

〔原著〕

ラット上顎臼歯におけるBMP-石灰藻由来ハイドロキシアパタイト
複合体の修復象牙質誘導

小池 俊之, 半田 慶介, 林 敬次郎, Mohammad Ali Akbor Polan, 斎藤 隆史

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 歯蝕制御治療学分野

Reparative dentin induction with calcified algae derived hydroxyapatite-BMP
composite in rat maxillary molars

Toshiyuki KOIKE, Keisuke HANDA, Keijiro HAYASHI, Mohammad Ali Akbor Polan, Takashi SAITO

Division of Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

Calcium hydroxide is commonly used as a traditional pulp-conservative agent, but it is known that the reparative dentin formed by calcium hydroxide has poor quality and that its high pH causes severe dental pulp inflammation. Therefore, the development of a dentin-regenerative technique using biocompatible, bioactive compounds would be attractive. Bone morphogenetic protein (BMP) is thought to be an excellent candidate that induces dentin formation. The objective of this study was to examine whether E.coli-derived recombinant human BMP-2 variant (rhBMPv) – FRIOS® Algipore® composite (BMP-HA) induces reparative dentin formation in rat maxillary first molars. FRIOS® Algipore® (Friadent) (HA), calcified algae-derived porous hydroxyapatite was used as a carrier of BMP in this study, and Multi-Cal™ (Pulpdent) (Ca) was used as a conventional compound. The BMP-HA, HA, and Ca were placed on the exposed pulp of maxillary first molars of 8 week-old Wistar rats. Rats were sacrificed at 7, 14, and 21 days after the direct pulp capping. After removal, the teeth were fixed in 10% neutral buffered formaldehyde, demineralized in EDTA, and embedded in paraffin. Sections (4μm thick) were stained with hematoxylin-eosin. In histological observations, the areas and density ratios newly formed dentin were measured, and the degree of pulp inflammation was evaluated. It was established that BMP-HA induced reparative dentin formation intensively. The amount of dentin formed by BMP-HA was significantly larger than that formed by Ca at 7 and 14 days. The density ratio of the reparative dentin formed by BMP-HA was 91% and 98% at 14 and 21 days, that by Ca was 83% at 21 days. In the Ca group, reparative dentin with tunnel-shaped defects was formed as has been reported previously. Slight pulp hyperemia was observed throughout the experimental period in the BMP-HA group. There was a strong inflammatory reaction in the pulp tissue at 7 and 14 days in the Ca group. These findings suggest that rhBMPv-FRIOS® Algipore® composite is a promising dentin regeneration compound in future vital pulp therapy.

Key words : BMP, 石灰藻由来ハイドロキシアパタイト, 修復象牙質, 直接覆髄, 水酸化カルシウム

緒 言

日常の臨床の場において、露髄の危険性がある深在性
う蝕に遭遇する機会が多い。現在、覆髄剤として広く用

いられている水酸化カルシウム製剤はpH12という高アルカリ性であるため、歯髄為害性を有することが報告されており、直接覆髄に応用した場合、歯髄表面に壊死層を形成し、さらには慢性炎症を持続させてしまう可能性

受付：平成22年9月30日

がある (Cvek et al., 1982). また, 歯髄の防御反応として露髄面を覆うように形成される修復象牙質は, 裂隙や欠損を含む不完全な修復象牙質であることが多い. よって, 歯髄を保護すべき修復象牙質そのものが外界と交通する感染経路となり, 歯髄の炎症を継続, 悪化させる原因となることが報告されている (Cox et al., 1985). 以上のことから, 水酸化カルシウム製剤による直接覆髄の治療成績は必ずしも満足できるものではない.

適切な歯髄保存治療を施すことで歯をできるだけ長く保ち, 咀嚼機能を営ませることは重要な課題である. したがって, 生体親和性を有し, かつ短時間で積極的に高品質な修復象牙質を誘導する新しい技術および材料の開発が求められている.

骨形成タンパク質 (Bone morphogenetic protein, BMP) はその強力な硬組織形成誘導活性から各分野への応用が強く期待されているが (Boyne et al., 1997; Kenley et al., 1994; Fleet et al., 1996; Seto et al., 2001; 庵原ら, 2003), BMPを用いて局所に应用するには徐放系であり, 細胞分化のための足場となる有効な担体が必要である (Wang et al., 1990).

これまで我々は, *in vitro* 研究において象牙芽細胞のマーカーである Dentin sialophosphoprotein (DSPP) mRNA発現を定量することにより, BMPによるヒト歯髄細胞から象牙芽細胞への強力な分化誘導を明らかにしてきた (小川ら, 2002; Saito et al., 2004). また, ラットを用いた *in vivo* 研究において, BMPによる異所性および同所性硬組織誘導実験を行い, 石灰藻由来の多孔質ハイドロキシアパタイト (Kasperk et al., 1988; Schopper et al., 1999, 2003) である FRIOS® Algipore® (Friadent) が BMPの担体として効果的に硬組織を誘導することを明らかにしてきた (小林ら, 2002; 斎藤ら, 2003). そこで本研究では, rhBMPv-FRIOS® Algipore® 複合体がラットを用いた直接覆髄実験において効果的に良質な修復象牙質形成を誘導するかを検討した.

材料および方法

1. 材料

1) BMPについて

BMPはWürzburg大学W. Seibald教授より供与された *E. coli*-derived recombinant human BMP-2 variant (rhBMPv) を用いた. このrhBMPvはヒトBMP-2のヘパリン結合部位であるN末端12アミノ酸残基 MAKHKQRKRLKSをヒトインターロイキン-2 (human interleukin-2) のN末端の13アミノ酸残基 MAPTSSSTKKTQLと置換したものであり, BMPとして

の生理活性部位は保存されていることが知られている (Ruppert et al., 1996; Kubler et al., 1998).

2) 担体

rhBMPvの担体として石灰藻由来の多孔質ハイドロキシアパタイト顆粒である FRIOS® Algipore® (Friadent) を用いた. FRIOS® Algipore® は気孔径10-30 μ m, 気孔率65%以上, 粒径0.3-0.5mmの顆粒である.

3) rhBMPvと担体の複合

FRIOS® Algipore® を10mg秤量してrhBMPv (5 μ g/10 μ l) を滴下含浸することによりrhBMPv-FRIOS® Algipore® 複合体 (BMP-HA) を得た (小林ら, 2002; 小池ら, 2004). また, FRIOS® Algipore® に生理食塩水10 μ l を含浸させた試料も調製した (HA). これらの試料は実験まで-80 $^{\circ}$ Cにて凍結保存した.

4) 水酸化カルシウム製剤

水酸化カルシウム製剤として, Multi-Cal™ (Pulpdent, Ca) を使用した. 本製剤は42%水酸化カルシウム, 硫酸バリウムなどを含むシリンジ入りペースト状の覆髄剤であり, pHは12である.

2. ラット直接覆髄

8週齢雄性Wistar系ラット45匹 (n=5) に対して, ソムノペンチル (ペントバルビタールナトリウム, 共立製薬) 腹腔内麻酔による全身麻酔下で開口状態を保持した. 滅菌ダイヤモンドポイント (40SS-S, 松風), 滅菌ラウンドバー (014, デンツプライ三金) にて上顎第一臼歯近心咬頭より切削し, 人工露髄面を形成した. 露髄面からの止血と窩洞の清掃を目的に, 10%次亜塩素酸ナトリウムと3%過酸化水素水による交互洗浄後, 滅菌綿糸を用いて窩洞の乾燥を行った. その後, BMP-HA, HA, Caそれぞれを用いて直接覆髄を施し, BMP-HA群, HA群, Ca群の3群とした. グラスアイオノマーセメント (HY-BOND GLAS IONOMER CX, 松風), クリアフィルトライエスボンド (クラレメディカル), コンポジットレジン (ユニフィルローフロー, GC) を用いて二重仮封を行い, 処置を終えた. なお, 本実験計画は北海道医療大学動物実験委員会での審査の後, 学長の承認を得て行った.

術後, 7, 14, 21日目にジエチルエーテル (和光純薬) にてラットを安楽的に屠殺し, 処置歯を上顎骨ごと摘出した.

摘出物を10%中性ホルマリン緩衝液にて固定後, 上昇アルコール系列による脱脂, 0.1M EDTA, pH7.4, 4 $^{\circ}$ Cにて脱灰を行った. 通法に従ってパラフィンにて包埋し, 厚さ4 μ mの切片標本を作製した. 標本は通法に従ってヘマトキシリン-エオジン染色を行い, 光学顕微

鏡 (ECLIPSE E400, ニコン) にて観察を行った。

3. 評価法

各標本は、以下の4項目にて評価を行った。

1) 修復象牙質の面積率 (%)

弱拡大 (×40) にて露髄部と冠部歯髄が観察される領域 (視野) を撮影し、Image J (NIH) にて (修復象牙質の面積/冠部歯髄の面積) ×100から修復象牙質の面積率を求め、平均値と標準偏差を求めた。Tukeyの多重比較検定により、BMP-HA群、HA群、Ca群の間で有意差検定を有意水準5%の条件下で行った。

2) 修復象牙質の緻密率 (%)

形成された修復象牙質が全て観察される倍率で像を取り込み、Image J (NIH) にて裂隙やトンネル状欠損部を差し引き、修復象牙質の緻密率を求めた。Tukeyの多重比較検定により、BMP-HA群、HA群、Ca群の間で有意差検定を有意水準5%の条件下で行った。

3) 修復象牙質の封鎖性

光学顕微鏡による組織学的観察から、修復象牙質による露髄面の封鎖の程度をA~Dの4段階で分類した。A:完全に封鎖している (裂隙なし)、B:ほぼ封鎖している (露髄面を覆うも裂隙あり)、C:部分的に封鎖している (露髄面を覆っていない)、D:修復象牙質形成が見られない

4) 歯髄の炎症の程度

光学顕微鏡による組織学的観察から、歯髄の炎症の程度をA~Dの4段階で分類した。A:炎症なし、B:軽度の炎症 (露髄面直下の範囲に限局する炎症性細胞浸潤)、C:中等度の炎症 (冠部歯髄の深度1/2程度に波及する炎症性細胞浸潤)、D:強度の炎症 (冠部歯髄全体に波及する炎症性細胞浸潤)

結 果

1. BMP-HA群

誘導された修復象牙質の面積率は経時的に増加しており、HA群との間では全実験期間を通して有意差を認め、Ca群との間では術後7、14日目において有意差を認めた。また、修復象牙質の緻密率も経時的に増加しており、術後21日目では約98%と高く、全実験期間においてCa群との間に有意差を認めた (表1)。

術後7日目から修復象牙質形成が認められ (図1a)、術後14日目では周囲象牙質と連続した細管構造を有する修復象牙質が認められた (図2a)。術後21日目では修復象牙質が露髄面を完全に封鎖しており、その直下には明瞭で規則的な象牙芽細胞層が認められた (図3a)。また、歯髄の炎症の程度は術後7、14日目には軽度であったが、21日目では歯髄の炎症は認められなかった。

2. HA群

修復象牙質の面積率、緻密率共に経時的な増加が認められたが、面積率は全体的にBMP-HA群、Ca群に比して少ない傾向にあり、緻密率も術後21日目ではBMP-HA群に対して有意に低い値となった (表1)。

修復象牙質形成は術後7日目でほとんど見られず (図1b)、術後14日目で認める (図2b) が、術後21日目になっても露髄面を封鎖するには至らなかった (図3b)。また、初期から歯髄に中等度の炎症が認められ、術後21日目でも軽度ではあるが炎症の残存が認められた。

3. Ca群

修復象牙質の面積率、緻密率共に経時的な増加が認められたが、特に緻密率は術後21日目においてBMP-HA群、HA群に比して有意に低い値であった (表1)。

修復象牙質形成はHA群と同様に術後7日目でほとんど見られず (図1c)、術後14日目には露髄面をほぼ覆うようになったが、その内部は裂隙やトンネル状欠損を含む多孔質な構造であった (図2c)。術後21日目でも修復象牙質の質に大きな変化は認められず、象牙芽細胞層の配列も不明瞭であった (図3c)。また、覆髄初期から壊

表1 H-E染色組織像における修復象牙質の面積率、緻密率および歯髄の炎症程度

実験群	実験期間 (日)	面積率 (%)	緻密率 (%)	封鎖性	炎症の程度
BMP-HA	7	12.7±0.9 ^{a, b}	—	D	B
	14	39.7±1.1 ^{c, d}	91.6±1.9 ^{e, h}	B	A
	21	44.4±2.4 ^f	98.0±1.8 ^{i, j}	A	A
HA	7	6.3±0.6 ^a	—	D	C
	14	29.8±2.5 ^{c, e}	79.3±3.2 ^g	C	C
	21	37.4±2.5 ^f	89.3±1.8 ^{i, k}	C	B
Ca	7	4.6±1.2 ^b	—	D	D
	14	35.8±1.7 ^{d, e}	75.9±2.2 ^h	C	C
	21	41.9±2.4	83.1±3.6 ^{i, k}	B	B

数値は平均±標準偏差を示す。

a~kは同記号間での有意差 (P<0.05) を示す。

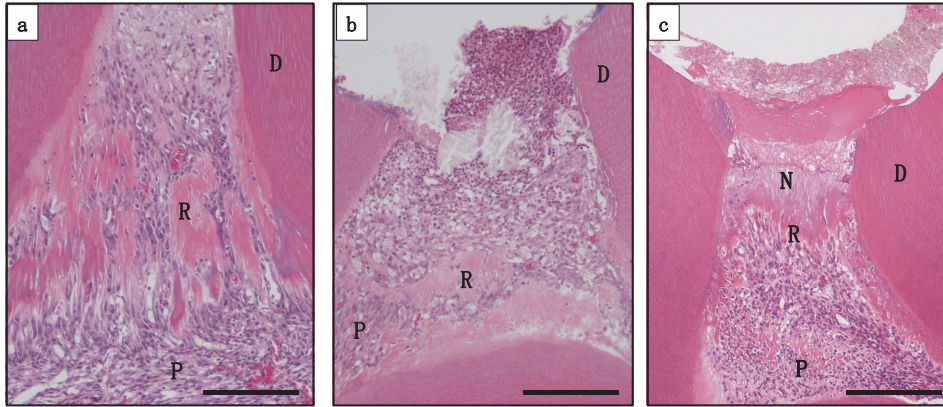


図1 直接覆髄後7日目における組織像
a: BMP-HA群, b: HA群, c: Ca群
R: 修復象牙質, D: 象牙質, P: 歯髄, N: 壊死層, Bar: 200μm

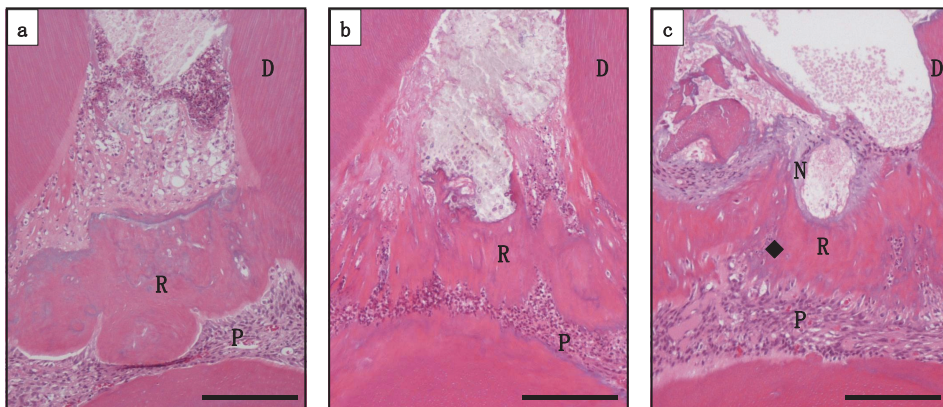


図2 直接覆髄後14日目における組織像
a: BMP-HA群, b: HA群, c: Ca群
R: 修復象牙質, D: 象牙質, P: 歯髄, N: 壊死層, ◆: トンネル状欠損, Bar: 200μm

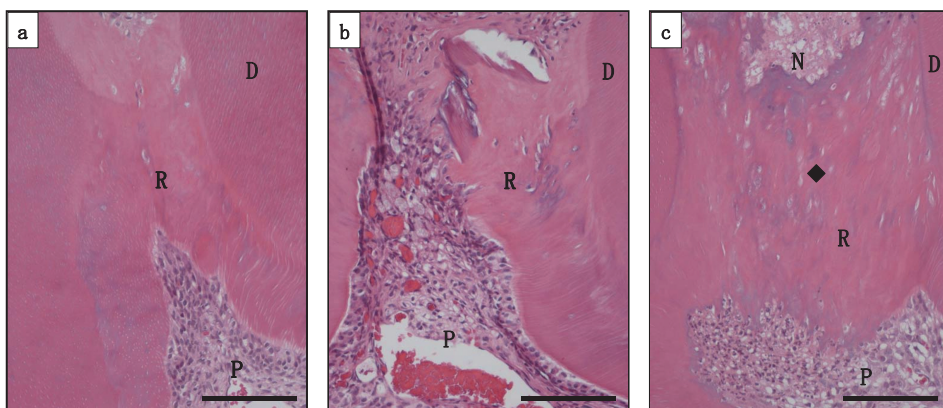


図3 直接覆髄後21日目における組織像
a: BMP-HA群, b: HA群, c: Ca群
R: 修復象牙質, D: 象牙質, P: 歯髄, N: 壊死層, ◆: トンネル状欠損, Bar: 200μm

死層の形成と強度の炎症が観察され、歯髄の炎症は術後21日目においても残存していた。

考 察

BMPは未分化間葉細胞を骨芽細胞に分化誘導し、骨形成を誘導する成長分化因子として知られている

(Reddi, 1998; Bessho et al., 2002; Katagiri et al., 1990).
これまで*in vitro*研究において、BMPは歯髄細胞の象牙芽細胞への分化を促進することが報告されている(小川ら, 2002; Nakashima, 1994; Iohara et al., 2004; 中島, 2005). 本実験では、rhBMPvを用いたラット直接覆髄において早期から活発な修復象牙質形成を認めた。これ

は、rhBMPvの作用によって歯髄細胞が象牙芽細胞などの硬組織形成関連細胞へ誘導され、修復象牙質形成が促進されたためと考えられる。

BMPの担体として、骨組織の構成成分やその類似化合物の中から種々の性状のコラーゲン (Kuboki et al., 1995; Takaoka et al., 1991), リン酸三カルシウム (TCP) (Urist et al., 1984), ポリ乳酸 (Polylactic acid: PLA) やポリグリコール酸 (polyglycolic acid: PGA) (Athanasios et al., 1998; Saito et al., 2001; Wang and Wu, 1997; Miyamoto et al., 1993) などが検討され、その有効性が明らかにされてきた。また、異なる幾何学構造をもつハイドロキシアパタイトを比較した実験では、骨形成のためにBMPとともに用いる多孔質ハイドロキシアパタイトブロックの最適孔径は300~400 μm であると報告されている (Tsuruga et al., 1997)。しかし、本実験ではラットの歯を使用しており、露髄径が約500 μm 以下と極めて小さく、しかも限られた空間で作用させることから、BMPを保持し徐放するのに有効と推測される形態 (気孔径10~30 μm , 気孔率65%以上, 表面積50 m^2/g) を有する担体として、石灰藻由来多孔質ハイドロキシアパタイトであるFRIOS[®]Algipore[®]を使用した。本研究において、FRIOS[®]Algipore[®]担体の気孔内には細胞侵入および修復象牙質形成を認めないものの、rhBMPv-FRIOS[®]Algipore[®]複合体直下に活発な修復象牙質形成を確認し、歯髄の炎症も極めて軽度であった。これは、他の群に比べて露出歯髄が早期に保護されたためと考えられ、FRIOS[®]Algipore[®]担体は生体親和性に優れ、効果的にrhBMPvを保持し、かつ長期に渡りrhBMPvを徐放する有効な担体であることが示唆された。また、rhBMPvの徐放がさらに数ヶ月間続く場合、過度の修復象牙質形成による歯髄腔の狭小化が予想されるため、徐放のコントロールが今後の重要な課題と考えられる。

水酸化カルシウム製剤による直接覆髄は古くから研究されており、覆髄後1~5日で創面に壊死、歯髄組織には出血および炎症性細胞の浸潤が見られ、5~14日で壊死層直下に象牙芽細胞層の配列とその周囲に基質形成が見られ、14日以降で新生象牙質の形成が見られると報告されている (市川, 1976)。水酸化カルシウム製剤によって誘導される新生硬組織は表層から第1層 (壊死組織への石灰沈着による石灰化した結合組織)、第2層 (骨様象牙質)、第3層 (細管構造を持つ新生象牙質) と分類され、歯冠側では不規則な構造で内部に細胞や空隙が多く存在するが、歯髄側では細管構造を有した象牙質様組織が認められると言われている (Noguchi, 1954; Schroder and Granath, 1972)。壊死層の形成は、水酸化カ

ルシウム製剤がpH12前後という強アルカリの性質によるものであり、壊死層に存在する血餅などの血液凝固物が硬組織形成を阻害する結果、新生象牙質の内部が多孔性になると言われている (Schroder and Granath, 1972)。また、水酸化カルシウム製剤が強アルカリ性のため、歯髄に慢性炎症や内部吸収が起こり (Cvek et al., 1982)、形成された多孔質な新生象牙質はメチレンブルー色素が通過し (Goldberg et al., 1984)、新生象牙質の約89%にトンネル状の欠損が認められた (Cox et al., 1985) と報告されている。これらのことから、水酸化カルシウム製剤によって誘導された修復象牙質は外界と歯髄とを繋ぐ感染経路として存在することが容易に推測される。本実験においても水酸化カルシウム製剤によって誘導された修復象牙質は高頻度で多数のトンネル状欠損を含み、その緻密さや封鎖性は低かった。これは結果的に微少漏洩による歯髄病変を招くことにつながると考えられる。

水酸化カルシウム製剤によって誘導される新生硬組織は骨様象牙質である。再度う蝕原因菌に侵された時、痛みを感知することで再治療を施すことができ、あるいは歯髄の防御反応が働き修復象牙質を誘導することができるから、露髄面に再生される硬組織は骨様象牙質よりも、細管構造を持ち、それによって知覚を感知しうる修復象牙質が誘導されるほうが望ましいと考える。従って、細管構造をもち緻密な修復象牙質を誘導したrhBMPv-FRIOS[®]Algipore[®]複合体は覆髄剤として極めて有効である。

結 論

石灰藻由来のハイドロキシアパタイト顆粒であるFRIOS[®]Algipore[®]をrhBMPvの担体としてラットを用いた直接覆髄実験に応用し、修復象牙質形成能を水酸化カルシウム製剤との間で比較したところ、以下の結論を得た。

1. BMP-HA群は、HA群、Ca群に比べて早期から旺盛な修復象牙質形成を認め、細管構造を有する緻密な構造であった。
2. BMP-HA群では早期から炎症が軽度であり、全実験期間を通して他の実験群に比べて歯髄の炎症の程度は軽度であった。
3. 水酸化カルシウム製剤によって誘導された修復象牙質は全体的に多孔質で、トンネル状の欠陥が存在し、全ての観察期間を通して歯髄に炎症反応が認められた。

以上の結果より、歯髄保存療法剤としてのrhBMPv-FRIOS[®]Algipore[®]複合体の有効性が示唆された。

謝 辞

本研究の一部は平成21年度北海道医療大学歯学会奨励研究金の助成を受け、現在研究を継続中である。

文 献

- Athanasίου KA, Agrawal CM, Barber FA and Burkhart SS. Orthopaedic applications for PLA-PGA biodegradable polymers. *Arthroscopy* 14: 726-737, 1998.
- Bessho K, Carnes DL, Cavin R and Ong JL. Experimental studies on bone induction using low-molecular-weight poly (DL-lactide-co-glycolide) as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Biomed Mater Res* 61 : 61-65, 2002.
- Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazarro E, Lilly LC and Alder M Nummikowski P. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodont Res Dent* 17 : 11-25, 1997.
- Cox DF, Bergenholtz G, Heys DR, Syed SA, Fitzgerald M and Heys RJ. Pulp capping of dental pulp mechanically exposed to oral microflora : a 1-2 year observation of wound healing in the monkey. *J Oral Pathol* 14 : 156-168, 1985.
- Cvek M, Cleaton-Jones PE, Austin JC and Andreasen JO. Pulp reactions to exposure after experimental crown fractures or grinding in adult monkeys. *J Endod* 8 (9) : 391-397, 1982.
- Fleet JC, Cashman K and Rosen V. The effects of aging on the bone inductive activity of recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Endocrinology* 137 : 4605-4610, 1996.
- Goldberg F, Massone E J and Spielberg C. Evaluation of the dental bridge after pulpotomy and calcium hydroxide dressing. *J Endod* 10 : 318-320, 1984.
- 市川 徹. 犬における生活歯髄切断後のDentin Bridge形成に関する光顕的ならびに電顕的研究. *歯科学報* 76 : 391-439, 1976.
- 庵原耕一郎, 中島美砂子, 石河真幸, 中島昭彦, 赤峰昭文 : BMP 2 を用いた歯髄細胞導入治療法による象牙質再生. *日歯保存誌* 46 : 654-665, 2003.
- Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakashima A and Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Dent Res* 83 : 590-595, 2004.
- Kasperk C, Ewers R, Simons B and Kasperk R. Algae-derived (phycoene) Hydroxyapatite. *Int J Oral Maxillofac Surg* 17 : 319-324, 1988.
- Katagiri T, Yamaguchi A, Ikeda T, Yoshiki S, Wonzney J, Rosen V, Wang E A, Tanaka H, Omura S and Suda T. The none osteogenic mouse pluripotent cell line, C3H10T1/2 is induced to differentiate into osteoblastic cells by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Biochem Biophys Res Commun* 172 : 295-299, 1990.
- Kenley R, Marden L, Turek T, Jin L, Ron E and Hollinger JO. Osseous regeneration in the rat caviarium using novel delivery system for recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *J Biomed Mater Res* 28 : 1139-1147, 1994.
- 小林文人, 斎藤隆史, 別所和久, 松田浩一. rhBMP-2 / FRIOS® Algipore® 複合体による異所性硬組織誘導実験. *日歯保存誌* 45 : 921-927, 2002.
- 小池俊之, 小林文人, 泉川昌宣, 斎藤隆史. rhBMP-2 / FRIOS® Algipore® 複合体によるラット象牙質形成. *日歯保存誌* 47 : 666-672, 2004.
- Kuboki Y, Saito T, Murata M, Takita H, Mizuno M, Inoue N, Nagai N and Pool AR. Two distinctive BMP-carriers induced zonal chondrogenesis and membranous ossification, respectively : geometrical factors of matrices for cell-differentiation. *Connect Tissue Res* 32 : 219-226, 1995.
- Kubler NR, Reuther JF, Faller G, Kirchner T, Ruppert R and Sebald W. Inductive properties of recombinant human BMP-2 produced in a bacterial expression system. *Int J Oral Maxillofac Surg* 27 : 305-309, 1998.
- Miyamoto S, Takaoka K, Okada T, Yoshikawa H, Hashimoto J and Ono K. Polylactic acid-polyethylene glycol block copolymer, A new biodegradable synthetic carrier for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 294 : 333-343, 1993.
- Nakashima M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant morphogenetic proteins (BMP)-2 and-4. *J Dent Res* 73 : 1515-1522, 1994.
- 中島美砂子. Growth/differentiation factor11 (Gdf11) を電氣的遺伝子導入した歯髄幹細胞を用いた生体外遺伝子導入法による修復象牙質形成. *日歯保存誌* 45 : 803-805, 2005.
- Noguchi K. A new finding about dentin bridge formation after pulp-tomy. *Shikaitenbo*, 11 : 728-730, 1954.
- 小川真史, 斎藤隆史, 別所和久, 松田浩一. Light-Cycler™ を用いたrhBMP-2 刺激培養ヒト歯髄細胞の分析. *日歯保存誌* 45 : 1003-1009, 2002.
- Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nat Biotechnol* 16 : 247-252, 1998.
- Ruppert R, Hoffman E and Sebald W. Human bone morphogenetic protein-2 contains a heparin binding site which modifies its biological activity. *Eur J Biochem* 1 : 295-302, 1996.
- Saito N, Okada T, Horiuchi H, Murakami N, Takahashi J, Nawata M, Ota H, Nozaki K and Takaoka K. A biodegradable polymer as a cytokine delivery system for inducing bone formation. *Nat Biotechnol* 19 : 332-335, 2001.
- 斎藤隆史, 小林文人, 別所和久, 松田浩一. rhBMP-2 / FRIOS® Algipore® 複合体による同所性硬組織誘導実験. *日歯保存誌* 46 : 296-301, 2003.
- Saito T, Ogawa M, Hata Y and Bessho K. Acceleration effect of human recombinant bone morphogenetic protein-2 on differentiation of human pulp cells into odontoblasts. *J Endodontics* 30 : 205-208, 2004.
- Schopper C, Moser D, Wanschitz F, Watzinger F, Lagogiannis G, Spassova E and Ewers R. Histomorphologic findings on human bone samples six months after bone augmentation of the maxillary sinus with Algipore. *J Long Term Eff Med Implants* 9 : 203-213, 1999.
- Schopper C, Moser D, Sabbas A, Lagogiannis G, Spassova E, Koning F, Donath K and Ewers R. The fluorohydroxyapatite (FHA) FRIOS Algipore is a suitable biomaterial for the reconstruction of severely atrophic human maxillae. *Clin Oral Implants Res* 14 : 743-749, 2003.
- Schroder U and Granath LE. Scanning electron microscopy of hard tissue barrier following experimental pulpotomy of intact human teeth and capping with calcium hydroxide. *Odont Revy* 23 : 211-220, 1972.
- Seto I, Asahina I, Oda M and Enomoto S. Reconstruction of the primate mandible with a combination graft of recombinant human

- bone morphogenetic protein-2 and bone marrow. *J Oral Maxillofac Surg* 59 : 53-61, 2001.
- Takaoka K, Koezuka M and Nakahara H. Telo peptide-Depleted bovine skin collagen as a carrier for bone morphogenetic protein. *J Orthop Res* 9 : 902-907, 1991.
- Tsuruga E, Takita H, Itoh H, Wakisaka Y and Kuboki Y. Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis. *J Biochem (Tokyo)* 121 : 317-324, 1997.
- Urist MR, Lietze A and Dawson E. β -tri-calcium phosphate delivery system for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 187 : 277-280, 1984.
- Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, Israel D I, Hewick RM, Kerns KM, Lapan P, Luxenberg DP, McQuaid D, Moutsatsos IK, Nove J and Wozney JM. Recombinant human bone morphogenetic protein induced bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 2220-2224, 1990.
- Wang N and Wu XS. Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid oligomers : Part II .Biodegradation and drug delivery application. *J Biomater Sci Polym Ed* 9 : 75-87, 1997.



小池俊之

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 ouchi nochi nochi 治療学分野

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課程修了

平成19年 4月 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 ouchi nochi nochi 治療学分野特別研究員

平成21年 4月 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 ouchi nochi nochi 治療学分野助手