歯科インプラントと生体骨組織との界面

－ 表面構造の影響 －

井上 孝*, 吉成正雄**, 鮎川保則***, 田中輝男****, 下野正基*

Dental Implant-bone Interface — Influence of the Surface Geometry —

Takashi INOUE*, Masao YOSHINARI**, Yasunori AYUKAWA***,
Teruo TANAKA**** and Masaki SHIMONO*

Key Words : Dental Implant, Bone Interface, Surface Geometry

オッセオインテグレーションは骨組織とインプラント体の結合状態を表わした言葉で学術的用語ではない。しかし、その現象は歯科インプラントの要といっても過言ではない。その要の獲得に多くの研究者が材料の表面の粗さの重要性を指摘している。異物である生体材料が、生体骨組織と共存するために生物・工学系の相互理解によるインプラントの共同研究は必須であり、ここでは骨組織と材料の界面について解説する。

1. 結 言

生体と材料が共存していく置換医療は、現代医学において欠かせないものとなった。歯科におけ

るインプラントもその例外ではなく、その臨床的成功は骨との安定な界面の形成にかかっている。現在使用されているインプラント材は、チタンまたはアパタイト系に淘汰され、オッセオインテグレーション (osseointegration) という概念のもとに成り立っている。このオッセオインテグレーションとは、Brånemark により提唱された造語で、インプラントが生活を営む骨組織と少しの軟組織の介在もなく接触し、その状態が持続していることと定義されたもので、後には生活を営む骨組織と荷重を受け機能しているインプラント表面との間の構造的かつ機能的結合と訂正された¹⁾。しかしながら、電子顕微鏡学的な検索が進むにつれ、光学顕微鏡学的には骨組織が直接チタンインプラントに接触しているように見える像も、実はチタンと生体の間には無定形構造物の層があるという報告が増えてきた^{2)~4)}。

ここでは、チタンインプラントと骨がどのように結合し、また様々な表面形状が界面の構造にどのように影響を与えるか実験データをふまえて考察する。

* 東京歯科大学 口腔科学研究センター・病理学講座 (〒261-8502 千葉県千葉市美浜区真砂 1-2-2)

Oral Health Science Center, Tokyo Dental College · Dept. of Pathology (1-2-2, Masago Mihama-ku, Chiba-shi, Chiba 261-8502)

** 東京歯科大学 口腔科学研究センター・歯科理工学講座 (〒261-8502 千葉県千葉市美浜区真砂 1-2-2)

Oral Health Science Center, Tokyo Dental College · Dept. of Dental Materials Science (1-2-2, Masago Mihama-ku, Chiba-shi, Chiba 261-8502)

*** 九州大学 歯学部 歯科補綴学講座 (〒812-0054 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1)

Dept. of Prosthetic Dentistry, Fac. of Dentistry Kyushu Univ. (3-1-1, Maidashi Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-0054)

**** 九州大学 歯学部・口腔解剖学講座 (〒812-0054 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1)

Dept. of Oral Anatomy, Fac. of Dentistry, Kyushu Univ. (3-1-1, Maidashi Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-0054)

2. 骨・チタン界面の形成過程

インプラント・骨界面の形成は、生体の創傷の治癒の中で起こる。インプラントを植立させるために骨に窩洞が掘られると、その部位は数時間以内に出血・凝固により血餅が高洞内を埋めつくし、創傷の治癒が始まる。次にこの血餅は浄化作用によりきれいにされることになる。この浄化は一般的に炎症性反応と呼ばれ、損傷を受けた組織、細胞の処理と創部に侵入した細菌の除去が白血球により行われる。このようにしてきれいになった創内には、毛細血管や線維芽細胞が出現し、組織修復の足掛かりができる。その後、線維芽細胞は骨芽細胞と呼ばれる骨組織を形成する能力を持つ細胞に分化し、骨芽細胞がインプラント表面に骨基質を沈着し石灰化するとオッセオインテグレーションが完成する⁵⁾。この創傷の治癒の中で獲得されるオッセオインテグレーションは、生体側の条件の他にインプラント材料・デザイン・表面形状などが複雑に関与する。しかし、いかに良好な生体条件に最適なインプラント材料が埋め込まれたとしても、インプラントの全周で骨と接触している訳ではない⁶⁾。

3. 骨・チタン界面の構造

3. 1 電子顕微鏡的構造

光学顕微鏡学的には軟組織の介在がないように見える骨とインプラントの界面も、電子顕微鏡学的には異なり、様々な報告がなされている。Listgarten et al³⁾はチタンに直接結合するのはコラーゲン細線維層であると報告し、Ayukawa et al²⁾、田中ら⁴⁾は免疫電顕的にチタン表面には50nm程度の無定形構造物が存在し、チタンが細胞や骨と接触するためにはプロテオグリカンの存在が必要であると報告した。図1aは約30nmのチタン薄膜が蒸着されたエポキシ樹脂をラットの大腿骨に植立し、一定期間後に動物を屠殺して電子顕微鏡標本を作製したものである。黒い帯状のものがチタン薄膜(Ti)で、薄膜に接して骨芽細胞(Ob)が観察される。チタン薄膜と骨芽細胞

図1 aはラット脛骨に埋められた30nmチタン薄膜コーティングインプラントの電子顕微鏡像で、bは30nmチタン薄膜コーティングインプラント上で線維芽細胞を培養したものの電子顕微鏡像。

Ti: チタン薄膜, Ob: 骨芽細胞,
Fb: 線維芽細胞

の間には一層無構造物が介在しているのが解る。また、図1bは同様のチタン薄膜(Ti)上に線維芽細胞(Fb)を培養したものの電子顕微鏡写真で、チタン薄膜と線維芽細胞の間には様々な間隙が見られる。

チタン表面に存在する無定形構造物のプロテオグリカンは、糖としてのグリコサミノグリカンに非コラーゲン性の蛋白質が結合したものである。この非コラーゲン性蛋白には幼若な骨芽細胞で産生されるオステオカルシンやオステオポンチンが含まれていることが証明されている⁷⁾。オステオカルシンは骨芽細胞の遊走能を高め、ハイドロキシアパタイトやカルシウムに親和的に結合する性質を持ち、オステオポンチンは骨芽細胞の細胞膜貫通蛋白であるインテグリンに結合してカルシウムと親和性を持つといわれている。

3. 2 チタンと骨・骨芽細胞との結合

無定形構造物中のオステオカルシンやオステオ

図2 チタンと骨の界面が存在する部位の可能性を模式化したもの。

骨 (Bone) と酸化チタン (TiO_2) の間が無構造層である。

Op: オステオポンチン, Oc: オステオカルシン, Ca: カルシウム,

$[\text{OH}]$ はブリッジOH基で, (OH) はターミナルOH基を示す

ポンチンは、チタン側でチタン表面の TiO_2 に結合しているカルシウムと結合し、組織側では骨芽細胞のインテグリンと結合してチタンと骨芽細胞を結合させ (図2-a)、骨芽細胞のない部では、無定形構造物層のオステオカルシンやオステオポンチンが骨や類骨のカルシウムと結合していると考えられる⁴⁾ (図2-b)。つまり、通常ではチタン表面の酸化物と周囲のタンパク質はpH 7では共に負に帯電し、互いに反発しあうはずであるが、2荷の正イオンである Ca^{2+} が両者の橋渡しをすれば両者は吸着することになる。

また、酸化チタンの表面を形成しているアナターゼの (001) 面とルチルの (110) 面からなる結晶面は、2種類の水酸基 (OH基) と結合していることが知られている。その一つは1個の Ti^{4+} と結合したターミナルOH基で、他の一つは2個の Ti^{4+} と結合しているブリッジOH基である。このうちターミナルOH基はpH 7付近では正の電荷を持つと考えられ負に電荷しているプロテオグリカンと結合しオッセオインテグレーションに関与している可能性もあることが報告されている⁹⁾ (図2-cおよびd)。

4. インプラント表面形状の細胞に及ぼす影響

4. 1 表面形状と細胞行動

細胞は基質上で経時的に変化する。培養実験では線維芽細胞をガラス上に播種すると、5分程度で多数の微絨毛が出て基質との間には薄い層板が

形成され、60分後には細胞質が放射状に伸長し、時間とともに平滑さを増しながら24時間では極性を持つ細長い形になる。この時、細胞と基質との間は完全に密着しているわけではない (図1)。必ず細胞と基質間には種々なる間隙があり、Brunette⁹⁾ は以下の4つを挙げている。

- ① Focal contacts (焦点接触): 細胞膜と基質の間隙が10nm程度
- ② Focal adhesions (局部接触): 細胞膜と基質の間隙が30-50nm程度
- ③ Extracellular matrix (細胞外基質接触): 細胞膜と基質の間隙が100nm以上
- ④ Hemidesmosome (半接着斑): 細胞膜と基質の間隙は20nm程度

中でも、焦点接触と局部接触では、その部位の細胞質にアクチン線維を含む微小線維束が存在し、細胞膜を架橋するインテグリン蛋白が細胞外基質接触に関与している。このような接着に関する細胞の動態 (性質) は表面形態により左右されることが知られている。例えば表面形状と石灰化の影響をみたものでは、Brunette et al¹⁰⁾ が溝を持つ表面性状は、微小環境を与えることで細胞の形質を変え、石灰化組織が作り出されるのに好条件であり、細胞が溝に沿って配列することは骨原性細胞を骨芽細胞に分化させる手助けとなると考察している。

著者らも、異なる表面形状を持つチタンディスクに対してヒト歯肉由来の線維芽細胞がどのように反応するかを調べた (図3a)。表面に機械研磨溝を持つチタンディスク (SD) には位相差顕

図3 培養線維芽細胞上に機械研磨溝と表面球状チタンを持つインプラントディスクを置き細胞の集簇像を観察した実験 (3a)。3b1は機械研磨溝を持つディスクの位相差顕微鏡像。3b2は同走査型電子顕微鏡像。3c1は表面球状チタンを持つディスクの位相差顕微鏡像。3c2は同走査型電子顕微鏡像。

顕微鏡下で細胞 (Cell) がディスクを取り囲むようにみられ (図3b-1), 走査型電子顕微鏡では細胞 (cell) がその溝に沿うように配列していた (Contact guidance: 図3b-2)。一方表面が粗なチタンディスク (PD) には, 位相差顕微鏡では細胞 (Cell) がディスクに垂直方向に配列する像がみられ (図3c-1), 走査型電子顕微鏡では細胞 (Cell) がディスクに対して自由方向に配列して細胞橋を形成することを報告した (Two center effect: 図3c-2)^{6), 11)}。

口腔内においてインプラントを機能させるためには, 強固なオッセオインテグレーションを獲得する必要がある。このオッセオインテグレーション獲得を左右する因子に, インプラントが植立された骨の状態, 外科技術, 滅菌技術さらにインプ

ラント植立後インプラントにかかる負荷のコントロールなどはもちろんだが¹⁾, インプラントの材料および表面性状も細胞の動態, 分化を変える可能性が大きく重要な要素とされ^{5), 6), 11)}, 多くの研究者が表面特性の検索の重要性を強調している^{6), 12)~14)}。

例えば, 異なる表面形状を持つチタンディスクに対する骨芽細胞様細胞の接着数を検索した実験では, 50 μm の大きさの Al_2O_3 粒をブラスティングした表面で有意に多くの骨芽細胞様細胞が接着することが報告されている。Keller et al¹⁵⁾も粗面のインプラントに有意に骨芽細胞様細胞が高いレベルで接着することを確認している。また, Martin et al¹⁶⁾は, 異なる表面形状を持つチタンインプラントに対して, 骨芽細胞様細胞の増殖と分化を評価し, 表面形状の規則正しさと表面粗さの両方が細胞分化と石灰化に影響を示し, 基質形成と高度のコラーゲン新生が粗面のインプラントにおいて有意に見られると述べている。Predecki et al¹⁷⁾は, 表面の粗さは血管と新生骨の侵入を許し骨沈着に重要な意義を持つと述べている。

Murray et al¹⁸⁾は, マクロファージの活性化による骨の吸収は表面形状と表面エネルギーにより影響され, 粗面は, 滑面に比べると約2倍の骨吸収を刺激し, 疎水性の高エネルギー表面ではさらに2.5倍であるとも述べている。

4. 2 表面形状とオッセオインテグレーション

4.1の表面形状と細胞行動では, オッセオインテグレーションの獲得に及ぼす表面形状の影響を考えた。しかし, 先にも述べたように骨とインプラントの界面は創傷の治癒過程で形成されるものであり, 観点を変えて考える必要がある。例えば, 機械加工型のインプラント (図4a-1) では, 骨皮質による強固な支持を期待するため直接接触させるようにねじ込み, その結果創傷の治癒の舞台となるインプラントと骨界面は数ミクロン単位の幅しかなく, 既存骨とのオッセオインテグレーションが重要となる (図4a-2)。一方, 表面にプラズマ加工されたインプラント (図4b-1) や, インプラント基体の表面に球状チタンが付着させてあるようなタイプのインプラント (図4c-1) では, インプラント基体からチタンの最表層まで数十か

図4 4aは機械研磨溝を持つチタンインプラント，4bはチタンプラズマ溶射されたインプラント，4cは表面球状チタンインプラント。1はインプラント表面の走査型電子顕微鏡像，2は研磨標本像，3はインプラント除去後の骨面の走査型電子顕微鏡像

ら数百ミクロンの創傷の治癒の舞台が獲得され，その間で新たに形成される骨がオッセオインテグレーションの主体となる(図4b-2, 4c-2)。実際にインプラント体を除去し，酵素処理を加え骨界面を走査型電子顕微鏡でみるとその形態もかなり異なり機械研磨溝を持つインプラント(図4a-3)では大きな孔が，プラズマ溶射されたインプラントでは小さな孔が(図4b-3)みられる。これは，血管結合組織の介在を意味する孔である。表面球状チタンを持つものでは球状チタン間に陥合した骨でインプラント体を除去することはできない(図4c-3)。このように創傷の治癒の中での界面形成に加え，前述の表面形状が大かれ少なかれ影響を及ぼすことになる。

4.3 表面形状と硬組織

このようにして獲得されたオッセオインテグレーションに対して，多くの研究が骨の結合形態，引き抜き抵抗試験など比較をし，様々な結論を導い

てきた^{3), 10), 11), 19)~25)}。しかしながら，研究されている表面についてのデータは様々で統一された見解はなく，インプラントの表面にどのようにして組織界面が形成されるのかを結論づけることは極めて難しい。なぜなら，植立時から組織界面が形成されるまでの時間軸を細かに検索することは不可能に近いからである。また，時間軸の一時点を見ることも簡単ではない。インプラントと組織界面の構造を正しく検索するためには金属と生体組織の間に生ずる様々なアーティファクト発生の可能性が大きいためである(図1a)。さらに，インプラントの研究で対象となる動物にしても，イヌ，ネコ，サル，ラット，ウサギ，ヒヒ，ヒトなど様々で，それぞれ分化発育程度も異なり，軟骨や骨を作りやすい動物もいれば，作りにくい動物もいる。インプラント植立部位にしても下顎，上顎，顔面頭蓋骨，大腿骨，脛骨，膝関節さらには皮質骨・海綿骨などに多岐に渡り，それぞれの部位では発生が異なれば治癒も異なる。材料にしてもチタン，チタン合金，ハイドロキシアパタイト，アルミナ，コバルト・クロム合金，ステンレス鋼など様々で，これに年齢や性素因などを含めると，これらの中で無数の因子の組み合わせができて，それを実験として比較することは膨大な仕事となり，一つ一つの実験結果をヒトに当てはめることなどは極めて難しいことになる。

このような困難な研究状況ではあるが，徐々に統一見解が出され始めている。電解研磨された表面は，インプラントと骨の結合を得るには平滑すぎ，骨に植立されると軟組織によって被包されとの報告がある。表面が粗面のインプラントは骨とインプラント結合が見られるが，滑面インプラントでは線維性の被包が増加し，オッセオインテグレーションが表面の粗さの増加と関係があるとの報告もある⁹⁾。つまり，単なる機械研磨などに比べると，プラズマ溶射なり，酸化アルミナによるブラスティング処理なり表面を処理することで骨結合がさらによくなることが知られており，粗面であればあるほど実験的に剪断強さが増加するとの報告も多い^{19), 26)~28)}。また，組織との反応は表面の粗さの程度のみならず，表面構造の配列状態が重要であることも示唆されている²⁹⁾。さらに，

図5 ハイドロキシアパタイト系のインプラントを犬顎骨に移植したものの研磨標本(5a)と除去後の骨面の走査型電子顕微鏡像(5b)。

骨芽細胞を滑面, 粗面, 球状表面体で培養すると, 滑面に比べて粗面, 球状表面上で培養した細胞がより多くのコラーゲンの新生と石灰化を示したとの報告もある³⁰⁾。Boyan et al³¹⁾は, 異なる表面粗さへの反応は, 培養細胞(軟骨細胞)の成熟分化度により異なるとも述べている。

Wilke et al³²⁾は, 6つの異なる表面構造を持つスクリーインプラントを骨に植立し, 除去時のトルクについて検索し, 表面の粗さと化学処理が界面の剪断力に強大な影響をもたらしていることを見いだした。また, Gross et al³⁰⁾は, 引っ張り試験と組織学の結果から, インプラントを通して伝わる力はインプラントが生体活性型か, インプラントと組織の間で十分な結合を得ることが可能な粗面でのみ可能となると結論している。そして, 滑面では荷重を伝達できず, インプラントの周りに骨欠損を助長することになると述べた。Cohen³³⁾は, 3つの異なる表面を持つコバルト・クロム合金スクリーを比較し, 除去トルクはいずれにおいても粗面のもので最も高く, 組織学的にもある程度の垂直方向への骨接触も観察されたと述べている。Thomas and Cook³⁴⁾は, ポリメチルメタクレイト, カーボン, チタン, アルミナから作られたインプラントを比較検討し, 押し出し試験では, すべてのサンプル間で有意差を認めなかったが, 犬の大腿骨に植立された例では, 32週間後に表面が粗面となるほど除去するためのトルクが増加していたと報告している。

5. アパタイトインプラントとブラスティングされたチタンインプラントの比較

ハイドロキシアパタイト系のインプラントも骨組織と直接結晶構造が連続して結合する点で注目を集めている。図5aにアパタイトが蒸着されたインプラントをビーグル犬に植立したものの研磨標本を示す。黒い部分がチタンでその上に密度の異なる薄黒部がみえる。この部分がアパタイトがコーティングされた部位で骨組織と強固に結合している像が見られる。図5bは酵素処理をした後, インプラントを除去してその表面を走査型電子顕微鏡にて観察したもので, アパタイトと骨の結合はチタンよりも早期に, その量も多く獲得されることを証明している(図4a3, 4b3と比較)。Carlsson et al³⁵⁾は, 滑面のものとして機械研磨チタンインプラント, 粗面の物として Al_2O_3 ブラストチタンインプラントとHAコーティングインプラントを人の関節に挿入した実験を行い, 滑面のインプラントは, しばしば線維性結合組織により被包されていたが, 粗面のインプラントは骨結合を示し, HAコーティングと Al_2O_3 ブラスティングの間には有意な差は無かったと述べている。Block et al³⁶⁾は, 酸化アルミナによりブラスト処理されたインプラントとHAコーティングインプラントを比較し, Carlssonの研究に反して, ブラストされたインプラントと比べると, HAコーティングインプラントにおいて骨との接触率が高いと述べている。Cook et al²³⁾もHAコーティングと同様100 μm の大きさに酸化アルミナによりブラストされたチタンインプラントを比較し同様の結果を示している。

このように多くの研究者がHAコーティングかチタンにブラスト処理をした表面が, ほかのものより多くの骨形成が誘導されることを明らかにしてきた^{37)~40)}。その一方で, Kirsch et al⁴¹⁾は, 機械研磨, サンドブラスト, チタンプラズマ溶射インプラントに対する骨形成量を比較検討し, プラズマ溶射インプラントは, 7日後にインプラント表面に骨接触を認めたが, サンドブラストをしたインプラントでは11日と若干の食い違いの意見

を述べている。ごく最近では直径が3.7mm, 長さが6~7mm, 山の高さが0.6mmの異なる表面形状を持つネジ切りインプラントを兎に植立して比較したものがあり, 25 μ mと250 μ mの大きさのAl₂O₃を用いたブラストインプラントでは統計学的に有意差を持って, 25 μ m粒で作られたインプラントに多くの骨結合が見られたと述べ, ブラスト表面は1.1から1.5 μ mの平均的粗さを持つものが強固な骨結合を与えるものであると結論している^{29), 42)~45)}。

アパタイトコーティング表面を持つインプラントの現状での問題は, アパタイトの経時的溶出やチタン面からの離れといった問題があるが, ブラスト処理したものよりさらに良いオッセオインテグレーションを得られる可能性があることから, カルシウムイオン注入やチタン表面へのリン酸カルシウム薄膜沈着技術が将来開発されることが期待される。

6. 展 望

僅かな研究者が, 骨の結合率に表面の粗さが重要ではないと述べているものの⁴⁶⁾, インプラントと骨界面に関連した粗面の持つ意味は確立されつつあり, 表面形状は, 骨結合, 石灰化などに大きな影響を与えることが明らかとなりつつある^{47)~51)}。

現在我々もビーグル犬によるオッセオインテグレーションの実験を行っている。まず歯を抜歯後, 骨の治癒を待ってから種々なる形状, デザイン, 材質を持つインプラントを植立して, よりよいオッセオインテグレーションの獲得できる表面の探索を行っている(図6)。

しかし, いかに良好なオッセオインテグレーションが獲得されたとしても, インプラント自体は変化しない。しかし, 生体は時事刻々と変化し年を取れば, 病気にもなる。その時にインプラントと組織界面が変わらないという保証はなにもない。今後21世紀に向けて, 組織適合型インプラントの開発が期待される。すなわち, 表面の形状および性状を改質することにより, 早期の結合が得られ恒久的にその状態が持続するような骨接触部, 強い接着を持つ結合組織接触部, プラークがつきに

図6 左より, プラズマ溶射, 機械研磨, プラスティングそして右端がアパタイトコーティングのインプラントを犬下顎骨に埋入した写真

くく, かつ接着力の強いような上皮組織接触部位を持ち, 生体のいかなる状態にも対応できるインプラントの開発が望まれている。

最後に, 図4a3, 4b3および5bは神奈川歯科大学口腔解剖学 岸 好彰助教授との共同研究である。
(1998-4-22 受理)

文 献

- 1) T. Albrektsson, P-I. Branemark, H-A. Hansson, J. Lindstrom ; *Acta Orthop Scand*, **52**, 155 (1981)
- 2) Y. Ayukawa, F. Takeshita, T. Inoue, M. Yoshinari, Y. Ohtsuka, K. Murai, M. Shimono, T. Suetsugu, T. Tanaka ; *Acta Histochem. Cytochem*, **29**, 243 (1996)
- 3) M. A. Listgarten, D. Buser, S. G. Steinemann, K. Donath, N. P. Lang, H. P. Weber ; *J. Dent. Res.*, **71**, 364 (1992)
- 4) 田中輝男, 鮎川保則, 竹下文隆, 吉成正雄, 井上孝, 大塚芳郎, 末次恒夫, 下野正基 ; 日歯医学会誌, **17**, 94 (1998)
- 5) 井上 孝 ; 日歯医学会誌, **17**, 118 (1998)
- 6) T. Inoue, Y. Abiko, T. Kaku, M. Shimono ; *Bull Kanagawa Dent. Coll*, **22**, 125 (1994)
- 7) D. C. Smith ; *Int. J. Prosthodontics*, **6**, 106 (1993)
- 8) M. Yoshinari ; *Biomaterial*, **70** (1997)
- 9) D. M. Brunette ; *Int. J. Oral Maxillofac Implants*, **3**, 231 (1988)
- 10) D. M. Brunette, B. Chehroudi, T. R. L. Gould ; *Tissue Integration in Oral, Orthopedic and Maxillofacial Reconstruction*. p. 21 (Quintessence Books, 1990)

- 11) T. Inoue, J. E. Cox, R. M. Pilliar, A. H. Melcher ; *J. Biomed Mater. Res.*, **21**, 107 (1987)
- 12) B. Kasemo, J. Lausmaa ; *J. Biomed Mater. Res.*, **22**, 145 (1988)
- 13) D. Muster, B. Demri, M. Hage Ali ; *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering. Part A : Materials Volume 1.* (Macel Dekker, 1995)
- 14) D. C. Smith, R. M. Pilliar, R. Chernenky ; *J. Biomed Mater. Res.*, **25**, 1045 (1993)
- 15) J. C. Keller, C. M. Stanford, J. P. Wightman, R. A. Draughn, R. Zaharias ; *J. Biomed Mater. Res.*, **28**, 939 (1994)
- 16) J. Y. Martin, Z. Schwartz, T. W. Hummert, D. M. Schraub, J. Simpson, Jr J. Lankford, D. D. Dean, D. L. Cochran, B. D. Boyan ; *J. Biomed Mater. Res.*, **29**, 389 (1995)
- 17) P. Predecki, J. E. Stephan, B. A. Auslaender, V. L. Mooney, K. Kirkland ; *J. Biomed Mater. Res.*, **6**, 375 (1972)
- 18) D. W. Murray, T. Rae, N. Rushton ; *J. Bone Join Surg.*, **71-B**, 632 (1989)
- 19) L. Carlsson, T. Rostlund, B. Albrektsson, T. Albrektsson ; *Int. J. Oral Maxillofac Implants*, **3**, 21 (1988)
- 20) B. Chehroudi, T. R. L. Gould, D. M. Brunette ; *J. Biomed Mater. Res.*, **24**, 1203 (1990)
- 21) B. Chehroudi, T. R. L. Gould, D. M. Brunette ; *J. Biomed Mater. Res.*, **25**, 387 (1991)
- 22) D. L. Cochran, J. Simpson, H. P. Weber, D. Buser ; *Int. J. Oral Maxillofac Implants*, **9**, 289 (1994)
- 23) S. D. Cook, K. A. Thomas, J. F. Kay, M. Jarcho ; *Clinical Orthop. Related Res.*, **232**, 225 (1986)
- 24) J. McCollum, R. B. O'Neal, W. A. Brennan, T. E. Van Dyke, J. A. Horner ; *J. Periodontol.*, **63**, 802 (1992)
- 25) G. G. Niederauer, T. D. McGee, T. D. Kelle, R. S. Zaharias ; *Biomaterials*, **15**, 342 (1994)
- 26) H. Hahn, W. Palich ; *J. Biomed Mater. Res.*, **4**, 571 (1970)
- 27) H. Kiefer, L. Chaes, C. Burri, K. Kuglmeier ; *Biological and Biomechanical performance of biomaterials.* p. 471 (Elsevier Science Publishers, 1986)
- 28) D. M. Robertson, L. St Pierre, R. Chahal ; *J. Biomed Mater. Res.*, **10**, 335 (1976)
- 29) A. Wennerberg, T. Albrektsson, J. Lausmaa ; *J. Biomed Mater. Res.*, **30**, 251 (1996)
- 30) U. Gross, C. H. Muller-Mai, Th. Fritz, Ch. Voigh, W. Knarse, H. J. Schmitz ; *Clinical Implant Materials. Advances in Biomaterials.*, p. 303 (Elsevier Science Publishers, 1990)
- 31) B. D. Boyan, T. W. Hummert, D. D. Dean, Z. Schwartz ; *Biomaterials*, **17**, 137 (1996)
- 32) H-J. Wilke, L. Claes, S. Steinemann ; *Clinical implant Materials. Advances in Biomaterials.*, p. 309 (Elsevier Science Publishers, 1990)
- 33) J. Cohen ; *J. Bone Joint Surg.*, **43-A**, 687 (1961)
- 34) K. A. Thomas, S. D. Cook ; *J. Biomed Mater. Res.*, **19**, 875 (1985)
- 35) L. Carlsson, L. Regner, C. Johansson, M. Gottlander, P. Herberts ; *J. Orthop Res.*, **12**, 274 (1994)
- 36) M. S. Block, J. N. Kent, J. F. Kay ; *J. Oral Maxillofac Surg.*, **45**, 601 (1987)
- 37) J. E. Feighan, V. M. Goldberg, D. Davy, J. A. Parr, S. Stevenson ; *J. Bone Join Surg.*, **77-A**, 1380 (1995)
- 38) K. Gotfredsen, E. Hjorting-Hansen, J. S. Jensen, A. Holmen ; *Clin. Oral Imp. Res.*, **3**, 77 (1992)
- 39) K. Gotfredsen, A. Wennerberg, C. Johansson, L. Teil Skovgaard, E. Hjorting-Hansen ; *J. Biomed Mater. Res.*, **29**, 1223 (1995)
- 40) M. Wong, J. Eulenberger, R. Schenk ; *Hunziker*, **29**, 1567 (1995)
- 41) A. Kirsch, K. Donath ; *Fortschr Azhnarztl Implantol*, **1**, 35 (1984)
- 42) A. Wennerberg, T. Albrektsson, T. Andersson, J. J. Krol ; *Clin Oral Imp. Res.*, **6**, 24 (1995)
- 43) A. Wennerberg, T. Albrektsson, B. Andersson ; *J. Mater. Sci. Materials in Medicine*, **6**, 302 (1995)
- 44) A. Wennerberg, T. Albrektsson, C. Johansson, B. Andersson ; *Biomaterials*, **17**, 15 (1996)
- 44) A. Wennerberg, T. Albrektsson, B. Andersson ; *J. Oral Maxillofac Implants*, **11**, 38 (1996)
- 46) J. W. Freeman ; *South Carolina Dent Journal*, **10** (1972)
- 47) K. T. Bowers, J. C. Keller, B. A. Randolph, D. G. Wick, C. M. Michaels ; *Int. J. Oral Maxillofac Imp.*, **7**, 302 (1992)
- 48) A. Klinger, D. Steinberg, M. Kohavi, M. N. Sela ; *J. Biomed Mater. Res.*, **36**, 388 (1996)
- 49) C. Larsson, P. Thomsen, J. Lausmaa, M. Rodahl, B. Kasemo, L. E. Ericson ; *Biomaterials*, **15**, 1062 (1994)
- 50) C. Larsson, P. Thomsen, B-O. Aronsson, M. Rodahl, J. Lausmaa, O. B. Kasem, L. E. Ericson ; *Biomaterials*, **17**, 605 (1996)
- 51) D. Buser, R. K. Schenk, S. Steinemann, J. P. Fiorellini, C. H. Fox, H. Stich ; *J. Biomed Mater. Res.*, **25**, 889 (1991)