



Low-intensity Pulsed Ultrasound Enhances Early Healing of Medial Collateral Ligament Injuries in Rats

高倉, 義幸

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2002-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2594

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002594>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【119】

氏名・(本籍) 高倉 義幸 (京都府)

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学位記番号 博い第1441号

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の日付 平成14年3月31日

【学位論文題目】

**Low-intensity Pulsed Ultrasound Enhances Early Healing of
Medial Collateral Ligament Injuries in Rats**

(ラット内側側副靭帯損傷における早期治癒課程に
及ぼす低出力超音波の影響)

審査委員

主査 教授 黒坂 昌弘

教授 伊東 宏

教授 尾原 秀史

【目的】近年、超音波は診断、治療（手術など）と広く使用されており、臨床的にも実験的にも腱、神経、骨の修復を促進させることが知られている。欧米諸家が動物実験を行い超音波が腱の修復に効果があるという報告はなされているが、現在靭帯損傷に対する超音波の効果については不明である。そこで、我々は近年骨折治療に用いられ、臨床試験、動物実験においてその有効性が報告されている低出力超音波の靭帯組織修復への応用を試み、ラットの内側側副靭帯損傷モデルに低出力超音波を照射し力学的、形態学的にその有効性を検討した。

【材料と方法】材料は体重 435～520g、雄の Sprague-Dawley rat を 13 匹用いた。方法は麻酔下にラットの両後肢の内側側副靭帯を関節裂隙直下で鋭的に切離し皮膚のみを縫合した内側側副靭帯損傷モデルを作製し、翌日より片側のみに低出力超音波（繰り返し周期 1.0kHz で、1.5MHz の正弦波からなる Burst 幅 200 μ s、照射出力 30.0mW/cm²）を毎日 20 分間照射した。対側のプロープのみをあて、超音波を照射しない後肢をコントロールとした。力学的評価はこのラットを 12 日目に 8 匹、21 日目に 5 匹屠殺し、各 5 対の標本を大腿骨-内側側副靭帯-脛骨を一塊とし取り出し、内側側副靭帯以外を切除し、大腿骨、脛骨をレジンで固定、45° の角度で島津オートグラフ AGS-5kNG に設置し、0.25mm/s の速さで引っ張り試験を行い、最大破断強度 (N)、剛性 (N/mm)、破断エネルギー (Nmm) を測定、評価した。また、別に 5 匹の損傷のない正常ラットを屠殺し同様に引っ張り試験を行った。形態学的検討として 12 日目に屠殺したラット 8 匹中 3 匹の内側側副靭帯切離部に形成された瘢痕組織のみを採取し、電子顕微鏡を用い倍率五万倍で撮影しコラーゲンフィブリルの直径を計測、評価した。

【結果】引っ張り試験において 12 日後に屠殺したラットの内側側副靭帯は全例切離部で破断したが、21 日目に屠殺したラットの内側側副靭帯は損傷のない正常ラットの標本と同じく全例脛骨付着部で破断した。最大破断強度は低出力超音波を 12 日間照射した群で 21.6 \pm 2.0N、対側の非照射群で 17.8 \pm 0.9N と統計学的に有意差を認めた ($p < 0.05$)。21 日間照射後では 26.1 \pm 3.0N、対側の非照射群は 25.0 \pm 3.7N と有意差を認めなかった。照射後 12 日での剛性は、照射群 18.4 \pm 1.3N/mm、非照射群 16.8 \pm 0.9N/mm であり、21 日間照射群と非照射群の剛性は、19.9 \pm 3.0N/mm、21.0 \pm 1.2N/mm であった。剛性は、12 日目の 2 群間で統計学的に有意差 ($p < 0.05$) を認めたが、21 日目では有意差を認めなかった。照射後 12 日の破断エネルギーは、非照射群では 10.2 \pm 1.0Nmm であり、照射群では 14.4 \pm 1.4Nmm と有意な差を認めた ($p < 0.05$)。照射後 21 日目の標本では、非照射群 17.1 \pm 4.4Nmm、照射群 19.8 \pm 4.3Nmm と有意な差を認めなかった。電子顕微鏡を用い計測したフィブリルの直径は、12 日間照射群が 60.7 \pm 6.2nm、対側の非照射群が 53.3 \pm 6.0nm であり統計学的に有意差を認めた ($p < 0.05$)。

【考察】これまでも超音波治療を腱に対して行った報告は散見されるが、使用された超音波は高出力 (0.2～1.0W/cm²) で、照射時間も 3～5 分間と短いものであった。この実験では骨折治療に用いられる低出力超音波（繰り返し周期 1.0kHz で、1.5MHz の正弦波からなる Burst 幅 200 μ s、照射出力 30.0mW/cm²）を使用し、靭帯組織に照射した。この低出力超音波を 12 日間照射した群は非照射群より最大破断強度、剛性、破断エネルギーとすべてにおいて有意に高く、コラーゲンフィブリルの直径も超音波治療群のほうが有意に太くなっていた。フィブリルの横断面積は修復靭帯の強度と関係があり、

その直径が治療群で有意に増大していることは低出力超音波治療が靭帯の力学的特性を改善したことを立証している。術後21日の力学的評価では照射群と非照射群間に有意差は認められなかった。このことはラットの速い組織修復力によると考えられる。超音波が靭帯修復を促進するメカニズムはまだ不明だが、今回の実験結果は低出力超音波照射が内側側副靭帯損傷の早期治癒過程においてコラーゲンフィブリルの直径を増大させ、損傷靭帯の力学的特性の回復を促進させることを示唆している。また、毎日20分間低出力超音波を照射することが組織修復における構造や成熟にも効果があると考えられる。ラットと人においては差異があると思われるが、内側側副靭帯損傷の早期治癒過程において低出力超音波の照射は有効であると考えられた。

| 論文審査の結果の要旨 | | | |
|------------|---|----|------|
| 受付番号 | 甲第1427号 | 氏名 | 高倉義幸 |
| 論文題目 | Low-intensity Pulsed Ultrasound Enhances Early Healing of Medial Collateral Ligament Injuries in Rats ラット内側側副靭帯損傷における早期治癒過程に及ぼす低出力超音波の影響 | | |
| 審査委員 | 主査 黒坂昌弘 副査 伊東 光 副査 尾倉秀史 | | |
| 審査終了日 | 平成14年3月6日 | | |

(要旨は1,000字~2,000字程度)

はじめに

近年、超音波は診断、治療（手術など）と広く使用されており、臨床的にも実験的にも腱、神経、骨の修復を促進させることが知られている。欧米諸家が動物実験を行い超音波が腱の修復に効果があるという報告はなされているが、現在靭帯損傷に対する超音波の効果については不明である。そこで、我々は近年骨折治療に用いられ、臨床試験、動物実験においてその有効性が報告されている低出力超音波の靭帯組織修復への応用を試み、ラットの内側側副靭帯損傷モデルに低出力超音波を照射し力学的、形態学的にその有効性を検討した。

対象と方法

材料は体重 435～520g、雄の Sprague-Dawley rat を 13 匹用いた。

- 1) 内側側副靭帯損傷モデルを作製： 麻酔下にラットの両後肢の内側側副靭帯を関節裂隙直下で鋭的に切離し皮膚のみを縫合した内側側副靭帯損傷モデルを作製し、翌日より片側のみに低出力超音波（繰り返し周期 1.0kHz で、1.5MHz の正弦波からなる Burst 幅 200 μ s、照射出力 30.0mW/cm²）を毎日 20 分間照射した。対側のプローブのみをあて、超音波を照射しない後肢をコントロールとした。
- 2) 力学的評価： 上記のラットを 12 日目に 8 匹、21 日目に 5 匹屠殺し、各 5 対の標本を大腿骨-内側側副靭帯-脛骨を一塊とし取り出し、内側側副靭帯以外を切除し、大腿骨、脛骨をレジンで固定、45° の角度で島津オートグラフ AGS-5kNG に設置し、0.25mm/s の速さで引っ張り試験を行い、最大破断強度 (N)、剛性 (N/mm)、破断エネルギー (Nmm) を測定、評価した。
- 3) 形態学的検討： 12 日目に屠殺したラット 8 匹中 3 匹の内側側副靭帯切離部に形成された瘢痕組織のみを採取し、電子顕微鏡を用い倍率五万倍で撮影しコラーゲンフィブリルの直径を計測、評価した。

結果

- 1) 力学的評価： 引っ張り試験において 12 日後に屠殺したラットの内側側副靭帯は全例切離部で破断したが、21 日目に屠殺したラットの内側側副靭帯は損傷のない正常ラットの標本と同じく全例脛骨付着部で破断した。最大破断強度は低出力超音波を 12 日間照射した群で 21.6 \pm 2.0N、対側の非照射群で 17.8 \pm 0.9N と統計学的に有意差を認めた ($p < 0.05$)。21 日間照射後では 26.1 \pm 3.0N、対側の非照射群は 25.0 \pm 3.7N と有意差を認めなかった。照射後 12 日での剛性は、照射群 18.4 \pm 1.3N/mm、非照射群 16.8 \pm 0.9N/mm であり、21 日間照射群と非照射群の剛性は、19.9 \pm 3.0N/mm、21.0 \pm 1.2N/mm

であった。剛性は、12 日目の 2 群間で統計学的に有意差 ($p < 0.05$) を認めたが、21 日目では有意差を認めなかった。照射後 12 日の破断エネルギーは、非照射群では 10.2 \pm 1.0Nmm であり、照射群では 14.4 \pm 1.4Nmm と有意な差を認めた ($p < 0.05$)。照射後 21 日目の標本では、非照射群 17.1 \pm 4.4Nmm、照射群 19.8 \pm 4.3Nmm と有意な差を認めなかった。

- 2) 形態学的検討： 電子顕微鏡を用い計測したフィブリルの直径は、12 日間照射群が 60.7 \pm 6.2nm、対側の非照射群が 53.3 \pm 6.0nm であり統計学的に有意差を認めた ($p < 0.05$)。

考察ならびに結論

これまでも超音波治療を腱に対して行った報告は散見されるが、使用された超音波は高出力 (0.2～1.0W/cm²) で、照射時間も 3～5 分間と短いものであった。この実験では骨折治療に用いられる低出力超音波（繰り返し周期 1.0kHz で、1.5MHz の正弦波からなる Burst 幅 200 μ s、照射出力 30.0mW/cm²）を使用し、靭帯組織に照射した。この低出力超音波を 12 日間照射した群は非照射群より最大破断強度、剛性、破断エネルギーとすべてにおいて有意に高く、コラーゲンフィブリルの直径も超音波治療群のほうが有意に太くなっていた。フィブリルの横断面積は修復靭帯の強度と関係があり、その直径が治療群で有意に増大していることは低出力超音波治療が靭帯の力学的特性を改善したことを立証している。術後 21 日の力学的評価では照射群と非照射群間に有意差は認められなかった。このことはラットの速い組織修復力によると考えられる。超音波が靭帯修復を促進するメカニズムはまだ不明だが、今回の実験結果は低出力超音波照射が内側側副靭帯損傷の早期治癒過程においてコラーゲンフィブリルの直径を増大させ、損傷靭帯の力学的特性の回復を促進させることを示唆している。また、毎日 20 分間低出力超音波を照射することが組織修復における構造や成熟にも効果があると考えられる。ラットと人においては差異があると思われるが、内側側副靭帯損傷の早期治癒過程において低出力超音波の照射は有効であると考えられた。

本研究は、膝靭帯損傷の修復メカニズムに及ぼす超音波の効果を研究したものであるが、従来全く行われていなかった超音波の使用が、靭帯修復促進を促すという新しい知見を得た。今後、靭帯修復促進のメカニズムを解明することで、臨床応用も十分に望めるという点で、価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。