HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	高周波電流刺激がラット頭蓋骨欠損部の骨修復に及ぼす影響［全文の要約］
Author(s)	佐藤, 賢人
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12154号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62141
Type	doctoral thesis
File Information	Takahito_Sato_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要約

学位論文題目

高周波電流刺激がラット頭蓋骨欠損部の骨修復に及ぼす影響

博士の専攻分野名称　　博士（歯学）　　氏名　佐藤　賢人

[緒言]
組織再生は，細胞や成長因子，足場材を用いる方法が広く行われている一方，細胞を物理的に刺激することによって促進する方法も検討されている．骨再生に関しては特に電気的な刺激を用いる方法が古くから報告されており，現在までに，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）などの方法が報告されている．しかしながら刺激条件や期間，装置の問題などの点から歯科臨床への応用は未だにない．
そこで本研究の目的は，歯科臨床へ応用可能な試作高周波電流発生装置を使用することで骨形成の促進が可能であるか，電流量や通電回数の条件が影響を及ぼすか，さらに骨欠損作製後に高周波電流刺激を与えるまでの経過日数により組織反応が異なるかを，病理組織学的に検討することである．
[材料と方法]
実験 1．高周波電流が骨形成量に与える影響の評価．
10 週齢 Wister 系ラット 45 匹に全身麻酔を施した後，頭蓋骨に直径 4.8 ㎜のトレフィンバーを用いて，脳硬膜に達する骨欠損を左右に 1 ヶ所ずつ，計 2 か所作製した．高周波電流刺激を与えないラットを対照群とし，骨欠損作製後ただちに皮膚を縫合した．刺激を与えるラットを実験群として，実験群の左側骨欠損に能動電極を設置，対極は左耳付近に設置した．右側骨欠損には電極を設置しなかった．電流刺激は 520kHz, Duty70%，18.9W または 1.4W で 1.0 秒間の通電を 5 回繰り返した．刺激条件で実験群を次の 3 群に分けた．S 群 : 18.9W で通電日 0,4,7,11,14,18,21,25 日目，W1 群 : 1.4W で通電日 0,4,7,11,14,18,21,25 日目，W2 群 : 1.4W で通電日 0,4,7,11 日目．なおオペ当日以後の通電は，能動電極を左側骨欠損部の皮膚に穿通して行った．
観察期間を 8 週とし，骨欠損作製に用いたトレフィンバー外径面積を骨欠損作製時の面積として観察期間終了後にμCT を撮影，透過像面積から硬組織の形成率を計測した．その後脱灰薄切標本を作製してヘマトキシリン-エオジン重染色を行い、骨欠損の長さに対する新生骨の長さから骨形成率を求めた．
実験 2．高周波電流刺激日による組織への影響
10 週齢の Wistar 系雄性ラット 14 匹に全身麻酔を施した後，実験 1 と同様に頭蓋骨に骨欠損を左右に 1 ヶ所ずつ作製した．刺激を与えない群を対照群とし，骨欠損作製後ただちに皮膚を縫合した．オペ当日に刺激を与える群を 0 日群とし，実験 1 と同様に左側の骨欠損に能動電極，対極を左耳付近に置き通電後に皮膚を縫合した．オペ当日に刺激を与えず，4 日後に刺激を与える群を 4 日群として骨欠損作製後ただちに皮膚を縫合し，4 日目に皮膚に能動電極を刺して電流刺激を与えた．電流刺激は両群とも 520kHz, Duty70%，18.9W で 1.0 秒間の通電を 5 回繰り返した． 観察期間を対照群は 4,7,11 日とし，0 日群は 4,7 日，4 日群は 7,11 日とした．観察期間終了後，ラットを潅流固定して EDTA による脱灰薄切標本を作製し，アルカリフォスファターゼ染色，酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ染色，及び H-E 染色を行い光学顕微鏡にて観察を行った．
[結果]
実験 1．の結果
μCT による硬組織の形成率は、対照群の中央値（四分位数）が 14.2（7.5-16.2）%であったのに比べて，実験群の全ての群は有意（$p < 0.001$）に高かった．また，S 群右側は 46.1（39.9-59.4）%，W2 群左側は 51.7（46.9-70.8）%と高い値を示し，ほかの全ての群に対して有意差（$p < 0.05$）が認められた．
組織計測による骨形成率はμCT とほぼ同様の傾向を示し，対照群に比べてすべての実験群が有意に高い新生骨形成率を示した．すべての群で母床骨切断面付近に明らかな炎症性細胞の浸潤は認めず，母床骨および新生骨基質の骨細胞に萎縮，消失等は認められなかった．また，対照群に比較して実験群は骨欠損部の結合組織が密である傾向にあり，血管も多く認めた．さらに実験群の一部の標本では新生骨が母床骨とは連続せずに骨欠損部に孤立して形成されており，その表面は類円形または立方形の細胞が覆っていた．
実験 2．の結果
対照群では 4 日目，7 日目に母床骨断端付近には TRAP，ALP 共に陽性細胞は認められず，11 日目には陽性細胞が発現した．0 日群も同様に 4 日目，7 日目には TRAP，ALP 共に陽性細胞は母床骨断端付近に認められなかった．しかし TRAP 陽性細胞は 7 日目に母床骨からやや離れた組織内に散在している像を認めたものの，周囲に明らかな骨組織は認められなかった．4 日群では 7 日目に母床骨断端付近に TRAP，ALP 共に陽性細胞を認め，0 日群 7 日目同様に母床骨から離れた組織内に集合した陽性細胞も認められ

た，同部位には H-E 染色で濃染する組織の集合体が認められ，一部には幼若な骨様組織も観察された．4 日群 11 日目も同様の傾向を示し，対照群 11 日目よりやや TRAP，ALP 共に陽性細胞が多い傾向を示した．

[考察]

実験 1．の結果から，高周波電流刺激による高い骨形成促進効果が認められ，電流の強さは S 群と W2 群の結果から 18.9W より 1.4W がより良く，通電期間は W1 群と W2 群の結果から 2 週間の計 4 回程度が効果的と考えられた．よって高周波電流刺激は骨形成を促進するが，強すぎる電流，または長すぎる通電期間はその効果を制限する可能性が考えられた．

実験 2．の結果から，高周波電流刺激は母床骨周囲の骨芽細胞，破骨細胞を活性化させ改造機転を促進していると考えられる．またオペ当日の刺激よりもある程度時間が経過してからの刺激がより有効である可能性が考えられた．

[結論]

高周波電流刺激装置を使用し，ラット頭蓋骨欠損部へ電流刺激を与えることの骨形成への影響を評価した．その結果，高周波電流刺激は欠損部における骨芽細胞や破骨細胞を活性化させて骨形成を促進することが明らかになった．また，電流値が大きくなったり通電期間が長くなったりすると骨再生量は減少し，刺激日に関しては骨欠損作製当日より 4 日後が有効であると考えられた．