サル歯槽骨欠損部への多孔質 アパタイト顆粒の充填に関する研究

峯 岸 大 造

東京医科歯科大学歯学部第2歯科保存学教室

(主任・指導：石川 烈教授)

(昭和60年12月20日受付)

Effect of Porous Hydroxylapatite Granules on the Healing of Periodontal Osseous Defects

Daizo MINEGISHI

Department of Periodontology, School of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

(Chief and Director : Prof. Isao ISHIKAWA)

The present study was undertaken to evaluate the effect of porous hydroxylapatite granules on the healing of periodontal osseous defects in 4 monkeys.

Different types of periodontal osseous defects were prepared in two parts of the investigation.

In the first part, surgically created 3-walled osseous defects were filled with porous hydroxylapatite granules in the period of 8 and 12 months in order to evaluate the long-term effect of porous hydroxylapatite granules on the healing of periodontal osseous defects. Histological sections showed minimal apical migration of the junctional epithelium, regeneration of new cementum, and large amount of bone formation.

In the second part, 3-walled osseous defects with plaque-affected roots were prepared, and filled with porous hydroxylapatite granules in the period of 2, 4, and 12 weeks. As a control, defects were treated in the same procedure without filling the granules. Histometric comparison on the sections of experimental sites and controls showed that new bone formation was similar for both sites but the apical migration of junctional epithelium was suppressed in the experimental sites.

These data strongly suggested that this material could be applied in periodontal bone defects as clinical use.

Key words : Porous hydroxylapatite, Osseous defect, Implant, Monkey

要旨：サル歯槽骨欠損への多孔質アパタイト顆粒充填の効果を検索する目的で2つの実験を行なった。第1の実験ではサルの上下顎側切歯、第1小臼歯、および第1大臼歯を抜歯し、治癒に至る2ヵ月後、上下顎中切歯、第2小臼歯、および第2大臼歯を実験部位とし、アパタイト充填後の長期観察を行なった。左右で期間をずらして外科的に3壁性骨欠損を形成し、多孔質アパタイト充填後、屠殺し、術後8ヵ月および12ヵ月の末脱灰組織標本作製した。観察の結果、多孔質アパタイトは大部分が新生骨に囲まれ、良好な歯周組織の治癒が認められた。第2の実験では、最初の実験と同様の部位に外科的に3壁性骨欠損を作り、金属を埋入し、さらに歯頸部に結紮した絹糸末端を根面と金属の間に挿入して汚染された根面を有する骨欠損を作った。この部位に多孔質アパタイトを充填し、屠殺後、組織学的計測の結果、術後2週および12週で、実験側の上皮の深行増殖が有意に小さいことが示された。

本論文の主旨は、第50回口腔病学会50周年記念総会(1985年12月6日)において発表した。

索引用語：多孔質アパタイト，歯槽骨欠損，充填，サル

緒 言

徹底したプラークコントロールを主体とした歯周治療により，歯周疾患の進行が阻止され，歯周組織の改善が得られるようになった。しかし，歯周疾患が高度に進行すると，歯周ポケットは極めて深くなり，歯槽骨も様々な形態をとりながら吸収され，歯を支える組織量が少なくなる。このような場合，通常の歯周治療では，余りに組織の破壊量が大きいため，歯周組織の改善を得ることは容易ではない。このような高度に進行した症例では，従来保存不可能と診断され多くの場合抜歯されていたが，現在ではより積極的に歯周組織を再生させる試みが行なわれている。このような歯周組織の回復を計る処置法の1つとして種々の骨移植法が行なわれてきた¹⁻⁸⁾。しかし，この術式を行なうにあたっては，骨採取のための2次的手術が必要なこと，大量の骨を得ることが難しいこと，及び患者の苦痛を伴うこと，などのため通常の治療として行なうことは困難であった。このような事態を解決するため，人工骨移植材料の研究が進められてきた⁹⁻¹¹⁾。この材料が有効であれば，骨採取のための2次的手術が不必要であり，大量に使用することが可能であるなどの多くの利点を有している。

Hydroxylapatite などのリン酸カルシウム系セラミックスは，他の人工骨移植材料と比較して，生体に対する親和性が極めて優れ，特に骨組織に埋入した場合表面に直接骨が形成されること，いわゆる bioactive な組織状態をとることが判明している¹²⁻¹⁶⁾。そこで，これらを歯周治療における骨欠損部への充填材料として用いようとする試みが行なわれるようになった¹⁷⁻³²⁾。

著者らも，すでに，多孔質の Hydroxylapatite ceramics (多孔質アパタイト) の顆粒をサルの人工的歯槽骨欠損部に充填し組織学的検索を行なったところ，術後1週，2週，1ヵ月，2ヵ月の組織標本で，多孔質アパタイト粒子が新生骨と結合組織に囲まれ良好な治癒の得られることを報告してきた⁴³⁾。しかしながら，充填された多孔質アパタイトが長期的にどのような運命をたどり，どのような治癒形態に帰着するのか，多孔質アパタイトが汚染された歯根面や炎症性歯肉を有する骨欠損部の治癒にどの程度の効果を持つのか，といった点に関しては不明な点も多かった。

今回の実験の目的としたところは，まず第1に，外科

的に形成した骨欠損モデルを用いて，多孔質アパタイトを充填した後の長期観察を行なったこと，第2に，ヒト歯周疾患のモデルに近い条件となるように設定した，汚染された根面を有する骨欠損を作り，多孔質アパタイト充填の歯周組織の治癒に与える影響を検索したことであった。

材料と方法

1. 長期観察実験

1) 実験材料

実験材料として，顆粒状の多孔質アパタイト (焼成温度 1,200°C, 粒子サイズ 500~1,000 μ) を使用した。

2) 実験動物ならびに実験方法

実験動物として，永久歯列の完成した日本ザル (♂) 1頭を用いた。

図1に示す如く，上下顎の側切歯，第1小臼歯，第1大臼歯の抜歯を行ない，多孔質アパタイトを充填するスペースを確保した。抜歯窩が治癒に至った2ヵ月後，手術部位の歯肉弁を剝離し，約4×4×5 mmの3壁性骨欠損をラウンドバーとチゼルを用いて形成した。根面のルートプレーニングを行なった後，直ちに多孔質アパタイト顆粒を充填した。手術部位の歯肉弁を元にもどして縫合し，1週又は2週間後に抜糸した。術後1週間は感染予防のためベンジルペニシリンプロカインの筋注を行なった。手術時の麻酔法として，塩酸ケタミンとチオペンタールナトリウム筋注による全身麻酔及び2%キシロカインによる浸潤麻酔法を用いた。また，プラークコントロールとして週3回のブラッシングを手術部位を中心として行なった。最初の手術日から4ヵ月目に再び同じ手術を反対側の部位に行ない，12ヵ月経過した後，ペントバルビタール過剰投与により屠殺した。

3) 観察方法

手術直後より屠殺するまでの期間，適時口腔内カラー写真撮影を行ない，術後の治癒状態を経時的に観察した。

組織学的検索として，サルを屠殺後，上下顎骨を取り出し，10%中性ホルマリンアルコールで固定した。固定後未脱灰のまま Rigolac 包埋し，ブロンウィル薄切機にて近遠心方向に厚さ約150 μ の未脱灰組織切片を作製し，トルイジンブルー染色を施した。

これらの組織標本の中から，手術部位の頬舌的中央を

図 1 長期観察実験の概要

代表する切片を2枚ずつ選び出し、組織学的観察ならびに組織学的計測に供した。組織学的計測は、

- ① セメントエナメル境 (CEJ) からポケット底 (P) までの距離: CEJ-P
- ② セメントエナメル境 (CEJ) から接合上皮の最根尖側 (JE) までの距離: CEJ-JE
- ③ セメントエナメル境 (CEJ) から新生セメント質 (NC) までの距離: CEJ-NC
- ④ セメントエナメル境 (CEJ) から多孔質アパタイト (AP) までの距離: CEJ-AP
- ⑤ セメントエナメル境 (CEJ) から新生骨 (NB) までの距離: CEJ-NB
- ⑥ セメントエナメル境 (CEJ) から骨欠損底 (B) までの距離: CEJ-B

について行ない、多孔質アパタイト充填後の歯周組織の治癒状態を検索した。

2. 汚染歯根面を有する骨欠損部への多孔質アパタイト充填実験

1) 実験材料

最初の実験と同様、顆粒状多孔質アパタイト (焼成温度 1,200°C, 粒子サイズ 400~630 μ) を用いた。最初の実験では多孔質アパタイトブロックを粉砕して用いたため粒子サイズにばらつきがあったのに対し、今回は粒子サイズを 400~630 μ にそろえた。

2) 実験動物ならびに実験方法

実験動物として、永久歯列の完成した日本ザル3頭

図 2 汚染歯根面を有する骨欠損部への多孔質アパタイト充填実験の概要

(5~10 kg) を使用した。最初の実験と同様に、上下顎の側切歯、第1小臼歯、第1大臼歯の抜歯を行ない、抜歯後のスペースを利用できる、上顎中切歯、犬歯、及び下顎中切歯の遠心、上顎第2大臼歯、下顎第2小臼歯、及び第2大臼歯の近心を実験部位とした。合計36カ所の実験部位を3グループに3等分し、各グループは実験側と対照側を同数となるようにした。また、各グループにおける実験側と対照側は、同一歯列上でしかも左右対称となるように選んだ。

グループ1 充填してから屠殺までの期間が2週間

グループ2 充填してから屠殺までの期間が4週間

グループ3 充填してから屠殺までの期間が12週間

図2に示す如く、多孔質アパタイトの充填を行なう8週間前に、手術予定部位の歯肉弁を剝離し、歯槽頂のレベルで根面にノッチをつけたのち、約2×3.5×3 mmの3壁骨欠損を形成した。そこに2×3.5×3 mmのコバルトクロム金属片を埋入し、歯頸部には絹糸を2重に結紮し、その末端を金属と根面との間隙に挿入した。歯肉弁を元にもどして縫合し、1週間後に抜糸した。金属は4週間、絹糸は6週間そのままにし、プラークを停滞させることにより、ポケットを形成し、汚染した根面を有する骨欠損を作った。

絹糸を除去してから2週間後多孔質アパタイトの充填を行なった。

多孔質アパタイト充填部位の歯肉弁を剝離し、根面のルートプレーニング後、欠損部の肉芽組織を除去したのち、欠損底のレベルで根面にノッチをつけ、多孔質アパタイトを充填した。対照側は、根面のルートプレーニングと骨欠損部の肉芽組織の除去のみを行ない、多孔質ア

図 3 組織学的計測部位

CEJ: セメントエナメル境の位置

P: ポケット底の位置

JE: 接合上皮の最根尖側

NB: 新生骨の位置

N: 根尖側ノッチ

パタイトは充填しなかった。手術部位の歯肉弁を元にもどして縫合し、1週又は2週間後抜糸した。術後1週間はベンジルペニシリンプロカインの筋注を行なった。また、実験期間中のプラークコントロールとして週3回のブラッシングを行なった。また、グループ1, 2, 3の処置は手術日をずらして行なうことにより、屠殺するまでの期間がそれぞれ2週, 4週, 12週となるようにした。

3) 観察方法

骨欠損モデル作製時から屠殺に至るまでの間、手術部位の治癒状態について経時的に観察を行なった。適時口腔内カラー写真撮影を行なった。

さらに、サルを屠殺後、上下顎骨を取り出し、術後2週, 4週, 12週における未脱灰組織標本を最初の実験と同様の方法で作製した。これらの組織標本の中から、多孔質アパタイト充填部位の頬舌的中央に相当する組織切片を2枚ずつ選び出し、その部位における組織学的観察ならびに組織学的計測に用いた。組織学的計測は次の4項目について行なった。

① セメントエナメル境 (CEJ) から根尖側ノッチ (N) までの距離: CEJ-N

② セメントエナメル境 (CEJ) からポケット底 (P) までの距離: CEJ-P

③ セメントエナメル境 (CEJ) から接合上皮の最根

尖側 (JE) までの距離: CEJ-JE

④ 根尖側ノッチ (N) から新生骨の骨頂部 (NB) までの距離: N-NB

4) 得られたデータの統計処理

組織学的計測の結果得られたデータは、ノンパラメトリック検定法の1つ one-sided wilcoxon Test³³⁾ を用いて検定を行ない、危険率 5% ($p < 0.05$) をもって有意とした。

結 果

1. 長期観察実験の結果

1) 肉眼所見

多孔質アパタイト充填後初期の治癒状態は縫合の良好により左右された。即ち、付着歯肉の幅が充分にあり緊密な縫合の行なえた部位では、術後1週間では創面の治癒が得られたのに対し、縫合のはずれた部位では、治癒の遅れる傾向がみられた。このような部位では、創面の治癒に3~4週間を要した。

しかしながら、創面が治癒した後は、良好に経過し、以後屠殺に至るまでの8ヵ月及び12ヵ月間、多孔質アパタイト粒子の排出、多孔質アパタイト充填部位の発赤、腫脹、歯の動揺などの臨床問題となるような所見は観察されなかった。

2) 組織所見

術後8ヵ月ならびに12ヵ月の標本では、多孔質アパタイト充填域の大部分が新生骨により満たされているのが観察された(図4・5・6)。そのような部位の多孔質アパタイト粒子は、粒子全体が新生骨に取り囲まれる像、又は粒子の一部が新生骨に囲まれ、他の部分は結合組織に接する像を呈することもあった。結合組織と多孔質アパタイト粒子が接する部位では多核巨細胞の存在も観察された。形成された新生骨は、骨小腔内に骨細胞を封入し、正常な骨組織像を呈していた。

接合上皮の深行増殖は比較的軽度で、その最根尖側は、多孔質アパタイト充填域の歯冠側付近に認められた。また、そのような部位から根尖側の根面には新生セメント質が観察された(図7)。

新生セメント質が形成された部位では、線維が水平あるいは斜めに走行し(図7)、部位によっては、歯根膜と同様の組織像が観察された(図6, 8)。

3) 組織学的計測値の評価

組織学的計測値を表1に示した。表1より多孔質アパタイト粒子はセメントエナメル境から約1.8mm下方の

図 4 術後 8 カ月
トルイジンブルー染色

中央の白くみえるのが多孔質アパタイトの粒子。多孔質アパタイト充填域の大部分に新生骨が形成され、歯根膜も観察される(矢印)。

図 5 術後 12 カ月
トルイジンブルー染色

多孔質アパタイト充填域の大部分に新生骨が形成され、接合上皮の深行増殖は多孔質アパタイト上部にとどまっている。一部に歯根膜(矢印)が観察される。

図 6 図 5 の拡大
トルイジンブルー染色

HA: 多孔質アパタイト
NB: 新生骨
多孔質アパタイト粒子 (HA) は新生骨 (NB) に囲まれ、歯根膜(矢印)も観察される。

位置まで充填された状態となっており接合上皮の深行増殖はその手前で止まり、新生セメント質の形成など、良好な結果が得られた。このことは少なくともアパタイトを充填したことにより、生体がそれを異物とすることなく、むしろ積極的にとり込んで組織の再生に関与しているような所見を示した。

8 カ月と 12 カ月を比較すると、新生セメント質の位置 (CEJ-NC) 及び多孔質アパタイト充填域 (CEJ-AP) は術後 8 カ月及び 12 カ月でほぼ同程度であった。また、ポケット底の位置 (CEJ-P)、アタッチメントレベル (CEJ-JE)、及び新生骨の位置 (CEJ-NB) は、移植後 12 カ月の方が 8 カ月よりも高い値を示した。

2. 汚染歯根面を有する骨欠損部への多孔質アパタイト充填実験

1) 肉眼所見

実験的に骨欠損を形成してから絹糸の結紮を除去するまでの 6 週の期間中、絹糸の周囲及び骨欠損部を覆う歯肉には著明な発赤・腫脹が観察された。炎症の著しく強い部位では手術の創面が潰瘍状態となっていた。このような部位では、埋入した金属が排出される例がみられた。

骨欠損モデル作製後 4 週目に、埋入した金属を除去し

たが、埋入した金属 36 例中 17 例が排出されていることが確認された。

結紮した絹糸は、部位により、はずれやすい部位とはずれにくい部位がみられた。特に下顎前歯部でははずれやすく、1 週間ごとにチェックし、絹糸を巻き直した。

絹糸除去後 2 週間経過し、多孔質アパタイトの充填を行なった時には、歯肉の発赤・腫脹は減少していたが、部位によっては発赤・腫脹が継続していた例も観察された。多孔質アパタイト充填時の骨欠損形態は、多くの例でくさび状を呈していたが、これは底部での自然治癒による骨の再生と、骨頂部の骨吸収によるものと思われる。

手術後 1 週から 4 週間で創面の治癒が観察された。手術時歯肉に炎症が残っていた部位は縫合がはずれやすく、このような部位は治癒の遅れる傾向を示した。

その後、屠殺するまでの間、前の実験⁴³⁾でみられた経過とほぼ同様な所見が観察され、異常な症状を呈するようにはなかった。

2) 組織所見

① 術後 2 週

術後 2 週の実験側では、欠損底部に幼若な新生骨の形成が観察された(図 9)。しかし、多孔質アパタイト粒子

図7 図5の歯冠側の拡大

トルイジンブルー染色

HA: 多孔質アパタイト

NB: 新生骨

JE: 接合上皮の最根尖側

NC: 新生セメント質

多孔質アパタイト充填域の根面に新生セメント質 (NC) が観察され、そこから歯根膜線維の走行が認められる。接合上皮の深行増殖は新生セメント質 (NC) の上端で止まっている。

図8 図4の根面付近の拡大

トルイジンブルー染色

NA: 多孔質アパタイト

NB: 新生骨

NC: 新生セメント質

新生セメント質 (NC) と新生骨 (NB) の間には線維が走行し、歯根膜と同様の組織像を呈している。

表1 長期観察実験における組織学的計測値
(mm 単位)

	8ヵ月 n=3		12ヵ月 n=3	
	$\bar{X}$	SD (mm)	$\bar{X}$	SD (mm)
CEJ-P	0.6	0.4	-0.1	0.2
CEJ-JE	2.0	0.3	1.4	0.6
CEJ-NC	2.3	0.8	2.3	0.7
CEJ-AP	1.9	0.9	1.8	0.7
CEJ-B	5.7	1.6	6.2	1.0
CEJ-NB	2.9	1.1	1.9	0.6

CEJ: セメントエナメル境 P: ポケット底の位置

JE: 接合上皮の最根尖側

NC: 新生セメント質の最歯冠側

AP: 多孔質アパタイト充填域の上端

B: 欠損底の位置 NB: 新生骨の位置

表面での骨形成は観察されず、この時点で多孔質アパタイト粒子は線維性結合組織に囲まれていた。接合上皮の深行増殖は多孔質アパタイト充填域に少し入った位置に観察された (図9-10)。

対照側では、実験側とほぼ同程度の幼若な新生骨の形成が観察された (図11)。接合上皮の根尖側への増殖の程度は比較的大きく、対照側の方が実験側よりもより深い根尖側への増殖を示した例が多くみられた。

② 術後4週

実験側では、術後2週よりも発育し肥厚した新生骨が観察された (図13)。大部分の多孔質アパタイト粒子は未だ線維性結合組織に囲まれた状態であった。また、接合上皮の根尖側への深行増殖は、術後2週とほぼ変わらず多孔質アパタイト充填域に少し入った位置にとどまっているのが観察され (図14)、その下方では根面に平行に線維が配列されていた。

対照側においても、実験側と同程度の欠損底部を中心とした骨の新生が観察され (図15)、接合上皮の深行増

図 9 術後2週実験側
トルイジンブルー染色

JE：接合上皮の最根尖側 NB：新生骨
欠損底部に幼若な新生骨 (NB) が形成され、
接合上皮 (JE) の深行増殖が多孔質アパタイト
充填域に少し入った位置に認められる。

図 11 術後2週対照側
トルイジンブルー染色

JE：接合上皮の最根尖側 NB：新生骨
底部に幼若な新生骨 (NB) が認められ、接合
上皮 (JE) の深行増殖と上皮脚の形成が観察
される。

図 10 図9の歯冠側根面の拡大
トルイジンブルー染色

JE：接合上皮の最根尖側
HA：多孔質アパタイト
接合上皮 (JE) の深行増殖は多孔質アパタイ
ト充填域に少し入った位置に認められる。

図 12 図11の歯冠側根面の拡大
トルイジンブルー染色

JE：接合上皮の最根尖側
接合上皮の深行増殖及び上皮脚の形成が観察
される。

殖及び線維の配列は実験側とほぼ同様であった (図 16)。

⑨ 術後12週

実験側では、術後4週よりもさらに成長発育した新生

骨が観察された (図 17)。多孔質アパタイト粒子表面で
は新生骨が形成されている所見が多数観察され、多孔質
アパタイト充填域は欠損底部を中心に新生骨が認められ

図 13 術後4週実験側

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側 NB: 新生骨
底部に発育肥厚した新生骨 (NB) が観察される。

図 15 術後4週対照側

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側 NB: 新生骨
底部に新生骨 (NB) が観察され、接合上皮 (JE) の根尖方向への増殖が観察される。

図 14 図13の根面の拡大

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側

接合上皮 (JE) が観察され、その下方では線維が根面に平行に配列している。

図 16 図15の歯冠側根面の拡大

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側

接合上皮 (JE) の深行増殖が観察され、その下方では線維が根面に平行に配列している。

た。接合上皮の根尖側への増殖は多孔質アパタイト充填域に少し入った位置にとどまってお (図17・18)、それより下方の接合上皮の侵入していない根面では、線維が根面に平行に配列するのに加えて、斜めあるいは垂直に

配列している像も観察された (図19)。

対照側では、実験側とほぼ同程度の新生骨が観察された (図20)。接合上皮の深行増殖に関しては、対照側の方が実験側よりも深く根尖側へ侵入する傾向がみられ

図 17 術後 12 週実験側

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側 NB: 新生骨
アパタイト充填域のかんりの部分に新生骨 (NB) が観察され、接合上皮 (JE) は、多孔質アパタイト充填域に少し入った位置に認められる。

図 18 図 17 の歯冠側根面の拡大

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側
接合上皮の根尖方向への深行増殖が観察される。

た。線維の配列は実験側と同様であり、根面に斜めあるいは垂直に配列している像が観察された (図 21)。

図 19 図 17 の根面の拡大

トルイジンブルー染色

線維が根面に対して斜めあるいは垂直に配列している。

図 20 術後 12 週対照側

トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側 NB: 新生骨
新生骨 (NB) が観察され、接合上皮 (JE) が根尖方向へ深く侵入している。

3) 組織学的測定値の評価

組織学的測定から得られた結果について表 2 に示した。術後 2 週の標本では、標本作製時の剝離などによりポケット底の不明な標本がいくつかみられたためセメントエナメル境からポケット底までの距離 (CEJ-P) の測

表 2 汚染歯根面を有する骨欠損部への多孔質アパタイト充填実験における組織学的計測値 (mm 単位)

Weeks	CEJ-N		CEJ-JE		CEJ-P		N-NB	
	exp	cont	exp	cont	exp	cont	exp	cont
2 W	5.5±2.7	5.7±2.2	3.3±2.3	4.1±2.0	*			
4 W	4.6±1.3	4.8±0.8	2.7±1.2	3.0±1.2	1.5±1.3	1.7±1.1	1.0±0.6	1.2±0.3
12W	5.1±1.1	5.4±1.1	2.8±1.3	3.4±1.9	*	1.9±0.8	1.7±2.1	1.8±0.8 1.6±0.7

CEJ: セメントエナメル境 N: 根尖側ノッチ JE: 接合上皮の最根尖側

P: ポケット底の位置 NB: 新生骨の位置

* P<0.05

図 21 図 20 の根面の拡大
トルイジンブルー染色

JE: 接合上皮の最根尖側

接合上皮 (JE) が観察され、根面に斜めに線維が配列している。

定は行えなかった。また、同じく 2 週の骨新生が非常にわずかであったため新生骨の量 (N-NB) の測定も不可能であった。

実験側と対照側は、one-sided wilcoxon Test により統計処理を行なった。

その結果、表 2 に示したように、接合上皮の最根尖側の位置 (CEJ-JE) は、術後 2 週で、実験側が平均 3.3 mm、対照側が平均 4.1 mm と実験側の方が有意に少ない値を示し ($p<0.05$)、術後 12 週でも、実験側が平均 2.8 mm、対照側が平均 3.4 mm と実験側の方が有意に少ない値を示した ($p<0.05$)。このことは、実験側で接合上皮の深行増殖が防げられていることを示している。

一方、新生骨の位置 (N-NB)、ポケット底の位置 (CEJ-P)、及び欠損底の深さ (CEJ-N) は、すべて実験側と対照側で統計学的に差はみられなかった。

考 察

1. 実験方法について

動物を用いて種々の人工骨材料の実験を行なうにあたっては、ヒト歯周炎に近似した骨欠損モデルを、いかにして確実にしかも再現性よく作り出すが重要な問題である。これまでに行なわれてきた方法として、外科的に骨欠損を作る方法^{18,19,23)}、歯頸部に絹糸、矯正用エラストックゴム等を結紮しプラークを堆積させ炎症により骨吸収を引き起こす方法^{34,35,41)}、外科的に形成した骨欠損に金属板を挿入する方法^{36,37)}、外科的に形成した骨欠損にレジンやガッタパーチャを埋入する方法^{17,24,38)}、などが試みられてきた。しかしながら、いずれの方法を用いるにしてもヒト歯周炎の骨欠損と近似した状態でしかも実験を行なうのに適した一定の骨壁数と大きさを有する骨欠損モデルを作ることは難しい。現在のところ、それぞれの実験目的に応じて、これらの方法のいずれかを選択するか、あるいは改良して用いているのが現状である。

最初の長期観察実験では、骨欠損の作製が容易であり、骨欠損のサイズを規格化できるため、外科的に骨欠損を作る方法を採用した。このタイプの骨欠損は最も良い条件で治癒が起こるため、多孔質アパタイトが長期間にわたって充填された際の変化を良好な条件下で観察することができた。

一方、次の実験では、外科的に $2 \times 3.5 \times 3$ mm の 3 壁性骨欠損を形成し、そこにコバルトクロム金属片を埋入し、歯頸部に絹糸を結紮し、その末端を根面と金属片の

間に挿入するという最も悪い条件を設定した。金属を長期間埋入することにより、人工的に作った骨欠損の自然治癒を阻止し、絹糸を結紮することにより根面を汚染させた。慢性辺縁性歯周炎によってできたポケットに面したセメント質は露出セメント質と呼ばれているが、このセメント質はエンドトキシンを含む細菌産生物で汚染されたり、これらの物質が浸透している事実がみつけれられている³⁹⁾。本実験でもそれに近い条件を満たすようなモデルを作り出した。従って、多孔質アパタイトの充填による周囲歯周組織に対する影響、特に上皮の付着に対する影響について、実際の歯周疾患に近い状態で検索することができたと思われる。

本骨欠損モデルの欠点として、骨欠損形成後実験を開始するまでの期間中、結紮した絹糸による炎症により骨欠損骨頂部の骨吸収を生じることや、炎症の強い部位で一部金属の排出がみられること、および操作の複雑なこと、などであった。

2. 長期観察実験の結果について

多孔質アパタイト充填後 8 ヶ月及び 12 ヶ月の標本では、多孔質アパタイト充填域の大部分で新生骨が観察され、ポケットは浅く、接合上皮の根尖側への増殖は軽度であった。特に新生骨の量に関しては、他の比較的短期間の実験結果と比較して^{23, 24), 43)}、明らかに本実験結果の方が新生骨の量が多く観察された。このことは、長期間の実験でも多孔質アパタイトが周囲歯周組織に対して親和性を保ち、為害作用がなく、何らかの意味で歯周組織の治癒に良い影響を与えている可能性が考えられた。

一方、術後の予後に関しては充填された Hydroxylapatite が、長期的にはすべて新生骨に取り込まれるものなのか、あるいは新生骨に取り込まれることなく、結合組織中に遊離して存在するものなのか、あるいは吸収又は排出されてしまうものなのか、見解の分かれていたところであった。

例えば、移植された自家腸骨について、Dragoo は⁴⁰⁾、ヒトに自家腸骨移植を行ない、移植片は吸収と骨の添加を生じ、移植後 8 ヶ月ではきわめてわずかの移植片しか観察されないことから、自家腸骨片はすべて新生骨に置換され、単独で存在することはないと推測している。人工骨についてみると、TCP は吸収性であり、充填後しだいに消失することが知られている¹⁷⁻¹⁸⁾。一方、今回実験に用いた多孔質アパタイトは、非吸収性であり、生体内で吸収されることはほとんどなく²⁸⁾、骨組織に接する骨膜下では、多孔質アパタイト全域が新生骨に囲まれることが報告されている²⁸⁾。しかしながら、Froum²⁶⁾ や

Moskow²⁷⁾ は、ヒトの歯周疾患による骨欠損部に、Hydroxylapatite の 1 つ Durapatite を挿入したところ、骨に取り囲まれることなく、結合組織に囲まれて存在したと報告している。歯周疾患によって形成された骨欠損部では、常に細菌性プラークの刺激を受けて炎症組織と隣接した状態であり、このことは骨の新生にとって良い環境とはいえない。本実験でも、多孔質アパタイト充填域の大部分に新生骨が観察されたものの、細菌性プラークの影響を受けやすいポケット底部や上皮直下のアパタイト粒子では、結合組織に囲まれている場合が観察された。特に接合上皮下では、骨膜のように幼若な細胞が豊富には存在しないこともその一因であろう。それでも、8 ヶ月及び 12 ヶ月の標本では、ほとんど正常な歯周組織と同様な形態にまで治癒しており、ポケット底の位置や接合上皮の根面への付着は長期間にわたって良好に保たれ、その下方では、セメント質の新生が観察された。また部分的には歯根膜と同様の組織像が観察されたことは、多孔質アパタイト充填後、歯周組織の治癒が充分良好に進行したことを示すものであり、この材料を臨床的に使用できる可能性が示唆された。

3. 汚染歯根面を有する骨欠損部への充填結果について

本実験では、汚染された根面を有する 3 壁性骨欠損モデルを作り出し、ヒトの歯周疾患によって作られる欠損にできるだけ近い状態を想定して、多孔質アパタイトの充填が歯周組織の治癒に与える影響を検索した。この際、実験側と対照側ができるだけ同じ条件となるように実験側と対照側が左右対称となるように実験計画を行なった。

従来より、Hydroxylapatite や TCP 等の骨代用物質が、骨の新生や結合組織性付着を促進しているかどうかについては、未だ一定の見解が得られていなかった。Levin, Nery らは、TCP をイス及びサルに骨欠損部に充填して組織学的研究を行なったところ骨の新生、セメント質の新生、さらに歯根膜が観察されたと述べているが¹⁷⁻¹⁹⁾、いずれも組織所見のみの記載であり、対照との比較が充分なされていなかった。原らも²⁴⁾、Hydroxylapatite を用いて同様の実験を行ない、骨の新生を観察しているが、対照実験における結果との比較が不明瞭である。林ら²³⁾、サルに Hydroxylapatite の充填を行ない、組織所見と併せて組織学的計測を行ない、実験側では対照と比較して、新生骨の量はむしろ少なかったが、結合組織性付着の量は大きい傾向がみられたと述べている。また、Caton⁴¹⁾ らは、サルに実験的歯周炎を作り、

4つの処置 (Modified Widman flap, 自家骨移植, TCPの充填処置, ルートプレーニング)を行ない, セメントエナメル境を基準点として組織学的計測を行なったところ結合組織性付着のレベルはすべて対照と同じであったと述べている。このように, TCP や Hydroxylapatiteなどの人工骨材料では一定の評価が得られていない。

このような点からも, 本実験では, より客観的な評価を行なうため, セメントエナメル境 (CEJ) と根尖側ノッチ (N) を基準点として, 新生骨の量 (N-NB) 及び接合上皮の最根尖側の位置 (CEJ-JE) を測定した。その結果, 新生骨の量は実験側と対照側で同程度であったが, 接合上皮の最根尖側の位置 (付着レベル) は, 術後2週と12週で実験側の方が高いことが示された。このことは, 多孔質アパタイトが骨に親和性を有し, 骨伝導能を有するという報告に加えて²⁸⁾, 上皮の深行増殖を妨げることを示した。これは欠損部に緊密に充填されたアパタイトが異物としてでなく, 生体に親和性を持ってとり込まれ, 結合組織でとり囲まれるため, 歯面と欠損部の間に接合上皮の入り込むスペースがなくなるためであろう。最近 Karring らは, 上皮の深行増殖を防ぐため, ミリポアフィルターを歯面に巻きつけ, 上皮の深行増殖を阻止し, 新付着の形成に成功している⁴²⁾。これもまた, ミリポアフィルターにより上皮が深行するのを阻止し, その間に歯根膜細胞の増殖が行なわれたからであるとしている。今回の実験でもアパタイトを充填することにより, 上皮の深行を阻止できたことは, 歯周組織の治癒のため臨床的にも有効な手段となるものと考えられる。

本実験で上皮の深行増殖に差のみられたことは, 林²³⁾らの実験結果ともほぼ一致している。また, 臨床実験では, Kenney³²⁾らも Interpore 200® をヒト歯周炎患者に使用し, 有意にアタッチメントゲインが得られたと述べている。

動物実験において実験結果に差のみられるのは, 動物の種類, 人工骨材料の違い, 実験デザイン, 統計処理の方法などの因子があげられると思われるが, 最も重要なことは, 完全な歯周疾患モデルが確立されていないことに起因しているように思われる。今後, よりヒトにおける歯周疾患に近い骨欠損モデルを簡単にしかも再現性よく作れるようになることが, 人工骨材料の評価をより客観的に正確に行なう上で重要であると思われる。

結 論

1. 外科的に形成した3壁性骨欠損部 (4×4×5 mm)

へ充填された多孔質アパタイト粒子は, 術後8ヵ月及び12ヵ月で, その大部分が新生骨に囲まれた。また, 接合上皮の深行増殖は軽度でセメント質の新生も観察された。多孔質アパタイトは充填後長期にわたり有効に代用骨として作用するものと思われた。

2. 汚染された根面を有する3壁性骨欠損部 (2×3.5×3 mm) への多孔質アパタイトの充填では, セメントエナメル境 (CEJ) と根尖側ノッチ (N) を基準とする組織学的計測の結果, ポケット底の位置 (CEJ-P) 及び新生骨の量 (N-NB) は実験側と対照側で差がみられなかったが, 接合上皮の最根尖側の位置 (CEJ-JE) は, 術後2週と12週で実験側の方が良好な値を示した。多孔質アパタイトを充填することによって初期の治癒の際, 接合上皮の深行増殖を阻止し, 破壊された歯周組織の改善に役立つ可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終るにあたり, 終始, 御懇篤な御指導と御校閲を賜りました当教室石川 烈教授に謹んで感謝の意を表します。さらに本研究の遂行に際して御教授や種々の有益な御助言を頂いた本学第2口腔解剖学教室一條尚教授ならびに第2歯科補綴学教室小木曾誠博士に深く感謝致します。実験に際し, 御指導, 御協力下さいました第2歯科保存学教室諸兄に厚く御礼申し上げます。併せて, 本研究に際し, 材料の提供を受けた旭光学株式会社に謝辞を表します。

文 献

- 1) Rivault, A.F., Toto, P.D., Levy, S. and Gargiulo, A.W.: Autogenous bone grafts: Osseous coagulum and osseous retrograde procedures in primates. *J. Periodontol.*, 42: 787-796, 1971.
- 2) Schallhorn, R.G., Hiatt, W.H. and Boyce, W.: Iliac transplants in periodontal Therapy. *J. Periodontol.*, 41: 566-580, 1970.
- 3) Dragoo, M.R. and Sullivan, H.C.: A clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone grafts in humans. *J. Periodontol.*, 44: 599-604, 1973.
- 4) Froum, S.J., Thaler, R., Scopp, I.W. and Stahl, S.S.: Osseous autografts I. Clinical responses to bone blend or hip marrow grafts. *J. Periodontol.*, 46: 515-521, 1975.

- 5) Froum, S.J., Thaler, R., Scopp, I.W. and Stahl, S.S. : Osseous autografts II. Histological responses to osseous coagulum-bone blend grafts. *J. Periodontol.*, 46 : 656-661, 1975.
- 6) Froum, S.J., Ortiz, M., Witkin, R.T., Thaler, R., Scopp, I.W. and Stahl, S.S. : Osseous autografts III. Comparison of osseous coagulum-bone blend implants with open curettage. *J. Periodontol.* 47 : 287-294, 1976.
- 7) Nilvéus, R., Johansson, O. and Egelberg, J. : The effect of autogenous cancellous bone grafts on healing of experimental furcation defects in dogs. *J. Periodontal Res.*, 13 : 532-537, 1978.
- 8) Morris, M.L. : The effect of marrow on the formation of "functionally" oriented collagen fibers. *J. Periodontol.*, 52 : 690-693, 1981.
- 9) Radell, B.L. and Cassingham, R.J. : A clinical evaluation of proplast as a periodontal implant material. *J. Periodontol.*, 51 : 110-115, 1980.
- 10) Schaffer, C.D. and App, G.R. : The use of plaster of Paris in treating intrabony periodontal defects in humans. *J. Periodontol.*, 42 : 685-690, 1971.
- 11) Bump, R.L., Salimeno, T., Hooker, S.P. and Wilkinson, E.G. : The use of woven ceramic fabric as a periodontal allograft. *J. Periodontol.*, 46 : 453-458, 1975.
- 12) Jarcho, M., Kay, J.F., Gumaer, K.I., Doremus, R.H. and Drobeck, H.P. : Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxylapatite interface. *J. Bioengineering*, 1 : 79-92, 1976.
- 13) Rejda, B.V., Peelen, J.G.J. and de Groot, K. : Tri-calcium phosphate as a bone substitute. *J. Bioengineering*, 1 : 93-97, 1976.
- 14) 小木曾誠 : Apatite 焼結体埋入による顎骨組織の経時的推移変化. *口病誌*. 45 : 170-221, 1978.
- 15) 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.
- 16) 山崎安晴, 大西正俊, 塩田重利, 小木曾誠, 一条尚 : 人口骨としての多孔質アパタイト I. 脛骨埋入実験. *口病誌*, 49 : 41-68, 1982.
- 17) Levin, M.P., Getter, L., Cutright, D.E. and Bhaskar, S.N. : Biodegradable ceramic in periodontal defects. *Oral Surg.*, 38 : 344-351, 1974.
- 18) Levin, M.P., Getter, L., Adrian, J. and Cutright, D.E. : Healing of periodontal defects with ceramic implants. *J. clinical Periodontol.*, 1 : 197-205, 1974.
- 19) Nery, E.B., Lynch, K.L., Hirthe, W.M. and Mueller, K.H. : Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J. Periodontol.*, 46 : 328-347, 1975.
- 20) Snyder, A.J., Levin, M.P. and Cutright, D.E. : Alloplastic implants of tricalcium phosphate ceramic in human periodontal osseous defects. *J. Periodontol.*, 55 : 273-277, 1984.
- 21) Baldock, W.T., Hutchens, L.H.Jr., McFall, W. T.Jr. and Simpson, D.M. : An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal osseous defects of two patients. *J. Periodontol.*, 56 : 1-7, 1985.
- 22) 茂手木義男, 大倉博顕, 宮下 元, 長谷川紘司, 堀口令一, 落合慶一, 新井 高, 中村治郎, 清水光雄, 山本玲子, 原 耕二 : 歯周外科手術における Synthograft® の応用. *日歯周誌*, 25 : 936-947, 1983.
- 23) 林 成忠, 木村喜保, 呉 啓俊, 米良豊常, 西原達次, 野口俊英, 木下四郎, 加藤一男 : サルの歯槽骨欠損部における Hydroxyapatite 移植の臨床的および組織学的研究. *日歯周誌*, 25 : 919-935, 1983.
- 24) 原 宜興, 岸 哲也, 古川猛士, 鄭 有仁, 長嶺尚子, 谷 和代, 吉村祥子, 赤峰昭文, 前田勝正, 青野正夫 : リン酸カルシウム系セラミックの歯周治療への応用 3. 実験的歯周炎への hydroxyapatite の応用 : *日歯周誌*, 26 : 542-555, 1984.
- 25) Rabalais, M.L., Yukna, R.A. and Mayer, E.T. : Evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects. 1. Initial six months results. *J. Periodontol.* 52 : 680-689, 1981.
- 26) Froum, S.J., Kushner, L., Scopp, I.W. and Stahl, S.S. : Human clinical and histologic responses to durapatite implants in intraosseous lesions. Case reports. *J. Periodontol.*, 53 : 719-725, 1982.
- 27) Moskow, B.S. and Lubarr, A. : Histological as-

- assessment of human periodontal defect after Durapatite ceramic implant. Report of a case. *J. Periodontol.*, 54 : 455-462, 1983.
- 28) Han, T., Carranza, F.A.Jr. and Kenney, E.B. : Calcium phosphate ceramics in dentistry : A review of the literature. *J. Western Soc. Periodontol. Periodontal Abstracts*, 32 : 88-108, 1984.
 - 29) Yukna, R.A., Harrison, B.G., Caudill, R.F., Evans, G.H., Mayer, E.T. and Miller, S. : Evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects. II. Twelve month reentry results. *J. Periodontol.*, 56 : 540-547, 1985.
 - 30) Yukna, R.A., Mayer, E.T. and Brite, D.V. : Longitudinal evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects after 3 years. *J. Periodontol.*, 55 : 633-637, 1984.
 - 31) Meffert, R.M. Thomas, J.R., Hamilton, K.M. and Brownstein, C.N. : Hydroxylapatite as an alloplastic graft in the treatment of human periodontal osseous defects. *J. Periodontol.*, 56 : 63-73, 1985.
 - 32) Kenney, E.B., Lekovic, V., Han, T., Carranza, F.A. Jr. and Dimitrijevic, B. : The use of a porous hydroxylapatite implant in periodontal defects. I. Clinical results after six months. *J. Periodontol.*, 56 : 82-88, 1985.
 - 33) R.C. キャンベル : 生物系のための統計学入門 第2版 培風館, 東京, 1981, 60-65.
 - 34) Kennedy, J.E. and Polson, A.M. : Experimental marginal periodontitis in squirrel monkeys. *J. Periodontol.*, 44 : 140-144, 1973.
 - 35) Caton, J.G. and Zander, H.A. : Primate model for testing periodontal treatment procedures : I. Histologic investigation of localized periodontal pockets produced by orthodontic elastics. *J. Periodontol.*, 46 : 71-77, 1975.
 - 36) Ellegaard, B., Karring, T., Davies, R. and Le, H. : New attachment after treatment of intrabony defects in monkeys. *J. Periodontol.*, 45 : 368-377, 1974.
 - 37) Ellegaard, B., Nielsen, I.M. and Karring, T. : Composite jaw and iliac cancellous bone grafts in intrabony defects in monkeys. *J. Periodontal Res.*, 11 : 299-310, 1976.
 - 38) West, T.L., and Brustein, D.D. : Freeze-dried bone and coralline implants compared in the dog. *J. Periodontol.*, 56 : 348-351, 1985.
 - 39) Aleo, J.J., De Renzis, F.A., Farber, P.A. and Verboncoeur, A.P. : The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. *J. Periodontol.*, 45 : 672-675, 1974.
 - 40) Dragoo, M.R. : Regeneration of the periodontal attachment in humans. Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, 95-126.
 - 41) Caton, J., Nyman, S. and Zander, H. : Histometric evaluation of periodontal surgery II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J. Clinical Periodontol.*, 7 : 224-231, 1980.
 - 42) Gottlow, J., Nyman, S., Karring, T. and Lindhe, J. : New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J. Clinical Periodontol.*, 11 : 494-503, 1984.
 - 43) 石川 烈, 林 成忠, 峯岸大造, 田中良彦 : 歯周治療におけるハイドロキシアパタイトの応用について, *the Quintessence*, 4 : 27-41, 1985.