

〔原 著〕

アパタイト-ブラスト-インプラントの実験的研究

松原秀樹¹⁾, 廣瀬由紀人¹⁾, 賀来 亨²⁾, 越智守生¹⁾, 坂口邦彦¹⁾

¹⁾北海道医療大学歯学部歯科補綴学第二講座

²⁾北海道医療大学歯学部口腔病理学講座

An experimental study of apatite blasted implants

Hideki MATSUBARA¹⁾, Yukito HIROSE¹⁾, Tohru KAKU²⁾,
Morio OCHI¹⁾, Kunihiko SAKAGUCHI¹⁾

¹⁾Departments of Fixed Prosthodontics and ²⁾Oral Pathology
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

The present study aimed to determine morphological characteristics and bone inductivity of the blasted-substrate interface, for dental titanium implant blasted with hydroxyapatite (HA) / β -tricalciumphosphate (β -TCP) eutectic composites. For this purpose, the bone contact ratio at the bone-implant interface and the mechanical strength by implant removal torque were determined to compare the effects of different surface treatments on the promotion of bone formation around dental implants. The study examined the machined surface, the acid-etched surface, the blasted-substrate surface at five minutes cleaning, and the blasted-substrate surface without cleaning.

The main results were as follows.

1. The observation of the blasted-substrate surface showed that the HA/ β -TCP eutectic composites did not remain on the titanium surface after the cleaning procedure of the implant material.

2. The results clearly showed that the blasted-substrate surface with five minutes cleaning was the shortest period needed for osseointegration among the four different surface treatments.

Key words : Titanium implant, Blasted-substrate, β -TCP, Removal torque, Japanese white rabbit

I. 緒 言

口腔インプラント治療は欠損補綴治療における選択肢の一つとして審美的、機能的な回復の手段として確立されてきた。また、生体適合性に関してはBrånemarkらの基礎的研究¹⁻⁴⁾ならびに臨床報告⁵⁻⁸⁾により、純チタンインプラントでは30年以上の長期観察例が報告され、生体内における安定性が確認されている。しかし、口腔インプラントにおいて咬合力を負荷させるまでの期間は、口腔インプラントの埋入後から一般的に上顎骨で6ヵ月、下顎骨で3ヵ月と報告され⁹⁾、患者はそれまでの期間は最終補綴物が装着されていない状態で過ごさなければならない。そこで、補綴学の観点からこの期間を短縮することが可能ならば非常に有意義であると思われる。

現在、骨結合の期間を早期化するためにハイドロキシアパタイト（以下、HA）コーティングインプラントが用いられている。HAは高い生体親和性を有し^{10,11)}、周囲の骨形成を促進する働きがある。しかし、従来のプラズマ^{12,13)}およびフレーム溶射法^{14,15)}によるHAコーティングインプラントではコーティング層の剥離、溶解によるインプラント体周囲の骨吸収が報告され¹⁶⁻¹⁹⁾、長期にわたる検索は未だ数少ない²⁰⁾。また、オッセオインテグレーションの獲得速度および骨結合力の増加を期待するために、インプラント体表面にブラスト加工を施す方法が用いられるようになってきた²¹⁾が、ブラスト材料であるアルミナには生体内での問題点が指摘されている²²⁾。

そこで、本研究では、アパタイトの高い生体親和性および安全性と純チタンの長期における生体内安定性の両方の利点を応用するため、純チタンインプラント表面に骨置換材料であるアパタイト（HAおよび β -TCPの共晶焼結体）²³⁾をブラスト処理したインプラント体を作製し、

粗造化した表面、ならびに表面に残留したアパタイト粒子が、骨との接触率や骨との接合強度にどのように影響するかを、動物実験を行って調べることを目的とした。

II. 材料および方法

1. 実験材料と表面処理方法

アパタイトブラスト粒子は β -TCPとHAを9：1の割合で共晶焼結させたもの（ブレンベース、東京）を用いた（図1）。インプラント体は直径3.3mm、骨内長10mmのJIS第2種純チタンインプラント（ブレンベース、東京）を用いた（図2）。

本実験で行った表面処理過程を図3に示す。元となるインプラント体は、機械加工によりチタン棒を削りだした試料（以下、機械加工）を用いた。アパタイトブラスト処理のみを施した試料（以下、未洗浄）は、チタン棒に一次ブラスト材料として平均粒径0.8mmのアパタイト粒子を、二次ブラスト材料として平均粒径0.2mmのアパタイト粒子を用いて、0.6MPaの圧でブラストしたものの、アパタイトブラスト処理後洗浄した試料（以下、5分洗浄）は、未洗浄をイオン交換水中にて5分間超音波洗浄を行ったもの、アパタイトブラスト処理後アパタイト粒子を溶解させた試料（以下、酸処理）は、5分洗浄を2Nの塩酸中にて1分間超音波洗浄を行った後、イオン交換水中にて5分間超音波洗浄を行ったものを用いた（図2）。

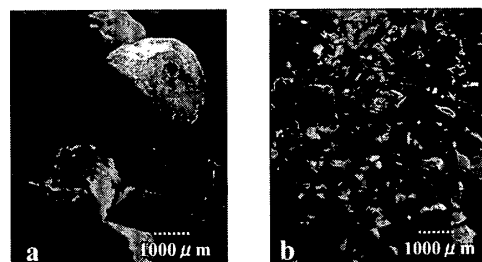


図1 HAおよび β -TCPの共晶焼結体のSEM像
a：一次ブラスト材料 b：二次ブラスト材料

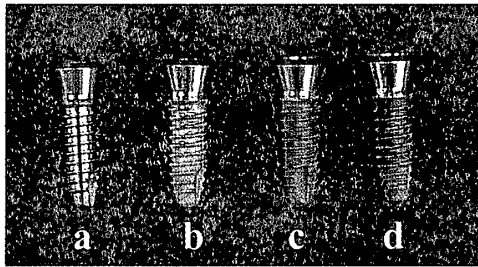


図2 実験に使用した4種類のインプラント体
a:機械加工 b:酸処理 c:未洗浄 d:5分洗浄

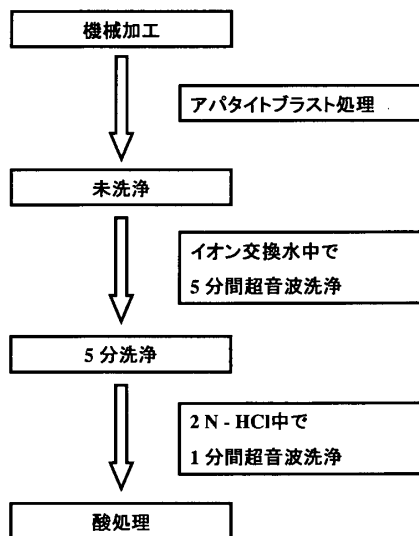


図3 インプラント体に対する表面処理過程

以上の表面処理を、インプラント体に対して機械加工、未洗浄、5分洗浄、酸処理の4種類の表面処理を行った。

2. SEMの観察およびX線マイクロアナライザーによる材料表面の分析

機械加工、酸処理、未洗浄、5分洗浄インプラント体の4種類の試料(図2)に対して走査電子顕微鏡(S-700[®], 日立社製, 東京)により各表面処理を行ったインプラント体表面を100倍で観察した。また、未洗浄、5分洗浄、酸処理インプラント体の3種類の試料に対してインプラント体断面を1000倍で観察し、さらにX線マイクロアナライザーにより表面のTi, Ca, Pの分布状態を分析した。

3. 動物実験

1) インプラント体埋入

実験に用いたインプラント体は、直径3.3mm、骨内長10mmの機械加工インプラントに、それぞれ未洗浄, 5分洗浄, 酸処理を施した計4種類を用いた(図2)。

実験動物は体重約2.5kgの成熟雄日本白色ウサギ(ホクドー, 札幌)60羽を用いた。ウサギは検疫飼育1週間後、固定器に順応させてから用いた。

インプラント体の埋入手術は、前投薬にジアゼパム(ホリゾン[®], 山之内製薬, 東京)2mg/kgの筋注, 硫酸アトロピン(硫酸アトロピン注射液タナベ[®], 田辺製薬, 大阪)0.05mg/kgの皮下注を行った後、ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール[®], タイナボット, 大阪)10mg/kgの経耳静脈投与による全身麻酔下で行った。患部の剃毛後、塩酸リドカイン(キシレステシン[®]A注射液, ESPE, Germany)にて浸潤麻酔を行い、皮膚、筋膜、骨膜を順次剥離して大腿骨遠心端部内側の骨面を露出させ、電気エンジン(インプランターII[®], 京セラ, 京都)を用いて注水下、低速回転(800rpm/min)にて可及的に骨端骨髓内にドリルホール形成後、インプラント体をセルフタップで埋入し骨膜、皮膚を縫合した。インプラント体の埋入は、すべてのウサギについて可及的に同一部位、同一方向で行った。実験期間は早期における骨結合を比較するために、当教室の松本ら^{24,25)}の報告に従い、1, 2, 4週間とした。なお、実験は「北海道医療大学動物実験の指針」に従い行った。

2) 蛍光ラベリング剤の投与

蛍光ラベリング剤として、オキシテトラサイクリン(静注用ユナシリン[®], 昭和薬品化工, 東京, 以下, TC)を30mg/kg, カルセイン($C_{30}H_{22}N_2O_{13}Na_4$, 関東化学, 東京, 以下, CAL)を8mg/kgをウサギ大腿部にそれぞれ

筋注した。2色蛍光ラベリング^{26,27)} (以下, 蛍光ラベリング) のスケジュールは埋入後1週間のものは手術直後にTCを, 術後5日目にCALを投与した。埋入後2週間のものは術後8日目にTCを, 術後12日目にCALを投与した。埋入後4週間のものは術後19日目にTCを, 術後26日目にCALを投与した。TCは黄色, CALは緑色の蛍光を発する (図4)。

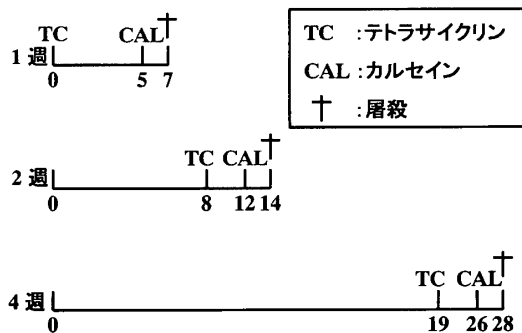


図4 1, 2, 4週間における蛍光ラベリングスケジュール

3) インプラント回転除去トルク値の測定

インプラント体の骨に対する骨固着力を力学的に検討するためインプラント回転除去トルク値の測定を行った^{28,29)}。各実験期間終了後, ウサギに全身麻酔をかけ, 左側大腿部に浸潤麻酔後, 大腿部に埋入してあるインプラント体のアバット接合部を露出させ, 既成のドライバータッチメントを装着し, 自作の12%金銀パラジウム合金製コネクターを装着したトルクレンチ (トルクゲージ2400ATG-N[®], 15BTG-N[®], 東日製作所, 東京) を用いて測定した。トルク測定時は, トルクレンチがインプラント体に対し可及的に垂直になるようにして測定した。

なお, 統計処理は, 機械加工, 未洗浄, 5分洗浄, 酸処理について, FisherのPLSDによる多重検定法を用いて有意差の判定を行った。

4. 新生骨形成状態の評価

1) 非脱灰研磨標本の作製

インプラント体埋入後1, 2, 4週間でウサ

ギをペントバルビタールナトリウムの過投与により安楽的に屠殺した。生理食塩水による脱血後, 10%ホルマリン溶液による灌流固定を行い, インプラント体埋入部を周囲骨も含めて摘出し, Villanueva bone stain (マルトー, 東京) に浸漬後, 通法³⁰⁾に従いPolyester樹脂 (Rigolac[®], 応研商事, 東京) にて包埋し, 切片機 (BS3000[®], Exakt, Germany) にてインプラント体の埋入方向に垂直に試料を薄切後, 機械研磨 (MG4000, Exakt, Germany) し, 切片を作製した。

新生骨形成状態の評価を行った切片の深さは骨縁下2-7mmで統一し, 各群について20個 (ウサギ5羽×インプラント体1本×切片4個) の切片を用いた。

2) CMR像を用いた画像解析による骨接触率の計測

切片を厚さ120 μ mに調整し, 軟X線発生装置 (Sofron Model BSTI1505CX[®], 綜研, 東京) を用い, 焦点-被写体間距離 (FSD) を150mmとし, 管電圧10kVp, 管電流5mA, 照射時間3分で撮影した。フィルムには軟X線用超微粒子フィルム (MIN-R2000[®], 日本Kodak, 東京) を用い, 通法に従い現像, 定着, 水洗, 乾燥処理を行った。得られたCMR像を20倍 (弱拡大) で画像解析に用いた。画像解析は, 画像解析ソフトNIH Image[®]1.61 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, U.S.A)³¹⁾を用いた。骨接触率^{24,25,32,33)}は, インプラント体周長に対して, インプラント体に接している新生骨の長さのパーセント [インプラント体と新生骨の接触長さ/インプラント体周長×(100%)] とした。

3) Villanueva bone stain像の観察

切片は厚さ30 μ mに調整し, 光学顕微鏡 (BX-50[®], オリンパス, 東京) を使用し, 80倍 (以下, 強拡大) で組織学的観察を行った。

4) 蛍光ラベリング像の観察

切片を厚さ30 μ mに調整し, 蛍光顕微鏡 (BX

-50[®], オリンパス, 東京) を使用し, BV励起法にて強拡大像で経時的な骨形成過程の観察を行った。

なお, 統計処理は, 機械加工, 未洗浄, 5分洗浄, 酸処理について, FisherのPLSDによる多重検定法を用いて有意差の判定を行った。

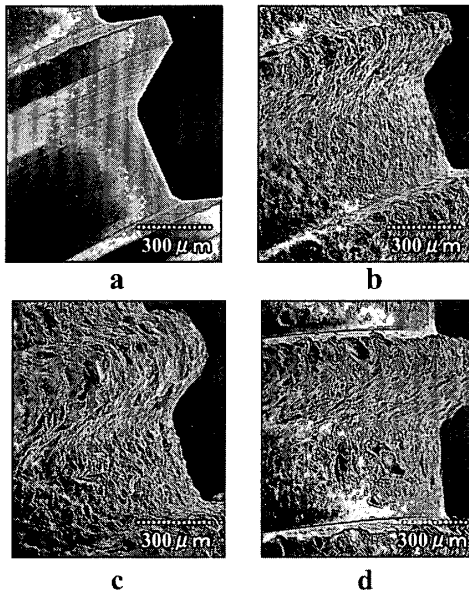


図5 インプラント体表面のSEM像
a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理

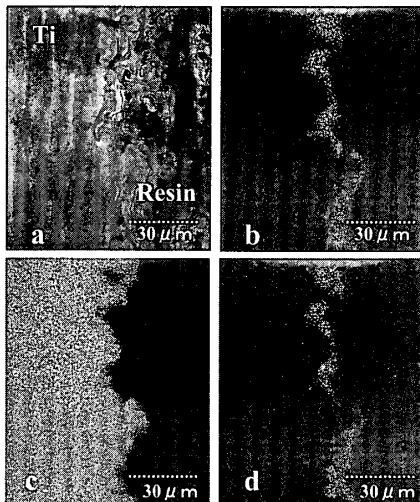


図6 未洗浄試料断面の二次電子像と特性X線像
a: 二次電子像 b: Ca Kα c: Ti Kα d: P Kα
インプラント体表面にプラスチック材料が残留しているのを確認できる。

Ⅲ. 結 果

1. SEMの観察およびX線マイクロアナライザーによる材料表面の分析

機械加工試料表面の平滑な表面形状がブラスト処理により表面が粗造化しているのが観察された。また, 酸処理した試料表面では凹凸が明瞭になっているのが観察された (図5)。

断面像から, ブラスト処理した表面には,

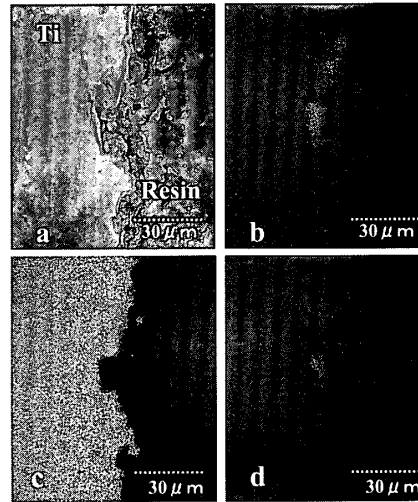


図7 5分洗浄試料断面の二次電子像と特性X線像
a: 二次電子像 b: Ca Kα c: Ti Kα d: P Kα
インプラント体表面にプラスチック材料がわずかに残留しているのを確認できる。

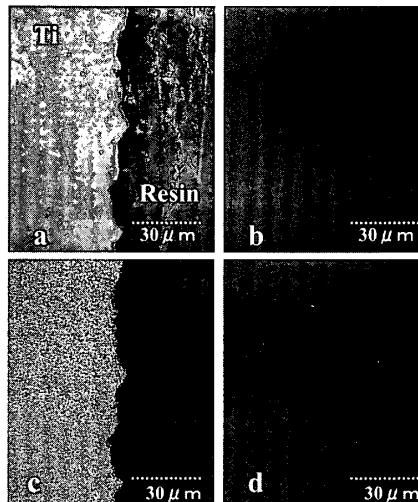


図8 酸処理浄試料断面の二次電子像と特性X線像
a: 二次電子像 b: Ca Kα c: Ti Kα d: P Kα
インプラント体表面にプラスチック材料が残留していないのを確認できる。

Ca, Pの検出よりアパタイト粒子が残存しているのが確認された(図6)。また, 表面は必ずしも均一にアパタイト粒子が残存しているわけではないこと, さらに, 未洗浄と5分洗浄の比較から残存しているアパタイト粒子の量は洗浄によって減少することを示していた(図6, 7)。酸処理した試料の断面からは, CaとPは検出されなかった(図8)。

2. Villanueva bone stain像の観察

埋入後1週間では, インプラント体周囲での新生骨形成はそれほど観察されず, 周囲は結合組織で覆われているのが観察された(図9)。

埋入後2週間では, 5分洗浄群, 未洗浄群, 酸処理群はインプラント体周囲に鮮やかな赤色に染色された新生骨が多くみられるようになったが, 機械加工群ではそれほど活発には観察されなかった(図10)。

埋入後4週間では, 未洗浄群, 酸処理群, 機械加工群はインプラント体周囲に鮮やかな赤色で染色された新生骨がこの時期になっても観察されたが, 5分洗浄群はインプラント体周囲で成熟した骨の占める割合が多く観察されるようになってきた(図11)。

3. 蛍光ラベリング像の観察

埋入後1週間では, 5分洗浄群は他の表面処理群に比較してインプラント体周囲にCALでラベルされた新生骨が多くみられた(図12)。

埋入後2週間では, 5分洗浄群, 未洗浄群, 酸処理群はインプラント体周囲にTC, CALにラベルされた新生骨が多く観察されたが, 機械加工群ではあまり観察されなかった(図13)。

埋入後4週間では, 機械加工群はインプラント体周囲での活発な新生骨形成が観察されたが, 他の表面処理群では成熟した骨の占める割合が多く観察された(図14)。

4. インプラント回転除去トルク値の測定

インプラント回転除去トルク値の平均値は, 埋入後1週間では5分洗浄群は21.2N・cmを示し, 他の未洗浄群14.5N・cm, 酸処理群15.0N・cm, 機械加工群12.7N・cmに比較して有意に高い値を示した(図15)。

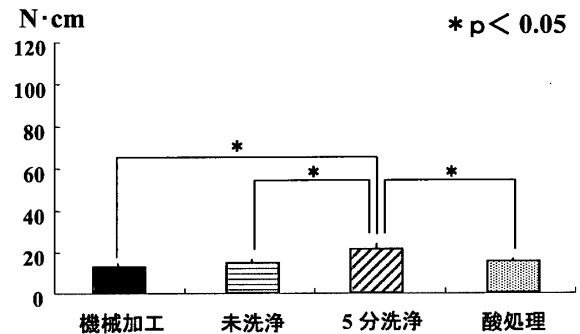


図15 回転除去トルク値(埋入後1週間)
5分洗浄群は21.2 N・cmを示し, 他の未洗浄群14.5 N・cm, 酸処理群15.0 N・cm, 機械加工群12.7 N・cmに比較して有意に高い値を示した。

埋入後2週間では5分洗浄群は58.7N・cm, 未洗浄群は44.0N・cm, 酸処理群は30.7N・cm, 機械加工群は17.8N・cmを示し, それぞれの区間で有意差が認められた(図16)。

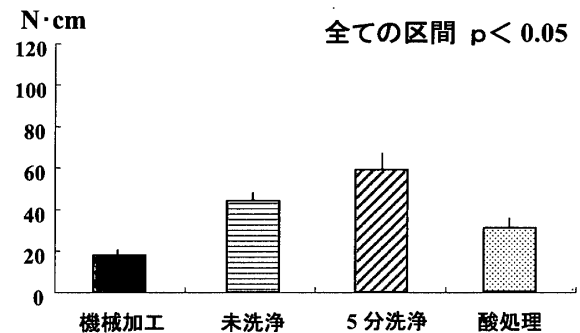


図16 回転除去トルク値(埋入後2週間)
5分洗浄群は58.7 N・cm, 未洗浄群は44.0 N・cm, 酸処理群は30.7 N・cm, 機械加工群は17.8 N・cmを示し, それぞれの区間で有意差が認められた。

埋入後4週間では5分洗浄群は87.3N・cm, 未洗浄群は67.7N・cm, 酸処理群は62.3N・cm, 機械加工群は21.7N・cmを示し, 酸処理群, 未洗浄群では有意差は認められなかった

(図17).

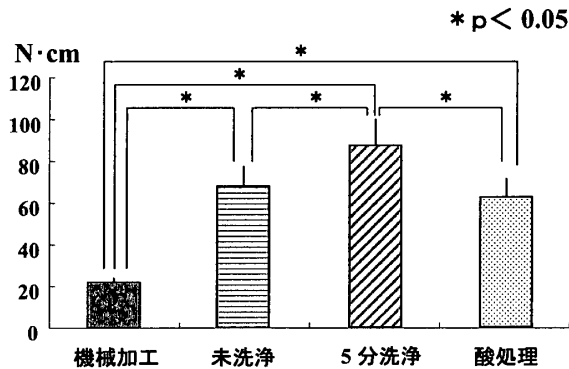


図17 回転除去トルク値 (埋入後4週間)
5分洗浄群は87.3 N·cm, 未洗浄群は67.7 N·cm, 酸処理群は62.3 N·cm, 機械加工群は21.7 N·cmを示し, 酸処理群, 未洗浄群では有意差は認められなかった。

5. 骨接触率の計測

骨接触率の平均値は, 埋入後1週間では5分洗浄群は34.6%を示し, 未洗浄群の25.2%, 酸処理群の26.7%, 機械加工群の18.3%に比較して, 有意に高い値を示した (図18).

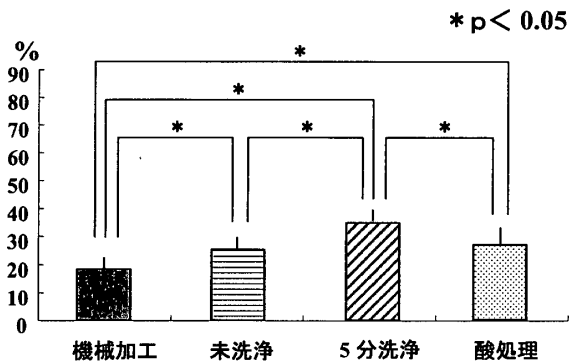


図18 骨接触率 (埋入後1週間)
5分洗浄群は34.6%を示し, 未洗浄群の25.2%, 酸処理群の26.7%, 機械加工群の18.3%に比較して, 有意に高い値を示した。

埋入後2週間では5分洗浄群は55.6%, 未洗浄群は43.0%, 酸処理群は34.1%, 機械加工群は23.6%を示し, 全ての区間で有意差が認められた (図19).

埋入後4週間では5分洗浄群は62.4%, 未洗浄群は62.7%, 酸処理群は54.7%, 機械加工群は51.9%を示し, 全ての区間で有意差は認められなかった (図20).

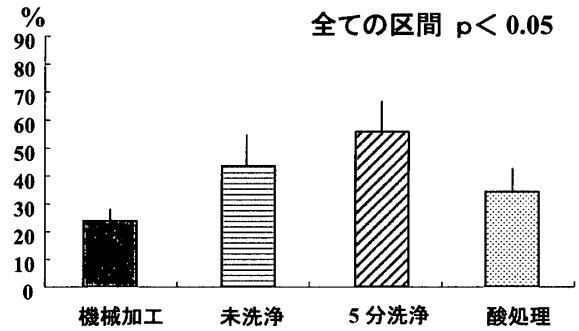


図19 骨接触率 (埋入後2週間)
5分洗浄群は55.6%, 未洗浄群は43.0%, 酸処理群は34.1%, 機械加工群は23.6%を示し, 全ての区間で有意差が認められた。

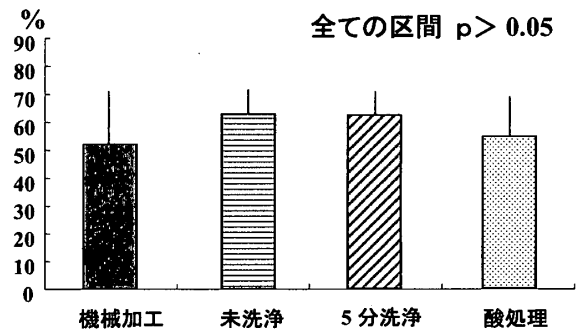


図20 骨接触率 (埋入後4週間)
5分洗浄群は62.4%, 未洗浄群は62.7%, 酸処理群は54.7%, 機械加工群は51.9%を示し, 全ての区間で有意差は認められなかった。

IV. 考 察

1. インプラント体の表面処理

インプラントの臨床的成功には, 顎骨内においてインプラント体が生体内での異物性生体反応を惹起することなく, 確実なオッセオインテグレーションを獲得することが不可欠である。この現象は, 顎骨内での炎症, 骨の修復およびリモデリングよりなる一連の創傷治癒であり, インプラント体の表面性状, 材質, デザインなどが骨形成に与える影響は大きい²¹⁾。

現在, インプラント体の表面処理には機械加工¹⁻⁸⁾, HAコーティング¹²⁻¹⁵⁾, サンドブラスト³⁴⁻³⁶⁾, 陽極酸化³⁷⁾などが行なわれているが, もっとも長年使用され, 研究論文も多数報告さ

れているシステムに、Brånemark インプラント¹⁻⁸⁾がある。このBrånemark インプラントは、表面が比較的平滑な機械加工を施され、生体内での良好なオッセオインテグレーションが確認されている。

今回用いたインプラント体は機械加工、未洗浄、5分洗浄、酸処理の4種類の方法を、同じ形態によるインプラント体に表面処理を施し、表面処理方法の違いにより早期の骨結合にどのような影響がみられるかを比較、検討した。

チタンなどの機械的強度の高い金属表面をブラストする際、一般には硬度の高いアルミナ³⁴⁾や酸化チタン^{35,36)}のブラスト材料が用いられている。その中でも、比較的容易に合成できるアルミナコランダムが広く使用されている。Guglielmottiら²²⁾は、アルミナは生体内における新生骨形成過程でカルシウムと競合的に働き、骨形成を妨げると報告し、早期における骨結合に不利に働く可能性を示唆している。本研究でアパタイトブラスト処理を施した後にイオン交換水による洗浄を行った試料では処理後においても、SEMの観察およびX線マイクロアナライザーによる分析で、表面にはブラスト材料が残留していることが確認できた。そこで、生体親和性の高いリン酸カルシウム材料を使用することで、より安全性の高い材料でブラスト処理が達成できたと思われた。

萩原²¹⁾は、埋入初期においてはインプラント体の粗面化とフィブリンとは密接に関係しており、ブラスト処理を施すことで血餅の保持およびフィブリンが接合に有利に働き、インプラント埋入直後にフィブリン網が形成され、それらを足場として骨誘導が促進され、オッセオインテグレーションの獲得速度および骨結合力の増加が期待できると報告している。また、五味ら^{38,39)}、藤森⁴⁰⁾は、表面粗さは骨芽細胞様細胞の増殖、分化、蛋白形成に大きな影響を与えることを報告している。本研究においても骨接触

率、回転除去トルク値の検討では、機械加工に比較して酸処理、未洗浄、5分洗浄を行ったものは早期における新生骨の形成が確認された。酸処理に比較して5分洗浄が良好な結果を示したため、ブラスト処理表面にアパタイトが残留することにより、さらに新生骨の形成を促進していると思われた。

2. アパタイトによるブラスト表面処理

HAは生体親和性に優れ^{10,11)}、骨伝導能による生物学的結合が得られるため早期の骨結合が得られるという点で臨床上有利とされている。しかし、HA単体では機械的強度が弱く、生体の負荷を支持することが困難であり、インプラントのフィクスチャーとしての利用は難しい⁴¹⁾。そこで、通常チタンインプラント体表面にコーティング処理を行って応用されている⁴²⁾。

一般的にHAのコーティング処理はプラズマ^{12,13)}およびフレイム溶射法^{14,15)}により行われているが、近年、臨床使用頻度の増加にともない、経過不良例の報告¹⁶⁻¹⁹⁾がされるようになってきた。原因としてはコーティング層の厚み、亀裂、剥離、脱落、溶解などがあり、従来の純チタンインプラントに比べ臨床における長期安定性は確立していない。現在までのHAによる表面処理インプラントは、生体内へ埋入後インプラント体表面にHAを残留させることで骨との結合を維持させる方向であった。しかし、本研究では初期固定の終了後は表面のリン酸カルシウム材料を積極的に溶解させるために、生体内で吸収しにくいHAの割合を最小限に抑え、生体内骨置換材料である β -TCPの占める割合の多い材料を使用した。その結果、最終的にはチタン表面と骨とが直接接触することを目的とした。そのため、本研究で使用した5分洗浄インプラントはコーティング層が存在しないこと、また、純チタンインプラント体表面にアパタイトをブラスト処理していることから亀裂、

剥離は生じないと考えられた。さらに、平滑な面におけるHAコーティングは多数報告されているが^{12)–15)}、粗造な表面に均一にコーティング層を形成する技術は非常に難しいことから、表面の粗造化とHAのコーティングを達成するためには、アパタイトによるブラストが技術的および安全性の面で適していると考えられた。

3. SEMの観察およびX線マイクロアナライザーによる材料表面の分析

本研究では、材料表面に対しSEMの観察およびX線マイクロアナライザーによる分析を行った。ウサギ大腿骨におけるインプラント体周囲の骨形成に、各表面処理がどのように影響するかを検討するためには、インプラント体の表面性状の違いを明らかにすることは重要であると考えられた。

各種インプラント体表面については走査電子顕微鏡による観察を行った。100倍像での観察で、酸処理した試料表面では凸凹が明瞭になっていることから、未洗浄および5分洗浄試料の表面には、アパタイト粒子が残存していることが分かった。しかし、チタン表面とアパタイトを肉眼的に区別することは難しく、表面の特性X線像による観察も行ったが粗造化した表面では観察距離の違いからTi, Ca, Pを明確に区別することはできなかった。そこで、断面像からの二次電子像、特性X線像により、アパタイトはチタン表面に食い込む形で残留していることが確認できた。チタン表面に食い込んでいるアパタイトブラスト粒子は β -TCPとHAを9:1の割合で共晶焼結させたものを用いたので、早期における骨結合を獲得した後は β -TCPが骨と置換し、純チタンとの直接の骨結合が得られ、長期的な安定が得られると考えられた。さらに、酸処理した試料の断面からの二次電子像、特性X線像により、CaとPは検出されなかったことから、酸処理によりアパタイト粒子は

完全に溶解されていることが分かった。

4. 回転除去トルク値の測定

インプラント体周囲の新生骨の骨固着力を力学的に検討するために、punched out試験^{43,44)}、回転除去トルク値の測定^{24,25,32,33)}などが評価法として使用されている。初期固定に必要な力学的な骨固着力についての基準は未だ示されていないが、インプラント体埋入時の締めつけトルクは15N・cmの強さを推奨していること、フィクスチャー上部のアパタイトの締めつけトルクに関しては20–35N・cmの力が必要であること^{45,46)}から、少なくとも35N・cmの骨固着力は必要であると思われた。

本研究ではインプラント体の形態がセルフタップで行うスクリュータイプであること、また、ウサギを全身麻酔下で生きたままの状態での測定できることから回転除去トルク値の測定を採用した。

本研究の結果から力学的には人間と同等の比較はできないが、5分洗浄群、未洗浄群、酸処理群に関しては、埋入後2週間で初期固定は得られているものと考えられた。

5. Villanueva bone stainと蛍光ラベリング

Villanueva bone stainは新生骨と既存骨を比較的良好に染色できる方法である。本研究では、埋入後4週間での新生骨は埋入後2週間と比較して鮮やかな赤色に染色された新生骨が減少し、層板構造を呈した成熟化した部分が多く観察され、松本ら^{24,25)}の報告と同様な結果を得られた。

蛍光ラベリング法^{26,27)}はラベリング剤を投与した時点における骨形成状態を経時的に観察することができ、インプラント–骨界面における骨形成過程を後から評価することが可能な方法である。本研究では、松本ら^{24,25)}の方法に準じて各実験群における骨形成時期の違いを確認し

た。また、5分洗浄群、未洗浄群、酸処理群については埋入後2週間における像が最も活発な新生骨の形成が確認された。埋入後4週間では埋入後2週間に形成された新生骨に相当する部分に成熟した骨が確認されるようになったため、骨の活発なりモデリングが行われていると推察された。

V. 結 論

純チタンインプラント表面に骨置換材料であるアパタイト (HAおよび β -TCPの共晶焼結体) をブラスト処理したインプラント体を作製し、表面性状の観察、およびウサギ大腿骨におけるインプラント体周囲の骨形成への影響について検討した結果、次の結論を得た。

1. 表面性状の観察において、アパタイト粒子は洗浄後もチタン表面に残留していることが確認された。
2. 酸処理は機械加工に比較して早期に骨結合が得られた。
3. 未洗浄および5分洗浄は、酸処理に比較して早期に骨結合が得られた。
4. 5分洗浄は未洗浄に比較して早期に骨結合が得られた。

以上より、アパタイトによるブラスト表面処理後洗浄を行ったインプラント体は生体内で早期に骨結合が得られ、補綴物装着までの期間の短縮化への可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、表面分析について懇切なるご指導とご教示を賜りました歯学部歯科理工学講座大野弘機教授ならびに遠藤一彦助教授に謹んで感謝の意を表します。さらに、終始温かいご支援とご協力を頂きました歯科補綴学第II講座、歯科理工学講座、口腔病理学講座の諸先

生方、歯学部ハイテクリサーチセンター電子顕微鏡機器室伊藤亜男氏、動物実験センターの皆様にご心からお礼を申し上げます。

本研究の一部は日本補綴歯科学会東北・北海道支部学術大会 (2000年9月2日)、第106回日本補綴歯科学会学術大会 (2001年10月26日) において発表した。

文 献

1. Hansson, H. A., Albrektsson, T. and Branemark, P. I.: Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants, *J. Prosthet. Dent.*, **50**: 108-113, 1983.
2. Schroeder, A., van der Zypen, E., Stich, H. and Sutter, F.: The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium sprayed surfaces, *J. Max.-fac. Surg.*, **9**: 15-25, 1981.
3. Listgarten, M. A., Buser, D., Steinemann, S. G., Donath, K., Lang, N. P. and Weber, H. P.: Light and transmission electron microscopy of the intact interfaces between non-submerged titanium-coated epoxy resin implants and bone or gingiva., *J. Dent. Res.*, **71**: 364-371, 1992.
4. Weinlaender, M., Kenney, E. B., Lekovic, V., Beumer, J. III., Moy, P. K. and Lewis, S.: Histomorphometry of bone apposition around three types of endosseous dental implants, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, **7**: 491-496, 1992.
5. Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B. and Branemark, P. I.: A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws, *Int. J. Oral Surg.*, **10**: 387-416, 1981.
6. Adell, R., Eriksson, B., Lekholm, U. and Branemark, P. I.: A long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, **5**: 347-359, 1990.
7. Ekfeldt, A., Carlsson, G. E. and Borjesson, G.: Clinical evaluation of single-tooth restorations supported by osseointegrated implants: a retrospective study, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.*, **9**: 179-183, 1994.
8. Nevins, M. and Langer, B.: The successful application of osseointegrated implants to the posterior jaw: a long-term retrospective study, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, **8**: 428-432, 1993.

9. Lekholm, U.: Clinical procedures for treatment with osseointegrated dental implants, *J. Prosthet. Dent.*, **50**: 116-120, 1983.
10. 島田勝弘, 寺延 治: 家兎におけるHA顆粒と骨髄の混合移植による骨形成に関する組織学的研究, *日口腔インプラント誌*, **10**: 303-314, 1997.
11. 藤井俊治, 阿部廣幸, 真中伸之, 片海裕明, 金子三恵, 扇内秀樹: イヌ下顎骨における合成ヒドロキシアパタイトの填塞に関する研究 第3報 粒状多孔体の病理組織学的観察, *日口腔インプラント誌*, **7**: 221-229, 1994.
12. 寶田 博, 杵渕孝雄: ヒドロキシアパタイトコーティングチタン人工歯根の臨床治験, *口病誌*, **60**: 104-136, 1993.
13. 神田昌巳, 西野治邦, 入江 修, 小川 優, 松沢耕介, 安彦善裕, 賀来 亨: HAコーティングインプラント上における骨芽細胞の動態—特に走査型電子顕微鏡による観察—, *日口腔インプラント誌*, **10**: 459-462, 1997.
14. 溝上克也, 尾口仁志: 異なった溶射法でチタンにコーティングした溶射ヒドロキシアパタイト被膜に関する生物学的比較検討, *鶴見歯学*, **23**: 21-45, 1997.
15. 木下径彦: ダブルコーティング溶射ヒドロキシアパタイト被膜に関する実験的研究—HAコーティングインプラントの溶射法による比較検討—, *鶴見歯学*, **24**: 135-156, 1998.
16. 森本啓三, 木原昭裕, 竹下文隆, 末次恒夫: スミシコンのコーティング層の剥離に関する病理組織学的観察, *日口腔インプラント誌*, **3**: 231-234, 1990.
17. 竹下文隆, 松下恭之, 村井健二, 鮎川保則, 伊山慎二, 末次恒夫: 摘出インプラント43本の臨床的ならびに組織学的観察, *日口腔インプラント誌*, **10**: 155-162, 1997.
18. 古澤利武, 齊藤智則, 室野井基夫, 山下 忍, 水沼一昭: 骨吸収により除去したHAコーティングインプラントの表面変化について, *日口腔インプラント誌*, **12**: 55-63, 1999.
19. 堤 厚二, 永山正人, 富田達洋, 三嶋 顕, 賀来 亨: 歯石様石灰化物の付着を認めたHAコーティングインプラントの撤去症例について—SEM, EPMA, WDXによる観察—, *日口腔インプラント誌*, **14**: 461-469, 2001.
20. 田村 誠, 田中 収, 舞田健夫: HAコーティングインプラントの臨床的評価: 5年間の成績, *補綴誌* **41**: 620-628, 1997.
21. 萩原芳幸: インプラントフィクスチャーに関する最近の動向, *The Quintessence YEAR BOOK'01*, 48-56, 2001.
22. Guglielmotti, M.B., Renou, S., Cabrini, R.L.: A Histomorphometric Study of Tissue Interface by Laminar Implant Test in Rats, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, **14**: 565-570, 1999.
23. 高橋伸彰, 栄田 和, 花田泰宣, 井口 新, 藤田顕治, 真鍋 憲, 網川雅恵, 寺延 治, 島田桂吉, 川井隆夫: ヒドロキシアパタイトの生体親和性に関する研究—骨芽細胞様細胞を用いての検討—, *日口腔インプラント誌*, **8**: 92-96, 1995.
24. 松本弘幸, 坂口邦彦, 越智守生: パルス電磁場刺激の家兎大腿骨インプラント埋入モデルへの応用 第1報 磁場強度, 1日あたりの刺激時間の影響, *補綴誌*, **40**: 1171-1182, 1996.
25. 松本弘幸, 坂口邦彦, 越智守生: パルス電磁場刺激の家兎大腿骨インプラント埋入モデルへの応用 第2報 新生骨形成状態の経時的変化の観察, *補綴誌*, **41**: 401-410, 1997.
26. 須賀昭一: 硬組織とTetracycline, *歯学*, **53**: 137-143, 1965.
27. 高橋 学, 川口哲郎, 中島早苗, 浅野安生, 龍口基雄: 石灰化組織の多色ラベリングのためのラベリング剤と投与方法について, *歯学*, **67**: 53-66, 1979.
28. 田中 悟, 山根 進, 田中克典, 関根 博, 川西敏雄, 岸 克好: ITI Bonefit®インプラントの動揺度と除去トルク値に関する実験的研究—X線所見および組織学的所見との関係—, *日口腔インプラント誌*, **7**: 198-204, 1994.
29. 関根智之, 中川寛一, 市之川 浩, 齋藤一太, 土倉 康, 山崎裕司, 高階光博, 浅井康宏: 骨内インプラントの除去トルクに関する実験的研究 (第1報)—特に皮質骨維持の影響について—, *日口腔インプラント誌*, **11**: 370-374, 1998.
30. 仙波伊知郎: 骨・歯牙組織の病理検査法と研究技術の実際 (永井教之編), *学際企画*, 東京, 83-98, 1991.
31. 沼原利彦, 小島清嗣: 医学・生物学のための画像解析ハンドブック実践, *NIH image講座*, 羊土社, 東京, 12-50, 1995.
32. 高島成悟, 加々見寛行, 越智守生, 広瀬由紀人, 坂口邦彦: 組織呼吸賦活剤ソルコセリル併用による容量結合型電場刺激 (CCEF) 法の歯科用インプラン

- ト周囲への骨形成促進効果に及ぼす影響, 東日本歯誌, 18: 307-323, 1999.
33. 加々見寛行, 越智守生, 広瀬由紀人, 坂口邦彦, 賀来 亨: 容量結合型電場刺激 (CCEF) 法の口腔インプラントへの応用—家兎インプラント埋入モデルにおける骨形成促進効果の研究—, 日口腔インプラント誌, 13: 38-46, 2000.
34. Hayakawa, T., Yoshinari, H., Nemoto, K., Wolke J.G.C., Jansen, J.A.: Effect of surface roughness and calcium phosphate coating on the implant/bone response, Clin. Oral Impl. Res., 11: 296-304, 2000.
35. Piattelli, A., Scarano, A., Piattelli, M. and Galabrese, L.: Direct bone formation on sand-blasted titanium implants: an experimental study, Biomaterials, 17: 1015-1018, 1996.
36. Vercaigne, S., Wolke J.G.C., Naert I., Jansen J.A.: A histological evaluation of TiO₂-gritblasted and Ca-P magnetron sputter coated implants placed into the trabecular bone of the goat: part 2, Clin. Oral Impl. Res., 11: 314-324, 2000.
37. 高田博樹, 竹下文隆, 末次恒夫: 各種生体不活性材料に対する組織形態学的解析, 補綴誌, 39: 636-642, 1995.
38. 五味一博, 斉藤禎子, 金指幹元, 新井 高, 中村治郎: チタン表面粗さが破骨細胞様細胞の形態に与える影響, 日口腔インプラント誌, 9: 306-312, 1996.
39. 五味一博, 斉藤禎子, 小鮎正明, 住本治菜, 鄭鎮亨, 新井 高, 中村治郎: チタン表面粗さが骨芽細胞による無線維性石灰化休憩性に及ぼす影響, 日口腔インプラント誌, 10: 1-8, 1997.
40. 藤森伸也: 種々の微小面形状を付与したチタン板の表面分析並びにその表面上での骨芽細胞様細胞の増殖と分化に関する研究, 歯科材料・器械, 14: 155-168, 1995.
41. 青木秀希: 驚異の生体物質アパタイト, 医歯薬出版, 東京, 134-139, 1999.
42. 石垣佳希, 白川正順: 超薄層HAコーティングインプラントの実験的研究—第1報 病理組織学的検討—, 日口腔インプラント誌13: 623-629, 2000.
43. 白崎芳夫, 林 和彦, 立石哲也, 松崎浩巳: 表面加工を施したチタン合金インプラント材と臨床用骨スクリューの接合強度および骨組織反応, 生体材料, 15: 121-127, 1997.
44. Burgess, A.V., Story, B.J., Wargner, W.R., Trisi, P., Pikos, M.A., Guttenberg, S.A.: Highly crystalline MP-1 hydroxylapatite coating. Part II: In vivo performance on endosseous root implants in dogs, Clin. Oral Impl. Res., 10: 257-266, 1999.
45. 浦口昌秀, 石垣佳希, 川原英明, 柏原 毅, 中村正和, 高松和広, 白川正順, 吉田隆一: インプラント体表面処理が機械的強さに及ぼす影響とアバットメントの締め付け強さに関する研究, 日口腔インプラント誌, 11: 457-460, 1998.
46. 村上広樹, 大久保厚司, 野田豊彦, 羽倉隆昌, 梁瀬丈志, 五十嵐俊男, 岸 祐治, 蒔田真人, 福西啓八, 岸 民祐, 三嶋 顕, 石丸 裕: トルクレンチによるアバットメント接合時の骨結合破壊について—第1報 トルクレンチの特性—, 日口腔インプラント誌, 12: 394-399, 1999.

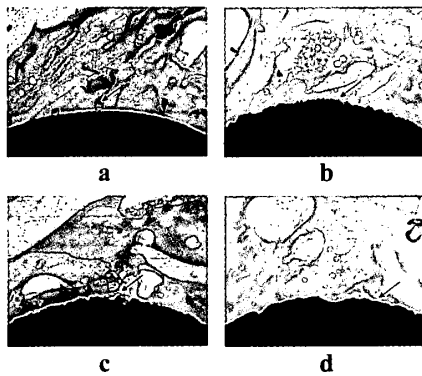


図9 Bone Stain像 (埋入後1週間)
 a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理
 細い矢印: 染色された新生骨
 インプラント体周囲での新生骨形成はそれほど観察されず, 周囲は結合組織で覆われている。

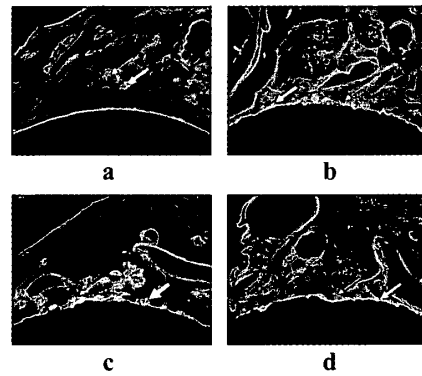


図12 蛍光ラベリング像 (埋入後1週間)
 a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理
 細い矢印: TCのラベル, 太い矢印: CALのラベル
 5分洗浄群は他の表面処理群に比較してインプラント体周囲にCALでラベルされた新生骨が多くみられる。

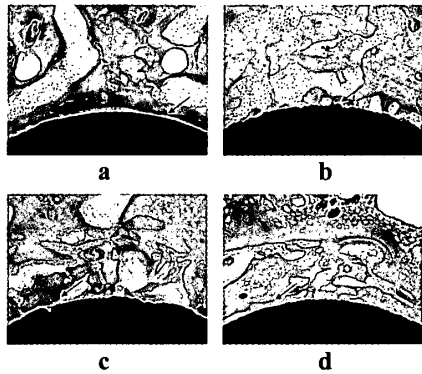


図10 Bone Stain像 (埋入後2週間)
 a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理
 細い矢印: 染色された新生骨
 5分洗浄群, 未洗浄群, 酸処理群はインプラント体周囲に鮮やかな赤色に染色された新生骨が多くみられるが, 機械加工群ではそれほど活発な骨形成はみられない。

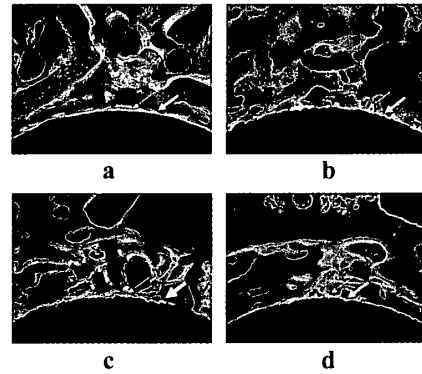


図13 蛍光ラベリング像 (埋入後2週間)
 a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理
 細い矢印: TCのラベル, 太い矢印: CALのラベル
 5分洗浄群, 未洗浄群, 酸処理群はインプラント体周囲にTC, CALにラベルされた新生骨が多くみられるが, 機械加工群ではあまり骨形成はみられない。

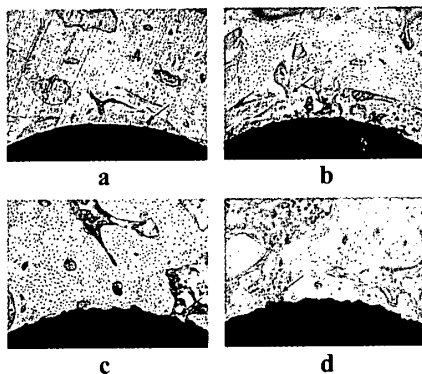


図11 Bone Stain像 (埋入後4週間)
 a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理
 細い矢印: 染色された新生骨
 未洗浄群, 酸処理群, 機械加工群はインプラント体周囲に鮮やかな赤色に染色された新生骨がこの時期になってもみられるが, 5分洗浄群はインプラント体周囲で既存骨の占める割合が多くなってきた。

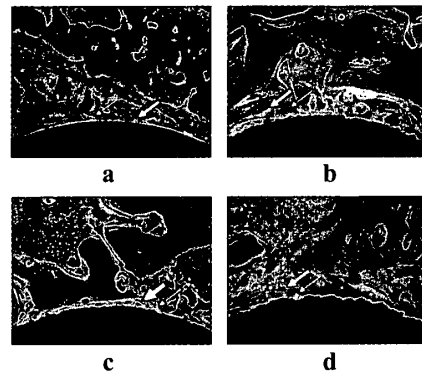


図14 蛍光ラベリング像 (埋入後4週間)
 a: 機械加工 b: 未洗浄 c: 5分洗浄 d: 酸処理
 細い矢印: TCのラベル, 太い矢印: CALのラベル
 機械加工群はインプラント体周囲での活発な新生骨形成がみられるが, 他の表面処理群では既存骨の占める割合が多くなってきた。