

## 論文の内容の要旨

論文題目 超音波を用いた非侵襲膝関節軟骨定量診断装置の開発に関する研究

指導教員 中村耕三 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成15年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

大橋 暁

変形性関節症（以下 OA）は高齢者では罹患率が非常に高く、我が国の人口の高齢化に伴い適切な対策が急務となっている疾患である。現在その診断は単純 X 線写真に頼っているが、X 線写真には軟骨は写らないため、この方法では OA の病態である軟骨の摩耗や菲薄化を直接捉えることはできず、実際には軟骨をはさんでいる骨の状態より間接的・定性的・主観的な診断が行われている。また、軟骨評価が可能である MRI は検査が非常に高価であり、検査時間も長いために臨床的には OA の診断にはほとんど用いられていないのが現状である。このような関節軟骨の画像評価における問題点を踏まえ、新たな関節軟骨画像評価法として、超音波を用いた非侵襲膝関節軟骨定量診断装置の開発の着想に至った。その主な理由として、非侵襲・非放射線被爆であること、簡便に短時間で行える可能性、安価に検査が行える可能性、などの超音波画像診断の利点が挙げられる。実際、これらの特性を生かし、臨床において超音波を用いた画像評価は循環器科・産婦人科領域などを中心に多く用いられている。しかし、整形外科領域において超音波を用いた関節評価は一般的には行われていない。基礎研究レベルでは、小型の超音波プローブを直接関節軟骨に接触させ、関節軟骨を評価する試みが行われているが、超音波を用いて非侵襲に関節軟骨を評価する試みはこれまでに行われていない。そのため、完全非侵襲に関節軟骨を超音波により画像を取得し、定量評価を行うことができる関節軟骨用超音波診断装置の開発を本研究の課題とした。

### 関節軟骨の音速に関する基礎研究

超音波画像は、超音波信号を送信し生体組織の音響インピーダンスの変化する部分に

において発生する反射波より作成されている。関節軟骨厚を測定する場合、軟骨表面反射波と軟骨深層-石灰化軟骨境界 (tidemark) 反射波を取得する時間差に関節軟骨の音速を乗じることによって算出することが可能であるが、先行研究において報告されているヒト関節軟骨の音速値には大きなばらつきがみられ、それが測定法によるものなのか、関節軟骨の性質の差によるものなのかは不明である。また、臨床応用における関節軟骨厚測定においては、現時点では音速は一定値を用いる必要があるため、音速値のばらつきを知ることは重要である。このため、まず、種々の音速測定法を用いて豚関節軟骨の音速を測定し精度評価を行い、続いてヒト関節軟骨の音速値測定を行った。月齢による音速差を考慮し、生後 6 ヶ月と 3 年の豚の大腿骨顆部の骨軟骨片を採取し、これを超音波送受信機と 10MHz のシングルプローブを用い、脱気水 (21°C) 内で 9 点において Radiofrequency(RF)信号を検出した。信号はオシロスコープを介してコンピューターに記録し、軟骨表面境界、tidemark の各反射波より、超音波飛行時間 (TOF : time of flight) を計測した。また、信号検出点が断面となるような骨軟骨切片を作成し、顕微鏡により軟骨厚を測定し、軟骨音速を算出した。TOF 測定を振幅情報より境界を定義する 3 方法 (peak amplitude 法、peak envelope 法、signal phase 法) と標準反射波との相互相関より境界を定義する cross-correlation 法にて行ったところ、変動係数は生後 6 ヶ月の豚では 3.4%、3.2%、3.7%、3.5%、生後 3 年の豚ではそれぞれ 6.3%、6.1%、6.1%、8.1%といずれにおいても peak envelope 法が低い傾向にあった (図 1)。このため、この方法 (peak envelope 法) を用いヒト関節軟骨音速値測定を行った (図 2)。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。患者は全例女性で 11 名 (平均年齢:  $72.7 \pm 7.7$  歳)、検体数は 23 であった。上記方法にて各検体の音速値を測定した後、Safranin O-Fast Green 染色による組織切片を作成、Mankin score により軟骨変性評価を行い、音速測定値と Mankin score について回帰解析および相関解析を行った。全体の音速の平均は、 $1756.3 \pm 106.2$  m/s であった。また、Pearson の相関係数は、-0.439、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 (図 3)。しかし、Mankin score (x) と軟骨音速 (y) との一次回帰直線の式は、 $y = -21.03 x + 1851.5$  と、変性度による音速値の変化の大きさは平均値に比し小さいものであり、臨床関節軟骨厚測定において一定音速値を用いることは可能であると考えられた。

#### 超音波 B-mode 画像による関節軟骨評価 (in vitro) に関する研究

超音波 B-mode 画像を用いた場合の関節軟骨厚測定値の精度評価のため、in vitro にて生後 6 ヶ月の豚大腿骨顆部の関節軟骨を用い超音波画像による軟骨厚測定値と顕微鏡による軟骨厚測定値との比較検討を行った (図 4)。超音波画像取得に関して、従来のリニアプローブや Tissue Harmonic 法に加えて、焦点周囲の超音波ビームがより絞りが効いている 1.5D probe や対象表面・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空間コンパウンド法を従来プローブおよび従来法に加

えて使用した。骨軟骨片の超音波 B-mode 画像を以下の条件：①1D probe（従来のプローブ）、Tissue Harmonic（従来の撮像条件）、②1D probe、空間コンパウンド（新規撮像条件）、③1.5D probe（新規プローブ）、Tissue Harmonic、④1.5D probe、空間コンパウンドの組み合わせで撮像を行った。取得画像（図 5）について超音波ビーム方向のラインデータを取得し、その軟骨表面および骨軟骨境界に相当するピーク間の距離を用いて関節軟骨厚を測定し、また、豚軟骨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。その結果、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 $y = 1.1264x - 0.3008$  といずれも傾きが 1 に近く切片は 0 に近かった（図 6）。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 の方が相関の高い傾向が、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。いずれのプローブ・条件においても  $p$  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との相関は有意に高く、超音波 B-mode 画像を用いた関節軟骨厚測定値の精度は非常に高く、有用であることが示された。

#### 臨床用超音波軟骨測定装置の開発

まず、評価対象として考えた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検討を行い、大腿骨内側顆部の曲率半径は約 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  $0^{\circ} \sim 20^{\circ}$ 、 $\pm 0\text{mm} \sim 20\text{mm}$  という結果が得られた。これらを基に、大腿骨内側顆部関節軟骨撮像に最適化した機器作成（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層画像の収集、収集画像から軟骨部の抽出と 3D データの構築）を行った（図 7）。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送信する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（図 8）。複数の膝軟骨断層画像を収集後、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可能であった。精度評価として、開発した機器を使用し、ボランティア 2 名において予備的に超音波 B-mode 画像を用いて膝関節軟骨を撮像し三次元的に関節軟骨厚を測定、臨床用 MRI を用いた評価値との比較検討を行った。その結果、三次元的関節軟骨厚は、超音波画像を用いた測定値と MRI 画像を用いた測定値との間に有意な相関があり ( $p < 0.0001$ )（図 9）、超音波による関節軟骨厚測定は精度が高く有用性が高いと考えられた。

#### 今後の発展・展望

今後、さらに撮像条件の最適化や画像処理アルゴリズムの開発・自動化などを実用化に向けて進めてゆく予定である。これらの研究が進み、これまで行われることのなかった、

変形性関節症患者の関節軟骨厚測定値の経時的変化や、治療に対する変化、また、部位別の測定値やその変化と臨床症状との関連などについて調査することが可能になれば、進行する変形性関節症患者に最適な予防法（薬剤療法・運動療法・装具療法等）を選択することが可能なシステムを確立することや、同一患者を経時的に測定することにより予防治療の効果判定を行うことなどが可能となると考える。

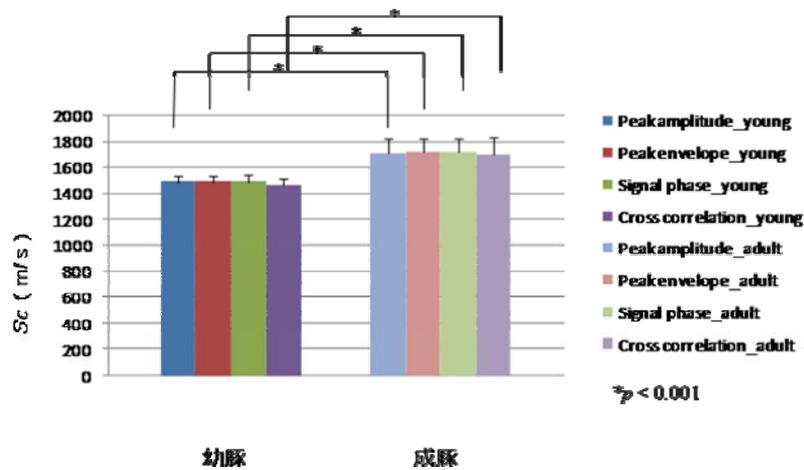


図 1. 各 TOF 測定法における関節軟骨音速値 測定法間に音速値の有意差は無かったが、全ての測定法において成豚(生後 3 年)の音速値が幼豚(6 ヶ月)の音速値より有意に高かった

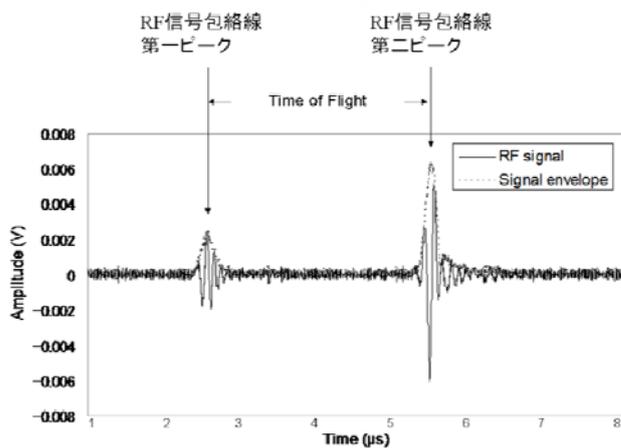


図 2. Time of Flight 計測 包絡線の第一ピークおよび第二ピークをそれぞれ軟骨表面、非石灰化軟骨-石灰化軟骨境界 (tidemark) からの反射波の位置とした

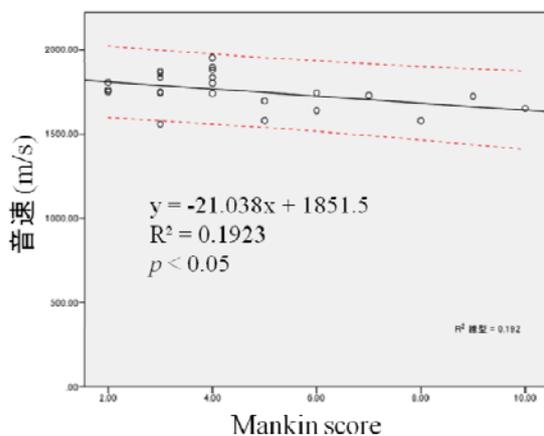


図 3. ヒト関節軟骨の Mankin score と各試料関節軟骨音速値との関係

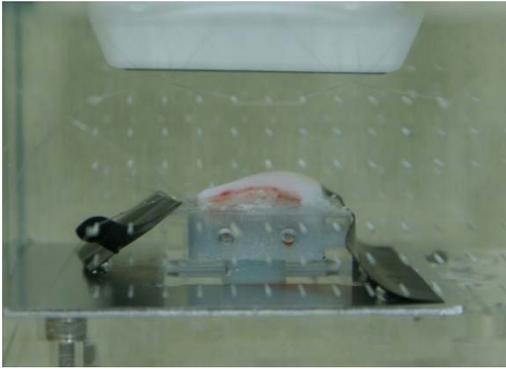


図 4. 豚関節軟骨の水槽内での超音波撮像

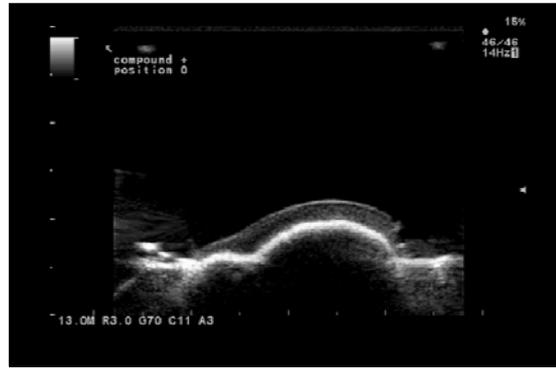
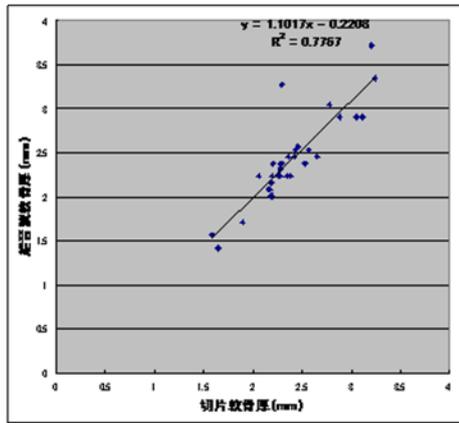


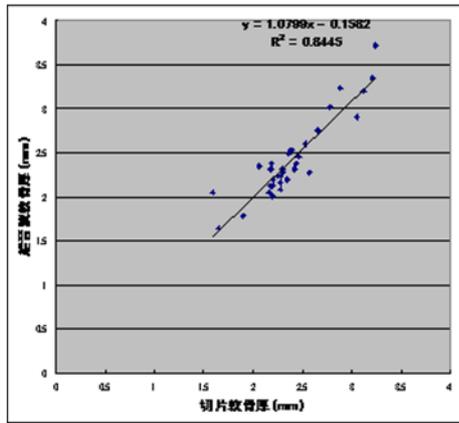
図 5. 豚関節軟骨超音波 B-mode 画像

### 1Dプローブ

#### ①Tissue Harmonic

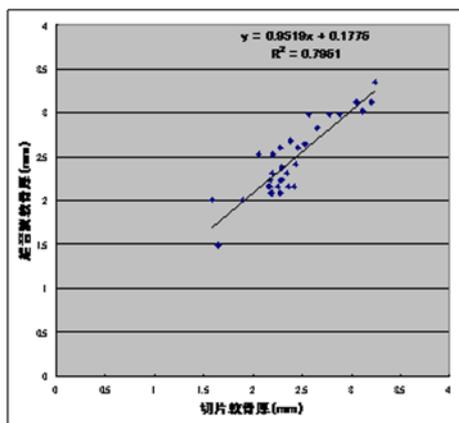


#### ②空間コンパウンド



### 1.5Dプローブ

#### ③Tissue Harmonic



#### ④空間コンパウンド

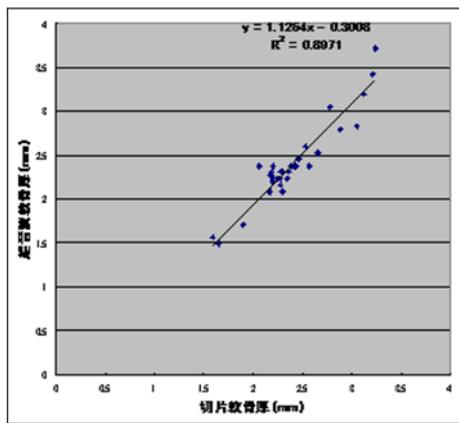


図 6. 切片軟骨厚と超音波測定軟骨厚の関係

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

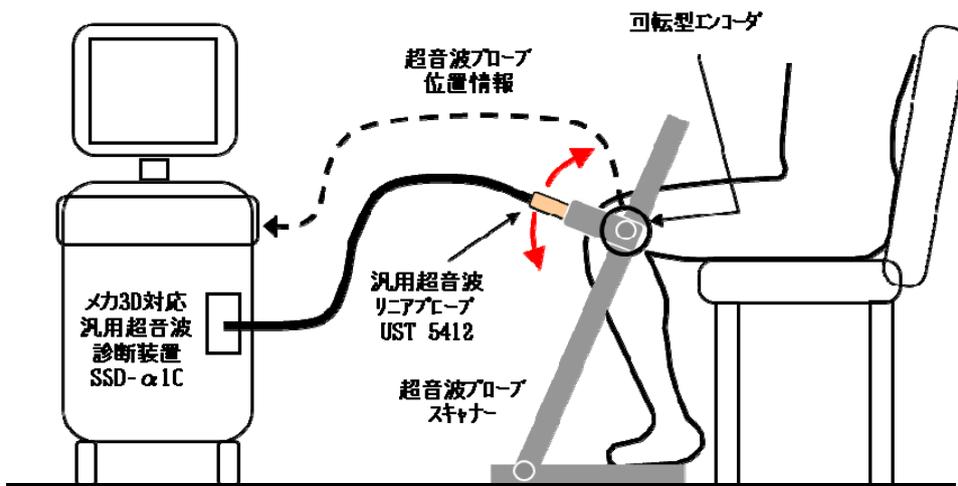


図 7. 臨床用大腿骨顆部関節軟骨超音波画像取得装置の全体構成

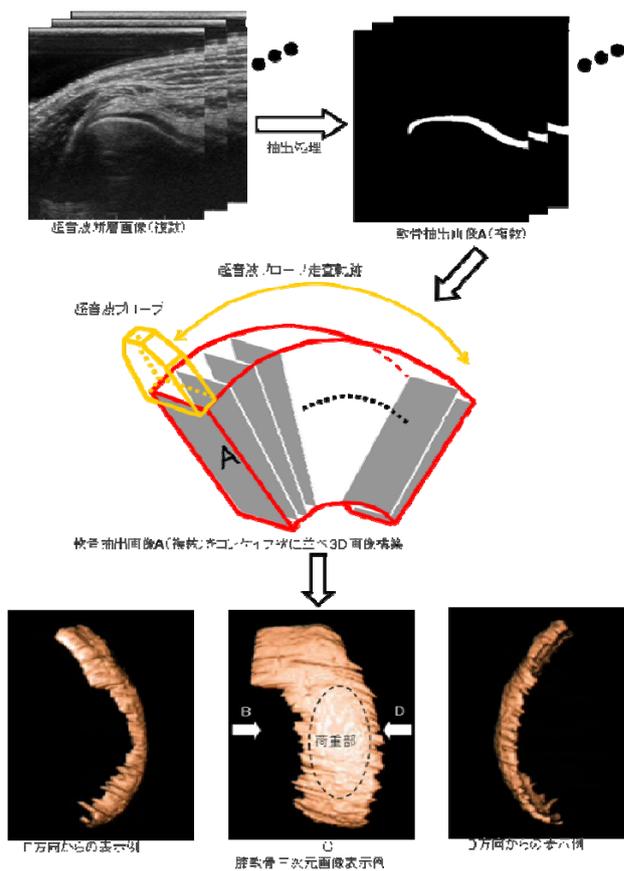


図 8. 膝軟骨の断層画像から 3D 表示までの流れ

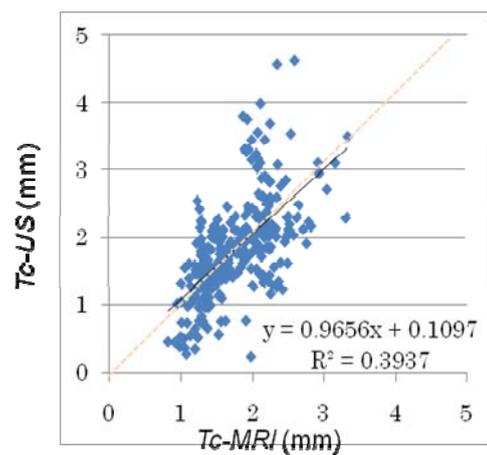


図 9. 超音波による軟骨厚 (Tc-US) と MRI による軟骨厚 (Tc-MRI) との関係