[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
A61C 8/00
A61K 6/00
A61L 27/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99812118.5

[45] 授权公告日 2005 年 5 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1200654C

[22] 申请日 1999.10.12 [21] 申请号 99812118.5
[30] 优先权
[32] 1998.10.13 [33] FR [31] 98/12831
[86] 国际申请 PCT/FR1999/002462 1999.10.12
[87] 国际公布 WO2000/021456 法 2000.4.20
[85] 进入国家阶段日期 2001.4.13
[71] 专利权人 天然植入物股份有限公司
地址 法国布雷斯特
[72] 发明人 P·古特
审查员 张金芝

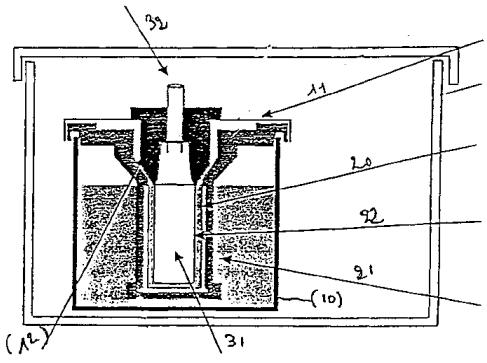
[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 陈文平

权利要求书 3 页 说明书 14 页 附图 2 页

[54] 发明名称 浸于间充质细胞培养物制备牙体植入物的方法和装置

[57] 摘要

本发明涉及一种牙体植入物的制法，其包含：制备由根部及冠部组成、以惰性牲相容性材料构成且形状模仿拔除牙齿的植入物；将该植入物的根部浸在未分化间充质细胞培养物中一段时间，其中培养基的组成允许未分化间充质细胞分化为成牙骨质细胞及成纤维细胞，以及该浸渍时间足以达成该分化，以及足以让成牙骨质细胞粘附于植入物之根部，而形成第一层牙骨质及附接于该牙骨质的牙槽韧带原基；回收在根部固着有分化组织的植入物。



ISSN1008-4274

1. 一种制造牙体植入物的方法,其包含:

制备由根部及冠部组成、以惰性生物相容性材料构成且形状模仿拔除牙齿的植入物;

利用如下装置将该植入物的根部浸在未分化间充质细胞培养物中:该装置包含一培养皿(10),其形状包含一长轴;该培养皿被一盖子(11)密闭,以及包含一多孔壁(20),其划定含有细胞培养基的第一空间(21)及含有培养细胞且在其中浸渍植入物根部的第二空间(22)的界限,该壁的构形为能使植入物根部与壁之间留有0.1至5毫米的间隙而创建人造牙槽,

在上述未分化间充质细胞培养物中保持一段时间,其中培养基的组成允许未分化间充质细胞分化为成牙骨质细胞及成纤维细胞,以及该浸渍时间足以达成该分化,以及足以让成牙骨质细胞粘附于植入物根部,而形成第一层牙骨质及附接于该牙骨质的牙槽韧带原基;

回收在根部固着有分化组织的植入物。

2. 根据权利要求1的方法,其特征为间充质干细胞从结缔组织中移出及在培养皿中预培养至细胞密度为10^5细胞/毫升,然后将其与植入物根部在所述培养基和所述装置中接触。

3. 根据权利要求2的方法,其中细胞分化为成牙骨质细胞及成纤维细胞是通过在培养基中添加生长因子或任何刺激间充质细胞分化为成牙骨质细胞及成纤维细胞的分子而予以刺激。

4. 根据权利要求1的方法,其中通过在培养装置中振摇植入物而给予培养物生理性刺激,该振摇具有刺激细胞及组织在惰性材料上发育的作用。

5. 根据权利要求4的方法,其特征为该振摇为交替运动方式且时间在1至60秒范围内及幅度在0.005至2毫米范围内,或者为旋转运动方式且时间在1至60秒范围内。

6. 一种用于实施权利要求1-5任一项的方法制备牙体植入物(30)的

细胞培养装置，其中该牙体植入物(30)由根部(31)及冠部构成，在该冠部上固定有柄(32)，以使植入物能被操作以及随后被安装于口腔中，该细胞培养装置包含：

一培养皿(10)，其形状包含一长轴；

该培养皿被一盖子(11)密闭，以及包含一多孔壁(20)，其划定含有细胞培养基的第一空间(21)及含有培养细胞且在其中浸渍植入物根部的第二空间(22)的界限，该壁的构形为能使植入物根部与壁之间留有0.1至5毫米的间隙而创建人造牙槽。

7. 根据权利要求6的装置，其中该盖子(11)的中央部分包含固定柄(32)的构件，该柄与植入物整合在一起。

8. 根据权利要求6或7的装置，其还包含一在该人造牙槽中振摇植入物的构件，该振摇为交替运动方式且时间在5至60秒范围内及幅度在0.005至2毫米范围内，或者为旋转运动方式且时间在1至60秒范围内。

9. 根据权利要求8的装置，其中振摇构件为机械性、水力性、气体动力性、电力性或磁性的并赋予柄(32)交替或旋转运动。

10. 根据权利要求8的装置，其中盖子(11)具有足够的挠性，以能允许交替运动。

11. 根据权利要求9的装置，其中该振摇构件由皿(10)的交替或旋转运动提供。

12. 根据权利要求11的装置，其中多孔壁(20)的孔尺寸在0.2至2微米范围内。

13. 根据权利要求12的装置，其中多孔壁(20)被固定于皿(10)高于细胞培养基水平面之处。

14. 一种可通过权利要求1至5中任一项的方法得到的牙体植入物，其由惰性生物相容性材料构成且形状模仿被拔除之牙齿，其中根部(31)的表面包覆有形成牙骨质的成牙骨质细胞及胶原纤维，以及能产生胶原纤维因而可重建牙槽韧带原基的成纤维细胞。

15. 根据权利要求14的植入物，其中在冠部上配置有沟或过线圈，以于植入物被安装在口腔中时固持将植入物保持在牙槽中的缝线。

16. 权利要求15的植入物，其中沟或过线圈可直接安置在固定于植入物冠状残干上的临时牙冠上。

浸于间充质细胞培养物制备牙体植入物的方法和装置

本发明涉及一种整合性牙周植入物，其如同天然的牙齿，包含根部表面的牙骨质及将牙骨质连接于骨性牙槽的韧带。

本发明涉及一种植入物的制法，其包括将植入物与未分化间充质干细胞，在允许成牙骨质细胞及牙槽韧带粘附于植入物根部之培养条件下接触，然后将携带已分化组织细胞的植入物植入。

本发明还涉及一种制备牙体植入物的细胞培养装置。最后，本发明还涉及一种用植入物置换掉落或受损牙齿的方法，其中该植入物通过使用适当细胞培养技术而固着有生物组织和细胞，然后通过骨性牙槽与被植入根部间的牙骨质及韧带而达到口腔愈合。

牙体移植及植入已进行了数十年并已提出各种各样的技术。

目前使用的植入技术包括下列:

a) 骨整合性植入物上的弥补物，其人造钛制根部借骨关节强硬固定。由于缺乏牙槽韧带(其为保护牙齿免于冲击、负载过重及折断危险之重要因子)，咀嚼的力量会毫无减弱地传递至骨头；以及

b) 移植牙齿或其他牙体移植物，其不具上述方法之缺点，但需要拔出供给者现存但通常无功能的牙齿。

在说明本发明之前，必须先回顾有关天然牙齿接合的生理状况。牙齿被固定在牙槽骨中所谓“牙槽”的空腔内。牙根和骨头借由主要以胶原纤维束构成之韧带固定在一起，其中该韧带之一端被固定于骨头而另一端被固定于牙骨质中，牙骨质为一矿物质层，其系由未分化之间充质细胞分化为成牙骨质细胞以及由该成牙骨质细胞产生构成牙骨质之有机及矿物质基质而形成。胶原纤维被垂直插入该牙骨质中以及以与牙骨质之表面平行之方式被纳入而形成纲状结构。

为了能发挥功能及被收纳，理想上人造牙齿的植入必须在解剖上及组织上复制天然牙齿的支持结构，即牙骨质、牙槽韧带及牙槽骨以

及其所有组份：分化或未分化的细胞、胶原纤维及其他纤维(弹性纤维、耐酸纤维、elauin)、基本物质、矿物化组织、血管系统及神经分布。

专利申请EP-A-734712(Kanebo Ltd)描述了一种通过在其表面施加一层牙骨质颗粒而形成植入物的方法。但如此获得得植入物没有与新形成的牙骨质表面垂直插入并为植入物与牙槽腔连结所需要的胶原纤维。

为了刺激被刮的天然牙根上再形成牙槽韧带，Hans等人(与正常根表面去矿物化牙骨质的细胞和纤维连结(Cell and Fiber attachment to demineralized cementum from normal root surfces)，Vol.60，No.4，188-198页)研究了用柠檬酸处理该表面的效果；这些经去矿物化取出的牙骨质纤维或牙本质纤维可通过“绞接”与周围组织的胶原纤维接合。但其中没有“新牙骨质”，而且这些纤维的密度比正常韧带齿的密度低许多。

牙槽骨边缘的成纤维细胞（韧带产生者）成牙骨质细胞及成骨细胞来自未分化间充质干细胞的分化，该未分化的间充质干细胞通常位于环绕血管之结缔组织中。在被拔除牙齿根部之表面上及/或被拔除牙齿之牙槽中或牙齿之韧带中或其他组织(为或不为口腔结缔组织)中均可发现该未分化的间充质干细胞。

本发明系基于证明在某些生物及机械刺激条件下，上述牙根之天然生理环境可自未分化间充质干细胞的培养物重建。

因此在大部分临床状况，本发明能使掉落的牙齿以永久性人造牙齿置换，其中该永久性人造牙齿通过与天然牙齿相同的组织成分(亦即牙骨质、牙槽韧带及牙槽骨）被连结在下颚；以及能使牙龈附着于植入物之颈部。牙骨质、牙槽韧带、牙槽骨及牙龈此四种成分为牙周组织的构成成分，因此能发挥其正常生理角色，亦即减弱咀嚼应力，防止负载过重以及使牙齿之位置及移动性适应其所承受的平均负载。

本发明提供一种牙体植入物的制法，其包含：

·制备由根部及冠部组成、以生物相容性材料构成且形状模仿拔

除牙齿的植入物;

·将该植入物的根部浸在含未分化间充质细胞培养物的培养基中一段时间，其中该培养基的组成允许未分化间充质细胞分化为成牙骨质细胞及成纤维细胞，以及该浸渍时间足以达成该分化及足以让成牙骨质细胞粘附于植入物的根部，而形成第一层牙骨质及附接于该牙骨质的牙槽韧带原基;

·回收在根部固着有分化组织的植入物。

植入物的选择依许多不同标准决定。第一个标准为其形态。此视待置换之牙齿中牙本质(象牙质)的体积而定，亦即总体积小于釉质及牙骨质。期望的形状例如可借与被拔除牙齿比较而得到；然后按照待置换牙齿之确切形状制造。期望的形状还可从放射显影资料或断层显

像密度测量资料等得到。然后将植入物用N/C机器或任何其他方式从选择的材料制成的模中定形。在大多数情况，少数基本形状亦可令人满意；其具有各种长度、直径或锥形，且具有圆形或卵形横切面。

在本发明方法中植入物材料的选择，首先需考虑该材料在口腔中的生物及免疫可接受性，第二要考虑其做为成牙骨质细胞粘附之载体的性能。植入物的材料必须具有生物相容性以及必须具有足够的机械强度以免断裂的危险；该表面亦必须被粗糙化以利细胞粘附，以及最后其颜色必须接近天然牙齿的颜色。已知材料诸如钛、合金或陶瓷(例如氧化锆)可被用做植入物的材料。也可以使用任何来源的天然死亡的牙齿。这种材料被记载在“牙周病学”(Periodontology) 2000 (1998) 17:7－21。

在本发明方法中所用的牙体植入物，除了包含与未分化间充质培养物接触的根部外，尚包含一冠培，其可用树脂、复合物、金属合金或陶瓷合金的冠包住末端。在植入物的冠部中设有沟，当将植入物置入口腔中时，该沟可以稳固将植入物保持在牙槽中的缝线。例如，当植入物从咬合面观察时，一沟可占据一直径以及另外二沟可在与中心及圆周等距点与该直径呈直角相交。不过，如下文实施例3所示，此等沟可在不影响该系统的人机功能学下以不同方式配置。

最后，在本发明方法中使用的植入物可包含一柄，其与牙齿同轴且被固定在其冠部，以利操作及随后在口腔中的再植入。

本发明方法的主要特征之一为于在形状及材料皆系根据上述标准选择的植入物存在下，体外进行细胞培养，而形成粘附于该植入物根部的细胞及组织层。此等细胞及组织天然存在于牙齿根部与牙槽骨之间；因此在口腔中再植入的生理状况与天然状况极为近似。

众所周知成纤维细胞为人体所有结缔组织中居优势的细胞类型，尤其是牙周韧带组织的主要细胞。牙周组织的分化细胞，亦即成牙骨质细胞、成纤维细胞及成骨细胞，源自未分化细胞(即间充质干细胞)的分化。此等间充质干细胞通常在环绕血管的结缔组织中被发现。其可从被拔除牙齿的根部表面(若其未曾被污染)及/或从被拔除牙齿的

牙槽取出，或使用套针从牙齿的韧带取出，或从口颊结缔组织的外植块取出。此等干细胞存在于身体的其他结缔组织中，因此可从其他非口颊部位取出。

被取出的未分化细胞于常规条件下培养，例如在Petri培养皿、Falcon型培养皿或摇瓶中培养。

将被取出的未分化间充质细胞在培养基中培养，该培养基的组成必须能使未分化间充质细胞生长及分化为成纤维细胞和成牙骨质细胞。该培养基为培养动物成纤维细胞的常规培养基，例如S. Pitaru等人在J. Periodont. Res, (1994), 29:81－94中所发表的综述文章所述。举例而言，可以使用补充有胎牛血清的DMEM培养基(经Dulbecco修饰Eagle氏培养基)(Dulbecco & Freeman, 1959:Morton, 1970)。该培养基补充有抗生素及抗真菌剂。该培养细胞通过在培养基中添加成牙骨质细胞及成纤维细胞发育及分化所需的分子或组合物而被生物性刺激。此等分子或组合物可为生长因子。可被提及的例子有PDGF、IGF、来自胚胎釉质器官的蛋白质、bFGF、及其他对于牙周组织有同化作用的分子(例如硝苯地平，维生素C，或者鳄梨、玉米及/或大豆的不可皂化物质)。此等选项不具限制性。

专利申请WO 97/45533(Rutherford)描述了一种通过细胞的离体培养再生各种不同组织的方法，特别是口腔组织和牙组织。特别描述了牙骨质细胞和牙槽韧带细胞的培养，它们可用于牙科手术之需。它还描述了允许组织分化的结构基质的应用。

当细胞密度到达10^5 细胞/毫升时,将细胞移入供浸渍待处理植入物之牙根部的培养装置中。适当的培养装置构成本发明的一部分并在下文中说明。

然后将植入物放置在培养装置中，直至成牙骨质细胞层粘附于其根部，在其形成过程中，生成由牙骨质构成且结缔组织纤维被插在该牙骨质中的第一层，以及含有成纤维细胞及胶原的第二层。

将植入物浸渍在装置的培养基中15至30天后，回收该植入物，并于下文实施例x的流程中所述条件下“植入”口腔的牙槽中。

在本发明的方法中，使未分化间充质细胞发生分化的生物性刺激可借“生理”机械性刺激达成。此于植入物被浸在培养细胞中时，借对植入物施加周期性力而进行。这可以通过对培养装置施加周期性振摇来达成，然后植入物以任何适当方式被固定。应在含浸渍植入物之

培养基之装置中的植入物和人工牙槽之间施以中度运动。振摇可为交错运动，时间在1至60秒范围内，不过该法不限于此范围，振摇幅度在0.005至2毫米范围内；位移可为水平方向，即与植入物的轴正交(呈直角)，亦可为垂直方向，即与植入物的轴同为纵向，或者为此二方向的组合。亦可采用旋转运动。

对于培养基中的植入物施加运动有双重功能，此等功能系由植入物与多孔膜形成的人造牙槽间的相对运动带来。第一项功能为建立培养中细胞的功能性刺激，以增加细胞增殖、分化、合成活性(合成牙骨质及胶原之活性)及形成结构的生理定向。第二项功能，如同培养真核细胞时所推荐的，为振摇细胞；此将使细胞充气较佳以及使培养基及养分在细胞环境中循环而促使细胞发育。

此振摇可用任何能将期间及幅度调整在上文界定的限度内的系统实行。其可为机械、电、水力或气体动力系统，此等选项无限制性。在此方面可以设计不同的实施方案；运动可经由被固定在植入物冠部的柄单独施加于植入物上；其亦可被施加于含有供浸渍植入物根部之细胞培养物的系统上。最后，其亦可被施加于细胞培养物，通过与冠部整合在一起的柄而被固定于支持物的植入物上。该机械振摇所希望的是植入物根部与浸渍该根部的培养基间产生相对运动，且上述期间与幅度条件能满足细胞刺激及细胞振摇两项功能。

本发明还涉及制备牙体植入物的细胞培养装置。

更特定而言，参照图1，本发明提供一种制备牙体植入物(30)的细胞培养装置，其中该牙体植入物(30)由根部(31)及冠部构成，在冠部上固定有柄(32)，以使其能被操作以及随后被安置于口腔中，该装置包括：

· 一培养皿(10)，其形状包含一长轴；

· 该培养皿被一盖子(11)密闭，以及包含一多孔壁(20)，其划定含有细胞培养基的第一空间(21)及含有被培养细胞且植入物根部被浸入其中的第二空间(22)的界限，该壁的构形为能使植入物根部与壁之间留有0.1至5毫米(以1毫米为最理想)的间隙而创建人造牙槽。

该装置包含在该人造牙槽中振摇植入物的构件，用交替运动振摇时，期间在5至60秒范围内，幅度在0.005至2毫米范围内；用旋转运动振摇时，期间在1至60秒范围内。该振摇构件可为以机械、水力或磁力的，以赋予柄交替或旋转运动。

或者，该装置可包含振摇培养皿的构件和保持牙体植入物的构件。

本发明还涉及可借上述方法得到的牙体植入物，其可在植入物的根部表面重建牙周组织的各种构成组织，即牙骨质以及将牙骨质与牙槽骨连接在一起的韧带。该植入物或人造牙齿由惰性生物相容性材料构成，其形状模仿被拔除的牙齿。因此本发明的牙体植入物包含冠部及根部，在其被植入口腔中前，先以未分化细胞包覆，该细胞其后将使牙骨质及韧带的原地形成更为完全。本发明的牙体植入物可确保支持植入物的正常牙周组织系统在2至3个月内被完整地重建。

最后，本发明提供一种借人造植入物置换掉落或受损牙齿的方法，其中该人造植入物通过使用适当细胞培养技术而固着有生物组织，然后通过骨性牙槽与被植入根部间的牙骨质及韧带而达到口腔的愈合。

下述实施例及附图非为限制性，而是被用于示例说明本发明及使专业人员直接实施本发明或实施功能与本发明相当的方法，以制造一种植入物，其根部表面包覆有形成牙骨质的成牙骨质细胞及胶原纤维，以及能产生胶原纤维因而可重建牙槽韧带原基的成纤维细胞。

图1为围绕人工牙根的器官型培养装置的图，带有生物和生理(机械)刺激，以获得牙骨质发生和韧带发生，详见实施例2中所述。

图2a显示稳定保留植入物之缝线的咬合沟的设置:

(1) 显示咬合面图;

(2) 为透视图

图2b为显示从牙龈露出的植入物冠部的图：(A)：近侧缝线尚未经由近中远侧沟连接；(B)：已打结。

实施例1 以体外创建牙周组织为目标的细胞培养方法

1) 细胞的移取

标靶细胞群体为通常位于结缔组织及环绕血管的骨内膜空间中的未分化间充质干细胞。

移取可如下进行:

· 用无菌解剖刀刮取被拔除牙齿根部的未污染表面;

· 从被拔除牙齿且未被污染的牙槽中清理出;

· 通过骨膜或骨膜上组织的活体切除;

· 通过移取其他口腔或非口腔结缔组织。

2) 样品的运送:

组织被置于含DMEM型培养基(经Dulbecco修饰的Eagle氏培养基)的试管中, 该培养基补充有:

· 20%胎牛血清(FCS);

· 链霉素(100000毫克/毫升);

· 两性霉素B(1%);

· 缓冲系统;

于4℃最长期间为24小时。

3) 原始培养物:

· 用解剖刀将活组织切成约1×1×1毫米的碎片;

· 将得到的外植块置于含有下列成分的60毫米培养皿中:

· DMEM;

· 20% FCS;

· 1% 青霉素-链霉素;

· 1%两性霉素B

在含5% CO_2的潮湿空气中, 于37℃培育;

· 3日后, 培养基用不含抗生素的DMEM+10% FCS置换。

4) 继代培养:

当环绕外植块的细胞增殖明显且细胞生长至汇合时, 将细胞用在

磷酸盐缓冲血清中的0.05%胰蛋白酶处理10分钟以使其脱离，然后将其分布在其他培养皿中；

· 培养基相同；

· 3至4代后，所得成纤维细胞的量足以在根部播种。

5) 粘附期：

在添加生长因子的相同培养基中，将细胞置于在人造牙槽中的人造根部周围，只留下1/2至1毫米空间。

根部及其内容物用适当的塞子连接。

将该整体以水平方向放置以促使细胞粘附于根部表面，每15分钟旋转120°。

6) 在装置中刺激培养物：

3小时后，将根部垂直置于培养系统中，且予以生理刺激及更新培养基，该培养基中添加有生长因子。

7) 输送条件：

15天后，用该装置输送供植入的植入物。输送时，将系统保持在37℃或降温至4℃，此视输送时间而定。

将包覆有牙骨质及韧带的植入物从培养装置中移出以及立即将其放置在已准备好的牙槽中，然后缝合。

实施例2－细胞培养装置的制造：

图1代表该装置的主体，括弧中的数字系指该图中不同的元件。

牙体植入物(30)由根部(31)及冠部构成，冠部上的固定柄(32)使得牙体植入物得被振摇及接受随后的处理，以及可将牙体植入物定位在口腔中。该装置包含：

· 一培养皿(10)，其形状包含一长轴；

· 该培养皿被一略可挠曲的盖子(11)密闭，以及含有一多孔壁(20)，其划定在根部(31)的远侧且含有细胞培养基的第一空间(21)以及含有被培养细胞且浸渍植入物根部的第二空间(22)的界限。该划分两空间的壁之构形为能使第二空间(22)的形状及尺寸允许在该壁(20)与植入物(30)根部之间留有0.1至5毫米(以1毫米为最理想)的间

隙而创建人造牙槽。

该培养皿(10)可具有圆形横切面或具有任何其他形状。其横切面必须足以收纳植入物根部，第二空间(22)含有培养中的细胞，第一空间(21)含有其余培养基。培养皿(10)比植入物总高度高出10毫米，即约50毫米高。在其顶部，必须保留空间以允许培养基循环，以及柄必须可通往皿之外部，所以盖子(11)设有可移除的固定环。

皿的盖子(11)必须套叠在皿上以使培养基保持无菌，此例如可使用与培养皿盖相似的盖子而达成。当然本领域技术人员可以设计任何其他将该盖子(11)固定在皿(10)上的构件，只要其能保留该装置之功能特征即可，即可以将根部浸在细胞培养物中，该培养物在植入物的根部(31)外围形成横切面在0.1至5毫米范围内的人造牙槽。

该盖子包含一中央部分(12)，植入物的固定轴(32)可经由固定环插入该中央部分内，当要将植入物置于口腔中时，该固定环必须能让植入物从培养皿中取出，还可在于特殊热调节容器中输送植入物时用于保护植入物免受任何污染并使植入物保持在垂直位置。

本发明的装置还包含振摇植入物的构件，用交替运动振摇时，期间在5至60秒范围内，幅度在0.1至2毫米范围内；用交替旋转运动振摇时，期间在5至60秒范围内。

该振摇有双重功能：一般性功能，振摇细胞培养物以提供适当的充气及使培养基及其中的养分均匀分布于悬浮液中的细胞或粘附于细胞上；第二种功能为建立机械性刺激，以使细胞如期望分化为成牙骨质细胞及产生韧带的成纤维细胞。

该振摇可以以多种方式提供：

· 运动可通过设于柄(32)上的机械、水力或磁性振摇器而施加于植入物。在该例中，皿(10)的盖子(11)在其中央部分必须设有柄(32)的固定构件，以对在皿/盖子整体中的植入物提供自主性运动。关于此,盖子中央部分柄的固定构件或者盖子本身(11)必须有足以实施该运动的挠性。

· 该运动可施于皿/盖子整体，而植入物本身以任何适当构件固

定在支持物上；同样，盖子(11)或将柄固定于皿的构件必须有足以实施该运动的挠性。

培养皿(10)含有两个空间：

· 第一空间(21)含有培养基。该培养基例如可为添加有胎牛血清以及生长及细胞分化所需生长因子或分子的DMEM型培养基；

· 第二空间(22)含有以上述间充质细胞的预培养物接种的细胞培养物。

此两空间用多孔膜或壁或者固持微孔膜的多孔壁分开，且其刚性足以赋予该壁稳定的和所期望的形状。

该壁具有下列孔尺寸及形状特征：

a) 孔尺寸为能使培养基所含的养分及生长因子扩散入第二空间(22)，同时能使细胞局限在所述空间内。因此孔尺寸在0.2至2微米范围内。可以使用能提供该孔尺寸及下文特征b)所需刚性的任何类型材料。其例子有聚碳酸酯、纤维素乙酸酯(Millipore滤膜、Millicell)等。

b) 膜或其安装系统被固定于皿(10)高于培养基水平面之处。其可以例如锥形的形状与皿(10)的边缘接合。另外，其创建一与植入物根部(31)具相似形状的人造牙槽，以致在植入物根部与所述多孔壁之间创建0.1至5毫米宽、优选1毫米宽的空间。

设有安装系统的膜应可从皿的底部脱离，同时与盖子保持整合，而盖子本身与植入物相接。因此当盖子被提高时，可完全进入第一空间(21)，以修改或变换培养基。

包含皿(10)、盖子(11)、壁(20)及植入物(30)的装置整体被放置在37℃且含有95%潮湿空气及5%CO_2的培育器中。

实施例3－植入物结构实例

具有期望形状的植入物，如“牙周病学”2000 (1998)，17:7－21所述，用生物相容性材料制成。

为了随后的植入，在植入物的冠部形成用于稳固缝线的沟，该缝线于植入物被安装在口腔中时可将植入物保持在牙槽中。

或者，沟或过线圈可以直接设置在固定于植入物冠状残干上的临时树脂冠上。

本发明还涉及用临时牙冠固定于口腔的植入物，其中临时牙冠被特别制造以通过沟或过线圈固持缝线。

这些沟宽1毫米及深2毫米。图2a显示其配置的实例。如图2a所示，该配置能让缝线(1)通过。一线被缝入前庭牙龈(2)及被缝入舌面牙龈(3)，以及在两前庭-舌向沟(4)中通过植入物咬合面两次。此可固持植入物以及也可调整牙龈的游离边缘相对于植入物的高度。设简单的缝合点以将在植入物远端的牙龈乳头接合在一起，打结后两线各留有5公分的自由端。在植入物的近中央处进行相同操作，留20公分长的线。然后各近中央线经由通过植入物的近中-远侧沟与各远侧线结在一起。因此植入物借三条缝线缝合。常需要环形颈部缝合以使牙龈边缘更好地靠近植入物的周围，以及当其位于上颌窦水平时防止植入物的嵌入。

实施例4:植入在口中

本发明的牙体质入物于在上述装置中培养约15日后被安装于口腔中。

将本发明之牙体植入物安装于口腔中的规程包含几个阶段并如下文所述：

a) 预先使用灭菌剂和抗生素漱口水清洁口腔：口腔细菌负载量必须被减至最低，以免愈合区被污染。

b) 制备牙槽：理想的状况为在事前约15日拔除待置换的牙齿。然后只需将牙槽小心修刮。部分牙龈愈合可适当地将植入物的颈部“镶嵌”就位，以在该点得到令人满意的伤口密合性以及通过短接合的上皮愈合。上皮细胞不会沿着根部移行。

在其他一些牙槽不预先存在的情况，必须制备牙槽，较佳于移除粘膜-骨膜碎片后提前15日制备。

用直径渐增的钻子缓慢制备牙槽，并用无菌等渗盐水灌洗。该钻子适合标准植入物型形状。一些钻子只沿着其轴运作，其他则能以其

侧面的刀口对牙槽适当“造形”。这总是导致牙槽大于植入物而留下至少1毫米空间，以致骨头不会与植入物直接接触。

在窦部，于将粘膜-骨膜碎片清除及将骨壁穿孔后，将窦粘膜用特殊的剥离装置后推。该制备必须于植入前约15日进行，以使窦粘膜重新生长而无穿孔之虞。

c)将中性及无菌(或减菌)材料的模型作成与植入物完全一样的形状，并包括完整的冠部(标准型或按顾客要求制作以提供理想定位的植入物)，以检查制得的牙槽。

此等模型在其冠部的前庭面中央设有一把手。

第二类型的模型包含冠部之全部体积以及一根部，该根部具有待制备的长度但直径缩小。其于第一次钻孔后使用，以检查牙槽的位置，以及如需要在将牙槽加大时修饰牙槽。

植入物根部可能未被完全收纳在可用的骨体积中。若其在水平或垂直方向高出骨表面，将不会妨碍愈合，甚至可能在未嵌入根部的周围造成骨体积的自然增加(若是未被嵌入骨中的表面保持在粘膜下)。在窦部也会发生相同现象。

d) 将从培养皿中移出且以其柄及固定环支持的植入物立即放置在牙槽中，较佳不与任何东西接触，尤其是器具、压布、口腔粘膜、舌、唾液…。

通过在植入物任一侧的牙龈中且通过在露出冠部上制备的沟的缝线，可将植入物保持就位。该缝线还应确保牙龈与植入物颈部密合。该缝线保留约15日。

未使用其他的支持物，尤其是与其他牙齿呈硬性关系的。

植入物的冠部(在此阶段由于尚未设有临时牙冠，所以被缩小)不得与相对牙齿接触。

e) 临时牙冠：15日后，可用标准的临时牙冠密封植入物。该临时牙冠被调整成仅以中心吻合或最大牙尖吻合的方式咬合接触。该临时牙冠的形状及外观借添加或减除树脂经模制而调整。

检查历时2个月，以监测植入物的发展以及避免任何过度负载。

f) 定位后约3个月，适当的弥补物可被附接在植入物上。可以使用常规技术进行。这些植入物的行为与天然牙齿完全相同。连接植入物与骨的韧带可减少应力、防止过度负载、减少冲击及限制弥补性冠部及植入物本身断裂的危险。

图 1

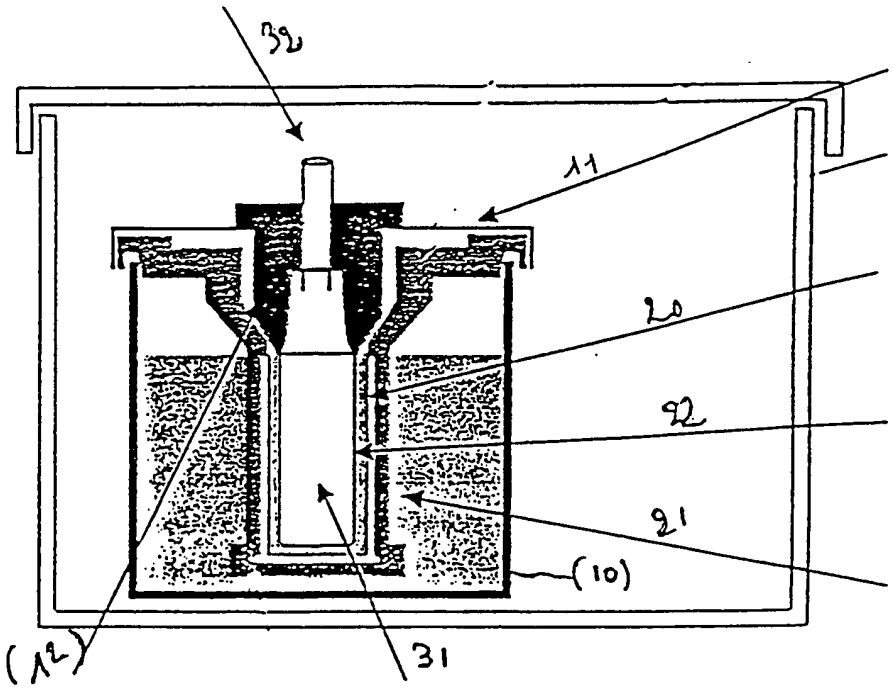


图 2a

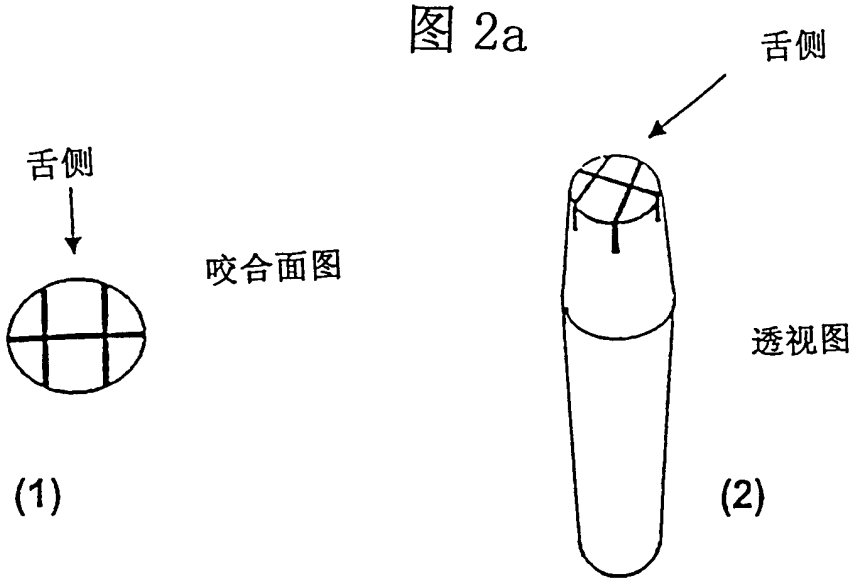


图 2b

