

用光奏响生命之歌:光声成像技术漫谈

李长辉*

北京大学未来技术学院生物医学工程系, 北京 100871

摘要 在生物医学成像方法中,光声成像(PAI)由于激发和探测的物理信号不同,是一个非常独特的存在。这种“混合”成像模式打破了一直困扰组织光学高分辨成像的深度壁垒,为探索生命奥秘和疾病的诊治提供了有巨大潜力的平台技术。但 PAI 迄今并没有被普遍使用,一方面受限于其自身机制,另一方面在实际应用中也存在一些挑战。基于作者在 PAI 领域长时间的科研体验和思考,对该技术做了一些探讨,与一般的研究综述不同,并没有详细介绍一些较为重要的相关技术和应用成果,而是重点关注 PAI 的历史发展、内涵及其主要面临的挑战,以促进对该技术的理解从而加快其推广。

关键词 医用光学; 生物医学光学; 光声成像

中图分类号 R318

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202259.0617005

Creating the sound of life by light: a discussion about photoacoustic imaging

Li Changhui*

Department of Biomedical Engineering, College of Future Technology, Peking University, Beijing 100871, China

Abstract Photoacoustic imaging (PAI) is a very unique existence in biomedical imaging methods owing to the very different physical signals for excitation and detection. This “mixed” imaging mode breaks through the barrier in high-resolution optical imaging for deep tissue, providing a powerful platform technology for both biomedical research and clinical applications. However, PAI has not been widely used thus far. On the one hand, it is limited by its own mechanism, and on the other hand, there are some challenges in its practical application. This study discusses PAI technology based on the author’s long-term scientific research experience and thinking in the field of PAI. Unlike the general research review, it does not discuss some of the important related technologies and application achievements in detail, instead it focuses on the historical development, connotation, and main challenges of PAI to foster the understanding of this technique and accelerate its implementations.

Key words medical optics; biomedical optics; photoacoustic imaging

1 引言

生物医学成像是为了突破人眼的局限性,看到或看清之前看不到或看不清的生命活动和生理病理过程。基于声光电磁力等不同的相互作用形式,

人们已经研发了各种各样的成像方法。例如,在临床医学上,超声(US)、磁共振(MRI)、X射线计算机断层成像(CT)等大型设备被普遍使用;在科研上,光学显微成像、光学活体成像、小动物系列的 US、MRI、CT 也是重要的支撑技术。各种成像技术在

收稿日期: 2021-12-21; 修回日期: 2022-01-04; 录用日期: 2022-01-07

基金项目: 国家自然科学基金(81421004)、科技部重点研发计划(2017YFE0104200)

通信作者: *chli@pku.edu.cn

空间和时间尺度上不断拓展人类的视野。在这些成像技术中,光声成像(PAI)^[1-3]是一个非常特殊的存在,因为它的信号激发和探测融合了光学和超声两种完全不同的技术的各自优点,从而形成了一种混合的成像技术。但从本质上来说,光声成像的图像对比来源主要来自光学差异性,因此仍旧归属于光学成像。本文对光声成像的介绍也从光学成像谈起。

1.1 光学成像的特点和局限

光学成像主要是利用物质和光(紫外波段到红外波段)的相互作用进行成像的技术。相比于更短波长的 X 射线和伽马射线,光学成像的电离辐射危害性小或没有危害;而相比于更长波长的微波,光和物质的作用和物质微观电子能级结构密切相关,表明光学成像有很高的特异性,这对生物学中的分子和功能成像极为重要。下面介绍光学成像的几个重要特点和优势。

光学成像的第 1 个特点是光与物质的相互作用类型非常多,包括颜色(波长)、吸收、散射、偏振、荧光、磷光、拉曼、多次谐波等。这些丰富的作用机制提供了光学成像技术的物理基础。基于此,大量的成像方法,从光学超分辨显微成像到活体成像被普遍应用于科学研究和临床应用中,成为支撑众多学科和疾病诊疗不可或缺的核心技术。

第 2 个特点是光学成像是理论上最快的成像技术,不仅因为光速快,而且光子和物质主要的相互作用时间是在飞秒到纳秒区间的。因此,从信号的产生、传导、到信号的接收都非常快,这对观测生命现象的高速动态过程非常重要。

第 3 个特点是光学探测灵敏度高。随着光电子技术的发展,目前对光的探测已经到了“单光子”层面。因此探测极其微弱的光学信号是可行的,这就保证了生物学光学成像的高灵敏度。

第 4 个特点是可用于光学成像的造影剂和分子探针极其丰富。除了相对传统的“染色”外,大量的有机和无机的新材料可以被用于光学造影,或通过绑定探针分子来实现特异性靶向。不仅如此,和其他成像技术相比,光学成像还有独特的“内源性”探针——利用转基因技术在生物体内产生特定光学特性的蛋白。通过转基因技术,让指定的组织或分子带上光学标签(荧光、拉曼等),从而有效地克服外源性探针递送效率低的不足,实现精准分子标签的功能。不仅如此,不管内源性还是外源性的探

针,都可以同时多类标记,实现生命体内多种成分和多种作用同时成像。因此,在细胞和活体小动物上,光学分子成像有着绝对的优势。

除了这几个鲜明的特点外,光学成像还有体积小、携带方便、费用低等优势。这些特点和优势让光学成像成为生物医学成像中最普遍适用的科研成像工具。尤其是在显微成像领域,成像深度通常在几十到几百微米,由于光子在组织内的平均自由程大约是 100 μm ,在这个尺度下,多次散射的可能性很小,从而为高分辨光学显微成像提供了重要的保证。这个深度下的主要成像对象是离体的细胞或生物活体的浅层组织。

当深度到毫米量级,多次散射事件增多导致传统光学高分辨显微成像分辨率急剧下降。这时候,光学相干层析成像(OCT)通过利用低相干光源实现对多次散射事件的压制来维持较高的分辨率。但 OCT 主要基于光和组织的散射作用,存在特异性低的不足,目前主要提供结构信息。另一方面,可以通过使用更长波长的光来降低散射,例如近红外二区的光(1000~1700 nm)在活体荧光和多光子荧光显微成像中得到成功应用,实现了毫米级深度的高分辨荧光成像。然而,当深度到了厘米级,例如一个实验小鼠典型的身体厚度,多次散射主导了光子在体传输,现有的高分辨光学成像技术都失效。在 20 世纪八九十年代,很多学者探索如何利用光子在体传输的数学模型来实现深层组织的光学成像,这类方法一般被称为漫散射光层析成像(DOT)。然而,由于生物组织的复杂性和个性差异,DOT 虽然在仿体或个别活体上有不错的结果,但针对一般性活体层面上的有效成像一直没有实现突破,实际的最佳分辨率也仅约为成像深度的五分之一。在这种情况下,基于放射性核素的正电子发射层析成像(PET)或单光子发射层析成像(SPECT)以其毫米级全身分辨率成为活体小动物乃至人体深层组织高分辨无创分子成像的唯一选择。但放射性核素的自身局限性(辐射危害和难以同时多标记等)严重地限制了其推广。因此,实现深层活体组织的高分辨分子成像是生物医学光学成像的巨大需求。在这个背景下,光声成像为解决这个光学成像困境打开了一扇窗户。

1.2 光声成像的发展历史和基本原理

1.2.1 光声成像的发展简史

光声成像基于光声效应,这个现象最早是由

Bell^[4-5]于1880年发现的,但在之后近一百年的时间里,并没有得到真正的应用。主要原因是缺乏好的光源和灵敏的声学探测技术。直到20世纪70年代,基于不同气体分子的电磁波吸收差异性,光声效应在探测微量气体成分上获得了巨大成功,直到现在也一直是微量气体探测上的一种重要方法。光声效应在生物成像或传感上的研究开展于20世纪80年代,早期的研究人员给出了光声信号的数学描述,也在实验上进行了验证。到20世纪八九十年代,更多的研究人员开始广泛探索光声效应在生物医学上的应用^[6-12]。

其中有一个小插曲,关于光声成像的称呼,有的用 Photoacoustic Tomography (PAT), 有的用 Optoacoustic Tomography (OAT), 也有用 Photoacoustic Imaging (PAI) 的。这些名称被不同研究人员广泛采用和混用,主要取决于研究人员自己的理解和习惯。

在20世纪90年代,最初有两种电磁波源,脉冲光和脉冲微波(例如雷达)。基于微波的光声效应通常被称为热声效应,相应的成像也被称为热声成像(TAT)^[12-13]。在早期,因为微波可以穿透人体,成像深度更大,TAT受到了重视。然而基于脉冲微波的TAT在实际使用中有信噪比差、空间分辨率偏低的不足,而且微波源会产生强空间电磁干扰。反之,由于系统成熟、信噪比高、可使用的造影剂多等优势,脉冲激光在成像深度为厘米级的成像效果远远高于微波,自21世纪以来迅速成为光声成像的主流激发源。目前国际上只有少数实验室还在开展基于微波的TAT成像。近些年,随着高能短脉冲发光二极管(LED)的发展,也有不少实验室探索基于脉冲LED阵列的光声成像。下面除非特别强调,默认的光声激发源是短脉冲的激光或LED。

从20世纪八九十年代到21世纪初,由于合适的激光器有限,专门定制的高灵敏探测器阵列也没有出现,大部分的光声成像是基于单探头扫描或若干个单探头组成的简单阵列进行的。成像速度很慢(分钟级),大多数情况下只能进行结构成像,个别情况下可以观察到缓慢的生理过程或者能重复出现的过程。但该期间基本奠定了光声成像图像重建的理论基础^[10, 14-16],期间一个代表性工作是2003年报道的利用单探头环形扫描大鼠脑功能成像(脑血管变化)^[17],这是第一次用无创光学成像方法实现高分辨脑功能成像,引发了很大反响。另一个重要技

术突破是21世纪第1个十年里光声显微成像(PAM)技术^[18]的出现。PAM以其系统简单、图像清晰、并可以提供功能和分子成像等强大优势迅速在生命科学研究中得到很大发展,成为传统光学显微成像的重要补充,并一直发展至今。

然而PAM是基于点扫描方式的成像方法,成像速度受扫描方式和激光安全限制下的提升空间有限,因此主要应用于细胞、组织浅层和离体组织。随着对成像速度的要求越来越高,尤其是光声临床应用的推动,在21世纪第2个十年间,越来越多的超声探测阵列^[19-23]被研发出来用于光声成像,包括线阵、弧阵、环阵、平面阵和碗形等。中心频率涵盖了从一两兆到几十兆,阵元数目也不断增多,从最初的几十个到现在的一千多个,并且还在增加。这些阵列的应用使得深层组织实时光声成像成为可能,并直接推动了光声临床应用的发展。2021年美国FDA批准了美国Seno Medical公司的一款用于乳腺癌诊断的光声/超声系统,该系统使用手持式线阵探头,包括我国在内还有多个国家的企业在申请光声成像设备的临床认证。

在成像系统发展的同时,相应的超声探测技术、脉冲激光技术和电子采集系统都在不断推进。例如针对传统压电材料超声探测器的灵敏度和带宽不足的缺点,纯光学的探测技术也获得了多个重要突破。作为光声信号激发源的脉冲激光器,从最早的YAG激光到多款市场上可以提供的波长可调脉冲激光。而数据采集也从最初的几个通道到现在几百上千并行通道。除了软硬件发展外,作为光声分子成像另一个重要支柱的造影和探针技术也同期得到快速发展,多种具有光学强吸收特性的染料、纳米粒子等被大量研究。而且,基于转基因技术生成“内源性”光学吸收蛋白的技术也得到了一定的发展。

从光声成像课题组的演化看,在20世纪90年代,国际上主要有美国的几个实验室重点研究光声成像(包括热声成像)的基本探测方法和算法。到了21世纪初,欧洲和亚洲大批的实验室加入进来,包括很多原来主要研究超声成像和漫散射光层析成像的实验室。在过去十年里,随着大批优秀人才的出现,世界各地从事生物医学光声成像研究的实验室成倍增加。我国在20世纪80年代末就有研究人员利用光声光谱分析方法开展疾病研究^[24],不过关于生物医学光声成像的研究也主要起步于21世

纪初。华南师范大学从 2003 年开始就探索相关研究,在国际上来说也非常早开展基于线性阵列的光声成像系统和算法研究^[25-26]。此外,复旦大学和天津大学等少数科研机构也有个别实验室开展相关研究,不过总体上数量较少。大约从 2010 年开始,一方面通过国际合作交流,另一方面随着自己培养的人才和海外相关实验室归国人员的增加,包括香港和台湾在内,我国迄今有几十个科研机构从事相关研究,涵盖了成像算法、硬件系统、造影与分子探针、转换应用多个方面^[27]。不仅如此,包括深圳迈瑞等大型或初创企业也开始涉足光声成像领域。虽然从总体上讲和世界最先进的光声成像研究还有些差距,但随着研究队伍扩大和我国在关键技术上的突破,整体差距大幅缩小。

1.2.2 光声现象的基本原理

光声成像基于的物理机制可以描述为:当能量随时间调制的电磁波照射到物体后,物体内部吸收该电磁波的组分被加热,并发生局部热膨胀;因为膨胀过程也被调制,所以产生了向外传播的声波。一般为了实现足够的分辨率,光声成像中声波的频率达到兆赫兹的量级,属于超声波。从这里看,产生光声信号(超声波)的要求有几点:1)激发源能量要在时间上被调制;2)存在局部的热膨胀差异。第 1 点是说要有合适的光源,包括脉冲激光、脉冲发光二极管或能量随时间快速变化的其他电磁波源。不过考虑到从热到声压的转换效率和利用飞行时间来确定距离这两个因素,除了极个别研究外,绝大部分光声成像使用的都是短脉冲(皮纳秒到微秒)的光源。第 2 点是说要存在一个光声信号源(超声波源),且该信号源不能整体均匀地膨胀。这涉及光的吸收和吸收发热转换成超声两个因素。通常对于一般的生物软组织,由于热力学性质差异不大,一般只要考虑信号源处的光学吸收和周围组织的差异。但在一些情况下,从热转换成超声波的过程差异也是要考虑的,如通过光声信号频谱来研究组织力学性质发生的变化^[28]。

在大部分深层组织光声成像研究中,考虑到激光安全性,产生的压强远小于标准大气压。这种情况下,光声信号的产生和传播过程都可以用一阶微扰条件近似。此外,当激发光的脉冲短到可以忽略热传导时(一般的纳秒级短脉冲都满足这个条件),光声信号的产生过程和传播超声波的过程^[8, 29]可以描述为

$$\nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v_s^2} \cdot \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\mathbf{r}, t) = -\frac{\beta}{C_p} \cdot \frac{\partial}{\partial t} H(\mathbf{r}, t), \quad (1)$$

式中: p 是超声波压强; β 是等体积膨胀系数; v_s 是声速; C_p 是生物组织的等压比热容; $H(\mathbf{r}, t)$ 是指在位置 \mathbf{r} 处、 t 时刻的局部加热函数。光对组织的加热取决于光辐射能流密度(Φ)、组织光吸收系数(μ_a)、吸收转换为热的系数(η)等因素。

$$H(\mathbf{r}, t) = \eta \mu_a(\mathbf{r}, t) \Phi(\mathbf{r}, t). \quad (2)$$

在一个声学性质均匀的非粘滞无限大介质中,通过(1)式可以求解出在位置 \mathbf{r} 、 t 时刻产生的超声波的压强 $p(\mathbf{r}, t)$ 。

$$p(\mathbf{r}, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \cdot \frac{\partial}{\partial t} \int d\mathbf{r}' \frac{1}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} H\left(\mathbf{r}', t - \frac{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}{v_s}\right). \quad (3)$$

当光脉冲宽度更小,光加热过程中超声的传播也可以忽略的情况下,(2)式中的加热函数可以近似为时间上的 delta 函数,即 $H(\mathbf{r}, t) \approx A(\mathbf{r}) \delta(t)$ 。此时,(3)式可以改写为

$$p(\mathbf{r}, t) = \frac{\beta}{4\pi v_s^2} \cdot \frac{\partial}{\partial t} \left[\frac{1}{v_s t} \int d\mathbf{r}' p_0(\mathbf{r}') \delta\left(\mathbf{r}', t - \frac{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}{v_s}\right) \right] \quad (4)$$

式中:短脉冲光吸收后的初始压强 $p_0(\mathbf{r}) = \Gamma(\mathbf{r}) A(\mathbf{r})$,而参数 $\Gamma(\mathbf{r})$ 代表从热转为压强的无量纲参数(生物软组织中近似为 0.22), $A(\mathbf{r})$ 是加热过程总的产热密度。在一些情况下,例如需要利用高度聚焦激光进行的光声显微成像中,尽管初始压强很高不能再作为微扰近似,但由于传播中压强很快就减弱,从而满足一阶微扰的波动方程。因此,在绝大部分情况下,(1)式~(3)式都可以描述光声信号传播。不过当激发能量密度太高时,可能诱发非线性吸收现象。

在实际应用中,尤其是针对活体深层(包括临床光声成像)中,光声信号有以下几个特点:

1) 信号弱。除了非常浅层的样品外,对深层组织成像时,光声信号的压强普遍比传统超声成像中的声压有数量级的降低,其强度大约在几个到几百帕斯卡。

2) 带宽高。超声成像探测的回波信号和换能器发生的信号带宽基本一致。但光声成像中产生的光声信号主要取决于吸收体的尺寸和形状。由于生物组织中吸收体的形态大小各异,光声信号往往具有很大的带宽。

3) 有取向性。对于一个均匀吸收体,短脉冲光源激发的热膨胀是一个瞬时的高度一致行为,使得

连续吸收体相邻部位的信号有很强的同相位相干性,导致光声信号的传播更趋向于垂直于吸收体表面(沿法线方向)。

从这几个特点看,光声成像期望的理想探测系统应拥有高灵敏度、高带宽的超声换能器和足够多的换能器阵元从多个角度上收集光声信号的能力。在实际使用中,这些条件往往不能满足,就会不可避免地产生一些成像伪影,甚至会丢失一些图像信息。

2 光声成像的特点优势和主要实现方法

2.1 光声成像的优势

第 1 个优势:光声成像可以突破传统高分辨光学成像的深度壁垒,原因在于光声成像可以利用深层组织吸收漫散射光并产生低散射的超声信号,这就为深层组织的高分辨光学成像提供了一条新道路,是光声成像最大的特点和优势。

第 2 个优势:生物学中的光声成像对物体光吸收有高灵敏性。虽然一些传统的光学成像方法,包括显微成像和漫散射光层析成像也都可以反映光学吸收差异性,但根据前面对光声成像信号产生机制的分析,光声成像的信号强度正比于成像目标的光学吸收系数。而其他技术对吸收的灵敏性通常远远低于光声成像,这就让光声成像对现有光学成像提供了一个重要补充。

第 3 个优势:针对的是光谱成像能力。虽然荧光成像被广泛应用于生物学成像中,但实际上能有效激发出荧光的生物组织和材料只是少数。所有的生物组织和材料都有自己特征的光学吸收谱,这是由不同组织各自特殊的微观分子结构来决定的。从原理上,可以通过非标记的光谱吸收成像来区分不同的组织类型,这也是光声成像的天然潜在优势。

2.2 光声成像的主要方式

光声成像需要确定光学吸收体的空间位置,从定位的方法上主要分为两大类,第 1 类是进行类似 X 射线计算断层成像那样在多个位置采集光声信号后通过特定的计算重建算法进行成像的方法,第 2 类是基于光学或声学约束下可以不依赖重建算法得到一个空间范围内吸收体位置后通过扫描获得二维和三维尺度下的图像的方法。第 1 类被称为光声计算层析成像(PACT),第 2 类被称为光声显微

成像(PAM)。

PACT 经历了从单个阵元扫描到阵列扫描的发展过程。光声阵列的设计面对不同的研究和应用的需求主要包括两个要素:单个阵元尺寸和带宽、阵元空间排布方式。第 1 个和空间分辨率密切相关,而第 2 个和接收角度有关,对图像质量有影响。一般来讲,对于浅层高分辨的需要,例如皮下几毫米到一个厘米深度,需要的是单阵元小尺寸(~几百微米)和高带宽(中心频率在 10 MHz 以上),而对于厘米级深层组织成像,需要中心频率降到几兆赫兹,甚至应用到人脑成像时,要降到一兆或更低。针对第 2 个要素,虽然阵元的空间分布原则上能接收到的立体角度越大越好,但受限于成像对象的形状尺寸和系统建造费用,通常情况下总会缺失一部分信号,不可避免地产生重建伪影。这种情况对常用的手持式线阵探头尤为突出。目前常用的改善方法主要从两方面入手,一方面通过增加扫描角度来接收更多的信号,另一方面通过重建算法(包括人工智能技术)来抑制伪影并提高图像质量。除了存在接收角度缺失情况外,实际生物软组织中的声速不均匀性和衰减也会影响 PACT 重建图像的质量,有时需要相应的算法进行校正^[30]。

虽然超声阵列已经成为 PACT 的主流,但基于单探头扫描的模式依然在一些 PACT 成像中发挥着重要作用,尤其是针对一些目前难以实现阵列采集的光声信号探测方式。例如基于光学相干效应(珐泊腔、回音壁谐振腔等)的超声探测技术已经在尺寸、灵敏度、带宽和接收角度上相比基于传统压电材料的换能器有巨大的提升,重建图像的质量非常高。但这类纯光学探测方法在多探头并行采集方面碰到了巨大困难,目前还不能有效实现高速并行采集。由于单探头扫描速度慢,受到活体动物运动伪影(呼吸、心跳等)的影响,这类 PACT 通常只能对离体组织或局部可以固定的活体组织来进行高质量成像。

和 PACT 不同,PAM 成像工作时采用的是点扫式成像方式,利用单个超声换能器在体外接收横向位置确定、来源于不同深度的光声信号,最后的图像是对每次扫成像(称为 A-line)结果进行“拼接”完成的。从横向分辨率是以声聚焦还是光聚焦为主,PAM 又被分为声学分辨-PAM(AR-PAM)和光学分辨-PAM(OR-PAM)。在 AR-PAM 中,光子是漫散射的,横向和纵向的空间分辨率来源于聚焦的

超声换能器的超声数值孔径和带宽;在 OR-PAM 中,光子是聚焦的,横向分辨率由光场决定,而纵向分辨率由光聚焦和超声带宽共同决定。因为 OR-PAM 基于光聚焦,同样会受到多次光散射的影响,其成像深度和其他高分辨光学显微成像是一样的。

AR-PAM 的成像目标一般要比 OR-PAM 更深,但分辨率会降低。通常来说,AR-PAM 的成像深度在几个毫米到一个厘米,分辨率也从几十微米到几百微米。由于光子在组织内发生了漫散射,只有一小部分光子被成像目标吸收,因此 AR-PAM 通常需要单脉冲能量在 mJ 量级的脉冲激光。一个直接的后果是在安全标准和激光器总功率受限的情况下,激光器的重复频率最高被限制在 kHz 量级。完成一次典型的 $200 \text{ pixel} \times 200 \text{ pixel}$ 的成像需要时间在分钟量级,导致它在一些需要快速成像的领域受到限制。另一方面,随着高频超声换能器阵列和多通道并行高速数据采集技术的进步,面对活体成像速度上的需求,AR-PAM 从功能上很大程度上会被高频 PACT 系统取代。

OR-PAM 的横向分辨率主要取决于激发光的光学衍射极限,由于其聚焦的光子能量密度高,在很多以血管为对象的研究中产生的初始压强高,所需要的单脉冲能量小到 nJ 量级。这就可以充分利用高重复频率(可以达到 MHz 量级)的脉冲激光器,结合高速扫描设计,实现秒级帧率或近实时的成像。另一方面,高速成像可以提取血流速度、脉搏波等信息,再结合多波长或非线性效应得到的血氧信息,OR-PAM 在血液动力学和代谢相关的生命科学中有独特的地位。

光声成像除了以上介绍的 PACT 和 PAM 外,也发展了其他成像方法。例如,被称为光声遥感(PAS)^[31]的方法,该方法类似于光热显微成像,通过被成像对象吸收脉冲光能量受热膨胀改变其折射率,来影响探测光的反射率。PAS 的一大优点是可以实现非接触成像,但它也失去了基于飞行时间的不同深度信息,从而变成类似双光子或共聚焦那样在横向和纵向都要“点扫描”的工作方式。此外,还有基于线探测、面探测和光学相机对超声波拍照等其他类型的成像技术。

3 光声功能和分子成像

光声功能成像目前主要针对非标记血氧饱和度成像,这也是光声成像目前极具优势的一点。基

于红细胞中的血红蛋白在携带氧和脱氧两种状态下在光学吸收谱上有很明显的差异,光声成像利用多波长可以实现单血管水平的血氧饱和度的非标记高精度定量成像,这是目前其他成像技术做不到的。在 OR-PAM 下,也可以利用高度聚焦的脉冲激光(峰值功率足够高)来针对血红蛋白的非线性饱和吸收特性来实现单波长的血氧饱和度测量。血氧饱和度是非常重要的生理参数,和多种疾病(例如肿瘤)和生命代谢(如神经活动)相关,目前光声成像在血氧饱和度上的测量有巨大优势。除了血氧饱和度测量外,OR-PAM 可以利用光声多普勒或高速多次采集信号观察相位变化的方法来得到血流信息。结合定量血氧测量、血管宽度等信息,就可以研究局部组织的代谢水平,这也是光声成像的另一个优势。

由于光声成像实现了深层组织的高分辨光学成像,基于光学分子探针的光声分子成像是光声成像最重要的价值之一。光声分子成像的探针基于进入体内的方法可以分为两大类:一类是外源性的,这种探针主要包含两部分,一部分起靶标作用,用于和被成像分子结合,另一部分是光学强吸收体,可以是有机或无机染料分子,也可以是纳米粒子。这类探针的优势是有大量可选的设计方案,不足是和其他外源性探针类似,存在在活体组织中的靶向效率不高的问题。第 2 类探针是基于转基因技术的内源性探针。和以绿色荧光蛋白为代表的分子探针一样,拥有光学强吸收(尤其是红光或红外光)的蛋白是极具潜力的内源性光声分子探针^[32-33]。这方面的研究取得了一些进展,但和丰富的荧光蛋白库相比,目前的光声吸收蛋白种类和性能远远满足不了光声分子成像的需求。

4 光声临床应用

光声成像自 20 世纪 90 年代起就努力探索在临床应用上的价值。然而,在前二十年,受限于激光器技术、高灵敏超声阵列制备技术、成像速度等,一直没有大的突破。例如,PAM 出来不久就在小动物皮下黑色素瘤成像上显示了强大的潜力,然而小动物可以一直保持麻醉和固定,但该方法不适用于患者。受限于 PAM 分钟级的成像速度,成像数据采集期间人体微弱(几十微米量级)的位移都会严重影响 PAM 的图像重建结果;很早研究人员就针对光声乳腺癌检测开发了碗形和平面的阵列,但由于

阵元数量少,成像效果不佳。这种局面在过去十年中随着基于阵列的系统越来越成熟得到了很大的改观。

光声临床成像要考虑的因素主要有 4 点:1)要有能产生光声信号和探测光声信号的条件(吸收体、深度、传播途径等);2)要有足够重要的医学需要(主要是在一些重要疾病诊治上弥补其他技术的不足);3)满足成像安全性(主要是激光安全);4)满足临床可操作性(成像流程、成像时间等)。一般来讲,在满足激光安全条件下,组织光吸收和散射造成的光衰减使得体外光声成像的有效深度一般不超过 4 cm。这个深度对于一个成年人来讲难以到达很多躯干部位的重要脏器(心脏、肝脏等)。而大脑由于头骨会对超声波产生严重干扰,对依靠探测超声信号的光声成像还是一个未被攻克挑战。因此,能进行无创体外光声成像,又有事关生死那类临床重要性的疾病比较有限,主要包括乳腺癌、皮肤疾病、前列腺癌、甲状腺癌、皮下浅层循环系统类疾病等。

到目前为止,真正做了系统性临床研究的只有光声乳腺成像。参照前面的临床应用考虑的因素,光声乳腺成像有几个特点。1)乳腺组织深度在成像可到达范围内(个别大的乳房可以通过压缩来减小厚度),而且光声信号容易采集;2)乳腺组织成分简单,主要以脂肪和腺体为主,少血供,红外光可以透入更深;3)乳腺癌是女性第一大癌症,而现有的普遍使用的乳腺钼靶和超声分别存在辐射危害和良恶性诊断特异性低的不足。光声乳腺成像系统主要包括两大类:第 1 类是针对全乳成像的定制系统,该系统采用半碗形面阵或环形线阵来尽可能收集更多立体角的数据实现高分辨成像^[34-36];第 2 类在临床成熟的手持式超声系统的基础上增加脉冲激光照射模块,并修改系统控制来实现光声信号的并行采集和图像重建。第 2 类系统会牺牲部分成像质量和成像深度,但可以同时进行传统的超声成像,天然地实现光声、超声双模成像^[37-39]。从使用上来看,第 2 类由于操作和传统超声系统类似,而且有医生熟悉的超声成像作为背景,更易于被医生接受。因此基于手持式探头的系统在临床研究和推广上更快,已经开展了大量临床试验,而且目前已有一款商业系统获得了美国 FDA 许可。包括我国深圳迈瑞公司在内,还有其他公司在进行类似系统的审批。不仅如此,基于手持式的系统可以很方便地拓

展到其他人体浅层部位的成像应用中,例如皮肤、甲状腺和前列腺等,更加受到临床研究人员的欢迎。

相比于光声乳腺研究,其他临床应用研究规模相对比较小,包括甲状腺、关节和皮肤、特殊病人的内脏等^[40-43]。此外,基于内窥的人体临床研究也有报道,主要是针对子宫和卵巢癌的内窥成像^[44],也是在现有阴道超声系统上增加光声模块实现双模成像的。近期,光声人脑成像方面有所进展,首次在特殊的头骨缺失患者上开展类似功能磁共振的光声脑成像^[45]。

更多的面向临床应用的研究还在动物和仿体上开展,例如眼底成像、术中成像^[46]、穿刺追踪和内窥等,其中小型化的光声内窥成像是一个重要方向,该技术主要用于消化道、呼吸道甚至血管内窥。这几种微型光声内窥系统的目的是看到传统光学内窥镜看不到的体内腔道皮下深层病变或提供病变部位的组织成分分析。

除了疾病的诊断,光声成像在临床上的潜在重要应用是进行癌症等重大疾病的治疗评估。因为放疗或化疗等治疗手段是否起作用,病变部位的光学性质(例如血氧饱和度对应的光学吸收特性)等特征的变化有可能更早于病变组织体积发生的变化。因此光声成像有潜力帮助放疗、化疗或其他存在严重副作用风险的治疗过程。当然,受限于临床成像深度,光声成像目前主要针对的是临床上的浅表癌症,包括乳腺癌、甲状腺癌和前列腺癌等。

5 光声成像面临的挑战

光声成像在生物学上的研究兴起于 20 世纪 90 年代,和 OCT 几乎是同一个起点。然而,OCT 早已成为临床眼科不可替代的重要诊断设备,并在科学研究中也是一种普遍使用的工具。但光声成像虽然拥有比 OCT 更深的成像深度和更强的分子成像能力,到现在依然只是少数实验室的工具。虽然关于光声成像相关研究的文章很多,但其成像系统和方法实际上远远未达到被普遍接受和使用的程度。不仅如此,在目前的光声成像成果中,关于成像造影剂和分子探针合成的研究占有相当大的比例,其次是关于光声成像新方法和新设计的研发,而带来重要生命科学新知识和解决临床问题的重要应用研究成果非常少。一个很有特点的新技术经过三十年还未被广泛使用和接受,这反映了它本

身面临很大的挑战。下面从几个方面探讨可能的原因。

1) 缺乏安全、高效的造影剂和分子探针用于小动物成像。

在生命科学和临床前研究中,小动物活体荧光成像的成功很大程度是有一个被深入研究并不断更新的造影和探针材料库,该材料库可以源源不断地给生命和生理病理问题研究提供可靠的弹药。目前虽然有大量的光声成像造影和分子探针的研究,但真正被普遍认可并易于获得,同时有较好的一致性、稳定性、安全性,并且高效的造影剂和探针几乎没有,这就严重制约了光声成像在小动物活体成像上的应用。

此外,转基因技术在荧光成像上占有极其重要的地位,目前光声成像在这方面的的工作还处于初步探索阶段,但也展示了巨大潜力。再考虑目前活体深层光声探测灵敏度的不足,如果造影剂或探针能被其他机制调制从而成为像光学超分辨中使用的可开关探针,对光声分子影像是个极大的助力,这个工作目前也鲜有报道,非常值得大力研究。

2) 成像系统的使用操作未满足最终用户需求。

光学显微镜经过三百多年的发展,其外形和使用都成为了行业标准被普遍接受。但目前的光声成像系统,除了类似临床超声的手持式线阵探头的系统外,存在大量的各自研发的系统,其内部结构、外形及使用操作都有很大差别,这让用户的选择有很大的困惑。此外,目前的光声成像需要耦合剂,甚至还会把研究对象大部分浸入水中,这和其他非超声成像的活体成像(CT、MRI、荧光、PET等)很不一样,也影响了研究人员开展其熟悉的科研工作。因此,系统研发和用户需要进一步密切合作,促进基于光声成像技术的被普遍接收的成像系统设计和操作流程的形成。

3) 临床应用仍需要一个“突破口”。

OCT的成功很大程度上是在其诞生时刻就找到了眼底成像这一重要临床应用,对视网膜无创高分辨成像至今没有其他替代技术。临床眼科成像的巨大需求极大地推动了整个OCT的发展。虽然现有的光声临床成像研究成果在多种疾病上显示了光声成像可以额外提供非常有价值的诊断信息,帮助提高特异性等,但光声成像目前还未找到类似OCT在眼底成像这样重要的突破口,一方面受限于光声成像几个厘米的有效成像深度使其难以到达

重要器官的自身局限性,另一方面和缺乏足够的临床探索也有关。这要求在光声临床成像系统的设计上充分考虑医生使用的方便性和可靠性,并积极探索包括脑成像、内窥成像甚至术中成像的潜在应用。

4) 光声光谱成像的定量问题还未解决。

虽然光声成像信号正比于生物组织的光学吸收系数,利用光声光谱成像理论上可以非标记地进行组织成分分析和成像,但光声信号也正比于局部的光强。而在实际应用中,复杂生物组织对不同波长光的在体传输行为还难以通过无创的方法确定,导致定量光声光谱成像或对深层组织的应用一直面临很大的挑战。目前组织成分分析主要在相对浅层和只针对有限的几种类型组织。这方面也迫切需要在理论和实验上取得突破。

6 总结与展望

历经近三十年,光声成像由于其核心优势(光学吸收高灵敏、突破深层组织高分辨光学成像),不断地吸引着更多的研究人员和企业走入这个领域。在显微成像和活体小动物成像方面,光声成像的这两个优势结合了光学分子探针技术后已经展示了巨大的潜力,并在脑科学、肿瘤、发育学等研究中不断获得新的进展。在未来随着用户的不断增加、光电子和探针技术的进步,光声成像非常有希望发展出一个类似光学显微镜这类的科研平台设备,从而服务于更广大的研究领域。在临床转换领域,受限于成像深度,光声成像短期内难以像超声、MRI、CT等系统那样成为一个有广泛普适性的临床成像平台,但可以在一些特定疾病类型中找到自己独特的应用,这需要更多的临床研究。

未来随着光电子技术、超声技术和计算机技术的飞速发展,光声成像的速度将越来越快,尤其是实时二维和三维的成像系统会越来越多,从而为生命和生理病理的动态过程提供强有力的研究工具。不仅如此,人工智能的快速发展也将在光声成像中的难点问题上发挥重要作用,包括图像伪影的去除、有限接收角度导致信号丢失的图像的重建、光声光谱成像中定量困难等。

此外,光声成像作为一种光学成像技术,保持了光学成像的高灵敏度、高特异性及可使用丰富的造影剂与分子探针的便利,因此在分子和功能成像上有很大的优势,但也继承了光学成像和超声探测

的不足,例如成像深度有限、受到硬组织的阻挡及部分组织成分难以有效产生光声信号等。因而,除了光声、超声外,参照类似 PET/CT 或 PET/MRI 这样的把光声和其他互补模态融合的多模态成像系统也有很大的价值。

总之,光声成像依然是一个有巨大发展潜力的成像技术,并且随着我国在相关核心硬件技术上的突破及我国巨大的科研和临床市场,我国将从一个追随者转变为推动这一技术真正走向广泛应用的重要引领者。

致谢 感谢科技部重点研发计划(2017YFE0104200)和国家自然科学基金(81421004)的支持;感谢北京协和医院的杨萌教授和深圳迈瑞医疗电子有限公司的杨芳等人对光声临床科研的帮助;感谢本人博士后合作导师美国加州理工大学 Lihong V. Wang 教授的指导;感谢北京大学的同事和其他院校合作者对我认识和理解生物医学成像相关技术的帮助;也感谢本人课题组的同学们这些年来对光声技术研发和应用的探索增加了我对该技术的理解。

参 考 文 献

- [1] Zackrisson S, van de Ven S M W Y, Gambhir S S. Light in and sound out: emerging translational strategies for photoacoustic imaging[J]. *Cancer Research*, 2014, 74(4): 979-1004.
- [2] Wang L V, Hu S. Photoacoustic tomography: *in vivo* imaging from organelles to organs[J]. *Science*, 2012, 335(6075): 1458-1462.
- [3] Li C H, Wang L V. Photoacoustic tomography and sensing in biomedicine[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2009, 54(19): R59-R97.
- [4] Bell A G. On the production and reproduction of sound by light[J]. *American Journal of Science*, 1880, (118): 305-324.
- [5] Bell A G. Production of sound by radiant energy[J]. *Journal of the Franklin Institute*, 1881, 111(6): 401-428.
- [6] Rosencwaig A. Photoacoustic spectroscopy[J]. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, 1980, 9: 31-54.
- [7] Bowen T. Radiation-induced thermoacoustic soft tissue imaging[C]//1981 Ultrasonics Symposium, October 14-16, 1981, Chicago, IL, USA. New York: IEEE Press, 1981: 817-822.
- [8] Diebold G J, Sun T, Khan M I. Photoacoustic monopole radiation in one, two, and three dimensions [J]. *Physical Review Letters*, 1991, 67(24): 3384-3387.
- [9] Kruger R A, Liu P Y. Photoacoustic ultrasound: pulse production and detection in 0.5% liposyn[J]. *Medical Physics*, 1994, 21(7): 1179-1184.
- [10] Kruger R A, Liu P, Fang Y R, et al. Photoacoustic ultrasound (PAUS): reconstruction tomography[J]. *Medical Physics*, 1995, 22(10): 1605-1609.
- [11] Oraevsky A A, Jacques S L, Tittel F K. Measurement of tissue optical properties by time-resolved detection of laser-induced transient stress[J]. *Applied Optics*, 1997, 36(1): 402-415.
- [12] Wang L V, Zhao X M, Sun H T, et al. Microwave-induced acoustic imaging of biological tissues[J]. *Review of Scientific Instruments*, 1999, 70(9): 3744-3748.
- [13] Kruger R A, Kopecky K K, Aisen A M, et al. Thermoacoustic CT with radio waves: a medical imaging paradigm[J]. *Radiology*, 1999, 211(1): 275-278.
- [14] Paltauf G, Viator J A, Prah S A, et al. Iterative reconstruction algorithm for optoacoustic imaging[J]. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 2002, 112(4): 1536-1544.
- [15] Xu M H, Wang L V. Universal back-projection algorithm for photoacoustic computed tomography [J]. *Physical Review E*, 2005, 71(1): 016706.
- [16] Cox B T, Beard P C. Fast calculation of pulsed photoacoustic fields in fluids using k-space methods [J]. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 2005, 117(6): 3616-3627.
- [17] Wang X D, Pang Y J, Ku G, et al. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional *in vivo* imaging of the brain[J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(7): 803-806.
- [18] Maslov K, Stoica G, Wang L V. *In vivo* dark-field reflection-mode photoacoustic microscopy[J]. *Optics Letters*, 2005, 30(6): 625-627.
- [19] Brecht H P F, Su R, Fronheiser M P, et al. Whole-body three-dimensional optoacoustic tomography system for small animals[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2009, 14: 064007.
- [20] Li C H, Aguirre A, Gamelin J K, et al. Real-time photoacoustic tomography of cortical hemodynamics in small animals[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, 15: 010509.
- [21] Xia J, Chatni M R, Maslov K I, et al. Whole-body ring-shaped confocal photoacoustic computed tomography of small animals *in vivo*[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16: 010509.

- Optics, 2012, 17: 050506.
- [22] Li L, Zhu L R, Ma C, et al. Single-impulse panoramic photoacoustic computed tomography of small-animal whole-body dynamics at high spatiotemporal resolution[J]. Nature Biomedical Engineering, 2017, 1: 71.
- [23] Fakhrehjani E, Torii M, Kitai T, et al. Clinical report on the first prototype of a photoacoustic tomography system with dual illumination for breast cancer imaging[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0139113.
- [24] Sun H W, Huang M C, Wang Q H, et al. The application of photoacoustic detection in the primary diagnosis of cancer[M]//Murphy J C, Spicer J W M, Aamodt L C, et al. Photoacoustic and photothermal phenomena II. Springer series in optical sciences. Heidelberg: Springer, 1990, 62: 431-434.
- [25] Yao Y, da Xing, Ueda K I, et al. Technique for measurement of photoacoustic waves *in situ* with ultrasound probe beam[J]. Journal of Applied Physics, 2003, 94(2): 1278-1281.
- [26] Yin B Z, Xing D, Wang Y, et al. Fast photoacoustic imaging system based on 320-element linear transducer array[J]. Physics in Medicine and Biology, 2004, 49(7): 1339-1346.
- [27] Meng J, Song L. Biomedical photoacoustics in China [J]. Photoacoustics, 2013, 1(2): 43-48.
- [28] Xu K, Wang C, Zhang M J, et al. Photoacoustic spectrum analysis of atherosclerotic vessels[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(12): 1217001. 徐康, 王成, 张梦娇, 等. 动脉粥样硬化血管的光声频谱分析[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(12): 1217001.
- [29] Morse P M, Ingard K U. Theoretical acoustics[M]. New Jersey: Princeton University Press, 1986: 927.
- [30] Deng K X, Cui M X, Zuo H Z, et al. Speed-of-sound heterogeneity compensation method in photoacoustic computed tomographic image reconstruction[J]. Chinese Journal of Lasers, 2021, 48(15): 1507001. 邓可欣, 崔曼修, 左宏志, 等. 光声计算断层图像重建中声速异质性补偿方法[J]. 中国激光, 2021, 48(15): 1507001.
- [31] Hajireza P, Shi W, Bell K, et al. Non-interferometric photoacoustic remote sensing microscopy[J]. Light: Science & Applications, 2017, 6(6): e16278.
- [32] Chen R H, Huang S S, Lin T T, et al. Photoacoustic molecular imaging-escorted adipose photodynamic-browning synergy for fighting obesity with virus-like complexes[J]. Nature Nanotechnology, 2021, 16(4): 455-465.
- [33] Yao J J, Kaberniuk A A, Li L, et al. Multiscale photoacoustic tomography using reversibly switchable bacterial phytochrome as a near-infrared photochromic probe[J]. Nature Methods, 2016, 13(1): 67-73.
- [34] Lin L, Hu P, Shi J H, et al. Single-breath-hold photoacoustic computed tomography of the breast[J]. Nature Communications, 2018, 9: 2352.
- [35] Toi M, Asao Y, Matsumoto Y, et al. Visualization of tumor-related blood vessels in human breast by photoacoustic imaging system with a hemispherical detector array[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 41970.
- [36] Heijblom M, Piras D, van den Engh F M, et al. The state of the art in breast imaging using the twente photoacoustic mammoscope: results from 31 measurements on malignancies[J]. European Radiology, 2016, 26(11): 3874-3887.
- [37] Yang M, Zhao L Y, Yang F, et al. Quantitative analysis of breast tumours aided by three-dimensional photoacoustic/ultrasound functional imaging[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 8047.
- [38] Neuschler E I, Butler R, Young C A, et al. A pivotal study of optoacoustic imaging to diagnose benign and malignant breast masses: a new evaluation tool for radiologists[J]. Radiology, 2018, 287(2): 398-412.
- [39] Diot G, Metz S, Noske A, et al. Multispectral optoacoustic tomography (MSOT) of human breast cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2017, 23(22): 6912-6922.
- [40] Knieling F, Neufert C, Hartmann A, et al. Multispectral optoacoustic tomography for assessment of Crohn's disease activity[J]. New England Journal of Medicine, 2017, 376(13): 1292-1294.
- [41] Yang M, Zhao L Y, He X J, et al. Photoacoustic/ultrasound dual imaging of human thyroid cancers: an initial clinical study[J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(7): 3449-3457.
- [42] Kim J, Park B, Ha J, et al. Multiparametric photoacoustic analysis of human thyroid cancers *in vivo*[J]. Cancer Research, 2021, 81(18): 4849-4860.
- [43] Jo J, Tian C, Xu G, et al. Photoacoustic tomography for human musculoskeletal imaging and inflammatory arthritis detection[J]. Photoacoustics, 2018, 12: 82-89.
- [44] Nandy S, Mostafa A, Hagemann I S, et al. Evaluation of ovarian cancer: initial application of

- coregistered photoacoustic tomography and US[J]. Radiology, 2018, 289(3): 740-747.
- [45] Na S, Russin J J, Lin L, et al. Massively parallel functional photoacoustic computed tomography of the human brain[J]. Nature Biomedical Engineering, 2021: 1-9.
- [46] Zhang F, Zhang W H, Li C S, et al. Photoacoustic microscopy for injection navigation of microplastic surgery[J]. Chinese Journal of Lasers, 2021, 48(21): 2107002.
- 张芬, 张吴昱, 李春澍, 等. 光声显微成像引导注射微整形术研究[J]. 中国激光, 2021, 48(21): 2107002.