

フィクスチャー - アバットメント接合部封鎖性に及ぼす水平荷重負荷の影響

安 井 絢 子

明海大学大学院 歯学研究科

歯学専攻

(指導：申 基 喆 教授)

Influence of lateral load application on marginal sealing at
fixture-abutment interfaces

Ayako YASUI

Meikai University Graduate School of Dentistry

(Mentor: Prof. Kitetsu SHIN)

要 旨

インプラント治療後の永続性を担保するうえで、インプラント周囲疾患の予防は重要なファクターとなり得る。しかし、ブラキシズムや外傷性咬合などによりインプラント上部構造に強い側方圧が加わると、フィクスチャー - アバットメント接合部 (fixture - abutment interfaces ; FAI) 封鎖性が低下して細菌侵入が起こり、インプラント周囲疾患の誘因となることが示唆されている。本研究の目的は、インプラントに加わる水平荷重負荷の大きさと FAI 距離の関係、および荷重負荷前後の FAI における細菌漏洩の有無とその程度を明らかにすることである。

被験インプラントには、3 種類の 2 ピースタイプインプラントを使用した。アバットメントに対し、水平荷重を負荷および解除後の FAI 距離を走査電子顕微鏡で計測した。次に、アバットメントスクリューに細菌を付着させ、水平荷重負荷前後のインプラント体を Brain Heart Infusion 液体培地に浸漬させ、FAI からの細菌漏洩度を計測した。

その結果、水平荷重負荷後の FAI 距離は、荷重の大きさに比例して増大した。また、水平荷重を解除すると、すべての群で水平荷重負荷前より FAI 距離が大きくなった。FAI からの細菌漏洩度を計測した結果、荷重負荷後に FAI 距離が増加すると、その距離に比例して細菌漏洩量が増加した。本研究の結果から、インプラントに側方力が加わると、インプラント構造体の FAI での永久変形が生じ、FAI からの

細菌漏洩，および FAI への細菌付着が増加し，インプラント周囲炎発症のリスクが増大する可能性が示唆された。

索引用語：フィクスチャー - アバットメント接合部，水平荷重，細菌漏洩

欄外表題：FAI 封鎖性に及ぼす水平荷重負荷の影響

Abstract

Prevention of peri-implant disease can be an important factor in ensuring the longevity of dental implant therapy. However, when strong lateral force is applied to the superstructure of the implant due to bruxism and traumatic occlusion, the marginal sealing ability of the implant fixture-abutment interfaces (FAI) decreases, bacterial leakage occurs, and suggested that it will occurring peri-implant disease. The purpose of this study is to clarify the relationship between the magnitude of lateral force applied to the abutment and FAI distance, and the presence and extent of bacterial leakage in FAI before and after loading.

Three two-piece type implants were used for the test implants. The lateral force was applied to the abutment and the FAI distance was measured on loading and after release using by scanning electron microscope. Next, bacteria were attached to the abutment screw, and the implant body before and after the horizontal loading was immersed in Brain Heart Infusion medium, and the bacterial leakage from FAI was measured.

As a result, the FAI distance after the lateral loading increased in proportion to the magnitude of the load. Also, when the lateral load was released, the FAI distance became larger in all the groups than before the lateral load application. As a result of measuring bacterial leakage from FAI, bacterial leakage increased in proportion to the distance as FAI distance increased after loading.

From the results of this study, when lateral forces are applied to the implant, permanent

deformation of the implant structure at FAI occurs, bacterial leakage from FAI and bacterial volume to FAI were increased. And it is suggested that the strong lateral force will be a risk factors for developing peri-implantitis.

Key words: fixture-abutment interface, lateral load, bacterial leakage

Running title: Influence of lateral loading on FAI sealing properties

緒 言

口腔インプラント治療は、欠損歯列に対する予知性の高い機能回復法として普及しており、その長期生存率は、多くの報告から約 95 % 以上であることが示されている¹⁻³⁾。その一方で、インプラント治療後に生じる様々な併発症が報告され、なかでもインプラント周囲炎の有病率が高いことが明らかとなってきた⁴⁻⁶⁾。インプラント周囲炎は、インプラント周囲組織における支持骨の喪失を伴う炎症反応と定義されており⁷⁾、発症には、プラークコントロール不良⁸⁾、歯周病の既往^{9,10)}、喫煙¹¹⁻¹³⁾、補綴装置の形態不良^{14,15)}、インプラント周囲組織の解剖学的形態不良¹⁶⁻¹⁸⁾、咬合過重¹⁹⁾、余剰セメントの残存^{20,21)}、糖尿病などの全身疾患²²⁻²⁴⁾、遺伝子多型^{25,26)}など、様々なリスク因子が関与している。その中でも、インプラント周囲炎発症の直接的原因はプラーク中の細菌である^{27,28)}。しかし、その発症機序や治療法は未だ不明な点があり、現時点ではインプラント周囲炎治療の第一の目的は、感染制御と、それによる疾患の進行停止であると言われている²⁹⁾。

一方、歯周病患者へのインプラント治療では、インプラントを埋入するための十分な骨の幅や高径が得られない場合が多く、インプラント埋入時に骨増大術の併用が必要となることが報告されている³⁰⁾。そのため歯周病患者においては、骨移植や、軟組織の移植が可能となる 2 ピースタイプインプラントが多く使用されている³¹⁾。しかし、この 2 ピースタイプインプラントには、インプラント体とアバットメ

ントの接合部である，フィクスチャー - アバットメント接合部 (fixture - abutment interface ; FAI) が存在し，FAI のマイクロギャップ部に細菌が侵入する可能性がある」と指摘されている^{32,33)}。また，FAI への細菌の侵入と，インプラント周囲の常在菌により，インプラント周囲組織に炎症が惹起されること³⁴⁾や，細菌の増殖に必要な栄養素，および細菌産生物を含む液体は FAI を通過し，悪臭やインプラント周囲炎の原因となることが報告されている³⁵⁾。これらのことから，FAI の封鎖性とインプラント周囲炎との間に関連性があることが示唆されており，インプラント周囲炎を予防するうえで，FAI における細菌数を最小にすることが重要となる³⁶⁾。さらに，インプラントへの荷重負荷と FAI 封鎖性に関する基礎的研究では，インプラント上部構造に荷重負荷が加わることで FAI 封鎖性が低下したことが報告されている³⁷⁾。また，細菌を用いた FAI 封鎖性の基礎的研究では，インプラントに対して荷重を負荷した場合には，荷重を負荷しない場合と比較して，FAI に細菌の侵入が著明であったことが報告されている^{38,39)}。その一方で荷重を負荷せず，インプラントを細菌浮遊液に浸漬させた結果，FAI への細菌侵入を認めなかったとの報告もある³⁶⁾。

インプラントへの荷重に関しては，Mericske-Stern ら⁴⁰⁾ はインプラントオーバーデンチャーにおける咀嚼時のインプラントにかかる側方荷重は，最大で 120 N であると報告している。臨床においても，アバットメントスクリューの緩みや破折，フィクスチャーの変形や破損などが認められており⁴¹⁻⁴³⁾，なかでも単独インプラント修復ではアバットメントスクリューの緩みが多く認められたと報告されている

44). さらに、ブラキシズムや咬合干渉などの外傷性因子が加わることで、インプラント体の破折が発生しやすいことも報告されている⁴⁵⁾. このような観点から、口腔内に装着されたインプラントには、大きな力が負荷されていることが考えられ、その結果として FAI 距離の増加および、細菌の侵入が生じやすくなると推察される.

しかし、FAI への細菌侵入の実態は明らかではなく、荷重の大きさと FAI 距離の増加程度、および FAI への細菌侵入程度の関連性を明らかにしている報告はない. そこで、本研究では、インプラントに対する水平荷重負荷が、FAI 封鎖性の低下と、FAI への細菌の侵入、および細菌漏洩に及ぼす影響について評価した.

材料と方法

1. インプラントフィクスチャーおよびアバットメント

本研究で評価したインプラントの一覧を Table 1に示す. すなわち, フィクスチャーが, Aadva(Ti-6Al-4V), アバットメントが, Ready Abutment Hexed Regular / Wide (Ti-6Al-4V)(GC, 東京) の組み合わせをA群, フィクスチャーが, Aadva 特注品 (Ti Grade 4), アバットメントが, Ready Abutment Hexed Regular / Wide (Ti-6Al-4V)(GC, 東京) の組み合わせをB群, さらに, フィクスチャーがOsseoSpeed TX (Ti Grade 4), アバットメントが, Ti Design 3.5 / 4.0 (Ti Grade 4) (DENTSPLY implants, Mannheim, Germany) の組み合わせをC群とした.

また, アバットメントスクリューの材質は, 全て Ti-6Al-4V であった. スクリュードライバーを含む本研究に用いたこれらすべての器具は, 滅菌したものを使用した. 滅菌は 55°C, 0.11 MPa 下にてエチレンオキサイドガス滅菌を 270 分間行った後, エアレーションを 10 時間行った.

2. 水平荷重用ネジ締結トルク値と水平荷重負荷量の測定

水平荷重用ネジ (Ti-6Al-4V) を, トルクドライバーを用いてフィクスチャーに締結した時のアバットメントへの水平荷重の大きさを, 圧力センサー (LSM-100K-B, ミネベア, 東京) で測定した. 固定した圧力センサーに対し, カノン空転式トルクドライバー (N1.5LTDK-H, 中村精機, 東京) を用いて水平荷重用ネジを一定トルク値で締結

した際のスクリー先端にかかる荷重負荷を計測した (Fig 1). 水平荷重用ネジに 1～9 N・cmのトルクを負荷した際、アバットメントが実際に受ける荷重量を校正值として求め、その結果 (Fig 2) に基づき、アバットメントに対し 23, 56, 114, 168, および 224 N を水平荷重量とした.

3. アバットメントへの側方荷重負荷方法

A～C群 (各群 n=4) のインプラントフィクスチャーを、ステンレス鋼 (SUS303) 製の固定用スクリーを用い、一定のトルク値 (10 N・cm) でステンレス鋼 (SUS304) 製の治具に固定した. アバットメントを装着後、各種インプラントドライバーおよびトルクレンチ (GC, 東京) を用いて、推奨のトルク値 (20 N・cm) で、アバットメントとフィクスチャーをアバットメントスクリーで固定した (Fig 3a). その後、水平荷重用ネジをフィクスチャープラットフォームから 7.5 mm 上方にあて、カノン空転式トルクドライバーにて23, 56, 114, 168, および 224 N の水平荷重を 10 分間負荷した (Fig 3b).

4. 水平荷重負荷および荷重解除後の FAI 距離の測定

走査電子顕微鏡, 以下 SEM (SU-70, HITACHI, 東京) にて FAI の距離を測定した. 測定倍率は 3500 倍とした. 測定部位は、あらかじめ治具に 5° 間隔で設定した基準点をもとに、水平荷重を負荷した位置から 10° 離れた位置で測定した (Fig 4). FAI の測定は、まずアバットメントに荷重を負荷しない状態 (0 N) で測定し、その後、23, 56, 114, 168, および 224 N の水平荷重を負荷した際に測定を行った. さらに、水平

荷重解除後，1 時間静置し FAI 距離の測定を行った．

5. 水平荷重負荷によるフィクスチャープラットフォーム部の永久変形量の測定

水平荷重負荷に伴うインプラント体変形の有無を確認する目的で，荷重負荷前後のインプラント体内径【X 軸 (水平荷重に対して平行な軸)，Y 軸 (水平荷重に対して垂直な軸)】を非接触段差測定器 (DH-B, ユニオン光学，東京) で 3 回計測を行い，その平均値を永久変形量とした (Fig 5)．

6. 水平荷重負荷前後における FAI 細菌漏洩の比較検討

(1) 標準菌液の作製

細菌漏洩程度を計測する目的で，*Streptococcus mutans* ATCC 25175 株 (*S. mutans*) を使用した．*S. mutans* は，37 mg / ml の Brain Heart Infusion 液体培地 (BHI ; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) を用いて，37℃，好気条件下にて培養した．分光光度計 (Multiskan JX, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を用いて，波長 630 nm，吸光度が 0.1 となるまで培養したものを標準菌液⁴⁶⁾ とし，これをアバットメントスクリー先端に付着させた．

(2) 細菌漏洩の測定方法

A, B, および C 群 (各種 n=4) のアバットメントスクリー先端に前述の標準菌液 1 μ l をマイクロピペット (Eppendorf ; 1~10 μ l) を用いて付着させた後，フィクスチャーとアバットメントを連結した．アバットメントに 224 N の水平荷重を負荷し，37℃，好気条件下にて 1 時間静置した．その後，水平荷重負荷を解除し，37℃，好

気条件下にて 1 時間静置後、インプラントを治具から外し、200 μ l の BHI 液体培地が入った 1.7 ml マイクロチューブ (BM機器, 東京) に浸漬させた。BHI 液体培地は、液体培地の液面が、フィクスチャープラットフォームとアバットメント頂部の間となるよう液量を設定した。インプラントを浸漬させた後、37 $^{\circ}$ C, 好気条件下にて培養し、12, 24, および 48 時間毎に、各種インプラント間における FAI からの細菌漏洩の程度を、培養液中に増殖した細菌数を以下に述べる3種の方法で測定し、評価した。

(3) 分光光度計による濁度の測定 (Fig 6a)

インプラントを浸漬し一定時間培養した培養菌液に、新たに 60 μ l の BHI 液体培地を入れ、10 回ピペッティングを行った。その後培養菌液 50 μ l を採取し、96 well ティッシュカルチャープレート (Falcon, 353072, Becton Dickinson) に入れ、波長 630 nmにて濁度を測定することで細菌数を比較した。

(4) 細菌カウンタによる細菌数の測定 (Fig 6b)

分光光度計で計測した培養液 50 μ l を、付属の蒸留水 5 ml で希釈後、細菌カウンタ (DU-AA01, Panasonic, 東京) で、直接細菌数を測定した。本機器の細菌数の測定限界は、 1×10^5 CFU/ml であるため、計測限界以下の値は、すべて 1×10^5 CFU/ml とした。

(5) 培養法による細菌数の測定 (Fig 6c)

1.5% のsucrose (和光純薬工業, 東京) を含む、0.9% Mitis Salivarius 寒天培地 (MS; Becton Dickinson) を 100 \times 20 mm のプラスチックシャーレ (Falcon, Becton Dickinson)

に 20 ml ずつ入れ作製した MS 寒天培地に，限外希釈した細菌浮遊液をサンプルごとに 2 枚ずつ播種し 37°C，好気条件下にて 48 時間培養後，1 プレートあたりの colony forming unit (CFU) を測定した．コロニー数測定にあたり，培養菌液を BHI 液体培地で 1,000 倍に希釈後，50 μ l の希釈液を播種した．

7. 統計学的分析

水平荷重負荷後の平均 FAI 距離における 3 群間比較およびFAIからの細菌漏洩程度の各群間比較は，Kruskal-Wallis 順位検定を行い，さらに有意差を認めた場合，Bonferroni検定にて多重比較を行った．荷重負荷前後のインプラント体内径の変形量は，Wilcoxon順位和検定を用いた．FAI からの細菌漏洩程度の計測における 2 群間内比較は，Mann-Whitney検定を用いて行った．また，統計分析には，統計ソフト IBM SPSS statistics 23 (日本アイ・ビー・エム，東京) を使用した．統計学的判定は， p 値が 0.05 未満の場合に有意差ありとした．

結 果

1. 水平荷重負荷による FAI 距離の測定

アバットメントへ水平荷重を負荷した際の FAI 距離の変化を SEM で測定した (Fig 7). その結果, 荷重負荷前においても全ての群で FAI に間隙 ($0.23\ \mu\text{m}\sim 1.35\ \mu\text{m}$) が認められた. また, 全ての群において $114\ \text{N}$ 以上の水平荷重を負荷すると FAI 距離が大きく変化し, $224\ \text{N}$ の荷重を負荷した際に, FAI 距離が最大となった. $224\ \text{N}$ の荷重を負荷した際には, C 群が $30.50 \pm 3.55\ \mu\text{m}$ で最大となり, A 群が平均 $16.00 \pm 7.96\ \mu\text{m}$ で最少となった. $224\ \text{N}$ の水平荷重解除後の FAI 距離は, B 群が $6.79 \pm 1.27\ \mu\text{m}$ で最大, A 群が $1.20 \pm 0.85\ \mu\text{m}$ で最少となり, すべての群で水平荷重負荷前より, FAI 距離が増加していた (Fig 8).

2. 水平荷重負荷によるフィクスチャープラットフォーム部の永久変形量の測定

水平荷重負荷による, フィクスチャープラットフォーム部の変形の有無を確認する目的で, 荷重負荷前後のインプラント体内径 X 軸 (水平荷重に対して平行な軸), Y 軸 (水平荷重に対して垂直な軸) を測定したところ, すべての群において, 水平荷重負荷前と比較し, X 軸で内径が増加した. すなわち, 水平荷重負荷後, A 群においては, X 軸が $8 \pm 7\ \mu\text{m}$, Y 軸では, $-8 \pm 1\ \mu\text{m}$. B 群においては, X 軸が $19 \pm 6\ \mu\text{m}$, Y 軸では, $-2 \pm 4\ \mu\text{m}$. C 群においては, X 軸が $11 \pm 6\ \mu\text{m}$, Y 軸では, $1 \pm 4\ \mu\text{m}$ であった. また B, および C 群の X 軸でのみ, 各群の負荷前と

比較し、有意に X 軸が増加した ($p < 0.05$) (Table 2).

3. 水平荷重負荷前後における FAI 細菌漏洩の比較検討

1) 分光光度計による濁度の測定

A, B, および C 群において荷重負荷前後の細菌漏洩度を、培養液の濁度を計測し比較した。分光光度計による濁度の経時的変化を Fig 9 に示す。B 群においては 48 時間、C 群においては 24 および 48 時間において有意に濁度が上昇した ($p < 0.05$)。荷重負荷前および負荷後の濁度の比較を、群間別にしたグラフを Fig 10 に示す。すべての群で、12時間以降から濁度の上昇が認められた。荷重負荷前では 24, および 48 時間で、荷重負荷後では 12, 24, 48 時間で有意に濁度が上昇し ($p < 0.05$)、B 群で最も濁度が上昇した。荷重負荷前では、24 時間以降から有意な濁度の上昇が認められ ($p < 0.05$)、荷重負荷後では、12 時間以降から有意に濁度が上昇した ($p < 0.05$)。

2) 細菌カウンタによる細菌数の測定

細菌カウンタによる、荷重負荷前および負荷後の、培養液中細菌数の経時的変化を Fig 11 に示す。B, および C 群においては、24, 48 時間で、有意に細菌数の増加を認められた ($p < 0.05$)。荷重負荷前および負荷後の、培養液中細菌数を、群間で比較したグラフを Fig 12 に示す。すべての群で、12 時間以降から細菌数に変化が認められた。荷重負荷前では、B 群は A 群、および C 群に対して、負荷後では B 群、および C 群は A 群に対して、24, 48 時間で、有意に細菌数の増加を認められた ($p <$

0.05). 荷重負荷前では 12 時間以降 B 群において細菌数の増加を認めたのに対し荷重負荷後では, B 群, および C 群で細菌数の増加を認めた.

3) 培養法による細菌数の測定

MS 寒天培地に培養液を塗抹し, 一定時間培養後, 得られた CFU のグラフを Fig 13 に示す. すべての群において, 負荷前と比較し, 負荷後 48時間で有意に CFU が増加した ($p < 0.05$). 荷重負荷前および負荷後の CFU について, 群間で比較したグラフを Fig 14 に示す. 荷重負荷前では, B 群は A 群, および C 群に対して, 負荷後では B 群, および C 群は A 群に対して, 24, 48 時間で, 有意に細菌数の増加を認めた ($p < 0.05$). すべての群で, 24 時間以降から CFU に変化が認められた ($p < 0.05$). 荷重負荷前後共に 12 時間以降では, B 群において細菌数が多く認められた. また, B 群において最も多く細菌数を認めた.

考 察

インプラント治療が普及する一方で、治療後に起こる併発症の 1 つであるインプラント周囲炎が、比較的高率で発症している実態が近年数多く報告され⁴⁷⁻⁴⁹⁾、その疾患の原因と治療法について着目されるようになってきた。インプラント周囲炎発症には、様々なリスク因子が関与していることが明らかになりつつあるが、その中でも直接的原因はプラーク中の細菌である^{28,29)}。またその他の多くのリスク因子の 1 つとして現在、臨床で多用されている 2 ピースタイプインプラントの FAI における細菌の付着・侵入がインプラント周囲炎発症に関与しているのか注目され、検討されつつある^{50,51)}。

FAI 封鎖性とインプラント周囲炎の関連性に関する基礎的研究では、Jansen ら⁵²⁾ が13種のインプラントを対象に FAI 封鎖性を確認したところ、すべてのインプラントの FAI 距離は10 μm 以下であったにもかかわらず細菌の漏洩を認めたと報告している。同様に、Passos⁵³⁾らも非荷重下において研究対象のすべてのインプラントで FAI における細菌侵入を認めたと報告している。

また、Tallarico ら⁵⁴⁾ は、1 年以上機能したインプラントを対象に調査したところ、インプラント周囲炎を発症している症例の FAI において有意に歯周病原菌が多く検出されたとしている。さらにCanullo ら⁵⁵⁾ は、埋入後 5 年以上経過した患者のインプラント FAI を調査した結果、同部への細菌の侵入を認め、これがインプラン

ト周囲に炎症を引き起こすと報告している。インプラントへの荷重負荷の影響を調べた基礎的研究では、インプラントに対して荷重を負荷した場合には、荷重を負荷しない場合と比べて、FAI に細菌の侵入を多く認めたという報告がある⁵⁶⁻⁵⁸⁾。しかし、インプラントが非荷重の場合において、FAI 距離と FAI への細菌侵入に、関連性は認められないという報告⁵⁹⁾もある。これらの知見から、FAI 封鎖性の低下および FAI への細菌侵入は、インプラント周囲炎発症の原因となる可能性が高いと考えられるが、FAI 距離と細菌侵入の関連性については未だ統一した見解が得られていないことから本研究を行った。

FAI 距離と細菌漏洩度の研究の対象として本研究では、すべてコニカルコネクションを採用したインプラントを用いた。2 ピースタイプインプラントの接合様式には、一般的にエクスターナルコネクション、インターナルコネクション、テーパコネクションなどがある⁶⁰⁾。本研究で使用したコニカルコネクションは、テーパコネクションに分類され、アバットメントに荷重が負荷された場合、エクスターナルコネクションと比較して、アバットメントスクリューが緩みにくく、臨床において長期に安定した接合様式であると報告されている⁵⁵⁾。また、コニカルコネクションのインプラントでは、FAI に細菌の付着を認めなかったとの報告⁶¹⁾や、FAI への細菌の付着を評価した際に、エクスターナルコネクション、インターナルコネクションと比較してコニカルコネクションの細菌付着が少なかったと報告⁶²⁾されていることから、近年 2 ピースタイプインプラントにコニカルコネクションの接合様式

が比較的多く採用されており、この接合様式を本研究の対象とした。

口腔内で機能しているインプラントに加わる荷重の大きさについては、すでに様々な研究がなされている。歯やインプラントに加わる臨床的荷重についての研究は、Zipprich ら⁶³⁾ が、臼歯部の咬合力は 150~880 N の範囲であり、側方荷重は生理的・臨床的に 25~200 N であるという報告をしている。また、Mericske-Stern ら⁴⁰⁾ は、無歯顎インプラント患者が、インプラントオーバーデンチャーを使用し、咀嚼時のインプラントにかかる側方荷重は最大で 120 N であるとしているが、ブラキシズム発生時のインプラントに加わる側方荷重については言及していない。このブラキシズムを有する患者の側方荷重については、生理的な力の6 倍程度になることをGoddard ら⁶⁴⁾ は報告している。以上の知見から、本研究において、224 N の水平荷重で FAI に永久変形を生じたことから、ブラキシズムなどの過大な側方力が働いた場合には、さらに大きな永久変形や破折が起こりうることが考えられる。このことを示唆する研究として、アバットメントスクリューの緩み、および破折、フィクスチャーの変形および破折が認められている⁴²⁻⁴⁴⁾。なかでもJemt ら⁴⁴⁾ は、単独インプラントではアバットメントスクリューの緩みが多く認められ、3 年間でインプラントの 45 % において、少なくとも 1 回の緩みを生じたと報告している。加えて、Tosun ら⁴⁵⁾ は、ブラキシズムなどの因子が加わることで、インプラント体の破折が発生しやすいことを報告している。このような口腔内におけるさまざまな併発症は、今回本研究で設定した荷重以上の大きな力が実際にインプラントへ負荷さ

れる場合もあることが示唆されるもので、その結果、本研究で得られた以上の FAI の拡大と、それに伴う FAI からのより多くの細菌の侵入・増殖も推察される。インプラント体への咬合荷重負荷によるインプラント周囲炎発症のリスクについては、実験動物を用いた研究モデルにおいて、疾患の重篤化に関与することから発症のリスク因子となることが実証されている⁶⁵⁾。臨床的には、インプラントへの過負荷の影響についての報告は少なく、荷重負荷とインプラント周囲組織破壊の因果関係を証明する論拠はまだない⁶⁶⁾。

インプラントへの荷重と FAI 距離について、Rack ら³⁷⁾ はインプラント軸方向に 対し30° および90° の角度から、30、100、および 200 N の荷重を 5×10^5 cycle 負荷した後の FAI 封鎖性をマイクロCTで観察した。その結果、FAI に0.1~11 μm の間隙を認め、さらに120 N以上の荷重を負荷した際には、FAI における永久変形を認め FAI 距離が増加していたことを報告している。本研究においても、条件は異なるが 114 N 以上の水平荷重で FAI 距離が変化したことは、Rack ら³⁷⁾ の研究結果を支持するものである。本研究では、同一形状で異なる材質の材料である A (Ti-6Al-4V) と B (Ti Grade 4) 間で FAI 距離に差が認められた。各材質の物性は、引張強度が Ti Grade 4は 279~750 MPa に対し、Ti-6Al-4Vは 860 MPa 以上⁶⁷⁾、耐力は、Ti Grade 4 は485 MPa以上に対し、Ti-6Al-4Vは 870 MPa⁶⁸⁾ であり、Ti-6Al-4V は Ti Grade 4 と比較して金属強度が高く、このことが FAI 距離に影響したと考える。

FAI への細菌の侵入程度を左右するその他の因子として、Assenzaら⁶⁹⁾ らはイン

プラントの構造や精度，フィクスチャーとアバットメントを連結する際のトルク値，およびインプラントが口腔内で機能しているときの負荷力など，多くの因子要因が関係することを報告している．FAI への細菌漏洩は，本研究で使用したインプラントの構造や連結トルク値も細菌漏洩に関与していると考えられ，この点についてはさらに詳細な検討が必要である．さらに臨床上，口腔内で長期機能するインプラントにおいて，Commercially pure titanium は Ti-6Al-4V と比較して，酸性環境下では腐食し易く，表面が粗造になり，細菌の付着が有意に多かったと Barão ら⁷⁰⁾ が，報告しており，この点については今後臨床研究が待たれる．

FAI での細菌の漏洩について本研究では，アバットメントスクリー先端に細菌浮遊液を付着しフィクスチャーとアバットメントを連結させ，培養液に浸漬した後，培養液中に漏出した細菌数を定量した．細菌の漏洩は，細菌は臨床的には外部からFAI を介し細菌の漏出が起きているが，この点については，Piattelli ら⁷¹⁾ は，内部および外部からFAIへの細菌侵入を評価し，双方からの細菌侵入を認めたと報告している．この結果から細菌は，口腔内においても，アバットメントスクリーやFAI を通して，内，外部の双方向へ伝播し，インプラント周囲炎を引き起こす可能性がある」と述べている．さらに，Jansen ら⁵²⁾ ，Assenza ら⁶⁹⁾ も，フィクスチャー内部に細菌を付着させ，細菌漏洩程度を評価しているが，細菌漏洩程度の定量化や荷重負荷の大きさについては検討されていない．以上のことから，本研究では細菌の定量評価を行いやすい，フィクスチャー内部に細菌を付着させ，FAI での細菌漏洩

を検討した。細菌漏洩についての本研究結果から、金属強度の高い Ti-6Al-4V と比較し、Ti Grade 4では、側方荷重負荷により大きな変形をきたし、その結果 FAI での細菌漏洩量が増加したと考える。これは、材質が同じ B 群、および C 群の細菌侵入量が A 群と比べて多く、さらに B 群、および C 群では細菌侵入量の差が少ないことから、FAI 距離や細菌侵入量におよぼす因子はインプラントの構造よりも、材質の違いにより FAI 距離の相違が生じていること、また FAI 距離が大きい群では細菌侵入量が増えていることが示唆された。本研究における細菌侵入程度を調べた 3 種の評価系の中で、培養法による CFU 測定結果では他の評価系と比較し、負荷前後の CFU に大きな差が認められなかった。この原因として、塗抹する浮遊細菌中の生菌数の比率が少ないことや、限外希釈・塗抹条件が影響したものと考え、今後さらに検討が必要である。

現在、2 ピースタイプ骨レベルインプラントは、特にインプラント埋入部位における骨量や周囲軟組織形態の不良な症例において有用であり多用されている。しかし、FAI での細菌侵入が口腔内において機能下でインプラント周囲炎発症のリスク因子となりうる結果が得られたことから、今後、より FAI 封鎖性の高い 2 ピースタイプ骨レベルインプラントを研究、開発することで、インプラント周囲炎発症リスクの低い、インプラントシステムが開発されることが望まれる。

結 論

インプラントへの水平荷重の負荷に伴い、FAI 封鎖性は低下し、同部への細菌侵入が増加することが示唆された。また、224 N の水平荷重負荷解除後では、すべてのフィクスチャーに永久変形を認めたことから、コニカルコネクション接合様式を有した 2 ピースタイプ骨レベルインプラントにおいて、水平荷重は FAI 封鎖性を低下し、インプラント周囲炎のリスク因子となりうることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり，本研究にご理解，またご指導賜りました 明海大学大学院歯学研究科高度口腔臨床科学コース再生再建医療系歯周病学 申 基喆 教授に深甚なる謝意を表します．さらに，ご指導，ご校閲を賜りました本学大学院歯学研究科口腔生命科学コース生体材料系歯科材料学 中 篤 裕教授，ならび口腔生命科学コース機能系口腔微生物学 大森 喜弘教授，高度口腔臨床科学コース再生再建医療系補綴学 藤澤 政紀教授に深甚なる謝意を表します．

最後に，御協力いただいた本学歯学部口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野教室員の先生方に，心より感謝申し上げます．

引用文献

- 1) Lambrecht JT, Filippi A, Künzel AR and Schiel HJ: Long-term evaluation of submerged and nonsubmerged ITI solid-screw titanium implants: a 10-year life table analysis of 468 implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18, 826-834, 2003
- 2) Schwartz-Arad D, Kidron N and Dolev E: A long-term study of implants supporting overdentures as a model for implant success. *J Periodontol* 76, 1431-1435, 2005
- 3) Koldslund OC, Scheie AA and Aass AM: Prevalence of peri-implantitis related to severity of the disease with different degrees of bone loss. *J Periodontol* 81, 231-238, 2010
- 4) Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H and Renvert S: Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: presence of peri-implant lesions. *J Clin Periodontol* 33, 290-295, 2006
- 5) Mir-Mari J, Mir-Orfila P, Figueiredo R, Valmaseda-Castellón E and Gay-Escoda C: Prevalence of peri-implant diseases. A cross-sectional study based on a private practice environment. *J Clin Periodontol* 39, 490-494, 2012
- 6) Derks J, Tomasi C: Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol* 42, 158-171, 2015
- 7) Lindhe J, Meyle J: Group D of European Workshop on Periodontology: Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 35, 282-285, 2008

- 8) Lang NP, Bosshardt DD and Lulic M: Do mucositis lesions around implants differ from gingivitis lesions around teeth? *J Clin Periodontol Suppl* 11, 182-187, 2011
- 9) Quirynen M, Papaioannou W and van Steenberghe D: Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *J Periodontol* 67, 986-993, 1996
- 10) Schou S, Holmstrup P, Worthington HV and Esposito M: Outcome of implant therapy in patients with previous tooth loss due to periodontitis. *Clin Oral Implants Res* 2, 104-123, 2006
- 11) Heitz-Mayfield LJ: Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol* 35, 292-304, 2008
- 12) Fransson C, Wennström J and Berglundh T: Clinical characteristics at implants with a history of progressive bone loss. *Clin Oral Implants Res* 19, 142-147, 2008
- 13) Levin L, Hertzberg R, Har-Nes S and Schwartz-Arad D: Long-term marginal bone loss around single dental implants affected by current and past smoking habits. *Implant Dent* 17, 422-429, 2008
- 14) Teughels W, Van Assche N, Sliepen I and Quirynen M: Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res* 2, 68-81, 2006
- 15) Yamane K, Ayukawa Y, Takeshita T, Furuhashi A, Yamashita Y and Koyano K: Bacterial adhesion affinities of various implant abutment materials. *Clin Oral Implants Res* 24, 1310-1315, 2013

- 16) Chung DM, Oh TJ, Shotwell JL, Misch CE and Wang HL: Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. *J Periodontol* 77, 1410-1420, 2006
- 17) Bouri A Jr, Bissada N, Al-Zahrani MS, Faddoul F and Nouneh I: Width of keratinized gingiva and the health status of the supporting tissues around dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 23, 323-326, 2008
- 18) Suárez-López Del Amo F, Lin GH, Monje A, Galindo-Moreno P and Wang HL: Influence of soft tissue thickness on peri-implant marginal bone loss: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 87, 690-699, 2016
- 19) Fu JH, Hsu YT and Wang HL: Identifying occlusal overload and how to deal with it to avoid marginal bone loss around implants. *Eur J Oral Implantol* 5, 91-103, 2012
- 20) Korsch M, Obst U and Walther W: Cement-associated peri-implantitis: a retrospective clinical observational study of fixed implant-supported restorations using a methacrylate cement. *Clin Oral Implants Res* 25, 797-802, 2001
- 21) Wilson TG Jr: The positive relationship between excess cement and peri-implant disease: a prospective clinical endoscopic study. *J Periodontol* 80, 1388-1392, 2009
- 22) Venza I, Visalli M, Cucinotta M, De Grazia G, Teti D and Venza M: Proinflammatory gene expression at chronic periodontitis and peri-implantitis sites in patients with or without type 2 diabetes. *J Periodontol* 81, 99-108, 2010

- 23) Daubert DM, Weinstein BF, Bordin S, Leroux BG and Flemming TF: Prevalence and predictive factors for peri-implant disease and implant failure: a cross-sectional analysis. *J Periodontol* 86, 337-347, 2015
- 24) Monje A, Catena A and Borgnakke WS: Association between diabetes mellitus/hyperglycemia and peri-implant diseases: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 44, 636-648, 2017
- 25) Kadkhodazadeh M, Baghani Z, Ebadian AR, Kaghazchi Z and Amid R: Receptor activator of nuclear factor kappa-B gene polymorphisms in Iranian periodontitis and peri-implantitis patients. *J Periodontal Implant Sci* 44, 141-146, 2014
- 26) Cosyn J, Christiaens V, Koningsveld V, Coucke PJ, De Coster P, De Paepe A and De Bruyn H: An exploratory case-control study on the impact of IL-1 gene polymorphisms on early implant failure. *Clin Implant Dent Relat Res* 18, 234-240, 2016
- 27) Rinke S, Ohl S, Ziebolz D, Lange K and Eickholz P: Prevalence of peri-implant disease in partially edentulous patients: a practice-based cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res* 22, 826-833, 2011
- 28) Jepsen S, Berglundh T, Genco R, Aass AM, Demirel K, Derks J, Figuero E, Giovannoli JL, Goldstein M, Lambert F, Ortiz-Vigon A, Polyzois I, Salvi GE, Schwarz F, Serino G, Tomasi C and Zitzmann NU: Primary prevention of peri-implantitis: managing peri-implant mucositis. *J Clin Periodontol* 42, 152-157, 2015

- 29) Heitz-Mayfield LJ: Diagnosis and management of peri-implant diseases. Aust Dent J. 53, 43-48, 2008
- 30) 難波智美, 葛山賢司, 石井麻紀子, 三上晃一郎, 谷田部一大, 小村尚徳, 大塚秀春, 林丈一朗, 辰巳順一, 申 基喆: 歯周病患者に対する骨接合型インプラントの治療成績に関する臨床的研究. 日歯周誌 51, 141-152, 2009
- 31) Schwarz F, Alcoforado G, Nelson K, Schaer A, Taylor T, Beuer F and Strietzel FP: Camlog Foundation: Impact of implant-abutment connection, positioning of the machined collar/microgap, and platform switching on crestal bone level changes. Camlog Foundation Consensus Report. Clin Oral Implants Res 25, 1301-1303, 2014
- 32) Rimondini L, Marin C, Brunella F and Fini M: Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. J Periodontol 72, 1652-1657, 2001
- 33) Esposito M, Grusovin MG, Chew YS, Coulthard P and Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: 1- versus 2-stage implant placement. Cochrane Database Syst Rev 8, 1-24, 2009
- 34) Brogini N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, Buser D, Mellonig JT and Cochran DL: Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. J Dent Res 82, 232-237, 2003
- 35) Gross M, Abramovich I and Weiss EI: Microleakage at the abutment-implant interface of

- osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14, 94-100, 1999
- 36) Dibart S, Warbington M, Su MF and Skobe Z: In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20, 732-737, 2005
- 37) Rack T, Zabler S, Rack A, Riesemeier H and Nelson K: An in vitro pilot study of abutment stability during loading in new and fatigue-loaded conical dental implants using synchrotron-based radiography. *Int J Oral Maxillofac Implants* 28, 44-50, 2013
- 38) Semper W, Kraft S, Mehrhof J and Nelson K: Impact of abutment rotation and angulation on marginal fit: theoretical considerations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 25, 752-758, 2010
- 39) do Nascimento C, Miani PK, Pedrazzi V, Gonçalves RB, Ribeiro RF, Faria AC, Macedo AP and de Albuquerque RF Jr: Leakage of saliva through the implant-abutment interface: in vitro evaluation of three different implant connections under unloaded and loaded conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants* 27, 551-560, 2012
- 40) Mericske-Stern R, Geering AH, Burgin WB and Graf H: Three-dimensional force measurements on mandibular implants supporting overdentures. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7, 185-194, 1992
- 41) Rangert B, Krogh PH, Langer B and Van Roekel N: Bending overload and implant fracture: a retrospective clinical analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 10, 326-334, 1995

- 42) Balshi TJ: An analysis and management of fractured implants: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11, 660-666, 1996
- 43) Taylor TD: Prosthodontic problems and limitations associated with osseointegration. *J Prosthet Dent* 79, 74-78, 1998
- 44) Jemt T, Petterson P: A 3-year follow-up study on single implant treatment. *J Dent* 21, 203-208, 1993
- 45) Tosun T, Karabuda C and Cuhadaroglu C: Evaluation of sleep bruxism by polysomnographic analysis in patients with dental implant. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18, 286-292, 2003
- 46) 奥田克爾 監修・著, 石原和幸, 加藤哲男 著: 第2版 最新口腔微生物学: 03 細菌の生き方, 4 細菌の増殖, 菌数の算定, 一世出版, 東京, pp24-25, 2009
- 47) Wennström JL, Ekestubbe A, Gröndahl K, Karlsson S and Lindhe J: Oral rehabilitation with implant-supported fixed partial dentures in periodontitis-susceptible subjects. A 5-year prospective study. *J Clin Periodontol* 31, 713-724, 2004
- 48) Koldslund OC, Scheie AA and Aass AM: The association between selected risk indicators and severity of peri-implantitis using mixed model analyses. *J Clin Periodontol* 38, 285-292, 2011
- 49) Cecchinato D, Parpaiola A and Lindhe J: Mucosal inflammation and incidence of crestal bone loss among implant patients: a 10-year study. *Clin Oral Implants Res* 25, 791-796,

2014

- 50) Nayak AG, Fernandes A, Kulkarni R, Ajantha GS, Lekha K and Nadiger R: Efficacy of antibacterial sealing gel and O-ring to prevent microleakage at the implant abutment interface: an in vitro study. *J Oral Implantol* 40, 11-14, 2014
- 51) Peñarrocha-Oltra D, Rossetti PH, Covani U, Galluccio F and Canullo L: Microbial leakage at the implant-abutment connection due to implant insertion maneuvers: Cross-sectional study 5 years postloading in healthy patients. *J Oral Implantol* 41, 292-296, 2015
- 52) Jansen VK, Conrads G and Richter EJ: Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12, 527-540, 1997
- 53) Passos SP, Gressler May L, Faria R, Özcan M and Bottino MA: Implant-abutment gap versus microbial colonization: Clinical significance based on a literature review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 101B, 1321-1328, 2013
- 54) Tallarico M, Canullo L, Caneva M and Özcan M: Microbial colonization at the implant-abutment interface and its possible influence on peri-implantitis: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthodont Res* 61, 233-241, 2017
- 55) Canullo L, Penarrocha-Oltra D, Soldini C, Mazzocco F, Penarrocha M and Covani U: Microbiological assessment of the implant-abutment interface in different connections: cross-sectional study after 5 years of functional loading. *Clin Oral Implants Res* 26, 426-434, 2015

- 56) Koutouzis T, Wallet S, Calderon N and Lundgren T: Bacterial colonization of the implant-abutment interface using an in vitro dynamic loading model. *J Periodontol* 82, 613-618, 2011
- 57) Koutouzis T, Mesia R, Calderon N, Wong F and Wallet S: The effect of dynamic loading on bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: an in vitro study. *J Oral Implantol* 40, 432-437, 2014
- 58) Koutouzis T, Gadalla H and Lundgren T: Bacterial colonization of the implant-abutment interface (IAI) of dental implants with a sloped marginal design: An in vitro study. *Clin Implant Dent Relat Res* 18, 161-167, 2016
- 59) de Oliveira GR, Olate S, Pozzer L, Cavalieri-Pereira L, Rodrigues-Chessa JG and Albergaria-Barbosa JR: Bacterial contamination along implant-abutment interface in external and internal-hex dental implants. *Int J Clin Exp Med* 7, 580-585, 2014
- 60) 赤川安正, 松浦正朗, 矢谷博文, 渡邊文彦: よくわかる口腔インプラント学 第2版. 第3章 診断と治療学, III 治療計画の立案, 6 固定性上部構造の種類とアバットメントの選択, 萩原芳幸 著, 医歯薬出版, 東京, pp114-115, 2011
- 61) Merz BR, Hunenbart S and Belser UC: Mechanics of the implant-abutment connection: an 8-degree taper compared to a butt joint connection. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15, 519-526, 2000
- 62) Silva-Neto JP, Prudente MS, Carneiro Tde A, Nóbilo MA, Penatti MP and Neves FD:

Micro-leakage at the implant-abutment interface with different tightening torques in vitro. J Appl Oral Sci 20, 581-587, 2012

63) Zipprich H, Miatke S, Hmaidouch R and Lauer HC: A new experimental design for bacterial microleakage investigation at the implant-abutment interface: An in vitro study. Int J Oral Maxillofac Implants 31, 37-44, 2016

64) Charles McNeill 監修, Greg Goddard, 和嶋浩一, 井川雅子 著: TMDを知る : 最新顎関節症治療の実際. Chapter 8 病因論 (各論 : パラファンクションと悪習癖), クインテッセンス出版, 東京, pp58, 1997

65) Miyata T, Kobayashi Y, Araki H, Ohto T and Shin K: The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue. part 4: a histologic study in monkeys. Int J Oral Maxillofac Implants 17, 384-390, 2002

66) Naert I, Duyck J and Vandamme K: Occlusal overload and bone/implant loss. Clin Oral Implants Res 23, 95-107, 2012

67) 宮崎隆, 中嶋裕, 河合達志, 小田豊 編: 臨床歯科理工学. 第II編 歯科生体材料データベース, 第12章 歯科生体材料の種類II, 3. 金属, 3) 歯科用金属材料, 久恒邦博, 白石孝信 著, 医歯薬出版, 東京, pp368-369, 2006

68) 青木秀希 著: 歯科インプラントを科学する 理工学的視点から. 第6章 チタンインプラントを科学する, I. チタンの科学, 6. チタンの三大特徴. 7. チタンの化学的性質, 国際アパタイト研究所, 東京, pp200-201, 2012

- 69) Assenza B, Tripodi D, Scarano A, Perrotti V, Piattelli A, Iezzi G and D'Ercole S: Bacterial leakage in implants with different implant-abutment connections: an in vitro study. J Periodontol 83, 491-497, 2012
- 70) Barão VA, Yoon CJ, Mathew MT, Yuan JC, Wu CD and Sukotjo C: Attachment of *Porphyromonas gingivalis* to corroded commercially pure titanium and titanium-aluminum-vanadium alloy. J Periodontol. 85, 1275-1282, 2014
- 71) Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G, Catamo G and Piccolomini R: Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. J Periodontol 72, 1146-1150, 2001

Figure legends

Fig 1 Schematic drawing of measurement set-up for lateral to abutment.

Lateral loading to abutment using torque screw driver was determined by pressure sensor and load cell apparatus.

Fig 2 Correlation between the torque values to abutment and the measured lateral loading value.

Dotted line was obtained by the least square method using values between the torque and lateral loading.

Fig 3 Experimental set-up for fixing the abutment to custom-made jig to yield the lateral loading to abutment.

- a. The abutment was connected to the fixture after fixing to jig.
- b. The lateral loading to abutment was given at the point 7.5mm above the fixture platform.

Fig 4 Measurement points for gap distance at Fixture-Abutment Interface (FAI).

- a. SEM image
- b. Schematic drawing

Fig 5 Measurement points for deformation amounts at fixture platform.

Deformation amounts of fixture before and after lateral loading were determined by

measuring inner diameters of implant body before and after loading following retrieving the abutment. Against the lateral loading, the direction parallel to the loading was defined as X-axis and that perpendicular to the loading was defined as Y-axis in this study.

Fig 6 Experimental procedures for measurements for the bacterial leakage into FAI.

Fig 7 SEM image showing deforming of FAI distances by lateral loading (magnification with $\times 1000$).

The values 0N and 224N represent the forces loaded and “revert” represents images after reverting the lateral loading.

Fig 8 Changes in distance at FAI with lateral loadings.

Compared to group A, significant differences ($p < 0.05$) were found in the loading conditions at 114N, 168N, 224N and Re in groups B and C. The notches on the box plots indicate an ~95% confidence interval of the median calculated as median $\pm 1.58 \times \text{IQR} / \sqrt{n}$, with IQR being the difference between the third and first quartiles. Symbol \times denote mean of each samples. Symbols † and * denote significant differences at $p < 0.05$ analyzed by Mann-Whitney test.

Fig 9 Bacterial counts measured by culture medium absorbance before and after loading.

All of groups A, B and C increased absorbance values (OD) after loading, Significant increase ($p < 0.05$) in OD values were found at 48 hours in group B or 24 and 48 hours in group C. Symbol * denotes significant difference at $p < 0.05$ analyzed by Mann-

Whitney test.

Fig 10 Comparison of the absorbance values of culture media for experimental groups before and after loading.

Increase in the absorbance values were absorbed in all groups at the periods after 12 hours. The absorbance values significantly increase at 24 and 48 hours before loading and at 12, 24 and 48 hours after loading. Note: The largest increases in those values were found in group B. Symbols † and * denote significant difference at $p < 0.05$ analyzed by Kruskal-Wallis or Bonferroni test.

Fig 11 Amounts of bacteria determined by bacterial counter before and after loading.

Groups B and C after loading significantly ($p < 0.05$) increased the bacterial counts at 24 and 48 hours at compared to those before loading. Symbol * denotes significant differences at $p < 0.05$ analyzed by Mann-Whitney test.

Fig 12 Comparison of bacterial counts for experimental groups before and after loadings.

Significant ($p < 0.05$) increases in the bacterial counts Group B before and after loading were observed at 24 and 48 hours than those in Groups A and C. Symbol † and * denotes significant differences at $p < 0.05$ analyzed by Kruskal-Wallis and Bonferroni test.

Fig 13 Bacterial counts determined by CFU measurement before and after loading.

All experimental groups increased CFU values after loading and CFU values after loading at 48 hours were significantly ($p < 0.05$) greater than those before loading.

Symbol * indicates significant differences at $p < 0.05$ analyzed by Mann-Whitney test.

Fig 14 Comparison of bacterial counts determined at CFU measurement for experimental groups before and after loading.

Group B at 48 hours showed significant ($p < 0.05$) greater CFU values than groups A and C. Symbols † and * denote significant differences at $p < 0.05$ analyzed by Kruskal-Wallis or Bonferroni test.

Table 1 The implant fixture, abutment and abutment screw used in this study

Group	Fixture		Abutment		Abutment screw	Insertion torque	Total convergence angle	Depth of connection
	Shape and style	Type of metal	Product	Type of metal				
A	Aadva (GC) ϕ 4.0 x 10 mm	Ti-6Al-4V	Ready Abutment Hexed Regular/Wide ϕ 4.5 mm	Ti-6Al-4V	Ti-6Al-4V	20N · cm	8°	1.2 mm
B	Aadva (GC, experimental) ϕ 4.0 x 10 mm	Ti (Grade IV)	Ready Abutment Hexed Regular/Wide ϕ 4.5 mm	Ti-6Al-4V	Ti-6Al-4V	20N · cm	8°	1.2 mm
C	OsseoSpeed TX (DENTSPLY implants) ϕ 4.0 x 11 mm	Ti (Grade IV)	TiDesign 3.5/4.0 ϕ 4.5 mm	Ti (Grade IV)	Ti-6Al-4V	20N · cm	11°	1.1 mm

Table 2 Changes in the internal diameter of the implant body before and after lateral loading

group	X-axis (μm)			Y-axis (μm)		
	before	after	Δ	before	after	Δ
A	3194 \pm 6	3202 \pm 7	8 \pm 7	3220 \pm 5	3212 \pm 1	-8 \pm 1
B	3182 \pm 2	3201 \pm 6	19 \pm 6*	3212 \pm 6	3210 \pm 6	-2 \pm 4
C	2843 \pm 3	2854 \pm 5	11 \pm 6*	2854 \pm 4	2855 \pm 8	1 \pm 4

Δ : denotes the difference of inner diameter of after and before loading. The values after loading were subtracted by these before loading.

After lateral loading, the abutment was removed and the inner diameter of the implant platform was precisely measured with a depth measuring instrument. The inner diameters in the Groups B and C, were significantly larger on the X axis in the lateral loading direction. N = 4, * $p < 0.05$ (Wilcoxon test)

Fig 1

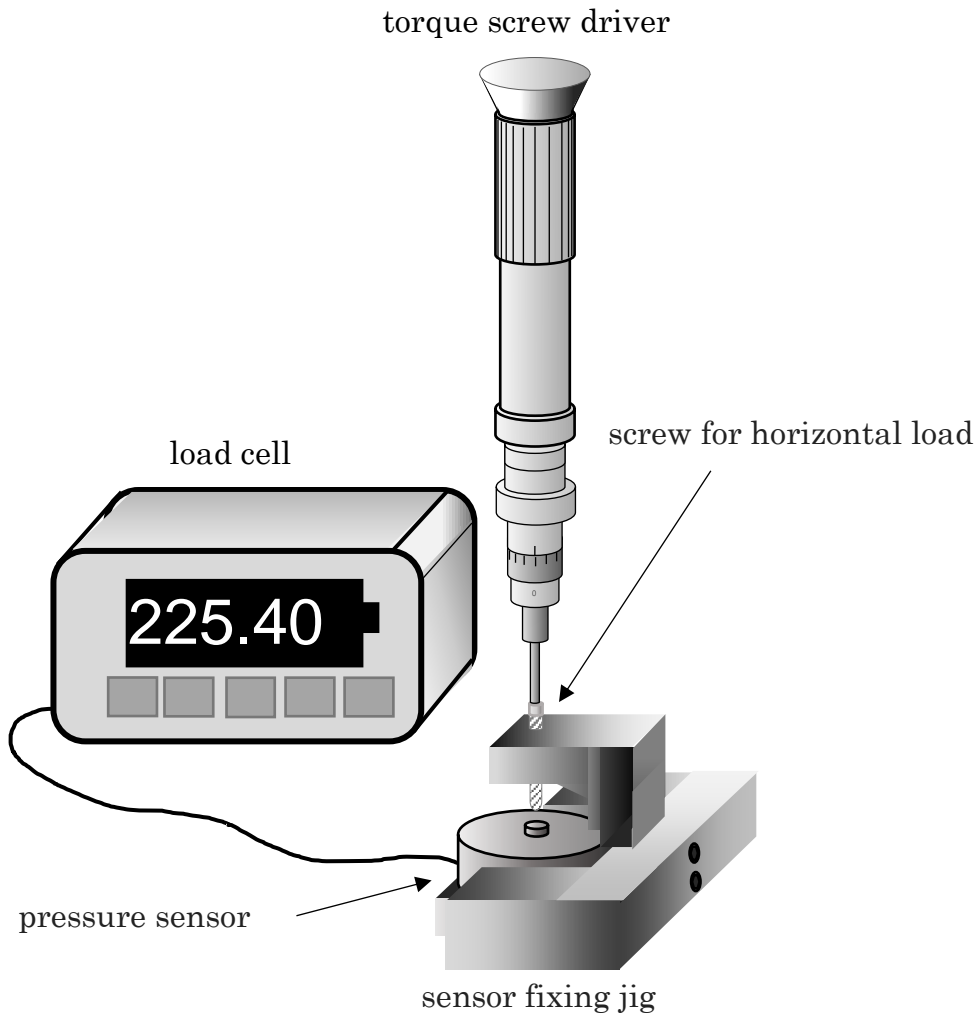


Fig 2

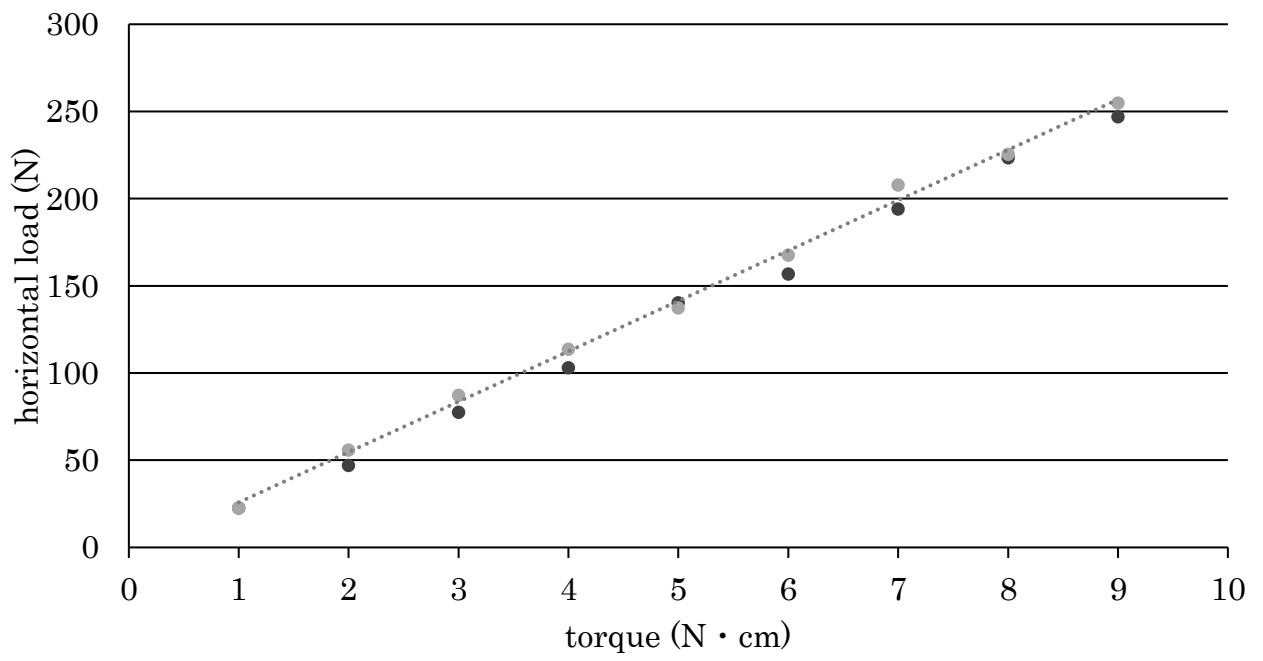


Fig 3

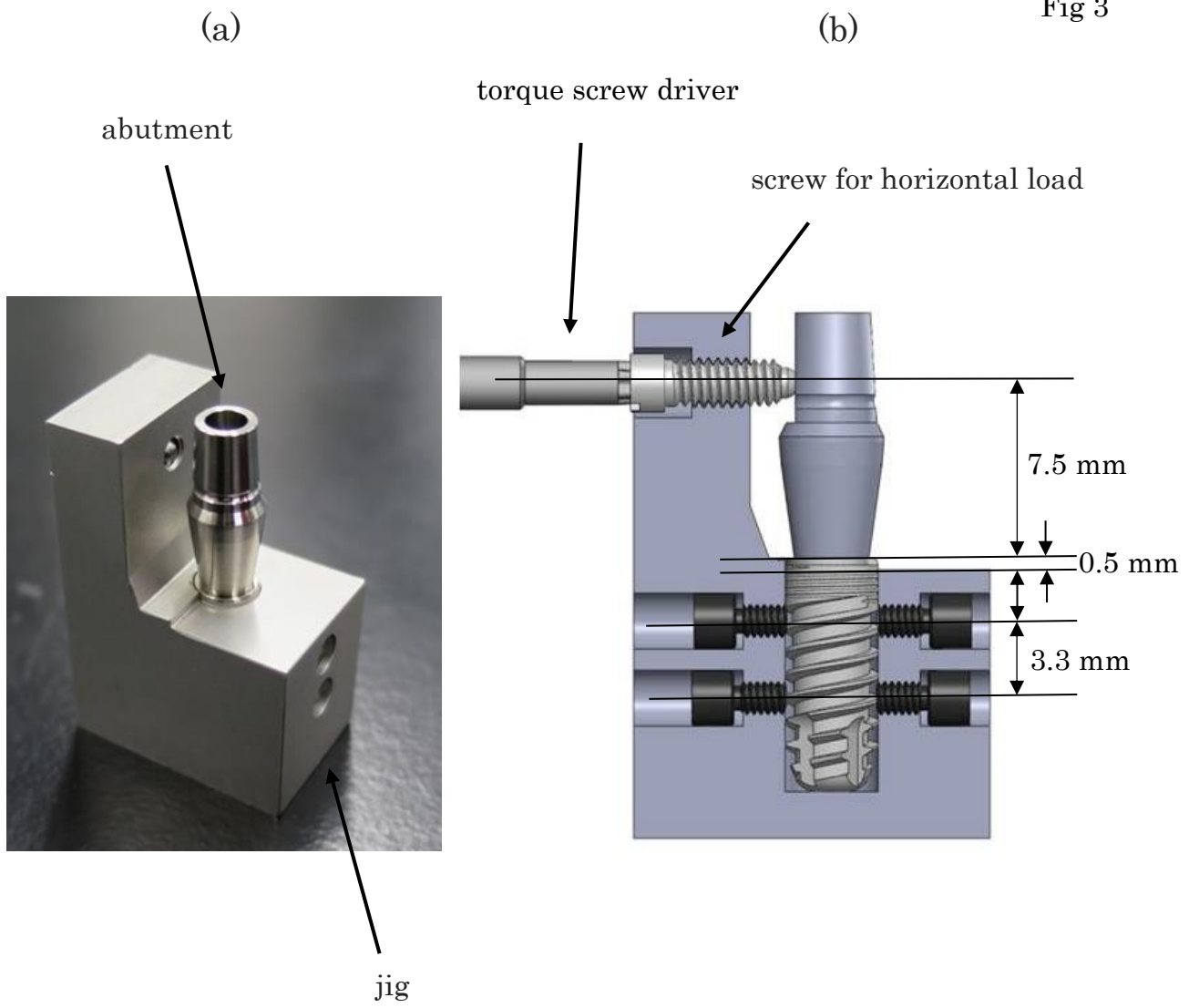
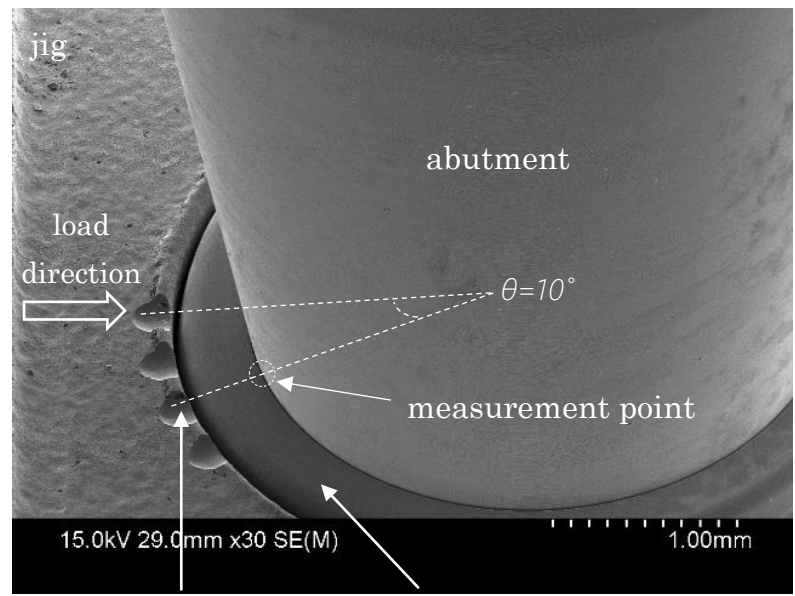


Fig 4

(a)



reference point of measurement fixture

(b)

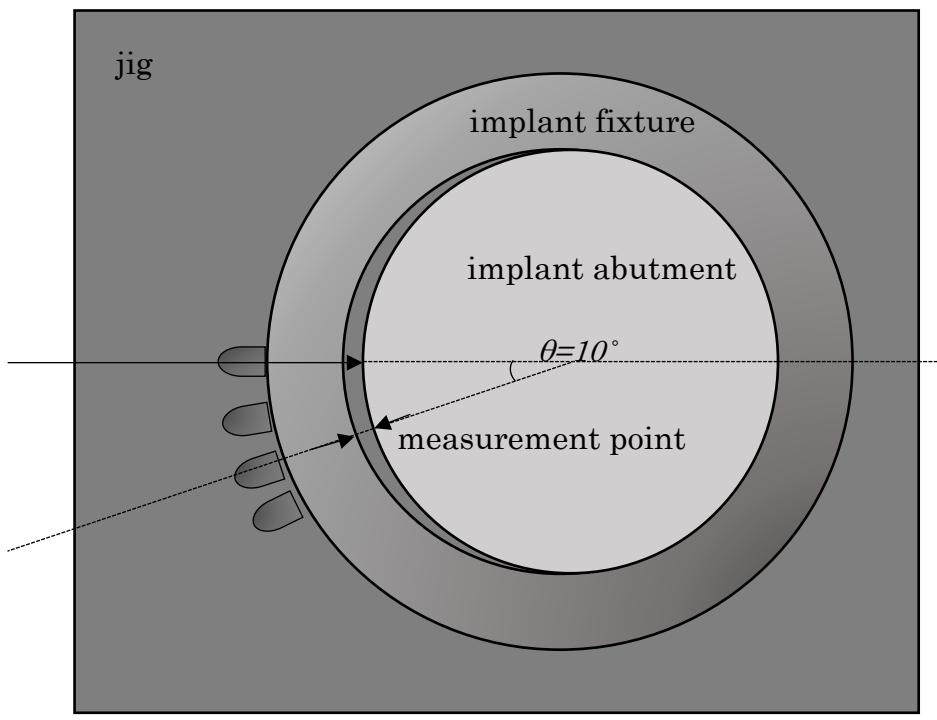


Fig 5

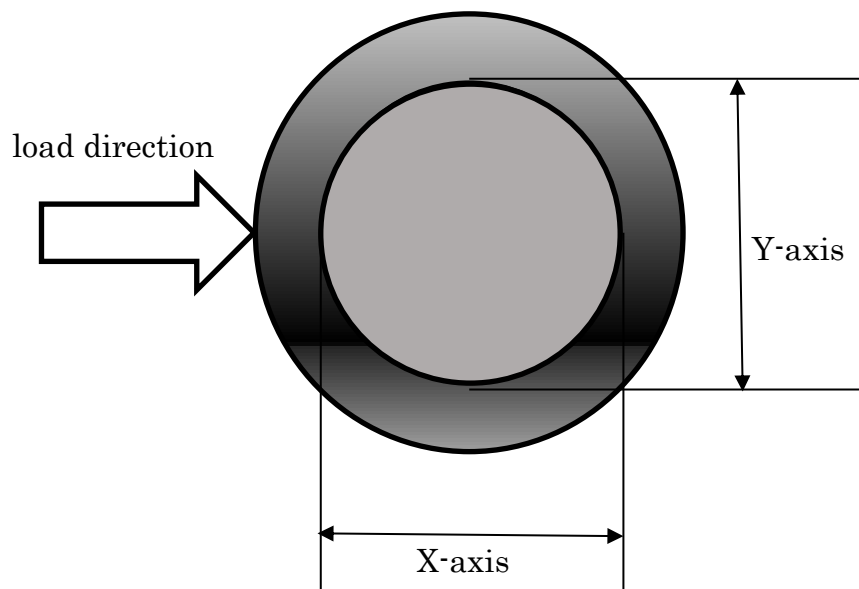


Fig 6

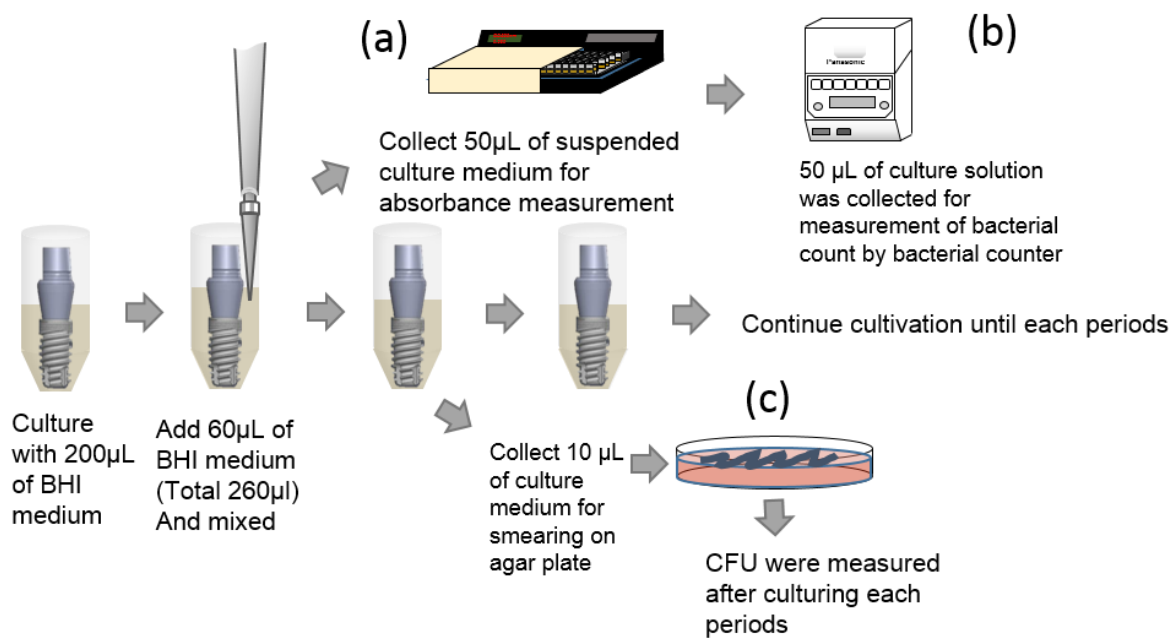


Fig 7

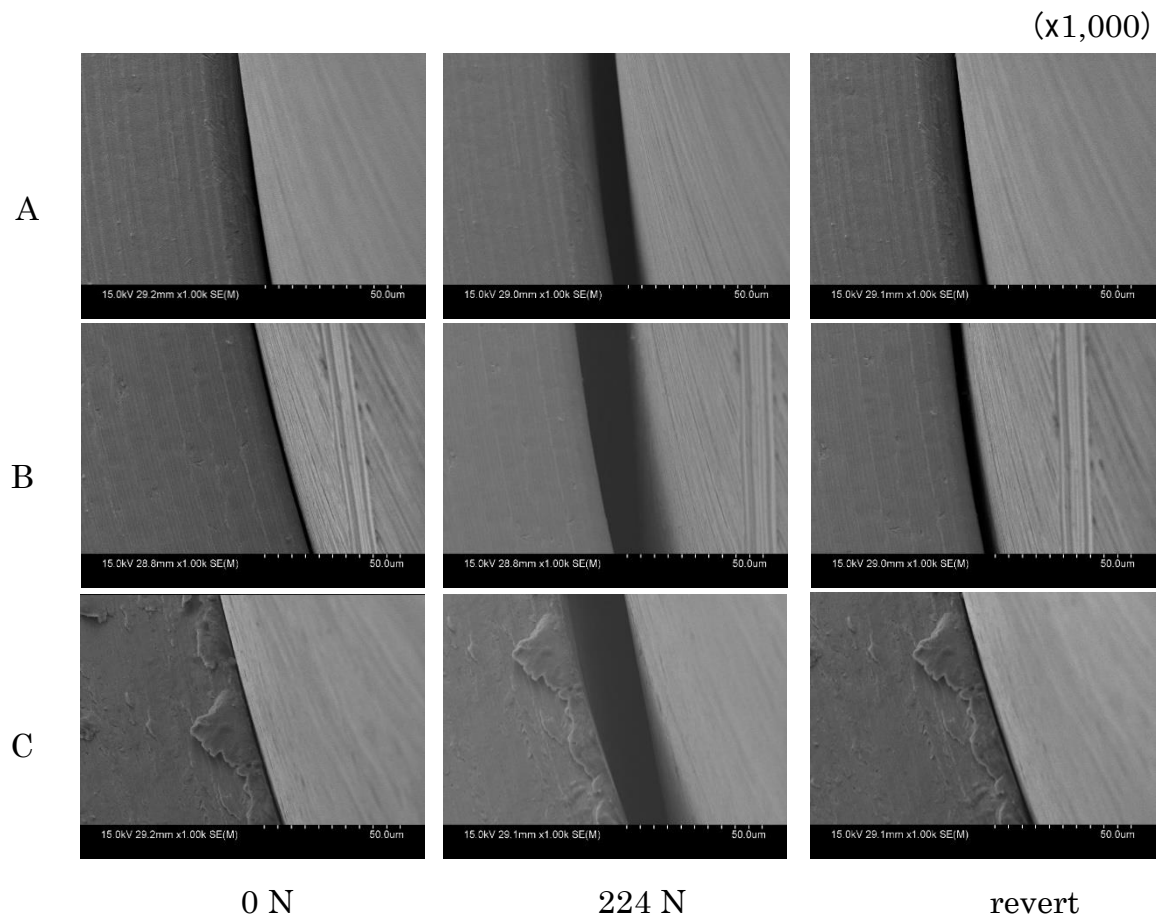


Fig 8

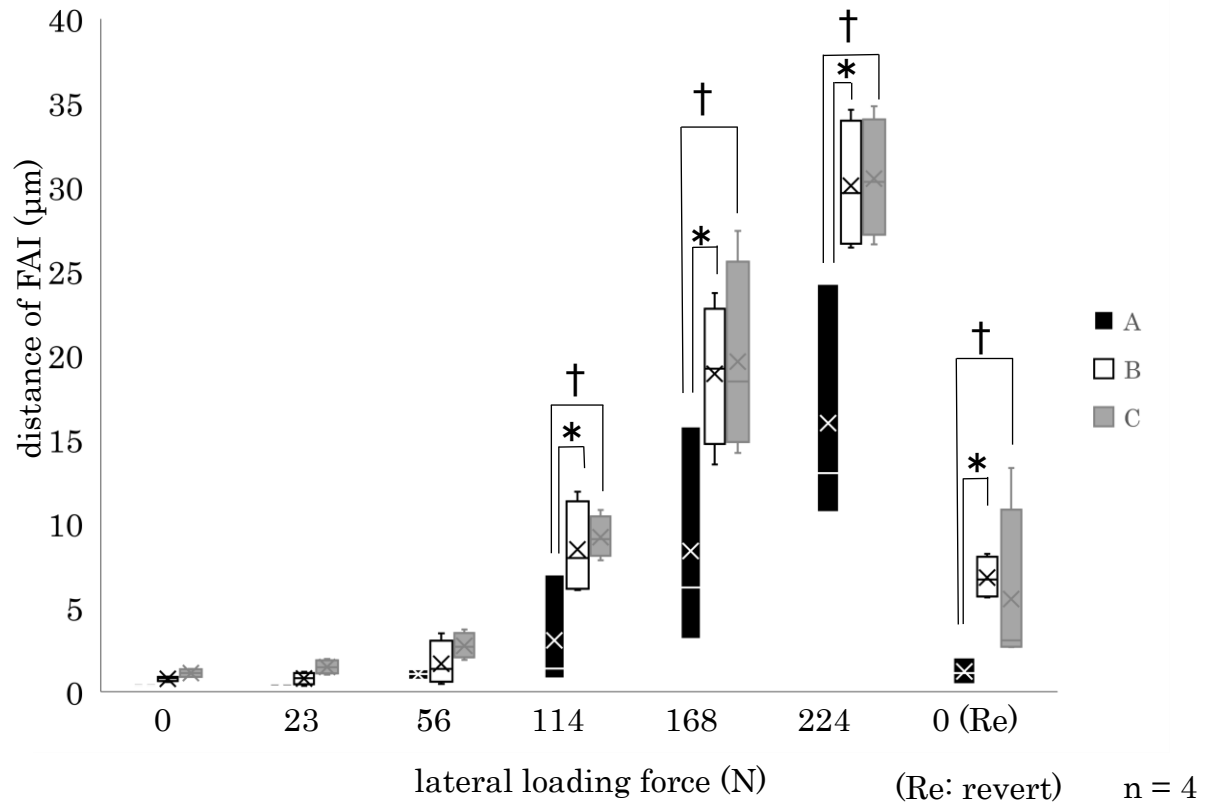


Fig 9

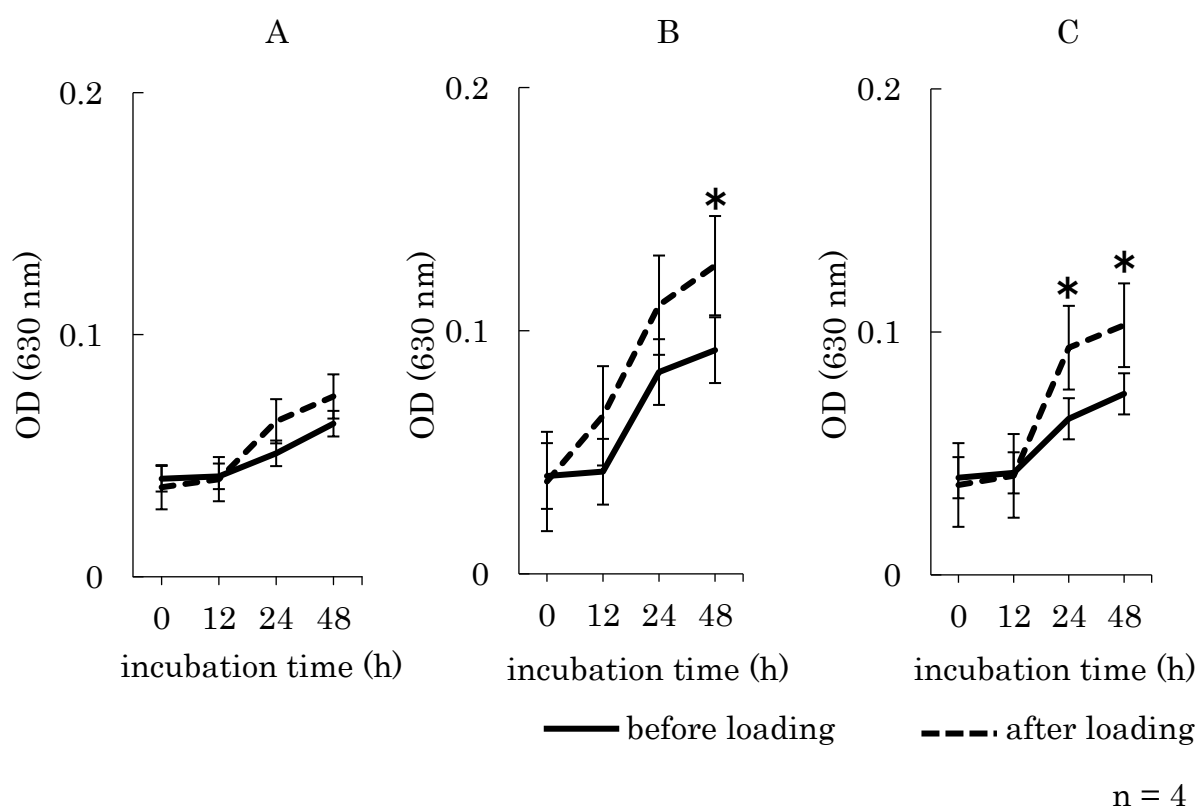


Fig 10

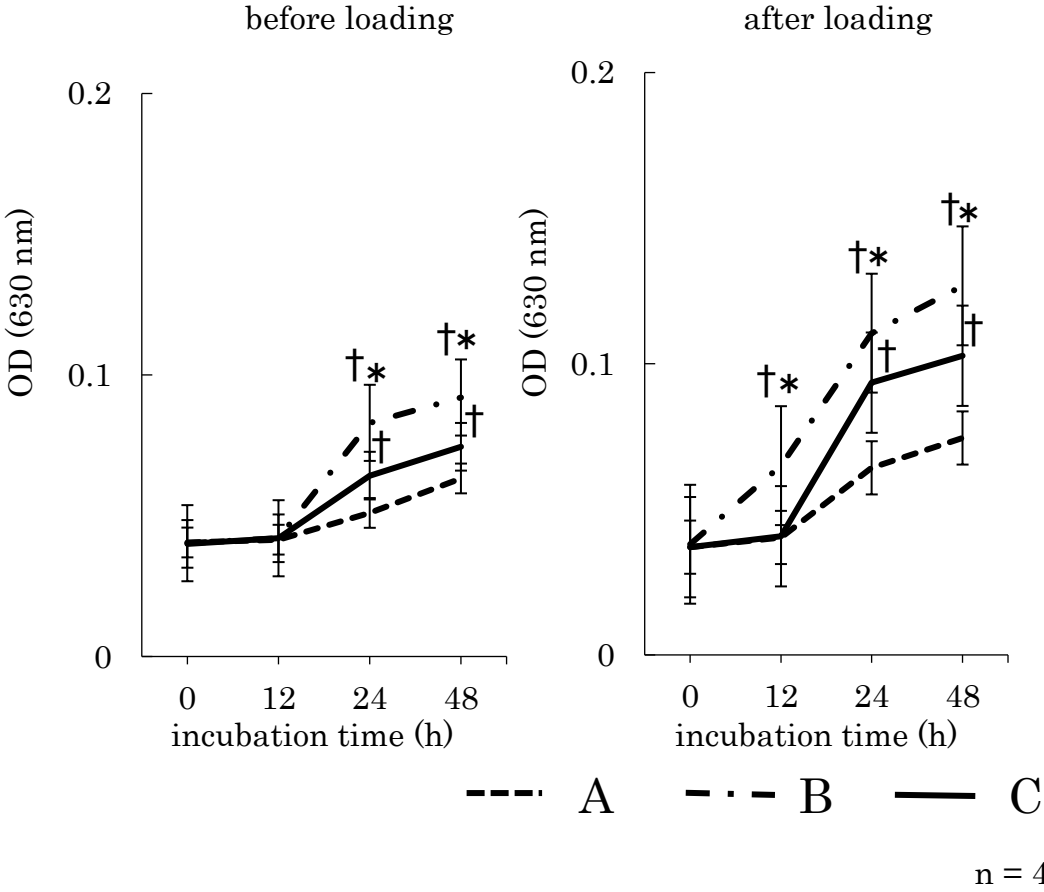


Fig 11

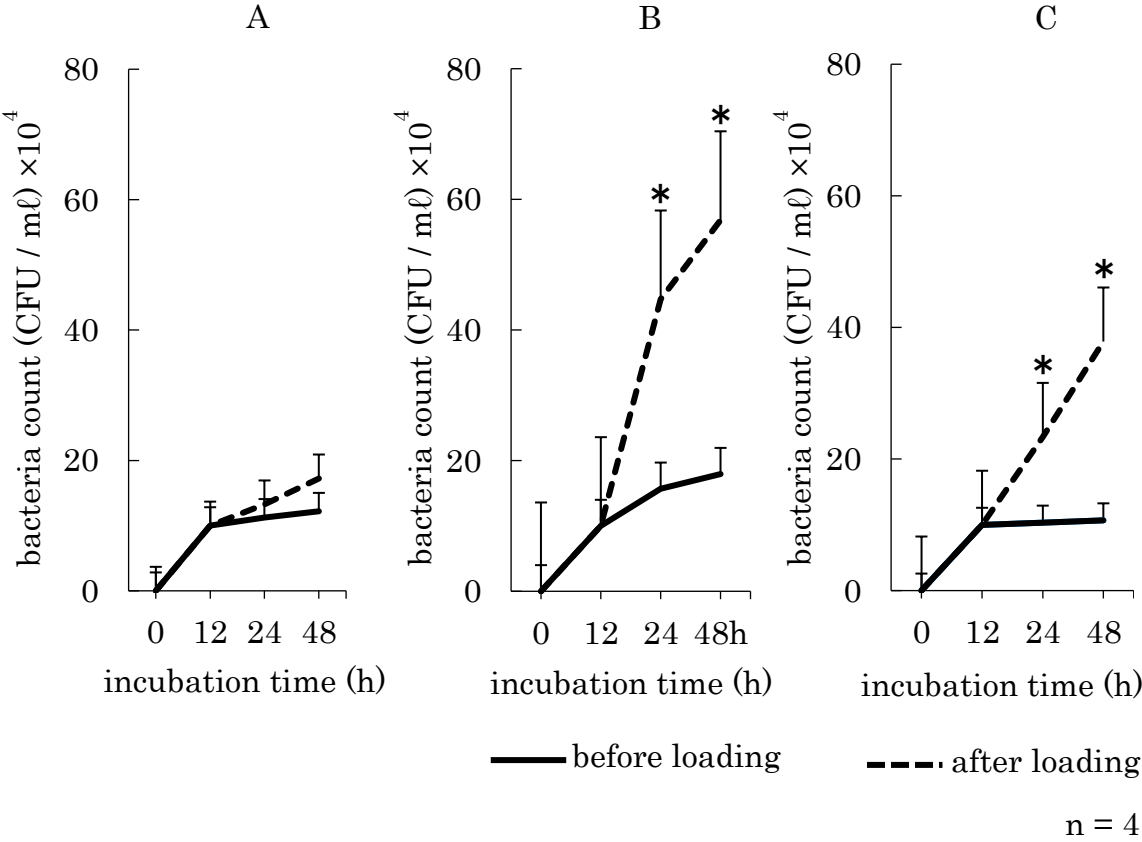


Fig 12

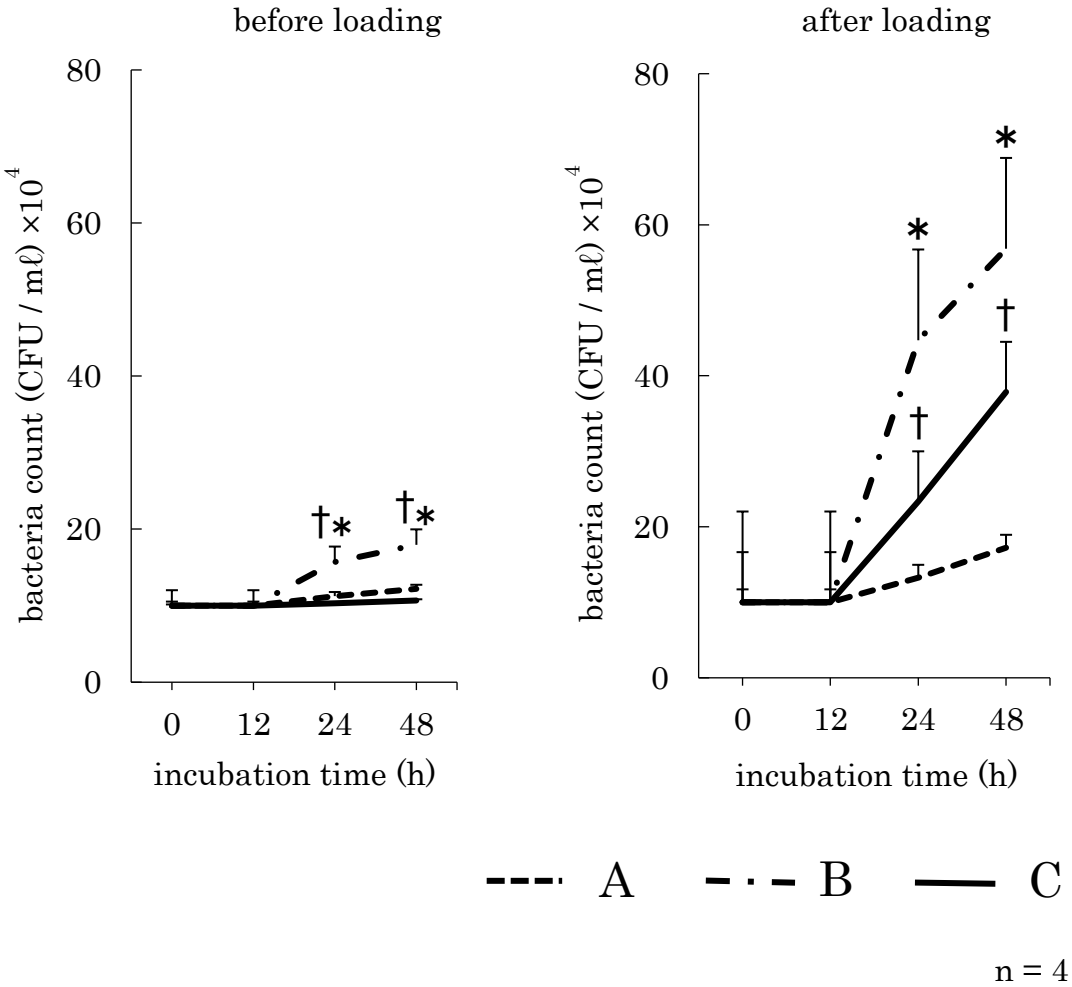


Fig 13

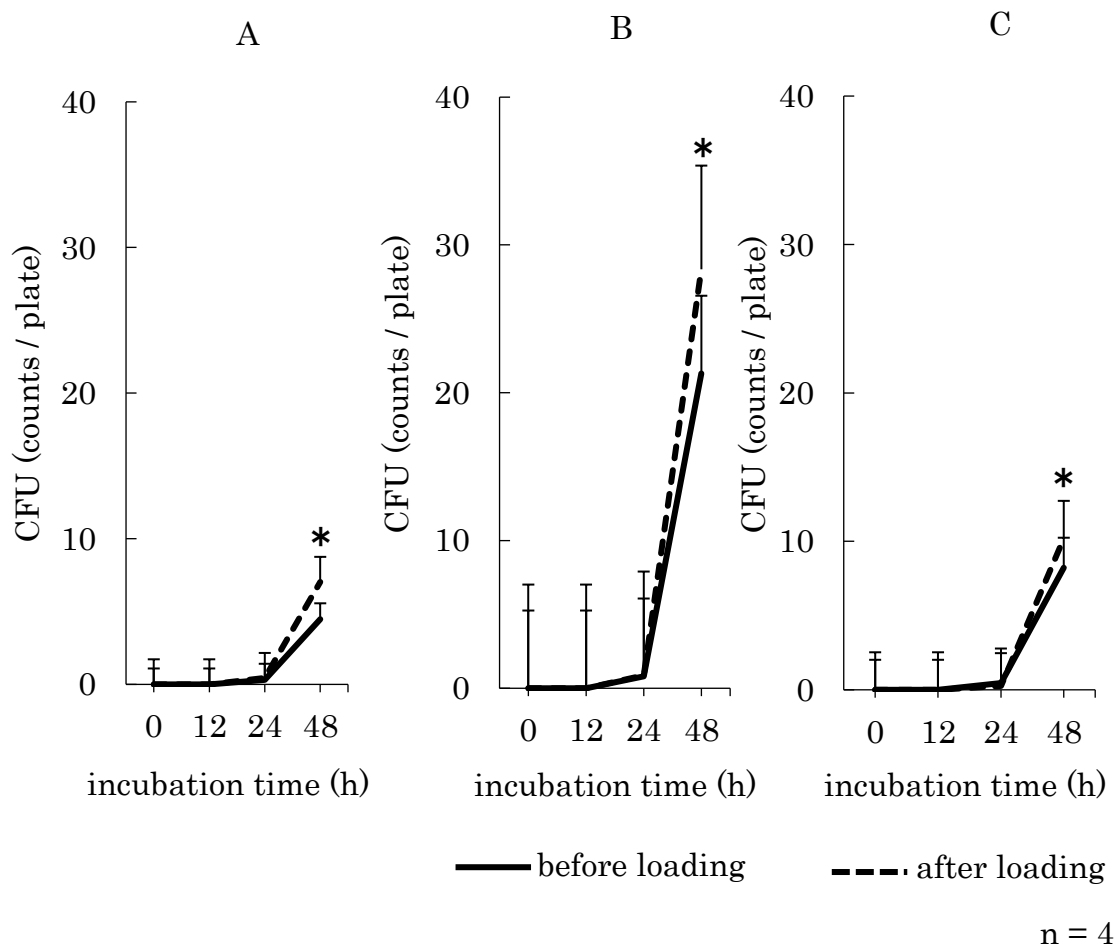


Fig 14

