



図 II-6 MRI 膝関節像（矢状断面像）

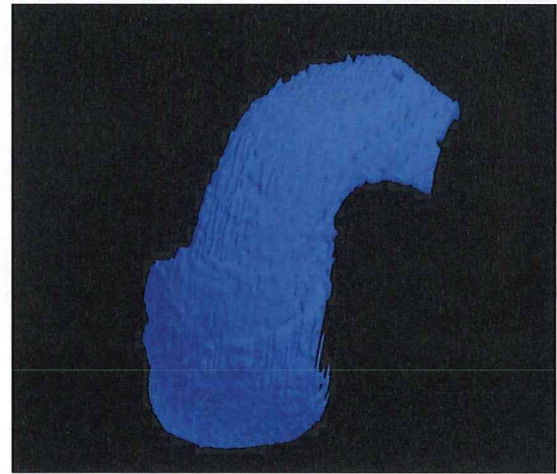


図 II-7 MRI 画像より作成した 3 次元表面形状モデル

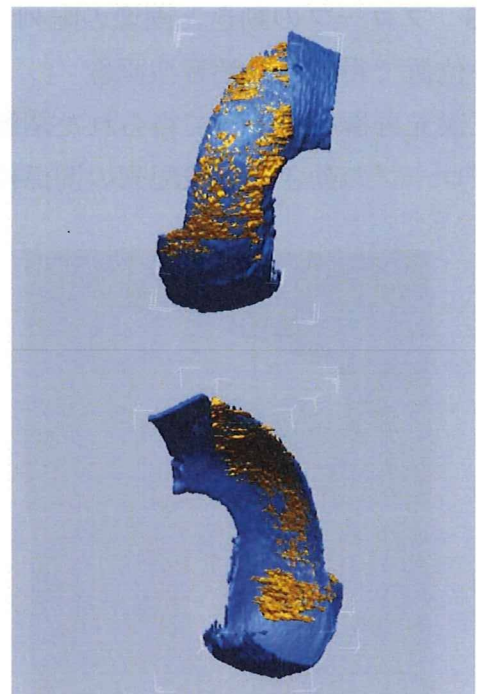
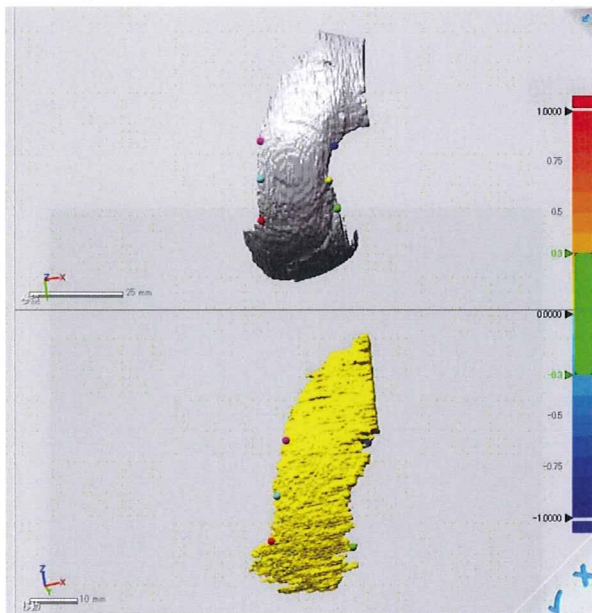


図 II-8 超音波関節軟骨モデルと MRI 関節軟骨モデルとの位置合わせ

左 MRI 画像より作成した 3 次元表面形状モデル（上）および超音波モデル（下）

右 位置あわせ後の MRI モデル（青）と超音波モデル（茶）

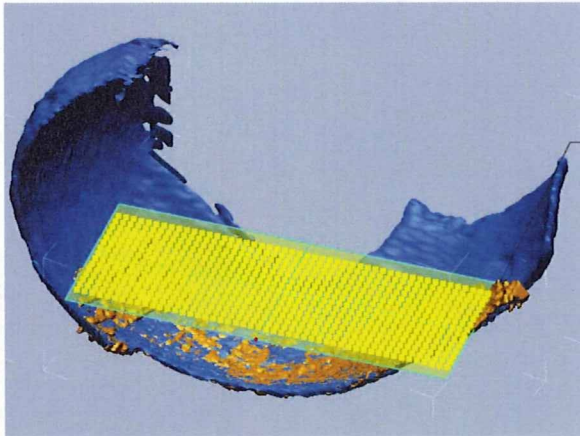


図 II -9 軟骨厚測定点を決定するための基準面を作成し、基準面上に関節軟骨厚測定基準点を1mm 間隔に作成

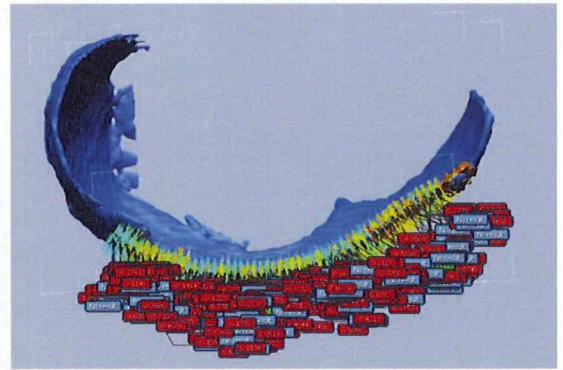


図 II -10 各基準点における基準面に対する法線と各三次元モデルとの交点における各三次元モデルの厚さを計測
超音波モデル、MRI モデルの各点の厚さをそれぞれ $Tc-US$, $Tc-MRI$ とした

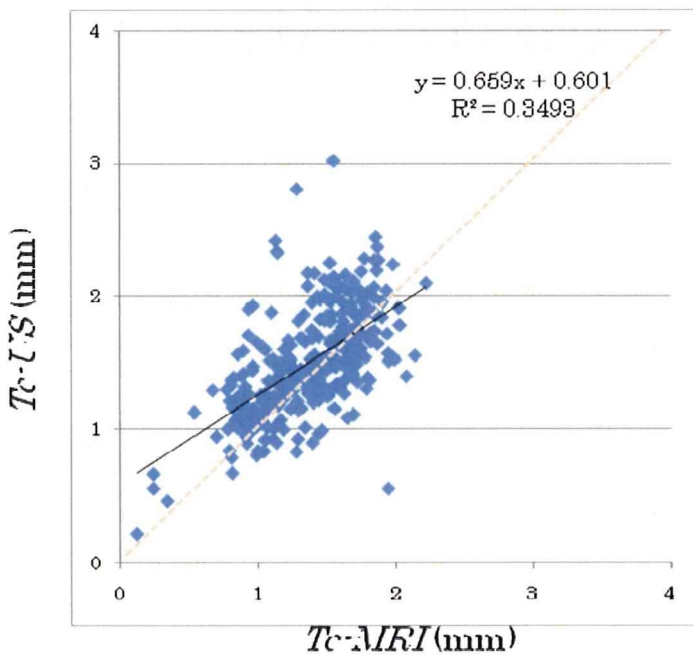


図 II -11 超音波モデル軟骨厚 ($Tc-US$) と MRI 軟骨モデル厚 ($Tc-MRI$) との関係 (73 歳男性)
有意な相関($p < 0.0001$)がみられた

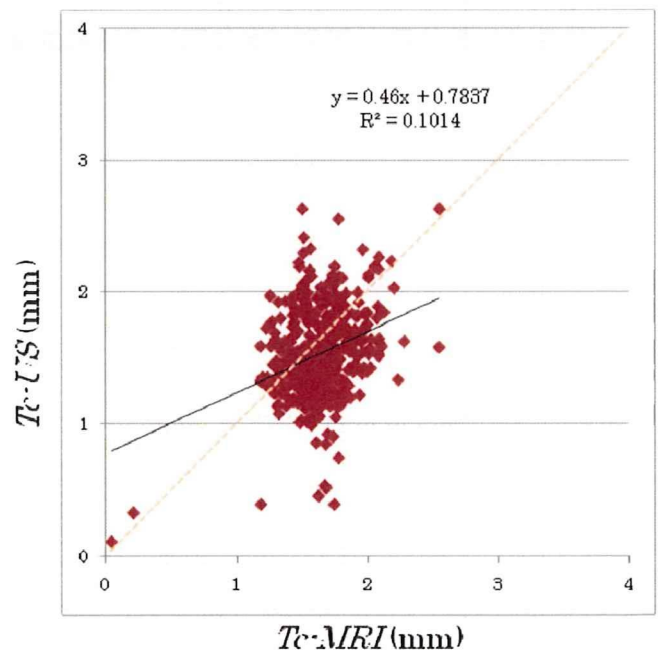
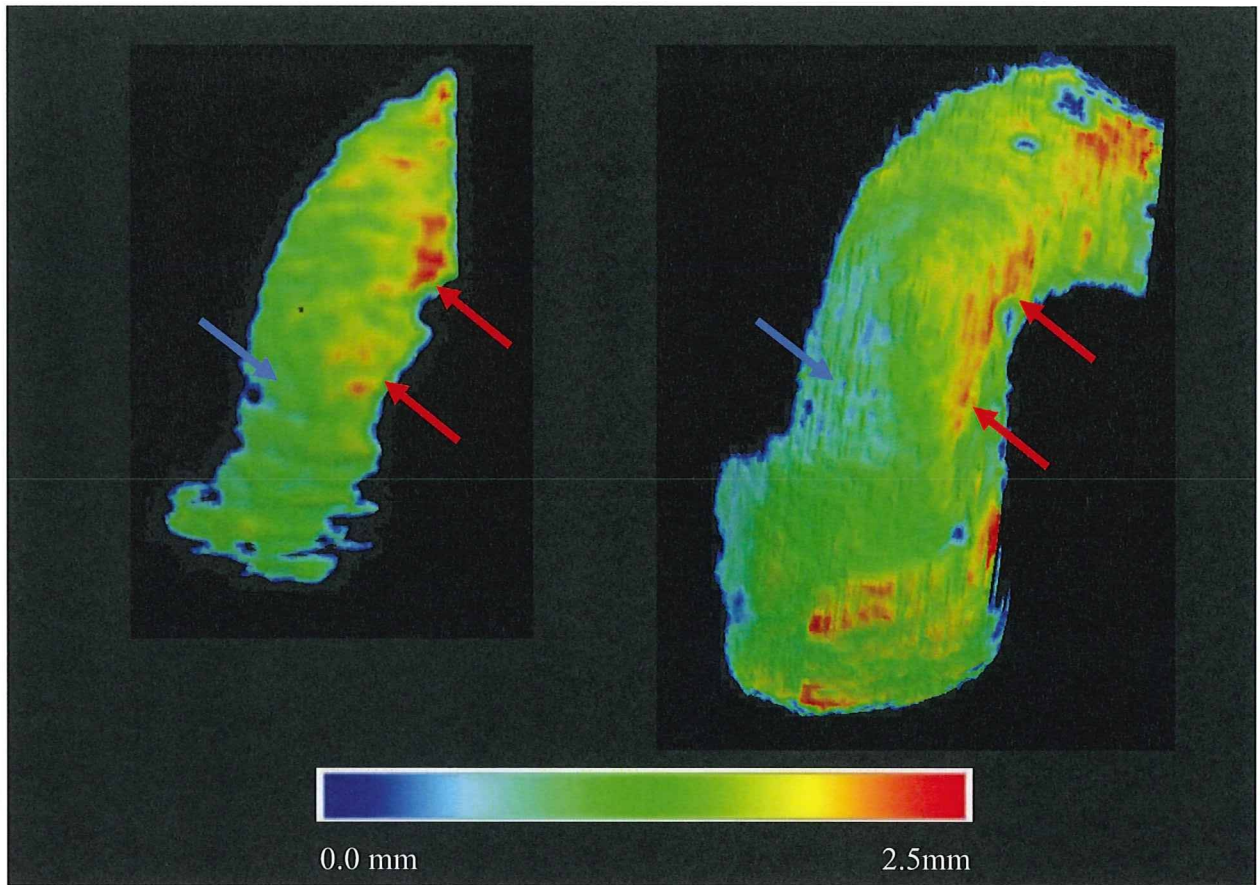


図 II -12 超音波モデル軟骨厚 ($Tc-US$) と MRI 軟骨モデル厚 ($Tc-MRI$) との関係 (81 歳男性)
有意な相関($p < 0.0001$)がみられた



図II-13 73歳男性の超音波モデル（左）とMRI軟骨モデル（右）における軟骨厚カラーマッピング
軟骨が比較的厚い部分（赤矢印）や比較的薄い部分（青矢印）の分布に近似性を認めた。

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
動物骨を用いた超音波 3次元軟骨形態計測測定の精度に関する研究

分担研究者 星 和人 東京大学ティッシュエンジニアリング部 特任准教授

研究要旨

超音波による関節軟骨形態定量評価を行うためには軟骨音速の高精度測定が必要である。基礎実験をもとにヒト関節軟骨の音速を測定し、軟骨の変性度による影響を検証した。その結果、変性度が重度であるほど、音速が低下する傾向にあることが示された。しかしながら、音速低下は大きなものではなく、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、これまでに超音波を用いて関節軟骨を三次元的に評価した先行研究はない。関節軟骨が一定音速を有すると考え、超音波 B-mode 画像を用いて動物(豚)膝関節軟骨を軟部組織が付着した状態で撮像し、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。軟部組織を除去し、関節軟骨を露出した状態で撮像した CT 画像を用いて同様に軟骨三次元モデルを作成、軟骨厚を算出し、超音波画像による定量値の精度評価のため、それらを比較検討した。双方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。

A. 研究目的

超音波による関節軟骨形態定量評価を行う上で、軟骨の音速を知ることが重要である。これまでの動物軟骨を用いた先行研究では、軟骨の変性が進行すると、軟骨音速が低下することが示唆されている(Toyra et al. 2003)。一方、ヒト関節軟骨においても、関節軟骨の音速が変形性関節症と健康人に差があることが示されている(Myers et al. 1995)。しかし、ヒト関節軟骨において、変性度がどの程度音速に影響するかを検討した研究はない。①このため、手術中に切除されたヒト膝関節軟骨を用いて、軟骨音速値を計測し、その変性度による影響を検証した。また、軟骨の摩耗が音速値に影響するかを検討するため、軟骨厚と音速値との関係を検討した。さらに、一定の音速値を用いて軟骨厚を超音波によって測定した場合、軟骨の実測値とどのような関係にあるかを検討した。

また、関節軟骨を臨床用超音波診断装置を用いて三次元的に評価した先行研究はこれまでにない。②このため、本研究課題において開発を行った関節軟骨診断用下肢保持具ならびにプローブスキャナー(図②-1)を用いて軟部組織が付着した状態で動物膝関節において実際の超音波撮像を施行、CT との比較による軟骨厚測定値精度評価を行った。

B. 研究方法

①軟骨音速測定値と軟骨変性度の関係に関する研究

超音波による生体組織音速測定法には、超音波が組織内を往復する時間を測定し、その往復距離を測定し算出する time of flight 法を用いることが一般的であり、また、我々の豚の軟骨を用いた先行研究にて、音速値の再現性・信頼性が一番高かった、peak envelope 法を用いて実験を行った。

ヒト骨軟骨片の取得

変形性膝関節症のために人工膝関節全置換術予定の患者より術前に同意を得た後、術中切除する大腿骨顆部の骨軟骨片を収集した。収集した骨軟骨片を速やかに生理食塩水に浸したガーゼにつつま、プラスチック製の袋に入れ、脱気密封し、 -60°C にて冷凍保存した。患者数 11 名、検体数は 23 であった。患者は全て女性で、平均年齢は 72.7 ± 7.7 歳であった。また、術前に施行した患肢膝単純レントゲン像の変形性膝関節症重症度の指標である Kellgren-Lawrence 分類 (Kellgren et al. 1957) (図①-1) は、全例において Grade IV であった (図①-2)。

骨軟骨片の保持具への固定

保存された骨軟骨片を実験当日冷凍庫より取り出し、室温下にて生理食塩水中にて解凍をおこなった。以降実験経過中、解凍後の軟骨試料は湿潤状態を常に維持した。解凍後、バンドソー (SWD-250、藤原産業株式会社、兵庫県三木市) を用いて、 $16 \times 16 \times 11$ [mm] の骨軟骨試料を切出した。骨軟骨片を特注の亚克力製試料保持具 (30mm x 30mm) (村井電材株式会社、東京) にレジン (オストロン II、ジーシー、東京) にて固定を行った (図①-3)。レジン硬化中は、熱が発生するため、軟骨を水にて十分に冷却を行った。

軟骨の超音波往復時間の測定

1. Radiofrequency (以下 RF) 信号の取得

骨軟骨片を固定した亚克力保持具を円筒形の水槽を有する専用に作製した軟骨音速計測治具にマウント

する (図①-4, 5)。この治具には、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水槽を保持するステージがついており、骨軟骨片の平面状の位置調節が可能となっている。また、トランスデューサーの保持具には、Z 軸の調節マイクロメーターがついており、測定対象試料表面と超音波トランスデューサーとの距離を調節できる機構となっている。水槽には、事前に脱気水を満たしておき、実験中、常時 25°C に保った。RF 信号の取得には、超音波パルサー (MODEL5800、オリンパス、東京) を使用し、信号の記録にはオシロスコープ (DPO4034、Tektronix、OR) を使用した (図①-6)。超音波トランスデューサー (V311-SU、オリンパス、東京) を保持具に取り付け、Z 軸調節機構にて軟骨試料表面から超音波トランスデューサーまでの距離を超音波トランスデューサーの焦点距離 (約 63.5mm) となるように調節した (図①-5, 6)。まず、亚克力保持具の RF 信号を用い、亚克力保持具の 4 つの角を同定する。 θ 軸のマイクロメーターを使用し、亚克力保持具の端面がマイクロメーターの X 軸、Y 軸と平行となるように調節を行う。超音波パルサーの設定条件は、以下のごとく行った。

MODE=P/E, PRF=200Hz,

ENERGY=25uJ, DAMPING=50ohm

次に、X 軸、Y 軸を調節し、軟骨表面および骨軟骨境界の反射波エコーが明瞭に確認でき、軟骨表面の反射波エコーがトランスデューサーに最近接する点にて RF 信号の取得および記録を行った (サンプリング周波数: 1.25GHz)。ここで、記録点の X 軸 Y 軸の座標点を記録する。この記録点を

通る X 軸 (後の試料切断方向) 断線上にてこの記録点と記録点から 0.5 mm 離れた点 (合計 3 点) にて RF 信号の取得および記録を行った。同様の記録をこの横断線から Y 軸方向に ± 0.5 mm ずらした横断線上にて行う。記録した RF 信号は、csv ファイルにて外部出力を行い、後の解析に用いた。

2. RF 信号の解析

出力された csv データを Microsoft Office Excel にて読み込み、グラフ表示する (図①-7)。グラフより、軟骨表面からの反射エコー波形と、さらに骨軟骨境界からの反射エコー (石灰化軟骨) を特定する。特定した、2 つの波形の時間差 (Δt) を求める。波形解析により RF 信号の Envelope (包絡線: 説明 1) を作成し、2 つのピーク間の時間差を Δt とした。

軟骨厚の測定

1. 軟骨スライスの作成

切断面の作成は、Minitom (Struers Inc., Westlake, OH) を使用して行った (図①-8)。ミニトーム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、ミニトームの切断面調節ダイヤル (精度: $10 \mu\text{m}$) 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 RF 信号取得横断線に一致、あるいは ± 0.25 mm 以内の誤差であるならば、

それらの信号を使用し、± 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 RF 信号を用いることとした。

2. 測定顕微鏡による測定

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にカバーガラスを覆う (図①-9)。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 (図①-10)。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て、ステージを調節することで、RF 信号を取得した点にて RF 信号送信方向に軟骨表面から骨軟骨境界までの距離の測定を行う (図①-11)。距離測定方向については、アクリル保持具の外枠端面を利用して、顕微鏡ステージの θ 回転を用いステージの X-Y 軸とアクリル保持具の端面を一致させ、アクリル補治具の端面から音速計測部を特定し、その部分の軟骨厚 (T_c) を測定した。

軟骨音速の算出

求めた時間差は、音波が軟骨層を往復する時間になり、次式により音速 (S_c) を算出する。

$$S_c = \frac{2T_c}{\Delta t}$$

計測を行なった各ポイントに関して上式により音速を算出し、平均値と標準偏差を持ってして、対象軟骨の音速とした。

組織学的評価

1. 組織切片の作成

測定顕微鏡にて軟骨厚を測定した後、骨軟骨片を4%パラホルムアルデヒドに浸し固定を行う(4°C、3日間)。固定後、パラフィン包埋を行い、マイクロトームにて薄切を行う。薄切されたスライスのスライドガラス上に置き、固定を行う。染色は、Safranin O, Fast Green を使用した二重染色にて行った(図①-12)。

2. スコアリング

染色された組織切片を顕微鏡に乗せ、専用のデジタルカメラにて撮影を行った。撮影された画像データをパーソナルコンピュータ上にてスコアリングを行った。スコアリングはMankin score(Mankin et al. 1971)(図①-13)を用いて行った。Mankin scoreの合計点をMSとした。

統計学的解析

組織学的スコアが軟骨音速値に与える影響・双方の相関を検証するために、単回帰分析およびPearsonの相関係数の算出を行った。また、軟骨の摩耗が音速値に与える影響を検討するため、軟骨厚と軟骨音速値について単回帰分析およびPearsonの相関係数の算出を行った。

一方、今回の対象軟骨の音速値の平均値を一定の音速値として用いた場合に各々の試料においてTOFから得られる軟骨厚(Tc-US)と、測定顕微鏡を用いて実測した軟骨厚(Tc)との関係について検討する。今回得られたScの全体平均値(Mean of all Sc values : MaSc)を用いて、各サンプルのTOF値より次式によりTc-USを

算出した。

$$Tc-US = Ma Sc \times \Delta t$$

Tc-USとTcについて単回帰分析およびPearsonの相関係数の算出を行った。

さらに、Tcに影響を与える因子をTc-USに加えて各試料の音速値(Sc)、Mankin score(MS)として、重回帰分析を行った。

有意水準は $p < 0.05$ 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。

②動物骨を用いた超音波3次元軟骨形態計測測定の精度に関する研究

豚骨軟骨片の取得

実験材料は、膝の形状・大きさが比較的ヒトに近い事から、豚の下肢を用いた(図②-2)。使用した豚の月齢は6ヶ月であった。屠畜後約3°Cにて3日間冷蔵保存後、後肢を切断し-20°Cにて冷凍保存した。実験当日、室温において生理食塩水を用いて解凍を行った。

超音波画像の取得

本研究課題において臨床超音波膝関節撮像のために開発・改良した関節軟骨診断用下肢保持具ならびにプローブスキャナー(図②-1)を使用し、豚膝大腿骨顆部の超音波撮像を行った。撮像機器は、Prosound-α10およびリニアプローブUST-5412(アロカ株式会社、東京都三鷹市)を用いた。作製したプローブスキャナーは、超音波プローブと皮膚表面の間に水袋が介在しており、膝関節皮膚表面と水袋の間に十分な量のエコーゼリー(アロカ社、GEL-SCAN-PA)を塗布し、また、水袋表面にもエコーゼリーを塗布し、その上を一定の回転半径をもった

レールに沿って、プローブが移動し一定間隔角度で超音波画像を取得する機構となっている(図②-4)。プローブスキャナーの回転中心からプローブ表面までの距離は70mmとした。B-mode画像で確認しながら、プローブ回転中に大腿骨内側顆部関節軟骨表面がプローブから約一定の距離を保つような位置にて膝関節を深屈曲位にて三関節固定保持具にて設置した(図②-3)。

撮像条件は、Tissue Harmonic, 5MHzにて行った。取得スライス画像は、解像度:横420 pixel×縦468 pixel, pixel size: 0.08547 mm x 0.08547 mmであった。また、スライス画像間の角度は0.796°、スライス枚数は101枚であった。

得られた超音波スライス画像は、それぞれ超音波プローブが円弧状に移動する間に取得されているため、その配列は、図4Cの如く扇形となっている。一般的に、平行スライス画像データの場合、各スライスの1 pixelの大きさに加えて、スライス間の距離がわかれば、空間的配列は可能である。しかし、扇形に並ぶスライス画像データの場合、各スライスの1 pixelの大きさに加えて、扇形の中心軸(プローブの移動円弧の中心軸)の位置情報と、各スライス画像の角度位置情報が必要である。空間的角位置情報は、プローブスキャナーの回転軸に設置されているエンコーダにより算出し、各スライス画像にこれらの情報を付与した。これらのデータを専用で作成した画像ソフトを用いて、各スライス画像を配列した(図②-4A, B)。本ソフトは、MPR(Multiple plane reconstruction)機能をもっており、この機能を用いて、平行スライスデー

タを再構築し出力した。

出力された画像データを画像処理ソフトMimics(Materialise, Leuven, Belgium)に取り込み、閾値および手動を用いて軟骨領域を各スライスにおいて抽出し、それらの領域から三次元表面形状モデル(以下、US_3D_model)を作成した(図②-5)。

CT撮影

次に、超音波撮像による定量評価値の精度を検討するため、CT撮像による三次元表面形状モデルを作成する。超音波撮像を行った同一の豚膝関節の軟部組織を除去し(図②-6)、CT撮像を行った。撮影は、Asteion(東芝、東京都)内に豚大腿骨関節部を三関節アームによって空中に保持する形で設置し(図②-7)、撮影条件は管電圧120 kV、管電流150 mA、スライス間隔0.5mm、解像度512 x 512, pixel size: 0.237 mm x 0.237 mmにて撮像を行った

CT撮像のDICOMデータを出力し、画像処理ソフトMimics(Materialise, Leuven, Belgium)に取り込んだ。閾値および手動を用いて軟骨領域を各スライスにおいて抽出し、それらの領域から三次元表面形状モデル(以下、CT_3D_model)を作成した(図②-8)。

作成したUS_3D_model、CT_3D_model両方のSTLデータを三次元データ検査ソフト(Rapidform XOV, INUS technology, ソウル、韓国)に読み込み、形状およびポイントレジストレーションによる位置合わせを行った(図②-9)。ソフト上で、大腿骨内側顆部遠位の関節面に対してほぼ平行となるような基準面を作成し、基準面上に1mm間隔で軟骨厚測定基準点を作成した(図②-10)。任

意の基準点 x からの基準面に対する法線と、US_3D_model、CT_3D_model との交点をそれぞれ Cx_{US} , Cx_{CT} とした。STL データは、表面形状を表現する小さな三角形 (ポリゴン) の集合体データであるが、点 Cx_{US} , 点 Cx_{CT} におけるポリゴンの垂線方向への表面 (大腿骨内側顆部軟骨上面) から表面の距離 (大腿骨内側顆部軟骨下面) をそれぞれのモデルの関節軟骨厚と規定し、それぞれ、 Tc_{US} , Tc_{CT} とした (図②-11)。超音波画像を用いた軟骨モデルにおける軟骨厚の精度評価のために、US_3D_model を用いた軟骨厚測定値 (Tc_{US}) と CT_3D_model を用いた軟骨厚測定値 (Tc_{CT}) について、回帰分析および Pearson の相関係数の算出を行った。有意水準は $p < 0.05$ 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

①試料全体の Sc の平均値 (± 標準偏差) は、 1756.3 ± 106.2 m/s であった。組織学的スコア (MS) と軟骨音速 (Sc) との一次回帰直線の式は、

$$y = -21.03x + 1851.5$$

であり (図①-14)、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。

また、顕微鏡測定による軟骨厚 (Tc) と軟骨音速 (Sc) との一次回帰直線の式は、

$$y = 78.65x + 1555.1$$

であり (図①-15)、Pearson の相関

係数は、 0.484 であった。p 値は、 0.019 と有意であり、 Tc が低いほど、すなわち、軟骨が薄いほど、軟骨の超音波音速が減少していた。

一方、今回の対象軟骨全体の音速値の平均値 ($MaSc$) 1756.3 m/s を用い、それぞれの試料において TOF から得られる軟骨厚 (Tc_{US}) と、測定顕微鏡を用いて実測した軟骨厚 (Tc) との一次回帰直線の式は、

$$y = 0.8732x + 0.2752$$

であり (図①-16)、Pearson の相関係数は 0.959 であり、 $p < 0.001$ と有意であった。

さらに、 Tc に影響を与える因子を Tc_{US} に加えて各試料の音速値 (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。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。

また、 Tc に影響を与える因子を Tc_{US} に加えて各サンプルの音速値 (Sc)、Mankin score (MS) として、重回帰分析を行ったところ、式

$$\begin{aligned} Tc \text{ (mm)} &= 1.016 \times Tc_{us} \text{ (mm)} \\ &+ 0.001 \times Sc \text{ (m/s)} \\ &+ MS \\ &- 2.061 \end{aligned}$$

が得られ、 $R^2 = 0.958$ 、 Tc_{us} 、 Sc の p 値はそれぞれ 0.01 未満と有意であったが、MS の p 値は 0.216 と

有意ではなかった。

②豚関節軟骨の Tc-US (超音波モデル軟骨厚)、Tc-CT (CT モデル軟骨厚) をそれぞれ、 x 、 y としたときの一次回帰直線式は、

$$y = 0.7839 x + 0.0832$$

であった (図②-12)。また、 R^2 は 0.1239、 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

音速測定実験

これまでにヒト軟骨の音速を測定し報告している研究は数少なく、また報告された音速平均値 (1658 m/s(Myers et al. 1995), 1892 m/s(Yao et al. 1999), ca. 1580 m/s(Nieminen et al. 2006))の間にはばらつきがみられる。本研究では、豚関節軟骨を用いた精度を検証した Time of Flight 法の中の Envelope peak 法を用いてヒト関節軟骨の音速を測定した。その値は、1756.3 m/s と比較的これまでの報告と比較して大きく離れたものではなかった。

組織学的スコアと音速の関係

今回、軟骨の変性度が音速に与える影響を検討するために、Mankin score を用いて検討を行った。その結果、組織学的な関節軟骨の変性度が高い程、音速が低下する傾向がみられた。この結果は、これまでの動物の関節軟骨を用いた先行研究(Nieminen et al. 2002; Toyras et al. 2003)に合致するものである。動物関節軟骨を用いた研究において、関節軟骨の音速は、関節軟骨の組成(Suh et al. 2001; Toyras et al. 2003)、材料特性(Toyras et al. 2003; Saarakkala et al. 2004)や力学

的ひずみ(Nieminen et al. 2006; Ling et al. 2007; Nieminen et al. 2007)、コラーゲン繊維の配向(Agemura et al. 1990)や異方性(Patil et al. 2004)等に影響を受けることが示されている。軟骨の変性ととともに、これらの因子が変化し、軟骨の音速に影響を与えている可能性があると考えられる。

一方、いくつかの先行研究においてヒト関節軟骨の音速値について検討されている。その中の Toyras らの研究(Toyras et al. 2003)では、自験例の牛関節軟骨の結果と過去の研究のヒト関節軟骨の結果を基に、音速、厚み、動的ヤング率の関係のシミュレーション解析を行い、臨床的に関節軟骨の厚みやヤング率を求めるのに、音速値に一定値を用いることは可能であることを示唆した。そこで、今回の研究においても、対象軟骨の音速値の平均値を一定の音速値として用いた場合に、超音波によって軟骨の厚みの測定値が実測値にどの程度近似しているかを回帰分析および相関係数によって評価を行った。結果より、超音波による軟骨厚の値は、測定顕微鏡によって測定された実測値と非常に高く相関し、その散布図では回帰直線の 95% 信頼区間にそのほとんどの点が含まれた (図①-14)。さらに、超音波による軟骨厚に加えて、それぞれの試料の軟骨音速値および Mankin score が軟骨厚の実測値にどの程度影響を与えるのかを検討するために重回帰分析を行った結果、軟骨音速値は影響を与えるが、その程度は非常に小さく、また、Mankin score は有意な影響を与えないことがわかった。現在の技術では、変形性関節症患者の関節軟骨音速を非侵襲に測定することは困難であり、音速は一定値を用いて厚みや体積

を評価する事が現実的な方法であると考えられるが、今回の結果より、ある一定以上の精度を持った軟骨厚評価は可能であると考えられた。

今回、軟骨の摩耗の音速値に対する影響を検討するため、軟骨厚と音速値との関係を検討した。結果として、軟骨が薄いほど、音速値が低下する事が観察された。しかし、本研究において軟骨の摩耗量は不明である。すなわち、軟骨厚は、同一個人内でも部位によって厚みに差があり、また、個人間でも差があるため、摩耗した軟骨の摩耗以前の軟骨厚を予測することは困難である。この限界点はあるが、本研究においては、大腿骨顆部という比較的個人間でおおよそ一致した部位で試料を採取しており、元々の軟骨厚にさほどの差がなかったと仮定するならば、今回の結果より、軟骨が摩耗するに従って、音速値が低下する可能性が示唆された。

動物関節軟骨厚測定値とCTによる測定値の関係

一方、開発した臨床用三次元超音波診断装置を用いた動物膝関節の関節軟骨評価においては、実際のヒト臨床測定における設定と同様に、筋肉・腱・靭帯等の軟部組織が付着した状態の動物関節を超音波撮像した。撮像データを用いて作成した大腿骨顆部関節軟骨モデルが、0.237 mm と解像度の高いCT撮像を基に作成した三次元関節軟骨モデルを用いて計測した定量値との比較において高い相関を示したことは、開発した手法による測定値の正確性が高いと考えられた。

今回の研究では、超音波画像において軟骨の表面と考えられる部分の反射波高輝度信号領域および骨軟骨境界と考えられる部分の反射波高輝度

信号領域において閾値および手動的方法を用いて境界を決定し、軟骨領域の抽出を行った。今回の手法に加えて、最適なフィルタリングや境界強調などの画像処理法を現在開発中であるが、これらの機能を加えることでより精度の高い軟骨抽出・測定が可能であると考えられる。これらの抽出作業の自動化も含め、臨床応用に向けて今後検討が必要であると考えられる。

E. 結論

変形性関節症患者の大腿骨内側顆部の摘出関節軟骨を用いて関節軟骨の音速を計測し、組織学的評価により関節軟骨の変性度をスコアリングし、その音速に与える影響を検討した結果、変性度が重度であるほど、音速が低下する傾向にあることが示された。ただし、音速低下の程度は変性の変化に対して小さく、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。

この結果を踏まえて本研究課題において開発した関節軟骨診断用下持具ならびにプローブスキャナーを用いて動物膝関節における大腿骨顆部関節軟骨の画像を収集し、三次元表面形状モデルを作成、CT画像をもとに作成した三次元表面形状モデルと共に定量評価・比較を行った。軟骨厚の有意な相関がみられ、臨床的に本法は有用である可能性が示唆された。

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

Y. Cheng, S. Wang, T. Yamazaki, J. Zhao, Y. Nakajima, S. Tamura, Hip cartilage thickness measurement accuracy improvement, *Computerized Medical Imaging and Graphics*, Vol.31,no.8, p.643-655, 2007

大西五三男、松山順太郎、超音波エコートラッキング法を用いた新しい骨強度評価法、*Journal of Clinical Rehabilitation*. Vol18, No.10,940-942, 2009

2. 学会発表

超音波エコートラッキング法を用いた骨粗鬆症に対する骨強度判定の試み

松山 順太郎 大西 五三男
別所 雅彦 大橋 暁 飛田
健治 松本 卓也 中村 耕三、
第36回 日本臨床バイオメカニクス
学会 2009. 10

Ohashi, Satoru; Ohnishi, Isao; Matsumoto, Takuya; Bessho, Masahiko; Matsuyama, Juntaro; Tobita, Kenji; Kaneko, Masako; Nakamura, Kozo, Evaluation of the Accuracy of Articular Cartilage Thickness Measurement by Conventional and Real-time Spatial Compound Ultrasonography, *Transactions of 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*, 35, 1364, 2010

Tobita, Kenji; Ohnishi, Isao; Matsumoto, Takuya; Ohashi, Satoru; Bessho, Masahiko; Kaneko, Masako, - Effect of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on gap healing in a rabbit osteotomy model evaluated by micro computed tomography-based 3-dimensional cross-sectional moment and cross-sectional moment of inertia, *Transactions of 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*, 35, 0695, 2010

宮坂好一、廣田浩二、酒井亮一、皆川栄一、大橋暁、大西五三男、中村耕三
超音波による関節軟骨音速の高精度計測法、*超音波医学*、36 巻 supplement, S455, 2009

飛田健治、大西五三男、松本卓也、大橋暁、別所雅彦、金子雅子、中村耕三、創外固定を用いたウサギ脛骨骨切モデルにおける低出力超音波パルスの効果-マイクロ CT を用いた3次元の Bone Strength Indices 評価-、*日本創外固定・骨延長学会雑誌*、21 巻、p.78, 2010

飛田健治、大西五三男、松本卓也、大橋暁、別所雅彦、松山順太郎、金子雅子、中村耕三、低出力超音波パルス治療の骨癒合リモデリング期に対する効果 マイクロ CT を用いた仮骨の髄腔化・皮質骨化の定量評価、*日本整形外科学会雑誌*、83 巻 8 号、S1239, 2009

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を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

Matsuyama, J.; Ohnishi, I.; Sakai, R.; Miyasaka, K.; Harada, A.; Bessho, M.; Ohashi, S.; Matsumoto, T.; Nakamura, K., A new method for evaluation of fracture healing by Echo tracking, 8th EFORT congress , Transactions, F779, 2007

大橋 暁、大西 五三男、酒井 亮一、廣田 浩二、宮坂 好一、中村 耕三 超音波を用いた Time of Flight 法による関節軟骨の音速測定、日本整形外科学会誌、81(8), S1012, 2007

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 2010-47403, 超音波骨癒合診断装置, 出願日: 2010年3月4日

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

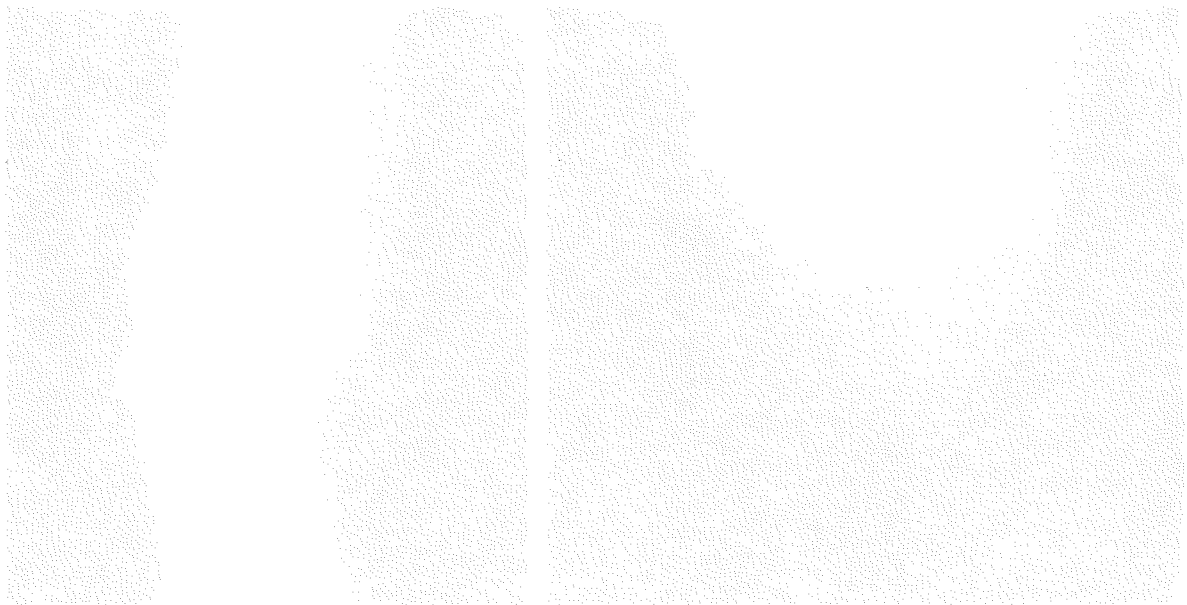
特願 2008-188727, 超音波プローブ用の膝用音響整合器、2008.7.22

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

特願 2007-177056 超音波骨癒合診断
装置 2007.7.5

特願 2007-231114 超音波骨癒合診
断装置 2007.9.6





Grade 0

Grade I

Grade II

Grade III

Grade IV

図①-1 Kellgren Lawrence 分類 (変形性膝関節症重症度分類)

Grade 0 正常

Grade I 関節裂隙の狭小化を伴わず、わずかの骨棘形成または軟骨下骨の硬化を認める

Grade II 関節裂隙の狭小化(25%以下)を認めるが骨変化はない

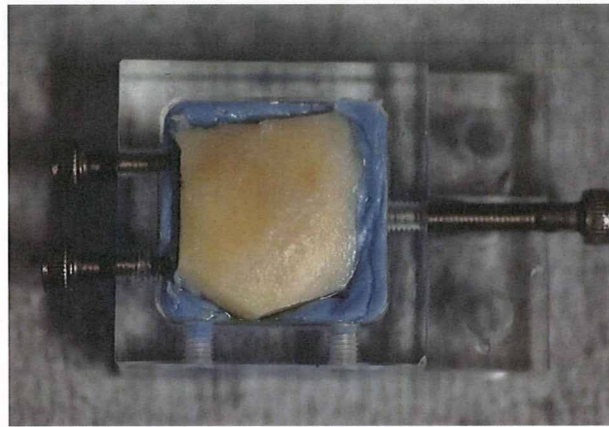
Grade III 関節裂隙の狭小化(50~75%以下)と骨棘形成、骨硬化像

Grade IV 骨変化が著しく、関節裂隙の狭小化 (75%以上)を伴う



図 ①-2 本研究変形性膝関節症患者膝正面レントゲン像例

内側の関節裂隙が消失し、著しい骨変化を伴っている



図①-3 専用のアクリル保持具にレジンで固定した骨軟骨片

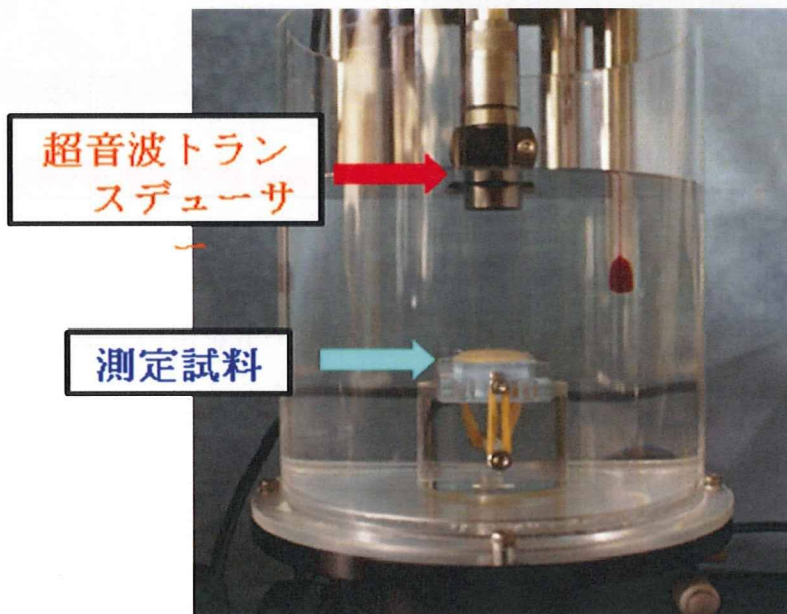


図 ①-4 測定試料および超音波トランスデューサーの水槽内への設置

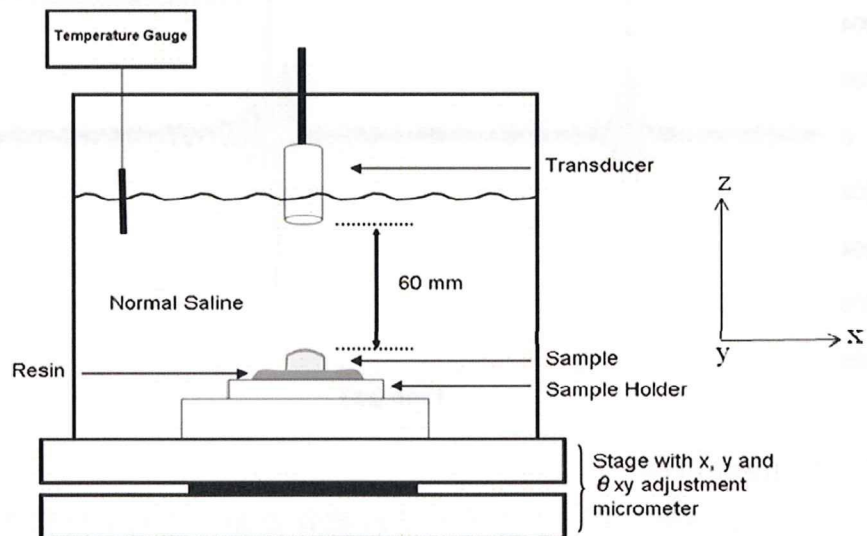


図 ①-5 測定試料および測定機器の設置模式図

水槽の下部には、試料が xy 平面に任意に移動できるステージを設置

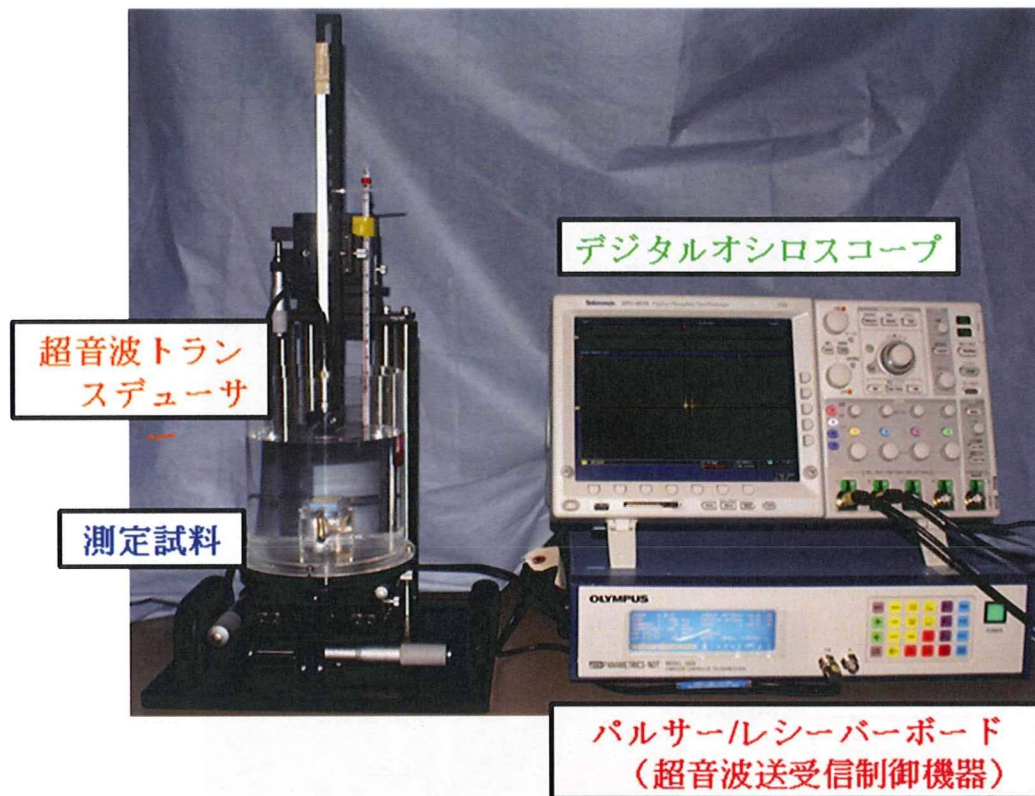


図 ①-6 超音波送受信機器セッティング

送信パルスはパルサー/レシーバーボードを用いて電氣的に発生。

反射パルスはトランスデューサーとパルサー/レシーバーボードを用いて受信。

受信パルスは、デジタルオシロスコープを用いてデジタル化。

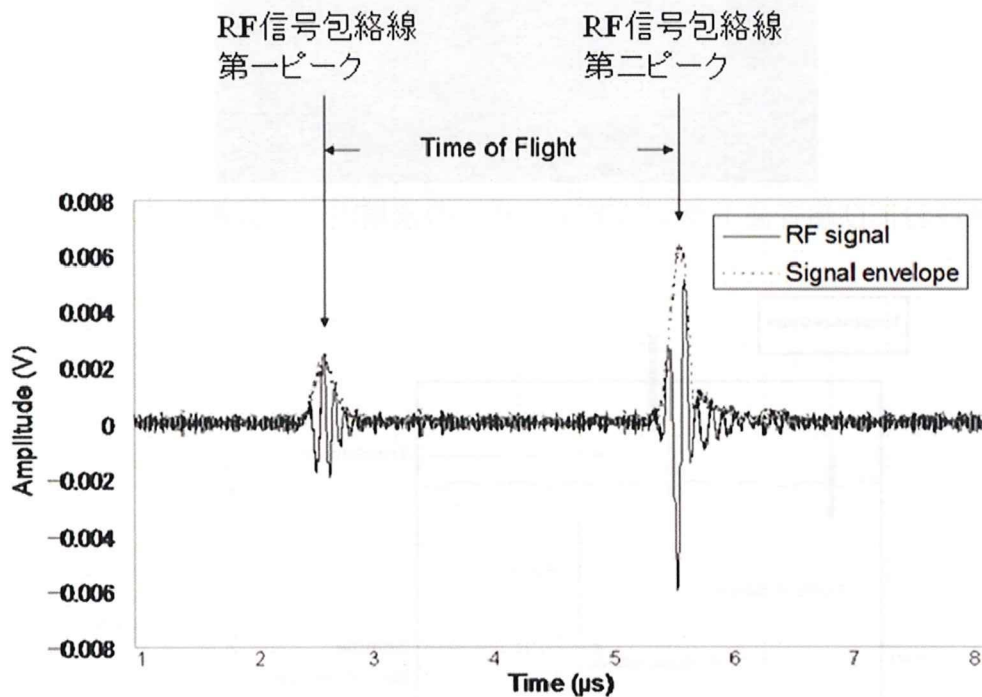


図 ①-7 Time of Flight 計測

包絡線の第一ピークおよび第二ピークをそれぞれ軟骨表面、非石灰化軟骨・石灰化軟骨境界 (tidemark) からの反射波の位置とした

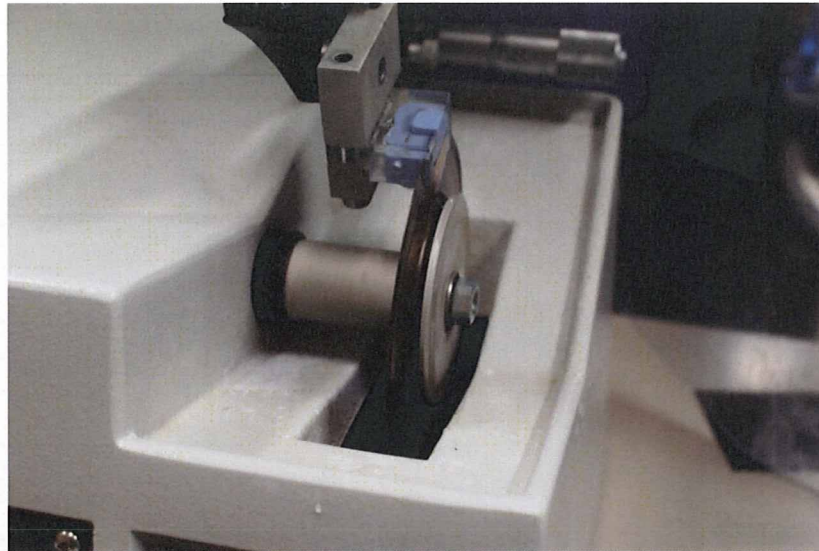


図 ①-8 ダイヤモンドソーを用いた軟骨切断面作成

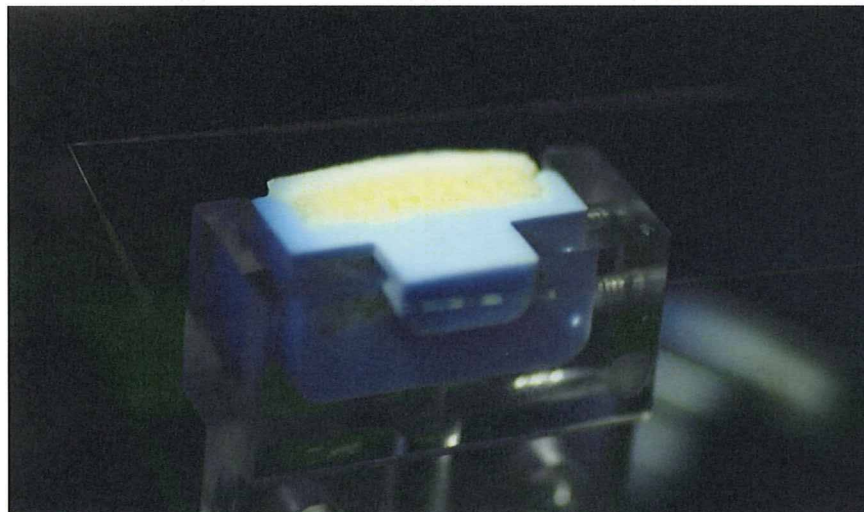


図 ①-9 測定顕微鏡による軟骨厚測定
生理食塩水滴下後カバーガラスにより被覆し、骨軟骨片の湿潤を保持



図 ①-10 軟骨厚測定に使用した測定顕微鏡

関節軟骨
表面



骨軟骨
境界

図①- 11 測定顕微鏡による関節軟骨厚測定

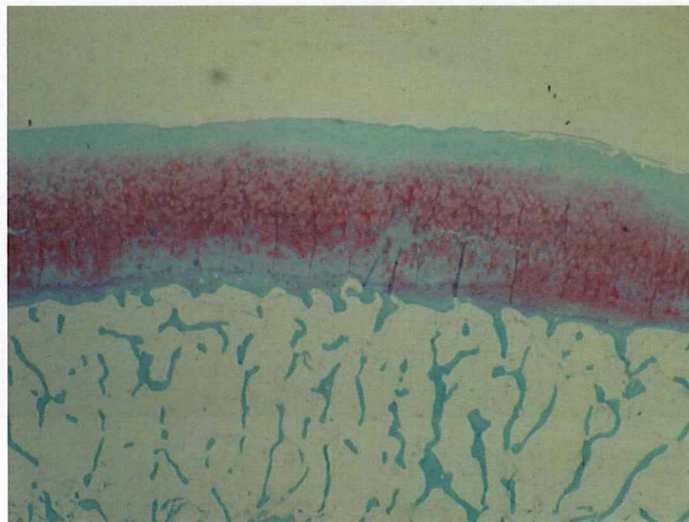


図 ①-12 組織切片 Safranin-O/Fast green 染色

	Grade
I Structure	
Normal	0
Surface irregularities	1
Pannus and surface irregularities	2
Clefts to transitional zone	3
Clefts to radial zone	4
Clefts to calcified zone	5
Complete disorganization	6
II Cells	
Normal	0
Diffuse hypercellularity	1
Cloning	2
Hypocellularity	3
III Safranin-O staining	
Normal	0
Slight reduction	1
Moderate reduction	2
Severe reduction	3
No dye noted	4
IV Tidemark integrity	
Intact	0
Crossed by blood vessels	1

図①- 13 Mankin score

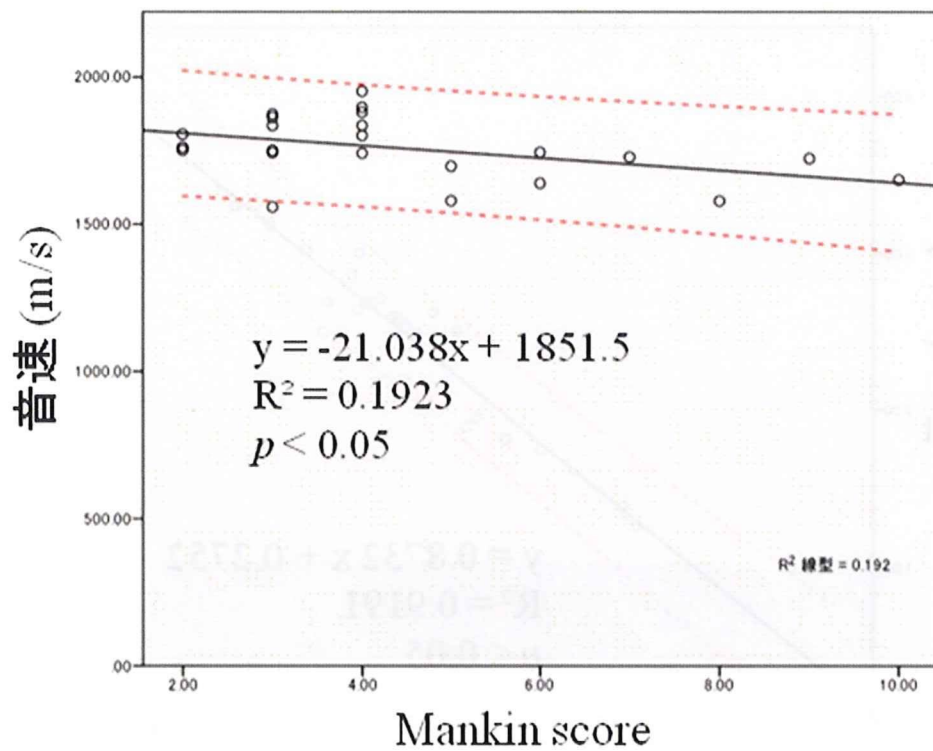


図 ①-14 Mankin score と各試料関節軟骨との関係

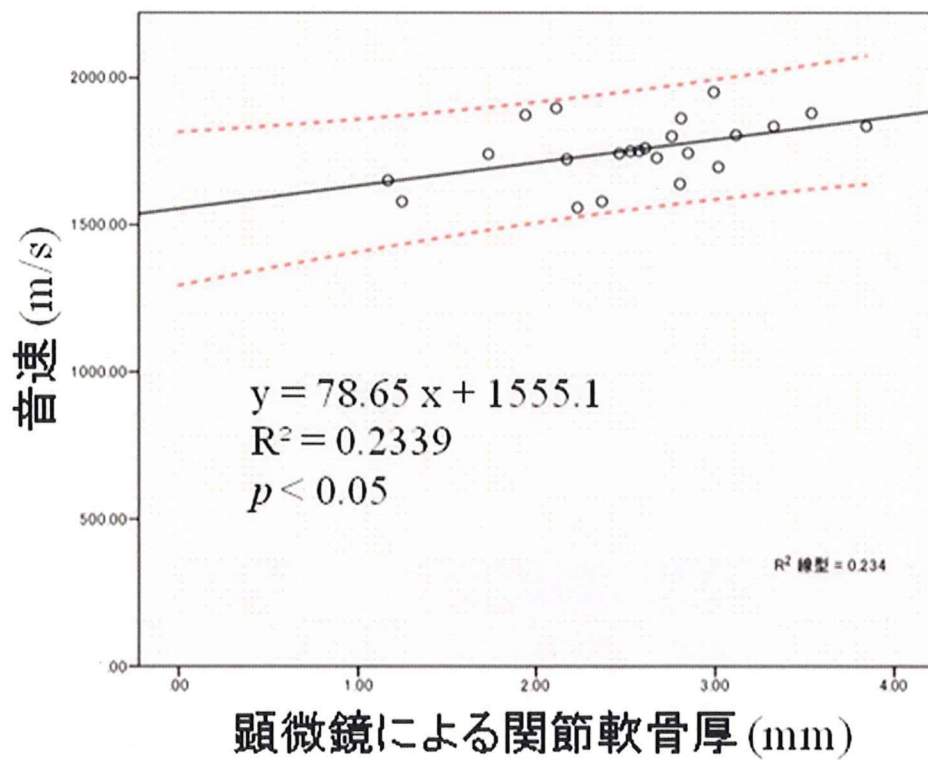


図 ①-15 関節軟骨厚と各試料関節軟骨との関係