

# 超音波変調による生体のスペックル光計測

日 坂 真 樹

## Ultrasound-Modulated Optical Speckle Measurement for Biological Tissues

Masaki HISAKA

Coaxial reflective ultrasound-modulated optical tomography with parallel speckle detection has been developed in order to investigate a biological tissue sample. By using stroboscopic illumination methods, ultrasound-modulated optical signals are obtained by detecting backscattered light with a charge-coupled device camera. Some tendinous fibers and a stained section of the tissue with the same acoustic impedance as the unstained tissue are visualized as ultrasound-modulated optical signals. Analysis of the characteristic backscattered light, optical absorptive and scattering dependence, and wavelength dependence were also discussed.

**Key words:** biomedical optics, ultrasound modulation, speckle pattern, biological tissues

皮下数 cm 以上の組織深部の光学的情報を 0.1 mm の空間分解能で光計測できれば、初期病巣の早期発見や発病の予知を実現できる可能性があり、新しい無侵襲医療診断装置として期待される。しかしながら、光は生体組織によって多重散乱されるので組織深部を高い空間分解能で光計測することは困難である。そこで、われわれは、光と超音波の相互作用を利用した光計測法のひとつとして、超音波で変調した生体情報を光プローブで読み出す超音波変調光計測<sup>1-15)</sup>の研究を進めてきた。この論文では、われわれが開発してきた同軸型超音波変調スペックル光計測法<sup>9-14)</sup>の基本原則、装置構成、生体計測結果、システム特性について解説する。

### 1. 超音波変調光計測

#### 1.1 計測原理

生体組織の超音波変調光計測の原理を図 1 に示す。光を生体組織に照射すると組織細胞によって多重散乱され、光は組織内で拡散する。そのため、光を組織深部の局所位置に集光照射できないので、観察画像の空間分解能は著しく低下する。そこで、この空間分解能を向上させるために、

光と同時に超音波を照射する。超音波周波数が数 MHz 程度であれば、超音波波長は組織細胞の大きさに比べて十分に長く、超音波は生体組織によってほとんど散乱されることがなく伝搬する。この特性を利用すれば、生体組織内において、超音波をその波長程度の領域にまで収束させることができる。このとき、光は物質を介して超音波と相互作用し、その大きさは超音波強度に依存する。したがって、計測において収束超音波を用いれば、超音波収束領域において強く相互作用するので、面内方向の空間分解能は収束超音波の焦点で決まる。さらに、パルス状の超音波を用いれば、深さ方向の空間分解能は超音波のパルス幅で決まる。光と超音波の相互作用で生じる超音波変調光を利用することで、生体組織深部の生体情報を高い空間分解能で計測できる。

超音波変調光は、超音波の粗密運動による物質の密度変化や散乱粒子の位置変化によって生じる。この相互作用の原理は Wang<sup>15)</sup> によって提唱されており、図 2 に示すような、(a) 物質の屈折率や吸収係数変化に伴う光学特性変化、(b) 光散乱粒子の位置変化による粒子間の距離変化に伴う光学的位相変化、(c) 物質の屈折率変化に伴う光学的

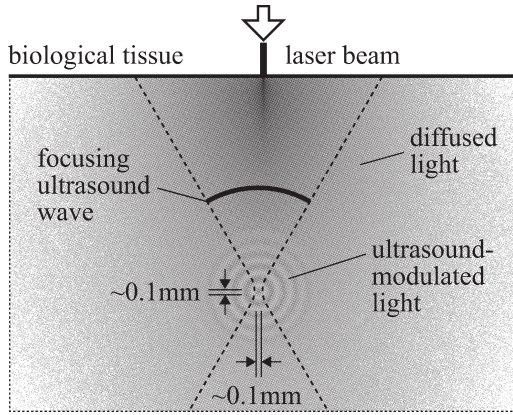


図1 超音波変調光計測.

位相変化, の3つの原理で説明される. これらの相互作用を介することから, 超音波変調光には物質の光学特性に応じた信号が含まれると期待できる.

### 1.2 超音波変調スペックル光計測

試料内部からの散乱光には, 超音波の影響を受けていないバックグラウンド光と超音波の影響を受けた超音波変調光とが含まれる. この超音波変調光は試料内の局所領域から発生しているので, バックグラウンド光に比べると含まれる量がきわめて少ない. われわれの計測では, 超音波変調光に対して蛍光などの波長変換作用<sup>9)</sup>を利用してないので, この超音波変調光を高効率かつ高信号雑音比(SNR)に計測する必要がある. そこでここでは, 組織からの散乱光が形成するスペックルパターンを利用する. 超音波が誘起する局所的な光散乱変化はスペックルパターンに影響を与えるので, 超音波パルスの伝搬に伴うスペックルパターン変化を計測することで超音波変調された光信号を抽出できる.

このスペックルパターン変化を高効率かつ高SNRで光検出するために, CCDカメラによるスペックル光計測を行う. 一般的なCCDカメラでは高速に変化する超音波に

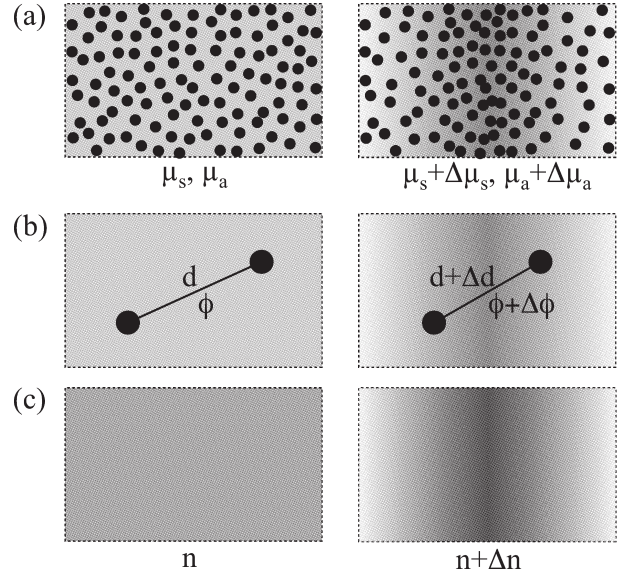


図2 光散乱体内部における光と超音波の相互作用.

追従できないので, 超音波変調されたスペックルパターンを実時間で観察できない. そこで, 図3に示すような超音波パルスとパルス光とを同期照射するストロボ照射法を用いる. 等速度  $v$  で試料内部を伝搬する超音波パルスが試料表面位置から  $\tau$  秒後の位置に存在するときに, 露光状態のCCDカメラに対してパルス光を照射すると,  $z = v\tau$  におけるスペックルパターン  $A_{z(\tau)}$  を撮影できる. 超音波パルスに対するパルス光の照射タイミングを調節することで, 一連のスペックルパターンから超音波変調光信号を抽出できる.

## 2. 同軸反射型超音波変調スペックル光計測<sup>10,13)</sup>

### 2.1 実験光学系

同軸反射型超音波変調スペックル光計測の実験光学系を図4に示す. このシステムは半導体レーザー, 超音波発生器, CCDカメラ, パルス・遅延発生器, 増幅器, 開口付きミラー, コンピューターで構成される. パルス発生器か

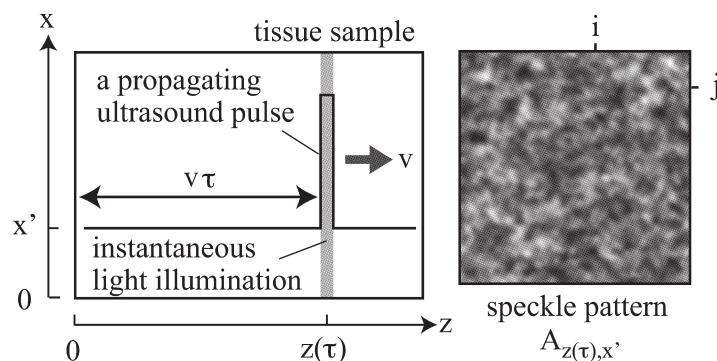


図3 超音波変調光計測におけるストロボ照射法.

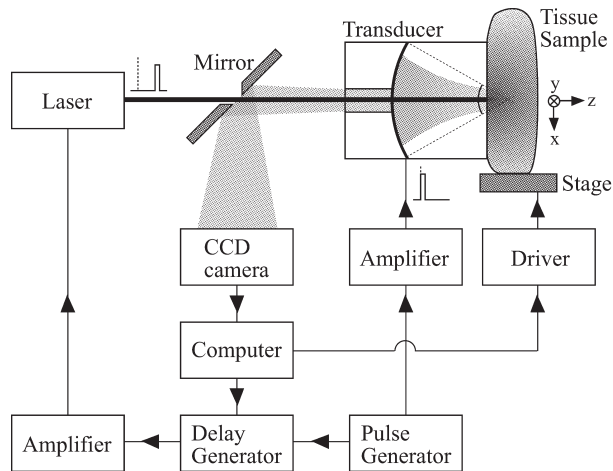


図4 実験光学系.

らのパルス幅 250 ns のパルス信号を超音波発生器に印加し、収束超音波パルスを発生させる。これと同時に、時間遅延させたパルス幅 250 ns、波長 650 nm の半導体レーザー光を超音波発生器の後方から照射した。試料内部からの反射散乱光を超音波発生器の中央部に設けた開口部分から後方に透過させ、その光を開口付きミラーで反射させて 1280×1024 pixels の冷却デジタル CCD カメラで撮影した。試料内部からの微弱な反射散乱光の光量と超音波変調光の信号雑音比を向上させるために、露光時間 0.5 s の間に  $3 \times 10^3$  回多重露光している。

## 2.2 超音波発生器と生体組織試料

図 5 (a) は、ダンパー、圧電セラミックス、透明カップラーで構成された超音波発生器の側面図である。超音波発生器には、中心に直径 5.0 mm の円形状の開口を有する直径 25.0 mm、曲率半径 25.0 mm の凹面形状圧電セラミックスを用いた。その前面に長さ 17.5 mm のカップラーを取り付けており、組織試料表面から 5 mm の位置に超音波を収束させている。カップラーの音響インピーダンス  $Z_s$  は  $1.0 \times 10^6$  kg/m<sup>2</sup>s であり、その内部での超音波速度  $v_s$  は  $1.0 \times 10^3$  m/s である。超音波収束点における音場はおよそ  $6.5 \times 10^5$  Pa である。

生体組織試料には、図 5 (b) に示す鶏の胸肉片を使用した。試料は主として薄ピンク色の筋肉繊維で構成され、その内部に複数の白色の腱  $O_f$  が貫通している。それぞれの音響インピーダンスおよび光散乱係数、光吸収係数は異なる。この試料の深さおよそ  $z=5$  mm の位置にビクトリアブルー溶液を注入し、組織内部に局所的な光吸収分布  $O_s$  を形成した。染色組織の光散乱係数は  $4.6$  mm<sup>-1</sup>、光吸収係数は  $1.4$  mm<sup>-1</sup> であり、また、組織の平均音響インピーダンス  $Z_0$  は  $1.5 \times 10^6$  kg/m<sup>2</sup>s であり、試料内での音速  $v_0$

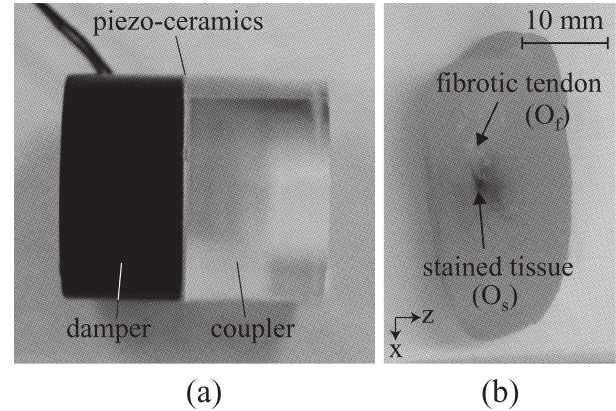


図5 (a) 超音波発生器, (b) 生体組織試料.

は  $1.5 \times 10^3$  m/s である。

## 2.3 スペックルパターンの画像撮影とデータ処理

CCD カメラによる撮影画像には、超音波変調光、バックグラウンド光、CCD カメラの熱雑音が含まれる。バックグラウンド光と熱雑音の時間平均は同様であるとみなせるので、超音波と光の相互作用による超音波変調光信号は次の  $S_{m,n}$  で抽出できる。

$$S_{m,n} = \frac{\sum_D |A_{m,n,i,j} - A_{0,n,i,j}|}{\sum_D |A_{1,n,i,j} - A_{0,n,i,j}|}$$

ここで、 $A_{m,n,i,j}$  は  $x = m\Delta x$  ( $m$  整数,  $\Delta x = 0.1$  mm),  $z = n\Delta z$  ( $n$  整数,  $\Delta z = 0.1$  mm) における撮影画像の ( $i, j$ ) 画素値,  $D$  は積算画素領域である。 $S_{m,n}$  は試料表面を基準としたスペックルパターンのスペックルグレイン変化 (ミクロ的変化) と光強度変化 (マクロ的変化) を数値化し、超音波パルスによる局所的な光散乱変化を反映する。面内方向の超音波変調光信号は、各  $x$  位置において  $z = 0.0, 0.1, n\Delta z$  の 3 枚の画像から  $S_{m,n}$  を撮影し、 $x = m\Delta x$  間隔で試料を一次元走査することで得る。

## 2.4 生体組織の超音波変調光信号

図 6 (a) は、 $z = 5.0$  mm での面内分布  $S_x$  である。積算画素領域  $D$  は CCD 画素全域である。 $x = -3.5$  mm と  $x = 0.8$  mm において、周囲と比べて大きな振幅変化が観察された。 $x = -3.5$  mm の変化は白色繊維  $O_f$  による変化であり、超音波の回折や反射により生じた信号である。信号変化の半値全幅を見積もると  $\Delta x = 0.3$  mm であり、サブミリメートルの空間分解能での観察を実現できている。一方、 $x = 0.8$  mm の変化は染色組織  $O_s$  により生じた信号である。試料境界において音響インピーダンスが整合されているので、光学特性が起因して生じた超音波変調光信号であると考えられる。同様に、信号の半値全幅を見積もる

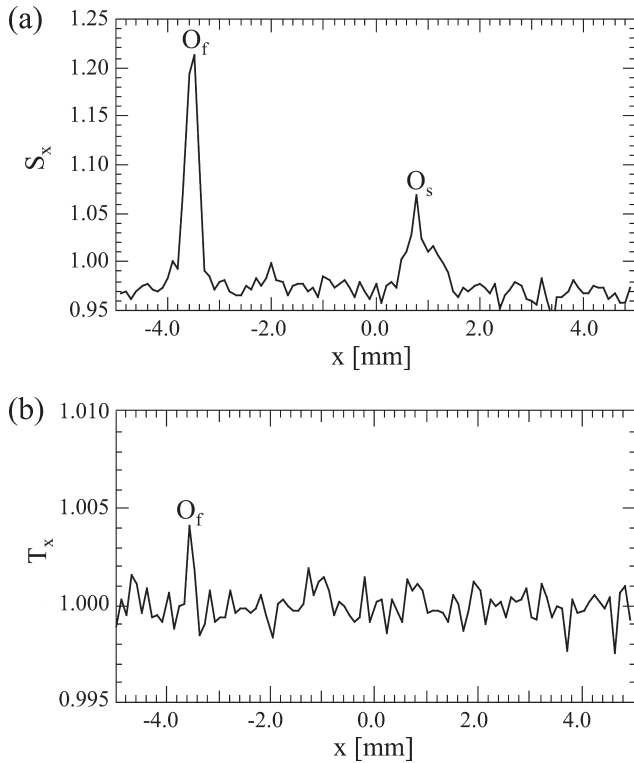


図6 (a) 面内方向の超音波変調光信号, (b) 面内方向の光強度信号.

と  $\Delta x = 0.5 \text{ mm}$  であった.

### 2.5 超音波変調による光強度変化

この超音波変調による光散乱の特性を解析するために、撮影画像の光強度について検討した. 図6 (b) は,  $z = 5.0 \text{ mm}$  における面内方向の光強度分布で, 規格化した全画素値を次の  $T_{m,n}$  で算出される.

$$T_{m,n} = \frac{\sum_D A_{m,n,i,j}}{\sum_D A_{0,n,i,j}}$$

$D$  の領域は CCD 画素全域である. この  $T_{m,n}$  は画像のマクロ的な変化を数値化している. この分布では,  $x = -3.5 \text{ mm}$  の  $O_f$  のみの信号変化が観察され,  $x = 0.8 \text{ mm}$  の  $O_s$  の信号変化は観察されなかった. この結果は,  $O_s$  と  $O_f$  とでは超音波変調による光散乱の影響が異なることを示す.  $O_s$  ではミクロ的变化であるスペckルの変形や強度変化のみであるが,  $O_f$  ではミクロ的变化とともにマクロ的变化である光強度変化が生じている. この光強度変化は, 反射散乱光の平均的な方向が変化することで, 散乱光の一部が超音波発生器の開口で制限されたために生じたと考えられる.

## 3. 信号特性の検討

### 3.1 超音波変調光信号の画素位置依存性

超音波の印加によって光散乱状態が変化するので, 撮影画像の画素に対する超音波変調信号の依存性を検討した. ここでは, CCD の画素値で  $D$  の領域を分類し,  $S_{m,n}$  による超音波変調光信号  $S'_x$  の特性を比較した (図7). 各積算領域 ( $D_a \sim D_c$ ) は  $n=0$  における画素領域を基準とした (図7 (a)). 領域  $D_a$  は CCD カメラの熱雑音より画素値が少し大きい領域であり, この領域は画像内に広く分布する. この領域では, 図7 (b) に示すように  $O_f$ ,  $O_s$  の2つの信号を観察した. この信号を図6 (a) の  $S_x$  と比較すると, SNR が向上していた. 画素値が  $D_a$  よりさらに大きい領域  $D_b$  では  $O_f$  のみ観察され,  $O_s$  は観察されなかった (図7 (c)). さらに,  $D_b$  より画素値が大きい領域  $D_c$  では

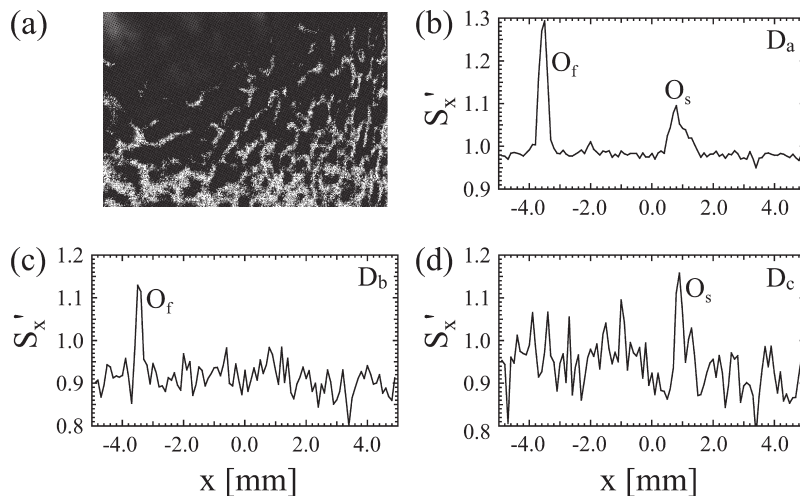


図7 光強度依存性. (a) スペckルパターンにおける積算領域. (b)  $D_a$ , (c)  $D_b$ , (d)  $D_c$  の各積算領域に対する面内方向の超音波変調光信号.

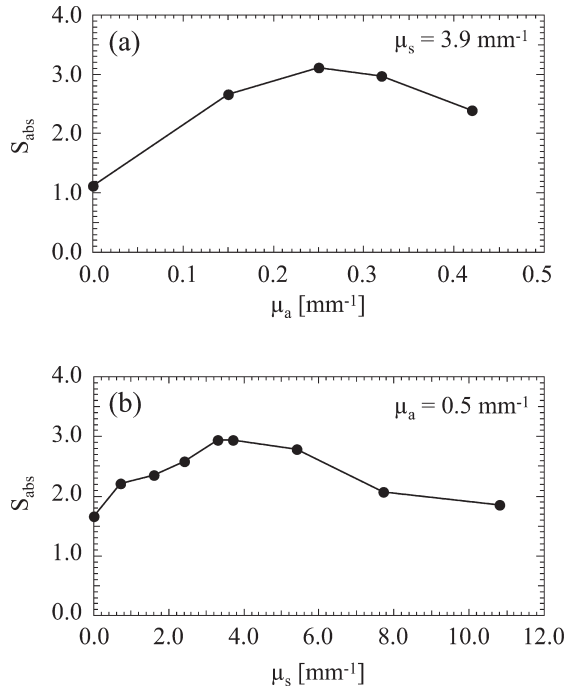


図8 超音波変調光信号の試料特性依存。(a) 光吸収係数依存性, (b) 光散乱係数依存性。

$O_s$  のみの信号を観察した。画素値が大きい領域では、非超音波変調光（バックグラウンド光）に対する超音波変調光の量が相対的に低下するので、SNR が低下したと考えられる。この結果から、積算する画素領域を適切に選ぶことで、SNR の向上や異なる性質をもつ観察対象物を分離計測できると期待される。

### 3.2 吸収係数依存性

超音波変調スペックル光計測における定量計測の可能性を検討するために、光吸収物体の吸収係数に対する依存性を検討した。試料には、シリコンオイルにイントラリビッドを混合させて硬化させた散乱係数  $\mu_s = 3.9$  mm<sup>-1</sup> の光散乱試料（生体模倣試料）を用いた。音響インピーダンスを整合した光散乱性光吸収物体は、試料表面から 5 mm の位置に包埋されている。図 8 (a) が、光吸収物体の  $\mu_a$  に対する超音波変調光信号  $S_{abs}$  の結果である。 $S_{abs}$  は  $\mu_a$  の値に依存して変化しており、吸収性の物体に対する定量計測の可能性が期待できる。

### 3.3 散乱係数依存性

散乱試料の散乱係数に対する超音波変調光信号の依存性を検討した。吸収物体の  $\mu_a$  には 0.5 mm<sup>-1</sup> を用いた。図 8 (b) は、 $\mu_s$  に対する超音波変調光信号  $S_{abs}$  の測定結果である。試料表面から 5 mm 位置の吸収物体ではあるが、 $\mu_s = 10.8$  mm<sup>-1</sup> の散乱試料に対する超音波変調光信号を測定できた。高散乱試料では多重散乱が顕著となり、吸収

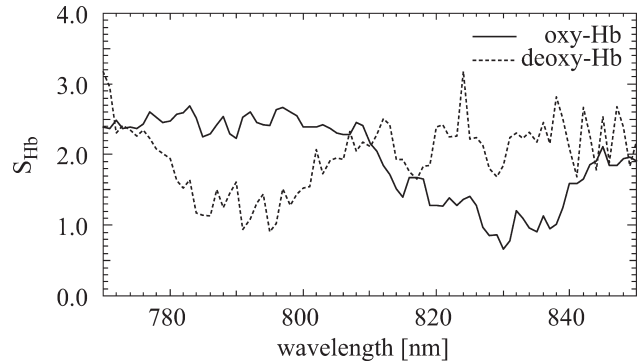


図9 超音波変調光信号の波長依存性。

物体からの反射光への寄与が増す。しかしながら、 $\mu_s$  が大きくなりすぎると、吸収物体への光の到達およびその到達点からの反射光への寄与が低下し、 $S_{abs}$  の値が  $\mu_s$  に対して減少する結果となった。

### 3.4 超音波変調光信号の波長依存性<sup>11)</sup>

超音波変調光計測における分光計測の可能性について検討した。超音波変調分光計測では、広波長帯域のチタンサファイアパルスレーザーを光源とし、超音波変調分光信号を光ファイバー型分光器で計測した。試料には、酸素吸着度によって吸収スペクトルが異なる酸化ヘモグロビン (oxy-Hb) および脱酸化ヘモグロビン (deoxy-Hb) を混合した生体模倣試料を用いた。図 9 は、それぞれの吸収物体に対する超音波変調光信号  $S_{Hb}$  の波長依存結果である。実線は oxy-Hb に対する波長特性信号で、破線は deoxy-Hb に対する波長特性信号である。物質に超音波を印加することで、波長に依存した超音波変調分光信号を計測でき、さらにヘモグロビンの酸素吸着度に依存したスペクトル変化を観察した。

超音波変調スペックル光計測法について、同軸反射型超音波変調スペックル光計測法における研究成果を中心に解説した。皮下数 cm の組織領域をサブミリメートルの空間分解能で光計測できれば、光コヒーレンストモグラフィーに対して深部計測という点で利点がある。また、超音波変調光計測法では、超音波エコー法において観察困難な音響インピーダンス整合領域の光学的な構造情報を計測できる利点ももち、新しい医療診断装置としての有効性も高い。確率的な要素が入るスペックル光計測における定量計測の検討や超音波変調光信号に含まれる物理的要素の検討など、物理理論と照らし合わせた検討が必要であるが、実験的には新しい生体光計測法のひとつの可能性を示すことができたと思われる。

## 文 献

- 1) F. A. Marks, H. W. Tomlinson and G. W. Brooksby: "Comprehensive approach to breast cancer detection using light: Photon localization by ultrasound modulation and tissue characterization by spectral discrimination," Proc. SPIE, **1888** (1993) 500-510.
- 2) W. Leutz and G. Maret: "Ultrasonic modulation of multiply scattered light," Physica B, **204** (1995) 14-19.
- 3) L.-H. Wang, S. L. Jacques and X. Zhao: "Continuous-wave ultrasonic modulation of scattered laser light to image objects in turbid media," Opt. Lett., **20** (1995) 629-631.
- 4) J. Li, G. Ku and L.-H. Wang: "Ultrasound-modulated optical tomography of biological tissue using contrast of laser speckles," Appl. Opt., **41** (2002) 6030-6035.
- 5) J. Li and L.-H. Wang: "Ultrasound-modulated optical computed tomography of biological tissues," Appl. Phys. Lett., **84** (2004) 1597-1599.
- 6) S. Leveque, A. C. Boccara, M. Lebec and H. Saint-Jalmes: "Ultrasonic tagging of photon paths in scattering media: Parallel speckle modulation processing," Opt. Lett., **24** (1999) 181-183.
- 7) A. Lev and B. Sfez: "*In vivo* demonstration of the ultrasound-modulated light technique," J. Opt. Soc. Am. A, **20** (2003) 2347-2354.
- 8) M. Kobayashi, T. Mizumoto, Y. Shibuya, M. Enomoto and M. Takeda: "Fluorescence tomography in turbid media based on acousto-optic modulation imaging," Appl. Phys. Lett., **89** (2006) 181102.
- 9) M. Hisaka: "Ultrasound-modulated optical speckle measurement for scattering medium in a coaxial transmission system," Appl. Phys. Lett., **87** (2005) 063504.
- 10) M. Hisaka: "Ultrasound-modulated optical parallel speckle measurement with stroboscopic illumination in a coaxial reflection system," Appl. Phys. Lett., **88** (2006) 033901.
- 11) M. Hisaka and Y. Sasakura: "Coaxial ultrasound-modulated optical spectroscopy in scattering medium," Appl. Phys. Lett., **92** (2008) 163901.
- 12) M. Hisaka, T. Sugiura and S. Kawata: "Optical cross-sectional imaging with pulse ultrasound wave assistance," J. Opt. Soc. Am. A, **18** (2001) 1531-1534.
- 13) 笹倉 祐, 日坂真樹: "反射型超音波変調スペックル光計測", 生体医工学, **45** (2007) 235-241.
- 14) 日坂真樹, 松田詳平: "局所超音波変調による散乱体深部のスペックル光計測", 光学, **34** (2005) 660-668.
- 15) L.-H. Wang: "Mechanisms of ultrasonic modulation of multiply scattered coherent light: An analytic model," Phys. Rev. Lett., **87** (2001) 043903.

(2009年1月15日受理)