

# 電磁場刺激を用いたステロイド性大腿骨頭壊死症の 無侵襲な予防法に関する研究

京都府立医科大学大学院医学研究科

運動器機能再生外科学（整形外科）

藤岡 幹浩、石田 雅史、久保 俊一

## 抄 録

ステロイド投与後に好発するステロイド性骨壊死（骨壊死）には根本的な治療法や確実な予防法が確立されていない。骨壊死の原因はステロイド投与後に生じる骨内の虚血である。骨折治療に臨床利用されて安全性が確認されている電磁場刺激が、血管新生作用と血管拡張作用によって骨内の虚血を抑制し、骨壊死の発生率と重症度を低下させると仮説を立てた。ステロイドを単独投与した家兎を40羽、ステロイド投与の前後に電磁場刺激を与えた家兎を40羽として両群における骨壊死組織像を比較検討した。電磁場刺激を与えた家兎ではステロイド投与後の骨壊死発生率が有意に低下していた。一方で骨壊死の大きさなどその他の組織所見には電磁場刺激の有無による有意差を認めなかった。電磁場刺激は骨壊死の重症度を低下させる作用はない可能性はあるが、骨壊死の発生率を低下させることを示した。電磁場刺激は、低侵襲なステロイド性骨壊死予防法として有望である。

## 研究目的

骨壊死はステロイドの投与後に骨内が虚血に陥って発生すると考えられている。一方、骨折治療に広く臨床利用されてその安全性が確認されている電磁場刺激が、血管新生促進作用と血管拡張作用をもつことが確認されている<sup>1,2)</sup>。ステロイド投与に並行して電磁場刺激を与えることによって、骨内の虚血を抑制して骨壊死を予防する可能性があると考えた。本研究の目的は電磁場刺激がステロイド投与後骨壊死の発生率と重症度に対して影響を与えるかどうかを動物実験で検証することである。また、ステロイド投与後に生じる骨内虚血の原因のひとつと考え

られている骨髄脂肪細胞径に対して電磁場刺激が与える影響も検討した<sup>3,4)</sup>。

## 研究方法

90羽の雌性日本白色家兎（28-32週齢、3.2-4.3kg）を以下の4群に分けた。

- (1) ステロイド単独投与群(40羽): 1週間飼育した後にメチルプレドニゾロン(methylprednisolone: MPST)を筋注し、4週間飼育した。
- (2) ステロイド・電磁場刺激群(40羽): 電磁場刺激を1日10時間家兎の両殿部に与えた後、MPSTを殿筋内に1回筋注した。MPST

投与後も1日10時間の電磁場刺激を4週間与えた(図1)。

- (3) 電磁場刺激単独群(5羽): 家兎の両殿部に1日10時間の電磁場刺激を5週間与えた。
- (4) 無処置群(5羽): MPSLや電磁場刺激を与えずに5週間飼育した。

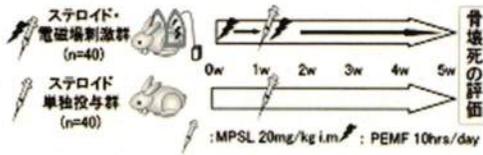


図1 ステロイド・電磁場刺激群とステロイド単独投与群

ステロイドはパルス療法に相当する20mg/kgのMPSLを1回殿筋内に筋注した<sup>5)</sup>。また、電磁場刺激は骨折の治療用に臨床利用されているEBI Bone Healing System® (Biomet Osteobiologics, Parsippany, NJ)を用いて発生させた。これはコイルに囲まれた領域に最大25Gの電磁場を15Hzで発生させる装置である。家兎の両大腿に電磁場刺激が与えられるようにコイルを設置して、骨折治療における投与条件に準じて1日10時間電磁場刺激を与えた。電磁場刺激を投与し始めてから血管新生が認められるまで1週を要するため、ステロイド投与1週間前から電磁場刺激の投与を開始した<sup>1)</sup>。

骨壊死の有無を判定する組織学的検討は、MPSL投与から4週後に行った。各群をペントバルビタールの大量投与によって安楽死させ、大腿骨の近位1/3と遠位1/3を採取した。それぞれの正中冠状断のヘマトキシリンエオジン染色組織標本作製した(図2)。

全ての組織学的な評価は盲検化して二人の検者が行った。今までの報告に従って、骨髓造血細胞と脂肪細胞の壊死を伴う骨梁内骨細胞の核の濃縮あるいは空胞化を呈する領域と、骨梁が存在しない部位でも骨髓造血細胞と脂肪細胞の広範な壊死を認める領域を骨壊死と判定した。骨細胞の空胞化と脂肪細胞の壊死のみを認め、骨髓造血細胞の壊死を認めない領域は骨壊死と判定しなかった。大腿骨の組織標本中に一つで

も骨壊死領域を認めた家兎は骨壊死発生家兎とした<sup>5)</sup>。

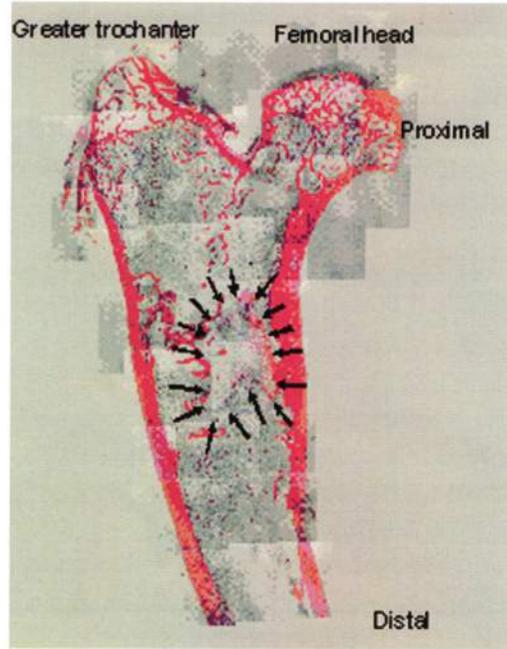


図2 ステロイド単独投与群の家兎大腿骨近位1/3の正中冠状断ヘマトキシリンエオジン染色組織標本。矢印内に骨壊死を認める。

まず、電磁場刺激の骨壊死予防効果を判定するためにステロイド単独投与群とステロイド・電磁場刺激群の骨壊死発生率を比較した。

次に骨壊死発生家兎を対象にして、骨壊死の重症度に影響を与える因子について検討した。ステロイド性骨壊死が多発することを電磁場刺激が抑制するかどうかを検討するために各群の骨壊死発生家兎1羽あたりの骨壊死数を大腿骨近位1/3と遠位1/3で評価した。

電磁場刺激が骨壊死の大きさに対して影響を与えるかどうかを調べるために、骨壊死の面積占有率を測定した。骨壊死の占有率は大腿骨近位1/3での骨壊死領域の面積を測定し、大腿骨近位1/3の面積に対する割合を算出して求めた。面積は顕微鏡からコンピューターに取り込んだ画像をNIH image software (US National Institutes of Health, Maryland)

を用いて算出した。修復部は壊死組織には含まなかった<sup>5)</sup>。

電磁場刺激の骨壊死予防効果に部位による差異があるかどうかを検討するために、大腿骨近位1/3および遠位1/3のそれぞれで骨壊死を発生した家兎数を比較した。

電磁場刺激が骨壊死の修復に影響するかどうかを確認するために、大腿骨組織標本で骨壊死修復反応としての添加骨形成の有無を比較した。

骨髄脂肪細胞に電磁場刺激が与える影響を評価するためにステロイド単独投与群とステロイド・電磁場刺激群における骨髄脂肪細胞径を算出して比較した。骨髄脂肪細胞径は、右大腿骨近位1/3の非壊死領域からランダムに選択した4部位(1部位=2510<sup>8</sup>m<sup>2</sup>)の25個ずつの骨髄脂肪細胞の長径をNIH image software測定した平均値とした<sup>6)</sup>。

統計学的検討は骨壊死発生率と部位ごとの骨壊死発生家兎数の比較を $\chi^2$ 乗検定、家兎1羽あたりの骨壊死発生数の比較をMann-Whitney U test、骨壊死の占有率の比較をunpaired t test、脂肪細胞径の比較をOne-way analysis of varianceとScheffe's post hoc testで判定した。p<0.05を統計学的有意とした。

## 研究結果

ステロイド単独投与群40羽中26羽(65%)に骨壊死を認めた。一方、ステロイド・電磁場刺激群で骨壊死を認めたのは40羽中15羽(37.5%)であった。両群の骨壊死発生率に有意差を認めた(p=0.01)。また、電磁場刺激単独群、無処置群では骨壊死の発生を認めなかった。

続いて骨壊死を生じていた家兎における多発性についての検討を行った。骨壊死発生家兎1羽あたりの骨壊死発生数はステロイド単独群で1.1±0.3個、ステロイド・電磁場刺激群で1.2±0.2個であり、有意差を認めなかった。

大腿骨の近位1/3と遠位1/3での骨壊死発生家兎数についての検討では、大腿骨近位で骨壊

死を発生した家兎はステロイド単独投与群の26羽中15羽(58%)、ステロイド・電磁場刺激群の15羽中10羽(67%)であり、大腿骨遠位に骨壊死が発生していた家兎はステロイド単独投与群では26羽中14羽、ステロイド・電磁場刺激群では15羽中8羽であった。部位ごとの骨壊死発生家兎数で両群間に有意差を認めず、電磁場刺激の部位による骨壊死予防効果の差異は確認できなかった。

骨壊死の大きさに関する検討を行った。骨壊死の大腿骨近位1/3における面積占有率は、ステロイド単独投与群では2.8±1.9%、ステロイド・電磁場刺激群では2.7±1.8%であり、両群間に有意差を認めなかった。

修復過程について、ステロイド単独投与群およびステロイド・電磁場刺激群ともに添加骨形成を認めなかった。

骨髄脂肪細胞径はステロイド単独投与群で61.0±4.5 $\mu$ m、ステロイド・電磁場刺激群で56.9±5.4 $\mu$ m、電磁場刺激単独群で46.1±3.4 $\mu$ m、無処置群で47.6±3.0 $\mu$ mであった。ステロイド単独投与群は無処置群に比べて有意に骨髄脂肪細胞径が増大していた(p<0.01)。また、電磁場刺激の有無では脂肪細胞径に有意差を認めなかった(p=0.43)。

## 考察

われわれは電磁場刺激が骨壊死の発生率、多発性、大きさ、発生部位、修復過程、また、骨壊死の発生機序の一つと考えられている骨髄脂肪細胞径に与える影響について検証した。

その結果、電磁場刺激が家兎における骨壊死の発生率を低下させることを確認した。ステロイド投与後の骨壊死に対して電磁場刺激がもつ予防効果に関しての報告はこれまでになく、本研究が初めてである。

家兎の骨壊死は、骨壊死が骨髄細胞壊死を周囲に伴う骨細胞の空胞化を伴い、その修復過程では肉芽組織と添加骨形成を示す。その組織学的な特徴は家兎とヒトの骨壊死では類似しており、ヒトのステロイド投与後の骨壊死の病態を反映するモデルとして多くの研究に用いられて

いる。電磁場刺激がヒトのステロイド投与後の骨壊死に対しても予防効果をもつ可能性がある。

また、今回の研究においては、電磁場刺激は骨壊死の個体あたりの発生数、大きさおよび発生部位に影響を与えず、修復を促進する所見も認めなかった。電磁場刺激を骨壊死の治療に用いた臨床研究においても、その効果は評価が一定しておらず<sup>7,8)</sup>、電磁場刺激が骨壊死の修復反応や、重症度には関連しない可能性がある。

骨壊死の発生に関与すると考えられている骨髓脂肪細胞径に対しては電磁場刺激の明らかな影響を認めなかった。今回の研究では電磁場刺激が骨壊死発生率を低下させる機序については明らかにできなかったが、電磁場刺激の持つ血管新生促進作用や血管拡張作用がステロイド投与後の骨内虚血を抑制して骨壊死率を低下させたと推察した。

## 結論

本研究は電磁場刺激が家兎の骨壊死発生率を低下させることをはじめて示した。すでに臨床利用されている電磁場刺激を用いた研究結果であり、電磁場刺激はヒトのステロイド性骨壊死に対する予防法としても有望であると考えられる。

## 謝辞

本研究は平成18年度財団法人日本股関節研究財団の研究助成により行いました。財団法人日本股関節研究振興財団に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) Tepper OM, Callaghan MJ, Chang EI, Galiano RD, Bhatt KA, Baharestani S, Gan J, Simon B, Hopper RA, Levine JP, Gurtner GC. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2. *FASEB J*. 2004;18:1231-1233.
- 2) Smith TL, Wong-Gibbons D, Maulsby J. Microcirculatory effects of pulsed elec-

tromagnetic fields. *J Orthop Res*. 2004; 22:80-84. Wang GJ, Lennox DW, Reger SI, Stamp WG, Hubbard SL. Cortisone-induced intrafemoral head pressure change and its response to a drilling decompression method. *Clin Orthop Relat Res*. 1981;159:274-8.

- 3) Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, Yamashita A, Jingushi S, Noguchi Y, Iwamoto Y. A high low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ratio as a potential risk factor for corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40:196-201.
- 4) Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, Yamashita A, Jingushi S, Noguchi Y, Iwamoto Y. Bone marrow fat cell enlargement and a rise in intraosseous pressure in steroid-treated rabbits with osteonecrosis. *Bone*. 2002;30:185-190.
- 5) Yamamoto T, Irisa T, Sugioka Y, Sueishi K. Effects of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissues: corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum*. 1997;40:2055-2064.
- 6) Shaw SL, Salmon ED, Quatrano RS. Digital photography for the light microscope: results with a gated, video-rate CCD camera and NIH-image software. *Biotechniques*. 1995;19:946-955.
- 7) Steinberg ME, Brighton CT, Bands RE, Hartman KM. Capacitive coupling as an adjunctive treatment for avascular necrosis. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;261:11-18.
- 8) Massari L, Fini M, Cadossi R, Setti S, Traina GC. Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am*. 2006;88:56-60.