

ミニレビュー

EMD の現在—生誕 20 年にあたり—

佐々木大輔, 八重 柏隆

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野

はじめに

ヒトの歯周炎は歯肉縁下プラーク中に存在する歯周病原細菌に起因する感染症であり、炎症の進行に伴い歯周組織の破壊が進み、最終的には歯そのものを喪失する不可逆の疾患である。その歯周炎の治療法としてスケーリング・ルートプレーニングをはじめとした歯周基本治療や、中等度、重度歯周炎に対してはフラップ手術といった歯周外科治療がある。これは原因除去を目的とした治療法であることから、歯周組織の治癒は修復までであり、再生（歯周組織を健全な元の状態に戻す）には至らない。そこで歯周組織そのものを元の状態に回復させる歯周組織再生療法の取り組みがこれまで試みられてきた。本邦における歯周組織再生療法は現在、GTR 法、骨移植術、Enamel Matrix Derivative (EMD, エムドゲイン®) の適用の 3 つがある¹⁾。EMD は 2015 年時点で、世界で最初に承認された欧州での発売開始 (1995 年) から約 20 年を迎える (図 1)。そこで本ミニレビューでは、EMD のコンセプトから現在までの研究、臨床での報告を一旦整理し、現状での EMD を再評価することにより、これからの歯科治療における日常臨床において、EMD を適用した歯周組織再生療法がより身近なものになることを目的としてこの約 20 年間に総括する。

総 説

EMD のコンセプトは歯根の発生期に由来する。内エナメル上皮と外エナメル上皮が接合して形成される Hertwig's 上皮鞘から分泌される enamel matrix protein が歯根象牙質に付着するとセメント芽細胞を誘導

する。その現象を基に、Hammarström (1997) は、enamel matrix protein の主成分であるアメロジェニンが、象牙質に付着することで無細胞セメント質を誘導することを示した²⁾。またサルを用いた頬側裂開モデル³⁾ や Heijl らによるヒトを対象とした矯正治療のための抜去予定歯 (下顎左側中切歯) を用いて、唇側骨面に裂開状骨欠損を人工的に付与し、enamel matrix derivative (EMD) を露出根面に塗布することで歯周組織再生の可能性を示唆した⁴⁾。その際、Hammarström らが enamel matrix protein のキャリアーとして propylene glycol alginate (PGA) が有用であることを報告³⁾ し、スウェーデンの BIORA 社が生後 6 ヶ月の幼若豚の下顎歯胚から抽出、精製した enamel matrix protein に PGA をキャリアーとして添加し、エムドゲイン®として商品化した。この EMD は 1998 年から日本でも販売され、当時は溶解液の PGA を enamel matrix protein のバイアルに加え、数回振盪し溶解するのを待ってから溶液を吸引し使用した。Zetterström らはエムドゲイン®のヒトへの使用上、安全性に問題がないことを報告している⁵⁾。現在はより安全性確保のため熱処理工程が加えられ、また利便性も向上したシリンジ状の Emdogain® gel として販売、臨床の場で使用されている。加熱処理に対する EMD の臨床上的効果に関しては、Bratthall らが非加熱の Emdogain® と Emdogain® gel の臨床上的有意差 (ポケット深さの減

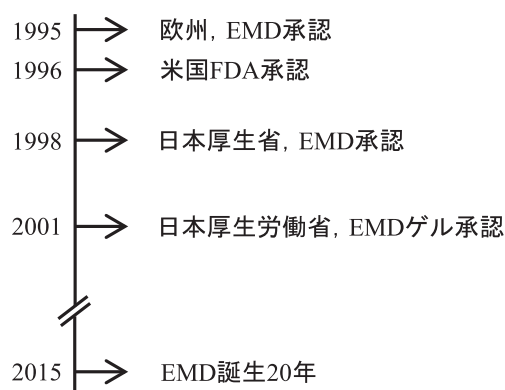


図 1 EMD の現在までの経過

連絡先: 佐々木大輔

〒020-8505 岩手県盛岡市中央通 1 丁目 3-27

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野

E-mail: daisukes@iwate-med.ac.jp

doi: 10.2329/perio.57.135

少, アタッチメントゲイン, エックス線評価による歯槽骨の回復) はないとしている⁶⁾。

EMD の臨床

歯周基本治療による口腔環境の改善が徹底的に図られた口腔内であっても, 歯周基本治療だけでは治癒しない深い歯周ポケットには歯周病原細菌が必ず存在する環境下(口腔内)で歯周組織再生療法は行われる。Hammarström らのヒトの抜去予定歯を利用した EMD の歯周組織再生効果の報告は, 歯周炎に罹患していない口腔内での歯周組織再生であった³⁾。歯周組織再生を必要とする口腔内環境は通常, 歯周病原細菌によって生じた歯周組織破壊部位である。そこで Heijl らは歯周炎に罹患したことで生じた歯槽骨欠損部位, つまりプロービング・ポケット・デプス(PPD) 6 mm 以上, エックス線写真上での骨吸収が 4 mm 以上, 欠損幅 2 mm 以上の垂直的骨欠損部位に対して EMD を用いたところ, 8 ヶ月で 2.1 mm, 16 ヶ月で 2.3 mm, 36 ヶ月で 2.2 mm のクリニカル・アタッチメント・レベル(CAL) の獲得が得られ, 全ての測定部位でコントロール群と比較し有意に高いことが認められた。その際, EMD を用いることで細菌感染リスクが増加することは認められなかったとしている⁷⁾。

Mombelli らは EMD を用いた歯周組織再生には細菌叢のコントロールが必要であることを報告している⁸⁾。すなわちエムドゲインには細菌感染に対する炎症軽減または抗菌としての効果はないことを示している⁸⁾。またこの研究では非外科療法(SRPのみ)にエムドゲインを用いても有意な歯周組織再生効果は認められなかったとしており, ポケット除去を目的とした歯周外科治療を必要とする部位での使用が適応であることを示唆している。その中でも骨縁下欠損形態と EMD 適用結果について, 2 壁, 3 壁性骨欠損群が 1 壁性骨欠損群および水平性骨欠損群よりも治癒が良好であるとの報告⁹⁻¹¹⁾ があることから, EMD は骨内欠損, とりわけ骨壁数の多い, 多くの骨壁に囲まれた骨内欠損部位において, より歯周組織再生の効果を発揮しやすいものと考えられる。さらに EMD を適用する骨内欠損においては骨欠損角度に関しても言及されている。エックス線写真を用いて, 骨欠損底部からの骨欠損(吸収)角度を測定した場合, 36 度以上の角度と比較し 22 度以下の方が, より優れた CAL の獲得が認められた報告¹²⁾ や 46 度以上の部位と比較して 29 度未満の部位で, より大きな CAL の改善が認められた報告¹³⁾ から, エックス線写真上での骨欠損角度が, より狭い骨内欠損において, EMD による歯周組織再生効果をより得られることを示唆している。

骨縁下欠損との関係については多数の研究が報告されている^{12, 14-20)}。20 論文を引用した Koop らのシステ

マティックレビュー²⁰⁾ では, ポケット深度 6 mm 以上, もしくは 3 mm 以上の骨縁下欠損に EMD を用いた 13 論文を引用し, EMD の術後 1 年経過時の平均 CAL 獲得量は 1.7-4.5 mm の範囲と報告している。また Figueira らのシステマティックレビューでは EMD の術後 1 年経過時の平均 CAL 獲得量は 1.9-4.14 mm と報告²¹⁾ しており, さらに日本人では塩山らが 4.6 ± 2.0 mm と報告¹³⁾ していることを考慮すると, 骨縁下欠損への EMD の使用は CAL 獲得には有効であることが示唆される。また歯槽骨内欠損の改善量は, EMD 適用術後 6 ヶ月経過時に行った歯周病検査の際に撮影したエックス線上からの骨改善量は 0.8 mm との報告²⁵⁾ やエックス線写真上で 0.7-3.1 mm の範囲であるとの報告²³⁾, 吉江らの報告²⁴⁾ によると計測・実測値では 0.9 mm から 2.6 mm の範囲で, 平均 1.6 mm であること, また術前の骨欠損と比較した術後の骨欠損充塞率では, 術後 4 ヶ月で 65%⁴⁾, 術後 6 ヶ月で 20.5 ± 49.1%²⁵⁾, 術後 1 年以上経過後の平均値が 74%²⁶⁾ との各報告がある。各研究報告により術後の骨改善量の数値のばらつきは, 対象とした骨欠損形態の違いによるものと考えられる。

根分岐部病変への EMD の適用

EMD を用いることで, 上顎における根分岐部病変(Class II)では術前と比較し術後 24 ヶ月の PPD が 1.9 ± 1.6 mm の減少を認めた報告²⁷⁾ や下顎における根分岐部病変(Class II)では術前と比較し術後 14 ヶ月の水平的な分岐部深さは 2.8 mm の減少を認めた報告²⁸⁾ があり, 根分岐部病変の治療においても EMD が有効であることが認められる。また根分岐部病変において Class I と比較し Class II の方が CAL および骨量において大きな獲得が認められることが報告²⁹⁾ されている(有意差無し)。しかし, EMD を適用しても, 根分岐部病変で失った骨欠損を完全に閉鎖出来ている訳ではないとの報告²⁸⁾, また根分岐部病変に EMD を適用した場合の予後の推測は困難であるとの報告³⁰⁾ もあることから, 現時点において根分岐部病変に EMD を用いる場合には, 術後の予後観察後, 状況に応じてファーケーションプラスチック等の治療も必要と思われる。

根面被覆への EMD の適用

Wennström らが, EMD による軟組織における創傷治癒促進の可能性を報告³¹⁾ していることをはじめ, 根面露出による知覚過敏症状や審美障害といった歯肉退縮症例に対しての治療のオプションの一つとして近年 EMD が用いられることがある。歯肉退縮症例に対して結合組織移植術(CTG)や歯肉弁歯冠側移動術

(CAF),あるいはその併用に対して,変法としてそれらの術式と同時にEMDを塗布し,治癒の促進を図る方法である。Resperiniらは,歯肉退縮に対してCTG単独で被覆する場合と比較し,CTGとEMDを併用して被覆した方が治癒は良好であったと報告³²⁾している。またCAFとEMDの併用は歯周組織再生と根面被覆という2つの目的を同時に満たすという報告³³⁻³⁵⁾もある。特にCAFとCTGの併用療法を行う際には,必ず受容部と供給部双方の手術が必要と同時に,受容部のみならず供給部への侵襲も伴うなど,広範囲にわたる侵襲および時間的,手技的な困難が伴うが,CTGの代わりにEMDを併用することで,CAFとCTGの併用療法とほぼ同等の結果が得られたとの報告³⁶⁾もあることから,EMDを使用することで侵襲,手術時間の軽減,手技の簡便化が期待される。しかし,この歯肉退縮症例に対するエムドゲインの使用は歯周組織の再生も目的としているが,長い上皮性付着の治癒となる場合もあることが報告³¹⁾されているのも事実である。

再生工学から見たEMD

ヒトの歯胚発生期を模倣し,歯周組織再生材料として生み出されたEMDは,amelogeninを主成分としたenamel matrix proteinである¹⁾。生後6ヶ月の幼若ブタから抽出したenamel matrix proteinを使用しているが,近年の基礎的研究では,主成分のアメロジェニンの他にエナメル基質由来タンパクや各種増殖因子が含有されていることを示唆する報告がなされており,その中には増殖因子としてTGF- β やBMP等が含有されている可能性が挙げられている³⁷⁻⁴⁰⁾。

我々は,生後8週齢のWistar系ラットを用いて,EMDの歯槽骨再生誘導活性について検討を行った。方法は上顎両側口蓋側に歯肉溝切開を施し,粘膜骨膜弁を剥離・翻転,滅菌ラウンドバーを用いて両側の第一臼歯遠心根口蓋側部に3壁性の歯槽骨欠損を作製

し,片側を対照群とし,もう一方にEMDを埋入,縫合した。術後6週においてラットを屠殺し上顎骨標本作製した(図2)。両側の歯槽骨3壁性骨欠損部位に対してマイクロフォーカスX線CT検査システムを用いて上顎骨標本のCT断層増データを集積(図3)し,断層像のPixel Valuesを骨密度として計測した(図4)。その結果,EMD埋入群で再生された歯槽骨の骨密度は,対照群の骨密度と比較して有意に高いことが明らかとなった⁴¹⁾。以上のことから,EMDは歯胚発生期のメカニズムを応用した歯周組織再生材料ではあるが,それ以外にBMP様活性が含まれている可能性も示唆される。

現在の再生療法はLangerらが唱えたtissue engineering(組織工学)に基づいている⁴²⁾。すなわち組織そのものを再生するstem cell(幹細胞),その未分化な幹細胞を目的とする組織へと分化させるsignaling molecule(シグナル分子),再生する組織が必要とするスペース確保また幹細胞が遊走する場を提供するscaffold(足場),この3つの要素がいずれも過不足なく融合した場合,目的とする組織あるいは臓器の再生が促されるというコンセプトである。このtissue engineeringを歯周組織再生療法に当てはめると,歯肉上皮細胞の侵入を阻止し,歯根膜由来細胞が増殖できるスペースを確保することを目的とした組織再生誘導法guided tissue regeneration method(GTR法)はあくまで「足場」であり,セメント芽細胞を誘導する,または増殖因子様の活性を見せるEMDは「シグナル分子」であると考えられる。そのように考えると,「足場」の提供を目的としたGTR法と「シグナル分子」の提供を目的としたEMDを併用すれば,組織工学という観点から考えると,3つの構成要素のうちの2つを満たすことより,GTR法またはEMDを歯周組織再生療法としてそれぞれ単独で行うことよりも,より優れた歯周組織再生が期待されるものと考えられる。しかし,実際に動物研究⁴³⁾および臨床研究⁴⁴⁻⁴⁹⁾においてGTR法とEMDを併用した療法が試行されたが,双方の研

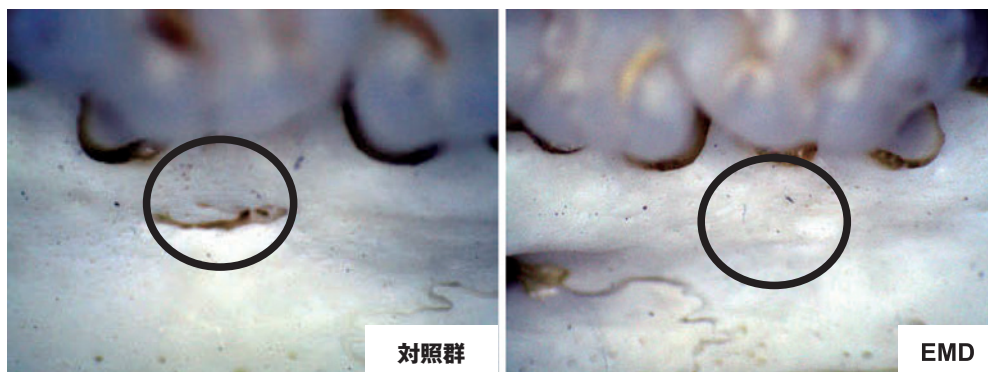


図2 術後6週の上顎骨標本(文献⁴¹⁾より引用)

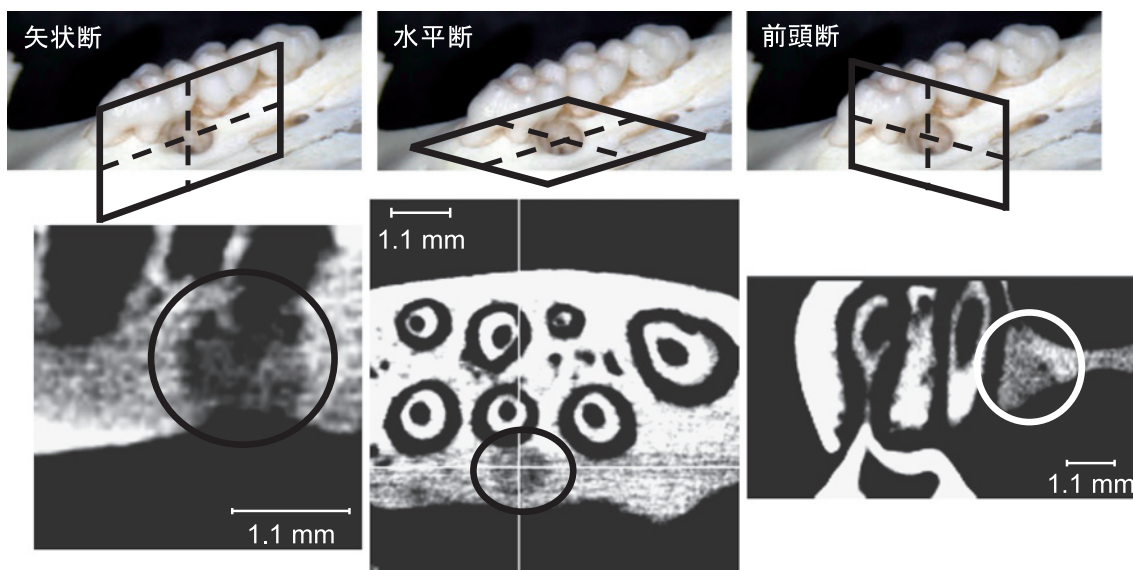


図3 術後6週の歯槽骨3壁性骨欠損部CT断層像(矢状断, 水平断, 前頭断)
(文献⁴⁾より引用)

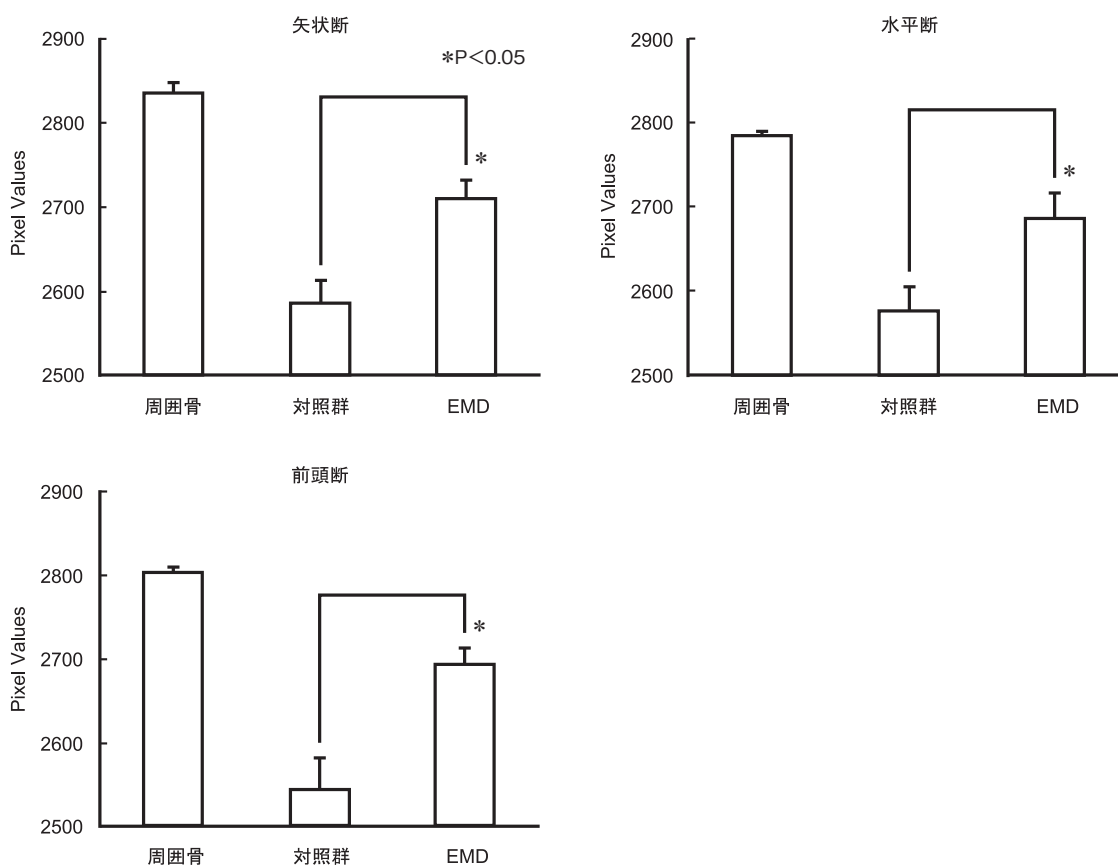


図4 術後6週の新生骨緻密度(文献⁴⁾より引用)

究においても GTR 法と EMD 療法を併用しても CAL の獲得量に関しては, 付加的価値はないと結論づけられており, むしろ GTR 膜による感染リスク, 併用によ

るコストの増大を考えれば, 積極的に併用することは推奨されないものと考えられる。

一方, EMD と scaffold の併用療法として, EMD

と bovine porous bone mineral (BPBM: ウシ多孔質骨塩) の併用療法の報告⁵⁰⁾があり, PPDとCALにおいて, EMD単独と比較し EMDとBPBMの併用療法の方が有意に良好な臨床結果が得られたとしている。また近年では EMDと天然骨 (NBM) や EMDと β -TCPの併用療法⁵¹⁾, さらに EMDとハイドロキシアパタイト (HA), β -TCPの併用療法⁵²⁾といった EMDと scaffold の併用療法が数多くなされ良好な結果が報告されている。

EMDの現在

ここまで約20年間の EMDに関する研究の経緯や臨床報告について述べてきた。EMDに限らず, 通常は新製品が市場に出回ると, 発売当初はその製品に対し良好な結果を報告することが多い。EMDに関しては, Muellerらのメタ解析により, 1997-2003年の研究結果と2004-2010年の研究結果を比較することで初期の研究結果の妥当性を評価した報告⁵³⁾がある。それによると1997-2003年の研究結果と2004-2010年の研究結果には統計学的な有意差は認められなかった。そしてこのメタ解析では, 骨内欠損に EMDを適用することで CAL獲得量は3.04 mm, PPDの減少は4.05 mm, エックス線撮影上からの骨再生量は43.02% (2.35 mm)と報告している。欠損部位環境 (骨欠損様式, 骨欠損の深さ, 歯周ポケットの深さ) により数値に差はあるものの, EMDによる歯周組織再生力は上記の数値を指標として使用することが望まれるものと考えられる。また根面被覆に対する EMDの使用に関しては, 2015年の AAPのコンセンサスレポート⁵⁴⁾より, Millerの分類で Class 1と Class 2に関しては, CTGが完全根面被覆または角化歯肉の増大という点で最も効果的であるが, CAFと EMDの併用時は, EMDを結合組織の代替としての使用が可能としている。しかし Class 3に関しては根拠に乏しいとしており, また Class 4に関しては予知性が低いことも併せて報告している。

EMDの今後の展望

EMDによる歯周組織再生療法については, 歯周組織という「形態的」な組織再生評価はこれまで多数報告されているが「機能的」な観点から組織再生評価を報告するものは少ない。臨床においては, 形態に代表される審美的な回復も重要である。しかし, 再生した歯周組織が組織複合体として, 咬合機能を考慮した観点からも経時的に良好な状態で機能し続ける点に関する評価は臨床的にきわめて重要である。長期にわたる臨床応用を念頭に, EMDによる歯周組織再生の機能的側面からも, 今後より多数の長期経過についての機能的評価報告が必要と考える。

また今後の研究においては, 再生医学のコンセプトから EMDをシグナル分子と仮定し, 組織工学の3つの構成から成る幹細胞, 足場, EMDの3者併用療法の研究が望まれる。具体的には, 足場の種類による EMDとの相性, 幹細胞と EMDの相性, 欠損部位に占める幹細胞, 足場, EMDの各至適割合などを, より詳細に検討すべきと考えられる。

EMDが臨床の場で使用され始め現在まで約20年が経過した。本レビューで現時点での臨床および研究報告を総括し, 今後のさらなる発展を期待したい。

利益相反

論文投稿に関連し, 開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 特定非営利活動法人 日本歯周病学会: 歯周病患者における再生治療のガイドライン 2012.
- 2) Hammarström L: Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol*, 24: 658-668, 1997.
- 3) Hammarström L, Heijil L, Gestrelus S: Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol*, 24: 669-677, 1997.
- 4) Heijil L: Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect.: A Case report. *J Clin Periodontol*, 24: 693-696, 1997.
- 5) Zetterström O, Andersson C, Eriksson L, Fredriksson A, Friskopp J, Heden G, Hansson B, Lundgren T, Nilveus R, Olsson A, Renvert S, Salonen L, Sjöström L, Winell A, Östgren A, Gestrelus S: Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of periodontal defects. *J Clin Periodontol*, 24: 697-704, 1997.
- 6) Bratthall G, Lindberg P, Havemose-Poulsen A, Holmstrup P, Bay L, Söderholm G, Norderyd O, Andersson B, Rickardsson B, Hallström H, Kullendorff B, Sköld Bell H: Comparison of ready-to-use EMDOGAIN[®]-gel and EMDOGAIN[®] in patients with chronic adult periodontitis. *J Clin Periodontol*, 28: 923-929, 2001.
- 7) Heijil L, Svärdsström G, Östgren A: Enamel matrix derivative (EMDOGAIN[®]) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol*, 24: 705-714, 1997.
- 8) Mombelli A, Brochut P, Plagnat D, Casagni F, Gianpoulou C: Enamel matrix proteins and systemic antibiotics as adjuncts to non-surgical periodontal treatment: clinical effects. *J Clin Periodontol*, 32: 225-230,

- 2005.
- 9) Rosling B, Nyman S, Lindhe J: The effect of systematic plaque control on bone regeneration in intrabony pockets. *J Clin Periodontol*, 3: 38-53, 1976.
 - 10) Polson AM, Heijl LC: Osseous repair in intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol*, 5: 13-23, 1976.
 - 11) Tonetti MS, Prato GP, Cortellini P: Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *J Clin Periodontol*, 23: 548-556, 1996.
 - 12) Tsitoura E, Tucker R, Suvan J, Laurell L, Cortellini P, Tonetti M: Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol*, 31: 643-647, 2004.
 - 13) 塩山秀裕, 水谷幸嗣, 青山典生, 須田智也, 田中敬子, 遠藤亜希子, 楠侑香子, 山脇史寛, 藤原一高橋 香, 木下淳博, 荒川真一, 小田 茂, 和泉雄一: エナメルマトリックスデリバティブを用いた先進医療の臨床評価と歯周組織再生予測因子の検討. *日歯周誌*, 56: 302-313, 2014.
 - 14) 安藤 修, 平野治朗, 大口弘和, 池田雅彦, 加藤 熙, 鈴木文雄, 船越栄次: 歯周疾患を伴う垂直性骨吸収部位に応用したEMD (エムドゲイン®) の臨床評価—日本における多施設での調査—. *日歯周誌*, 47: 80-89, 2005.
 - 15) Okuda K, Momose M, Miyazaki A, Murata M, Yokoyama S, Yonezawa Y, Wolff LF, Yoshie H: Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. *J Periodontol*, 71: 1821-1828, 2000.
 - 16) Tonetti MS, Lang NP, Cortellini P, Suvan JE, Adriaens P, Dubravec D, Fonzar A, Fourmouis I, Mayfield L, Rossi R, Silvestri M, Tiedemann C, Topoll H, Vangsted T, Wallkamm B: Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects: a multicentre randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*, 29: 317-325, 2002.
 - 17) Saito A, Nanbu Y, Nagahata T, Yamada S: Treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivative in private practice: a long-term retrospective study. *Bull Tokyo Dent Coll*, 49: 89-96, 2008.
 - 18) Fujinami K, Hayakawa H, Ota K, Ida A, Nikaido M, Makiishi T, Saito A: Two-year follow-up of treatment of intrabony periodontal defect with enamel matrix derivative. *Bull Tokyo Dent Coll*, 52: 215-221, 2011.
 - 19) Eickholz P, Röhlke L, Schacher B, Wohlfeil M, Dannewitz B, Kaltschmitt J, Krieger JK, Krigar DM, Reitmeir P, Kim TS: Enamel matrix derivative in propylen glycol alginate for treatment of intrabony defects with or without systemic doxycycline: 12- and 24-Month Result. *J Periodontol*, 85: 669-675, 2014.
 - 20) Koop R, Merheb J, Quirynen M: Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in reconstructive periodontal therapy: a systematic review. *J Periodontol*, 83: 707-720, 2012.
 - 21) Figueira EA, de Assis AO, Montenegro SC, Soares DM, Barros AA, Dantas EM, de Vasconcelos Gurgel BC: Long-term periodontal tissue outcome in regenerated infrabony and furcation defects: a systematic review. *Clin Oral Invest*, 18: 1881-1892, 2014.
 - 22) Sculean A, Reich E, Chiantella GC, Brex M: Treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix protein derivative (Emdogain): a report of 32 cases. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 19: 157-163, 1999.
 - 23) Kalpidis CD, Ruben MP: Treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivative: a literature review. *J Periodontol*, 73: 1360-1376, 2002.
 - 24) 吉江弘正: エナメルタンパク再生療法のゆくえ. *日歯周誌*, 43: 99-106, 2001.
 - 25) 岡野千春, 大橋顕二郎, 鈴木桃子, 小山朱美, 高井英樹, 小方頼昌: エムドゲイン®ゲルを用いた歯周組織再生療法の臨床パラメーターとX線写真の比較検討. *日歯周誌*, 56: 32-38, 2014.
 - 26) Froum SJ, Weinberg MA, Rosenberg E, Tarnow D: A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a 12-month re-entry study. *J Periodontol*, 72: 25-34, 2001.
 - 27) Casarin RC, Ribeiro Edel P, Nociti FH Jr, Sallum AW, Ambrosano GM, Sallum EA, Casati MZ: Enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class II furcation involvements: a prospective 24-month randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 37: 1100-1109, 2010.
 - 28) Jepsen S, Heinz B, Jepsen K, Arjomand M, Hoffmann T, Richter S, Reich E, Sculean A, Gonzales JR, Bödeker RH, Meyle J: A randomized clinical trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. part I: study design and results for primary outcomes. *J Periodontol*, 75: 1150-1160, 2004.
 - 29) Casarin RC, Del Peloso Ribeiro E, Nociti FH Jr, Sallum AW, Sallum EA, Ambrosano GM, Casati MZ: A double-blind randomized clinical evaluation of enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class-II furcation involvements. *J Clin Periodontol*, 35: 429-437, 2008.
 - 30) Peres MFS, Ribeiro ÉDP, Casarin RCV, Ruiz KGS, Jun-

- ior FHN, Sallum TA, Casati MZ: Hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate and enamel matrix derivative for treatment of proximal class II furcation defects: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 40: 252-259, 2013.
- 31) Wennström JL, Lindhe J: Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region. *J Clin Periodontol*, 29: 9-14, 2002.
- 32) Rasperini G, Rocuzzo M, Francetti L, Acunzo R, Consonni D, Silvestri M: Subepithelial connective tissue graft for treatment of gingival recessions with and without enamel matrix derivative: a multicenter, randomized controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 31: 133-139, 2011.
- 33) McGuire MK, Cochran DL: Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue. Part 2: histological evaluation. *J Periodontol*, 74: 1126-1135, 2003.
- 34) Gestrelus S, Andersson C, Johansson AC, Persson E, Brodin A, Rydhag L, Hammarström L: Formulation of enamel matrix derivative for surface coating kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol*, 24: 678-684, 1997.
- 35) Castellanos A, de la Rosa M, de la Garza M, Caffesse RG: Enamel matrix derivative and coronal flaps to cover marginal tissue recessions. *J Periodontol*, 77: 7-14, 2006.
- 36) McGuire MK, Nunn M: Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue. Part 1: Comparison of clinical parameters. *J Periodontol*, 74: 1110-1125, 2003.
- 37) Suzuki S, Nagano T, Yamakoshi Y, Gomi K, Arai T, Fukae M, Katagiri T, Oida S: Enamel matrix derivative gel stimulates signal transduction of BMP and TGF- β . *J Dent Res*, 84: 510-514, 2005.
- 38) Nagano T, Oida S, Suzuki S, Iwata T, Yamakoshi Y, Ogata Y, Gomi K, Arai T, Fukae M: Porcine enamel protein fractions contain transforming growth factor- β 1. *J Periodontol*, 77: 1688-1694, 2006.
- 39) Iwata T, Morotome Y, Tanabe T, Fukae M, Ishikawa I, Oida S: Noggin blocks osteoinductive activity of porcine enamel extracts. *J Dent Res*, 81: 387-391, 2002.
- 40) Saito K, Konishi I, Nishiguchi M, Hoshino T, Fujiwara T: Amelogenin binds to both heparin sulfate and bone morphogenetic protein 2 and pharmacologically suppresses the effect of noggin. *Bone*, 43: 371-376, 2008.
- 41) 佐々木大輔: 歯槽骨再生の定量測定法とエムドゲイン®ゲルの歯槽骨再生誘導活性. 岩手医科大学歯学雑誌, 32: 35-45, 2007.
- 42) Langer R, Vacanti JP: *Tissue Engineering*. SCIENCE, 14: 920-926, 1993.
- 43) Sculean A, Donos N, Brex M, Reich E, Karring T: Treatment of intrabony defects with guided tissue regeneration and enamel-matrix-proteins. An experimental study in monkeys. *J Clin Periodontol*, 27: 466-472, 2000.
- 44) Sculean A, Windisch P, Chiantella GC, Donos N, Brex M, Reich E: Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol*, 28: 397-403, 2001.
- 45) Sculean A, Donos N, Blaes A, Lauermaun M, Reich E, Brex M: Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. *J Periodontol*, 70: 255-262, 1999.
- 46) Esposito M, Coulthard P, Thomsen P, Worthington HV: Enamel matrix derivative for periodontal tissue regeneration in treatment of intrabony defects: A cochrane systematic review. *J Dent Edu*, 68: 834-844, 2004.
- 47) Kalpidis CD, Ruben MP: Treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivative: A literature review. *J Periodontol*, 73: 1360-1376, 2002.
- 48) Pontoriero R, Wennström J, Lindhe J: The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. *J Clin Periodontol*, 26: 833-840, 1999.
- 49) Heden G, Wennström J, Lindhe J: Periodontal tissue alterations following Emdogain treatment of periodontal sites with angular bone defects. *J Clin Periodontol*, 26: 855-860, 1999.
- 50) Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Nedic M, Aleksic Z, Kenney EB: A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol*, 71: 1110-1116, 2000.
- 51) Döri F, Arweiler NB, Szántó E, Agics A, Gera I, Sculean A: Ten-year results following treatment of intrabony defects with an enamel matrix protein derivative combined with either a natural bone mineral or a β -tricalcium phosphate. *J Periodontol*, 84: 749-757, 2013.
- 52) De Leonardis D, Paolantonio M: Enamel matrix derivative, alone or associated with a synthetic bone substitute, in the treatment of 1- to 2-wall periodontal defects. *J Periodontol*, 84: 444-455, 2013.
- 53) Mueller VT, Welch K, Bratu DC, Wang H-L: Early and

- late studies of EMD use in periodontal intrabony defects. *J Periodontol Res*, 48: 117-125, 2013.
- 54) Tatakis DN, Chambrone L, Allen EP, Langer B, McGuire MK, Richardson CR, Zabalegui I, Zadeh HH: Periodontal soft tissue root coverage procedures: A consensus report from the AAP regeneration workshop. *J Periodontol*, 86: S52-S55, 2015.

Present EMD after 20 years

Daisuke Sasaki and Takashi Yaegashi

Division of Periodontology, Department of Conservative Dentistry, Iwate Medical University

Corresponding author: Daisuke Sasaki

Division of Periodontology, Department of Conservative Dentistry, Iwate Medical University

1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

E-mail: daisukes@iwate-med.ac.jp