



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	高周波電流刺激を行う時期が骨形成に与える影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大歳, 祐生
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13858号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78498
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuki_Otoshi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 大 歳 祐 生
学 位 論 文 題 名
高周波電流刺激を行う時期が骨形成に与える影響

キーワード（5つ）高周波電流，骨形成，間葉系幹細胞，骨芽細胞，毛細血管

電磁波を用いて骨再生を促進する方法は広く研究されている．なかでも高周波電流は生体には安全な周波数領域であり，低周波電流を用いた時に比べ短時間で効果が得られる可能性がある．佐藤らは 520kHz，15-30mA，1.0 秒間 5 回の高周波電流刺激をラットの頭蓋骨欠損に週に 2 回加えると，母床骨と離れた骨欠損内の結合組織内に ALP 陽性細胞が認められ，母床骨とは連続しない部位でも骨形成が生じて，骨欠損内に多量の骨が形成されたことを報告している．また，前田らは，その際の高周波電流の duty 比は骨形成に影響を与えないことを報告している．これらの報告から，総電流量は骨形成に大きな影響を与えず，通電日数を少なくしても同様に骨形成が促進される可能性が考えられた．そこで本研究は，骨形成に最適な高周波電流刺激の条件を明らかにするため，骨欠損作製から高周波電流刺激を行うまでの期間と，通電を行う日数が骨形成に及ぼす影響を明らかにする目的で行った．

高周波電流刺激の設定は，周波数 520kHz，duty 比 70%，制限抵抗 6240 Ω を電極と高周波発生装置の間に介在させ，通電時間を 1.0 秒間とし，5 回の通電を加えた．0 日目においては，骨欠損に満たした生理食塩水に電極を接触させて通電し，切開部を縫合した．翌日以後は骨欠損部の皮膚に電極を刺入して通電した．

実験群は，0-4 日群（0，4 日に通電），7-11 日群（7，11 日に通電），0-11 日群（0，4，7，11 日に通電），7-18 日群（7，11，14，18 日に通電），14-25 日群（14，15，21，25 日に通電）の 5 群に分けた．高周波電流刺激を与えない群を対照群とし，実験群と同様に頭蓋骨を穿孔した後，ただ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 17-004）．

観察期間を 8 週とし，対照群ではさらに観察期間 4，7，11，14 日も加えた．観察期間終了後に μ CT 撮影を行い，得られた断層像を画像解析ソフトで 3 次元構築し，透過像面積とトレフィンバーの外径面積から硬組織形成率を計測した．次に、脱灰薄切標本作製してヘマトキシリン-エオジン重染色し，組織学的観察および計測を行った．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と新生骨基質の長さを計測し、骨基質形成率を求めた。

μ CT による硬組織形成率は、対照群 19.8%（中央値）であったのに対して、0-4 日群 28.1%, 0-11 日群 23.8%と有意に高い値を示したが、他の群では有意差はなかった。

組織学的に計測した骨基質形成率は、対照群 14.9%（中央値）であったのに対して、0-4 日群は 27.9%, 0-11 日群は 32.0%で有意に高い値を示したが、他の実験群では有意差がなかった。また、対照群の観察期間 8 週では、新生骨が母床骨断端部にわずかに認められる程度であり、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。それに対して 0-4 日群では骨欠損内に多くの走行が不規則な新生骨を認め、骨欠損の大部分を新生骨が満たしているものや母床骨と連続しない孤立した新生骨も認められ、立法型や類縁系の細胞も一部で観察された。0-11 日群では 0-4 日群と同様の所見であった。14-25 日群では対照群とほぼ同様で、新生骨は母床骨断端部に認められる程度であった。

また、対照群の観察期間 4 日では、骨髓腔から連続する円形の細胞が骨欠損断端部周囲に多く認められた。7 日後にはわずかな骨梁とその表面に骨芽細胞様細胞が観察され、その周囲には円形の細胞、毛細血管様構造が多数みられた。11, 14 日後には骨梁は厚みを増していたが、骨芽細胞様細胞は同様に観察されたが、その周囲には紡錘形の細胞が増加し毛細血管様構造は減少していた。

新生骨形成量は 0-4 日群と 0-11 日群で対照群より有意に増加し、さらに 0-4 日群と 0-11 日群との間には有意差が認められなかったことから、とくに 4 日以内での通電が効果的ではないかと考えられた。しかし、対照群において新生骨形成が 14 日後でも持続しており骨芽細胞が新生骨周囲に多数存在していたことより、新生骨周囲の骨芽細胞の活性をさらに向上させる効果はあまりないと考えられた。一方、骨断端部に観察された骨髓腔から連続した円形の細胞は、11 日以後減少していたことから、骨髓由来の細胞に高周波電流が作用して骨芽細胞への分化を促進していた可能性があると思われた。

また、実験群では母床骨と連続しない孤立した新生骨が観察され、高周波電流による骨形成が骨欠損中央部付近からも生じていると考えられる。骨欠損作製 4 日後は、血球と線維素からなる血餅が欠損部の大部分を占め、皮下結合組織との境界部付近に毛細血管様構造や紡錘形の細胞が認められ、11 日以後では毛細血管様構造はやや減少して紡錘形の細胞が増加していた。このことから、高周波電流による骨形成の促進には毛細血管の関与があるのではないかと考えられた。

以上より高周波電流刺激は骨欠損作製日より 4 日以内に行うことで骨形成が促進されることが明らかとなった。