

超分辨率超快超声脊髓微血管成像方法*

郁钧瑾¹⁾ 郭星奕¹⁾ 隋怡晖²⁾ 宋剑平³⁾他得安¹⁾²⁾ 梅永丰⁴⁾ 许凯亮^{1)2)†}

1) (复旦大学信息科学与工程学院, 生物医学工程中心, 上海 200438)

2) (复旦大学工程与应用技术研究院, 上海 200438)

3) (复旦大学附属华山医院神经外科, 上海 200040)

4) (复旦大学材料科学系, 上海 200438)

(2022 年 4 月 6 日收到; 2022 年 5 月 14 日收到修改稿)

脊髓功能对神经传导通路至关重要, 脊髓血管受损及伴随的继发性损伤与脊髓功能状态密切相关. 因而, 脊髓内微血管网络结构和血流状态在脊髓功能在体、精准与实时评价中具有重要前景. 临床常用的血管造影手段存在分辨率低、放射性、设备笨重和使用不便等问题, 无法全面满足脊髓血流术中检查与预后跟踪的需求. 本文以基于多角度复合平面波的超快超声技术为基础, 应用超分辨率定位显微技术 (ULM), 实现了大鼠脊髓内微血管成像. 基本原理为应用基于鲁棒主成分分析 (RPCA) 的滤波方法, 分离脊髓组织信号和运动的造影微泡信号, 通过微泡定位、轨迹追踪, 实现亚波长分辨率的超分辨率超声成像. 随后, 引入基于傅里叶环相关系数方法, 对成像分辨率进行量化分析; 进而对微泡数量、有效轨迹、血管饱和度、血流速度和半高全宽范围等进行了定量评价. 在体成像实验结果表明, ULM 可获得清晰的大鼠脊髓内微血流图像. 定量分析表明, 发射频率为 15.625 MHz 的超声探头可实现 13—16 μm 范围的分辨率, 远小于 100 μm 成像波长. 综上, ULM 可被应用于脊髓内微血管精准成像, 相关结果可为超分辨率脊髓功能监测与动态评价的进一步研究提供借鉴, 对于脊髓损伤诊断、应急治疗与预后恢复等临床研究亦有一定的借鉴意义.

关键词: 超声定位显微 (ULM), 超分辨率, 超快超声, 脊髓微血管**PACS:** 43.60.+d, 43.35.+d, 43.35.Yb, 43.50.+y**DOI:** 10.7498/aps.71.20220629

1 引言

脊髓作为中枢神经系统的中继站和反射中枢, 对神经传导通路至关重要. 脊髓损伤最初往往表现为其内微血管网络受损和局部血流灌注量缺失等, 随后的组织缺氧、出血和水肿情况加速相关神经组织坏死^[1], 进而引发肢体麻木、功能障碍等继发性损伤^[2,3]. 因而脊髓微血管及血流快速成像对脊髓结构与功能的在体、精准与实时评价具有重要意义.

当前, 血管造影是实现在体微小血管成像及血流动力学变化监测不可或缺的临床诊断手段. 血管造影的金标准包括磁共振血管造影 (MRA)、计算机断层扫描成像血管造影 (CTA) 和数字减影血管造影 (DSA). 标准化检测手段 DSA 对小血管成像精度优于 CTA 与 MRA, 约为 500 μm ^[4]; 但数百微米的分辨率仍不能对微血管进行成像. 此外, CTA 和 DSA 检查具有放射性, 造影难度大, 时间长, 辐射量大, 患者接受性较差^[5]; DSA 和 CTA 均需造影剂, 不适于严重的心、肝、肾功能衰竭、甲亢

* 国家自然科学基金 (批准号: 11974081, 51961145108, 11827808)、上海市自然科学基金 (批准号: 19ZR1402700) 和上海市青年科技启明星计划 (批准号: 20QC1400200) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: xukl@fudan.edu.cn

患者及碘过敏患者的检查,且无法实现血流动力学参量测量.此外,机体笨重、扫描耗时,以及不适用于复杂环境(如手术室)等缺点,也在一定程度上限制了它们在临床检查中的普遍应用,从而无法全面满足患者术中检查与预后跟踪的需求.

超声具有快速、无放射、价格低廉且易于携带等优点,更适于术中检查与预后跟踪等需要.现已被广泛用于人体软组织的临床成像与疾病诊断.当前,基于平面波的超快超声技术显著地提升了多普勒成像对小血流信号的灵敏度,从而可实现 MRA, DSA 和 CTA 无法实现的在体小血管成像^[6]. 荧光激活定位显微 (PALM) 技术实现了光学衍射极限的突破^[7], Couture 等^[8] 借鉴该思想发展了超声定位显微成像 (ultrasound localization microscopy, ULM) 技术^[9]. ULM 方法兼具高分辨率和深穿透力的优点,对比传统超声和超快超声成像,可对人体深层组织(如颅脑、脊髓、心脏、肾等)实现亚波长(接近 $1/10$ 波长,血管直径 $< 100\ \mu\text{m}$) 的微血管成像^[10],远优于当前临床应用的血管造影.2015 年,法国 Langevin 研究所应用 ULM 率先获得深脑小血管网络血流动力学成像结果,成像分辨率在 $10\ \mu\text{m}$ 左右^[11].同年,Christensen-Jeffries 等^[12] 报道了超分辨率血流速度成像结果.随后,在大鼠肿瘤^[13]、大鼠肾缺血^[14]、糖尿病小鼠骨骼肌微血管^[15]、兔淋巴结微血管^[16] 及兔眼部微血管^[17] 模型上均报道了微血管成像结果.此外,不少研究者对 ULM 成像质量进行了探讨, Song 等^[18] 探讨了空间采样量化对 ULM 成像的影响. Hingot 等^[19] 深入探讨了 ULM 饱和度与成像时长的关系,以及 ULM 图像分辨率量化评价^[20] 等核心问题.国内学界也就 ULM 技术开展了相关工作. Zhong 等^[9] 曾对超声超分辨率微血流成像研究进展做了综述报告. Liu 等^[21] 提出了一种基于子像素点的卷积神经网络,从而有望实现快速高效高鲁棒性的 ULM 微血管图像重建. Xu 等^[22] 提出基于鲁棒主成分分析 (robust principal component analysis, RPCA) 方法可实现低信噪比下微泡的高效检出,进而提升大鼠脑 ULM 图像质量.

相较于脑、脏器、肿瘤血流成像,脊椎复杂的骨结构特征、呼吸运动的干扰以及脊髓本身尺寸较小的特点,给脊髓内微血流超声成像带来挑战^[23].2018 年, Khaing 等^[24] 应用超声微泡造影剂对椎板打开条件下的大鼠脊髓血流进行了对比度增强超

声成像 (contrast-enhanced ultrasound, CEUS), 成功观察到了脊髓中的微血管结构.近年来,基于多普勒的超快超声可在无造影剂条件下实现脊髓微血管成像.2021 年, Zang 等^[25] 基于超快超声多普勒实现了无造影剂条件下的脊髓微血管成像,该结果成像分辨率与发射波长相当. Sui 等^[26] 使用基于 RPCA 的随机降采样方法实现了快速、高性价比的超快超声多普勒脑与脊髓微血流成像. Pezet 等^[27] 对脊髓慢性损伤的血管重建进行了观测.但对于脊髓微血流的量化分析均有待深入,特别是基于 ULM 的脊髓微血管分辨率的评价仍有待深入.

为实现脊髓微血流网络超分辨率超快超声成像,本文使用超快超声成像技术采集数据,以基于 RPCA 的滤波方法对微泡回波信号成分提取^[28],使用径向对称 (radial symmetry, RS) 定位算法定位微泡中心点坐标,通过叠加数以万计的超声微泡运动轨迹,最终获得大鼠脊髓微血管超分辨率图像.此外,对脊髓微血管成像血管饱和度、分辨率和微血流速度信息等进行了参数量化分析.

2 基本原理

ULM 的主要流程如图 1 所示,首先对超快超声序列采集到的回波数据进行波束合成,接着采用基于 RPCA 的滤波方法对组织回波与微泡回波信号进行分离,包括滤除高频噪声.

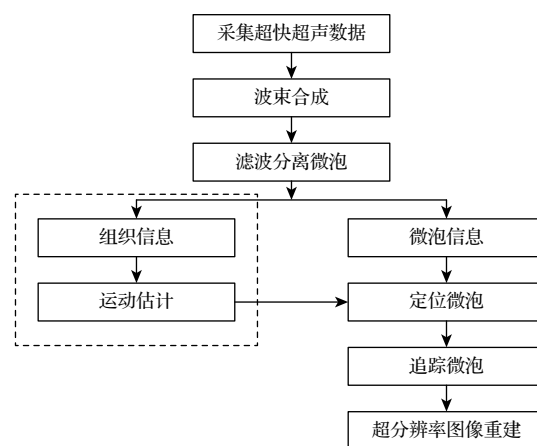


图 1 超分辨率超快超声工作流程

Fig. 1. Workflow of Ultrafast Ultrasound Localization Microscopy.

2.1 超快超声成像

超快超声成像以平面波成像为核心,区别于聚焦波束逐行扫描整个目标区域,这种平面波成像模

式下换能器所有阵元同时发射声波,产生一个平行于换能器阵列的超声平面波波前,从而可在单次传输过程中扫描整个目标区域.经组织散射后,所有阵元同时接收回波信号,经波束形成得到整个区域的超声图像.因此平面波成像一次发射即可得到一帧图像,与传统聚焦声束成像相比,能将成像帧率提高数百倍.此外,每帧图像采集时间可小于1 ms,这使得以高帧率测量组织运动、血液运动、造影剂运动情况成为可能^[25],为在体血流动态成像与功能评价铺平了道路.

2.2 基于RPCA的杂波滤除方法

分离组织与微泡信号常用的方法是基于奇异值分解(SVD)的时空杂波滤波方法^[29],其原理是去掉表征高时空相关性组织信号的最大奇异向量以及表征噪声的最小奇异向量,剩下的奇异向量用来重建缓慢移动的微泡^[28].然而,由于组织和微泡的频谱成分往往有重叠,SVD方法在选择合适阈值以区分组织、微泡与噪声时仍然存在困难.近年来一些在微血管稀疏性方面的研究有助于改进杂波滤波,如RPCA^[30,31].该策略将信号矩阵建模为低秩分量、稀疏分量和加性噪声的和,从而可以有效地分离出以微泡散射为主的稀疏分量.

采用低秩加稀疏模型可实现对组织和微泡信号的有效建模.其主要原理为,对某时间段内连续采集的 N_t 帧尺寸为 $(N_z \times N_x)$ 的三维矩阵,将其转化 $(N_s \times N_t)$ 的二维矩阵 \mathbf{A} ,其中 $N_s = N_z \times N_x$,也即将 N_t 帧的图像重排为 N_t 个列向量.由于回波数据主要由强组织杂波、微泡回波和附加噪声分量组成,假设这三个分量是线性叠加的,那么回波数据矩阵 \mathbf{X} 可以被描述为

$$\mathbf{X} = \mathbf{C} + \mathbf{B} + \mathbf{N}, \quad (1)$$

式中, \mathbf{C} , \mathbf{B} , \mathbf{N} 分别代表组织分量、微泡分量和噪声分量.当使用超声成像时,组织运动具有高的时空相干性,从而产生了低秩矩阵 \mathbf{C} .与组织不同的是,低浓度运动微泡的图像具有低相干和稀疏的特点,故而矩阵 \mathbf{B} 不具有低秩的特征但具有稀疏性.噪声分量 \mathbf{N} 的幅度小于微泡信号和组织回波,既非低秩也不稀疏.

从矩阵 \mathbf{X} 中获得低秩矩阵 \mathbf{C} 和稀疏矩阵 \mathbf{B} ,可表述为一个凸规划(PCP)求解问题,其定义为

$$\min_{\mathbf{X}=\mathbf{C}+\mathbf{B}} (\|\mathbf{C}\|_* + \lambda\|\mathbf{B}\|_1), \quad (2)$$

其中 $\|\mathbf{C}\|_* = \sum_i \sigma_i(\mathbf{C})$ 为矩阵 \mathbf{C} 的核范数, σ_i 是第 i 个奇异值, $\|\mathbf{B}\|_1 = \sum_{ij} |B_{ij}|$ 表示矩阵 \mathbf{B} 的 l_1 范数. $\lambda > 0$ 是用于平衡稀疏程度与低秩程度的参数^[30].利用增广拉格朗日函数的交替方向乘子法(alternating direction method of multipliers, ADMM)可有效求解^[32],该拉格朗日函数可写为

$$\begin{aligned} \mathcal{L}(\mathbf{C}, \mathbf{B}, \mathbf{Y}, \mu) &= \|\mathbf{C}\|_* + \lambda\|\mathbf{B}\|_1 + \langle \mathbf{Y}, \mathbf{X} - \mathbf{C} - \mathbf{B} \rangle \\ &\quad + \frac{\mu}{2} \|\mathbf{X} - \mathbf{C} - \mathbf{B}\|_F^2, \end{aligned} \quad (3)$$

其中 $\langle \cdot, \cdot \rangle$ 表示内积, \mathbf{Y} 为线性约束的拉格朗日乘子, μ 为控制 \mathbf{Y} 步长的惩罚因子.因此,(3)式可被重新表述为低秩和稀疏分解问题的两个步骤,依次进行 $\min_{\mathbf{C}} \mathcal{L}(\mathbf{C}, \mathbf{B}, \mathbf{Y}, \mu)$ 和 $\min_{\mathbf{B}} \mathcal{L}(\mathbf{C}, \mathbf{B}, \mathbf{Y}, \mu)$ 实现ADMM,并更新拉格朗日乘子^[32],具体如下:

$$\arg\min_{\mathbf{C}} \mathcal{L}(\mathbf{C}, \mathbf{B}, \mathbf{Y}, \mu) = D_{\frac{1}{\mu}}(\mathbf{X} - \mathbf{B} + \mu^{-1}\mathbf{Y}), \quad (4)$$

$$\arg\min_{\mathbf{B}} \mathcal{L}(\mathbf{C}, \mathbf{B}, \mathbf{Y}, \mu) = S_{\frac{\lambda}{\mu}}(\mathbf{X} - \mathbf{C} + \mu^{-1}\mathbf{Y}), \quad (5)$$

$$\mathbf{Y}_{k+1} = \mathbf{Y}_k + \mu(\mathbf{X} - \mathbf{C}_k - \mathbf{B}_k), \quad (6)$$

其中, $S_{\tau}[x] = \text{sgn}(x) \max(|x| - \tau, 0)$, $D_{\tau}(\mathbf{X}) = \mathbf{U}S_{\tau}(\Sigma)\mathbf{V}^*$, $\mathbf{X} = \mathbf{U}\Sigma\mathbf{V}^*$ 为奇异值分解.当 $\|\mathbf{X} - \mathbf{C}^{k+1} - \mathbf{B}^{k+1}\|_F / \|\mathbf{X}\|_F$ 很小或者迭代次数达到最大时,停止迭代.

2.3 超分辨率定位显微

基于瑞利准则,由点扩散函数推导而来的成像分辨率往往限于半波长,即所谓的“衍射极限”^[20].具体地,在声波衍射作用下,当发射波和接收波的平均点源的衍射距离接近发射波长的一半时,散射体的回波将会叠加在一起无法区分^[8].散射体周围以 R 为半径的距离范围形成的球面波,散射强度为

$$I_s = \frac{I_i \sigma}{4\pi R^2}, \quad (7)$$

I_i 为散射点与发射点之间的强度, σ 为散射截面.除此之外,散射声的干扰会导致声散斑^[33].但在任何点上只能看到少数几个不同的源,那么可以根据成像系统的点扩散函数将这些源分离开,并精确地确定其位置.

采用超声造影剂作为强散射源,通过限制每幅图像中检测到的单个微泡的数量,可确保各个微泡回波不会相互干扰.对每一个微泡中心定位精度远

高于系统的衍射极限分辨率. 通过积累数千张图像中的微泡中心点的运动轨迹即可重建血管结构的超分辨率图像. 从而实现在一定程度上兼具高分辨率和深穿透力的优点.

对于分离出的微泡回波信号, 可以从每帧图像中提取、检测出独立运动的微泡, 并使用 RS 定位算法对微泡中心加以定位. RS 算法利用强度梯度来寻找微泡中心. 在以其最大值为中心的对称强度剖面上, 每一点的强度梯度总是指向该最大值, 因而将微泡中心至等势线的距离最小化即可实现微泡定位. 对于分离出的组织回波信号可用于估计由呼吸起伏产生的微小运动, 进一步对微泡定位的结果进行运动校准.

在精确定位的基础上, 使用基于 Kuhn-Munkres 算法的跟踪算法 (simpletracker, Mathworks) 可获得微泡的轨迹. 即计算每个微泡与后续帧中所有微泡的距离, 通过最小化总距离来对每个微泡在帧与帧之间的位置进行配对, 从而确定每个微泡运动的轨迹与长度. 此外, 考虑噪声干扰、帧间配对失败或者微泡闪现时长过短等不利因素, 长度过短的轨迹需要加以滤除, 参考文献中所给出的经验值, 小于 15 帧长度的轨迹被视作不稳定轨迹而滤除 [34]. 最后, 累积一系列帧中插值过的轨迹, 实现亚波长分辨率的微血管造影. 同时, 帧与帧之间微泡位置的差分可以用于计算微泡的运动速度, 也即相应的血流速度.

2.4 基于傅里叶环相关的分辨率测定

依赖于单个精准点源的亚波长定位, ULM 可

显著提高成像分辨率, 进而突破衍射极限. 借鉴光学纳米显微的标准方法 [35,36] 引入基于傅里叶环相关 (Fourier ring correlation) 测定分辨率, 具体步骤如图 2. 原始轨迹列表被随机分成两组, 构成两个子图像 (流程示例图像选自图 4 脊髓超分辨率结果的局部数据, 也可以另行编程生成轨迹用于示例计算). 分别计算子图像的二维傅里叶变换, 再计算频谱 F_1 和 F_2 沿等空间频率环 r (如图 2 中红色与蓝色的等频率环) 的归一化相关性 ((8) 式), 由此构建 FRC 曲线. 将分辨率定义为 FRC 低于阈值的空间频率的倒数.

$$\text{FRC}(r) = \frac{\sum_r F_1(r) F_2(r)^*}{\sqrt{\sum_r |F_1(r)|^2 \sum_r |F_2(r)|^2}}, \quad (8)$$

其中 $r = |\mathbf{r}|$, $F_1(\mathbf{r})$ 和 $F_2(\mathbf{r})$ 为子图像 Fourier 变换后的结果.

阈值曲线的选取有多种方式, 固定阈值常见 0.5 和 $1/7$ [35], 变化的阈值曲线主要有基于 σ 阈值和 bit 位的阈值曲线以及与这些曲线成比例的阈值曲线. 本文使用 2σ 和 $1/2$ bit 阈值曲线, 分别对应于高于两倍等效噪声水平的相关和填充半位所需的信息. 分辨率被确定为与 FRC 曲线的交点. 在确定分辨率之前, FRC 曲线上可使用平滑滤波, 如果可以观察到两个或更多的交叉, 总是选择对应于较低分辨率的那一个. 除了分辨率的估计以外, FRC 曲线的计算和分辨率的理论估计也有助于指导图像重建最小网格的选择, 从而合适地表示微泡的密度分布.

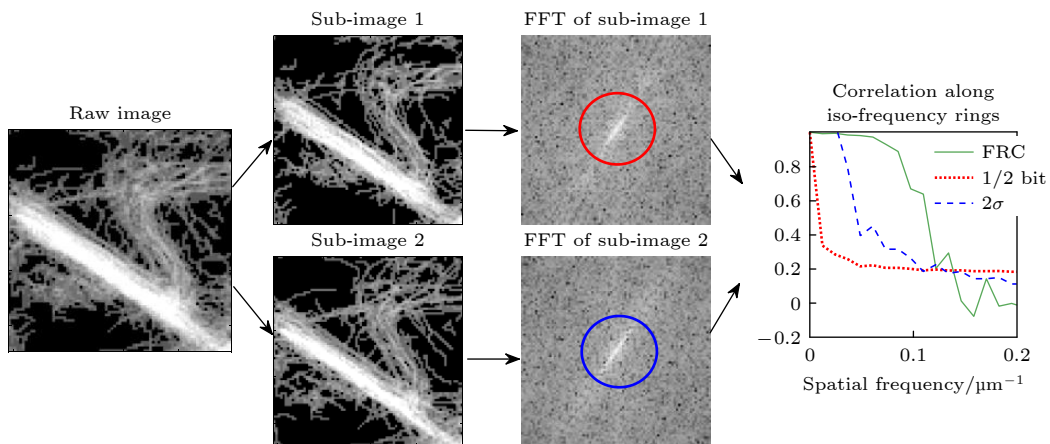


图 2 基于 FRC 曲线的分辨率测定

Fig. 2. Resolution measurement based on FRC curve.

3 实验设置

实验使用 L22-14vX 线阵探头, 具有 128 个独立的阵元, 每个阵元均可用作发射或接收, 实验中所用发射频率为 15.625 MHz, 带宽 14—22 MHz, 相邻阵元间的间距是 0.1 mm. 对于 B 模式成像和多普勒成像, 超声序列发射 15 个倾斜平面波 (-10° — $+10^\circ$ 均匀间隔), 脉冲重复频率为 31250 Hz. 在超分辨率实验中, 5 个发射角 (-5° — $+5^\circ$ 均匀间隔), 帧率为 1000 帧/s, 共采集 300 个数据块, 每个数据块由 600 帧合成帧组成.

所使用的动物模型遵循动物实验相关规定, 通过复旦大学动物实验科学部动物福利与伦理委员会审批 (批件号: 202202020Z). 选择 400 g 左右成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 进行 5 min 左右的异氟烷气体麻醉至身体松软便于后续进行全身麻醉, 下腹腔注射浓度 8% 的水合氯醛溶液 (每克体重注射 5 μ L) 进行全身深度麻醉. 暴露胸椎 T7—11 节段椎板方便后续手术, 其中胸椎 T8—10 节段进行椎板打开手术, 超声成像在该视野区间进行. 椎板打开手术及成像实验过程中每隔 1 h 补充注射 0.3 mL 水合氯醛溶液.

超分辨率成像过程中, 通过颈静脉注射超声微泡 (SonoVue, Bracco, Milan, Italy). 对于每瓶含 59 mg 六氟化硫及 25 mg 冻干粉的微泡制品, 使用时加入 4 mL 注射用生理盐水 (0.9%NaCl) 用力振摇后形成微泡混悬液. 注射 30 s 后, 开始对大鼠脊

髓的矢状面进行数据采集, 采集前在 B 超图像模式下确认选取包含脊髓前动脉的正中矢状切面进行成像. 大鼠脊髓与超声探头之间使用加热至大鼠体温的超声耦合剂进行耦合.

4 实验结果

4.1 超快超声定位显微脊髓微血流结果

脊髓 B 超成像结果如图 3(a), 脊髓的上下界面较为清晰, 但在软组织信号的高回声影响下, 无法直接呈现单个微泡. 经过 RPCA 滤波后, 微泡和组织信号得以分离, 任取一帧保留微泡信号的脊髓图像如图 3(b), 图中微泡的对比度相比于背景较高, 特别是大血管中的微泡运动轨迹清晰. 图 3(c) 为第 150 个数据块中第 300 帧微泡定位结果, 图 3(d) 为第 301 帧微泡定位结果, 可以更为清晰地看到微泡在帧与帧之间运动的情况, 红色圆点为算法定位的微泡中心. 对于每帧图像, 首先按强度值降序排列找出 90 个候选微泡, 然后筛去位于图像最边缘的微泡, 再筛去算法定位中心与局部强度最大值之间偏移过大的微泡, 剩下的就是用于下一步轨迹追踪的微泡. 经过以上处理后, 本数据中平均每帧有 53 个微泡 (在 1000 Hz 帧率下采集的 0.6 s 数据块中, 每秒约采集 31800 个微气泡), 不同块之间微泡数量的标准差为 10%.

最终成像结果如图 4 所示, 血流密度图获得了较为清晰的大鼠脊髓内微血管网络结构重建, 标尺为 1 mm. 此外, 可较好地观察到脊髓内贯穿的小

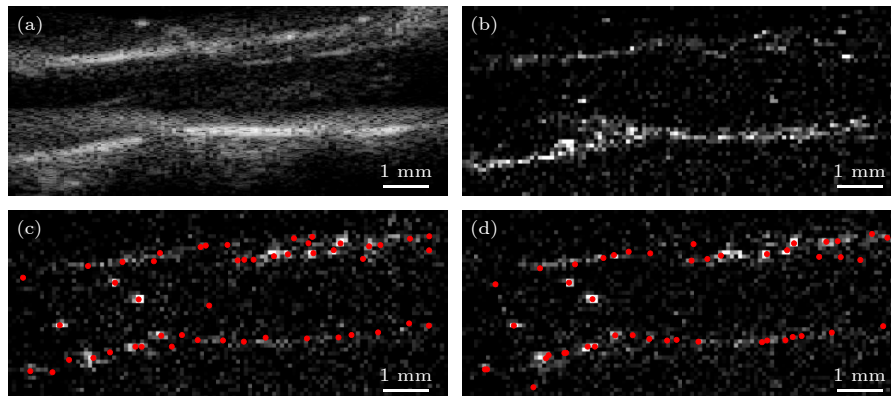


图 3 ULM 处理过程结果 (a) 第 150 个数据块中第 200 帧回波信号的 B 超图像; (b) 第 150 个数据块中第 200 帧分离出的微泡回波信号; (c) 第 150 个数据块中第 300 帧微泡定位结果; (d) 第 150 个数据块中第 301 帧微泡定位结果

Fig. 3. Results during ULM processing: (a) B-mode image of the 200th frame of block 150; (b) isolated signal of microbubbles after filtering from the 200th frame of block 150; (c) localization of microbubble centers in the 300th frame of block 150; (d) localization of microbubble centers in the 301th frame of block 150.

动脉分叉,直至末端分支点.相比之下,使用超快功率多普勒成像(图5(a))受到衍射的限制,只突出了大鼠脊髓的大血管,而没有区分波长尺度以下的细节.对比图4(b)ULM血流方向图与图5(b)彩色多普勒血流图,ULM可以更细致地区分血管依附在一起的上下行血流.

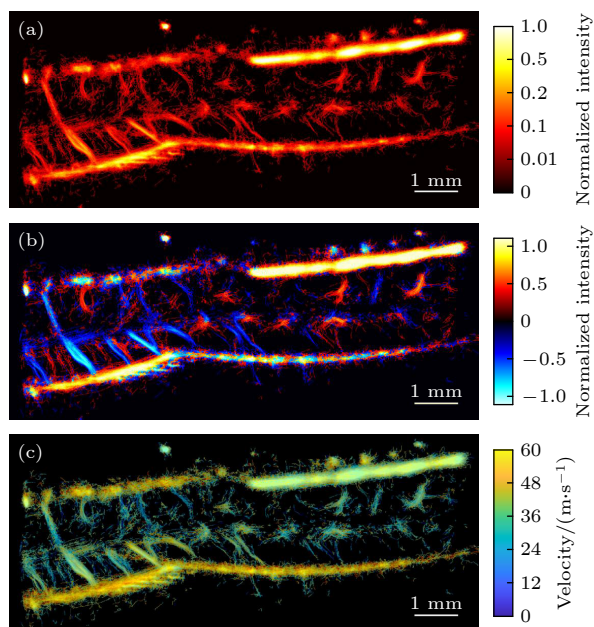


图4 超快超分辨率超声成像结果 (a) 脊髓血流密度图; (b) 脊髓血流方向图; (c) 脊髓血流速度图
Fig. 4. ULM Results: (a) Intensity map of spinal cord; (b) direction map of spinal cord; (c) velocity map of spinal cord.

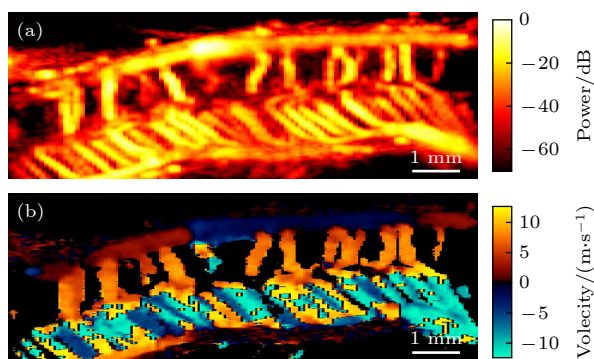


图5 超快多普勒超声成像结果 (a) 功率多普勒血流图; (b) 彩色多普勒血流图
Fig. 5. Results of ultrafast Doppler imaging: (a) Power Doppler; (b) color Doppler.

图4(c)血流速度图展示了该方法测量微血管血流动力学的能力.大鼠脊髓矢状面内血流速度显示,大血管的动态范围可达cm/s,小血管的动态范围可达mm/s,血液流速相对较大的动脉分辨得很

清晰,同一根血管内,某点的流速与该点距离血管中心的距离呈负相关,血管中心处的血流流速大,血管壁处血流流速小.并且大血管在血管中心支持更高的流量,与文献报道相符合[34,37].

4.2 分辨率和饱和度参数分析

成像过程中,算法定位到了700多万微泡目标,瞬时微泡数量统计、累计微泡数量统计、血管饱和度统计如图6所示.其中,瞬时微泡数量与各个时刻血管内微泡浓度成正比;血管饱和曲线表示的是图像上检测到的微泡所覆盖总面积占成像范围面积的比例随时间的变化,它反映了血管图像重建的时间过程.血管网络的拓扑结构不变,根据血管饱和度的定义,即使微泡浓度增加,饱和度曲线在平台期的稳定值依然基本不变.脊髓血管饱和度曲线(图6蓝色)在一个快速阶段之后,在160s左右开始进入平台期,此时微泡基本充满了各血管,因而重建速度减慢,饱和度最终稳定在30%—40%;相同实验设置下对同一只大鼠进行脑部超分辨率血管成像,获得了相似的结果(图6灰色).Hingot等[20]也曾对大鼠脑部超分辨率成像进行微泡定位统计,对于一段时间持续性注射微泡的情况,饱和度曲线从150s左右开始进入平台期,饱和度最终稳定在40%—60%.虽然脊髓相较于大脑截面区域更小、整体血管相对纤细稀疏,但是通过血液循环进入脊髓内血管网络的微泡数量应与大脑应大体相当;从图6的结果来看,两处组织中测得的血管饱和度曲线到达平台期的变化趋势相近,脑血流成像结果与文献[20]的结果具有一致性.

成像结果分辨率的测量同时使用了由半高全宽(full-width at half-maximum, FWHM)表征的传统定义分辨率与基于FRC的分辨率.图7对比了超快多普勒与超分辨率成像结果的分辨率.图7(a)为图5(a)脊髓超快多普勒血流图的局部放大图,选取的几条血管剖面半高全宽参数值测量结果如图7(b),空间分辨率约135—270 μm ,第三条血管剖面结果表明,距离140 μm 的相邻血管可被较好地地区分开.图7(c)为图4(a)脊髓超分辨率血流密度图的局部放大图,选取了几条含较多微泡的微血管剖面,其FWHM参数值测量结果如图7(d),空间分辨率约28—35 μm ,第三条血管剖面结果表明,距离28 μm 的相邻血管依然可以被较好地地区分开.以上血管剖面的FWHM结果与多普勒成像的

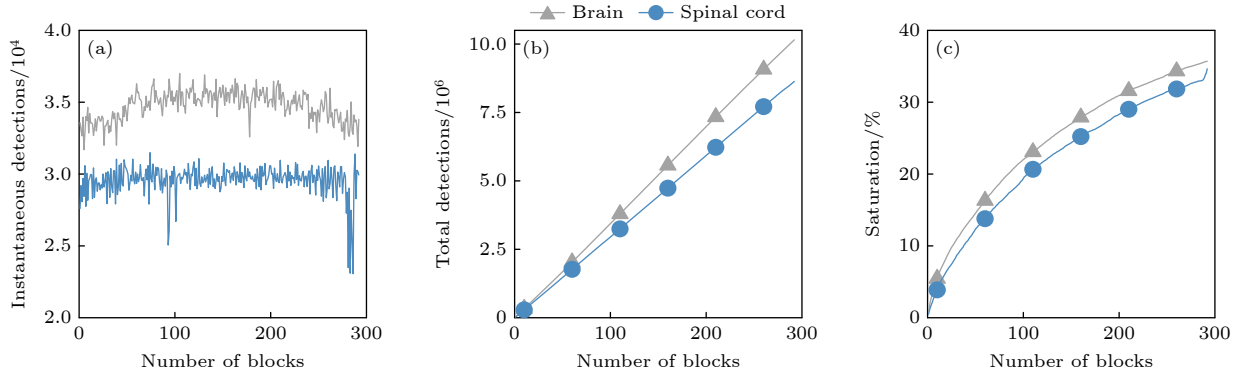


图 6 微泡定位统计 (a) 瞬时微泡数量; (b) 累计微泡数量; (c) 饱和度随时间变化图曲线

Fig. 6. Quantification of microbubble localization: (a) Instantaneous detections; (b) accumulated detections; (c) saturation curve along time.

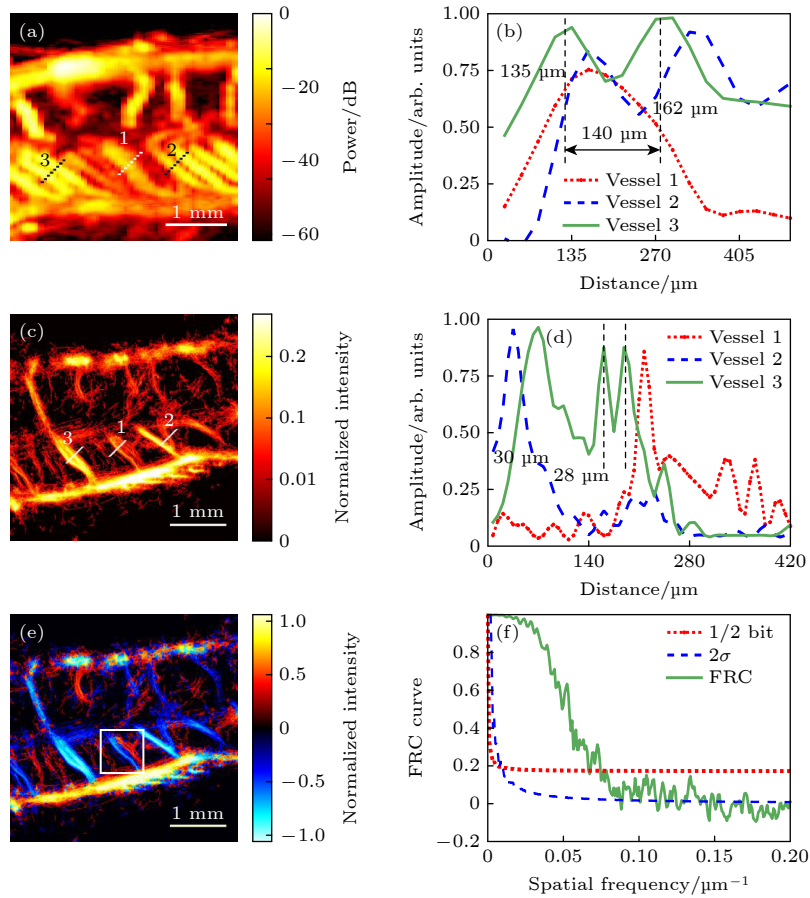


图 7 超快多普勒与超快超分辨率超声成像结果分辨率测算 (a) 脊髓超快功率多普勒血流局部放大图; (b) 图 (a) 中部分血管剖面 FWHM 结果; (c) 脊髓超分辨率血流密度局部放大图; (d) 图 (c) 中部分血管剖面 FWHM 结果; (e) 脊髓超分辨率血流方向局部图; (f) 超分辨率血流密度图基于 FRC 的分辨率结果

Fig. 7. Resolution measurements of ultrafast Doppler imaging and ULM: (a) Zoom in of power Doppler; (b) FWHM of vessels from panel (a); (c) zoom in of ULM intensity map; (d) FWHM of vessels from panel (c); (e) zoom in of ULM direction map; (f) resolution of ULM intensity map based on FRC curve.

图像分辨率相比, 提升了 4—10 倍. 图 7(e) 为图 4(b) 脊髓超分辨率血流方向图的局部放大图, 从白色方块标记出的感兴趣区域可以清晰地看到, 原本在密度图中被视作一条血管的位置可在区分方向后进

一步细分为两条相反流向的微血管. 图 7(f) 为基于 FRC 的分辨率测量结果, 这里使用了 2σ 和 1/2 bit 阈值曲线与 FRC 曲线相交以确定分辨率, 两个交点分别对应 13 和 16 μm 的空间分辨率, 与

文献中脑血流结果分辨率^[11]保持一致. 更为详细的 ULM 参数结果包括微泡保留比例、轨迹保留比例、饱和度、血流速度范围、全图血管剖面 FWHM 范围、分辨率测算结果均统计在表 1 中.

表 1 ULM 参数统计结果
Table 1. Results of ULM parameter measurement.

参数	值
微泡保留比例/%	14.7
半高全宽/ μm	28—50
轨迹保留比例/%	1.7
传统定义分辨率/ μm	28
饱和度/%	32
FRC分辨率 $-2\sigma/\mu\text{m}$	13
血流速度/ $(\text{mm}\cdot\text{s}^{-1})$	1—50
FRC分辨率 $-1/2 \text{ bit}/\mu\text{m}$	16

5 讨 论

彩色多普勒成像具有角度依赖性, 仅能确定血流速度的轴向分量, 此外, 在上下行血流同时出现时存在对应的正负频移相互抵消的情况, 因此频移估计不准确不稳定, 轴向速度估计也整体偏低^[38]. 对比超快多普勒结果和 ULM 结果, ULM 方法测得的速度范围在 1—50 mm/s, 而多普勒测得速度最高仅为在 13 mm/s 左右, 明显低于 ULM 的测量结果. 这是由于 ULM 方法通过追踪微泡中心轨迹计算血流速度, 从而克服角度依赖限制, 可准确测量侧向移动的微泡, 并提供角度无关二维速度估计. 因而, ULM 技术可用于观察小血管弯曲、突然分支以及复杂的血流速度的变化, 进而探究血管受损^[27]和相关疾病的发生发展.

在 ULM 成像过程中, 饱和度与成像时间需要加以权衡. 当饱和度曲线接近收敛状态时, 通过叠加轨迹新增血管的信息较少, 血管网络拓扑形态将不再会显著改变; 并且由于大血管内流过的微泡比率高, 其重建速度相对较快, 部分毛细血管重建需要较长的图像采集时间^[19]. 因此, 损失一些血管细节可以有效减少成像时间, 在饱和度曲线未达到平台期稳定值的情况下亦可获得血管结构图像. 同时, 本文目前的微泡运动轨迹保留比例较低, 也可能导致所需的成像时间较长. 后续研究可引入包括机器学习方法在内的先进信号处理技术, 实现微泡运动轨迹的高效提取与识别. 为了缩短超分辨率成像的时长, 另一个可行方案为提高造影剂浓度, 可

使得单位时间内微泡数量增加. 但是, 高浓度微泡会导致微泡间点扩散函数的空间重叠, 从而引起微泡中心定位偏差, 给定位显微算法带来挑战. 有学者提出了稀疏策略和相关深度学习方案, 如通过考虑数据固有的时间结构, 在时间相关域进行稀疏恢复^[39]; 基于 V-net 架构的三维卷积神经网络方法^[40]或全卷积神经网络方法^[41]也可在注射高浓度微泡的条件下恢复血管网络. 总的来说, 注射高浓度微泡可使得单位时间内微泡运动轨迹增加, 促使饱和度和曲线收敛速度相对加快; 但浓度也不宜过高, 针对不同的成像器官, 相关最优浓度与采集时长仍有待进一步的临床研究加以澄清.

本研究目前是在椎板打开的情况下进行超分辨率成像. 现有研究表明, 经由颅骨可以实现脑部超分辨超声成像. 但由于头骨诱导的信号衰减导致的低信噪比, 整体上检测到的局部微泡的数量会减少^[11], 因而增加了最小可检测血管的限制. 未来, 通过结合基于未知模型的全波反演技术^[42], 超声骨成像技术^[43]和基于已知速度模型的相位畸变校正方法^[44], 直接从射频数据中定位微泡以进一步提高分辨率, 有望实现经椎骨超分辨脊髓微血流成像. 从方法上采用二维面阵获得脊髓微血管的三维超声影像具有可行性, 但现阶段三维探头的系统成本与实现复杂度仍相对较高. 此外, 也可借助数控机床精细控制超声探头空间扫描, 以机械扫描的方式获取若干二维矢状面血流图像, 经体空间重建获得三维血流成像.

6 结 论

本文采用 ULM 技术对大鼠脊髓微血流进行成像, 以基于 RPCA 的滤波方法分离组织与微泡回波信号, 通过叠加超声微泡定位中心的运动轨迹, 最终获得大鼠脊髓微血管超分辨率图像. 脊髓血流密度图中可以清晰地看到脊髓上下两个界面的动脉血管以及内部的微血流分布, 血流方向图可进一步区分血流密度图中无法分离的相邻血管, 血流速度图对不同的血管有明确的速度测量. 定量分析中, 基于 FWHM 的分辨率测定与基于傅里叶环相关的分辨率测定均证明, 发射频率为 15.625 MHz 的超声探头可获得 13—16 μm 左右分辨率的脊髓内微血管网络结构图像, 远小于 100 μm 成像波长, 达到了亚波长分辨率. 对比了超快超声多普勒微血

流成像方法, ULM 的分辨率提升了 4—10 倍, 增强了脊髓损伤的诊断能力, 对相关术中检查与预后跟踪也有一定的借鉴意义。

参考文献

- [1] Kwon B K, Tetzlaff W, Grauer J N, Beiner J, Vaccaro A R 2004 *Spine J.* **4** 451
- [2] Ahuja C S, Wilson J R, Nori S, Kotter M R N, Druschel C, Curt A, Fehlings M G 2017 *Nat. Rev. Dis. Primers* **3** 17018
- [3] Fawcett J W, Schwab M E, Montani L, Brazda N, Muller H W 2012 *Handb. Clin. Neurol.* **109** 503
- [4] Ruedinger K L, Schafer S, Speidel M A, Strother C M 2021 *AJNR Am. J. Neuroradiol.* **42** 214
- [5] Vargas M I, Bing F, Gariani J, Dietemann J L 2016 *Neurovascular Imaging* (New York: Springer) pp. 1063-1093
- [6] Tanter M, Fink M 2014 *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **61** 102
- [7] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, Lindwasser O W, Olenych S, Bonifacino J S, Davidson M W, Lippincott-Schwartz J H, Hess H F 2006 *Science* **313** 1642
- [8] Couture O, Besson B, Montaldo G, Fink M, Tanter M 2011 *IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* Caribe Royale, Orlando, Florida, USA, October 18–21, 2011, p1285
- [9] Zhong C, Zheng Y 2021 *Chin. J. Med. Imaging Technol.* **37** 1799 (in Chinese) [钟传钰, 郑元义 2021 中国医学影像技术 **37** 1799]
- [10] Couture O, Hingot V, Heiles B, Muleki-Seya P, Tanter M 2018 *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **65** 1304
- [11] Errico C, Pierre J, Pezet S, Desailly Y, Lenkei Z, Couture O, Tanter M 2015 *Nature* **527** 499
- [12] Christensen-Jeffries K, Browning R J, Tang M X, Dunsby C, Eckersley R J 2015 *IEEE Trans. Med. Imaging* **34** 433
- [13] Opacic T, Dencks S, Theek B, Piepenbrock M, Ackermann D, Rix A, Lammers T, Stickeler E, Delorme S, Schmitz G, Kiessling F 2018 *Nat. Commun.* **9** 1527
- [14] Andersen S B, Taghavi I, Hoyos C A V, Sogaard S B, Gran F, Lonn L, Hansen K L, Jensen J A, Nielsen M B, Sorensen C M 2020 *Diagnostics* **10** 862
- [15] Ghosh D, Peng J, Brown K, Sirsi S, Mineo C, Shaul P W, Hoyt K 2019 *J. Ultrasound Med.* **38** 2589
- [16] Zhu J, Rowland E M, Harput S, Riemer K, Leow C H, Clark B, Cox K, Lim A, Christensen-Jeffries K, Zhang G, Brown J, Dunsby C, Eckersley R J, Weinberg P D, Tang M X 2019 *Radiology* **291** 642
- [17] Qian X, Huang C, Li R, Song B, Tchelepi H, Shung K K, Chen S, Humayun M, Zhou Q 2021 *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **69** 1585
- [18] Song P, Manduca A, Trzasko J D, Daigle R E, Chen S 2018 *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **65** 2264
- [19] Hingot V, Errico C, Heiles B, Rahal L, Tanter M, Couture O 2019 *Sci. Rep.* **9** 2456
- [20] Hingot V, Chavignon A, Heiles B, Couture O 2021 *IEEE Trans. Med. Imaging* **40** 3812
- [21] Liu X, Zhou T, Lu M, Yang Y, He Q, Luo J 2020 *IEEE Trans. Med. Imaging* **39** 3064
- [22] Xu K, Guo X, Sui Y, Hingot V, Couture O, Ta D, Wang W 2021 *IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* Xi'an, China, September 11–16, 2021 p1
- [23] Soloukey S, Vincent A, Satoer D D, Mastik F, Smits M, Dirven C M F, Strydis C, Bosch J G, van der Steen A F W, De Zeeuw C I, Koekkoek S K E, Kruizinga P 2019 *Front. Neurosci.* **13** 1384
- [24] Khaing Z Z, Cates L N, DeWees D M, Hannah A, Mourad P, Bruce M, Hofstetter C P 2018 *J. Neurosurg. Spine* **29** 306
- [25] Zang J Q, Xu K L, Han Q J, Lu Q Y, Mei Y F, Ta D A 2021 *Acta Phys. Sin.* **70** 114304 (in Chinese) [臧佳琦, 许凯亮, 韩清见, 陆起涌, 梅永丰, 他得安 2021 物理学报 **70** 114304]
- [26] Sui Y, Yan S, Zang J, Liu X, Ta D, Wang W, Xu K 2021 *IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* Xi'an, China, September 11–16, 2021 p1
- [27] Pezet S, Beliard B, Ahmanna C, Tiran E, Kanté K, Deffieux T, Tanter M, Nothias F, Soares S 2022 *Sci. Rep.* **12** 6574
- [28] Desailly Y, Tissier A M, Correias J M, Wintzenrieth F, Tanter M, Couture O 2017 *Phys. Med. Biol.* **62** 31
- [29] Hingot V, Errico C, Tanter M, Couture O 2017 *Ultrasonics* **77** 17
- [30] Candès E J, Li X, Ma Y, Wright J 2011 *J. ACM* **58** 1
- [31] Bayat M, Fatemi M 2018 *IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP)* Calgary, AB, Canada, April 15–20, 2018 p1080
- [32] Boyd S 2010 *Foundations and Trends® in Machine Learning* **3** 1
- [33] Christensen-Jeffries K, Couture O, Dayton P A, Eldar Y C, Hynynen K, Kiessling F, O'Reilly M, Pinton G F, Schmitz G, Tang M X, Tanter M, van Sloun R J G 2020 *Ultrasound Med. Biol.* **46** 865
- [34] Heiles B, Correia M, Hingot V, Pernot M, Provost J, Tanter M, Couture O 2019 *IEEE Trans. Med. Imaging* **38** 2005
- [35] Nieuwenhuizen R P, Lidke K A, Bates M, Puig D L, Grunwald D, Stallinga S, Rieger B 2013 *Nat. Methods* **10** 557
- [36] Banterle N, Bui K H, Lemke E A, Beck M 2013 *J. Struct. Biol.* **183** 363
- [37] Viessmann O M, Eckersley R J, Christensen-Jeffries K, Tang M X, Dunsby C 2013 *Phys. Med. Biol.* **58** 6447
- [38] Tang J, Kilic K, Szabo T L, Boas D A 2021 *IEEE Trans. Med. Imaging* **40** 758
- [39] Bar-Zion A, Solomon O, Tremblay-Darveau C, Adam D, Eldar Y C 2018 *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **65** 2365
- [40] Milecki L, Poree J, Belgharbi H, Bourquin C, Damseh R, Delafontaine-Martel P, Lesage F, Gasse M, Provost J 2021 *IEEE Trans. Med. Imaging* **40** 1428
- [41] van Sloun R J G, Solomon O, Bruce M, Khaing Z Z, Wijkstra H, Eldar Y C, Misch M 2021 *IEEE Trans. Med. Imaging* **40** 829
- [42] Guasch L, Calderon Agudo O, Tang M X, Nachev P, Warner M 2020 *NPJ Digit. Med.* **3** 28
- [43] Li Y Q, Jiang C, Li Y, Xu F, Xu K L, Ta D A, Le L H 2019 *Acta Phys. Sin.* **68** 184302 (in Chinese) [李云清, 江晨, 李颖, 徐峰, 许凯亮, 他得安, 黎仲勋 2019 物理学报 **68** 184302]
- [44] Jiang C, Li Y, Xu K, Ta D 2021 *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **68** 72

Ultrafast ultrasound localization microscopy method for spinal cord microvasculature imaging^{*}

Yu Jun-Jin¹⁾ Guo Xing-Yi¹⁾ Sui Yi-Hui²⁾ Song Jian-Ping³⁾
Ta De-An¹⁾²⁾ Mei Yong-Feng⁴⁾ Xu Kai-Liang^{1)2)†}

1) (*Center for Biomedical Engineering, School of Information Science and Technology, Fudan University, Shanghai 200438, China*)

2) (*Academy for Engineering and Technology, Fudan University, Shanghai 200438, China*)

3) (*Department of Neurosurgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China*)

4) (*Department of Materials Science, Fudan University, Shanghai 200438, China*)

(Received 6 April 2022; revised manuscript received 14 May 2022)

Abstract

Function of spinal cord is crucial to nerve conduction pathway. Traumatic spinal cord injury often results in a vasculature disruption after primary insult and further leads to abnormal responses of the intact vessels in neighboring tissue during secondary injury. Therefore, the vasculature and blood supply play significant roles in evaluating the spinal cord function. Ultrasound localization microscopy (ULM) overcomes the shortcomings of extensively used angiography, such as computed tomography angiography (CTA) and magnetic resonance angiography (MRA), in terms of limited resolution, radiation and poor-portability, which meets the needs of comprehensive intraoperative examination and prognosis tracking. In this study, an L22-14vX probe with a transmission frequency of 15.625 MHz is utilized, yielding an imaging wavelength of 100 μm . The ULM is conducted based on ultrafast ultrasound technology with multiple tilted plane-wave illuminations. Robust principal component analysis (RPCA) based spatial-temporal clutter filtering method is used for separating the microbubble signals from tissue signals and high frequency noise. Through microbubble localization, trajectory tracking and mapping, subwavelength super-resolution ultrasound imaging is finally achieved. The whole process of microbubble localization and vessel reconstruction are monitored through measuring the time dependent microbubble detections and saturation. Saturation curve corresponds to the time dependent total area covered by microbubble detections on the image. Quantification analysis is carried out for evaluating the imaging results including resolution measurements based on the Fourier ring correlation (FRC) and full-width at half-maximum (FWHM). The *in-vivo* experimental results show that ULM can be used to obtain super-resolution vasculature imaging in rat spinal cord. The velocity distributed from 1 mm/s to 50 mm/s can be detected. Within the same vessel, the velocity of a point is inversely correlated with the distance from the point to the center of the vessel. The velocity in the center of the vessel is larger than that at the wall of the vessel. The larger vessels support higher flow in the center of the vessel. The FWHM results indicate that ultrafast Doppler displays vessels in diameters between 135 μm and 270 μm while ULM displays them in diameters between 28 μm and 35 μm . The FRC-based resolution evaluation shows that the ULM achieves a super resolution of 16 μm , much less than the imaging wavelength of 100 μm . Yet, long acquisition time is required to detect microbubbles in the smallest vessels, leading to long reconstruction of the microvasculature, which is still a problem worth studying. Compromise between saturation and acquisition time needs considering. Generally

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 11974081, 51961145108, 11827808), the Natural Science Foundation of Shanghai, China (Grant No. 19ZR1402700), and the Shanghai Rising Star Program, China (Grant No. 20QC1400200).

[†] Corresponding author. E-mail: xukl@fudan.edu.cn

speaking, microbubbles are more likely to flow in large vessels, leading to relatively short reconstruction time of large vessels. When saturation curve almost converges, the imaging improvement with new vessels is not so significant that the detail sacrifice of some small microvessels can reduce acquisition time (i.e. most of microvasculature can still be gained when the saturation curve does not converge). Besides, the increase of microbubble concentration and advanced track identification and extraction may also accelerate the saturation rate of convergence with acquisition time decreasing. In conclusion, ULM can be used to obtain a super-resolution imaging of spinal cord microvasculature, giving a 10-fold improvement in resolution in comparison with ultrafast Doppler imaging. Relevant results can facilitate the super-resolution ULM imaging of spinal cord which may promote the function diagnosis, treatment intervention, disability prevention, and prognosis recovery of spinal cord injury.

Keywords: ultrasound localization microscopy (ULM), ultrafast ultrasound, super-resolution, spinal cord microvasculature

PACS: 43.60.+d, 43.35.+d, 43.35.Yb, 43.50.+y

DOI: [10.7498/aps.71.20220629](https://doi.org/10.7498/aps.71.20220629)



超分辨率超快超声脊髓微血管成像方法

郝钧瑾 郭星奕 隋怡晖 宋剑平 他得安 梅永丰 许凯亮

Ultrafast ultrasound localization microscopy method for spinal cord microvasculature imaging

Yu Jun-Jin Guo Xing-Yi Sui Yi-Hui Song Jian-Ping Ta De-An Mei Yong-Feng Xu Kai-Liang

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 71, 174302 (2022) DOI: 10.7498/aps.71.20220629

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.71.20220629>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

无造影剂增强的超快超声脊髓微血管成像方法

Non-contrast-enhanced ultrafast ultrasound Doppler imaging of spinal cord micro-vessels

物理学报. 2021, 70(11): 114304 <https://doi.org/10.7498/aps.70.20201878>

受激辐射损耗超分辨显微成像系统研究的新进展

New advances in the research of stimulated emission depletion super-resolution microscopy

物理学报. 2020, 69(10): 108702 <https://doi.org/10.7498/aps.69.20200168>

基于宽带立体超透镜的远场超分辨率成像

Far-field super-resolution imaging based on wideband stereo-metalens

物理学报. 2018, 67(9): 094101 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20172608>

基于分形谐振器的远场超分辨率扫描成像

Far-field super-resolution scanning imaging based on fractal resonator

物理学报. 2019, 68(24): 244102 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20190620>

基于深度神经网络的时空编码磁共振成像超分辨率重建方法

Super-resolved reconstruction method for spatiotemporally encoded magnetic resonance imaging based on deep neural network

物理学报. 2022, 71(5): 058702 <https://doi.org/10.7498/aps.71.20211754>

平场复用多焦点结构光照明超分辨显微成像

Flat-field multiplexed multifocal structured illumination super-resolution microscopy

物理学报. 2022, 71(4): 048704 <https://doi.org/10.7498/aps.71.20211712>