

骨補填材の骨誘導に 炭酸ガスレーザーが及ぼす影響

安達 仁

Effects of Carbon Dioxide Laser Irradiation on Bone Deposition onto Bone Replacement Materials

Hitoshi ADACHI

Application of biomaterials that replace bone tissues is effective in jawbone regeneration. It has been noted that β -tricalcium phosphate (β -TCP) can be applied in implant therapy for bone regeneration methods such as GBR and GTR. Mean while, it has been reported that carbon dioxide laser could induce bone formation in bone defects and thus could be applicable to bone regeneration therapy. This study investigated the effects of laser irradiation on bone deposition on β -TCP, or more specifically, the effects of laser irradiation β -TCP filled bone defects in rat tibiae. H-E staining and soft x-ray demonstrated that bone deposition around β -TCP particles was accelerated by laser irradiation as compared with that in the control on day 10 after treatment. Interestingly, a larger number of TRAP-positive cells could be seen around the β -TCP particles in laser irradiated bones than to those in the control bones. These findings indicated that laser irradiation stimulated bone deposition on β -TCP particles as well as bone resorption. Furthermore, we focused on the function of osteocytes because they may play important roles in controlling bone metabolism in response to mechanical force. Alcian blue and Peanut agglutinin (PNA) lectin staining, which detects sugar chains in proteoglycans, demonstrated that osteocytes in cortical bone produced larger amounts of proteoglycans after laser irradiation than in the control. These findings suggested that laser irradiation promoted bone deposition on β -TCP via osteocytes irradiated by laser. In conclusion, carbon dioxide laser irradiation stimulated bone deposition on β -TCP in bone defects in rat tibiae, and the combination of laser irradiation and β -TCP is available for bone regenerative therapy.

Key words : β -TCP, CO₂ laser, rat, lectin

緒 言

近年、歯科保存治療において顎骨の再生治療は

重要な課題である。これまでに、骨欠損に対する骨増生のために種々の生体材料¹⁾が使用されてきた。その材料の一つとして、従来、歯科あるいは

受付：平成23年3月25日，受理：平成23年5月9日
奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野
(指導：横瀬敏志教授)

Division of Operative Dentistry, Department of
Conservative Dentistry, Ohu University School of
Dentistry
(Director : Prof. Satoshi YOKOSE)

整形外科の領域において自家骨が多く用いられてきた。自家骨を採取する場合、骨採取による外科的侵襲が大きく、採取量にも限界があり、採取部位の二次感染も懸念されている^{2,3)}。人工骨代替材料はこれらの問題点を解決できるものであり、骨補填材の研究開発が活発になされハイドロキシアパタイト以外にも、移植後に骨に完全に置換するとされる生体吸収性の人工骨 β -リン酸三カルシウム (β -Tricalcium phosphate; 以下、 β -TCP) が開発され、注目されている⁴⁾。Gaasbeek ら⁵⁾ は人の脛骨骨切り術に β -TCPを用いて完全に骨に置換する事を報告している。

一方、現在歯科治療において日々新しい治療法や治療器具の開発が進んでおり、様々な種類のレーザーが広く応用されている。一般にレーザーは高出力レーザーと低出力レーザーがあり、高出力レーザーでは YAG レーザー、炭酸ガスレーザー、アルゴンレーザーが代表的なレーザーとして知られており、低出力レーザーにおいては、半導体レーザー、ヘリウムネオンレーザーなどが代表的なレーザーとして知られている。これらのレーザーの中でも高出力レーザーに分類されている炭酸ガスレーザーは、レーザー照射時に起こる表面組織の蒸散などの High reactive-Level Laser Therapy (以下、HLLT) 作用と照射部位周囲における細胞増殖、細胞の活性化、治癒促進などの Low reactive-Level Laser Therapy (LLLT) 作用を比較的容易にコントロールできることや^{6,7)}、組織表面での水分の吸収性が高く、非接触型であるため、感染の危険も少なく、操作性も優れている等の特徴を持っている。塩崎ら^{8,9)} は、ラット脛骨における炭酸ガスレーザー照射が骨芽細胞の分化を刺激し、骨形成が顕著に誘導されたことを示し、また田島ら^{10,11)} は、ラット耳介における炭酸ガスレーザー照射が、筋細胞における mitogen-activated protein kinase (MAPK) である extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) をリン酸化して活性化する事から、細胞増殖を誘導する事を報告している。これらの報告は、炭酸ガスレーザー照射の LLLT 作用を示すものであり、組織の治癒促進や再生療法への応用の可能性を示唆するものである。我々はこれま



図1 炭酸ガスレーザー照射

左側の欠損部に10日間毎日、皮膚上から炭酸ガスレーザーを照射している状態を示す。

照射条件は、出力0.5W、照射距離10cmで40秒照射 (照射エネルギー密度 $20\text{J}/\text{cm}^2$)。

で、外部からの力の加わり方に応じて骨が形成されるという Wolff の法則¹²⁾ に従いメカニカルフォースとして炭酸ガスレーザーを使用し、骨代謝に及ぼす影響を分子生物学レベルで解析してきた¹³⁾。そこで、本研究では scaffold として骨再生療法に用いられている β -TCPを用い、炭酸ガスレーザーと併用することで骨形成作用に対してどのような影響を与えるかを調べるために形態学的、細胞生物学的に解析した。

材料および方法

1. 実験動物と切片作製

動物実験は奥羽大学動物実験規程に従って行った (動物実験許可番号、平成21年度22号)。

7週齢の雌性SDラット (日本クレア、東京) 各群10匹を用い、エーテル (和光純薬、東京) 麻酔下で無痛的に実験を行った。左右脛骨を観血的に露出させ、歯科用ラウンドバーにて直径2.5mmの骨欠損を作製した。その欠損部に5mgの β -TCP (オスフェリオン、オリンパス社製、東京) を埋入し縫合した。その後、左側の実験部位には10日間毎日、皮膚上から炭酸ガスレーザー (オペレーター Lite: ヨシダ製作所、東京) を照射した (レーザー照射群) (図1)。照射条件は出力0.5W、照射距離10cmで40秒照射 (照射エネ

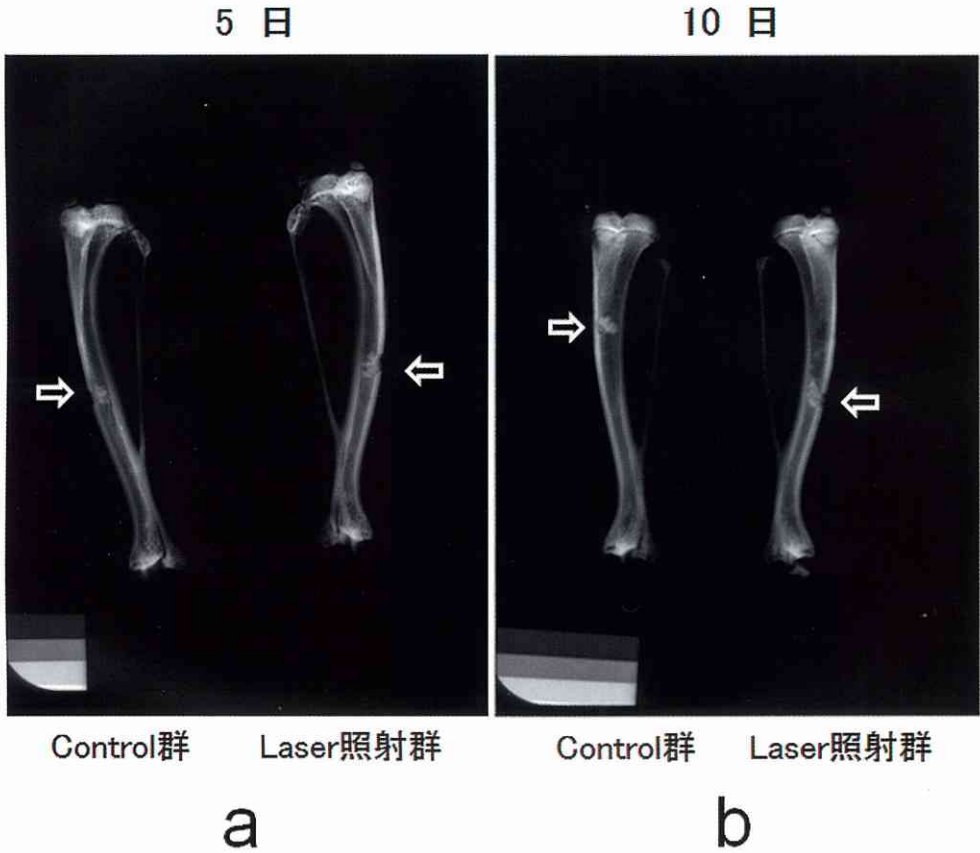


図2 軟エックス線写真

左側は対照群，右側はレーザー照射群の脛骨を示す。

a：移植後5日目

b：移植後10日目

矢印： β -TCPの埋入部位

ルギー密度 $20\text{J}/\text{cm}^2$)を行った。右側の欠損部は炭酸ガスレーザーを照射しない対照群とした。

実験開始後，5日，10日目にエーテル麻酔を行い，局所麻酔にて屠殺後，脛骨を摘出し，5mm各のブロックにして，ただちに中性緩衝ホルマリン（和光純薬，東京）にて 4°C のもと24時間固定した。その後10%EDTA（0.1M Tris-HCl buffer, pH7.4, 和光純薬，東京）にて20日間脱灰し，通法に従いエタノール（和光純薬，東京）にて脱水後，パラフィン（TissuePrep, Fisher Scientific, USA）に包埋し $4\mu\text{m}$ の連続切片を作製した。これらの切片に対して Hematoxylin-Eosin（以下，

H-E）染色，酒石酸耐性酸性ホスタファーゼ（以下，TRAP）染色，Alcian blue 染色（pH2.5）および複合糖質結合蛋白質である Lectin（Peanut agglutinin；PNA, Ricinus communis Agglutinin-1；RCA-1）染色を行った。

2. 染色方法

一般染色として H-E 染色，Alcian blue 染色を，通法に従って行った¹⁴⁾。TRAP 染色は Gaasbeek ら⁵⁾の方法に従って行った。Lectin 染色は，キシレン（和光純薬，東京）にて脱パラフィンを行いエタノール系列で親水後，内因性ペルオキシターゼの活性を阻害するために3% H_2O_2 （和光純薬，

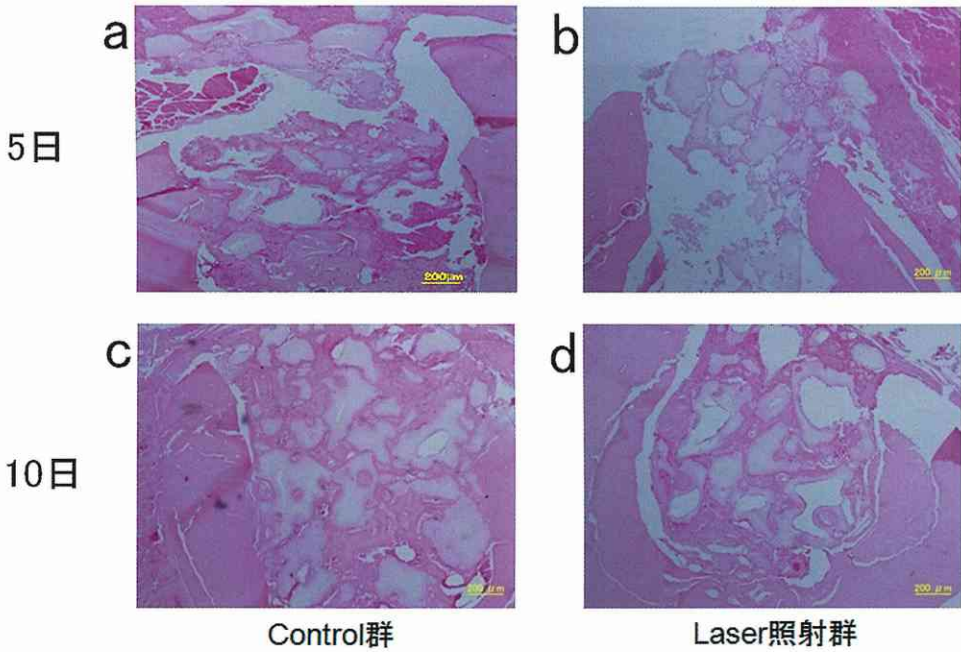


図3 H-E染色
 a, b: 移植後5日目
 c, d: 移植後10日目
 a, c: 対照群
 b, d: レーザー照射群
 (bar=200 μm)

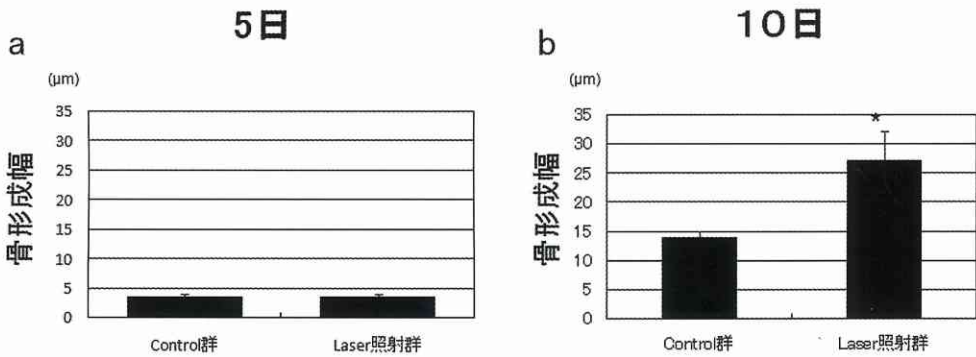


図4 骨形態計測を用いた骨形成幅
 a: 移植後5日目
 b: 移植後10日目
 *P<0.05

東京) に5分間浸漬した。次いで0.01mol/Lリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.4) にて洗浄後、ペルオキシターゼ標識レクチン (Peanut

Agglutinin; PNA, Ricinus communis Agglutinin; RCA-1, 生化学工業, 東京) をPBSにて100倍希釈したものを室温にて20分間反応さ

TRAP染色

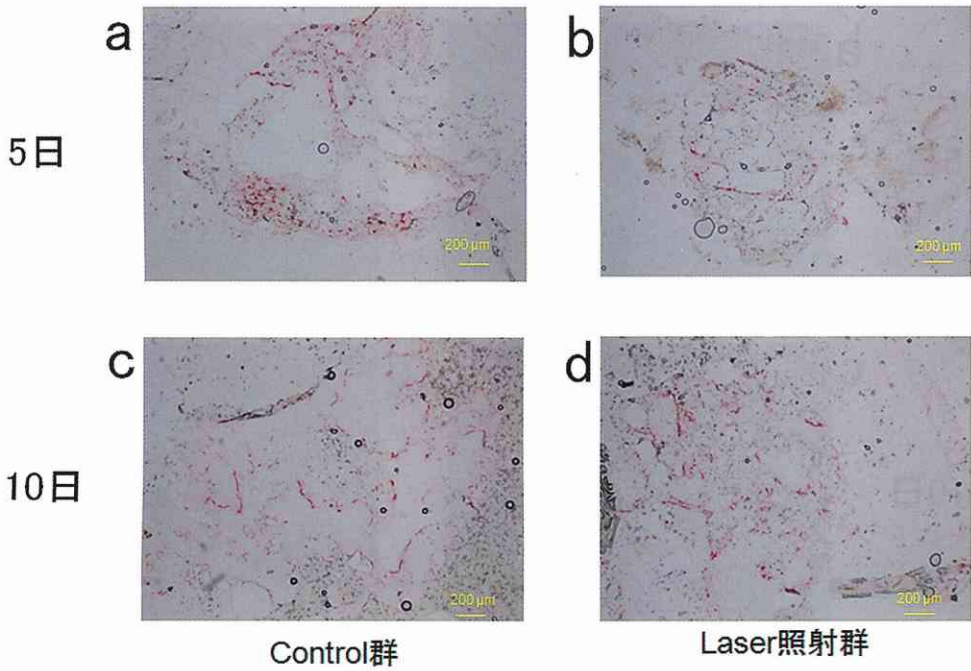


図5 TRAP染色
 a, b: 移植後5日目
 c, d: 移植後10日目
 a, c: 対照群
 b, d: レーザー照射群
 (bar=200 μm)

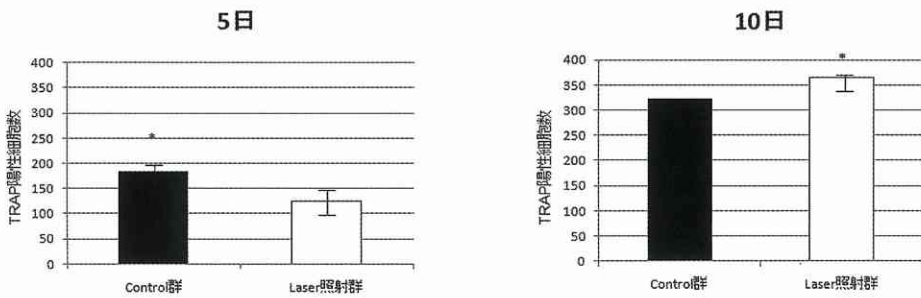


図6 TRAP陽性細胞数
 移植後5日, 10日目の対照群とレーザー照射群のTRAP陽性細胞数を示す。
 *P<0.05

せた。その後 PBS で洗浄し, Diaminobenzidine (DAB; ヒストファイン DAB 基質キット, ニチレイ, 東京) にて発色した。

3. エックス線分析

エックス線分析にはエックス線フィルム (Kodak 社製, 東京) と軟エックス線撮影装置

Alcian blue染色 (pH2.5)

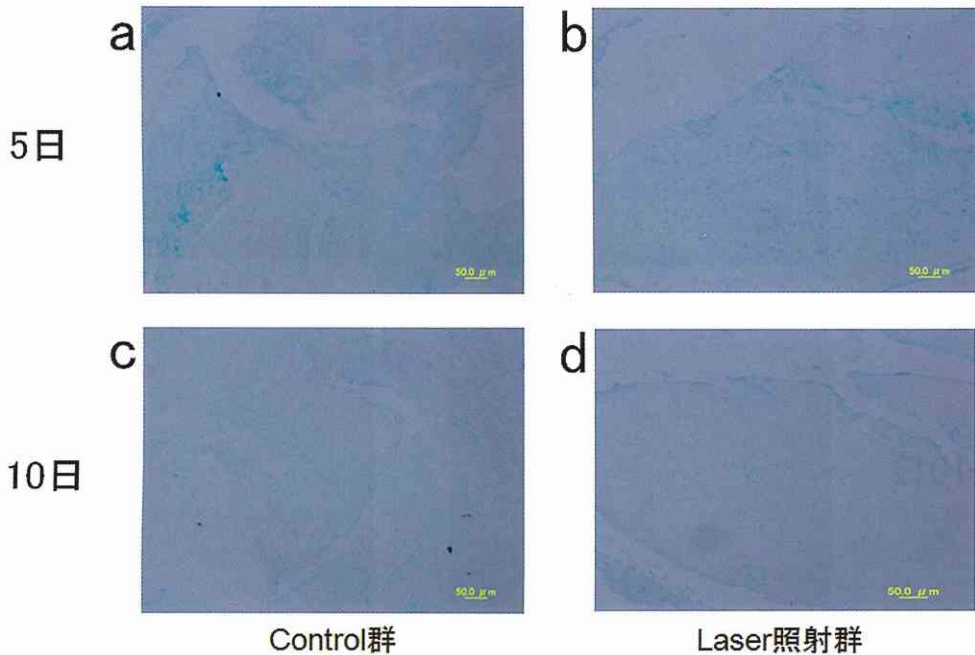


図7 Alcian blue染色(pH2.5)
 a, b: 移植後5日目
 c, d: 移植後10日目
 a, c: 対照群
 b, d: レーザー照射群
 (bar=50 μ m)

(RO-M40: ソフロン社製, 東京) を用いた。撮影条件は, 電流2mA, 管電圧40kVとし, 照射時間5secにて撮影した。

4. 形態計測

5日と10日のレーザー照射群と対照群のH-E染色した切片の写真を撮影し画像上で新生骨形成幅を計測した。同様にTRAP陽性細胞数を計測した。

5. 統計処理

統計学的分析は, Mann-Whitney検定を使用した。P<0.05で行った。

結 果

図2に, 移植後5日(a), 10日目(b)の軟エックス線写真を示す。5日目の軟エックス線所見ではレーザー照射群と対照群に, 顕著な差はみられ

ないが, 10日目の所見ではレーザー照射群の脛骨において β -TCPの顆粒像が瀰慢性の不透過像と変化し, 骨への置換が促進している傾向がみられた。さらにこれらの変化をより詳しく調べるために脱灰切片を作製した。

図3は移植後5日(a), (b), 10日目(c), (d)のH-E染色を示す。5日目の対照群(図3-a)とレーザー照射群(図3-b)のH-E染色では, β -TCP顆粒の周囲には炎症性細胞をともなった結合組織の増殖がみられ, この段階では対照群, レーザー照射群の骨欠損部には, とともに骨形成はほとんどみられず, 組織学的には両者に顕著な差は認められなかった。10日目の対照群(図3-c)とレーザー照射群(図3-d)のH-E染色では, β -TCP顆粒の周囲に骨形成が認められ, 骨へ置換している像が認められた。対照群とレーザー照射群を比較

PNA染色

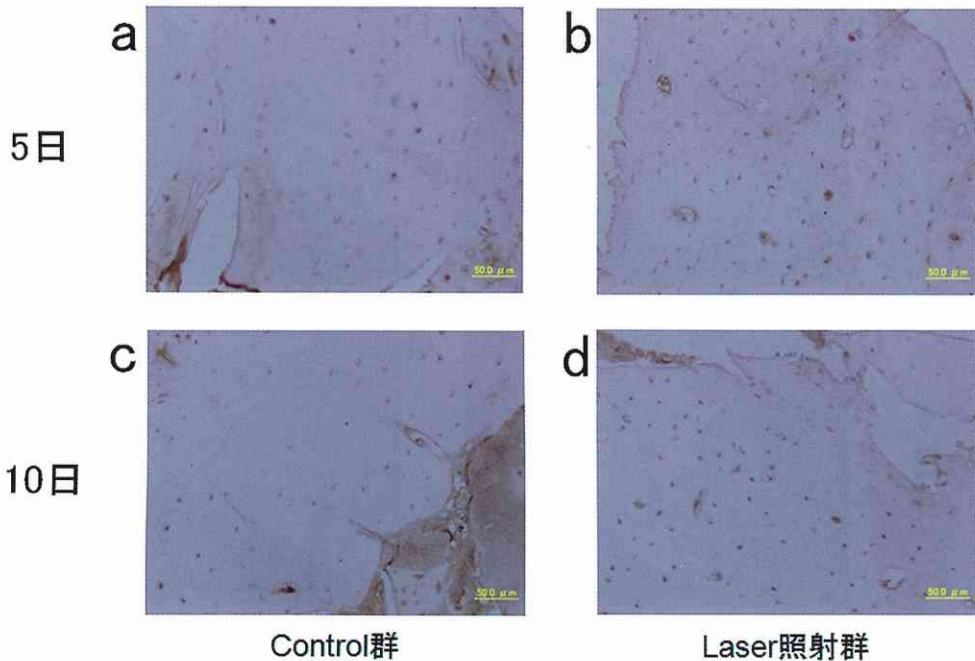


図8 PNA染色

a, b : 移植後5日目
 c, d : 移植後10日目
 a, c : 対照群
 b, d : レーザー照射群
 (bar=50 μ m)

してみると、レーザー照射群のほうが骨への置換が亢進しているのが観察された(図3-d)。さらにこれらの所見を半定量化するために、対照群とレーザー照射群での β -TCP周囲にできた新生骨の骨形成幅を骨形態計測し、比較した。移植後5日目では対照群とレーザー照射群の間の骨形成幅に(図4-a)有意差は認められなかったが、10日目ではレーザー照射群の骨形成幅が有意に高い値を示し、 β -TCPがより骨へ置換している事が分かった(図4-b)。

次に β -TCPの骨置換に伴ってみられる吸収系に対するレーザー照射の影響を調べるために、TRAP染色を行った。

図5には、TRAP染色の所見を示す。赤色に染色されたTRAP陽性細胞は、 β -TCP顆粒の周

囲に存在しており、その数は移植後5日目ではレーザー照射群に比較して対照群の方が多くみられた(図5-a, b)。ところが移植後10日目になると、逆転してレーザー照射群にみられるTRAP陽性細胞数が対照群のものに比較して多くなる事が分かった(図5-c, d)。さらにこれらの結果を明確にする為に、図6にTRAP陽性細胞数を計測した結果を示す。図6から分かるように、移植後5日目の段階では、TRAP陽性細胞数は対照群に比較してレーザー照射では有意に減少し、10日目では、レーザー照射によってTRAP陽性細胞数が対照群に比較して有意に増加した。以上の事からレーザー照射をする事によって骨形成を亢進すると同時に骨吸収系にも影響を及ぼすことが明らかになった。

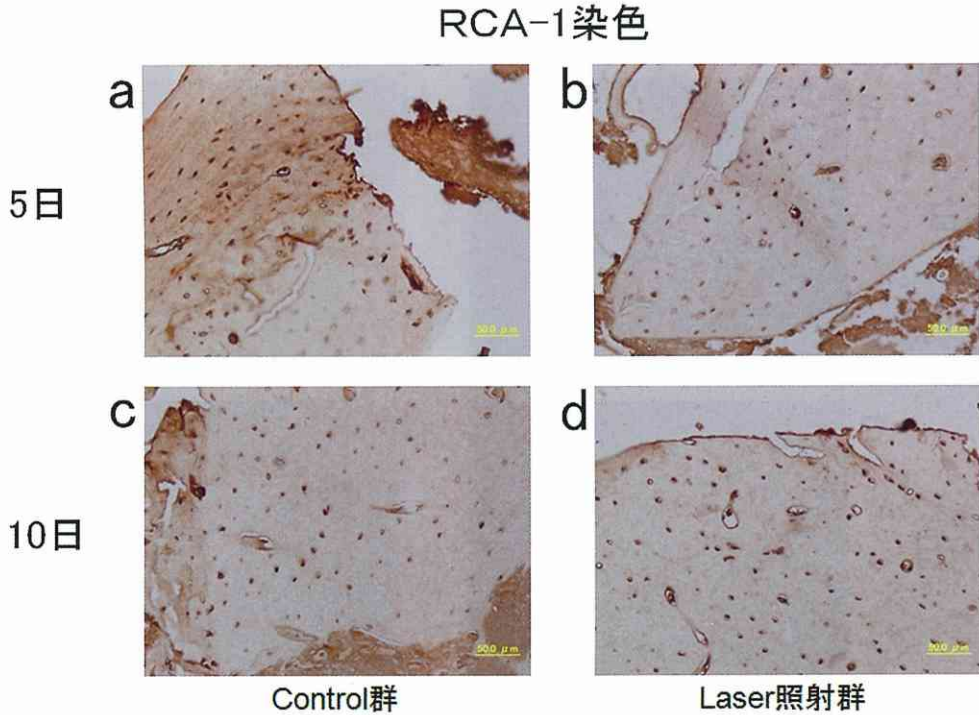


図9 RCA-1染色

a, b: 移植後5日目

c, d: 移植後10日目

a, c: 対照群

b, d: レーザー照射群

(bar=50 μ m)

これまでに骨組織は、外部からの物理的な刺激に対して骨代謝が調節されることが知られているが¹⁵⁾、近年、この刺激を認識するメカニズムとして骨細胞が注目されている。本研究においても炭酸ガスレーザーの刺激によって骨細胞の機能が変化するかを、複合糖質の糖鎖を指標に検討した。図7には移植後、5日、10日目の Alcian blue 染色を示す。レーザー照射群(図7-b)の皮質骨では、骨細胞に Alcian blue 染色性を認めたが、対照群の皮質骨での骨細胞には、Alcian blue の染色性で陽性反応がみられなかった。移植後10日目の Alcian blue 染色結果は、5日目と同様にレーザー照射群(図7-d)の皮質骨での骨細胞に Alcian blue の染色性を認め、対照群の皮質骨の骨細胞には陽性反応はみられなかった。これらの所見は、

炭酸ガスレーザー照射により、皮質骨欠損部付近の骨細胞での複合糖質の合成に変化が生じていることを示すものである。さらにこれらの変化をより詳しく調べるために、糖鎖認識タンパク質であるレクチン染色を行った。図8は、ムチン型糖鎖(O-Link型)を認識するPNA染色結果を示す。興味あることにレーザー照射群の骨欠損部皮質骨にみられる骨細胞では、PNAの局在がみられたが、対照群の骨細胞では、PNAの局在はみられなかった。これらの結果はAlcian blue染色同様、5日目と10日目ともに同じであった。図9には、アスパラギン型糖鎖(N-Link型)を認識するRCA-1の染色結果を示す。レーザー照射群の5日と10日目の皮質骨の骨欠損部付近の骨細胞には、RCA-1の染色性がみられ、対照群にも同様

の染色性がみられた。そして、その染色性には違いはみられなかった。

考 察

骨の再生療法において、骨補填材の応用は、重要な役割を占める。これまでに、ハイドロキシアパタイトやBMP等の骨補填材を使用した研究報告がなされ¹⁴⁾、その結果骨補填材としての具備する条件として、組織親和性が良好であること、骨組織の修復過程を阻害しないことなどがあげられている。これらの条件を満たす材料として、近年リン酸カルシウム系に属する β -TCPが注目され、整形外科や歯科領域に多く用いられるようになり、これに伴い多くの形態学的な基礎研究が行われ、組織親和性を含め、その有用性が確認されている¹⁷⁻³²⁾。また、 β -TCPにBMP等の骨形成因子複合体を応用することにより骨形成能を促進させるなどの報告もあり³⁾、 β -TCPと増殖因子やサイトカインの併用が骨形成促進に有用であることが示されている。しかし、これらの方法は臨床応用においては二次感染や、予期できない副作用の懸念もあり多くの問題をかかえている。これらの点を配慮した場合、炭酸ガスレーザーは骨再生治療に有用である事が報告^{9,11,13)}されていることから β -TCPとの併用の有用性が期待できる。軟エックス線写真の結果から β -TCP移植後5日目での対照群とレーザー照射群の骨形成量には変化が認められなかったが、10日目においては、レーザー照射群の方が対照群と比較して骨の形成が促進されていることが分かった。これは、炭酸ガスレーザー照射が β -TCPの骨への置換を促進していることを示すものである。これらの所見は、H-E染色においても確認され、移植後5日目の β -TCP顆粒は、対照群もレーザー照射群も未だ骨へ置換されていないが、10日目になると、レーザー照射群の β -TCP顆粒が骨基質に置換されている所見がみられ、レーザー照射によって骨への置換が促進していることが推測される。一般に β -TCPが骨に置換する過程は坂田⁹⁾が報告しているように、 β -TCP顆粒の周囲に線維性結合組織が出現し、その後顆粒が骨基質に完全に置換される。これらの骨置換過程は、ハイドロキシアパ

タイトと異なるところであり、本実験も同じメカニズムによって骨置換がおきているものと思われる。さらに、レーザー照射による骨置換量を定量するために形態計測を行った結果、移植後5日目では著明な変化はなかったものの、10日目において、レーザー照射群は対照群と比較して、 β -TCP顆粒の骨置換幅が約2倍に促進していた。これらの所見は、炭酸ガスレーザー照射の刺激によって骨形成が促進していることを示しており、炭酸ガスレーザー照射の刺激が骨芽細胞の機能を亢進させ骨形成を促進させるという塩崎ら⁹⁾の報告と同じ結果になった。

Gaasbeekら⁹⁾の報告によると、炭酸ガスレーザーは骨代謝に対して骨芽細胞だけでなく破骨細胞にも重要な影響を果たしているという。そこで骨吸収系に対する影響を調べるためにTRAP染色を行った。対照群では β -TCP顆粒の周囲に破骨細胞が認められ経時的にTRAP陽性細胞数が増加していた。しかし興味あることに、移植後5日目の対照群とレーザー照射群を比較するとレーザー照射群の方が有意にTRAP陽性細胞数が抑制されており、10日目では逆転してレーザー照射群のほうが有意に高い値をしめした。これらの結果はレーザー照射により初期段階では吸収系を抑制し、骨形成を優位にさせるように働き、後期では吸収系も形成系もともに亢進するHigh turnoverを誘導することが示唆された。これらの現象が、 β -TCPの骨置換を早める一つのメカニズムになっていることは十分に考えられるが、詳細なメカニズムについてはさらなる実験が必要である。

次に、炭酸ガスレーザー照射の刺激がどのように骨代謝に影響しているかを考える必要がある。近年、Bonewaldら³³⁾は、骨にかかるメカニカルフォースは、骨細胞が認識し、dendritic processを通じて骨芽細胞や、さらには破骨細胞に影響を与えると報告している。さらに、力をうけた骨組織の骨細胞にはMEPE (Matrix extracellular phosphoglycoprotein) という糖タンパクが発現することがGluhak-Heinrichら³⁴⁾によって報告されている。そこで本研究においても炭酸ガスレーザー照射が骨細胞の機能に影響するかを調べ

るために、プロテオグリカンに注目した。Chengら³⁵⁾は力を与えた骨組織の骨細胞でプロテオグリカンの一つであるコンドロイチン硫酸の合成に変化がみられることを報告している。本実験でみられた炭酸ガスレーザー照射の作用もメカニカルフォースと考えた場合、骨細胞が骨代謝に影響している可能性は十分に考えられる。

Alcian blue 染色を行った結果、レーザー照射群の骨細胞でのみ Alcian blue の反応が認められた。これは、酸性ムコ多糖であるプロテオグリカンの合成が認められることを示している。さらにより糖鎖を確認する為に糖鎖結合タンパク質である Lectin 染色では、O-Link 型糖鎖に結合する PNA がレーザー照射群の骨細胞にのみ局在していた。一方、N-Link 型糖鎖に結合する RCA-1 では対照群とレーザー照射群の両方の骨細胞に局在を認め、両者の染色性には変化がみられなかった。PNA が結合するガラクトース、N-アセチルガラクトサミン糖鎖は O-Link 型糖鎖に含まれ、ムチン型糖蛋白質やプロテオグリカンであるコンドロイチン硫酸やデルマタン硫酸に含まれる。Takagi ら³⁶⁾は、ラット脛骨の骨細胞においてコンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸が合成されることを報告している。したがって本研究においても炭酸ガスレーザーが骨細胞に作用し、その機能変化の一部としてプロテオグリカン合成が亢進したものと考える。そして骨細胞が、骨芽細胞や破骨細胞の機能をコントロールし、その結果 β -TCP の骨置換の亢進が誘導されていることは十分に考えられる。しかしながら、骨細胞が具体的にどのようなシグナルを伝達しているかは、本実験では不明である。今後、更なる研究において、糖タンパクやプロテオグリカンの発現が骨細胞の骨代謝調節因子として重要な鍵となっている事を解明する。

結 論

本研究から、炭酸ガスレーザー照射の刺激は、骨補填材の骨誘導を促進させることが明らかになった。又、このメカニズムには骨細胞が関与することが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに当たって、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました奥羽大学歯学部歯科保存学講座横瀬敏志教授に心からの謝意を表します。また、本研究を遂行するにあたり、御協力をいただいた教室員各位に感謝いたします。

本論文の要旨は、第48回奥羽大学歯学会（平成21年11月14日 郡山市）において発表した。

文 献

- 1) Wiltfang, J., Merten, H. A., Schlegl, K. A., Schultze-Mosgau, S., Kloss, F. R., Rupprecht, S. and Kessler, P.: Degradation characteristics of alpha and beta tri-calcium-phosphate(TCP) in Minipigs. *J. Biomed. Mater. Res.* **63**; 115-121 2002.
- 2) 松田博文, 岡澤成嘉, 山川延宏, 桐田忠昭, 伊藤雄策, 原 正幸: インプラント治療および歯周組織再生療法における高純度 β -TCP の応用. *日顎咬合会誌* **27**; 298-307 2007.
- 3) 三枝樹明道: β -リン酸三カルシウム骨形成因子複合体の骨形成能. *愛知学院大歯会誌* **28**; 43-57 1990.
- 4) 坂田吉郎: ラット頭蓋骨骨欠損部における骨細胞と β -リン酸三カルシウム (β -TCP) の骨形成能への影響について. *岡山歯会誌* **26**; 1-8 2007.
- 5) Gaasbeek, R. D., Toonen, H. G., vanHeerwaarden, R. J. and Buma, P.: Mechanism of bone incorporation of β -TCP bone substitute in open wedge tibial osteotomy in patients. *Biomaterials.* **26**; 6713-6719 2005.
- 6) 横瀬敏志, 中 貴弘, 大野 敬, 堀江 武: 歯科治療において炭酸ガスレーザーを安全で効率よく使用するために (1). *日歯評論* **770**; 133-138 2006.
- 7) 横瀬敏志, 中 貴弘, 大野 敬, 堀江 武: 歯科治療において炭酸ガスレーザーを安全で効率よく使用するために (2・完). *日歯評論* **771**; 151-158 2007.
- 8) 塩崎洋堂: ラット骨組織における炭酸ガスレーザー照射の骨誘導作用についての形態学的研究. *日歯保存誌* **49**; 375-386 2006.
- 9) 塩崎洋堂, 横瀬敏志, 斎藤正樹, 鈴木 洋, 廣瀬直子, 清水英之, 益田賢治, 長谷川彰彦, 片山 直, 奥村泰彦: 炭酸ガスレーザー照射によるラット脛骨の骨形成促進に関する研究. *日レーザー歯会誌* **16**; 23-30 2005.
- 10) 田島直人, 横瀬敏志, 門倉弘志, 安達広太郎, 柿坪秀具, 松岡哲郎, 藤枝和夫, 長谷川彰彦, 片山 直: ラット骨格筋細胞における MAPK の発現に及ぼす CO₂レーザーの影響について.

- 日歯保存誌 45 ; 583-590 2002.
- 11) 田島直人 : ラット脛骨組織の骨形成能に対する炭酸ガスレーザー照射の影響について. 日レーザー歯会誌 14 ; 32-43 2003.
 - 12) Wolff, J. : The low of bone remodeling. Berlin Heidelberg New York : Springer, 1986 (translation of the German 1892 edition)
 - 13) 大河内瑠夏 : ラット脛骨における炭酸ガスレーザー骨誘導初期変化について. 奥羽大歯学誌 36 ; 49-59 2009.
 - 14) Scott, J. E., Quintarelli, G. and Dellovo, M. C. : The chemical and histochemical properties of Alcian Blue. I. The mechanisms of Alcian Blue staining. Histochemie. 4 ; 73-85 1964.
 - 15) 川島博行 : メカニカルストレスにより誘導される骨芽細胞の分化と骨形成. 新潟歯会誌 30 ; 173-182 2000.
 - 16) Nissan, J., Assif, D., Gross, M. D., Yaffe, A. and Binderman, I. : Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. J. Oral Rehabil. 33 ; 619-624 2006.
 - 17) Bohner, M., van Lenthe, G. H., Grunenfelder, S., Hirsiger, W., Evison, R. and Muller, R. : Synthesis and characterization of porous β -tricalcium phosphate blocks. Biomaterials. 26 ; 6099-6105 2005.
 - 18) Ogose, A., Hotta, T., Hatano, H., Kawashima, H., Tokunaga, K., Endo, N. and Umezu, H. : Histological examination of β -tricalcium phosphate graft in human femur. J. Biomed. Mater. Res. 63 ; 601-604 2002.
 - 19) 本多浩三, 植野高章, 坂田吉朗, 脇本真理, 加納みわ, 沢木聖子, 太田晃子, 白数信明, 菅原利夫 : インプラント治療における β -TCP (Tricalcium phosphate) を用いた顎骨増量術の臨床的検討. 岡山歯会誌 25 ; 37-41 2006.
 - 20) Dong, J., Uemura, T., Shirasaki, Y. and Tateishi, T. : Promotion of bone formation using highly pure porous β -TCP combined with bone marrow-derived osteoprogenitor cells. Biomaterials. 23 ; 4493-4502 2002.
 - 21) 清水光雄 : イヌの実験的垂直性骨欠損に施した β -tricalcium phosphate 移植の効果 第2報. 日歯周病会誌 28 ; 1028-1043 1986.
 - 22) 村井正和, 田村和明, 菅井健二, 冨家久, 松本一真, 朝野勝一, 佐藤秀一, 伊藤公一 : β -リン酸三カルシウムブロック体における培養骨芽細胞の付着および侵入率について. 日大歯学 81 ; 187-192 2007.
 - 23) Zerbon, I. R., Bronckers, A. L., de Lange, G. and Burger, E. H. : Localisation of osteogenic and osteoclastic cell in porous β -tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. Biomaterials. 26 ; 1445-1451 2005.
 - 24) Chazono, M., Tanaka, T., Komaki, H. and Fujii, K. : Bone formation and bioresorption after implantation of injectable β -tricalcium phosphate granules-hyaluronate complex in rabbit bone defects. J. Biomed. Mater. Res. 70 ; 542-549 2004.
 - 25) Artzi, Z., Weinred, M., Givol, N., Rohrer, M. D., Nemcovsky, C. E., Prasad, H. S. and Tal, H. : Biomaterial resorption rat and healing site morphology of inorganic bovine bone and β -tricalcium phosphate in the canine : A 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. Int. J. Oral Maxillofac. Implants. 19 ; 357-368 2004
 - 26) Steffen, T., Stoll, T., Arvinte, T. and Schenk, R. K. : Porous tricalcium phosphate and transforming growth factor used for anterior spine surgery. Eur. Spine. J. 10 ; 132-140 2001.
 - 27) von Doernberg, M. C., von Rechenberg, B., Bohner, M., Grunenfelder, S., van Lenthe, G. H., Muller, R., Gasser, B., Mathys, R., Baroud, G. and Auer, J. : *In vivo* behavior of calcium phosphate scaffolds with four different pore sizes. Biomaterials. 27 ; 5186-5198 2006.
 - 28) 清水光雄 : イヌの実験的垂直性骨欠損に施した β -tricalcium phosphate 移植の効果. 日歯周病会誌 28 ; 79-86 1986.
 - 29) 小澤正宏 : 高純度 β -TCP の骨形成能と溶解性に関する実験的研究. 生体材料 13 ; 167-175 1995.
 - 30) 丸井崇久, 植野高章 : インプラント治療のための口腔内移植採取部位の検討. 岡山歯会誌 23 ; 197-200 2004.
 - 31) Egli, P. S., Muller, W. and Schenk, R. K. : Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. Clin. Orthop. 232 ; 127-138 1988.
 - 32) 黒木克哉, 戸井伊紀, 諏訪文彦 : 大きさが異なる β -TCP 顆粒の骨欠損修復過程に関する実験的研究. 日口腔インプラント会誌 21 ; 21-31 2008.
 - 33) Bonewald, L. F. and Johnson, M. L. : Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. Bone. 42 ; 606-615 2008.
 - 34) Gluhak-Heinrich, J., Pavlin, D., Yang, W., MacDougall, M. and Harris, S. E. : MEPE expression in osteocytes during orthodontic tooth movement. Arch. Oral Biol. 52 ; 684-690 2007.
 - 35) Cheng, H., Caterson, B. and Yamauchi, M. : Identification and immunolocalization of chondroitin sulfate proteoglycans in tooth cemen-

- tum. *Connect. Tissue Res.* **40** ; 37-47 1999.
- 36) Takagi, M., Maeno, M., Kagami, A., Takahashi, Y. and Otsuka, K. : Biochemical and immunocytochemical characterization of mineral binding proteoglycan in rat bone. *J. Histochem. Cytochem.* **39** ; 41-50 1991.

著者への連絡先：安達 仁，(〒963-8611) 郡山市富田町
字三角堂31-1 奥羽大学歯学部歯科保存学講座
Reprint requests : Hitoshi ADACHI, Department of
Conservative Dentistry, Ohu University School of
Dentistry
31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan