

〔原 著〕

Growth Differentiation Factor-5/ β -TCP複合体による ビーグル犬前頭洞内骨形成に関する実験的研究

國安 宏哉, 広瀬由紀人, 賀来 亨*, 金子 昌幸**, 田隈 泰信***

北海道医療大学歯学部歯科補綴学第二講座

*北海道医療大学歯学部口腔病理学講座

**北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座

***北海道医療大学歯学部口腔生化学講座

An experimental study of bone formation in the beagle dog frontal sinus induced by β -tricalcium phosphate matrix with growth differentiation factor-5 implants

Hiroya KUNIYASU, Yukito HIROSE, Tohru KAKU*,
Masayuki KANEKO**, and Taishin TAKUMA***

Department of Fixed Prosthodontics, *Department of Oral Pathology,
Department of Dental Radiology, *Department of Oral Biochemistry,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

This study assessed the efficacy and technical feasibility of inducing bone formation in an animal model of maxillary sinus floor augmentation using β -tricalcium phosphate (β -TCP) matrix with recombinant human growth differentiation factor 5 (rhGDF-5). The study used adult beagle dogs weighing 10 to 12 kg. The composite of the β -TCP matrix with rhGDF-5 (rhGDF-5/ β -TCP) is made of approximately 300 micro-meter β -TCP particles and rhGDF-5 which contained 500 micro-gram per gram of β -TCP particles. Exposure of the frontal sinus was carried out bilaterally, with one sinus receiving 2 grams of the rhGDF-5/ β -TCP implant and the other receiving 2 grams of β -TCP particles alone (control). The frontal sinuses were excised 1, 2, 4, 8, 12, and 16 weeks after surgery and the bone formation in response to the rhGDF-5/ β -TCP implant was evaluated histologically. At 2 weeks of postimplantation in the site implanted with rhGDF-5/ β -TCP, new cancellous bone appeared at localized sites on the original bone surface. In contrast, there was no evidence of new bone formation at the control implant site. At 8 weeks, interconnected trabecular structure and bone marrow were found within the sinus of the rhGDF-5/ β -TCP implants. Cartilage was not found in any region and residues of carrier β -TCP were seen in the middle area. At the site of the received control

受付：平成14年3月31日

implants, the bulk of implanted β -TCP particles remained within the sinus. At 12 weeks, the large new trabecular bone extended to the original bone surfaces in the center of the implant site of the rhGDF-5/ β -TCP implants. At the control site, little new cancellous bone was formed in the middle area. At 16 weeks, rhGDF-5/ β -TCP implants increased new bone formation with the lapse of time and β -TCP particles were almost all absorbed. The present study showed that rhGDF-5 coated on β -TCP matrix successfully it maybe induced bone formation in the floor of the frontal sinus in a suitable animal model. Therefore, we conclude that the β -TCP matrix with rhGDF-5 could provide an acceptable biomaterial for maxillary sinus floor augmentation.

Key words : GDF-5, β -TCP, Sinus Lift, Beagle Dog, Frontal Sinus

緒 言

上顎洞底部を挙上するサイナスリフトは1980年から口腔インプラント治療への応用が始まったが¹⁻¹⁰⁾, いまだ移植材料には改良すべき点があると思われる. サイナスリフトの移植材料には自家骨^{11,12)}, ハイドロキシアパタイト^{11,13)}, 凍結乾燥脱灰骨^{11,13)}などがあるが, 自家骨は骨採取部の疼痛や麻痺, ハイドロキシアパタイトは生体適合性, 凍結乾燥脱灰骨は免疫原性などの問題がある. そして, これらの材料の移植後, インプラントの埋入までに少なくとも4ヵ月から6ヵ月の治療期間を必要とする¹⁴⁻¹⁶⁾. これまでの報告において, 挙上した上顎洞底部に, 数ヵ月で骨を形成させた移植材料は見当たらない. 補綴学の観点からは, インプラント上部構造の装着までに要する治療期間を短縮することは有意義であり, 洞内へ速やかに骨形成を誘導できる移植材料の開発は, 臨床上重要な課題であると思われる.

従来より, 骨形成因子である bone morphogenetic protein (BMP) は, 異所性に骨と軟骨を誘導する生理的活性を有している¹⁷⁾ことから, この異所性骨誘導活性を薬理活性として捉え, 整形外科や歯科領域の臨床に応用することが考えられている¹⁸⁾. 近年, 骨形成因子のうち

BMP-2, BMP-7, growth differentiation factor-5 (GDF-5) が組み換え体の大量生産¹⁹⁾が可能になり, 骨再生治療のための薬剤として, その臨床応用は現実のものになりつつある.

我々は, GDF-5 のサイナスリフト移植材料への臨床応用の可能性を検討する目的でGDF-5を用いた一連の実験を行ってきた. このrhGDF-5はラットの頭部骨膜下で移植した担体の形態に沿った骨増生が可能であり, 筋肉内においては異所性に骨を誘導しその濃度に依存した異所性骨誘導活性があることが明らかになった. また大形動物であるビーグル犬前頭洞内を用いたサイナスリフトの実験においてもrhGDF-5/コラーゲン複合体は腔洞内の粘膜を挙上した部分に骨を新たに増生することが可能であった. しかし, 担体にコラーゲンを用いた場合, 挙上部が時間の経過と共に縮小したことより, インプラントを埋入するまでの一定期間に骨形成の場の確保を行い, 骨と吸収置換する担体の研究を行う必要があると考えた.

そこで本研究は, リン酸カルシウム化合物である β -TCPを用いたrhGDF-5/ β -TCP複合体を, サイナスリフト想定 of ビーグル犬前頭洞に移植し, 形成骨の観察ならびにサイナスリフトに対する複合体材料の有効性を検討した.

材料および方法

1. 実験動物（ビーグル犬）

実験にはビーグル成犬（体重10～12kg）を使用した。ビーグル犬は生後約2年で搬入後、本学動物実験センターにて1週間通常飼育〔軟性飼料DS（オリエンタル酵母）・水自由摂取、室温・湿度・照明時間一定下〕し、異常を認めなかったもの（生後約2年）を本学動物実験センターの指針に従い実験に供した。

2. rhGDF-5

骨形成因子であるGDF-5は、1994年にHottenら²⁰⁾が molecular cloning した recombinant human growth differentiation factor-5 であるMP52 (Biopharm) を使用した。

3. 担体（ β -TCP）

rhGDF-5の担体として、平均粒径300 μ mの β -tricalcium phosphate (Gerontcare) を使用した。

4. rhGDF-5/ β -TCP複合体の作製

rhGDF-5/ β -TCP複合体は、Biopharm社に依頼して、 β -TCP 1 g 当たりに対し、rhGDF-5 (MP52, Biopharm) を500 μ gコーティングして作製した。

5. rhGDF-5/コラーゲン複合体のビーグル犬前頭洞への移植

実験部位は左右の前頭洞とした。前頭洞への移植手術は、前投薬にジアゼパム（ホリゾン[®]、山之内製薬）2 mg/kgの筋注と、硫酸アトロピン（硫酸アトロピン注射液タナベ[®]、田辺製薬）0.1 mg/kgの皮下注、麻酔導入薬として塩酸ケタミン製剤（ケタラル[®]10、三共）10 mg/kgの筋注を行い、チオペンタールナトリウム（ラボナール[®]、田辺製薬）20 mg/kgの経時的静脈

投与による全身麻酔下で行った。前頭部の開窓方法は、慢性前頭洞炎治療のための動物実験による荒川²¹⁾の方法を参考にして、術野の剃毛、ポピドンヨード（イソジン[®]液、明治製菓）で消毒後、塩酸リドカイン（キシロカイン[®]、藤沢製薬）にて浸潤麻酔を行い、皮膚、骨膜を順次切開剝離して頭部の前頭洞前壁の骨面を露出させ、電気エンジン（インプランターII[®]、京セラ）を用いて注水下、800rpmの低速回転でサージカルラウンドバーにて縦15mm、横10mmの大きさに開窓部を形成した（図1）。

洞粘膜挙上部の作成は、従来のサイナスリフトの術式に準じて、洞粘膜に穴を開けないよう慎重に剝離して行った。作成した洞粘膜挙上部に対し、2 g の rhGDF-5/ β -TCP 複合体（rhGDF-5を合計1000 μ g含む）を滅菌生理食塩水に浸し、ボーンタイト注入器（三菱マテリアル）を使用して、洞粘膜挙上部に移植した。対照側は β -TCPのみを滅菌生理食塩水に浸して移植した。開窓部は、骨片と孔径 0.5 μ m の PTFE膜（Polytetrafluoroethylene膜、FHLP 025 00, Millipore）^{22~25)}にて閉鎖し、骨膜、皮膚の順で縫合し外科用接着剤（アロンアルファ A “Sankyo”，三共）で固定し^{26,27)}、創部に塩酸オキシテトラサイクリン抗生剤軟膏（Terra-cortril[®] Ointment, Pfizer）で覆った。感染予防処置としては、術中にアンピシリンナトリウム（ビクシリン[®]、明治製菓）250mgを点滴静注し、術後および移植後3日目までは250mgを大腿部から筋注投与した。

6. 非脱灰研磨標本

複合体移植後、1, 2, 4, 8, 12, 16週で全身麻酔下にて総頸動脈を剖出、ビーグル犬をチオペンタールナトリウムの過量投与にて屠殺し、10%ホルマリン溶液による頭頸部灌流固定後、頭部一塊で試料を摘出した。さらに1週間ホルマリン固定し、頭部表面の軟組織を可及的

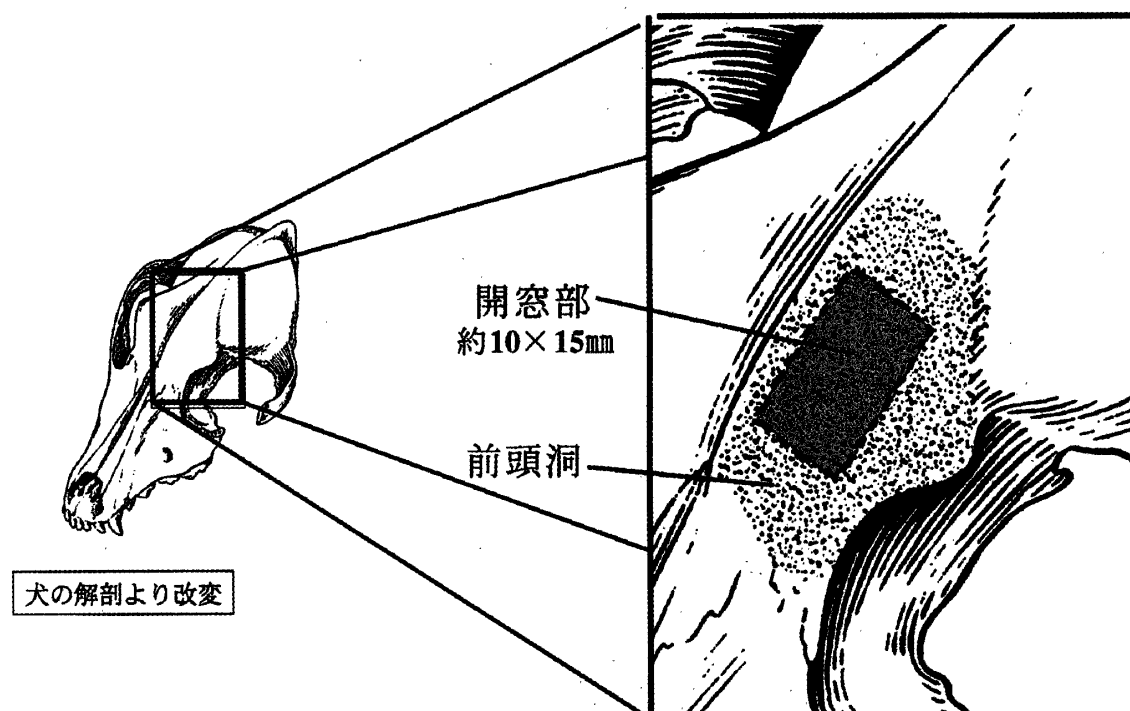


図1 開窓部の模式図

に除去し、Shiginoら²⁸⁾の方法に準じて、アルコール上昇系列で脱水後にPolyester樹脂 (Rigolac®, 応研商事) にて包埋した²⁹⁾。薄切機 (BS3000, Exakt) にて眼窩上縁最突出部で前頭断方向に骨面に対して垂直に試料を薄切後、機械研磨 (MG4000, Exakt) し、非脱灰研磨標本作製した。

7. 前頭洞内骨形成の評価

前頭洞内の骨形成を1, 2, 4, 8, 12, 16週で観察した。

8. 塩基性フクシン・メチレンブルー重染色による観察

厚さ50 μ mの切片を作製し、Shiginoら²⁸⁾の方法に準じて、塩基性フクシン・メチレンブルー重染色³⁰⁾による組織学的観察を行った。染色液として、2%塩基性フクシン水溶液および0.1%メチレンブルー水酸化ナトリウム水溶液を用いた。染色後、弱拡大像および強拡大像を透過型光学顕微鏡で観察した。

なお、rhGDF-5/ β -TCP複合体による骨形成

の状態を組織学的に比較検討するため、正常組織標本 (図2) を作製し、塩基性フクシン・メ

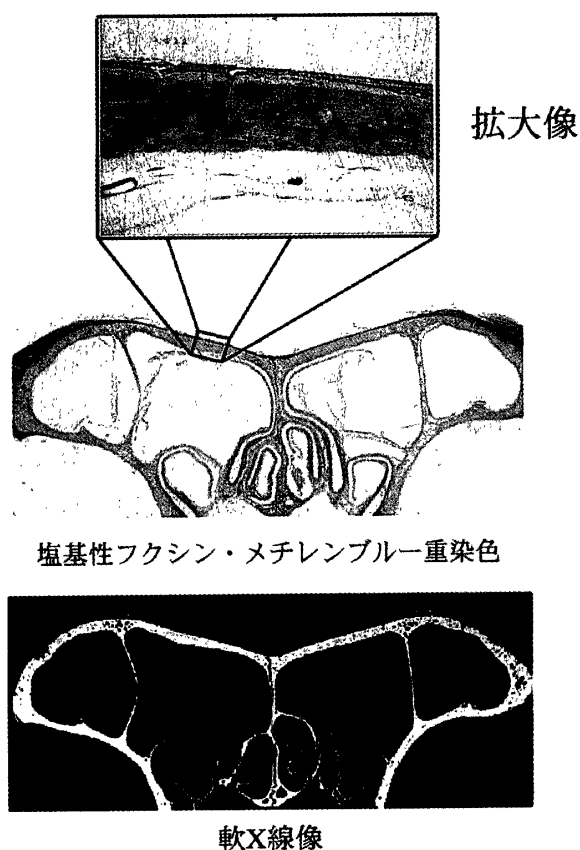


図2 ビーグル犬標準組織像

チレンブルー重染色による弱拡大像および強拡大像の観察を行った。

結 果

rhGDF-5/ β -TCP複合体を移植した1週後の実験側において、既存骨に近い部分の β -TCP顆粒間に幼若な骨様組織の侵入が観察された。また、既存骨表面に骨膜反応性の組織が一部に観察された。対照側でも既存骨表面に骨膜反応性の組織が観察されたが、顆粒間への組織の侵入はほとんど認められなかった(図3)。

2週後の実験側において、開窓部付近から既存骨と連続した骨組織が観察されるようになり、 β -TCP顆粒間に幼若な骨様組織の侵入は、1週後のそれに比較して進行していた。対照側においても実験側と同様に開窓部付近から既存骨と連続した骨組織が観察されたが、 β -TCP顆粒間への幼若な骨様組織の侵入は2週においてもほとんど認められなかった(図4)。

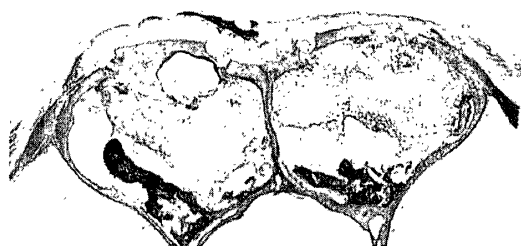
4週後、実験側において、複合体を移植した部位は、既存骨と接する周囲から既存骨と連続した骨組織の形成が観察された。対照側は実験

側に比較して移植した β -TCP顆粒と顆粒の間隔が狭く、凝縮された状態が観察された。また、実験側と同様に開窓部付近から既存骨と連続した骨組織が観察され、 β -TCP顆粒間への幼若な骨様組織の侵入が認められた(図5)。

8週後、実験側は既存骨と連続した骨組織で満たされ、 β -TCP顆粒は挙上部内の中心部に認められる程度にまで吸収が進んでいた。対照側では開窓部付近から骨組織が観察されたが、 β -TCP顆粒の大半は吸収されずに残存していた(図6)。

12週後、実験側は4週、8週後と同様にrhGDF-5によって誘導されたと思われる骨組織が観察され、 β -TCP顆粒の吸収はさらに進んでいた。形成骨組織は、既存骨と連続し、梁状部分は太く発達していた。12週後では8週後と比較し、移植部位の形成骨量に減少が認められた。対照側は挙上部内の中央部に、8週後の対照側では見られなかった骨組織の形成が確認された(図7)。

16週後、実験側は12週後と同様にrhGDF-5によって誘導されたと思われる骨組織が観察さ



前頭面全体像

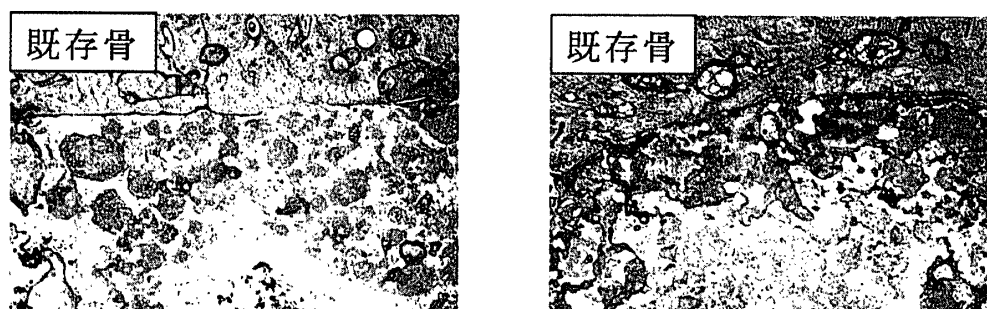


図3 移植1週間後、塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像
(左：対照側 右：実験側)

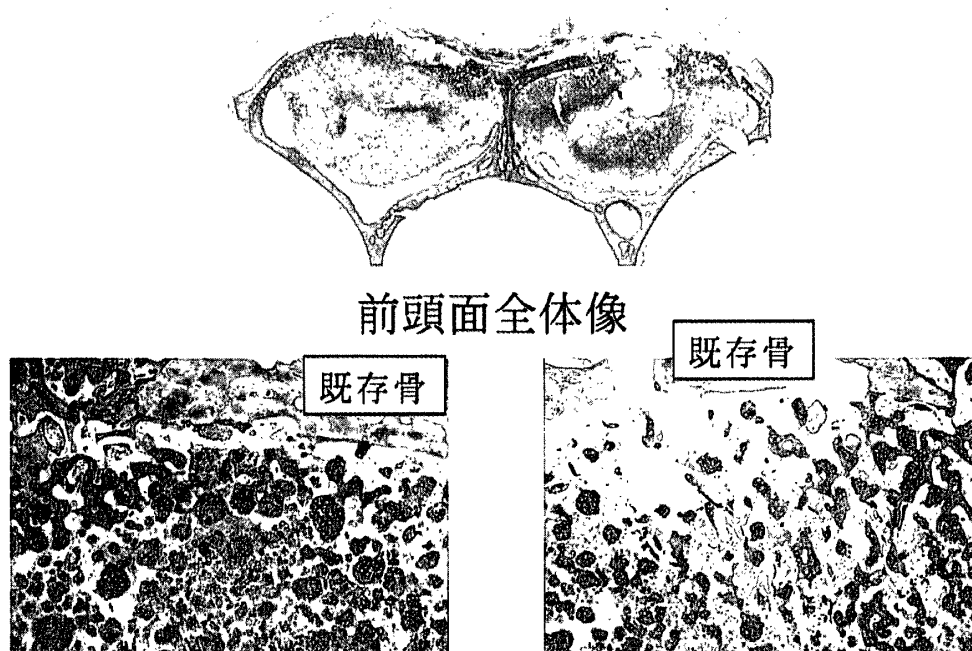


図4 移植2週間後, 塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像
(左: 対照側 右: 実験側)

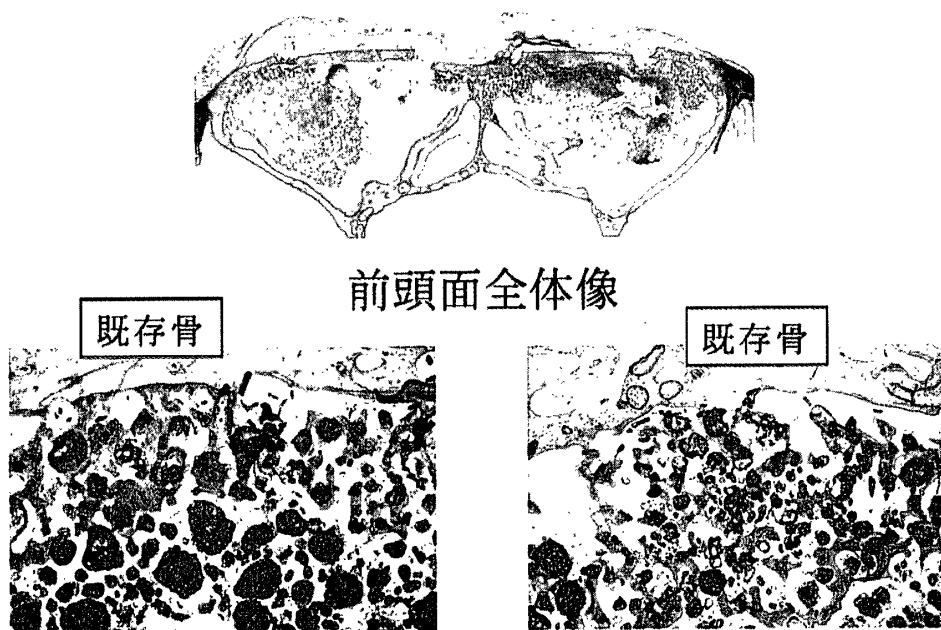


図5 移植4週間後, 塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像
(左: 対照側 右: 実験側)

れ, β -TCP顆粒の吸収はさらに進んでいた。形成骨組織は既存骨と連続し, 梁状部分は太く発達していた。挙上部は8週後と比較して, 12週と同様に形成骨量の減少が認められた。対照側においても β -TCP顆粒の吸収はさらに進行し, 既存骨と接する部分に連続した新生骨が確認された(図8)。

考 察

近年, 骨形成因子はBMP-2, BMP-7, GDF-5が組替え体の大量生産が可能になり, とくにBMP-2は生体内で優れた骨形成能を有することから, 骨欠損の修復, 骨癒合の促進などに対して, 骨移植に代わる新しい治療方法の担い手

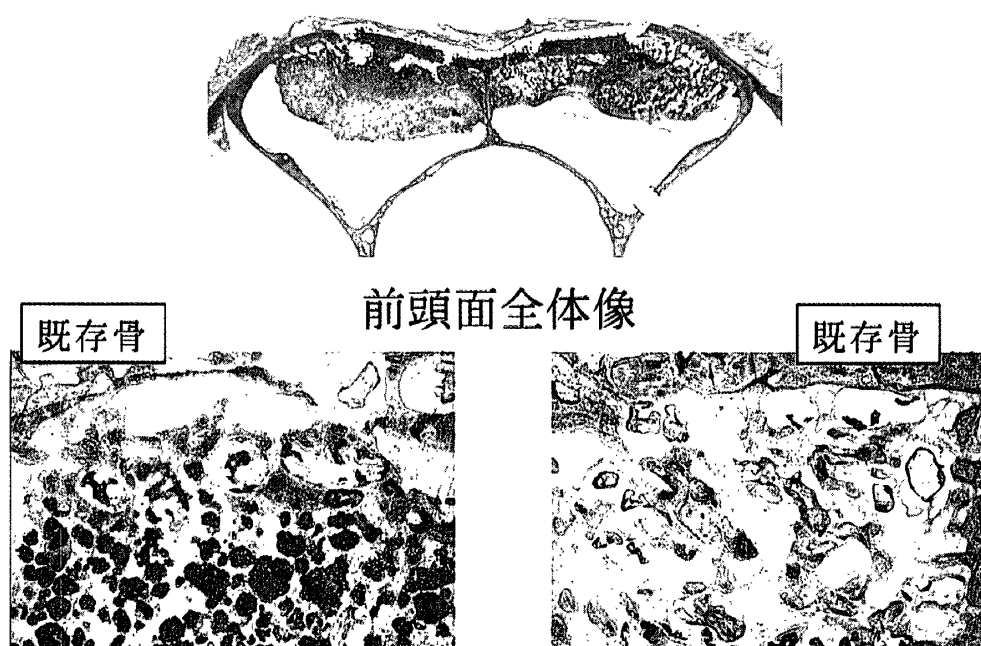


図6 移植8週間後，塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像
(左：対照側 右：実験側)

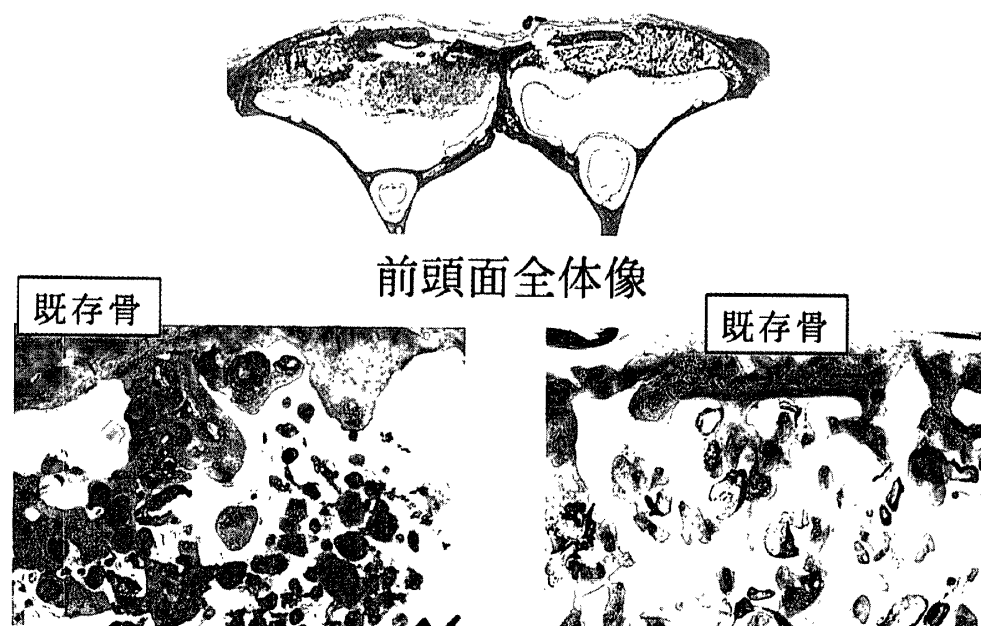


図7 移植12週間後，塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像
(左：対照側 右：実験側)

として，臨床応用の可能性が探られている^{31,32)}。歯科領域において，骨移植が適応される治療は限られているが，その一つにサイナスリフトがある。サイナスリフトでは，インプラントが埋入可能な骨量を形成するために，上顎洞粘膜を挙上した空間を満たす多量の移植材料または移植骨組織が必要となる。現在，臨床で使用され

ている自家骨^{11,12)}，ハイドロキシアパタイト^{11,13)}，凍結乾燥脱灰骨^{11,13)}などの移植材料はインプラントの埋入までに，少なくとも4ヵ月から6ヵ月の治療期間を必要とする^{14~16)}。さらに，自家骨は骨採取部の疼痛や麻痺，ハイドロキシアパタイトは生体適合性，凍結乾燥脱灰骨は免疫原性などの欠点がある。骨形成因子の応

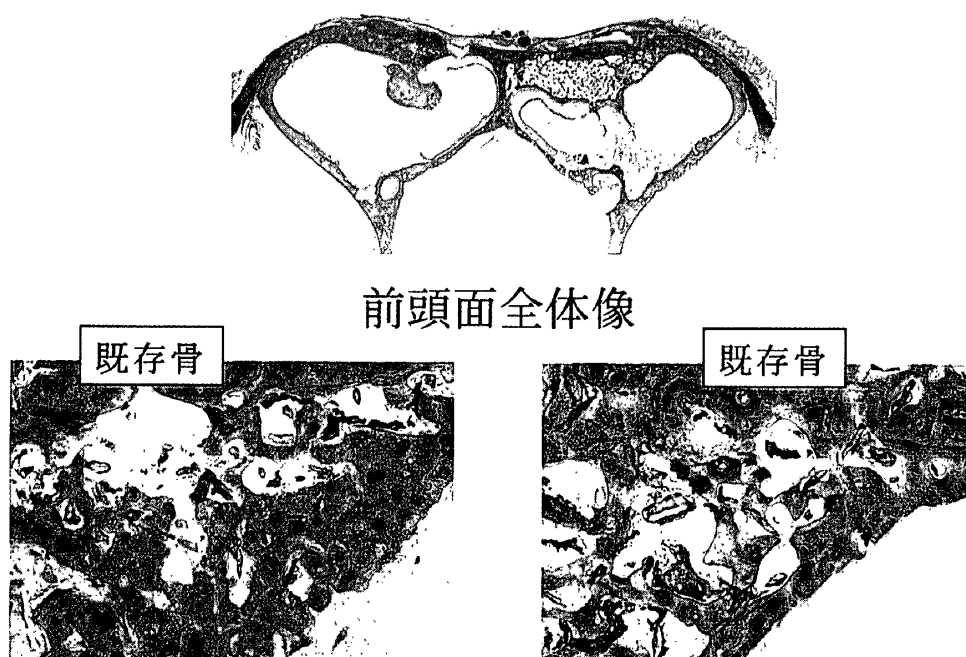


図8 移植16週間後、塩基性フクシン・メチレンブルー重染色像
(左：対照側 右：実験側)

用は、骨の再生に長期間を必要とする大きな骨欠損の治療に対して最も有効であると思われる。従来の報告において、BMPに関するサイナスリフトの移植材料への応用の試みは、Carlら¹⁹⁾、Nevinsら³¹⁾やNakamuraら³²⁾など、いくつかの報告がみられるが、GDF-5に関する研究についての報告はみられない。rhGDF-5は、組換え体のため感染の危険が無く、安全性が高く、従来の自家骨などの移植材料の問題点を解決し、サイナスリフトの移植材料への臨床応用の有用性は大きいと思われる。

本研究に使用したGDF-5は、TGF- β スーパーファミリーに属する骨形成因子で、四肢の短いマウス (brachypodism) において *Gdf-5* 遺伝子の変異により成熟GDF-5タンパク質ができていないことが、1994年にStome³³⁾によって報告され、成長分化をつかさどる因子として、growth differentiation factor-5と命名されている。また、Changら³⁴⁾は、1994年に仔ウシの関節軟骨から精製したタンパクが、in vitroでの異所性軟骨形成能力を有することを発見した。Changらはこのような骨軟骨誘導能が、従来の

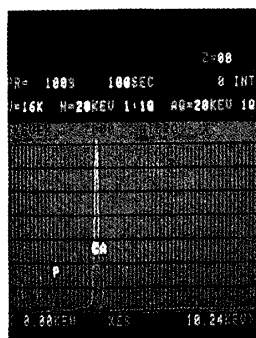
BMPの作用に類似している点に着目し、関節軟骨から得られたRNAをもとにBMPに特異的な塩基配列を持つプライマーを使用して、RT-PCRによる解析を行い、BMP-5、-6、-7と高い相同性を有する新しいBMPファミリーとして2つの遺伝子を同定し、それぞれcartilage-derived morphogenetic protein (CDMP)-1、-2と命名した。現在では、GDF-5とCDMP-1は同じタンパク質であることが明らかになっている。このように、GDF-5とCDMP-1のアミノ酸配列には、BMPファミリー(但し、BMP-1のみ除外)と同様に成熟活性部分に7つの保存されたシステイン残基の存在が確認されている。本実験に使用したMP52は、Biopharm社の遺伝子組替技術によって生産されたrhGDF-5で、成熟活性部分に7つの保存されたシステイン残基を有する。

前述のように、GDF-5の機能欠損で、マウスの短趾症 (brachypodism) を生じ、ヒトでは四肢の短縮、関節形成異常の特徴を示すハンター・トンプソン型軟骨異形成症を起こすことから、GDF-5は発生期、成長期の軟骨形成、成

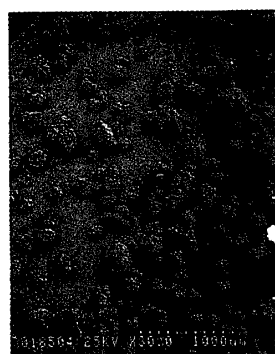
長分化に対する関与が示唆されている³⁵⁾。この推測を支持するものとして、Hottenら³⁶⁾はラットのlimb bud cell にリコンビナントのGDF-5を添加し、未分化間葉細胞の凝集と軟骨形成の促進が認められたこと、Francisら³⁷⁾はretrovirus にて、chickのlimb budでGDF-5を過剰発現させた実験で、軟骨細胞の増加と軟骨形成の促進がみられたと報告している。そして、Tsumakiら³⁸⁾は、CDMP-1遺伝子を過剰発現するトランスジェニックマウスの軟骨形成異常をin situ hybridization法などで検討し、前段階である間充織凝集ですでに認められ、同部位でchondroprogenitor cellのマーカであるIIA型コラーゲン遺伝子の発現も亢進していることより、CDMP-1は未分化間葉細胞を軟骨細胞へ誘導する作用を有することが考えられることを報告している。つまり、GDF-5 (CDMP-1) は、未分化間葉細胞を軟骨に誘導するとともに内軟骨性骨化を制御していると思われる。

GDF-5を骨形成に応用するためには、最適な担体を検索する必要がある。そこで我々はGDF-5の担体として β -TCPに着目した。 β -TCPは分子式 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ のリン酸カルシウム化合物で生体内において吸収・置換する材料である。リン酸カルシウム化合物の仲間の中では、 β -TCPは水に対する溶解度が、生体内でほとんど吸収されないハイドロキシアパタイトに次いで小さいが³⁹⁾、高純度 β -TCP (Porous type) をビーグル犬に用いた実験では、使用後24週でほぼ完全に溶解し骨に置換していると報告されている⁴⁰⁾。臨床では、整形外科を中心に硬組織腫瘍・嚢胞摘出、骨折など骨欠損部への吸収置換性補填材として広く応用されている^{41~47)}。近年、歯科領域では、 β -TCPは歯周疾患による骨欠損部の補填材として研究・臨床応用されている^{48~51)}が、骨形成因子の担体や、本来は骨の無い部位である洞内における粘膜挙上部の骨増生目的の移植材料としての研究は少ない^{8,51,52)}。また、従

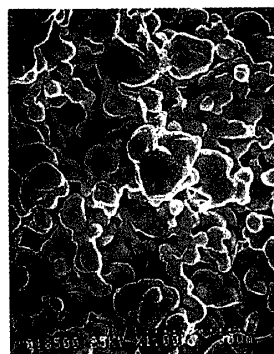
来の実験結果より、時間の経過に伴い、rhGDF-5/コラーゲン複合体では、rhGDF-5によって誘導される骨形成と、アテロコラーゲンの吸収が同時に発現する様相を示すため、挙上量が減少する傾向を示した。従って、インプラントの埋入が可能な状態になるまで、すなわち新生骨が形成、成熟するまでの一定期間は担体が吸収されないで粘膜挙上量を維持し、骨形成の場を確保する必要があると考えられた。 β -TCPは、アテロコラーゲンに比較して、分解、吸収が遅い生体内吸収置換性材料のため、これを担体を使用することで、挙上量を維持し、前頭洞内のrhGDF-5による骨形成を確実に行えると考えた。また、近年、ウシのタンパクが原因とされているいわゆる狂牛病（牛海綿状脳症）や、新変異型クロイツフェルト・ヤコブ病、古典的クロイツフェルト・ヤコブ病がクローズアップされているが、わが国においても臓器・血液製剤について特定疾患懇談会（旧厚生省）が設置されている。そのなかの資料で、ウシ由来コラーゲンを主とした薬品・化粧品を介して侵入するおそれのあるスクレイピー・プリオン蛋白を除去するためのろ過法の必要性が記載されたり、1996年に英国で問題になった狂牛病の感染経路がはっきりしないことより1996年12月までの間に英国に通算6ヵ月以上滞在した者からの献血を念のため排除するなどの対応がとられている⁵³⁾。このようにウシ由来コラーゲン製剤の安全性がはっきりしないため、CaとPを成分とした β -TCPを担体として採用した。本実験に使用した β -TCPは平均粒径 $300\mu\text{m}$ 、形状は多孔質で、 β -TCP 1 g 当たり rhGDF-5を $500\mu\text{g}$ コーティングした複合体で、その成分は定性分析でCaとPのみであることを確認している（図9）。粒径については、 $125\mu\text{m}$ 以下の大きさになると異物巨細胞により早期に吸収し骨形成のための場の確保が十分に期待できず、粒子間隔が小さすぎると新生血管が伸びにくいだけでなく、骨形成



定性分析結果



(×30)



(×1000)

図9 β -TCPのSEM像および定性分析結果

に参与する細胞も集まりにくいこと、逆に間隔が大きすぎると血餅の保持が難しいため500 μ m前後の大きさが推奨されていることより平均粒径300 μ mの β -TCPを用いた⁵⁴⁾。

本実験で、rhGDF-5/ β -TCP複合体を移植して1週後から幼若な骨様組織が観察され、4週、8週、12週、16週と経過しても挙上部位は確保され新生骨形成が確認された。担体である β -TCPは移植2週後で組織像に差が確認され、吸収に違いがあると思われた。この時期において実験側では新生骨が確認されていることより、この部分では骨芽細胞、破骨細胞によるリモデリングが存在し、それにより、破骨細胞によって β -TCPが吸収されているのではないかと思われる。rhGDF-5/コラーゲン複合体の実験に比較して挙上部分は、時間の経過後も粘膜挙上量を大部分は維持し、骨形成の場を確保していると思われた。rhGDF-5/ β -TCP複合体実験の担体に使用した生体内吸収性材料である β

-TCPは骨形成の場の確保に有効であり、吸収の速度は適切であると思われた。 β -TCPは、溶解することでPとCaが周囲組織に拡散し、rhGDF-5で誘導される骨形成に影響を及ぼす可能性が考えられる。

結 論

前頭洞内にrhGDF-5複合体を移植し、担体である β -TCP、および骨形成状態について組織学的に検討を行い、次の結論を得た。

1. rhGDF-5/ β -TCP複合体は、ビーグル犬前頭洞内に対して骨形成が可能であった。
2. rhGDF-5/ β -TCP複合体は、ビーグル犬前頭洞内移植後1週間で幼若な骨組織が観察され、2週間で既存骨と連続した新生骨組織が観察された。
3. 生体内吸収性材料である β -TCPは骨形成の場を確保するのに有効であった。

以上より、rhGDF-5はサイナスリフトの骨形成薬剤として有効であると考えられる。特にrhGDF-5/ β -TCP複合体は従来のサイナスリフトの移植材料に比較して、より速やかに洞挙上部内の骨形成を誘導することが推察され、骨採取の必要性が無く、リコンビナント製剤の骨形成タンパクであるため感染の危険性が無く大量生産が可能であり、骨形成の場を確保する材料として、臨床応用の可能性が示唆された。このことより、サイナスリフトを応用した口腔インプラント治療を行う際に、インプラント上部構造装着までに要する治療期間の短縮化と従来の移植材料の問題点を解決する可能性が考えられる。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始ご懇篤なるご指導とご高閲を賜りました恩師 坂口邦彦教授に深甚なる感謝の意を捧げるとともに、本研究の遂行にあたりご指導とご教示を頂きました越智守生

講師に心から感謝致します。また、骨形成について懇切なるご指導とご教示を賜り、本研究に用いた骨形成因子 recombinant human Growth Differentiation Factor-5 を供与して頂きました Biopharm GmbH, Managing Director, Dr. Jens Pohl に謹んで感謝の意を表します。さらに、終始温かいご支援とご協力を頂きました本学歯学部歯科補綴学第二講座、口腔病理学講座、歯科放射線学講座、口腔生化学講座、口腔外科学第二講座の諸先生方に心からお礼申し上げます。

本論文は第29回日本口腔インプラント学会(1999年7月, 札幌), 第102回日本補綴歯科学会(1999年10月, 名古屋), The American Society for Bone and Mineral Research 21st Annual Meeting (1999年10月, St. Louis, USA), 第7回顎顔面バイオメカニクス学会(2000年1月, つくば), 東日本歯学会第18回学術大会(2000年2月, 札幌), 第104回日本補綴歯科学会(2000年11月, 大阪)および3rd World Congress of Osseointegration (2001年2月, Venezia, Italy)において発表した内容を総括、編集したものである。

文 献

1. Boyne, P. J. and James, R. A. : Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone, *J. Oral Surgery*, 38 : 613~616, 1980.
2. Wood, R. and Moore, D. L. : Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 3 : 209~214, 1988.
3. Kahnberg, K. E., Nyström, E. and Baetholdsson, L. : combined use of bone grafts and Brånemark fixtures in the treatment of severely resorbed maxillae, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 4 : 297~304, 1989.
4. Adell, R., Lekholm, U., Gröndahl, K., et al : maxillae using osseointegrated fixtures in immediate autogenous bone grafts, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 5 : 233~246, 1990.
5. Small, S. A., Zinner, I. D., Panno, F. V., et al : Augmenting the maxillary sinus for implants : report of 27 patients, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 8 : 523~528, 1993.
6. Nyström, E., Kahnberg, K. E. and Gunne, J. Bone grafts and Brånemark implants in the treatment of the severely resorbed maxilla : a 2-year longitudinal study, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 8 : 45~53, 1993.
7. Krekmanov, L. : A modified method of simultaneous bone grafting and placement of endosseous implants in the severely atrophic maxilla, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 10 : 682~688, 1995.
8. Wheeler, S. L., Holmes, R. E. and Calhoun, C. J. : Six-year clinical and histologic study of sinus-lift grafts, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 11 : 26~34, 1996.
9. Keller, E. E., Van Roekel, N. B., Desjardins, R. P. et al : Prosthetic surgical reconstruction of the severely resorbed maxilla with iliac bone grafting and tissue-integrated prostheses, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 2 : 155~165, 1987.
10. 清水治彦, 日高豊彦, 渡辺孝夫, 他 : 骨補填材なしに上顎洞底骨造成術を行った1例, 日口腔インプラント誌, 7 : 32~38, 1994.
11. 梨本正憲, 津末 臺, 小林 博 : 上顎洞底挙上術に用いた骨補填材の臨床および病理組織学的検討, 日口腔インプラント誌, 11 : 393~403, 1998.
12. 澤井俊宏, 新美 敦, 山田陽一, 他 : 上顎洞底骨移植術とインプラントによる咬合再建を行った2例, 日口腔インプラント誌, 9 : 97~101, 1996.
13. 定永健男, 渡辺孝夫 : 上顎洞底挙上と同時にインプラントを行った症例, 日口腔インプラント誌, 6 : 231~236, 1993.
14. 内田雄基, 後藤昌昭, 井原功一郎, 他 : 上顎洞底に移植した骨のパノラマX線写真による評価, 日口腔インプラント誌, 11 : 183~189, 1998.
15. 陣内重雄, 井原功一郎, 後藤昌昭, 他 : 上顎洞底骨移植症例の臨床的観察, 日口腔インプラント誌, 11 : 539~543, 1998.
16. 澤 裕一郎, 竹本 隆, 川野 大, 他 : 腸骨皮質海綿骨ブロックによる両側サイナスリフト法の評価, 日口腔インプラント誌, 12 : 233~237, 1999.

17. 岡 幸宏, 石割裕三, 劉 桂蕾, 他: マウス皮下組織におけるBMP-I型アテロコラーゲン複合体による硬組織誘導とコラーゲン遺伝子の発現, 日口腔インプラント誌, 11: 198~206, 1998.
18. 宮園浩平: 細胞増殖因子の作用と疾患, 羊土社, 1998.
19. Head, C. A., Nevins, M., Palmer, R., et al: A new animal model for maxillary sinus floor augmentation: Evaluation parameters, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 12: 403~411, 1997.
20. Hötten, G., Neidhardt, H., Jacobowsky, B. et al: Cloning and expression of recombinant human growth/differentiation factor 5, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 204: 646~652, 1994.
21. 荒川雄司: 前頭洞骨充填手術の実験的並びに臨床的研究, 米子医誌, 13: 341~372, 1962.
22. 梶本忠保, 田辺俊一郎, 作 誠太郎, 他: 骨増生能力を応用したインプラント植立の基礎的検討, 日口腔インプラント誌, 11: 207~214, 1998.
23. Jovanovic, S. A., Spiekermann, H. and Richter, E. J.: Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscence defect sites: a clinical study, *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 7: 233~245, 1992.
24. 三浦留貴: 組織誘導再生法における膜の孔径が骨形成に及ぼす影響, 九州歯科学会誌, 48: 716~734, 1994.
25. Squier, C. A. and Collins, P.: The relationship between soft tissue attachment, epithelial down-growth and surface porosity, *J. Periodont. Res.*, 16: 434~440, 1981.
26. 田口直幸, 草刈 玄, 高野吉郎: GTR法による骨増生に関する形態学的研究, 補綴誌, 38: 596~610, 1994.
27. 田崎 昂: 接着剤による骨接合に関する実験的研究, 北海道整災誌 9: 170~183, 1964.
28. Shigino, T., Ochi, M., Kagami, H., et al: Application of capacitively coupled electric field enhances periimplant osteogenesis in the dog mandible, *The Int. J. Prosthodont.*, 13: 365~372, 2000.
29. 清野和夫: 硬組織標本の作製法II —非脱灰硬組織研磨標本の作製法を中心に—, *Medical Technol.*, 15: 1087~1091, 1987.
30. 清野和夫: 硬組織未脱灰標本の染色法について, 衛生検査, 25: 822~828, 1976.
31. Nevins, M., Kirker-Head, C., Nevins, M., et al: Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2, *Int. J. Periodont Rest Dent.* 16: 9~19, 1996.
32. Nakamura, A. and Boyne, P. J. Osseous reconstruction of the maxillary sinus floor with rh BMP-2, *the Quintessence Year Book* 1997, 10~13, 1997.
33. Stome, E. E.: limb alterations in brachypodism mice due to mutation in a new member of the TGF- β superfamily, *Nature*, 368: 639~643, 1994.
34. Chang, S. C., Hoang, B., Thomas, J. T., et al: Cartilage-derived morphogenetic proteins, *J. Biological Chemistry*, 269: 28227~28234, 1994.
35. 中瀬尚長, 富田哲也, 吉川秀樹, 他: CDMP-1/GDF-5と軟骨形成, 整・災外, 42: 937~943, 1999.
36. Hötten, G., Matsumoto, T., Kimura, M., et al: Recombinant human growth/differentiation factor 5 stimulates mesenchyme aggregation and chondrogenesis responsible for the skeletal development of limbs, *Growth Factors*, 13: 65~74, 1996.
37. Francis-West, P. H., Abdelfattah, A., Chen, P., et al: Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development, *Development*, 126: 1305~1315, 1999.
38. Tsumaki, N.: Role of CDMP-1 in skeletal morphogenesis; promotion of mesenchymal cell recruitment and chondrocyte differentiation, *J. Cell Biol.*, 144: 161~173, 1999.
39. 青木秀希: 驚異の生体物質アパタイト, 医歯薬出版, 11, 1999.
40. 小澤正宏, 富田泰次, 斉藤清人, 他: 超高純度 β -TCPによる広範囲骨欠損部補填に関する実験的研究, 日整会誌, 63: 1278, 1989.
41. 浅沼和生, 増井文昭, 小澤正宏, 他: 骨腫瘍に対する β -TCPの臨床応用, 日整会誌, 74: 90, 2000.
42. 宮内義純, 三井宣夫, 大串 始, 他: 各種人工骨による良性骨腫瘍の治療, 日整会誌, 71: 1164, 1997.
43. 鶴狩善一, 高田警嗣, 舟崎裕記, 他: 血友病Bの腫骨偽腫瘍に対して高純度 β -TCPを応用した1例, 関東整災誌, 22: 549~552, 1991.
44. 富井信之, 高居欣治, 大内岳彦, 他: 顎骨欠損に

- 対する β -TCPブロック移植術の臨床成績, 口科誌, 45: 491~496, 1996.
45. 森川 茂, 蔡 詩岳, 小澤正宏, 他: 人工骨充填材としての高純度 β -TCPとHAPとの比較検討, 日整会誌, 72: 1588, 1988.
46. 小澤正宏, 室田景久, 富田泰次, 他: 骨欠損部に対する高純度 β -TCPの臨床応用, セラミックスの臨床応用, 137~141, 1990.
47. 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: 167~174, 1995.
48. 横山信之, 三辺正人, 菅谷 彰, 他: 歯周治療への β -TCPの応用—第一報—メカノケミカル法で合成した β -TCPの諸性質とその生物学的安全性について, 日歯周誌, 31: 213~223, 1989.
49. 大滝晃一, 町田裕哉, 長谷川 明, 他: 歯周治療への β -TCPの応用—第二報—メカノケミカル法で合成した β -TCPの臨床成績—, 日歯周誌, 32: 861~875, 1990.
50. 大滝晃一, 町田裕哉, 長谷川 明: 歯周疾患による骨欠損部への β -TCPの応用, 歯学, 77: 1912~1919, 1990.
51. 入江 修, 室野井基夫, 田中 収, 他: Tricalcium phosphate ceramicを用いたsinus lift後の組織学的観察, 日口腔インプラント誌, 11: 241~246, 1998.
52. Moy, P. K., Lundgren, S. and Holmes, R. E.: Maxillary Sinus Augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 51: 857~862, 1993.
53. 保健医療局: 医源性クロイツフェルト・ヤコブ病に関する調査報告について, 報道発表資料, 東京: 厚生省, 2000.
54. 山本浩正: 骨移植材のお話—骨のバイオロジー—PART IV, *The Quintessence*, 19: 161~171, 2000.