

加熱処理が球状ハイドロキシアパタイトの 骨欠損部での骨伝導能に与える影響

渡邊 敏之¹, 二宮 禎², 細矢 明宏¹, 森山 敬太³, 佐原 紀行^{1,2},
小澤 英浩^{1,2}, 溝口 利英², 佐伯 達哉⁴, 伊藤 充雄⁵

¹松本歯科大学 口腔解剖学第二講座

²松本歯科大学 総合歯科医学研究所

³松本歯科大学 歯学部

⁴積水化成工業株式会社

⁵松本歯科大学 歯科理工学講座

The Effects of Heat Treatment of Spherical Hydroxyapatite Particles on Osteoconductivity in Bone Defects

TOSHIYUKI WATANABE¹, TADASHI NINOMIYA², AKIHIRO HOSOYA¹, KEITA MORIYAMA³,
NORIYUKI SAHARA^{1,2}, HIDEHIRO OZAWA^{1,2}, TOSHIHIDE MIZOGUCHI²,
TATSUYA SAEKI⁴ and MICHIO ITO⁵

¹*Department of Oral Histology, Matsumoto Dental University School of Dentistry*

²*Institute for Oral Science, Matsumoto Dental University School of Dentistry*

³*Matsumoto Dental University School of Dentistry*

⁴*Sekisui Plastics Co., LTD.*

⁵*Department of Dental Materials, Matsumoto Dental University School of Dentistry*

Summary

Hydroxyapatite (HAP) shows different characteristics depending on the sintering temperature. However, the effects of the heat treatments on bone formation ability in bone defects have not been well elucidated.

To develop bone filling materials having higher tissue affinity and superior bone conductivity, we attempt in this study to clarify the histological processes of osteosynthesis and osteogenesis in response to various heat-treated spherical HAP particles filled in bone defects.

Spherical-shaped HAP particles (ca/p of more than 1.7) were heat-treated at 800°C and 900°C for 60 and 1440 minutes. Each HAP particle was examined in bone defects (diameter 3mm) surgically created in the calvaria of male rats. Demineralized sections were made and observed by light microscopy. Some non-demineralized specimens were examined by

scanning electron microscopy. At 7 days after implantation, new bone formation occurred from the surface of bone defected cavity in all experimental groups. At 14 days, newly formed bone was observed only around the HAP particles heat-treated at 800°C for 1440 minutes (the 800/1440 group). Bone formation of the 800/1440 groups was more rapid than in the other experimental groups. Furthermore, in the 800/1440 group, the number of TRAP positive multinucleated cells (osteoclast-like cells) resorbing HAP particles was much greater than that in other experimental groups throughout the experimental period.

These results demonstrate that 800/1440 HAP particles have superior osteoconductivity and bioresorbability and suggest they may be useful as a filling material for bone defects.

緒 言

骨折等を原因とする骨欠損部位が自然治癒によって本来の骨組織で充填されるには、きわめて長い期間を必要とし、欠損状況によっては本来の骨形態を完全に回復するのは困難である。また、歯周疾患に起因して生じた歯槽骨欠損は自然治癒によって形態回復を期待することはできず、咀嚼機能や審美性に問題が生じることも多い。したがって、このような骨欠損部を補填でき、なおかつ新生骨の形成誘導を図ることができる人工材料に期待がかけられている。現在、さまざまな材料が試みられているが、ことに小欠損部位には、ペースト状の補填材を欠損部に充填する方法が有効であると考えられている。そこで我々はこれまでに、さまざまな球状合成ハイドロキシアパタイト（以下 HAP）顆粒のペーストを骨補填材として用いた動物実験を行ってきた。

その結果、顆粒の直径に関しては、顆粒が小さい場合は充填部位から移動し骨形成誘導能をなさず、直径 20 μm 以上の顆粒が骨補填材として有効であることが示唆された¹⁾。また、焼成条件による骨補填材の化学的性質変化に注目し、焼成温度と焼成時間の異なる HAP 顆粒の生理食塩水中における、溶出イオンと pH の変化について比較検討した結果、焼成温度が高く時間が長い HAP 顆粒ほど、Ca イオンの溶出量が多く pH が高まる傾向があった。また、pH が 10 を超える場合でも、顆粒状合成 HAP は骨伝導能を有することが動物実験の結果から明らかになった²⁾。

HAP は焼成温度や焼成時間により、その表面形態だけでなく、結晶状態、Ca、P の溶出量、あるいは pH 等が変化することについては多くの報告がある^{3), 4), 5)}。またこの変化はすべての HAP

で同様の傾向は示さず、Ca/P のモル比によってその傾向が異なっている。我々が今回実験に用いた顆粒状合成 HAP の Ca/P モル比は 1.7 以上であり、焼成温度が高くなるほど Ca イオンの溶出が多くなるが、P イオンの溶出は少なくなった。また、焼成処理を行わない顆粒状 HAP では pH は 7.6 とほぼ中性であるのに、焼結した HAP は pH 10~11 のアルカリ性を示した。さらに、焼成温度が高いもの、焼成時間が長いものほどこの傾向は顕著であった^{1), 6)}。最近になり、生体内の Ca、P イオン濃度が破骨細胞や骨芽細胞に影響を与えている報告や、pH や電荷等も骨改造に関与している可能性が示唆されている^{4), 7), 8)}。しかしながら、焼成温度あるいは時間が組織親和性や骨伝導性にどのような影響を及ぼすのかについては、組織形態学的な報告が乏しく詳細は明確ではない。

そこで今回、焼成温度や焼成時間により性質が変化した様々な合成 HAP 顆粒を、ラット頭頂骨に外科的に形成した骨欠損部に埋入後、経時的組織学的変化を検索した。その結果、HAP 顆粒の焼成条件の相違が及ぼす骨伝導能への影響が明らかとなり、本研究は、より優れた骨補填材開発を進めるに当たっての基盤的研究としての意義をなすものと思われた。

材料と方法

実験材料

直径 40 μm 球状の HAP 顆粒（積水化成、Ca/P モル比 1.7 以上）を用いた。HAP 顆粒は 800°C と 900°C でそれぞれ 60 分間と 1440 分間（24 時間）加熱処理したもの 4 群（以下各加熱処理群を 800/60 群、800/1440 群、900/60 群、900/1440 群とする）、及び未処理の HAP 顆粒（以下 AS 群）を生理食

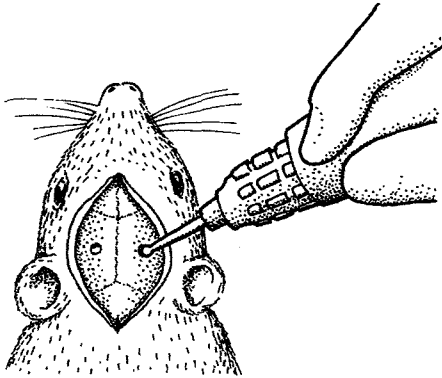


図1：左右の頭頂骨をラウンドバーで切削し、直径2.3 mm、深さ約0.5 mmの枕状欠損を生じさせ、同部をHAP顆粒で充填した。

塩水で錬和して用いた。

実験方法

6週齢SDラット（雄性）60頭をネブタール腹腔内投与により麻酔し、頭部皮膚、骨膜を切開、左右の頭頂骨中央部にラウンドバーで切削した直径2.3 mm深さ約0.5 mmの2つの骨欠損部を形成した。骨欠損部にそれぞれの実験群の球状ハイドロキシアパタイト顆粒を充填埋入し、処置後、骨膜・皮膚を縫合した（図1）。なお、同様な処置を行い、骨欠損部に何も充填しないものを対照群（以下Cont.群）として用いた。ラットは処置後、1日、3日、5日、7日、14日、21日、28日後に屠殺し、頭頂骨を摘出後、骨欠損部が中央になるように細切し、4%パラフォルムアルデヒドで20時間あるいは10%中性ホルマリンで1週間浸漬固定した。

試料作成および観察方法

組織学および組織化学的観察

4%パラフォルムアルデヒドで固定した試料は、EDTA溶液中で4週間脱灰を行った。脱灰完了後、アルコール系列で脱水・パラフィン包埋し、5 μmの連続切片を作成した。各切片はヘマトキシリン・エオシン染色（以下H.E.）及び酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ（以下TRAP）の活性染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

走査型電子顕微鏡による観察

固定後、試料はアルコール系列で脱水、未脱灰でエポキシ樹脂に包埋した。包埋試料は骨欠損部

中央が露出するまで研磨後、さらに鏡面研磨し、カーボンコーティング後、Back scattered electron photo micrographic images（以下BSE）で観察した。

また骨欠損部表面観察のため、試料の一部は一塊のまま5%次亜塩素酸水溶液中に浸漬することで有機質を除去し、超音波洗浄後アルコール系列で脱水した。その後、試料はブタノールで置換・凍結乾燥し、骨欠損部が表面になるようにカーボン板に接着後、金コーティングを施し、走査型電子顕微鏡（以下SEM）で骨欠損部の表面形態を観察した。

結 果

1. BSEによる骨欠損部の石灰化組織所見

図2は処置後5日から28日までの対照群と各実験群のBSEの所見を示した。すべての試料は形成された骨欠損部のほぼ中央の横断像である。

非脱灰標本のため、すべての実験群では骨組織と充填した球状HAP顆粒は白い不透透部として見ることができる。ほとんどの実験群では、処置後5日から28日まで、充填したHAP顆粒は移動することなく骨欠損部に保持されていた。

処置後5日まではすべての実験群で新生骨の形成は認められなかった。しかし、処置後7日になると、800/1440、と900/1440群の骨欠損部の辺縁で新生骨の形成が認められるようになった。処置後21日以降では、すべての実験群で切削部の辺縁から新生骨組織の形成が認められた。中でも早期から骨形成が認められた800/1440と900/1440群では骨欠損部中央にあるHAP周囲にも骨形成がみられ、処置後28日には、これらの実験群では骨欠損部が新生骨によってほとんど埋められている所見も得られた。

これらの実験群の処置後21日のBSE所見を拡大して観察すると、800/1440群では、骨欠損部の辺縁での新生骨形成以外に、骨欠損部の中央に散在する多数のHAP顆粒を取り囲んだ新生骨の形成が認められた（図3A, B）。一方、900/1440群では骨欠損部の辺縁において著しい新生骨の形成は認められたが、HAP顆粒を取り込んだ新生骨はほとんど観察されなかった（図3C, D）。

2. SEMによる骨欠損部の表面形態所見

骨欠損部表面の経時的な変化は、BSEによる

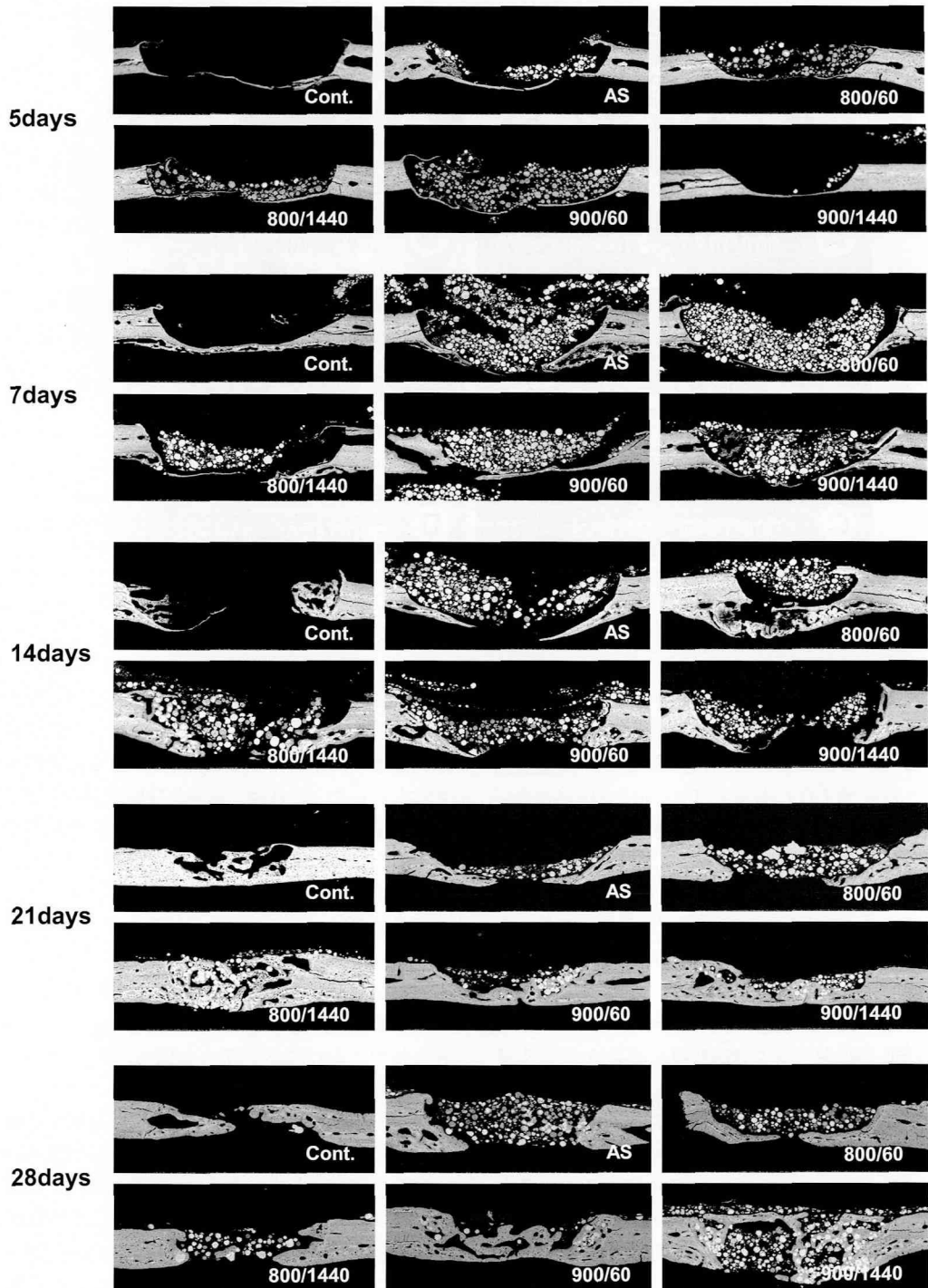


図2：5日～28日目における各実験群のBSE像。骨とHAP顆粒は白い不透過像として観察される。焼成条件の異なるHAP顆粒の中で800/1440群と900/1440群は比較的形成量が多かった。

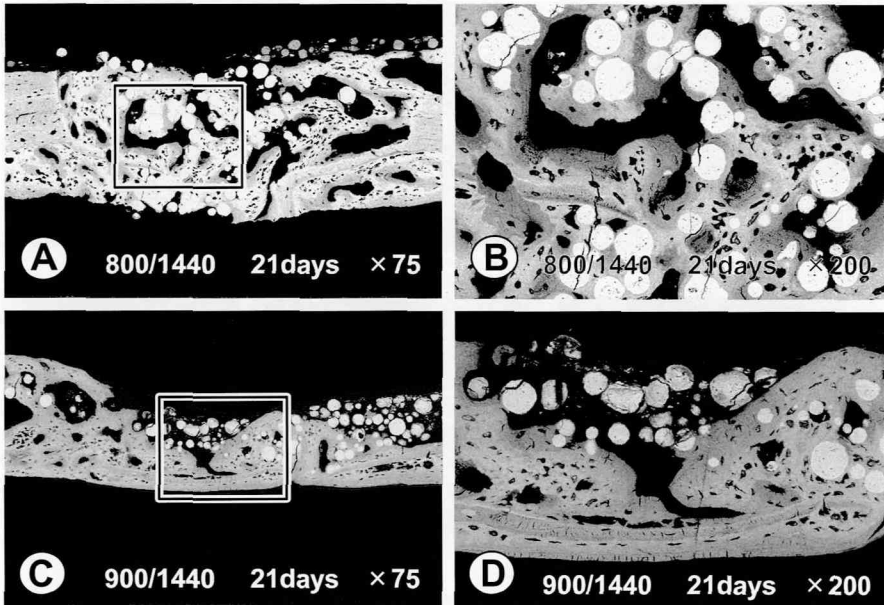


図3：21日目における800/1440群と900/1440群のBSE拡大像。A、Cは75倍、四角の範囲内を200倍に拡大した像がB、D。800/1440ではHAP顆粒を包含した骨組織が多く形成されているのに対し、900/1440群では顆粒をあまり含まない骨組織が多く形成された。

観察所見とほぼ同様な結果が得られた。処置後5日まではすべての実験群で骨の形成は開始されておらず、処置部分は切削時の形態を保持していた。処置後7日になると800/1440と900/1440群では、骨欠損部の底面および側面で新生骨の形成が認められた。処置後21日以降になるとすべての実験群で新生骨の形成が開始していたが、骨欠損部に占める新生骨の量は僅かであった。処置後28日になると、800/1440と900/1440群では骨欠損部の表面は新生骨の層で覆い尽くされ、切削時の表面形態はまったく認められなくなっていた。

BSEの所見の中でHAP顆粒を含んだ新生骨（矢印）が最も多く形成された800/1440群の骨欠損部の経時的表面形態変化を図4に示す。処置後1日では、処置部分は切削時の形態を保持していた（図4A）。しかし処置後7日になると、骨欠損部の側壁に明らかな新生骨が形成されていた（図4B）。処置後14日では、新生骨の形成は切削部の辺縁から中央に向かって形成されていた。また、これらの新生骨には無数の小孔が観察され、一部ではHAP顆粒が認められた（図4C）。処置後21日以降は、新生骨の形成はさらに進み、一部では、骨欠損部の上方表面でも新生骨の形成

も観察された（図4D）。BSE所見で観察された骨欠損部中央のHAP顆粒を多数包含した新生骨に関しては、今回のSEM所見ではほとんど観察されなかった。これは、試料作成時に過度の超音波洗浄を行ったため、HAP顆粒と周囲の新生骨が一塊となり脱落してしまった可能性も考えられる。

3. 組織学的および組織化学的所見

1) H・E染色所見

顆粒を充填した実験群ではHAP顆粒は脱灰によって消失し、白い空隙となっていた。実験群の骨欠損部におけるそのような円形の空隙の周辺は、処置後初期には赤血球によって満たされていたが、やがてエオシン淡染性の線維性組織が形成された。この組織中には、線維芽細胞様細胞・白血球系の細胞が多く、肉芽様組織の組織学的特徴を呈していた。800/1400と900/1440群では処置後7日から骨欠損部辺縁からエオシン濃染性の新生骨組織が形成され始めた（図5A）。これらの実験群では、処置後14日以後は切削部位の辺縁から新生骨が顕著に増加した（図5B）。また、処置後14日から21日では骨欠損部のHAP顆粒周囲にはマクロファージ様細胞が多く出現していた（図

800/1440

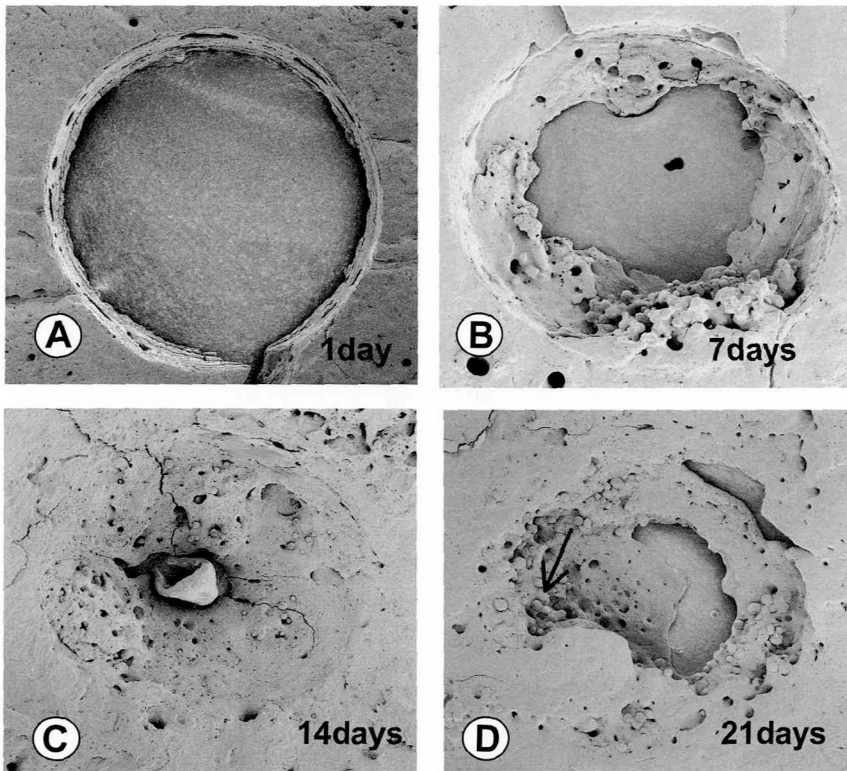


図4：800/1440群の表面形態の変化を示すSEM像. 7日目から欠損部辺縁から新生骨組織が生じ，経時的に周辺から中央に向かって形成が進んだ.

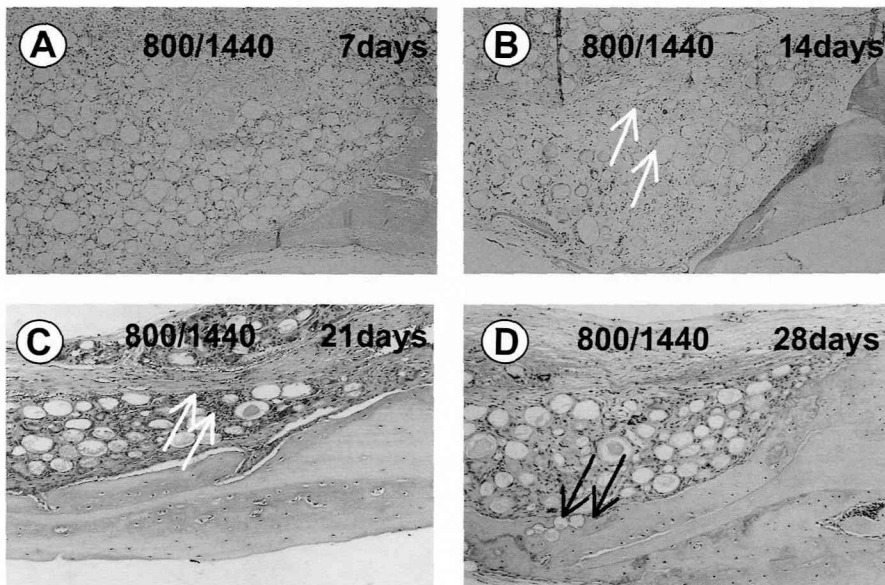


図5：800/1440群のH.E染色像. HAP顆粒は丸い空隙として見られる. 7日目までは肉芽様組織が大部分を占め，わずかに骨形成が開始されている. 顆粒周辺にはマクロファージ様細胞が集積し（白矢印），やがて顆粒が骨組織に取り込まれる（黒矢印）.

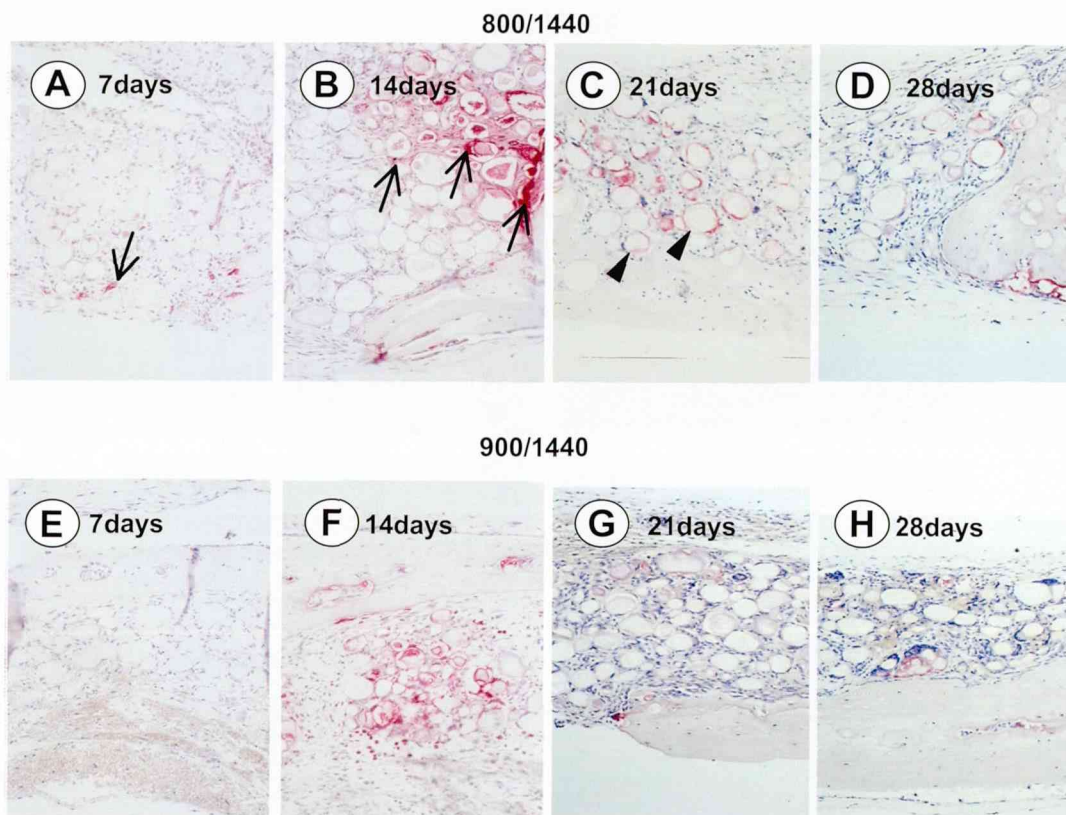


図6：800/1440群（A-D）と900/1440群（E-H）のTRAP染色像．800/1440群では顆粒周囲にTRAP陽性細胞（矢印）の集積が顕著で、欠損部の辺縁から中心部へ浸潤し、顆粒の表面（矢頭）にもTRAPが発現している．それに対し900/1440群ではTRAP陽性細胞数が少なく、発現は辺縁部に限局している．

5 C)．特に880/1440群では、処置後21日以後HAP顆粒を包含している新生骨が骨欠損部に広範囲に見られるようになった（図5 D）．新生骨の形成開始時期や形成量の違いは認められたが、AS、800/60、900/1440群ではほぼ同様な傾向を示した．一方、900/1440群では、HAP顆粒をほとんど含まない新生骨組織の層が骨欠損部表面に形成されていた．

2) TRAP 活性染色所見

次に骨欠損部での破骨細胞の動態を検索する目的で、TRAP 活性染色を行った．すべての実験群で、処置後7日からTRAP陽性の単核および多核の細胞（矢印）が骨欠損部辺縁に隣接したHAP顆粒周囲に出現した（図6 A, E）．処置後14日から21日では、TRAP陽性細胞の数が次第に増大した．この時期のTRAP陽性細胞の数は800/1440群で顕著に多く、TRAP活性はHAP顆粒を

囲んでいる単核および多核細胞だけでなくHAP顆粒の表面（矢頭）でも認められた（図6 B, C）．すべての実験群では、処置後28日になるとTRAP陽性細胞数は激減し、骨欠損部辺縁のHAP顆粒周囲にわずかに認められるだけであった（図6 D, H）．TRAP陽性細胞数が目立って多かった800/1440群では、HAP顆粒の周囲に新生骨の形成が認められ、一部のHAP顆粒は新生骨基質に埋入された．実験群の中ですべての実験期間を通してTRAP陽性細胞の数が最も少なかったのは900/1440群であった．この実験群では、TRAP陽性細胞はHAP顆粒の周囲により骨欠損部の切断面に隣接した部位に多かった．

考 察

一般に骨折などによる骨欠損が治癒する際、初期には欠損部に血腫が生じ、やがて線維性肉芽組

組織の過程を経て新生骨組織が形成され、欠損が修復される。通常は、その間4週間以上を要するとされている。一方、歯周炎などを原因とする歯槽骨の欠損の場合は、原因となる炎症の消失後も骨の形態回復は困難である^{9),10)}。しかしながら、欠損が生じた時点で、同部を骨に代わる材料で補填し、かつ補填材を包含した迅速な治癒過程が期待できれば歯槽骨の形態回復が可能である。

我々は、これまでに骨基質の成分と同質で生体親和性に優れたHAP顆粒に着目し、骨欠損部への補填材料として用いる手法を検討してきた。HAPは焼成により高い硬度を付与できるため、これにより欠損部を充填することで初期には再現した形態を保持でき、組織間隙を満たすことで新生骨の形成を迅速にする。さらには組織内での吸収が容易なため、骨再生後あるいは再生に伴って吸収され、治癒過程で骨に置換されることが期待できる材料である^{1),2),11)}。

今回、切削部にHAP顆粒を充填したものは、いずれも充填から28日後に至るまで、顆粒が定着し欠損箇所を補填することにより形態を保持できた。その間に切削部にはコントロール同様に新生骨も形成された。このことから、HAP顆粒によって骨新生に至るまでの形態保持をなしていたと考えられる。ただし、骨補填材に求められる機能としては形態保持だけでなく、生体親和性に優れた新生骨の伝導能が高いことも重要である。その性質を左右する因子として焼成処理の際の温度と時間がある。

今回の実験ではASをはじめ、その他の焼成条件による顆粒の場合にも新生骨が形成されたが、900/1440、900/60、800/1440群は形成開始が早く、かつ形成量が多かった。これらは、焼成温度と時間の点から、結晶性が高くHAPの純度が高い群である。これらの焼成条件の顆粒は表面が粗造で²⁾周辺へのカルシウム溶出量が多い。HAP顆粒は焼成条件によって結晶構造に相違が生じるが、一般に高温で長時間焼成したものほど、結晶性が高まり機械的強度が増すほか、今回の材料の場合、高温で焼成したHAPほど、Caイオンの析出量が多い¹⁾。また、焼成時に顆粒内部からCaOが放出されることによって、顆粒表層のHAPの分子構造に歪みが生じると考えられている。このような分子の歪みは顆粒表面の物理的活

性を左右する因子となり、焼成温度・時間の相違はこの活性に違いをもたらす³⁾。また、高温で長時間焼成した顆粒は表面性状が粗造になり、顆粒の表面積/体積の比が大きくなる。さらに、焼成温度が高く、焼成時間が長い顆粒ほど、HAP純度が高まる一方で可溶性が増し、それに伴って周辺環境のpHが生理的な範囲を超えて高まる傾向もある。これまでの所見では、pH10を超える場合でも骨形成誘導能があることが確認されているが²⁾、焼成温度・時間の相違がこうした組織内のpHに与える影響も、新生骨形成に関与しているものと思われる。岩田¹²⁾はウサギ脛骨を用いた実験で、カルシウム溶出が多いHAPを埋入した実験群は骨形成量が多いことを示している。今回の実験でも、高温あるいは長時間の焼成処理をした実験群のほうが比較的高い骨形成誘導能を有していたのは、溶出するCaが多いことも関与しているものと思われた。また、溶出するCaが多いほど多核巨細胞の出現が多いという報告¹²⁾もある。

TRAP活性染色所見では、800/1440群は14-21日におけるTRAP陽性細胞の出現が顕著であった。これらの細胞は炎症性の異物処理に関与している可能性も考えられるが、通常の炎症性異物巨細胞の出現は、異物の侵入後3日前後の比較的早期にピークが見られ、処理後は出現数が急激に減少する。また、異物を処理できない場合は線維芽細胞によって被包がなされる。今回、TRAP陽性細胞の出現のピークは14-21日後と比較的遅い時期であり、この時期に一致して骨組織の形成が進んだ。このことからこれらのTRAP陽性細胞が炎症性異物巨細胞とは考えにくい。この細胞の出現は骨表面からHAP顆粒表面へと波及していったが、初期においてこのように顆粒を取り巻くことによって、後に同所に出現する骨芽細胞の機能に影響をなしている可能性が考えられた。さらにTRAP陽性細胞の分布変化をみると、これらは骨切削面付近から出現し切削部中央へと進展した。したがって、このTRAP陽性細胞は異物処理よりも骨リモデリングに関与している破骨細胞系の細胞である可能性が高い。骨リモデリングには破骨細胞と骨芽細胞のcouplingが重要であり、例えばcoupling factorとしての機能が示唆されているカルシウム化合物としてtricalcium phosphate^{13),14)}が報告されている。今回の実験に

用いた HAP 顆粒にもそれに類する因子が含有されている可能性が考えられる。ことに 800/1440 群は TRAP 陽性細胞出現数が多く、14-21 日では特に顆粒の周囲に分布していた。それに対し、900/1440 群では出現数が少なく、21 日からは新生骨の形成面に分布するに留まっていた。焼成温度が低い場合は、顆粒中に含まれる HAP 以外のカルシウム化合物の残存量が多く、800/1440 群ではそのような成分が、破骨細胞と骨芽細胞の coupling に関与していることが推察された。

BSE や H. E. の所見でも 800/1440 群では、新生骨組織の中に顆粒が取り込まれ、顆粒によって架橋された組織形態をとる傾向が見られた。それに対して 900/1440 群は形成量が比較的多いものの、切削部位辺縁の既存骨から進展する形で新生骨組織が生じており、そのような骨組織には顆粒をあまり含んでいなかった。新生骨組織中に顆粒が含まれることの意義については、検討の必要があるが、結晶性の高い顆粒であれば骨組織を架橋することによって強度の保持に寄与する可能性がある。少なくとも、骨欠損を生じた初期段階においては、補強回復ができるという点で、こうした顆粒を含んだ骨組織が迅速に形成されれば、欠損補填の意義がある。

また、従来知られている破骨細胞の機能として、カテプシン K とプロトンを分泌することで、骨基質中の Type I コラーゲンと HAP を溶解する^{15), 16), 17)}という点がある。今回の実験では 28 日目に TRAP 陽性細胞の数は減少しているものの、充填していないコントロールに比べ顆粒を充填した群は、いずれも TRAP 陽性細胞数が高く推移している。これらはこの後、顆粒の吸収に作用する可能性もある。永原¹⁸⁾は、軟組織に HAP を埋入した場合、低温焼成した HAP は高温焼成のものに比べ、経日的な材料の縮小傾向が強く、8-12 週目から多核巨細胞による貪食が見られたと報告している。今回の実験は 28 日までの初期段階を観察しているが、さらに長期にわたる経過観察を行えば顆粒の吸収状況にも差が現れる可能性が考えられる¹⁸⁾。HAP 顆粒は生体親和性に優れているものの、充填した骨補填材は本来異物であり、欠損部に恒久的に存在し続けることは好ましくない。新生骨の形成に伴い吸収され、本来の骨組織に置換されるべきである。このことから

考えると、比較的低温で焼成した顆粒のほうが骨組織への置換が容易である可能性が高い。しかしながら、未焼成のものは機械的強度の点から補填材としては適さないとされており¹⁹⁾、骨形成誘導能の観点から見ても、ある程度以上の温度と時間で焼成処理したもののほうが、優れていると思われる。

以上の所見から、骨形成量が比較的多く、しかも形成した骨組織内に顆粒を包含する傾向が強いという点で、今回骨補填材として用いた 5 種類のハイドロキシアパタイト顆粒の中では 800/1440 群が、最も有用性が高いことが示唆された。ただし、今回の実験部位は頭蓋冠であり、四肢骨や顎骨など、他の部位での欠損補填に関しては、最適な焼成条件に差異が生じる可能性もあり、欠損部位による最適焼成条件の検討も今後の課題である。

結 論

骨欠損部の補填を目的とし、焼成条件の異なる 800/60 群、800/1440 群、900/60 群、900/1440 群及び未焼成群の HAP 顆粒を作製した。それらをラット頭頂骨に外科的に生じさせた骨欠損部に充填し、治癒過程を経時的に観察した。そして BSE による石灰化組織所見・SEM による表面形態所見・H. E. と TRAP による組織学及び組織化学的所見について検討を行った。その結果を次のように総括する。

(1) AS を含むすべての実験群で、処置後、7-14 日で骨欠損部辺縁に新生骨の形成が開始していた。

(2) 実験群の中で、新生骨の形成量が多かったのは 800/1440 と 900/1440 群であった。

(3) 800/1440 群は新生骨に HAP 顆粒を包含していたが、900/1440 は HAP 顆粒をほとんど含まない新生骨が骨欠損部辺縁で形成されていた。

(4) HAP 顆粒周囲に TRAP 陽性細胞の集積が認められた。特に 800/1440 群では TRAP 陽性細胞数が顕著に多く顆粒表面にも反応が見られた。

(5) TRAP 陽性細胞の出現数と新生骨形成量については相関性が認められ、何らかの Coupling 現象があることが示唆された。

(6) 800/1440 群の HAP 顆粒は osteoconductivity と bioresorbability に優れ骨欠損部の補填材

として有用性が期待できる。

文 献

- 1) 岸 裕治, 矢ヶ崎 裕, 倉本弘樹, 吉田貴光, 関口裕司, 植野普一郎, 山根 進, 伊藤充雄 (2003) ラット頭蓋骨におけるハイドロキシアパタイトと非結晶リン酸カルシウムの骨形成の組織所見. 日口腔インプラント会誌 **14**: 185-8.
- 2) 塩浜康良, 福里英彦, 油屋一裕, 白鳥徳彦, 伊藤充雄 (2003) 骨補填材としての加熱処理の球状ハイドロキシアパタイトからのCaイオンの溶出とpH値への影響. 日口腔インプラント会誌 **16**: 390-9.
- 3) Raynaud S, Champion E, Bernache-Assolant D and Thomas P (2002) Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio II. Synthesis characterization and thermal stability of powders. *Biomaterials* **23**: 1073-80.
- 4) Sharpe J R, Sammons R L and Merquis P M (1997) Effect of pH on protein adsorptions to hydroxyapatite and tricalcium phosphate ceramics. *Biomaterials* **18**: 471-6.
- 5) 田村博宣 (1985) 水酸化アパタイト顆粒による顎骨補填に関する病理組織学的研究. 口科誌 **34**: 652-61.
- 6) 白鳥徳彦, 村田 巧, 上野栄一, 久保一美, 伊藤充雄 (2000) 骨補填材としての球状ハイドロキシアパタイトからのCaイオンの溶出. 日口腔インプラント会誌 **13**: 289-94.
- 7) 織井弘道 (1999) 骨芽細胞様細胞の細胞増殖, 石灰化物形成および細胞外マトリックス成分発現におよぼすカルシウムイオンの影響. 日大歯学 **73**: 558-66.
- 8) 酒井朋子, 森田定雄, 四宮謙一, 中村 聡, 山下仁大 (2002) ハイドロキシアパタイトの分極処理による骨伝導性の変化. *Orthop Ceramic Implants* **21**: 17-20.
- 9) 林 成忠 (1986) ハイドロキシアパタイト顆粒の歯周治療への応用に関する組織学的研究. 日歯周誌 **28**: 1004-27.
- 10) 鈴木鐘美, 枝 重夫, 吉木周作, 亀山洋一郎, 内海順夫, 武田泰彦 (1994) 口腔病理学 261-82. 医歯薬出版 東京.
- 11) 栗岡一人, 梅田正博, 寺延 治, 古森孝英 (1999) 骨誘導及び安定性にハイドロキシアパタイトセラミックス (HA) の各種特性が及ぼす効果. *Kobe J Med Sci* **45**: 149-63.
- 12) 岩田耕三 (1990) ハイドロキシアパタイト (HAP) の組成, 表面性状, 溶解性が骨伝導性および組織親和性に与える影響. 口科誌 **39**: 1039-15.
- 13) 永原国央 (1987) Tricalcium phosphate (TCP) と hydroxyapatite (HAP) による骨形成とコラーゲン分子種の変化. 歯基礎医学会誌 **29**: 131-55.
- 14) Ikami K, Iwaku M and Ozawa H (1990) An ultrastructural study of hard tissue formation in amputated dental pulp dressed with alpha-tricalcium phosphate. *Arch Histol Cyt* **53**: 227-43.
- 15) 中村美どり, 松浦幸子, 宮沢裕夫, 宇田川信之 (2004) 破骨細胞の神秘. 松本歯学 **30**: 9-19.
- 16) Burger E H, van der Meer and Nijewide P J, (1984) Osteoclast formation from mononuclear phagocytes: Role of bone-forming cells. *Cell Biol* **99**: 1901-6.
- 17) 須田立雄, 小澤英浩, 高橋栄明. 骨の科学 第1版 医歯薬出版 東京 53-64.
- 18) 長谷川正裕, 土井 豊, 内田淳正 (2002) 焼結炭酸含有アパタイトは破骨細胞に吸収される. *Orthop Ceramic Implants* **21**: 25-7.
- 19) Sakae T, Davies J E, Frank R M and Nagai N. (1989) Crystallographic properties of a series of synthetic hydroxyapatites. *J Nihon Univ Sch Dent* **31**: 458-63.