

パワードプラ法を用いた筋内血流動態の評価：事例研究

Evaluation of intramuscular blood flow dynamics using the power Doppler ultrasonography: A case study

泉 主 馬*
狩 野 豊***

山 森 圭 祐*
田 中 憲 子****

片 山 敬 章**
秋 間 広****

Kazuma IZUMI*
Yutaka KANO***

Keisuke YAMAMORI*
Noriko TANAKA****

Keisho KATAYAMA**
Hiroshi AKIMA****

Summary

The purpose of this study was to assess intramuscular blood flow dynamics during incremental muscle contractions using power Doppler ultrasonography. A 23-year-old man performed intermittent isometric knee extensions (5-s contraction with 5-s rest) at 30%, 40%, 50%, 60%, and 70% of maximal voluntary contraction (MVC) until task failure. Intramuscular blood flow of the vastus lateralis at the mid-thigh was continuously measured using the ultrasonography, and monitor screen images were transferred to a personal computer as a video format at 20 fps during the measurement. To quantify the intramuscular blood flow, the relative area occupied by power Doppler signals which indicate distribution of blood flow to cross-sectional area (CSA) of the vastus lateralis was measured. Intramuscular blood flow gradually increased in proportion to exercise intensity, then it reached plateau at just before the exhaustion. It is unclear whether this is a typical pattern of changes in intramuscular blood flow based on power Doppler ultrasonography because the data was obtained from only one participant; however, we plan to increase the number of participants in the near future. In addition, it can be expected to be applied power Doppler ultrasonography to various measurements because it can assess intramuscular blood flow dynamics.

I. 緒言

運動時の骨格筋における血流には、酸素や栄養物質を骨格筋などの末梢組織に運搬するという重要な役割があり (Saltin et al. 1998)、運動パフォーマンスに大きな影響を与える因子の一つであることはよく知られている。高齢者を用いた最近の研究では、骨格筋における微小血管の減少が酸素や栄養物質の供給を制限することにより、筋量の低下に寄与していることが示唆されている (Prior et al. 2016)。これまで様々な手法によって運動時の血流動態の評価が行われてきた。静脈閉塞プレスチモグラフィ (Hunter et al. 2009) や超音波断層装置の

ルス波ドプラ法 (Rådegran 1997) は、非侵襲的に血流動態を評価することができるが、活動筋のどの部分にどの程度の血流が配分されているのかを評価することは困難である。また、ポジトロン放出断層撮影法 (PET) は活動筋における血流動態を定量的に評価することができるが (Rudroff et al. 2014)、被曝が避けられないことや機器が高価であり国内外でも非常に限られた研究施設にしか配備されていないことから実用的ではない。さらに、熱希釈法により直接的に骨格筋内の血流動態を評価することもできる (Andersen and Saltin 1985) が、侵襲を伴うため、特に高齢者やアスリートを対象とすることは非常に困難である。したがって、非侵襲的かつ高い時

* 名古屋大学大学院教育発達科学研究科
** 名古屋大学総合保健体育科学センター・大学院医学系研究科
*** 電気通信大学化学生命工学プログラム
**** 名古屋大学総合保健体育科学センター・大学院教育発達科学研究科
* Graduate School of Education and Human Development, Nagoya University
** Research Center of Health, Physical Fitness & Sports, Graduate School of Medicine, Nagoya University
*** Department of Engineering Science, University of Electro-Communications
**** Research Center of Health, Physical Fitness & Sports, Graduate School of Education and Human Development, Nagoya University

間分解能で活動筋のどの部分にどの程度の血流配分がなされているのかを評価する手法は、極めて限られているのが現状である。運動時の主働筋における血流動態を非侵襲的に調べることができれば、健康・スポーツ科学分野において極めて重要な情報を提供できると考えられる。

超音波断層装置のパワードプラ法はこれまでの手法と比較して、非侵襲的に運動時の主働筋における血流動態を評価する手法としての実用性が高いという可能性が示されている。パワードプラ法は、赤血球の動きによるドブラシフトの強度から血流量を測定する手法である (Rubin et al. 1995)。この手法では組織内の血流分布が B モード画像上にパワードプラ信号として表示され、血流量が多いほどパワードプラ信号の輝度が高くなる。そのため、特定の骨格筋や他の臓器における血流変化を評価することができる (Joshua et al. 2006)。また、組織内の血流変化や低速の血流に対する感度が高く、ポータブルタイプの機器であれば実験室外での測定も可能である (Rubin et al. 1995; Martinoli et al. 1998a; Martinoli et al. 1998b)。例えば Dori ら (2016) は、健常者と筋ジストロフィー患者における運動時の筋内血流動態を評価している。しかし、彼らの研究では血流が運動強度依存であるにも関わらず運動強度が明確に規定されていないという問題点がある。このように、これまでパワードプラ法を用いて運動時の筋内血流動態を評価した研究は極めて少なく、この手法を用いた発展的な研究が望まれる。

そこで本研究の目的は、パワードプラ法を用いて等尺性膝伸展による間欠的漸増負荷運動時の筋内血流動態を評価することとした。

II. 方法

研究対象者

研究対象者は脳神経系、呼吸循環器系疾患および下肢の整形外科的疾患の既往のない、健康な23歳の男性1名とした(身長164.9cm、体重51.0kg、体格指数18.8kg/m²)。なお、この研究対象者は日常的に高いレベルで持久系トレーニングを行っている者であった。実験に先立ち、本研究の概要、目的、実験に伴う危険性、実験から得られる有用性について説明し、書面にて同意を得た。なお、本研究は名古屋大学総合保健体育科学センターの健康・スポーツ系研究倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号: 21-05)。

最大随意筋力の測定

等尺性膝伸展による最大随意筋力 (maximal voluntary

contraction: MVC) を右脚にて測定した。測定には張力センサ (LTZ-100KA、共和電子社製) が搭載された特製の等尺性膝伸展筋力測定装置 (M-12297-3、竹井機器社製) を用いた。測定姿勢は股関節および膝関節をそれぞれ屈曲70° および90° とし、体幹部と足部をベルトで固定した。筋力発揮中は腕を胸の前で組んだ状態とした。最大下での筋力発揮による数回のウォーミングアップを行った後、2分以上の休息を挟み MVC を3回測定した。筋力のデータは、A/D 変換器 (PowerLab, ADInstruments 社製) を介して、400 Hz でパーソナルコンピュータ (Macmini, Apple 社製) に保存した。筋力発揮開始の合図とともに2~3秒かけて筋力を最大まで上昇させ、最大努力での力発揮の状態を約3秒間維持させた。計3回の測定のうち上位2回の測定値の差が±5% 未満であれば MVC が発揮されたとみなし (Watanabe and Akima 2009)、測定値の差が±5% 以上の場合は、±5% 未満になるまで測定を行った。各試行において、発揮筋力の最大値を pre-MVC とした。

間欠的漸増負荷運動

等尺性膝伸展による間欠的漸増負荷運動を行った。測定姿勢および測定装置は MVC 測定時と同様であった。筋力発揮強度は pre-MVC を基準に規定した。漸増負荷運動前には1分間の安静を保ち、運動の開始とともに5秒間の筋収縮および5秒間の休息を繰り返した。研究対象者は自身の正面に設置されたモニタに表示された筋力発揮のターゲットに発揮筋力を合わせるように努力し、メトロノームの音に合わせて筋力発揮を行った。運動プロトコルは30%MVC から開始し、間欠的な筋力発揮を5回行う毎に10% ずつ負荷を漸増させ、70%MVC まで達した場合、それ以降は70%MVC で筋力発揮を継続した (図1)。運動終了は疲労困憊あるいは70%MVC で30回筋力発揮を行った時点とし、疲労困憊は70%MVC のレベルを3回連続で維持できなかった時点とした。また、疲労困憊による運動中止の10秒後に再度 MVC を測定した (post-MVC)。

筋内血流の測定

筋内血流の測定は超音波断層装置 (Logiq e Premium, GEヘルスケア社製) のパワードプラ法を用いて、右外側広筋にて行った。大腿長50% 位の外側面にプローブを設置し、皮膚表面に対して垂直となるように固定器具および伸縮テープを用いて固定した。プローブの先端部分を測定中に皮膚表面に密着させるため、予め超音波ゲルを充分に塗布した。パワードプラの設定は、周波数6.3MHz、ゲイン31、深度5cmとした。超音波断層装置のモニタに映し出されたパワードプラ画像はキャプチャ

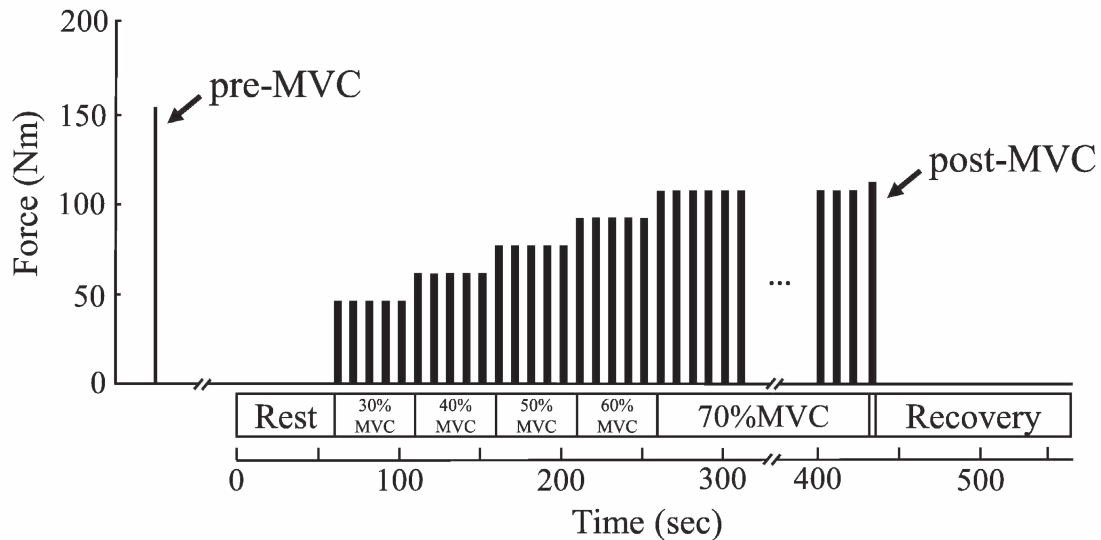


図1. 漸増負荷運動のプロトコル

デバイス (DVI2USB 3.0, Epiphan 社製) とそれに接続されたパーソナルコンピュータ (LAVIE, NEC 社製) に20 fps のサンプリング速度で保存した。

筋内血流量の評価

筋内血流量は外側広筋におけるパワードブラ信号の相対面積により評価し、以下の式より筋内血流量を算出した。

$$\text{筋内血流量 (\%)} = (\text{パワードブラ信号の面積}) / (\text{外側広筋が占める部分の面積}) \times 100$$

パワードブラ信号の面積：図2のAあるいはBで示す血流の部分

外側広筋が占める部分の面積：図2のAあるいはBの線で囲んだ部分

分析には画像分析ソフト (ImageJ Fiji, National Institutes of Health) を用いた。外側広筋の関心領域は、筋力発揮が行われておらず筋収縮に伴うアーチファクトが見られない画像において設定した。画像分析は以下の手順に沿って、取得した全ての画像について行った。

1. 取得したパワードブラ画像 (RGB 画像) を、赤緑青のそれぞれのカラーチャンネル (グレースケール画像) に分割した。
2. 赤のカラーチャンネルから青のカラーチャンネルを減算し、パワードブラ信号のみを抽出した。
3. 2においてパワードブラ信号のみが抽出された減算

画像を二値化した。

4. 外側広筋が占める部分のパワードブラ信号の相対面積を上式より算出した。

筋内血流の変動から、心周期の収縮期と拡張期および筋収縮によるモーションアーチファクトを同定し、心周期の収縮期の値 (図3Bの矢印) を筋内血流量の分析に用いた。安静時の筋内血流量は運動開始直前の10秒間の平均値で、運動中の筋内血流量は筋力発揮の各ステージ終了時における5秒間の平均値で表した。筋内血流量は平均と標準偏差で示した。

Ⅲ. 結果

最大随意筋力 (MVC)

pre-MVC は153.9Nm、漸増負荷運動後の post-MVC は112.0Nmであり、間欠的な運動によって27%の低下がみられた。

筋内血流量

図2には、安静時、運動中、疲労困憊時および回復時におけるパワードブラ画像 (A) および二値化画像 (B) を示した。関心領域内のパワードブラ信号の相対面積により表される筋内血流量は、安静時では $0.3 \pm 0.1\%$ であったが疲労困憊時には $11.9 \pm 1.1\%$ となり、約40倍の増加がみられた。

図3には、安静時、運動中および回復時の筋内血流の経時変化 (A) と、60%MVCと70%MVC部分の斜線部の拡大図 (B) を示した。運動強度の増加に伴い筋内

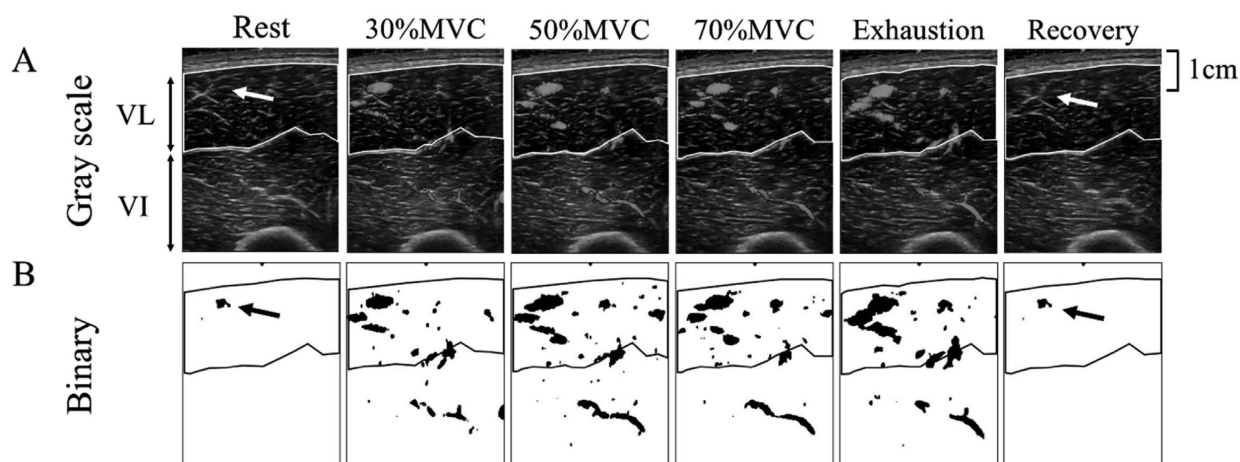


図2. A) 大腿部外側のパワードブラ画像のグレースケール画像 (gray scale) および, B) 筋内血流量の評価に用いた二値化画像 (binary)

←はパワードブラ信号による血流分布を示す.

VL: 外側広筋, VI: 中間広筋.

血流量は増加し、70%MVCでの筋力発揮強度では定常に達した。また、運動終了2分後には安静時のレベルまで低下した(図3A)。図3Bでは、255~260秒および265~270秒の休息期において心周期に伴った筋内血流の細かい変動がみられ、心周期の収縮期に増加した。また、260秒および265秒からの約1秒間において、筋収縮に伴うアーチファクトによるパワードブラ信号の急激かつ大幅な増加がみられた。

図4には、安静時および筋力発揮の各ステージ終了時における筋内血流量の平均値と標準偏差を示した。310秒時点の一時的な低下を除いて、運動強度の上昇に伴い筋内血流量は増加し、運動強度が定常に達すると筋内血流量も定常に達した。

IV. 考察

本研究の目的は、パワードブラ法を用いて等尺性膝伸展による間欠的漸増負荷運動時の筋内血流動態を評価することであった。その結果、運動強度の上昇に伴い主働筋における筋内血流量は増加し、運動強度が定常に達すると筋内血流量も定常に達したことが確認された。また、安静時は0.3%であった筋内血流量は疲労困憊時に11.9%となり、約40倍の増加が見られた。

本研究の最大の特徴は、超音波断層装置のパワードブラ法を用いることで、非侵襲的に活動筋における血流動態を評価できるという点である。これまでは運動時の血流動態の評価は、超音波断層装置のパルス波ドブラ法を用いた動脈血流量の測定によるものが一般的で

あった。このパルス波ドブラ法は非侵襲的に運動時の血流動態を評価することができるが、単一の動脈における血流量の測定であるため、活動筋のどの部分にどの程度の血流配分がなされているのかを評価することは不可能である。膝伸展運動時の大腿動脈には活動筋である大腿四頭筋へ配分される血流のみならず、ハムストリングスなどの非活動筋や大腿部より遠位の組織へ配分される血流も含まれている。また、熱希釈法 (Andersen and Saltin 1985) を用いることで活動筋内の血流量を直接的に測定することもできるが、時間分解能が低く、侵襲を伴うため実用的ではない。一方で、パワードブラ法は赤血球の動きによるドブラシフトの強度から血流量を測定する手法である (Rubin et al. 1995)。この手法では組織内の血流分布がBモード画像上にパワードブラ信号として着色され、血流量が多いほどパワードブラ信号の輝度が高くなる。そのため、特定の骨格筋や他の臓器における血流変化をリアルタイムに評価することができる (Joshua et al. 2006)。

本研究のように、主働筋におけるパワードブラ信号増加部分の相対面積により筋内血流動態を評価した研究は、これまで著者らの知る限り3例のみである (Dori et al. 2016; Heres et al. 2018; Dietz et al. 2020)。その中でもDoriら (2016) は、掌握および足関節背屈による最大努力での間欠的筋収縮における筋内血流動態を評価した。その結果、運動開始直後から40~60秒まで筋内血流量は増加し、その後は定常であった。また、筋内血流量は安静時の1.2%から前腕屈筋群では7.3%、前脛骨筋では7.0%まで増加したと報告されている。Heresら (2018)

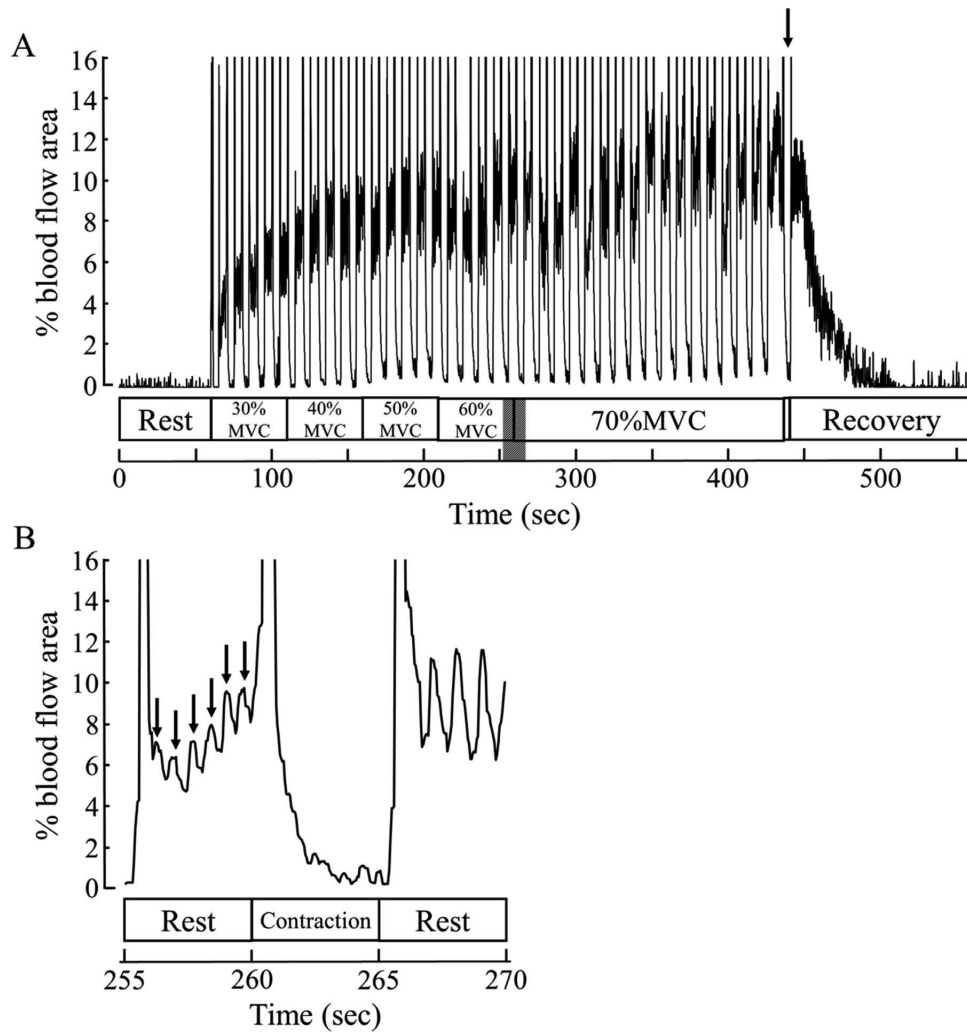


図3. A) 漸増負荷運動時の筋内血流の経時的変化および, B) Aの60%MVCと70%MVC部分の斜線部の拡大図

Aの450秒付近の矢印は post-MVC の測定を示し, Bの矢印は筋内血流量の分析に用いた心周期の収縮期の値を示している. 筋内血流量は主動筋におけるパワードプラ信号の相対面積により評価した. 筋収縮の前後で値が急激に上昇しているのは, モーションアーチファクトによるものである.

は, 漸増負荷での自転車運動中の外側広筋の血流動態を評価した. その結果, 筋内血流量は直線状や放物線状の増加パターンを示し, 最大で17%まで増加したと報告されている. それぞれの研究で運動様式や測定部位, 測定機器などが異なるため, 直接的に結果を比較することはできない. しかし, 主動筋におけるパワードプラ信号の相対面積により筋内血流量を評価したいずれの研究においても, 運動による筋内血流量の増加が確認されている.

本研究では, 運動強度の上昇に伴い主動筋における筋内血流量は増加し, 運動強度が定常に達すると筋内血流量も定常に達した. 先行研究において, 筋収縮後

充血は運動強度の上昇に伴って増加することが報告されており (Wigmore et al. 2006), 本研究では対象者が1名のみであったが, 同様の筋内血流動態のパターンを示した. 本研究の対象者は日常的に持久系トレーニングを行っている者であった. 持久系トレーニングを継続的に行っている対象者では, 非鍛錬者と比較して, 筋収縮後充血の最大値が30~60%高いことが示されている (Calbet and Lundby 2012). そのため, 非鍛錬者を対象とした場合と比較して, 本研究の対象者は筋内血流量が多かった可能性および筋内血流量が速やかに増加していた可能性が考えられる. 一方で, 筋収縮後充血は女性より男性で高くなることが示されており (Hunter et al.

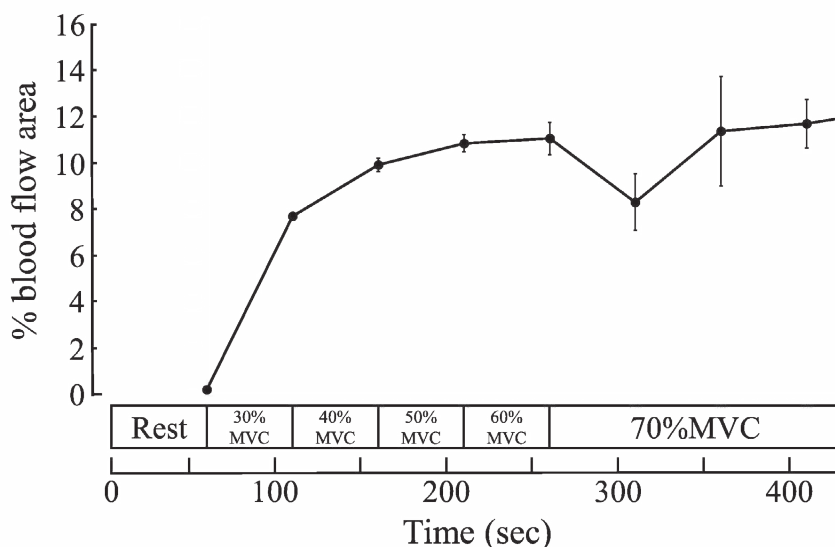


図4. 漸増負荷運動による筋内血流の変化

2009)、これは筋力発揮の絶対強度が男性の方が高いためと考えられている。本研究ではMVCの相対値により筋力発揮強度を規定したが、筋内血流量は筋力発揮強度の絶対値により異なる可能性がある。このように、研究対象者の特性や筋力発揮強度が筋内血流量や筋内血流動態のパターンにどのような影響を及ぼすのかについて今後対象者数を増やして検討していく必要がある。

筋収縮後充血は運動強度とともに直線的に増加することが報告されている(Wigmore et al. 2006)。一方、本研究では漸増負荷運動を用いたが、筋内血流量の増加は頭打ちになった。また、疲労困憊時には骨格筋内の代謝需要が高まっていたことが予想できるが、筋内血流量の増加はみられなかった。その理由として、外側広筋以外の膝伸展運動に貢献する筋の影響が考えられる。Akima and Ando (2017) は、膝伸展による筋疲労タスクでは、中間広筋の筋組織酸素飽和度の低下が大腿四頭筋の他の3筋と比較して小さかったことを報告している。筋組織酸素飽和度の差は血流量との関連が示されているため (Boushel and Piantadosi 2000)、漸増負荷運動の終盤では、中間広筋において高い筋組織酸素飽和度を維持するために血流配分が高まり、外側広筋内の血流量は頭打ちになっていた可能性が考えられる。また、本研究では主働筋内のパワードプラ信号の相対面積により筋内血流量の評価を行い、血流速度の評価は行っていない。血流量は血流速度の影響を受けるため、本研究では血流量が過小評価されていた可能性も考えられる。

V. まとめと今後の展望

本研究では、パワードプラ法を用いて等尺性膝伸展による間欠的漸増負荷運動時の筋内血流動態を評価した。その結果、運動強度の上昇に伴い主働筋における筋内血流量は増加し、運動強度が定常に達すると筋内血流量も定常に達した。本研究では対象者が1名のみであり、確認された筋内血流動態のパターンが典型例であるかは不明であるため、今後は対象者数を増やし研究を行っていく予定である。また、パワードプラ法は活動筋内の血流動態を評価することができるため、様々な場面での応用が期待される。

References

- Akima, H., Ando, R. (2017) Oxygenation and neuromuscular activation of the quadriceps femoris including the vastus intermedius during a fatiguing contraction. *Clin Physiol Funct Imaging*, 37(6): 750–58.
- Andersen, P., Saltin, B. (1985) Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol (London)*, 366: 233–49.
- Boushel, R., Piantadosi, CA. (2000) Near-infrared spectroscopy for monitoring muscle oxygenation. *Acta Physiol Scand*, 168(4): 615–22.
- Calbet, JA., Lundby, C. (2012) Skeletal muscle vasodilatation during maximal exercise in health and disease. *J Physiol (London)*, 590(24): 6285–96.
- Dietz, AR., Connolly, A., Dori, A., Zaidman, CM. (2020) Intramuscular blood flow in Duchenne and Becker muscular dystrophy: quantitative power Doppler sonography relates to

- disease severity. *Clin Neurophysiol*, 131(1): 1–5.
- Dori, A., Abbasi, H., Zaidman, CM. (2016) Intramuscular blood flow quantification with power Doppler ultrasonography. *Muscle Nerve*, 54(5): 872–78.
- Heres, HM., Schoots, TB., Tchang, CY., Rutten, MCM., Kemps, HMC., van de Vosse, FN., Lopata, RGP. (2018) Perfusion dynamics assessment with power Doppler ultrasound in skeletal muscle during maximal and submaximal cycling exercise. *Eur J Appl Physiol*, 118(6): 1209–19.
- Hunter, SK., Griffith, EE., Schlachter, KM., Kufahl, TD. (2009) Sex differences in time to task failure and blood flow for an intermittent isometric fatiguing contraction. *Muscle Nerve*, 39(1): 42–53.
- Joshua, F., Edmonds, J., Lassere, M. (2006) Power Doppler ultrasound in musculoskeletal disease: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum*, 36(2): 99–108.
- Martinoli, C., Derchi, LE., Rizzatto, G., Solbiati, L. (1998a) Power Doppler sonography: general principles, clinical applications, and future prospects. *Eur Radiol*, 8(7): 1224–35.
- Martinoli, C., Pretolesi, F., Crespi, G., Bianchi, S., Gandolfo, N., Valle, M., Derchi, LE. (1998b) Power Doppler sonography: clinical applications. *Eur J Radiol*, 27 Suppl 2: S133–40.
- Prior, SJ., Ryan, AS., Blumenthal, JB., Watson, JM., Katznel, LI., Goldberg, AP. (2016) Sarcopenia is associated with lower skeletal muscle capillarization and exercise capacity in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 71(8): 1095–101.
- Rådegran, G. (1997) Ultrasound Doppler estimates of femoral artery blood flow during dynamic knee extensor exercise in humans. *J Appl Physiol*, 83(4): 1383–8.
- Rubin, JM., Adler, RS., Fowlkes, JB., Spratt, S., Pallister, JE., Chen, JF., Carson, PL. (1995) Fractional moving blood volume: estimation with power Doppler US. *Radiology*, 197(1): 183–90.
- Rudroff, T., Weissman, JA., Bucci, M., Seppänen, M., Kaskinoro, K., Heinonen, I., Kalliokoski, KK. (2014) Positron emission tomography detects greater blood flow and less blood flow heterogeneity in the exercising skeletal muscles of old compared with young men during fatiguing contractions. *J Physiol (London)*, 592(2): 337–49.
- Saltin, B., Rådegran, G., Koskolou, MD., Roach, RC. (1998) Skeletal muscle blood flow in humans and its regulation during exercise. *Acta Physiol Scand*, 162(3): 421–36.
- Watanabe, K., Akima, H. (2009) Normalized EMG to normalized torque relationship of vastus intermedius muscle during isometric knee extension. *Eur J Appl Physiol*, 106(5): 665–73.
- Wigmore, DM., Propert, K., Kent-Braun, JA. (2006) Blood flow does not limit skeletal muscle force production during incremental isometric contractions. *Eur J Appl Physiol*, 96(4): 370–8.