

〔原著〕

抜歯窩に埋入したハイドロキシアパタイト顆粒周囲の歯周組織再生における エナメルタンパクの影響

¹⁾渋井 徹, ¹⁾高橋 昌己, ²⁾矢嶋 俊彦, ³⁾坂倉 康則, ⁴⁾越智 守生, ⁵⁾井上 寛一, ¹⁾入江 一元

北海道医療大学 歯学部 口腔構造・機能発育学系 解剖学分野¹⁾
北海道医療大学 名誉教授²⁾
北海道医療大学 医療技術学部 臨床検査学科³⁾
北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野⁴⁾
滋賀医科大学 医学部 微生物感染症学部門⁵⁾

Effect of the enamel protein on the periodontium regeneration around the hydroxyapatite granule which implanted in the extraction socket

¹⁾Toru SHIBUI, ¹⁾Masami TAKAHASHI, ²⁾Toshihiko YAJIMA, ³⁾Yasunori SAKAKURA, ⁴⁾Morio OCHI,
⁵⁾Hirokazu INOUE, ¹⁾Kazuharu IRIE

Division of Anatomy, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido¹⁾
Professor *emeritus*, Health Sciences University of Hokkaido²⁾

Department of Clinical Laboratory Science, School of Medical Technology, Health Sciences University of Hokkaido³⁾
Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido⁴⁾

Division of Microbiology and Infectious Diseases, Department of Pathology, School of Medicine, Shiga University of Medical Science⁵⁾

Key words : エナメルタンパク, 歯周組織再生, 抜歯窩, ペリオスチン, オステオポンチン

Abstract

The effectiveness of oral implant treatment based on osseointegration theory is well established. However, occlusal inconsistency may be a problem in the osteosynthetic implant body due to differences in the amount of pressure displacement between the implant body and the natural tooth mediated by the periodontal ligaments. A periodontal ligament regeneration-type implant can be considered as a solution to this problem. Enamel proteins are known to be involved in cementum formation during root formation as well as during enamel formation. The aim of this study was to examine the regeneration of cementum and periodontal ligament around hydroxyapatite (HA) granules with or without EMD application in the extraction socket. Tissue regeneration was observed histologically, immunohistochemically, and microstructurally. In the soft tissue remaining on the HA surface, an unstructured substrate was observed on

the HA surface from an early stage, and this layer showed the immune reaction of osteopontin. The immune response of periostin was observed around the HA with EMD, but was weak in the collagen fibers around HA without EMD. In the HA without EMD, flat cells were arranged in parallel on the surface of the HA, and collagen fibers were also arranged in this manner. In the HA with EMD, polygonal cells were also seen and arranged scattered on the HA surface. Furthermore, some collagen fibrils were arranged perpendicularly to the unstructured substrate surface, and the periodontal ligament-like tissue in which one end of the fibrils was embedded in a cell-free cementum-like structure was regenerated. The results suggest that enamel protein may play a role in the reconstruction of the periodontal tissue including the cementum and periodontal ligament around the HA-coated implant body.

緒 言

口腔インプラント治療は、これまでの基礎的研究ならびに臨床報告より安全性と有効性が示され、今日では歯の欠損による咀嚼機能の回復や審美性の改善を目的とする補綴治療のひとつとして確立されている。現在歯科臨床で広く用いられている骨結合型インプラントは、オッセオインテグレーション理論に基づくもので機能的にも審美的にも優れたものであり、かつ長期にわたる維持が可能となっている (Guglielmotti et al., 2019; Manea et al., 2019)。しかし、咬合を含めた神経・筋機構の調和を考えると、インプラント体と顎骨との接触が主に骨結合であるため、歯根膜が介在する天然歯との間の被圧変位量の差はインプラントの咬合関係を困難とし失敗の要因となることがある (Albrektsson & Wennerberg, 2019; Sadowsky, 2019)。このような要因を取り除くものとして歯根膜再生型のインプラントが考えられる。

インプラント体周囲に歯根膜を形成する試みとしては、インプラント体を隣在歯の歯根膜に接触させることにより部分的に歯根膜が形成されたことや、抜歯窩へ埋入したインプラント体の周囲に歯根膜様組織が形成されたことが報告されている (Iwasaki et al., 2019)。

エナメルタンパクは、エナメル芽細胞により合成・分泌され、エナメル質の石灰化に関与するが、一方で無細胞性セメント質の形成に関与していることが知られ、Hammarströmは歯根形成期にヘルトビッチ上皮鞘から分泌されたエナメルタンパクが象牙質表面に沈着し、セメント質最内層の形成に関与するとともに歯小囊の外胚葉由来未分化間葉系細胞をセメント芽細胞に分化誘導することを示し、エナメルタンパクが無細胞セメント質と歯根膜再生を誘導する可能性を報告した (Hammarström, 1997)。その後も、エナメルタンパクが歯周組織欠損部の無細胞性セメント質再生にも有効であることが報告されている (Shirakata et al., 2017; Miron et al., 2016a)。我々もエナメルタンパクを応用したハイドロキシアパタイト (HA) 周囲でコラーゲン線維の改変が進むことやコラーゲン線維束の形成を報告している (Shibui et al., 2020)。

そこで本研究は、エナメルタンパクを用いてインプラント体周囲にセメント質・歯根膜の再生の可能性を検討する目的でエナメルタンパクを塗布したHAをラット抜歯窩に埋入し、HA周囲の組織再生を細胞組織学的、免疫組織化学的に検討した。

材料および方法

実験材料として平均気孔率40%、平均気孔径200 μ mの非吸収性HA顆粒 (Osteograft®S-D, 京セラ) を用いた。HA顆粒は篩にて直径約425–500 μ mに調整し、乾熱滅菌後、これにエナメルマトリックステリバティブ (EMD: Emdogain®Gel, Biora) を塗布し凍結乾燥したエナメルタンパク塗布HA顆粒 (EMD-HA) を用いた。実験動物には、4週齢のWistar系雄性ラット (体重約100g) 40匹を用いた。北海道医療大学動物実験委員会の実験規定に基づき、承認を得て実施した (承認番号: 2018年3月7日 第068号)。イソフルランによる鎮静後、ペントバルビタールナトリウム30mg/kg (Nembutal®, 大日本製薬) を腹腔内投与し全身麻酔を施した。ラット上顎第一臼歯を抜去し、止血後、抜歯窩に実験群にはEMD-HAを、対照群にはエナメルタンパク非塗布HAを埋入した。術後3, 5日, 2, 6週にイソフルランにて鎮静後、ペントバルビタールナトリウム100mg/kgによる深麻酔下にて安楽死させた後、上顎を取り出し、2%パラホルムアルデヒド–2%グルタルアルデヒド混合固定液 (0.1Mリン酸緩衝液, pH7.4) で4℃にて24時間浸漬固定した。その後Morse液で4℃にて1週間脱灰した。電子顕微鏡観察のため上顎第一臼歯部を近遠心方向にマイクロサイザーで細切し1%四酸化オスミウムで後固定後、上昇エタノール系列で脱水し、通法に従ってエポキシ樹脂に包埋した。薄切後トルイジンブルー染色し、光学顕微鏡で観察した。また抜歯窩に完全に埋入されたHA周囲の形態観察を光学顕微鏡で行い、image Jにて骨接触率を計測し、F検定とStudent's t-testにて解析した。危険率5%未満 ($P < 0.05$) を持って統計学的優位差とした。超薄切片はタンニン酸、酢酸ウランとクエン酸鉛による三重染色を施し、透過電子顕微鏡 (100CX, JEOL) で観察した。組織の一部は、4%パラホルムアルデヒド固定液 (0.1Mリン酸緩衝液, pH7.4) で4℃にて24時間浸漬固定後、Morse液で4℃にて1週間脱灰した。パラフィン包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色、および免疫組織化学染色し光学顕微鏡で観察した。脱パラフィンした後、水洗、内因性ペルオキシダーゼ活性の阻害を行い、正常血清によって非特異的反応を阻止した。1次抗体としてウサギ抗ラットオステオポンチン抗体 (Dr. Hosoya, Health Sciences University of Hokkaido) (1:1000)、ウサギ抗ラットペリオスチン抗体 (Dr. Inoue, Shiga University of Medical Science) (1:50) を滴下し、4℃にて一晩反応後リン酸緩衝液 (PBS) で洗浄した。二次抗体としてヤギ・ウサギ用ヒ

ストファインMAX-PO (G) キット (ニチレイ) を滴下し60分間反応させ洗浄後, 3,3'-diamino-benzidine · H₂O₂ 発色液で呈色した. 水洗後, メチルグリーンで核染色を行い, 脱水・透徹後封入した. また一次抗体を反応させない陰性コントロール染色も同時に行った.

結 果

術後3日の抜歯窩およびHA周囲は両群ともに疎な細胞間質からなる組織で満たされており (図1 a, c), その中に毛細血管と散在する炎症性細胞が観察された (図1 b, d). 術後5日では両群ともにHA全周の半分で骨組織が観察された (図1 e, g). HA周囲の組織中の炎症性細胞は減少し毛細血管が見られた (図1 f, h). 対照群ではHA表面に平行な扁平な細胞が観察された (図1 f). 実験群のHA表面付近では多角形の細胞が見られた (図1 h). 術後2週では両群ともにHAの大部分が骨組織で囲まれており, HA表面では部分的に軟組織が見られた (図1 i, k). HA表面近傍の組織を比較すると, 対照群ではHA表面に平行に伸びる細長い細胞が観察されたのに

対し (図1 j), 実験群では多角形の細胞が観察された (図1 l). HA表面の骨接触率は5日では対照群で52.0%, 実験群で51.6%, 2週では対照群で82.5%, 実験群で88.8%と同時期の両群間で有意差はなかった (図2).

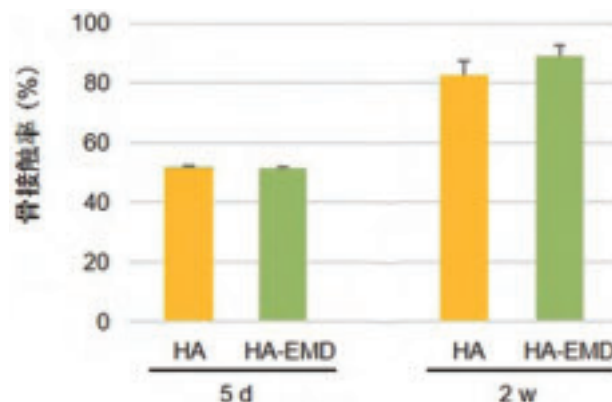


図2 HA周囲の骨接触率
抜歯窩のHA表面の骨接触率は術後5日では対照群で52.0%, 実験群で51.6%, 術後2週では対照群で82.5%, 実験群で88.8%と同時期の両群間に有意差はなかった.

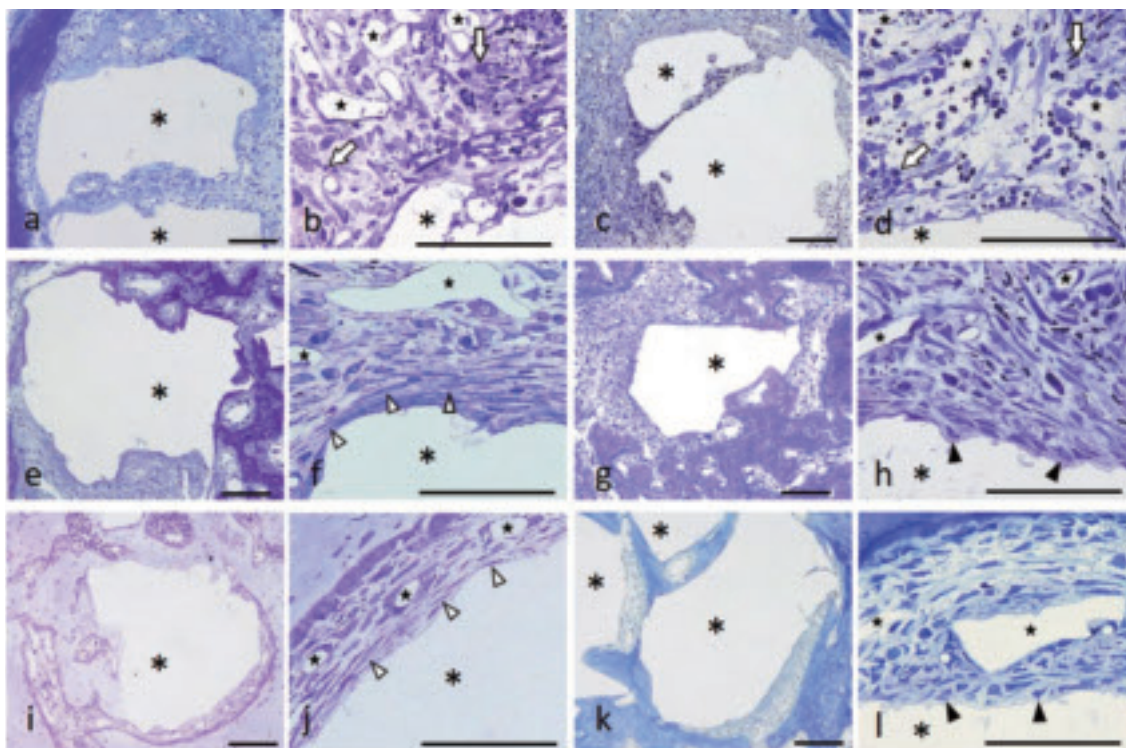


図1 抜歯窩に埋入したHA周囲の組織像

対照群 (a, b, e, f, i, j) および実験群 (c, d, g, h, k, l) のHA周囲の組織像. 術後3日. 対照群・実験群ともにHA周囲は軟組織で満たされており (a, c), 軟組織は疎な細胞間質と毛細血管 (星印) からなり, 炎症性細胞 (白矢頭) が散在する (b, d). 術後5日. 術後3日に比べて両群ともにHA周囲の軟組織は減少した (e, g). 対照群ではHA表面に平行な扁平な細胞 (白矢頭) が観察される (f) のに対し, 実験群のHA表面付近では多角形の細胞 (矢頭) が観察される (h). 術後2週. 両群ともにHAの大部分が骨組織で囲まれ, HA表面では部分的に軟組織が見られる (i, k). HA表面近くの軟組織を比較すると, 対照群ではHA表面に平行に伸びる細長い細胞 (白矢頭) が観察される (j) が, 実験群では多角形の細胞 (矢頭) が観察される (l). トルイジンブルー染色. Asterisk: ハイドロキシアパタイト (HA). 毛細血管 (星印) a-1: bar 100 μm

オステオポンチンの免疫組織化学でHA表面の層でオステオポンチンの反応(図3e, f)が見られた。対照群ではその層に平行に扁平な細胞が配列していた(図3b)。実験群では一部で多角形の細胞が配列し、HA表面に垂直な方向に紡錘形の細胞が配列しており(図3c)、隣接歯根の表面(図3a,d)と類似していた。

強いペリオスチンの免疫反応が歯根膜組織で観察されるが(図3g)、対照群のHA周囲の組織ではペリオスチンに対する免疫反応が弱かった(図3h)。実験群では骨組織近傍からHA表層にかけて対照群よりも強い反応が観察された(図3i)。

HA表面を透過電子顕微鏡で観察すると、術後3日の対照群ではHA表面の無構造な基質の中にわずかに線維

構造が見られた(図4a)。実験群ではHA表面の無構造な基質に明瞭な多数の線維が観察された(図4b)。術後5日、2週では、対照群のHA表面近傍のコラーゲン細線維はどちらも明瞭だがHA表面に平行に走行するコラーゲン線維の横断像が観察された(図4c, e)。実験群ではコラーゲン細線維がHA表面に垂直に走行する像が多く観察された(図4d, f)。術後6週の対照群ではHA周囲に平行に配列するコラーゲン線維束の横断像が観察された(図4g)。実験群ではHA表面近くに配列する多角形の細胞とHA表面の基質層に垂直に埋入するコラーゲン線維束が観察された(図4h)。

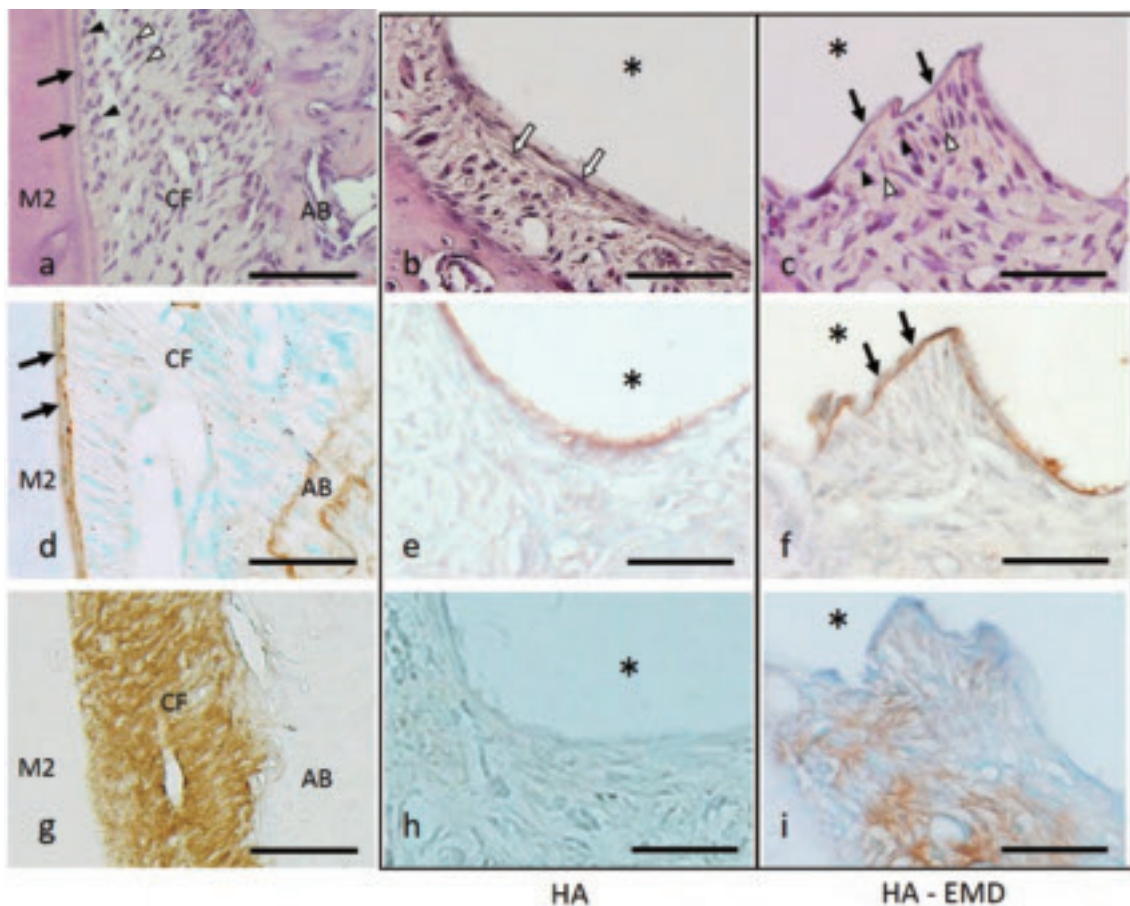


図3 術後2週の歯根膜およびHA周囲におけるオステオポンチン・ペリオスチンの免疫組織像
 (a, d, g) ラット歯根中央部歯周組織像. (b, e, h) 対照群. (c, f, i) 実験群. (a-c) H-E染色. (d-f) オステオポンチン免疫組織化学. (g-i) ペリオスチン免疫組織化学.
 (a) 矢印で示す歯根のセメント質近傍には多角形の細胞(矢頭)が見られ、歯根に垂直に伸びる紡錘形の細胞(白矢頭)が観察される。(b) 対照群HA表面では薄い層に平行に配列する細長い紡錘形の細胞(白矢印)が見られる。(c) 実験群HA表面の一部では矢印で示す表面の薄い層に配列する多角形の細胞(矢頭)と薄い層に垂直に配列する紡錘形の細胞(白矢頭)が観察される。(d) 矢印で示す歯根表層のセメント質および歯槽骨の骨改造線でオステオポンチンの反応が強く観察される。(e) 対照群HA表面近くに反応が見られた。(f) 実験群HA表面近くでも反応が見られ(矢印)、線維との境界部でより強い反応が観察された。(g) 歯根膜組織で強いペリオスチン反応が観察される。(h) 対照群HA表面周囲の歯根膜様組織ではペリオスチンに対する免疫反応が弱かった。(i) 実験群では骨組織近傍からHA表層にかけて対照群よりも強い反応が観察された。Asterisk: HA. M2: 上顎第2臼歯. AB: 歯槽骨. CF: コラーゲン線維. a, d, g: bar 100 μm. b, c, e, f, h, i: bar 50 μm

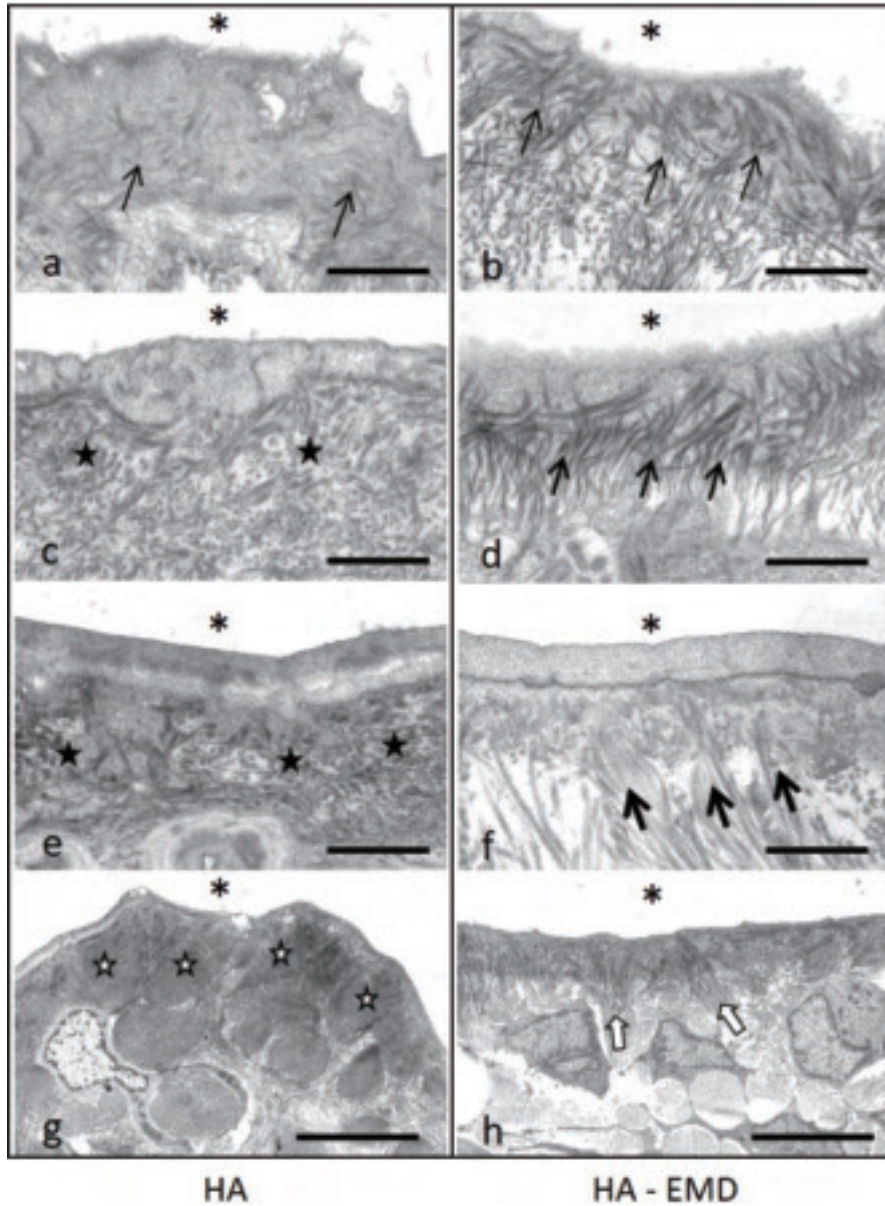


図4 HA表面の透過電子顕微鏡像
 術後3日。(a) 対照群ではHA表面の無構造な基質の中にわずかに線維構造が見られる(矢印)。(b) 実験群ではHA表面の無構造な基質に多数の明瞭な線維(矢印)が観察された。(c, d) 術後5日。(e, f) 術後2週。(c, e) 対照群ではHA表面近傍のコラーゲン細線維はどちらも明瞭だがHA表面に平行に走行するため横断像が観察された(黒星印)。(d, f) 実験群ではコラーゲン細線維がHA表面に垂直に走行する像が多く観察された(矢印)。(g) 対照群ではHA周囲に平行に配置するコラーゲン細線維束の横断像(白星印)が観察された。(h) 実験群ではHA表面に一定に配列する多角形の細胞とHA表面に垂直に走り無構造な基質層に埋入するコラーゲン線維束(白矢印)が観察された。Asterisk : HA. a-f : bar 1 μ m. g, h : bar 5 μ m

考 察

今回の実験でHA表面に無構造な基質が観察された。この層は術後5日から観察され、セメント質の主要な非コラーゲン性糖タンパク質であるオステオポンチンを含むことから、無細胞セメント質 (Arzate et al., 2015) やセメント質 (Foster et al., 2018) の最内層に見られるものと相同の層と考えられた。セメント質最内層は、歯根

象牙質とセメント質の結合に関わることが示唆されており (Yamamoto et al., 2016), また同様の構造がインプラントと骨組織の結合に関わることも論じられている (Makishi et al., 2017)。

対照群ではHA表面に平行に扁平な細胞が配列するとともにコラーゲン線維も同様に配列していたのに対し、実験群ではセメント芽細胞の形態に類似した多角形の細胞もHA表面に配列していた。さらに実験群ではコラー

ゲン細線維の一端が無構造な基質表面に垂直に配列し埋入されていた。EMDはヒトの歯根面に4週間付着しており、歯根面にセメント質様構造を形成すること、歯根膜細胞の増殖・分化を促進することが報告されている (Miron et al., 2016a, b)。EMDの主成分であるアメロゲニンは歯の発生過程で最も早期に発現するエナメルタンパクで (Pham et al., 2017)、エナメル質の石灰化だけでなく、シグナル伝達分子として上皮間葉相互作用に関わる (Miron et al., 2016b)。アメロゲニンをコーティングしたチタン表面では歯根膜細胞の初期接着性とセメント質への分化が誘導される (Terada et al., 2018) ことが報告されている。またリコンビナントアメロゲニンはセメント芽細胞の生物活性を促進することや (Hakki et al., 2018)、セメント芽細胞の増殖を促進する (Yoshimi et al., 2016) ことも報告されている。さらにエナメルタンパクに含まれるシースプロテインが単独あるいはアメロゲニンと会合することでセメント質の再生を促進する (Kanazashi et al., 2006) ことや、我々も歯根膜線維束の形成とコラーゲン線維の改変を確認している (Shibui et al., 2020) ことから、エナメルタンパクが抜歯窩治療過程において幹細胞に作用し、シャーピー線維様構造を含むセメント質様構造が形成されたと考えられる。

今回一部でのみ歯根膜様構造が観察された。また歯根膜で発現するペリオスチンの局在 (Walker, 2016) も限定的であった。ペリオスチンの発現に咬合圧などのメカニカルストレスが影響することや (Denes et al., 2020)、傷害を受け歯根膜線維が疎になるとペリオスチンの局在が減少する (Hasan et al., 2017) ことが報告されていることから、抜歯窩に埋入されたHA周囲ではメカニカルストレスが欠如することや残存する軟組織の傷害によりコラーゲン線維束の発達とペリオスチンの発現が弱かったことが考えられる。またEMDを応用したヒトの歯の移植でも歯根吸収が半数でみられた (Mohamed et al., 2019) ことから、EMDを応用した際も咬合力のコントロールが重要であることが示唆される。

セメント質様構造も一部でのみ観察された。これまでに歯周組織再生幹細胞療法からの解析から歯周組織再生に効果的な幹細胞も報告されており (Li et al., 2020)、マウス顎骨に歯小囊細胞を応用したインプラントの埋入 (Oshima et al., 2014) や、イヌ下顎骨に歯根膜由来幹細胞シートを応用したインプラントの埋入 (Washio et al., 2018) 研究でインプラント体周囲に歯周組織が形成されたことが報告されている。発育期や組織修復期の歯根膜では幹細胞が増殖する (Hosoya et al., 2020) が、抜歯により歯根セメント質近傍の歯根膜を欠いた今回の研究で

はセメント芽細胞に分化できる細胞が少なかったことが考えられる。

最近ではrhFGFを用いた研究で多くの骨形成や厚い細胞性セメント質の形成が報告され (Kitamura et al., 2016) 臨床でも応用されている。歯周組織はセメント質、歯根膜、歯槽骨からなる複合組織であり、再生歯周組織にはこれらの組織がすべて形成される必要がある。今回、エナメルタンパクを応用したHA周囲にセメント質・歯根膜様組織の再生が一部で認められた。インプラント治療は、顎骨にドリリングし歯根膜のないところにインプラント体を植立するため、セメント芽細胞や歯根膜線維芽細胞に分化できる細胞も少ないと考えられることから、組織由来幹細胞の応用やrhFGFなど成長因子との併用が有効になると思われる。さらにメカニカルストレスの付与によってインプラント体周囲にセメント質と歯根膜類似の歯周組織を形成する可能性が示唆される。

結 論

抜歯窩に埋入したエナメルタンパク塗布アパタイト表面にセメント質最内層様構造と無細胞セメント質様組織が再生された。無細胞セメント質様組織にコラーゲン細線維がアパタイト表面にほぼ垂直な配列で埋入され、歯根膜様組織が再生された。以上のことより、エナメルタンパクを用いることによりインプラント体周囲にセメント質と歯根膜を含む歯周組織の再生・再建の可能性が示唆された。

利益相反

本研究において、開示すべき利益相反はない。

文 献

- Albrektsson T & Wennerberg A. On osseointegration in relation to implant surfaces. *Clin Implant Dent Relat Res Suppl* 1 : 4–7, 2019.
- Arzate H, Zeichner–David M & Mercado–Celis G. Cementum proteins : role in cementogenesis, biomineralization, periodontium formation and regeneration. *Periodontol* 2000 67 : 211–33, 2015.
- Denes BJ, Ait–Lounis A, Wehrle–Haller B & Kiliaridis S. Core matrisome protein signature during periodontal ligament maturation from pre–occlusal eruption to occlusal function. *Front Physiol* 11 : 174, 2020.
- Foster BL, Ao M, Salmon CR, Chavez MB, Kolli TN, Tran AB, Chu EY, Kantovitz KR, Yadav M, Narisawa S, Millán JL, Nociti Jr FH & Somerman MJ. *Bone* 107 : 196

- 207, 2018.
- Guglielmotti MB, Olmedo DG & Cabrini RL. Research on implants and osseointegration. *Periodontol* 2000 79 : 178–189, 2019.
- Hakki SS, Bozkurt SB, Türkay E, Dard M, Purali M & Götz W. Recombinant amelogenin regulates the bioactivity of mouse cementoblasts in vitro. *Int J Oral Sci* 10 : 15, 2018.
- Hammarström L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 24 : 658–668, 1997.
- Hasan MR, Takebe H, Shalehin N, Obara N, Saito T & Irie K. Effects of tooth storage media on periodontal ligament preservation. *Dent Traumatol* 33 : 383–392, 2017.
- Hosoya A, Shalehin N, Takebe H, Shimo T & Irie K. Sonic Hedgehog Signaling and Tooth Development. *Int J Mol Sci* 21 : 1587, 2020.
- Iwasaki K, Washio K, Meinzer W, Tsumanuma Y, Yano K & Ishikawa I. Application of cell–sheet engineering for new formation of cementum around dental implants. *Heliyon* 5 : e01991, 2019.
- Kanazashi M, Gomi K, Nagano T, Tanabe T, Arai T & Fukae M. The 17–kDa sheath protein in enamel proteins induces cementum regeneration in experimental cavities created in a buccal dehiscence model of dogs. *J Periodontal Res* 41 : 193–199, 2006.
- Kitamura M, Akamatsu M, Kawanami M, Furuichi Y, Fujii T, Mori M, Kunimatsu K, Shimauchi H, Ogata Y, Yamamoto M, Nakagawa T, Sato S, Ito K, Ogasawara T, Izumi Y, Gomi K, Yamazaki K, Yoshie H, Fukuda M, Noguchi T, Takashiba S, Kurihara H, Nagata T, Hamachi T, Maeda K, Yokota M, Sakagami R, Hara Y, Noguchi K, Furuuchi T, Sasano T, Imai E, Ohama M, Koizumi H, Watanuki M & Murakami S. Randomized placebo–controlled and controlled non–inferiority phase III trials comparing trafermin, a recombinant human fibroblast growth factor 2, and enamel matrix derivative in periodontal regeneration in intrabony defects. *J Bone Miner Res* 31 : 806–814, 2016.
- Li Q, Yang G, Li J, Ding M, Zhou N, Dong H & Mou Y. Stem cell therapies for periodontal tissue regeneration : a network meta–analysis of preclinical studies. *Stem Cell Res Ther* 11 : 427, 2020.
- Manea A, Bran S, Dinu C, Rotaru H, Barbur I, Crisan B, Armencea G, Onisor F, Lazar M, Ostas D, Baciut M, Vaccaras S, Mitre I, Crisan L, Muresan O, Roman R & Baciut G. Principles of biomechanics in oral implantology. *Medicine and Pharmacy Reports* 92 : suppl No.3 s14–s19, 2019.
- Makishi S, Saito K & Ohshima H. Osteopontin–deficiency disturbs direct osteogenesis in the process of achieving osseointegration following immediate placement of endosseous implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 19 : 496–504, 2017.
- Miron RJ, Sculean A, Cochran DL, Froum S, Zucchelli G, Nemcovsky C, Donos N, Lyngstadaas SP, Deschner J, Dard M, Stavropoulos A, Zhang Y, Trombelli L, Kasaj A, Shirakata Y, Cortellini P, Tonetti M, Rasperini G, Jepsen S & Bosshardt DD. Twenty years of enamel matrix derivative : the past, the present and the future. *J Clin Periodontol* 43 : 668–683, 2016a.
- Miron RJ, Chandad F, Buser D, Sculean A, Cochran DL & Zhang Y. Effect of enamel matrix derivative liquid on osteoblast and periodontal ligament cell proliferation and differentiation. *J Periodontol* 87 : 91–9, 2016b.
- Mohamed RN, Basha S, Al–Thomali Y & Tawfik Enan E. Enamel matrix derivative (Emdogain) in treatment of replanted teeth – a systematic review. *Acta Odontol Scand* 77 : 168–172, 2019.
- Oshima M, Inoue K, Nakajima K, Tachikawa T, Yamazaki H, Isobe T, Sugawara A, Ogawa M, Tanaka C, Saito M, Kasugai S, Takano–Yamamoto T, Inoue T, Tezuka K, Kuboki T, Yamaguchi A & Tsuji T. Functional tooth restoration by next–generation bio–hybrid implant as a bio–hybrid artificial organ replacement therapy. *Sci Rep* 4 : 6044, 2014.
- Pham CD, Smith CE, Hu Y, Hu JC, Simmer JP & Chun YP. Endocytosis and enamel formation. *Front Physiol* 8 : 529, 2017.
- Sadowsky SJ. Occlusal overload with dental implants : a review. *Int J Implant Dent* 5 : 29, 2019.
- Shibui T, Yajima T, Irie K, Ochi M & Sakakura Y. Architecture of connective tissue regenerated by enamel matrix derivative around hydroxyapatite implanted into tooth extraction sockets in the rat maxilla. *Anat Sci Int* 95 : 334–341, 2020.
- Shirakata Y, Miron RJ, Shinohara Y, Nakamura T, Sena K, Horai N, Bosshardt DD, Noguchi K & Sculean A. Healing of two–wall intra–bony defects treated with a novel EMD–liquid–A pre–clinical study in monkeys. *J Clin Periodontol* 44 : 1264–1273, 2017.

- Terada C, Komasa S, Kusumoto T, Kawazoe T & Okazaki J. Effect of amelogenin coating of a nano-modified titanium surface on bioactivity. *Int J Mol Sci* 19 : 1274, 2018.
- Walker JT, McLeod K, Kim S, Conway SJ & Hamilton DW. Periostin as a multifunction of the wound healing response. *Cell Tissue Res* 365 : 453-465, 2016.
- Washio K, Tsutsumi Y, Tsumanuma Y, Yano K, Srithanyarat SS, Takagi R, Ichinose S, Meinzer W, Yamato M, Okano T, Hanawa T & Ishikawa I. *Tissue Eng Part A* 24 : 1273-1282, 2018.
- Yamamoto T, Hasegawa T, Yamamoto T, Hongo H & Amizuka N. Histology of human cementum : Its structure, function, and development. *Jpn Dent Sci Rev* 52 : 63-74, 2016.
- Yoshimi Y, Kunitatsu R, Hirose N, Awada T, Miyauchi M, Takata T, Li W, Zhu L, Denbesten P, Tanne K & Tanimoto K. Effects of C-terminal amelogenin peptide on proliferation of human cementoblast lineage cells. *J Periodontol* 87 : 820-827, 2016.



洪井 徹

北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系 解剖学分野

平成15年3月 北海道医療大学歯学部卒業

平成19年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士過程修了

平成19年4月 同助教（口腔構造・機能発育学系解剖学分野）

現在に至る。