

▷臨床生理検査の最先端(8)◁

血管壁硬さ分布の経皮的評価法と電子染色

金井 浩 長谷川 英之 市来 正隆
手塚 文明 小岩 喜郎

血管壁硬さ分布の経皮的評価法と電子染色

金井 浩*1 長谷川 英之*2 市来 正隆*3
手塚 文明*4 小岩 喜郎*5

**Imaging of Elasticity Distribution in Arterial Wall
by Transcutaneous Ultrasound and Electronic Staining**

Hiroshi KANAI, PhD*1, Hideyuki HASEGAWA, PhD*2, Masataka ICHIKI, MD*3,
Fumiaki TEZUKA, MD*4 and Yoshiro KOIWA, MD*5

Knowledge of the physical properties of atherosclerotic plaque is essential when evaluating its vulnerability in a clinical setting. Such knowledge, however, is still difficult to obtain with the various approaches developed to date. This paper describes a novel noninvasive method (phased tracking method) for measuring minute change in thickness of each of the multiple layers of the arterial wall during one cardiac cycle. Such minute change in thickness less than $100\mu\text{m}$ of the arterial wall cannot be measured by conventional ultrasound B-mode or M-mode images. A method for evaluation of the regional elastic modulus in the circumference direction, E_{θ} , from the resultant change in *wall thickness* is also described. This method was applied to *in vivo* experiments in subjects with hyperlipemia and normal subjects. The spatial distribution of the regional elastic moduli, E_{θ} , was evaluated for the carotid atherosclerotic plaques. By comparing the pathological findings with the distribution of elasticity, average elasticity of lipid and that of a mixture of smooth muscle and collagen fiber could be determined. Based on these reference parameters, each point was statistically categorized as lipid, mixture, or other. Thus, the plaque was *electronically stained* using transcutaneous ultrasound. By applying this method to the common carotid arteries, the presence of thin collagen fiber was clarified along the arterial axis for normal subjects, while soft inclusion of lipid was found for every plaque in subjects with hyperlipidemia. This novel method offers potential as a diagnostic technique for detection of plaque vulnerability with high spatial resolution.

[Rinsho Byori 51 : 805~812, 2003]

*1Department of Electronic Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University, Sendai 980-8579

【Key Words】 atherosclerosis (粥状動脈硬化), phased tracking method (位相差トラッキング法), electronic staining (電子染色), elastic modulus library (弾性率ライブラリ), vulnerability of plaques (粥腫易破裂性), transcutaneous ultrasound (経皮的超音波計測)

*1,2 東北大学大学院工学研究科電子工学専攻 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉5)

*3 JR 仙台病院外科 (〒980-8508 仙台市青葉区五橋1-1-5)

*4 国立仙台病院臨床研究部 (〒983-8520 仙台市宮城野区宮城野2-8-8)

*5 東北大学大学院医学系研究科内科病態学講座 (〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1)

動脈硬化症における様々の病態は、血管壁に生じた粥腫の物理的な脆弱性(易破裂性)により惹き起こされると考えられている¹⁾。特に急性心筋梗塞・不安定狭心症・突然死など心血管イベントの発症は、脂質に富む粥腫の壁が破裂し、血栓形成による血管内腔の一時的な狭窄あるいは閉塞に起因すると考えられており、粥腫病変の易破裂性/安定性が医学上の大きなトピックとなっている。冠動脈疾患には血管造影²⁾が有効であるが、もし粥腫病変部の構成成分や易破裂性の経皮的評価法が開発されれば、粥腫病変部の進行や退縮^{3,4)}の評価、脂質低下療法^{5,6)}の個人への効果の評価を可能とし、心血管イベントの発症を抑制できるものと期待できる。MRIや血管内超音波術(IVUS)は、粥腫病変部の形態を画像化する有効な手段である^{7,8)}。また、従来血管の硬さとして臨床の場で測定されてきたものには、脈波伝搬速度(PWV)⁹⁾あるいは stiffness parameter や、動脈の内径変化^{10,11)}の計測から算出された動脈壁の弾性率が評価されているが、これらは、血管長軸方向や横断面円周方向での平均的弾性値であり、かつ壁厚・内径比によっても影響される。したがって、個々の患者の粥腫の易破裂性を、その内部物性にまで踏み込んで把握し得る、臨床応用可能な方法は開発されていなかった。

本報告では、汎用の医用超音波診断装置を利用し、著者らが開発した『位相差トラッキング法』^{12,13)}をもとに特別な処理を行うことによって、動脈壁内の弾性率の空間分布を経皮的に決定する手法を述べる。弾性率分布を計測する空間分解能は、血管壁の内部375 μm (超音波の波長オーダー)の厚さの層ごとに、瞬時的な厚み変化(1拍内での数~数十ミクロンの厚み変化)を0.5 μm という高精度で決定できる。あらかじめ病理染色と対応をとって得られた組織ごとの弾性率分布(弾性率ライブラリ)¹⁴⁾から、(1)脂質と(2)平滑筋・膠原線維が分類可能なことを示す。この弾性率ライブラリを利用すると、経皮的に超音波を用いて得られた弾性率をもとに、動脈壁内の組織を、(1)脂質、(2)平滑筋・膠原線維、(3)それ以外の組織に分類しカラー表示する「電子染色」¹⁴⁾が可能となる。それらの手法の原理と *in vitro* 実験と *in vivo* 実験の結果を述べる。

I. 動脈壁の1拍内での厚み変化の計測法 (位相差トラッキング法)の原理^{12,13)}

従来の超音波エコー機器などで、心室壁や血管壁に1拍内に発生する厚みの微小変化を、数ミクロンという高精度で検出しようとするれば、拍動自体による数~十数mmの変位が大きく影響し計測は不可能となる。これに対し、位相差トラッキング法では、パルス送信間隔(200 μs)で胸壁上から送信した超音波パルスに対する、心臓壁/動脈壁内部の多数の設定点からの反射波の位相遅れを、(受信した波形の中で、振幅はパルス送信間隔で変わらず、位相のみが変化するという)制約付き最小二乗法を用いて高精度に計測することによって、各測定点の変位をサブミクロンオーダーでトラッキングし変位計測を行う。この方法によって数~10mm前後の低周波の大振幅変位運動が重畳している心臓/血管壁の、筋収縮や圧力変化に起因する微小振動速度波形が、少なくとも100Hzまでの周波数帯域で再現性良く計測できる¹²⁾。

また、同一の超音波ビーム上に設定した2点間の変位の差から、壁内2点間に対応する層(初期厚さ375 μm に設定)の刻々の厚み変化波形を計測できる。水槽中のゴムの伸縮実験から、その厚み変化は、0.5 μm という高い精度で計測できることが確認されている¹⁵⁾。この計測精度は、厚さ375 μm の層の中が均一に厚み変化を起こしていると仮定した場合の層の厚み変化の計測精度が0.5 μm であることを示している。本計測を動脈壁に適用する際には、通常超音波エコー装置のリニア型超音波プローブ(中心周波数7MHz)を経皮的に用いる。このような微小な厚み変化は、現在までのところ、他のいかなる手法によっても *in vivo* では計測できない。本手法は、既に、心室中隔壁^{12,13,16)}、総頸動脈壁¹⁷⁾内の局所ごとの瞬時的な変位と厚み変化の *in vivo* 計測の応用され、成果をあげている。

II. 血管壁と粥腫病変内部の 弾性率分布決定の原理¹⁸⁾と計測精度

Fig. 1(b)に模式的に示すように、駆出期には血管内圧が上がり内腔が拡張する。血管壁の体積が一定である(ボアソン比=0.5)と仮定すると、内腔の拡張に伴って壁は薄くなる。その薄くなる程度を計測することによって、局所ごとの弾性率を算出する。

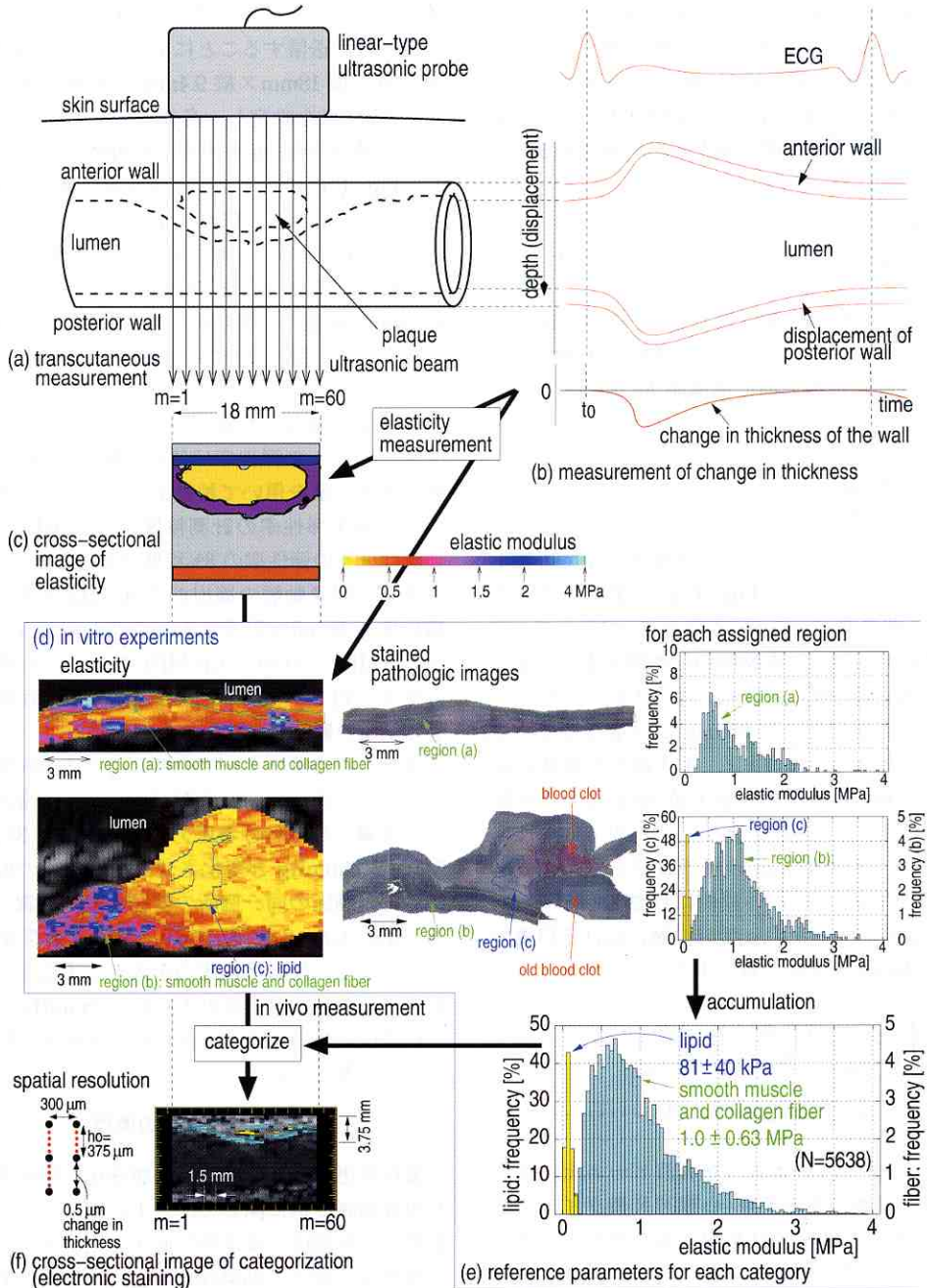


Figure 1

(a) Illustration depicting ultrasonic scanning. (b) By measuring change in thickness of each layer, the spatial distribution of elasticity was obtained (c). (d) By referring to the stained image (center), the regions of lipid and of the mixture of smooth muscle and collagen fiber were assigned (left-most side). From the histogram of $E_{0,m,n}$ for each region (right-most side), the elasticity for each category was registered as a reference (e), from which each tissue was categorized as belonging to one of the three categories (f).

血管壁厚が最も厚くなる心拡張末期のタイミング t_0 での壁厚を h_d 、一拍内で厚みが最も薄くなる心収縮期での厚み変化の最大値を Δh とする ($\Delta h < 0$)。血圧の脈圧 (Δp) を (上腕において) 同時に求めると、血圧の範囲における血管壁の径方向平均弾性率 (E_r) は、次式で与えられる。

$$E_r = \frac{\Delta p}{|\Delta h|/h_d} \dots\dots\dots (1)$$

さらに、弾性特性の壁内等方性¹⁹⁾と壁内腔面に垂直に応力が働くことを仮定し、 r_d を拡張末期での内半径とおけば、円周方向の弾性率 E_θ を次式で近似的に算出できる¹⁸⁾。

$$E_\theta = \frac{1}{2} \left(\frac{r_d}{h_d} + 1 \right) E_r \dots\dots\dots (2)$$

さらにこの計測を、血管壁と粥腫内の全ての微小領域に関して行うため、**Fig. 1(a)**と**(f)**に示すように、1本の超音波ビーム (m 番目のビーム) 上で、前壁・後壁各々に関して内膜側から外膜側までを厚さ $375\mu\text{m}$ の N_m 個の層に分ける。深さ方向 (半径方向) に隣り合った層は互いに $300\mu\text{m}$ だけ重なっている。すなわち、厚さ $375\mu\text{m}$ 層を、まず最も内腔側に設定し、その層の厚み変化の最大値 Δh および上腕動脈でのカフ圧による脈圧 Δp から、円周方向弾性率を算出する。厚さ $375\mu\text{m}$ の層の設定を、深さ方向 (半径方向) $75\mu\text{m}$ ごとに外膜側に移動しながら、 m 番目の超音波ビーム上の n 番目の層における円周方向弾性率 $E_{\theta,m,n}$ を次式で算出する。

$$E_{\theta,m,n} \equiv \frac{1}{2} \left(\frac{\rho_{m,n,0}}{h_0 \cdot N_m} + \frac{N_m - n + 1}{N_m} \right) \frac{\Delta p}{|\Delta \varepsilon_{m,n,\max}|},$$

($n=1, \dots, N_m; m=1, \dots, M$) $\dots\dots\dots (3)$

ここで、 $\rho_{m,n,0}$ は、 m 番目の超音波ビーム上に設定した n 番目の層の曲率半径 (心電図 R 波タイミングでの値) である。曲率半径を用いることですべての層が同心円上にない場合も対応できる。また、血管壁内の応力は、内膜側 (第1層の内側面) から外膜側 (第 N_m 層の外側面) へかけて線形に減少し、外膜側で大気圧に等しいものと仮定している。各層の厚さ ($=375\mu\text{m}$) は、超音波パルスの波連長の半値幅から決定した。

さらに **Fig. 1(a)** に示すように、血管軸に沿って

リニア型プローブから $M=60$ 本の超音波ビームをほぼ同時に送信することによって、この画像内の点線四角の横 $18\text{mm} \times$ 縦 9.4mm の領域に $60 \text{ 点} \times 125 \text{ 点} = 7,500$ 点を設定し、各設定点において、上述の手法で厚み変化 Δh と円周方向弾性率 $E_{\theta,m,n}$ を計測し、**Fig. 1(c)** に示すような弾性率に関する断層像を得ることができる。**Fig. 1(f)** に示すように深さ方向 (血管の半径方向) と軸方向の空間分解能は、各々 $375\mu\text{m}$ ($=1.8$ 波長) と $300\mu\text{m}$ であり、深さ方向 $375\mu\text{m}$ の領域が一様に厚み変化を起こすとみなしたときの、その厚み変化の計測精度は $0.5\mu\text{m}$ と高精度である。

弾性率の異なる2層のシリコーンゴム (各々のシリコーンゴムの弾性率は静的実験で既知) からなる管に人工心臓を用いて拍動を与えたときの模擬実験から、局所弾性率の計測精度は、 0.1MPa であり¹⁸⁾、これは元々の弾性率の8%程度であった。

また、腸骨動脈の摘出前の *in vivo* 計測結果と、摘出後の *in vitro* 計測における平均弾性率が、 $0.96 \pm 0.48\text{MPa}$ と $0.89 \pm 0.31\text{MPa}$ であり、両者の違いはやはり約8%であった。この結果は、血管を取り巻く組織の影響が少ないことがわかる。

さらに超音波プローブの押し付け圧の影響を調べるため、別途、*in vivo* 実験において、超音波プローブを皮膚に押し付ける圧力を $8.0, 14.0, 33.2, 40.7, 54.5, 74.3\text{mmHg}$ と変化させ、その各々の場合における総頸動脈の同一個所の直径の変化を調べたところ、 $6.8, 6.8, 6.6, 6.1, 6.0, 5.4\text{mm}$ と変化した。したがって、押し付け圧力を大きくすると、血管の断面は円から楕円に変化するが、 30mmHg 以下の押し付け圧においては、計測された弾性率は影響を受けないと考えてよい。

III. 電子染色の原理¹⁴⁾

塞栓症患者から摘出した動脈硬化粥腫病変部を含む腸骨動脈9例に関して、人工心臓によって患者の拡張圧と収縮圧とほぼ同じ血圧変化を与え、本手法で弾性率に関する断層像を **Fig. 1(d)** 左のように計測した。各々の *in vitro* 実験終了後、エラスティカ・マッソン染色を施した。2つの典型例を **Fig. 1(d)** 中央に示す。9例に関する染色画像において、(1) 脂質と (2) 平滑筋と膠原線維の混合の10領域を指定した。2例3領域に関する、弾性率分布 (ヒストグラム) を **Fig. 1(d)** 右に示す。

また、10領域すべてに関する弾性率分布を Fig. 1 (e) に示す。(1)脂質と(2)平滑筋と膠原線維の混合組織の各々に関する弾性率の平均値と標準偏差は、 $81 \pm 40 \text{kPa}$ 、 $1.1 \pm 0.66 \text{MPa}$ であり、これを「弾性ライブラリ」として登録した。

この弾性ライブラリをもとに、本手法によって *in vivo* 計測された弾性率に関する断層像上の各点を、(1)脂質、(2)平滑筋と膠原線維の混合、(3)それ以外の組織領域に分類し、Fig. 1 (f) のように色別(脂質は黄色、平滑筋と膠原線維の混合は水色)に表示する。こうして、動脈壁と粥腫病変部が経皮的に

「電子染色」できる。

IV. 厚み変化波形の計測例

Fig. 2 は、上から、(a)血管壁に粥腫のない高脂血症患者の総頸動脈の M モード像、(b)心電図、(c)心音波形、(d)血管前壁内腔面での微小振動波形、(e)外膜面での微小振動波形、(f)血管前壁の厚さの変化 $\Delta h(t)$ を示す。血圧の上昇により血管壁は約 $30 \mu\text{m}$ 程薄くなっているが、この4拍で分かるように各信号とも再現性良く測定されている。

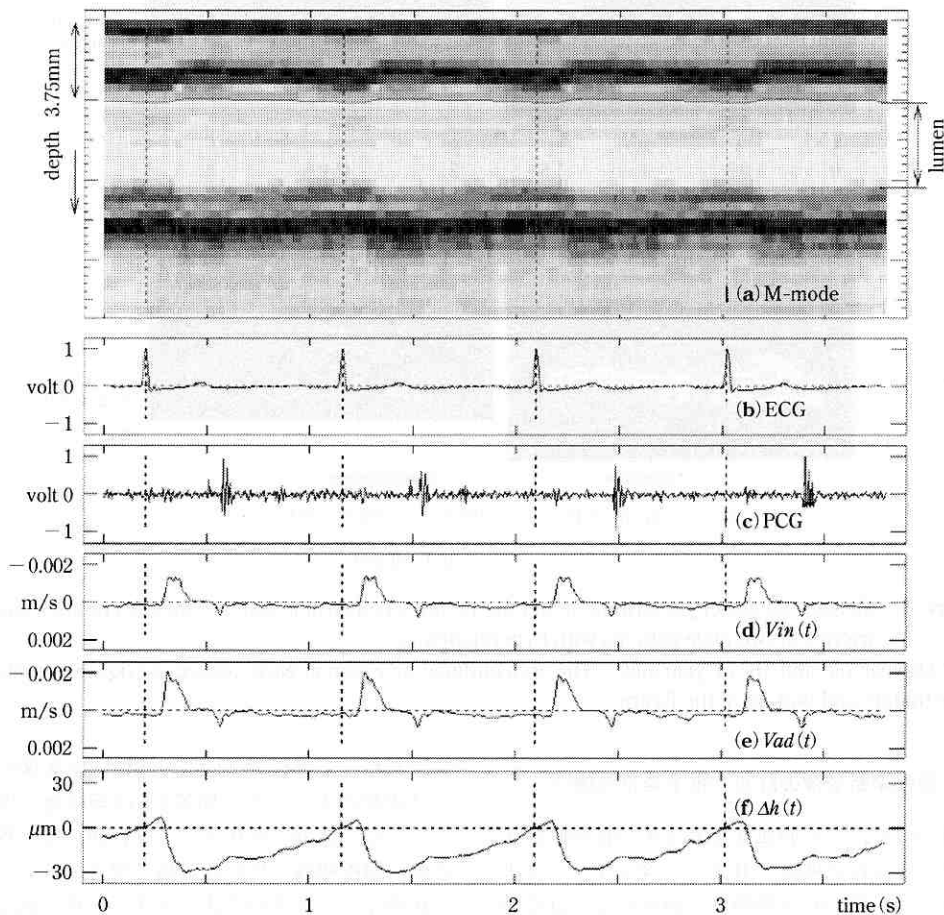


Figure 2 Examples of the *in vivo* measurement of the waveforms for a 36-year-old male patient with hyperlipidemia.

(a) Measured displacements of the two points set in the intima side and adventitia side of the anterior wall are overlaid by red lines on M-mode image. (b) Electrocardiogram. (c) Heart sounds. (d) Measured velocity of the point in the intima side of the anterior wall. (e) Measured velocity of the point in the adventitia side of the anterior wall. (f) Measured change in thickness of the anterior wall.

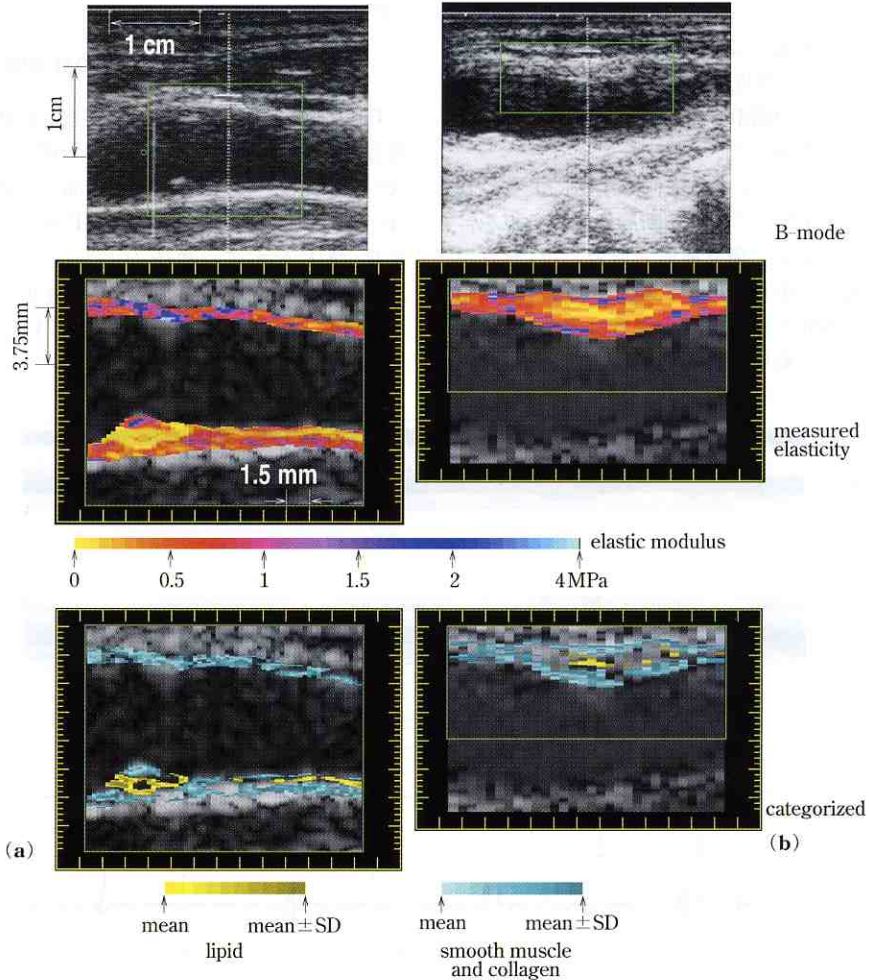


Figure 3 Measured elasticity distribution and the results of electronic staining for the common carotid arteries of two male patients with hyperlipidemia.

(a) 66-year-old and (b) 71-year-old. The area outlined by green in each uppermost figure is analyzed in the middle and bottom of the figure.

V. 弾性率断層像の計測と電子染色の例¹⁴⁾

Fig. 3(上段)は、高脂血症患者2名の総頸動脈後壁・前壁にみられた粥腫のBモード像を示す。従来の超音波エコー像からは粥腫内の組成あるいはその易破裂性について推定することは不可能である。

この画像内の緑線四角内に設定した各点において、上述の手法で得られた弾性率断層像を**Fig. 3**(中段)に示す。この弾性イメージは、まるで粥腫にメスで縦に割を入れたように粥腫内部の弾性値を観察した

像を表わしている。これらの弾性率断層像から、例えば粥腫の中心にある脂質/泡沫細胞層と考えられる柔らかい部分の存在とその弾性値、その周囲にある硬い線維組織と思われる層の厚さ、そして境界部の状態など、従来の方法では決して得られない情報が明らかになっている。

さらに、**Fig. 1**(e)に示した弾性ライブラリをもとに、**Fig. 3**(中段)の各点での弾性率を(1)脂質、(2)平滑筋と膠原線維の混合、(3)それ以外の領域で分類し、(1)と(2)の領域に関しては、各々黄色と水

色で着色(電子染色)した結果を Fig. 3(下段)に示す。待できる。

VI. 考 察

剖検で得られたヒト腹部大動脈の粥腫標本についての *in vitro* 実験における圧縮弾性値と組織所見の対応から、Lee らは、組織性状、すなわち(1)主として細胞によるもの、(2)線維成分によるもの、そして(3)石灰化しているものの中で、大きく弾性値が異なっており、弾性値と組織性状に密接な関係があることを報告している²⁰⁾。Fig. 3 の症例はいずれも頸動脈壁に粥腫があるが、この弾性率断層像および弾性率ライブラリをもとに分類した結果から、粥腫の内面に非常に柔らかいもの(脂質に分類)が存在し、その内腔面境界を弾性的に硬い層(平滑筋と膠原線維の混合に分類)が覆っているという分類結果が得られている。粥腫病変の外側の一部は、強靱な線維性の被膜と考えることができる。柔らかい部分が易破裂性にそのまま関与するか否かは今後検討すべき問題であるが、弾性値の不均一な境界にストレスが異常に作用しているであろうということも考えられる。

VII. 結 語

頸動脈における粥腫病変の有無は、その重症度と一致するか否かは明らかではないにしても、脳動脈病変や冠動脈病変の有無と相関するという報告が多い。従来の動脈病変の測定法としては、血管内腔の狭窄を血流のイメージで表現する血管造影検査・MR アンギオグラフィ・CT 検査法などの主として形態計測方法が報告されているが、局所病変たる粥腫について、易破裂性、進展・退縮という諸問題を十分な精度で評価し得る計測法は未だに報告されてはなかった。

新たに開発された高精度計測法と組織の分類法(電子染色)¹⁴⁾は、粥腫内部の物性などを非侵襲的に測定し、組織同定を行う方法であり、高齢者や心不全、心筋梗塞患者などのように重篤な状態にある患者に関しても安全に繰り返し計測し得るものである。この計測法によって粥腫の物性(例えば被膜の強靱さなど)が簡便にかつ短時間で定量的数値として得られることは、『現在行っている治療法が果たして粥腫を安定化させ、線維層優位のものにしているのか否か』という問いに対して新たな知見を加え得るものとして今後それらの臨床応用に大いに期

文 献

- 1) Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implication for plaque rupture. *Circulation* 1994; 90: 775-8.
- 2) Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, Kutcher MA, Burrows MT, Kahl FR, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation* 1988; 78: 1157-66.
- 3) Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, Lee RT. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res* 1992; 71: 850-8.
- 4) Falk E, Prediman K, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-71.
- 5) Brown G, Albers JJ, Fisher LD, Schaefer SM, Lin JT, Kaplan C, et al. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med* 1990; 323: 1289-98.
- 6) Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, Macfarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1995; 333: 1301-7.
- 7) McConnell MV, Aikawa M, Maier SE, Maier SE, Ganz P, Libby P, Lee RT. MRI of rabbit atherosclerosis in response to dietary cholesterol lowering. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1956-9.
- 8) Potkin BN, Bartorelli AL, Gessert JM, Neville RF, Almagor Y, Roberts WC, et al. Coronary artery imaging with intravascular high-frequency ultrasound. *Circulation* 1990; 81: 1575-85.
- 9) Hallock P. Arterial elasticity in man in relation to age as evaluated by the pulse wave velocity method. *Arch Int Med* 1934; 54: 770-98.
- 10) Peterson RH, Jensen RE, Parnell R. Mechanical properties of arteries *in vivo*. *Circ Res* 1960; 8: 622-39.
- 11) Hansen F, Mangell P, Sonesson B, Länne T. Diameter and compliance in the human common carotid artery—variations with age and sex. *Ultrasound Med*

- Biol 1995; 21: 1-9.
- 12) Kanai H, Sato M, Koiwa Y, Chubachi N. Transcutaneous measurement and spectrum analysis of heart wall vibrations. IEEE Trans on UFFC 1996; 43: 791-810.
 - 13) Kanai H, Hasegawa H, Chubachi N, Koiwa Y, Tanaka M. Noninvasive evaluation of local myocardial thickening and its color-coded imaging. IEEE Trans on UFFC 1997; 44: 752-68.
 - 14) Kanai H, Hasegawa H, Ichiki M, Tezuka F, Koiwa Y. Elasticity imaging of atheroma with transcutaneous ultrasound—Preliminary Study—. Circulation 2003; 107: 3018-20.
 - 15) Kanai H, Sugimura K, Koiwa Y, Tsukahara Y. Accuracy evaluation in ultrasonic-based measurement of microscopic change in thickness. Electronics Letters 1999; 35: 949-50.
 - 16) Kanai H, Koiwa Y. Myocardial rapid velocity distribution. Ultrasound Med Biol 2001; 27: 481-98.
 - 17) Kanai H, Koiwa Y, Zhang J. Real-time measurements of local myocardium motion and arterial wall thickening. IEEE Trans on UFFC 1999; 46: 1229-41.
 - 18) 長谷川英之, 金井 浩, 星宮 望, 小岩喜郎. 不均一な壁厚を有する管の局所弾性率の計測法. 超音波医学 2001; 28: J3-13.
 - 19) Patel DJ, Janicki JS, Vaishnav RN, Young JT. Dynamic anisotropic viscoelastic properties of the aorta in living dogs. Circ Res 1973; 32: 93-107.
 - 20) Lee RT, Grodzinsky AJ, Frank EH, Kamm RD, Schoen FJ. Structure-dependent dynamic mechanical behavior of fibrous caps from human atherosclerotic plaques. Circulation 1991; 83: 1764-70.
-