



Title	高周波電流刺激による骨形成への対極とデューティ比の影響
Author(s)	前田, 良子
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第13051号
Issue Date	2018-03-22
DOI	10.14943/doctoral.k13051
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/73128
Type	theses (doctoral)
File Information	Nagako_Maeda.pdf



[Instructions for use](#)

博士論文

高周波電流刺激による骨形成への
対極とデューティ比の影響

平成 30 年 3 月申請

北海道大学

大学院歯学研究科口腔医学専攻

前 田 良 子

抄録

骨形成促進に微弱な電流を利用した研究として、これまでに我々は高周波電流刺激により骨欠損内に多量の骨形成が起こったこと、実効電流値は 95-110mA より 15-30mA が効果的であったこと、能動電極を刺入していない隣接する骨欠損部にも骨形成が生じたことなどを報告した。本研究では、電流が流れる時間の割合であるデューティ比と対極の位置および形態が高周波電流刺激による骨形成に及ぼす影響について検討した。

ウィスターラットの頭蓋骨左右に直径 4.8mm の骨欠損を作製し、高周波電流を 520kHz, 4.7W とし、電極と高周波発生装置の間に 6240 Ω の制限抵抗を介在させて、左側骨欠損にのみ 1 秒間、5 回、骨欠損作製日と術後 4, 7, 11 日目に通電した。その際、#20K ファイルを対極とする F 群と、ワイヤーを内径 6 mm の円形にして左側骨欠損を囲むように設置する W 群に分け、各デューティ比を 10, 30, 70% として F10, F30, F70, W10, W30, W70 群とした。C 群は通電を行わなかった。8 週後に μ CT 画像を撮影し硬組織形成率を算出した。また、C 群, F10, 70 群, W10, 70 群は脱灰薄切標本を作製して H-E 染色し、骨基質形成率と左側骨欠損部の正中側骨断端部から 1 mm 正中側までの範囲で、骨の厚みを計測した。

硬組織形成率は、F10 群右側を除いたすべての F 群と W 群で C 群より有意

($p < 0.05$)に高い値を示した。骨基質形成率は、C群に比較してF10群、F70群左側、W10群左側、W70群では有意($p < 0.05$)に高い値であった。また骨の厚みはW70群がF70群に比べ有意 ($p < 0.05$) に大きかった。

以上より高周波電流刺激によって骨形成は促進されるが、デューティ比や対極に大きく影響を受けないことが明らかとなった。また、対極を骨欠損周囲に設置すると対極直下の母床骨上にも骨形成が生じることが示された。

キーワード：高周波電流，骨形成，デューティ比

本文

緒言

骨形成を促進するために微弱な電流を利用した研究はいくつかあり¹⁻⁵⁾、直流電流刺激法 (DC 法) や交流電流刺激法 (AC 法)、容量結合型電気刺激法 (CCEF 法)^{6,7)} などが報告されてきた。骨芽細胞を用いた *in vitro* の実験では、電流刺激によって成長因子の産生増加、細胞の増殖促進、ALP 活性の向上、カルシウムの取り込み促進、石灰化物の形成促進が生じることが明らかにされ^{1,8)}、また *in vivo* の実験では、人工的骨欠損部や骨折部に電流刺激を加えることで骨形成が促進されたとの報告がある⁹⁾。しかし臨床的には偽関節の治療に応用した症例報告^{10,11)} はあるが、有効性を明らかにするには至っていない¹²⁾。しかもこれらの研究は、周波数 0.3~20Hz の生体に危険な低周波電流^{13,14)} であること、1 回の刺激時間が 20 分~24 時間、刺激期間は長いもので 4 週間と長時間かつ長期間であること、さらに治療装置が大きく局所への固定が必要であることから、口腔内への応用は難しいと考えられる。

一方、生体に安全性が高い高周波電流を用いた研究として、Yumoto ら¹⁵⁾ は 500~1000kHz の高周波で骨芽細胞を 5 秒間刺激するのみで、細胞の増殖促進や成長因子の産生が生じたと報告している。また、この領域の高周波電流は歯内療法分野で根管の殺菌として使用されており、臨床成績の向上も報告されてい

る¹⁶⁾。したがって、高周波電流は短時間の刺激で殺菌と同時に骨再生も促進できる可能性が考えられる。

我々は 520kHz の高周波電流刺激をラットの頭蓋骨欠損に 1.0 秒間、5 回加えると、骨欠損内に多量の骨が形成され、しかも骨形成は母床骨辺縁のみならず、母床骨と離れた骨欠損内の結合組織内にアルカリ性フォスファターゼ陽性細胞が観察され、母床骨とは連続しない骨の形成が認められたことを報告した^{17,18)}。

本法により短時間の刺激で多量の骨形成がみられたことから、歯周炎や根尖性歯周炎などで生じた骨欠損への治療法として応用できるのではないかと考えられた。しかし、この研究では実効電流値が 95-110mA より 15-30mA の方が効果的であったことから、さらに低い実効電流値で骨形成が促進する可能性が考えられた。また、能動電極を刺入していない隣接する骨欠損部にも骨形成が生じたことから、電流が周囲組織にも漏洩して刺激を与えている可能性が示唆された。電流の周囲組織への漏洩は、組織の電導性だけでなく対極の位置によっても影響を受けると考えられ、さらに高周波電流は能動電極だけでなく対極にも同じ電流が通電されることから、対極周囲に意図しない骨形成が生じる可能性もある。

そこで本研究の目的は、骨形成に適切な高周波電流刺激の条件を明らかにするため、交流電流において実際に電流が流れる時間の割合であるデューティ比

と、対極の位置と形状が骨形成に及ぼす影響を検討することである。

材料と方法

1) 高周波刺激装置

高周波電流刺激装置（モリタ製作所、京都）（図 1）は、520Hz または 1MHz の交流を出力し、デューティ比は 10, 20, 30, 35, 50, 70% の 6 段階が選択できる（図 2）。出力はデューティ比 70% の場合に 1MHz で 5.5W, 520kHz で 4.7W となっており、出力時間は最大 1 秒である。電極はリーマーやファイル、ポケット探針が接続可能なクリップ型になっている。

能動電極には先端 3mm を除いて絶縁処理した #20K ファイルを使用した。さらに、対極には能動電極と同じ K ファイル、または太さ 0.9mm のワイヤーを内径 6mm の円形にして用いた。

2) 骨欠損作製と電流刺激方法

10 週齢の Wistar 雄性ラット 59 匹にドミトール®0.75ml（塩酸メデトミジン 1.0mg/ml, 日本全薬工業）、ドルミカム®2.0ml（ミダゾラム 5.0mg/ml, アステラス製薬）、ベトルファール® 2.5ml（酒石酸ブトルファノール 5.0mg/ml, Meiji Seika ファルマ）を混合、注射用水を加え全量を 50ml とした三種混合麻酔薬を、ラットの体重あたり 0.01ml/g 腹腔内投与して全身麻酔を施した後、頭部中央の

皮膚を切開剥離，骨膜を切除して外径 4.8mm のトレフィンバー (TREPINE, Helmut Zepf Medizintechnik, Seitingen-Oberflacht, Germany) を用いて生理食塩水注水下で脳硬膜に達するまで穿孔した。骨欠損は矢状縫合をさけて左右に一か所ずつ，シーネを用いて規格した位置に作製した (図 3)。

高周波電流刺激は骨欠損作製日 (0 日目) と術後 4, 7, 11 日目に与え，対極の違いにより F 群と W 群に分けた。F 群では対極に #20K ファイルを用いて左耳付近の皮下結合組織に刺入し，能動電極は 0 日目では左側の骨欠損中央にのみ設置し，右側には設置しなかった。左側の骨欠損部に生食を満たし，周波数 520kHz，デューティ比 10% (F10 群)，30% (F30 群)，70% (F70 群) で，制限抵抗 6240 Ω を電極と高周波発生装置の間に介在させて高周波電流刺激を 1.0 秒間，5 回加えた。通電中はオシロスコープで波形を観察し，一部では実効電流値を計測した。生食は通電ごとに交換し，電流刺激後切開部の皮膚を縫合した。4 日目以降は左側骨欠損中央部上の皮膚に能動電極を刺入して，0 日目と同様に高周波電流刺激を加えた。

W 群では対極の円形ワイヤーに導電性ゲル (イトー超音波ゲル，伊藤超短波株式会社，東京) を塗布し，0 日目には左側骨欠損を囲むように骨面上に設置した。能動電極および通電条件は F 群と同様とし，デューティ比も同様に 10% (W10 群)，30% (W30 群)，70% (W70 群) として，通電後骨面上の導電性ゲルは生理

食塩水で十分に洗浄し、皮膚を縫合した。4日目以降は左側骨欠損部上の皮膚に、導電性ゲルを塗布した円形ワイヤーを圧接し、F群と同様に高周波電流刺激を加えた。F群は骨欠損作製時のシーネを用い、W群では左側にガイド孔を直径8mmに拡大したシーネを用いて、能動電極と対極の位置が通電日によって変化しないように電極の位置を決定した（図3）。

高周波電流刺激を与えない群をC群とし、F群W群と同様に頭蓋骨を穿孔した後、直ちに切開部皮膚を縫合した。

本実験は国立大学法人北海道大学動物実験委員会の承認を受け、同指針に従って行った（承認番号14-0093）。

3) 評価方法

観察期間を8週とし、観察期間終了後にペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル注射液、共立製薬、東京）の過量投与により安楽死させ頭蓋骨を採取、10%リン酸緩衝ホルマリン溶液にて浸漬固定を行った。固定後試料を水洗し、micro computed tomography (μ CT: Latheta LCT-200, 日立アロカメディカル、東京)を用いて、以下の条件で撮影を行った。モード: 標準, ピクセルサイズ: 48 μ m, ピクセル厚: 48 μ m, スライス間隔: 48 μ m. 得られた断層像を、画像解析ソフト (Image J 1.49g, National Institutes of Health, Wayne Rasband, USA)

を用いて、3次元構築（Color：None，Threshold：0，Resampling factor：2）し、透過像面積（DA）（mm²）を計測した。さらにトレフィンバーの外径サンプルを作製し同様に撮影，構築して，その面積（A）（mm²）を計測，透過像面積とサンプル面積から硬組織形成率 $(A-DA) / A \times 100$ （%）を求めた。

次にC群，F10群，F70群，W10群，W70群の試料を5%ギ酸で脱灰し，通法に従ってパラフィン包埋して，正中縫合に対する横断面で厚さ5μmの薄切標本を作製した。その後ヘマトキシリン・エオジン重染色（HE染色）し，光学顕微鏡観察および組織学的計測を行った。計測には骨欠損中央部切片を選択し，Image J 1.49gを用いて，骨欠損の長さ（L）（mm），新生骨基質の長さ（NB）（mm）を計測，骨基質形成率 $(NB/L \times 100)$ （%）を求めた（図4）。さらに左側骨欠損部の正中側骨断端部から1mm正中側までの範囲で，最も骨の厚い部分を選んで骨の厚みを計測した（図4）。

統計処理はSPSS10.0J[®]（日本アイ・ビー・エム，東京）を用い，Kruskal-Wallis検定およびBenjamini & Hochberg補正Mann-whitney U検定を行った。

結果

1) 実効電流値

F10群とW10群の実効電流値は概ね1-5mA，F30群とW30群は8-12mA，F70

群と W70 群は 15-40mA であった.

2) μ CT による画像分析

C 群の透過像はほぼ円形で, わずかに骨欠損辺縁部に不整形の不透過像を呈しているものが多かった. 一方 F 群と W 群の透過像は C 群より小さく, 透過像辺縁は不整形で大きな不透過像を示すものが多く, 透過像内部に母床骨と連続しない孤立した不透過像 (矢印) も多く認められた (図 5).

硬組織形成率は C 群 (n=14) の中央値 (四分位範囲) が 12.1 (6.9-20.8) % であったのに対し, F10 群 (n=9) 左側が 36.3% (22.8-43.7) %, F10 群右側が 25.6 (22.3-31.9) %, F30 群 (n=8) 左側が 38.2 (34.2-41.9) %, F30 群右側が 28.6 (21.9-31.8) %, F70 群 (n=11) 左側が 40.6 (32.9-46.0) %, F70 群右側が 31.1 (25.4-44.8) %, W10 群 (n=10) 左側が 31.2 (26.7-51.4) %, W10 群右側が 24.6 (17.9-30.0) %, W30 群 (n=9) 左側が 38.6 (35.6-44.3) %, W30 群右側が 25.1 (21.4-25.6) %, W70 群 (n=7) 左側が 34.4 (30.7-37.7) %, W70 右側が 30.2 (27.9-34.4) % であった (図 6).

W10 群右側の硬組織形成率は C 群と有意差 ($p > 0.05$) がみられなかったが, 他の F 群と W 群は C 群に対して有意 ($p < 0.05$) に高い値であった. 各群の左側と右側の硬組織形成率を比較すると, F 群と W 群のすべてで左側の方が高い傾向は

みられたが、有意差がみられたのは W30 群のみであった。同じデューティ比で F 群と W 群を比較すると、いずれのデューティ比でも両群間に有意差は見られなかった。同側の F10, 30, 70 群間または W10, 30, 70 群間で比較すると、いずれも有意差はみられなかった。

3) 光学顕微鏡観察および組織学的計測

C 群では新生骨は母床骨断端部にわずかに認められる程度で、新生骨基質の表面は大部分が扁平な細胞で覆われていた (図 7)。F 群 (図 8) と W 群 (図 9) では C 群に比べて骨欠損内に多くの新生骨が認められ、骨欠損の大部分を新生骨が満たしている標本もあった。いずれの群でも連続切片で観察しても母床骨に連続しない孤立した新生骨が認められ、新生骨表面の大部分は扁平な細胞で覆われており、立方形か類円形の細胞は一部でのみ観察された。また、W70 群左側骨欠損の正中側では、F70 群の同部位に比較して母床骨上面に新生骨が多く認められた (図 10)。

新生骨基質の形成率は、C 群で中央値(四分位範囲)12.6 (11.0-15.0)%であったのに対し、F10 群左側が 30.1 (26.6-37.2)%, F10 群右側が 26.1 (24.5-29.5)%, F70 群左側が 30.6 (27.2-35.6)%, F70 群右側が 25.0 (13.9-28.1)%, W10 群左側が 38.8 (24.1-59.9)%, W10 群右側が 15.5 (13.4-19.0)%, W70 群左側が

36.4(32.5-39.8)%, W70 右側が 28.1(21.8-32.0)%であった (図 11).

C 群に比較して, F10 群左右側, W10 群左側, F70 群左側, W70 群左右側は有意 ($p < 0.05$) に高い骨基質形成率であった. 同じデューティ比の F 群と W 群を比較すると, いずれのデューティ比でも有意差 ($p > 0.05$) は見られなかった. F10 群と F70 群, W10 群と W70 群を同側で比較した場合も有意差 ($p > 0.05$) は見られなかった.

また左側骨欠損部の正中側骨断端部から 1mm 正中側の範囲で計測した骨の厚みは, F10 群は 0.69 (0.45-0.72) mm, W10 群は 0.76 (0.67-0.78) mm, F70 群は 0.67 (0.59-0.69) mm, W70 群は 0.74 (0.72-0.85) mm で, W70 群は F70 群に比較して有意 ($p < 0.05$) に大きかったが, F10 群と W10 群間に有意差 ($p > 0.05$) はなかった (図 12).

考察

本研究は, 高周波電流刺激による骨形成に, デューティ比および対極の位置や形状がどのような影響を及ぼすかを明らかにする目的で行った.

本実験で骨欠損を外径 4.8mm のトレフィンバーで作製した. これは, ラット頭蓋骨において自然治癒しない骨欠損のクリティカルサイズが 4~6mm とする報告^{19,20)} が多いこと, および我々が行った以前の実験^{17,18)} を参考にした. その

結果、骨欠損を作製したのみの対照群では骨の再生量はわずかであり、この骨欠損サイズは骨形成の促進効果を明らかにするためには妥当と考えられる。また、すべての群の母床骨断端部で骨細胞の消失や委縮、著しい骨吸収やリモデリングはみられなかったことから、骨欠損作製時の発熱など外科的侵襲は本研究結果に大きな影響を及ぼさなかったと考えられる。

能動電極には根管治療で広く用いられている #20K ファイルを使用した。電極が小さくなるとジュール熱が発生して、電極周囲組織の変性が生じやすくなるが、本実験で使用した出力では電流や熱を感じることはなく、組織に熱変性を生じる危険性がほとんどないことから、皮膚への穿通性や今後の根管治療への応用を考慮して #20K ファイルを能動電極とした。今回の実験では脳硬膜や皮膚に肉眼で熱による変性を思わせる所見は一例もみられず、骨欠損部に再生した骨にも骨細胞の消失や委縮はみられなかったことから、通電時の熱で皮膚あるいは新生骨が変性、壊死することはなかったと考えられる。

我々が以前に行った同様の実験^{17,18)}では、骨再生には実効電流値が 95-110mA より 15-30mA の方が効果的であったことから、本実験では実効電流値をさらに低下させて検討を行った。交流で周波数を変えずに実効電流値を変化させるには、最大電流値を変える方法と、デューティ比を変える方法がある。本実験でデューティ比を低下させる方法を選んだのは、最大電流値を低下させるとノイ

ズの影響などにより安定した電流を供給することが技術的に困難であったためである。

デューティ比 10, 30%の実効電流値はそれぞれ 70%の 1/7, 3/7 と計算され、本実験で計測した実効電流値もそれに近似した値となったが、骨形成はデューティ比が 10, 30, 70%で大きな違いは生じなかった。このことから、デューティ比の影響は少ないと考えられる。骨形成に及ぼす電流の影響は、デューティ比ではなく最大電流値の可能性が残されており、さらに詳細に検討するためには最大電流値を下げて同様の実験を行うことが必要と考えられる。また、本実験では1秒の通電を5回繰り返したが、デューティ比を下げてても骨形成効果に差がなかったことから、通電時間を短くしても同等の効果が得られる可能性があり、この点も今後の検討課題である。

一方、我々は以前の実験で、能動電極を設置した左側骨欠損部だけでなく、電流が漏洩したと考えられる右側でも骨形成が促進されたことを報告^{17,18)}した。このように意図しない部位での骨形成を制御するためには、対極を能動電極の近くに設置することで電流が流れる領域をできるだけ限定する方法が考えられる。しかし対極にも能動電極と同じ電流が流れることから、骨欠損近くに対極を設置すると対極周囲にも骨形成が生じる可能性があるため、対極の面積を大きくして対極周囲組織での電流密度をできるだけ低下させることが対策の一つ

と考えられる。本実験ではこの目的で、対極として円形のワイヤーで骨欠損を取り囲んだ場合と、K ファイルを骨欠損から離れた部位に刺入した場合とで、左右骨欠損部への骨形成、および左側骨欠損部の正中側骨断端部から 1mm 正中側の範囲で母床骨上の骨形成に及ぼす影響を比較検討した。なお、母床骨上への骨形成量の評価は骨欠損より正中側でのみ行った。これはラット側頭骨外側には隆起があるため、皮弁を復位した際に隆起近くでは皮膚と骨面との間に間隙が生じて骨形成の場となる可能性があり、その間隙の大きさが骨再生量に大きく影響すると考えられたため、骨面に皮弁を圧接できる正中側のみを評価部位とした。

その結果、対極の違いで左側骨欠損と右側骨欠損内部の骨形成量に有意差は認められなかった。これは、硬膜の電導率 ($7.37\text{E-}1 \text{ S/m}$) は皮膚 ($4.91\text{E-}1 \text{ S/m}$) や皮質骨 ($6.43\text{E-}2 \text{ S/m}$)、骨髄 ($1.59\text{E-}1 \text{ S/m}$) に比較して高いことから²¹⁾、円形の電極で骨欠損周囲を取り囲んでも、硬膜や骨髄を通して電流が頭蓋骨全体に流れたためではないかと考えられる。また、W70 群の母床骨上の骨形成量が F70 群の同部位より多かったことから、対極の直下は高周波電流刺激の影響を受けると考えられる。しかし、母床骨上の骨形成量は F10 群と W10 群で差はなかったことから、対極面積をより大きくして対極周囲への実効電流値を低下させることで²²⁾、対極周囲での骨形成促進効果を抑制できる可能性があるのではない

かと思われる。したがって、電流刺激を再生療法に応用するためには、電極周囲組織の電導率や対極の位置なども十分考慮して行うことが必要で、対極を能動電極から離れた骨のない軟組織上におくことができず、対極直下に骨がある場合には対極面積をより広くした方が安全と思われる。

今回の実験では、高周波電流刺激を加えたほとんどの群で、刺激しなかったC群に比べて有意に高い新生骨形成率を示した。また欠損内部に母床骨とは連続しない骨形成がみられた。これまでの報告^{17,18)}でも、高周波電流刺激を加えた3日後に母床骨と離れた骨欠損部の結合組織内にアルカリ性フォスファターゼ陽性細胞が認められ、その後母床骨とは連続しない骨の形成が観察されており、骨欠損内に増殖した細胞が高周波電流刺激によって骨芽細胞への分化が促進されるという、新たな再生療法に発展する可能性を示唆している。また、C群に比べて実験群の一部では新生骨表面に立方形や類円形の骨芽細胞様細胞がみられたことから、8週以後もさらに骨形成量が増加する可能性が考えられ、術後どの程度の期間まで電流刺激を与えるかも、今後の臨床応用に向けての大きな課題の一つである。

なお、本実験で使用した出力は人体に感じることもない低レベルであり^{13,14)}、周波数もいわゆる電気メスと同領域²³⁾であることから副反応を生じるリスクはきわめて低いと考えられる^{24,25)}。さらに、治癒過程のどの時期にでも繰り返し

刺激を加えることが可能であり，他の再生療法との併用することも容易である．安全性が高く低コストで効果の高い再生療法の開発にむけて，使用時期や使用条件などをさらに検討していくことが必要である．

結論

本研究ではデューティ比を 10%，30%，70%，また対極をファイルと円形ワイヤーとして，高周波電流刺激による骨欠損部への骨形成への影響を検討した．その結果，デューティ比や対極に大きく影響を受けることなく促進された．さらに，対極を骨欠損周囲に設置した場合，対極直下の母床骨上の骨形成も促進された．

謝辞

本稿を終えるにあたり，大歳祐生氏をはじめとする北海道大学大学院歯学研究院口腔健康科学講座歯周・歯内療法学教室の教室員各位ならびに，とみなが歯科医院の富永敏彦博士，高周波電流刺激装置を作製していただいた株式会社モリタ製作所，的場一成氏に心より御礼申し上げます．

参考文献

- 1) 大野 敬: 骨原性細胞株 MC3T3-E1 に対する微小電流刺激の効果. 日口腔外誌, 34: 15-23, 1988.
- 2) 藤沢 毅: 微小電気刺激が骨再生の初期過程に及ぼす影響. 日補綴歯会誌, 37: 1139-1151, 1993.
- 3) 高橋 元: 微小電気刺激による骨再生促進効果の機序に関する研究—血管構築の動態—. 日補綴歯会誌, 42: 497-509, 1998.
- 4) 長坂 誠, 上月 正博, 藤居 徹: ラット骨格筋虚血モデルでの持続的微弱電気刺激による血管新生因子の動態. リハ医, 39:457-466, 2002.
- 5) 右近 一晃, 安田 忠司, 渋谷 俊昭: 高周波刺激によるマウス骨芽細胞およびヒト骨芽細胞の代謝にあたる影響. 日歯周誌(秋抄録集), 49: 198, 2007.
- 6) 白井 康正: 電気刺激法による偽関節の治療. 日医大誌, 49: 449-455, 1982.
- 7) 井上 四朗: 骨電気刺激法. BME, 4: 18-26, 1990.
- 8) Shiyun M, Ze Z, Mahmoud R: Accelerated osteoblast mineralization on a conductive substrate by multiple electrical stimulation. J Bone Miner Metab, 29: 535-544, 2011.
- 9) 久保田浩三, 日高 理智, 安元 和雄, 林川 貴志, 梅崎 伸一, 唐木 良一, 宗洋 一郎, 山本 博武: 微小電流刺激による歯槽骨形成の実験的研究—人工

的骨欠損部への Tricalcium phosphate の応用—. 九州歯会誌, 41: 85-993, 1987.

10) 大橋 俊郎, 谷 知久, 大友 克之, 塚原 隆司, 長谷川 正裕, 今泉 佳宣, 井上 四郎: 骨形成に関する最近の進歩—電気刺激法について—. 骨折, 23: 26-30, 2001.

11) Ito H, Shirai Y, Gembun Y: A Case of congenital pseudarthrosis of the tibia treated with pulsing electromagnetic fields: J Nippon Med Sch, 67: 198-201, 2000.

12) Hannemann PF, Mommers EH, Schots JP, Brink PR, Poeze M: The effects of low-intensity pulsed ultrasound and pulsed electromagnetic fields bone growth stimulation in acute fractures: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Orthop Trauma Surg, 134: 1093–1106, 2014.

13) 時間変化する電界, 磁界及び電磁界による暴露を制限するためのガイドライン. 国際非電離放射線防護委員会, 14-23, 1998.

14) World Health Organization: Extremely low frequency fields. Environmental health criteria series, 238: 3-9, WHO PRESS, 2007.

15) Yumoto H, Hirao K, Tominaga T, Bando N, Takahashi K, Matsuo T: Electromagnetic wave irradiation promotes osteoblastic cell proliferation and up-regulates growth factors via activation of the ERK1/2 and p38 MAPK

pathways. *Cell Physiol Biochem*, 35:601-615, 2015.

- 16) 竹内義和: コスモエンドシステム. *デンタルダイヤモンド*. 21: 92-96, 1996.
- 17) 佐藤 賢人, 菅谷 勉, 川浪 雅光: 高周波電流刺激によるラット頭蓋骨欠損部への骨再生. *日歯保存誌(第 143 回抄録集)*: 87, 2015.
- 18) Sato T, Sugaya T, Kawanami M: Effect of high-frequency electromagnetic wave stimulation on bone repair in rat calvaria defects. *J Oral Tissue Engin*, 14:59-64, 2016.
- 19) Notodihardjo FZ, Kakudo N, Kushida S, Suzuki K, Kusumoto K: Bone regeneration with BMP-2 and hydroxyapatite in critical-size calvarial defects in rats. *J Craniomaxillofac Surg*, 40: 287-29, 2012.
- 20) 畠山 航, 平 雅之, 鬼原 英道, 近藤 尚知: 多孔質アパタイト粒子コーゲン複合体によるラット頭蓋骨クリティカルサイズ骨欠損部における骨再生の試み. *日歯理工誌*, 31: 354, 2012.
- 21) IT'IS Foundation: Database of tissue properties.
<https://www.itis.ethz.ch/virtual-population/tissue-properties/database/database-summary/>
- 22) 安孫子 誠也: *物理学 エネルギー・対称性・エントロピー*. 213, 東京教学者社, 1987.

- 23) 小野 哲章: 電気メスの安全な使用法. 医器学. 48: 75-78, 1978.
- 24) 小野 哲章: 電気メスの正しい使い方—その原理から事故対策まで—. 医器学, 49: 14-23, 1979.
- 25) 小野 哲章: 電気メスの原理と安全対策. 体外循環技, 10: 10-18, 1984.

图表

图 1



图 2

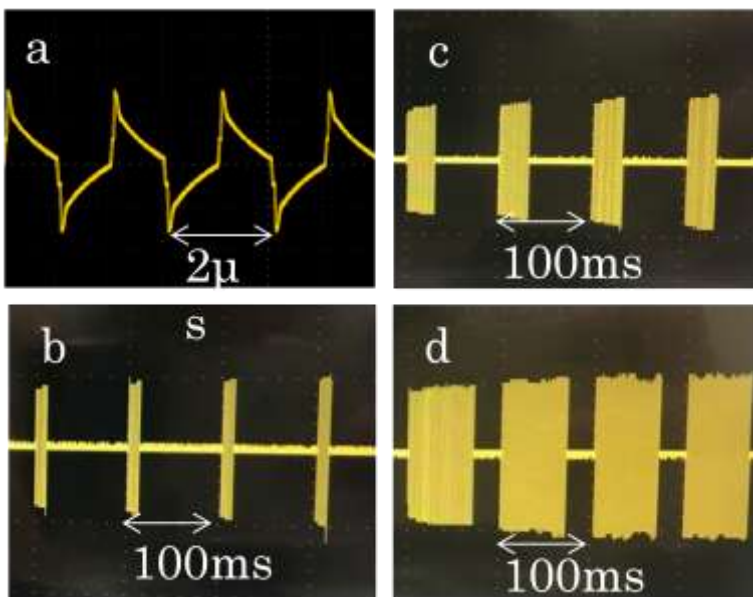


図 3

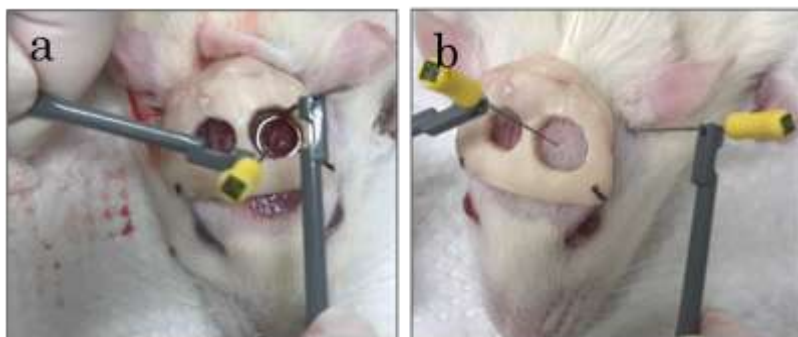


図 4

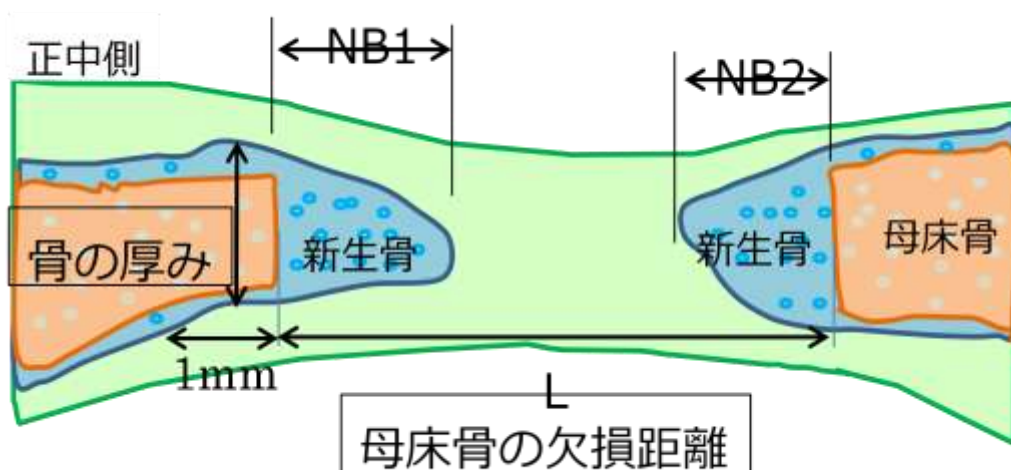


図 5

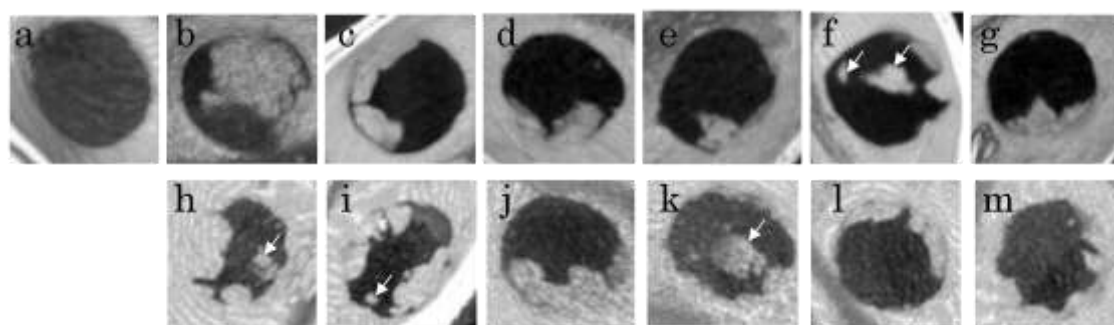


图 6

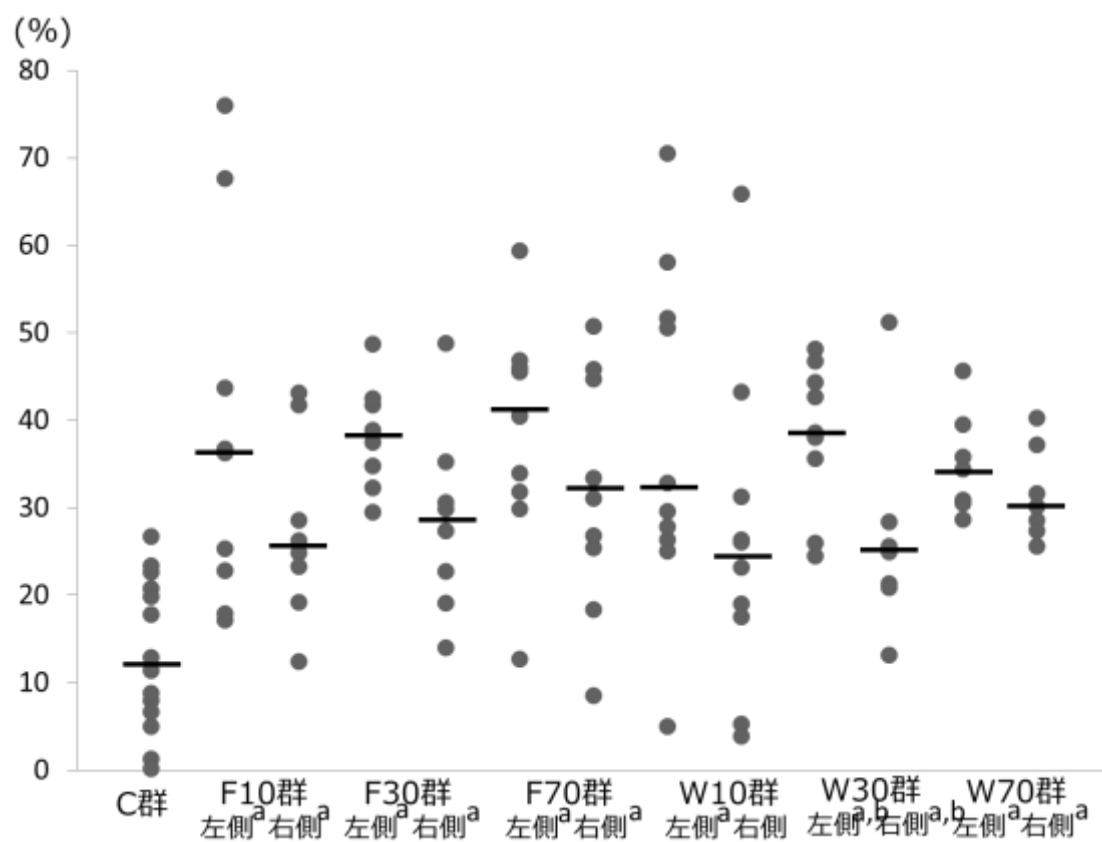


图 7

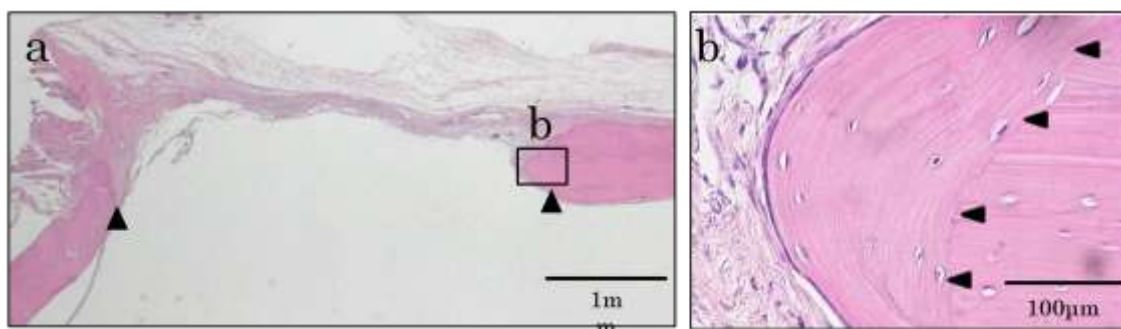


图 8

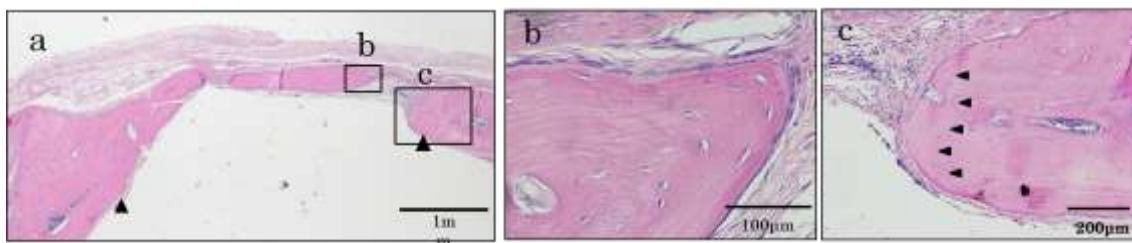


图 9

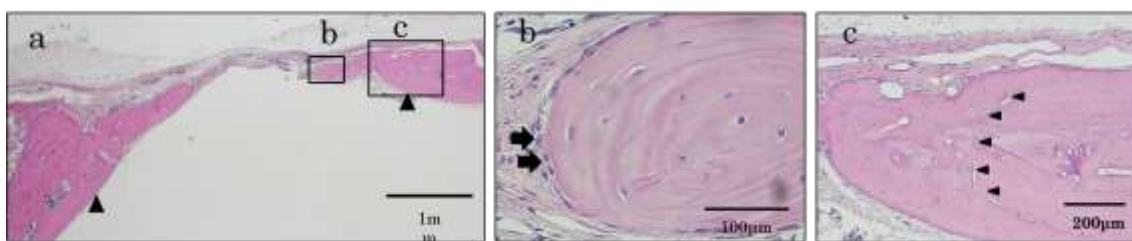


图 10

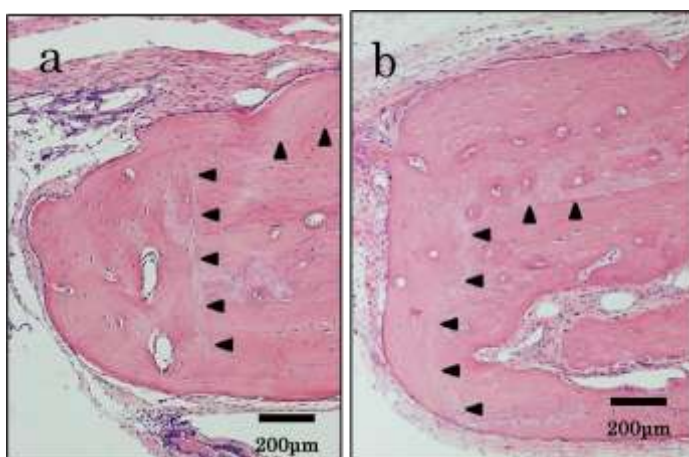


図 11

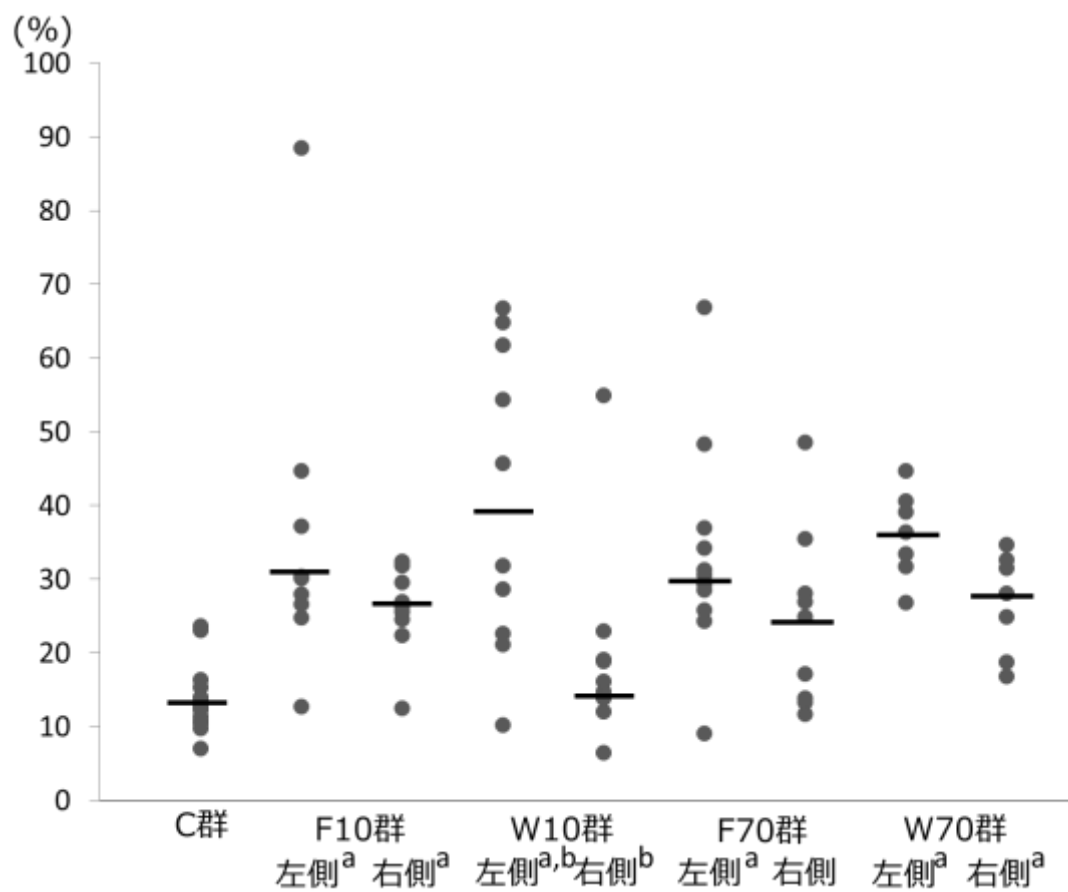
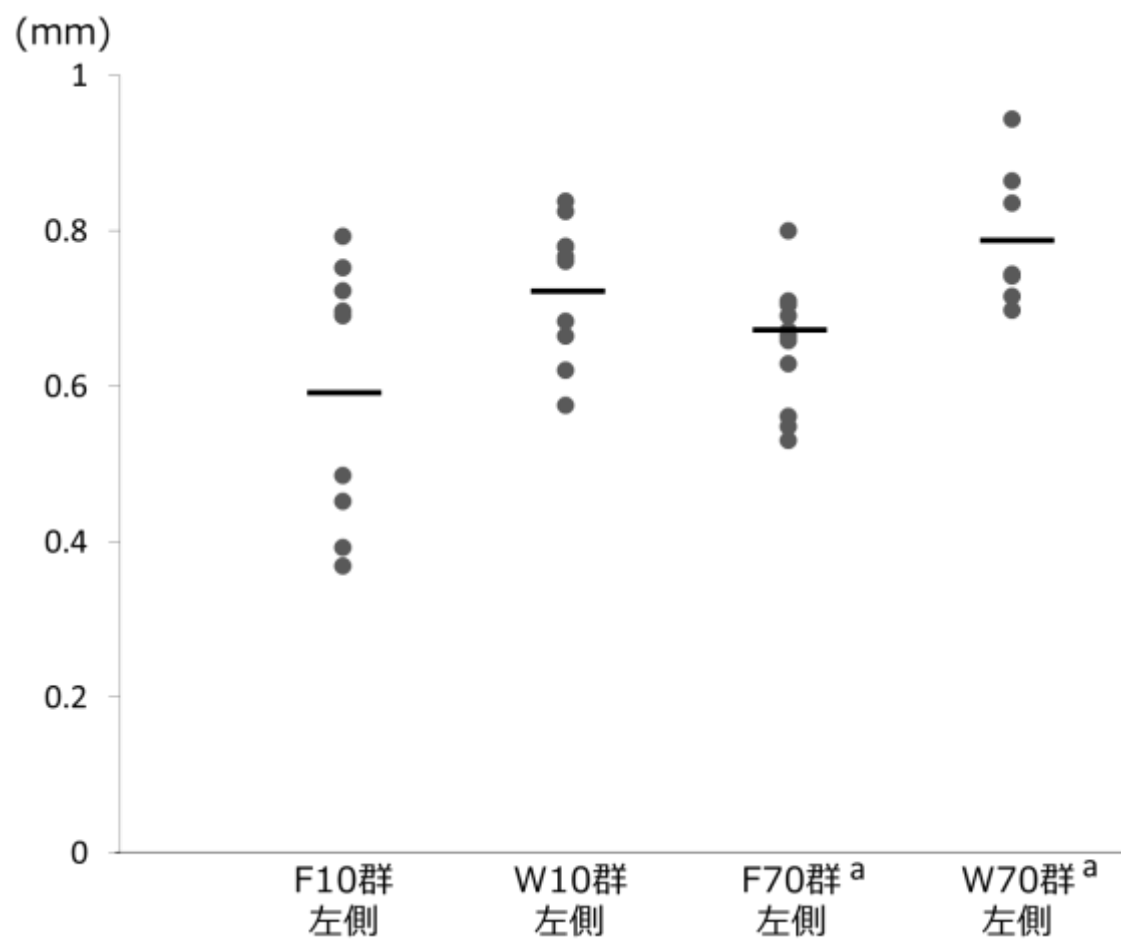


図 12



図説

図 1 高周波電流刺激装置 (モリタ製作所, 京都)

図 2 オシロスコープによる高周波電流の波形

a: 時間軸拡大波形 b: Duty 比 10% c: Duty 比 30% d: Duty 比 70%

図 3 骨欠損とシーネおよび電極の形態と位置

a: W 群 0 日目 b: F 群 4 日目

図 4 骨基質形成率と骨の厚みの計測方法

図 5 μ CT 画像

a: C 群 b: F10 群左側 c: F10 群右側 d: F30 群左側 e: F30 群右側 f: F70 群左側 g: F70 群右側 h: W10 群左側 i: W10 群右側 j: W30 群左側 k: W30 群右側 l: W70 群左側 m: W70 群右側

図 6 硬組織形成率

a: C 群との間に有意差あり ($p < 0.05$)

b: b と b の間で有意差あり ($p<0.05$)

図 7 C 群 HE 染色像

a: 全体像. 骨欠損の大部分は結合組織で満たされている.

b: 母床骨断端部 (▲) は境界明瞭で, 新生骨は走行が不規則で表面には扁平な細胞が配列している.

図 8 F10 群左側 HE 染色像

a: 全体像. 骨欠損内に多くの新生骨が認められ, 母床骨と連続していない骨もみられる.

b: 新生骨は走行が不規則で骨小腔内には扁平な細胞がみられる.

c: 母床骨断端部 (▲) 周囲に新生骨がわずかにみられる.

図 9 W10 群左側 HE 染色像

a: 全体像. 骨欠損内に母床骨と連続した新生骨がみられる.

b: 新生骨表面の一部には. 立方形もしくは類円形の細胞 (➡) が観察され, 骨小腔内に楕円形の細胞がみられる.

c: 母床骨断端部 (▲) と新生骨との境界は明瞭で, 走行が不規則な新生骨が

多量に認められる。

図 10 左側骨欠損正中側母床骨部の HE 染色像

a:F70 群左側。母床骨 (▲) 上面にわずかに新生骨がみられる。

b:W70 群左側。母床骨 (▲) 上面にはより多くの新生骨がみられ、骨の厚みが増している。

図 11 骨基質形成率

a:C 群との間に有意差あり ($p<0.05$)。

b:b と b の間で有意差あり ($p<0.05$)。

図 12 骨の厚み

a と a の間で有意差あり ($p<0.05$)。

英文抄録

Effects of counter electrodes and duty cycle on bone formation by high-frequency electrical stimulation

Nagako Maeda*, Takahito Sato, Tsutomu Sugaya

Periodontology and Endodontology, Department of Oral Health Science, Division of Dental Medicine, Faculty of Dental Medicine and Graduate school of Dental Medicine, Hokkaido University, Kita-13, Nishi-7, Kita-ku, Sapporo 060-8586, Japan

*Corresponding Author: ma0530ngk@den.hokudai.ac.jp

ABSTRACT

High-frequency electrical stimulation has been shown to enhance bone formation in rat calvarial defects. The effects of duty cycle and the position and form of the counter electrode on bone formation were investigated in the present study.

Bone defects with a diameter of 4.8 mm were created on the left and right sides of the calvaria of Wistar rats. The specifications of the electrical stimulation device are as follows: frequency, 520 kHz; power, 4.7 W. A current-limiting resistor (6240 Ω) is interposed. The active electrode was placed in the left defect, and a high-frequency electrical stimulus was applied for 1 s and repeated five times on days 0, 4, 7, and 11 postoperatively. The rats were separated into group C (no stimulation), group F10 (counter electrode: #20 K-file, duty cycle: 10%), group F30 (duty cycle: 30%), group F70 (duty cycle: 70%), group W10 (counter electrode: circular wire 6 mm in inner diameter), group W30, and group W70. After 8 weeks, micro-computed tomography images were obtained, and the rate of hard tissue formation was measured. Histological specimens were used to calculate the rate of bone matrix formation and the bone thickness within 1 mm medially from the left bone defect.

Stimulated groups showed a significantly higher rate ($p < 0.05$) of hard tissue formation, except for the right side of group F10. The rate of bone matrix formation was significantly higher ($p < 0.05$) in the group F10, in the left side of group F70, in the group W70, and the left side of group W10 than in group C. The thickness of the bone was significantly greater ($p < 0.05$) in group W70 than in group F70.

These results suggest that high-frequency electrical stimulation promotes osteogenesis, but is not affected by the duty cycle or the counter electrode.

Key words: High-frequency electrical stimulation, bone formation, duty cycle