

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-46530  
(P2005-46530A)

(43) 公開日 平成17年2月24日(2005.2.24)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 L 27/00	A 6 1 L 27/00	J 4 C 0 7 6
A 6 1 K 9/00	A 6 1 L 27/00	G 4 C 0 8 1
C O 4 B 35/447	A 6 1 K 9/00	4 C 0 9 7
C O 4 B 38/00	C O 4 B 38/00	3 O 3 Z 4 G O 1 9
// A 6 1 F 2/28	C O 4 B 35/00	S 4 G O 3 0
審査請求 未請求 請求項の数 19 O L (全 17 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2003-283968 (P2003-283968)	(71) 出願人 301021533 独立行政法人産業技術総合研究所 東京都千代田区霞が関1-3-1
(22) 出願日 平成15年7月31日(2003.7.31)	(72) 発明者 大塚 誠 兵庫県尼崎市若王寺3丁目11番46号 独立行政法人産業技術総合研究所尼崎事業 所内
特許法第30条第1項適用申請有り	(72) 発明者 伊藤 敦夫 茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法 人産業技術総合研究所つくばセンター内
	Fターム(参考) 4C076 AA51 AA94 BB32 CC03 CC05 CC07 CC11 CC21 CC23 CC27 CC29 CC30 CC32 DD26A EE32A EE37A EE42A EE43A FF31 GG11
	最終頁に続く

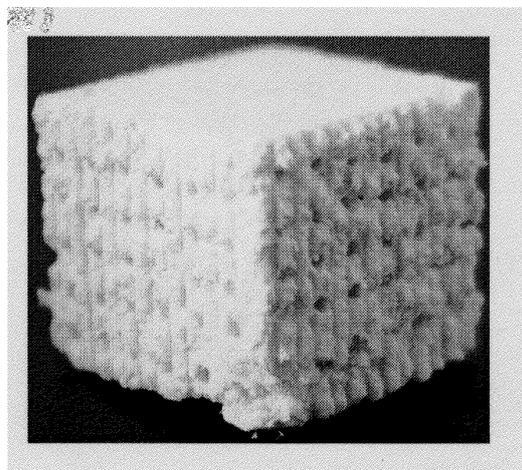
(54) 【発明の名称】 多孔質リン酸カルシウム硬化体、その製造方法及びそれを用いた人工骨及び薬剤徐放体

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 気孔が多孔体を貫通する70 μm以上の気孔、好ましくは100 μm以上の大気孔から成り、なおかつこれらの気孔が三次元網目状に配置され、さらに血管の侵入と貫通、あるいは細胞の浸透のために十分なだけの気孔率を有し、骨形成促進や感染防止に重要な薬剤を添加でき、薬剤徐放挙動を制御できる低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体、及びそれを用いた生体組織代替材料、組織工学スキャホールド、DDS用薬剤担持媒体を提供する。

【解決手段】 人工的に作られた直径70 μm～4 mmの貫通孔を有し、空隙率が20%～80%であり、リン酸カルシウムを主成分とする低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体及びそれを用いた生体組織代替材料、組織工学スキャホールド、DDS用薬剤担持媒体。

【選択図】 図6-1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

人工的に作られた直径  $70 \mu\text{m} \sim 4 \text{mm}$  の立体的な貫通孔を有し、空隙率が  $20\% \sim 80\%$  である低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

## 【請求項 2】

人工的に作られた直径  $70 \mu\text{m} \sim 4 \text{mm}$  の貫通孔が三次元網目状である請求項 1 の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

## 【請求項 3】

生体親和性高分子を含有する請求項 1 - 2 に記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

10

## 【請求項 4】

生体親和性高分子がコラーゲン、ゼラチン、キチン、キトサン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースから選ばれた少なくとも 1 種、またはそれ以上の有機高分子である請求項 3 に記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体

## 【請求項 5】

薬剤が添加された請求項 1 - 4 に記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

## 【請求項 6】

薬剤がロベンザリットニナトリウム、ブシラミン、アクラリットサラゾスルファピリジン、ファルネシル酸ブレドニゾロン等の抗リウマチ薬、メトトレキサート等の免疫抑制薬、コルヒチン、スフファンピラゾン、プロベネシドブコローム、ベンズフロマロン、アロブノール等の通風治療薬、インスリン、イソインシュリン、プロタミン亜鉛イスジリン、グリベンクラミド、トルブタミド、アセトヘキサミド、トラザミド、グリブゾール、トログリタゾン等の糖尿病治療薬、エストラジオール、エチオニルエストラジオール、エストリオール、メスロラノール、プロゲステロン、酢酸クロフマジノン、メチルテストステロンなどの性ホルモン剤、酢酸ゴナドレリン、酢酸ソマトレリン、酢酸テロラコサクチド、バソプレシン、グルカゴン、エピチオスタノール等のホルモン剤、カルシトニン、インターロイキン 1、インターロイキン 6、骨成長因子、インスリン様刺激因子、繊維芽細胞増殖因子などの蛋白性骨増殖因子、アルファカルシドール、メナテトレノン、エルコトニン、イプリフラボン、エチドロン酸ニナトリウム、アレンドロン酸ナトリウム水和物等の骨代謝改善薬、ジゴキシン、アミノフィリン、塩酸ドパミン、ミルリノン等の強心薬、リン酸ジソピラミド、塩酸ピメノール等の抗不整脈薬、セファレキシン、セファロチンナトリウム、ゲンタマイシン抗生物質、ニトロフラントイン、ホスホマイシンナトリウム等の抗菌剤、シタラビン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、6 - メルカプロプリン、テガフル、メトトレキサート等の抗がん剤、インドメタシン等の抗炎症薬のいずれか 1 つあるいは 2 つ以上から選ばれた請求項 5 に記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

20

30

## 【請求項 7】

摂氏  $100 \sim 1200$  度の範囲で、加熱硬化させることを特徴とする、請求項 1 - 2 のいずれか 1 つに記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体

## 【請求項 8】

貫通孔の断面が円形、楕円形、多角形、またはこれらを組み合わせた外形のいずれか一つである請求項 1 から請求項 7 のいずれかひとつに記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

40

## 【請求項 9】

直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体を一平面内で重ならないように配列後、その上に、直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体を、下層の長柱体と配列方向を変えて、一平面内で重ならないように配列し、さらにこのような長柱体の配列体を積層して、長柱体の配列体の積層構造物を作製し、この長柱体の配列体の積層構造物に対して、リン酸カルシウム硬化体の前駆体と液体成分を練和した組成物、またはリン酸カルシウム硬化体の前駆体と生体適合

50

性高分子と液体成分を練和した組成物を注入し、全ての長柱体が練和した組成物を貫通するように配置し、一平面内の長柱体が下層及び上層の長柱体と方向を異にし、そのまま硬化させ、長柱体を除去して作製する工程を含む低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

【請求項 10】

リン酸カルシウム硬化体の前駆体を含む組成物または、硬化のための液体成分の少なくともいずれかが、薬剤を含有する組成物である請求項 9 の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

【請求項 11】

長柱体体積分率を硬化体の 5% ~ 90% とする請求項 9 から請求項 10 のいずれかひとつに記載したリン酸カルシウム硬化体の製造方法。 10

【請求項 12】

断面が円形、楕円形、多角形のいずれか一つである直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体が、金属、またはポリマーから選ばれる 1 種又は 2 種以上である請求項 9 から請求項 11 のいずれかひとつに記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

【請求項 13】

直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体の最大径が、70  $\mu\text{m}$  ~ 5.0 mm である請求項 9 から請求項 12 のいずれかひとつに記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。 20

【請求項 14】

請求項 1 ないし請求項 8 のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を用いた生体材料。

【請求項 15】

請求項 1 ないし請求項 8 のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を用いた薬剤徐放体。

【請求項 16】

請求項 9 から請求項 13 のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いた生体材料の製造方法。

【請求項 17】

請求項 9 から請求項 13 のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いた薬剤徐放体の製造方法。 30

【請求項 18】

請求項 1 から請求項 8 のいずれかひとつに記載されたリン酸カルシウム多孔質硬化体を用いた組織工学スキャフォールド。

【請求項 19】

請求項 9 ないし請求項 13 のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いた組織工学スキャフォールドの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、人工的に作られた貫通孔を有する低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体に関し、本発明によって得られるリン酸カルシウム質多孔質硬化体は生体適合性が要求される、生体組織代替材料、組織工学スキャフォールド、DDS用薬剤担持媒体として利用される。

【背景技術】

【0002】

感染防止、生体組織の再構築、組織誘導、細胞分化を図るために抗生物質を含む薬剤、成長因子、細胞接着因子その他のタンパク、リン脂質、多糖類、ホルモン等の生物学的活性化物質 (biologically active substance) が使用される。これらの薬剤や活性化物質 40

10

20

30

40

50

はそのまま生体に投与されるほか、何らかの生体材料等に担持させて、場合によってはさらにこれら担持材料から徐放させて使用される。

【0003】

薬剤や生物学的活性化物質を生体材料に担持する方法としては、例えば、有機高分子の生体材料に担持する方法がある。

【0004】

しかし骨組織はリン酸カルシウムが主成分である。骨組織に対しては、有機物に生物学的活性化物質を担持して細胞にリン酸カルシウムをゼロからつくらせるよりは、人工骨材料に使用されているリン酸カルシウムに生物学的活性化物質を担持して骨組織の再構築する方が早くて効率的である。

10

【0005】

リン酸カルシウム質生体材料に薬剤や生物学的活性化物質を担持させる方法としては、おおむね、リン酸カルシウムへの表面吸着、リン酸カルシウム硬化体への混合、容器内保持、リン酸カルシウムセラミック気孔内への保持の4種類に分類できる。

【0006】

このうちリン酸カルシウム質多孔体へ、薬剤や生物学的活性化物質を担持させたものとしては、骨形成促進物質、カルシウム成分及び増粘剤が配合された骨形成促進物質徐放性ペースト、生体親和性高分子、リン酸カルシウム、薬剤、水溶性化合物からなる硬化体、カルシウム含有ガラス粉末及び/又は結晶化ガラス粉末を用い、薬物を混入した硬化体、抗生物質又は骨形成促進因子を含んだリン酸カルシウムセメント、抗生物質又は生理活性物質又は薬剤を含んだリン酸カルシウムセメント、細胞と種々の生理活性物質又は薬剤を含み非晶質リン酸カルシウムを前駆体とするリン酸カルシウムセメント、タンパク、特にコラーゲンを複合化したリン酸カルシウムセメントなどがある。

20

【0007】

上記で述べた、薬剤や生物学的活性化物質を含有したリン酸カルシウム硬化体は、組織や血管が侵入できる気孔がほとんどない。すなわち、リン酸カルシウム質硬化体は、多数のミクロポーアを有する多孔体であるが、ほとんどの気孔が直径70 $\mu\text{m}$ 以下であり、気孔が袋小路状で多孔体を貫通しておらず、多孔体内への血管の侵入と貫通が制限され、多孔体内への養分補給と酸素補給が制限される結果、骨等の組織侵入が不十分となり、骨等の組織はリン酸カルシウム質硬化体周辺部でのみ結合する結果になる。さらに、多孔体内に逃げ場を失った空気が残存することも、細胞、組織、血管の侵入を妨げる原因となっている。

30

【0008】

また、このような袋小路状の非貫通気孔や閉気孔がある多孔体を細胞培養担体を使用した場合、袋小路状の気孔と閉気孔内に逃げ場を失った空気が充満して、袋小路状気孔や閉気孔内に細胞培養液と細胞が浸透しないという現象が生じる。その結果、細胞を多孔体内で体外培養し、その後細胞を多孔体と共に生体内に戻して、組織修復や臓器再生をはかる組織工学又は再生医工学への応用が制限されてしまっている。

【0009】

一方、リン酸カルシウム質硬化体からの薬剤の放出は、これまで、薬剤濃度、リン酸カルシウム質硬化体の空隙率、硬化体の吸収性の3点でしか制御していなかった。すなわち、リン酸カルシウム質硬化体は、細孔構造を有していることから細孔中に含まれる薬剤の放出速度は、Higuchiの式(T. Higuchi, J. Pharm. Sci., 52, 1145-1149, 1963)で表せることが知られている。

40

【数 1】

$$\frac{M_t}{M_0} = A \sqrt{\left(\frac{D\varepsilon}{\tau}\right)(2C_d - \varepsilon C_d)}$$

ここに、 $M_t$ , 時間  $t$  における薬剤放出量,  $M_0$ , 総薬剤量,  $A$ , 表面積,  $D$ , 薬剤の拡散速度定数,  $C_s$ , 薬剤溶解度,  $C_d$ , 薬剤含有濃度,  $\varepsilon$ , 空隙率, である。

これまでのリン酸カルシウム質硬化体からの薬物放出制御は, この式における, 薬物濃度と硬化体の空隙率で制御するか, あるいは硬化体そのものが生体内で吸収される速度でしか制御してこなかった。 10

【0010】

しかし、薬剤放出は硬化体内での拡散で律速されるため、薬剤放出挙動は理論的には閉気孔、開気孔の大きさと数でできる。しかし、これまでのリン酸カルシウム硬化体に内在する気孔は練和と硬化の工程で自然に生じる気孔であるため、これらの自然発生気孔だけで薬物放出速度を人為的に最適化し、薬剤を安全かつ効果的に組織中に放出することは困難であった。野上ら (Chem.Pharm.Bull., 17, 499-509, 1969) は、フェノバルビタールの30, 200-300rpmの攪拌条件下で拡散層の厚みが約30ミクロンであることを Nernst-Noyes-Whitneyの溶解式から報告している。 20

【数 2】

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{V\sigma}(C_s - C)$$

ただし、 $C$ , 時間  $t$  の濃度,  $C_s$ , 薬剤溶解度,  $D$ , 薬剤の拡散定数;  $V$ , 溶液容積;  $S$ , 放出体の表面積,  $\sigma$ , 拡散層の厚さ。すなわち、直径70ミクロン以上で長さが拡散層よりも圧倒的に長く、多孔質硬化体を完全に貫通する連通孔を人工的に作れば薬剤放出を、人工的に正確に制御できる可能性を示している。 30

【0011】

以上のように組織や血管を侵入させることができ、なおかつ薬剤放出を制御するための、人為的貫通気孔を多数有した、低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体、ならびに薬剤担持低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体はこれまで知られていなかった。

【特許文献 1】米国特許第 5 0 5 3 2 1 2 明細書

【特許文献 2】特開 2 0 0 1 - 1 0 6 6 3 8 号公報

【特許文献 3】特開平 9 - 2 2 5 0 2 0 号公報

【特許文献 4】特開平 5 - 2 5 3 2 8 6 号公報

【特許文献 5】米国特許第 5 1 4 9 3 6 8 号明細書

【特許文献 6】米国特許第 5 2 6 2 1 6 6 号明細書 40

【特許文献 7】米国特許第 6 4 2 5 9 4 9 号明細書

【特許文献 8】米国特許第 5 9 6 8 2 5 3 号明細書

【特許文献 9】米国特許第 6 1 3 9 5 7 8 号明細書

【特許文献 10】米国特許第 6 2 7 7 1 5 1 号明細書

【非特許文献 1】Higuchi T, J. Pharm. Sci., 52, 1145-1149, 1963

【非特許文献 2】Nogami T et al., Chem.Pharm.Bull., 17, 499-509, 1969

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

本発明は生体適合性を有しており、生体組織代替材料、組織工学スキャホールド、DDS 50

用薬剤担持媒体として利用することができ、さらに組織や血管を侵入させることができ、なおかつ薬剤放出を制御するための、人為的貫通気孔を多数有した、低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体、ならびに薬剤担持低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の提供を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明では、始点の位置と終点の位置が人為的に設計され、人工的に作られた多数の貫通気孔をリン酸カルシウム硬化体に導入して多孔質硬化体となし、これらの貫通気孔を利用して組織や血管を内部に侵入させ、外部では硬化体の吸収が生じ、なおかつ薬剤放出を制御できる低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体が提供される。すなわち、人工的に作られた直径70 $\mu$ m～4mmの立体的な貫通孔を有し、空隙率が20%～80%である低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体が目的を達成することを見出した。比較的低温で硬化させることが出来るため、種々の薬剤を保持させることが出来、放出させることができる。

10

さらに、本発明は、本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を薬剤徐放体として用いることが出来る。

また、本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いて薬剤徐放体を作成することができる。

また、本発明は、本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を生体材料として用いることができる。

20

さらにまた、本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いて、本発明は、生体材料を作成することができる。

また、本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を用いて組織工学スキャフォールドとすることができる。

さらに、本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いて、組織工学スキャフォールドを作成することができる。

【発明の効果】

【0014】

本発明の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体は、気孔が多孔体を貫通する70 $\mu$ m以上の気孔から成り、なおかつこれらの気孔が三次元網目状に配置され、さらに血管の侵入と貫通、あるいは細胞の浸透のために十分なだけの気孔率を有し、骨形成促進、感染防止発揮に重要な薬剤を添加でき、薬剤徐放挙動を制御できる低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体が提供され、人工骨として用いることが出来、優れた生体適合性を有しており、生体組織代替材料、組織工学スキャホールド、DDS用薬剤担持媒体として利用することができ、さらに組織や血管を侵入させることができ、なおかつ薬剤放出を制御することができることが判明した。

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

本発明で硬化とは、JIST6602で最終硬化時間を規定する固化状態であり、具体的には質量453.6g針断面積1.06mmの測定針が硬化体表面に針あとを残さなくなるまで固化することである。

40

本発明において、人工的につくられた立体的な貫通孔とは、長柱体をオス型に使用してひとつひとつ作製した貫通孔で、さらに貫通方向が2方向以上の方向性を有するものであり、さらに貫通の始点と終点位置が意図的に設計されたもので、さらに硬化体を完全に貫通するものであり、さらに各々の貫通孔の間隔と配置が人為的に設計された貫通孔のことである。

本発明においては、人工的に立体的な貫通孔を作製するために断面寸法90 $\mu$ m以上5.0mm以下、好ましく100 $\mu$ m以上3.0mm以下、長さが断面図寸法の3倍以上、好ましく10倍以上の多数の長柱体を気孔のオス型として使用する。長柱体状オス型の材質は、液体成分や薬剤と反応しにくい材質であれば、限定されない。このような材質としては具体的には

50

ステンレス、木材、竹その他植物材料、木材、炭素材料、ポリエチレン、ナイロン、ポリアセタール、ポリカーボネート、ポリプロピレン、ポリエステル、ABS、ポリスチレン、フェノール、尿素樹脂、エポキシ樹脂、アクリライト、などが挙げられる。

長柱体の断面形状には特に制限はないが、少なくとも1組の平行な辺をもつ多角形、楕円、円、または少なくとも1組の平行な辺と曲線からなる図形であれば、加圧成形や長柱体の引き抜きに有利である。長柱体の伸長方向の形状は屈曲のない直線状または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である必要がある。二平面以上の面内で屈曲している場合は、加圧成形の際に長柱体状オス型の変形を生じ、長柱体オス型の破壊、加圧後の長柱体の復形による成形体破壊等が生じて、加圧成形に支障がある。

#### 【0016】

長柱体状オス型の断面寸法は、最終的に必要とされる気孔の大きさによって決まる。人工骨または組織工学用リン酸カルシウム多孔質硬化体にあつては、最小でも、硬化後に大きさ30 $\mu$ mの血管内皮細胞や骨芽細胞が同時に複数個侵入できるための気孔が必要である。また、人工骨または組織工学用リン酸カルシウム多孔質硬化体にあつては直径4mm以上の血管を侵入させる必要性は特になく、長柱体状オス型の断面寸法は5.0mm以上ある必要はない。以上の理由により、長柱体状オス型の断面寸法の大きさは70 $\mu$ m以上5.0mm以下となる。長柱体状オス型の長さは、断面図寸法の3倍以上、好ましく10倍以上が望ましい。長柱体状オス型の長さが断面寸法の3倍以下では、全ての長柱体が粉末を貫通するように添加した場合は、出来上がる多孔体の最大寸法が10mm程度に制限されてしまうため、人工骨や組織工学に利用する際の実用上の価値が非常に少ない。

#### 【0017】

これら長柱体オス型をまず配列し、液体成分と練和したリン酸カルシウム硬化体前駆体を配列したオス型中に添加する。配列の方向性は、長柱体状オス型が相互に重ならなければ、等間隔平行、異間隔平行の他、非平行でも良い。複数の長柱体状オス型を周囲から1点に向けて集中するように配列した放射状、複数点に向けて集中するように配列した複放射状、さらには樹脂状とすることもできる。但し、放射状、複放射状、樹脂状とするときは、長柱体の端面が他の長柱体と接触する部分の接着を、勘合、接着等で完全接触させる必要がある。接触が不完全であるとこの部分が硬化後袋小路気孔になってしまう。

#### 【0018】

本発明において、リン酸カルシウム硬化体前駆体とは、水和硬化して水酸アパタイト、低結晶性水酸アパタイト、又はカルシウム欠損アパタイトと成り得るリン酸カルシウムをいい、至適量の水酸アパタイト、低結晶性水酸アパタイト、又はカルシウム欠損アパタイトを含んだものを副成分として含有していても良い。至適量のこれら副成分は、リン酸カルシウム先駆体が水和硬化を促進する。具体的には、リン酸カルシウム硬化体前駆体とは、高温型リン酸三カルシウム、低温型リン酸三カルシウム、リン酸4カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム2水和物、リン酸8カルシウム、非晶質リン酸カルシウム、あるいは、これらのうち2種または、2種以上を混合して、混合粉末のカルシウム：リンのモル比率を0.1から5.0、好ましくは0.5から2.5、より好ましくは1.3から1.8の範囲にあるリン酸カルシウムである。混合粉末のカルシウム：リンのモル比率をこの範囲に定めるのは、ハイドロキシアパタイトのカルシウム：リンの比率が1.67であることに起因している。

#### 【0019】

リン酸カルシウム硬化体の前駆体と練和する液体成分とは、単なる水でもよいが、反応促進剤として、水溶性無機塩類、無機酸、有機酸を含むものが好ましい。

反応促進剤の具体例としては、リン酸、コハク酸、リンゴ酸、酢酸、擬似体液、リン酸緩衝液、生理食塩水、リンゲル液等が挙げられ、これらのうちの1種または2種以上を混合して使用することができる。

#### 【0020】

これらの練和物から調製した連続連通孔を持つリン酸カルシウム多孔質硬化体は、空気中の炭酸を吸収し生体骨と同様な生体親和性の高い炭酸アパタイトに変化する。

10

20

30

40

50

## 【0021】

練和物を硬化後に100 以上, 1200 以下, 好ましくは, 200 以上, 800 以下, より好ましくは, 300 以上500 以下で熱処理すると、焼結又は硬化の促進により強度の高いリン酸カルシウム多孔質硬化体を得ることができる。当該熱処理によって練和物は、生体親和性のある完全連通孔を持つアパタイトに転移することにより焼結または硬化する。100 以下の低い温度では、固化しにくくまた、1200 以上の高温では生成したハイドロキシアパタイトが分解する。400 付近で熱処理するとき、硬化体中の炭酸アパタイトの炭酸が残留し、炭酸アパタイトとして焼結し、高い生体親和性と機械的強度を兼ね備えることができる。

さらに、本発明では該低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体に熱処理を施すことで、強度が向上した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体が提供される。 10

## 【0022】

これらのリン酸カルシウムからなる硬化体前駆体に、コラーゲンやゼラチン、キチン、キトサン、アガロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、プルラン、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、メタアクリル酸コポリマー、カルボキシビニルポリマー、ポリビニルアルコール、ジメチルポリシロキサン、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸ピレングリコールエステル、ポリビニルピロリドン、カンテンなどの生体親和性特性のある天然あるいは合成高分子を混合してもちいることができる。通常重量パーセントは0.1%以上90%以下、好ましくは5%以上、50%以下、より好ましくは、10%以上30%以下含有させることができる。0.1%未満では生体親和性高分子の特性を発揮させることはできず、90%より高いと無機成分が不足し、硬化体前駆体からアパタイトへ結晶転移しても、固化しなくなり破壊強度が極端に減少することになる。 20

## 【0023】

これらの高分子を含有することにより高温で焼結することなしに機械的強度の強い硬化体を容易に調製することができる。また、これらの生体親和性高分子は、硬化体の生体親和性をさらに高める。

## 【0024】

これらのリン酸カルシウムからなる硬化体は、生体親和性が高く、また、完全連通孔構造をもつ硬化体により、骨芽細胞、破骨細胞進入を促進し、また、それらの細胞の活動を援助する栄養分を補給するために血管の新生される。このことにより骨のリモデリングを加速することになる。すなわち、骨新生が期待される部位では、骨芽細胞により骨新生がおり、骨が発生しない部位では、急速な生分解反応が破骨細胞により引き起こされる。これらの細胞活性特性を含有薬剤で効果的に引き出し、骨新生能力の高い人工骨や、生分解吸収に基づく年単位の長期間の薬剤徐放化を具現化することができる。 30

## 【0025】

リン酸カルシウム前駆体と液体成分を練和した練和物、場合によってはさらに薬剤を含む練和物を用いて作製された単層加圧成形物を複数積層させる。積層は複数の単層をあらかじめ作製しておき、1回で全てを積層させてもよいし、単層を加圧成形製後に、その単層上で別の単層を成形して積層させてもよい。積層工程では、ある層の長柱体状オス型が上下に隣接する長柱体状オス型と複数の接点を持つようにし、なおかつ、隣りあう層中で、長柱体状オス型の方向が異なるようにする。こうすることで、長柱体状オス型の接点が積層方向への連続気孔となる。加圧成形時の圧力は、0.0001MPa以上10MPa以下、好ましくは0.001MPa以上1MPa以下である。0.0001MPa以下の加圧では加圧の効果はなく、10MPa以上の加圧では、長柱状オス型の材質によっては、長柱状オス型の変形や破壊を招く。 40

## 【0026】

リン酸カルシウム前駆体と液体成分の練和物には、骨形成やその他の生体機能を強化す 50

るために、薬剤を含有しておくことができる。薬剤はリン酸カルシウム前駆体粉末と混合して添加しても良いし、液体成分にあらかじめ溶解又は懸濁させておいてもよいし、リン酸カルシウム前駆体と液体成分を混合する際に添加しても良い。薬剤の具体例としては、ロベンザリットニナトリウム、プシラミン、アクラリットサラゾスルファピリジン、ファルネシル酸プレドニゾロン等の抗リウマチ薬、メトトレキサート等の免疫抑制薬、コルヒチン、スフファンピラゾン、プロベネシドブコローム、ベンズフロマロン、アロプルノール等の通風治療薬、インスリン、イソインシュリン、プロタミン亜鉛イスジリン、グリベククラミド、トルブタミド、アセトヘキサミド、トラザミド、グリブゾール、トログリタゾン等の糖尿病治療薬、エストラジオール、エチオニルエストラジオール、エストリオール、メスロラノール、プロゲステロン、酢酸クロフマジノン、メチルテストステロンなどの性ホルモン剤、酢酸ゴナドレリン、酢酸ソマトレリン、酢酸テロラコサクチド、バソプレシン、グルカゴン、エピチオスタノール等のホルモン剤、カルシトニン、インターロイキン 1、インターロイキン 6、骨成長因子、インスリン様刺激因子、繊維芽細胞増殖因子などの蛋白性骨増殖因子、アルファカルシドール、メナテトレノン、エルコトニン、イプリフラボン、エチドロン酸ニナトリウム、アレンドロン酸ナトリウム水和物等の骨代謝改善薬、ジゴキシシン、アミノフィリン、塩酸ドパミン、ミルリノン等の強心薬、リン酸ジソピラミド、塩酸ピメノール等の抗不整脈薬、セファレキシシン、セファロチンナトリウム、ゲンタマイシン抗生物質、ニトロフラントイン、ホスホマイシンナトリウム等の抗菌剤、シタラピン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、6-メルカプロプリン、テガフェール、メトトレキサート等の抗がん剤、インドメタシン等の抗炎症薬などが挙げられる。

10

20

#### 【0027】

これらの薬剤のうち、薬効が異なる薬剤の1種または2種以上を混合して用いることもできる。これにより、薬剤の相乗作用、放出速度の違いによる薬剤の役割り分担を行うことができる。例えば、抗生物質と骨成長因子など、前者は、外科的な処置による細菌汚染を予防的に抑制する、また、後者は、前者が役割りを終了した後に、骨の成長を促進する。これらの薬剤をリン酸カルシウム硬化体前駆体または液体成分に1ppb以上、50w/w%以下、好ましくは1ppm以上、30%以下、より好ましくは100ppm以上10%以下含有させて練和し、前述の方法で完全連通孔を持つ低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体にする。1ppb以下の薬剤含有量では薬剤によっては薬効が現れず、50w/w%より多いと硬化体が硬化しない。

30

#### 【0028】

本発明の低温硬化型リン酸カルシウム硬化体は、リン酸カルシウム前駆体粉末に液体成分を添加し、場合によっては薬剤を添加して、加圧成形した場合は積層工程終了後に静置して、形態を保つまで硬化させる。硬化温度に特に指定はないが、25℃もしくはそれ以上の温度で湿度が80%以上、10℃～100℃、好ましくは25℃以上80℃未満であり、湿度が80%以上である。これは、硬化体への結晶転移が終了するまでの期間液体成分が蒸発することを抑制する意味がある。硬化時間については特に指定はないが、10分間以上、8時間以下の時間が好ましい。8時間以上では細菌の増殖した場合、発熱性物質が増加する恐れがある。10分間以下では硬度が不十分な場合がある。

#### 【0029】

硬化終了後、密度を測定して気孔率を求めることができる。気孔の連通状態は、顕微鏡、実体鏡、電子顕微鏡、染色液浸透によって評価することができる。多孔質硬化体の圧縮強度を直径6mm×12mmの試験片を用い、インストロン型の万能試験機を用いて評価することができる。多孔質硬化体からの薬剤徐放性能は医薬品溶出速度試験法（日本薬局方一般試験法）に従い評価することができる。一般に、硬化体を900mLのpH7.4の擬似体液あるいは、リン酸緩衝液中、37℃でパドル100rpmで攪拌し、溶液の一部を抜き取り薬物の放出を紫外外部吸収法あるいは、原子吸光度法、高速液体クロマトグラフ測定する。

40

#### 【0030】

すなわち、本発明の実施の形態をまとめると以下の通りである。

(1) 人工的に作られた直径70μm～4mmの立体的な貫通孔を有し、空隙率が20

50

% ~ 80%である低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

(2) 人工的に作られた直径70 μm ~ 4mmの貫通孔が三次元網目状である上記(1)の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

(3) 生体親和性高分子を含有する上記(1)(2)に記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

(4) 生体親和性高分子がコラーゲン、ゼラチン、キチン、キトサン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースから選ばれた少なくとも1種、またはそれ以上の有機高分子を含有する上記(3)に記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体

(5) 薬剤が添加された上記(1) - (4)に記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

10

(6) 薬剤がロベンザリットニナトリウム、ブシラミン、アクラリットサラゾスルファピリジン、ファルネシル酸プレドニゾロン等の抗リウマチ薬、メトトレキサート等の免疫抑制薬、コルヒチン、スフファンピラゾン、プロベネシドブコローム、ベンズフロマロン、アロブルノール等の通風治療薬、インスリン、イソインシュリン、プロタミン亜鉛イソジリン、グリベンクラミド、トルブタミド、アセトヘキサミド、トラザミド、グリブゾール、トログリタゾン等の糖尿病治療薬、エストラジオール、エチオニルエストラジオール、エストリオール、メスロラノール、プロゲステロン、酢酸クロフマジノン、メチルテストステロンなどの性ホルモン剤、酢酸ゴナドレリン、酢酸ソマトレリン、酢酸テロラコサクチド、バソプレシン、グルカゴン、エピチオスタノール等のホルモン剤、カルシトニン、インターロイキン 1、インターロイキン 6、骨成長因子、インスリン様刺激因子、繊維芽細胞増殖因子などの蛋白性骨増殖因子、アルファカルシドール、メナテトレノン、エルコトニン、イプリフラボン、エチドロン酸ニナトリウム、アレンドロン酸ナトリウム水和物等の骨代謝改善薬、ジゴキシン、アミノフィリン、塩酸ドパミン、ミルリノン等の強心薬、リン酸ジソピラミド、塩酸ピメノール等の抗不整脈薬、セファレキシン、セファロチンナトリウム、ゲンタマイシン抗生物質、ニトロフラントイン、ホスホマイシンナトリウム等の抗菌剤、シタラピン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、6-メルカプロプリン、テガフル、メトトレキサート等の抗がん剤、インドメタシン等の抗炎症薬のいずれか1つあるいは2つ以上から選ばれた上記(5)に記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

20

(7) 摂氏100 ~ 1200度の範囲で、加熱硬化させることを特徴とする、上記(1) - (2)のいずれか1つに記載の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体

30

(8) 貫通孔の断面が円形、楕円形、多角形、またはこれらを組み合わせた外形のいずれか一つである上記(1)から(7)のいずれかひとつに記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体。

(9) 直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体を一平面内で重ならないように配列後、その上に、直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体を、下層の長柱体と配列方向を変えて、一平面内で重ならないように配列し、さらにこのような長柱体の配列体を積層して、長柱体の配列体の積層構造物を作製し、この長柱体の配列体の積層構造物に対して、リン酸カルシウム硬化体の前駆体と液体成分を練和した組成物、またはリン酸カルシウム硬化体の前駆体と生体適合性高分子と液体成分を練和した組成物を注入し、全ての長柱体が練和した組成物を貫通するように配置し、一平面内の長柱体が下層及び上層の長柱体と方向を異にし、そのまま硬化させ、長柱体を除去して作製する工程を含む低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

40

(10) リン酸カルシウム硬化体の前駆体を含む組成物または、硬化のための液体成分の少なくともいずれかが、薬剤を含有する組成物である上記(9)の低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

(11) 長柱体体積分率を硬化体の5% ~ 90%とする上記(9)から(10)のいずれかひとつに記載したリン酸カルシウム硬化体の製造方法。

(12) 断面が円形、楕円形、多角形のいずれか一つである直線状長柱体または一平面

50

内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体が、金属、または弾性率10GPa以上のポリマーから選ばれる1種又は2種以上である上記(9)から(11)のいずれかひとつに記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

(13) 直線状長柱体または一平面内でのみ屈曲した曲線状又は折れ線状である長柱体の最大径が、70 $\mu$ m~5.0mmである上記(9)から(12)のいずれかひとつに記載した低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法。

(14) 上記(1)ないし(8)のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を用いた生体材料。

(15) 上記(1)ないし(8)のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を用いた薬剤徐放体。

(16) 上記(9)から(13)のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いた生体材料の製造方法。

(17) 上記(9)から(13)のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いた薬剤徐放体の製造方法。

(18) 上記(1)から(8)のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体を用いた組織工学スキャフォールド。

(19) 上記(9)から(13)のいずれかひとつに記載された低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の製造方法を用いた組織工学スキャフォールドの製造方法。

#### 【実施例1】

##### 【0031】

以下に示す3種類の硬化体を作製した。

- (1) コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体
- (2) コラーゲン非含有完全連通孔無し多孔質硬化体
- (3) コラーゲン含有完全連通孔無し多孔質硬化体

まず、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有物については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比25%となるように混合し更に20分間振動ミルで粉碎した(TTCP:408.23mg、DCPD:191.76mg、collagen:150.00mg)。これらの混合物750mgを11mmolリン酸溶液600 $\mu$ Lで練和した。完全連通孔は以下のようにして形成した。すなわち、直径0.5mm長さ28mmのステンレス製長柱体状オス型6本を1.54mm間隔に平行に配列し、この上に、これと直交する方向で同一寸法のステンレス製長柱体状オス型6本を配列し、この長柱体状オス型配列物に上記練和物を充填し一層ごとに、詰め込み、0.01MPaで加圧し、5層まで積み重ねた。これらの練和物を37 $^{\circ}$ C、相対湿度100%で24時間放置し、自己硬化させた。完全連通孔多孔体はこの時点で、長柱体状オス型を全部抜き取った。硬化物を金型からはずし、減圧下で24時間放置し、乾燥し、縦10mm、横10mm、高さ8mmの硬化体試料とした。(1)のコラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体は、直径500 $\mu$ mの直線状貫通気孔を1540 $\mu$ m間隔に配置し、これらの気孔列を交互に直交させた多孔質硬化体であった(図1)。2方向の気孔の交点はこの場合閉鎖している。この多孔体の気孔率は平均で23%で、機械的強度も十分な成型体として得られた。

#### 【実施例2】

##### 【0032】

実施例1で得られた3種類の硬化体をラット背部筋肉内に埋入した。図2にはラット背部筋肉内に埋入56日後までの硬化体のX線透過法による重量変化を示した。コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体の密度は明らかに30日まで増加し、その後、減少した。コラーゲン無し完全連通孔無し多孔質硬化体の密度は、埋め込みの後、初期にやや増加し、緩やかに減少を示し、硬化体が生分解し、侵食されていることが示された。コラーゲン含有完全連通孔なし多孔質硬化体の密度は、埋め込みの後、緩やかに減少を示し、硬化体が溶解していることが示されたが、56日後の硬化体の外形から外部からの侵食は認められなかった。このことは、コラーゲン含有完全連通孔硬化体は一時的に硬化体密度が増加した後、減少していくのに対してコラーゲン含有完全連通孔なし硬化体は、生体活性が異な

10

20

30

40

50

ることが示された。図3と図4には、ラット背部筋肉内に埋入56日後の硬化体の写真を示した。コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体では、明らかに56日後において、硬化体が生分解し、侵食されていることが示された(図3)。一方、コラーゲンも完全連通孔もない多孔体は56日後において、生分解し、侵食が少なかった(図4)。このことから、コラーゲンの有無と完全連通孔の有無により生分解の様式とその速度が著しく異なることが示された。

【実施例3】

【0033】

In vitro用薬物・完全連通孔10、コラーゲン含有リン酸カルシウム硬化体。  
 リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎したものに、Type I collagenを重量比25%となるように混合し更に20分間振動ミルで粉碎した。更にインドメタシン(IMC)をセメント重量の3%含有するように秤量した。(TTCP:400.58mg、DCPD:188.17mg、collagen:138.75mg、IMC22.5mg)この混合物750mgを11mmolリン酸溶液600 $\mu$ Lで練合した。上記混合試料を特殊な金型に充填後、完全連通孔の数が0、10、20、30となるように、縦横0本 $\times$ 0層、5本 $\times$ 2層、5本 $\times$ 4層、5本 $\times$ 6層で、これらの気孔列を交互に直交させ、多孔質硬化体とした。保存条件は実施例1に示した硬化体と同じである。それぞれの平均気孔率は0、8、15、23%であり、穴の直径は平均500 $\mu$ mであった。これらの硬化体を擬似体液に浸漬し、IMCを徐放させた。図5に硬化体からのIMC放出プロファイルにおける貫通孔の影響を示した。IMCの溶出は硬化体の貫通孔の数が多きほど薬物溶出が速く、かつ薬物の放出は0次の放出プロファイルを示した。又、溶出14日後においても薬物放出は継続し数ヶ月の長期の薬物徐放化が期待される。

【実施例4】

【0034】

以下に示すようにコラーゲン含有量の異なる3種類の硬化体を作製した。

- (4) 20%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体
- (5) 30%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体
- (6) 40%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体

まず、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有物については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比で20-40%コラーゲンとなるように混合し更に20分間振動ミルで粉碎した。これらの混合物750mgを11mmolリン酸溶液600 $\mu$ Lで練合した。完全連通孔は以下のようにして形成した。実施例1と同様に調製した。コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体は、直径500 $\mu$ mの直線状貫通気孔を1540 $\mu$ m間隔に配置し、これらの気孔列を交互に直交させた多孔質硬化体であった(図6)。この多孔体は、機械的強度も十分な成型体として得られた。

【実施例5】

【0035】

以下に示すように役割りの異なる薬剤が2剤以上含有された硬化体を作製した。

- (7) 3%セファレキシ含有20%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体
- (8) 3%セファレキシと3%インドメタシン含有20%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体
- (9) 3%セファレキシと3%メナテトレノン含有20%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体

まず、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有物については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比で20%コラーゲンとなるように混合し更に20分間振動ミルで粉碎した。これらの混合物750mgに3%抗生物質セファレキシと3%抗炎症剤インドメタシンあるいは、抗骨粗鬆症剤メナテトレノン(ビタミンK2)を加え混合した後11mmolリン酸溶液600 $\mu$ Lで練合した。完全連通孔は実施例1と同様に調製した。コラーゲ

ン含有完全連通孔有り多孔質硬化体は、直径500 $\mu$ mの直線状貫通気孔を1540 $\mu$ m間隔に配置し、これらの気孔列を交互に直交させた多孔質硬化体であった(図7)。この多孔体は、機械的強度も十分な成型体として得られた

【実施例6】

【0036】

以下に示す硬化体を作製し、硬化体の調製温度の影響を調べた。

(10) 20%コラーゲン含有完全連通孔なし硬化体を80 $^{\circ}$ Cで調製

まず、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有物については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比20%となるように混合し実施例1と同様の方法で完全連通孔を形成した。これらの練和物を80 $^{\circ}$ C、相対湿度100%で24時間放置し、自己硬化させた。この多孔体は、機械的強度も十分な成型体として得られた

10

【実施例7】

【0037】

以下に示す硬化体を作製し、硬化体の調製温度の影響と完全連通孔の数の影響を調べた。

(11) 20%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体を80 $^{\circ}$ Cで調製

まず、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有物については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比で20%となるように混合し実施例1と同様の方法で完全連通孔を形成した。これらの練和物を80 $^{\circ}$ C、相対湿度100%で24時間放置し、自己硬化させた。完全連通孔は以下のようにして形成した。すなわち、直径0.5mm長さ2.8mmのステンレス製長柱体状オス型6本を1.54mm間隔に平行に配列し、この上に、これと直交する方向で同一寸法のステンレス製長柱体状オス型6本を配列し、この長柱体状オス型配列物に上記練和物を充填し一層ごとに、詰め込み、0.01MPaで加圧し、5層まで積み上げたものすなわち孔数30のものと、7層まで積み重ねたものすなわち孔数42のものを作製した。これらの多孔体は、機械的強度も十分な成型体として得られた。この結果は、コラーゲン含有低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の硬化を25 $^{\circ}$ C以上の温度で行えることを示している。

20

【実施例8】

【0038】

以下に示す3種類の硬化体を作製した。

30

(12) TTCP:DCPDをモル比1.2:0.8からなるセメントと完全連通孔有り多孔質硬化体

(13) TTCP:DCPDをモル比1.2:0.8からなるセメントと20%コラーゲン含有完全連通孔有り多孔質硬化体

まず、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)を上記のモルとなるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有物については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比20%となるように混合し更に20分間振動ミルで粉碎した(TTCP:490mg、DCPD:153mg、collagen:160mg)。これらの混合物750mgを11mmolリン酸溶液600 $\mu$ Lで練和した。前実施例と同様に行い、調製された硬化体は、機械的強度も十分な成型体として得られた。

40

【実施例9】

【0039】

コラーゲン含有硬化体、コラーゲン非含有硬化体を以下のように作製した。すなわち、リン酸4カルシウム(TTCP)、リン酸水素カルシウム2水和物(DCPD)をモル比1:1となるように秤量し、振動ミルで10分間混合粉碎した。コラーゲン含有硬化体については、Type I collagenを上記混合物に対して重量比で20%になるように混合し更に20分間振動ミルで粉碎した。これらの混合物750mgを11mmolリン酸溶液600 $\mu$ Lで練和した。これらの練和物を37 $^{\circ}$ C、相対湿度100%で24時間放置し、自己硬化させた。コラーゲン非含有物の一部は空气中電気炉にて400 $^{\circ}$ C、24時間加熱した。全ての硬化体(直径6mmX12mm)をインス

50

トロン型の万能試験機を使用し、クロスヘッドスピード10 mm/minで測定した。測定結果を以下に示す。

【表1】

表1 リン酸カルシウム硬化体の圧縮強度

硬化体の種類	圧縮強度
コラーゲン非含有＋非加熱	85 kg/cm <sup>2</sup>
コラーゲン含有＋非加熱	205 kg/cm <sup>2</sup>
コラーゲン非含有＋加熱	380 kg/cm <sup>2</sup>

10

20

上述の結果は、リン酸カルシウム硬化体にコラーゲンなどの生体適合性高分子を至適量添加、または硬化後に加熱処理することで強度が向上することを示している。

【産業上の利用可能性】

【0040】

本発明によって得られるリン酸カルシウム質多孔質硬化体は、生体適合性が要求される、生体組織代替材料、組織工学スキャホールド、DDS用薬剤担持媒体として有用であるばかりか、広く医学的に用いられるあらゆる体内へ入れる人工臓器、人工骨などへの補助部材としても有用である。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】コラーゲン含有完全連通あり低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の概観図。外形寸法10 mm x 10 mm x 8 mm

【図2】ラット筋肉内埋め込み後の硬化体重量の変化図。

【図3】コラーゲン含有完全連通あり低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体のラット筋肉内埋入56日後概観図。

【図4】コラーゲン非含有完全連通なしリン酸カルシウム硬化体のラット筋肉内埋入56日後概観図。

【図5】完全連通孔の数が硬化体からのインドメタシンの溶出特性に与える影響の図。図6は、コラーゲン含有量の異なる低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の実物写真である。

30

40

【図6-1】コラーゲン20質量%含有

【図6-2】コラーゲン30質量%含有

【図6-3】コラーゲン40質量%含有図7は、種々の薬剤を添加したコラーゲン含有低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の実物写真である。

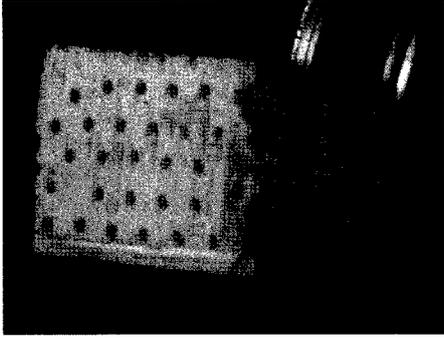
【図7-1】コラーゲン20質量%＋セファレキシン3質量%

【図7-2】コラーゲン20質量%＋セファレキシン3質量%＋インドメタシン3質量%

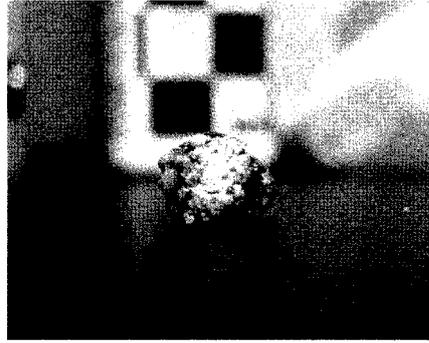
【図7-3】コラーゲン20質量%＋セファレキシン3質量%＋メナテトレノン3質量%

【図8】摂氏80度で硬化させたコラーゲン含有低温硬化型リン酸カルシウム多孔質硬化体の実物写真。

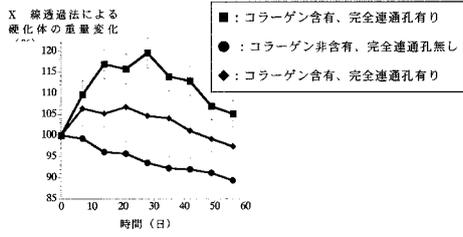
【図 1】



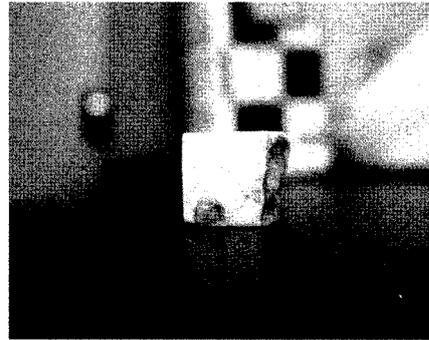
【図 3】



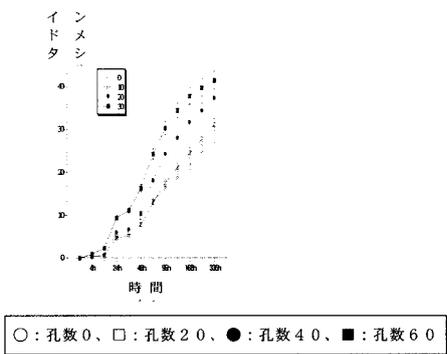
【図 2】



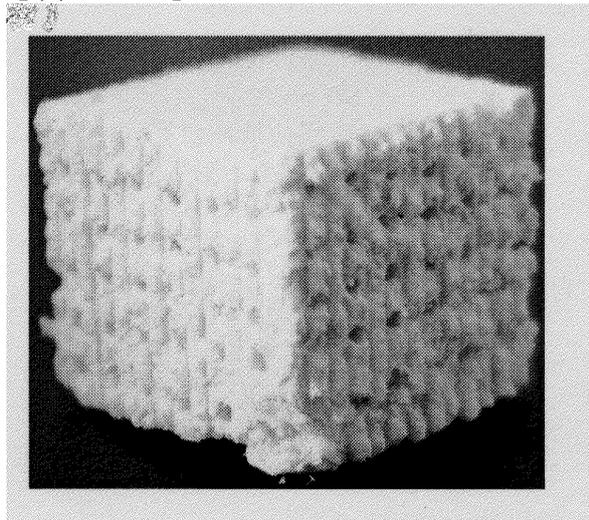
【図 4】



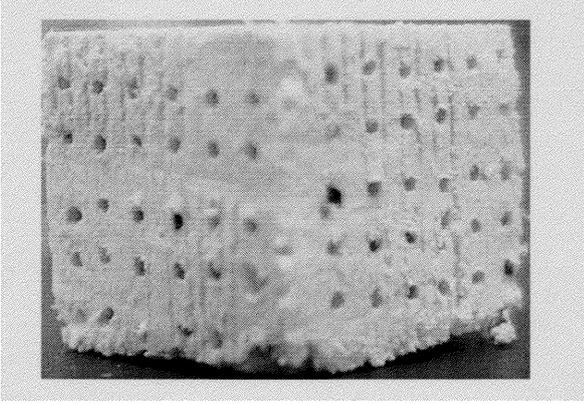
【図 5】



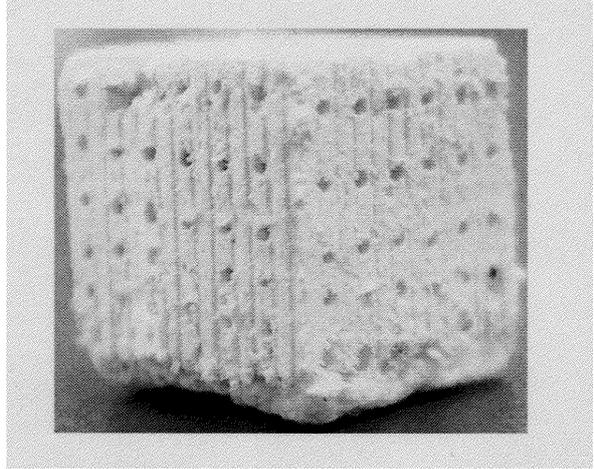
【図 6 - 1】



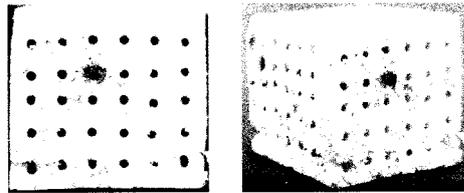
【 図 6 - 2 】



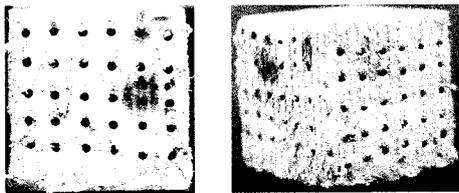
【 図 6 - 3 】



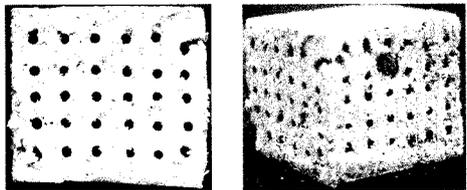
【 図 7 - 1 】



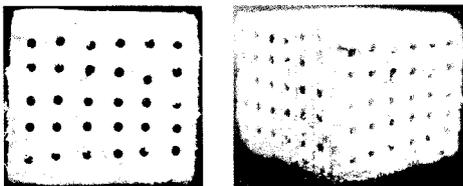
【 図 7 - 2 】



【 図 7 - 3 】



【 図 8 】



---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 F 2/28

Fターム(参考) 4C081 AB02 BA13 BB06 CD022 CD092 CD122 CD152 CD26 CD28 CD29  
CE02 CF011 DA01 DB03 DB05 DB06 EA04  
4C097 AA01 BB01 DD05 DD07 DD08 EE17 EE19 FF03 FF06 MM02  
MM03 MM04  
4G019 FA13 GA04  
4G030 AA08 AA41 CA09