原 著 論 文

骨内インプラント体界面における骨形成と 微細血管構築の変化

— 生体活性材料と生体不活性材料の比較 —

山田 浩之* 草刈 玄 吉田 重光**

Bone Formation and Microvascular Changes on the Interface of the Endosseous Implants

— Comparison of Bio-active and Bio-inert Materials —

Hiroyuki Yamada*, Haruka Kusakari and Shigemitsu Yoshida**

Abstract : Bone formation and microvascular changes after implantation of bio-active (glass-ceramic) and bio-inert (alumina-ceramic) materials were studied chronologically by LM, TEM and SEM of corrosion casts.

The results were summarized as follows :

1. In the early stage, bone formation was observed directly on the glass-ceramic and dense vascular network was found on the interface of the implant. In case of the alumina-ceramic, however, coarse vascular network was found among the newly-formed bone trabeculae.

2. At 4 weeks, the bone on the glass-ceramic became to connect with the surrounding bone. In case of the alumina-ceramic, two types of areas were observed; one was active bone formation area and the other was active bone resorption area. Therefore, after 4 weeks was thought to be an important stage which would influence the condition of the surface of the implant.

3. At 8 weeks, bone was formed on most part of the glass-ceramic. Multinucleated giant cells (MNGCs) having ruffled border were recognized in the area where bone was not formed. These MNGCs were thought to relate the bone remodelling on the surface of the implants. On the other hand, alumina-ceramic was covered with bone or fibrous tissue, and no active bone remodelling was observed.

Key words : dental implant, bone formation, vasculature, glass-ceramic, alumina-ceramic

新潟大学歯学部歯科補綴学第二教室 (主任 : 草刈 玄教授)

* 新潟大学大学院歯学研究科歯科補綴学第二教室 (指導 : 草刈 玄教授)

** 新潟大学歯学部口腔解剖学第二教室
2nd Department of Prosthetic Dentistry, School of Dentistry, Niigata University (Chief : Prof. Haruka Kusakari)

* 2nd Department of Prosthetic Dentistry, Graduate School of Dentistry, Niigata University (Director : Prof. Haruka Kusakari)

** 2nd Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Niigata University
平成2年11月30日受付

I. 緒 言

近年、歯牙の喪失により生じた欠損部に対し、顎骨内に金属あるいは各種のセラミックス材料を用いたインプラント体を植立することによって、咬合の回復を図ろうとする試みがなされている。このインプラント体に用いられる材料は、生体に応用した時の反応の違いにより生体活性材料と生体不活性材料の2つに大別され、それぞれのインプラント体を顎骨に植立した際の生体の反応について、病理組織学的に種々の検索が行われている¹⁻⁸⁾。

インプラント体植立後の周囲組織における骨形成の機序については、現在までに種々の報告がなされているが¹⁻⁸⁾、骨の形成および改造の過程を経時的に観察した報告は少ない。またインプラント体植立後の治癒過程において重要な役割を果たしていると考えられる血管系については、若干の報告がみられるだけで⁹⁻¹¹⁾、インプラント体界面における血管網の三次元的変化について生体活性材料と生体不活性材料の両者を比較・観察したものはみられない。

そこで本研究では生体活性および生体不活性インプラント体植立後の骨の形成および改造の過程を光顕および透過電顕により、またインプラント体界面における血管網と骨の変化を、軟組織のみを除去した血管鋳型標本により立体的に観察し、両インプラント体の比較を行ったので報告する。

II. 実験材料および方法

1. 実験材料

1) 実験動物

雑種成犬 21 頭 (体重 10~15 kg) を用いた。

2) インプラント材料

生体活性インプラント材料として $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ 系結晶化ガラス (直径 4.7 mm, 長さ 15.0 mm) を、また生体不活性インプラント材料として単結晶アルミナセラミックス (バイオセラム 3S1S® 京セラ社製) の長径をダイヤモンドバーで短く改造したものを用いた (図 1)。

2. 実験方法

1) 人工歯根の植立

下顎両側臼歯部を被験部位とし、塩酸ケタミン (ケタール®) 0.5~1.0 ml の筋肉内注射とペントバルビタールナトリウム (ネプタール®) 0.5 ml/kg の静脈内注

図 1 使用インプラント

a: $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ 系結晶化ガラス

b: 単結晶アルミナセラミックス

射による全身麻酔下に、下顎第 3, 第 4 前臼歯および第 1 大臼歯を抜去した。抜歯後約 3 カ月に上記と同様の方法で全身麻酔を施し、2% キシロカインの浸潤麻酔下に粘膜骨膜弁を剝離した。

結晶化ガラスの植立には減速コントラを用い、生理食塩水注水下に規格のバーにより骨孔を形成した後、生理食塩水で洗浄してマレットにて植立した。またアルミナセラミックスの植立には通法に従い減速コントラを用い、注水下にて骨の穿孔と座ぐりを行い、タッピングによるネジ切りを行った後インプラント体を植立した。

両インプラント体とも植立後に粘膜骨膜弁を縫合し、対合歯と約 2 mm の間隔をあけるようにインプラント体上端を削合して植立を完了した。またインプラント体植立後は抗生物質を 3 日間筋肉内投与した。術後は軟性飼料にて飼育し、植立 1 週後に抜糸した後は歯ブラシによる口腔清掃を毎日行った。なお今回の実験では、結晶化ガラスと単結晶アルミナセラミックスの両インプラント体は、原則として同一個体の片側に 1 本ずつ植立した。

2) 標本作成および観察方法

インプラント体植立後 5 日および 1, 2, 4, 8 週に、全身麻酔を施して両側の総頸動脈からカニューレを挿入し、生理食塩水を流して外頸および内頸静脈から血液を十分に瀉血した後、以下の方法で標本作成した。

(1) 樹脂注入血管鋳型標本

10% 中性ホルマリンで灌流固定後、合成樹脂 (メルコックス®, 大日本インキ) を血管内に注入した。樹脂の硬化後下顎骨を切り出し、軟 X 線写真を撮影した後インプラント体を頰舌的に二分するようにブロンウィル薄切器で注意深く切断した。切断した試料は 20% 蛋白分解

酵素 (プロザイム 6®, 天野製薬, pH 8.4, 40°C) に約 3 週間浸漬して軟組織のみを除去し, 流水水洗後自然乾燥を行い, Eiko IB-3 イオンコーターで金蒸着を施して日立 S-510 走査型電子顕微鏡で観察を行った。

(2) 光学および透過電子顕微鏡標本

2.5% グルタルアルデヒドと 2% パラホルムアルデヒドの混合固定液で灌流固定を行い, 同じ固定液中で一晩浸漬固定を行った。固定の終了した試料は 5% EDTA で約 3 カ月間脱灰した後, 1% オスミウム酸で後固定を行い, アセトン系列で脱水し, 通法に従って Epon 812 に包埋した。透過型電子顕微鏡用には, Reichert Ultracut-N 型超ミクロトームにて, ダイヤモンドナイフを用いて 80~120 nm の超薄切片を作成し, 酢酸ウラン-クエン酸鉛二重染色を施して日立 H-7000 透過型電子顕微鏡で観察を行った。また光学顕微鏡用には 1 μ m の準超薄切片を作成し, トルイジンブルー単染色を施した。

III. 結 果

1. 結晶化ガラス

1) 5日後

植立後 5 日では, インプラント体の植立に伴う炎症性反応はほぼ完全に消退している。窩底部に近い海綿骨の領域では, インプラント体の表層には, 紡錘形あるいは立方形を呈し, 核小体が明瞭で, rER, Golgi 装置, mitochondria などの細胞内小器官を豊富に含んだ, 前骨芽細胞と考えられる細胞が多数観察される (図 2-a, b)。またこれらの細胞の間およびインプラント体と既存骨との間の結合組織内には, 細胞質内に多数の mitochondria と vacuole を含む多核巨細胞が認められるが, インプラント体表面に存在する多核巨細胞の大部分は, インプラント側に ruffled border を形成していない (図 2-c)。

一方, 既存骨表層に配列する骨芽細胞は立方形を呈し, 骨形成を開始している。またインプラント体と既存骨の間には少数の血管が観察されるが, その多くは既存骨に近い領域にある (図 2-a)。

これに対して歯頸部に近い皮質骨の領域では, インプラント体と切断された骨の間に幅の狭い結合組織が介在しているもの (図 2-d) と, 間に結合組織が介在せず骨が露出しているもの (図 2-e) の 2通りがみられる。しかしながら前者の場合であっても, インプラント体表層には紡錘形の細胞が観察されるのみで, 核小体の明瞭な細胞はほとんどみられない。また既存骨の表層にも立方

形の骨芽細胞はほとんど認められず, むしろ多数の破骨細胞が骨に接して観察される (図 2-d)。

顎骨からインプラント体を除去してその界面をインプラント側から観察した血管鑄型標本をみると, 海綿骨部においては既存骨梁の間および骨表面に比較的多くの血管がみられ, これらの血管からインプラント側に向かって sprouting 形式により新生血管が伸び出している像が観察されるが (図 2-f), 皮質骨部では観察される血管の数は少なく, 血管の新生像もみられない (図 2-g)。

2) 1週間後

インプラント体を植立して 1 週後の海綿骨部では, インプラント体が既存骨に近接する領域のほぼ全層にわたって細胞内小器官の発達した立方形ないしは円柱形の骨芽細胞が整然と配列し, インプラント体の表面に直接骨を形成している (図 3-a, b)。この骨とインプラント体の境界部には, 電子密度の高い一層の膜様構造物が観察される (図 3-c)。また既存骨からインプラント方向に向かう新生骨の形成が開始されており, その一部はインプラント体表層の骨と連続している。これらの 2つの骨芽細胞層の近傍には多数の血管が観察されるようになるが, その多くは連続性の毛細血管である (図 3-a, b)。

一方, インプラント体表面の一部には骨が形成されない領域が存在しており, このような領域のほとんどで多核巨細胞が観察される (図 3-a)。

これに対して皮質骨部で 5 日後にインプラント体と骨の間に結合組織が介在していたと思われるものでは, インプラント体の表層に直接骨が形成されるようになるが, その近傍にはそれほど多くの毛細血管は観察されない (図 3-d)。また骨が露出していたと思われるものでは既存骨の骨髓側からインプラント体に向かう骨吸収像が多数観察され, しばしば破骨細胞による骨の吸収が露出した骨表面まで及んだ後, インプラント体表面に沿ってさらに骨吸収が進行していく像も認められる。またこのように骨の吸収が活発な部位の近傍には多数の毛細血管が観察される (図 3-e)。

顎骨からインプラント体を除去した血管鑄型標本をみると, インプラント体界面には比較的密な血管網が形成されているが, この血管網を構成する血管は太さが不均一で走向も不規則である。また海綿骨部の方が皮質骨部に比べて血管網の発達がよい。しかしながら, この時期になると 5 日後でみられたような血管の新生像はほとんど観察されなくなる (図 3-f)。

一方, インプラント体表面に骨が形成されておらず破骨細胞による骨吸収が行われていると思われる領域に

は、ループ状の毛細血管が観察される(図3-g)。

3) 2週後

インプラント体植立後2週になると、皮質骨部においてもインプラント体表面の大部分で直接骨が形成されるようになる。海綿骨部では既存骨からインプラント体に向かう新生骨梁とインプラント体表面に形成された骨が連続する領域が増加するようになる(図4-a)。しかしながら1週後と同様に、インプラント体表面の一部には骨が形成されず多核巨細胞がインプラント体に接して存在している領域がみられる。

この時期の血管鋳型標本をみると、既存骨と連続するようになったインプラント体表面の骨の一部が鋳型標本側に残存し、血管網の一部を覆っている。この時期のインプラント体界面で観察される血管網は、太さがほぼ均一で比較的小さい毛細血管で形成されており、1週に比べると規則的な走向を示している(図4-b)。

4) 4週後

インプラント体を植立して4週が経過すると、インプラント体表面に直接形成された骨の多くは既存骨と連続しているが、この時期になってもなお、インプラント体表面の一部には骨が形成されず多核巨細胞が観察される領域が残存している。また骨表面に配列する骨芽細胞は次第に扁平化してくる(図5-a, b)。

この時期の血管鋳型標本では、インプラント体表面に形成された骨の大部分が鋳型標本側に残存するようになるため、骨が形成されていない領域が島状に点在している。また血管はこの島状の領域でのみ観察されるが、押しつぶされたような扁平な形態を呈している(図5-c)。

5) 8週後

インプラント体植立後8週の界面の状態は基本的に4週後の場合と同様であるが、骨表面に配列する骨芽細胞の大部分は休止期骨芽細胞、または bone lining cell と呼ばれる扁平な細胞として観察される(図6-a)。

またこの時期においても、インプラント体表面に骨が形成されずインプラント体表面に多核巨細胞が接している領域がみられるが、このような多核巨細胞の一部には、発達はやや悪いものの、インプラント側に ruffled border の形成がみられる(図6-b, c)。またこの時期になると、インプラント体表面の骨が一部吸収されたと思われる部位に立方形の骨芽細胞が配列し、再び骨を形成している領域(図6-d)や、インプラント体の表面に形成された骨が ruffled border を有する破骨細胞によって吸収されている領域(図6-e)も認められるようになるが、このような領域には通常多数の毛細血管が観察される

(図6-b, d)。

血管鋳型標本での観察では、4週後の場合と同様にインプラント体界面のほぼ全面に骨が形成されており、骨の形成されていない領域が島状に点在している。しかしながら、この時期の骨は4週に比べてはるかに緻密である。またこのような島状の領域に観察される血管網には、血管分布が粗なものと比較的密なもの2つが区別される(図6-f)。

2. 単結晶アルミナセラミックス

1) 1週後

アルミナセラミックスの場合には、炎症性反応の消退時期が個体によって異なる傾向があり、インプラント体植立後1週で、好中球を主体とする炎症性細胞浸潤が認められ、骨形成が全く観察されずに破骨細胞による活発な骨吸収のみがみられるもの(図7-a)と、炎症反応が消退してインプラント体に近接した既存骨での添加的な新生骨形成が観察されるもの(図7-b)の2種類がある。しかしながら後者の場合であっても、インプラント体表面には紡錘形の線維芽細胞様の細胞が存在しているだけで、結晶化ガラスのように骨芽細胞が観察されることはなく、多核巨細胞の数も少ない(図7-a, b)。

顎骨からインプラント体を除去してその界面をインプラント側から観察した血管鋳型標本をみると、炎症がみられると思われるものでは、比較的小く均一な太さの毛細血管からなる密な血管網が観察されるが(図7-c)、炎症が消退して活発な骨形成を行っていると思われるものでは、新生骨梁の間に細い血管からなる粗な血管網がみられるだけである(図7-d)。

2) 2週後

インプラント体植立後2週になると、インプラント体界面には炎症性細胞はほとんど認められなくなり、ほぼすべての領域で既存骨からインプラント体に向かう新生骨の形成が認められるが、この時期になってもインプラント体表面に直接骨が形成されることはない。またほとんどの領域でインプラント体と骨の間に幅の狭い線維性結合組織が介在しているが、一部には骨がインプラント体に近接して形成されている領域もみられる(図8-a)。

この時期の血管鋳型標本をみると、既存骨から伸び出した骨梁は次第に太く密になり、骨表面に観察される血管の数は著しく減少している(図8-b)。

3) 4週後

インプラント体を植立して4週が経過すると、既存骨梁における骨形成がさらに進行して骨がインプラント体

に近接する領域が増加してくるもの(図 9-a)と、インプラント体側の骨表面に多数の破骨細胞が観察されるもの(図 9-b)の2つがあり、一部の試料では両者が混在していた。しかしながら前者の場合で骨の形成がインプラント体近傍にまで達するようになって、インプラント体表面に骨が直接形成されることはない(図 9-c)。

血管鋳型標本をみると、比較的太く圧平された血管が骨表面に沿って粗な血管網を形成している領域と、骨の表層に太さの不均一な血管が不規則に走行している領域が観察される(図 9-d)。

4) 8 週後

植立後 8 週では、インプラント体界面の状態は以下の 2 つのタイプに分かれる。1 つのタイプはインプラント体に骨が接している領域が大部分でその間にわずかに結合組織が介在する領域が点在しているものである。このようなタイプではインプラント体周囲の骨は非常に厚く緻密である。また結合組織が介在する領域に多核巨細胞がみられるのはまれである(図 10-a)。このようなタイプを鋳型標本でみると、インプラント体界面には粗な細い血管が散在的に観察されるのみである(図 10-b)。

もう 1 つのタイプはインプラント体界面の全域にわたって線維性結合組織が介在するものである。このタイプでは結合組織中に比較的多くの血管がみられるが、インプラント体界面には細長い線維芽細胞様の細胞がインプラント体に沿って存在しているだけで、インプラント体の近傍にも骨を形成するような細胞は認められない。またインプラント体側の骨表面には時に破骨細胞がみられることもあるが、その数は少ない(図 10-c)。このタイプを鋳型標本でみると、骨の表層には比較的均一な太さの血管からなる密な血管網が形成されている(図 10-d)。

IV. 考 察

1. 本研究の意義について

現在臨床応用あるいは研究が行われている人工歯根用インプラント体には、生体活性インプラントとしてハイドロキシアパタイトや結晶化ガラスなどが、また生体不活性インプラントとしてチタン、各種アルミナセラミックス、ジルコニアセラミックスなどがある。

生体活性材料においてはインプラント体表面に直接骨が形成されることが^{1,2,5,8)}、また生体不活性材料においてはインプラント体が骨あるいは線維性結合組織により被包されることが^{3,4,6,7)}報告されている。現在、臨床的立場からみた場合には、インプラント体が線維性結合組

織によって被包された状態は望ましいものではなく、骨接触あるいは骨接着の状態となることが望ましいという傾向にある¹²⁾。しかしながら、生体活性および生体不活性インプラント体を顎骨に植立した際の骨組織の動態に関しては、不明な点が多く残されている。

そこで本研究では骨形成から骨改造に到る過程をより明確にするために、生体活性、生体不活性の 2 種のインプラント体を同一個体に植立して界面の細胞の動態について観察を行った。

また、インプラント体植立後の生体の反応は、基本的には創傷治癒と同様であると考えられる¹³⁾。一般に創傷治癒は結合組織の再生と血管の新生によって行われ、新生された血管は栄養物、ミネラル、およびホルモンなど、各種の chemical mediator を組織に供給するとともに、ガス交換、老廃物の除去などを行っており、創傷治癒の過程で重要な役割を果たしているものと考えられている。したがって、インプラント体植立後の血管系の動態を明らかにすることは、植立に伴う組織反応を理解する上で重要であると思われる。インプラント体植立後の血管系の変化については、これまでにクロロパーチャ血管注入法⁹⁾や Microangiogram¹⁰⁾ による報告がなされてきた。しかしながら、これらの方法では血管系のおおまかな変化は知ることができるものの、インプラント体界面における微細な血管構築の変化を観察することは不可能であった。このようなことから最近太田¹¹⁾は、血管鋳型走査電顕法を用い、生体不活性材料である純チタンと単結晶アルミナセラミックスについて、インプラント体界面における血管の立体構築を経時的に観察しているが、生体活性材料については検索を行っていない。

そこで今回、生体活性および生体不活性インプラント体植立後の治癒過程を、軟組織のみを除去した血管鋳型標本で比較観察することにより、両者における界面の血管および骨の変化を立体的に把握することができた。また血管鋳型標本によるインプラント体界面の血管と骨の立体的観察と、組織標本による観察を合わせて行うことによって単一では観察できなかった骨組織の動態の詳細について明らかにすることが可能となった。

2. 結晶化ガラスにおける骨の形成と微細血管構築の変化

1) 骨形成について

本研究の結果、 $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ 系結晶化ガラスをイヌの顎骨に植立すると、海綿骨の領域では植立後 5 日で、また歯頸部に近い皮質骨の領域では植立後 1~2

週で、インプラント体界面に前骨芽細胞の配列が観察され、それぞれ 1 週および 2 週間にはインプラント体表面に直接骨が形成された。

生体活性材料の 1 つであるアパタイトインプラントの表面における骨形成について小木曾⁵⁾は、周囲に新生骨梁が形成され始めると、ただちにそれらの骨梁の一端がアパタイトに直接接するとともに、さらにその部を中心としてアパタイト表面で骨芽細胞が分化を起こし、骨組織の形成が始まると述べている。しかしながら本研究の結晶化ガラスにおいては、インプラント体表面における骨形成は既存骨における骨形成の開始にやや遅れはするものの、既存骨から伸び出した新生骨梁がインプラント体に接する以前の植立後 5 日で始まっていた。また血管鑄型標本による観察から、インプラント体表面のほぼ全層にわたって骨が形成され始めた植立後 1 週になっても、インプラント体表層に形成された骨が既存骨と連続している領域はごく一部にすぎなかった。さらに、結晶化ガラスは *in vitro* では骨芽細胞の石灰化を促進すると報告されている¹⁴⁾ことを考え合わせると、結晶化ガラスの表面における骨形成の開始には、必ずしも伸び出した新生骨梁との接触を必要としないものと思われる。

一方、今回の実験で用いた結晶化ガラスの表面に形成された骨とインプラント体の間には、電子密度の高い膜様構造物が観察された。このような膜様構造物について Jarcho¹⁵⁾、および飯島ら¹⁶⁾はハイドロキシアパタイト表面に形成された骨の最表層でも認められることを報告している。この構造物の本体に関してはムコ多糖体の集合物¹⁵⁾、collagen 線維の少ない高度に石灰化した層⁵⁾、あるいは骨芽細胞の分泌物¹⁶⁾など種々の説があるが、いずれにしてもインプラント体とその表面に形成された骨を強固に結合させるための構造物であると考えられている。また当教室の南部⁸⁾は、 $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ 系結晶化ガラスをイヌの背部皮下に埋入すると、その表面にアパタイトと β -ウィットロッカイトを析出することを明らかにしている。以上のことから、 $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ 系結晶化ガラスを顎骨に植立した時には、その表面にアパタイトが析出することにより、ハイドロキシアパタイトを植立した時と同様の反応が生じて、その表面に骨を直接形成するものと考えられる。

インプラント体表面に形成された骨は、次第に周囲の骨梁と連続するようになるが、4 週間になると骨表面に配列する骨芽細胞は次第に扁平化を示すようになり、8 週間ではほとんどの骨芽細胞が扁平となっていた。このことから、結晶化ガラスをイヌの顎骨に植立した際のイ

ンプラント体周囲の骨形成は、植立後 4 週を経過した時点で、ほぼ終了したものと考えられる。しかしながら、植立後 4 週ではインプラント体表面に形成される骨と既存骨から伸び出した新生骨が区別できるのに対し、植立後 8 週では両者を区別することは困難であり、両者が一体となった骨の活発な改造現象がみられた。また血管鑄型標本による観察からも、植立後 8 週における骨は 4 週に比べてはるかに緻密であった。以上のことから、結晶化ガラスをイヌの顎骨に植立した時には、インプラント体植立後 8 週が経過すると骨の改造機転が加わることにによりインプラント体周囲には十分に緻密な骨が形成されることが明らかとなった。

2) 多核巨細胞について

結晶化ガラスを植立した時のインプラント体表面の一部には、すべての時期において多核巨細胞が観察された。このような多核巨細胞は、生体内に取り込まれた異物を処理するための異物巨細胞であると考えられており、通常は破骨細胞のような ruffled border を形成することはないといわれている¹⁷⁻²¹⁾。

本研究においても、結晶化ガラスの表面に観察された多核巨細胞の大部分には ruffled border は形成されておらず、異物巨細胞であろうと考えられた。しかしながら植立後 8 週では、インプラント体表面に存在する多核巨細胞の一部に、破骨細胞ほど発達は良くないものの、ruffled border を有する細胞が観察された。このような ruffled border を有する多核巨細胞は、永井ら²²⁾がラット顎骨内にアパタイトを埋入した実験でも認めているが、インプラント体表面に存在する多核巨細胞に ruffled border が形成される機序については不明である。

一方、江尻と小澤²³⁾は骨芽細胞の形態変化によって露出した骨表面に破骨細胞の突起が触れると、破骨細胞は骨表面に存在する特定のシグナルタンパクを被覆小窩、被覆小胞を介して取り込み、それが引き金となって ruffled border を形成し、骨吸収を開始するのであろうと述べている。今回、植立後 8 週の結晶化ガラス表面に観察された多核巨細胞の ruffled border は、周囲の骨改造によりインプラント体表面にシグナルタンパクが残存したために形成された可能性が考えられる。

また植立後 8 週では、インプラント体の表面に形成された骨が破骨細胞によって吸収されている領域や、インプラント体表面の骨が一部吸収されたと思われる部位に、立方形の骨芽細胞が配列して再び骨を形成している領域など、活発な骨改造を示すと思われる像が認められる。ruffled border を有する多核巨細胞は、立方形の活性

型骨芽細胞に連続したインプラント体表面でみられることもあり、この細胞はインプラント体表面に形成された骨を吸収した破骨細胞が移動してきて、インプラント体表面に到達したものである可能性も考えられる。

いずれにしても、このような多核巨細胞はインプラント体表面における骨の改造に何らかの関与をしているものと思われた。

3) 血管構築の変化について

インプラント体表面に前骨芽細胞が認められる植立後5日では、既存骨からインプラント体に向かう発芽による血管新生が活発に行われているものの、前骨芽細胞の周囲にはそれほど多くの血管は認められなかったが、インプラント体表面において骨の形成が開始される1週になるとインプラント体の周囲には密な血管網の形成が認められ、2週ではやや粗な血管網となっていた。インプラント体周囲の血管は、活発な骨形成を行っている骨芽細胞に対し十分な栄養供給を行うためのものであると考えられることから、インプラント体周囲における骨形成は2週以降では次第に緩やかになるものと考ええる。

また Gross²⁴⁾ は、結晶化ガラスの一種である Ceravital を植立すると、3~4 カ月後にはその表面の70%近くが直接骨で包まれ、他の表面は血管のある骨髓腔に接すると報告している。本研究で採用した蛋白分解酵素により軟組織のみ除去して鋳型標本を観察する方法により、インプラント体表面に骨が形成されない領域は島状に点在していることが明らかとなった。結晶化ガラスにおいては、インプラント体表面の全層に骨が形成されるのではなく、島状の骨が形成されない領域の存在することが正常像であり、このような島状の領域は骨改造により生じた動的な領域ではないかと考えられた。8週で観察された密な血管網のみられる島状の領域は、活発な骨改造が行われている領域に一致しているものと考ええる。

一方、本実験での皮質骨部におけるインプラント体表面の骨形成は、海綿骨部に比べて明らかに遅延しており、特にインプラント体と既存骨の間に結合組織が存在しない、すなわち血管が存在しない場合には骨形成は著しく遅延した。これに関して金田²⁵⁾ は、アパタイトを骨に挿入した時にその間隙が少ない場合には血管の出現が遅れ、組織分化が遅延すると述べている。したがって本実験での皮質骨部における骨形成の遅延は、同部の骨が緻密であるために創傷治癒に必要な血管の新生が遅れるためであろうと推測される。また植立後1週で皮質骨部にみられたループ状の血管像は、破骨細胞が骨を吸収するに伴い、皮質骨の内方から侵入してきたものである

と考えられた。

3. アルミナセラミックスにおける骨の形成と微細血管構築の変化

1) 骨の形成について

アルミナセラミックスを顎骨に植立した場合には、植立に伴う炎症性反応の消退時期が個体によって異なる傾向を示し、炎症の消退とともに既存骨からインプラント体に向かう新生骨の形成が観察された。しかしながら、インプラント体表面に線維芽細胞様の細胞は観察されるものの、結晶化ガラスのように骨芽細胞が配列することはなかった。また鋳型標本で観察された新生骨梁は、すべて既存骨と連絡していることが確認された。

板倉²⁶⁾ は *in vitro* の実験から、アルミナセラミックスは骨芽細胞の分化を促進すると述べているが、生体内では結晶化ガラスのように、骨原性細胞あるいは骨髓中の未分化間葉系細胞を骨芽細胞に分化させる作用が弱いものと考えられる。

一方、植立後2週まではインプラント体周囲の既存骨では活発な骨形成のみが行われていたが、4週になるとさらに骨形成が進行する領域と、逆に骨吸収が活発となる領域の両者がみられ、一部の試料では両者が混在していた。この時期の血管鋳型標本でも同一個体で異なる血管網が観察され、このことを裏づけるものであると考える。また8週でみられたインプラント体と骨組織が接するものと、広い結合組織が介在しているものの2つのタイプは、4週でみられた2つのタイプがさらに進行したものであると考えられた。このことは8週における血管の走行が根本的に4週と変わらないことから推測される。一方、8週では2つのタイプとも、骨の形成も吸収も顕著ではなく、安定した状態であると考えられた。これに関して Mckinney ら³⁾ は、単結晶アルミナセラミックスをイヌの顎骨に植立した時には、そのうちの30%はインプラント体と骨組織が直接接するが、70%は非薄な結合組織が介在しているとしている。しかしながら太田¹¹⁾ は、純チタンとバイオセラムをサル顎骨に植立した結果、突出型においては歯槽縁付近での骨新生の遅延や骨吸収が認められるものもあったが、突出型と完全埋入型とを問わず骨による被包が観察されたと報告している。

本研究では、インプラント体を植立する際に対合歯との間隙を2mmに設定して非機能下で実験を行っているが、インプラント体に多少の機能圧が加わることは避けがたい。このようなことから、今回の実験でアルミナセラミックスを顎骨に植立した時にインプラント体と骨の

間にみられた比較的広い結合組織は、アルミナセラミックスの弾性率が392と、緻密骨10.8~17.6および海綿骨の0.09~0.19とは大きく異なっている²⁷⁾ために、インプラント体に加わった外的な圧力によって、インプラント体の界面に応力が生じた結果であろうと考えられる。

2) 血管構築の変化について

アルミナセラミックスの植立後1週で、炎症性反応が比較的強く認められるような領域では比較的密な血管網が観察されたが、これは炎症性反応に伴って血管が増生した結果であると考えられる。しかしながら、炎症性反応が消退し、活発な骨形成が観察される領域においてはインプラント体表面にはそれほど多くの血管はみられず、植立後2週以降で新生骨がインプラント体に接するように形成されるタイプでは、既存骨から伸び出す新生骨梁が太く密になるのに伴って血管は圧平され、その数も著しく減少していった。このようなインプラント体表面における血管の圧平と減少は、新生骨梁の伸び出しに伴う機械的圧力によるものと考えられる。またアルミナセラミックスでは、骨形成が活発な時期にもかかわらず結晶化ガラスの場合ほど密な血管網が観察されなかったのは、結晶化ガラスではインプラント体表面と既存骨の両方で骨形成が行われるのに対し、アルミナセラミックスでは既存骨のみで骨が形成されインプラント体表面では骨形成が行われないという違いにより血管分布密度の差が生じたものと考えられる。

一方、植立後2週以降で骨吸収が活発となり、骨とインプラント体との間に比較的広い結合組織が介在するようになるタイプのものでは、インプラント体表面には比較的密な血管網が観察された。一般に骨が活発に吸収されているような領域では密な血管分布がみられることから²⁸⁾、このような血管網の発達には、破骨細胞による骨の吸収に関与しているものと思われる。またこのようなタイプの8週で観察される血管網は、通常のエヌ歯根膜にみられるような棚状あるいは梯子状の血管網²⁹⁾とは明らかに異なっており、インプラント体を環状に取り囲むような血管網の形態からみても、このような疎性結合組織には歯根膜としての機能は期待できないものと考えられる。

4. 臨床におけるインプラント材料としての結晶化ガラスとアルミナセラミックスの比較

今回の観察から、結晶化ガラスでは植立後早期にインプラント体に直接骨が形成され、8週後にはインプラント体表面に形成された骨は周囲の骨と一体化し、骨改造機転も周囲の骨と同じように働いていることが明らかに

なった。このことは、生体内でインプラント体が骨と同じように認識されていると考えることができる。これに対し、アルミナセラミックスにおいては骨芽細胞がインプラント体に接触していると思われる部位でも、インプラント体表面には直接骨を形成しないことが明らかとなった。また植立後8週では、アルミナセラミックスにおいても骨と直接接触する状態がみられたが、血管鑄型標本を作製する過程で蛋白分解酵素液に浸漬すると、インプラント体が自然にはずれることが多く、骨とインプラント体の結合力は非常に弱いと考えられた。また組織切片上で骨改造を示すと考えられる像は観察されず、血管鑄型標本による界面全体の立体観察によっても、結晶化ガラスの骨改造部位と思われる領域の密な血管網などはみられなかったことから、界面における活発な改造機転は働いていないと思われた。インプラント体を支持する骨における改造機転の有無は、今後の機能圧実験などにに対し大きな示唆を与えるものであると考える。

また今回の半機能圧下の実験において、結晶化ガラスにおいては外力による骨吸収は認められなかったことから、1stage法でも臨床的に可能であると考えられる。しかし、皮質骨部の骨形成が海綿骨部より遅れることから、外部からの刺激により骨頂部に骨が形成されず結合組織の落ち込みを生じ、インプラントの予後に関して不利な状態となる可能性が考えられた。したがって、皮質骨部の骨の良好な新生のためには2stage法の方が有利であると考えられる。一方、アルミナセラミックスでは各時期において、界面の状態にばらつきがあったこと、そのばらつきの原因として咀嚼等の外力が考えられることから、良好な骨接触を得るためには骨吸収の原因となる応力を生じさせないような完全埋入による2stage法が、可能であれば望ましいと考える。

V. 結 論

生体活性材料であるMgO-CaO-SiO₂-P₂O₅系結晶化ガラスと生体不活性材料である単結晶アルミナセラミックスの2種類のインプラント体を成犬下顎臼歯部に植立し、非機能下における周囲組織の反応を、光顕および血管鑄型法により経時的に観察を行い、透過電顕による観察を加えることによって次の結論を得た。

1. 植立後初期の骨形成において、結晶化ガラスにおいてはインプラント体表面のほぼ全面で直接骨が形成されるのに対し、アルミナセラミックスでは既存骨からの新生骨梁の伸び出しという形で骨が形成された。これに

対応して、結晶化ガラスでは界面に密な血管網が形成されるが、アルミナセラミックスでは血管網は新生骨梁の間隙に認められるものの、結晶化ガラスほど密ではなかった。

2. 2週から4週においては、結晶化ガラスでは周囲骨梁との連絡を増す形で骨形成が進んだが、アルミナセラミックスでは植立後4週になると骨吸収の亢進した部位と骨形成の亢進した部位の両者が観察され、その後の界面の状態を決定するのに重要な時期と考えられた。

3. 植立後8週では、結晶化ガラスの表面のほぼ全層で骨が形成されており、すでに骨改造が進んでいた。しかしながら、一部骨形成のみられない島状の領域が存在することが血管鋳型標本により確認された。この領域には ruffled border を有する多核巨細胞が存在し、インプラント体表面での骨改造に関与していると考えられた。これに対してアルミナセラミックスでは、インプラント体界面は骨接触と線維性結合組織による被包の2つのタイプに分けられたが、両者ともインプラント体表面での活発な骨改造機転は働いていないことが、血管鋳型標本および組織標本により明らかになった。

稿を終えるに臨み、本研究を進めるにあたり、終始技術的指導を賜った口腔解剖学第二教室の星野正明、竹内亀一両文部技官ならびに同教室の皆様に謝意を表します。また本研究にご協力いただきました歯科補綴学第二教室の各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Hench, L.L., Splinter, R.J., Allen, W.C. et al : Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials, *J Biomed Mater Res Symp*, 2 : 117~141, 1971.
- 2) Stanley, H.R., Hench, L.L., Bennett, C.G. et al : The implantation of natural tooth form bioglass in baboons-long term results, *Implantologist*, 2 : 26~36, 1981.
- 3) McKinney, R.V. and Koth, D.L. : The single-crystal sapphire endosteal dental implant : Material characteristics and 18-month experimental animal trials, *J Prosthet Dent*, 47 : 69~84, 1982.
- 4) Bränemark, P.I. : Osseointegration and its experimental background, *J Prosthet Dent*, 50 : 399~410, 1983.
- 5) 小木曾誠 : アパタイト表面における骨組織形成ならびにその石灰化について, *口病誌*, 50 : 1~22, 1983.
- 6) 杉本忠雄 : パイオセラムインプラントに関する実験的研究, *九州歯会誌*, 38 : 1~25, 1984.
- 7) 永井教之, 竹下信義, 丸山晴義ほか : ジルコニア・セラミックス歯科用インプラントの基礎的研究—骨内インプラント周囲組織の病理組織学的検索—, *補綴誌*, 28 : 498~514, 1984.
- 8) 南部理恵 : 人工歯根用結晶化ガラスに関する研究—動物実験における病理組織学的反応について—, *補綴誌*, 31 : 543~557, 1989.
- 9) 西嶋克巳, 石田利広, 前田健一郎ほか : 骨内バイオセラムインプラント後の血管像の変化に関する実験的研究, *インプラント誌*, 1 : 18~26, 1978.
- 10) 磯村博美 : 顎骨内埋入セラミックの周囲組織への影響に関する実験的研究, *インプラント誌*, 4 : 49~71, 1982.
- 11) 太田邦雄 : 骨内インプラント体支持組織内の微細血管構築の変化と骨修復に関する走査電子顕微鏡的研究, *補綴誌*, 34 : 294~308, 1990.
- 12) 津留宏道, 赤川安正 : 骨内インプラント—一回法から二回法への流れを考察する—, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2 : 329~335, 1989.
- 13) 井上 孝 : インプラント, 移植材と歯周組織, 山村武夫監修, 下野正基, 飯島国好編集, 治療の病理—ペリオ・エンドの臨床のために—, 105~120, 医歯薬出版, 東京, 1988.
- 14) 吉本由希子, 原 興宣, 安部達也ほか : 結晶化ガラス ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-MgO-SiO}_2\text{-CaF}$ 系) に関する基礎研究 3. in vitro における骨系細胞の初期石灰化に与える影響, *日歯周誌*, 32 : 164~174, 1990.
- 15) Jarcho, M. : Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics, *Clin Orthop*, 157 : 259~278, 1981.
- 16) 飯島啓一郎, 須藤博子, 山本茂久 : 合成ハイドロキシアパタイト表面における骨原性細胞株 MC3T3-E1 の動態, *東北歯大誌*, 15 : 15~24, 1988.
- 17) Krukowski, M. and Kahn, A.J. : Inductive specificity of mineralized bone matrix in ectopic osteoclast differentiation, *Calcif Tissue Int*, 34 : 474~479, 1982.
- 18) Ganeles, J., Listgarten, M.A. and Evian, C.I. : Ultrastructure of durapatite-periodontal tissue interface in human intrabony defects, *J Periodontol*, 57 : 133~140, 1986.
- 19) Glowacki, J., Cox, K.A. and Wilcon, S. : Impaired osteoclast differentiation in subcutaneous implants of bone particles in osteopetrotic mutants, *Bone and Mineral*, 5 : 271~278, 1989.
- 20) Wada, T., Hara, K. and Ozawa, H. : Ultrastructural and histochemical study of β -tricalcium phosphate resorbing cells in periodontium of dogs, *J Periodont Res*, 24 : 391~401, 1989.
- 21) Ikami, K., Iwaku, M. and Ozawa, H. : An ultrastructural study of the process of hard tissue formation in amputated dental pulp dressed with α -tricalcium phosphate, *Arch Histol Cytol*, 53 : 227~243, 1990.
- 22) 永井教之, 竹下信義, 木庭茂治ほか : 顎骨骨髓内埋入合成水酸化アパタイト界面域における細胞動態の電顕的研究,

- 岡山歯誌, 6: 31~48, 1987.
- 23) 江尻貞一, 小澤英浩: 破骨細胞の分化誘導に関して一形態学的立場から一, 小澤英浩, 須田立雄「骨吸収に関する諸問題—基礎と臨床—」, 35~46, 西村書店, 新潟, 1987.
- 24) Gross, U., Strunz, V., Bunte, M. et al: Zur Einheilung von Glaskeramik im Kiefer, Verh Dtsch Ges Path, 60: 362, 1976.
- 25) 金田浩之: Apatite Implant の埋入間隙と骨組織との関連性に関する観察, 口病誌, 47: 57~97, 1987.
- 26) 板倉良暢: 骨原性細胞株 MC3T3-E1 によるインプラント材料の生体親和性に関する研究, 補綴誌, 31: 21~29, 1987.
- 27) 川原春幸: インプラント材料, 歯界展望別冊, デンタル・インプラント: 15~42, 1987.
- 28) 岩井勝美: 歯肉骨膜血管網の再認識と創傷治癒にかかわる形態変化の観察, 日歯周誌, 31: 343~359, 1989.
- 29) 岸 好彰, 高橋和人: 口腔粘膜における毛細血管の立体的観察 Ⅲ. 歯根膜について, 歯科基礎誌, 19: 192~207, 1977.

図2 結晶化ガラス植立後5日

- a. インプラント体界面の海綿骨領域. 核小体の明瞭な細胞および多核巨細胞 (矢頭) がみられる ($\times 300$)
- b. インプラント体界面には, 細胞内小器官の発達した前骨芽細胞がみられる ($\times 2,500$)
- c. インプラント体界面に存在する多核巨細胞 ($\times 2,300$)
- d. インプラント体界面の皮質骨領域. 既存骨表面には破骨細胞 (矢頭) がみられる ($\times 230$)
- e. インプラント体界面の皮質骨領域. 骨が露出している部位 ($\times 130$)

図3 結晶化ガラス植立後1週

- a. インプラント体表面に骨が直接形成されている。骨の形成されない部位には、多核巨細胞（矢頭）がみられる（ $\times 100$ ）
- b. インプラント体表面での骨形成（ $\times 1,800$ ）
- c. インプラント体界面の高電子密度の膜様構造物（ $\times 25,000$ ）
- d. インプラント体界面の皮質骨部。インプラント体表面に骨形成がみられる（ $\times 125$ ）
- e. インプラント体界面の皮質骨部。骨髓側からインプラント体に向かう骨吸収像（矢頭）（ $\times 150$ ）

図4 結晶化ガラス植立後2週

- a. インプラント体表面の骨は周囲骨梁と連続している（ $\times 100$ ）

図5 結晶化ガラス植立後4週

- a. インプラント体表面の骨は周囲の骨梁との連絡を増す（ $\times 90$ ）
- b. インプラント体表面にみられる多核巨細胞（矢頭）（ $\times 530$ ）

図6 a～e

図6 結晶化ガラス植立後8週

- インプラント体表面に形成された骨表面の骨芽細胞は扁平である(×60)
- インプラント体表面に存在する多核巨細胞(矢頭).骨表面には立方形の骨芽細胞が配列する(×290)
- インプラント体表面に存在する多核巨細胞の ruffled border (×4,200)
- 骨吸収されたと思われる部位に, 立方形の骨芽細胞が配列している(×310)
- インプラント体表面の骨を吸収する破骨細胞(×3,700)

図7 アルミナセラミックス植立後1週

- 炎症性細胞の浸潤のみられる領域. 既存骨表面に破骨細胞(矢頭)が多数みられる(×60)
- 新生骨形成(矢印)のみられる領域(×45)

図8 アルミナセラミックス植立後2週

- インプラント体に近接して骨形成(矢印)がみられる(×60)

図9 アルミナセラミックス植立後4週

- 骨形成の活発な領域. インプラント体に近接した骨形成(矢印)がみられる(×70)
- 骨吸収の活発な領域. 骨表面に多数の破骨細胞(矢頭)がみられる(×70)
- aの矢印の骨形成部位の電顕像. 右端がインプラント体の存在した部位(×1,600)

図10 アルミナセラミックス植立後8週

- インプラント体表面の大部分で骨が接している(×70)
- インプラント体界面の全層に結合組織が介在している(×60)

図7 a. b. 図8 a.

図9 a ~ c

図10 a. b.

図2 f. g. 図3 f. g. 図4 b. 図5 c. 図6 f.

結晶化ガラス界面の血管鑄型標本

図2 f. 植立後5日, 海綿骨部, 血管の sprouting (矢印)

図2 g. 植立後5日, 皮質骨部

図3 f. 植立後1週, 海綿骨部

図3 g. 植立後1週, 皮質骨部, loop 状の血管 (矢印)

図4 b. 植立後2週

図5 c. 植立後4週

図6 f. 植立後8週, 島状の領域にみられる密な血管網 (矢印)

図7 c. d. 図8 b. 図9 d. 図10 b. d.

アルミナセラミックス界面の血管鑄型標本

図7 c. 植立後1週. 炎症の残っている部位と考えられる領域

図7 d. 植立後1週. 骨新生がみられる領域

図8 b. 植立後2週

図9 d. 植立後4週

図10 b. 植立後8週. インプラント体表面の大部分で骨が接する

図10 d. 植立後8週. インプラント体界面に結合組織が介在する