

(様式第5号)

実施課題名※表面処理チタンインプラント周囲歯槽骨のシンクロトロン放射光による解析

English Synchrotron tomography study of newly formed bone around titanium implant with surface modification

著者・共著者 氏名 宮本郁也¹、齋岡祥子²、田中達郎¹、神保良³、内藤禎人³、高橋和敏²
English Ikuya Miyamoto, Shoko Tsuruoka, Taturou Tanaka, Ryo Jimbo, Yoshihito Naito, Kazutoshi Takahashi

著者・共著者 所属 九州歯科大学、佐賀大学、スウェーデン・マルメ大学、
English Kyushu dental university, Malmö University, Saga University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ、長期トライアルユース、長期産学連携ユース）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の開示が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後二年以内に研究成果公開（論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表）が必要です。（トライアルユース、及び産学連携ユースを除く）

1. 概要（注：結論を含めて下さい）

歯科用インプラントは、近年その成功率の高さから急速に普及した治療法である。骨とインプラントの結合を促進するためインプラント表面に表面処理が施行されている。しかし骨とインプラントがどのように結合しているのか、あるいは周囲の骨の解析自体が進んでいない。解析を困難にする理由の一つに、レントゲンなどの画像診断時、光が透過する際、インプラント金属のハレーションが起り、画像の質が悪くなることがあげられる。エネルギーの高い光を用いることでハレーションが低減できる。

今回、シンクロトロン放射光にてインプラントや骨の標本を測定し、インプラント-金属間の構造を解析できるかどうかを検討した。シンクロトロン放射光施設にて、30Kevのエックス線を用いてインプラント-骨の標本を回折強調イメージング像(DEI)、その他、骨標本の三次元CT画像を得た。CCDカメラのピクセルサイズは7.4 μ mであった。これを病理組織標本と比較検討した。

結果は、インプラント金属のハレーションによる画像の乱れはほとんどなく、良好な画像を得た。しかしながら、CCDカメラの限界にて10 μ m以下の画像は不明瞭であった。DEIで得られた像はインプラント-骨界面を良好に描出し、アーチファクトはほとんど認められなかった。骨組織標本ではトルイジンブルーで染まっていない組織構造が、DEI像においてのみ確認できた。DEIによる画像は解像度が50 μ m程度では組織学標本と比較しても遜色のない詳細な形態を描出できた。しかしながら解像度が10 μ mあたりになると、詳細部位で相違がみられた。CTによる骨標本では極めて良好な微細構造が観察できた。今後、サンプル数を増やし更なる有用性を検討する予定である。

結論として、インプラント-骨界面、あるいは骨の微細構造を観察するのにシンクロトロン放射光を用いたCTおよび回折強調イメージング像は金属のハレーションが少なく、シャープな画像が得られることがわかった。しかし、

CCD カメラの限界もあり、光学顕微鏡よりは画像解像度が低かった。

(English)

In recent years, a dental implant spread quickly from the reasons of higher survival rate. In order to promote the bonding between bone and implant, various surface modifications are developed. However, analysis of interface between bone and implant has not yet performed enough. When light such as X rays penetrates into metallic objects, the halation of metal would occur. And it would be difficult to diagnose the bone-implant interface. It seems that high-energy light source can reduce that halation.

With synchrotron radiation, it was examined by measuring whether the interfacial structure between bone and implant metal using undecalcified specimens.

With the synchrotron radiation, conventional CT and the diffraction emphasis imaging (DEI) was obtained using the X-rays of 30Kev. The specimens were observed with the resolution that the pixel size of the CCD camera was 7.4 micrometers.

The disorder of the picture by metal halation around implant was not observed, and the good CT and DEI images were observed. However, a picture of 10 micrometers or less was ambiguous due to the limit of the resolution of CCD camera. The image obtained by DEI describes an implant bone interface acceptably. The structure, which has not observed in the specimens that were stained with toluidine blue, has checked by the DEI image. The image by DEI has described the detailed morphology, which has similarity to histological findings. CT reconstruction images showed detailed bone small morphology. Although the histology and DEI image was almost similar images, but the difference was found in the detailed part.

From the results, the further usefulness should be studied with increasing samples. The diffraction emphasis imaging and CT with synchrotron radiation is promising technique for observation of interface between implant and bone, however, there is a limitation of CCD camera and it turned out that image resolution is lower than an optical microscope.

2. 背景と目的

インプラント周囲骨の評価は主に組織学的、生体力学的、画像診断学的に行われている。インプラントと骨の界面が主な関心領域ではあるものの、上記の方法それぞれに一長一短がある。今回シンクロトロン放射光を利用して、インプラント周囲の骨組織を画像診断学的に観察した。回折強調イメージング法(Diffraction Enhanced Imaging: DEI)は、位相イメージング法と呼ばれるエックス線撮像法の一つで、近年注目を集め開発が進められている。DEIでは試料透過後の像をアナライザー結晶を用いて分析することで、屈折によるコントラストを結像し、位相シフトを可視化する。明瞭な像を得ることが困難な高分子材料や生体資料を可視化する。この研究は、シンクロトロン放射光を利用し通常のCT撮影とDEIによる方法を用いて骨組織やインプラント-骨界面の解析の有用性を検討することである。

3. 実験内容(試料、実験方法、解析方法の説明)

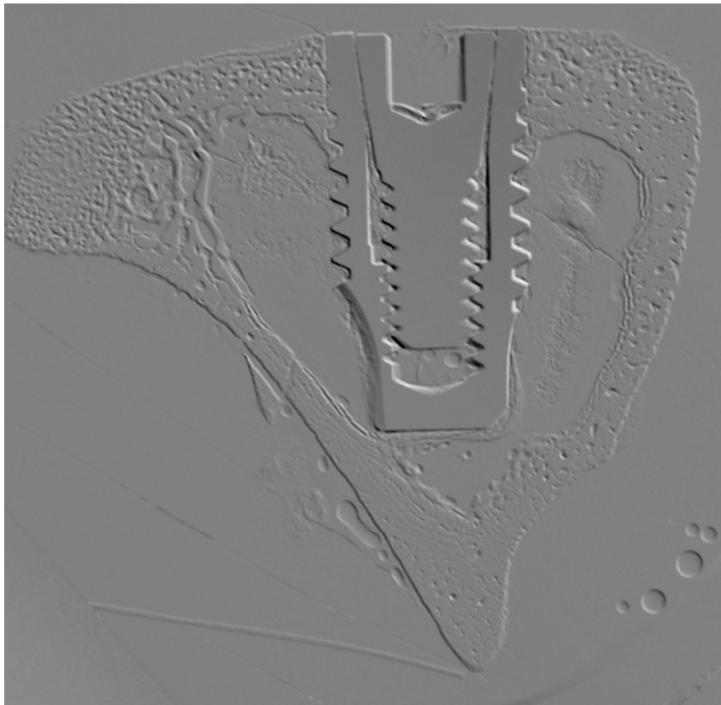
ウサギ脛骨にインプラント(3.5×10 mm)を埋入、3週間後に安楽死させた。通法に従ってレジン包埋し、約30 μmの厚さに非脱灰研磨標本を作製、トルイジンブルーにて染色した。同様にインプラントのない骨組織のみの標本も用意した。得られた標本を九州シンクロトロン光研究センターにおいて超電導ウィグラーを光源に用いた高エネルギーエックス線ビームライン(BL07)にて、30KeVのエックス線を利用し撮像した。CCD

カメラのピクセルサイズは $7.4 \mu\text{m}$ であった。



4. 実験結果と考察

インプラントと骨は組織学的に良好に治癒し、インプラント - 骨界面は新生骨にて満たされていた。骨は骨内膜より骨髄方向へ新生していた。一方、DEIにて得られた像はインプラント - 骨界面を良好に描出し、アーチファクトはほとんど認められなかった。骨組織は通常の組織学的所見とは異なった組織像が観察できた。また、骨組織は詳細なCT三次元画像が得られた。



5. 今後の課題

骨組織の画像診断学的評価には通常CTを用いるが、インプラント周囲骨は金属アーチファクトのため評価が困難な場合が多い。マイクロCTを用いた評価も同様の問題がある。一方、組織学的評価では、非脱灰研磨標本が頻用されている。研磨標本は作製に極めて時間とコストがかかり、作製途中のアーチファクトと組織学的所見の判別が難しいことが問題であった。シンクロトロン放射光を用いたDEIによる解析では上記の問題が最小化された。また、DEIの像は物質の密度の変化を撮像できるという特徴がある。このことを勘案すると今回得られた像は組織学的所見では判別のできない、組織の特徴

を描出している可能性がある。今後、サンプル数を増やし更なる有用性を検討する予定である。シンクロトロン光を用いた DEI はインプラント - 骨界面の解析に有用な方法と思われた。

結論として、インプラント-骨界面を観察するのにシンクロトロン放射光を用いた回折強調イメージング像は金属のハレーションが少なく、シャープな画像が得られることがわかった。しかし、CCD カメラの限界もあり、光学顕微鏡よりは画像解像度が低いことがわかった。また骨の微細構造を測定するためにも大変有用であった。また、骨組織のみを CT 撮影したが、極めて良好な三次元画像を得ることができた。今後骨の微細構造を組織学的所見と併せて検討する予定である。

6. 参考文献

- [1] Sarve H, Lindblad J, Borgefors G, Johansson CB, Comput Methods Programs Biomed, 102, 25-34 (2011).
- [2] Sarve H, Friberg B, Borgefors G, Johansson CB, Clin Implant Dent Relat Res. 15, 538-549 (2013).
- [3] Zhu N, Chapman D, Cooper D, Schreyer DJ, Chen X, Tissue Eng Part C Methods. 17, 1071-1080 (2011).

7. 論文発表・特許 (注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果)
現在執筆中。

8. キーワード (注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3)
チタンインプラント、DEI、インプラント - 骨界面、骨

9. 研究成果公開について (注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください(2013年度実施課題は2015年度末が期限となります。)
長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文(査読付)発表の報告 現在執筆中