原著論文

高分子電解質錯体膜コーティングインプラント 植立後の組織学的研究

新田 茂夫

Histological Study of Membranous Polyelectrolyte Complex (PEC) Coated Dental Implant

Shigeo Nitta

Abstract : Polyelectrolyte complex (PEC) is produced as a result of mixing polycations and polyanions. Since PEC has strong bio-compatibility, attention has been paid to its applications such as to prostheses for sites of tissue defect. In this study, PEC coating was applied to implants with the aim of reducing the period required for achievement of osseointegration of the implant and bone and increasing contact area. Thus post-implantation tissue reactions were investigated. As a result, the PEC-coated Titanium (Ti) and Hydroxyapatite (HA)-coated implant required shorter periods for achievement of osseointegration than the non-PEC-coated implant used as the control, the width of the bone trabeculae formed was increased, and the bone contact ratio was accelerated. These results suggested that PEC is a useful biological material for reducing the period required for achievement of osseointegration of the implant and bone and for increasing the contact area.

Key words : polyelectrolyte complex (PEC), biomaterial, implant, osseointegration, PEC-coated implant

I. 緒 言

インプラントは、天然歯と同じ程度の咬合咀嚼機能の回復を図ることができることから、欠損補綴の咬合の再建に適用される頻度が多くなり、今日、種々のインプラントが開発、発売されてきている。そのなかで主たるものは、Titanium (Ti) インプラントである。Ti インプラントは、耐食性に優れ、生体親和性が高く、Osseointegration が得られるという特徴を有している。しかしながら、インプラント植立直後から周囲構造物に生じる組織の修復過程を経て、インプラントが生体組織と一体化し Osseointegration を獲得するまでには3~6カ月安静に保つ必要があるため¹⁻⁷⁾、その間咬合咀嚼機能を十分に行うことがで

きない。そのため、骨とインプラントとの結合期間の短縮、接触面積の増大を図るために、組織と直接結合する生体活性 (Bioactive) 材料である Hydroxyapatite (HA) コーティング処理が施されたインプラントも開発、発売されている。HA コーティングインプラントは生体親和性が高く、優れた骨伝導能を示し、骨界面と直接強固に結合するが、HA 層の厚みや均質性、結晶率、密度などにより HA の機械的強度、溶解性は大きく異なり、コーティング層の剥がれや溶解が生じるといわれている⁸⁻¹¹⁾。

近年、当教室では物質透過性、電解質親・疎水性などの生体適合性材料として優れた特性を有する高分子電解質錯体 (PEC) を用いた一連の実験を行ってきた¹²⁻¹⁵⁾。この PEC はその種類、混合組成比、反応条件などの物理化学的条件を制御することにより目的に応じた機能性高分子材料を生成でき、きわめて生体親和性が高く、強い骨伝導能を有していることが判明している¹⁶⁻¹⁹⁾。

そこで、本研究では、インプラントと骨との早期骨結合と骨接触面積の増大を目的として、インプラントにコー

昭和大学歯学部第三歯科補綴学教室 (主任: 芝 博彦教授)
The Third Department of Prosthodontics, Showa University
School of Dentistry (Chief: Prof. Akihiko Shiba)
平成10年3月31日受付

ティング可能な PEC を選択し、PEC コーティングを施したインプラントと非コーティングインプラントを成犬の下顎骨に植立し、インプラントと骨との結合の組織反応について比較検討したので報告する。

II. 材料と方法

1. 実験材料

PEC は、荻野¹²⁾、若林¹³⁾らの実験結果から、細胞接着性および細胞増殖性が良好で、かつ操作性に優れているものとして、ポリカチオンは S-110、ポリアニオンは S-chitin 140 を用いた。このポリカチオンおよびポリアニオンは信州大学線維学部機能高分子学科、阿部康次博士およびヤマトロン社より供与された。

インプラントは、POI 2 ピースタイプインプラント（京セラ社）FINAFIX®（プラスト処理+陽極酸化処理）および FINATITE®（フレーム溶射法による HA コーティング処理）のシリンダータイプで長径 8 mm、直径 3.2 mm のものを使用した。実験動物は、体重 14~16 kg、年齢 12~18 カ月の健康な成犬雑種オス（12 頭）を用いた。実験動物の飼育は、室温平均 24°C に調整された飼育室内で、インプラント植立前には固形飼料と水、インプラント植立後には軟性飼料と水を自由に与え飼育した。

2. 実験方法

1) PEC コーティングインプラントの作製

ポリカチオンの S-110、ポリアニオンの S-chitin 140 はそれぞれ 2×10^{-2} unitmol/l（イオン基濃度）、pH 7.2~7.5 に調整した。pH 調整は 1 N HCl 溶液および 1 N NaOH 溶液を用いて行った。PEC の作製は、このポリカチオンとポリアニオンの水溶液を 1:1 の割合で混合することにより行った。2 種類のインプラントへのコーティングは、マイクロチューブに PEC を満たし、一晚室温で静置し、これにインプラントを浸漬させ、一週間真空状態にて吸引乾燥した。コーティングの終了したインプラントは、抗生剤中に一昼夜浸漬し、洗浄した。

2) PEC コーティングインプラントおよび PEC 非コーティングインプラントの表面構造の観察

PEC コーティングを施した 2 種類のインプラントはカコジレート緩衝液にて 4°C、3 回洗浄後、Karnovsky 溶液（2.5% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde in 0.1 M sodium cacodylate buffer, pH 7.4）にて 1 時間固定（4°C）した。以下、通法に従い上昇アルコール系列による脱水後、CO₂ による臨界点乾燥を行い、カーボン蒸着後、日立 S-2500 CX 走査型電子顕微鏡により表面構造の観察を行った。また、対照群として PEC コーティングを施していないインプラントの表面構造の観察も同様に行った。

3) PEC コーティングインプラントおよび PEC 非コーティングインプラントの植立

実験動物は、キシラジン（1 mg/kg）により前麻酔を行った後、塩酸ケタミン（10 mg/kg）筋注による全身麻酔下で下顎両側 P 2, P 3, P 4 を抜去した。抜歯後約 3 カ月経過した時点で、抜歯創の完全治癒を X 線撮影にて確認した後、POI 2 ピースタイプインプラントユーザーズマニュアルに従ってインプラント窩を形成した。植立は、正中側より FINAFIX®（対照群、実験群）、FINATITE®（対照群、実験群）の順に行い、さらに植立できるスペースが確保できる場合は、右側には FINAFIX®の実験群を、左側には FINATITE®の実験群の植立を行った。インプラントは手指圧によりインプラント窩に適合させ、マレットティングによりインプラント体頂部が頬舌の骨縁に可及的に一致する位置まで挿入した。その後、滅菌生理食塩水にて十分に洗浄、歯肉粘膜骨膜弁を緊密に縫合し、植立手術を終了した。またインプラント植立後は、インプラントの初期固定に影響を及ぼすような機能圧が植立部位に加わることを極力避けるために軟性飼料および水を自由に与え飼育した。

4) 組織学的観察

インプラント植立後 2, 3, 4, 8 週（各 3 頭）に実験動物を屠殺、下顎骨を摘出後、10% 中性緩衝ホルマリンにて 2 週間固定を行った。固定が終了した下顎骨は流水で十分洗浄し、アルコール系列にて脱水、アセトン置換後、ポリエステル樹脂（Rigolac 日新 EM 社）にて包埋した。

図 1 Histological observation after 8 weeks of implantation for FINATITE Implant® (experimental groups)
FINATITE® (実験群) 植立 8 週例の組織像

包埋した顎骨は、バンドソー (BS-3000, EXAKT 社) にて 1 つの試料を頬舌断に約 180 μm ごとに切断し、グライディングマシン (BS-4000, EXAKT 社) にて厚さ約 70 μm の非脱灰標本を 1 本のインプラントから 5 枚作製した。標本には Hematoxylin. Eosin 染色 (H.E. 染色) を施し、光学顕微鏡にて観察した (図 1)。骨接触率は、光学顕微鏡 40 倍の像を POLASCN 35 (日本ポラロイド社) で取り込み、Power Macintosh 7600/132 を用い、同一検者が標本上で骨とインプラント界面が直接接している部分と非接触部分を二階調化により画像解析を行い、(骨とインプラント界面が直接接する部分の長さ) $\div$ (骨内に植立されているインプラント界面の全長) $\times 100$ の計算式により算出し、定量的な組織学的評価を行った。これらの組織学的評価は、1 本の試料から作製した 5 枚の標本すべてに対して行い、測定結果は統計学的に比較検討した。

III. 結 果

1. インプラント体の表面構造

走査型電子顕微鏡による FINAFIX[®] のインプラント表面は、線状の溝や隆起が縦横に走行する不均一な凹凸を示した (図 2-a, b)。この FINAFIX[®] に PEC をコーティングしたものでは、これらの凹凸部に PEC 膜が張り付き、地図状の膜様構造物として認められた (図 2-c, d)。

FINATITE[®] の表面構造は、類球形状あるいは多角形の隆起状構造を呈していた (図 3-a, b)。この FINATITE[®] に PEC をコーティングしたものでは、これらの隆起物による凹凸が少なくなり、全体に PEC の膜様構造物に被覆されていた (図 3-c, d)。

図 2 Surface structures on control and experimental groups for FINAFIX Implant[®]

a, b : Control groups, c, d : Experimental groups

FINAFIX[®]における対照群および実験群での表面構造

a, b : 対照群, c, d : 実験群

図3 Surface structures on control and experimental groups for FINATITE Implant®
 a, b : Control groups, c, d : Experimental groups
 FINATITE®における対照群および実験群での表面構造
 a, b : 対照群, c, d : 実験群

2. FINAFIX®インプラント植立所見

1) FINAFIX®植立2週例における組織反応

対照群2週例では、新生骨梁は部分的にインプラントと接触し、その骨接触率は少なく30.8%であった(図4-a)。新生骨は層板状を呈するものの、石灰化度が弱く、特にインプラント界面と接触する部位は類骨で形成されていた(図5-a)。

実験群2週例では、新生骨梁は対照群と比較し、骨梁の幅が厚く既存骨から連続的に形成され、骨接触率も対照群と比較し、やや高い値である40%を示していた(図4-a)。この新生骨は層板状を呈し、Hematoxylinの染色性が高いことから、新生骨の石灰化度が高いことを示したが、インプラント界面と骨組織の接触部は対照群と同様に類骨による接触を示していた(図5-b)。

図4 The bone contact ratio of control and experimental groups for implants
 a : FINAFIX Implant®, b : FINATITE Implant®
 対照群および実験群インプラントでの骨接触率

図 5 Histological observation of control and experimental groups for FINAFIX Implant®

a : Control groups (After 2 weeks of implantation×40, ×100)

b : Experimental groups (After 2 weeks of implantation×40, ×100)

FINAFIX®における対照群および実験群での組織像

a : 対照群 (インプラント植立 2 週例×40, ×100)

b : 実験群 (インプラント植立 2 週例×40, ×100)

図 6 Histological observation of control and experimental groups for FINAFIX Implant®

a : Control groups (After 3 weeks of implantation×40, ×100)

b : Experimental groups (After 3 weeks of implantation×40, ×100)

FINAFIX®における対照群および実験群での組織像

a : 対照群 (インプラント植立 3 週例×40, ×100)

b : 実験群 (インプラント植立 3 週例×40, ×100)

2) FINAFIX®植立 3 週例における組織反応

対照群 3 週例において、インプラント界面に形成された新生骨梁は対照群 2 週例と比較し、その形成量の増加を認めるが、骨接触率は 37.3% であり (図 4-a), 対照群 2 週例と有意差を認めなかった。また、新生骨梁の Hemato-

xylins の染色度は 2 週例と変化なく、その石灰化度は低い像を示していた (図 6-a)。

実験群 3 週例では、既存骨組織からの新生骨梁が多くその一部はインプラント界面と接しており、さらにインプラント界面に沿って新生骨が形成されていた。加えて、それ

図7 Histological observation of control and experimental groups for FINAFIX Implant®

a : Control groups (After 4 weeks of implantation×40, ×100)

b : Experimental groups (After 4 weeks of implantation×40, ×100)

FINAFIX®における対照群および実験群での組織像

a : 対照群 (インプラント植立 4 週例×40, ×100)

b : 実験群 (インプラント植立 4 週例×40, ×100)

らの新生骨梁の Hematoxylin の染色度も高いことから、幅広い新生骨梁は高い石灰化度を示していた。骨接触率は 52.2% を示した (図 4-a)。また、新生骨梁の辺縁は Eosin に染色される類骨層により裏装され、盛んに骨組織の形成が行われていることを示していた (図 6-b)。

3) FINAFIX®植立 4 週例における組織反応

対照群 4 週例において、新生骨梁は 3 週例と比較して、その形成量は増加し、骨梁中心部では Hematoxylin によく染色され、または未染色で高い石灰化度を示した。インプラントとの骨接触率は 44.5% で (図 4-a) 幅広い骨梁がインプラントと接触していた (図 7-a)。

実験群 4 週例では、骨接触率は 64.7% を示し (図 4-a)、対照群と比較して有意に高い骨接触率を示した。加えて、新生骨梁の幅や石灰化度は対照群と比較しても、有意に増加した (図 7-b)。

4) FINAFIX®植立 8 週例における組織反応

対照群 8 週例において、多くの層板状の新生骨梁が形成され、インプラント界面と密に接着し、骨接触率は 60.8% であった (図 4-a)。インプラント周囲の骨髄腔は一部が線維性結合組織で占められるものの、多くは脂肪髄で形成されていた (図 8-a)。

実験群 8 週例では、インプラント界面は多量の新生骨梁で覆われ、その骨接触率は 84.6% であった (図 4-a)。また、新生骨梁は層板状を呈しており、未染色で高い石灰化度を示した。インプラント周囲の骨髄腔はほとんどが脂肪髄で形成されていた (図 8-b)。

3. FINATITE®インプラント植立所見

1) FINATITE®植立 2 週例における組織反応

対照群 2 週例では、新生骨梁はインプラント界面に向かって形成され、その一部はインプラント界面と接していた。しかしながら、インプラント界面と骨組織は Eosin に染色する類骨組織で形成されていた (図 9-a)。これらの新生骨梁のインプラントとの骨接触率は 47.3% であった (図 4-b)。

実験群 2 週例では、対照群と比較し、既存の骨組織から幅広い骨梁の形成を認め、これらの新生骨梁はインプラント界面と接し、さらに、この新生骨梁はインプラント界面に沿って形成されていた。インプラント界面と新生骨梁は Eosin に染色する類骨により形成されていた (図 9-b)。骨接触率は 59.2% であった (図 4-b)。

2) FINATITE®植立 3 週例における組織反応

対照群 3 週例においては、新生骨梁の形成は 2 週例と比較し、さらに増加され、既存の骨組織から梁状ののび、インプラント界面と接触し、さらにインプラント界面に沿って新生骨が形成されていた。インプラント界面部と骨組織は Eosin に染色する類骨組織により密に接していた (図 10-a)。骨接触率は 60.5% で (図 4-b)、2 週例と比較し、有意に増加を示した。

実験群 3 週例では、既存の骨組織から層板構造を有する幅広い骨梁の新生を認め、インプラント界面と密に接していた。さらに、これらの新生骨梁はインプラント界面に沿って形成され、その形成は 2 週例と比較しても、幅広い骨梁であった。インプラント界面と骨組織の接触部は、そ

図 8 Histological observation of control and experimental groups for FINAFIX Implant®

a : Control groups (After 8 weeks of implantation×40, ×100)

b : Experimental groups (After 8 weeks of implantation×40, ×100)

FINAFIX®における対照群および実験群での組織像

a : 対照群 (インプラント植立 8 週例×40, ×100)

b : 実験群 (インプラント植立 8 週例×40, ×100)

図 9 Histological observation of control and experimental groups for FINATITE Implant®

a : Control groups (After 2 weeks of implantation×40, ×100)

b : Experimental groups (After 2 weeks of implantation×40, ×100)

FINATITE®における対照群および実験群での組織像

a : 対照群 (インプラント植立 2 週例×40, ×100)

b : 実験群 (インプラント植立 2 週例×40, ×100)

の多くが石灰化した骨組織で接触し、2 週例で認めた類骨組織での接触は減少していた (図 10-b)。骨接触率は 72.3% で (図 4-b)、2 週例と比較し、有意に増加を示した。

3) FINATITE®植立 4 週例における組織反応

対照群 4 週例において、インプラント界面での新生骨の

骨接触率は増加し、77.4% を示した (図 4-b)。この新生骨は骨梁の幅も広く、インプラント界面に沿って形成され、既存骨と移行を示した。また新生された骨梁はその多くが高い石灰化度を示すが、インプラント界面との接触部は他の週例の対照群と同様に、Eosin に染色する類骨組織と石灰化した骨組織が混在していた。また、インプラント

図 10 Histological observation of control and experimental groups for FINATITE Implant®
 a : Control groups (After 3 weeks of implantation $\times 40$, $\times 100$)
 b : Experimental groups (After 3 weeks of implantation $\times 40$, $\times 100$)
 FINATITE®における対照群および実験群での組織像
 a : 対照群 (インプラント植立 3 週例 $\times 40$, $\times 100$)
 b : 実験群 (インプラント植立 3 週例 $\times 40$, $\times 100$)

図 11 Histological observation of control and experimental groups for FINATITE Implant®
 a : Control groups (After 4 weeks of implantation $\times 40$, $\times 100$)
 b : Experimental groups (After 4 weeks of implantation $\times 40$, $\times 100$)
 FINATITE®における対照群および実験群での組織像
 a : 対照群 (インプラント植立 4 週例 $\times 40$, $\times 100$)
 b : 実験群 (インプラント植立 4 週例 $\times 40$, $\times 100$)

周囲の骨髓腔は 3 週例と同様に、未だ細胞成分が豊富な線維性結合組織で占められていた (図 11-a)。

実験群 4 週例では、既存骨から新生された骨梁は対照群と比較して、その幅が厚く、加えて、インプラント界面全体を覆うように形成されていた。しかしながら、インプラント界面と接する骨面は類骨組織による形成であった。イ

ンプラント周囲の骨髓腔は一部に線維性結合組織が残存しているものの、その多くは脂肪髓により形成されていた (図 11-b)。骨接触率は 85.1% であった (図 4-b)。

4) FINATITE®植立 8 週例における組織反応

対照群 8 週例において、インプラント界面での新生骨はほとんどが線維骨に置換し、既存の層板骨同士の間も密

図 12 Histological observation of control and experimental groups for FINATITE Implant®
 a : Control groups (After 8 weeks of implantation×40, ×100)
 b : Experimental groups (After 8 weeks of implantation×40, ×100)
 FINATITE®における対照群および実験群での組織像
 a : 対照群 (インプラント植立 8 週例×40, ×100)
 b : 実験群 (インプラント植立 8 週例×40, ×100)

に観察され (図 12-a), 骨接触率は 84.1% であった (図 4-b)。

実験群 8 週例では, インプラント界面での新生骨の大半は, 石灰化の高い線維骨へと移行しており, 石灰化の度合は既存の層板骨とほとんど変わらない像を示し, インプラント界面と新生骨との結合も密に観察された (図 12-b)。骨接触率は 93.4% であった (図 4-b)。

IV. 考 察

細胞の増殖, 分化は細胞自身の遺伝的な因子と細胞外シグナルによって制御されている。いわば, 細胞外環境因子が細胞の増殖, 分化の決定因子として重要な作用をすることが考えられる。また, 細胞がお互いに接着する性質は, 組織の構築と維持のために必須である。したがって, 組織の形態形成やその恒常性の維持には細胞の接着や基質での接着が重要な要素となる²⁰⁻²³⁾。これらの観点からも生体材料を応用する場合は, 生体材料が組織の環境にいか適応し, その組織の場に合った組織構築と恒常性を図るための物質特性が問題となる。

本研究では 2 種類のインプラントを使用した。1 つは, 生体親和性を亢進させるために Ti インプラント表面にプラスト処理および陽極酸化処理を施し, Ti の非溶解化や骨との接触面積を増加させたインプラントである。もう 1 つは, 骨組織中での環境により適応させるために HA の骨伝導性が非常に高いことを利用して, Ti インプラント表面にフレーム溶射法により HA コーティング処理を施

したものである²⁴⁻²⁷⁾。しかしながら, これらのインプラントは Ti 単独のインプラントではその強度が非常に高いものの, 骨組織の接触面積が少ないこと, HA コーティングインプラントは, HA が物理的に剝離しやすいことなどの欠点を有している。そこで, 本研究はこれらの欠点を有しないインプラント体の開発を進めたものである。

本研究では, PEC をインプラントにコーティングした。この PEC とは, プラスの電荷を有するポリカチオンと, マイナスの電荷を有するポリアニオンを混合することでイオンの相互反応が生じ, 瞬時に生成される構造物を示し, 物質透過性が優れていること, 水との親和性が高く安定なハイドロゲルの状態をとること, 電解質親・疎水性のマイクロ不均一構造を呈すること, 表面の荷電バランスが可変であることなどの特徴を有している¹⁶⁻¹⁹⁾。したがって, PEC は生体適合性材料としての重要な因子となる荷電や親・疎水性の適度なバランス, マイクロ不均一性などの条件を容易に制御することが可能となる。この PEC を用いて, ヒト歯根膜由来線維芽細胞¹²⁾およびマウス骨芽細胞様細胞 MC 3 T 3-E 1 細胞¹³⁾の細胞接着性ならびに増殖性を検索し, PEC は細胞接着性や増殖性を全く阻害しない物質であることが判明している。また, PEC と HA のハイブリット体を骨欠損部に埋入し, HA 単体で埋入した場合と比較して, 有意に骨形成の増加を認めている¹⁵⁾。本実験結果からも, 実験群のインプラントでの骨組織の形成量は対照群と比較して有意に増加していた。加えて, これら実験群では骨組織の形成開始時期も早く, 形成される骨梁の幅も対照群と比較して有意に高い幅を示していたことか

ら、PEC は骨組織に対しての伝導性、親和性が高いことを示唆していた。

このような PEC による骨組織の形成促進は、PEC の性状が組織環境により適合する環境を与えていることを示している。一般に、生体内で発揮される高度の機能は、役割分担したタンパク質、細胞、組織などが特定の規則的な集合体を形成する。この集合体は各細胞や基質の性状により変化し、その変化の要因の1つが細胞自身の持つ機能であり、他の1つが基質としての細胞外環境因子である。PEC はこの因子のなかで、基質にあたる細胞外環境因子と考えられる。特に細胞外基質 (ECM) は細胞の接着、発生、極性、遊走、代謝など細胞間を調整する有機質であり、細胞が増殖、分化する上で重要な細胞支持体といえる^{28,29)}。この ECM を構成する巨大分子は、2 種類に大別できる。1つは、グリコサミノグリカン (GAG) 類とよばれる多糖鎖であり、もう1つは、線維状タンパクである。これは、さらに構造的なもの (コラーゲンやエラスチンなど) と接着性のもの (フィブロネクチンやラミニンなど) とに分けられる。GAG は、コアタンパク質と共有結合してプロテオグリカンの形で存在する。コアタンパク質は、それ自身で細胞支持体としての特徴的な結合性を持ち、GAG 鎖でコラーゲンと相互作用し、三次元的な構造体の構築に直接関与する。また、GAG は水との親和性が非常に強く、糖残基の多くが硫酸基またはカルボキシル基をもつため強く負に荷電されており、この高密度の負電荷は Na^+ のような陽イオンを大量に引きつけ、その浸透圧で大量の水が基質に吸収される²⁰⁾。同時に、この硫酸基が細胞膜と結合するとともに基質への細胞接着に大きく影響を与えられ^{18,19)}。本実験で用いた PEC は、成分ポリマーとして多糖類を用いている。特に、ポリアニオンとして用いた S-chitin 140 は、グルコサミンの重合体であるポリ-N-アセチルグルコサミンであり、GAG と同様な性質を有している。加えて、ポリカチオンとして使用した S-110 は、水溶性キトサンでキチンを脱アセチル化したもので、フリーのアミノ基を多く含有しているために蛋白や脂質の吸着に優れている物質である。このような PEC の性状は、いずれも生体の ECM と非常によく似た性状を示しているといえる。一方、細胞膜はシアル酸を含む糖質が存在し、その官能基の解離に基づく陰性荷電が細胞表面荷電の主役をなしている^{30,31)}。さらに、細胞膜上の硫酸基は、血清中の細胞増殖因子のレセプターの一部であるため、細胞増殖因子が細胞に結合しやすくなると考えられる。細胞膜のこれらの性質上、基質の荷電が陽性に荷電されている場合のほうがイオンの細胞の接着は増加したものと考えられるが、すべての細胞は基質と細胞の間に陽性荷電を多く有する液体の介在を認める。その液体のイオンの状態が細胞と基質のつなぎの役割をするために、必ずしも基質の荷電が陽性になる必要がなく、むしろ陰性荷電

のほうが細胞の接着や増殖には有利に作用するものと考えられる。以上のような点からも、本実験で用いた多糖類の PEC は、反対符号の解離基同士が瞬時にクローン結合し、複雑な三次元の架橋構造 (スクランブル構造) を有しているために、イオン結合に関与していないフリーの解離基が存在し、より容易な細胞付着性および基質親和性が生じたものと考えられる。

以上のことより、多糖類を成分ポリマーとした PEC を生体適合性材料として用いることは、きわめて重要な因子と考えられる。このように多糖類系 PEC が有する特性は、生体適合性材料の開発にきわめて有用な知見を与えることが示唆された。

V. 結 論

インプラントに PEC コーティングを施したインプラントと骨との Osseointegration の形成期間の短縮と接触面積の増大を得るための新しい生体材料の開発を目的として本研究を行った。PEC はポリカチオンは S-110、ポリアニオンは S-chitin 140 を用いた。この PEC を 2 種類のインプラント (POI 2 ピースタイプインプラント、FINAFIX®および FINATITE®) にコーティングし、骨組織への植立実験を行い、組織学的に評価した結果、以下の結論を得た。

1. 走査型電子顕微鏡による FINAFIX®および FINATITE®のインプラント表面構造は不均一な凹凸を呈していることを確認した。これらのインプラントに PEC をコーティングした場合は不均一な凹凸が少なくなり、全体に地図状の膜様構造物で覆われていた。

2. FINAFIX® (対照群) を顎骨に植立した場合、植立 2 週例で骨接触率が 30.8% で、以後経日的に増加し、植立 8 週例では 60.8% を示した。

3. FINATITE® (対照群) 植立例では、植立 2 週例で骨接触率が 47.3% で、以後経日的に増加し、植立 8 週例では 84.1% を示した。FINATITE®は HA コーティングインプラントであるために、骨の形成率が増加し、骨接触率は FINAFIX®の場合より有意に増加を示した。

4. FINAFIX® (実験群) 植立例では、植立 2 週例で骨接触率が 40% で、以後経日的に増加し、植立 8 週例では 84.6% を示した。対照群の FINAFIX®と比較し、骨形成速度および形成量は有意に増加し、HA コーティングインプラントと同様な所見を認めた。

5. FINATITE® (実験群) 植立例では、植立 2 週例で骨接触率が 59.2% で、以後経日的に増加し、植立後 8 週例では 93.4% を示した。対照群の FINATITE®と比較し、骨形成速度および形成量は有意に増加し、加えて、形成された骨梁の幅も対照群と比較して増加していた。

6. 以上の結果より、PEC コーティングインプラント

は、インプラントと骨との Osseointegration の形成期間短縮と接触面積の増大を図ることのできる新しい生体材料として十分に臨床応用できる可能性があることが示唆された。

稿を終えるにあたり、本研究のご指導、ご校閲を賜りました昭和大学第三歯科補綴学教室、芝 燐彦教授に深謝いたします。また本研究の遂行に際し、終始懇切なるご指導を賜りました昭和大学口腔病理学教室の立川哲彦教授、ならびに信州大学線維学部機能高分子学科の阿部康次助教授、東京医科歯科大学医学部保健衛生学教室の芝紀代子助教授に深謝いたします。また本研究にご理解とご支援を頂きました(株)ヤトロン本社研究室員各位、(株)京セラ、昭和大学口腔病理学教室員各位、昭和大学第三歯科補綴学教室員各位に心から御礼申し上げます。

本論文の要旨の一部は第 27 回日本口腔インプラント学会総会(平成 9 年 7 月 24~26 日, 名古屋), 第 98 回日本補綴歯科学会学術大会(平成 10 年 10 月 16, 17 日, 新潟)において発表した。

文 献

- Adell R, Lekholm U, Rockler B et al. A 15-year study of Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 10 : 387-416, 1981.
- Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA et al. Osseointegrated titanium implants. *Acta Orthop Scand* 52 : 155, 1981.
- Heimke G, Schulte W, d'Hoedt B et al. The influence of fine surface structures on the osseointegration of implants. *Int F Artif Organs* 5 : 207-212, 1982.
- Adell R, Eriksson B, Lekholm U et al. A long-term follow-up study of Osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaw. *Int J Oral Maxillofac Implants* 5 : 347-359, 1990.
- Miyazaki T, Tanaka H, Aoyama N et al. Metallographic structure and mechanical properties of several titanium endosseous implants. *日口腔インプラント誌* 4 : 206-213, 1991.
- 宮崎 隆. チタンの特性. *デンタルダイヤ* 3 : 22-28, 1993.
- Keller JC, Stanford CM, Wightman JP et al. Characterizations of titanium implant surfaces. III. *J Biomed Mater Res* 28 : 939-946, 1994.
- Cook SD, Thomas KA, Kay JF et al. Hydroxyapatite-coated titanium for orthopedic implant applications. *Clin Orthop* 232 : 225-243, 1988.
- Soballe K, Hansen ES, Rasmussen HB et al. Hydroxyapatite coating enhances fixation of porous coated implants. *Acta Orthop Scand* 61 : 299-306, 1990.
- Maxian SH, Zawadsky JP, Dunn MG. *In vitro* evaluation of amorphous calcium phosphate and poorly crystallized hydroxyapatite coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res* 27 : 111-117, 1993.
- Klein CPAT, Patka P, Wolke JGC et al. Long-term *in vivo* study of plasmasprayed coatings on titanium alloys of tetracalcium phosphate, hydroxyapatite and α -tricalcium phosphate. *Biomaterials* 15(2) : 146-150, 1994.
- 荻野隆義. 高分子電解質錯体膜の生体機能性物質としての補綴領域への応用. *補綴誌* 38 : 974-987, 1994.
- 若林克敏. 骨組織再構築のための生体材料. *補綴誌* 40 : 831-842, 1996.
- 岩佐文則. 口腔粘膜上皮細胞および繊維芽細胞に及ぼす TGF- β と細胞外基質の影響. *日口腔インプラント誌* 10 : 261-271, 1997.
- 田口健一. 高分子電解質錯体の補綴領域への応用. *補綴誌* 41 : 645-656, 1997.
- 阿部康次. ポリイオンコンプレックスの特性と機能. *高分子* 36 : 794-797, 1987.
- キチン, キトサン研究会編. キチン, キトサンの応用, 東京: 技報堂出版, 1990.
- 阿部康次, 土田英俊. 高分子と細胞の相互作用, 日本表面化学会編, 東京: 共立出版, 1992.
- 阿部康次, 寺本 彰. 高分子電解質錯体による細胞機能培養. *高分子* 41 : 710-713, 1992.
- Alberts B, Bray D, Lewis J et al (中村桂子, 藤山秋佐夫, 松原謙一監訳). *Molecular biology of the cell* (細胞の分子生物学 949-999, 東京: 教育社, 1987), 1990.
- Adams JC, Watt FM. Regulation of development and differentiation by the extracellular matrix. *Development* 117 : 1183-1198, 1993.
- Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways: The road taken. *Science* 268 : 233-239, 1995.
- 妹尾春樹, 今井克幸, 佐藤 充. 細胞接着シグナルによる細胞の形態・増殖・機能の可逆的制御. *組織培養工学* 23(6) : 201-205, 1997.
- 糸瀬正通, 湯川精一, 和田徹夫ほか. セラミックインプラントの臨床-10 年の経過に学ぶ. *QE* 10(11) : 2203-2219, 1991.
- 山上哲賢, 西尾洋一. 2 ピースインプラントシステム-概要と臨床応用例について. *歯界展望* 80(4) : 879-889, 1992.
- 元 永三, 張 在光, 糸瀬正通. 陽極酸化処理チタン合金インプラントの臨床-FINAFIX の臨床応用. *QE* 13(7) : 154-164, 1994.
- 西尾洋一, 元 永三. POI システムインプラント-概念とその特性-*Quintessence Dental Implantology* 4 : 81-91, 1997.
- 須田立雄, 小澤英浩, 高橋英明. 骨の科学, 東京: 医歯薬出版, 1985.
- Kuboki Y, Yamaguchi H, Yokoyama A et al. The Bone-Biomaterial Interface 127-138, In: Davies JE, editor, Toronto: Toronto University Press, 1991.
- Ambrose EJ. Surface characteristics of neoplastic cells. Intercellular reactions in growth and differentiation: 149-167, 1962.
- Kojima K, Sakai I. On the role of stickiness of tumor cells in the formation of metastases. *Cancer Res* 24. 1887-1891, 1964.