

繰り返し引っ張り刺激による腱損傷の修復過程における再刺激の影響

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/4510

繰り返し引っ張り刺激による腱損傷の修復過程における再刺激の影響

金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻機能再建学
(旧講座名：整形外科学)
(主任：富田勝郎教授)

山 田 泰 士

腱付着部症は、慢性のスポーツ障害として頻度の高い疾患であるにもかかわらず、難治例も少なくなく、決定的な治療法がない疾患である。腱付着部症モデルとして、繰り返し引っ張り刺激による腱損傷モデルの修復過程において再刺激を行い、その後の損傷の形態、修復過程について検討した。修復早期（初回刺激後2週）における腱損傷を生じうる再刺激（12kgf）により、その後の修復は遅延し、腱内部に不可逆的な変化と考えられる変性や石灰化を生じた。しかし、修復後期（初回刺激後6週）に同様の再刺激を行っても、その後の修復は、1回刺激後と同等であった。この結果から、修復早期の過度の負荷により、損傷腱は、修復が遅延し難治性の状態になると考えた。一方、靭帯損傷を生じない程度の再刺激（6kgf）であれば修復初期、後期のいずれの時期においても、その後の修復を遅延することはなかった。この結果から、修復初期であっても適切な負荷は、損傷腱の修復が遅延しないため、早期運動療法の可能性を示唆した。

Key words cyclic tensile loads, tendon injury, repair, re-loading

ジャンパー膝やテニス肘に代表される腱付着部症は、スポーツ障害として頻度の高い疾患である。腱付着部症は、スポーツ活動などの同じ運動の繰り返しにより生じる。つまり、腱付着部症は、繰り返される運動による引っ張り負荷が、腱に繰り返し加わることにより生じる。腱付着部症の病態は、繰り返し引っ張り負荷が腱に加わることにより腱付着部に生じるいわゆる微小損傷であると考えられている。引っ張り負荷による微小損傷を受けた腱は修復されるが、一定閾値以上の引っ張り負荷が腱に加わると正常の細胞による治癒反応では十分に修復されず、過度の引っ張り負荷が加わった際に腱付着部症は生じると推察されている。しかしながら、腱付着部症の病態は、臨床的に推察されているにすぎず、実験的にこの病態を証明したものはない。

腱付着部症の治療には安静、温熱療法、消炎鎮痛剤の投与、ステロイド剤の局所注射などが行われており、最近では超音波治療や衝撃波治療などの報告もあるが¹⁾²⁾、決定的な治療法がなく難治性の症例も少なくない。日常の診療において、スポーツ選手にこのような障害が生じるとスポーツ活動の制限もしくは中止をまず指導する。しかしながら、チーム内のレギュラー争いや大会の成績のために疼痛に耐え、スポーツ活動を続ける患者も少なくなく、治療開始が遅れることが難治性の状態を生じる一つの原因ともいわれている。さらに、治療において完全に安静を保つことが有効なのか、もしくはどの程度のスポーツ制限が有効なのか、またはスポーツ復帰の時期はどのように決定すべきかについては、一定の見解は得られてなく、その参考となる基礎的実験も行われていない。

腱に対する運動負荷の影響については、運動負荷により腱の強度が増加するとする報告³⁾⁴⁾と強度が減少するとの報告⁵⁾⁶⁾があり一定していない。教室の小林⁷⁾は運動負荷による腱の強度の変化が報告により異なるのは、負荷量が一定でないためと考えた。そこで、小林は定量的な負荷量の引っ張り刺激を家兔の膝蓋腱に繰り返し加えることが可能である刺激装置を作成した。この刺激装置を用いて12kgfの引っ張り刺激を14,400回加えることにより、腱損傷モデルを作成した。この繰り返し引っ張り刺激による腱損傷の修復過程を検討したところ、刺激後6週において損傷部位は、光学顕微鏡（光顕）ではほぼ正常の像に修復されるものの、電子顕微鏡（電顕）では正常とは異なる像を示していた。さらに、片山⁸⁾は同様の損傷腱の修復過程を電顕を用いて詳細に観察し、損傷腱はおもに脆弱なⅢ型コラーゲンからなる小径の膠原線維で修復されることを証明した。

しかし、小林の繰り返し引っ張り刺激による腱損傷モデルは、12kgfの負荷量の刺激を14,400回連続して加えて作成したものであり、腱に損傷は生じるものの、急性の損傷であり、臨床経験される腱付着部症のような慢性の損傷とは異なり、必ずしも腱付着部症の病態を再現したものとは言い難い。また、繰り返し引っ張り刺激による損傷腱は小径の膠原線維で修復され力学的に弱いため、さらなる引っ張り刺激により容易に腱に損傷が生じ、損傷が高度となるために難治性の状態、つまり腱付着部症にいたることが予想されると片山は報告している。繰り返し引っ張り刺激による損傷腱は刺激後12週においても、小径の膠原線維で修復されていることを考えると、引っ張り刺激によって損傷を生じた場合、その後少なくとも12週の間に、

平成14年12月4日受付，平成15年2月3日受理

Abbreviations : kgf, kilogram force; w, week; 光顕, 光学顕微鏡; 電顕, 電子顕微鏡

さらなる引っ張り刺激が加われば、難治性の状態が生じることになる。すなわち、繰り返し引っ張り刺激によって腱損傷が生じた場合、損傷が修復されるためには、長期間の安静が必要となることになる。しかし、今回のモデルのようないわゆる微小損傷における検討はなされていないものの、腱の完全断裂モデルや靭帯の一部を切除したモデルによる検討では、修復過程における適度の運動により損傷の修復が促進すると報告されている⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾。このような報告から、微小損傷と考えられる繰り返し引っ張り刺激による腱損傷の修復過程においても、適当な引っ張り刺激が腱の修復を促進する可能性があると考えられる。繰り返し引っ張り刺激による腱損傷モデルの修復過程における再刺激がさらなる損傷を引き起こすか、修復を促進するかは、再刺激の負荷量および再刺激が加わる時期によると考えた。そこで、今回引っ張り刺激による腱損傷の修復過程において、負荷量および時期を変化させて再刺激を加え、その影響を検討することとした。今回の検討により、どのような時期にどのような負荷量の再刺激が修復を促進するか、または遅延するかを検討することは、病態の解明、治療法の確立のための一助になると考えて、以下の実験を行った。

対象および方法

1. 実験方法

1. 繰り返し引っ張り刺激による靭帯損傷モデルの作成

体重約3.5kgの日本白色家兔を対象とした。繰り返し引っ張り刺激による腱損傷モデルの作成は小林⁷⁾の方法に従った。ペントバルビタール(大日本製薬, 大阪) 1ml/kgを静脈内投与にて全身麻酔を行い、膝蓋骨には2本、脛骨には3本の直径1.2mmのキルシュナーワイヤー(三金工業, 大阪)を刺入し、これに独自の創外固定器をもちいて空気圧シリンダー(複合式ノックシリンダーNDA16×15)(コガネイ, 東京)を設置した(図1)。空気圧シリンダーはエアークンプレッサー(軽搬型ベビコン0.75OP-8SKA)(日立, 東京)で加圧し、内圧を電空比例弁VEP312(SMC, 東京)で調節し、電空比例弁の駆動はパワーアンプVEA101(SMC)で行い、パワーアンプに流れる電流の周期はPM48Wツインタイマー(松下電工, 大阪)とHCリレーAP312406K(松下電工)で制御した。このことより空気圧シリンダーの内圧を周期的に変化させることが可能となり、膝蓋腱には定量的な繰り返し引っ張り刺激を与えることができるようになるものである。小林の実験結果より、この装置を用いて12kilogram-force(kgf)の負荷量で、刺激周期を60回/分、持続時間を4時間とし合計で14,400回の刺激を行い腱損傷のモデルとした。刺激終了後は刺激装置を除去し、ケージ内で飼育した。

2. 再刺激

初回刺激による腱損傷の作成に用いたものと同様の刺激装置にて再刺激を行った。再刺激の時期は、初回刺激後2週と6週とした。その理由は、小林の実験結果から、顕微鏡による観察所見では、刺激後2週には損傷腱の線維走行は不規則な配列をなしており、線維芽細胞数も多く、6週には損傷腱はほぼ正常な像に修復されており、それぞれ修復早期、修復後期の状態であると考えたためである。また、刺激の負荷量は初回刺激と同様に、腱実質に損傷を生じる12kgfとその半分であり腱実質に損傷を生じない6kgfの負荷量で行い、刺激周期、持続時間は初回刺激と同様にした。

II. 観察方法

以上のような方法で刺激を行い、12kgfの再刺激を初回刺激後2週に行ったものをA群、6週に行ったものをB群、6kgfの再刺激を初回刺激後2週に行ったものをC群、6週に行ったものをD群とした。それぞれの群に対し、再刺激直後、2週後、6週後に5羽づつ合計60羽を屠殺し、以下の方法にて観察した。

1. 顕微鏡的観察

膝蓋骨と膝蓋腱を複合体として切り出し、10%ホルマリンで固定し、EDTAで約6週間脱灰を行ったのちに、パラフィン包埋し、矢状断で厚さ2μmの切片を作成した。その切片にHE染色を行い、顕微鏡にて観察を行った。膝蓋腱の膝蓋骨付着部に近い腱実質部の膠原線維配列、細胞浸潤について観察した。反対側に対しても同様の標本を作成し対照として観察した。

2. 電顕的観察

膝蓋骨と膝蓋腱を複合体として切り出し、カラノフスキー溶液(2%パラフォルムアルデヒド+2.5%グルタルアルデヒド+0.1Mカコジル酸ナトリウム+5mMカルシウム, pH7.4)に4℃で24時間、固定した。その後、膝蓋腱を膝蓋骨より切離して、腱実質部の膝蓋骨側深層部から2mm角の組織片を作成した。更にカラノフスキー溶液に24時間浸した。次に、5mMカルシウムを含む0.1Mのカコジル酸ナトリウム緩衝液(pH7.4)で洗浄を行い、2%オスミウム-0.1カコジル酸ナトリウム緩衝液

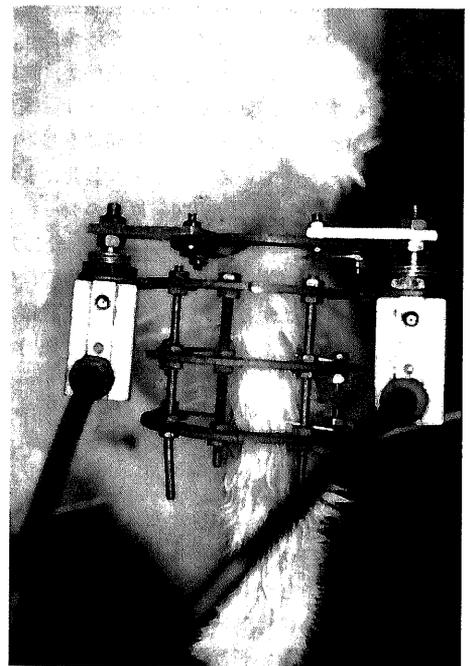


Fig. 1. Photograph of the original external fixator developed by Kobayashi. Two 1.2mm Kirshner wires were inserted into the patella and three wires into the tibia, and the original external fixator was attached to these wires. This external fixator was composed of four rings, two rods like Ilizarov's external fixator, and two air cylinders. These cylinders connected the patella to the tibial part, and the cyclic tensile loading to the patellar tendon. The pressure in the air cylinders was controlled by the air compressor and electromagnetic valve.

成 績

I. 光顕的観察

A群（初回刺激後2週に12kgfの再刺激）の再刺激直後には、腱実質部の膝蓋骨側深層部の線維走行は波状を呈しており、膠原線維は1本1本が解離した状態であり線維束間に出血を認めた（図2A）。再刺激後2週では細胞浸潤を認めたが、束状構造を

(pH7.4)で24時間、固定した。エタノール系列にて脱水を行い、スーパーレジン（応研，東京）に包埋した。靭帯の走行と垂直な面で超薄切片を作成し、酢酸ウラン液とクエン酸鉛で二重染色を施行し、透過型電子顕微鏡（JEM-1210）（日本電子，東京）を用いて観察した。得られた画像は、画像解析ソフトNIH imageにて、膠原線維の直径，密度をそれぞれ計測した。統計学的検討は，Studentのt検定を用いて行った。

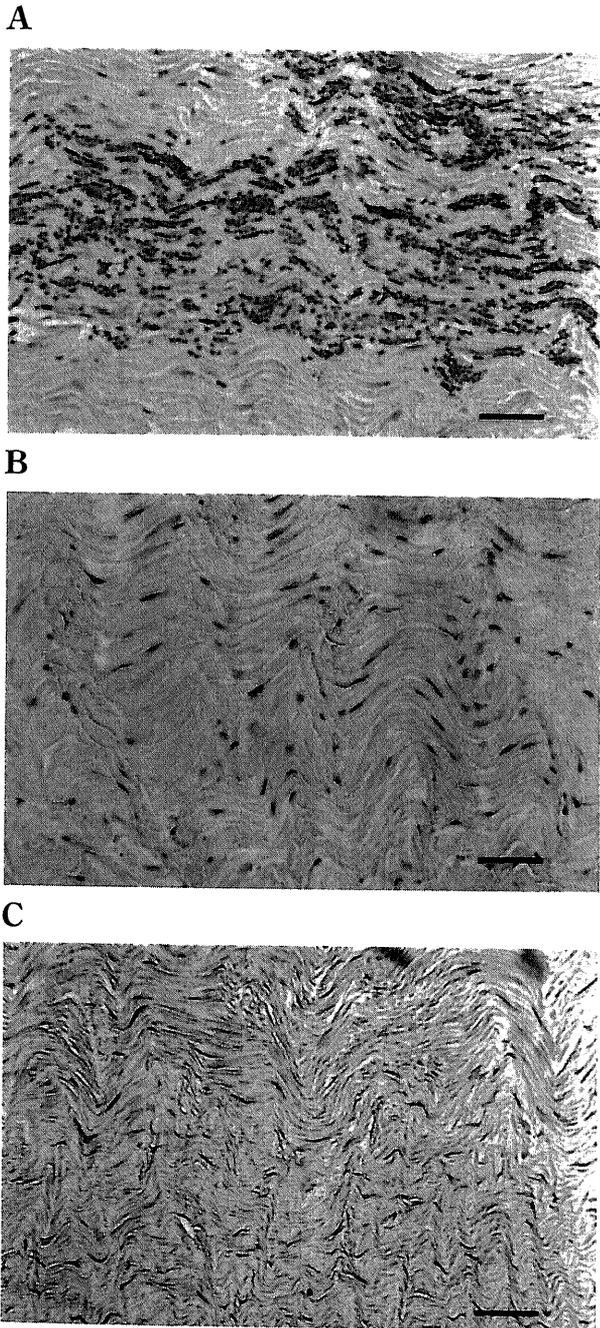


Fig. 2. Photomicrograph of tendon near the patella insertion in Group A. (A) Immediately after re-loading. The alignment of collagen fibers was irregular and hemorrhage between collagen fascicles was observed. (B) Two weeks after re-loading. The alignment of collagen fibers was still irregular and not closely packed. (C) Six weeks after re-loading. The newly formed collagen fibers were longitudinally aligned but not normal tendinous structure. Scale bars indicate 100 μ m.

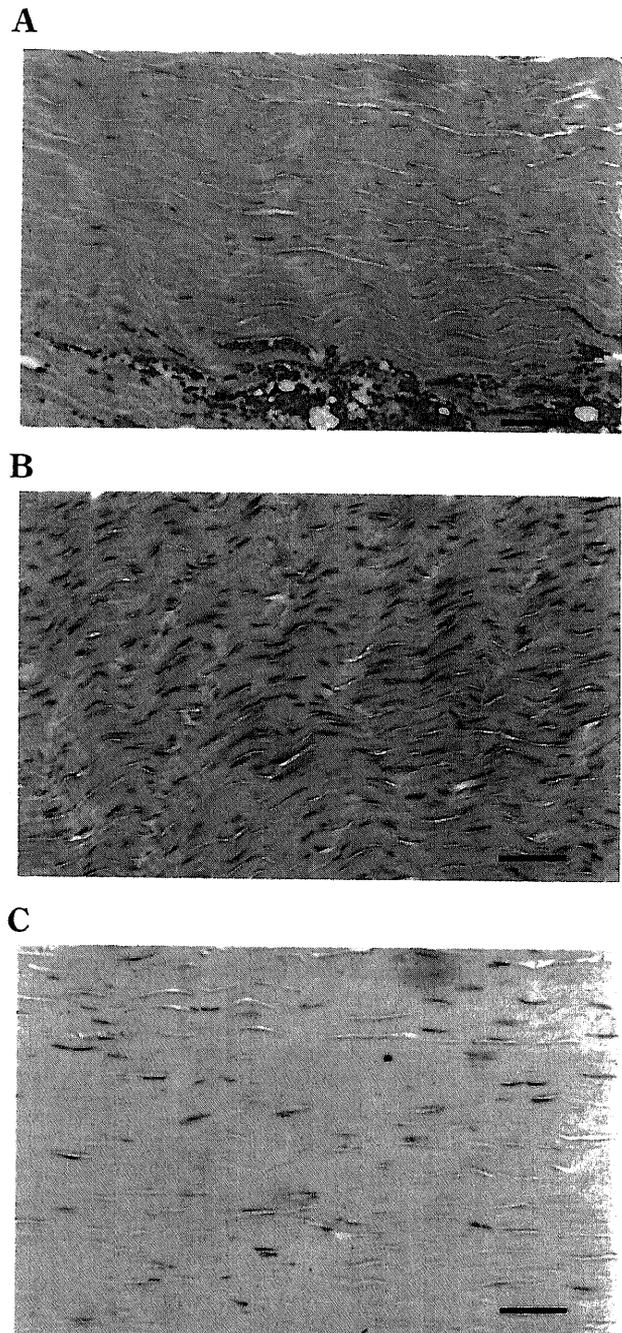
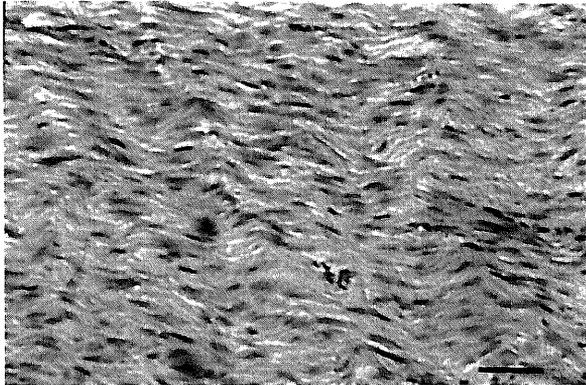


Fig. 3. Photomicrograph of tendon near the patella insertion in Group B. (A) Immediately after re-loading. The alignment of collagen fibers was regular and hemorrhage between collagen fibers was observed. (B) Two weeks after re-loading. The newly formed fibrous tissues and inflammatory cells were observed. (C) Six weeks after re-loading. The normal tendinous structures were repaired. Scale bars indicate 100 μ m.

示さない不規則な配列を呈し波状を呈していた (図2B). 再刺激後6週では再刺激後2週と比べ細胞数は減少し, 線維束も密になっていたものの正常の線維束構造には修復されていなかった (図2C).

B群 (初回刺激後6週に12kgfの再刺激) の再刺激直後には, 線維束間出血を認めたものの線維束の走行はA群と比較し, 正常に近いものであり, 線維束の密度も高く, 初回刺激直後と近い像であった (図3A). 再刺激後2週には正常の線維束構造と

A



B

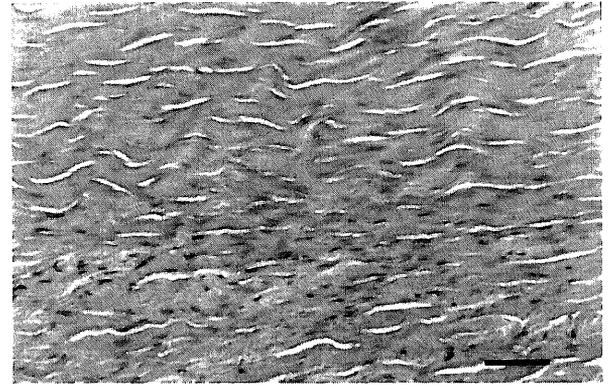
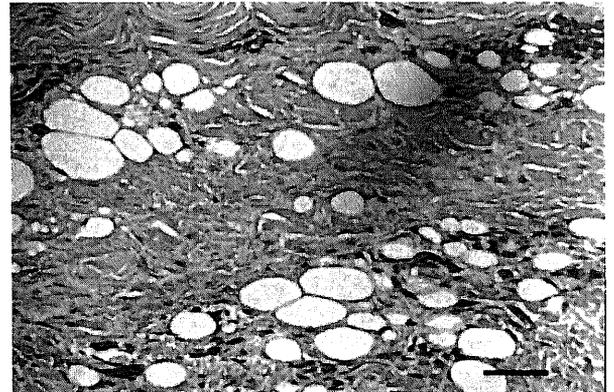


Fig. 4. Photomicrograph of tendon near the patella insertion two weeks after re-loading in Group C (A) and Group D (B). The inflammatory cells were observed. Scale bars indicate $100\mu\text{m}$.

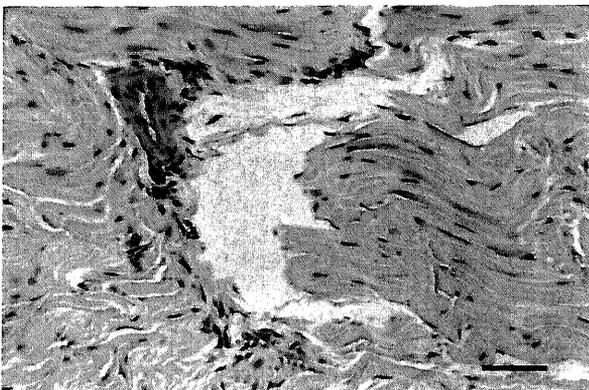
A



B



C



D

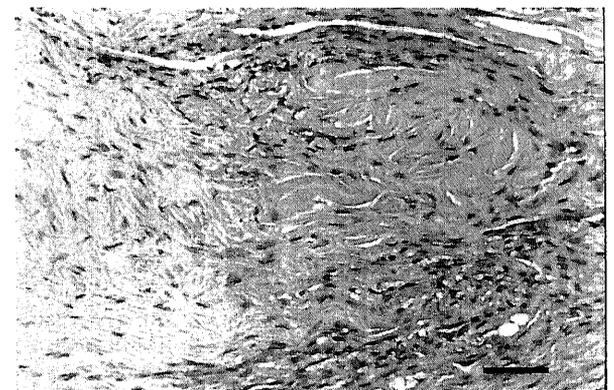


Fig. 5. Photomicrograph of particular findings of tendon near the patella insertion six weeks after re-loading in Group A. (A) The hyaline degeneration of tendon. (B) The lipid degeneration of tendon in the substance. (C) The calcification of the tendon in the attachment site of the patella. (D) The rupture of collagen fibers in the deep layer of the tendon substance. Scale bars indicate $200\mu\text{m}$ in (A) and $100\mu\text{m}$ in (B, C, D).

は異なり、線維芽細胞の増殖を認め線維走行も波状を呈していたが、1回刺激後と同様に修復されている像であった(図3B)。再刺激後6週では、線維束構造はほぼ正常に近い像に修復されていた(図3C)。

C群(初回刺激後2週に6kgfの再刺激)の再刺激直後には、靭帯実質部には明らかな変化を認めなかった。再刺激後2週には、線維芽細胞の増殖を認めた(図4A)。再刺激後6週にはほぼ正常に近い線維束構造を呈していた。

D群(初回刺激後6週に6kgfの再刺激)の再刺激直後には、靭帯実質部に明らかな変化は認めず、正常の線維束構造と同様の所見を呈していた。再刺激後2週には、線維芽細胞の増殖を認めたが、線維束構造に変化はなかった(図4B)。再刺激後6週には、ほぼ正常に近い線維束構造を呈しており、再刺激の影響はなかった。

また、A群の再刺激後6週の5膝中2膝には、腱実質部の膝蓋骨側深層部に、不規則な線維走行をなし細胞成分と血流に乏し

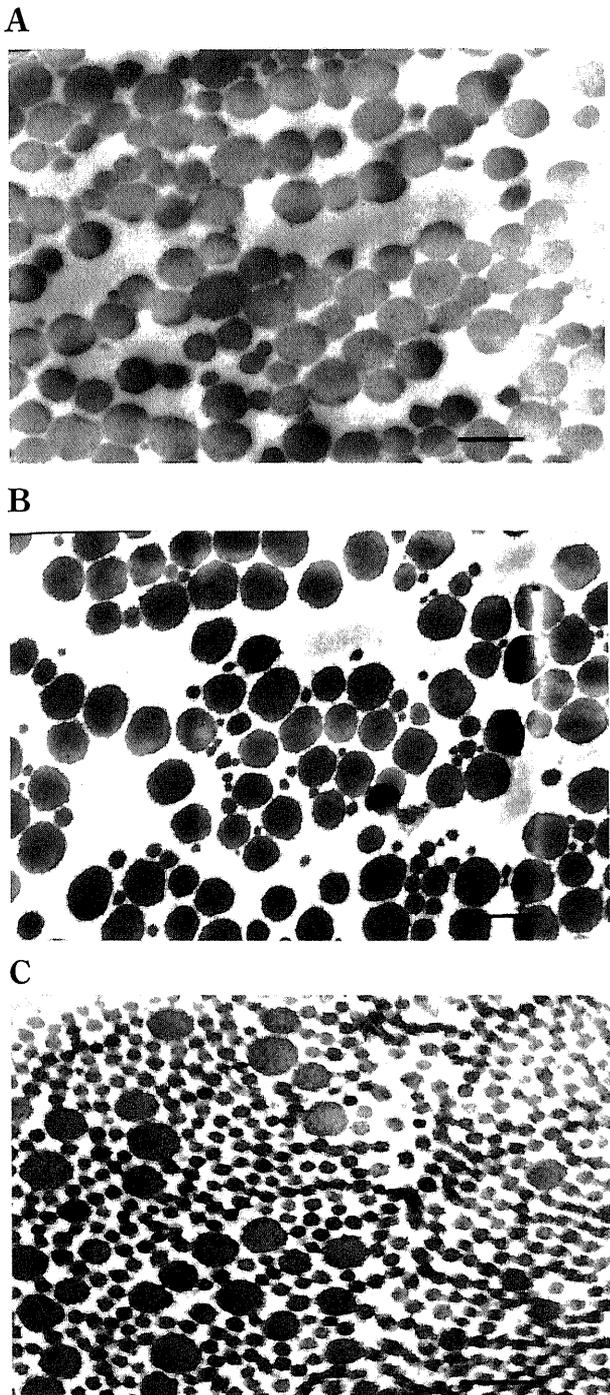


Fig. 6. Electron micrograph of the patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group A. (A) Immediately after re-loading. (B) Two weeks after re-loading. (C) Six weeks after re-loading. Scale bars indicate 200nm.

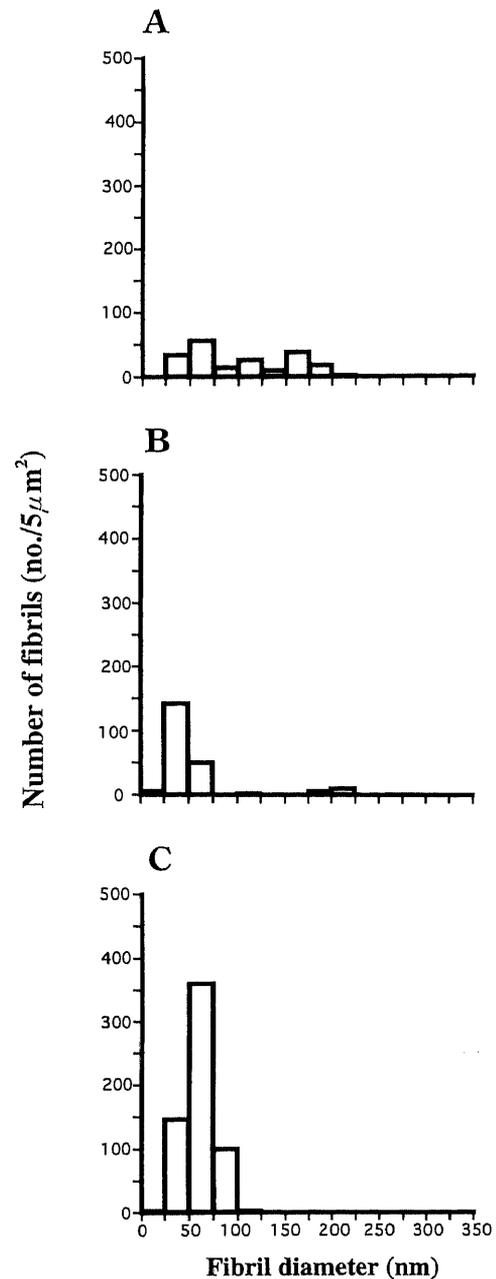


Fig. 7. Histogram of the collagen fibril diameter patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group A. (A) Immediately after re-loading. The dissociation of collagen fibrils. The number of the large-diameter fibrils decreased. (B) Two weeks after re-loading. The large-diameter fibrils were separated and the small-diameter fibrils were aggregated. (C) Six weeks after re-loading. The large-diameter fibrils disappeared and the most fibrils were small-diameter fibrils.

い変性像を認め、その周囲に細胞浸潤を認めた(図5A)。そのほかにも、腱内部に脂肪変性と考えられる空胞を1膝に認めた(図5B)。さらに、膝蓋腱の膝蓋骨付着部に骨化を認めるものも1膝あった(図5C)。これらの所見は臨床的にジャンパー膝の手術的治療における摘出標本に認められる所見と同様のものではあった。また、いわゆる微小断裂と考えられる腱内部の断裂像を認めた(図5D)。

II. 電顕微観察

A群の再刺激直後には、膠原線維の解離がみられ、膠原線維の密度は低下していた(図6A, 図7A)。再刺激後2週には

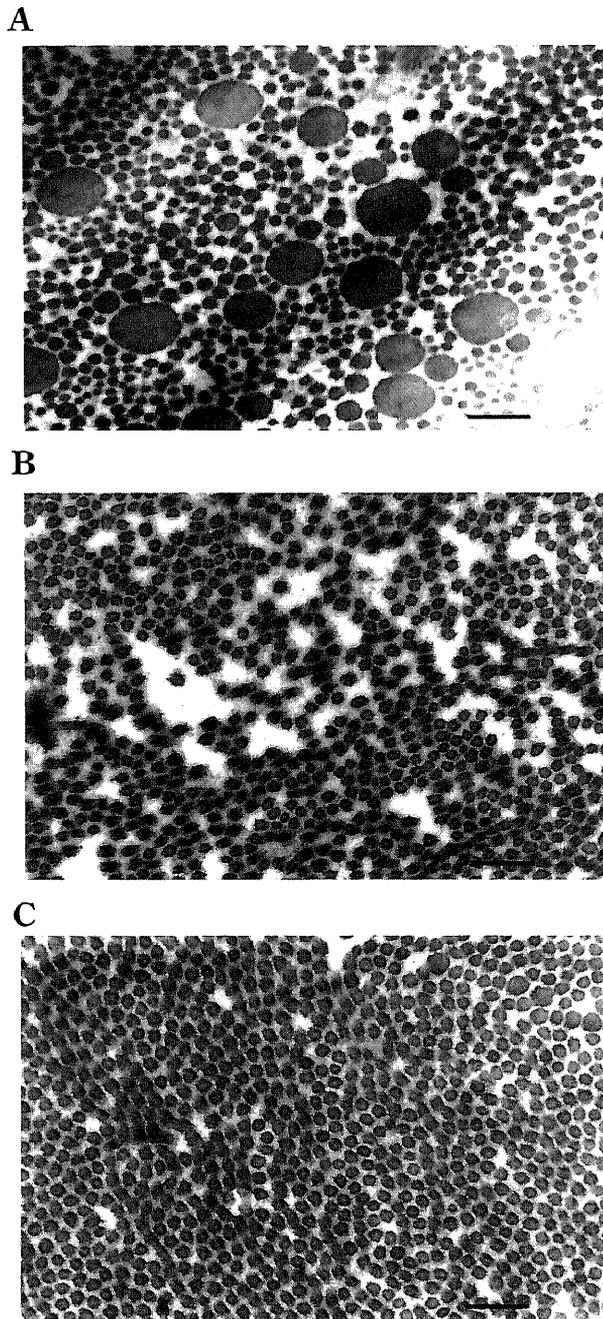


Fig. 8. Electron micrograph of the patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group B. (A) Immediately after re-loading; (B) Two weeks after re-loading; (C) Six weeks after re-loading. Scale bars indicate 200nm.

大径の原線維間に小径の膠原線維を認めた(図6B, 図7B)。再刺激後6週には、小径の膠原線維がほとんどであった(図6C, 図7C)。

B群の再刺激直後には小径の膠原線維間に間隙が生じ、密度は低下していた(図8A, 図9A)。大径の膠原線維は認めなかった。再刺激後2週では、刺激直後より膠原線維の密度は

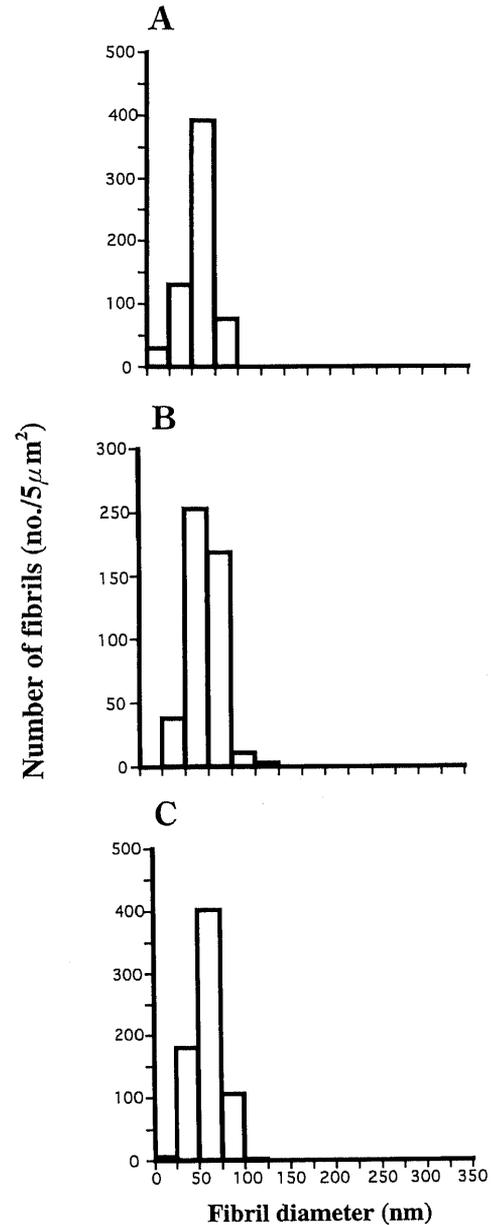


Fig. 9. Histogram of the patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group B. (A) Immediately after re-loading. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of 6W after one round of loading. (B) Two weeks after re-loading. There was significant difference of collagen fibril density compared with that of 6W after one round of loading. But there was no significant difference of collagen fibril density compared with that of immediately after re-loading of 12kgf which is loaded six weeks after the first round loading. (C) Six weeks after re-loading. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of six weeks after one round of loading. Scale bars indicate 200nm.

低下していた (図 8B, 図 9B). 再刺激後 6 週には小径の膠原線維で修復されており, 1 回刺激後 6 週の膠原線維の密度と比較し有意差を認めなかった. (図 8C, 図 9C)

C 群の再刺激直後には明らかな変化を認めず, 1 回刺激後 2 週と同様であった (図 10A, 図 11A). 再刺激後 2 週には, 大径の膠原線維の数が少なくなり, 小径の膠原線維の数が増加した (図 10B, 図 11B). 再刺激後 6 週には小径の膠原

線維で修復され (図 10C, 図 11C), 膠原線維の密度は 1 回刺激後 6 週と比べ有意差を認めず修復過程に影響を与えなかった.

D 群の再刺激直後には明らかな変化を認めず, 1 回刺激後 6 週と同様であった (図 12A, 図 13A). 再刺激後 2 週には小径の膠原線維で修復されており (図 12B, 図 13B), 6 週にも大径の

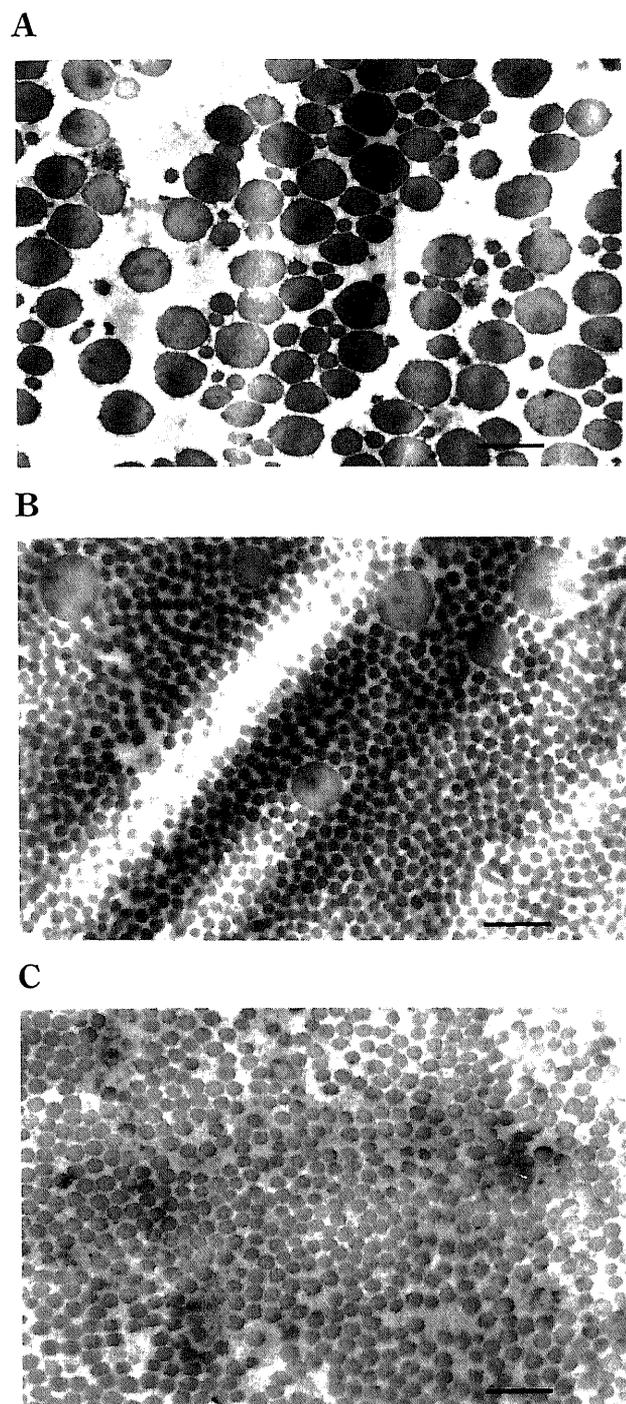


Fig. 10. Electron micrograph of the patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group C. (A) Immediately after re-loading. (B) Two weeks after re-loading. (C) Six weeks after re-loading. Scale bars indicate 200nm.

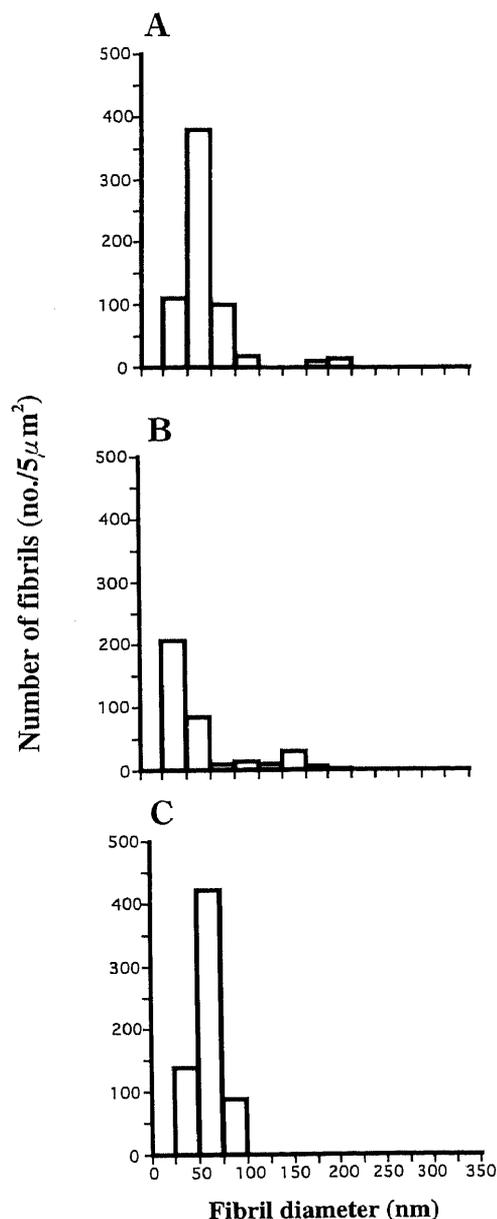


Fig. 11. Histogram of the fibril diameter patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group C. (A) Immediately after re-loading. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of 2W after one round of loading. (B) Two weeks after re-loading. The large-diameter fibrils were separated and the small-diameter fibrils were aggregated. The number of the large-diameter fibrils decreased and of the small-diameter increased. (C) Six weeks after re-loading. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of six weeks after one round of loading. There were not large-diameter fibrils. Scale bars indicate 200nm.

膠原原線維は認めず (図12C, 図13C), 一回刺激後6週と同様の所見であり修復過程に影響を与えなかった。

再刺激後の膠原原線維密度の変化を図14に示す。なお、一回刺激の結果は片山⁹⁾の報告から引用した。A群の再刺激直後には1回刺激後2週と有意差は認めなかったが、再刺激後2週、6週ともに、1回刺激後と比べ密度の低下を認めた。B群では再刺激直後には1回刺激後6週と有意差は認めず、2週後には再刺

激直後に比べて、密度は低下していたが、6週後には1回刺激後6週、12週と同等であった。C群では再刺激直後には、1回刺激後2週と同等であった。2週後には上昇を認め、正常の約2.5倍となり、6週後には1回刺激後6週、12週とほぼ同等であった。D群では、再刺激直後、2週後、6週後と徐々に膠原原線

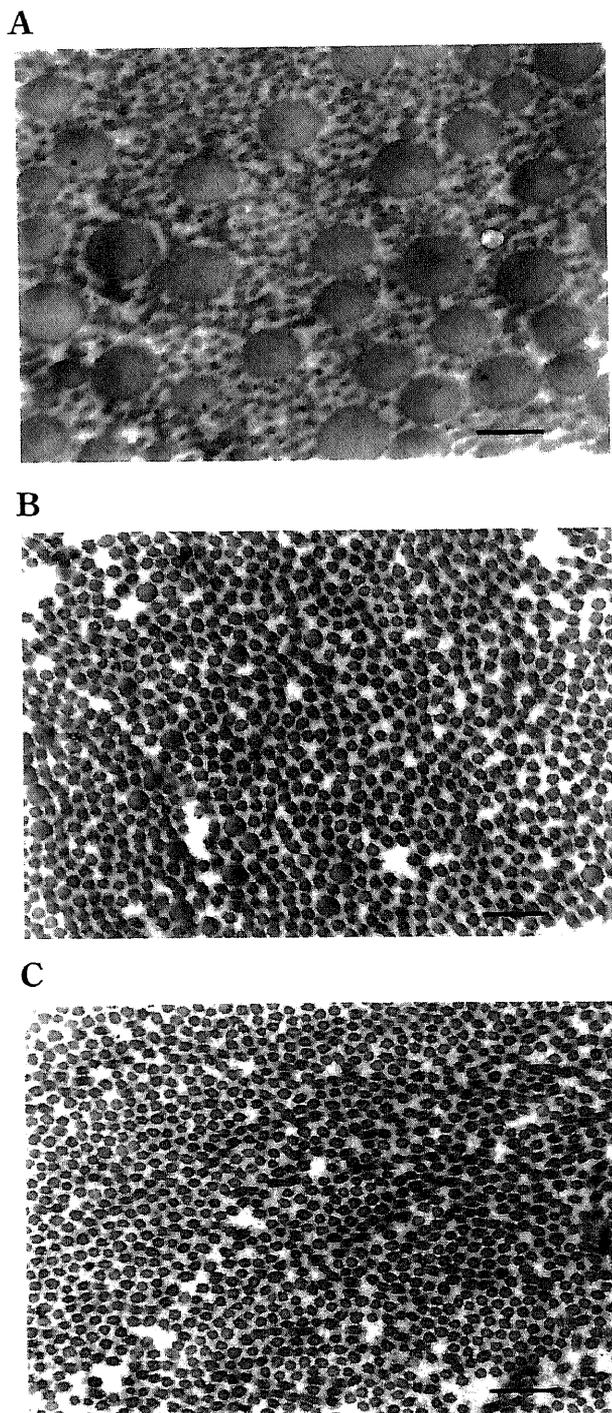


Fig. 12. Electron micrograph of the patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group D. (A) Immediately after re-loading. (B) Two weeks after re-loading. (C) Six weeks after re-loading. Scale bars indicate 200nm.

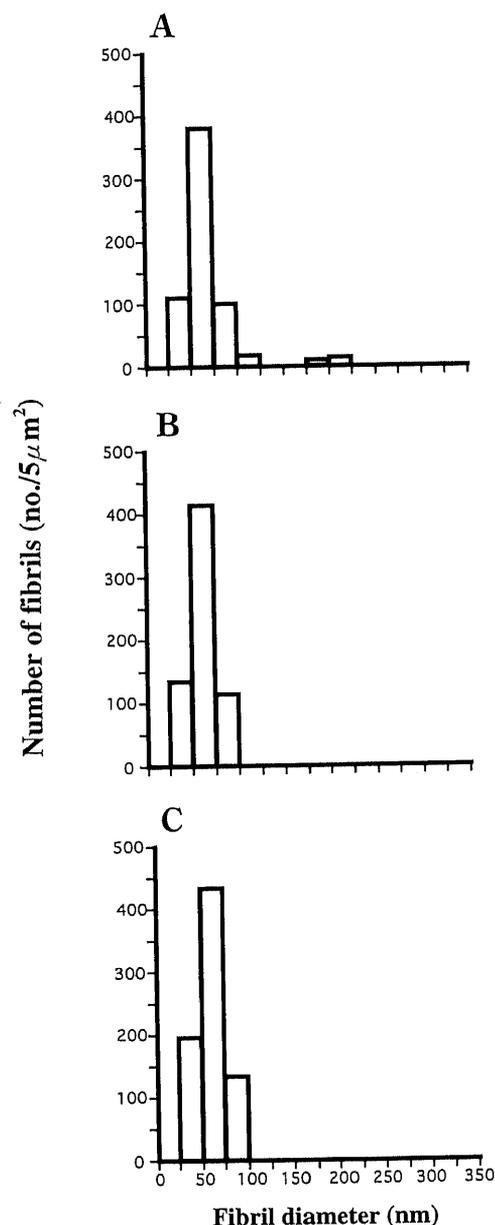


Fig. 13. Histogram of the fibril diameter patellar tendon near the patellar insertion immediately after re-loading in Group D. (A) Immediately after re-loading. The finding was similar to that of six weeks after the first round loading. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of 6W after one round of loading. (B) Two weeks after re-loading. The findings were similar to that of six weeks after the first round loading. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of six weeks after one round of loading. (C) Six weeks after re-loading. The density of fibrils was no change. There was no significant difference of collagen fibril density compared with that of six weeks after one round of loading. Scale bars indicate 200nm.

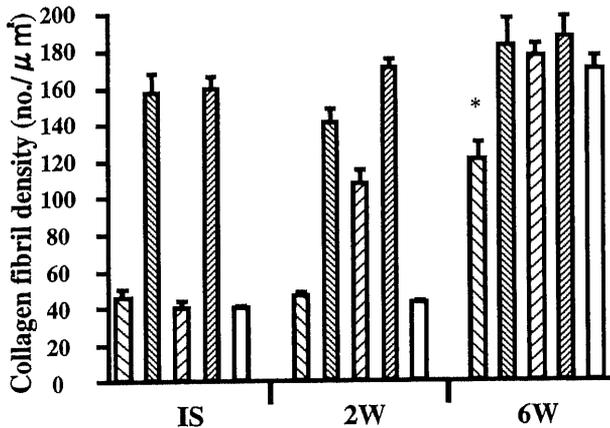


Fig. 14. Histogram of collagen fibril density of the tendon damaged by cyclic loading in the five groups. ▨ Group A. ▩ Group B. ▤ Group C. ▥ Group D. □ Single loading group. IS, immediately after last loading; 2W, 2 weeks after last loading; 6W, 6 weeks after last loading. Each value is $\bar{x} \pm$ SD. * $p < 0.05$, (t-test).

維密度の上昇を認めたと、1回刺激後6週、12週と比べ統計学的には有意差は認めなかった。

最終刺激後6週の膠原原線維密度を比較すると、A群では1回刺激後と比べ膠原原線維密度は有意に低下していた。しかし、そのほかの群の最終刺激後6週では一回刺激後6週とくらべ、膠原原線維密度は統計学的に有意差を認めなかった。

考 察

スポーツ活動によって生じる腱付着部症は、スポーツ障害の約半数を占めるとの報告¹²⁾があるほど発生頻度が高い疾患である。代表的な腱付着部症には、テニスのバックストロークによって手関節の伸筋腱の付着部に繰り返し負荷が加わることで生じるテニス肘やバレーボールやバスケットボールなどの競技におけるジャンプによって、膝蓋腱の付着部に繰り返し負荷が加わり障害が生じるジャンパー膝などがある。これらの腱付着部症の臨床症状は、安静時または運動時の腱付着部の疼痛であり、その疼痛によりスポーツ活動に支障が生じる。腱付着部症の病態は、筋の連続的、断続的な収縮により生じる腱付着部の微小損傷であると推察されている¹³⁾¹⁴⁾。腱の付着部は、軟組織と硬組織との接点であり、物理的、化学的なストレスが集中するため、引っ張り負荷の繰り返しによる損傷が生じやすい¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。腱は、1回に加わる負荷の大きさがその腱の最大破断強度をこえると断裂する。したがって、負荷が最大破断強度以下であれば、1回の負荷で腱が断裂することはない。一方、腱に負荷が加わらなければ、コラーゲンの代謝が低下し、腱の強度は低下する¹⁸⁾。逆に腱に負荷が加わればその負荷に適応するために、コラーゲンの代謝が亢進し、腱の強度は増加する。このコラーゲン代謝の亢進は、負荷による腱の微小損傷が修復されるために起こると考えられている¹⁹⁾。すなわち、腱のような軟部組織は、負荷のかかり方に依りてリモデリングが生じ、力学的および組織学的特性が変化している²⁰⁾。Leadbetter²¹⁾はこのような腱のリモデリングや腱損傷の治癒過程を考慮し、腱付着部症とは腱が加わる負荷に適応できなくなった状態である

と推察している。つまり、細胞レベルで考えてみると、腱付着部症は繰り返される負荷が一定閾値以上となることにより生じた損傷が、正常の細胞による治癒反応では補うことができなくなった際、または、腱内の細胞が正常な治癒反応を示さなかった際に生じると考えられる。しかしながら、どのような負荷により腱付着部症が生じるかは明らかにされていない。腱付着部症が生じる負荷の閾値は負荷量を規定する負荷の大きさ、回数、期間だけによるのではなく、損傷の修復過程を考えた場合、負荷が加わる頻度、つまり、負荷と負荷との間隔が使い過ぎの状態を引き起こすかどうかの一つの重要な因子と考えられる。負荷により腱に損傷が生じたとしても、時間的経過により十分な修復が生じ、適応することが可能であれば、腱の強度が上昇するため、腱付着部症は生じないと考えられる。しかし、時間的経過により適応可能である負荷量であっても、十分な修復が起こる前に再度負荷が加わった場合に損傷が高度となることで、腱付着部症が生じ、その損傷が蓄積されることで難治性となると推察される。理論的には腱付着部症の病態はこのように考えられるが、証明されておらず、腱の損傷の修復過程において再度負荷を加えた際の腱の変化については検討がなされていない。

腱付着部症の治療には大きくわけて保存的治療と手術的治療があるが、一般的には保存的治療が選択されることが多い。保存的治療には消炎鎮痛剤の投与、ステロイドの局所注射、温熱療法などの物理療法があるが、治療の基本はスポーツ活動の休止による局所の安静である。腱付着部症の治療における安静期間は、疼痛の程度などの臨床症状によって決定されることが多く、症例によって一定していない。また臨床的に付着部症の多くは安静により改善するが、安静が最も有効な治療法であるかは不明である。Alfredsonら²²⁾はアキレス腱炎に対する運動療法の有用性を報告しており、安静を保つよりも適度な運動負荷がよりよい治療効果を示すことを報告している。腱の完全断裂モデルにおける修復過程の報告によると、腱損傷が生じたあとに全く負荷がかからない状態では、修復過程は遅延するとされている。しかし、腱付着部症のようないわゆる微小損傷といわれる病態において負荷量や負荷の間隔の違いによる修復過程の変化は検討されていない。つまり、腱付着部症の治療としての有効な安静期間がどの程度なのかは、基礎的に明らかにされておらず、適切な運動負荷を加えることにより、臨床症状が改善すると報告されているが、どの程度の運動負荷が最も有効であるかは、明らかにされておらず、組織学的な検討もされていない。そこで、今回繰り返し引っ張り刺激による腱損傷モデルを用いて、修復に十分な安静期間と修復に有効な運動負荷を明らかにする必要があると考え、基礎的実験を行った。

今回の実験の目的は、繰り返し引っ張り刺激による腱損傷の修復過程において再刺激を行い、その再刺激までの期間と再刺激強度を変えることにより、その後の修復過程がどのように変化するかを検討することである。小林は繰り返し引っ張り刺激による腱損傷の病態を解明するために、家兎の膝蓋腱に定量的な刺激を加えることができる装置を考案し検討を行った。その結果では、家兎の膝蓋腱の破断負荷の30%程度である12kgfの引っ張り刺激を1回/秒で14,400回膝蓋腱に加えることにより、膝蓋腱の膝蓋骨側付着部深層に線維の解離や微小断裂が認められた。刺激後2週には損傷靭帯の線維走行は、不規則な配列を呈し、線維芽細胞数も多く修復途中の像であり、さらに刺

激後6週には損傷腱はほぼ光顕的に正常な像に修復されたと報告している。しかし、この腱損傷モデルではあるものの、一度に14,400回の刺激を行った急性損傷のモデルであった。つまり、通常臨床で経験される腱付着部症の発症の過程とは異なり、組織学的にはいわゆる微小断裂の像が認められたものの、付着部症の手術の切除標本で認められる変性像や石灰化像のような不可逆的な変化ではなかった。片山⁸⁾は電顕による観察およびⅢ型コラーゲンの免疫組織染色を行い、光顕にてほぼ正常な像に修復される刺激後6週の時点であっても、電顕では正常の腱で認められるⅠ型コラーゲンでは修復されず、小径のⅢ型コラーゲンで修復されていたと報告している。そのために修復腱の弾性の低下やコラーゲン線維の面積占有率の低下による脆弱化を引き起こし、再刺激によって損傷腱に更なる損傷が生じ難治性になることが予想されると述べている。そこで、片山の推察を検証するため、今回損傷腱の修復過程における再刺激による損傷とその修復過程を検討した。言い換えれば、再刺激によって、損傷腱にはさらに損傷が加わり臨床的に認められる腱付着部症と同じような不可逆的な変化が生じるのかどうか、また再刺激後と今までに報告されている一回刺激後との修復過程の相違点を検討した。さらに損傷腱の修復において、適度な負荷が修復を促進するという仮説のもとに、どのような時期にどの程度の負荷を加えることが、腱修復に有効かを明らかにする目的で、再刺激の時期と負荷量を変えて検討した。繰り返し引っぱり刺激による靭帯損傷の修復過程における再刺激の時期は、初回刺激後2週および6週とした。再刺激の時期を決定した理由は、小林の実験結果から、光顕による観察所見では刺激後2週には損傷腱の線維走行は、不規則な配列をなし線維芽細胞の数も多く認められるため、この時期を修復早期と考え、さらに6週には損傷腱はほぼ正常な像に修復されており、この時期を修復後期の状態であると考えたためである。また、再刺激の負荷量は初回刺激と同様に腱実質に損傷を生じる12kgfとその半分まで腱実質に損傷を生じない6kgfの負荷量で行い、刺激周期、持続時間は初回刺激と同様にした。

今回の結果から、繰り返し引っぱり刺激による腱損傷の修復早期に腱実質に損傷を生じるような再刺激を加えることで、臨床での腱付着部症の組織所見と同様の所見が得られた。このことは、修復早期に腱損傷を生じうる大きさの再刺激を加えることにより、腱に不可逆性変化を生じさせることが判明した。臨床的には腱付着部症に対する手術時に得られる切除標本については詳細な検討がなされており、その病理学的所見は多様である²⁰⁾。腱付着部症に対しては、保存的治療が行われることが多く、保存的治療が無効である症例に対して手術的治療が行われていることから、手術を必要とするような症例は、病期としては進行した状態であると考えられる。Foxら²⁴⁾は、アキレス腱炎の病理学的検討から、腱鞘の肥厚、類線維性または粘液性変性、線維化、石灰化などの変化を報告している。またJozsaら²⁵⁾は損傷した腱を病理学的に検討し、低酸素性変性像、脂肪変性、粘液性変性、石灰化腱炎などさまざまな変化を報告している。このような切除標本の多様性は、損傷の程度、罹病期間、修復の状態が一定でないことなどによると考えられている。またJozsaら²⁶⁾は、腱付着部症における切除標本の多様性の要因をこの疾患の発生機序から考察している。その報告によると腱付着部症は低酸素状態が細胞に変化を引き起こし、変化した細胞

がⅢ型コラーゲンを産生することにより生じると述べている。さらにこの機序には、熱、遊離基、細胞から放出される酵素により腱に変化が生じることが関与するため、このような変化は個体差やわずかな環境の差が影響を及ぼすために、腱付着部症の病理像は多様となると推察されている。これらの報告において多様な所見が得られているのと同様に今回の結果においても、刺激量を一定に設定したが、その変化は一定ではなかった。今回、修復早期に腱損傷を生じる刺激量での再刺激を加えることにより、腱内部の変性像や石灰化像など多様な不可逆性変化を認めた結果は、刺激量は一定であったが個体差や刺激後の活動性などのわずかな違いによるものと考えられた。したがって、今回の実験結果から、腱付着部症が繰り返し引っぱり刺激によって損傷された腱が、その修復過程早期に腱実質に損傷が生じるような負荷が再び加わることにより、腱付着部症が発生することが明らかとなった。つまり、損傷をうけた腱が修復が十分でない時期に再び損傷をうけることにより、さらに損傷が高度となり、腱付着部症が発生するものと理解できる。

一方、修復後期に12kgfの再刺激を行っても、その修復過程は光顕的に1回刺激のモデルと同様の修復過程を示し、変性像などの不可逆性変化は認めなかった。つまり、12kgfという一定の再刺激を加えても、再刺激の時期により損傷腱の修復過程に違いが認められたことになる。また、電顕的観察においては、修復早期または後期に再刺激を行った両群とも、細い径のコラーゲン線維で修復されていたが、修復早期に12kgfの再刺激を行うことにより、その後の修復が遅延し、再刺激後6週においても膠原線維の密度は低下していたが、修復後期に12kgfの再刺激を行った場合には、その後の修復は一回刺激後の修復と同等であった。このことは、修復早期に靭帯損傷を生じるような大きな負荷が、その後の修復を遅延させることを示し、修復後期に腱損傷を生じるような刺激を加えても、その後の修復を遅延させないことを示している。つまり、ある程度まで修復された時点での再刺激による損傷は、正常の状態には修復されないものの、一回刺激と同等の修復過程を示し、さらに高度な損傷とはならず、腱付着部症は生じないと考えた。

片山⁸⁾が報告しているように、繰り返し引っぱり刺激による腱損傷修復過程で認められる小径の膠原線維はⅢ型コラーゲンである。一般的に腱の損傷後の修復にはⅢ型コラーゲンが出現してくることがよく知られているが²⁷⁾、Strombergら²⁸⁾は、競争馬の屈筋腱の観察から、腱の微小損傷の修復にもⅢ型コラーゲンと線維芽細胞が出現してくることを報告している。Riederer-Hendersonら²⁹⁾は、ニワトリの胎児を用いた研究から、培養した腱の線維芽細胞はⅠ型コラーゲンだけを産生し、腱の滑膜層から培養した線維芽細胞は、Ⅰ型とⅢ型のコラーゲンの両者を産生することを明らかにした。このことから、損傷腱の炎症性反応として、腱の外部で産生されたⅢ型コラーゲンが腱内に入ってきて修復されると推察している。今回のモデルにおいても、初回刺激後の損傷腱は、線維芽細胞が過度の引っぱり刺激により死滅するかもしれない正常な機能を失いⅠ型コラーゲンを産生しなくなった状態と推察でき、損傷腱の修復は、周囲組織からのⅢ型コラーゲンによりおこると考えた。損傷腱の修復はⅢ型コラーゲンからなる小径の膠原線維で修復されるため、電顕的には、正常な状態には修復されないか、もしくは正常な状態になるにはかなりの時間を要するものと推察された。さらに、今回の繰り返し引っぱり刺激による損傷腱の修復早期

の12kgfの再刺激は、周囲組織からのⅢ型コラーゲンによる修復を阻害するが、修復後期の腱損傷を生じうる再刺激では、周囲組織からのⅢ型コラーゲンによる修復を阻害しないために、再刺激後の修復に違いが生じたものと考えた。

片山⁹⁾の報告では、損傷腱は脆弱なⅢ型コラーゲンにて修復されており、再刺激により損傷が容易に生じ、難治性の病変に至ると述べられている。しかし、今回の結果では、修復早期および修復後期における6kgfの再刺激により、損傷腱内に細胞浸潤を認め、その後の修復過程には影響がなかった。6kgfの再刺激により、細胞浸潤を認めたことは、腱内の細胞活性の変化もしくは周囲組織からの細胞浸潤の増加を示していると推察した。Karpakka³⁰⁾は、ラットを用いて1週間固定後の運動負荷によるアキレス腱のコラーゲンの合成に影響をあたえる酵素の活性の変化を評価しており、1回の運動負荷では、酵素活性は有意な変化が生じないことを報告している。この報告は正常腱に対する検討であり、短期間の評価であるが、1回の負荷ではコラーゲンの合成に影響を与えないことを示している。一方、Curwin³¹⁾は、未成熟のニワトリの腱に高頻度の運動刺激をくわえることにより、コラーゲンのturn overを促進することを報告している。さらに、Birch³²⁾はウマの浅指屈筋腱を用いた光顕による検討によって、運動刺激により膠原線維の径の変化することを報告しており、修復過程における運動負荷は、損傷腱の膠原線維の径を変化させる可能性があるかと推察されている。今回の結果においても、6kgfの再刺激は靭帯損傷を生じさせない負荷量による刺激であり、損傷後のある一時期の刺激であったために、その後の修復を促進させなかったと考えた。しかし、再刺激の時期にかかわらず、6kgfの再刺激後の修復過程が遅延しなかった。このことは、腱に損傷を生じない程度の負荷量であれば損傷腱の修復を遅延させないことを示している。さらに、初回刺激による損傷腱は小径の膠原線維で修復されており、適当な再刺激により正常腱にみられるような大径の膠原線維で修復されることを期待したが、修復腱は小径のコラーゲン線維により修復されており、電顕的に正常な像となる方法については明らかにできなかった。今回の結果では修復早期であっても負荷量が適度なものであれば、その後の修復を障害しないことが明らかになった。したがって、腱付着部症の治療として通常行われている安静が必ずしも必要なく、適正な運動負荷によりよりよい治療成績が期待できる。さらに、腱実質に損傷をあたえない程度の再刺激では再刺激の時期による差がなかったことから、修復早期から適度の負荷を加えることが、腱付着部症に対する有効な治療となる可能性があると考えた。

結 論

腱付着部症の病態および治療法の検討のために、繰り返し引張り刺激による腱損傷の修復過程における再刺激の影響を光顕および電顕を用いて検討し以下の成績を得た。

1. 繰り返し引張り刺激による腱損傷の修復早期(損傷後2週)に腱損傷を生じうる引張り刺激(12kgf×14,400回)を加えることによって、その後の修復が遅延し、不可逆的な変化と考えられる腱の変性、石灰化などの所見を認めた。

2. 繰り返し引張り刺激による腱損傷の修復後期(損傷後6週)に腱損傷を生じうる引張り刺激(12kgf×14,400回)を加えても、その後の修復は遅延せず1回刺激後と同等の修復過程を認めた。

3. 繰り返し引張り刺激による腱損傷の修復早期(損傷後2週)および修復後期(損傷後6週)において腱損傷を生じない引張り刺激(6kgf×14,400回)は、ともに炎症細胞の浸潤を認めるものの、その後の修復過程に影響を及ぼさなかった。

以上の成績より、繰り返し引張り刺激による腱損傷の修復早期に腱損傷を生じうる再刺激を加えることにより、難治性の状態が生じると考えた。腱損傷を生じさせない程度の再刺激を修復早期に加えてもその後の修復は遅延せず、早期運動療法の可能性を示した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師富田勝郎教授および、直接御指導いただきました北岡克彦講師に深甚なる謝意を表します。なお、本論文の要旨の一部は、第14回日本整形外科学会基礎学術集会(1999, 奈良), 19th Southern Biomedical Engineering Conference(2000, Virginia)において発表した。

文 献

- 1) Windt DA, Heijden GJ, Berg SG, Winter AF, Bouter LM. Ultrasound therapy for musculoskeletal disorders: a systematic review. *Pain* 81: 257-71, 1999
- 2) Krishek O, Hopf C, Nafe B, Rompe JD. Shock-wave therapy for tennis and golfer's elbow - 1 year follow-up. *Arch Orthop Trauma Surg* 119: 62-66, 1999
- 3) Tipton CM, Schild RJ, Tomanek RJ. Influence of physical activity on the strength of knee ligaments in rats. *Am J Physiol* 212: 783-787, 1967
- 4) Noyes FR, Torvik PJ, Hyde WB, DeLucas JL. Biomechanics of ligament failure. II. An analysis of immobilization, exercise, and reconditioning effects in primates. *J Bone Joint Surg Am* 56: 1406-1418, 1974
- 5) Weisman G, Pope MH, Johnston RJ. Cyclic loading in knee ligament injuries. *Am J Sports Med* 8: 24-30, 1980
- 6) Sakuma K, Mizuta H, Takagi K, Takashima K. Effect of enforced exercise in biomechanical properties of anterior cruciate ligament of bipedal rats. *日本整形外科学会誌* 66: 1146-1155, 1992
- 7) 小林尚史. 繰り返し引張り刺激に対する靭帯および靭帯付着部の損傷とその修復に関する実験的研究. *十全医学会雑誌* 106: 236-248, 1997
- 8) 片山一雄. 繰り返し引張り刺激に対する靭帯損傷とその修復について. *十全医学会雑誌* 106: 494-504, 1997
- 9) Amiel D, Woo SL, Harwood FL, Akeson WH. The effect of immobilization on collagen turnover in connective tissue. A biomechanical-biomechanical correlation. *Acta Orthop Scand* 53: 325-332, 1982
- 10) Lechner CT, Dahners LE. Healing of the medial collateral ligament in unstable rat knees. *Am J Sports Med*. 19: 508-512, 1991
- 11) Kamps BS, Linder LH, DeCamp MS, Haut RC. The influence of immobilization versus exercise on scar formation in the rabbit patellar tendon after excision of the central third. *Am J Sports Med*. 22: 803-811, 1994
- 12) Herring S. Introduction in overuse injuries. *Clin Sports Med* 6: 225-239, 1987

- 13) Phillips B.B. Traumatic disorders. In Crenshaw H (eds), *Cambell's Operative Orthopaedics*, 8th ed, p1921-1922 Mosby, St. Louis, 1992
- 14) Rouls J, Marteus M, Mulier JC, Burssens A. Patellar tendinitis (jumper's knee). *Am J Sports Med* 6: 362-368, 1978
- 15) Blazina ME, Karlan RK, Jobe FW, Carter VS, Carlson GJ. Jumper's knee. *Orthop Clin North Am* 4: 665-678, 1973
- 16) Matrens M, Wouters P, Burssens A, Mulier JC. Patellar tendinitis: pathology and results of treatment. *Acta Orthop Scand* 53: 445-450, 1982
- 17) Karlsson J, Lundin O, Lossing IW, Peterson L. Partial rupture of the patellar ligament. Results after operative treatment. *Am J Sports Med* 19: 403-408, 1991
- 18) Tripton CM, Vailas AC, Matthes RD. Experimental studies on the influences of physical activity on ligaments, tendons and joints: a brief review. *Acta Med Scand* 71: 157-68, 1986
- 19) Woo SL-Y, Gomez MA, Woo YK, Akeson WH. Mechanical properties of tendons and ligaments. II The relationship between immobilization and exercise on tissue remodelling. *Biorheology* 19: 397-408, 1982
- 20) Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 4. Mechanical influences on intact fibrous tissues. *Anat Rec* 226: 433-439, 1990
- 21) Leadbetter WB. Cell-matrix response in tendon injury. *Clin Sports Med* 11: 533-78, 1992
- 22) Alferedson H, Pietila T, Jonsson P, Lorentzon R. Heavy-load eccentric calf muscle training for the treatment of chronic Achilles tendinosis. *Am J Sports Med* 26 (3): 360-366, 1998
- 23) Popp JE, Yu JS, Kaeding CC. Recalcitrant patellar tendinitis. Magnetic resonance imaging, histologic evaluation, and surgical treatment. *Am J Sports Med* 25: 218-222, 1997
- 24) Fox JM, Blazina ME, Jobe FW. Degeneration and rupture of Achilles tendon. *Clin Orthop* 107: 221-4, 1975
- 25) Jozsa L, Reffy A, Kannus P, Demel S, Elek E. Pathological alterations in human tendons. *Arch Orthop Trauma Surg* 110: 15-21, 1990
- 26) Jozsa L, Reffy A, Balint JB. Polarization and electron microscopic studies on the collagen of intact and ruptured human tendons. *Acta Histochem* 74: 209-15, 1984
- 27) Marr CM, McMillan I, Boyd JS, Wright NG, Murray M. Ultrasonographic and histopathological findings in equine superficial digital flexor tendon injury. *Equine Vet J* 25 (1): 23-9, 1993
- 28) Stromberg B. The normal and diseased superficial flexor tendon in race horses. Amorphologic investigation. *Acta Radiol Suppl* 305: 1-94, 1971
- 29) Riederer-Henderson MA, Gayger A, Olson L, Robertson C, Greenlee TK Jr. Attachment and extracellular matrix differences between tendon and synovial fibroblastic cells. *In Vitro* 19: 127-33, 1983
- 30) Karpakka J, Vaananen K, Virtanen P, Savolainen J, Orava S, Takala TE. The effect of remobilization and exercise on collagen biosynthesis in rat tendon. *Acta Physiol Scand* 139: 129-45, 1990
- 31) Curwin SL, Vailas AC, Wood J. Immature tendon adaptation to strenuous exercise. *J Appl Physiol* 65: 2297-2301, 1988
- 32) Birch HL, Patterson-Kane J, Willson AM. Athletic training alters the glycosaminoglycan composition and collagen fibril diameters in tendon (abstract). *Transactions of the 41st Annual Meeting of the Orthopedic Research Society*: 135, 1995

Effects of Re-loading during Repair of Tendon Injury caused by Cyclic Tensile Forces Hiroshi Yamada,
Department of Orthopaedic Surgery, School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 – J. Juzen Med
Soc., **112**, 71 – 83 (2003)

Key words cyclic tensile load, tendon injury, re-loading, repair

Abstract

Although there are many patients suffering enthesopathy with sports injury, no definitely valid treatment for injury of the tendon attachment point has been established. Patients with this kind of injury are usually advised to remain still, but there is no consensus about the duration of time that patients should remain still. Using an enthesopathy model induced by cyclic tensile forces, we clarified the effect of re-loading. The patellar tendon of Japanese white rabbits that weighed about 3.5 kg was loaded by the device with a 12 kgf load at a frequency of 60 times per minute for 4 hours. This was the means of creating a rabbit model with a damaged patellar tendon attachment point. The present study was undertaken to examine, using this model, what timing and strength of re-loading with this device might promote or delay the healing of tendon injuries induced by the this same device. Bearing previous results in mind, the present study was designed to re-load the damaged tendon at these two points in time (2 weeks and 6 weeks after the first round of loading). Two load levels were adopted for re-loading, again on the basis of the previous results: 12 kgf (60 times per min for 4 hrs), a load level capable of causing injury of the tendinous parenchyma; and 6 kgf (60 times per min for 4 hrs), a load level which dose not injure the tendinous parenchyma. The course of repair of the damaged tendon was examined under both light and electron microscopes, first immediately, then 2 weeks and 6 weeks after the re-loading. Although it is thought that some load is necessary for repair of the damaged tendon, excessive loads can hamper repair. In the present study, loading with a 12 kgf for 4 hrs (a load level which can itself cause tendon injuries) in the early stages of healing delayed subsequent healing and caused apparently irreversible changes (degeneration, calcification, etc.) inside the tendon. However, when the same load was applied in late stages of healing, the subsequent course of healing did not differ from that for the group that only experienced one round of loading. These results indicate that excessive loads in the early stages of healing can delay the repair of damaged tendon and make the tendon damage intractable. When the damaged tendons were loaded with a 6 kgf load for 4 hrs (a load level which does not induce tendinous parenchyma injury), the healing of the damaged tendon was not delayed in any of the groups which were subjected to a second round of loading in early stages of healing or in the group in which it was applied in late stages of healing. These results suggest that appropriate loads do not hinder the healing of damaged tendon, even if they are applied in the early stage of healing.