

博士論文

伸張性収縮運動が
ヒト腱の血液循環、コラーゲン線維配向、
および力学的特性に及ぼす影響

**Effects of eccentric contraction exercise on blood
circulation, collagen fiber orientation, and
mechanical properties of human tendons *in vivo***

石垣 智恒

博士論文

伸張性収縮運動が
ヒト腱の血液循環、コラーゲン線維配向、
および力学的特性に及ぼす影響

**Effects of eccentric contraction exercise on blood
circulation, collagen fiber orientation, and
mechanical properties of human tendons *in vivo***

平成 29 年度

東京大学大学院 総合文化研究科

広域科学専攻 生命環境科学系 身体運動科学

31-157702

石垣 智恒

(研究指導教員：久保 啓太郎 准教授)

目次

第1章 諸言

1-1. 研究目的	4
1-2. 研究小史	
1-2-1. アキレス腱炎	7
1-2-2. 伸張性収縮運動による腱炎の治療	8
1-2-3. 腱の血液循環	11
1-2-4. 腱のコラーゲン線維配向	17
1-2-5. 腱の力学的特性	22
1-3. 用語について	27

第2章 研究1：ヒト生体における腱コラーゲン線維配向の定量方法の確立

2-1. 諸言	29
2-2. 方法	31
2-3. 結果	34
2-4. 考察	35
2-5. まとめ	39

第3章 研究2：負荷の異なる反復した伸張性収縮が腱の血液循環および

コラーゲン線維配向に及ぼす一過性効果

3-1. 緒言	44
3-2. 方法	46
3-3. 結果	51
3-4. 考察	53
3-5. まとめ	56

第4章 研究3：実施頻度の異なる伸張性トレーニングが腱の血液循環、 コラーゲン線維配向、および力学的特性に及ぼす慢性効果

4-1. 諸言	62
4-2. 方法	64
4-3. 結果	69
4-4. 考察	70
4-5. まとめ	73

第5章 総括論議

5-1. 腱炎に対する伸張性収縮運動の治療メカニズム	81
5-2. 適切な伸張性収縮運動プロトコル	84
5-3. 今後の展望	89

第6章 結語

引用文献

A	92	B	93	C	94	D	95	E	97
F	97	G	98	H	99	I	100	J	100
K	101	L	105	M	105	N	108	O	108
P	109	R	110	S	111	T	111	V	112
W	113	Y	114	Z	114				

謝辞

関連論文

本博士論文の第 2 章および第 3 章の研究は、下記専門誌に掲載された原著論文を基に改訂・加筆したものである。

1. Tomonobu Ishigaki, Masahiro Kouno, Toshihiro Ikebukuro, Keitaro Kubo, 2016. Quantification of collagen fiber orientation in human tendons with the coefficients of variation of echogenicity. J Biomech 49(16), 3923-3927

2. Tomonobu Ishigaki, Toshihiro Ikebukuro, Keitaro Kubo, 2018. Effects of repeated eccentric contractions with different loads on blood circulation and collagen fiber orientation in the human Achilles tendon. JPFMS 7(1), 57-64

第1章

諸言

1-1. 研究目的

腱炎は、トップアスリートだけでなく一般人にも生じる整形外科疾患であり (de Jonge et al., 2011; Kujala et al., 2005; Lysholm and Wiklander, 1987)、腱断裂にも発展し得る障害である (Khan et al., 1999)。そのため、競技力向上を目指すアスリートから健康増進を図る一般人に至るまで、運動 (トレーニング) を継続する上で解決すべき課題と言える。特に、アキレス腱炎は他の部位に比べて発生頻度が非常に高いことが知られている (e.g., Kannus and Jozsa, 1991)。治療に難渋することの多いアキレス腱炎であるが、ここ十数年の間にリハビリテーションとしての伸張性収縮運動により良好な治療成績が得られたとする報告が多数みられている (e.g, Alfredson et al., 1998)。しかし、その治療メカニズムは依然不明である。さらに、これらの報告で採用されているプロトコル (自体重負荷を用いて 180 回、毎日実施) は、ほぼすべて Alfredson らの報告 (1998) に基づくものであり、現象 (治療効果) が先行している感が否めない。したがって、腱炎に対する治療効果の高い最適なプロトコル確立のために、さまざまな条件による伸張性収縮運動が腱特性 (力学的特性や血液循環など) に及ぼす影響を検討する必要がある。

一方、腱炎患者の腱は健常者の腱に比べて、腱の形態 (断面積、厚み)、力学的特性 (伸

張量、スティッフネス、ヒステリシス)、および血液循環(血液量、酸素飽和度、血流量)に変化が生じていることが多数報告されている(e.g., Knobloch et al., 2006; Ohberg et al., 2001; Wang et al., 2012)。例えば、Ohbergらは健常者に比べて腱炎患者のアキレス腱は肥厚し、超音波ドプラ法により血管新生を認めている(Ohberg et al., 2001)。Wangらは、腱炎患者の腱の力学的特性は健常腱に比べてスティッフネスが低くヒステリシスが大きいことを報告している(Wang et al., 2012)。さらに、腱炎の組織学的研究によると、腱コラーゲン線維配向(並び)にも変化が生じていることが明らかにされている(e.g., Khan et al., 1999)。しかし、ヒト生体の腱におけるコラーゲン線維配向を非侵襲的に定量する方法は存在しない。したがって、腱炎の特徴、および治癒過程における腱特性の変化を多角的に検証するためには、ヒト腱におけるコラーゲン線維配向の測定(定量)法の確立が望まれる。

これまでの先行研究によると、反復した伸張性収縮により腱の血液循環が一過性に高まることや(Kubo, 2015; Yin et al., 2014)、長期的な伸張性トレーニングにより腱のスティッフネスや血液量に変化がみられないことが示されている(Kubo and Yata, 2017)。しかし、これらの報告ではいずれも高負荷・低回数での伸張性収縮運動を採用しており、腱炎の治療効果が広く認められている伸張性トレーニングで実施されてきたプロトコル(Alfredsonプロトコル:低負荷且つ高回数)とは異なるものと言える。さらに、Alfredsonプロトコルを採用している大部分の先行研究では(e.g., Mafi et al., 2001; Ohberg and Alfredson, 2004)、高頻度(週に7回)で伸張性トレーニングを実施しているが、最適な実施頻度に関する検討は行われていない。したがって、伸張性収縮運動を腱炎患者のリハビリテーションに導入する上で、患者の安全面(高負荷を避ける)や実施頻度(時間的負担)

を考慮した最適なプロトコルを確立する必要があるだろう。

そこで本博士論文では、腱炎の治療メカニズムと関連すると考えられる伸張性収縮運動が腱特性に与える影響を明らかにするとともに、負荷、反復回数、および実施頻度の影響を検討することで適切なプロトコルの確立に寄与することを目指して、以下の 3 点を目的とした。

(1) ヒト生体における腱コラーゲン線維配向の定量方法を確立する

(2) 負荷の異なる反復した伸張性収縮が、アキレス腱の血液循環および

コラーゲン線維配向に及ぼす一過性効果を比較する

(3) 異なる実施頻度による 12 週間の伸張性トレーニングが、アキレス腱の血液循環、

コラーゲン線維配向、および力学的特性に及ぼす慢性効果を比較する

1-2. 研究小史

1-2-1. アキレス腱炎

アキレス腱炎の生涯累積罹患率は、一般人で 5.9%、エリート長距離走選手で 50%といわれている (Kujala et al., 2005)。腱炎を急性もしくは慢性に分類する明確な基準は存在しないが、Fredberg と Stengaard-Pedersen は症状を有する期間が 6 週間未満であれば急性、6~12 週間であれば亜急性、3 ヶ月以上であれば慢性に分類している (Fredberg and Stengaard-Pedersen, 2008)。

アキレス腱炎の病態としては、疼痛、朝方に生じる腱の固さ、運動機能の低下、局所的な腱の腫脹があげられる (Boesen et al., 2006b; Khan et al., 1999)。また、各種画像診断装置においても異常所見が認められてきた。超音波画像診断装置を用いた評価では、腱の肥厚や低輝度化、ドプラ信号による血管新生が認められた (Docking et al., 2015a; Ohberg et al., 2001)。磁気共鳴画像装置では、腱体積および信号強度の増加が認められた (Neuhold et al., 1992; Shalabi et al., 2004)。組織学的には、コラーゲン線維の連続性が断たれ、配向が乱れ、特徴的な階層構造が破綻していた (Astrom and Rausing, 1995; Khan et al., 1999)。さらに、正常であれば豊富な I 型コラーゲン線維が腱炎によって減少し、径の細い III 型コラーゲン線維が増加する (Magnusson et al., 2010)。また、グリコサミノグリカンやプロテオグリカンを多く含んだ基質の増加や (Khan et al., 1999; Movin et al., 1997)、正常よりも円形をした核を持つ腱細胞の増加 (Fredberg and Stengaard-Pedersen, 2008) が認められた。さらに、慢性化した腱炎組織の特徴として、炎症性細胞の存在は認められなかった (Jarvinen et al., 1997; Maffulli et al., 1998)。

腱炎の病因として、過負荷 (Rees et al., 2009) や加齢 (de Jonge et al., 2011)、足部アライメント (Nigg, 2001; Wezenbeek et al., 2017) など様々な要因が挙げられる。しかしながら、一般人に比べてエリート長距離走選手のアキレス腱炎生涯累積罹患率が 10 倍であることから (Kujala et al., 2005)、過剰な負荷が反復して腱に加えられることがアキレス腱炎の主要な病因であることが予想される (Fredberg and Stengaard-Pedersen, 2008)。

1-2-2. 伸張性収縮運動による腱炎の治療

先行研究において、慢性腱炎患者に対する安静や固定では治療効果が得られなかった (Tipton et al., 1975)。そのため、運動療法によるリハビリテーションを積極的に行うことが推奨された。その先駆けとして、静的ストレッチと伸張性収縮運動を含むリハビリテーションプログラム後、約 80%以上の腱炎患者で症状が寛解もしくは全快したことが報告された (Stanish et al., 1986)。その後、Alfredson らは 1 日 180 回の伸張性収縮運動を毎日実施するプロトコルを 12 週間に渡って継続するリハビリテーションによって、対象とした腱炎患者全例で満足する結果が得られたことを報告した (Alfredson et al., 1998)。それ以来、伸張性収縮運動による腱炎の治療効果を検討した研究が数多く行われた。

他の治療方法と伸張性トレーニングとの治療成績を比較した研究として、伸張性トレーニングと安静との治療効果を比較した研究では、安静で症状が改善した患者が 24%であったのに対し、伸張性トレーニングでは約 60%の患者で高い治療効果が得られた (Rompe et al., 2007)。さらに、Mafi らは伸張性トレーニングと短縮性トレーニングの腱炎の治療効果を比較し、短縮性トレーニングよりも伸張性トレーニングで高い治療効果が得られること

を明らかにした（治療結果に満足した患者の割合 伸張性トレーニング：82%、短縮性トレーニング：36%）（Mafi et al., 2001）。しかしながら、他の収縮様式と比べて伸張性収縮運動で良好な治療成績が得られた理由は完全に明らかではない。先行研究では、伸張性収縮中に腱に加わる力は波を打つように上下することが認められ（図 1）、これは負荷をコントロールしながら筋を伸張していく困難さを反映したものであると推察された（Rees et al., 2008）。このような伸張性収縮運動における特異的な機械刺激が治療効果を引き出すのに重要であるのかもしれない。これは、ランニング中にも伸張性収縮が生じているにも関わらず長距離走選手でアキレス腱炎の罹患率が高い一方で、ゆっくりと伸張性収縮運動を実施することで治療効果が得られることとも関連する可能性がある。

その後の臨床研究においても、6 から 12 週間の伸張性トレーニングにより 60~90%の患者で良好な臨床成績が認められた（Fahlstrom et al., 2003; Ohberg and Alfredson, 2004; Roos et al., 2004）。このように、伸張性収縮運動による腱炎の治療効果を検討した研究が数多く行われた。しかしながら、良好な治療効果が得られたメカニズムは不明である。さらに、多くの臨床研究において Alfredson らの報告に基づいたプロトコル（自重負荷で 180 回反復する伸張性収縮運動を毎日 12 週間実施）が広く採用されてきた。近年、伸張性収縮運動の実施頻度を変えた際の治療効果の検討が行われてはいるが（Frohm et al., 2007）、適切なプロトコル（負荷、回数、実施頻度）に関する検討は非常に少ない。異なる負荷や実施頻度での伸張性収縮運動が腱の血液循環、コラーゲン線維配向、および力学的特性に及ぼす影響を検討することは、適切なプロトコルの確立に貢献するだろう。

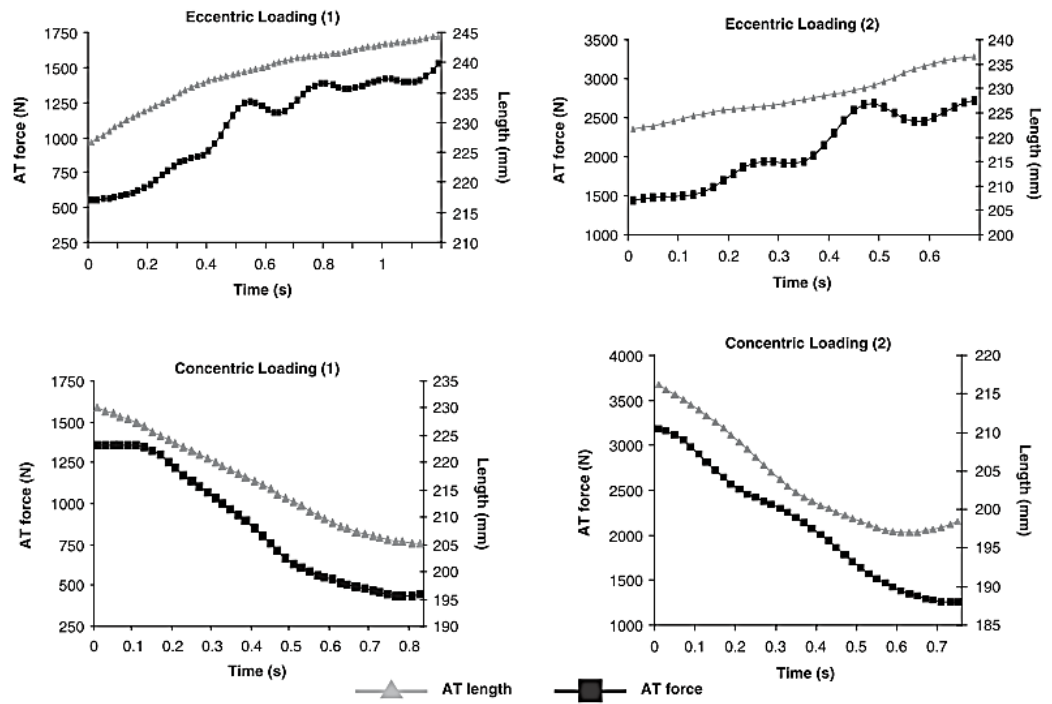


図1 伸張性収縮中および短縮性収縮中に腱に加わる力の特徴

(Rees et al., 2008 Rheumatology)

1-2-3. 腱の血液循環

アキレス腱は、筋腱移行部、腱周囲、および踵骨付着部の主に 3 つの経路から血液供給を受けるが、その中央部は血管分布に乏しいことが組織学的研究によって報告された (Carr and Norris, 1989; Stein et al., 2000; Zantop et al., 2003) (図 2)。血液循環の低下は腱障害の危険因子と考えられており (Zantop et al., 2003)、腱の血液循環は損傷した腱組織の治癒に重要である (Lin et al., 2004; Peacock, 1959)。そのため、運動後の血液循環の変化は腱の恒常性維持のために重要とされている。

腱の血液循環の研究は、動物の腱を対象として水素クリアランス法や放射性同位元素のクリアランス法を用いて行われた (Hooper et al., 1984; Naito and Ogata, 1983; Piaggi and Mingione, 1981)。さらに Langberg らはキセノンクリアランス法を用いて、アキレス腱周囲の血流が運動中に増加することをヒト生体で明らかにした (Langberg et al., 1998, 1999a)。また、レーザードプラ法を用いた研究では、アキレス腱炎患者の腱中央部での血流が増加していることや (Astrom and Westlin, 1994a)、運動後にアキレス腱の血流が増加することが明らかにされた (Astrom and Westlin, 1994b)。しかしながら、これらの方法は放射性同位体を注射することや針プローブを直接腱に留置するといった患者への負担を要するため使用が制限される。

ヒト生体における腱の血液循環の測定方法として、超音波ドプラ法がある (Boesen et al., 2006a; Hirschmuller et al., 2012; Malliaras et al., 2008; Ohberg and Alfredson, 2004; Weinberg et al., 1998)。この方法は、B モード画像上で血液循環の存在する部分をカラーで示す。例えば、Ohberg と Alfredson はアキレス腱炎患者で認められた超音波ドプラ信号

が伸張性トレーニング後に症状の改善した多くの症例で消失したことを報告した (Ohberg and Alfredson, 2004)。このように、アキレス腱の超音波ドプラ信号は障害を有する場合の異常所見と考えられてきた。しかしながら、健常者の腱ではドプラ信号が認められない場合が多いことに加え、定性的もしくは半定量的な腱の血液循環の評価に限定されることから、超音波ドプラ法を用いて健常者における腱の血液循環に対する運動の効果を調べることは困難である。

ヒト生体におけるアキレス腱の血液循環の定量方法として、レーザードプラ法と分光法を合わせた Oxygen-to-see 法がある。Oxygen-to-see 法を用いることにより伸張性トレーニングが腱周囲の血液循環を減少させることが報告された (Knobloch, 2007; 2007; 2010)。しかし、この方法の測定深度 (皮膚から 2mm および 8mm) では腱周囲の血液循環の計測に限定される。動物のアキレス腱では腱周囲から腱実質部への血液供給が全体の約 35%しか担っていなかったことから (Naito and Ogata, 1983)、腱実質部での血液循環の変化を定量的に計測する必要がある。

Kubo らは、3つの異なる波長のレーザー光を用いた赤色分光法によって、アキレス腱実質部 (皮膚表面から約 3~5mm の深度) および膝蓋腱実質部 (皮膚表面から 5~8mm の深度) の血液循環 (血液量、酸素飽和度) を定量化する方法を確立した (Kubo and Ikebukuro, 2012; Kubo et al., 2008b) (図 3)。この方法を用いて、物理療法、異なる様式や負荷での筋収縮、異なるトレーニング方法が腱の血液循環に及ぼす影響が検討されてきた。温熱療法、超音波療法、振動マッサージ療法、鍼治療後には腱の血液量や酸素飽和度の増加が認められたが (Chang et al., 2015; Kubo et al., 2010b)、干渉波療法や低出力レーザーの実施後に

は腓の血液循環は変化しなかった (Chang et al., 2015)。一過性の運動後の変化としては、50%MVC での反復した等尺性収縮後には腓の血液循環は変化しなかったが (Kubo and Ikebukuro, 2012)、70%MVC での反復した等尺性収縮後には腓の血液量および酸素飽和度の増加がみられた (Kubo et al., 2008a)。また、短い収縮時間の反復した等尺性収縮では腓の血液量や酸素飽和度が増加した一方で、長い収縮時間の反復した等尺性収縮では腓の血液循環は変化しないことが報告された (Kubo et al., 2009a)。これらの報告から、腓の血液循環の一過性変化には、負荷 (筋収縮) 強度や収縮時間が影響することが示唆された。また 3 ヶ月間のトレーニング効果として、動的トレーニング後には腓の血液量が増加したが、等尺性トレーニングでは腓の血液循環は変化しなかった (Kubo et al., 2009b)。これらの研究から、腓の血液循環に対するトレーニング効果には収縮様式の違いが影響することが示唆された。さらに最近、伸張性収縮運動が腓炎の治療に有効であるという臨床研究の結果を受けて、伸張性収縮運動が腓の血液循環に及ぼす影響が検討された。一過性効果として Kubo や Yin らは、反復した伸張性収縮後に腓の血液量や酸素飽和度が増加することを報告した (Kubo, 2015; Yin et al., 2014)。しかしながら、慢性効果として週 3 回の伸張性トレーニングでは腓の血液循環は変化しなかった (Kubo and Yata, 2017)。伸張性収縮運動が腓の血液循環に及ぼす一過性および慢性の効果を検証したこれらの研究は、高負荷で低回数実施するプロトコルを採用していた。それに対し、これまでの臨床研究で行われてきた伸張性収縮運動プロトコルは、低負荷で高回数反復する伸張性収縮を毎日実施するプロトコルである。そのため、高負荷・低回数での伸張性収縮運動よりも低負荷・高回数での伸張性収縮運動の方が、より顕著に腓の血液循環を増加させる可能性がある。また、伸張性

収縮運動と同様にアキレス腱炎の有効な治療方法とされる体外衝撃波を施行後の新生血管の増加には時間を要したことから (Wang et al., 2003)、臨床で行われているように毎日実施するよりも、実施頻度を減らした伸張性トレーニングの方が腱の血液循環を変化させる可能性がある。しかしながら、負荷や回数、実施頻度の異なる伸張性収縮運動が腱の血液循環に及ぼす影響は明らかにされていない。

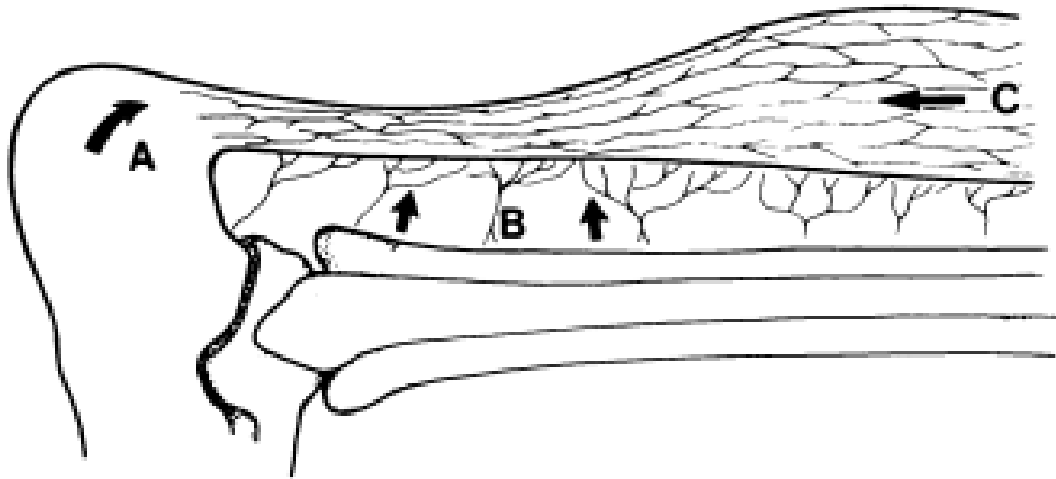


図2 アキレス腱への主要な血液供給路

A : 腱骨付着部、B : 腱周囲 (腱間膜)、C : 筋腱移行部

(Carr and Norris, 1989 JBJs Br)

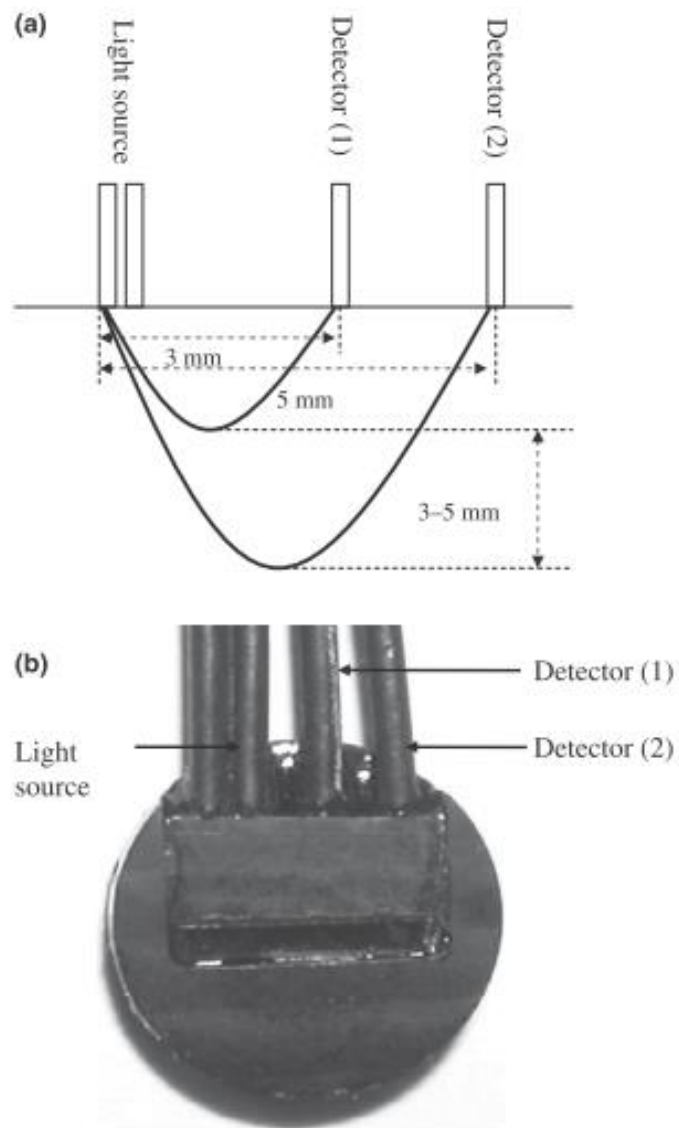


図3 アキレス腱の血液循環測定における赤色分光法による測定深度 (a) およびレーザー組織血液酸素モニターのプロープ (b)

発光部 (light source) と受光部 1 (detector 1) との距離は 3mm、受光部 2 (detector 2) との距離は 5mm とした。

(Kubo et al., 2008 Acta Physiol)

1-2-4. 腱のコラーゲン線維配向

腱は主に I 型コラーゲンで構成されており、コラーゲン原線維、コラーゲン線維、コラーゲン線維束の順に太くなる階層構造をもつ (Kannus, 2000) (図 4)。腱の長軸方向と平行に密に配列したコラーゲン線維配向は、腱の力学的強度に影響すると言われている (Killian et al., 2012)。組織学的研究として光学顕微鏡を使用した定性的評価において、正常腱がその長軸方向に整列 (配向) したコラーゲン線維を有することが明らかにされた (図 5)。しかしながら、腱のコラーゲン線維配向はオーバーユースや腱炎への罹患により乱れることも組織学的に認められている (Glazebrook et al., 2008; Khan et al., 1999; Maffulli et al., 2000; Neviaser et al., 2012) (図 5)。さらに、腱炎の治癒に伴いコラーゲン線維配向も正常化することから (Killian et al., 2012)、伸張性トレーニングによる腱炎の治療メカニズムにも腱コラーゲン線維配向の変化が関連している可能性がある。

これまでに腱コラーゲン線維配向の定量評価を実施した研究として、polarizer light 画像法を使用することで摘出腱におけるコラーゲン線維の角度分布が計測された。Ansoerge らは、この方法を用いてマウスアキレス腱のコラーゲン線維の角度分布が加齢 (週齢) の影響を受けないことを報告した (Ansoerge et al., 2011)。また、コラーゲン線維配向には腱付着部と腱中央部との間で部位差があることを認めた (Miller et al., 2012a; Thomopoulos et al., 2003a)。マウス棘上筋腱の損傷による腱コラーゲン線維配向の変化を調べた研究では、損傷後に腱コラーゲン線維の角度分布におけるばらつきが増加し、回復過程において角度分布のばらつきが減少することを定量的に明らかにした (Gimbel et al., 2007; Thomopoulos et al., 2003b)。引っ張り試験中の腱コラーゲン線維配向を調べた研究では、

低張力域（トゥリージョン）で腱が大きく伸張されコラーゲン線維の著しい再配向が生じるが（Lake et al., 2009）、その程度には腱の付着部と中央部との間での部位差が認められた（Miller et al., 2012a）。さらに、異なる週齢や2型糖尿病への罹患が引っ張り試験中の腱コラーゲン線維配向の変化に影響を与えることも報告された（Connizzo et al., 2014; Miller et al., 2012b）。また、力学試験の際のプレコンディショニングの効果として、腱コラーゲン線維の再配向した状態が維持されることが認められた（Miller et al., 2012c）。これらの研究から、組織学的研究と同様に腱コラーゲン線維の角度分布が損傷によってばらつきが大きくなり、治癒過程でばらつきが小さくなることが明らかにされた。しかしながら、Polarizer light 画像法は摘出腱にのみ適応が可能であり、ヒト生体での腱コラーゲン線維配向の評価に応用することは困難である。近年、ヒト生体への応用を目指して高周波超音波画像上での角度分布の計測が試みられ、腱コラーゲン線維配向が腱の伸張に伴い再配向し、人工的な腱損傷によって乱れることや（Riggin et al., 2014）、性別や加齢の影響を受けないことが報告されているが（Pardes et al., 2017; Pardes et al., 2016）、この方法も摘出腱での使用に留まっており、未だヒト生体へ応用できていないのが現状である。

ヒト生体での腱コラーゲン線維配向を非侵襲的に評価する方法として、Ultrasonographic tissue characterization (UTC) 法がある（Docking and Cook, 2016; Docking et al., 2015b; van Schie et al., 2010; Wezenbeek et al., 2017）。UTC 法は、連続した腱超音波横断画像における輝度を4段階に分類することで、腱コラーゲン線維配向を半定量的に評価する方法である。UTC 法を用いた研究は、腱炎患者では健常者と比較して腱コラーゲン線維配向が乱れていることを明らかにした(e.g., van Schie et al., 2010)。さら

に、UTC 法を用いて腱コラーゲン線維配向に対するトレーニングの効果も検討されたが、腱炎による症状が改善しても腱コラーゲン線維配向は正常化しなかった (de Jonge et al., 2015; de Vos et al., 2012)。しかしながら、UTC 法は腱コラーゲン線維配向を半定量化する方法であり、わずかなコラーゲン線維の走行方向の変化は検出できないという問題がある (van Schie et al., 2010)。また、連続した画像を得るために特別な機械を要するということもあり、UTC 法は一般には普及していない。このようにヒト生体での腱コラーゲン線維配向を簡便に定量化する方法はなく、一過性の運動や長期間のトレーニングがヒト生体の腱コラーゲン線維配向に及ぼす影響は不明である。腱コラーゲン線維配向が腱の強度に影響することや損傷および治癒に伴って変化することから、ヒト生体における腱コラーゲン線維配向の定量的な評価は重要な知見をもたらすことが期待される。

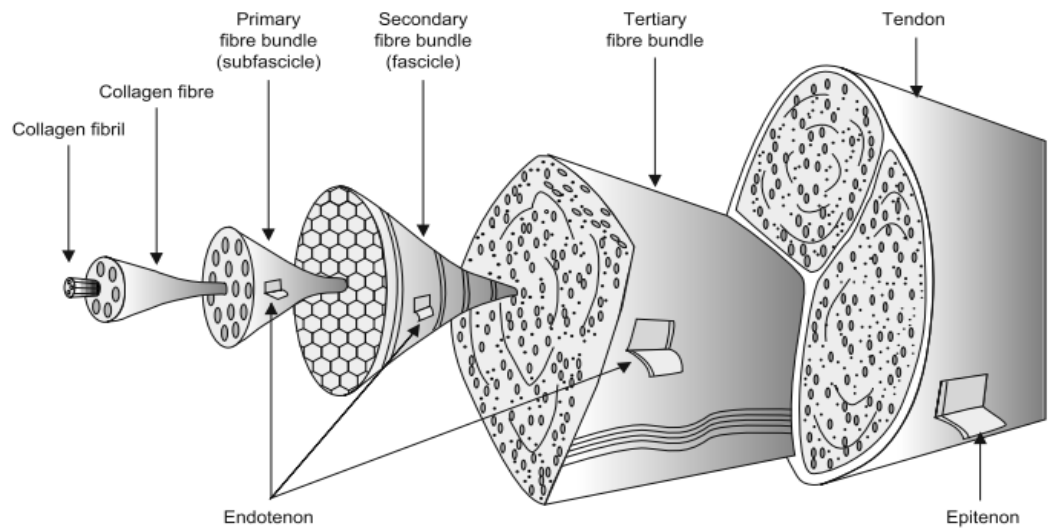


図 4 腱の階層構造の模式図

Collagen fibril : コラーゲン原線維、直径 \sim 1.6nm、長さ \sim 300nm

Collagen fibre : コラーゲン線維、直径 \sim 100nm、長さ \sim μ m

Primary fibre bundle : コラーゲン線維束、直径 \sim 10 μ m、長さ \sim mm

Secondary fibre bundle : 直径 \sim 1000 μ m (1mm)

Tertiary fibre bundle : 直径 \sim 3000 μ m (3mm)

Tendon : 腱

Endotenon : コラーゲン線維束を覆う疎性結合組織

Epitenon : 腱を覆う疎性結合組織

(Khan et al., 1999 Sports Med)

注) 超音波画像にて描出できる階層レベルは Secondary もしくは Tertiary fibre bundle であると思われる。

(A)



(B)

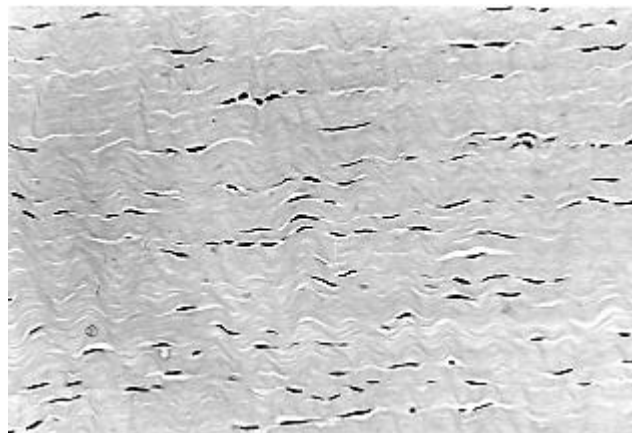


図 5 腱の光学顕微鏡写真 (原寸×150)

(A) 正常腱における整列したコラーゲン線維と扁平な腱細胞

(B) 断裂部と隣接した腱組織における捻じれたコラーゲン線維と増殖した腱細胞

(Maffulli et al., 2000 AJSM)

1-2-5. 腱の力学的特性

腱の力学的特性は、当初、動物の摘出腱を用いた引っ張り試験によって調べられてきた (Bennett et al., 1986; Buchanan and Marsh, 2001; Ker, 1981)。その際、腱は非線形の張力伸張量曲線を描き、低張力で腱がよく伸びる領域はトゥリージョン (toe region)、接線係数が一定となる線形領域はリニアリージョン (linear region) と称されてきた。さらにリニアリージョンの傾きは固さの指標であるスティッフネスとして表され、上行脚と下行脚はループ (ヒステリシスループ) を形成することが報告されてきた (Ker, 1981)。

ヒト腱の力学的特性は、屍体から摘出した腱を用いて検討された (Benedict et al., 1968; Butler et al., 1984; Hubbard and Soutas-Little, 1984)。さらに超音波画像診断装置の発展に伴い、ヒト生体の前脛骨筋等尺性収縮中の腱膜と筋束との交点の移動距離を超音波縦断画像上で計測することで、ヒト生体における腱の張力伸張量関係を非侵襲的に観察することが可能となった (Fukashiro et al., 1995)。その後、ヒト生体において膝伸筋腱や腓腹筋腱 (アキレス腱) の力学的特性の計測が行われた (Kubo et al., 2000) (図 6)。さらに、Magnussonらは等尺性収縮中に生じる関節角度の変化によって腱の伸張量を 30% 過大評価することを報告し (図 7)、他動運動中の関節角度の変化に対する腱移動量の関係から等尺性収縮中の関節角度変化による腱移動量を補正する必要性を指摘した (Magnusson et al., 2001)。

これまでのヒト生体の腱の力学的特性における個人差を検討した研究では、短距離走選手や長距離走選手の腱の力学的特性が一般人とは異なることが明らかにされた (Arampatzis et al., 2007b; Fletcher et al., 2010; Kubo et al., 2000)。さらに、腱炎を有す

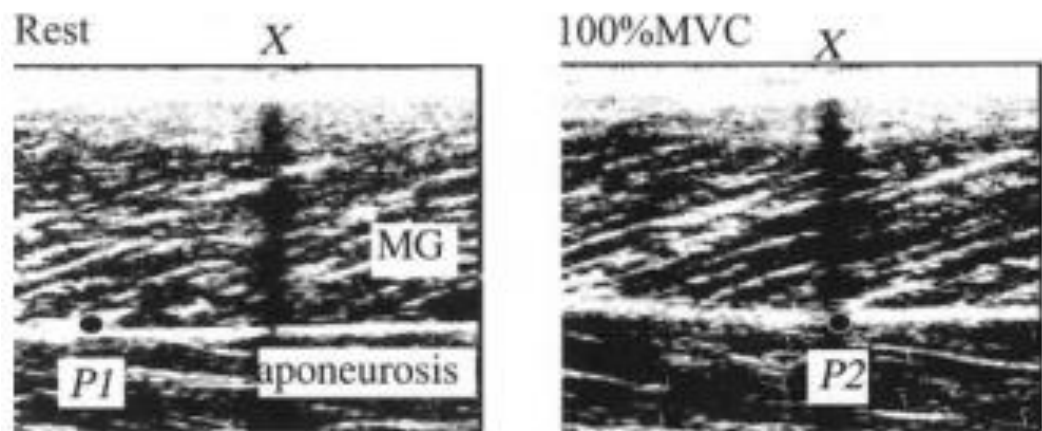
る患者では、健常者と比較して腱スティッフネスが低下していることや最大ストレインが増加していることが明らかにされた (Arya and Kulig, 2010; Child et al., 2010; Wang et al., 2012)。これらの研究は、習慣的な運動や腱炎への罹患によって腱の力学的特性が変化することを示している。

一過性の介入による腱の力学的特性への影響を検討した研究では、反復した等尺性収縮や静的ストレッチの直後に腱スティッフネスが低下することが報告された (Kubo et al., 2002b)。さらに、Kubo らによる異なる収縮時間、強度、収縮様式での筋収縮運動の一過性効果を検討した報告では、一過性の腱の力学的特性の変化には筋収縮時間が影響することが示唆された (Kubo et al., 2009a; 2001b)。

長期間の介入が腱の力学的特性に及ぼす影響を検討した研究も行われてきた。筋力トレーニングの効果を検討した研究では、等尺性トレーニングや短縮性収縮と伸張性収縮の両方を含む動的トレーニング後に腱スティッフネスが増加することが明らかとされてきた (Arampatzis et al., 2007a; Burgess et al., 2007; Kongsgaard et al., 2007; Kubo et al., 2012; 2017; Seynnes et al., 2009)。さらに、腱スティッフネスを増加させる等尺性トレーニングや動的トレーニングであっても、低負荷では腱スティッフネスが変化しないことが示された (Arampatzis et al., 2007a; 2010; Kongsgaard et al., 2007)。このように、等尺性トレーニング後や動的トレーニング後には一貫して腱スティッフネスが増加することが報告されてきた。それに対し、他のトレーニング様式に関しては、報告数が少なく一貫した結果が得られていない。例えば、プライオメトリックトレーニング後に腱スティッフネスの増加を報告した研究がある一方で (Burgess et al., 2007; Foure et al., 2010; Wu et al.,

2010)、腱スティッフネスの変化を認めなかった研究もある (Houghton et al., 2013; Kubo et al., 2017)。さらに、報告数は少ないものの短縮性トレーニングが腱スティッフネスを増加させる可能性が示されているのに対し (Kubo and Yata, 2017; Malliaras et al., 2013)、伸張性トレーニングの効果に関しては報告数も少なく、一貫した結果は得られていない (腱スティッフネス増加 : Duclay et al. (2009); Malliaras et al. (2013)、腱スティッフネス変化なし : Foure et al. (2013); Kubo and Yata (2017); Mahieu et al. (2008))。また、伸張性トレーニング後に腱スティッフネスの増加を認めた研究であっても、短縮性トレーニングよりもその増加率は小さかった (Malliaras et al., 2013)。そのため、他の収縮様式でのトレーニングよりも伸張性トレーニングが腱の力学的特性に及ぼす影響は小さいことが予想される。また、臨床では自重といった低負荷での伸張性トレーニングが実施されている一方で (Alfredson et al., 1998)、低負荷での伸張性トレーニングが腱の力学的特性に及ぼす影響を検討した研究は非常に少ない (Foure et al., 2013; Mahieu et al., 2008)。実際に低負荷で高回数実施する伸張性トレーニングが良好な治療成績を報告していることから、低負荷・高回数での伸張性トレーニングが腱の力学的特性に及ぼす影響を検討することは、その治療メカニズムの解明の一助となりえる。さらに、異なる頻度で実施する伸張性トレーニングが腱の力学的特性に及ぼす影響を明らかにすることは、伸張性トレーニングの適切なプロトコルの確立に重要な知見となるだろう。

(A)



(B)

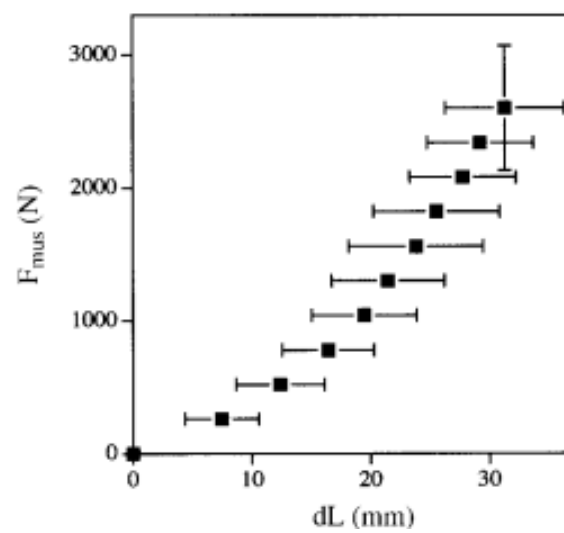


図6 (A) 安静時（左）および最大等尺性収縮時（右）の腓腹筋内側頭超音波縦断画像

(B) 腱の張力伸張量関係（F_{mus}：筋張力、dL：腱伸張量）

(Kubo et al., 2003 Eur J Appl Physiol, 1999 J Appl Physiol)

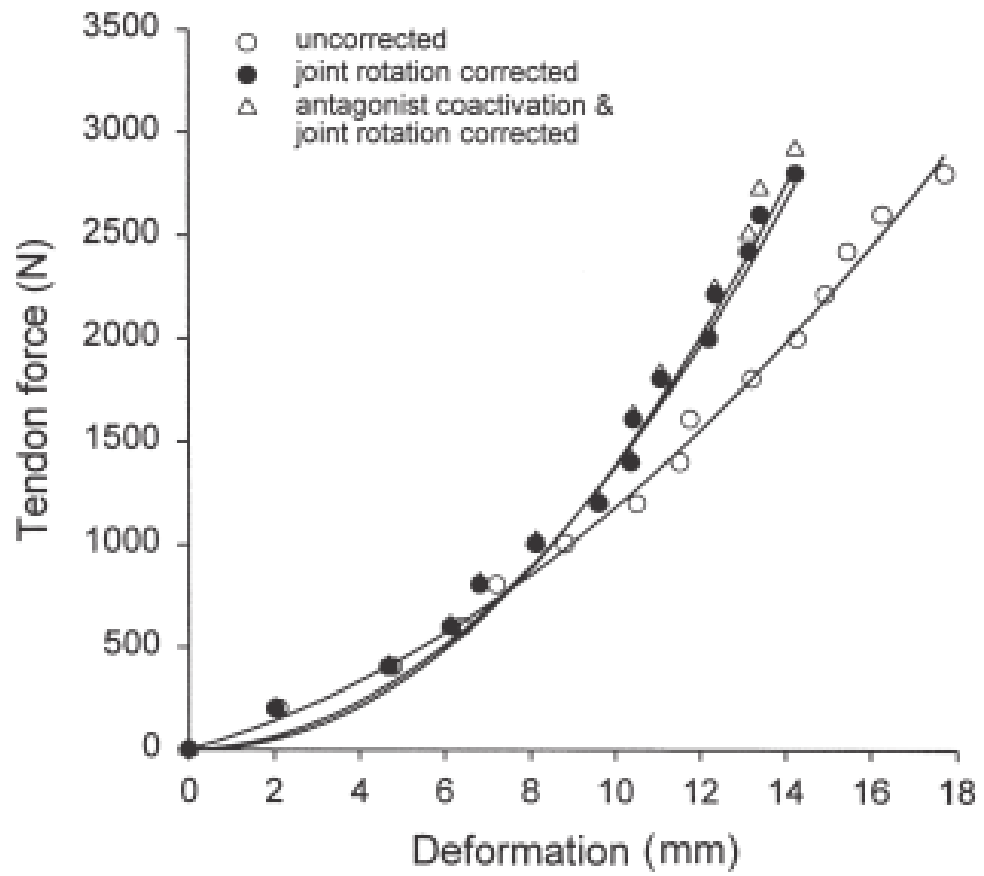


図 7 腱の張力伸張量関係

○：補正なし

●：関節角度の変化を考慮した補正後

△：関節角度の変化および拮抗筋の発揮張力を考慮した補正後

(Magnusson et al., 2001 J Physiol)

1-3. 用語について

本博士論文において用いた下記の用語に関して注釈を加える。

- 腱障害

腱やその周囲に生じた損傷および障害の総称。腱断裂に加え、急性・慢性腱炎、附着部炎、急性・慢性腱周囲炎、踵骨後部滑液包炎、アキレス腱滑液包炎を含む (van Dijk et al., 2011)。

- 腱炎

腱障害のひとつ。本研究における腱炎は腱中央部に生じた慢性化した腱炎を示す。

- 治療効果

治療を行った際に得られる効果。症状の寛解などの成果を示す。

- 治療メカニズム

治療効果が得られる仕組み。分子生物学的な変化も含まれるが、本研究においてはヒト生体で評価が可能である各種腱特性の変化について議論する。

- 腱の血液循環

本研究で用いた赤色分光法と類似した近赤外分光法 (Near-infrared spectroscopy, NIRS) を使用した先行研究では、NIRS による筋の血液量の測定結果が容積脈波測定

による血流量の測定結果と概ね一致したことから、NIRS で測定した筋の血液量を血液循環の指標とした (Edwards et al., 1993; Kouzaki et al., 2003)。本研究においても、先行研究 (Kubo and Ikebukuro, 2012) に基づき、酸素化ヘモグロビン、脱酸素化ヘモグロビン、血液量および酸素飽和度を血液循環の測定値とした。

- 腱コラーゲン線維配向

腱を構成するコラーゲン線維の配列 (並び) の程度を示す。本来、腱コラーゲン線維は腱の長軸方向に向かって整列した線維配向を有する。超音波画像の空間分解能 (約 0.2mm) のため、本博士論文における第 2 章以降で論じる腱コラーゲン線維配向はコラーゲン線維束の配向を示す。

- 腱コラーゲン線維再配向

腱コラーゲン線維配向の程度がさらに整う (整列する) こと。

- 伸張性収縮運動、反復した伸張性収縮、伸張性トレーニング

伸張性収縮運動は、一過性の運動介入および長期間に渡る介入の両方を指す。反復した伸張性収縮は、1 回の伸張性収縮を繰り返すことを意味する。伸張性トレーニングは、長期間に渡って伸張性収縮運動を実施することを示す。

第 2 章

ヒト生体における 腱コラーゲン線維配向の定量方法の確立

2-1. 諸言

健全な腱は、主にその長軸方向と平行に配列した I 型コラーゲン線維をもつ階層性に組織された構造であり、そのコラーゲン線維配向は腱の強度と直接的に関連すると言われている (Connizzo et al., 2013)。腱コラーゲン線維配向は腱炎によって破綻し (Fredberg and Stengaard-Pedersen, 2008; Khan et al., 1999; Maffulli et al., 2000)、腱炎の治癒過程において再配向すると考えられている (Killian et al., 2012)。それゆえ、腱コラーゲン線維配向の定量化は腱障害の予測や再受傷の予防、回復過程の把握、リハビリテーションの進行や競技復帰の基準設定のために重要である。これまで腱コラーゲン線維配向の定量化は、Polarizer light 画像法 (Lake et al., 2009; Miller et al., 2012c) や Second-harmonic generation 顕微鏡 (Williams et al., 2005) といった方法で定量化されてきた。しかしながら、これらは侵襲的な方法であるため屍体や動物の摘出腱での利用に限られ、ヒト生体に応用することは困難であった。近年、腱の長軸方向に沿って連続的に撮影した腱超音波横断画像における輝度を解析することで腱内構造を評価する Ultrasonographic tissue characterization (UTC) 法が報告された (van Schie et al., 2010)。この方法は、非侵襲

的な超音波を用いるという点では臨床での使用が可能であるが、超音波画像診断装置の他にも連続した画像を撮影するための特別な装置が必要であることや半定量的評価方法であるという問題点がある。そのため、非侵襲的で特別な装置を必要としない簡便で汎用性の高い腱コラーゲン線維配向の定量方法が求められる。

腱の超音波画像において、高輝度部分は腱コラーゲン線維からの反射を反映していると考えられている (Bleakney and White, 2005)。そのため、これまでも超音波輝度が腱構造の評価に用いられてきた (Ohberg et al., 2001, 2004)。正常な腱が高輝度に描出される一方で、腱炎に伴って腱の超音波輝度は低下する (Docking et al., 2015a; Ohberg et al., 2001)。またラットアキレス腱の損傷後の治癒に伴って輝度が増加することが報告された (Chamberlain et al., 2013)。さらに、超音波輝度以外にも関心領域内の輝度分布ヒストグラムから算出された分散、尖度、歪度、エントロピーといった基本統計量を用いて腱内構造の変化を捉える試みが行われてきた (Collinger et al., 2010; Wearing et al., 2013)。これらの研究によって、腱超音波画像における輝度から得られる情報が腱内構造の変化を捉えられる可能性が示唆されてきたが、超音波輝度に関する情報を用いて腱コラーゲン線維配向の変化を明確に示した報告はない。

腱が超音波ビームの入射する角度に依存して輝度に変化する超音波異方性という特徴を有することから (Bleakney and White, 2005; Crass et al., 1988; Lehtinen et al., 1994)、腱の超音波画像は超音波ビームが腱コラーゲン線維に対して垂直に当たると高輝度に描出される一方で、腱コラーゲン線維に対して超音波ビームが垂直に当たらなかった場合には屈折や散乱によって信号強度が減弱することで低輝度となる。このことから、超音波ビー

ムの反射強度のばらつきが腱コラーゲン線維配向の影響を受けて変化すると思われる。腱コラーゲン線維の角度分布は、腱が伸張されることでそのばらつきが小さくなる (Connizzo et al., 2013; Lake et al., 2009; Miller et al., 2012c)。超音波法を用いた先行研究においてアキレス腱が伸張されることが認められた足関節他動背屈 (Herbert et al., 2011; Morse et al., 2008) および下腿三頭筋等尺性収縮 (Kubo et al., 2010a; Magnusson et al., 2001) によって、アキレス腱のコラーゲン線維は再配向するだろう。したがって、本研究の目的は、腱超音波横断画像における輝度変動係数の計測による腱コラーゲン線維配向の定量方法を確立することとした。我々は、腱の伸張によって腱コラーゲン線維が再配向することで、関心領域内の輝度変動係数が減少するという仮説を立てた。

2-2. 方法

2-2-1. 被験者

健康成人男性 14 名が本研究に参加した (平均年齢 25.8 ± 5.0 歳、身長 170.9 ± 4.5 cm、体重 67.5 ± 10.0 kg)。全被験者はアキレス腱に障害および／または手術歴がなく、系統疾患を有しない者であった。本研究は東京大学大学院総合文化研究科に設置されたヒトを対象とした実験研究に関する倫理審査委員会の承認を得た上で実施された。被験者には実験内容を十分に説明したのち、書面にて同意を得た。

2-2-2. 実験課題

本研究では、腱を伸長させる課題として足関節角度を他動的に変える課題 (角度課題) と下腿三頭筋の最大随意収縮 (Maximal voluntary contraction, MVC) に基づいて段階的

に筋収縮強度を変える課題（筋収縮課題）を用いた。各被験者は、無作為に片脚を角度課題に、もう一方の脚を筋収縮課題に振り分けられた。両課題において被験者は治療台に腹臥位となり、膝関節完全伸展位で足部を筋力測定機器（Myolet, asics）に取り付けられたフットプレートに固定された。

(1) 角度課題

フットプレートの角度を 20° （底屈 20° ）から -20° （背屈 20° ）まで 10° 間隔で設定した（ 0° ：解剖学的中間位）。正確な画像を獲得するまでに約 30 秒間を要したことから、目標角度にて足関節角度を固定した後、約 30 秒後での画像を記録した（図 8A、B）。角度課題中、被験者は完全にリラックスするように指示された。各関節角度の実施順は無作為化された。各角度での測定間には、フットプレートの角度を 25° として 1 分間の休息を設けた。

(2) 筋収縮課題

筋収縮課題では、受動トルクがほぼゼロとされる底屈 15° でフットプレートを固定した（Muramatsu et al., 2001）。被験者に対し、最大下収縮での複数回のウォーミングアップ後、2~3 回の下腿三頭筋 MVC の計測を実施した。各試行中に記録された最大トルクの平均値を MVC とし、目標発揮トルクの設定に使用した。10 分間以上の十分な休息の後、被験者は 0%MVC から 70%MVC まで 10%MVC 間隔で等尺性収縮運動を実施した。被験者は指示された目標発揮トルクを治療台の前方のモニターにてリアルタイムに確認し、計測中にその筋収縮強度を維持した。超音波画像は、目標発揮トルク到達後、明瞭な画像を撮影するのに要した 30 秒後での画像を記録した（図 8C、D）。各筋収縮強度の実施順は無作為化

され、疲労の影響を避けるため試行間には 2 分間の休息を設けた。

2-2-3. アキレス腱超音波横断画像

超音波画像撮影には超音波画像診断装置 (SSD-6500, Aloka, Japan) およびリニアプローブ (7.5MHz) を使用し、超音波画像診断装置の設定はすべての被験者で統一された。アキレス腱踵骨付着部から 3cm 近位の位置で皮膚上に印をつけ、印をつけた位置でプローブを腱に対して垂直に置くことでアキレス腱超音波横断画像が撮影された。腱超音波輝度の解析には ImageJ (NIH, Bethesda, MD) を使用した。輝度の計測では、超音波横断画像において腱実質部をできるだけ多く含むように楕円形の関心領域 (Region of interest, ROI) を設定した。ROI 中の各ピクセルの輝度は 0 (黒) から 255 (白) に段階付けされ、その輝度ヒストグラムから輝度平均値、標準偏差 (SD) を算出した。輝度変動係数は、以下の式から算出された。

$$\text{輝度変動係数 (\%)} = \text{標準偏差} / \text{輝度平均値} \cdot 100$$

計測は各超音波画像において 3 回実施し、その平均値を解析に使用した。さらに各課題の前半部分 (角度課題 : 20° ~ 0°、筋収縮課題 : 0%MVC ~ 30%MVC) と後半部分 (角度課題 : 0° ~ -20°、筋収縮課題 : 40%MVC ~ 70%MVC) での輝度平均値と輝度変動係数の変化率を算出し、比較した。

輝度平均値および輝度変動係数の test-retest 再現性は、予備実験 (n = 12) において級内相関係数 (Intraclass correlation coefficient, ICC) および変動係数 (Coefficient of variation, CV) を用いて評価された。その結果、 $ICC_{(1,2)}$ および CV は輝度平均値で 0.86 および 2.6%、輝度変動係数で 0.891 および 2.6% であった。

2-2-4. 統計解析

記述データは平均±標準偏差として記述された。足関節角度および筋収縮強度における各測定データの変化を検討するため、1元配置反復測定分散分析および事後検定としてBonferroni法による多重比較を行った。また、各課題の2区間（前半部分と後半部分）における各測定データの変化率を対応のあるt検定を用いて比較した。全統計解析において、p値が0.05未満の場合を統計学的に有意とした。すべての統計解析には、IBM SPSS Statistics version 19（IBM Corporation, Armonk, NY, USA）を使用した。

2-3. 結果

2-3-1. 角度課題

足関節背屈角度の増加によって輝度平均値は有意に増加した（ $F = 27.966$, $df = 3.0$, $p < 0.001$ ）（図 9A）。標準偏差については、角度変化による主効果は有意であったが（ $F = 2.985$, $df = 4.0$, $p = 0.027$ ）、多重比較の結果、角度間での差は認められなかった（図 9B）。輝度変動係数は、足関節が背屈するにつれて有意に減少した（ $F = 58.724$, $df = 3.9$, $p < 0.001$ ）（図 9C）。 20° から 0° までの区間と 0° から -20° までの区間の2区間に分けた場合の輝度平均値および輝度変動係数の変化率を比較した結果、輝度変動係数の変化率には有意差を認めたのに対し（ $p = 0.002$ ）、輝度平均値では有意差は認められなかった（ $p = 0.249$ ）（図 11A）。

2-3-2. 筋収縮課題

輝度平均値は筋収縮強度の増加によって有意に増加したが（ $F = 11.390$, $df = 7.0$, $p < 0.001$ ）（図 10A）、標準偏差に対する筋収縮強度の効果は有意ではなかった（ $F = 1.324$, $df =$

3.7, $p = 0.276$) (図 10B)。輝度変動係数は、筋収縮強度が増加するに従い有意に減少した ($F = 13.787$, $df = 2.3$, $p < 0.001$) (図 10C)。0%から 30%MVC の区間と 40%から 70%MVC の区間で分けた際の各測定データの変化率を比較した結果、輝度変動係数にのみ 2 区間の変化率に有意差を認め ($p = 0.039$)、輝度平均値では有意差は認められなかった ($p = 0.426$) (図 11B)。

2-4. 考察

本研究における主な知見は、腓超音波横断画像において、足関節他動背屈および下腿三頭筋等尺性収縮による腓の伸張に伴い輝度平均値は増加し、輝度変動係数は減少したことである。輝度変動係数は、角度課題での後半部分（より背屈域）、および筋収縮課題の前半部分（低張力域）においてより著しく減少した。

先行研究では、豚屈腓を伸張することによって腓超音波画像における腓の信号反射強度が増加し高輝度となることを報告した (Duenwald et al., 2011)。さらに近年、ヒト生体のアキレス腱においても足底屈筋等尺性収縮によって腓が伸張された際、腓超音波画像上での輝度が増加することが報告された (Suydam and Buchanan, 2014)。足関節背屈角度もしくは筋収縮強度の増加により腓が伸張された際の腓の輝度平均値の有意な増加を認めた本研究結果は、先行研究と一致する。腓と同様にコラーゲンを豊富に含む組織である皮膚においても、皮膚が伸張された際に超音波画像が高輝度となり、これは超音波減衰係数が低下したためであると推察された (Pan et al., 1998)。また、Wearing らは腓の超音波輝度の上昇には腓内の水分移動が影響すると述べている (Wearing et al., 2013)。本研究では、輝度平均値

の増加がコラーゲン線維の超音波反射強度や超音波減衰係数の変化といった音響反射特性の変化によるのか、腱内の水分量の移動による影響かどうかを結論付けることは困難であった。今後、他の方法を用いてこの点を明らかにするための研究が必要である。

足関節背屈角度の増加に伴い腱が伸張されたことで、輝度変動係数は減少した。これは我々の仮説を支持する結果であった。さらに、輝度平均値には 2 区間での変化率に差がなかったのに対し、2 区間での輝度変動係数の変化率には有意差を認め、足関節中間位から背屈 20°にかけて輝度変動係数は、それ以前の区間と比較して急峻に減少した。先行研究では、ラット筋腱複合体を他動的に伸張した際、腱よりも筋がより大きく伸張された (Hawkins and Bey, 1997)。さらに、Kawakami らはヒト生体の足関節他動背屈中のアキレス腱と下腿三頭筋の伸張量を計測し、腱よりも筋が先に伸ばされ、その後徐々に腱の伸張量が大きくなることを報告している (Kawakami et al., 2008)。また、足関節を他動背屈させた際の腓腹筋内側頭の筋および腱のスティッフネスが腱よりも筋で小さいという報告は (Konrad et al., 2015)、同じ張力での筋伸張量が腱伸張量よりも大きくなることを示す。これらの先行研究から、本研究の角度課題においても足関節他動背屈初期には主に筋が伸張され、背屈角度の後半 (背屈域) において腱コラーゲン線維の再配向をより引き起こす程度の腱の伸張が生じたのかもしれない。それゆえ、背屈角度後半での輝度変動係数の著しい減少は、背屈角度後半でより腱が伸張されたことによってコラーゲン線維が再配向し、それによって超音波反射強度のばらつきが減少したためであると考えられる。

下腿三頭筋等尺性収縮強度の増加に伴って、筋収縮中のアキレス腱超音波横断画像の輝度変動係数は減少した。さらに、0%から 30%MVC までの間での輝度変動係数は、それ以降

の区間 (40%~70%MVC) よりも急峻に減少していた。いくつかの先行研究は、ヒト生体における腱の力学的特性の計測において、その後続くリニアリージョンと比較し、より大きく腱が伸張されるトゥリージョンを 50%MVC 未満と定義している (Arampatzis et al., 2007a; Kubo et al., 1999)。トゥリージョンでは、腱の伸張に伴いコラーゲン線維の波型のしわ (crimp) の消失や、コラーゲン線維の角度分布のばらつきの減少、すなわちコラーゲン線維の再配向が生じる (Connizzo et al., 2013; Diamant et al., 1972; Miller et al., 2012c; Wang, 2006)。本研究における 0% から 30%MVC の区間はヒト生体の腱張力伸張量関係におけるトゥリージョンに相当すると考えられる。先行研究と本研究結果を考慮すると、本研究で認められた 0% から 30%MVC の区間での著しい輝度変動係数の減少は、トゥリージョンで生じたコラーゲン線維の再配向を捉えた結果であると考えられた。

これまでの腱コラーゲン線維配向の定量化は、侵襲的な手法 (Connizzo et al., 2014; Lake et al., 2009; Miller et al., 2012c; Williams et al., 2005) や特別な機械を要する煩雑な方法 (van Schie et al., 2010) で検討されてきた。本研究は、腱の超音波画像における輝度変動係数を用いてヒト生体における腱コラーゲン線維配向を定量化する簡便で汎用性の高い方法を報告した。本研究で用いられた超音波画像の空間分解能が約 0.2mm であることから、本手法によって定量化が可能なコラーゲン線維配向は、階層構造におけるコラーゲン線維束レベル (第 1 章図 4 における Secondary もしくは Tertiary fibre bundle) でのコラーゲン線維配向であったと考えられる。トレーニング後に腱スティッフネスが増加することを報告した先行研究は、腱の肥大が認められなかったため、腱構造 (コラーゲン量、コラーゲン線維配向) の変化が力学的特性の変化と関連すると推測した (Kubo et al., 2001a; Reeves et al., 2003)。本

手法を用いることで、トレーニング後の腱の力学的特性の変化の要因を結論付けることができるかもしれない。これまで腱炎の病態として腱の力学的特性 (Arya and Kulig, 2010; Child et al., 2010) や血液循環 (Ohberg and Alfredson, 2004; Ohberg et al., 2001) が調べられてきた。しかしながら、これまで報告されてきたような腱炎による腱コラーゲン線維配向の不整をヒト生体にて検討した研究は少ない (de Jonge et al., 2015; Docking and Cook, 2016)。さらに、腱断裂に先立って腱の変性が存在することや (Hashimoto et al., 2003; Maffulli, 1999)、疼痛といった症状がなくても腱の構造変化が生じているという報告があることから (Docking et al., 2015b)、本手法はこれまで報告された腱の力学的特性や血液循環に加え、腱コラーゲン線維配向の評価を可能にすることで腱障害の病態をより包括的に調べることが可能となるだけでなく、多角的な視点からの腱炎のスクリーニングに寄与する。

本研究には、いくつかの結果に影響しうる限界がある。第一に、腱が伸張されている際の超音波画像撮影部位が異なっている可能性がある。本研究では皮膚上の印の位置で超音波画像を撮影したが、筋収縮課題においてアキレス腱が皮膚下で近位方向へ移動するかもしれない。そのため本研究結果は、腱が伸張された影響ではなく撮影部位の違いによる輝度変動係数への影響であった可能性がある。しかしながら、予備実験として我々は本研究の撮影部位とした踵骨付着部から 3cm の高さで、その上下 1cm でのアキレス腱超音波画像を撮影し、撮影部位による腱超音波輝度の平均値および変動係数に差がみられないことを確認している (輝度平均値 : $p = 0.909$ 、輝度変動係数 : $p = 0.797$)。それゆえ、本研究結果は撮影部位による変化ではなく、腱が伸張されたことによる変化を捉えた結果であると考えられる。第二に、本研究で実施した両課題において正確なアキレス腱超音波画像の撮影

には約 30 秒の時間を要したため、標的とする足関節角度または筋収縮強度に達してから約 30 秒後の画像が記録された。腱は粘弾性を有し、腱に一定の力やひずみを加えた際の変化は時間に依存する (Taylor et al., 1990)。そのため、腱伸張直後と 30 秒後以降とは測定データが変化している可能性がある。今後は腱伸張時間に伴う各変数の変化をみていく必要があるだろう。

2-5. まとめ

足関節背屈角度および下腿三頭筋筋収縮強度の増加に伴い、輝度平均値は増加し、輝度変動係数は減少した。さらに、輝度変動係数の変化は、角度課題における背屈域で、筋収縮課題の低張力域でより顕著であった。これらの区間における輝度変動係数の顕著な減少は、ヒト生体において腱が伸張されたことによる腱コラーゲン線維再配向を捉えた結果であると考えられる。

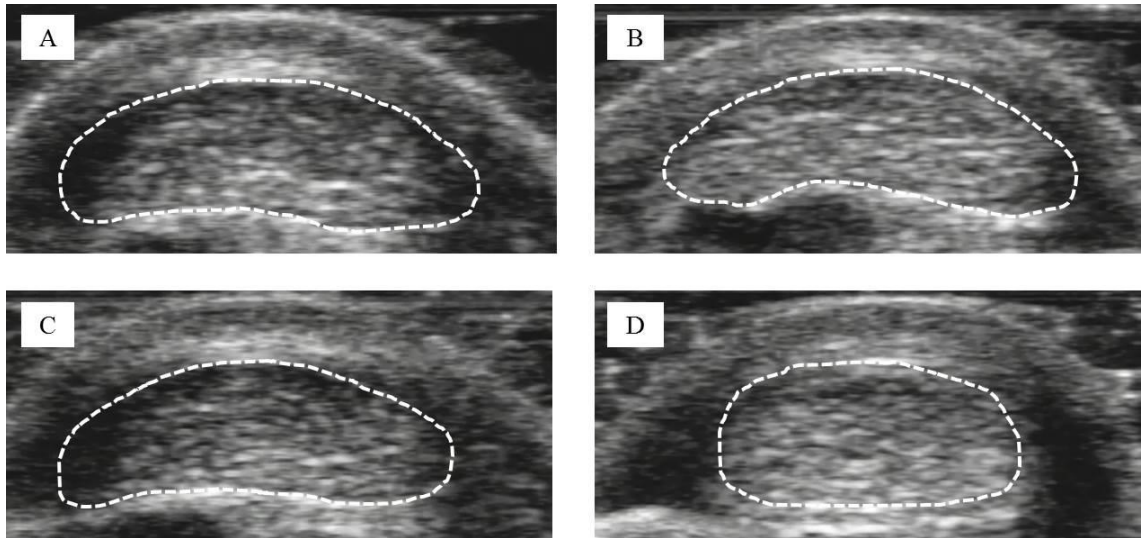


図8 角度課題および筋収縮課題におけるアキレス腱超音波画像

A: 20° , B: -20° , C: 0%MVC, D: 70%MVC

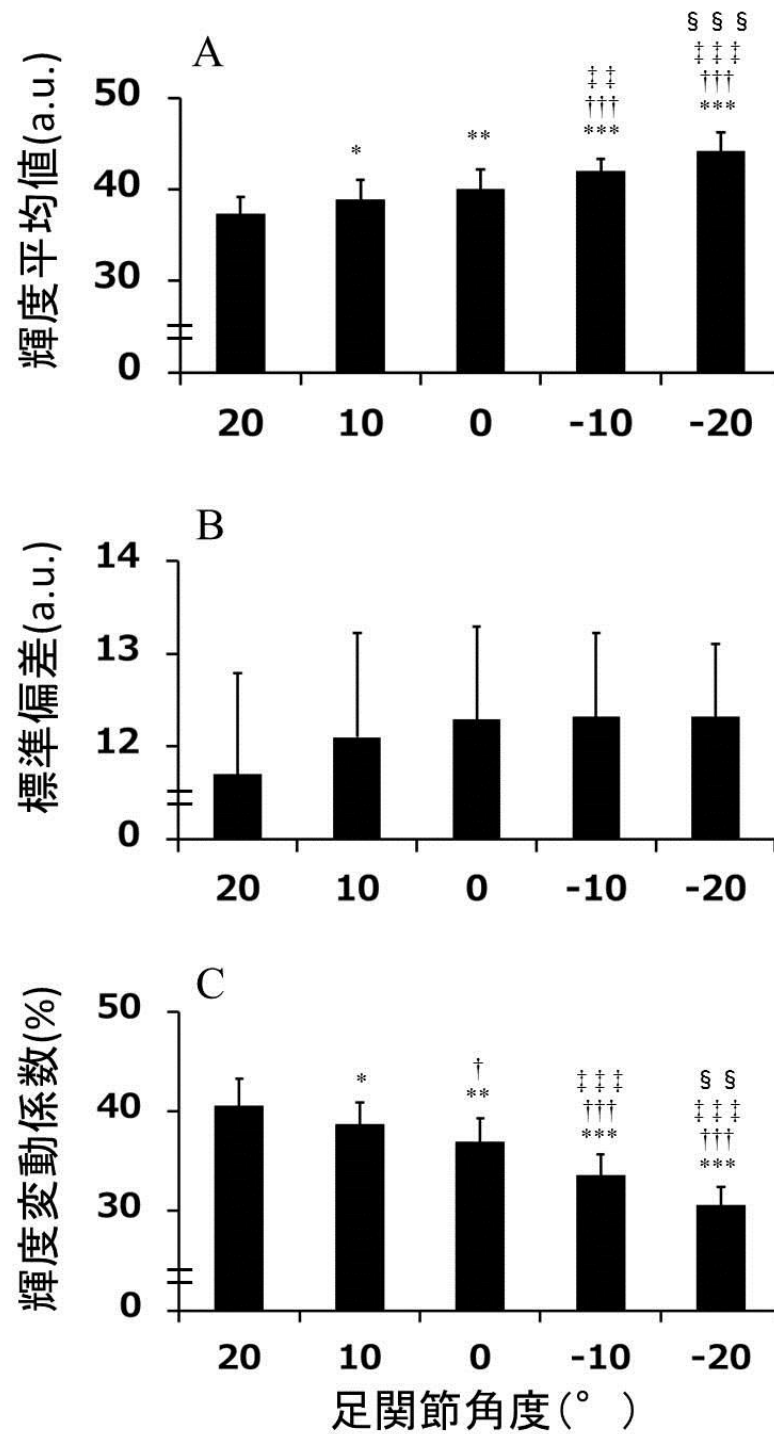


図9 角度課題における輝度平均値 (A)、標準偏差 (B) および輝度変動係数 (C) の変化

*, †, ‡, § : $P < 0.05$; **, ††, ‡‡, §§ : $P < 0.01$; ***, †††, ‡‡‡, §§§ : $P < 0.001$

*: vs. 20° ; †: vs. 10° ; ‡: vs. 0° ; §: vs. -10°

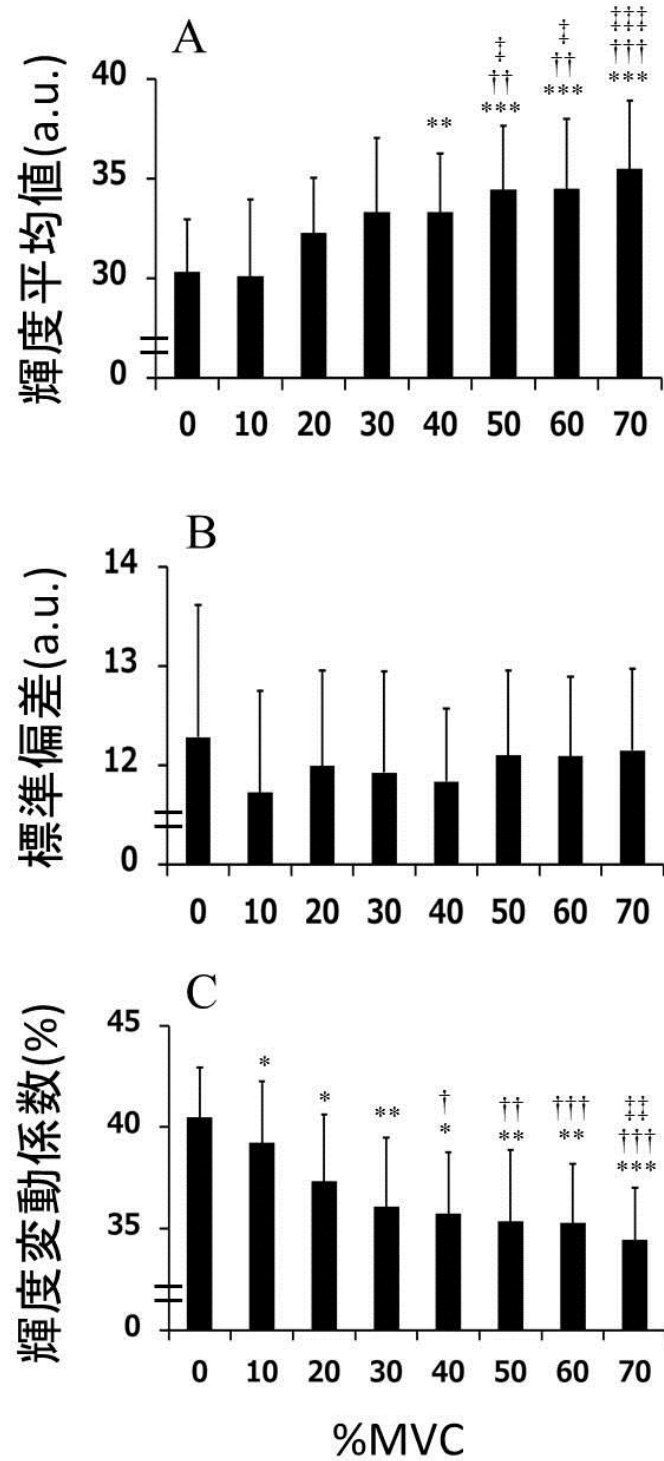


図 10 筋収縮課題における輝度平均値 (A)、標準偏差 (B) および輝度変動係数 (C) の変化

*, †, ‡ : $P < 0.05$; **, † †, ‡ ‡ : $P < 0.01$; ***, † † †, ‡ ‡ ‡ : $P < 0.001$

*: vs. 0%MVC; †: vs. 10%MVC; ‡: vs. 20%MVC; §: vs. 30%MVC

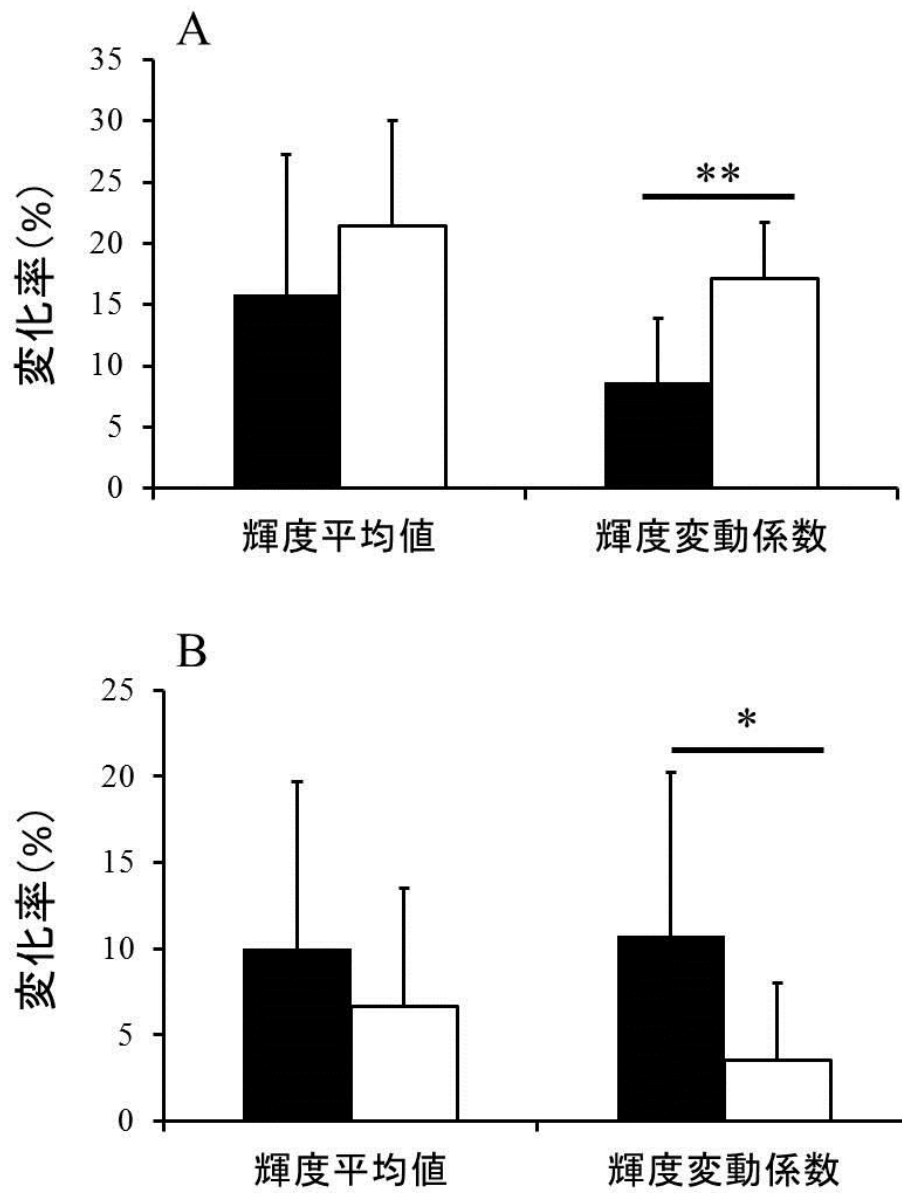


図 11 2 区間に分けた際の変化率の比較

(A) 角度課題：20° ~ 0° (■)、0° ~ -20° (□)

(B) 筋収縮課題：0%~30%MVC (■)、40%~70%MVC (□)

* : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$

第3章

負荷の異なる反復した伸張性収縮が 腱の血液循環およびコラーゲン線維配向に 及ぼす一過性効果

3-1. 諸言

ここ十数年間で、アキレス腱炎に対する下腿三頭筋伸張性トレーニングによる良好な治療成績が報告されてきた (Alfredson et al., 1998; Fahlstrom et al., 2003; Mafi et al., 2001; Ohberg and Alfredson, 2004)。しかしながら、その治療メカニズムは不明である。さらに、伸張性トレーニングの良好な臨床成績を報告した先行研究では、負荷や反復回数を決定した理由に関しては述べられてこなかった。アキレス腱中央部は、血管分布の乏しい領域であり (Ahmed et al., 1998; Carr and Norris, 1989; Stein et al., 2000; Zantop et al., 2003)、アキレス腱炎の好発部位である (Alfredson and Cook, 2007; van Dijk et al., 2011)。腱への血液供給は腱組織の治癒に重要であることから (Lin et al., 2004; Peacock, 1959; Sharma and Maffulli, 2005)、伸張性トレーニングによる腱炎の治療メカニズムのひとつとして、腱への血液供給が関係しているかもしれない。実際に、一過性の効果として反復した伸張性収縮は腱の血液量および酸素飽和度を増加させた (Kubo, 2015; Yin et al., 2014)。その一方で、12週間の伸張性トレーニングは腱の血液循環を変化させなかった (Kubo and

Yata, 2017)。一過性および慢性の伸張性収縮運動による腱の血液循環の変化を検討した研究は、高負荷で低回数実施するプロトコルであった（最大等速性収縮：Kubo, 2015; Yin et al., 2014、1回拳上重量の80%：Kubo and Yata, 2017)。それに対し、これまで良好な治療成績を報告してきた研究は、比較的負荷の軽い自重を用いて高回数実施するプロトコルを採用した（e.g. Alfredson et al., 1998)。そのため、高い治療効果が報告されてきた低負荷・高回数プロトコルの方が、高負荷・低回数プロトコルよりも腱の血液循環をより顕著に増加させるかもしれない。伸張性トレーニングによる腱炎治療の科学的根拠を明らかにするうえで、低負荷・高回数プロトコルと高負荷・低回数プロトコルでの反復した伸張性収縮の効果を比較することは重要な情報を提供する。

これまで腱炎の組織学的な病態として、腱コラーゲン線維配向の乱れが報告されてきた（Khan et al., 1999)。我々は、腱超音波横断画像における腱輝度変動係数の計測によってヒト生体の腱コラーゲン線維配向が定量できる可能性を報告した（Ishigaki et al., 2016)。動物を用いた研究では、プレコンディショニングとして摘出腱に繰り返し伸張負荷を加えることでコラーゲン線維の再配向が生じることが明らかにされた（Miller et al., 2012c)。それゆえ、反復した伸張性収縮中に腱が繰り返し伸張されることで、腱コラーゲン線維が再配向するかもしれない。さらに、負荷の異なる反復した伸張性収縮による腱コラーゲン線維配向への効果を比較することで、腱コラーゲン線維をより再配向させる効果的なプロトコルの開発につながると考えられる。

本研究の目的は、異なるプロトコル（低負荷・高回数と高負荷・低回数）での反復した下腿三頭筋伸張性収縮が、アキレス腱の血液循環およびコラーゲン線維配向に及ぼす影響

を比較することとした。我々は、これまで良好な治療成績を報告してきたプロトコルに類似した低負荷・高回数プロトコルの方が高負荷・低回数プロトコルに比べ、より腱の血液循環を増加させ、腱コラーゲン線維を再配向させると仮説を立てた。

3-2. 方法

3-2-1. 被験者

対象は健康成人男性 13 名とした（年齢 26.6 ± 5.0 歳、身長 175.1 ± 4.6 cm、体重 71.5 ± 13.5 kg）。除外条件は、アキレス腱に障害および／または手術歴がある者、コラーゲン代謝に影響を及ぼすような系統疾患を有する者、血液循環に影響を及ぼすような循環器疾患を有する者、日常的にトレーニングを実施している者とした。本研究は、東京大学大学院総合文化研究科に設置されたヒトを対象とした実験研究に関する倫理審査委員会の承認を得た上で実施された。被験者には実験内容を十分に説明したのち、実験の実施に先立って書面にて同意を得た。

3-2-2. 反復した伸張性収縮

初回の運動実施の少なくとも 1 週間前に、先行研究の手順に準じて (Jenkins et al., 2015)、片側下腿三頭筋の求心性 1 回最大拳上重量 (one-repetition maximum, 1RM) の計測が両下肢で実施された。いくつかの先行研究が、低負荷 (20% 1RM~50% 1RM) での加圧トレーニングによる筋肥大効果を報告した (Takarada et al., 2002; Takarada et al., 2000)。一方で、伸張性収縮トレーニングによる神経筋機能への影響を調べた研究は 120% 1RM 以上の高負荷を用いた (Duclay et al., 2008; Pensini et al., 2002)。そこで本研究では、低負荷・高回数プロトコ

ルの負荷を 50%1RM、高負荷・低回数プロトコルの負荷を 120%1RM とした。被験者は片方の脚を低負荷・高回数プロトコルに、他方の脚を高負荷・低回数プロトコルに無作為に振り分けられた。運動の実施順もまた無作為化された。異なるプロトコルでの運動は、初回の運動実施から少なくとも 2 週間の間隔をあけて実施した。被験者はレッグプレスマシン (VR-4100, Cybex Corp.) 上に背臥位となり、運動開始姿勢は足関節最大底屈位にてレッグプレスマシンの荷重面に前足底部を接地した姿勢とした。被験者は、足関節最大底屈位から最大背屈位まで 3 秒間で到達する下腿三頭筋伸張性収縮運動を実施し、運動速度はメトロノーム (60 bpm) を使用して調節した (図 12)。開始姿勢に戻る際には、短縮性収縮の影響を避けるため、運動実施側下肢を非荷重とした状態で、検者がレッグプレスマシンを引き上げることで戻った。先行研究に準じ (Alfredson et al., 1998)、低負荷・高回数プロトコルでは、膝伸展位にて 15 回と膝屈曲位にて 15 回を 1 セットとし、6 セット (計 180 回) の運動を実施した。高負荷・低回数プロトコルは、仕事量の合計が低負荷・高回数プロトコルと等しくなるように、膝伸展位にて 5 回と膝屈曲位にて 5 回を 1 セットとして 7 セットを実施したのち、膝伸展位でさらに 5 回の運動を実施した (計 75 回)。両プロトコルともに、セット間には 2 分間の休憩が設けられた。休憩中、被験者は膝関節、股関節約 90° 屈曲位且つ足関節中間位でレッグプレスの荷重面上に足底面を接地した状態で安静を保った。膝屈曲位での運動では約 20° 膝関節を屈曲し、運動中に膝が屈曲し過ぎた際には口頭にて注意を与えた。

3-2-3. 下腿三頭筋最大随意収縮と筋厚

異なる運動プロトコル間での筋疲労の程度を比較するため、運動実施前後での下腿三頭

筋最大随意収縮 (MVC) と下腿三頭筋の筋厚を測定した。運動後の MVC 計測は、40 分間に渡る運動後の血液循環の測定および超音波画像撮影 (後に詳述) を完了後、直ちに実施された。MVC 計測時、被験者はベッド上に腹臥位となり、膝関節完全伸展位、足関節 0° (解剖学的中間位) で特注の足関節筋力測定器 (Applied Office, Tokyo, Japan) のフットプレートに足部を強固に固定された。最大下収縮での十分なウォーミングアップを実施した後、被験者は 3 秒間の MVC を 2 回実施した。試行間には疲労の影響を避けるため十分な休憩を設けた。各試行中の最大トルク (Nm) が MVC として記録された。個人内での MVC が一定しなかったことから、各試行での最大トルクに 10%以上の差がある場合には 3 回目の試行が行われ、上位 2 試行の平均値が解析に使用された。筋厚の計測では、B モード超音波画像診断装置 (SSD-4000, Aloka, Japan) および 7.5MHz リニアプローブ (UST-5410, Aloka, Japan) を用いて筋の超音波横断画像が撮影された。腓腹筋内側頭および外側頭は下腿長 (大腿骨外側上顆から腓骨外果までの距離) の 40%位置にて、ヒラメ筋は 50%位置にて撮影された。各筋の筋厚の計測には画像解析フリーソフト (ImageJ, NIH, Bethesda, MD) を使用した。3 筋の平均値を下腿三頭筋の筋厚とした。予備実験 (n = 12) として異なる 2 日間での腓腹筋内側頭、外側頭およびヒラメ筋の筋厚計測の test-retest 再現性を検討した結果、級内相関係数 (ICC_(1,2)) および変動係数は、腓腹筋内側頭で 0.973 および 3.1%、外側頭で 0.847 および 6.3%、ヒラメ筋で 0.995 および 2.0%であった。

3-2-4. アキレス腱の血液循環

反復した伸張性収縮実施前後でのアキレス腱の血液循環 (酸素化ヘモグロビン : Oxy、脱酸素化ヘモグロビン : Deoxy、血液量 : THb、酸素飽和度 : StO₂) を計測するため、レー

ザー組織血液酸素モニター (BOM-L1TRSF, Omega wave, Tokyo, Japan) とプローブ (SF-DS, Omega wave, Tokyo, Japan) を使用した (e.g. Kubo, 2015)。プローブは、アキレス腱炎の好発部位 (アキレス腱踵骨付着部から 2cm 以上近位部 : Campbell and Lawton, 1993) であるアキレス腱踵骨付着部から近位 2cm の位置で固定された。運動中のプローブの動きを防ぐため、プローブは伸縮性テープを用いて強固に固定された。腱の血液循環の計測は、被験者がベッド上に腹臥位となった状態で実施された。本手法は、Oxy、Deoxy および THb の相対的組織レベルを算出するため、波長の異なる 3 つの赤色レーザー光 (635, 650 および 690nm) を使用した。本研究で使用したプローブは、皮膚から 3~5mm の深度でのアキレス腱のみの血液循環の計測を可能にした (Kubo et al., 2008b)。本研究における値は生理学的絶対値ではないが、Oxy、Deoxy および THb の単位は $\mu\text{mol/l}$ で表した。StO₂ は、THb に対する Oxy の割合として、以下の式から算出された。

$$\text{StO}_2 (\%) = \text{Oxy} / \text{THb} \cdot 100$$

これらのデータは、A/D 変換器 (Power Lab, AD Instruments, Australia) を介して 1000Hz でコンピュータに取り込まれた。運動前の MVC の計測実施後、少なくとも 20 分間に渡る腹臥位での安静を経た後に計測した各データの 10 分間の平均値を運動前 (安静時) の測定データとした。また、運動後の計測は、レッグプレスマシン上での運動終了後、直ちにベッド上にて再度腹臥位となった時点 (運動完遂から 2 分以内) から開始された。運動後の計測は 40 分間に渡って実施され、計測開始から 10 分毎の平均値が算出された。血液循環に関するデータの算出には、LabChart ver. 7.3.7 (AD Instruments, Australia) が用いられた。血液循環に関するすべてのデータは、先行研究に準じて (e.g. Kubo, 2015)、運

動前（安静時）に対する変化量として表された。予備実験として、10名の健常者を対象として異なる2日間での再現性を検討した結果、級内相関係数（ $ICC_{(1,2)}$ ）および変動係数は、Oxyで0.872および6.9%、Deoxyで0.909および6.1%、THbで0.919および5.1%、 StO_2 で0.722および2.0%であった。

3-2-5. アキレス腱の横断面積およびコラーゲン線維配向

アキレス腱の横断面積（Cross-sectional area, CSA）およびコラーゲン線維配向の計測は、血液循環の計測と同様に、被験者がベッド上に腹臥位になった状態で行われた。アキレス腱超音波横断画像の撮影には、筋厚の計測と同じ超音波画像診断装置およびリニアプローブを使用した。画像はアキレス腱踵骨付着部から近位4cmのマークされた位置で撮影された。運動前の画像は、MVC計測から少なくとも20分間の安静を経た後に撮影された。運動後の画像撮影は、運動直後および10分毎に40分後まで実施された。超音波画像の解析にはImageJ（NIH, Bethesda, MD）を使用した。すべての被験者に対し、超音波画像診断装置の設定は統一された。CSAは腱の輪郭を徒手的にトレースすることで計測された。次いで、腱コラーゲン線維配向を計測するため、研究1（Ishigaki et al., 2016）の方法に準じて輝度変動係数を算出した。以下に簡潔にその方法を述べる。アキレス腱超音波横断画像において、腱実質部を出来るだけ多く含むように設定した関心領域（ROI）中の輝度ヒストグラムから輝度平均値および標準偏差を算出した。腱コラーゲン線維配向の指標である輝度変動係数は、標準偏差を輝度平均値で除したものをパーセント化した値とした（輝度変動係数＝標準偏差／輝度平均値・100）。全ての計測は各画像において3回実施され、その平均値を解析に使用した。各測定データは、運動前の値に対する運動後の変化量で表され

た。予備実験 (n=10) として、超音波画像における腱 CSA 計測の test-retest 再現性を検討した結果、 $ICC_{(1,2)}$ および変動係数は 0.944 および 2.5% であった。腱輝度平均値および輝度変動係数の計測に関しては、研究 1 にて高い再現性を報告している。

3-2-6. 統計解析

各プロトコルにおける運動前後での MVC および筋厚の比較、および各プロトコル間での MVC および筋厚の変化率の比較には、対応のある t 検定を使用した。2 元配置反復測定分散分析 (負荷×時間) が、各測定データの運動前と比較した有意差を検出するために用いられた。分散分析にて有意な負荷や時間の主効果およびそれらの交互作用が認められた際、運動前の値との有意差を検出するため Bonferroni 法による事後検定が実施された。有意水準は $p < 0.05$ とした。

3-3. 結果

両プロトコルにおいて、運動後の MVC は運動前よりも有意に低下し (低負荷・高回数プロトコル : $114.2\text{Nm} \pm 23.5\text{Nm}$ から $94.9\text{Nm} \pm 23.2\text{Nm}$ 、 $p = 0.003$ / 高負荷・低回数プロトコル : $114.2\text{Nm} \pm 23.6\text{Nm}$ から $101.1\text{Nm} \pm 26.1\text{Nm}$ 、 $P < 0.001$)、筋厚は有意に増加した (低負荷・高回数プロトコル : $19.5\text{mm} \pm 3.3\text{mm}$ から $20.6\text{mm} \pm 3.4\text{mm}$ / 高負荷・低回数プロトコル : $18.7\text{mm} \pm 3.2\text{mm}$ から $19.4\text{mm} \pm 3.2\text{mm}$ 、両プロトコルともに $p < 0.001$)。しかし、両プロトコル間における MVC の減少率および筋厚増加率には有意差は認められなかった (図 13)。

腱の血液循環に関するすべての測定項目に関して、時間の主効果が認められた一方で

(Oxy : $F = 23.431$, $df = 2.1$, $p < 0.001$ / Deoxy : $F = 11.249$, $df = 1.1$, $p < 0.001$ / THb : $F = 25.965$, $df = 1.9$, $p < 0.001$ / StO₂ : $F = 7.154$, $df = 2.2$, $p = 0.001$)、負荷の主効果および負荷と時間の交互作用は認められなかった (Oxy 負荷 : $F = 0.698$, $df = 1.0$, $p = 0.420$; 交互作用 : $F = 1.150$, $df = 1.5$, $p = 0.344$ / Deoxy 負荷 : $F = 0.470$, $df = 1.0$, $p = 0.506$; 交互作用 : $F = 0.448$, $df = 1.2$, $p = 0.773$ / THb 負荷 : $F = 0.689$, $df = 1.0$, $p = 0.423$; 交互作用 : $F = 1.046$, $df = 1.3$, $p = 0.393$ / StO₂ 負荷 : $F = 0.223$, $df = 1.0$, $p = 0.645$; 交互作用 : $F = 0.241$, $df = 1.9$, $p = 0.914$) (図 14)。事後検定の結果、StO₂ は運動後 20 分までに運動前のレベルに戻ったのに対し (図 14D)、Oxy は運動後 30 分間、THb は運動後 40 分間に渡って運動前と比較して有意に増加した (図 14A、C)。

超音波横断画像から得られたすべての測定データ (CSA、輝度平均値、標準偏差、輝度変動係数) に関して、時間の主効果が認められた (CSA : $F = 42.922$, $df = 3.0$, $p < 0.001$ / 輝度平均値 : $F = 42.922$, $df = 5.0$, $p < 0.001$ / 標準偏差 : $F = 3.772$, $df = 5.0$, $p = 0.005$ / 輝度変動係数 : $F = 9.889$, $df = 2.9$, $p < 0.001$)。しかしながら、どの測定項目においても負荷の主効果および交互作用は認められなかった (CSA 負荷 : $F = 0.421$, $df = 1.0$, $p = 0.529$; 交互作用 : $F = 0.452$, $df = 2.7$, $p = 0.700$ / 輝度平均値 負荷 : $F = 0.421$, $df = 1.0$, $p = 0.529$; 交互作用 : $F = 0.452$, $df = 2.7$, $p = 0.700$ / 標準偏差 負荷 : $F = 0.544$, $df = 1.0$, $p = 0.475$; 交互作用 : $F = 0.265$, $df = 5.0$, $p = 0.930$ / 輝度変動係数 負荷 : $F = 2.485$, $df = 1.0$, $p = 0.141$, 交互作用 : $F = 1.632$, $df = 2.8$, $p = 0.203$) (図 15)。事後検定の結果、CSA は運動前と比較し運動後 30 分まで有意に減少していた (図 15A)。運動後における輝度平均値の有意な増加 (図 15B)、および輝度変動係数の有意な減少 (図 15C) は運動後 40 分間に渡って持続

した。

3-4. 考察

反復した伸張性収縮は、腱の血液循環を増加させ、コラーゲン線維を再配向させた。しかしながら、それらの変化に低負荷・高回数プロトコルと高負荷・低回数プロトコルとの間で差は認められなかった。

これまでの先行研究では、高負荷で低回数反復する伸張性収縮運動後、一過性に腱の血液量が増加することが認められたが (Kubo, 2015; Yin et al., 2014)、12 週間に渡り高負荷で低回数反復するプロトコルでの伸張性トレーニング後には、腱の血液量は変化しなかった (Kubo and Yata, 2017)。これまで腱炎の治療方法として良好な治療成績を報告してきた伸張性トレーニングでは、低負荷で高回数反復するプロトコルが用いられてきた。そこで我々は、高負荷・低回数プロトコルよりも低負荷・高回数プロトコルの方が、より腱の血液循環を変化させると仮説を立てた。しかしながら、プロトコル間での腱の血液循環の変化に差は認められなかった。我々の研究室において、50%MVC での等尺性収縮を 50 回反復した際には腱の血液量が増加しなかったのに対し (Kubo and Ikebukuro, 2012)、70%MVC での等尺性収縮を 50 回反復した際には腱の血液量の有意な増加が認められた (Kubo et al., 2008b)。先行研究と異なり、本研究は仕事量を等しくするために反復回数を調節した。それゆえ、本研究で実施されたプロトコル間での仕事量が等しかったことで、負荷強度に関わらず両プロトコルでの腱の血液循環に与える影響が同程度であったと考えられる。

本研究は、ヒト生体において反復した伸張性収縮により腱コラーゲン線維配向が変化する可能性を示した最初の研究である。輝度変動係数の減少は腱コラーゲン線維の再配向を示唆する (Ishigaki et al., 2016)。本研究では、負荷強度に関わらず運動後 40 分間に渡って輝度変動係数は運動前よりも低値を示した。動物を対象とした研究において、繰り返し腱が伸長されることで腱コラーゲン線維は再配向した (Miller et al., 2012c)。さらに、Hooley らは、静クリープ中、腱コラーゲン線維の *crimp* が直線化するという構造変化が生じると述べた (Hooley et al., 1980)。それゆえ、本研究結果は伸張性収縮運動中の繰り返す腱の伸長によって腱コラーゲン線維が再配向し、それが運動後 40 分間に渡って維持されたことを示していると考えられる。

いくつかの先行研究は、反復した伸張性収縮後に腱厚が減少することを報告した (Grigg et al., 2009, 2012)。本研究における運動後の腱横断面積の結果は、それらの先行研究と一致する。Wearing らは、反復したスクワット後に腱厚の減少と同時に腱超音波輝度平均値が増加することを報告した (Wearing et al., 2013)。彼らは、腱厚の減少および腱超音波輝度平均値の増加が腱内水分の移動した結果であると推察した。そのため、本研究における反復した伸張性収縮直後に認められた腱横断面積の減少および腱超音波輝度平均値の増加もまた、腱内水分の移動を捉えた結果であるかもしれない。しかしながら、腱横断面積が回復期間中に徐々に運動前の値に戻った一方で、輝度平均値は 40 分間の回復期間を通して増加した状態を維持した。摘出腱を用いた研究は、腱超音波輝度平均値の増加が腱に加えられたストレスと関連することを報告したが (Duenwald et al., 2011)、腱輝度平均値は腱の応力緩和試験の緩和中であっても増加した (Duenwald-Kuehl et al., 2012)。彼らは、こ

の予測しなかった結果を超音波輝度平均値が (1) 腱コラーゲン線維の再配向、(2) 超音波反射強度の変化、(3) 腱内水分の移動した後のコラーゲン密度の相対的増加、これらの影響を受けたためと推察した。本研究において、腱コラーゲン線維配向を示す輝度変動係数は輝度平均値と同様の変化を示した。一過性の運動後の回復期間中にコラーゲン密度が増加することは考えにくい。残念ながら、反復した伸張性収縮運動後に腱の超音波反射強度が変化するかは不明である。それゆえ、運動後の回復期間における輝度平均値の変化は、腱内水分の移動以外の影響を受けた結果であるかもしれない。

我々は本研究において、負荷および回数異なる反復した伸張性収縮後の腱の血液循環およびコラーゲン線維配向の変化を比較することで、伸張性収縮運動プロトコルにおけるより適切で効果的な負荷と反復回数を明らかにすることを試みた。これまで述べてきたように、腱の血液循環やコラーゲン線維配向に対する反復した伸張性収縮の効果に低負荷・高回数プロトコルと高負荷・低回数プロトコルとの間で差は認められなかった。この結果は、良好な治療効果を報告してきた Alfredson プロトコル (e.g. Alfredson et al., 1998) に近い低負荷・高回数プロトコルにおいて腱の血液循環やコラーゲン線維配向が顕著に変化するとした我々の仮説を棄却するものであった。腱の血液循環の増加は腱組織の治癒に重要である (Peacock, 1959)。さらに、腱コラーゲン線維の再配向は腱の力学的強度を増加させる (Connizzo et al., 2013; Killian et al., 2012)。それゆえ、反復した伸張性収縮後の腱コラーゲン線維再配向は、日常的な負荷によるさらなる腱障害の進行や治癒過程の破綻を防ぐことができるかもしれない。また、過負荷は腱障害の危険因子であると考えられている (Rees et al., 2009)。腱の血液循環やコラーゲン線維配向の変化に差がなければ、患者

が実施する際の安全面を考慮すると、腱炎に対するリハビリテーションとしては、従来行われてきた Alfredson プロトコルのような低負荷・高回数での伸張性収縮運動が推奨されるだろう。

本研究には、結果に影響する可能性のある限界がある。1 つ目に、血液循環および超音波画像がそれぞれ 1 ヶ所で計測されたことである。反復した伸張性収縮に対する腱の応答は部位によって異なるかもしれない。しかしながら、本研究での計測部位（踵骨付着部から近位 2cm 部位にて血液循環、近位 4cm 部位にて超音波画像）は慢性アキレス腱炎の好発部位（踵骨付着部から近位 1.5cm～7cm）の範囲内である (Alfredson and Lorentzon, 2000)。そのため、本研究の結果は臨床的に重要な情報であると考えられる。2 つ目に、本研究は運動後 40 分間での血液循環、腱横断面積、および腱コラーゲン線維配向の変化を検討した。より長い経過観察を行った場合、本研究では認められなかった異なるプロトコル間での違いが認められるかもしれない。しかし、各計測値の継時的変化は類似しており（図 14 および図 15）、同様の経過をたどることが予想される。3 つ目として、運動後の腱厚の変化が健康者と腱炎患者では異なるということを報告した研究もあることから (Grigg et al., 2012)、本研究結果もまた、腱炎患者を対象とした場合では異なるかもしれない。

3-5. まとめ

反復した下腿三頭筋伸張性収縮後、アキレス腱の血液量は増加し、腱コラーゲン線維が再配向する可能性が認められた。しかしながら、これらの変化において低負荷・高回数プロトコルと高負荷・低回数プロトコルとの間で差は認められなかった。そのため、患者が

実施する際の安全面を考慮すると、我々はアキレス腱炎のリハビリテーションとして低負荷で高回数反復する伸張性収縮運動の実施を推奨する。

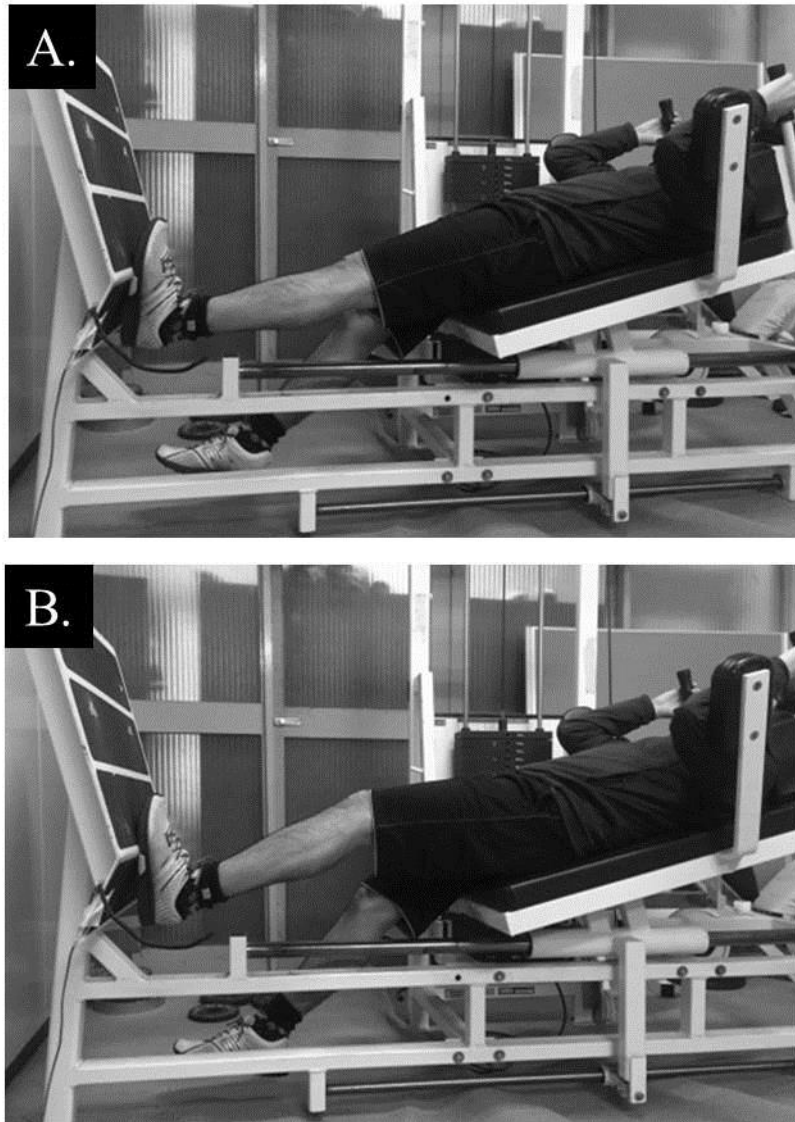


図 12 レッグプレスマシンを用いた膝伸展位 (A) および膝軽度屈曲位 (B) での下腿三頭筋伸張性収縮運動

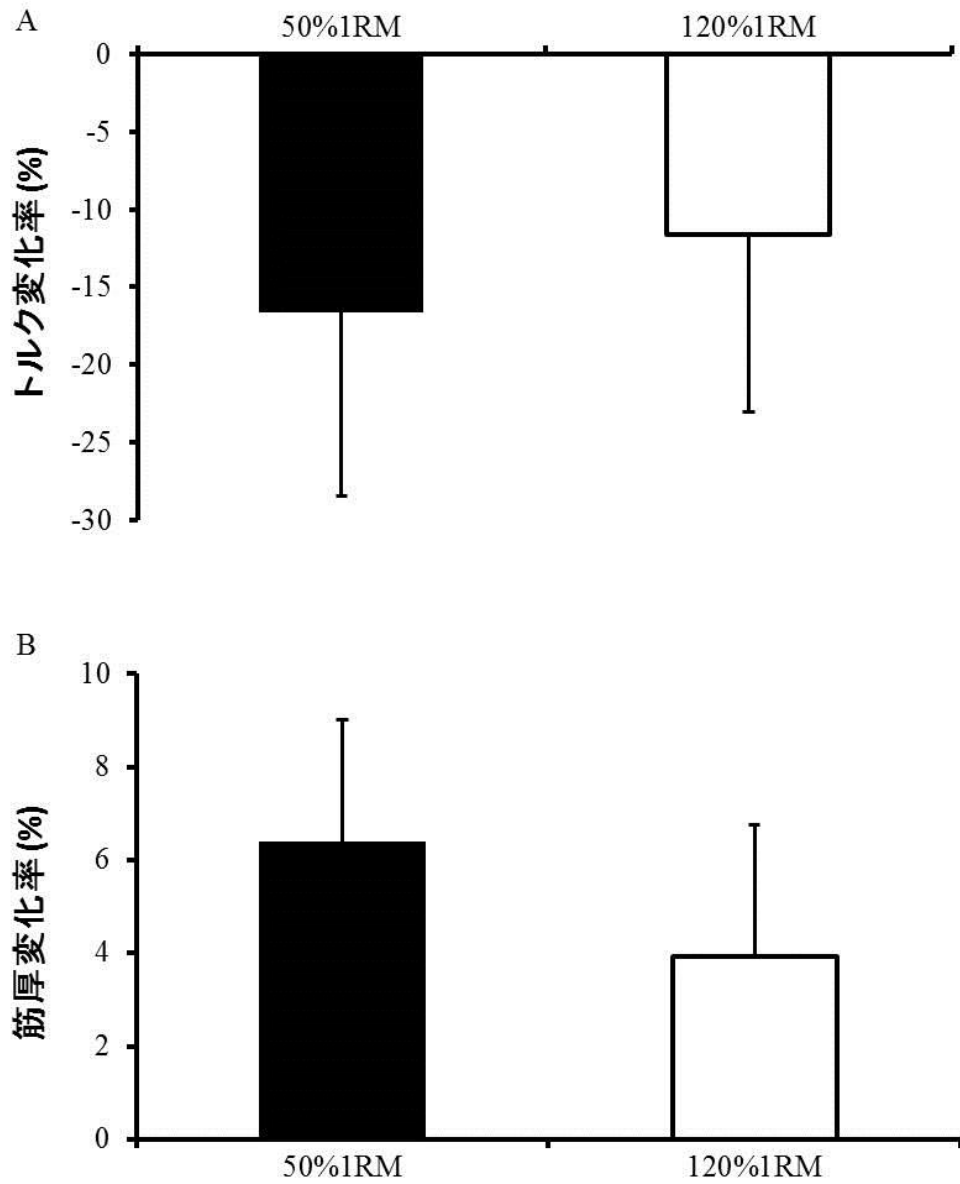


図 13 プロトコル間での運動前後での最大随意収縮時のトルク変化率 (A) および筋厚変化率 (B) の比較

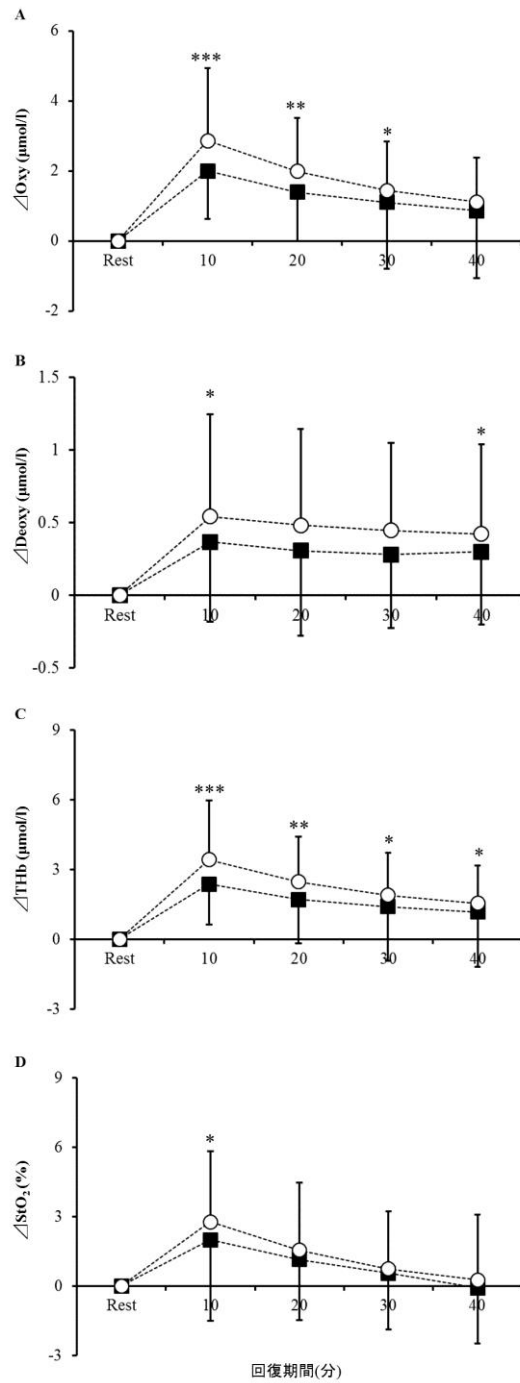


図 14 低負荷・高回数プロトコル (■) と高負荷・低回数プロトコル (○) での反復した伸張性収縮後のアキレス腱の酸素化ヘモグロビン (A)、脱酸素化ヘモグロビン (B)、血液量 (C) および酸素飽和度 (D) の継時的変化。

* : 運動前 (Rest) との間に有意差あり

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

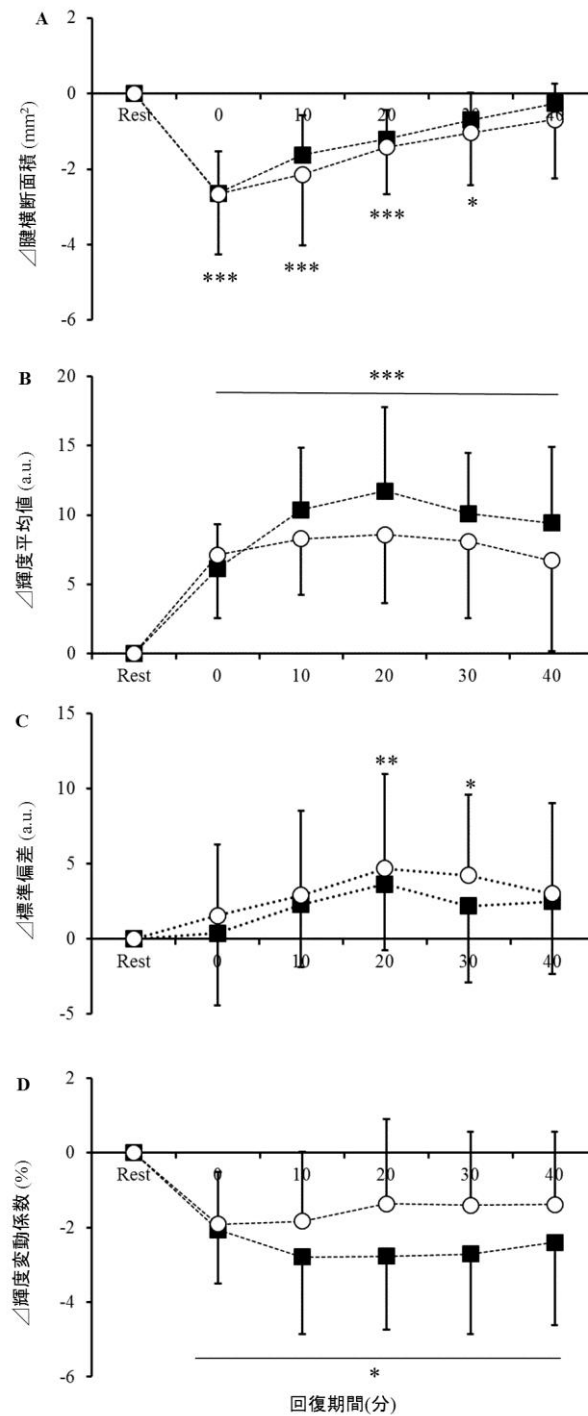


図 15 低負荷・高回数プロトコル (■) と高負荷・低回数プロトコル (○) での反復した伸張性収縮後のアキレス腱の腱横断面積 (A)、輝度平均値 (B)、標準偏差 (C) および輝度変動係数 (D) の継時的変化。

* : 運動前 (Rest) との間に有意差あり

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

第 4 章

実施頻度の異なる伸張性トレーニングが 腱の血液循環、コラーゲン線維配向、 および力学的特性に及ぼす慢性効果

4-1. 諸言

低負荷且つ高回数実施する伸張性トレーニングは、腱炎のリハビリテーションとして高い治療効果を示した (Alfredson et al., 1998; Fahlstrom et al., 2003; Ohberg and Alfredson, 2004)。腱炎患者における腱の血液循環 (De Jonge et al., 2014; Ohberg and Alfredson, 2004)、コラーゲン線維配向 (Khan et al., 1999)、および力学的特性 (Arya and Kulig, 2010; Child et al., 2010; Wang et al., 2012) の変化が報告されてきたことから、伸張性トレーニングの治療メカニズムとしても、これらの腱特性に変化が生じている可能性がある。これまで伸張性トレーニングの適切なプロトコル (負荷量、反復回数、頻度など) に関しては議論されてこなかった。研究 2 により、高負荷・低回数プロトコルと低負荷・高回数プロトコルでの反復した伸張性収縮による腱の血液循環およびコラーゲン線維配向の一過性の変化はほぼ同程度であることが示された (Ishigaki et al., 2018)。過負荷が腱障害の危険因子であるということから (Rees et al., 2009; Rees et al., 2006)、安全面を考慮すると、腱炎患者には低負荷・高回数プロトコルでの伸張性トレーニングが望ましいと考

えられる。しかしながら、これまで腱の血液循環やコラーゲン線維配向に対する低負荷・高回数プロトコルでの伸張性トレーニングによる慢性効果は不明であった。

腱炎患者における良好な治療効果が認められている Alfredson プロトコルは、低負荷（自重）で高回数（180 回）の伸張性収縮運動を毎日実施するものである（Alfredson et al., 1998; Fahlstrom et al., 2003; Ohberg and Alfredson, 2004）。しかしながら、伸張性トレーニングの実施頻度が腱炎の治療効果に及ぼす影響はほとんど検討されていない。これまで、筋に対する高頻度での抵抗運動ではトレーニング効果が得られにくいことが報告されてきた（Coffey et al., 2007）。また、運動後の腱コラーゲン合成は運動直後には安静時よりも低下するものの、運動後 72 時間が経過しても高値であった（Langberg et al., 1999b; Miller et al., 2005）。さらに、腱炎に対して有効な物理療法である体外衝撃波療法を実施後、新生血管の増殖には時間を要した（Wang et al., 2003）。これらの知見を併せて考えると、腱炎のリハビリテーションとしての伸張性トレーニングにおいても、毎日運動を実施するよりも運動実施後の回復期間を設けるために実施頻度を減らした方が、腱の修復（すなわち、治癒）は促進されるかもしれない。

腱炎患者では腱の伸展性の増加が認められた（Arya and Kulig, 2010; Child et al., 2010）。これまでの先行研究より、週 3~4 回の実施頻度での数ヶ月間に渡る筋力トレーニングは腱スティッフネスを増加させた（Kubo et al., 2012; Reeves et al., 2003; Seynnes et al., 2009）。一方で、疲労を伴うような一過性の筋収縮の反復後、腱の伸展性は増加した（Kubo et al., 2001b; Obst et al., 2016）。そのため、疲労を蓄積させるような実施頻度の多いトレーニングと、トレーニング後の回復期間を設けた実施頻度の少ない（例えば週 3 回）トレーニング

グでは、数ヶ月間に渡るトレーニングが腱の力学的特性に及ぼす影響も異なるかもしれない。

そこで本研究の目的は、実施頻度の異なる（週に3回と6回）12週間の低負荷・高回数での伸張性トレーニングが腱の血液循環、コラーゲン線維配向、および力学的特性に及ぼす影響を比較することとした。仮説として、低負荷・高回数での伸張性トレーニングにより腱の血液循環が増加し、コラーゲン線維は再配向し、力学的特性（スティッフネス）が高まり、さらにそれらの変化が実施頻度の少ないプロトコル（週に3回）において顕著であると予想した。

4-2. 方法

4-2-1. 被験者

対象は健常男性10名（年齢 20.9 ± 3.1 歳、身長 171.5 ± 4.7 cm、体重 61.9 ± 12.9 kg）とした。除外条件は、アキレス腱に疼痛を有する者、アキレス腱障害の既往歴がある者、コラーゲン代謝に影響するような系統疾患を有する者、循環器疾患を有する者、日常的にトレーニングを実施している者とした。研究の実施に先立ち、被験者には実験内容および手順に関して口頭および書面にて説明したうえでインフォームドコンセントを獲得した。本研究は、東京大学大学院総合文化研究科に設置されたヒトを対象とした実験研究に関する倫理審査委員会の承認を得たうえで実施された。

4-2-2. 伸張性トレーニング

先行研究に準じて（e.g., Alfredson et al., 1998）、1回の実施における下腿三頭筋伸張性収縮運動は膝伸展位で15回と膝軽度屈曲位で15回の実施を1セットとし、6セット（計

180回) 実施した。本研究ではトレーニングの実施頻度の違いによる効果を比較するため、被験者は12週間に渡って片脚で週3回、他方の脚で週6回の伸張性トレーニングを実施した。各被験者の左右の下肢は、無作為にどちらかの条件に割り付けられた。被験者はトレーニング室にて週3回、両下肢それぞれの伸張性収縮運動を実施した。週6回実施側は、さらに週3回、自宅にて片脚での伸張性収縮運動を実施した。トレーニング室での運動は、研究2における低負荷・高回数プロトコル(50%1RMで180回)と同様の方法で実施した。自宅での伸張性収縮運動では、被験者は15cmの高さの台上に実施側下肢の前足部に荷重した最大底屈位で立ち(開始肢位)、そこから最大背屈位まで3秒間で踵を下降させる伸張性収縮運動を実施した(図16)。開始肢位へは、壁や手すりにおいた両上肢と反対側(週3回実施側)下肢を用いて戻った。その際、週3回実施側への影響を最少とするため、被験者には出来る限り両上肢の力で開始肢位に戻るよう指導した。被験者は自宅での運動が終了する度に、その旨を検者へメールにて報告した。被験者は、それぞれの実施頻度での伸張性収縮運動を12週間継続した。自宅での運動の遵守率は93.9%(88.3%~97.2%)であった。トレーニング室における伸張性収縮運動の負荷は、4週間毎に片側下腿三頭筋の1RMを両側それぞれで測定することで調整した。1RMは12週間の伸張性トレーニングによって、週3回実施側で $9.7\% \pm 5.9\%$ 、週6回実施側で $11.8\% \pm 4.4\%$ 増加した。1RMの増加率に関して実施頻度間での差はなかった(対応のあるt検定にて $p = 0.124$)。

4-2-3. 最大随意収縮

研究2と同様の方法で下腿三頭筋最大随意収縮(MVC)の測定を実施した。トレーニング開始前の計測に先立ち、被験者は事前にMVC測定に慣れるために練習を行った。測定当

日には、被験者は十分なウォーミングアップ後、2回もしくは3回の MVC 測定を行った。試行間には1分間の休息を設けた。全試行内での最大値を MVC として記録した。

4-2-4. 筋厚および腱横断面積

超音波画像診断装置 (SSD-4000, Aloka, Japan) と 7.5MHz リニアプローブ (UST-5410, Aloka, Japan) が使用された。すべての測定を通して被験者はベッド上腹臥位となり、膝完全伸展位で足関節を 0° (解剖学的中間位) で固定し、リラックスした状態を維持するように指示された。腓腹筋内側頭および外側頭の筋厚は下腿長の 30% 部位で、ヒラメ筋の筋厚は下腿長の 50% 部位で測定した。腱横断面積は、アキレス腱踵骨付着部から近位 3cm および 5cm において撮影した超音波横断画像から測定した。筋厚および腱横断面積の計測には ImageJ (NIH, Bethesda, MD) を使用した。3 筋の筋厚の平均値および 2 ヶ所での腱横断面積の平均値が、その後の統計解析に使用された。筋厚測定については、研究 2 で示した通り高い再現性が認められた。また、腱横断面積の予備実験における test-retest 再現性は ($n=10$)、 $ICC_{(1,2)}$ が 0.944、変動係数が 2.5% であった。

4-2-5. 腱の血液循環

研究 2 と同様に、レーザー組織血液酸素モニター (BOM-L1TRSF; Omega wave, Tokyo, Japan) とプローブ (SF-DS; Omega wave, Tokyo, Japan) を用いてアキレス腱の血液循環 (血液量: THb、酸素飽和度: StO_2) を測定した。プローブはアキレス腱踵骨付着部から近位 3cm の位置で、伸縮性テープを用いて強固に固定された。測定中、被験者はベッド上で膝完全伸展位、足関節 0° で安静を維持した。少なくとも 20 分間のベッド上腹臥位での安静の後、10 分間のデータを取得し、その平均値が統計解析に使用された。

4-2-6. 腱コラーゲン線維配向

腱コラーゲン線維配向を評価するため、研究 2 と同様に、研究 1 で確立した腱超音波横断画像における輝度変動係数の計測を行った。腱超音波横断画像は、上述の腱横断面積の測定に用いた画像を使用した。統計解析には、2ヶ所（付着部から 3cm および 5cm 近位の位置）で撮影された画像から算出した値の平均値が用いられた。

4-2-7. 腱の力学的特性

被験者の姿勢および使用した筋力測定機器は、MVC の測定と同じ姿勢および測定機器であった。被験者は、安静状態から MVC まで 5 秒以内で到達するように徐々に力を増加させ、5 秒間で徐々に安静状態へ戻す等尺性収縮を実施した。十分な練習の後、少なくとも 2 試行を実施し、試行間には少なくとも 2 分間の休息を設けた。トルク信号は A/D 変換器（PowerLab/16SP, AD Instruments, Australia）を用いて 1000Hz でコンピュータに取り込まれた。

等尺性収縮中の外部腱と腱膜を含む腱組織の伸張量が測定された（Kubo et al., 2012）。下腿長の 30% 部位における腓腹筋内側頭（medial gastrocnemius, MG）の超音波縦断画像を撮影するため、超音波画像診断装置（SSD-4000, Aloka, Tokyo, Japan）および 80mm の計測長の 7.5MHz リニアプローブ（UST-5710, Aloka, Tokyo, Japan）を使用した。プローブのズレを防止するため、プローブは測定位置にて粘着テープを用いて固定された。筋収縮中の MG の超音波画像は 60Hz でビデオテープに記録され、タイマーを用いてトルク信号の記録と同期させた。安静状態から MVC までの MG の筋束と深部腱膜との交点の移動を腱組織の伸張量として計測した。交点の移動量は ImageJ（NIH, Bethesda, MD）を用い

て計測した。

等尺性収縮中であっても足関節が底屈するため、腱の伸張量には足関節の角度変化と筋収縮の両方が影響する (Magnusson et al., 2001)。そのため、足部の外側に貼付した電子角度計 (Penny and Giles, Biometrics Ltd, Gwent, UK) を用いて、等尺性収縮中の足関節の角度変化を計測した。腱組織の伸張量を修正するため、足関節中間位 (0°) から他動的に 9° 底屈させた際の筋束と深部腱膜との交点の移動量を計測した。その際の角度変化と交点の移動量との関係を線形回帰し、等尺性収縮中の足関節角度変化による交点の移動量を補正した。そのため、本研究における筋束と深部腱膜との交点の移動量は、足関節の角度変化に対してのみ修正された値とし (Magnusson et al., 2001)、その後の解析に使用された。

足関節底屈筋の等尺性収縮中に発揮されたトルク (TQ) から、以下の式によって MG の筋張力 (Fm) が推定された (Kubo et al., 2014)。

$$F_m = k \cdot TQ \cdot MA^{-1}$$

k は足関節底屈筋群における MG の生理学的横断面積の相対比である (Fukunaga et al., 1996)。MA は各被験者の下腿長から推定された足関節 90° での足関節底屈筋のモーメントアームである (Grieve et al., 1978)。先行研究に準じて、50%MVC 以上での筋張力と腱伸張量が線型回帰され、その線形回帰直線の傾きを腱スティッフネスとした (Kubo et al., 2014)。本研究における 2 試行間での腱スティッフネスの変動係数は 5.9%であった。

4-2-8. 統計解析

変数は平均値±標準偏差として記載された。MVC、筋厚、腱横断面積、血液循環、輝度

平均値、標準偏差、輝度変動係数、および力学的特性におけるトレーニング前後での比較には、頻度（週 3 回および週 6 回）と時間（トレーニング前およびトレーニング後）の 2 要因による 2 元配置反復測定分散分析および事後検定を用いた。分散分析に有意な主効果およびそれらの交互作用が認められた際、トレーニング前の値との有意差を検出するため Bonferroni 法による事後検定が実施された。また、腱張力伸張量関係におけるトレーニング前後での腱伸張量の比較には対応のある t 検定を用いた。すべての統計学的解析において、危険水準は 0.05 に設定した。

4-3. 結果

MVC は、トレーニング後に両条件で有意に増加したが（時間の効果 : $F = 8.347$, $df = 1.0$, $p = 0.018$ / 週 3 回 : $7.3\% \pm 7.7\%$ / 週 6 回 : $5.7\% \pm 7.9\%$ ）、条件間で差は認められなかった（頻度の効果 : $F = 0.053$, $df = 1.0$, $p = 0.824$; 交互作用 : $F = 0.229$, $df = 1.0$, $p = 0.644$ ）。筋厚は両条件で有意に増加した（時間の効果 : $F = 97.914$, $df = 1.0$, $p < 0.001$; 頻度の効果 : $F = 0.349$, $df = 1.0$, $p = 0.569$; 交互作用 : $F = 0.172$, $df = 1.0$, $p = 0.688$ / 週 3 回 : $3.0\% \pm 2.9\%$ / 週 6 回 : $3.4\% \pm 1.8\%$ ）（表 1）。一方で、腱横断面積は両条件ともにトレーニング前後で変化しなかった（頻度の効果 : $F = 0.002$, $df = 1.0$, $p = 0.964$; 時間の効果 : $F = 0.260$, $df = 1.0$, $p = 0.622$; 交互作用 : $F = 0.314$, $df = 1.0$, $p = 0.589$ ）（表 1）。

腱の血液量は伸張性トレーニング後に増加する傾向を示したが（時間の効果 : $F = 4.472$, $df = 1.0$, $p = 0.064$ ）、両条件間で差は認められなかった（頻度の効果 : $F = 0.702$, $df = 1.0$, $p = 0.424$; 交互作用 : $F = 0.875$, $df = 1.0$, $p = 0.374$ ）（図 17A）。一方で、腱の酸素飽和度は両条件ともに、トレーニング後に有意な変化はみられなかった（頻度の効果 : $F = 2.758$, df

= 1.0, $p = 0.131$; 時間の効果 : $F = 0.026$, $df = 1.0$, $p = 0.875$; 交互作用 : $F = 1.948$, $df = 1.0$, $p = 0.196$) (図 17B)。

12 週間の伸張性トレーニング後、輝度平均値および標準偏差は有意に増加し (輝度平均値 : $F = 29.718$, $df = 1.0$, $p < 0.001$ 、図 18A / 標準偏差 : $F = 6.552$, $df = 1.0$, $p = 0.031$ 、図 18B)、輝度変動係数は有意に減少した (輝度変動係数 : $F = 17.435$, $df = 1.0$, $p = 0.002$ 、図 18C)。しかしながら、すべてのパラメータにおいて両条件間で差は認められなかった (輝度平均値 頻度 : $F = 0.033$, $df = 1.0$, $p = 0.860$; 交互作用 : $F = 0.442$, $df = 1.0$, $p = 0.523$ / 標準偏差 頻度 : $F = 0.266$, $df = 1.0$, $p = 0.618$; 交互作用 : $F = 2.309$, $df = 1.0$, $p = 0.163$ / 輝度変動係数 頻度 : $F = 0.720$, $df = 1.0$, $p = 0.418$; 交互作用 : $F = 2.365$, $df = 1.0$, $p = 0.158$)。

週 3 回の伸張性トレーニングを実施した後には、トレーニング前と比較し腱の伸張量は有意に減少した (図 19A)。その一方で、週 6 回の伸張性トレーニングでは、どの張力レベルにおいてもトレーニング前後での腱伸張量に差は認められなかった (図 19B)。腱スティッフネスは、実施頻度に関わらずトレーニング前後での変化が認められなかった (頻度 : $F = 0.134$, $df = 1.0$, $p = 0.723$; 時間 : $F = 1.769$, $df = 1.0$, $p = 0.216$; 交互作用 : $F = 0.474$, $df = 1.0$, $p = 0.509$) (表 1)。

4-4. 考察

本研究では、低負荷・高回数での伸張性トレーニングにより、実施頻度に関わらず腱の血液量が増加する傾向がみられた (図 17A)。一方で、最近の研究より (Kubo and Yata, 2017)、

12 週間の高負荷・低回数（80%1RM・10 回×5 セット）での伸張性トレーニングでは、腱の血液量に変化がみられなかったことが示されている。したがって、トレーニングにより腱の血液量を増加させるためには、高負荷・低回数プロトコルよりも Alfredson プロトコルのような低負荷・高回数プロトコルの方が望ましいと言える。さらに、新生血管の増殖が時間依存性に生じることから（Wang et al., 2003）、我々は実施頻度の少ないプロトコルにおける血液循環の増加が著しいと仮説を立てた。しかしながら、この仮説は棄却された。したがって、低負荷・高回数での伸張性トレーニングによる腱血液循環の変化には実施頻度の違いは影響しないことが明らかとなった。

我々は本研究と同様の伸張性収縮プロトコルの実施による一過性効果として、運動後 40 分間に渡って輝度変動係数が有意に低下することを報告している（Ishigaki et al., 2018）。本研究結果は、反復した伸張性収縮の一過性の効果として認められた腱コラーゲン線維再配向が蓄積されたものと考えられる。このような腱コラーゲン線維配向の変化が、腱炎に対する伸張性トレーニングの治療効果に関連しているのかもしれない。しかしながら、アキレス腱炎患者に対する伸張性トレーニングの効果を検討した研究において、症状が改善したとしても、腱構造（コラーゲン密度およびコラーゲン線維配向）は改善しなかった（de Vos et al., 2012）。本研究とこれら先行研究との結果の不一致の原因として、被験者（本研究：健常若年者、de Vos et al. (2012)：腱炎患者）および測定方法（本研究：輝度変動係数、de Vos et al. (2012)：ultrasonographic tissue characterization (UTC) 法）の相違が挙げられる。先行研究で用いられた UTC 法は、腱超音波画像の輝度を相対的に 4 段階に段階付けることで腱構造を半定量的に評価する方法である。UTC 法の結果にはコラーゲン

線維と超音波ビームとのわずかな傾きは結果に影響しないと考えられる (van Schie et al., 2010)。一方で、本研究で用いた輝度変動係数の測定は、超音波ビームと腱コラーゲン線維との傾きによる輝度の変化に基づいて腱コラーゲン線維配向を定量化する方法である (Ishigaki et al., 2016)。それゆえ、本研究結果は 12 週間の伸張性トレーニングによるわずかな腱コラーゲン線維の再配向を捉えた結果であると考えられる。いずれにしても、今後は腱炎患者に対する伸張性トレーニングの治療効果と腱コラーゲン線維配向の変化との関連を明らかにしていく必要があるだろう。

腱の張力伸張量関係において、週 6 回の伸張性トレーニングでは腱伸張量に変化は認められなかったが、週 3 回の頻度での伸張性トレーニング後には腱伸張量が有意に短くなった (図 19)。トレーニング前後での各被験者の腱伸張量 (3 種の発揮筋力レベルにおける腱伸張量) における変化量をみると (図 20)、週 3 回実施した場合には、ほぼ全被験者で伸張量が低下した。一方、週 6 回実施した場合には腱伸張量の変化に個人差が多く認められた。この結果には、腱の疲労回復に要する時間における個人差が影響しているのかもしれない。したがって、低負荷・高回数の伸張性トレーニングでは、疲労からの回復を考慮した週 3 回の実施であれば、腱の伸展性を低下させることが示唆される。

しかしながら、両条件ともにトレーニング前後での腱スティッフネスの変化は認められなかった。ここ 15 年間で、ヒト生体の腱の力学的特性に及ぼす筋力トレーニングの影響に関する報告は増加しているが (e.g., Burgess et al., 2007; Kubo et al., 2012)、伸張性トレーニングによる腱スティッフネスの変化を調べた研究は非常に少ない (Duclay et al., 2009; Foure et al., 2013; Kubo and Yata, 2017; Mahieu et al., 2008; Malliaras et al., 2013)。こ

これらの報告によると、他の収縮様式に比べて伸張性トレーニングによる腱スティッフネスの増加は低い傾向にあり、本研究の結果はそれらと一致したと言える。Verrallらは、アキレス腱炎における腱の伸展性の増加は、腱が伸張される際に加えられた力に抵抗する能力を高めると述べた (Verrall et al., 2017)。逆に、腱の伸展性が損なわれると、運動中の筋腱複合体に課せられる負荷を干渉する機能が低下することで、筋腱障害の危険性が高まるかもしれない。そのため、伸張性トレーニングによって腱スティッフネスが変化しない理由は不明であるが、腱スティッフネスを著しく高めないことが腱炎の治療に関係している可能性がある。

当初我々は、回復期間を設けた週 3 回実施する伸張性トレーニングの方が、週 6 回実施するよりも各測定データの変化が顕著であると仮説を立てた。しかしながら、各測定データにおける実施頻度の影響は認められなかった。Frohm らの腱炎患者を対象とした研究では、週 2 回の伸張性収縮運動であっても、その治療効果は毎日実施した際の治療効果と同程度であることが報告された (Frohm et al., 2007)。一方で、これまで良好な臨床成績を報告した多くの研究は、伸張性収縮運動を毎日実施している (e.g. Alfredson et al., 1998)。今回の結果を考慮すると、腱炎の治療を目的とした伸張性トレーニングでは、週 3 回の実施頻度であっても、その治療効果は十分であると言えるかもしれない。これは週 6 回実施するより患者への負担を少なくできる可能性がある。

4-5. まとめ

本研究結果より、低負荷・高回数反復する伸張性トレーニングを 12 週間実施することに

より、腱の血液量は増加し、腱コラーゲン線維は再配向し、腱スティッフネスには変化はみられないことが明らかになった。これらの結果が、多くの先行研究で認められている伸張性トレーニングによる腱炎の治療メカニズムと関連するのかもしれない。さらに、本研究では週あたりのトレーニング実施頻度は、腱の血液量、コラーゲン線維配向、およびスティッフネスの変化に影響を与えず、週に 3 回の頻度でも十分にトレーニング効果が得られる可能性が示唆された。今後は、腱炎患者を対象に本研究と同様のプロトコルで実施する伸張性トレーニングの治療効果を検討する必要があるだろう。

表1 筋および腱の形態的、力学的特性
 週3回
 週6回
 平均値±SD

	週3回		週6回	
	介入前	介入後	介入前	介入後
MVC (Nm)	114.9 ± 17.9	122.7 ± 16.9 *	114.8 ± 19.6	121.1 ± 19.9 *
筋厚 (mm)	18.7 ± 2.7	19.3 ± 2.6 ***	19.0 ± 2.0	19.6 ± 2.2 ***
腱横断面積 (mm ²)	52.7 ± 10.0	51.6 ± 9.4	52.0 ± 12.4	52.1 ± 9.3
腱最大伸張量 (mm)	20.1 ± 2.2	20.1 ± 2.2	20.8 ± 2.2	21.7 ± 2.6
腱ステップネス(N・mm ⁻¹)	28.6 ± 7.1	29.0 ± 5.9	26.5 ± 8.1	29.6 ± 8.4

: 介入前と比較して有意差あり (:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001,)

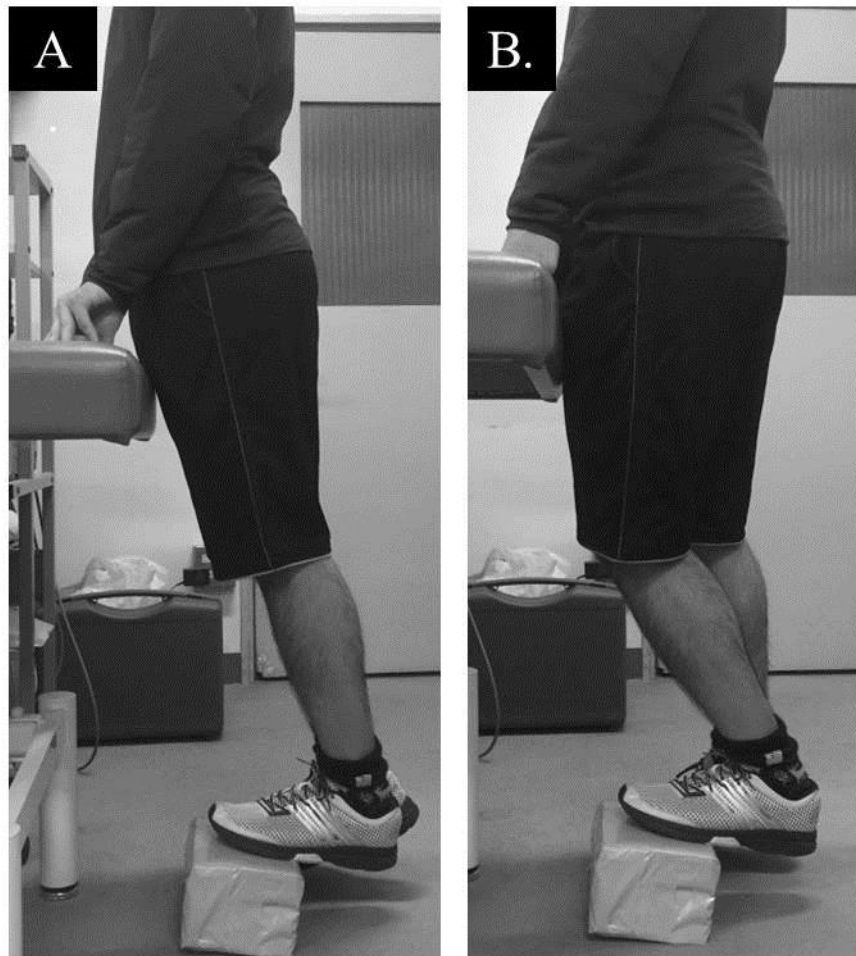


図 16 自宅における膝伸展位 (A) および膝軽度屈曲位 (B) での下腿三頭筋伸張性収縮運動

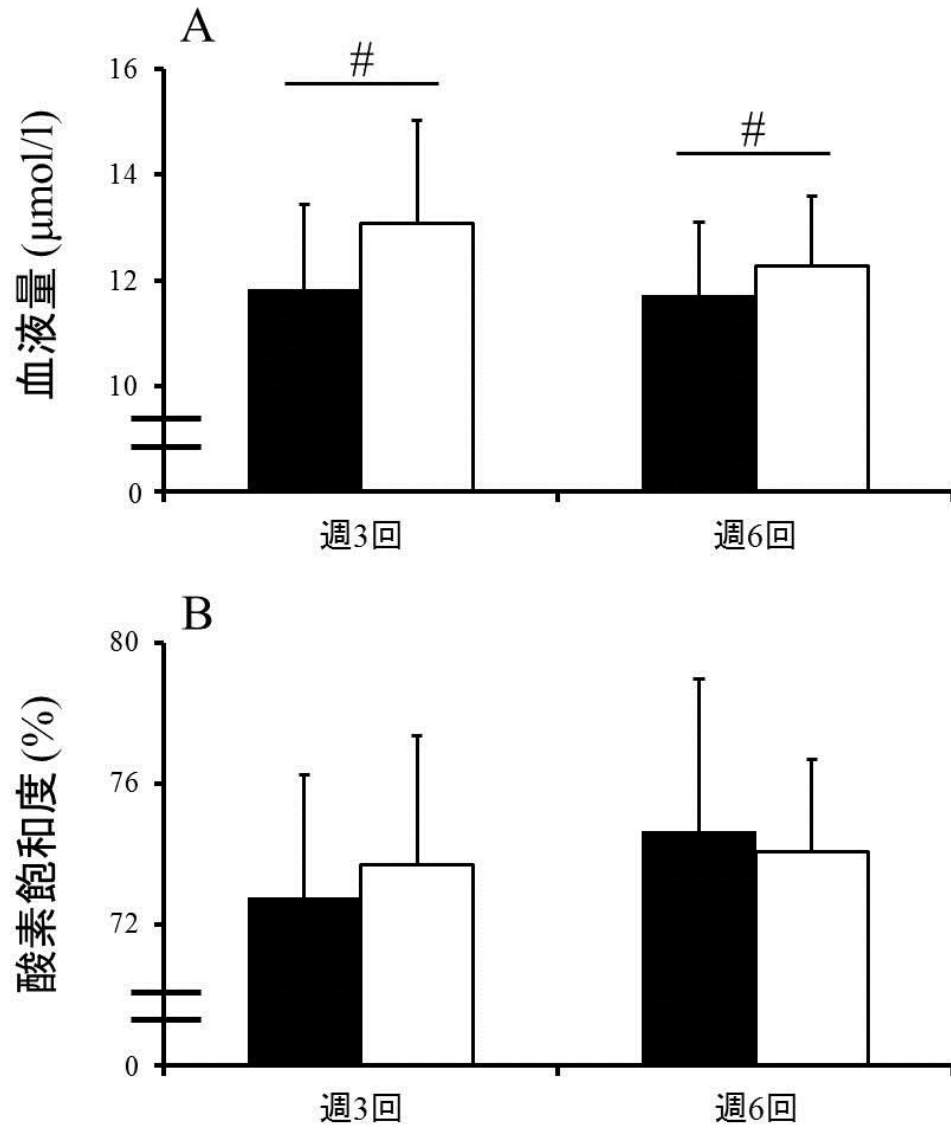


図 17 トレーニング前 (■) およびトレーニング後 (□) での腓の血液量 (A) および酸素飽和度 (B)

: トレーニング前と比較して有意傾向の差あり ($p < 0.1$)

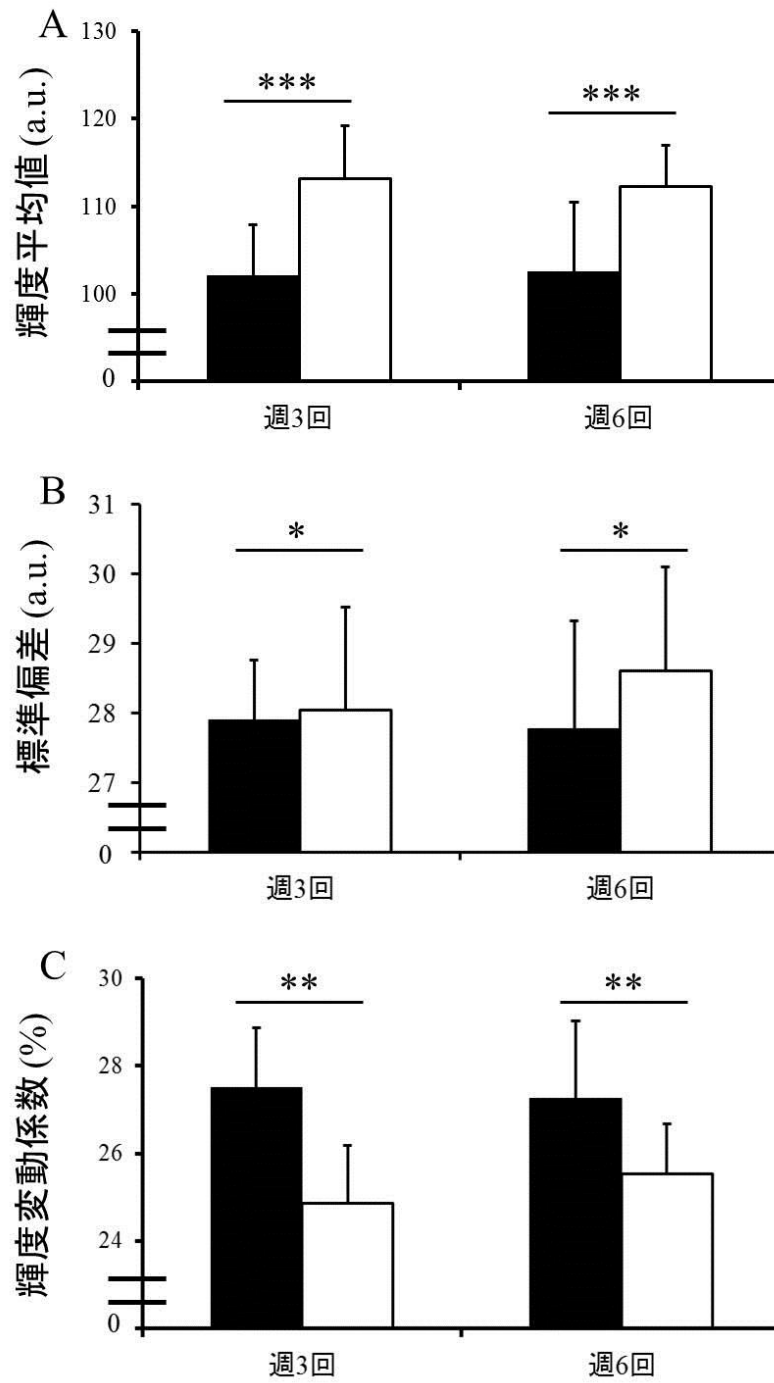


図 18 トレーニング前 (■) およびトレーニング後 (□) での輝度平均値 (A)、標準偏差

(B) および輝度変動係数 (C)

* : トレーニング前と比較して有意差あり

* : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ 、*** : $p < 0.001$

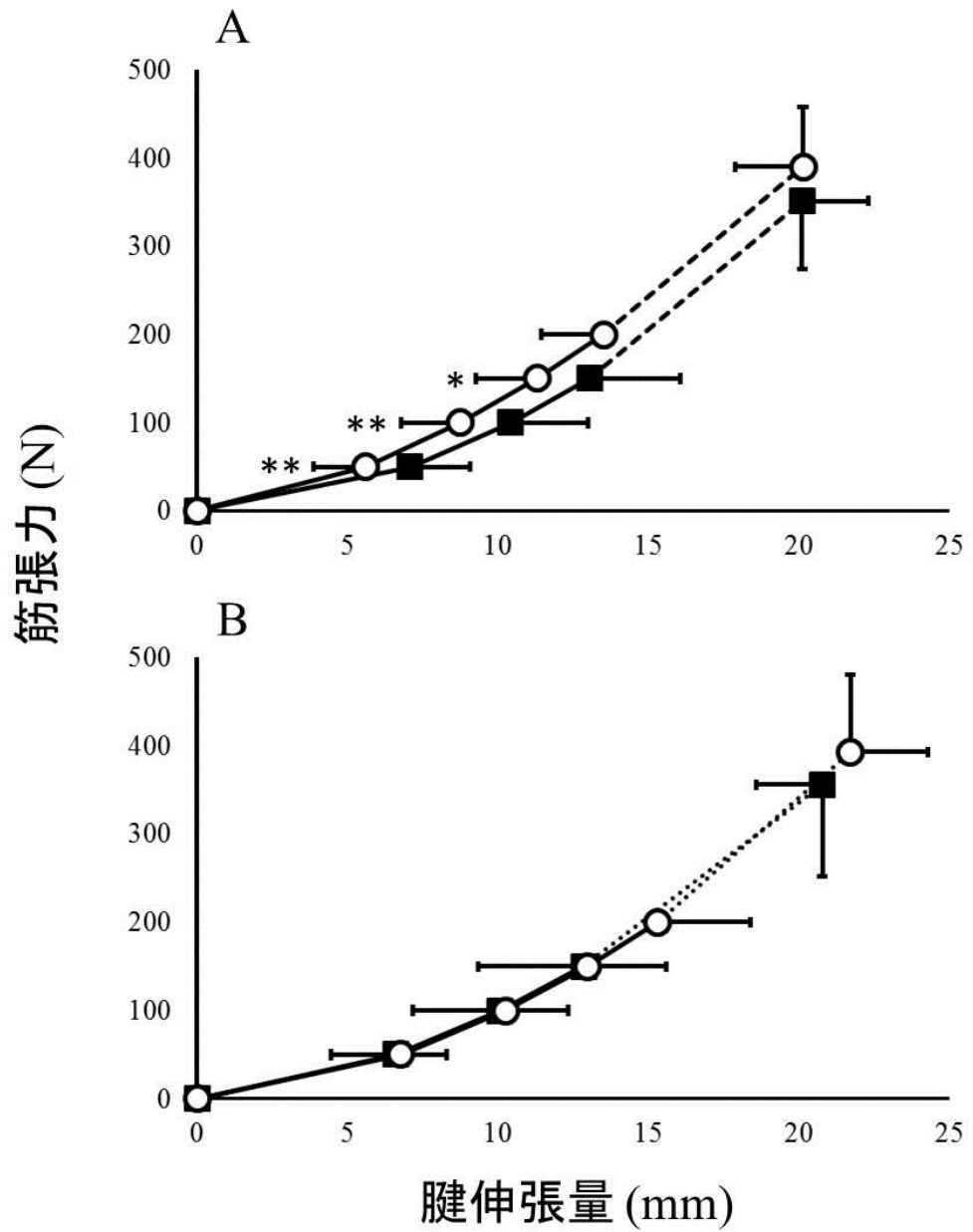


図 19 トレーニング前 (■) およびトレーニング後 (○) での張力伸張量関係

A : 週 3 回実施、B : 週 6 回実施

* : トレーニング前と比較して有意差あり

* : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$

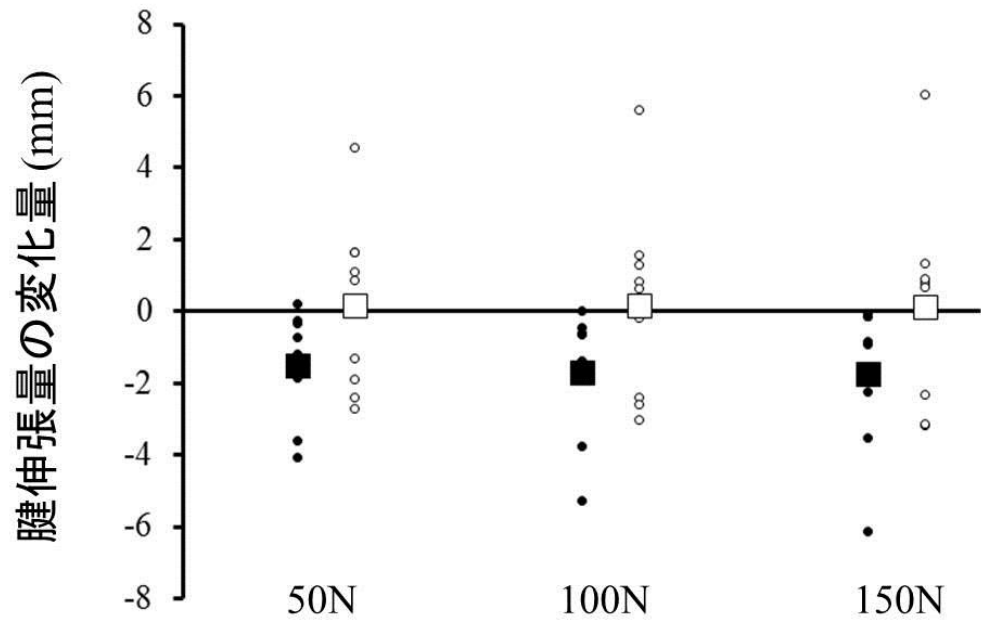


図 20 トレーニング前後での腱伸張量の変化量

● : 週 3 回実施した場合の個人値、○ : 週 6 回実施した場合の個人値

■ : 週 3 回実施した場合の平均値、□ : 週 6 回実施した場合の平均値

第5章

総括論議

5-1. 腱炎に対する伸張性収縮運動の治療メカニズム

いくつかの先行研究により腱炎患者の腱は健常腱に比べて血液循環、コラーゲン線維配向、および力学的特性が異なることが報告されていることから (Arya and Kulig, 2010; Khan et al., 1999; Ohberg and Alfredson, 2004)、良好な治療成績が報告されてきた伸張性収縮運動によってこれらの腱特性に変化が生じると考えられた。研究 2 の結果から、反復した伸張性収縮は一過性に腱の血液循環を増加させ、コラーゲン線維を再配向させる可能性が認められた。さらに、研究 3 の結果から 12 週間の伸張性トレーニングにより腱の血液量は増加し、コラーゲン線維は再配向することが示唆されたが、腱スティッフネスには有意な変化はみられなかった。したがって、伸張性トレーニングが腱スティッフネスを変化させることなく、腱の血液量を増加させ、コラーゲン線維を再配向させることが腱炎の治療メカニズムと関連すると考えられる。

一過性および慢性の効果として伸張性収縮運動によって腱コラーゲン線維配向が変化することを示唆した研究は、本博士論文の研究 2 および 3 が初めてである。本博士論文では、これまで困難であったヒト生体での腱コラーゲン線維配向を超音波輝度変動係数の測定から推定する方法を確立したことで (研究 1)、伸張性収縮運動が腱コラーゲン線維配向に及

ぼす影響をヒト生体で明らかにすることを試みた。腱コラーゲン線維配向は腱の力学的強度と関連する (Connizzo et al., 2013)。さらに、腱炎の組織学的研究において腱コラーゲン線維配向の乱れが生じることや (Khan et al., 1999)、腱炎患者を対象とした臨床研究において超音波画像や磁気共鳴画像における腱実質部の質的な変化を示す輝度や信号強度の変化が報告されてきた (Docking et al., 2015a; Shalabi et al., 2004)。これらのことから、リハビリテーションとして有効とされる伸張性収縮運動による腱コラーゲン線維の再配向といった質的な変化は、重要な変化であると考えられる。伸張性収縮運動の慢性効果として腱コラーゲン線維が再配向したことは、反復した伸張性収縮後に腱コラーゲン線維が再配向する一過性効果が蓄積された結果であると思われる。Teramotoらは動物実験において、腱コラーゲン線維が再配向することで腱の破断強度が増加することを報告した (Teramoto and Luo, 2008)。それゆえ、伸張性収縮運動による腱コラーゲン線維の再配向は、腱の強度を高めることによって日常的な反復する負荷による腱炎の進行や治癒過程の破綻を防ぐことで、腱炎の治療に貢献していると考えられる。

一過性効果として、反復した伸張性収縮は腱の血液量および酸素飽和度を増加させ (研究 2)、さらに慢性効果として、12 週間の低負荷・高回数プロトコルでの伸張性トレーニングは腱の血液量を増加させることが明らかとなった (研究 3)。アキレス腱炎の好発部位である腱中央部は血管分布に乏しいことが広く知られており (Carr and Norris, 1989; Zantop et al., 2003)、この血流の乏しさが腱障害の危険因子と考えられてきた。一方で、腱における血液循環は損傷した腱組織の治癒に不可欠である (Peacock, 1959)。安静にした場合よりも伸張性収縮運動を行った方が良好な腱炎の治療成績が得られることに加え (Rompe et al.,

2007)、運動後の血液循環の増加は生理学的な応答であることから、腱の血液循環の増加は腱炎の治療に有益であると推察される (Magnusson et al., 2010)。それゆえ、伸張性トレーニング後にみられた腱の血液量の増加が、これまで多くの研究において低負荷・高回数プロトコルでの伸張性収縮運動により良好な治療成績が得られた要因であると思われる。

低負荷・高回数での 12 週間に渡る伸張性トレーニングは、腱スティッフネスを変化させなかった (研究 3)。この結果は、伸張性トレーニングが著しく腱スティッフネスを変化させないという先行研究の結果と一致した (Foure et al., 2013; Kubo and Yata, 2017; Malliaras et al., 2013)。伸張性収縮が腱スティッフネスを著しく変化させない理由は明らかではないが、静的ストレッチ直後に腱スティッフネスが約 10%低下したという報告があることから (Kubo et al., 2002b)、伸張性収縮運動が筋収縮しつつストレッチされる運動であることが影響しているかもしれない。Verrall らは、腱の伸展性の増加は腱が伸張される際に加えられる力への抵抗力を高める可能性があると述べている (Verrall et al., 2017)。その理由として彼らは、弾性域での腱の張力伸張量関係がフックの法則 ($F=E \times CSA \times \Delta L/L$ 、 F : 応力、 E : 弾性率、 CSA : 横断面積、 ΔL : 腱伸張量、 L : 初期腱長) に従うことを挙げ、腱スティッフネスの増加および腱伸展性 (伸張量) の増加は負荷への抵抗力を高めると述べている。等尺性トレーニングや短縮性収縮と伸張性収縮の両方を含む動的トレーニングでは、腱スティッフネスの増加と同時に腱伸張量が短くなった (Arampatzis et al., 2010; Kubo et al., 2009b; 2017; Seynnes et al., 2009)。そのため、腱の伸展性を低下させるトレーニングでは伸張負荷に対する腱の抵抗力を低下させるかもしれない。また、伸張性収縮のように筋が収縮しつつ筋線維が伸張される際には、腱の伸展性は緩衝作用として

機能することから (Griffiths, 1991)、腱の伸展性が維持されることは筋腱複合体に加わる負荷の緩衝能を維持するためにも有効であると思われる。それゆえ、伸張性トレーニングが腱スティッフネスを著しく変化させないことは、腱の負荷に対する抵抗力や衝撃緩衝能を維持することで、腱炎の治療に悪影響を与えないと推察される。

本研究結果は健常者を対象として得られた結果であった。実際の腱炎患者においても同様の結果が得られるかは本研究結果からは不明である。そのため、今後はアキレス腱炎患者を対象として伸張性収縮運動が腱特性に与える影響を検討する必要がある。また本研究結果から、健常者であっても伸張性収縮運動により腱の血液量が増加し、コラーゲン線維は再配向することが明らかとなった。これは伸張性収縮運動が腱炎の予防に貢献する可能性を示唆する。今後は伸張性収縮運動による腱炎の予防効果についても検討する。

5-2. 適切な伸張性収縮運動プロトコル

5-2-1. 適切な負荷および回数 (表 2)

これまで臨床で行われてきた伸張性収縮運動では、負荷や回数、頻度といったプロトコルに関する科学的根拠は述べられてこなかった。腱組織の治癒に重要と考えられる腱の血液循環は、高負荷 (最大等速性収縮) で低回数 (10 回×5 セット=計 50 回) 実施する反復した伸張性収縮後、一過性に増加した (Kubo, 2015)。しかしながら、慢性効果としては、高負荷 (80%1RM) で低回数 (10 回×5 セット=計 50 回) 実施する伸張性トレーニング後の腱の血液量は増加する傾向すら示さなかった (Kubo and Yata, 2017)。腱炎の良好な治療成績を報告した多くの先行研究では、低負荷で高回数実施する伸張性収縮運動プロトコ

ルが採用されていることから、低負荷・高回数プロトコルの方が高負荷・低回数プロトコルよりも腱の血液循環やコラーゲン線維配向を顕著に変化させるという仮説を立てた。しかしながら、研究 2 において低負荷・高回数プロトコルと高負荷・低回数プロトコルとの間で腱の血液循環およびコラーゲン線維配向の変化に差はみられなかった。腱への過負荷は腱障害を進行させると考えられている (Rees et al., 2009)。さらに、低負荷・高回数プロトコルでの伸張性トレーニングの慢性効果を検討した研究 3 において、腱の血液量が増加したことから、安全でより効果的であるという点から低負荷で高回数行う伸張性収縮運動が腱炎のリハビリテーションとして適切であると思われる。

表2 低負荷・高回数プロトコルおよび高負荷・低回数プロトコルによる腱特性の変化

一過性効果	低負荷・高回数	高負荷・低回数
腱血液量	増加 (研究2)	増加 (研究2)
腱コラーゲン線維配向	再配向 (研究2)	再配向 (研究2)
慢性効果	低負荷・高回数	高負荷・低回数
腱血液量	増加 (研究3)	変化なし (Kubo & Yata, 2017)
力学的特性	変化なし (研究3)	変化なし (Kubo & Yata, 2017)

5-2-2. 適切な実施頻度（表 3）

これまで、腱コラーゲン合成が運動後 72 時間経過しても高まっていることや (Langberg et al., 1999b; Miller et al., 2005)、腱炎の治療に有効とされる体外衝撃波後の血管新生には時間を要したこと (Wang et al., 2003) が報告されてきた。さらに、多くの先行研究が伸張性収縮運動を毎日実施することによる良好な治療成績を報告したのに対し (e.g., Alfredson et al., 1998)、Frohm らは週 2 回の実施頻度での伸張性トレーニングであっても良好な治療成績が得られたことを報告した (Frohm et al., 2007)。これらの先行研究から、高頻度 (週 6 回) で実施するよりも回復期間を設けるために実施頻度を減らした方 (週 3 回実施) が伸張性トレーニング後の腱の血液循環、コラーゲン線維配向および力学的特性をより顕著に変化させることが予想された。しかしながら、研究 3 の結果として、12 週間のトレーニングによる腱特性 (血液循環、コラーゲン線維配向、力学的特性) の変化における実施頻度の違いによる差は認められなかった。これは、伸張性トレーニングが腱特性に与える影響を導くためには週 3 回の頻度で十分であることを示す。そのため、週 3 回の頻度で実施する伸張性トレーニングであっても腱炎の治療効果が得られるかもしれない。これには患者への負担軽減や治療の効率化という利点がある。さらに、Mahieu らは足関節底屈筋の筋力低下がアキレス腱炎の危険因子であることを明らかにした (Mahieu et al., 2006)。高頻度の筋力トレーニングでは十分なトレーニング効果が得られ難いことから (Coffey et al., 2007)、週 3 回もしくは 4 回の頻度での筋力トレーニングが推奨されている (American College of Sports, 2009)。筋力強化という観点からも週 3 回の実施頻度での伸張性トレーニングが推奨されるだろう。

表3 低頻度プロトコルおよび高頻度プロトコルによる腱特性の変化 (研究3)

慢性効果	低頻度 (週3回)	高頻度 (週3回)
腱血液量	増加	増加
腱コラーゲン線維配向	再配向	再配向
力学的特性	変化なし	変化なし

5-3. 今後の展望

研究 1 において、腱超音波横断画像における輝度変動係数の計測により腱コラーゲン線維配向が定量化できる可能性が示唆された。超音波画像の空間分解能が約 0.2mm であることから、輝度変動係数はコラーゲン線維束レベルでの線維配向を捉えた結果であると考えられる。しかしながら、その妥当性を検討することはできなかった。そのため、磁気共鳴画像診断装置を用いた拡散テンソル画像法や組織学的手法によるコラーゲン線維配向の評価により妥当性を検討するとともに、輝度変動係数にて定量可能なコラーゲン階層構造レベルを同定する研究が求められる。

本博士論文において、低負荷・高回数且つ週 3 回の頻度での伸張性トレーニングによって腱特性は変化した（腱の血液量の増加およびコラーゲン線維の再配向）。このことから、安全で効果的、効率的であるという点から低負荷・高回数で週 3 回実施することが伸張性トレーニングの適切なプロトコルであると考えられる。しかしながら、先にも述べたように、本研究結果は健常者を対象として得られたものであり、今後は腱炎患者に対する新たなプロトコルの実施による治療効果を評価する必要がある。さらに、伸張性収縮運動による腱炎患者における腱の血液循環、コラーゲン線維配向および力学的特性の変化と治療効果との関連性を検討するとともに、治療効果に対して腱炎患者の現病歴、競技歴、および重症度が与える影響を検討することで新たなプロトコルの適用を調べる必要がある。また、長距離走といったアキレス腱炎の罹患率の高い競技種目を行っている健常選手を対象として、伸張性収縮運動によるアキレス腱炎の予防効果を検証することも今後の課題である。

また、腱炎の治療に有効とされる伸張性収縮運動により腱の血液循環の増加およびコラ

ーゲン線維の再配向が生じることが示唆されたことから、これらの要素をより変化させる介入を伸張性収縮運動に加えることで、伸張性収縮運動が腱特性に及ぼす効果をより高められる可能性がある。例えば、Kubo らは温熱療法や鍼治療後にアキレス腱の血液循環が増加することを報告した (Kubo et al., 2010b)。また、Chang らは超音波療法や振動マッサージ後にアキレス腱の血液循環の増加を認めた (Chang et al., 2015)。伸張性収縮運動にこれらの物理療法を加えることで、腱の血液循環をより増加させることができるかもしれない。また静的ストレッチトレーニングは腱スティッフネスを変化させないが (Kubo et al., 2002a)、研究 1 より腱コラーゲン線維は他動的足関節背屈 (静的ストレッチ) で再配向することが明らかとなった。実際、Norregaard らはストレッチトレーニングが腱炎の症状を改善させたことを報告している (Norregaard et al., 2007)。それゆえ、伸張性収縮運動に温熱療法や超音波療法などの物理療法や静的ストレッチを加えることによる腱特性の変化を検討することは、より効果的な伸張性収縮運動プロトコルの提案に繋がると考えられる。

第 6 章

結語

本博士論文では、腱炎のリハビリテーションとして有効とされる伸張性収縮運動が腱特性に及ぼす影響を明らかにするとともに、適切な伸張性収縮運動プロトコルについて検討した。研究 1 では、これまで困難であったヒト生体での腱コラーゲン線維配向の定量方法を確立した。研究 2 および 3 では新たに確立した手法の応用研究を実施した。研究 2 では、負荷の異なる反復した伸張性収縮が腱の血液循環およびコラーゲン線維配向に及ぼす一過性の効果を検討した。研究 3 では、実施頻度の異なる伸張性トレーニングが腱の血液循環、コラーゲン線維配向、および力学的特性に及ぼす影響を検討した。

以上の検討課題より得られた結果から、腱スティッフネスを変化させることなく腱の血液循環を増加させ、腱コラーゲン線維を再配向させることが、伸張性収縮運動の腱特性に及ぼす効果であることが示された。これらの変化が腱炎の治療メカニズムと関連する可能性がある。またプロトコルとしては、低負荷・高回数且つ週 3 回の頻度で実施することにより十分な伸張性トレーニングの効果が得られることが示された。本研究は、伸張性収縮運動による腱炎の治療メカニズムの解明や適切なプロトコル決定に関する示唆を与えるだけでなく、効果的な腱炎の予防方法やリハビリテーション方法の開発に向けた情報を提供する。

引用文献

< A >

- 1) Ahmed, I.M., Lagopoulos, M., McConnell, P., Soames, R.W., Sefton, G.K., 1998. Blood Supply of the Achilles Tendon. *J Orthop Res* 16, 591-596.
- 2) Alfredson, H., Cook, J., 2007. A Treatment Algorithm for Managing Achilles Tendinopathy: New Treatment Options. *Br J Sports Med* 41, 211-216.
- 3) Alfredson, H., Lorentzon, R., 2000. Chronic Achilles Tendinosis: Recommendations for Treatment and Prevention. *Sports Med* 29, 135-146.
- 4) Alfredson, H., Pietila, T., Jonsson, P., Lorentzon, R., 1998. Heavy-Load Eccentric Calf Muscle Training for the Treatment of Chronic Achilles Tendinosis. *Am J Sports Med* 26, 360-366.
- 5) American College of Sports, M., 2009. American College of Sports Medicine Position Stand. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults. *Med Sci Sports Exerc* 41, 687-708.
- 6) Ansonge, H.L., Adams, S., Birk, D.E., Soslowsky, L.J., 2011. Mechanical, Compositional, and Structural Properties of the Post-Natal Mouse Achilles Tendon. *Ann Biomed Eng* 39, 1904-1913.
- 7) Arampatzis, A., Karamanidis, K., Albracht, K., 2007a. Adaptational Responses of the Human Achilles Tendon by Modulation of the Applied Cyclic Strain Magnitude. *J Exp Biol* 210, 2743-2753.
- 8) Arampatzis, A., Karamanidis, K., Morey-Klapsing, G., De Monte, G., Stafilidis, S., 2007b. Mechanical Properties of the Triceps Surae Tendon and Aponeurosis in Relation to Intensity of Sport Activity. *J Biomech* 40, 1946-1952.

- 9) Arampatzis, A., Peper, A., Bierbaum, S., Albracht, K., 2010. Plasticity of Human Achilles Tendon Mechanical and Morphological Properties in Response to Cyclic Strain. *J Biomech* 43, 3073-3079.
- 10) Arya, S., Kulig, K., 2010. Tendinopathy Alters Mechanical and Material Properties of the Achilles Tendon. *J Appl Physiol* 108, 670-675.
- 11) Astrom, M., Rausing, A., 1995. Chronic Achilles Tendinopathy. A Survey of Surgical and Histopathologic Findings. *Clin Orthop Relat Res* 316, 151-164.
- 12) Astrom, M., Westlin, N., 1994a. Blood Flow in Chronic Achilles Tendinopathy. *Clin Orthop Relat Res*, 166-172.
- 13) Astrom, M., Westlin, N., 1994b. Blood Flow in the Human Achilles Tendon Assessed by Laser Doppler Flowmetry. *J Orthop Res* 12, 246-252.

< B >

- 14) Benedict, J.V., Walker, L.B., Harris, E.H., 1968. Stress-Strain Characteristics and Tensile Strength of Unembalmed Human Tendon. *J Biomech* 1, 53-63.
- 15) Bennett, M., Ker, R., Imery, N.J., Alexander, R., 1986. Mechanical Properties of Various Mammalian Tendons. *Journal of Zoology* 209, 537-548.
- 16) Bleakney, R.R., White, L.M., 2005. Imaging of the Achilles Tendon. *Foot Ankle Clin* 10, 239-254.
- 17) Boesen, M.I., Boesen, A., Koenig, M.J., Bliddal, H., Torp-Pedersen, S., 2006a. Ultrasonographic Investigation of the Achilles Tendon in Elite Badminton Players Using Color Doppler. *Am J Sports*

Med 34, 2013-2021.

18) Boesen, M.I., Koenig, M.J., Torp-Pedersen, S., Bliddal, H., Langberg, H., 2006b. Tendinopathy and Doppler Activity: The Vascular Response of the Achilles Tendon to Exercise. *Scand J Med Sci Sports* 16, 463-469.

19) Buchanan, C.I., Marsh, R.L., 2001. Effects of Long-Term Exercise on the Biomechanical Properties of the Achilles Tendon of Guinea Fowl. *J Appl Physiol* 90, 164-171.

20) Burgess, K.E., Connick, M.J., Graham-Smith, P., Pearson, S.J., 2007. Plyometric Vs. Isometric Training Influences on Tendon Properties and Muscle Output. *J Strength Cond Res* 21, 986-989.

21) Butler, D.L., Grood, E.S., Noyes, F.R., Zernicke, R.F., Brackett, K., 1984. Effects of Structure and Strain Measurement Technique on the Material Properties of Young Human Tendons and Fascia. *Journal of biomechanics* 17, 579-596.

< C >

22) Campbell, P., Lawton, J.O., 1993. Spontaneous Rupture of the Achilles Tendon: Pathology and Management. *Br J Hosp Med* 50, 321-325.

23) Carr, A.J., Norris, S.H., 1989. The Blood Supply of the Calcaneal Tendon. *J Bone Joint Surg Br* 71, 100-101.

24) Chamberlain, C.S., Duenwald-Kuehl, S.E., Okotie, G., Brounts, S.H., Baer, G.S., Vanderby, R., 2013. Temporal Healing in Rat Achilles Tendon: Ultrasound Correlations. *Ann Biomed Eng* 41, 477-487.

25) Chang, Y.P., Chiang, H., Shih, K.S., Ma, H.L., Lin, L.C., Hsu, W.L., Huang, Y.C., Wang, H.K.,

2015. Effects of Therapeutic Physical Agents on Achilles Tendon Microcirculation. *J Orthop Sports Phys Ther* 45, 563-569.
- 26) Child, S., Bryant, A.L., Clark, R.A., Crossley, K.M., 2010. Mechanical Properties of the Achilles Tendon Aponeurosis Are Altered in Athletes with Achilles Tendinopathy. *Am J Sports Med* 38, 1885-1893.
- 27) Coffey, V.G., Reeder, D.W., Lancaster, G.I., Yeo, W.K., Febbraio, M.A., Yaspelkis, B.B., 3rd, Hawley, J.A., 2007. Effect of High-Frequency Resistance Exercise on Adaptive Responses in Skeletal Muscle. *Med Sci Sports Exerc* 39, 2135-2144.
- 28) Collinger, J.L., Fullerton, B., Impink, B.G., Koontz, A.M., Boninger, M.L., 2010. Validation of Grayscale-Based Quantitative Ultrasound in Manual Wheelchair Users: Relationship to Established Clinical Measures of Shoulder Pathology. *Am J Phys Med Rehabil* 89, 390-400.
- 29) Connizzo, B.K., Bhatt, P.R., Liechty, K.W., Soslowsky, L.J., 2014. Diabetes Alters Mechanical Properties and Collagen Fiber Re-Alignment in Multiple Mouse Tendons. *Ann Biomed Eng* 42, 1880-1888.
- 30) Connizzo, B.K., Yannascoli, S.M., Soslowsky, L.J., 2013. Structure-Function Relationships of Postnatal Tendon Development: A Parallel to Healing. *Matrix Biol* 32, 106-116.
- 31) Crass, J.R., van de Vegte, G.L., Harkavy, L.A., 1988. Tendon Echogenicity: Ex Vivo Study. *Radiology* 167, 499-501.

< D >

- 32) de Jonge, S., Tol, J.L., Weir, A., Waarsing, J.H., Verhaar, J.A., de Vos, R.J., 2015. The Tendon

- Structure Returns to Asymptomatic Values in Nonoperatively Treated Achilles Tendinopathy but Is Not Associated with Symptoms: A Prospective Study. *Am J Sports Med* 43, 2950-2958.
- 33) de Jonge, S., van den Berg, C., de Vos, R.J., van der Heide, H.J., Weir, A., Verhaar, J.A., Bierma-Zeinstra, S.M., Tol, J.L., 2011. Incidence of Midportion Achilles Tendinopathy in the General Population. *Br J Sports Med* 45, 1026-1028.
- 34) De Jonge, S., Warnars, J.L., De Vos, R.J., Weir, A., van Schie, H.T., Bierma-Zeinstra, S.M., Verhaar, J.A., Tol, J.L., 2014. Relationship between Neovascularization and Clinical Severity in Achilles Tendinopathy in 556 Paired Measurements. *Scand J Med Sci Sports* 24, 773-778.
- 35) de Vos, R.J., Heijboer, M.P., Weinans, H., Verhaar, J.A., van Schie, J.T., 2012. Tendon Structure's Lack of Relation to Clinical Outcome after Eccentric Exercises in Chronic Midportion Achilles Tendinopathy. *J Sport Rehabil* 21, 34-43.
- 36) Diamant, J., Keller, A., Baer, E., Litt, M., Arridge, R.G., 1972. Collagen; Ultrastructure and Its Relation to Mechanical Properties as a Function of Ageing. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 180, 293-315.
- 37) Docking, S.I., Cook, J., 2016. Pathological Tendons Maintain Sufficient Aligned Fibrillar Structure on Ultrasound Tissue Characterization (Utc). *Scand J Med Sci Sports* 26, 675-683.
- 38) Docking, S.I., Ooi, C.C., Connell, D., 2015a. Tendinopathy: Is Imaging Telling Us the Entire Story? *J Orthop Sports Phys Ther* 45, 842-852.
- 39) Docking, S.I., Rosengarten, S.D., Daffy, J., Cook, J., 2015b. Structural Integrity Is Decreased in Both Achilles Tendons in People with Unilateral Achilles Tendinopathy. *J Sci Med Sport* 18,

383-387.

- 40) Duclay, J., Martin, A., Duclay, A., Cometti, G., Pousson, M., 2009. Behavior of Fascicles and the Myotendinous Junction of Human Medial Gastrocnemius Following Eccentric Strength Training. *Muscle Nerve* 39, 819-827.
- 41) Duclay, J., Martin, A., Robbe, A., Pousson, M., 2008. Spinal Reflex Plasticity During Maximal Dynamic Contractions after Eccentric Training. *Med Sci Sports Exerc* 40, 722-734.
- 42) Duenwald-Kuehl, S., Kobayashi, H., Lakes, R., Vanderby, R., Jr., 2012. Time-Dependent Ultrasound Echo Changes Occur in Tendon During Viscoelastic Testing. *J Biomech Eng* 134, 111006.
- 43) Duenwald, S., Kobayashi, H., Frisch, K., Lakes, R., Vanderby, R., Jr., 2011. Ultrasound Echo Is Related to Stress and Strain in Tendon. *J Biomech* 44, 424-429.

< E >

- 44) Edwards, A.D., Richardson, C., van der Zee, P., Elwell, C., Wyatt, J.S., Cope, M., Delpy, D.T., Reynolds, E.O., 1993. Measurement of Hemoglobin Flow and Blood Flow by near-Infrared Spectroscopy. *J Appl Physiol* 75, 1884-1889.

< F >

- 45) Fahlstrom, M., Jonsson, P., Lorentzon, R., Alfredson, H., 2003. Chronic Achilles Tendon Pain Treated with Eccentric Calf-Muscle Training. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 11, 327-333.
- 46) Fletcher, J.R., Esau, S.P., MacIntosh, B.R., 2010. Changes in Tendon Stiffness and Running Economy in Highly Trained Distance Runners. *Eur J Appl Physiol* 110, 1037-1046.

- 47) Foure, A., Nordez, A., Cornu, C., 2010. Plyometric Training Effects on Achilles Tendon Stiffness and Dissipative Properties. *J Appl Physiol* 109, 849-854.
- 48) Foure, A., Nordez, A., Cornu, C., 2013. Effects of Eccentric Training on Mechanical Properties of the Plantar Flexor Muscle-Tendon Complex. *J Appl Physiol* 114, 523-537.
- 49) Fredberg, U., Stengaard-Pedersen, K., 2008. Chronic Tendinopathy Tissue Pathology, Pain Mechanisms, and Etiology with a Special Focus on Inflammation. *Scand J Med Sci Sports* 18, 3-15.
- 50) Frohm, A., Saartok, T., Halvorsen, K., Renstrom, P., 2007. Eccentric Treatment for Patellar Tendinopathy: A Prospective Randomised Short-Term Pilot Study of Two Rehabilitation Protocols. *Br J Sports Med* 41, e7.
- 51) Fukashiro, S., Itoh, M., Ichinose, Y., Kawakami, Y., Fukunaga, T., 1995. Ultrasonography Gives Directly but Noninvasively Elastic Characteristic of Human Tendon in Vivo. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 71, 555-557.
- 52) Fukunaga, T., Roy, R.R., Shellock, F.G., Hodgson, J.A., Edgerton, V.R., 1996. Specific Tension of Human Plantar Flexors and Dorsiflexors. *J Appl Physiol* 80, 158-165.

< G >

- 53) Gimbel, J.A., Van Kleunen, J.P., Williams, G.R., Thomopoulos, S., Soslowsky, L.J., 2007. Long Durations of Immobilization in the Rat Result in Enhanced Mechanical Properties of the Healing Supraspinatus Tendon Insertion Site. *J Biomech Eng* 129, 400-404.
- 54) Glazebrook, M.A., Wright, J.R., Jr., Langman, M., Stanish, W.D., Lee, J.M., 2008. Histological

- Analysis of Achilles Tendons in an Overuse Rat Model. *J Orthop Res* 26, 840-846.
- 55) Grieve, D.W., Pheasant, S., Cavanagh, P.R., 1978. Prediction of Gastrocnemius Length from Knee and Ankle Joint Posture. University Park Press, Baltimore.
- 56) Griffiths, R.I., 1991. Shortening of Muscle Fibres During Stretch of the Active Cat Medial Gastrocnemius Muscle: The Role of Tendon Compliance. *J Physiol* 436, 219-236.
- 57) Grigg, N.L., Wearing, S.C., Smeathers, J.E., 2009. Eccentric Calf Muscle Exercise Produces a Greater Acute Reduction in Achilles Tendon Thickness Than Concentric Exercise. *Br J Sports Med* 43, 280-283.
- 58) Grigg, N.L., Wearing, S.C., Smeathers, J.E., 2012. Achilles Tendinopathy Has an Aberrant Strain Response to Eccentric Exercise. *Med Sci Sports Exerc* 44, 12-17.
- < H >**
- 59) Hashimoto, T., Nobuhara, K., Hamada, T., 2003. Pathologic Evidence of Degeneration as a Primary Cause of Rotator Cuff Tear. *Clin Orthop Relat Res* 415, 111-120.
- 60) Hawkins, D., Bey, M., 1997. Muscle and Tendon Force-Length Properties and Their Interactions in Vivo. *J Biomech* 30, 63-70.
- 61) Herbert, R.D., Clarke, J., Kwah, L.K., Diong, J., Martin, J., Clarke, E.C., Bilston, L.E., Gandevia, S.C., 2011. In Vivo Passive Mechanical Behaviour of Muscle Fascicles and Tendons in Human Gastrocnemius Muscle-Tendon Units. *J Physiol* 589, 5257-5267.
- 62) Hirschmuller, A., Frey, V., Konstantinidis, L., Baur, H., Dickhuth, H.H., Sudkamp, N.P., Helwig, P., 2012. Prognostic Value of Achilles Tendon Doppler Sonography in Asymptomatic Runners. *Med*

Sci Sports Exerc 44, 199-205.

63) Hooley, C.J., McCrum, N.G., Cohen, R.E., 1980. The Viscoelastic Deformation of Tendon. J Biomech 13, 521-528.

64) Hooper, G., Davies, R., Tothill, P., 1984. Blood Flow and Clearance in Tendons. Studies with Dogs. J Bone Joint Surg Br 66, 441-443.

65) Houghton, L.A., Dawson, B.T., Rubenson, J., 2013. Effects of Plyometric Training on Achilles Tendon Properties and Shuttle Running During a Simulated Cricket Batting Innings. J Strength Cond Res 27, 1036-1046.

66) Hubbard, R., Soutas-Little, R., 1984. Mechanical Properties of Human Tendon and Their Age Dependence. J Biomech Eng 106, 144-150.

< I >

67) Ishigaki, T., Ikebukuro, T., Kubo, K., 2018. Effects of Repeated Eccentric Contractions with Different Loads on Blood Circulation and Collagen Fiber Orientation in the Human Achilles Tendon. JPFMS 7, 57-64.

68) Ishigaki, T., Kouno, M., Ikebukuro, T., Kubo, K., 2016. Quantification of Collagen Fiber Orientation in Human Tendons with the Coefficient of Variation of Echogenicity. J Biomech 49, 3923-3927.

< J >

69) Jarvinen, M., Jozsa, L., Kannus, P., Jarvinen, T.L., Kvist, M., Leadbetter, W., 1997. Histopathological Findings in Chronic Tendon Disorders. Scand J Med Sci Sports 7, 86-95.

70) Jenkins, N.D., Housh, T.J., Bergstrom, H.C., Cochrane, K.C., Hill, E.C., Smith, C.M., Johnson, G.O., Schmidt, R.J., Cramer, J.T., 2015. Muscle Activation During Three Sets to Failure at 80 Vs. 30% 1rm Resistance Exercise. *Eur J Appl Physiol* 115, 2335-2347.

< K >

71) Kannus, P., 2000. Structure of the Tendon Connective Tissue. *Scand J Med Sci Sports* 10, 312-320.

72) Kannus, P., Jozsa, L., 1991. Histopathological Changes Preceding Spontaneous Rupture of a Tendon. A Controlled Study of 891 Patients. *J Bone Joint Surg Am* 73, 1507-1525.

73) Kawakami, Y., Kanehisa, H., Fukunaga, T., 2008. The Relationship between Passive Ankle Plantar Flexion Joint Torque and Gastrocnemius Muscle and Achilles Tendon Stiffness: Implications for Flexibility. *J Orthop Sports Phys Ther* 38, 269-276.

74) Ker, R.F., 1981. Dynamic Tensile Properties of the Plantaris Tendon of Sheep (*Ovis Aries*). *Journal of Experimental Biology* 93, 283-302.

75) Khan, K.M., Cook, J.L., Bonar, F., Harcourt, P., Astrom, M., 1999. Histopathology of Common Tendinopathies. Update and Implications for Clinical Management. *Sports Med* 27, 393-408.

76) Killian, M.L., Cavinatto, L., Galatz, L.M., Thomopoulos, S., 2012. The Role of Mechanobiology in Tendon Healing. *J Shoulder Elbow Surg* 21, 228-237.

77) Knobloch, K., 2007. Eccentric Training in Achilles Tendinopathy: Is It Harmful to Tendon Microcirculation? *Br J Sports Med* 41, 1-5.

78) Knobloch, K., Kraemer, R., Jagodzinski, M., Zeichen, J., Meller, R., Vogt, P.M., 2007. Eccentric

- Training Decreases Paratendon Capillary Blood Flow and Preserves Paratendon Oxygen Saturation in Chronic Achilles Tendinopathy. *J Orthop Sports Phys Ther* 37, 269-276.
- 79) Knobloch, K., Kraemer, R., Lichtenberg, A., Jagodzinski, M., Gossling, T., Richter, M., Zeichen, J., Hufner, T., Krettek, C., 2006. Achilles Tendon and Paratendon Microcirculation in Midportion and Insertional Tendinopathy in Athletes. *Am J Sports Med* 34, 92-97.
- 80) Knobloch, K., Schreibmueller, L., Kraemer, R., Jagodzinski, M., Vogt, P.M., Redeker, J., 2010. Gender and Eccentric Training in Achilles Mid-Portion Tendinopathy. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 18, 648-655.
- 81) Kongsgaard, M., Reitelsheder, S., Pedersen, T.G., Holm, L., Aagaard, P., Kjaer, M., Magnusson, S.P., 2007. Region Specific Patellar Tendon Hypertrophy in Humans Following Resistance Training. *Acta Physiol (Oxf)* 191, 111-121.
- 82) Konrad, A., Gad, M., Tilp, M., 2015. Effect of Pnf Stretching Training on the Properties of Human Muscle and Tendon Structures. *Scand J Med Sci Sports* 25, 346-355.
- 83) Kouzaki, M., Shinohara, M., Masani, K., Tachi, M., Kanehisa, H., Fukunaga, T., 2003. Local Blood Circulation among Knee Extensor Synergists in Relation to Alternate Muscle Activity During Low-Level Sustained Contraction. *J Appl Physiol* 95, 49-56.
- 84) Kubo, K., 2015. Effects of Repeated Concentric and Eccentric Contractions on Tendon Blood Circulation. *Int J Sports Med* 36, 481-484.
- 85) Kubo, K., Ikebukuro, T., 2012. Blood Circulation of Patellar and Achilles Tendons During Contractions and Heating. *Med Sci Sports Exerc* 44, 2111-2117.

- 86) Kubo, K., Ikebukuro, T., Maki, A., Yata, H., Tsunoda, N., 2012. Time Course of Changes in the Human Achilles Tendon Properties and Metabolism During Training and Detraining in Vivo. *Eur J Appl Physiol* 112, 2679-2691.
- 87) Kubo, K., Ikebukuro, T., Tsunoda, N., Kanehisa, H., 2008a. Changes in Oxygen Consumption of Human Muscle and Tendon Following Repeat Muscle Contractions. *Eur J Appl Physiol* 104, 859-866.
- 88) Kubo, K., Ikebukuro, T., Tsunoda, N., Kanehisa, H., 2008b. Noninvasive Measures of Blood Volume and Oxygen Saturation of Human Achilles Tendon by Red Laser Lights. *Acta Physiol (Oxf)* 193, 257-264.
- 89) Kubo, K., Ikebukuro, T., Yaeshima, K., Kanehisa, H., 2009a. Effects of Different Duration Contractions on Elasticity, Blood Volume, and Oxygen Saturation of Human Tendon in Vivo. *Eur J Appl Physiol* 106, 445-455.
- 90) Kubo, K., Ikebukuro, T., Yaeshima, K., Yata, H., Tsunoda, N., Kanehisa, H., 2009b. Effects of Static and Dynamic Training on the Stiffness and Blood Volume of Tendon in Vivo. *J Appl Physiol* 106, 412-417.
- 91) Kubo, K., Ishigaki, T., Ikebukuro, T., 2017. Effects of Plyometric and Isometric Training on Muscle and Tendon Stiffness in Vivo. *Physiol Rep* 5. e13374
- 92) Kubo, K., Kanehisa, H., Fukunaga, T., 2002a. Effect of Stretching Training on the Viscoelastic Properties of Human Tendon Structures in Vivo. *J Appl Physiol* 92, 595-601.
- 93) Kubo, K., Kanehisa, H., Fukunaga, T., 2002b. Effects of Transient Muscle Contractions and

- Stretching on the Tendon Structures in Vivo. *Acta Physiol Scand* 175, 157-164.
- 94) Kubo, K., Kanehisa, H., Ito, M., Fukunaga, T., 2001a. Effects of Isometric Training on the Elasticity of Human Tendon Structures in Vivo. *J Appl Physiol* 91, 26-32.
- 95) Kubo, K., Kanehisa, H., Kawakami, Y., Fukunaga, T., 2000. Elasticity of Tendon Structures of the Lower Limbs in Sprinters. *Acta Physiol Scand* 168, 327-335.
- 96) Kubo, K., Kanehisa, H., Kawakami, Y., Fukunaga, T., 2001b. Influences of Repetitive Muscle Contractions with Different Modes on Tendon Elasticity in Vivo. *J Appl Physiol* 91, 277-282.
- 97) Kubo, K., Kawakami, Y., Fukunaga, T., 1999. Influence of Elastic Properties of Tendon Structures on Jump Performance in Humans. *J Appl Physiol* 87, 2090-2096.
- 98) Kubo, K., Tabata, T., Ikebukuro, T., Igarashi, K., Yata, H., Tsunoda, N., 2010a. Effects of Mechanical Properties of Muscle and Tendon on Performance in Long Distance Runners. *Eur J Appl Physiol* 110, 507-514.
- 99) Kubo, K., Teshima, T., Hirose, N., Tsunoda, N., 2014. A Cross-Sectional Study of the Plantar Flexor Muscle and Tendon During Growth. *Int J Sports Med* 35, 828-834.
- 100) Kubo, K., Yajima, H., Takayama, M., Ikebukuro, T., Mizoguchi, H., Takakura, N., 2010b. Effects of Acupuncture and Heating on Blood Volume and Oxygen Saturation of Human Achilles Tendon in Vivo. *Eur J Appl Physiol* 109, 545-550.
- 101) Kubo, K., Yata, H., 2017. Effects of Concentric and Eccentric Training on the Stiffness and Blood Circulation of Patellar Tendon. *Sports Med Int Open* 1, E43-E49.
- 102) Kujala, U.M., Sarna, S., Kaprio, J., 2005. Cumulative Incidence of Achilles Tendon Rupture

and Tendinopathy in Male Former Elite Athletes. *Clin J Sport Med* 15, 133-135.

< L >

103) Lake, S.P., Miller, K.S., Elliott, D.M., Soslowky, L.J., 2009. Effect of Fiber Distribution and Realignment on the Nonlinear and Inhomogeneous Mechanical Properties of Human Supraspinatus Tendon under Longitudinal Tensile Loading. *J Orthop Res* 27, 1596-1602.

104) Langberg, H., Bulow, J., Kjaer, M., 1998. Blood Flow in the Peritendinous Space of the Human Achilles Tendon During Exercise. *Acta Physiol Scand* 163, 149-153.

105) Langberg, H., Bulow, J., Kjaer, M., 1999a. Standardized Intermittent Static Exercise Increases Peritendinous Blood Flow in Human Leg. *Clin Physiol* 19, 89-93.

106) Langberg, H., Skovgaard, D., Petersen, L.J., Bulow, J., Kjaer, M., 1999b. Type I Collagen Synthesis and Degradation in Peritendinous Tissue after Exercise Determined by Microdialysis in Humans. *J Physiol* 521, 299-306.

107) Lehtinen, A., Bondestam, S., Taavitsainen, M., 1994. Use of Angulation in the Detection of Tendinitis with Us. *Eur J Radiol* 18, 175-179.

108) Lin, T.W., Cardenas, L., Soslowky, L.J., 2004. Biomechanics of Tendon Injury and Repair. *J Biomech* 37, 865-877.

109) Lysholm, J., Wiklander, J., 1987. Injuries in Runners. *Am J Sports Med* 15, 168-171.

< M >

110) Maffulli, N., 1999. Rupture of the Achilles Tendon. *J Bone Joint Surg Am* 81, 1019-1036.

111) Maffulli, N., Barrass, V., Ewen, S.W., 2000. Light Microscopic Histology of Achilles Tendon

- Ruptures. A Comparison with Unruptured Tendons. *Am J Sports Med* 28, 857-863.
- 112) Maffulli, N., Khan, K.M., Puddu, G., 1998. Overuse Tendon Conditions: Time to Change a Confusing Terminology. *Arthroscopy* 14, 840-843.
- 113) Mafi, N., Lorentzon, R., Alfredson, H., 2001. Superior Short-Term Results with Eccentric Calf Muscle Training Compared to Concentric Training in a Randomized Prospective Multicenter Study on Patients with Chronic Achilles Tendinosis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 9, 42-47.
- 114) Magnusson, S.P., Aagaard, P., Dyhre-Poulsen, P., Kjaer, M., 2001. Load-Displacement Properties of the Human Triceps Surae Aponeurosis in Vivo. *J Physiol* 531, 277-288.
- 115) Magnusson, S.P., Langberg, H., Kjaer, M., 2010. The Pathogenesis of Tendinopathy: Balancing the Response to Loading. *Nat Rev Rheumatol* 6, 262-268.
- 116) Mahieu, N.N., McNair, P., Cools, A., D'Haen, C., Vandermeulen, K., Witvrouw, E., 2008. Effect of Eccentric Training on the Plantar Flexor Muscle-Tendon Tissue Properties. *Med Sci Sports Exerc* 40, 117-123.
- 117) Mahieu, N.N., Witvrouw, E., Stevens, V., Van Tiggelen, D., Roget, P., 2006. Intrinsic Risk Factors for the Development of Achilles Tendon Overuse Injury: A Prospective Study. *Am J Sports Med* 34, 226-235.
- 118) Malliaras, P., Kamal, B., Nowell, A., Farley, T., Dhamu, H., Simpson, V., Morrissey, D., Langberg, H., Maffulli, N., Reeves, N.D., 2013. Patellar Tendon Adaptation in Relation to Load-Intensity and Contraction Type. *J Biomech* 46, 1893-1899.
- 119) Malliaras, P., Richards, P.J., Garau, G., Maffulli, N., 2008. Achilles Tendon Doppler Flow May

- Be Associated with Mechanical Loading among Active Athletes. *Am J Sports Med* 36, 2210-2215.
- 120) Miller, B.F., Olesen, J.L., Hansen, M., Dossing, S., Crameri, R.M., Welling, R.J., Langberg, H., Flyvbjerg, A., Kjaer, M., Babraj, J.A., Smith, K., Rennie, M.J., 2005. Coordinated Collagen and Muscle Protein Synthesis in Human Patella Tendon and Quadriceps Muscle after Exercise. *J Physiol* 567, 1021-1033.
- 121) Miller, K.S., Connizzo, B.K., Feeney, E., Soslowky, L.J., 2012a. Characterizing Local Collagen Fiber Re-Alignment and Crimp Behavior Throughout Mechanical Testing in a Mature Mouse Supraspinatus Tendon Model. *J Biomech* 45, 2061-2065.
- 122) Miller, K.S., Connizzo, B.K., Soslowky, L.J., 2012b. Collagen Fiber Re-Alignment in a Neonatal Developmental Mouse Supraspinatus Tendon Model. *Ann Biomed Eng* 40, 1102-1110.
- 123) Miller, K.S., Edelstein, L., Connizzo, B.K., Soslowky, L.J., 2012c. Effect of Preconditioning and Stress Relaxation on Local Collagen Fiber Re-Alignment: Inhomogeneous Properties of Rat Supraspinatus Tendon. *J Biomech Eng* 134, 031007.
- 124) Morse, C.I., Degens, H., Seynnes, O.R., Maganaris, C.N., Jones, D.A., 2008. The Acute Effect of Stretching on the Passive Stiffness of the Human Gastrocnemius Muscle Tendon Unit. *J Physiol* 586, 97-106.
- 125) Movin, T., Gad, A., Reinholt, F.P., Rolf, C., 1997. Tendon Pathology in Long-Standing Achillodynia. Biopsy Findings in 40 Patients. *Acta Orthop Scand* 68, 170-175.
- 126) Muramatsu, T., Muraoka, T., Takeshita, D., Kawakami, Y., Hirano, Y., Fukunaga, T., 2001. Mechanical Properties of Tendon and Aponeurosis of Human Gastrocnemius Muscle in Vivo. *J*

Appl Physiol 90, 1671-1678.

< N >

127) Naito, M., Ogata, K., 1983. The Blood Supply of the Tendon with a Paratenon. An Experimental Study Using Hydrogen Washout Technique. Hand 15, 9-14.

128) Neuhold, A., Stiskal, M., Kainberger, F., Schwaighofer, B., 1992. Degenerative Achilles Tendon Disease: Assessment by Magnetic Resonance and Ultrasonography. Eur J Radiol 14, 213-220.

129) Neviasser, A., Andarawis-Puri, N., Flatow, E., 2012. Basic Mechanisms of Tendon Fatigue Damage. J Shoulder Elbow Surg 21, 158-163.

130) Nigg, B.M., 2001. The Role of Impact Forces and Foot Pronation: A New Paradigm. Clin J Sport Med 11, 2-9.

131) Norregaard, J., Larsen, C.C., Bieler, T., Langberg, H., 2007. Eccentric Exercise in Treatment of Achilles Tendinopathy. Scand J Med Sci Sports 17, 133-138.

< O >

132) Obst, S.J., Newsham-West, R., Barrett, R.S., 2016. Changes in Achilles Tendon Mechanical Properties Following Eccentric Heel Drop Exercise Are Specific to the Free Tendon. Scand J Med Sci Sports 26, 421-431.

133) Ohberg, L., Alfredson, H., 2004. Effects on Neovascularisation Behind the Good Results with Eccentric Training in Chronic Mid-Portion Achilles Tendinosis? Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 12, 465-470.

134) Ohberg, L., Lorentzon, R., Alfredson, H., 2001. Neovascularisation in Achilles Tendons with

Painful Tendinosis but Not in Normal Tendons: An Ultrasonographic Investigation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 9, 233-238.

135) Ohberg, L., Lorentzon, R., Alfredson, H., 2004. Eccentric Training in Patients with Chronic Achilles Tendinosis: Normalised Tendon Structure and Decreased Thickness at Follow Up. *Br J Sports Med* 38, 8-11.

< P >

136) Pan, L., Zan, L., Foster, F.S., 1998. Ultrasonic and Viscoelastic Properties of Skin under Transverse Mechanical Stress in Vitro. *Ultrasound Med Biol* 24, 995-1007.

137) Pardes, A.M., Beach, Z.M., Raja, H., Rodriguez, A.B., Freedman, B.R., Soslowky, L.J., 2017. Aging Leads to Inferior Achilles Tendon Mechanics and Altered Ankle Function in Rodents. *J Biomech* 60, 30-38.

138) Pardes, A.M., Freedman, B.R., Fryhofer, G.W., Salka, N.S., Bhatt, P.R., Soslowky, L.J., 2016. Males Have Inferior Achilles Tendon Material Properties Compared to Females in a Rodent Model. *Ann Biomed Eng* 44, 2901-2910.

139) Peacock, E.E., Jr., 1959. A Study of the Circulation in Normal Tendons and Healing Grafts. *Ann Surg* 149, 415-428.

140) Pensini, M., Martin, A., Maffiuletti, N.A., 2002. Central Versus Peripheral Adaptations Following Eccentric Resistance Training. *Int J Sports Med* 23, 567-574.

141) Piaggi, V., Mingione, A., 1981. A Study of Tendon Blood Flow Using ¹³³xenon. *Hand* 13, 48-50.

< R >

- 142) Rees, J.D., Lichtwark, G.A., Wolman, R.L., Wilson, A.M., 2008. The Mechanism for Efficacy of Eccentric Loading in Achilles Tendon Injury; an in Vivo Study in Humans. *Rheumatology (Oxford)* 47, 1493-1497.
- 143) Rees, J.D., Maffulli, N., Cook, J., 2009. Management of Tendinopathy. *Am J Sports Med* 37, 1855-1867.
- 144) Rees, J.D., Wilson, A.M., Wolman, R.L., 2006. Current Concepts in the Management of Tendon Disorders. *Rheumatology (Oxford)* 45, 508-521.
- 145) Reeves, N.D., Maganaris, C.N., Narici, M.V., 2003. Effect of Strength Training on Human Patella Tendon Mechanical Properties of Older Individuals. *J Physiol* 548, 971-981.
- 146) Riggin, C.N., Sarver, J.J., Freedman, B.R., Thomas, S.J., Soslowky, L.J., 2014. Analysis of Collagen Organization in Mouse Achilles Tendon Using High-Frequency Ultrasound Imaging. *J Biomech Eng* 136, 021029.
- 147) Rompe, J.D., Nafe, B., Furia, J.P., Maffulli, N., 2007. Eccentric Loading, Shock-Wave Treatment, or a Wait-and-See Policy for Tendinopathy of the Main Body of Tendo Achillis: A Randomized Controlled Trial. *Am J Sports Med* 35, 374-383.
- 148) Roos, E.M., Engstrom, M., Lagerquist, A., Soderberg, B., 2004. Clinical Improvement after 6 Weeks of Eccentric Exercise in Patients with Mid-Portion Achilles Tendinopathy -- a Randomized Trial with 1-Year Follow-Up. *Scand J Med Sci Sports* 14, 286-295.

< S >

- 149) Seynnes, O.R., Erskine, R.M., Maganaris, C.N., Longo, S., Simoneau, E.M., Grosset, J.F., Narici, M.V., 2009. Training-Induced Changes in Structural and Mechanical Properties of the Patellar Tendon Are Related to Muscle Hypertrophy but Not to Strength Gains. *J Appl Physiol* 107, 523-530.
- 150) Shalabi, A., Kristoffersen-Wilberg, M., Svensson, L., Aspelin, P., Movin, T., 2004. Eccentric Training of the Gastrocnemius-Soleus Complex in Chronic Achilles Tendinopathy Results in Decreased Tendon Volume and Intratendinous Signal as Evaluated by Mri. *Am J Sports Med* 32, 1286-1296.
- 151) Sharma, P., Maffulli, N., 2005. Basic Biology of Tendon Injury and Healing. *Surgeon* 3, 309-316.
- 152) Stanish, W.D., Rubinovich, R.M., Curwin, S., 1986. Eccentric Exercise in Chronic Tendinitis. *Clin Orthop Relat Res*, 65-68.
- 153) Stein, V., Laprell, H., Tinnemeyer, S., Petersen, W., 2000. Quantitative Assessment of Intravascular Volume of the Human Achilles Tendon. *Acta Orthop Scand* 71, 60-63.
- 154) Suydam, S.M., Buchanan, T.S., 2014. Is Echogenicity a Viable Metric for Evaluating Tendon Properties in Vivo? *J Biomech* 47, 1806-1809.

< T >

- 155) Takarada, Y., Sato, Y., Ishii, N., 2002. Effects of Resistance Exercise Combined with Vascular Occlusion on Muscle Function in Athletes. *Eur J Appl Physiol* 86, 308-314.

- 156) Takarada, Y., Takazawa, H., Sato, Y., Takebayashi, S., Tanaka, Y., Ishii, N., 2000. Effects of Resistance Exercise Combined with Moderate Vascular Occlusion on Muscular Function in Humans. *J Appl Physiol* 88, 2097-2106.
- 157) Taylor, D.C., Dalton, J.D., Jr., Seaber, A.V., Garrett, W.E., Jr., 1990. Viscoelastic Properties of Muscle-Tendon Units. The Biomechanical Effects of Stretching. *Am J Sports Med* 18, 300-309.
- 158) Teramoto, A., Luo, Z.P., 2008. Temporary Tendon Strengthening by Preconditioning. *Clin Biomech* 23, 619-622.
- 159) Thomopoulos, S., Williams, G.R., Gimbel, J.A., Favata, M., Soslowsky, L.J., 2003a. Variation of Biomechanical, Structural, and Compositional Properties Along the Tendon to Bone Insertion Site. *J Orthop Res* 21, 413-419.
- 160) Thomopoulos, S., Williams, G.R., Soslowsky, L.J., 2003b. Tendon to Bone Healing: Differences in Biomechanical, Structural, and Compositional Properties Due to a Range of Activity Levels. *J Biomech Eng* 125, 106-113.
- 161) Tipton, C.M., Matthes, R.D., Maynard, J.A., Carey, R.A., 1975. The Influence of Physical Activity on Ligaments and Tendons. *Med Sci Sports* 7, 165-175.

< V >

- 162) van Dijk, C.N., van Sterkenburg, M.N., Wiergerinck, J.I., Karlsson, J., Maffulli, N., 2011. Terminology for Achilles Tendon Related Disorders. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19, 835-841.
- 163) van Schie, H.T., de Vos, R.J., de Jonge, S., Bakker, E.M., Heijboer, M.P., Verhaar, J.A., Tol, J.L.,

Weinans, H., 2010. Ultrasonographic Tissue Characterisation of Human Achilles Tendons: Quantification of Tendon Structure through a Novel Non-Invasive Approach. *Br J Sports Med* 44, 1153-1159.

164) Verrall, G.M., Dolman, B.K., Best, T.M., 2017. Applying Physical Science Principles to Mid-Substance Achilles Tendinopathy and the Relationship to Eccentric Lengthening Exercises. *Scand J Med Sci Sports*.

< W >

165) Wang, C.J., Wang, F.S., Yang, K.D., Weng, L.H., Hsu, C.C., Huang, C.S., Yang, L.C., 2003. Shock Wave Therapy Induces Neovascularization at the Tendon-Bone Junction. A Study in Rabbits. *J Orthop Res* 21, 984-989.

166) Wang, H.K., Lin, K.H., Su, S.C., Shih, T.T., Huang, Y.C., 2012. Effects of Tendon Viscoelasticity in Achilles Tendinosis on Explosive Performance and Clinical Severity in Athletes. *Scand J Med Sci Sports* 22, e147-155.

167) Wang, J.H., 2006. Mechanobiology of Tendon. *J Biomech* 39, 1563-1582.

168) Wearing, S.C., Hooper, S.L., Purdam, C., Cook, J., Grigg, N., Locke, S., Smeathers, J.E., 2013. The Acute Transverse Strain Response of the Patellar Tendon to Quadriceps Exercise. *Med Sci Sports Exerc* 45, 772-777.

169) Weinberg, E.P., Adams, M.J., Hollenberg, G.M., 1998. Color Doppler Sonography of Patellar Tendinosis. *AJR Am J Roentgenol* 171, 743-744.

170) Wezenbeek, E., Mahieu, N., Willems, T.M., Van Tiggelen, D., De Muyenck, M., De Clercq, D.,

Witvrouw, E., 2017. What Does Normal Tendon Structure Look Like? New Insights into Tissue Characterization in the Achilles Tendon. *Scand J Med Sci Sports* 27, 746-753.

171) Williams, R.M., Zipfel, W.R., Webb, W.W., 2005. Interpreting Second-Harmonic Generation Images of Collagen I Fibrils. *Biophys J* 88, 1377-1386.

172) Wu, Y.K., Lien, Y.H., Lin, K.H., Shih, T.T., Wang, T.G., Wang, H.K., 2010. Relationships between Three Potentiation Effects of Plyometric Training and Performance. *Scand J Med Sci Sports* 20, e80-86.

< Y >

173) Yin, N.H., Chen, W.S., Wu, Y.T., Shih, T.T., Rolf, C., Wang, H.K., 2014. Increased Patellar Tendon Microcirculation and Reduction of Tendon Stiffness Following Knee Extension Eccentric Exercises. *J Orthop Sports Phys Ther* 44, 304-312.

< Z >

174) Zantop, T., Tillmann, B., Petersen, W., 2003. Quantitative Assessment of Blood Vessels of the Human Achilles Tendon: An Immunohistochemical Cadaver Study. *Arch Orthop Trauma Surg* 123, 501-504.

謝辞

本研究を遂行するにあたり、東京大学大学院総合文化研究科身体運動科学研究室 久保啓太郎准教授には、実験デザイン、データの解釈、そして論文執筆に至るまで非常に丁寧にご指導頂きました。また、久保啓太郎先生にはヒトを対象として研究を行う上での心構えや物事を追及していく研究者としての姿勢を学ばせて頂きました。心より御礼申し上げます。

ご多忙の中、副査として審査にあたっていただき多くの有意義なご助言を賜りました東京大学大学院総合文化研究科身体運動科学研究室 福井尚志教授、工藤和俊准教授、今井一博准教授、吉岡伸輔准教授に深謝致します。

予備実験から何度も被験者を快諾いただいた池袋敏博氏、河野真大氏に感謝致します。

研究者を志すきっかけをいただいた北海道大学大学院保健科学研究院 山中正紀教授、並びに北海道大学運動器障害研究室の皆様、社会医療法人松田整形外科記念病院の皆様、神成透氏、庄野万平氏にはいつも何かと気にかけていただきました。

東京大学身体運動科学研究室大学院生の皆様には、実験への惜しみないご協力をいただいただけではなく、学外においても一緒に楽しい時間を過ごさせていただいたこと、本当にありがたく思っています。

最後に、いつも温かく見守り、応援してくれた両親、兄、北海道中標津町の佐々木ご夫妻に感謝致します。

2018年2月

石垣智恒