

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-517879

(P2015-517879A)

(43) 公表日 平成27年6月25日(2015.6.25)

(51) Int.Cl.

A 61 L 27/00 (2006.01)

F 1

A 61 L 27/00  
A 61 L 27/00

テーマコード(参考)

J 4 C 0 8 1  
G

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 26 頁)

(21) 出願番号 特願2015-515183 (P2015-515183)  
 (86) (22) 出願日 平成25年5月30日 (2013.5.30)  
 (85) 翻訳文提出日 平成27年1月8日 (2015.1.8)  
 (86) 國際出願番号 PCT/US2013/043336  
 (87) 國際公開番号 WO2013/181375  
 (87) 國際公開日 平成25年12月5日 (2013.12.5)  
 (31) 優先権主張番号 61/653,019  
 (32) 優先日 平成24年5月30日 (2012.5.30)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

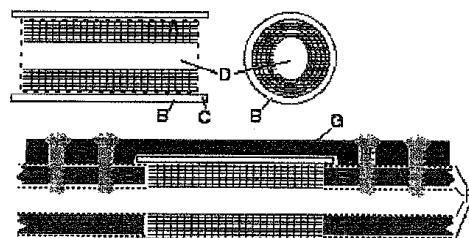
(71) 出願人 514056986  
 ニューヨーク ユニバーシティ  
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 1001  
 6-5802, ニューヨーク, パーク  
 アベニュー ワン, 6ティーエイチ  
 フロア  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (74) 代理人 100181674  
 弁理士 飯田 貴敏  
 (74) 代理人 100181641  
 弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】組織修復デバイスまたは足場

## (57) 【要約】

本発明は、骨成長を助長し、骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために有用な多相3次元印刷組織修復デバイスまたは足場、それを作製する方法、およびそれを使用して、骨成長を助長し、骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するための方法に関する。足場は、微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長領域を有する。足場の端部には、シェルが、骨の端部間に足場を安定させるためのガイドフランジとして延長され得る。足場の中心は、空であり得、潜在的骨髄腔としての役割を果たし得る。多孔性内部成長構造は、例えば、抗生物質、成長因子、分化因子、サイトカイン、薬物、またはこれらの作用因子の組み合わせのうちの1つ以上で浸潤され得る硫酸カルシウム等の可溶性充填剤またはキャリアで浸潤され得る。



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長構造を有する組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 2】**

前記微多孔性シェルは、骨の 1 つ以上の端部間に前記組織修復デバイスまたは足場を安定させるためのガイドとして延長されている、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 3】**

空の空間によって画定される中心を有する、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。 10

**【請求項 4】**

前記多孔性内部成長構造は、可溶性充填剤またはキャリアで浸潤されている、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 5】**

前記可溶性充填剤またはキャリアは、硫酸カルシウムである、請求項 4 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 6】**

前記可溶性充填剤またはキャリアは、抗生物質、成長因子、分化因子、サイトカイン、薬物、またはそれらの組み合わせのうちの 1 つ以上で浸潤されている、請求項 4 に記載の組織修復デバイスまたは足場。 20

**【請求項 7】**

前記支柱は、約 100 - 350  $\mu\text{m}$  の直径である、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 8】**

前記支柱は、骨梁の約 2 倍以内または実質的に同一の直径である、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 9】**

1 つ以上の支柱は、少なくとも 500  $\mu\text{m}$  の空間によって、縦方向に分離されている、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。 30

**【請求項 10】**

多孔性であり、概して、約 20  $\mu\text{m}$  直径を上回るサイズで存在するメソ細孔を備えている、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 11】**

前記支柱は、実質的に、線形配列で配列されている、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 12】**

約 8 週間生体内に存在後、前記組織修復デバイスまたは足場の少なくとも約 25 % が吸収されているような吸収性である、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。 40

**【請求項 13】**

少なくとも約 50 % 多孔性である、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 14】**

約 8 週間生体内に存在後、前記組織修復デバイスまたは足場の少なくとも約 25 % が骨によって置換されているように、骨成長を促進および提供するように動作可能である、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 15】**

直径約 0.1 - 1  $\mu\text{m}$  を有する微小孔またはナノ細孔を備えている、請求項 1 に記載の組織修復デバイスまたは足場。

**【請求項 16】**

1 つ以上の微小孔またはナノ細孔は、可溶化コラーゲンで浸潤されている、請求項 1 50

に記載の組織修復デバイスまたは足場。

【請求項 17】

3次元印刷方法によって生成される、請求項1に記載の組織修復デバイスまたは足場。

【請求項 18】

骨成長を助長する、または骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療する方法であって、前記方法は、請求項1に記載の微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長構造を有する組織修復デバイスまたは足場を生体内の骨欠損症、骨折、または骨間隙を特徴とする領域に提供することを含む、方法。

【請求項 19】

骨成長を助長する、または骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために有用な組織修復デバイスまたは足場を生成する方法であって、前記組織修復デバイスまたは足場は、微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長領域を有し、

前記方法は、

(a) 軟組織に付着するが、その内部成長を制限するように機能し得る微多孔性シェルを提供することと、

(b) 前記多孔性内部成長構造を可溶性充填剤またはキャリアで浸潤することとを含む、方法。

【請求項 20】

(c) 前記多孔性内部成長構造を抗生物質、成長因子、分化因子、サイトカイン、薬物、またはこれらの作用因子の組み合わせのうちの1つ以上で浸潤することをさらに含む、請求項19に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、骨成長を助長し、骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために有用な多相3次元印刷組織修復デバイスまたは足場、それを作製する方法、およびそれを使用して、骨成長を助長し、骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

頭蓋顔面の形成外科および整形外科分野において、骨および軟組織欠損は、多くの場合、自家組織移植片、処理されたヒト同種移植片材料、または人工(合成)材料を使用して充填されるが、それは全て、欠点を有する。自家材料は、別の外科手術部位から採取されなければならず、処理されたヒト同種移植片は、高価であり、一貫しておらず、かつ疾患伝染のリスクをもたらし得る。人工材料は、時として、良好に機能せず、時として、持続的または恒久的であり、感染する可能性がある。これらの材料は全て、複雑な部位に適合するように成形される必要があるか、または粒状の形態であり、何らかの方法で定位に固定されなければならない。完璧な骨修復材料、すなわち、複雑な欠損に適合するようにカスタム製作され得、骨修復を刺激し、大きな骨欠損を充填し、かつ最終的に、分解および/または再建し、再生された骨のみを残す材料に関する研究が続けられている。同様の用途に利用可能ないくつかの人工材料として、Owen他、J B M R Part A 2010, Chen他、Biomaterials 2011, Kim他、Tiss Eng Part B, 2010およびFu他、Acta Biomaterialia 2011によって説明されるものが挙げられる。

【0003】

歯槽突起裂またはトリーチャー・コリンズ症候群罹患者のような複雑な頭蓋顔面修復を要する子供は、成人と異なり、頭蓋顔面成長と連動して、骨再生を可能にし得る、完全吸収性材料を要求する。骨移植術は、これらの欠損を修復するために不十分であるため、これらの子供は、骨修復技術における革新を必要としている。理想的骨修復足場は、損失または欠失3次元構造にぴったり適合するような既製品であり、および/またはそのように

10

20

30

40

50

カスタム製作される必要がある。全体的細孔サイズ分布を制御しながらの微粒子浸出、相分離 / 反転、ポロゲン法、およびスピニンキャスト等の 3 次元発泡足場製作技法は、個々の細孔場所、細孔形態、および細孔相互接続性を制御しない。後者は、栄養素および代謝物の交換を助長し、かつ足場を通る骨および血管細胞の伝達を助長するために、その必要性が十分に裏付けられている (Lee 他、J Mater Sci Mater Med 2010; 21: 3195 - 3205)。

#### 【0004】

有用 3 次元印刷プロセスである、直接書込 (DW) は、Nadkarni 他、J Am Ceram Soc 2006; 89: 96 - 103 によって詳述されるように、連続フィラメントとしてのコロイドインクの押出成形 / 堆積に基づく。DW は、骨足場のために要求される格子構造の印刷を可能にするであろう自己支持フィラメント / 支柱のために、インク中に最小製作助剤 (すなわち、ポリマー) を要求する。足場は、XY 平面上にインクを押出成形し、底部層を「書き込み」、次いで、Z 高さまで移動させ、3 次元構造が形成されるまで、追加の層を書き込むことによって印刷される。印刷された素地の事後処理として、高温炉内での結合剤の完全燃焼および焼結が要求される。結果として生じる足場は、高分解能かつ非常に再現性がある。

10

#### 【0005】

Simon 他、J Biomed Mater Res 2007; 83A: 747 - 758 による以前の研究は、11mm のウサギの頭頂骨トレフィン欠損をヒドロキシアパタイト (HA) で充填することから成る。ベータ型リン酸三カルシウム (TCP) を HA に添加し、骨伝導性および再建可能であることが示されている、二相性コロイドを形成することによって、足場吸収率を増加させることが可能である。さらに、硫酸カルシウム (CS) が、一時的充填剤として、支柱間の空間を充填するために添加された。CS は、完全吸収性、骨伝導性、血管新生性、および生体適合性であることが知られており (Thomas 他、J Biomed Mater Res 2009; 88B: 597 - 610)、足場内において、骨内部成長前面の直前において分解する、充填剤として作用する役割を果たす。

20

#### 【0006】

メソ細孔空間および支柱パターンが内部成長骨の形態を決定する方法を決定することは、有用となるであろう。多くの研究が、細孔サイズと骨形成との間の関係を調査するために行われているが、最適細孔サイズは、不明であり、ほとんどの研究は、100 ~ 400  $\mu\text{m}$  の範囲であると示唆している (LeGeros, Clin Orthop Relat Res 2002; 395: 81 - 98)。DW は、足場内に制御されたメソ細孔サイズの生成を可能にする。頭頂骨欠損のための以前の足場設計の 1 つは、250  $\mu\text{m}$  ~ 400  $\mu\text{m}$  の異なる格子間隔を備える四分円を伴う、11mm の円盤から成るものであった。生体内で 8 および 16 週間後、より小さい細孔領域は、より大きい細孔領域と異なるパターンの骨成長および足場吸収率をもたらした (Ricci 他、J Craniofac Surg 2012; 23: 000 - 000; Ricci 他、"Biological Mechanisms of Calcium Sulfate Replacement by Bone." In: Bone Engineering, ed. JE Davies, Em<sup>2</sup> Inc., Toronto, Ont. Canada, Chapter 30, 332 - 344, 2000 (非特許文献 1))。

30

#### 【0007】

広範に及ぶ複雑な骨修復および再生を要求する多くの臨床状況が、容認可能な解決策のない問題を提示し続けている。現在の臨床治療は、精緻かつ複雑な自家移植手技を要求する妥協案であるか、あるいは不完全な同種異系または人工治療選択肢を提示する。あらゆる場合において、これらの複雑な骨修復状況は、具体的部位のために作製されていない材料が、可能な限り良好に欠損内に適合することを要求する。複雑な欠損を修復するためにカスタム製作される潜在性を有する骨伝導性生体材料から成る、3 次元足場を印刷するための新しい手段を提供することが望ましいであろう。

40

50

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Ricci他、“Biological Mechanisms of Calcium Sulfate Replacement by Bone.” In: Bone Engineering、第30章、332-344、2000、編者: JE Davies, Em2 Inc., カナダ、オンタリオ州トロント

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

10

第1の側面では、本発明は、微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長領域を有する、組織修復デバイスまたは足場を提供する。微多孔性シェルは、軟組織に付着するが、その内部成長を制限するように機能し得る。組織修復デバイスまたは足場の端部には、シェルが、骨の端部間、骨欠損にわたって等、組織修復デバイスまたは足場を安定させるためのガイドフランジとして延長され得るか、あるいは組織修復デバイスまたは足場は、扁平骨の欠損を修復するために使用され得る。組織修復デバイスまたは足場の中心は、空であり得、潜在的骨髓腔としての役割を果たし得る。多孔性内部成長構造は、例えば、硫酸カルシウム等の可溶性充填剤またはキャリアで浸潤され得る。例えば、硫酸カルシウム等のこの可溶性充填剤またはキャリアは、抗生物質、成長因子、分化因子、サイトカイン、薬物、またはこれらの作用因子の組み合わせのうちの1つ以上で浸潤され得る。組織修復デバイスまたは足場は、長骨の皮質骨端間に適合し、大部分が骨内膜表面および骨膜表面に由来する治癒骨を伝導させ得るか、あるいは、例えば、扁平骨の骨欠損またはその近傍で使用され得る。組織修復デバイスまたは足場は、改良された骨プレートまたは骨ねじを使用して、安定され得る。組織修復デバイスまたは足場は、3次元印刷手技によって生成され得、例えば、骨伝導性セラミックから形成され得る。

20

【0010】

30

組織修復デバイスまたは足場は、多相3次元印刷組織修復デバイスであり得る。支柱は、実質的に、円筒形であり得、例えば、約1-1,000、10-900、20-800、30-700、40-600、50-500、60-400、100-350、120-300、または約200-275 $\mu\text{m}$ の直径であり得る。いくつかの実施形態では、支柱は、約20-940 $\mu\text{m}$ の直径であり得る。いくつかの実施形態では、支柱は、骨梁の約3倍、2倍、または1.5倍以内、あるいは実質的に同一の直径である。いくつかの実施形態では、支柱は、最大100、200、300、400、500、600、700、800、900 $\mu\text{m}$ 以上、またはさらに1.0mm以上の空間によって、縦方向に分離され得る。同様に、組織修復デバイスまたは足場は、概して、約100、75、50、30、20、10未満、またはさらに約5、4、3、2、1未満、またはさらに0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 $\mu\text{m}$ 未満の直径のサイズで存在し得るメソ細孔を有する多孔性であり得る。支柱は、実質的に、線形配列で配列され得る。組織修復デバイスまたは足場は、実質的に、例えば、約8、10、12、16、18、20、24週間程度、生体内に存在後、組織修復デバイスまたは足場の約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50%以上が吸収され得るような吸収性であり得る。組織修復デバイスまたは足場は、少なくとも約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはさらにそれ以上の多孔性であり得る。同様に、組織修復デバイスまたは足場は、約8または16週間、生体内に存在後、組織修復デバイスまたは足場の約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50%以上が、骨によって置換され得るように、骨成長を促進および提供するように、効率的であり得る。組織修復デバイスまたは足場は、組織修復デバイスまたは足場内あるいは組織修復デバイスまたは足場の領域または区域内において、海綿骨または皮質骨を助長または形成し得る。組織修復デバイスまたは足場は、骨を再建する、または骨の密度を局所的に制御するために使用され得る。

40

50

## 【0011】

組織修復デバイスまたは足場は、3次元(X、Y、およびZ)において支柱間隔を変動させることによって形成される、メソ細孔の勾配を特徴とし得る。XおよびY次元における間隔は、例えば、100-940μmの間隔を伴う半径方向またはV形状パターンを使用して、達成され得る。Z次元における間隔は、半径方向支柱の複数の層を積層することによって、達成され得る。多孔性内部成長構造は、例えば、硫酸カルシウム等の可溶性充填剤またはキャリアで浸潤され得る。いくつかの実施形態では、多孔性内部成長構造は、例えば、リン酸カルシウムミネラルおよびI型コラーゲンタンパク質等、破骨細胞を引き付ける充填剤で浸潤され得る。いくつかの事例では、印刷された組織修復デバイスまたは足場は、約0.1-1μmの細孔サイズレベルのマイクロ/ナノ多孔性であり得る。細孔は、次いで、いくつかの事例では、可溶化コラーゲンで浸潤され得る。

10

## 【0012】

組織修復デバイスまたは足場は、少なくとも5、10、11、12、13、14、15、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、または100ミリメートル以上の距離にわたって、骨成長を助長し、骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために効果的であり得る。同様に、組織修復デバイスまたは足場は、皮質骨または皮質様骨および小柱骨または小柱様骨両方の成長を助長するために効果的であり得る。そのように成長された骨は、例えば、95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%、20%、10%程度の小柱骨または小柱様骨、または正反対に、すなわち、95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%、20%、10%程度の皮質骨または皮質様骨等、任意の好適な割合であり得る。組織修復デバイスまたは足場は、5、10、20、25、30、40、50、75、90%以上、骨欠損にわたる通常修復時間を削減または短縮するために効果的であり得る。いくつかの事例では、骨欠損は、通常要求される時間の約2分の1、3分の1、または4分の1の時間で修復され得る。多くの事例では、より大きい細孔サイズは、足場の外側部分近傍に見られ、より小さい細孔サイズは、足場の内側部分近傍に見られる。いくつかの事例では、表面積の内側半分を形成する足場の部分は、表面積の外側半分を形成する足場の部分の中間細孔直径サイズまたは面積より5、10、20、25、30、40、50、75、90%以上小さい、中間細孔直径サイズまたは面積を有し得る。いくつかの事例では、細孔サイズは、骨成長のタイプ(例えば、所望される骨密度、小柱様骨または皮質様骨)をカスタマイズするように、任意の好適なまたは望ましい構成で構造的に配列される。同様に、いくつかの事例では、組織修復デバイスまたは足場は、欠損に最適に及ぶように所望される組織または骨修復の形状をカスタマイズするように形成および成形される。さらに、いくつかの事例では、組織修復デバイスまたは足場の一部は、実質的に、中空であり得、例えば、組織修復デバイスまたは足場の内部部分の10、20、25、30、40、50、75、90%以上は、実質的に、中空であり得る。

20

30

## 【0013】

第2の側面では、本発明は、微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長領域を有する、組織修復デバイスまたは足場を提供することによって、骨成長を助長する、または骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療する方法を提供する。骨成長を助長する、または骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療することは、骨の密度を制御する、またはそれに影響を及ぼすことを特徴とし得、あるいは骨、例えば、海綿骨または皮質骨を再建することを特徴とし得る。ほとんどの事例では、組織修復デバイスまたは足場は、骨欠損症、骨折、または骨間隙を特徴とする領域に対して生体内に提供される。微多孔性シェルは、軟組織に付着するが、その内部成長を制限するように機能し得る。組織修復デバイスまたは足場の端部には、シェルが、骨の端部間に組織修復デバイスまたは足場を安定させるためのガイドフランジとして延長され得る。組織修復デバイスまたは足場の中心は、空であり得、潜在的骨髄腔としての役割を果たし得る。多孔性内部成長構造は、例えば、硫酸カルシウム等の可溶性充填剤またはキャリアで浸潤され得る。例えば、硫酸カルシウム等のこの可溶性充填剤またはキャリアは、抗生物質、成長因子、分化因

40

50

子、サイトカイン、薬物、またはこれら的作用因子の組み合わせのうちの1つ以上で浸潤され得る。組織修復デバイスまたは足場は、長骨の皮質骨端間に適合し、大部分が骨内膜表面および骨膜表面に由来する治癒骨を伝導させ得る。組織修復デバイスまたは足場は、改良された骨プレートまたは骨ねじを使用して、安定され得る。組織修復デバイスまたは足場は、3次元印刷手技によって生成され得、例えば、骨伝導性セラミックから形成され得る。

【0014】

組織修復デバイスまたは足場は、多相3次元印刷組織修復デバイスであり得る。支柱は、実質的に、円筒形であり得、例えば、約1-1,000、10-900、20-800、30-700、40-600、50-500、60-400、100-350、120-300、または約200-275  $\mu\text{m}$ の直径であり得る。いくつかの実施形態では、支柱は、約20-940  $\mu\text{m}$ の直径である。いくつかの実施形態では、支柱は、骨梁の約3倍、2倍、または1.5倍以内、あるいは実質的に同一の直径である。いくつかの実施形態では、支柱は、最大1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000  $\mu\text{m}$ 以上、またはさらに1.0 mm以上の空間によって、縦方向に分離され得る。同様に、組織修復デバイスまたは足場は、概して、約100、75、50、30、20、10未満、またはさらに約5、4、3、2、1未満、またはさらに0.5、0.4、0.3、0.2、0.1  $\mu\text{m}$ 未満の直径のサイズで存在し得るメソ細孔を有する多孔性であり得る。支柱は、実質的に、線形配列で配列され得る。組織修復デバイスまたは足場は、実質的に、例えば、約8、10、12、16、18、20、24週間程度、生体内に存在後、組織修復デバイスまたは足場の約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50%以上が吸収され得るような吸収性であり得る。組織修復デバイスまたは足場は、少なくとも約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはさらにそれ以上の多孔性であり得る。同様に、組織修復デバイスまたは足場は、約8または16週間、生体内に存在後、組織修復デバイスまたは足場の約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50%以上が、骨によって置換され得るように、骨成長を促進および提供するように、効率的であり得る。

【0015】

組織修復デバイスまたは足場は、3次元(X、Y、およびZ)において支柱間隔を変動させることによって形成される、メソ細孔の勾配を特徴とし得る。XおよびY次元における間隔は、例えば、100-940  $\mu\text{m}$ の間隔を伴う半径方向またはV形状パターンを使用して、達成され得る。Z次元における間隔は、半径方向支柱の複数の層を積層することによって、達成され得る。多孔性内部成長構造は、例えば、硫酸カルシウム等の可溶性充填剤またはキャリアで浸潤され得る。いくつかの実施形態では、多孔性内部成長構造は、例えば、リン酸カルシウムミネラルおよびI型コラーゲンタンパク質等、破骨細胞を引き付ける充填剤で浸潤され得る。いくつかの事例では、印刷された組織修復デバイスまたは足場は、約0.1-1  $\mu\text{m}$ の細孔サイズレベルのマイクロ/ナノ多孔性であり得る。細孔は、次いで、いくつかの事例では、可溶化コラーゲンで浸潤され得る。

【0016】

組織修復デバイスまたは足場は、少なくとも5、10、11、12、13、14、15、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、または100ミリメートル以上の距離にわたって、骨成長を助長し、骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために効果的であり得る。同様に、組織修復デバイスまたは足場は、皮質骨または皮質様骨および小柱骨または小柱様骨の両方の成長を助長するために効果的であり得る。そのように成長された骨は、例えば、95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%、20%、10%程度の小柱骨または小柱様骨、または正反対に、すなわち、95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%、20%、10%程度の皮質骨または皮質様骨等、任意の好適な割合であり得る。組織修復デバイスまたは足場は、5、10、20、25、30、40、50、75、90%以上、骨欠損にわたる通常修復時間を削減または短縮するために効果

10

20

30

40

50

的であり得る。いくつかの事例では、骨欠損は、通常要求される時間の約2分の1、3分の1、または4分の1の時間で修復され得る。多くの事例では、より大きい細孔サイズは、足場の外側部分近傍に見られ、およびより小さい細孔サイズは、足場の内側部分近傍に見られる。いくつかの事例では、表面積の内側半分を形成する足場の部分は、表面積の外側半分を形成する足場の部分の中間細孔直径サイズまたは面積より5、10、20、25、30、40、50、75、90%以上小さい、中間細孔直径サイズまたは面積を有し得る。いくつかの事例では、細孔サイズは、骨成長のタイプ（例えば、所望される骨密度、小柱様骨または皮質様骨）をカスタマイズするように、任意の好適なまたは望ましい構成で構造的に配列される。同様に、いくつかの事例では、組織修復デバイスまたは足場は、欠損に最適に及ぶように所望される組織または骨修復の形状をカスタマイズするように形成および成形される。

10

#### 【0017】

第3の側面では、本発明は、微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長領域を有する、骨成長を助長する、または骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために有用な組織修復デバイスまたは足場を生成する方法を提供する。本方法は、(a)軟組織に付着するが、内部成長を制限するように機能し得る微多孔性シェルを提供することと、(b)多孔性内部成長構造を可溶性充填剤またはキャリアで浸潤することと、随意に、(c)多孔性内部成長構造を抗生物質、成長因子、分化因子、サイトカイン、薬物、またはこれらの作用因子の組み合わせのうちの1つ以上で浸潤することとを特徴とする。可溶性充填剤またはキャリアは、例えば、リン酸カルシウムミネラルおよびI型コラーゲンタンパク質等、破骨細胞を引き付ける充填剤であり得る。微多孔性シェルによって囲まれた相互接続された支柱を含む多孔性骨内部成長領域を有する、骨成長を助長する、または骨折、骨欠損、または骨欠損症を治療するために有用な組織修復デバイスまたは足場は、本発明の第1および第2の側面に関して本明細書に説明される特徴を有し得る。

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0018】

【図1】図1は、長骨欠損を再生させるために使用され得る、組織修復デバイスまたは足場設計の概略図であり、欠損におけるその設置および固定を示す。足場は、微多孔性シェル(B)によって囲まれた相互接続された250μmの円筒形支柱を含み、軟組織に付着するが、内部成長を制限する、多孔性骨内部成長領域(A)を有する。足場の端部には、シェルが、ガイドフランジ(C)として延長され、骨端間に構造体を安定させ得る。足場の中心(D)は、潜在的骨髓腔として、空のまま残され得る。多孔性内部成長構造(図面の左上の破線で輪郭が描かれる)は、抗生物質、成長因子、分化因子、サイトカイン、薬物、またはこれらの作用因子の組み合わせのうちの1つ以上で浸潤され得る、可溶性充填剤/キャリア(実施例として、硫酸カルシウム等)で浸潤され得る。足場は、長骨の皮質骨端(E)間に適合し、大部分が骨内膜表面および骨膜表面(F)に由来する治癒骨を伝導させ得る。構造体は、改良された骨プレート(G)および骨ねじ(H)を使用して安定され得る。

30

【図2】図2は、連続フィラメントとしてのコロイドインクの押出成形/堆積に基づく、直接書込(DW)印刷装置を描写する。DWは、骨足場のために要求される格子構造の印刷を可能にする、自己支持フィラメント/支柱のために、インク中に最小製作助剤(すなわち、ポリマー)を要求する。足場は、XY平面上にインクを押出成形し、底部層を「書き込み」、次いで、Z高さまで移動させ、3次元構造が形成されるまで、追加の層を書き込むことによって印刷される。印刷された素地の事後処理として、高温炉内での結合剤の完全燃焼および焼結が要求される。結果として生じる足場は、高分解能かつ非常に再現性がある。

40

【図3】図3は、250μm~400μmの異なる格子間隔を備える四分円を伴う、11mmの円盤を有する、頭頂骨欠損のための以前の足場設計の1つを描写する。生体内で8および16週間後、より小さい細孔領域は、より大きい細孔領域と異なるパターンの骨成

50

長および足場吸収率をもたらした。

【図4】図4は、細孔幾何学形状の多様性を増加させるように設計された2つの足場構造、すなわち、(A)小細孔(S P)および(B)大細孔(L P)を描写する。両足場は、片面に層状平行支柱の中実キャップを含み、生物学的に、頭皮からの軟組織内部成長を阻止するための障壁としての役割を果たすが、構造的に、Z方向における足場格子の印刷のためのベースとしての役割を果たした。このベース上に構築された足場設計は、S PおよびL P足場間で異なるが、一般に、1つ以上の半径方向(R)層と交互する、ネスト化された同心円(C C)の層から成った。Z方向における多孔率の変動は、半径方向層の1、2、または3スタックの使用に由来し、XおよびY方向における多孔率は、同一の層内の半径方向支柱間の間隔から生じた

【図5】図5は、形成される固有のメソ細孔体積の略図を提供する。そのような体積のリングは、説明される足場内のC CおよびR層間の空間を形成する。

【図6】図6は、1Z高さのメソ細孔を通る8週間後のS P足場からの(左)水平スライスを示し、細孔は、同心円(C C)および半径方向(R)支柱によって形成される。外側の最大のものを除き、全ての細孔は、マイクロCTを用いて評価された。R支柱が狭くなるにつれて、骨は、支柱に付着し始めた。骨は、同一の足場からの外側リングにおける1Zおよび2Z高さメソ細孔の垂直スライスの(右上)画像に示されるように、C Cリング間から上向きに成長したため、断続的に見える。(右下)は、16週間後のL P足場の水平スライスである。吸収された支柱が新しい骨と置換されている、有意な類骨形成(緑色)に留意されたい。

【図7】図7は、0、8、および16週間後の3つのリングサイズ、すなわち、大、中、および小を有する小細孔足場から観察された1Z高さメソ細孔のパーセンテージを提供する。

【図8】図8は、8週間後のL P足場内の3Zメソ細孔の中心を通る垂直スライスおよび中央を通る水平スライスを提供する。

【図9】図9は、0、8、および16週間後の3つのリングサイズ、すなわち、大、中、および小を有する、小細孔足場から観察された2Z高さメソ細孔のパーセンテージを提供する。

【図10】図10は、0、8、および16週間後の3つのリングサイズ、すなわち、大、中、および小を有する、小細孔足場から観察された3Z高さメソ細孔のパーセンテージを提供する。

【図11】図11は、A)大細孔足場、B)、外側リングの除去前後の小細孔足場、およびC)外側リング大メソ細孔の拡大略図を描写する。長方形は、同心円間の3層の半径方向支柱に対応し、矢印は、メソ細孔の4つの開放壁を示す。

【図12】図12は、16週間後の大細孔足場のマイクロCTスキャンを提供する。足場は、中心を通る垂直および表在メソ細孔と深部メソ細孔との間の水平の両方からデジタル的に区分されて見られる。足場およびキャップは、より暗く見え、周囲硬組織は、より明るい陰影で見える。

【図13】図13は、メソ細孔を通る足場からの水平スライスを示す。

【図14】図14は、足場内の3Zメソ細孔の中心を通る垂直スライスおよび中央を通る水平スライスを提供する。

【図15】図15は、皮質骨および小柱骨両方の成長を実証する、足場を通るスライスを提供する。

【図16】図16は、別個の四分円内に異なるサイズのメソ細孔を有する4つの四分円メソ細孔設計を有する、足場を描写する。

【図17】図17は、細孔幾何学形状の多様性を増加させるために設計された2つの足場構造、すなわち、(A)小細孔(S P)および(B)大細孔(L P)を描写する。小細孔設計は、0 - 4 1 0  $\mu\text{m}$ の細孔寸法を有し、大細孔設計は、2 5 0 - 9 4 0  $\mu\text{m}$ の細孔寸法を有する。

【図18】図18は、骨成長を明確に実証する、埋込後8週間ににおける足場損失(再建)

10

20

30

40

50

の割合対足場体積を図式的に描写する。

【図19】図19は、骨成長を明確に実証する、埋込後8週間ににおける利用可能な空間の割合として骨対足場体積を図式的に描写する。

【図20】図20は、大細孔(左)および小細孔(右)足場に対する埋込後0および8週間に存在する足場、空間または軟組織、および骨の体積の割合を図式的に描写する。大細孔足場は、 $616\text{ }\mu\text{m}$ のz軸を伴う、 $428 - 636\text{ }\mu\text{m}$ 範囲内の細孔サイズを有する。小細孔足場は、 $410\text{ }\mu\text{m}$ のz軸を伴う、 $25 - 188\text{ }\mu\text{m}$ 範囲内の細孔サイズを有する。

【図21】図21は、(a)その中に設置された足場を有する、骨欠損の縦方向断面の略図(上)、(b)印刷された足場の端面図の略図(左下)、(c)組織修復デバイスまたは足場に好適な骨欠損の側面図(下中央)、および(d)組織修復デバイスまたは足場に好適な骨欠損の上面図(右下)を提供する。

【発明を実施するための形態】

#### 【0019】

多相3次元印刷組織修復デバイス(M3DRD)足場は、全て、深刻な短所を有し、複雑な骨欠損を修復するために必要な複雑な設計および形状で生成されることができない、現在の骨移植片技法および骨移植代替物に取って代わるために使用され得る。M3DRDは、頭蓋顔面および整形外科の骨修復のための複雑な移植用途のためにカスタム生成することができる。

#### 【0020】

多相3次元印刷組織修復デバイス(M3DRD)は、少なくとも1つの構成要素から開始し、可能性として、3つ以上の構成要素を備えるデバイスである(図1)。主要構成要素は、(1)足場、(2)一時的充填剤/キャリア材料、および(3)充填剤/キャリア内に含まれる生体活性分子/薬物である。

#### 【0021】

##### (足場)

M3DRDのコアは、ロボット堆積または直接書込(DW)技術と称される3-D印刷技法を使用して生成され得る、3次元足場である(図2参照)。本技法は、コンピュータ制御された印刷プロセスおよびコロイドインクを使用し、3次元構造を形成する。これらの構造は、自己成分上に形を成すことができるか、またはトモグラフィーデータ(X線、超音波検査、またはMRI)から個々の骨欠損を充填するためにカスタム成形することができる。

#### 【0022】

インク製作および印刷システム自体は、他の参考文献により詳細に説明されるが、基本的に、本システムは、印刷ノズルから流出するにつれて固体となる、水ベースの流動学的に制御されたインクを使用する。これらのインクは、コロイドインクの取り扱い特性を制御する有機化学物質を含む、水ベースのスラリー中の細かく制御されたセラミック粒子から成る。これは、支持されていない構造要素の最小垂れの有無にかかわらず、3-D格子状構造が重ねて印刷されることを可能にする。

#### 【0023】

本システムを使用する場合、第1の層の要素は、x-y-z制御ガントリシステムのxおよびy座標制御システムを使用して、小(約 $50 - 400\text{ }\mu\text{m}$ 直径)ノズルを通して、支持プレート上にインクを押しつけることによって、印刷され得る。次いで、z制御システムは、1ノズル直径未満だけ、ノズルを若干上方に移動させるために使用される。次いで、次の層が、第1の層を覆って印刷される。これは、3-D構造全体が終了するまで、層毎に継続される。

#### 【0024】

構造全体は、乾燥を防止するために、油浴中で印刷され得る。システムは、最大3つの材料が単一構造を印刷するために使用され得るように、3つのノズルおよびインクリザーバを有し得る。褪せやすいインク、すなわち、焼成の間に完全燃焼する材料から全体的に

10

20

30

40

50

なるインクもまた、印刷プロセスの一部として使用され得る。これらは、一時的支持を要求する複雑な部品のための支持構造を印刷するために使用されることがある。

【0025】

結果として生じる構造は、次いで、油浴から除去され、乾燥され、プログラム可能な炉内で焼成され、最終セラミック構造を生成する。焼成は、現在、約1100で約4時間行われ、これは、実質的に、有機成分を完全燃焼し、セラミック粒子を立体構造へと一緒に焼結させる。これは、精密かつ予測可能な構造を生成するために、印刷プロセスの中に計算されることができる少量の予測可能な収縮を生じさせ得る。

【0026】

印刷ノズルは、通常、円筒形であり、円筒形ロッド状の印刷された構造を生成し得る。しかしながら、非円筒形構造を生成するように成形されたノズルが、作製され得、該構造は、我々の先行表面改良特許（米国特許第6,419,491号参照）に基づいて、細胞移動、成長、および分化を制御するために設計されたサイズの表面線条を伴う。

【0027】

（組成物）

リン酸カルシウムベースの足場が、恒久的、再建可能（骨再建プロセスを通して）、または可溶性の材料、またはこれらのいくつかの組み合わせに基づくインクから作製された。この時点におけるいくつかの有望材料は、ヒドロキシアパタイト（H A）セラミック、リン酸三カルシウムセラミック（T C P）、および2つの材料の組み合わせを有する二相性セラミック（H A / T C P）である。H A材料は、恒久的または非常に長持ちする足場（焼成温度に応じて）を生成し、H A / T C Pの組み合わせは、長持ちする足場を生成する高H Aパーセンテージを伴って変動し得、約99%T C P / 1%H A足場は、破骨細胞活性を通して有意に再建することが示されている足場を生成するために使用されている。いくつかのそのような足場は、円盤の異なる領域内に可変細孔構造を伴う、約3mm厚の11mm直径多孔性円盤と、約12mm直径の約0.5mm厚の中実キャップ構造とを含む。これらは、骨および軟組織応答を試験するために、ウサギの頭頂骨（頭蓋骨）内の11mm直径トレフィン孔内に挿入された。これらの足場は、線維組織浸潤を抑制するための中実シェル構成要素と、270μm直径要素（この直径は、ノズルサイズを使用して変動され得ることができる）および100μm未満から1000μmの最大寸法のサイズの細孔（メソ細孔）サイズを伴う内部格子構造との組み合わせを有するように、効果的に生成され得ることが実証された。ミクロンスケールを上回り、かつミリメートルスケールを下回る、細孔および支柱サイズを伴う、これらの構造体は、メソ構造と称される。H AおよびT C P組成物による格子構造は、足場内への新しい骨の骨伝導（osteoconduction）を助長する。小有機粒子をインクに添加することによって、微多孔性（サブミクロンから約20μm細孔サイズ）足場構成要素もまた、生成され得ることができる。これらは、線維接続組織に付着するように設計されることがある。中実層、種々のサイズの目の粗いメソ細孔格子、マイクロ構造格子要素、および微多孔性格子要素のこれらの組み合わせを使用することによって、複雑な構造が、骨、骨髄組織、線維組織、および血管の内部成長および形成を伝導させる（conduct）ために設計および製作されることができる。長骨再生のための足場の実施例は、図1に示される。D Wシステムは、足場内に2つ以上の材料を印刷することができる、恒久的H A構成要素ならびに再建可能T C P要素を伴う足場を印刷するために適している。これは、足場の長期的強度が必要な整形外科用途において適用可能であり得る。

【0028】

（足場充填剤／キャリア材料および生体活性因子）

この充填剤／キャリア成分は、足場に浸潤し、中実またはほぼ中実（充填剤が微多孔性である場合）複合構造を生成するために使用され得る、セメント、ポリマー、または有機／天然ヒドロゲルベースの材料を有する。この充填剤／キャリア材料は、ある既知のまたは制御率において、可溶性であり、足場により大きな初期力学的強度および安定性を提供し、次いで、分解し、骨または軟組織内部成長を可能および／または刺激し得る（用途お

10

20

30

40

50

より設計に応じて）。充填剤／キャリアは、足場の外側からその中心へと内側に分解し、足場構成要素が暴露されるにつれて、および組織および血管が周囲組織から成長するにつれて、複合材が多孔性となることを可能にし得る。この構成要素はまた、足場の内部部分が、早期治癒の中に通常そこに形成され得る血栓を形成することを防止し得る。この血栓は、口腔および頭蓋顔面部位に感染し得、これらの部位は、多くの場合、非滅菌性である、あるいは肉芽／線維組織または壞死となり、いずれも、骨内部成長を妨害し得る。充填剤／キャリア材料は、本質的に、組織形成を刺激し得るか、あるいは、それは、組み込まれた薬物、成長因子、サイトカイン、または抗生物質を含み得る。

#### 【0029】

いくつかの例示的充填剤／キャリア材料は、コーティングまたはヒドロゲル充填剤として使用され得る、硫酸カルシウム（焼き石こう）、徐放性硫酸カルシウム（低速溶解バージョンの硫酸カルシウム）、およびキトサン、キチンの誘導体、生物学的に誘導された多糖類である。ポリ（L-乳酸）（PLLA）のような吸収性ポリマー等の他の材料も、充填剤／キャリア材料として使用され得るが、代替として、これらは、充填剤ではなく、足場のためのコーティング材料として使用され得る。したがって、これらは、依然として、足場を強化し、分離材料として作用することができるが、足場を充填し、それを中実構造にするために利用されないであろう。

#### 【0030】

硫酸カルシウムは、充填剤および薬物キャリア材料として使用され、構造の力学的特性を向上させ、予測可能な方法において、生物学的に活性作用因子を放出し、かつ骨形成に干渉しないことが見出された。このキャリアを使用して調査された生体活性分子は、組み換え型血小板由来成長因子（PDGF）および骨形成タンパク質（BMP）を含む。

#### 【0031】

（足場メソ構造を使用した足場の力学的特性、骨特性、および足場再建の制御）  
頭蓋顔面骨修復において使用するために好適な力学的特性を伴い、いくつかの外部支持を伴って、整形外科修復のために適切である、足場を設計および生成することが可能である。足場メソ構造はまた、足場内に伝導される骨の構造特性および密度を制御するために使用され得る。モデルとして、ウサギの11mm直径トレフィン欠損を使用することによって、3つの異なる設計足場が、欠損を充填し、骨再生を検査するために生成された。全ての足場は、同一の材料、すなわち、99%TCP 1%HAセラミックから生成され、270μmの直径の同一サイズの印刷された支柱から作製された。全ての足場はまた、医療グレードの硫酸カルシウムで充填され、中実構造として開始された。メソ構造は、足場の層内の支柱間隔を使用し（xおよびy方向）、z方向に支柱を積層することによって変動された。 $250 \times 250 \mu\text{m}$ 、 $250 \times 400 \mu\text{m}$ 、および $400 \times 400 \mu\text{m}$ サイズ細孔と称される（xおよびy方向）開細孔を生成する3つの支柱間隔を含む、あるタイプの足場が、生成された（これらの寸法は、適切である）。「Z」間隔は、若干、1つの支柱の高さ、すなわち、230μmを下回った。マイクロコンピュータ断層撮影によって測定されるように、これらの3つのゾーンは、46、56、および70%の足場体積パーセンテージを有していた。

#### 【0032】

2つの足場が、異なる間隔の同心リングと交互する半径方向支柱を使用して生成された持続的可変多孔率を有するように生成された。一方の足場は、1zおよび2z間隔の層と、55～94%の足場体積を伴うリング形状領域とを有していた。他方の足場は、3z間隔と、41～56%体積の領域とを有していた。したがって、41～94%足場に及ぶ足場体積の範囲が、試験された。全足場において、骨は、8週間までに、欠損の中心まで一貫して成長可能であった（5.5mm距離にわたる）。

#### 【0033】

この程度の一貫した骨浸潤は、他の骨伝導性（osteocductive）足場では観察されず、これは、足場内の足場要素のサイズおよび編成によるものである。内部成長を行うために、骨梁のサイズ範囲内に多くの小支柱を使用することによって、かつ欠

10

20

30

40

50

損にわたって骨を直線に伝導させるようにそれらを編成することによって、骨伝導のプロセスを最適化することが可能である。「有向骨伝導 (directed osteocondensation)」と称される本プロセスは、このタイプの足場に対して新規である。ランダム細孔編成を伴う足場では、有向骨伝導のプロセスは、観察されず、大欠損にわたる一貫した成長は、生じるのにより長い時間がかかる。本明細書に説明される構造では、8および16週間ににおける骨体積は、9～40% (8週間) および10～56% (16週間) に及んでいた。骨体積は、足場体積に反比例した。より開放した (より小さい足場体積) 足場は、より大きな骨内部成長を示し、骨は、経時的に増加した。足場再建は、5%～56%に及び、より多くの再建が、後により開放した足場において観察された。より大量の足場 (より小さい細孔を伴う) は、よりコンパクトな層状構造骨を生成し、足場および骨の組み合わせは、ほとんど軟組織を示さず、皮質様構造に類似していた。対照的に、より少量の足場 (より大きい細孔を伴う) は、より多孔性の無秩序な骨を生成し、骨および足場の組み合わせは、海綿骨に類似していた。足場に隣接する骨のタイプ (皮質骨または海綿骨) は、少なくとも部分的に、隣接する足場内に成長する骨に影響を及ぼした。

10

#### 【0034】

##### (M3DRD足場の特徴)

総括すると、このデータは、設計されたメソ構造を伴う骨伝導性足場が、広範囲の骨修復用途に好適な力学的特性とともに作製され得ることを示す。これらの足場は、骨細胞または幹細胞増強の必要なく、有意な距離にわたって、骨を再生するために使用することができる。大欠損にわたって観察された骨伝導率は、広い距離にわたって、効率的に骨を伝導させるように、直線アレイに編成される骨梁のサイズ範囲内の多くの小支柱の使用に基づく「有向骨伝導」によるものである。

20

#### 【0035】

足場はまた、結果として生じる骨密度、構造、および足場再建率を制御するために使用されることができる。M3DRD足場は、隣接する骨に微細構造的に近似または一致する骨を再生するように設計されることがある。すなわち、海綿骨が必要とされる場合、海綿骨構造を再生することが可能であり、皮質骨が必要とされる場合、その形状を再生することも可能である。中実キャップ層のような追加の特徴は、軟組織内部成長を上手く防止し得る。CS充填剤は、一時的に、構造力学特性を向上させ、骨形成を妨害せず、感染症による線維組織内部成長および浸潤を防止し、血管新生を継続可能にし得る。

30

#### 【0036】

CSはまた、生体活性分子の制御された放出のために使用されることがある。DW印刷システムの使用は、ミクロンスケールの精度で、複雑なメソ構造のカスタム設計および印刷を可能にする。これは、既製品印刷構造ならびにMRIまたはCTデータに基づく患者内の複雑な欠損を修復するためのカスタム印刷M3DRD足場の両方を可能にする。この技術は、頭蓋顔面および整形外科骨修復/置換分野における広範な用途を有する。

#### 【0037】

##### (例示的組織修復デバイスまたは足場)

骨欠損は、現在、複雑な自家移植手技あるいは具体的部位に設計されていない不完全同種異系または人工治療によって充填される。直接書込 (DW) 製作は、複雑な骨欠損を修復するためにカスタム製作される潜在性を有する、骨伝導性生体材料である、複雑な多成分二相性 (COMBI) リン酸カルシウム足場から成る、3-D足場を印刷することを可能にする。現在の文献は、依然として、骨再生のための最適および閾値細孔要件について討論している。我々は、臨界サイズの (そのままでは閉鎖不可能である) 生体内モデルにおいて足場を試験し、骨密度、内部成長の程度、および骨/足場再建に及ぼす影響を研究した。

40

#### 【0038】

足場は、全 (X、Y、およびZ) 平面に可変メソ細孔間隔を伴って設計された。細孔サイズを変動させるために、z高さにおける1、2、または3つの重複層の半径方向支柱と交互する、2つの同心円の層の足場設計が、DWによって、15:85HAP/-TCA

50

P から製作され、1100 で焼結された。硫酸カルシウムの一時的充填剤は、軟組織侵入および／または感染症を防止した。足場は、生体内のトレフィン欠損内に埋め込まれた。8-16 週間後、骨内部成長および足場および骨再建の分析が、マイクロCT (Scancano 医療) によって定量化され、足場は、ポリメタクリル酸メチル (PMMA) 中に埋め込まれ、次いで、光学顕微鏡を用いて組織学的に評価された。

#### 【0039】

足場体積は、リング区画によって変動するように設計された。骨体積は、より開放し、すなわち、より少ない足場密度領域において大きかった。細孔は、約 100 ~ 940 ミクロンに及んだ。骨は、全ての様々な高さの層内に成長したが、最大細孔サイズに到達するのはより時間がかかることが認められた。500 ミクロンより大きい細孔も、依然として、以前の文献の見解とは対照的に、良好に骨で充填された。

10

#### 【0040】

使用された特定の足場は、3 次元印刷されたリン酸カルシウム足場が、8 週間以内に、少なくとも 11mm 骨間隙にわたって、骨を成長させることができることを実証した。骨は、940 μm 程度の大きい細孔から 20 μm 程度の小さい細孔内にまで成長することができる。骨形態は、足場設計に応じて、小柱骨状または皮質骨状であることができる。足場は、広範囲の臨床用途のための局所的に異なる生物学的および力学的特性とともに設計され得る。

20

#### 【0041】

(実施例)

(実施例 1)

(材料および方法)

2 つの足場構造、すなわち、小細孔 (SP) および大細孔 (LP) が、細孔幾何学形状の多様性を増加させるように設計された。両足場は、片面に層状平行支柱の中実キャップを含み、それは、生物学的に、頭皮からの軟組織内部成長を阻止するための障壁としての役割を果たすが、構造的に、Z 方向における足場格子の印刷のためのベースとしての役割を果たした。このベース上に構築された足場設計は、SP および LP 足場間で異なるが、一般に、1 つ以上の半径方向 (R) 層と交互する、ネスト化された同心円 (CC) の層から成了た。Z 方向における多孔率の変動は、半径方向層の 1、2、または 3 スタックの使用に由来し、X および Y 方向における多孔率は、同一の層内の半径方向支柱間の間隔から生じた。SP および LP 足場の具体的設計は、図 4 および 5 に図示されている。

30

#### 【0042】

足場は、15 : 85 HA / - TCP のインクを用いて印刷され、1100 で焼成された。足場は、次いで、マイクロCT (Scancano Medical) において、中分解能でスキャンされ、埋込前の支柱およびメソ細孔の体積を評価した。足場は、次いで、CS で充填され、キャップ上方の 1mm リングの足場が、歯科用ドリルで除去され、周縁における阻止された半径方向支柱を開放した。これによって、直径 11mm が残された。

30

#### 【0043】

(外科手術手技)

外科手術が、Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) 承認プロトコルに従って、8 匹の成獣のニュージーランドホワイトウサギにおいて行われた。3.0 cm 正中矢状切開が、頭部背面の皮膚および軟組織を通して作られた。左右対称 11.0 mm 直径トレフィン欠損が、硬膜病変を伴わずに、頭頂骨内の頭蓋幹線のすぐ後方に空けられた。

40

#### 【0044】

それぞれ、右および左欠損内への LP および SP 足場の設置後、軟組織および皮膚は、4-0 吸収性縫合糸を用いて閉鎖された。創傷は、滅菌生理食塩水で清浄され、トリプル抗生物質軟膏で処置された。感染症、疼痛、または他の合併症の徴候は、もたらされなかった。7 匹が、8 週間後、1 匹が、16 週間後、安樂死させられた。

#### 【0045】

50

### (試料分析)

切除されたインプラントが、周囲組織とともに、70%エタノール中に固定され、マイクロCTにおいて、中分解能でスキャンされた。各試料内の着目体積は、固有のメソ細孔体積の各リングによって占有された体積であった（図4および5参照）。全試料の外側体積リングは、骨が非充填欠損内にあるこの空間を充填することが分かっているため、測定されなかった（Sohn他、J Periodontal Implant Sci 2010; 40: 180-187）。各SP足場は、6つの固有のサイズのメソ細孔リング、すなわち、各1Zおよび2Z場所に対して3つの同心リング体積を含んでいた。各LP足場は、3Z場所内の同心リングによって形成される、2つの固有のサイズのメソ細孔体積を含んでいた。メソ細孔の固有のリング毎に、骨、足場、および軟組織／空間に対する体積パーセンテージが、2つの閾値、すなわち、足場（S）および足場+骨（SB）を設定することによって取得された。骨内部成長のパーセンテージは、SBからSを減算することによって測定され、軟組織／空間のパーセンテージは、100%からSBを減算することによって測定された。足場吸収率は、埋込前に測定された足場体積からSを減算することによって測定された（図7、9、10参照）。

10

### 【0046】

試料は、次いで、組織学のために、メタクリル酸メチル中に埋め込まれ、80μm厚のスライスが、各試料のR層を通る特定の点で調製された。SP足場毎に、水平スライス（キャップに平行）が、1Zおよび2つの2Zメソ細孔区画を通して得られた。LP足場毎に、水平スライスが、2つの3Zメソ細孔を通して得られた。さらに、垂直スライス（キャップに垂直）が、全足場の中心を通して得られた。全スライスは、染色され、デジタル的に撮影された（図6、8参照）。

20

### 【0047】

他の試料は、後方散乱電子撮像（BEI）およびEDAX評価を用いた走査型電子顕微鏡（SEM）（Hitachi）を使用して検査され、無機物組成物を分析した。以前の研究（Simon他、J Biomed Mater Res 2008; 85A: 371-377）に基づいて、ここで使用された試料サイズは、0.05未満のp値で群間の15-20%差を決定するための統計的検出力を有していた。

### 【0048】

30

#### （結果）

マイクロCTおよび組織学的分析によって、全次元のメソ細孔内への骨内部成長が明らかになった。より高い骨のパーセンテージは、SPおよびLP足場の両方の周縁におけるより大きい細孔内で見られた。一般に、より高い足場支柱吸収率は、より高い骨内部成長率を伴う領域内で生じた。それにもかかわらず、SP足場では、より骨成長が少ないより小さい体積を含む、2Zメソ細孔の内側リングにおいて、支柱吸収率は、より高かった。これらのより閉鎖した領域の組織学的結果は、骨が、それらの間ではなく、直接、支柱上に成長したことを示した。1Zメソ細孔では、骨は、周縁から内向きに成長を見せなかつたが、2Zメソ細孔からのCCリングの間から成長した。

### 【0049】

40

CS充填剤は、骨が充填されるにつれて吸収することが認められたが、しかしながら、組織学画像は、島状の沈殿物が残っていることを示し、SEM、BEI、およびEDAXは、それがリン酸カルシウム（CaP）であることを示した。これは、他の研究にも報告されている。ほとんどの動物において、CaPは、骨成長を伝導させ、骨形成と融合することが認められたが、他の動物では、非常に高密度のCaP沈殿物の面積が、骨形成を阻止することが認められた。

### 【0050】

50

#### （考察）

TCPから作製され、CSで充填された可変メソ細孔足場は、皮質骨および小柱骨に類似する骨構造を再成長させるための足場の設計を可能にする。組織学的分析は、依然として、継続中であることに留意することが重要である。CaP沈殿物の大量の蓄積は、Ca

S が吸収されるにつれて、緊密なメソ細孔空間内に蓄積した飽和溶液 Ca<sup>2+</sup> および PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> の結果であると考えられる。CaS を分解する酸性の性質はまた、周囲の足場支柱の TCP からの Ca<sup>2+</sup> および PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> の放出を増加させ得る。

#### 【0051】

8 週間後のマイクロ CT 結果は、約 68 - 99 % の足場 + 骨 (SB) のパーセンテージの勾配および 4 - 14 % の足場吸収率の勾配を示す。最も驚くべきことに、足場吸収率を 14 % 近く最大化したメソ細孔体積は、体積スペクトルの両端近傍であり、より大きい方は、428 - 636  $\mu\text{m} \times 616 \mu\text{m}$  であり、より小さい方は、188 - 253  $\mu\text{m} \times 410 \mu\text{m}$  であった。これらの 2 つの体積のうち、より大きい方は、67.56 % (40.19 % B + 27.37 % S) の SB をもたらし、より小さい方は、92.93 % (27.25 % B + 65.68 % S) の SB をもたらし、それぞれ、小柱骨および皮質骨の骨パーセンテージに非常に類似していた。より小さいメソ細孔は、あまり骨を伝導させなかつたが、関連付けられた破骨細胞とともに、直接、支柱表面に沿い、その骨前面を向かわせた方法のため、等しく高支柱吸収率を生じさせたことが認められた。

#### 【0052】

これらのデータは、骨内部成長 / 再建と細孔体積との間の関係を実証する。今後の研究では、微小解剖学的に正確な骨を再生するために設計された細孔寸法を使用して、足場設計を試験するであろう。これらの足場の吸収率の制御は、頭蓋顔面奇形を伴う子供の顔面再構築のためのその使用を可能にするであろう。

#### 【0053】

(実施例 2)

(背景)

外傷、疾患、または先天性欠損によって損失された骨の修復は、現在、大量の構造的に複雑な骨の再生を要求する。これは、典型的には、自家骨移植を伴うが、これは、調達後の罹患率、より長い手術時間、および制限された骨可用性のため、不完全プロセスである。さらに、自家移植片の現在の代替物は各々、その独自の固有の欠点を含む。処理されたヒト死体骨および異種骨は、二次外科手術部位の必要性をなくすが、感染症を伝染させ、自己免疫反応を引き起こす危険がある。加えて、リン酸カルシウムセラミックおよびセメント等の人工材料を用いた治療は、骨伝導性および / または骨誘導性であるが、大きな欠損では、力学的に不安定であり、完全骨形成吸収は不可能である。したがって、研究チームは、力学的に安定し、かつ吸収性である、リン酸カルシウム足場を設計することに取り組んできた。

#### 【0054】

そのような足場材料の 1 つである、ヒドロキシアバタイト (HA) および - リン酸三カルシウム ( - TCP ) の二相性複合材は、一般に、二相性リン酸カルシウム (BCP) として知られている。骨移植片材料としての BCP の開発は、HA に優る - TCP の優先的溶解の概念に基づくものであった。

#### 【0055】

BCP 足場内への骨内部成長は、欠損または創傷部位内への一次骨形成を模倣したものであり、これは、欠損内への損傷皮質骨および海綿骨の骨内膜表面または骨膜層からの新しい未発達の柱状骨の方向性成長として生じる。しかしながら、これは、足場が骨伝導のための適切な表面化学性質および微構造を有する場合のみ生じ、適切に選択された足場メソ構造 (50 - 1000 範囲) を用いて、構造的に制御された様式においてのみ生じることができる。

#### 【0056】

直接書込 (DW) 製作等の立体自由造形技術の使用は、大きな複雑な欠損を修復するようにカスタム製作される潜在性を有する骨伝導性生体材料から成る、3-D 足場を印刷することを可能にする。複雑な多成分二相性 (COMBI) 足場が、DW によって生成され、生体外で研究されている。現在の文献は、依然として、骨内部成長のために要求される最適および閾値細孔サイズについて討論している。

10

20

30

40

50

## 【0057】

COMBI足場が、全(X、Y、およびZ)平面に段階的メソ細孔間隔を含むように設計された。本研究は、左右対称の臨界サイズの(そのままでは閉鎖不可能である)ウサギの頭頂骨欠損モデル内において、本設計を生体内で試験し、細孔サイズが、骨密度、内部成長の程度、および骨/足場再建に影響をどのように及ぼすかを実証するであろう。

## 【0058】

## (方法)

一方がより大きい細孔サイズを伴い、一方がより小さい細孔サイズを伴う2つの固有構造の足場が、1、2、または3層の半径方向に配向された支柱を伴う同心円の層をZ平面において重ねることによって設計された。全ての足場は、一端に、軟組織侵入を防止するための中実キャップと、他端に、内側円形層の結果、開洞を伴って設計された。そのような足場は、DWによって製作され、15:85HAP/-TCPからCOMBI構造として印刷され、次いで、1100で焼結された。外科手術グレードの硫酸カルシウムが、一時的充填剤として使用され、メソ細孔を通した軟組織侵入および/または感染症を防止した。全足場の外側リングが、歯科用ドリルで除去され、印刷プロセス中に半径方向支柱の層化によって作成された外側障壁を開放させた。

10

## 【0059】

8匹のニュージーランドホワイトウサギにおいて、1つの大細孔および1つの小細孔足場が、ウサギのトレフィンモデルによって、左右対称に埋め込まれた。7匹のウサギでは、14の足場が、分析のために、8週間後に除去された。2つの足場は、分析のために、16週間後、残りのウサギから除去された。メソ細孔体積の割合としての骨内部成長および足場再建の量が、マイクロCT(Scanco Medical)によって定量化された。試料は、アルコールで脱水され、サルチル酸メチルで清浄され、次いで、ポリメタクリル酸メチル(PMMA)中に埋め込まれた。大細孔足場は、1つの中心垂直スライスおよび3z高さメソ細孔を通した2つの水平スライスに区分された。小細孔足場は、1つの中心垂直スライス、2zメソ細孔を通した2つの水平スライス、1zメソ細孔を通した1つの水平スライスに区分された。区画は、走査型電子顕微鏡(SEM; S-3500N、Hitachi Instruments)および光学顕微鏡(Apérico)を用いた組織学を使用して評価された。

20

## 【0060】

30

## (結果)

足場体積は、リング区画によって変動するように設計された。骨体積は、より開放した、より少ない足場密度の領域において大きかった。細孔は、約100~940ミクロンに及んだ。骨は、全ての様々な高さの層内に成長したが、最大細孔サイズに到達するためにより時間がかかることが認められた。500ミクロンより大きい細孔も、依然として、以前の文献の見解とは対照的に、良好に骨で充填された。足場体積は、リング区画によって変動するように設計された。骨体積は、より開放した、より少ない足場密度の領域において大きかった。細孔は、約100~940ミクロンに及んだ。骨は、全ての様々な高さの層内に成長したが、最大細孔サイズに到達するのはより時間がかかることが認められた。500ミクロンより大きい細孔も、依然として、以前の文献の見解とは対照的に、良好に骨で充填された。

40

## 【0061】

表1は、A)印刷後の8つの大細孔足場、B)8週間後の3つの大細孔足場の表在メソ細孔、およびC)8週間後の3つの大細孔足場の深部メソ細孔における総体積に対する足場体積の比率に関係する。

## 【0062】

## 【表1】

A

総 メソ細孔 印刷後	外側リング	中央 リング	内側リング
平均	33. 67	40. 83	55. 78
標準偏差	1. 83	1. 55	0. 72

10

B

表在 メソ細孔 8週間後	外側 リング	中央 リング	内側リング
	17. 07	24. 09	43. 47
	16. 31	28. 63	45. 85
	9. 55	32. 16	55. 63
平均	14. 31	28. 29	48. 32
標準偏差	4. 14	4. 05	6. 44

20

C

深部 メソ細孔 8週間後	外側リング	中央 リング	内側リング
	11. 74	24. 13	38. 96
	16. 3	22. 36	47. 87
	13. 82	31. 22	52. 13
平均	13. 95	25. 90	46. 32
標準偏差	2. 28	4. 69	6. 72

30

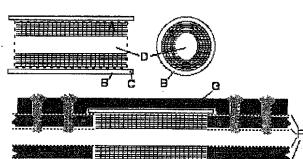
## 【0063】

本発明は、具体的実施形態または複数の実施形態の観点から記載されたが、本明細書に開示される本足場および方法は、当業者によって、他の構成に改良または改変され得ることを理解されるであろう。故に、本発明は、広義に解釈され、本明細書に添付の請求項の範囲および精神によってのみ限定される。

40

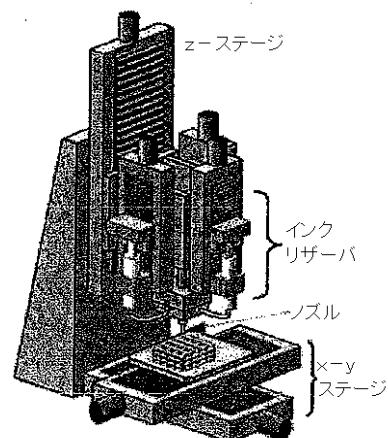
【図1】

Figure 1



【図2】

Figure 2



【図3】

Figure 3

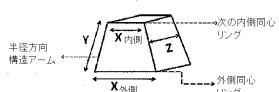


【図4】

Figure 4

【図5】

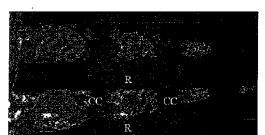
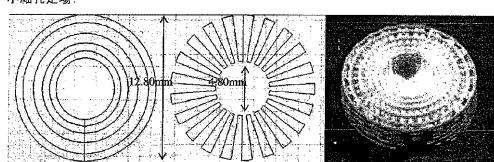
Figure 5



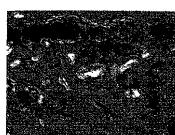
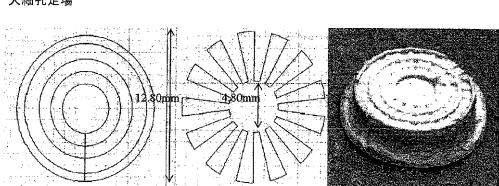
【図6】

Figure 6

小細孔足場:

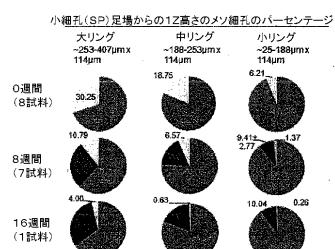
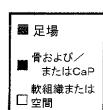


大細孔足場



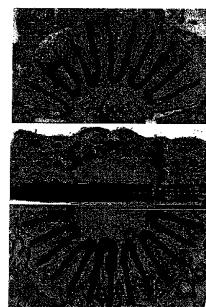
【図7】

Figure 7



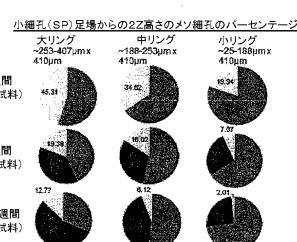
【図8】

Figure 8



【図9】

Figure 9

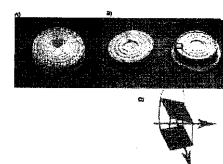


【図10】

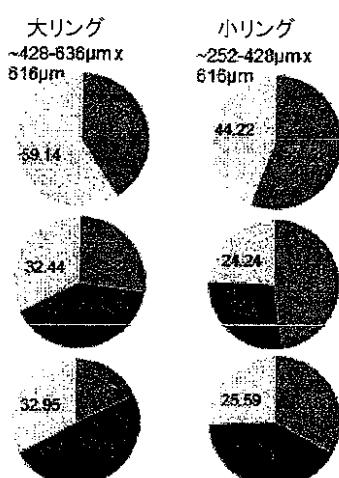
Figure 10

【図11】

Figure 11

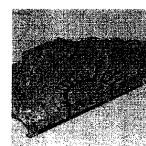


大細孔(LP)足場からの3Z高さのメソ細孔のパーセンテージ



【図12】

Figure 12



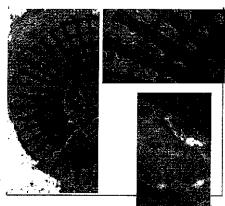
## 【図13】

Figure 13



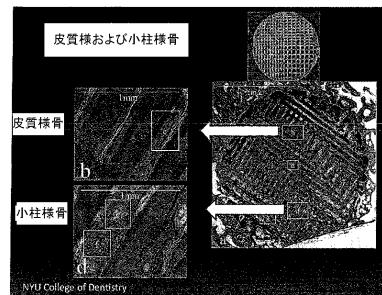
## 【図14】

Figure 14



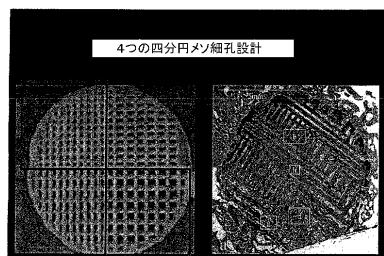
## 【図15】

Figure 15



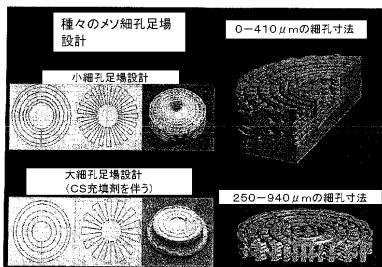
## 【図16】

Figure 16



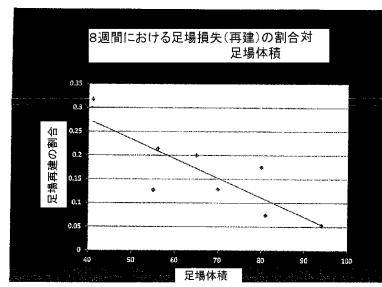
## 【図17】

Figure 17



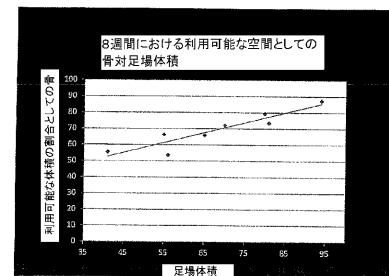
## 【図18】

Figure 18



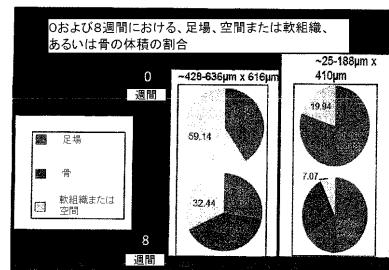
## 【図19】

Figure 19



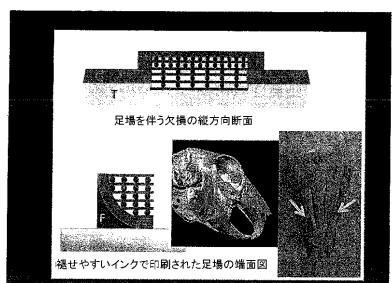
## 【図20】

Figure 20



## 【図 2 1】

Figure 21



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2013/043336
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>A61L 27/56(2006.01)i, A61F 2/02(2006.01)i, A61F 2/28(2006.01)i, A61L 27/54(2006.01)i</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61L 27/56; A61F 2/28; A61F 2/02; B29C 41/02; A61K 38/18; B29C 35/08; A61L 27/54		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & keywords: tissue repair, scaffold, porous bone ingrowth structure, interconnected struts, microporous shell, three dimensional printing		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SHERWOOD et al, 'A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair' Biomaterials, Vol.23, pp.4739-4751 (December 2002) See the whole document .	1-17
A	US 2008-0206297 A1 (ROEDER et al.) 28 August 2008 See abstract; claim 1; figures 1A,1B.	1-17
A	US 2011-0313538 A1 (OH et al.) 22 December 2011 See abstract; claim 1; figures 10,11.	1-17
A	US 2003-0006534 A1 (TABOAS et al.) 9 January 2003 See abstract; claims 1-5; figure 3.	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 15 October 2013 (15.10.2013)		Date of mailing of the international search report <b>16 October 2013 (16.10.2013)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer KIM Seung Beom Telephone No. +82-42-481-3371

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2013/043336

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 18-20  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 18-20 are directed to a treatment method of the human body by surgery and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.  
 The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2013/043336**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2008-0206297 A1	28/08/2008	WO 2008-106625 A2 WO 2008-106625 A3	04/09/2008 30/12/2009
US 2011-0313538 A1	22/12/2011	CA 2695946 A1 EP 2192876 A2 WO 2009-021209 A2 WO 2009-021209 A3	12/02/2009 09/06/2010 12/02/2009 23/04/2009
US 2003-0006534 A1	09/01/2003	US 7087200 B2 WO 03-000480 A1	08/08/2006 03/01/2003

---

フロントページの続き

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

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 リッチ, ジヨン エル.

アメリカ合衆国 ニュージャージー 07748, ミドルタウン, バーダン ブレイス 46

(72)発明者 クラーク, エリザベス

アメリカ合衆国 ニュージャージー 07302, ジャージー シティ, 8ティーエイチ ストリート 215, アパートメント ナンバー2

(72)発明者 コエーリヨ, パウロ

アメリカ合衆国 ニューヨーク 11249, ブルックリン, エヌ. 6ティーエイチ ストリート 22, アパートメント 12ケー

(72)発明者 レコー, エリザベス ダイアン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10011, ニューヨーク, ウエスト 15ティーエイチ ストリート 120

(72)発明者 トンプソン, バン ピー.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10011, ニューヨーク, ウエスト 15ティーエイチ ストリート 120

(72)発明者 スメイ, ジェイムズ

アメリカ合衆国 オクラホマ 74074, スティルウォーター, エス. サドル ロック ストリート 3211

F ターム(参考) 4C081 AB04 BA13 CD12 CF01 CF03 CF13 DA16 DB03 DC14 EA01

EA03 EA04 EA06