

インプラント界面における組織反応の制御



Where is dentistry in regenerative medicine?

歯科学は再生医療のどこに位置するのか?

Ricci JL, Terracio L.

International Dental Journal 2011; Volume 61, Issue Supplement 1, p2-10.

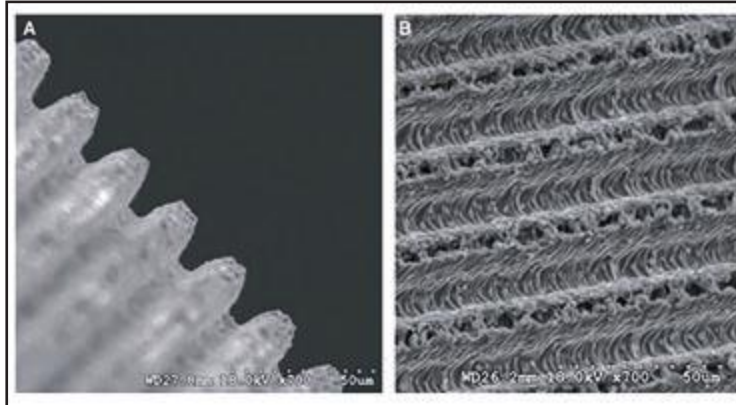


図1: Laser-Lok 表面の走査型電子顕微鏡画像
(A) 側面からのマイクロチャネル
(B) マイクロチャネルの表面
倍率= 700 倍

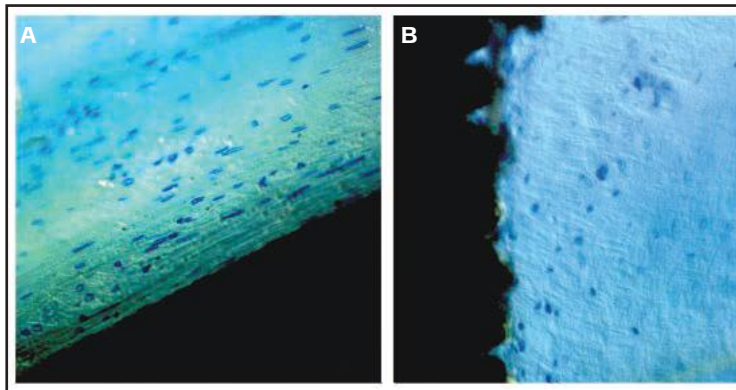


図2: 粗面に接した軟組織 (A) および Laser-Lok 表面 (B) の干渉顕微鏡法による顕微鏡写真
粗面に平行なコラーゲン線維と平らになった細胞は、癒痕被膜化を示す。Laser-Lok 表面 (接線配向線維) から斜めに配向した線維および多様な横断面像の細胞は、癒痕被膜の欠如および複雑な付着線維組織の存在を示す。
原倍率= 300 倍

要約

歯科学は再生医療の分野のどこに当てはまるのか? 再生医療の目的は損傷を受けた器官や組織の機能回復であるが、歯科学では、損傷した歯の機能回復というコンセプトに長年取り組んできており、これは明らかに歯科学の元来からの目的である。本論文では、組織や器官の機能回復が再生医療の軸であれば、歯科学は既に修復医学という学問の最前線にあっただけでなく、臨床においても実際に再生医療を先行しているという見解を示す。筆者らは研究室で現在おこなっている基礎研究、あるいは治療の実例を用いて歯科再生医療を担う一端を説明する。そしてインプラントの強度、デザインおよび加工の歴史から始め、骨を足場とする高度な技術を用いた治療について、さらに幹細胞ベースの軟組織工学の研究まで取り上げ、最終的には、歯科学が「再生・修復」という特性を持っていることから、歯科学は再生医療の最前線に位置するものと確信する。

表面処理された歯科インプラント — 臨床応用されている再生医療

インプラント治療は喪失した歯の機能を修復させる方法として一般的で予知性の高いものとなってきた。これはインプラントが骨および軟組織に結合することが大きな要因である。しかし近年まで、軟組織の結合の重要性は認識されず、十分な見解もなかった。インプラントは永続的かつ経皮性である数少ない医療機器の一つであることから、上皮および繊維性結合組織によるインプラントへの結合が、口腔内環境からの遮断には重要である。

インプラント表面に対する再生工学の進化

インプラント上にグルーブを付与することはインプラント歯科学において新しいコンセプトではなく、市場にはすでにマイクロレッドのカラーを持つ高品質のインプラントが多数存在する。しかし、Laser-Lok に匹敵するものはない。他のインプラントは再生医学を念頭において設計されたものとはいえ、表面のグルーブも Laser-Lok のような非常に細かい 8-12 μ m ではない。つまり細胞レベルで作用するように設計されていないのである。そのため、他のインプラントには Laser-Lok と同等レベルの細胞反応が見られない。Laser-Lok インプラントの設計は、高い成功率を示してきた再生医学のコンセプトに基づいており、より優れた修復物周囲の軟組織および骨の再生をもたらす。これがインプラントの表面技術のパラダイムを変え、再生医学に基づいたコンセプトを用いて、細胞ならびに組織反応をインプラント接触面において操作できるということを証明した。

即時埋入に対する Laser-Lok の影響



Influence of a microgrooved collar design on soft and hard tissue healing of immediate implantation in fresh extraction sites in dogs.

イヌへの抜歯即時埋入における、カラー部マイクログループデザインの軟・硬組織治癒に対する影響

SY Shin, DH Han.

Clin. Oral Impl. Res. 21, 2010; 804-814.

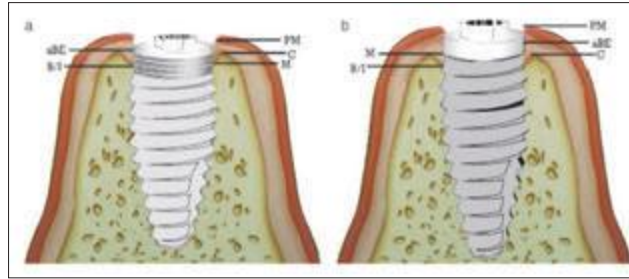


図 1：組織計測の部位を示す概略図。(a) マイクログループのグループ、(b) 機械研磨のグループ、aBE = 上皮バリアの根尖側の末端、B/I = 骨・インプラント接触の辺縁、C = 骨頂の辺縁、PM = インプラント周囲粘膜の辺縁、M = インプラントのマイクログループ面もしくは機械研磨面の辺縁

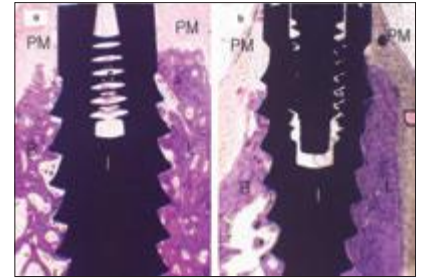


図 2：治癒経過 12 週後の (a) マイクログループグループおよび (b) 機械研磨グループの縦断面を示した顕微鏡写真。B = 頬側壁、L = 舌側壁、I = インプラント、PM = インプラント周囲粘膜。H-E 染色。原拡大率 = 10 倍

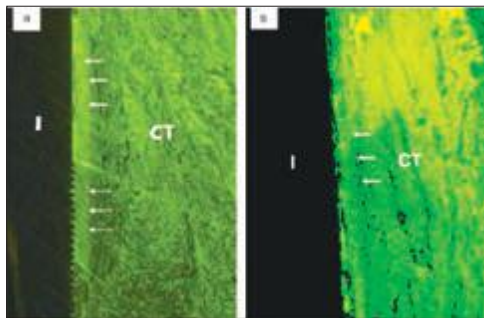


図 3：治癒経過 12 週後の (a) マイクログループグループおよび (b) 機械研磨グループの縦断面を示した偏光顕微鏡による蛍光染色像。直線矢印は、機械研磨された表面上をインプラントに対して平行に走るコラーゲン繊維の方向を示し、破線矢印は 8μm ピッチのマイクログループの表面上をインプラントに対して垂直に走るコラーゲン繊維を示している。CT = 結合組織、I = インプラント。原拡大率 = 200 倍

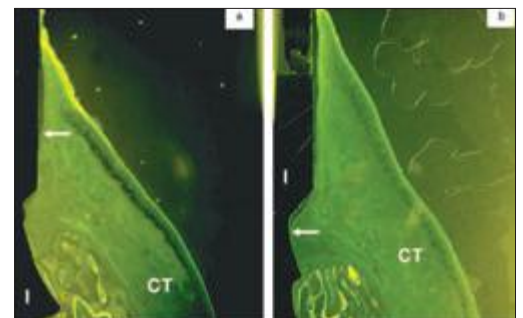


図 4：治癒経過 12 週後の (a) マイクログループグループおよび (b) 機械研磨グループの縦断面を示した蛍光染色像。矢印は付着上皮の根尖レベルを示す。CT = 結合組織、I = インプラント。原拡大率 = 50 倍

要約

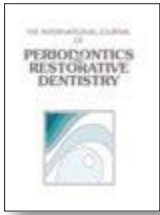
目的： 本研究では、カラー部にマイクログループを付与したインプラントならびにカラー部を機械研磨したインプラントを抜歯後即時埋入し、歯槽骨の吸収を比較した。

材料と方法： 4 頭の雑種犬を使用した。頬舌的に全層弁剥離をおこない、下顎の第 3 および第 4 小臼歯を抜歯。抜歯窩にインプラントを埋入した。3 ヶ月の治癒期間の後、イヌを屠殺した。下顎を切断してインプラント部位を取り出し、組織計測をおこなった。

結果： 両グループにおいてみられたインプラント埋入時のインプラントと抜歯窩の辺縁部のギャップは、治癒過程における歯槽頂骨リモデリングによって消失していた。頬側の骨頂は舌側の骨頂よりも根尖側に位置していた。12 週間後には、マイクログループグループの骨・インプラント接触距離の平均は、機械研磨グループに比べ著しく高かった。マイクログループグループのインプラントを観察すると、12μm マイクログループ表面の骨付着と、8μm マイクログループ表面のインプラント長軸直角方向へのコラーゲン繊維の付着が認められた。

結論： 本研究に限定的ではあるが、マイクログループが付与されたインプラントでは、硬・軟組織付着が改善され、辺縁骨吸収および軟組織退縮は抑制された。

Laser-Lok 文献レビュー



The Effects of Laser Microgrooves on Hard and Soft Tissue Attachment to Implant Collar Surfaces: A Literature Review and Interpretation

インプラントカラー部の硬・軟組織付着に関するレーザーマイクログループの効果：
文献レビューと解釈

Mohammad Ketabi, DDS, MDS (Perio), Douglas Deporter, DDS, PhD
Int J Periodontics Restorative Dent, Volume 33, Number 6, 2013. e145-152.

要約

本論文は、骨内型インプラントのネック部にレーザーでアブレーションをしたマイクログループのメリットについて、現在の知識を総括したものである。粒子でプラストをした表面に機械でつけた歯冠部のマイクロスレッドと同様、レーザーアブレーションによるマイクログループも歯槽頂骨の維持に貢献している。しかしながら、このレーザーによるマイクログループは、他のグループとは違い、天然歯の周囲歯肉に相当する結合組織付着をもたらすようである。

方法および材料

国立医学図書館ならびに SCOPUS Cochrane Oral Health Group データベースを利用し、1990 年から 2011 年 7 月までに英語の参照雑誌に掲載された文献検索をおこなった。1990 年以前については特定の論文の引用文献一覧表からも更に論文をレビューした。題名と抄録に基づき関連した引用文献を選択したが、最終選択は、2 名の著者が独立しておこなった全文のレビューに基づいている。

結論

歯冠部へのレーザーアブレーションによるマイクログループ、または粒子でのプラストによる機械加工のマイクロスレッドを付与したインプラントは、カラー部全体の機械研磨または粒子プラストの（マイクロスレッドを付与していない）インプラントに比較して、インプラント周囲の歯槽頂部骨吸収を抑える。しかし、機械処理のマイクロスレッドと違い、レーザーによるマイクログループは歯肉溝上皮の根尖方向への移動を抑制し、インプラント周囲の真の歯肉付着を促進するようである。どちらの処理も同様な表面粗さになるので、結合組織の反応の違いはナノ形状の違いと、レーザーによるマイクログループが機械処理のマイクロスレッドより 1 桁小さいサイズであるという事に影響されるのかもしれない。インプラントカラー部の接合部に、より天然歯に近い結合組織が形成されることで、長期にわたり歯科インプラント補綴の安定性が向上することが推測できる。

異なった表面に対する軟組織の反応



Morphology, proliferation, and gene expression of gingival fibroblasts on Laser-Lok, titanium, and zirconia surfaces.

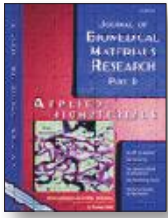
Laser-Lok、チタンおよびジルコニア表面における歯肉線維芽細胞の形態、増殖および遺伝子発現

Nasrin Esfahanizadeh, Sara Motalebi, Niloufar Daneshparvar, Nasrin Akhoundi, Shahin Bonakdar.
Lasers Med Sci. 2016 Jul;31(5):863-873.

要約

軟組織封鎖は、インプラントの長期的予後に重要な役割を果たしている。また、レーザーアブレーションといったインプラント表面処理の効果は、この点において特に興味深いトピックとなってきた。本研究では、インプラント表面に接触する軟組織の動態に関する今日の議論に沿って、異なるアバットメント表面上のヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) の形態、増殖および遺伝子発現の評価を試みた。In vitro において、HGFs を 45 枚の円板 (Laser-Lok、チタンおよびジルコニア) 上で培養した。細胞の形態、増殖率、IL-10、TNF α 、フィブロネクチンおよびインテグリンの遺伝子発現を、それぞれ電子顕微鏡観察、MTT アッセイおよびリアルタイム PCR を行い評価した。統計処理には ANOVA および Kruskal-Wallis H 検定を用いた。細胞付着は 3 グループ全てにみられた。細胞形態においては偽足様の突起を持つ紡錘状細胞が Laser-Lok グループに多くみられ、細胞増殖においても、その他のグループと比較して Laser-Lok グループで増加が認められた ($P = 0.0002$)。またそれぞれの遺伝子発現量に関しては、グループ間において差がみられた ($P < 0.01$)。本研究に制限はあるものの、Laser-Lok 表面においては、ジルコニアおよびチタン表面と比較して、HGFs が形態的に成熟し、その増殖および分化促進がみられた。以上のことから、表面のレーザー処理によって細胞付着が促進し、インプラント周囲には効果的な軟組織による封鎖がもたらされることが示唆された。

歯槽頂骨への応力最小化の予測



Mechanical basis for bone retention around dental implants.

歯科インプラント周囲骨の維持に関わる力学の基礎

H Alexander, JL Ricci, GJ Hrico.

J Biomed Mater Res B Appl Biomater. Volume 88B, Issue 2, Pages 306-311, Feb 2009.

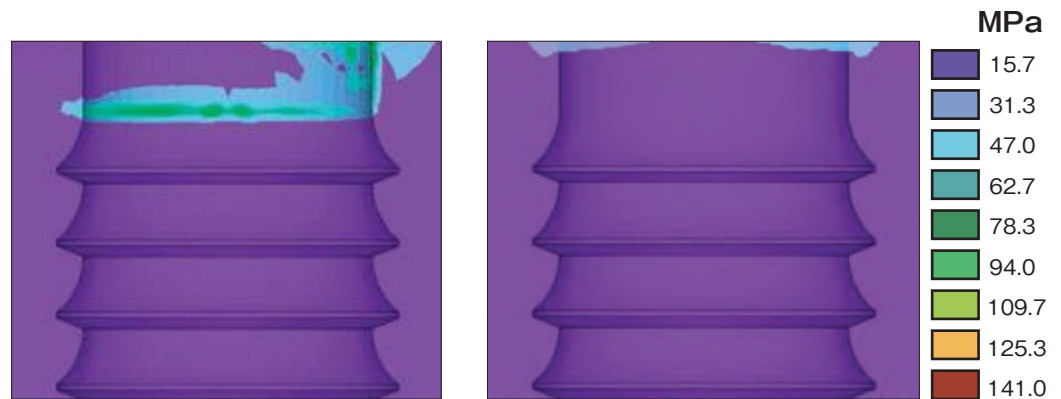


図1：側方から80ニュートンの荷重をかけた場合にみられる最大応力。コントロールインプラント(左)は91.9MPa、Laser-Lokインプラント(右)は22.6MPa

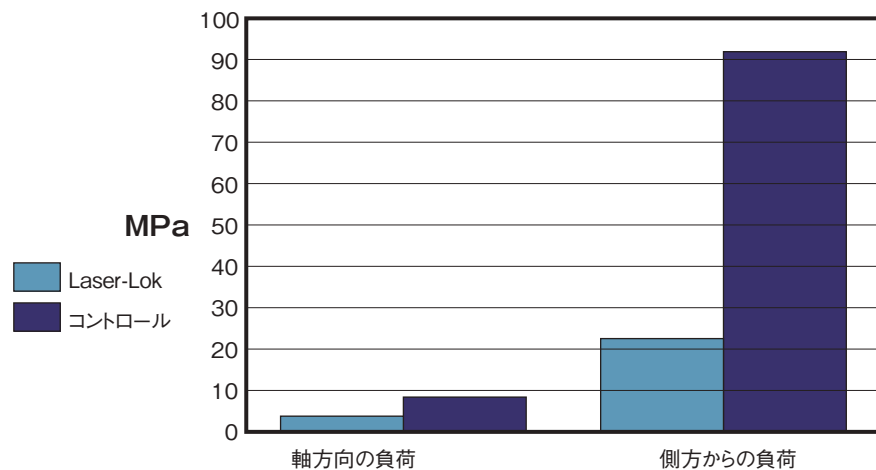


図2：インプラント付着に起因する応力減少を示す有限要素解析結果の概要

要約

本研究は、有限要素解析を用い、インプラントのカラー部表面処理に起因する歯槽頂部骨応力の極小化を分析的に予測する。テーパードタイプの歯科インプラントに Laser-Lok (以下 LL) を施したものの、ならびに、レーザーのマイクログループ表面処理無しのもの(コントロール、以下 C) を評価する。LL インプラントは C インプラントと同じテーパードボディでスレッドの表面処理も同じだが、組織の付着を高めるため、LL インプラントには 2mm のカラー部の下方 1.5mm に 8 および 12 μ m のレーザー微細加工をしたグループを付与している。動物およびヒトによる in vivo 研究で既に、LL インプラントにおける歯槽骨吸収の減少が報告されている。2つの異なるカラー/骨接触面(C/骨結合無し、LL 表面/骨結合有り)に、軸方向および側方からの負荷を考察した。80Ncm の側方負荷をかけた場合、C 周囲の歯槽骨ゆがみ応力の最高値は 91.9MPa であった。一方 LL 周囲の最高値は 22.6MPa であり、この数値は有意に低い。有限要素解析からは、応力が歯槽骨吸収の原因である可能性が示唆された。LL カラー部に付着した骨は、応力を最小化して歯槽骨を維持すると予測される。

インプラントデザインの比較



Marginal tissue response to different implant neck design.

異なったネック部デザインのインプラントに対する辺縁組織反応

HEK Bae, MK Chung, IH Cha and DH Han.

Yonsei University College of Dentistry, Seoul, South Korea

J Korean Acad Prosthodont. 2008 Dec;46(6):602-609.

要約

目的: 本動物研究では、フィクスチャーはRBM表面性状でネック部を機械研磨したインプラント (TN)、マイクロスレッドネックのインプラント (MT)、ならびにネックをマイクログループ加工したインプラント (MG) (Laser-Lok) の周囲組織に対して、組織形態計測をおこなった。

材料と方法: 雑種犬4頭から下顎小白歯を抜歯し、治癒として3ヶ月間放置した。3種類の異なるインプラントシステムのうちいずれか1つをメーカーのプロトコルに準じて埋入し、8週および12週後に組織学的評価のため摘出した。全ての組織標本において、実験期間の治癒に問題はなかった。

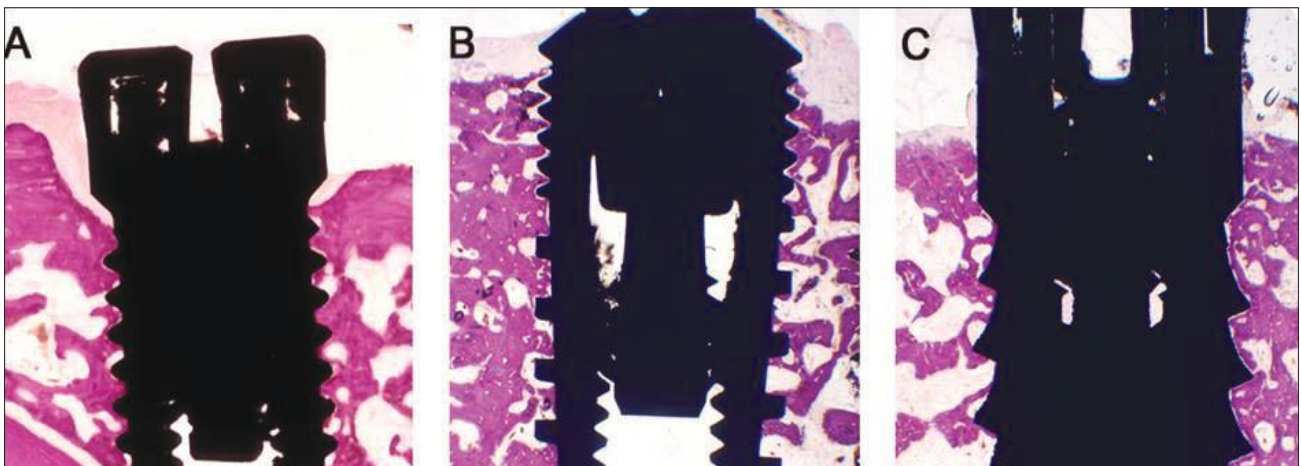
結果: 組織スライドでは、全ての標本でインプラントに隣接した骨のリモデリング活性を伴う骨結合が確認された。Laser-Lok インプラントでは、8週後、12週後にそれぞれ0.40mm、0.26mmの辺縁骨吸収が観察され、マイクロスレッドのインプラントでは0.79mmと0.56mm、機械研磨加工ネックのインプラントでは1.61mmおよび1.63mmの骨吸収がみられた。複雑性軟組織排列がマイクロスレッドおよびマイクログループを付与したインプラントに対して観察された。

結論: 本動物研究は、ネック部デザインが異なるインプラントシステムを比較し、辺縁骨レベルならびに軟組織反応をみたものである。動物研究という制限があるものの、以下のような結論となった。

1. MTならびにMGインプラントには骨形態計測の値に差異は認められなかった。
2. MGインプラントのBICは、それぞれの治癒期間においてMTならびにTNインプラントより僅かに高かった。そして8週後より12週後の標本においてBIC数値は高くなっていた。
3. 辺縁骨レベルについては、TNインプラントでは基準点から低くなっていることが確認され、MGインプラントでは骨吸収が最も少なかった。MTならびにMGインプラントでは8週後から12週後において辺縁骨レベルの回復がみられたが、TNインプラントにおいてはその回復は最少であった。
4. MTならびにMGインプラント表面においては、コラーゲン配列がインプラントの長軸方向に平行とはならず、特にMGインプラントではTNインプラントと比較して臨床的に優れた組織反応がみられた。

表1: 3種類のインプラントの組織形態計測の数値

インプラント種類 週	TN		MT		MG	
	8	12	8	12	8	12
BIC / %	22.28	30.49	21.78	22.56	35.51	41.02
辺縁骨吸収 / mm	1.61	1.63	0.79	0.56	0.4	0.26
スレッド内骨面積 / mm	—	—	64.74	56.55	55.43	44.77



A. RBM表面、機械研磨ネックのインプラント

B. マイクロスレッドインプラント

C. Laser-Lok インプラント

上皮および結合組織の付着



The effects of Laser microtextured collars upon crestal bone levels of dental implants.

歯科インプラントの歯槽頂骨縁上にあるカラー部レーザーマイクロテクスチャーの効果

S Weiner, J Simon, DS Ehrenberg, B Zweig, and JL Ricci.
 Implant Dentistry, Volume 17, Number 2, 2008. p. 217-228.

	破骨細胞活性	杯形成	骨の上方成長	軟組織の 下方成長
荷重 3 ヶ月の標本 コントロール群 / 機械研磨 (3本のインプラントから8つの切片)	1.50 ± 0.29	0.92 ± 0.05	0 ± 0	0.83 ± 0.10
レーザーによるマイクログループ加工 (4本のインプラントから6つの切片)	0.88 ± 0.16	0.50 ± 0.10	0 ± 0	0.25 ± 0.13
荷重 6 ヶ月の標本 コントロール群 / 機械研磨 (12の界面)	1.75 ± 0.22	0.55 ± 0.07	0.15 ± 0.04	0.55 ± 0.07
レーザーによるマイクログループ加工 (14の界面)	1.30 ± 0.17	0.22 ± 0.04	0.90 ± 0.04	0 ± 0

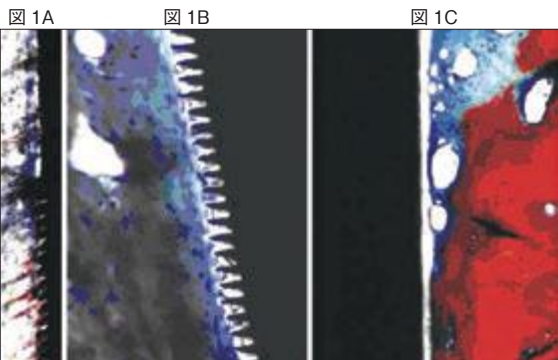


図 1A (左)、1B (中)、1C (右) : 上皮および結合軟組織界面の光学電子顕微鏡写真。6 ヶ月後 (荷重後 3 ヶ月) の実験群 (1A および 1B) とコントロール群 (1C)。図 1A 上部には上皮層がみられるが、上皮細胞がレーザーマイクログループ加工部分 (写真中央) の端に付着して終わっている。図 1A 下部と図 1B 全体は、レーザーマイクログループ加工表面への結合組織付着を示している。図 1C は、コントロールインプラントにおける骨・インプラント界面における軟組織の下方増殖を示す。

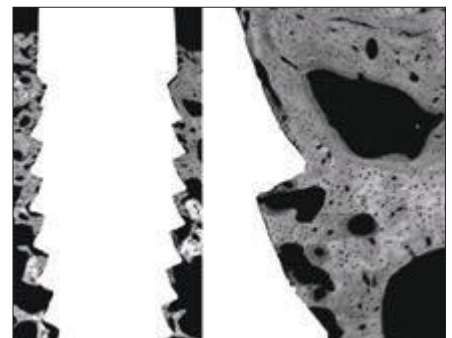


図 2: 実験インプラント 3 ヶ月後 (露出時) の骨結合を示す走査電子顕微鏡写真 (後方散乱電子像モデル)。左: インプラント体の骨結合ならびにレーザーマイクログループ加工カラー部の直接骨結合を示す概観 (コラーージュ) 右: インプラント体の骨結合の高倍率画像 ネジ山ピッチ = 1mm

要約

目的: 本研究の目的は、イヌを実験モデルとし、レーザーによってマイクロテクスチャーを付与したカラー部に対する歯槽頂骨、結合組織および上皮細胞の反応を観察し、コントロールの機械研磨カラー部と比較することである。

材料: 6 頭の雑種犬の下顎小白歯および第一大臼歯を抜歯し、治癒後、4 x 8mm の BioLok インプラントを埋入した。1 頭につき、下顎片側に 3 本のコントロールインプラントを埋入、反対側には対照となるようにレーザーマイクロテクスチャー処理の実験インプラントを 3 本埋入した。3 ヶ月後、1 頭を屠殺し、4 頭にはインプラントにブリッジを装着した。また残り 1 頭は非荷重の陰性コントロールとした。荷重後 3 ヶ月の時点で 2 頭を屠殺した。さらに、荷重後 6 ヶ月で 2 頭を屠殺し、陰性コントロールの 1 頭も屠殺した。インプラントを含む下顎のブロック切片から得た組織切片を用いて、組織染色、電子顕微鏡および組織形態計測をおこなった。

結果: 初期において、実験インプラントではカラー部に沿って強固な骨結合を示した。実験経過とともに、実験インプラントならびにコントロールインプラントのカラー部に結合した骨の高さは同程度となった。しかし、コントロールでは軟組織の下方増殖と高い破骨細胞活性がみられた。また実験インプラントと隣接した部位と比較すると骨の皿状欠損が拡大していた。骨に対する親和性は、機械研磨よりレーザーマイクロテクスチャーの方が高かった。

結論: マイクログループのような組織工学的に改良したカラーを使用することによって、骨組織および軟組織のカラー部への付着および生物学的幅径の造成を促進すると思われる。

初期固定および二次固定の向上



The effect of different surgical drilling procedures on full laser-etched microgrooves surface-treated implants: an experimental study in sheep

レーザーエッチングによってマイクログループ表面処理を全体に施したインプラントへの、異なるドリリング手順による効果：ヒツジを用いた実験

Jimbo R, Tovar N, Yoo DY, Janal MN, Anchieta RB, Coelho PG.
Clin Oral Implants Res. 2014 Sep; 25(9): 1072-7.

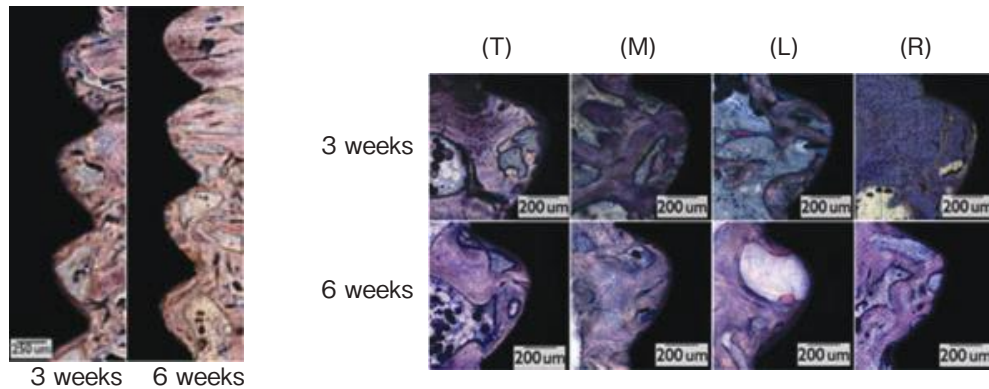


図1：非脱灰組織切片像 3週間ならびに6週間の概観（目盛：250μm）、およびそれぞれの窩洞サイズによる3週間ならびに6週間の拡大組織像（目盛：200μm）。(T=狭い、M=普通、L=緩い、R=拡大)

実験期間	グループ	推定平均値	標準誤差
3 weeks	L	46.01	4.33
	M	50.53	4.33
	R	34.50	4.33
	T	51.03	4.33
6 weeks	L	42.99	4.33
	M	60.99	4.33
	R	39.02	4.33
	T	64.56	4.33

図2：BICの推定平均ならびに標準誤差
同じ文字で示されるグループは、同じ窩洞サイズを示す。

目的

表面全体のレーザーエッチングによるマイクログループ付与インプラントの埋入において、窩洞サイズの違いによる早期骨結合組織形態計測と生体力学的固定への影響を評価する。

材料と方法： ヒツジの両側股関節を4グループに分け、それぞれ直径4.6mm(拡大形成)、4.1mm(緩い形成)、3.7mm(普通形成)、3.2mm(狭い形成)となる埋入窩洞を2窩洞ずつ形成し、1頭あたり8本のインプラント(φ4.5mm、長さ8mm)を6頭のヒツジに埋入した(合計48本)。治癒を待ち、3週間と6週間で屠殺した。試料の半数を用いて生体力学的試験をおこない、残りは非脱灰組織切片作製に使用した。組織形態計測パラメータとして骨-インプラント接触(BIC)ならびに骨面積部分占有(BAFO)を解析した。統計分析は、 $P < 0.05$ を有意水準として混合モデルの分散分析を用いておこなった。

結果： 3～6週間は計測値のほとんどにおいて増加傾向がみられた。「狭い形成」グループは観察期間を通じて他グループよりも高い数値を示した。一方で「拡大形成」グループの最も低いBICは窩洞サイズによるものと推察されるが、3週間において他グループよりも多くの新生骨がインプラント表面にコンタクトしているようであった。一方、「狭い形成」グループのインプラントは主に皮質骨によって支持されていた。

結論： レーザーエッチングによってマイクログループが付与されたインプラントは、全てのグループにおいて骨伝導性ならびに生体適合性を示した。その中でも、高い埋入トルクが出る「狭い形成」グループが、3週間および6週間で組織形態計測においても生体力学的にも最高値を示した。

安定ならびに骨結合の向上



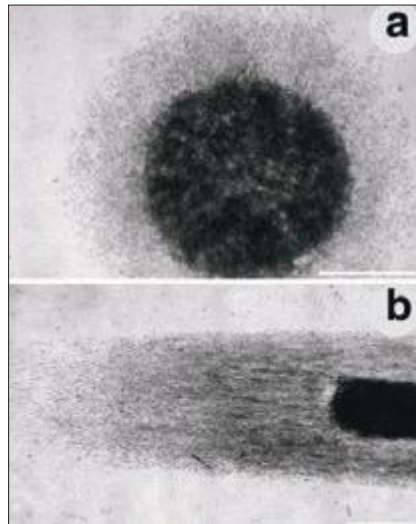
Connective-tissue responses to defined biomaterial surfaces. I. Growth of rat fibroblast and bone marrow cell colonies on microgrooved substrates.

規定の生体材料表面に対する結合組織の反応

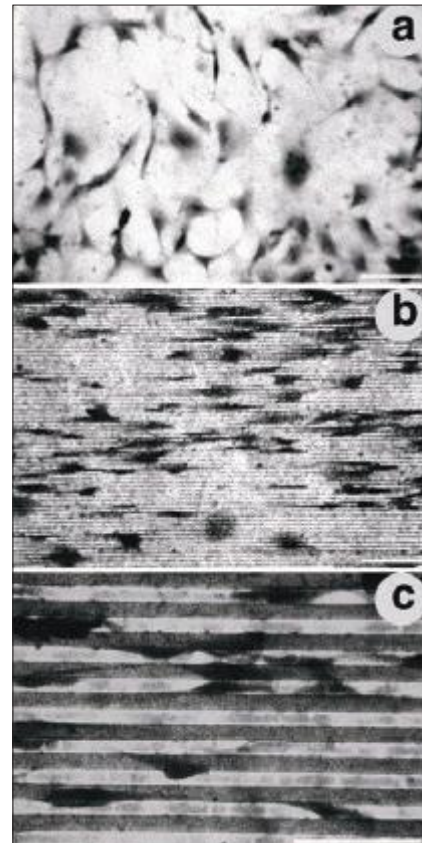
I. マイクログループ加工した基板における、ラットの線維芽細胞および骨髄細胞のコロニー形成

JL Ricci, JC Grew, H Alexander.

Journal of Biomedical Materials Research Part A. 85A: 313–325, 2008.



コントロール基板ならびに 6- μm のマイクログループ基板上で 4 日間成長させた RTF コロニーの光学顕微鏡写真。コントロール基板上で培養したコロニー (a) は、コロニー中心部の暗い部分として認められる始原コラーゲンゲルの「点」から放射状に細胞増殖している。またコロニー拡大伸展もみられる。始原コラーゲンゲル点の直径は 2mm 以下である。6- μm のマイクログループ基板上で成長したコロニー (b) は、マイクログループの方向と平行に始原ゲル点から伸展した。マイクログループに垂直的な方向への伸展も少なからず観察された。このマイクログループのサイズは本拡大率において、顕微鏡の解像限界より小さかった。目盛 = 1mm (a, b 両方)



コントロール (a)、6- μm のマイクログループ (b) および 12- μm (c) の基板上で 4 日間成長させた RTF コロニーの光学顕微鏡写真。コントロール基板上で成長したコロニーの細胞はランダムな方向と大きな拡大を示す。マイクログループのある基板上で成長したコロニーの細胞はグループの頂点、底、側壁に付着し、マイクログループの方向に沿って伸長している。4- μm のマイクログループ基板上で増殖した細胞が数本の溝や頂点にまたがっているのがしばしばみられた。一方 12- μm のマイクログループ基板上で増殖した細胞は溝の頂点上もしくはグループ内に位置していることが認められた。目盛 = 100 μm (a, b, c いずれも)

要約

表面微小構造は組織 - インプラント表面の相互作用に関与しているが、その効果は明らかとなっていない。コンタクトガイダンスおよび細胞配列から明らかのように、基板のマイクログループは *in vitro* において細胞に強い影響を与える。我々は、チタンコーティングとマイクログループを施したポリスチレンの表面を考案作製し、その基板上で成長させた初代線維芽細胞および骨髄細胞の「ドット」コロニーを調べた。ラットの臍由来線維芽細胞および骨髄のコロニー成長および移動は、マイクログループのサイズあるいは細胞の種類によってわずかに変化した ($p < 0.01$)。マイクログループの基板上で成長したコロニーは、コントロール基板の平坦な表面のコロニーと比較すると、形態の大きな変化、増殖率の低下および方向性成長が認められた ($p < 0.01$)。マイクログループ表面で成長したコロニーの細胞はグループおよびコロニーに平行して配列し伸長していた。この「ドット」コロニーの再作製は簡単で、組織 - インプラントの相互作用を容易に評価できる人工的移植片モデルである。生体材料上で分離細胞を培養するより、このモデルの方が生体内インプラントの反応に近い。本研究の結果は、二酸化チタンコーティングのポリスチレン、チタン、および微細構造加工のチタン合金インプラントの *in vivo* 研究と強い相関がある。マイクログループおよびその他の表面を持つ特徴は、方向性を持って、または空間的に細胞およびマトリックス分子を構築すると思われ、結果としてインプラントの安定性および骨結合が向上する。

コンタクトガイダンスを誘導する Laser-Lok



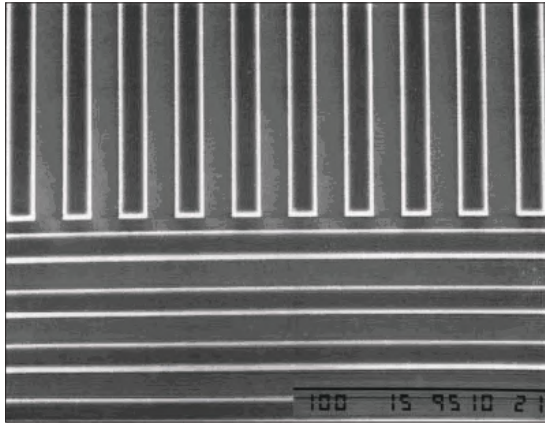
Connective-tissue responses to defined biomaterial surfaces. II. Behavior of rat and mouse fibroblasts cultured on microgrooved substrates.

規定の生体材料表面に対する結合組織の反応

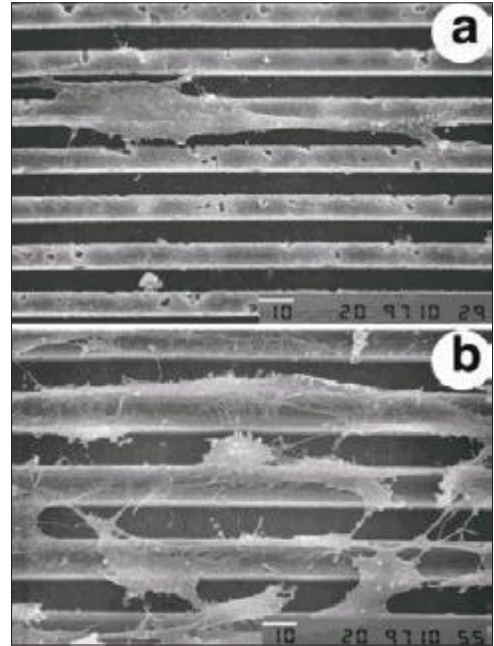
II. マイクログループ加工した基板上に培養されたラットおよびマウスの線維芽細胞の作用

JC Grew, JL Ricci, H Alexander.

Journal of Biomedical Materials Research Part A. 85A: 326-335, 2008.



12- μm のマイクログループ加工したシリコン・ウエハー型の一部の走査電子顕微鏡画像。目盛=100 μm

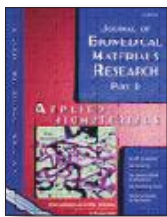


8-(a) および 12- μm (b) のマイクログループ加工した基板上で 8 日間成長させた NIH-3T3 線維芽細胞の走査電子顕微鏡画像。8- μm の溝で成長した個々の細胞が溝を乗り越え、隣の溝の頂部に付着している。12- μm の溝で培養した細胞の方が溝の頂部、あるいは溝内に多く増殖していた。どちらのサイズの溝も細胞増殖に対して強い配向効果があった。目盛=10 μm

要約

表面微小形状は培養細胞の形状、配向性および増殖特性に強く影響する。しかし、このような効果に対する定量分析はほとんどない。そこで、我々が設計し作製したマイクログループ加工したチタンコーティングのポリスチレン表面上で、初代線維芽細胞の「ドット」コロニー内の細胞が持つ増殖配向効果、および形質転換線維芽細胞株の培養における増殖配向効果を研究した。ラット腱線維芽細胞 (RTF) コロニーの縦横比、配向性、密度および付着面積はマイクログループのサイズによって異なる傾向があった ($p < 0.01$)。我々は、コントロールとした平面で培養したコロニーの細胞と比較して、マイクログループ加工した基板上のコロニーにおける細胞形態の大きな変化、付着面積の減少および細胞密度の減少を観察した。マイクログループ表面で培養された 3T3 線維芽細胞も同様の形態変化を示した。蛍光顕微鏡による観察から、マイクログループが線維芽細胞内の細胞骨格タンパク質および付着タンパク質の分配と集合を変化させることが明らかとなった。これらの所見は過去の実験結果と一致していることから、我々の動物実験および細胞コロニー培養実験の結果を合わせることで、マイクログループの細胞に対するコンタクトガイダンス (形状、配向、増殖) 効果に関する一つの仮説が提案できる。

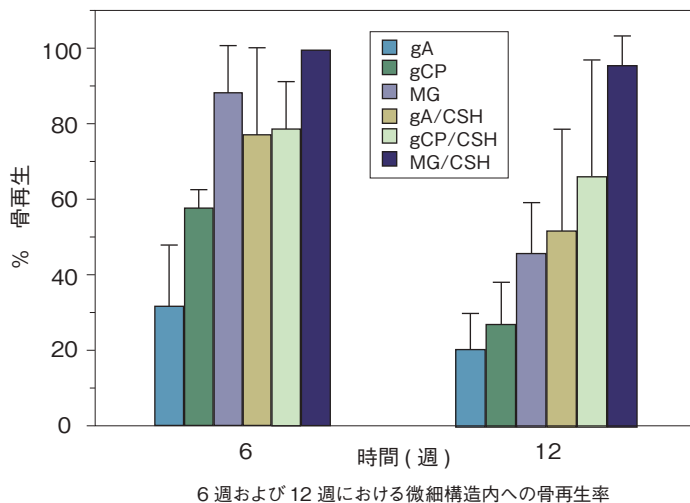
早期骨結合の促進と骨内の骨再生促進



Osseointegration on metallic implant surfaces: effects of microgeometry and growth factor treatment.

メタルインプラント表面における骨結合：マイクログループおよび成長因子の効果

SR Frenkel, J Simon, H Alexander, M Dennis, JL Ricci.
J Biomed Mater Res. 2002;63(6):706-13.



要約

整形外科インプラントは線維細胞の侵襲によって緩むことが多い。本研究の目的は、骨芽前駆細胞に対する化学誘引物質、および特定の表面マイクログループデザインによるインプラント表面への組織移行の制御によって、表面の治癒を促進する新しいインプラント表面性状を考案すること、そして骨結合に対して安定した界面を作り出すことである。関節インプラント周囲の骨髄内の骨反応を再現できる植え込み可能なチャンパー（装置）内でインプラントを埋入し、インプラント表面の試験をおこなった。チタンおよび合金の表面に特定マイクログループを付与したデザインによって、組織付着の最適化と線維状被包化の制御を図った。骨芽前駆細胞をインプラント表面に誘導し、その増殖を促進させるために、細胞分裂の促進因子であり化学誘引物質である TGF β (Hunziker EB, Rosenberg LC. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:721-733) を使用した。TGF β のキャリアーとして硫酸カルシウム 0.5 水和物 (CS) を用いた。CS は急速に吸収され、骨誘導性を持つ。動物は術後 6 週および 12 週で屠殺した。動物実験の結果、TGF β は硫酸カルシウムのキャリアーから活性物質として確実に放出されることが示唆された。この成長因子 TGF β は早期においてインプラントマイクログループへの骨再生に著しい効果があった。但し、この効果は後期における高い投与量ではみられなかった。後期においても投与量の調整をすることで、TGF β の効果は増大するはずである。TGF β 無しの硫酸カルシウム処理においても、実験期間の 12 週を通して骨再生は著しく促進した。マイクログループ表面への骨反応は劇的で、12 ある実験条件のうち 9 つの条件でさらに大きな骨再生がみられた。さらにマイクログループは CS コーティングインプラントの機械的強度を上げた。グループの表面によって骨内部の再生方向が制御された。この表面処理が、骨再生の促進および強い骨結合など、インプラントを延命させるような臨床的価値の高いインプラントデザインとなる可能性がある。

骨組織の細胞のコンタクトガイダンス



Interactions between MC3T3-E1 cells and textured Ti6Al4V surfaces.

MC3T3-E1 細胞と表面処理をした Ti6Al4V の相互作用

Soboyejo WO, Nemetski B, Allameh S, Marcantonio N, Mercer C, Ricci J.
J Biomed Mater Res. 2002 Oct; 62(1):56-72.

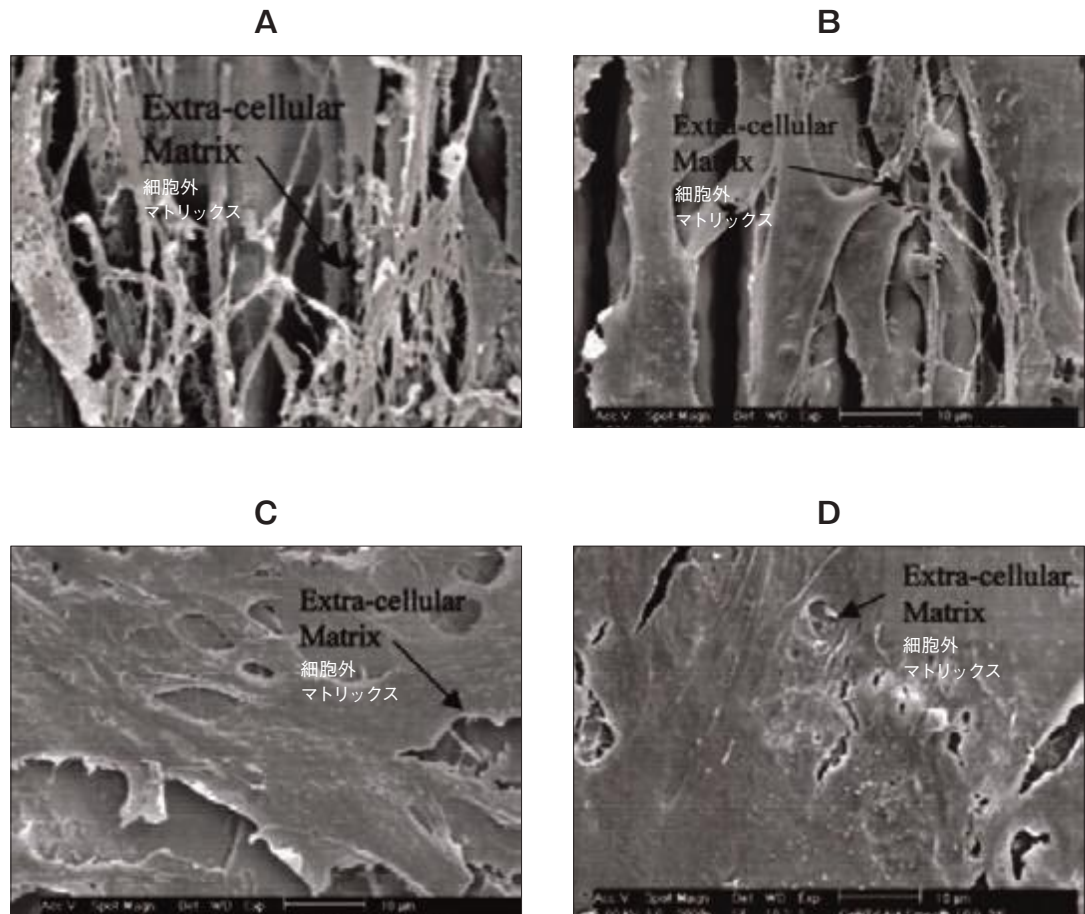


図1：細胞培養9日後の細胞外マトリックス形成。(a) 12- μm のマイクログループ表面、(b) 8- μm のマイクログループ表面、(c) Al₂O₃プラスト表面、(d) 研磨表面

要約

本論文は、レーザーマイクログループ、アルミナ粒子プラストあるいは研磨などで表面処理をしたTi6Al4Vと、MC3T3-E1細胞（マウス頭蓋骨由来）との相互作用についての実験結果を提示するものである。光走査型透過電子顕微鏡および原子間力顕微鏡を併用し、MC3T3-E1細胞と表面処理をしたTi6Al4V表面とのマルチスケールの相互作用を研究した。細胞表面の相互作用における微量化学の潜在的な細胞毒性効果についても、9日間の細胞の拡散および配向から考察した。これらの研究では、8 μm あるいは12 μm の深さのマイクログループ加工をしたTi6Al4V表面上の細胞には、コンタクトガイダンスおよび制限された拡散がみられた。ダイヤモンドによる研磨表面においても、研磨過程で付いたナノレベルのグループにより、同様のコンタクトガイダンスが観察された。対照的に、Al₂O₃プラストのTi6Al4V表面では、ランダムな細胞配向が観察された。表面形状の検討は、癒傷組織形成の解明や細胞表面の調和向上に有効である。