

Original Article

超音波画像診断を用いた大腿直筋の筋輝度および筋横断面積の測定精度の検証

佐藤宏樹,^{1,2} 國安勝司,³ 小原謙一,³ 岡田有司,¹ 河島隆貴,¹
篠永篤志,¹ 山本五弥子,⁴ 安永 雅,⁴ 花山耕三⁴

¹川崎医科大学附属病院リハビリテーションセンター

²川崎医療福祉大学大学院医療技術学部

³川崎医療福祉大学医療技術学部

⁴川崎医科大学リハビリテーション医学

要旨

Sato H, Kuniyasu K, Kobara K, Okada Y, Kawashima T, Shinonaga A, Yamamoto S, Yasunaga M, Hanayama K. Verification of the accuracy of measuring the muscle cross-sectional area and muscle intensity of the rectus femoris using ultrasonography. *Jpn J Compr Rehabil Sci* 2018 ; 9: 66-72.

【目的】本研究は、超音波画像診断法を用いた大腿直筋の筋横断面積と筋輝度の測定精度を検証し、その測定方法を確立することを目的とした。

【方法】検査者3名が健常男性16名を対象に、超音波画像診断法を用いて、大腿直筋の筋横断面積と筋輝度を測定した。級内相関係数 (ICC) を用いて検者内と検者間信頼性を評価し、Bland-Altman (B-A) 分析を用いて系統誤差の確認と最小可検変化量を測定した。

【結果】筋横断面積と筋輝度の ICC は、検査者内、検査者間の ICC は筋横断面積が 0.9 以上、筋輝度が 0.7 以上であった。B-A 分析の結果では、各測定における系統誤差は存在せず、最小可検変化は、筋横断面積が検査者内 0.39 cm²、検査者間 0.15 cm²、筋輝度が検査者内 6.77、検査者間 4.47 であった。

【考察】本測定方法を用いることで高い評価精度で大腿直筋の筋横断面積と筋輝度を測定可能であると考えられた。また、最小可検変化量より大きな変化は、真の変化として臨床上的効果判定に使用することが可能である。

キーワード：超音波画像評価、大腿直筋、筋輝度、筋横断面積、測定精度

著者連絡先：佐藤宏樹
川崎医科大学附属病院
〒710-0192 岡山県倉敷市松島 577
E-mail : h0306@hp.kawasaki-m.ac.jp
2018年9月30日受理

利益相反：本研究において一切の利益相反はありません。

はじめに

加齢は筋線維の数やサイズの減少 [1]、結合組織の増加や骨格筋内脂肪浸潤 [2]、疾患は炎症性の筋膜炎や筋壊死 [3] などの骨格筋質や量的な機能低下をもたらす。このような骨格筋機能低下は身体機能だけでなく、死亡率 [4] や転倒による骨折や再入院率 [5, 6]、Quality of life (以下、QOL) の低下 [7] などの二次的合併症と関連することから、重要なアウトカムとして注目されている。近年では、骨格筋の質や量の評価は、超音波画像診断法や生体電気インピーダンス法、二重エネルギーX線吸収法、コンピュータ断層撮影法 (computed tomography)、磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging) などの技術が使用されている。その中でも超音波画像診断法を用いた骨格筋評価 (Skeletal Muscle Ultrasonography: 以下 US) は各筋別に筋横断面積 (muscle cross section area: 以下 CSA) や筋輝度 (echo intensity: 以下 EI)、筋厚 (muscle thickness)、羽状角 (pennation angle) などの情報を得ることができる。US は、非侵襲的にベッドサイドでも簡便に評価することができるため、医療現場における虚弱者や重症患者に対して有用な評価方法である [8]。

先行研究において、US を用いた CSA や EI の計測値は、従来の機器と同様の測定精度であることが示されている [9, 10]。US は短時間かつ非侵襲的に骨格筋の量や質を同時に評価できることから、さまざまな分野で使用されている。近年では、EI が骨格筋内脂肪浸潤や炎症反応などの加齢や疾患性変化のバイオマーカーに使用され、身体的 Frail や QOL の低下と関連することが報告されている [3, 11]。EI は、ヒストグラム関数を使用したグレイスケールにて、0 (黒) から 255 (白) の範囲で客観的な数値で表すことができる。EI は数値が大きいほど筋内の結合組織や脂肪組織の割合の増加を表すものである。EI を用いた筋の質の評価は、1982年に Heckmatt ら [12] が報告して以降、加齢性変化の横断的研究やトレーニングの効果判定などの縦断研究で使用されているが、臨床的に有意な差である最小可検変化量 (95% minimal detectable change: 以下 MDC₉₅) を明記している報告は

少ない。Radaelliら [13] は、高齢者に対する強度別の筋力トレーニングによってEIが改善することを報告しているが、中でもMDC₉₅は考慮されていない。超音波画像診断装置の対象物に対して超音波を当てて得られる反射波（エコー）を映像化するという機器の特性上、プローブの操作方法や機種による測定誤差を生じる可能性がある。そのため、各測定部位や方法に合わせた信頼性の検討や誤差範囲の確認が必要不可欠である。

本研究では、特殊な装置を使用せず、ベッドサイドでも使用可能な評価方法で、USを用いた大腿直筋（Rectus Femoris: 以下RF）のCSA（以下：RF_{CSA}）とEI（以下：RF_{EI}）の評価精度を検証した。

方法

1. 被検者

被検者には、下肢に重症な整形外科的疾患や脳血管疾患の既往歴のない、健常男性ボランティア16名（年齢21.5±0.82歳）が参加した。研究を始める前に、被検者に対して十分な説明を行い、研究参加の同意を得た。

2. 検査者

超音波画像の撮像を行う検査者は、超音波画像の撮像経験のない3名（以下、検査者A、B、C）が参加した。検査者A、B、Cはそれぞれ4年、6年、10年の臨床経験のある理学療法士であった。超音波画像における撮像技術の習熟度を統一するため、検査者は超音波画像の撮像経験のない者を対象とした。検査者には評価方法の説明と1時間程度の測定練習を行い、研究を開始した。

3. 超音波画像の撮像方法

超音波画像の撮像時の姿勢は、Fukumotoら [14] の方法を参考にし、一部改変した。被検者は、ベッド上で臥位姿勢をとり、下肢は十分に脱力した後、クッションを用いて股関節中間位に調節した（図1）。測定

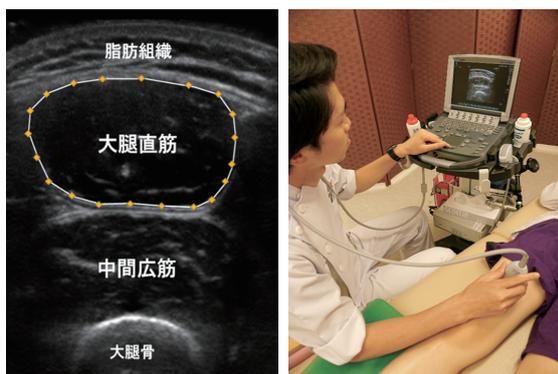


図1. 超音波画像診断装置による大腿部の横断画像と測定場面

対象者の大腿部の遠位1/3の位置で、超音波プローブを大腿骨に対して垂直に当てると、表層から脂肪組織、大腿直筋、中間広筋、大腿骨が描写できる。大腿直筋の画像解析は、上部および左右の筋膜、下部の大腿直筋の停止腱を含まないようにConvex Hull（凸包）を用いて多角形で囲んだ領域を解析した。

は超音波画像診断装置（SonoSite M-turbo, FUJIFILM社製）および6~15 MHz リニア型プローブ（56 mm）を用いた。設定はエコーの強さを輝度で示すことができるBrightnessモードに統一した。エコーゼリーはプローブが皮膚に接触することを予防するためにハードタイプのゼリー（Conductor™ Transmission Gel, Chattanooga社製）を使用した。

RFの画像評価には、(1) プローブが皮膚に接触しない、(2) 左右指標として画像内にRFを収める、(3) 垂直指標として大腿骨が高輝度となるようにプローブの角度を調節することの3つの基準を定めた（図1）。本研究では、画像内にRFを収める必要があるため、測定部位は、上前腸骨棘から膝蓋骨上縁を結ぶ線の遠位1/3の位置とした。

測定時はモニター画面をみながらプローブを操作して撮像した。検査者3名が、16名の被検者に対して、それぞれ連続3回の評価を行った。各検査者の測定結果が横断面積や輝度の情報によって先入観を与える可能性（測定バイアス）があるため、各検査者の測定画像や測定値は他の検査者に分からないように管理した。

4. 画像解析

すべての画像解析は、解析経験に習熟した解析者1名（筆者）が行った。また、データ処理は超音波検査を行った同日に実施した。画像解析は、Image J software (15.0i, NIH) を用いた。Bergerら [15] の方法を参考にし、一部改変した方法で画像解析を行った。まず、画像側面に表示されている1cmごとのマークを指標にして、拡大率を調整した。その次にConvex Hull（凸包）を用いて、多角形でRFの全域を囲った（図1）。RF周囲の軟部組織との境界域に関して、上部および左右は筋膜、下部はRFの停止腱を含まないように囲った。囲った面積をRF_{CSA}とし、ヒストグラム解析を用いた8-bit gray scaleにて0から255の範囲で数値化し、領域の平均値をRF_{EI}とした。

5. 測定精度評価

測定精度の評価は、相対信頼性（relative reliability）と絶対信頼性（absolute reliability）を評価し、測定の再現性だけでなく臨床応用における有効性を検討した。相対信頼性は、級内相関係数（intraclass correlation coefficients: 以下ICC）を使用し、検査者間および検査者内信頼性を評価した。絶対信頼性は、Bland-Altman分析（以下B-A分析）を用いて、系統誤差（加算誤差、比例誤差）の有無とMDC₉₅を評価した。B-A分析は、測定方法や測定者の能力により生じる誤差を判断し、MDC₉₅を求めることができたため、新しい評価を臨床応用するために推奨されている分析方法である [16]。

6. 統計学的解析

データの正規性は、Shapiro-Wilk検定を用いて確認した。RF_{CSA}とRF_{EI}の測定の安定性は、検査者内の変動係数にて評価した。変動係数は、標準偏差から平均値を除いた値を算出した。各検査者の1回目と2回目、1回目と3回目、2回目と3回目に分けて、検査者別に平均値を測定した。

各検査者の結果からRF_{CSA}とRF_{EI}のICC (1, 1)、ICC (2, 1)を算出した。ICC (2, 1)は、各検査者の

1回目の測定値を使用し、AとB、AとC、CとBの3パターンで解析した。つづけて、Spearman-Brownの公式を使用し、ICC(1, 1)、ICC(2, 1)が0.9以上の信頼性が保証できる反復測定回数を算出した。

B-A分析は、各検査者別の1回目と2回目の測定値を使用し、2つの測定値の差をy軸、2つの測定値の平均をx軸とする散布図(B-A plot)を作成した。加算誤差の有無は、2つの測定値の差の平均の95%信頼区間を算出し、区間内に0を含まない場合に加算誤差が存在すると判断した[17, 18]。次に比例誤差の有無は相関の有意性の検定を行い、式1で求められたt値が自由度n-2、有意水準5%のt値よりも大きければ比例誤差が存在すると判断した[19]。測定精度は式2を用いてMDC₉₅を算出した。統計解析は、Shapiro-Wilk検定、ICCはSPSS statistics 24 (IBM社製)を用い、B-A分析にはR2.8.1を用いた。有意水準は5%未満とした。

$$t = r \sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}} \quad (式1)$$

$$MDC_{95} = 1.96 \times SD_d \quad (式2)$$

r: 2つの測定値の差と2つの測定値の平均値のデータ群の相関係数

n: 標本数

SD: 2つの測定値の差の標準偏差

結果

全対象者の超音波画像は、前述の3つの測定基準を満たし正確に撮像することが可能であった。各検査者の測定値と変動係数を表1に示す。

ICC(1, 1)は、RF_{CSA}が0.9以上、RF_{EI}が0.765~0.882であった。ICC(2, 1)は、RF_{CSA}が0.9以上、RF_{EI}が0.772~0.875であった。RF_{EI}の下限値を使用し、Spearman-Brownの公式よりICC(1, 1)、(2, 1)が0.9以上の信頼性が保証できる反復測定回数は3回であった(表2, 3)。

B-A分析の結果、検査者内および検査者間において加算誤差と比例誤差の存在はなく、MDC₉₅は、検査者内のRF_{CSA}がA: 0.33 cm², B: 0.39 cm², C: 0.37 cm², RF_{EI}がA: 5.69, B: 6.77, C: 6.57, 検査者間のRF_{CSA}がA: 0.27 cm², B: 0.33 cm², C: 0.37 cm², RF_{EI}がA:

5.17, B: 4.64, C: 6.66であった(表4, 5, 図2)。

表1. RF_{CSA}とRF_{EI}の検査者別の測定値と変動係数

検査者	RF _{CSA} (cm ²)	CV(%)	RF _{EI}	CV(%)
A	5.49±1.2	2.4	26.7±5.1	5.9
B	5.46±1.1	2.5	27 ±5.7	7.0
C	5.51±1.2	2.5	26.5±4.5	7.9

平均値±標準偏差, %

RF: 大腿直筋 (Rectus Femoris); CSA: 横断面積 (cross sectional area); EI: 筋輝度 (echo intensity); CV: 変動係数 (coefficient of variation)

表2. RF_{CSA}とRF_{EI}の検査者別内信頼性

検査者	ICC(1, 1)			
	RF _{CSA}	95%CI	RF _{EI}	95%CI
A	0.99	0.96-0.99	0.85	0.64-0.95
B	0.98	0.95-0.99	0.83	0.60-0.94
C	0.99	0.96-0.99	0.75	0.42-0.90

ICC: 級内相関係数 (intraclass correlation coefficient); RF: 大腿直筋 (Rectus Femoris); CSA: 横断面積 (cross sectional area); EI: 筋輝度 (echo intensity); 95%CI: 95%信頼区間 (confidence interval)

表3. RF_{CSA}とRF_{EI}の検査者間信頼性

検査者	ICC(2, 1)			
	RF _{CSA}	95%CI	RF _{EI}	95%CI
A-B	0.99	0.98-0.99	0.88	0.69-0.96
A-C	0.98	0.90-0.99	0.81	0.53-0.93
B-C	0.97	0.84-0.99	0.77	0.46-0.91

ICC: 級内相関係数 (intraclass correlation coefficient); RF: 大腿直筋 (Rectus Femoris); CSA: 横断面積 (cross sectional area); EI: 筋輝度 (echo intensity); 95%CI: 95%信頼区間 (confidence interval)

表4. Bland-Altman分析による検査者内の系統誤差とMDC₉₅

検査者	加算誤差		比例誤差		MDC ₉₅
	差の95%CI	有無	相関の有意性	有無	
RF _{CSA}	A	-0.24~0.11	無	0.89	0.33 (cm ²)
	B	-0.29~0.11	無	0.52	0.39 (cm ²)
	C	-0.10~0.29	無	0.25	0.37 (cm ²)
RF _{EI}	A	-3.47~2.55	無	0.95	5.69
	B	-3.69~3.47	無	0.57	6.77
	C	-3.62~3.33	無	0.76	6.57

MDC₉₅: 95%最小可検変化量 (minimal detectable change); RF: 大腿直筋 (Rectus Femoris); CSA: 横断面積 (cross sectional area); EI: 筋輝度 (echo intensity); 95%CI: 95%信頼区間 (confidence interval)

表5. Bland-Altman 分析による検査者間の系統誤差と MDC_{95}

検査者	加算誤差		比例誤差		MDC_{95}	
	差の 95%CI	有無	相関の有意性	有無		
RF _{CSA}	A-B	-0.04~0.11	無	0.28	無	0.27 (cm ²)
	A-C	-0.23~0.05	無	0.56	無	0.33 (cm ²)
	B-C	-0.27~0.07	無	0.79	無	0.37 (cm ²)
RF _{EI}	A-B	-2.15~0.66	無	0.67	無	5.17
	A-C	-0.98~1.54	無	0.25	無	4.64
	B-C	-0.78~2.84	無	0.24	無	6.66

MDC_{95} : 95% 最小可検変化量 (minimal detectable change); RF: 大腿直筋 (Rectus Femoris); CSA: 横断面積 (cross sectional area); EI: 筋輝度 (echo intensity); 95%CI: 95% 信頼区間 (confidence interval)

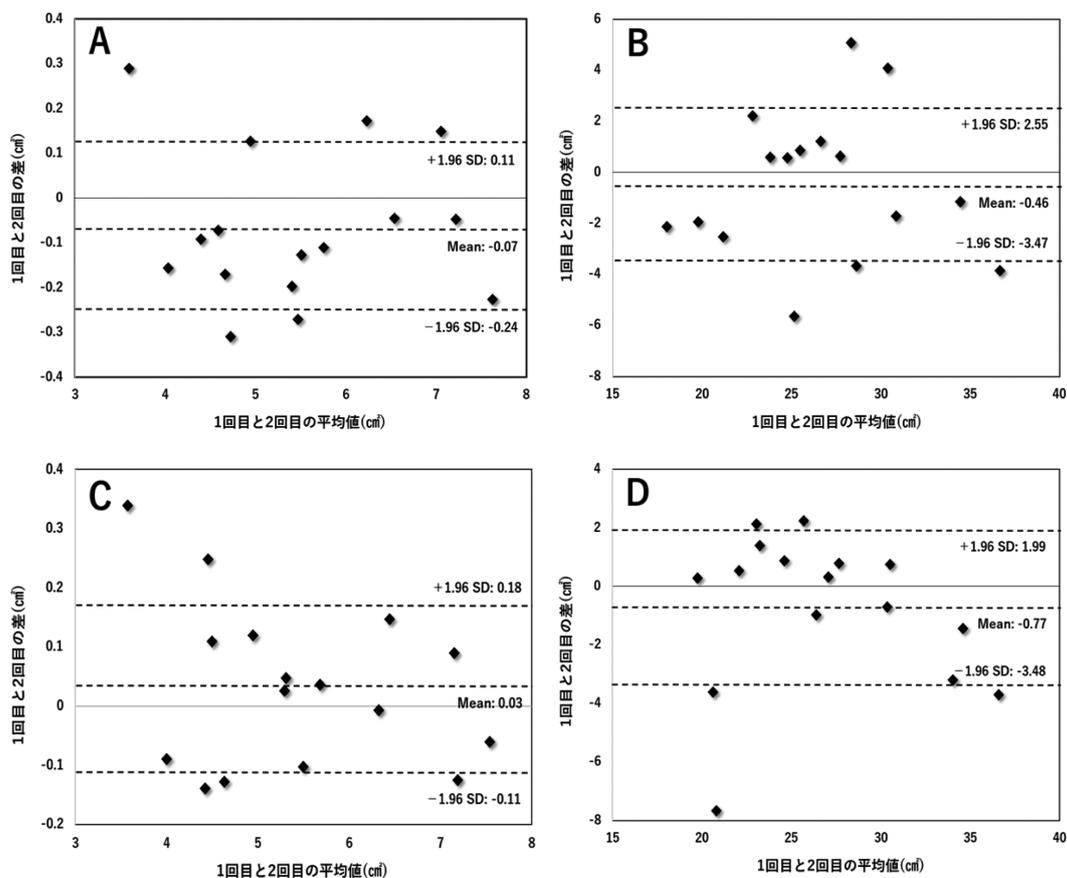


図2. 検査者内と検査者間の Bland-Altman plot 図

(A) 筋横断面積の検査者内; (B) 筋横断面積の検査者間; (C) 筋輝度の検査者内; (D) 筋輝度の検査者間。

筋横断面積および筋輝度の測定値の差の平均値と誤差の許容範囲を点線で示す。測定値の差の平均は0に近似しており正負ともにほぼ均等に分布していることから固定誤差はないことがわかる。また、筋横断面積と筋輝度の増加に伴い測定値の差が増加、または減少するといった傾向はない。

考察

本研究は、US を臨床応用するための基礎研究として、RF_{CSA} と RF_{EI} の測定精度を ICC と B-A 分析を用いて検討した。われわれの調べる限り、US による RF_{CSA} と RF_{EI} の同一測定部位における検査者内と検査者間の測定精度を検証し、 MDC_{95} を明記した国内外でも最初の報告である。

ICC に関して、桑原ら [20] は 0.9 以上を優秀、0.8 以上を良好、0.7 以上を普通、0.6 以上を可能、0.6 未満を再考とし、Landis ら [21] は 0.8 以上が望ましい、としている。本研究では、検査者内と検査者間ともに ICC の平均値は RF_{CSA} が 0.9 以上、RF_{EI} が 0.8 以上であった。これは、検査者にかかわらず、測定の信頼性が高いことを示している。加えて、B-A 分析の結果から、検査者内と検査者間ともに 95% 信頼区間が 0 を

含んでおり、加算誤差の存在は認めなかった。相関の有意性に関しても、検査者内と検査者間ともに有意な相関は認めず、比例誤差が存在しないことが明らかになった。このことから、本測定方法は、測定回数の増加が測定精度を向上させることができ、 RF_{CSA} と RF_{EI} ともに ICC 0.9 以上を確保する場合は、3回の平均値を使用する必要性が示唆された。

USの信頼性には、測定姿勢や対象筋の弛緩、プローブの操作（たとえば、角度、皮膚の圧迫）が関係するが、これらの影響を最小限抑えるための標準化された方法は確立されていない。実際の評価場面においても、超音波装置のモニター画像を見ながら対象筋の探索やプローブ角度の調節を行うため、非習熟者であると皮膚の圧迫による誤差がしばしばみられる。最近では、端座位で下肢を下垂させて筋を弛緩させる方法 [15] や、ケーブルを把持してプローブを懸垂することで垂直に描写する方法 [22]、固定装置を用いてプローブの接触圧を統一する方法 [23] が報告されている。しかし、ベッドサイドで虚弱な患者を評価する場合、固定装置の調節や姿勢調節が評価時間の延長や測定環境の制限に影響する可能性がある。本研究ではプローブの角度を安定させるために、ハードタイプのエコーゼリーを用いて軟部組織の圧迫を予防し、クッションを用いて大腿部を中間位に固定した。その結果、非習熟者であっても容易に垂直指標を調節することが可能となり、高い測定精度に繋がったと考える。本測定方法は、特殊な装置や環境を必要としないため、ベッド上で安静臥床中の患者に対して、ベッドサイドでも測定可能であると考えられる。

本測定方法を研究のアウトカムや臨床応用する際、介入の前後比較や効果判定には測定によって生じた偶然誤差を考慮した上で、有効性を判断することが重要である。本研究では偶然誤差の測定に MDC_{95} を用いた。 MDC_{95} とは2つの測定値の変化量が測定誤差によるものであるという限界値を示したものであり、値が MDC_{95} 以内であれば「真の変化」を判断することが可能である [18]。先行研究では、筋厚の MDC_{95} はさまざまな筋 [13, 15] で報告されているが、CSA と EI に関しての報告は少ない。Vieira ら [22] は、上腕二頭筋の EI の MDC_{95} が 10.23 と報告し、Rosenberg ら [24] らは、内側腓腹筋の CSA の MDC_{95} は、 1.995 cm^2 と報告している。O'Brien ら [25] は、上腕二頭筋、三角筋、浅指屈筋、前脛骨筋、内側腓腹筋、第3腓骨筋の EI 測定において、評価に習熟した測定者であっても、変動係数が 12.7%、8.4%、8.4%、10.0%、7.4%、9.6% と各筋によりばらつきが生じることを報告している。このように測定筋によって測定精度は異なるため、各測定筋や測定方法に合わせた測定精度の評価が必要である。本研究は、検査内の変動係数の平均値は、 RF_{CSA} が 2.5%、 RF_{EI} が 6.9%、 MDC_{95} は、 RF_{CSA} の検査者内が 0.36 cm^2 、検査者間が 0.32 cm^2 、 RF_{EI} の検査者内が 6.34、検査者間が 5.49 と上述の先行研究 [14, 16, 24, 25] と比較しても良好な結果を示した。 RF_{CSA} と比べると RF_{EI} の測定精度がやや劣る結果となった理由は、以下の2点が挙げられる。1点目は、大腿骨の輝度を指標に設定したことである。大腿骨の輝度はモニター上の画像で目視にのみの主観的な判断で行うため、一度プローブを離すと前回の画像を確認すること

はできない。そのため、連続測定においても誤差が生じたと考える。2点目は、USの特性により、組織が深部であるほど、エコーが減衰し、画像が不明瞭となる点である。大腿骨は最深部に存在し、皮下脂肪や筋厚の差によって対象者間で大腿骨までの距離が異なっている。エコーの設定を統一していたため、大腿骨までの距離の違いが、輝度の調節における難易度を変化させた可能性がある。しかしながら、本測定方法は、検査者内および検査者間で系統誤差は生じなかった。加えて、特殊な装置を用いた報告や評価習熟者による報告と同等な評価精度を示すことから、 RF_{CSA} と RF_{EI} の測定法の一つとして、臨床応用できる可能性がある。

本研究の限界として、評価習熟者での評価精度の検討が行えていない点がある。USの評価習熟度を客観的な数値で示す指標は存在しないものの、明らかに習熟者では対象筋の同定やプローブ角度が迅速かつ正確となる傾向がある。ランダム化比較試験などで検査者のブラインドを行う際は検査者が複数になるため、習熟度による誤差を最小限にする必要がある。今後は習熟度による測定精度の比較なども行う必要がある。さらに、画像解析の点では、解析に習熟した画像解析者1名のみが解析を行っているため、画像解析の過程で生じる誤差に関しての検討が必要である。

略語

ICC : intraclass correlation coefficients
B-A 分析 : Bland-Altman 分析
QOL : Quality of life
US : Skeletal Muscle Ultrasonography
CSA : muscle cross section area
EI : muscle echo intensity
 MDC_{95} : 95% minimal detectable change
RF : Rectus Femoris

謝辞

本研究を実施するにあたり、データ収集をご協力いただいた、川崎医科大学附属病院理学療法士の大西重徳氏に深謝します。

文献

- Deschanes MR. Effects of aging on muscle fibre type and size. *Sports Med* 2004; 34: 809-24.
- Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Newman AB, Nevitt M, Rubin SM, et al. Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 324-33.
- Zudin AP, Rahul P, Jaikitry R, Mark JW, Paul S, Anthea R, et al. Qualitative ultrasound in acute critical illness muscle wasting. *Crit Care Med* 2015; 43: 1603-11.
- Alexandre T da S, Duarte YA de O, Santos JFL, Wong R, Lebrao ML. Sarcopenia according to the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) versus dynapenia as a risk factor for mortality in the elderly. *J Nutr Health Aging* 2014; 18: 751-6.

5. Chalhoub D, Cawthon PM, Ensrub KE, Stefanick ML, Kado DM, Boudreau R, et al. Risk of nonspine fractures in older adults with sarcopenia, low bone mass, or both. *J Am Geriatr Soc* 2015; 63: 1733–40.
6. Bianchi L, Ferrucci L, Cherubini A, Maggio M, Bandinelli S, Savino E, et al. The predictive value of the EWGSOP definition of sarcopenia: results from the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2016; 71: 259–64.
7. Sayer AA, Syddall HE, Martin HJ, Dennison EM, Roberts HC, Cooper C. Is grip strength associated with health-related quality of life? Findings from the Hertfordshire Cohort Study. *Age Ageing* 2006; 35: 409–15.
8. Nijholt W, Scafoglieri A, Jager-Wittenaar H, Hobbelen JSM, van der Schans CP. The reliability and validity of ultrasound to quantify muscles in older adults: a systematic review. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017; 8: 702–12.
9. Neil DR, Conatantinos NM, Marco VN. Ultrasonographic assessment of human skeletal muscle size. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91: 116–8.
10. Noorikoiv M, Nosaka K, Blazeovich AJ. Assessment of quadriceps muscle cross-sectional area by ultrasound extended-field-of-view imaging. *Eur J Appl Physiol* 2010; 109: 631–9.
11. Mirón Mombiola R, Facal de Castro F, Moreno P, Borrás C. Ultrasonic echo intensity as a new noninvasive in vivo biomarker of frailty. *J Am Geriatr Soc* 2017; 2685–90.
12. Heckmatt JZ, Leeman S, Dubowitz V. Ultrasound imaging in the diagnosis of muscle disease. *J Pediatr* 1982; 101: 656–60.
13. Radaelli R, Botton CE, Wilhelm EN, Bottaro M, Lacerda F, Gaya A, et al. Low- and high-volume strength training induces similar neuromuscular improvements in muscle quality in elderly women. *Exp Gerontol* 2013; 48: 710–6.
14. Fukumoto Y, Ikezoe T, Yamada Y, Tsukagoshi R, Nakamura M, Takagi Y, et al. Age-related ultrasound changes in muscle quantity and quality in woman. *Ultrasound Med Biol* 2015; 41: 3013–7.
15. Berger J, Bunout D, Barrera G, de la Maza MP, Henriquez S, Leiva L, et al. Rectus femoris (RF) ultrasound for the assessment of muscle mass in older people. *Arch Gerontol Geriatr* 2015; 61: 33–8.
16. Mantha S, Roizen MF, Fleisher LA, Thisted R, Foss J. Comparing methods of clinical measurement: reporting standards for Bland and Altman analysis. *Anesth Analg* 2000; 90: 593–602.
17. Ludbrook J. Statistical techniques for comparing measurers methods of measurement: a critical review. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002; 29: 527–36.
18. Bland JM, Aitman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1: 307–10.
19. Shimoi T. The absolute reliability of evaluation. *Rigakuryoho Kagaku* 2011; 26: 451–61.
20. Kuwabara Y, Saito T, Inagaki Y. Evaluation of intra- and inter-observer reliability. *Respir Circ* 1993; 41: 945–52.
21. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159–74.
22. Vieira A, Siqueira AF, Ferreira-Junior JB, Pereira P, Wagner D, Bottaro M. Ultrasound imaging in women's arm flexor muscles: intra-rater reliability of muscle thickness and echo intensity. *Braz J Phys Ther* 2016; 20: 535–42.
23. Ishida H, Suehiro T, Watanabe S. Influence of inward pressure of the transducer on thickness and echo intensity of the rectus femoris muscle during ultrasonography. *Middle East J Rehabil Health* 2016; 3: e36059.
24. Rosenberg JG, Ryan ED, Sobolewski EJ, Scharville MJ, Thompson BJ, King GE. Reliability of panoramic ultrasound imaging to simultaneously examine muscle size and quality of the medial gastrocnemius. *Muscle Nerve* 2014; 49: 736–40.
25. O'Brien TG, Cazares Gonzalez ML, Ghosh PS, Mandrekar J, Boon AJ. Reliability of a novel ultrasound system for gray-scale analysis of muscle. *Muscle Nerve* 2017; 56: 408–12.