

7

大脳皮質内微小血管観察の為の超音波顕微鏡の開発研究

五洋電子工業株式会社 開発センター機会開発部

## 報 告 要 旨

研究委託の名称	大脳皮質内微小血管観察の為の超音波顕微鏡の開発研究
企 業 名	五洋電子工業株式会社
研究委託の目標	
100MHz 大脳皮質内観察装置（生体用超音波断層顕微鏡）の開発	
実施計画書の目標	
大脳皮質表面から垂直に脳内深部に向かう細動脈を超音波で画像化し光学画像との対比により超音波画像を解析する。	
実 施 項 目	
制 御 部	<ul style="list-style-type: none"> <li>1) センサーと光学カメラの切り替えソフト開発</li> <li>2) 5um ステップ対応ソフト開発</li> <li>3) コンピュータインターフェース回路開発</li> </ul>
探 触 子 部	<ul style="list-style-type: none"> <li>1) 超音波センサー（先端形 1.8 ）の開発</li> <li>2) フォーカスの選択</li> </ul>
操 作 部	<ul style="list-style-type: none"> <li>1) 超音波センサー及び光学観察用 CCD カメラの取付け用ステージの開発</li> <li>2) 移動、回転可能なティルトステージの開発</li> </ul>
R F 部	<ul style="list-style-type: none"> <li>1) 周波数 100MHz 対応の R F ユニットの開発</li> <li>2) R F 回路の開発</li> </ul>
光学観察部	<ul style="list-style-type: none"> <li>1) CCD カメラの選定</li> <li>2) 光学観察用システムの開発</li> </ul>
結 果	
<p>発信周波数 100MHz の超音波顕微鏡を用いて、大脳皮質表面から垂直に脳内深部に向かう細動脈の可視化が実現できた。</p> <p>但し、生体で実際に捉えられた像が細動脈に相当するものか否かの確認には至らず、まだ実用には課題が残されている。</p>	
取得物件の利用計画	
秋田大学にて継続評価	

# 1. 新技術の概要

## 1.1 研究委託の内容

100MHz 大脳皮質内観察装置（生体用超音波断層顕微鏡）の開発

- ・高分解能（分解能：40 μm 以下）の小型センサの開発
- ・超音波断層画像及び超音波平面画像、映像化装置の開発
- ・10 μm ステップ動作超音波センサ駆動装置の開発
- ・超音波画像、光学画像対比システムの開発

## 1.2 工業所有権

特になし

# 2. 実施期間

平成 8 年 1 月 16 日～平成 8 年 12 月 31 日

# 3. 実施場所

五洋電子工業株式会社鶴沼台工場

所在地：秋田県南秋田郡天王町天王字長沼 64 番地

研究協力機関

本多電子工業株式会社メディカル事業部

所在地：愛知県豊橋市大岩町小山塚 20

# 4. 実施経過

研究項目/月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
基礎実験	.....	.....										
システム検討		.....	.....	.....								
システム設計		.....	.....	.....	.....							
製作					.....	.....	.....					
性能実験							.....	.....	.....	.....	.....	.....
まとめ									.....	.....	.....	.....

..... 計画

..... 実行

# 5. 研究委託の結果

## 5.1 実施項目

- (1) 制御部
- (2) 探触子部
- (3) 走査部
- (4) 脳定位固定装置付きラット台部
- (5) R F 部
- (6) 光学観察部

## 5.2 実施結果

- |                    |    |
|--------------------|----|
| (1) 制御部            | 完成 |
| (2) 探触子部           | 完成 |
| (3) 走査部            | 完成 |
| (4) 脳定位固定装置付きラット台部 | 完成 |
| (5) R F 部          | 完成 |
| (6) 光学観察部          | 完成 |

## はじめに

「大脳皮質内微小血管観察の為の超音波顕微鏡の開発研究」について、結果の報告を行う。本研究では、研究実施計画にしたがい、仕様を満足する超音波顕微鏡を作製した。以下に、研究実施計画、仕様を添付する。また、結果として、制御部、探触子部、走査部、脳定位固定装置付きラット台、RF部、光学観察部、総合評価、まとめを報告する。

## 研究実施計画

### 1 研究の内容

Positron Emission Tomography (PET) など非侵襲的脳計測法を用いた研究によれば、外界から刺激を受けると、大脳皮質の特定の領域で脳血流に変化が起こることが示されている。これらの研究を基礎に、脳の高次機能を論じる際に重要なことは、局所の血流変化と神経活動とがどのように関係しているかを明らかにすることである。しかし実際に神経活動とこれに同期して起こるとみられる微細な脳内血流変化とを同時に直接計測するにはいくつかの技術的問題がある。なかでも脳内部の血管配置を可視化する方法の欠如はこれまで血流測定に際して大きな障壁となってきた。そこで本研究委託では超音波制御技術について実績を有する企業などを対象として、一般に個体深部の断層像を得る為に使われる超音波顕微鏡技法を生きた動物の大脳皮質内の観察に応用し、脳内微小血管配置の3次元画像を得ることを目的とした超音波顕微鏡装置を開発する。

従来、超音波顕微鏡は半導体チップ内部の探査などに適用されてきた。本研究では、この技法を生体脳内部の比較的規則的配列をなす細動脈の観察に応用することによって脳内微細血管構築を可視化する。この技術は非侵襲的手法であり、神経細胞の活動とそれに伴う血流すなわち二次信号との相互作用を検討する上での新たな手法の基礎となる。さらに、ここに得られた成果をこれまで PET によって得られた知見と比較検討することで、二次信号をもとにした高次脳機能の理解の推進に役立つ。

### 2 期待される効果

脳内部の微細な血管構築に関する情報は従来、動物を解剖しない限り得ることができなかった。しかし本委託研究により脳内微細血管の三次元配置が可視化され

ば、大脳皮質表面から垂直に脳内深部に向かう細動脈などの位置を同定できる。そこで超音波顕微鏡装置にドプラー装置を組み込み、得られた画像をもとに局所におけるドプラー血流波形の解析を行えば、脳内特定部位の微小領域における血流速度の変化という他の手法では得られない重要な二次信号パラメーターを実測可能である。これに加えて、電気生理学的手法を同時に適用すれば、神経細胞の活動と局所血流変化との間の動的関係を直接捉えることが可能となり、本共同研究の目標である中枢神経系の二次信号発生機序の解明に向けて、大きな前進が期待される。更に、ここに得られた技術は脳血管障害や胎児・新生児期の虚血性脳疾患などの予後診断や機能回復等に始まり、極微細な生体組織像観察に向けて、今後大きな臨床応用の可能性を開くものと期待される。

#### 《仕様》

##### R F 部

送受信周波数 25 ~ 100MHz

##### 制御部

画像表示 A、B、C スコープ同時 / B、C モード領域可変

最大画像取込数 8 画面同時取込

画像データ取込方式 カーソルサンプリング (ゲート 20n sec)  
ゲートホールドサンプリング (20n sec ~ 38.4 μ sec)  
追従ゲートサンプリング (20n sec ~ 38.4 μ sec)

モニター 9 インチカラー CRT

画像分解機能 B / W 128 階調、カラー 16、64 階調 (384 × 384 ドット)

視野サイズ 8 サイズ

電源 AC 100 V / 600 V A

##### 探触子部

探触子 100MHz

##### 走査部

走査タイプ X、Y、Z ステージ

ステージ移動量 100 × 140 × 50mm  
( X 軸 ) ( Y 軸 ) ( Z 軸 )

走査速度 最大 50mm / sec

ラフスキャン 2、4、8、16 ( 4 段階 )

外部トリガによる走査の同期機能

CCD カメラ取付台付

##### 脳定位固定装置付きラット台

ラット台サイズ 120 × 300mm

ラット台回転角度  $\pm 20^\circ$

光学観察部

チップ積算型 CCD カメラ (浜松ホトニクス製)

12インチ観察用モニター (浜松ホトニクス製)

イメージプロセッサ (浜松ホトニクス製)

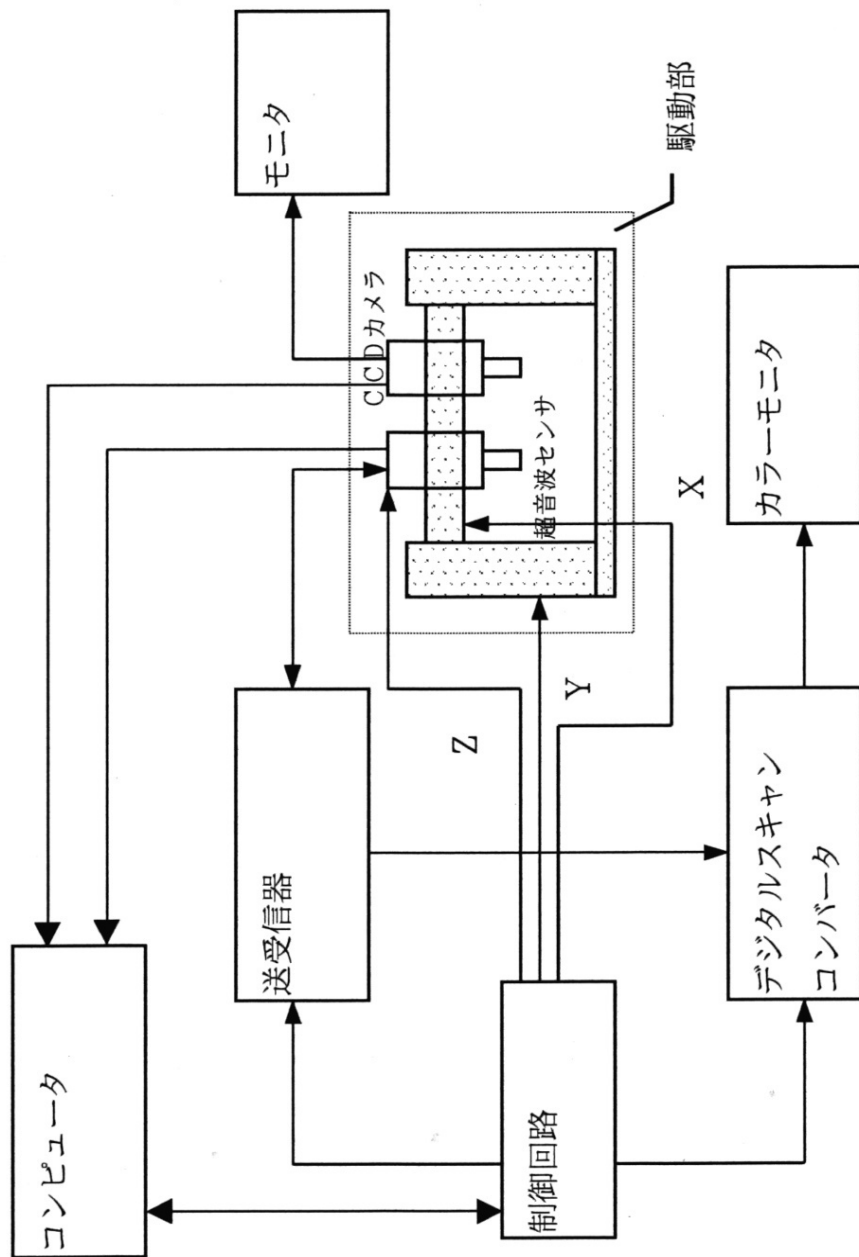
超音波画像処理

DOS/V パーソナルコンピュータに B モード画像を連続 384 枚取り込み

C モード画像表示

CCD 画像データ取り込み

超音波断層顕微鏡構成図



## 制御部

制御部は、当社製 HA - 701 を基本にし、ソフトウェア改造、及び、コンピュータインターフェース回路の追加を行った。本研究では、超音波センサー光学カメラの切り替えプログラム、マイクロステップドライバ(1ステップ5  $\mu\text{m}$ ) 対応プログラム、コンピュータデータ転送インターフェース作製、外部トリガによる走査の同期機能作製を行った。HA - 701 カタログ、コンピュータインターフェース仕様書を添付する。

701 本体 (ソフト改造)



上に外部 RF ユニットを乗せている

### 走査型超音波探傷映像装置 HA-701

- 小型軽量の卓上型で設置、移動が簡単に行えます。
- コストパフォーマンスに優れています。

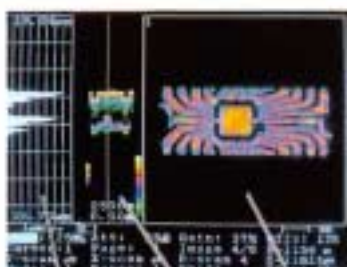




## 特長

- 豊富な機能。画像処理ソフトを標準装備しています。

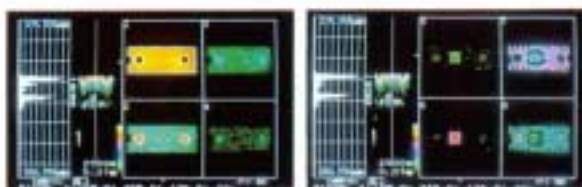
### ABCスコープ リアルタイム表示



Aスコープ Bスコープ Cスコープ

- Bスコープ像を見ながらCスコープ像のサンプリング位置が決定できます。
- 欠陥の深さ、位置、形状、大きさなどが素早く確認できます。

### 最大日画像の同時取込が可能



ページ1

ページ2

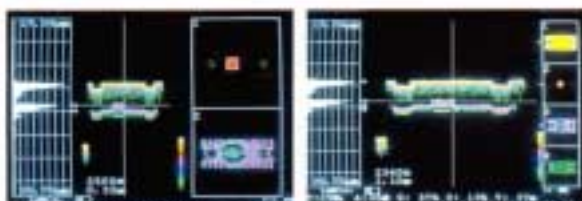
- 画像化したい位置にカーソル1~8を合わせる事で、それぞれに対応した位置のスライス像をCスコープ画面1~8に同時に表示できます。

### 高分子凹面探触子の採用



- 音響レンズ方式と異なりレンズ内の多重反射が存在しません。
- 水との整合性が良いので高い放射効率が得られます。

### Bスコープ拡大画像



モード3

モード4

- モード3、4にてBスコープの拡大ができ断面画像をより見やすくします。
- 欠陥判定、深さ計測などに最適です。

### 簡単操作のキーボード

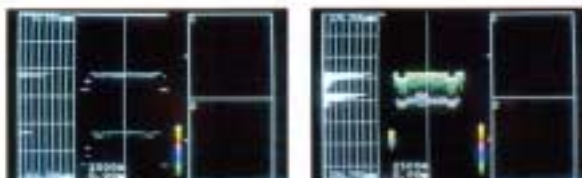


HA-701

HA-711

- 専用キーボード・ダイレクトキーの採用により取扱いが簡単で操作性に優れています。

### レンジ・シフト機能の採用

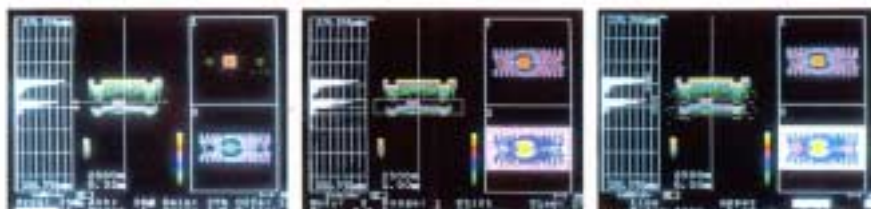


レンジ：4 シフト：0

レンジ：1 シフト：19.04μsec

- 深度レンジ（4レンジ）とシフト機能により深度方向の部分拡大ができ欠陥部の深さ方向の詳細な観察ができます。

### 3方式の画像取込方式を採用



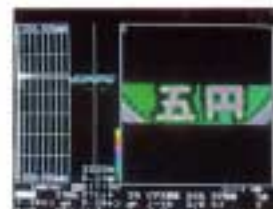
○カーソルサンプリング方式

○ゲートサンプリング方式

○回転ゲートサンプリング方式

- 被検体の表面形状や厚さ、欠陥の形状、大きさ、深さなどに応じて方式を選択でき、確実に欠陥を捉えます。

### 画像化時間の短縮

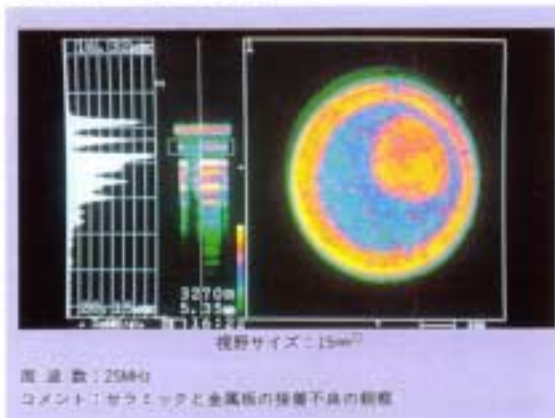


R-スキャン2、縦横比%

- 縦横比可変・粗走査(R-スキャン)方式の採用で実現。

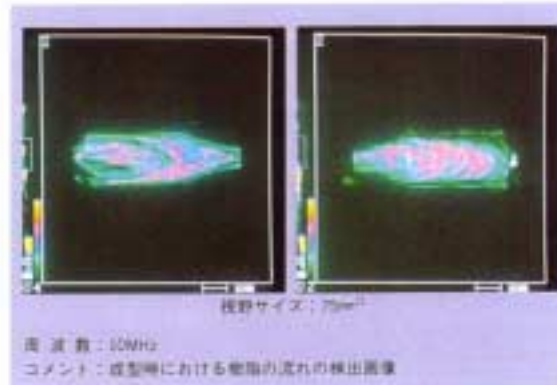
## 応用例

### ■ サンプル：圧電セラミックスセンサー



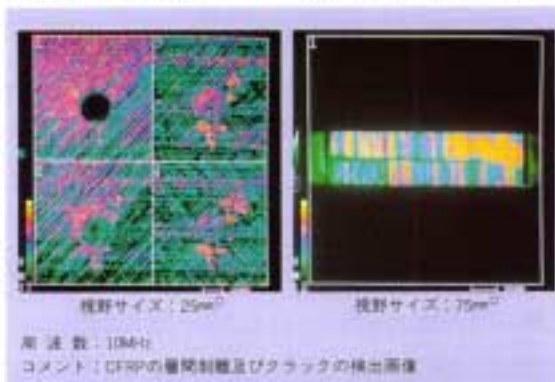
### ■ サンプル：樹脂

試料提供：山形大学工学部物質工学科



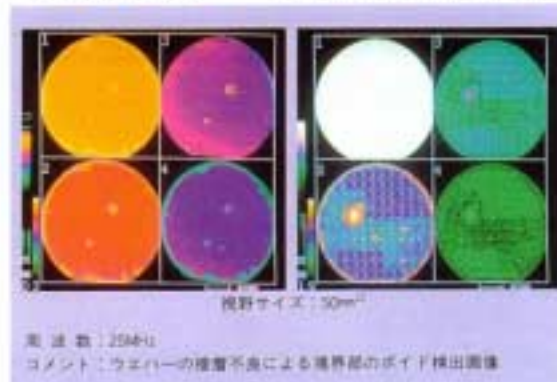
### ■ サンプル：CFRP

試料提供：湖南工科大学材料工学科

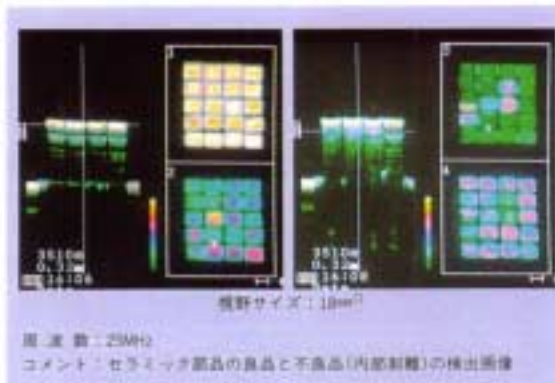


### ■ サンプル：ウエハー

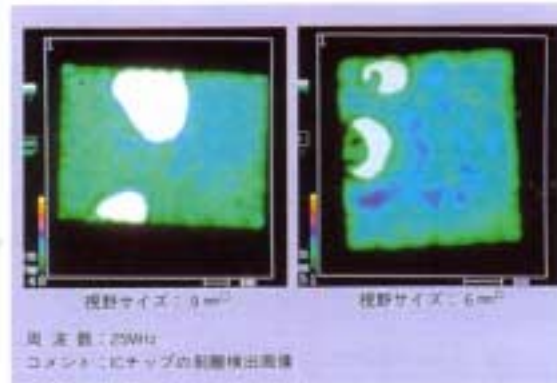
試料提供：豊橋技術科学大学第三工学系



### ■ サンプル：セラミックス電子部品



### ■ サンプル：IC



## 用途

- IC、セラミックス、鋳物、樹脂、複合材料など各種材料・部品の内部欠陥（ボイド、クラック、接着不良、界面、層間剥離等）の検出。
- 内部欠陥の深さ計測及び形状観察。

## 仕様

型 式		HA-701	HA-711 小型スキャナ仕様	HA-711 大型スキャナ仕様
超音波探傷機能	送受信機 バリエーション	標準 5～25MHz	10～100MHz	
	オプション	25～100MHz <sup>*1</sup>		
探 触 子	標準	25MHz		
	オプション	10, 50, 100MHz, 25MHzリニアプローブ <sup>*2</sup>	10, 50, 100MHz	
画像取込機能	表示	A B Cスコープ 同時表示		
	最大画像取込数	8画像同時取込		
	画像取込方式	カーソルサンプリング(20msec) ゲートサンプリング(20msec～38.4μsec) 追従ゲートサンプリング(20msec～38.4μsec)		
走査機能	タイプ	X、Y、Zステータス走査		
	ステージ移動量(X・Y・Z)mm	140×140×30	140×140×80	450×450×100
	最高速度	最大200mm/sec	最大80mm/sec	最大200mm/sec
	視野サイズ(View)mm <sup>2</sup>	8サイズ：7.5～120	10サイズ：3～100	11サイズ：7.5～370
	ラフスキャン(R-スキャン)	2、4、8、16(4段階)		
	縦横比可変	1/8～8/8(8段階)		
画像表示	モニター	9インチカラー-CRT	14インチカラー-CRT	
	映像分解能(H×V)	B/W128階調、カラー16、64階調	B/W128階調、カラー16階調	
電 源	AC100V 50/60Hz 600VA			
重 量	制御部	30kg	123kg	
	スキャナ部	38kg	140kg	350kg
外形寸法(mm)	制御部(W×D×H)	420×616×244	570×670×1356	
	スキャナ部(W×D×H)	470×560×300	570×670×1400	1200×1200×1456
設置方式		卓上型	吊置型	

\*1：オプションの送受信機 TRX12が必要です。 \*2：オプションの専用送受信機ボードが必要です。

## オプション

### 豊富な探触子



- 10～100MHzまで各種取揃えております。
- 被検体の材質・欠陥の大きさ、深さに応じて探触子を選ぶことができます。

### 電子走査型リニアプローブ (近日発売予定) (HA-701)



- 25MHzリニアプローブをステージ走査可能。
- 画像化時間の大幅短縮可能。
- Bスコープ用としても使用可能です。

### 小型回転ステージ



- パイプ、丸棒など円筒形被検体に対応できる走査装置です。

### メモリーカード (近日発売予定) (HA-701)



- ROMでソフトの拡張が、RAMで画像データの保存ができます。

### 専用ラック (HA-701)



オプションの搭載が可能で設置場所の移動も簡単です。

### 外部記録装置



カラーレーザーコピー



白黒ビエロプリンタ

- この装置を使用することでモニター上に表示された画像をカラー及び白黒にてプリントすることができます。
- データの保存や発表用資料などに利用できます。

### 送受信機 TAX2 (HA-701)

- 高周波センサーを使用して高解像、高精度な欠陥検出ができます。
- 表面直下の欠陥や微小欠陥の検出に最適です。

### 画像処理ソフト

- 拡大、縮小、トポグラフ、画像転写、画像反転、画像フィルタリング、三次元表示、画像演算、音速・厚さ測定、など豊富なソフトが用意されています。

## 探触子部

ラットの脳表に対応させた小型（先端径 1.8 mm）の超音波センサーを開発した。センサー先端からフォーカス位置までの距離 3 mm、周波数は 100MHz であり、PVDF を材料としている。脳表面から深部方向に 2 mm 程度の深度まで観察してもセンサーが脳表に当たらないようにするため、3 mm のフォーカスを選んだ。先端径 1.8 mm は、フォーカス 3 mm を実現する為の製造上の限界値である。また、センサーの保護の為、表面に保護膜を塗布している。センサーの特性表を添付する。

超音波センサー(100MHz)



## 走査部

超音波センサー、及び、光学観察用 CCD カメラを取り付けられる走査部の開発を行った。超音波センサー光学カメラが連結しており同時に動くこと。また、制御部にて記述したプログラムによって光学カメラ像、超音波像を切り替えて観察することが可能である。X軸、Y軸、Z軸の各ストロークは、次の様である。X軸ストローク 100mm、Y軸ストローク 140mm、Z軸ストローク 50mm。X、Y方向に各ステップ 5  $\mu\text{m}$  で走査することができる。

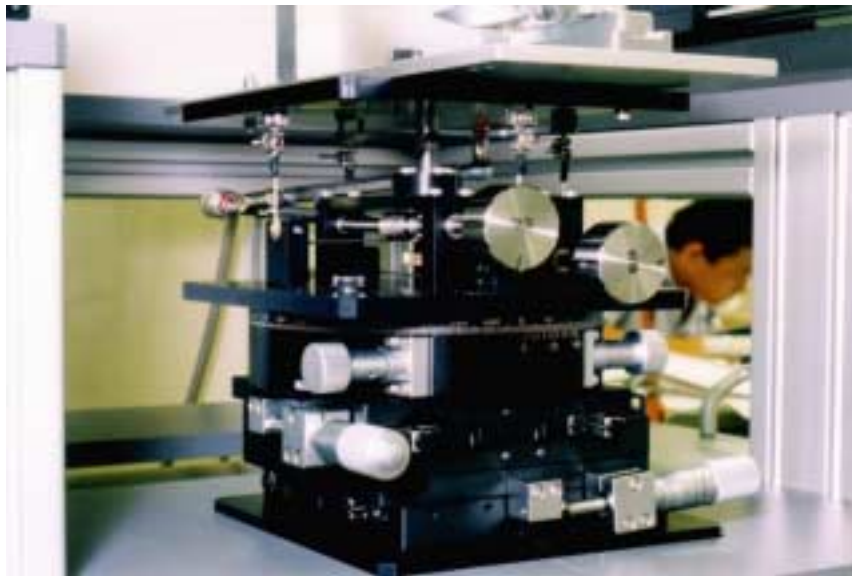
## メカステージ



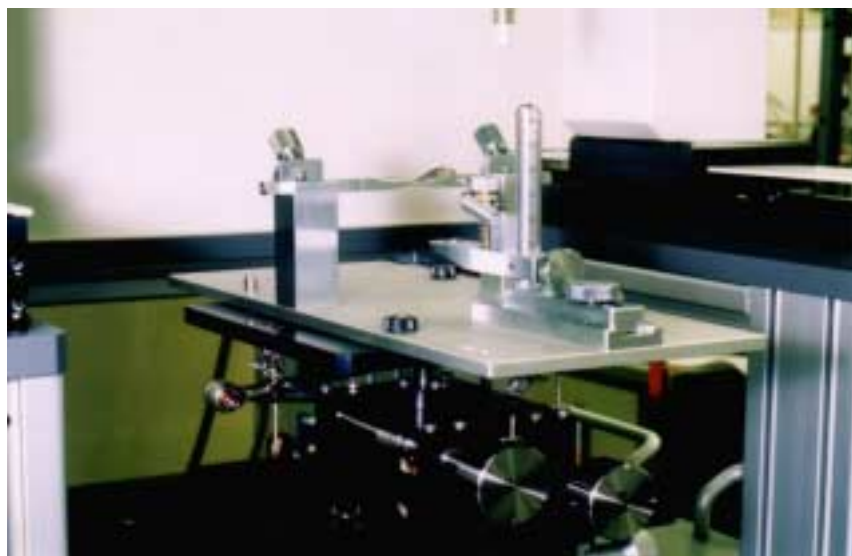
## 脳定位固定装置付きラット台部

X、Y方向に移動、ティルト、Z軸を中心に回転できる移動ステージを作製した。移動ステージ上部には、ラット用脳定位固定装置を取り付けることが可能である。X、Y方向には、マイクロメーターを使い50mm移動することができる。ティルト角度 $\pm 20^\circ$ 。Z軸を中心に360°回転することが可能である。これにより超音波顕微鏡側では制御の面倒な微調節を簡単に取り扱えるようになった。

### メカステージ



X,Y,Z軸，回転，ティルトステージ

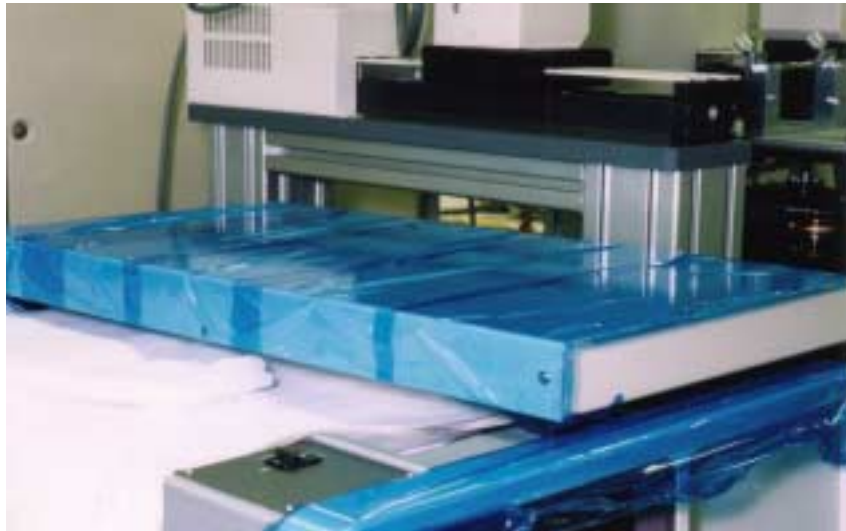


ラット固定台付き

## RF部

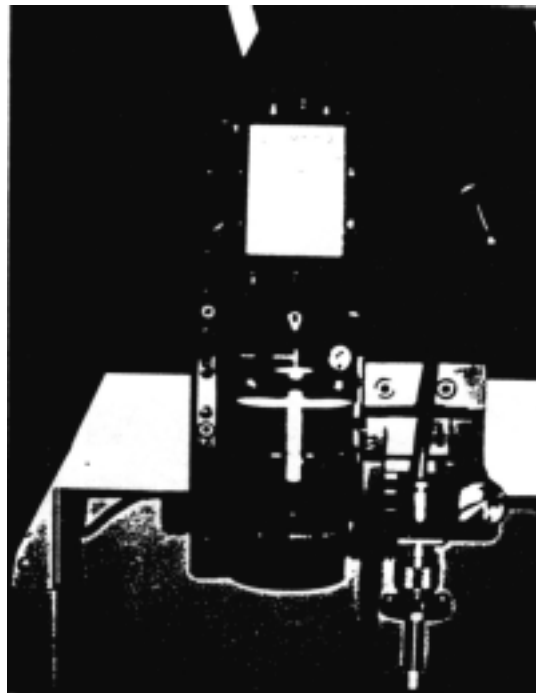
周波数 100MHz 対応の RF ユニットの開発を行った。RF 部回路図、及び、特性表を添付する。特性表には、入出力 10MHz、20MHz、50MHz、80MHz の各特性を示す。検波部分特性、受信帯域特性、LP フィルター特性を示しており、希望する周波数で 100MHz まで使用することが可能である。

外部 RF ユニット(100MHz)

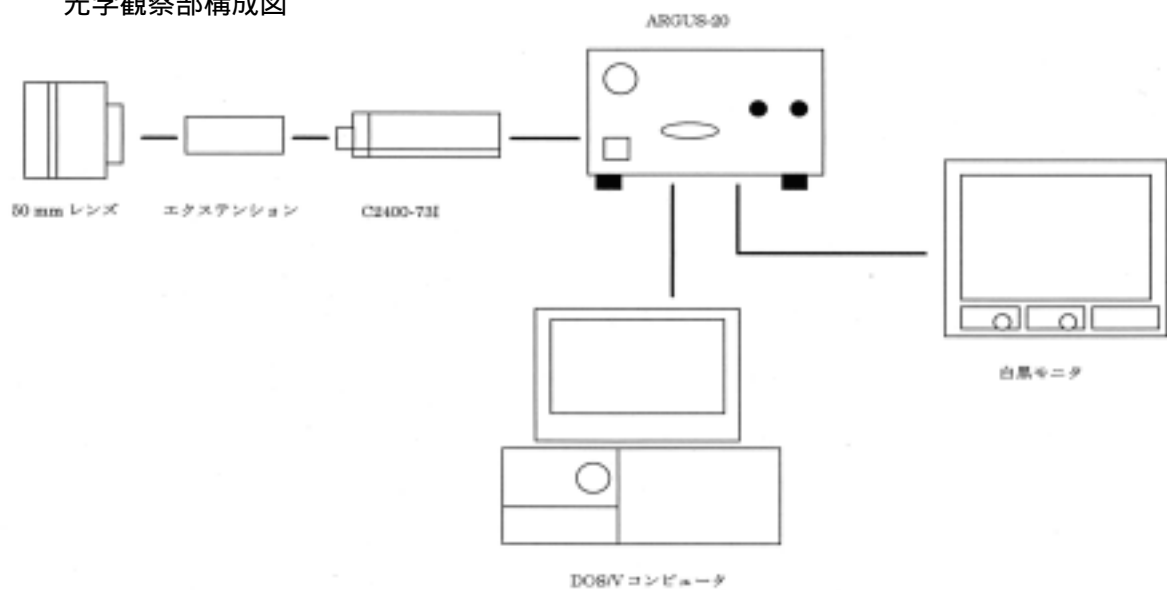


## 光学観察部

浜松ホトニクス製 CCD カメラ C2400-731、及び観察用モニタを取り付けた。CCD カメラカタログを添付する。35mm カメラ用 50mm レンズ、エクステンションを用いて顕微鏡なしに観察できる。また、ARGUS-20 と C2400-731 を使うことで CCD 素子上で任意の時間露光ができ、微弱光による観察も可能であり、幅広い領域で使用できる。



光学観察部構成図





## 総合評価

金属メッシュの観察をすることで基本性能を調べた。また、ラットの大脳観察から超音波にてデータを取ることができた。メッシュデータ、及び、ラット大脳の超音波観察画像データを添付する。

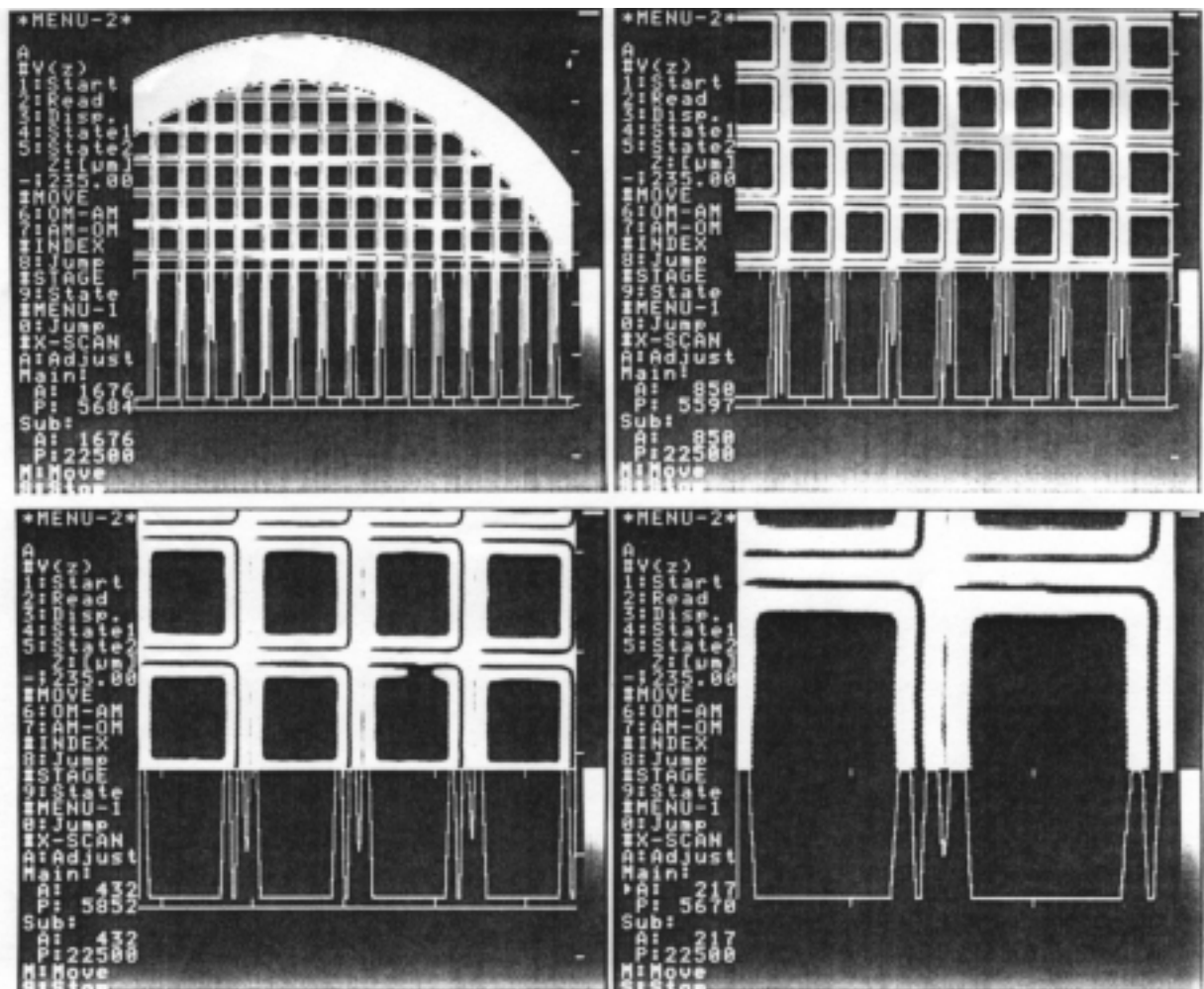
メッシュ # 50(約 500  $\mu\text{m}$ )

1996 年 7 月 10 日

### 実験方法

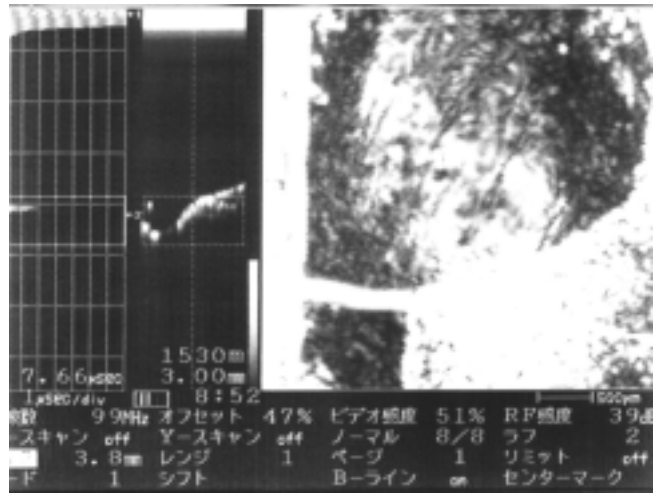
PVDF100MHz プローブを AMS-7500 に取付けメッシュの画像をとり、センサーの検査を行った。

### 結果

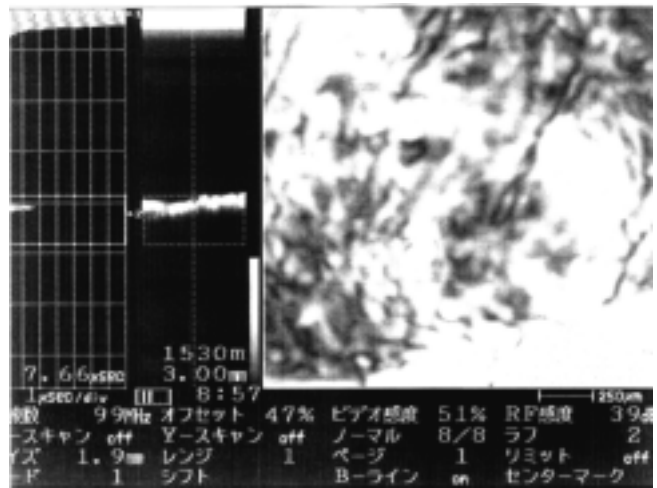




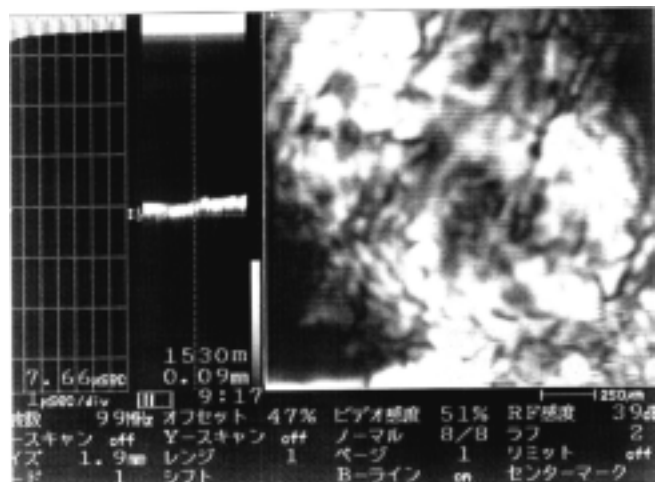
2) サンプリングのゲートを大きくし、脳表から深部までの広い範囲からデータを採取したところ、殊に脳表を走行する血管と思われる低エコー輝度の脈管像が得られた。



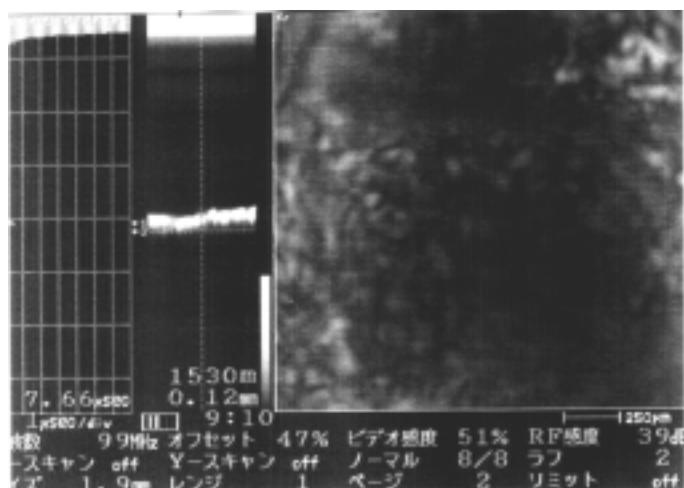
3) 像を拡大したものの



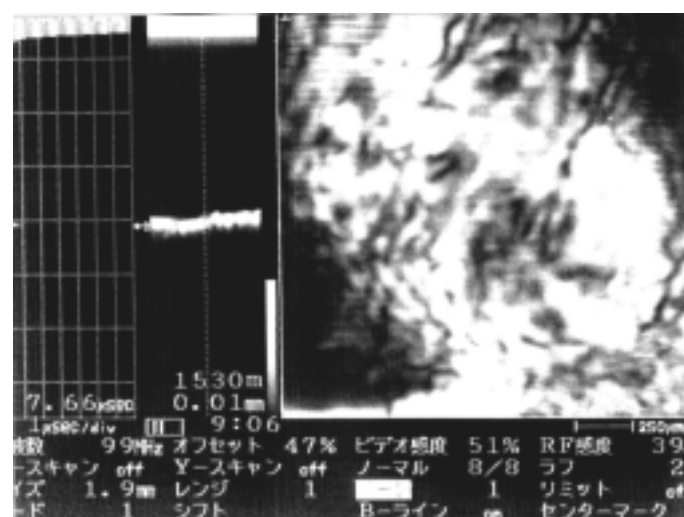
4) サンプリングの深さを脳表から約 0.09mm に設定した状態で得られた像。細い脈管構造が認められる。



5) サンプリングの深さを脳表から約 0.12mm に設定した状態で得られた像。やはり、細い脈管構造が認められるが、焦点位置や感度の調整を行っていないため、像が劣化している。



6) 脳表から出血し、血餅を生じた状態で観察したもの。この像は脳表から0.02mmの深さから得られた。本状況では、CCDカメラや実体顕微鏡等の光学的方法では、脳表すら全く観察不能であった。従って、出血を来した病的状況でも超音波顕微鏡は有用であることが判明した。



## 考察

本研究において開発した発信周波数 100MHz の超音波顕微鏡を用いて、実際に *in vivo* の動物から画像を採取することが出来た。C-mode 画像では径 30  $\mu\text{m}$  程度の脈管と思われる構造物の像が認められた。しかしながら、現時点では最良の画像を得るための調整を行っていない予備的な実験を行うに留まっている。

今後は、更に鮮明な像を捉えるために焦点位置、感度やオフセット等装置の最適な設定条件について検討を深めることに加え、画像取り込みの際に心拍数や呼吸との同期を行うことによってより像を明瞭にすることが可能と推測される。これらの手技的な問題を解決することが先決である。

他方、得られた脈管様の構造物が血管に相当するものか否か、血管であればどのレベルのものかを同定するために、血管を造影上で有用な音響学的特性を有する物質を選定し、確認する。超音波コントラスト剤と称される薬剤は既存であるが、これらは主として心腔の造影を目的としたものであり、細い血管像を増強するには新規に開発する必要があると思われ、今後の重要な課題である。

ところで、現在は脳浮腫とそれに伴う脳表の湾曲を防止するため硬膜を温存した状態で観察している。そこで、硬膜の音響学的特性についても別個に捉え、よりよい像を取得するために検討を進める必要がある。

以上のような課題を解決し、従来の電気生理学的手法（主として *unit recording*）を併用することで、神経細胞の活動の直接的所見と血流との関連を解明して行きたい。

## まとめ

標記の研究実施計画に沿って、*in vivo* の状態で観察可能な超音波顕微鏡の開発を行った。その結果、原理的に備えた基本性能は当初の目標に近いものを達成することが出来た。しかしながら、生体で実際に捉えられた像が細動脈に相当するものか否かの確認には至らず、またその他、実用には課題が残されている。さらに本プロジェクトでは保留したドプラ法による血流速度計測が可能になれば、血行動態に関する情報量が飛躍的に増える。今後、これらの諸問題を解決し、装置の完成度を向上させれば、将来は医学生物学における新しい手技として重要な位置を占めることが期される。