

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20mg/kgのMPSLを1回殿筋内に筋注した⁵⁾。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。家兔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週間を要するため、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¹⁾。

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を作製した(図2)。

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。大腿骨の組織標本中に一つでも骨壊死領域を認めた家兔は骨壊死発生家兔とした⁵⁾。大腿骨近位1/3の標本に含まれる血管数の平均値を骨髓内血管数とした。

マウスに電磁場刺激を1日につき10時間与え、7日間飼育した電磁場刺激群(n=10)、電磁場刺激を与えずに7日間飼育したcontrol群(n=10)を対象に血管新生因子であるfibroblast growth factor-2およびangiopoietin-2の骨内での発現量をWestern blotting法で比較検討した。

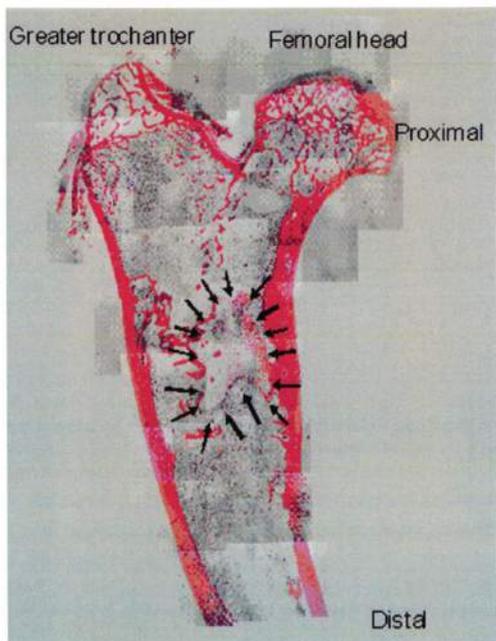


図2 ステロイド単独投与群の家兔大腿骨近位1/3の正中冠状断ヘマトキシリンエオジン染色組織標本。矢印内に骨壊死を認める。

研究結果

S群40羽中26羽(65%)に骨壊死を認めた。すなわちS(+)²⁶羽、S(-)¹⁴羽であった。一方、SP群で骨壊死を認めたのは40羽中15羽(37.5%)であった。SP(+)¹⁵羽、SP(-)²⁵羽であった。骨髓内血管数はS群とSP群間では有意差を認めず、電磁場刺激が骨髓内血管数に与える影響は明らかではなかった。S(+)²⁶群とS(-)¹⁴群、SP(+)¹⁵群とSP(-)²⁵群間でも血管数に有意差は認めなかった(図3)。

電磁場刺激を与えたマウスの骨内ではコントロール群に比べてfibroblast growth factor-2とangiopoietin-2の発現が有意に亢進していた。(図4)。

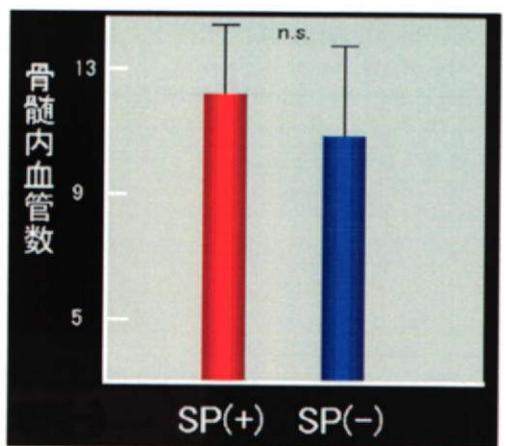
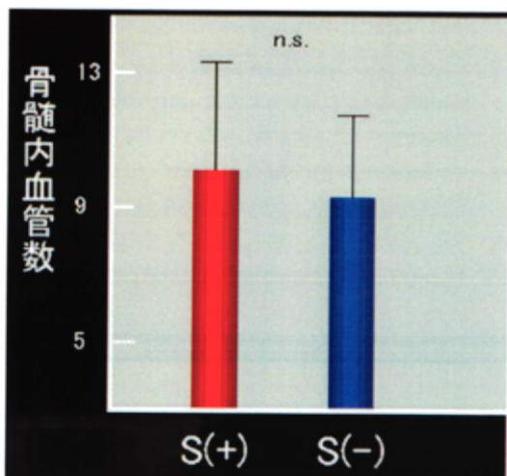
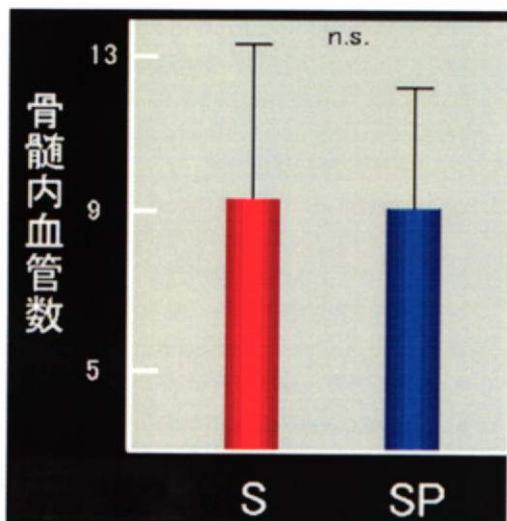


図3 骨髄内血管数

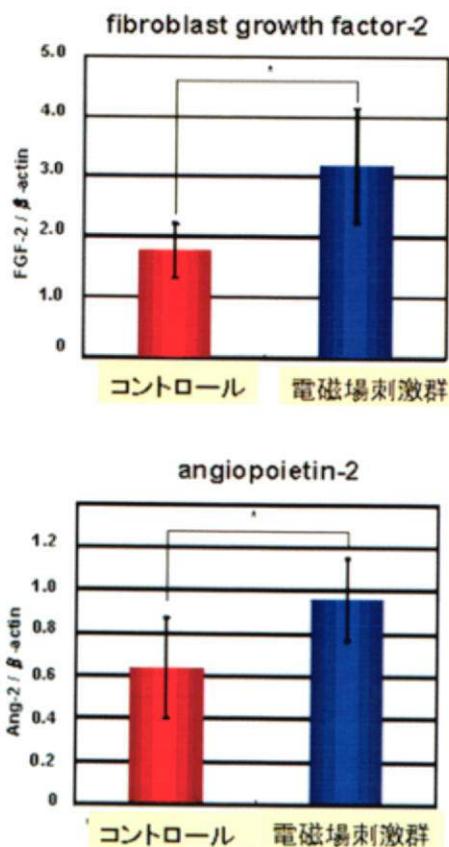


図4 骨内 fibroblast growth factor と angiopoietin-2 の発現

考 察

骨髄内血管数と電磁場刺激の間に統計学的有意差は認めず、骨壊死の発生と血管数にも明らかな関連はなかった。

Van Bavelらは血流陽性血管と組織の虚血の関連について報告し、総血管数のみでは虚血性変化を鋭敏にとらえることができないとしている。

今回の血管数の評価は総血管数についてであり、血流の有無は評価できていない。この点が血管数と骨壊死の発生との相関が得られなかった要因となっている可能性がある。

また、本研究で電磁場刺激が骨内の血管新生

因子の発現を促進することを明らかとしたが、電磁場刺激は血管新生のみならず血流の維持、血管拡張などの多面的作用を持つことが報告されており、これらの効果が骨壊死予防効果の機序として関与している可能性がある。

結 論

これまでにわれわれ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示しており、予防機序についての検討を行った。電磁場刺激は血管新生のみならず血流の維持、血管拡張などの多面的作用を持つことが報告されており、これらの効果が骨壊死予防効果の機序として関与している可能性がある。

謝 辞

本研究は平成20年度財団法人日本股関節研究振興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, Maultsby J. Microcirculatory effects of pulsed electromagnetic 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.