

厚生労働科学研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業(H17-ナノ-001)

生体内超音波ナノ・イメージング法の開発
に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

東北大学 加齢医学研究所 西條 芳文

平成18(2006)年 3月

目 次

I. 統括研究報告書

組織のナノレベル超音波診断に関する研究 東北大学 加齢医学研究所 助教授 西條 芳文	1
---	---

II. 分担研究報告書

1. 超音波発生装置および走査装置の開発 豊橋技術科学大学 大学院工学研究科 助教授 穂積 直裕	9
2. 高周波数超音波振動子の開発 本多電子株式会社 研究開発部 部長 小林 和人	14

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 22

IV. 研究成果の刊行物・別刷 25

生体内超音波ナノ・イメージング法の開発

組織のナノレベル超音波診断

主任研究者 西條 芳文（東北大学 加齢医学研究所 助教授）

研究要旨：

本プロジェクトの目的は、組織を採取せずに体内でナノレベルの組織診断を行う低侵襲的検査方法を実現するために、周波数 1.2GHz の超音波を生体組織上で2次元スキャンし、組織表面からの超音波の反射強度を画像化する生体内超音波ナノ・イメージング法を開発することである。具体的には、高周波数帯域の超音波振動子、広帯域高周波数パルス発生装置、高精度スキャナーを開発し、臨床応用を念頭に置いた形状に一体化した装置を完成させ、定量的信号解析および画像解析を行う。

平成17年度には、周波数帯域が 800MHz に及ぶ超音波振動子を作製し、高速スイッチング半導体を用いて、繰り返し速度 10kHz、パルス立ち上がり時間 200ps 以下、パルス幅 500ps 以下、パルス高さ 50V の高速パルス発生器を製作した。さらに、50 ナノメートルの走査精度をもったリニアモーターを x 方向と y 方向に組み込むことで、超音波振動子の小型走査装置を作製し、デジタルオシロスコープを用いて信号の受信を行い、それをコンピュータ処理することで、摘出冠動脈の薄切組織のイメージングを行った。

A. 研究目的

組織の悪性度判定や心筋組織のバイアビリティの判定のためには、組織の採取後の病理組織検査が必要であるが、これらの組織採取には稀ではあるが合併症が発生することがある。したがって、組織を採取せずに体内で顕微鏡レベルの画像化を行う低侵襲的検査方法が切望されており、このような方法により、手術成績の向上や入院期間の短縮など、国民の医療の向上および医療経済の効率化に結びつくことは明白である。

現在、組織の悪性度判定や心筋組織のバイアビリティの判定には、内視鏡や X 線透

視などでアシストしながら鉗子生検や針生検で組織の一部を採取することや、小規模の手術により病巣の一部を切除するなどして、組織の採取後に病理組織検査を行っている。これらの組織採取には多少のリスクを伴い、稀ではあるが合併症が発生するため、術前病理診断は侵襲的な検査に位置づけられていた。また、がん手術中における組織の悪性度判定および炎症・壊死の検出、心臓血管外科領域における壊死心筋および動脈硬化組織の同定など、手術中、組織を切除する前に顕微鏡レベルの病理組織検査が要求される場面は多い。

本研究の目的は、周波数 1.2GHz の超音波

を生体組織上で 2 次元スキャンし、組織表面からの超音波の反射強度の違いを画像化することで、解像度 800 ナノメートルの生体内超音波ナノ・イメージング法を開発することである。

生体組織のイメージング方法としては、X 線 CT (コンピュータ断層法)、MRI (磁気共鳴イメージング)、PET (陽電子放射断層法)、SPECT (単一フォトン放射断層法) などがすでに臨床応用されている。CT や MRI では、コンピュータ技術の発達により、3 次元再構築が行えるなどして、マクロの形態イメージングとしては確立した感があり、PET や SPECT では脳組織や心筋組織などにおいてはその機能もイメージングできるなど、それぞれに有用な点があるが、本研究で提案する超音波ナノ・イメージング法は、その解像度がほかのイメージング法に比較して 2 桁以上高い点が最大の特長である。前述した診断法の中で CT と MRI は解像度が高いが、現時点では数十ミクロンレベルであり、本方法で目的としている 800 ナノメートルの解像度には遠く及ばない。超音波断層法においては、超音波の周波数を高めることで画像の解像度が向上することが理論的にも現実的にも実証されており、周波数 2~5MHz の体表超音波に始まり、10 数 MHz 領域の頸動脈エコー、15~30MHz の消化管用超音波内視鏡、20~40MHz の血管内超音波法、60MHz の眼科領域における超音波生体顕微鏡などが臨床応用されており、その解像度は 50 ミクロン程度まで向上している。従来の超音波断層法は、超音波の進行方向に平行な組織断面を観察する、いわゆる B モード法であったが、今回提案するイメージング方法は超音波の進行方向に直交する平面の組織を観察する、いわゆる C モード法である点が最大の特長である。

組織表面を観察することで、組織中を伝わる際の超音波の減衰を考慮することなく、周波数を上げることが出来るため、高解像度の生体イメージングが可能であることが独創的な点であり、超高解像度の内視鏡としての臨床応用が可能である。

本研究では、組織を採取せずに生体組織をナノレベルで画像化することが可能であり、従来の病理診断方法を補完する低侵襲的検査として、術前・術中の組織検査を実現し、本方法の開発により、直接的には、手術術式の適切な選択および手術成績の向上が期待され、国民の医療の向上に結びつくことが期待される。また、超音波検査は非侵襲的であることが特色であるので、術前検査が全て外来において完結可能ということになり、不要な入院を削減し、医療経済的側面においても医療費の有効な利用に結びつくことが期待される。

B. 研究方法

1. 本システムの概念

申請者らを中心とする研究グループは、15 年以上にわたり、高周波数超音波を用いた超音波顕微鏡の開発・医学応用に携わってきた。超音波顕微鏡は、100MHz~2GHz の高周波数超音波を対象物の上で 2 次元走査することで、組織を画像化する方法である。超音波顕微鏡では組織の染色をせずに組織が観察可能であることや、超音波の反射が組織の機械的・物理的特性に密接に関連することから、組織の弾性イメージングが可能である点が最大の特長で、心筋梗塞、動脈硬化、がんの線維化、軟骨や滑膜の形成や腱の断裂部位などの推定など、その病態に組織の機械的特性が強く関与している領域においては、非常に有用な情報をもた

らす。図 1 は超音波顕微鏡による腎動脈血管平滑筋細胞像、図 2 は申請者が平成 14～15 年度に開発したパルス励起型超音波顕微鏡による冠動脈の音速像である。

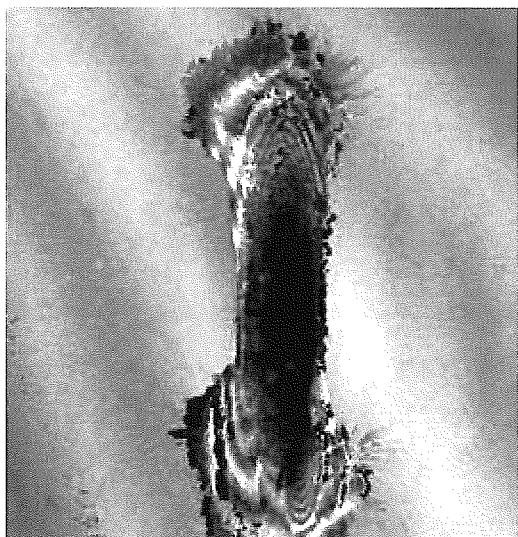


図 1 超音波顕微鏡(周波数 1.1GHz)による腎血管平滑筋細胞

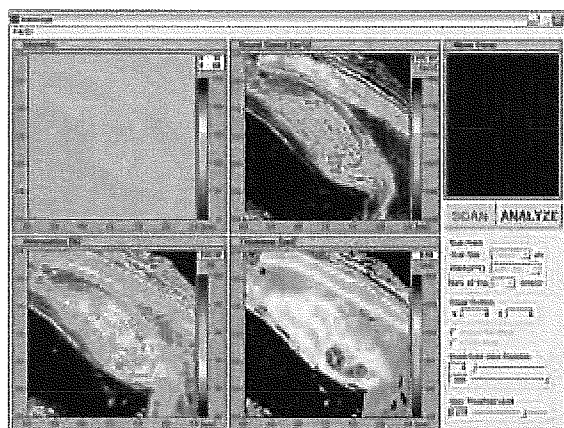


図 2 平成 14～15 年度に開発したパルス励起型超音波顕微鏡による冠動脈の音速像

しかしながら、従来の超音波顕微鏡では、曲率半径の一定な音響レンズを用いて超音波を焦点に絞り込むため、超音波のプロープと観察面の距離が一定である、つまり組織が平滑で安定している必要があった。このため、その観察対象は、摘出された組織を薄切化しスライドガラス上に載せたものや、培養皿の上に培養された細胞などに限

定され、臨床的に生体内で用いることは原理上困難であった。

平成 14～15 年度の東北大学・豊橋技術科学大学・本多電子などの共同研究による、「生体組織診断のためのパルス励起型超音波音速顕微鏡の開発」の研究途中で、周波数 300MHz の高周波数超音波を用いても、薄いプラスチック板の裏側まで超音波が到達し、超音波トランスデューサから見てプラスチック板の向こう側に密着した試料もイメージング可能であることが判明した。

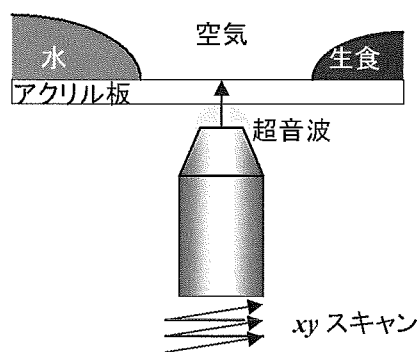
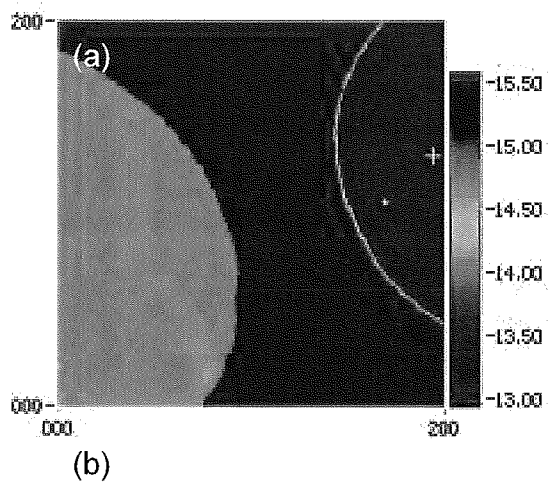


図 3(a) アクリル板上に滴下した水(左)と生理的食塩水(右)をアクリル板の裏側から見た像

図 3(b) 実験系の模式図

図 3(a)は、実際のイメージング結果で、左側の橙色の半円はアクリル板の上に滴下した水、右側の青色の半円は生理食塩水、そのほかの茶色の部分はアクリル板の上に

何も存在しない部分（空気の部分）をアクリル板の下の超音波プローブにより観察した像である。図 3(b)は、実験系の模式図で、アクリル板の下側の超音波プローブを 2 次元走査させ、アクリル板の上側からの超音波の反射を捉えることで、画像を作成している。

この原理を応用することで、トランスデューサを覆うようなプラスチックのケースを作製し、一体化すれば、トランスデューサとプラスチックの間の距離が一定になり、プラスチックを組織表面に接触させれば、日常臨床に使用しているのと同じような形状の超音波プローブでも組織表面の高解像度イメージングが可能になることが期待されることから、本研究プロジェクトで提案するようなシステムを考案した。

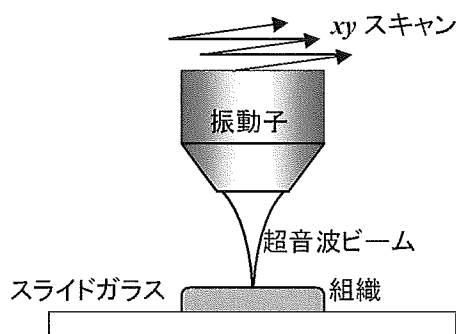


図 4 従来の超音波顕微鏡

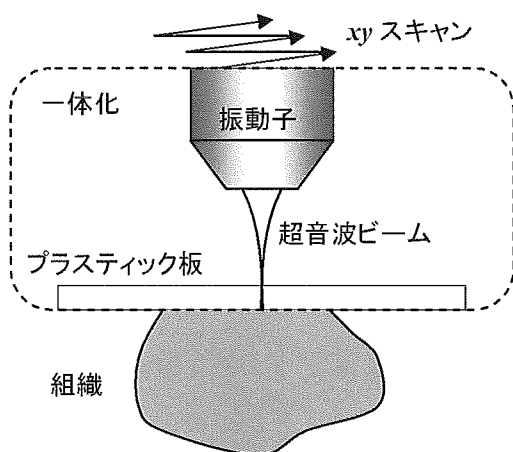


図 5 本研究で提案するシステム

C. 研究結果

1. システムの基礎の開発

平成 17 年度は高周波数超音波振動子、超音波パルス発生器および走査装置の開発に主眼を置き、超音波顕微鏡と同精度のイメージングシステムの開発を行った。

(1) システムの設計

超音波振動子のもつ周波数特性を計測し、今回の研究内容に適した電圧パルス波形を検討し、走査装置と信号測定系とのマッチングを考慮した全体システムの概念設計を行った。

(2) 超音波振動子の試作

ナノテクノロジーを応用したセラミック微細加工技術により高周波数用超音波振動子の設計および試作を行った。

(3) 超音波パルス発生器の試作

2GHz までの周波数成分をもった高速（繰り返し周波数が高い）パルス発生器を製作する。まず高速機械スイッチによるパルス波形から音速像が得られることを確認する。次に、高速スイッチング半導体を用いて、繰り返し速度 10kHz、パルス立ち上がり時間 200ps 以下、パルス幅 500ps 以下、パルス高さ 50V を目標とした高速パルス発生器を製作した。

(4) 走査装置の試作

50 ナノメートルの走査精度をもったリニアモーターを x 方向と y 方向に組み込むことで、超音波振動子の小型走査装置を作製した。

(5) 基本性能の評価

試作システムの完成後、市販のデジタルオシロスコープにより受信超音波を解析し、その精度について、表面形状が既知の工業

材料およびスライドガラス上に載せた生体試料について解像度の評価を行った。

2. 生体試料のイメージング例

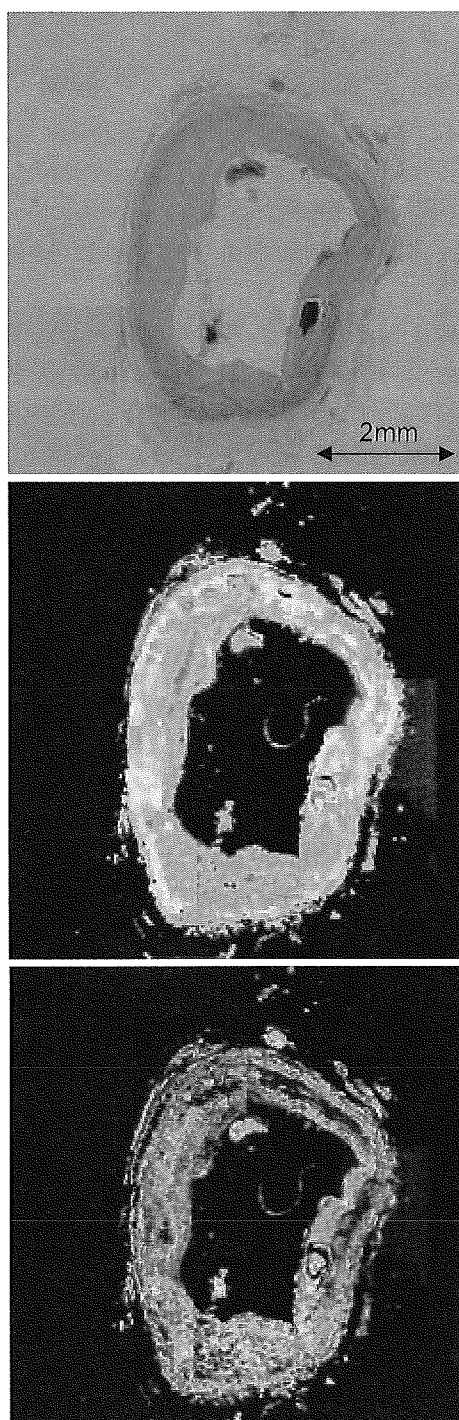


図6 開発した超音波ナノ・イメージングシステムによる冠動脈(上:光学顕微鏡像、中:減衰像、下:音速像)

図6は平成17年度に作製したナノ・イメージングシステムによる冠動脈組織の描出結果を示す。xy走査にはリニアモーターを用いており、マイクロコンピュータボードおよびパーソナルコンピュータにて、トランスデューサの位置を制御可能であるため、2.4mm x 2.4mmの範囲のスキャンを4回重ね合わせることが出来、広範囲を撮像することが出来た。また、冠動脈の層構造に関しても、内膜側から高速、低速、高速の順に音速が対応しており、血管内超音波にて観察する像と同様の傾向が見られた。

D. 考察

従来の超音波顕微鏡では、平面振動子に音響レンズを接着することで、超音波を絞り込むため、超音波プローブと観察対象との間の距離が音響レンズの焦点に合うときにはじめて観察対象からの強い反射を得ることが出来た。したがって、超音波プローブを2次元走査するときにも、プローブと対象との間は常に一定である必要があり、結果的に、薄切した組織または血管内皮細胞など基質に対して1層に固着するような性質の培養細胞の観察のみが可能であった。

本研究では、この超音波顕微鏡の限界を打破すべく、薄いプラスチック板と超音波振動子の間の距離が一定になるように一体成型し、通常の超音波診断装置と同様に、対象物に接触させるだけで、表面形状が観察できる、生体内超音波ナノ・イメージングシステムの開発を最終的な目標とした。

平成17年度には、最新のナノテクノロジーを駆使して、従来の超音波顕微鏡と同等以上の性能を有する超音波ナノ・イメージングシステムを作製した。摘出冠動脈の薄切組織のイメージングを行ったところ、従来開発したパルス励起型超音波音速顕微

鏡よりも高解像度で正確な音速測定の出来るシステムが完成した。

平成18年度には、この基本システムを元に、生体内に応用できるように薄いプラスチック板と一体化した超音波プローブを作製し、接触部分の表面形状のイメージングが可能となる装置を作製することが十分可能であると考えられた。

E. 結論

周波数帯域が 800MHz に及ぶ超音波振動子を作製し、高速スイッチング半導体を用いて、繰り返し速度 10kHz、パルス立ち上がり時間 200ps 以下、パルス幅 500ps 以下、パルス高さ 50V の高速パルス発生器を製作した。さらに、50 ナノメートルの走査精度をもったリニアモーターを x 方向と y 方向に組み込むことで、超音波振動子の小型走査装置を作製し、デジタルオシロスコープを用いて信号の受信を行い、それをコンピュータ処理することで、摘出冠動脈の薄切組織のイメージングを行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 英文論文

- 1) Funamoto K, Hayase T, Saijo Y, Yambe T. Detection and correction of aliasing in ultrasonic measurement of blood flows with Ultrasonic-Measurement-Integrated simulation. *Technol Health Care*. Vol 13, No.4: 331-44, 2005.
- 2) Saijo Y, Sasaki H, Hozumi N, Kobayashi K, Tanaka M, Yambe T. Sound speed scanning acoustic microscopy for biomedical applications. *Technol Health Care*. Vol. 13,

No. 4: 261-7, 2005.

- 3) Funamoto K, Hayase T, Shirai A, Saijo Y, Yambe T. Fundamental study of ultrasonic-measurement-integrated simulation of real blood flow in the aorta. *Ann Biomed Eng*. Vol. 33, No. 4: 415-28, 2005.
- 4) Watanabe S, Suzuki N, Kudo A, Suzuki T, Abe S, Suzuki M, Komatsu S, Saijo Y, Murayama N. Influence of aging on cardiac function examined by echocardiography. *Tohoku J Exp Med*. Vol. 207, No.1: 13-9, 2005.
- 5) Watanabe M, Sekine K, Hori Y, Shiraishi Y, Maeda T, Honma D, Miyata G, Saijo Y, Yambe T. Artificial esophagus with peristaltic movement. *ASAIO J*. Vol. 51, No.2: 158-61, 2005.
- 6) Santos Filho E, Yoshizawa M, Tanaka A, Saijo Y, Iwamoto T. Moment based texture segmentation of intravascular ultrasound images. *J Med Ultrasonics*. Vol. 32, No. 3: 91-99, 2005.
- 7) Saijo Y, Santos Filho E, Yambe T, Tanaka A, Iwamoto T, Yoshizawa M, Akino Y, Hanadate Y. Parametric intravascular ultrasound imaging - Two-dimensional tissue velocity imaging and self-organizing map imaging. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*. Vol. 1: 1-4, 2005.
- 8) Santos Filho E, Saijo Y, Yoshizawa M, Tanaka A. Automatic luminal contour and calcification detection in intravascular ultrasound images. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*. Vol. 1: 5-8, 2005.
- 9) Saijo Y, Sasaki H, Santos Filho E, Yambe T, Tanaka M, Hozumi N, Kobayashi K. Speed-of sound microscopy for biomedical applications. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*. Vol. 1: 26-29, 2005.
- 10) Kimura A, Terauchi S, Murakami Y, Hozumi N, Nagao M, Yoshida S, Kobayashi K, Saijo Y. Image processing for pulse driven biological microscope based on frequency

spectrum. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*. Vol. 1: 30-31, 2005.

- 11) Hagiwara Y, Matsumoto F, Chimoto E, Kokubun S, Saijo Y, Sasano Y. Increased sound speed of synovial membrane after immobilization assessed by scanning acoustic microscopy. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*. Vol. 1: 32-35, 2005.
- 12) Sano H, Hattori K, Kokubun S, Saijo Y. Material properties of the rabbit supraspinatus tendon and its insertion - A measurement with the scanning acoustic microscopy. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*. Vol. 1: 36-38, 2005.
- 13) Hozumi N, Kimura A, Terauchi S, Nagao M, Yoshida S, Kobayashi K, Saijo Y. Acoustic Impedance Micro-imaging for Biological Tissue Using a Focused Acoustic Pulse with a Frequency Range up to 100 MHz. *Proc 2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 170-173, 2005.
- 14) Saijo Y, Sasaki H, Yambe T, Tanaka M, Hozumi N, Kobayashi K, Okada N. Speed of Sound Microscopy for Biomedical Applications. *Proc 2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 423-426, 2005.
- 15) Iwamoto T, Tanaka A, Saijo Y, Yoshizawa M. Coronary plaque classification through intravascular ultrasound radiofrequency data analysis using self-organizing map. *Proc 2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 2054-2057, 2005.

(2) 和文論文

- 1) 西條芳文. 特集 心血管画像診断の新しい展開 超音波顕微鏡. 循環器科 Vol. 57, No. 5: 440-446, 2005.
- 2) 西條芳文. 特集 DES 時代の Beyond Angiography Virtual Histology の基礎. Coronary Intervention Vol. 2, No. 1: 82-87, 2006.

2. 学会発表

(1) 国際学会

- 1) Saijo Y, Hozumi N, Kobayashi K, Okada N, Fukuma K, Tanaka N, Sasaki H, Tanaka M, Yambe T. Acoustic Microscopy Based on Frequency Domain Analysis of A Single Pulsed Wave. *6th Asian-Pacific Conference on Medical and Biological Engineering*. Tsukuba, Apr 26, 2005.
- 2) Saijo Y, Akino Y, Watanabe S, Oba K, Tamamura K, Yamazaki Y, Ishiguro T. Fully-Automatic Measurement of Flow Mediated Dilatation. *6th Asian-Pacific Conference on Medical and Biological Engineering*. Tsukuba, Apr 27, 2005.
- 3) Saijo Y, Tanaka A, Iwamoto T, Hirosaka A, Kijima M, Yoshizawa M, Akino Y, Hanadate Y, Yambe T. Intravascular two-dimensional tissue strain imaging. *Joint Meeting of Ultrasonics International and World Congress on Ultrasonics 2005*. Beijing, China, Aug 30, 2005.
- 4) Saijo Y, Hozumi N, Lee C, Nagao M, Kobayashi K, Oakada N, Tanaka N, Santos Filho E, Sasaki H, Tanaka M, Yambe T. Ultrasonic speed microscopy for imaging of coronary artery. *Joint Meeting of Ultrasonics International and World Congress on Ultrasonics 2005*. Beijing, China, Sep 1, 2005.
- 5) Hozumi N, Nagao M, Yoshida S, Kobayashi K, Saijo Y. Acoustic impedance micro-imaging for biological tissue using a focused acoustic pulse with a frequency range up to 100 MHz. *2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*. Rotterdam, The Netherlands, Sep 19, 2005.
- 6) Saijo Y, Hozumi N, Kobayashi K, Okada N, Sasaki H, Santos Filho E, Yambe T, Tanaka M. Speed of sound microscopy for biomedical applications. *2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*. Rotterdam, The Netherlands, Sep 20, 2005.
- 7) Iwamoto T, Tanaka A, Saijo Y, Yoshizawa M. Coronary plaque classification through

intravascular ultrasound radiofrequency data analysis using self-organizing map. 2005 *IEEE International Ultrasonics Symposium*. Rotterdam, The Netherlands, Sep 21, 2005.

(2) 国内学会

- 1) 西條芳文, 沢田圭介, 吉澤誠, 田中明, 阿部健一, 山家智之. 撓骨動脈圧と左室流出路血流計測による Emax の推定. 第 16 回日本心エコー図学会. 神戸、2005 年 4 月 21 日.
- 2) 西條芳文, 穂積直裕, 小林和人, 田中直彦, 福岡功史, 佐々木英彦, 田中元直, 山家智之. 医学用超音波音速顕微鏡の開発. 第 16 回日本心エコー図学会. 神戸、2005 年 4 月 21 日.
- 3) 西條芳文, 岩本貴宏, Esmerald dos Santos Filho, 吉澤誠, 秋野能久, 花立安志, 山家智之. 自己組織化マッピングによる IVUS 画像の自動解析. 第 53 回日本心臓病学会. 大阪、2005 年 9 月 19 日.
- 4) 西條芳文, 秋野能久, 花立安志, 渡辺さち子, 玉村一樹, 大庭和夫. 脈波の圧-容積解析による FMD の自動計測法の開発. 第 53 回日本心臓病学会. 大阪、2005 年 9 月 20 日.

3. 招待講演

(1) 海外での招待講演

- 1) Saijo Y: Intravascular 2D Tissue Velocity Imaging and Clinical Validation. Invited Lecture in the *3rd International Vulnerable Plaque meeting*, Capri, Italy, Jun 12, 2005.

(2) 国内での招待講演

- 1) 西條芳文. 医工学的アプローチによる動脈硬化の診断. 第 10 回東北生活習慣病懇話会. 仙台、2005 年 7 月 16 日.
- 2) 西條芳文. 加齢による左室拡張能の変化.

第 5 回宮城循環器シンポジウム. 仙台、2005 年 7 月 16 日.

- 3) 西條芳文. 超音波による心血管系診断の最前線. 宮古医師会学術講演会. 宮古、2005 年 7 月 21 日.
- 4) 西條芳文. 超音波の基礎知識. 第 6 回 IVUS ガイド冠インターベンション研究会. 東京、2005 年 8 月 20 日
- 5) 西條芳文. Vulnerable Plaque に対する Distal Protection - Parametric IVUS -. *Complex Coronary Therapeutics 2005*. 神戸、2005 年 9 月 26 日
- 6) 西條芳文. 動脈硬化の高周波数超音波組織性状診断. 第 5 回 Cardiovascular Imaging Frontier. 東京、2005 年 11 月 26 日.
- 7) 西條芳文. 動脈硬化 Step by Step. 宮城社会保険病院 連携の集い. 仙台、2006 年 1 月 27 日.

H. 知的所有権の取得状況

該当なし

生体内超音波ナノ・イメージング法の開発 超音波発生装置の開発・信号解析

分担研究者 穂積 直裕（豊橋技術科学大学 大学院工学研究科 助教授）

研究要旨：

生体内超音波ナノ・イメージングを目指した超音波発生装置の開発および信号解析を行った。おもな成果を以下に示す。

- (1) 500MHz 程度まで広がる広帯域パルス超音波を送受信し、リニアモーターでトランスデューサの機械走査を行う顕微鏡システムを試作した。
- (2) 反射信号を試料表面と背面からの反射成分に分離し、位相差をもとに音速を求めることができた。これにより音速像が取得できることを実証した。

A. 研究目的

超音波顕微鏡による生体組織の観測は、水中において細胞に無処置、非接触で観察が可能であること、音速や音響減衰といった病変と密接に関係する物理パラメータの局所分布が得られる可能性などから、電子顕微鏡、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡などでは実現できない特徴が期待されている。筆者らは癌の手術中迅速組織診断を目指し、20～150MHz 領域のパルス励起型超音波音速顕微鏡を提案し、ガラス基板上の組織試料切片に対し、音速および厚みの定量解析が可能であることを実証した。この顕微鏡は、平成14～15年度経済産業省地域新生コンソーシアム研究開発事業の成果として、すでに実用化がなされている。

従来バースト波形（正弦波の一部を切り出した波形）の周波数を変化させて煩雑な周波数解析を行っていたのに対し、分担研究者らは、1発のパルス波形に対する応答を周波数領域に変換して解析する方法をとっ

た。その結果、測定時間の飛躍的短縮（従来の1時間から2分程度に）、ハードウェアの簡素化と操作性の向上、装置の大幅なコストダウン、バースト波形の周波数不安定等に起因する測定精度低下の解消などの特徴をもつ音速顕微鏡装置が実現し、至近年の臨床応用が期待されている。

しかし、従来の最高150MHz程度の周波数成分をもつ超音波では、画像分解能が15 μm 程度にとどまる。一方細胞レベルの高分解能音速像観察は医学的に重要な知見をもたらすと考えられているが、ナノレベルの高分解能を有する現状の装置は音速の定量表示ができない。ここにこれまでの開発成果をうけてGHzに達する周波数成分が利用できるパルス励起型音速顕微鏡を開発し、細胞内シグナリングとその反応の細胞内での局在をリアルタイムで明らかにすることにより、例えば癌の細胞レベルでの早期診断や、細胞のアポトーシス（プログラムされた細胞の自殺）などの診断に有用な全く新しい知見を得ようとする動きが現れてき

た。

B. 研究方法

1. システムの概念設計

ナノスケールにおよぶ超音波生体イメージングを可能とするため、最大 1GHz 程度まで広がる広帯域超音波パルス波形の送受を想定した超音波顕微鏡システムのプロトタイプ設計を行った。従来のバースト波形による方法では周波数を走査することにより強度および位相スペクトルを得、これを解析しているが、本研究で提案する方法では、広帯域の周波数成分を持つパルス波形を時間領域でデジタル計測し、周波数解析を行う。トランスデューサがもつ周波数特性を考慮し、測定に適した電圧パルス波形と、波形観測系を検討した。また、走査装置と信号測定系とのマッチングを考慮した全体システムの概念設計を行った。

図 1 に超音波顕微鏡の原理図を示す。生体試料は適当な厚さの切片または細胞組織の形で、基板上に固着している。基板にはガラスまたは適当な高分子材料を使用することができる。水を超音波媒体として、基板面に焦点を結ぶ超音波を照射し、反射波形を測定する。生体試料の音響物性によって反射波形が異なるので、これを解析する。

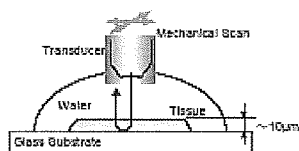


図 1 超音波顕微鏡の原理図

図 2 に、システムの概略を示す。本研究では、数 10ns 程度の広がりをもつパルス超音波を利用する。波形の測定は汎用のデジ

タルオシロスコープを利用し、LAN ケーブルを介して制御用コンピュータに転送する。観察視野内の 1 点に対して 4 回程度の波形を平均化処理し、ノイズの低減を図っている。

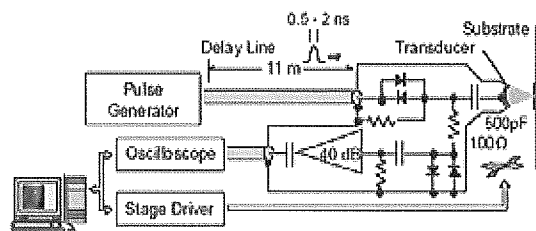


図 2 開発したシステムのブロック図

観察視野内を 200×200 ピクセル程度で機械走査しながら送受信を行うことにより、2 次元のプロファイルが得られる。ナノスケールの位置分解能をもつ機械走査のため、従来使用していたステッピングモータードライブによる XY 走査を、リニアモーターによる走査に変更した。

2. 超音波パルスの発生

高速電子スイッチを用いたパルス発生器により、立ち上がり 400ps 以下、パルス幅 2ns 程度、先頭値 20~40V 程度の電気パルスが発生させた。トランスデューサはファイアロッドを使用した中心周波数 300MHz のものを採用した。トランスデューサがもつ周波数特性のため、超音波波形は電気パルスと異なる形状をもち、振動成分を含むことが予想された。

3. 信号処理アルゴリズムの作成

上に述べたように、励起信号はインパルス波形に近いが、トランスデューサは圧電素子の厚さなどのために共振特性をもったものを使わざるを得ない。このため出射波

は振動成分を含み、試料がある部分からの反射波は表面と背面の反射が干渉した複雑な波形となる。この波形は、基板が露出している部分からの反射波形をもとに規格化することにした。

C. 研究結果

1. システムの設計

図3に組み立てたシステムの外観を示す。



図3 開発したシステムの外観

2. 超音波パルスの発生

高速電子スイッチを用いたパルス発生器により、立ち上がり 400ps 以下、パルス幅 2ns 程度、先頭値 20~40V 程度の電気パルスを発生させた。図 4(a)に電気パルスの波形、同図(b)にスペクトルを示す。500MHz 程度まで広がるスペクトルが得られている。これをトランスデューサに入力し、水中でガラス基板焦点を結ぶように調整して超音波を照射したときに得られた反射波形を図 4(c)に示す。トランスデューサはサファイアロッドを使用した中心周波数 300MHz のものを採用した。トランスデューサがもつ周波数特性のため、超音波波形は電気パルスと異なる形状をもち、振動成分を含んでいる。超音波波形は同図(d)のように、概ね 100~500MHz の帯域まで広がる広帯域信号となっている。

3. 信号処理アルゴリズムの作成

図 4(e)は、この処理を行ってインパルス応答を求めた後、シングレットに対する応答を描いたものである。得られた波形は試料表面と背面からの反射が明瞭に見られる。適当な窓関数を用いて両者を 2 つの波形に分離した後、それぞれフーリエ変換し、基板が露出した部分からの基準波形との位相差をもとに厚さと音速を求めた。媒質の音速を c_0 、細胞内の音速を c 、試料の厚さを d 、任意の周波数 f における表裏の反射波の規格化位相をそれぞれ ϕ_{front} および ϕ_{rear} とすると、

$$2\pi f \times \frac{2d}{c_0} = \phi_{front}$$

$$2\pi f \times 2d \left(\frac{1}{c_0} - \frac{1}{c} \right) = \phi_{rear}$$

これより試料の厚みと音速は

$$d = \frac{c_0}{4\pi f} \phi_{front}$$

$$c = \left(\frac{1}{c_0} - \frac{\phi_{rear}}{4\pi f d} \right)^{-1}$$

で計算することができる。

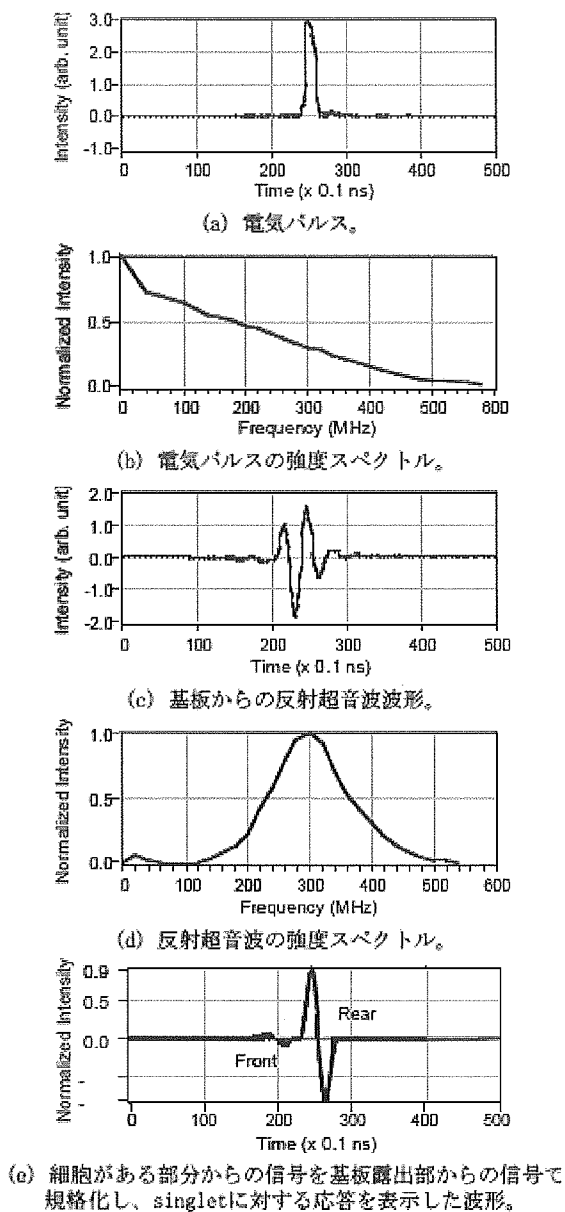


図4 電気信号と超音波波形

D. 考察

中心周波数300MHzのトランスデューサを用いて、約400psの立ち上がり時間を有する電気パルスで励起したところ、概ね100～500MHzの帯域まで広がる広帯域超音波信号を得られることが判った。励起信号は、インパルス波形に近いが、トランスデューサは圧電素子の厚さなどのために共振特性を持ったものを使わざるを得ない。このため、実際に射出される超音波は振動成分を

含み、試料からの反射波は表面と裏面の反射が干渉した複雑な波形となった。この波形から干渉する2成分を分離するアルゴリズムを作成し、実際に得られた100～500MHzの帯域を持つ波形を元に、2成分分離が可能であることを確認した。さらに、この結果を元に、計測各店での音速を計算するアルゴリズムを検討した。

システムは1GHz程度までの周波数資源を利用することを想定して設計したが、パルス発生器およびトランスデューサの制限から500MHzまでの利用にとどまった。周波数特性を改善することにより、今のスケール観察を実現し、光学顕微鏡に迫る分解能が得られるものと期待される。

E. 結論

生体内超音波ナノ・イメージングを目指した超音波発生装置の開発および信号解析を行った。500MHz程度まで広がる広帯域パルス超音波を送受信し、リニアモーターでトランスデューサの機械走査を行う顕微鏡システムを試作した。反射信号を試料表面と背面からの反射成分に分離し、位相差をもとに音速を求めることができた。これにより音速像が取得できることを実証した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) N. Hozumi, A. Kimura, S. Terauchi, M. Nagao, S. Yoshida, K. Kobayashi, Y. Saijo. Acoustic Impedance Micro-imaging for Biological Tissue Using a Focused Acoustic Pulse with a Frequency Range up to 100 MHz. *Proc 2005 IEEE International Ultrasonics*

Symposium, 170-173, 2005.

- 2) Y. Saijo, H. Sasaki, T. Yambe, M. Tanaka, N. Hozumi, K. Kobayashi, N. Okada. Speed of Sound Microscopy for Biomedical Applications. *Proc 2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 423-426, 2005.
- 3) A. Kimura, S. Terauchi, Y. Murakami, N. Hozumi, M. Nagao, S. Yoshida, K. Kobayashi, Y. Saijo. Imaging for Biological Tissue with Acoustic Impedance Microscope. *Proc 8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*, 30-31, 2005.
- 4) 李哲奎、村上義信、穂積直裕、長尾雅行、小林和人、西條芳文、田中直彦、大槻茂雄。
生体組織用超音波顕微鏡における参照信号の自動抽出による高精度化。電気学会論文誌, Vol.125-A, No.2, 145-152, 2005.
- 5) 小林和人、穂積直裕、西條芳文、大槻茂雄。
生体組織診断のためのパルス励起型音速顕微鏡の開発。日本音響学会誌 掲載決定

2. 学会発表

- 1) N. Hozumi, A. Kimura, S. Terauchi, M. Nagao, S. Yoshida, K. Kobayashi, Y. Saijo. Acoustic Impedance Micro-imaging for Biological Tissue Using a Focused Acoustic Pulse with a Frequency Range up to 100 MHz. *2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*, Sep 19, 2005, Rotterdam, The Netherlands.
- 2) Y. Saijo, H. Sasaki, T. Yambe, M. Tanaka, N. Hozumi, K. Kobayashi, N. Okada. Speed of Sound Microscopy for Biomedical Applications. *2005 IEEE International Ultrasonics Symposium*, Sep 21, 2005, Rotterdam, The Netherlands.
- 3) A. Kimura, S. Terauchi, Y. Murakami, N. Hozumi, M. Nagao, S. Yoshida, K. Kobayashi, Y. Saijo. Imaging for Biological Tissue with Acoustic Impedance Microscope. *8th Sendai Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization*, Nov. 11, 2005, Sendai, Japan.

H. 知的所有権の取得状況

該当なし

生体内超音波ナノ・イメージング法の開発
高周波数振動子の開発

分担研究者 小林 和人（本多電子株式会社 研究開発部 部長）

研究要旨：

生体内超音波ナノ・イメージングを目指した高周波数振動子の開発を行った。おもな成果を以下に示す。

（1）金電極を蒸着させたサファイアレンズに対して ZnO の単結晶を DC スパッタ装置により生成し、サファイアとの逆面に再度、金電極を蒸着してケーシングし、ケースに入れ配線をして充填を行うことで、振動子の作製を行なった。作成した振動子の特性では受信のピークが 326MHz であり、挿入損失は 48dB であった。

（2）新しい成膜手法として、セラミックス粉末を用いた厚膜成長テストを行い、ステンレス基板上に PZT セラミックスを成膜することができた。

A. 研究目的

超音波顕微鏡は、1949 年にロシア（当時のソビエト連邦）の Solokov によりその概念が提唱され、1970 年代にそのプロトタイプが開発され、今日では半導体の非破壊検査や生体組織の非接触観察に応用されている。分担研究者らのグループでは、1979 年より東北大学大学院工学研究科との共同研究による、Line focused beam acoustic microscope（直線集束ビーム超音波顕微鏡システム）の開発を開始し、1985 年には東北大学抗酸菌病研究所（現在の東北大学加齢医学研究所）との共同研究により、超音波顕微鏡の生体組織音響特性計測への応用を開始した。

超音波顕微鏡による生体組織計測は、試料に無処置・非接触で計測が可能であること、音速や音響減衰といった病変と密接に関係する物理パラメータの局所分布が得ら

れることなど、電子顕微鏡、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡などでは実現できない特徴を有している。しかし、従来の最高 200MHz 程度の周波数成分をもつ超音波では、画像分解能が 10 μ m 程度にとどまり、ナノレベルの細胞診断には応用できない。したがって、本研究プロジェクトでは、これまでの開発成果をうけて GHz に達する周波数成分が利用できる生体内超音波ナノ・イメージングシステムを開発・実用化するために、最新のナノテクノロジーを用いて超音波振動子を作製することを研究目的とする。

B. 研究方法

従来、200MHz までの超音波センサーの材料としては PVDF（Polyvinylidenfluorid：フッ化ビニリデン）を使用してきたが、この材料では高分子膜の成型厚みの限度から

200MHz以上の周波数のセンサーの作製が不可能である。そこで、本研究プロジェクトではZnO圧電薄膜材料を用いることにし、センサーの開発を行なった。

今回作成する振動子の構造は図1の通りである。

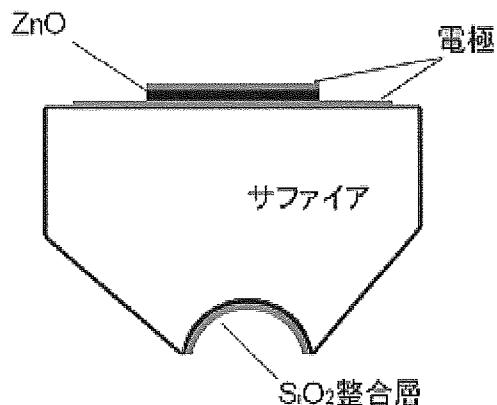


図1 振動子の構造図

この構造にあわせてサファイアレレンズの加工寸法・及びケースの設計を行なった。サファイアレレンズの設計図面を図2、ケース図面を図3に示す。

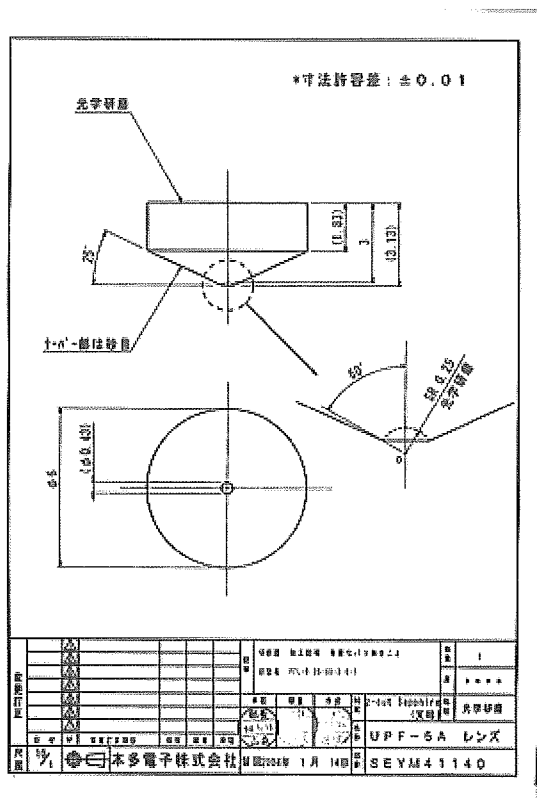


図2 サファイアレレンズ設計図

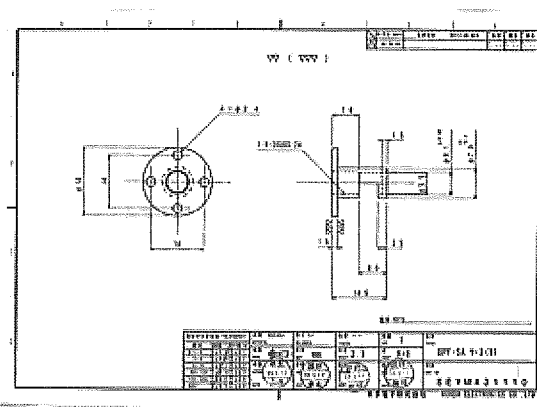


図3 ケース図面

C. 研究結果

1. 高周波トランスデューサの開発

図4に加工されたサファイアレレンズを示す。

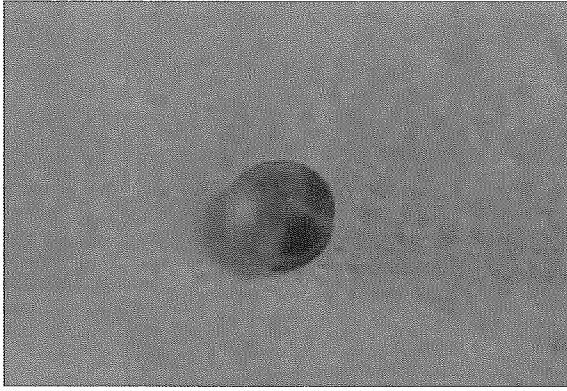


図4 サファイアレンズ

このサファイアレンズに 400MHz に $\lambda/4$ 整合する厚みの SiO_2 をRFスパッタにより生成した。

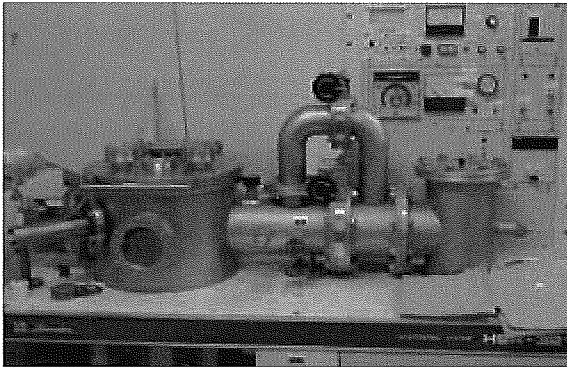


図5 RF スパッタ装置

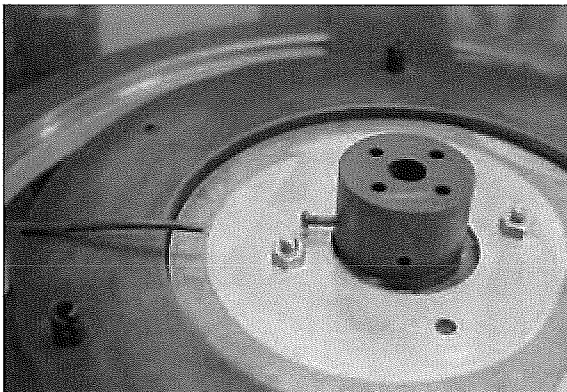


図6 RF スパッタ装置 セッティング状況

整合層のついたサファイアレンズに対して単結晶を生成し超音波センサーとして使用するために ZnO の生成前に裏面の電極用

にサファイアレンズ側に金電極を蒸着させた。



図7 蒸着装置



図8 蒸着装置 セッティング状況

蒸着したサファイアとその電極の形を図9、図10に示す。

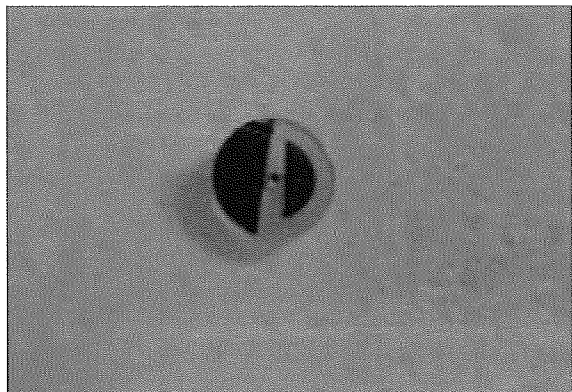


図9 蒸着されたサファイア

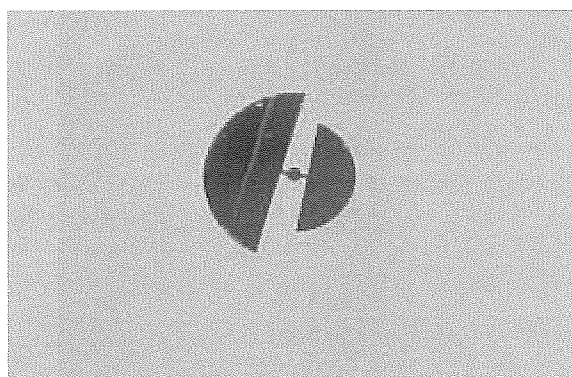


図10 生成されたサファイア電極の形

この電極の上に ZnO の単結晶を DC スパッタ装置により生成した。

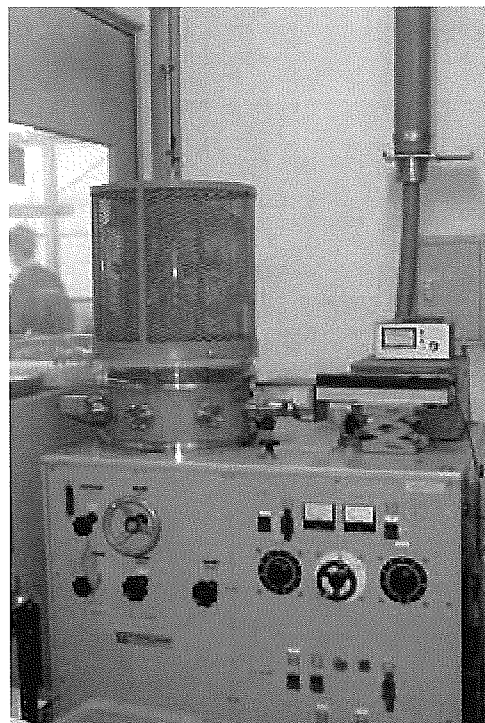


図11 DC スパッタ装置

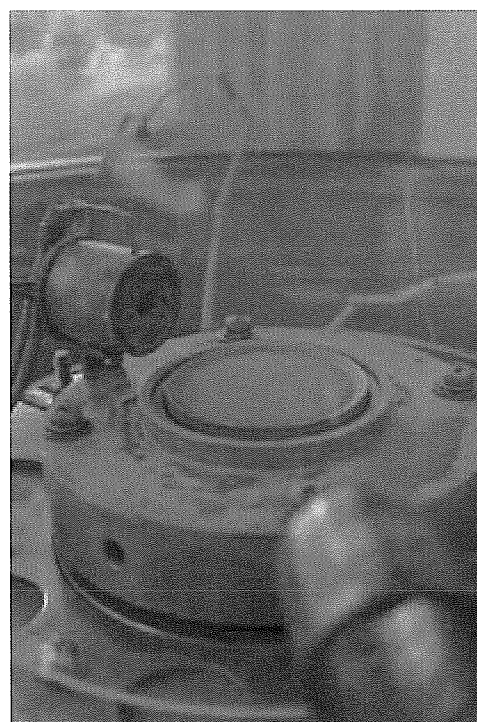


図12 DCスパッタ装置 セッティング状況

ZnO が生成された後、サファイアとの逆面に再度、金電極を蒸着してケーシングすることにより完成する。これを図13のケースに入れ配線をして充填を行い、振動子の

作製を行なった。

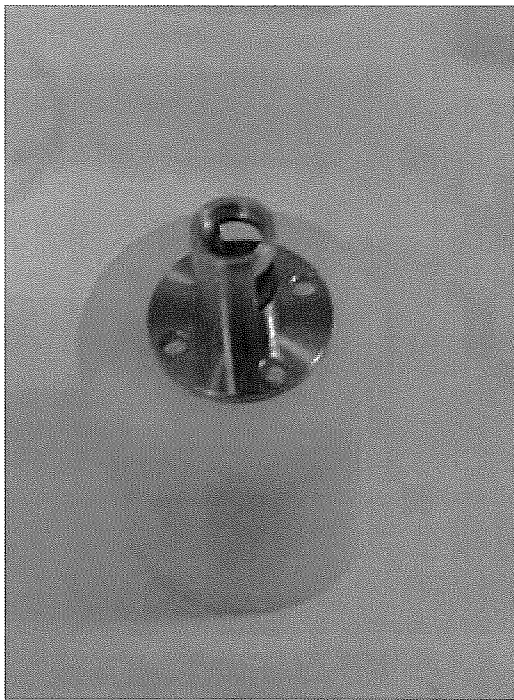


図 13 振動子ケース

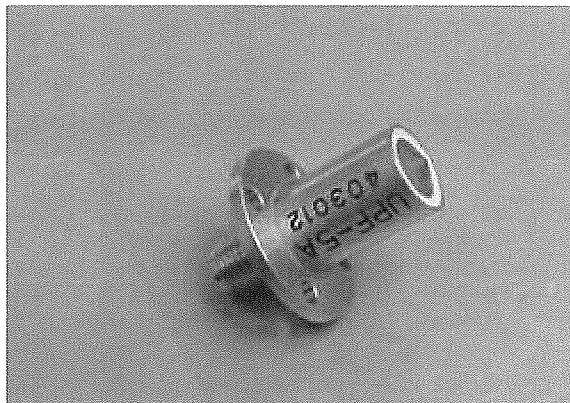


図 14 完成した振動子

完成した振動子のスペクトル特性とバースト波での受信波形を示す。

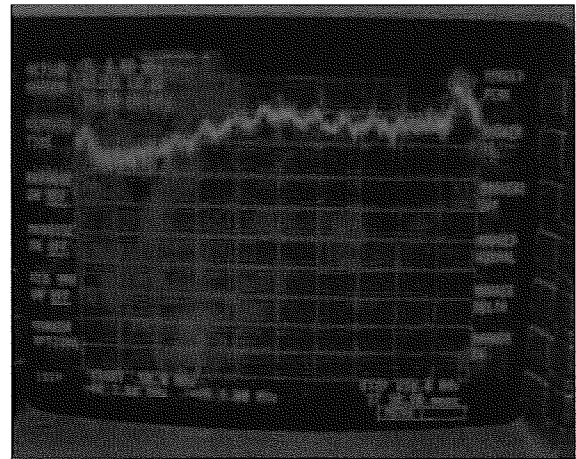


図 15 振動子の周波数スペクトル



図 16 受信波形

表 1 に示すように、作成した振動子の特性では受信のピークが 326MHz であり、挿入損失は 48dB であった。受信波を得るために水を媒体にして受信波を得ているために、水の周波数依存減衰から想定して、当初の目標の 400MHz 近傍の共振周波数の振動子が完成した。このことから、次回実質 500MHz の振動子の完成を目指すため、設計目標として振動子単体で 600MHz の振動子を作成することで実質 500MHz の受信信号を得ることが必要となる。

また、バースト波で 48dB の挿入損失では、パルス駆動時の送受効率の低下を考えると、挿入損失 40dB を目指す必要性がある。