

原著論文

生体活性ガラスを用いたインプラントの組織学的研究

—生体活性ガラス周囲の骨形成について—

山森 徹雄 塩山 司 細川 貢 青木美佳子
笹嶋 泉 北村 靖 島崎 伸子 山野目聡之
工藤 淳一 小笠原綾子 梶村 幸市 石橋 寛二

Histological Study of Dental Implants using Bioactive Glass

—Bone Formation around Bioactive Glass—

Tetsuo Yamamori, Tsukasa Shioyama, Mitsugu Hosokawa, Mikako Aoki,
Izumi Sasajima, Yasushi Kitamura, Nobuko Shimazaki, Satoshi Yamanome,
Junichi Kudo, Ayako Ogasawara, Koichi Kajimura and Kanji Ishibashi

Abstract : Bioactive glass has been known as a material which can directly bind to bone, and the application of it to the field of dental implants has been attempted. However, few investigations on the progress of bone formation around the bioactive glass in the jaw bone have been reported.

The purposes of this study were to examine the bone formation around bioactive glass, and to study the influences of the jaw bone condition on bone formation. Conditions of the jaw bone were determined according to the elapsed time between tooth extraction and implant insertion. The mandibular fourth premolars of 6 beagles were extracted, and implants were inserted into the same places at 4, 8, and 12 week intervals.

In all cases, after 2 weeks a layer of newly formed bone tissue of various maturation levels were found to be in direct contact with the bioactive glass. Furthermore, bone maturation was found to be more prominent after 8 weeks. This result may suggest that bioactive glass can bind to bone without much influence from the condition of the jaw bone.

Key words : dental implant, bioactive glass, bone formation, bone condition

I. 緒 言

骨と直接結合する材料として生体活性ガラスが開発されて以来、種々の基礎的、臨床的な報告がなされている^{1)~10)}。生体活性ガラスの人工歯根としての応用を考える場合、顎骨中に埋入された生体活性ガラス周囲

岩手医科大学歯学部歯科補綴学第二講座 (主任: 石橋寛二教授)

Department of Fixed Prosthodontics, School of Dentistry,
Iwate Medical University (Chief: Prof. Kanji Ishibashi)

平成4年1月28日受付

の組織変化を明らかにすることが重要である。とりわけ、生体活性を有する材料の特長を活かしたインプラント臨床を確立するためには、埋入される顎骨の状態によって生じる骨形成の過程が詳細に示されなければならない。

本研究では顎骨中に埋入された生体活性ガラス周囲の組織変化を追究する一環として、埋入後の骨形成について組織学的に調べた。また埋入される骨の種々の状態を、抜歯からインプラント埋入までの期間の違いにより設定し、反応の差異について検討した。

II. 材料と方法

本研究に用いたインプラントは金属芯体を SiO_2 - P_2O_5 - CaO - Na_2O 系生体活性ガラス SE 51 で被覆した構造を有し、長さ 9.0 mm、最大直径 3.9 mm のチー

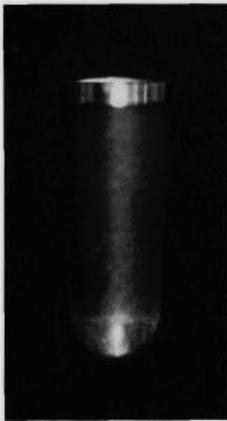


Fig. 1 The Nikon Dental Implant SO used in this study
本研究で用いたニコン・デンタル・インプラント・SO

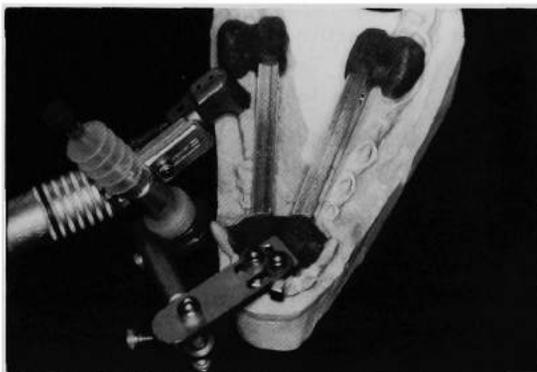


Fig. 2 The drilling guide preoperatively adjusted on a cast
術前に模型上で調整した穿孔用ガイド

パーコーン型のものである (Fig. 1)。また実験動物には生後 1.5~2 年のビーグル犬 6 頭を用いた。

下顎左右側第 4 前臼歯を抜去し、その 4, 8, 12 週後にインプラントを埋入した。埋入に際しては、あらかじめ模型上で設定しておいた穿孔用ガイド (Fig. 2) を用い、粘膜骨膜弁を形成した後、ラウンド・バー、パイロット・ドリル、ストレート・ドリル、リーマ・ドリルを順に用いて生理食塩水の注水で埋入窩を形成した (Fig. 3)。リーマ・ドリル使用時の回転数を毎分 600 回転とし、他は 1,000 回転とした。埋入窩の形成部位は第 4 前臼歯槽間隔部とし、インプラントの頬舌側端部が骨縁下 0.3~0.5 mm となる深さとした。形成された埋入窩にインプラントを挿入して手指圧で適合させた後、粘膜骨膜弁を戻して縫合した。

埋入 2, 8 週後に屠殺し、周囲顎骨とともにインプラントの近遠心約 10 mm の位置でタングステンカーバイド・バーにより下顎骨を離断して標本採取を行った。

採取した標本を中性緩衝 10% ホルマリンで約 1 週間浸漬固定したのち、流水で十分洗浄し、アルコール系列で脱水、アセトン置換後ポリエステル樹脂 (リゴラック 2004, 70 F 応研商事) に包埋した。バンド・ソー (BS-3000 Exakt 社製) によりインプラントの近遠心的中央部で頬舌断した後、近遠心方向に切断し、グラ

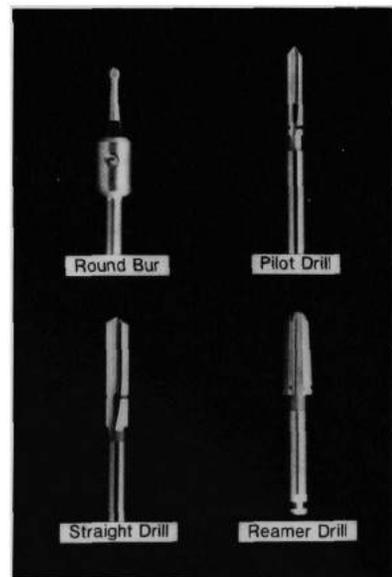


Fig. 3 The bur and drills used for drilling containing
canals for internal irrigation
内部注水するための管を有する穿孔用バー、ドリル類



Fig. 4 X ray photograph showing the placement of the implant in jaw bone
インプラントの埋入位置を示すX線写真

インディングマシン (MG-4000 Exakt 社製) で約 100 μm の非脱灰標本を作製した。作製した標本にヘマトキシリン-エオジン染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

なお、インプラント埋入直後のX線写真 (Fig. 4) で明らかなように、インプラントの歯槽頂側 1/2~1/3 の近遠心部が抜歯窩に面するため、この部分を中心に非脱灰標本の観察を行った。

III. 結 果

1. 埋入後 2 週の所見

1) 抜歯後 4 週埋入群

抜歯後 4 週で埋入した群の埋入 2 週後の組織所見を Fig. 5 に示す。生体活性ガラス表面の多くの部分が数 μm ~数十 μm の厚さの線維骨で覆われ、その外側にはエオジン好性の類骨様の層を介して骨芽細胞様の大型の間葉系細胞が密に配列していた。また、周囲の既存骨に添加された線維骨と生体活性ガラス表面の線維骨が連結している部分や、既存の骨と生体活性ガラスが近接している部分もみられた。線維骨のない部分には石灰化物と考えられる顆粒状物が多数みられ、その周囲に骨芽細胞様の細胞が散在していた。石灰化物と考えられる顆粒状物は生体活性ガラス表面に近い部分ほど密度が高くなって、これが次第に線維骨へ移行している像もみられた。

インプラントから離れた抜歯窩相当部の骨梁は、種々の大きさや形態を呈する幼若な線維骨よりなるが、通常の間葉系骨梁より小さいものが多かった。その

表面では類骨層を介して骨芽細胞様の細胞が配列している部分が多くみられた。また骨梁間は線維芽細胞や膠原線維に富む組織よりなっていた。

2) 抜歯後 8, 12 週埋入群

抜歯後 8, 12 週で埋入した群の埋入 2 週後の生体活性ガラス周囲の組織所見は、抜歯後 4 週で埋入した群と明らかな違いは認められなかった (Fig. 6, 7)。すなわち生体活性ガラス表面の多くの部分が線維骨の薄い層で覆われ、線維骨のない部分には石灰化物と考えられる顆粒状物がみられた。しかしインプラントから離れた抜歯窩相当部の骨梁は、抜歯後 8 週で埋入した群では骨梁が線維骨からなるもののその大きさを増し、部分的に成熟した層板骨の形成が認められた。また抜歯後 12 週で埋入した群ではさらに骨改造が進み、明瞭な層板構造を示す領域が拡大していた。

2. 埋入後 8 週の所見

1) 抜歯後 4 週埋入群

抜歯後 4 週で埋入した群の埋入後 8 週の所見を Fig. 8 に示す。生体活性ガラス表面の多くは直接周囲の新生骨と接していた。新生骨の骨髓腔は狭小となり、それら骨髓腔内の骨面に沿って骨芽細胞様の細胞を認めるものや毛細血管を含むものが多かったが、中には多核の細胞を含むものもみられた。改造による接合線もみられ、さらに一部では層板骨への置換が進行していた。

インプラント周囲の既存の骨梁の部分でも、埋入 2 週後に比較し骨梁の太さが増し、層板構造がみられる部分もあった。また骨髓腔には線維性の組織に加え脂肪組織もみられるようになっていた。

2) 抜歯後 8, 12 週埋入群

抜歯後 8, 12 週で埋入した群での埋入 8 週後の生体活性ガラス周囲の骨形成についての所見は、抜歯後 4 週で埋入した群とほぼ同様であった (Fig. 9, 10)。すなわち生体活性ガラス周囲は埋入後 2 週の群より厚みを増し、やや骨改造の進んだ新生骨に接していた。またインプラントから離れた抜歯窩相当部の骨梁は、抜歯後 8, 12 週で埋入した群とも抜歯後 4 週で埋入した群より骨改造が進行して多くの層板構造を示すようになっていた。骨髓腔は広くなり、その中により多くの脂肪組織が認められた。



Fig. 5-a Histological findings around the bioactive glass at 2 weeks after insertion (inserted 4 weeks after tooth extraction, $\times 280$)

The surface of the bioactive glass is in contact with a thin layer of newly formed fibrous bone

埋入 2 週後の組織所見 (抜歯後 4 週埋入群)

生体活性ガラスは新生線維骨の薄層と接している

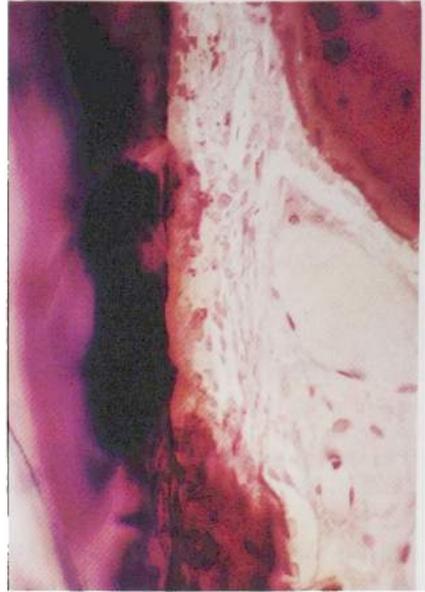


Fig. 5-b Histological findings around the bioactive glass at 2 weeks after insertion (inserted 4 weeks after tooth extraction, $\times 280$)

The granules which are assumed to be calcareous structures that is also observed on the surface of the bioactive glass

埋入 2 週後の組織所見 (抜歯後 4 週埋入群)

生体活性ガラス表面には石灰化物と考えられる顆粒状物もみられる



Fig. 6 Histological findings around bioactive glass at 2 weeks after insertion (inserted 8 weeks after tooth extraction, $\times 120$), which are similar to those of Fig. 5

埋入 2 週後の組織所見 (抜歯後 8 週埋入群)

抜歯後 4 週埋入群に類似した組織所見を示す

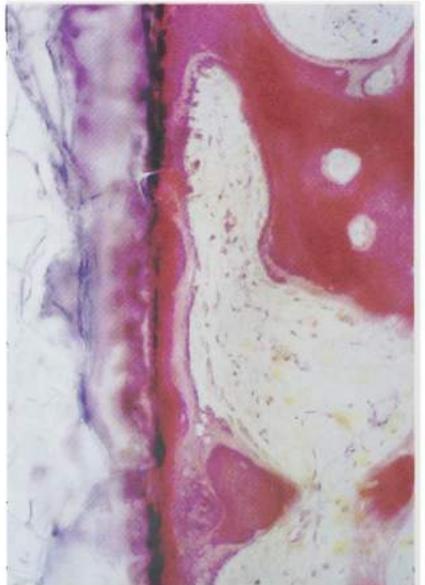


Fig. 7 Histological findings around bioactive glass at 2 weeks after insertion (inserted 12 weeks after tooth extraction, $\times 120$), which are similar to those of Fig. 5

埋入 2 週後の組織所見 (抜歯後 12 週埋入群)

抜歯後 4 週埋入群に類似した組織所見を示す

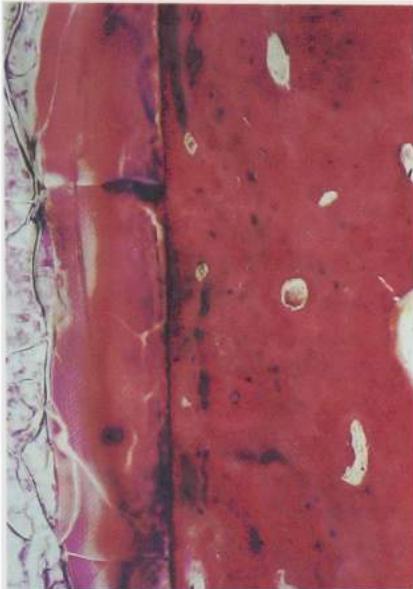


Fig. 8 Histological findings around bioactive glass at 8 weeks after insertion (inserted 4 weeks after tooth extraction, $\times 120$) The bone layer directly in contact with the bioactive glass becomes thicker, and maturation of new bone is seen to be in progress
埋入 8 週後の組織所見 (抜歯後 4 週埋入群)
生体活性ガラスに接する骨層はより厚くなり、新生骨の成熟が進行している



Fig. 9 Histological findings around bioactive glass at 8 weeks after insertion (inserted 8 weeks after tooth extraction, $\times 120$), which are similar to those of Fig. 8
埋入 8 週後の組織所見 (抜歯後 8 週埋入群)
抜歯後 4 週埋入群に類似した組織所見を示す



Fig. 10 Histological findings around bioactive glass at 8 weeks after insertion (inserted 12 weeks after tooth extraction, $\times 120$), which are similar to those of Fig. 8
埋入 8 週後の組織所見 (抜歯後 12 週埋入群)
抜歯後 4 週埋入群に類似した組織所見を示す

IV. 考 察

1. 実験設定について

イヌにおける抜歯窩の治癒過程について、高橋は次のように報告している^{20,21)}。抜歯後 2 日で抜歯窩は血餅で満たされ、抜歯後 4 日で形成が始まった肉芽組織は、抜歯後 8 日には抜歯窩を満たすようになる。抜歯後 15 日では抜歯窩の 2/3 に新生骨梁が形成され、抜歯後 30 日になると抜歯窩が新生骨梁で満たされるが骨梁は未だ細く、周囲に多くの骨芽細胞が存在し、骨髄の形成はみられない。抜歯後 50 日では新生骨梁が肥厚し骨髄が形成されるが、上方の骨髄は狭小で炎症性変化が残存している。抜歯後 80 日では新生骨、骨髄ともほぼ定型的構造を示す。

本研究では抜歯からインプラント埋入までの期間を 4, 8, 12 週として、それぞれ埋入 2, 8 週後のインプラント周囲組織の所見を比較観察した。

抜歯後 4 週では抜歯窩が幼若な新生骨梁で満たされるが、その周囲には骨芽細胞が多数存在し骨形成が盛んな時期と考えられる。本研究では顎骨の状態の違い

による差異を検討することを目的としているため、インプラントを埋入する時期を抜歯後間もない時期と抜歯窩の治癒が完了した時期とを比較するのが望ましい。しかし抜歯窩が血餅や肉芽組織で満たされている状態では、埋入直後のインプラントの安定が得られにくく、このことによる骨形成への影響が懸念された。よって抜歯後埋入までの最も短い期間を化骨期である4週とした。また抜歯窩の治癒が完了して周囲顎骨と同様の構造を呈すると考えられる抜歯後12週を埋入までの最も長い期間とした。さらにこれらの中間の期間として抜歯後8週を設定した。

2. 生体活性ガラス周囲の骨形成について

生体活性ガラス周囲の骨形成に関する数編の組織学的報告があるが、いずれもラットもしくは家兎の大腿骨や脛骨を対象としており、ヒトの顎骨に比べて創傷治癒能力に優れた骨中に埋入した結果についての報告である^{2-6,9,12,14}。したがって骨組織と生体活性ガラスの結合は確認されているものの、その経過は明らかにされておらず、また人工歯根としての応用を想定して顎骨中に埋入された生体活性ガラスについての組織学的追究は認められない。

今回、生体活性ガラスインプラントをビーグル犬の顎骨に埋入した。その結果、埋入2週後には生体活性ガラス表面の多くは線維骨の菲薄な層で覆われ、線維骨のない部分にはヘマトキシリン好性の顆粒状物が多数みられた。この顆粒状物は、線維骨の近傍や生体活性ガラス表面に近い部分ほどその密度が高くなり、形態的には、線維骨へと移行していた。埋入後8週では生体活性ガラス周囲にみられた新生骨の層板骨への成熟像がみられた。

以上のことより生体活性ガラス周囲における骨形成の経過について次のように考えられた。すなわち顎骨中の生体活性ガラス周囲の骨芽細胞により形成された類骨組織中で石灰化が起こって線維骨となり、線維骨はその厚さを増すとともに成熟していくが、生体活性ガラス表面と既存の骨梁との間隙が広い部分では類骨層の外側にも顆粒状の石灰化物が形成されることがあり、この部分も骨形成の場となっていくであろう。

結合組織中での石灰化開始については古くからいくつかの説が唱えられているが、現在に至るまで定説はない。Robinson²³は組織内ではリン酸イオンやカルシウムが不飽和であると考え、アルカリフォスファターゼがリン酸イオン濃度を高めることによってリン酸カ

ルシウムの結晶化が起こるという説を示した。また、Neumanら²⁴は血清中でリン酸イオンとカルシウムが骨塩に対して過飽和であることを実験的に証明してRobinsonの説を否定した上で、なんらかの酵素や触媒が活性化エネルギーを下げることによって骨塩が形成されると考えた。その後石灰化開始部位付近に基質小胞といわれる直径約30~300nmの膜性小胞構造物が発見された²⁴。基質小胞の内容物は様々で、この中で形成された結晶様構造物が増大して細胞膜を破り、石灰化が始まるという説が提示された。基質小胞中での結晶化についてはアルカリフォスファターゼが関与しているという説²⁵や脂質が関与しているという説²⁶などがあるが定まった見解はない。

今回の結果からは石灰化開始機序を裏付けるような所見は得られなかったが、埋入2週後にみられた顆粒状物の密度は生体活性ガラス表面に近い部分で大きかった。*in vitro*での実験により、緩衝液中では生体活性ガラス表層部のリン酸カルシウム濃度が高くなるよう変化することが報告されている⁷。*in vivo*でも同様の層が形成されるのであれば、この部位からのリン酸イオンやカルシウムイオンの供給が生体活性ガラス表面の顆粒状物形成や骨形成に影響を及ぼしている可能性があると考えられる。

3. 顎骨の状態による生体活性ガラス周囲の骨形成の差異について

本研究では顎骨の状態による生体活性ガラス周囲の骨形成の差異を調べる目的で、抜歯後インプラント埋入までの期間を4, 8, 12週と設定した。実験設定の項で述べたようにインプラント埋入時点には各群の抜歯窩の状態が異なっていると考えられるが、埋入2, 8週後の組織所見では明らかな違いがみられなかった。この結果より生体活性ガラス周囲の骨形成は埋入される顎骨の状態による影響を受けにくいことが示唆された。

このような結果が得られた原因を本研究のみから断定することはできない。しかし埋入2週間後にみられた線維骨および顆粒状物の形成が既存の骨梁の存在しない部分においても生体活性ガラスに近接した部位で進行していたため、生体活性ガラスの存在によって骨形成がなんらかの影響を受けていた可能性もある。

本研究では抜歯窩の治癒過程における3つのステージを顎骨の状態の違いとして設定しているため、各群での骨形成活動状態は異なるが、本質的な骨形成能に

は差がないと考えられる。今後、骨代謝異常などの病的状態またはそれらの治療後の骨への生体活性ガラスインプラント応用の適否についても検討する必要がある。

V. 結 論

顎骨中に埋入された生体活性ガラス周囲の組織変化、および埋入される顎骨の状態の違いによる組織変化の差異を調べる目的でビーグル犬を用いた実験を行ったところ、以下の結論を得た。

1. 埋入後2週では生体活性ガラス表面の多くの部分が線維骨で覆われ、線維骨のない部分には石灰化物と考えられる顆粒状物がみられた。
2. 埋入後8週では生体活性ガラス周囲の新生骨が厚みを増すとともに層板骨への置換が進んでいた。
3. 抜歯後インプラント埋入までの期間を4, 8, 12週としたが、生体活性ガラス周囲の骨形成に明らかな差は認められなかった。これにより生体活性ガラス周囲の骨形成は埋入される顎骨の状態による影響を受けにくいことが示唆された。

本論文の要旨は第84回日本補綴歯科学会学術大会(1990年10月, 大阪), およびWorld Congress on Prosthodontics, Hiroshima, '91(1991年9月, 広島)において発表した。

文 献

- 1) Hench, L.L., Splinter, R.J. and Allen, W.C.: Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials, *J Biomed Mater Res Symposium*, 2: 117~141, 1971.
- 2) Beckham, C.A., Greenlee, T.K. and Crebo, A.R.: Bone formation at ceramic implant interface, *Calc Tiss Res*, 8: 165~171, 1971.
- 3) Greenlee, T.K., Beckham, C.A., Crebo, A.R. et al: Glass ceramic bone implants, *J Biomed Mater Res*, 6: 235~244, 1972.
- 4) Hench, L.L. and Paschall, H.A.: Direct chemical bond of bioactive glassceramic materials to bone and muscle, *J Biomed Mater Res Symposium*, 4: 25~42, 1973.
- 5) Hench, L.L. and Paschall, H.A.: Histological responses at a biomaterial's interface, *J Biomed Mater Res*, 5: 49~64, 1974.
- 6) Clark, A.E. and Hench, L.L.: The influence of surface chemistry on implant interface histology, *J Biomed Mater Res*, 10: 161~174, 1976.
- 7) Ogino, M., Ohuchi, M. and Hench, L.L.: Compositional dependence of the formation of calcium phosphate films on bioglass, *J Biomed Mater Res*, 14: 55~64, 1980.
- 8) 藤生尚光, 矢内純一, 荻野 誠ほか: 生体活性ガラスを用いた人工歯根の力学的挙動, *歯界展望*, 56: 669~674, 1980.
- 9) 井上直彦, 伊藤学而, 亀谷哲也: 生体活性ガラスを用いた人工歯根の開発, *日矯歯誌*, 40: 291~299, 1981.
- 10) Fujii, T. and Ogino, M.: Difference of bond bonding behavior among surface active glasses and sintered apatite, *J Biomed Mater Res*, 18: 845~859, 1984.
- 11) Kaneko, T. and Nagai, Y.: Acoustoelectric technique for assessing the mechanical state of the dental implant-bone interface, *J Biomed Mater Res*, 20: 169~176, 1986.
- 12) 鈴木通美, 井上直彦, 伊藤学而ほか: 生体活性ガラスの骨組織に及ぼす影響に関する実験的研究(第1報), *岩医大歯誌*, 11: 320~325, 1986.
- 13) 工藤啓吾, 藤岡幸雄, 宮沢政義ほか: 生体活性ガラスを用いた人工歯根の臨床応用—第1報 埋植成績について—, *日口外誌*, 32: 2083~2089, 1986.
- 14) Ito, G., Matsuda, T., Inoue, N. et al: A histological comparison of the tissue interface of bioglass and silica glass, *J Biomed Mater Res*, 21: 485~497, 1987.
- 15) Matsuda, T., Yamauchi, K. and Ito, G.: The influence of bioglass on the growth of fibroblasts, *J Biomed Mater Res*, 21: 499~507, 1987.
- 16) 伊藤創造: 生体活性ガラスのリンパ球免疫機能に対する影響, *補綴誌*, 32: 151~158, 1988.
- 17) 石橋寛二, 藤野雅美: 生体活性ガラスを用いた人工歯根, *材料技術*, 7: 132~135, 1989.
- 18) Itoh, S., Ishibashi, K., Inada, K. et al: The effect of bioactive glass on the function of lymphocytes, edited by Yamamuro, T., Hench, L.L. and Wilson, J., *Handbook of bioactive ceramics volume 1*, 227~233, CRC Press, Boca Raton, 1990.
- 19) 青木美佳子, 塩山 司, 山森徹雄ほか: 生体活性ガラスを用いたインプラントの力学的検討—二次元有限要素法による応力解析—第1報 天然歯との比較, *補綴誌*, 35: 772~778, 1991.
- 20) 高橋庄二郎: 抜歯創治療経過のレントゲンのらびに病理組織的所見に関する実験的研究(その一), *歯科学報*, 52: 212~216, 1952.
- 21) 高橋庄二郎: 抜歯創治療経過のレントゲンのらびに病理組織的所見に関する実験的研究(その二), *歯科学報*, 52: 265~271, 1952.
- 22) Robinson, R.: The possible significance of hexosephos-

- phoric esters in ossification, *Biochem J*, 17 : 286~293, 1923.
- 23) Neuman, W.F. and Neuman, M.W. : The chemical dynamics of bone mineral, 23~31, Chicago University Press, Chicago, 1958.
- 24) Anderson, H.C. : Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage, *J Cell Biol*, 41 : 59~72, 1969.
- 25) Matsuzawa, T. and Anderson, H.C. : Phosphatases of epiphyseal cartilage studied by electron microscopic cytochemical methods, *J Histochem Cytochem*, 19 : 801~808, 1971.
- 26) Peress, N.S., Anderson, H.C. and Sajdera, S.W. : The lipids of matrix vesicles from bovine fetal epiphyseal cartilage, *Calc Tiss Res*, 14 : 275~281, 1974.