



微波热声和超声双模态显微成像研究*

迟子惠^{1,2)} 聂银强³⁾ 郭翔文³⁾ 杜爽¹⁾ 方秋潮¹⁾ 吴丹^{2,3)} 蒋华北^{4)**}⁽¹⁾ 重庆邮电大学集成电路学院, 重庆 400065; ⁽²⁾ 重庆邮电大学光电信息感测与传输技术重庆市重点实验室博士后科研工作站, 重庆 400065;⁽³⁾ 重庆邮电大学电子科学与工程学院, 重庆 400065;⁽⁴⁾ Department of Medical Engineering, University of South Florida, Tampa 33620, USA)

摘要 目的 本研究提出发展微波热声和超声双模态显微成像技术, 集成两者优势, 进行细微层次生物组织介电特性研究。**方法** 首先讨论短脉宽微波结合高频点聚焦超声换能器提高系统分辨率的方法, 基于此方法构建三维微波热声显微成像系统, 发展成双模态系统。然后进行铜丝成像测试分辨率, 不同浓度盐水成像验证双模态图像间信息互补, 脑和骨骼软骨成像验证技术适用性, 骨质疏松检测验证技术疾病检测能力。利用相应实物或 micro-CT 图进行验证。**结果** 微波热声和超声三维成像分辨率经铜丝实验估算可分别达 $178 \times 178 \times 88 \mu\text{m}^3$ 和 $177 \times 177 \times 42 \mu\text{m}^3$, 双模态显微图结合微波热声介电特性和超声声阻抗特征, 提供功能和结构信息, 完整显示并区分不同浓度盐水管, 识别多种脑组织, 呈现完整软骨、骨骺线和骨骼区, 鉴别骨质疏松和正常骨切片。成像结果均与相应实物或 micro-CT 图吻合良好。**结论** 微波热声超声双模态显微成像有潜力进行细微层次的复杂组织介电特性探测, 有望为脑和骨骼系统的功能评估及疾病发病机制研究提供新型影像工具。

关键词 微波热声成像, 微波热声显微成像, 超声显微成像, 双模态成像

中图分类号 Q6

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0197

CSTR: 32369.14.pibb.20250197

微波热声成像技术 (microwave-induced thermoacoustic imaging, MITAI) 利用脉冲微波照射生物组织, 诱导其产生超声波, 以超声波为信息载体, 通过图像反演, 获得组织的微波能量吸收密度分布, 反映组织间的介电特性差异^[1-3]。由于其功能性参数的成像能力, MITAI 至今已在系统和算法等方面得到诸多发展, 并被用于乳腺癌检测、脑成像和关节炎检测等多种应用研究^[4-19]。

在生物医学成像领域, 探索多模态成像方法已经成为一个重要的发展趋势之一^[20-21]。MITAI 可提供高对比度的组织介电功能信息, 超声成像技术 (ultrasound imaging, UI) 可提供高分辨率的组织解剖结构定位, MITAI/UI 双模态成像技术可以融合这两个成像模式的优点, 提高对病变组织的检测能力^[22-26]。微波热声信号和超声信号的本质都是超声波, MITAI 和 UI 均通过采集超声波进行成像, 使得两种成像技术能共用一套数据采集和处理系统, 降低了两种模式间的图像配准难度和集成成本,

具备天然的融合优势。几个研究小组已经实现 MITAI 和 UI 的双模态融合, 或者 MITAI、UI 和光声成像技术 (photoacoustic imaging, PAI) 的三模态融合^[27-29]。其中, PAI 通过探测脉冲光激发组织产生超声波, 获取组织的光学吸收分布。2010 年, Reinecke 等^[28] 构建了 MITAI、PAI 和 UI 三模态小动物成像平台, 采用凹面阵列超声换能器探测微波热声信号和光声信号, 采用线性阵列超声换能器探测超声信号, 获得一幅由三幅单模态图像叠加形成的共配准融合图像。2012 年, Ke 等^[29] 将 MITAI 和 PAI 整合到一个改进的临床 UI 系统当中, 利用 1 个相控阵线性阵列超声换能器接收 3 个模态的信号, 进一步地集成了系统, 并在离体组织中验证了

* 中国博士后科学基金 (2022MD723722), 重庆市博士后研究项目特别资助项目 (2021XM2026, 2021XM3040), 国家自然科学基金 (62001075) 和重庆市研究生科研创新项目 (CYS240426) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 18782941221, E-mail: hjiang1@usf.edu

收稿日期: 2025-04-30, 接受日期: 2025-09-16

系统性能。2017年, Ding等^[24]发现, 在脉冲微波激励下, 压电超声换能器会基于逆压电效应发射出高度定向的超声波, 由此利用微波发生器代替传统UI系统的超声发射电路, 使得MITAI和UI系统完全集成, 在乳腺癌离体组织中验证了系统的疾病检测潜力。2019年, Tan等^[26]建立了MITAI和多普勒UI双模态成像系统, 结合MITAI提供的营养分子密度和多普勒UI提供的血流速度, 提出营养极性灌注速度参数, 用于评估营养分子的供应, 并在活体兔中验证了肿瘤的营养极性灌注速度超过正常组织。2021年, Wang等^[27]考虑微波热声信号和超声信号的频谱差异, 采用2.0 MHz中心频率的新型空心凹面阵列超声换能器探测微波热声信号, 利用8.5 MHz中心频率的商用线性阵列超声换能器探测超声信号, 将线性阵列插入凹阵列的中空区域以实现两幅不同图像间的精确共配准, 在人手腕和脚背处验证了MITAI和UI双模态系统的成像能力。2021年, Cheng等^[30]研发了用于UI、PAI以及MITAI三模态成像的激发-接收共线探头, 在同一探测位置实现均匀照明和高灵敏度探测, 利用仿体和人手实验验证了系统性能。

当前的MITAI/UI双模态成像技术采用的超声换能器频率低于10 MHz。此频率对应的UI最佳成像分辨率大约在300~400 μm , 为了提升空间分辨率, 中心频率约在20~100 MHz范围内的高频超声换能器被应用于构建超声显微成像系统(ultrasound biomicroscopy, UBM)^[31-38]。传统MITAI系统的成像分辨率通常在亚毫米数量级, 为突破此分辨率限制, 团队前期采用70 ns短脉宽微波结合25 MHz高频超声换能器构建微波热声显微成像系统(thermoacoustic microscopy, TAM), 用于硬皮病检测^[39]。目前上述已报道的MITAI/UI双模态成像技术相关研究, 均指双模态层析成像, 其分辨率通常在亚毫米数量级。本文提出并构建TAM/UBM双模态显微成像系统, 旨在将微波热声和超声双模态成像技术从传统层析成像拓展到显微成像领域, 具体内容包括: 完成对TAM系统涉及的分辨率提升方法的详细讨论, 在此基础上发展微波热声和超声双模态显微成像技术, 以集成TAM和UBM的优势。基于所构建的TAM/UBM双模态系统, 进行铜丝、盐水管、脑组织、和骨骼软骨成像, 以及骨质疏松检测, 对细微结构层次生物组织的介电特性研究奠定基础。

1 方法与材料

本节内容包括5个部分。在1.1节, 简介微波热声成像原理。在1.2节, 总结成像分辨率的影响因素, 讨论为提升系统分辨率所提出的短脉宽微波结合高频点聚焦超声换能器的方法。在1.3节, 描述微波热声和超声双模态显微成像系统。在1.4节, 阐述双模态图像融合方法。1.5节, 介绍本文成像所用的实验样品。

1.1 微波热声波动方程

微波热声信号的产生基于热声效应, 可以分为两个先后过程进行阐述: 组织因吸收微波能量导致温度升高, 组织因温度升高导致热弹性膨胀而产生压力传播。在满足热限制的条件下, 前一过程可以由以下热方程表示^[39-40]:

$$\frac{\partial T(\vec{r}, t)}{\partial t} = \frac{H(\vec{r}, t)}{\rho C} \quad (1)$$

其中, $T(\vec{r}, t)$ 表示在 t 时刻、位置 $\vec{r}$ 处的温度, ρ 表示密度, C 表示比热容, $H(\vec{r}, t)$ 表示热源密度, 即于 t 时刻、位置 $\vec{r}$ 处单位时间单位体积组织的微波能量吸收。

在满足压力限制的条件下, 热声效应的后一过程可以由以下热膨胀方程(2)结合理想流体运动方程(3)描述^[40-41]:

$$\nabla \cdot \vec{u}(\vec{r}, t) = -\frac{p(\vec{r}, t)}{\rho v^2} + \beta T(\vec{r}, t) \quad (2)$$

$$\rho \frac{\partial \vec{u}(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\nabla p(\vec{r}, t) \quad (3)$$

其中, $\vec{u}(\vec{r}, t)$ 表示组织在 t 时刻、位置 $\vec{r}$ 处的位移, $p(\vec{r}, t)$ 表示在 t 时刻、位置 $\vec{r}$ 处的声压, v 表示声速, β 表示热体积膨胀系数。

集合热声效应的先后过程, 即联立公式(1)、(2)和(3)可得微波热声波动的一般形式^[42]:

$$\nabla^2 p(\vec{r}, t) - \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 p(\vec{r}, t)}{\partial t^2} = -\frac{\beta}{C} \frac{\partial H(\vec{r}, t)}{\partial t} \quad (4)$$

公式(4)描述组织的微波能量吸收 $H(\vec{r}, t)$ 和产生声压 $p(\vec{r}, t)$ 之间的关系。在忽略生物组织磁损耗的情况下, 根据坡印廷定理, $H(\vec{r}, t)$ 由公式(5)描述^[43]:

$$H(\vec{r}, t) = \sigma(\vec{r}) |E(\vec{r}, t)|^2 + \pi f \varepsilon''(\vec{r}) |E(\vec{r}, t)|^2 \quad (5)$$

其中, $\sigma(\vec{r})$ 表示组织电导率的空间分布, $E(\vec{r}, t)$ 表示电场时空分布, f 表示微波频率, $\varepsilon''(\vec{r})$ 表示组织介电常数虚部的空间分布。通过公式(4)和(5)可知, 在电场幅值均匀分布的常规假设下, 通

过声信号重建出的组织微波能量吸收密度分布主要依赖于组织的介电特性分布,即微波热声图像的对比度主要来源于生物组织的介电特性差异。

1.2 微波热声成像分辨率的影响因素

根据微波热声成像过程,其分辨率由微波激励脉冲和超声换能器共同决定^[44]。对于微波激励过程,当只考虑 z 方向的一维问题时,公式(4)可以改写为^[45]:

$$\frac{\partial^2 \phi(z, t)}{\partial t^2} - v^2 \Delta \phi(z, t) = \left(\frac{\beta v^2}{\rho C} \right) \text{div} S \quad (6)$$

其中,速度场的标量势 $\phi(z, t)$ 满足 $p(\vec{r}, t) = -\rho \frac{\partial \phi(\vec{r}, t)}{\partial t}$, $\text{div} S$ 表示入射微波的坡印廷矢量散度。一维坡印廷矢量可表示为 $S = I_0 e^{-\mu_a z} f(t) n_z$,式中 I_0 表示微波激励强度, μ_a 表示吸收系数, z 表示深度, n_z 表示 z 轴方向向量, $f(t)$ 表示微波激励时间函数。则公式(6)可进一步表达成^[46]:

$$\frac{\partial^2 \phi(z, t)}{\partial t^2} - v^2 \frac{\partial^2 \phi(z, t)}{\partial z^2} = - \left(\frac{\mu_a \beta v^2}{\rho C} \right) I_0 e^{-\mu_a z} f(t) \quad (7)$$

对公式左右两边同时进行傅里叶变换求解,则在微波脉冲宽度为 τ 的高斯波激励下的热声信号可表达为^[47]:

$$p(\tau, t) = - \frac{I_0 \mu_a \beta v^2}{2C} \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-\mu_a |t|} \text{sgn}(\tau - t) dt \quad (8)$$

由公式(8)可知,热声压的时间分布与微波脉冲宽度有关,微波脉冲宽度越窄,时域热声信号幅值越小,时域热声信号越窄,高频信息越丰富,对应成像分辨率越高。通常采用公式(9)进行分辨率估算^[47]:

$$d = \tau v \quad (9)$$

因此,若要得到更高的成像分辨率,则需采用更短脉宽的微波激励。但脉宽越短,激励起的热声信号幅值越小,因此激励脉宽的选择需要综合考虑其对热声信号幅值和分辨率两方面的影响。至今,微波热声层析成像仪通常使用300~1 000 ns的窄脉宽微波,能够在成像层面上实现约0.45~1 mm的分辨率^[48]。

被激励的高频热声信号需要被有效探测。热声信号的本质是超声波,主要依赖于超声换能器进行探测。目前使用的超声换能器通常分为3种:非聚焦超声换能器、线聚焦超声换能器和点聚焦超声换能器。在传统的MITAI系统中,通常使用非聚焦超声换能器或线聚焦超声换能器进行环形扫描探测

信号,决定了层析分辨率约为0.5~3 mm^[49-51]。

根据互易定理,非聚焦超声换能器、线聚焦超声换能器和点聚焦超声换能器的发射声场等效于接收灵敏度场,场分布如图1所示,通过COMSOL仿真软件仿真获得。如图1(a1~a4)所示,非聚焦超声换能器在XY平面没有焦区与焦斑,有着最大的探测范围,灵敏度相对最低。如图1(b1~b4)所示,线聚焦超声换能器在XY平面的Y方向聚焦,探测范围和灵敏度均介于非聚焦超声换能器和点聚焦超声换能器之间。如图1(c1~c4)所示,点聚焦超声换能器在XY平面的X方向和Y方向均聚焦,聚焦程度最高,探测范围最小,灵敏度最高。聚焦程度越高,成像分辨率越高。高频信号更易衰减,越高的探测灵敏度更有利于高频信号的探测,从而也意味着越高的成像分辨率。因此,结合微波热声显微成像的小范围探测,本文采用点聚焦超声换能器获取热声信号。超声换能器焦斑直径通常由公式(10)^[52-53]给出:

$$BD = 1.02 \frac{Fv}{fD} \quad (10)$$

BD 表示焦斑直径, F 表示焦距, v 表示声速, f 表示频率, D 表示探头的直径。一般来说,频率越高,焦斑直径越小,成像分辨率越高。

总的来说,在微波热声层析成像模式下,成像层面上的分辨率对应轴向分辨率,即沿超声波传播声轴方向的分辨能力。而层析分辨率则对应横向分辨率,即垂直于声轴方向的分辨能力。在微波热声显微成像模式下,聚焦超声换能器在垂直于声轴Z方向的平面内沿X轴和Y轴等间距的蛇形扫描探测。Z轴方向分辨率对应轴向分辨率,理论值由公式(9)估算。X轴和Y轴方向分辨率相同,对应横向分辨率即焦斑大小,理论值由公式(10)估算。对于两种成像模式,分辨率性能都共同取决于微波脉冲宽度和超声换能器特性。综合上述微波激励脉冲和超声换能器两方面对分辨率的影响,且实验室现有微波发生器稳定工作时的最窄脉宽约为70 ns。70 ns微波可激励最高约14.3 MHz频率的热声信号,对应约100 μm 的理论分辨率。为加大高频信号的比重,尽量选择在能探测15 MHz频率信号的同时,中心频率尽可能更高的点聚焦超声换能器进行热声信号探测。最后,选择的超声换能器(V324 Olympus)的中心频率为25 MHz, -6 dB带宽为67.6%。

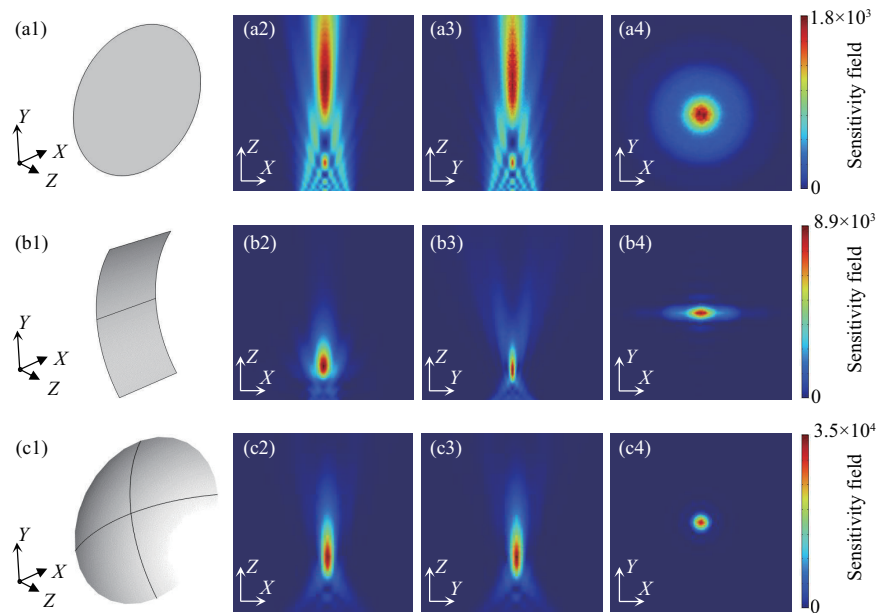


Fig. 1 The distribution of receiving sensitivity fields for different types of ultrasound transducers

(a1) Planar crystal surface of a non-focused ultrasound transducer; (a2–a4) are the receiving sensitivity field distributions of the non-focused ultrasound transducer in the XZ , YZ , and XY plane, respectively; (b1) cylindrical crystal surface of a line focused ultrasound transducer; (b2–b4) the receiving sensitivity field distributions of the line focused ultrasound transducer in the XZ , YZ , and XY plane, respectively; (c1) spherical crystal surface of a point focused ultrasound transducer; (c2–c4) the sensitivity field distributions of the point focused ultrasound transducer in the XZ , YZ , and XY plane, respectively.

1.3 微波热声和双模态显微成像系统

TAM 和 UBM 双模态显微成像系统示意图如图 2 所示。根据成像原理，TAM 系统需要完成计算机、微波发生器、天线、被测组织、超声换能器、信号放大器、采集卡和计算机之间的依次通讯。微

波发生器产生短脉宽微波（中心频率 3.0 GHz，脉冲宽度 70 ns，重复频率 50 Hz，峰值功率 60 kW），通过同轴线后经过偶极子天线辐射至玻璃槽中的样品，天线口径处微波功率密度约 5.83 mW/cm²，低于电气与电子工程师学会（Institute of Electrical

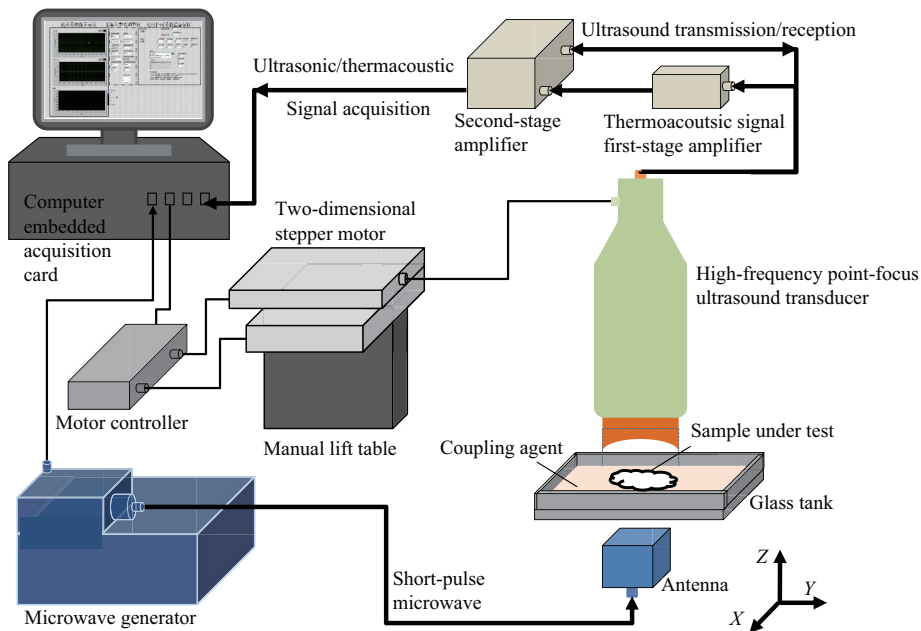


Fig. 2 Schematic diagram of dual-modality microscopy imaging system

and Electronics Engineers, IEEE) 安全标准规定阈值 (在 3.0 GHz 处为 20 mW/cm^2)^[54]。样品吸收微波能量产生超声波即热声信号, 被高频点聚焦超声换能器 (焦距 15.2 mm, 聚焦长度 2.6 mm, 中心频率 25 MHz, -6 dB 带宽 67.6%, V324 Olympus) 所探测。在进行信号探测前, 根据 LabVIEW 自编示波器显示的波形幅度, 通过升降台 (MJ-120, 卓立汉光) 调整超声换能器距离样品沿 Z 轴方向的高度, 直至信号幅度达到最大值, 从而可使样品处于超声换能器的聚焦范围。使用电机控制箱 (SC300, 卓立汉光) 控制的两台一维步进电机 (TSA30-C, 卓立汉光) 带动超声换能器在 XY 平面进行等间距的蛇形扫描探测。被探测的热声信号经过一级低频放大器 (AU-1291, MITEQ) 放大, 经过脉冲发射接收器 (DPR300, JSR) 的放大模块被二次放大, 然后被数字采集卡 (PCI5122, NI) 所采集, 进行模数转换并传送给计算机进行存储和 TAM 图像重建。信号采集结束后, 超声换能器回到初始的探测位置。上述整个数据采集过程由 LabVIEW 自编程序控制。

当前高频微超声成像既可以依赖于机械带动的单元超声换能器实现, 还可以通过阵列超声换能器实现^[55-56]。参考前者, 在上述 TAM 系统基础上, 调整参数并更换信号线和触发线的接线位置, 利用超声脉冲发射接收器, 配合两台一维步进电机带动高频超声换能器, 实现 UBM 信号探测。与 TAM 不同, UBM 成像时的触发信号不再由微波发生器同步输出, 而是由超声脉冲发射接收器产生。超声换能器直连信号线不再经过一级放大器, 直接接入脉冲发射接收器的超声收发接口, 进行超声波发射和超声回波的接收。

1.4 图像重建与图像融合

对于 TAM 或 UBM 的三维图像重建, 需要先在 Matlab 中获得由多条扫描线 (沿 Z 轴) 组成的标准 B-SCAN 图像 (平行 XZ 平面), 然后将多幅 B-SCAN 图像导入软件 Amira 中实现。本文中呈现的二维图像 (平行 XY 平面或 YZ 平面) 则是在 Matlab 中沿 Z 轴或 X 轴方向利用最大值投影算法 (maximum intensity projection, MIP) 获得^[57]。

本研究中的双模态图像融合方式有两种, 第一种为 TAM 彩色图像和 UBM 灰度或彩色图像间的直接叠加 (图 4~6)。另一种为提取超声信号携带的组织结构信息赋予到微波热声信号当中重建出双模态图像 (图 7), 具体步骤包括: 通过信号突变判

断超声信号的起始位置从而定位组织边界, 通过超声信号和热声信号间的时域关系来定位热声信号的起始位置从而将组织的边界信息引入热声图像重建过程, 形成携带超声组织边界结构和热声介电功能信息的双模态图像。

1.5 实验样品

首先对直径为 $90 \mu\text{m}$ 的铜丝进行双模态成像实验来测试系统分辨率。然后进行不同浓度盐水管的对比度成像实验, 显示超声结构性成像和热声介电功能性成像间的优势互补。最后进行生物组织成像实验, 包括脑切片成像实验、骨骼软骨成像实验以及骨质疏松检测实验。脑切片取自 SD 雄性成年大鼠, 切片厚度约 2 mm。骨骼软骨切片取自猪膝关节, 切片厚度约 2 mm。骨质疏松检测实验中, 大鼠骨质疏松骨骼与正常对照骨骼均由格林泰科生物科技有限公司提供, 3 片骨质疏松 (osteoporosis, OP) 骨骼切片分别编号为 OP1、OP1、OP3, 3 片正常 (normal, NM) 骨骼切片分别编号为 NM1、NM1、NM3, 骨骼切片厚度均约 2 mm。TAM/UBM 成像后的骨骼软骨切片以及骨骼切片均被专业技术人员进行 micro-CT 扫描, 以验证双模态检测结果。本文所涉及的实验研究均已获得重庆邮电大学伦理委员会批准 (批准号: CQUPT202204)。

2 结 果

本节分为 5 个小节, 对应于 1.5 节介绍的实验样品, 依次阐述铜丝、盐水管、脑切片、骨骼软骨切片、骨质疏松及正常骨切片的成像结果。

2.1 铜丝成像

三根平行的直径为 $90 \mu\text{m}$ 的铜丝用于测试系统分辨率 (图 3a), 蓝色箭头所指为 1 号铜丝, 黄色箭头所指为 2 号铜丝, 红色箭头所指为 3 号铜丝。图 3b 为重建的三维 TAM 图像, 图 3c 为未考虑超声波发射接收路径和实际距离间双倍关系的三维 UBM 图像, 图 3d 为考虑此关系并进行修正后的三维 UBM 图像。热声图所示 3 根铜丝的相对位置 (图 3b) 与超声图所示 3 根铜丝的相对位置 (图 3d) 相同, 均与实物相符。

图 3e 为铜丝 2 和 3 沿 Z 轴方向的二维投影 TAM 图像。图 3f 为沿图 3e 中 I 号方向线的热声信号剖面图, 其中, A1 和 B1 位于最大幅值的一半, A2 和 B2 位于最大幅值的 $1/4$ 处。根据文献中的分辨率计算方法^[58], 将点 A1 到点 A2 的距离与点 B1 到点 B2 的距离相加可得到 X 轴分辨率为 $178 \mu\text{m}$ 。由于等

间距的蛇形扫描模式, TAM沿Y轴的分辨率与沿X轴的分辨率相同, 为 $178\text{ }\mu\text{m}$ 。图3g为铜丝1和3沿X轴方向的二维投影TAM图像。图3h为沿图3g中

II号方向线的热声信号剖线图, C1和D1位于最大幅值的一半处, C2和D2位于最大幅值的1/4处, 可计算得到Z轴分辨率为 $88\text{ }\mu\text{m}$ 。

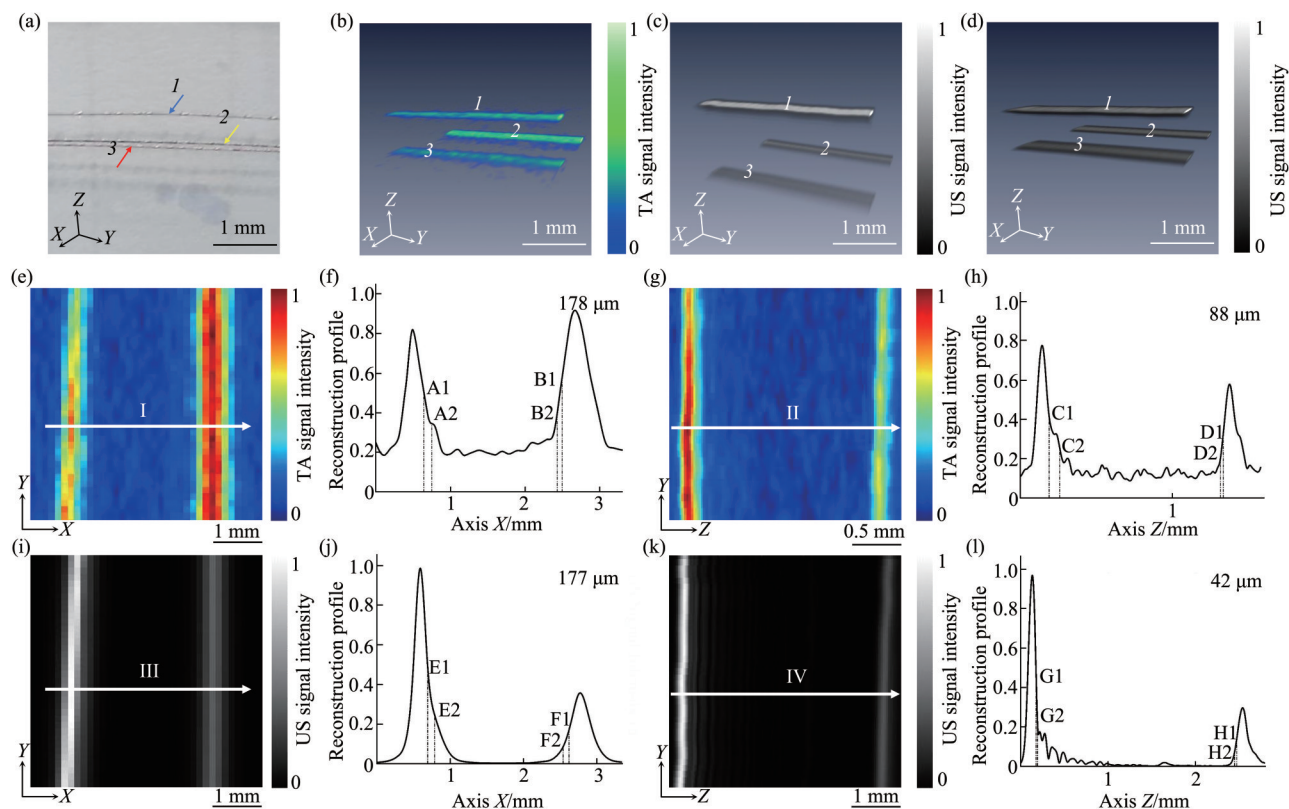


Fig. 3 System resolution test

(a) Photograph of three parallel copper wires with a diameter of $90\text{ }\mu\text{m}$; (b) 3D TAM image; (c) 3D UBM image without considering the double relationship between ultrasound transmission/ reception paths and actual distances; (d) 3D UBM image with double relationship considered and corrected; (e) 2D projection TAM image of copper wires 2 and 3 along the Z-axis direction; (f) profile of the thermoacoustic signal along line I in (e) is used to test the TAM X-axis resolution; (g) 2D projection TAM image of copper wires 1 and 3 along the X-axis direction; (h) profile of the thermoacoustic signal along the line II in (g) is used to test the TAM Z-axis resolution; (i) 2D projection UBM image of copper wires 2 and 3 along the Z-axis direction; (j) profile of the ultrasonic signal along the line III in (e) is used to test the UBM X-axis resolution; (k) 2D projection UBM image of copper wires 1 and 3 along the X-axis direction; (l) profile of the ultrasonic signal along the line IV in (k) is used to test the UBM Z-axis resolution. TAM: thermoacoustic microscopy. UBM: ultrasound biomicroscopy. TA: thermoacoustic. US: ultrasound.

图3i为铜丝2和3沿Z轴方向的二维投影UBM图像。图3j为沿图3i中III号方向线的热声信号剖线图, E1和F1位于最大幅值的一半处, E2和F2位于最大幅值的1/4处, 计算得到X轴分辨率为 $177\text{ }\mu\text{m}$ 。由于等间距的蛇形扫描模式, UBM沿Y轴的分辨率与沿X轴的分辨率相同, 为 $177\text{ }\mu\text{m}$ 。图3k为铜丝1和3沿X轴方向的二维投影TAM图像。图3l为沿图3k中IV号方向线的热声信号剖线图, G1和H1位于最大幅值的一半处, G2和H2位于最大幅值的1/4处, 可得到Z轴分辨率为 $42\text{ }\mu\text{m}$ 。

2.2 盐水管成像

图4a中标号1、2、3的三根塑料管内分别充满耦合剂食用油、3%浓度盐水和6%浓度盐水。图4b为对应的三维TAM图像, 标号1的充满耦合剂食用油的塑料管不能被TAM所检测, 标号3塑料管内的盐水浓度最大, 热声信号强度最大, 显示亮度最强。图4c为对应三维UBM图像, 可鉴别食用油管和盐水管, 但无法区分3%和6%的盐水管。图4d为对应三维双模态图像, 能够结合TAM和UBM的优势, 识别并区分3根含有不同液体的聚

丙烯塑料管。相应的TAM二维MIP投影图(图4e)和热声信号剖线图(图4f),更直接地显示了3%和6%盐水管间将近2倍的热声信号强度差异。相应的UBM二维MIP投影图(图4g)和超声信号剖

线图(图4h),更直接地显示了食用油的超声信号强度更强,而3%和6%的盐水管间超声信号强度几乎没有差异。

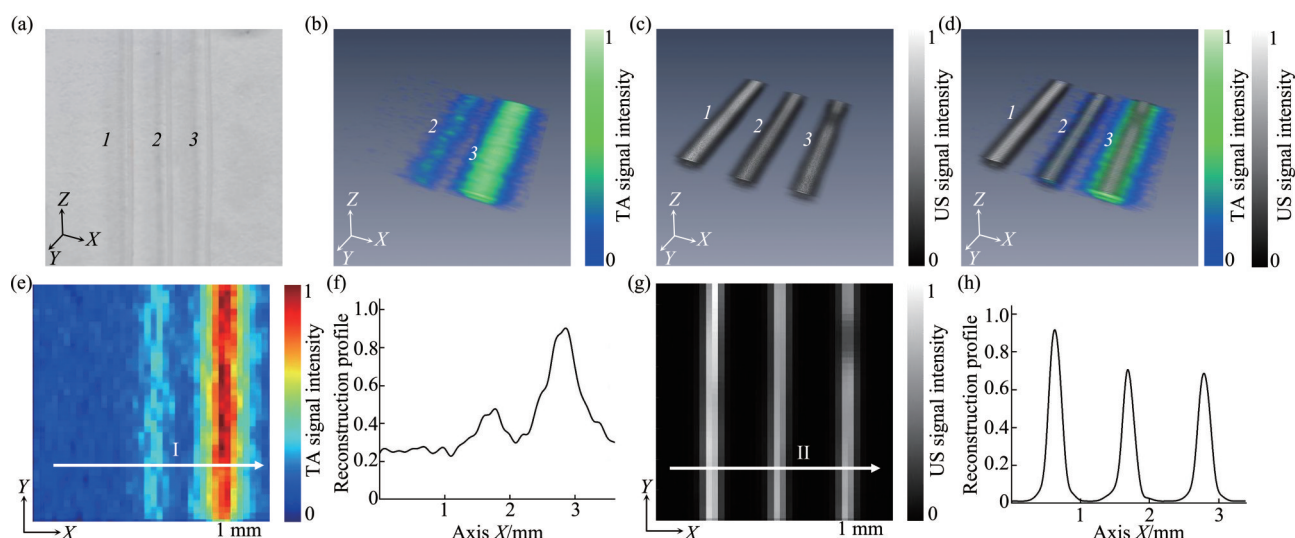


Fig. 4 Contrast imaging test

(a) Photograph of three plastic tubes with an inner diameters of 100 μm and an outer diameters of 200 μm , filled with coupling agent (edible oil), 3% saline solution, and 6% saline solution, respectively; (b) 3D TAM image; (c) 3D UBM image; (d) 3D TAM/UBM dual-modal image; (e) 2D projection TAM image; (f) profile of the thermoacoustic signal along the line I in (e) is used to directly display the TAM contrast; (g) 2D projection UBM image; (h) profile of the ultrasonic signal along the line II in (g) is used to directly display the UBM contrast. TAM: thermoacoustic microscopy. UBM: ultrasound biomicroscopy. TA: thermoacoustic. US: ultrasound.

2.3 脑切片成像

图5(a1~c1)为3片脑切片实物图。图5(a2~c2)为对应的UBM图,能够呈现丰富的脑组织结构细节信息。图5(a3~c3)为对应的TAM图,能够突出显示脑灰质组织,与脑灰质相对于脑白质具备更高组织介电特性的理论相吻合。图5(a4~c4)所示,双模态图像融合了UBM的组织结构信息和TAM微波介电功能吸收分布信息,更易识别多种脑组织。基于大鼠脑结构解剖图谱以及组织染色图^[59-64],双模态图中可呈现的脑组织包括:1号粉红箭头所指的皮层,2号金色箭头所指的海马,3号蓝色箭头所指的上丘脑,4号绿色箭头所指的胼胝体,5号紫色箭头所指的扣带回皮质,以及6号白色箭头所指的纹状体。

2.4 骨骼软骨成像

图6a, b分别为骨骼软骨切片的实物图和micro-CT图。图6c为相应的UBM图像,黄色箭头

所指的骨骼区与实物以及micro-CT图像中的骨骼区匹配良好。TAM图像(图6d)中,粉色箭头所指的软骨和白色箭头所指的骨骺线,均与实物图中的软骨和骨骺线区匹配良好。图6e, f分别为TAM/UBM双模态图及其俯视图,能够结合TAM和UBM的优势,识别并鉴别软骨区、骨骺线以及骨骼区。

2.5 骨质疏松检测

与图7(a1~c1)所示大鼠正常对照组骨切片NM1、NM2、NM3的实物图相比,图7(d1~f1)所示骨质疏松组骨切片OP1、OP2、OP3实物图整体趋于均匀且泛黄。与图7(a2~c2)所示正常组骨切片的micro-CT图像相比,图7(d2, e2)所示骨质疏松组骨切片micro-CT图像显示更大的骨骼内空隙。这一差异在正常组UBM图7(a3~c3)和骨质疏松组UBM图7(d3~f3)中更加明显。与图7(a4~c4)所示正常组TAM图相比,图7

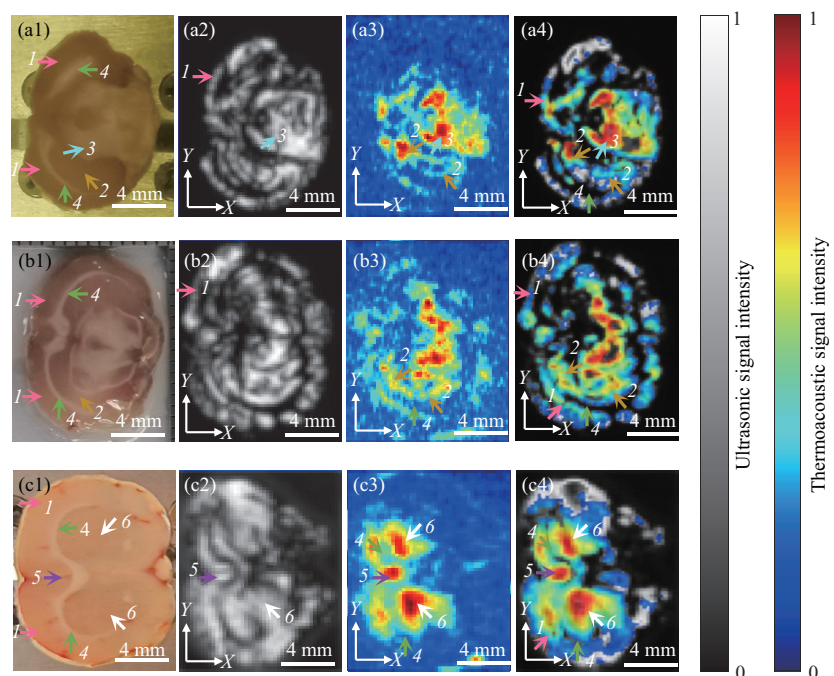


Fig. 5 Photograph and imaging results of brain slices
(a1~c1) photograph of brain slices; (a2~c2) UBM images; (a3~c3) TAM images; (a4~c4) TAM/UBM dual-modal images. TAM: thermoacoustic microscopy. UBM: ultrasound biomicroscopy. 1: cortex; 2: hippocampus; 3: superior colliculus; 4: corpus callosum; 5: cingulate cortex; 6: striatum.

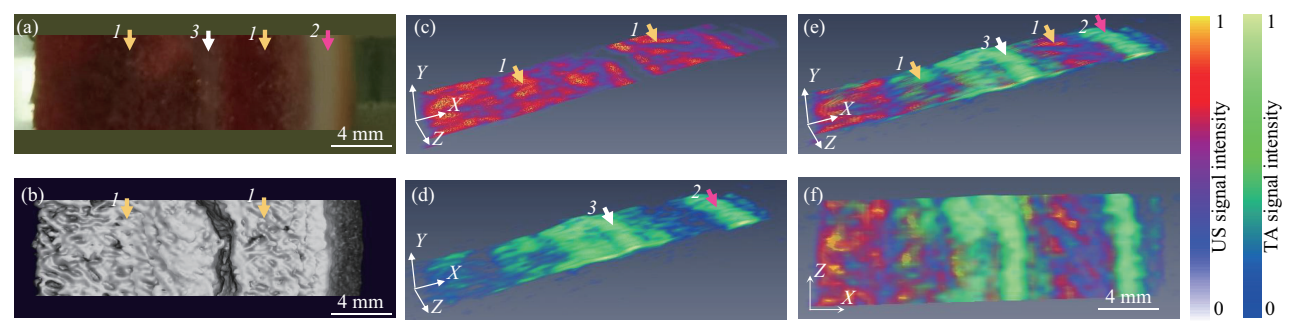


Fig. 6 Photograph and imaging results of skeletal cartilage slice
(a) Photograph of slice; (b) micro-CT image; (c) UBM image; (d) TAM image; (e) TAM/UBM dual-modal image; (f) top view of TAM/UBM dual-modal image. TAM: thermoacoustic microscopy. UBM: ultrasound biomicroscopy. TA:thermoacoustic. US: ultrasound. 1: skeletal zone; 2: cartilage zone; 3: epiphyseal line.

(d4~f4) 所示骨质疏松组 TAM图显示的亮度偏暗, 热声信号强度偏低, 骨骼内空隙偏大。双模态图 7 (a5~f5) 及其俯视图 7 (a6~f6), 结合了UBM图 7 (a3~f3) 的外轮廓信息以及TAM图 7 (a4~f4) 的热声信号亮度及样品厚度信息。与正常组双模态

图 7 (a5~c5) 和图 7 (a6~c6) 相比, 骨质疏松组双模态图 7 (d5~f5) 和图 7 (d6~f6) 亮度更暗, 热声信号强度更低, 骨骼空隙偏大。
图 8 为正常组与骨质疏松组骨切片的 TAM 以及 TAM/UBM 双模态数据统计结果, 分别对应于

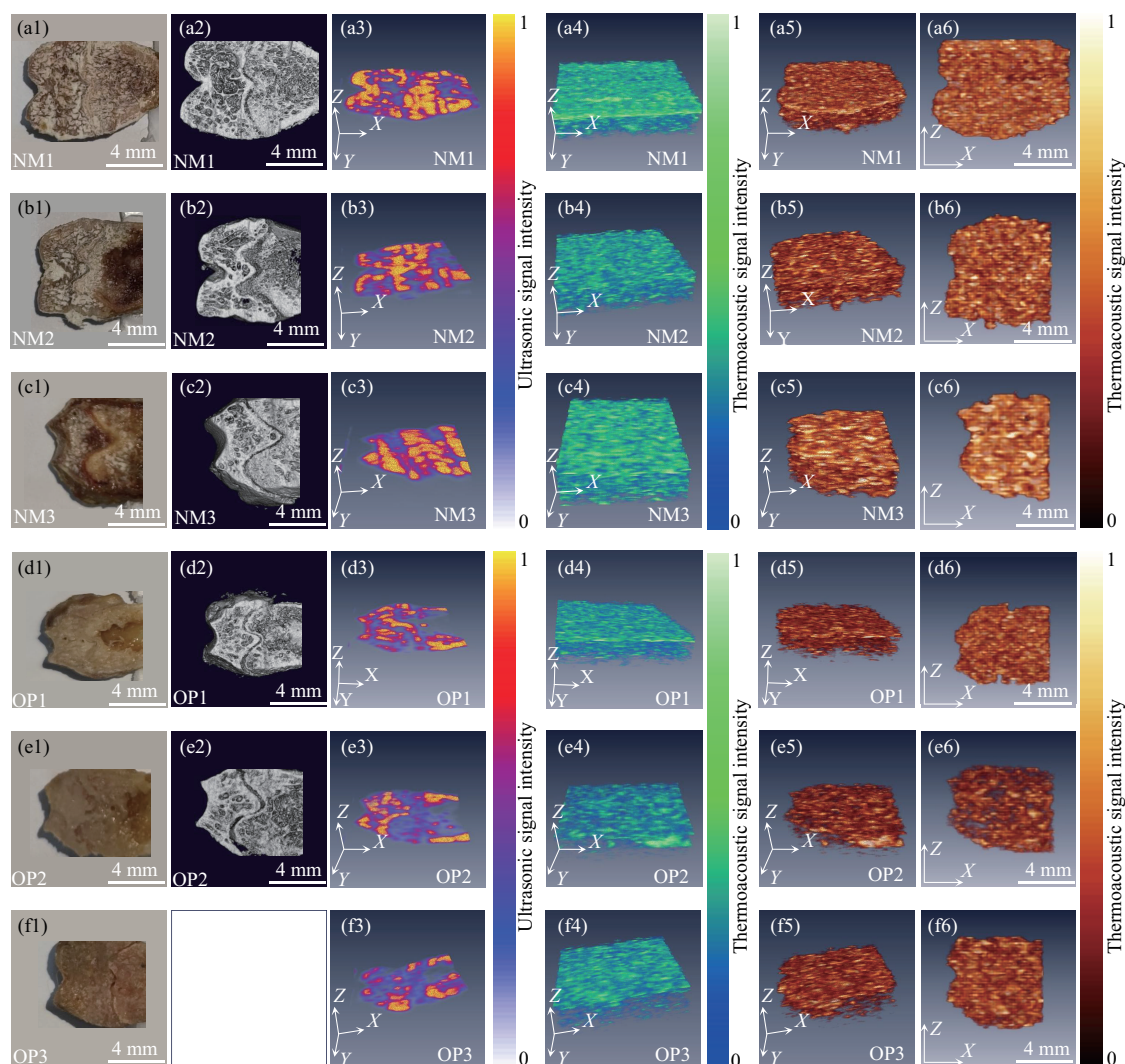


Fig. 7 Imaging results of bone sections from norm control group and osteoporosis group in rats

(a1), (b1), and (c1) are the photograph of three normal slices NM1, NM2, and NM3, respectively; (a2), (b2), and (c2) are the corresponding micro-CT images; (a3), (b3), and (c3) are the corresponding UBM images; (a4), (b4), and (c4) are the corresponding TAM images; (a5), (b5), and (c5) are the TAM images that combine the prior information of the bone outer contour in the ultrasound signal; (a6), (b6), and (c6) are the top view corresponding to (a5), (b5), and (c5). (d1), (e1), (f1) are the photograph of three osteoporosis slices OP1, OP2, and OP3, respectively; (d2) and (e2) are the corresponding micro-CT images; (d3), (e3), and (f3) are the corresponding UBM images; (d4), (e4), and (f4) are the corresponding TAM images; (d5), (e5), and (f5) are the TAM images that combine the prior information of the bone outer contour in the ultrasound signal; (d6), (e6), and (f6) are the top view corresponding to (d5), (e5), and (f5). (f2) The micro-CT image for the OP3 osteoporosis bone slice is unavailable because the specimen was lost prior to scanning. TAM: thermoacoustic microscopy. UBM: ultrasound biomicroscopy.

图7 (a4~f4) 和图7 (a5~f5) 中的像素均值统计。结果表明, TAM单模态成像可以鉴别正常组和骨质疏松组骨切片, 而结合UBM中骨骼外轮廓先验

信息的TAM成像具有更强的鉴别能力, 组间差异具有更显著的统计学意义。

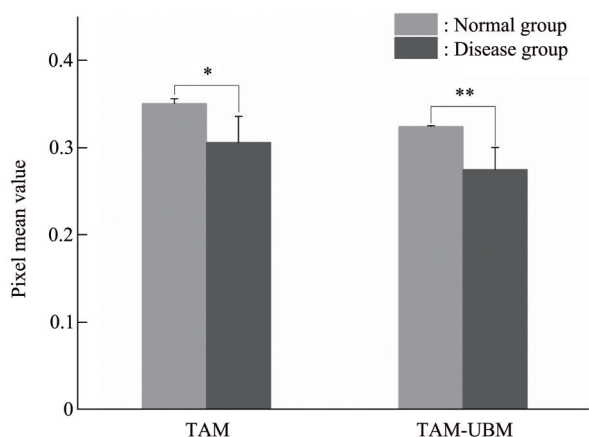


Fig. 8 Statistical analysis of TAM and TAM/UBM dual-modal data of bone slices from normal control group and osteoporosis group in rats

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. TAM: thermoacoustic microscopy. UBM: ultrasound biomicroscopy.

3 讨 论

对于本研究自行构建的 TAM/UBM 双模态显微成像系统 (图 3), 经铜丝成像实验测试, TAM 可实现 $178 \times 178 \times 88 \mu\text{m}^3$ 的三维成像, UBM 可以实现 $177 \times 177 \times 42 \mu\text{m}^3$ 的三维成像。根据公式 (10), 所使用高频点聚焦超声换能器在 XY 平面的理论焦斑直径约为 $150 \mu\text{m}$ 。实验过程中, 在聚焦长度范围内移动换能器, 被测样品所在层面处的焦斑通常会偏大, 且考虑超声波的衰减是分辨率恶化的主要因素。因此, 考虑实际情况, TAM 的 X/Y 轴分辨率为 $178 \mu\text{m}$, UBM 的 X/Y 轴分辨率为 $177 \mu\text{m}$, 与理论计算值之间匹配良好。根据公式 (9), 从微波激励的角度, 估算 TAM 的 Z 轴理论分辨率约为 $100 \mu\text{m}$, 从超声探测的角度, 估算的 Z 轴理论极限分辨率为半波长 $30.8 \mu\text{m}$ 。经测试, TAM 的 Z 轴分辨率为 $88 \mu\text{m}$, UBM 的 Z 轴分辨率为 $42 \mu\text{m}$, 考虑测量的误差与超声波的衰减, 测试值与理论计算值之间大致吻合。目前已有多个研究团队开展了微波热声/超声双模态层析成像研究, 其热声分辨率通常在亚毫米数量级, 成像层面分辨率约 $0.45 \sim 1 \text{ mm}$, 层析分辨率约 $0.5 \sim 3 \text{ mm}$ [23-24, 27, 29-30, 48-51]。本团队前期提出并构建了 TAM 系统, 本研究在此基础上进一步发展成 TAM/UBM 双模态系统, 实现了更高分辨率组织结构和功能信息的同步获取。本研究 TAM 分辨率与系统前期系统测定的 $135 \times 135 \times 68 \mu\text{m}^3$ 分辨

率相比有一定性能下降 [39], 主要原因是长期使用过程中的固定支架偏移, 需要后续定期校准。此外, 微波源脉冲宽度设置为 70 ns , 但在实际使用过程中存在几纳秒波动, 影响分辨率的浮动。此外, 第 3 根铜丝的热声信号强度较第 1 根和第 2 根减弱。在微波成像过程中, 铜丝的电磁响应相当于天线 [65-66]。辐射的微波场驱动金属铜丝的表面电荷产生感应电流, 因此金属铜丝吸收电场能量并产生温升。虽然铜丝本身的热胀冷缩效应很弱, 但它可以周期性地加热周围介质, 使周围介质的压力呈周期性变化, 然后产生球面声波 [65-66]。对 3 号铜丝处信号强度减弱的现象, 可以从两个方面解释: 首先, 微波作用于铜丝所产生的电磁效应与铜丝在偶极子天线辐射场中的位置有关; 其次, 1 号和 2 号铜丝作为次辐射源, 所产生的次电磁场会在 3 号铜丝位置和原始微波场叠加, 可能导致叠加场强衰减。即使如此, 拥有细微尺寸和较强微波热声响应的铜丝仍然常被用于微波热声成像分辨率测试 [6, 65]。

TAM 无法检测食用油管, 以 2 倍的信号强度差异鉴别不同浓度的盐水管 (图 4), 前者是因为耦合剂为食用油, 与背景之间无介电特性差异, 后者是因为盐水的介电特性高于食用油, 且两根管中 2 倍的盐水浓度差异导致了 2 倍的介电特性差异, 该 TAM 对比度成像实验结果符合理论分析。UBM 可以显示 3 根管子, 区分显示食用油管, 但无法对盐水管进行鉴别, 是因为聚丙烯塑料管与食用油存在声阻抗差异, 不同浓度盐水间声阻抗几乎无差别, 并介于聚丙烯塑料管和食用油的声阻抗参数之间 [67-69], 该 UBM 的对比度成像实验结果符合理论分析。具体地, 食用油在室温下的密度为 919 kg/m^3 , 声速为 1469 m/s , 声阻抗为密度和声速的乘积, 则可计算得到食用油在室温下的声阻抗为 1.35 Mrayl [67]。聚乙烯高分子材料的 $2.06 \sim 2.5 \text{ Mrayl}$, $2\% \sim 6\%$ 浓度盐水的声阻抗在 $1.5 \sim 1.6 \text{ Mrayl}$ 之间 [68-69]。双模态图像能够结合 TAM 的微波介电功能信息和 UBM 的结构信息, 从而完整显示并区分含耦合剂的塑料和不同浓度盐水管。上述分辨率测试和对比度成像仿体实验表明, 该系统有潜力进行细微层次的复杂生物组织探测。

对于复杂生物组织, 本研究进行了脑切片、骨骼软骨和骨质疏松检测的双模态成像实验。UBM 提供了丰富的脑组织结构信息 (图 5), 结合 TAM 图中的脑灰质与脑白质间的热声信号强度差异, 便

于在双模态图像中鉴别不同的脑组织。考虑到即使是不同大鼠，其脑区结构也具有相对稳定的解剖特征，因此引用了多篇权威大鼠脑区解剖图谱及染色图作为参考依据，以提供详细的脑区结构划分标准，结合实物图所示结构以及理论脑白质和灰质间介电特性差异，共同支持对双模成像结果的解读。后续的研究中将同步采集组织学样本进行苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色以获得更直接的图像验证证据。TAM 和 UBM 图像间存在差异，首先源于两者的对比度机制不同，TAM 依赖于组织间的微波吸收能力差异，取决于组织的电导率和介电常数，反映组织的电学特性，UBM 依赖于组织间的声阻抗差异，取决于组织的密度和速度，反映组织的力学特征。其次，水分是影响生物组织电学特性的关键因素，脑切片取材过程中的轻微失水会对 TAM 成像造成一定影响，而相比之下，组织的力学特性对同等程度的失水不敏感，因此对 UBM 图像影响甚微。这可能解释了为何 TAM 成像中，对如标记 1 所示的最外侧皮层区相对于其他脑组织结构成像效果不佳，因为皮层区处于最外侧，与空气的接触面积最大，最易发生失水。优化取材过程减少样本暴露时间，或开发在体成像技术以完全规避离体样本的脱水问题，将有望解决这一局限性。双模态图像能够结合 TAM 和 UBM 的优势，鉴别并成像完整的软骨和骨骺线区以及骨骼区 (图 6)，其中 TAM 图像所显示的骨骺线与软骨相比骨骼具有更大的热声信号强度，这是因为骨骺线又称骺软骨，软骨相比骨骼具有更高的介电特性。实验设置涉及了软组织和硬组织成像，一定程度验证了 TAM/UBM 双模态成像技术的适用性，为将来深入研究脑组织病灶和骨骼系统疾病奠定基础。

进一步地，本研究进行了骨质疏松切片检测。要说明的是，在完成 TAM/UBM 之后，OP3 骨质疏松骨切片样品遗失 (图 7f2)，导致未能完成相应 micro-CT 成像。考虑结合实物图、micro-CT 图和超声图共同作验证，且其他样本均完成全部成像，对骨质疏松检测实验中整体稳定性和量化分析影响不大 (图 7, 8)。其实物图相对正常骨切片实物图显示整体趋于均匀且泛黄，其超声图相对正常骨切片超声图显露出更大的骨骼空隙，此外，其热声图相对正常骨切片热声图显示更低的信号强度。上述表现均与其他的骨质疏松骨切片一致。后续研究中将进一步加强样本管理以避免类似情况发生。TAM 图像中，骨质疏松组与正常对照组骨切片的

微波能量吸收差异，即热声信号强度差异，取决于两组之间骨切片的介电特性差异。组织介电性能与骨密度和骨质量等因素相关，骨质疏松过程中骨密度降低，骨矿物质含量降低，丢失的骨骼被具有低介电特性的脂肪和具有高介电特性的骨髓的混合物所替代^[62, 70-73]。TAM 实验结果显示骨质疏松相对于正常骨的介电特性降低，考虑上述病理过程综合作用的结果。统计分析中，TAM 单模态和 TAM/UBM 双模态检测在正常组均表现出较小的误差范围，表明两者均具备一定的检测稳定性。且与 TAM 单模态检测相比，TAM/UBM 双模态检测呈现的误差范围更小，检测稳定性更高。相比于正常组，TAM 单模态检测和 TAM/UBM 双模态检测的误差范围均有所增大，这可能与不同个体间的病理过程有关。具体而言，骨吸收与骨形成失衡导致骨重建负平衡形成骨质疏松的程度不同，替代所丢失骨组织的脂肪和骨髓混合物比例不同，导致介电特性下降程度不同。尽管如此，两种检测模式均显示出正常组与病变组间的显著差异，且 TAM/UBM 双模态的组间差异更为显著。因此，结合 UBM 提供的先验骨骼边界信息，微波热声和超声显微双模态成像具备更稳定且更强的骨质疏松检测能力，有望从细微层次介电特性的角度为骨骼系统的功能评估和疾病诊断以及发病机制研究提供新思路。

4 结 论

本研究提出并发展了微波热声和超声双模态显微成像技术，构建双模态显微成像系统，进行了基于铜丝实验的分辨率测试，基于盐水管实验的双模态对比度互补验证，骨骼、软骨和脑切片的生物组织成像实验，初步验证该技术进行细微层次生物组织介电特性研究的潜力。同时，有诸多限制需要在后续研究中进行改进。例如，当前的透射式 TAM 系统由于需要满足超声换能器焦距与天线辐射能量的需求，两者之间区域窄，不利于活体检测与监测实验的进行，而反射式 TAM 系统将有利于解决此限制。此外，由于当前系统成像质量受低信噪比的影响导致图像模糊，拟设计聚焦天线进行微波激励以提高信噪比从而改善图像质量，可以获得更佳 TAM 图像分辨率与对比度。

参 考 文 献

- [1] Liu Q, Chao W, Wen R, *et al.* Optimized excitation in microwave-induced thermoacoustic imaging for artifact suppression. IEEE

- Trans Med Imag, 2025, **44**(1): 436-446
- [2] Liu S L, Peng W T, Zhu X Z, *et al.* Developing microwave-induced thermoacoustic tomography: system, application, and reconstruction. J Electron Sci Technol, 2023, **21**(4): 100232
- [3] 刘悦, 迟子惠, 王阳, 等. 双频微波热声成像方法及应用研究. 中国科学: 技术科学, 2024, **54**(2): 333-350
Liu Y, Chi Z H, Wang Y, *et al.* Sci Sin Technol, 2024, **54**(2): 333-350
- [4] Chi Z, Zhao Y, Huang L, *et al.* Thermoacoustic imaging of rabbit knee joints. Med Phys, 2016, **43**(12): 6226
- [5] Ji Z, Fu Y, Yang S. Microwave-induced thermoacoustic imaging for early breast cancer detection. J Innov Opt Health Sci, 2013, **6**(1): 38-43
- [6] Ren M, Cheng Z, Wu L, *et al.* Portable microwave-acoustic coaxial thermoacoustic probe with miniaturized Vivaldi antennas for breast tumor screening. IEEE Trans Biomed Eng, 2023, **70**(1): 175-181
- [7] Du S, Qiang T, Chi Z, *et al.* Metal reflector-enhanced thermoacoustic imaging as a guidance for puncture biopsy. J Innov Opt Health Sci, 2024, **17**(6): 2450014
- [8] Zhao Y, Chi Z, Huang L, *et al.* Thermoacoustic tomography of *in vivo* rat brain. J Innov Opt Health Sci, 2017, **10**(4): 1740001
- [9] Zhao Y, Shan T, Chi Z, *et al.* Thermoacoustic tomography of germinal matrix hemorrhage in neonatal mouse cerebrum. J Xray Sci Technol, 2020, **28**(1): 83-93
- [10] Li J, Wu Z, Peng C, *et al.* Microwave-induced thermoacoustic imaging for the early detection of canine intracerebral hemorrhage. Front Physiol, 2022, **13**: 1067948
- [11] Chi Z, Zhao Y, Yang J, *et al.* Thermoacoustic tomography of *in vivo* human finger joints. IEEE Trans Biomed Eng, 2019, **66**(6): 1598-1608
- [12] Chi Z, Huang L, Ge S, *et al.* Technical note: anti-phase microwave illumination-based thermoacoustic tomography of *in vivo* human finger joints. Med Phys, 2019, **46**(5): 2363-2369
- [13] Chi Z, Huang L, Wu D, *et al.* First assessment of thermoacoustic tomography for *in vivo* detection of rheumatoid arthritis in the finger joints detection of rheumatoid arthritis in the finger joints. Med Phys, 2022, **49**(1): 84-92
- [14] Alikhani S, Ansari M A, Niknam A R. Simulation of thermoacoustic resonance response of tumor by finite element method. J Appl Phys, 2019, **126**(17): 174701
- [15] Cao C, Nie L, Lou C, *et al.* The feasibility of using microwave-induced thermoacoustic tomography for detection and evaluation of renal calculi. Phys Med Biol, 2010, **55**(17): 5203-5212
- [16] Nie L, Xing D, Yang S. *In vivo* detection and imaging of low-density foreign body with microwave-induced thermoacoustic tomography. Med Phys, 2009, **36**(8): 3429-3437
- [17] Zheng Z, Huang L, Jiang H. Label-free thermoacoustic imaging of human blood vessels *in vivo*. Appl Phys Lett, 2018, **113**(25): 253702
- [18] Kruger R A, Kopecky K K, Aisen A M, *et al.* Thermoacoustic CT with radio waves: a medical imaging paradigm. Radiology, 1999, **211**(1): 275-278
- [19] 王雪, 黄林, 迟子惠, 等. 微波热声成像技术用于人体甲状腺检测. 生物化学与生物物理进展, 2019, **46**(1): 73-80
Wang X, Huang L, Chi Z H, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2019, **46**(1): 73-80
- [20] Kim C, Chen Z. Multimodal photoacoustic imaging: systems, applications, and agents. Biomed Eng Lett, 2018, **8**(2): 137-138
- [21] Xie S M, Huang L, Wang X, *et al.* Reflection mode photoacoustic/thermoacoustic dual modality imaging based on hollow concave array. Acta Phys Sin, 2021, **70**(10): 100701
- [22] Walter A, Paul-Gilloteaux P, Plochberger B, *et al.* Correlated multimodal imaging in life sciences: expanding the biomedical horizon. Front Phys, 2020, **8**: 47
- [23] Zhao Y, Chi Z, Ge S, *et al.* Microwave-excited hybrid thermoacoustic and ultrasound imaging with microwave pulse-width modulation. AIP Adv, 2019, **9**: 015323
- [24] Ding W, Ji Z, Xing D. Microwave-excited ultrasound and thermoacoustic dual imaging. Appl Phys Lett, 2017, **110**(18): 183701
- [25] Luo W, Ji Z, Yang S, *et al.* Microwave-pumped electric-dipole resonance absorption for noninvasive functional imaging. Phys Rev Applied, 2018, **10**(2): 024044
- [26] Tan Q, Ji Z, Xing D. Quantitative measurement of polar-molecule perfusion for tumor detection by thermoacoustic Doppler ultrasound dual-modality imaging. Phys Rev Applied, 2019, **11**(6): 064006
- [27] Wang X, Huang L, Chi Z, *et al.* Integrated thermoacoustic and ultrasound imaging based on the combination of a hollow concave transducer array and a linear transducer array. Phys Med Biol, 2021, **66**: 115011
- [28] Reinecke D R, Kruger R A, Lam R B, *et al.* Co-registered photoacoustic, thermoacoustic, and ultrasound mouse imaging// Oraevsky A A, Wang L V. Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2010. San Francisco, California: Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE), 2010: 756420
- [29] Ke H, Erpelding T N, Jankovic L, *et al.* Performance characterization of an integrated ultrasound, photoacoustic, and thermoacoustic imaging system. J Biomed Opt, 2012, **17**(5): 056010
- [30] Cheng Z, Wu L, Qiu T, *et al.* An excitation-reception collinear probe for ultrasonic, photoacoustic, and thermoacoustic tri-modal volumetric imaging. IEEE Trans Med Imag, 2021, **40**(12): 3498-3506
- [31] Quan B, Liu X, Zhao S, *et al.* Detecting early ocular choroidal melanoma using ultrasound localization microscopy. Bioengineering (Basel), 2023, **10**(4): 428
- [32] Hingot V, Chavignon A, Heiles B, *et al.* Measuring image resolution in ultrasound localization microscopy. IEEE Trans Med Imag, 2021, **40**(12): 3812-3819
- [33] Qian X, Huang C, Li R, *et al.* Super-resolution ultrasound localization microscopy for visualization of the ocular blood flow. IEEE Trans Biomed Eng, 2021, **69**(5): 1585-1594

- [34] Banna H U, Mitchell B, Chen S, *et al.* Super-resolution ultrasound localization microscopy using high-frequency ultrasound to measure ocular perfusion velocity in the rat eye. *Bioengineering (Basel)*, 2023, **10**(6): 689
- [35] Diamantis K, Greenaway A H, Anderson T, *et al.* Super-resolution axial localization of ultrasound scatter using multi-focal imaging. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2018, **65**(8): 1840-1851
- [36] Errico C, Pierre J, Pezet S, *et al.* Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging. *Nature*, 2015, **527**(7579): 499-502
- [37] Dencks S, Schmitz G. Ultrasound localization microscopy. *Z Med Phys*, 2023, **33**(3): 292-308
- [38] Yu J J, Guo X Y, Sui Y H, *et al.* Ultrafast ultrasound localization microscopy method for spinal cord microvasculature imaging. *Acta Phys Sin*, 2022, **71**(17): 174302
- [39] Fang Q, Chi Z, Liu Y, *et al.* Microwave-induced thermoacoustic microscopy based on short-pulse microwave and high-frequency point-focused ultrasonic transducer. *Med Phys*, 2023, **50**(10): 6036-6046
- [40] Yao L, Guo G, Jiang H. Quantitative microwave-induced thermoacoustic tomography. *Med Phys*, 2010, **37**(7): 3752-3759
- [41] Tam A C. Applications of photoacoustic sensing techniques. *Rev Mod Phys*, 1986, **58**(2): 381-431
- [42] Zhu K G, Popovic M. Spectral difference between microwave radar and microwave-induced thermoacoustic signals. *IEEE Antennas Wirel Propag Lett*, 2009, **8**: 1259-1262
- [43] Sigrist M W. Laser generation of acoustic waves in liquids and gases. *J Appl Phys*, 1986, **60**(7): R83-R122
- [44] Kellnberger S, Hajiaboli A, Razansky D, *et al.* Near-field thermoacoustic tomography of small animals. *Phys Med Biol*, 2011, **56**(11): 3433-3444
- [45] Liang X, Guo H, Liu Q, *et al.* Thermoacoustic endoscopy. *Appl Phys Lett*, 2020, **116**(1): 13702-13708
- [46] Calasso I G, Craig W, Diebold G J. Photoacoustic point source. *Phys Rev Lett*, 2001, **86**(16): 3550-3553
- [47] Gusev V E, Karabutov A A. *Laser Optoacoustics*. New York: American Institute of Physics, 1992: 1-12
- [48] Lou C, Yang S, Ji Z, *et al.* Ultrashort microwave-induced thermoacoustic imaging: a breakthrough in excitation efficiency and spatial resolution. *Phys Rev Lett*, 2012, **109**(21): 218101
- [49] Lou C, Nie L, Xu D. Effect of excitation pulse width on thermoacoustic signal characteristics and the corresponding algorithm for optimization of imaging resolution. *J Appl Phys*, 2011, **110**(8): 083101
- [50] Nie L, Xing D, Zhou Q, *et al.* Microwave-induced thermoacoustic scanning CT for high-contrast and noninvasive breast cancer imaging. *Med Phys*, 2008, **35**(9): 4026-4032
- [51] Yan A, Lin L, Na S, *et al.* Large field homogeneous illumination in microwave-induced thermoacoustic tomography based on a quasi-conical spiral antenna. *Appl Phys Lett*, 2018, **113**(12): 123701
- [52] IMASONIC. Online Design Immersion circular element transducers [EB/OL]. [2024-07-20]. <https://www.imasonic.com/industry/online-design/>
- [53] SONIC CONCEPTS. Single-Element Transducer Selection Guide [EB/OL]. (2024-09-11) [2025-07-25]. <https://www.sonicconcepts.com/transducerselection-guide-single-element/>
- [54] IEEE Societies and the Standards Coordinating Committees of the IEEE Standards Association IEEE-SA) Standards Board. IEEE Standard for Safety Levels with Respect to Human Exposure to Radio Frequency Electromagnetic Fields, 3 kHz to 300 GHz: IEEE Std C95.1™-2005. New York: Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., 2006: 1-238
- [55] Li G, Maslov K I, Wang L V. Reflection-mode multifocal optical-resolution photoacoustic microscopy. *J Biomed Opt*, 2013, **18**(3): 030501
- [56] Wang X, Zhang G M, Ma H, *et al.* Measurement of a 3D ultrasonic wavefield using pulsed laser holographic microscopy for ultrasonic nondestructive evaluation. *Sensors (Basel)*, 2018, **18**(2): 573
- [57] Fishman E K, Ney D R, Heath D G, *et al.* Volume rendering versus maximum intensity projection in CT angiography: what works best, when, and why. *Radiographics*, 2006, **26**(3): 905-922
- [58] Xu M, Wang L V. Time-domain reconstruction for thermoacoustic tomography in a spherical geometry. *IEEE Trans Med Imaging*, 2002, **21**(7): 814-822
- [59] Allen Institute for Brain Science. Allen Mouse Brain Connectivity Atlas: 3D Viewer [DB/OL]. Seattle: Allen Institute, 2023 [2024-07-20]. <https://connectivity.brain-map.org/3d-viewer>
- [60] Papp E A, Leergaard T B, Calabrese E, *et al.* Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain [DB/OL]. Durham: Duke Center for In Vivo Microscopy, 2014 [2024-07-20]. <https://scalablebrainatlas.incf.org/rat/PLCJB14>
- [61] Swanson L W. Brain maps 4.0-structure of the rat brain: an open access atlas with global nervous system nomenclature ontology and flatmaps. *J Comp Neurol*, 2018, **526**(6): 935-943
- [62] Sergejeva M, Papp E A, Bakker R, *et al.* Anatomical landmarks for registration of experimental image data to volumetric rodent brain atlasing templates. *J Neurosci Methods*, 2015, **240**: 161-169
- [63] Lane E L and Dunnett S B. *Animal Models of Movement Disorders: Volume II*. New York: Humana Press, 2011: 91-114
- [64] Kjonigsen L J, Lillehaug S, Bjaalie J G, *et al.* Waxholm space atlas of the rat brain hippocampal region: three-dimensional delineations based on magnetic resonance and diffusion tensor imaging. *Neuroimage*, 2015, **108**: 441-449
- [65] Liang Z, Wang W, Qiao S, *et al.* Study on response of metal wire in thermoacoustic imaging. *J Innov Opt Health Sci*, 2022, **15**(3): 2250015
- [66] Niskanen A O, Hassel J, Tikander M, *et al.* Suspended metal wire array as a thermoacoustic sound source. *Appl Phys Lett*, 2009, **95**(16): 163102
- [67] Ghosh S, Holmes M, Povey M. Temperature dependence of bulk viscosity in edible oils using acoustic spectroscopy. *J Food Process Technol*, 2017, **8**(6): 676
- [68] Kondo T, Kishimoto S, Sato Y. Acoustic properties of plastics for

applications to probes of an ultrasonic diagnostic instrument. Jpn J Appl Phys, 1992, **31**(S1): 163

[69] Gunawan A I, Hozumi N, Yoshida S, *et al.* Numerical analysis of ultrasound propagation and reflection intensity for biological acoustic impedance microscope. Ultrasonics, 2015, **61**: 79-87

[70] 陈菁华, 盛二燕, 黄健, 等. 骨质疏松 MRI 研究进展. 中国中西医结合影响杂志. 2020, **18**(1): 98-100

Chen J H, Sheng S Y, Huang J, *et al.* Chin J Integr Med, 2020, **18**(1): 98-100

[71] 康思凤, 汤光宇. 脂肪组织与骨质疏松相关性及其机制的研究进展. 国际医学放射学杂志, 2018, **41**(1): 72-76

Kang S F, Tang G Y. Int J Med Radiol, 2018, **41**(1): 72-76

[72] Zhou T, Meaney P M, Pallone M J, *et al.* Microwave tomographic imaging for osteoporosis screening: a pilot clinical study. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc, 2010, **2010**: 1218-1221

[73] Ruvio G, Cuccaro A, Solimene R, *et al.* Microwave bone imaging: a preliminary scanning system for proof-of-concept. Healthc Technol Lett, 2016, **3**(3): 218-221

Research on Microwave Induced Thermoacoustic and Ultrasound Dual-modality Microscopy*

CHI Zi-Hui^{1,2)}, NIE Yin-Qiang³⁾, GUO Xiang-Wen³⁾, DU Shuang¹⁾, FANG Qiu-Chao¹⁾,
WU Dan^{2,3)}, JIANG Hua-Bei^{4)**}

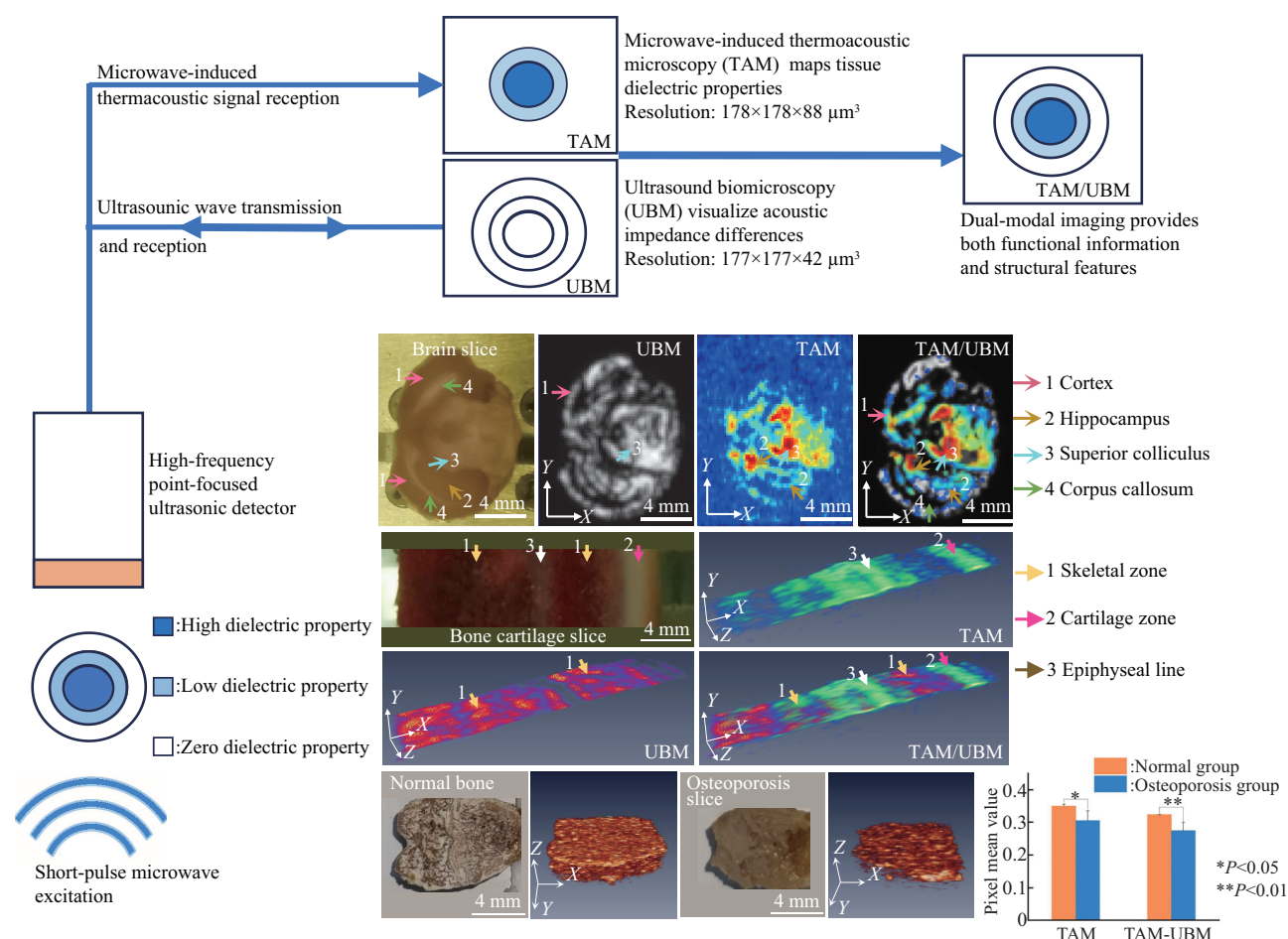
⁽¹⁾School of Integrated Circuit, Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China;

⁽²⁾Postdoctoral Research Center of Chongqing Key Laboratory of Photoelectric Information Sensing and Transmitting Technology, Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China;

⁽³⁾School of Electronic Science and Engineering, Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China;

⁽⁴⁾Department of Medical Engineering, University of South Florida, Tampa 33620, USA)

Graphical abstract



* This work was supported by grants from China Postdoctoral Science Foundation (2022MD723722), Chongqing Postdoctoral Research Project Special Funding Project (2021XM2026, 2021XM3040), The National Natural Science Foundation of China (62001075), and Chongqing Graduate Research and Innovation Project (CYS240426).

** Corresponding author.

Tel: 86-18782941221, E-mail: hjiang1@usf.edu

Received: April 30, 2025 Accepted: September 16, 2025

Abstract Objective This study aims to develop a microwave-induced thermoacoustic and ultrasound dual-modality microscopy system that integrates the advantages of both imaging techniques to investigate the dielectric properties of biological tissues at a microscopic level. **Methods** This paper first discusses a method to enhance system resolution by combining short-pulse microwave excitation with high-frequency point-focused ultrasonic transducer detection. A three-dimensional microwave-induced thermoacoustic microscopic imaging system was constructed based on this approach and further developed into a dual-modality system capable of both thermoacoustic and ultrasonic imaging. The image reconstruction and dual-modality image fusion strategies are also described. Subsequently, experiments were conducted in the following sequence: imaging of copper wires to evaluate the system's spatial resolution along the $X/Y/Z$ axes; imaging of tubes containing 3% and 6% saline solutions and tubes filled with coupling agent/vegetable oil to demonstrate the complementary information provided by the two modalities; imaging of brain tissue and bone-cartilage samples to assess the applicability of the technology; and osteoporosis detection to validate the disease diagnostic capability of the dual-modality system. The microwave-induced thermoacoustic and ultrasound microscopic images of these samples were verified against corresponding photographs or micro-CT images. **Results** The thermoacoustic and ultrasonic images of the copper wire closely matched the physical photograph. The three-dimensional resolutions of the microwave-induced thermoacoustic and ultrasound imaging systems, as estimated from the copper wire experiment, were $178 \times 178 \times 88 \mu\text{m}^3$ and $177 \times 177 \times 42 \mu\text{m}^3$, respectively. These measured values align well with theoretical predictions. The dual-modality imaging system successfully combines dielectric property differences captured by thermoacoustic imaging and acoustic impedance variations captured by ultrasound imaging, thereby providing both functional and structural information of the samples. Specifically, the system distinguished between tubes containing saline solutions of different concentrations and those containing vegetable oil, demonstrating strong spatial consistency with physical photographs. The thermoacoustic image contrast among saline solutions corresponded to theoretical dielectric properties, while the ultrasonic contrast between saline and oil reflected their difference in acoustic impedance. The system identified multiple brain tissue structures, including the cortex, hippocampus, superior colliculus, corpus callosum, cingulate cortex, and striatum. The bimodal imaging approach exhibited superior performance, visualizing tissue structures with greater clarity and detail than either modality alone. The brain tissue images were consistent with physical photographs, tissue dielectric properties, and publicly available anatomical atlases. The bimodal system clearly delineated cartilage and epiphyseal lines *via* thermoacoustic imaging, while ultrasonic imaging revealed bone structures. Thermoacoustic imaging alone differentiated bone sections between normal and osteoporotic groups; however, incorporating prior skeletal contour information from ultrasound significantly enhanced discriminatory power, resulting in intergroup differences with higher statistical significance. The imaging results of bone samples corresponded well with physical photographs, micro-CT images, and theoretical analyses of dielectric properties for cartilage, normal bone, and osteoporotic bone. **Conclusion** The microwave-induced thermoacoustic and ultrasound dual-modality microscopy system developed in this study demonstrates potential for microscopic detection of complex biological tissues based on dielectric properties. It is expected to provide a new imaging tool for functional assessment of brain tissue and the skeletal system, as well as for studies on disease pathogenesis.

Key words microwave-induced thermoacoustic imaging, microwave-induced thermoacoustic microscopy, ultrasound microscopy, dual-modality imaging

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0197

CSTR: 32369.14.pibb.20250197