

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19560429

研究課題名（和文）固体音響窓を活用した生体組織の B/A 測定とその C モード画像化

研究課題名（英文）B/A measurement and its C-mode imaging for biological tissues utilizing a solid acoustic window

研究代表者

齋藤 繁実 (SAITO SHIGEMI)

東海大学・海洋学部・教授

研究者番号：50091690

研究成果の概要：HF 帯の高周波集束超音波を用いて、液体および生体軟組織における微小部分の音響非線形パラメータ B/A 値を測定する方法を提案した。本研究では、音源に 2 倍周波数も同時に送受できる分極反転型圧電板、ガウスビームを実現する星型電極を採用し、また固体音響窓で試料厚保を一定にできるようにして計測を簡易化している。さらに測定を自動化・高速化し、試料上で測定点をずらしながら連続的に測定して、 B/A 値の C モード画像化を達成できる見通しを得た。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：非線形音響、非線形パラメータ、集束超音波、有限振幅法、生体組織

1. 研究開始当初の背景

音響非線形パラメータ B/A は 1 次の体積弾性率に対する 2 次の体積弾性率の比であって、それが非線形ひずみの大きさの推定や非線形性応用音響機器の設計に重要な量となる。しかし一方で、音響非線形パラメータ B/A は分子レベルでの媒質の音響情報とみなされ、物質の構造との関連性が示唆された。これにより物質の識別や同定、特に生体組織における病変などの診断が可能になると指摘されながら、その方面でのその後の研究には大きな進展が見られず、手詰まりの状態となっている。その原因には、音波の非線形現象が伝搬減衰に大きく左右されるため、伝搬減衰が複雑に分布する生体に適用するのが困難であることも大きく与っている。生体

組織を、*in vivo* でなく、たとえ *in vitro* でも精密に計測でき、組織の性状と B/A 値の関連性が明確になっていれば、 B/A が組織診断の決め手となり得ると考える。このように *in vitro* で生体組織を取り扱う場合、試料量が制約されることは必定であるが、そのような少量試料については、短波長の、最低でも HF 帯の高周波域での B/A 値の測定や評価が必要となる。一方、従来の研究で、W. K. Law, L. A. Frizzel and F. Dunn, Determination of the nonlinearity parameter B/A of biological media, *Ultrasound Med. Biol.* **11**, 307-318 (1985) などの報告により、同一の生体部位内でも病変の有無、個体差だけでなく、同一個体でありながら少し離れた部分では B/A 値が異なるとされる。このことは、同一組織においても

B/A 値にばらつきがあることを示唆している。さらには、場所、場所により細かなばらつきがあることも予想される。従来の測定は MHz 帯で比較的大きな組織試料を横断する音波で B/A 値を測定しているため、広範囲を平均化した B/A 値しか測定できず、細かなばらつきがわからない。

2. 研究の目的

B/A 値の測定ではないが、切り出した生体組織を固体板で軽く押さえ、固体板と試料との境界での集束音波の反射を検出して試料の固有音響インピーダンスを測定し C モード画像化する、音響インピーダンス顕微鏡の開発が進められている。(西條芳文, 生体内超音波ナノ・イメージング法の開発に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金(萌芽的先端医療推進研究事業) 統括研究報告書, 2006) 固体板で試料を軽く押さえれば、生体試料を平坦な面をもつ一定形にすることができる。この音響インピーダンス顕微鏡の利点を B/A 測定に活かしたい。固体板で押さえれば、試料の厚さを場所によらず一定にすることができる。伝搬距離が影響する非線形特性の測定には非常に有利である。本研究は、本研究代表者のこれまでの B/A 測定装置の構造を、試料を押さえる固体板音響窓を通して集束超音波を照射するように変形して、 B/A 値を精度良く測定し、さらに音源から等距離の面上での分布を描出する C モード画像を得ようとするものである。

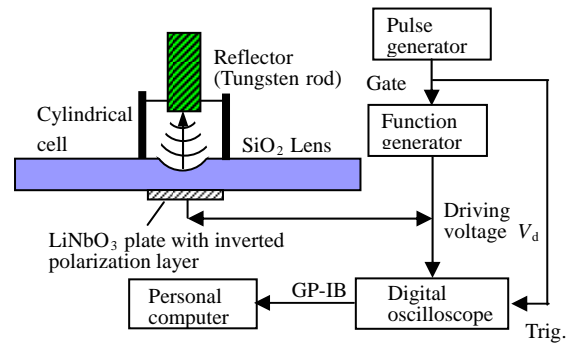
3. 研究の方法

非線形特性を含めて固体板の音響特性を予め精密に測定しておく必要がある。本研究者は、集束超音波の微小な集束領域の媒質を試料で置き換え、そこで発生した非線形ひずみのうち、第 2 高調波成分を抽出して、物質の B/A 値を測定する方法をこれまで種々試みて来た (S. Saito, Measurement of the acoustic nonlinearity parameter in liquid media using focused ultrasound, J. Acoust. Soc. Am. **93**, 162-172 (1993)). 生体試料は不定形で剛性があるため、殊に微小試料では厚さ(音波の伝搬距離)を正確に設定した上でのカップと隔離が難しく、これによる不確実性は集束音波での測定には避けられないと考えてきた。しかし、厚い固体板で押さえても、有限振幅測定が可能な透過振幅が得られ、 B/A 測定が可能である見通しである。本方法は横方向の分解能(選択性)も高く、単純な構造で微小な試料の *in vitro* 測定が可能になると考える。これは、 B/A 値が分子レベルでの媒質の状態を反映しているとしながら、従来、空間的に複雑に変化しているはずの生体組織でも大きな試料で測定して空間平均した B/A 値を求めていた矛盾を払すことにもなる。

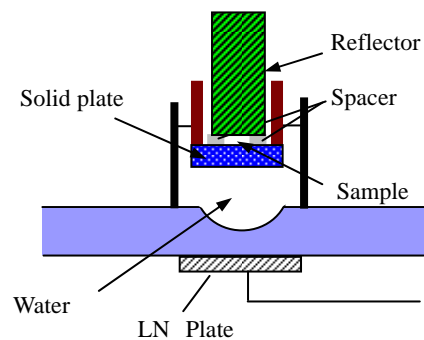
(1) 20MHz集束超音波非線形測定系において固体板を音響窓に用いた構成への改良: 本研究者がこれまでに開発した、20 MHz超音波を基本波とし、集束型ガウス・ビーム送受波器を利用した非線形パラメータ B/A の測定装置のブロック図を図 1(a)に示す。

音響レンズ上面に設置された円筒容器に 6 ml 程度の液体試料を注ぎ、特性インピーダンスが非常に高いタングステン反射棒の端面を焦点に置く。分極転層を有する LiNbO_3 圧電板から放射され、集束される超音波の伝搬途上で生成された第 2 高調波成分が元の基本波成分と共に、圧電板で効率良く受信される。反射棒の設置位置、受信波の振幅などから、試料の音速、密度、減衰定数、さらに B/A が同時に求められる。本装置では 200 Np/m 以上の高減衰試料では、主たる第 2 高調波の生成位置である集束領域に達するまでに音波が減衰してしまい、 B/A 測定が不可能となる。したがって、この問題に対応するために、1(b)図のように、低減衰の音響カップとして、蒸留水を用いる。厚さ 1 mm 程度の試料容器には、厚さ 1~2 mm の固体板音響窓を通して音波が照射される。固体板の特性評価と適切な選択が必要である。薄い試料からの情報を確実にするため、固体板内やレンズ内の多重反射波との重畳を避けるため、各部の寸法を念入りに調節した音響システムを新たに作る必要がある。

(2) 測定法の確立: 固体板の音響特性を勘案した B/A 値の算出法を確立する。本実験装置は、本研究者が独自に開発したガウス音源を用いており、ビーム音圧の径方向分布があらゆる軸方向距離でガウス分布をとる。そのため、極めて簡便に計算できる解析解が求められ、それが測定の際の B/A 値算出に供される。その算出法に基づいて B/A の真値が得られることを、 B/A 値が既知の液体試料(シクロヘキサン、エチレングリコールなど)について実験し、確認する。減衰の大きい固体板の選択によっては、当初の予定通りに進展しない恐



(a) 送受波器と回路構成



(b) 固体音響窓を用いた実験系

図 1. 集束型ガウス・ビームの実験系

れがある。固体板の選定は慎重に行う必要がある。(3) 測定の自動化: (2)で確定された測定法を自動化する。自動化には、計測・制御用に市販されているナショナル・インスツルメンツ社のソフトウェア開発アプリケーション LabVIEW を用いる。このプログラミングは研究の本質的課題ではないが、重要な部分であるので、確実かつスピーディに進める。平成 17 年度に本研究代表者のポスドク研究員であって、現在、民間企業に勤務する金正鎬博士は計測・制御のためのコンピュータ・プログラミングに精通している。必要動作の詳細を煮詰めながら、プログラミングは氏に委託する。金正鎬氏は、本研究者との共著論文 S. Saito, J.-H. Kim and K. Nakamura, Automatic measurement of acoustic nonlinearity parameter in liquid media, Ultrasonics, **44**, e1429-e1433 (2006) で、既に実績がある。

(4) 非線形パラメータ自動測定法の試験: 構築した自動化 B/A 測定装置を用いて、各種の生体関連物質(肝臓、アルブミン溶液、ヘモグロビン溶液、卵白、卵黄など)や化学物質(アルコール水溶液など)の測定を行い、測定方法の妥当性を検証する。

(5) C モード画像化システムの構築: 自動化測定の手法を拡張して、集束ビームを、ビーム幅 (0.2 mm) 程度の刻み幅で試料上に縦横に走査し、測定位置をずらしながら B/A 値を測定する。その測定結果を蓄積した後、C モード画像として表示する。これにも、LabVIEW プログラミングを用いる。金正鎬博士に委託の予定である。

4. 研究成果

上記の方法に従って遂行した研究の成果を述べる。

(1) まず、既に構築されている 20 MHz 集束超音波非線形測定系において、試料を水カプラントから隔離する音響窓に高分子膜を用いて B/A 値を測定できることを示した。その改良として、試料厚を一定にし易い固体音響窓を採用するため、各種高分子板の音響特性の評価を行った。この評価のための測定では、高分子板の背面を濡れたタングステン棒に密着させここを往復伝搬した音波の基本波振幅や第 2 高調波振幅などから高分子板の音響諸定数を算出した。測定例を表 1 に示す。この結果から、使用周波数で減衰と速度分散性が最も小さいポリスチレンが適しているという結論を得た。またポリスチレンの B/A 値も測定できた。そこで、ポリスチレン板を音響窓に採用して試料の

表 1 高分子板の測定結果

	ポリスチレン	アクリル	PET
ρ_d (kg/m ³)	1049	1138	1097
c_d (m/s)	2333	2467	2491
Δc (m/s)	0.9	19.9	17.9
α_{d1} (Np/m)	121	937	738
α_{d2} (Np/m)	310	1800	1290
$B/A)_d$	11.4	11.9	10.5

B/A 値を測定することとした。なお、本測定では、高分子板とタングステン棒の間のギャップにおける多重反射が第 2 高調波の生成に大きな影響を与えることを理論的、実験的に示し、それを補正する測定を行うという新たな知見を得た。また、ポリスチレン以外の高分子板では使用周波数帯で速度分散が比較的強く、これも第 2 高調波の生成に大きな影響を与えることを示した。そこで、速度分散の大きさを測定するのに、基本波、第 2 高調波の両方を含む 2 周波超音波を送波したとき、非分散である蒸留水を試料に置き換えたときの受波信号における 2 周波の位相差の変化を測定する方法を採っている。表 1 の Δc は第 2 高調波周波数での音速が基本波周波数での音速よりどれだけ高いかを示している。ポリスチレンでは分散が小さいことも音響窓への採用の理由のひとつである。

(2) 図 1(b)のように固体音響窓とタングステン反射棒の間のギャップに試料を納め、ここを往復伝搬して音源に戻ってきた音波の基本波、第 2 高調波振幅などを測定して試料の密度、音速、減衰係数、速度分散および非線形パラメータを求める測定法を開発した。本実験装置は本研究者らが独自に開発したガウス音源を用いており、ビーム音圧の径方向分布があらゆる軸方向距離でガウス分布をとる。そのため、音場について極めて簡便に計算できる解析解が求められ、それが測定の際の B/A 値算出に供された。ただひとつの問題点として、固体音響窓では集束ビームの斜め入射成分に対し横波へのモード変換が起り、それが予期せぬ大きな誤差要因となることがわかった。すなわち、試料を往復伝搬する時間を計測して既知の試料厚とから試料中の音速 c を求めた後、試料-音響窓境界面での音圧反射係数から、試料の固有音響インピーダンス、したがって密度 ρ を求める。しかし、斜入射成分を含む集束音波では、縦波エネルギーの一部が横波のそれに変換されるため実効的な音圧反射係数は垂直入射表面波のそれより小さな値となる。この低減率 R は、図 2 に示すように、試料の ρ 、 c の関数となるので、結局、実験的に反射係数を求め、 c が既知であれば ρ を求めることができる。また、試料の速度分散は第 2 高調波の生成に影響を与えるので、これを補正するため、(1)で

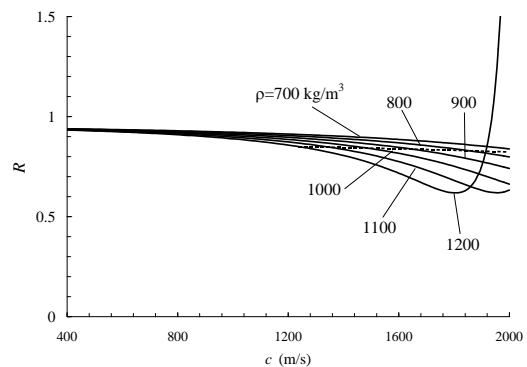


図 2 ポリスチレン板-試料境界での実験集束ビームの反射係数低減率の理論値

述べたと同様の方法で速度分散を測定している。 B/A 値が既知の液体としてエチレングリコールとメタノールを選び実験したところ、表2の結果を得た。括弧内の文献値と6%以内で一致しており、妥当な結果である。豚肝臓、鶏肉、鶏卵などの生体関連試料についても測定し、文献値と良く似た結果が得られた。さらに、従来測定されていない生体試料等について測定を行った結果は、後述の学会発表⑦の研究会資料に示してある。

(3) (2)で確定された測定法を、LabVIEWを用いて自動化した。手動では馴れていても試料設置後に15分くらいかかる測定を自動化によって迅速に行い、試料位置をずらして測定を繰り返して行うことによってCモード画像化を達成するためである。自動測定では手続きの簡略化を図った。例えば、タングステン棒からの反射波を受信するためにはタングステン棒端面を焦点に設置する必要があるが、(2)の手動測定では、オシロスコープ上でタングステン棒からの反射波と思われる信号の振幅が最大になるよう位置調節を行った。これをそのまま自動化できるが、位置を変えて振幅を読み取る動作を繰り返し行うため、時間を喰う。ここではこの高速化は、理論上の焦点距離に、メカニカルステージで直ちに反射面を移動させる方法を採用した。図3はレンズ中央から音響窓背面までの距離 z_B を横軸にとり、タングステン棒、音響窓背面および前面からの反射波受波振幅の z_B 依存性を示している。それぞれの振幅が最大となる位置、すなわち各面が焦点となる距離が、試料と音響窓の厚さ(L, d)および音速(c, c_d)と水中音速 c_w によって決まることが確かめられる。したがって、音響窓背面を焦点距離に置いたときにタングステン棒移動用メカニカルステージの基準位置を決め、この位置で c, ρ を測定した後、タングステン棒か

表2 液体試料の測定結果

試料	エチレングリコール	メタノール
ρ (kg/m ³)	1101 (1113)	779 (791)
c (m/s)	1670 (1666)	1106 (1121)
α_1 (Np/m)	75 (65)	8.8 (11.7)
α_2 (Np/m)	234 (242)	42.2 (46.6)
B/A	9.3 (9.9)	9.3 (9.6)

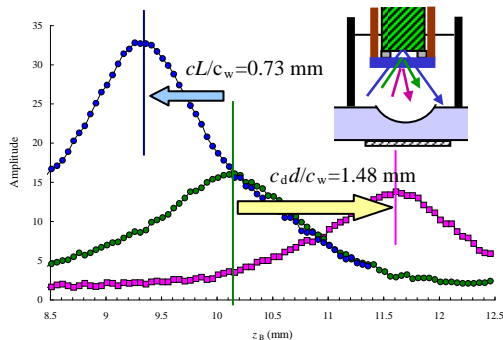


図3 反射振幅の距離依存性

らの反射波は z_B が減少する方向に単に cL/c_w だけステージを移動させて測定するようにした。また、 $f, 2f$ での減衰測定を速度分散の測定と同時にやって、時間の節約を図った。一方、高精度化のために、音響部分全体を低温インキュベータ内に収納することによって一定温度化を徹底した。また、速度分散の測定時には、バースト波全体をフーリエ変換して、ノイズの影響を低減できるようにした。さらに、トランスデューサの駆動電圧やオシロスコープの測定レンジを、小振幅範囲で十分なS/N比を確保できるように設定した。その結果、試料設置後、20秒後に B/A が自動測定された。タングステン棒移動用メカニカルステージの初期設定に大半の時間が使われているため、繰り返し測定では、2回目から測定時間は大幅に短縮され、1回あたりの時間は5秒となる。また、その繰り返し B/A 測定値の標準偏差は1%程度に抑えられた。測定例として、図4に、牛ヘモグロビン水溶液の B/A の濃度依存性を測定した結果(○印)を25°Cでの熱力学法による文献値(●印; W. K. Law, L. A. Frizzell and F. Dunn, *Ultrasound Med. Biol.* **11**, 307-318 (1985))と比較して示す。15、20%では一致が悪いが、他は良く一致している。

(4) 図1の構成で、生体軟組織を、試料容器の空間の厚さよりやや厚めに切り出し、それを容器に納めると、タングステン棒に押されて一定の厚さとなる。この試料の B/A 自動測定と並行して、トランスデューサ、音響レンズ、円筒水槽を固定している台をx-yステージで水平方向に2次元に0.2mmずつ移動させる。移動と測定を交互に繰り返して行い、一定面積での測定終了後に、保存された B/A 値をカラースケールで2次元表示してCモード画像を得る。*in vitro*な試料として、市販されている豚肝臓を厚さ1mm程度に切り取り、その中央部の $3 \times 3 \text{ mm}^2$ の範囲を0.2mm置きに $16 \times 16 = 196$ 回の B/A 測定を行って得たCモード画像の例を図5に示す。所要時間は約22分であった。 B/A 測定値は約5から約9までの間の広い範囲に分布しており、1. で述べたばらつきが現れている。試料の設置状況を光学的にも観測するなどして、ばらつきの要因が試料の音響的特性であることを確認した後、各種の生体試料を観察してばらつき具合につきデータを蓄積する予定である。

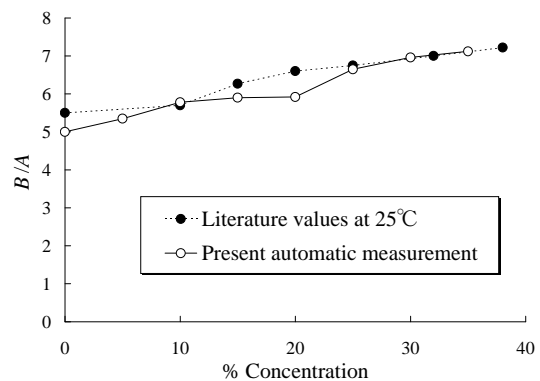


図4 ヘモグロビン水溶液の B/A

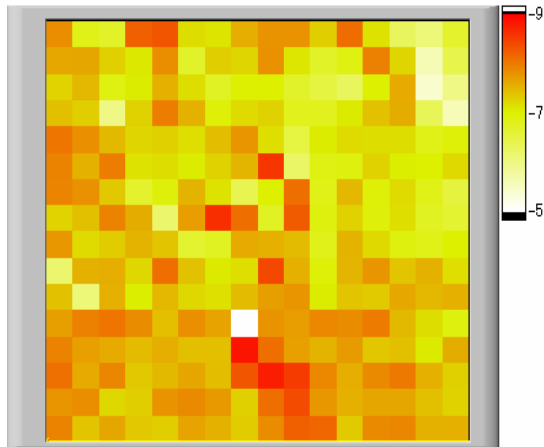


図5 豚肝臓試料で得られた B/A 値の $3 \times 3 \text{ mm}^2$ の Cモード画像

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4件)

- ① 斎藤繁実、集束超音波の波形ひずみの特性と計測への応用、電子情報通信学会論文誌A、J91-A、1198-1115、2008、査読有
- ② Shigemi Saito and Yoshiro Motohashi、Nonlinearity parameter measurement for polymer plates using focused ultrasound、Japanese Journal of Applied Physics、47、7380-7385、2008、査読有
- ③ Shigemi Saito, Shin'ya Takahashi and Kenji Saida、Measurement of acoustic nonlinearity parameter of small-volume liquid sample using focused ultrasound、47、3859-3864、2008、査読有
- ④ Shigemi Saito、Measurement of acoustic property of small-volume liquid sample beyond acoustic window、Japanese Journal of Applied Physics、46、4549-4554、2007、査読有

[学会発表] (計12件)

- ① 斎藤繁実、少量液体試料の音響非線形パラメータの自動測定、電子情報通信学会超音波研究会、2009.1.30、同志社大学
- ② Shigemi Saito、Automatic measurement of nonlinearity parameter B/A for small volume liquid samples、第29回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム、2008.11.11、仙台市シルバーセンター
- ③ 斎藤繁実、少量液体・生体試料の非線形パラメータの自動測定、日本音響学会秋季研究発表会、2008.9.11、九州大学
- ④ Shigemi Saito、Nonlinearity parameter measurement for polymer plates using

focused ultrasound、18th International Symposium on Nonlinear Acoustics、2008.7.9、Royal Institute of Technology、Stockholm

- ⑤ 斎藤繁実、小体積生体試料の音響非線形パラメータの測定とその自動化、電子情報通信学会超音波研究会、2008.4.25、電気通信大学
- ⑥ 斎藤繁実、集束超音波による高分子板背後媒質の音響特性の測定、日本音響学会春季研究発表会、2008.3.18、千葉工業大学
- ⑦ 斎藤繁実、高分子板を介した液体媒質の音響特性の測定、電子情報通信学会超音波研究会、2008.1.29、関西大学
- ⑧ Shigemi Saito、 B/A measurement for small volume liquid sample using focused ultrasound、第28回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム、2007.11.15、つくば国際会議場
- ⑨ 斎藤繁実、集束超音波を用いた高分子板の非線形パラメータの測定、電子情報通信学会超音波研究会、2007.9.28、東北大学
- ⑩ 斎藤繁実、集束超音波による高分子板の非線形パラメータの測定、日本音響学会秋季研究発表会、2007.9.20、山梨大学
- ⑪ 斎藤繁実、集束超音波による高分子板の B/A 測定、非線形音響研究会、2007.7.21、加藤科学振興会軽井沢研修所
- ⑫ 斎藤繁実、集束超音波を用いた小体積液体試料の B/A 測定、電子情報通信学会超音波研究会、2007.5.30、電気通信大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

斎藤 繁実 (SAITO SHIGEMI)

東海大学・海洋学部・教授

研究者番号：50091690

(2) 研究分担者：なし

(3) 連携研究者：なし