

基于偏振敏感光学相干层析术的脑胶质瘤成像

王伟珂¹, 胡慕芸¹, 杨迪¹, 袁卓群¹, 贾晓花^{2**}, 杨建凯^{3***}, 梁艳梅^{1*}¹南开大学现代光学研究所, 天津市微尺度光学信息技术科学重点实验室, 天津 300350;²中国科学院自动化研究所, 中国科学院分子影像重点实验室, 北京 100190;³河北医科大学第二医院神经外科, 河北 石家庄 050000

摘要 脑胶质瘤是一种侵袭性的恶性原发性脑肿瘤, 术中准确区分胶质瘤和正常脑组织极具挑战性。基于高分辨偏振敏感光学相干层析术(PS-OCT)对正常小鼠脑和胶质瘤模型小鼠脑进行成像, 计算了强度、累积相位延迟和累积光轴信息。结果表明, 从 PS-OCT 图像中可以清楚地显示出鼠脑中的纤维结构及其取向; 借助 PS-OCT 图像中丰富的偏振信息, 可以准确区分鼠脑胶质瘤区和正常区; 基于计算的光轴标准差可以有效区分胶质瘤和正常脑组织。研究表明, 高分辨 PS-OCT 在脑组织成像及脑胶质瘤识别方面具有很大的临床应用潜力。

关键词 医用光学; 偏振敏感光学相干层析术; 脑成像; 胶质瘤

中图分类号 TN247

文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL231603

1 引言

脑胶质瘤是一种常见的高度侵袭性的恶性原发性脑肿瘤。由于其侵袭性生长以及肿瘤形态多变的特点, 其边界与正常脑组织之间难以区分, 给诊断和治疗带来了巨大的挑战。脑胶质瘤很难手术全切除, 易于局部复发, 临床预后也非常差。例如, 高级别胶质母细胞瘤患者的中位生存期仅约为 14 个月, 而 5 年的生存率仅为 5.5%^[1]。在切除肿瘤的同时尽可能保护脑神经功能的完整性, 一直是手术中的难点^[2-3]。因此, 在术中利用影像手段对肿瘤的位置、大小及边界进行检测具有重要意义。

小鼠基因组中超过 80% 的基因与人类基因具有直系同源物的关系, 因此利用小鼠建立特定肿瘤模型具有明显的优势^[4]。将小鼠作为脑胶质瘤研究的动物模型, 有助于深入了解该疾病的发病机制并寻找有效的治疗方法。目前研究人员已经利用多种技术对小鼠脑肿瘤进行了成像研究, 比如正电子发射断层扫描(PET)^[5]、磁共振成像(MRI)^[6]、荧光成像^[7]和双光子成像^[8]。然而, PET 和 MRI 分辨率低, 无法发现早期病变; 光学成像方法分辨率高, 但是荧光成像通常需要注射荧光标记物, 而双光子成像的视场小、深度浅。

光学相干层析术(OCT)是一种基于光外差探测原理的成像技术, 可以获得相比荧光成像和双光子成

像更大的探测深度。OCT 可以对组织样品进行高分辨、实时、无创、无标记三维层析成像, 在生物和医学领域有着广泛的应用^[9-15]。2015 年, Kut 等^[16]系统地研究了 OCT 在实时和无标记成像方面的潜力, 基于 OCT 的强度图像设计了光学衰减参数, 通过对新鲜的离体脑胶质瘤组织和非癌组织的定量分析确定了癌组织的诊断阈值。2020 年, Dolganova 等^[17]进行了离体大鼠和人脑组织样品的 OCT 扫描, 通过分析衰减系数、反射强度归一化峰值等参数评估了 OCT 用于神经外科诊断的优缺点。然而, 基于组织结构和衰减系数等 OCT 强度性质来识别癌组织的方法, 容易受到系统分辨率、物镜焦深和样品测量条件的影响。

与偏振技术相结合而发展的偏振敏感 OCT(PS-OCT)作为 OCT 的一种功能拓展, 通过检测样品光偏振态的变化, 可以在样品散射强度的基础上, 进一步获得样品的偏振特性, 对于具有微观纤维结构的复杂各向异性组织的检测提供了额外的对比度^[18], 在提高组织检测特异性和定量分析方面有巨大潜力。近年来, 已有研究者开展了基于 PS-OCT 的脑肿瘤成像研究。2008 年, Nakaji 等^[19]利用 PS-OCT 对神经纤维束成像, 扫描了固定后的大鼠脑组织, 在冠状面、水平面和矢状面上清晰地显示出了神经纤维束, 并通过测量消光位置来识别纤维束的方向。2019 年, Liu 等^[20]提出使用多模态光学成像手段评价脑胶质瘤细胞迁移动力学的方法, 使用 PS-OCT 来描绘神经纤维束, 同时使用共

收稿日期: 2023-12-29; 修回日期: 2024-03-23; 录用日期: 2024-04-01; 网络首发日期: 2024-04-10

基金项目: 国家自然科学基金(62375144, 62027901, U21A20386)、京津冀基础研究合作专项项目(19JCZDJC65300)、天津市自然科学基金(21JCYBJC00260)、北京市自然科学基金(L232020)、河北省重点研发计划(21377751D)

通信作者: *ymliang@nankai.edu.cn; **xiaohua.jia@ia.ac.cn; ***jankaiyang@hebm.edu.cn

聚焦显微镜成像脑血管系统和细胞迁移过程,得到小鼠脑中胶质瘤细胞优先沿着灰质和白质的血管系统迁移的结论。

在本文的研究中,我们使用自行开发的高分辨 PS-OCT 系统对离体鼠脑和人源脑胶质瘤的小鼠模型进行成像,并通过比对 PS-OCT 图像、荧光图像和病理学切片,研究了鼠脑中正常和肿瘤组织的偏振特性;基于鼠脑各组织的偏振特性,研究了光轴标准差对正常和肿瘤组织的区分效果。结果表明,高分辨 PS-OCT 技术具有区分脑胶质瘤和脑正常组织的临床应用潜力,光轴标准差可以更直观有效地区分脑肿瘤和脑组织。

2 方 法

2.1 PS-OCT 系统

自行搭建的 PS-OCT 系统采用谱域 OCT (SD-OCT) 结构形式^[21],其宽谱光源采用中心波长 840 nm、3 dB 带宽约为 100 nm 的超发光二极管 (SLD)。该系统在空气中测得横向分辨率和纵向分辨率分别为 4 μm 和 3.4 μm 。

PS-SD-OCT 系统的原理如图 1 所示,宽谱光源发射的低相干光束经过一个线偏振片 POL 后输出为沿垂直方向的线偏光。非偏振敏感的分束器 (BS) 将线偏振光分为振幅相等的参考光和样品光。参考光穿过一个快轴方向与垂直方向夹角为 22.5° 的 1/4 波片 (QWP) QWP1 和色散补偿器 (DC) 后到达参考镜,被参考镜原路反射回到分束器,此时两次通过 1/4 波片的参考光束的偏振方向变换为 45°。样品光穿过一个快轴方向与垂直方向夹角为 45° 的 1/4 波片 QWP2 后,变换为圆偏振光,经扫描振镜和物镜聚焦到样品上。经过样品反射的背向散射光原路返回到分束器。在检测臂中,参考光进入检测臂时偏振方向为 45°;样品光进入检测臂时携带有样品的偏振信息,处于任意偏振状态。参考光和样品光发生干涉,干涉后的光通过偏

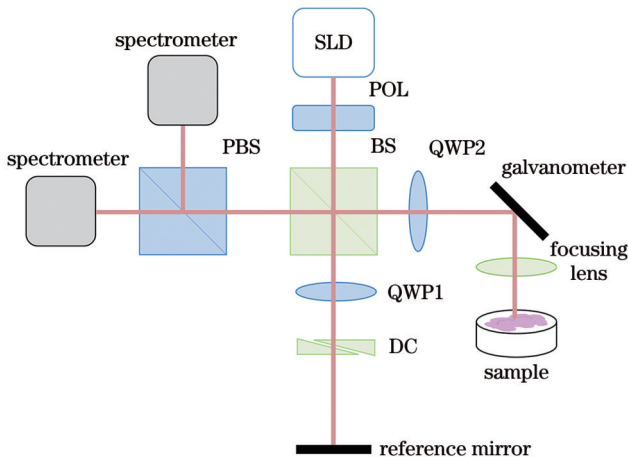


图 1 PS-SD-OCT 系统示意图

Fig. 1 System diagram of PS-SD-OCT

振分束器 (PBS) 分为两种正交偏振态,并分别由两个光谱仪进行检测和记录。

2.2 数据采集和处理

PS-SD-OCT 系统采用两个光谱仪分别接收两束正交偏振态的光。采集到的两个正交偏振态的光谱信号经过去除背景光、重采样到波数空间和傅里叶逆变换后得到样品的深度信息:

$$\mathcal{F}^{-1}\{I_H(k)\} \rightarrow A_H(z) \exp[i\varphi_H(z)], \quad (1)$$

$$\mathcal{F}^{-1}\{I_V(k)\} \rightarrow A_V(z) \exp[i\varphi_V(z)], \quad (2)$$

式中:参数 z 表示深度坐标; A 和 φ 分别表示干涉信号的幅值和相位;下标 H 和 V 分别表示两个正交偏振态。

通过斯托克斯矢量 \mathbf{S} 描述光的偏振状态^[21-22]:

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_H^2 + A_V^2 \\ A_H^2 - A_V^2 \\ 2A_H A_V \cos \Delta\varphi \\ 2A_H A_V \sin \Delta\varphi \end{pmatrix}, \quad (3)$$

式中:相位差 $\Delta\varphi = \varphi_H - \varphi_V$ 。

依据斯托克斯矢量可计算出反射强度 I_r 、累积相位延迟 δ 和累积光轴 θ ,由下列公式计算^[23]:

$$I_r(z) = |A_H^2(z)| + |A_V^2(z)|, \quad (4)$$

$$\delta(z) = \arctan \left[\frac{A_V(z)}{A_H(z)} \right] = \frac{1}{2} \arccos \left(\frac{Q}{I} \right), \quad (5)$$

$$\theta(z) = \frac{\pi - \Delta\varphi(z)}{2} = 90^\circ - \frac{1}{2} \arctan \left(\frac{V}{U} \right), \quad (6)$$

式中: δ 和 θ 的测量范围分别是 $[0, \pi/2]$ 和 $[-\pi/2, \pi/2]$,用于描述样品从表面到测量深度的累积偏振态的变化。

计算出鼠脑的 PS-OCT 强度和偏振信息图像后,本文提出光轴标准差的评价方式。通过计算二维空间窗内所有点的光轴标准差,实现肿瘤区域和正常区域的区分。光轴标准差的计算公式如下:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\theta_i - \bar{\theta})^2}{n-1}}, \quad (7)$$

式中: n 为选取的像素点数。

2.3 样品采集

本文选用 8 周龄雄性 BALB/c 品系裸鼠进行实验,由医生注射 U87-GFP 人神经胶质瘤细胞建立 5 只人源脑胶质瘤原位小鼠模型。模型建立 5 周后,处死小鼠并进行心脏灌注,尽可能完整地剥离鼠脑,浸入福尔马林溶液中进行固定。同时选用一只未种植肿瘤的正常小鼠作为对照组,处死后剥离鼠脑。对上述鼠脑沿冠状面切开,用荧光显微镜对鼠脑进行绿色荧光蛋白 (GFP) 荧光成像,确认肿瘤的位置和区域,再对切面进行 PS-OCT 成像。

对每个样品的切面进行了完整的扫描。为了实现

高分辨率成像,横向扫描范围受到一定的限制,因此实验通过单向移动样品台和图像处理程序对采集的图像进行了拼接。每个三维图像包含 1000 frame B 扫描图像,每帧 B 扫描图像由 $2000 \text{ pixel} \times 2000 \text{ pixel}$ (x - z 方向) 组成,对应样品表面横向 $6 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$,纵向 2.3 mm 的成像范围。从三维图像中截取 x - y 方向的图像,即可得到沿样品横截面的“正面”(en-face)图像。

3 实验结果

正常鼠脑冠状面的典型 PS-OCT 图像如图 2 所示。实验扫描了鼠脑冠状面的边缘和中央区域,分别对应图 2(a1)~图 2(b3)和图 2(c1)~图 2(d3)。图 2(a)为正面图像,为样品表面以下约 $200 \mu\text{m}$ 处计算得到;图 2(b)是 B 扫描图像,对应图 2(a)中黄色虚线指

示的位置。结合正面图像和 B 扫描图像,在图 2(a1)~图 2(b3)的红色方框位置可以看出,切开后的鼠脑冠状面存在不同方向的纤维束,可以在强度图像中观察到一定的明暗变化,通过相位延迟图像可以确定纤维束的位置,通过光轴图像可观察到纤维束的方向;鼠脑皮层表现出保偏特性,无双折射的变化;皮层和内部脑区之间的内囊结构清晰可见,该结构具有一定的双折射特性,引起相位延迟的显著变化,如图 2(a2)和图 2(b2)中的黄色框所指的区域。图 2(d)的 B 扫描图像分别对应图 2(c)的正面图像中黄色虚线所指示的位置。结合鼠脑切片图像确认图 2(c2)和图 2(d2)中的黄色方框区域为海马体结构,从图像中可以看出,海马体无双折射特性,相位延迟低,呈现出保偏的特点。

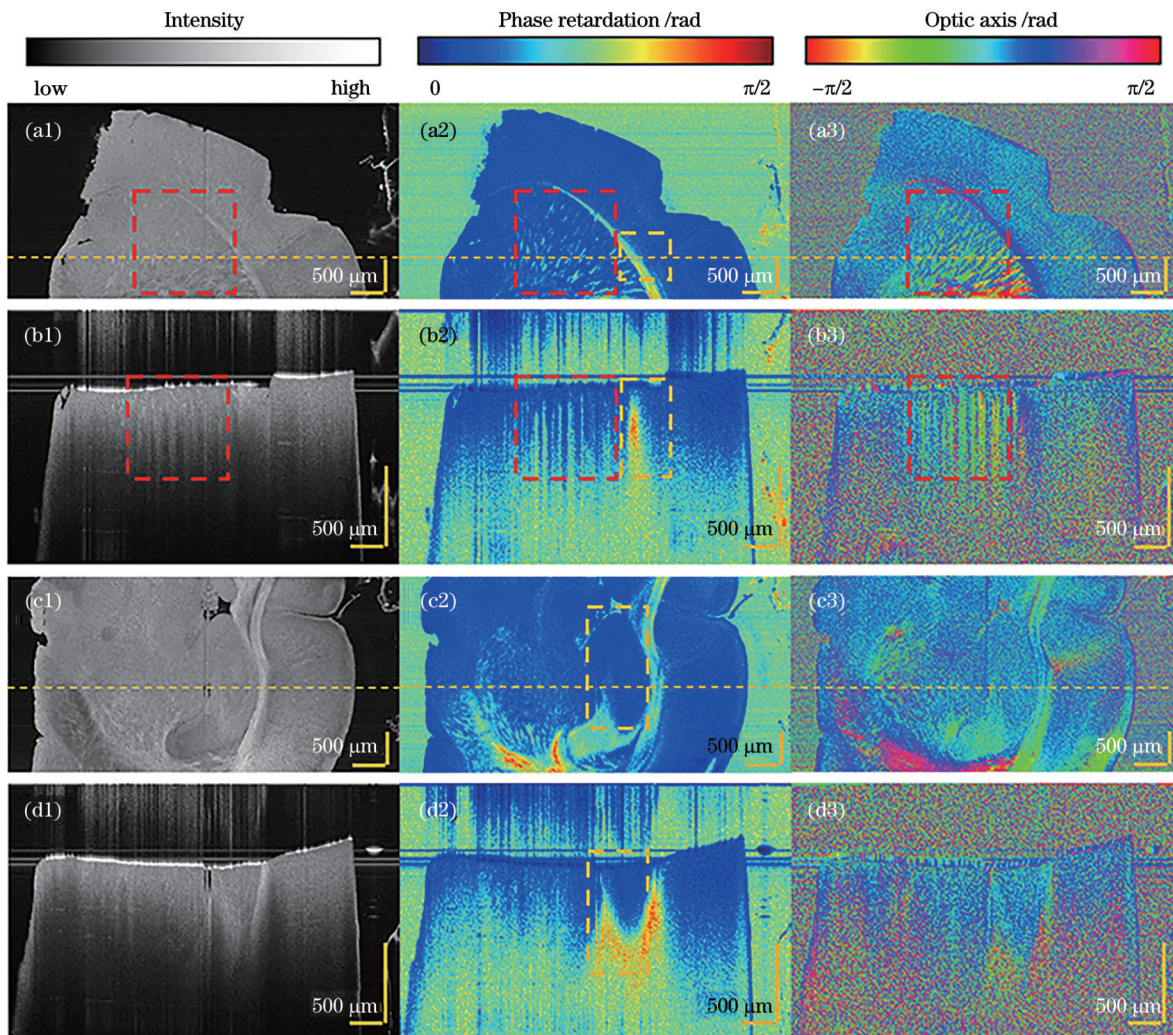


图 2 正常鼠脑冠状面的典型 PS-OCT 图像。(a)边缘区域正面图像;(b)边缘区域 B 扫描图像;(c)中央区域正面图像;(d)中央区域 B 扫描图像。从左至右分别为强度图、累积相位延迟图和累积光轴图

Fig. 2 Typical PS-OCT images of normal mouse brain in coronal sections. (a) En-face images of edge area; (b) B-scan images of edge area; (c) en-face images of center area; (d) B-scan images of center area. Intensity images, phase retardation images, and optic axis images are shown from left to right

由于鼠脑中结构复杂,不同脑区的图像特征不一致,因此在连续扫描后拼接了不同区域的正面图像,

以便进行整体分析。图 3(a)和图 3(b)分别是鼠脑的照片和苏木精-伊红(HE)染色切片图。实验扫描了

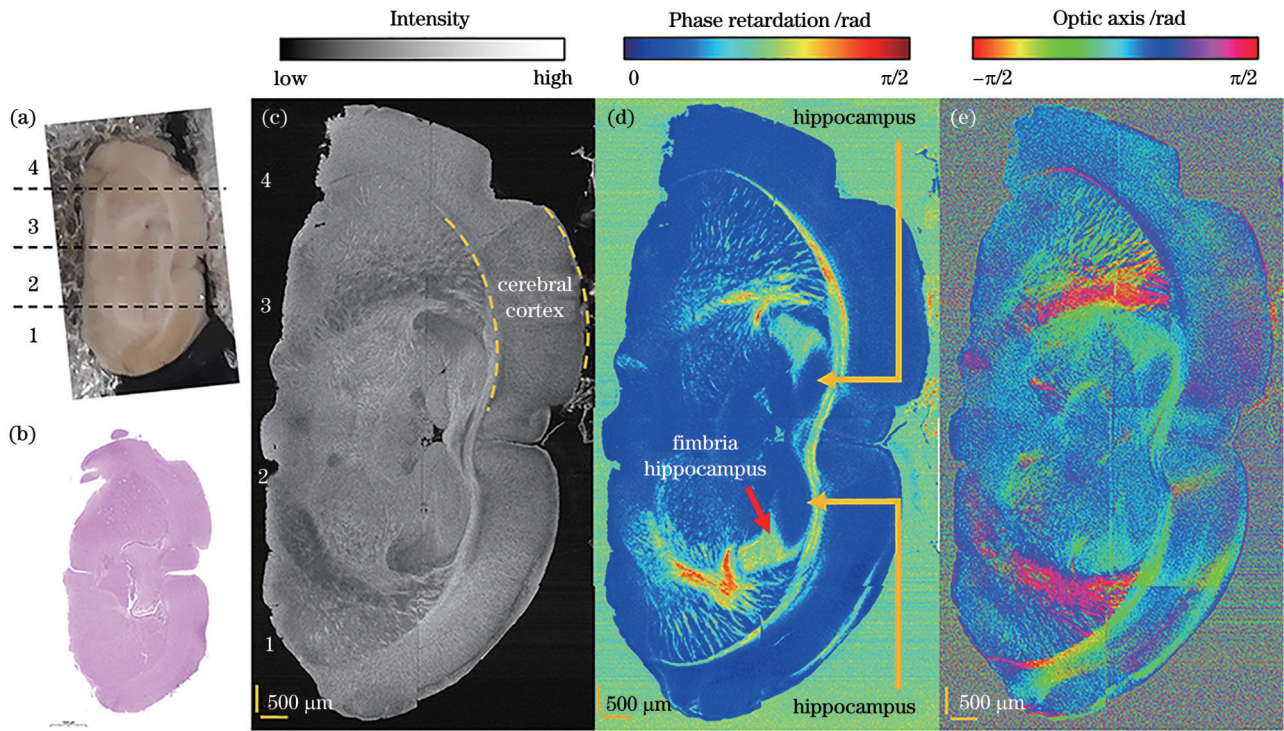


图 3 正常鼠脑冠状面的 PS-OCT 正面图像。(a) 鼠脑照片；(b) 鼠脑 HE 染色切片；(c) 强度图；(d) 累积相位延迟图；(e) 累积光轴图
Fig. 3 OCT *en-face* images of normal mouse brain in coronal sections. (a) Photograph of mouse brain; (b) HE stained histological section of mouse brain; (c) intensity image; (d) phase retardation image; (e) optic axis image

图 3(a) 中黑色虚线划分的 4 个区域, 拼接后得到完整鼠脑的正面图像。图 3(c)~图 3(e) 分别是强度、累积相位延迟和累积光轴的正面图像。从这些图中可以看出, 外侧 [图 3(c) 黄色虚线内] 为无双折射的皮层结构; 皮层与内侧脑区之间的内囊处有双折射的变化, 该特性与内囊的本质——纤维结构特性一致; 海马体 [图 3(d) 黄色箭头] 无双折射, 其附近的海马伞 [图 3(d) 红色箭头] 有双折射的变化; 左右半脑的内侧脑区均有放射状纤维结构, 在强度图中表现为短线或点状结构, 在偏振图像中纤维结构更为突出, 呈放射短线状, 光轴对组织内部结构的取向较为敏感, 由图 3(e) 中的光轴结果能判断出纤维性结构的位置走向。综合来看, 偏振图像凸显了鼠脑中的纤维性结构, 便于识别和区分不同的脑部结构。

进一步, 本文对比了肿瘤鼠脑冠状面的正面图像, 如图 4 和图 5 所示。图 4 为两个脑区都存在肿瘤浸润的情况, 图 5 为肿瘤浸润一半脑区的情况。图 4(a) 和图 4(b) 分别是鼠脑冠状面的荧光成像结果和鼠脑的照片。分别扫描了图 4(b) 中黑色虚线划分的 4 个区域, 拼接后得到完整鼠脑的 OCT 正面图像。图 4(c)~图 4(e) 分别是强度、累积相位延迟和累积光轴的正面图像。图 5 的布局与图 4 相同。与荧光成像结果对比, 确认肿瘤区域为图 4 和图 5 中红色虚线指示的位置。

从图 4 和图 5 的偏振图像中可以看出肿瘤组织无显著的双折射变化, 在肿瘤细胞的浸润下, 小鼠原有

的脑结构被破坏, 偏振图像呈现出保偏现象, 在光轴结果中也没有突出取向的线状结构; 而在正常组织区域内, 保留有神经纤维结构, 与图 3 中正常鼠脑的结构特性一致。对比图 4 和图 5 中的强度图、累积相位延迟图和累积光轴图, 我们可以看出, 强度图像仅能通过组织散射强弱导致的图像灰度变化来表示不同结构信息, 而偏振图像可以更好地反映脑中的纤维性结构变化。

从以上图像我们发现, 胶质瘤浸润脑部组织后导致了严重的纤维破坏。我们以对神经纤维束取向敏感的累积光轴信息作为研究对象, 分析了胶质瘤组织和正常脑组织特征, 结果如图 6 所示。图 6(a) 和图 6(b) 分别对应从正常脑和胶质瘤脑区选择的两个区域 [如图 5(e) 中黄色方框所示]。分别计算两个区域内的直方图, 获得如图 6(c) 所示的光轴直方图 (图中正常组织和胶质瘤组织的纵轴起始点均为 0)。从图 6(c) 可以看出, 正常脑区的光轴均匀分布在 $-\pi/2$ rad 到 $\pi/2$ rad 之间, 而脑胶质瘤区的光轴集中分布在 0 rad 附近。

进一步, 本文通过计算空间窗内累积光轴值的标准差, 建立了光轴标准差的评价参数图像, 其结果分别如图 6(d) 和图 6(e) 所示, 所设空间窗为 $5 \text{ pixel} \times 5 \text{ pixel}$ 的二维空间窗。对比图 6(d) 和图 6(e), 发现正常脑区比脑胶质瘤区的光轴标准差值大, 这是由于脑胶质瘤侵袭了正常脑组织的纤维区域, 破坏了原有的光轴分布。从图 6(f) 的光轴标准差箱型图中, 可以看

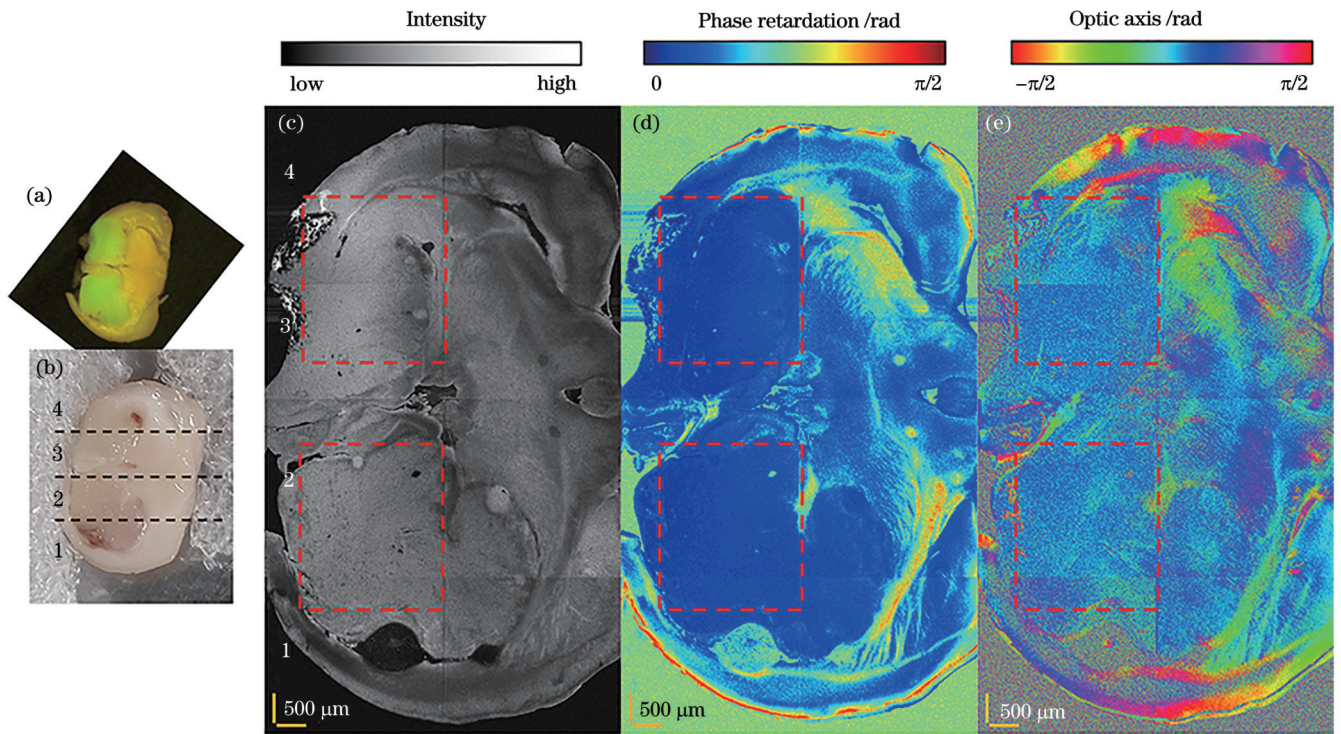


图 4 两个脑区都存在肿瘤浸润情况下胶质瘤鼠脑冠状面的 OCT 正面图像。(a) 鼠脑冠状面的荧光成像结果; (b) 鼠脑照片; (c) 强度图; (d) 累积相位延迟图; (e) 累积光轴图

Fig. 4 OCT *en-face* images of glioma mouse brain in coronal sections with tumor infiltration in both encephalic regions. (a) Fluorescence image; (b) photograph of mouse brain; (c) intensity image; (d) phase retardation image; (e) optic axis image

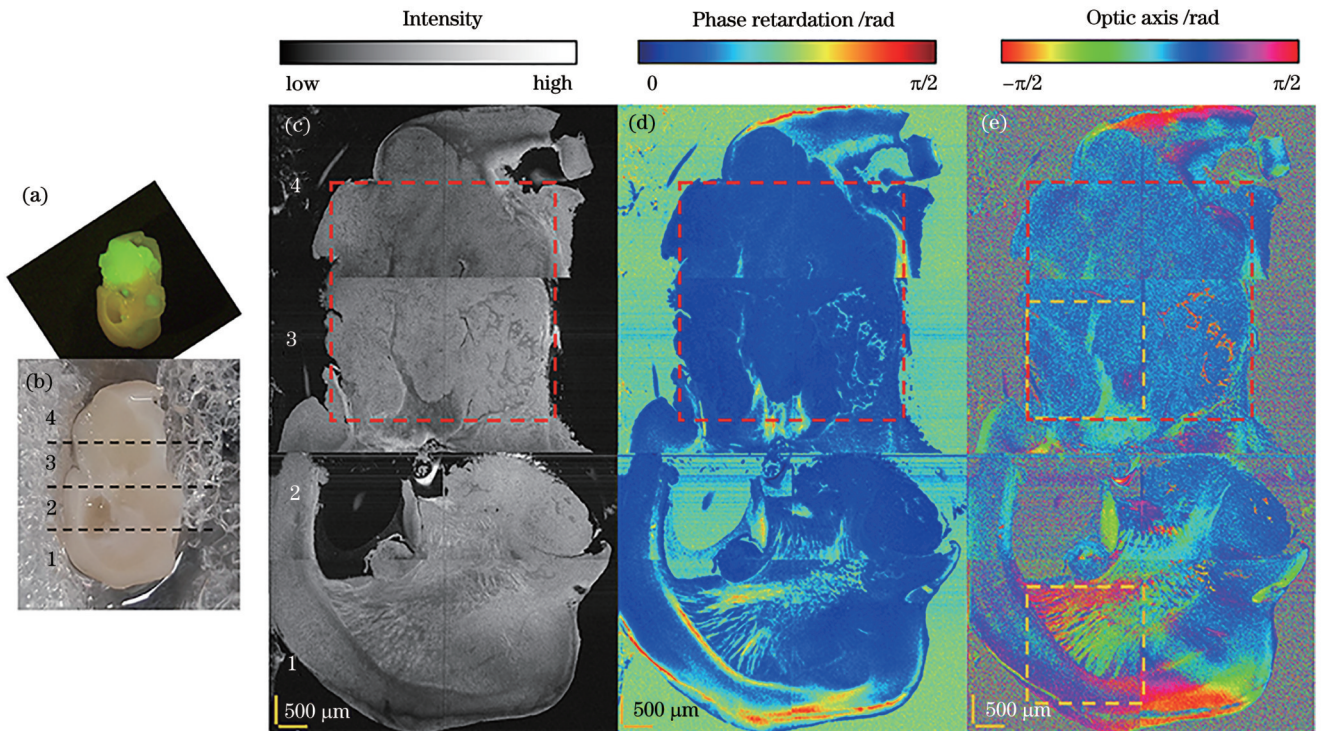


图 5 肿瘤浸润一半脑区的情况下胶质瘤鼠脑冠状面的 OCT 正面图像。(a) 鼠脑冠状面的荧光成像结果; (b) 鼠脑照片; (c) 强度图; (d) 累积相位延迟图; (e) 累积光轴图

Fig. 5 OCT *en-face* images of glioma mouse brain in coronal sections with tumor infiltration in one encephalic region. (a) Fluorescence image; (b) photograph of mouse brain; (c) intensity image; (d) phase retardation image; (e) optic axis image

出由于取向各异的神经纤维束密集排列, 正常脑区的光轴标准差变化范围和均值远大于脑胶质瘤区域, 表

明光轴标准差可以精细地表征脑组织纤维结构的取向变化程度。

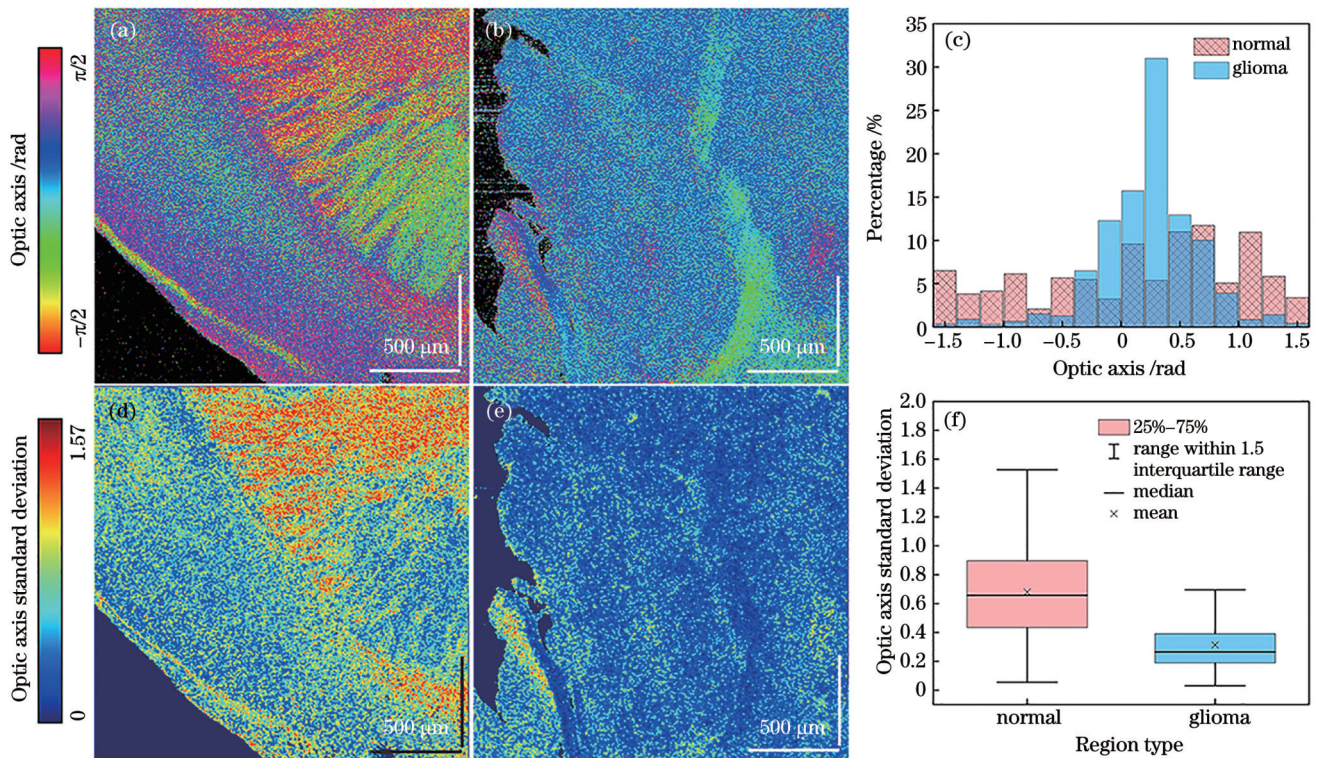


图6 鼠脑冠状面的累积光轴信息分析。(a)脑正常区的累积光轴图;(b)脑胶质瘤区的累积光轴图;(c)累积光轴直方图;(d)脑正常区的光轴标准差图;(e)脑胶质瘤区的光轴标准差图;(f)光轴标准差箱型图

Fig. 6 Analysis of optic axis information of mouse brain in coronal sections. (a) Optic axis image in normal region; (b) optic axis image in glioma region; (c) histogram of optic axis; (d) optic axis standard deviation image in normal region; (e) optic axis standard deviation image in glioma region; (f) box plot of optic axis standard deviation

4 讨 论

本文使用高分辨 PS-OCT 系统扫描了正常和人类胶质瘤小鼠模型的脑部冠状面。对正常组织和胶质瘤组织的强度、累积相位延迟和累积光轴图像进行了分析,并对累积光轴图像进行了直方图和标准差统计。初步研究结果表明,鼠脑冠状面的正面图像中结构信息丰富,皮层、内囊、海马体、神经纤维束等结构清晰可见,高分辨率的强度图中蕴含了丰富的细节信息,而偏振图像则凸显了内囊、神经纤维束等结构的双折射变化。累积光轴值反映了组织中纤维、胶原等有序排列结构的排列取向,能提高神经纤维束识别的对比度;光轴标准差能表示区域内累积光轴的差异性,反映了区域内双折射组织的密集和变化程度。累积光轴分析在正常和肿瘤鼠脑冠状面的区分度明显,有潜力作为一种量化胶质瘤侵袭程度的指标。

脉管系统和白质束作为大脑中的主要结构排列,被认为是胶质瘤侵袭的首选途径^[20]。脑组织中的髓鞘神经纤维具有强烈的散射和双折射特性。本文的研究结果表明:从高分辨 PS-OCT 图像中可以清晰地分辨出正常鼠脑组织的小到几十微米的髓鞘神经纤维,偏振图像中内囊和神经纤维束的双折射变化明显;而胶质瘤浸润区域的脑组织原有结构被破坏,入侵的癌细胞分解并减少了髓鞘的表达,双折射变化弱,在偏振图

像中表现出保偏现象。与强度图像相比,偏振图像对比度更高,更能直观地展示出肿瘤组织与正常组织的区别,对于外科医生来说更容易理解和做出判断。

相比于常规 OCT, PS-OCT 为脑组织研究提供了额外的对比度和新的量化指标。本文对 PS-OCT 解析到的累积光轴信息进行量化分析,统计了胶质瘤鼠脑中正常组织和肿瘤浸润组织的累积光轴值,从绘制的累积光轴直方图中能看出正常组织由于双折射结构的富集,光轴分布均匀且各个方向的光轴均可识别;而肿瘤组织原有的正常脑结构被破坏,光轴基本集中于某一范围内。

本文进一步利用光轴标准差来评价所选像素点与临近区域累积光轴的差异,在二维图像中计算得到的光轴标准差对双折射组织的光轴变化敏感,可以用来评估神经纤维束的取向变化;在正常组织内因为神经纤维束的连续生长和取向有序变化,光轴标准差高;肿瘤组织异质性强,细胞不能正常生长导致双折射变化弱、光轴标准差低。因此,我们认为光轴标准差可以更直观有效地区分肿瘤和脑组织。该方法提供了一种病理学分析的新方法,有可能为研究脑肿瘤和神经疾病提供新的见解。

考虑到光轴标准差的计算过程中需要选取空间窗,我们仔细研究了空间窗的大小与所得结果之间的关系。在脑正常区和脑胶质瘤区选取不同大小的空间

窗(3 pixel×3 pixel、5 pixel×5 pixel、7 pixel×7 pixel、9 pixel×9 pixel)计算光轴标准差,统计得到的光轴标准差箱型图如图 7 所示。图 7(a)为脑正常区的结果,随着空间窗的增大光轴标准差的均值和中位数变高,空间窗增大导致的图像平滑使光轴标准差的离散程度变小。图 7(b)为脑胶质瘤区的结果,空间窗的增大同样会使光轴标准差的均值和中位数变高,但是胶质瘤区光轴变化范围小,噪声均匀而且分布混乱,空间窗增大没有对光轴标准差的离散程度造成影响。

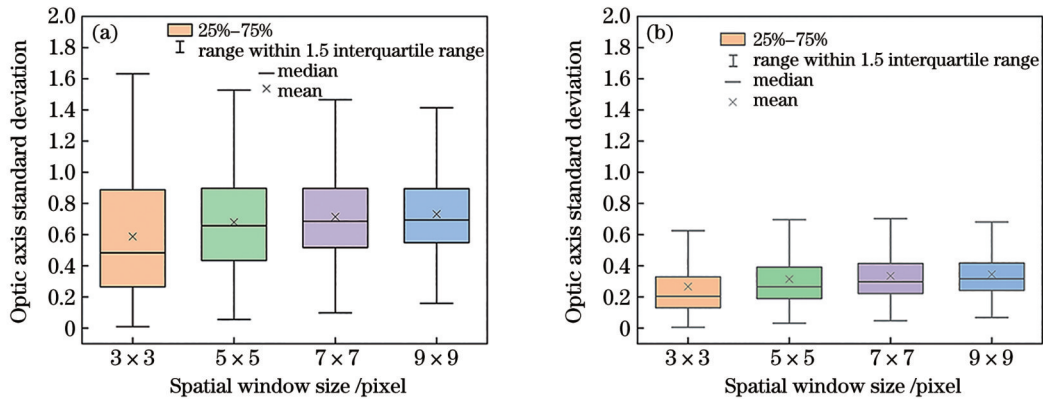


图 7 空间窗大小与光轴标准差的关系。(a)脑正常区的光轴标准差箱型图;(b)脑胶质瘤区的光轴标准差箱型图

Fig. 7 Relationship between spatial window size and optic axis standard deviation. (a) Box plot of optic axis standard deviation in normal region; (b) box plot of optic axis standard deviation in glioma region

在后续研究中,我们会增加模型小鼠的样品数量,对不同阶段的胶质瘤组织进行成像,在大样本数量的实验中结合对偏振信息的统计分析确认肿瘤组织的双折射变化,提高肿瘤组织识别的特异性。同时考虑多模态成像,如结合基于薄组织切片的透射式双折射显微镜^[24]实现离体脑组织中双折射结构的多尺度评估,提高弱双折射信号探测的灵敏度。进一步研究鼠脑在体成像,对脑皮层以下的组织进行探测以提高本技术的临床应用价值。

5 结 论

本文基于自行开发的高分辨率 PS-OCT 系统对离体正常鼠脑和人源脑胶质瘤的小鼠模型进行了成像,结果表明,从正面图像能观察到鼠脑的大脑皮层、内囊、海马体及海马伞等结构信息,在由偏振参数计算出的累积相位延迟、累积光轴图像中,大脑内部内囊、神经纤维束等双折射组织的位置和取向清晰可见。胶质瘤鼠脑原本的对称型结构被破坏,边缘的脑皮质被侵蚀,内部的纤维结构也仅部分区域可见。利用光轴标准差参数可以直观有效地区分正常与胶质瘤鼠脑。本文的工作证明了高分辨 PS-OCT 技术有望通过神经纤维束等双折射组织的变化来监测胶质瘤的浸润过程。

参 考 文 献

[1] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢

神经系统胶质瘤诊断与治疗指南(2015)[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(7): 485-509.

Compilation team of the China's guideline of diagnosis and treatment for central nervous system glioma. China's guideline of diagnosis and treatment for central nervous system glioma (2015) [J]. National Medical Journal of China, 2016, 96(7): 485-509.

[2] Sanai N, Berger M S. Glioma extent of resection and its impact on patient outcome[J]. Neurosurgery, 2008, 62(4): 753-764.

[3] Chang E F, Clark A, Jensen R L, et al. Multiinstitutional validation of the University of California at San Francisco low-grade glioma prognostic scoring system[J]. Journal of Neurosurgery, 2009, 111(2): 203-210.

[4] Consortium M G S, Waterston R H, Lindblad-Toh K, et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome [J]. Nature, 2002, 420(6915): 520-562.

[5] Yang Y F, Bec J, Zhou J, et al. A prototype high-resolution small-animal PET scanner dedicated to mouse brain imaging[J]. Journal of Nuclear Medicine, 2016, 57(7): 1130-1135.

[6] Jacobs R E, Ahrens E T, Dickinson M E, et al. Towards a microMRI atlas of mouse development[J]. Computerized Medical Imaging and Graphics, 1999, 23(1): 15-24.

[7] Potapov A A, Goryaynov S A, Okhlopkov V A, et al. Laser biospectroscopy and 5-ALA fluorescence navigation as a helpful tool in the meningioma resection[J]. Neurosurgical Review, 2016, 39(3): 437-447.

[8] Ragan T, Kadiri L R, Venkataraju K U, et al. Serial two-photon tomography for automated *ex vivo* mouse brain imaging[J]. Nature Methods, 2012, 9(3): 255-258.

[9] Pawliczek D, Dalke C, Fuchs H, et al. Spectral domain-optical coherence tomography (SD-OCT) as a monitoring tool for alterations in mouse lenses[J]. Experimental Eye Research, 2020, 190: 107871.

[10] 张鹏飞, 张廷玮, 宋维业, 等. 从小鼠视网膜多种成像方式探讨眼科光学成像技术进展[J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207003.

Zhang P F, Zhang T W, Song W Y, et al. Review of advances in

- ophthalmic optical imaging technologies from several mouse retinal imaging methods[J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207003.
- [11] 侯方, 杨子晗, 谷文青, 等. 基于光学相干层析技术的术中颈部组织三维成像[J]. 光学学报, 2019, 39(1): 0117001.
Hou F, Yang Z H, Gu W Q, et al. Intraoperative three-dimensional imaging of neck tissues based on optical coherence tomography[J]. Acta Optica Sinica, 2019, 39(1): 0117001.
- [12] Yang Z H, Shang J W, Liu C L, et al. Intraoperative imaging of oral-maxillofacial lesions using optical coherence tomography[J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2020, 13(2): 2050010.
- [13] 张璇晔, 朱疆. 内窥光学相干层析成像的研究进展与应用[J]. 中国激光, 2023, 50(21): 2107103.
Zhang X Y, Zhu J. Research progress and applications of endoscopic optical coherence tomography[J]. Chinese Journal of Lasers, 2023, 50(21): 2107103.
- [14] 苗清然, 王海霞, 于洋, 等. 光学相干层析成像在指尖生物特征识别中的应用[J]. 激光与光电子学进展, 2023, 60(8): 0811012.
Miao Q R, Wang H X, Yu Y, et al. Application of optical coherence tomography in fingertip biometrics[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2023, 60(8): 0811012.
- [15] 梁艳梅, 杨子晗, 尚建伟, 等. 口腔癌筛查与诊断的影像学技术及发展趋势[J]. 中国激光, 2023, 50(15): 1507101.
Liang Y M, Yang Z H, Shang J W, et al. Imaging technologies in oral cancer screening and diagnosis and their development trends [J]. Chinese Journal of Lasers, 2023, 50(15): 1507101.
- [16] Kut C, Chaichana K L, Xi J F, et al. Detection of human brain cancer infiltration *ex vivo* and *in vivo* using quantitative optical coherence tomography[J]. Science Translational Medicine, 2015, 7(292): 292ra100.
- [17] Dolganova I N, Aleksandrova P V, Nikitin P V, et al. Capability of physically reasonable OCT-based differentiation between intact brain tissues, human brain gliomas of different WHO grades, and glioma model 101.8 from rats[J]. Biomedical Optics Express, 2020, 11(11): 6780-6798.
- [18] de Boer J F, Hitzenberger C K, Yasuno Y. Polarization sensitive optical coherence tomography—a review[J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(3): 1838-1873.
- [19] Nakaji H, Kouyama N, Muragaki Y, et al. Localization of nerve fiber bundles by polarization-sensitive optical coherence tomography [J]. Journal of Neuroscience Methods, 2008, 174(1): 82-90.
- [20] Liu C J, Shamsan G A, Akkin T, et al. Glioma cell migration dynamics in brain tissue assessed by multimodal optical imaging[J]. Biophysical Journal, 2019, 117(7): 1179-1188.
- [21] Yang D, Hu M Y, Zhang M Y, et al. High-resolution polarization-sensitive optical coherence tomography for zebrafish muscle imaging[J]. Biomedical Optics Express, 2020, 11(10): 5618-5632.
- [22] Ortega-Quijano N, Marvdashti T, Bowden A K E. Enhanced depolarization contrast in polarization-sensitive optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2016, 41(10): 2350-2353.
- [23] 胡慕芸, 杨迪, 杨子晗, 等. 基于偏振敏感光学相干层析术的口腔鳞状细胞癌组织成像[J]. 光学学报, 2022, 42(10): 1017002.
Hu M Y, Yang D, Yang Z H, et al. Polarization-sensitive optical coherence tomography for oral squamous cell carcinoma tissue imaging[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(10): 1017002.
- [24] Blanke N, Chang S B, Novoseltseva A, et al. Multiscale label-free imaging of myelin in human brain tissue with polarization-sensitive optical coherence tomography and birefringence microscopy[J]. Biomedical Optics Express, 2023, 14(11): 5946-5964.

Glioma Imaging Based on Polarization-Sensitive Optical Coherence Tomography

Wang Weike¹, Hu Muyun¹, Yang Di¹, Yuan Zhuoqun¹, Jia Xiaohua^{2**}, Yang Jiankai^{3***},
Liang Yanmei^{1*}

¹*Institute of Modern Optics, Nankai University, Tianjin Key Laboratory of Micro-Scale Optical Information Science and Technology, Tianjin 300350, China;*

²*Key Laboratory of Molecular Imaging of Chinese Academy of Sciences, Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China;*

³*Department of Neurosurgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China*

Abstract

Objective Glioma is an invasive malignant primary brain tumor, characterized by its infiltrative growth pattern, making it challenging to differentiate its boundaries from healthy brain tissues during surgical procedures. Our study aims to address the challenge of accurately distinguishing glioma from healthy brain tissues. Based on a home-made high-resolution polarization-sensitive optical coherence tomography (PS-OCT) system, we conduct *ex vivo* imaging of normal mouse brain and human glioma model mouse brain. Further, based on the polarization analysis of the tumor and normal brain tissues, we propose a novel tumor differentiation metric called optic axis standard deviation to distinguish normal and glioma tissues. It is proven by the results that high-resolution PS-OCT has great potential in imaging brain tissue and can offer enhanced precision to detect glioma during surgical interventions, which will help to solve the urgent clinical need in neurosurgical practice.

Methods A home-made spectral domain PS-OCT system is constructed by utilizing a superluminescent diode as a broad-spectrum light source. The system is performed with an axial resolution of 3.4 μm in air and a transverse resolution of 4 μm in the focal plane.

The low-coherence light beam emitted by the broad-spectrum light source is linearly polarized in the vertical direction after passing through a linear polarizer. Through the integration of a quarter-wave plate and a polarizing beam splitter, circularly polarized light enters the sample arm, while orthogonally polarized signals are detected in the detection arm. After collecting the spectral signals corresponding to the two orthogonal polarization states, the parameters of intensity, phase retardation, and optic axis are calculated and the corresponding OCT images are obtained.

Given the similarity of genomes between the mouse and human, the mouse brain is chosen as the imaging object in this study. A human glioma mouse model is established by injecting U87-GFP human glioma cells into the mouse brain. The model is euthanized and fixed 5 weeks after establishment. Subsequently, green fluorescent protein (GFP) fluorescence imaging and PS-OCT imaging are performed on the mouse brain. Three-dimensional field of view of PS-OCT imaging is $6\text{ mm} \times 3\text{ mm} \times 2.3\text{ mm}$. The three-dimensional image contains 1000 B-scans, and each B-scan image consists of $2000\text{ pixel} \times 2000\text{ pixel}$ (x and z directions). The image in the x - y direction is extracted from the three-dimensional image to obtain the *en-face* image along the cross section of the sample.

Results and Discussions In the OCT images of the normal mouse brain (Figs. 2 and 3), neural fiber bundles in different directions can be clearly observed. In the polarization images, these fiber structures are more pronounced, manifested as radiating short lines. The mouse cerebral cortex exhibits polarization-maintaining properties without birefringence changes. The internal capsule structure between the cortex and internal brain regions is visible with birefringent properties, leading to notable variations in phase retardation. The hippocampal structure lacks birefringent characteristics, resulting in a low value of the phase retardation.

Contrasting with fluorescence imaging results to determine the tumor location in the mouse brain (Figs. 4 and 5), it can be seen from the OCT images that there is no significant birefringence change in the tumor tissue, the color of the polarized images becomes more homogenous, and we can find that the infiltration of tumor cells leads to strong fiber damage, and there is no prominent linear structure in the optic axis results.

The optic axis histogram (Fig. 6) illustrates distinctive distribution features between normal brain tissue and glioma tissue. The optic axis of normal brain tissue is uniformly distributed between $-\pi/2$ rad and $\pi/2$ rad, while the optic axis in the glioma region is mainly concentrated near 0 rad. By calculating the standard deviation of the optic axis value within the spatial window, the evaluation parameters of optical axis standard deviation are established. The range and mean value of optic axis standard deviation in normal brain tissue far exceed those in glioma tissue. The quantitative analysis underscores substantial distinctions of polarization information between tumor and normal mouse brain tissues.

Within brain tissue, myelinated nerve fibers exhibit pronounced scattering and birefringence properties. The results of this study indicate that normal mouse brain tissue, rich in myelinated nerve fibers, is effectively identified by PS-OCT. The high-resolution intensity map contains detailed information, and the phase retardation highlights the birefringence changes of structures such as internal capsules and nerve fiber bundles. The optic axis values reflect the oriented arrangement of fibers, collagen, and other structures within the tissue. In the regions infiltrated by gliomas, the original structure of brain tissue is destroyed, the invading cancer cells decompose and reduce the expression of myelin, and the birefringence changes are weak. Compared with intensity images, polarization images exhibit higher contrast, providing a direct display of the distinctions between gliomas and normal tissue, making it easier to diagnose in clinical settings.

Our preliminary study only used a limited number of mice. More samples and glioma tissues at different stages will be further studied in the future study. In addition, efforts will be made to investigate *in vivo* animal samples and *ex vivo* human specimens, aiming to promote the application of PS-OCT in the identification and resection of glioma in neurosurgery of the brain.

Conclusions Our results demonstrated that *en-face* images reveal structural information in the mouse brain, including the cerebral cortex, internal capsule, and hippocampus. Using polarization parameters of phase retardation and optic axis, the position and orientation of internal structures like the internal capsule and nerve fiber bundles with birefringent tissues can be clearly observed. The originally symmetric structure in the brain of tumor mice is destroyed, with erosion of the cortical edge and only partial visibility of internal fiber structures. Optic axis standard deviation proves effective in distinguishing between normal and glioma mouse brains. This study proves that high-resolution PS-OCT is promising to monitor the infiltration process of glioma through changes in birefringent tissues such as nerve fiber bundles.

Key words medical optics; polarization-sensitive optical coherence tomography; brain imaging; glioma