(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7205876号
(P7205876)

(45)発行日　令和5年1月17日(2023.1.17)

(24)登録日　令和5年1月6日(2023.1.6)

(51)国際特許分類

Ａ６１Ｌ　27/12　(2006.01)		Ａ６１Ｌ	27/12
Ａ６１Ｌ　27/42　(2006.01)		Ａ６１Ｌ	27/42
Ａ６１Ｌ　27/58　(2006.01)		Ａ６１Ｌ	27/58

ＦＩ

請求項の数　12　（全15頁）

(21)出願番号　特願2018-206511(P2018-206511)
(22)出願日　平成30年11月1日(2018.11.1)
(65)公開番号　特開2020-69216(P2020-69216A)
(43)公開日　令和2年5月7日(2020.5.7)
審査請求日　令和3年10月12日(2021.10.12)

(73)特許権者　801000027
学校法人明治大学
東京都千代田区神田駿河台１－１
(74)代理人　110000914
弁理士法人ＷｉｓｅＰｌｕｓ
(72)発明者　相澤 守
神奈川県川崎市多摩区東三田１－１－１
明治大学生田キャンパス内
(72)発明者　永田 幸平
三重県四日市市川原町２丁目１３番地
レオパレスパルコートＩＩ ２０１
(72)発明者　木南 啓司
京都府綾部市青野町膳所１番地 グンゼ
株式会社内
審査官　辰己 雅夫

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　骨再生材料キット、ペースト状骨再生材料、骨再生材料及び骨接合材

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体とを含み、前記水系媒体はクエン酸を含むことを特徴とする骨再生材料キット。

【請求項２】

カルシウム塩はβ－リン酸三カルシウムであり、

イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と硫酸カルシウム半水和物との配合比（イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子：硫酸カルシウム半水和物）が、重量比で９０：１０～８０：２０であることを特徴とする請求項１記載の骨再生材料キット。

【請求項３】

イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と硫酸カルシウム半水和物の合計質量をＰ（ｇ）、水系媒体の体積をＬ（ｃｍ^3）としたときの固液比Ｐ／Ｌ（ｇ／ｃｍ^3）は１／０．９～１／０．７であることを特徴とする請求項１又は２記載の骨再生材料キット。

【請求項４】

イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と硫酸カルシウム半水和物との配合比（イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子：硫酸カルシウム半水和物）が、重量比で８０：２０～５０：５０であ

ることを特徴とする請求項１記載の骨再生材料キット。
【請求項５】
イノシトールリン酸又はその塩は、イノシトール六リン酸であることを特徴とする請求項１、２、３又は４記載の骨再生材料キット。
【請求項６】
更に、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着していないリン酸カルシウム系化合物からなる微粒子を含むことを特徴とする請求項１、２、３、４又は５記載の骨再生材料キット。
【請求項７】
イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着していないリン酸カルシウム系化合物からなる微粒子との配合比が、重量比で１０：９０～５０：５０であることを特徴とする請求項６記載の骨再生材料キット。
【請求項８】
更に、生体吸収性高分子を含むことを特徴とする請求項１、２、３、４、５、６又は７記載の骨再生材料キット。
【請求項９】
請求項１、２、３、４、５、６又は７記載の骨再生材料キットを用いてなるペースト状骨再生材料であって、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体とを混合してペースト状としたことを特徴とするペースト状骨再生材料。
【請求項１０】
請求項８記載の骨再生材料キットを用いてなるペースト状骨再生材料であって、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体と、生体吸収性高分子とを混合してペースト状としたことを特徴とするペースト状骨再生材料。
【請求項１１】
請求項９又は１０記載のペースト状骨再生材料を硬化してなることを特徴とする骨再生材料。
【請求項１２】
請求項９又は１０記載のペースト状骨再生材料を硬化してなることを特徴とする骨接合材。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、充填後に血液や体液等の水分に接触しても崩壊せず、硬化時間も短く、生体内で高い強度を維持できる骨再生材料キット、ペースト状骨再生材料、骨再生材料及び骨接合材に関する。
【背景技術】
【０００２】
骨の欠損部又は損傷部の治療には人工骨が用いられている。
従来の人工骨としては、リン酸カルシウムからなる緻密体と多孔体の人工骨が知られていた。このような人工骨は、治療の対象となる骨の状態に合わせて、形状等を整える必要がある。しかし、手術現場において人工骨を切断加工したり、切削加工したりすることは困難であり、使いにくいという問題があった。
【０００３】
これに対して、リン酸カルシウム顆粒を水系媒体中に懸濁させたペースト状骨補填材料が提案されている（例えば、特許文献１～３）。ペースト状骨補填材料は、インジェクター等を用いて骨の欠損部又は損傷部に充填させることができる。ペースト状骨補填材料は、充填後に硬化して骨の欠損部又は損傷部に固定される。ペースト状骨補填材料を用いれば、複雑な欠損部又は損傷部であっても容易に治療を行うことができる。

【０００４】
しかしながら、特許文献１～３に記載されたペースト状骨補填材料を用いても、単に骨の欠損部又は損傷部を補うだけで、骨の再生を促進するわけではない。実際に、骨の再生は、充填した骨補填材料の表面に限られている。また、この骨補填材料は、力学強度はきわめて高いものの、骨組織の有するコラーゲン繊維等の有機成分を含有しないことから、弾性率と靭性に劣るという決定的な欠点もあった。従って、短期的には骨の欠損部又は損傷部を補って骨の力学的強度を確保できるとともに、長期的には患者自身の骨の再生を促進できる骨再生材料が求められていた。
【０００５】
これに対して、特許文献４にはイノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、生体吸収性高分子からなる微粒子と、水系媒体とを含む骨再生材料キットが開示されている。特許文献４に記載された骨再生材料キットは、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子を用いることで、炎症反応を回避しつつ生体吸収性に優れた骨再生材料とすることができ、その結果、再生した骨と骨再生材料が徐々に置換されることで骨の再生を促進することができる。また、骨再生材料キットを混合したペースト状骨再生材料を充填した後に、ペースト状骨再生材料が血液や体液等の水分を吸収して崩壊してしまうことも防止できる。更に生体吸収性高分子からなる微粒子を用いることで、生体吸収性高分子からなる微粒子が生体吸収されることにより充填部に連続孔が生じ、該連続孔に骨芽細胞が侵入して増殖することができる。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００６】
【文献】特開２０００－２６２６０９号公報
特開２０００－２４５８２３号公報
特開２００２－３５１０６号公報
国際公開第２０１５／０２０１９２号
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
更に本発明者は、特許文献４のペースト状再生材料について、調製したペースト状骨再生材料を体内に充填した後硬化するまでの時間を改善するとともに、脊椎のような特に大きな負荷がかかる部位に使用する場合を想定し、硬化後のペースト状骨再生材料の更なる強度の向上が可能な手法を検討した。すなわち、本発明は、充填後に血液や体液等の水分に接触しても崩壊せず、硬化時間も短く、生体内で高い強度を維持できる骨再生材料キット、ペースト状骨再生材料、骨再生材料及び骨接合材を提供することを目的とする。
【課題を解決するための手段】
【０００８】
本発明は、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体とを含む骨再生材料キットである。
以下に本発明を詳述する。
【０００９】
本発明者は、鋭意検討の結果、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子に、硫酸カルシウム半水和物を加えることで、充填後に血液や体液等の水分に接触しても崩壊せず、硬化時間と硬化後の強度が大きく改善されることを見出した。また、硫酸カルシウム半水和物を加えることで、硬化物の強度が経時によって飛躍的に向上し、最終的には整形外科領域で最も負荷のかかる脊椎の治療に用いることができるほどの強度を発揮することを見出し、本発明を完成させるに至った。
【００１０】
本発明の骨再生材料キットは、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子（以下、「イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子」ともいう。

）と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体とからなる。
上記イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子は、水系媒体と混合するとペースト状となり、体内で硬化して、骨の力学強度を補う役割を有する。また、骨再生の足場となるとともに、その後は徐々に生体内に吸収されて再生した骨と置換され、長期的には患者自身の骨の再生を促進する役割も有する。
【００１１】
上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子は、例えば、上記イノシトールリン酸又はその塩を溶解した水溶液中に、上記カルシウム塩からなる微粒子を浸漬及び粉砕処理することにより調製することができる。上記イノシトールリン酸又はその塩は、カルシウム塩からなる微粒子の表面に化学的に吸着すると考えられる。
【００１２】
上記カルシウム塩としては、例えば、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム等が挙げられる。これらのカルシウム塩は単独で用いてもよく、２種以上を併用してもよい。なかでも、リン酸カルシウムが好適である。
上記リン酸カルシウムとしては、例えば、ヒドロキシアパタイト、α－リン酸三カルシウム、β－リン酸三カルシウム、リン酸四カルシウム、リン酸八カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸二水素カルシウム、非晶質リン酸カルシウム等が挙げられる。これらのリン酸カルシウムは単独で用いてもよく、２種以上を併用してもよい。なかでも、ヒドロキシアパタイト、α－リン酸三カルシウム又はβ－リン酸三カルシウムが好ましく、β－リン酸三カルシウム又はヒドロキシアパタイトがより好ましい。
【００１３】
上記カルシウム塩からなる微粒子の比表面積の好ましい下限は０．１m^2／ｇ、好ましい上限は１２０m^2／ｇである。比表面積がこの範囲内にあると、上記カルシウム塩からなる微粒子の表面に充分な量の上記イノシトールリン酸又はその塩を吸着させることができる。上記比表面積のより好ましい下限は２０m^2／ｇ、更に好ましい下限は４０m^2／ｇである。
なお、上記カルシウム塩からなる微粒子の比表面積は、例えば、マイクロメリティックス自動比表面積測定装置フローソーブＩＩＩ２３０５（島津製作所社製）を用いてＢＥＴ法により測定することができる。
【００１４】
上記イノシトールリン酸としては、イノシトール一リン酸、イノシトールニリン酸、イノシトール三リン酸、イノシトール四リン酸、イノシトール五リン酸、フィチン酸（イノシトール六リン酸）等が挙げられる。なかでも、イノシトール六リン酸が好ましい。
また、イノシトールリン酸の塩としては、アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩が挙げられ、より具体的には、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、バリウム塩等が挙げられる。これらのイノシトールリン酸又はその塩は単独で用いてもよく、２種以上を併用してもよい。なかでも、フィチン酸、フィチン酸ナトリウム塩又はフィチン酸カリウム塩が好ましい。
なお、フィチン酸ナトリウム塩には、例えば、フィチン酸ナトリウム塩３８水和物、フィチン酸ナトリウム塩４７水和物、フィチン酸ナトリウム塩１２水和物等のように、結晶水含量の異なる数種が知られているが、いずれも好ましく用いることができる。
【００１５】
上記イノシトールリン酸又はその塩を溶解した水溶液の濃度としては特に限定されないが、５００～１１０００ｐｐｍであることが好ましく、１０００～７０００ｐｐｍであることがより好ましく、２０００～４０００ｐｐｍであることが更に好ましい。
なお、上記イノシトールリン酸又はその塩を溶解した水溶液を調製する際には、水溶液に予めアルカリ水溶液を添加し、好ましくはｐＨ６～１１、より好ましくはｐＨ６～８に調整しておくことが好ましい。ｐＨの調整に用いるアルカリ水溶液は、特に限定されず、水酸化ナトリウム水溶液、水酸化カリウム水溶液等が挙げられる。
【００１６】

上記イノシトールリン酸又はその塩を溶解した水溶液中に、上記カルシウム塩からなる微粒子を浸漬及び粉砕する方法としては特に限定されないが、例えば、好ましくは２０～６０℃、より好ましくは２０～４０℃に保温した上記イノシトールリン酸又はその塩を溶解した水溶液中に上記カルシウム塩からなる微粒子を加え、好ましくは０．５～２４時間、より好ましくは０．５～１０時間、粉砕機を用いて撹拌又は振とうする方法等が挙げられる。
また、この際の上記イノシトールリン酸又はその塩とカルシウム塩とのモル比としては、０．００１～０．１が好ましく、０．０１～０．０８がより好ましい。

【００１７】

このように上記カルシウム塩からなる微粒子を上記イノシトールリン酸又はその塩を溶解した水溶液と混合して微粒子の表面にイノシトールリン酸又はその塩を吸着させた後に、得られた微粒子を分離し、乾燥することにより、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子を得ることができる。

【００１８】

上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子の平均粒子径の好ましい下限は０．５μｍ、好ましい上限は１００μｍである。上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子の平均粒子径が０．５μｍ未満であると、上記水系媒体と混合してペースト状にしたときに粘度が上昇してインジェクトが難しくなることがある。平均粒子径が１００μｍを超えると、硬化物の強度が低く充分に骨の力学強度を補えないことがある。上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子の平均粒子径のより好ましい上限は５０μｍである。

【００１９】

本発明の骨再生材料キットは、更に、イノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着していないリン酸カルシウム系化合物からなる微粒子（以下、単に「リン酸カルシウム系化合物からなる微粒子」ともいう。）を含むことが好ましい。上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子にリン酸カルシウム系化合物からなる微粒子を併用することにより、硬化物の力学的強度をより向上させることができる。
なお、リン酸カルシウム系化合物からなる微粒子は、粉砕して調製する際の時間を調整することによって、硬化物の力学的強度を変化させることもできる。

【００２０】

上記リン酸カルシウム系化合物は特に限定されず、例えば、α－リン酸三カルシウム、β－リン酸三カルシウム、リン酸四カルシウム、リン酸八カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸二水素カルシウム、非晶質リン酸カルシウム、水酸アパタイト、炭酸含有アパタイト、フッ素アパタイト、骨ミネラル含有アパタイト、ケイ素含有アパタイト等が挙げられる。これらのリン酸カルシウム系化合物は単独で用いてもよく、２種以上を併用してもよい。なかでもα－リン酸三カルシウム又はβ－リン酸三カルシウムが好ましく、β－リン酸三カルシウムがより好ましい。

【００２１】

上記リン酸カルシウム系化合物からなる微粒子の平均粒子径の好ましい下限は０．５μｍ、好ましい上限は１００μｍである。上記リン酸カルシウム系化合物からなる微粒子の平均粒子径が０．５μｍ未満であると、上記水系媒体と混合してペースト状にしたときに粘度が上昇してインジェクトが難しくなることがある。平均粒子径が１００μｍを超えると、硬化物の強度が低く充分に骨の力学強度を補えないことがある。上記リン酸カルシウム系化合物からなる微粒子の平均粒子径のより好ましい上限は５０μｍである。

【００２２】

上記硫酸カルシウム半水和物は、ペースト状骨再生材料の硬化時間を短縮し、硬化後の骨再生材料の強度を長期間維持する役割を有する。本発明は上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウムを同時に用いることで、経時とともに強度が飛躍的に向上し、最終的に、人体の骨の中でも最も負荷のかかる部位である脊椎に用いた場合であっても充分に耐えられる強度の骨再生材料を得ることができる。また、硫酸カルシウム半水和物は、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と比べて溶解性が高いことか

ら、硫酸カルシウム半水和物を用いることで生体吸収性が向上し、吸収された部位に骨芽細胞が浸入することで骨の再生をより促進することができる。
上記硫酸カルシウム半水和物を用いることで硬化時間が短縮される理由は明らかではないが、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子同士のキレート硬化よりも早く、上記水系溶媒に含まれるバッファーのクエン酸と硫酸カルシウム半水和物とが先に反応するためではないかと考えられる。上記硫酸カルシウム半水和物を用いることで強度が向上する理由についても必ずしも明らかではないが、以下のような理由ではないかと考えらえる。イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物と水系媒体を混合すると、硫酸カルシウム半水和物は硫酸カルシウム二水和物に転化する。その際、イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子由来のリン酸イオンによって転化が遅れることで、硫酸カルシウム半水和物の表面のみが繊維状の硫酸カルシウム二水和物に転化して、イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子間をアンカリングするからではないかと考えられる。
なお、硫酸カルシウムには無水和物、半水和物、二水和物といった複数の水和物が存在するが、硫酸カルシウム半水和物以外では本発明の効果を発揮することができない。
【００２３】
上記硫酸カルシウム半水和物は、イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物との配合比（イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子：硫酸カルシウム半水和）が９０：１０～５０：５０であることが好ましい。
上記硫酸カルシウム半水和の配合比がこの範囲であることで、より硬化時間を短縮することができ、硬化後の強度をより長期間維持することができる。上記硫酸カルシウム半水和の配合比の配合比のより好ましい範囲は８０：２０～５０：５０である。
【００２４】
上記水系媒体は、ペースト状骨再生材料の媒体となるものである。
上記水系媒体は、注射用水等が挙げられる。上記水系媒体は、ｐＨを調整する目的で、バッファー成分を含有してもよい。また、上記水系媒体として、骨髄液や細胞懸濁液も使用することができる。
更に、上記水系媒体は、粘度を調整する目的で少量の水溶性高分子を含有したり、感染を予防する目的で抗菌剤を含有したり、骨再生を促進する目的で各種の成長因子等を含有してもよい。
上記水溶性高分子は、例えば、乳酸、グリコール酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸等の重合体、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、アルギン酸、キトサン等が挙げられる。
【００２５】
本発明の骨再生材料キットは、生体吸収性高分子からなる微粒子を含んでいてもよい。
上記生体吸収性高分子からなる微粒子を含むことで、施術後に徐々に生体内で吸収されて、充填部に骨芽細胞が侵入可能な連続孔を生じさせることができ、骨の再生をより促進することができる。上記生体吸収性高分子としては、例えば、ゼラチン、コラーゲン、ヒアルロン酸、アルブミン、フィブリン等のタンパク質や、デンプン、アルギン酸、キチン、ペクチン酸及びその誘導体等の多糖類等の天然高分子；ポリ乳酸、ポリグリコール酸、乳酸－グリコール酸共重合体、グリコール酸－ε－カプロラクトン共重合体、乳酸－ε－カプロラクトン共重合体、ポリリンゴ酸、ポリ－α－シアノアクリレート、ポリ－β－ヒドロキシ酸、ポリトリメチレンオキサレート、ポリテトラメチレンオキサレート、ポリオルソエステル、ポリオルソカーボネート、ポリエチレンカーボネート、ポリ－γ－ベンジル－Ｌ－グルタメート、ポリ－Ｌ－グルタミン酸、ポリ－γ－メチル－Ｌ－グルタメート、ポリ－Ｌ－リジン、ポリ－Ｌ－アラニン等の合成高分子等が挙げられる。なかでも、骨の再生をより促進することができることから、乳酸－グリコール酸共重合体が好ましい。これらの生体吸収性高分子は単独で用いてもよく、２種以上を併用してもよい。
【００２６】
上記生体吸収性高分子からなる微粒子が、ゼラチン、コラーゲン又はヒアルロン酸からな

る場合、ゼラチン、コラーゲン又はヒアルロン酸は架橋されていることが好ましい。
なかでも架橋ゼラチンが好適である。上記生体吸収性高分子からなる微粒子として架橋ゼラチンからなる微粒子を用いた場合には、特に短時間の硬化で充分な非崩壊性を発揮できる。また、架橋ゼラチンは親水性の高い高分子であることから、水分を含むことで膨潤する。このため、骨孔内に移植した後、周囲の水分を吸い、体積を増し、充填部分への密着性が向上するという効果も得られる。また、親水性の高い架橋ゼラチンからなる微粒子を用いた場合には、止血効果が発揮されることから、多少の出血のある部位にも用いることができる。

【００２７】

上記架橋ゼラチンからなる微粒子の架橋状態は、熱脱水架橋、紫外線架橋、化学架橋、イオン架橋等の従来公知の架橋方法を用いてゼラチンを架橋する際の条件を調整することにより制御することができる。例えば、未架橋ゼラチン微粒子を熱架橋する場合、真空下で１１０～１７０℃、５分～４８時間程度の熱処理を行うが、架橋温度や熱処理時間を調整することにより得られる架橋ゼラチンからなる微粒子の架橋状態を制御することができる。

【００２８】

上記生体吸収性高分子からなる微粒子は、γ線、電子線等の放射線処理されたものを用いてもよい。放射線処理された生体吸収性高分子からなる微粒子を用いることにより、骨再生材料キットとしての優れた性能を維持して、硬化物の力学的強度をより向上させることができる。また、放射線処理により生体吸収性高分子からなる微粒子が滅菌されることから、エチレンオキサイドガス滅菌等の他の滅菌処理をあらためて行う必要がなくなるのも利点である。

【００２９】

上記生体吸収性高分子からなる微粒子の平均粒子径の好ましい下限は１０μｍ、好ましい上限は４００μｍである。上記生体吸収性高分子からなる微粒子の平均粒子径が１０μｍ未満であると、骨芽細胞が侵入可能な連続孔を形成できないことがあり、４００μｍを超えると、硬化物の強度が低く充分に骨の力学強度を補えないことがある。上記生体吸収性高分子からなる微粒子の平均粒子径のより好ましい下限は２０μｍ、より好ましい上限は２００μｍである。

【００３０】

本発明の骨再生材料キットは、更に各種細胞増殖因子、抗菌剤、抗生物質等の薬剤を有してもよい。これらを有する骨再生材料キットを用いれば、骨の欠損部又は損傷部に充填して硬化させた後、該硬化物が分解するとともに該薬剤が徐々に放出されることから、長期にわたって薬理効果を発揮することができる。例えば、細胞増殖因子の徐放により早期の骨再生が期待される。また、抗菌剤、抗生物質等の徐放により、骨欠損部近傍に細菌等が多く存在する環境下（例えば、骨感染例や口腔内）での使用も可能となる。更に、細胞増殖因子と骨髄間葉系細胞を含む骨髄細胞とを併用した場合には、骨粗鬆症に伴う難治性骨折や脊椎圧迫骨折等の、骨修復部周囲に骨形成に必要な細胞が乏しいと考えられる場合や、骨修復部中心部まで骨形成に有効な細胞侵入が期待できない場合等にも、高い治癒効果の発揮を期待できる。なお、上記薬剤は、骨再生関連の薬剤のみに限定されない。

【００３１】

本発明の骨再生材料キットを用いて、ペースト状骨再生材料を調製することができる。
ここでペースト状骨再生材料とは、使用時にはペースト状であって、用手的又はインジェクターにより骨の欠損部又は損傷部に容易に充填することができ、充填後に体内で硬化させることができる骨再生材料を意味する。
本発明の骨再生材料キットを構成するイノシトールリン酸又はその塩が表面に吸着したカルシウム塩からなる微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体とを混合してペースト状としたペースト状骨再生材料もまた、本発明の１つである。

【００３２】

本発明のペースト状骨再生材料を調製するにあたって、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体とを配合する比率（固液比）は

特に限定されず、混練操作のしやすさ、インジェクターを用いたインジェクトのしやすさ、硬化までの時間、硬化物の強度等を考慮して決定する。

【００３３】

上記固液比は、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と上記硫酸カルシウム半水和物との混合比率で変動するが、例えば、イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物の合計質量をＰ（ｇ）、上記水系媒体の体積をＬ（ｃｍ^3）としたときの固液比Ｐ／Ｌ（ｇ／ｃｍ^3）は、１／０．９～１／０．４であることが好ましい。固液比を上記範囲とすることで、本発明のペースト状骨再生材料をインジェクターを用いてインジェクトしやすくすることができる。

【００３４】

本発明の骨再生材料キットが上記生体吸収性高分子からなる微粒子を含む場合、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と生体吸収性高分子からなる微粒子との配合比率を調整することによって、硬化物の空隙率を調整することができ、これにより硬化物の強度と骨の再生速度とを制御することができる。

上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子（上記リン酸カルシウム系化合物を含む場合には、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子とリン酸カルシウム系化合物との合計）と生体吸収性高分子からなる微粒子との配合比率は、重量比で９７：３～７６：２４の範囲であることが好ましい。この範囲内であると、短期的な骨の力学的強度の確保と、長期的な骨の再生とを両立することができる。この範囲よりも上記生体吸収性高分子からなる微粒子が少ない場合には、充分な連続孔が形成されずに骨の再生が進まないことがあり、この範囲よりも上記生体吸収性高分子からなる微粒子が多い場合には、硬化物の強度が低いことがある。より好ましくは重量比で９５：５～８０：２０の範囲であり、更に好ましくは重量比で９０：１０～８５：１５の範囲である。

【００３５】

骨再生材料に必要とされる強度は適用する部位によって異なる。従って、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と生体吸収性高分子からなる微粒子との好ましい配合比率の範囲内において、その適用部位を考慮して配合比率を決定すればよい。

例えば、踵骨、大腿骨、脛骨、椎体等は、大きな荷重がかかる部位であることから、これらの部位に適用する場合には、骨の再生速度よりも強度を優先させるべきである。即ち、生体吸収性高分子からなる微粒子の配合比率を低めに設定する。

例えば、頭蓋骨、上腕骨、前腕（橈尺）骨、指骨等は、大きな荷重はかからない部位であることから、これらの部位に適用する場合には、強度よりも骨の再生速度を優先させるべきである。即ち、生体吸収性高分子からなる微粒子の配合比率を高めに設定する。

【００３６】

本発明の骨再生材料キットが上記リン酸カルシウム系化合物を含む場合において、ペースト状骨再生材料を調製する際の上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と上記リン酸カルシウム系化合物との配合比は、重量比で９０：１０～１０：９０であることが好ましい。この範囲内であると、硬化物の力学的強度をより向上させることができる。より好ましくは、１０：９０～５０：５０である。

【００３７】

上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物と水系媒体（必要であれば上記生体吸収性高分子からなる微粒子）とを混合する方法は特に限定されないが、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物と水系媒体とシリンジ中に入れ練和混合する方法や、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物と水系媒体を練和混合する方法が好適である。

【００３８】

本発明のペースト状骨再生材料を調製するにあたって、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と、硫酸カルシウム半水和物と、水系媒体（必要であれば上記生体吸収性高分子からなる微粒子）とを配合する手順については特に限定されず、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と、生体吸収性高分子からなる微粒子と、水系媒体との全

量を同時に混合してもかまわない。
しかしながら、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子と硫酸カルシウム半水和物とを混合した後、この混合物に上記水系媒体を加えていく方法や、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子に上記水系媒体の一部量を加え練和混合した後、上記硫酸カルシウム半水和物、上記水系媒体の残部量を加えて混合する方法が好ましい。このような方法でペースト状骨再生材料を調製することにより、強度の高い骨再生材料が得られる。
【００３９】
本発明のペースト状骨再生材料は、用手的又は注射器等のインジェクターを用いて、容易に骨の欠損部又は損傷部に充填することができる。充填したペースト状骨再生材料は室温下でも硬化して骨再生材料となり、骨の力学的強度を補完する。本発明のペースト状骨再生材料は、硫酸カルシウム半水和物を用いるものであるが、上記イノシトールリン酸吸着カルシウム塩微粒子を併用することにより、充填後に血液や体液等の水分に接触しても崩壊しない非崩壊性を発揮することができるとともに、硬化時間も短くすることができる。また、本発明のペースト状骨再生材料の硬化物は生体内で高い強度を発揮し、生体内で最も負荷のかかる脊椎部分に充填した場合であっても、骨の再生まで充分な強度を維持することができる。施術後には、時間の経過に従って硬化したペースト状骨再生材料が生体内に吸収されるとともに骨芽細胞が侵入することにより患者自身の骨が再生される。
なお、本発明のペースト状骨再生材料をいったん外部で硬化させて骨再生材料を形成した後、該骨再生材料を骨の欠損部又は損傷部に充填したり、骨接合材として使用したりしてもよい。本発明のペースト状骨再生材料を硬化してなる骨再生材料、骨接合材もまた、本発明の１つである。
【発明の効果】
【００４０】
本発明によれば、充填後に血液や体液等の水分に接触しても崩壊せず、硬化時間も短く、生体内で高い強度を維持できる骨再生材料キット、ペースト状骨再生材料、骨再生材料及び骨接合材を提供することができる。
【図面の簡単な説明】
【００４１】
【図１】本発明のペースト状骨再生材料の硬化時間の測定結果を表したグラフである。
【図２】本発明のペースト状骨再生材料を硬化させた硬化物の圧縮強度の測定結果を表したグラフである。
【図３】本発明のペースト状骨再生材料を硬化させた硬化物の圧縮強度の経時変化を測定したグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００４２】
以下に実施例を挙げて本発明の態様を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例にのみ限定されるものではない。
【００４３】
（実施例１）
（１）水系媒体の調製
純水９５ｇ中にクエン酸１．５ｇ、リン酸水素二ナトリウム２．５ｇ、アルギン酸ナトリウム１．０ｇを加えて混合することで、クエン酸１．５重量％、アルギン酸ナトリウム１．０重量％、リン酸水素二ナトリウム２．５重量％の水系媒体を調製した。その後、この水系媒体を水酸化ナトリウム水溶液によりｐＨ＝７．０に調整した。
【００４４】
（２）イノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウム微粒子と硫酸カルシウム半水和物との混合粉体の調製
イノシトール六リン酸の５０重量％水溶液（和光純薬工業社製）を３．０ｇ精秤し、精製水で３００ｍＬ程度に希釈した後、水酸化ナトリウム水溶液と塩酸を用いてｐＨを７．３に調整し、メスフラスコを用いて５００ｍＬにメスアップすることで濃度３０００ｐｐｍ

のイノシトール六リン酸水溶液を調製した。
遊星式ボールミル（ＦＲＩＴＣＨ社製、Ｐ－６型）を用いて下記の条件で太平化学産業製β－リン酸三カルシウム（β－ＴＣＰ－１００）に濃度３０００ｐｐｍのイノシトール六リン酸を吸着させた。ジルコニア製ポットに、濃度３０００ｐｐｍのイノシトール六リン酸水溶液４０ｍＬ、β－ＴＣＰ－１００粉体１０．０ｇ、φ２ｍｍジルコニアボール１８０ｇを入れ、回転数３００ｒｐｍで３時間撹拌した。その後、得られたスラリーを吸引ろ過することで、残渣を得た。得られた残渣を－８０℃で一晩凍結させた。凍結させた残渣を凍結乾燥機（ＬＡＢＣＯＮＣＯ社製、Ｆｒｅｅ　Ｚｏｎｅ（商標））を用いて２４時間凍結乾燥して、イノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウム（表１及び図１～３中ではＩＰ６／β－ＴＣＰという）を得た。
Ｖ型混合機（筒井理化学器械社製）に、イノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウム微粒子と硫酸カルシウム半水和物を８：２の重量比となるように入れ、５分間攪拌して混合粉体を得た。
【００４５】
（３）骨再生材料キット及びペースト状骨再生材料の製造
得られたイノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウム微粒子と硫酸カルシウム半水和物、水系媒体で骨再生材料キットを構成した。即ち、上記混合粉体１．０ｇに対して０．７ｃｍ^{3}の割合となるように水系媒体を加えて１２０秒間混合して、ペースト状骨再生材料を得た。
【００４６】
（実施例２、３、比較例１、２）
混合粉体を調製する際のイノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウム微粒子と硫酸カルシウム半水和物の重量比と、ペースト状骨再生材料を製造する際の混合粉体と水系媒体の比（固液比）を表１の通りとした以外は実施例１と同様にして骨再生材料キット及びペースト状骨再生材料を得た。
【００４７】
＜評価＞
実施例及び比較例で得られたペースト状骨再生材料について、以下の方法で評価を行った。結果を表１に示した。なお、すべての評価についてサンプル数は４とし、その平均値を表１に示した。
【００４８】
（１）ペースト状骨再生材料の硬化時間の評価
製造直後のペースト状骨再生材料を直径８．０ｍｍ、高さ４ｍｍの割型に充填し、３７℃、相対湿度１００％の恒温恒湿器中で１分間静置した。静置後のペースト状骨再生材料に１１３．４ｇのギルモア針を落とし圧痕の有無を確認した。圧痕があった場合は更に恒温恒湿器中で１分間静置し、その後再度上記ギルモア針を落として圧痕を確認した。上記操作を繰り返し、圧痕がなくなった時の時間を硬化時間とした。なお、比較例２については３０分以上経過しても硬化しなかった。結果を表１と図１に示した。
【００４９】
（２）非崩壊性の評価
製造直後のペースト状骨再生材料を直径４．８ｍｍ、高さ１６．５ｍｍのシリンジに充填した。充填したペースト状骨再生材料をビーカー内に設置した金網の上に押出した後、５分間静置して硬化させ、硬化物とした。その後、３７℃の生理食塩水を加えて硬化物を浸漬し、温度３７℃、相対湿度１００％の恒温恒湿器中で７２時間静置した。静置後、硬化物を乾燥し、崩壊した部分と崩壊しなかった部分に選り分け、崩壊した部分と崩壊しなかった部分の重量を測定した。得られた重量から下記式にて崩壊率を算出した。結果を表１に示した。
崩壊率（％）＝（Ｂ／（Ａ＋Ｂ））×１００
（Ａ：崩壊しなかった硬化物の重量（ｇ）、Ｂ：崩壊した硬化物の重量（ｇ））
【００５０】

（３）硬化物の圧縮強度の評価
製造直後のペースト状骨再生材料を直径６ｍｍ、高さ１２ｍｍのテフロン（登録商標）製割型に充填し、３７℃、相対湿度１００％の恒温恒湿器の中で１日養生した。その後、割型からサンプルを取り出し、硬化物を得た。
万能試験機（ＡＵＴＯＧＬＡＰＨ　ＡＧＳ－Ｘ、島津製作所社製）を用いて、試験速度０．５ｍｍ／ｍｉｎの条件で、得られた硬化物の圧縮強度を測定した。その後、実施例１及び比較例１については同様の操作で３日間養生後及び５日間養生後の圧縮強度を測定した。結果を表１と図２、３に示した。
【００５１】
（４）溶解性の評価
０．８ｍｏｌ・ｄｍ$^{-3}$酢酸溶液と０．８ｍｏｌ・ｄｍ$^{-3}$酢酸ナトリウム溶液とを混合してｐＨ５．５０、濃度０．８ｍｏｌ・ｄｍ$^{-3}$の酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液を調製し、その後純水で１０倍に希釈して濃度を０．０８ｍｏｌ・ｄｍ$^{-3}$とした。次いで、製造直後のペースト状骨再生材料を直径６ｍｍ、高さ１２ｍｍのテフロン（登録商標）製割型に充填し、３７℃、相対湿度１００％の恒温恒湿器の中で２４時間養生した。その後、割型からサンプルを取り出し、硬化物を得た。得られた硬化物と０．０８ｍｏｌ・ｄｍ$^{-3}$の酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液を用いて、ＪＩＳ　Ｔ　０３３０－３に準拠した方法で、液量２００ｃｍ^{3}、回転速度４３０ｒｐｍ、測定時間１８０分の条件で平均溶解速度（ｍｍｏｌ／ｓ）を測定した。なお、酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液中のカルシウムイオン濃度は、誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ＳＰＳ７０００、エスアイアイ・ナノテクノロジー社製）を用いて測定した。結果を表１に示した。
【００５２】

【表１】

	ペースト状骨再生材料			評価				
	混合粉体（重量比）		固液比（混合粉体(g)／水系媒体(cm^3)）	硬化時間（分）	崩壊率（%）	硬化物 圧縮強度（MPa）			溶解性（平均溶解速度 R_a30）（mmol/s）
	IP6／β－TCP微粒子	硫酸カルシウム半水和物				1日後	3日後	5日後	
実施例1	8	2	1/0.7	10	0.87	19.8	43.477	58.23	12
実施例2	5	5	1/0.5	13	3.39	17.0	—	—	29
実施例3	2	8	1/0.4	10	3.82	4.8	—	—	–
比較例1	10	0	1/0.9	28	1.65	34.4	40.33	33.49	3.5
比較例2	0	10	1/0.4	30min以上経っても硬化せず	7.83	0.8	—	—	89

【００５３】

表１及び図１より本発明の骨再生材料キットは、イノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウム又は硫酸カルシウム半水和物のみの比較例１、２よりも硬化時間が短く、生体内の環境においても崩壊し難いことが分かる。また、表１及び図２、３より、圧縮強度は時間とともに増加していることがわかり、実施例１の圧縮強度は５日後には約５８ＭＰａに達している。この圧縮強度は、生体内に吸収されることによる強度の低下を勘案しても、人体で最も負荷のかかる脊椎の治療に充分に用いることができる強度である。一方で、イノシトール六リン酸吸着β－リン酸三カルシウムのみの比較例１は時間が経過しても圧縮強度がほとんど変化していないことが分かる。更に、イノシトール六リン酸吸着β－リ

ン酸三カルシウムのみの比較例１と比べて、本発明の方がCa^{2+}濃度が高いことから、本発明は生体内での溶解性が高く、生体吸収性に優れることがわかる。

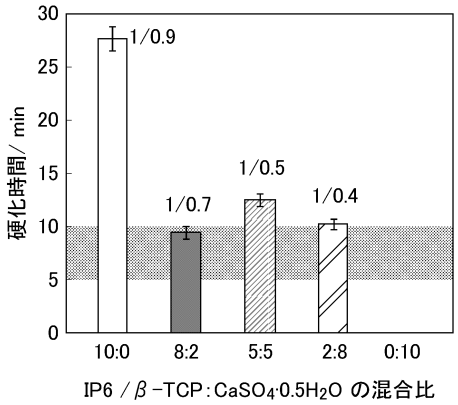
【産業上の利用可能性】

【００５４】

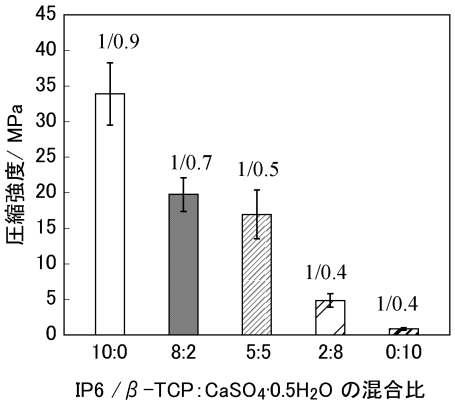
本発明によれば、充填後に血液や体液等の水分に接触しても崩壊せず、硬化時間も短く、生体内で高い強度を維持できる骨再生材料キット、ペースト状骨再生材料、骨再生材料及び骨接合材を提供することができる。

【図面】

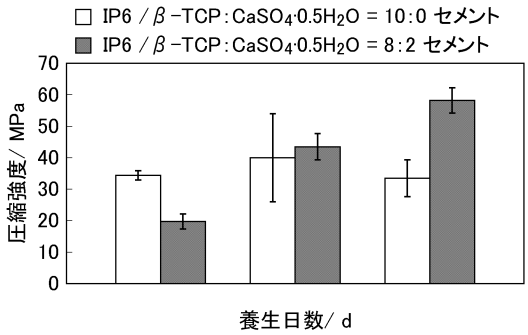
【図１】


硬化時間/ min
1/0.9
1/0.7
1/0.5
1/0.4
10:0
8:2
5:5
2:8
0:10
IP6 / β -TCP : CaSO4·0.5H2O の混合比

【図２】


圧縮強度/ MPa
1/0.9
1/0.7
1/0.5
1/0.4
1/0.4
10:0
8:2
5:5
2:8
0:10
IP6 / β -TCP : CaSO4·0.5H2O の混合比

【図３】


IP6 / β -TCP : CaSO4·0.5H2O = 10 : 0 セメント
IP6 / β -TCP : CaSO4·0.5H2O = 8 : 2 セメント
圧縮強度/ MPa
養生日数/ d

フロントページの続き

(56)参考文献 国際公開第２０１６／０５１８８７（WO，Ａ１）
国際公開第８７／００５５２１（WO，Ａ１）
特表２００３－５１３７１１（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１５／０２０１９２（WO，Ａ１）
国際公開第２００８／０９０６４８（WO，Ａ１）
特開２００９－１８３４９８（ＪＰ，Ａ）
特開２０１２－２２８３８３（ＪＰ，Ａ）
特開２００８－２００４７６（ＪＰ，Ａ）
特開２００５－０９５３４６（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｌ１５／００－３３／１８