イヌ下顎における血管柄付再植骨および遊離再植骨へ埋入した インプラント周囲の骨形成過程に関する研究

古谷 義隆・野間 弘康・矢島 安朝

Characteristics of osteogenesis around dental implants inserted into vascularized bone grafts and free bone grafts in mandible of dogs

Yoshitaka FURUYA・Hiroyasu NOMA・Yasutomo YAJIMA

Abstract: The objective of this study was to investigate the characteristics of osteogenesis around dental implants in both vascularized and nonvascularized bone grafts. Vascularized bone grafts were nourished by inferior alveolar vessels providing medullary blood flow to the mandibles of adult dogs. Titanium implants were placed into the bone grafts and normal mandibles. The time course of osteogenesis around the implants was observed histologically from 2 to 24 weeks after operation. Specimens stained with Stevenel's blue and Van Gieson-picrofuchsin stains and fluorescently labeled specimens were examined with a confocal laser scanning microscope. Implant-bone contact rates were determined.

In vascularized bone grafts, new bone formation was evident all around the implants at 2 weeks postoperatively. New bone became compact with the passage of time. These processes of new bone formation were similar to those of normal mandibles.

In cortical bone of vascularized bone grafts, bone resorption was recognized. However, bone remodeling was found at an early stage, suggesting that implants could be placed into vascularized bone grafts immediately after the primary operation.

In nonvascularized bone grafts, bone resorption and remodeling occurred from the outside of cortical bone. New bone formation around implants was found at 8 weeks postoperatively. The implant apex was encapsulated by fibrous tissue at 24 weeks postoperatively. The results suggest that simultaneous implantation with free bone grafting requires a long time for bony linkage and that encapsulation of implants by fibrous tissue may occur in nonvascularized bone grafts.

Key words: vascularized bone graft (血管柄付骨移植), dental implant (インプラント), dog (イヌ), bone formation (骨形成), confocal laser scanning microscope (共焦点レーザー走査顕微鏡)

緒 言

近年、口腔悪性腫瘍の治療では外科的手術あるいは放射線療法、化学療法が進歩し、進展した悪性腫瘍の患者でも長期間の生存が望めるようになってきている¹⁾。しかし広範囲の組織切除後には、咀嚼、発音などの機能障害や顔面の審美障害を残存しやすく、患者の Quality of Life や社

会復帰のためには、失われた組織の再建が必要不可欠となっている^{2~4)}。従来、口腔顎顔面領域の骨欠損の再建には遊離新鮮自家腸骨ブロックなどが用いられてきたが、広範囲の顎骨切除を行った患者や多量の放射線照射を行った患者などでは、移植骨の吸収や壊死、場合によっては細菌感染をきたす場合もみられた。これに対して1975年に Taylor ら⁵⁾が臨床的に血管柄付遊離腓骨移植を成功させたと報告して以来、口腔顎顔面領域でも血管柄付自家遊離骨移植が盛んに臨床応用され、遊離骨移植ではリスクが高いと思われる症例でも良好な治療成績が得られるようになってきている^{6~8)}。

一方、骨移植によって形態的な回復が可能となっても、移植骨量の限界や再建された軟組織の形態から従来の義歯

東京歯科大学口腔科学研究センター、口腔外科学第一講座
(主任：野間弘康教授)

Oral Health Science Center, The First Department of
Oral and Maxillofacial Surgery, Tokyo Dental College (Chief: Prof. Hiroyasu Noma)

受付日：2002年4月18日

採択日：2002年8月20日

を使用する事が困難な症例も多い。近年、このような症例に対してインプラントを応用することにより咀嚼を中心とした口腔機能の改善が可能となり、血管柄付骨移植を行った患者にインプラントを応用したという報告も数多くみられるようになってきている^{9~14)}。しかし、血管柄付移植骨におけるインプラント周囲での組織学的変化を実験的に検討したものはShirotaら¹⁵⁾の報告以外みられず、遊離移植骨にインプラントを用いた場合との違いを比較検討した報告は皆無である。

そこで今回私たちは高野¹⁶⁾の方法を参考に、イヌ下顎骨の下歯槽神経血管束を血管柄とするブロック骨と下歯槽神経血管束を切断したブロック骨を作製し、これらを旧位に再植した上でインプラントを埋入する実験モデルを作製した。この実験モデルをもとに、主栄養血管からの血行の有無によるインプラント周囲での骨形成過程の違いを、通常の顎骨にインプラントを埋入した場合を対照として、比較検討を行った。

研究 方 法

1. 実験動物

実験動物には、体重20~25kg、年齢2歳~3歳の雑種成犬を使用した。搬入後、1週間以上飼育し、異常の認められなかった総計22頭を実験に供した。インプラント埋入のため両側下顎第1、第2、第3、第4前臼歯を抜歯し、3か月以上飼育して抜歯創の治癒を待ってからインプラント埋入を行った。

2. 実験材料

実験材料には、チタンプラズマ被覆を施したインプラント (ITI 充実スクリューインプラント：直径4.1mm、長径9.3mm) を使用した。

3. 実験方法 (図1)

1) 手術術式

笑気、酸素、ハロタンによる全身麻酔 (以下 GOF 全身麻酔と略す) 下にイヌを仰臥位に固定した。下顎骨へのブロック骨の作製は右側下顎に行い、左側下顎はブロック骨の作製を行わない通常の下顎骨として使用することとし、以下の手術を施した。

- (1) 血管柄付再植ブロック骨へのインプラント埋入 (以下、血管柄付再植骨群とする) (図2)

顎下部を広く剃毛して皮膚消毒を行い、皮下に1%塩酸リドカイン (1/100000エピネフリン添加) を約10ml注射した。右側下顎前臼歯部に相当する顎下部に5cmほどの皮膚切開を加え、歯槽堤部まで頬側、舌側の骨膜上剥離を行ったのち、ブロック骨作製予定部の骨膜を除去した。ついで生理食塩液を滴下しながら Lindeman バーを用いて

GOF 全身麻酔下に以下の手術を施行

- (1) 血管柄付再植骨群：下歯槽神経血管束を血管柄とする再植ブロック骨へインプラントを埋入
- (2) 遊離再植骨群：下歯槽神経血管束を切断した遊離再植ブロック骨へインプラントを埋入
- (3) 顎骨非切断群：顎骨切断を行わない下顎骨へインプラントを埋入

※ (1) または (2) の手術を行った反対側の下顎骨に (3) の手術を行った

骨ラベリング：施術直後にテトラサイクリン、屠殺前にカルセインを投与

施術2週後、4週後、8週後、12週後、24週後に、屠殺

非脱灰研磨標本の作製

共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM) による骨ラベリング像の観察

Stevenel's Blue, Van Gieson-Picrofuchsin 染色による組織学的観察

インプラント-骨接触率の測定

図1 実験方法

図2 実験模式図

右側下顎第2~第4前臼歯相当部の下顎骨を下歯槽神経血管束のみ保存して区域切除し、近遠心径3.0cm、高径2.5cmの血管柄付ブロック骨を作製した。末梢側の下歯槽神経血管束は結紮のうえ切断し、ブロック骨をいったん可動化したのち旧位に再植し、A-O 2.0ミニプレート3枚で固定した。ブロック骨の固定後、生理食塩液を滴下しながら高ト

図3 骨ラベリングスケジュール

ルク低回転エンジンを用いて血管柄付ブロック再植骨の歯槽堤部にインプラント埋入窩を形成した。埋入窩はインプラント全体を骨内に埋入できるように形成し、片顎につき2本のインプラントを埋入した。ブロック骨を作製してからインプラント埋入までは30分程度で行った。インプラント埋入後は皮下組織、皮膚を旧位に復し、各層ごとに縫合閉鎖した。

(2) 遊離再植ブロック骨へのインプラント埋入（以下、遊離再植骨群とする）

血管柄付ブロック再植骨同様、右側下顎第1～第4前臼歯相当部の下顎骨の骨膜を除去し、下歯槽神経血管束を含んだ近遠心径3.0cm、高径2.5cmの血管柄付ブロック骨を作製した。その後中枢側、末梢側の下歯槽神経血管束を結紮、切断してブロック骨を遊離させたのち旧位に再植し、A-O 2.0ミニプレート3枚で固定した。インプラントは、血管柄付再植ブロック骨と同様の手順で遊離再植ブロック骨内に2本埋入し、ブロック骨を作製してからインプラント埋入までは30分程度で行った。創は皮下組織、皮膚を旧位に復して各層ごとに縫合閉鎖した。

(3) 顎骨切断を行わない下顎骨へのインプラント埋入（以下、顎骨非切断群とする）

下顎前臼歯部の歯槽頂よりやや頬側に骨膜に達する切開を加えて粘膜骨膜弁を形成し、血管柄付再植骨群および遊離再植骨群と同様の手順で片顎につき2本のインプラントを埋入した。埋入後は粘膜骨膜弁を旧位に復し、創を縫合閉鎖した。

2) 骨ラベリング (図3)

新生骨の形成部位を明確に示すために、施術直後にテトラサイクリン、屠殺前にカルセインを投与し、下記の方法で骨ラベリングを行った。

(1) テトラサイクリン (Tetracycline 塩酸塩, 和光純薬

工業) を20mg/kgの割合で筋肉内投与した。

(2) カルセイン

(3-3-Bis [N, N-di (carboxymethyl) -aminomethyl] -fluorescein : Calcein®, 和光純薬工業) を深沢ら¹⁷⁾、黒田¹⁸⁾の方法を参考に、その4%溶液を8mg/kgの割合で筋肉内投与した。

4. 実験期間

施術2週後、4週後、8週後、12週後、24週後に、GOF全身麻酔下にヘパリン5000単位を静脈内投与したのち、両側総頸静脈より瀉血しながら両側総頸動脈より生理食塩液を1000ml注入し、その後10%中性緩衝ホルマリン1000mlで灌流固定した。動物の屠殺はペントバルビタールナトリウムを静脈内過量投与して安楽的に行った。

なお、本実験は東京歯科大学動物実験指針に従って行った。(承認番号: 01-45)

5. 観察方法

灌流固定後、ただちに周囲組織を含めて下顎骨を切り出し、10%中性緩衝ホルマリンでさらに4週間以上浸漬固定した。インプラントと周囲組織の関係を明らかにするため、非脱灰研磨標本を作製した。10%中性緩衝ホルマリンで固定した標本は、上昇アルコール列で脱水後、EXAKT社製Technovit樹脂(光重合型MMAレジン)に包埋、重合、硬化させた。これをEXAKT社製カッティングマシンBS-3000で厚径約150μmに前額断した。

1) 共焦点レーザー走査顕微鏡 (Confocal Laser Scanning Microscope: 以下CLSMと略す) による骨ラベリング像の観察

前額断方向に薄切した標本は、EXAKT社製マイクログラインディングマシンMG-4000を用いて厚径約100μmに研磨し、Bio-Rad社製CLSM MRC-1024UVシステムで骨ラベリング像を観察した。励起光源にはアルゴンイオン

図4 骨接触率測定部位

レーザーとクリプトンアルゴンイオンレーザーを用い、励起波長は363nm, 488nmを用いた。標本からの蛍光はダイクロイックミラーで560nmの波長で分離し、テトラサイクリンの蛍光は580/32エミッションフィルターを通して photomultiplier tube 1 (PMT 1) で検出し、カルセインの蛍光は522/35エミッションフィルターを通して photomultiplier tube 2 (PMT 2) で検出した。検出した像は、テトラサイクリンを赤、カルセインを黄色～黄緑色とする擬似カラーで同一画面上に表示し、観察した。

2) Stevenel's Blue, Van Gieson-Picrofuchsin 染色による組織学的観察

標本はCLSMで観察したのち、マイクログラインディングマシンでさらに厚径30μmまで研磨し、これにStevenel's Blue, Van Gieson-Picrofuchsin 重染色を施し、検鏡した。観察は下顎骨の歯槽堤側1/2のインプラント周囲を中心に行った。

6. インプラント-骨接触率の測定

血管柄付再植骨群、遊離再植骨群、顎骨非切断群の各週例につき2枚の切片を用いて、オリンパス社製デジタル画像入力装置 HC-2500/OL でデジタル画像を取得し、MEDIA CYBERNETICS 社製画像処理ソフトウェア ImagePro Plus でインプラント表面と骨が接触する部分を測定した。標本はインプラント中央部で長軸に平行になるように作製し、計測部は骨に埋入されているインプラント表面部分とした(図4)。

結 果

1. Stevenel's Blue, Van Gieson-Picrofuchsin 染色標本による組織学的観察

1) 血管柄付再植骨群 (写真1-A~J)

インプラント表面部では、2週後例で幼弱な新生骨が全

周にみられ(写真1-A)、細い新生骨梁によってインプラントと母床骨は架橋されていた(写真1-B)。4週後例では、インプラントに沿って形成された新生骨梁は太く増大しており(写真1-D)、8週後例(写真1-E, F)では、層板構造が認められた。インプラント表面付近で形成された新生骨は12週後例(写真1-G, H)と24週後例(写真1-I, J)で経日的な緻密化がみられ、インプラント全周は太く増大した新生骨に取り囲まれていた。

インプラント周囲の皮質骨部分では、拡大したハバース管が2週後例で散在性に認められ(写真1-A)、4週後例では骨質の吸収が皮質骨全体に認められた(写真1-C)。8週後例では吸収された骨質部分は4週後例よりも減少し(写真1-E)、12週後例と24週後例では拡大したハバース管はほとんど認められず、皮質骨は緻密化していた(写真1-G, I)。

2) 遊離再植骨群 (写真2-A~J)

2週後例と4週後例のインプラント表面部では、削片状骨片が散在して認められるのみで新生骨の形成は全くみられなかった(写真2-A, B, C, D)。8週後例では、インプラント歯頸側1/2の表面付近で細く幼弱な新生骨がわずかに認められたが(写真2-F)、インプラント根端側1/2は線維性組織に取り囲まれ、新生骨の形成はほとんどみられなかった(写真2-E)。12週後例と24週後例では、インプラント歯頸側1/2の表面部で皮質骨側からの経日的な骨梁の増大が見られ、インプラント体は増大した骨梁に取り囲まれていたが、インプラント根端側1/2では24週後例まで新生骨の形成は認められなかった(写真2-G, H, I, J)。

インプラント周囲の皮質骨では、4週後例のインプラント歯頸部の外骨膜側でハバース管の拡大がわずかにみられた(写真2-C)。8週後例ではハバース管の拡大や骨吸収が皮質骨全体に拡大し、海綿状を呈していた(写真2-E)。12週後例と24週後例では経日的に新生骨梁の増大がみられたが、吸収された骨質は24週後例まで皮質骨全体に認められた(写真2-G, I)。

3) 顎骨非切断群 (写真3-A~J)

インプラント表面部では、2週後例で全周にわたって新生骨が形成され(写真3-A)、インプラントと母床骨は細く幼弱な新生骨梁によって架橋されていた(写真3-B)。4週後例では、インプラント表面部の新生骨が太く増大し(写真3-C, D)、8週後例ではインプラント表面に沿って新生骨がさらに添加して、層板構造が認められた(写真3-E, F)。12週後例(写真3-G, H)と24週後例(写真3-I, J)では、経日的にインプラント表面付近のハバース層板や介在層板が明瞭となって緻密化していた。

また、インプラント周囲の皮質骨は2週後例から24週後例まで著明な骨吸収はみられず、骨基質の染色性は保たれ

写真1 血管柄付再植骨群

- A : 2 週後例弱拡大 B : 2 週後例中拡大
- ・インプラント表面部では、幼弱な新生骨が全周にみられ、細い新生骨梁によってインプラントと母床骨は架橋されていた。
 - ・インプラント周囲の皮質骨部分では、拡大したハバース管が散在性に認められた。
- C : 4 週後例弱拡大 D : 4 週後例中拡大
- ・インプラントに沿って形成された新生骨梁は太く増大していた。
 - ・インプラント周囲の皮質骨全体で、骨質の吸収が認められた。
- E : 8 週後例弱拡大 F : 8 週後例中拡大
- ・インプラントに沿って形成された新生骨梁には、層板構造が認められた。
 - ・インプラント周囲の皮質骨の骨吸収は、4 週後例よりも減少していた。
- G : 12 週後例弱拡大 H : 12 週後例中拡大
- ・インプラント表面付近の新生骨は緻密化し、インプラントは増大した新生骨に取り囲まれていた。
 - ・インプラント周囲の皮質骨部分の骨吸収は、ほとんど認められなかった。
- I : 24 週後例弱拡大 J : 24 週後例中拡大
- ・インプラントは、緻密化した新生骨に取り囲まれていた。
 - ・インプラント周囲の皮質骨部分の骨吸収は、ほとんど認められなかった。

写真2 遊離再植骨群

- A : 2 週後例弱拡大 B : 2 週後例中拡大
 ・インプラント表面部では、削片状骨片が散在して認められるのみで新生骨の形成は全くみられなかった。
 C : 4 週後例弱拡大 D : 4 週後例中拡大
 ・インプラント表面部では、削片状骨片が散在して認められるのみであった。
 ・インプラント歯頸部の皮質骨では、外骨膜側でハバース管の拡大がわずかにみられた。
 E : 8 週後例弱拡大 F : 8 週後例中拡大
 ・インプラント歯頸側 1/2 の表面部では細く幼弱な新生骨がわずかに認められたが、インプラント根端側 1/2 は線維性組織に取り囲まれ、新生骨の形成はほとんどみられなかった。
 ・インプラント周囲の皮質骨では、ハバース管の拡大や骨吸収が皮質骨全体に拡大し、海綿状を呈していた。
 G : 12 週後例弱拡大 H : 12 週後例中拡大
 ・インプラント歯頸側 1/2 の表面部では皮質骨側から骨梁の増大がみられたが、インプラント根端側 1/2 では新生骨の形成は認められなかった。
 ・インプラント周囲の皮質骨全体に骨吸収が認められた。
 I : 24 週後例弱拡大 J : 24 週後例中拡大
 ・インプラント歯頸側 1/2 の表面部では骨梁の増大がみられたが、インプラント根端側 1/2 では新生骨の形成は認められなかった。
 ・インプラント周囲の皮質骨では、骨吸収が皮質骨全体に認められた。

写真3 顎骨非切断群

- A : 2 週後例弱拡大 B : 2 週後例中拡大
 ・インプラント表面部では、全周にわたって新生骨が形成され、インプラントと母床骨は細く幼弱な新生骨梁によって架橋されていた。
 ・インプラント周囲の皮質骨は著明な骨吸収はみられず、骨基質の染色性は保たれていた。
- C : 4 週後例弱拡大 D : 4 週後例中拡大
 ・インプラント表面部では新生骨が太く増大していた。
 ・インプラント周囲の皮質骨は著明な骨吸収はみられなかった。
- E : 8 週後例弱拡大 F : 8 週後例中拡大
 ・インプラント表面部では新生骨がさらに添加し、層板構造が認められた。
 ・インプラント周囲の皮質骨には、著明な変化はみられなかった。
- G : 12 週後例弱拡大 H : 12 週後例中拡大
 ・経日的にインプラント表面付近のハバース層板や介在層板が明瞭となって緻密化していた。
 ・インプラント周囲の皮質骨には、著明な変化はみられなかった。
- I : 24 週後例弱拡大 J : 24 週後例中拡大
 ・経日的にインプラント表面付近のハバース層板や介在層板が明瞭となって緻密化していた。
 ・インプラント周囲の皮質骨には、著明な変化はみられなかった。

ていた(写真3-A, C, E, G, I).

2. 共焦点レーザー走査顕微鏡による骨ラベリング像の観察(表1)

1) 血管柄付再植骨群(写真4-A~F)

2週後例のインプラント表面部では、テトラサイクリンとカルセインの濃いラベリング像がインプラント近傍を中心にびまん性に認められた(写真4-D). 4週後例では、カルセインのラベリング部位が2週後例よりも減少して散在性に認められ、8週後例では形成された新生骨梁表面に沿って帯状のカルセインのラベリング像が認められた(写真4-E). 12週後例と24週後例のインプラント表面部のカルセインラベリング像は、新生骨梁表面に沿って散在性に認められるのみであった(写真4-F).

インプラント周囲の皮質骨では、2週後例でテトラサイクリンとカルセインのラベリング像が散在して認められたが(写真4-A), 4週後例では拡大したハバース管の内面に沿ったカルセインのラベリング像のみが認められ、テトラサイクリンのラベリング像はほとんど認められなかった. 8週後例では、4週後例よりも狭小化したリング状のカルセインのラベリング像が皮質骨全体に散在して認められたが(写真4-B), 12週後例と24週後例では小さなリング状やスポット状のカルセインのラベリング像がわずかに認められるのみであった(写真4-C).

2) 遊離再植骨群(写真5-A~F)

2週後例と4週後例のインプラント表面部では、テトラサイクリン、カルセインのいずれのラベリング像もほとんど認められなかった(写真5-D). 8週後例ではインプラント歯頸側1/2の表面部で、皮質骨のラベリング像と連続する帯状のカルセインのラベリング像がインプラント表面に沿って認められたが、インプラント根端側1/2ではラベリング像が全く認められなかった(写真5-E). 12週後例と24週後例では、皮質骨のリング状のラベリング像がインプラント歯頸側1/2の表面に接して認められたが、24週後例では、インプラント表面部のラベリング像はわずかであった. またインプラント根端側1/2では、24週後例までラベリング像が認められなかった(写真5-F).

インプラント周囲の皮質骨では、2週後例で外骨膜側にわずかなカルセインのラベリング像が認められ(写真5-A), 4週後例では皮質骨の外骨膜側1/2でカルセインのラベリング像が散在性に認められた. 8週後例では、皮質骨全体に帯状のカルセインのラベリング像が認められ(写真5-B), 12週後例では8週後例よりも狭小化したリング状のカルセインラベリング像が皮質骨全体に散在して認められた. しかし24週後例でも、拡大したハバース管内面のリング状ラベリング像が皮質骨全体に認められた(写真5-C).

3) 顎骨非切断群(写真6-A~F)

2週後例のインプラント表面部では、テトラサイクリンとカルセインがびまん性に沈着した濃いラベリング像が全周にわたって認められた(写真6-D). 4週後例ではカルセインのラベリング像は2週後例よりも減少し、インプラント表面部の新生骨梁に沿って細い帯状に認められた. 8週後例から24週後例では、インプラント表面部のカルセインでラベリングされる骨梁は散在性に認められるのみであった(写真6-E, F).

インプラント周囲の皮質骨では、2週後例から24週後例までテトラサイクリンとカルセインのラベリング像が散在して認められたが、ラベリング部分の増減はほとんど認められなかった(写真6-A, B, C).

3. インプラント-骨接触率の測定(図5, 表2)

血管柄付再植骨群は2週後例で60.0%の骨接触率を示し、その後も骨接触率は経日的に上昇し、12週後例では79.8%となっていた. 24週後例になると81.7%にまで達していたが、12週後例までと比較すると骨接触率の上昇はわずかであった.

遊離再植骨群については、2週後例の骨接触率が25.6%であり、4週後例では若干低下して24.1%となっていた. 8週後例では36.3%に上昇し、その後緩やかな上昇傾向を認めたが、24週後例でも53.3%にとどまっていた.

顎骨非切断群については、2週後例で62.3%の骨接触率であり、その後血管柄付再植骨群と同様な骨接触率の推移を示し、24週後例で80.1%に達していた.

考 察

1. 実験モデルについて

本実験では、ブロック骨に対する主栄養血管からの血行の有無によるインプラント周囲の骨形成過程の違いを観察することが目的である. したがって血管柄付のブロック骨の作製にあたっては、主栄養血管からブロック骨内への血行が保たれていることと、血行が安定していることが必要である.

一般に長管骨の血行については皮質骨内側2/3が骨髓側からの血行で栄養され、皮質骨外側1/3は骨膜からの血行で栄養されるといわれる¹⁹⁾. TriasとFery²⁰⁾は骨髓性の血行と骨膜性の血行は互いに連絡しており、生理的に応じて血行分布は変化すると述べており、骨膜性の血行単独でも移植骨の生存は可能であるとする報告もみられる²¹⁾. しかしÖstrupとFredrickson²²⁾はイヌの血管柄付肋骨を下顎骨に移植する実験を行い、移植骨の生存には骨髓性の血行が重要であると述べており、さらにShirotaら¹⁵⁾は骨膜性の血行が主体の浅腸骨回旋動脈を血管柄とするミ

写真4 血管柄付再植骨群 (CLSM 画像)

- A : 2 週後例インプラント側方部弱拡大
・インプラント周囲の皮質骨では、テトラサイクリンとカルセインのラベリング像が散在して認められた。
- B : 8 週後例インプラント側方部弱拡大
・狭いリング状のカルセインのラベリング像が皮質骨全体に散在して認められた。
- C : 24 週後例インプラント側方部弱拡大
・インプラント周囲の皮質骨では、スポット状のカルセインのラベリング像がわずかに認められるのみであった。
- D : 2 週後例インプラント根端部強拡大
・インプラント表面部では、テトラサイクリンとカルセインの濃いラベリング像がインプラント近傍を中心にびまん性に認められた。
- E : 8 週後例インプラント根端部中拡大
・インプラント表面部では、形成された新生骨梁表面に沿って帯状のカルセインのラベリング像が認められた。
- F : 24 週後例インプラント根端部中拡大
・インプラント表面部のカルセインラベリング像は、新生骨梁表面に沿って散在性に認められるのみであった。

写真5 遊離再植骨群 (CLSM 画像)

- A : 2 週後例インプラント側方部弱拡大
・インプラント周囲の皮質骨では, 外骨膜側にわずかなカルセインのラベリング像が認められるのみであった.
- B : 8 週後例インプラント側方部弱拡大
・帯状のカルセインのラベリング像が皮質骨全体に認められ, 一部はインプラント表面に沿って認められた.
- C : 24 週後例インプラント側方部弱拡大
・拡大したハバース管内面にリング状のラベリング像が皮質骨全体で認められた.
- D : 2 週後例インプラント根端部弱拡大
・インプラント表面部では, テトラサイクリン, カルセインのいずれのラベリング像もほとんど認められなかった.
- E : 8 週後例インプラント根端部弱拡大
・インプラント根端側 1/2 のインプラント表面部では, ラベリング像が全く認められなかった.
- F : 24 週後例インプラント根端部弱拡大
・インプラント根端側 1/2 のインプラント表面部では, ラベリング像が認められなかった.

写真6 顎骨非切断群 (CLSM 画像)

- A : 2週後例インプラント側方部弱拡大
・インプラント周囲の皮質骨では、テトラサイクリンとカルセインのラベリング像が散在して認められた。
- B : 8週後例インプラント側方部弱拡大
・インプラント周囲の皮質骨では、2週後例と比較してラベリング像の増減はほとんど認められなかった。
- C : 24週後例弱インプラント側方部弱拡大
・インプラント周囲の皮質骨では、8週後例と比較してラベリング像の増減はほとんど認められなかった。
- D : 2週後例インプラント根端部弱拡大
・インプラント表面部では、テトラサイクリンとカルセインがびまん性に沈着した濃いラベリング像が認められた。
- E : 8週後例インプラント根端部中拡大
・インプラント表面部のカルセインでラベリングされる骨梁は、散在性に認められるのみとなっていた。
- F : 24週後例インプラント根端部中拡大
・インプラント表面部のカルセインでラベリングされる骨梁は、散在性に認められるのみであった。

表1 骨ラベリング像の変化

			2週後例		4週後例		8週後例		12週後例		24週後例	
			TC	Cal	TC	Cal	TC	Cal	TC	Cal	TC	Cal
血管柄付再植骨群	インプラント表面部	歯頸側 1/2	++	++	++	++	++	+	++	±	++	±
		根端側 1/2	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	±	+++	±
	皮質骨	外骨膜側 1/2	+	+	±	++	-	+	-	±	-	±
		内骨膜側 1/2	+	+	±	++	-	+	-	±	-	±
遊離再植骨群	インプラント表面部	歯頸側 1/2	-	-	-	-	-	±	-	+	-	+
		根端側 1/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	皮質骨	外骨膜側 1/2	-	±	-	+	-	+	-	+	-	+
		内骨膜側 1/2	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
顎骨非切断群	インプラント表面部	歯頸側 1/2	++	++	++	++	++	+	++	±	++	±
		根端側 1/2	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	±	+++	±
	皮質骨	外骨膜側 1/2	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		内骨膜側 1/2	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

TC: Tetracycline Cal: Calcein

図5 骨接触率の推移

表2 骨接触率

	2週後例	4週後例	8週後例	12週後例	24週後例
血管柄付再植骨群	60.0%	64.2%	70.4%	79.8%	81.7%
遊離再植骨群	25.6%	24.1%	36.3%	49.6%	53.3%
顎骨非切断群	62.3%	65.7%	70.5%	79.6%	80.1%

ニブタの遊離腸骨を下顎角部に移植し、同時にインプラントを埋入する実験を行ったところ、術後14日例ではインプラント周囲に骨形成は見られなかったと報告しており、こ

の理由として血管柄から骨髓への血行が不十分であったと述べている。このことから、より確実に移植骨内の血行を保つには骨髓性の血行であるほうが有利であると考えられる。

また、血流の変動が移植骨に与える影響については、Rückerら²³⁾が血管切断から吻合までの1時間の虚血状態で骨膜に傷害がみられたと述べており、さらに五島ら²⁴⁾はラット下肢の血管柄付骨移植後に一定時間血管柄をクリッピングしたところ、虚血時間に相関して皮質骨の壊死領域が広がったと報告している。つまり、血管切断吻合操作による虚血時間が骨形成に影響を与えると考えられる。

本実験は、イヌ下顎骨の下歯槽神経血管束を血管柄とするブロック骨を旧位に再植する方法を用いているが、この方法の特徴はブロック骨が骨髓性の血行であることと、血管切断吻合を行わないことである。すなわち、骨髓性の血行が主体の本実験の血管柄付再植骨群はブロック骨に対するより確実な血行が得られ、さらに血管の切断吻合操作を行わないため骨の虚血時間がなく、血行の有無によるインプラント周囲での骨形成過程の違いを比較検討するのに適していると考えられた。

2. 血管柄付再植骨へ埋入したインプラント周囲の骨形成について

血管柄付骨移植では血行が保たれたまま骨移植を行うので、移植骨のほとんどの細胞は生存しているといわれ、Östrup と Fredrickson²²⁾ は微小血管吻合を用いてイヌの血管柄付肋骨をその周囲組織とともに下顎骨下縁に移植し吻合血管が開存し血行が保たれていたものは移植骨の細胞が生存し、良好な骨性癒着が認められたと報告している。しかし、Berggren ら²⁵⁾ はイヌの肋骨を用いた実験で、骨髓性血行により栄養されている後部肋骨と骨膜性血行により栄養されている前部肋骨の血管柄付骨移植を行った結果、前者では移植骨のほとんどの部位で血行が保たれていたのに対し、後者では血行が保たれていたのは皮質骨のみであったと述べている。さらに高野¹⁶⁾ は、骨髓性の血行を主体とするイヌ下顎骨の血管柄付骨再植実験でマイクロアンギオグラフィー、血管内注入透明標本と組織像を比較し、骨髓側からの血行が不十分な外基礎層板の部分では術後1週目で骨細胞の変性や壊死がみられたと報告している。

本実験の血管柄付再植骨群では、2週後例ですでに顎骨非切断群とほぼ同様にインプラント全周で旺盛な新生骨の形成がみられ、新生骨は経日的に成熟する様相が認められた。また、インプラントと骨の接触率については2週後例で60.0%に達し、24週後例では81.7%となり、顎骨非切断群とほぼ同様な推移を示していた。つまり、本実験のように主栄養血管が主に骨髓腔内に分布する再植骨でのインプラント周囲の骨形成は、骨切断を行わない通常の顎骨に埋入するインプラント周囲の骨形成と同様な過程を経るものと考えられ、早期にインプラントと骨の結合が得られることが示された。

一方皮質骨部分では、2週後例から8週後例にかけて骨吸収がみられ、遊離再植骨ほどではないにしても、血管柄付再植骨でも一過性の骨吸収が生ずることを示していた。本実験の血管柄付再植骨では主栄養血管が主に骨髓腔内に分布しており、インプラント周囲の骨形成には有利であったと思われるが、Rhineland¹⁹⁾ が述べているように骨膜を除去した皮質骨の外骨膜側では骨髓性の血行による栄養が十分に得られず、再植骨の壊死や吸収を生じたものと考え

られる。口腔顎顔面領域で用いられる血管柄付骨移植では主栄養血管が骨膜に分布する腸骨などを用いることも多く、血流条件によっては本実験の皮質骨部分のようにインプラント周囲で一過性の骨壊死や吸収が生じる可能性が考えられる。つまり骨移植と同時にインプラントを埋入する場合には、移植骨内の血行を配慮することが必須であろう。

また、本実験の12週後例と24週後例の皮質骨部分では顎骨非切断群と同様に骨吸収がほとんど認められず、骨ラベリング像についても、12週後例と24週後例の皮質骨部分ではほとんど認められなくなっており、血管柄付再植骨では吸収された骨質の再構築が12週後例で完了することを示していた。血管柄付再植骨は骨壊死をきたす部分が少なく、活発な骨改造現象により再植骨自体から骨新生が生じるので再構築過程も早期に終了するとの報告もあり¹⁶⁾、血管柄付再植骨では血行の分布の状態によって一過性の骨吸収を生じるものの、ほとんどの細胞は生存し、血管柄付再植骨の再構築過程は遊離再植骨よりもかなり短期間に終了するものと考えられる。この結果から、血管柄付移植骨では骨の再形成が速やかに行われるため、二次的にインプラントを埋入する場合には遊離移植骨よりもかなり早期に処置を行うことができると考えられる。

臨床的には、Schmelzeisen ら¹⁰⁾ が血管柄付の腸骨または肩甲骨移植を行った18名の患者で骨移植と同時に埋入したBrånemark 型インプラント（32本）と二次的に埋入したBrånemark 型インプラント（48本）の経過について報告している。これによると、骨移植と同時に埋入したインプラントのうち、3本は移植骨自体の失敗、2本は上部構造の装着が不可能、2本はosseointegrationが得られていなかったため補綴処置に使用できなかったが、二次的にインプラントを埋入したものは全く失敗例がなかったと述べている。本実験の結果はこのような臨床報告を裏付けるものと考えられた。

3. 遊離再植骨へ埋入したインプラント周囲の骨形成について

遊離移植骨では移植床からの組織液の拡散によって栄養されるので、骨の構造上、移植骨の生存は皮質骨よりも海綿骨の方が有利であるといわれている。Heslop ら²⁶⁾ はラット脛骨を皮膚と筋肉の間に移植し、皮質骨では表面から0.3mm以上離れた部分の細胞は生存しえないと述べており、長内²⁷⁾ はウサギ下顎骨欠損部へ骨髓を含む海綿骨梁（perticulate cancellous bone and marrow：以下PCBMと略す）と自家腸骨ブロックをそれぞれ移植し、³H-thymidineを投与して移植骨の細胞動態について観察し、PCBM移植では移植された骨髓細胞が生き残り、分裂増殖して骨芽細胞に分化し、早期に新生骨を形成したのに対し、ブロック骨移植では移植骨中の細胞のほとんどが死滅した

と報告している。死滅した移植骨の組織学的変化については、Phemister²⁸⁾がハバース管の拡大とともに移植床から新生血管と骨形成細胞が侵入し新生骨に置換すると述べており、黒田¹⁸⁾はウサギ下顎骨欠損部へ自家腸骨ブロックとPCBM移植を行い、テトラサイクリンとカルセインによる骨ラベリング法を用いて移植骨の再構築過程を観察したところ、ブロック骨移植、PCBM移植ともに移植時の既存の骨梁は完全に吸収され、新生骨に置換されて母床骨と同一の構造を呈するようになるが、ブロック骨では一連の経過が長期間を要したと報告している。これらの報告から、緻密骨の遊離移植骨では移植初期では骨形成に関わる細胞が生存しえないものと考えられ、さらに死滅した既存の骨組織の吸収と新生骨の添加は骨片の周辺部から中央部へ徐々に進行していくため、移植骨内部の新生骨の形成には時間がかかるものと考えられる。

本実験の遊離再植骨群では、4週後例で初めて皮質骨の外骨膜側からハバース管の拡大を中心とする骨吸収と骨添加がみられ、8週後例では骨吸収と骨添加がインプラント表面部まで達して、4週後例まで認められなかったインプラント周囲での新生骨の添加や骨ラベリング像が初めて認められた。インプラントと骨の接触率については4週後例までは25%程度で、骨の改造がインプラント表面部まで達した8週後例では36.3%であり、同じ週例の血管柄付再植骨群や顎骨非切断群と比較すると著しく低値であった。12週後例と24週後例では、インプラント表面部で形成された骨梁の経日的な緻密化がみられたが、拡大したハバース管や骨形成を示すカルセインのラベリング像が明瞭に認められ、骨の改造が未だ活発に行われていることを示していた。この結果は、従来の報告のように遊離移植骨では移植骨片が壊死した後に骨の外側から吸収と骨添加が生じるために、移植骨内部、すなわちインプラント周囲での骨形成までに時間を要することを示している。

さらに、本実験のインプラント根端側1/2の表面部では24週後例まで新生骨の形成が認められず、インプラントと骨の接触率についても、24週後例で53.3%にとどまっていた。骨形成の遅延により線維性組織に取り囲まれたインプラントは骨結合が得られないといわれる²⁹⁾ことから、遊離骨移植と同時にインプラントを埋入すると血管柄付移植骨や骨移植を行わない顎骨に埋入したインプラントよりも少ない osseointegration しか得られないものと考えられる。インプラントが十分な osseointegration を得られずに線維性組織に取り囲まれると、インプラント自体の動揺や感染をきたす場合もあるとされる²⁹⁾。臨床的には骨移植と同時にインプラントを埋入した場合のインプラントの生着率は低いといわれ、Schliephake ら¹⁴⁾は口腔悪性腫瘍切除後に用いたインプラントの10年生着率について、骨移植と

インプラント埋入を同時に行った場合には36.2%、二次的にインプラントを埋入した場合は67.1%で、有意差を認めたと報告しており、本実験の結果はこれらの報告に対する組織学的な理由のひとつであることを示唆している。

以上より、血管柄付移植骨のインプラント周囲では骨移植を行わない顎骨に埋入したインプラント周囲と同様に早期に骨形成がみられ、血行が不十分な部分では一過性の骨吸収や壊死を生ずるものの、骨の再形成は速やかに起こり、血管柄付骨移植後早期にインプラントの埋入が可能であると考えられた。一方、遊離骨移植では移植骨の壊死とその後の再構築過程を経るために、骨移植と同時にインプラント埋入を行うと長期にわたりインプラントと骨の結合が得られないことが示唆された。

結 語

血管柄付移植骨へインプラントを埋入した場合と、遊離移植骨へインプラントを埋入した場合のインプラント周囲での骨形成過程を比較検討するため、イヌ下顎骨の下歯槽神経血管束を血管柄とする再植ブロック骨と下歯槽神経血管束を切断した再植ブロック骨にインプラントを埋入する実験を行い、通常の顎骨にインプラントを埋入した場合を対照として、組織学的な観察と CLSM による骨ラベリング像の観察を行い、以下の結果を得た。

1. 血管柄付再植骨群では、顎骨非切断群とはほぼ同様に術後早期からインプラント全周で旺盛な新生骨の形成がみられ、新生骨は経日的に緻密化していた。血管柄付移植骨のインプラント表面部では骨移植を行わない顎骨にインプラントを埋入した場合と同様な骨形成過程を示すことが示唆された。

2. 血管柄付再植骨群の皮質骨では術後早期に骨吸収がみられたが、骨の再形成は速やかにみられた。血管柄付移植骨とインプラントを同時に埋入する場合には移植骨の血行を考慮する必要があるが、二次的に埋入する場合には、遊離骨移植よりも早期に行うことができるものと考えられた。

3. 遊離再植骨群では骨の吸収と添加が皮質骨の外骨膜側部から起こり、インプラント周囲では術後8週でようやく新生骨の形成が認められたが、インプラント根端部では24週まで新生骨の支持が得られなかった。遊離骨移植と同時にインプラントを埋入すると骨結合が得られるまでに時間がかかり、しかも十分な骨結合が得られないことが示唆された。

本研究の一部は、東京歯科大学口腔科学研究センター研究助成金（課題番号 992C01）および平成12年度、平成13年度科学研究補助金：基盤研究（C）（2）12671966の補助を受けた。

稿を終えるに臨み、本研究の遂行に御協力頂いた本学口腔外科学第一講座教室員各兄に心から感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 清水正嗣：口腔癌治療の日本における歴史的回顧と未来への展望。清水正嗣，小浜源郁編；口腔癌－診断と治療。第1版，デンタルダイヤモンド社，東京，1989，14-33頁。
- 2) Curtis, D.A., Plesh, O., et al.: A comparison of masticatory function in patients with or without reconstruction of the mandible. *Head Neck* 19: 287-296 1997.
- 3) Matsui, Y., Neukam, F.W., et al.: Masticatory function of postoperative tumor patients rehabilitated with osseointegrated implants. *J Oral Maxillofac Surg* 54: 441-447 1996.
- 4) Schliephake, H., Ruffert, K., et al.: Prospective study of the quality of life of cancer patients after intraoral tumor surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 54: 664-669 1996.
- 5) Taylor, I., Miller, D.H., et al.: The free vascularized bone graft. *Plast Reconstr Surg* 55: 533-544 1975.
- 6) Pogrel, M.A., Podlesh, S., et al.: A comparison of vascularized and nonvascularized bone grafts for reconstruction of mandibular continuity defects. *J Oral Maxillofac Surg* 55: 1200-1206 1997.
- 7) Anthony, J.P., Foster, R.D., et al.: The free fibula bone graft for salvaging failed mandibular reconstructions. *J Oral Maxillofac Surg* 55: 1417-1421 1997.
- 8) Disa, J.J., Hidalgo D.A., et al.: Evaluation of bone height in osseous free flap mandible reconstruction: an indirect measure of bone mass. *Plast Reconstr Surg* 103: 1371-1377 1999.
- 9) 後藤昌昭，香月 武，他：下顎骨切除症例に対するブローネマルクインプラントの応用。日口科誌 42: 364-378 1993.
- 10) Schmelzeisen, R., Neukam, F.W., et al.: Postoperative function after implant insertion in vascularized bone grafts in maxilla and mandible. *Plast Reconstr Surg* 97: 719-725 1996.
- 11) Urken, M.L., Buchbinder, D., et al.: Oromandibular reconstruction using microvascular composite flaps - Report of 210 cases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 124: 46-55 1998.
- 12) Werkmeister, R., Szulczewski, D., et al.: Rehabilitation with dental implants of oral cancer patients. *J Craniomaxillofac Surg* 27: 38-41 1999.
- 13) Foster, R.D., Anthony, J.P., et al.: Vascularized bone flaps versus nonvascularized bone grafts for mandibular reconstruction: an outcome analysis of primary bony union and endosseous implant success. *Head Neck* 21: 66-71 1999.
- 14) Schliephake, H., Neukam, F.W., et al.: Long-term results of endosteal implants used for restoration of oral function after oncologic surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 28: 260-265 1999.
- 15) Shirota, T., Schmelzeisen, R., et al.: Immediate insertion of two types of implants into vascularized bone grafts used for mandibular reconstruction in miniature pigs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 77: 222-231 1994.
- 16) 高野正行：下顎骨における血管柄付骨再植の治療過程に関する実験的研究。歯科学報 87: 193-230 1987.
- 17) 深沢裕文，河原田武巳，他：硬組織時刻描記のためのドータイド・カルセインの投与方法の改善に関する研究。日矯歯誌 38: 222-226 1979.
- 18) 黒田雅仁：下顎骨欠損への骨髄を含む海綿骨梁移植における骨新生と骨再構築機転に関する実験的研究。歯科学報 83: 683-711 1983.
- 19) Rhineland, F.W.: The normal microcirculation of diaphyseal cortex and its response to fracture. *J Bone Joint Surg Am* 50: 784-800 1968.
- 20) Trias, A. and Fery, A.: Cortical circulation of long bones. *J Bone Joint Surg Am* 61: 1052-1059 1979.
- 21) Ariyan, S.: The viability of rib grafts transplanted with the periosteal blood supply. *Plast Reconstr Surg* 65: 140-151 1980.
- 22) Östrup, L.T. and Fredrickson, J.M.: Distant transfer of a free, living bone graft by microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 54: 274-285 1974.
- 23) Rücker, M., Roesken, F., et al.: In vivo analysis of the microcirculation of osteomyocutaneous flaps using fluorescence microscopy. *Br J Plast Surg* 52: 644-652 1999.
- 24) 五島 敦，増原建二，他：移植骨の組織動態。乗松 尋道 編；骨形態計測 volume 6 骨の定量的分析法。第1版，西村書店，新潟，1986，260-268頁。
- 25) Berggren, A., Weiland, A.J., et al.: Microvascular free bone transfer with revascularization of the medullary and periosteal circulation or the periosteal circulation alone. *J Bone Joint Surg Am* 64: 73-87 1982.
- 26) Heslop, B.F., Zeiss, I.M., et al.: Study on transference of bone. *Br J Exp Pathol* 41: 269-287 1960.
- 27) 長内幸一：骨髄を含む海綿骨梁移植の実験的研究。歯科学報 81: 875-887 1981.
- 28) Phemister, D.B.: The fate of transplanted bone and regenerative power of its various constituents. *Surg Gynec Obstet* 19: 303-333 1914.
- 29) 尾関雅彦，金 鮮妃，他：予後不良インプラントの治療法に関する研究－第1報 病理学的，口腔外科学的ならびに歯科補綴学的検討－。日口腔インプラント誌 4: 139-159 1991.