

アキレス腱断裂後の早期スポーツ復帰を目指した包括的治療戦略の確立
～PRPと elastography～

研究者代表者
山口智志

目 次

要約	1
緒言	2
実験 1	2
1. 多血小板血漿 (Platelet rich plasma, PRP) の概要	
2. MRI(T2 mapping)の概要	
3. 方法	
4. 結果	
5. 考察	
実験 2	10
1. 超音波 elastography および定量評価の概要	
2. 方法	
3. 結果	
4. 考察	
謝辞	14
参考文献	14

アキレス腱断裂後の早期スポーツ復帰を目指した包括的治療戦略の確立 ～PRP と elastography～

山口智志 府川泰輔 山本陽平

要約

アキレス腱断裂は比較的良好に起こるスポーツ外傷であるが、血流に乏しく、結合組織により構成されるため修復に時間を要し、またアキレス腱修復の程度を定量化できる検査方法はない。本研究の目的は実験 1: 兎アキレス腱断裂に対する PRP の効果と MRI による腱修復の定量的評価の検討、実験 2: 超音波 elastography によるアキレス腱の固さの定量的評価法の、計測再現性を検討すること、健常成人における正常値及びアキレス腱の硬さの年齢による差を検討することである。

実験 1

ニュージーランドホワイトラビット 14 週齢メス 24 羽を用いて、アキレス腱断裂モデル及び多血小板血漿 (PRP) を作成した。PRP または生食を近・遠位アキレス腱内に注入し、PRP 群 12 羽 24 肢、コントロール群 (生食) 12 羽 24 肢を作成し、経時的修復を組織学的 (Bonar scale) 及び MRI (T2 mapping) による T2 値で評価した。Bonar scale では両群ともに次第に減少したが、全てのタイムポイントにおいて、PRP 群で低値であった。また、両群ともに修復部の T2 値は次第に低下したが、断裂後 8 週時点での両群間の差が最大であり、断裂後 12 週時点では両群間の T2 値に差は見られなかった。

実験 2

検者内再現性は、健常者 50 人 100 足を対象とした。計測部位はアキレス腱の中央を中心とする矢状断とした。画像上でアキレス腱の硬さをカラーマップで表示し、既知の硬さを持つカプラーの硬さとの比を求めることにより、アキレス腱の硬さを定量化した (Strain ratio; SR)。熟練した検者 1 名が同一部位を 4 回計測し、級内相関係数 ICC(1, 1) と標準誤差を求めた。また、十分な再現性を得るために必要な繰り返し計測回数を求めた。検者内再現性は、健常者 25 人 50 足を対象とした。前記の結果より計測回数を決定し、熟練した検者 2 名の検者間再現性を求めた。ICC(1, 1) は 0.63、標準誤差は 0.10 だった。また、計測を 3 回行った平均値をとることにより ICC が 0.9 となると推測されたため、検者間再現性は、3 回計測の平均値を代表値として評価した。ICC(2, 3) は 0.75、標準誤差 0.09 だった。各年代の中央値は 30 歳代を除き 0.37 から 0.46 だった。30 歳代の中央値は 0.27 と各年代よりも有意に低値だった。

以上の結果より兎アキレス腱断裂モデルにおいて、PRP の投与により、アキレス腱修復の促進効果を認めた。また、MRI T2 mapping はアキレス腱断裂部の修復過程の組織像を反映し、PRP による腱修復促進効果を描出できた。MRI T2 mapping はアキレス腱修復の定量的な評価方法として有用であり、臨床的に利用できる可能性が示された。さらに、熟練した検者による SR 計測は定量的検査として十分な再現性を持ち、定量的 elastography は、アキレス腱変性の定量的評価法として有用な可能性がある。

代表者、共同研究者所属: 千葉大学医学部附属病院 整形外科

緒言

アキレス腱断裂は最も多い腱断裂であり、その 80%はスポーツ活動中に発生する。好発年齢は 30~40 歳代であり、アキレス腱の変性が基盤に存在している。アキレス腱断裂の発生率は人口 10 万人当たり 6.3 ~37.3 人とされており、近年のスポーツ参加人口の増加に伴いその頻度は増加している。

アキレス腱断裂の治療は、治療方法(手術治療もしくは保存治療)に関わらず長期成績は良好だが、いくつかの問題点がある。第一に、本格的なスポーツ復帰には約 6 カ月以上の長期間を要することである。アキレス腱は血流に乏しい結合組織により構成される。加えて、多くの断裂は‘critical zone’と呼ばれる、踵骨付着部より近位へ 2~6 cmの特に血流が乏しい部分に起こる(Carr et al, 1989; Lagergren et al, 1959)。そのため、腱の修復には長期間のスポーツ休止が必要となり、これがスポーツ選手にとっては選手生命をも脅かす可能性がある。第二の問題は、治療経過における腱の再断裂である。再断裂は、断裂した腱が十分に修復する前に過剰な負荷がかかり生じる。しかし、現在用いられているアキレス腱断裂後の腱修復を評価する検査方法は、アキレス腱断裂後の修復を形態的に評価しているのみであり、アキレス腱修復の程度を定量化できる検査方法はない。そのため、スポーツ復帰可能時期の正確な判定が困難である。以上より、腱の修復を促進する治療方法と、修復の程度を定量的に評価可能な検査法を開発することにより、アキレス腱断裂後に再断裂を起こさず、かつ早期にスポーツ復帰が可能になる。

多血小板血漿(Platelet rich plasma, PRP)は、自己の血液を遠心分離することで得られる、血小板を多く含む血漿成分である。多くの成長因子を含み、歯科口腔外科、形成外科領域では臨床応用が進んでいる。整形外科領域では骨形成促進作用、軟骨修復促進作用、腱修復促進作用などの基礎研究が報告されているが、本邦での臨床応用はまだ進んでいない。PRP の利点は高い臨床効果が期待できる再生医療である事、採取方法が採血のみであり簡便かつ低侵襲である事、また、自己成分であり、抗体産生による効果の減弱がない事が予想され、倫理上や感染症も問題とならない事が挙げられる。PRP は、アキレス腱の修復促進法として、現時点でもっとも臨床応用に近い方法である。

MRI T2 mapping は、膝関節をはじめとする関節軟骨の変性、修復の定量的評価法として普及している MRI 撮像法である。組織の T2 値をカラーマップ化することにより軟骨の質の変化を定量化する。T2 値は組織中のコラーゲン配列や水分量を反映するとされており、近年は椎間板変性や心筋梗塞の評価など、他の筋骨格疾患の評価にも用いられつつある。アキレス腱断裂後の修復過程では、コラーゲン配列は経時的に正常化し、平行に近く配列する。また、修復部の水分量を経時的に変化する。MRI T2 mapping を用いてアキレス腱を評価した報告は過去にないが、これによりアキレス腱断裂後の修復過程を定量的に評価できる可能性がある。

また、アキレス腱の検査方法として超音波による定性的評価がなされてきたが、従来は筋肉、腱、周囲組織の観察にとどまっていた。近年、乳腺などの様々な腫瘍領域において、腫瘍の固さを超音波で画像化できる技術(超音波 elastography)が確立されつつある(Itoh et al, 2006)。これは、超音波プローブで組織に微小な圧迫を加えることによるひずみを用いて、相対的な組織の固さをカラーマッピングし定性評価するものである。アキレス腱においても、健常成人は固く、高齢者は中間、炎症性疾患が存在すると組織内に中間からやわらかい画像が混在するとされる。さらに、硬さの定性評価だけでなく、定量評価である基準部位と対象部位とのひずみ比を計算する Strain Ratio(SR)が開発された(Drakonaki et al, 2009)。また、基準部位としてプローブ先端に装着して使用する一定の固さをもつ音響カプラーも開発された(Yoko et al, 2011)。しかし、アキレス腱に対してこのカプラーを使用した報告はない。

本研究の目的は、

実験 1: 兎アキレスモデルにおける、PRP の腱修復促進効果、および MRI T2mapping による腱修復の定量的評価について検討すること

実験 2: 超音波 elastography によるアキレス腱の固さの定量的評価法の、計測再現性を検討すること、健常成人における正常値及びアキレス腱の硬さの年齢による差を検討することである

実験 1: 兎アキレスモデルにおける、PRP の腱修復促進効果、および MRI T2 mapping による腱修復の定量的評価の検討

1. 多血小板血漿(Platelet rich plasma, PRP)の概要

血小板は末梢血中に約10~40万個/mm³程存在する血球成分である。血小板内には緻密(濃染)顆粒、 α 顆粒といった顆粒状構造物が存在し、血小板の活性化により顆粒内容物は放出される。緻密顆粒中にはATP(アデノシン3リン酸)、ADP(アデノシン2リン酸)、セロトニン、Ca²⁺が含まれている。 α 顆粒中にはフィブリノーゲン、von Willebrand 因子などともに、PDGF (Platelet derived growth factor), VEGF (Vascular endothelial growth factor), TGF- β (Transforming growth factor-beta), IGF (Insulin-like growth factor), EGF (Epidermal growth factor) などの細胞成長因子が含まれている。血小板は細胞増殖因子の貯蔵庫であり、その臨床応用が期待されている。血液中の血小板を密度勾配によって分離濃縮したものが、多血小板血漿 (Platelet rich plasma, PRP)である。PRPは1998年にMarxらが顎骨再建治療でPRPと腸骨の併用移植による骨量増大を得た報告以来、歯科口腔外科、形成外科領域では幅広く臨床応用が進んでいる。これに対して整形外科領域では骨形成促進作用、軟骨修復促進作用、腱修復促進作用などの基礎研究が報告されている。PRPの利点は高い臨床効果が期待できる再生医療である事、採取方法が採血のみであり簡便かつ低侵襲である事、また、自己成分であり、抗体産生による効果の減弱がない事が予想され、倫理上や感染症も問題とならない事が挙げられる。スポーツ傷害に対するPRPの有効性を示唆する基礎研究に加え、世界アンチドーピング機構 (World Anti-Doping Agency : WADA)が禁止していたPRPの筋肉内投与が、2011年1月の改訂でリストから外されたこともあり、今後の臨床応用が期待される。

2. MRI T2 mapping の概要

MRIは臨床において、アキレス腱断裂の治癒過程の評価に広く用いられている。しかし、現在のMRIによる評価はアキレス腱の形態や質的評価にとどまる。MRIの測定項目の一つにT2値が挙げられ、T2値は関節軟骨においてはコラーゲン配列や水分含有量を反映するとされている (Nieminen et al, 2001; Watanabe et al, 2009)。つまり、正常軟骨ではコラーゲン配列が規則的であるが、軟骨の変性によりコラーゲン配列が乱れ、水分含有量が増加すると関節軟骨のT2値が延長するとされている。T2 mappingはピクセル毎のT2値を測定し、その値によりカラーマップ化する方法であり、コラーゲンの質的評価が可能である。アキレス腱は断裂後の修復過程において、その水分含有量が減少し、新たに産生されるコラーゲンがアキレス腱長軸に平行に配列される。本研究では、T2 mappingを用いて、アキレス腱断裂部に対してT2 mappingを行い、アキレス腱修復部のT2値を測定することにより、修復過程の定量的な評価が可能になると考えられる。

3. 方法

対象動物:ニュージーランドホワイトラビット(NZW) 14週齢 メス 24羽(48肢)を用いた。うち12羽(24肢)をアキレス腱断裂部にPRPを投与するPRP群、残る12羽(24肢)を断裂部に生理食塩水を投与するcontrol群とした(後述)。

実験方法

1) PRPの作製

NZWに25mg/kgの濃度でケタミン(ケタラール、三共製薬、日本)の筋肉注射により、全身麻酔後、耳動脈より21G針を用いて、12mlの採血を行った。(図1)。このうち10mlを用いて、1500G、10分間の遠心分離により、PRP2.5mlを抽出した(MyCells kit, Kaylight Ltd, Israel:図2)。残りの2mlに対し、血液中の血小板数を血球計測器 (MEK-6358 Celltac α , Nihon Kohden, Tokyo, Japan)を用いて測定し、作成したPRPの血小板濃縮率を算出した。



図1 耳動脈からの採血

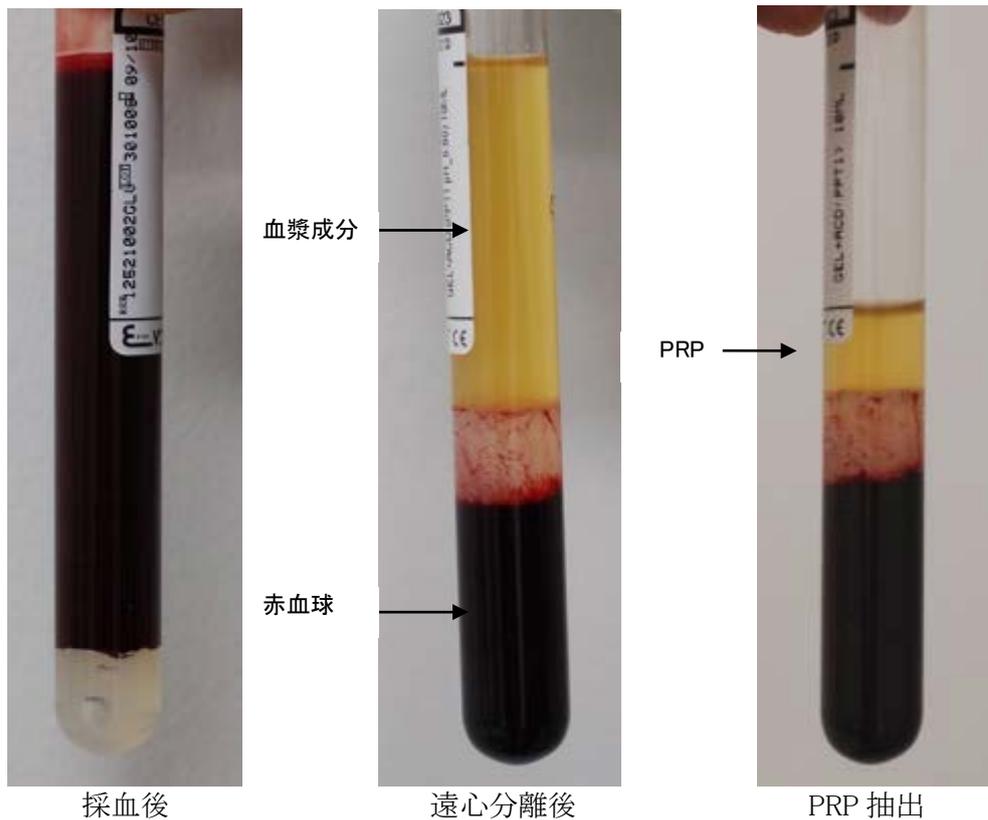


図2 遠心分離後の PRP 作成用スピッツ

2) アキレス腱断裂モデルの作製

NZW を全身麻酔後に腹臥位とした。足関節周囲の剃毛し、拡大鏡視下に足関節背側、アキレス腱上に約 2cm 程度の縦切開を置いた。アキレス腱を周囲組織から剥離した後、パラテノン縦割し、アキレス腱を露出した。腱を踵骨付着部より 2cm 近位で横切した(図 3)。伴走する足底筋腱は切離せず、内副子として温存した。PRP 群では、近位、遠位の腱断端に内に PRP を 0.5ml ずつ注射した。Control 群では、PRP の代わりにアキレス腱内に同量の生理食塩水を注入した。PRP または生理食塩水の注射後、パラテノン、皮膚を縫合し手術を終了した。両側後肢に同様の手術および処置を行った。手術後、患部の外固定は行わ

ず、NZW はケージ内で自由に動ける状態とした。上記処置を PRP 群:12 羽(24 肢)、Control 群:12 羽(24 肢)に対して行った。

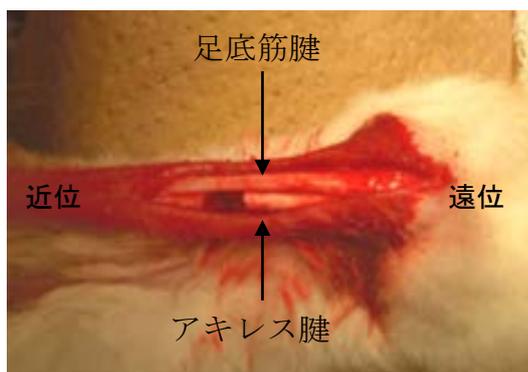


図3 アキレス腱断裂モデル

3) MRI 撮像

アキレス腱断裂モデル作成後 2・4・8・12 週で各群 3 羽(6 肢)ずつ屠殺した。アキレス腱の緊張を保つため、NZW の後肢の下腿三頭筋附着部を残し大腿中央部で切断し、採取した。採取した検体を 3T の MRI (Discovery750, GE healthcare, Waukesha, WI)を用いて、NZW 各肢に対して、膝関節屈曲 120 度、足関節背屈 60 度の肢位で手関節用コイルを用いて(Precision Elght Wrist Array Coil, InVivo, Florida, USA)、アキレス腱の撮像を行った。MRI の撮像条件は TR:1500 ms、TE:9.5-75.6 ms (8 echo times)、80×80 mm field of view, 384×384 matrix、1.0-mm slice thickness で行った。アキレス腱修復の中心を通る T2 矢状断像を用いて、T2 値によりカラーリングを行う T2 mapping を行い(図 4)、腱修復部の T2 値を測定した。尚、今回の T2 mapping では T2 値が高いと赤く、低いと青く描出されるように設定した。

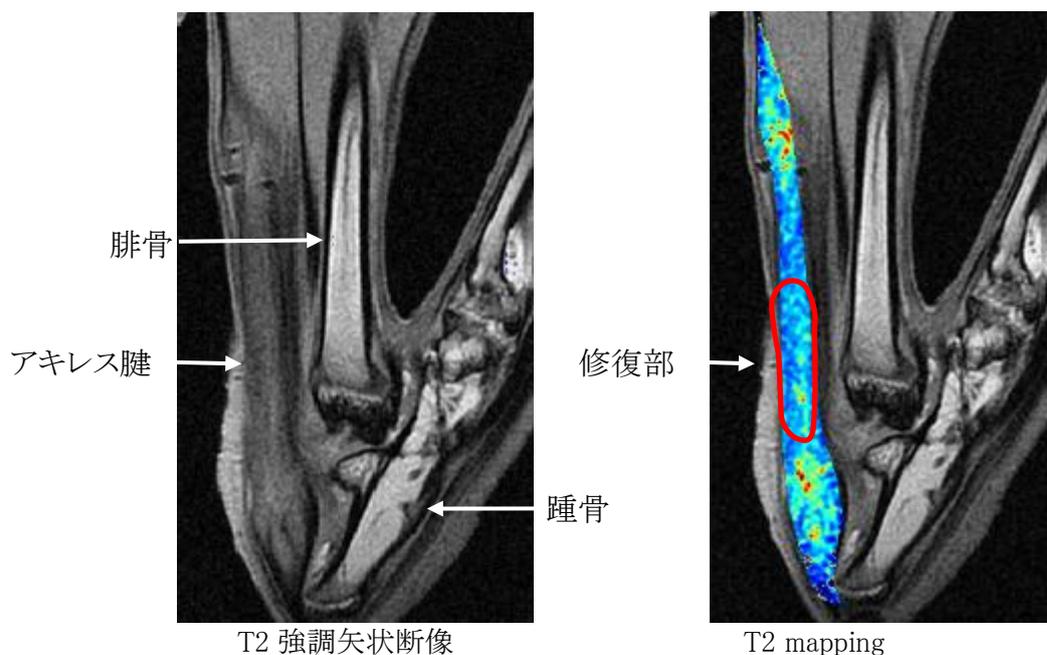


図 4

4) 組織学的評価

MRI 撮像後に NZW 後肢より、アキレス腱を踵骨附着部より近位 4 cm の部位で切離し、アキレス腱を採取

し、ホルマリン固定後にパラフィンブロック作成を行った。各検体を $4\mu\text{m}$ 厚でアキレス腱に対し矢状断面にて薄切した。各検体 2 スライドずつ作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) とマッソン・トリクローム染色 (MT 染色) を行った。組織学的な評価として、腱の修復程度を半定量的に評価できる Bonar scale を用いた (Cook et al, 2004)。Bonar scale は①腱細胞、②細胞間基質、③血管新生、④コラーゲン配列の4項目、各 0-3 点の計 12 点満点で評価され、正常像は 0 点である。

5) 統計学的評価

T2 値、Bonar scale の各値は平均値と標準偏差で示し、各タイムポイントにおける群間比較には Mann-Whitney test を用いた。各群内におけるタイムポイント間での比較に Kruskal-Wallis test を用い、post hoc test として Steel-Dwass 法を用いた。また、T2 値と Bonar scale との間の相関関係を Spearman の順位相関係数を用いて求めた。結果は 5%未満を有意ありとした。

4. 結果

1) 血小板数

末梢血中の血小板数は平均 $258.2 \pm 39.9 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、PRP 中の血小板数は $1461.9 \pm 276.4 \times 10^3 / \mu\text{l}$ であり、5.7 倍の血小板濃縮率であった。また、作成した PRP 中に赤血球や白血球は含まれなかった。

2) 組織学的所見

アキレス腱修復の早期における特徴的な所見として、腱細胞の数やサイズが大きく、核の形態が円形であり、細胞間基質の量が多かった。また、血管新生が豊富であり、コラーゲン配列の乱れを認めた。腱修復が進行するにつれて、腱細胞の数とサイズ、細胞間基質の量は減少した。一方、産生されるコラーゲン量は増加し、次第にアキレス腱長軸方向へ平行に配列されていった。両群ともに組織学的所見はアキレス腱断裂後時間経過とともに修復され、断裂後 12 週経過時点では両群間に大きな差は見られなかった (図 5)。

半定量的に腱修復を評価した Bonar scale では両群ともに次第に減少したが、全てのタイムポイントで、PRP 群で低値だった。断裂後 8 週の時点で両群間の差が最大であり、有意差を認めた (Control 群: 4.5 ± 1.2 、PRP 群: 2.8 ± 0.8 、 $P=0.02$)。また、12 週経過時点ではほぼ同程度の修復具合であり、両群間に有意差は認めなかった (図 6)。

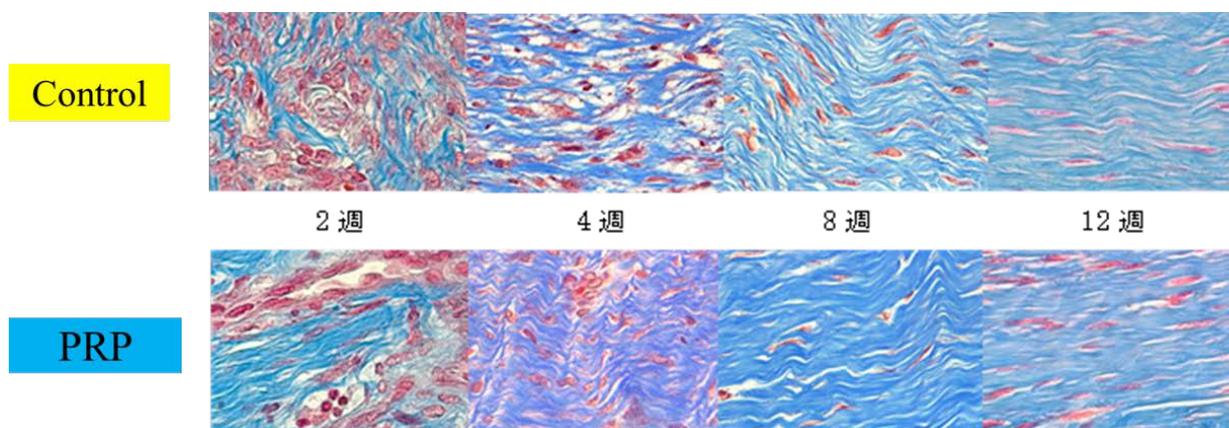


図 5 組織学的所見

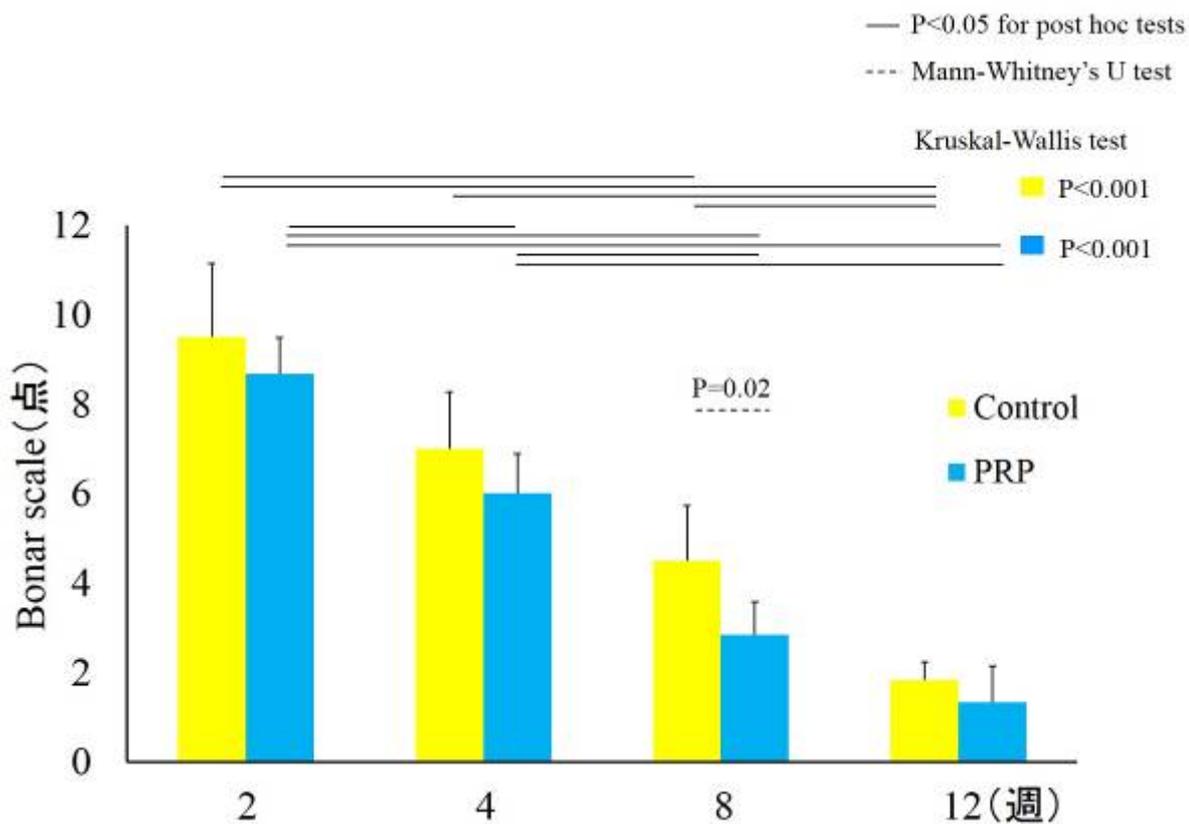


図6 Bonar scale

3) MRI 所見

アキレス腱断裂の修復早期における T2 mapping では腱断裂部の T2 値は高く、赤色に描出され、正常部分の T2 値は低く、青色に描出された。腱の修復が進行するにつれて、T2 値は低下し、青色へと変化し、断裂後 12 週時点では両群ともに正常部分と同程度に青く描出された(図 7)。両群ともに修復部の T2 値は次第に低下したが、断裂後 8 週時点での両群間の差が最大であった(Control 群: 22.4 ms ± 7.0、PRP 群: 15.3 ms ± 4.9、P=0.07)。断裂後 12 週時点では両群間の T2 値に差は見られなかった(Control 群: 13.9 ms ± 3.0、PRP 群: 13.3 ms ± 1.8、P=0.63、(図 8))。

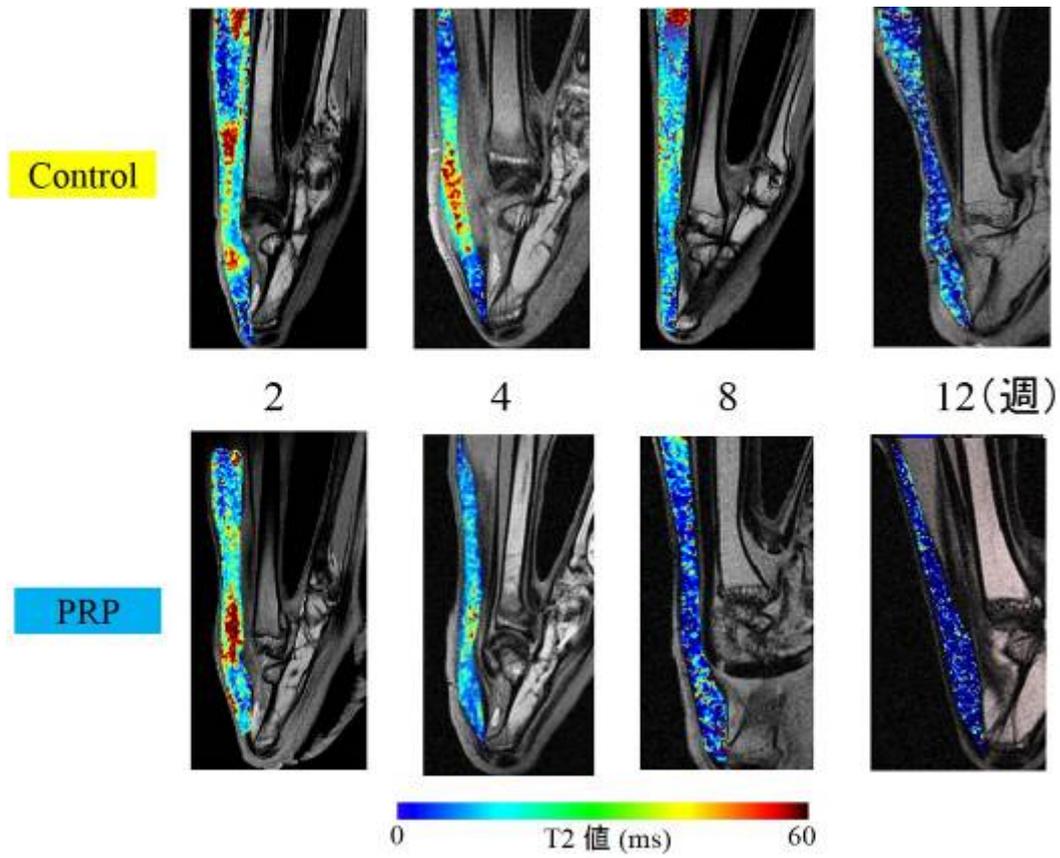


図7 T2 mapping

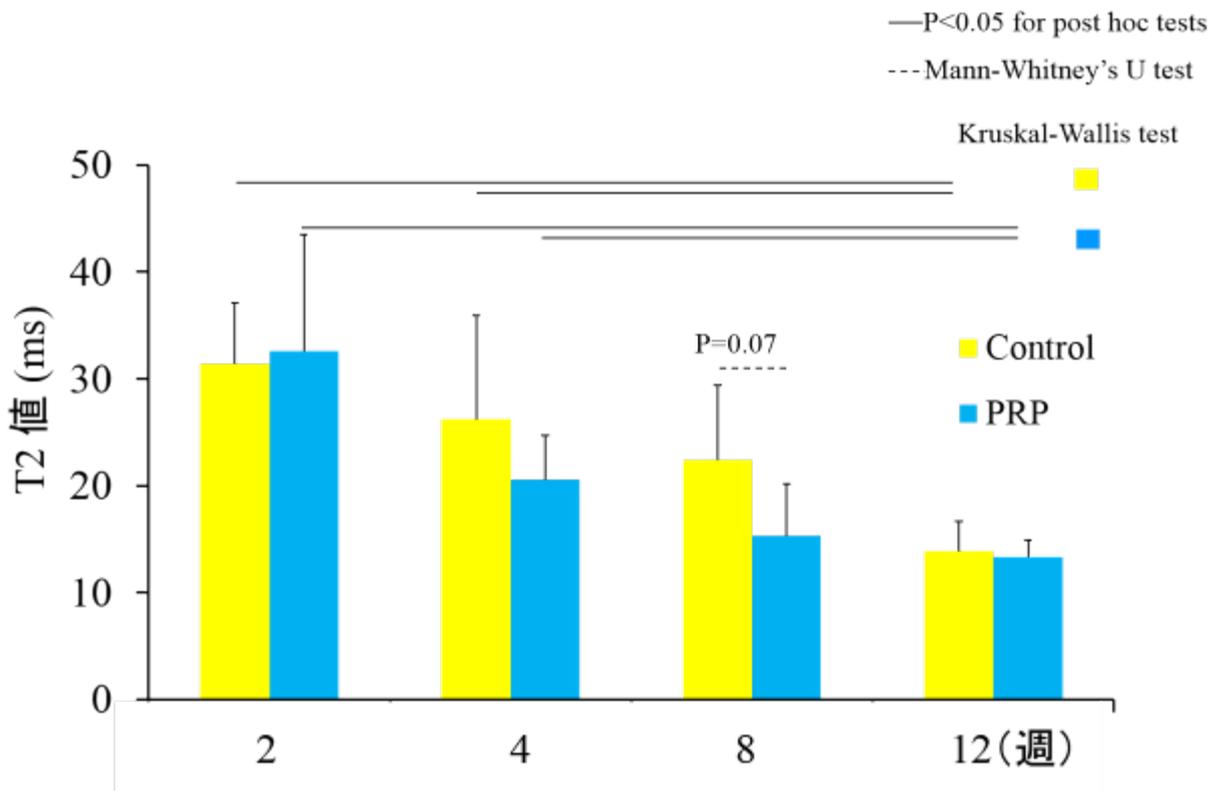


図8 T2 値

4) 相関関係(T2 値と Bonar scale)

T2 値と Bonar scale の関係を Spearman の順位相関係数を用いて求めた。両者の間に正の相関関係を認めた($\rho=0.82$ 、 $P<0.001$)。Control 群、PRP 群それぞれにおいても正の相関関係を認めた(Control 群: $\rho=0.80$ 、 $P<0.001$ 、PRP 群: $\rho=0.76$ 、 $P<0.001$ 、図9)。

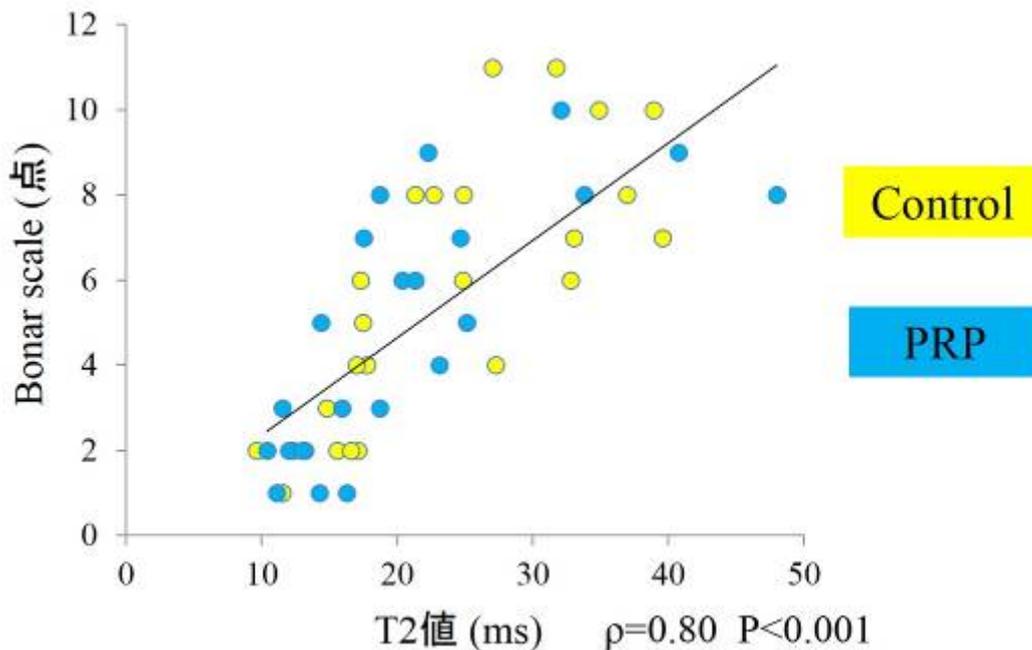


図9 T2 値と Bonar scale

5. 考察

本研究では、兎アキレス腱断裂モデルにおいて、PRP の投与によりアキレス腱の修復が促進された。また、MRI T2 mapping はアキレス腱断裂部の組織学的な修復過程を反映し、PRP による腱修復促進効果を描出した。MRI T2 mapping による、アキレス腱修復の定量的な評価方法としての有用性が示唆された。ただちに臨床応用が可能である PRP の腱修復促進効果を明らかにしたこと、さらに、その効果を monitor するための、臨床で使用可能な方法として MRI T2 mapping の有用性を明らかにしたことが本研究の特色である。

PRP は血小板中に含まれる多くの成長因子により、組織修復効果など、様々な効果をもたらす。近年、PRP による報告は数多くなされている。In vitro の実験においては、PRP の投与により、腱細胞の増殖、コラーゲン合成が増加したとしている(Anitua et al, 2005)。Lyras (2009) らは本研究と同様の兎アキレス腱断裂モデルを用いて PRP を投与し、断裂後 2 週の修復早期では生理食塩水を投与した Control 群と比較し、血管新生が増強し、4 週で血管数は減少したとしている。また断裂後 4 週で腱修復部における成長因子の発現が増強し、コラーゲン配列が修復されたとしている(2011)。一方、Kaux ら (2012) は、ラットアキレス腱断裂に対する PRP の効果を生化学的、生体力学的に検討した。成熟したコラーゲンである Type I コラーゲンの mRNA 量の発現が PRP 群で有意に増加し、破断強度に関しても PRP 投与後 30 日では PRP 群で優位に高く、PRP の有用性を述べている。本研究ではアキレス腱の修復の組織像を半定量的に評価するために Bonar scale を用いた。Bonar scale はアキレス腱断裂後、両群共に経時的に有意に低下した。過去の報告のように、術後 4 週で PRP 群でより低値だったが、術後 8 週で両群間の差が最大であり、有意差を認めた。これは過去の報告が 4 週までの観察であることに対し、本研究では両群間の差がなくなる術後 12 週まで観察したことがあげられる。また、Lee ら (2013) によると、PRP は Ca イオンやトロンビンにより活性化することで、その血小板中に含まれる成長因子が放出されるとしている。本研究では断裂モデル作成時に

PRPの活性化を行わずに投与したが、これはLyrasらの報告と同様に自己組織内でのCaイオンやトロンビンにより、緩徐に活性化される事を利用した。本研究では術後8週でBonar scaleの差が最大であったことは、投与したPRPの活性化の有無による可能性も考えられる。本研究では過去の報告と同様にPRPによる腱修復促進効果を認めた。

MRI T2 mappingでは、PRP群、コントロール群共に修復部のT2値がアキレス腱断裂作成後早期で高値であり、修復経過とともにT2値が低下した。T2値の低下はPRP群で大きく、両群の差は術後8週で最大であり、術後12週ではほぼ同等であった。さらにBonar scaleとT2値は正の相関関係を認めた。Niemenenら(2001)は、MRIにおけるT2値は、関節軟骨においてコラーゲン配列や水分含有量を反映するとしている。Sarmientoら(2013)は、羊アキレス腱断裂モデルの修復過程でコラーゲン配列が経時的に長軸方向へ平行に配列されていくとしている。また、Carlstedtら(1986)は、腱修復過程において、含有水分量は次第に減少していくとしている。本研究におけるT2値の低下は腱修復過程に伴う、コラーゲン配列の正常化と水分量の減少を反映していると考えられた。

我々が渉猟しえた範囲ではMRI T2 mappingにより、アキレス腱断裂の腱修復過程を定量的に評価した報告はない。これまでに報告されているMRIによる機能的な評価方法として、Trudelら(2009)は兎アキレス腱断裂モデルを用いて、MRIにおけるT1値はアキレス腱への負荷と相関しており、腱修復部のT1値を測定することが、機能的な評価方法になるとしている。また、Ikomaら(2003)はNMR spectroscopyがウサギの再生アキレス腱のコラーゲン配列や再構築の評価に有用であるとしている。T2 mappingは非侵襲的であり(Niemenen et al, 2012)、すでに関節軟骨の評価で広く臨床使用されている。本法はアキレス腱断裂の腱修復過程の定量法として有用である。

本研究の問題点として、まず生体力学的な評価を行っていないことが挙げられる。生体力学的な研究により、T2値の低下と生体力学的な強度との関係を示すことができれば、臨床的にも明確なスポーツ復帰時期の同定やリハビリテーションの内容に反映できる可能性がある。また、コントロール群として断裂部に生理食塩水を用いたことが挙げられる。PRPの効果を検証するためのコントロール群としては、PRP作成時に生じる血小板を含まない血漿(Platelet poor plasma:PPP)や断裂手術のみのシャム群が考えられる。しかし、本研究ではアキレス腱修復部に対するMRI T2 mappingによる定量的な評価が可能な主評価項目としており、水分含有量としてT2値への影響が少なくなるように、Lyrasらの報告と同様にPRPと同量の生理食塩水を投与した。

以上の事から、本研究では兎アキレス腱断裂モデルにおいて、MRI T2 mappingはアキレス腱断裂部の修復過程の組織像を反映した。T2ampはPRPによる腱修復促進効果をdetectできた。MRI T2 mappingはアキレス腱修復の定量的な評価方法となると考えられた。

実験 2: 超音波 elastography によるアキレス腱の固さの正常値及び再現性の検討

1. 超音波 elastography および定量評価の概要

超音波 B-mode 画像は、組織の音響インピーダンスの違いで発生する反射音波を空間微分して画像構成している。エラストグラフィはプローブで組織を圧迫することで、圧迫前後で発生する組織内の音響インピーダンスの変異分布を空間微分する。さらに組織内のゆがみ分布を計算し、ゆがみ画像を構成する。変異が小さいつまり固いものを青、変異が大きいつまり柔らかいものを赤で表示する (Okada et al, 2005)。また、硬さを数値で定量評価する手法として、基準部位と対象部位とのひずみ比を計算する Strain Ratio (SR)がある。従来、基準部位を被検者の脂肪として計測していたが、脂肪の硬さは被検者間で一定でないため被検者間でのSRの比較が難しく、定量評価として限界があった (Drakonaki et al, 2009)。近年プローブの先端に一定の硬さを持ち、体表と等しい音響インピーダンスを有する音響カプラーが開発され、音響カプラーを基準部位として対象部位のSRを計測することが可能となった。これにより、異なる被検者間でSRの比較が可能となった。

2. 方法

測定方法(1)

検査姿勢は腹臥位、足関節自然下垂位とした。検査部位は腓腹筋腱移行部と踵骨付着部との中央 1/3 矢状断像を用いた (図 10)。測定機器は超音波装置 Hi Vision Preirus (Hi Vision Preirus, Hitachi Aloka Medical, Japan)、リニアプローブ 6~14MHz (EUP-L65, Hitachi Aloka Medical, Japan)、一定の弾性率を持つ音響カプラーである ($22.6 \pm 2.2 \text{ kPa}$) (EZU-TECPL1, Hitachi Aloka Medical, Japan)(図 11)。

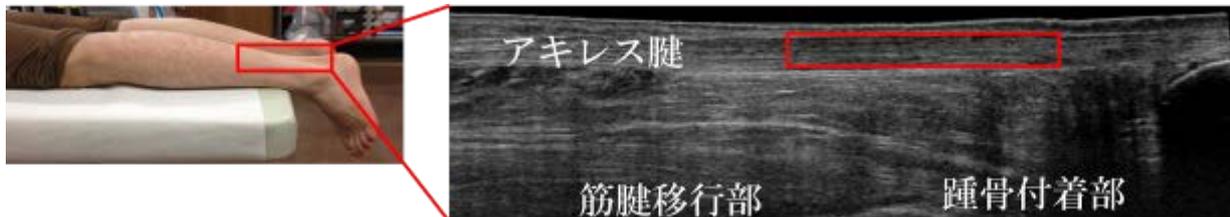


図 10 測定姿勢と測定部位



図 11 リニアプローブと音響カプラー

測定方法(2)

超音波 elastography の定量測定方法(図 12)

プローブで、徒手的に組織を圧迫 (2Hz で繰り返す)すると、組織のひずみ (strain) がカラーマップで表示される。**アキレス腱**と**カプラー**に関心領域を設定に設定する。アキレス腱のひずみ値をカプラーのひずみ値で除することで SR が計算される。

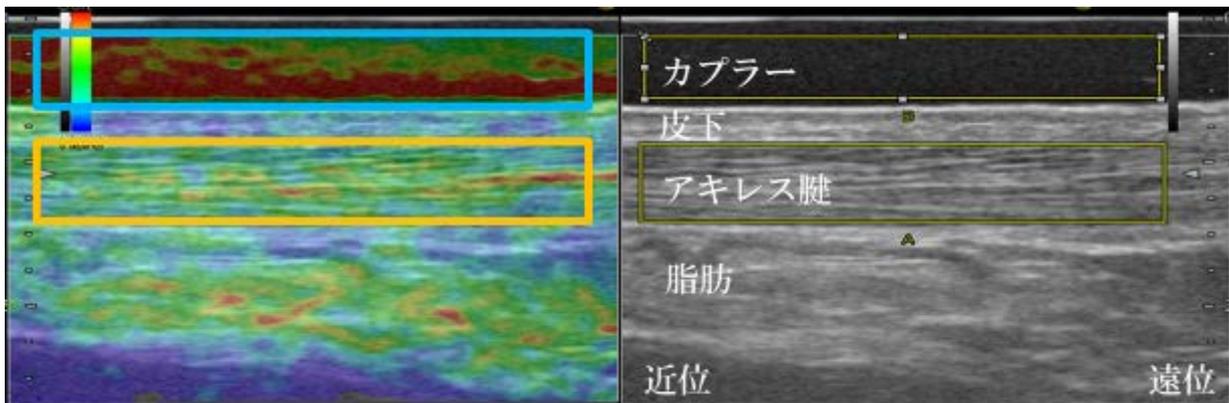


図 12 超音波 elastography 測定画面

各足に対して 1 回計測を行った場合の検者内再現性

始めに、各足に対して 1 回のみ計測を行った場合の検者内再現性を検討した。対象は健常成人 50 名 100 足(女 25 名, 男 25 名, 平均 45 ± 14 歳)、検者は熟練した整形外科医 1 名とした。4 回計測を行い、SR の平均値、級内相関係数 ICC、標準誤差、十分な再現性を得るために必要な反復計測回数を求めた (Eliasziw et al, 1994)。

繰り返し計測を行った場合の検者内・検者間再現性

次に、繰り返し計測を行った場合の検者内・検者間再現性を検討した。対象は別の健常成人 25 名 50 足(女 9 名, 男 16 名, 平均 28 ± 5 歳)とした。検者は熟練した整形外科医 2 名である。各足につき 3 回計測を行い、平均を各足の SR 代表値とした。代表値を用いた検者内再現性、検者間再現性、標準誤差を求めた。

アキレス腱の硬さの年齢による差の検討

対象は 1 回計測と同じ健常成人 50 名 100 足(女 25 名, 男 25 名, 平均 45 ± 14 歳)とした。各足につき 4 回計測を行い、平均値を各足の SR 代表値とし、20 から 60 歳台の年代別の差を Kruskal-Wallis test と Steel-Dwass test (post-hoc test) で検定した。有意水準は P 値 0.05 未満とした。

3. 結果

各足に対して 1 回のみ計測を行った場合の検者内再現性は 0.63 で substantial だった。標準誤差は 0.10、十分な検者内再現性を得るために必要な反復計測回数は 3 回だった。よって、繰り返し計測を行った場合の検者内・検者間再現性は、各足につき 3 回計測を行い、平均を SR 代表値とした。複数回計測することにより、検者 1、2 の検者内再現性は、各々 0.93、0.87 で almost perfect へ向上した。検者間再現性は 0.75 で substantial だった (表)。50 名 100 足の平均 SR は 0.40 ± 0.14 だった。各年代の中央値は 30 歳代を除き 0.37 から 0.46 だった。30 歳代の中央値は 0.27 と各年代よりも有意に低値だった(図 13)。

(表)繰り返し計測を行った場合の検者内・検者間再現性

3 回計測の平均	ICC	評価	標準誤差	
検者内 (検者 1)	ICC (1, 3)	0.93	Almost perfect	0.06
検者内 (検者 2)	ICC (1, 3)	0.87	Almost perfect	0.07
検者間	ICC (2, 2)	0.75	Substantial	0.09

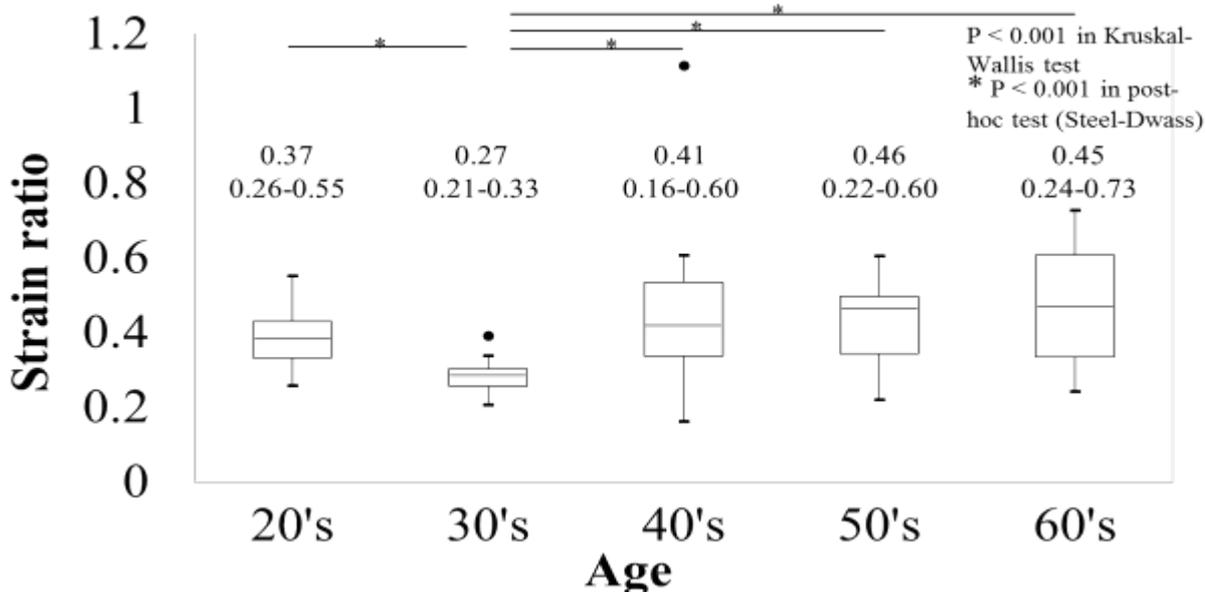


図 13 各年代の SR 値

4. 考察

本研究ではカプラーを用いた定量的超音波 elastography によるアキレス腱の固さの再現性を検討し、高い検者間・検者内再現性が認められた。アキレス腱の固さの定量的計測は再現性のある、有用な方法である可能性が示された。

足底腱膜に対する定性的 elastography は、検者内再現性は almost perfect (Wu, 2011)、検者間では excellent や substantial と報告されている (Sconfienza, 2013; Wu, 2011)。また、Kager's fat pad を基準としたアキレス腱の SR 計測では、検者内再現性は substantial、検者間では moderate とされている (Drakonaki, 2009)。本研究では、カプラーを基準としたアキレス腱の SR 計測で、3 回計測の平均を代表値とすることにより検者内再現性は almost perfect、検者間は substantial であり複数回の平均をとることで検者内・検者間再現性の改善を認め、カプラーを用いた計測は再現性のある臨床的に有用な測定方法であると考えられた。

30 歳代のアキレス腱は他の年代より SR 値は低く有意に硬かった。中川ら(1996)は兎のアキレス腱の引張り強度は、成体期が幼若期と老齢期よりも高値を示したと報告した。その理由として身体活動の増加による身体的応答と推察している。また、Schulz ら(1988)はヒトの身体能力のピークは 20-30 歳前半と報告している。本実験では 20 歳代よりも有意に 30 歳代でアキレス腱は硬く、身体能力のピークとは若干の相違があった。SR は測定方向がアキレス腱に対して垂直であるため、直接的に引張り試験の結果と結びつけること

はできなく、また SR と引張り試験を比べた報告はまだない。我々は現在兎を用いて SR と力学的強度を検討する実験を施行中であり今後報告予定である。さらに、各年代の測定施行人数は 10 人であり、対象人数を増やし検討する必要があると考えられた。

本研究の問題点として、対象が健常人であるためアキレス腱の SR に対する組織学的、力学的な検討がなされていないことである。また、SR 値が正常アキレス腱のみであり、アキレス腱疾患が含まれていないことである。現在、アキレス腱断裂を含むアキレス腱疾患に対しての SR の検討を施行中である。さらに、SR の測定部位がアキレス腱中央部のみであることである。アキレス腱の筋腱移行部や踵骨付着部を測定した報告もあるが、本研究の前実験にて再現性が認められなかったためこれらの部位は除外とした(De zordo et al, 2009; Klauser et al, 2010)。

以上より、カプラーを用いた定量的 elastography は再現性のある臨床的に有用な測定方法であると考えられた。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究にご支援を賜りました上月スポーツ・教育財団に、心から感謝いたします

参考文献

Anitua E, Andía I, Sanchez M, et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005;23(2):281-6.

Carlstedt CA, Madsén K, Wredmark T. The influence of indomethacin on tendon healing. A biomechanical and biochemical study. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1986;105(6):332-6.

Carr AJ, Norris SH. The blood supply of the calcaneal tendon. *J Bone Joint Surg Br.* 1989;71(1):100-1.

Cook JL, Feller JA, Bonar SF, Khan KM. Abnormal tenocyte morphology is more prevalent than collagen disruption in asymptomatic athletes' patellar tendons. *J Orthop Res.* 2004;22(2):334-8.

De Zordo T, Fink C, Feuchtner GM, Smekal V, Reindl M, Klauser AS. Real-time sonoelastography findings in healthy Achilles tendons. *AJR Am J Roentgenol.* 2009;193(2):W134-8.

Drakonaki EE, Allen GM, Wilson DJ. Real-time ultrasound elastography of the normal Achilles tendon: reproducibility and pattern description. *Clin Radiol.* 2009;64(12):1196-202.

Eliasziw M, Young SL, Woodbury MG, Fryday-Field K. Statistical methodology for the concurrent assessment of interrater and intrarater reliability: using goniometric measurements as an example. *Phys Ther.* 1994;74(8):777-88.

Fernández-Sarmiento JA, Domínguez JM, Granados MM, et al. Histological study of the influence of plasma rich in growth factors (PRGF) on the healing of divided Achilles tendons in sheep. *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95(3):246-55.

Ikoma K, Kusaka Y, Takamiya H, Eliav U, Navon G, Seo Y. Evaluation of collagen fiber maturation and ordering in regenerating tendons employing H-1 double quantum filtered NMR spectroscopy. *J Orthop Res.* 2003;21(1):149-56.

Itoh A, Ueno E, Tohno E, et al. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology.* 2006;239(2):341-50.

- Kaux JF, Drion PV, Colige A, et al. Effects of platelet-rich plasma (PRP) on the healing of Achilles tendons of rats. *Wound Repair Regen.* 2012;20(5):748-56.
- Klauser AS, Faschingbauer R, Jaschke WR. Is sonoelastography of value in assessing tendons? *Semin Musculoskelet Radiol.* 2010;14(3):323-33.
- LAGERGREN C, LINDHOLM A. Vascular distribution in the Achilles tendon; an angiographic and microangiographic study. *Acta Chir Scand.* 1959;116(5-6):491-5.
- Lalitha P, Reddy MCh, Reddy KJ. Musculoskeletal applications of elastography: a pictorial essay of our initial experience. *Korean J Radiol.* 2011;12(3):365-75.
- Lee JW, Kwon OH, Kim TK, et al. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Arch Plast Surg.* 2013;40(5):530-5.
- Lyras DN, Kazakos K, Georgiadis G, et al. Does a single application of PRP alter the expression of IGF-I in the early phase of tendon healing? *J Foot Ankle Surg.* 2011;50(3):276-82.
- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(6):638-46.
- Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-8.
- Nakagawa Y, Hayashi K, Yamamoto N, Nagashima K. Age-related changes in biomechanical properties of the Achilles tendon in rabbits. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1996;73(1-2):7-10.(1)
- Nieminen MT, Nissi MJ, Mattila L, Kiviranta I. Evaluation of chondral repair using quantitative MRI. *J Magn Reson Imaging.* 2012;36(6):1287-99.
- Nieminen MT, Rieppo J, Töyräs J, et al. T2 relaxation reveals spatial collagen architecture in articular cartilage: a comparative quantitative MRI and polarized light microscopic study. *Magn Reson Med.* 2001;46(3):487-93.
- Okada K, Matsumura T, Mitake T. [Development of real-time tissue elastography]. *Nihon Hoshasen Gijutsu Gakkai Zasshi.* 2005;61(6):811-6.
- Schulz R, Curnow C. Peak performance and age among superathletes: track and field, swimming, baseball, tennis, and golf. *J Gerontol.* 1988;43(5):P113-20.
- Sconfienza LM, Silvestri E, Orlandi D, et al. Real-time sonoelastography of the plantar fascia: comparison between patients with plantar fasciitis and healthy control subjects. *Radiology.* 2013;267(1):195-200.
- Shiina T, Yamakawa M. Fast reconstruction of tissue elastic modulus image by ultrasound. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2005;1:976-80
- Shiina T, Yamakawa M. Fast reconstruction of tissue elastic modulus image by ultrasound. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2005;1:976-80.

Trudel G, Doherty GP, Koike Y, et al. Restoration of strength despite low stress and abnormal imaging after Achilles injury. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(11):2009-16.

Vetrano M, Castorina A, Vulpiani MC, Baldini R, Pavan A, Ferretti A. Platelet-rich plasma versus focused shock waves in the treatment of jumper's knee in athletes. *Am J Sports Med.* 2013;41(4):795-803.

Watanabe A, Wada Y. [Progress of research in osteoarthritis. Quantitative magnetic resonance imaging of cartilage in knee osteoarthritis]. *Clin Calcium.* 2009;19(11):1638-43.

Wu CH, Chang KV, Mio S, Chen WS, Wang TG. Sonoelastography of the plantar fascia. *Radiology.* 2011;259(2):502-7.

Yoko F, Takeshi M, Naoyuki M, Mitsuru M, Tsuyoshi M. Development of Acoustic Coupler for Elastography. *MEDIX.* 2011;55:40-4.