

〔原著〕 松本歯学 12: 52~59, 1986

key words: ハイドロキシアパタイト - セラミックス - インプラント

顆粒状 Hydroxyapatite Ceramics 填塞 による組織反応

青 久昭, 大口弘和, 佐原紀行, 鈴木和夫

松本歯科大学 口腔解剖学教室第2講座 (主任 鈴木和夫 教授)

Histologic Responses to Hydroxyapatite Ceramics Particles

HISAAKI AO, HIROKAZU OGUCHI,
NORIYUKI SAHARA and KAZUO SUZUKI

*Department of Oral Histology, Matsumoto Dental College
(Chief : Prof. K. Suzuki)*

Summary

The purpose of the present study was to investigate the histologic responses to hydroxyapatite (HAP) ceramics particles.

After the first and second premolar teeth in the mandibular ridges of adult dogs were surgically removed, HAP ceramics particles were placed in the fresh extraction sockets produced by extracting the first premolar teeth. The fresh extraction sockets of the second premolar teeth served as controls without implantation.

Animals were sacrificed three months after implantation. The tissues on implant sites were examined by radiography and light microscopy.

The results were summarized as follows.

- 1) Three months after implantation, a large number of HAP particles were surrounded by new bone. However, some HAP particles located in the central area of the implant sites were surrounded by connective tissues.
- 2) No detectable inflammation was observed in the tissues surrounding the implant, but osteoclastic cells and macrophages were occasionally found on the HAP ceramics surface.
- 3) Bone repairs on the implant sites were more delayed than those of controls.

These results suggest that HAP ceramics particles have excellent tissue biocompatibility. However, further investigation is needed for clinical use.

緒 言

合成 Hydroxyapatite (以後 HAP と略す) の焼結体 (Ceramics) は骨あるいは歯の無機質の主成分と類似していることから、従来の生体材料に比べすぐれた生体親和性を持っている^{1,2)}。HAP ceramics の骨組織に対する親和性は特にすぐれ、線維性被膜形成は認められず HAP ceramics と新生骨は直接接し、強固な結合をすることが報告されている^{3,4)}。

生体材料としての HAP ceramics は歯科領域においてもすでに人工歯根として広く臨床に応用され、良好な成績を得ている⁵⁾。さらに、最近になり人工歯根とは別に、顆粒状の HAP ceramics の臨床への応用も検討されるようになった。その応用の多くは、炎症や腫瘍などによる骨欠損部に HAP 顆粒を填塞し、骨欠損部の修復をしようとするもの、萎縮した歯槽堤の上に HAP 顆粒を乗せ、歯槽堤を造成しようとするものなどである⁶⁻¹³⁾。

HAP ceramics 顆粒の主体親和性に関しては、*in vitro* 実験、動物実験など多くなされており、HAP 顆粒が周囲骨組織に対してすぐれた親和性を持っているだけではなく、骨誘導能を持つ可能性も示唆されている^{6,7)}。しかし、生体内に填塞する HAP 顆粒の形状、大きさ、焼結温度などによる組織反応の相違^{14,15)}、さらには填塞する部位による反応の相違などについては不明な点が多い。

そこで本実験では、顆粒状 HAP ceramics の臨床応用の可能性を検討する目的で、抜歯直後の抜歯窩に HAP 顆粒を填塞し、HAP 顆粒と周囲組織、特に骨組織に注目し、その反応を組織学的に検索したので報告する。

材料および方法

材料：実験には雑成犬 (15-20 kg) を用いた。動物はペントバルビタール (ネプタール, 0.5 ml/kg) による全身麻酔下で、下顎小白歯 (P_1 , P_2) を抜歯し、 P_1 抜歯窩に顆粒状 HAP ceramics (アパセラムタイプ G, 旭光学社製, 粒径 600-1.000 μm) を充填した。なお P_2 抜歯窩は対照としてそのままの状態に放置した。術後 3 ヶ月経過した動物を屠殺し、下顎骨を摘出、軟 X 線撮影後中性ホルマリン液中で 1 週間以上固定した。固定後、下

顎骨を薄切器 (Bronwill) で約 2.0 mm の厚さで連続的に水平断した。

観察方法：本実験での観察にはすべてリゴラック樹脂に包埋した未脱灰標本を用いた。

樹脂包埋試料は始めに表面を研磨し、カーボン蒸着後、走査電顕を用い組成像を観察した。観察後、試料を表面から 0.5-0.8 mm の厚さで切断し、両面研磨し 30-40 μm の厚さの未脱灰研磨標本を作製した。標本はトルイジンブルー染色を施し、光学顕微鏡で観察、さらに軟 X 線発生装置 (ソフテックス CMR) で撮影し、露光フィルムをバルサムで封入し、光学顕微鏡で観察した。また一部は X 線マイクロアナライザーにて HAP 顆粒および周囲骨組織の分析を行った。

結 果

肉眼および X 線所見：術後 3 ヶ月の P_1 , P_2 抜歯部の歯肉は共に発赤などの炎症症状は認められなかった。

下顎骨を軟 X 線撮影し観察すると、 P_1 抜歯窩には多数の顆粒状の X 線不透過像が認められ、これらは明らかに填塞された顆粒状 HAP ceramics である (図 1)。顆粒状 HAP ceramics と周囲骨組織の境界は填塞直後に X 線で観察したものに比べ不鮮明であった。これは周囲骨組織と接している HAP 顆粒に何らかの変化があったことを示している。一方、対照として抜歯後そのまま放置した P_2 抜歯窩と思われる部位には X 線透過像は認められず、抜歯創がほとんど治癒していることが予想された。

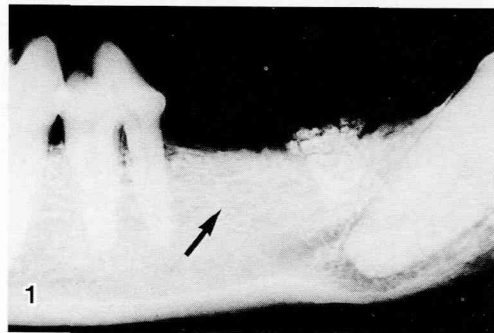


図 1：顆粒状 HAP ceramics 填塞後 3 ヶ月経過した下顎の軟 X 線像：対照の P_2 の抜歯部 (矢印)

P₁, P₂ の抜歯窩を含んだ部位で下顎骨を連続的に水平断した標本を観察すると、X 線で観察された P₁ 抜歯窩の顆粒状不透過像は HAP 顆粒であることが確認された (図 2 A)。

HAP 顆粒の粒径は填塞時とほぼ同じ大きさで、抜歯窩外周、周囲骨組織と接する部位の HAP

顆粒はほとんど骨組織によって埋め込まれていた。しかし抜歯窩中央部あるいは上部では明らかな骨組織は観察されず、結合組織が認められた (図 2 B)。

走査電子顕微鏡による観察：樹脂包埋した試料表面を研磨し、カーボン蒸着後顆粒状 HAP

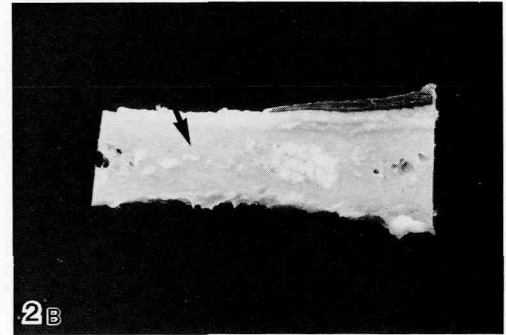
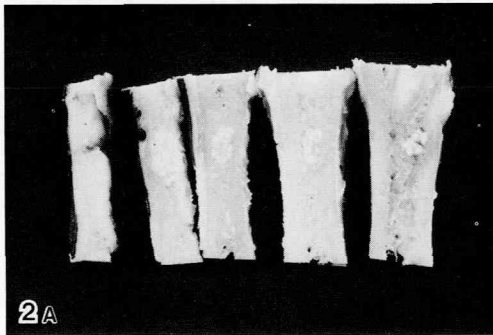


図 2：顆粒状 HAP ceramics 填塞後 3 ヶ月経過した下顎骨の水平断薄切標本：対照の P₂ の抜歯部 (矢印)

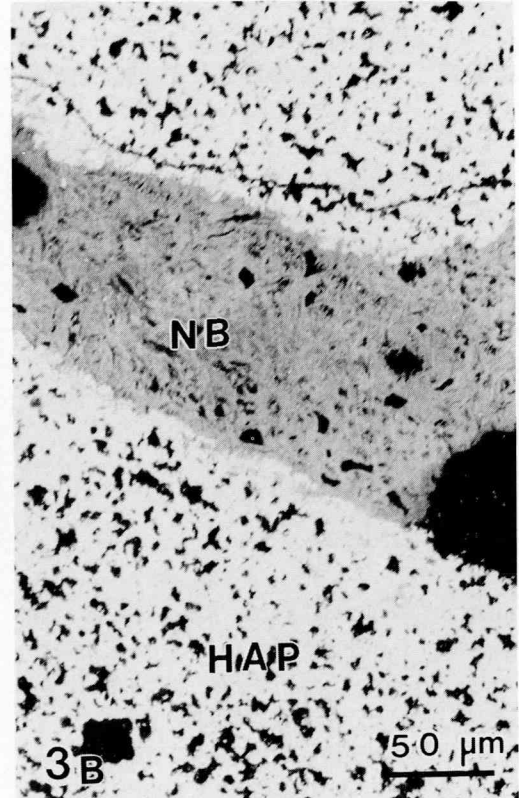
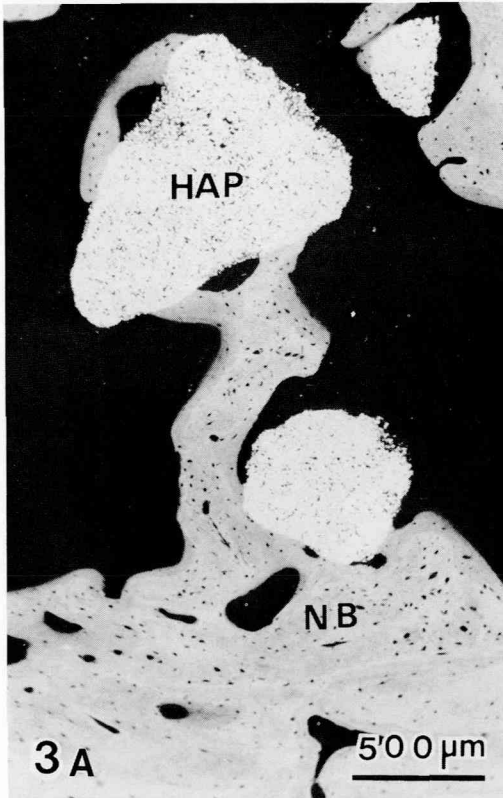


図 3：顆粒状 HAP ceramics 填塞部の組成像：新生骨 (NB)

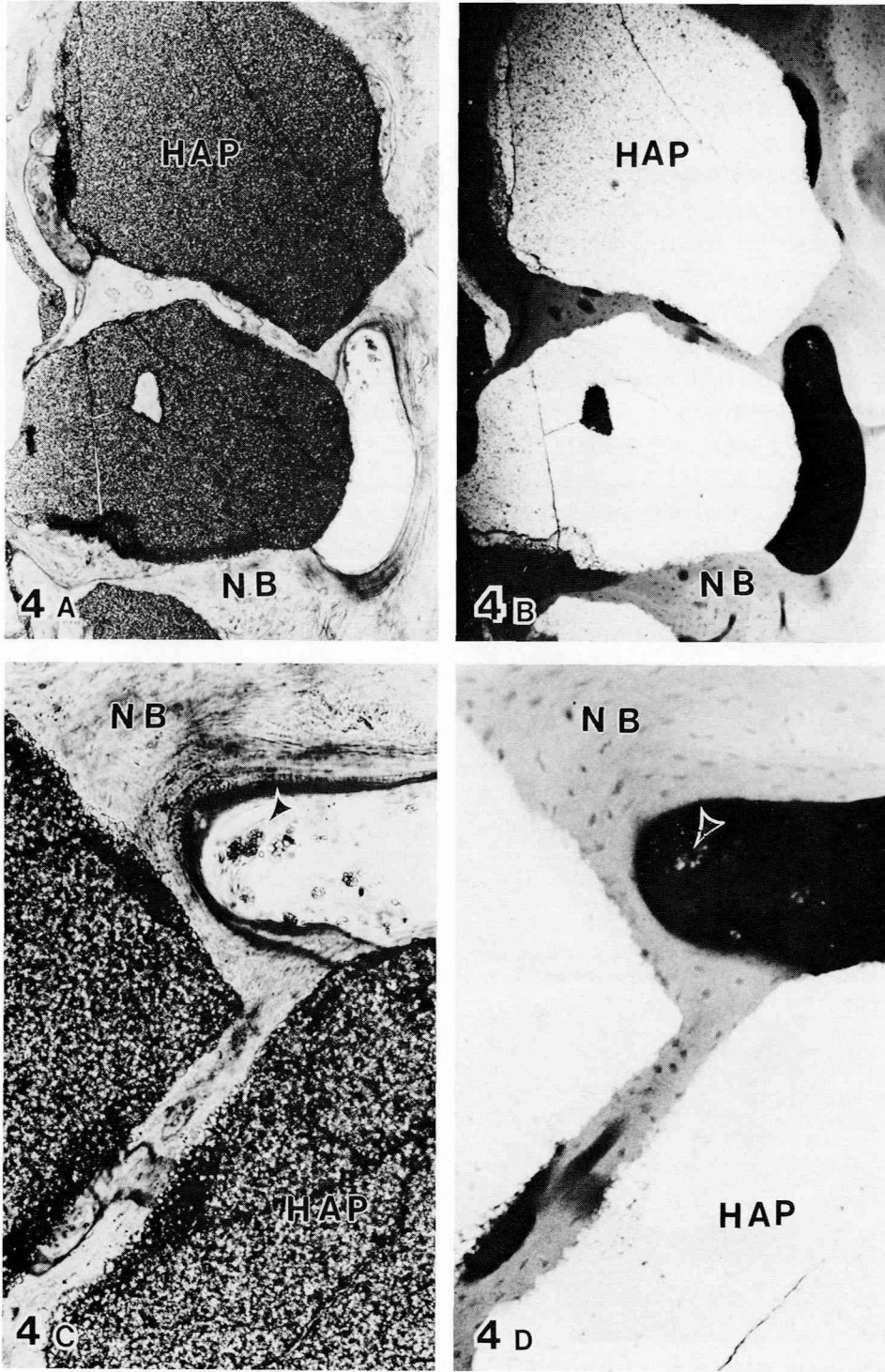


図4：顆粒状 HAP ceramics 填塞部 3 ヶ月経過した未脱灰研磨標本：トルイジンブルー染色の光顕像 (A, C) と Microradiograph (B, D). 新生骨 (NB) 胞食細胞 (矢印)
A, B) ×20, C, D) ×50.

ceramics と周囲骨組織の関係を組成像で観察した。ハバース層板を持つ既存骨より新生骨骨梁が HAP 顆粒に向かって伸び、新生骨骨梁の一部は HAP 顆粒表面に直接接していた(図 3 A)。HAP 顆粒と新生骨が接している部位を拡大してみると、両者の間には何も介在せず、直接的に接し、強固な結合をしていると考えられた(図 3 B)。一方、新生骨に接していない HAP 顆粒表面の一部には、HAP の密度がやや低下し、粗造になっている部位も観察された。本実験で用いた HAP 顆粒の表面は均一な組成像を呈することから、これら粗造になった部位は HAP ceramics が吸収されている像とも考えられた。

光学顕微鏡による観察：未脱灰研磨標本をトルイジンブルー染色して観察すると、抜歯窩壁の周囲骨組織に密接した HAP 顆粒は新生骨梁によって埋められているのが認められた。抜歯窩中央部の HAP 顆粒は線維性結合組織によって取り囲ま

れていたが、炎症性細胞の浸潤は認められず、顆粒状 HAP ceramics のすぐれた親和性を示していた。

新生骨梁に埋まった HAP 顆粒の部位を観察すると、顆粒は既存骨梁から伸びてきたと思われる新生骨梁が直接取り囲んでいた。顆粒間に新生骨梁が進入し、個々の顆粒が骨組織を介して連結している部位も観察された。同一標本を軟 X 線発生装置で撮影し、観察すると HAP 顆粒がハバース層板を持つ既存骨から伸びた新生骨梁により直接取り囲まれていることが明らかになった(図 4 A, B, C, D)。

走査電顕の組成像でも観察されたように、本実験では HAP ceramics の吸収像も認められた。トルイジンブルー染色の研磨標本を観察すると、新生骨梁に接していない HAP ceramics の表面の一部が泡沫状を呈し、トルイジンブルーに濃染されていた。このような部位の結合組織内には破骨

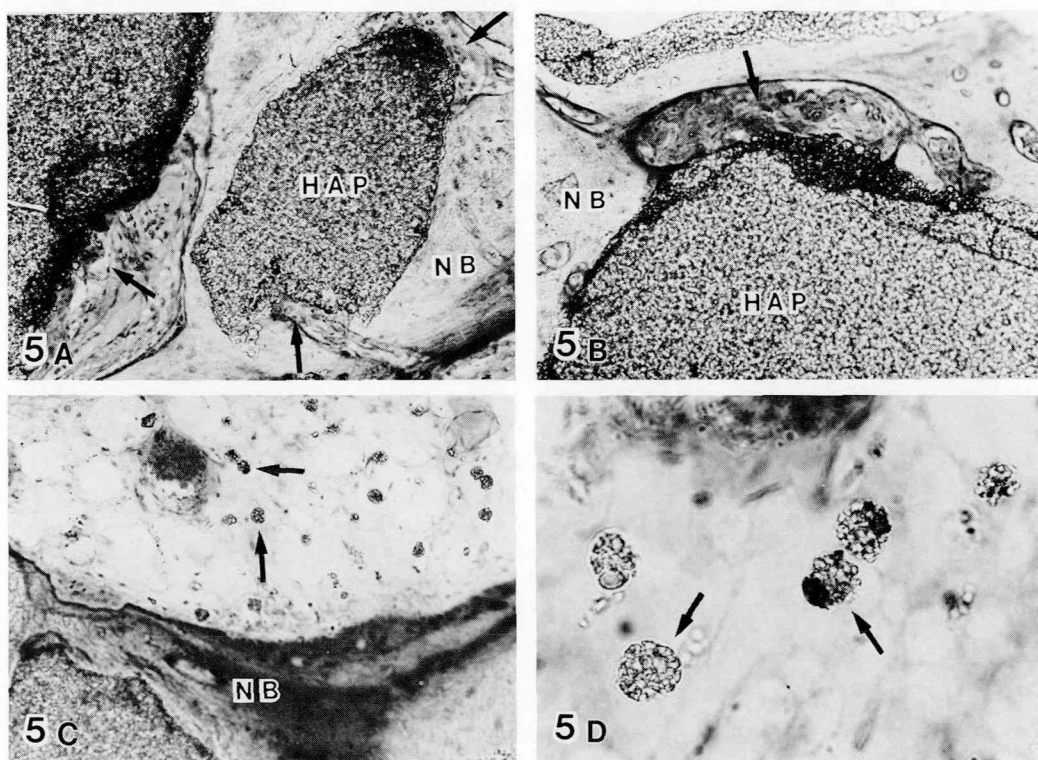


図 5：顆粒状 HAP ceramics の吸収像：A, B) HAP ceramics が新生骨 (NB) と接していない部位には多数の破骨細胞様細胞が観察される (矢印)。また、その部位の HAP ceramics 表面は泡沫状を呈していた。C, D) 骨髓腔の一部には HAP ceramics を貪食した細胞が認められる (矢印)。A) $\times 20$, B, C) $\times 50$, D) $\times 200$ 。

細胞様細胞も多数認められ、HAP ceramics 表面が何らかの形で吸収されていることが示唆された(図5 A, B)。さらに一部の骨髓腔内にはHAP 顆粒を含んでいると思われる胞食細胞も観察された(図5C, D)。

この細胞の細胞質内の物質はX線不透過性を示したことから、HAP 顆粒の素材であることが示唆された(図4 C, D)

考 察

最近になり歯科領域においてもHAP ceramics のすぐれた骨親和性に注目し、顆粒状のHAP ceramics を骨欠損部に填塞して骨欠損部の修復をしようとする試みがなされている。顆粒状のHAP ceramics の利点は、取り扱いが比較的容易で、多様な形態の骨欠損部にも均一な条件でHAP ceramics が填塞できることである⁶⁻⁹⁾。しかし、HAP ceramics を人工歯根として用いた場合に比べ、顆粒状のHAP ceramics の臨床成績はかならずしも良好なものではない。歯周領域では、Froum et al. (1982)¹⁶⁾がヒトに顆粒状HAP ceramics を填塞した症例の組織学的観察をし、HAP 顆粒は被膜のような線維性結合組織に取り囲まれていたと報告している。

そこで本実験では、顆粒状HAP ceramics の臨床応用の可能性について検討する目的で、抜歯直後の抜歯窩にHAP 顆粒を填塞し、術後3ヵ月経過したものにつき顆粒周囲の組織反応、特に骨組織に対する反応について組織学的に観察した。

本実験では、填塞されたHAP 顆粒の周囲には多数の新生骨梁、類骨様構造物が観察された。特に抜歯窩の外周部のHAP 顆粒は、既存骨組織から伸びてきたと思われる新生骨梁によって埋め込まれていた。新生骨とHAP 顆粒の接している部分では、結合組織などの介在は認められず、両者は直接的に接していた。本実験のこのような結果は従来のHAP ceramics に関する報告と同様に¹⁷⁻²⁰⁾、顆粒状HAP ceramics が骨組織に対しすぐれた親和性を持ち、さらになんらかの骨誘導能があることを示唆した。

一方、本実験ではHAP 顆粒が結合組織により取り囲まれている所見も観察された。このような所見は、抜歯窩中央部、さらには上部で観察された。これらの部位の結合組織内には類骨様構造物

が認められたことから、HAP 顆粒は経時的に新生骨梁により埋め込まれる可能性も考えられた。Chang et al(1983)¹⁷⁾は顆粒状HAP ceramics を犬の下顎骨に填塞し、術後12ヵ月までの組織反応を経時的に観察し、術後3-6ヵ月では、本実験の所見と一致し、既存骨に接する顆粒は新生骨梁によって埋められているが、それ以外の顆粒はまだ結合組織に包まれていると報告している。さらに彼らは、時間経過に共ないHAP 顆粒は次第に新生骨梁に埋められ、術後9ヵ月にはほとんどのHAP 顆粒が新生骨内に埋め込まれると報告している。

対照として抜歯したまま放置しておいたP₂ 抜歯窩は術後3ヵ月では骨修復がほぼ完成していたが、HAP 顆粒を填塞した実験群はすべて骨修復が遅れていた。同様の結果は、原ら(1983)¹⁸⁾や林ら(1983)¹⁹⁾などが報告している。顆粒状HAP ceramics 臨床応用は自然治癒能力が低下している欠損部への填塞が多いことから、今回のように抜歯窩、あるいは実験的に形成した骨欠損部に填塞する実験方法は再検討する必要がある。

今回の実験では、HAP 顆粒が新生骨梁と接していない部分の一部の結合組織に多数の破骨細胞様細胞が認められ、HAP 顆粒表面が泡沫状を呈していた。さらに一部の骨髓腔には、明らかにHAP ceramics を含んだ胞食細胞が観察された。以上の所見より、今回用いた顆粒状HAP ceramics が少なからず吸収されることが明らかになった。このような吸収像は結合組織により取り囲まれたHAP 顆粒には認められなかったこと、吸収像が観察されたHAP 顆粒でも他の部位では新生骨梁によって埋められていたことからみると、HAP 顆粒の為害作用とは考えにくい。このような現象はむしろHAP ceramics 自身の性質、たとえば焼結温度、密度、粒径、表面形態などが影響しているものと予想される。また、填塞されたHAP 顆粒に対する荷圧、動揺なども検討しなければならない。

以上の考察を総括すると、顆粒状HAP ceramics は骨親和性にすぐれ、骨誘導能を持つものと思われる。しかし、顆粒状HAP ceramics を臨床へ応用するためには、臨床応用に即した実験系、つまり自然治癒能力が低下した部位に顆粒を填塞し、機能下での填塞部の組織変化を長期間観

察するなどが必要であると思われる。

結 論

雑成犬下顎小臼歯 (P_1 , P_2) を抜歯し、抜歯直後に P_1 の抜歯窩に顆粒状 HAP ceramics を填塞、 P_2 の抜歯窩は対照としてそのまま放置し、術後3ヵ月のものにつき HAP 顆粒の周囲組織を光学顕微鏡、Microradiograph および X 線マイクロアナライザーにより観察し、次のような結果を得た。

1. 抜歯窩の外周部、既存骨に接する HAP 顆粒は、既存骨から伸びてきたと思われる新生骨梁によって埋め込まれていた。

2. 抜歯窩の中央部さらに上部の HAP 顆粒は結合組織により取り囲まれていた。これらの結合組織には類骨様構造物が多数観察された。

3. HAP 顆粒が新生骨梁に接していない部位の一部では、多数の破骨細胞様細胞が認められた。さらに隣接した骨髓腔内に HAP ceramics 素材を胞食する胞食細胞が観察された。

4. HAP 顆粒を填塞した実験群に比べ、対照群の方が骨修復が早かった。

以上の結果より、顆粒状 HAP ceramics は骨組織にすぐれた親和性を持ち、骨誘導能を持つ可能性が示唆された。しかし、臨床応用には臨床に即した実験系、機能下での長期観察などの必要があると思われた。

文 献

- 1) 青木秀希, 加藤一男, 小木曾誠, 田端恒雄(1977) アパタイトの歯科材料への応用に関する研究(第二報) —人工歯根への利用—歯理工誌, 18: 86—89.
- 2) 青木秀希, 加藤一男, 小木曾誠, 田端恒雄(1977) 新しい歯科インプラント材料としてのアパタイト焼結体。歯界展望, 49: 567—575.
- 3) 小木曾誠(1978) Apatite 焼結体埋入による顎骨組織の経時的推移変化。口病誌, 45: 170—221.
- 4) 小木曾誠(1983) アパタイト表面における骨組織形成ならびにその石灰化について。口病誌, 50: 1—22.
- 5) 小木曾誠, 石田光輔, 田端恒雄(1983) ハイドロキシアパイト・セラミックインプラントの基礎と臨床, セラミックインプラントの実際, 47—62。クインテッセンス出版, 東京。
- 6) 柳沢定勝, 吉峰一夫, 高田尚美, 小沢俊文, 柳沢いずみ, 若松佳子, 西連寺永康, 佐藤三樹雄, 竹内啓泰, 尾野幹也(1984) 合成ヒドロキシアパタイトによる歯槽堤造成法, 1. 基礎的背景(上)。日本歯科評論, 502: 99—109.
- 7) 柳沢定勝, 吉峰一夫, 高田尚美, 小沢俊文, 柳沢いずみ, 若松佳子, 西連寺永康, 佐藤三樹雄, 竹内啓泰, 尾野幹也(1984) 合成ヒドロキシアパタイトによる歯槽堤造成法, 1. 基礎的背景(下)。日本歯科評論, 503: 83—94.
- 8) 柳沢定勝, 吉峰一夫, 高田尚美, 小沢俊文, 柳沢いずみ, 若松佳子, 西連寺永康, 佐藤三樹雄, 竹内啓泰, 尾野幹也(1984) 合成ヒドロキシアパタイトによる歯槽堤造成法, 2. 臨床応用(上)。日本歯科評論, 504: 69—79.
- 9) 柳沢定勝, 吉峰一夫, 高田尚美, 小沢俊文, 柳沢いずみ, 若松佳子, 西連寺永康, 佐藤三樹雄, 竹内啓泰, 尾野幹也(1984) 合成ヒドロキシアパタイトによる歯槽堤造成法, 2. 臨床応用(下)。日本歯科評論, 505: 74—87.
- 10) Rabalis, M. L. Jr, Yukna, R. A. and Mayer, E. T. (1981) Evaluation of Durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects, 1. Initial six-month results. J. Periodontol. 52: 680—689.
- 11) Kent, J. N., Zide, F. M., Jarcho, M., Quinn, H. J., Finger, M. I. and Rothsten, S. S. (1982) Correction of alveolar ridge deficiencies with nonresorbable hydroxylapatite. JADA. 105: 993—1001.
- 12) 可部廣幸, 真中信之, 藤井俊治, 末石玄一, 扇内秀樹, 河西一秀(1985) 合成ヒドロキシアパタイトの顎嚢胞への応用。Dental Implant, 10: 2—11.
- 13) Barsan, R. E. and Kent, J. N. (1985) Hydroxylapatite reconstruction of alveolar ridge deficiency with an open mucosal flap technique. Oral Surg. 59: 113—119.
- 14) Winter, M., Griss, P., de Groot, K., Takagi, H., Heimke, G., Dijk, H. J. A. V., Sawai, K. (1981) Comparative histo-compatibility testing of seven calcium phosphate ceramics. Biomaterials, 2: 159—161.
- 15) Misiek, D. J., Kent, J. N. and Carr, R. F. (1984) Soft tissue responses to hydroxyapatite particles of different shapes. J. Oral Surg. 42: 150—160.
- 16) Froum, S. J., Kushner, L., Scopp, I. W. and Stahl, S. S. (1982) Human clinical and histologic responses to Durapatite implants in intraosseous lesions, case reports. J. Periodontol, 53: 719—725.
- 17) Chang, C. S., Matukas, V. J. and Lemons, J. E. (1983) Histologic study of hydroxylapatite as an implant material for mandibular augmenta-

- tion. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 41: 729—737.
- 18) 原 宜興, 古川猛士, 岸 哲也, 鄭有二, 赤峰昭文, 青野正男(1983)リン酸カルシウム系セラミックの歯周治療への応用, 1. Hydroxyapatite についての基礎実験. *日歯周誌*, 25: 806—816.
- 19) 林 成忠, 木村喜保, 吳啓燮, 米良豊常, 西原達次, 野口俊英, 木下四郎(1983)サルの歯槽骨欠損部における Hydroxyapatite 移植の臨床的および組織学的研究. *日歯周誌*, 25: 919—935.
- 20) 渡辺英弥, 青木宏道, 村上京子, 有泉祐吾, 中川寛一, 桜井絵理子, 宇井洋夫, 浅井康宏(1984)リン酸カルシウム系セラミックの歯内療法領域への応用に関する基礎的検討(第1報)特にハイドロキシアパタイト系材品 Periograf™ について. *歯科学報*, 84: 1175—1183.