

2008-1036A

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

超音波を用いた非侵襲膝関節軟骨

3次元定量診断装置の開発に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中村 耕三

平成21(2009)年3月

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

超音波を用いた非侵襲膝関節軟骨

3次元定量診断装置の開発に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中村 耕三

平成21（2009）年3月

目 次

I. 総括研究報告	
超音波を用いた非侵襲膝関節軟骨 3 次元定量診断装置の開発に関する研究	1
中村 耕三	
II. 分担研究報告	
1. 超音波 B-mode 画像を用いた軟骨厚測定に関する研究	5
大西 五三男	
2. 超音波を用いた軟骨音速測定値と軟骨変性度の関係に関する研究	17
星 和人	
3. 大腿骨内側顆部関節軟骨超音波撮像に最適化した機器開発と 超音波画像収集および三次元データ構築に関する研究	31
土肥 健純	
4. 超音波 B-mode 画像を用いた 3 次元軟骨形態計測測定に関する研究	45
中島 義和	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	53
IV. 研究成果の刊行物・別刷	55

I 総括研究報告書

超音波を用いた非侵襲膝関節軟骨 3次元定量診断装置の開発に関する研究

主任研究者 中村 耕三 東京大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

本研究の目標は、外来診療の現場で変形性関節症の重傷度を非侵襲的に定量診断を行うことができる関節軟骨用超音波診断装置を開発することである。その基礎研究として、摘出ヒト関節軟骨の音速を測定した。また、水槽内でブタ関節軟骨を超音波によって撮像し関節軟骨の厚みを測定、音速によって補正した後、実際の軟骨の厚みと比較し、非常に高い精度で測定されていることを示した。2007年度の大腿骨内側顆部関節軟骨形状に関する研究を基に最適化した機器開発を行い、収集画像から関節軟骨 3D データの構築および映像化することが可能であった。また、得られた画像より三次元モデルを作成、軟骨厚を計測した。臨床用 MRI を用いた軟骨厚との間には有意な相関がみられ、超音波を用いた関節軟骨三次元評価は、関節軟骨の形態定量法として有用であると考えられた。今後、臨床使用に向けて機器・機能の向上・自動化等を進めていく予定である。

分担研究者氏名	所属機関名	役職	
大西 五三男	東京大学大学院 医学系研究科	専任講師	する方法の開発はあるものの、非侵襲に診断する方法の開発はこれまでに例がなかった。本研究は、完全無侵襲に超音波を用いて関節軟骨の変性・磨耗・菲薄の定量診断を行う装置の開発という超音波の新規応用を目指す研究であり、新しい診断法の分野を開拓し、さらには変形性関節症の新たな治療体系を確立する端緒となるものである。軟部組織と軟骨、軟骨と骨の境界面を超音波によって検出することにより関節軟骨を三次元的に抽出することができる。この原理を応用し、関節軟骨の変性から摩耗や菲薄、さらに欠損の起こる変形性関節症において関節軟骨を体外から非侵襲にリアルタイムに映像化し、軟骨表面の変性状態を評価することや、軟骨の厚さや体積を定量的に評価が可能な超音波装置を開発する。しかしながら、超音波を用いた検査法を開発する上で、超音波の伝わる音速が組織によって異なること、対象物が超音波送信波にできるだけ垂直であればあるほど、また超音波プローブの焦点距離に近ければ近いほどより良好な画像が得られる、といった特徴を認識する必要がある。これらより、本年度においては、基礎実験では、1. 超音波画像評価の基礎となるヒト関節軟骨音速測定、2. 超音波
星 和人	東京大学 ティッシュエンジニアリング部	客員准教授	
土肥 健純	東京大学大学院 情報理工学系研究科	教授	
中島 義和	東京大学大学院 工学系研究科	准教授	

A. 研究目的

本研究の目標は、外来診療の現場で変形性関節症の重傷度を非侵襲的に定量診断を行うことができる関節軟骨用超音波診断装置および軟骨下骨の 3次元評価を行うことができる硬組織用超音波診断装置を開発することである。超音波による画像診断法は近年著しく進歩し、画像の精度や3次元画像処理また動画の撮像などさまざまな機能の付加や向上がある。しかし関節軟骨などの硬組織に応用する試みは、内視鏡視下に侵襲的に超音波診断

B-mode 画像による関節軟骨厚測定値の精度評価を行った。また、昨年度行った、評価対象として考えているヒト大腿骨内側顆部の形状評価、超音波プローブの関節軟骨に対する至適相対角度・位置の評価に関する研究を基に 3. 最適化した機器開発を行った。さらに、実際に軟骨画像を取得し、4. 超音波 B-mode 画像による関節軟骨三次元的定量値の精度評価を目的として研究を行った。

B. 研究方法

それぞれの研究方法について以下にそれぞれ示す。

1. ヒト関節軟骨の音速測定および軟骨の変性が音速に与える影響の検討においては、対象は変形性膝関節症の手術患者 11 名 23 膝関節であった。本人の同意のもと、手術時に採取された大腿骨顆部の骨軟骨片を音速測定の試料として使用した。超音波シングルプローブを用い超音波が関節軟骨を往復する時間を測定。時間測定部位が断面となるように精密切断機で試料を切断し、軟骨厚を顕微鏡で測定し、音速を算出した。骨軟骨片の組織標本作製し、変性度を Mankin score にてスコアリング、音速に与える影響を相関・回帰分析によって検討した。

2. 超音波 B-mode 画像を用いた関節軟骨厚測定値の精度評価については、実験材料は、形状・大きさが比較的ヒトに近いことから、豚大腿骨顆部の関節軟骨を用いた。豚は生後 6 ヶ月および生後 3 年の 2 種類の大腿骨顆部関節軟骨を用いた。骨軟骨片を超音波 B-mode 画像によって撮像を行った（撮像条件は、①1D probe, Tissue Harmonic, ②1D probe, 空間コンパウンド, ③1.5D probe, Tissue Harmonic, ④1.5D probe, 空間コンパウンド）。得られた画像について超音波ビーム方向の関節軟骨の厚みを専用ソフトを用いて測定し、また、音速による補正を行って算出した。一方、撮像した断面が切断面となるように試料を切断し、軟骨厚を顕微鏡にて測定、超音波による軟骨厚測定値と相関・回帰分析によって比較検討した。

3. 2007 年度の研究結果（大腿骨内側顆部の曲

率半径が約 30mm~40mm、超音波プローブの関節軟骨に対する傾斜至適許容範囲・焦点からの深達方向への距離のずれの至適許容範囲がそれぞれ $0^{\circ} \sim 20^{\circ}$ 、 $\pm 0\text{mm} \sim 20\text{mm}$ ）をもとに、大腿骨内側顆部関節軟骨撮像に最適化した機器開発（超音波プローブスキャナーの作成、円弧状スキャンによる超音波断面画像の収集、収集画像から軟骨部の抽出と 3D データの構築）を行った。

4. 3.にて開発した機器を使用し、2名のボランティア（36歳、59歳）において超音波 B-mode 画像を用いて膝関節軟骨を撮像した。得られた画像より三次元表面形状モデルを作成、軟骨厚を計測した。また、臨床用 MRI を用い同様に軟骨三次元モデルを作成、軟骨厚を算出し、比較検討により超音波画像による定量値の精度評価を行った。

（倫理面への配慮）

今回の研究において関節軟骨の取得に際しては対象者に口頭および文書を用いて説明を行い、十分に理解し同意を得られたもののみを対象とした。また、全研究を通して対象者の個人情報とは公開されない。

C. 研究結果

1. ヒト関節軟骨の音速測定および軟骨の変性が音速に与える影響の検討においては、関節軟骨音速の平均（ \pm 標準偏差）は、 $1756.3 \pm 106.2 \text{ m/s}$ であった。組織学的スコアと軟骨音速との一次回帰直線の式は、 $y = -21.03x + 1851.5$ 、Pearson の相関係数は、 -0.439 であった。p 値は、0.036 と有意であり、Mankin score が高いほど、すなわち、軟骨の組織学的変性度が高いほど、軟骨の超音波音速が減少していた。そこで、関節軟骨実測値（Tc）に影響を与える因子として音速を一定とした超音波による関節軟骨厚測定値（Tc-US）・各試料の音速値（Sc）として、重回帰分析を行ったところ、式

$$\begin{aligned} Tc (\text{mm}) = & 0.983 \times Tc_us (\text{mm}) \\ & + 0.001 \times Sc (\text{m/s}) \\ & - 2.061 \end{aligned}$$

が得られ、 $R^2 = 0.955$ 、 Tc_us 、 Sc の p 値はそれぞれ 0.01 未満と有意であった。しか

し、それぞれの偏回帰係数は、 $Tc_us : 0.895$ 、 $Sc : 0.199$ であり、実測の軟骨厚に対して、音速値は超音波軟骨厚に加えて影響を与えるが、その影響は比較的小さいと考えられた。

2. 超音波 B-mode 画像を用いた関節軟骨厚測定値の精度評価については、顕微鏡による軟骨厚測定値を x 、超音波による軟骨厚測定値を y としたときの一次回帰直線式は生後 6 ヶ月の豚関節軟骨については、それぞれ① : $y = 1.1017x + 0.2208$ 、② : $y = 1.0799x + 0.1582$ 、③ : $y = 0.9519x + 0.1776$ 、④ : $y = 1.1264x + 0.3008$ であった。また、Pearson の相関係数はそれぞれ①0.881、②0.919、③0.892、④0.947 であり、1D probe に比べ 1.5D probe の方が高い傾向が、tissue harmonic に比べ空間コンパウンドの方が高い傾向がみられた。一方、生後 3 年の豚関節軟骨については、それぞれ① : $y = 1.7095x - 1.0074$ 、② : $y = 1.4007x + 0.5757$ 、③ : $y = 1.2542x + 0.4288$ 、④ : $y = 1.103x + 0.1843$ であり、1D probe に比べ 1.5D probe の方が、空間コンパウンドの方が Tissue Harmonic の方が、傾きが 1 に近く、切片も 0 に近い傾向にあった。また、Pearson の相関係数はそれぞれ①0.837、②0.634、③0.696、④0.753 であり、空間コンパウンド使用では、1D probe に比べ 1.5D probe の方が高い傾向が、かつ 1.5D プローブ使用では、tissue harmonic に比べ空間コンパウンドの方が高い傾向がみられた。いずれの設定においても p 値は 0.0001 以下であり顕微鏡による軟骨厚測定値と超音波による軟骨厚測定の有意な相関が見られた。

3. 汎用超音波診断装置のメカニカル 3D スキャン機能をベースにし、超音波プローブの走査角度を回転型エンコーダから得て、これを超音波診断装置に渡すことにより膝軟骨の断層画像が収集できることが確認できた。複数の膝軟骨断層画像を収集後、外部パソコン上で各断層画像上の膝軟骨部分のみを抽出後、フレーム補間することにより膝軟骨の 3D 画像を構築して表示できることが確認できた。

4. 36 歳被検者の超音波モデル軟骨厚 (Tc-US)、MRI モデル軟骨厚 (Tc-MRI) の平均はそれぞれ、 2.28 ± 0.54 mm、 $1.99 \pm$

0.47 mm であった。Tc-US を x 、Tc-MRI を y としたときの一次回帰直線式は、

$$y = 0.6004x + 1.0846$$

であった。また、Pearson の相関係数は 0.518、 p 値は 0.001 未満であり Tc-US と Tc-MRI との間には有意な相関が見られた。

59 歳男性の Tc-US、Tc-MRI の平均はそれぞれ、 1.81 ± 0.73 mm、 1.76 ± 0.47 mm であった。Tc-US を x 、Tc-MRI を y としたときの一次回帰直線式は、

$$y = 0.9656x + 0.1097$$

であった。また、Pearson の相関係数は 0.627、 p 値は 0.001 未満であり Tc-US と Tc-MRI との間には有意な相関が見られた。

D. 考察

基礎研究として、超音波を用いたヒト関節軟骨の音速値の測定および関節軟骨の変性による音速値への影響を検討した。その結果、変性度が重度であるほど、音速が低下することが示された。ただし、重回帰分析によって音速低下の程度は小さなものであり、実際の軟骨形態定量評価においては、一定の音速値を用いることが可能であることが示唆された。また、超音波 B-mode を用いてブタ関節軟骨を水槽内で撮像し画像から関節軟骨厚を測定、実測した関節軟骨厚との相関を検討、いずれの画像設定でも有意な相関を示し、これらの手法による関節軟骨形態計測が有用であると考えられた。

機器開発では、2007 年度の研究結果 (大腿骨内側顆部の曲率半径が約 30mm~40mm、超音波プローブの関節軟骨に対する傾斜至適許容範囲・焦点からの深達方向への距離のずれの至適許容範囲がそれぞれ $0^\circ \sim 20^\circ$ 、 ± 0 mm~20mm) をもとに、プローブスキャナーを開発し、臨床用 B-mode リニアプローブ、汎用超音波機器を用いて、大腿骨内側顆部関節軟骨の撮像を行った。MRI との比較によって精度検証を行い、有用性が示唆された。今後、基礎研究の結果等を基に、撮像条件の最適化や画像処理アルゴリズムの開発・自動化などを進めていく必要があると考える。

E. 結論

昨年度の研究結果を基に、臨床機器開発を行った。対象関節軟骨の映像化を行うことができ、定量評価値の一定の精度を確認することができた。今後、臨床使用に向けて、基礎研究の結果等を基に、機器・画像取得法・画像処理法・定量評価法等の開発・改善・自動化等を進める予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Matsuyama J, Ohnishi I, Sakai R, Bessho M, Matsumoto T, Miyasaka K, Harada A, Ohashi S, Nakamura K. A New Method for Evaluation of Fracture Healing by Echo Tracking. *Ultrasound Medicine & Biology*, Vol.34, no.5, p.775-783, 2008

2. 学会発表

Ohashi, S; Ohnishi, I; Matsumoto, T; Matsuyama, J; Bessho, M; Tobita, K; Kaneko M; Nakamura, K, Evaluation of Measurement Precision for Articular Cartilage Ultrasound Speed by Time of Flight Method, 55th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, *Transactions*, 2162, 2009

松山 順太郎、大西 五三男、酒井 亮一、別所 雅彦、大橋 暁、宮坂 好一、飛田 健治、松本 卓也、原田 烈光、芳賀 信彦、中村 耕三、超音波エコー-tracking法を用いた骨癒合判定、*日本整形外科学会誌*、88(8), S907, 2008

大橋 暁、大西 五三男、松本 卓也、別所 雅彦、飛田 健治、中村 耕三、超音波を用いたヒト関節軟骨音速測定値に軟骨変性度が与える影響についての検討、*日本整形外科学会誌*、88(8), S994, 2008

宮坂 好一、酒井 亮一、鈴木 浩之、大塚 利樹、原田 烈光、吉川 義博、松山 順太郎、大西 五三男、中村 耕三、超音波による骨癒合強度定量評価の新しい計測システムの開発、*日本超音波医学会誌*、Vol. 35 Supplement, S550, 2008

R. Sakai, K. Miyasaka, E. Minagawa, T. Ohtsuka, A. Harada, Y. Yoshikawa, J. Matsuyama, K. Tobita, K. Nakamura, I. Ohnishi, A Minute Bone Bending Angle Measurement Method using Echo-Tracking for Assessment of Bone Strength In Vivo, 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium, *Transactions*, 2C-5, 2008

大西 五三男、松山 順太郎、飛田 健治、別所 雅彦、大橋 暁、松本 卓也、金子 雅子、中村 耕三、超音波エコー-tracking法を用いた骨癒合の評価、第22回日本創外固定・骨延長学会抄録集 p.60, 2009

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特願 2008-188709, 超音波プローブ支持装置, 2008.7.22

特願 2008-188727, 超音波プローブ用の膝用音響整合器, 2008.7.22

特願 2008-188639, 骨検査システムおよび下腿支持装置, 2008.7.22

特願 2008-294434, 超音波診断装置, 2008.11.18

Ⅱ 分 担 研 究 報 告 書

超音波 B-mode 画像を用いた軟骨厚測定に関する研究

分担研究者 大西 五三男 東京大学医学部附属病院整形外科脊椎外科 講師

研究要旨 これまでに超音波 B-mode 画像を用いて客観的手法にて軟骨厚を測定評価した先行研究は皆無である。今回、2種類の豚大腿骨顆部関節軟骨を用い、超音波 B-mode 画像を4種類の画像設定で取得し、軟骨厚を計測した。軟骨領域の決定においては、画像のラインプロファイルより客観的手法を用いて軟骨表面と骨軟骨境界を決定し軟骨厚を測定した。実際の軟骨厚との相関を解析したところ、いずれの画像設定でもいずれの検体においても有意な相関を示し、これらの手法による関節軟骨形態計測が有用であると考えられた。この結果を踏まえて生体内での計測を行っていく予定である。

A. 研究目的

臨床用超音波 B-mode 画像を用いた関節軟骨形態定量評価に関する研究は、これまでにほとんど行われてきていない。また、超音波 B-mode 画像によって関節軟骨の厚みを評価している先行研究においては、組織境界の決定は客観的に行われていないのが現状である。一方、超音波 B-mode 画像については画像取得方法に様々なものが存在するが、対象物の境界表面が凸面である場合に有効な画像取得法として、空間コンパウンド法がある (Jespersen et al. 1998; Behar et al. 2003)。この手法は、従来法が超音波リニアプローブの各素子において送信波をプローブに対して垂直に発信し、反射波をとらえる手法であるのに対し、リニアプローブよりある複数の角度をもって送信波を発信し、その反射波より得られる複数の画像を重ね合わせることで画像を作成する手法である (図 1)。超音波による対象物の表面および境界検知能力は、反射波の鮮明さに依存するが、反射波は一般的に送信波進行方向が対象物の表面および境界に対して垂直に近いほど鮮明となる。空間コンパウンド法は、対象表面・境界がある一定以上の湾曲をもっている場合に可能な限り鮮明な反射波を取得するための手法であるといえる。また、加えて、画像の加算平均に伴って、画像のノイズ軽減、すなわち、S/N 比 (S: signal, N: noise) の向上と同時に超音波画像特有のスペックルパターンの軽減にも効果的であると

いう特色を有する (Lin et al. 2002)。この空間コンパウンド法を用いた整形外科領域での画像評価については、肩関節腱板 (Leotta et al. 2000)、アキレス腱 (Bartolotta et al. 2007)、半月板 (Shanbhogue et al. 2008)、膝十字靭帯 (Sorrentino et al. 2009) などを対象とした報告があるが、関節軟骨を対象としたものは無い。

画像取得法と同様、B-mode 画像を取得するためのリニアプローブ (図 2) の種類も種々存在する。リニアプローブから発信される送信波は、一般的に焦点付近においてリニアプローブの長手方向 (ラテラル方向 (図 2)) に絞りが良く効いているが、これをさらに奥行き方向 (エレベーション方向 (図 2)) にも効果的に絞りを効かせたコンパウンドアレイプローブが開発されている (図 3)。このプローブによって、対象物の表面・境界がより鮮明にとらえることができる可能性がある。

本研究の目的は、*in vitro* において関節軟骨の超音波 B-mode 画像を従来の超音波プローブならびに新規開発された超音波プローブにより取得し、また、画像取得設定を従来の設定ならびに空間コンパウンド設定にて行い、客観的に軟骨の境界を決定・軟骨領域抽出することで形態定量評価を行い、その精度評価を顕微鏡による測定値と比較検討によって行うことである。

B. 研究方法

骨軟骨試料作成

大腿骨顆部の大きさ・形状が比較的ヒトのものに近いことから、豚大腿骨を使用した。また、月齢による音速値の差を考慮し、生後6ヵ月の豚(幼豚)および生後3年の豚(成豚)を用いた(図4)。豚を屠殺後、3°Cの冷蔵室に三日間保管した後、後肢を切離され処理場(東京芝浦臓器、東京)より我々の施設に冷蔵輸送を行った。我々の施設において、後肢は生理食塩水を浸したガーゼに包むことで湿潤環境を保った状態にて、プラスチック製の密閉された袋に徒手的脱気後、-20°Cにて冷凍保存を行った。実験日当日、生理食塩水(大塚製薬、東京)下で室温にて解凍した後、関節包や靭帯を含む軟部組織を切除した。

バンドソー(SWD-250; 藤原産業、兵庫県三木市)を用いて、大腿骨顆部より骨軟骨片の切り出しを行った。切り出された骨軟骨片を特注品のアクリルホルダー(30×30×13mm; 村井電気、東京)にレジン(ジーシーオストロン; ジーシー、東京)を用いて固定した。このアクリルホルダーは寸法が精確なため、測定点の位置合わせに適しており使用した。試料作成中、試料は生理食塩水を用いて、常に十分に冷却され、湿潤に保たれた。

超音波 B-mode 軟骨画像の取得

超音波 B-mode 画像取得を以下のオーダーメイドの装置を用いて行った。骨軟骨片が固定されたアクリル保持具を専用に作成した水槽の中に設置した(図5)。水槽は事前に脱気水で満たし、常に20°Cに保った。また、リニアプローブを三関節アーム(MB-MX2-A、カネテック、長野県上田市)によって設置した。水槽内に既知の位置に張り渡したテグス糸をB画像にて確認することで所定の位置および方向にリニアプローブを設置することが可能であった(図6)。リニアプローブは、従来のプローブ(以下、1D probe)(UST-5412、アロカ株式会社、東京都三鷹市)と新規のコンパウンドアレイプローブ(以下、1.5 D probe)(UST-5411、アロカ株式会社)を使用した。1.5D probeは、1D probeと比較し、焦点距離(約20mm)周辺のエレベーション方向(プローブの短軸方向)の絞りに優れているとい

う特徴がある。プローブはそれぞれ、プローブの素子表面が軟骨表面から焦点距離である20mmの位置となるように設置した。診断装置は、Prosound・α10(アロカ株式会社、東京都三鷹市)を使用した。リニアプローブは、従来の画像取得法である tissue harmonic 法を使用した設定(周波数:5MHz)、空間コンパウンド法を使用した設定(周波数:13MHz、steering angle:20°)の各々の設定でB-mode 画像取得を行った。空間コンパウンド法は、従来のプローブ素子面に垂直に超音波ビームを送信することで得られる画像に加え、左右に一定の傾き(今回の実験では20°)を与えて得られる2枚の画像と計3枚の画像を加算平均することで画像を得る手法である。すなわち、今回の画像取得の条件は、1D probe を使用し tissue harmonic を用いて撮像した画像①、空間コンパウンドを用いた画像②、1.5D probe を使用し tissue harmonic を用いて撮像した画像③、空間コンパウンドを用いた画像④の計4種類の設定にて行った。リニアプローブを保持する三関節アームはエレベーション方向に10ミクロン単位で平行移動可能なマイクロメーター付きのステージが装着しており、これを移動することで撮像断面を0.5mm 間隔で撮影した。

画像および輝度プロファイル解析

取得した画像をJPEG形式にて外部出力し、コンピューターに読み込んだ。解析ソフトは、Mathcad 2001 Professional(Mathsoft Engineering & Education, Inc., Cambridge, MA、アメリカ合衆国)を用いた(図7)。画像上にてテグス糸の像を参照点とし、試料中央点を同定した。超音波ビーム方向にその中央点を通るラインを引き、ライン上の輝度プロファイルをcsv形式にて保存・出力した。同様の作業を中央点より左右に0.5mm 間隔に試料の端から端まで行った(32ライン)。出力された輝度プロファイルデータをMicrosoft Office Excelにおいて軟骨表面の反射波(以下、第一境界波)、骨軟骨境界の反射波(以下、第二境界波)に相当すると考えられる第一ピーク、第二ピークを同定する(図8)。次に第一ピークから第二ピークまでの経過時間(Δt)

を算出し、他の研究である関節軟骨音速測定法の開発において測定した同月齢の豚の関節軟骨音速 (Sc : 1488 m/s (幼豚), 1717 m/s (成豚)) を用いて第一境界から第二境界までの距離、すなわち超音波を用いた軟骨厚 (Tc -US) を算出した。

$$Tc-US = \frac{Sc \times \Delta t}{2}$$

この算出をそれぞれの輝度プロファイルにて行った (プロファイル数: 32)。

軟骨スライスの作成

切断面の作成は、Minitom (Struers Inc., Westlake, OH, アメリカ合衆国) を使用して行った。Minitom のアームにアクリル保持具を軟骨表面がダイヤモンドブレードに向くように固定する。ここで、アクリル保持具の既知の形状より、ミニトムの切断面調節ダイヤル (精度: 10 μ m) を用いて、切断面が RF 信号を取得した横断線に一致するように切断面の調節を行った後、カッティングを行う。カッティングした骨軟骨片の切断面からアクリル端面までの距離を 5 箇所にてマイクロメーター (MDC-MJ/PJ, ミットヨ, 神奈川県川崎市) を使用し計測しその平均値を算出する。この距離が B-mode 画像撮像断面に一致、あるいは ± 0.25 mm 以内の誤差であるならば、それらの画像を使用し、 ± 0.25 mm 以上の誤差が生じている場合はそれぞれ ± 0.5 mm の横断線上で取得した撮像画像を用いることとした。

測定顕微鏡による軟骨厚の測定

カットされた骨軟骨片をスライドガラス上に固定し、切断面に生理食塩水を滴下した後カバーガラスを覆い (図 9)、スライドガラスごと測定顕微鏡 (MM-400/T, ニコン, 東京) 上に設置する。この測定顕微鏡には、音速測定保持具と同様に X 軸, Y 軸 (いずれも平行移動可能), θ 軸 (円運動可能) を調節するためのマイクロメーターがついたステージ (NHS 2x2, ニコン, 東京) を設置した。アクリル保持具が既知の寸法であることを用い、ステージを調節することで、32ヶ所の輝度プロファイルを取得したライン上にて軟骨

表面から骨軟骨境界までの距離 (Tc) の測定を行う。

統計学的解析

Tc と Tc -US の関係について回帰解析および Pearson の相関係数の算出を行った。p 値が 0.05 以下であったとき、有意であるとした。統計学的解析には、SPSS Statistics 17.0 (エス・ピー・エス・エス, 東京) を使用した。

C. 研究結果

幼豚において、B-mode 画像について tissue harmonic と空間コンパウンドとを比較すると (図 10)、空間コンパウンドを用いた画像の方が、軟骨表面において比較的一様に高輝度となっていた。また、軟骨内部のスペckルパターンの粗さが軽減していた。一方、1Dプローブと 1.5Dプローブを比較すると (図 11)、1.5Dプローブを用いた画像の方が軟骨表面についてより鮮明な傾向があった。

Tc を x 、 Tc -US を y としたときの一次回帰直線式はそれぞれ

① (1D probe, Tissue Harmonic) : $y = 1.1017x - 0.2208$ 、

② (1D probe, 空間コンパウンド) : $y = 1.0799x - 0.1582$ 、

③ (1.5D probe, Tissue Harmonic) : $y = 0.9519x + 0.1776$ 、

④ (1.5D probe, 空間コンパウンド) : $y = 1.1264x - 0.3008$

であった (図 12)。

また、Pearson の相関係数はそれぞれ

①0.881、②0.919、③0.892、④0.947

であり、tissue harmonic に比べ空間コンパウンドの方が高い傾向が、かつ、1D probe に比べ 1.5D probe の方が高い傾向がみられた。いずれの設定においても p 値は 0.0001 以下であり Tc と Tc -US の有意な相関が見られた。

成豚においても、B-mode 画像について tissue harmonic と空間コンパウンドとを比較すると (図 13)、空間コンパウンドを用いた画像の方が、軟骨表面において比較的一様に高輝度となっており、また、軟骨内部のスペckルパターンの粗さが軽減していた。1Dプローブと 1.5Dプローブを比較すると、1.5D

プローブを用いた画像の方がより鮮明な傾向があった(図14)。

Tc を x 、Tc-US を y としたときの一次回帰直線式はそれぞれ

① (1D probe, Tissue Harmonic) : $y = 1.7095x - 1.0074$ 、

② (1D probe, 空間コンパウンド) : $y = 1.4007x - 0.5757$ 、

③ (1.5D probe, Tissue Harmonic) : $y = 1.2542x - 0.4288$ 、

④ (1.5D probe, 空間コンパウンド) : $y = 1.103x - 0.1843$

であり(図15)、1D probe に比べ 1.5D probe の方が、空間コンパウンドの方が Tissue Harmonic の方が、傾きが 1 に近く、切片も 0 に近い傾向にあった。

また、Pearson の相関係数はそれぞれ

①0.837、②0.634、③0.696、④0.753

であり、空間コンパウンド使用では、1D probe に比べ 1.5D probe の方が高い傾向が、かつ 1.5D プローブ使用では、tissue harmonic に比べ空間コンパウンドの方が高い傾向がみられた。いずれの設定においても p 値は 0.0001 以下であり Tc と Tc-US の有意な相関が見られた。

D. 考察

関節軟骨の二次元評価について超音波 B-mode 画像を用いて行った過去の研究(Myers et al. 1995)において、軟骨表面および骨軟骨境界の決定は手動で行われており、客観性・再現性に問題があると考えられる。今回我々は、超音波 B-mode 画像を用いて豚膝関節軟骨を撮像し、各画像において軟骨表面・骨軟骨境界を一定の客観的方法を用いて決定した。また、プローブを 2 種類使用し、それぞれのプローブで 2 通りの設定で画像取得を行った。

まず、プローブの種類では、1.5D プローブは、1D プローブと比較し、焦点距離周辺のエレベーション方向の絞りに優れているという理論上の特徴がある。

また、空間コンパウンド法は、従来のプローブ素子面に垂直に超音波ビームを送信することで得られる画像に加え、左右に一定の傾

き(今回の実験では 20°)を与えて得られる 2 枚の画像と計 3 枚の画像を加算平均することで画像を得る手法である。この空間コンパウンド画像の特徴として、対象物の表面の輝度が表面の傾きに受ける影響が低減する点と、従来の超音波画像で出現するスペックルパターンと言われる模様やいわゆる画像ノイズが画像の加算平均効果によって平均化される点がある。

今回得られた結果では、幼豚においては、1D プローブよりも 1.5D プローブの方が、tissue harmonic 法よりも空間コンパウンド法を用いた画像の方が、実際の軟骨厚との相関が高い傾向にあり、上記の各 B-mode 画像撮像プローブおよび設定についての理論上の特徴が今回の実験にも差となって表れたと考えられる。特に、B-mode 画像そのものを比較すると、tissue harmonic 法では、軟骨表面の中央部のみが高輝度となっており軟骨領域にスペックルパターンがみられるのに対して、空間コンパウンド法を使用した画像では、軟骨表面は一樣に高輝度となっており軟骨内部のスペックルパターンも低減していることがみられた。

また、成豚においては、相関係数に関しては、1D プローブによる tissue harmonic 法を用いた画像が一番高い結果となったが、回帰直線の傾きおよび切片に関して検討すると、1D よりも 1.5D の方が、tissue harmonic よりも空間コンパウンドを用いた画像の方が、実際の軟骨厚に絶対値に近い、という結果となった。

総合すると、1.5D プローブによって、空間コンパウンドを用いた撮像を行った場合、関節軟骨厚の測定値精度が一番高い傾向にあった。しかし、定量値の実測値との比較においては全ての画像において高い相関がみられ、どの画像条件を用いることも軟骨厚測定において有用であると考えられた。

E. 結論

豚大腿骨顆部関節軟骨を用い、超音波 B-mode 画像を 4 種類の設定で取得し、軟骨厚を計測した。軟骨領域の決定においては、画

像のラインプロファイルより一定の手法を用いて軟骨表面と骨軟骨境界を決定した。

実際の軟骨厚との相関を解析したところ、いずれの画像設定でも有意な相関を示し、これらの手法による関節軟骨形態計測が有用であると考えられた。この結果を踏まえて生体内での計測を行っていく予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Matsuyama J, Ohnishi I, Sakai R, Bessho M, Matsumoto T, Miyasaka K, Harada A, Ohashi S, Nakamura K. A New Method for Evaluation of Fracture Healing by Echo Tracking. *Ultrasound Medicine & Biology*, Vol.34, no.5, p.775-783, 2008

2. 学会発表

Ohashi, S; Ohnishi, I; Matsumoto, T; Matsuyama, J; Bessho, M; Tobita, K; Kaneko M; Nakamura, K, Evaluation of Measurement Precision for Articular Cartilage Ultrasound Speed by Time of Flight Method, 55th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, Transactions, 2162, 2009

松山 順太郎、大西 五三男、酒井 亮一、別所 雅彦、大橋 暁、宮坂 好一、飛田 健治、松本 卓也、原田 烈光、芳賀 信彦、中村 耕三、超音波エコートラッキング法を用いた骨癒合判定、日本整形外科学会誌、88(8), S907, 2008

大橋 暁、大西 五三男、松本 卓也、別所 雅彦、飛田 健治、中村 耕三、超音波を用いたヒト関節軟骨音速測定値に軟骨変性度が与える影響についての検討、日本整形外科学会誌、88(8), S994, 2008

宮坂 好一、酒井 亮一、鈴木 浩之、大塚 利樹、原田 烈光、吉川 義博、松山 順太郎、大西 五三男、中村 耕三、超音

波による骨癒合強度定量評価の新しい計測システムの開発、日本超音波医学会誌、Vol. 35 Supplement, S550, 2008

R. Sakai, K. Miyasaka, E. Minagawa, T. Ohtsuka, A. Harada, Y. Yoshikawa, J. Matsuyama, K. Tobita, K. Nakamura, I. Ohnishi, A Minute Bone Bending Angle Measurement Method using Echo-Tracking for Assessment of Bone Strength In Vivo, 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium, Transactions, 2C-5, 2008

大西 五三男、松山 順太郎、飛田 健治、別所 雅彦、大橋 暁、松本 卓也、金子 雅子、中村 耕三、超音波エコートラッキング法を用いた骨癒合の評価、第22回日本創外固定・骨延長学会抄録集 p.60, 2009

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特願 2008-188709, 超音波プローブ支持装置, 2008.7.22

特願 2008-188727, 超音波プローブ用の膝用音響整合器, 2008.7.22

特願 2008-188639, 骨検査システムおよび下腿支持装置, 2008.7.22

特願 2008-294434, 超音波診断装置, 2008.11.18

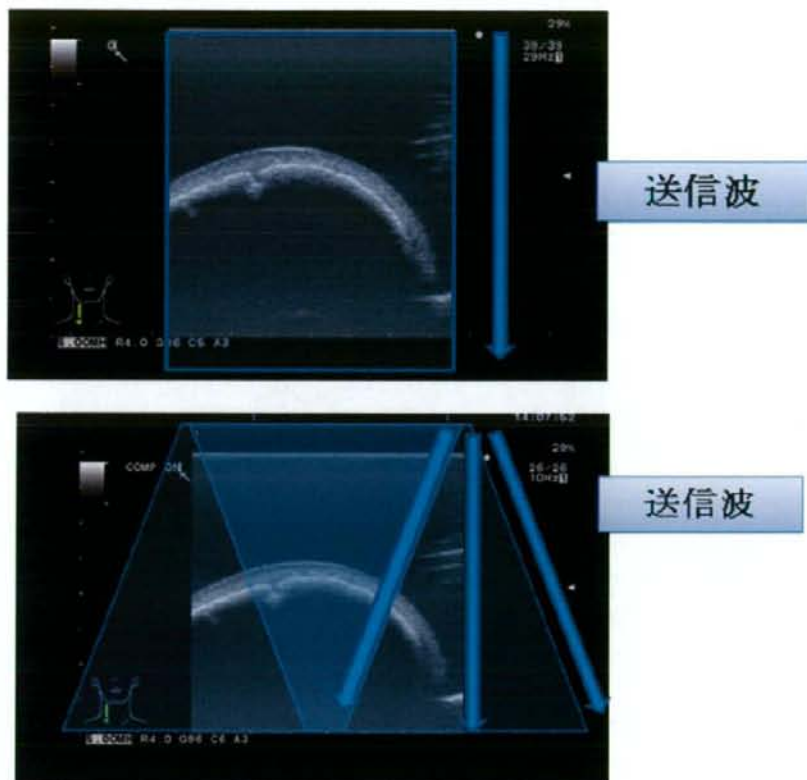


図1 空間コンパウンド法による B-mode 画像

上：従来法による画像取得。超音波送信波はプローブ表面に対し垂直に送信される。

下：空間コンパウンド法による画像取得。超音波送信波はプローブ表面に対して複数の角度で送信され、それぞれの画像を重ね合わせることで画像を作成する。



図2 リニアプローブ外形模式図

緑：ラテラル方向（プローブ長手方向）、赤：エレベーション方向（プローブ奥行き方向）

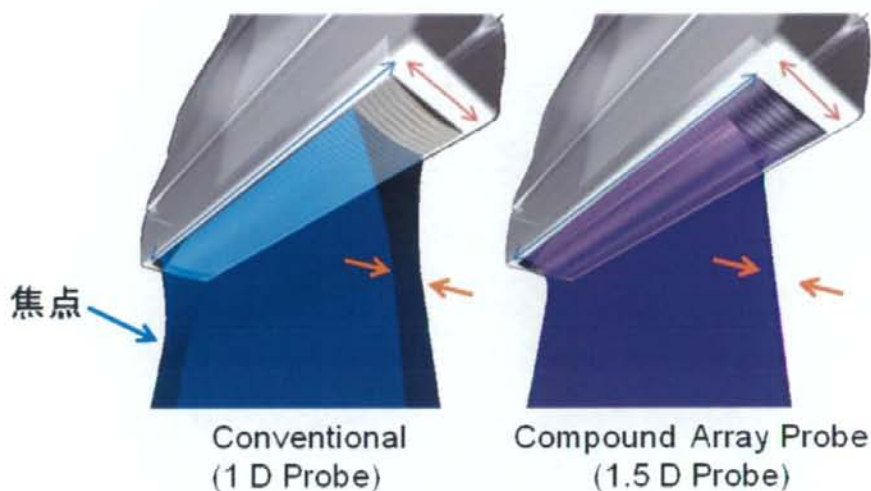


図 3 従来のリニアプローブとコンパウンドアレイプローブ

左 (従来のリニアプローブ) : 超音波ビームが焦点距離付近においてエレベーション方向にある程度絞られる

右 (コンパウンドアレイプローブ) : エレベーション方向への絞りが従来に比べて向上



図 4 豚大腿骨 (左 : 生後 6 か月、右 : 生後 3 年)

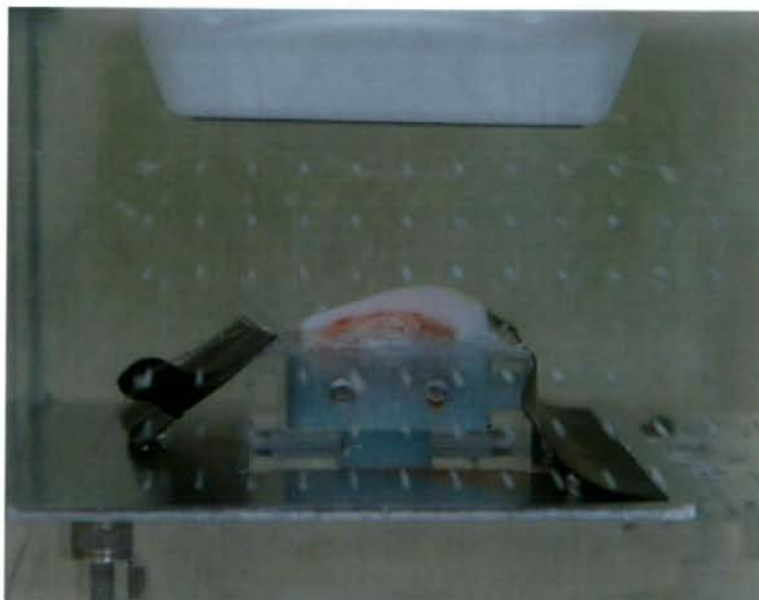


図 5 水槽内に固定した豚大腿骨顆部関節軟骨および超音波プローブ

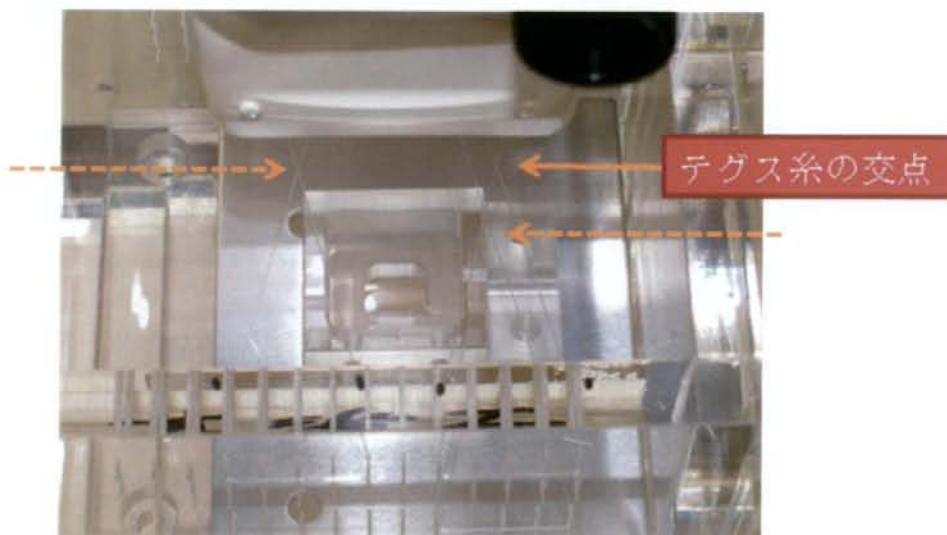


図 6 水槽内に張ったテグス糸

6本のテグス糸により既知の位置に3ヶ所に交点を作成

B-mode 画像にて交点を確認することで撮像断面の空間的位置を検出した

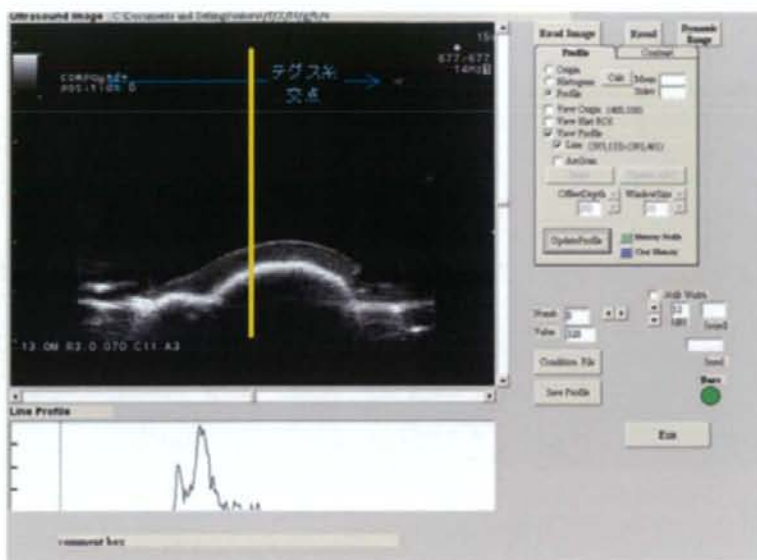


図 7 関節軟骨 B-mode 画像の取得および輝度ラインプロファイルの出力
 B-mode 画像中の黄色線上のラインプロファイルが下にプロットされている
 テグス糸の交点を結ぶ線分の垂直二等分線がホルダーの中心を通るようにセッティングされており、この中央線より 0.5mm 間隔に左右にラインプロファイルデータを取得した

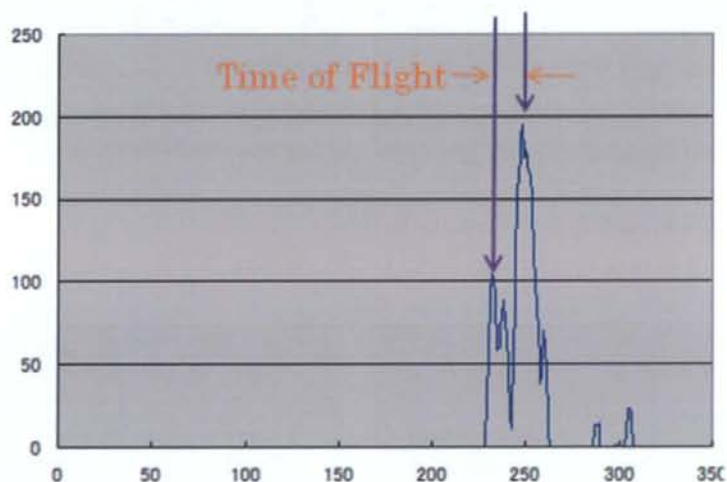


図 8 ラインプロファイルデータを用いた軟骨厚計測
 B-mode 画像の輝度ラインプロファイルデータにおいて、第一ピークを軟骨表面、第二ピークを骨軟骨境界と定義し、その時間間隔 (TOF: Time of Flight) を計測した
 TOF にそれぞれの音速値を乗じた値を超音波軟骨厚とした

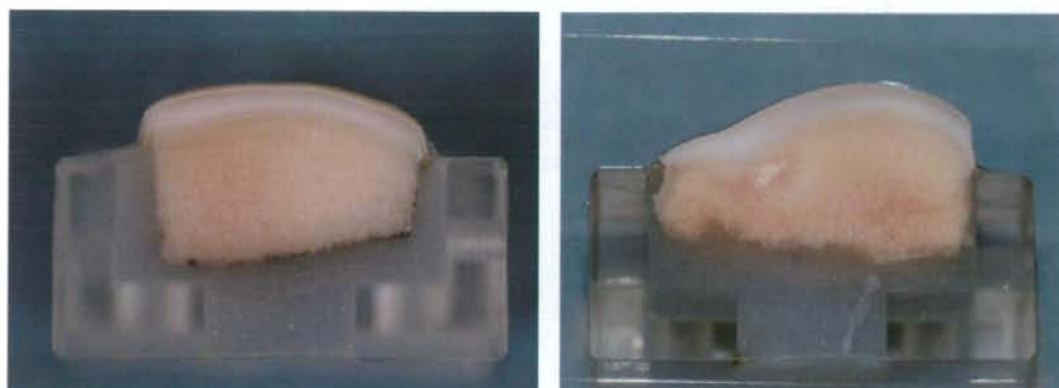


図 9 ダイヤモンドソーによる骨軟骨試料切断面
 左：生後6ヶ月の豚（幼豚）、右：生後3年の豚（親豚）



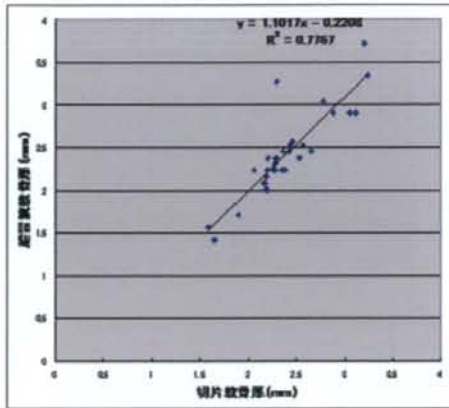
図 10 幼豚の大腿骨顆部関節軟骨 B-mode 画像
 左：従来画像取得法を用いた画像、右：空間コンパウンド法を用いた画像



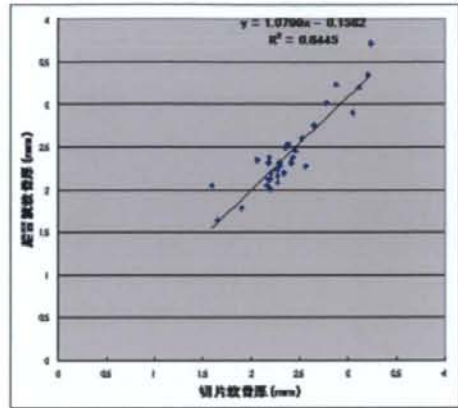
図 11 幼豚の大腿骨顆部関節軟骨 B-mode 画像 いずれも空間コンパウンド法を使用
 左：従来のリニアプローブ（1D probe）を用いた画像
 下：新規リニアプローブ（1.5 D probe）を用いた画像

1Dプローブ

①Tissue Harmonic

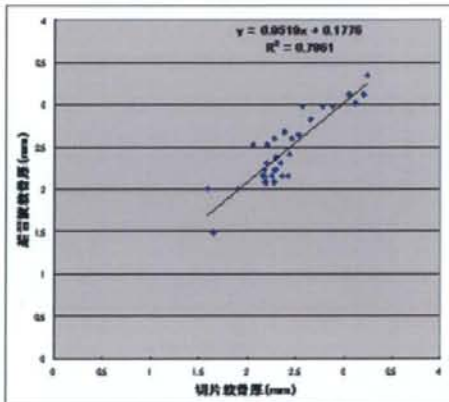


②空間コンパウンド



1.5Dプローブ

③Tissue Harmonic



④空間コンパウンド

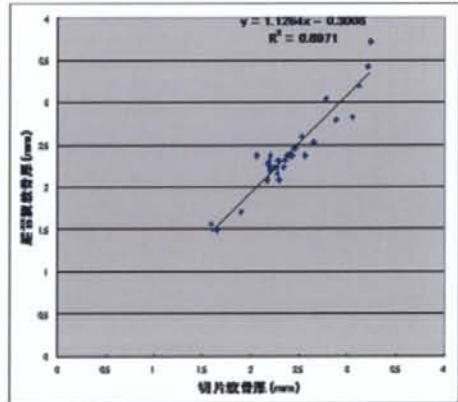


図 12 切片軟骨厚 (Tc) と超音波測定軟骨厚 (Tc-US) の関係

いずれのプローブ、画像設定においても有意な相関($p < 0.0001$)がみられた

相関係数は Tissue harmonic より空間コンパウンドが 1D probe より 1.5D probe の方が高かった



図 13 成豚の大腿骨顆部関節軟骨 B-mode 画像

左：従来 画像取得法 (Tissue Harmonic) を用いた画像 右：空間コンパウンド法を用いた画像