局所的 fibrin 形成材料の歯周治療への応用

—臨床応用の可能性について—

三 辺 正 人 古 郷 辰 二 田 村 利 之 早 瀬 一 雄
島 田 典 嗣 一之瀬 由喜子 三 輪 裕 子 堀 俊 雄
渡 辺 是 久* 阪 本 泉** 藤 浦 敏 治**

神奈川歯科大学保存学第2講座

(主任：堀 俊雄教授)

*神奈川歯科大学病理学教室

(主任：久田太郎教授)

**ユニチカ 中央研究所

(昭和60年12月20日受付)

Application of New Materials Enhancing Local Accumulation of Fibrin to Periodontal Therapy

Possibility of Clinical Application

Masato MINABE, Tatsuji KOGO, Toshiyuki TAMURA, Kazuo HAYASE, Noritsugu SHIMADA,
Yukiko ICHINOSE, Hiroko MIWA, Toshio HORI, Yoshihisa WATANABE*,
Izumi SAKAMOTO** and Toshiharu FUJIURA**

Department of Periodontology, Kanagawa Dental College

(Chief: Prof. Toshio HORI)

*Department of Pathology, Kanagawa Dental College

(Chief: Prof. Taro HISADA)

**Research and Development Center, Unitika Co., Ltd.

Experiments were performed for the purpose of investigating what change the form of healing undergoes when fibrin formability has been altered artificially by the use of GT-13 which is a material enhancing the local accumulation of fibrin network in periodontal surgery.

In addition to making presentation of the material enhancing the local accumulation of fibrin network, basic studies were conducted, this time, of amount of fibrin formation, connective strength of the formed

fibrin with the peripheral tissue, time of fibrin formation and its reaction with the peripheral tissue.

As a result, it was learned that the material enhancing the local accumulation of fibrin network has characteristics such as (1) its manipulation is very simple, (2) it can be immobilized in various carriers for application to the wound, (3) it has good affinity with the peripheral tissue, forming a fibrin network at an early stage and maintaining it.

Thus, it was suggested that this material is an element effective for determining how fibrin participates in the process of wound healing after periodon-

本論文の要旨は、第28回秋季日本歯周病学会総会(1985年11月7日)にて報告した。

tal surgery.

Key words: Fibrin formability, Carrier, Immobilization, Wound healing

要旨: 歯周外科手術に局所的 fibrin 形成材料を応用し, その fibrin 形成能を人為的に変化させた場合, 治癒形式にどのような変化が生ずるのかを検索する目的で実験を行なった。

今回は, 局所的 fibrin 形成材料の紹介と, fibrin 形成量, 形成された fibrin の周囲組織との結合力, fibrin 形成時期および周囲組織との反応について基礎的検討を行なった。

その結果, 局所的 fibrin 形成材料は, (1) 操作性が簡便である。(2) 種々の担体に固定化し創部へ応用できる。(3) 周囲組織との親和性に優れ, fibrin network を早期に形成・維持する。などの特徴を有することが解った。すなわち, 本材料は, 歯周外科手術後の創傷治癒機転に fibrin がどのように関与しているのかを知る上で有用な材料であることが示唆された。

索引用語: Fibrin 形成, 担体, 固定化, 創傷治癒

緒 言

近年, 歯周疾患に罹患した根面に対し, 酸処理を行なうことによって再付着を促進しようとする試みが数多く報告されている¹⁻⁴⁾。Polson ら⁵⁾は, クエン酸処理により生ずる露出根面 collagen 線維と fibrin の Linkage が上皮増殖を防止し, 最終的に根面と歯肉側の collagen 線維との間に連続性が生ずることを報告している。*in vitro* における実験でも, 根面脱灰による collagen 線維の露出は線維芽細胞付着の足場として collagen 線維形成の起点となることが示唆されている⁶⁻⁸⁾。また野口は⁹⁾, 再付着には質質の露出という根面の状態が重要であると同時に, これに相対する軟組織側の collagen 原線維の新生促進を図り, この両者が積極的に嵌合する必要性を示唆している。

我々は, 歯周疾患に罹患した根面に再付着が生ずるための軟組織の反応を促進させるという意味から, 創傷治癒初期において fibrin の積極的な形成・維持を図ることが重要であると考えてきた¹⁰⁾。そこで, 歯周外科手術時に局所的 fibrin 形成材料^{11,12)}を応用して, fibrin の形成量や形成時期を人為的に変化させた場合, その治療形式にどのような相違が生ずるのかを最終検索目的として実験を行なっている。

本論文では局所的 fibrin 形成材料の紹介とその形成能について, 特に *in vitro* においては fibrin 形成量について, *in vivo* においてはラットを用い fibrin の周囲組織との結合力, fibrin の形成・吸収時期および周囲組織との親和性について基礎的検討を行なったので報告する。

材料および方法

1. 局所的 fibrin 形成材料の作製方法および作用機序について

今回用いた局所的 fibrin 形成材料は, 種々の物質を担体として thrombin (ヒト thrombin ミドリ, ミドリ十字 K.K.) と血液凝固因子 factor XIII (;FXIII, Konzentrat, Behring Institut, West Germany) を固定化したもので, 生体内に存在する fibrinogen を利用して局所に fibrin network を速やかに形成させ, 積極的に止血, 創傷治癒を促進させる材料である。医科領域では, 創面保護¹³⁾あるいは化学塞栓材料¹⁴⁾として現在すでに臨床応用されている。

Sp : Gelatin Sponge
thr : thrombin
FXIII : Factor XIII

図 1 固定化の方法

図 2 不溶性 Fibrin の形成過程

図 1 は、担体である組織吸収性 gelatin sponge (Spongel®, 山之内製薬 K.K.) に thrombin, F XIII を固定する方法を示したもので、担体を thrombin と F XIII の混合溶液に十分浸漬させた後、減圧下で凍結乾燥を行ない作製する。

図 2 は、insoluble fibrin network の形成過程を示したもので、fibrinogen は thrombin の作用により fibrin monomer となり、更に Ca^{2+} の作用で重合し fibrin polymer となる。他方、F XIII は Ca^{2+} の存在下で thrombin により活性化される。この活性化された F XIII は、transglutaminase 作用により fibrin 体間に cross linking を起こさせ insoluble fibrin network を形成する¹¹⁾。

図 3 は、thrombin, F XIII の固定化が可能な担体を示したもので、左から gelatin powder, chitin sponge, chitin 不織布である。gelatin powder を担体として創傷部へ応用する際には、図に示すようにディスポーザブル注射筒を用いて powder 150 mg 当り 1~1.5 ml の生食水を添加し、糊状物質として使用するもので操作性は非常に良好である。またこの他にも、組織吸収性および非吸収性縫合糸を担体として固定化が可能である。

2. 局所的 fibrin 形成促進材料の fibrin 形成能について

a) fibrin 形成量の検討

田中らの方法¹¹⁾に従い Spongel® を担体に用い、thrombin, F XIII の両者を固定化したもの、それぞれ単独のもの、無処理のものを一辺 5 mm の立方体としてヒト plasma 3 ml と 37°C、3 時間反応させ、材料に形成される fibrin clot 量を観察した。また、形成された fibrin を formalin にて固定し PTAH 染色を行ない組織学的に観察した。

b) fibrin の周囲組織との結合力について

実験には Wistar 系ラット ♂ (平均体重 250~300 g) 24 匹を用いた。非吸収性縫合糸である編絹糸 (Nescosuture®, 日本商事 K.K.) を担体に用い、a) と同様の処理

図 3 固定化が可能な担体
(左から Gelatin powder, Chitin sponge, Chitin 不織布)

を行ない、各群 6 匹ずつのラット腹直筋内に移植した。移植 2, 6, 12 日後にこれを除去するのに要する extraction-force を tensiometer (ユニチカ社製) にて計測した。尚、この時の extraction-velocity は 30 cm/min 一定とした。

c) fibrin の形成・吸収時期および周囲組織との親和性について

実験には Wistar 系ラット (平均体重 250~300 g) 24 匹を用いた。久保ら¹⁰⁾の方法に従いラット背部皮膚 4 部位に長さ 1 cm, 深さ 2~3 mm の浅在筋膜に達する切創を尖刃にて形成した。各々 4 部位のうち 2 部位を実験側、残りの 2 部位を対照側に用いた。切創部を止血後、実験側には thrombin, F XIII の両者を固定化した gelatin powder (GT XIII, ユニチカ K.K.) をディスポーザブル注射筒を用い生食水と混合後創傷部に滴下した。一方、対照側には fibrinogen, thrombin 合剤である生体組織接着剤 Tisseel® (オーストリア, イムノ社) を用いて、GT XIII と同量を創傷部に応用した。なお Tisseel® の操作法については、fibrinogen は aprotinin 溶液で、thrombin は CaCl_2 溶液を用いて溶解させ、それぞれを重層法にて創傷部に滴下した。また術後には切創部の被覆保護および抗生物質等の投与は行なわなかった。

図 4 Fibrin clot の形成状態
(C; Nontreated, S; thrombin -immobilized,
1~10; F XIII-thrombin -immobilized)

図 5 固定化 sponge を plasma 中で反応さ
せた後の fibrin network の形成状態

術後 3, 5, 7 日目に各 8 匹ずつのラットを屠殺後、切創を加えた箇所の周囲組織を一塊として切除し、10% formalin 溶液にて固定した。そして、経時的な創傷治癒過程を H-E 染色, Van Gieson 染色法にて組織学的に比較観察を行なった。

結 果

1. fibrin 形成量について

図 4 は、正常ヒト plasma 中で 3 時間反応させた後の fibrin clot の形成状態を示したもので、thrombin, F XIII の両者を固定化した場合、それぞれ単独、無処理のものと比較して fibrin clot 量の形成が著明であった。

また Spongel® を plasma 中で反応させた場合、thrombin, F XIII 両者を固定化した材料では sponge の mesh に沿って fibrin が交錯して fibrin network を形成

図 6 移植した縫合糸を除去するのに
要する extraction force

しているのが観察された (図 5)。

2. fibrin の周囲組織との結合力について

図 6 は、移植した縫合糸を除去するのに要する extraction-force を示したグラフで、thrombin, F XIII それぞれ単独、あるいは無処理のものでは同様の傾向を示し、移植 12 日後で extraction-force が 200~250 g/cm であるのに対し、thrombin, F XIII 両者を固定化したものでは extraction-force は 12 日後で 550 g/cm 程度であった。すなわち、thrombin, F XIII それぞれ単独あるいは無処理の材料に比して thrombin, F XIII 両者を固定化した材料においては、移植した縫合糸を除去するのに要する extraction-force が経時的に著しく増大した。

3. ラット背部皮膚切創の治癒過程についての組織学的検討

a) Tisseel® 群

術後 3 日目で上皮は再生されるが、痂皮の付着は継続して認められた。真皮から皮下結合織にかけての切創内に一致して、好中球を主とする種々の程度の炎症性細胞浸潤を伴う線維芽細胞の増生あるいはわずかに fibrin を混在する肉芽組織の増生が認められた (図 7)。

5 日後では、再生上皮の軽度の肥厚増殖が認められ、上皮基底部から真皮へかけての索状陥入が認められた。真皮から皮下結合織にかけての切創内に一致して、わずかに fibrin を混在する肉芽組織の増生が継続して認められた。さらに、切創面に沿った既存周囲結合織には炎症

図 7 Tisseel® 群, 術後 3 日目
H-E 染色

図 9 Tisseel® 群, 術後 7 日目
H-E 染色

図 8 Tisseel® 群, 術後 5 日目
H-E 染色

図 10 GT XIII 群, 術後 3 日目
H-E 染色

性細胞浸潤を伴う線維芽細胞の増生が混在して認められた (図 8)。

7 日後では、再生上皮は軽度の肥厚を認めるものの、真皮から皮下結合織にかけての切創面は完全に癒着し切創面に介在していた fibrin は消失傾向にあり、線維芽細胞を含む再生膠原線維成分から成る一層の瘢痕として認められた (図 9)。

b) GT XIII 群

術後 3 日目で再生上皮の肥厚が認められ、真皮から皮下結合織にかけての切創内に一致して既に fibrin network の形成がみられ、炎症性細胞を混在するわずかな肉芽組織の増生が認められた (図 10)。

5 日後では、再生上皮表面に痂皮の付着を残すものの、真皮から皮下結合織にかけての切創内に一致して炎症性細胞浸潤が残存するが、一部、肉芽組織あるいは再生線維成分に置換された少量の fibrin との混在像が認められた (図 11, a, b)。

7 日後では、切創内に一致してわずかに fibrin を混在する比較的線維芽細胞成分の豊富な肉芽組織の増生が認められた。切創内に残存する gelatin の量は経時的に減少し、gelatin 辺縁への組織球の付着が認められた。しかし、切創内の gelatin に近接する周囲膠原線維への炎症性細胞浸潤は殆んど認められなかった (図 12 a, b)。

考 察

歯周外科手術後の歯周組織治癒形式は、病理学的に ① 上皮性付着、② 根面に残存するシャープー線維と歯肉線維との再結合、③ 結合織性再付着、④ 線維の封入を伴った新生セメント質形成、の 4 種類に分類されている¹⁷⁾。しかしながら、一般に動物実験により多く報告されている歯肉剝離搔爬術後の治癒形式としては、新生セメント質を伴った線維性付着は根尖側に限局し、歯冠側では再生線維が根面に平行に排列する付着様式、あるいは上皮

図 11-a GT XIII 群, 術後5日目
H-E 染色

図 11-b (図 11. a. の強拡大)
GT XIII 群, 術後, 5 日目, H-E 染色
gelatin 周囲に細線維様構造を示す
fibrin が認められる

図 12-a GT XIII 群, 術後7日目
H-E 染色

図 12-b (図 12. a. の強拡大)
GT XIII 群, 術後7日目, H-E 染色
少数の gelatin とその周囲に, 細線維様
構造を示す fibrin の残存が認められる

性付着様式が大多数のようである¹⁸⁻²⁰⁾。

山村ら²¹⁾は, 歯根膜の歯冠側移動様式には2つの様式があることを報告している。すなわち, 第1は歯根膜細胞が分裂増殖してセメント芽細胞に分化後, セメント質結合繊維性付着を形成する様式であり, 第2は歯根膜・粘膜下組織・骨髓などの細胞が分裂して一度未分化間葉細胞に脱分化し, この細胞がセメント質基質, 象牙質基質の誘導によりセメント芽細胞に分化した後, セメント質結合繊維性付着を形成する様式である。この考え方からすれば, 歯周疾患罹患歯根面に対する新付着²²⁾獲得において歯根膜細胞の直接分化には限界があることから, 未分化間葉細胞経由の治癒様式を助長することが大切であると考えられる。野口⁹⁾は, 前述したように新付着には根面側の状態の重要性と同時に, 軟組織側にその態度が整

う必要があることを示唆している。すなわち, 歯周疾患罹患歯根面の治癒形式はそこに再集合する細胞の phenotype により最終的に決定される²³⁾わけであり, 根面側と軟組織側の態度の不一致が正常治癒を阻害すると考えられる。そのため従来汚染根面に対する root planing の重要性に加え, より積極的な創傷治癒環境を人為的に作製する方法が試みられている。すなわち, 根面脱灰法, セメント質表層部の搔爬法, Fibronectin あるいは Collagen などによる根面処理法, Millipore filter などの応用である。

根面脱灰法については, Register ら²⁴⁾により紹介された pH 1.0 のクエン酸による根面脱灰法は, 根面の象牙質およびセメント質基質を露出させることにより collagen 線維形成の起点となることが *in vitro*, *in vivo* 両面

から示唆されている¹⁻⁴⁾。また西村ら²⁴⁾は、endotoxin はセメント質表層にのみ吸着するという報告²⁵⁾や、深部セメント質を残存させると菌冠側でより強固な付着を形成するという事実を根拠として、セメント質表層のみを搔爬する方法を推奨している。

一方、Fibronectin や Collagen を根面領域へ応用することは、線維芽細胞の根面への付着や機能的排列を容易にすることによって早期に Collagen 形成を生じ易くするための処置法であると考えられる²⁶⁻²⁹⁾。また、Milipore filter の使用は上皮および歯肉結合組織を根面領域から排除し、歯根膜細胞が増殖しやすい環境をつくることを目的としている。

今回、我々は局所的 fibrin 形成材料を用いることにより、fibrin および担体の存在が歯周外科手術後の創傷治癒過程において軟組織側と根面側の態度の不一致を調節する因子と成り得るのかについて検索することを目的としている。すなわち、thrombin や factor XIII のような fibrin 形成因子を種々の担体に固定化し、fibrin 形成量・形成期間を人為的に調節した場合、治癒形式にどのような差異が生ずるのかを明らかにすることである。

今回は、本材料の紹介および fibrin 形成能について基礎的検討を行なった。その結果、本材料は種々の物質を担体として、目的に応じ糊状、膜状あるいは縫合糸として創傷部へ応用できる可能性を強く示唆するものであった。さらに、fibrin 形成量については thrombin と factor XIII の両者を固定化したものが最も多く、ラット腹直筋内に移植した縫合材料を除去するのに要する extraction-force の測定結果でも thrombin と factor XIII の両者を固定化したものが、経時的に周囲組織との結合力が最も増強されるという結果が得られた。

fibrin の形成時期についての病理組織学的検索では、fibrin 接着剤である Tisseel® と比較した結果、本材料は fibrin network の形成はやや遅れるものの、術後 7 日目においても線維芽細胞を含む肉芽組織内に fibrin network の残存が認められた。これは GT XIII が生体内の fibrinogen を利用して徐々に fibrin network を形成するため、予め生体外で fibrin film を形成する Tisseel® と比較して fibrin の吸収過程が遅延するためであると考えられる。さらに、今回用いた本材料中の thrombin と factor XIII の固定化量は thrombin 222.2 unit, factor XIII 69.4 unit/200 mg gelatin であるが、これは阪本ら³⁰⁾が gelatin sponge を担体として thrombin, factor XIII の固定化量を種々に変えた材料をラット腹直筋層に設けた創腔内に埋入後、創傷部を物理的に哆開させるのに要す

る引っ張り力を測定した結果、引っ張り力が高値を示す時の至適固定化量が thrombin 320~640, factor XIII 10~100 unit/300 mg gelatin であることを参考に決定したものである。このことは thrombin と factor XIII の配合理化を変えることにより、fibrin の形成量あるいは形成期間を調節することができる可能性を示唆するものである。以上のことにより、本材料を創傷部へ応用することにより、組織間の結合を積極的に促進する可能性を有する fibrin network を早期に形成・維持し得ることが示された。

今回、本材料との比較に用いた Tisseel® は生体親和性組織接着剤として開発された fibrinogen, thrombin 合剤で、生体外で fibrin film を形成し局所の止血および組織接着を目的とする材料である³¹⁾。また、これと同様の組成を有する組織接着剤としてフィブリン糊®(ミドリ十字 K.K.)がある³²⁾。これらの材料は、より積極的に fibronectin や factor XIII を添加することによって形成された fibrin を安定化させるとともに組織修復作用を有するとされており、歯周領域においても M.G.S. における創面保護接着^{33,34)}の他に、歯肉剝離搔爬術³⁵⁾、骨移植術³⁶⁾と併用されている。しかしながら、本材料と比較して操作性が繁雑であることや今回行なった fibrin 形成時期についての実験から明らかなように、創傷治癒初期における組織接着を目的とする場合を除いて、fibrin network の形成には生体内の fibrinogen を利用することで十分であると考えられる。

創傷治癒過程における fibrin の意義については多くの報告があるが、特に ① fibrin-collagen interface 形成による上皮の移動防止、② 線維芽細胞増殖の場としての fibrin network の存在、③ 創傷部 fibrin 内における phagocytosis の増強などが歯周組織の治癒機転として重要であると考えられる³⁷⁾。これに関して Polson ら^{5,38)}は、脱灰により生じた露出根面 collagen 線維と fibrin の結合、すなわち fibrin linkage の形成が歯肉結合組織と根面 collagen の連続性を確立する上で重要であるとしている。また、factor XIII が Ca^{2+} の存在下で thrombin により活性化され不溶性 fibrin を形成する本材料を創傷部へ応用した場合、線維芽細胞の増殖を促し線維性肉芽を形成させ、瘢痕治癒を促すものと考えられる。一方、歯周組織においては、特に粘膜下歯肉結合組織由来の線維芽細胞は直接セメント芽細胞に分化することはないとされているが、象牙質、セメント質基質の存在下においてセメント芽細胞に分化する可能性がある。また、歯周疾患罹患歯根面における歯根膜再生は、歯肉線維芽細胞が

線維性結合組織形成能を有するか否かに大きく影響されることなどの報告^{40,41)}がある。これらのことから、本材料を歯周領域へ応用した場合 fibrin が細胞集合の足場となることにより、単に瘢痕治癒を促進するばかりではなく歯根膜の再生に重要な役割を果たす可能性が示唆されるものである。

この他に、本材料の成分でもあり fibrin 形成過程に重要な役割を果たす factor XIII は、*in vitro* において線維芽細胞の発育を促進するという fibronectin 様の作用⁴²⁾を有することや、局所的・全身的大量投与により創傷治癒が改善されたという報告⁴³⁾もあり、創傷治癒と相関性が高いことが示唆されている。また、Bergenholtz ら^{44,45)}は、創傷治癒過程において上皮移動を防止する目的で tranexamic acid あるいは epsilon aminocaproic acid などの抗 plasmin 剤を歯周外科手術に應用しているが、治癒期間中、抗 plasmin 剤の slow release を期待できないため上皮移動を阻止できなかったとしている。これに比して、本材料は抗 plasmin 剤である Repulson® (持田製薬 K.K.) を固定化し、plasmin activator の働きを抑制し得ることも判明している¹¹⁾。

一方、本材料使用目的の1つである担体に関して、今回は gelatin 製剤を用いたが、他に種々の担体を使用することも本材料の特徴であり、現在組織親和性を有し、かつ適当な時期に吸収されるような性状を有する担体について検討中である。

今後、本材料についてより創傷治癒促進効果の面から改良を加え、歯周外科手術に應用し、その治癒過程について検討を行いたいと考えている。

結 論

歯周外科手術に局所的 fibrin 形成材料を應用することにより、創傷治癒機転に fibrin がどのように関与するかを明らかにすることを目的として実験を行なった。

本論文では、局所的 fibrin 形成材料の紹介とその fibrin 形成能、すなわち fibrin 形成量、fibrin の周囲組織との結合力・親和性および形成・吸収時期について検討を行なった。

その結果、本材料は

1) 生体組織接着剤 Tisseel® と比較して操作性が非常に簡便である。

2) 種々の担体すなわち gelatin powder, gelatin sponge, chitin 不織布、あるいは組織吸収性・非吸収性縫合糸などに固定化することが可能で、糊状、膜状また

は縫合糸として創傷部へ応用できる。

3) 切創部周囲組織との親和性は良好で、fibrin network を早期に形成・維持し得る。

などの特徴を有することが明らかになった。

文 献

- 1) Crigger, M., Bogle, G., Nilveus, R., Egelberg, J. and Selvig, K.A. : The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. J. Periodontal Res. 13 : 538-549, 1978.
- 2) Register, A.A. and Burdick, F.A. : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. I. Optimum range. J. Periodontol. 46 : 646-655, 1975.
- 3) Bogle, G., Adams, D., Crigger, M., Klinge, B. and Egelberg, J. : New attachment after surgical treatment and acid conditioning of roots in naturally occurring periodontal disease in dogs. J. Periodont. Res. 16 : 130-133, 1981.
- 4) Nilveus, R., Bogle, G., Crigger, M., Egelberg, J. and Selvig, K.A. : The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. II. Healing after repeated surgery. J. Periodont. Res. 15 : 544-550, 1980.
- 5) Polson, A.M. and Proye, M.P. : Fibrin Linkage: A precursor for new attachment. J. Periodontol. 54 : 141-147, 1983.
- 6) Pitaru, S., Gray, A., Aubin, J.E. and Melcher, A.H. : The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment and orientation of human gingival fibroblasts in vitro. J. Periodont. Res. 19 : 408-418, 1984.
- 7) Boyko, G.A., Brunette, D.M. and Melcher, A.H. : Cell Attachment to demineralized root surface in vitro. J. Periodont. Res. 15 : 297-303, 1980.
- 8) Fernyhough, W. and Page, R.C. : Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin treated normal and diseased tooth roots. J. Periodontol.

- 54 : 133-140, 1983.
- 9) 野口吉廣 : 歯肉剝離搔爬手術後の歯肉の付着に関する超微構造的な研究—外科的に象牙質を裸出させた根面に対する剝離歯肉弁の付着について—。日歯周誌, 26 : 21-48, 1984.
 - 10) 三辺正人, 田村利之, 児玉利朗, 菅谷 彰, 福田忠彰, 古郷辰二, 友松栄子, 大場正道, 松能宗喜, 宮島 実, 堀 俊雄 : 骨移植材の保存領域への応用. 第2報 : 人工骨移植後の長期予後観察および歯周外科手術後の創傷治癒に関する文献学的考察. 神奈川歯学, 20 : 115-130, 1985.
 - 11) 田中 満, 杉立彰夫, 高木邦彦, 神前五郎 : 局所的 fibrin 形成促進材料の研究. 人工臓器, 9 : 247-250, 1980.
 - 12) 杉立彰夫, 田中 満, 植村富士男, 高木邦彦, 神前五郎 : 局所的 fibrin 形成材料の研究. 最新医学, 35 : 1712-1715, 1980.
 - 13) 杉立彰夫, 阪本 泉, 高木邦彦 : 創傷治癒促進材料の研究. 最新医学, 38 : 2080-2081, 1983.
 - 14) 杉立彰夫, 高塚雄一, 阪本 泉, 高木邦彦 : 新しい化学塞栓材料の研究—基礎的検討および臨床応用. 人工臓器, 13 : 1172-1175, 1984.
 - 15) Sugitachi, A., Sakamoto, I. and Takagi, K. : New materials enhance local accumulation of fibrin, Trans Am Soc Artif Intern organs, XXVIII : 464-468, 1982.
 - 16) 久保四郎, 山本悦秀, 橘 直哉, 小田島哲世, 小浜源郁, 黒川一郎 : フィブリン接着剤 (Tisseel®) の口腔外科領域への応用に関する基礎的ならびに臨床的検討. 第1報 : フィブリン接着剤のラット背部皮膚切創に対する創傷治癒効果. 日口外誌, 28 : 1577-1584, 1982.
 - 17) Stahl, S.S., Slavkin, H.C., Yamada, L. and Levine, S. : Speculations about gingival repair. J. Periodontol. 43 : 395-402, 1972.
 - 18) Ellegaard, B., Karring, T., Davies, R. and Loe, H. : New attachment after treatment of intrabony defects in monkeys. J. Periodontol. 45 : 368-377, 1974.
 - 19) Persson, P.A. : The regeneration of the marginal periodontium after flap operation in experimental study on dogs. Acta. Odont. Scand. 20 : 43-80, 1962.
 - 20) Caton, J. and Nyman, S. : Histometric evaluation of periodontal surgery I. The modified widman flap procedure. J. Clin. Periodontol. 7 : 212-223, 1980.
 - 21) 山村武夫, 下野正基, 井上 孝 : 歯周組織の創傷治癒と再生について. The Quientessence (7) : 14-32, 1985.
 - 22) Kalkwarf, K.L. : Periodontal new attachment without the placement of osseous potentiating grafts. Periodontal Abstracts. 22 : 53-62, 1974.
 - 23) Boyko, G.A., Melcher, A.H. and Brunette, D.M. : Formation of new periodontal ligament by periodontal ligament cells implanted in vivo after culture in vitro. A preliminary study of transplanted roots in the dog. J. Periodont. Res. 16 : 73-88, 1981.
 - 24) 西村和晃, 野口吉広, 高田耕平, 山岡 昭 : 歯肉剝離搔爬手術後の新付着に関する研究. (第2報) セメント質表層を搔爬した残存セメント質に対する剝離歯肉弁の付着について. J. Clin. Electron Microscopy, 16 : 353-364, 1983.
 - 25) Nakib, N.M. : Endotoxin into root cementum of periodontally healthy and diseased human teeth. J. Periodontol. 53 : 368-378, 1982.
 - 26) Yaffe, A., Ehrlich, J. and Shoshan, S. : Restoration of periodontal attachment employing enriched collagen solution in the dog. J. Periodontol. 55 : 623-628, 1984.
 - 27) Yaffe, A., Ehrlich, J. and Shoshan, S. : Biological anchoring of acrylic tooth implants in the dog using enriched collagen solutions. Archs Oral Biol. 23 : 415-419, 1978.
 - 28) Okamura, S. and Hino, T. : Studies on copolymers of collagen and asynthetic polymer. Biomat. Med. Dev. Art. Org. 5 : 47-66, 1977.
 - 29) Pitaru, S. and Melcher, A.H. : Orientation of gingival fibroblasts and newly synthesized collagen fibers in vitro. Resemblance to transseptal and dento-gingival fibers. J. Periodont. Res. 18 : 483-500, 1983.
 - 30) 阪本 泉, 杉立彰夫, 高塚雄一, 柳本行雄, 山本 仁 : 創傷治癒促進材料の研究—臨床応用の可能性—. 最新医学, 39 : 1943-1945, 1984.
 - 31) Spangler, H.P. : Tissue adhesion and local hemostasis with fibrinogen, thrombin and blood

- coagulation factor XIII-experimental investigations and clinical experiences. *Wien Klin Wochenschr* 88 : 3-12, 1976.
- 32) 金田敏郎, 土田 実, 田口 望, 中田茂樹, 水谷英樹, 大内干児, 松田匡房, 峰野泰久, 嶋 隆義, 未良和彦, 仲田憲司, 角 保徳, 伊藤正夫: フィブリン糊の口腔手術への応用—生物被覆材としての臨床的価値—. *日口外誌*, 29 : 1826-1834, 1983.
 - 33) 高橋克弥, 玉井憲二, 上野益卓, 岡部秋彦, 大滝晃一, 長谷川明: フィブリン糊を応用した遊離歯肉移植手術. *日歯周誌*, 25 : 659, 1983.
 - 34) Enrico G. Bartolucci and Giampalo Pini Prato : Preliminary observations on the use of a biologic sealing system (Tissucol®) in periodontal surgery. *J. Periodontol.* 53 : 731-735, 1982.
 - 35) Ripamonti, U. and Lemmer, J. : New attachment after the use of a fibrin adhesive system in periodontal surgery. *J. Periodontol.* 55 : 727, 1982.
 - 36) Siegle, M. and Brachmann, F. : The use of fibrin adhesion in dental surgery on patients with bleeding disorders. *Schweiz. Mschr. Zahnheilk.* 90 : 208-218, 1980.
 - 37) Teh, B.T. : Why do skin grafts fail? *Plast Reconstr Surg.* 63 : 323-332, 1979.
 - 38) Proye, M.P. and Polson, A.M. : Effect of root surface alterations on periodontal healing. I. Surgical denudation. *J. Clin. Periodontol.* 9 : 428-440, 1982.
 - 39) Polson, A.M. and Proye, M.P. : Effect of root surface alterations on periodontal healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J. Clin. Periodontol.* 9 : 441-454, 1982.
 - 40) 井上 孝, 下野正基, 山村武夫: 歯根膜のしくみとはたらき. *日本歯科評論*, 518 : 97-112, 1985.
 - 41) Proye, M.P. and Polson, A.M. : Repair in different zones of the periodontium after tooth reimplantation. *J. Periodontol.* 6 : 379-389, 1982.
 - 42) 毛利喜久男: 創傷治癒の生化学の進歩. *臨床外科*, 30 : 983-988, 1975.
 - 43) 松井英夫: 歯周組織におけるファィブロネクチンの研究. *歯基礎誌*, 24 : 799-810, 1982.
 - 44) Bergenholtz, A., Gustafson, G.T. and Hånström: The effect of antifibrinolytic agents on wound healing in vitro. *Experientia* 33 : 254-256, 1977.
 - 45) Bergenholtz, A., Caffesse, R.G., Nasjleti, C.E., Bye, F.L. and Kowalski, C.J. : The effect of antifibrinolytic agents on the healing on modified widman flaps in monkeys. *J. Periodont. Res.* 19 : 210-213, 1984.