

· 特邀综述 ·

光学成像技术在光动力剂量监测中的应用进展

李文博, 沈毅*, 李步洪**

福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建省光子技术重点实验室, 福建 福州 350007

摘要 光动力疗法(PDT)作为选择性治疗恶性肿瘤和良性疾病的精准靶向疗法,已获得了广泛的临床应用。如何利用先进的光学成像技术实现对 PDT 剂量的实时监测,是开展 PDT 个性化精准治疗的理论基础。本文介绍了 PDT 治疗过程中光敏剂、氧、单线态氧以及血管响应等所需监测的 4 个重要参量,重点总结了用于实时监测 PDT 参量的光学成像技术,并比较分析了这些技术的优势和局限性,最后讨论了光学成像技术在 PDT 临床转化应用中面临的挑战。

关键词 医用光学; 光动力疗法; 光学成像; 剂量; 监测; 临床应用

中图分类号 R454.2

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207006

Advances in Optical Imaging for Monitoring Photodynamic Therapy Dosimetry

Li Wenbo, Shen Yi*, Li Buhong**

Key Laboratory of Opto-Electronic Science and Technology for Medicine of Ministry of Education,

Fujian Provincial Key Laboratory for Photonics Technology, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350007, China

Abstract Photodynamic therapy (PDT) has been widely used as a precise targeted therapeutic modality in the clinical treatments of malignant tumor and benign diseases. The utilization of advanced optical imaging techniques in the real-time quantification of PDT dosimetric parameters is essential in predicting PDT efficiency and providing personalized and precise treatment. In this study, four important parameters in PDT dosimetry were introduced (i.e., photosensitizer, ground-state oxygen, singlet oxygen, and vascular response). Furthermore, the advanced optical imaging techniques currently developed for monitoring the aforementioned dosimetric parameters are summarized, and the advantages and limitations of each optical imaging technique is comparatively analyzed. Finally, challenges in clinical translation of optical imaging techniques to the clinical application of PDT are briefly discussed.

Key words medical optics; photodynamic therapy; optical imaging; dose; monitoring; clinical application

OCIS codes 170.5180; 110.2970; 170.2655

1 引言

光动力疗法(PDT)是一种联合利用光敏剂(PS)、激发光和氧分子,通过光动力反应选择性治疗恶性病变和良性病变的精准疗法^[1-3]。如图 1 所示,在 PDT 治疗前,通过静脉给患者体内注射适量光敏剂,经由特定时间的代谢后,光敏剂选择性滞留于病变组织中,此时,如果用特定波长的光源辐照靶组织,光敏剂和组织中的氧将发生吸收激发、体系间跨越和能量交换等一系列光物理和光化学

反应,产生具有生物毒性的活性氧(ROS)^[4],其中单线态氧(¹O₂)是 II 型 PDT 的主要活性氧产物^[5-7]。临床研究表明,PDT 疗效因患者的个体差异而呈现显著差异,其原因是临床疗效取决于靶组织中的光敏剂、辐照光、组织氧、¹O₂ 和血管响应等剂量参量以及它们之间的相互作用。为了实现 PDT 的个性化精准治疗,人们进行了如下重点研究:1)优化给药照光时间间隔,使光敏剂在靶组织与周围正常组织之间形成最大的浓度差,以此作为选择 PDT 治疗时间的理论依据,最大限度地减小

收稿日期: 2019-11-04; **修回日期:** 2019-12-11; **录用日期:** 2019-12-19

基金项目: 国家自然科学基金(61520106015,61805040,61635014)、教育部科技创新团队(IRT-15R10)、福建省科技计划项目(2019Y4004,2019J05061)、福建省教育厅科研项目(JT180093)

* **E-mail:** yishen@fjnu.edu.cn; ** **E-mail:** bhli@fjnu.edu.cn

PDT 对周围正常组织的毒副作用;2)调控光辐照强度,因为光敏剂的光漂白特性直接决定了光敏剂的在体浓度,其不同光辐照强度下的光漂白速率不尽相同;3)监测血管响应,血管封闭将导致靶组织乏氧,为了优化治疗方案需要在血管封闭的同时确保组织的氧供给;4)定量监测 $^1\text{O}_2$ 产量, $^1\text{O}_2$ 产量直接决定 PDT 疗效,实现 $^1\text{O}_2$ 的高灵敏度时空分辨成像监测是开展 PDT 疗效评估的关键。光学成像技术具有快速、非接触式、无损和灵敏度高等优点,已被

广泛用于精确量化各 PDT 剂量参量在时间和空间上的动态变化,从而根据患者个体差异实时调整和优化 PDT 治疗方案,这是开展 PDT 个性化精准治疗的理论基础^[8-9]。本文介绍了 PDT 治疗过程中光敏剂、氧、单线态氧和血管响应等所需监测的重要参量,重点总结了用于实时监测 PDT 参量的光学成像技术,并比较分析了这些光学成像技术的优势和局限性;最后讨论了光学成像技术在 PDT 临床转化应用中面临的挑战。

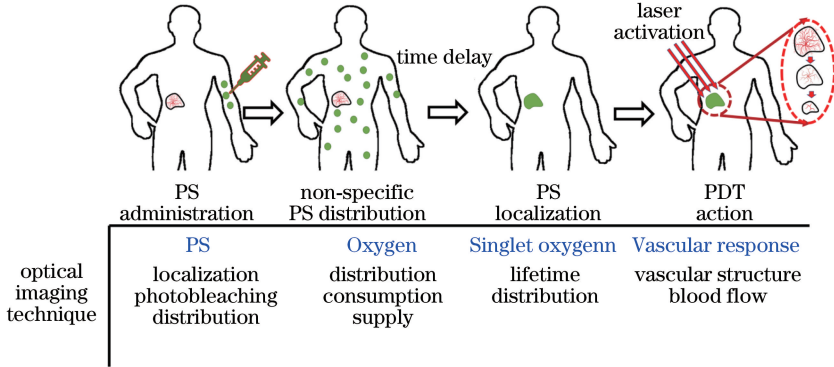


图 1 PDT 原理及剂量参数的光学监测

Fig. 1 PDT principle and the optical monitoring for dose parameters

如图 1 所示,光学成像技术可直接用于 PDT 过程中各剂量参数的实时监测。监测的剂量参数包括:1)辐照光源的波长、给药-光照时间间隔、光分布和光照剂量等^[10];2)光敏剂的靶向性、光漂白特性和浓度分布等^[11];3)组织氧的浓度分布、氧供给率和氧消耗率等^[12]。截至目前,尚无法获得光在组织中分布的三维图像,辐照光在病灶组织中的光剂量分布主要依赖于 Monte Carlo 方法的模拟仿真^[13]。 $^1\text{O}_2$ 作为 II 型 PDT 的主要活性氧产物,其产

量及分布直接决定了 PDT 的疗效,研究表明,通过测量 $^1\text{O}_2$ 在 1270 nm 的辐射发光强度可直接定量评估 PDT 的疗效^[14-15]。根据 PDT 作用靶位的不同,可将其生物作用机制分为三种^[4,16-17]:1)诱导细胞凋亡、坏死或自体吞噬^[18];2)诱导血管损伤产生血凝、血栓和血管封闭,阻断氧和养分的供给,最终导致组织坏死^[19-21];3)诱发机体产生免疫应答。如图 2 所示,用于 PDT 剂量监测的光学成像技术主要包括荧光成像、 $^1\text{O}_2$ 发光成像、光学相干层析成像

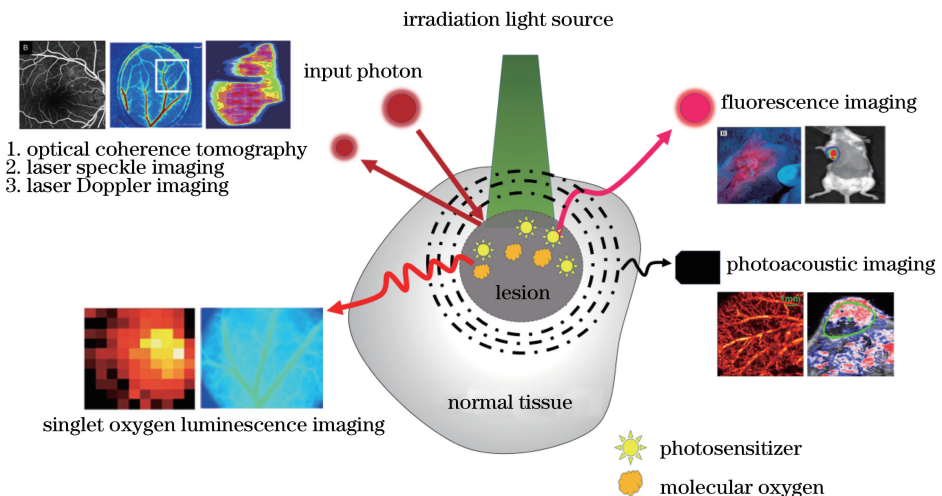


图 2 光学成像技术在 PDT 剂量监测中的应用

Fig. 2 Applications of optical imaging techniques in monitoring PDT dose

(OCT)、激光散斑成像(LSI)、激光多普勒成像(LDI)和光声成像(PAI)。

2 光敏剂光学成像

通过检测光敏剂被激发的荧光强度,能够获得光敏剂的靶向性、光漂白特性和空间分布等信息。多光谱荧光成像(MSFI)是单点荧光光谱和空间荧光成像相结合的混合成像模式,该技术不仅能实时获取靶组织中光敏剂的二维空间荧光强度信息,还能通过分光元件分时得到荧光光谱信息^[22]。选用不同的分光和探测元件,光谱分辨带宽可达几纳米,成像波段覆盖可见光到近红外光波段^[23-24]。与此同时,PDT辐照光和光敏剂荧光除了受组织体的吸收和散射特性影响之外,还与组织体的自体荧光信号形成串扰。为了实现光敏剂浓度分布的定量成像分析,研究人员相继提出了不同的荧光定量算法。如表1所示,光敏剂浓度的定量成像技术主要包括定量荧光成像(QFI)、定量空间频域荧光成像(QSFFI)和宽场光谱分辨荧光成像(WSRFI)。Valdés等^[25]基于MSFI开发了QFI系统,并利用光谱约束归一化算法实现了病灶区域的荧光定量成像^[26];他们还利用最小二乘法有效地鉴别了PpIX

荧光和组织体自体荧光,系统对PpIX的检测灵敏度为20 ng/mL^[27]。之后,Valdés等用EMCCD(electron multiplying charge coupled device)相机(Nüvü Cameras)替代CMOS(complementary metal oxide semiconductor)相机作为探测单元,发现系统对PpIX的检测灵敏度提高至8 ng/mL^[28]。但他们所用的荧光校正算法属于半经验比值算法,测量结果尚有待验证。Sibai等^[29]基于空间频域成像(SFDI)提出了一种标准漫反射近似(SDA)模型算法,该算法在测量靶组织吸收系数和散射系数的基础上,根据SDA模型定量成像靶组织的光敏剂荧光浓度。初步测量结果表明,在吸收系数高达 8.8 mm^{-1} 的靶组织中,利用QSFFI检测PpIX的灵敏度为20 ng/g。为了实现光敏剂荧光的精确成像,QFI和QSFFI还需对背景光信号、仪器光谱响应和照明的不均匀性等进行复杂的误差校准。基于此,Xie等^[30]改进了光谱约束归一化算法,部分校正了QFI所探测到的PpIX荧光强度,利用CMOS相机检测PpIX浓度的灵敏度可达10 ng/mL。鉴于组织体的各向异性,开发理想的组织体模型、高灵敏度成像系统以及相应的荧光校正算法是实现光敏剂定量成像的关键。

表1 定量检测光敏剂浓度的光学成像技术

Table 1 Optical imaging techniques for quantifying photosensitizer concentration

Optical imaging technique	Parameter	Quantitative algorithm	Measured data	Sensitivity	Reference
QFI	Concentration	Spectral constraint normalization	Absolute value	20 ng/mL	[25]
	Concentration	Spectral constraint normalization	Absolute value	8 ng/mL	[28]
QSFFI	Concentration	Standard diffusion approximation	Absolute value	20 ng/g	[31]
WSRFI	Concentration	Improved spectrally constrained normalization	Absolute value	10 ng/mL	[30]

光敏剂也能作为光声成像造影剂。光敏剂吸收探测光的能量后会因热弹效应而产生超声波发射,最终基于PAI技术,可以实现光敏剂深度空间分布信息的检测。由于该方法基于超声信号进行探测,因此能够有效避免组织自体荧光的干扰。Hirao等^[32]利用PAI检测了烧伤大鼠皮下组织中的光敏剂分布,成功获取了光敏剂的深度分布信息。Ho等^[33]比较了5种不同光敏剂的光声效果,发现酞菁锌(ZnPc)的光声活性最高,并获得了ZnPc在小鼠肿瘤模型中的定位效率和不同时间观测点的生物分布。由于大多数光敏剂的最大吸收峰值位于可见光

区域,因此光敏剂的PAI深度有限。为了提高成像深度,Hu等^[34]研制了具有近红外光谱(NIR)吸收的溶酶体靶向氟化硼二吡咯(BODIPY)纳米粒子,它们可以在纳秒脉冲激光的辐照下在更深层次组织中实现光敏剂成像,同时在NIR辐照下也能有效杀伤肿瘤细胞。光敏剂在吸收PAI探测光过程中由于光漂白效应,降低了PAI的成像对比度^[16]。为此,Yan等^[35]设计合成了一种利用聚乙二醇氧化石墨烯装载卟啉钠(DVDMS)的新型纳米粒子GO-PEG-DVDMS,氧化石墨烯有效地增强了光敏剂的PAI成像。为了实现临床转化应用,新型纳米光敏

剂的药代特性、化学毒性和特异性等有待于开展更多的临床试验研究。此外,PAI 仅通过信号强度来反演光敏剂的空间分布信息,相对于 MSFI,尚未见定量光敏剂浓度的成像结果。

3 氧参量光学成像

氧作为 PDT 的三大关键要素之一。增加氧含量有助于提高 PDT 过程中¹O₂ 的产量。组织微血管受到损伤而封闭后,将导致血管中的氧含量降低。氧含量不仅直接决定了 PDT 的疗效,还可以用于预测肿瘤的再生和复发^[36]。在肿瘤乏氧的条件下,部分生物还原前药也将具有细胞毒性,能够协同 PDT 提高疗效^[37]。血氧饱和度和组织氧分压是用于定量评估组织中氧含量的两个重要参量^[38]。可用于监测氧参量的光学成像技术如表 2 所示。

血氧饱和度表征的是血液中氧饱和血红蛋白含量和总血红蛋白含量的比值。PAI 可以在几微米到几毫米的尺度范围内对血管形态结构和氧含量进行成像,其检测原理是含氧血红蛋白和脱氧血红蛋白分别在 500~600 nm 和 700~800 nm 存在显著的吸收差异,PAI 利用不同的探测光进行光声成像并计算血氧饱和度相对量的变化^[39]。Mallidi 等^[40]利用超声-PAI 双模成像系统 (Vevo LAZR, VisualSonics) 监测小鼠胶质母肿瘤 (GBM) 的 PDT 疗效,并获得 GBM 的三维血氧饱和度图像。PDT 治疗 24 h 后,GBM 的血氧饱和度下降约 85%。进一步的研究表明,根据所获得的三维血氧饱和度图像可以预测肿瘤的复发概率,进而使早期干预治疗成为可能。但是,这种技术无法对单一毛细血管实现血氧饱和度的精确成像。随后,Shao 等^[41]利用光声显微镜 (PAM) 开展了大鼠耳部模型的 PDT 实验,他们同时观察到了单根血管管径的缩小和血氧饱和度的下降。多光谱光声层析成像 (MSOT) 同时选用多个激光波长进行光声成像,提高了含氧血红

蛋白和脱氧血红蛋白浓度的光谱解混精确度,实现了更高灵敏度的血氧饱和度成像。Neuschmelting 等^[42]利用 MSOT 研究小鼠肾肿瘤经 WST-11 光敏剂诱导 PDT 治疗后血氧饱和度的相对变化,结果表明,MSOT 照明光源能有效激发 WST-11。该手持 MSOT 探头由 256 个超声波探测器元件组成,且沿球面弧线均匀排列,中心频率为 4 MHz,扫描角度为 135°,分辨率为 200 μm,在 700~900 nm 范围内以 10 nm 为间隔选取 21 个波长。

组织氧分压定义为特定组织间隙内的氧分压,反映的是特定时间内局部供氧与消耗之间的平衡关系。其检测原理是基于延迟荧光/磷光发光淬灭技术,利用氧敏感染料寿命与组织氧分压线性相关的特性实现组织氧分压成像。监测组织氧分压的传统方法需要使用氧敏感染料探针,不适合用于临床 PDT^[43-45]。Shao 等^[46]利用光声寿命成像 (PALI) 检测小鼠局部组织氧分压。PALI 是一种基于磷光寿命成像 (PLI) 的技术,其原理与磷光发光淬灭机制类似。选用亚甲基蓝 (MB) 作为氧敏感染料,通过检测 MB 激发三重态寿命可以间接实现组织氧分压成像,所得到的组织氧分压值与 Pyro science 氧气测量仪的测量值相同,且能同时实现 PDT 治疗,成像深度约为 1 cm。

除了上述应用于 PDT 氧参量监测的光学成像技术外,可见光 OCT 也可用于成像血管的血氧饱和度,其原理与 PAI 类似,不同之处在于其所检测的信号是经含氧红细胞和脱氧红细胞散射后的探测光^[47]。Yi 等^[48]利用可见光 OCT 精确地测量大鼠视网膜的氧代谢速率,并在供氧不足时,监测视网膜循环 (RC) 与脉络膜循环 (CC) 的生理反应。Chen 等^[49]利用可见光 OCT 对小鼠皮质循环的血流动力学变化进行了成像,实验证实血氧饱和度随着血管管径的增大而增大。可见光 OCT 有望被应用于 PDT 中血氧饱和度的实时成像。

表 2 用于监测氧参量的光学成像技术

Table 2 Optical imaging techniques for monitoring oxygen parameters

Oxygen parameter	Optical imaging techniques	Measured data	Reference
Oxygen saturation	Ultrasound-PAI	Relative value	[40]
	PAM	Relative value	[41]
	MSOT	Relative value	[42]
	Visible light OCT	Relative/absolute value	[48]
Tissue oxygen partial pressure	PALI	Absolute value (0-13332 Pa)	[46]

4 $^1\text{O}_2$ 发光成像

$^1\text{O}_2$ 的产量与空间分布直接决定了 PDT 的疗效。检测 $^1\text{O}_2$ 的方法可分为直接检测和间接检测^[14]。与直接检测法相比,间接检测法虽然具有较高的灵敏度,但用于检测 $^1\text{O}_2$ 的吸光度探针、电子自旋共振 (ESR) 探针、荧光探针和化学发光探针等不仅淬灭光敏化过程中所产生的 $^1\text{O}_2$, 而且它们在不同细胞,特别是在不同组织微环境中的分布、药理代谢机制,以及化学毒性等还有待进一步研究。因此,间接检测法难以获得临床应用^[50]。 $^1\text{O}_2$ 敏化延迟荧光 (SOSDF) 是 $^1\text{O}_2$ 能量反向转移至光敏剂激发态的延迟发射荧光。虽然该荧光能量强度比 $^1\text{O}_2$ 发光强度高 3 个数量级,但基于 SOSDF 检测 $^1\text{O}_2$ 仍是一种半直接定量检测方法。此外,SOSDF 与光敏剂的瞬时荧光光谱波段相同,基于 SOSDF 检测 $^1\text{O}_2$ 需要复杂的门控技术来区分 SOSDF 和瞬时荧光^[51]。直接检测法利用高灵敏度光电检测系统测量 $^1\text{O}_2$ 在

1270 nm 的发光,是测量 $^1\text{O}_2$ 的金标准^[14]。如表 3 所示, $^1\text{O}_2$ 发光成像可分为时间分辨扫描成像和稳态宽场成像。

时间分辨扫描成像的优点在于能够通过脉冲光激发获得 $^1\text{O}_2$ 发光的动力学信息(如 $^1\text{O}_2$ 寿命和三重态光敏剂寿命),以及通过对时间分辨信号的处理来提高 $^1\text{O}_2$ 发光信号检测的信噪比。2005 年,Niedre 等^[52] 利用近红外光电倍增管 NIR-PMT (Photomultiplier Tube, R5509-14, Hamamatsu), 结合可移动的三维平台,对小鼠皮肤组织进行了逐点扫描,首次获得了活体组织中氨基乙酰丙酸 (ALA) 诱导 PpIX 的 $^1\text{O}_2$ 发光图像。随后,Looft 等^[53] 利用自制光纤探头和 NIR-PMT (H-10330-45, Hamamatsu), 通过采用时间相关多光子计数 (TCMPC) 实现了对鸡绒毛尿囊膜 (CAM) 在 PDT 过程的 $^1\text{O}_2$ 发光成像。更为重要的是,测量所获得的 $^1\text{O}_2$ 发光动力学信息可提供动脉和静脉中的不同氧分压信息。

表 3 $^1\text{O}_2$ 发光的光学成像技术

Table 3 Optical imaging techniques for $^1\text{O}_2$ luminescence

Imaging technique	Detector	Advantages of imaging system	Reference
Time-resolved	PMT (photomultiplier tube)	Large active area ($>10\text{ mm}\times 10\text{ mm}$)	[54]
	SNSPD	Low dark count rates, high detection efficiency ($>85\%$) and detection of wide spectrum	[55]
	NFAD	Achieve DCR as low as 1 counts per second at 10% efficiency	[56]
Spatial-resolved	NIR CCD	Resolution: $50\text{ }\mu\text{m}$; imaging time: $\sim 1\text{ s}$	[57]
		Resolution: $46\text{ }\mu\text{m}$; imaging time: $<30\text{ s}$	[58]
		Resolution: $30\text{ }\mu\text{m}$; imaging time: $\sim 2\text{ s}$	[59]

除了 NIR-PMT 外,超导纳米线单光子探测器 (SNSPD) 和负反馈雪崩二极管 (NFAD) 也已被用于时间分辨扫描成像。截至目前, $^1\text{O}_2$ 发光成像主要用的光电探测器件是 NIR-PMT,其探测单元的有效面积 $>10\text{ mm}\times 10\text{ mm}$, 适合搭配大数值孔径光学镜头,以实现 $^1\text{O}_2$ 发光信号的高效率收集。Kim 等^[54] 开发了 PMT- $^1\text{O}_2$ 检测系统 (PMT-SOD),其甲醇溶液中光敏剂 Che6 和 PPa 的最低检测浓度和最高检测浓度分别为 15 nmol/L 和 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 。实验结果表明,PDT 诱导的细胞毒性与 PMT-SOD 所检测得到的 $^1\text{O}_2$ 产量成正相关。PMT 的不足之处在于:低的量子效率 ($<1\%$); 中等噪声 ($>10000\text{ counts per second}$); 光电阴极易受损,且难以抑制杂散光。SNSPD 是一种高性能的超导材料单光子探测器,具有暗计数低、探测效率高 ($>85\%$) 和检测频谱宽等优点。Gemell 等^[55] 利

用低噪声 SNSPD 测量了溶液中玫瑰红的 $^1\text{O}_2$ 发光,并采用窄带光谱滤波和化学猝灭法对 $^1\text{O}_2$ 发光信号进行了验证。同时,他们还研究了牛血清蛋白 (BSA) 对 $^1\text{O}_2$ 寿命的影响。SNSPD 的不足之处在于:探测单元的有效面积较小 ($<10\text{ }\mu\text{m}\times 10\text{ }\mu\text{m}$); SNSPD 主要采用低温超导材料,需配置 2.1 K 以下的制冷系统,系统复杂且成本较高。与 NIR-PMT 和 SNSPD 相比,NFAD 能够以 10% 的探测效率达到低至 1 counts per second 的暗计数率 (DCR)。Boso 等^[56] 利用 NFAD 开发了 $^1\text{O}_2$ 发光检测系统,该系统不仅可以提高 $^1\text{O}_2$ 发光信号的收集效率,还可以被应用于不同的临床情况(如光纤系统、共聚焦显微镜、扫描系统等)。该探测器与大面积多模光纤耦合,可以提高生物样品的体外和体内收集效率,与单模光纤耦合检测器相比,收集效率提高 100 倍。

时间分辨扫描成像需要结合机械扫描装置实现

多点扫描,在降低成像分辨率至毫米尺度的情况下,仍需要几百秒的成像时间。相反,稳态宽场成像基于带有滤光片的 NIR 相机能够快速获得高分辨的 $^1\text{O}_2$ 发光图像,成像时间至少缩短了 2 个数量级以上。2011 年, Hu 等^[57] 利用近红外面阵 CCD 相机(XEVA-CL-FPA-1.7-320-TE1-60Hz, Xenics) 获得 $256 \text{ pixel} \times 320 \text{ pixel}$ 的活体 $^1\text{O}_2$ 发光图像,成像时间为 1 s。Lee 等^[58] 基于高灵敏度 NIR-CCD (MOSIR 950, Intevac) 开发了荧光 $^1\text{O}_2$ 发光双光路多模成像系统,该系统的离体成像时间不超过 30 s,成像范围为 $1024 \text{ pixel} \times 256 \text{ pixel}$ 。他们利用该系统获得荷瘤小鼠 PDT 的 $^1\text{O}_2$ 发光图像。随后, Lin 等^[59] 利用自主设计的大视场近红外镜头和 NIR-CCD (Xeva-1.7-320, Xenics) 首次获得了活体小鼠皮窗模型微血管中 $^1\text{O}_2$ 的发光图像,并定量研究了光剂量对 $^1\text{O}_2$ 发光的影响。研究结果表明,对于感兴趣区域中的血管,在相同玫瑰红剂量作用下, $^1\text{O}_2$ 发光强度与光剂量呈线性关系。目前,稳态宽场成像的不足在于:生物环境中 $^1\text{O}_2$ 的发光量子产率极低(10^{-8}),检测信号易受到背景信号光的干扰,且目前尚无法实时提供 $^1\text{O}_2$ 发光动力学信息。

在充分利用时间分辨扫描成像和稳态宽场成像各自优点的基础上,开发高灵敏度的时空分辨 $^1\text{O}_2$ 发光成像技术是未来的发展方向。该技术能够集成时间分辨和宽场成像单元,同步获取 $^1\text{O}_2$ 发光空间分布和动力学信息。

5 血管响应光学成像

血管作为 PDT 作用机制的靶标之一,对其生物响应的监测有望用于优化治疗方案和预测 PDT 疗效。如表 4 所示,为了实现对血管形态结构及血流速度的监测,目前采用的光学成像技术主要包括 LDI、LSI、PAI 和功能型 OCT。

LDI 基于激光多普勒血流仪(LDF)^[60],利用辐照激光照射流动红细胞所产生的多普勒平移效应,反演血管的血流速度信息。相对于 LDF, LDI 利用机械扫描方式实现了大视场范围的血流速度成像,且无需使用接触式探头^[61]。Chen 等^[62] 利用 LDI 动态监测了鲜红斑痣(PWS)的 PDT 治疗效果,结果表明,PWS 病变部位的血流灌注率显著高于正常皮肤,且血流灌注率在治疗初期显著上升,随后在达到峰值之后又缓慢下降到较低的水平。LDI 的优点在于其能够无创快速成像大视场的血流速度,但该技术受限于探测光在组织中的快速衰减,通

常仅能测量组织深度 $< 500 \mu\text{m}$ 的血管血流速度^[63],且难以分辨血管的形态结构。

LSI 基于辐照激光照射红细胞所产生的动态散斑信号,对该动态散斑信号在时间域和空间域上的强度和频率的变化进行统计分析,获取反映血流速度的散斑衬比图像^[64]。LSI 具有成像速度快、时空分辨率高和成像视场大等优势,且还能同时获得血管的形态结构等信息^[65-66]。Kruijt 等^[67] 利用 LSI 研究了小鼠皮窗模型在 PDT 过程中的血流变化,结果表明 LSI 能够实现对单根动脉、静脉和毛细血管的成像。Moy 等^[68] 利用 LSI 定量研究了鼠背皮窗模型在 PDT 后的血管损伤,结果表明,当 Npe6 给药剂量为 5 mg/kg 且光剂量大于 85 J 时,PDT 诱导血管产生了不可逆损伤。Ren 等^[69] 利用 LSI 测量了 PDT 治疗 PWS 后血流灌注率的变化,并定量评估了病变区域血管微循环的改变。LSI 的成像速度和面积优于 LDI、功能性 OCT 和 PAI,且能同时提供血流速度和血管形态结构信息。LSI 的不足在于:受限于生物组织的高散射特性,其成像深度小于 $700 \mu\text{m}$,且无法提供血管的三维分布信息^[70]。

PAI 使用超声转换装置探测生物组织吸收光子能量后因热弹效应而产生的超声波信号,进而反演组织的内部结构^[71]。该技术同时具有光学成像分辨率高和超声波成像深度深的优点^[72-74]。Xiang 等^[75] 利用光声层析成像(PAT)观察了 CAM 经 PDT 治疗后血管的损伤,结果表明,血管损伤程度与光敏剂浓度、光强成正比相关。Shao 等^[41] 在通过 PAM 监测小鼠耳部血氧饱和度的同时,还利用 PAM 研究了小鼠耳部浅表内微血管的三维形态结构,其成像分辨率可达 $60 \mu\text{m}$ 。PAI 的优点在于:成像深度最大可达 10 cm ,相应的轴向分辨率为 $0.1 \sim 1.0 \text{ mm}$ ^[71],且 PAI 能够提供三维的血管组织结构和氧参量信息。但是,PAI 的成像轴向分辨率较功能型 OCT 低,且 PAI 的成像速度不及 LSI 快。另外,由于 PAI 基于超声信号进行探测,因此探头须与测量组织贴合,属于接触式测量。

功能型 OCT 是指能够对生理功能信息(如血流速度、血氧饱和度、组织光学双折射特性等)进行监测的 OCT 技术^[76-77]。目前,应用于 PDT 剂量参量监测的功能型 OCT 包括多普勒光学层析成像 OCT(DOCT)和微血管光学造影 OCT(OCTA)。DOCT 结合 OCT 和光学多普勒效应,通过探测相邻轴向扫描之间信号的相位变化来获得血管内的血流速度^[78]。OCTA 将红细胞与周围组织的相对

运动作为内源性的血流标记特征来区分静态组织背景和动态血流信号,实现血管分布特征的三维成像^[79-80]。Latrive 等^[81]利用 DOCT 开展了 PWS 和血管瘤病变区域内血管形态和血流速度的对比研究,结果表明,两种不同病灶组织中的血管特征之间存在显著差异。Pellegrin 等^[82]利用 OCTA 观察了患者的脉络膜新生血管(CNV),对 11 位患者的 CNV 确诊率为 100%,优于荧光素血管造影的确诊率(90%)和吲哚菁绿血管造影的确诊率(83%),同时,还观察到了 CNV 的大小和形状。De Jong 等^[83]利用 OCTA 评估了 PDT 后患者视网膜血管瘤增生(RAP)的疗效,结果表明 OCTA 可用于优化 RAP 的治疗方案。在 PDT 治疗中,血管的生物响应有强弱之分:强响应表现为血管出血,血管无血液和血栓等;弱响应表现为血细胞聚集、血流停滞和血管充血等。对于血管弱响应,静止血液中依然存在运动的红细胞,仅依赖基于强度/相位算法的

OCTA 无法区分 PDT 治疗前后血管的细微结构变化。为此,Sirotkina 等开发了 M 型光学相干血管造影系统(MML-OCA),该系统结合了多普勒效应和相位/强度方差算法,与 OCTA 相比,具有更高的成像灵敏度和鲁棒特性^[84]。此外,静止血液引起散斑变化的频率通常小于 50 Hz,基于高通滤波器滤除频率低于 96 Hz 的复杂散斑,可使该系统具有识别弱血管响应的能力^[85]。随后,Sirotkina 等^[86]将 MML-OCA 应用于临床监测基底细胞癌的 PDT 疗效,结果表明,治疗后 24 h 内肿瘤血管的密度显著降低,并可根据血管密度预测肿瘤的复发概率。功能型 OCT 的优点在于快速、实时、高分辨率,且轴向分辨率最高可达 1 μm ^[87],可实现对血管三维分布的高分辨实时成像;但 OCT 成像深度通常约为 3 mm^[88],且 DOCT 的血流测量精确性依赖于血流和探测光束之间的角度方向,无法测量垂直于光束方向的血管中的血流速度^[89]。

表 4 监测血管响应的光学成像技术

Table 4 Optical imaging techniques for monitoring vascular response

Optical imaging technique	Parameter	Reference	
LDI	Relative blood flow velocity	[60]	
LSI	Vascular morphology and relative blood flow velocity	[69]	
DOCT	Relative blood flow velocity (resolution; $>18 \mu\text{m}$; depth:1 mm)	[81]	
Functional OCT	OCTA	Microvasculature (resolution; $>5 \mu\text{m}$; depth:3 mm)	[82]
	MML-OCA	Flowing/functional microvasculature (resolution; $>10 \mu\text{m}$; depth:1.3 mm)	[85]
PAI	PAT	Vascular morphology (resolution:0.1-1.0 mm; depth; $<10 \text{cm}$)	[71]
	PAM	Vascular morphology (resolution; $>30 \mu\text{m}$; depth:superficial vasculature)	[41]

6 结束语

本文在介绍 PDT 治疗过程中光敏剂、氧、单线态氧以及血管响应等参量的基础上,全面总结用于实时监测 PDT 剂量参量的光学成像技术,并比较分析了成像技术的优势和局限性。1)MSFI 和 PAI 均可应用于光敏剂空间分布成像。MSFI 虽然可以实现光敏剂浓度的精确定量测量,但无法获得光敏剂的三维空间分布信息。相反,PAI 可以获得光敏剂的三维空间分布信息,但成像过程中光敏剂易被漂白,需要借助纳米技术提高光敏剂的成像衬比度。2)PAI 是用于监测氧参量的主要光学成像技术,可见光 OCT 也已获得初步应用,但它们分别受限于成像深度和成像轴向分辨率。如何设计更为合适的算法以实现更高灵敏度的氧参量成像是今后的重点发展方向。3) $^1\text{O}_2$ 发光的时间分辨扫描成像虽然能获得光敏化 $^1\text{O}_2$ 的动力学信息,但成像时间至少需要几百秒;稳态宽场成像虽然可将成像时间缩短 2

个量级以上,但无法获得 $^1\text{O}_2$ 发光的动力学信息。为此,充分利用时间分辨扫描成像和稳态宽场成像各自的优点,开发出高灵敏度的时空分辨 $^1\text{O}_2$ 发光成像技术是未来的发展方向。4)LDI、LSI、PAI 和功能型 OCT 均可监测 PDT 治疗过程中的血管响应,其中:LDI 成像深度 $<500 \mu\text{m}$,无法分辨血管形态结构;LSI 成像深度 $<700 \mu\text{m}$,无法提供血管的三维分布信息;PAI 成像深度 $<10 \text{cm}$,属接触式光学成像,轴向分辨率低于功能型 OCT;功能型 OCT 成像深度约为 3 mm,DOCT 无法测量垂直于探测光束的血管中的血流速度。在临床 PDT 应用中,需根据监测需求选择不同的光学成像技术。

鉴于不同剂量参数之间的复杂相互作用以及不同光学成像技术自身的局限性,单一的光学成像技术难以监测所有的 PDT 剂量参数。为了实现对 PDT 中多个剂量参数的同步监测,研发由多种光学成像技术集成的多模光学成像系统或光学成像平台是未来的重点发展方向,是研究不同剂量参数之间

相互作用关系和开展个性化精准治疗的关键。

参 考 文 献

- [1] Yun S H, Kwok S J J. Light in diagnosis, therapy and surgery [J]. Nature Biomedical Engineering, 2017, 1(1): 0008.
- [2] Dolmans D E J G J, Fukumura D, Jain R K. Photodynamic therapy for cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2003, 3(5): 380-387.
- [3] Li B H, Xie S S, Wilson B C. Advances in photodynamic therapy dosimetry [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2009, 36(6): 676-683. 李步洪, 谢树森, Wilson Brian C. 光动力学疗法剂量学的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 36(6): 676-683.
- [4] Celli J P, Spring B Q, Rizvi I, et al. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization[J]. Chemical Reviews, 2010, 110(5): 2795-2838.
- [5] Weishaupt K R, Gomer C J, Dougherty T J. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photo-inactivation of a murine tumor[J]. Cancer Research, 1976, 36: 2326-2329.
- [6] Yamamoto J, Yamamoto S, Hirano T, et al. Monitoring of singlet oxygen is useful for predicting the photodynamic effects in the treatment for experimental glioma [J]. Clinical Cancer Research, 2006, 12(23): 7132-7139.
- [7] Krasnovsky A A Jr. Luminescence and photochemical studies of singlet oxygen photonics [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2008, 196(2/3): 210-218.
- [8] Allison R R, Sibata C H. Photofrin[®] photodynamic therapy: 2.0 mg/kg or not 2.0 mg/kg that is the question [J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2008, 5(2): 112-119.
- [9] Li L B, Li W M, Xiang L H, et al. Photodynamic therapy: clinical research and application in China [J]. Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery, 2012, 21(5): 278-307. 李黎波, 李文敏, 项蕾红, 等. 光动力学疗法在中国的应用与临床研究[J]. 中国激光医学杂志, 2012, 21(5): 278-307.
- [10] Star W M. Lightdosimetry *in vivo* [J]. Physics in Medicine and Biology, 1997, 42(5): 763-787.
- [11] Dougherty T J. Photosensitizers: therapy and detection of malignant tumors [J]. Photochemistry and Photobiology, 1987, 45(6): 879-889.
- [12] Fuchs J, Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1998, 24(5): 835-847.
- [13] Chen D F, Wang Y, Gu Y. Progress in dosimetric monitoring techniques involved in vascular targeted photodynamic therapy for port wine stains [J]. Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery, 2016, 25(2): 82-96. 陈德福, 王颖, 顾瑛. 血管靶向光动力学疗法治疗鲜红斑痣的剂量监测技术研究进展[J]. 中国激光医学杂志, 2016, 25(2): 82-96.
- [14] Li B, Lin L, Lin H. Photosensitized singlet oxygen generation and detection: recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy [J]. Journal of Biophotonics, 2016, 9(11/12): 1314-1325.
- [15] Wilson B C, Patterson M S, Li B H, et al. Correlation of *in vivo* tumor response and singlet oxygen luminescence detection in mTHPC-mediated photodynamic therapy [J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2015, 8(1): 1540006.
- [16] Mallidi S, Spring B Q, Chang S, et al. Optical imaging, photodynamic therapy and optically triggered combination treatments [J]. The Cancer Journal, 2015, 21(3): 194-205.
- [17] Robertson C A, Evans D H, Abrahamse H. Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2009, 96(1): 1-8.
- [18] Lan S Y, Zhang D, Liu X L, et al. Tumor-microenvironment activable smart nanocarrier system for photodynamic therapy of cancers [J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(2): 0207008. 蓝善优, 张达, 刘小龙, 等. 肿瘤微环境响应的智能纳米载体在肿瘤光动力治疗中的应用[J]. 中国激光, 2018, 45(2): 0207008.
- [19] Fingar V H. Vascular effects of photodynamic therapy[J]. Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery, 1996, 14(5): 323-328.
- [20] Krammer B. Vascular effects of photodynamic therapy[J]. Anticancer Research, 2001, 21(6B): 4271-4277.
- [21] Chen B, Pogue B W, Luna J M. Tumor vascular permeabilization by vascular-targeting photosensitization: effects, mechanism, and therapeutic implications [J]. Clinical Cancer Research, 2006, 12(3): 917-923.
- [22] Shapey J, Xie Y J, Nabavi E, et al. Intraoperative multispectral and hyperspectral label-free imaging: a systematic review of *in vivo* clinical studies [J]. Journal of Biophotonics, 2019, 12(9): 201800455.
- [23] Zhou L, El-Deiry W S. Multispectral fluorescence imaging[J]. Journal of Nuclear Medicine, 2009, 50

- (10): 1563-1566.
- [24] Wallis de Vries B M, Hillebrands J L, van Dam G M, et al. Multispectral near-infrared fluorescence molecular imaging of matrix metalloproteinases in a human carotid plaque using a matrix-degrading metalloproteinase - sensitive activatable fluorescent probe[J]. *Circulation*, 2009, 119(20): 534-536.
- [25] Valdés P A, Leblond F, Jacobs V L, et al. Quantitative, spectrally-resolved intraoperative fluorescence imaging [J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 798.
- [26] Valdés P A, Leblond F, Kim A, et al. A spectrally constrained dual-band normalization technique for protoporphyrin IX quantification in fluorescence-guided surgery [J]. *Optics Letters*, 2012, 37(11): 1817-1819.
- [27] Valdes P A, Jacobs V L, Wilson B C, et al. System and methods for wide-field quantitative fluorescence imaging during neurosurgery [J]. *Optics Letters*, 2013, 38(15): 2786-2788.
- [28] Jermyn M, Gosselin Y, Valdes P A, et al. Improved sensitivity to fluorescence for cancer detection in wide-field image-guided neurosurgery[J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(12): 5063-5074.
- [29] Sibai M, Veilleux I, Elliott J T, et al. Quantitative spatial frequency fluorescence imaging in the sub-diffusive domain for image-guided glioma resection [J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(12): 4923-4933.
- [30] Xie Y J, Thom M, Ebner M, et al. Wide-field spectrally resolved quantitative fluorescence imaging system: toward neurosurgical guidance in glioma resection[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2017, 22(11): 116006.
- [31] Sunar U, Rohrbach D J, Morgan J, et al. Quantification of PpIX concentration in basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma models using spatial frequency domain imaging [J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, 4(4): 531-537.
- [32] Hirao A, Sato S, Saitoh D, et al. *In vivo* photoacoustic monitoring of photosensitizer distribution in burned skin for antibacterial photodynamic therapy [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2010, 86(2): 426-430.
- [33] Ho C J H, Balasundaram G, Driessen W, et al. Multifunctional photosensitizer-based contrast agents for photoacoustic imaging [J]. *Scientific Reports*, 2015, 4: 5342.
- [34] Hu W B, Ma H H, Hou B, et al. Engineering lysosome-targeting BODIPY nanoparticles for photoacoustic imaging and photodynamic therapy under near-infrared light [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(19): 12039-12047.
- [35] Yan X F, Hu H, Lin J, et al. Optical and photoacoustic dual-modality imaging guided synergistic photodynamic/photothermal therapies [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(6): 2520-2526.
- [36] Krzykawska-Serda M, Dabrowski J M, Arnaut L G, et al. The role of strong hypoxia in tumors after treatment in the outcome of bacteriochlorin-based photodynamic therapy [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2014, 73: 239-251.
- [37] Liu Y Y, Liu Y, Bu W B, et al. Hypoxia induced by upconversion-based photodynamic therapy: towards highly effective synergistic bioreductive therapy in tumors [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(28): 8105-8109.
- [38] Cao F, Qiu Z H, Li H H, et al. Photoacoustic imaging in oxygen detection [J]. *Applied Sciences*, 2017, 7(12): 1262.
- [39] Moore C, Jokerst J V. Strategies for image-guided therapy, surgery, and drug delivery using photoacoustic imaging [J]. *Theranostics*, 2019, 9(6): 1550-1571.
- [40] Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, et al. Prediction of tumor recurrence and therapy monitoring using ultrasound-guided photoacoustic imaging [J]. *Theranostics*, 2015, 5(3): 289-301.
- [41] Shao P, Chapman D W, Moore R B, et al. Monitoring photodynamic therapy with photoacoustic microscopy [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(10): 106012.
- [42] Neuschmelting V, Kim K, Malekzadeh-Najafabadi J, et al. WST11 vascular targeted photodynamic therapy effect monitoring by multispectral optoacoustic tomography (MSOT) in mice [J]. *Theranostics*, 2018, 8(3): 723-734.
- [43] Hirakawa Y, Mizukami K, Yoshihara T, et al. Intravital phosphorescence lifetime imaging of the renal cortex accurately measures renal hypoxia [J]. *Kidney International*, 2018, 93(6): 1483-1489.
- [44] Sakadžić S, Roussakis E, Yaseen M A, et al. Two-photon high-resolution measurement of partial pressure of oxygen in cerebral vasculature and tissue [J]. *Nature Methods*, 2010, 7(9): 755-759.
- [45] Wang Y, Hu S, Maslov K, et al. *In vivo* integrated photoacoustic and confocal microscopy of hemoglobin oxygen saturation and oxygen partial pressure [J]. *Optics Letters*, 2011, 36(7): 1029-1031.
- [46] Shao Q, Ashkenazi S. Photoacoustic lifetime imaging for direct *in vivo* tissue oxygen monitoring [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(3): 036004.

- [47] Chen S Y, Shu X, Nesper P L, et al. Retinal oximetry in humans using visible-light optical coherence tomography [J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(3): 1415-1429.
- [48] Yi J, Liu W Z, Chen S Y, et al. Visible light optical coherence tomography measures retinal oxygen metabolic response to systemic oxygenation [J]. *Light: Science & Applications*, 2015, 4(9): e334.
- [49] Chen S Y, Liu Q, Shu X, et al. Imaging hemodynamic response after ischemic stroke in mouse cortex using visible-light optical coherence tomography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(9): 3377-3389.
- [50] Jiang X P, Dai Z F. Reactive oxygen species in photodynamic therapy[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 63(18): 1783-1802.
蒋昕鹏, 戴志飞. 光动力活性氧的研究进展[J]. *科学通报*, 2018, 63(18):1783-1802.
- [51] Scholz M, Biehl A L, Dedic R, et al. The singlet-oxygen-sensitized delayed fluorescence in mammalian cells: a time-resolved microscopy approach [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2015, 14(4): 700-713.
- [52] Niedre M J, Yu C S, Patterson M S, et al. Singlet oxygen luminescence as an *in vivo* photodynamic therapy dose metric: validation in normal mouse skin with topical amino-levulinic acid[J]. *British Journal of Cancer*, 2005, 92(2): 298-304.
- [53] Looft A, Pfitzner M, Preuß A, et al. *In vivo* singlet molecular oxygen measurements: sensitive to changes in oxygen saturation during PDT[J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2018, 23: 325-330.
- [54] Kim I W, Park J M, Roh Y J, et al. Direct measurement of singlet oxygen by using a photomultiplier tube-based detection system [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2016, 159: 14-23.
- [55] Gemmell N R, McCarthy A, Liu B C, et al. Singlet oxygen luminescence detection with a fiber-coupled superconducting nanowire single-photon detector[J]. *Optics Express*, 2013, 21(4): 5005-5013.
- [56] Boso G, Ke D M, Korzh B, et al. Time-resolved singlet-oxygen luminescence detection with an efficient and practical semiconductor single-photon detector[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(1): 211-224.
- [57] Hu B L, Zeng N, Liu Z Y, et al. Two-dimensional singlet oxygen imaging with its near-infrared luminescence during photosensitization[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(1): 016003.
- [58] Lee S, Isabelle M E, Gabally-Kinney K L, et al. Dual-channel imaging system for singlet oxygen and photosensitizer for PDT [J]. *Biomedical Optics Express*, 2011, 2(5): 1233-1242.
- [59] Lin L S, Li Y R, Zhang J D, et al. Vessel constriction correlated with local singlet oxygen generation during vascular targeted photodynamic therapy [J]. *Proceedings of SPIE*, 2014, 9268: 92680T.
- [60] Briers D J. Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging [J]. *Physiological Measurement*, 2001, 22(4): R35-R66.
- [61] Lin L S, Chen D F, Gu Y, et al. Optical monitoring techniques for assessing vascular damage of vascular targeted photodynamic therapy [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2016, 25(2): 97-106.
林黎升, 陈德福, 顾瑛, 等. 评估光动力血管损伤的光学监测技术[J]. *激光生物学报*, 2016, 25(2): 97-106.
- [62] Chen D F, Ren J, Wang Y, et al. Intraoperative monitoring of blood perfusion in port wine stains by laser Doppler imaging during vascular targeted photodynamic therapy: a preliminary study [J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2016, 14: 142-151.
- [63] Yu G, Durduran T, Zhou C, et al. Noninvasive monitoring of murine tumor blood flow during and after photodynamic therapy provides early assessment of therapeutic efficacy[J]. *Clinical Cancer Research*, 2005, 11(9): 3543-3552.
- [64] Dunn A K. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2012, 40(2): 367-377.
- [65] Vaz P G, Humeau-Heurtier A, Figueiras E, et al. Laser speckle imaging to monitor microvascular blood flow: a review [J]. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, 2016, 9: 106-120.
- [66] Li C X, Chen W L, Jiang J Y, et al. Laser speckle contrast imaging on *in vivo* blood flow: a review[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(2): 0207006.
李晨曦, 陈文亮, 蒋景英, 等. 激光散斑衬比血流成像技术研究进展[J]. *中国激光*, 2018, 45(2): 0207006.
- [67] Kruijt B, de Bruijn H S, van der Ploeg-van den Heuvel A, et al. Laser speckle imaging of dynamic changes in flow during photodynamic therapy [J]. *Lasers in Medical Science*, 2006, 21(4): 208-212.
- [68] Moy W J, Patel S J, Lertsakdadet B S, et al. Preclinical *in vivo* evaluation of Npe6-mediated photodynamic therapy on normal vasculature [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2012, 44(2): 158-

- 162.
- [69] Ren J, Li P C, Zhao H Y, et al. Assessment of tissue perfusion changes in port wine stains after vascular targeted photodynamic therapy: a short-term follow-up study[J]. *Lasers in Medical Science*, 2014, 29(2): 781-788.
- [70] Abdurashitov A, Bragina O, Sindeeva O, et al. Off-axis holographic laser speckle contrast imaging of blood vessels in tissues [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2017, 22(9): 091514.
- [71] Wang L V, Yao J J. A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences [J]. *Nature Methods*, 2016, 13(8): 627-638.
- [72] Tang J M, Huang Z. Application of photoacoustic imaging techniques in research of photodynamic therapy[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2016, 25(3): 204-208.
唐嘉铭, 黄正. 光声成像在光动力疗法研究中的应用 [J]. *激光生物学报*, 2016, 25(3): 204-208.
- [73] Gao X X, Tao C, Wang X D, et al. Quantitative imaging of microvasculature in deep tissue with a spectrum-based photo-acoustic microscopy [J]. *Optics Letters*, 2015, 40(6): 970-973.
- [74] Liu L B, Tao C, Liu X J, et al. Photoacoustic tomography from weak and noisy signals by using a pulse decomposition algorithm in the time-domain [J]. *Optics Express*, 2015, 23(21): 26969-26977.
- [75] Xiang L Z, Xing D, Gu H M, et al. Real-time optoacoustic monitoring of vascular damage during photodynamic therapy treatment of tumor [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2007, 12(1): 014001.
- [76] Li P, Li P. Mass simple optical coherence tomography angiography technology and application [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(3): 0307001.
李培, 李鹏. 多样本光学相干血流运动造影技术及应用 [J]. *中国激光*, 2018, 45(3): 0307001.
- [77] Swanson E A, Fujimoto J G. The ecosystem that powered the translation of OCT from fundamental research to clinical and commercial impact [J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(3): 1638-1664.
- [78] Leitgeb R A, Werkmeister R M, Blatter C, et al. Doppler optical coherence tomography [J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2014, 41(10): 26-43.
- [79] de Carlo T E, Romano A, Waheed N K, et al. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA) [J]. *International Journal of Retina and Vitreous*, 2015, 1(1): 5.
- [80] Chen C L, Wang R K. Optical coherence tomography based angiography [J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(2): 1056-1082.
- [81] Latrive A, Teixeira L R C, Gomes A S L, et al. Characterization of skin Port-Wine Stain and Hemangioma vascular lesions using Doppler OCT [J]. *Skin Research and Technology*, 2016, 22(2): 223-229.
- [82] Pellegrini M, Corvi F, Say E A T, et al. Optical coherence tomography angiography features of choroidal neovascularization associated with choroidal nevus [J]. *Retina*, 2018, 38(7): 1338-1346.
- [83] de Jong J H, Braaf B, Amarakoon S, et al. Treatment effects in retinal angiomatous proliferation imaged with OCT angiography [C]//Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), May 01, 2016, Seattle, WA, USA. Maryland: Assoc Res Vis & Ophthalmol, 2019, 241(3): 143-153.
- [84] Matveev L A, Zaitsev V Y, Gelikonov G V, et al. Hybrid M-mode-like OCT imaging of three-dimensional microvasculature *in vivo* using reference-free processing of complex valued B-scans [J]. *Optics Letters*, 2015, 40(7): 1472-1475.
- [85] Sirotkina M A, Matveev L A, Shirmanova M V, et al. Photodynamic therapy monitoring with optical coherence angiography [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41506.
- [86] Sirotkina M A, Gubarkova E V, Matveev L A, et al. Optical coherence angiography monitoring of tumor early response to PDT in experimental and clinical studies [J]. *Proceedings of SPIE*, 2019, 11079: 110790K.
- [87] Harper D J, Augustin M, Lichtenegger A, et al. White light polarization sensitive optical coherence tomography for sub-micron axial resolution and spectroscopic contrast in the murine retina [J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(5): 2115-2129.
- [88] Fujimoto J G. Optical coherence tomography for ultrahigh resolution *in vivo* imaging [J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(11): 1361-1367.
- [89] Liu G J, Chen A Z. Advances in Doppler OCT [J]. *Chinese Optics Letters*, 2013, 11(1): 011702.