Effect of Cyclic Tensile Loading on Ligament and Ligament-bone Junction

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/2297/9297

金沢大学十全医学会雑誌 第106巻 第2号 236-248 (1997)

繰り返し引っ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

金沢大学医学部医学科整形外科学講座(主任:富田勝郎教授) 小林尚史

239頁 Fig. 5. (写真の処理に不都合がありました.)



Fig. 5. Photomicrograph of infrapatellar fat pad after 4 hr 6 kgf cyclic tensile loading. (A) Immediately after the stimulation hemorrhage in the infrapatellar fat pad was apparent (arrowhead) (HE stain, $\times 250$). (B) Significant fibrosis was completed by 2 weeks (HE stain, $\times 250$).



Fig. 5. Photomicrograph of infrapatellar fat pad after 4 hr 6 kgf cyclic tensile loading. (A) Immediately after the stimulation hemorrhage in the infrapatellar fat pad was apparent (arrowhead) (HE stain, ×250). (B) Significant fibrosis was completed by 2 weeks (HE stain, × 250).

繰り返し引っ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

金沢大学医学部医学科整形外科学講座(主任:富田勝郎教授) 小 林 尚 史

靭帯および靭帯付着部における使いすぎ症候群 (いわゆる靭帯 (腱) 付着部症) は, スポーツ選手に重大な障害をもたら し、慢性かつ難治性の疾患であるが、その病因はいまだに明らかにされていない、本実験の目的は、独自の実験モデルを作成 し、繰り返し引っ張り負荷が靭帯および靭帯付着部に与える影響を明らかにすることである。我々が作成した独自の創外固定 器を使用し、膝蓋靭帯を周期的に伸張させた. 負荷量は6および12 kg 重 (kilogram force, kgf) とし、周期は60 ヘルツ、持続 時間は4時間とした.両群に対し、刺激終了直後、24、72時間、1、2、6週後において組織学的に観察を行った.また、12kgf 刺激群においては引っ張り試験を行い,破断負荷,降伏負荷,および荷重-変位曲線の直線部分の傾き△F値を算出した. 6kgf刺激直後においては膝蓋下脂肪体の出血を認め、2週で同部の線維化が完成していた.また、膝蓋骨側の靭帯付着部では 2週で非石灰化線維軟骨層における軟骨細胞の増殖を認めたが、6週においてはこのような変化はみられなかった。12kgf刺激 直後において、靭帯実質部の膝蓋骨側深層部に出血と膠原線維の解離を認めた、出血巣は炎症を伴いながら徐々に線維組織に よって置換され、膠原線維の解離した部分は炎症を伴わずに修復された、6週後には密な膠原線維に修復されていたが、電子 顕微鏡による観察では細い径の膠原細線維が増加していた。正常な骨-靭帯複合体の破断様式は、全例とも膝蓋骨付着部にお ける剥離であったが、刺激後の破断様式は靭帯実質部が多かった.破断負荷は、刺激群では全経過を通じ対照群(38.3± 7.8kgf)(平均±標準偏差)と有意差を認めなかった.刺激直後の降伏負荷(21.3±8.6kgf)は対照群(32.0±5.9kgf)に比較して 有意に低かったが (P<0.05), 24時間以降では有意差は認められなかった.刺激後のΔF値は, 6週を通じて対照群 (16.1±3.1 kgf/mm)に比較して有意に低下していた (P<0.05).本研究により、破断負荷のわずか32%にすぎない12kgfの引っ張り負荷 でも、これを繰り返し与えることにより、ジャンパー膝の病変の好発部位である膝蓋靭帯実質部および付着部には、さまざま な損傷を起こすことが明かとなった.そして、その損傷は6週を経過しても完全には再生されていなかった.したがって、こ のような修復過程において、さらに繰り返し引っ張り負荷が加わることにより、靭帯および靭帯付着部には、さらに進行した 慢性の難治性病変が完成するものと考えられた. 今後この実験モデルは靭帯(腱)付着部症治療法の確立に役立つものと思わ れた.

Key words cyclic tensile load, ligament, ligament-bone junction, injury, repair

ジャンパー膝をはじめとする靭帯および靭帯付着部や,テニ ス肘などの腱および腱付着部に生じる付着部症¹¹は,スポーツ 選手に非常に多い障害であり,競技レベルが上がり練習量が多 くなればなるほど発症しやすい障害である.そして,いったん 発症すると,疼痛のためスポーツ活動に大きな障害を与え,病 変が進行すれば競技能力の低下を余儀なくされ,さらには競技 を一次中断することも必要となることがある²³³.このように靭 帯(腱)付着部症はスポーツ選手にとって非常に重大な障害を もたらす疾患であるにもかかわらず,その治療は患部の安静, 冷却,温熱療法,筋力訓練あるいは注射療法などの保存的治 療²¹⁻⁵が主体であり,スポーツ活動を続ける限り多くは難治性 で²³³,決定的な治療法がないのが現状である.

靭帯(腱)付着部症は,筋の連続的収縮によって靭帯や腱付 着部に繰り返し引っ張り負荷が生じることにより,靭帯や腱付 着部およびその実質部に微細な損傷がおこることによって発生 する²⁰ **と報告されている.しかしその"微細な損傷"とはいったいどのようなものであるのか,また,靭帯や腱付着部のどの部位に損傷がおこるのかを組織学的に証明した報告は皆無である.さらに,損傷の修復過程に関する詳細な研究も見当らない.

一方,運動負荷が靭帯や腱に与える影響という観点から,実 験動物に運動負荷を与えて,靭帯や腱がどのように変化してい くのかを検討した報告は多い^{0・12}.しかし,その結果の多くは, 靭帯や腱の力学的強度が増強するとするものであり^{0・39},なか には少数ながらも,靭帯の力学的強度が低下したとする報告も みられる¹⁰⁻¹².このような相異なる結果の原因として,靭帯や 腱にかかる負荷量が定量化されていないことがあげられる.

したがって,負荷量が定量可能な繰り返し引っ張り負荷実験 装置を作成し,その装置を用い,生体の靭帯にある一定値以上 の繰り返し引っ張り負荷を与えることによって,靭帯の力学的

平成8年12月17日受付,平成9年2月21日受理

Abbreviations: Cont, control; IS, immediately after 12 kgf stimulation; kgf, kilogram force; w, week; 12 kgf × 10, 12 kilograms force tensile stimulation × 10 times; 光顕, 光学顕微鏡; 電顕, 電子顕微鏡

強度が低下するような組織学的変化がおこることが予想され る.そして、その変化を解明することが、靭帯および靭帯付着 部症の病態を解明する手掛かりとなるものと思われる.また、 そこでおきた変化がどのように修復されていくかを知ること は、靭帯および靭帯付着部症の治療法を確立するためには非常 に重要と思われる.

以上から,1) 靭帯および靭帯付着部に対する定量的な繰り 返し引っ張り負荷実験モデルを作成し,2) 繰り返し引っ張り 負荷に対する靭帯,および靭帯付着部の損傷形態と修復過程を 明らかにする目的で以下の実験を行った.

材料および方法

I. 実験方法

1. 創外固定器の装着

体重3kg前後の日本白色家兎に対し、ペントバルビタール (大日本製薬,大阪) 1ml/kgを静注にて全身麻酔を行い、両側 の後肢を剃毛,消毒後,正中縦切開で膝関節を展開した.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 - (三金工業,大阪)を刺入し、40ナイロン糸(ケイセイ医科 工業,東京)にて創を閉鎖した.5本のキルシュナーワイヤー を空気圧シリンダー(複動式ノックシリンダーNDA16×15) (コガネイ,東京)をつけた自作の創外固定器に連結した(図 1A).また対側は対照群とし、膝蓋骨に1.2mm径の穴を実験群 と同一部位にあけた.

2. 創外固定器

イリザロフ創外固定器をヒントに著者が作成したもので、9

個の穴をあけた5/8リングとロッドを基本とする. 膝蓋骨側は 1枚のリングとシリンダーのロッドを受ける2枚のプレートか らなり, 脛骨側は3枚のリングをロッドで連結したものである. 脛骨側の上端のリングには, シリンダー径16mmの空気圧シリ ンダー本体を装着する半円のリングが熔接されており, シリン ダーのロッドは膝蓋骨側のプレートと連結される(図1A).

空気圧シリンダーの内圧を周期的に変化させることにより, 膝蓋靭帯には繰り返し引っ張り負荷を与えることができるよう にした.

3. 空気圧シリンダーの駆動

空気圧シリンダーの加圧はエアーコンプレッサー(軽搬型ベビ コン0.750P-8SKA)(日立,東京)(図1B,図2)で行った.シリ ンダー内圧を変化させることにより,膝蓋靭帯にかかる負荷量 を変えることが可能である.この装置では最大25kg重 (kilograms force, kgf)の負荷をかけることができる.

シリンダー内圧の調節には電空比例弁VEP312 (SMC, 東京) (図1B, 図2)を用いた.電空比例弁の駆動はパワーアンプ VEA101 (SMC)で行ない,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)(図1B, 図2)で制御することにより, 任意の周期で膝蓋靭帯に負荷をかけることができるようにした.

4. シリンダー内圧のモニタリング

シリンダー内圧は圧力変換器 8510B-100 (日本電気三栄,東 京) で電流に変換し,記録装置 (servocorder-SR-6211) (グラフ テック,神奈川) で経時的にモニタリングし,実験中に常に同





Fig. 1. Photograph of the original external fixator and its control unit. (A) Two 1.2 mm Kirshner wires were inserted into the patella and three into the tibia, and our original external fixator was attached to these wires. This external fixator was composed of four rings, two rods like Ilizarov external fixator, and two air cylinders. (B) Air compressor (AC) gave pressure to air cylinders (C), and electromagnetic valve (EV) controled the pressure in the air cylinder. The electromagnetic valve was driven by a power amplifier (PA), and the cyclic change of the amplitude into the PA was controled by a twin timer (T) and HC relay (HCR).

小

一の負荷が膝蓋靭帯にかかるようにした. (図2).

Ⅱ. 観察方法

以上のような実験装置を用い,刺激周期を60回/分,持続時間を4時間とし,合計で14400回の引っ張り負荷を膝蓋靭帯に与えた後,以下の方法にて観察した.

1. 異なる負荷量に対する靭帯および靭帯付着部の変化の観察

負荷量を6kgfおよび12kgfとした2群に対し、刺激終了直後, 24,72時間,1,2,6週後にそれぞれ両群4羽ずつ、合計48羽 を屠殺した.両下肢を大腿中央、および下腿中央部で切断して 10%ホルマリンで固定し、EDTAで約6週間脱灰後、パラフィ ン包埋し矢状断で厚さ2µmの切片を作成した.HE染色を行な い、この標本を光学顕微鏡(光顕)により膝蓋靭帯の脛骨と膝 蓋骨付着部および膝蓋靭帯実質部の変化を観察し、また偏光顕 微鏡により靭帯実質部の膠原線維配列について観察した.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. 電子顕微鏡 (電顕) 的観察

12kgf刺激群において、刺激終了直後、2週後、6週後にそれ ぞれ2羽ずつ、合計6羽を屠殺し、両下肢を大腿中央および下 腿中央部で切断して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、および5mMカル シウムを混合した溶液に4℃で24時間固定した.膝蓋靭帯を膝 蓋骨および脛骨付着部から切離し、靭帯の膝蓋骨側、中央部、 脛骨側に分け、カミソリを用いて約2mm角の組織片を作成し た.更に同一溶液内に24時間浸した後、5mMのカルシウムを 含む0.1Mのカコジル酸ナトリウム緩衝液 (ph7.4) で洗浄後、 2%オスミウム酸-0.1Mカコジル酸ナトリウム緩衝液 (ph7.4)



Fig. 2. Shema of the procedure in which cyclic tensile loading was applied to the patellar ligament and ligament-bone junction. Kirshner wires were inserted into the patella and the tibia, and our original external fixator (EF) was attached to these wires. Air cylinders (C) connected the patellar part of the external fixator to its tibial part, and the cyclic change of pressure in the air cylinders gave rise to cyclic tensile loading to the patellar ligament and ligament-bone junction. Air compressor (AC) and electromagnetic valve (EV) were designed to control the pressure in the air cylinder. Pressure transducer (PT) and recorder (R) were to monitor the pressure. で24時間固定した.エタノール系列で脱水し,エポキシ樹脂 に包埋した後,靭帯組織の縦断および横断の超薄切片を作成し, 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H-600(日立)にて観察した.

3. 力学試験

対照6膝,12kgfで引っ張り刺激を10回だけ与えた4膝, 12kgfで4時間の刺激終了直後,24,72時間,2,6週後に4膝 ずつの合計30膝において,膝蓋骨-靭帯-脛骨複合体を採取 した.この膝蓋骨-膝蓋靭帯-脛骨複合体の膝蓋骨と脛骨をレ ジン(タフロン リベース)(三木科学工業,京都)にて固定し, 万能試験機(島津オートグラフ)(島津製作所,京都)のつまみ 具に固定して,20mm/分の速度で引っ張り破断試験を行った. 試験片の引っ張る方向は膝蓋骨と脛骨の長軸が一直線上に位置 するようにした.負荷された荷重と試験片の変位は負荷装置に 接続された計測記録装置によって記録し,記録された荷重-変 位曲線から破断負荷,降伏負荷,および弾性率の指標として弾 性域におけるグラフの傾き ΔF値を算出した(図3).

それぞれの群における各値の測定値は, 平均値±標準偏差 (x±SD) で示し, Studentのt-検定を用いて有意差検定を行い, 危険率p<0.05を有意とした.

さらに破断後の標本から1.と同様の操作にて光顕用切片を 作成し、HE染色を行ない、破断部位を組織学的に観察した.

績

I. 正常の膝蓋靭帯,膝蓋靭帯付着部の光顕的組織像

成

正常な膝蓋靭帯実質部は,膠原線維が密に規則正しい束状配列をしており,膠原線維束の間には紡錘形の核をもつ線維芽細胞が認められる(図4C).膝蓋骨,脛骨付着部に近ずくにつれ, 膠原線維束の間には軟骨細胞が認められるようになり,徐々にその数を増し,非石灰化線維軟骨層となる(図4B).さらに石



Deformation (mm)

Fig. 3. Typical load-deformation curve of tensile testing. Six normal knees, four knees after 12 kgf tensile stimulation \times 10, and four knees at each interval after 4 hr of 12 kgf tensile stimulation were used for mechanical testing. They were tested for the tension failure at a deformation rate of 20 mm/min. Yielding load, maximal load, and ΔF value, that was inclination of the lineal part, as the property of stiffness, were calculated from the load-deformation curve.



Fig. 4. Photomicrograph of the normal rabbit patellar ligament and ligament-bone junction. (A) In the ligament-bone junction, fibrocartilage zone was recognized between the ligament (L) and bone (Bo) (HE stain, \times 25). (B) The fibrocartilage zone was divided into the non-mineralized fibrocartilage zone (NC) and mineralized fibrocartilage zone (MC) by tide mark (arrowhead) (HE stain, \times 160). (C) In the ligament, collagen fibers were arranged regularly and spindle shaped fibroblasts were recognized between dense closely packed collagen fascicles (HE stain, \times 250). (D) Using polarized light microscopy, regularly arranged collagen fibers could be clearly observed (HE stain, \times 160).



Fig. 5. Photomicrograph of infrapatellar fat pad after 4 hr 6 kgf cyclic tensile loading. (A) Immediately after the stimulation hemorrhage in the infrapatellar fat pad was apparent (arrowhead) (HE stain, × 250). (B) Significant fibrosis was completed by 2 weeks (HE stain, × 250).

Inc.

Α





В







Fig. 6. Photomicrograph of ligament bone junction after 4 hr 6 kgf cyclic tensile loading. (A) Indistinction of tide mark which is between non-mineralized fibrocartilage zone (NC) and mineralized fobrocartilage zone (MC) is observed 2 weeks after the stimulation (HE stain, × 63). L, ligament; Bo, bone. (B) At the non-mineralized fibrocartilage zone chondrocyte proliferation is observed 2 weeks after the stimulation (HE stain, × 250). (C) These changes vanish by 6 weeks (HE stain, × 250).



\mathbf{C}

Fig. 7. Photomicrograph of ligament and ligament-bone junction near the patella insertion just after 12 kgf cyclic tensile loading. (A) Low power photomicrograph (HE stain, \times 63). High power photomicrograph of area (b) and (c) in Fig. A were shown in Figs. B and C. (B) In the deep layer of the ligament substance near the patellar insertion, hemorrhage between collagen fascicles (arrowhead) was observed (HE stain, \times 250). (C) Normal dense closely packed collagen structure was destroyed, and dissociation and microrupture of collagen fibers were apparent under the white arrow (HE stain, \times 250).



Fig. 8. Photomicrograph at the site of hemorrhage. (A) Polynuclear leucocytes infiltrated 24 hr after the stimulation (HE stain, \times 250). (B) Mononuclear inflammatory cells infiltrated 72 hr after the stimulation, and then a gradual fibroblastic proliferation was observed (HE stain, \times 250). (C) By 2 weeks inflammatory cells disappeared and irregulerly arranged newly formed fibrous tissues were apparent (HE stain, \times 250). (D) They were well oriented in the longitudinal axis and show normal appearance of the patellar ligament at 6 weeks (HE stain, \times 250).



Fig. 9. Photomicrograph at the site of dissociation of collagen fibers. (A) Immature more plump-shaped fibroblasts proliferate 72 hr to 2 weeks after the stimulation without inflammatory process. The newly formed collagen fibers were longitudinally aligned but not closely packed at 2 weeks (HE stain, × 250). (B) At 6 weeks the cell population was decreased and normal ligamentous structures were repaired (HE stain, × 250).

Α



В





С

Fig. 10. Photomicrograph of patellar ligament substance near the patellar insertion site using polarized light. (A) Dissociation of collagen fibers was clearly distinguished from normal dense closely packed collagen fibers just after stimulation (HE stain, \times 160). (B) At two weeks the alignment of collagen fibers was still irregular (HE stain, \times 160). (C) At 6 weeks uniformly and regularly aligned collagen fibers were apparent (HE stain, \times 160).



Fig. 11. Photomicrograph of patellar ligament substance near the patellar insertion site examined by electron microscopy in transverse section. (A) Small and large diametric collagen fibrils were arranged closely, that was in a bimodal distribution, in normal ligament (\times 2200). (B) Collagen fibrils are dissociated and some space among fibrils was present just after 4 hr of 12 kgf stimulationm (\times 2200). Small diametric fibrils were gradually increased, and then (C) many small diametric fibrils were filled among a small number of large diametric fibrils (\times 2200).



А







С

Fig. 12. Photomicrograph of patellar ligament substance near the patellar insertion site examined by electron microscopy in longitudinal section. (A) Normal ligament contains straightly aligned and closely arranged collagen fibrils (× 2200). (B) Collagen fibrils were irregulaerly aligned just after stimulation (× 2200). (C) Two weeks later fine collagen fibrils without stripes (black arrow) were arranged (× 2200). 灰化前線を介して軟骨基質に石灰化を認めるようになり,徐々 に層状骨組織へと移行する.したがって,靭帯付着部は靭帯層, 非石灰化線維軟骨層,石灰化線維軟骨層,骨層の4層構造から 成り立っている(図4A, B).

偏光顕微鏡による観察では, 靭帯実質部の規則正しい膠原線 維配列が明瞭に観察される (図4D).

Ⅱ. 負荷の違いによる靭帯および靭帯付着部の変化とその修 復過程

1. 対照群

対照群では手術や膝蓋骨の穴開けによる影響はなく,正常例 と同様に靭帯付着部は4層構造を示し,靭帯実質部は膠原線維 が密に配列し束状配列をなしていた.

2. 6kgf刺激群

6kgf刺激群では、刺激直後に膝蓋下脂肪体の出血を認め(図 5A)、2週で同部の線維化が完成していた(図5B)、膝蓋骨側の 靭帯付着部では2週で非石灰化線維軟骨層における軟骨細胞の 増殖,石灰化前線の不鮮明化、および多層化を認めたが(図6A, B), 脛骨側の靭帯付着部には明らかな異常は認められなかった. しかし6週においては非石灰化線維軟骨層における軟骨細胞の 増殖は認められなかった(図6C).また、靭帯実質部は正常例, ならびに対照群と同様の膠原線維配列を示し、線維芽細胞の形 態にも明かな変化は認められなかった.

3. 12kgf刺激群

1) 光顕による観察

12kgf刺激群においては、6kgf刺激群にみられた膝蓋下脂肪 体と膝蓋骨靭帯付着部の変化に加え、刺激直後では靭帯実質部 の膝蓋骨側深層部,すなわち臨床的にみられるジャンパー膝の 損傷部位に一致して線維束間の出血を認め、また膠原線維が密 に配列した束状構造が消失し,膠原線維1本1本が解離した状 態を呈していた(図7A, B, C).

出血巣においては刺激終了後24時間で顆粒球の侵潤を認め (図8A),72時間後には単核球侵潤を伴いながら出血が吸収さ れていくとともに、線維芽細胞の増殖を認めた(図8B).さら に2週後には東状構造を示さない不規則な配列の線維組織が再 生され(図8C),6週後には、ほぼ正常に近い線維東構造に修復 されていた(図8D).

一方,膠原線維1本1本が離解し、束状構造を失った膠原線 維(図7C)の間には、72時間後から顆粒球や単核球の侵潤を伴 うことなく、幼若な楕円型の核をもつ線維芽細胞の増殖が起こ り(図9A)、2週後でもまだ密な線維束構造には修復されていな かった、6週後になると、線維芽細胞の数は減少して、核の形 態も成熟した紡錘形となり、密な膠原線維束構造に修復されて いた(図9B).

2) 偏光顕微鏡による観察

偏光顕微鏡を用いた観察では、12kgf刺激直後においては、 束状構造が保たれた部位と、膠原線維が解離し束状構造を失っ た部位が明瞭に区別された(図10A).2週後では、膝蓋骨側の 膝蓋靭帯線維配列は深層においては浅層部に比較していまだに 不規則であるが(図10B)、6週後になると正常に近い均一な線 維配列に修復されているのが観察された(図10C).

Ⅱ. 電顕による靭帯実質部の観察 (12kgf 刺激群)

対照群の横断像においては、小さな径の膠原細線維と大きな 径の膠原細線維が密に集合し (図11A), 翼状細胞に囲まれて束 状構造を呈しており、縦断像では直線状の膠原細線維が重なる

ように配列していた (図12A). 刺激直後の横断像においては, 隣合う細線維は互いに離解し細線維間に間隙を認め (図11B), 縦断像では細線維の直線状の走行に乱れを生じ,不規則な配列 を示していた (図12B). 2週後の横断像においては,さらに小 さな径の膠原細線維が増加し,縦断像では,所々に横紋構造を 示さない細い膠原細線維が集まっていた (図12C). 6週後の横 断像では,細い径の膠原細線維が多くなり,細い径の細線維ば かりが集まる部位と,細い径の細線維の間に太い径の細線維ば かりが集まる部位と,細い径の細線維の間に太い径の細線維が 配列する部位が混在しており (図11C),縦断像では横断像で見 られた細い径の膠原細線維も横紋構造を呈するのが認められ, 2週でみられたような横紋構造を示さない膠原細線維は認めら れなかった.

Ⅲ.繰り返し引っ張り負荷が膝蓋骨一膝蓋靭帯一脛骨複合体のカ学的特性に与える影響(12kgf 刺激群)

1. 破断部位の観察

対照6膝の破断部位は、全例膝蓋骨付着部の石灰化線維軟骨

層と骨層の間で破断を生じていた.12kgf刺激直後,24時間後, 72時間後,2週後,6週後のいずれにおいても,対照群と同様 の破断形態を示すものは少なくなり,膝蓋骨付着部の石灰化線 維軟骨層と骨層の破断に靭帯実質部の破断を合併するものや, 靭帯実質部でのみ破断するものが多かった(表1).

2. 破断負荷

破断負荷は対照群で38.3±7.8kgf, 12kgfの10回刺激群では 37.7±12.0kgf, さらに12kgfの4時間刺激群の刺激直後では 29.9±14.8kgf, 6週後では33.2±6.5kgfであり, 全経過を通じ 統計学的有意差を認めなかった(図13).

3. 降伏負荷

弾性域の最大値である降伏負荷は、対照群では32.0±5.9kgf, 12kgfの10回刺激群では30.7±7.0kgfであり、統計学的有意差 は認められなかった.一方、12kgfの4時間刺激群では刺激直 後の降伏負荷は21.3±8.6kgfであり、対照群と統計学的有意差 を認めた (P<0.05).しかし刺激終了後24時間以降では、対照群

Table 1. The failure mode of patella-ligament tibia complex after tensile testing

	*	2			0			
Failure mode	Number of cases							
	Ót	12 kgf×10	Time after 4 hr 12 kgf stimulation					
	Cont		IS	24 hr	72 hr	2 w	6 w	
Pa-avulsion	6	4	1	2	1	1	1	
Ti-avulsion							1	
Ligament			1		1	1		
Pa-avulsion+ligament			2	2	2	2	2	

Pa, patella ; Ti, tibia ; Cont, control ; 12 kgf \times 10, 12 kgf tensile stimulation \times 10 times ; IS, immediately after stimulation ; w, week.





Fig. 13. Change in the maximum tensile load of patellaligament-tibia complexes. $\overline{x} \pm SD$ were shown. The values in immediately (immediately after the stimulation, IS), 24 hr, 72 hr, 2 weeks (w), 6 w after 4 hr of 12 kgf stimulation, that just after 12 kgf tensile stimulation \times 10 times (12 kgf \times 10) showed no significant difference statistically as compared to those of normal ligament (t-test).





Fig. 15. Change in the ΔF value of patella-ligament-tibia complexes. $\overline{x} \pm SD$ were shown. The ΔF value of normal ligaments and those of 12 kgf × 10 had no significant difference statistically (t-test). All ΔF value in each interval after 4 hr of 12 kgf stimulation (IS, 24 hr, 72 hr, 2 w, and 6 w) were statistically smaller than those of normal ligaments (t-test, * p<0.05).

と統計学的有意差は認められなかった(図14).

老

4. ∆F値

弾性率の指標として計測した Δ F値は,対照群は16.1± 3.1kgf/mmで,12kgfの10回刺激群は16.9±1.76kgf/mmであ り両者の間には有意差は認められなかった.しかしながら, 12kgfの4時間刺激群では刺激直後から6週後を通じて,対照群 に比較して有意に低下していた (P<0.05) (図15).

察

1970年 Cooper らは靭帯の骨付着部における靭帯・非石灰化 軟骨・石灰化軟骨・骨という4層からなる特殊構造を明らかに し¹³⁰, 1979年 Niepel は靭帯付着部の神経支配の存在を報告し, この部位を"付着部"と命名した¹¹,"付着部"は靭帯,筋,腱 の組織固有の機能を十分に発揮させるための緩衝帯の役目を担 っているが,また軟組織と硬組織の接点でもあり,運動器関連 組織のなかで最も多くの物理的,化学的なストレスをうけ,損 傷を生じやすい部位である¹⁰.

スポーツ選手におこるジャンパー膝やテニス肘に代表される 靭帯(腱)付着部症は、筋の連続的収縮によって"付着部"に 微小外傷が生ずることによっておこるとされている²⁾⁻⁴⁾.その 症状は、初期には運動後の疼痛のみであるが、次第に運動開始 時と疲労時の痛みとなり、さらには安静時、運動中の疼痛のた めにスポーツレベルの低下を余儀なくされ、最終的には完全断 裂に至る²³⁾. 靭帯(腱)付着部症の治療法としては、消炎鎮痛 剤の投与、冷却や温熱療法、運動療法、ステロイドの局所注射 などの保存的治療²⁾⁻⁹が主体であるが、症状の改善が得られな いものに対しては手術治療が選択されることもある²⁾⁻⁴⁾.手術 的治療としては靭帯付着部のドリリング,非石灰化線維軟骨層 および靭帯部病変部位の切除³⁰⁰や,骨を含めた付着部の切除後 に靭帯を骨に再縫着する方法³¹などがある.しかし,さまざま な保存的治療を駆使しても、スポーツ活動を続ける限り難治性 の病変であることに変わりはなく、いずれの治療法も科学的に 有効であることが証明されたものは皆無である.また、手術療 法にいたっては4~6カ月にわたる後療法を必要とし³⁰⁰,確立 された治療法がないのが現状である.

靭帯 (腱) 付着部症の病理組織像としては、1) 石灰化前線の 消失15,2)非石灰化軟骨層の増殖15,3)粘液変性3,4)フィ ブリノイド壊死",5)線維芽細胞の増殖と血管新生1017,6)硝 **子様変性¹⁰などが報告されている.しかし,これらはいずれも** 手術時に得られた組織の病理所見であり、靭帯(腱)付着部症 の治療が初期には保存的治療が選択され、手術治療は安静時お よび運動中の疼痛のために、スポーツレベルの低下を余儀なく されるような症例に行なわれることを考えると、上記のような 病理組織像は,難治性に陥った慢性期の像を見ているにすぎな い、すなわち、運動後、運動開始時、あるいは疲労時のみに疼 痛を生じる靭帯(腱)付着部症の初期において、靭帯および靭 帯付着部にどのような病理組織学的変化がおきているのか、ま たどのように修復されるのかについてはいまだに未解決であ り、治療法の確立に支障をきたしている、したがって、靭帯 (腱) 付着部症における微小外傷を, なるべく忠実に再現できる ような実験モデルを作成し、その損傷形態と修復過程を知るこ とが治療法の確立には重要と考える.

過去においては、靭帯や腱の損傷という観点からの実験モデ ルとして、それらを切離または切除し、その修復過程を観察し た報告は多く、その光顕的、電顕的組織像、また力学的特性は 詳細に報告されている^{181 201}.これらの実験モデルは再現性をも って容易に作成できるモデルではあるが、生体でおこる靭帯損 傷を再現したものとは言いがたい、この点に着目し、1988年 Lawsらは羊の膝を用い、内側側副靭帯に用手的に完全断裂に 至らない程度の負荷を与え、靭帯の部分断裂モデルを作成し、 その組織学的、力学的な修復過程を観察した²¹¹.しかしこの実 験モデルにおいても靭帯組織の損傷直後の強度は正常靭帯組織 の13.3%にまで低下しており²¹¹、靭帯(腱)付着部症の微小外傷 を再現しているとは考えられない.

一方,運動負荷が靭帯および靭帯付着部に与える影響という 観点からは、さまざまな実験動物に直接運動負荷を与える実験 モデルが作成された。い. その多くは、運動負荷により靭帯お よび靭帯付着部の強度は増強すると結論ずけている"".しか し、少数ではあるが過度のストレスにより骨が疲労骨折を起こ すように、運動負荷により靭帯および靭帯付着部が"疲労現象" のために、強度の低下がおこったという報告もある100-120. 1980 年 Weisman らは人間とラットの膝内側側副靭帯に対する繰り 返し負荷が, 靭帯の剛性と強度を低下させることを報告し™, 更に,1992年Sakumaらは二足白鼠に対する強制走行が,膝前 十字靭帯の剛性、強度、粘性を低下させ、前十字靭帯損傷のな かに"疲労断裂"がありうることを示唆している1013.このよ うな動物に直接運動負荷を与える実験モデルの欠点の一つとし て、目標とする靭帯や腱にどの程度の負荷がかかっているのか が不明である点があげられる.まさにこの負荷量を定量化でき ない点が、異なる結果を導き出したものと思われる、すなわち, ある一定量の負荷を越えなければ、靭帯や腱の強度は増加しな

246

林

いであろうし (過負荷の原則), またそれよりももう少し高いあ る一定の負荷を越えなければ "疲労現象"による強度の低下は 起こりえないものと考えられる.

この点を考慮し, 靭帯(腱)付着部症の微小外傷を再現する 実験モデルの作成には, 1) 一回の負荷では損傷を起こさない ような負荷を, 2)繰り返し連続的に与え, 3)負荷量を常にモ ニタリングすることの可能な,独自の実験モデルを作成する必 要があると考えた.現在までにこのような実験モデルを使用し, その影響と修復過程に対して考察した実験的研究はない.

正常の膝蓋骨-膝蓋靭帯-脛骨複合体は、一回の引っ張り破 断試験において図3に示すような負荷-変位曲線を描いて破断 に至る,図の直線部分は弾性域と呼ばれ、靭帯組織には損傷を おこさず、弾性域の終末から徐々に靭帯組織の顕微鏡的損傷が 起こるとされている、今回の実験における引っ張り負荷である 6kgfおよび12kgfは、正常の膝蓋骨-膝蓋靭帯-脛骨複合体の 弾性域の最高値である降伏負荷が32.0±5.9kgfであることか ら、いずれも弾性域の半分に満たない負荷量である、したがっ て、6kgfおよび12kgfの負荷は一回の引っ張り刺激では、靭帯 付着部や靭帯実質部には顕微鏡的損傷も起こしえない負荷量で あることがわかる、また、12kgfを引っ張り負荷を10回だけ与 えた群の降伏負荷,破断負荷,△F値はいずれも対照群と有意 差を認めなかったことからも、6kgfおよび12kgfの引っ張り負 荷は、10回程度の繰り返しでは膝蓋骨-膝蓋靭帯-脛骨複合体 の力学的特性に全く変化を与えない負荷量であるといえる、し かし、このような負荷量でも60ヘルツの周期で4時間、すなわ ち60回/毎分×60分×4時間で合計14400回,繰り返して引っ 張り刺激を与えることにより, 膝蓋靭帯実質部および付着部に は組織学的にも力学的にもさまざまな変化を起こすことが明ら かとなった.本実験における12kgf刺激群にみられるような損 傷を起こしうる引っ張り負荷の閾値は、破断負荷が38.3± 7.3kgfであったことから、破断負荷の約30%付近に存在するも のと考えられた.

本実験においては、靭帯付着部では、6kgf、12kgfいずれの 繰り返し引っ張り刺激によっても、非石灰化線維軟骨層の増殖 や石灰化前線の消失が起き、一方、靭帯実質部は6kgfの引っ張 り負荷では全く変化が起きず、12kgfの引っ張り負荷で初めて 膠原線維束の解離や、出血が起きていた.すなわち、靭帯付着 部と靭帯実質部では繰り返し引っ張り刺激により、損傷を受け る負荷の閾値が異なることが明かとなった.また、その修復は 靭帯付着部においては6週間でほほ正常に戻っており、付着部 は損傷を生じやすい一方で、修復力にも優れていることを示し ていた.それに比較して、靭帯実質部の損傷はある程度大きな 負荷が必要であるが、いったん損傷を引き起こすとその修復に は長期間を要することが確認された.このことは、培養細胞に よる増殖試験で、"付着部"の細胞がその周囲の細胞よりも増 殖力が強い¹⁰という事実とよく一致している.

靭帯実質部の修復過程に関しては、過去における靭帯損傷の 実験により2通りの過程があると考えられている.第一は、靭 帯が完全に断裂したような場合で、血腫を形成し顆粒球から単 核球侵潤を伴いながら線維化が進行していく²⁰という、炎症の 治癒過程²⁰をたどるものである.もう一つは、靭帯の部分損傷 モデルの治癒過程としてLawsらが報告した、炎症過程を伴わ ずに直接線維芽細胞が増殖する "線維芽細胞性治癒"である²⁰. 本実験における12kgfの引っ張り刺激による靭帯実質部の変化 のうち,膠原線維間の出血部位は前者の過程を経過し、一方膠 原線維束の解離を示した部位は後者の過程を経過して修復が起 こっていた.それらは光顕的には、6週後には一見修復が完了 したかのように見える.しかし、電顕的には6週を経過しても 細い膠原細線維ばかりが配列する部位と、太い膠原細線維の間 隙を埋めるように細い膠原細線維が存在する部位が混在し、正 常例に比較して非常に不均一な部位が靭帯実質部に存在してい ることが確認された.このことは12kgf刺激群における力学試 験の破断部位が、刺激直後から6週を通じて靭帯実質部の断裂 または靭帯実質部の断裂を合併するものが多かったことにも関 連する.また力学試験において弾性の指標としたΔF値が刺激 直後から6週を通じて対照群に比較して有意に小さな値を示し ていたことからも、12kgfの繰り返し引っ張り負荷で起きた損 傷は、組織学的にも力学的にも簡単には修復されないことを示 している.

力学特性の変化と組織学的変化がどのように関連するかに対 しては、以下のように考えられる. 成熟した腱や靭帯は電顕で 観察すると、細い径と太い径の膠原細線維が存在する²⁴とされ、 太い径の膠原細線維は引っ張り力による歪み対し抵抗するため 引っ張り強度に関連し²⁵⁾、細い径の細線維は剪断力やクリープ に対して抵抗を示す²⁵⁾.また,前十字靭帯を他の腱組織で置換 した場合、その移植した腱組織の強度と弾性は、置換前の腱の それに遠く及ばない20が、その理由として、太い膠原細線維が 少なくなり、細い径の膠原細線維ばかりが増える²⁰ことが報告 されている. すなわち, 12kgf引っ張り刺激後6週に見られた ように、太い膠原細線維が減り、細い膠原細線維が増えた状態 は、剛性の高い細線維が減り、剛性の低い細線維が増えたこと を示している. このことは、力学試験において△F値が刺激直 後から6週を通じて対照例に比較して有意に小さな値を示した ことによく相関する.しかしながら,破断負荷はどの時期にお いても統計学的に有意差を認めなかった、これは、引っ張り刺 激直後では靭帯実質部の変化が全体の強度に影響を及ぼす程の ものではなかったことを示し、刺激終了後時間が経つにつれ、 太い細線維が減少した分を細い膠原細線維が増えることによっ て、全体の強度がある程度維持されたものと考えられた.

また,破断部位は刺激直後から6週を通じて,約半数が膝蓋 骨側の剥離と靭帯実質部断裂の合併例であったことは,靭帯実 質部内に部分的に断裂を起こしやすい部分があることを示して いる.これは,組織学的に靭帯実質部の変化が膝蓋靭帯の膝蓋 骨側深層部に限局していたことに関連し,また,この部位が新 たな負荷に対する力学的弱点となることを示している.

本研究における12kgfの引っ張り刺激による実験モデルは、 光顕や電顕による組織学的変化が膝蓋骨側の靭帯実質部深層に 限局していたこと、力学試験において破断負荷には有意な変化 がなかったことから、部分断裂にいたる前の微細な靭帯の損傷 モデルといえる.また、膝蓋骨側の靭帯実質部に起こった変化 が、臨床で見られるジャンパー膝の発生部位"と一致している ことからも、靭帯(腱)付着部症の原因である"微小外傷"を 再現しているものと考えられた.そして、このようなわずかな 損傷の修復にも長期間を要することが確認され、さらに繰り返 し引っ張り負荷が加わることによって、電顕による観察で見ら れた細い径の膠原細線維が増えた部分と、初回の負荷による損 傷を免れた部分の境界、すなわち膝蓋靭帯の深層と浅層の境界 に、新たな出血や膠原細線維の乱れが生じ、ジャンパー膝の手 術材料に見られるような,慢性の難治性病変が完成するのでは ないかと考えられた.

本実験モデルを用いて明らかになった靭帯および靭帯付着部 の損傷とその修復過程をもとに、今後検討していくべき課題と しては、1) さらに時間が経過すれば完全に修復されるのかど うか、2) 現在、靭帯(腱)付着部症の治療法として行なわれて いる安静、温熱療法やステロイドの注射によって治癒が促進さ れるのかどうか、3) 修復過程において出現した新たな膠原線 維が I 型であるか II 型であるのか、4) さらに引っ張り負荷を 与えることでどの様な変化が生じるのか、5) 運動負荷を与え ることが治癒促進につながるかどうか、などがあげられる.本 実験モデルを用いて、このような課題を一つ一つ解決していく ことにより、靭帯および靭帯付着部炎の治療法は徐々に確立さ れ、靭帯(腱)付着部症に悩む多くのスポーツ選手にとって大 きな福音になりうるものと考えられた.

以上本研究における定量的な引っ張り負荷実験モデルは,臨 床的な使いすぎ症候群を再現する有用なモデルと考えられた. また,本実験により,繰り返し引っ張り負荷に対する,靭帯お よび靭帯付着部の損傷形態と修復過程が明かとなった.今後は, この実験モデルを用いることにより,さらに靭帯(腱)付着部 症の病態解明,および治療法の確立の一助になると思われた.

結 論

1. 繰り返し引っ張り負荷に対する靭帯,および靭帯付着部の損傷形態と修復過程を明らかにする目的で,生体における定量的な繰り返し引っ張り負荷実験装置を作成し,成熟雌日本白色家兎を用い,6kgfおよび12kgfの荷重で引っ張り刺激後の組織像,および力学的強度について経時的に観察した.

2. 光顕による観察において,引っ張り刺激直後の損傷形態 は,靭帯付着部における石灰化前線の消失,非石灰化線維軟骨 層の増殖,および靭帯実質部の出血と膠原線維の解離であり, 引っ張り刺激終了後6週で,ほぼ正常に類似した形態に修復さ れていた.

3. 電顕による観察において, 靭帯実質部の損傷部位は,引 っ張り刺激終了直後では膠原細線維間に間隙を認め,その間隙 を埋めるように径の小さな膠原細線維が多くなり,6週を経過 しても正常の靭帯組織の構造とは異なる形態を示した.

4. 膝蓋骨-膝蓋靭帯-脛骨複合体の力学試験では,破断負 荷は対照群 (38.3 ± 7.8kgf) と引っ張り刺激群では全経過を通じ て統計学的有意差を認めなかった. 降伏負荷は,引っ張り刺激 直後 (21.3 ± 8.6kgf) では,対照群 (32.0 ± 5.9kgf) と比較して有 意な低下を認めたが (p<0.05),24時間以降では有意差は認めら れなかった.しかし,弾性の指標である Δ F値は,引っ張り刺 激群では6週を通じて対照群 (16.1 ± 1.76kgf/mm)より有意に 低下しており (p<0.05),破断部位も6週を通じて靭帯実質部の 断裂を合併するものが多かった.

5. 本実験における膝蓋骨側の靭帯実質部に起こった変化が, 臨床で見られるジャンパー膝の発生部位と一致していること, さらに力学試験における破断部位の検討や,破断負荷が引っ張 り刺激群と対照群に有意差がなかったことから,本実験モデル は靭帯(腱)付着部症における微小外傷を再現しているものと 考えられる. このような損傷を起こしうる繰り返し負荷の閾値 は,破断負荷(38.3±7.3kfg)の30%付近に存在するものと考 えられた. 6. 今後このモデルを使用することにより, 靭帯 (腱) 付着部 症の病態解明と治療法の確立に役立つものと考えられた.

辞

稿を終えるにあたり,御指導,御校閲を承りました恩師富田勝郎教授 および,直接御指導,御教示いただきました下崎英二講師,金沢大学第 2解剖学田中重徳教授に深甚なる謝意を表します.また,本研究遂行に 際し御助言,御協力いただきました金沢大学整形外科学教室の諸先生, 技術員各位に感謝いたします.

なお,本研究は平成5年度文部省科学研究費補助金奨励研究(B)(課題番号05922065)によるものである.

本論文の要旨の一部は第9回日本整形外科学会基礎学術集会 (1994年, 神戸), 41st Annual Meeting Orthopaedic Research Society (1995年, Olando, America) において発表した.

文 献

1) Niepel GA, Sit'aj S. Enthesopathy. Clin Rheum Dis 5: 857-871, 1979

2) Blazina ME, Karlan RK, Jobe FW, Carter VS, Carlson GJ. Jamper's knee. Orthop Clin North Am 4: 665-678, 1973

3) Matrens M, Wouters P, Burssens A, Mulier JC. Patellar tendinitis: pathology and results of treatment. Acta Orthop Scand 53: 445-450, 1982

4) 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

5) 坂西英夫.ジャンパー膝.臨床スポーツ医学8(臨時増刊 号):188-192.1991

6) 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

7) Vidik A. Elasticity and tensile strength of the anterior cruciate ligament in rabbits as influenced by training. Acta Physiol Scand 74: 372-380, 1968

8) Noyes FR, Torvik PJ, Hyde WB, DeLucas JL. Biomechanics of ligament failure. II. An analysis of immobilization, exercise, and reconditionig effects in primates. J Bone Joint Surg 56-A: 1406-1418, 1974

9) Cabaud HE, Chatty A, Gildengorin V, Feltman RJ. Exercise effects on the strength of the rat anterior cruciate ligament. Am J Sports Med 8: 79-86, 1980

10) Weisman G, Pope MH, Johnston RJ. Cyclic loading in knee ligament injuries. Am J Sports Med 8: 24-30, 1980

11) Sakuma K, Mizuta H, Takagi K, Takashima K. Effect of enforced exercise in biomechanical properties of anterior cruciate ligament of bipedal rats. J Jpn Orthop Assoc 66: 1146-1155, 1992

12) Sakuma K, Mizuta H, Kai K, Takagi K, Iyama K. Ultrastructural change of collagen fibers in the anterior cruciate ligament of bipedal rats after enforced running. J Jpn Orhtop Assoc 67: 655-661, 1993

 Cooper RR, Misol S. Tendon and ligament insertion. A light and electron microscopic study. J Bone Joint Surg 52-A: 1-20, 1970

14) 西岡淳一. Enthesopathyの概念とリウマチ疾患. 整・災

外 31: 475-481, 1988

15) Feretti A, Ippolito E, Mariani P, Puddu G. Jumper's knee. Am J Sports Med 11: 58-62, 1983

16) Nirchl RP, Pettrone FA, Virginia A. Tennis elbow. The surgical treatment of lateral epicondylitis. J Bone Joint Surg 61-A: 832-839, 1979

17) Regan W, Wold L, Coonrad R, Morrey BF. Microscopic histopathology of chronic refractory lateral epicondylitis. Am J Sports Med 20: 746-749, 1992

 Jack EA. Experimental rupture of the medial collateral ligament of the knee. J Bone Joint Surg 32-B: 396-402, 1950

19) Fukubayashi T, Kondo M, Nakajima H, Suzuki K, Miyanaga Y. Experimental repair of the medial collateral ligament of the knee in rabbits. J Jpn Orhtop Assoc 54: 59-69, 1980

20) Matthew C, Moore MJ, Campbell L. A quantitative ultrastructural study of collagen fibril formation in the healing extensor digitorum longus tendon of the rat. J Hand Surg 12-B: 313-320, 1987

21) Laws G, Walton M. Fibroblastic healing of grade II

ligament injuries. histological and mechanical studies in the sheep. J Bone Joint Surg 70-B: 390-396, 1988

22) Franc C. Normal ligament properties and ligament healing. Clin Orthop 196: 15-25, 1985

23) 鳥飼勝行,塩谷信幸. 創傷治癒過程-初期過程 (炎症期) を中心として-. 整・災外 29: 367-374, 1986

Parry DAD, Barnes GRG, Crig AS. A comparison of size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size, distribution and mechanical properties. Proc R Soc Lond (Biol) 203: 305-321, 1978
Shadwick RE. Elastic energy storage in tendons. J Appl Physiol 68: 1033-1040, 1990

26)Shino K, Kawasaki T, Hirose H Gotoh I, Inoue M, Ono K. Replacement of the anterior cruciate ligament by an allogenic tendon graft. An experimental study in the dog. J Bone Joint Surg 66-B: 672-681, 1984

27)Shino K, Oakes BW, Horibe S, Nakata K, Nakamura N. Collagen fibril populations in human anterior cruciate ligament allografts. Electron microscopic analysis. Am J Sports Med 23: 203-209, 1995

Effect of Cyclic Tensile Loading on Ligament and Ligament-bone Junction Takashi Kobayashi, Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 – J. Juzen Med Soc., 106, 236 – 248 (1997)

Key words cyclic tensile load, ligament, ligament-bone junction, injury, repair

Abstract

Many athletes suffer from overuse syndrome at the ligament and ligament-bone junction, i.e. enthesopathy, which is chronic and refractory to treatment because the etiology is unclear. In this study we established an original experimental model and clarified the effect of cyclic tensile loading on the ligament and ligament-bone junction. Using our original external fixator, the patellar ligament was stretched cyclically. The Tensile load was 6 and 12 kgf, the cycle 60 hertz, and the duration 4 hours. In both groups, immediately 24, 72 hours, 1, 2, 6 weeks after stimulation the patellar ligament and ligamentbone junction were examined histologically, and in the 12 kgf group tensile testing was performed. Maximum load, yielding load, and ΔF value, the linear inclination of load-deformation curve, were calculated. Immediately after 6 kgf stimulation, hemorrhage in the infrapatellar fat pad was apparent and significant fibrosis had occurred by 2 weeks. Chondrocyte proliferation at the non-calcified fibrocartilage layer of the patellar insertion was observed after 2 weeks, but there were no changes in the ligament substance. After 12 kgf stimulation, in the deep layer of the ligament substance near the patellar insertion, hemorrhage and dissociation of collagen fibers were apparent. The hemorrhage was gradually replaced by fibrous tissue accompanied with inflammation, and the dissociation of collagen fibers was repaired without inflammation. At 6 weeks, closely packed collagen fibers were formed, but using electron microscope smaller diametric fibrils were seen to have increased in number. The failure mode of all normal ligament-bone complexes was the avulsion of patellar insertion, but most of these after stimulation shifted to the ligament substance. Maximum load after stimulation showed no significant difference as compared with normal ligament (38.3 \pm 7.8 kgf) ($\overline{x} \pm$ SD). Yielding load just after stimulation (21.3 \pm 8.6 kgf) was significantly lower than that of the normal (32.0 \pm 5.9 kgf) (p<0.05), but it recovered to normal after 24 hours. ΔF value at each interval after stimulation was significantly decreased as compared with that of the normal $(16.1 \pm 3.1 \text{ kg/mm})$ (p<0.05). From this study, 12 kgf cyclic tensile loading, that is only 32% of the maximum failure load, caused some damage to the ligament and ligament-bone junction, where the pathology of a jumper's knee usually occurs. The damage hadn't regenerated completely even at 6 weeks. Therefore, we could expect that additional tensile loading in the period of such repairing process would make more progressive damage leading to a chronic and refractory lesion. In the future, our experimental model may contribute to the establishment of treatments for enthesopathy in athletes.