

基于各向异性光吸收的线偏振光声成像

石玉娇*, 张振辉

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

摘要 为解决传统的光声成像技术通常将组织的吸收系数假定为无方向性的标量常数而忽略组织各向异性光吸收特性的问题, 利用两束电矢量方向相互垂直的线偏振光作为光声成像的激发源, 提出一种基于各向异性光吸收的线偏振光声成像技术; 搭建线偏振光光声显微成像系统, 并选取具有各向异性光吸收差异的材料作为样品, 对所提技术的可行性进行实验验证; 进一步对生物样品进行成像, 演示所提技术对各向异性光吸收生物样本的成像能力。结果表明, 所提技术易植入传统的光声显微成像系统中, 拓展了传统光声成像的信息提取范围。

关键词 生物光学; 光声成像; 线偏振光; 各向异性; 吸收差异

中图分类号 O436

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201946.0807001

Linearly Polarized Photoacoustic Imaging Based on Anisotropic Optical Absorption

Shi Yujiao*, Zhang Zhenhui

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 In conventional photoacoustic (PA) imaging, the tissue absorption coefficient is usually considered to be a non-directional scalar constant, and its anisotropic optical absorption characteristics are ignored. Herein, we propose an anisotropic PA microscopy (A-PAM) technique that uses two linearly polarized light beams perpendicular to each other as the excitation source for PA imaging. Subsequently, we develop the A-PAM imaging system and verify the feasibility of the proposed method using phantoms that exhibit different forms of anisotropic optical absorption. Furthermore, we demonstrate the imaging ability of this method using biological samples that exhibit anisotropic absorption. Results show that the proposed method can be easily implanted into the conventional PAM imaging system, expanding the range of information extracted using conventional PA imaging.

Key words biotechnology; photoacoustic imaging; linearly polarized light; anisotropy; absorption difference

OCIS codes 170.5120; 260.5430; 300.1030

1 引言

光声成像技术结合了纯光学成像的高选性和纯超声成像的深穿透性, 在生物医学影像领域和材料、气体成分探测等领域具有广阔的应用前景^[1-8]。当脉冲激光照射到生物组织上某一区域时, 这一区域就会因吸收激光能量而产生微小温升及瞬间热膨胀, 从而产生超声波, 即光声信号。光声信号被超声换能器接收后, 通过算法可以重建出组织内部光吸

收差异的分布图像。生物组织的成分具有特异性光吸收谱线, 且组分的差异与病理特性密切相关。得益于光声成像的光学激发优势, 人们可以通过选择激发光的波长来实现目标组分的检测与成像^[9]。光声成像从原理上避开了光散射的影响, 成像深度可达厘米量级, 能够对深层组织实现高分辨率和高对比度的结构及功能成像^[10-14]。

传统的光声成像技术将组织的吸收系数假定为无方向性的标量常数, 忽略了组织对激光各向异性

收稿日期: 2019-03-29; 修回日期: 2019-04-17; 录用日期: 2019-04-22

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(61805085)、2017 年度博士后创新人才支持计划(BX201700084)、中国博士后面上项目(2018M630961)、广东省自然科学基金博士科研启动项目(2018A030310519)、广东省普通高校青年创新人才项目

* E-mail: shiyuj@senu.edu.cn

矢量吸收的特性。已有研究表明,生物体内存在多种因分子排列呈现有序性^[15]而使其光学吸收呈现特异性二向色性的组织^[15-17],即该组织的光吸收系数不再是标量常数,而是具有各向异性的矢量。近年来,利用偏振光特性激发各向异性吸收进行光声成像的研究^[18-19]表明,发展偏振光光声显微成像将使光声成像有能力对具有一定各向异性矢量吸收的物体进行分子排列有序性特异性成像。本文通过将传统光声成像中的普通单色激光光源更换为电矢量方向不同的线偏振单色激光,提出了一种高分辨率、高灵敏性、高对比度并能反映样品分子排列有序性的偏振光光声显微成像技术,并建立偏振光光声成像理论模型,搭建了偏振光光声显微成像系统。本

文提出的光声显微成像技术弥补了传统光声成像技术中成像对比参数单一的缺陷,丰富和拓展了传统光声成像对特异性信息的提取能力。

2 基本原理

传统的光声成像不考虑吸收分子的光吸收系数矢量性,即认为吸收系数在任意入射光电矢量方向上都为常数,如图 1(a)所示,其中 μ_{\parallel} 、 μ_{\perp} 分别为平行、垂直分子链方向上的吸收系数, μ_0 为总吸收系数。对于有序性分子链而言,光吸收系数有一定的取向性[图 1(b)],从而吸收系数变为矢量 μ_{θ} ,代表着物质的吸收系数 μ_{θ} 与入射光电矢量的方向有关,即吸收系数不仅有大小差异,还有方向差异。

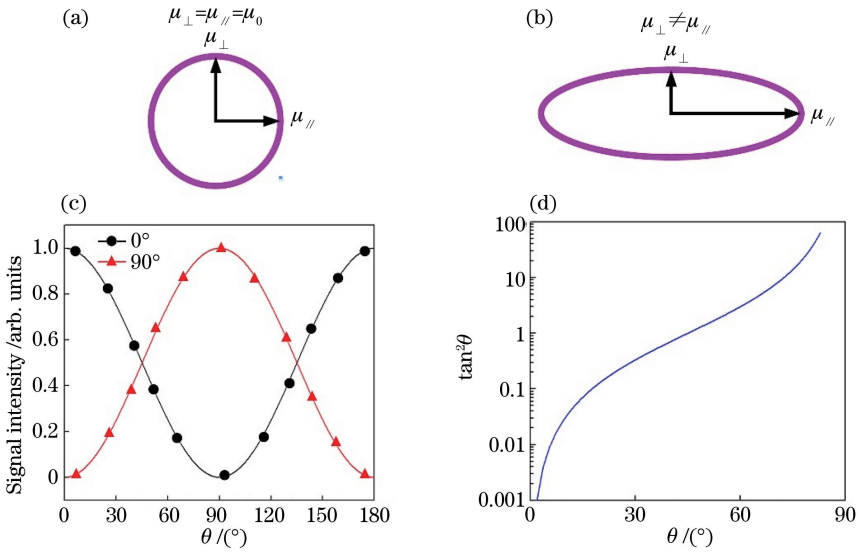


图 1 各向同性与各向异性吸收原理。(a)传统光声成像中各向同性吸收体的吸收系数;(b)考虑实际各向异性的吸收体的吸收系数矢量分布;(c)两束电矢量相差 90° 的 0° 、 90° 线偏振光产生的光声信号随角度 θ 的变化;(d)分子排列有序性的特异性参数 $\zeta = \tan^2 \theta$ 随角度 θ 的变化

Fig. 1 Isotropic and anisotropic absorption principles. (a) Absorption coefficient of isotropic absorber in traditional photoacoustic imaging; (b) vector distribution of absorption coefficient of actual anisotropic absorber; (c) variations of photoacoustic signals produced by two linearly polarized beams with 90° (0° , 90°) difference between electric vectors with angle θ ; (d) specific parameter $\zeta = \tan^2 \theta$ of molecular ordering varies with angle θ

在圆偏振光激发的情况下,有序分子吸收系数的矢量性无法表现,而在线偏振光激发的情况下,当线偏振光的电矢量方向与有序性分子链之间的夹角变化时,分子对光的吸收会有明显变化。当 0° 线偏振光的电矢量(即偏振面)方向与分子链方向的夹角为 θ 时,能够有效激发分子链吸收的光强,光强可表示为

$$I = I_0 \cos^2 \theta, \quad (1)$$

此时,被有序性分子链吸收的光通量为

$$Q_{ab,p} = I_p \mu_{\theta} = I_0 \mu_{\theta} \cos^2 \theta, \quad (2)$$

式中: I_0 为线偏振光的入射光通量; $Q_{ab,p}$ 为平行分子链方向的吸收光通量。 I_p 为线偏振光沿平行分子链方向入射的光通量; μ_{θ} 为吸收系数的大小。如果以两束电矢量相互垂直的线偏振光作为激发源,那么与 0° 线偏振光的电矢量垂直的 90° 线偏振光被有序性分子链吸收的光通量为

$$Q_{ab,s} = I_s \mu_{\theta} = I_0 \mu_{\theta} \cos^2 \left(\frac{\pi}{2} - \theta \right), \quad (3)$$

式中: $Q_{ab,s}$ 为垂直分子链方向的吸收光通量; I_s 为线偏振光垂直分子链方向入射的光通量。当有序性分子链吸收 0° 线偏振光和 90° 线偏振光后,分子链发

生热膨胀,产生光声信号,则 0° 线偏振光和 90° 线偏振光激发得到的光声信号的幅值分别为

$$P_0 = \Gamma\eta I_0 \mu_\theta \cos^2 \theta, \quad (4)$$

$$P_{90} = \Gamma\eta I_0 \mu_\theta \cos^2 \left(\frac{\pi}{2} - \theta \right), \quad (5)$$

式中: Γ 为格林艾森系数; η 为光热转化效率; P_0 为平行于分子链方向上的光声信号的幅值; P_{90} 为垂直于分子链方向上的光声信号幅值。利用(4)式与(5)式相除,可以得到反映分子链有序性方向角度 θ 的特异性参数 ζ , 即

$$\zeta = \tan^2 \theta. \quad (6)$$

从而,可利用偏振光光声成像的方法实现分子结构有序性的特异性成像。

为了进一步说明具有分子排列有序性的生物组织的偏振光光声成像的特异性,对偏振光光声成像的物理模型进行仿真,结果如图 1(c) 所示。从图 1(c) 中可以看出,线偏振光激发产生的光声信号幅值随着 0° 和 90° 偏振光电矢量方向与有序性分子链之间的夹角 θ 的变化而变化,数学关系满足(4)式和(5)式。图 1(d) 所示为生物组织分子排列有序性特异性参数 ζ 随偏振光电矢量方向与有序性分子链之间夹角 θ 的变化关系。从图 1(d) 中可以看出,参数 ζ 能在一定程度上反映组织的各向异性吸收的异性。

3 成像系统及实验结果

本文搭建的偏振光光声显微成像系统如

图 2(a) 所示。激发光源为脉冲方波激光器 (Model DTL-314QT 型, Pulsed Q-switched), 波长为 532 nm, 重复频率为 1 ~ 10 kHz, 实验时选择 2.5 kHz。出射的激光首先经过偏振片 P1, 然后经过光路变换系统进行扩束和准直, 通过分光镜 (BS) 分出一束光照射到光电探测器 (PD) 上, 用于检测激光功率, 另一束光经过一个 $1/4$ 波片 (QWP) 转换为圆偏振光, 激光经振镜扫描系统 (GS) 反射后, 再经偏振片 P2 将圆偏振光转换为线偏振光。这样, 在转动最后一个偏振片时, 可以基本保证入射到样品上的不同偏振角度的激光功率一致, 从而排除了由激光功率差异引起的光声信号的差异。最后经物镜 (OB) 聚焦到样品上, 保持 P2 角度不变, 利用电机或振镜扫描进行逐点光声显微成像, 得到一幅线偏振光光声成像图, 再次改变 P2 的角度, 就可以得到不同电矢量方向偏振光激发产生的光声成像图。以此反复, 可以得到多幅不同电矢量线偏振光激发产生的光声成像图。本文中物镜的数值孔径为 0.1。激光激发的光声信号由超声换能器 (UT) 接收, 再经放大器 (LNA-650 型, RF BAY 公司) 放大后传输给采集卡 (M3i.4110 型), 整个成像系统由计算机上的 LabVIEW 程序控制。超声换能器定制的中空聚焦探头如图 2(a) 中插图所示, 主频为 10 MHz, 带宽为 80%。图 2(b) 所示为利用刀锋法测量得到的系统分辨率, 其中 X 为水平位移。由图 2(b) 可知, 系统的横向成像分辨率约为 $2.93 \mu\text{m}$ 。

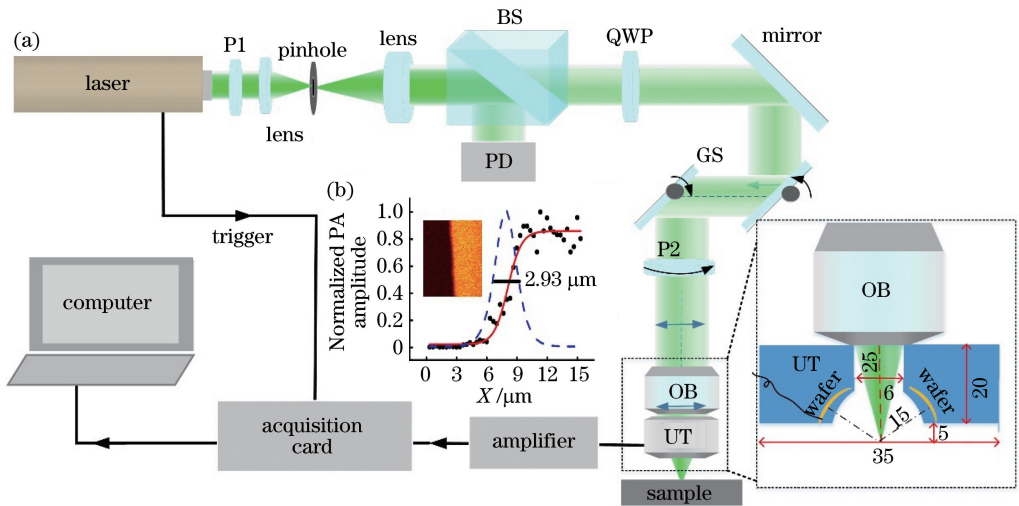


图 2 实验装置^[18]。(a) 实验装置图; (b) 系统分辨率表征图

Fig. 2 Experimental device^[18]. (a) Diagram of experimental device; (b) characterization of system resolution

为了验证本文所提方法的可行性, 对各向异性吸收材料样品进行成像。实验样品选择具有各向异

性吸收的偏光片^[20], 其主要成分为聚乙烯醇 (PVA), 主要由高透光和高延展性的碳、氢等轻原

子组成,其本身是无规则排布的,没有各向异性,但经染色后会吸附具有二向色性吸收特性的碘分子,在一定温度下拉伸后会使得 PVA 中的分子沿受力方向排布,即拉伸后 PVA 中的分子沿受力方向呈直

线排列,吸收在上面的碘分子也会沿直线排布,形成碘分子长链,图 3(c)所示为碘分子长链分布示意图。因为规则排列的碘分子有很好的二向色性,所以 PVA 层有很好的二向色性吸收特性。本文首先

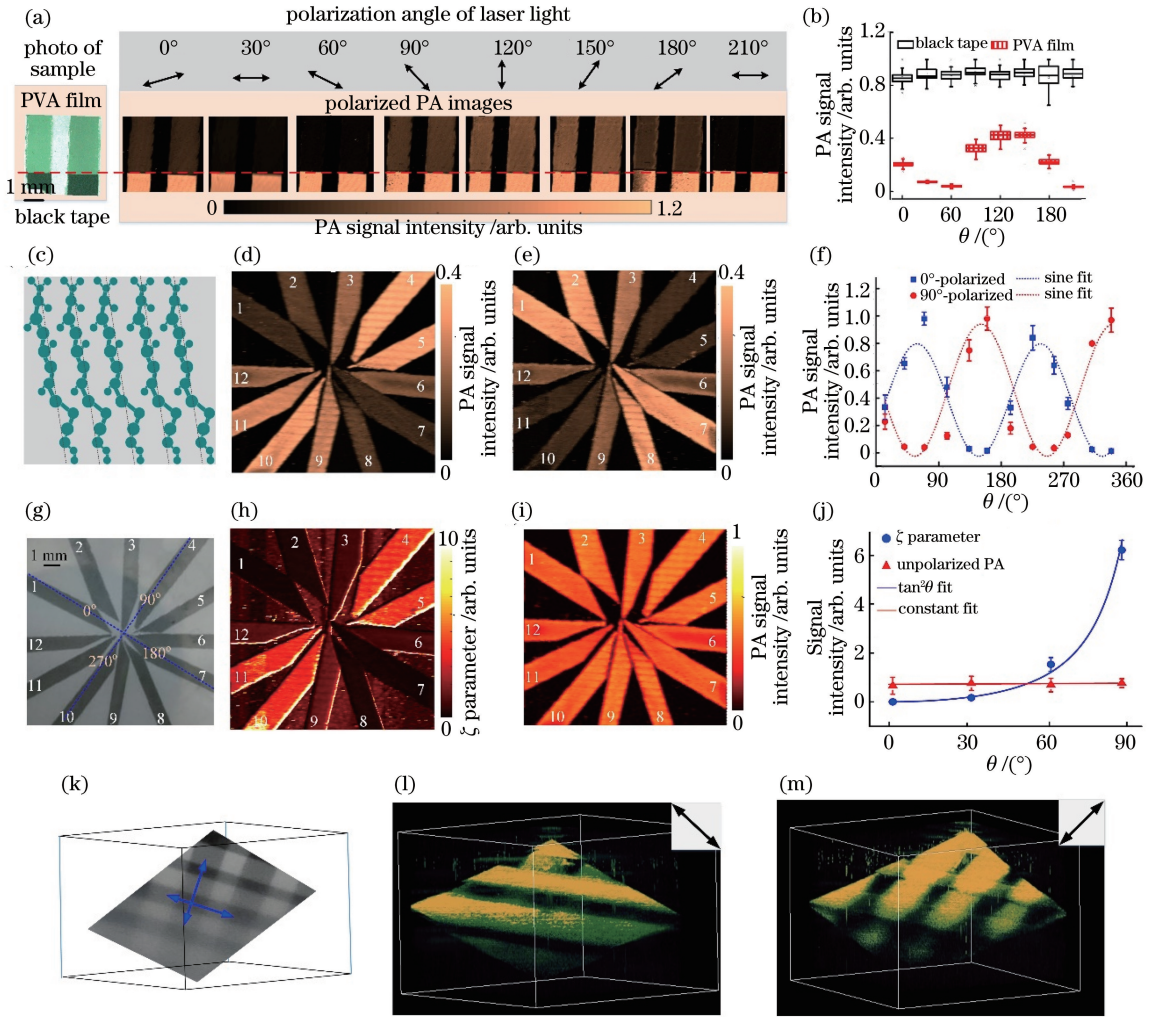


图 3 偏振光声成像方法验证。(a)不同电矢量方向线偏振光激发的光声成像结果;(b)图 3(a)中样品的光声信号统计值(平均值)随角度 θ 的变化;(c) PVA 材料分子链取向结构示意图;(d) 0° 线偏振光激发的光声成像图;(e) 90° 线偏振光激发的光声成像图;(f)图 3(d)、(e)中样品的光声信号统计值(平均值)随角度 θ 的变化;(g)第 2 组实验[图 3(d)、(e)、(h)、(i)]的样品照片;(h)参数 ζ 的成像;(i)传统的光声成像;(j)图 3(h)、(i)中样品的数据统计值(平均值)随角度 θ 的变化;(k)第 3 组实验[图 3(l)、(m)]的样品照片;(l) 0° 线偏振光激发所得三维光声成像结果;(m) 90° 线偏振光激发所得三维光声成像结果

Fig. 3 Verification of polarized photoacoustic imaging method. (a) Photoacoustic imaging results excited in different electric vector directions; (b) statistical values of photoacoustic signals of sample in figure 3(a) vary with angle θ ; (c) diagram of molecular chain orientation structure of PVA material; (d) photoacoustic imaging result induced by linearly polarized light with 0° ; (e) photoacoustic imaging result induced by linearly polarized light with 90° ; (f) statistical values of photoacoustic signals of sample in figures 3(d) and 3(e) vary with angle θ ; (g) sample photographs of the second group of experiments [figures of 3(d), 3(e), 3(h), and 3(i)]; (h) imaging with parameter ζ ; (i) traditional photoacoustic imaging; (j) statistical values of sample in figures 3(h) and 3(i) vary with angle θ ; (k) sample photographs of the third group of experiments [figures of 3(l) and 3(m)]; (l) three-dimensional photoacoustic imaging results obtained by excitation of linearly polarized light with 0° ; (m) three-dimensional photoacoustic imaging results obtained by excitation of linearly polarized light with 90°

通过 3 组实验来验证所提出偏振光光声成像的原理。图 3(a)中第 1 个图所示为第 1 组实验样品照片,该样品由具有各向异性吸收的偏光片(主要成分为 PVA)和各向同性吸收的黑胶带(主要成分为聚氯乙烯,PVC)两部分构成。在第 1 组实验中,将通过旋转偏振片得到的一系列不同电矢量方向的线偏振光作为激发光。在图 3(a)的第 2 个图中,黑色箭头表示线偏振光的电矢量方向,线偏振光激发样品后得到如图 3(a)中第 2 个图所示的光声成像结果。PVA 部分的光声信号的振幅依赖于激发光电矢量的方向,而 PVC 材料的光声信号幅值保持平稳,PVA 和 PVC 的光声信号统计值(取平均值)随角度 θ 的变化如图 3(b)所示,这种变化关系符合本文的理论预测。

第 2 组实验设计的样品如图 3(g)所示,该样品由多个具有不同分子链排布方向的偏振片组成,每个 PVA 材料中的分子链方向均指向圆心。图 3(d)和图 3(e)所示分别为将电矢量相差 90° 的线偏振光作为激发光得到的光声成像图,可以明显看出,不同分子链方向的 PVA 材料的光声信号的振幅大小不同,并且两图中的光声信号因激发光电矢量的方向相差 90° 而导致两者的光声信号变化相位相差 90° ,如图 3(f)所示。图 3(h)所示为参数 ζ 的成像,根据该图可以判断出分子链排布方向的分布情况。图 3(i)所示为自然光(0° 和 90° 线偏振光产生光声信号的叠加)激发产生的光声信号成像结果,可以发现,

示为图 3(h)与图 3(i)中实验数据的拟合,可以发现,参数 ζ 的数据与角度 θ 的拟合与(6)式符合得很好,而自然光激发产生的光声信号几乎不变,这与传统的光声成像没有考虑矢量吸收相对应。

光声成像具备三维成像的优势,在第 3 组实验中,为了验证偏振光显微镜的三维成像能力,把 PVA 材料斜插入质量分数分别为 0.5% 的琼脂和 1% 的脂肪乳(模拟皮肤散射)水溶液中,样品示意图如图 3(k)所示,其中箭头代表样品分子链的方向。实验中,光焦点在样品上表面上方约 1 mm 处,聚焦光在样品上表面的直径为 $90 \mu\text{m}$ 。图 3(l)和图 3(m)分别为电矢量相差 90° 的线偏振光产生的光声信号的成像结果。尽管组织的散射会导致偏振光偏振性能的下降,但实验结果表明,偏振光光声成像的深度可达 3 mm。该结果证明了偏振光光声成像方法可以在一定深度范围内被推广到三维成像上。

在生物样品的成像中,选择螳螂虾触角的横切面作为成像目标,如图 4(a)所示。已有研究^[21]表明,螳螂虾的触角具有显著的各向异性光学吸收特性。把螳螂虾的触角横切成 2 个部分并排列在一个平面上,如图 4(b)所示。图 4(c)所示为采用传统光声成像表征总吸收系数大小的结果。图 4(d)和图 4(e)所示为电矢量相差 90° 的线偏振光光声成像结果,其中 1、2、3 白色虚线位置处信号的大小有所不同,证明这部分生物组织具有各向异性吸收的特性。图 4(f)所示为参数 ζ 的成像结果,表征了样品分子

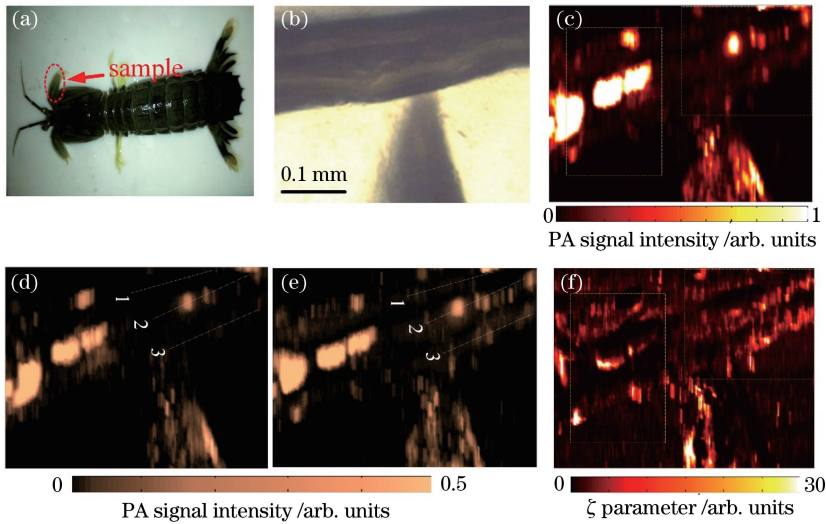


图 4 生物样品成像。(a)样品照片;(b)成像区域;(c)传统的光声成像结果;(d) 0° 线偏振光激发的光声成像结果;(e) 90° 线偏振光激发的光声成像结果;(f)参数 ζ 的成像结果

Fig. 4 Biological sample imaging. (a) Sample photo; (b) imaging region; (c) conventional photoacoustic imaging result; (d) photoacoustic imaging result stimulated by linearly polarized light with 0° ; (e) photoacoustic imaging result stimulated by linearly polarized light with 90° ; (f) imaging result of parameter ζ

图 4(f) 能更清楚地反映生物样品的细节结构。该实验结果表明, 利用两束不同电矢量方向的激光作为光声成像的激发光, 并进行合理的数学变换后, 偏振光光声成像能够提取组织的各向异性吸收差异, 从而丰富光声成像的生物成像信息。

4 结 论

利用两束电矢量方向相互垂直的线偏振光作为光声成像的激发源, 提出了一种基于各向异性光吸收的线偏振光声显微成像技术。首先构建了偏振光光声成像的理论模型, 并搭建了成像系统; 然后通过具有各向异性光吸收差异的 PVA 材料样品, 验证了该方法的可行性, 并演示了偏振光光声成像方法对具有各向异性光吸收生物样品成像的可行性。偏振光光声成像技术可以较好地匹配到目前已有的传统光声成像系统中, 丰富和拓展了传统光声成像的信息提取能力, 为多信息光声成像技术的发展提供可行的方向。

参 考 文 献

- [1] Bell A G. On the production and reproduction of sound by light [J]. American Journal of Science, 1880, 20: 305-324.
- [2] Wu H Q, Wang H Y, Xie W M, *et al.* Potential applications of photoacoustic imaging in early cancer diagnosis and treatment [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2019, 56(7): 070001
吴华钦, 王昊宇, 谢文明, 等. 光声成像技术在早期癌症检测治疗中的潜在应用 [J]. 激光与光电子学进展, 2019, 56(7): 070001.
- [3] Krüger U, Kraenzmer M, Strindehag O. Field studies of the indoor air quality by photoacoustic spectroscopy [J]. Environment International, 1995, 21(6): 791-801.
- [4] Chen K, Yuan S, Gong Z F, *et al.* Ultra-high sensitive photoacoustic spectrometer for trace gas detection based on fiber-optic acoustic sensors [J]. Acta Optica Sinica, 2018, 38(3): 0328015.
陈珂, 袁帅, 宫振峰, 等. 基于光纤声波传感的超高灵敏度光声光谱微量气体检测 [J]. 光学学报, 2018, 38(3): 0328015
- [5] Oraevsky A A, Jacques S L, Esenaliev R O, *et al.* Laser-based optoacoustic imaging in biological tissues [J]. Proceedings of SPIE, 1994, 2134: 122-128.
- [6] Kruger R A, Liu P Y. Photoacoustic ultrasound: pulse production and detection in 0.5% Liposyn [J]. Medical Physics, 1994, 21(7): 1179-1184.
- [7] Esenaliev R O, Karabutov A A, Oraevsky A A. Sensitivity of laser opto-acoustic imaging in detection of small deeply embedded tumors [J]. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 1999, 5(4): 981-988.
- [8] Wilson K, Homan K, Emelianov S. Biomedical photoacoustics beyond thermal expansion using triggered nanodroplet vaporization for contrast-enhanced imaging [J]. Nature Communications, 2012, 3: 618.
- [9] Mallidi S, Larson T, Tam J, *et al.* Multiwavelength photoacoustic imaging and plasmon resonance coupling of gold nanoparticles for selective detection of cancer [J]. Nano Letters, 2009, 9(8): 2825-2831.
- [10] Chen Z J, Yang S H, Xing D. Progress and application of photoacoustic microscopy technique [J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(3): 0307008.
陈重江, 杨思华, 邢达. 光声显微成像技术研究进展及其应用 [J]. 中国激光, 2018, 45(3): 0307008.
- [11] Yuan Z, Zhang Q Z, Jiang H B. Simultaneous reconstruction of acoustic and optical properties of heterogeneous media by quantitative photoacoustic tomography [J]. Optics Express, 2006, 14(15): 6749-6754.
- [12] Galanzha E I, Shashkov E V, Kelly T, *et al.* *In vivo* magnetic enrichment and multiplex photoacoustic detection of circulating tumour cells [J]. Nature Nanotechnology, 2009, 4(12): 855-860.
- [13] Buehler A, Kacprowicz M, Taruttis A, *et al.* Real-time handheld multispectral optoacoustic imaging [J]. Optics Letters, 2013, 38(9): 1404-1406.
- [14] Daly I M, How M J, Partridge J C, *et al.* Dynamic polarization vision in mantis shrimps [J]. Nature Communications, 2016, 7: 12140.
- [15] Jin L W, Claborn K A, Kurimoto M, *et al.* Imaging linear birefringence and dichroism in cerebral amyloid pathologies [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003, 100(26): 15294-15298.
- [16] Benedetti A, Alam B, Esposito M, *et al.* Precise detection of circular dichroism in a cluster of nanohelices by photoacoustic measurements [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 5257.
- [17] Hu S, Maslov K, Yan P, *et al.* Dichroism optical-resolution photoacoustic microscopy [C] // Biomedical Optics 2012, April 28-May 2, 2012, Miami, Florida, United States. Washington, D. C.: OSA, 2012: BM2B.8.
- [18] Zhang Z H, Shi Y J, Xiang L Z, *et al.* Polarized photoacoustic microscopy for vectorial-absorption-based anisotropy detection [J]. Optics Letters, 2018, 43(21): 5267-5270.

- [19] Qu Y, Li L, Shen Y C, *et al.* Dichroism-sensitive photoacoustic computed tomography [J]. *Optica*, 2018, 5(4): 495-501.
- [20] Lai Y Q, Jiang L X, Tian Z L, *et al.* Polarizer used for liquid crystal display[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2007, 44(7): 46-51.
- 赖延清, 蒋良兴, 田忠良, 等. 液晶显示器用偏光片 [J]. *激光与光电子学进展*, 2007, 44(7): 46-51.
- [21] Cronin T W, Chiou T H, Caldwell R L, *et al.* Polarization signals in mantis shrimps [J]. *Proceedings of SPIE*, 2009, 7461: 74610C.