

## Carbonate Apatite( CAp ) における骨伝導能の基礎的研究

高 木 宏 太<sup>1)</sup> 梶 本 忠 保<sup>1)</sup> 伊 藤 範 明<sup>1)</sup>  
竹 内 宏<sup>2)</sup> 山 本 宏 治<sup>1)</sup>

### Fundamental Study of Osteoconduction by Carbonate Apatite( CAp )

TAKAGI KOHTA<sup>1)</sup>, KAJIMOTO TADAYASU<sup>1)</sup>, ITO NORIAKI<sup>1)</sup>, TAKEUCHI HIROSHI<sup>2)</sup> and YAMAMOTO KOHJI<sup>1)</sup>

*Carbonate contenting apatite ( CAp ) has demonstrated the capacity to stimulate the bone, when it is applied during osteo-formation stage. However, in some way this ability to promote the bone growth continues unclear and in attempt to investigate this concern, it could be a theory involving the bone and its external soft tissue when a treatment is carried out.*

*In this study, the granulate CAp was synthesized and added to experimentally animal alveolar mucous, as well as monitored with the objective to identify the characteristics and morphological changes during the organic response.*

*A total of three dogs were selected and two incisions of 5mm were performed on both sides of the upper jaw, the incisions were situated in the alveolar mucous of the molars area. After that, two pockets were created, and a prepared CAp block was placed it in one of them considering this as control; whereas in the experimental pocket the CAp block and PRP were mixed with the intention of harmonized the combination. The sections studied and theirs surrounding zones were extirpated from the three dogs after two, four and eight weeks respectively. The samples were stained with Masson's modified process and observed by light microscope, scanning and transmission electron microscope ( SEM, TEM ) to realize the HE and kind of dispersion on the obtained region of new bone.*

*The observation of CAp blocks and its surroundings zones by light microscope showed augmentation of granulomatous tissue. Furthermore, all specimens presented increase of apparent osteoblasts and a slightly difference of bone formation were demonstrated. The amounts of new bone in the experimental pockets ( CAp plus PRP ) were greater than in control pockets ( CAp ) In addition, the micrographs of SEM and TEM illustrated, that the apparent osteocytes were covered by high density collagen fibers.*

*The studied CAp proved the ability to stimulate the osteoconstruction when it is applied it to the alveolar mucous. Nevertheless, the results obtained when CAp was combined with PRP exhibited a higher capacity to promote the cellular specialization and bone formation.*

Key words: Carbonate apatite( CAp ), Plasma Rich in Platelets( PRP ), Osteoconduction

### 緒 言

ハイドロキシアパタイト ( Hydroxy Apatite : 以下 HAp と略す ) や炭酸含有アパタイト ( Carbonate Apatite : 以下 CAp と略す ) は、生体の骨組織部に填入することによって骨伝導能を發揮することが証明されている<sup>1-9)</sup>。しかし、これらアパタイトによる骨伝導能の本態については、十分に証明されていない。この点

を究明するには、骨外の軟組織部で検索するの唯一法と考えることができる。

そこで今回、物理化学的性状が骨アパタイトに類似し、弱酸中での溶解性が HAp に比べ著しく大きい CAp 顆粒を合成し、これを実験動物の歯槽粘膜に填入し、経時的な組織応答の形態学的検索の面からその本態を窺った。

なお、その組織応答のメカニズム、すなわち CAp

<sup>1)</sup>朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科補綴学分野

<sup>2)</sup>口腔病態医療学講座口腔病理学分野  
501 0296 岐阜県瑞穂市穂積1851

<sup>1)</sup>Department of Prosthodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation

<sup>2)</sup>Department of Oral Pathology, Division of Oral Pathogenesis and Diseases Control

Asahi University School of Dentistry  
Hozumi 1851, Mizuho, Gifu 501 0296, Japan  
(平成18年12月1日受理)

のもつ骨伝導能の程度を明らかにする一助として、骨芽細胞の分化および骨基質の形成などを促進させる各種サイトカインを含むことにより骨誘導能を有し、安全性の面からも、近年臨床において広く採用されている、多血小板血漿 (Platelet-Rich Plasma: 以下 PRP と略す)<sup>10-13)</sup>を併用した検索も加えた。

## 材料および方法

### 1) CAp ブロックの作製方法

本実験で用いた CAp は土井ら<sup>14,15)</sup>の方法に準じ、0 ~ 6 mol の炭酸二ナトリウムを含む 1.2 mol のリン酸二ナトリウム溶液 8 l に、2 l の 2 mol 硝酸カルシウムを滴下し、合成温度 100 (沸騰状態) で、pH 9.0 ± 0.1 に自動調整しながら 3 日間かけて合成した。合成後の試料は遠沈、水洗を 10 回以上行い、乾燥後 X 線回折により不純物がない CAp であることを確認した。炭酸ガス量は、熱重量測定 (TG) (Thermo Plus, TMA-8120, Rigaku) により、加熱による試料からの炭酸ガス放出に伴う重量減から定量した (図 1)。それにより、炭酸イオン含有率が約 12.5% であることが確認された合成後の試料を、粉碎して 300 ~ 500 μm に分別し仮焼顆粒を作製した。この顆粒を、直径 5 mm、高さ 5 mm の円柱状の紙型に蒸留水を加えながら填入し、一昼夜乾燥後、750 で 2 時間焼結、多孔体円柱状ブロックを作製した (図 2)。

### 2) 動物実験

全身および口腔内に異常を認めない体重 10 ~ 12 kg のビーグル雄性成犬 3 頭を用い、成犬をケージ内にて 1 頭ずつ、犬用固形飼料および水道水を与えて飼育した。なお本実験は、朝日大学実験動物に関する指針に基づいて施行した。

全身麻酔と局所麻酔の併用下、すなわち、塩酸ケタミン (ケタラール<sup>®</sup>50, 三共エール薬品) 25mg/kg を

筋注後、ペンタバルビタールナトリウム (Nembutal<sup>®</sup>, Abbott Laboratories, U.S.A.) 25mg/kg の静脈内注射で全身麻酔を行い、局所麻酔はエピネフリン 1 / 8 万倍含有塩酸リドカイン (キシロカインカートリッジ<sup>®</sup>, 藤沢薬品工業) を使用し、以下の実験を行った。

まず、PRP を作製するために通法に従い上腕部より 20ml 採血を行い、遠心分離装置およびそれに付随するディスプレイの血液分離専用容器 Smart PRP<sup>®</sup> (Harvest Technologies, U.S.A.) を使用して、PRP を分離採取した。その後、両側上顎前臼歯部の頬側歯肉部に 5 mm 程度の切開を 2 カ所加え、鈍的に骨膜に極力触れないように剥離を行い、部分弁のポケットを 2 つ形成した。近心部ポケットにはあらかじめ作製しておいた CAp ブロックを、遠心部ポケットには CAp ブロックと PRP を混和したものをそれぞれポケット内に填入し粘膜弁を Gore-Tex スーチャー<sup>®</sup> (CV-5, W. L. GORE, U.S.A.) にて縫合した (図 3)。術前術後の抗菌剤の投与は、手術前日よりラリキシン<sup>®</sup> ドライシロップ (セフェム系抗生物質 セファレキシン 50mg / kg / day, 富山化学工業) を一週間内服投与およびペニシリン G カリウム (ベンジルペニシリンカリウム 100 万単位, 萬有製薬) の皮下注射を術後 3 日間行った。また、填入手術後より屠殺までの実験期間中は軟化飼料を与えた。

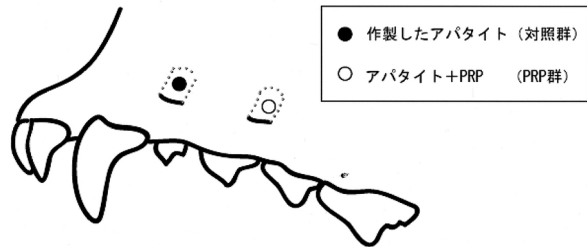


図 3 CAp 填入部位

填入手術後 7 日目に抜糸を行い、近心 CAp 填入部を対照群、遠心 CAp 填入部を PRP 群とし、2 週、4 週、8 週後にそれぞれの試料を周囲組織と共に一塊として摘出した。

### 3) 組織標本作製および観察

組織摘出後、8%ホルマリン (0.1M phosphate buffer, pH7.4) にて 4 ~ 7 日間、浸漬固定した。その後、流水下にて洗浄し、15% EDTA (pH7.3) 脱灰液を 37 に保持し 3 日間浸漬後脱灰し、アルコール上昇系列で脱水後、通法に従いパラフィン包埋を行い、Microtome にて厚さ 4 μm の組織標本作製した。組織染色は H-E および Masson 染色変法を行い、光学顕微鏡 (SZX12, OLYMPUS) 下で観察後、全自動顕微鏡写真撮影装置 (PM-3, OLIMPUS 社製) にてデジタ

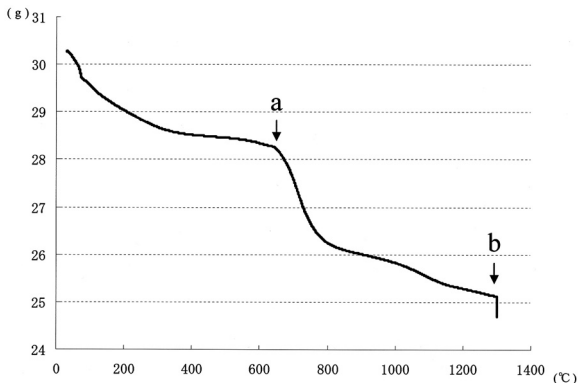


図 1 熱重量測定値 (TG 値)

グラフ中の a-b 間が炭酸イオン放出に伴う重量減であり、これをもとに炭酸ガス含有率を算出。

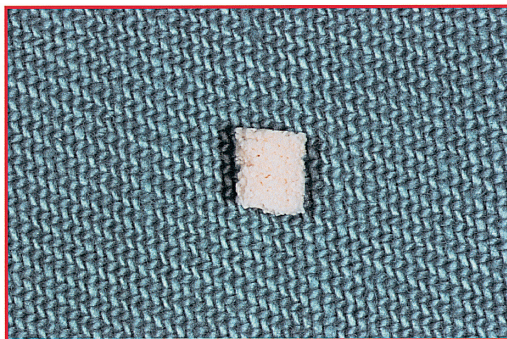


図2 焼結体 CAp ブロック

合成後の試料を、粉碎して300~500 μmに分別し仮焼顆粒を、直径5 mm、高さ5 mmの円柱状の紙型に蒸留水を加えながら填入し、一昼夜乾燥後、750 °Cで2時間焼結、多孔体円柱状ブロックを作製した。気孔率約40%。

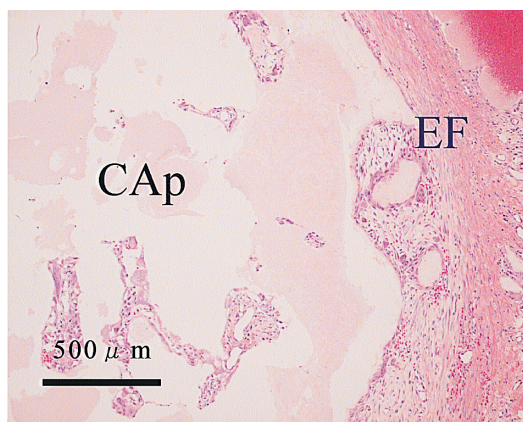


図4 A

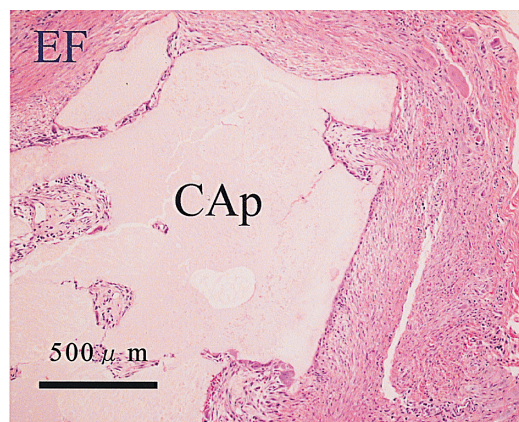


図4 B

図4 2週の組織所見

CAp: 炭酸含有アパタイト EF: 被包線維組織

A: 対照群 B: PRP 群

CAp 全体が線維組織によって被包され、この周囲結合組織の内層とCApとの間には、紡錘形、立方形、多角形および多核巨細胞が認められた。(H-E 染色, ×40)

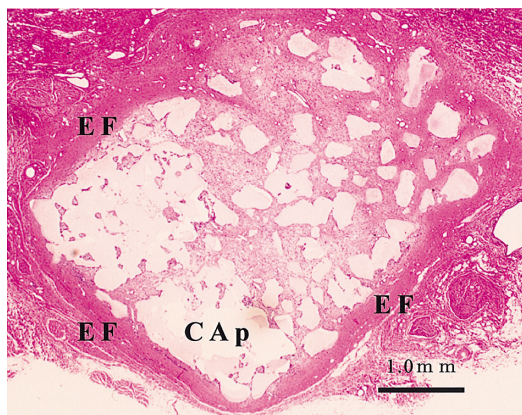


図5-A

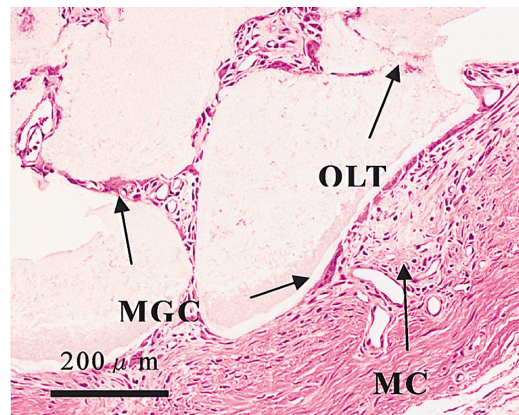


図5 B

図5 4週対照群の組織所見

EF: 被包線維組織 MC: 間葉系細胞 MGC: 多核巨細胞 OLT: 類骨様組織

A: CAp 全体が線維組織により被包されている。(H-E 染色, ×10)

B: 紡錘形, 立方形, 多角形および多核巨細胞の分化を認めた。(H-E 染色, ×100)

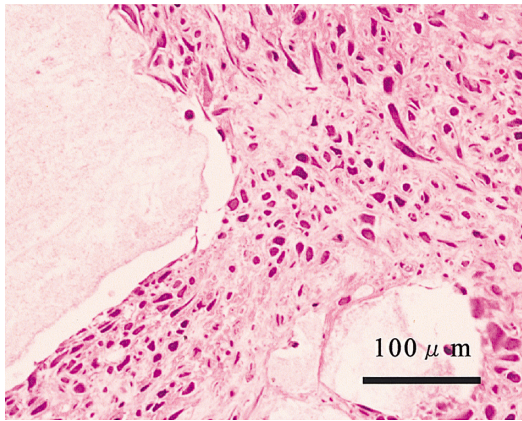


図 5 C

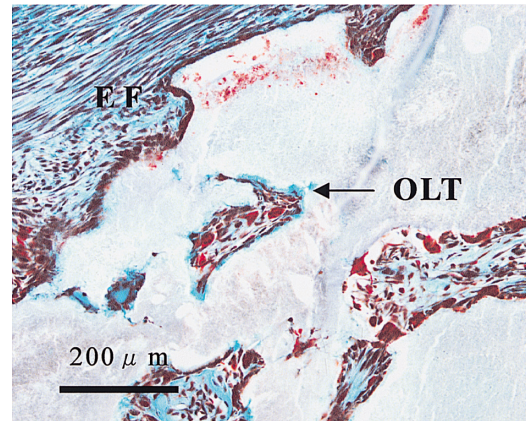


図 5 D

C: 軟骨膜様の細胞分化が認められた。(H-E 染色, ×200)

D: ライトグリーン好染性の類骨様組織の形成が、わずかながら認められた。(Masson 染色変法, ×100)

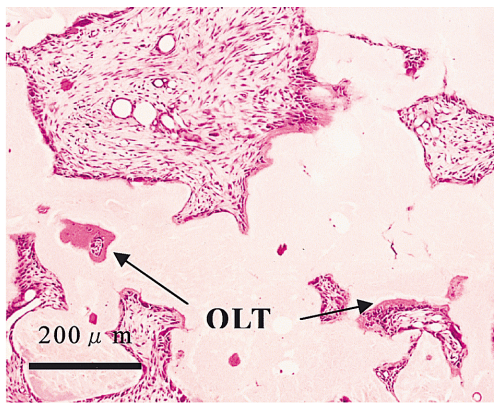


図 6 A

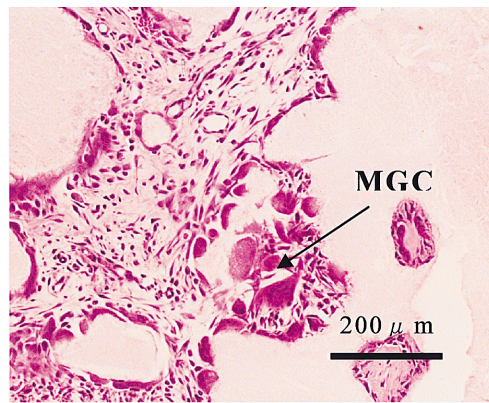


図 6 B

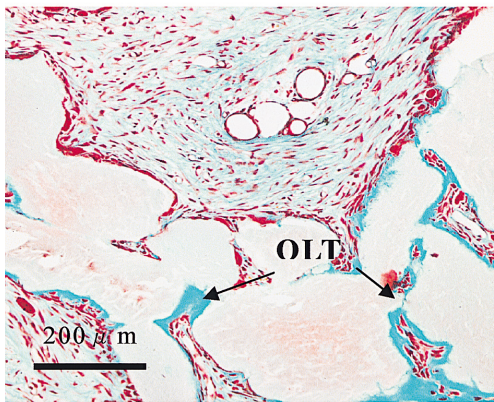


図 6 C

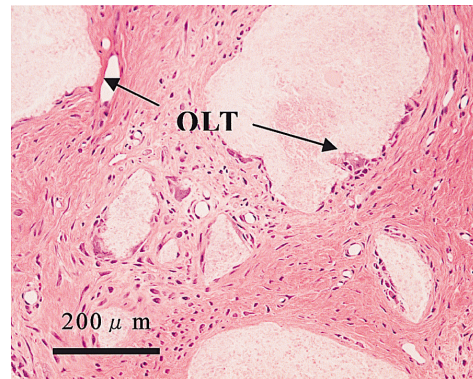


図 7 A

図 6 4週 PRP 群の組織所見 OLT: 類骨様組織 MGC: 多核巨細胞

A: 間葉系細胞および多核巨細胞は他群と比較し最も多く明らかに類骨とみなされるエオジン強染線維骨組織が多く認められた。(H-E 染色, ×100)

B: 単核巨細胞や多核巨細胞の数も多い傾向を示した。(H-E 染色, ×100)

C: 間葉系細胞と CAP との間にライトグリーン好染性の類骨様組織の帯状の層を認めた。(Masson 染色変法, ×100)

図 7 8週対照群の組織所見 OBLC: 骨芽細胞様細胞 OLT: 類骨様細胞

A: 間葉系細胞および多核巨細胞の分化も進行し、類骨様組織の形成も認めた。(H-E 染色, ×100)

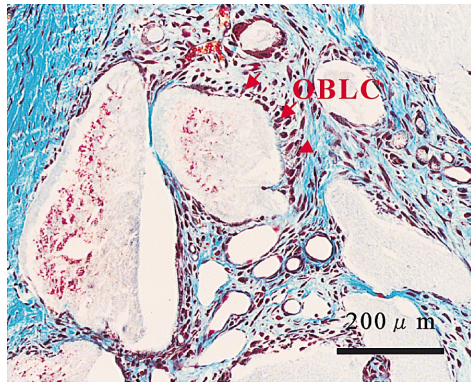


図 7 B

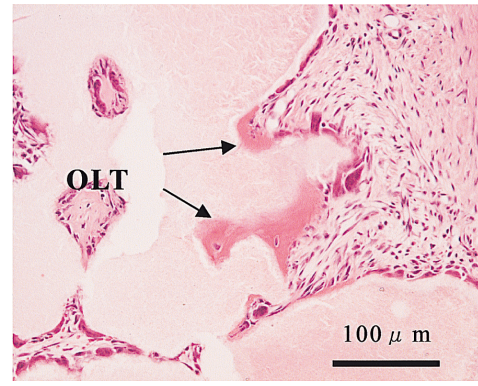


図 8 A

B : CAp に直角に配列する骨芽細胞様の細胞を一部認めた。(Masson 染色変法, ×100)

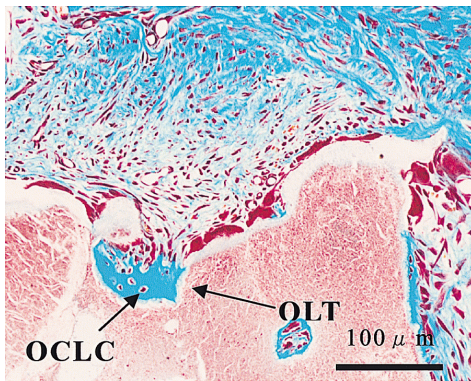


図 8 B

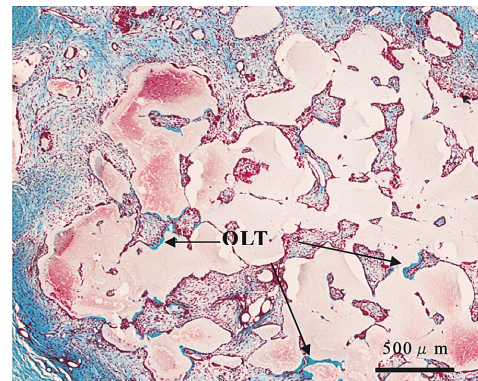


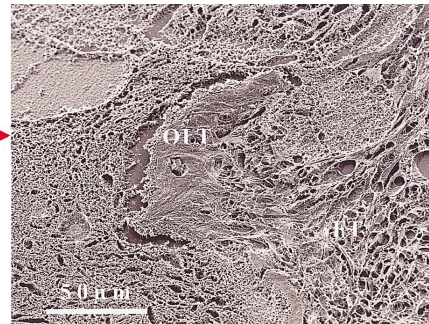
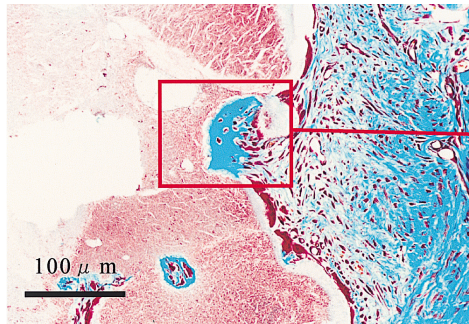
図 8 C

図 8 8 週 PRP 群の組織写真 OLT : 類骨様組織 OCLC : 骨細胞様細胞

A : 線維骨組織の形成も数多く認められその面積も増加する傾向を示した。(H-E 染色, ×200)

B : フクシン好染性の細胞が配列し, その細胞群と CAp との間にライトグリーン好染性の物質の帯状の層を認めた。(Masson 染色変法, ×40)

C : ライトグリーン好染性物質に封入され骨細胞様に变化した部位も見られた。(Masson 染色変法, ×200)



強拡大

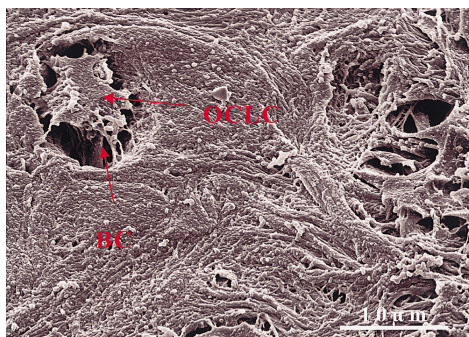


図12 類骨様組織の像

OLT : 類骨様組織 FT : 線維組織

類骨様組織部では, CAp 周囲の線維組織と比較して, 類骨様組織は明らかに構造が異なり, 線維が密であることが確認された。(SEM, ×500)

ル撮影した。

その後、組織標本を50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%のエタノールにそれぞれ10分間ずつ2度脱水を行い、酢酸イソアミルに10分間浸漬した後、試料の臨界点乾燥を行った。その後オスミウムコーティング装置（HPC-1S、真空デバイス）を用いて、導電処理を施した。その後、走査型電子顕微鏡（S-4500FE-SEM、日立）にて加速電圧5kVの条件下で表面観察を行った。

また、組織標本を15%（w/w）の割合で2・4・6トリ（ジメチルアミル）フェノール（DPM-30、polyscience）を添加したEPON（polyscience）を使用し包埋し、ウルトラマイクロトームを使用して切片を製作し、2%酢酸ウラニル水溶液および硝酸鉛水溶液で二重染色を行い、透過型電子顕微鏡（H7100 TEM、日立）を用いて加速電圧80kVで観察を行った。

## 結 果

### 1. 組織学的所見

#### 1) 2週

##### (1) 対照群

H-E染色において、CAp全体が線維組織によって被包され、CApの周囲には炎症性細胞が若干認められた。この周囲結合組織の内層とCApとの間には、紡錘形、立方形、多角形および多核巨細胞（図4A）が認められた。

##### (2) PRP群

H-E染色において、CAp周囲に分化した立方形や紡錘形の細胞並びに多核巨細胞が対照群よりも数多く認められ、またエオジン好性で無構造の類骨様組織も少量ではあるが認められた（図4B）。

#### 2) 4週

##### (1) 対照群

H-E染色において、CAp全体を線維組織が被包し、その被膜は内層が細胞成分に富み、あたかも外骨膜の如き組織構造を示した（図5A）。この内層の組織はさらに各CApの周囲を小葉の如く取り囲み、CApと接する層では、紡錘形、立方形、多角形および多核巨細胞の分化を認めた。そして立方形の細胞のCAp側では、被薄な類骨様組織の形成をも認めた（図5B）。また、数個のCAp周囲の組織では、軟骨膜の細胞分化を示すような構造もあった（図5C）。

Masson染色変法では、ライトグリーン好染性の類骨様組織の形成はごく少量であるが認められた（図5D）。

##### (2) PRP群

H-E染色において、CAp周囲に分化した立方形や

紡錘形の間葉系細胞数は対照群よりもさらに多く、明らかに類骨とみなされるエオジン強染線維骨組織が多く認められた（図6A）。また単核巨細胞や多核巨細胞の数も多い傾向を示した（図6B）。

Masson染色変法では、CAp周囲にフクシン好染性の細胞が配列し、その細胞群とCApとの間にライトグリーン好染性の類骨様組織の帯状の層を認めた（図6C）。

#### 3) 8週

##### (1) 対照群

H-E染色において、CApの吸収が進行しており、CApと接する層では、紡錘形、立方形、多角形の間葉系細胞および多核巨細胞の分化も進行し、類骨様組織の形成も認めた（図7A）。

Masson染色変法では、CApに直角に配列する骨芽細胞様の細胞を一部認めたが、他のCAp周囲の細胞にも、ライトグリーン好染性の類骨様組織の形成はわずかしが認められなかった（図7B）。

##### (2) PRP群

H-E染色において、線維骨組織の形成も数多く認められその面積も増加する傾向を示した（図8A）。

Masson染色変法では、細胞はすべてフクシンにまた線維成分はライトグリーンに染色性を示した。そして、CAp周囲にはフクシン好染性の細胞が配列し、その細胞群とCApとの間にライトグリーン好染性の物質の帯状の層を認めた（図8B）。その中には、ライトグリーン好染性物質に封入され骨細胞様に変化した部位も見られた（図8C）。

### 2. 電子顕微鏡所見

#### 1) TEM 所見

CAp周囲に出現した、立方形ないし紡錘形の細胞の周囲には、横紋構造の明確なコラーゲンが2~3層の束をなして、不規則に走行しつつある像が認められた（図9）。

また破骨細胞状の形態を示した多核巨細胞は、本来の破骨細胞にみられるような刷子縁はほとんど認められなく、細胞膜に沿う数層の小胞体状の管状構造物を細胞全周にわたって認めた（図10）。このような管状構造の分布は、骨芽細胞様細胞に類似していた。

さらにこのような破骨細胞様の細胞の中には、（図11）のように、CApを補食したと考えられる食胞を認めるものも多数存在した。このような細胞には、小胞体状の管状構造物は認められなかった。

#### 2) SEM 所見

Masson染色ライトグリーン好染性の類骨様組織部では、CAp周囲の線維組織と比較して、類骨様組織は明らかに構造が異なり、線維が密であることが確認

された。また、類骨様組織に囲まれた細胞が数個認められた。

また拡大像では、類骨様組織のコラーゲン線維が密集しており、その所々に形成された骨小腔状の空洞に骨細胞様細胞の存在が確認された。それらの細胞からは、原型質突起が出て空洞壁とつながっていた(図12)。

なお以上の電顕像は2週から8週後までの対照群と

PRP 群ともに本質的に同じであり、量的に PRP 群に多い傾向があった。

### 考 察

本実験で使用した CAp は、炭酸イオン量、物理化学的性状は骨アパタイトに類似し、吸収される速度が組織再生と同等であるという人工骨材料として望まし

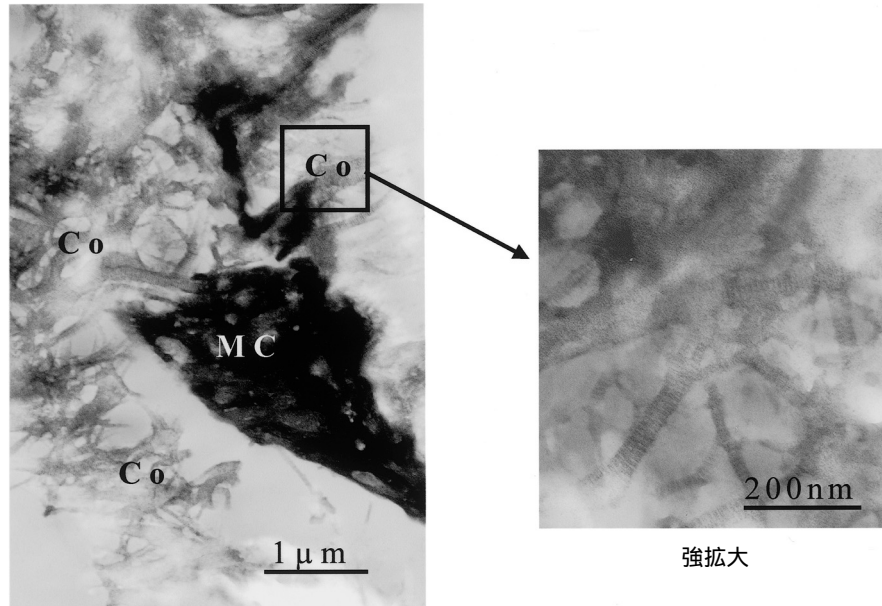


図9 間葉系細胞周囲の TEM 像

周囲には、横紋構造の明確なコラーゲンが2～3層の束をなして、不規則に走行していることが認められた。(×15,000) 強拡大。(×30,000)

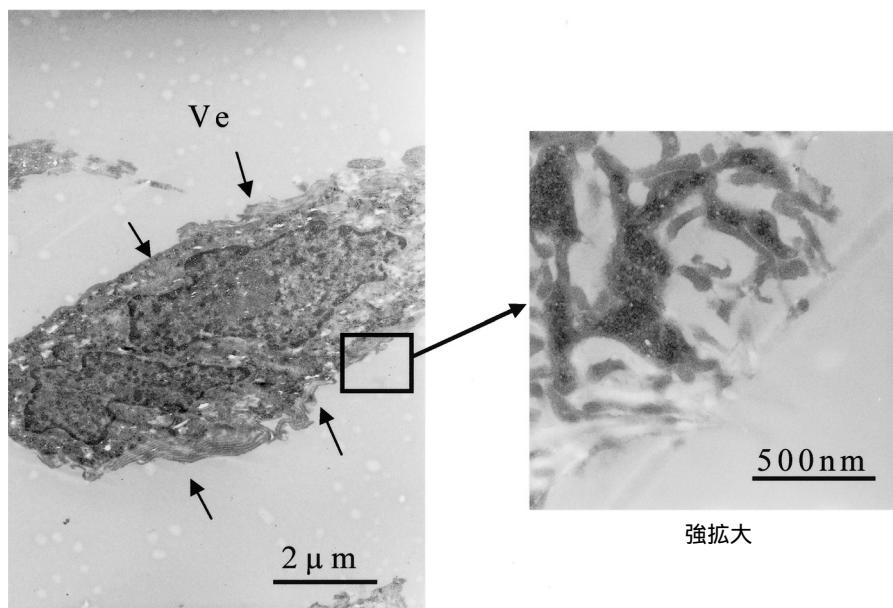


図10 多核巨細胞の TEM 像

Ve: 小胞体様構造物 細胞膜に沿う数層の小胞体状の管状構造物が細胞全周にわたって認めた。(×6,000) 強拡大。(×15,000)

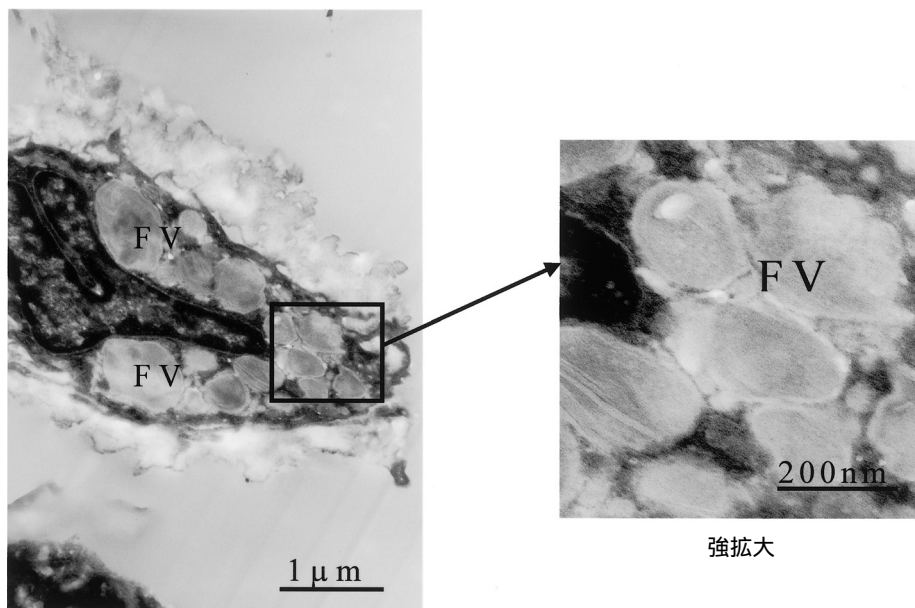


図11 食胞の見える多核巨細胞の TEM 像

FV : CAp の食胞

CAp を補食したと考えられる食胞を認めるものも多数存在した。(×12,000)

強拡大。(×30,000)

い性格を有し、同時に優れた骨伝導能を有している<sup>7-9)</sup>。

一般に、外来性の異物に対して、生体は肉芽組織による処理、すなわち器質化を起こす<sup>16-20)</sup>。今回の CAp もこの例外ではなく、組織の初期応答として、一応、器質化に類似する反応をした。しかし、器質化をしつつある組織には炎症反応はほとんどなく、通常の異物に対する器質化とは経時的にかなり異なっていくことが判明した。その所見は、森ら<sup>21)</sup>、富井ら<sup>22)</sup>の、アパタイト粒子が大きい場合は線維組織で被包化され、小さい場合はマクロファージで取り囲まれ処理されるとする報告とはかなり異なっていた。すなわち、今回の検索では、CAp の周囲に形成された肉芽組織様の組織は長期にわたって線維化しないこと、そこに通常肉芽組織には見られないような形態の細胞が分化してくることが特徴であった。このような特異的な組織の形成は、他の異物反応では見ることのできないものであることから CAp と関係深い組織応答と考えられた。これらをさらに詳細に検討すると、その肉芽組織様の組織は、個々に増生した細胞形態と細胞配列があたかも発生期の軟骨膜の如き組織構造を示し、しかも、個々の CAp 周囲の肉芽組織様組織では、立方形ないし紡錘形の細胞の、骨芽細胞を想わせる細胞の分化を認め、これら一部の細胞の周囲に H-E 染色でエオジン好性、また Masson 染色変法でライトグリーン好性の類骨様組織の形成さえ認めた。このような所見は、これまで

の先人達の報告とは違って、CAp は骨とは無縁の組織においても、類骨様組織を産生するような特殊な肉芽組織の増生を誘導する作用のあることを示すものであった。なお、類骨部は通常の光顕観察では無構造に見えたが、TEM では横紋構造の明確なコラーゲンが 2 ~ 3 層の束をなして、不規則に走行していることが明らかであり、しかも SEM ではコラーゲン線維の間隙にあたかも骨細胞の如き細胞が納まっている所見も得た。このような所見は、今回認めることのできた骨芽細胞様の細胞は骨の有機基質の無定型および有型基質の両方を産生することを示している。また同時に、破骨細胞の形態に近い巨細胞の多数にわたる分化も認められた。これらの巨細胞は、紡錘形や多角形を示し、CAp 面や類骨様組織の近くに現れた。その局在性からみて破骨巨細胞様であったが、形態からは異物巨細胞に近いと考えられた。これらの巨細胞の中には TEM によって、明らかに CAp 粒子を貪食した細胞も多く見られた。この所見は CAp は他の炎症性細胞を浸潤させるような因子はないものの、マクロファージ系の細胞のみを集簇あるいは分化させる因子を有していることを示唆している。CAp は生体に為害性がない故に、貪食細胞はこれを異物と認識することはないと考えられ、このことから機能的に特殊な細胞といえる。しかしこのような細胞から破骨細胞が分化するか否かは不明である。

以上のような特殊な肉芽組織の増生の誘導や、各種



細胞の分化誘導と CAp との関連については、その詳細は今回の検索からは明らかにすることはできなかった。しかし、今回併用した PRP が、このような特殊な組織の増生、骨芽細胞様細胞の分化、類骨様組織の産生を促進させるという実験結果は、CAp の関わりを推測する手懸かりを与えた。すなわち、PRP は血小板由来増殖因子 (PDGF)、形質転換増殖因子 (TGF- $\beta$ )、血小板由来上皮増殖因子 (PDEGF)、インスリン様増殖因子 (IGF-1) および血小板因子 (PF-4) といった多数の標的細胞に対する成長因子を発現している<sup>23, 24)</sup>。この中の IGF-1 は骨芽細胞や軟骨細胞を標的細胞とし、前骨芽細胞や骨芽細胞の増殖、骨基質の産生を促進している<sup>25, 26)</sup>。この点を考え併せれば、CAp は少なくとも骨芽細胞の増生と分化を促す作用を有し、そしてこれらの細胞は各種成長因子のレセプターの発現を旺盛に行っていることが強く示唆された。すなわち、CAp は骨伝導能を有しているといわれているが、骨形成以前に、何らかの細胞分化誘導能をも有していることが示唆された。この CAp の誘導因子の本態について、敢えて考察すれば、生体組織において CAp が骨と似た環境を提供することもその一つと考えられる。その環境形成には、CAp 填入部の細胞間基質への作用が考えられる、細胞間基質である多数の有形基質や無形基質の多くは細胞増殖を統御している<sup>27-29)</sup>。CAp のこれらの基質を修飾することによって、細胞増殖を促進させ、且つ増殖した細胞に対して成長因子のレセプター産生性を付与させることが考えられる。この点については現在マウスを用いて、免疫組織学および in situ hybridization を応用して検討しつつある。

今回のこのような肉芽組織様組織に形成された類骨様組織には、8 週経過した対照群および実験群の両方に石灰化はみられなかった。この所見は、骨組織部の填入では 4 週前後で骨化を認めたとする研究結果<sup>14)</sup>とは全く異なっていた。類骨組織への石灰化機構については、類骨組織のコラーゲン線維間に基質小胞や骨結晶の集積した球状沈着物が散在性に多数出現し石灰化に至るといった考え方がある<sup>30)</sup>。この点を鑑れば、今回のように石灰化が起らないという事実は、CAp 周囲の肉芽様組織が構成する諸環境が体液中の  $\text{Ca}^{++}$  を類骨様組織に seeding し、これがリン酸カルシウムとなり、その結晶が成長し得る状況ではなかったと考えられる。

今回の以上の所見からは、CAp は骨伝導能よりもむしろ骨形成の前駆細胞である骨芽細胞の誘導に深く関与していることが考えられた。

## 結 論

1. 骨組織ではなく、軟部組織に填入した CAp は、経時的に線維化しない特殊な組織形成を誘導した。
2. その組織は幼若な肉芽組織様であり、その組織中に骨芽細胞様細胞および破骨細胞様細胞の分化を誘導した。
3. これら骨芽細胞様細胞は類骨様組織を形成した。
4. PRP はそれらの細胞分化および類骨様組織形成能を促進させる作用があった。
5. このような組織に石灰化は起らなかったが、CAp は骨形成のための前駆組織の分化と増殖を誘導する性状を有していることが窺われた。

## 引用文献

- 1) BROWN, W. E.: General comment. Hydroxyapatite and its properties. *J. Dent. Res.* 1979; 58(B) 857-860.
- 2) NERY, E. B., LYNCH, K. L., HITHE, W. M., and MUELLER, K. H.: Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J. Period.* 1975; 4(6) 328-347.
- 3) JARCHO, M., BOLEN, C. H., THOMAS, M. B., BOBICK, J. KAY, J. and DOREMUS, R. H.: Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *J. Mater. Sci.* 1976; 11: 2027-2035.
- 4) KIKUCHI, M., ITOH, S., ICHINOSE, S., K. SHINOMIYA, and TANAKA, J.: Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/ collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo. *Biomaterials.* 2001; 22: 1705-1711.
- 5) 青木秀希, 加藤一男, 小木曾誠, 田端恒雄: アパタイトの歯科材料への応用に関する研究 (第二報) / 人工歯根への利用. 歯科理工学会誌. 1977; 18: 86-89.
- 6) DOI, Y., KODA, T., WAKAMATSU, N., GOTO, T., KAMEMIZU, H., MORIWAKI, Y., ADACHI, M. and SUWA, Y.: Influence of carbonate on sintering of apatite. *J. Dent. Res.* 1994; 73(9) 1279-1284.
- 7) DOI, Y., SHIBUTANI, T., MORIWAKI, Y., KAJIMOTO, T. and IWAYAMA, Y.: Sintered carbonate apatite as bioresorbable bone substitutes. *J. Biomed. Mater. Res.* 1998; 39: 603-610.
- 8) DOI, Y., KODA, T., ADACHI, M., WAKAMATSU, N., GOTO, T., KAMEMIZU, H., MORIWAKI, Y. and SUWA, Y.: Pyrolysis gas chromatography of carbonate apatite used for sintering. *J. Biomed. Mater. Res.* 1996; 29: 1451-1457.
- 9) HASEGAWA, M., DOI, Y. and UCHIDA, A.: Cell-mediated bioresorption of sintered carbonate apatite in rabbits. *The journal of bone and joint surgery.* 2003; 85(1) 142-147.
- 10) 成田かずみ, 飯野光喜, 熊谷美香子, 能登谷武, 面川進, 高田五郎, 山岡 薫, 大貫敬嘉, 三好好太郎, 永

- 井宏和, 福田雅幸: 自己PRPゲルの作製法と歯科口腔外科領域における臨床応用に関する検討. 自己血輸血. 2003; 16(2): 139-145.
- 11) HAMMARSTOM, L., HEIJL, L., and GESTRELIUS, S.: Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J. Clin. Periodontol.* 1997; 24: 669-677.
- 12) MARX, R. E.: Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001; 10(4): 225-228.
- 13) PETRUNGARO, P. S.: Treatment of the infected implant site using platelet-rich plasma. *Compendium.* 2002; April: 363-376.
- 14) DOI, Y., SAKU, S., IWANAGA, H., KAJIMOTO, T., MORIWAKI, Y., YAMAMOTO, K., SHIBUTANI, T., IWAYAMA, Y., MIZUTA, Y. and IKEDA, Y.: Bioresorbable bone substitute materials made of sintered carbonate apatites. *Bioceramics.* 1998; 11: 323-326.
- 15) 土井 豊: 生体吸収性炭酸含有アパタイトの開発および臨床応用への可能性. *Orthopaedic Ceramic Implants.* 2003; 22: 1-4.
- 16) 野本亀久雄: 生体における異物処理機構. アレルギー. 1990; 39(5): 437-441.
- 17) 赤崎兼義: 病的増殖. 『病理学総論』改訂第4版, 217-238, 南山堂, 東京, 1966.
- 18) 磯田美土里: 種々の異物肉芽腫におけるマクロファージの組織学的および酵素組織学的研究. 日皮会誌. 1984; 94: 1045-1053.
- 19) 水野伝一: 異物認識とマクロファージ. *Therapeutic Res.* 1984; 1: 100-103.
- 20) POSTLETHWAITE, A. E., JACKSON, B. K., BEACHEY, E. H., and KANG, A. H.: Formation of multinucleated giant cells from human monocyte precursors mediated by a soluble protein from antigen and mitogen stimulated lymphocytes. *J. Exp. Med.* 1982; 155: 168-178.
- 21) 森 雅美: 合成ハイドロキシアパタイトセラミック微粒子に対する組織反応 / 電子顕微鏡的研究. 新潟歯学会誌. 1987; 17(2): 99-111.
- 22) 富井康年: 合成ハイドロキシアパタイトセラミック微粒子に対する組織反応. 新潟歯学会誌. 1987; 17(2): 65-82.
- 23) HOM, D. B., and MAISEL, R. H.: Angiogenic growth factors. Their effects and potential in soft tissue wound healing. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1992; 101: 349-354.
- 24) MARX, R. E., CARLSON, E. R., EICHSTAEDT, R. N., SCHIMMELE, S. R., STRAUSS, J. E., and GEORGEFF, K. R.: Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85: 638-646.
- 25) 大庭義人: ラット骨芽細胞 (ROS17/2) におけるインスリン様成長因子 (IGF 1) の意義. 東京女子医科大学雑誌. 1988; 58(7): 637-649.
- 26) 井上勝: IGF 1, IGF 1/IGFBP 3 複合体の骨芽細胞, 破骨細胞形成能に及ぼす効果の検討. 成長科学協会研究年報. 1998; 21: 201-206.
- 27) 妹尾春樹, 畑隆一郎: 細胞外マトリックスによる細胞の形態, 増殖および組織形成の制御. 解剖学雑誌. 1994; 69(6): 719-733.
- 28) 畑隆一郎: 細胞外マトリックス系による細胞増殖制御. 蛋白・核酸・酵素. 1991; 36(7): 1069-1077.
- 29) 田村太一: 細胞外基質がヒト歯肉上皮細胞の細胞機能に及ぼす作用. 日歯周誌. 2001; 43(3): 217-226.
- 30) 小木曾誠: アパタイト表面における骨組織形成ならびにその石灰化について. 口腔病理学会雑誌. 1983; 50(1): 1-22.