

基于多波长激发的光声组分成像

张 建 杨思华

(华南师范大学生物光子学研究院激光生命科学研究所暨激光生命科学教育部重点实验室, 广东 广州 510631)

摘要 将线性回归理论应用到光声(PA)图像的分析过程中,构建了多波长组分浓度分布算法,并用计算机模拟和生物组织样品实验来证明该算法能够使 PA 图像反映更多的生物组织信息。实验中,同一个样品多次成像,只改变激发光波长,其他参数保持不变。实验结果表明,单一波长的 PA 图像反映的信息与混合物组成成分在该波长处吸收强弱相吻合,当混合物各个组分的吸收差异比较大时,单一波长 PA 图像不能充分反映混合物中每种组分的分布信息;在此基础上,对不同波长下获得的 PA 图像用组分浓度分布算法处理之后,图像中各个成分分布的信息明显改善,与实际样品吻合较好。

关键词 生物光学;光声成像;多波长;浓度分布

中图分类号 R318.51 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201138.0104001

Photoacoustic Component Imaging Based on Multi-Spectral Excitation

Zhang Jian Yang Sihua

(Key Laboratory of Laser Life Science, Ministry of Education, Institute of Laser Life Science, College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China)

Abstract Linear regression theory is introduced to analyze the process of photoacoustic image and the algorithm of multi-wavelength component concentration distribution is constructed. Computer simulation and biological tissue sample experiment are carried out to prove that the algorithm can make photoacoustic image reflect more biological tissue information. During the experiment, all parameters are kept as constant except the wavelength of exciting pulsed laser. The result shows that the information reflected by photoacoustic image of single wavelength matches well with the absorption of mixture component at excited wavelength. Photoacoustic image of single length cannot fully indicate the distributions of each component when the component absorptions are quite different. Based on this, the distribution information of image components changes and matches well with real sample after being treated by the algorithm.

Key words biological optics; photoacoustic imaging; multi-spectral; concentration distribution

OCIS codes 100.2960; 110.2990; 110.5120; 170.1065; 170.5120

1 引 言

光声(PA)成像技术是以脉冲激光为信号的激发源,基于生物组织内部光吸收差异,以超声为信息载体的非电离化的新兴医学成像方法^[1~5]。其利用对人体无害的光作为激励源,真正实现无损检测成像。以超声信号作为信息载体决定了它的产生和传

输与组织的散射特性没有直接关系,因此其成像精度取决于超声探测器的特性和图像重建算法,并不受组织强散射特性的影响。光声成像有机地结合了纯光学成像和纯超声成像的特点,用超声探测器检测超声波代替光学成像中检测散射光子,可提供深层组织的高分辨率和高对比度的组织断层图像,图

收稿日期: 2010-07-14; 收到修改稿日期: 2010-09-01

基金项目: 国家 973 计划(2010CB732602)、国家自然科学基金(30627003,30870676)、教育部长江学者与创新团队发展计划(IRT0829)和广东省自然科学基金(7117865)资助课题。

作者简介: 张 建(1986—),男,硕士研究生,主要从事生物医学成像方面的研究。E-mail: jianzhang@sncnu.edu.cn

导师简介: 杨思华(1981—),男,博士,副研究员,主要从事生物医学成像及生物医学成像系统开发等方面的研究。

E-mail: yangsh@sncnu.edu.cn(中国光学学会会员号: S040m624)

像的对比度真实地反映了生物组织内部的光吸收差异特性。相对于超声成像,它能反映声阻抗相同但光吸收特性不同的组织信息。此外光声成像还具有完全非侵入性、无损性和非电离化辐射等特点。

生物组织的光吸收特性可以有效反映生物组织结构功能和病理特征,通过测量组织光吸收参数的变化^[6,7],光声成像能够提供生物体生理状态变化的信息。进一步来说,多波长光声成像并结合线性处理算法能提供组织中各种化学组分的功能信息^[8],光声成像目前已成为医学成像领域的新研究热点。但是,之前的光声成像方法都是利用生物组织中的特征性标记物成像,选择标记物的特征吸收波长的激光脉冲进行激发,最终得到的是标记物的高分辨率图像,其中以 532 nm 脉冲激光产生的血管像最具有代表性。小鼠脑部血管 PA 图像与脑部血管的实际分布较好吻合,并可以部分地反映脑功能^[9];小鼠早期背部肿瘤血管的 PA 图像较好地反映了早期肿瘤血管的分布情况,为肿瘤早期诊断及治疗过程监控提供了依据^[10~13]。然而,前期的工作并没有对 PA 图像进一步的处理,尽管图像的对比度好、分辨率高,但在混合物的区分上表现出能力不足,尤其是在病变组织当中,吸收差异较大的各种特征组织成分往往交错地混合在一起,仅仅通过单一波长的光声图像是较难区分的,而各种成分的多少及分布情况对于病变程度诊断的意义是十分明显的。以肿瘤血管成像为例,由于血液相对于周围生物组织而言,对 532 nm 激光的吸收十分强烈,所以在获得的 PA 图像上只能够清晰地看到血管的像,而血管周围组织像的强度与背景强度大致相当,难以辨别。对于肿瘤恶性程度的诊断来说,血管形态只是一个方面,坏死区域及严重缺氧区域的大小等指标更直接有效。本文发展了光声成像技术,引入多波长算法,使得光声成像的特异性更为明显。

2 实验装置、材料与方 法

2.1 实验装置

图 1 为多波长光声断层扫描成像系统结构示意图。整个硬件系统由复合材料单元超声传感器(广州多浦乐电子科技有限公司,主频 15 MHz),信号放大器(HP, Precision acoustic Ltd, 带宽为 50 kHz~125 MHz, 最小放大倍数为 25 dB), 数字示波器(TDS3032, Tektronix, 带宽 300 MHz), Nd:YAG 激光器(VIBRANT B 532I, OPOTEK, USA, 基频 1064 nm, 倍频 532 nm, 脉冲宽度 10 ns, 脉冲重复频率 10 Hz), 步进

电机 PH268. 22. A7 (VEXTA, Japan) 及驱动 UDX2107 (VEXTA, Japan), 个人计算机和样品耦合平台等组成^[14~17]。脉冲激光从激光器中发出, 经过反射镜、扩束镜、毛玻璃后垂直照射到被测样品或生物组织上, 实验中脉冲激光照射到生物组织上的平均能量密度控制在 20 mJ/cm² 以下(此能量密度小于生物组织的损伤阈值)^[18]; 超声耦合池中充满水作为超声与水听器的耦合介质; 超声传感器固定于耦合池上方的旋转平台, 在离旋转中心一定距离处由步进电机驱动旋转扫描采集光声信号; 接收到的信号经过放大器后送入数字示波器, 通过 GPIB 卡储存到计算机中; 最后对采集到的信号进行数据处理和图像重建。

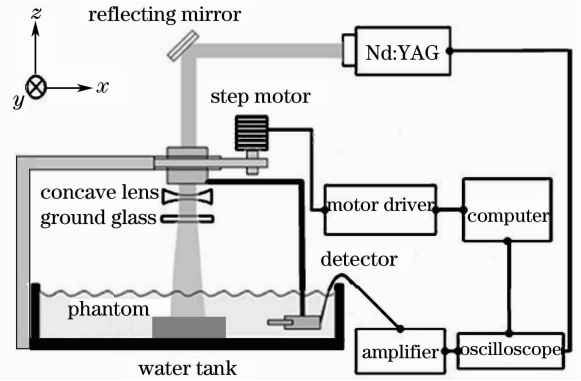


图 1 多波长光声断层扫描成像系统装置示意图
Fig. 1 Schematic of multi-spectral photoacoustic tomography system

2.2 实验材料

实验样品选用新鲜的肌肉组织和新鲜的动脉血液, 图 2 是用分光光谱仪(Lambda 35, Perkin Elmer)测得的两种生物组织消光系数, 实验中样品用琼脂固定成型。

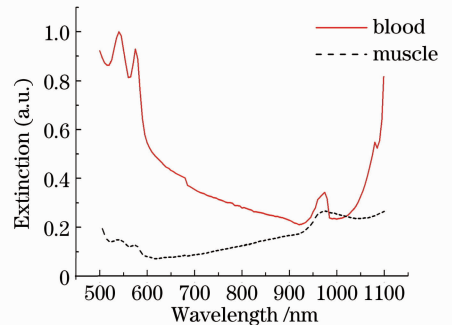


图 2 肌肉组织和血液的消光系数
Fig. 2 Extinction coefficient spectra of muscle and blood

2.3 实验方法

光声理论在众多文献里有详细的介绍^[19], 这里简要地介绍一下多波长光声断层扫描求解混合物组

分分布的方法^[20]。在频域里,非均匀声学介质中的多波长光声波动方程可以表示为^[21]

$$\nabla^2 P(r, \omega, \lambda) + k_0^2(1 + o)P(r, \omega, \lambda) = ik_0 \frac{v_0 \beta \mu_a(r, \lambda) \phi(r, \lambda)}{C_p}, \quad (1)$$

式中 P 为声压, $k_0 = \omega/v_0$, ω 为角频率, v_0 为声波在参考介质或耦合液中的声速, β 为热膨胀系数, C_p 为比热容, μ_a 为吸收系数, ϕ 为光子密度, λ 为入射光源波长, o 为样品中与声速有关的常数。由比尔定律可知,组织的吸收系数随着波长不同而不同,可以表示为

$$\mu_a(\lambda) = \sum_{i=1} \epsilon_i(\lambda) c_i, \quad (2)$$

式中 c_i 为吸收浓度, $\epsilon_i(\lambda)$ 为第 i 个吸收体在波长 λ 处的消光系数。设 $A = \mu_a \phi = \epsilon c \phi$, 所以(1)式可以表示为

$$\nabla^2 P(r, \omega, \lambda) + k_0^2(1 + o)P(r, \omega, \lambda) =$$

$$ik_0 \frac{v_0 \beta A(r, \lambda)}{C_p}. \quad (3)$$

基于(3)式,只用单一波长激发时,对于多个参数而言有多个解存在,可以表示为

$$(\tau)P(r, \omega, \lambda) = \frac{v_0 \beta \sum_{i=1} \epsilon_i(\lambda) c_i \phi(\lambda)}{C_p} = \frac{v_0 \beta \sum_{i=1} A_i(\lambda)}{C_p}. \quad (4)$$

对于多波长而言,要求(4)式适用于全部波长。如果有 n 种吸收体,用 m 个波长激发,只有表达式

$$\begin{bmatrix} A(\lambda_1) \\ \vdots \\ A(\lambda_m) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \epsilon_1(\lambda_1) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_1) \\ \vdots & & \vdots \\ \epsilon_1(\lambda_m) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_m) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_1 \\ \vdots \\ c_n \end{bmatrix} \quad (5)$$

成立时,(4)式才有意义。对(5)式进行变换就得到了吸收体浓度与消光系数 ϵ 和最终吸收 A 之间的关系

$$\begin{bmatrix} c_1 \\ \vdots \\ c_n \end{bmatrix} = \left\{ \begin{bmatrix} \epsilon_1(\lambda_1) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_1) \\ \vdots & & \vdots \\ \epsilon_1(\lambda_m) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_m) \end{bmatrix}^T \begin{bmatrix} \epsilon_1(\lambda_1) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_1) \\ \vdots & & \vdots \\ \epsilon_1(\lambda_m) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_m) \end{bmatrix} \right\}^{-1} \begin{bmatrix} \epsilon_1(\lambda_1) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_1) \\ \vdots & & \vdots \\ \epsilon_1(\lambda_m) & \cdots & \epsilon_n(\lambda_m) \end{bmatrix}^T \begin{bmatrix} A(\lambda_1) \\ \vdots \\ A(\lambda_m) \end{bmatrix}. \quad (6)$$

根据(4)式,样品某一点处吸收 A 与该处光声信号强度 P 的线性相关,用光声信号强度 P 间接地表示光吸收强度 A ,最终结果反映的是各种组分浓度分布情况。

3 结 果

3.1 仿真实验

仿真实验中模拟吸收体形状为环状三等分,且每一等分的吸收特性不同,表1为A,B和C3个部分在波长 λ_1 , λ_2 和 λ_3 处的消光系数;图3为 Matlab 仿真实验结果,其中(a),(b)和(c)为3个不同波长下对仿真体做的光声成像,(d),(e)和(f)为经过算法处理后的A,B和C3种组分的浓度分布图。

表1 模拟吸收体在波长 λ_1 , λ_2 和 λ_3 处的消光系数

Table 1 Extinction coefficient of simulated absorber at

λ_1 , λ_2 and λ_3

	λ_1	λ_2	λ_3
A	0.15	0.225	0.05
B	0.04	0.025	0.001
C	0.02	0.019	0.015

图3中(a)~(c)的最大值强度之比基本等于3个波长下最大消光系数的比值,同时比较图3(b),(c)可以发现物质B和C处的光声强度发生反转,以上两点充分说明PA图像与仿真吸收体的消光系数符合

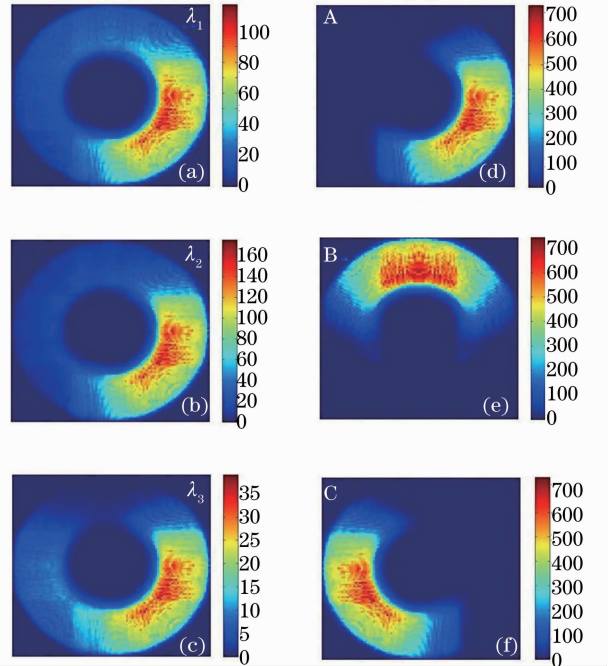


图3 仿真实验。(a),(b)和(c)为模拟吸收体分别在 λ_1 , λ_2 和 λ_3 处的PA图像;(d),(e)和(f)为A,B,C3种组分的浓度分布图

Fig. 3 Computer simulation experiment. (a), (b) and (c) are PA images of simulated absorber at λ_1 , λ_2 and λ_3 ; (d), (e) and (f) are distribution maps of component A, B and C

较好。与此同时可以看到,物质 A 在 3 个波长下相对于物质 B 和 C 而言均表现为强吸收,图 3(a)~(c) 3 幅光声图像相差不大,其中 A 物质的分布情况清晰可见,但 B 和 C 物质的边界难以分辨,而经过算法处理之后的图 3(d)~(f)清楚地反映了 3 种物质的分布,观察 3 图还可以得到结论,3 种物质在各自的区域内含量相等。仿真实验证明了多波长光声断层扫描成像在混合体成分识别上的理论能力。

3.2 生物组织样品实验结果

图 4 为生物组织样品的多波长光声成像,其中图 4(d)为环状肌肉组织包裹着血液固定在透明琼脂中的样品照片;图 4(a),(b)分别是样品在 532 nm 和 1064 nm 脉冲激光激发下的光声成像。实验中样品保持不动,仅改变脉冲激光的波长,并且在后期滤波反投影时保持参数一致,使得图 4(a),(b)两幅 PA 图的像素点一一对应;图 4(c)是对图 4(a),(b)算法处理后得到的浓度分布图。

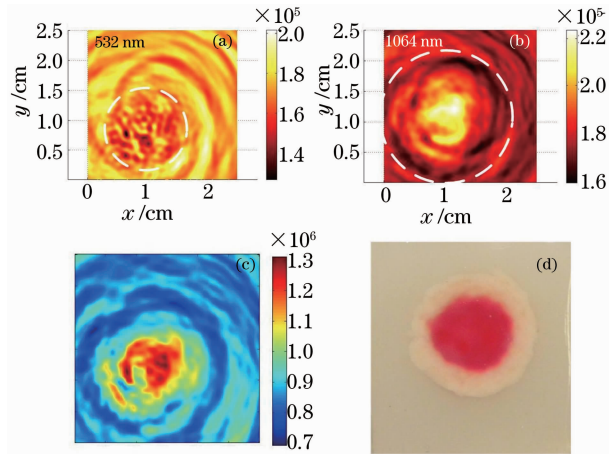


图 4 模拟样品实验。(a),(b)是模拟样品在 532 nm 和 1064 nm 处的 PA 图像,(c)为模拟样品组分分布图,(d)为样品照片

Fig. 4 Phantom experiment. (a),(b) are PA images of phantom at 532 and 1064 nm, (c) distribution map of phantom, (d) photograph of phantom

图 4 用生物组织样品实验进一步验证了多波长光声成像在组分识别上的能力。从图 4(d)中可以看到样品为新鲜的血液被环状的肌肉组织包裹着,相对血液而言肌肉组织隐约可见。参照图 2,图 4(a),(b)反映了这两种生物样品在 532 nm 和 1064 nm 处的吸收差异。在波长 532 nm 处肌肉和血液的吸收差异很大,而在波长 1064 nm 处吸收差异相对较小;比较图 4(a),(b)可以看到,图 4(a)中白色虚线标注区域明显小于图 4(b)中所标注的区域,与图 4(d)中反映的血液区域和样品整体大小相当。但是不论是波长

532 nm 还是 1064 nm 的 PA 图像均不能同时反映出肌肉和血液的分布;然而,将两波长处的 PA 图像用算法处理之后得到的图 4(c)较好地反映了两者的分布。

4 结 论

通过仿真实验和生物组织样品实验结果可以看出,多波长算法处理后的图像较好地反映了混合物各组分的分布,提高了分辨率,更重要的是提供了吸收体浓度分布的信息,这使得多波长光声断层扫描成像技术在癌症诊断,脑功能检测等领域有着很好的应用前景。然而目前的研究处于起步阶段,存在着许多问题有待改进,例如,多波长光声断层扫描成像系统的稳定性、灵敏度,混合生物组织成分的确定及各个生物组织消光系数谱的准确测定等。更多的实验工作将继续开展,来进一步地完善和开发这项新技术。

参 考 文 献

- 1 Christoph G. A. Hoelen, Frits F. M. de Mul. Image reconstruction for photoacoustic scanning of tissue structures [J]. *Appl. Opt.*, 2000, **39**(31): 5872~5883
- 2 Yaguang Zeng, Da Xing, Yiwang Zeng *et al.*. Photoacoustic and ultrasonic co-image with a linear transducer array [J]. *Opt. Lett.*, 2004, **29**(15): 1760~1762
- 3 B. Tromberg, N. Shah, R. Lanning *et al.*. Non-invasive in vivo characterization of breast tumors using photon migration spectroscopy [J]. *Neoplasia*, 2000, **2**(1-2): 26~40
- 4 X. Wang, Y. Pang, G. Ku *et al.*. Non-invasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional imaging of the brain in vivo [J]. *Nature Biotechnology*, 2003, **21**(7): 803~806
- 5 Lu Tao, Li Xiujuan, Mao Huiyong *et al.*. Photoacoustic tomography with wiener filter deconvolution algorithm[J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(7): 1854~1857
- 6 卢涛,李秀娟,毛慧勇等.基于维纳滤波反卷积的光声成像[J]. *光学学报*, 2009, **29**(7): 1854~1857
- 7 Li Lanquan, Wei Huajiang, He Bohua *et al.*. Gastric cancer detection using diffuse reflectance spectral ratio R_{540}/R_{575} of oxygenated hemoglobin bands [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(10): 2860~2865
- 8 李兰权,魏华江,何博华等.采用氧合血红蛋白吸收带的漫反射光谱比率 R_{540}/R_{575} 检测人胃癌[J]. *光学学报*, 2009, **29**(10): 2860~2865
- 9 Gao Hui, Xue Zhixiao, Li Yingxin *et al.*. Experimental study on spectroscopy of atherosclerotic plaque and vessel wall[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2666~2669
- 10 高慧,薛志孝,李迎新等.动脉粥样硬化斑块和血管壁的光谱学实验研究[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2666~2669
- 11 Guangzhi Yin, Da Xing, Sihua Yang. Dynamic monitoring of blood oxygen saturation in vivo using double-ring photoacoustic sensor [J]. *J. Appl. Phys.*, 2009, **106**(1): 013109
- 12 Sihua Yang, Da Xing, Yeqi Lao *et al.*. Noninvasive monitoring of traumatic brain injury and post-traumatic rehabilitation with laser-induced photoacoustic imaging [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2007, **90**(24): 243902

- 10 Yeqi Lao, Da Xing, Sihua Yang *et al.*. Noninvasive photoacoustic imaging of the developing vasculature during early tumor growth [J]. *Phys. Med. Biol.*, 2008, **53** (15): 4203~4212
- 11 Zhou Feifan, Xing Da, Song Sheng *et al.*. Single-walled carbon nanotubes enhance near-infrared region photothermal therapy[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2676~2679
周非凡, 邢 达, 宋 盛等. 单壁碳纳米管增强近红外区激光热疗效果[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2676~2679
- 12 Fang Jie, Fang Zujun, Ding Qiang *et al.*. Long-term efficacy comparison between photodynamic therapy and intravesical chemotherapy in the bladder cancer treatment [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2696~2699
方 杰, 方祖军, 丁 强等. 光动力学疗法与膀胱内灌注化疗治疗膀胱癌远期疗效比较 [J]. *中国激光*, 2009, **36** (10): 2696~2699
- 13 Liu Chengyi, Wang Yanfang, Zhu Jian *et al.*. Mechanism of intranasal low intensity laser therapy [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(11): 2799~2804
刘承宜, 王艳芳, 朱 健等. 鼻腔内低强度激光照射疗法的机理 [J]. *中国激光*, 2009, **36**(11): 2799~2804
- 14 Diwu Yang, Da Xing, Huaimin Gu. Integrative prototype B-scan photoacoustic tomography system based on a novel hydride scanning head [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2006, **88**(17): 174101
- 15 Diwu Yang, Da Xing, Sihua Yang *et al.*. Fast full-view photoacoustic imaging by combined scanning with a linear transducer array [J]. *Opt. Express*, 2007, **15** (23): 15566~15575
- 16 Bangzheng Yin, Da Xing, Yi Wang *et al.*. Fast photoacoustic imaging system based on 320-element linear transducer array [J]. *Phys. Med. Biol.*, 2004, **49**(7): 1339~1346
- 17 Yi Yuan, Sihua Yang, Da Xing. Preclinical photoacoustic imaging endoscope based on acousto-optic coaxial system using ring transducer array [J]. *Opt. Lett.*, 2010, **35** (13): 2266~2268
- 18 Liangzhong Xiang, Da Xing, Huaimin Gu *et al.*. Real-time photoacoustic monitoring of vascular damage during photodynamic therapy treatment of tumor [J]. *J. Biomedical Optics*, 2007, **12**(1): 014001
- 19 Yi Wang, Da Xing, Yaguang Zeng *et al.*. Photoacoustic imaging with deconvolution algorithm [J]. *Phys. Med. Biol.*, 2004, **49**(14): 3117~3124
- 20 Menglin Li, Jung-Taek Oh, Xueyi Xie *et al.*. Simultaneous molecular and hypoxia imaging of brain tumors in vivo using spectroscopic photoacoustic tomography [J]. *Proc. IEEE*, 2008, **96**(3): 481~489
- 21 Andrew C. Tam. Applications of photoacoustic sensing techniques [J]. *Rev. Mod. Phys.*, 1986, **58**(2): 381~431