

Behandlung knöcherner Defekte mit autologem, kultiviertem Periost: 5-Jahres-Ergebnisse einer Fallserie



Kazuhiro Okuda, DDS, PhD¹
 Tomoyuki Kawase, DDS, PhD²
 Masaki Nagata, DDS, PhD³
 Kanoko Yamamiya, DDS, PhD⁴
 Koh Nakata, MD, PhD⁵
 Larry F. Wolff, MS, PhD, DDS⁶
 Hiromasa Yoshie, DDS, PhD⁷

Ein Jahr nach der autogenen Transplantation knöcherner Defekte mit humanen kultivierten Periostplatten in Kombination mit Platelet-rich Plasma und Hydroxylapatitgranula wurden gute klinische und radiologische Ergebnisse für diese Behandlung ermittelt. Bei 22 ausgewählten Patienten waren die so behandelten knöchernen Defekte auch bei der Kontrolle nach fünf Jahren stabil. Die Röntgendichte des Knochens hatte zugenommen und es fanden sich Knochentrabekel, was auf eine größere Stabilität hindeutet. Die Parodontalbehandlung mithilfe der Gewebezüchtung ist neuartig und führte zu einer signifikanten klinischen Besserung mit einem auch nach fünf Jahren stabilen Behandlungsergebnis. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2013;33:257–263.)

¹ Außerordentlicher Professor, Department of Oral Biological Science, Division of Periodontology, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University, Niigata, Japan.

² Außerordentlicher Professor, Department of Tissue Regeneration und Reconstruction, Division of Oral Bioengineering, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University, Niigata, Japan.

³ Hauptdozent, Department of Oral Health Science, Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University, Niigata, Japan.

⁴ Klinischer Assistenzlehrer, Department of Oral Biological Science, Division of Periodontology, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University, Niigata, Japan.

⁵ Leiter und Professor, Bioscience Medical Research Center, Niigata University Medical and Dental Hospital, Niigata, Japan.

⁶ Professor und Leiter, Department of Developmental and Surgical Sciences, Division of Periodontology, University of Minnesota School of Dentistry, Minneapolis, Minnesota, USA.

⁷ Leiter und Professor, Department of Oral Biological Science, Division of Periodontology, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University, Niigata, Japan.

Korrespondenz an: Dr. Kazuhiro Okuda, Department of Oral Biological Science, Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 5274, Gakkocho-dori 2-bancho, Niigata 951-8514, Japan. Fax: +81 25 227 0808. E-Mail: okuda@dent.niigata-u.ac.jp

©2013 by Quintessence Publishing Co Inc.

Aufgrund von neueren Fortschritten beim Tissue Engineering können parodontale Knochendefekte mit neuen regenerativen Behandlungen repariert werden¹⁻³. In einer vorausgegangenen Studie wurden parodontale Knochendefekte mit humanem kultiviertem Periost (HCP) in Kombination mit Platelet-rich Plasma (PRP) und Hydroxylapatitgranulat (HA-Granulat) behandelt. 12 Monate postoperativ zeigte sich eine signifikante klinische Besserung der Sondierungstiefe, des klinischen Attachments und der radiologischen Knochenfüllung⁴. In dieser Studie wurden jedoch nur die Ergebnisse nach einem Jahr vorgestellt, und nach dem Wissen der Autoren gibt es auch bislang keine Studie über das langfristige Ergebnis dieser Kombinationsbehandlung zur Reparatur/Regeneration von Knochendefekten. Daher werden im vorliegenden Artikel die klinischen und radiologischen 5-Jahres-Ergebnisse nach der Behandlung von Knochendefekten mit HCP in Kombination mit PRP und HA-Granulat vorgestellt.

Material und Methode

Studienpopulation

25 Patienten wurden in die Studie aufgenommen. Sie wurden zwischen Juli 2005 und März 2007 operiert und ihre parodontalen Knochendefekte mit kultiviertem Periost behandelt. 15 dieser Patienten waren bereits Teil einer früheren veröffentlichten Studie^{4,5}. Während der fünfjährigen Beobachtungsphase brach ein Patient die Studienteilnahme sechs Monate postoperativ ab, ein weiterer ein Jahr postoperativ und noch ein weiterer zwei Jahre postoperativ. Bei der Auswertung wurden daher nur die Daten von 22 Patienten (18 Frauen und vier Männer, mittleres Alter $57,4 \pm 7,9$ Jahre) mit mittelschwerer bis fortgeschrittener chronischer Parodontitis berücksichtigt. Alle Patienten waren allgemein gesunde Nichtraucher ohne Allergien und hatten in den sechs Monaten vor Studienbeginn keine Antibiotika eingenommen. Die Patienten wiesen mindestens einen parodontalen Knochendefekt mit einer Sondierungstiefe (PD) ≥ 6 mm, einem Verlust des klinischen Attachments (CAL) ≥ 6 mm und einer radiologischen Tiefe des Knochendefekts ≥ 3 mm auf.

Vor Studienbeginn wurden die Patienten über Ziel und Ablauf der klinischen Studie aufgeklärt und unterzeichneten eine Einwilligungserklärung. Die Studie wurde vom Research Ethics Committee der Niigata University Faculty of Dentistry, Niigata, Japan, überprüft und genehmigt und erfolgte in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki.

Chirurgisches Vorgehen

Die initiale parodontale Therapie vor der Operation bestand in strenger

Plaque-Kontrolle, bis die Patienten einen Full-mouth-Plaque- (FMPS)⁶ und -Blutungsindex (FMBS)⁷ von jeweils maximal 10 % erreichten. Anschließend wurden sie unter Lokalanästhesie mit Scaling und Wurzelglättung behandelt. Bei einem okklusalen Trauma wurde die Okklusion verbessert. Nach Abschluss der einleitenden Therapie nach drei Monaten wurden noch einmal die Werte für den gesamten Mund erhoben, um das Ansprechen auf die Therapie zu überprüfen und die Indikation einer parodontalen Operation für die Knochenreparatur/-regeneration zu bestätigen. Bei den Patienten, die in die operative Studienphase eintraten, wurden wie andernorts beschrieben^{4,5} aseptisch Periostproben entnommen und für etwa sechs Wochen inkubiert, bis sich Periostblätter gebildet hatten. Das PRP wurde nach einem etablierten zweistufigen Protokoll durch Zentrifugieren hergestellt, das andernorts beschrieben wurde⁸.

Anschließend erfolgte ein Parodontaleingriff unter guten klinischen Standards.

Nach der Anästhesie wurden Lappen abgehoben, die Knochendefekte gründlich gereinigt und mit HA-Granulat (APACERAM G-S-3, PENTAX) in Kombination mit PRP aufgefüllt. Anschließend wurden HCP-Blätter auf diese Mischung gelegt. Die Lappen wurden zurückgelegt und mit 4-0-Seidenfäden (NESCO Suture, AZWELL) mit Einzelknopfnähten und vertikalen Matratzennähten geschlossen. Postoperativ nahmen die Patienten Antibiotika ein (Cefaclor 750 mg/d für fünf Tage) und spülten den Mund mit Chlorhexidindigluconat 0,12 % (3x/d für sechs Wochen, Pabron Gargle, Taisho Pharmaceutical). Die Fäden wurden 10 Tage postoperativ entfernt. Anschließend nahmen die Patienten an den Operationsbereichen wieder die Plaque-Kontrolle auf und putzten die Zähne in der Rolltechnik.

Kontrollen

Bei den Recall-Terminen, die fünf Jahre lang etwa einmal im Monat stattfanden, wurden Maßnahmen zur Plaque-Kontrolle und zum Weichgewebsmanagement durchgeführt. Außerdem wurde bei jedem Patienten anhand des FMPS und FMBS der Mundhygienestatus ermittelt sowie an allen Behandlungsstellen der Plaque-Index (PI)⁹. Entzündungen der Gingiva wurden mit dem Gingiva-Index (GI) wiedergegeben¹⁰ und die Blutung beim Sondieren (BOP) dokumentiert. Alle klinischen Messungen (PD und CAL) wurden mit kalibrierten, farbkodierten Parodontalsonden (CP-12, Hu-Friedy) und handelsüblichen Kunststoffstents mit Führinne auf den nächsten Millimeter genau durchgeführt. Mit Einstellhilfen (CID-12, Hanshin Technical Laboratory) wurden von jeder Behandlungsstelle nach einem, drei und fünf Jahren standardisierte Röntgenaufnahmen in Paralleltechnik angefertigt. Alle Röntgenaufnahmen wurden vom selben Untersucher (KY) ausgewertet, der gegenüber den Patienteninformationen geblindet war. Die radiologische Defekttiefe (IBD) wurde als vertikaler Abstand von der Wurzeloberfläche am Alveolarkamm (BCP) zu dem am weitesten koronal an der Wurzel gelegenen Knochen gemessen, wo für das Parodontalligament eine normale Breite angenommen wurde (BoBD), d. h. $IBD = BCP - BoBD$ ¹¹. Die Messwerte der klinischen und radiologischen Parameter wurden gemittelt (Mittelwert \pm SA).

Statistische Auswertung

Mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtest für gepaarte Stichproben wurde nach signifikanten Unterschieden zwischen den Ausgangswerten und den Messwerten nach einem, drei und fünf Jahren gesucht.

Tabelle 1 Daten der behandelten Bereiche bei Studienbeginn sowie nach einem, drei und fünf Jahren (n = 22 Patienten)

Klinischer Parameter	Ausgangswert (Mittelwert ± SA)	1 Jahr (Mittelwert ± SA)	3 Jahre (Mittelwert ± SA)	5 Jahre (Mittelwert ± SA)	P					
					1 Jahr vs Ausgangswert	3 Jahre vs Ausgangswert	5 Jahre vs Ausgangswert	3 J. vs 1 J.	5 J. vs 1 J.	5 J. vs 3 J.
PI	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,0	NS	NS	NS	NS	NS	NS
GI	1,0 ± 0,6	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,2	< 0,01	< 0,01	< 0,01	NS	NS	NS
BOP	1,0 ± 0,0	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3	< 0,01	< 0,01	< 0,01	NS	NS	NS
PD	7,6 ± 1,4	2,9 ± 0,4	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3	< 0,01	< 0,01	< 0,01	NS	NS	NS
PD-Reduzierung	–	4,7 ± 1,4	4,6 ± 1,3	4,7 ± 1,5						
CAL	8,0 ± 1,4	4,8 ± 1,4	4,7 ± 1,3	4,6 ± 1,2	< 0,01	< ,01	< 0,01	NS	NS	NS
CAL-Gewinn	–	3,2 ± 1,5	3,3 ± 1,5	3,5 ± 1,4						
IBD	4,6 ± 1,0	1,4 ± 1,1	0,6 ± 0,9	0,2 ± 0,5	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,05
IBD-Reduzierung	–	3,2 ± 1,1	4,1 ± 1,0	4,5 ± 0,9						

SA = Standardabweichung; PI = Plaque-Index; GI = Gingiva-Index; BOP = Blutung beim Sondieren; PD = Sondierungstiefe; CAL = klinischer Attachmentlevel; IBD = Tiefe des radiologischen Knochendefekts; NS = nicht signifikant.

Ergebnisse

Tabelle 1 gibt die klinischen und radiologischen Ergebnisse der 22 Patienten nach einem, drei und fünf Jahren an. Die Patienten zeigten bei der parodontalen Erhaltungstherapie eine ausgezeichnete Compliance. Daher konnten alle 22 Patienten einmal im Monat nachkontrolliert werden, außerdem wurden sie remotiviert und die Zähne mit mechanischem Polieren und Scaling behandelt. Bei allen Patienten wurden Mundhygienestatus und Infektionskontrolle über den Studienverlauf auf hohem Niveau gehalten. Entsprechend blieben FMPS und FMBS im gesamten Studienverlauf unter 10 % und es fanden sich keine signifikanten Unterschie-

de zwischen den Kontrollzeitpunkten. Die Lage und Morphologie der Knochendefekte lässt sich wie folgt zusammenfassen: 11 Defekte lagen im Oberkiefer und 11 im Unterkiefer. Von den 22 Knochendefekten waren fünf einwandig, drei zweiwandig und 14 dreiwandig. Ein Jahr nach der Behandlung hatten sich die mittlere PD, CAL und IBD signifikant gegenüber dem Ausgangswert gebessert (PD: 2,9 ± 0,4 mm vs 7,6 ± 1,4 mm, P < 0,01; CAL: 4,8 ± 1,4 mm vs 8,0 ± 1,4 mm, P < 0,01; IBD: 1,4 ± 1,1 mm vs 4,6 ± 1,0 mm, P < 0,01). Bei der Kontrolle nach drei Jahren waren die mittlere PD und CAL stabil (PD: 3,0 ± 0,2 mm vs 2,9 ± 0,4 mm nach einem Jahr; CAL: 4,7 ± 1,3 mm vs 4,8 ± 1,4 mm nach

einem Jahr) und die IBD hatte sich signifikant gegenüber dem Wert nach einem Jahr gebessert (0,6 ± 0,9 mm vs 1,4 ± 1,1 mm, P < 0,01). Diese Tendenz setzte sich auch bis zum Zeitpunkt nach fünf Jahren fort, wobei die Unterschiede für die PD und CAL verglichen mit den Werten nach drei Jahren statistisch nicht signifikant waren (PD: 2,9 ± 0,3 mm vs 3,0 ± 0,2 mm; CAL: 4,6 ± 1,2 mm vs 4,7 ± 1,3 mm). Die IBD besserte sich jedoch statistisch signifikant zwischen den Kontrollzeitpunkten nach fünf und drei Jahren (0,2 ± 0,5 mm vs 0,6 ± 0,9 mm, P < 0,05). Während des fünfjährigen Studienverlaufs traten weder Infektionen noch unerwünschte Ereignisse auf.



Abb. 1 Präoperativer Befund des unteren linken ersten Molaren. Mesial wird eine PD von 6 mm und ein CAL von 6 mm gemessen.

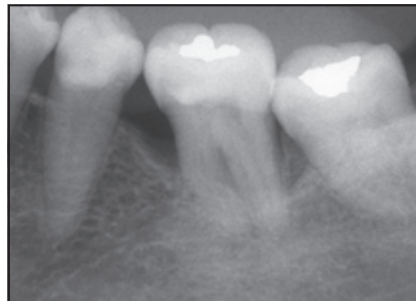


Abb. 2 Operationsbereich vor dem Eingriff mit einem tiefen Defekt im Sinne eines Knochenverlusts von 5 mm.



Abb. 3 Nach Lappenabhebung und Kürettage zeigte sich mesial ein dreiwandiger Defekt.



Abb. 4 Transplantation des mesialen Knochendefekts mit PRP + HA-Granulat.

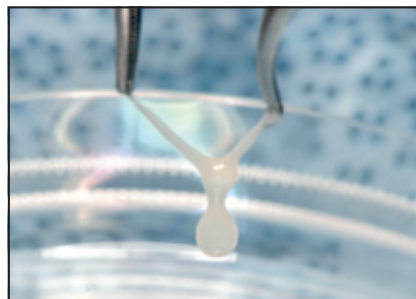


Abb. 5 HCP-Blatt, das durch Inkubation von autologem Periost gewonnen wurde, bis die Zellen eine Lage bildeten.



Abb. 6 Intraoperativer Befund nach Einlegen des HCP-Blatts auf die Mischung aus PRP + HA-Granulat.

Fallbericht

In den Abbildungen 1 bis 12 wird die klinische und radiologische Evaluation einer repräsentativen Patientin vorgestellt, die mit einem HCP-Blatt in Kombination mit PRP und HA-Granulat operativ behandelt wurde.

Eine 56-jährige Japanerin wurde mit den klinischen (Abb. 1) und radiologischen (Abb. 2) Zeichen einer chronischen Parodontitis sowie einem Knochenverlust mesial des unteren linken ersten Molaren aufgenommen. Die Ausgangswerte betragen für die PD 6 mm für den CAL 6 mm. Intraoperativ fand sich an dem Molaren mesial ein dreiwandiger Defekt (Abmessungen: 5 mm okklusapikal und 5 mm mesiodistal) (Abb. 3). Nach Kürettage und gründlicher Wurzel-

glättung wurde eine Mischung aus PRP und HA-Granulat in den Knochendefekt eingebracht (Abb. 4) und mit einem gezüchteten HCP-Blatt abgedeckt (Abb. 5 und 6).

Bei der Kontrolle ein Jahr postoperativ betrug die PD 3 mm und der CAL 5 mm. Damit wurde ein CAL-Gewinn von 1 mm gegenüber dem Ausgangswert erreicht (Abb. 7). Dieses günstige klinische Ergebnis mit PD-Reduktion und CAL-Zunahme war auch bei den Kontrollen nach drei und fünf Jahren noch vorhanden (Abb. 9 und 11). Nach einem Jahr (Abb. 8), drei (Abb. 10) und fünf Jahren (Abb. 12) war die Röntgendichte mesial des Molaren erhöht.

Die Compliance der Patientin mit der Parodontaltherapie war ausgezeichnet, sodass fünf Jahre postoperativ die PD 3 mm und der CAL

5 mm betrug, womit beide Werte seit zwei Jahren stabil geblieben waren (Abb. 9 und 11).

Diskussion

In diesem Artikel wird über die klinischen und radiologischen Langzeitergebnisse von parodontalen Knochendefekten berichtet, die mit HCP-Blättern in Kombination mit autologem PRP und einem Gerüst aus synthetischem porösem HA-Granulat behandelt worden waren. Die klinischen Ergebnisse zeigten, dass dieser neuartige Ansatz mit Gewebezüchtung die klinischen und radiologischen Parameter bei einer chronischen Parodontitis für mindestens fünf Jahre signifikant verbessern kann.



Abb. 7 Unterer linker erster Molar bei der Kontrolle nach einem Jahr.



Abb. 8 Röntgenaufnahme nach einem Jahr mit erhöhter Röntgendichte.



Abb. 9 Unterer linker erster Molar bei der Kontrolle nach drei Jahren.

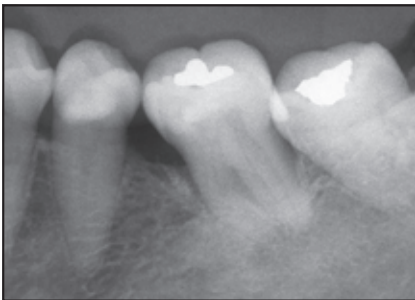


Abb. 10 Röntgenaufnahme nach drei Jahren mit unveränderter Röntgendichte.



Abb. 11 Unterer linker erster Molar bei der Kontrolle nach fünf Jahren.

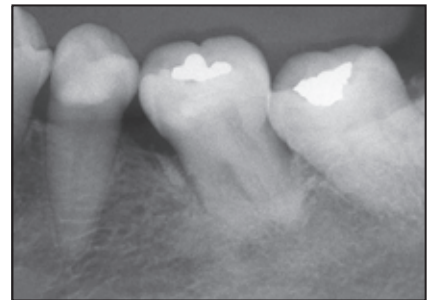


Abb. 12 Röntgenaufnahme nach fünf Jahren mit unveränderter Röntgendichte. Die Kortikalisstruktur und das Parodontalligament erscheinen normal.

Nach den vorgestellten Ergebnissen ist es mit einer Kombination aus HCP-Blättern, PRP und HA möglich, über einen fünfjährigen Beobachtungszeitraum ein stabiles, physiologisches Attachment herzustellen. Die Patienten sollten eine ausgezeichnete Mundhygiene einhalten und eine gesunde Gingiva haben. Alle Patienten wurden in ein striktes Erhaltungsprogramm mit Plaque-Kontrolle und Weichgewebsmanagement aufgenommen, bei dem sie über fünf Jahre zu monatlichen Recall-Terminen kamen. Die strikte Compliance mit der Mundhygiene und das Einhalten der Recall-Termine sind bei regenerativen Eingriffen wichtig, um optimale klinische Ergebnisse erhalten zu können. Außerdem werden deutlich bessere Werte für die klinischen Parameter in den behandelten Bereichen erreicht.

Während der fünfjährigen Studie traten bei keinem der 22 Patienten Infektionen oder andere unerwünschte Ereignisse auf.

In vorausgegangenen Veröffentlichungen berichteten die Autoren von der signifikanten Zunahme des CAL sechs Monate postoperativ und weiterhin günstigen klinischen Ergebnissen nach einem Jahr^{4,5}. Außerdem berichteten sie in diesen früheren Studien von einer zunehmenden Röntgendichte an den behandelten Bereichen mit verbesserten klinischen Parametern. In der hier vorliegenden Studie wurden auch fünf Jahre postoperativ die gleichen günstigen Befunde ermittelt, was eine noch größere klinische Relevanz hat.

Fünf Jahre postoperativ reduzierte die Behandlung mit HCP-Blättern in Kombination mit PRP und HA-

Granulat die PD um durchschnittlich 4,7 mm, erhöhte den CAL um durchschnittlich 3,5 mm und veränderte die Tiefe des radiologischen Knochendefekts um 4,5 mm. Eine zuvor veröffentlichte klinische Studie über die Behandlung von Knochendefekten mit PRP + HA ermittelte ein Jahr postoperativ eine Reduktion der PD um $4,7 \pm 1,6$ mm, eine Zunahme des CAL um $3,4 \pm 1,7$ mm und eine Veränderung des radiologischen Defekts um $3,5 \pm 1,5$ mm⁸. Die hier vorgestellten Ergebnisse mit HCP-Blättern + PRP + HA-Granulat erbrachten klinisch bessere Ergebnisse als die alleinige Verwendung von PRP + HA-Granulat. Wurde die Behandlung mit HCP-Blättern zusätzlich zu PRP + HA-Granulat vorgenommen, waren die klinischen Ergebnisse eindrucksvoller. Vermutlich trug das Vorhandensein



osteogener Zellen in den HCP-Blättern dazu bei, wodurch sich das Regenerationspotenzial des Transplantats erhöhte.

Histologische Studien der Autoren zeigen, dass die Aktivität der alkalischen Phosphatase in einem für sechs Wochen kultivierten HCP-Blatt mit von-Kossa-positiven Mineralablagerungen einhergeht¹²⁻¹⁵. Diese frühen Veröffentlichungen zeigten auch, dass die subkutane Transplantation von HCP-Blättern auf das Rückengewebe von Nacktmäusen zur Bildung von mineralisiertem Osteoid führte¹²⁻¹⁵. Außerdem war das HCP-Blatt positiv für CD73-, CD90- und CD105-Antigene, aber negativ für CD19-, CD34- und CD45-Antigene, was mit den Minimalanforderungen für multipotente mesenchymale Stromazellen gemäß der International Society for Cellular Therapy übereinstimmt¹⁶. Angesichts der verschiedenen, von HCP-Blättern freigesetzten Zytokine,

wies das Medium differenzierter Kulturen freigesetzte Zytokine auf, die an der Differenzierung von Osteoblasten beteiligt sind, wie Growth-regulated Oncogene, Interleukin-8 (IL-8) und Monocyte Chemotactic Protein-1¹². Das Kontrollkulturmedium hingegen enthielt nur hohe Spiegel von proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-6 und IL-7. Daher fungiert das HCP-Blatt vermutlich als lebender Substanzspender, der Zellfunktionen günstig beeinflusst, und dient durch die Abgabe von wichtigen Wachstumsfaktoren, die an der parodontalen Regeneration beteiligt sind, als Grundlage für eine ektope Knochenneubildung nahe dem Implantatbett.

Schlussfolgerung

Das Tissue Engineering ist ein neuartiges Verfahren, das zukünftig intensiv zur Behandlung parodontaler

Knochendefekte eingesetzt werden kann. Das erfolgreiche klinische Behandlungsergebnis durch eine Kombination aus HCP-Blättern, PRP und HA-Granulat lässt sich über fünf Jahre aufrechterhalten. Neben den guten klinischen Langzeitergebnissen bei der Behandlung parodontaler Knochendefekte wurde auch die langfristige Sicherheit von kultivierten HCP-Blättern in der Parodontaltherapie belegt.

Danksagungen und Interessenerklärung

Diese Studie wurde teilweise durch einen Grant-in-Aid for Scientific Research von der Japan Society for the promotion of Science (17390558), Tokio, Japan, gefördert. Die Autoren geben bezogen auf diese Studie keine Interessenkonflikte an. Dr. Wolff war am Studiendesign sowie an der Durchsicht und redaktionellen Bearbeitung des Manuskripts beteiligt.

Literatur

1. Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE, Nevins M. Periodontal regeneration in human class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:213–225.
2. Okuda K, Momose M, Murata M, et al. Treatment of chronic desquamative gingivitis using tissue engineered human cultured gingival epithelial sheets: A case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004;24:119–125.
3. Nevins M, Giannobile EV, McGuire MK, et al. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: Results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol* 2005;76:2205–2215.
4. Yamamiya K, Okuda K, Kawase T, Hata K, Wolff LF, Yoshie H. Tissue-engineered cultured periosteum used with platelet-rich plasma and hydroxyapatite in treating human osseous defects. *J Periodontol* 2008;79:811–818.
5. Okuda K, Yamamiya K, Kawase T, Mizuno H, Ueda M, Yoshie H. Treatment of human infrabony periodontal defects by grafting human cultured periosteum sheets combined with platelet-rich plasma and porous hydroxyapatite granules: Case series. *J Int Acad Periodontol* 2009;11:206–213.
6. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972; 43:38.
7. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975;25:229–235.
8. Okuda K, Tai H, Tanabe K, et al. Platelet-rich plasma combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of intrabony periodontal defects in humans: A comparative controlled clinical study. *J Periodontol* 2005;76:890–898.
9. Silness J, Löe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odont Scand* 1964;22:121–135.
10. Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odont Scand* 1963;21:533–551.
11. Cardaropoli G, Leonhardt AS. Enamel matrix proteins in the treatment of deep intrabony defects. *J Periodontol* 2002; 73:501–504.
12. Kawase T, Okuda K, Kogami H, et al. Characterization of human cultured periosteal sheets expressing bone-forming potential: In vitro and in vivo animal studies. *J Tissue Eng Regen Med* 2009;3: 218–229.
13. Kawase T, Okuda K, Kogami H, Nakayama H, Nagata M, Yoshie H. Osteogenic activity of human periosteal sheets cultured on salmon collagen-coated ePTFE meshes. *J Mater Sci Mater Med* 2010; 21:731–739.
14. Kawase T, Okuda K, Kogami H, et al. Human periosteum-derived cells combined with superporous hydroxyapatite blocks used as an osteogenic bone substitute for periodontal regenerative therapy: An animal implantation study using nude mice. *J Periodontol* 2010;81:420–427.
15. Kawase T, Yamanaka K, Suda Y, et al. Collagen-coated poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) film: A promising scaffold for cultured periosteal sheets. *J Periodontol* 2010;81:1653–1662.
16. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8:315–317.