

# $\beta$ -tricalcium phosphate 顆粒・コラーゲン複合体の revision hip surgery における骨補填材としての可能性

小 牧 宏 和

東京慈恵会医科大学整形外科科学講座

(受付 平成 17 年 2 月 12 日)

## A POSSIBILITY OF APPLICATION OF $\beta$ -TRICALCIUM PHOSPHATE-TYPE I COLLAGEN COMPLEX AS A BONE FILLER IN REVISION HIP SURGERY

Hirokazu KOMAKI

*Department of Orthopaedic Surgery, The Jikei University School of Medicine*

Beta-tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) has been attracting attention owing to its biocompatibility and biodegradability. However, complicated bone defects are difficult to fill with  $\beta$ -TCP blocks. The purpose of this study was to examine the osteoconductivity and biodegradability of a complex of  $\beta$ -TCP granules and collagen compared with a  $\beta$ -TCP block. In addition, we investigated whether this complex can heal experimental peri-implant bone gaps. A  $\beta$ -TCP block and the complex were implanted into cavities drilled in rabbit femoral condyles. Radiographs were made of specimens taken of the distal part of the femur 2, 4, 6, 8, and 12 weeks after surgery. We found that the complex of  $\beta$ -TCP granules and collagen supports bone formation; however, bioresorption was rapid for the complex but weak for the  $\beta$ -TCP block. Thus, the osteoconductive properties of the injectable complex of  $\beta$ -TCP granules and collagen were similar to those of the  $\beta$ -TCP block. Successfully obtained from the previous experiment, the complex was used to heal peri-implant bone gaps made in the rabbit femoral condyles. Resorption of  $\beta$ -TCP and bone formation on the beaded surface of the titanium pieces were evaluated with microscopic computed tomography and scanning electron microscopy. These studies showed that the complex filled the gap between bone and the titanium pieces and had been replaced by bone at 12 weeks after surgery. In contrast, gaps not filled with the complex showed no bone formation even 24 weeks after surgery. These results suggest that the complex of  $\beta$ -TCP granules and collagen would be useful for healing peri-implant bone gaps during revision hip surgery.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2005 ; 120 : 99-108)

Key words: bone formation, bioresorption, beta-tricalcium phosphate, type I collagen, revision hip surgery

### I. 緒 言

本邦では、骨欠損の修復方法として自家骨移植が一般的に行われているが、自家骨を採取するには、新たに手術侵襲を加える必要があり、採骨量にも制限がある。近年、自家骨移植を回避するた

め、種々の人工骨が開発され、骨組織と親和性が良好なりン酸カルシウム系セラミックスが臨床応用されるようになってきた。なかでも  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) は高い骨伝導能 (ある物質を骨内または骨に接して移植した場合、骨芽細胞がその物質内に入り込んで骨形成をするこ

と)を有するばかりでなく、経時的に吸収され自家骨に置換される特長を有する<sup>1)-5)</sup>。現在、使用されている $\beta$ -TCPはブロックや顆粒の多孔体であるため、ブロック状では複雑な形状をした骨欠損部への充填が困難であり、顆粒状では骨欠損部から漏出するなどの問題点がある。そこで著者は、 $\beta$ -TCPの優れた骨伝導能をいかしつつ、いかなる形状にも充填し得るペースト状の骨補填材の開発を試みた。すなわち、顆粒状の $\beta$ -TCPにI型コラーゲンを混合した複合体を作製した。コラーゲンは、アミノ酸約1,000個が連結した長いポリペプチド鎖3本がヘリックス構造を形成したものである。分子の両末端には、動物の種類固有のテロペプチドが存在し、抗原性のほとんどは、この部分に基づいている。今回使用したI型コラーゲンは、子牛真皮コラーゲンをペプシン処理によりペプチドのみを切断したアテロコラーゲンで高い生体吸収性と組織親和性を有し、さらに、37°C付近まで加温するとコラーゲン線維が再構築してゲル化する特徴を有する。このため、近年、種々の成長因子を生体内で有効に作用させる足場材料として多く用いられている。著者は、今回開発した $\beta$ -TCP顆粒とコラーゲンの複合体が、従来の $\beta$ -TCPブロックと同等の骨伝導能や生体吸収性を有するか否かを検討した。さらに、本複合体の臨床応用の可能性を検討するため、骨欠損を生じる頻度の高い人工股関節再置換術の治療に対する使用を検討した。

## II. 対象ならびに方法

### 1. 実験

実験は、 $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体と $\beta$ -TCPブロックとの比較実験を実験1、ビーズコーティングを表面に施したチタン金属と骨との間隙に $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体を挿入したものを実験2とした。

### 2. 実験材料

#### 1) $\beta$ -TCPブロック

本研究で使用した $\beta$ -TCPは、オリンパス(株)がメカノケミカル法により作製したものを使用した<sup>6)</sup>。すなわち、 $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と $\text{CaCO}_3$ をCa/P比1.50となるように調整し、湿式磨砕反応(24時間)後、80°Cで乾燥させ、750°Cで1時間焼成

し、さらに1,050°C、1時間焼成して $\beta$ -TCPブロックを作製した。その性状は、Ca/P比1.50、平均気孔径200 $\mu\text{m}$ 、気孔率75%であった。このブロックを直径4mm、長さ10mmの円柱状に採型した。その重量は0.1gであった。

#### 2) $\beta$ -TCP顆粒

上記の $\beta$ -TCPブロックをセラミックボールを用いて250~500 $\mu\text{m}$ の顆粒とし、ブロックと等重量を実験に使用した。

#### 3) I型コラーゲン

実験に使用したI型コラーゲンは高研社製の3%アテロコラーゲン溶液であった。

#### 4) $\beta$ -TCP顆粒・コラーゲン複合体

無菌下に上記の $\beta$ -TCP顆粒0.1gと3%アテロコラーゲン0.15mlを混合し、均一化したものを複合体とした(Fig. 1)。

#### 5) 実験動物

体重3.3-4.0kgの雌のニュージーランド白色家兎を使用した。

#### 6) ポーラスチタン金属

日本MDM社製セメントレス大腿骨インプラント(Primaloc cementless femoral implant)のビーズコーティング部から4×2×8mmの金属片を切り出したものを使用した(Fig. 2a)。同部前方にはポアサイズ250~320 $\mu\text{m}$ のビーズがコーティングされている。

## 3. 実験方法

1) 実験1: 麻酔方法は、droperidol (0.25 mg/kg)を用いて筋肉内注射を行った後、pentobarbital (20 mg/kg)による静脈麻酔ならびにisoflurane (2%)の吸入麻酔で維持麻酔を行った。まず、左大腿骨顆部外側面を展開し、外側側副靭帯付着部の2mm前方に、直径4mm、長さ12mmの円柱状の骨欠損を作製した。骨孔内を生理食塩水で十分に洗浄した後、ガーゼを充填して、骨孔内の止血を行った。ガーゼを除去した後、直ちに1ml注射器を用いて $\beta$ -TCP顆粒・コラーゲン複合体を注入した(複合体群)。対照群として、骨欠損部に気孔率75%、直径4mm、長さ10mmの円柱状の $\beta$ -TCPブロックを充填した(ブロック群)。屠殺2週間前に3,3'-Bis(N,N-di(carboxymethyl)-aminomethyl)-fluorescein(カルセイン)(和光純薬工業、大阪)10 mg/kgを皮下注射

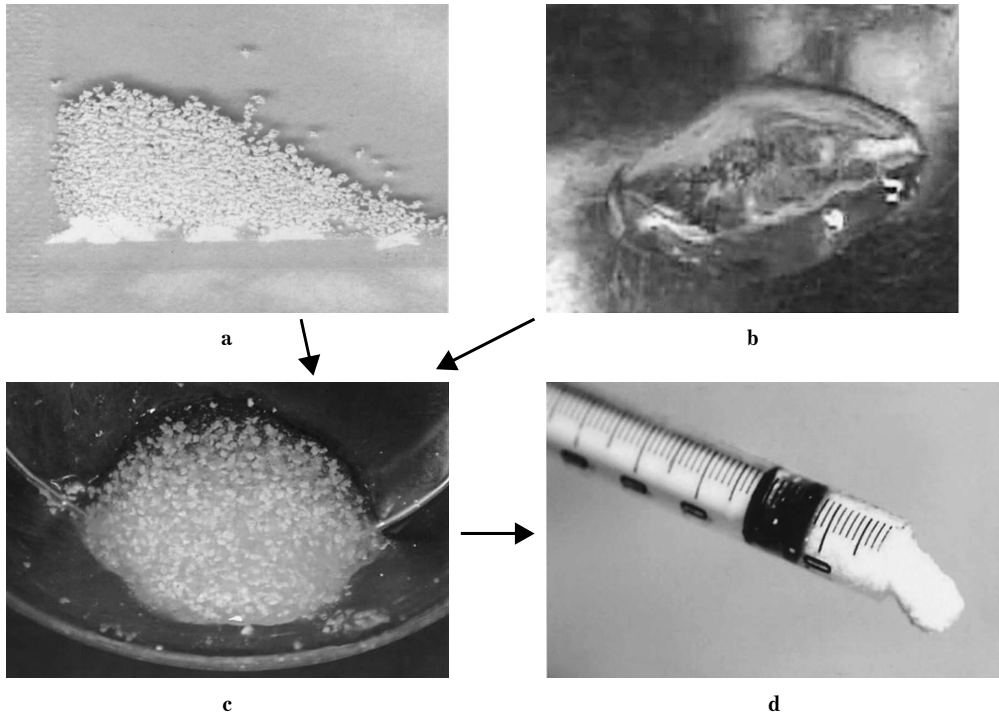


Fig. 1.

- a.  $\beta$ -TCP granules.
- b. 3% of type I collagen solution.
- c. A complex of  $\beta$ -TCP granules and type I collagen.
- d. This complex is a paste-like material.

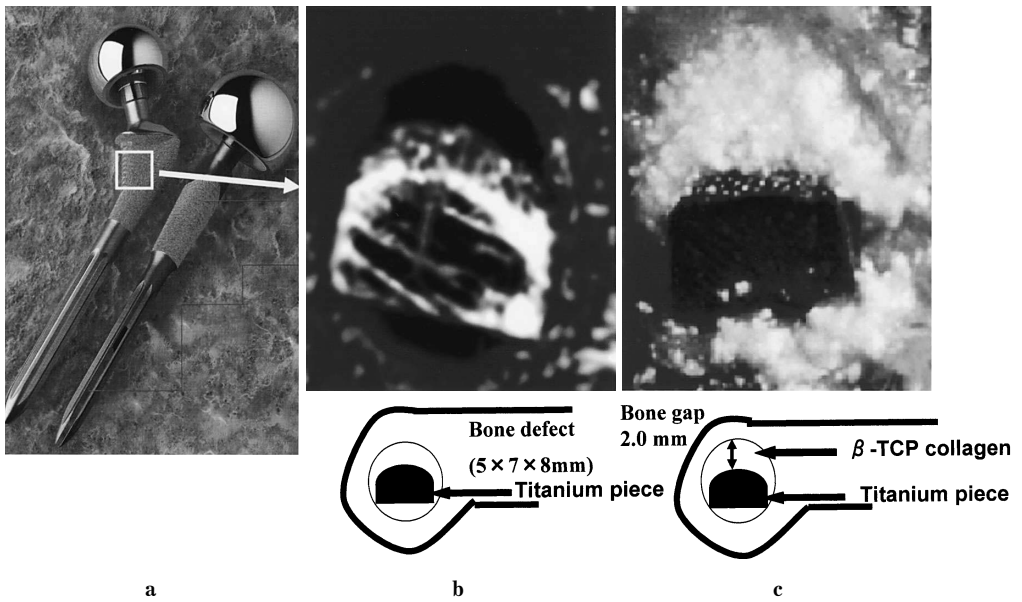


Fig. 2.

- a. Cementless femoral implant.
- b. A titanium piece with beaded surface is inserted in the oval shaped bone defect.
- c. Periimplant bone gap at most 2 mm are filled with a complex of  $\beta$ -TCP granules and type I collagen.

し、さらに、1週間前に Tetracycline hydrochloride (ファイザー製薬、東京) 20 mg/kg を筋肉内注射にて骨標識を行った。東京慈恵会医科大学動物実験指針に従い、術後 2, 4, 6, 8, 12 週と経時的に安楽死させ (各群  $n=5$ )、大腿骨顆部を採取した。Band saw を用いて大腿骨顆部中央の矢状面での連続切片を作製し、軟 X 線撮影を行った後、脱灰標本ならびに非脱灰標本を作製した。

2) 実験 2: 実験 1 と同様に、左大腿骨顆部外側面に、 $5 \times 7$  mm の楕円形で奥行き 8 mm の骨孔を作製した。同部にチタン金属片のビーズコーティング面を前方に向け骨との間隙が 2 mm となるように挿入した (Fig. 2b)。骨とビーズチタン金属との間隙に複合体を充填したものを複合体群とした (Fig. 2c)。対照群として骨孔にビーズチタン金属片のみを挿入したものを作製した。東京慈恵会医科大学動物実験指針に従い、術後 6, 12, 24 週と経時的に安楽死させ (各群  $n=4$ )、大腿骨顆部を採取し、70% ethanol で固定、脱水した後、methyl-methacrylate 樹脂に包埋した。検体の金属片中央部を中心にマイクロ CT 撮影 (日立メディコ社製: 日立マイクロフォーカス X 線コンビーム CT 装置) を行った後、同部で切割し、走査電子顕微鏡 (SEM) による観察を行った。

### III. 検 討 項 目

#### 1. 実験 1

##### 1) 軟 X 線撮影

大腿骨顆部矢状面切片を軟 X 線撮影し、骨孔内の骨新生ならびに  $\beta$ -TCP の吸収に関して X 線学的に評価した。

##### 2) 組織学的検索

大腿骨顆部より採取した組織切片は 2% paraformaldehyde/0.75 M lysine/0.01 M sodium periodate (PLP) 液で固定した後、15% EDTA 液に含浸させ 14 日間の脱灰を行った。パラフィン包埋の後、 $4 \mu\text{m}$  厚で組織標本を作製した。Hematoxylin-Eosin (H-E) 染色ならびに Tetracycline resistant acid phosphatase (TRAP) 染色を行い、組織学的検討を行った。また、骨孔内の新生骨量を定量化するため、組織標本を光学顕微鏡に接続したカラーモニター (Pixela CCD camera Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo,

Japan) 上に投影し、画像解析ソフトウェア (Adobe Photoshop 5.0) を用いて骨の画像濃度を設定し 2 値化にて新生骨量を計測した。この際、骨孔と近接する海綿骨との境界部分の計測誤差を除去するために、直径 4 mm に収まる 1 辺が  $2\sqrt{2}$  mm の正方形内部を新生骨量計測範囲と定義した。非脱灰標本として組織切片を 70% ethanol で固定、脱水した後、Villanueva bone 染色でブロック染色後、methyl-methacrylate 樹脂に包埋、厚さ  $20 \mu\text{m}$  の非脱灰研磨標本として、骨孔内に残存する  $\beta$ -TCP の面積率を同様に計測した。また、落射蛍光顕微鏡 (Olympus BX60, blue-violet 励起) で観察、2 重ラベル間の距離を標識日数で除し、それぞれの類骨石灰化速度を求めた。

#### 3) 統計学的解析

統計学的解析には Mann-Whitney test を用い、複合体群とブロック群との比較において  $p$  値  $< 0.05$  を有意水準とした。

### 2. 実験 2

#### 1) マイクロ CT 撮影

ビーズチタン金属片中央部分でマイクロ CT 撮影を行い、チタン金属界面の骨形成状況を評価した (Fig. 3)。

#### 2) 走査電子顕微鏡

金属片中央部の切断面における骨形成状況を走査電子顕微鏡を用いて観察し、一部の組織には元素分析を行った。

## IV. 結 果

### 1. 実験 1

#### 1) 軟 X 線撮影

(1) 複合体群: 充填した複合体と周囲の骨との境界は、術後 2 週より不明瞭な像を呈し、経時的に骨孔内の  $\beta$ -TCP 顆粒は淡くなり、術後 12 週では、ほとんどが消失して骨に置換され、骨梁の連続性も確認された (Fig. 4)。

(2) ブロック群: 術後 4 週で  $\beta$ -TCP ブロックの周囲から骨新生が観察され、経時的に骨梁は増加し、術後 12 週では、複合体群と同様にほとんどが消失して骨に置換された。

#### 2) 組織学的検索

##### (1) 脱灰標本 (H-E 染色)

a) 複合体群: 術後 2 週で  $\beta$ -TCP 顆粒周囲に

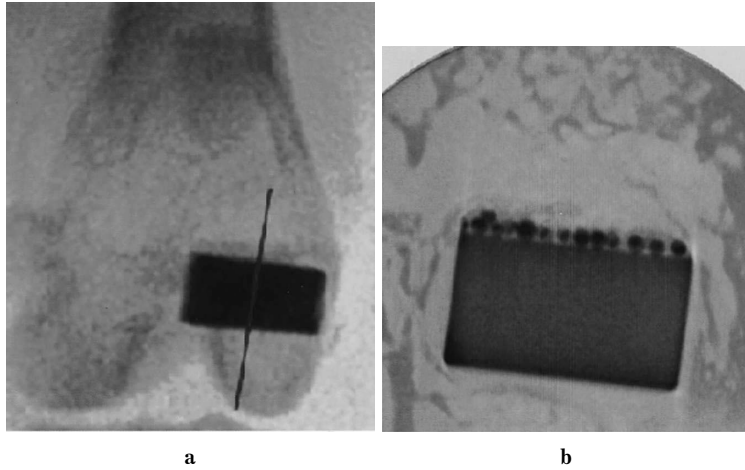


Fig. 3.  
a. A radiograph after insertion of a titanium piece.  
b. A sagittal micro CT view taken at the center of the implant.

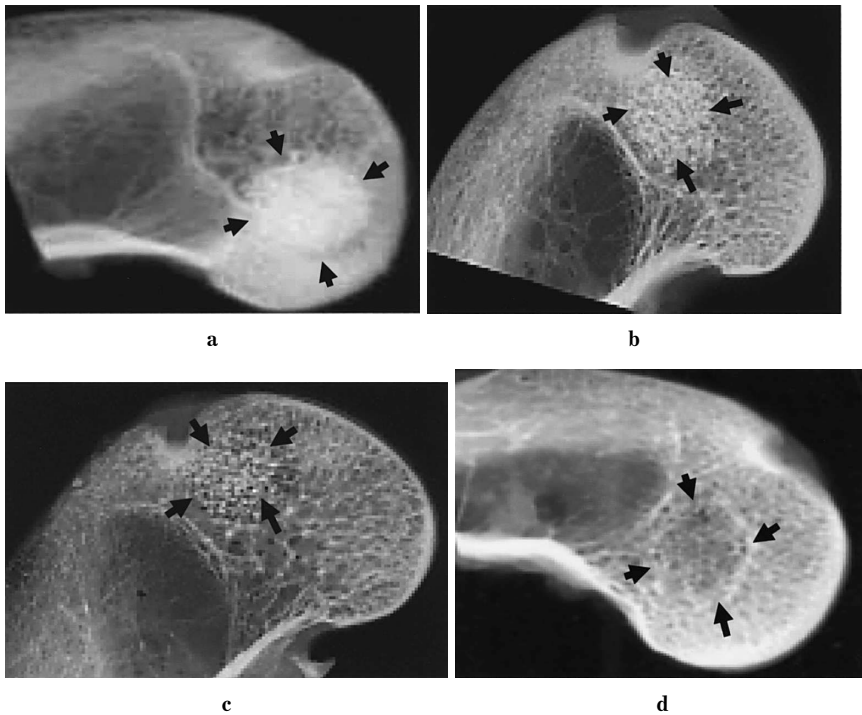


Fig. 4. Representative soft X-ray of defects with a complex at 2 weeks (a), 4 weeks (b), 8 weeks (c), and 12 weeks (d). The margin between adjacent bone and defects filled with the complex was already indistinct at 2 weeks. Granules of  $\beta$ -TCP became more coarse with time, most of them having disappeared and been replaced by bone at 8 weeks.

骨新生を認めた。また、単層配列した骨芽細胞は新生骨の表面に存在していた (Fig. 5)。4 週では、woven bone の成熟化がみられ、骨組織内に血管の形成も認められた。術後 8 週では、骨梁の幅は

増大し、lamellar bone も観察された。

b) ブロック群: 術後 2 週より  $\beta$ -TCP の周囲から骨新生が認められ、複合体群と同様に経時的に骨形成量の増大と  $\beta$ -TCP の消失が観察され

た。

## (2) 脱灰標本 (TRAP 染色)

複合体群, ブロック群ともに術後2週で $\beta$ -TCPの表面に多数のTRAP陽性細胞の出現が観察された。また, 新生骨組織の表面にもTRAP陽性細胞がみられた (Fig. 6)。

## (3) 新生骨ならびに残存 $\beta$ -TCP量

複合体群とブロック群の新生骨量 (面積率) は, 術後2週でそれぞれ8.3%, 9.8%, 4週で25.7%, 31.6%, 6週で24.3%, 24.7%, 8週で25.2%, 24.1%でいずれの週においても有意差を認めなかった。一方, 複合体群とブロック群の骨孔内の残存 $\beta$ -

TCP量は, 術後2週でそれぞれ30.2%, 46.3%, 4週で25.2%, 28.8%, 8週で16.3%, 18.8%であった。術後2週では, 複合体群がブロック群に比べ有意に吸収されていたが, その他の週においては両群間に有意差は認めなかった。

## (4) 類骨石灰化速度

術後4週の類骨石灰化速度は, 複合体群で3.3  $\mu\text{m}/\text{day}$ , ブロック群3.12  $\mu\text{m}/\text{day}$ であった。術後6週では複合体群3.15  $\mu\text{m}/\text{day}$ , ブロック群3.12  $\mu\text{m}/\text{day}$ , 術後8週でそれぞれ2.96  $\mu\text{m}/\text{day}$ , 3.02  $\mu\text{m}/\text{day}$ であり, 両群間に有意差は認めなかった。

## 2. 実験2

### 1) マイクロCT

術後6週の複合体群では, 4羽すべてに骨孔周囲から連続する新生骨梁構造は認められたが, ビーズコーティング面への骨の侵入 (bone ingrowth) は認められなかった (Fig. 7a)。術後12週では, 4羽中3羽に骨孔周囲からビーズコーティング面へ侵入する骨梁構造が認められた (Fig. 7b)。また, 連続する前後のCTスライス像においても類似した骨梁構造を認め, 3次元的に骨梁構造の連続性が確認された。術後24週では, 4羽すべてにコーティング面へのbone ingrowthが認められた。対照として骨孔にチタン金属片のみを挿入した群では, 術後24週が経過しても骨孔周囲からの骨形成は僅かで, ビーズコーティング面へのbone ingrowthは認められなかった (Fig. 7c)。

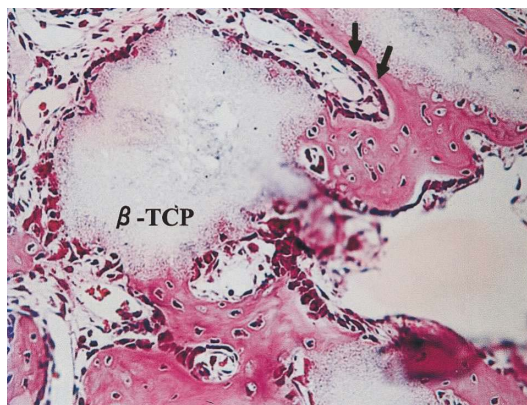


Fig. 5. A photomicrograph of hematoxylin-eosin staining at 2 weeks.  $\beta$ -TCP appears to incorporate with bone and osteoblasts (arrows) are depositing osteoid. Original magnification:  $\times 100$ .

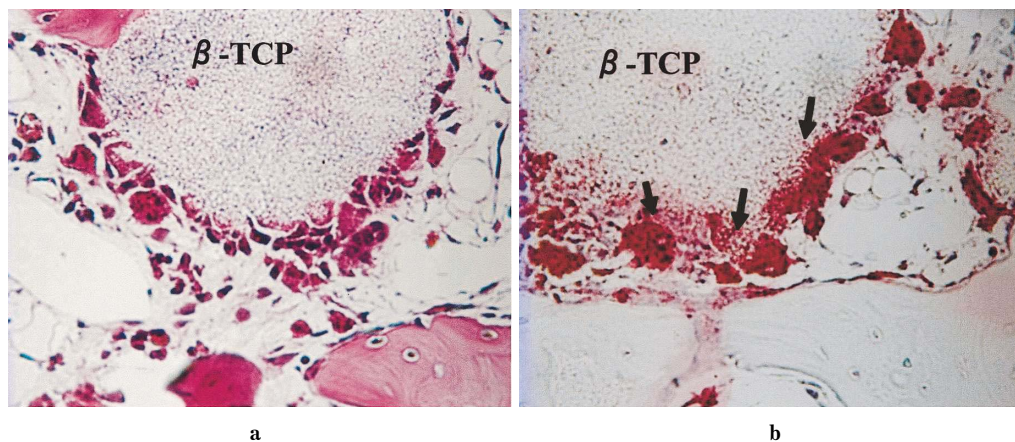


Fig. 6. Photomicrographs of hematoxylin-eosin staining (a) and TRAP staining (b) at 2 weeks. Numerous TRAP-positive cells (arrows) are in contact with the surface of  $\beta$ -TCP. Original magnification:  $\times 400$ .

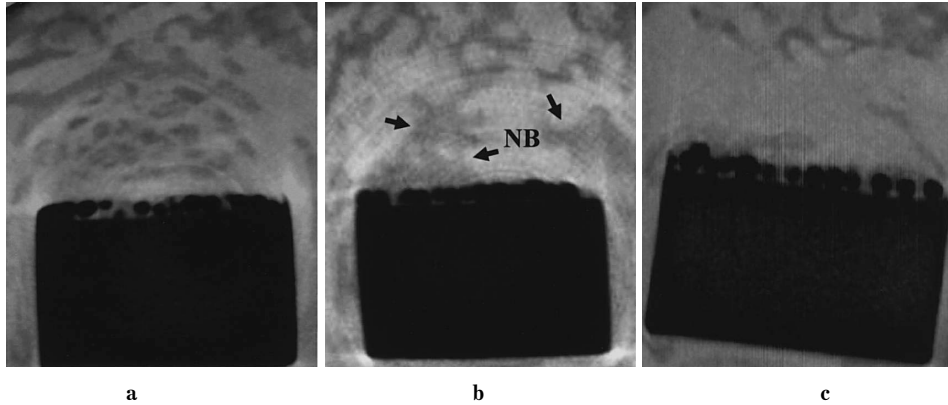


Fig. 7. Periimplant bone gaps were filled with a complex of  $\beta$ -TCP granules and type I collagen (a, b). Micro CT views show no bone formation at 6 weeks (a) but bone ingrowth in the beaded surface of the implant at 12 weeks (b). In contrast, the control defect (without filling) does not show bone ingrowth into the beaded surface even 24 weeks after surgery (c). NB: New bone.

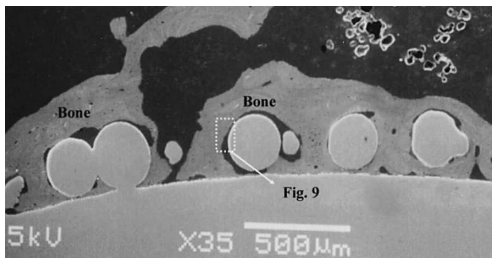


Fig. 8. A SEM micrograph shows bone growth into the beaded surface at 12 weeks. Original magnification:  $\times 35$ .

## 2) 走査電子顕微鏡

術後6週の複合体群では、マイクロCTの所見に一致してビーズコーティング面へのbone ingrowthはみられず、 $\beta$ -TCP顆粒が残存していた。術後12週では、ビーズの深部にまで骨が侵入していることが観察された(Fig. 8)。強拡大(1,000倍)で観察すると、ビーズを取り囲む層状構造を有する骨の形成を認めた(Fig. 9a)。同部の元素分析を行ったところ、炭素、酸素、Na、Mgを含む骨組織であることがわかった。さらにビーズ間を8,000倍に拡大して観察したところ、細胞突起を有する骨細胞であることが判明した(Fig. 9b)。

## IV. 考 察

本研究におけるX線学的ならびに組織学的検討から、 $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体は従来の $\beta$ -TCPブロックと同等の骨伝導能を有することが

明らかとなった。本複合体の $\beta$ -TCPの顆粒径は教室のChazonoら<sup>7)</sup>の報告から250~500 $\mu\text{m}$ の顆粒径が注入可能で骨形成の足場として至適なサイズであることから採用した。Egglira<sup>8)</sup>は、NZW rabbitの海綿骨欠損部に気孔径が200~400 $\mu\text{m}$ の $\beta$ -TCPを充填したところ、術後2週で7.1%の新生骨を認めたと報告している。Shimazaki & Mooneyら<sup>9)</sup>は、術後3週で7.0%の骨形成が認められたと述べている。今回の結果は複合体群、ブロック群ともに術後2週でそれぞれ8.3%、9.8%の骨新生を認めたことから、本研究で使用した $\beta$ -TCPは極めて高い骨伝導能を有するものと思われた。本研究で用いた $\beta$ -TCP量は複合体群、ブロック群ともに0.1gであったが、吸収に関してはブロック群より複合体群の方が早期から吸収されていた。そこで骨孔内における $\beta$ -TCPの吸収状況について詳細に観察してみると、 $\beta$ -TCPブロックでは、周辺より吸収されているのに対して、複合体では、中央部ならびに周辺部から同時に $\beta$ -TCP顆粒が吸収されていた。その理由としては、顆粒がブロックに比べ表面積が大きいためと思われた。すなわち、 $\beta$ -TCPの形状をブロックから顆粒へ変えることで吸収性を早められることが明らかとなった。術後2週のH-E染色標本において $\beta$ -TCPの表面に多数の多核巨細胞が観察され、連続切片にてこれらのほとんどが破骨細胞に特徴的なTRAP陽性細胞であることが確認された。このことは早期より $\beta$ -TCPの吸

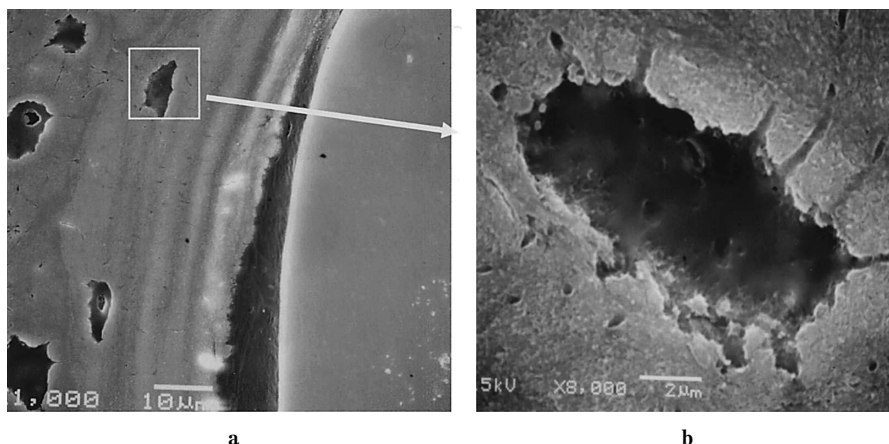


Fig. 9. A higher magnification of Fig. 8 shows layered bone formation (a) and many osteocytes (b) are seen in between the beads at 12 weeks. Original magnification: A ( $\times 1,000$ ), B ( $\times 8,000$ ).

収には細胞を介した吸収が生じているものと思われた。教室の Chazono ら<sup>7)</sup>は  $\beta$ -TCP ブロック充填後、TRAP 陽性細胞数と新生骨量のピークの出現時期には、2~4 週の時間差が生じていることを報告している。すなわち、 $\beta$ -TCP 充填後の骨への置換は通常の骨でみられる骨芽細胞と破骨細胞の骨代謝と極めて類似した生物学的応答であることを示唆している。本研究におけるコラーゲンの生物学的影響は明らかではないが、骨基質成分であることから、骨形成を司る細胞の足場となり得るものと推察される<sup>10)-12)</sup>。さらに、生体内では 37°C 付近に加温されコラーゲン線維が再構築しゲル化することで、 $\beta$ -TCP 顆粒を拡散することなく局所に留めておくことが可能と思われる。

本研究で開発した  $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体の臨床応用として、人工股関節再置換術の際の骨欠損への使用を検討した。人工股関節置換術は、関節機能再建および除痛が得られ、良好な治療成績が報告されている。しかし、長期間経過すると、骨融解や緩みによるルースニングが生じることが大きな問題となっている<sup>13)-15)</sup>。再置換術の際の骨融解による骨欠損の再建には、自家骨移植、同種骨移植、人工骨移植、骨セメントなどが使用されている。近年では、骨欠損部の治療に対して、Maloney<sup>16)</sup>、Hellman<sup>17)</sup>、Benson<sup>18)</sup>らは人工股関節を温存した状態での同種骨移植を行い良好な成績が得られたことを報告している。しかし、自家骨には採骨量の制限があり、同種骨は本邦では入



Fig. 10. Periimplant bone gaps (arrows) are seen in the distal part of the implant.

手困難である。これに対し、ブロック状や顆粒状の人工骨は、複雑な形状をした部位や深部に充填困難である。そこで、本複合体を充填することで骨新生を生じ、さらに、人工関節インプラント表面に骨の侵入 (bone ingrowth) を獲得できれば理想的と考えた。Kienapfel<sup>19)</sup>、Pilliar<sup>20)</sup>、McDonald<sup>21)</sup>、Jasty<sup>22)</sup>らは 50~100  $\mu$ m 以上のマイクロモーション、1 mm 以上の間隙の環境は、セ



メントレス人工関節のビーズコーティング面への bone ingrowth を妨げると報告している。そこで、実験 2 では、マイクロモーションの原因となる荷重の影響を除くため、インプラントに荷重がかからない状態で、骨とチタン金属の間隙 2 mm を有する実験モデルを作製し、同部に複合体を充填した。その結果、経時的に  $\beta$ -TCP は吸収され、骨への置換を認め、さらに、術後 12 週の走査電子顕微鏡での観察では、ビーズの深部にまで bone ingrowth が認められた。これに対して対照群では、24 週経過しても bone ingrowth は生じなかった。このことからセメントレスインプラントと骨との間隙に生じた骨欠損部に本複合体を充填するとビーズコーティング面への bone ingrowth を生じることが可能で、人工股関節再置換術の骨欠損の修復の臨床応用可能なものと考え (Fig. 10)。

## V. 結 語

1.  $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体は  $\beta$ -TCP ブロックと同等の骨伝導能を有することが判明した。
2.  $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体は  $\beta$ -TCP ブロックと比較して早期より吸収されることが判明した。
3.  $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体は、ペースト状で経皮的注入可能な骨補填材であり、細胞の足場となるばかりでなく、骨形成に関与する成長因子の担体としても期待できるものと考え。
4.  $\beta$ -TCP-コラーゲン複合体の臨床応用として、セメントレス人工股関節再置換術の際の骨欠損への使用を検討したところ、ビーズコーティング面への bone ingrowth が認められた。本複合体は、人工股関節再置換術に際して、インプラントと骨の間隙に注入することができる骨補填材として臨床応用可能なものと考え。

稿を終えるに臨み、終始懇切なるご指導とご校閲を賜りました東京慈恵会医科大学整形外科講座主任教授、藤井克之先生に深謝いたします。また、本研究を行うにあたり直接ご指導、ご鞭撻いただきました国立病院機構宇都宮病院臨床研究部長、田中孝昭先生に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Oyake Y, Beppu M, Ishi S, Takagi M, Takashi M. Intramedullary anchoring strength of titanium rod with mixed  $\beta$ -tricalcium phosphate and fibrin adhesive. *J Orthop Sci* 2002; 7: 123-30.
- 2) 小澤正宏. 高純度  $\beta$ -TCP の骨形成能と溶解性に関する実験的研究. *生体材料* 1995; 13: 167-75.
- 3) Saito M, Shimizu H, Beppu M, Takagi M. The role of  $\beta$ -tricalcium phosphate in vascularized periosteum. *J Orthop Sci* 2000; 5: 275-82.
- 4) Dong J, Uemura T, Shirasaki Y, Tateishi T. Promotion of bone formation using highly pure porous  $\beta$ -TCP combined with bone marrow-derived osteogenic cells. *Biomaterials* 2002; 23: 4493-502.
- 5) 森川 茂. 人工骨充填としての高純度  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) と hydroxyapatite との比較検討. *慈恵医大誌* 2000; 115: 193-207.
- 6) 鳥山素弘, 川村資三. 湿式粉碎法を用いた  $\beta$ -リン酸三カルシウムの合成. *Yogyo-kyokai-Shi* 1986; 94: 1004-8.
- 7) Chazono M, Tanaka T, Komaki H, Fujii K. Bone formation and bioresorption after implantation of injectable  $\beta$ -tricalcium phosphate granules-hyaluronate complex in rabbit bone defects. *J Biomed Mater Res* 2004; 70A: 542-9.
- 8) Eggli PS, Muller W, Shenk RK. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in cancellous bone of rabbits. *Clin Orthop* 1988; 232: 127-38.
- 9) Shimazaki K, Mooney V. Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute. *J Orthopaed Res* 1985; 3: 301-10.
- 10) Veis A. Mineral-matrix interaction in bone and dentin. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 493-7.
- 11) Boskey AL. Noncollagenous matrix proteins and their role in mineralization. *Bone Mineral* 1989; 6: 111-23.
- 12) Butler WT. Dentin matrix protein and dentinogenesis. *Connect Tissue Res* 1995; 33: 59-65.
- 13) Davis HICM. Cemented revision of failed uncemented femoral components of total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg* 1987; 85-A:

- 1264-9.
- 14) Engh CA, Bobyn JD, Glassman AH. Porous-coated hip replacement : the factors governing bone ingrowth, stress shielding, and clinical results. *J Bone Joint Surg* 1987 ; 69-B : 45-55.
  - 15) Raut VV, Siney PD, Wroblewski BM. Revision for aseptically loosening using the cemented Charnley prosthesis : a review of 351 hips. *J Bone Joint Surg* 1995 ; 77-B : 23-7.
  - 16) Maloney WJ, Herzwurm P, Paprosky W, Rubash HE, Engh CA. Treatment of pelvic osteolysis associated with a stable acetabular component inserted without cement as part of a total hip replacement. *J Bone Joint Surg Am* 1997 ; 79 : 1628-34.
  - 17) Hellman EJ, Capello WN, Feinberg JR. Omnifit cementless total hip arthroplasty : a 10-year average follow up. *Clin Orthop* 1999 ; 64 : 164-74.
  - 18) Benson ER, Christensen CP, Monesmith EA, Gomes SL, Bierbaum BE. Particulate bone grafting of osteolytic femoral lesions around stable cementless stems. *Clin Orthop* 2000 ; 381 : 58-67.
  - 19) Kienapfel H, Swain R, Hettel A, Wilke A, Koller M, Griss P. Recombinant and nonrecombinant factor XIII and its effect on bone ingrowth and strength of fixation. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1997 ; 116(4) : 239-43.
  - 20) Pilliar RM, Lee JM, Maniopoulos C. Observations on the effect of movement on bone ingrowth into porous-surfaced implants. *Clin Orthop* 1986; Jul(208) : 108-13.
  - 21) McDonald DJ, Fitzgerald RH Jr, Chao EY. The enhancement of fixation of a porous-coated femoral component by autograft and allograft in the dog. *J Bone Joint Surg Am* 1988 ; 70 : 728-37.
  - 22) Jasty M, Bragdon CR, Schutzer S, Rubash H, Haire T, Harris WH. Bone ingrowth into porous coated canine total hip replacements : quantification by backscattered scanning electron microscopy and image analysis. *Scanning Microsc* 1989 ; 3(4) : 1051-6 ; discussion 1056-7.