

\*田中 雄次郎<sup>1,2</sup>, 酒井 光児<sup>1,2</sup>, 村井 友海<sup>1</sup>, 林 勝義<sup>1,2</sup>, 1 NTT先端集積デバイス研究所, 2 NTT物性科学基礎研究所

\*Yujiro Tanaka<sup>1,2</sup>, Koji Sakai<sup>1,2</sup>, Tomomi Murai<sup>1</sup>, Katsuyoshi Hayashi<sup>1,2</sup>, 1 NTT Device Technology Labs, 2 NTT Bio-Medical Informatics Research Center  
Email: yujiro.tanaka@ntt.com

**アブストラクト** 生きた細胞や組織の物性を非侵襲かつ定量的に三次元で可視化できる音響インピーダンス顕微鏡が注目されている。超音波ビームの集光によりビームが深さ方向に広がるため測定深度(3 μm程度)が制約されている。厚い細胞, スフェロイド, オルガノイドなど培養組織への適用に向け測定深度の改良が望まれている。本研究では, 超音波ビームプロファイルを考慮した受信信号補正により厚さ7μm程度の心筋細胞への適用可能性を示した。

**超音波インピーダンス顕微鏡**

メリット: **ディッシュの外から染色なしで細胞・組織・臓器の微視的な機能(音響インピーダンス)を3次元的に可視化できる。**

**【2次元音響インピーダンス像の算出】**

○参照(培地)からの反射信号

$$S_{Med} = \frac{Z_{Med} - Z_{Poly}}{Z_{Med} + Z_{Poly}} S_{Input}$$

○細胞からの反射信号

$$S_{Cell} = \frac{Z_{Cell} - Z_{Poly}}{Z_{Cell} + Z_{Poly}} S_{Input}$$

○細胞の音響インピーダンス

$$Z_{Cell} = \frac{1 - \frac{S_{Cell}}{S_{Med}} \frac{Z_{Poly} - Z_{Med}}{Z_{Poly} + Z_{Med}}}{1 + \frac{S_{Cell}}{S_{Med}} \frac{Z_{Poly} - Z_{Med}}{Z_{Poly} + Z_{Med}}} Z_{Poly}$$

**【3次元断面の音響インピーダンス像の算出】**

○音響インピーダンス Z, 透過係数 T, 反射係数 Γ, 各深さからの反射信号強度 q

$$Z_1 = \frac{1 + q(t_0)}{1 - q(t_0)} Z_{Poly}$$

$$T_0 = \frac{4Z_1 Z_{Poly}}{(Z_1 + Z_{Poly})^2}$$

$$Z_i = \frac{1 + \Gamma_{i-1}}{1 - \Gamma_{i-1}} Z_{i-1}$$

$$T_i = \frac{4Z_{i-1} Z_i}{(Z_i + Z_{i-1})^2}$$

$$\Gamma_i = \frac{q(t_{i-1})}{\prod_{k=1}^{i-1} T_k}$$

S : Ultrasound signal Z : Acoustic impedance Γ : Reflectance  
q : Reflection T : Transmittance

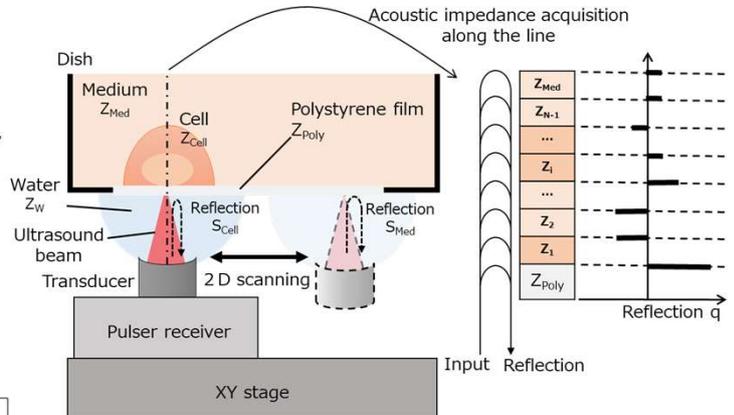


Figure 1 Schematic configuration and procedure of acoustic impedance microscope

**課題**

- ・振動やディッシュのひずみにより超音波ビームが焦点位置からずれると音響インピーダンスの算出で誤差が生ずる。
- ・超音波ビームの広がりにより深さ方向の反射波の強度に誤差が生じ3次元音響インピーダンス像の描出が困難である。

**目的: 反射波の位相シフトをもとに超音波ビームの焦点位置からのずれを補正して上記課題を軽減する。**

**提案手法**

○従来手法

(1) 2次元強度像取得

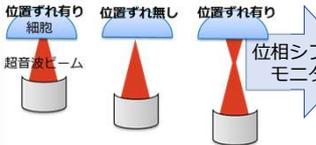


Figure 2 Deviation from focal spot

○提案手法

(1') 反射波の位相シフトをマップ化

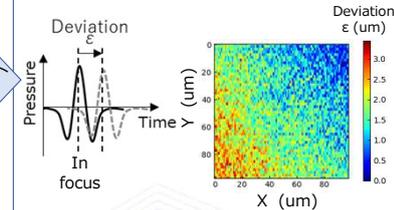
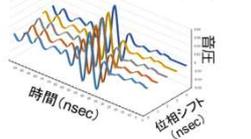


Figure 4 Deviation from focal spot

(2) 2次元音響インピーダンス像描出

反射強度補正



(3') 反射強度の深さ方向補正

$$G(t, \epsilon) = \frac{1}{\pi w(t)^2} \exp\left[-\frac{2(t - \epsilon)^2}{w(t)^2}\right]$$

$$q_{Compensate}(t) = G(t, \epsilon) \cdot q(t)$$

Figure 5 Beam profile compensation

(3) 反射強度q算出

$$q(t) = F^{-1} \left[ \frac{F[S(t)]}{F[S_{ref}(t)]} \right]$$

F : Fourier transform

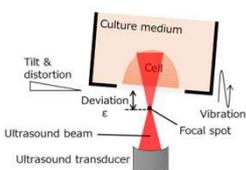


Figure 3 Ultrasound beam profile

(4) 3次元音響インピーダンス像描出

ビームプロファイル補正

$I_0$  : Intensity of ultrasound beam  
Z : Coordinate  
w : Beam waist of ultrasound beam  
 $\epsilon$  : Deviation from focal spot

**結果と考察**

○装置の仕様

Center frequency	320 MHz
Range	200-400 MHz
Radius	0.25 mm
Sapphire lens	60°
Aperture diameter	0.41 mm
Beam waist	5 μm
Sampling rate	5 GHz

○サンプル

・培養2日目でアルデヒド固定

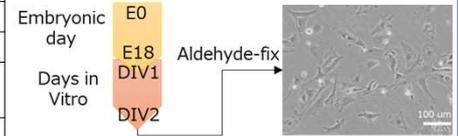


Figure 6 Culture protocol

○2次元音響インピーダンス像

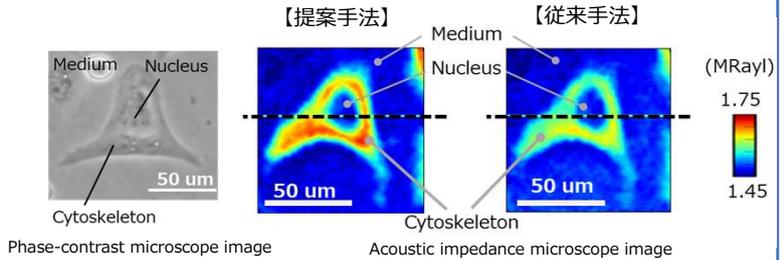


Figure 7 Comparison of 2D acoustic impedance mapping

○3次元断面の音響インピーダンス像

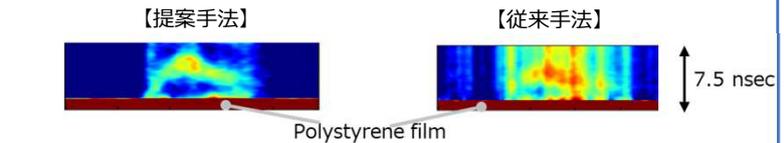


Figure 8 Comparison of 3D acoustic impedance mapping

提案手法によって細胞骨格や細胞質の輪郭が描出可能である見込みを得た

**結論**

提案手法により細胞骨格と核を明確に描出した。細胞内の音速を 1600 m/s と仮定すると細胞の厚さは約 7 μm である。先行研究の細胞より厚みのある細胞の3次元の音響インピーダンスマッピングが可能である見通しを得た。今後, 多重反射の影響やビームの広がり影響の除去を進め, 細胞の輪郭上部に残るゴーストの除去や解像度の向上を進める予定である。

**参考文献**

[1] Prastika, Edo Bagus, et al. "Acoustic impedance interpretation of cross-sectional human skin by using time and frequency domain deconvolution." *Japanese Journal of Applied Physics* 59.5K (2020):