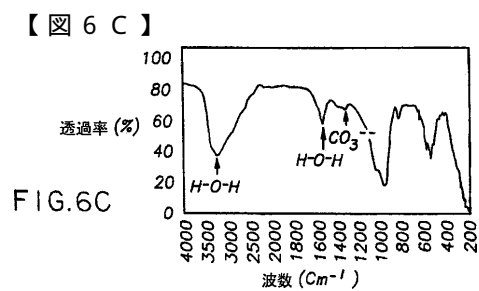
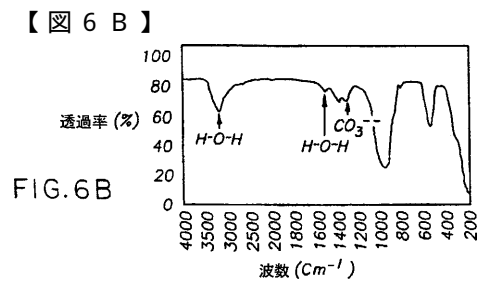
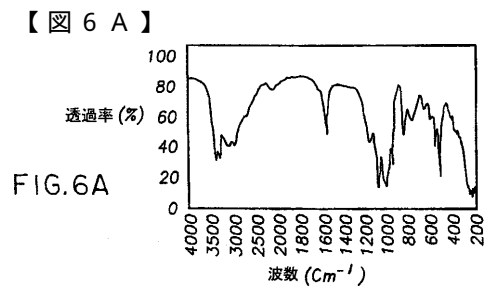
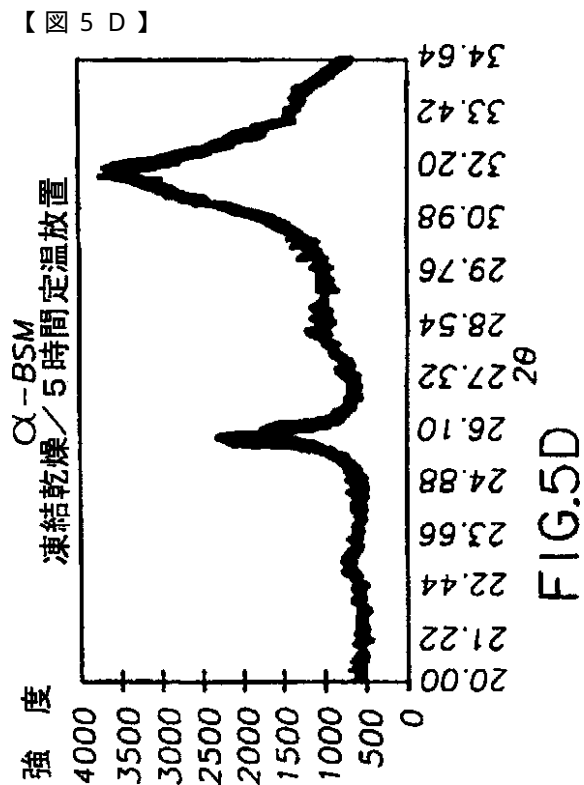
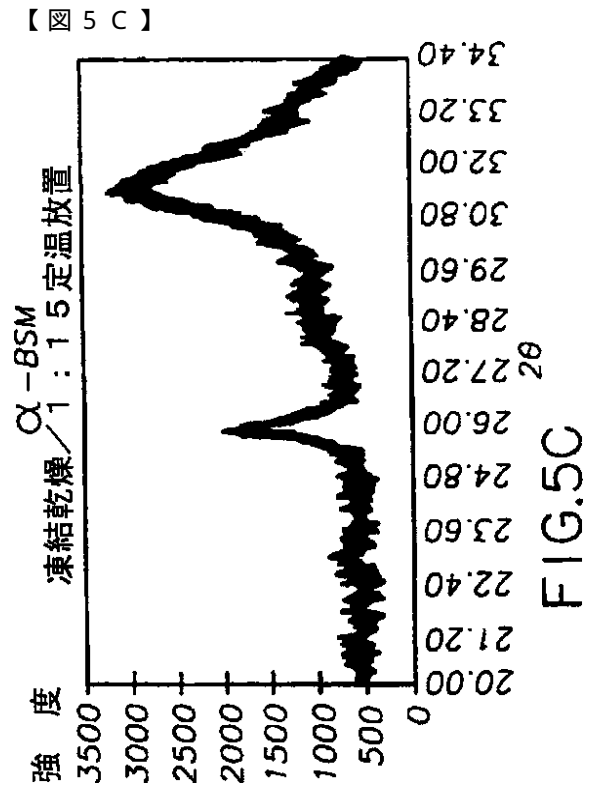
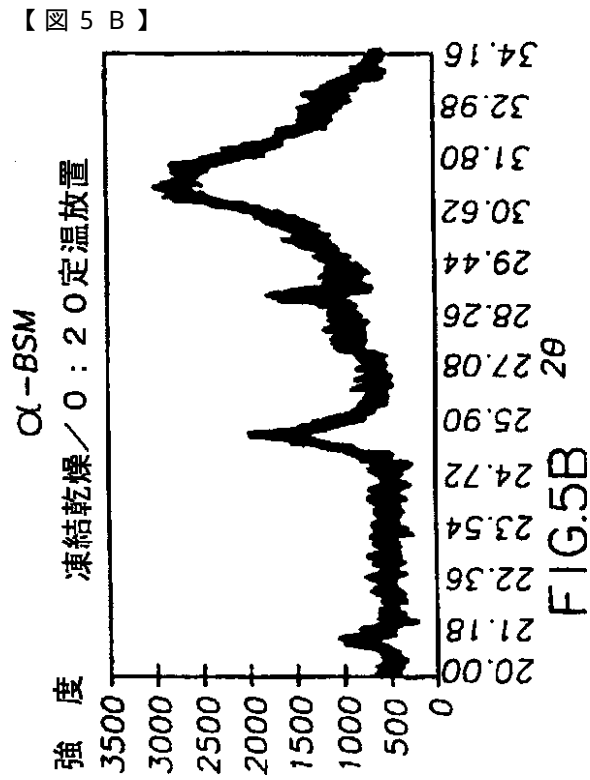


FIG. 5A



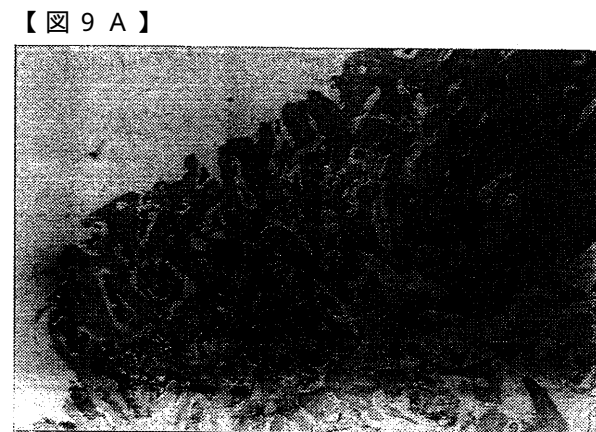
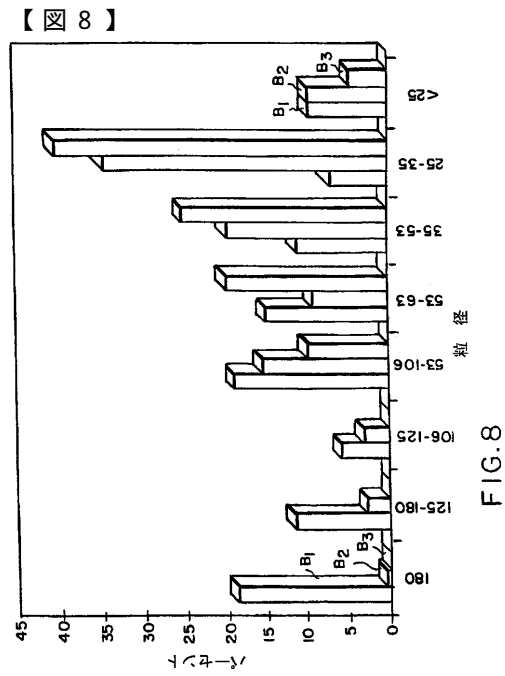
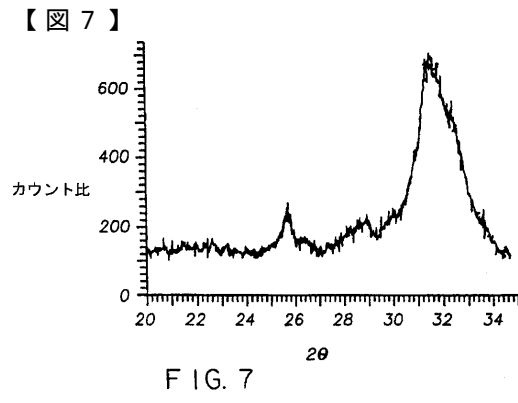


FIG.9A

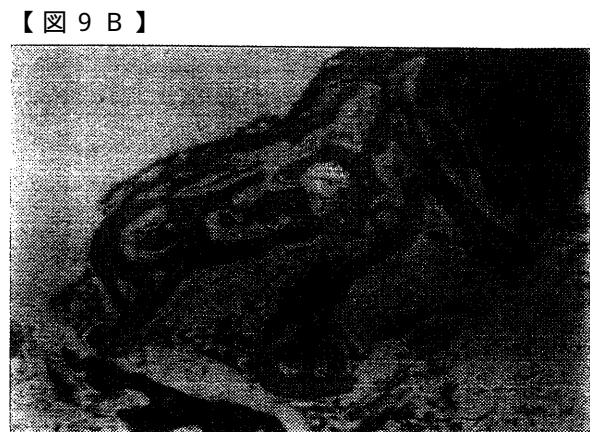


FIG.9B

【図 10】

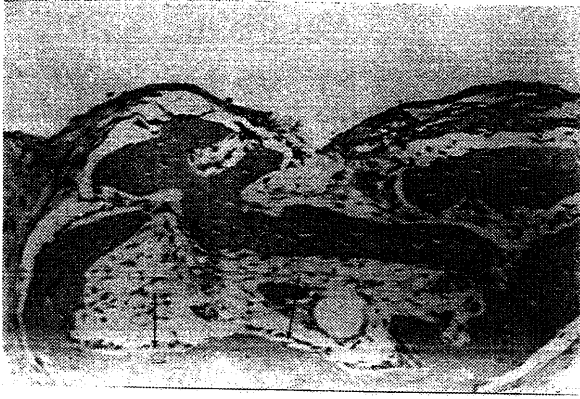
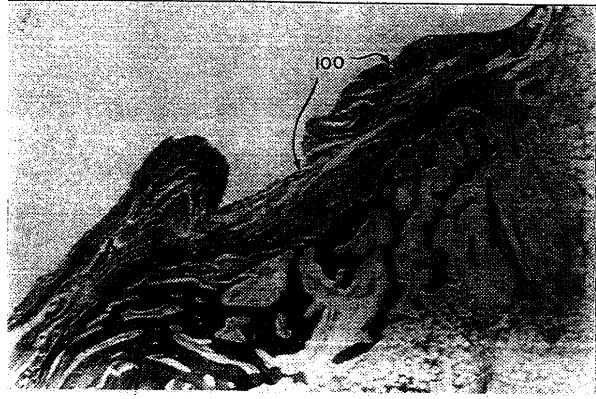


FIG.10

【図 12 A】



102

FIG.12A

【図 11】



FIG. 11

【図 12 B】

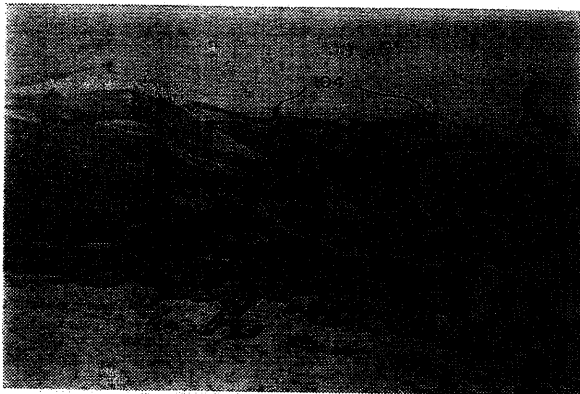
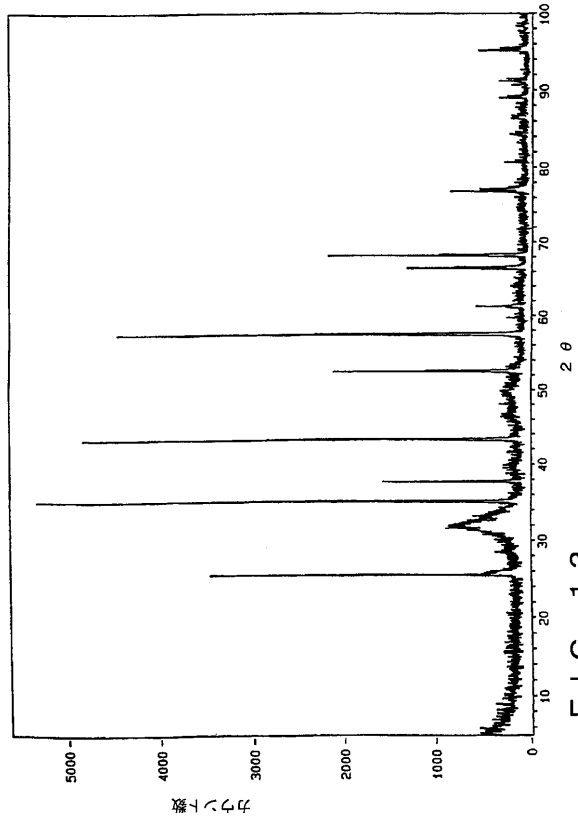


FIG.12B

【図 13】



【図 14】

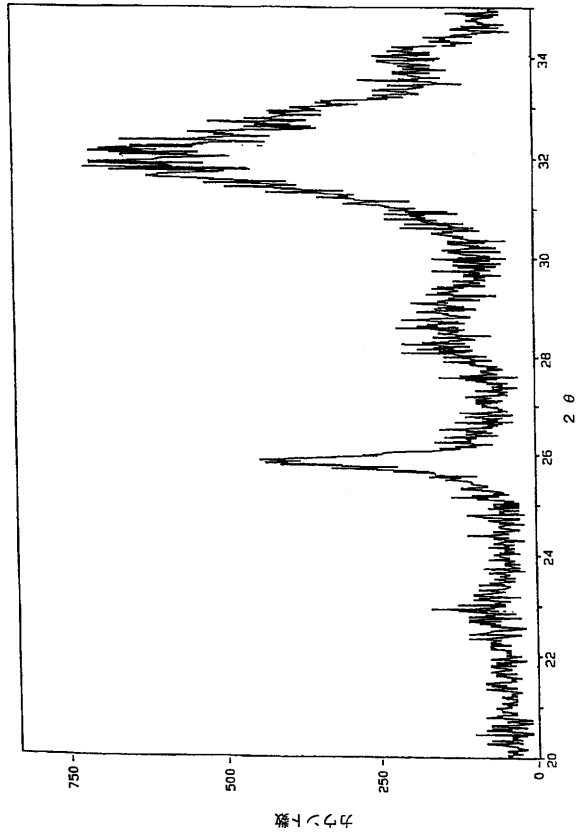


FIG. 14

【図 15】

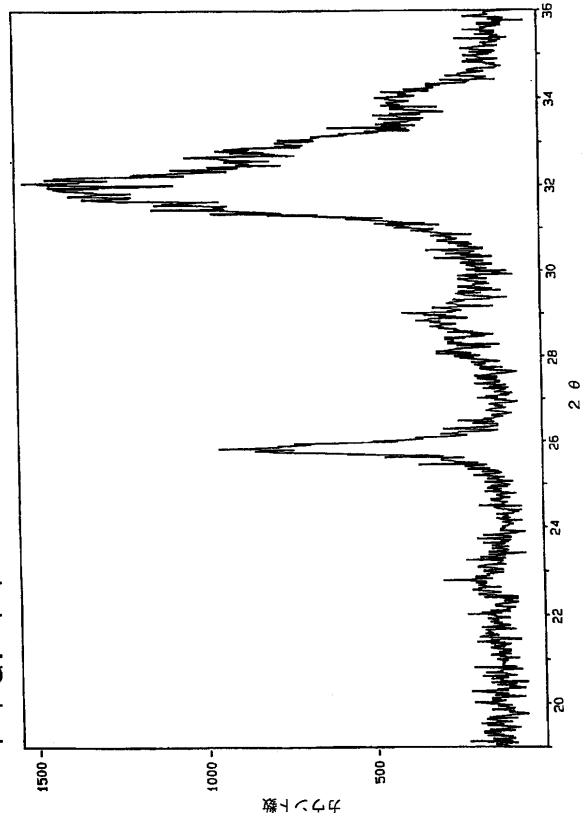


FIG. 15

【図 16】

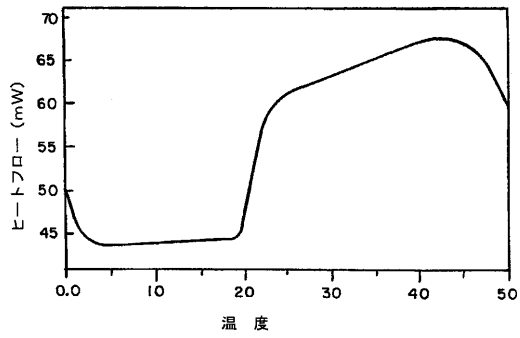
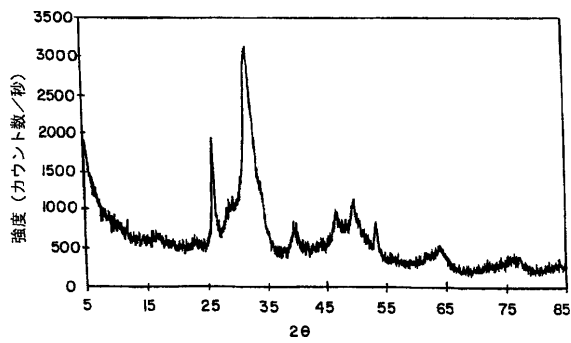


FIG. 16



【図 17A】

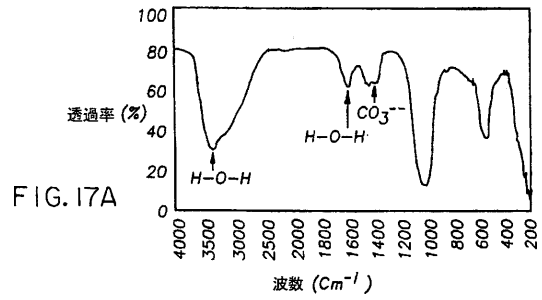


FIG. 17A

【図 17B】

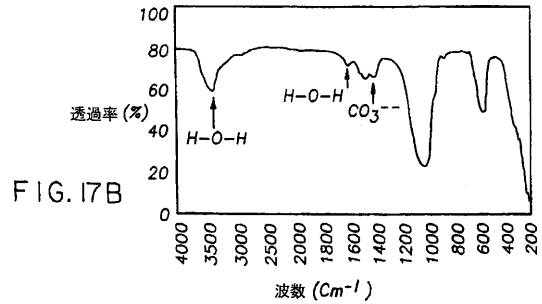


FIG. 17B

【図 19 A】



FIG. 19A

【図 19 B】

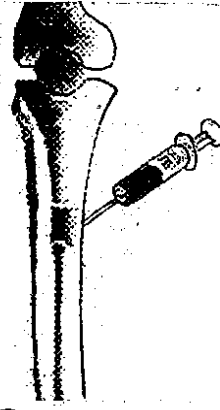


FIG. 19B

【図 20】

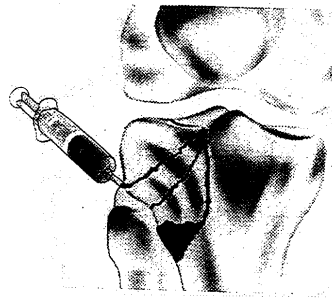


FIG. 20

【図 21 A】



FIG. 21A

【図 21 B】

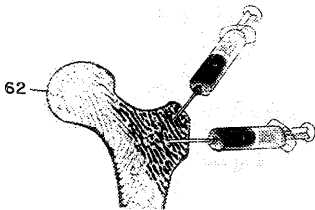


FIG. 21B

【図 22】

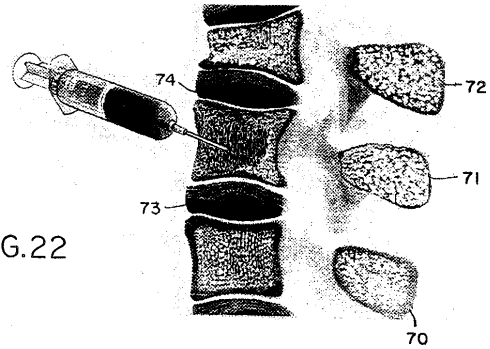


FIG. 22

【図 23】



FIG. 23

【図 24】

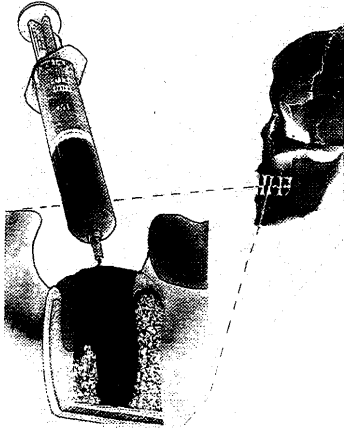


FIG. 24

【図 25】

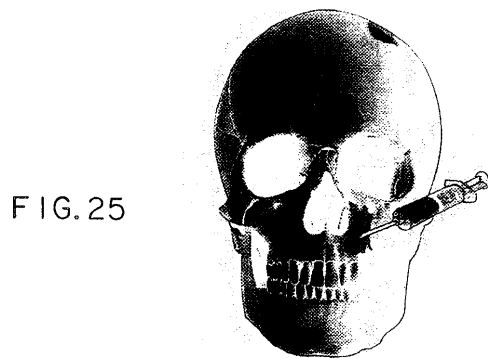


FIG. 25

【図 26】



FIG. 26

【図 27】

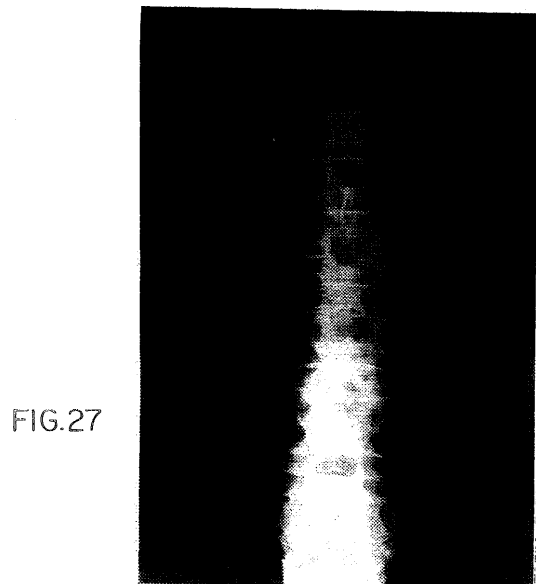


FIG. 27

【図 28 B】

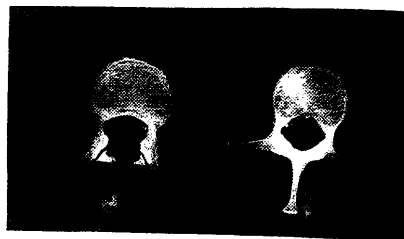


FIG. 28A

FIG. 28B

【図 28 A】

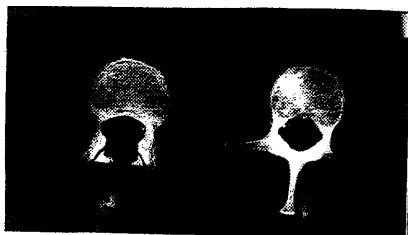


FIG. 28A

FIG. 28B

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 08/729,343

(32)優先日 平成8年10月16日(1996.10.16)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 レイ, クリスティアン

フランス国 エフ 3 1 3 2 0 カスタネ, オールビル, リウーディ レダム

(72)発明者 アイオロバ, マライア

アメリカ合衆国 0 2 1 4 6 マサチューセッツ, ブルックライン, シーウォール アベニュー
1 2 3

(72)発明者 トフィギ, アリアシアー

アメリカ合衆国 0 2 1 7 8 マサチューセッツ, ベルモント, ウェイバリー ストリート 2 0
4

審査官 小森 潔

(56)参考文献 国際公開第 9 5 / 0 0 8 3 1 9 (WO , A 1)

特開昭 6 1 - 0 1 7 4 0 9 (J P , A)

特開平 0 5 - 0 7 0 1 1 3 (J P , A)

特開平 0 1 - 1 6 6 7 6 5 (J P , A)

特開昭 6 2 - 2 2 4 3 5 6 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61L 27/00 - 27/60

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)