

微小電流刺激に関する実験的研究 —歯科インプラント法への応用—

守屋光孝

岩手医科大学歯学部歯科補綴学第一講座

(主任: 田中久敏教授)

[受付: 1989年10月16日]

抄録: インプラント埋植後のインプラント周囲の骨形成を促進する目的で歯科インプラント法に微小電流刺激を応用した。実験には成熟したビーグル犬6頭を用いた。

微小電流刺激装置を口腔内の狭小な位置に装着するために、小型の dual field effect transistor を用いて装置の小型化を行った。電極はインプラントと一体化した構造のものをインプラント体として試作した。これらの装置を用いて電極を兼ね備えたインプラント体を下顎無歯部顎堤に埋植し、同時に電圧1.55V で10 μ A の電流を14日間および28日間連続して通電し、インプラント体周囲の骨形成への有効性を病理組織学的に検索した。また、微小電流刺激を中止した後の骨組織の変化を検索するために実験開始後28日目に通電を中止し、その後の骨動態の検索を行った。その結果、今回試作した装置を用いてインプラント体周囲組織に微小電流刺激を与えることにより骨形成が促進され、その有効性を認めた。

Key words : direct current, electrode, dental implant, bone formation.

緒 言

現在、歯科インプラント法の一つとしてアパタイト、チタン、酸化アルミニウムなどの各種材料を用いた骨内インプラント法の基礎的研究および臨床応用がなされている^{1~11)}。これら骨内インプラントの予後を良好なものとするためには、インプラント埋植後早期にインプラント周囲の骨による初期固定が必要とされている。また、最終的にインプラントが口腔内で十分な機能をはたすためには、インプラントに加わる機能的負荷を支持するだけの骨量がインプラント周囲に存在しなければならない^{10,11)}。しかし現在までにインプラント周囲の骨を積極的に緻密化する試みは少ない。

整形外科領域で保田(1955)は¹²⁾、家兎の大

腿骨に3週間持続的に微小電流刺激を与えることにより陰極周囲に新生骨が添加形成されることを報告した。その後、骨に対し微小電流刺激を与えた基礎的研究がなされ^{13~26)}、微小電流刺激を与えた陰極周囲に顕著な骨形成が生じることが確認された。これらの研究結果をもとにして、整形外科領域では骨折治療に微小電流刺激が臨床応用されている^{27~29)}。

そこで著者は、インプラントの初期固定に必要な骨形成を促進するという観点から骨内インプラント法に微小電流刺激を応用することを考えた。微小電流刺激を与える電極は、インプラント適用部位に直接刺入されることが望しい¹⁶⁾。しかし、歯牙欠損部位にはインプラント材が埋植されるため同部に電極を直接刺入することができない。今回、微小電流刺激を歯科インプラ

An experimental study on effect of direct current stimulation to the intra-osseous implant
Mitsutaka MORIYA

(Department of Removable Prosthodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University,
Morioka 020)

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 14 : 249-264, 1989

ント法に応用するために電極とインプラントを一体化したインプラント体および小型の微小電流刺激装置を試作した。インプラント体を埋植後、微小電流刺激を与え、この刺激がインプラント体周囲の骨形成にどのような影響を及ぼすかについて、病理組織学的に検索を行ったのでその結果を報告する。

実験材料

1. 微小電流刺激装置およびインプラント体の試作

1) 微小電流刺激装置

微小電流刺激を狭小な口腔内に応用するために、微小電流刺激装置の小型化を行った。微小電流刺激装置はFriedenbergら¹⁵⁾の装置を参考にし、field effect transistor (以下FETと略す)を用いて定電流回路とした (Fig. 1)。

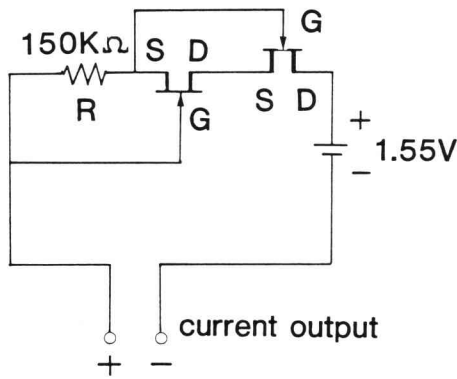


Fig.1 Circuit for constant direct current. This circuit maintains 10 μ A in the jaw bone. D : drain, G : gate, R : resistor, S : source

FETは、単独のFET2個をろう着して、小型のdual FETを作製した (Fig. 2)。電源には1.55Vのボタン状酸化銀電池を用い、150k Ω の抵抗を接続し、刺激電流は10 μ Aとした。これらの微小電流刺激装置は矯正用レジンをを用いて包埋し、絶縁を行った。装置の小型化により重量は約5gで、大きさは9 \times 13 \times 18mmであった。

2) インプラント体の作製

実験に用いたインプラント体の構造は、イン

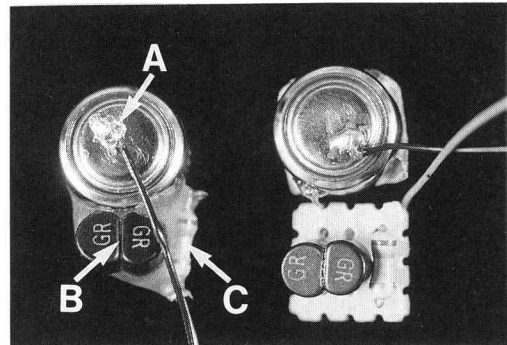


Fig.2 Power unit of direct current. Two field effect transistors were connected to use as a dual FET. A : battery, B : FET, C : resistor

プラントとしての機能のほかに周囲組織に微小電流刺激を与える電極の機能を兼ね備えたものを考案した。すなわち、電極には、直径1mm、長さ10mmの純チタン線 (純度99.8%)を用いた。また、インプラント体を顎骨内に埋植した際の刺激部位を骨髓内とするために、埋植窩底部に刺入される部位以外のチタン線はハイドロキシアパタイト (以下HAPと略す)にて包埋、絶縁した。すなわち、電極の両端各1mmを残した中央部8mmの周囲を厚さ1.75mm、相対密度99%以上のHAP (旭光学社製)で覆い全体を直径4.5mmの円柱状とした (Fig. 3)。この

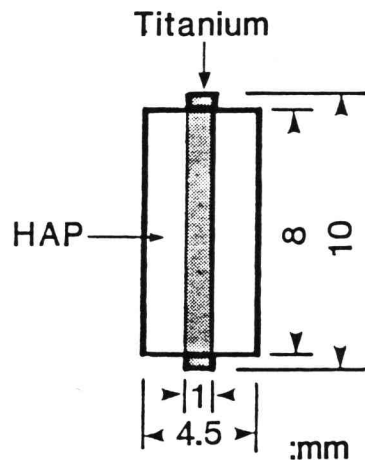


Fig.3 Size of electrode and hydroxyapatite (HAP) implant. The implant material is composed of a peripheral HAP layer and a central titanium.

HAPとチタンの合着には、小木曾ら⁶⁾により2-piece インプラントでチタン製内筒とHAP製外筒の合着に用いて骨に直接結合したと報告されたレジンセメントを使用した。なお、微小電流刺激装置と電極を兼ね備えたインプラント体との接続は、インプラント体上端から露出しているチタン線と微小電流刺激装置からの電線とをろう着し、陽極と陰極とした。また、このろう着部位は矯正用レジンにて絶縁した (Fig. 4)。

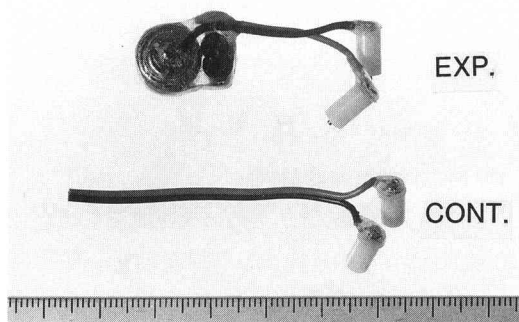


Fig.4 Complete view of direct current system.
Power unit was embedded using orthodontic resin.
EXP : equipment for experimental group.
CONT : equipment for cotrol group.

実験方法

1. 実験動物

実験には体長の変化がプラトーとなり安定した15カ月齢前後の雌ビーグル犬³⁰⁾6頭 (体重10 kg前後) の下顎骨を用いた。実験に先立ち、ビーグル犬の下顎両側第三前臼歯と第四前臼歯を抜歯し、無菌部顎堤の治療を持ち、抜歯後120日目にインプラント体埋植のための手術を行った。

2. インプラント体の埋植および微小電流刺激装置の装着

インプラント体の埋植および微小電流刺激装置の装着にあたっては、Pentobarbital 38 mg/kgの静脈内注射により全身麻酔を施した。手術は、最初に歯槽頂に長軸方向の切開線を加え、粘膜骨膜弁を剥離した。次いで、歯槽部の

近遠心的中央部に約15mmの間隔をおいて2カ所に直径4.5mmの埋植窩を小木曾らの方法⁹⁾に準じて形成した。すなわち、直径4mmの電気エンジン用トレパンで300rpm前後の回転数にて8mmの深さまで滅菌生理食塩水の注水下で概略窩を形成した。次に、手用エンドカッターにて概略窩の基底部を平坦にし、100μm間隔の手用リーマーを用いて直径4.45mmまで拡大した。最後に50μm間隔の手用リーマーを用いて直径4.5mmまで拡大した。各手用リーマーで拡大を行なう際には埋植窩を生理食塩水にて洗浄した。その後、インプラント体を近心および遠心の埋植窩に手圧にて挿入し、粘膜骨膜弁を縫合した (Fig.5)。微小電流刺激装置は剥離した粘膜骨膜弁下を通し第二大臼歯



Fig.5 Intra-oral finding of implanted electrodes in the jaw bone of dog.

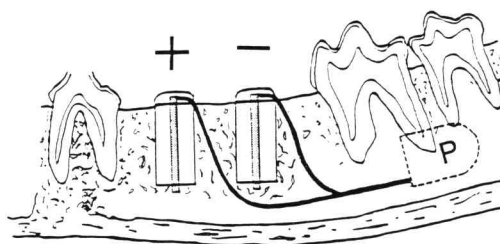


Fig.6 Schema of the implanted electrodes (+, -), and power unit (P).

部の頬側骨膜下に装着した (Fig. 6)。なお、実験群では近心側に埋植したインプラント体を陽極、遠心側に埋植したインプラント体を陰極とした。また、対照群は同様の手法で電極を兼ね備えたインプラント体を埋植し、微小電流刺激は行なわなかった。

3. 観察期間

インプラントの初期固定に対する微小電流刺激の効果を観察するために通電期間は、14日間と28日間とし、期間中は連続して通電した。さらに通電中止後の組織像を観察するために実験開始28日目に通電を中止し、その後の14日間はインプラント体周囲組織に対する微小電流刺激を与えなかった。すなわち、実験群は実験期間中連続して微小電流刺激を与えた14日間、28日間と28日目に通電を中止した42日間の3群とした。なお、通電を中止するために、微小電流刺激装置部で電線の切断および絶縁を行った。

また、各期間内における骨動態の変化を観察する目的で、塩酸テトラサイクリン（以下TCと略す）とカルセイン（以下CLと略す）を2回投与した。投与期間は、Table 1のとおりとした。TCは30mg/kg、1%水溶液とし、CLは8mg/kg、3%水溶液として筋肉内に注射した。

Table 1 Time table for bone labeling.

group A	4 8 14 days
	Im TC CL SC
group B	8 14 28 days
	Im TC CL SC
group C	14 28 42 days
	Im TC CL SC

Im: Implantation CL: Calcein
TC: Tetracycline SC: Sacrifice

4. 観察項目

1) 微小電流刺激装置

各実験動物を屠殺した後、微小電流刺激装置を摘出し、水中において漏電の有無を確認した。また、実験期間中に刺激電流値の低下の有無を確認するために実験終了時の出力電流値を実験開始時の電流値と比較した。

2) 組織学的観察

各動物をネプタールの過剰投与にて屠殺した後、ただちに下顎骨を摘出した。摘出した下顎骨は、骨の石灰化の違いにより異なる色調に染色され、同一標本で通常の光学顕微鏡および蛍光顕微鏡にて観察できる Villanueva bone stain 溶液中で固定とブロック染色を行った^{31,32)}。

次いで、樹脂に包埋、薄切し、下顎骨の近遠心的研磨標本とした。各標本は150 μ mまで研磨したのち、contact microradiograph（以下CMRと略す）を作製した。なお、CMRの作製には、軟X線装置を使用し、Spectroscopic plates (Kodak社製 type649-0)を用いて、加速電圧16kV、管電流3mA、露出時間27分の条件でCMRの撮影を行なった。その後さらに、各標本を60 μ mまで再研磨し、顕微鏡用標本とした。なお、各標本を比較する際には皮質骨からインプラント体までの距離をほぼ同一とするため、下顎骨の頬舌の中央部の標本を用いた。

実験結果

1. 微小電流刺激装置

微小電流刺激装置からの刺激電流値を測定した結果、9 μ Aから10 μ Aの間であり、期間中の刺激電流値は恒常性を保っていたことを認めた。また水中において微小電流刺激装置からの漏電がないことを確認した。

2. 組織学的所見

1) 埋植後14日 (group A)

(1) 対照群

Villanueva bone stainで茶色に染色された既存骨の周囲には濃い紫色に染色された細い梁状の線維性骨が不規則な方向に形成されていた (Fig. 7-a)。CMRにより観察すると、既存骨の周囲には、疎に配列した細い骨梁が観察された (Fig. 7-b)。Fig. 8-aには、インプラント体と骨との界面の拡大像を示す。インプラント体周囲には、Villanueva bone stainに濃い紫色に染色された細い梁状の線維性骨が散見された。さらに同部を蛍光顕微鏡にて観察すると、橙色の低石灰化骨および橙赤色の類骨がみられた (Fig. 8-b)。また、細い梁状の線維性骨はTCおよびCLによってほとんど標識されていなかった。このことから濃い紫色に染色された細い梁状の線維性骨は石灰化の低い骨であった。

(2) 実験群

陰極周囲: Villanueva bone stainで茶色に染色された既存骨の周囲には濃い紫色に染色さ

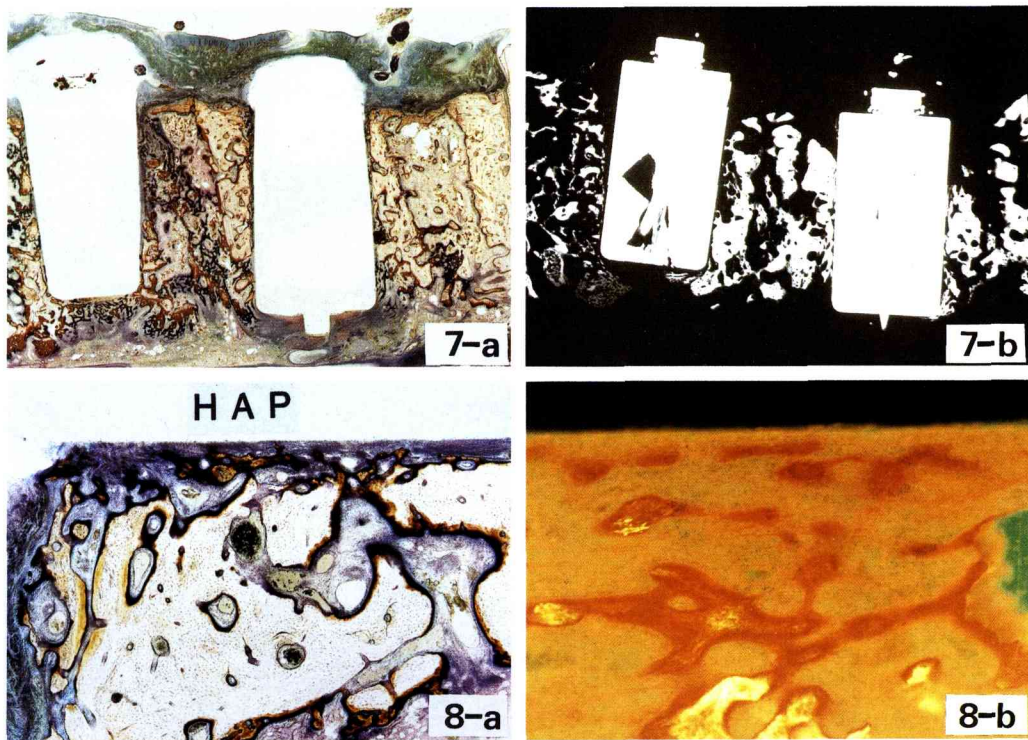


Fig. 7 Surrounding tissue of electrode (group A, control)
 a : Light microphotograph, Villanueva bone (V.B.) stain×3
 b : Contact microradiograph (CMR)×3

Fig. 8 Surrounding tissue of electrode (group A, control)
 a : Light microphotograph, V.B.stain×30 H A P : hydroxyapatite
 b : Fluorescent microphotograph, ×70

れた細い梁状の線維性骨が対照群と比較して多数みられた、また、梁状の線維性骨は対照群では不規則に形成されていたのに対し、陰極周囲では密にインプラント体に平行に形成されていた (Fig. 9-a)。同部をCMRにて観察すると細い梁状骨が既存骨とインプラント体の間に点在する所見が得られた (Fig. 9-b)。インプラント体と骨との界面は Villanueva bone stain で濃い紫色に染色された線維性骨と濃い茶色に染色された低石灰化骨が対照群と比較して多くみられた (Fig.10-a)。さらに、同部を蛍光顕微鏡にて観察すると、4日目に投与したTCにより広範囲に黄色に標識された梁状新生骨がみられ、その周囲には橙色の類骨が認められた (Fig.10-b)。梁状の線維性骨は、対照群で4日目に投与したTCに標識されていないのに対し、陰極周囲では、TCに標識されていた。

このことから陰極周囲の梁状の線維性骨は早期に石灰化が促進される傾向にあると思われた。

陽極周囲 : Villanueva bone stain で濃い紫色に染色された細い梁状の線維性骨が既存骨とインプラント体の間に不規則にみられた (Fig. 9-a)。CMR 像においては、ごく少数の梁状骨がみられたにすぎなかった (Fig. 9-b)。次に、インプラント体と骨との界面は濃い紫色の細い線維性骨と濃い茶色の低石灰化骨が対照群と同程度にみられた (Fig.11-a)。同部を蛍光顕微鏡にて観察すると4日目に投与したTCにより広範囲にわたって黄色に標識されていた。また、橙赤色の類骨は周囲組織側には幅広くみられたが、インプラント体表面側には見られなかった (Fig.11-b)。

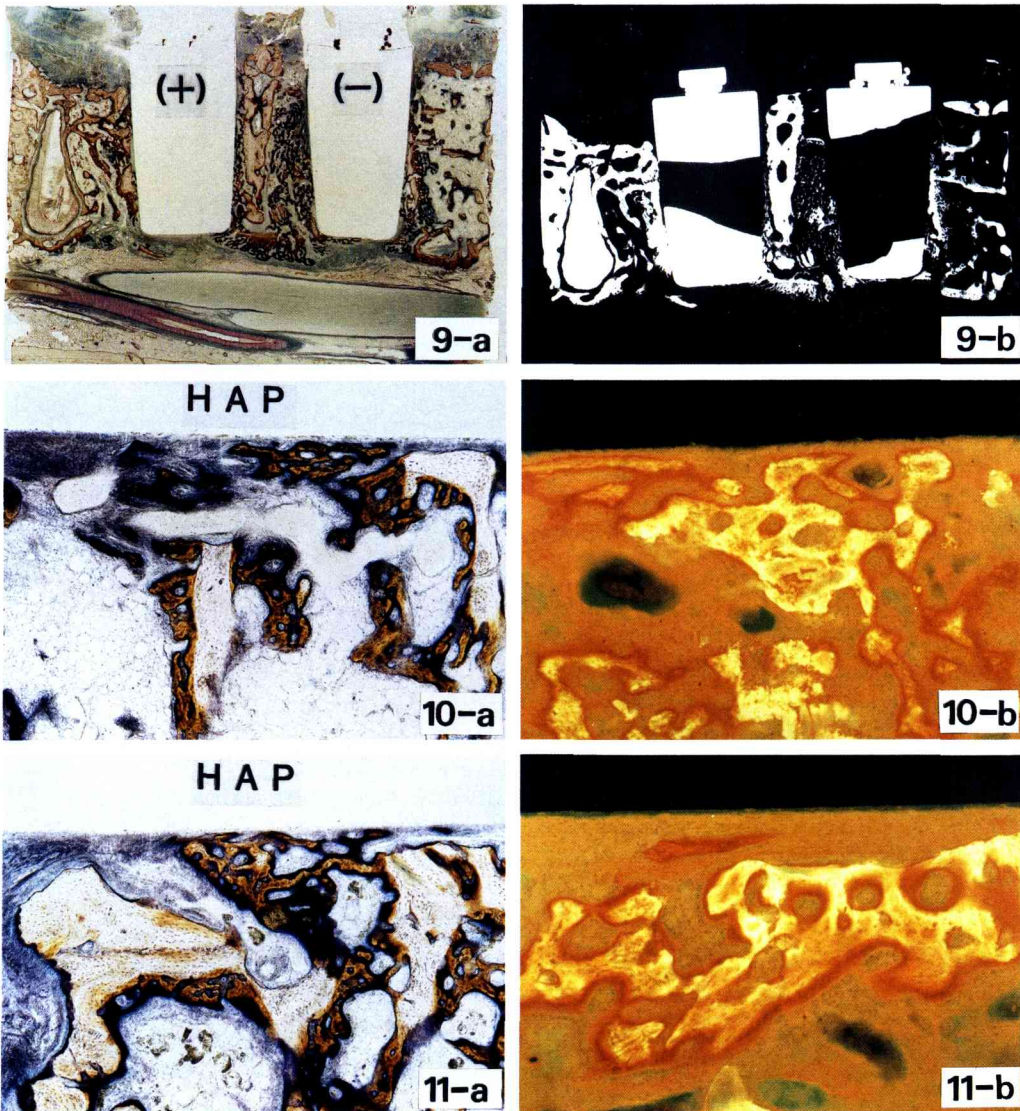


Fig. 9 Surrounding tissue of electrode (group A, experimental)

a : Light microphotograph, V.B.stain×3

b : CMR×3, left : anode, right : cathode

Fig.10 Surrounding tissue of cathode (group A, experimental)

a : Light microphotograph, V. B.stain×30

b : Fluorescent microphotograph, ×70

Fig.11 Surrounding tissue of anode (group A, experimental)

a : Light microphotograph, V.B.stain×30

b : Fluorescent microphotograph, ×70

2) 埋植後28日 (group B)

(1) 対照群

group A の対照群では茶色に染色された既存骨周囲に濃い紫色に染色された細い梁状の線

維性骨が散在してみられたのに対し, group B のインプラント体周囲の線維性骨は減少し, 茶色に染色された細い骨梁が多くみられた (Fig. 12-a)。CMR にて観察するとgroup A の対照

群に比べてインプラント体周囲にはより太い骨梁がみられた (Fig.12-b)。インプラント体と骨との界面にはインプラント体表面と平行に形成された細い骨梁がみられ、一部がインプラント体表面に接していた (Fig.13-a)。さらに、蛍光顕微鏡で観察すると、インプラント体表面と平行に形成されていた梁状の新生骨は8日目に投与した TC に帯状に標識され、その外側では14日目に投与した CL に線状に標識されていた。インプラント体表面には、TC に標識された新生骨および橙赤色の類骨で接していた (Fig.13-b)。

(2) 実験群

陰極周囲 : 対照群と比較してインプラント体表面では太い骨梁がインプラント体と平行に形成されていた (Fig.14-a)。CMR にて観察する

と電極を中心に密な骨形成が認められた (Fig.14-b)。インプラント体と平行に形成された骨周囲には、細い骨梁はほとんどみられず、骨層板を有する骨が認められた (Fig.15-a)。この骨層板を有する骨はインプラント体表面近くまで形成されていた。すなわち、対照群に比して陰極のインプラント体周囲では骨の成熟化が促進されていたと思われる。また、蛍光顕微鏡にて観察すると、緑色の石灰化骨からインプラント体表面方向に向かって新生骨が TC に標識され、さらにその周囲は CL に標識されていた (Fig.15-b)。このことより、石灰化は周囲骨からインプラント体表面側に進んでいると思われる。

陽極周囲 : 陰極と同様に、対照群と比較して太い骨梁がインプラント体周囲にみられた

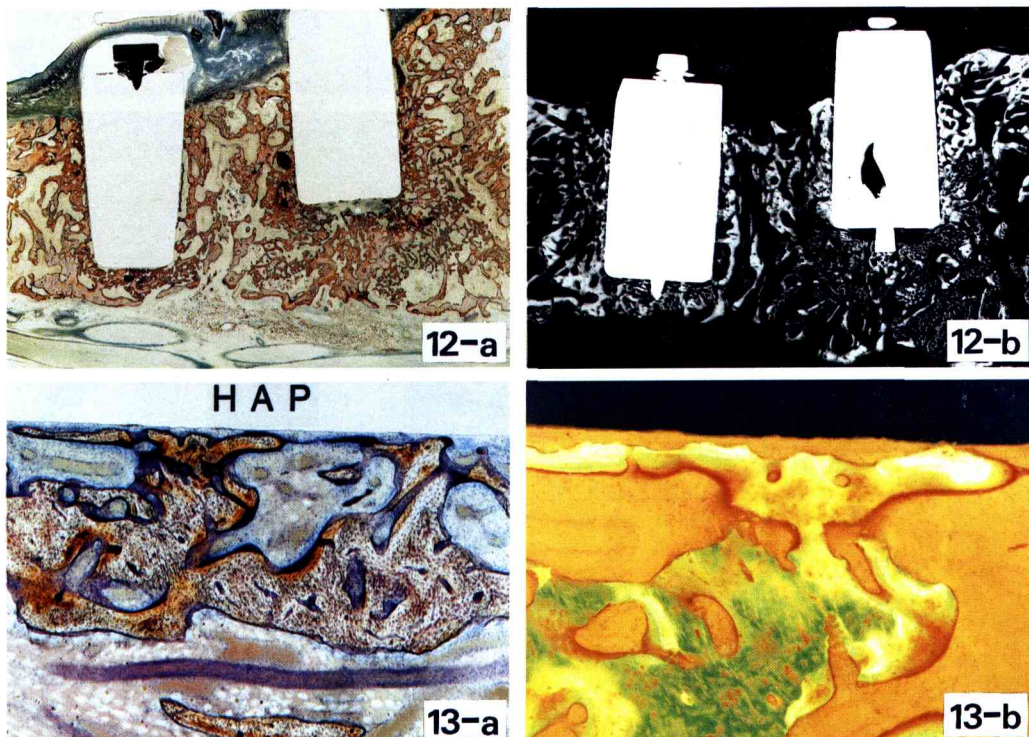


Fig.12 Surrounding tissue of electrode (group B, control)
 a : Light microphotograph, V.B. stain×3
 b : CMR×3

Fig.13 Surrounding tissue of electrode (group B, control)
 a : Light microphotograph, V.B.stain×30
 b : Fluorescent microphotograph,×70

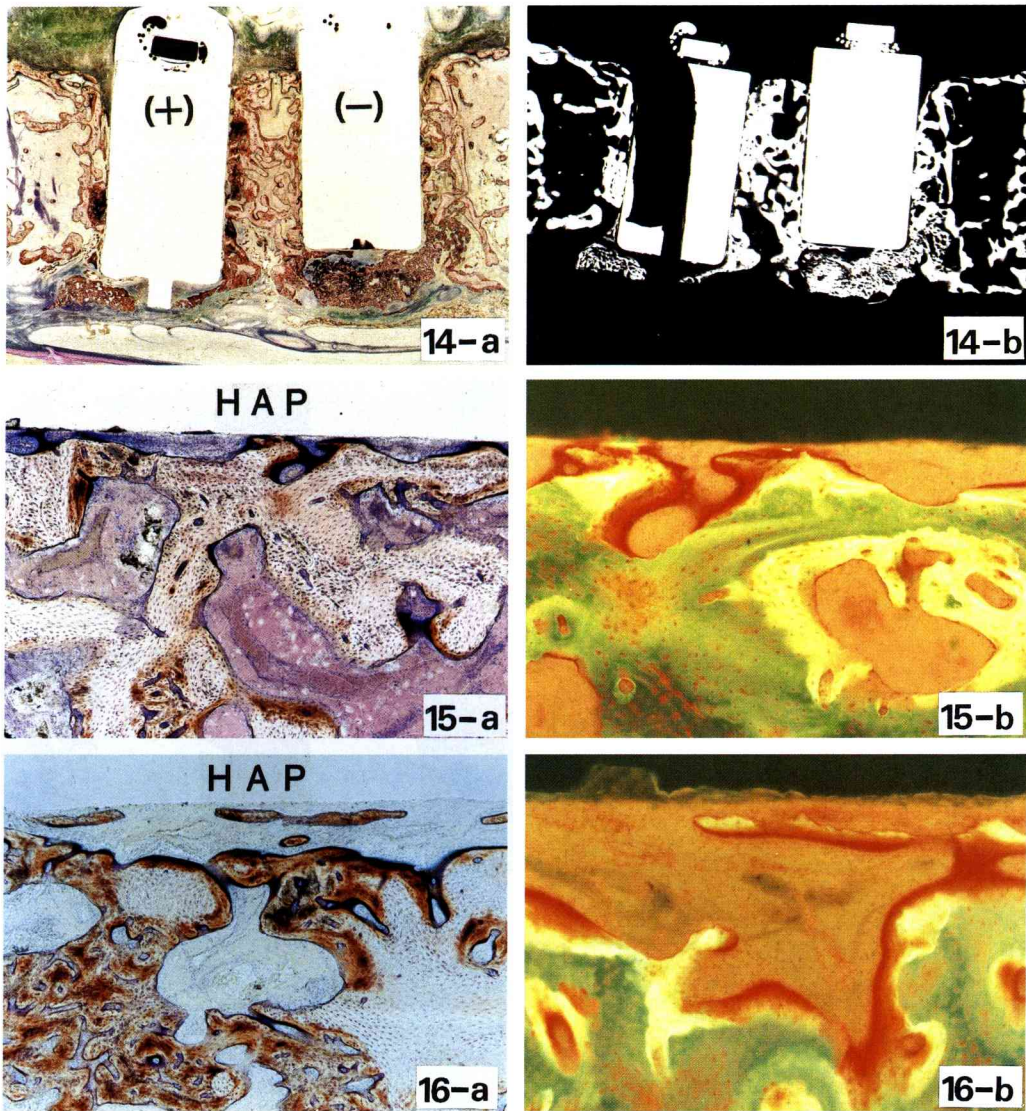


Fig.14 Surrounding tissue of electrode (group B, experimental)
 a : Light microphotograph, V.B. stain \times 3
 b : CMR \times 3, left : anode, right : cathode

Fig.15 Surrounding tissue of cathode (group B, experimental)
 a : Light microphotograph, V.B.stain \times 30
 b : Fluorescent microphotograph, \times 70

Fig.16 Surrounding tissue of anode (group B, experimental)
 a : Light microphotograph, V.B.stain \times 30
 b : Fluorescent microphotograph, \times 70

(Fig.14-a)。CMRにて観察すると対照群と比較して太い骨梁が観察されたが、その密度は陰極と比較してやや低かった (Fig.14-b)。インプラント体と骨との界面を拡大して観察すると

太い骨梁と細い骨梁が混在してみられ、骨層板は明瞭にはみられなかった。また、インプラント体表面には線維性結合組織が認められた (Fig.16-a)。このことから、対照群と比較して

骨形成がやや促進する傾向にあったが、陰極ほどには促進されなかったと思われる。蛍光顕微鏡にて観察すると、緑色の石灰化骨はインプラント体表面側に向かって8日目に投与したTCにより標識され、さらにその周囲は14日目に投与したCLに標識されていた。インプラント体表面に近い骨梁は黄緑色の新生骨の所見を呈し、周囲組織側にはのみ橙色の低石灰化骨および橙赤色の類骨が幅広く形成されていた (Fig.16-b)。このことからインプラント体表面近くでは周囲組織側からインプラント体表面に向かっての石灰化は促進されなかったと思われる。

3) 埋植後42日 (group C)

(1) 対照群

group Bの対照群と比較してインプラント体周囲の骨梁は太さを増していた (Fig.17-a)。

CMR像においてもgroup Bの対照群と比較して太さを増した骨梁が観察された (Fig.17-b)。インプラント体と骨との界面にはインプラント体表面と平行に形成された濃い茶色の低石灰化骨および茶色の石灰化骨が認められた (Fig.18-a)。蛍光顕微鏡にて観察するとインプラント体表面には、黄緑色の新生骨と橙色の低石灰化骨が混在して接していた。インプラント体表面よりやや離れた位置の骨は主にTCにより標識され、その周囲には橙色の低石灰化骨および橙赤色の類骨が認められた (Fig.18-b)。

(2) 実験群

陰極周囲：対照群と比較して幅の広い石灰化骨がインプラント体と平行に認められた。また、インプラント体周囲の骨はgroup Bの陰極周囲と比較して均一な太さを示した (Fig.19-a)。

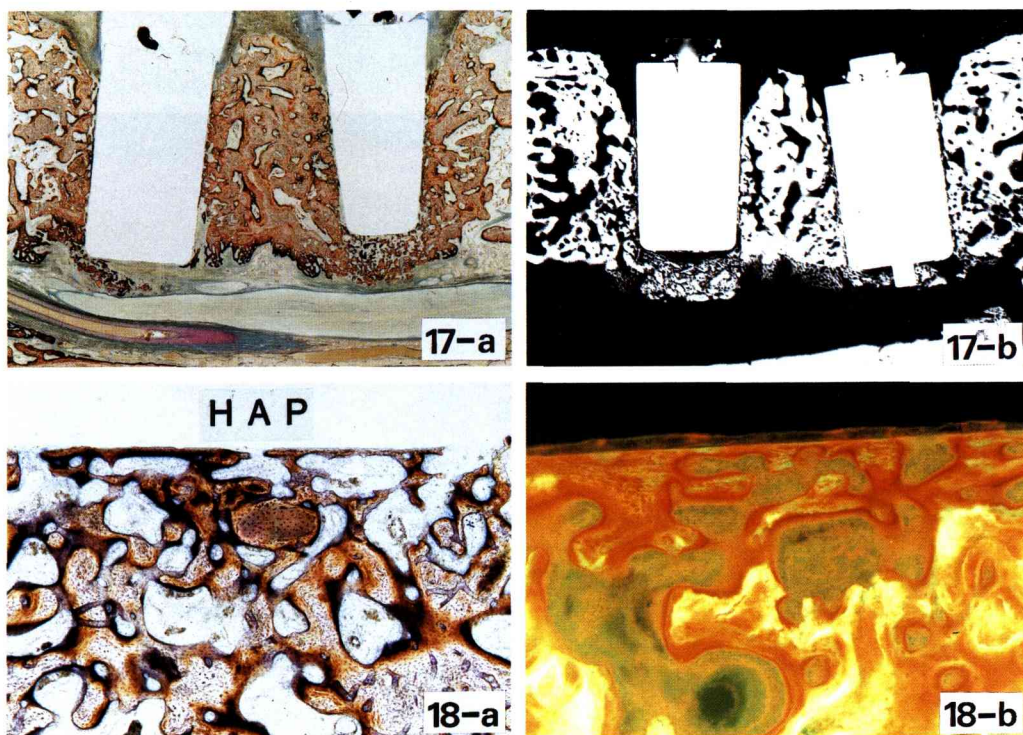


Fig.17 Surrounding tissue of electrode (group C, control)
 a : Light microphotograph, V.B. stain×3
 b : CMR×3

Fig.18 Surrounding tissue of electrode (group C, control)
 a : Light microphotograph, V.B.stain×30
 b : Fluorescent microphotograph,×70

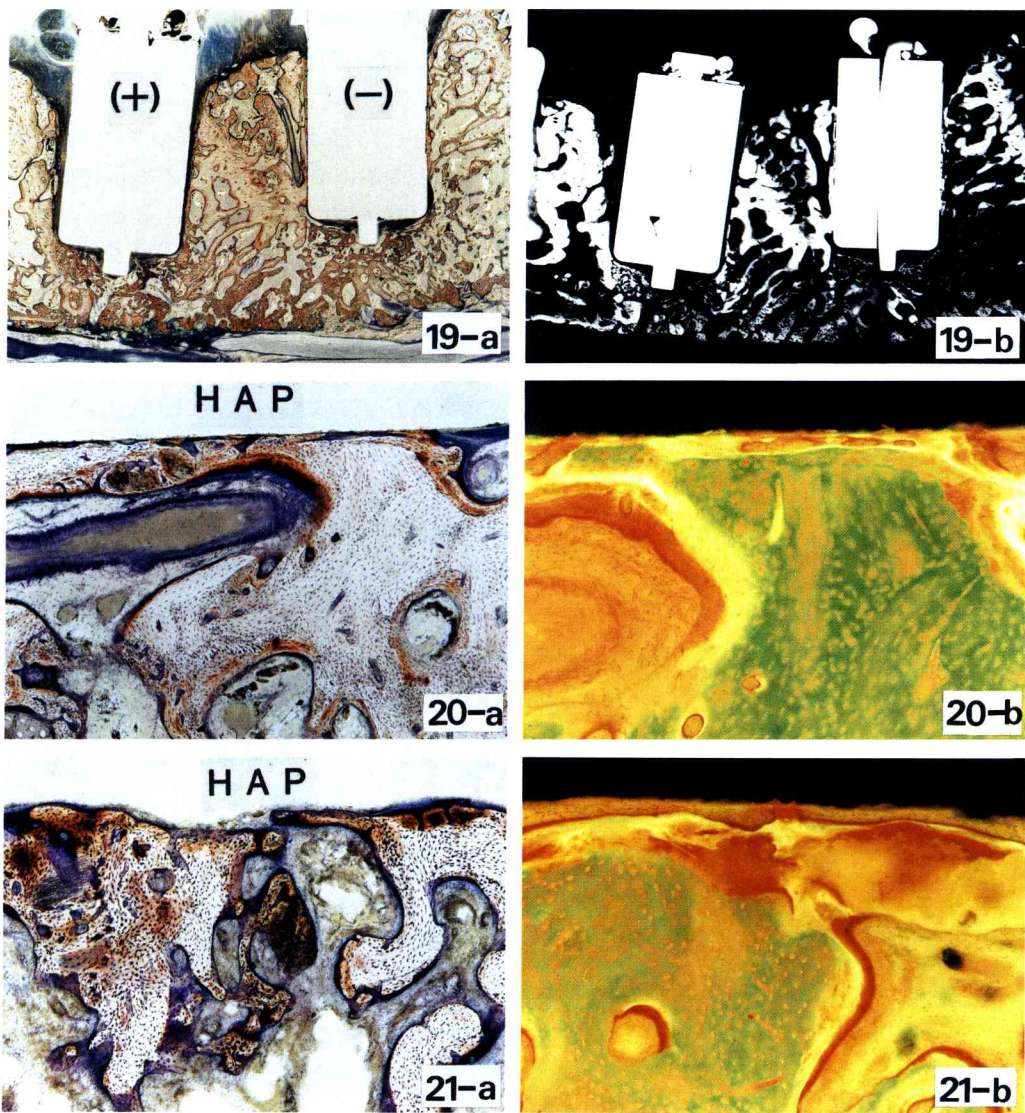


Fig.19 Surrounding tissue of electrode (group C, experimental)
 a : Light microphotograph, V.B.stain×3
 b : CMR×3, left : anode, right : cathode

Fig.20 Surrounding tissue of cathode (group C, experimental)
 a : Light microphotograph, V.B.stain×30
 b : Fluorescent microphotograph,×70

Fig.21 Surrounding tissue of anode (group C, experimental)
 a : Light microphotograph, V.B.stain×30
 b : Fluorescent microphotograph,×70

CMRにて観察すると同様の骨配列が観察された (Fig.19-b)。インプラント体と骨との界面には、濃い茶色の低石灰化骨はほとんど認めら

れず、薄い茶色の石灰化骨が主に認められ、骨層板を有していた (Fig.20-a)。蛍光顕微鏡で観察するとインプラント体表面のごく近くまで

広範囲に緑色の石灰化骨がみられ、その周囲はTCに標識されており、さらにその外周には橙色の低石灰化骨および橙赤色の類骨が形成されていた。インプラント体表面には、主にTCに標識された新生骨で接しており、一部は緑色の石灰化骨、橙色の低石灰化骨および橙赤色の類骨で接していた (Fig.20-b)。このように対照群に比して陰極のインプラント体周囲には広範囲に骨層板を有する石灰化した骨がみられた。また、28日 (group B) の陰極においてはインプラント体表面に一部の骨が接していたのに対し42日 (group C) では、広範囲に接している像を呈した。

陽極周囲：インプラント体周囲には全体的に太い骨梁がみられたが、インプラント体表面には線維性結合組織がみられ、インプラント体表面に接する骨はみられなかった (Fig.19-a)。CMRにおいても同様の所見がみられた (Fig.19-b)。研磨標本を拡大してみるとインプラント体周囲の骨には骨層板が認められた (Fig.21-a)。蛍光顕微鏡にて観察すると、インプラント体からやや離れた位置においてのみ周囲組織側からインプラント体表面側へ向かい骨および類骨が形成されていた (Fig.21-b)。

考 察

骨形成を促進する^{12,15-26)}と思われる微小電流刺激を歯科インプラント法に应用する実験を行った。電極を兼ね備えたインプラント体の試作および微小電流刺激装置の小型化を行ない、ビーグル犬の顎骨内にインプラント体を埋植し、微小電流刺激を与え、その刺激が骨形成に及ぼす影響について病理組織学的に検索した。

1. 実験装置について

骨折治療に用いられる微小電流刺激法の主なものには、直接組織に電荷を輸送する direct current 法、磁場を供給する inductive coupling 法、電場を供給する capacitive coupling 法の3種がある³³⁾。このなかで、inductive coupling 法および capacitive coupling 法は皮膚面に刺激装置を置くため、電極挿入のための手術を必

要とせず、簡便な方法である³³⁾。しかし、適用部位と刺激装置が離れているため、刺激部位の特定や、刺激の強さをコントロールするのが困難である³⁴⁾。一方、direct current 法による方法は電極挿入のために侵襲的な術式を必要とする³³⁾。しかし、本法は刺激する電流の強さを任意にコントロールすることができ、刺激する部位の設定をより確実にできるとされている³⁴⁾。そこで本実験では、インプラント体周囲の骨の形成を促進するために刺激装置として direct current 法を用いた。

微小電流刺激装置およびインプラント体は微小電流刺激を歯科インプラント法に应用するために、口腔内の条件を想定して作製した。すなわち、口腔の狭小な環境に微小電流刺激装置を装着するために、装置の小型化を行った。この小型化は電源部と FET の部位で行った。電源部ではボタン状の小さな電池を用いた。ボタン状電池の選択にあたっては、水銀電池および酸化銀電池を用いて、それぞれの微小電流刺激装置を37°Cの恒温槽内の生理食塩水中に浸漬し、6週間後の出力電流値の測定を行った。その結果、酸化銀電池を用いた際には実験期間中、恒常性のある10 μ A の電流値が保たれた。一方、水銀電池を用いた場合は2~3 μ Aまで低下していることが判明した。このことから、本実験装置には電圧の低下までの期間が長い酸化銀電池を使用した。また、微小電流刺激装置には至適電流値が抵抗の変化する骨内でも維持されるように、FETを用いた定電流回路とした¹⁵⁾。定電流回路においては2つのFETが一体となった dual FET が主に用いられているが、市販されている dual FET はやや大きめのサイズとなるため、本実験では単独のFET 2個をろう着して dual FET とし、市販のものよりも小型なものとした。装置の組み立てにあたり、回路用の基板を用いるとかなり大きくなるので基板は用いないで行った。その結果、装置は重量約5gで、9×13×18mm程度の大きさとなり、小型化がはかられた。

電極の材料に関しては、1976年に Zengo ら³⁵⁾

がイリジウム—白金線とステンレススチール線を用い、1.5V, 3~5 μ Aの電流で電極周囲の骨の形成量について比較した結果、陰極周囲ではイリジウム—白金線の方が骨の形成量が多く、陽極周囲ではどちらにも骨の形成はみられなかったと報告した。1977年にHarrisら³⁶⁾が成熟した兎において、電極にステンレススチール線とイリジウム(10%)—白金線(90%)を用い7.5V, 20 μ Aで刺激し、電極の違いによる骨形成への影響を比較した。その結果、ステンレススチール線のほうが効果的であったと報告した。また、1982年にはSpadaro³⁷⁾が0.5 μ Aと5 μ Aの微小電流刺激をステンレススチール、コバルトクロム、白金、金、チタン、銀の6種類を陰極に用い、多量の骨が形成されたのは0.5 μ Aでは白金、コバルトクロムと銀であり、5 μ Aではステンレススチールとチタンであったと報告した。また、Marinoら³⁸⁾は銀線、白金線、ステンレススチール線の3種類の電極を用いて10 μ A, 20 μ Aの微小電流刺激を短期間与えた結果、金属間による骨の形成量に差はみられなかったと報告した。このように、電極材料に関しても多くの報告があるが、生体内での金属の腐食はイオン化傾向とは一致しない³⁹⁾こともあり、統一した見解はみられず、同種金属を用いた場合でも刺激電流の相違によって骨形成量も異っている。そこで、本実験では、電極の材料として表面が不動態化されやすい³⁹⁾、チタン線を用いた。

微小電流刺激による組織反応は、Friendenbergら⁴⁰⁾により電極周囲に限られると報告された。このことから本実験では刺激部位を骨髓内とするため、皮質骨部は電極周囲を絶縁体であるHAPで覆い、骨髓内部で1mmの電極を露出する形態とした。すなわち、チタン線の外壁をHAPで覆うことにより、電極の絶縁体の役目と同時に歯科インプラントとしての役目も兼ね備えたものとした。このことにより、埋植部位に直接電極を刺入することが可能となり、インプラント体埋植と同時に電極が骨内に刺入されるため、電極挿入のための手術をさらに必要と

しない電極とした。

2. 実験方法および病理組織学的観察方法について

アパタイトインプラントとインプラント周囲骨との関係について、小木曾¹⁾は埋植15日目においてインプラント周囲骨に骨構造の変化が生じ、埋植30日目においては、両者の間隙は新生骨によって完全に満たされると述べている。また、石田³⁾は埋植したインプラントの押しだし試験および組織学的観察により、インプラントを維持する骨の強さはインプラント埋植後1カ月間に形成された新生骨の量に左右されると述べている。そこで、本実験においてはインプラントの初期固定に必要な骨の形成を促進するという観点から、微小電流刺激の通電期間を14日と28日とした。さらに、通電中止後の組織像を観察するために実験開始28日目に通電を中止し、その後の14日間はインプラント体周囲組織に対する微小電流刺激を与えなかった。すなわち、実験群は実験期間中連続して微小電流刺激を与えた14日間、28日間と28日目に通電を中止した42日間の3群とした。

保田¹²⁾は、刺激電流における電気エネルギーの大きさの違いにより、電極周囲には異なる組織反応がみられ、エネルギーが小さいときには骨性の反応を生じ、大きいときには線維性の反応がみられることを報告した。さらに、骨性の反応を生じさせるための微小電流刺激の至適電流は、1~20 μ Aと幅をもった値が報告されている^{15,17,21,23,26)}。そこで、本実験では歯科インプラント法への応用を考え、線維性の反応を引き起こさないように至適電流値のなかではやや低値である1.55V, 10 μ Aを用いて骨髓内部から微小電流刺激を行った。

本実験での標本の染色には同一標本で通常の光学顕微鏡および蛍光顕微鏡において観察ができるVillanueva bone stain^{31,32)}を用いた。この染色法は、類骨、低石灰化骨そして石灰化骨を異なる色調で染色するため、主として骨組織の観察を目的とする本実験の染色法として適していると思われた。各期間内における骨形成の方

向および石灰化の時期について検索するために、TCとCLによる2回標識を行った。また、無機塩の沈着状態を把握するために、CMRによる観察を行なった。

3. 病理組織学的観察結果について

対照群のインプラント体周囲は、group A (埋植後14日)では主に細い梁状の線維性骨がみられ、低石灰化骨および類骨様の石灰化度を示した。group B (埋植後28日)では細い骨梁へと変化し、group C (埋植後42日)では、group Bと比較してやや太さを増した骨梁がみられた。実験群では、group Aで主に細い梁状の線維性骨がみられ、陰極においてはその密度が対照群と比較して高かった。このように対照群では埋植後、28日から42日において骨の成熟化がみられた。また、蛍光所見によっても対照群では一部がテトラサイクリンに標識されていたのに対し、実験群は陰極・陽極とも広範囲にテトラサイクリンに標識されていた。これらのことから、微小電流刺激はインプラント体埋植後14日までのインプラント体周囲の骨の形成を促進する傾向にあると思われた。group Bの対照群ではインプラント体周囲に明確な骨層板を有する骨がみられなかったのに対し実験群では、陰極周辺に骨層板を有する骨がインプラント体表面の近くにまでみられた。したがって、group Bでは微小電流刺激によりインプラント体周囲の骨は早期に成熟する傾向にあると思われた。すなわちgroup Aでは微小電流刺激により主に骨形成の促進がなされ、group Bでは骨の成熟化がみられた。また、group Bの陰極周囲と比較して刺激を中止したgroup Cの陰極では、より広い範囲で骨層板を有する石灰化骨がみられ、骨の改造現象が大きな障害を受けずに行なわれていたと思われた。このように、微小電流刺激によって早期に骨形成が促進された場合、微小電流刺激を中止しても、急激な骨吸収などは起こらないことが確認された。しかし、松永ら²⁶⁾は家兎を用いて微小電流刺激を中止した後の電極周囲組織の変化を観察した結果、刺激中止後は、骨芽細胞は減少し電氣的

仮骨も消失したと報告している。このような松永ら²⁶⁾の報告と本研究結果における刺激中止後の電極周囲組織の変化の相違は、実験動物の違いと松永ら²⁶⁾は、刺激期間を2週間とし、通電を中止した42日後に観察したのに対し、本実験では刺激期間を4週間とし、その14日後に観察したために生じたと思われる。

4. 陰極周囲と陽極周囲に生じた組織学的所見の相違について

微小電流刺激は陰極のインプラント体表面の骨形成を促進していたのに対し、陽極ではインプラント体からやや離れた位置では骨形成を促進する傾向にあったものの、微小電流刺激を連続して与えた埋植後14日、28日の陽極のインプラント体表面に接するような骨形成はほとんどみられなかった。このように、微小電流刺激を与えている期間は陽極のインプラント体表面における骨形成は促進されなかった。この結果は、HAPなどの生体材料は用いずに微小電流刺激を与えた場合、陽極周囲には骨形成が促進されなかったという過去の文献の結果とも一致する¹⁶⁻¹⁷⁾。以上のように、インプラント体と骨を早期に接触させるには陰極が有効であり、陽極はやや離れた位置の骨膜下などの部位に置く方が良いと思われた。

また、微小電流刺激による周囲組織への影響はFriedenbergら¹⁰⁾により電極から2~3mmに局限されると報告されたが、本実験では陰極周辺全体に骨形成が促進されることが明らかとなった。この影響が及ぼされた範囲の違いは骨欠損の程度の違いによると考えられた。すなわち、Friedenbergら¹⁰⁾の研究では骨折によって生じた広い離開部に微小電流刺激を与えたのに対し、本実験ではインプラント体と挿入窩の間に生じたごく狭い欠損部位に微小電流刺激を応用したことによると考えられた。

以上のことから、歯科インプラントのように外力を骨に伝達する目的をもったインプラント体周囲に微小電流刺激を応用するにあたっては、刺激電流として陰極のみを用い、陽極は骨膜下に置くなどの処置が必要であると思われた。

この点は今後の研究課題とされるが、微小電流刺激を歯科インプラント法に応用することによりインプラント体周囲の骨形成を早期に促進させる可能性が示唆された。

結 論

電極とインプラントを一体化したインプラント体周囲に微小電流刺激をあたえ、周囲組織を病理組織学的に観察した結果、以下の結論を得た。

1. 微小電流刺激によりインプラント体周囲には対照群に比較して密に形成された新生骨梁がみられた。
2. 微小電流刺激によりインプラント体周囲の石灰化は促進されていた。
3. 陰極のインプラント体表面には新生骨梁が直接接し、同部の骨形成は、促進されていた。
4. 陽極のインプラント体表面には線維性結合組織の介在がみられた。
5. 微小電流刺激を中止した後においても陰極のインプラント体周囲には広い範囲で骨層板を有する石灰化骨がみられ、骨の改造現象が大き

な障害を受けずに行なわれていた。

6. 以上の結果から、微小電流刺激はインプラント体周囲の骨形成を促進し、歯科インプラント法に応用できる可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜りました恩師田中久敏教授に深甚なる謝意を表すとともに、本研究にたいして数多くのご助言を頂いた口腔病理学講座鈴木鍾美教授ならびに口腔解剖学第一講座野坂洋一郎教授に衷心より謝意を捧げます。また、本研究にあたってご教示を頂いた口腔病理学講座武田泰典講師ならびに歯科補綴学第一講座遠藤実講師、小林琢三講師に深く感謝の意を表します。さらに、種々のご協力を頂きました歯科補綴学第一講座教員各位と大学院生各位に心から感謝いたします。

本論文の要旨は、第82回日本補綴歯科学会学術大会（平成元年10月21日、神奈川）において発表した。

Abstract : This study was undertaken to investigate the effect of the direct current stimulation on surrounding tissue of the intra-osseous implant in dogs. The implant material was composed of a peripheral hydroxyapatite layer and a center metal core used as an electrode. After embedding the implant on the mandibular edentulous ridge of the dog, a constant direct current, 10 μ A and 1.55V, was applied for a successive 14 days and 28 days.

Histopathologic findings were as follows :

1. When the bone marrow was stimulated electrically with a constant direct current for 14 days or more, bone formation around the implant accelerated.
2. There was a different histological reaction surrounding tissues between the cathode and anode sites. Around the cathode, bone formation on the surface of the implant was remarkable, but around the anode, bone formation on the surface of the implant was poor.
3. The electrical stimulation, with a newly developed power unit and electrode, accelerated new bone formation in the surrounding tissue of the intra-osseous implant.

文 献

- 1) 小木曾誠 : 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, 1978.
- 2) Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B. and Branemark, 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) 石田光輔 : アパタイトセラミックス・インプラントの骨組織による保持に関する組織学的研究, 口病誌, 51 : 333-371, 1984.
- 4) Strub, J.R., Gysi, B. E. and Scharer, P. ed. : 津留宏道, 赤川安正共訳, 口腔インプラントの考察, クインテッセンス出版, 東京, 131-146 ページ, *Schwerpunkte in der oralen implantologie und reconstruction*; 2nd ed., Quintessenz Verlags-GmbH. Berlin, 1986.
- 5) 大橋康男 : バイオセラミックスの臨床応用への可能性, 人工歯根への応用, 青木秀希, 丹羽滋郎編著 : バイオセラミックスの開発と臨床, クインテッセンス出版, 東京, 111-114 ページ, 1977.
- 6) 小木曾誠, 相川修二, 田端恒雄, 一條尚, 日高恒雄 : Apatite 2-piece implant, 第 1 報歯根部移植試験, 補綴誌, 31 : 1522-1530, 1987.
- 7) 小木曾誠, 相川修二, 田端恒雄, 一條尚, 日高恒雄 : Apatite 2-piece implant, 第 2 報機能的負荷実験, 補綴誌, 32 : 320-331, 1988.
- 8) 小木曾誠, 金田浩之, 塩田 真, 三羽敏夫, 和久田尚, 相川修二, 魚島勝美, 益田高行, 金田亮二, 富塚健, 石原秀一郎, 田端恒雄, 杉本裕史, 神林秀昭, 松本重之, 上原和美, 日高恒雄 : Apatite 2-piece implant, 第 3 報臨床治療について, 補綴誌, 32 : 523-533, 1988.
- 9) 添島義和 : ITI インプラント法(一回法)の適応と思われる臨床ケース, オーラル・マキシロフェイシャル・インプラント, 2 : 381-388, 1989.
- 10) 益田高行 : Apatite implant 適用を目的とした顎骨内部構造の改善に関する実験的研究, 口病誌, 56 : 289-313, 1989.
- 11) 魚島勝美 : Apatite implant 適用を目的とした顎提形態の改善に関する実験的研究, 口病誌, 56 : 314-346, 1989.
- 12) 保田岩夫, 野田和彦, 飯田 瞳 : 電気的仮骨の応用, 日整会誌, 29 : 351-353, 1955.
- 13) 保田岩夫, 加藤常行, 佐多徹郎, 岡田 皖 : 骨の圧電気現象, 日本外科学会雑誌, 54 : 449, 1953.
- 14) 保田岩夫, 原 治, 岡田 皖, 野口和彦 : 仮骨形成に関する力学的考察, 日整会誌, 27 : 224-225, 1953.
- 15) Friedenberg, Z.B., Andrews, E.T. Smolenski, B.I., Pearl, B.W. and Brighton, C.T. : Bone reaction to varying amounts of direct current, *Surg. Gynecol. Obstet.*, 131 : 894-899, 1970.
- 16) Friedenberg, Z.B., Roberts, P.G. and Didizian, N.H., Brighton, C.T. : Stimulation of fracture healing by direct current in the rabbit fibula, *J. Bone Joint Surg. [Am]*, 53-A : 1400-1408, 1971.
- 17) Friedenberg, Z.B., Zemsky, L.M. and Pollis, R.P., Brighton, C.T. : The response of non-traumatized bone to direct current, *J. Bone Joint Surg [Am]*, 56-A : 1023-1030, 1974.
- 18) 高橋栄明, 外川 裕, 今野俊幸, 鈴木弘之, 篠倉均, ホセ・ルイス・アベ : 微小電流による骨の吸収への影響, 整形外科基礎科学誌, 4 : 145-154, 1977.
- 19) Yasuda, I. : Electrical callus and callus formation by electret, *Clin. Orthop.*, 127 : 53-56, 1977.
- 20) 片岡 護 : 電流が仮骨形成, 細胞の代謝性と仮骨の性状に及ぼす影響, 神奈川歯学, 15 : 540-560, 1981.
- 21) 大野朝也 : 微小電流刺激が顎骨骨欠損創の治癒経過に及ぼす影響に関する実験的研究, 歯科学報, 82 : 1323-1353, 1982.
- 22) 久保田浩三 : 歯槽骨の人工的骨欠損におよぼす微小電流刺激の影響に関する実験的研究, 九州歯学会誌, 36 : 64-81, 1982.
- 23) 外川 裕 : 長管骨骨皮質の Internal remodeling に及ぼす微小電流刺激の影響に関する実験的研究, 日整会誌, 57 : 817-835, 1983.
- 24) Takahashi, H., Togawa, Y. and Hanaoka T., Watanabe, G., Saitoh, Y., Suzuki, H. : The effects of various types of microelectrical current waveform on bone formation in internal remodeling in dogs, edited by Fukada E. et. al, *Bioelectrical repair and growth*, 184-190, Nishimura, Niigata, 1985.
- 25) 松永俊二, 酒匂 崇, 吉国長利, 井尻幸成, Ali, M.A. : 微弱直流電気刺激による髓内仮骨, 電気仮骨部アルカリフォスファターゼ活性値の経時的変化について, 生体電気刺激研究会誌, 2 : 67-71, 1988.
- 26) 大野 敬 : 骨原性細胞株 MC3T3-E1 に対する微小電流刺激の効果, 日口外誌, 34 : 15-23, 1988.
- 27) Bassett, C.A.L., Mitchell, S.N. and Gaston, S.R. : Treatment of ununited tibial diaphyseal fractures with pulsing electromagnetic fields, *J. Bone and Joint Surg. [Am]*, 63-A : 511-523, 1981.
- 28) Ascherl, R., Lechner, F. and Blümel G. : Electrical stimulation of low frequency range in electrical stimulation of low frequency range in case of pseudarthroses, Survey of 350 cases, *Reconstr. Surg. Traumatol.*, 19 : 106-112, 1985.
- 29) 臼井 宏, 峯崎孝俊 : 骨折に対する電気刺激療法の実験について, 生体電気刺激研究会誌, 2 : 9-12, 1988.
- 30) 福井正信, 安達二郎 : 成長各期の体各部の計測

- 値の推移と臓器重量の推移, 福井正信, 友田 勇, 上田雄幹編集, 実験用ビーグルの研究, 87-118, ソフトサイエンス社, 東京, 1976.
- 31) Villanueva, A.R. : A bone stain for osteoid seams in fresh, unembedded, mineralized bone, *Stain Technol.*, 49 : 1-8, 1974.
- 32) 今野俊幸, 高橋栄明 : 非脱灰骨標本の作成法, 高橋栄明編集, 骨形態計測ハンドブック, 28-33, 西村書店, 新潟, 1983.
- 33) Brighton, C.T. : Electrically induced osteogenesis. Its clinical use in treating nonunion, edited by Fukada E. et. al, *Bioelectrical repair and growth*, 3-19, Nishimura, Niigata, 1985.
- 34) Marino, A.A., Gross, B.D., Specian, R.D. and Shreveport, L. : Electrical stimulation of mandibular osteotomies in rabbits, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 62 : 20-24, 1986.
- 35) Zengo, A.N., Bassett, C.A.L., Prountzos, G., Pawluk, R.J. and Pilla, A. : In vivo effects of direct current in the mandible, *J. Dent. Res.*, 55 : 383-390, 1976.
- 36) Harris, W. H., Moyet, B.J-L., Thrasher, E.L., Davis, L.A., Cobden, R.H., Mackenzie, D.A. and Cywinski, J.K. : Differential response to electrical stimulation, A distinction between induced osteogenesis in intact tibiae and the effect on fresh fracture defects in radii, *Clin. Orthop.*, 124 : 31-40, 1977.
- 37) Spadaro, J.A. : Electrically enhanced osteogenesis at various metal cathodes, *J. Biomed. Mater. Res.*, 16 : 861-873, 1982.
- 38) 川原春幸 : 特集 最新歯科金属学, 生体用金属材料の毒性, 金属, 50 : 45~50 1980.