

特邀论文

基于高灵敏换能器的光声显微成像技术

杨晨^{1,2}, 焦阳^{1,3}, 朱鑫乐¹, 简小华¹, George Sergiadis^{1,4,5}, 崔峭峒^{1*}

¹中国科学院苏州生物医学工程技术研究所, 江苏 苏州 215163;

²中国科学技术大学, 安徽 合肥 230026;

³中国科学院大学, 北京 101408;

⁴亚里士多德大学电子与计算机工程学院, 希腊 塞萨洛尼基 54124;

⁵亥姆霍兹慕尼黑研究中心生物与医学影像研究所, 德国 慕尼黑 85764

摘要 在光声显微成像中, 系统的探测灵敏度是决定成像质量和探测深度的关键因素, 也将进一步影响光声成像在生物医学领域中的应用范围。通过将微型放大芯片集成至换能器单元, 实现信号的前置放大和输出阻抗的匹配, 提高了探测灵敏度和信噪比; 基于制备的原型换能器搭建了光声显微成像系统, 并通过仿体和大鼠耳部血管的三维成像实验, 验证了该系统进行高灵敏光声显微成像的可行性。实验结果表明: 基于集成放大芯片换能器的光声显微成像技术可使光声信号的信噪比提升 10 dB 以上, 具有应用于微弱生理、病理变化检测和定量分析的潜力。

关键词 医用光学; 探测灵敏度; 光声显微成像; 集成放大芯片; 微血管

中图分类号 O426

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207035

Photoacoustic Microscopy Based on Highly Sensitive Ultrasound Transducer

Yang Chen^{1,2}, Jiao Yang^{1,3}, Zhu Xinle¹, Jian Xiaohua¹, George Sergiadis^{1,4,5}, Cui Yaoyao^{1*}

¹Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology, Chinese Academy of Sciences, Suzhou, Jiangsu 215163, China;

²University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China;

³University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China;

⁴School of Electrical and Computer Engineering, Aristotle University, Thessaloniki 54124, Greece;

⁵Institute of Biological and Medical Imaging, Helmholtz Zentrum München, München 85764, Germany

Abstract In photoacoustic microscopy (PAM), detection sensitivity is an important factor for determining imaging quality and depth, which can affect photoacoustic imaging applications in biomedical engineering. To improve the detection sensitivity and signal-to-noise ratio (SNR), a miniature amplifier was integrated close to an ultrasound transducer for front-end signal amplification and output impedance matching. An optical resolution PAM was developed based on the fabricated prototype transducer to perform 3D imaging of phantoms and small vessels of the mouse ear. Experimental results show that the SNR is improved by over 10 dB. The proposed PAM has the potential to be used for monitoring and quantitatively analyzing weak physiological changes.

Key words medical optics; detection sensitivity; photoacoustic microscopy; integrated miniature amplifier; microvasculature

OCIS codes 170.3880; 110.5120; 110.5125

1 引 言

光声成像技术是一种结合光学成像对比度与超

声成像深度的新型生物医学影像技术, 近 20 年来取得了快速发展, 并取得了丰富的研究成果^[1-4]。光声成像技术一般通过纳秒宽度的超短激光脉冲照射组

收稿日期: 2019-09-06; 修回日期: 2019-10-31; 录用日期: 2019-12-02

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC0116201, 2017YFC0110400)、国家自然科学基金(11704397, 51805529)、中国科学院基金(YJKYYQQ20180031)、江苏省政策引导类计划(国际科技合作)(BZ2016023)

* E-mail: cuiyy@sibet.ac.cn

织,组织吸收光能并以热量的形式释放,从而产生超声信号,再利用超声换能器在不同的位置进行接收,即可重建出组织内部吸收团的图像^[5-7]。由于光源和超声探测器的多参量可调,因此光声成像技术又是一种多尺度的医学成像手段,已被广泛应用于浅表微血流成像^[8-9]、血管内斑块检测^[10]、肿瘤分期和检测^[11-12]、基因成像^[13],以及血氧饱和度测量^[14]等结构或功能性成像研究。

根据光源和超声换能器的设置方式,光声成像技术一般可以分为光声计算断层成像(PACT)、光声内窥成像(PAE)和光声显微成像(PAM)^[2]。光分辨光声显微成像利用衍射极限光斑对成像目标进行逐点扫描,可以达到微米级的横向分辨率,近年来成为光声成像领域的重要研究方向^[15]。在光声显微成像中,探测灵敏度不仅直接决定了可探测吸收团的最低浓度,也影响着成像的信噪比和探测深度^[16-17]。生物组织对入射激光的散射使得到达皮下组织的激光能量随深度的增加而降低,光声信号的强度也会逐渐减小^[18];而向外传播的光声信号也会受到生物组织引起的衰减的影响,导致换能器接收到的信号远小于组织产生的原始信号。因此,高灵敏超声换能器的开发对于微弱光声信号的探测非常重要。

目前,在光声显微成像中广泛使用的声学换能器还是传统超声成像中使用的压电材料锆钛酸铅(PZT)换能器和电容式微型超声换能器(CMUT)。CMUT具有较高的带宽,而且易于小型化和集成前端电路^[19]。Kothapalli等^[20]将集成前置电路的CMUT阵列用于光声计算断层成像,证明了将放大电路集成至CMUT的方法能够有效提高光声成像系统的探测灵敏度和成像深度。CMUT因利用半导体加工技术制造而更易于直接集成前置电路。压电材料超声换能器,例如压电陶瓷或压电复合材料换能器,具有成熟的制备工艺,加工成本低,灵敏度高,是目前光声成像中应用最广泛的超声换能器^[21]。然而压电换能器的灵敏度与其物理尺寸有关。在实际应用中,受限于系统和探头的设计,不可能通过无限增大换能器的尺寸来提高灵敏度。另外,增大换能器的尺寸也会改变其电阻抗,造成其与后续同轴线之间的阻抗失配,导致信号衰减。通过将前端电路集成至换能器可以缩短连接线路,实现电阻抗匹配,保证信号的完整性,且不显著增大换能器的体积,是一种提高换能器灵敏度的有效方式。

本文将单片式放大芯片集成至PZT换能器单

元,放大了信号前端的低噪声,然后将输出阻抗匹配至后端同轴信号线,提高了换能器的探测灵敏度。基于制备的原型换能器,搭建光声显微成像系统,结合仿体和在大动物实验,验证了该系统进行高灵敏三维光声显微成像的可行性。

2 实 验

2.1 成像系统

光声显微成像探头的设计如图1(a)所示。单模光纤(HP780型)的输出光首先经过光纤准直器(F220SMA-780型)进行准直,再通过非球面透镜(A260TM-A型)聚焦到成像目标上。生物组织或样品产生的光声信号经过厚度为0.17 mm的薄玻璃片的反射,然后被超声换能器接收,之后传输到后续的信号采集和成像系统。薄玻璃片与水平面的夹角为45°。薄玻璃片的作用是透过光束和反射声波,实现光路与声束同轴,从而最大化成像探头的探测效率。在进行实验前,向探头内部注入去离子水,以实现超声耦合的作用,并用塑料薄膜将成像窗口密封。

光声成像探头中用于探测光声信号的集成放大芯片的超声换能器的横截面如图1(b)所示。该换能器为单阵元、非聚焦换能器,中心频率为20 MHz,大小为3 mm×1.5 mm。该换能器和微型放大芯片通过导电银胶(H20E型)粘贴在电路板(PCB)两侧的接地焊盘上。放大芯片通过直径为25 μm的键合金丝与外部电路连接。电路板主要用于实现放大芯片与换能器之间的电路连接,以及放大芯片的直流偏置和信号输出。通过集成放大芯片至换能器能够增大信噪比的原因:1)该单片式放大芯片尺寸仅为820 μm×760 μm,能够与换能器单元紧凑连接,通过缩短传输线来减小引入的噪声和线缆对信号的衰减;2)该芯片在10~50 MHz频率范围内能提供25 dB的平坦响应,可以实现信号的低噪放大;3)在级联系统中,第一级接收单元的噪声系数越小,增益越大,整个系统的信噪比就越大,因此,应尽可能使前端放大器靠近信号源,以降低系统的噪声水平;4)该芯片的输出阻抗为50 Ω,能够与同轴电缆的特性阻抗匹配,从而减小因阻抗失配而造成的信号衰减。此外,与分立的低噪放大器相比,本文提出的集成方法并不影响换能器的整体尺寸,更适用于便携或手持探头的设计,具有应用于阵列探头以实现快速光声计算断层成像的潜力。

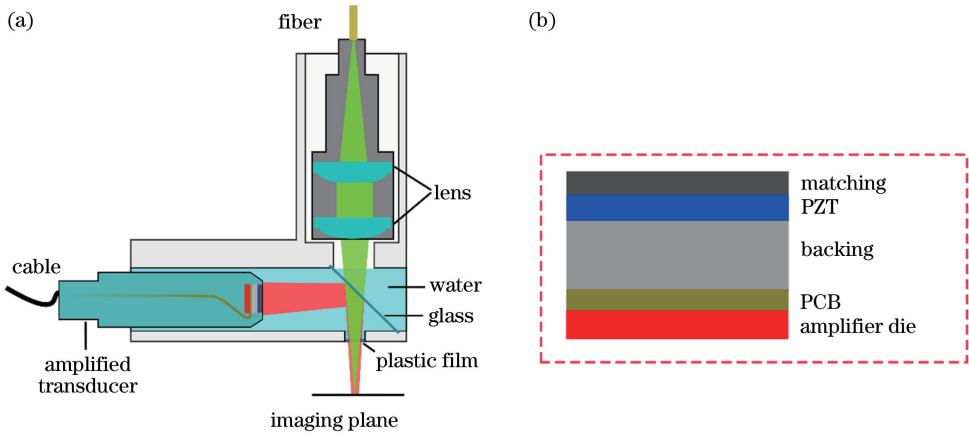


图 1 光声显微成像探头。(a) 探头设计示意图；(b) 集成放大芯片的超声换能器横截面
Fig. 1 Imaging probe for photoacoustic microscopy. (a) Schematic of imaging probe;
(b) cross-section of ultrasound transducer with integrated amplifier

图 2 所示为光声显微成像系统装置。实验使用的激光光源为一台光参量振荡 (OPO) 脉冲激光器 (VIRANT 532 型), 输出脉宽为 10 ns, 重复频率为 10 Hz, 输出波长在 680~950 nm 之间可调, 在实验中设置为 800 nm。激光器的输出光斑首先经过可变光阑 (ID12 型) 进行校正, 然后经过一对透镜进行聚焦和准直。聚焦后的激光束通过直径为 50 μm 的精密针孔 (PH, PD50 型) 实现空间滤波, 针孔的位置可以通过位移台进行调整, 从而达到最佳的滤波效果。滤波后的激光经过分光镜 (BP108 型) 后分成

两束: 一束采用光电二极管 (PD, DET10A/M 型) 进行探测, 用于触发采集卡 (DAQ) 和激光脉冲能量监测; 另一束通过物镜 (RMS10X 型) 耦合到单模光纤 (SMF) 中。在光声成像实验中, 将成像探头固定在二维电动位移台 (PT1-Z8 型) 上, 实现对成像区域的光栅扫描。超声换能器接收到的光声信号经低噪放大器 (CLC-10k0.5G-5510-S 型) 放大后传输到采集卡 (QT1138DC-8 型), 然后存储到计算机中进行后处理。在实验过程中, 位移台移动、激光发射、信号采集、图像重建均通过 MATLAB 2018b 程序进行控制。

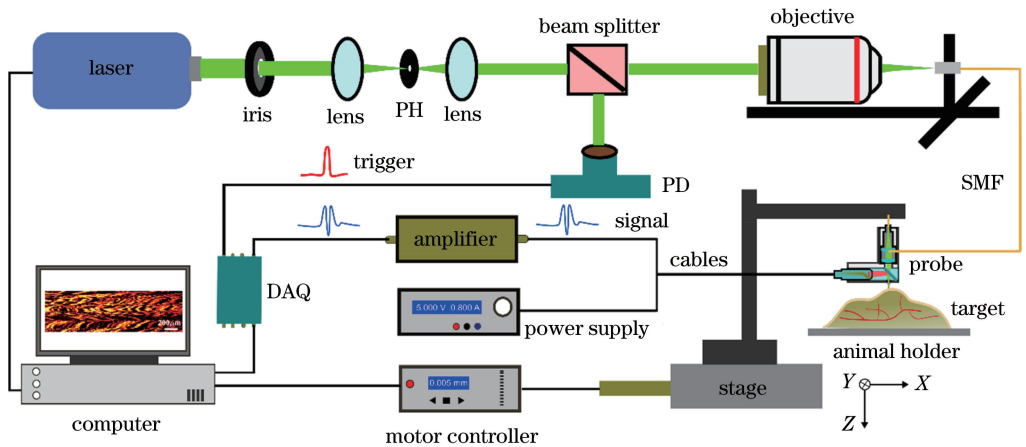


图 2 光声显微成像系统装置

Fig. 2 Experimental setup for photoacoustic microscopy

2.2 仿体及动物实验设置

为了验证光声信号信噪比增大的可行性, 分别利用集成放大芯片的超声换能器和无集成放大芯片的传统超声换能器, 接收直径为 0.5 mm 的铅笔芯产生的光声信号。为了测量光声显微成像系统的分辨率, 制备一个钨丝成像靶标, 它包含一根直径为 10 μm 的

钨丝, 并沿与 Y 轴平行的方向固定于光学安装座。将成像靶标置于水槽中, 调整成像探头的位置, 使激光焦点位于钨丝上, 然后沿 X 轴方向对钨丝进行一维扫描 (B-scan) 成像, 并测量横向、纵向分辨率。扫描范围为 0.2 mm, 步长为 2 μm, 对采集到的光声信号进行 5 次平均。为了验证该系统进行三维成像的可行

性,对打印的英文字母进行二维光栅扫描(C-scan)成像,扫描范围为 10 mm×3 mm,步长为 50 μm,对采集到的光声信号进行 3 次平均。此外,对由 7 根直径为 150 μm 的钨丝制成的线靶进行二维光栅扫描成像,扫描范围为 10 mm×10 mm,步长为 50 μm,对采集到的光声信号进行 3 次平均。

为了进一步验证该光声显微成像系统进行在体三维光声成像的可行性,对活体 SD 品系大鼠(体重为 250~300 g)的耳部血管进行成像。实验前,通过静脉注射氨基甲酸乙酯对大鼠进行麻醉(按每千克大鼠注射 1.25 g 氨基甲酸乙酯进行注射),并用脱毛膏去除耳部的毛发,以减小对成像结果的干扰。扫描范围为 2 mm×2 mm,步长为 10 μm,对采集到的光声信号进行两次平均。

在所有实验中,采集卡的采样频率均设置为

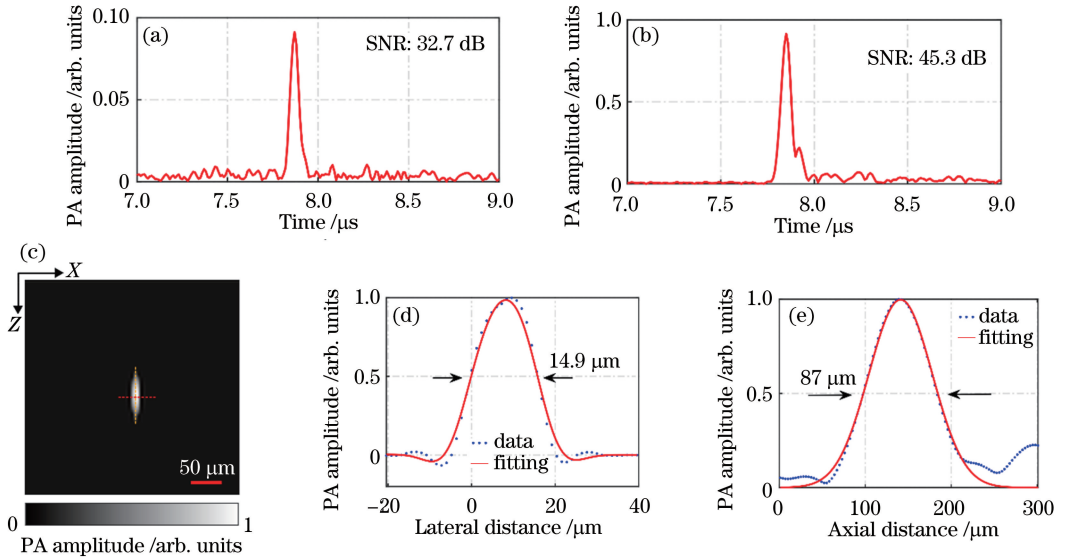


图 3 光声显微系统的探测灵敏度和成像分辨率。(a) 无集成放大芯片的超声换能器探测到的光声信号包络;(b) 集成放大芯片的超声换能器探测到的光声信号包络;(c) 钨丝的 B-scan 光声图像;(d) 沿图 3(c) 中横向虚线的包络;(e) 沿图 3(c) 中纵向虚线的包络

Fig. 3 Sensitivity and spatial resolution of photoacoustic(PA) microscopy. (a) PA signal detected by ultrasound transducer without integrated amplifier; (b) PA signal detected by ultrasound transducer with integrated amplifier; (c) B-scan image of a tungsten wire; (d) profile along lateral dashed line on Fig.3(c); (e) profile along axial dashed line on Fig.3(c)

图 3(c)所示为直径为 10 μm 的钨丝的 B-scan 成像结果。分别提取钨丝图像中心处沿横向和纵向的原始数据,并对其包络进行高斯拟合,结果如图 3(d)和图 3(e)所示。根据钨丝横向包络的半峰全宽(FWHM)减去钨丝的直径即为横向分辨率的估计值^[22],可测出该系统的横向分辨率为 4.9 μm,比理论计算得到的衍射极限 3.6 μm 高 36%,这主要是由薄玻璃片以及水和空气界面对光束造成的折

射引起的。纵向分辨率即沿着钨丝图像中心纵向包络的 FWHM 值为 87 μm。

3 结果与讨论

3.1 探测灵敏度及空间分辨率

图 3(a)和图 3(b)所示分别为无集成放大芯片的超声换能器和集成放大芯片的超声换能器接收到的来自铅笔芯的光声信号包络。信号的信噪比(SNR)定义为 20lg(S/N),其中 S 为信号的峰值, N 为噪声的方均根。集成放大芯片的超声换能器的接收信噪比为 45.3 dB,比无集成放大芯片的超声换能器的增大了 13.4 dB,验证了集成放大芯片超声换能器能够有效提高光声信号的信噪比。

射引起的。纵向分辨率即沿着钨丝图像中心纵向包络的 FWHM 值为 87 μm。

3.2 仿体和在体光声显微成像

图 4(a1)所示为印有字母的图片。图 4(a2)所示为最大强度投影(MAP)图,从中可以清楚地识别出“SIBET”字样,与图 4(a1)中的字母一致,但是值得注意的是字母“IB”处的成像结果并不连续。图 4(a3)所示为沿最大强度投影图中虚线处的 B-

scan 图像,可以看出,在字母“IB”处,打印纸并不平整,这是造成最大强度投影图像不连续的原因之一。此外,由于扫描范围较大,为了缩短成像时间,实验过程中将扫描步长设置为 $50\ \mu\text{m}$,远大于系统的横向分辨率,这也是图 4(a2)分辨率较低的原因。图 4(b)所示为钨丝仿体的最大强度投影结果,从中

可以清晰地识别出 7 根钨丝在 XY 平面的排列,图像底部圆弧区域为光学安装座的边缘。图 4(c)所示为钨丝仿体的三维光声重建图,可以看出,这些钨丝沿深度方向分布在距光学安装座表面 $0\sim 0.6\ \text{mm}$ 的范围内。仿体成像实验的结果验证了该系统进行三维光声显微成像的可行性。

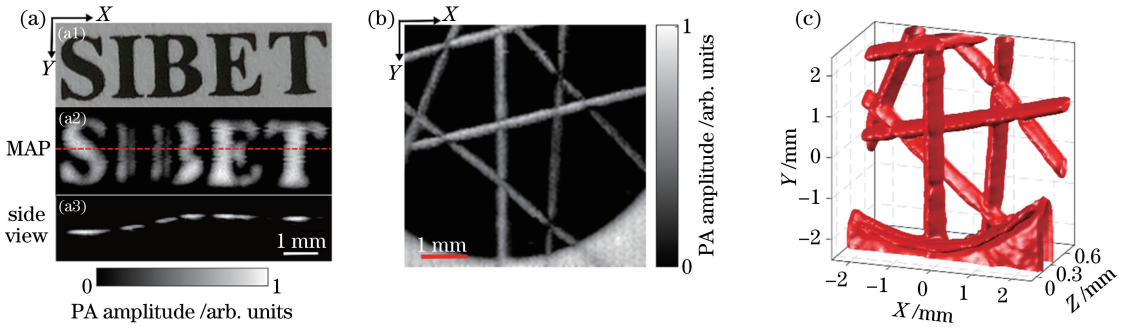


图 4 仿体三维光声显微成像。(a)印有字母的图片和光声显微成像结果;
(b)钨丝仿体的最大强度投影结果;(c)钨丝仿体的三维光声重建图

Fig. 4 3D PA imaging of phantoms. (a) Photo of printed letters and PA imaging result; (b) maximum amplitude projection (MAP) image of tungsten wires; (c) 3D rendered image of tungsten wires

图 5(a)所示为大鼠耳部血管的最大强度投影图,图像上血管网络的分布并不清晰,原因可能为:1)在去除大鼠耳部毛发和固定耳朵过程中,毛细血管破裂,局部出血;2)为了缩短成像时间,扫描步长设置为 $10\ \mu\text{m}$,约为横向分辨率的 2 倍,导致图像的分辨率下降;3)大鼠耳朵并不平整,导致探头的焦点偏离了成像面。图 5(b)所示为耳部血管图像的侧视图,可以看出,在成像区域中,血管集中分布在皮肤以下 $370\ \mu\text{m}$ 的深度范围内。图 5(c)所示为

图 5(a)中方框 1 标记区域的放大图,可以看到,血管附近出现了局部出血。图 5(d)所示为图 5(a)中方框 2 标记区域的放大图,可以看出,所能识别出的最小血管的直径为 $42\ \mu\text{m}$ 。实验中,光纤准直器输出的激光能量为 $120\ \text{nJ}$,焦点调整到皮肤下约 $100\ \mu\text{m}$ 处,因此皮肤表面的激光能量密度约为 $14.7\ \text{mJ}/\text{cm}^2$,在美国国家标准学会(ANSI)规定的安全范围内^[23]。大鼠活体实验结果验证了该系统进行毛细血管成像和组织生理变化检测的可行性。

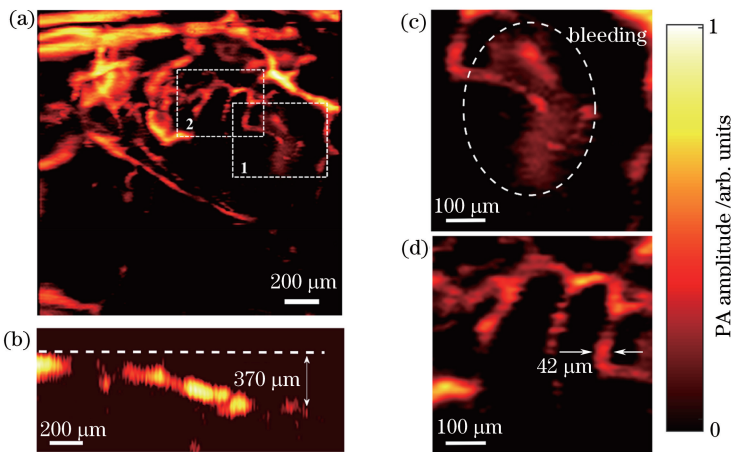


图 5 大鼠耳朵的三维光声显微成像。(a)最大强度投影图;(b)B-scan 图;
(c)虚线方框 1 标记区域的放大图;(d)虚线方框 2 标记区域的放大图

Fig. 5 3D PA imaging of mouse ear. (a) Maximum amplitude projection (MAP) image of mouse ear; (b) B-scan image; (c) close-up of region labeled 1 in Fig. 5(a); (d) close-up of region labeled 2 in Fig. 5(a)

4 结 论

本文基于集成放大芯片的超声换能器搭建了光声显微成像系统,该系统能够将光声信号的信噪比提升 10 dB 以上。仿体实验验证了该系统进行三维光声显微成像的可行性,在体大鼠耳部血管成像实验结果表明,该系统能够准确反映微小血管的三维分布及组织生理变化。灵敏度的提高有助于探测微小生理结构和深部组织产生的光声信号,提高光声显微成像的成像质量和探测深度,拓展该系统在生物医学领域的应用范围。本文提出的将芯片集成至换能器的方法也可应用到内窥成像和多阵元换能器阵列中,在增大信噪比的同时能保持探头的小型化。目前的高灵敏光声显微成像系统还存在不足之处,成像速度和成像质量有待进一步提高。在后续研究中,将继续完善该系统,开展更多的在体实验,探索该系统用于增大光声显微成像探测深度的可行性及其在早期疾病诊断方面的应用价值。

参 考 文 献

- [1] Beard P. Biomedical photoacoustic imaging [J]. *Interface Focus*, 2011, 1(4): 602-631.
- [2] Meng J, Song L. Biomedical photoacoustics in China [J]. *Photoacoustics*, 2013, 1(2): 43-48.
- [3] Zackrisson S, van de Ven S M W Y, Gambhir S S. Light in and sound out: emerging translational strategies for photoacoustic imaging [J]. *Cancer Research*, 2014, 74(4): 979-1004.
- [4] Manohar S, Razansky D. Photoacoustics: a historical review [J]. *Advances in Optics and Photonics*, 2016, 8(4): 586-617.
- [5] Valluru K S, Chinni B K, Rao N A, et al. Basics and clinical applications of photoacoustic imaging [J]. *Ultrasound Clinics*, 2009, 4(3): 403-429.
- [6] Xia J, Yao J J, Wang L H V. Photoacoustic tomography: principles and advances (invited review) [J]. *Progress in Electromagnetics Research*, 2014, 147: 1-22.
- [7] Wang L V, Hu S. Photoacoustic tomography: *in vivo* imaging from organelles to organs [J]. *Science*, 2012, 335(6075): 1458-1462.
- [8] Zhang H F, Maslov K, Li M L, et al. *In vivo* volumetric imaging of subcutaneous microvasculature by photoacoustic microscopy [J]. *Optics Express*, 2006, 14(20): 9317-9323.
- [9] Zeng L, Piao Z L, Huang S H, et al. Label-free optical-resolution photoacoustic microscopy of superficial microvasculature using a compact visible laser diode excitation [J]. *Optics Express*, 2015, 23(24): 31026-31033.
- [10] Ji X R, Xiong K D, Yang S H, et al. Intravascular confocal photoacoustic endoscope with dual-element ultrasonic transducer [J]. *Optics Express*, 2015, 23(7): 9130-9136.
- [11] Mehrmohammadi M, Yoon S J, Yeager D, et al. Photoacoustic imaging for cancer detection and staging [J]. *Current Molecular Imaging*, 2013, 2(1): 89-105.
- [12] Wu H Q, Wang H Y, Xie W M, et al. Potential applications of photoacoustic imaging in early cancer diagnosis and treatment [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2019, 56(7): 9-22.
吴华钦, 王昊宇, 谢文明, 等. 光声成像技术在早期癌症检测治疗中的潜在应用 [J]. *激光与光电子学进展*, 2019, 56(7): 9-22.
- [13] Robert J, Forbrich A, Harrison T, et al. Photoacoustic imaging of gene expression using tyrosinase as a reporter gene [J]. *Proceedings of SPIE*, 2011, 7899: 78991H.
- [14] Bendinger A L, Glowa C, Peter J, et al. Photoacoustic imaging to assess pixel-based sO₂ distributions in experimental prostate tumors [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, 23(3): 036009.
- [15] Chen Z J, Yang S H, Xing D. Progress and application of photoacoustic microscopy technique [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(3): 0307008.
陈重江, 杨思华, 邢达. 光声显微成像技术研究进展及其应用 [J]. *中国激光*, 2018, 45(3): 0307008.
- [16] Yao J J, Wang L V. Sensitivity of photoacoustic microscopy [J]. *Photoacoustics*, 2014, 2(2): 87-101.
- [17] Esenaliev R O, Karabutov A A, Oraevsky A A. Sensitivity of laser opto-acoustic imaging in detection of small deeply embedded tumors [J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 1999, 5(4): 981-988.
- [18] Ntziachristos V. Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology [J]. *Nature Methods*, 2010, 7(8): 603-614.
- [19] Warshavski O, Meynier C, Sénégon N, et al. Experimental evaluation of cMUT and PZT transducers in receive only mode for photoacoustic imaging [J]. *Proceedings of SPIE*, 2016, 9708: 970830.
- [20] Kothapalli S, Ma T J, Vaithilingam S, et al. Deep tissue photoacoustic imaging using a miniaturized 2-D capacitive micromachined ultrasonic transducer array [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*,

- 2012, 59(5): 1199-1204.
- [21] Lutzweiler C, Razansky D. Optoacoustic imaging and tomography: reconstruction approaches and outstanding challenges in image performance and quantification[J]. *Sensors*, 2013, 13(6): 7345-7384.
- [22] Maslov K, Zhang H F, Hu S, et al. Optical-resolution photoacoustic microscopy for *in vivo* imaging of single capillaries [J]. *Optics Letters*, 2008, 33(9): 929-931.
- [23] American National Standards Institute. American national standard for safe use of lasers: ANSI 136.1 [S]. [S.l.]: Laser Institute of America, 2007.