

早期負荷がチタンインプラント周囲骨組織に 及ぼす影響に関する実験的研究

本 川 博 崇

An Experimental Study on the Influence of Early Functional Loading on the Bone Tissue around Titanium Implant

Hiroataka Motokawa

(平成15年1月20日受付)

緒 言

オッセオインテグレートドインプラント治療は、その予知性の高さから補綴治療のひとつのオプション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¹⁾、この獲得と維持がインプラントの長期的成功に必須であると認識されている¹⁻⁷⁾。オッセオインテグレーションの獲得には、現在のところインプラントに負荷をかけない状態でインプラント周囲の骨治癒が促進されるよう、下顎では3ヵ月、上顎では6ヵ月以上のそれぞれの安静期間が必要であるとされている^{5,8,9)}。しかしながら、この期間患者は長期にわたり義歯を装着することが困難であり、さらに暫間の上部構造の使用を余儀なくされ、これらの長期間の装着は機能性や審美性を損ねる。そのことから、患者を中心においたインプラント治療の視点からより早期のオッセオインテグレーションの獲得が望まれている。1998年に開催されたトロント会議におけるインプラントの成功の基準にみられる「インプラントは患者と歯科医の両者が満足する機能的・審美的な上部構造をよく支持している」¹⁰⁾もこの流れを反映していると考えられ、インプラント埋入後早期にオッセオインテグレーションを獲得して、早期に上部構造を装着し、患者の満足度を得ることは、現在のインプラント治療における大きな課題である。

これを解決する試みとして、インプラント埋入から負荷開始までの期間を短縮した早期負荷いわゆるイミ

ディエイトローディング、あるいはアーリーローディングが注目されている。実際、安静期間を短縮した Randow ら¹¹⁾ は、無歯顎患者16名に埋入した機械研磨インプラントに20日以内で負荷を与え、18ヵ月後にすべてのインプラントは安定していたことを報告している。同様な臨床報告は Henry ら¹²⁾ によってもなされており、これらの臨床報告からは早期負荷によるオッセオインテグレーションの獲得は可能なように思える。しかしながら、早期負荷を行うための科学的根拠になる *in vivo* での研究報告はほとんどないため、安静期間をどれだけ短縮できるのかについては全く明らかでない。一方で、早期負荷を実現しようとインプラントの表面を粗造にすることでオッセオインテグレーションを早期に獲得する試みが *in vitro*¹³⁻¹⁵⁾ および *in vivo*¹⁶⁻¹⁸⁾ で行われており、臨床においてもこれらのインプラントが用いられ始めている。Rocuzzo ら¹⁹⁾ は部分無歯顎患者32名に68本のチタンプラズマコートおよびブラストエッチング処理インプラントを埋入して6週後に負荷を与えたところ、1年後に一本も脱落していなかったとしている。さらに、Cochran ら²⁰⁾ も表面が粗造であるインプラントに12週より早期に負荷を開始して成功したと報告している。しかしながら、表面性状の異なるインプラントと負荷開始時期との関係を検討した研究は見当たらず、インプラントの異なる表面性状に最適な負荷開始時期に関しても不明のまま残されている。

本研究では、初期のオッセオインテグレーション成立にどの程度安静期間の短縮が可能かを明らかにし、次いで異なる表面性状をもつインプラントに最適な早期負荷時期についても根拠を得ようとした。そこで、ビーグル犬を用いて、表面性状の異なる3種類のインプラントに対して4つの負荷時期を設定、負荷12週後

のオッセオインテグレーションの様相について、臨床的、組織学的並びに形態計測学的に検討した。

材料および方法

1. 材料および埋入術式

本研究は、広島大学動物実験指針および広島大学医学部附属動物実験施設実験内規に従って行った。

インプラントとして、機械研磨処理 (Brånemark Mk III[®], Nobel Biocare) (以下Mと略す), プラストエッチング処理 (GC SETIO[®], GC) (以下Bと略す), および陽極酸化処理 (Brånemark Mk III TiUnite[®], Nobel Biocare) (以下Oと略す) (図1) の表面性状の異なる3種類を用意した。

実験動物は雄性ビーグル成犬8頭 (体重11.1-11.9 kg, 推定年齢10ヵ月) とし, 研究開始1ヵ月前より個別のゲージ内で飼育し, 環境に十分順応させた。まず, 動物に硫酸アトロピン (硫酸アトロピン注射液, 田辺製薬) 0.05 mg/kg, 塩酸クロルプロマジン (コントミン[®], 吉富製薬) 1.0 mg/kg および塩酸ケタミン (動物用ケタラール[®] 50, 三共製薬) 20 mg/kg の筋肉内注射による全身麻酔を施し, さらに下顎両側第一, 第二, 第三, 第四小白歯 (以下P1, P2, P3, P4と略す) 部にエピネフリン含有リドカイン (キシロカイン[®]カート

リッジ, 藤沢薬品工業) による局所麻酔を行いながら, 同歯をすべて抜去, 術後12週以上の治癒を待って無歯顎部を準備した。その後, 動物に抜歯時と同様の全身麻酔を施し, 左右側の無歯顎部歯槽頂に近遠心的な切開を加え粘膜骨膜弁を剥離, 骨面を露出後第一大臼歯から近心へ5 mm 離れた位置を起点とし, 埋入されるインプラントの間隔が3 mm になるよう埋入位置を決定した。インプラントの埋入はBrånemark およびGCそれぞれのプロトコルに従って行い, それらの位置で埋入窩を形成して3種類のインプラントを1本ずつ, 左右側で計6本埋入した。この際, 3種類のインプラントの埋入部位は可及的に異なるように考慮した (図2)。なお, 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い, 埋入終了時にインプラントのショルダー部が頬舌側骨レベルと一致するようにした。埋入窩の形成は内部および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外部から十分な生理食塩水を注水し可能な限り埋入窩の冷却に努めた。インプラントを埋入後, 直ちにすべてのインプラントにCaraOne[®] アバットメント (Nobel Biocare) およびヒーリングキャップを装着してインプラントが粘膜を貫通した状態にした後,

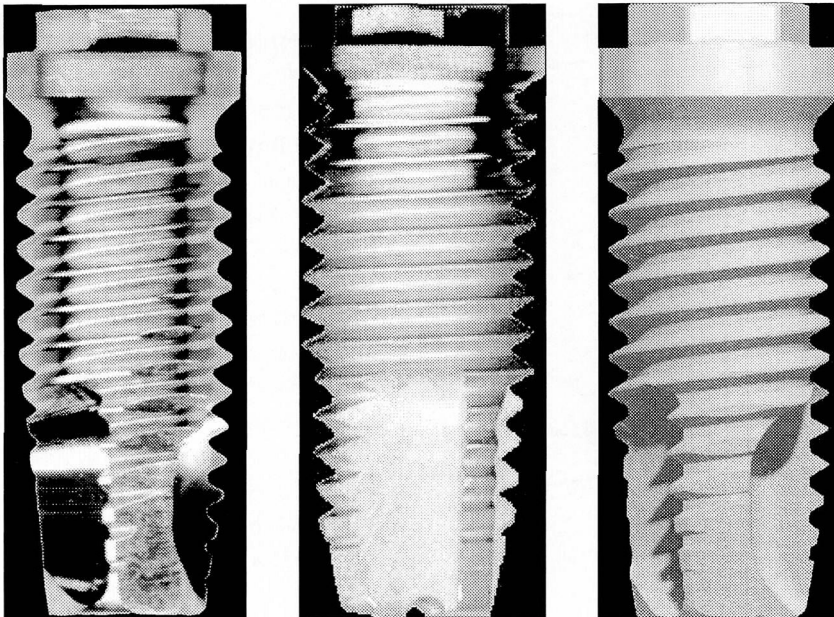


図1 本研究で用いた3種類の表面性状の異なるインプラント。

左: 機械研磨インプラント (Brånemark Mk III[®], Nobel Biocare) (以下, Mインプラントと略す)
 中: プラストエッチング処理インプラント (GC SETIO[®], GC) (以下, Bインプラントと略す)
 右: 陽極酸化処理インプラント (Brånemark Mk III TiUnite[®], Nobel Biocare) (以下, Oインプラントと略す)

粘膜骨膜弁を縫合した。埋入後は1週間にわたり、感染防止のためセフェム系抗生物質（ケフロジン[®]、塩野義製薬）0.25 g 力値を毎日一度ずつ筋肉内注射により投与した。また、埋入直後より各時期の負荷開始直前までは固形飼料を温水にて浸漬・作製した軟性飼料を与え、インプラントを無負荷の状態に保った。インプラント埋入後1, 3, 6, 12週後の各時期に、以下の環境を作ることで負荷を開始した（以下それぞれ1, 3, 6, 12週後負荷群と略す）。すなわち、インプラントには金銀パラジウム合金製の上部構造を、対合する上顎小白歯部には同合金製咬合平面板をそれぞれ装着して上部構造に点接触を与え、加えて固形飼料による飼育を行うことでインプラントに機能的負荷をかけた。各時期から負荷を開始後、12週間にわたりインプラント周囲組織を観察した。なお、埋入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。

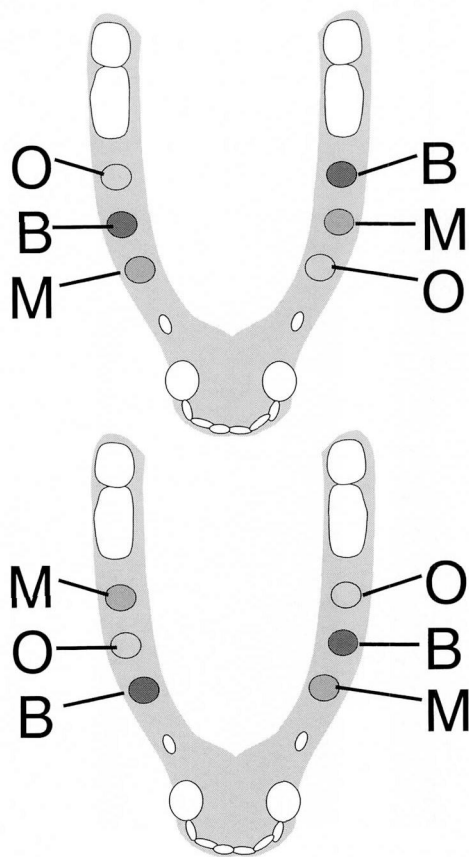


図2 インプラントの埋入位置を示す模式図。
動物8頭を4つの負荷群それぞれ2頭ずつに分け、それぞれの動物でできるだけ埋入部位が異なるようインプラントは埋入されている。

2. 観察方法

(1) X線学的観察

インプラント周囲を臨床的に観察するとともに、負荷後1, 3, 6, 9, 12週の各時期にインプラントを含む周囲骨の規格X線撮影を行った。この規格撮影には、デンタル撮影用インジケーター（撮影用インジケーターII型[®]、阪神技術研究所）を各動物毎に調整した撮影ジグを用い、照射方向と時間を毎回一定にして行った。

(2) 組織学的観察

負荷開始12週後、動物に塩酸ケタミン（動物用ケタラルール[®]50、三共製薬）20 mg/kg の筋肉内注射による全身麻酔を施し、血液凝固阻止剤（ノボ・ヘパリン注1000、日本ヘキスト・マリオン・ルセル）5000単位を静脈内注射し、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。得られた同ブロックを10%中性緩衝ホルマリンに4日間浸漬後、アルコール系列にて脱水、次いでブロック内に恒温槽内にて減圧下で光重合メタクリレート系樹脂（Technovit[®]7200VLC, Kulzer）を十分に浸透させ、光重合装置（MG-5000, EXAKT APPARATEBAU）を用いて重合させてレジン包埋を終了した。このレジンプロックを硬組織薄切機（硬組織用カッティング・マシン BS-3000, EXAKT APPARATEBAU）を用いてインプラント長軸に平行となるよう頬舌断方向に薄切、約200 μm厚の非脱灰切片を3~4枚得た。これらの切片を超精密硬組織研磨機（マイクログライディングマシン MG-4000, EXAKT APPARATEBAU）を用いて約70 μm厚に研磨し、その後に Toluidine blue 染色を施して光顕的に観察した。

(3) 形態計測学的観察

光顕観察を終了した染色標本を用いて、骨接触率、骨面積率および骨レベルの低下量をそれぞれ測定した（図3）。骨接触率の測定は、以下のように行った。すなわち標本を万能投影機（Profile Projector V-16E, ニコン）上で50倍に拡大、インプラント表面に直接接触している骨組織を脂肪髄や線維性組織と識別しながらトレース、このトレース像をスキャナー（ES8000, エプソン）にてパーソナルコンピュータ（Power Macintosh G3, Apple Computer Inc.）に取り込んだ。画像解析ソフト（NIH Image, National Institutes of Health）を用い、インプラント表面の長さおよびそのインプラント表面に骨組織が接触している長さをそれぞれ測定、前者に対する后者の割合をインプラントの骨接触率として算出した。骨面積率は、骨接触率の測定と同一の画像解析ソフトを用い、インプラントのネジ山の頂を結んだ仮想線とネジ谷とで囲まれた面積ならびに同部

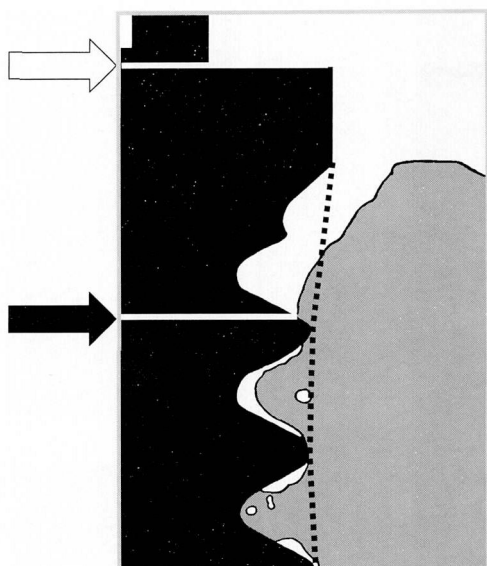


図3 骨接触率、骨面積率および骨レベル低下量の測定を示す模式図。

組織標本からインプラント表面に直接接触している骨組織を脂肪髄や軟組織と識別して、トレースを行い、骨接触率、骨面積率および骨レベルの低下量を求めた。

$$\text{骨接触率} = \frac{\text{骨接触している長さ}}{\text{インプラントの全長}} \times 100$$

$$\text{骨面積率} = \frac{\text{スレッド内部の骨面}}{\text{スレッド内部の全面積}} \times 100$$

$$\text{骨レベルの低下量} = \text{埋入時の骨レベル} - \text{負荷後12週の骨レベル}$$

(⇨: 埋入時の骨レベル, ⇨: 負荷後12週時の骨レベル, ----: インプラントのネジ山の頂を結んだ仮想線)

における骨組織の面積をそれぞれ測定、前者に対する後者の割合を算出して決定した。骨レベルの低下量は、インプラントのショルダー部を埋入時の骨レベルと認識し、トレース像にみられる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してそれとした。

得られた各インプラントの各負荷時期における骨接触率、骨面積率および骨レベルの低下量の平均値については、いずれも一元配置分散分析ならびに多重比較検定を行い、有意水準5%で統計学的に分析した。

結 果

(I) 臨床的およびX線学的所見

すべての動物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を維持していた。また、埋入した48本のインプラントについて動揺や脱落は全くみられなかった。1週後負荷群のインプラント周囲粘膜では、

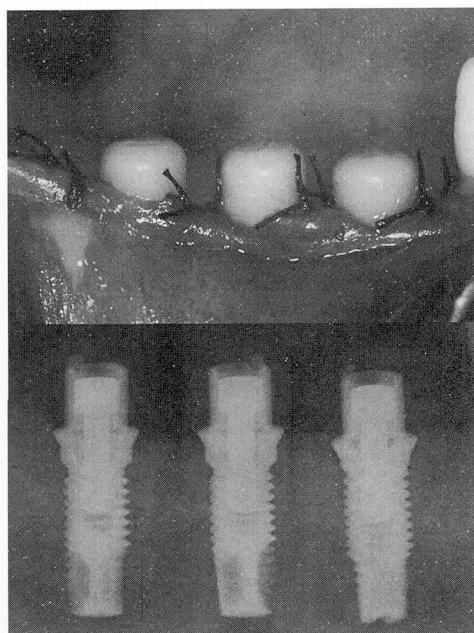


図4 3週後負荷群におけるインプラント埋入直後の口腔内とX線写真。

インプラントにはアバットメントとヒーリングキャップが装着されている。

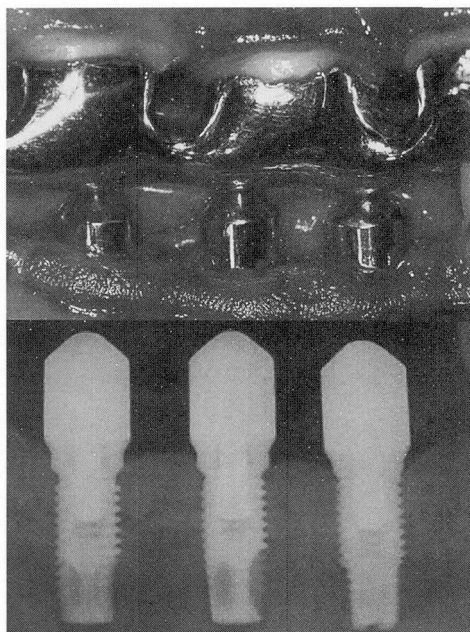


図5 3週後負荷群における上部構造装着直後の口腔内とX線写真。

埋入後3週間の安静期間においてインプラントには金属製上部構造を、対咬歯には金属板を装着して咬合した状態。X線写真においても、インプラント周囲にX線透過像は認められない。

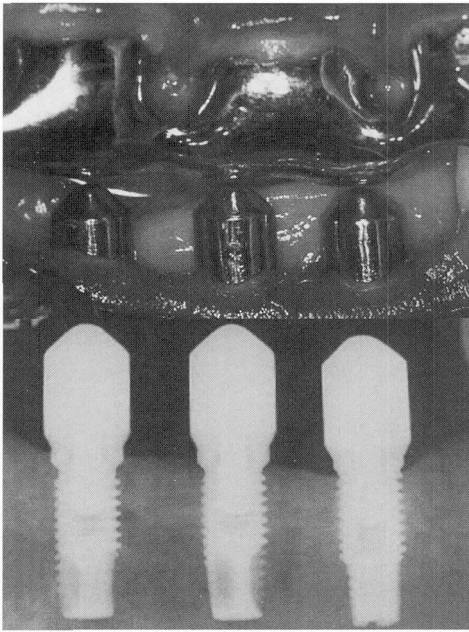


図6 3週後負荷群における負荷開始12週後の口腔内とX線写真。

インプラント周囲粘膜には炎症はみあたらず、インプラント周囲に線維性組織による被包化を示すX線透過像は認められない。

負荷1週後で他の負荷群の負荷1週後のものと比較して発赤や腫脹がやや強く認められたが、その後に炎症は消失した。他の負荷群においては、観察期間を通じて全体的に健康なインプラント周囲粘膜を保っていた。

すべてのインプラントの規格X線写真において、インプラント周囲にX線透過像は認められず、周囲骨から連続する骨がインプラント表面に接触していた。3週後負荷群のインプラント埋入時、埋入3週後の負荷開始時、負荷後12週時の各時期における口腔内写真と規格X線写真をそれぞれ図4～6に示した。インプラント埋入直後にアバットメントとヒーリングキャップを装着し縫合したが(図4)、3週後の負荷開始時にはインプラント周囲粘膜はほぼ治癒しており(図5)、負荷12週後まで良好な健康状態が保たれていた(図6)。X線写真からもいずれの観察期間においてもインプラント周囲にX線透過像は認められなかった(図4～6)。

(2) 組織学的所見

Mインプラント、BインプラントおよびOインプラントのそれぞれにおける異なる負荷群の組織像を図7に示した。すべてのインプラントにおいて、インプラント表面に成熟した骨組織が直接接触しており、線維性組織によるインプラントの被包化は全く認められな

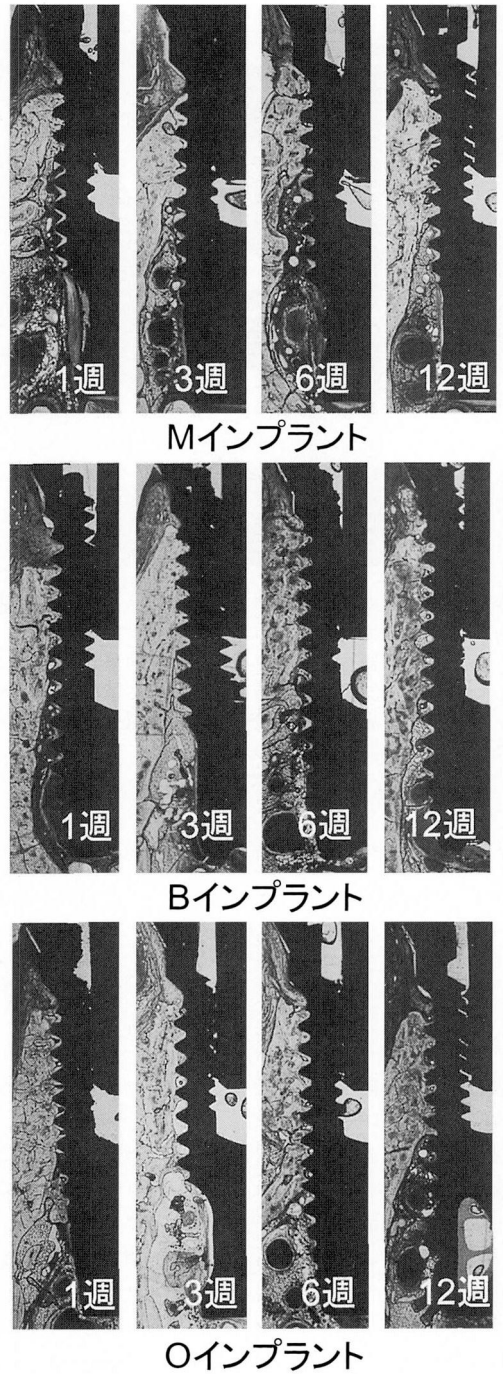


図7 各インプラント周囲の組織像。

すべてのインプラントにおいて、インプラント周囲には成熟した骨組織が直接接触して線維性組織によるインプラントの被包化は全くなく、良好なオッセオインテグレーションが成立している。(図上段から順にM、B、Oインプラント。左から1週後、3週後、6週後、12週後の各負荷群の頬舌側組織像を示す)

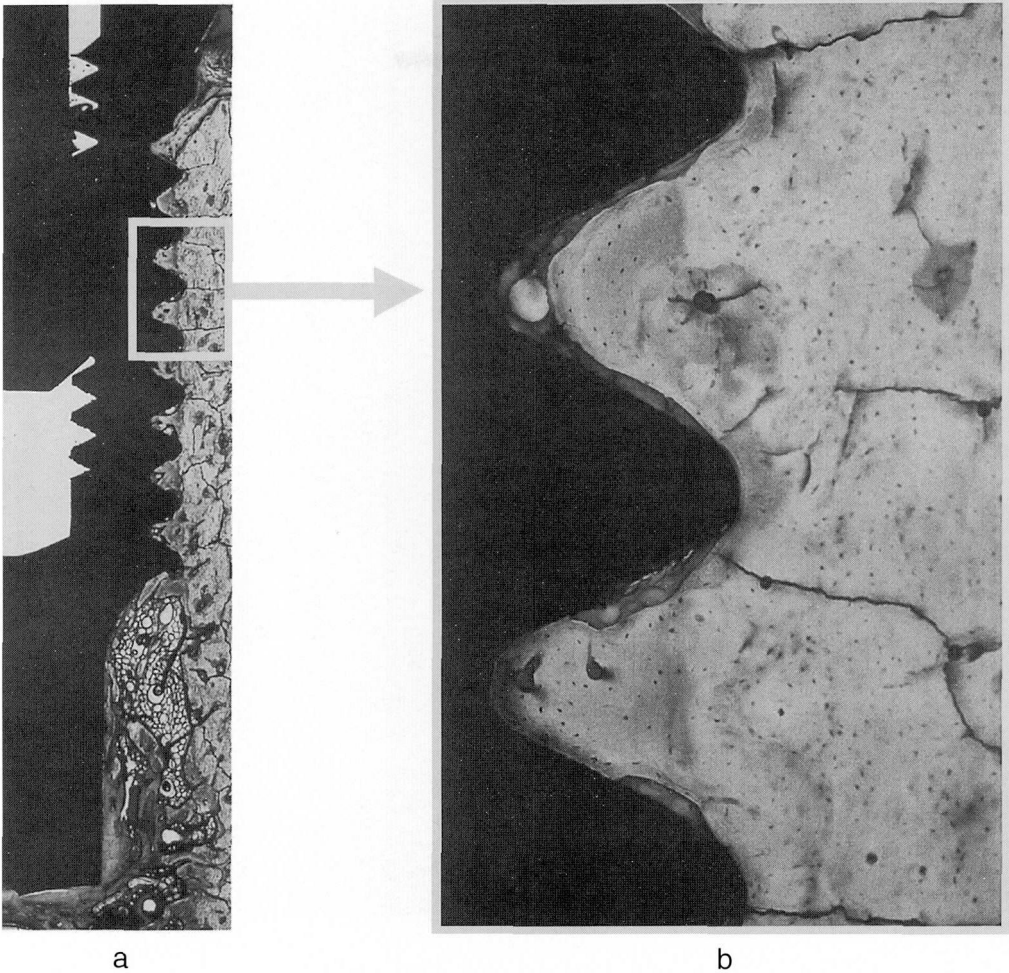


図8 Bインプラント3週後負荷群の強拡大像。

骨髓腔が少なく新生骨がスレッド部を充たしているが、スレッド表面すべてに直接的な骨接触は認められない。

(頬舌側標本 a:弱拡大像 b:弱拡大像で囲んだ範囲の強拡大像)

いなど、良好なオッセオインテグレーションが成立していた。3週後負荷群のBおよびOインプラントのスレッド部をよく観察すると、Bインプラントでは骨髓腔が少なく新生骨がスレッド部を充たしていたが、スレッド表面のすべてに直接的な骨接触はなかった(図8)。一方、Oインプラントではスレッド部に骨髓腔が多く見られたが、インプラント表面に沿って新生骨がよく形成されていた(図9)。

(3) 形態計測学的観察

各インプラントにおける異なる負荷時期の骨接触率は図10に示した。すべてのインプラントにおいて、3週後負荷群では、Mインプラントが $35.4 \pm 2.9\%$ 、Bイ

ンプラントが $44.9 \pm 8.8\%$ 、Oインプラントが $54.0 \pm 6.8\%$ を示し、他の負荷群と比較して最も高い値であった。なかでもMインプラントでは、3週後負荷群の値が1週後負荷群の $15.5 \pm 5.1\%$ 、6週後負荷群の $18.9 \pm 7.8\%$ よりも有意に高く($p < 0.05$)、Oインプラントにおいても3週後負荷群の値は1週後負荷群の $34.2 \pm 13.3\%$ より有意に高かった($p < 0.05$)。骨面積率(図11)をみると、やはりすべてのインプラントにおいて、3週後負荷群ではMインプラントが $48.0 \pm 5.6\%$ 、Bインプラントが $54.0 \pm 9.5\%$ 、Oインプラントが $43.3 \pm 3.5\%$ と、他の負荷群と比較して最も高い値を示していた。なかでもMインプラントでは、1週後負荷群の $22.7 \pm 5.5\%$ よりも3週後負荷群の値は有意に高く(p

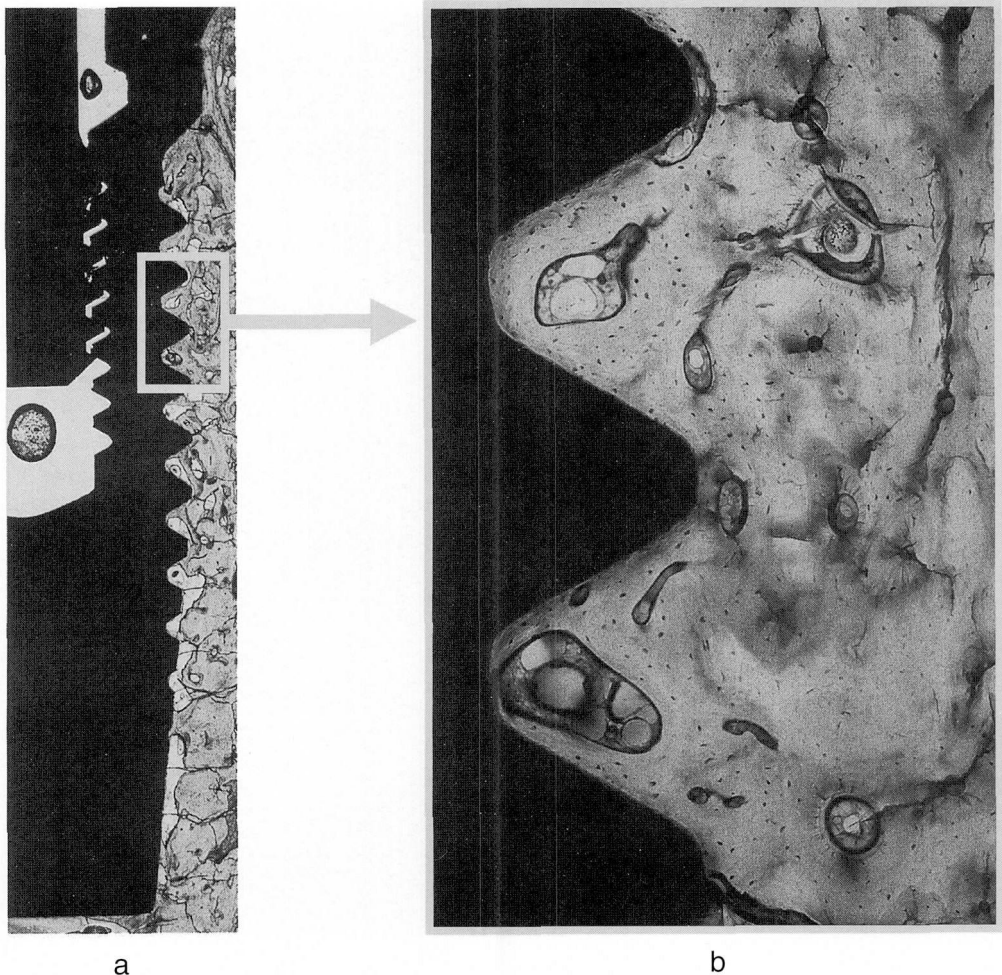


図9 Oインプラント3週後負荷群の強拡像。

スレッド部に骨髓腔が多く見られたが、インプラント表面に沿って新生骨がよく形成されている。
(頬舌側標本 a：弱拡像 b：弱拡像で囲んだ範囲の強拡像)

<0.05), Oインプラントでも3週後負荷群の値は12週後負荷群の $29.7 \pm 4.6\%$ よりも有意に高かった ($p < 0.05$)。骨レベルの低下量は図12に示した。すべてのインプラントにおいて、1週後負荷群ではMインプラントが 1.66 ± 0.26 mm, Bインプラントが 1.38 ± 0.25 mm, Oインプラントが 1.69 ± 0.48 mmと、他の負荷群と比較して最も高い値であった。なかでもMインプラントでは、1週後負荷群の値が3週後負荷群の 0.86 ± 0.27 mmよりも有意に高く ($p < 0.05$)、Oインプラントにおいても1週後負荷群の値が3週後負荷群の 0.91 ± 0.25 mmよりも有意に高かった ($p < 0.05$)。

各負荷時期における異なる3種類のインプラントの骨接触率は図13に示した。すべての負荷時期において、Oインプラントが1週後負荷で $34.2 \pm 13.3\%$ 、3週後負荷で $54.0 \pm 6.8\%$ 、6週後負荷で $45.2 \pm 4.7\%$ 、12週

後負荷で $38.7 \pm 3.8\%$ と、他のインプラントと比較して最も高かった。なかでも3週後負荷時では、Oインプラントの値はMインプラントよりも、6週後負荷時ではMおよびBインプラントよりそれぞれ有意に高かった ($p < 0.05$)。各負荷時期における3種類のインプラントの骨面積率は図14に示した。すべての負荷時期においてBインプラントが1週後負荷群で $46.0 \pm 9.7\%$ 、3週後負荷群で $54.0 \pm 9.51\%$ 、6週後負荷群で $39.6 \pm 12.4\%$ 、12週後負荷群では $49.3 \pm 10.4\%$ と最も高い値を示した。なかでも1週後負荷群では、Mインプラントの $22.7 \pm 5.5\%$ およびOインプラントの $30.1 \pm 4.6\%$ よりもBインプラントが有意に高く ($p < 0.05$)、12週後負荷群でもOインプラントの $29.7 \pm 4.6\%$ よりもBインプラントの値が有意に高かった ($p < 0.05$)。骨レベルの低下量 (図15) は 0.86 mm ~ 1.69 mm の値を示

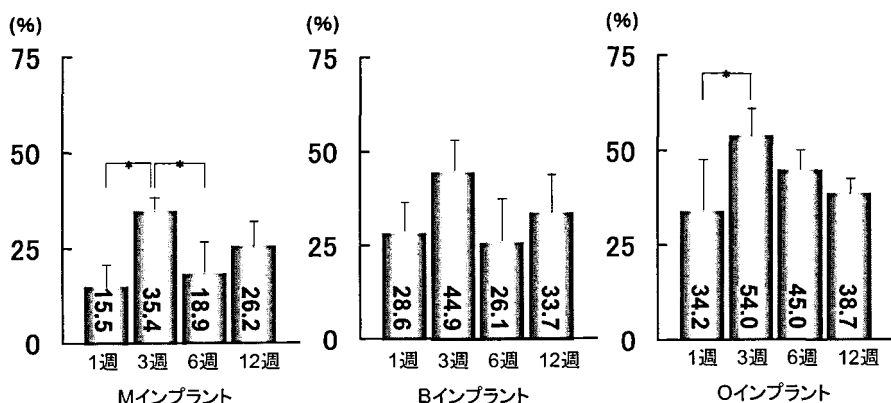


図10 各インプラントにおける異なる負荷時期での骨接触率.

すべてのインプラントで、3週後負荷群が最も高い値を示している。なかでもMインプラントでは、1週後負荷群、6週後負荷群よりも3週後負荷群が有意に高く、Oインプラントでも1週後負荷群よりも3週後負荷群の値が有意に高い。

(* : $p < 0.05$)

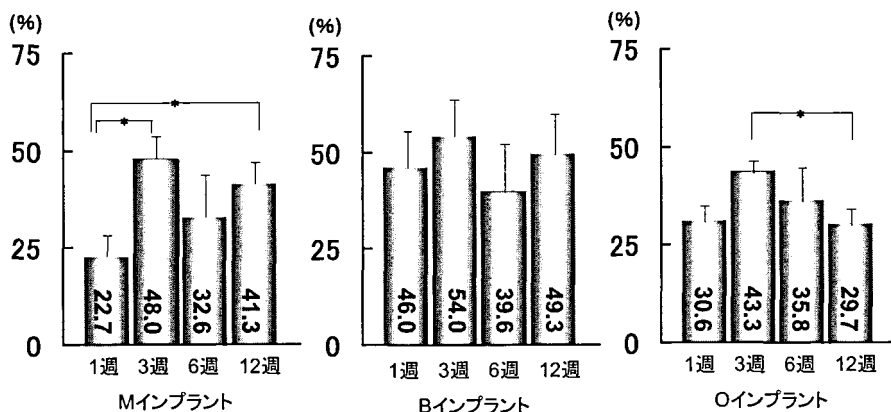


図11 各インプラントにおける異なる負荷時期での骨面積率.

すべてのインプラントで、3週後負荷群が最も高い値を示している。なかでもMインプラントでは、1週後負荷群より3週後負荷群が有意に高く、Oインプラントでも12週後負荷群よりも3週後負荷群の値が有意に高い。

(* : $p < 0.05$)

し、いずれの負荷時期においてもインプラント表面性状による有意差はみられなかった。

考 察

1. 実験方法について

(1) 実験動物について

本研究ではビーグル犬を用いた。現在まで *in vivo* におけるインプラント周囲骨構造の観察には、ラット²¹⁾、ウサギ²²⁻²⁴⁾、イヌ¹⁷⁾、サル²⁵⁻²⁷⁾などが主に用いられている。ラットは扱いやすく、系の統一や数の確保ができ、安価であることなどの利点があるが、小動物であり顎骨の大きさや性状がヒトと著しく異なるため、

臨床に近い条件でのインプラント埋入ができない²¹⁾。ウサギは、その大腿骨がインプラント埋入後の骨組織反応の検討によく用いられているが²³⁾、ラットと同様に顎骨の大きさや性状はヒトと著しく異なっており、臨床に近いインプラントの埋入条件の設定は難しい^{22,24)}。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²⁷⁾、臨床に近い実験条件を付与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^{25,26)}。しかしながら、動物の年齢を設定することがなかなかできないこと、数の確保にも難点があり、さらに最近の倫理的観点からはニホンザルを用いる動物実験が問題視されつつあることも、この動物を用いることをた

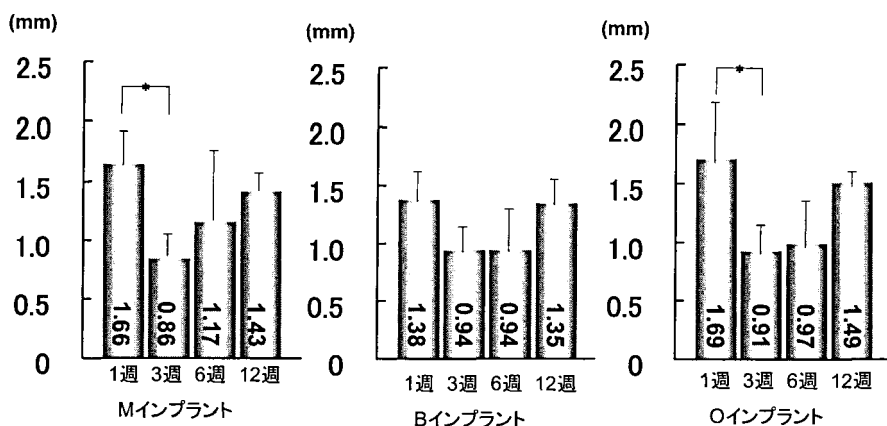


図12 各インプラントにおける異なる負荷時期の骨レベルの低下量。

すべてのインプラントで、1週後負荷群が最も高い値を示している。なかでもMインプラントでは、3週後負荷群よりも1週後負荷群が有意に高く、Oインプラントでも3週後負荷群よりも1週後負荷群の値が有意に高い。

(* : $p < 0.05$)

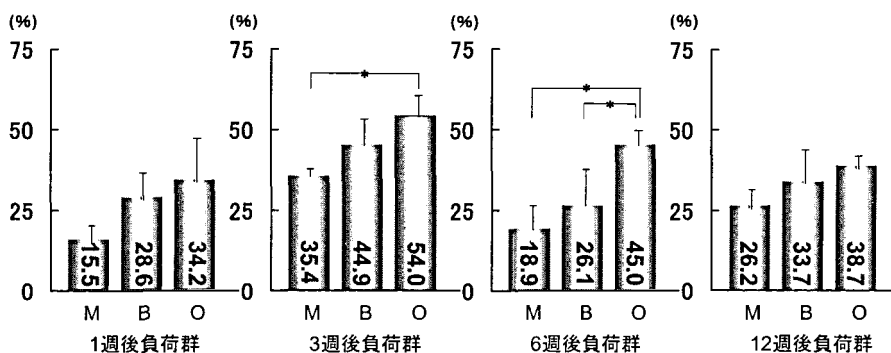


図13 異なる負荷時期における各インプラントでの骨接触率。

すべての負荷時期で、Oインプラントが最も高い値を示している。なかでも3週後負荷群ではMインプラントよりもOインプラントが有意に高く、6週後負荷群でもMおよびBインプラントよりもOインプラントが有意に高い。

(* : $p < 0.05$)

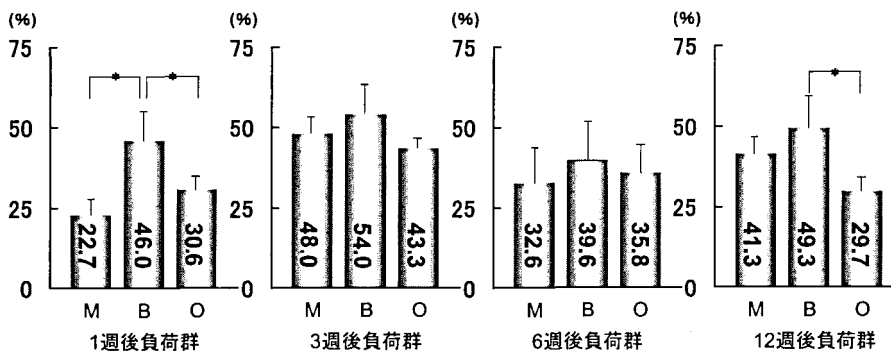


図14 異なる負荷時期における各インプラントでの骨面積率。

すべての負荷時期でBインプラントが最も高い値を示している。なかでも1週後負荷群ではMおよびOインプラントよりもBインプラントが有意に高く、12週後負荷群でもOインプラントよりもBインプラントが有意に高い。

(* : $p < 0.05$)

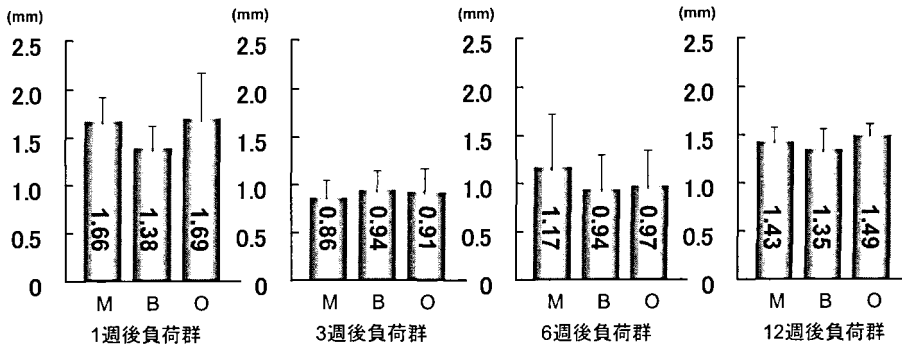


図15 異なる負荷時期における各インプラントでの骨レベルの低下量。
いずれの負荷時期においてもインプラント表面性状による有意な差はみられない。

めらわさせる。一方、ビーグル犬は実験用動物として用意されているものであり、血統、性、年齢、体重などを可能な限り揃えることができる。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のコントロールに関しては、ビーグル犬では無麻酔下で毎日でもブラッシングが可能である。これらの点を踏まえ、本研究ではインプラント埋入後早期に負荷を与え周囲骨組織を検索したかったため、インプラントが臨床とほぼ同じ条件で埋入でき、かつプラークコントロールが容易なビーグル犬を用いることにした。そこで、同一施設で飼育された動物を購入、血統、性、年齢、体重等の条件を可及的に同一とした。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できる限り同一に揃えることができたと考えられる。実際、インプラント埋入部位の無菌顎部について、埋入前に Peripheral Quantative Computed Tomography (高解像度 pQCT Densiscan-2000, Scanco Medical) を用いて骨密度を測定したところ、すべての動物でほぼ同じ値を示していたことから、埋入部位の骨質はできるだけそろえられたとみなしてよい。これらのことから、本研究でビーグル犬を用いたことは適切であったと考えられる。

(2) インプラントの選択について

初期のオッセオインテグレーションを獲得するための因子として、Albrektsson ら²⁸⁾ 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 6) 負荷の時期と程度の6つを挙げており、インプラント側の因子は、材料、形状、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*²⁹⁻³²⁾ や *in vivo*^{18, 33-37)} 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用いられてきた。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細胞毒性の影響が懸念されていること

から³⁸⁻⁴³⁾、臨床的研究では現在それに起因する知見は報告されていないものの、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、現在臨床においてはほぼスクリュー型とシリンダー型が用いられている。Skalak ら⁴⁴⁾ や Brunski ら⁴⁵⁾ はスクリュー型インプラントで得られる埋入直後の初期固定は早期負荷に対しても有効で、オッセオインテグレーションを阻害する微小動揺を引き起こさない可能性を示唆している。実際、スクリュー型インプラントに早期負荷を与えた場合にオッセオインテグレーションを獲得できるとする報告もみられる¹¹⁾。そこで、本研究ではスクリュー型を用いることとした。

表面性状に関しては、Thomas ら³³⁾ は表面性状が粗造であることが骨の配列とオッセオインテグレーションに重要な役割と果たしていると考え、Wilke ら⁴⁶⁾ はこのことを *in vivo* の研究により証明した。また、Buser ら¹⁸⁾ はインプラントのオッセオインテグレーションは表面性状の粗造度に比例して増加すると述べている。これらのことから、より確実なオッセオインテグレーションを得ようと、盛んにインプラントの表面改質が行われ、なかでも臨床的には、表面処理を施したインプラントとして、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)、プ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きている。しかしながら、アパタイトコーティングインプラントのアパタイト層には基質とのコーティング強度が比較的弱いこと、また、このアパタイト層には非結晶質相やアパタイト以外のリン酸カルシウム相が含まれていることからアパタイト層が溶解し、その後に露出する粗な表面に微生物が付着してインプラント周囲炎の引き金となる可能性もあるなど、このコーティングには問題が残されている⁴⁷⁻⁵²⁾。また、TPS インプラントに関しては、埋入時にインプラント表面からチ

タンの微粒子が剥離して周囲骨組織やリンパ節に取り込まれたとの報告がある⁵³⁾。そこで最近では、インプラントの表面をコーティング以外の方法で粗造にする試みが始められている。そこで本研究では、表面性状として、インプラント表面を粗造にしていない機械研磨を、コーティング以外の手法で表面を粗造にしたブラストエッチング処理および陽極酸化処理を施したインプラントを選択した。機械研磨インプラントとして、臨床で広く使用され研究報告が豊富で本研究結果とも比較検討可能である Brånemark Mk III[®] を選択した。ブラストエッチング処理のインプラントは、骨接触率が高いこと¹⁷⁾、インプラントの機能圧支持能力の指標である除去トルク値が高いこと¹⁸⁾ など、早期荷荷に応用できる可能性が考えられることから、Brånemark Mk III[®] に比較的形態が近似している GC SETIO[®] を選択した。また、最近紹介された Brånemark Mk III[®] と形態が同一でかつ陽極酸化処理された TiUnite[®] はダブルエッチング処理インプラントよりも高い骨接触率を示すとされることから⁵⁴⁾、このインプラントを使用することとした。

(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、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こと、さらに、ヒトに比較的近い骨構造を有していることなどから本研究の目的に適していると考えた。また、下顎大臼歯を抜去すると咬合支持が喪失し、動物が衰弱する危険性も考えられたため、咬合支持の失われないよう大臼歯は抜去せず、4本の下顎小白歯をすべて抜去して無歯顎部とすることにした。

インプラントの埋入は、Albrektsson³⁾、Brånemark⁵⁾、Eriksson ら⁵⁵⁾ 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⁵⁵⁻⁵⁷⁾。本研究では、デイスポーザブルの鋭利なドリルを毎分2000回転以下で用い、滅菌生理食塩水を内部および外部から注水しながら埋入窩の形成を行い、生じる摩擦熱を極力小さくするよう努めた。実際、すべてのインプラントにおいてよくオッセオインテグレーションが達成されており、埋入手術による本研究への影響は軽微なものであるとみなされよう。

(4) 上部構造と咬合接触様式について

インプラント治療は上部構造を装着して機能することにより、その目的が達成される。それゆえ、上部構造の材料、形態および咬合接触状態などはきわめて重

要な因子であり、インプラント周囲骨構造にも大きな影響を及ぼすと考えられる。本研究では荷荷開始時期の違いによるオッセオインテグレーションへの影響を観察したいこと、また、インプラントの荷荷に関する他の研究では金属製上部構造により機能圧を荷荷したものが最も多くみられ、それらと本研究の結果を比較検討したいと考え、金銀パラジウム合金 (キャストウエル M.C., GC) を使用して上部構造と咬合平板とした。咬合接触様式は点接触とし、さらに固形飼料で飼育することでインプラントに機能的荷荷を与えた。

(5) 観察期間について

本研究では埋入1, 3, 6, 12週後の各時期に荷荷を開始し、荷荷後の12週間を観察した。イスにおけるインプラント埋入後の周囲の骨治癒は、組織学的には1週後に血管新生が盛んに行われている血管増生期となり、3週後には新生骨梁の形成が盛んに行われる骨増殖期、6週後は新生骨小柱の緻密化がみられる骨成熟期を経て⁵⁸⁻⁶⁰⁾、12週後にオッセオインテグレーションが成立するとされている^{8,9)}。荷荷開始時期の設定では、これらの骨治癒の組織学的動向を踏まえながら、インプラント周囲の骨治癒の血管増生期や骨増殖期、さらには骨成熟期が荷荷によりどのような影響をうけ、それらを通してオッセオインテグレーションが成立していくのかを観察しなかったため、上記の荷荷時期を決定した。また、荷荷後の観察期間を12週としたのは、下顎骨におけるオッセオインテグレーションの成立が12週とされている^{8,9)} ことから設定し、初期のオッセオインテグレーションに与える荷荷の影響を観察した。

2. 観察方法について

インプラント周囲骨の状態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が困難であり、実際、井上ら⁶¹⁾ 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X線写真はインプラント周囲への軟組織の介在や骨レベルの低下を確認するための手法として用いた。

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体表面との形態的・機能的な直接的結合であるとされ⁵⁾、光顕レベルで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。本研究では、初期のこのオッセオインテグレーションの状態を観察しなかったため、光顕的な組織学的観察を行った。

オッセオインテグレーションの機能圧支持能力を評

価することは重要であり、現在では、引き抜き（押し出し）試験や除去トルク試験などにより計測されている。しかしながら、これらの方法では試験中にインプラント周囲組織を破壊してしまうため、界面組織像を観察できない欠点がある。一方、骨組織を破壊しないで支持能力を間接的に測定する方法として、非脱灰研磨標本からの骨接触率や骨面積率の測定がある。Johanssonら⁶²⁾やSennerbyら⁶³⁾は、スクリュウ型インプラントの骨接触率と除去トルク値および骨面積率と除去トルク値の間にはそれぞれ正の相関があると報告している。そこで本研究では、骨接触率や骨面積率を測定し、咬合負荷に対する支持力を評価しようとした。最近インプラントの安定度とオッセオインテグレーションの定量的測定法として、Resonance Frequency Analysisとして知られる非破壊的試験法が開発されている^{64,65)}。この試験法はアバットメントに装着された着脱式片持ち梁接触子に一定の振動数以上の振動を与え、インプラントシステムに最初に励起された振動を計測するものである。しかしながら、本研究では上部構造をアバットメントに接着性セメントにて合着していたため上部構造の着脱ができず、負荷開始後のこの試験法による計測は不可能なため、用いなかった。

3. 観察結果について

本研究で用いたすべてのインプラントにおいて、周囲に軟組織の存在を示すX線透過像は認められず、周囲骨と連続する骨がインプラント表面に直接接触し良好なオッセオインテグレーションが獲得されていた。また、それぞれのインプラントについて骨レベルの低下はみられたものの、著しい骨吸収は認められなかった。Cameronら⁶⁶⁾やBrunski⁶⁷⁾は、イスを用いた動物実験で、負荷を与えないインプラントではインプラント周囲に骨が形成されるが、埋入直後から負荷を与えたインプラントではインプラント周囲に線維性結合組織が形成されることを示し、埋入直後からの負荷により生じるインプラントの微小動揺がオッセオインテグレーションに悪影響を与えているとしている。また、他の研究においてもオッセオインテグレーションを獲得するためには安静期間を設けて埋入されたインプラントを一定期間無負荷にして骨治癒を待つことが必要とされており^{5,8,9)}、インプラントに生じる微小動揺が約50~150 μm を超えるとインプラント・骨界面に線維性の修復様式が生じるとされている⁶⁸⁾。これらのことから、インプラントの微小動揺を生じさせないために、埋入直後からの機械的な初期固定と埋入後の安静がなければならないと認識されている^{8,9)}。しかしながら一方で、機械研磨された複数のチタンインプラントを埋

入後連結固定して微小動揺を抑え、上部構造により即時負荷を与えてもオッセオインテグレーションが得られるとの臨床報告もみられる^{69,70)}。本研究において、すべての負荷群のすべてのインプラントがオッセオインテグレーションを獲得したのは、今回設定した機能圧がオッセオインテグレーションに対して閾値以上の有害となる微小動揺を誘発しなかったためであろう。

骨接触率と骨面積率を各インプラントについて異なる負荷時期と比較すると、3週後負荷群がいずれのインプラントにおいても骨接触率および骨面積率はともに最も高い値を示していた。一方、骨レベルの低下量を見ると1週後負荷群が最も高い値を示していた。インプラント埋入後に無負荷と負荷を与えた状態でのインプラント周囲組織を血管新生と骨新生からとらえた諏訪⁷¹⁾の報告では、血管新生期である1週後に負荷を与えた場合、インプラント体は骨外へ排出され、骨増生期である4週後に負荷を与えたインプラントでは無負荷のそれと比べ新生骨の厚さが厚いこと、さらに、骨成熟期となる埋入8週後からの負荷の場合には無負荷のそれと比較して新生骨の厚さは薄かったなどの所見が示されている。すなわち、この報告は、従来の安静期間を経た負荷時期よりも前に適切な負荷時期が存在する可能性を示唆している。本研究においても、血管増生期に相当する1週後から負荷を開始した場合、すべてのインプラントにおいてオッセオインテグレーションは得られたものの、インプラント表面への骨の接触量やスレッド内部での骨量はいずれも少なかった。また、骨増生期である3週後に負荷を開始した場合では、骨接触率および骨面積率はいずれのインプラントにおいても最も高く、Brånemarkが提唱した従来のプロトコルに従った埋入後12週の安静期間^{8,9)}後のインプラントよりも高かった。これらの結果は、インプラント埋入3週後、すなわち組織学的治癒段階では骨増生期とみなされる時期にインプラントに負荷を与えることでインプラント周囲における新生骨の形成が促進され、これまで考えられていた12週の安静期間後に負荷を与えるよりもより良好なオッセオインテグレーションが得られる可能性を示唆している。また、骨レベルの低下量においても、負荷時期によって異なる傾向がみられた。シリンダー型インプラントに垂直的負荷を付与し応力解析を行った是竹⁷²⁾はインプラント頸部と底部に応力が集中すると述べている。また、インプラント埋入後の早期から負荷を行ったSagaraら⁷³⁾、Akagawaら⁷⁴⁾、Corsoら⁷⁵⁾は、オッセオインテグレーションは達成されるもののインプラント辺縁骨の高さが減少することをそろって認めている。本研究では1週後負荷群で骨レベルの低下が最も大きかったが、こ

のことは、血管増生期に負荷を開始した場合には、インプラント周囲全体に機能圧を支持する骨梁はなく、従って機能圧による応力は弾性係数の大きな皮質骨に集中し、このためインプラント辺縁骨の骨レベルを減少させたと考えるのが妥当である。また、12週後の骨レベルの低下量は1.35~1.49 mmと3週および6週後負荷群よりも大きな傾向にあった。Adellら²⁾、Coxら⁷⁶⁾は臨床的に負荷を与えたインプラントにおける骨レベルは平均1.6 mm低下するとしており、本研究で得られた12週後負荷群の値もこの範囲内にあり、3週後負荷群および6週後負荷群の骨レベルの低下量もこれらの値より小さいことがわかる。つまり、3週後および6週後負荷群では12週後負荷群よりもインプラントの骨レベルの低下量が小さかったことから、この時期に負荷を与えることで骨レベルの低下を抑制できると考えられる。

骨接触率、骨面積率、骨レベルの低下量などを異なる負荷時期についてインプラント間で比較すると、骨接触率はすべての負荷時期においてOインプラントが最も高い値を示し、骨面積率はBインプラントが最も高い値を示した。Osbornら⁷⁷⁾はインプラント表面の新生骨はインプラント表面に付着したフィブリンを足場にして分化中の骨原性細胞が移動するいわゆる骨伝導より起こるので、インプラント表面のデザインは骨伝導の一時的な足場であるフィブリンのつなぎ止めに大きく影響し、粗造な表面はフィブリンの付着可能な表面積を増加させ、フィブリンがからみついて骨伝導が促進されるとしている。形態計測の結果から、Bインプラントで骨面積率が高いこと、Oインプラントでは骨接触率が高いことなどがすべての負荷時期においてみられたことは、それぞれのインプラント表面の粗造性および3次元の形態を含めた表面性状の違いによりフィブリン付着能の違いが影響していることが考えられよう。骨伝導において、骨原性細胞遊走の足場であるフィブリンがインプラント表面から引き離され、インプラント表面に達する前に分化してしまう骨原性細胞は、インプラント表面と接しない骨基質を分泌し、インプラント周囲で新生骨を形成する。一方、分化段階に達する前にインプラント表面に到達した骨原性細胞は、そこで基質分泌を開始してインプラント表面から新生骨を形成する。前者のようにインプラントから離れて位置する骨の表面に新生骨が形成される現象は遠距離骨形成と、後者のようにインプラント表面に新生骨が形成される現象は接触骨形成とそれぞれ説明されている⁷⁷⁾。BインプラントおよびOインプラントの組織学的観察でみられた各インプラント周囲骨組織の異なる特徴的な所見からも、Bインプラントではイン

プラント表面よりも周囲骨からの骨形成すなわち遠距離骨形成が盛んに行われたためか、スレッド内部での骨は充実していたのに対し、Oインプラントでは骨伝導によりインプラント表面に多くの分化中の骨原性細胞がインプラント表面に遊走した結果、インプラント表面での新生骨の形成すなわち接触骨形成が盛んに行われたことが示唆できる。各インプラントで骨レベルの低下量を比較したとき、すべての負荷群において有意な差はみられなかったことから、骨レベルの低下はインプラントの表面性状よりも負荷開始時期に大きく影響をうけるように思われた。

総 括

早期負荷が異なる表面性状をもつインプラント周囲の骨組織に与える影響について明らかにすることを目的とし、表面性状の異なる機械研磨 (M)、プラストエッチング処理 (B)、陽極酸化処理 (O) の3種類のインプラントに対して埋入後1, 3, 6, 12週後の各時期に機能的負荷を与え、負荷開始12週後のオッセオインテグレーションの様相について臨床的、組織学的ならびに組織形態計測学的な立場から検討し、以下の結果を得た。

1. すべてのインプラントにおいて、観察期間を通じて臨床的動揺は認められず、周囲軟組織も臨床的に良好な状態を保っていた。

2. 組織学的にすべてのインプラント周囲に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よく獲得されていた。

3. 形態計測学的に各インプラントで異なる負荷時期について観察すると、骨接触率はすべてのインプラントにおいて34.5~54.0%と、3週後負荷群が最も高い値を示した。骨レベルの低下量はすべてのインプラントにおいて1.38~1.69 mmと1週後負荷群が最も高い値を示した。さらに、異なる負荷群時期で各インプラントについて観察すると、骨接触率ではすべての負荷時期でOインプラントが34.2~54.8%と最も高い値を示したのに対して、骨面積率ではすべての負荷時期でBインプラントが39.6~54.8%と最も高い値を示した。骨レベルの低下量はすべての負荷時期において表面性状による有意な差は認められなかった。

以上の結果から、従来のプロトコルである埋入12週後より早期の埋入3週後からの負荷によってより良好なオッセオインテグレーションが得られること、また、この際に表面が粗造であるインプラントを選択することでその確実性が増すことなどが明らかとなり、インプラントの早期負荷を考える上に有益な示唆を与えることができた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜りました本学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻顎口腔頸部医科学講座（歯科補綴学第一）赤川安正教授に深甚なる謝意を表します。また、御教示、御校閲を賜りました本学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻顎口腔頸部医科学講座（歯科補綴学第二）濱田泰三教授ならびに大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻先進医療開発科学講座（口腔病理学）高田 隆教授に深謝いたします。さらに研究遂行上および本論文作成上御助言と御鞭撻を賜りました本学付属病院久保隆靖講師ならびに本学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻顎口腔頸部医科学講座（歯科補綴学第一）津賀一弘助教授に厚くお礼申し上げます。さらに、多くのご支援を頂きました本学附属病院重河誠博士、竹腰利英先生、土井一也先生をはじめとする本学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻顎口腔頸部医科学講座（歯科補綴学第一）の教員各位に感謝の意を捧げます。さらに、材料の提供を頂いた株式会社ジーシーの方々に謝意を表します。

文 献

- 1) 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.
- 2) Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B. and Brånemark, P-I.: A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int. J. Oral Surg.* **10**, 387-416, 1981.
- 3) Albrektsson, T.: Direct bone anchorage of dental implants. *J. Prosthet. Dent.* **50**, 255-261, 1983.
- 4) Zarb, G.A. and Symington, J.M.: Osseointegrated dental implants: Preliminary report on a replication study. *J. Prosthet. Dent.* **50**, 271-276, 1983.
- 5) Brånemark, P-I.: Osseointegration and its experimental background. *J. Prosthet. Dent.* **50**, 399-410, 1983.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) Brånemark, P-I., Zarb, G.A. and Albrektsson, T.: Tissue integrated prosthesis.: Osseointegration in Clinical Dentistry. Quintessence publ. Co., 1-134, 1985.
- 9) Albrektsson, T., Joansson, T. and Lekholm, U.: Osseointegrated dental implants. *Dent. Clin. North Am.* **30**, 151-174, 1986.
- 10) Zarb, G.A. and Albrektsson, T.: Consensus report: Towards optimized treatment outcomes for dental implants. *J. Prosthet. Dent.* **80**, 641, 1998.
- 11) Randow, K., Ericsson, I., Nilner, K., Petersson, A. and Glantz, P.O.: Immediate functional loading of Brånemark dental implants.: An 18-month clinical follow-up study. *Clin. Oral Impl. Res.* **10**, 8-15, 1999.
- 12) Henry, P. and Rosenberg, I.: Single-stage surgery for rehabilitation of the edentulous mandible: Preliminary results. *Pract. Periodontics Aesthet. Dent.* **6**, 15-22, 1994.
- 13) Martin, J.Y., Schwartz, Z., Hummert, T.W., Schraub, D.M., Cochran, D.L. and Boyan, B. D.: Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). *J. Biomed. Mater. Res.* **29**, 389-401, 1995.
- 14) Kieswetter, K., Schwartz, Z., Hummert, T.W., Cochran, D.L. Simpson, J., Dean, D.D. and Boyan, B.D.: Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells. *J. Biomed. Mater. Res.* **32**, 55-63, 1996.
- 15) Schwartz, Z., Martin, J.Y., Dean, D.D., Simpson, J., Cochran, D.L. and Boyan, B.D.: Effect of titanium surface roughness on chondrocyte proliferation, matrix production, and differentiation depends on the stage of cell maturation. *J. Biomed. Mater. Res.* **30**, 145-155, 1996.
- 16) Buser, D., Schenk, R.K., Steinemann, S., Fiorellini, J.P., Fox, C.H. and Stich, H.: Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants: A histomorphometric study in pigs. *J. Biomed. Mater. Res.* **25**, 889-902, 1991.
- 17) Cochran, D.L. Schenk, R.K., Lussi, A., Higginbottom, F.L. and Buser, D.: Bone response to loaded and unloaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A histometric study in the canine mandible. *J. Biomed. Mater. Res.* **40**, 1-11, 1998.
- 18) 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.
- 19) Rocuzzo, M., Bunino, M., Prioglio, F. and Bianchi, S.D.: Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: A prospective split-mouth comparative study. One-year results. *Clin. Oral Impl. Res.* 12, 572–578, 2001.
 - 20) Cochran, D.L., Buser, D., Bruggenkate, C.M., Weingart, D., Taylor, T.M., Bernard, J.B., Peters, F. and Simpson, J.P.: The use of reduced healing times on ITI® implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: Early results from clinical trials on ITI® SLA implants. *Clin. Oral Impl. Res.* 13, 144–153, 2002.
 - 21) Todescan, R.Jr., Pilliar, R.M. and Melcher, A.H.: A small animal model for investigating endosseous dental implants: Effect of graft materials on healing of endosseous, porous-surfaced implants placed in a fresh extraction socket. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2, 217–223, 1987.
 - 22) 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. Implants* 2, 69–75, 1987.
 - 23) Donohue, W.B. and Mascres, C.: Effect of hydroxyapatite on bone formation around exposed heads of titanium implants in rabbits. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 48, 1196–1200, 1990.
 - 24) Sennerby, L., Thomsen, P. and Ericson, L.E.: A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 7, 62–71, 1992.
 - 25) 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.
 - 26) 釜山憲二：上部構造物の設計がジルコニアインプラント・骨界面構造に及ぼす影響に関する実験的研究。広大歯誌 27, 402–420, 1995.
 - 27) 馬場博史：ニホンザル (*Macaca fuscata*) の歯の形態学的研究。九州歯会誌 32, 741–768, 1988.
 - 28) 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.
 - 29) 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-EL). *J. Biomed. Mater. Res.* 22, 613–622, 1988.
 - 30) Swart, K.M., Keller, J.C., Wightman, J.P., Draughn, R.A., Stanford, C.M. and Michaels, C.M.: Short-term plasma-cleaning treatments enhance in vitro osteoblast attachment to titanium. *J. Oral Implantol.* 18, 130–137, 1992.
 - 31) Vrouwenvelder, W.C., Groot, C.G. and de Groot, K.: Histological and biochemical evaluation of osteoblasts cultured on bioactive glass, hydroxyapatite, titanium alloy and stainless steel. *J. Biomed. Mater. Res.* 27, 465–475, 1993.
 - 32) 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.
 - 33) Thomas, K.A. and Cook, S.D.: An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. *J. Biomed. Mater. Res.* 19, 875–901, 1985.
 - 34) Hazan, R., Brener, R., and Oron, U.: Bone growth to metal implants is regulated by their chemical properties. *Biomaterials* 14, 570–574, 1993.
 - 35) Larsson, C., Thomsen, P., Aronsson, B.O., Rodahl, M., Lausmaa, J., Kasemo, B. and Ericson, L.E.: Bone response to surface-modified titanium implants: studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. *Biomaterials* 17, 605–616, 1996.
 - 36) 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.
 - 37) 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.
 - 38) Rae, T.: The biological response to titanium and titanium-aluminium-vanadium alloy particles. *Biomaterials* 7, 30–40, 1986.
 - 39) Maurer, A.M., Merritt, K. and Brown, S.A.: Cellular uptake of titanium and vanadium from addition of salts or fretting corrosion in vitro. *J. Biomed. Mater. Res.* 28, 241–246, 1994.
 - 40) 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.
 - 41) 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.

- 42) Squire, M.W., Ricci, J.L. and Bizios, R.: Analysis of osteoblast mineral deposits on orthopaedic/dental implant metals. *Biomaterials* 17, 725-733, 1996.
- 43) Wang, J.Y., Wicklund, B.H., Gustilo, R.B. and Tsukayama, D.T.: Prosthetic metals interfere with the functions of human osteoblast cells in vitro. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 339, 216-226, 1997.
- 44) Skalak, R.: Biomechanical considerations in osseointegrated prostheses.: *J. Prosthet. Dent.* 49, 843-848, 1983.
- 45) Brunski, J.B.: Influence of biomechanical factors at the bone-material interface. Davis, E. J., Ed. *The Bone-Biomaterial Interface*. Toronto: University of Toronto Press, 391-405, 1991.
- 46) Wilke, H.J., Claes, L. and Steinemann, S.: The influence of various titanium surfaces on the interface shear strength between implant and bone.: *Advances in biomaterials, Clinical implant materials* 9, 309-314, 1990.
- 47) Thomas, K.A., Kay, J.F. and Cook, S.: The effect of surface microtexture and hydroxyapatite coatings on the mechanical strengths and histologic profiles of titanium implant materials. *J. Biomed. Mater. Res.* 21, 1395, 1987.
- 48) Lemons, J.E.: Hydroxyapatite coatings. *Clin Orthop.* 220-235, 1988.
- 49) Ellies, L.G., Nelson, D.G. and Featherstone, J.D.: Crystallographic changes in calcium phosphates during plasma-spraying. *Biomaterials* 13, 313-316, 1992.
- 50) Whitehead, R.Y., Lacefield, W.R. and Lucas, L.C.: Structure and integrity of a plasma sprayed hydroxyapatite coatings on titanium. *J. Biomed. Mater. Res.* 27, 1501-1507, 1993.
- 51) Maxian, S.H.: Hydroxyapatite coatings on titanium implants. *Biomaterials* 27, 111-117, 1993.
- 52) Zyman, Z., Weng, J., Liu, X., Li, X. and Zhang, X.: Phase and structural changes in hydroxyapatite coatings under heat treatment. *Biomaterials* 27, 151-155, 1994.
- 53) Weingart, D., Steinemann, S., Schilli, W., Strub, J.R., Hellerich, U., Assenmacher, J. and Simpson, J.: Titanium deposition in regional lymph nodes after insertion of titanium screw implants in the maxillofacial region. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 23, 450-452, 1994.
- 54) Gottlow, J., Johansson, C., Albrektsson, T. and Lundgren, A.K.: Biomechanical and histologic evaluation of the TiUnite and Osseotite implant surfaces in rabbit after 6 weeks of healing. *Osseointegration Res.* 1, 25-27, 2000.
- 55) 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.
- 56) 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.
- 57) Albrektsson, T.: The response of bone to titanium implants. *Crit. Rev. Biocompat.* 1, 53-84, 1985.
- 58) 宮下幸久：歯の喪失に伴う下顎骨の構造変化. 歯基礎誌 25, 990-1023, 1983.
- 59) 平井 直：抜歯窩挿入型ハイドロキシアパタイト・セラミックス・インプラントによる顎堤の保全効果：補綴誌 32, 920-935, 1988.
- 60) 豊島 康：ハイドロキシアパタイト人工歯根により抜歯後の歯槽骨吸収に関する実験的研究. 補綴誌 34, 25-39, 1990.
- 61) 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.
- 62) 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. Implants* 2, 69-75, 1987.
- 63) Sennerby, L., Thomsen, P. and Ericson, L.E.: A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 7, 62-71, 1992.
- 64) Meredith, N., Alleyne, D. and Cawley, P.: Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin. Oral Impl. Res.* 7, 261-267, 1996.
- 65) Meredith, N., Shagaldi, F., Alleyne, D., Sennerby, L. and Cawley, P.: The application of resonance frequency measurements to study the stability of titanium implants during healing in the rabbit tibia. *Clin. Oral Impl. Res.* 8, 234-243, 1997.
- 66) Cameron, H.U., Pilliar, R.M. and MacNab, I.: The effect of movement on the bonding of porous metal to bone. *J. Biomed. Mater. Res.* 7, 301-311, 1973.
- 67) Brunski, J.B.: Biomechanical factors affecting the bone-dental implant interface. *Clin. Mater.* 10, 153-201, 1992.
- 68) Brunski, J.B.: Avoid pitfalls of overloading and micromotion of intraosseous implants. *Dent. Implantol. Update* 4, 77-81, 1993.
- 69) Horiuchi, K., Uchida, H., Yamamoto, K. and

- Sugimura, M.: Immediate loading of Brånemark system implants following placement in edentulous patients: A clinical report. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 15, 824–830, 2000.
- 70) Ganeles, J., Rosenberg, M.M., Holt, R.L. and Reichman, L.H.: Immediate loading of implants with fixed restorations in the completely edentulous mandible: Report of 27 patients from a private practice. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 16, 418–426, 2001.
- 71) 諏訪文彦：インプラント周囲骨の再生—非機能下と機能下における微細血管構築と骨形成—。日歯医学会誌 17, 124–129, 1998.
- 72) 是竹克紀：インプラント周囲骨の弾性係数を反映した三次元有限要素モデルの開発。広歯誌 33, 31–46, 2001.
- 73) Sagara, M., Akagawa, Y., Nikai, H. and Tsuru, H.: The effects of early occlusal loading on one-stage titanium alloy implants in beagle dogs: A pilot study. *J. Prosthet. Dent.* 69, 281–288, 1993.
- 74) Akagawa, Y., Ichikawa, Y., Nikai, H. and Tsuru, H.: Interface histology of unloaded and early loaded partially stabilized zirconia endosseous implant in initial bone healing. *J. Prosthet. Dent.* 69, 599–604, 1993.
- 75) Corso, M., Sirota, C., Fiorellini, J., Rasool, F., Szmukler-Moncler, S. and Weber, H.P.: Clinical and radiographic evaluation of early loaded free-standing dental implants with various coatings in beagle dogs. *J. Prosthet. Dent.* 82, 428–435, 1999.
- 76) Cox, J.F. and Zarb, G.A.: The longitudinal clinical efficacy of osseointegrated dental implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2, 91–100, 1987.
- 77) Osborn, J.F. and Newesley, H.: Dynamics aspects of the implant-bone interface.: *Dental Implants Materials and Systems. Munich: Carl Hanser* 111–123, 1980.