

特邀论文

# 基于多角度光声介观成像方法的小动物 肿瘤特异性成像

路彤<sup>1</sup>, 高峰<sup>1,2</sup>, 宋少泽<sup>1</sup>, 陈婷婷<sup>1</sup>, 苗士超<sup>1</sup>, 李娇<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>天津大学精密仪器与光电子工程学院, 天津 300072;

<sup>2</sup>天津市生物医学检测技术与仪器重点实验室, 天津 300072

**摘要** 搭建了一套多角度扫描的高灵敏度光声介观(OPAM)实验系统,可同时实现高灵敏度测量和多角度信息获取,并利用该系统对小动物肿瘤的结构信息与功能信息进行了初探。通过仿体实验验证了所搭建系统的空间分辨能力,满足 OPAM 成像需求;通过对两种小动物肿瘤模型进行 OPAM 实验,可获得肿瘤的结构图像以及两种肿瘤较为明显的类型特征;之后利用该系统在双波长测量条件下获得了肿瘤的血氧饱和度值。实验表明,该 OPAM 系统可以为肿瘤学研究提供一定的参考与指导,在生物医学研究领域具有较好的应用前景。

**关键词** 医用光学; 光声介观; 双波长; 聚焦超声探测器; 多角度扫描; 肿瘤实验

中图分类号 Q631

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207032

## Tumor-Specific Imaging of Small Animals Based on Multi-Angle Optoacoustic Mesoscopy Imaging Method

Lu Tong<sup>1</sup>, Gao Feng<sup>1,2</sup>, Song Shaoze<sup>1</sup>, Chen Tingting<sup>1</sup>, Miao Shichao<sup>1</sup>, Li Jiao<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Precision Instruments and Opto-Electronic Engineering, Tianjin University,

Tianjin 300072, China;

<sup>2</sup>Tianjin Key Laboratory of Biomedical Detecting Techniques and Instruments, Tianjin 300072, China

**Abstract** In this study, we construct a high-sensitivity optoacoustic mesoscopy (OPAM) experimental system with a multi-angle scanning mode that can simultaneously perform high-sensitivity measurements and achieve multi-angle information acquisition. This system is employed to acquire the structural and functional information related to small-animal tumor models. The spatial resolution of this OPAM experimental system is verified via a phantom experiment that satisfies the OPAM imaging requirements. Further, by applying the OPAM experimental system on two types of small-animal tumor models, their structural images and obvious type characteristics are presented. Subsequently, the blood oxygen saturation values of the tumors are obtained using the OPAM experimental system under the dual-wavelength measurement condition. The experimental results denote that the OPAM experimental system can provide valuable reference and guidance for oncology research and that the proposed system exhibits considerable application prospects in the field of biomedical research.

**Key words** medical optics; optoacoustic mesoscopy; dual-wavelength; focused ultrasonic detector; multi-angle scanning; tumor experiment

**OCIS codes** 170.5120; 140.3600; 040.1880; 170.6930

## 1 引言

随着人们对疾病诊断要求的提高,特别是对早

期病变组织进行无损伤诊断和对人类生命现象深入研究的要求,基于小动物肿瘤模型的无损成像研究具有极为重大的科学研究意义与临床应用价值<sup>[1-3]</sup>。

收稿日期: 2019-09-05; 修回日期: 2019-10-08; 录用日期: 2019-10-14

基金项目: 国家自然科学基金(81771880, 8140145, 81571723, 816717283, 61475115, 61475116, 61575140)、天津市自然科学基金(17JCZDJC32700)

\* E-mail: jiaoli@tju.edu.cn

基于光声效应的光声成像方法是一种以超声为媒介的生物光子成像方法,该方法结合光学成像和声学成像的优点,即将光学方法的无损伤、高光学特异性和超声波的低衰减、高穿透性特点相结合。一方面,光声成像技术以组织的光学吸收系数为基础,组织内部的发色团对特定波长的激光具有差别较大的光学吸收系数,因此可实现高对比度成像;另一方面,与光相比,超声波在深度方向上受组织体散射效应的影响较低,可对深层组织进行高空间分辨率成像。光声成像方法具有灵活度高、穿透深度深和高分辨成像的特点,可以采用不同的成像方式获得与应用相匹配的优质图像<sup>[4-6]</sup>。在光声成像方法中,基于声学聚焦的光声介观(OPAM)成像方法,即声学分辨率下的光声显微成像方法,能够实现浅层(1~10 mm)组织的高分辨(10~100  $\mu\text{m}$ )成像<sup>[7-9]</sup>。该成像方法适用于肿瘤血管形态的结构成像、肿瘤内部氧饱和度的功能成像、靶向探针药物的分子成像等生物医学、影像学领域。

近年来,多个研究小组开展了对 OPAM 成像方法的研究,已证实该成像方法在生物医学领域中的重要应用价值<sup>[10-13]</sup>。目前 OPAM 成像方法存在的主要问题是信噪比高,以及多角度测量数据同时获取能力欠缺。已发展的 OPAM 成像系统通常采用基于单超声探测器的光栅扫描系统<sup>[10-11]</sup>和基于超声阵列的多角度层析扫描系统<sup>[12-13]</sup>。前者所采用的单超声探测器可获得高信噪比的光声信号,但由于光栅二维扫描模式获得的光声信号缺少多角度信息,会在一定程度上降低重建图像的保真度;后者采用超声阵列可对光声信号进行多角度全方位的提取,但造价昂贵,并且与单超声探测器相比,超声阵列单个阵元的灵敏度和信噪比有一定的降低,会在一定程度上影响重建图像的质量。

本文搭建了一套面向小动物肿瘤模型成像的 OPAM 实验系统。该系统将高频聚焦超声探测器与多角度扫描方式相结合,前者可实现高灵敏度测量,后者则可实现对目标体信息的多角度获取。首先,通过仿体实验并采用结合虚拟点技术的反投影重建算法,验证系统的高分辨率能力。为了获得肿瘤的结构信息,本文采用 705 nm 波长下的脉冲激光照射肿瘤组织,获得基于活体小鼠的胰腺癌肿瘤和肝癌肿瘤的 OPAM 重建图像,对图像结果中的肿瘤特征进行分析,并通过双波长实验获得了肿瘤的血氧饱和度指标。实验结果表明,该 OPAM 系统可对活体小动物肿瘤模型进行高分辨成像,为

OPAM 成像技术在肿瘤学研究方面的深入探究提供了参考。

## 2 面向小动物肿瘤成像的 OPAM 实验系统

### 2.1 OPAM 系统装置

OPAM 系统的成像原理如图 1 所示。该成像系统利用波长为 532 nm 的 Nd:YAG(Nimma-600)脉冲激光器将光泵浦至光学参量振荡器(OPO),以产生近红外范围内的脉冲激光,输出波长范围为 680~1064 nm,脉冲重复频率为 10 Hz,脉冲持续时间为 8 ns。OPO 出射的脉冲光通过光纤耦合传输至光纤束中,最终形成四面照明的宽场光照明模式。OPAM 成像系统采用定制的中心频率为 15 MHz,直径和焦距均为 6 mm(数值孔径  $NA = 0.5$ )的球聚焦超声探测器来接收光声信号,通过与旋转台(M-060.PD, Physik Instrument)连接实现连续旋转扫描。实验中选择的测量范围为  $120^\circ$ ,测量时间为 60 s。光声信号经过超声探测器转换为电信号,继而通过 50 dB 前置放大器放大后进入高速数据采集卡进行数据采集,其采样频率设置为 100 MHz。信号最终传输至计算机进行数据存储与图像重建等处理。为了确保声速在水中的稳定性,实验中将加热元件放置在水箱中,以保持  $33^\circ\text{C}$  的恒定温度。

### 2.2 实验设计

为评估 OPAM 成像系统的成像分辨能力,首先对表面随机分布的直径为 50  $\mu\text{m}$  的聚乙烯微球仿体进行 OPAM 实验。采用与生物组织体具有类似光学散射系数的仿体进行实验,该圆柱形琼脂仿体由 48.35 mL 蒸馏水、1.5 g 琼脂粉和 1.65 mL 的脂肪乳溶液(质量分数为 10%)配比而成,形成约化散射系数为  $1\text{ mm}^{-1}$  的背景。待仿体将要固化时,在其表面随机放置一些直径为 50  $\mu\text{m}$  的聚乙烯微球。其中琼脂粉起固化作用,脂肪乳溶液主要模拟组织中的散射物质,微球为主要的成像目标体。为验证本系统对活体小动物肿瘤成像的能力,采用体重约为 20 g,4 周大的 BALB/c 雄性裸小鼠进行成像实验。通过与天津市肿瘤医院合作,建立了鼠源胰腺癌细胞系和肝癌细胞系,将其接种至裸小鼠的侧腹部来构建皮下移植肿瘤模型。胰腺癌肿瘤模型和肝癌肿瘤模型均为 6 例。每隔 3 d 测量肿瘤的长度与宽度,当肿瘤体径长到 5~10 mm 时开始动物实验,本实验符合动物实验控制和监督委员会相关

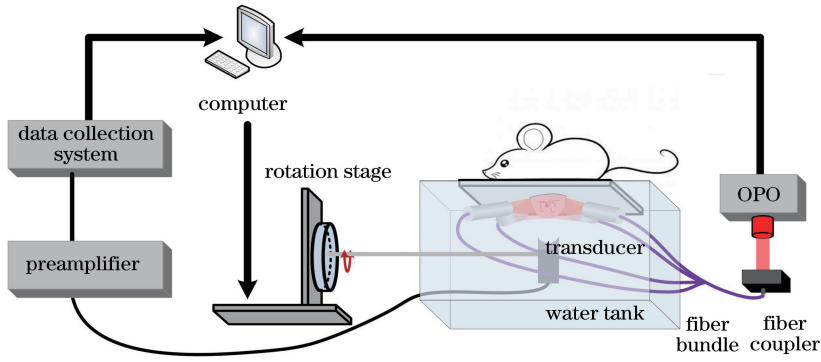


图 1 OPAM 系统原理图

Fig. 1 Schematic of OPAM system

条例。实验过程为:1)用质量分数为 4%的水合氯醛对裸小鼠进行腹腔麻醉(注射剂量为0.0075 mL/g); 2)将裸小鼠固定在成像支架上,仅肿瘤部分自然垂落在成像支架的孔内;3)采用 OPAM 系统对肿瘤进行 120°扫描测量,然后将裸小鼠取下。

### 3 结合虚拟点技术的反投影重建方法

基于 OPAM 系统的测量数据,利用目前光声领域中广泛使用的通用反投影重建方法<sup>[14]</sup>,对实验仿体和小鼠肿瘤进行重建。OPAM 系统采用的高频宽带球聚焦超声探测器,可对一定孔径角内的光声信号进行高灵敏度接收。基于该 OPAM 实验系统,将反投影重建算法与虚拟点探测技术相结合,如图 2 所示。为尽量减少高频信号的衰减,探测器与目标体之间的探测距离设置较近,且保持探测器的焦点处于成像目标区域外适当位置,即  $R > F + r$ 。在这种离焦测量模式下,直接将具有一定晶面尺寸的探测器等效为一个虚拟点探测器的误差较大。所搭建的 OPAM 系统中具有大数值孔径的高频宽带球聚焦超声探测器的焦点尺寸远小于其晶面尺寸,可近似为一个虚拟点探测器。结合虚拟点探测技术的反投影重建方法可以减少传统反投影方法在初始声压重建过程中由探测晶面造成的计算误差,提高

重建图像质量。

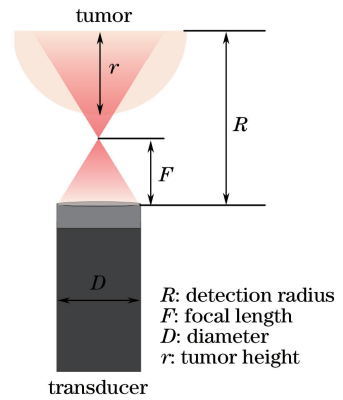


图 2 基于球聚焦超声探测器的离焦测量模式  
Fig. 2 Out-of-focus measurement mode based on sphere-focused ultrasonic detector

## 4 实验结果与分析

### 4.1 仿体实验

为验证 OPAM 成像系统的有效性,设计表面分布了一些直径为 50  $\mu\text{m}$  聚乙烯微球的琼脂仿体。实验中的激光波长设置为 705 nm。随后,利用传统的反投影重建方法和结合虚拟点技术的反投影重建算法进行图像重建。图 3 为仿体实物图和图 3(a)方框区域的成像结果。从图 3(b)可以看出,采用传

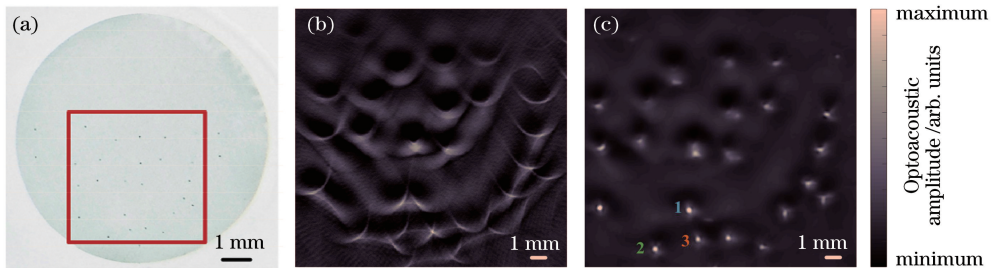


图 3 仿体实验结果。(a)仿体实物图;(b)传统反投影方法的重建结果;(c)结合虚拟点技术的反投影重建结果

Fig. 3 Results of phantom experiment. (a) Photograph of phantom; (b) reconstructed result by traditional back-projection algorithm; (c) reconstructed result by modified back-projection algorithm combined with virtual point technique

统的反投影重建方法获得的重建图像存在明显的伪影与失真,这是因为在探测距离较近的情况下,将探测器晶面等效为一个点探测器的假设无法成立。从图 3(c)可以看出,结合虚拟点探测技术的反投影重建方法可以有效恢复出微球的分布与形状。

从图 3(c)中随机选取三个微球,其  $x$  轴和  $y$  轴剖线如图 4 所示。通过计算得到微球的半峰全宽 (FWHM) 及平均值,如表 1 所示,系统在水平( $x$ )方向和竖直( $y$ )方向的分辨能力分别约为  $77.76 \mu\text{m}$  和  $88.50 \mu\text{m}$ 。

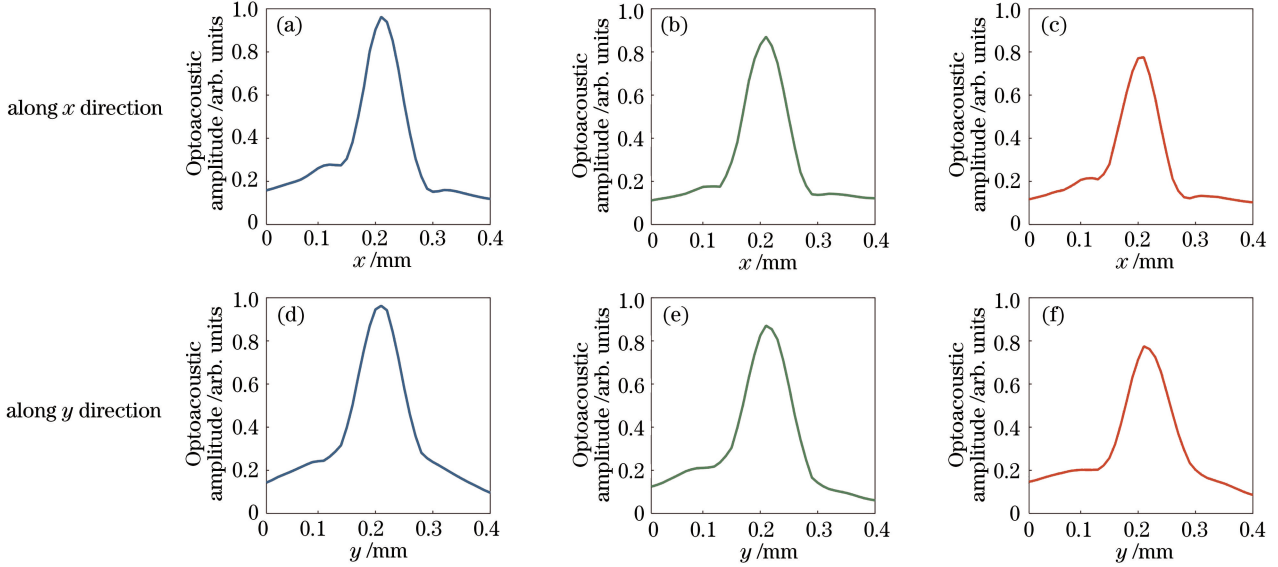


图 4 所选的 3 个微球的  $x$  轴和  $y$  轴剖线图。(a)(d)微球 1;(b)(e)微球 2;(c)(f)微球 3

Fig. 4 Profiles of three microspheres along  $x$  and  $y$  directions. (a)(d) Microsphere 1; (b)(e) microsphere 2; (c)(f) microsphere 3

表 1 三个微球的 FWHM 值

Table 1 FWHM values of three microspheres

Microsphere No.	FWHM / $\mu\text{m}$	
	Along $x$ direction	Along $y$ direction
Microsphere 1	78.88	88.28
Microsphere 2	79.33	88.90
Microsphere 3	75.07	88.31
Mean value	77.76	88.50

#### 4.2 小动物肿瘤模型实验

图 5 为活体小鼠肿瘤成像实物图。实验时采用的激光波长为  $705 \text{ nm}$ ,所得到的肿瘤部分重建结果如图 6 所示,重建区域大小为  $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ 。从重建结果可以看出肿瘤的轮廓和内部主要血管网络的形态和走向。实验结果表明,系统可以初步实现对小鼠肿瘤内部血管的结构成像,展示出系统在活体小动物肿瘤模型上的应用能力。

为在小动物结构成像基础上进一步分析胰腺癌肿瘤和肝癌肿瘤的特征,采用应用广泛的灰度共生矩阵 (GLCM) 分析方法来提取 OPAM 图像的纹理特征。GLCM 的元素为将灰度级  $i$  的点按照某个固定距离  $d$  和角度  $\theta$  移动至灰度级  $j$  的概率,记为  $p(i, j)$ 。GLCM 反映的是图像灰度关于方向、相邻

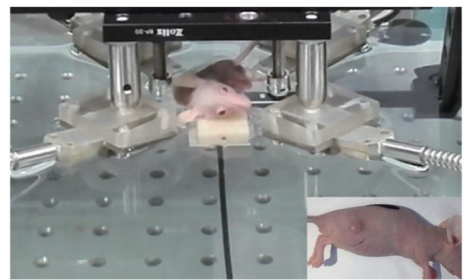


图 5 小鼠肿瘤成像实物图

Fig. 5 Photo of mouse tumor imaging

间隔、变化幅度的综合信息。实验所获得的肿瘤 OPAM 图像原始灰度值分布范围较广,直接用于计算 GLCM 时运算量太大。为了降低运算量,对 OPAM 图像进行灰度等级划分,将 GLCM 的维数  $N \times N$  设置为  $255 \times 255$ 。本文采用 GLCM 中常用的 4 个特征量来进行分析<sup>[15]</sup>。

1) 能量 ( $G_{ASM}$ ),是指图像灰度值分布的均匀程度,当 GLCM 中主对角线元素分布集中时, $G_{ASM}$  值较大,图像在局部区域的灰度分布较为均匀。其计算公式为

$$G_{ASM} = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} p^2(i, j). \quad (1)$$

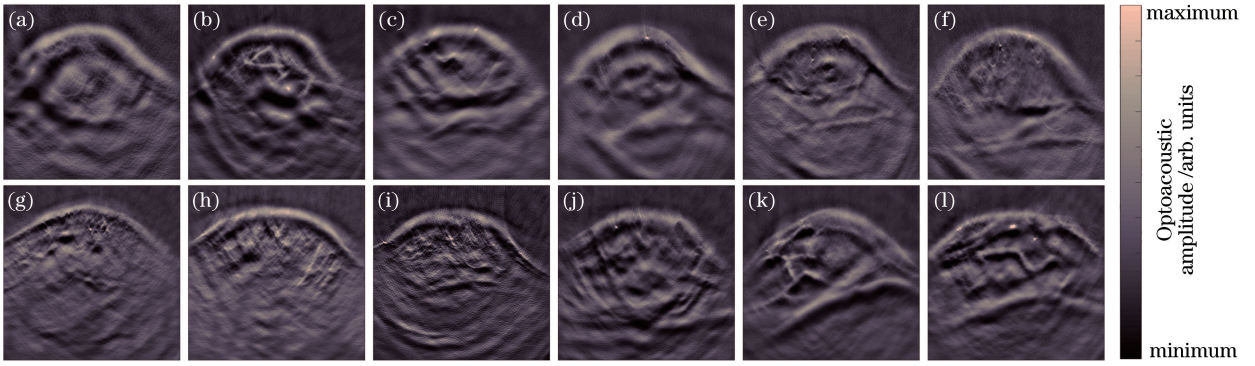


图 6 小鼠肿瘤实验结果。(a)~(f)胰腺癌肿瘤的 OPAM 成像结果;(g)~(l)肝癌肿瘤的 OPAM 成像结果

Fig. 6 Experimental results of mouse tumors. (a)~(f) OPAM imaging results of pancreas tumors; (g)~(l) OPAM imaging results of liver tumors

2) 熵( $G_{ENT}$ ),代表图像的信息量,可反映图像纹理特征的复杂程度, $G_{ENT}$ 值越大,表明图像纹理复杂度越高。计算公式为

$$G_{ENT} = - \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} p(i, j) \log p(i, j). \quad (2)$$

3) 对比度( $G_{CON}$ ),反映图像清晰度和纹理深度, $G_{CON}$ 值越大,表明图像清晰度越高,纹理越深。其公式为

$$G_{CON} = \sum_{n=0}^{N-1} n^2 \left[ \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} p(i, j) \right]. \quad (3)$$

4) 相关性( $G_{CORR}$ ),反映 GLCM 中元素的差异性,即图像灰度在某一方向的变化程度。 $G_{CORR}$ 值越大,表明元素差异性越小,图像灰度在该方向的变化趋势越不明显。其公式为

$$G_{CORR} = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} \frac{ijp(i, j) - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y}, \quad (4)$$

式中: $\mu_x = \sum_{i=0}^{N-1} ip(i, j)$ ;  $\mu_y = \sum_{j=0}^{N-1} jp(i, j)$ ;  $\sigma_x = \sum_{i=0}^{N-1} (i - \mu_x)^2 p(i, j)$ ;  $\sigma_y = \sum_{j=0}^{N-1} (j - \mu_y)^2 p(i, j)$ 。本

文在  $0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ$  这 4 个方向对每一张图像进行计算,得到 4 个 GLCM,对这 4 个方向上的 4 个纹理特征值进行进一步计算,得到各个特征的均值。

图 7 所示为通过箱形图统计的两类肿瘤特征指标的分布趋势。由图 7 可知:胰腺癌肿瘤图像的  $G_{ASM}$  值大多高于肝癌肿瘤图像的  $G_{ASM}$  值,表明胰腺癌肿瘤图像灰度分布较为均匀;肝癌肿瘤图像的  $G_{ENT}$  值大多高于胰腺癌肿瘤图像的  $G_{ENT}$  值,表明肝癌肿瘤图像的复杂度高于胰腺癌肿瘤图像;与胰腺癌肿瘤图像相比,肝癌肿瘤图像的对比度大多较高,纹理较深;与肝癌肿瘤图像相比,胰腺癌肿瘤图像的  $G_{CORR}$  值较大,即图像灰度变化程度较小。基于以上分析,本研究的动物实验结果初步表明,肝癌肿瘤图像在纹理方面比胰腺癌肿瘤图像具有更明显的特征。采用双样本  $t$  检验方法<sup>[16]</sup>,对两类肿瘤 4 个指标的均值进行统计分析,特征参数  $G_{ASM}$ 、 $G_{ENT}$  和  $G_{CON}$  的  $t$  检验对应的  $P$  值都小于 0.05,  $G_{CORR}$  的  $t$  检验对应的  $P$  值小于 0.01,说明两类肿瘤的 4 个特征参数差异均具有统计学意义。

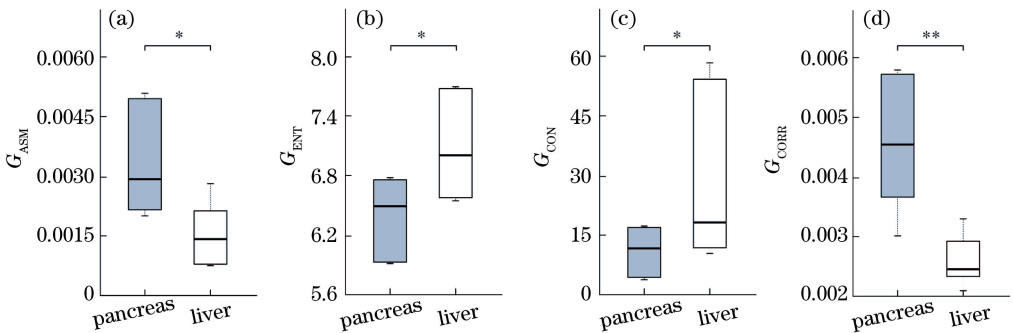


图 7 胰腺癌肿瘤和肝癌肿瘤的 4 个指标箱形图,采用双样本  $t$  检验方法计算  $P$  值,

\* 为  $P < 0.05$ , \*\* 为  $P < 0.01$ 。(a)  $G_{ASM}$ ; (b)  $G_{ENT}$ ; (c)  $G_{CON}$ ; (d)  $G_{CORR}$

Fig. 7 Box-and-whisker plots of four parameters for pancreas and liver tumors, where  $P$  values are calculated by two-sample  $t$ -test, \* represents  $P < 0.05$ , and \*\* represents  $P < 0.01$ . (a)  $G_{ASM}$ ; (b)  $G_{ENT}$ ; (c)  $G_{CON}$ ; (d)  $G_{CORR}$

后续采用 705 nm 和 800 nm 两个波长进行双波长肿瘤实验,通过光谱解混方法<sup>[17]</sup>获得肿瘤内部血氧饱和度信息。6 例胰腺癌肿瘤的血氧饱和度值分别为 60.87%、71.25%、67.01%、58.08%、68.54% 和 66.75%,6 例肝癌肿瘤的血氧饱和度值分别为 48.69%、54.86%、66.79%、41.03%、64.88% 和 62.84%。从以上数据得到的箱形图(图 8)可以更加直观地看出,与肝癌肿瘤相比,胰腺癌肿瘤的血氧饱和度值略高,且变化范围较小。已有研究表明胰腺癌肿瘤与肝癌肿瘤均处于明显的缺氧状态<sup>[18-19]</sup>,本研究获得的血氧饱和度信息说明了 OPAM 系统可以有效获取肿瘤内部的功能性信息。

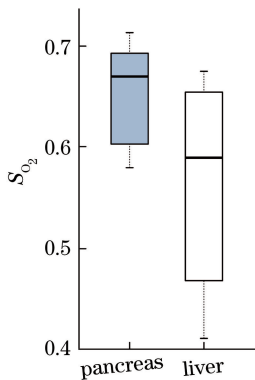


图 8 胰腺癌肿瘤和肝癌肿瘤的血氧饱和度指标箱形图

Fig. 8 Box-and-whisker plots of blood oxygen saturation values for pancreas and liver tumors

## 5 结 论

针对小动物肿瘤模型成像,采用高频聚焦超声探测器,并结合多角度全方位扫描策略,搭建了一套多角度全方位扫描的高灵敏度 OPAM 实验系统。通过仿体实验对系统性能进行了评估,结果显示该系统具备良好的分辨能力,小动物肿瘤模型实验结果进一步表明该系统可以获得高分辨的肿瘤结构图像。通过对 6 幅胰腺癌肿瘤 OPAM 图像和 6 幅肝癌肿瘤 OPAM 图像进行灰度特征分析,可初步发现肝癌肿瘤内部的纹理特征更为明显。由双样本  $t$  检验统计方法分析得出这两类肿瘤图像具有显著差异。最后采用双波长实验获得肿瘤的血氧饱和度值,表明该系统可有效获取两类肿瘤的功能性信息,为基于小动物肿瘤模型的肿瘤学研究提供了参考价值。

后续将开展大量的小鼠肿瘤实验,以进一步深入研究 OPAM 成像系统在辨别良恶性肿瘤、肿瘤类型以及肿瘤药物疗效评估等方面的应用潜力。在

临床治疗前利用小动物肿瘤模型对靶向药物的有效性进行评价与筛选,有望提供更为直观可靠的精准治疗方案,有助于抗癌药物疗效监测等临床的基础研究。

## 参 考 文 献

- [1] Taruttis A, van Dam G M, Ntziachristos V. Mesoscopic and macroscopic optoacoustic imaging of cancer[J]. *Cancer research*, 2015, 75(8): 1548-1559.
- [2] Liu Y J, Nie L M, Chen X Y. Photoacoustic molecular imaging: from multiscale biomedical applications towards early-stage theranostics [J]. *Trends in Biotechnology*, 2016, 34(5): 420-433.
- [3] Siphanto R I, Thumma K K, Kolkman R G M, et al. Serial noninvasive photoacoustic imaging of neovascularization in tumor angiogenesis[J]. *Optics Express*, 2005, 13(1): 89-95.
- [4] Wang L V. Multiscale photoacoustic microscopy and computed tomography[J]. *Nature Photonics*, 2009, 3(9): 503-509.
- [5] Wang L V, Hu S. Photoacoustic tomography: *in vivo* imaging from organelles to organs[J]. *Science*, 2012, 335(6075): 1458-1462.
- [6] Taruttis A, Ntziachristos V. Advances in real-time multispectral optoacoustic imaging and its applications[J]. *Nature Photonics*, 2015, 9(4): 219-227.
- [7] Omar M, Aguirre J, Ntziachristos V. Optoacoustic mesoscopy for biomedicine [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2019, 3(5): 354-370.
- [8] Omar M, Rebling J, Wicker K, et al. Optical imaging of post-embryonic zebrafish using multi orientation raster scan optoacoustic mesoscopy [J]. *Light: Science & Applications*, 2017, 6(1): e16186.
- [9] Ntziachristos V. Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology [J]. *Nature Methods*, 2010, 7(8): 603-614.
- [10] Omar M, Schwarz M, Soliman D, et al. Pushing the optical imaging limits of cancer with multi-frequency-band raster-scan optoacoustic mesoscopy (RSOM) [J]. *Neoplasia*, 2015, 17(2): 208-214.
- [11] Omar M, Soliman D, Gateau J, et al. Ultrawideband reflection-mode optoacoustic mesoscopy [J]. *Optics Letters*, 2014, 39(13): 3911-3914.
- [12] Chekkoury A, Gateau J, Driessen W, et al. Optical mesoscopy without the scatter: broadband multispectral optoacoustic mesoscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(9): 3134-3148.
- [13] Gateau J, Chekkoury A, Ntziachristos V. High-

- resolution optoacoustic mesoscopy with a 24 MHz multidetector translate-rotate scanner [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(10): 106005.
- [14] Xu M H, Wang L V. Universal back-projection algorithm for photoacoustic computed tomography [J]. *Physical Review E*, 2005, 71(1): 016706.
- [15] Mohanaiah P, Sathyanarayana P, GuruKumar L. Image texture feature extraction using GLCM approach [J]. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2013, 3(5):1.
- [16] de Winter J C F. Using the Student's *t*-test with extremely small sample sizes [J]. *Practical Assessment, Research & Evaluation*, 2013, 18(10): 1-12.
- [17] Cox B, Laufer J G, Arridge S R, et al. Quantitative spectroscopic photoacoustic imaging: a review [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(6): 061202.
- [18] Büchler P, Reber H A, Lavey R S, et al. Tumor hypoxia correlates with metastatic tumor growth of pancreatic cancer in an orthotopic murine model [J]. *Journal of Surgical Research*, 2004, 120(2): 295-303.
- [19] Jordan B F, Misson P D, Demeure R, et al. Changes in tumor oxygenation/perfusion induced by the no donor, isosorbide dinitrate, in comparison with carbogen: monitoring by EPR and MRI [J]. *International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics*, 2000, 48(2): 565-570.