

激光间质热疗的功能近红外疗效评估

钱爱平¹ 花国然¹ 钱志余² 周家华³ 戴丽娟¹ 吕操君¹ 王晋阳² 王 栋³

(¹ 南通大学机械工程学院, 江苏 南通 226019; ² 南京航空航天大学生物医学工程系, 江苏 南京 210016)

³ 东南大学附属中大医院, 江苏 南京 210009

摘要 探讨了利用功能近红外光谱(FNIRS)实时在体监测激光诱导肿瘤间质热疗(LITT)进行疗效评估的可行性。实验采用新鲜离体猪肝和肝癌小鼠皮下移植瘤模型,按不同激光功率和加热时间进行 LITT 毁损热疗,利用 FNIRS 监测系统同时监测热疗过程中约化散射系数 μ'_s 。结果表明, FNIRS 监测系统获取的约化散射系数在 LITT 热疗过程中呈上升趋势,起始阶段上升较快,达到一定数值后趋于稳定。激光功率越大, μ'_s 上升越快。组织成分不一样时,约化散射系数的变化趋势一致,曲线形态有所不同。因此, FNIRS 可以用于 LITT 实时在体疗效评估, μ'_s 可以作为一种新的 LITT 术中实时在体疗效评估因子,通过监测 μ'_s 的变化将有助于指导临床热疗。

关键词 激光生物学;激光热疗;功能近红外光谱;约化散射系数;疗效评估

中图分类号 Q631;R730.57 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201138.0104003

Therapy Effect Assessment by Functional Near Infrared Spectroscopy During Laser Induced Interstitial Thermotherapy

Qian Aiping¹ Hua Guoran¹ Qian Zhiyu² Zhou Jiahua³ Dai Lijuan¹
Lü Caojun¹ Wang Jinyang² Wang Dong³

¹ School of Mechanical Engineering, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226019, China

² Department of Biomedical Engineering, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing, Jiangsu 210016, China

³ Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China

Abstract To investigate the feasibility of in vivo effect assessment monitoring by functional near infrared spectroscopy (FNIRS) during laser induced interstitial thermotherapy (LITT) in real time, the reduced scattering coefficient during LITT therapy by different laser powers and heating time on Fresh pork liver in vitro and the subcutaneous implanted rat liver cancers by FNIRS system are recorded in vivo. The reduced scattering coefficient (μ'_s) which gets through the FNIRS increases during LITT, it increases quickly at beginning, and gradually reaches the stable state. μ'_s rises faster when the laser power is greater. There is the same changing trends of μ'_s of different tissues, but there is difference between the curve shapes. The system of FNIRS can be used to assess the therapy effect during laser induced interstitial thermotherapy in vivo, and μ'_s can be used as a new effect assessment factor. By monitoring the changes of μ'_s can effectively guide clinical therapy.

Key words laser biology; laser thermotherapy; functional near infrared spectroscopy; reduced scattering coefficient; therapy effect assessment

OCIS codes 170.1610; 170.6510; 170.1420

收稿日期: 2010-02-10; 收到修改稿日期: 2010-05-26

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK2008184)、南通市自然科学基金(K2009044)和南通大学自然科学基金(08Z019, 09R06)资助课题。

作者简介: 钱爱平(1972—),女,硕士研究生,主要从事激光技术及其应用等方面的研究。E-mail: aiping0918@126.com

导师简介: 花国然(1964—),男,博士,教授,主要从事激光技术及其应用等方面的研究。E-mail: huagr@ntu.edu.cn (通信联系人)

1 引 言

激光诱导间质热疗方法最早由 Bown^[1]于 1983 年提出,是一种可使局部生物组织凝固坏死的肿瘤治疗技术,其基本原理是将激光加热头导入需凝固的组织或肿瘤内,激光能量以光子的形式在生物组织中发散,生物组织通过吸收光子能量将光能转换为热能,组织吸收热量温度不断升高,当组织温度达到一定温度后发生酶失活及蛋白变性,从而导致组织细胞凝固和坏死,达到治疗目的^[2]。与传统外科手术相比,激光诱导肿瘤间质热疗(LITT)属于微创方法,很少发生大量的出血现象,安全性高;与放疗、化疗相比,LITT 仅仅只起到加热作用,不会对人体产生毒副作用。因此 LITT 被广泛用于临床治疗视网膜、脑、前列腺、肝脏和子宫等各部位的肿瘤^[2]。

目前,对 LITT 的理论研究已比较完善,也发展了开放式磁共振和超声等方法来进行 LITT 的术中温度监控,但 LITT 术中实时在体疗效评估仍然是 LITT 技术发展中的一个难题。本文利用功能近红外光谱(FNIRS)系统对离体猪肝和 H22 肝癌小鼠皮下移植瘤模型进行 LITT 的实时监测,初步探讨了 FNIRS 方法应用于 LITT 术中实时在体疗效评估的可行性。

2 实 验

2.1 实验设备

图 1 是 LITT 过程中 FNIRS 实时在体监测实验原理示意图,实验系统由 LITT 系统与 FNIRS 监测系统组成。LITT 系统主要包括:治疗激光器(808 nm,NL-FC-2.0-763 Laser Light,上海恩耐激光厂);Y 型光纤(内置 3 根直径 200 μm 的光纤,分别用于治疗激光输入、近红外(NIR)光输入和反射光输出);探针式温度计(WSY-4T,直径 300 μm)。FNIRS 监测系统主要包括:USB2000 光谱仪(Ocean Optics)和卤素光源(Mikropack,HL-2000)

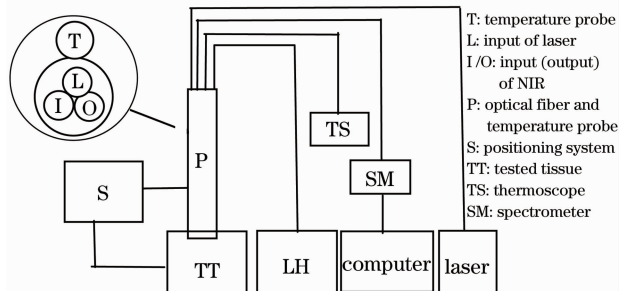


图 1 实验系统原理图

Fig. 1 Illustrative diagram of experiment system

及监测软件。实验中针式温度探针独立测温,不包含在图 1 的组合探头中,激光加热探头有效加热长度为 2 mm,测温探针与光纤探头紧靠一起插入组织。

有关约化散射系数测量的方法,在过去 20 年内许多课题组利用辐射传播理论都推导出了理论表达式^[3-5]。微创探头出射与接收的间隔距离 $r = 0.2 \text{ mm}$,且探测对象生物组织在一般情况下的约化散射系数小于 50 cm^{-1} ,钱志余^[6]经研究得到反射系数的近似表达式为

$$R(\lambda, \mu'_s, \mu_a, r_d, r_c) = \frac{\psi(I_0)\mu_{sa}^2}{4\pi} \exp(-z_0\mu_{\text{eff}}), \quad (1)$$

式中 r_d, r_c 分别为入射光纤和检测光纤的半径, $\mu_{\text{eff}} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$, $z_0 = 1/(\mu_a + \mu'_s)$, μ_a 是组织的吸收系数, μ'_s 是组织的约化散射系数, $\psi(I_0)$ 是和组织的光学性质及其探头的大小相关的空间积分项。(1) 式表明反射系数与约化散射系数之间存在某种联系,利用悬乳液和模拟胶实验,同时结合近红外区域 μ'_s 与波长的线性关系^[7],可以得到约化散射系数的经验公式为^[8]

$$\mu'_{sa} = -0.02065R\lambda + 88.55R - 0.00171\lambda + 3.1159. \quad (2)$$

系统反射系数定义为

$$R = (I_{\text{signal}} - I_{\text{dark}})/(I_{\text{reference}} - I_{\text{dark}}), \quad (3)$$

式中 I_{dark} 为实验环境本底噪声信号强度; I_{signal} 为生物组织内散射回来信号强度; $I_{\text{reference}}$ 为用于参考的标准白质信号强度,所有实验均使用同一个参考白质。具体定标(特定的实验探头需要精确定标)采用 20% Intralipid,通过调节光纤光谱仪积分时间,确保测试结果和标准定标液的 μ'_s 相同,Intralipid 约化散射系数(波长 690 nm, 830 nm)由 OXImeter (96208, ISS Champaign, IL) 测定,默认的约化散射系数是波长为 690 nm 的结果。

2.2 实验材料与方法

2.2.1 离体实验

离体实验材料为新鲜离体猪肝若干。将猪肝平放于立体定位支架的固定台上,垂直插入探头和测温针至猪肝表面下 1 cm 左右,然后将其固定。打开激光器开关,预热 15 min。激光功率和毁损时间如表 1 所示,其中激光功率 4 个水平,毁损时间 3 个水平,共 12 种组合,每种组合 5 个实验标本,实验结果取 5 次实验结果的平均值作为该点测试数据。根据表 1 的技术参数进行实验,为保证测量结果准确,在一次激光热疗结束后,改变位置进行下一次热疗。

表 1 离体猪肝 LITT 实验分组方法(功率为光纤输出功率)

Table 1 Grouping for pork liver LITT experiment (Power; output power from fiber cable)

Power /W	0.76			0.95			1.23			1.42		
Time /s	450	600	750	450	600	750	450	600	750	450	600	750

2.2.2 在体实验

在体实验材料为 H22 小鼠皮下移植瘤模型 12 只。小鼠皮下移植瘤模型的建立方法:小鼠肝癌细胞株 H22 体外常规传代培养,离心后用 PBS 重悬成浓度达 10^7 /mL 的单细胞悬液,然后用体积分数为 75% 的乙醇棉球消毒小鼠皮肤,将 $(2 \sim 3) \times 10^6$ (0.2 mL) 的单细胞悬液接种于小鼠右腋窝皮下,接种 3 周左右待皮下移植瘤长至直径约 1.5 cm 大小时,进行 LITT。

小鼠皮下移植瘤 LITT 实验前 24 h 内对小鼠麻醉后进行上腹部核磁扫描(T2)(7.0 T 小动物核

磁共振,东南大学医学院);实验中,将小鼠麻醉后固定于立体定位支架上,暴露皮下移植瘤,探头插入肿瘤内部(保证有效加热头全部插入),然后将其固定。表 2 为小鼠皮下移植瘤模型在体实验激光功率和毁损时间分组方法。按表 2 所示时间及小鼠数量进行分组实验,采用小功率长时间方法,每个肿瘤选择 4 个治疗部位,取 4 次测量结果平均值作为该组合下的实验测试数据。实验结束 24 h 内再对小鼠麻醉后行上腹部核磁扫描,扫描后立即处死小鼠取出肝脏肿瘤标本,进行组织病理学检查,观察治疗效果。

表 2 小鼠肿瘤模型 LITT 实验分组方法

Table 2 Rat groups in LITT experiment

Power /W	1.23(2)		1.42(2)		1.88(4)		2.10(4)	
Time /s	600(1)	800(1)	600(1)	800(1)	600(2)	800(2)	600(2)	800(2)

3 实验结果

3.1 离体实验结果

图 2 是照射时间 750 s 范围内,不同激光功率作用下约化散射系数 μ'_s 随时间的变化规律。从图中可以看出: μ'_s 初始值约 6 cm^{-1} ,不同激光功率下 μ'_s 变化趋势均呈上升趋势,但曲线形态不同,功率越大, μ'_s 上升越快。从 1.42 W 对应的 μ'_s 曲线看, μ'_s 先快速上升,在约 200 s 时上升到约 17 cm^{-1} 后,其变化趋于平稳。图 3 为 0.76 W 激光照射下测得的 μ'_s 平均值与误差曲线,每个测量点 5 次测量值的绝对误差均小于 1,相对误差在 4%~8% 之间,表明测量结果具有较好的重复性,其他实验组的分析结果与此类似,这里不再一一罗列。

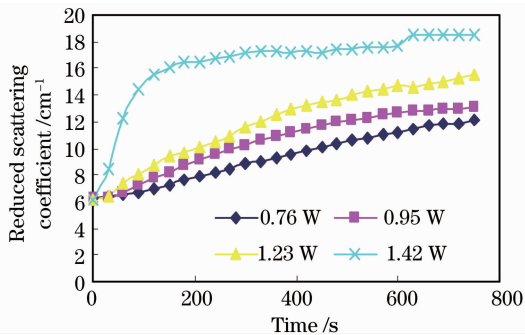


图 2 离体实验时 μ'_s 随时间的变化曲线
Fig.2 Profile of μ'_s versus time in vitro

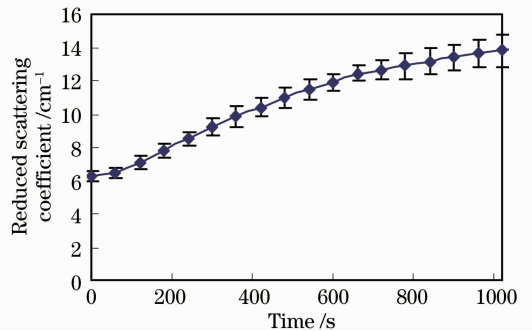


图 3 0.76 W 下 μ'_s 测量误差曲线

Fig.3 Measurement error profile of μ'_s in 0.76 W

图 4 描述的是激光功率 1.42 W,照射时间 600 s 时,约化散射系数 μ'_s 和探针式测温计测得的温度 T 随时间变化的趋势对比。左侧 y 轴与 x 轴表

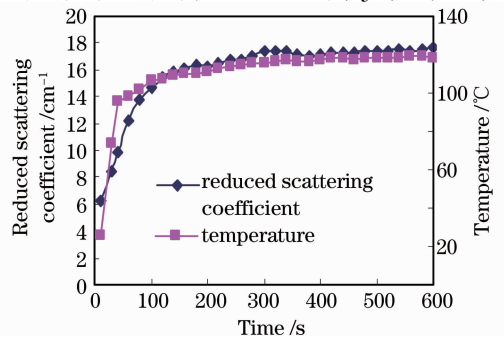


图 4 μ'_s 与温度随时间变化曲线(1.42 W)
Fig.4 Profile of μ'_s and temperature versus time(1.42 W)

示的是约化散射系数随时间变化的趋势,右侧 y 轴与 x 轴表示的是温度随时间变化的趋势,从图中可以看出两条曲线变化趋势比较吻合。

3.2 在体实验结果

图 5 为在照射时间 600 s 内,不同激光功率下 μ'_s 随时间的变化曲线。从图中可以看出,小鼠在体实验 μ'_s 变化规律与离体猪肝相类似,均呈上升趋势。其不同的是, μ'_s 的初始值和上升速度不同,这是因为肿瘤与离体猪肝的组织参数不一样。图 6 是激光功率 1.23 W,照射时间 600 s 时 μ'_s 与温度随时间变化趋势对比。从图中发现,在开始加热阶段,温度上升比较快,而 μ'_s 维持在稳定状态,100 s 后, μ'_s 开

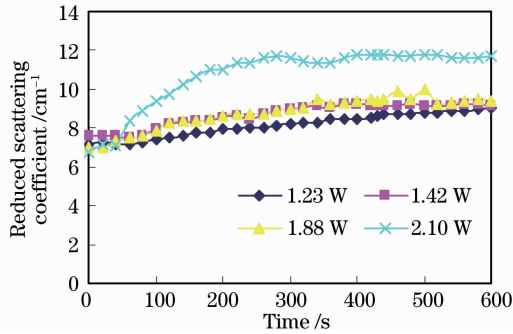


图 5 在体实验时 μ'_s 随时间的变化曲线
Fig. 5 Profile of μ'_s versus time in vivo

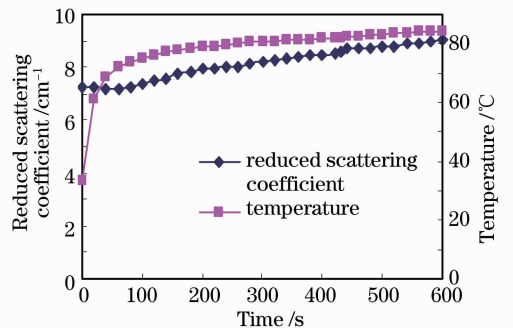
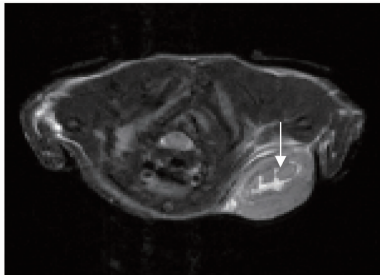


图 6 μ'_s 与温度随时间的变化曲线(1.23 W)
Fig. 6 Profile of μ'_s and temperature versus time (1.23 W)

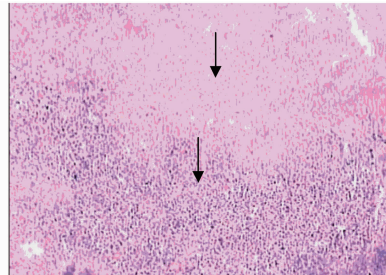
始缓慢上升,其上升趋势与温度上升趋势基本类似。

3.3 MRI 与组织切片

实验中对 LITT 毁损肿瘤进行了磁共振成像(MRI)扫描(T2 像)和组织病理切片检查。图 7(a)为毁损部位的 MRI 图,激光毁损部位和毁损区域在图中清晰可辨,见图 7(a)中箭头所指白色区域。图 7(b)为毁损部位的病理切片图,图上显示的毁损边缘比较清晰,毁损组织(图 7(b)中上方箭头所指区域)与没有毁损的组织(图 7(b)中下方箭头所指区域)差别非常明显。MRI 和病理切片检查同时证明了 LITT 实验的有效性。



(a) MRI



(b) pathological examination result

图 7 MRI 与病理检查结果

Fig. 7 MRI and pathological examination results

4 讨 论

现有研究表明,生物组织在热作用下散射系数会产生较大的变化,一般为凝固前的 2~4 倍,吸收系数仅有微小的变化^[2,9~11],各向异性因子近似为常数^[9]。虽然也有人得出吸收系数明显变大的结论^[12,13],但这种变化相对于散射系数而言要小得多^[10,11],不同生物组织在组分上的差异,导致了不同生物组织在热凝固前后的组织光学特性具有不同的改变^[14~16]。

通过离体猪肝和小鼠在体肝肿瘤模型的 LITT

实验,发现肝正常组织和肿瘤组织的约化散射系数 μ'_s 在加热后均呈上升趋势,在最初时间内,上升较快,当到达某一数值后则保持稳定状态。激光功率越大, μ'_s 上升越快,达到稳定状态的时间越短,不同功率下达到稳定状态的终值有一定区别,功率越大,终值越大。功率越大,相应的组织温度越高,实验结果与文献^[9]相吻合。实验还表明,一定功率的激光热疗作用下,温度随时间的变化趋势与约化散射系数随时间的变化趋势相似,离体肝组织与肝移植瘤因为组织结构不同,组织参数相异,在变化速度上有所区别。

5 结 论

实验利用 FNIRS 监测系统,实时了监测新鲜离体猪肝和小鼠皮下移植肝癌肿瘤模型,在 LITT 过程中温度和约化散射系数的变化,着重分析了 μ'_s 的变化规律。实验结果表明, FNIRS 监测系统获取的约化散射系数在 LITT 起始阶段,上升比较快,达到一定数值后趋于平稳。不同激光功率作用下,约化散射系数的变化趋势相同,功率越大,上升越快。组织成分不同时,约化散射系数的变化趋势一致,曲线形态则有所不同。因此, μ'_s 可以作为一种新的 LITT 术中实时在体疗效评估因子,通过监测 μ'_s 的变化将有助于指导临床热疗。

参 考 文 献

- 1 S. G. Bown. Phototherapy of tumors [J]. *World J. Surg.*, 1983, **7**(6): 700~709
- 2 M. H. Niemz. Laser-Tissue Interactions (Principles and Application) [M]. Zhang Zhenxi Transl.. Xi'an: Press of Xi'an Jiaotong University, 1999. 45~67
M. H. Niemz. 激光与生物组织的相互作用原理及应用[M]. 张镇西译. 西安:西安交通大学出版社, 1999. 45~67
- 3 J. M. Schmitt, G. X. Zhou, E. C. Walker *et al.*. Multilayer model of photon diffusion in skin [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1990, **7**(11): 2141~2153
- 4 T. J. Farrell, M. S. Patterson, B. Wilson. A diffusion theory model of spatially resolved steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties[J]. *In vivo Med. Phys.*, 1992, **19**(4): 879~888
- 5 M. Johns, C. Giller, H. Liu. Determination of hemoglobin oxygen saturation from turbid media using reflectance spectroscopy with small source-detector separations[J]. *Appl. Spec.*, 2001, **55**(12): 1686~1694
- 6 Qian Zhiyu. Study of Near Infrared Guidance Technique for 3D Targeted Localization in Neuro-surgery for Parkinson's Disease [D]. Nanjing: Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, 2003. 50~61
钱志余. 近红外图像导航技术在帕金森氏病立体定向手术中的研究[D]. 南京:南京航空航天大学, 2003. 50~61
- 7 S. J. Matcher, M. Cope, D. T. Delpy. In vivo measurements of the wavelength dependence of tissue scattering coefficients between 760 and 900 nm measured with time-resolved spectroscopy [J]. *Appl. Opt.*, 1997, **36**(1): 386~396
- 8 Qian Zhiyu, Chen Renwen, Gu Yueqing *et al.*. In vivo determination of tissue optical properties: reduced scattering coefficient(μ'_s) [J]. *J. Nanjing University of Aeronautics & Astronautics*, 2004, **36**(3): 369~372
钱志余, 陈仁文, 顾月清等. 生物组织光学参数:约化散射系数(μ'_s)的实时在位测定[J]. 南京航空航天大学学报, 2004, **36**(3): 369~372
- 9 Zhu Dan, Luo Qingming, Yu Jiangsheng *et al.*. Progress in laser-induced interstitial thermotherapy search [J]. *Physics*, 2000, **29**(4): 228~241
朱 丹, 骆清铭, 余江胜等. 激光热疗中生物组织的光热描述及研究进展[J]. 物理, 2000, **29**(4): 228~241
- 10 Zhu Dan, Luo Qingming, Zeng Shaoqun *et al.*. Study on kinetics of thermally induced damage of rat liver with light scattering technique [J]. *Chinese J. Lasers*, 2002, **A29**(7): 667~672
朱 丹, 骆清铭, 曾绍群等. 大鼠肝脏热损伤的光散射研究[J]. 中国激光, 2002, **A29**(7): 667~672
- 11 Zhu Dan, Luo Qingming, Zhang Ting *et al.*. Optical monitoring on thermally induced changes in tissue [J]. *Optics & Optoelectronic Technology*, 2003, **1**(4): 51~54
朱 丹, 骆清铭, 张 婷等. 热作用过程中生物组织特性变化的光学监测[J]. 光学与光电技术, 2003, **1**(4): 51~54
- 12 Wei Huajiang, Xing Da, He Bohua *et al.*. Canceration and thermal coagulation of human liver induced changes in the absorption and scattering properties of liver-tissue at near infrared in vitro[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2007, **27**(5): 868~872
魏华江, 邢 达, 何博华等. 近红外光谱范围人肝癌变和热凝固导致组织吸收和散射特性的变化[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, **27**(5): 868~872
- 13 Wei Huajiang, Xing Dan, Wu Guoyong *et al.*. Pathological changes and thermal coagulation of human liver tissue induced changes in the optical properties of liver tissue at KTP/YAG laser in vitro[J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **33**(6): 852~856
魏华江, 邢 达, 巫国勇等. 人肝组织病变及热凝固导致组织光学特性的变化[J]. 中国激光, 2006, **33**(6): 852~856
- 14 Wei Huajiang, Guo Zhouyi, Xie Shusen *et al.*. Pathological changes of human bladder mucosa/submucosa tissues induced changes in diffuse reflection spectra of tissues in vitro[J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(5): 943~948
魏华江, 郭周义, 谢树森等. 人膀胱粘膜/粘膜下层组织病变致组织漫反射光谱的变化[J]. 光学学报, 2008, **28**(5): 943~948
- 15 Zhu Dan, Luo Qingming, Zeng Shaoqun *et al.*. Change in the optical properties of slowly heated human whole blood and albumen[J]. *Acta Optica Sinica*, 2002, **22**(3): 369~373
朱 丹, 骆清铭, 曾绍群等. 热作用下蛋白及全血光学特性变化的实验研究[J]. 光学学报, 2002, **22**(3): 369~373
- 16 Ao Huilan, Xing Da, Wei Huajiang *et al.*. Changes in optical properties of in vitro myocardium tissue due to heating in the visible and near-infrared range [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(5): 792~797
敖荟兰, 邢 达, 魏华江等. 热作用致心肌组织在可见与近红外范围内的光学特性变化[J]. 中国激光, 2008, **35**(5): 792~797