

病的心筋組織における超音波組織性状の基礎的検討

Ultrasonic Tissue Characterization of Diseased Myocardium by Scanning Acoustic Microscopy

西條 芳文
佐々木英彦
永沼 徹
田中 元直

Yoshifumi SAIJO
Hidehiko SASAKI
Toru NAGANUMA
Motono TANAKA

Abstract

Ultrasonic tissue characterization of the myocardium has become very important because the requirement for evaluating local cardiac function has increased. In the present study, the acoustic properties of the tissue elements in myocardial infarction were measured by a specially developed scanning acoustic microscope (SAM) system, and the echo intensity of the infarcted myocardium was assessed.

Ten samples of infarcted myocardium obtained at autopsy were formalin-fixed, paraffin-embedded and cut into 10 μm thick slices. The SAM system was operated in the frequency range of 100 to 200 MHz. The values of the attenuation constant and sound speed were measured in five tissue elements, normal myocardium, degenerated myocardium, fibrosis, granulation, and hemorrhage by comparing the optical microscopic image and acoustic images. The density of each tissue element was measured by the CuSO_4 method, and the specific acoustic impedance was calculated by multiplying the sound speed and the density of each tissue element. The specific acoustic impedance was $1.75 \times 10^6 \text{ Ns/m}^3$ in normal myocardium, $1.69 \times 10^6 \text{ Ns/m}^3$ in degenerated myocardium, and $1.85 \times 10^6 \text{ Ns/m}^3$ in fibrosis.

The intensity of the reflected ultrasound at the interface between two different tissue elements was calculated by the difference of specific acoustic impedance. Using the sensitivity changing method in clinical echocardiography, the intensity of myocardial scar was -15 dB compared to the pericardial echo. The corrected ideal ultrasonic reflection between degenerated myocardium and fibrosis was calculated as -15.4 dB . The results suggest that measurement of acoustic properties is very important to provide basic data for ultrasonic characterization of myocardium tissue.

Key Words

ultrasonic diagnosis, myocardium, myocardial infarction (acute), tissue characterization

はじめに

近年、経皮的冠動脈形成術 (percutaneous transluminal coronary angioplasty: PTCA) などの coronary intervention の発展と冠動脈バイパス手術の手術成績の向上により、虚血性心疾患に対する治療は大きく進歩を遂げている。このため、治療方針の決定や予後の診断は重要性を増してきており、局所異常心筋の病変性状の正確な評価が必要とされている。

心筋機能の評価方法の中で超音波を用いた方法は、心臓の挙動に影響を与えず、非侵襲的に繰り返し施行することができるため最も優れていると考えられる。現状においても超音波診断法として、Bモード、Mモード法による左室収縮性の評価や血流のドップラー信号を利用したドップラー法など、臨床心臓病診断の基本的な手段として広く用いられている¹⁻³⁾。

しかし、これらの方法では構造のマクロ的形態とその心拍動中の変動などについては詳細な解析が可能で

東北大学加齢医学研究所 病態計測制御分野：〒980 仙台市青葉区星稜町 4-1

Department of Medical Engineering and Cardiology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai

Address for reprints: SAJO Y, MD, Department of Medical Engineering and Cardiology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Seiryō-machi 4-1, Aoba-ku, Sendai 980

Received for publication May 10, 1994; accepted November 7, 1994

Table 1 Profiles of patients with myocardial infarction

No.	Age (yrs)	Gender	Lesion	Time course	Appendix
1	53	F	RCA	3 days	
2	71	M	RCA	6 days	
3	77	M	LAD	20 days	
4	72	F	LAD	48 hrs	OMI
5	65	F	LAD	48 hrs	OMI
6	62	M	LAD	12 hrs	LV rupture
7	54	M	LAD	10 hrs	LV rupture
8	49	M	RCA	40 hrs	
9	71	M	LAD	18 days	
10	77	M	LAD	20 days	

F=female; M=male; RCA=right coronary artery; LAD=left anterior descending artery; OMI=old myocardial infarction; LV=left ventricle

あるが、組織の構造変化あるいは組織病変性状の定量的評価は困難である。

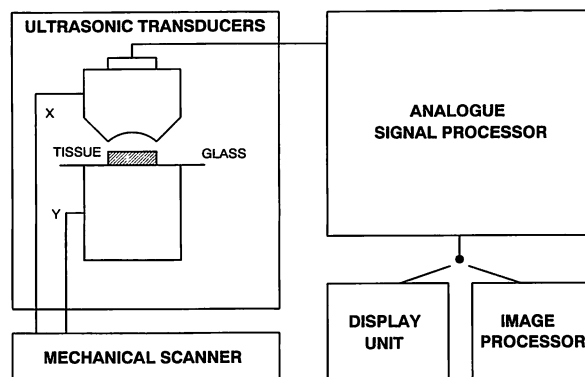
一方、超音波心筋組織性状診断によると、従来の心エコー図法では得られない情報が検出されることが明らかにされてきている⁴⁻⁸⁾。

本研究の目的の一つは、使用周波数 100–200 MHz、解像度約 5 μm の超音波顕微鏡を用いて、心筋梗塞の組織要素別の超音波の減衰定数と音速をマイクロレベルで計測し、心筋組織の構造変化と組織音響特性との関連性を解明することである。さらにもう一つの目的は、音速と密度の積より組織要素別の固有音響インピーダンスを算出し、各組織要素間での超音波の反射強度のシミュレーション値を算出することである。さらにこの計算値をエコー感度を变化させてエコー強度の相対値を計測する感度断層法によって得られたデータと比較検討することで、組織音響特性計測の有用性を示すことである。

方 法

対象は 1984–1990 年に東北大学医学部附属病院病理部において剖検された急性心筋梗塞患者 10 例の心筋組織である。その臨床的なプロフィールを **Table 1** に示す。

心筋組織をホルマリン固定、パラフィン包埋後、10 μm に薄切し、未染のままスライドガラス上に載せて、超音波顕微鏡用試料を作成した。この試料に対し超音波顕微鏡による計測の直前に脱パラフィン処理を施し計測を行った。隣接して切り出した切片には Elastica-

**Fig. 1** Block diagram of the scanning acoustic microscope system

Masson 染色を施し、対照用の光学顕微鏡用試料も作成した。

Fig. 1 は超音波顕微鏡システムの概要を示す⁹⁻¹¹⁾。使用超音波周波数は 100–200 MHz で、トランスデューサーに音響レンズを装着することで、方位分解能を約 5 μm としている。音響カプラーとして 20–22°C の脱気水を用い、組織表面からの反射波と、組織中を透過後、スライドガラスとの境界面で反射し、再び組織中を透過した超音波とを検出する透過反射法によって計測を行った。x 方向にトランスデューサーを振動させ、y 方向に試料保持台を走査することで、2×2 mm の範囲の超音波の減衰と音速の 2 次元分布の表示が可能である。

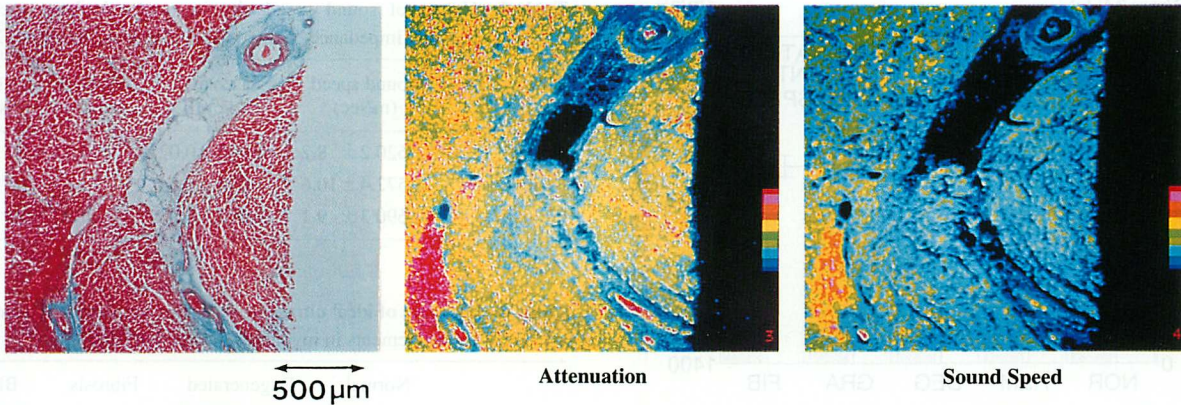
超音波顕微鏡像 1 画面中に、5 種類の組織要素につき 1 か所ずつ 200 μm 四方の正方形の関心領域を設定し、関心領域中の超音波の減衰定数、音速値の平均値を算出した。1 症例につき超音波顕微鏡像を 1 画面ずつ描出し、計 10 画面中における 5 種類の組織要素の減衰定数と音速値の平均値と標準偏差を算出した。

一般に、超音波と物理的性質の関係を検討するさいに、生体組織は液体として近似され、その固有音響インピーダンスは次式で表される。

$$Z = \rho c \quad (1)$$

Z: 固有音響インピーダンス, ρ : 組織の密度, c: 組織内の音速

また異なる固有音響インピーダンスを有する 2 つの媒質 a, b の間での超音波の反射強度は、理論上、次式で表現される。



OPTICAL IMAGE **ACOUSTIC IMAGES**
Fig. 2 Optical microscopic image (×40, Elastica-Masson's trichrome stain) and acoustic images (left: attenuation constant, right: sound speed) of acute myocardial infarction tissue

The hemorrhagic lesion appears red in the attenuation image and yellow or magenta in the sound speed image. The values of attenuation constant and sound speed are represented by color coded scales (Table 2).

$$dB = 10 \log \frac{(Z_a - Z_b)^2}{(Z_a + Z_b)^2} \quad (2)$$

dB: 反射超音波強度, Z_a : 物質 a の固有音響インピーダンス, Z_b : 物質 b の固有音響インピーダンス

これらの式を用いてエコー強度の理論値を計算するためには、各組織要素の密度の計測が必要である。このため本研究では、肉眼的に組織が判別可能なさいに組織を約 5 mm³ 採取し、硫酸銅法により組織要素の密度を測定した。

結 果

本研究では、心筋梗塞組織を光学顕微鏡で以下の定義のごとく分類した。

- 1) 正常心筋：横紋が保たれ光学顕微鏡的にはほぼ正常と考えられる心筋
- 2) 出血性梗塞巣：心筋梗塞早期の出血巣
- 3) 変性心筋：細胞内の横紋構造が消失し無構造化した心筋
- 4) 肉芽組織：変性心筋を処理するためにマクロファージなどの組織球が出現してきた組織
- 5) 線維化組織：濃染したコラーゲン主体の線維化組織の5種類の組織要素について、その音響特性を計測した¹²⁾。

なお壊死組織は本来独立して分類されるべきものであるが、本研究では症例数が十分ではなく変性心筋として分類した。

Table 2 Relationship between color coded scale and values of attenuation constant and sound speed

Attenuation constant (dB/mm/MHz)	Color	Sound speed (m/sec)
1.9~	Red	1,690~
1.7~1.9	Magenta	1,670~1,690
1.5~1.7	Orange	1,650~1,670
1.3~1.5	Brown	1,630~1,650
1.1~1.3	Yellow	1,610~1,630
0.9~1.1	Green	1,590~1,610
0.7~0.9	Olive green	1,570~1,590
0.5~0.7	Cyan	1,550~1,570
0.3~0.5	Royal blue	1,530~1,550
0.1~0.3	Blue	1,510~1,530
~0.1	Black	~1,510

Fig. 2 は左から順に心筋梗塞組織の光学顕微鏡像(×40)、超音波顕微鏡による減衰定数の2次元分布像、音速値の2次元分布像を示す。超音波顕微鏡像において、超音波の減衰定数、音速は **Table 2** に示されるカラースケールによって定量的に表示されている。本症例では急性心筋梗塞の比較的早期における出血性梗塞巣が描出されている。光学顕微鏡像で画面左下に出血巣が認められるが、同部位は減衰定数像では赤で、音速像では黄色からオレンジ色で示されており、減衰定数は 1.9 dB/mm/MHz、音速は 1,650 m/sec 程度と読み取ることができる。

Fig. 3 は計測結果の平均値と標準偏差をグラフ表示

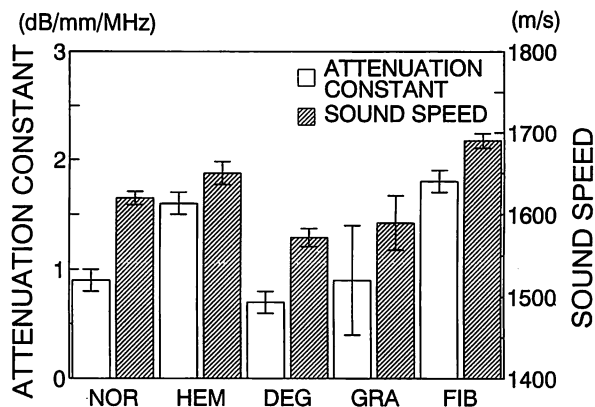


Fig. 3 Graph showing the mean and standard deviation of attenuation constant and sound speed in five tissue elements of acute myocardial infarction

NOR=normal myocardium; HEM=hemorrhagic lesion; DEG=degenerated myocardium; GRA=granulation; FIB=fibrosis

したものである。正常心筋では減衰定数が 0.9 ± 0.1 dB/mm/MHz、音速が $1,620 \pm 8$ m/sec、出血性梗塞巣ではそれぞれ 1.6 ± 0.1 dB/mm/MHz, $1,650 \pm 14$ m/sec、変性心筋ではそれぞれ 0.7 ± 0.1 dB/mm/MHz, $1,572 \pm 11$ m/sec、肉芽組織ではそれぞれ 0.9 ± 0.5 dB/mm/MHz, $1,590 \pm 33$ m/sec、線維化組織ではそれぞれ 1.8 ± 0.1 dB/mm/MHz, $1,690 \pm 9$ m/sec の値を示した。

正常心筋、変性心筋、線維化組織は、組織が肉眼的に判別可能であったので、硫酸銅法によって密度を計測した。Table 3 に示すごとく、正常心筋の密度は、 1.080 ± 0.02 g/cm³、変性心筋は、 1.074 ± 0.04 g/cm³、線維化組織は 1.092 ± 0.02 g/cm³ の値を示した。

(1)式より得られる正常心筋の固有音響インピーダンスは、Table 3 に示すごとく 1.75×10^6 Ns/m³ で、変性心筋、線維化組織ではそれぞれ 1.69×10^6 Ns/m³, 1.85×10^6 Ns/m³ の値を示した。

肉芽組織、出血性梗塞巣については、十分な量の組織が採取できず、密度は計測できなかつたため、これら2種類の組織に関しては固有音響インピーダンスは算出できなかった。

また本研究において、計測した5つの組織要素の大きさを光学顕微鏡像の断面積から測定すると、最も小さな出血性梗塞巣では約 0.1×0.1 mm、肉芽組織では約 0.5×0.5 mm であったが、線維化組織では約 $0.2-1 \times 0.5-5$ mm、変性心筋では約 $0.5-20 \times 10-20$ mm であった。

Table 3 Values of sound speed, density, and calculated specific acoustic impedance of three tissue elements (mean ± SD)

Tissue type	Sound speed (m/sec)	Density (g/cm ³)	Specific acoustic impedance (Ns/m ³)
Normal	$1,620.2 \pm 8.2$	1.082 ± 0.02	1.75×10^6
Degenerated	$1,572.4 \pm 10.6$	1.074 ± 0.04	1.69×10^6
Fibrosis	$1,690.3 \pm 9.1$	1.092 ± 0.02	1.85×10^6

Table 4 Intensity of ideal ultrasonic reflection between two different tissue elements in myocardial infarction (dB)

	Normal	Degenerated	Fibrosis	Blood
Normal	*	-35.2	-31.1	-30.6
Degenerated	-35.2	*	-26.0	-38.4
Fibrosis	-31.1	-26.0	*	-24.9
Blood	-30.6	-38.4	-24.9	*

Table 5 Corrected echo intensity between two different tissue elements in myocardial infarction (dB)

	Normal	Degenerated	Fibrosis	Blood
Normal	*	-24.6	-20.5	-20.0
Degenerated	-24.6	*	-15.4	-27.8
Fibrosis	-20.5	-15.4	*	-14.3
Blood	-20.0	-27.8	-14.3	*

考 察

(2)式により、超音波の反射強度は各組織要素の音響インピーダンスの差から計算できることを示したが、この式は2つの物質の接する面が、超音波のビーム幅に比較して十分に大きい時に適用可能である。肉芽組織、出血性梗塞巣の2種類の組織は大きさが約 1 mm^3 程度で、臨床超音波診断において用いている 3.5 MHz の超音波のビーム幅と同程度の大きさであるため、常に(2)式を適応できる反射が生じるわけではない。したがって、反射超音波強度を音速値の差から算出することも考慮したが、これら2種類の組織については本研究における超音波の反射強度の検討から除外した。

音響インピーダンスを計測した正常心筋、変性心筋、線維化組織の3種類の組織要素、さらに心腔内の血液も含めた4種類の組織の境界面で発生する反射超音波の強さはTable 4 に示すとおりである。すなわち線維化組織と血液との間の反射強度が -24.9 dB と最強になり、次いで変性心筋と線維化組織の間の -26.0 dB 、正常心筋と血液の間の -30.6 dB の順に強い反射強

度が生じることが計算された。また変性心筋と血液の間では、 -38.4 dB と今回計算した組み合わせのうちで最も弱い反射強度となることが示された。

これらの計算結果の値は、組織間における超音波の反射強度で、臨床的な経胸壁心エコーにおけるエコー強度とは異なるものである。したがって、今回の計算結果を臨床超音波組織性状診断に用いるさいには、心臓周囲の組織や胸壁による超音波の減衰の影響を除去する必要がある。

われわれは、感度断層法を用いて、臨床超音波診断におけるエコー強度と組織所見についての相関について発表している¹³⁻¹⁵⁾。感度断層法とは、経胸壁心エコーにおいて心外膜のエコー強度を 0 dB としたさいの各種組織の相対的なエコー強度を求め、超音波組織性状診断を行う方法である。感度断層法において、正常心内膜のエコー強度は -20 — -25 dB、石灰化僧帽弁のエコー強度は -5 — -10 dB、心筋梗塞瘢痕組織のエコー強度は -10 — -15 dB の値を示すことがすでに報告されている。

本研究では正常心筋と血液との間の超音波の反射強度は -30.6 dB と計算されたが、これを感度断層法における正常心内膜のエコー強度の -20 dB に換算することにより、今回の検討結果は感度断層法を用いた臨床データと同次元で検討できるものと考えられた。

Table 5 は、今回の検討結果を感度断層法の結果に換算したものである。すなわち線維化組織と血液の間のエコー強度が最強となり、 -14.3 dB となることが示された。また変性心筋と線維化組織の間のエコー強度は -15.4 dB となり、心筋内部のエコーとしては最も強いものとなることが示されたが、この値は感度断層法における心筋梗塞瘢痕組織のエコー強度 -15 dB とほぼ一致した。

心筋梗塞組織の病理学的な構築を考慮したさい、線維化組織は変性心筋と隣接して存在することが多いものと考えられる。これまで心筋梗塞瘢痕組織のエコー強度が高値を示すのは、線維化組織にはコラーゲンが含まれ、その固有音響インピーダンスが高値を示すためとされていた¹⁶⁾。しかし今回の検討において、正常心筋と線維化組織の間のエコー強度は -20.5 dB で正常心内膜とほぼ同値となり、線維化組織単独ではエコー強度は高値とならないことが示された。今回の検討により、心筋梗塞瘢痕組織のエコー強度が高値を示すのは、線維化組織と変性心筋の間の音響インピーダンスの差が大きくなるためであると考えられた。

急性心筋梗塞の超音波診断のさい、梗塞範囲の同定は、エコー強度の検討のみでは容易ではない。これは正常心筋と変性心筋との間のエコー強度が -24.6 dB と比較的low値で、正常心筋内エコーとの鑑別が臨床超音波診断上、困難であるためと考えられた。一方、心内膜下梗塞のさいに心内膜が高エコーを示すことはしばしば経験されるが、これは線維化組織と血液との間のエコー強度が -14.3 dB と高値を示すためと考えられた。

結 論

超音波顕微鏡を用いて心筋梗塞組織要素別の音響特性を計測し、それぞれの組織要素の音速と密度の積から固有音響インピーダンスを算出した。組織要素間の音響インピーダンスの差から反射超音波強度を計算し、感度断層法におけるエコー強度との関係について検討した。本研究により、マイクロレベルでの組織音響特性の計測が、臨床心エコーにおける超音波組織性状診断に大きく寄与することが示された。

要 約

超音波心筋組織性状の解析により従来の心エコー図法では得られない情報が得られることが報告され、本領域の研究の重要性が期待されている。本研究では、超音波顕微鏡を用いて心筋組織の組織要素別音響特性を計測し、得られたデータから心筋組織のエコー強度について検討したので報告する。

対象は心筋梗塞 10 例である。剖検心筋組織をホルマリン固定、パラフィン包埋後、 $10\ \mu\text{m}$ に薄切し、超音波顕微鏡用試料とした。超音波顕微鏡の使用周波数は 100 — 200 MHz で、超音波顕微鏡像と光学顕微鏡像を比較検討しながら、正常心筋、変性心筋、線維化組織、出血性梗塞巣、肉芽組織などについて、超音波の減衰定数、音速値を計測した。さらに硫酸銅法により各種組

織の比重を計測し、音速と比重の積から固有音響インピーダンスの値を算出した。

正常心筋の固有音響インピーダンスは $1.75 \times 10^6 \text{ Ns/m}^3$ で、変性心筋、線維化組織ではそれぞれ $1.69 \times 10^6 \text{ Ns/m}^3$, $1.85 \times 10^6 \text{ Ns/m}^3$ の値を示した。

異なる2つの物質の境界面で発生する超音波の反射強度は、物質間の音響インピーダンスの差によって規定される。当研究部門ではエコー感度を変化させてエコー輝度の相対値を計測する感度断層法により、心筋梗塞瘢痕組織は、心外膜を 0 dB としたとき、-15 dB のエコー輝度を示すことを報告したが、本研究でも、変性心筋と線維化組織との間で発生するエコー輝度は -15.4 dB と計算され、臨床データと本研究による計算値はほぼ一致した。

ミクロレベルでの音響特性の計測は臨床的な組織性状解析の基礎的データとして重要であると考えられた。

J Cardiol 1995; 25: 127-132

文 献

- 1) Moinihan PF, Parisi AF, Feldman CL : Quantitative detection of regional left ventricular contraction abnormalities by two-dimensional echocardiography : I. Analysis of methods. *Circulation* 1980; **63** : 752-760
- 2) Parisi AF, Moinihan PF, Folland ED, Feldman CL : Quantitative detection of regional left ventricular contraction abnormalities by two-dimensional echocardiography : II. Accuracy in coronary artery disease. *Circulation* 1980; **63** : 761-767
- 3) Hikichi H, Tanaka M : Detection of left ventricular asynergy in myocardial infarction by means of ultrasono-cardiotomography and M-mode echocardiography. *Jpn Heart J* 1981; **22** : 299-312
- 4) Mimbs JW, Yuhas DE, Bauwens D, Miller JG, Sobel BE : Detection of myocardial infarction in vitro based on altered attenuation of ultrasound. *Circ Res* 1977; **41** : 192-198
- 5) Miller JG, Perez JE, Sobel BE : Ultrasonic characterization of myocardium. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; **28** : 85-110
- 6) Milunski MR, Mohr GA, Perez JE, Vered Z, Wear K, Gessler CJ, Sobel BE, Miller JG, Wickline SA : Ultrasonic tissue characterization with integrated backscatter: Acute myocardial ischemia, reperfusion, and stunned myocardium in patients. *Circulation* 1989; **80** : 491-503
- 7) Scorton DJ, Melton HE, Pandian NG, Nichols J, Koyanagi S, Marcus ML, Collins SM, Kerber RE : Detection of acute myocardial infarction in closed-chest dogs by analysis of regional two-dimensional echocardiographic gray-level distributions. *Circ Res* 1983; **52** : 36-44
- 8) Parisi AF, Nieminen M, O'Boyle JE, Moynihan PF, Khuri SF, Kloner RA, Folland ED, Schoen FJ : Enhanced detection of the evolution of tissue changes after acute myocardial infarction using color-encoded two-dimensional echocardiography. *Circulation* 1982; **66** : 764-770
- 9) Okawai H, Tanaka M, Chubachi N, Kushibiki J : Non-contact simultaneous measurement of thickness and acoustic properties of a biological tissue using focused wave in a scanning acoustic microscope. *Jpn J Appl Phys* 1987; **26** : 52-54
- 10) Okawai H, Tanaka M, Dunn F, Chubachi N, Honda K : Qualitative display of acoustic properties of the biological tissue elements. *Acoustical Imaging* 1988; **17** : 193-201
- 11) Saijo Y, Tanaka M, Okawai H, Dunn F : The ultrasonic properties of gastric cancer tissues obtained with a scanning acoustic microscope system. *Ultrasound Med Biol* 1991; **17** : 709-714
- 12) Fishbein MC, MacLean D, Maroko PR : The histopathologic evaluation of myocardial infarction. *Chest* 1978; **73** : 843-849
- 13) Tanaka M, Terasawa Y, Hikichi H : Qualitative evaluation of the heart tissue by ultrasound. *J Cardiol* 1977; **7** : 515-530 (in Japanese)
- 14) Hikichi H, Tanaka M : Ultrasono-cardiotomographic evaluation of histological changes in myocardial infarction. *Jpn Heart J* 1981; **22** : 287-298
- 15) Tanaka M, Nitta S, Nitta K, Sogo Y, Yamamoto A, Katahira Y, Sato N, Okawai H, Tezuka F : Non-invasive estimation by cross sectional echocardiography of myocardial damage in cardiomyopathy. *Br Heart J* 1985; **53** : 137-152
- 16) Mimbs JW, O'Donnell M, Bauwens D, Miller JW, Sobel BE : The dependence of ultrasonic attenuation and backscatter on collagen content in dog and rabbit hearts. *Circ Res* 1980; **47** : 49-58