

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791385

研究課題名（和文）三次元高周波超音波顕微鏡装置の関節軟骨評価への応用

研究課題名（英文）Evaluation of Articular Cartilage with High Frequency Ultrasound Imaging System

研究代表者

萩原 嘉廣 (HAGIWARA YOSHIHIRO)

東北大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：90436139

研究成果の概要（和文）：

東北大学医工学研究科・医用イメージング研究分野で開発された「三次元高周波超音波顕微鏡装置」は、非接触、非侵襲的に10ミクロンの高解像度で組織の評価が可能である。本研究では、関節軟骨評価に最適な中心周波数120MHz、焦点距離3.2mmのトランスデューサーを開発した。また、正常関節軟骨を表層、中間層、深層に分け、超音波顕微鏡像と三次元高周波超音波顕微鏡装置の画像比較を行うと、表層、中間層で強い相関関係を示した。

研究成果の概要（英文）：

A newly developed high-frequency ultrasound imaging system (HFUIS) provides noncontact high-resolution 3D ultrasound (US) imaging. A Transducer with central frequency of 120 MHz and a focal length of 3.2 mm was most appropriate for evaluating the articular cartilage. We divided the articular cartilage in three layers (superficial, middle and deep layers) and compare the images with those of scanning acoustic microscope (SAM). A high relative intensity by HFUIS and high sound speed area by SAM had strong correlations (Pearson product moment correlation, superficial layer: 0.704, middle layer: 0.731).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：整形外科

キーワード：関節軟骨、高周波超音波、非接触型組織評価、診断装置、高分解能

1. 研究開始当初の背景

本邦における X 線上の変形性膝関節症 (膝 OA) 患者は 2400 万人、変形性腰椎症 (腰椎 OA) 患者は 3500 万人いると推定され、都市部よりも山村部に多いとされている。要介護となる原因の 6.1% (第 4 位)、要支援の原因の 17.5% (第 1 位) を占め、疾病の中では最も多い (厚生労働省、2004 年度国民生活調査)。このため、高齢者の QOL を維持する上で、OA の予防、早期診断は非常に重要である。特に膝 OA については、早期に軟骨変性を的確に診断することで、その重症化を防ぎ、疼痛による“閉じこもり”を防ぐことは、一人暮らしの老人が増加している本邦ではきわめて重要な課題である。

近年高磁場 MRI (3 T 以上) が導入され、軟骨基質を構成する分子の一つであるグリコサミノグリカンの濃度分布が測定可能となり、関節軟骨の評価にその有用性が報告されている。しかし、特に山村部に多い膝 OA 患者を、高額で大型の MRI 装置によって繰り返し検査することや、マイクロレベルでの評価は難しい。

通常に市販されている超音波診断装置によっても関節軟骨のマクロな評価は可能であるが、早期のマイクロな軟骨変性の評価は難しい。

申請者の共同研究グループである東北大学医工学研究科・医用イメージング研究分野で開発された「三次元高周波超音波顕微鏡装置」は、三次元の超音波受信信号のデータセットの相関解析を、空間的な分布を考慮して組織の 3 次元弾性イメージングを作成できる。生体組織の 3 次元構造と弾性分布を様々なスケールで画像化することによって、生体内器官の構築がどのような力学的な構造によって支持されているかが明らかとなり、また、この力学的構造の破綻が種々の器官の様々な病態にどのように影響しているかを解明できる。非接触、非侵襲的に 10 ミクロンの高解像度で組織の評価が可能で、世界で類を見ない診断装置である。この装置は既に再生皮膚組織において、組織を薄切することなくマイクロレベルで評価が可能である。

膝 OA 患者の臨床所見を様々なステージで観察することができるようになれば、膝 OA の臨床経過と治療方法の評価が的確に行われるようになり、結果として新規治療方法の開発につながる事が期待される。また膝 OA の早期診断により、関節軟骨の変性が早期の段階で生活習慣の改善や運動療法によって予防することが可能となる。その結果、変形性関節症の重症化を予防し、人工膝関節手術症例数の減少、医療費の抑制が期待される。さらに、高齢者の QOL 改善により、要介護、要支援となる症例を減らし、国民の健康福祉に貢献することが可能となる。

2. 研究の目的

本研究では、1. 三次元高周波超音波顕微鏡装置のトランスデューサーを関節軟骨用に最適化し、正常関節軟骨の超音波特性を把握すること、2. ラット膝関節不動化モデルでの変性関節軟骨の超音波特性を把握すること、および、3. 現在開発中のポータブル高周波超音波診断装置の臨床応用に向けた関節軟骨変性の基礎的データを収集することを研究目的としている。

3. 研究の方法

(1) オス Sprague-Dawley rats (体重 380-400 g、6 匹) を使用する。麻酔下に膝周囲の体毛を除毛クリームで丁寧に除去後、膝関節を展開し、脛骨関節面を露出する。直径 3.8mm の骨と軟骨を一体とした骨・軟骨柱を荷重面から Trepine Bur (cat. No. 13006, Technika Inc., Tokyo, Japan) を用いて採取する。専用の支持台で骨・軟骨柱を保持し、三次元超音波顕微鏡装置で計測する (図 1)。波数、ビーム幅、焦点距離を決定する。



図 1

(2) 三次元超音波顕微鏡装置で観察を終えた骨・軟骨柱を 4%パラホルム・アルデヒド溶液で浸漬固定を行い、脱灰後にパラフィンブロック包埋を行う。5 マイクロメートルの切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、得られた超音波断面像と組織像の比較を行う。

(3) 作製した切片の脱パラフィンを行い、超音波顕微鏡で切片上の組織の音速 (m/s, ヤング率の平方根と比例) を計測し、三次元高周波超音波顕微鏡装置で得られた画像と比較する。関節軟骨を表面から 5 分割し、表層 1/5 および深層 1/5 を superficial, deep layer、残りの中間部を middle layer と定義し、三次元高周波超音波顕微鏡装置で得られた平均輝度と超音波顕微鏡で得られた平均音速の相関係数を算出する。

(4) 統計処理

3 群間の比較では多重比較に

Bonferroni/Dunn post hoc multiple comparisons を用いた ANOVA 検定を行った。

4. 研究成果

(1) 体表からの関節軟骨評価を仮定し、焦点距離は最長の 3.2 mm を使用した。焦点幅は 2.4 mm とした。中心周波数は 50MHz および 120MHz を準備し、計測を行った。解像度は中心周波数に依存することから、120MHz のトランスデューサーが関節軟骨の詳細な評価に最適であった。

(2) 市販されている超音波診断装置（中心周波数 13MHz）では、関節軟骨表面と軟骨下骨の描出が可能であったが、三次元高周波超音波顕微鏡装置では middle layer の関節軟骨表面からの漸減分布が明らかとなった。HE 染色と三次元高周波超音波顕微鏡装置での画像比較では明らかな相違は不明であった。理論的には 10 ミクロンの高解像度が得られるはずであったが、関節軟骨細胞の同定は困難であった（図 2）。

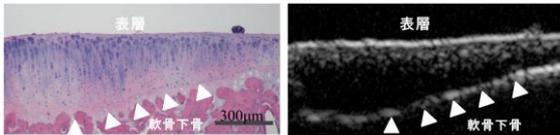


図 2

連続して得られた B-mode 画像をから、Image J を用いて三次元合成画像を作成した。本来、関節軟骨表面は平滑であるが、三次元合成画像はやや粗な印象となった（図 3）。

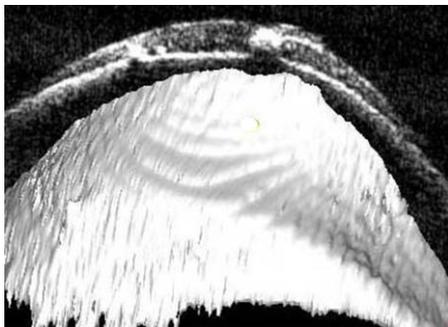
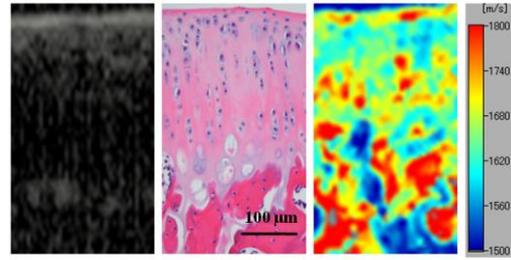


図 3

(3) 超音波顕微鏡での計測では、正常関節軟骨の superficial layer および deep layer は音速が高かった。Middle layer では関節軟骨表面から音速は漸増していた（図 4）。超音波顕微鏡と三次元高周波超音波顕微鏡装置で得られた画像を Image J 用いて、3 層 (superficial, middle, and deep) それぞれの平均音速および平均輝度を算出し、それぞれの層毎の音速、輝度の比較を行った。また、音速と輝度のピアソンの相関係数を算出した。



3次元高周波超音波診断装置 HE染色 超音波顕微鏡

図 4

三次元高周波超音波顕微鏡装置においては、superficial, middle, deep layer それぞれの平均輝度で有意差があった。しかしながら、超音波顕微鏡での平均音速は 3 層間で有意差はなかった（図 5）。

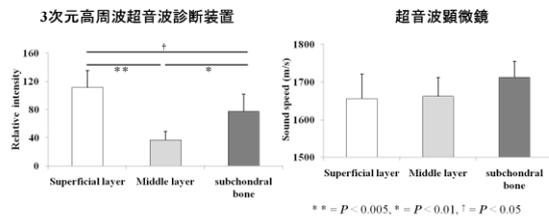


図 5

平均音速と輝度のピアソンの相関係数は superficial layer で 0.704、middle layer で 0.731、deep layer で 0.258 であった。Superficial および middle layer で強い相関関係を認めた（図 6）。

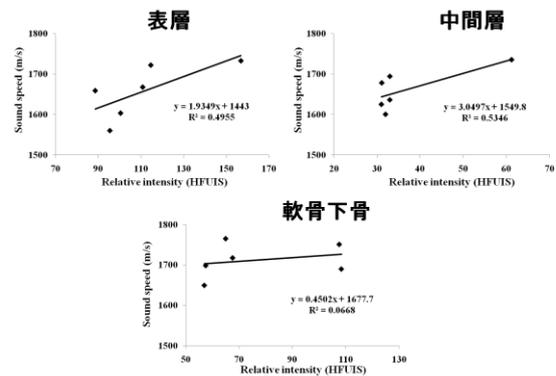


図 6

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Comparison of articular cartilage images assessed by high-frequency ultrasound microscope and scanning acoustic

microscope.

Hagiwara Y, Saijo Y, Ando A, Onoda Y, Suda H, Chimoto E, Hatori K, Itoi E.
Int Orthop. 2012 Jan;36(1):185-90. (査読有)

立体視が可能となると術中に病変部の同定が容易となるため、今後は画像構成の検討がひつよう [学会発表] (計 件)

1. EVALUATION OF CARTILAGE- BONE COMPLEX WITH HIGH FREQUENCY ULTRASOUND MICROSCOPE AND SCANNING ACOUSTIC MICROSCOPE

Y. Hagiwara, A. Ando, Y. Saijo, K. Kobayashi, Y. Onoda, H. Suda, E. Chimoto, E, Itoi; E

The 2009 World Congress on Osteoarthritis, September 10 - 13, 2009 in Montreal, Canada. (査読有)

2. Evaluation of Cartilage-Bone Complex Assessed by High Frequency Ultrasound Imaging System

Hagiwara, Y; Ando, A; Saijo, Y; Onoda, Y; Suda, H; Hatori, K; Chimoto E; Itoi, E the ORS 56th Annual Meeting, March 6-9, 2010 in New Orleans, Louisiana. (査読有)

3. COMPARISON OF THE ARTICULAR CARTILAGE IMAGES WITH HIGH FREQUENCY ULTRASOUND MICROSCOPE AND SCANNING ACOUSTIC MICROSCOPE

Yoshihiro Hagiwara, Akira Ando, Yoshito Onoda, Eiichi Chimoto, Yoshifumi Saijo, Hideaki Suda, Sonofuchi Kazuaki, Kanazawa Kenji, Eiji Itoi

the 9th Congress of Asian Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology, November 18-21, 2010, New Delhi. (査読有)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

萩原 嘉廣 (HAGIWARA YOSHIHIRO)

東北大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号 : 90436139

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

西條 芳文 (SAIJO YOSHIFUMI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号 : 00292277