

広大科研

19

17390519

0100453490

オッセオインテグレーションの喪失予知システムの開発

課題番号：17390519

平成17年度～平成18年度科学研究費補助金

(基盤研究 (B)) 研究成果報告書

平成19年5月

研究代表者 赤川 安正

広島大学図書

学大学院 医歯薬学総合研究科 教授

0100453490





オッセオインテグレーションの喪失予知システムの開発

平成 17 年～平成 18 年度科学研究費補助金

(基盤研究 (B))

成果報告書

(課題番号 17390519)

はしがき

オッセオインテグレーションの喪失はインプラントの失敗を意味する。それゆえ、より確実なインプラント治療を広く定着させるためには、オッセオインテグレーションの喪失を予知できることが極めて重要である。オッセオインテグレーションの喪失はインプラントの動揺度や X 線写真での骨の吸収などにより判定されているが、実際、これらの検査で異常が認められた時にはすでにオッセオインテグレーションは喪失している。現在のところ、オッセオインテグレーションの喪失を予知できるシステムは世界中でどこでも開発されておらず、できるだけ早期に喪失リスクを予知することが強く望まれている。

最近の研究成果から、インプラントに荷重を加えた場合、皮質骨の変化に先行して海綿骨の骨密度が増加し、骨接触率が増えることなどが示されている。そこで我々は、海綿骨に生じる変化を事前に把握できればオッセオインテグ



レーションの喪失を予知でき、さらに、それを回避できるのではないかと着想した。

本研究では、過大な荷重負荷によりオッセオインテグレーションの喪失を実験的に起こさせ、その過程で起こる海綿骨の形態的变化を蛍光色素を用いたりモデリング活性および組織学的に評価し、これに基づいてオッセオインテグレーションの喪失過程の一端を明らかにすることとした。

研究組織

研究代表者 赤川安正（広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

研究分担者 久保隆靖（広島大学病院・講師）

研究分担者 是竹克紀（広島大学大学院医歯薬学総合研究科・助手）

研究分担者 田口 明（広島大学病院・講師）

研究経費

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	9,900,000	0	9,900,000
平成18年度	5,600,000	0	5,600,000
総計	15,500,000	0	15,500,000

研究発表

（1）学会誌等

（2）口頭発表

- ① 2005.8.10. Bangkok, The 4th Biennial Congress of asian Academy of Prosthodontics(AAP), Initial bone loss of early loaded implants with different modified surface. Matsuura, A., Hirata, M., Kubo, T. and Akagawa, Y.

- ② 2005.10.1. 新潟市、日本補綴歯科学会第114回学術大会ポス

ター発表 表面正常の異なるインプラントへの早期負荷が骨頂部骨吸収に与える影響 久保隆靖、平田誠、赤川安正、本川博宗、岡根秀明

- ③ 2005.10.15. Seoul, The 1st Congress of Asian Academy of Osseointegration, Torque and Bone Quality as Evaluated by Intraoral Radiographs. Hirata, M., Koretake. K., Miyamoto, Y. and Akagawa, Y.
- ④ 2006. 4.28. Seoul, The 3rd Congress of Korean Academy of Prosthodontics, Influence of osteogenic differentiation period on bone formation by a tissue- engineered hybrid artificial bone, Doi, K., Kubo, T., Hayashi, K., Matsuura, A., Morita, K. And Akagawa, Y.
- ⑤ 2006.6.29. Brisbane, The 84th International Association for dental Research, New assessment of insertion torques of implant by intra-oral radiograph, Hirata, M., Koretake, K., Taguchi, A., Tanimoto, K. and Akagawa, Y.
- ⑥ 2006.10.28. Osaka, The 2nd Asian Academy of Osseointegration, , New assessment of insertion torques of implant by intraoral radiograph, Koretake, K., Hirata, M., Taguchi, A., Tanimoto, K. and Akagawa, Y.

(3) 出版物

- ① Interface betweenbone tissue and implants with different modified surfaces at different earlytimes of loading: Ahistologic and histomorphometric analysis in beagle dogs. Clinical Oral

Implant Research, in Press, 2007

オッセオインテグレーションの喪失予測システムの開発
に関する実験的研究

An Experimental Study on the Influence of Excessive Static and
Dynamic Loading on the Bone Tissue around Implant

緒言

オッセオインテグレートドインプラントは、歯列の欠損から生じる口腔機能ならびに審美性の低下を回復する目的から、補綴治療のオプションのひとつとして用いられている。オッセオインテグレーションは、顎骨に埋入されたインプラントが軟組織の介在なく骨と直接接触する状態であると定義され、この成立と維持がインプラント治療の長期的成功に必須であると認識されている¹⁻³⁾。このオッセオインテグレーションの成立に関係する因子として、Albrektsson ら⁴⁾は①インプラントの材料、②インプラントの形状、③インプラントの表面性状、④埋入部位の骨の状態、⑤手術術式および⑥荷重状態の6つを挙げている。また、荷重状態は成立したオッセオインテグレーション

ョンが長期に維持されるために最も重要な因子とされ^{5,6)}、この荷重状態が不適切な場合にはインプラント周囲骨に応力が集中し、その結果、骨の微小損傷が惹起されて骨吸収が生じ、オッセオインテグレーションが喪失すると考えられている⁵⁻¹²⁾。

この不適切な荷重は臨床的には静的荷重と動的荷重の2つに大別できる⁶⁾。静的荷重は、印象採得の不備や技工過程上で生じる鑄造ひずみなどの原因により¹³⁾製作された不適合な上部構造がインプラントに装着されることで生じる持続的な力であるとされる¹⁴⁾。一方、動的荷重は、上部構造装着時の咬合調整不良やインプラントと残存歯の連結¹⁵⁾あるいは経時的な咬合の変化などにより断続的にインプラントに加わる過大な咬合力であると言われている⁶⁾。これまで、静的荷重がインプラント周囲骨に及ぼす影響に関しては、Nataliら¹⁶⁾が不適合上部構造の装着によりインプラント頸部の周囲骨に応力が集中することを有限要素解析を用いて明らかにしている。一方、Carrら¹⁷⁾は、上部構造とアバットメントの間に平均345 μm の間隙をもつ不適合な上部構造をインプラントにスクリュー固定した際、インプラント周囲骨に変化がないことを動物実験で確認している。一方、動的荷重がインプラント周囲骨に及ぼす影響に関しては、Hoshawら⁹⁾がイヌに埋入したインプラントにTriangle waveformを用いて最大300 Nの周期的な張力を負荷すると皮質骨が吸収したと報告しているものの、このような周波数による荷重は生体では起こりえないので、この結果を

直接臨床に反映させることはできない。また、実際にイヌのインプラントに高い咬合を付与した上部構造を装着し、負荷と無負荷の場合とでインプラント周囲骨を評価した Heitz-Mayfield ら¹⁸⁾の報告では、両荷重状態で組織学的な差はみられなかったとされている。これらにみられるように、従来の静的荷重と動的荷重に関する研究は荷重条件やそれによって得られた結果が異なるため、それぞれの研究結果を単純に比較することはできない。それゆえ、未だにこれら不適切な荷重状態がインプラント周囲骨に及ぼす影響に関しては統一した見解は得られておらず、静的荷重と動的荷重をできるだけ同じ条件とした荷重負荷モデルを用いて、インプラント周囲骨の変化を評価することが待ち望まれている。

1998 年のトロント会議におけるインプラントの成功の基準のひとつに「機能下 1 年以降の経年的なインプラント周囲の垂直的骨吸収は 0.2 mm 以下である」ことが挙げられ¹⁹⁾、多くの研究者はインプラント頸部の皮質骨の吸収がオッセオインテグレーション喪失の前兆となると評価している²⁰⁻²³⁾。その一方で、インプラントに荷重を負荷した際、皮質骨の吸収が認められない場合でも海綿骨の骨密度が増加することが、最近の X 線学的評価²⁴⁾や組織学的評価²⁵⁻²⁷⁾から明らかにされている。それゆえ、皮質骨の吸収に先立って海綿骨に何らかの変化が生じている可能性が考えられるものの、*in vivo*において不適切な荷重により生じるインプラント周囲海綿骨の変化に着目した研究はほとんどないため、その変化の詳細は不明のままである。

本研究では、オッセオインテグレーションの長期維持を果たすために、オッセオインテグレーションを喪失させるメカニズムの一端を解明することを目指した。そこで、まずインプラント埋入時からオッセオインテグレーションが成立するまでのインプラント周囲骨の変化を検討し、次いで、オッセオインテグレーション成立後に可及的に条件を同じくした過大な静的および動的荷重をインプラントに負荷することにより生じるインプラント周囲の皮質骨と海綿骨の変化を組織学および組織形態計測学的に検討した。

材料および方法

本研究は広島大学自然科学研究支援開発センター生命科学
研究支援分野ライフサイエンス教育研究支援部動物実験施設
内規および利用細則に従って行った。

実験 1：インプラント埋入時からオッセオインテグレーション
が成立するまでのインプラント周囲骨の変化の検討

インプラントは、純チタン製機械研磨スクリューインプラント（Brånemark® Mk III，直径：3.75 mm，長さ：7.00 mm，ノーベルバイオケアジャパン株式会社，東京）を選択した。

実験動物には、本研究開始 1 ヶ月前より個別のケージ内で飼育し、環境に十分順応させた雄性ビーグル成犬 3 頭を用いた。

動物の上下顎小白歯（P₁，P₂，P₃，P₄）を抜歯，12 週の治癒

を待って無歯顎部を準備した。インプラントの埋入は次の操作により行った。まず，下顎無歯顎部の歯肉頬移行部に近遠心的な切開を加えて粘膜骨膜弁を剥離，骨面を露出後，すべての埋入部で頬舌側の骨レベルが同じになるよう骨整形を行った。そして，下顎第一大臼歯近心隣接面から近心方向へ 10 mm 離れた位置を起点に，インプラントの中心間の距離が 16 mm と 10 mm になるようそれぞれのインプラントの埋入位置を決定した後，動物別に製作したサージカルガイドを用いて各インプラントが平行となるよう片顎に 3 本ずつ埋入した（図 1）。インプラントの埋入は Brånemark システムの埋入プロトコルに従って行った。すなわち，埋入窩の形成は外部からの注水可能なエンジンにて滅菌生理食塩水を注水しながら毎分 2000 回転以下の回転数で間歇的に行い，さらにその操作中はシリンジにて十分な生理食塩水を外部から注水して骨窩の冷却に努めた。インプラントの埋入終了時にインプラントのショルダー部は頬舌側骨レベルと一致させた。その後，カバースクリューを装着して粘膜骨膜弁を縫合した。この埋入操作を，まず下顎右側無歯顎部に，次いでその 8 週後に左側無歯顎部にも行った。左側インプラントの埋入直後，蛍光色素（カルセイングリーン，Sigma Chemical Co., St. Louis）²⁵⁾ 25 mg/kg を静脈内注射し，リモデリング活性の指標とした。以上の外科的処置はいずれも 0.1 ml/kg の塩酸メデトミジン 1.0 mg/ml（ドミトール[®]，明治製菓株式会社，東京）筋肉内注射および 0.5 ml/kg のペントバルビタールナトリウム 50 mg/ml（ネンブタール[®]，大日本製薬株式

会社，大阪）静脈内注射による全身麻酔とエピネフリン含有 2%リドカイン（キシロカイン[®]，藤沢薬品工業株式会社，富山）による局所麻酔を併用して行った。また，処置後の 1 週間は 2.0 ml/day のエンロフロキサシン製剤（犬猫用バイトリル[®] 2.5 %，バイエル株式会社，東京）を筋肉内注射し，感染防止に努めた。

右側の埋入から 12 週後，動物に 5000 単位のペントバルビタールナトリウムおよび血液凝固阻止薬（ノボ・ヘパリン注 1000，日本ヘキスト・マリオン・ルセル，東京）を静脈内注射，次いで総頸動脈から 10%中性緩衝ホルマリンを注入して灌流固定を行った。その後，下顎骨を一塊として摘出，正中にて切断してインプラントを含む骨ブロックを得た。このブロックを 10 % 中性ホルマリンに 48 時間浸漬，その後アルコール系列にて脱水，減圧下でブロック内に光重合メタクリレート系樹脂（Technovit[®] 7200VLC，Exakt Apparatebau，Kulzer）を十分に浸透させた後光重合装置（MG-5000，Exakt Apparatebau，Hamburg）を用いて光重合を行い，レジン包埋を完了した。得られたレジンブロックを硬組織薄切機（硬組織用カッティングマシン BS-5000，Exakt Apparatebau，Hamburg）を用いて各インプラント中央部からインプラント長軸に対して近遠心方向に半切し，各ブロック表面から順に薄切して約 200 μm 厚の切片を得た。これらの切片を超精密硬組織研磨機（マイクログラインディングマシン MG-4000，Exakt Apparatebau，Hamburg）を用いて約 70 μm 厚に研磨し，非脱灰研磨標本とした。次いで，

落射照明装置が組み込まれた蛍光顕微鏡（AX70-Macro，オリンパス株式会社，東京）を用いてリモデリング活性を蛍光観察し，その後に同標本にトルイジンブルー染色を施し，光学顕微鏡（AX70-Macro，オリンパス株式会社，東京）を用いて観察を行った。

実験 2：実験的な静的および動的荷重により生じるインプラント周囲骨の変化の検討

インプラントは，純チタン製機械研磨スクリューインプラント（Brånemark[®] Mk III，直径：3.75 mm，長さ：7.00 mm，ノーベルバイオケアジャパン株式会社，東京）を選択した。

実験動物には，本研究開始 1 ヶ月前より個別のケージ内で飼育し，環境に十分順応させた雄性ビーグル成犬 8 頭を用いた。

動物 8 頭のうち，4 頭を静的荷重群（以下 S 群），残り 4 頭を動的荷重群（以下 D 群）に分類，さらに，実験 1 の 3 頭を対照群（以下 C 群）とした。S 群および D 群においては，実験 1 と同様の手順で動物の上下無歯顎部を準備し，実験 1 と同様のプロトコルに従って下顎両側にインプラントをそれぞれ 3 本ずつ埋入した。なお，D 群では同時に上顎にもインプラントを埋入した。すなわち，上顎第一大臼歯近心から近心方向へ 5 mm 離れた位置を起点とし，インプラントの中心間の距離がそれぞれ 12 mm になるようインプラントを無歯顎部に片側 2 本ずつ埋入した。インプラント埋入時点を 0 週とし，その 10 週後にすべてのインプラントに 2 次手術を行いヒーリングキャ

ップを装着した。S 群と D 群では下顎両側の遠心インプラントを，C 群では荷重を負荷していない埋入 12 週後の下顎遠心インプラントをそれぞれ評価することとした。

すべての上部構造は，金銀パラジウム合金（キャストウエル[®]M.C.，GC，東京）を用いて製作した。S 群および D 群の下顎遠心インプラントには，近心に延長するカンチレバー型の上部構造を装着した。一方，S 群の近心および中央インプラントには，ステンレス製スクリューと 2 個の六角ねじからなる荷重負荷装置が組み込まれた上部構造を装着した。次いで，このスクリューを沈下させ，遠心インプラント中央から 10 mm 近心のカンチレバー部に 250 μm の沈下量を生じさせた。同時に，六角ねじを締めることでスクリューの緩みを排除した（図 2）。このようにして，持続的な沈下量を与えることで遠心インプラントに静的荷重を付与した。一方 D 群では，上顎のインプラントに中心咬合位より 250 μm 高い咬合を付与した上部構造を装着し，動物が中心咬合位まで噛みこむことで下顎遠心インプラントのカンチレバー部に静的荷重と同等の沈下量を生じさせた（図 3）。このようにして断続的な沈下量を与えることで遠心インプラントに動的荷重を付与した。これらの操作により静的荷重と動的荷重を同等の沈下量で規定することで，両者の荷重条件を可及的に同じとした。

上部構造は，S 群および D 群の右側ではインプラント埋入 12 週後に，左側では 20 週後にそれぞれ装着し，インプラント埋入から 24 週後に動物を屠殺することで，負荷期間 4 週と 12

週を設定した。また、左側の上部構造装着時にカルセイングリーンを動物に静注し、リモデリング活性の指標とした(図4)。以上の外科的処置は、実験1と同様の全身麻酔と局所麻酔により行った。餌としての軟性飼料はイヌ用固形飼料を温水に浸漬して調製し、術後から観察期間終了まで与えた。また、術後1週間は実験1と同様に2.0 ml/dayのエンロフロキサシン製剤を筋肉内注射し、感染防止に努めた。上部構造装着後から実験終了までインプラント周囲軟組織および残存歯のブラッシングを週3回行い、良好な口腔衛生状態の維持に努めた。

インプラント埋入から24週後に実験1と同様の方法で動物を灌流固定後、インプラントを含む組織ブロックを採取し、非脱灰研磨標本を作製した。これらの標本を蛍光観察した後、トルイジンブルー染色を施して光顕的にも観察した。

その後、これらの蛍光色素染色標本と組織標本を顕微鏡デジタルカメラ(DP71, オリンパス株式会社, 東京)にてパーソナルコンピュータ(Dimension 5150C, Dell Inc., Texas)に取り込み、画像解析ソフト(Image J, National Institutes of Health, Bethesda)を用いて組織形態計測を行った。すなわち、インプラントのショルダー部を埋入時の皮質骨レベルとみなして、インプラント表面に接触している骨の最上縁との距離を測定することで骨レベルの低下量を求め、これを皮質骨の吸収とした。骨接触率はインプラント周囲の近遠心における第一スレッド基部からインプラント底部までの長さおよびそのインプラント周囲に骨組織が接触している長さをそれぞれ測定、前者に対

する後者の割合とした（図 5）。

リモデリング活性は、インプラントの近遠心において関心領域を最上部のスレッドの基部からインプラント底部までのスレッドと各スレッドの頂点を結んだスレッド内領域とスレッド先端から側方 1 mm の側方領域と設定して評価した（図 6）。各領域において、蛍光色素染色標本からは二値化して蛍光ラベルされた骨面積を、組織標本からは骨面積をそれぞれ算出し、後者に対する前者の割合を蛍光ラベルされた骨の割合とすることで、リモデリング活性の定量的評価とした（図 7）。

これらの値は一元配置分散分析および多重比較検定を用いて、有意水準を 5% に設定して統計学的に解析した。

結果

実験 1

すべての動物には観察期間を通じて体重の減少はなく、全身的に良好な状態が維持されていた。また、口腔内に露出したインプラントはなかった。埋入 4 週後では、蛍光観察により、インプラント・骨界面領域だけでなく、側方まで蛍光ラベルされた骨が多く存在していることが認められ、周囲骨のリモデリング活性は高かった。また、光顕観察からは、インプラント・骨界面付近の周囲骨は層板構造を有しておらず、トルイジンブルーによる基質タンパクの染色が随所に認められた。さらに、インプラントと骨が接触している像が一部でみられたものの、オ

ッセオインテグレーションは未だ十分には成立していなかった（図 8）。埋入 12 週になると、すべてのインプラント周囲に蛍光ラベルされた骨やトルイジンブルーによる基質タンパクの染色はほとんどみられなかったが、インプラント・骨界面付近の周囲骨は多数の層板構造を有し、オッセオインテグレーションが良く成立していた（図 9）。

実験 2

すべての動物には観察期間を通じて体重の減少はなく、全身的に良好な状態が維持されていた。また、すべてのインプラントにおいて動揺や脱落はみられず、インプラント周囲粘膜にも観察期間を通じて炎症はみられなかった。また、荷重を負荷したインプラントの移動や沈下等もまったく認められなかった。

負荷期間 4 週の静的荷重および動的荷重群では、蛍光観察においていずれも明らかに多くの蛍光ラベルされた骨が認められ、リモデリング活性は高かった。一方、C 群ではこの活性はほとんどみられなかった。この蛍光ラベルされた骨は S 群ではインプラントと骨の界面付近で多くみられたが、D 群ではインプラントの側方に多かった。顕微鏡観察では、S 群および D 群ともにインプラント周囲の広い範囲で骨接触が認められ、オッセオインテグレーションが良く維持されていた（図 10）。皮質骨の吸収をみると、両荷重群は C 群と比較して近遠心側ともに高い傾向を示したが、各群間に有意差はみられなかった（図 11

上段)。骨接触率は S 群が近遠心側ともに C 群と比較して有意に高い値を示したものの ($p < 0.05$), S 群と D 群の間では差は認められなかった (図 11 下段)。スレッド内領域での蛍光ラベルされた骨の割合は S 群が近遠心側ともに他の 2 群と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (図 12 上段)。側方領域での蛍光ラベルされた骨の割合は D 群が他の 2 群と比較して近遠心側いずれにおいても有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (図 12 下段)。

負荷期間 12 週の両荷重群では, C 群と比較して蛍光ラベルされた骨は若干認められるものの, 負荷期間 4 週のような高いリモデリング活性はみられなかった。S 群および D 群ではともにオッセオインテグレーションは良く維持されていたが, S 群においては他の 2 群と比較して皮質骨の吸収が多く認められ, 中には第 3 スレッド付近にまで及ぶものもあった (図 13)。両荷重群および C 群の皮質骨の吸収は, S 群で近遠心側ともに平均 2.00 mm を超え, 他の 2 群と比較して有意に多かった ($p < 0.05$) (図 14 上段)。骨接触率は D 群が近遠心側ともに他の 2 群と比較して有意に高かった ($p < 0.05$) (図 14 下段)。スレッド内領域での蛍光ラベルされた骨の割合は C 群と比較し両荷重群で有意に高く認められたものの ($p < 0.05$), S 群と D 群では差がなかった (図 15 上段)。側方領域での蛍光ラベルされた骨の割合は近心側において S 群と C 群間で有意差が認められた ($p < 0.05$)。また, 遠心側では近心側と同様の傾向がみられたものの, 各群間に有意差はなかった (図 15 下段)。

考察

1. 実験方法について

1) インプラントの選択

オッセオインテグレーションの成立に関係する因子⁴⁾のうち、インプラントに関係する因子には、材料、形状および表面性状の3つがある。インプラントの材料に関しては、*in vitro*^{28,29)}や*in vivo*^{30,31)}において高い親和性を示すことが報告されている純チタンおよびチタン合金が広く臨床で用いられている。しかしながら、バナジウムやアルミニウムを含んだチタン合金は、臨床研究からは現在それに起因する知見は報告されていないものの、細胞毒性の影響が懸念されることから^{32,33)}、本研究では純チタンを選択した。インプラントの形状に関しては、現在臨床において最も多く用いられているスクリュー型を用いた。表面性状に関しては、アパタイトコーティング、チタンプラズマコーティング (TPS)、ブラストエッチング処理、陽極酸化処理などのインプラントが用いられているが、表面処理を施したインプラントは骨接触率が高くなること^{34,35)}に加えて、本研究では荷重が周囲骨に及ぼす影響を評価しなかったため、今回は表面処理を施していない機械研磨インプラントを使用することとし、臨床で広く使用され研究報告が豊富なBrånemark® Mk IIIを選択した。

2) 実験動物

本研究では実験 1, 2 ともにビーグル犬を用いた。現在まで *in vivo* における荷重負荷後に生じるインプラント周囲骨の変化を検討した過去の報告には、サル²²⁾、イヌ²⁵⁾、ブタ³⁶⁾などの大型動物が主に用いられている。サルは歯列、下顎骨の構造、顎骨の大きさなどがヒトとよく類似し³⁷⁾、臨床応用に近い条件を設定してインプラント周囲骨組織の反応を検討できる利点がある^{38,39)}。しかし、動物の年齢を明確に設定できないことに加え、数の確保も難しい。さらに、最近ニホンザルを用いた動物実験が倫理的観点から問題視されつつあることも、この動物を用いることをためらわせた。一方、ビーグル犬は実験用動物として用意されており、血統、性、年齢、体重などを可能な限り一定にすることができる。また、実験結果に影響を与えると予測される口腔衛生状態を、ビーグル犬では無麻酔下で容易にブラッシングを用いてコントロールできる。一方、ブタは、近年実験用動物として注目されているが、現在の系統は産子数が少なく量産が困難なため、高価で入手が難しい⁴⁰⁾ のに加えて、イヌに比べてヒトへの従順性が低いため扱いにくく、プラークコントロールも容易ではない。これらの点を踏まえ、本研究では、インプラントサイズや埋入操作などが臨床とほぼ同じ条件で行えるビーグル犬を用いることとし、血統、性、年齢、体重等の条件を可及的に同じにそろえた。これらのことにより、抜歯後の埋入部位の状態は全動物でほぼ同じとみなされよう。

3) 埋入部位と外科手術について

インプラントの埋入部位として動物の下顎小白歯部を選んだ。同部はインプラントに関する他の動物実験でもよく用いられており^{22,25)}、本研究結果を他の研究結果と比較することも可能であると考えた。また、大白歯部を選択すると大白歯を抜去しなければならず、その場合の咬合支持の喪失が動物を衰弱させる危険も考えられた。そこで4本の下顎小白歯をすべて抜去して、小白歯無歯顎部を準備することにした。

インプラントの埋入は、Brånemarkら⁴¹⁾の提唱する“最小限の組織侵襲 (minimum tissue violence)”の概念に基づいて行った。埋入窩形成の際に生じる過度な外科的侵襲、特に摩擦熱は近傍の骨細胞を壊死させ、骨組織に非可逆的障害を与える⁴²⁻⁴⁴⁾。本研究では、ディスポーザブルの鋭利なドリルを毎分2000回転以下で用い、滅菌生理食塩水を外部から注水しながら埋入窩の形成を行い、生じる摩擦熱が極力小さくなるよう努めた。実際、すべてのインプラントにおいて良くオッセオインテグレーションが成立していたことから、埋入手術が本研究へ与えた影響は軽微なものであったとみなしてよい。

4) 上部構造と荷重様式について

インプラントは上部構造を介して機能を負担することで初めてその意義がある。このため、オッセオインテグレーションの長期維持がきわめて重要であり、機能的荷重に係る上部構造の材料、形態および咬合接触状態などはインプラント周囲骨構造に大きな影響を及ぼす。インプラントに荷重を負荷した従来からの研究では金属製上部構造を用いたものが最も多く

みられることから^{5,22,25,36)}、本研究においても上部構造は金銀パラジウム合金を用いて製作した。また、荷重を負荷する上部構造はカンチレバー型とした。これまでカンチレバー型上部構造の生体力学的な危険性については、有限要素解析を用いた研究⁴⁵⁻⁴⁹⁾で多く報告されているものの、*in vivo*における実験的モデルでの報告はあまりみられない。そのため、本研究では、カンチレバー型の上部構造が周囲骨に及ぼす影響についても明らかにしたいと考えた。

静的および動的荷重の荷重条件は可及的に同じにするよう努めた。そのため、両荷重条件において上部構造の咬合面は平面とし、側方力を排除するため点接触とした。これまでの荷重負荷装置を文献的に探索すると、静的荷重がインプラント周囲骨に及ぼす影響の検討には矯正歯科治療装置である急速拡大装置²⁵⁻²⁷⁾やコイルスプリング⁵⁰⁾等が用いられている。これらはインプラントに近遠心方向の荷重を負荷するが、実際の臨床ではあまり起こりえない状況なので適切ではないと考えた。また、これまでの動的荷重に関する検討では、荷重条件を詳細に規定しているものがほとんどなく、他の研究との比較は容易でなかった。また、静的荷重と動的荷重の荷重条件を統一した研究はまったくみられなかったため、本研究では両者の荷重を垂直方向の沈下量で規定することとした。本研究で付与した250 μm の沈下量は、オッセオインテグレーションの喪失を検討する際に付与された250 μm の咬合干渉¹²⁾を参照することにより設定した。

5) 観察方法について

インプラント周囲骨の観察は臨床的にもっぱらデンタルX線写真やパノラマX線写真により行われている。しかしながら、それらから得られる骨に関する情報は二次元的であるため、周囲の状態を正確に読み取ることは困難である。実際、井上ら⁵¹⁾はインプラント周囲の骨接触状態はX線学的観察のみで正確に評価できないとしている。そこで、本研究では周囲骨の変化を組織学的観察により評価することとした。オッセオインテグレーションとは、正常な営みを続けている骨と機能中のインプラント表面との形態的・機能的な直接的結合であるとされ、光顕レベルではインプラント周囲に軟組織が介在しない骨接触の状態を表すものと認識されている¹⁾。本研究では、荷重を負荷することによるオッセオインテグレーションの変化を観察するため、光顕的観察を行った。また、荷重負荷による骨のリモデリングの変化も観察するために、蛍光色素を用いてリモデリング活性を評価した。この評価法は、周囲骨に生じるリモデリングの状態を知ることができ、既存骨との区別も容易であるうえ、定量化も可能である²⁵⁾。それゆえ、実験1ではオッセオインテグレーション成立までのインプラント周囲骨の状態を、実験2では荷重により生じる周囲骨の変化、すなわちオッセオインテグレーションの維持の変化をそれぞれ観察するため、蛍光色素を用いるリモデリング活性を評価した。蛍光色素としてはカルセイングリーンを選択したが、これは骨芽細胞の石灰化能に影響を与えないとされていることによる⁵²⁾。

6) 形態計測学的観察について

皮質骨の吸収は臨床的にもっぱらデンタルX線写真やパノラマX線写真により観察されている。しかしながら、骨吸収の状態を正確に読み取るとは困難で主観的評価となりがちである。そこで、本研究では組織標本より得られた骨レベルの低下量を皮質骨の吸収として評価することにした。オッセオインテグレーションが成立している状態での同部の荷重支持能力を評価した Johansson ら⁵³⁾ は、スクリュー型インプラントの骨接触率と除去トルク値の間には正の相関があるとしている。それゆえ、本研究では骨接触率を測定し、これにより荷重支持力を評価した。蛍光ラベルされた骨の割合を算出する関心領域はインプラント近遠心のスレッド内領域とスレッド先端から側方1 mmの側方領域とした。Gotfredsen ら²⁷⁾ はインプラントに側方静的荷重を付与した場合の関心領域として、インプラントの側方1 mmと側方2 mmの周囲骨を設定している。その後、各領域での蛍光ラベルされた骨の量の評価を行ったところ、側方2 mmと比較し側方1 mmで蛍光ラベルされた骨が多くみられ、荷重を負荷した場合にはインプラントに近接する領域でリモデリング活性が高かったとしている。このことから、本研究では、スレッド内領域と側方1 mm領域の2つを荷重により生じるリモデリング活性を評価する関心領域として設定した。また、本研究で荷重を負荷する上部構造の形態は近心カンチレバー型とした。これに荷重が負荷された場合、インプラントを近心に傾斜させるトルクが生じることとなり、インプラントの近

心骨上部では圧縮力が、下部では伸張力がそれぞれ生じると考えられる。しかしながら、本研究ではそのトルクの中心を明らかにすることは困難であり、圧縮力と伸張力の境界が不明であるため、両者の力の影響を正確に評価することはできなかった。そこで、本研究では、上部と下部を分けず両者を含んだ近心・遠心の領域を関心領域として検討した。

蛍光ラベルされた骨の割合を算出するために行った蛍光色素染色像の二値化では、その閾値を3名の評価者が最適とするグレイ値を標本毎に設定し、その平均値とした。これにより、標本毎の閾値のばらつきを減少できたと考える。

天然歯に矯正力を加えた場合、牽引域では骨添加が、圧迫域では骨吸収が生じて歯の移動が起こる。本研究では、インプラントの垂直的あるいは水平的移動はまったくなく、また、リモデリング活性や骨接触率に近心側と遠心側で大きな差はみられなかった。天然歯とインプラントとの大きな周囲構造の違いは歯根膜の有無にあり、関根ら⁵⁴⁾は、同じ荷重を負荷した場合の変位量はオッセオインテグレートドインプラントが天然歯に比べて極めて小さいことを明らかにし、インプラントにトルクの方が作用すると過大な応力が発生しやすくなると報告している。それゆえ、天然歯でみられるような反応が歯根膜のないインプラントでは生じない可能性が考えられる。このことは、インプラントに対して近遠心方向の静的荷重を負荷した場合、圧迫域や牽引域で骨密度やリモデリング活性に差がみられなかったとする Gotfredsen ら²⁵⁾の報告ともよく一致してい

る。

7) 観察期間について

実験 1 では、インプラント埋入後の観察期間を 4 週と 12 週に設定した。この 4 週の時期は、イヌ大腿骨骨折の治癒過程分類における修復期に当たり、活発に新生骨が形成されているとされる⁵⁵⁾。また、インプラント埋入から 12 週後までのインプラント・骨界面の経時的変化をみた研究⁵⁶⁾ から、埋入後 4 週の時期は活発なリモデリングが生じるとされていることから、この時期はリモデリング活性をみるには適切であると思われる。埋入後 12 週はオッセオインテグレーションの成立時期とされている⁵⁷⁾ こと、また、実際の負荷開始時期であることからオッセオインテグレーションの状態および負荷直前でのリモデリング活性を評価する上で適切であると考えた。

実験 2 では、荷重負荷の期間を 4 週と 12 週に設定した。荷重負荷後に生じるインプラント周囲骨の変化を評価した過去の研究^{5,12,27)} では 4 週～66 週とさまざまな負荷期間が設定されており、負荷期間に関する基準はないようである。また、本研究では不適切な荷重を負荷したことから時期を設定しにくく、それゆえ、実験 1 に準じて負荷早期を 4 週、またその経時的変化を評価するための期間として負荷 12 週の期間をそれぞれ設定した。

2. 結果について

1) 実験 1

蛍光観察により、埋入 4 週後の周囲骨ではインプラント・骨界面領域だけでなく、側方まで蛍光ラベルされた骨が多くみられ、周囲骨全体でリモデリング活性が高かった。この界面での高いリモデリング活性は、インプラント埋入から 12 週後までのインプラント・骨界面の経時的変化をみた Berglundh ら⁵⁶⁾の報告と一致している。彼らはこの時期の界面での新生骨は、幼若な網状骨であり、活発なリモデリングが生じていたとしている。

Brånemark の埋入プロトコルでは、直径 3.75 mm のインプラントを埋入する際のドリリングの最終径は 3.00 mm であることから、埋入窩よりインプラントの直径は大きくなり、その結果、インプラント埋入時に周囲骨には歪みが生じると考えられる。この骨の歪みはリモデリングに影響を及ぼすことが報告されており⁵⁸⁾、これが側方領域での高いリモデリング活性と関連がある可能性が考えられる。

Berglundh ら⁵⁶⁾は、埋入 12 週後のイヌのインプラント・骨界面では、新生骨が層板構造を示し、成熟した状態であったとしている。本研究における埋入後 12 週の周囲骨は層板構造を有し、トルイジンブルーによる基質タンパクの染色がほとんどみられなかったことから成熟した骨とみなされる。このことにより、埋入 12 週後では蛍光ラベルされた骨はほとんどみられず、リモデリング活性が低かったのではないかと考えられる。また、すべてのインプラントで線維性結合組織の形成はなく、オッセオインテグレーションが成立していた。以上のことから、イン

プラント埋入早期に周囲骨のリモデリング活性は高くなり、オッセオインテグレーション成立時期にはその活性は低くなることが明らかとなった。このように、埋入 12 週後はオッセオインテグレーション成立までに生じたリモデリング活性の影響はほぼ消失した時期であることが示されたことから、これ以降に荷重を負荷した際にみられるリモデリング活性は荷重により惹起された骨の変化とみなしてよいと考えられた。

2) 実験 2

荷重を負荷したすべてのインプラントで、垂直的および水平的位置の変化はなかった。皮質骨の吸収がみられた S 群では、インプラント自体が沈下する可能性が考えられたが、屠殺時にスクリューを負荷時点の位置まで緩めた際に、上部構造咬合面とスクリュー底部は接触していたことから、垂直的位置は変化していなかったとみなされる。また、埋入時と屠殺時で各インプラントの間隔を計測したところ、変化がなかったことから、水平的位置も保たれていたとしてよい。今回付与した 250 μm の沈下量は、①コンポーネント間の緩みやその伸び、②上部構造のたわみ、③骨のひずみ、の 3 つにより生体内で補償された可能性がある。①に関しては、アバットメント上面を歯肉縁上に設定した後、肉眼的に上部構造とアバットメント間に隙がないことを確認した。また、アバットメントとインプラントの間隙およびゴールドスクリューの伸びに関しても、標本において認められなかったことから、①の可能性は低い。そのため、

与えた沈下量は②と③が補ったと考えるのが妥当である。

負荷 4 週後の静的および動的荷重群の皮質骨の吸収は、近遠心ともに両群間に有意差はみられなかったが、負荷 12 週後では、S 群において D 群と比較して有意に高い値がみられた。また、すべてのインプラント周囲に線維性結合組織の形成はなく、オッセオインテグレーションがよく維持されており、本研究での観察期間では、オッセオインテグレーションは喪失しなかった。

Miyata ら¹²⁾ は、サルに埋入したインプラントに 100 μm の咬合干渉を与えて動的荷重を 4 週負荷した場合にオッセオインテグレーションは喪失しなかったが、250 μm では皮質骨の吸収とオッセオインテグレーションの喪失がみられたと報告している。このことはオッセオインテグレーションの喪失が、骨の許容できる閾値を越えた過大な荷重が負荷された場合に起こることを示唆している。本研究の D 群では、250 μm の動的荷重を与えたが、皮質骨の吸収やオッセオインテグレーションの喪失は認められなかった。これは Miyata ら¹²⁾ が与えた咬合干渉のような側方力を排除したためかもしれない。このことは、インプラントの上部構造に与える咬合の基本的原則として、「側方力をできるだけ排除する」が挙げられていること⁵⁹⁾を支持している。また、Isidor⁵⁾ はサルに埋入したインプラントに高い咬合を与えて動的荷重を負荷した場合に、負荷後 4.5～15.5 ヶ月の間に皮質骨の吸収とオッセオインテグレーションの喪失がみられたと報告している。しかしながら咬合の高さが規定されておらず直接本研究と比較することはできないが、お

そらく 250 μm より高い咬合を与えていたのであろう。一方、S 群では、皮質骨の吸収はみられたがオッセオインテグレーションは喪失していなかった。前述の Isidor⁵⁾ や Miyata ら¹²⁾ が与えた荷重は動的荷重であり、その場合にはインプラントの動揺と共にオッセオインテグレーションの喪失がみられている。インプラントの微小動揺とオッセオインテグレーションの喪失との関連が報告されているように⁶⁰⁾、断続的な力である動的荷重はインプラントに微小な動揺が生じた場合にはそれを増大させる可能性がある。S 群では皮質骨の吸収が生じたため、骨の微小損傷が生じたと考えられ⁵⁻¹²⁾、それに伴う微小動揺もみられた可能性がある。しかしながら、本研究で与えた静的荷重は、持続的な力であるためインプラントに生じる微小動揺を増大させない。そのため、S 群では、オッセオインテグレーションの喪失までは起こらなかったものと考えられる。また、本研究では負荷 4 週後と負荷 12 週後の周囲骨の状態の比較を行っているため、負荷 12 週後の S 群でみられた皮質骨の吸収の今後の変化は明らかでない。しかしながら、S 群において、屠殺時には上部構造咬合面とスクリー底部が接触していたことから周囲骨に生じた応力が残存していると考えられる。そのため、負荷 12 週以降も皮質骨の吸収は増加していく可能性はある。

これまで静的荷重および動的荷重をインプラントに負荷するとその力が生体の許容範囲を超えない場合では骨接触率が増加すると報告されてきた^{18,25)}。本研究において、S 群の負荷

4 週後と D 群の負荷 12 週後でみられた骨接触率の増加は、これらの結果とよく一致している。一方、S 群の負荷 12 週後では骨接触率は減少したが、これは皮質骨の吸収が生じたことで、インプラント最上部のスレッド付近の骨がなくなったことが影響している。これらのことから、S 群で与えた静的荷重は、経時的には生体の許容範囲を超えた力であった可能性が高い。

負荷 4 週後の S 群および D 群のリモデリング活性は、S 群ではスレッド内領域で、D 群では側方領域でそれぞれ高く認められた。この活性部位の相違は、本研究では静的荷重と動的荷重の荷重条件を可及的に同じにしたことから、荷重様式の相違、すなわち荷重負荷サイクルや荷重負荷時間の違いによる影響である可能性が高い。骨梁構造を再現した有限要素モデルを用いた解析の結果では⁶¹⁾、インプラント・骨界面ばかりでなくインプラントから離れた海綿骨領域にも応力集中が認められたと報告している。しかしながら、シミュレーション実験である有限要素解析は線形静解析であるため、周囲骨に生じる応力の値やその分布は、本研究における静的荷重には応用できるが、動的荷重では中心咬合位で咬合した 1 時点でのみ応用できるにすぎず、経時的な骨の変化に関しては評価することはできない。さらに、現在リモデリングに影響を及ぼす応力の閾値に関しても不明であるため⁶²⁾、有限要素解析で得られた応力の値とリモデリング活性を直接結びつけることはできない。しかしながら、荷重に対する骨の動態を考えた場合、平衡状態から骨吸収や骨形成へ移行するには、骨に伝達される荷重が骨の反応

する閾値に達する必要がある⁶³⁾。本研究のリモデリング活性の評価は、骨添加によるカルセイングリーンの沈着を指標としていることから、骨形成が生じる応力の閾値を反映していると考えられる。そこで、S群とD群でみられたリモデリング活性の領域の違いは、S群ではインプラント・骨界面付近で生じた応力の閾値が、またD群では側方領域で生じた応力の閾値が骨形成を促した結果、S群とD群のそれぞれの領域におけるリモデリング活性が高まったと考えることができる。また、骨形成には細胞間レベルでの応答も考える必要がある。これまでに、*in vitro*において、骨細胞に周期的な伸張・圧縮力を与えた場合にはc-fosやIGFの発現が、また、持続的圧縮力の場合にはオステオポンチンの発現がそれぞれ高まることが報告されており^{64,65)}、これらの力の違いが細胞間レベルで何らかの影響を及ぼしている可能性も考えられる。しかしながら、本研究では細胞レベルの反応までは明らかにし得なかったため、今後*in vitro*において荷重様式やその大きさが細胞の感受性などにどのように影響するのかをさらに研究していく必要がある。

負荷12週後のS群とD群のリモデリング活性には、負荷4週後のような荷重間での明らかな違いはみられず、負荷4週後と比較して低下する傾向を示した。観察期間中S群については六角ねじの緩みがなかったこと、また、D群については咬合状態を咬合紙を用いて毎週検査していたがその印記状態に変化がみられなかったことなどから、S群およびD群ではともに観察期間を通して付与した負荷がインプラントに加わっていた

とみなしてよい。これまで骨に生体の許容できる通常より大きな負荷が加わった場合、骨形成が増加して高い骨量レベルで安定状態に達することが報告されており^{66,67)}、本研究において負荷期間 12 週の周囲骨でみられた低いリモデリング活性は、荷重にみあった骨構造の変化が起こった結果であると考えるのが妥当である。また、側方領域での蛍光ラベルされた骨の割合は、近心部において S 群と C 群間で有意差が認められた。本研究の近心カンチレバー型上部構造では、インプラントの近心周囲骨上縁に応力が集中すると予測されるが、S 群において負荷 12 週後では皮質骨が吸収しているため、負荷 4 週より少ない骨で荷重を負担していたと考えられる。すなわち、インプラントの荷重支持力が低下したために負荷 4 週と比較して荷重が骨により影響を及ぼし、近遠心側でのリモデリング活性の違いが生じた可能性がある。

現在のインプラント治療では、骨幅などの問題により 3 歯欠損に 2 本のインプラントを埋入し、今回用いたカンチレバー型の上部構造を装着することはよくみられる。本研究の結果は、カンチレバーのようなインプラントにトルクの力が加わる上部構造では、骨に有害な力が及ぶ可能性があることを示唆している。そのため、本研究で用いたようなカンチレバー型の上部構造を用いる際には、力学的検討が必要不可欠であろう。また、近年、無歯顎患者にできるだけ少ない数のインプラントで上部構造を支持する治療⁶⁸⁾が行われている。しかしながら、連結する上部構造のスペンが長くなれば、印象採得時の不備や鋳造

ひずみなどが発生しやすく不適合な上部構造ができ、不適切な静的荷重をインプラントに与える可能性が高まる。それゆえ、これらの手技的誤差を一層減らす必要があり、上部構造装着時にはその不適合の有無を必ず慎重に検査しなければならない。

本研究における不適切な荷重により生じるインプラント周囲骨の変化をまとめると、静的荷重では、負荷早期にインプラントのスレッド内で海綿骨のリモデリング活性が高まり、骨接触率も増加し、その後経時的に皮質骨が吸収して骨接触率も減少した。一方、動的荷重では、負荷早期にインプラント側方の海綿骨でリモデリング活性が高まり、その後経時的に骨接触率が増加して皮質骨の吸収は認められなかった。また、観察期間を通して両荷重条件下のすべてのインプラントでオッセオインテグレーションは喪失しなかった。

これらのことから、オッセオインテグレーションの喪失メカニズムを推察すると、生体の許容範囲を超える過大な荷重がインプラントに加わると、まずは荷重支持力を高めるためにインプラント・骨界面付近での高いリモデリング活性が生じ骨添加が起こることで骨接触率を増加させる。しかしながら、生体の許容範囲を超えた荷重であるため経時的には皮質骨の吸収を引き起こす。これはインプラントの荷重支持力の低下に繋がり、さらに、インプラントに微小動揺が起きた場合にはこの動揺を増加させることとなり、その結果オッセオインテグレーションの喪失が起こる可能性が考えられる。

総括

オッセオインテグレーションを喪失させるメカニズムの一端を解明することを目的として、まず、インプラント埋入から荷重を負荷するまでに生じるインプラント周囲骨の変化を検討し、次いで、可及的に同一とした荷重条件で過大な静的および動的荷重をインプラントに負荷することにより生じた皮質骨および海綿骨の形態学的変化を比較検討した。

1. 雄性ビーグル犬 3 頭の下顎無歯顎部にインプラントを埋入し、埋入後 4 週と 12 週のインプラント周囲骨を組織学的に観察したところ、埋入 4 週後では、周囲骨のリモデリング活性は高く、また、オッセオインテグレーションは成立していなかった。一方、埋入 12 週後では、周囲骨のリモデリング活性は低くなっていたものの、オッセオインテグレーションは成立していた。

2. 雄性ビーグル犬 8 頭の下顎無歯顎部に埋入したインプラントに実験的な静的および動的荷重を 4 週および 12 週間負荷し、荷重負荷インプラントの周囲骨と実験 1 の荷重を負荷していない埋入 12 週後のインプラントの周囲骨を組織学的および組織形態計測学的に評価した。その結果、負荷 4 週後でのリモデリング活性は、静的荷重ではスレッド内領域で、動的荷重では側方領域でそれぞれ有意に高くなるなど ($p < 0.05$)、静的荷重と動的荷重で異なる様相を示した。また、負荷 12 週後では

静的荷重でのみ皮質骨の吸収が有意に多かった ($p < 0.05$)。

以上の結果より，本研究では静的および動的荷重によるインプラント周囲骨の変化の一端が明らかとなり，オッセオインテグレーションを喪失させるメカニズムを解明する上に有用な知見が得られた。

参 考 文 献

- 1) Brånemark, P-I.: Osseointegration and its experimental background. *J. Prosthet. Dent.* **50**, 399-410, 1983.
- 2) Lindquist, L. W., Carlsson, G. E. and Jemt, T.: A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants.: Clinical results and marginal bone loss. *Clin. Oral Impl. Res.* **7**, 329-336, 1996.
- 3) Buser, D., Mericske-Stern, R., Bernard, J. P., Behneke, A., Behneke, N., Hirt, H. P., Belser, U. C. and Lang, N. P.: Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin. Oral Impl. Res.* **8**, 161-172, 1997.
- 4) Albrektsson, T., Brånemark, P-I., Hansson, H. A. and Lindstrom, J.: Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop. Scand.* **52**, 155-170, 1981.

- 5) Isidor, F.: Clinical probing and radiographic assessment in relation to the histologic bone level at oral implants in monkeys. *Clin. Oral Impl. Res.* **8**, 255-264, 1997.
- 6) Duyck, J., Ronold, H. J., van Oosterwck, H., Naert, I., vander Sloten, J. and Ellingsen, J. E.: The influence of static and dynamic loading on marginal bone reactions around osseointegrated implants: An animal experimental study. *Clin. Oral Impl. Res.* **12**, 207-218, 2001.
- 7) Pilliar, R. M., Deporter, D. A., Watson, P. A. and Valiquette, T.: Dental implant design-effect on bone remodeling. *J. Biomed. Mater. Res.* **25**, 467-483, 1991.
- 8) Frost, H. M.: Wolff's law and bone's structural adaptations to mechanical usage: An overview for clinicians. *Angle Orthod.* **64**, 175-188, 1994.
- 9) Hoshaw, S. J., Brunski, J. B. and Cochran, G. V. B.: Mechanical loading of Brånemark implants affects interfacial bone modeling and remodeling. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **9**, 345-360, 1994.

- 10) Block, M. S., Gardiner, D., Kent, J. N., Misiek, D. J., Finger, I. M. and Guerra, L.: Hydroxyapatite-coated cylindrical implants in the posterior mandible: 10-year observation. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **11**, 626-633, 1996.
- 11) Barbier, L. and Schepers, E.: Adaptive bone remodeling around oral implants under axial and nonaxial loading conditions in the mandible. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **12**, 215-223, 1997.
- 12) Miyata, T., Kobayashi, Y., Araki, T., Ohto, T. and Shin, K.: The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue. Part 3: A histologic study in monkeys. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **15**, 425-431, 2000.
- 13) Tan, K. B. C.: The clinical significance of distortion in implant prosthodontics: Is there such a thing as passive fit? *Ann. Acad. Med. Singapore* **24**, 138-157, 1995.
- 14) Pietrabissa, R., Gionso, L., Quaglioni, V., Di Martino, E. and Simion, M.: An in vitro study on compensation of mismatch of screw versus cement-retained implant supported fixed

- prostheses. *Clin. Oral Impl. Res.* **11**, 448-457, 2000.
- 15) Naert, I. E., Duyck, J. A., Hosny, M. M., Quirynen, M. and van Steenberghe, D.: Freestanding and tooth-implant connected prostheses in the treatment of partially edentulous patients. Part II: An up to 15-years radiographic evaluation. *Clin. Oral Impl. Res.* **12**, 245-251, 2001.
- 16) Natali, A. N., Pavan, P. G. and Ruggero, A. L.: Evaluation of stress induced in peri-implant bone tissue by misfit in multi-implant prosthesis. *Dent.Mater.* **17**, 67-74, 2005.
- 17) Carr, A. B., Gerard, D. A. and Larsen, P. E.: The response of bone in primates around unloaded dental implants supporting prostheses with different levels of fit. *J. Prosthet. Dent.* **76**, 500-509, 1996.
- 18) Heitz-Mayfield, L. J., Schmid, B., Weigel, C., Gerber, S., Bosshardt, D.D., Jonsson, J., Lang, N.P. and Jonsson, J.: Does excessive occlusal load affect osseointegration? An experimental study in the dog. *Clin. Oral Impl. Res.* **19**, 259-268, 2004.

- 19) Zarb, G.A. and Albrektsson, T.: Towards optimized treatment outcomes for dental implants. *Int. J. Prosthodont.* 11, 389, 1998.
- 20) Quirynen, M., Naert, I.E. and van Steenberghe, D.: Fixture design and overload influence marginal bone loss and fixture success in the Brånemark system. *Clin. Oral Impl. Res.* 68, 655-663, 1992.
- 21) Isidor, F.: Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants. A clinical and radiographic study in monkeys. *Clin. Oral Impl. Res.* 8, 143-152, 1996.
- 22) Miyata, T., Kobayashi, Y., Araki, H., Motomura, Y. and Shin, K.: The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue. Part 4: a histologic study in monkeys. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 17, 384-390, 2002.
- 23) Telleman, G., Meijer, H. J. and Raghoobar, G. M.: Long-term evaluation of hollow screw and hollow cylinder dental implants: clinical and radiographic results after 10 years. *J. Periodontol.* 77, 203-210, 2006.
- 24) Appleton, R. S., Nummikoski, P. V., Pigno, M.

- A., Cronin, R. J. and Chung, K. H.: A radiographic assessment of progressive loading on bone around single osseointegrated implant in the posterior maxilla. *Clin. Oral Impl. Res.* **16**, 161-167, 2005.
- 25) Gotfredsen, K., Berglundh, T. and Lindhe, J.: Bone reaction adjacent to titanium implant subjected to static load(I). *Clin. Oral Impl. Res.* **12**, 1-8, 2001.
- 26) Gotfredsen, K., Berglundh, T. and Lindhe, J.: Bone reaction adjacent to titanium implant subjected to static load(II). *Clin. Oral Impl. Res.* **12**, 196-201, 2001.
- 27) Gotfredsen, K., Berglundh, T. and Lindhe, J.: Bone reaction adjacent to titanium implant subjected to static load(III). *Clin. Oral Impl. Res.* **12**, 552-558, 2001.
- 28) Itakura, Y., Kosugi, A., Sudo, H., Yamamoto, S. and Kumegawa, M.: Development of a new system for evaluating the biocompatibility of implant materials using an osteogenic cell line (MC3T3-E1). *J. Biomed. Mater. Res.* **22**, 613-622, 1988.
- 29) Bordji, K., Jouzeau, J. Y., Mainard, D., Payan,

- E., Netter, P., Rie, K. T., Stucky, T. and Hage-Ali, M.: Cytocompatibility of Ti-6Al-4V and Ti-5Al-2.5Fe alloys according to three surface treatments, using human fibroblasts and osteoblasts. *Biomaterials* **17**, 929-940, 1996.
- 30) Klokkevold, P. R., Nishimura, R. D., Adachi, M. and Caputo, A.: Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. *Clin. Oral Impl. Res.* **8**, 442-447, 1997.
- 31) Wennerberg, A., Ektessabi, A., Albrektsson, T., Johansson, C. and Andersson, B.: A 1-year follow-up of implants of different surface roughness placed in rabbit bone. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **12**, 486-494, 1997.
- 32) Evans, E. J.: Cell damage in vitro following direct contact with fine particules of titanium, titanium alloy and cobalt-chrome-molybdenum alloy. *Biomaterials* **15**, 713-717, 1994.
- 33) Yao, J., Glant, T. T., Lark, M. W., Mikecz, K., Jacobs, J. J., Hutchinson, N. I., Hoerrner, L. A., Kuettner, K. E. and Galante, J. O.: The potential role of fibroblasts in periprosthetic

- osteolysis: fibroblast response to titanium particles. *J. Bone Miner. Res.* **10**, 1417-1427, 1995.
- 34) Ericsson, I., Johansson, C. B., Bystedt, H. and Norton, M. R.: A histomorphometric evaluation of bone-to-implant contact on machine-prepared and roughened titanium dental implants. A pilot study in the dog. *Clin. Oral Impl. Res.* **5**, 202-206, 1994.
- 35) Meyer, U., Wiesmann, H. P., Fillies, T. and Joos, U.: Early tissue reaction at the interface of immediately loaded dental implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant* **13**, 489-499, 2003.
- 36) Buser, D., Nydegger, T., Oxland, T., Cochran, D. L. Schenk, R. K., Hirt, H. P., Snetivy, D. and Nolte. L. P.: Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J. Biomed. Mater. Res.* **45**, 75-83, 1999.
- 37) 馬場博史 : ニホンザル (*Macaca fuscate*) の歯の形態学的研究 . 九州歯会誌 **32**, 741-768, 1988.
- 38) 松本仁門 : プラーク付着に伴うセラミックイ

- ンプラント周囲組織の変化に関する実験的
研究． 広大歯誌 **20**, 105-124, 1988.
- 39) Akagawa, Y., Hosokawa, R., Sato, Y. and
Kamayama, K.: Comparison between
freestanding and tooth-connected partially
stabilized zirconia implants after two years'
function in monkeys: a clinical and histologic
study. *J. Prosthet. Dent.* **80**, 551-558, 1998.
- 40) 中西喜彦：わが国におけるミニブタ開発の現
状． アニテックス **11**, 4-11, 1999.
- 41) Brånemark, P-I., Breine, U., Adell, R.,
Hansson, B.O., Lindstrom, J. and Ohlsson, A.:
Intra-osseous anchorage of dental prostheses
I. Experimental studies. *Scand. J. Plast.
Reconstr. Surg.* **3**, 81-100, 1969.
- 42) Eriksson, A. R. and Albrektsson, T.:
Temperature threshold levels for heat-induced
bone tissue injury.: A vital-microscopic study
in rabbit. *J. Prosthet. Dent.* **50**, 101-107,
1983.
- 43) Berman, A. T., Reid, J. S., Yanicko, D. R. Jr.,
Sih, G. C. and Zimmerman, M. R.: Thermally
induced bone necrosis in rabbits. Relation to
implant failure in humans. *Clin. Orthop.* **186**,

- 284-292, 1984.
- 44) Albrektsson, T.: The response of bone to titanium implants. *Crit. Rev. Biocompat.* **1**, 53-84, 1985.
- 45) Tashkandi, E. A., Lang, B. R. and Edge, M. J.: Analysis of strain at selected bone sites of a cantilevered implant-supported prosthesis. *J. Prosthet. Dent.* **76**, 158-164, 1996.
- 46) Akca, K. and Iplikcioglu, H.: Finite element stress analysis of the effect of short implant usage in place of cantilever extensions in mandibular posterior edentulism. *J. Oral Rehabil.* **29**, 350-356, 2002.
- 47) Barbier, L., Van der Sloten, J., Krzesinski, G., Schepers, E. and Van der Perre, G.: Finite element analysis of non-axial versus axial loading of oral implants in the mandible of the dog. *J. Oral Rehabil.* **25**, 847-858, 1998.
- 48) Sadowsky, S. J. and Caputo, A. A.: Stress transfer of four mandibular implants overdenture cantilever designs. *J. Prosthet. Dent.* **92**, 328-336, 2004.
- 49) Yokoyama, S., Wakabayashi, N., Shiota, M. and Ohyama, T.: The influence of implant

- location and length on stress distribution for three-unit implant-supported posterior cantilever fixed partial dentures. *J. Prosthet. Dent.* **91**, 235-244, 2005.
- 50) Akin-Nergiz, N., Nergiz, I., Schulz, A., Arpak, N. and Niedermeier, W.: Reactions of peri-implant tissues to continuous loading of osseointegrated implants. *Am.J.Orthod. Dentofacial Orthop.* **114**, 292-298, 1998.
- 51) 井上孝, 下野正基, 羽賀通夫, 飯島俊一, 武田孝之, 関根弘, 岸正孝, 小宮山彌太郎, 吉田浩一: ビーグル犬における骨結合型骨内インプラントのレントゲンのならびに組織学的検索 - 特に ITI および Brånemark インプラントの比較 -. 歯科学報 **6**, 613-626, 1991.
- 52) Uchimura, E., Machida, H., Kotobuki, N., Kihara, T., Kitamura, S., Ikeuchi, M., Hirose, M., Miyake, J. and Ohgushi, H.: In-situ visualization and quantification of mineralization of cultured osteogenetic cells. *Calcif. Tissue Int.* **73**, 575-583, 2003.
- 53) Johansson, C. and Albrektsson, T.: Integration of screw implants in the rabbit: A 1-year follow-up of removal torque of titanium

- implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant* **2**, 69-75, 1987.
- 54) 関根弘, 小宮山弥太郎, 堀田宏巳: 支持機構と受圧感覚機構の特性. *インプラントの基礎と臨床*, 94-107, 1988.
- 55) Ying, Z. H., Wang, K. Z. and Zhang, S. R.: Experimental study on repair of bone defect in femoral head by enhanced autogenous bone combined with bone morphogenetic protein. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. **16**, 93-96, 2002.
- 56) Berglundh, T., Abrahamsson, I. and Lindhe, J.: *De novo* alveolar bone formation adjacent to endosseous implant. *Clin. Oral Impl. Res.* **14**, 251-262, 2003.
- 57) Brånemark, P-I., Zarb, G. A. and Albrektsson, T.: Tissue integrated prostheses.: Osseointegration in Clinical Dentistry. *Quintessence Publ. Co.*, 1-134, 1985.
- 58) Yasuda, I.: Fundamental aspects of fracture treatment. *J. Kyoto Med. Sed.*, **4**, 395-406, 2003.
- 59) Rangert, B.R., Sullivan, R.M, and Jemt, T.M:

- Load factor control for implants in the posterior partially edentulous segment. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **12**, 360-370, 1997.
- 60) Soballe, K., Brockstedt-Rasmussen, H., Hansen, E. S. and Bunger, C.: Hydroxyapatite coating modifies implant membrane formation. Controlled micromotion studied in dogs. *Acta. Orthop. Scand.* **63**, 128-140, 1992.
- 61) 中島克：インプラントのスレッド構造が周囲骨の応力分散に及ぼす影響に関する生体力学的研究．*広大歯誌* **35**, 1-17, 2003.
- 62) Geng, J. P., Tan, K. B. and Liu, G. R.: Application of finite element analysis in implant dentistry: A review of the literature. *J. Prosthet. Dent.* **85**, 585-598, 2001.
- 63) Turner, C. H., Forwood, M. R., Rho, J. Y. and Yoshikawa, T.: Mechanical loading thresholds for lamellar and woven bone formation. *J. Bone Miner. Res.* **9**, 87-97, 1994.
- 64) Lean, J. M., Mackay, A. G., Chow, J. W. and Chambers, T. J.: Osteocytic expression of mRNA for c-fos and IGF-I: an immediate early gene response to an osteogenic stimulus. *Am. J. Physiol.* **270**, 937-945, 1996.

- 65) Terai, K., Takano-Yamamoto, T., Ohba, Y., Hiura, K., Sugimoto, M., Sato, M., Kawahata, H., Inaguma, N., Kitamura, Y. and Nomura, S.: Role of osteopontin in bone remodeling caused by mechanical stress. *J. Bone Miner. Res.* **14**, 839-849, 1999.
- 66) Frost, H. M.: Bone "mass" and the "mechanostat" a proposal. *Anat. Rec.* **219**, 1-9, 1987.
- 67) Bassej, E. J. and Ramsdale, S. J.: Increase in femoral bone density in young women following high impact exercise. *Osteoporosis Int.* **4**, 72-75, 1994.
- 68) Malo, P., Rangert, B. and Nobre, M.: All-on-4 immediate-function concept with Brånemark system implants for completely edentulous maxillae: a 1-year retrospective clinical study. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* **7**, 88-94, 2005.

付図説明

図 1 インプラントの埋入位置を示す模式図と実際の埋入。

実験 1 では、まず右側でインプラントの埋入位置を決定し (A)、個別に製作したサージカルガイド (B) を用いて、3本のインプラントが平行となるよう埋入した (C)。その 8 週後に左側にも同様に埋入を行った。

○：インプラント (A)

図 2 静的荷重群 (S 群) に装着した上部構造。

ステンレス製のスクリューを組み込んだ上部構造を近心および中央インプラントに装着し、スクリューを沈下させることで、遠心インプラント中央から 10 mm 近心のカンチレバー一部に沈下量 250 μm の静的荷重を負荷した。また、荷重負荷と同時に六角ねじを締めることによりスクリューの緩みを排除した (A)。

実際に口腔内に装着された上部構造 (B)。

図 3 動的荷重群 (D 群) に装着した上部構造。

中心咬合位より 250 μm 高い咬合を付与した上部構造を上顎の 2本のインプラントに装

着し，動物が中心咬合位まで咬みこむことで静的荷重と同等の沈下量 $250 \mu\text{m}$ を付与した (A)。

実際に口腔内に装着された上部構造 (B)。

図 4 実験 2 のプロトコル。

S 群と D 群の両荷重群の右側にはインプラント埋入 12 週後に，左側には 20 週後にそれぞれ上部構造を装着した。インプラント埋入から 24 週後に動物を屠殺することで，負荷期間の 4 週 (左側) と負荷 12 週 (右側) を設定した。また，埋入 20 週後の左側上部構造装着時にカルセイングリーンを静注し，リモデリング活性の指標とした。

図 5 皮質骨の吸収および骨接触率の測定を示す模式図。

コンピュータに取り込んだ組織標本 (A) から画像解析ソフトを用いて拡大し (B)，骨レベルの低下量 (①) と骨接触率を求めた。①を皮質骨の吸収とした。

( : 埋入時の骨レベル， : 屠殺時の骨レベル)

図 6 リモデリング活性を評価する関心領域を示す模式図。

関心領域は、インプラント近遠心側において、海綿骨に位置するインプラントの最上部のスレッド基部からインプラント底部までのスレッドと各スレッドの頂点を結んだスレッド内領域（B-①）と、スレッド先端から側方 1 mm の側方領域（B-②）の 2 つとした。

（A）：近遠心の関心領域を示す模式図

（B）：関心領域の拡大図

図 7 蛍光ラベルされた骨の割合の算出方法。

蛍光色素染色標本（A-1）から二値化して蛍光ラベルされた骨面積を（A-2）、また、組織標本（B-1）からは領域内の骨面積（B-2）を算出し、蛍光ラベルされた骨の割合を以下の式から求めた。

$$\text{蛍光ラベルされた骨の割合（\%）} = \frac{\text{蛍光ラベルされた骨面積}}{\text{領域内の骨面積}} \times 100$$

図 8 実験 1 の埋入 4 週後の蛍光色素染色標本と組織標本。

インプラント・骨界面領域だけでなく、側

方まで蛍光ラベルされた骨が多く認められ、周囲骨のリモデリング活性は高い（A）。インプラント周囲では新生骨が接触している像は一部で見られるものの、オッセオインテグレーションは成立していない（B-1, 2）。

* : B-2 は B-1 の □ の拡大像

図 9 埋入 12 週後の蛍光色素染色標本および組織標本。

蛍光ラベルされた骨はほとんどみられない（A）。また、インプラント・骨界面では線維性組織の形成はなく、オッセオインテグレーションが良く成立している（B-1, 2）。

* : B-2 は B-1 の □ の拡大像

図 10 実験 2 の荷重群（負荷期間 4 週）と C 群の蛍光色素染色標本および組織標本。

S 群および D 群のインプラント周囲骨には、埋入 12 週の C 群と比較して明らかに多くの蛍光ラベルされた骨が認められる。これらは S 群ではインプラント・骨界面付近で、D 群ではインプラントの側方に多く観察できる。また、S 群および D 群ともにオッセオインテグレーションは維持されている。

図 11 実験 2 の荷重群（負荷期間 4 週）と C 群における皮質骨の吸収および骨接触率。

皮質骨の吸収は近遠心側ともに各群間に有意差は認められない（上段）。骨接触率は近遠心側ともに S 群が C 群と比較して有意に高い値（* : $p < 0.05$ ）を示したものの、S 群と D 群間では差は認められない（下段）。

図 12 実験 2 の荷重群（負荷期間 4 週）と C 群における蛍光ラベルされた骨の割合（スレッド領域および側方領域）。

スレッド内領域での蛍光ラベルされた骨の割合は、近遠心側ともに S 群が他の 2 群と比較して有意に高い（* : $p < 0.05$ ）（上段）。側方領域での蛍光ラベルされた骨の割合は、近遠心側ともに D 群が他の 2 群と比較して有意に高い（* : $p < 0.05$ ）（下段）。

図 13 荷重群（負荷期間 12 週）と C 群の蛍光色素染色標本および組織標本。

蛍光色素染色標本において、蛍光ラベルされた骨は C 群と比較して若干みられるものの、負荷期間 4 週のような高いリモデリング活性は認められない。また、S 群では他の 2 群と

比較し皮質骨の吸収が多く，中には第3スレッド付近にまで及ぶものも認められた。

( : S群でみられた皮質骨の吸収)

図14 荷重群（負荷期間12週）とC群における皮質骨の吸収および骨接触率。

皮質骨の吸収は近遠心側ともにS群で平均2.00 mmを超え，他の2群と比較し有意に高い（* : $p < 0.05$ ）（上段）。骨接触率は近遠心側ともにD群が他の2群と比較して有意に高い（* : $p < 0.05$ ）（下段）。

図15 荷重群（負荷期間12週）とC群における蛍光ラベルされた骨の割合（スレッド領域および側方領域）。

スレッド内領域での蛍光ラベルされた骨の割合は，近遠心側ともにC群と比較し両荷重群で有意に高い（* : $p < 0.05$ ）。また，S群とD群間では差が認められない（上段）。側方領域での蛍光ラベルされた骨の割合は近心側においてS群とC群間で有意差が認められた（* : $p < 0.05$ ）。また，遠心側では近心側と同様の傾向がみられたものの，各群間に有意差はない（下段）。

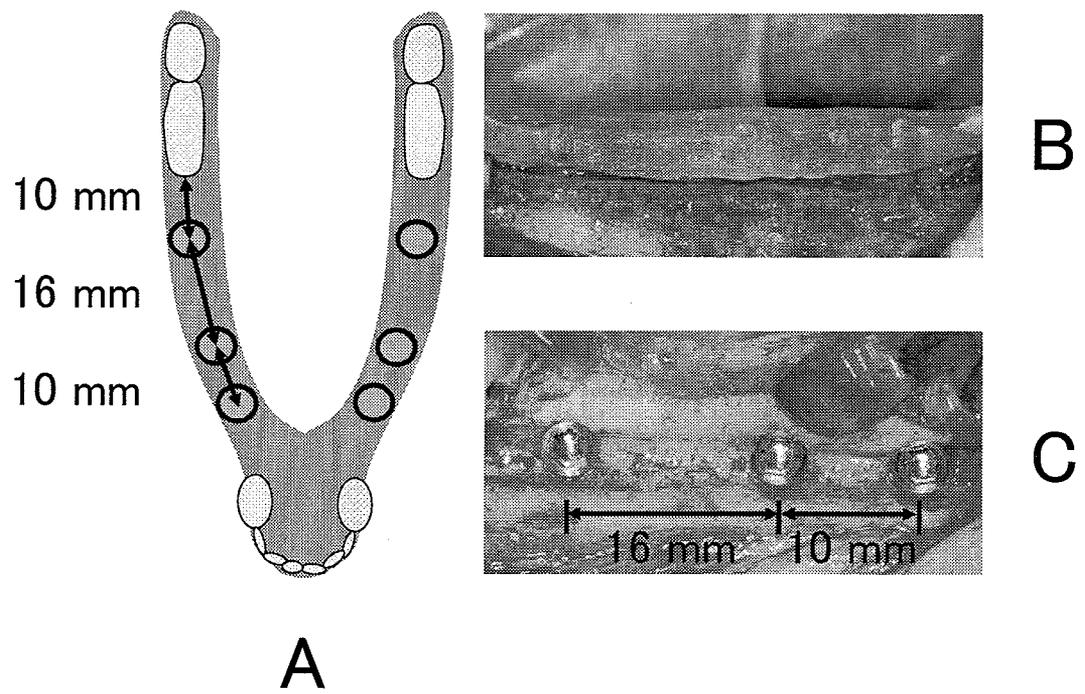


图 1

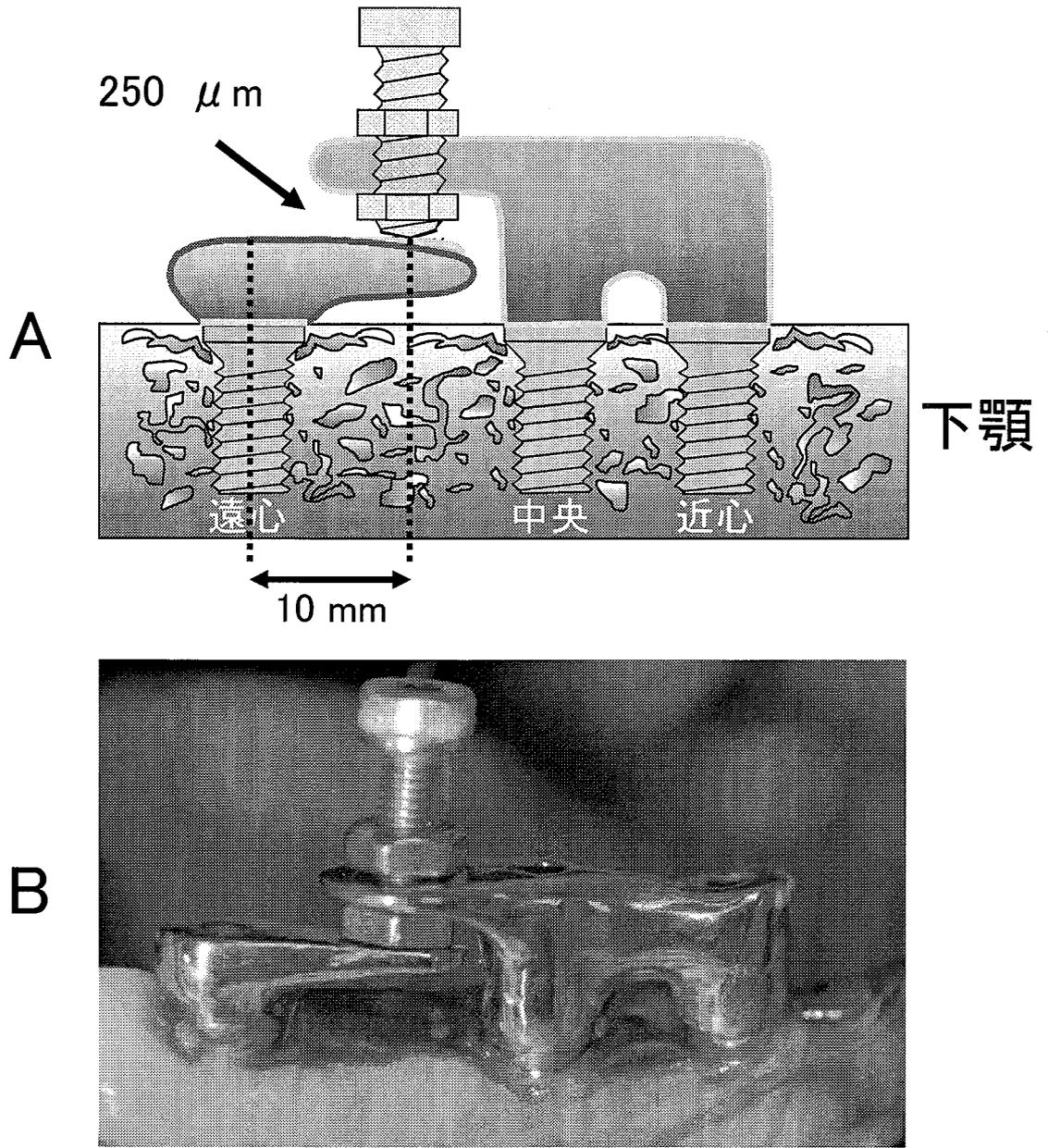


図 2

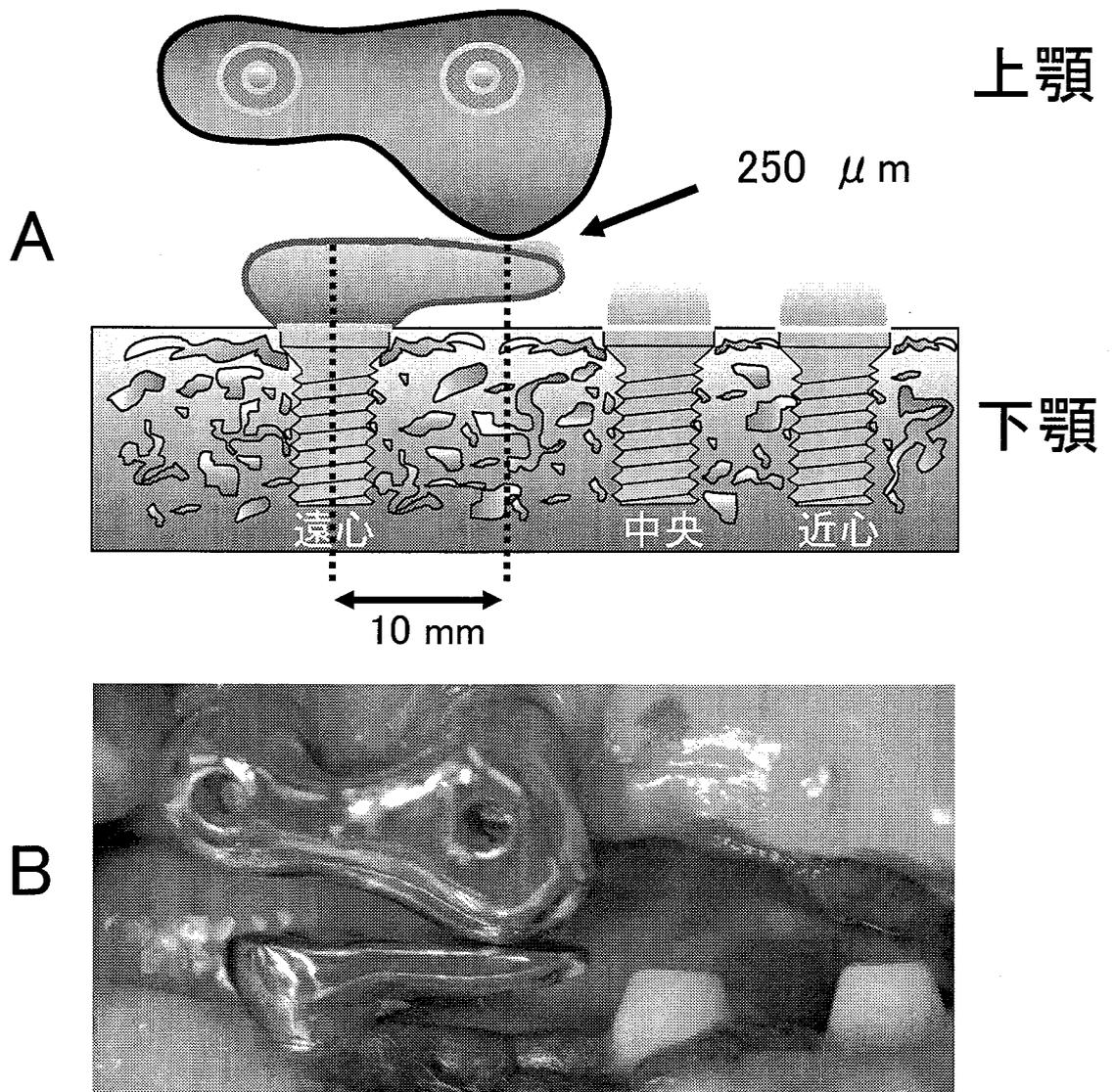


图 3

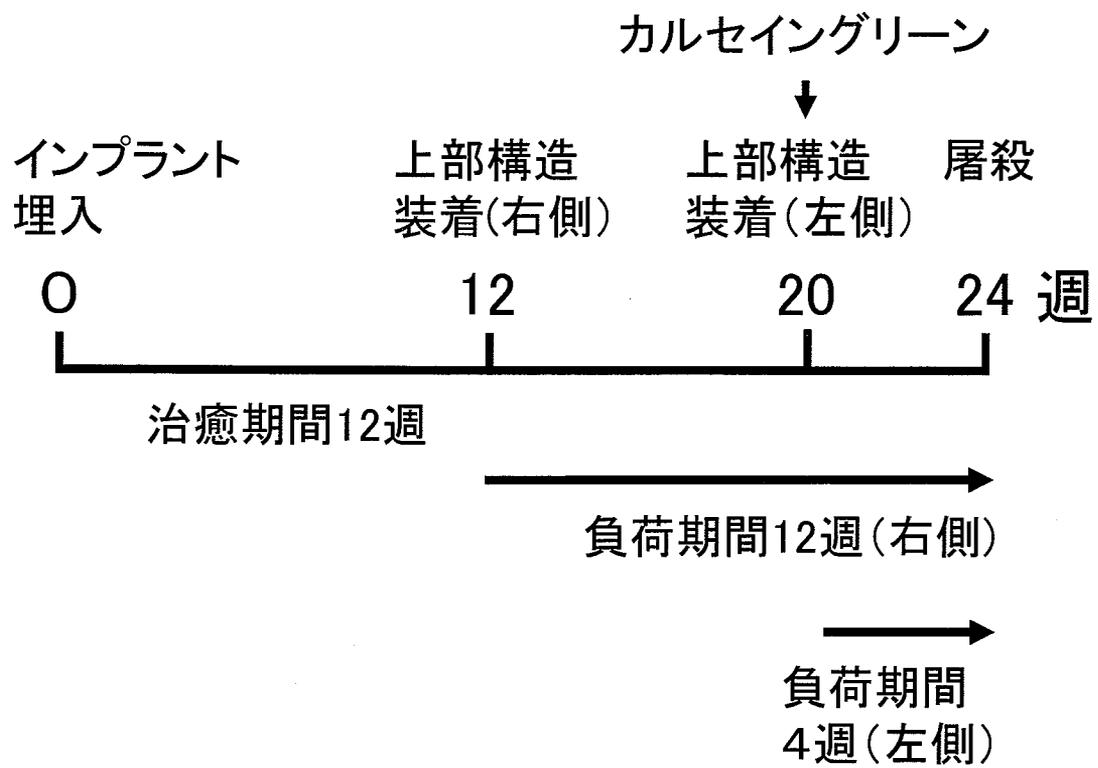
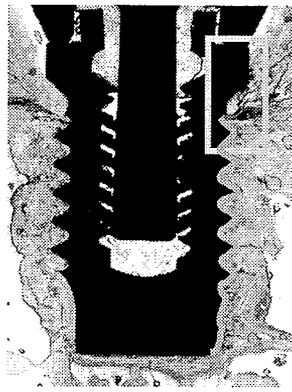
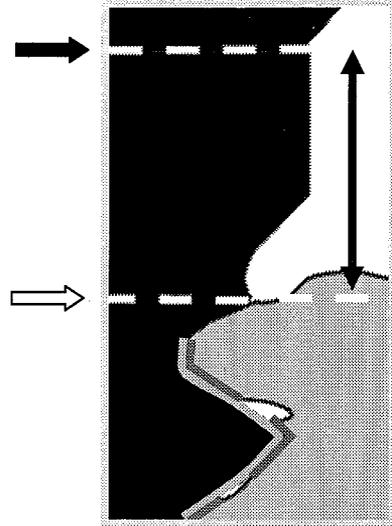


図 4



A



B

图 5

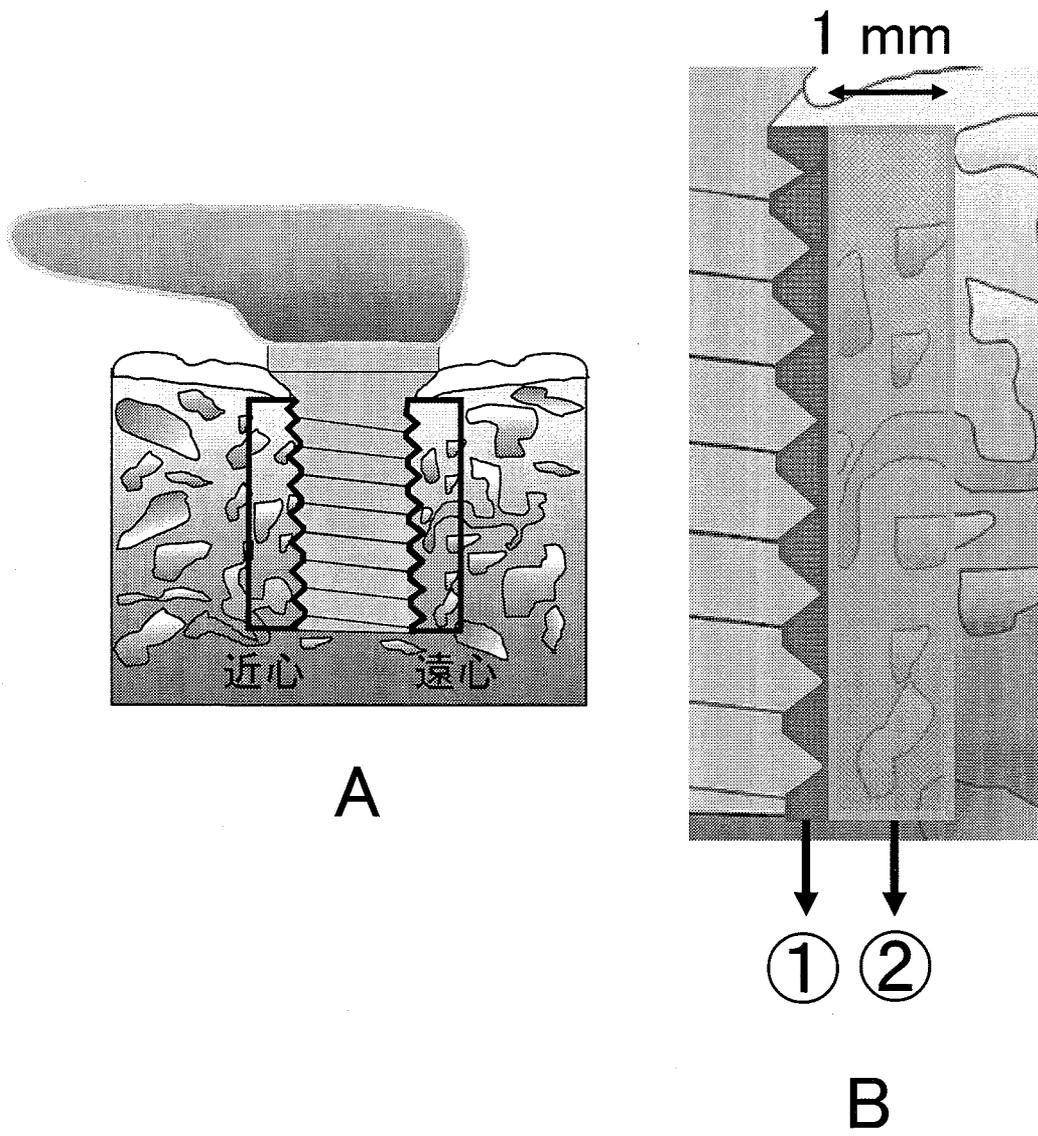
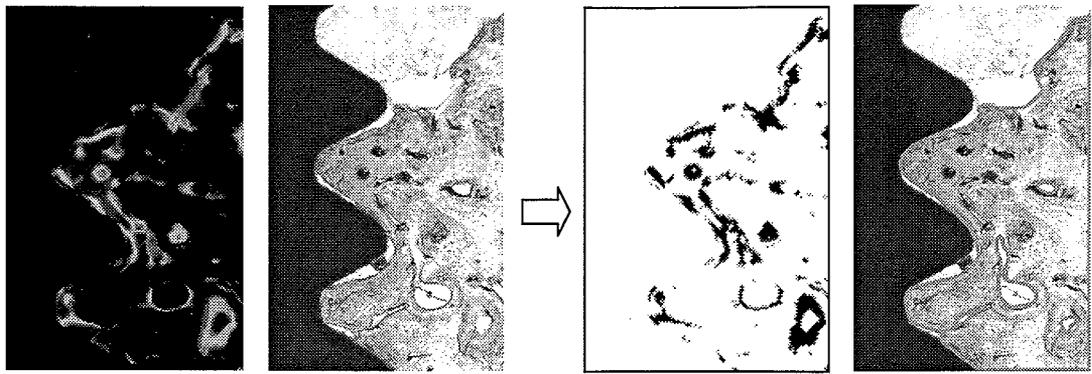


图 6



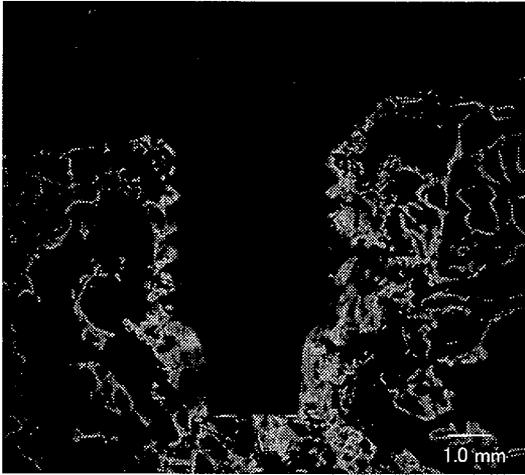
A-1

B-1

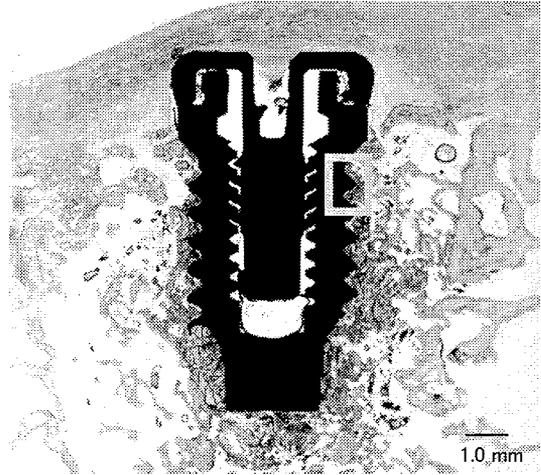
A-2

B-2

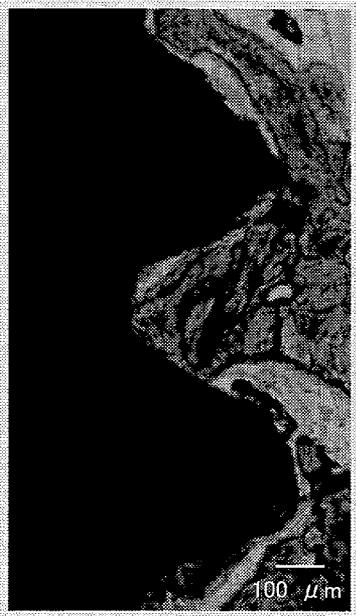
图 7



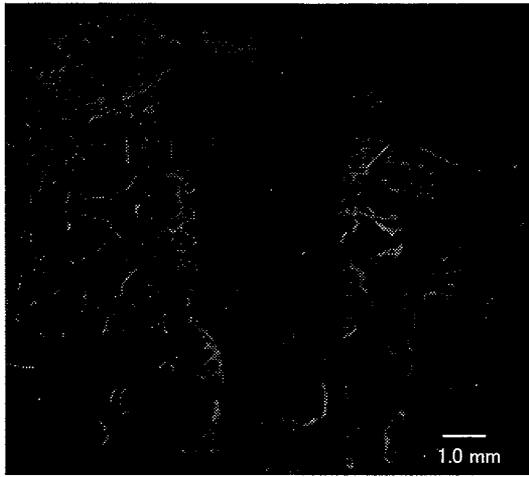
A



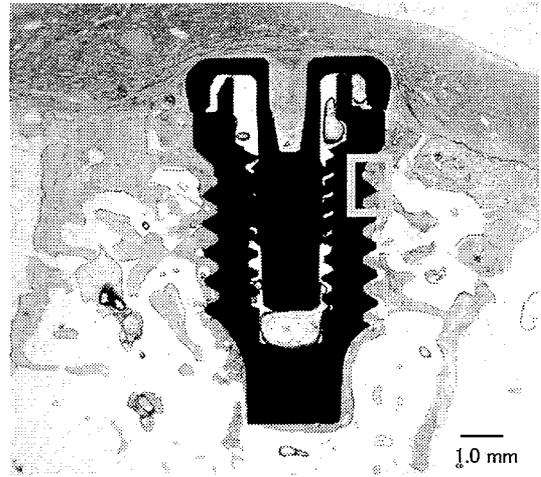
B-1



B-2



A

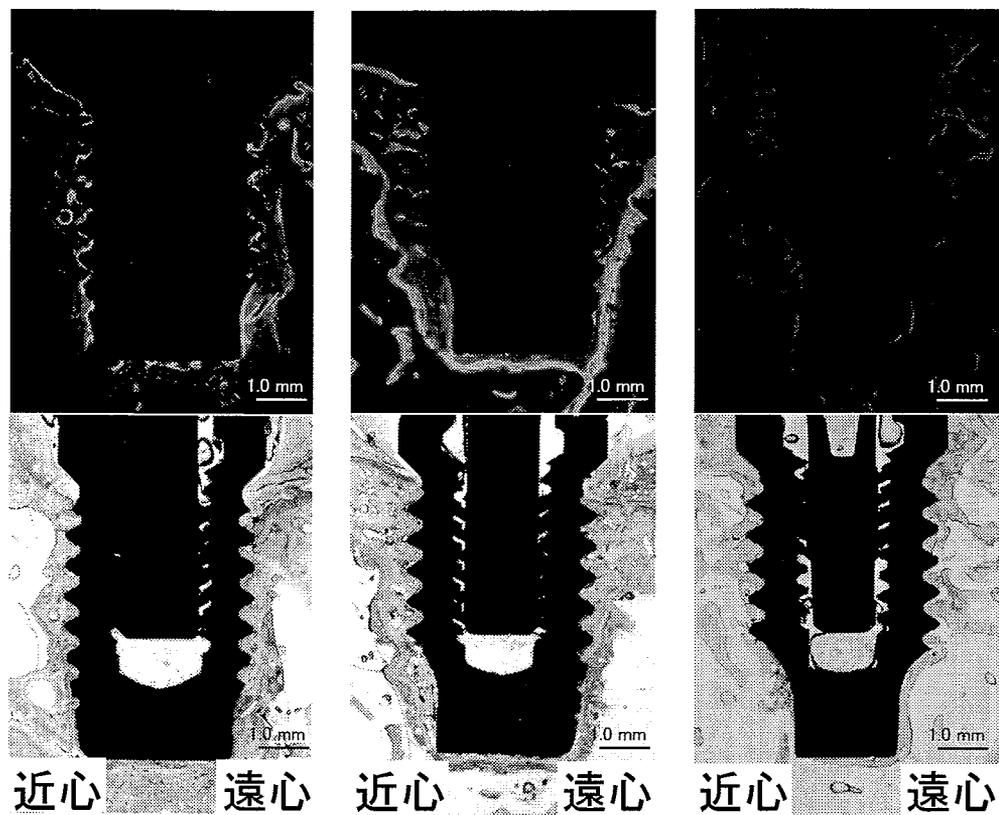


B-1



B-2

負荷期間4週



S 群

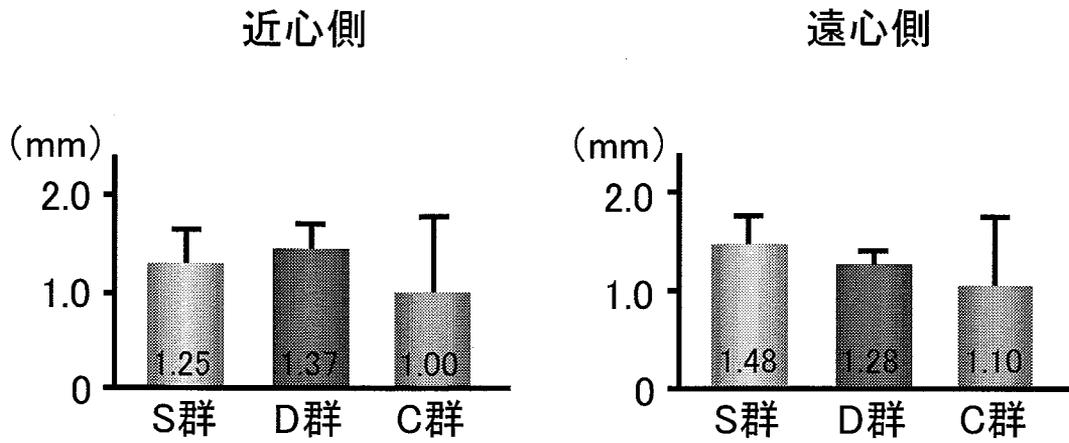
D 群

C 群

图 10

負荷期間4週

皮質骨の吸収



骨接触率

(* : $p < 0.05$)

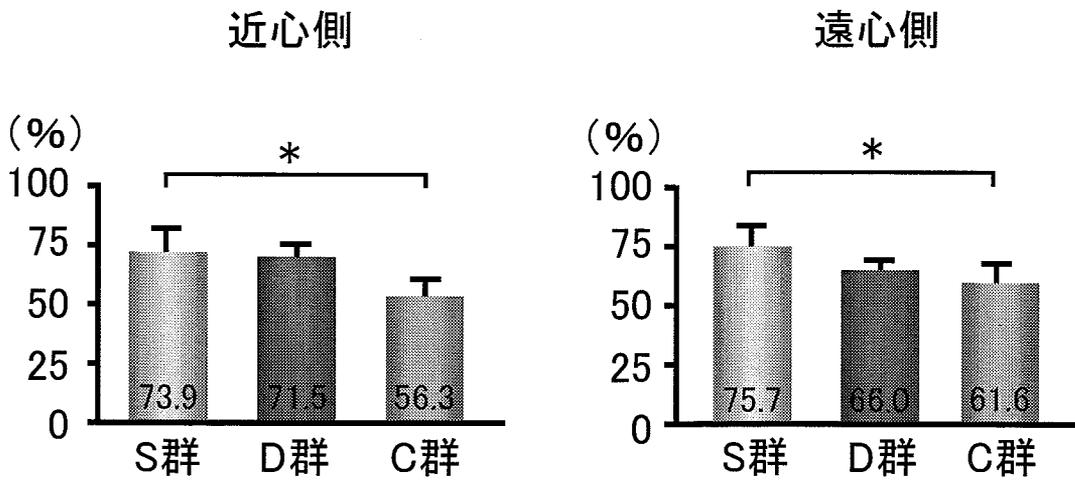
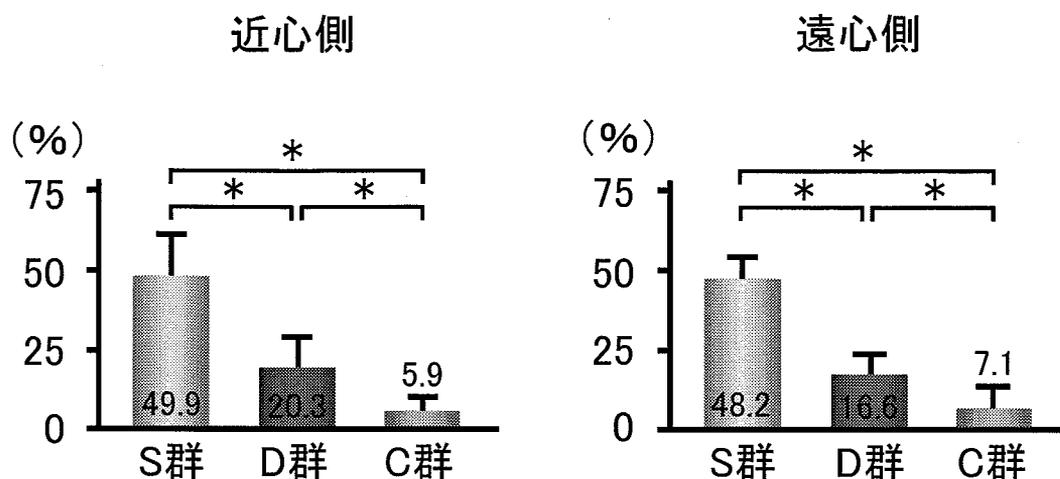


図 11

負荷期間4週

蛍光ラベルされた骨の割合 (スレッド内領域)

(* : $p < 0.05$)



蛍光ラベルされた骨の割合 (側方領域)

(* : $p < 0.05$)

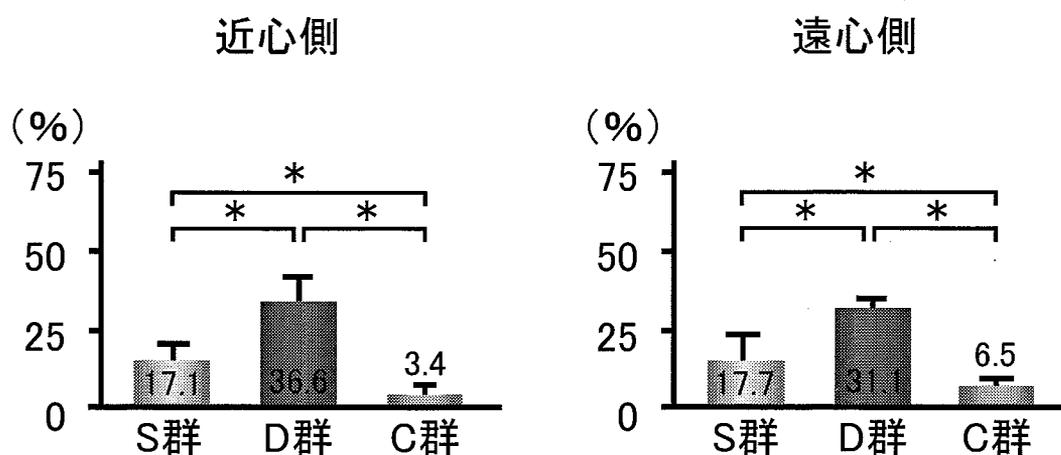


図 12

負荷期間 12 週

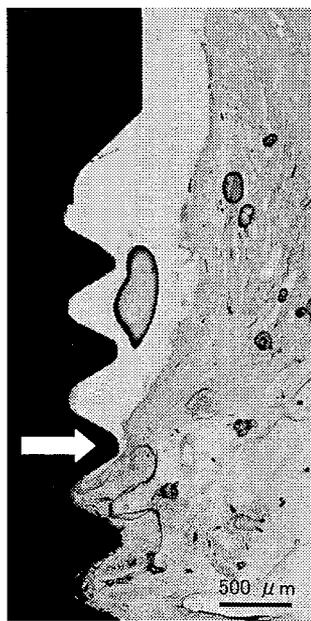
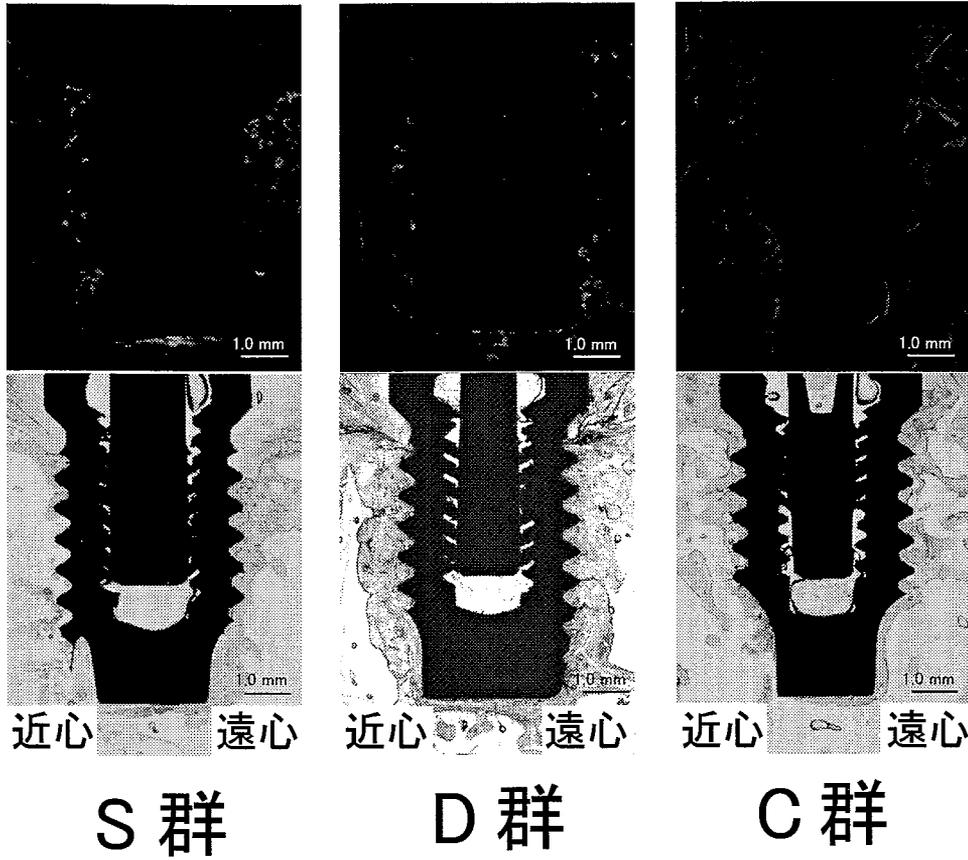
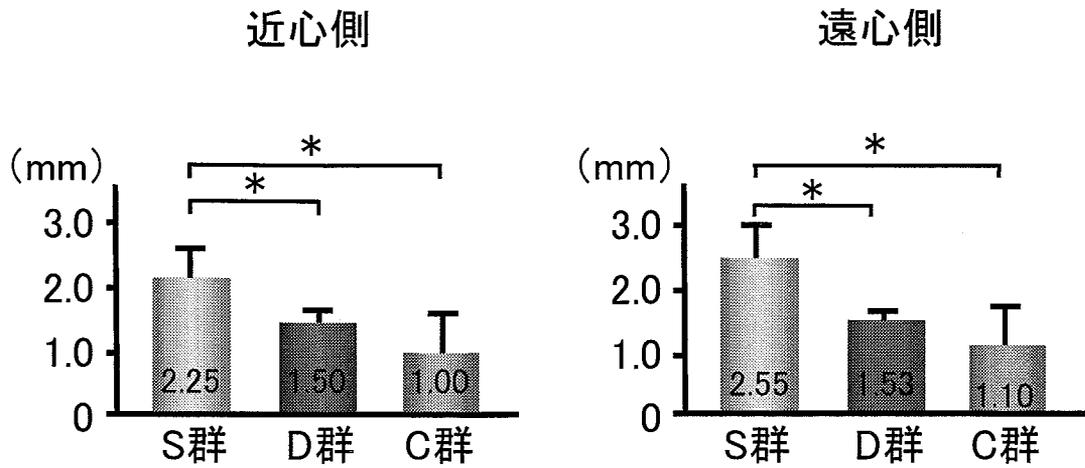


図 13

負荷期間 12 週

皮質骨の吸収

(* : $p < 0.05$)



骨接触率

(* : $p < 0.05$)

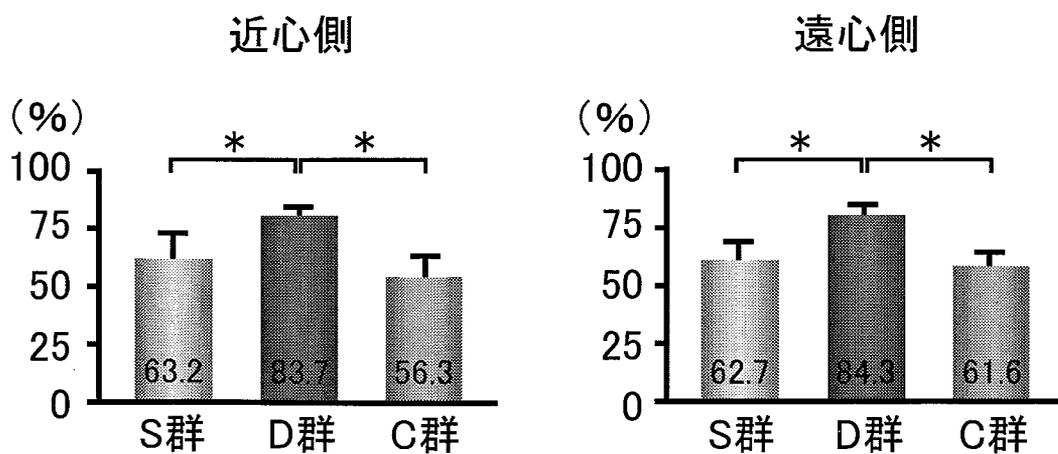
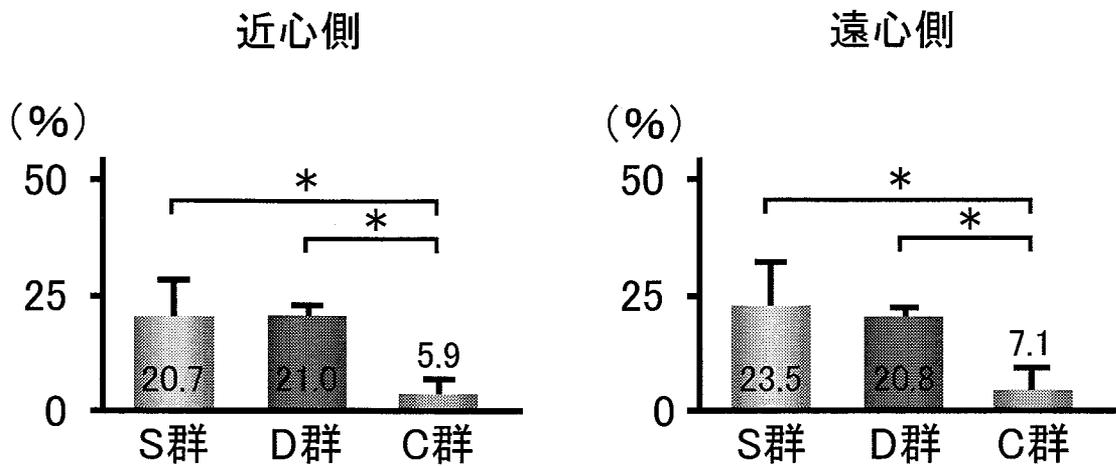


図 14

負荷期間 12 週

蛍光ラベルされた骨の割合 (スレッド内領域)

(* : $p < 0.05$)



蛍光ラベルされた骨の割合 (側方領域)

(* : $p < 0.05$)

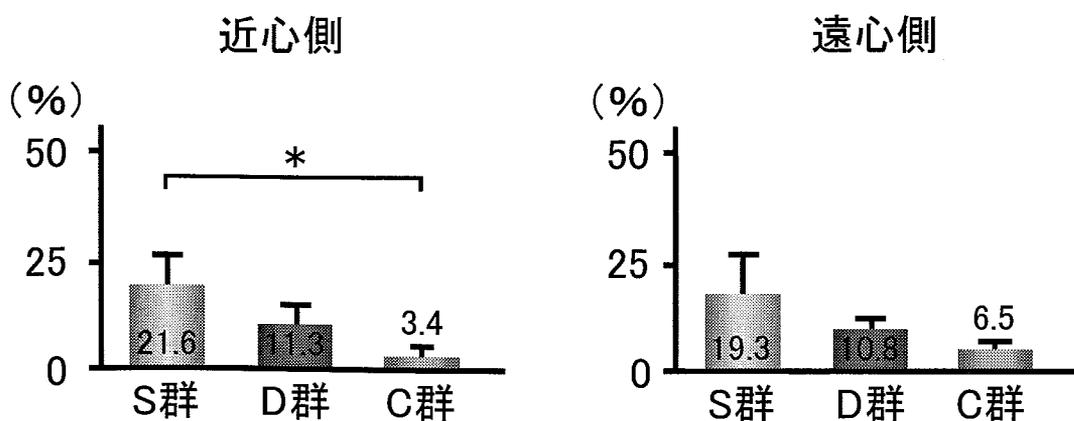


図 15