

高気圧酸素療法 (HBO) の骨形成促進作用

—骨折, 骨接合, 骨移植, 仮骨延長などの動物実験モデルによる研究および臨床研究からの知見—

井上 治¹, 大湾 一郎², 四ノ宮成祥³

和文抄録

高気圧酸素療法 (hyperbaric oxygen therapy : HBO) は, 膠原線維 (コラーゲン) の増生や血管新生を促進し, 類骨や新生骨の形成を促進することが基礎研究で示されている。骨折, 骨接合, 骨移植, 仮骨延長などの動物実験モデルにおいて, X線像, 骨密度, 骨塩量などの解析から HBO は骨量を増加させること, また骨の破断試験から骨強度を上げること, 骨形態計測の結果から骨形成を亢進させることが明らかにされている。一方, 臨床では, 骨折の多様性や個体差, 治療法の違いなどから HBO の有効性を示すことは難しいが, 仮骨延長法などでは客観的な評価が可能であり, 仮骨の骨成熟に対する HBO の有効性が報告されている。すでに, 開放性骨折や粉碎骨折, 遷延性骨癒合に対し電磁波や超音波による保険診療が行われているが, HBO は骨形成を初期の段階から促進することからこのような難治性骨折において保険適応が期待される。

キーワード: 骨形成促進作用, 高気圧酸素療法, 骨折, 骨移植, 仮骨延長法

本稿の目的と文献の選択

本稿では, 骨代謝に及ぼす高気圧酸素療法 (hyperbaric oxygen therapy ; HBO) の効果を細胞レベル, 個体 (動物実験) レベル, 臨床応用の3段階に分けて検証した。本稿は, 国内外のジャーナルに掲載された基礎研究や臨床報告を要約したレビュー (文献紹介) であり, 骨癒合に対する HBO 適応の正当性を読み取ってもらうのが目的であるが, 骨に対する HBO の臨床論文が極めて少ないことから, 細胞レベルの基礎研究や動物実験モデルを使用した研究を主に取り上げた。HBO 効果のメカニズム (機序) は代表的成書すなわち *Hyperbaric Medicine Practice* (1999年, Kindwall EP編)¹⁾, *Handbook on Hyperbaric Medicine* (2006年, Mathieus D編)²⁾, *Textbook of Hyperbaric Medicine* (2009年, Jain KK編)³⁾, *Undersea Hyperbaric Medical Society (UHMS) Committee Report* (2003年)⁴⁾ などから引用し, 論文の検索にはデータベース (PubMed, Medical Online, 医中誌など) を使用した。なお, 有意差は重要な場合のみ記し, 検定法は当該論文を参照されたい。

創傷治癒 (非骨組織) に及ぼす HBO 効果

十分な酸素 (以下, O₂) 供給は, 正常の組織修復過程に不可欠である。創傷部周囲の O₂ 分圧は正常組織の 1/2 以下に低下し, 創傷治癒の速度は O₂ 分圧により決まる^{5)~10)}。低 O₂ 状態は治癒を阻害し, 感染に対する抵抗性を減弱させる^{1)~4)}。HBO すなわち間歇的高 O₂ 分圧は, 創傷部の血管新生を促し, O₂ 供給を改善させる。さらに, 線維芽細胞の増殖とコラーゲンの産生を促し, 組織修復過程を促進させる^{6)~14)}。創周辺部が十分な O₂ で灌流されると, 低 O₂ 状態の創中心に向かって急峻な O₂ 濃度勾配が形成され, これが正常な創傷治癒に有利に働く^{15), 16)}。創縁の炎症細胞は乳酸や成長因子を産生し, これらの因子が化学遊走刺激となって既成血管領域からの細胞遊走を惹起させる (chemotactic)。新生毛細血管は, 低 O₂ かつ低 pH に傾く創縁に向かって増生するよう刺激されるが, 血管新生に先立ち間質形成が必要である。線維芽細胞は間質の支えとなるコラーゲンのほか, fibronectin (フィブロネクチン), proteoglycan (プロテオグリカン) なども産生する¹⁷⁾。HBO は, このような炎症細胞, 新生血管, 線維芽細胞の連携を

¹ 江洲整形外科クリニック, ² 琉球大学 医学部整形外科学教室, ³ 防衛医科大学校 分子生体制御学講座

著者連絡先: 江洲整形外科クリニック・ハイパー酸素療法振興会 〒902-2244 沖縄県うるま市江洲 598-4

TEL : (098) 979-1515 FAX : (098) 979-1188 e-mail : hbo@esu-ortho.jp

[受領日: 2013年9月26日]

促進する^{18)~21)}。

Rollins ら (2006年)²²⁾ は、ラットの背部皮下にステンレスメッシュのシリンダー (籠) を埋め込み、陰極針をシリンダー内に挿入してO₂分圧を測定した。HBOは2.0ATA, 90分, 1日2回を15日間行い、O₂分圧はHBO中の最高値、HBO終了1時間後の値を5, 10, 15日目に測定した。HBO群の最高値は5, 10, 15日目に経過するにしたがい、平均541, 392, 266mmHgと減少、1時間後の値も平均78, 47, 31mmHgと減少した。対照群は、測定時のみ2.0ATAまでO₂加圧したが、O₂分圧は、5, 10, 15日目の最高値が平均323~334mmHg, 1時間後が平均39~76mmHgで、経時的な減少はみられず、15日目ではHBO群よりむしろ増加していた。以上よりRollinsらは、HBOでO₂分圧は上昇するが、線維芽細胞の増殖や血管新生によりO₂消費量が増加するため、HBO下でも酸素分圧が低下したのではないかと報告している。

骨芽細胞に及ぼすHBO効果 (表1)

In vitroの組織培養では、大気圧下 (20% O₂) は in vivoの動物実験での高気圧酸素下 (HBO) に相当する。すなわち in vitroの5~10% O₂が in vivoの大気圧下に相当し、in vitroの50% O₂以上は in vivoの超高気圧下環境 (3.0ATA以上のHBO) に相当すると思われる。In vitroのO₂環境を解釈するうえで重要であるが、in vivoに換算する資料は得られなかった^{23)~30)}。

Stern ら (1963年)²³⁾ は、培養液中に³Hプロリンを加えてマウス頭蓋骨を培養し、10% O₂ (90% N₂) 群、20% O₂ (80% N₂) 群、30% O₂ (70% N₂) 群、50% O₂ (50% N₂) 群に分け、経時的 (1~48時間) にプロリンとヒドロキシプロリンをクロマトグラフィで分離し、³Hプロリンと³Hヒドロキシプロリンの割合を放射線カウンターで定量した。培養液中の³Hプロリンは水酸化されて³Hヒドロキシプロリンとなりコラーゲンの合成に用いられ、同時に古いコラーゲンが変性していた (³Hで標識されていないヒドロキシプロリンがプロリンに転換)。14日間の培養後に検出された頭蓋骨および培養液中の総ヒドロキシプロリン量は、10% O₂群54.2 μg (骨から検出100%)、20% O₂群81.9 μg (骨から検出67%)、30% O₂群86.3 μg (骨から検出46%)、50% O₂群45.0 μg (骨から検出6%) であった。コラーゲンの産生 (骨形成) 量は骨中と培養液中のコラーゲンを合わせたもの (和) で、30% O₂群で最も高く、一方骨

吸収は10% O₂群でほとんど認められず、O₂分圧が高くなるほど亢進していた。

Shaw ら (1967年)²⁴⁾ は、11日目の胚 (chick embryo) から骨膜付き脛骨を採取し、5% CO₂にO₂濃度 (5% O₂~95% O₂) を変えて培養後、組織学的に軟骨、骨量、骨膜下骨形成を比較した。軟骨細胞の増殖、類骨や骨量の新生などは35% O₂で最も著明で、5% O₂ではこれらの成長は遅く、95% O₂ではこれらの成長は抑制され、破骨細胞が出現した。

Tuncay ら (1994年)²⁵⁾ は、ラット胎児頭蓋骨の骨芽細胞を培養し、高O₂環境 (90% O₂)、低O₂環境 (10% O₂)、大気環境 (20% O₂)、さらに前二者 (90% O₂, 10% O₂) を交互に行った場合を比較した。低O₂環境では、細胞は増殖するがアルカリフォスファターゼ (Alkali phosphatase; ALP) 活性、培養液 pO₂, pCO₂が低下し、高O₂環境では反対の現象が観察された。高O₂環境、低O₂環境を交互に行った場合は、コラーゲン産生と骨芽細胞の増殖、ALP活性が最高値となり、両極端の環境が骨改築の刺激となっていた。

Hirano ら (2006年)²⁶⁾ は、マウス胚培養により軟骨細胞の分化と機能を観察した。多分化能をもった中胚葉性細胞 (CH3H10T1/2) と胚前肢を骨形成因子 (recombinant human bone morphogenic protein-2; rhBMP-2) の存在下に大気圧下 (20% O₂) あるいは5% O₂下で培養した。大気圧下では、骨芽細胞の増殖、ALP活性の増加がみられたが、5% O₂下では glycosaminoglycan産生が増加し、ALP活性と中胚葉性細胞の石灰化が抑制され、軟骨分化が誘導された。マウス前肢胚培養では5% O₂は軟骨組織のコラーゲン形成を促進した。5% O₂では、Sox 9よりも専らp38 MAPKの活動性が関与し、Smad抑制およびhistone deacetylase 4の活性化によりRunx 2活性がdown regulationされ、骨化を促すCol 10a1 (type X collagen a 1) の発現が阻止されていた。

Okubo ら (2001年)²⁷⁾ は、骨形成因子 (rhBMP-2) 5 μgをキャリアー (atelo peptide type collagen) とともにラット30匹の腓腹筋内に埋め込んだ。新生骨は単純X線撮影 (以下、X線像)、生化学検査、組織像により3, 7, 21日後に評価した。脱灰標本において骨梁をコンピュータ解析で形態計測した。移植部組織をホモジナイズし、ALP活性、Ca (Calcium) 含有量を測定した。HBOは2.0ATA, 60分, 1日1回を21日間行った。骨形態計測ではHBO群は骨梁幅

表1 骨芽細胞に及ぼすHBO効果 (in vitro実験)

報告者	材 料	方 法	低~高O ₂ 環境(HBO相当)	低O ₂ 環境(大気下相当)	高O ₂ 環境 (超HBO)
Stern(1963)	マウスの頭蓋骨	放射性プロリン測定	20~30% : 骨形成均衡	10%O ₂ : 骨芽細胞優位	50%O ₂ : 破骨細胞優位
Shaw(1967)	ニフトリ孵化卵脛骨	骨膜付き脛骨, 5%CO ₂ 培養	35%O ₂ : 骨形成著明	5%O ₂ : 骨形成遅延	95%O ₂ 抑制 : 巨細胞出現
Tuncay(1994)	ラット胎児頭蓋骨	骨膜付き脛骨	10~90%	10%O ₂ : ALP活性低下	90%O ₂ : 活性ALP上昇
Hirano (2006)	マウス胚前肢培養	BMP (骨形成因子)	20%O ₂ : 石灰化促進	5%O ₂ : 石灰化抑制, 軟骨分化	

報告者(年)	材 料	方 法	HBO	結 果
Okubo (2001)	BMP埋込 ラット筋内	レ線撮影, 骨形態計測 3, 7, 21日後	2.0ATA, 60分/日×21	骨密度, Ca含有量↑ 骨稜面積↑ALP↑
Okubo (2003)	ラット筋内BMP埋込	同肢大腿動脈遮断	2.0ATA, 60分/日×21	骨芽細胞↑骨塩量↑
Wu (2007)	骨芽細胞培養	骨芽細胞分化 LDH 活性	1.5ATA, 2.4ATA 30分or90分/日×10	骨結節↑石灰沈着↑ 細胞障害性なし
Hsieh (2010)	骨芽細胞培養	線維芽細胞成長因子	2.5ATA, 50%O ₂ , 20%O ₂	mRNA↑

が広く, 対照群は骨梁が疎らで, 骨梁の占有面積 (骨量) はHBO群 (30.1±2.2%), 対照群 (16.9±1.2%) であった ($p<0.001$)。またHBO群では7日後に軟骨が骨形成因子移植部の辺縁で形成され, 組織内ALP活性とCa含有量が7日後, 21日後で有意に高値であった ($p<0.01$, $p<0.05$)。また2003年²⁸⁾, ラット10匹の大腿動脈を遮断して腓腹筋の血行障害を作成し, 骨形成因子 (rhBMP-2) を筋肉内に埋め込んだ。HBO (2.0ATA, 60分, 1日1回) を21日間行った。HBO群では骨芽細胞数, ALP値, 骨塩量は著明に増加していた ($p<0.001$)。

Wuら (2007年)²⁹⁾ は, 培養骨芽細胞に, HBOすなわち1.5ATAないし2.4ATA, 30分ないし90分, 1日1回を10日間行った。1.5ATA, 90分と2.4ATA, 30分, 6日間で, 骨結節 (bone nodule) 形成, 石灰沈着, APL活性など骨に至る分化が最も亢進し, 乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性からHBOの細胞障害性を認めなかった。

Hsiehら (2010年)³⁰⁾ は, 骨芽細胞を大気圧下空気 (対照群), 2.5ATA, 90分, 空気, 1日2回 (高気圧空気群), あるいは2.5ATA, 50% O₂, 90分, 1日2回 (高気圧高O₂群) で培養した。高気圧高O₂群は, 骨芽細胞の分化を促進し, 3日目, 7日目で線維芽細胞増殖因子を表現するmRNAを増加させ, 関連因子 (Akt, p70, NF, PKC alpha, JNK) を刺激した ($p<0.001$)。

動物モデルに対するHBO効果 (表2)

骨折や骨切り術では骨膜が温存され, 血行の途絶はない。一方, 通常の骨移植では血行が遮断された遊離状態になる。骨の欠損部にはさまざまな大きさ, あるいは材質の補填材料 (人工骨など) が使用され

ることも多い。仮骨延長では延長速度に応じた骨形成が必要となるなど, 骨形成に及ぼすHBOの効果はさまざまに修飾される。

1) 骨折, 骨切り, 骨接合モデル

Coulsonら (1966年)³¹⁾ は, ラット30匹を用い, 一側の大腿骨骨幹部に皮下骨折を起こし, HBOは3.0ATA, 120分, 1日1回を行った。1, 2, 3週目に⁴⁵Ca (同位元素) を20 μ Ci腹腔内投与し, 24時間後に屠殺した。同骨を切除・焼却し, 骨灰を放射線カウンターで計測した。⁴⁵Caの取り込みは, HBO群では対照群に比べ11.1% (1週後), 26.9% (2週後), 17.5% (3週後) 増加した。別のラット30匹の大腿骨遠位骨幹部を1.5mm径の歯科用ドリルで穿孔し, 同HBOを行った。2週間後, 大腿骨を切除・乾燥させ, 破断試験を行った。穿孔した骨は, 穿孔していない骨と比べた場合, HBO群では平均93%の強度であったが, 対照群では平均82%の強度であった ($p<0.001$)。

Wrayら (1968年)³²⁾ は, ラット80匹の脛骨を遠位1/3で骨切りし, K-wireで髓内釘固定を行い, HBOは2.0ATA, 6時間, 1日1回を20回行った。髓内釘を抜去した破断試験では, 術後27日および31日においてHBO群で骨切り部の強度が高まっていた ($p<0.07$)。

Yablonら (1968年)³³⁾ は, ラット180匹をHBO群と対照群に分け, 手動的に大腿骨を皮下骨折し, HBOは3.0ATA, 60分, 1日2回を行った。X線像とMicroangiographからHBO群では22日で, 旺盛な架橋骨形成がみられ, 40日で骨癒合が得られたが, 対照群では22日で骨折部の骨形成が始まり, 40日で架橋骨癒合は得られなかった。組織像 (HE染色, Toluidine blue染色) からHBO群では4日で線維性仮骨がすでにみられ, 9日で軟骨形成がみられ, 15日

表2 臨床モデルによるHBO 効果

術式	報告者	年	臨床モデル	方法	HBO	結果
骨折・骨切り	Coulson	1966	ラット大腿骨皮下骨折	Ca同位元素, 破断試験	3.0ATA 120分/日×21	Ca45 取込↑強度↑
	Wray	1968	ラット脛骨骨切り・髓内定固定	破断試験	2.0ATA 60分/日×20	強度↑
	Yablon	1968	ラット大腿骨皮下骨折	レ線像, 組織像, 血管造影	3.0ATA 60分 2回/日×40	早期骨化
	Penttinen	1972	ラット脛骨皮下骨折	仮骨重量, 骨塩量, 窒素含量	2.5ATA 120分 2回/日×21	重量増加
	Nilsson	1987	ラット下顎骨骨切り	組織像	2.8ATA 80分/日×21	組織損傷緩和
	井上	2003	イヌ脛骨骨切り・プレート固定	骨形態計測 (二重標識法)	2.0ATA 60分/日×28	石灰化速度1.7倍
骨欠損・骨移植・補填材	Nilsson	1988	ウサギ脛骨近位骨幹端	円柱管埋込, 骨形成量計測	2.8ATA 120分/日×21	骨形成量の増加
	Tkachenko	1988	ウサギ撓骨骨欠損	骨形態計測, 骨塩量	2.0ATA 90分 1回/日×28	骨形成促進
					3.0ATA 90分 1回/日×28	骨形成遅延
					2.0ATA 90分 1回/日×28	骨形成促進
	Barth	1990	ラット大腿骨骨幹端骨穿孔	骨形態計測	2.0ATA 90分 2回/日×14	骨形成遅延
					2.0ATA 90分 2回/日×14	骨形成遅延
	井上	1991	イヌ撓骨骨幹部骨膜下切除	レ線像	2.0ATA 60分/日×28	架橋骨癒合/ 疲労骨折回避
	Johnsson	1993	ウサギ骨幹端スクリュー固定	抜去時トルク測定	2.4ATA 80分/日×21	トルク44%増加
	Sawai	1996	ウサギ下顎骨自家骨移植	組織像	2.4ATA 60分 2回/日×30	骨癒合期間1/2に短縮
	Kerwin	2000	ネコ尺骨骨欠損部海綿骨移植	微小血管造影, 骨形態計測	2.0ATA 90分/90分/日×14	類骨幅1.2倍に増加
Chen	2002	ウサギ腰椎後側方骨移植	骨癒合率, 捻れトルク	2.5ATA 120分/日×48	骨癒合率: HBO群で2倍	
Jan	2006	ウサギ側頭骨穿孔	レ線像	2.4ATA 90分/日×20	骨充填期間1/2に短縮	
	2010	同・脱灰骨, アパタイト充填	断層撮影, 骨形態計測	2.4ATA 90分/日×20	骨新生↑線維形成↓	
骨延長	Ueng	1998	ウサギ脛骨仮骨延長	骨塩定量, 破断試験	2.5ATA 120分/日×42	骨塩1.2倍, トルク↑
		1999	同+喫煙群		2.5ATA 120分/日×42	骨塩↓, HBOで回復
	Kitakoji	1999	幼若ウサギ脛骨仮骨延長	レ線像, 骨塩定量	3.0ATA 120分/日×17	待機期間, 延長期間短縮
	Wang	2005	ウサギ脛骨仮骨延長	骨密度, 捻れトルク	2.5ATA 120分/日×42	骨切り直後よりHBO群↑
	Inokuchi	2010	イヌ上顎骨裂部矯正	仮骨延長部骨形態計測	2.5ATA 90分/日×20	骨密度↑, 活動性↑

で軟骨の内軟骨性骨化がみられ, 30日で骨折部の骨形成は最大となった。対照群では骨化は遅れ, 22日でもまだ骨折部は離解していた。

Penttinenら (1972年)³⁴⁾ は, ラット20匹を用い, 用手的に両側の脛骨骨幹部を皮下骨折させ, HBOは2.5ATA, 120分, 1日2回を骨折直後から11~21日行った。HBO群では, 仮骨重量が19~42%, 乾燥重量では6~32%, 対照群に比べて増加した ($p<0.01$)。また総窒素含量は15~60%, 仮骨内コラーゲン (ヒドロキシプロリン) は13~22%増加したが, 仮骨の張力試験 (flowing-water tensiometer) では有意差はなかった。HBO群では骨塩成分も増加 (Ca 31~37%, Mg 20~56%, Zn 31~63%, P 25~43%, Na 37~52%) し, 仮骨量が増加した。

Nilssonら (1987年)³⁵⁾ は, ラット120匹を用い, 一側の下顎骨関節突起基部を縦に骨切りし, 軟部組織損傷などの有無により手技を分けた。下歯肉動脈と下顎骨穿通枝を遮断 (手技A), 下顎骨関節突起部の舌側を下顎骨孔から結合と歯肉縁まで剥離 (手技B), 下顎骨骨切り部より頬部を門歯の歯肉縁まで剥離 (手技C) とし, 軟部組織への侵襲は手技A, 手技B, 手技Cの順に大きかった。骨切りのみ (手

技D) を対照手術 (sham) とし, 反対側の下顎骨を対照 (control) とした。HBOは2.8ATA, 80分, 1日1回を21日間行い, 10日後, 30日後に下顎骨を軟部組織を含めて切除した。X線撮影後, 脱灰して冠状面, 矢状面の薄切切片を作り, HE染色した。10日後では, 歯芽細胞の破綻は, 手技A, B, Cにおいて対照手術群の40%, 80%, 100%にみられたが, HBO群では20%, 30%, 40%のみに認められた。エナメル芽細胞の破綻は, 手技A, B, Cにおいて対照手術群の20%, 60%, 100%にみられたが, HBO群では認められなかった。歯芽梗塞は, 手技A, B, Cにおいて対照手術群の40%, 80%, 100%にみられたが, HBO群では認められなかった。中心部骨吸収および辺縁部骨吸収は, 手技A, B, Cにおいて100%, 80~100%, 100%にみられたが, HBO群では認められなかった。一方, osteodentinの産生は, 手技A, B, Cにおいて対照手術群ではみられなかったが, HBO群では80%, 100%, 100%に認められた。また骨内の類軟骨反応 (chondroid reaction) は, 手技A, B, Cにおいて対照手術群でみられなかったが, HBO群では全匹に認められた。30日後では, 歯芽細胞の破綻がHBO群では手技A, B, Cの80%,

100%, 100%にみられた。また骨内の類軟骨反応は, HBO群では手技A, B, Cにみられなくなったが, 辺縁の骨吸収は, HBO群では手技A, B, Cにみられた。すなわち10日後では, HBOにより組織損傷の悪影響が緩和され, 骨形成が促進されたが, 30日後では, 骨形成が終わり, 骨再構築の時期であることを示していた。

井上ら (2003年)^{36), 37)} は, 成犬6頭を用い, 脛骨の骨幹部中央を電動ソーで骨切りして骨膜下にプレート固定し, HBOは2.0ATA, 60分, 1日1回を28日間行い, 術後15日よりテトラサイクリン (tetracycline) を5日間隔で筋注して二重標識した。HBO終了の翌日に骨接合部を切除標本とし, 腓骨骨幹部を部分切除し, 両下腿骨を短縮してプレートで骨接合した。2カ月間隔で, 対側の脛骨を対照手術 (sham) として同様に骨切りしてプレート固定し, 二重標識した。3頭は骨切り後, HBOを最初に行い (HBO前期群), 他3頭は対照側を最初に骨切りした (HBO後期群)。Villanueva骨染色後, 研磨した硬組織標本を蛍光顕微鏡下に画像解析装置により石灰化速度を計測した。骨接合部, 骨膜下の仮骨, 皮質, 骨髄の付加骨の4カ所における二重標識の幅から石灰化速度の平均値を計測した。前期群および後期群でHBOを行った6骨ではHBOを行わなかった (sham) 6骨に比べ, 石灰化速度が1.27~2.29倍 (平均1.75倍) 促進された ($p<0.01$)。

2) 骨欠損, 骨移植および骨補填材モデル

Nilssonら (1988年)^{38), 39)} は, ウサギ脛骨近位骨幹部を掘削し, チタン製円柱管 (bone harvest chamber) をねじ込み, 3週間で管内に形成された新生骨のみを採取し, 再度, ねじ込んで新生骨を再生させる実験を行った。管内の新生骨は3週間ごとに採取可能で, 1回目は手術侵襲が加わるため2回目の採取から実験を行い, 同一個体における骨形成をHBOの有無で比較した。HBOは2.8ATA, 120分1日1回を30日間まで行い, 対照群は同じ時間, チャンバーに入れた。HE染色など組織学的には両群の骨量に差を見出せなかったが, microradiographyおよびmicrodensitometryではHBO群において新生骨の骨量は著明に増加し, 層状骨が認められた。

Tkachenkoら (1988年)⁴⁰⁾ の実験では, HBOが2.0ATAで骨修復が促進されたが, 3.0ATAでは骨修復がむしろ遅延した。ウサギ60匹を用い, 撓骨遠位1/3を骨切りして幅0.5mmの骨欠損 (gap) を作り,

同側の尺骨を副子とした。HBOは2.0ATAないし3.0ATA, 90分, 1日1回を15回まで行った。1, 3, 5週目に切除標本を作り, 骨形態計測による単位面積当たりの骨量 (以下, 骨量) とX線骨塩量測定 (以下, 骨塩測定) を行った。骨切り後1週間では対照群 (大気圧下飼育) に比べ, 2.0ATA群は骨量で $21 \pm 2.4\%$ 多く, 骨塩測定では $3 \pm 1.2\%$ 多く, 3.0ATA群は骨量で $29.2 \pm 3.4\%$ 少なく, 骨塩測定では $33.6 \pm 4.1\%$ 少なかった ($p<0.05$)。3週間では, 対照群に比べ, 2.0ATA群は骨量で $8 \pm 1.4\%$ 多く, 骨塩測定では $2.5 \pm 1.1\%$ 多かったが, 3.0ATA群は骨量で $27 \pm 3\%$ 少なく骨塩測定では $18 \pm 2.4\%$ 少なかった ($p<0.05$)。5週間では, 対照群に比べ, 2.0ATA群は骨量で $6 \pm 1.8\%$ 多く, 骨塩測定では $1 \pm 0.5\%$ 多かったが, 3.0ATA群は骨量で $32 \pm 3\%$ 少なく骨塩測定では $34 \pm 3.6\%$ 少なかった ($p<0.05$)。

Barthら (1990年)⁴¹⁾ の実験でも, HBO 1日1回で骨修復が促進されたが, 1日2回では骨修復がむしろ遅延した。ラット54匹の両側大腿骨近位と遠位の骨幹部を1mm径ドリルで穿孔し, 骨欠損部を作った。HBOはHBO 1回群 (以下, 1回群) では, 2.0ATA, 90分, 1日1回, 週5回, 4週間行い, HBO 2回群 (以下, 2回群) では, 6時間間隔で1日2回, 週5回, 2週間行った。対照群は骨穿孔のみとした。各群は3匹ずつ2, 7, 14, 21, 28, 35日後に屠殺した。一側の大腿動脈にレジンを注入し, SEM (scanning electron microscopy) を行い, 他側の大腿骨は脱灰し, HEおよびalcian blue染色を行い, 骨形態計測を行った。骨欠損部は, 対照群では28日後, 新生骨で充填され, 1回群では21日後, 2回群では35日後に新生骨で充填された。骨形態計測では7日後, 線維組織は対照群 $80 \pm 4\%$, 2回群 $89 \pm 3\%$ で多く, 1回群 $56 \pm 2\%$ で少なく, 血管組織は対照群 $5 \pm 1\%$, 2回群 $6 \pm 4\%$ で少なく, 1回群 $22 \pm 5\%$ で多かった。軟骨組織はどの群でもみられず, 骨組織は1回群 $22 \pm 6\%$ でのみ認められた。21日後, 線維組織は対照群 $4 \pm 1\%$, 2回群 $20 \pm 5\%$ にみられたが1回群では認められなかった。血管組織は対照群 $15 \pm 2\%$, 2回群 $12 \pm 2\%$ で少なく, 1回群 $20 \pm 1\%$ で多かった。軟骨組織は対照群 $25 \pm 5\%$, 2回群 $43 \pm 3\%$ でみられたが, 1回群では認められなかった。骨組織は対照群 $56 \pm 4\%$, 2回群 $25 \pm 8\%$ で少なく, 1回群 $80 \pm 7\%$ で多かった ($p<0.05$)。28日後では対照群, 1回群ともに線維組織と軟骨組織はみられなかったが, 2回群では軟骨組織が $33 \pm 5\%$ みられ, 骨組織は対照群 $84 \pm 7\%$, 1回群 $79 \pm 2\%$ で多く, 2回群

39±4%で少なく、35日後も同様の傾向がみられた ($p<0.05$)。

井上ら (1991年)⁴²⁾ は、犬6頭で、一側の橈骨を骨膜下に3cm切除して閉鎖し、外固定せずに歩かせ、切除部の骨形成と同側の尺骨に及ぼす負荷をX線像で1週毎に観察した。HBOは2.0ATA, 60分, 1日1回を4週間行った。術後1週で淡い新生骨がみられ、術後2週で明らかになり、4頭 (66%) では6週間で架橋骨癒合が得られた。架橋骨癒合が得られなかった2頭中1頭は尺骨が肥厚し、荷重骨となったが、1頭では両前腕骨 (橈骨と尺骨) が偽関節となった。HBO施行後2カ月以上間隔を開け、同様に他側の脛骨を骨膜下に切除した。HBOを行わなかった全6頭では、新生骨の形成は遅れ、尺骨の疲労骨折を合併し、偽関節となった。

Johnsonら (1993年)⁴³⁾ は、骨端線が閉鎖したウサギ10匹を用い、放射線照射した骨にスクリュー (螺子) を埋め込み、HBOによりスクリュー抜去時のトルク (抗力) が大きくなることを報告した。一側の大腿遠位から下腿近位に15Gyを1回照射し、両側の大腿骨遠位と脛骨近位骨幹端をドリルで穿孔してチタン・スクリューを埋め込み、HBOは2.4ATA, 80分, 1日1回を21日間行った。スクリューを骨床に8週間、はめ込んだ後、抜去時にトルクを測定した。HBOを行わなかった場合、照射しなかった骨部は、平均最大トルク (以下、トルク) が220 (Ncm) であったが、照射部では130に減少していた。HBOを行った場合、照射をしなかった骨部は、トルクが266に増加し、照射部においても186に増加していた。すなわち照射骨では非照射骨に比べ、トルクは54%減少したが ($p=0.005$)、照射後にHBOを行うと (HBOを行わない場合と比べ) トルクは44%増加した ($p=0.001$)。また非照射骨でもHBOを行うと22%増加したが有意差はなかった。

Sawaiら (1996年)⁴⁴⁾ は、ウサギ16匹において腸骨を骨稜からブロックで採取 (tricortical) し、同個体の下顎骨から同サイズの骨を切除し、ブロックで移植した。HBOは2.4ATA, 60分, 1日2回を骨移植の前に20回、後に10回行った。術後1, 2, 4, 8週目に移植部を周囲の骨を含めて採取し、脱灰HE染色標本とcontact microradiogramを作成した。HBO群8匹では、移植後1週間で類骨の形成は著明で、2週間で骨癒合が認められ、4週間で周囲骨との境は不明瞭となった。対照群8匹では骨癒合まで4週間かかり、周囲との境は明瞭であった。

Kerwinら (2000年)⁴⁵⁾ は、成熟したネコ12匹において両側の尺骨から近位1/3で骨膜を含めて1cmを切除し、合成樹脂のスペーサーを介して髓内釘固定した。21日後、一側の骨欠損部に自家海綿骨 (同側上腕骨近位から採取) を移植し、HBOは2.0ATA, 90分, 1日1回を14日間行った。HBO終了後、二重標識をcalcein greenあるいはoxytetracyclineを7日間隔で投与し、5週後屠殺し、硫酸バリウムを灌流した。X線像、微小血管増生像および新生骨組織像はHBO群と対照群と同程度であったが、骨形態計測では蛍光の幅はHBO群平均 $35.0 \pm 10.0 \mu\text{m}$ 、対照群平均 $29.5 \pm 9.17 \mu\text{m}$ であり ($p<0.001$)、二重標識の7日で除した石灰化速度はHBO群で有意に促進していた。

Chenら (2002年)⁴⁶⁾ は、雄ウサギ26匹に第4~5腰椎横突起固定を自家骨移植により行った (感染した2匹を除外)。HBOは2.5ATA, 120分, 1日1回行い、術後4週、8週に屠殺し、評価した。X線像では、一側が骨癒合しても他側は骨癒合していない場合もあったが、骨癒合率は、4週後、対照群16% (2匹/12匹)、HBO群58% (7/12)、8週後で、対照群58% (7/12)、HBO群83% (10/12) であった。用手による骨癒合率 (骨接合部が動く感覚があれば骨癒合なし) は、4週後、対照群0% (0/6)、HBO群50% (3/6)、8週後、対照群66% (4/6)、HBO群83% (5/6) であった。捻れトルク (抗力) 測定は、上下椎間板から骨接合部を一塊として切除し、上下端をアクリル樹脂で包埋して測定器 (Bionix 858, MTS company, Minneapolis) に把持した。平均最大トルクは、4週後、対照群 $2,120.1 \pm 107.0\text{a}$ (Nmm)、HBO群 $2,576.5 \pm 192.9\text{a}$ ($p=0.01$) で、8週後、対照群 $2,661.6 \pm 97.5\text{a}$ 、HBO群 $3,079.8 \pm 389.4\text{a}$ ($p=0.042$) であった。

Janら (2006年)⁴⁷⁾ は、骨端線の閉鎖したウサギ20匹を用い、両側の側頭骨に骨皮質欠損 (bicortical, 一側に直径15mm, 他側に直径18mm) を作成した。HBOは2.4ATA, 90分, 1日1回を20回 (4週間) 行い、6週後と12週後に屠殺した。骨膜と硬膜を剝離して頭蓋骨を摘出した。骨欠損部のX線像においてHBO群では高密度の新生骨が辺縁から中心部に向かって認められたが、対照群では辺縁に限られ、新生骨の面積はHBO群で大きかった。組織学的に6週後、HBO群は骨欠損部に骨島が散在性に形成され、対照群は線維組織の形成が主体であった。HBO群では新生骨の産生量は15mmと18mmの骨欠損で差はなく、6週後と12週後においても新生骨の産生量に

差はなかった。また2010年⁴⁸⁾に、ウサギ20匹を用い、両側の側頭骨に15mmの骨欠損を作成した。DBM (demineralized bone matrix) を充填したDBM群、BCP (biphasic calcium phosphate) を充填したBCP群に分け、HBO (2.4ATA, 90分, 1日1回) を4週間 (20回) 行った。6週後に屠殺して頭蓋骨を切除し、微小断層撮影 (micro-computer tomography) と骨形態計測を行った。断層撮影ではBCP群において骨塩量, 骨量, 骨密度がDBM群より高値であった ($p < 0.001$)。骨形態計測ではDBM群において骨や骨髄の新生がBCP群より多くみられ, 線維組織も少なかった。

3) 仮骨延長モデル

Uengら (1998年)⁴⁹⁾ は、ウサギ (14週齢) 12匹の右脛骨中央を骨切して延長器を装着し、7日間待機した後、12時間ごとに0.5mm延長し、5日間で5mm延長した。術前、術後3, 4, 5, 6週に新生骨を骨密度測定法である二重エネルギーX線吸収法 (dual-energy x-ray absorptiometry; DXA) で骨塩量 (g/cm^2 , bone mineral density; BMD) を計測した。HBOは2.5ATA, 120分, 1日1回を6週間行った。6週後、延長した脛骨を切除し破断試験を行った。BMDは、HBO群では骨切り前と比べ、3週後69.5%, 6週後96.9%で、対照群では3週後51.6%, 6週後79.2%であった ($p < 0.01$)。最大トルク (抗力) は、HBO群88.6%, 対照76.0%であり ($p < 0.01$)、HBOにより骨量と抗力の有意な増加が得られた。また1999年⁵⁰⁾に、ウサギ (14週齢) 18匹を用い、同HBO+喫煙群、喫煙群、対照群に分け、同様に脛骨を延長器で5mm延長した。DXAでBMDを術前日、3, 4, 5, 6週後に行い、6週後に屠殺し、骨の破断試験を行った。BMDは、HBO+喫煙群と対照群は喫煙群より有意に高かったが ($p < 0.05$)、HBO+喫煙群と対照群では有意差はなかった。平均最大トルクはHBO+喫煙群80.9%, 対照群78.0%, 喫煙群59.6%で、喫煙群は前2者に対し有意に骨強度が低下していた ($p < 0.05$)。

Kitakojiら (1999年)⁵¹⁾ は、幼若なウサギ18匹の一侧の脛骨骨幹部を中央で骨切りし、片側延長器により14mm仮骨延長した。HBOは3.0ATA, 120分, 1日1回を骨切り直後より17日間行い (早期HBO群)、あるいは骨延長終了後に17日間行った (晚期HBO群)。X線像 (Softex) およびDXAで術後1週ごとに6週まで骨形成を評価した。早期HBO群では、早期に仮骨の出現がみられ、DXAでは骨延長4週後にお

いて骨密度が有意に高くなった ($p < 0.05$)。%BMDは、延長部 (面積) における骨密度の比で、延長終了時、早期HBO群は、晚期HBO群あるいは対照群より%BMDが大であった ($p < 0.05$)。

Wangら (2005年)⁵²⁾ は、ウサギ24匹 (14週齢) を用い、脛骨に片側骨延長器を螺子固定し、骨幹中央をボーソーで骨切りした。術後7日より0.5mm/12時間の仮骨延長を5mm (5日間) 行った。HBOは2.5ATA, 120分, 1日1回を術後1日より6週間行い (HBO全期群)、術後1日より5週間行い (HBO前期群)、また骨切り後7日より5週間行った (HBO後期群)。DXAによりBMDを術後1週ごとに測定し、術後6週間で屠殺した。HBO全期群およびHBO前期群は、HBO後期群および対照群と比べ有意に%BMDが高値であったが ($p < 0.01$)、HBO全期群とHBO前期群では有意差がなかった。最大ねじれトルク (抗力) の平均%では、骨切り前に比べ、HBO全期群100.2%, HBO前期群91.4%, HBO後期群89.0%, 対照群76.3%の順に強度を示した ($p < 0.01$)。HBO全期群、HBO前期群、HBO後期群では、骨切り後5週で平均%BMDが80%以上になったが、対照は73.4%であった。

Inokuchiら (2010年)⁵³⁾ は、ビーグル犬 (9~12カ月齢) 10頭を用い、一側の上顎骨切歯3本を抜去し、約10mmの口蓋裂様の骨欠損 (以下、口蓋裂) を作った。2カ月後、同側の上顎骨第3前臼歯と犬歯基部の間を骨切りし、口腔外科用骨延長装置 (Keisei Medical Co. Japan) を螺子固定した。骨切り4日後から1日1mm骨延長し、10日間で骨切り部から骨片 (口蓋裂~骨切り部) を移動し、口蓋裂に接合させた。HBOは2.5 ATA, 90分, 1日1回を骨切り11日後から20回行った。口蓋裂の矯正後、歯牙の動きを開始し、骨切り150日後に屠殺した。HBOを行った場合、X線像 (gray scale analysis) では骨延長部の骨濃度が、骨切り120日後、150日後、有意に増加し ($p < 0.05$)、骨切り150日後、断層撮影 (peripheral quantitative computed tomography) では、骨塩量 (bone mineral density) が骨梁 (trabecula) で有意に増加し ($p < 0.05$)、骨形態計測では骨面積 (bone area) が骨梁、骨皮質、骨皮質下で有意に大であった ($p < 0.05$)。

4) HBOの骨形成促進作用に関する臨床報告論文

臨床における骨の治癒過程は、骨折の部位や型、血行障害や感染などの合併、個体差や治療法などの違いから多様であり、HBOの有効性を示すことは

難しいが、臨床では術式や症例が比較的、均一な仮骨延長法や骨移植術などで報告されている。

Tkachenkoら (1988年)⁴⁰⁾ は、長管骨に欠損がある40例にIlizarov法による仮骨延長術を行い、33例にHBOを併用し、7例を対照とした。HBO群は外傷、銃創、骨髄炎などですでに4~5回の手術が行われていた。骨欠損の内訳は、脛骨に6~15cmの欠損がある20例、大腿骨に5~11cmの欠損がある9例、上腕骨に8cmと9cmの欠損がある2例、前腕骨に6cmと10cmの欠損がある2例であった。対照群はいずれも銃創で平均3回の手術が行われ、脛骨に4~8cmの欠損がある7例であった。骨幹端を骨切りし、創外延長器を装着後、6~9日目から1日4回0.25mm (1mm/日) 延長した。延長期間中、HBOを2.5ATA, 90分, 1日1回で施行した。Healing index (骨延長開始から創外延長器を抜去するまでの期間/cm) はHBO群の平均が40.6±2.8日/cm, 対照群の平均が48.2±3.4日/cmであった。またHBO群の19例 (57%) で疼痛が緩和され、浮腫が消退し、患肢に難治性潰瘍を合併した3例では治癒した。

井上ら (1994年)⁵⁴⁾ は、小人症1例で右下肢をHBO併用で仮骨延長した後、左下肢をHBOなしで仮骨延長し、また一側の脛骨の短縮を来した3例にHBOを併用しながら仮骨延長を行った。De Bastianiらが提唱したHealing index (HI) は、100例の長管骨を片側創外延長器 (Orthofix) により仮骨延長した実績から骨延長日数/cmの平均値であり、成長期の脛骨では41.0日/cmをHIとした。[軟骨發育不全症による低身長 (110cm) ; 11歳女児] 身長を20cm高めるため右下肢の大腿骨と脛骨を骨切りしてOrthofixを装着し、仮骨形成を確認後、1日1mm延長した。術翌日よりHBOを2.0ATA, 60分, 1日1回, 週5回で80回行った。右下肢の延長が終了後、左大腿骨と左脛骨を同様に仮骨延長した。右大腿骨はHI: 22.8日/cm, 左大腿骨はHI: 22.0日/cmで差はなかったが、X線像上、右大腿骨 (HBO 80回施行) は延長部の骨幅と骨密度が左大腿骨 (HBOなし) より大であった。右脛骨 (HBO 80回施行) はHI: 28.4日/cm, 左脛骨 (HBOなし) はHI: 32.2日/cmであり、前者で40日程度短縮できた。[先天性絞扼輪による脛骨短縮; 9歳男児] 仮骨延長を50mm行い、HBOを63回併用した。HIは40.8日/cmで、De Bastianiの標準値と同等であった。[多発性外骨腫による脛骨短縮; 13歳男児] 仮骨延長を50mm行い、HBOを45回併用した。HIは31.0日/cmで標準値より10日/cm

早く延長できた。[先天性偽関節による脛骨短縮; 15歳男児] 仮骨延長を60mm行い、HBOを65回併用した。HIは32.5日/cmで標準値より8.5日/cm早く延長できた。

Lindstromら (1998年)⁵⁵⁾ は、脛骨骨折20例に髓内釘固定行い、HBO群では患肢の酸素分圧が著明に上昇し、骨折における修復能が高められる傍証を示した。いずれも閉鎖性単純性骨折 (粉碎骨折などを除外) で、HBOを2.5ATA, 90分, 1日1回で術直後から5回行った。後脛骨動脈と足背動脈の最大脈波 (arterial peak signal; APS) を術後30分, 6時間後, 5日後に測定した。ランダム化比較試験 (RCT) では、後脛骨動脈の最大脈波および経皮酸素分圧が有意に高値を示した ($p < 0.001$)。一方、足背動脈の最大脈波あるいは経皮酸素分圧では有意差はなかった。

仲間ら (2006年)⁵⁶⁾ は、過去12年間に口蓋裂138例152顎裂に対し腸骨移植で顎裂部を補填して口蓋裂を矯正した。HBO群は43顎裂で、術後にHBOを2.4ATA, 60分, 1日1回で平均10回行い、7~23歳 (平均10.8歳), Enemark分類のlevel 1が48.8%, level 2が30.3%であった。対照群は99顎裂で、7~20歳 (平均12.6歳), level 1が32.3%, level 2が38.4%であった。歯科用パノラマX線像を用い、移植部と中切歯をトレースし、その面積を解析装置 (scionimage) により吸収率 (移植骨が吸収された割合) を求めた。術後6カ月の吸収率を比較するとHBO群は平均13%, 対照群は平均32%と明らかな差が認められた。

本邦および欧米におけるHBOの骨形成促進作用のエビデンス・レベルと保険適用

Karamitrosら (2006年)⁵⁷⁾ は、米国では近年においても骨折の10%が骨癒合不全や遷延性骨癒合に陥り、骨接合術や骨移植術は必ずしも成功しておらず、骨癒合率を向上させる他の術式などが模索されてきたと述べている。電気刺激療法と超音波刺激が過去20年間に40万の偽関節に行われたが、有効性は確立されておらず、電気刺激は偽関節、脊椎固定、関節固定に対する有効性が臨床で報告されているが、骨折の治癒促進にはむしろ固定法や骨移植を確実に行うことがより重要と考えられている。一方、HBOは偽関節や遷延性骨癒合の骨新生に貢献する合理性は基礎研究や動物実験で示されているが、臨床報告が極めて少なく現時点では臨床上的有効性は証明されていないと述べている。

Bennettら (2005年)⁵⁸⁾ は, Cochrane databaseからsystematic reviewを行い, HBOは多彩な(数多くの)適応の1つとして遷延性骨癒合や偽関節の治療に効果がある可能性があるとして述べている。一方, data baseから1966年以降の論文を検索したが, RCTはなく, 唯一, HBO群と非HBO群を比較した臨床報告論文があったがHBOの効果は明らかではなかった。

日本高気圧環境・潜水医学会安全協会の安全基準(2004年)⁵⁹⁾ では, HBOは骨折や骨接合, 骨移植, 仮骨延長, 遷延性骨癒合などに対しては適応となっていない。また保険診療では, HBOの骨形成促進作用は, 救急的適応として開放性骨折などにおける患肢の血行障害や挫滅, 難治性感染症などとの合併に限られ, 非救急的適応としては, 慢性難治性骨髄炎, 難治性潰瘍ならびに浮腫を伴う末梢循環障害, 放射線(障害)性潰瘍, 皮膚移植後の虚血皮弁などを認める場合のみとなる(第4節第57条)。また本邦の保険診療では, 診療点数早見表(平成22年4月版, J 027高気圧酸素治療)によると⁶⁰⁾, 救急的なものエ 広範挫傷又は中等度以上の血管断裂を伴う末梢血管障害(一日につき1人用5,000点, 多人数用6,000点), 非救急的なものイ 難治性潰瘍を伴う末梢循環障害, ウ 皮膚移植, ク 骨髄炎又は放射線壊死(一回につき200点)などに併発した場合のみとなる。一方, 開放性骨折, 粉碎骨折に対して超音波骨折治療法(k 047-3, 一連につき5,000点), 遷延性治癒骨折や偽関節に対する難治性骨折電磁波電気治療法(k 047, 一連につき12,500点)あるいは難治性骨折超音波治療法(k 047-2, 一連につき12,500点)が保険診療として認められている。

欧州の関連学会(European Conference of Hyperbaric Medicine; ECHM)⁶¹⁾あるいは米国の関連学会(Undersea Hyperbaric Medical Society; UHMS)⁶²⁾では, 遷延性骨癒合はHBOの適応疾患にあげられておらず, MedicareやMedicaidなどの保険適用には至っていない。一方, オーストラリアでは偽関節に対するHBOは十分に評価されていないと述べられているが(not formally evaluated), 適応疾患に包括されている⁶³⁾。

文 献

- 1) Kindwall EP, Whelan HT (eds) (1999) : Hyperbaric Medicine Practice, 2nd ed, Best Publishing Company, (Flagstaff, AZ).
- 2) Mathieu D (ed) (2006) : Handbook on hyperbaric medicine, Springer-Verlag, (Netherlands) , pp263-288.
- 3) Jain KK (ed) (2000) : Textbook of Hyperbaric Medicine, 2nd ed, Best Publishing Company, (Flagstaff, AZ).
- 4) Feldmeier JJ (ed) (2003) : Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report, Undersea and Hyperbaric Medical Society, (Kensington, MD).
- 5) Warriner RA, Hopf HW (2003) : Enhancement of healing in selected problem wounds, Feldmeier JJ (ed), In: Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report, Undersea and Hyperbaric Medical Society, (Kensington, MD), pp41-55.
- 6) Hunt TK, Twomey P, Zederfeldt B, Dunphy JE (1967) : Respiratory gas tensions and pH in healing wounds, Am J Surg, 114, 302-307.
- 7) Niinikoski J (1969) : Effect of oxygen supply on wound healing and formation of experimental granulation tissue, Acta Physiol Scand, 334, 1-72.
- 8) Sheffield PJ (1985) : Tissue oxygen measurements with respect to soft-tissue wound healing with normobaric and hyperbaric oxygen, HBO Rev, 6, 18-46.
- 9) Sheffield PJ, Workman WT (1985) : Non invasive tissue oxygen measurements in patients administered normobaric and hyperbaric oxygen by mask, HBO Rev, 6, 47-62.
- 10) Sheffield PJ (1988) : Tissue oxygen tension, Davis JC, Hunt TK (eds) , In: Problem Wounds: The Role of Oxygen, Elsevier, (New York) , pp17-51.
- 11) Hunt TK, Pai MP (1972) : The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis Surg Gynecol Obstet, 135, 561-567.
- 12) Kington DR, Oredsson S, Banda M, Hunt TK (1984) : Regulation of repair: Hypoxic control of macrophage mediated angiogenesis, Hunt TK, Heppenstall RB, Pine E, Rovee D (eds), In: Soft and Hard Tissue Repair, Praeger; (New York), pp41-49.
- 13) Kington DR, Silver IA, Hunt TK (1981) : Regulation of wound healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration, Surgery, 90, 262-270.
- 14) La Van FB, Hunt TK (1990) : Oxygen and wound healing, Clin Plast Surg, 17, 463-472.
- 15) Silver IA (1984) : Cellular microenvironment in healing and non-healing wounds, Hunt TK, Heppenstall RB,

- Pines E, Rovee D (eds), In: Soft and hard tissue repair, Praeger, (New York), pp50-66.
- 16) Niinikoski J, Hunt TK, Dunphy JE (1972) : Oxygen supply in healing tissue, *Am J Surg*, 123, 247-252.
 - 17) Niinikoski J (2006) : Physiologic effects of hyperbaric oxygen on wound healing process, Mathieu D (ed), In: *Handbook of Hyperbaric Medicine*, 1st ed, Springer, (Netherlands), pp135-145.
 - 18) Niinikoski J (1969) : Effect of oxygen supply on wound healing and infection of experimental granulation tissue, *Acta Physiol Scand Suppl*, 334, 1-72.
 - 19) Gimbel M, Hunt T (1999) : Wound healing and hyperbaric oxygenation, Kindwall EP, Whelan HT (eds), In: *Hyperbaric Medicine Practice*, 2nd ed, Best Publishing Company, (Flagstaff, AZ), pp190-193.
 - 20) Matos L, Nunez A (1999) : Enhancement of healing in selected problem wounds, Kindwall EP, Whelan HT (eds), In: *Hyperbaric Medicine Practice*, 2nd ed, Best Publishing Company, (Flagstaff, AZ), pp813-849.
 - 21) Silver IA (1969) : The measurement of oxygen tension in healing tissue, *Progr Resp Res*, 3, 124-135.
 - 22) Rollins MD, Gibson JJ, Hunt TK, Hopf HW (2006): Wound oxygen levels during hyperbaric oxygen treatment in healing wounds, *Undersea Hyperb Med*, 33, 17-25.
 - 23) Stern B, Glimcher MJ, Goldhaber P (1963) : The effect of various oxygen tensions on the synthesis and degradation of bone collagen in tissue culture, *Proc Soc Exp Bio Med*, 45, 869-872.
 - 24) Shaw JL, Bassett CAL (1967) : The effects of varying oxygen concentrations on osteogenesis and embryonic cartilage in vitro, *J Bone Joint Surg*, 49, 73-80.
 - 25) Tuncay OC, Ho D, Barker MK (1994) : Oxygen tension regulates osteoblast function, *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 105, 457-463.
 - 26) Hirano M, Tamai N, Tsumaki N, Yoshikawa H, Myoui A (2006) : Oxygen tension regulates chondrocyte differentiation and function during endochondral ossification, *J Bio Chem*, 281, 31079-31192.
 - 27) Okubo Y, Bessho K, Fujimura K, Kusumoto K, Ogawa Y, Iisuka T (2001) : Effect of hyperbaric oxygenation on bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2, *Brit J Oral Maxillofac Surg*, 39, 91-95.
 - 28) Okubo Y, Bessho K, Fujimura K, Kusumoto K, Suzuki T, Segami N, Ogawa Y, Iisuka T (2003) : Preclinical study of recombinant human bone morphogenetic protein-2: Application of hyperbaric oxygenation during bone formation under unfavourable condition, *Int J Oral Maxillofac Surg*, 32, 313-317.
 - 29) Wu D, Malda J, Crawford R, Xiao Y (2007) : Effects of hyperbaric oxygen on proliferation and differentiation of osteoblasts from human alveolar bone, *Connect Tissue Res*, 48, 206-213.
 - 30) Hsieh CP, Chiou YL, Lin CY (2010) : Hyperbaric oxygen-stimulated proliferation and growth of osteoblasts may be mediated through the FGF-2/MEK/ERK1/2/NF-kappaB and PKC/JNK pathways, *Connect Tissue Res*, 51, 497-509.
 - 31) Coulson DB, Ferguson AB, Diehl RC Jr (1966) : Effect of hyperbaric oxygen on the healing femur of the rat, *Surg Forum*, 17, 449-450.
 - 32) Wray JB, Rogers LS (1968) : Effect of hyperbaric oxygenation upon fracture healing in the rat, *J Surg Research*, 8, 373-378.
 - 33) Yablon G, Cruess RL (1968) : The effect of hyperbaric oxygen on fracture healing in rats, *J Trauma*, 8, 186-202.
 - 34) Penttinen R, Niinikoski J, Kulonen E (1972) : Hyperbaric oxygenation and fracture healing. A biochemical study with rats, *Acta Chir Scand*, 138, 39-44.
 - 35) Nilsson LP, Granstrom G, Rockert HO (1987) : Effect of dextrans, heparin and hyperbaric oxygen on mandibular tissue damage after osteotomy in an experimental system, *Int j Oral Maxillofac Surg*, 16, 77-89.
 - 36) 井上治, 伊佐真徳, 吉川朝昭 (2003) : 高気圧酸素療法の骨形成促進作用に関する骨形態計測学的研究, *日本高気圧環境医学会雑誌*, 38, 15-21.
 - 37) Inoue O, Kukita I, Isa S (2004) : Osteogenesis enhancement by hyperbaric oxygenation in the dog, Mano Y(ed), In: *Proceedings of the 1st Panel on U.S./Japan Diving physiology, Technical and Aerospace Medicine (Formerly UJNR)*, Tokyo, pp95-97.
 - 38) Nilsson P, Albrektsson T, Granstrom G, Rockert HO (1988) : The effect of hyperbaric oxygen treatment on bone regeneration: an experimental study using the bone harvest chamber in the rabbit, *Int J Maxillofac Surg*, 3, 43-48.
 - 39) Nilsson LP (1989) : Effects of hyperbaric oxygen treatment

- on bone healing.. An experimental study in the rat mandible and rabbit tibia, *Swed Dent J Suppl*, 64, 1-33.
- 40) Tkachenko SS, Rutskil VV, Tikhilov RM, Vovchenko VI (1988) : Normalization of bone regeneration by oxygen barotherapy, *Vestn Khir Im I I Grek*, 140, 97-100.
- 41) Barth E, Sullivan T, Berg E (1990) : Animal model for evaluating bone repair with and without adjunctive hyperbaric oxygen therapy (HBO) : comparing dose schedules, *J Invest Surg*, 3, 387-92.
- 42) 井上治, 湯佐作子, 野原敦, 幸地貴子, 鳥袋博子 (1991) : 高気圧酸素療法が骨膜性骨形成に及ぼす効果に関する実験的・臨床的検討, *日本高気圧環境医学会雑誌*, 26, 151-157.
- 43) Johnsson K, Hansson A, Granstorm G, Jacobsson M, Turesson I (1993) : The effects of hyperbaric oxygenation on bone-titanium implant interface strength with and without preceding irradiation, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 8, 415-419.
- 44) Sawai T, Niimi A, Takahashi H, Ueda M (1996) : Histologic study of the effect of hyperbaric oxygen therapy on autogenous free bone grafts, *J Oral Maxillofac Surg*, 54, 975-981.
- 45) Kerwin SC, Lewis DD, Elkins AD, Hosgood G, Pechman RD Jr, Dial SL, Strain GM (2000) : Effect of hyperbaric oxygen treatment on incorporation of an autogenous cancellous bone graft in a nonunion diaphyseal ulnar defect in cats, *Am J Vet Res*, 61, 691-698.
- 46) Chen WJ, Lai PL, Chang CH, Lee MS, Chen CH, Tai CL (2002) : The effect of hyperbaric oxygen therapy on spinal fusion: using the model of posterolateral intertransverse fusion in rabbits, *J Trauma*, 52, 333-338.
- 47) Jan AM, Sándor GK, Iera D, Mhawi A, Peel S, Evans AW, Clokie CM (2006) : Hyperbaric oxygen results in an increase in rabbit calvarial critical sized defects, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101, 144-149.
- 48) Jan AM, Sándor GK, Brkovic BB, Peel S, Kim YD, Xiao WZ, Evans AW, Clokie CM (2010) : Effect of hyperbaric oxygen on demineralized bone matrix and biphasic calcium phosphate bone substitutes, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 109, 59-66.
- 49) Ueng SW, Lee SS, Lin SS, Wang CR, Liu SJ, Yang HF, Tai CL, Shih CH (1998) : Bone healing of tibial lengthening is enhanced by hyperbaric oxygen therapy: a study of bone mineral density and torsional strength on rabbits, *J Trauma*, 44, 676-681.
- 50) Ueng SW, Lee SS, Lin SS, Wang CR, Liu SJ, Tai CL, Shih CH (1999) : Hyperbaric oxygen therapy mitigates the adverse effect of cigarette smoking on the bone healing of tibial lengthening: an experimental study on rabbits, *J Trauma*, 47, 752-759.
- 51) Kitakoji T, Takashi S, Ono Y, Hattori T, Takahashi H, Iwata H (1999) : Effect of hyperbaric oxygenation treatment on lengthened callus, *Undersea Hyperb Med*, 26, 165-168.
- 52) Wang IC, Wen-Neng US, Tu YK, Lin SS, Wang CR, Tai CL, Wang KC (2005) : Early administration of hyperbaric oxygen therapy in distraction osteogenesis-a quantitative study in New Zealand rabbits, *J Trauma*, 58, 1230-1235.
- 53) Inokuchi Y, Kawamoto T, Aoki K, Nagahama K, Baba Y, Suzuki S, Shibayama M, Mano Y, Ohya K, Moriyama K (2010) : The effects of hyperbaric oxygen on tooth movement into the regenerated area after distraction osteogenesis, *Cleft Palate-Craniofac J*, 47, 382-392.
- 54) 井上治, 鳥袋博之, 新垣宜貞, 他 (1994) : 高気圧酸素療法の仮骨延長法における有用性の検討, *整形外科*, 45, 1501-1507.
- 55) Lindstrom T, Gullichsen E, Lertola K, Niinikoski J (1998) : Effects of hyperbaric oxygen therapy on perfusion parameters and transcutaneous oxygen measurements in patients with intramedullary nailed tibial shaft fractures, *Undersea Hyperb Med*, 25, 87-91.
- 56) 仲間錠嗣, 砂川元, 新崎章, 新垣敬一, 天願俊泉, 仲宗根敏幸, 比嘉努, 石川拓, 國仲梨香, 前川隆子, 井上治 (2006) : 顎裂部への新鮮自家海綿骨細片移植術(顎裂部骨移植術)における高気圧酸素療法併用の効果について, *日本高気圧環境・潜水医学会雑誌*, 41, 184.
- 57) Karamitros AE, Kalentzos VN, Soucacos PN (2006): Electric stimulation and hyperbaric oxygen therapy in the treatment of nonunions, *Injury*, 37, 63-73.
- 58) Bennett MH, Stanford R, Tuner R (2005) : Hyperbaric oxygen therapy for promoting fracture healing and treating fracture non-union, *Cochrane Database Syst Rev*, 25, CD004712.
- 59) 日本高気圧環境医学会 (2004) : 高気圧酸素治療の安全基準, *日本高気圧環境医学会雑誌*, 39, 259-260.
- 60) 医学通信社編 (2010) : 診療点数早見表 [医科] 2010年4月 診療報酬改定準拠, 高気圧酸素治療 (J027), 医学

通信社（東京），pp428.

- 61) European Committee for Hyperbaric Medicine (ECHM) (2004) : 7th European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine, European Committee for Hyperbaric Medicine, (Lille), pp1-19.
<http://www.echm.org/documents/>
- 62) The Hyperbaric Oxygen Committee Report (2003): Indications and Results, In:Feldmeier JJ(ed), Kensington, MD, Undersea and Hyperbaric Medical Society, pp1-119.
- 63) Commonwealth of Australia, Medicare Services Advisory Committee (2005) : Hyperbaric oxygen therapy assessment report.
<http://www.health.gov.au/haf/msac>