

## ラット下腿骨骨折モデルを用いた B モード超音波観察装置の有用性 — 動物用 X 線装置との比較から —

上村英記<sup>1)</sup> 田口大輔<sup>2)</sup> 西川 彰<sup>3)</sup>

1) 常葉大学 2) 帝京大学 3) 上武大学

### B-mode Ultrasonography vs Veterinary X-rays in Evaluating a Femoral Fracture Rat Model

Hideki KAMIMURA, Daisuke TAGUCHI and Akira NISHIKAWA

#### 要 旨

運動器疾患は日常において最も遭遇する疾患であり、骨折も例外ではない。骨折の診断は単純 X 線画像検査が gold standard であるが、部位によっては骨の重複などで異常所見が看過される場合もある。B モード超音波画像観察（以下、超音波検査）を適切に運用することで、骨折を鑑別し、治癒過程の評価にも活用できる。本研究ではラット下腿骨骨折モデルを作成し、骨折部を超音波検査と X 線検査を行ない、骨折部や軟部組織の変化や仮骨発現の評価に超音波検査が有用であるかを検証した。モデル生物は 4 週齢の Wistar 系雄性ラットを 8 匹用いた。麻酔はペントバルビタールナトリウム (50mg/kg ip) を腹腔内投与し、ナンバーリングを行なった。右下肢剃毛後、右下腿中央部に一定の外力を加えて骨折モデルを作成し、超音波検査と X 線検査の各検査を骨折直後から 14 日間おこなった。BUS の撮影条件は一定とし、下腿部の長軸方向と短軸方向の撮影を水中観察法で行なった。X 線検査は側面のみの撮影をおこなった。実験期間中は骨折後の外固定はおこなわず、水と餌は自由に摂取させた。仮骨発現日数は超音波検で  $4.6 \pm 0.5$  日（平均  $\pm$  SD）、X 線検査群で平均  $4.8 \pm 0.6$  日（平均  $\pm$  SD）で有意差を認めなかった。骨折初日の血腫・皮下出血は軽微であったが、翌日以降は著明であり、広範囲に低エコー域が確認された。両検査において仮骨が発現する時期に大差はなく、超音波検査は X 線検査よりも比較的容易に行なえ、治癒過程の評価にも適しており、有効な手段であると考えられた。

キーワード：ラット下腿骨骨折モデル, B モード超音波画像観察, X 線検査

#### Abstract

Musculoskeletal disorders are some of the most commonly encountered diseases and fractures are no exception. While X-rays are the gold standard in diagnosing fractures, at some sites overlapping bones may hinder accurate identification of abnormalities. Effective use of B-mode ultrasonography (hereinafter referred to as ultrasonography) can facilitate recognition of fractures and evaluation of the healing process. In this study, ultrasonography and X-rays of the fracture site were collected in a femoral fracture rat model to determine whether ultrasonography would be useful in assessing the fracture site, changes in soft tissues, and callus development. We used 8 male Wistar rats aged 4 weeks. Nembutal (Pentobarbital Na 50 mg/kg) was administered intraperitoneally and animals were numbered. After shaving the right lower limb, a fracture model was created by applying a constant external force to the center of the right lower thigh. ultrasonography and X-ray images were collected every day for 14 days starting immediately after fracture. Ultrasonography imaging conditions were kept constant, and the long and short axes were imaged by the underwater observation method. X-rays were only taken from a lateral view. No external fixation was used during the study. Food and water were freely available. No significant difference was noted in the number of days to callus formation at  $4.6 \pm 0.5$  days (mean  $\pm$  SD) in the ultrasonography group and  $4.8 \pm 0.6$  days (mean  $\pm$  SD) in the X-ray group. Only mild signs of hematoma and subcutaneous bleeding were observed on the day of fracture, but signs became more marked from the second day. An extensive low echo range was also confirmed. Callus formation was confirmed at around the same time with both exams. Ultrasonography was relatively easier to perform than X-ray examinations making it suitable for evaluating the healing process. It thus appears to be an effective means of monitoring fractures.

**Keywords** : femoral fracture rat model, B-mode ultrasonography, X-rays

## 1. はじめに

骨折の診断は単純 X 線画像検査が gold standard である。しかし、部位によっては骨の重複や骨折線を呈さない不全骨折例 (plastic bowing や Salter-Harris 骨折など) では、異常所見が看過されることがある。近年においては侵襲がなく、リアルタイムに画像を構成可能な B モード超音波画像検査 (以下、超音波検査) は、病態把握やフォローアップにも優れている。また患者負担、検査時間も少なく、他のイメージモダリティと異なり可搬性にも優れ、スポーツ現場にも自由に持ち込むことができる (表 1)<sup>1)</sup>。表 2 は運動器疾患に対する画像描出能力の対比である<sup>1)</sup>。超音波検査は硬組織のみならず、軟骨や軟部組織に対しても画像描出が可能であり、迅速に行えるのが利点である。

超音波検査は、平成 15 年 9 月 9 日付け医政医発第 0909001 号厚生労働省医政局課長通知では、『検査自体に人体に対する危険性がなく、かつ、柔道整復師に関わる判断の参考とする超音波検査については、柔道整復師が施術所において実施したとしても関係法令に反するものではない』と解している。また、使用におけるガイドラインも作成されており、その適応範囲は、「筋」「腱」「靭帯」「骨」「神経」を概ね観察の範囲と定められている<sup>2)</sup>。柔道整復師を取り巻く環境変化や国民の信頼に応えるためにも対象とする運動器疾患が業務範囲であるかを適切に判断し、外傷治療の経過や治癒判定とともに臨床的判定能力を高める必要がある。

本研究では、ラットの下肢骨骨折における X 線画像と超音波画像を対比し、経時的評価を行い、超音波検査の有用性を検証した。

表 1 画像装置の比較 (皆川<sup>1)</sup> より一部改変)

	単純X線	CT	MRI	超音波検査
患者負担	○	△	×	◎
検査負担	○	△	×	◎
可搬性	○	×	×	◎

◎：優 ○：良 △：やや劣る ×：劣る

表 2 運動器描出能力の対比 (皆川<sup>1)</sup> より一部改変)

	単純X線	CT	MRI	超音波検査
骨	○	◎	○	○
軟骨	×	△	○	◎
筋	×	△	○	◎
腱	×	△	○	◎
靭帯	×	△	○	◎
末梢神経	×	×	△	◎
血管	×	△	△	◎

◎：優 ○：良 △：可 ×：不可

## 2. 方法

実験動物は 4 週齢の Wistar 系雄性ラット 8 匹を用いて、それぞれにナンバーリングを行った。対象下肢に骨折を生じさせる方法は、ペントバルビタールナトリウム (50mg/kg ip) 腹腔内投与による麻酔下において右下肢を剃毛し、人為的に一定の外力で骨折を生じさせた。

骨折評価において、X 線検査は、動物用の汎基礎研究用軟 X 線撮影装置 (MODEL CMB-2, SOFTEX 社製) を用いて側面像を撮影した。撮影条件は、30kV, 2mA, 100sec, focus 52.5cm とした。超音波検査は、B モード超音波観察装置 (sonoace-PICO, MEDICINE 社製) を使用し、骨折部の長軸像と短軸像を水中撮影した。撮影条件は、Gain 55 で一定とし、リニアプローブを用いた。両検査は麻酔下で行い、X 線検査、超音波検査の順で行った。観察期間は骨折直後から 14 日間実施した。ラットは骨折後の外固定は行わず、飼育ゲージ内を移動することができ、水と餌は自由摂取させた。観察は主に骨折部の変化や特徴、仮骨の発現などの修復過程を両画像から評価し、比較検討した。

本研究は、明治国際医療大学が定めた動物実験指針に基づき、動物実験倫理審査の承認を得て実施した。X 線検査と超音波検査間との仮骨出現日の比較検定は、対応のある t 検定を行った。なお、有意水準は 5 %未満とし、統計処理ソフトは SPSS Ver.20 を用いた。

## 3. 結果

骨折直後、両検査の画像においても下腿の中央部に骨折部を確認できた (図 1)。超音波検査では、長軸上において骨皮質表面に段差を認め、骨折部直上の軟部組織に低エコーを観察できた (図 1)。これは骨折と軟部組織損傷からの出血を反映していると考えられた。

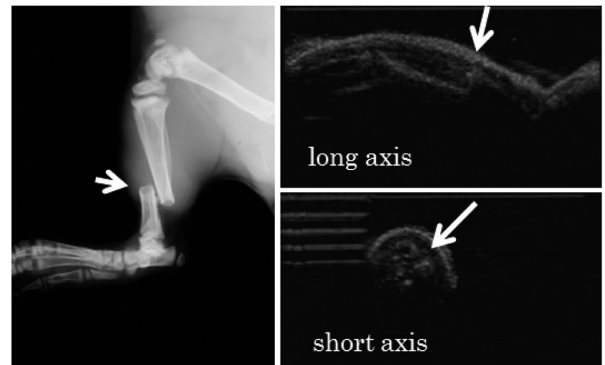


図 1 骨折直後の X 線画像と超音波画像

超音波検査長軸像では骨皮質の連続性が断たれ、段差を認めた。(矢印は骨折部を示す)

骨折後 2 日目以降からは骨折部周囲の低エコー域は拡大しており、外観からも著明な腫脹を認めた。外固定を行っていないため、骨折後 3 日目より下腿 angulation がみられた。仮骨形成の出現は、両画像検査ともに骨折後 4 日目よりわずかに認めた。X 線検査の仮骨出現は、 $4.6 \pm 0.5$  日（平均  $\pm$  SD）であり、超音波検査は、 $4.8 \pm 0.6$  日であった。両検査間で仮骨の出現時期に有意差は認めなかった（ $P=0.17$ ）（図 2）。骨折後 6 日目の超音波検査では明瞭な仮骨形成を認め、骨折部直上の低エコー域の減少が観察できた（図 3）。骨折後 14 日目では両画像ともに十分な仮骨形成を認めた（図 4）。図 5 は骨折後初日、骨折後 7 日目、骨折後 14 日目の経時変化である。骨折後 7 日目の X 線画像では骨折部の間隙を認めたが、超音波画像では間隙を認めず、連続性を認めた。

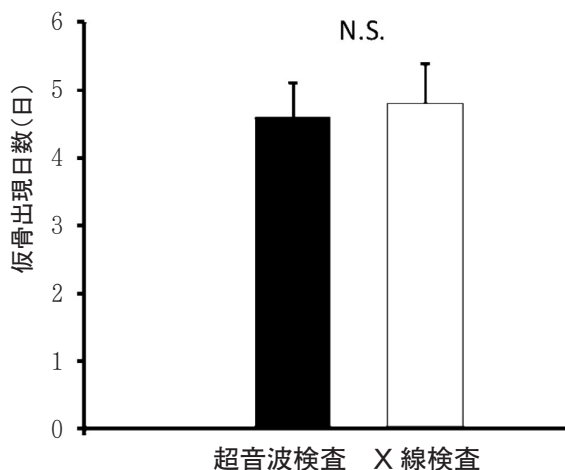


図 2 仮骨出現時期

両検査間に有意差は認められなかった。  
N.S.: no significant,  $P=0.17$

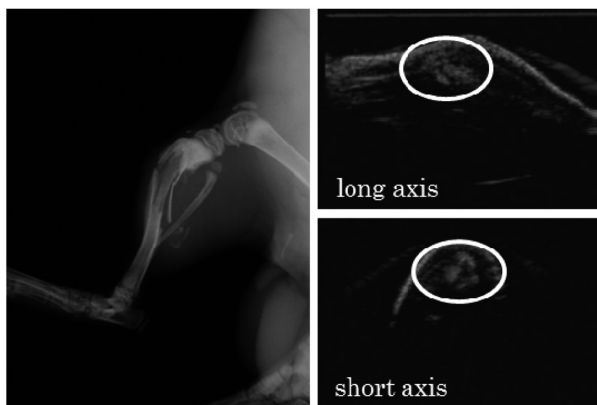


図 3 6 日目の X 線画像と超音波画像

超音波検査長軸・短軸像では明らかな仮骨形成像を認めた。（○部は仮骨形成部）

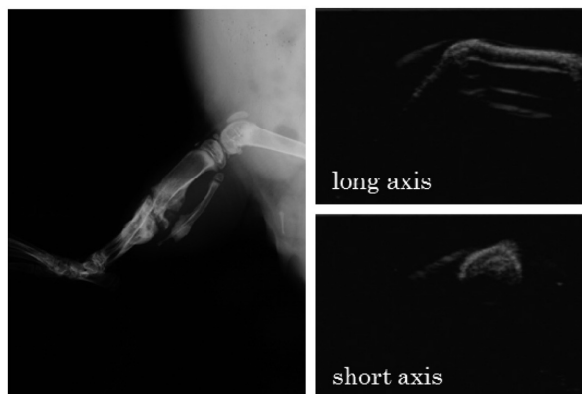


図 4 骨折 14 日目の X 線画像と超音波画像

両検査ともに明らかな仮骨出現を認めた。

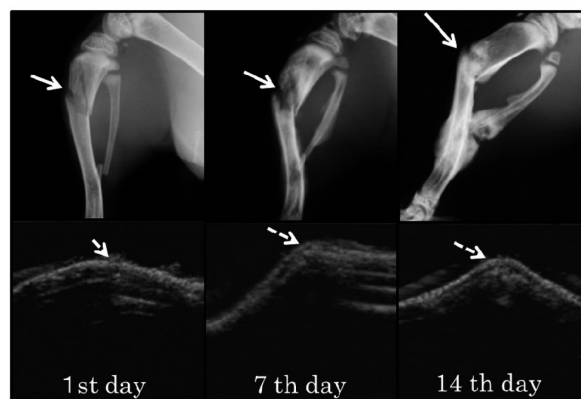


図 5 X 線画像と超音波画像の経時変化像

骨折後 7 日目の X 線画像では骨折部の間隙を認めるが、超音波画像では、間隙は認めず、連続性を認めた。骨折後 14 日目では両画像ともに骨折部の連続性を認めた。

#### 4. 考 察

通常の外傷骨折の場合、X 線検査による trauma view による評価が一般的である。近年においては侵襲がなく、リアルタイムに画像を構成可能な超音波検査も骨折評価の一助となる。今回我々は、ラットの下腿骨骨折における X 線画像と超音波画像を対比し、経時的評価を行い、超音波検査の有用性を検証した。

本研究の結果から、超音波検査長軸像において、骨折部は骨皮質の連続性が断たれ、段差を生じており、患部を特定することができた。また、骨折部直上に低エコー域が確認できた。これは骨折と軟部組織損傷からの出血を反映していると考えられた。今回は骨折モデル作成の際に軟部組織にまで外力が波及しており、骨折に付随した出血のみを捉えているわけではない。しかしながら、超音波検査で得られる液体貯留は有益な情報であり、小

児肘関節周辺骨折では、X線検査で異常がなくても超音波検査で関節部に液体貯留を認めれば骨折と判断可能とされている<sup>3)</sup>。超音波画像検査を用いた小児四肢骨折のシステマティックレビューでは、骨折の感度は90～96%、特異度は83～100%<sup>4)</sup>であり、部位によっては超音波検査のほうが優れている可能性がある。しかしながら、超音波画像の描出は術者間によって差があり、再現性が乏しいという欠点がある<sup>5)</sup>。よって、日々の運動器疾患の評価に用いるためには医療面接とともに視診、触診を十分に行い、Malgaigneの圧痛点や腫脹部位を重点的に描出することで病態把握が得られやすいと考える。また、超音波検査での仮骨像は、高エコーと低エコーの混在として観察でき、骨硬化に伴って明確な高エコーが描出<sup>6)</sup>できるとされており、本研究においても同様の結果が得られた。超音波検査は、非侵襲性のため、毎回の来院時に骨折部や仮骨の状態を確認することが可能であり、治癒過程の評価ならびに予後把握においても有益である。また、両検査間で仮骨出現時期に大差はなく、コスト、時間面でもX線検査より優れている点と言える。

骨折後7日目と14日目との比較において、骨折後7日目のX線画像では、骨折部に間隙を認めたが、超音波画像では間隙を認めず、連続性を認めた。X線検査では修復組織内の軟骨組織を捉えることはできておらず、一方の超音波検査では、仮骨の粘弾性体として描出できている可能性がある。

近年、柔道整復分野においてもEvidence based medicine (EBM)の重要性が主張されており、最良の根拠を患者に提供することが求められている。Level of Evidenceに準拠した質の高い研究が不可欠であり、超音波検査の更なる有効性と可能性を明らかにする必要性がある。

## 5. おわりに

ラットの下腿骨骨折におけるX線画像と超音波画像を対比し、経時的評価を行い、超音波検査の有用性を検証した。超音波検査では、仮骨を高エコーと低エコーの混在として観察でき、骨硬化に伴って明確な高エコーが描出された。また、X線検査よりも仮骨の粘弾性体を早期に描出できていた可能性があり、今後も更なる検討が必要である。

## 謝 辞

本論文を作成するにあたり、元明治国際医療大学保健医療学部教授の竹内義享先生には心より感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 皆川洋至：スポーツ医学における超音波画像診断。臨床スポーツ医学。2010, 27 (2), 123-128.
- 2) [https://www.shadan-nissei.or.jp/upload\\_img/20171023180114\\_1.pdf](https://www.shadan-nissei.or.jp/upload_img/20171023180114_1.pdf) [accessed 2018-9-6]
- 3) Zuazo I, Bonnefoy O, Tauzin C, et al. : Acute elbow trauma in children : role of ultrasonography, *Pediatr Radiol*, 38 : 982-988, 2008.
- 4) Joshi N, Lira A, et al.: Diagnostic accuracy of history, physical examination, and bedside ultrasound for diagnosis of extremity fractures in the emergency department : a systematic review. *Acad Emerg Med*, 20:1-15,2015.
- 5) 原拓馬, 築明子ら：超音波検査で診断された骨折の2例。小児科臨床。2016, 69, 129-133.
- 6) 増田雅保, 田口大輔ら：骨折におけるX線像と超音波観察。2008, 16 (3), 163-166.