

# 超声弹性显微镜成像系统开发与应用的初步研究

施俊<sup>1</sup>, 郑永平<sup>2</sup>, 严壮志<sup>1</sup>, 周康源<sup>3</sup>

(1. 上海大学通信与信息工程学院, 上海 200072; 2. 香港理工大学赛马会康复工程中心;  
3. 中国科学技术大学电子工程与信息科学系, 合肥 230027)

**摘要:** 传统的超声弹性成像技术一般使用 1MHz~10MHz 的超声波, 这一频段超声波的空间分辨率在毫米量级, 它不能满足对生物组织中微细结构(如皮肤层, 关节软骨等)的研究。文中介绍一套新开发的超声弹性显微镜成像系统, 并将其初步应用于对关节软骨和老鼠皮肤的成像研究中。该系统由加压系统和背向散射超声显微镜系统两部分组成, 其中超声探头频率为 50MHz。通过对关节软骨和老鼠皮肤的成像实验表明, 该系统可以清晰的对生物组织中微细结构成像, 研究它们的机械特性。

**关键词:** 超声; 弹性显微镜; 关节软骨

中图分类号: TB559

文献标识码: A

文章编号: 1000-3630(2007)-02-0228-06

## Development and applications of ultrasound elastomicroscopy

SHI Jun<sup>1</sup>, ZHENG Yong-ping<sup>2</sup>, YAN Zhuang-zhi<sup>1</sup>, ZHOU Kang-yuan<sup>3</sup>

(1. School of Communication and Information Engineering, Shanghai University, Shanghai 200072, China;  
2. Jacky Club Rehabilitation Engineering Center, The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong, China;  
3. Department of Electronic Engineering and Information Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

**Abstract:** Traditional elasticity imaging, typically operated in the ultrasound frequency range of 1~10 MHz, can provide resolutions in the order of millimeters. This is insufficient for observing fine structures of biological tissues such as skin and articular cartilage. In this paper a new ultrasound elastomicroscopy is developed and applied to image the articular cartilage and mouse skin. The system consists of a compression system and a backscatter ultrasound microscope system with an ultrasound transducer of 50 MHz. By imaging the articular cartilage and mouse skin, it has been shown that the system can clearly image the fine structure of biological tissues and study the machine properties.

**Key words:** ultrasound; elastomicroscopy; articular cartilage

## 1 引言

生物软组织的生理病理变化往往导致组织硬度或弹性及其它力学特性的改变<sup>[1]</sup>。通过对组织弹性的测量, 可以判断组织内部的力学特性和生理病理状态。触诊是诊断病变区域弹性模量变化的传统方法, 但这种方法仅限于确诊表层附近的肿瘤。传统的

收稿日期: 2006-09-28; 修回日期: 2006-12-12

基金资助: 上海市重点学科建设项目资助(T0102), 上海市教委发展基金(05AZ49), 上海高校选拔培养优秀青年教师科研专项基金, 香港研究资助局(PolyU 5245/03E)

作者简介: 施俊(1977-), 男, 江苏人, 讲师, 博士, 研究方向: 生物医学信号、超声信号处理。

通信作者: 施俊, E-mail: junshi@staff.shu.edu.cn

医学成像包括 MRI、CT 以及 B 超都不能直接对组织弹性模量成像,不能诊断某些病变的存在及确定其区域。

超声弹性成像 (Elastography) 是 20 世纪 90 年代初发展起来的一种组织弹性定征方法<sup>[1]</sup>,它将组织局部弹性模量等信息定量化,具有实时在体和局部成像的优点,有着重要的应用价值。超声弹性成像技术的基本原理是采用某种机械扰动(振动或加压)来激励组织运动,利用超声对组织运动参量进行提取及成像<sup>[2]</sup>。超声弹性成像技术一般使用 1MHz-10MHz 的超声波<sup>[3]</sup>(普通 B 超探头所用的声波也在此频段范围内),这一频段超声波的空间分辨率在毫米量级,不能满足对生物组织中微细结构(如皮肤层,关节软骨等)的研究。

光学成像技术可以研究关节软骨的机械属性,其方法是对软骨进行加压、拉伸、生理盐水浸泡膨胀等处理,利用光学显微镜来成像<sup>[4,5]</sup>。但是光学显微镜成像技术要求样品必须是有损的,因为只有样品的切面才可以成像,这就破坏了样品原有的完整性,不能表征其真实的机械属性。近年来,纳米压痕 (Nanoindentation) 技术也已经被用来研究生物组织(如骨头、脊柱、关节软骨)的细微机械属性<sup>[6,7]</sup>。但是纳米压痕成像方法不能提供组织不同深度的机械属性,而且样品的表面情况对其测量结果影响很大<sup>[7]</sup>。

超声显微镜常使用 20MHz-100MHz 的超声波,其轴向分辨率大约在 100 $\mu$ m-20 $\mu$ m,目前广泛的应用于眼睛、皮肤、血管、关节等部分的研究中。而目前报道的关于二维高频超声轴向加压弹性成像技术的文献还很少,基本是理论或仿真研究<sup>[8-12]</sup>。经过努力,我们已经自行研发了一套一维超声弹性测量系统,并对关节软骨的机械属性进行了大量研究<sup>[13,14]</sup>。在此基础上,又开发了二维超声弹性显微镜系统,并进行了初步研究<sup>[15,16]</sup>。

文中将介绍一套自行开发的高分辨率二维超声弹性显微镜成像系统,并将其应用于关节软骨和老鼠表皮初步研究中。

## 2 系统设计

二维超声弹性显微镜成像系统由两部分组成:加压系统和背向散射超声显微镜系统,图 1 所示为

统由样品放置平台、测力传感器和一个坚硬的固定承载板组成,其中样品平台可以人工调节其上下位置,它的底部和测力传感器相连,实验时样品夹在样品平台和承载板之间。当向上移动平台对样品加压时,样品受到的压力由压力传感器测量。由于样品平台的自身重力以及样品重力等因素会影响压力传感器测量样品实际受到的压力,所以需要进行严格的校准工作(在样品平台上放置不同重量的物体进行各种校准测试)。超声显微镜系统由聚焦宽带超声探头、宽带超声脉冲发射/接收器、步进电机、数字示波器和计算机组成。频率为 50MHz 的聚焦宽带超声探头和一个宽带超声脉冲发射/接收器相连,由此脉冲发射/接收器控制超声波的发射与接收,而探头位置则由步进电机控制。超声波的传导介质采用生理盐水,将生理盐水灌注于承载板上并浸没探头。超声波束垂直于样品和承载板表面。承载板上有一个 1mm 宽,12mm 长的切口,超声波束的焦点基本位于该切口的宽度方向中心位置,以便对切口下的组织样品成像。步进电机由计算机控制,调节探头在切口长度方向作步长为 50 $\mu$ m 的运动。在每个压力级的扫描点,接收从样品背向散射的超声回波信号。这个信号被一个 500MHz,8bit 的数字示波器数字采集化以后,送到计算机内以便离线处理。

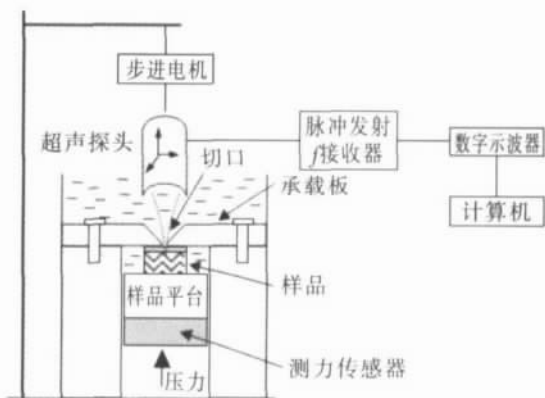


图 1 二维超声弹性显微镜成像系统结构示意图

Fig.1 The diagram of 2-D ultrasound elastomicroscopy system setup

采集后的数据由自行开发的基于 VC++ 的程序来显示和分析处理。其中图像的显示可以分为两种基本的方式:一种是直接对接收到的超声回波射频信号进行成像,把 -127~128 的数据级映射至 0~255 的灰度级,所得图像为射频信号 B 超图像;另一种方式是对检波后的超声回波信号进行成像,所得图

### 3 实验设计

为了验证此二维超声弹性显微镜成像系统的可行性, 首先将其应用于对关节软骨的初步研究中。关节软骨为覆盖关节表面的一层光亮结缔组织, 其功能为传导及分布载荷, 维持和承受接触应力<sup>[17]</sup>, 在关节活动和压力传递中起着重要的作用。

精心准备好的关节软骨样品被放置在样品平台上, 该样品为直径 6.35mm 的圆柱形新鲜牛膝盖关节软骨, 其中骨头层利用金刚石圆锯仔细切割, 剩余厚度大约为 0.1mm-0.2mm, 而软骨部分厚度大约为 1.5mm。骨头层向上和承载板接触, 承载板上的切口通过圆形骨头层的圆心, 而软骨层和样品平台接触, 这是防止在加压过程中软骨层被挤压进入切口, 影响实验结果。

为了进一步验证此二维超声弹性显微镜成像系统的可行性, 还对一个四周大的无毛老鼠的表皮组织进行了研究, 无毛特性使得超声波很容易就穿透到皮肤内。老鼠表皮样品大约 1.2mm 厚, 20mm 长和 10mm 宽, 取自于腹部至背脊部。

实验时, 在某一压力级, 当探头沿着切口方向扫描完整切口长度以后, 向上调节样品平台以进一步对样品加压, 一般延迟 15min 以后再重新开始采集数据, 以便使得样品达到新的平衡状态。

### 4 实验结果及讨论

图 2(a) 所示为一幅典型的关节软骨样品的射频信号 B 超图像, 沿着图像由上往下方向分别是骨头层和软骨层, 以及底部的样品平台。图 2(b) 对应于图 2(a) 中的左边虚线 aa 条处的 A 超声线信号, 超声在此处穿透没有关节软骨的部分, 因此只在承载板和样品平台两处具有较强的回波信号; 图 2(c) 对应于 2(a) 中的左边实线条 bb 处的 A 超声线信号, 它包含了关节软骨内部回波信号。

由于对关节软骨加压以后, 会导致软骨组织的变形, 为了研究不同深度部位软骨组织随着压力改变而变化的机械特性, 需要跟踪相应信号的形变位移, 因此采用了互相关跟踪算法来跟踪相应回波信号的位移<sup>[1]</sup>, 其互相关系数计算公式如下:

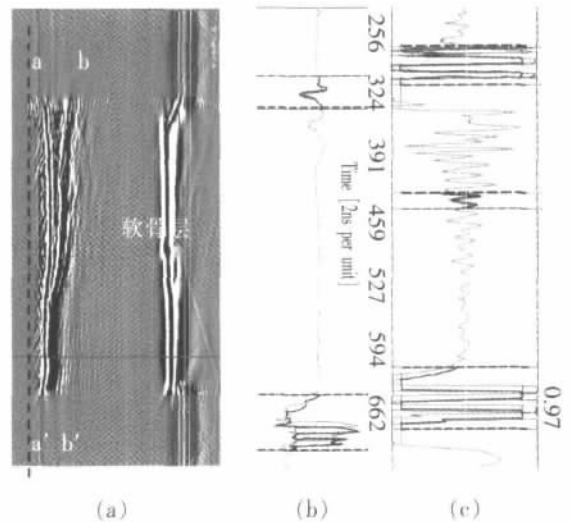


图 2 (a)为关节软骨样的射频信号 B 超图像,(b)和(c)分别对应于(a)中左边虚线和实线处的 A 超声线型号

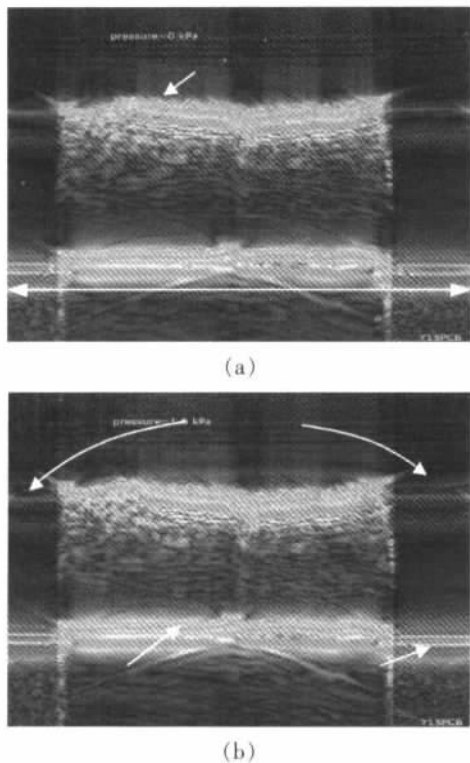
Fig.2 (a)B-mode RF ultrasound images of a typical articular cartilage specimen, (b)RF signals corresponds to the position indicated by the left dotted lines in (a), (c)RF signals corresponds to the position indicated by the left solid lines in (a)

$$R = \frac{\sum_{i=0}^{N-1} [x(i) - \bar{X}] [y(i) - \bar{Y}]}{\sqrt{\sum_{i=0}^{N-1} [x(i) - \bar{X}]^2 \sum_{i=0}^{N-1} [y(i) - \bar{Y}]^2}} \quad (1)$$

其中 $\bar{X}$ 和 $\bar{Y}$ 分别为  $x(i)$  和  $y(i)$  的平均。图 2(b) 和图 2(c) 中的横向虚线对即为跟踪窗, 用于选定相应的超声回波信号, 其初始位置可以自由调整。由图 2 可以发现, 利用自行开发的二维超声弹性显微镜成像系统可以清晰的显示关节软骨内部的细微结构。

图 3(a) 和图 3(b) 分别显示了对关节软骨样品加压前和加压后的普通 B 超图像。从图中可以发现, 对软骨加压以后, 骨头层的位置基本没有发生变化, 其厚度也没有发生明显的变化, 因此骨头层基本没有发生形变, 或者是形变非常的微小。而软骨层的形变非常明显, 图 3(b) 中的软骨和样品平台接触面的位置明显比图 3(a) 有了向上移动的痕迹。因此可以认为在压力不大的情况下, 坚硬的骨头基本不发生形态, 而软骨组织则有较大的形变。

图 4(a) 和图 4(b) 分别显示了对老鼠表皮样品加压前和加压后的普通 B 超图像。从图中可以发现, 加压后整个样品的位置有了明显的变化。那是由于老鼠表皮比较柔软, 当对它加压以后, 有部分的表皮被挤入承载板的切口中, 因此加压以后, 整个样品位置变化了, 但是整个表皮组织的形变不是很大,



(a)

(b)

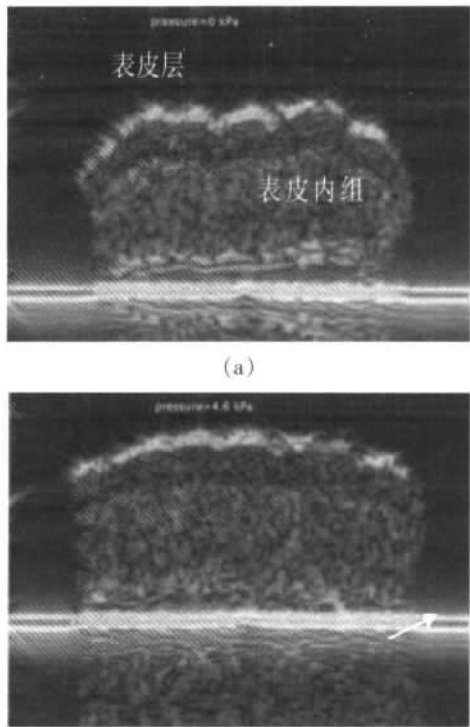
图 3 关节软骨样品在(a)加压前和(b)加压后的普通 B 超图像。

Fig.3 B-mode ultrasound images of a bovine articular cartilage specimen (with a thin bone layer on the top) collected (a) pre, (b) post compression.

这就产生了难以定量研究压缩老鼠表皮所引起的组织内部机械变化特性的问题。解决此问题的一个办法就是在切口处贴一张薄膜,这样既可以保证超声波穿透薄膜进入样品,又可以防止样品遭挤压而进入切口。

上面两个实验结果都表明,此二维超声弹性显微镜成像系统可以清晰的显示关节软骨和老鼠表皮的内部细微结构,验证了此系统的可行性。但是,上面的结果只是通过高精度的图像来直观地反映样品在压缩时产生了形变,并没有对此形变进行进一步的研究。因此,结合超声弹性成像技术,在二维超声显微镜的基础上,对关节软骨的应变成像进行了初步的研究。

通常弹性图像可通过估计局部应变而获得。按照文献[1]介绍的应变成像技术可知,局部应变可以通过测量目标组织的一根 A 超声线片断在受压前后的位移(或者时移)得到,其中 A 超声线片断由部分重叠的观察窗获得,通过互相关算法估计出时移,其中连续的观察窗对有统一的间隔  $\Delta T$ 。当目标组织被压缩以后,连续的两个观察窗对之间的间隔会减少  $\Delta t(i) - \Delta t(i-1)$ ,其中  $\Delta t(i)$  是加压前和加压后对



(a)

(b)

图 4 老鼠表皮样品在(a)加压前和(b)加压后的普通 B 型超声图像。

Fig.4 B-mode ultrasound images of a mouse skin specimen collected (a) pre, (b) post compression.

应观察窗之间的时移(如图 5 所示)。在目标组织深度  $i \times \Delta T \times c/2$  处(其中  $c$  是目标组织中的声速),局部径向应变为:

$$s(i) = \frac{\Delta t(i) - \Delta t(i-1)}{\Delta T} \tag{2}$$

当每条声线都计算局部径向应变以后,就可以组合成一幅超声弹性图像了。

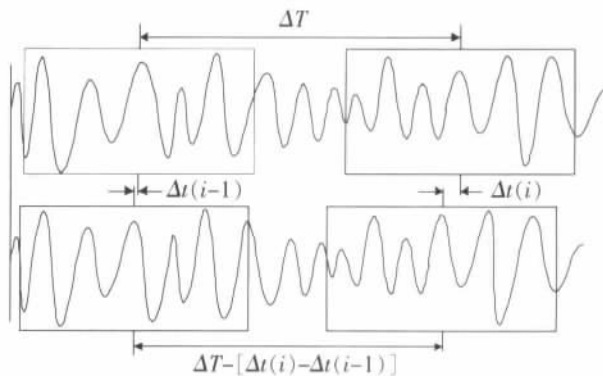


图 5 两个连续的不重叠观察窗对示意图

Fig.5 The schematic diagram of two continuous nonoverlapped windows

图 3(a) 中的样品经过加压(0.073mm)以后的图像如图 3(b) 所示,其对应的射频信号 B 超图像如图 6(a) 所示,图 6(b) 即为图 6(a) 中虚线区域按照上述

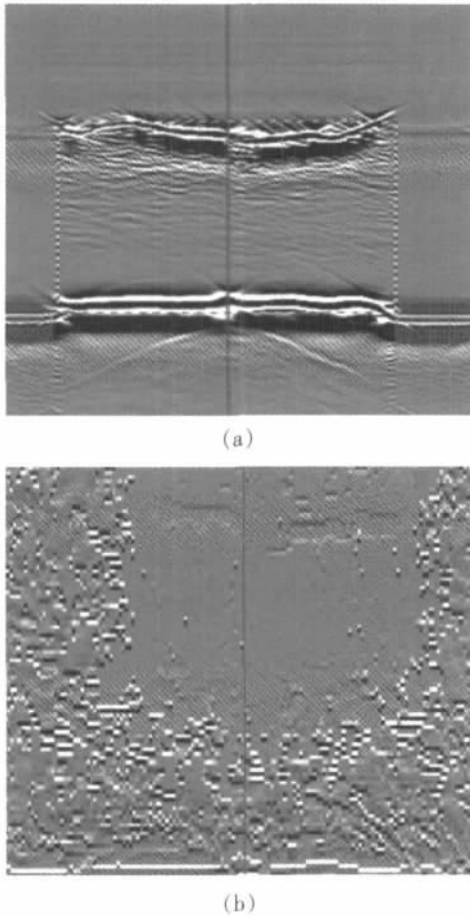


图6 (a)为关节软骨样的射频信号B超图像,(b)为所选择的局部区域应变图

Fig.6 (a)The RF B-mode ultrasound images of a articular cartilage specimen, (b)The local strain image of the interested region induced by a compression

方法计算得到的对应的应变图像,图6(b)中的灰度级体现了相应的应变值。和骨头层相比较,靠近软骨表面的较亮的像素表明软骨层发生了较大的形变。由此从图6(b)中已经可以初步反映组织的弹性属性了。

从上面的实验结果可以发现,这种新型的二维超声弹性显微镜成像系统可以清晰地显示关节软骨和老鼠表皮内部的细微结构,并能通过弹性图像反映组织的弹性属性。目前由于只是直接采用了最基本的原理去计算应变图像,所以噪声比较大,图像质量不高。在进一步的研究中,将加入插值、拉伸、滤波、二维互相关跟踪等算法,以有效的去除噪声,提高图像质量。同时,将弹性图像结合组织的声学特性(如背向散射系数、声衰减系数等),可以更加全面的反映组织的机械特性,提供更多的组织结构信息。

估计组织内部的声速,而不需要知道组织厚度。这一方法是以样品平台为参照物来计算组织形变,再结合组织内的超声渡越时间变化,从而计算组织内的声速。而且此系统还可以研究由于盐水溶液的浸泡或溶液浓度的改变等实验环境变化引起的样品及其机械属性的变化,从而将之前的一维<sup>[14]</sup>情况拓展到现在的二维研究。

目前的系统采用手动方式调节样品平台位置来加压,在进一步的系统开发中,将采用计算机控制样品平台位置的方式对样品加压,从而更加精确。同时,更多的生物组织样品将会用于实验,从而更好的改进此系统。

## 5 结 论

本文介绍了一套自行开发的二维超声弹性显微镜成像系统,并将其应用于对关节软骨和老鼠表皮的初步研究中。结果表明该系统可以清晰的对组织中的微细结构成像,研究它们的机械特性,具有科研和潜在的实用价值。

## 参 考 文 献

- [1] Ophir J, Cespedes I, Ponnekani H, et al. Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissue[J]. Ultrasonic Image. 1991, 13: 111-134.
- [2] GAO L, Parker K J, Lerner R M, et al. Image of the elastic properties of tissue-a review[J]. Ultrason. In Med. Bio. 1996, 22(8): 959-975.
- [3] Ophir J, Alam S K, Garra B, et al. Elastography: ultrasonic estimation and imaging of the elastic properties of tissues[J]. Proc. Inst. Mech. Eng. 1999, 213: 203-233.
- [4] Setton LA, Tohyama H, Mow VC. Swelling and curling behaviors of articular cartilage[J]. J. Biomech. Engr, 1998, 120: 355-361.
- [5] Flahiff C M, Narmoneva D A, Huebner J L, et al. Osmotic loading to determine the intrinsic material properties of guinea pig knee cartilage[J]. J. Biomech. 2002, 35: 1285-1290.
- [6] Ferguson V L, Bushby A J and Boyde A. Nanomechanical properties and mineral concentration in articular calcified cartilage and subchondral bone[J]. J. Anat. 2003, 203: 191-202.

- Nanoindentation study of interfaces between calcium phosphate and bone in an animal spinal fusion model [J]. *J. Biomed. Mater. Res.* 2001, 54: 554-559.
- [ 8 ] Gan W S, Chen J C, 等. 超声显微镜及其应用[J]. 声学技术. 1992(1-2): 26-28.
- Gan W S, Chen J C, et al. The scanning acoustic microscope and its application[J]. *Technical Acoustics.* 1992(1-2): 26-28.
- [ 9 ] Konofagou E E, Harrigan T P, Ophir J, et al. Poroelastography: imaging the poroelastic properties of tissues [J]. *Ultrasound Med. Biol.* 2001, 27: 1387-1397.
- [ 10 ] Righetti R, Ophir J, Ktonas P. Axial resolution in elastography Ultrasound[J]. *Med. Biol.* 2002, 28: 101-113.
- [ 11 ] Righetti R, Srinivasan S, Ophir J. Lateral resolution in elastography. *Ultrasound Med. Biol.* 2003, 29: 695-704.
- [ 12 ] 杨立峰, 王亚非, 周鹰. 层析扫描声学显微镜相关算法及其比较[J]. 声学技术, 2006, 25(4): 313-316.
- YANG Lifeng, WANG Yafei, ZHOU Ying. Comparison of scanning tomographic acoustic microscope algorithms [J]. *Technical Acoustics.* 2006, 25(4): 313-316.
- [ 13 ] 施俊, 周康源, 胡跃辉等. 实时超声膨胀测量系统在关节软骨中的实验研究[J]. 声学技术. 2004, 23(4): 224-228.
- SHI Jun, ZHOU Kangyuan, HU Yaohui. Application of real-time ultrasound swelling measurement in articular cartilage research[J]. *Technical Acoustics.* 2004, 23(4): 224-228.
- [ 14 ] 施俊, 胡跃辉, 周康源等. 使用超声研究关节软骨的深度依赖瞬态膨胀行为[J]. 应用声学. 2005, 24(2): 78-82.
- SHI Jun, HU Yaohui, ZHOU Kangyuan. Research of transient and depth-dependent swelling behavior of articular cartilage by ultrasound[J]. *Applied Acoustics.* 2005, 24(2): 78-82.
- [ 15 ] SHI Jun, ZHENG Yipeng, ZHOU Kangyuan. Real-time signal processing for ultrasound elastomicroscopy[A]. *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, August 24-29 2003, Sydney[C]. Australia. MO-TR2.*
- [ 16 ] ZHENG Yipeng, Bridal L, SHI Jun, et al. Ultrasound Elastomicroscopy for Articular Cartilage: From Static to Transient and 1D to 2D[A]. *SPIE Medical Imaging: Ultrasonic Imaging and Signal Processing Conference[C]. February 15-20 2003, San Diego, CA USA. 398-410.*
- [ 17 ] 郭世绂. 关节软骨的形态、生理、生化特征及损伤修复。骨与关节损伤杂志[J]. 1995, 10(1): 61-64.
- GUO Shifu. The morphological, physiological and biochemical properties and the injury restore of articular cartilage[J]. *The Journal of Bone and Joint Injruy.* 1995, 10(1): 61-64.