

学位論文

連通多孔性ハイドロキシアパタイトを用いた
骨再建部におけるインプラントの骨支持に
関する実験的研究

学位申請者 牧原 勇介

広島大学大学院医歯薬学総合研究科

展開医科学専攻

(主任指導教員：津賀一弘教授)

2015 年

連通多孔性ハイドロキシアパタイトを用いた骨再建部における

インプラントの骨支持に関する実験的研究

牧原 勇介

An experimental study on bone support ability of implant in the part of
bone reconstruction by interconnected porous calcium hydroxyapatite

Yusuke Makihara

緒言

口腔インプラント（インプラント）は、歯の欠損による口腔の機能および審美障害に対する治療装置の一つであり、臨床において広く用いられている。インプラントは骨と接触するオッセオインテグレーションを獲得することにより安定するため、その成功は埋入部位の骨質と骨量に依存する¹⁾。しかしながら、インプラント埋入部位の骨量が不足し、十分な支持が得られない場合、自家骨、同種骨、異種骨もしくは人工骨などを用いた骨再建が必要となる²⁻¹⁷⁾。

自家骨は、骨形成能を持ち、自己から採取されるため生体親和性がよく、現在の骨補填材としてゴールドスタンダードとされているが、採取時の外科的侵襲や採取量が限られる等の問題が残されている^{2,3)}。また、ヒト脱灰凍結乾燥骨などの同種骨は、構造が骨と同じであり骨誘導能を持つため良好な骨再建が望めるが⁴⁾、肝炎やHIVなどの感染や拒絶反応を起

こす危険性が指摘されている^{4, 5)}。牛骨由来移植骨である Bio-Oss[®]などの異種骨は、骨伝導能に優れているが、未知の病原細菌や免疫応答などの可能性が残されており⁴⁾、また異種骨であるため患者の同意が得にくいなどの問題もある。

これらの問題点を持つ自家骨、同種骨および異種骨に代わる骨再建の材料として人工骨が注目されている。その一つ、吸収性生体活性材料である β -リン酸三カルシウム (β -TCP) は初期強度が 2MPa 程度と弱く、負荷のかかる部位での応用が困難である。また吸収性であることから大規模な骨欠損部位では早期に吸収されて形態回復ができないことや、完全に骨組織へ置換されないことが懸念される¹⁸⁻²⁰⁾。

また、非吸収性生体活性材料であるハイドロキシアパタイト (HA) は優れた生体親和性を持ち、骨と化学的に結合することが広く知られている^{21, 22)}。しかしながら、従来の HA 骨補填材は各気孔間を結ぶ連通構造がなく、材料内部への骨形成は困難であり^{23, 24)}、長期症例において、線維性結合組織による被包化による体外への排出などの問題点が指摘されている²⁵⁾。

一方、多孔性の構造を持つ HA は気孔内まで骨が進展し、既存骨と一体化する特性を持ち、近年整形外科領域や歯科領域において広く用いられている。なかでも、気泡ゲル技術により製作された連通構造を有する連通多孔性ハイドロキシアパタイト (Interconnected porous calcium hydroxyapatite, IP-CHA, 図 1) は気孔率 75%, 圧縮強さ 15 MPa, 平均気孔径 150 μm , 連通孔径 40-70 μm の材料特性を持つ人工骨であり、優れた生体親和性、骨伝導、機械的強度を持っている。この IP-CHA は規則的な 3 次元構造を有し、細胞や成長因子の足場として有用であることが知られている^{30, 31)}。このように IP-CHA は骨欠損部の回復に有用であり、インプラント埋入を行うための骨再建に用いる材料として適応が期待できる。先行研究とし

て、イヌ顎骨の円柱状骨欠損に顆粒状 IP-CHA を補填したところ、新生骨形成は欠損部および気孔内部にまで観察された³²⁾。また、露出させたインプラントスレッドの周囲骨欠損において、露出部位へ IP-CHA を用いたところ、周囲骨形態ならびスレッドへの骨接触の回復がなされていた³³⁾。このように IP-CHA は、優れた骨補填材として臨床および研究に用いられ、その有用性が示されている。しかしながら、IP-CHA を用いて再建された骨組織に対するインプラント埋入および支持についての報告はほとんど無い。

そこで、本研究は骨欠損部に IP-CHA を用いて骨再建を行い、再建された骨組織にインプラントを埋入し、その周囲の骨形成と骨支持を評価することにより、インプラント治療における IP-CHA を用いた骨再建の有用性を明らかにすることを目的とした。

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た。

実験 1 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得およびインプラント骨支持の解明

1-1 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得の評価

【材料】

骨補填材は円柱状 IP-CHA 4 個 (直径 4.3 mm, 高さ 10.0 mm, NEOBONE®, コバレントマテリアル, 東京), インプラントはチタン製インプラント 4 本 (直径 3.3 mm, 長さ 10.0 mm, Brånemark System® MKIII TiUnite, ノーベルバイオケアジャパン, 東京), 実験動物は雄性ビーグル・ラブラドル犬 4 頭 (14-16 ヶ月齢, 体重 20-25 kg) を用い, 1 ヶ月間個別のケージ内で飼育し, 環境に十分順応させ実験に使用した。

【方法】

実験プロトコルを図 2 に示す。動物の大腿骨骨体中央部にトレフィンバーにて, 直径 4.3 mm 深さ 10.0 mm の骨窩を作製し, 円柱状 IP-CHA を埋入した (図 3A)。12 週の治癒期間の後に, インプラントを片側が IP-CHA 内に, 反対側が既存骨に接するように埋入した (図 3B)。また, インプラントは Brånemark System® のプロトコルに従って埋入した。インプラント埋入後, 筋膜および皮膚をそれぞれ絹糸にて縫合し, 創部を閉鎖した。以上の外科処置はいずれも, 0.1 ml/kg の塩酸メデトミジン 1.0 mg/ml (ドミトール®, 日本全薬工業, 福島) の筋肉内注射および 0.5 ml/kg のペントバルビタールナトリウム 64.8 mg/ml (ソムノペンチル®, 共立製薬, 東京) の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®, デンツプライ三金, 東京) による局所麻酔を併用して行った。また, 術後の感染予防のため, 2.0 ml/day のエンフロキサシン製剤 (バイトリル®, バイエル薬品, 東京) を術後 1 週間筋肉内注射した。

埋入 12 週後, 動物に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, 持田製薬, 東京) を静脈内注射, 開胸を行い, 心膜を剥離した後, 大動脈を介して左心室から生理食塩水を体重相当量注入して灌流し, インプラントを含む骨組織ブロックを

採取した。

組織学的観察

標本はただちに 10 %中性緩衝ホルマリン溶液に浸漬した後、エタノールにて脱水、アセトンにて透徹し、光重合型ポリエステルレジン (Technovit 7200VLC, Kulzar, Wehrheim) にて包埋した。得られたレジンブロックは硬組織薄切機を用いて薄切し、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 (MG-4000, EXAKT APPARATEBAU, Norderstedt) を用いて 70 μm 厚に研磨し、非脱灰研磨標本とした。各標本にトルイジンブルー染色を施し、光学顕微鏡にて組織学的に観察した。

骨インプラント接触率(BIC)の測定

BIC はインプラントスレッドの全長に対する骨接触部の長さ $\times 100$ (%)として算出した。

BIC の測定には Image J (National Institutes of Health, Bethesda) を用いた。

統計学的分析

得られたデータの統計学的分析には Mann-Whitney' s U 検定を用いた。有意水準は 0.05 以下とした。統計ソフトとして Statcel 3 (オーエムエス出版, 埼玉) を使用した。

1-2 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のインプラントの骨支持の評価

【材料】

骨補填材は円柱状 IP-CHA 3 個 (直径 4.3 mm, 高さ 10.0 mm) , インプラントはチタン製インプラント 6 本 (直径 3.3 mm, 長さ 10.0 mm, Brånemark System[®] MKIII TiUnite) , 実験動物は雄性ビーグル・ラブラドル犬 3 頭 (14-16 ヶ月齢, 体重 20-25 kg) を用い, 1 ヶ月間個別のケージ内で飼育し, 環境に十分順応させ実験に使用した。

【方法】

実験プロトコルを図 4 に示す。動物の大腿骨骨体中央部にトレフィンバーにて、直径 6.0 mm 深さ 12.0 mm の骨窩を作製後、円柱状 IP-CHA を埋入し (図 5A) , 12 週の治癒期間の後、IP-CHA 中央にインプラントを埋入した (図 5B)。さらに、近接する既存骨部にもインプラントを埋入し、コントロールとした。また、インプラントは Brånemark System® のプロトコルに従って埋入した。インプラント埋入後、筋膜および皮膚をそれぞれ絹糸にて縫合し、創部を閉鎖した。埋入直後にインプラント安定係数 (ISQ) 値を測定し (詳細後述, 図 6A) , 12 週の治癒期間の後、ISQ 値および除去トルク値を測定した (詳細後述, 図 6B)。その後、インプラントを除去した骨組織を採取し、組織学的観察を行った。以上の外科処置はいずれも、0.1 ml/kg の塩酸メデトミジン 1.0 mg/ml の筋肉内注射および 0.5 ml/kg のペントバルビタールナトリウム 64.8 mg/ml の静脈内注射による全身麻酔とエピネフリン含有 2 %リドカインによる局所麻酔を併用して行った。また、術後の感染予防のため、2.0 ml/day のエンフロキサシン製剤を術後 1 週間筋肉内注射した。埋入 12 週後、動物にペントバルビタールナトリウムおよび血液凝固阻止薬を静脈内注射、開胸を行い、心膜を剥離した後、大動脈を介して左心室から生理食塩水を体重相当量注入して灌流し、インプラントを除去した骨組織ブロックを採取した。

ISQ 値の測定

本研究において骨支持によるインプラントの安定性を評価する指標として用いる ISQ 値は、プローブから磁気パルスを発信し、インプラントに装着されたトランジェューサー (スマートペグ) との共鳴振動周波数を測定する共鳴振動周波数分析を用いた数値であり、インプラントの安定性を示す客観的データとして認知されている³⁴⁻³⁷⁾。6 本すべてのインプラント

に対して、共鳴振動周波数分析装置（Osstell[®], Integration Diagnostics, Göteborg）にて、インプラント埋入時および埋入 12 週後において ISQ 値を測定した。ISQ 値の測定は、インプラント周囲の軟組織を除去し、インプラントと振動変換器が軟組織の介在なしに固定された状態で、長軸方向および短軸方向から各 3 回ずつ、合計 6 回測定し、その平均値を各時期の測定値とした³⁴⁻³⁷）。

除去トルク値の測定

インプラント埋入 12 週後に ISQ 値測定の後、生体内にてデジタルトルクゲージ（BTGE100CN[®], 東日製作所, 東京）を使用して、除去トルク値を測定した。除去トルク値はインプラントに逆回転を負荷することで除去し、最大値を測定値とした³⁸）。

組織学的観察

採取した骨ブロックは、直ちに急速脱灰溶液（KC-X[®], 塩野義製薬, 大阪）にて 3 日間脱灰し、エタノールにて脱水、キシレンにて透徹し、パラフィンにて包埋した。得られたパラフィンブロックは硬組織薄切機（BS-3000, EXAKT APPARATEBU, Norderstedt）を用いて薄切し、5 μm 厚の脱灰薄切標本とした。各標本にヘマトキシリン・エオジン（H-E）染色を施し、光学顕微鏡にて組織学的に観察した。

統計学的分析

得られたデータの統計学的分析には一元配置分散分析および Mann-Whitney' s U 検定を用い、有意水準は 0.05 以下とした。統計ソフトとして Statcel 3（オーエムエス出版, 埼玉）を使用した。

実験 2 IP-CHA を用いた骨再建部における荷重条件下のオッセオインテグレーション獲

得およびインプラントの骨支持の解明

【材料】

骨補填材は顆粒状 IP-CHA（直径 0.5～1.0 mm, NEOBONE[®], コバレントマテリアル, 東京）および、骨窩形成時に採取した粉碎自家骨を使用した。インプラントはチタン製インプラント 6 本（直径 3.3 mm, 長さ 10.0 mm, Brånemark System[®] MKIII TiUnite）を用いた。

実験動物は雄性ビーグル・ラブラドル犬 3 頭（14-16 ヶ月齢, 体重 20-25 kg）を用い, 1 ヶ月間個別のケージ内で飼育し, 環境に十分順応させ実験に使用した。

【方法】

実験プロトコルを図 7 に示す。動物の両側第 4 小臼歯 (P4) および両側第 1 大臼歯 (M1) を抜歯した後, 12 週の治癒期間を置き, 無歯顎堤部を準備した。治癒期間終了後, 動物の両側無歯顎堤部にトレフィンバーにて, 直径 6.0 mm 深さ 8.0 mm の骨窩を形成し, 埋入位置の記録のためジグを作製した (図 8A)。その後, 片側に顆粒状 IP-CHA を, 反対側に粉碎自家骨を補填し (図 8B), 非吸収性メンブレンにて被覆した。12 週の治癒期間の後に, メンブレンを除去し, 骨窩形成時に作成したジグを用いて, 両側再建部中央にインプラントの埋入を行い (図 9A), 埋入トルク値 (詳細後述) および ISQ 値を測定した。インプラント埋入から 12 週後, 2 次手術を行い, ISQ 値を測定した後, ヒーリングアパットメント (高さ 5.0 mm) を装着し, ペリオテスト値を測定した (詳細後述, 図 9B)。また, 同日より固形飼料摂取による荷重負荷を開始した。以上の外科処置はいずれも, 0.1 ml/kg の塩酸メデトミジン 1.0 mg/ml の筋肉内注射および 0.5 ml/kg のペントバルビタールナトリウム 64.8 mg/ml の静脈内注射による全身麻酔とエピネフリン含有 2 %リドカインによる局所麻酔を併用して行った。また, 術後の感染予防のため, 2.0 ml/day のエンフロキサシン製剤を術後 1 週間筋肉内注射し

た。

2次手術から12週後に、生体内にてISQ値およびペリオテスト値を測定後、動物にペントバルビタールナトリウムおよび血液凝固阻止薬を静脈内注射、開胸を行い、心膜を剥離した後、大動脈を介して左心室から生理食塩水を体重相当量注入して灌流し、インプラントを含んだ骨組織ブロックを採取した。

埋入トルク値の測定

骨補填から12週の治癒期間の後、外科用インプラントシステム（iChiropro[®], Bien-air, Bienne）を使用し、埋入トルク値を測定した。埋入トルク値はインプラント埋入時の最大値を測定値とした。

ISQ 値の測定

ISQ値は共鳴振動周波数分析装置にて、インプラント埋入時および2次手術時から12週後まで2週おきに測定した。ISQ値の測定は、近遠心方向および頬舌方向から各3回ずつ、合計6回測定し、その平均値を各時期の測定値とした。

ペリオテスト値の測定

ペリオテスト値は歯牙動揺測定器（PERIOTEST M[®], Medizintechnik Gulden, Modautal）にて、2次手術時から12週後まで2週おきに測定した。ペリオテスト値の測定は、ISQ値と同様に、近遠心方向および頬舌方向から各3回ずつ、合計6回測定し、その平均値を各時期の測定値とした。

組織学的観察

標本はただちに10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し、エタノールにて脱水、アセトンにて透徹し、光重合型ポリエステルレジンにてレジン包埋した。得られたレジンブロック

は硬組織薄切機を用いて薄切し, 200 μm 厚の切片を得た。これらの切片は超精密硬組織研磨機を用いて 70 μm 厚に研磨し, 非脱灰研磨標本とした。各標本にトルイジンブルー染色を施し, 光学顕微鏡にて組織学的に観察した。

骨インプラント接触率(BIC)の測定

BIC はインプラントのカラー部から深さ 8.0 mm までのスレッドの全長に対する骨接触部の長さ \times 100 (%) として算出した。BIC の測定には Image J を用いた。

統計学的分析

得られたデータの統計学的分析には重複測定-分散分析および Mann-Whitney' s U 検定を用い, 有意水準は 0.05 以下とした。統計ソフトとして Statcel 3 (オーエムエス出版, 埼玉) を使用した。

結果

実験 1 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得およびインプラント骨支持の解明

1-1 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得の評価

すべての動物において, 観察期間を通じて体重の減少はなく, 全身的に良好な健康状態が維持されていた。また, 埋入手術部位においても皮膚の裂開や周囲組織の炎症性所見は見

られなかった。

組織学的観察

IP-CHA 側群では、インプラント上部において、インプラントスレッドに沿って、既存骨から連続した骨形成がみられた (図 10A)。また、IP-CHA の気孔内への骨の形成が認められた。インプラントスレッド表面では、骨接触が確認され、オッセオインテグレーションが獲得されていた (図 10B)。既存骨側群では、インプラント上部においては、IP-CHA 側群と同様に、既存骨から連続した骨形成がみられた (図 10A)。インプラント表面においても、骨接触が確認され、オッセオインテグレーションが獲得されていた (図 10C)。また、インプラント下部では、両群ともに骨はわずかしか認められなかった。

BIC の測定

BIC は、IP-CHA 側群が 34.7 ± 7.2 %、既存骨側群が 32.5 ± 7.8 % となり、両群の間に有意差は認められなかった (図 11)。

1-2 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のインプラントの骨支持の評価

すべての動物において、観察期間を通じて体重の減少はなく、全身的に良好な健康状態が維持されていた。また、埋入手術部位においても皮膚の裂開や周囲組織の炎症性所見は見られなかった。

ISQ 値の測定

ISQ 値は、インプラント埋入時において、IP-CHA 群が 61.0 ± 8.5 、既存骨群が 69.0 ± 6.5 となり、両群の間に有意差は認められなかった。インプラント埋入 12 週間後においては、IP-CHA 群が 81.3 ± 2.5 、既存骨群が 77.2 ± 1.9 となり、IP-CHA 群が既存骨群と比較し有意に高い値と

なった ($p < 0.05$)。また、両群ともにインプラント埋入 12 週後において、埋入時と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$) (図 12)。

除去トルク値

除去トルク値は、IP-CHA 群が 53.7 ± 10.1 Ncm, 既存骨群が 44.0 ± 5.5 Ncm となり、両群の間に有意差は認められなかった (図 13)。

組織学的観察

IP-CHA 群において、IP-CHA の気孔内への骨形成が認められた。皮質骨領域では周囲既存骨から連続した骨形成を認め (図 14A)、インプラントスレッドに沿った骨が観察できた (図 14B)。また、骨髄領域でもインプラントスレッドに沿った IP-CHA および骨が観察され、インプラントの外形に沿った骨形態を維持していた。既存骨群においては、皮質骨領域で、インプラントスレッドに沿った骨が観察できたが (図 14C, D)、骨髄領域では、ほとんど骨は観察できなかった。

実験 2 IP-CHA を用いた骨再建部における荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得およびインプラントの骨支持の解明

すべての動物において、摂食障害は認めず、観察期間を通じて体重の減少はなかった。また、全身的に良好な健康状態が維持されていた。埋入手術部位においても、皮膚の裂開や周囲組織の炎症性所見は見られなかった。

埋入トルク値

埋入トルク値は、IP-CHA 群が 9.2 ± 5.6 Ncm, 自家骨群が 20.2 ± 8.7 Ncm となり、自家骨群が高い埋入トルク値を示す傾向があったが、標準偏差が大きく、統計学的に両群の間に有

意な差は認められなかった (図 15)。

ISQ 値

ISQ 値は、インプラント埋入時において、自家骨群は 67.6 ± 3.6 、IP-CHA 群は 54.0 ± 5.8 となり、自家骨群は IP-CHA 群と比較し有意に高い値となったが ($p < 0.05$)、2 次手術時より 12 週までのすべての期間において、両群の間に有意な差は認められなかった。また IP-CHA 群において、インプラント埋入時に比較し、2 次手術 12 週後では 72.6 ± 2.3 となり、有意に高い値となった ($p < 0.05$) (図 16)。

ペリオテスト値

ペリオテスト値は、どの計測期間においても両群の間に有意な差は認められなかった。また、両群ともに 0 以下の値となり、インプラントの動揺は認められなかった (図 17)。

組織学的観察

IP-CHA 群では、周囲骨から骨が伸展し (図 18A)、IP-CHA の気孔内へ骨の形成を認めた。また、インプラントスレッド表面での骨接触を観察し、オッセオインテグレーションを獲得していることが明らかとなった (図 18B)。自家骨群においても、周囲骨からの連続した骨形成を認めた (図 18C)。また、インプラントスレッド表面での骨接触を観察し、オッセオインテグレーションを獲得していることが明らかとなった (図 18D)。

BIC

BIC は、IP-CHA 群が 56.2 ± 11.9 %、自家骨群が 57.1 ± 10.3 % となり、両群の間に有意な差は認められなかった (図 19)。

考察

<実験方法について>

I 実験動物について

本研究では、実験 1, 2 ともにビーグル・ラブラドルのハイブリット犬を用いた。近年インプラントおよび人工骨の報告には、ウサギ³⁹⁻⁴¹⁾ やイヌ^{42, 43)} などが主に用いられている。ウサギの大腿骨部は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、咀嚼等の機能的負荷を与える研究では、顎骨の大きさや性状がヒトと著しく異なっており、条件の設定が困難である。ビーグル・ラブラドル犬は実験用動物として用意されたものであり、血統、性別、年齢、体重などの条件を可及的に一定とすることができる。また、ビーグル犬もよく用いられるが、ビーグル・ラブラドル犬の方がより大型であるため、無歯顎堤の頬舌幅径や骨高径が十分確保できることから、大きな骨欠損の形成および骨再建の実験が可能であると考え、選択した。

II 実験部位について

実験 1 では大腿骨骨体部を用いた。同骨は顎骨同様、皮質骨、海綿骨、骨髄から構成されている。同骨の骨折治癒は膜性骨化と内軟骨性骨化の両方が見られるが、内軟骨性骨化の発現は微小動揺や酸素分圧の低下が関係しており、微小動揺がなく酸素分圧が高い骨欠損部における治癒過程は膜性骨化を起こすとされる^{44, 45)}。下顎体の発生は膜性骨化であり、その骨治癒も膜性骨化とされている⁴⁶⁾。本研究では各観察期間で典型的な軟骨細胞は観察されず内軟骨性骨化とは考えにくい。また、IP-CHA の気孔内に血管新生が見られたこと、周囲を骨髄組織で囲まれていることから考えると、酸素供給が豊富で酸素分圧が高いため、大腿骨の骨欠損の治癒過程は顎骨と同じ膜性骨化である可能性が高い。また、同骨は顎骨と比較

して、周囲が筋組織で覆われており、インプラントに影響を及ぼす外的因子を極力排除することができるため^{42,47)}、IP-CHAによる規格化した骨再建部を観察する環境および部位としては適切であると考えた。

骨窩の形状は、円柱状を選択した。これは、インプラント周囲から均等な範囲での評価を行うためであり、また、円柱状 IP-CHA と同じサイズのトレフィンバーを使用することにより形成時の誤差を少なくするためである。骨窩の大きさは、実験 1-1 では BIC の比較によるオッセオインテグレーションの獲得の検討を行うためにインプラント長径と同じ長さを設定した。実験 1-2 では、骨支持の検討を除去トルク値の測定で行うため、IP-CHA で再建された骨組織中にインプラント全体が位置するように埋入できる大きさに設定した。

実験 2 では埋入部位として動物の下顎骨小白歯および大白歯部を選択した。同部は、十分な頬舌幅径および骨高径が確保でき、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いる^{42,47)}。これらと比較することにより、本研究で使用した IP-CHA の有用性を検討したいと考え、第 4 小白歯部 (P4) および第 1 大白歯部 (M1) を選択した。また、顎骨部での骨治癒が大腿骨部と比較し遅いことから、インプラント埋入後の脱落の可能性が考えられ、インプラント埋入時の安定性を確保するために、骨窩の深さをインプラント長より 2.0 mm 短く設定した。類似した方法を使用した研究はわずかし報告されておらず⁴⁸⁾、本研究はより正確に IP-CHA を評価できたと考える。

III 観察期間について

実験 1 では骨再建部の治癒期間を 12 週、インプラント埋入後 12 週の観察期間に設定した。通常、インプラントの抜歯後の待時埋入では 12 週の治癒期間を設けることで埋入部の骨治癒が得られる。また、イヌ顎骨の円柱状骨欠損部に顆粒状の IP-CHA を埋入したところ、治

癒期間 12 週後において、欠損中心部に新生骨形成が確認された³²⁾。これらを考慮し、観察期間を 12 週に設定した。

実験 2 では骨再建部の治癒期間に 12 週、インプラント埋入後 12 週および荷重負荷期間を 12 週に設定した。治癒期間に関しては実験 1 において、組織的観察、BIC、ISQ 値および除去トルク値において、IP-CHA 群と既存骨群の間に差はほぼ認められなかったため、骨再建部の治癒期間を 12 週に設定した。しかしながら、血流量や骨の構造の違いから、大腿骨の治癒は顎骨のそれより早い。本研究において実験 1 は大腿骨を使用し、実験 2 では顎骨を使用している。そのため、実験 2 では、十分に骨治癒していないことが考えられ、インプラント埋入時の ISQ 値が全体的に低い傾向を示し、また埋入トルク値の計測値の標準偏差が大きくなったと考察できる。また、インプラント埋入後の観察期間に関しては、一般的に骨再建後に 12 週であり、インプラント埋入後の治癒期間は、従来の骨再建後のインプラント埋入との比較を考え、観察期間をそれぞれ 12 週と設定した。荷重負荷期間に関しては、本研究と同様にヒーリングアバットメント装着後の固形飼料摂取による荷重負荷法を用いている Al-Nawas らの報告で、荷重負荷期間を 12 週としている⁴⁹⁾ことから、本研究の荷重負荷期間を 12 週と設定した。

IV 人工骨の選択について

本研究では人工骨として IP-CHA を用いた。人工骨の所要条件として、①生体親和性に優れること、②機械的強度を有していること、③組織再生のためのスペースを確保できること、④再生組織の形態を回復できること、⑤細胞への栄養供給路である血管を新生させることができること、などが挙げられている⁴⁶⁾。

この 3 次元的な多孔性構造を有している IP-CHA は、各気孔間が連通孔により連続的に交

通している構造を持ち、そのため周囲組織から材料内部まで、細胞や血管の導入が可能であり、確実な骨伝導を得ることができる^{24,30)}。また、平均気孔率 75 %、平均気孔径 150 μm で、さらに各気孔間は平均 40 μm の小孔で連通した構造を有している。一方、海綿骨は骨密度 20 - 30 %、梁状間隙径 100 - 500 μm であり⁴⁷⁾、IP-CHA は海綿骨の 3 次元的構造をよく模倣しているといえる。材料強度の点では、IP-CHA の初期圧縮強度は海綿骨と同等の 10 - 15 Mpa であり、気孔内への新生骨形成の進行に伴い、経時的に圧縮強度は増加するとされている²⁵⁾。以上のことから、本研究では、インプラント埋入における骨補填材として IP-CHA を選択した。

形状について、実験 1 ではブロック形状（円柱状）の IP-CHA を、一方、実験 2 では顆粒形状の IP-CHA を使用した。実験 1 では、IP-CHA により再建された骨組織がインプラント埋入に適しているかを検討した。これまで人工骨の研究において、骨形成の促進に関する報告は多くあるものの、骨再建された骨組織に対するインプラント埋入についての検討はほとんど行われていなく不明点が多い。そのため、人工骨で再建された骨組織に対してのインプラントの埋入およびオッセオインテグレーション獲得の可否について、新規に検討するためブロック型の IP-CHA を用いた。また、外的要因の少ない非荷重条件下において、このブロック形状の IP-CHA を用いることで均一で規格化された評価を行うことができる。一方、実験 2 では、臨床に即したモデルでの評価を行うため、顎骨に頻用される顆粒状の IP-CHA を荷重条件下で用いた。

<研究結果について>

実験 1 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得およびインプラント骨支持の解明

実験 1-1 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のオッセオインテグレーション 獲得の評価

実験 1-1 では、円柱状 IP-CHA を埋入後、12 週の治癒期間を待ち、骨再建部と既存骨との界面部にインプラントを埋入した。この手法は、再建された同一の骨組織において人工骨で再建された骨組織および既存の骨組織との比較が可能であり、現在までこの手技を用いた報告はない。組織学的観察では、インプラント上部において IP-CHA 群では既存骨からの連続した骨形成が観察されオッセオインテグレーションが確認できた。また、この骨伝導はインプラントの中央付近の IP-CHA 内部まで及んでいた。一方、既存骨群ではインプラントの上部ではオッセオインテグレーションが確認できたが、骨髓腔に位置するインプラントの中央付近では骨の形成はまばらだった。これは、実験部位の大腿骨が顎骨同様、皮質骨、海綿骨、骨髓から構成されているものの、海綿骨の割合は非常に少ないことが要因と考えられる。しかしながら、IP-CHA 群では骨髓腔に相当する部位に位置する IP-CHA 内で骨組織が観察された。これは皮質骨から IP-CHA 内部への骨形成が気孔間の連通孔を進展し骨伝導が起きたためと考えられる。BIC においては IP-CHA 群ではインプラント体中央付近まで骨形成が観察されている。インプラント界面へは非吸収性である IP-CHA も接触しているため、IP-CHA 側群と既存骨側群に有意な差は認められなかったが、IP-CHA が既存骨と同等のオッセオインテグレーションを獲得していることが明らかとなった。

実験 1-2 IP-CHA を用いた骨再建部における非荷重条件下のインプラントの骨支持の評価

ISQ 値は、インプラント埋入時において、両群の間に有意差は認められなかった。しかし

ながら、インプラント埋入 12 週後においては、IP-CHA 群が既存骨群と比較し有意に高い値となった。これは、実験部位である大腿骨の構成が原因と考えられる。ISQ 値はインプラント周囲の骨量およびインプラント界面の骨の剛性に依存することが知られており^{53, 54)}、大腿骨はほとんど海綿骨を含まないため、既存骨群のインプラントの ISQ 値は主に皮質骨が接触する部位に依存する。一方、IP-CHA 群は埋入されたインプラント全体が IP-CHA で骨再建された部位に位置していることが組織学的観察において確認された。これは優れた骨伝導能により、骨髓腔部に位置する IP-CHA 内において、連通孔に沿って骨形成が達成され、インプラントを支持する骨組織が広範囲に存在していたため、有意に高い ISQ 値となったと考えられる。

除去トルク値は両群間に有意な差は認められなかった。これは、IP-CHA 群が既存骨群と同程度の力学的な骨接触を得ていたことを示す。除去トルク値の測定は、骨-インプラント界面の性状を評価するために広く用いられており、骨とインプラントの接触率が増加すると、除去トルク値が増加する相関関係にあると報告されている⁵¹⁻⁵³⁾。このことはオッセオインテグレーション獲得後のインプラントの除去トルク値は単なる摩擦抵抗だけでなく、水平回転による剪断力を示し⁵⁴⁾、骨-インプラント界面の破壊力を表しているという報告³⁸⁾と一致し、本研究結果は、骨とインプラントが接触している長さよりも骨質に依存した結果であると考えられる。また、ISQ 値はインプラント周囲の骨量およびインプラント界面の骨の剛性に依存し、インプラント表面に接する軟組織や結合組織の比率によっても影響される^{49, 55)}。ISQ 値はインプラントの安定性を客観的に評価する検査値であり、必ずしも除去トルク値と相関するものではないとの報告もある⁵⁶⁾。そのため、両者を用いて検討することにより、インプラント支持のより確実な評価が行えたと考える。

実験 2 IP-CHA を用いた骨再建部における荷重条件下のオッセオインテグレーション獲得およびインプラントの骨支持の解明

顎骨欠損部に IP-CHA または自家骨を用いて骨再建した部位にインプラント埋入を行った際、埋入トルク値は標準偏差が大きく、両群間に有意な差は認められなかった。しかしながら、全体的に IP-CHA 群は自家骨群と比較し低い傾向にあり、また、Brånemark インプラントの適正埋入トルク値である約 20~45 Ncm と比較しても低い傾向にあった。これは、実験 1 で使用した大腿骨部より、実験 2 で使用した顎骨部の治癒が遅いため、自家骨に対して十分な骨治癒が達成されておらず、測定値が安定しなかったことが起因していると考えられる。

埋入時の ISQ 値は、自家骨群が IP-CHA 群に対して有意に高い値を示した。埋入トルク値と ISQ 値はインプラントの初期安定性の評価として有用であり相関関係にあるという報告がある⁵⁴⁻⁵⁷⁾。これは、インプラント埋入時の ISQ 値において、自家骨群が IP-CHA 群と比較し有意に高くなった結果とも一致する。この ISQ 値は、インプラント埋入時では有意な差が認められたが、2次手術時から 12 週後まですべての計測期間において両群間に有意差は認められなかった。また、どちらの群も 60 以上の ISQ 値を示し、予後良好のインプラントの ISQ 値範囲である 57 - 82 内に収まっていることから³⁴⁾、埋入時に初期固定の低い IP-CHA 群も、十分な治癒期間を設けることにより自家骨群と同程度の安定性を得ることができたと考える。実際の臨床応用においても、十分な治癒期間の設定が非常に重要になるだろう。

ペリオテスト値は、1 歯に対し 16 回物理的に打診を行い、接触時間の差異をペリオテスト値として算出する。-8~50 までの値によって示され、外科的処置を必要とせず、簡便に繰

り返し測定が可能である⁵⁸⁻⁶²)。本研究においては、2次手術から12週後のすべての測定期間において両群の間に有意な差はなく、すべての値が0以下であった。これは、インプラントが動揺していないことを表し、2次手術以降はインプラントが両群ともに安定したことを示す。

本研究ではインプラントのオッセオインテグレーションの評価として組織学的観察およびBICの測定を行った。組織学的観察は、両群とも周囲からの骨の伸展が認められ、インプラントスレッド表面での骨接触が観察できた。また、インプラント底部に下顎底の皮質骨が接触したものは、すべての評価より除外した。海綿骨領域において、顆粒状のIP-CHAを使用しているにも関わらず、皮質骨領域と同程度の骨形成が観察できた。この結果は生理的荷重により骨形成が盛んになったためと考えられる。十分な治癒期間の設定と同様に、適切な荷重および荷重期間の設定もインプラントの安定性獲得のために重要であるだろう。

BICは、両群の間に有意差はなく、IP-CHA群も自家骨群と同等のオッセオインテグレーションを獲得したことが明らかとなった。オッセオインテグレーションは「生活を営む骨組織と機能負荷を受けているインプラント表面との直接の構造的ならびに機能的結合」と定義され、その評価方法として、過去の文献でもBICが多く用いられている^{48, 50, 65, 66})。本研究においてIP-CHAがオッセオインテグレーションを獲得したことは、IP-CHAの連通構造が深く関連している。人工骨の構造において、最適な骨形成が行える大きさは平均気孔径100 - 300 μm と報告されている。また、細胞核の大きさは約10 μm 径であり、それ以上の大きさの気孔であれば容易に細胞や血管侵入が行えるとされている。本実験のIP-CHAは平均気孔径150 μm 、各気孔を交通する連通孔は平均40 μm であり、内部までの確実な骨形成が達成されたと考えられる。そのため、インプラント界面においても再建された骨組織が存在

し自家骨と同程度のオッセオインテグレーションを獲得したと考察できる。

本研究において、ヒーリングアバットメントをインプラントに装着し、固形食摂取による荷重負荷を行い、ISQ 値を測定した結果、ISQ 値は上昇傾向を示した。Vandamme らは、生理的範囲内の適切な荷重がインプラント体に付与された場合、インプラントと骨の界面で骨反応が促進されると報告している⁶⁷⁾。0.65 MPa の圧縮強さを有する固形飼料を摂取させることによって与えた適切な荷重負荷がインプラントに付与され、周囲での骨反応が起こったと考えられる。

IP-CHA 群および自家骨群の組織学的観察では、インプラントを支持している皮質骨部において骨形成が観察された。この骨形成は、機能負荷に対する骨反応と考えられる。さらに、自家骨群に対して IP-CHA 群の特徴的な組織所見として、皮質骨領域にとどまらず海綿骨領域であるインプラント中央部や下部を含め、IP-CHA の内部および周囲を取り囲むような骨形成が観察された。インプラントに加わった適切な荷重はインプラント周囲の骨組織に伝達され、骨組織内に存在する骨細胞が機械的に刺激されることによってシグナル物質が放出されて、周囲に存在する間葉系幹細胞が破骨細胞や骨芽細胞へと分化し、骨応答が活性化することが報告されている⁶⁸⁾。通常、海綿骨の骨構造は皮質骨に対して疎であり、脂肪組織や骨髓腔に占められる。そのため、自家骨群では海綿骨領域において、顕著な骨反応は観察されなかった。一方、IP-CHA 群では良好な骨伝導性により、骨窩内部まで骨形成が達成されることがすべての実験結果から確認できており、海綿骨領域においても IP-CHA 内部に進展した骨組織に荷重負荷が伝達され、インプラント周囲に骨反応が起こり、骨支持が向上したものと考えられる。

<将来の臨床応用に対する展望について>

これまで、非吸収性である HA は長期にわたり生体内で残存することや、時には線維性結合組織に被包化され長期症例において組織外へ排出されることが指摘され、骨補填材としての欠点とされていた²⁵⁾。しかしながら、IP-CHA はほとんど線維性結合組織による被包化は認められず、周囲骨からの骨伝導により骨組織と一体化する^{32, 69)}。本研究においても、IP-CHA は既存骨から連続する骨組織が気孔内へ進展している像が観察され、線維性結合組織に覆われることなく周囲骨と一体化していた。また、骨再建後の骨吸収もみられなかったことから、IP-CHA が骨補填材として有用であると考えられる。現在、臨床でよく用いられている顆粒状の IP-CHA は抜歯窩やサイナスリフト時のスペースメイキングなどの複雑な窩洞形態にも対応でき、臨床での応用も十分可能であるだろう。また、IP-CHA は加工が容易な材料であり、海綿骨様の強度を持つため、大規模な骨欠損にはブロック状の IP-CHA の適用が期待できる。

本研究では周囲が既存骨に囲まれた骨窩で、骨補填から 24 週からの荷重負荷を検討したが、将来的には血管や細胞の供給の乏しい骨治癒に不利な環境での適応や、治癒期間の短縮を目指したい。しかしながら、IP-CHA は骨伝導能に優れるものの、それ自体に骨誘導能や骨形成能は有しておらず、確実な骨形成およびインプラント支持の獲得にはさらに改良が必要であると考えられる。この解決に向けては、IP-CHA への細胞導入や成長因子との併用が骨形成を促進させたとの報告があることから^{30, 32, 42)}、これらの手法を有効に活用することで大きな骨欠損領域での骨治癒や治癒期間の短縮が達成されることが期待できるだろう。

総括

IP-CHA で骨再建を行った組織に対しインプラントを埋入し、IP-CHA を用いた骨再建の有

用性を明らかにするために、その周囲の骨形成と骨支持を組織学的、組織形態計測学および力学的見地から検討した。

1. IP-CHA 骨再建部に埋入したインプラントは、非荷重条件下において、オッセオインテグレーションを獲得し、既存骨と同等の骨支持を認めた。
2. IP-CHA 骨再建部に埋入したインプラントは、荷重条件下において、オッセオインテグレーションを獲得し、十分な治癒期間を設定することにより、粉碎自家骨での骨再建部と同等の骨支持を認めた。

以上の結果より、IP-CHA で骨再建を行った組織に対して、埋入したインプラントはオッセオインテグレーションを獲得し、良好な骨支持を得たことから、インプラント治療における IP-CHA を用いた骨再建が有用であることを強く示唆した。

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保健学研究院応用生命科学部門先端歯科補綴学研究室の津賀一弘教授ならびに奥羽大学赤川安正学長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保健学研究院基礎生命科学部門口腔顎顔面病理病態学研究室高田隆教授、本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門歯科矯正学研究室谷本幸太郎教授、ならびに本学病院口腔維持修復歯科口腔インプラント診療科久保隆靖診療准教授に感謝の意を表します。また、本研究を行うにあたり、御助言、御協力を頂きました本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門歯科放射線学研究室谷本啓二教授、本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門先端歯科補綴学研究室吉川峰加准教授に深謝いたします。さらに研究遂行上

及び本論文作成上の御助言と御鞭撻を賜りました本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門先端歯科補綴学研究室土井一矢助教，ならびに本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門先端歯科補綴学研究室森田晃司助教に感謝の意を表します。さらに多くのご支援を頂きました，本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門先端歯科補綴学研究室の教室員の方々，特に研究遂行に御助力頂きました大上博史助教，梶原志穂博士，岡田信輔博士，加藤寛先生，沖佳史先生に感謝いたします。また，材料の提供を頂きましたコバレントマテリアル株式会社及び株式会社エム・エム・ティーの方々，最後に常に私を支えてくれた家族そして友人に感謝いたします。

参考文献

- 1) Brånemark P-I, Zarb G, Albrektsson T. Tissue-integrated prostheses. Chicago: Quintessence Publishing 1985: 11-43.
- 2) Burchardt H. The biology of bone graft repair. Clin Orthop Relat Res 1983; 174: 28-42.
- 3) Reuben SS, Vieira P, Faruqi S, Verghis A, Kilaru PA, Maciolek H. Local administration of morphine for analgesia after iliac bone graft harvest. Anesthesiology 2001; 95: 390-394.
- 4) Schwartz Z, Mellonig JT, Carnes DL Jr, Fontaine J, Cochran DL, Dean DD, Boyan BD. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. J Periodontol 1996; 67: 918-927.
- 5) Schallhorn RG. Long term evaluation of osseous grafts in periodontal therapy. Int Dent J 1980; 30: 101-116.
- 6) Langer F, Czitrom A, Pritzker KP, Gross AE. The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone. J Bone Joint Surg Am 1975; 57: 216-220.
- 7) Finn RA, Bell WH, Brammer JA. Interpositional grafting with autogenous bone and coralline hydroxyapatite. J Maxillofac Surg 1980; 8: 217-227.
- 8) Becker W, Becker BE. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant dehiscences: surgical techniques and case

report. *Int J Periodont Rest Dent* 1990; 10: 376-391.

- 9) Boyne PJ. Advances in preprosthetic surgery and implantation. *Curr Opin Dent* 1991; 1: 277-281.
- 10) Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jöhnson J. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; 50: 241-249.
- 11) Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260: 920-926.
- 12) Becker W, Urist M, Becker BE, Jackson W, Parry DA, Bartold M, Vincenzzi G, De Georges D, Niederwanger M. Clinical and histologic observation of sites implanted with intraoral autologous bone graft or allografts. 15 human case reports. *J Periodontol* 1996; 67: 1025-1033.
- 13) Hermann JS, Buser D. Guided bone regeneration for dental implants. *Curr Opin Periodontol* 1996; 3: 168-177.
- 14) Kalk WW, Raghoobar GM, Jansma J, Boering G. Morbidity from iliac crest bone harvesting. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54: 1424-1429.
- 15) Chiapasco M, Abati S, Romeo E, Vogel G. Clinical outcome of autogenous bone blocks or guided bone regeneration with e - PTFE membranes for the reconstruction of narrow edentulous ridges. *Clin Oral Impl Res* 1999; 10: 278-288.
- 16) Nasr HF, Aichelmann - Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *J Periodontol* 1999; 19: 74-86.

- 17) Froum SJ, Wallace SS, Elian N, Cho SC, Tarnow DP. Comparison of mineralized cancellous bone allograft (Puros) and anorganic bovine matrix (Bio-Oss) for sinus augmentation histomorphometry at 26 to 32 weeks after grafting. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006; 26: 543-551.
- 18) Klein CP, De Blicq -Hogervorst JM, Wolke JG, De Groot K. Studies of the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro. *Biomaterials* 1990; 11: 509-512.
- 19) Koerten HK, Van Der Meulen J. Degradation of calcium phosphate ceramics. *J Biomed Mater Res* 1999; 44: 78-86.
- 20) Fujita R, Yokoyama A, Kawasaki T, Kohgo T. Bone augmentation osteogenesis using hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate blocks. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1045-1053.
- 21) Kokubo T, Kim HM, Kawashita M, Nakamura T. Bioactive metals: preparation and properties. *J Mater Sci Mater Med* 2004; 15: 99-107.
- 22) Kim HM, Himeno T, Kokubo T, Nakamura T. Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid. *Biomaterials* 2005; 26: 4366-4373.
- 23) Ayers RA, Simske SJ, Nunes CR, Wolford LM. Long-term bone ingrowth and residual microhardness of porous block hydroxyapatite implants in humans. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 1297-1301.

- 24) Tamai N, Myoui A, Tomita T, Nakase T, Tanaka J, Ochi T, Yoshikawa H. Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction in vivo. *J Biomed Mater Res* 2002; 59: 110-117.
- 25) 大野 敬. 多孔性ハイドロキシアパタイト顆粒の有用性について. *奥羽大学歯学誌* 1992; 19: 81-88.
- 26) Deie M, Ochi M, Adachi N, Nishimori M, Yokota K. Artificial bone grafting [calcium hydroxyapatite ceramic with an interconnected porous structure (IP-CHA)] and core decompression for spontaneous osteonecrosis of the femoral condyle in the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16: 753-758.
- 27) Kuriyama K, Hashimoto J, Murase T, Fujii M, Nampei A, Hirao M, Tsuboi H, Myoui A, Yoshikawa H. Treatment of juxta-articular intraosseous cystic lesions in rheumatoid arthritis patients with interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic. *Mod Rheumatol* 2009; 19: 180-186.
- 28) Tamai N, Myoui A, Kudawara I, Ueda T, Yoshikawa H. Novel fully interconnected porous hydroxyapatite ceramic in surgical treatment of benign bone tumor. *J Orthop Sci* 2010; 15: 560-568.
- 29) Shigeishi H, Takechi M, Nishimura M, Takamoto M, Minami M, Ohta K, Kamata N. Clinical evaluation of novel interconnected porous hydroxyapatite ceramics (IP-CHA) in a maxillary sinus floor augmentation procedure. *Dent Mater J* 2012; 31: 54-60.

- 30) Ito Y, Tanaka N, Fujimoto Y, Yasunaga Y, Ishida O, Agung M, Ochi M. Bone formation using novel interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic hybridized with cultured marrow stromal stem cells derived from Green rat. *J Biomed Mater Res* 2004; 69: 454-461.
- 31) Yoshikawa H, Tamai N, Murase T, Myoui A. Interconnected porous hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *J R Soc Interface* 2009; 6: S341-S348.
- 32) Kubo T, Doi K, Hayashi K, Morita K, Matsuura A, Teixeira ER, Akagawa Y. Comparative evaluation of bone regeneration using spherical and irregularly shaped granules of interconnected porous hydroxylapatite. A beagle dog study. *J Prosthodont Res* 2011; 55: 104-109.
- 33) Doi K, Kubo T, Takeshita R, Kajihara S, Kato S, Kawazoe Y, Shiba T, Akagawa Y. Inorganic polyphosphate adsorbed onto hydroxyapatite for guided bone regeneration: an animal study. *Dent Mater J* 2014; 33: 179-86.
- 34) Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Impl Res* 1996; 7: 261-267.
- 35) Friberg B, Sennerby L, Linden B, Gröndahl K, Lekholm U. Stability measurements of one-stage Brånemark implants during healing in mandibles. A clinical resonance frequency analysis study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1999; 28: 266-272.

- 36) De Santis E, Botticelli D, Pantani F, Pereira FP, Beolchini M, Lang NP. Bone regeneration at implants placed into extraction sockets of maxillary incisors in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2011; 22: 430-437.
- 37) Isoda K, Ayukawa Y, Tsukiyama Y, Sogo M, Matsushita Y, Koyano K. Relationship between the bone density estimated by cone-beam computed tomography and the primary stability of dental implants. *Clin Oral Impl Res* 2011; 23: 832-836.
- 38) 熱田俊一. 犬下顎骨に埋入した Fixture の除去所要力量について. *歯科学報* 2003; 103: 860-869.
- 39) Koo S, König B Jr, Allegrini S Jr, Yoshimoto M, Carbonari MJ, Mitri-Luiz FF. Titanium implant osseointegration with calcium pyrophosphate in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006; 76: 373-380.
- 40) Carmagnola D, Abati S, Celestino S, Chiapasco M, Bosshardt D, Lang NP. Oral implants placed in bone defects treated with Bio-Oss, Ostim-Paste or PerioGlas: an experimental study in the rabbit tibiae. *Clin Oral Impl Res* 2008; 19: 1246-1253.
- 41) Minami M, Takechi M, Ohta K, Ohta A, Ninomiya Y, Takamoto M, Fukui A, Tada M, Kamata N. Bone formation and osseointegration with titanium implant using granular- and block-type porous hydroxyapatite ceramics (IP-CHA). *Dent Mater J* 2013; 32: 753-750.
- 42) Hayashi K, Kubo T, Doi K, Tabata Y, Akagawa Y. Development of new drug

delivery system for implant bone augmentation using a basic fibroblast growth factor-gelatin hydrogel complex. *Dent Mater J* 2007; 26: 170-177.

- 43) De Santis E, Lang NP, Cesaretti G, Mainetti T, Beolchini M, Botticelli D. Healing outcomes at implants installed in sites augmented with particulate autologous bone and xenografts. An experimental study in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2013; 24: 77-86.
- 44) Hurley LA, Stinchfield FE, Bassett AL, Lyon WH. The role of soft tissues in osteogenesis. An experimental study of canine spine fusions. *J Bone Joint Surg Am* 1959; 41: 1243-1254.
- 45) Shaw JL, Bassett AL. An improved method for evaluating osteogenesis in vitro. *Anat Rec* 1964; 149: 57-66.
- 46) 岡 高茂. 組織再生のための足場材料. *BIO Clinica* 2000; 15: 1128-1131.
- 47) Anderson HC. Molecular biology of matrix vesicles. *Clin Orthop* 1995; 314: 266-280.
- 48) Tawse-Smith A, Perio C, Payne AG, Kumara R, Thomson WM. One-stage operative procedure using two different implant systems: a prospective study on implant overdentures in the edentulous mandible. *Clin Impl Dent Relat Res* 2001; 3: 185-193.
- 49) Bilal AI-N, Wilfried W, Knut AG. Insertion torque and resonance frequency analysis of dental implant system in an animal model with loaded implants. *J*

Oral Maxillofac Surg 2006; 21: 726-732.

- 50) Huang HM, Chiu CL, Yeh CY, Lee SY. Factors influencing the resonance frequency of dental implants. J Oral Maxillofac Surg. 2003; 61: 1184-1188.
- 51) Carlsson L, Röstlund T, Alberktsson B, Alberktsson T. Removal torques for published and rough titanium implants. Int J Oral Maxillofac Implants 1988; 3: 21-24.
- 52) Wennerberg A, Alberktsson T, Alberktsson B, Krol JJ. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. Clin Oral Implants Res 1996; 6: 24-30.
- 53) Kwon YS, Namgoong H, Kim JH, Cho IH, Kim MD, Eom TG, Koo KT. Effect of microthreads on removal torque and bone-to-implant contact: an experimental study in miniature pigs. J Periodontal Implant Sci 2013; 43: 41-46.
- 54) Gotfredsen K, Nimb L, Hjorting-Hansen E, Jensen JS, Holmen A. Histomorphometric and removal torque analysis for TiO₂-Blasted titanium implants. An experimental study on dogs. Clin Oral Impl Res 1992; 3: 77-84.
- 55) Turkyilmaz I, Sennerby L, McGlumphy EA, Tözüm TF. Biomechanical aspects of primary implant stability: a human cadaver study. Clin Implant Dent Relat Res. 2009; 11: 113-119.
- 56) Fraguas E, Ribeiro M, Croci A, Santos L, Pallos D, Sendyk W. Stability of implants placed simultaneously or in a delayed manner on fresh frozen onlay

- allografts in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2013; 24: 1295-1299.
- 57) Horwitz J, Zuabi O, Peled M. Resonance frequency analysis in immediate loading of dental implants. *Refuat Hapeh Vehashinayim.* 2003; 20: 80-88.
- 58) Shiigai T. Pilot study in the identification of stability values for determining immediate and early loading of implants. *J Oral Implantol.* 2007; 33: 13-22.
- 59) Turkyilmaz I, McGlumphy EA. Influence of bone density on implant stability parameters and implant success: a retrospective clinical study. *BMC Oral Health.* 2008; 8: 32.
- 60) Olivé J, Aparicio C. Periotest method as a measure of osseointegrated oral implant stability. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990; 5: 390-400.
- 61) Teerlinck J, Quirynen M, Darius P, van Steenberghe D. Periotest: an objective clinical diagnosis of bone apposition toward implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1991; 6: 55-61.
- 62) Blanco J, Alvarez E, Muñoz F, Liñares A, Cantalapiedra A. Influence on early osseointegration of dental implants installed with two different drilling protocols: a histomorphometric study in rabbit. *Clin Oral Implants Res.* 2011; 22: 92-99.
- 63) Kunnekel AT, Nair KC, Naidu EM, Sivagami G. Validation of resonance frequency analysis by comparing implant stability quotient values with histomorphometric data. *J Oral Implantol.* 2011; 37: 301-308.
- 64) Doi K, Oue H, Morita K, Kajihara S, Kubo T, Koretake K, Perrotti V, Iezzi G,

- Piattelli A, Akagawa Y. Development of implant/interconnected porous hydroxyapatite complex as new concept graft material. *PLoS One*. 2012; 7: e49051.
- 65) Hui E, Chow J, Li D, Liu J, Wat P, Law H. Immediate provisional for single tooth implant replacement with Brånemark system: preliminary report. *Clin Impl Dent Relat Res* 2001; 3: 79-86.
- 66) Abrahamsson I, Linder E, Lang NP. Implant stability in relation to osseointegration: an experimental study in the Labrador dog. *Clin Oral Impl Res* 2009; 20: 313-318.
- 67) Vandamme K, Naert I, Geris L, Vander Sloten J, Puers R, Duyck J. The effect of micro-motion on the tissue response around immediately loaded roughened titanium implants in the rabbit. *Eur J Oral Sci* 2007; 115: 21-29.
- 68) Klein-Nulend J, Bakker AD, Bacabac RG, Vatsa A, Weinbaum S. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bone* 2013; 54: 182-190.
- 69) 名井 陽, 古野 雅彦, 荒木 信人, 藤井 昌一, 富田 哲也, 玉井 宣行, 越智 隆弘, 吉川 秀樹. 連通気孔を有する新規ハイドロキシアパタイトセラミックスの優れた骨伝導能. *臨整外* 2001; 36: 1381-1388.

付図説明

図1 IP-CHA の拡大像

IP-CHA の各気孔間は連通路により互いに連なった構造を持っている。

図2 実験プロトコル（実験 1-1）

円柱状 IP-CHA を補填後, 12 週の治癒期間を待ち, インプラントを補填部とずらして埋入した。

図3 骨窩形成およびインプラントの埋入（実験 1-1）

動物の大腿骨骨体中央部に骨窩を形成し, 円柱状 IP-CHA を埋入した (A)。12 週の治癒期間の後に, インプラントを片側が IP-CHA 内に, 反対側が既存骨に接するように埋入した (B)。

図4 実験プロトコル（実験 1-2）

円柱状 IP-CHA を埋入後, 12 週の治癒期間を待ち, 補填部中央にインプラントを埋入し, さらに近接する既存骨部にインプラントを埋入し, コントロールとした。12 週後に評価を行った。

図5 骨窩形成およびインプラントの埋入（実験 1-2）

動物の大腿骨骨体中央部に骨窩を形成し, 円柱状 IP-CHA を埋入した (A)。

12 週の治癒期間の後に、補填部中央にインプラントを埋入した (B)。

図 6 ISQ 値の測定および除去トルク値の測定

インプラント埋入時および 12 週後に ISQ 値を測定した (A)。その後、除去トルク値を測定した (B)。

図 7 実験プロトコル (実験 2)

動物の顎骨無歯顎堤に円柱状の骨欠損を作製し、片側に顆粒状 IP-CHA を反対側に粉碎自家骨を補填した。12 週の治癒期間の後に補填部中央にインプラントを埋入し、さらに 12 週後に 2 次手術を行った。2 次手術直後にヒーリングアバットメントおよび固形試料にて荷重負荷を開始した。2 次手術から 12 週後に骨組織を採取した。

図 8 骨窩形成 (ジグの作製) および顆粒状 IP-CHA の補填

動物の両側無歯顎堤部に骨窩を形成し、埋入位置の記録のためジグを作製した (A)。その後、片側に顆粒状 IP-CHA を (B)、反対側に粉碎自家骨を補填し、非吸収性メンブレンにて被覆した。

図 9 インプラントの埋入およびペリオテスト値の測定

12 週の治癒期間の後に、骨窩形成時に作成したジグを用いて、両側再建部中央にインプラントの埋入を行い (A)、埋入トルク値および ISQ 値を測定した。インプラント埋入から 12 週後、2 次手術を行い、ISQ 値を測定した後、ペリオテスト値を測定した

(B)。

図 10 組織学的評価 (実験 1-1)

IP-CHA 側群では、インプラント上部において、インプラントスレッドに沿って、既存骨から連続した骨形成がみられた (A)。また、IP-CHA の気孔内への骨の形成が認められた。インプラントスレッド表面では、骨接触が確認され、オッセオインテグレーションが獲得されていた (B)。既存骨側群では、インプラント上部においては、IP-CHA 側群と同様に、既存骨から連続した骨形成がみられた (A)。インプラント表面においても、骨接触が確認され、オッセオインテグレーションが獲得されていた (C)。

図 11 BIC の測定結果 (実験 1-1)

IP-CHA 側群が 34.7 ± 7.2 %、既存骨側群が 32.5 ± 7.8 % となり、両群の間に有意差は認められなかった。

図 12 ISQ 値の測定結果 (実験 1-2)

インプラント埋入時において、両群の間に有意差は認められなかった。インプラント埋入 12 週後においては、IP-CHA 群が既存骨群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$)。また、両群ともにインプラント埋入 12 週後において、埋入時と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$)。

図 13 除去トルク値の測定結果

IP-CHA 群が 53.7 ± 10.1 Ncm, 既存骨群が 44.0 ± 5.5 Ncm となり, 両群の間に有意差は認められなかった。

図 14 組織学的評価 (実験 1-2)

IP-CHA 群において, IP-CHA の気孔内への骨形成が認められた。周囲既存骨から連続した骨形成を認め (A), インプラントスレッドに沿った骨が観察できた (B)。既存骨群においても, インプラントスレッドに沿った骨が観察できた (C, D)。

図 15 埋入トルク値の測定結果

IP-CHA 群が 9.2 ± 5.6 Ncm, 自家骨群が 20.2 ± 8.7 Ncm となり, 自家骨群が高い埋入トルク値を示す傾向があったが, 標準偏差が大きく, 統計学的に両群の間に有意な差は認められなかった。

図 16 ISQ 値の測定結果 (実験 2)

インプラント埋入時において, 自家骨群は IP-CHA 群と比較し有意に高い値となったが ($p < 0.05$), 2 次手術時より 12 週までのすべての期間において, 両群の間に有意な差は認められなかった。また IP-CHA 群において, インプラント埋入時に比較し, 2 次手術 12 週後では, 有意に高い値となった ($p < 0.05$)。

図 17 ペリオテスト値の測定結果

ペリオテスト値は、どの計測期間においても両群の間に有意な差は認められなかった。また、両群ともに 0 以下の値となり、インプラントの動揺は認められなかった。

図 18 組織学的評価（実験 2）

IP-CHA 群では、周囲骨から骨が伸展し(A)、IP-CHA の気孔内へ骨の形成を認めた。また、インプラントスレッド表面での骨接触を観察した (B)。自家骨群においても、周囲骨からの連続した骨形成を認めた (C)。また、インプラントスレッド表面での骨接触を観察した (D)。

図 19 BIC の測定結果（実験 2）

IP-CHA 群が 56.2 ± 11.9 %、自家骨群が 57.1 ± 10.3 %となり、両群の間に有意な差は認められなかった。

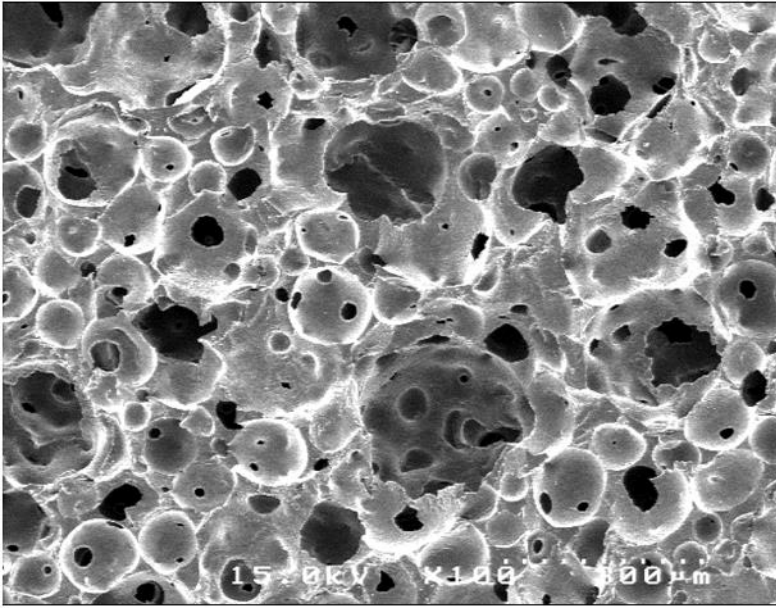


图 1

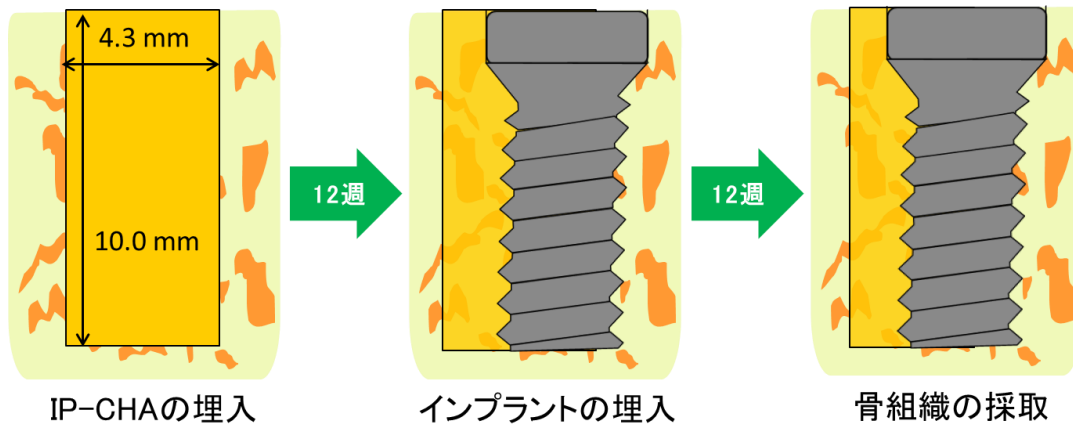
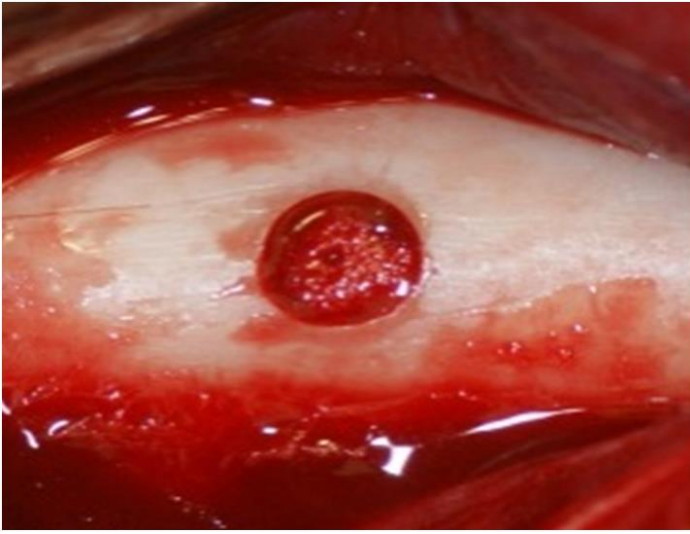
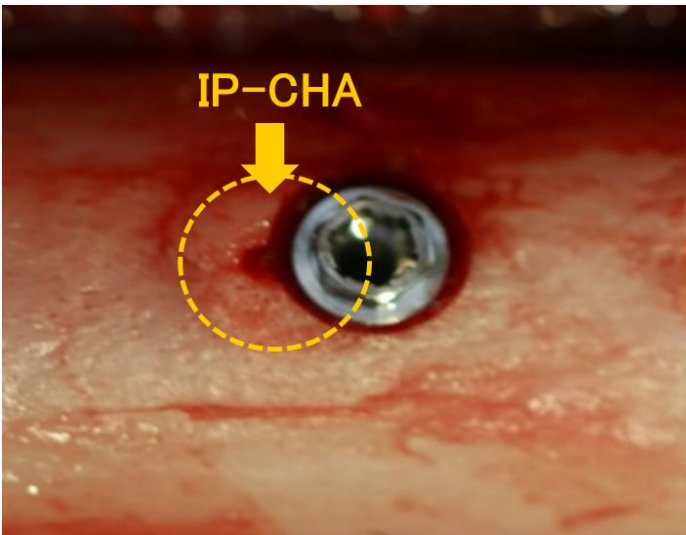


図 2



A



B

図 3

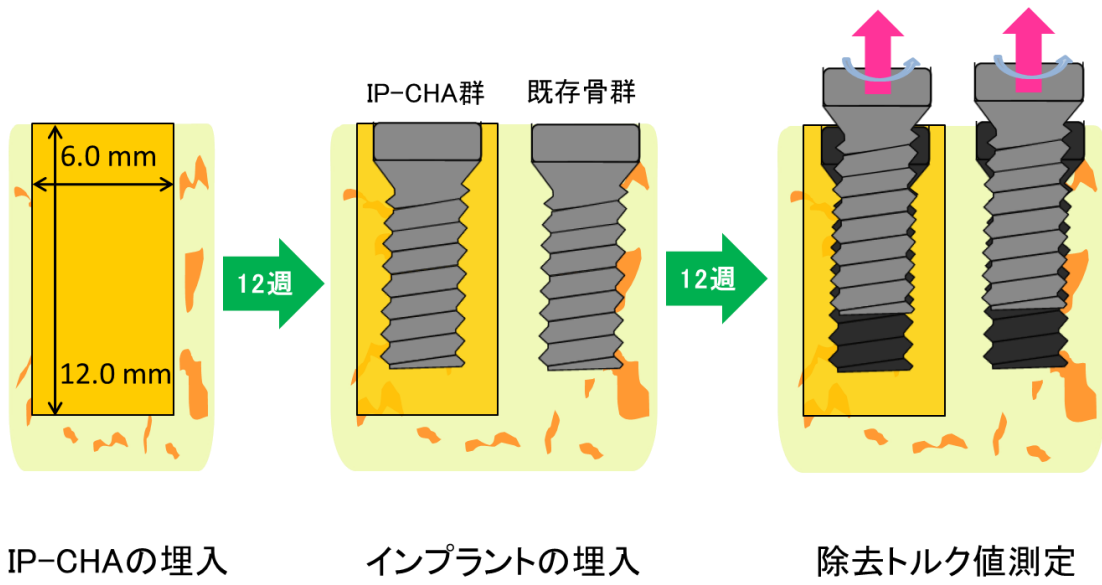
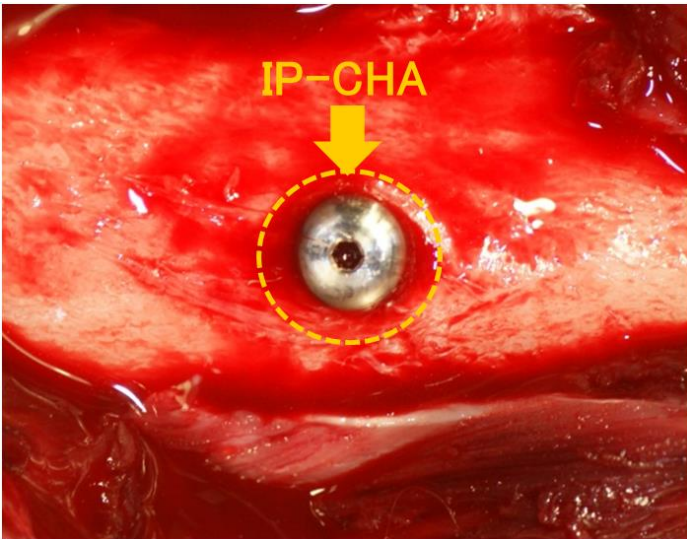


図 4

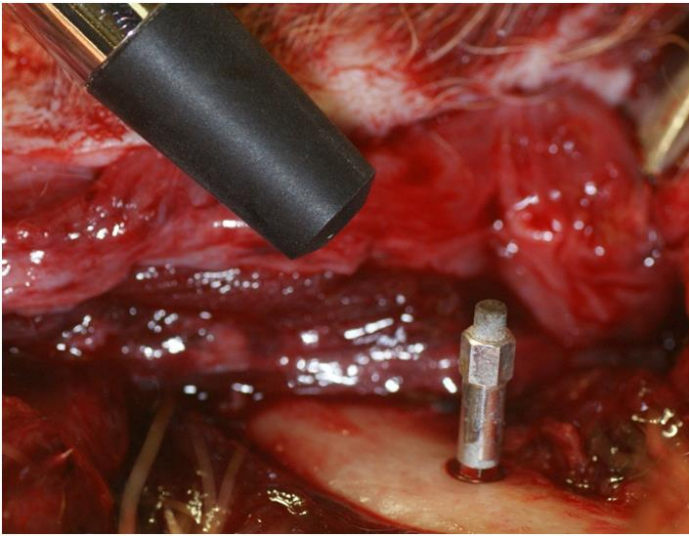


A

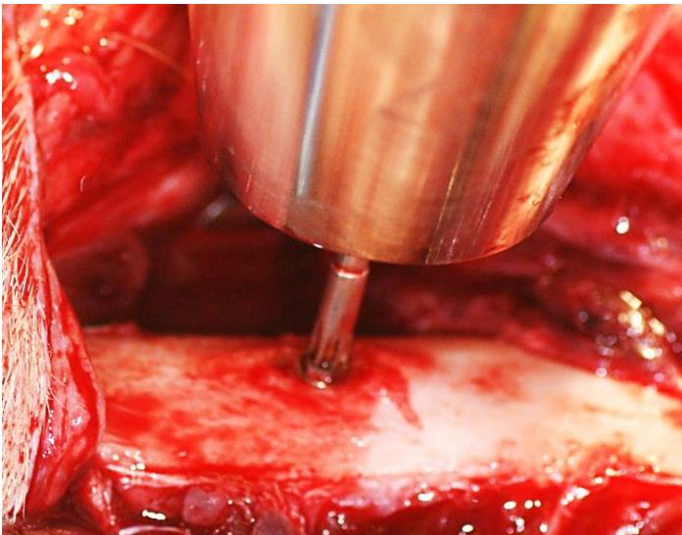


B

図 5



A



B

图 6

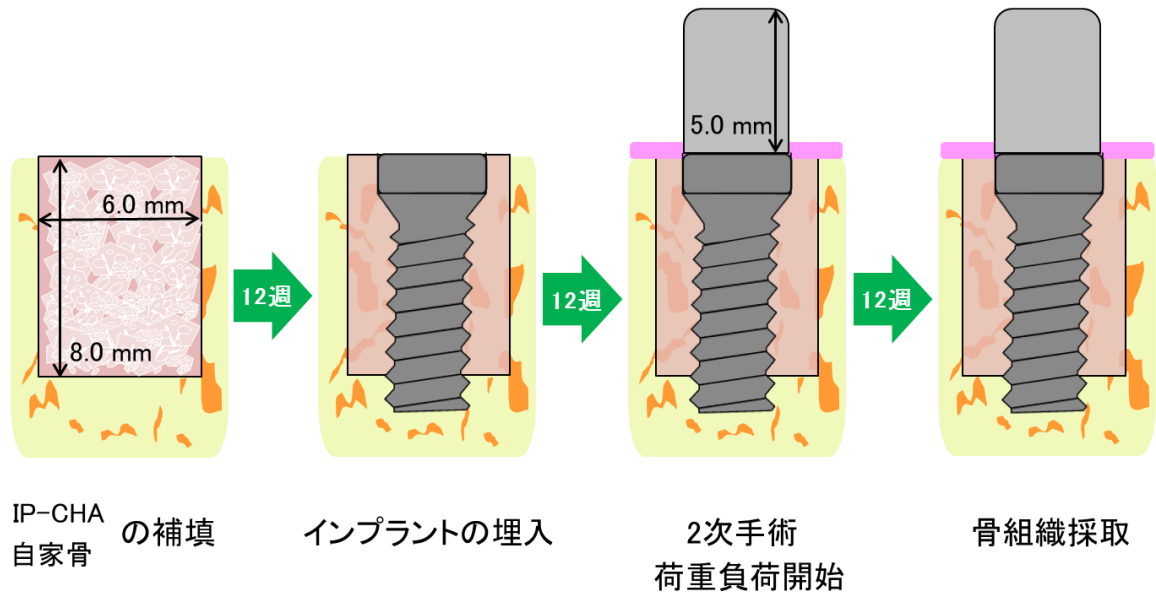
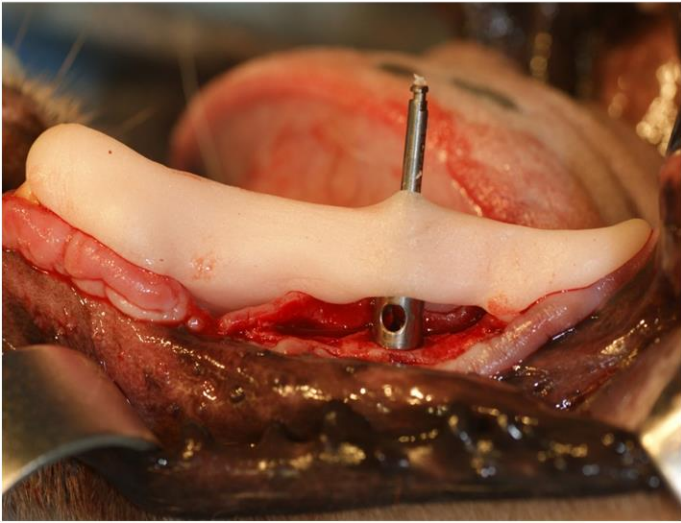


図 7

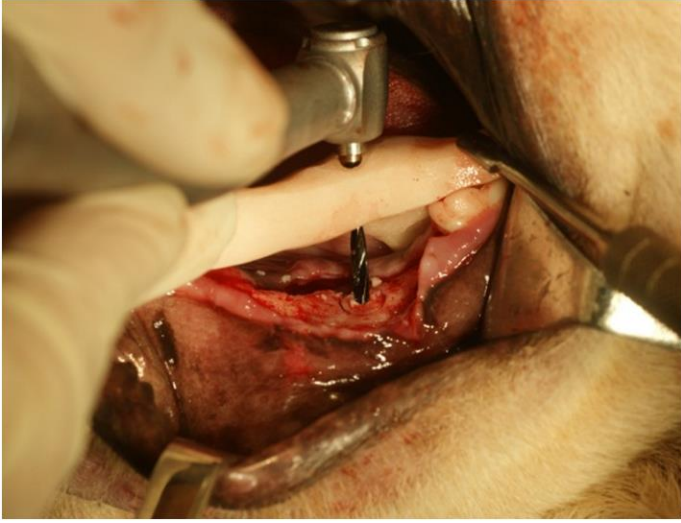


A

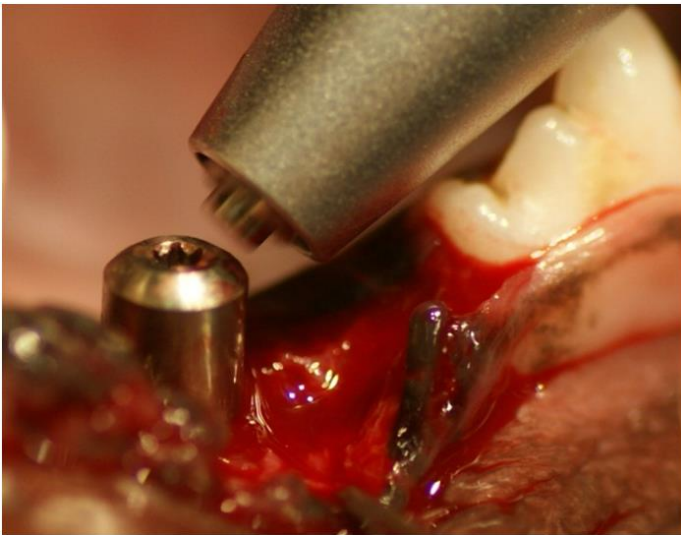


B

图 8

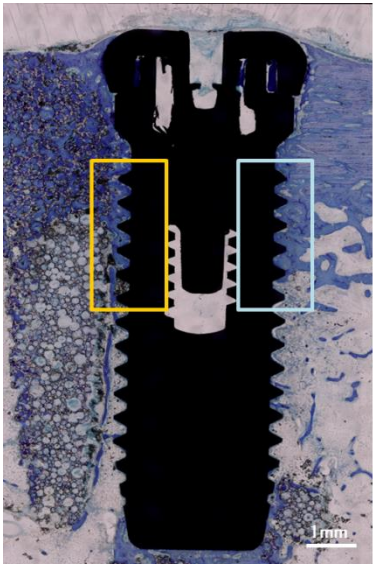


A

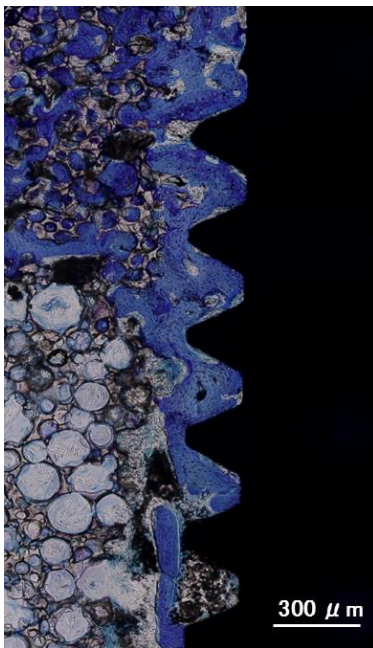


B

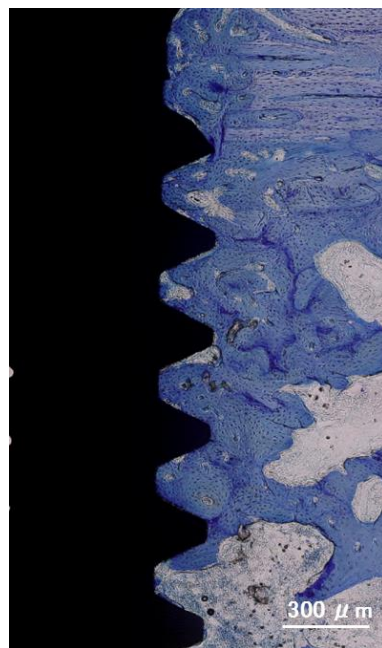
图 9



A



B



C

図 10

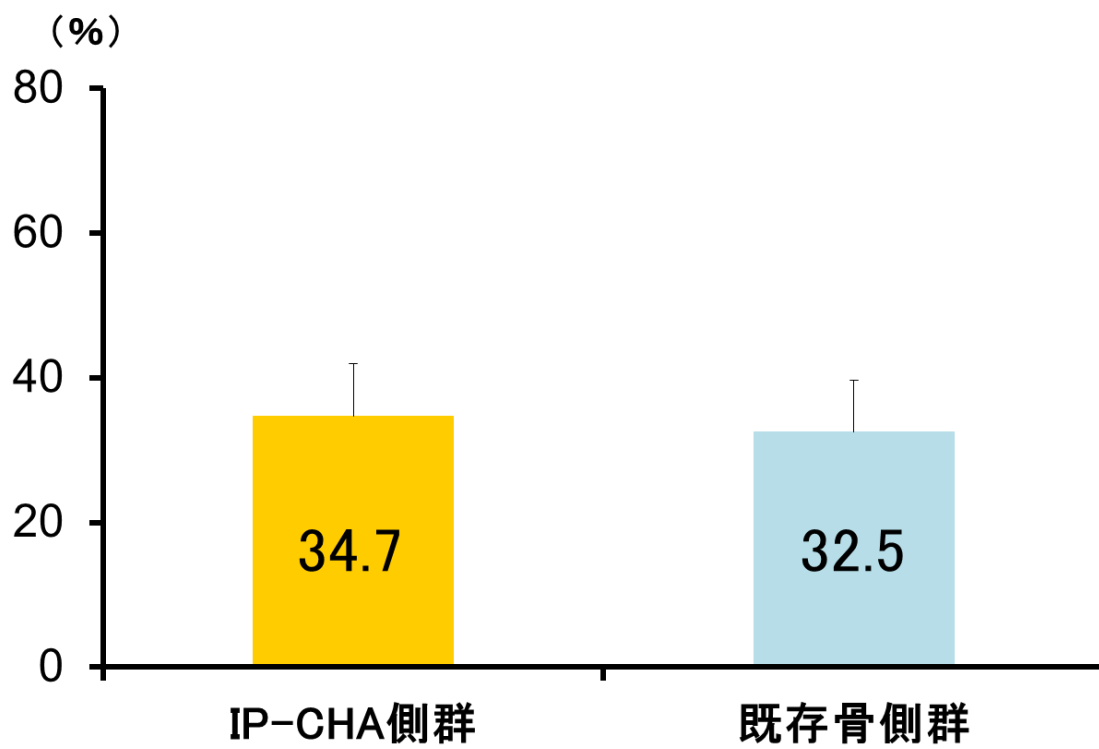


図 11

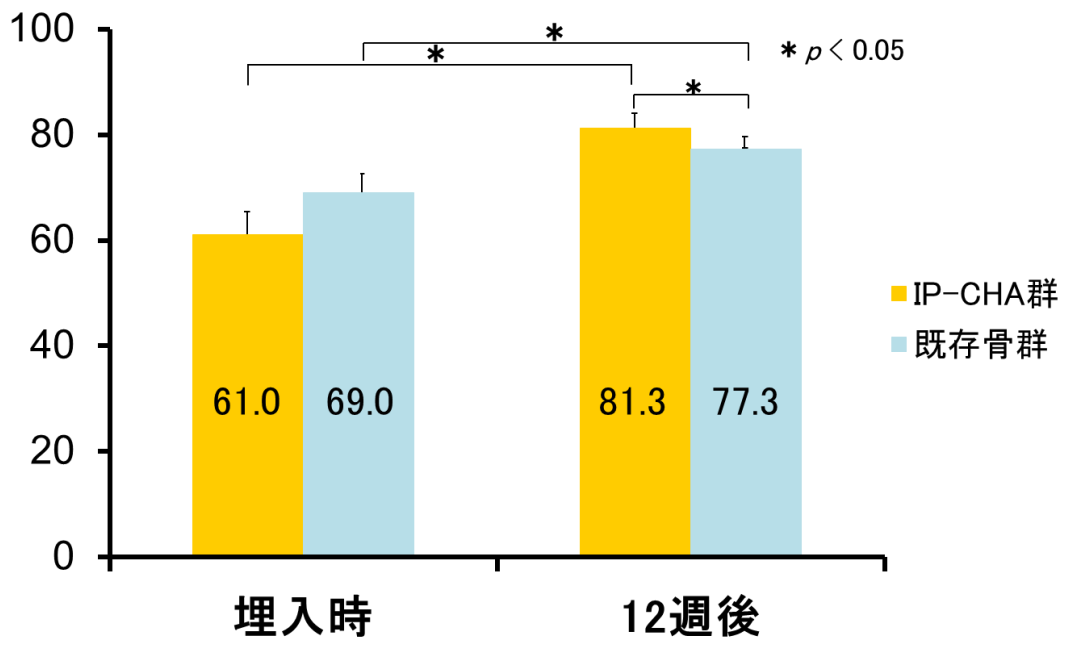


図 12

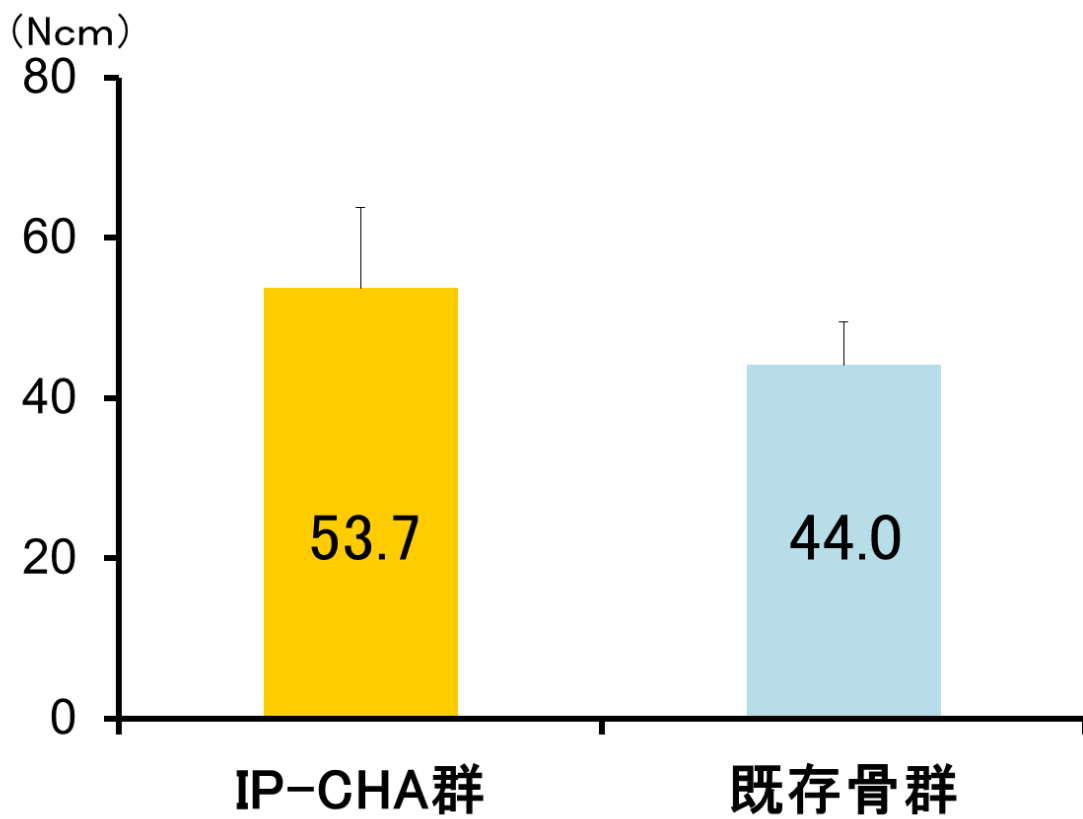
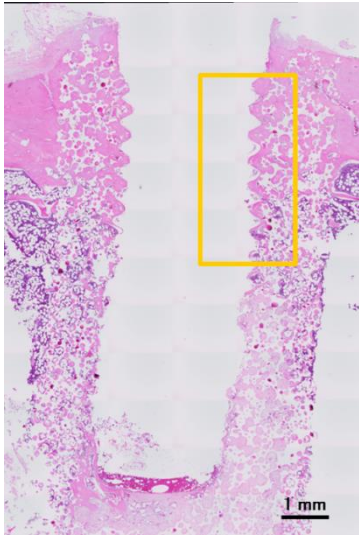
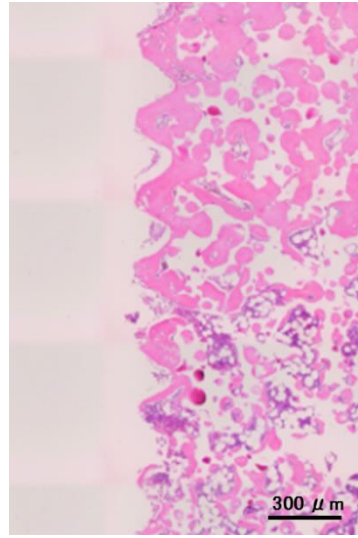


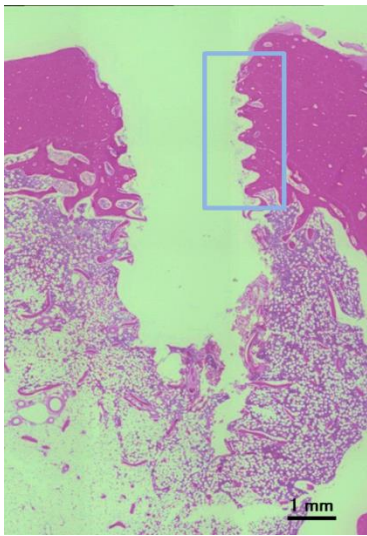
図 13



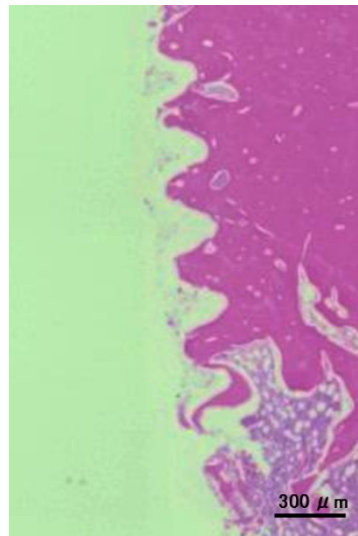
A



B



C



D

図 14

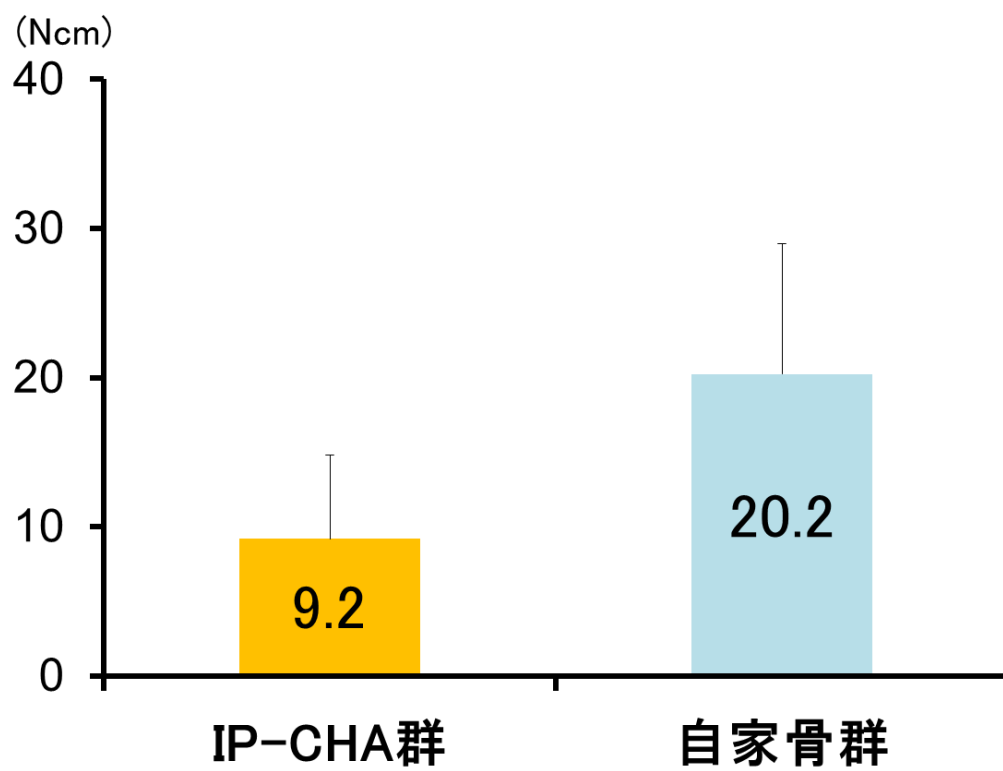


図 15

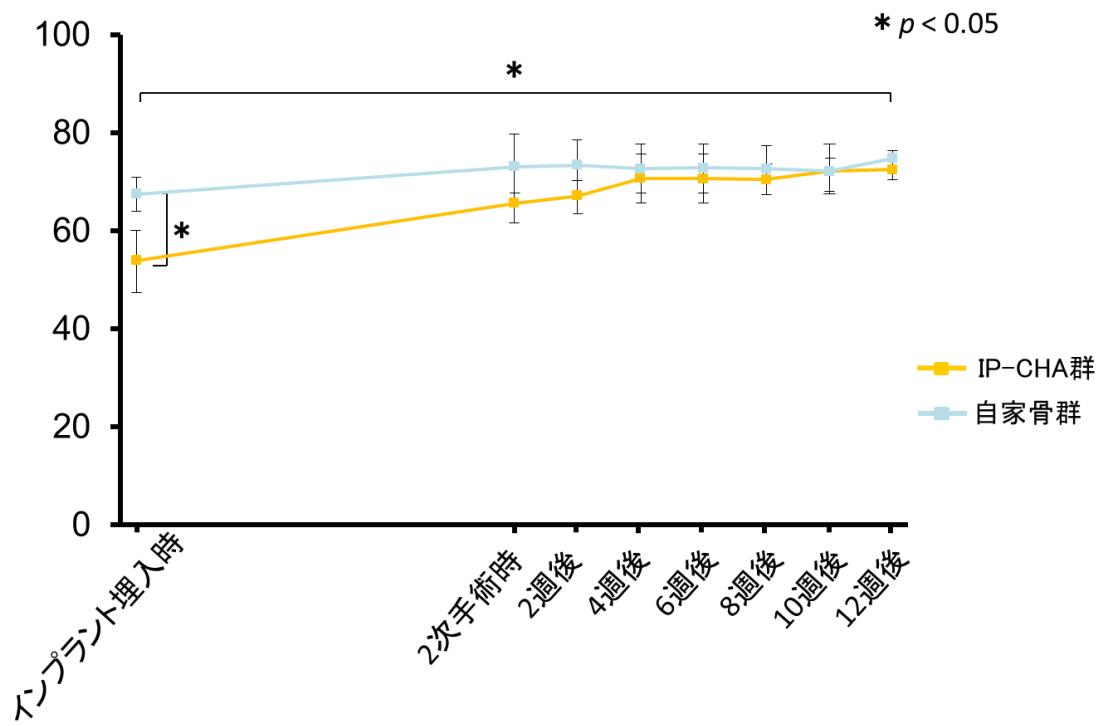


図 16

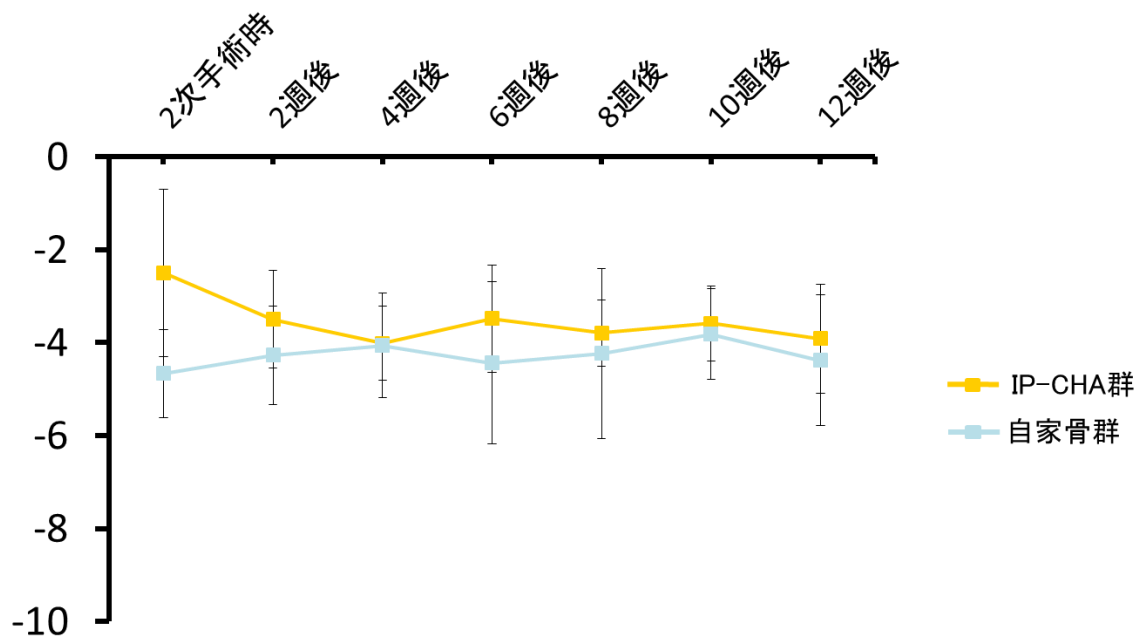
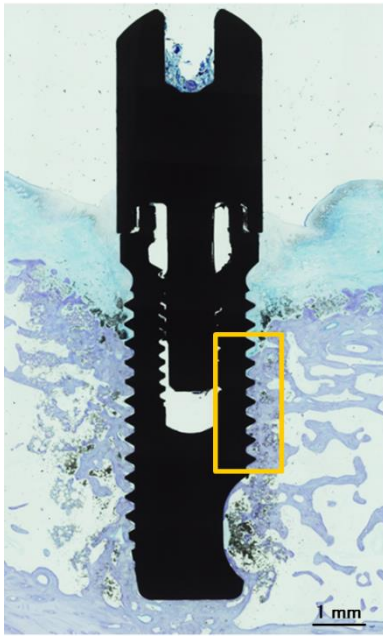
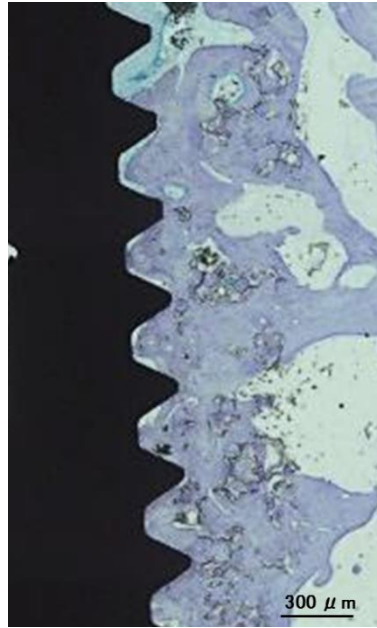


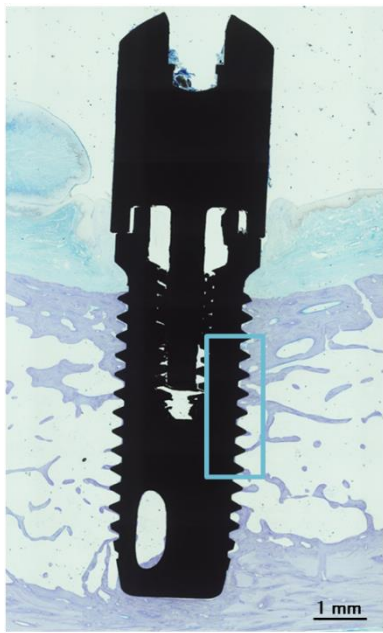
図 17



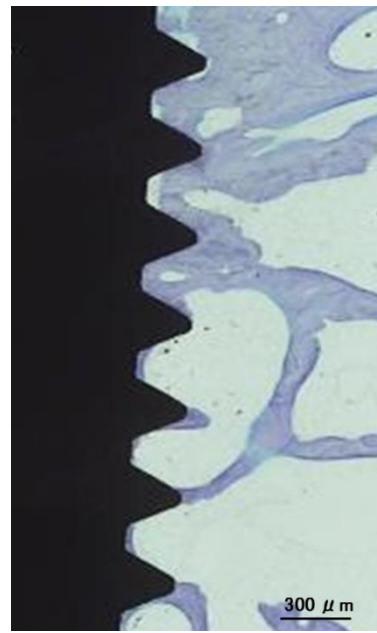
A



B



C



D

図 18

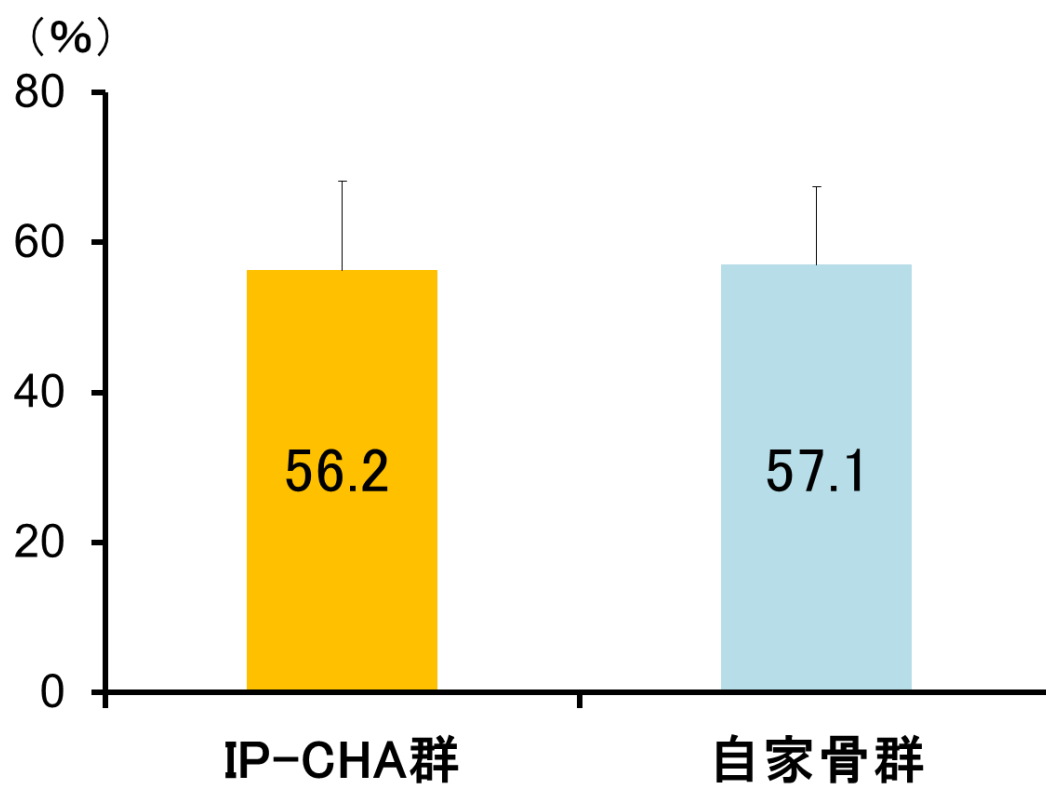


图 19