

合成ハイドロキシアパタイトセラミック 微粒子に対する組織反応

富 井 康 年

新潟大学歯学部口腔病理学講座

(主任：石木哲夫教授)

(昭和62年11月18日受付)

Subcutaneous Tissue Reactions of the Rat to Synthetic
Hydroxyapatite Ceramic Particles

Yasutoshi TOMII

(Director: Prof. Tetsuo ISHIKI)

Key words: apatite ceramic particles, macrophage, multinucleat
giant cell, phagocytosis.

要 旨

微細な生体材料に対する生体の対応をより明確にするために、アパタイトセラミックが脱灰可能なことに注目し、生体細胞の大きさに近い、700℃で3時間焼成の直径0.15 μ mのアパタイトセラミック微粒子と1,050℃で4時間焼成の直径0.65 μ m, 2~10 μ m, 10~15 μ mおよび30 μ mのアパタイトセラミック微粒子(旭光学提供)をウイスター系ラットの腹部皮下に注入し、微粒子に対する生体の反応を病理組織学的に検索した結果、以下の結論を得た。

直径が0.15 μ m, 0.65 μ mおよび直径が7 μ mに満たない微粒子は注入後1日から28日までの期間、マクロファージによってすべて貪食されていた。また、直径が0.15 μ mや0.65 μ mの小さな微粒子でも凝集して細胞が侵入できない所では、多核巨細胞が出現してそれらを貪食したり取り囲んだりしていた。

直径が7 μ m以上の微粒子に対しては、注入後3日から28日までの期間、多核巨細胞が出現しそれらを貪食していた。このことはマクロファージが

単独では貪食できない直径が7 μ m以上の大きさの微粒子については、複数のマクロファージがその生体材料を取り囲み、ついで癒合の結果多核巨細胞となり、その細胞質に取り込むことで対応していることを示唆するものである。

微粒子はマクロファージや多核巨細胞に取り込まれたのち、しだいに消化されていた。

緒 言

近年、生体の欠損した機能や形態を補うために、種々の生体材料が開発され、臨床に応用されている^{1~12)}。歯科の領域では、生体硬組織の成分に類似する合成ハイドロキシアパタイトセラミック^{13~16)}(以下アパタイトセラミックと略称する)より作られた人工歯根¹⁷⁾や人工骨^{18~22)}の人体への使用も注目されている。そこで問題となるのは、生体組織内に埋入されたこれら生体材料の組織親和性である。

アルミナセラミックについては動物実験²³⁾や臨床観察⁶⁾の他、川原等^{24,25)}の生体外での培養細胞に対する実験では細胞親和性が認められている。一方、アパタイトセラミックで作られた生体補填材

料に対する組織反応の検討については、猿や犬の実験で実際の歯や骨と同じ大きさの比較的大きな試料によって行われ、埋入材料周囲の骨組織形成に関して、従来の諸材料には見られない高い組織親和性を示すとの報告がなされている²⁶⁻³⁷⁾。生体細胞の異物認識能に関心をもつ病理学の立場からは、同一材料でもその形状や大きさの違いにより、生体の反応も異なるといっている³⁸⁾。この材料に為害性のないことや生体適応性が強調されるにつけ、生体細胞はこれらの材料に対してどのように認識しているのか³⁹⁾を明らかにしたいし、またする必要がある。小さなアパタイトセラミック材料についての報告もいくつかある。大きさが $50\mu\text{m}$ から 2mm の範囲の粒状のもの⁴⁰⁻⁴²⁾については、その大きさは生体細胞よりはるかに大きく、その上大きさにばらつきがあり、また焼成したものを粉碎して得ているため、その形状も一定していない。またインプラント手術時や術後に加わる物理的な力により、実際の歯や骨と同じ大きさの多孔質アパタイトセラミック表面から遊離したアパタイトセラミック結晶塊やアパタイトセラミック表面の結晶塊に関するもの²⁶⁻³⁴⁾はその大きさについては記載が明らかでない。いずれも、微細なアパタイトセラミックに対する生体の対応を系統的に理解するには不十分である。一方、生体材料の一つであるアルミナセラミックについては、微細な材料に対する生体細胞の対応に関する報告⁴³⁾がある。しかし、アルミナセラミックは現在の組織学的方法では脱灰不可能であり、薄切片作りが困難なため、微粒子が一定以上の大きさになると、その微粒子に対する細胞の対応を切片標本上で観察することは必ずしも容易ではない。

今回、著者は微細な生体材料に対する生体の対応をより明確にするために、アパタイトセラミックが脱灰可能なことに注目し、生体細胞の大きさに近い大小の規格化されたアパタイトセラミック微粒子に対する生体の反応を病理組織学的に検索した。

材料および方法

材料として、 700°C で3時間焼成の直径 $0.15\mu\text{m}$ の

アパタイトセラミック微粒子と $1,050^\circ\text{C}$ で4時間焼成の直径 $0.65\mu\text{m}$ 、 $2\sim 10\mu\text{m}$ 、 $10\sim 15\mu\text{m}$ および $30\mu\text{m}$ のアパタイトセラミック微粒子を用いた（旭光学提供）。

直径 $2\sim 10\mu\text{m}$ の微粒子の大きさは直径 $2\sim 4\mu\text{m}$ 、 $5\sim 7\mu\text{m}$ 、 $8\sim 10\mu\text{m}$ のものがほぼ等量の割合で混在していた。直径 $10\sim 15\mu\text{m}$ の微粒子の大きさは直径 $10\sim 12\mu\text{m}$ 、 $13\sim 15\mu\text{m}$ のものがほぼ等量の割合で混在していた。

実験動物には、ウイスター系ラットの雄105匹（体重 $100\sim 120\text{g}$ ）を用い、ペントバルビタールナトリウム（ネンブタール）の腹腔内注射（ $0.1\text{ml}/100\text{g}$ ）による全身麻酔下で、その腹部を硫化バリウムと小麦粉の泥状物で除毛し、70%エタノールで腹部皮膚面を消毒した。三角フラスコに各微粒子別に 20mg をそれぞれ生理食塩水 30ml と混合し、オートクレーブで滅菌処理（2気圧、 120°C 、20分）を施した上で、超音波洗浄器を用いて十分に攪拌した混合液を滅菌注射器（ 1.0ml 用ディスポーザブルマイクロ注射器、針の太さ： $25\text{G}\cdot 1''$ ）で腹部皮下に注入した。注入部位は正中線より左側前後2ヵ所、右側前後2ヵ所で注入液量は1ヵ所につき 0.2ml とした。また、対照として左側実験部位の中間に滅菌生理食塩水のみを 0.2ml 注入した。実験動物を、注入する微粒子の大きさの順に第1群（直径 $0.15\mu\text{m}$ 微粒子注入群）、第2群（直径 $0.65\mu\text{m}$ 微粒子注入群）、第3群（直径 $2\sim 10\mu\text{m}$ 微粒子注入群）、第4群（直径 $10\sim 15\mu\text{m}$ 微粒子注入群）、第5群（直径 $30\mu\text{m}$ 微粒子注入群）に分け、各群とも21匹ずつ用いた。

微粒子注入後6時間、1、3、7、14、21、28日経過後、エーテル麻酔下で断頭により屠殺し、注入部に相当する部位の組織を腹膜ごと広範囲に摘出した。同時に、局所の組織の発赤、壊死、増生、潰瘍形成などの有無も合せて観察した。

各微粒子の注入例数は各群とも7実験期間の各実験期間につき3匹とし、1匹につき同一粒子を4ヵ所に注入したので、同一粒子の同一期間の組織を12ヶ摘出し、さらに対照として3ヶ摘出した。

目的とする組織を10%中性ホルマリンで固定後、通法に従いパラフィン包埋し薄切片を作製した。

切片はヘマトキシリン・エオジン染色、アザン染色、ギムザ染色、コッサ鍍銀法染色、過ヨウ素酸シッフ反応（PAS反応）を施し、好中球およびマクロファージの浸潤程度、リンパ球の浸潤程度、マクロファージの形態、巨細胞の出現とその形態、線維の形成、線維性被膜の形成、毛細血管の増生などに注目しながら光学顕微鏡で観察した。

微粒子に対する細胞、組織の変化を注射および生理食塩水に対する反応と識別するために対照例の病理組織像を参考にした。

また、マクロファージの同定を行う目的で酸性フォスファターゼ染色と非特異性エステラーゼ染色（Naphthol AS-D chloroacetate 法）を施した。

実 験 結 果

実験動物の全身状態については、実験期間中いずれのラットについても、異常は認められなかった。

（１）肉眼的所見

微粒子注入部皮膚組織の変色、壊死、増生、潰瘍形成などはどの実験群においても、どの観察期においても認められなかった。

注入微粒子は皮下結合組織中においては、結合組織に混じた境界明瞭な10mm×5mm前後の白色塊状として観察された。厚さはいずれも1mm以下であった。すべての実験群で、観察期間が28日のものは、他の期間のものにくらべ、注入部の微粒子の量が少なくなっており、肉眼での発見がやや困難であった。

（２）病理組織学的所見

１）微粒子に対する組織反応

a) 第1群（直径0.15 μ m微粒子注入群）

大部分の微粒子は何れの観察期間でも、凝集し塊を構成していた。

注入後6時間では、微粒子は互いに凝集し一塊として観察された。その微粒子塊周囲には軽度の好中球の浸潤が観察された。また、少数であるが、細胞質の少ない円形をした裸核状の細胞が微粒子

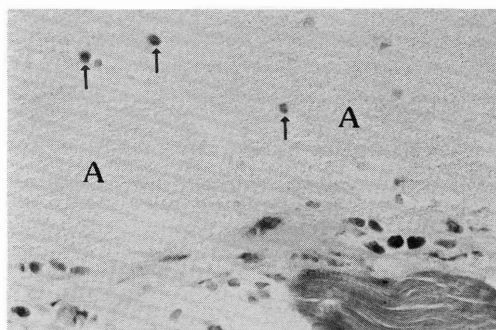


図1：微粒子は互いに凝集しており、細胞質が明らかでなく、染色した核をもつ細胞（→）が少数であるが微粒子塊（A）内部中央まで侵入している（第1群，6時間，未脱灰，ギムザ染色，×300）

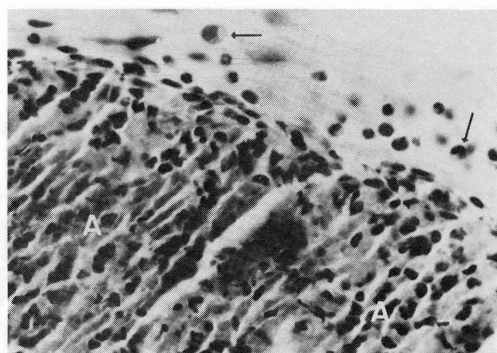


図2：多数のマクロファージが微粒子塊（A）内部に侵入している。微粒子塊周辺部でも微粒子を貪食してやや肥大したマクロファージ（←）がいくつか観察される（第1群，1日，未脱灰，H-E染色，×350）

塊内部中央まで侵入していた（図1）。

1日後では、6時間のものにくらべると、多数のマクロファージが微粒子塊内部全域に侵入しており、微粒子を貪食したり、微粒子塊に取りついている像が見られた。微粒子塊周辺部では微粒子を貪食してやや肥大したマクロファージがいくつか観察された（図2）。6時間後では、微粒子塊は一塊であったが、1日後では、微粒子塊内部に侵入した多数のマクロファージによって大小の塊に分けられていた。

3日後では、微粒子塊周辺部で微粒子が分散していた部位では、微粒子を貪食して肥大したマク

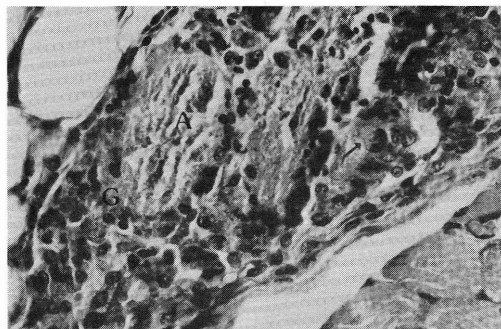


図3：微粒子塊内部へのマクロファージの侵入が著明である。微粒子を貪食して肥大したマクロファージ(←)が観察される。多核巨細胞(G)が微粒子塊(A)を取り囲んでいる(第1群, 3日, 未脱灰, PAS染色, $\times 300$)

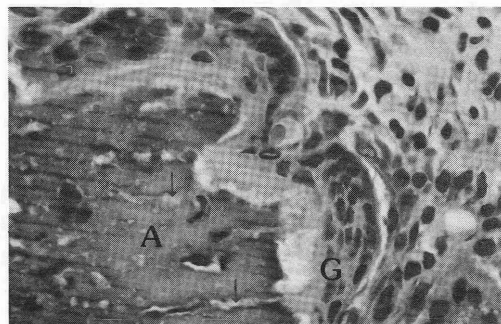


図4：50個以上の核をもつ多核巨細胞(G)が出現し、紫色に染った微粒子塊(A)を取り囲んでいる。薄切時のヒビ割れ(←)が観察される(第1群, 7日, 脱灰, H-E染色, $\times 350$)

ロファージがみられ、数もふえていた。一方、 $100\mu\text{m} \times 60\mu\text{m}$ くらいの微粒子塊は濃染し、それぞれ多核巨細胞によって取り囲まれていた(図3)。

7日後では、一切片上で50個以上の核が細胞質の周辺部に寄り集る多核巨細胞が出現し、長径約 $200\mu\text{m}$ 前後の大きな微粒子塊を取り込んでいた。微粒子塊は紫色に染色され、一体化しているのか、薄切によるヒビ割れが観察された(図4)。

14日後では、大小の微粒子塊はそれぞれ多核巨細胞に取り込まれ、その多核巨細胞間および多核巨細胞周囲には毛細血管と線維芽細胞が増殖して、厚みのある肉芽組織を形成していた(図5)。

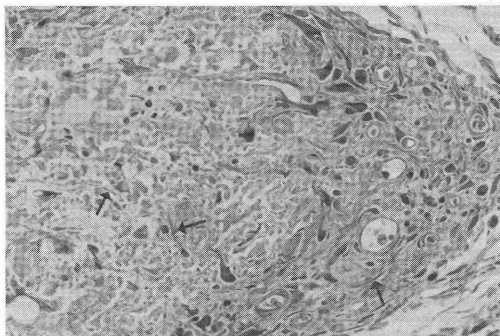


図5：コラーゲン線維(←)が増殖して肉芽組織を形成している。微粒子塊の中央部までコラーゲン線維(←)が入っている(第1群, 14日, 未脱灰, アザン染色, $\times 200$)

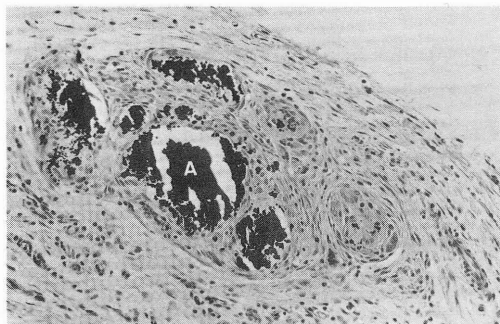


図6：多核巨細胞に取り込まれている微粒子塊(A)は黒褐色に染り大小様々であり、不定形である(第1群, 21日, 未脱灰, コッサ鍍銀法染色, $\times 135$)

21日後では、微粒子塊は多核巨細胞の細胞質内に取り込まれていた。微粒子塊は大小様々であり、かつ不定形であった(図6)。7日、14日のものに比べ、微粒子塊の数は少なく、大きさも小さかった。肉芽組織の厚みも14日のものに比べ、全体に薄くなっていた。

28日後でも、微粒子塊は同様に多核巨細胞に取り込まれていた。しかし、そこにおける微粒子塊の大きさは他のどの実験期間のものより小さく、また微粒子塊の数もすくなかった。また、肉芽組織の量も14日、21日のものに比べ、その厚みは薄かった。

リンパ球は全実験期間を通してほとんど観察されなかった。

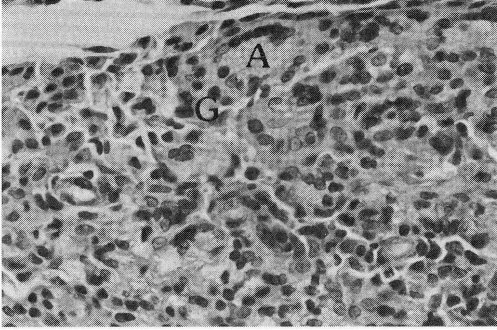


図7：分散した微粒子はマクロファージに貪食されているが、長径 $30\mu\text{m}$ 位の微粒子塊（A）は多核巨細胞（G）に取り囲まれている。（第2群，3日，脱灰，H-E染色， $\times 290$ ）

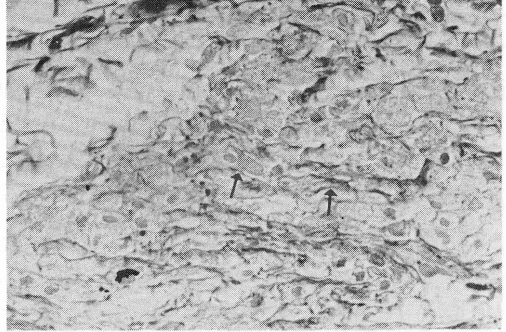


図9：ここでは、多核巨細胞は見られないが、微粒子を貪食したマクロファージの間にコラーゲン線維（←）が増殖している（第2群，21日，脱灰，アザン染色， $\times 290$ ）

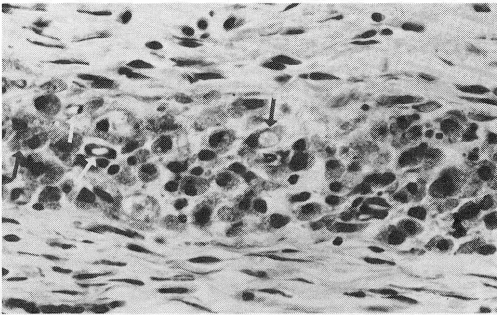


図8：マクロファージの細胞質内には微粒子が充填しており、細胞質の大きいものでは長径約 $15\mu\text{m}$ 位の大きさに肥大している（←）。微粒子を貪食したマクロファージ群の間に毛細血管（←）が増殖している（第2群，14日，未脱灰，H-E染色， $\times 290$ ）

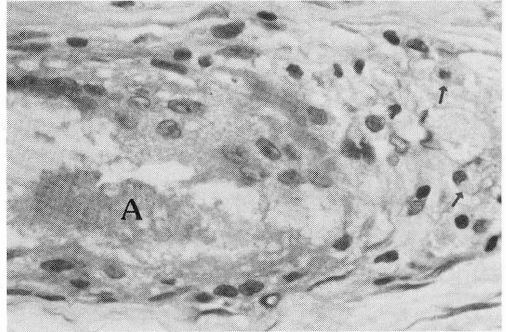


図10：凝集して長径 $150\mu\text{m}$ 位の塊となっている所では多核巨細胞がその塊（A）を取り込んでいる。一方、分散している所では、微粒子はマクロファージ（←）によって貪食されている（第2群，21日，脱灰，H-E染色， $\times 400$ ）

b) 第2群（直径 $0.65\mu\text{m}$ 微粒子注入群）

全観察期間を通じ大部分の微粒子は皮下組織内で分散していた。しかし、一部ではあるが凝集し塊をなしているものもあった。

6時間後では、注入微粒子部周辺にマクロファージおよび好中球の軽度の浸潤が観察された。

1日後では、微粒子部全域にマクロファージの浸潤が著明となり、マクロファージは微粒子を貪食していた。微粒子部周辺には軽度の好中球の浸潤が観察されたが、好中球による貪食像は確認できなかった。

3日後では、すでに好中球はほとんどみられず、

分散した微粒子はほとんどマクロファージに貪食されていたが、長径約 $30\mu\text{m}$ 前後の微粒子塊は核の数が10数個の多核巨細胞に取り囲まれていた（図7）。

7日後でも、分散した微粒子はほとんどマクロファージに貪食されていた。長径約 $30\mu\text{m}$ 前後の微粒子塊が核の数が20個前後の多核巨細胞に取り込まれていた。微粒子塊の大きさが3日後の大きさと同じくらいにもかかわらず、多核巨細胞の核の数は3日のそれと比べ、増加していた。

14日後でも、分散した微粒子はほとんどマクロファージに貪食されていた。そのマクロファージ

は大きいものでは長径約 $15\mu\text{m}$ 位の大きさに肥大し、核は細胞膜の近くに押し寄せられていた。また、微粒子を貪食したマクロファージ群の間に毛細血管やコラーゲン線維が増殖し肉芽組織を形成していた(図8)。凝集して塊になった微粒子は観察されず、多核巨細胞も見られなかった。

21日後では、微粒子を貪食したマクロファージの間にコラーゲン線維が増殖していた(図9)。また、微粒子が凝集して長径 $150\mu\text{m}$ 位の塊となっている所では多核巨細胞がその塊を取り込んでいた(図10)。

28日後では、マクロファージがさらに微粒子を貪食して細胞質が長径 $20\mu\text{m}$ 以上にまで大きくなり、そのため、マクロファージの核は一方の細胞膜近くに押し寄せられた状態となり、卵円形をしていた。細胞質も大きな卵円形をしており、ここでも細胞外に微粒子は見られなかった(図11)。一方、微粒子が凝集して塊となっている所では多核巨細胞がその塊を取り込んでいた。

1日以降28日まで、分散した微粒子はすべてマクロファージに貪食されていた。

リンパ球は全実験期間を通してほとんど観察されなかった。

c) 第3群(直径 $2\sim 10\mu\text{m}$ 微粒子注入群)

注入された微粒子は散在性に存在しており第1群や第2群のように凝集し塊となっている所は観察されず、微粒子は生体組織内で一個一個独立して存在していた。

6時間後では、注入微粒子部周辺にマクロファージおよび好中球の軽度の浸潤が観察された。

1日後では、微粒子の存在する所ではマクロファージの浸潤が著明となり直径 $2\sim 6\mu\text{m}$ の微粒子はマクロファージにより完全に貪食されていた。微粒子を貪食したマクロファージの核は細胞の周辺に押しやられ圧平されて三日月形になっていた。一方、直径 $7\sim 10\mu\text{m}$ の大きな微粒子は三日月形の核をもつ、細胞質の少ない $2\sim 3$ 個のマクロファージに取り囲まれていたが、ごくわずか $10\mu\text{m}\times 5\mu\text{m}$ くらいの直径 $7\mu\text{m}$ を越えた微粒子を貪食しているマクロファージも観察された。注入微粒子部周辺に好中球の軽度の浸潤が観察されたが、好中球

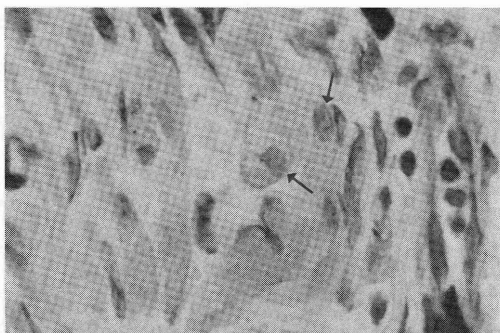


図11: 微粒子は個々の独立したマクロファージに貪食されている。マクロファージの核(←)は一方の細胞膜近くに、押し寄せられた状態となり卵円形をしており、細胞質も大きな卵円形をしている。ここでも細胞外に微粒子は見られない(第2群, 28日, 未脱灰, ギムザ染色, $\times 570$)

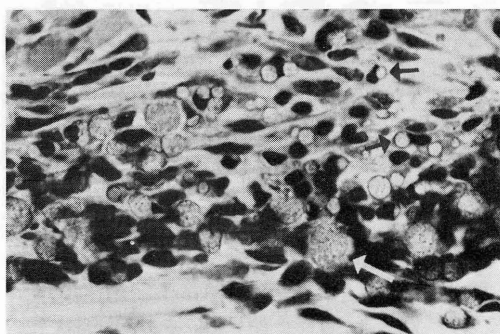


図12: 直径 $2\sim 6\mu\text{m}$ の微粒子(←)は1日後のものと同じく、マクロファージによって完全に貪食されている。直径 $7\sim 10\mu\text{m}$ の大きさの微粒子(←)は数個の細胞に取り囲まれているように見える(第3群, 3日, 未脱灰, H-E染色, $\times 430$)

による貪食像は確認できなかった。

3日後では直径 $2\sim 6\mu\text{m}$ の微粒子は1日後のものと同じく、マクロファージによって完全に貪食されていた。未脱灰切片では、直径 $7\sim 10\mu\text{m}$ の大きさの微粒子は三日月形の核をした、細胞質の少ない数個のマクロファージに取り囲まれているように見えるが(図12), 脱灰切片で観察すると、1個ないし数個の微粒子が $5\sim 6$ 個の核をもった多核巨細胞の中に取りこまれているのが認められた(図13)。また、直径 $7\mu\text{m}$ に満たない微粒子でも、

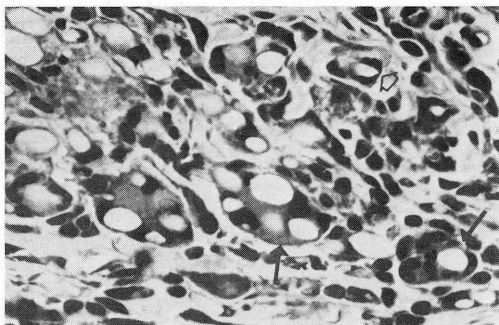


図13：1個ないし数個の微粒子が5～6個の核をもった多核巨細胞の中に取り込まれているのが認められる(←)。多核巨細胞は微粒子を食食した結果、その核は細胞周辺部に押しやられ圧平されている。小さな微粒子はマクロファージに食食されている。直径7 μm に満たない微粒子でも2核以上の多核巨細胞に取り込まれているものも観察される(⇐)(第3群, 3日, 脱灰, H-E染色, $\times 430$)

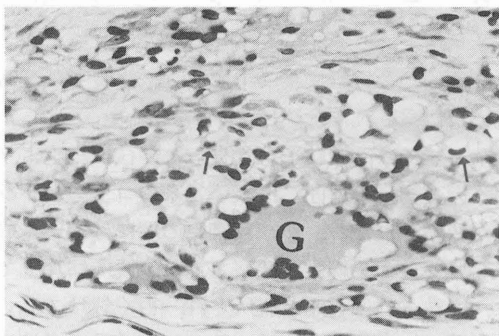


図14：直径2～6 μm 微粒子を1個食食したマクロファージ(←)群の間に10数個の微粒子を取り込んだ核の数が20個前後の多核巨細胞(G)が観察される。多核巨細胞の細胞質の面積は広がっている(第3群, 7日, 脱灰, H-E染色, $\times 290$)

2核以上の多核巨細胞に取り込まれているものも観察された。ここで見られる多核巨細胞は微粒子を食食した結果、その核は細胞周辺部に押しやられ圧平されていた(図13)。

7日後では、直径2～6 μm 微粒子を1個食食したマクロファージ群の間に同じ粒径の微粒子を10数個その細胞の辺縁部に取り込んだ核の数が20個

前後の多核巨細胞が観察された(図14)。多核巨細胞の細胞質の面積は広がっていた。

14日後では、多核巨細胞と多核巨細胞の間に毛細血管の増殖が多く見られた。21日後のものは14日後のものに比べ、毛細血管とコラーゲン線維の量がさらに増えていた。しかし、多核巨細胞が微粒子を取り込んだ様子は7日のものと同じであった。

28日後でも、多核巨細胞内に微粒子が認められた。しかし、脱灰切片で観察した場合、21日後までは微粒子が脱灰され、円形あるいは楕円形に白く抜けて見えていた微粒子のあとが28日後のものでは、それまでの微粒子そのものとは異なり、ヘマトキシリン・エオジンに淡染する物質があらわれていた。未脱灰切片で観察しても、28日後のものはマクロファージ内や多核巨細胞内の微粒子の形状はばらばらに崩れ、その量も減少していた(図15)。

リンパ球は全実験期間を通してほとんど観察されなかった。

d) 第4群(直径10～15 μm 微粒子注入群)

注入された微粒子は散在しており、集合し凝集している所は観察されず、第3群と同様に生体組織内で1個1個独立した状態で注入されていた。微粒子の大きさについては実測により数ミクロンのものも含まれていることが確認された。

6時間後では、注入微粒子部周辺にマクロファージ、好中球の軽度の浸潤が観察された。

1日後では、微粒子は数個の細胞によって取り囲まれていた。また直径が7 μm に満たない大きさの微粒子は第3群(直径2～10 μm 微粒子)の観察結果と同じでマクロファージに取り込まれていた。注入微粒子部周辺には強度の水腫が見られ、そこには好中球の軽度の浸潤も観察された(図16)。

3日後では、第3群の直径7～10 μm の大きさの微粒子に見られたのと同じ像、すなわち1個の微粒子が数個の細胞に取り囲まれているように見えるが、脱灰切片像を見ると1個の微粒子が7～8個の核を持つ多核巨細胞の中に取り込まれている像が観察された。ここでは、微粒子は多核巨細胞の中央部にあり、その核は細胞周辺部に押しやられ空豆様の形をして細胞膜に沿って並んでいた。

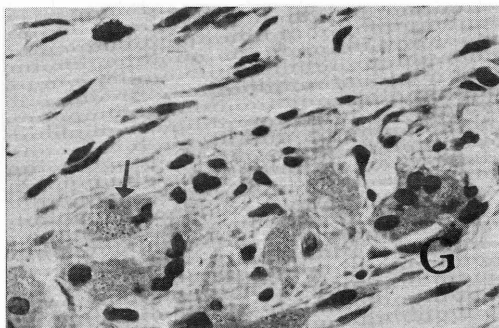


図15：マクロファージ(←)内や多核巨細胞(G)内の微粒子の形状はばらばらに崩れ、その量も減少している(第3群, 28日, 未脱灰, H-E染色, $\times 430$)

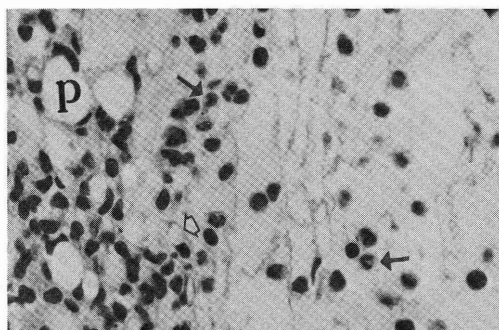


図16：脱灰によって微粒子が抜けたところ(P)。微粒子は数個の細胞によって取り囲まれている。また直径 $7\mu\text{m}$ に満たない大きさの微粒子はマクロファージに取り込まれている(□)。注入微粒子部周辺には強度の水腫が見られ、そこには好中球(←)の浸潤も観察される(第4群, 1日, 脱灰, H-E染色, $\times 430$)

細胞質の面積は広くはなかった。

7日後では、3日後のものに比べその周辺部に10数個の微粒子を取り込み、細胞質が広くなり、核の数が20個前後の多核巨細胞が多数観察された。

14日後では、多核巨細胞は7日後のものとは変化はないが、その細胞同志の間に毛細血管とコラーゲン線維が増殖し、肉芽組織を形成していた。

21日後では、微粒子はそれぞれ多核巨細胞に貪食されており、その多核巨細胞を主体とした肉芽組織は14日後のものに比べ、毛細血管の数がさら

に増していた。肉芽組織内には増殖したコラーゲン線維が観察された(図17)。

28日後では、多核巨細胞が微粒子を取り込んでいるものの、第3群と同様に、脱灰された微粒子のあとがヘマトキシリン・エオジンに淡染して微粒子そのものとは異なった物質が認められ、白く抜けず不鮮明であった。未脱灰切片をみると、多核巨細胞内の微粒子は3日、14日のそれと比べ形状は崩れ、一部はさらに微細な微粒子となっていた。

リンパ球は全実験期間を通してほとんど観察されなかった。

e) 第5群(直径 $30\mu\text{m}$ 微粒子注入群)

6時間後では、注入微粒子部周辺にマクロファージ、好中球の軽度の浸潤が観察された。

1日後では、マクロファージの浸潤がさらに著明となり、数個のマクロファージが微粒子を取り囲んでおり、その周囲には少量の好中球が観察された。

3日後では、第3群や第4群と同様に核の数が7～8個の多核巨細胞の中に取り込まれている微粒子が観察された(図18)。

7日後では、微粒子を貪食した多核巨細胞よりなる肉芽組織の周囲には太い元来のコラーゲン線維が観察されたが、多核巨細胞の間には細い未成熟なコラーゲン線維が観察された。脱灰切片上では、微粒子はほとんど脱灰され、白く抜けて見えた(図19)。なかには、核の数が20個前後の多核巨細胞も観察された。

14日後では、多核巨細胞像にとくに変化はなかったが、毛細血管およびコラーゲン線維が多核巨細胞の間に増殖し、肉芽組織を形成していた。

21日後でも、微粒子は多核巨細胞に貪食されたままであったが、脱灰切片で観察すると、微粒子は脱灰され、白く抜けて見えるなかで、脱灰に抵抗した残遺も認められた(図20)。

28日後でも、微粒子はすべて多核巨細胞に取り込まれていることに変わりはないが、脱灰された微粒子跡には7日後までの実験初期に比べ、残遺が増加していた。未脱灰切片をみると、一部ではマクロファージや多核巨細胞の中の微粒子は崩れて、

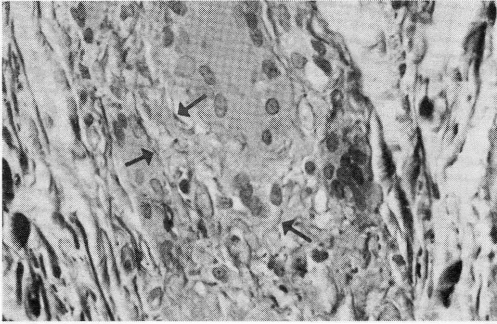


図17：肉芽組織内には増殖したコラーゲン線維（←）が観察される（第4群，21日，脱灰，アザン染色，×430）

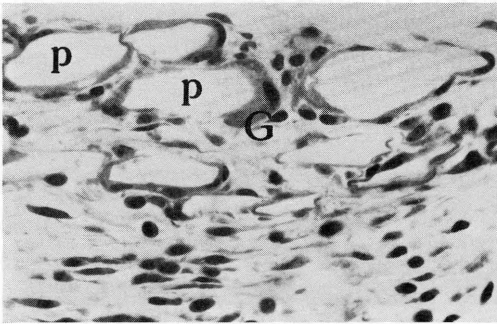


図18：微粒子（P）は核の数が7～8個の多核巨細胞（G）の中に取り込まれている（第5群，3日，脱灰，H-E染色，×360）

さらに微細な微粒子となっていた（図21）。そして、その形状の崩れ方は、第3群，第4群に比べはるかに少なかった。

リンパ球は全実験期間を通してほとんど観察されなかった。

2) 対照群における組織反応

対照群では、微粒子注入群と同様に6時間から1日にかけて好中球の軽度の浸潤がみられたが、3日以後は消失していた。マクロファージの浸潤は好中球と同じ時期に認められたが、実験群のそれよりもはるかにすくなかった。また3日以後はわずかに認められる程度であった。リンパ球については、注入後3日にわずかにみられたほかは、ほとんど観察されなかった。

組織化学的検索結果については、考察の項で触

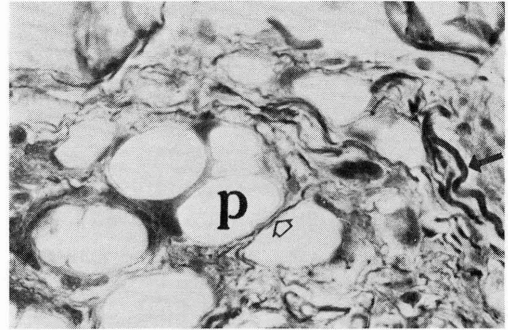


図19：微粒子（P）を貪食した多核巨細胞群周囲には元来の太いコラーゲン線維（←）が観察されるが、多核巨細胞の間には細い未成熟なコラーゲン線維（□）が観察される。微粒子は脱灰され白く抜けて見える（第5群，7日，脱灰，アザン染色，×430）



図20：微粒子（P）は多核巨細胞（G）に貪食されている。微粒子は脱灰され白く抜けて見えるが、脱灰に抵抗した残遺（□）も観察される（第5群，21日，脱灰，H-E染色，×290）

れることとする。

考 察

◎アパタイトセラミック微粒子について

セラミックは陶磁器，ガラス，耐火物などとしても古くから用いられており，最近では，強度，熱伝導性，電気絶縁性，耐酸性，耐磨耗性などの点で，他の素材には見られない多くの優れた特性を持ったニューセラミックとしての開発がさかんに行われている。

硬組織用生体材料として開発された代表的なセラミックにトリカルシウムフォスフェート焼結

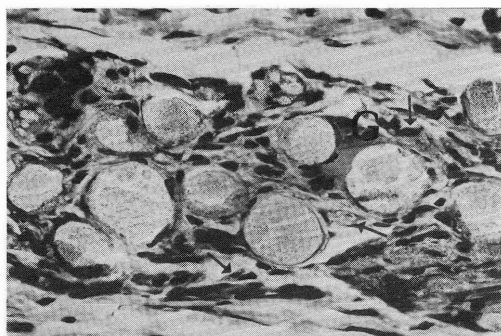


図21：微粒子は多核巨細胞（G）に食食されているが、肉芽組織の量は少ない。一部ではマクロファージ（←）や多核巨細胞に食食された微粒子は崩れ、さらに微細な微粒子となっている（第5群，28日，未脱灰，H-E染色，×290）

体^{44~47}，アルミナセラミック^{3,6,48~52}，アパタイトセラミック焼結体^{15,17,19~22,26,53}等がある。

今回の実験に用いたアパタイトセラミックは歯科用としては青木，小木曾等と旭光学工業研究部が共同開発したものである¹⁵。その後，アパタイトセラミックより作製された生体材料は人工歯根の他，人工耳小骨，あるいは顎骨切除部や前頭骨欠損部に人工骨として用いられている^{18,23}。

アパタイトセラミックの人工歯根や人工骨等の比較的大きな試料に対する組織反応の報告は今までに多くなされており，機械的・物理的性質が適当であり，化学的性質が安定であり，滅菌処理に耐えられ，組織親和性が良好で，結合組織内に挿入したり骨内に埋入した際，異物反応がなく，組織が接着するといわれている。生物学的適応性のよいこの物質が生体細胞にどのような認識を受けているかを研究することにより，補綴学領域，外科学領域，歯周病学領域に用いられているアパタイトセラミックの予後に関し病理組織学的に言及できるものと考ええる。

これまでに，微細化されたアパタイトセラミックに対する組織反応を検索した研究報告^{40~42}もいくつか見られるが，材料の焼成温度が低いため焼結体表面の性状が不安定であったり，その粒径が50 μ mから2mmと大きかったり，あるいは焼成後，粉碎することにより微細化しているため，その粒

径や粒子の形状が一定しておらず，報告された微粒子に対する組織反応像は普遍性を欠いている。

微細化したアルミナセラミックに対する組織反応については不二崎の研究⁴³があるが，そこではアルミナセラミックが材質的にガラスよりも硬く，その上脱灰できず，薄切標本の作製が困難なため，病理組織標本上では細胞との関係が必ずしも明確でない点がある。

そこで，著者は規格化された大きさで脱灰可能なアパタイトセラミック微粒子に対する組織反応の観察を行うこととした。生体硬組織に類似する物質に対する生体の対応が明らかになり，あわせて臨床的にはこの研究の結果を通じて，アパタイト焼結体よりなる人工歯根や人工骨の埋入時に生ずるかもしれない微粒子やアパタイト焼結体ビーズに対する生体反応を明らかにすることとなろう。

今回用いたアパタイトセラミック微粒子は，粉末の合成アパタイト¹⁵をそれぞれ700℃，3時間，1,050℃，4時間焼結して製作した。この粉末の合成アパタイトは結晶性の良さをあらわす鋭い粉末X線回折図形⁵⁴を示し，典型的なアパタイト構造^{13,14}をとり，1,000℃以上でも分解することなく焼結現象を起こすことが確認されている。

走査型電子顕微鏡による観察では，微粒子の形状はいずれも球形をしていた（図22）。また，大きな微粒子にはその表面にSEMにより高低差0.25 μ m位の鈍な凹凸が観察された（図23）。生体材料の表面の物理的性状，すなわち凹凸や溝により，それに接する細胞の形態やなじみが著しく変化するという報告⁵⁵もあるが，本実験に用いた材料の凹凸の高低差はその球状面に比べわずかであることや，材料自体が微細なため，その表面性状よりも大きさの違いによる組織反応の相違に注目することにした。

微粒子の大きさについては，生体の細胞の大きさの直径は10~30 μ mのことが多い⁵⁶こと，マクロファージの摂取可能な異物の大きさが0.5~5 μ mである⁵⁵ことを考慮し，直径0.15 μ m，0.65 μ m，2~10 μ m，10~15 μ m，30 μ mの大きさのものを焼結し，実験に使用した。

実験材料を生体組織内に埋入するにあたり，材

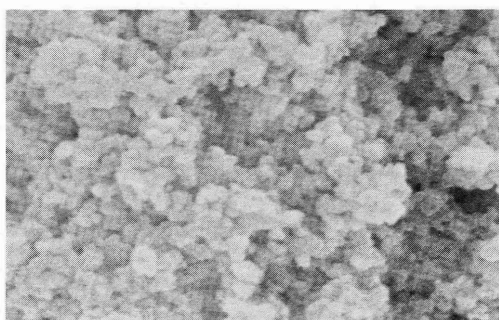


図22：非常に小さいが1個1個の微粒子は球形をしている（700℃，3時間焼成の直径0.15 μm 微粒子，SEM， $\times 15,000$ ）

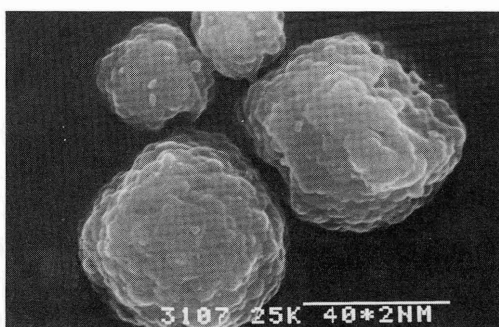


図23：高低差0.25 μm 位の鈍な凹凸が観察される。大きな微粒子は直径6 μm ，小さな微粒子は直径2～3 μm （1,050℃，4時間焼成の直径2～10 μm 微粒子，SEM， $\times 5,000$ ）

料が微細であるため，本実験では埋入時の侵襲の少ない注入法を用いた。ラットの腹部皮下を実験部位とし，その皮下への注入量は不二崎の実験⁴³⁾を参考にした。また，微粒子と生食水の混合比は皮下組織の切り出し時に，白色帯状あるいは白色塊状の微粒子を肉眼で見つけることができることを予備実験で確認して決定した。微粒子の大きさはSEM像や薄片の検鏡時にマイクロメーターを使用し確認した。

本実験は微粒子注入初期のマクロファージの動態を観察するために期間を4週までに設定した。

微粒子には互いに凝集し，相互の引力によって接触面の表面エネルギーを減少させる性質がある⁵⁷⁾。粒径の小さい微粒子の集りはその表面エネルギーの総和がおおきいため，凝集しやすく，本

実験では，第1群は全実験期間中，注入した微粒子の大部分は凝集し，大小の塊を形成していた。第2群は14日のものを除いた他の実験期間中，注入した微粒子の一部が凝集し，いくつかの小さな塊を形成していた。14日のものにのみ微粒子塊が見られなかったことについては，微粒子塊が見られた他の実験期のものも一部分に限られていたことや，微粒子注入部の炎症も見られず，体重の増加も順調なラットの術後経過の良好さから見て，注入微粒子の一部がわずかに凝集したりしなかったりすることは直径0.65 μm の微粒子の特性と考えられる。第3群，第4群，第5群はどの実験期間中も，注入した微粒子が凝集し，塊を形成している所はなかった。

第1群の微粒子は3日までの実験初期には，粉末集合体として観察されたが，7日以降は板状となり，濃染し，一体化したように観察された。これは，注入された微粒子が体液により溶解された後，再沈着した際，体液に含まれる蛋白などがその表面に吸着した結果ではないかと考える。また，第3群，第4群，第5群の微粒子が実験後期（21日後，28日後）に脱灰に抵抗し，残渣が増加したのも，微粒子表面に蛋白などが吸着したためと考えられる。

◎アパタイトセラミック微粒子に対する組織反応について

微細な材料に対する生体反応については，直径1 μm 以下のアルミナセラミック微粒子が食細胞によって貪食されることを1973年に Griss⁵⁸⁾ が，1979年に唐沢⁵⁹⁾が報告している。直径1 μm を越え直径45 μm までの段階的な大きさのアルミナセラミック微粒子に対する生体反応については，直径1～4 μm の微粒子は大単核細胞に貪食され，直径6～15 μm の微粒子や直径30～45 μm の微粒子はその表面が細胞に取り巻かれているとの不二崎の報告⁴³⁾がある。

本実験の第1群の6時間のものには，凝集した微粒子塊の中央部に裸核状の細胞が数個観察された。また，微粒子塊周辺部でも塊に接している所では細胞質の少ない裸核状の細胞が観察された。微粒子塊から少し離れた所では，そこに見られる

細胞には形態の異常は見られなかった。また、第1群の1日のものには、大量のマクロファージが微粒子塊内部に侵入し、微粒子塊は大小の塊に分かれていた。周辺部で、微粒子が分散した所ではマクロファージによる貪食が見られた。第1群の3日のものには、 $100\mu\text{m} \times 60\mu\text{m}$ くらいの微粒子塊を多核巨細胞が取り囲んでいるものもあった。このことは、 700°C で3時間焼成の微粒子の結晶化の低さに原因する、細胞に対する為害性が体液等によりしだいに低下したため、マクロファージの微粒子塊内部への侵入が可能となったものと考ええる。

$1,050^\circ\text{C}$ で4時間焼成の結晶化の良好な第2群、第3群、第4群、第5群のものには、どの実験期にも裸核状の細胞は観察されず、第1群で見られた様な細胞に対する為害性は認められなかった。

すべての実験群で、マクロファージは分散した微粒子を1日ですべて貪食しており、また直径 $7\mu\text{m}$ 以上の微粒子についてはそれを取り囲んでおり、細胞外には微粒子は見られなかった。このことからマクロファージの供給が十分なものであったと考える。その十分なマクロファージは血液単球だけでなく、血管外に出た単球が分裂増殖したと考える。

第2群は第1群に比べると生体内で塊になりにくかったが、塊となった所には多核巨細胞がしばしば出現し、微粒子塊を取り囲んでいた。これは3日以降、14日を除きすべての観察期にみられた。しかし、第1群に比べ、多核巨細胞の量が少なかったのは、その塊の形成される機会が少ないことと、焼成温度が高いために、結晶化が良好なため、細胞に対する為害性が弱かったことによるものと考ええる。

不二崎の報告の中では、アルミナセラミック微粒子の直径 $0.65\mu\text{m}$ のものに微粒子同志の凝集による一塊化は観察されていない。これはアルミナセラミックの表面性状の安定度から同じ直径 $0.65\mu\text{m}$ の微粒子でも凝集しなかったものと思われる。それ故、4週までの全期間を通じてマクロファージによる貪食のみが観察され、巨細胞の出現はなかったと考えられる。本実験でも第1群（直径 $0.15\mu\text{m}$ 微粒子注入群）や第2群（直径 $0.65\mu\text{m}$ 微粒子注

入群）で、塊となっていない所では、マクロファージが出現し、それぞれの微粒子を貪食していた。

第3群（直径 $2 \sim 10\mu\text{m}$ 微粒子注入群）、第4群（直径 $10 \sim 15\mu\text{m}$ 微粒子注入群）、第5群（直径 $30\mu\text{m}$ 微粒子注入群）の微粒子に対する細胞の対応は、第1群および第2群の場合と基本的には異なるところはなかった。すなわち、直径 $2 \sim 6\mu\text{m}$ の大きさの微粒子はマクロファージに貪食されたり、多核巨細胞に直径 $7\mu\text{m}$ 以上の大きさの微粒子とともに貪食されていた。直径 $7\mu\text{m}$ 以上の大きさの微粒子は1日後には多くの単核細胞に取り囲まれているように見えたが、3日以降は多核巨細胞の中に取り込まれていた。このことから、マクロファージ単独で貪食しきれない大きさの微粒子については多核巨細胞が出現し、それを取り囲み、ついで取り込んで貪食するものと考ええる。

Harms 等⁵¹⁾ は純アルミナセラミックの直径 $2 \sim 5\mu\text{m}$ および直径 $5 \sim 10\mu\text{m}$ の微粒子をラットの筋肉内等に注入した結果、直径 $2 \sim 5\mu\text{m}$ 微粒子はマクロファージに取り込まれ、直径 $5 \sim 10\mu\text{m}$ 微粒子についてはマクロファージに取り込まれず、微粒子集積部により多くの細胞が存在したと報告している。不二崎⁴³⁾ もアルミナセラミックをラット皮下に注入した実験でそれを確認している。また不二崎はその報告の中で、直径 $6 \sim 15\mu\text{m}$ の微粒子に対する細胞の対応について、微粒子の外周にそって細胞が存在し、核と細胞質が扁平化しているため、それを密着と表現している。著者の実験でも、直径 $7\mu\text{m}$ 以上の微粒子の未脱灰標本に不二崎の述べた密着像（図21）が観察されたが、それを脱灰して観察すると、それはあきらかに多核巨細胞が微粒子を取り込んでいる像（図24）であった。以上のことから、不二崎のいう密着の像は脱灰のできない試料の像故に、多核巨細胞の確認ができなかったのではないかと考えられる。なお、不二崎の報告⁴³⁾ では、明らかな異物巨細胞は見出せなかったとしているが、アルミナセラミック粒子を扱った他の論文では巨細胞出現の報告もある^{4,5,45,46,59,60)}。

異物巨細胞の発生機序について文献的に考察すると、マクロファージの癒合によるという考え

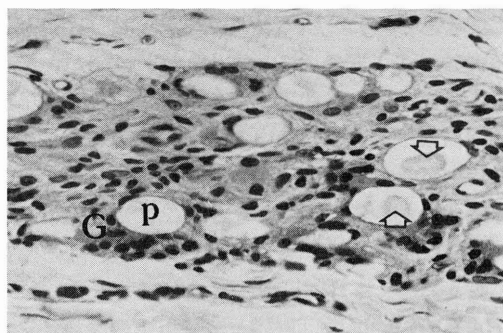


図24：多核巨細胞（G）が微粒子（P）を取り込んでいる。脱灰された微粒子部には残遺（□）が増加している（第5群，28日，脱灰，H-E染色， $\times 290$ ）

方⁶¹⁻⁶⁶)と、細胞質分裂を伴わない核分裂によるという考え方⁶⁷)があるが、一般的には癒合によってできるものとする考え方が多くなってきた⁶¹)。また、巨細胞が出現するまでの期間をみると、材料埋入後3日目で見られた報告^{4,5})もあるが、1ないし2週間後に出現するという報告が多いようである^{45,46,60})。著者の実験では、第1群は微粒子が凝集して、すべて大小の塊を形成したが、その長径約100 μm 前後の塊に対し、3日で核の数が20数個の多核巨細胞が出現し、7日には長径約200 μm 前後の大きな塊に対して核の数が50個以上の多核巨細胞が出現した。一方、第2群の一部凝集した長径約30 μm 前後の塊の3日では、核の数が10数個の多核巨細胞が出現し、7日には同じ大きさの塊に対し、核の数が20個前後と倍近く増加した多核巨細胞が出現した。第3群には、3日に核の数が5～6個の多核巨細胞が出現し、7日以降は核の数が20個前後の多核巨細胞も見られるようになった。第4群、第5群では3日に核の数が7～8個の多核巨細胞が出現し、7日以降は核の数が20個前後の多核巨細胞も見られるようになった。これら多核巨細胞の核の数の違いは、それぞれの凝集塊や微粒子の大きさに差があるため、そこに付着し癒合して多核巨細胞になったマクロファージの数の差と考えられる。また、第2群、第3群、第4群、第5群の微粒子に対する多核巨細胞の核の数の変化を見ると、3日から7日の間に多核巨細胞が成

熟するものと思われる。

不二崎は「異物が大きい時でも、また消化しにくい時でも必ずしも巨細胞が出現するわけではない」と強調している。これは生物不活性材料故に、多核巨細胞の出現がなかったことも考えられる。しかし、生物活性物質ではあるが、アパタイトセラミック微粒子を用いた著者の実験では、未脱灰切片による観察で多核巨細胞と確認できないものでも、それを脱灰した後観察すると、やはり直径7～30 μm の微粒子に対しては多核巨細胞が出現し、対応している。不二崎の報告は未脱灰切片の薄切が困難であることからくる像の不明瞭さにより多核巨細胞を確認できなかったのではないかと推察する。

第1群や第2群のものでも、それらが凝集し塊となった時には多核巨細胞が出現していた。この多核巨細胞については、著者の実験では、直径7 μm 以上の微粒子の場合、1個のマクロファージでは処理しきれないため、1日目では数個の細胞が微粒子を取り囲んでいた。そして、3日目では多核巨細胞になっていることが確認され、それ以後は直径7 μm 以上の個々の微粒子および直径0.15 μm や直径0.65 μm の微粒子の凝集塊は多核巨細胞が貪食したり、取り囲んだりしていた。それ故、マクロファージが単独で貪食するか、それとも多核巨細胞が貪食するかの対象物の大きさによる振り分けは、およそ7 μm を境として生じると考えられる。しかし、ごくわずかであるが直径7 μm 以上の微粒子を貪食しているマクロファージや、直径7 μm に満たない微粒子を取り込んでいる2核以上の多核巨細胞も観察されている。このことは、微粒子の大きさが7 μm という境界のあたりでは、生体は時にどちらの反応でも対応するという生物学的特性と考えられる。

注入された微粒子や、注入後凝集して塊となった微粒子塊の大きさや形状の変化については、21日後、28日後と実験後期になるにしたがって、第1群、第2群の微粒子塊は小さくなっていた。また、第2群、第3群、第4群、第5群でも微粒子は小さくなったり崩壊していた。このことは、微粒子や微粒子塊がマクロファージや多核巨細胞に

より消化されたものと考えられる。

マクロファージの同定を行う目的で行った、非特異性エステラーゼ染色はすべて陰性であり、また、酸性フォスファターゼ染色については、第1群の14日と28日の一部の標本の多核巨細胞の細胞質に陽性の反応が見られたが、反応した細胞は少数であって、同一群でも反応の有無にばらつきがあり、解析には不十分なものであった。

直径7 μm に満たない微粒子を貪食したマクロファージと直径7 μm 以上の微粒子を貪食あるいは取り囲んでいる多核巨細胞が同一起源であるかどうかは、今回の実験では形態学的にも、組織化学的にも明らかにできなかった。しかし、これらの多核巨細胞は生体内に注入された異物を貪食すべく出現したマクロファージが、目的とする異物の直径が7 μm 以上と大きいため、単独では貪食できず、他のマクロファージと癒合し多核巨細胞となり、その結果微粒子を貪食したり取り囲んだりしているものとする。すなわち、この多核巨細胞の起源はマクロファージであると考えたい。

結 論

生体細胞の大きさ前後に規格化された700 $^{\circ}\text{C}$ 、3時間焼成の直径0.15 μm のアパタイトセラミック微粒子と1,050 $^{\circ}\text{C}$ 、4時間焼成の直径0.65 μm 、2~10 μm 、10~15 μm 、30 μm のアパタイトセラミック微粒子をラットの腹部皮下に注入し、生体の反応を病理組織学的に検索した結果、以下の結論を得た。

1) 一般的には、直径が0.15 μm 、0.65 μm および直径が7 μm に満たない微粒子は注入後1日から28日までの期間、マクロファージによってすべて貪食されていた。

2) 直径が0.15 μm や0.65 μm の小さな微粒子でも多数の微粒子が凝集して細胞が侵入できない所では、多核巨細胞が出現してそれらを取り込んでいた。

3) 焼成温度の違う直径が0.15 μm の微粒子注入群と直径が0.65 μm の微粒子注入群で、それぞれ凝集してマクロファージ単独では処理できない大きさの塊に対する多核巨細胞の対応を見ると、焼成

温度の低い、いわゆる結晶化の低い直径が0.15 μm の微粒子注入群の塊に対する対応の仕方は、焼成温度の高い、いわゆる結晶化の良好な直径が0.65 μm の微粒子注入群の塊に対する多核巨細胞の対応に比べてその多核巨細胞の核の数は50個以上と多く、その細胞質は面積が広がった。これらは材料の焼成条件の違いからくる結晶化の差によるものとする。

4) 一般的には、直径が7 μm 以上の微粒子に対しては、注入後3日から28日までの期間、多核巨細胞が出現しそれらを貪食していた。このことはマクロファージが単独で貪食できない直径が7 μm 以上の大きさの微粒子については、ほとんどの場合複数のマクロファージがその生体材料を取り囲み、癒合の結果多核巨細胞となり、その細胞質に取り込むことで対応していることを示唆するものである。

5) マクロファージに貪食された微粒子や、多核巨細胞に貪食された微粒子や微粒子塊はしだいに消化され、実験後期(21日後、28日後)には小さくなったり、崩壊していた。

著者の今回の実験により、骨周囲組織と親和性が高いとされ人工歯根、人工骨として臨床的に多用されているアパタイトセラミックは、生体細胞により異物と認識されることが明らかとなった。

謝 辞

本研究に使用したアパタイトセラミック微粒子は旭光学工業株式会社より恵与されたもので、ここに謹んで謝意を表します。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜った、新潟大学歯学部口腔病理学講座主任石木哲夫教授に深謝するとともに、御懇篤な御助言と御校閲を賜った同歯科補綴学第二講座主任草刈玄教授に対し衷心より感謝致します。また本研究を遂行するにあたり、格別の御援助を戴いた新潟大学歯学部口腔病理学講座森 雅美先生ならび同歯科補綴学第二講座不二崎正径博士に対し謝意を表します。さらに数々の御協力を戴いた新潟大学

歯学部口腔病理学講座の教室員各位に感謝致します。

本論文の要旨は、第61回国際歯科研究学会(IADR) 総会(昭和58年8月2日, オーストラリア, シドニー), 第12回日本歯科インプラント学会総会(昭和58年11月7日, 東京), 第13回日本歯科インプラント学会総会・第14回日本デンタルインプラント研究学会総会(昭和59年9月22日, 東京)ならびに第32回国際歯科研究学会日本部会(JADR) 総会(昭和59年11月17日, 新潟)において発表した。

本研究の一部は文部省科学研究費(61480374)によった。

文 献

- 1) 古田 勲: エピテーゼ用軟性メタクリル樹脂 Palamed および PVC 樹脂 Realastic の生体組織反応に関する実験的研究. 口病誌, **39(1)**: 164-187, 1972.
- 2) 加藤一男, 青木秀希: 硬組織代替用材料(3)ー無機材料. 化学総説, **21**: 111-122, 1978.
- 3) 川原春幸, 平林正也, 山上哲賢, 敷田卓治: Al_2O_3 単結晶体の生体修復材料への応用第1報設計と強度試験. 日本歯科インプラント学会誌, **1(1)**: 69-79, 1978.
- 4) 林 興富: 人工歯根の基礎的研究(I)人工歯根材の組織学的反応について. 口科誌, **28(2)**: 85-110, 1979.
- 5) 林 興富: 人工歯根の基礎的研究(II)電気刺激による人工歯根材周囲の組織学的反応について. 口科誌, **28(2)**: 111-136, 1979.
- 6) 井上靖彦, 神谷博昭, 神野卓三, 矢野進一, 近藤直樹, 柴田雅志, 藤井尚雄, 片岡良雄: セラミックス義顎を用いて右側下顎即時再建術を行った1症例. 日口外誌, **25(6)**: 271-277, 1979.
- 7) 柴田寛一: 生体材料としての可溶性セラミックス. 岐歯学誌, **10**: 341-345, 1983.
- 8) Kent, J. N., Quinn, J. H., Zide, M. F., Guerra, L. R. and Boyne, P. J.: Alveolar ridge augmentation using nonresorbable hydroxylapatite with or without autogenous cancellous bone. J. Oral Maxillofac. Surg., **41**: 629-642, 1983.
- 9) Vandersteenhoven, J. J. and Spector, M.: Osteoinduction within porous polysulfone implants at extraosseous sites using demineralized allogeneic bone matrix. J. Biomed. Mater. Res., **17**: 793-806, 1983.
- 10) 若月達也, 中島信也, 原田 康, 栗原由紀夫, 柿沢 卓, 野間弘康, 大野 誠, 小池 修, 朝波惣一郎, 野本種邦, 若林章一: 多孔性 Hydroxyapatite 顆粒の臨床応用. 口科誌, **36**: 82-95, 1987.
- 11) 杉原一正, 山下佐英: 生体活性ガラスを用いた人工歯根の臨床応用ー第1報埋植手技を中心としてー. 口科誌, **36**: 96-105, 1987.
- 12) 永原国央: Tricalcium phosphate (TCP) 及び hydroxyapatite (HAP) による骨形成とコラーゲン分子種の変化. Jpn. J. Oral Biol., **29**: 131-155, 1987.
- 13) 須賀昭一, 石井俊文: 齲蝕感受性ーエナメル質表層の構造と組成. 43-72, 医歯薬出版, 東京, 1976.
- 14) 須賀昭一, 石井俊文: 齲蝕感受性ーエナメル質表層の構造と組成. 73-93, 医歯薬出版, 東京, 1976.
- 15) 青木秀希, 加藤一男, 蛭原正臣, 井上正秀: アパタイトの歯科材料への応用に関する研究(第一報)ー合成アパタイトの焼結体ー. 歯科理工学雑誌, **17(39)**: 200-205, 1976.
- 16) 青葉孝昭, 森脇 豊, 堤 定美: X線小角散乱法による非晶質リン酸カルシウムからアパタイト結晶への転化過程に関する研究. 歯基礎誌, **20**: 229-237, 1978.
- 17) 青木秀希, 加藤一男, 小木曾誠, 田端恒雄: アパタイトの歯科材料への応用に関する研究(第二報)ー人工歯根への利用ー. 歯科理工学雑誌, **18(41)**: 86-89, 1977.
- 18) Piecuch, J. F., Topazian, R. G., Skoly, S.

- and Wolfe, S. : Experimental ridge augmentation with porous hydroxyapatite implants. *J. Dent. Res.*, **62**(2) : 148-154, 1983.
- 19) 熊川孝三, 松本和彦, 北原伸郎, 船井洋光, 矢野 純, 牛島達次郎, 船坂宗太郎: アパタイトセラミックスによる前頭洞骨欠損部の形成—2症例の経験—. *日耳鼻誌*, **86** : 1472-1477, 1983.
- 20) Beirne, O. R. and Greenspan, J. S. : Histologic evaluation of tissue response to hydroxyapatite implanted on human mandibles. *J. Dent. Res.*, **64**(9) : 1152-1154, 1985.
- 21) Ogilvie, A., Frank, R. M., Benque, E. P., Gineste, M., Heughebaert, M. and Hemmerle, J. : The biocompatibility of hydroxyapatite implanted in the human periodontium. *J. Perio. Res.*, **22** : 270-283, 1987.
- 22) 西山 哲: 外耳道後壁再建材としてのアパタイトセラミックス. *日耳鼻誌*, **90** : 159-167, 1987.
- 23) 木村 裕, 片桐正隆: インプラント材料に対する組織反応の病理組織学的研究. *歯学*, **73**(2) : 262-297, 1985.
- 24) 前田卓郎, 田口洋見, 野村善一, 池田英綱, 井関 功, 中村正明, 川原春幸: 超音波測定法による生体材料に対する細胞接着性, *歯科理工学雑誌*, **22**(59) : 162-167, 1981.
- 25) Kawahara, H. : Cellular responses to implant materials : biological, physical and chemical factors. *International Dental Journal*, **33**(4) : 350-375, 1983.
- 26) 小木曾誠: Apatite 焼結体埋入による顎骨組織の経時的推移変化. *口病誌*, **45**(1) : 170-221, 1978.
- 27) 金田浩之: Apatite Implant の埋入間隙と骨組織形成との関連性に関する観察. *口病誌*, **47**(1) : 57-97, 1980.
- 28) 山崎安晴, 大西正俊, 塩田重利, 小木曾誠, 一条 尚: 人工骨としての多孔質アパタイト—1. 脛骨埋入実験—. *口病誌*, **49**(2) : 41-68, 1982.
- 29) 小木曾誠: アパタイト表面における骨組織形成ならびにその石灰化について. *口病誌*, **50**(1) : 1-22, 1983.
- 30) 石田光輔: アパタイト・セラミックスインプラントの骨組織による保持に関する組織学的研究. *口病誌*, **51**(2) : 145-183, 1984.
- 31) 山崎安晴: 人工骨としての多孔質アパタイト—顎骨補填実験—. *口病誌*, **51**(2) : 184-218, 1984.
- 32) 塩田 真: アパタイト・セラミックスの即時インプラントへの応用に関する実験的研究. *口病誌*, **51**(2) : 219-258, 1984.
- 33) 三羽敏夫: アパタイト・セラミックス・インプラント埋入後の咬合開始時期と骨形成との関連性に関する組織学的研究. *口病誌*, **52**(2) : 39-93, 1985.
- 34) 松本麻弥子: 多孔質アパタイトの添加補填に関する実験的研究. *口病誌*, **53**(2) : 30-76, 1986.
- 35) 武井信作: アパタイト・インプラントの上顎洞穿孔に関する組織学的観察. *口病誌*, **53**(2) : 77-123, 1986.
- 36) 保坂尚紀: 合成ハイドロキシアパタイト緻密体—多孔体二層構造体 (HAP denseporous double structures) の臨床応用に関する実験的研究—生体組織ハイブリッド型人工歯根の開発—. *口科誌*, **35**(2) : 497-517, 1986.
- 37) 保坂尚紀: 合成ハイドロキシアパタイト緻密体—多孔体二層構造体 (HAP denseporous double structures) の臨床応用に関する実験的研究—Inlay Implantation 実験, 骨膜下 Onlay Implantation 実験—. *口科誌*, **35**(2) : 518-556, 1986.
- 38) Matlaga, B. F., Yasenchak, L. P. and Salthouse, T. N. : Tissue response to implanted polymers : the significance of sample shape. *J. Biomed. Mater. Res.*, **10** : 391-397, 1976.
- 39) 石木哲夫: [第7回総会シンポジウム・人工顎] 病理学の立場から. *日歯インプラント誌*, **2**(2) : 139-143, 1979.
- 40) 田村博宣: 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**(3) : 652-673, 1985.
- 41) 永井教之, 竹下信義, 白須賀英樹, 秋場道保:

- 合成水酸化アパタイトのラット顎骨補填時における病理組織学的研究. 日口外誌, **31(6)**: 34-43, 1985.
- 42) 永井教之, 丸山晴義, 白須賀直樹, 桑名俊二: 合成水酸化アパタイト粉末の皮下移植試験に関する基礎的研究. 岡山歯誌, **4**: 57-65, 1985.
- 43) 不二崎正徳: 微細化したアルミナセラミックスに対する組織反応について. 補綴誌, **26(1)**: 13-29, 1982.
- 44) Cutright, D.E., Bhaskar, S. N., Brady, J. M., Getter, L. and Posey, W. R.: Reaction of bone to tricalcium phosphate ceramic pellets. Oral Surg., **33**: 850-856, 1972.
- 45) Levin, M. P., Getter, L., Cutright, D. E., and Bhaskar, S. N.: Biodegradable ceramic in periodontal defects. Oral Surg., **38**: 344-351, 1974.
- 46) Levin, M. P., Getter, L. and Cutright, D. E.: A comparison of iliac marrow and biodegradable ceramic in periodontal defects. J. Biomed. Mater. Res., **9**: 183-195, 1975.
- 47) Cameron, H. U., Macnab, I. and Pilliar, R. M.: Evaluation of a biodegradable ceramic. J. Biomed. Mater. Res., **11**: 179-186, 1977.
- 48) Griss, P., Heimke, G., Andrian-Werburg, Hanns., Krempien, B., Reipa, S., Lauterbach, H. J. and Hartung, H. J.: Morphological and Biomechanical Aspects of Al_2O_3 Ceramic Joint Replacement. Experimental Results and Design Consideration for Human Endoprostheses. J. Biomed. Mater. Res., **9**: 177-188, 1975.
- 49) Wolfson, S. H., Svare, C. W. and Weber, D.: Load-bearing capacity of functioning alumina dental endosseous implants. J. Dent. Res., **55**: 22-29, 1976.
- 50) Klawitter, J.J., Weinstein, A. M., Cooke, F. W., Peterson, L. J., Pennei, B. M. and McKinney R. V.: An evaluation of porous alumina ceramic dental implants. J. Dent. Res., **56**: 768-776, 1977.
- 51) Harms, J. and Mäusle, E.: Tissue reaction to ceramic implant material. J. Biomed. Mater. Res., **13**: 67-87, 1979.
- 52) Weinstein, A. M., Cook, S. D., Klawitter, J. J., Weinberg, L. A. and Zide, M.: An evaluation of ion-textured aluminum oxide dental implants. J. Biomed. Mater. Res., **15**: 749-756, 1981.
- 53) Denissen, H. W., de Groot, K., Makkes, P. Ch., van den Hooff, A. and Kloppe, P. J.: Tissue response to dense apatite implants in rats. J. Biomed. Mater. Res., **14**: 713-721, 1980.
- 54) 塩川二郎: 機器分析のてびき(3), 64-76, 化学同人, 京都, 1981.
- 55) 川原春幸, 久木崎重康: 生体内埋入材の生物学. 医科器械学雑誌, **44(10)**: 1-10, 1974.
- 56) 藤田尚男, 藤田恒夫: 標準組織学・総論, 25-26, 53-55, 84-112, 136-155, 医学書院, 東京, 1975.
- 57) 井上 敏, 小谷正雄, 玉虫文一, 富山小太郎: 岩波・理化学辞典, 1117, 1158, 岩波書店, 東京, 1958.
- 58) Griss, P., Krempien, B., von Andrian-Werburg, H., Heimke, G. und Fleiner, R.: Experimentelle Untersuchung zur Gewebsverträglichkeit oxidkeramischer (Al_2O_3) Abriebsflächen. Arch. orthop. Unfall-Chir., **76**: 270-279, 1973.
- 59) 唐沢重雄: セラミック製人工股関節の開発に関する実験的研究, 日整会誌, **53**: 1579-1594, 1979.
- 60) Spector, M., Harmon, S. L. and Kreutner, A.: Characteristics of tissue growth into proplast and porous polythlene implants in bone. J. Biomed. Mater. Res., **13**: 667-692, 1979.
- 61) Kaminski, M. V. and Toto, P. D.: Histogenesis of foreign body giant cells. J. Dent. Res., **46(1)**: 245-247, 1967.
- 62) Mariano, M. and Spector, W. G.: The formation and properties of macrophage polykaryons (inflammatory giant cells). J. Path., **113**: 1-19, 1974.
- 63) Chambers, T. J.: The mechanism of fusion

- of hamster macrophages induced by anti-macrophage serum. *J. Path.*, **122**:163-173, 1977.
- 64) Chambers, T. J. : Fusion of hamster macrophages induced by lectins. *J. Path.*, **123**: 53-61, 1977.
- 65) 社本幹博：超微形態からみた“組織球”の多様性. *病理と臨床*, **2(1)**:25-34, 1984.
- 66) El-Mofty, S. K. and Osdoby, P. : Growth behavior and lineage of isolated and cultured cells derived from giant cell granuloma of the mandible. *J. Oral Path.*, **14**: 539-552, 1985.
- 67) 横山 武, 福西 亮, 綿貫 勤, 喜納 勇：現代の病理学・総論, 221, 金原出版, 東京, 1979.