

文章编号: 0258-7025(2002)Supplement-0651-04

光活检的应用及其展望*

李步洪^{1,2} 谢树森¹ 陆祖康²

(¹ 福建师范大学激光研究所生物医学光学实验室, 福州 350007)
(² 浙江大学国家光学仪器工程技术研究中心, 杭州 310027)

摘要 回顾了国内外光活检的研究与发展现状, 阐述了光活检的机理和优点。重点讨论和比较了光活检中近红外吸收和反射光谱、激光诱导荧光光谱、时间分辨荧光光谱、拉曼散射光谱、弹性散射光谱、激光施展荧光成像、双(多)光子激发荧光成像、共焦显微成像、时间分辨成像、光学相干成像、漫射光子密度波成像、激光散斑成像、偏振干涉成像、超声调制的光学成像等实用光活检技术的优缺点。对光活检技术的发展未来, 包括医学临床应用和技术产业化作了展望。

关键词 光活检, 组织病理学, 激光诱导荧光, 无损诊断

中图分类号 TN244 **文献标识码** A

Applications and Prospects of Optical Biopsy

LI Bu-hong^{1,2} XIE Shusen¹ LU Zu-kang²

(¹ Biomedical Optics Lab, Institute of Laser, Fujian Teachers University, Fuzhou 350007)
(² National Research Center of Engineering and Technology for Optical Instrumentation, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract Optical biopsy has the potential to perform noninvasive, real time and in situ diagnosis of tissue pathologies in vivo. The current status and development perspectives, as well as the principle and merits of optical biopsy are presented. Furthermore, the advantages and disadvantages of different techniques among optical biopsy are also analyzed by combined with the recent progress in the world spectrum. Finally, the promises and hopes, as well as the application and industrialization of optical biopsy are briefly discussed.

Key words optical biopsy, tissue pathologies, laser-induced fluorescence (LIF), noninvasive diagnosis

1 引 言

光活检是以生物分子学为基础, 集当代光电子、光谱术、显微术和计算机技术为一体的国际前沿技术, 该技术旨在为临床组织病理学提供一种无损、实时、精确和客观的先进活检手段。光活检技术以其极高的分辨率、灵敏度、精确度以及无损、安全、快速等优点而成为当前国际上发展迅速的新开拓领域, 近年来倍受世界各国学者的关注, 并开展了广泛的研究和开发^[1,2]。光活检技术从根本上摆脱了长期以来依靠医生目视经验观察、诊断和取样活检的传统组织病理学诊断方法, 依据人体不同组织所特有

的光学特性实时鉴别和诊断出被检组织所处的不同生理状态, 包括正常组织、良性病变组织、早期癌变组织、动脉粥样硬化和组织的功能状态等, 从而实现组织病理的早期诊断, 这在临床医学应用中具有重大意义和实用价值。光活检技术的发展由于其多学科交叉性、高学科性、高技术化、高产业化与高社会化等特点, 由光活检技术浪潮所带来的新一轮医学技术革命有可能在新的世纪创造出高新技术产业, 其中的重大成果将可与 X 射线的发明与 CT 技术的发明在人类文明史上所起的推动作用相比拟。

2 光活检的机理及其发展历史

随着医学诊断方法向无损性发展, 光学技术在生物医学诊断中的应用已展现出越来越大的潜力。

* 国家自然科学基金(60178022)、福建省教育厅重大项目(JA01014)资助课题。

光学显微镜的发明把人类带入了生物体的微观世界,并相继建立了组织学和病理学,为某些疾病的临床诊断树立了绝对权威。尽管如此,在临床实践中各种早期肿瘤的诊出率仍然很低,严重地危及人类的健康。究其原因在于医生无法准确地通过组织形态学来鉴别组织发生病变与否,因此在从事活检的临床检查医生与从事组织病理分析的医生之间存在一条不可跨越的鸿沟。为了填补这一鸿沟,各国科学家纷纷开展大量研究工作以寻求各种手段来提高对疾病的早期诊断。在这其中光与组织之间的相互作用引起了人们的广泛关注,由于光的谱特征与生物组织的分子构成直接相关,因而利用光学信息比其他医学诊断手段在肿瘤探测和组织的生理监测上能获得更高的灵敏度。病状总是在组织或体液分子成分发生变化之后发生的,因此利用光学的手段对组织进行鉴别和诊断有可能更早、更精确地诊断各种疾病,它已成为当今医学光子学中的一个重要研究课题。与传统的组织活检和病理分析相对应,人们通常把这种方法简称为“光活检”。

光活检是指用光来诊断人类的各种早期疾病。光活检的发展历史可以追溯到 20 世纪 80 年代初,当时就读高中的 Michelle Alfano 为了参加美国的“Westinghouse Talent Research Award”项目研究竞赛,在她父亲 Robert R. Alfano 所在的纽约城市大学(CCNY)超快光谱和激光研究所(IUSL)开始从事一项用光进行癌症诊断的研究工作。在这之后,一个新兴的研究方向——生物医学光子学在全球范围内诞生了。国际光学工程学会(SPIE)于 1994 年 1 月 23~24 日在美国 Los Angeles 以“Advances in laser and light spectroscopy to diagnose cancer and other diseases”为主题召开了第一次光活检国际学术会议,并由 R. Alfano 担任学术委员会主席^[3]。在过去的近 10 年里,光活检在世界范围内得到了广泛的关注,SPIE 和其他洲际性以及地方性学术团体先后举办了近 200 个以光活检为专题的国际会议,SPIE 出版了以光活检为专题的国际学术会议论文集 14 卷^[4]。这些论文集大多以 Optical Biopsy 或 Optical Biopsies 命名。由于光与组织之间的相互作用,即组织光学(tissue optics)是光活检的理论和应用基础,所以近年来国际学术会议的 trend 是把原来相对独立的组织光学和光活检两个研究专题结合起来,并把会议取名为“Optical Biopsy and Tissue Optics”。除此之外,许多国际著名的学术刊物,如 IEEE, Biomedical Imaging, Med. Phys. Biol., Laser

in Surgery and Medicine, Laser Medicine Science, Bioimaging 等每年都大篇幅地刊登了与光活检相关的理论和临床应用研究工作。特别值得一提的是近年来在美国 San Jose 举办的全球规模最大光子学西部会议(Photonics West)上都设有“Optical Biopsy”专题会场,美国科学院年刊也于 1998 年出版了光活检专集“Advances in Optical Biopsy and Optical Mammography”^[1]。国内外光活检的基础和应用研究方兴未艾,越来越多科学家纷纷加盟其中。

3 光活检的优点

光活检根据生物组织所特有的光学性质对组织进行分析,与传统的手术活检相比较,光活检是一种非侵入式的组织病理分析方法,它能克服手术活检过程中可能引起的组织体生物化学性质的改变,由此导致病理分析结果的不可靠性;与 X 射线,CT 和 MRI 等检查相比,它不仅能避免离子辐射,而且能实现病理的早期诊断。其次,手术活检取样具有很大的随机性,往往因为只能从所选择的部位上取出少量的组织体,并不一定能准确地反映出病灶组织的真实情况。此外,这种活检方式在很大程度上取决于医生的临床经验。与此相反,光活检不需要取出组织样品,同时光活检的灵敏度很高,能够诊断出各种早期的组织病变,分析结果的准确性与病变组织的大小无关。再者,手术活检取出组织样品之后,病理结果的获得需要花费病人很多的等待时间,严重地限制了实时报道结果的要求,更为关键的是在病人手术过程中无法及时得到病理分析的反馈结果,因此不能有效地控制手术过程中对病灶的精确切除,而光活检能为组织的病理分析提供实时、客观的结果。最后,在病理分析过程中,依据已建立的组织学进行比较判断,医生的主观性很大。特别是对于一些临床的疑难病例,传统的病理分析就更加暴露出它的局限性。所以从根本上说,传统手术活检是将摘取的离体组织样品送到仪器上进行分析,而光活检是将检测系统的探头在人体体表或伸入到人体腔内进行快速、准确的病理分析。

4 光活检的实用技术及性能比较

当前国内外涉及光活检研究领域的研究方向大致可以分成两大类:组织光谱诊断和组织光学成像诊断。本文仅就两类相关技术的优点和缺点作分析和比较,如下表所示,各种技术的原理和应用情况可

以查阅本文所给的参考文献^[5~13]。

光活检技术		优点	缺点
组织光谱诊断技术	近红外吸收光谱	尖锐的光谱特征有利于区分和鉴别出光谱的来源(即构成组织的不同物质成分);具有强烈的光谱吸收线;荧光不相关。	很难避免组织中水的吸收;用于传输中红外光的光纤造价昂贵;用于快速平行光谱分析的仪器昂贵。
	激光诱导荧光光谱	能够对组织表层范围进行荧光成像诊断或定量测量;通过使用外源性光敏药物,荧光图像和信号的对比度能够获得很大的改善;能够探测到强吸收带中的荧光分子吸收。	荧光信号受到组织周围环境、病人身体状况的影响;组织的自体荧光十分微弱,对探测器要求高;若使用外源性光敏药物,在医学上又是侵入性的。
	时间分辨荧光光谱	能够获得能级结构和激发弛豫时间等信息;比稳态光谱在技术上更灵敏、更客观和更具选择性。	荧光的寿命很短,要求探测器响应时间短。
	拉曼散射光谱	具有制样简单、水的干扰小、拉曼光谱分辨率高等特点;尖锐的光谱特征有利于区分和鉴别出光谱的来源(即构成组织的不同物质成分);激发波长使用可见光和近红外光能够避免许多荧光,能够检测许多没有荧光的化学物质成分。	组织在激光照射后发射较强的荧光,荧光干扰极大;拉曼信号本身非常微弱,探测系统的造价高;谐振增强方式需要很强的紫外光照明。
	弹性散射光谱	光谱信号强,允许用低价位的探测器件;对于没有荧光的重要物质,如血红素也能进行检测;对组织的结构和生化成分很敏感,甚至可以鉴别出不同的正常组织。	不能直接用于成像方式;可能对组织结构变化之前的细生化改变不敏感。
组织光学成像诊断技术	激光诱导荧光成像	不仅能够用于诊断异常组织,而且能够用于病灶的精确定位;药物荧光成像具有很高的灵敏度。	荧光信号微弱,光谱范围很宽,由于组织体的散射限制了探测的深度。
	多(双)光子荧光成像	用近红外光激发,故对活细胞的光致损伤大大减少;组织中近红外光比可见光的透过率高,因此可观察样品中更深层的荧光像,图像对比度和空间分辨率高;许多用在可见区甚至紫外区的荧光探针照样可以使用。荧光测定的信噪比高。	要求使用峰值功率高的飞秒激光器。
	共焦显微成像	能给出高分辨率三维结构;能抑制焦平面以外区域的散射光;能获得对比度大的照片(包括被测组织体内部的照片);能把光学剖面放在任意聚焦平面。	杂散光是影响图像分辨率的关键因素。
	时间分辨荧光寿命成像	生物样品的荧光寿命仅取决于样品的局域环境,不受激发光强度和周围环境的影响;可以给出生物分子在结构、动力学及流体力学等方面的信息。	时间分辨率不够高、寿命测量范围不够宽;还要与现代显微技术结构应用;数据采集时间长,不适宜于常规临床应用。
	光学相干成像	具有较高的探测灵敏度;图像的空间分辨率高;适用于对浅表组织的检查;检测系统体积小,便于携带和临床应用。	探测的弹道光衰减强烈,对探测器件和技术的要求很高;只能对1~3 mm的组织深度成像;逐点成像,图像采集速度较慢。
	漫射光子密度波成像	能精确探测和定位组织体中的异常物;系统价格低廉,且可对组织体实现实时和无损监测。	探测深度和分辨率有待进一步提高。
	激光散斑成像	主要用于监测组织中的血流分布,可以对大面积区域的流速进行同时监测;具有极高的空间和时间分辨率。	监测过程尚无法实现实时。
	偏振干涉成像光谱技术	实现了稳态、大视场、高通量和多通道的测量,具有仪器小型化等优点。	所能成像的组织体厚度无法大于1 cm。
	超声调制的光学成像	克服了单纯光学成像方法的空间分辨率较差以及传统超声方法中成像反差不足的缺点。结合二者的优势,具有超声定位的高空间分辨率和反映生物组织生理结构变化的光学检测的高灵敏度。	对信号光的检测系统要求相当高,有关的理论和实验研究正在深入之中。

5 发展前景与展望

早期光活检还仅是局限在激光医学类学术会议的一个研讨专题,出席会议的人员绝大多数是医生,随着研究的不断深入和发展,现在它已成为涉及光学研究领域的一个重要研究方向,而且与会代表中有一半以上是物理或光学工程专业科研人员。近十年来,尽管在国际范围内从事这项技术研究的科研机构 and 人员相当多,特别是在发达国家美国、德国、日本科研经费投入也不少,人们在理解光与生物组织相互作用和光在监测人体机能方面取得了较大的进展。但至今还没有真正获得美国 FDA 批准能投入临床使用的光活检系统(Optical Biopsy system, OBS),仅有为数不多的几个 OBS 获得 FDA 的认可在临床试用,如加拿大 B. C. 研究中心研制的早期肺癌自体荧光诊断系统和 Spectra Science (Minneapolis, MN) 研制的肠癌检测系统^[14,15]。其中主要的原因是 OBS 要从实验室走向市场必须经过一个相对漫长的研发过程:首先光活检这种新的思想和方法要能够被广大医生所接受;然后进入到样机的研制阶段和临床试用阶段;在完成 OBS 开发和市场销售之前,还要完成临床评估的测试工作和获得有关政府部门的准许;最后还需要通过临床的广泛应用以及使用医生的反馈意见进一步提高 OBS 的性能,完善系统。另一方面,光活检技术涉及医学、物理学、化学、生理学和生命科学等一系列学科,研究内容十分广阔,发展非常迅速,是一个富有相当挑战性的新兴研究领域,需要来自不同学科的科学家的积极参与和共同配合,因此要使该项技术转化为产品,成为临床组织病理分析的常规手段是一个相当复杂的系统工程。尽管如此,一个光诊断的崭新时代已为期不远。

光活检之所以引起了研究者的广泛关注是因为这种方法与常规技术相比具有无损、安全、可靠,检查费用低等优点,同时在疾病的检测与诊断方面具有更高的灵敏度和更强的针对性。由于我国人口众多,开发出满足临床常规检查使用的 OBS 将是一个巨大的市场,及时将科研成果转化为社会应用,对于我们在新的世纪实现人类的真正健康和社会的稳定都具有十分重要的意义。此外光活检技术的产业化必将极大地促进相关产业,如各种新型激光器、半导体光电探测器件、传统光学设计和加工的发展。为

此医学决策部门和决策者以及广大医学工作者必须认识到光活检技术对传统医学的挑战,其次应加强组织光学基础研究,以推进医学科研,加快技术产业化的进程。令人鼓舞的是我国已开始关注这方面的国际动态和研究工作,并把医学光子学(光活检是其中的重中之重)列入了近、中期国家自然科学基金优先资助的重点项目^[16,17]。可以预见,OBS 在 21 世纪的医学发展中将占有十分重要的地位,并可望能在不久的将来逐步走向医学临床,造福人类。

参 考 文 献

- 1 R. Alfano. *Advances in Optical Biopsy and Optical Mammography*. New York: New York Academy of Sciences, 1998
- 2 O. S. Khalil. Progress in non-invasive optical diagnostics. *Proc. SPIE*, 2000, **3913**:2~11
- 3 R. Alfano. Introduction. *Proc. SPIE*, 1994, **2627**:XI
- 4 <http://www.spie.org>
- 5 J. Raloff. Optical biopsy hunts would-be cancers. *Science News*, 2001, **159**(14):214
- 6 G. J. Tearney, M. E. Brezinski, B. E. Bouma *et al.*. In vivo endoscopic optical biopsy with optical coherence tomography. *Science*, 1997, **276**(5321):2037~2039
- 7 I. J. Bigio. Optical biopsy: the noninvasive diagnosis of cancer with optical spectroscopy. *Proc. SPIE*, 1999, **3572**:4~9
- 8 B. R. Master, P. T. C. So, E. Gratton. Optical biopsy of in vivo human skin: Multi-photo excitation Microscopy. *Laser in Medical Science*, 1998, **13**:196~203
- 9 J. van Dam. Optical Biopsy, 7th World Congress of Endoscopic Surgery, 2000, Singapore, 709~713
- 10 A. M. Kazaryan. Optical Biopsy: Laser autofluorescent and Raman spectroscopies in tumor diagnostics. *Proc. SPIE*, 2000, **4069**:173~176
- 11 B. C. Wilson, M. S. Patterson, B. W. Pogue. Instrumentation for in vivo tissue spectroscopy and imaging. *Proc. SPIE*, 1993, **1892**:132~145
- 12 Wang Lihong, Ku Heng. Frequency-swept ultrasound-modulated optical tomography of scattering media. *Opt. Lett.*, 1998, **23**(12):975~977
- 13 C. G. A. Heelen, F. F. M. de Mul. Three-dimensional photoacoustic imaging of blood vessels in tissue. *Opt. Lett.*, 1998, **23**(8):648~650
- 14 Stephen Lam, Timothy Kennedy. Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy. *Chest*, 1998, **113**(3):696
- 15 <http://www.fda.gov/cdrh/pdf/p990050a.pdf>
- 16 国家自然科学基金委员会. 光子学与光子技术. 北京: 高等教育出版社 & 施普林格出版社, 1999. 105~108
- 17 国家自然科学基金委员会. 2001 年度国家自然科学基金项目指南. 北京: 高等教育出版社, 2001. 94~95