

癌细胞荧光像增强仪*

夏爱娣
(南京光学仪器厂)

提 要

本文介绍了检测人体内早期癌瘤的荧光像增强仪的设计原理、设计方法、结构特点和临床价值。

一、引 言

癌症是目前严重威胁人类生命的疾病之一, 攻克癌症已成为世界各国广大医务人员和科技工作者的当务之急, 这项工作国内外都处在开拓性阶段。本文介绍了应用光敏效应原理设计和研制的检测人体内早期癌瘤的荧光像增强仪(见图1), 它是利用一个三级静电微光增强管与光学系统耦合, 经纤维内窥镜将人体内肉眼无法观察到的微弱红色荧光增益25000倍, 变为肉眼所能观察到的明亮绿光, 无损性地为临床指示癌变范围和活检部位, 理想情况下能检测到照度为 $3 \times 10^{-7} \text{lx}$ 的荧光。若与双通道纤维内窥镜配合, 引入 6300\AA 光, 对癌瘤就能实现边诊断边治疗。

仪器可供观察、照相、示教三用, 体积小, 重量轻, 价格低, 灵敏度高, 经专家鉴定, 认为仪器设计巧妙, 成像清晰, 性能稳定, 是一种先进的医疗诊断仪, 达到了国内先进水平, 为我国激光血卟啉(HPD)早期诊断癌瘤进入世界先进行列提供了一个重要工具。

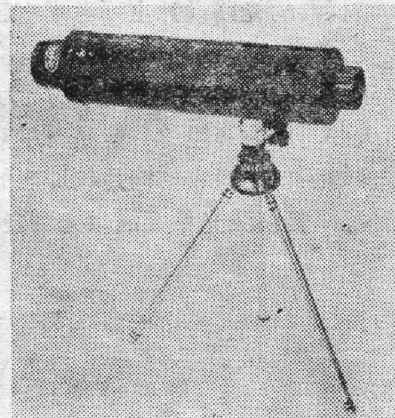


Fig. 1 Carcinoma fluorescence image multiplier

二、基本原理

血卟啉是一种光敏剂, 将其静脉注入人体48~72小时后, 正常组织内的药物大部分被排泄, 肿瘤组织内由于癌细胞功能异常, 血卟啉被癌细胞吸收后, 排泄较慢, 就滞留在癌细胞中, 它与人体内蛋白结合, 当用 4050\AA 左右波长的激光(或普通光)照射注入血卟啉48小时后的病人的恶性肿瘤处, 就会产生 6300\AA 和 6900\AA 的橙红色荧光, 而正常组织就很少有荧光。对于某些消化道、呼吸道等腔内的早期癌变, 因癌细胞数量少, 体积小, 荧光显示较弱,

收稿日期: 1985年10月7日; 收到修改稿日期: 1986年1月6日

* 本文曾在1985年11月中国光学学会年会上报告。

加之内窥镜传像束的损耗(大于 60%),微弱荧光通过内窥镜后肉眼无法辨认,在用了荧光像增强仪后,可将亮度增益 25000 倍,使人眼的视度扩展到 $10^{-7}lx$ 以下,从而提高了早期癌瘤的检测率。

三、仪器的分析和确定

据国外文献报道,对于早期癌瘤的检测,日本的指标是能检测出只有 10 个细胞厚的早期癌瘤。目前国内生产的血叶啉存在优劣之差,亮度多大的荧光才能推测出相当于 10 个细胞厚的癌瘤?临床医生还在探讨中。为此,临床检测对癌细胞数量没作定量要求,但要求仪器有较高的灵敏度和影像分辨率,能清晰地观察到人体内肉眼无法观察到的 6300Å 和 6900Å 微弱荧光,并可照相和示教。基于上述要求,采用光谱分析来检测癌瘤,就无法进行定位、取样。只有通过光学系统,将荧光成像在微光增强管的阴极面上,使亮度高倍增益,再通过光学系统进行观察或照相。当微光增强管选定后,仪器性能就由光学系统来调节。

1. 光学系统设计

仪器的光路设计主要考虑有较高灵敏度和影像分辨率。仪器是观察无确定形状的微弱荧光(单色光)、色差可不考虑,畸变要求也可放松。由于微光增强管对视网膜像面照度的增益正比于物镜相对孔径的平方,为了提高像面亮度增益,在满足视场要求下,相对孔径需适当大些。因内窥镜的目镜是一组双高斯镜头,相对孔径较大,像质较好,用内窥镜目镜作荧光像增强仪的接收物镜是较理想的。只要将内窥镜的目镜装配在一定位置上作仪器的接收物镜,既能使荧光像充满微光增强管的阴极面,充分发挥影像管的增益效果,又能满足荧光

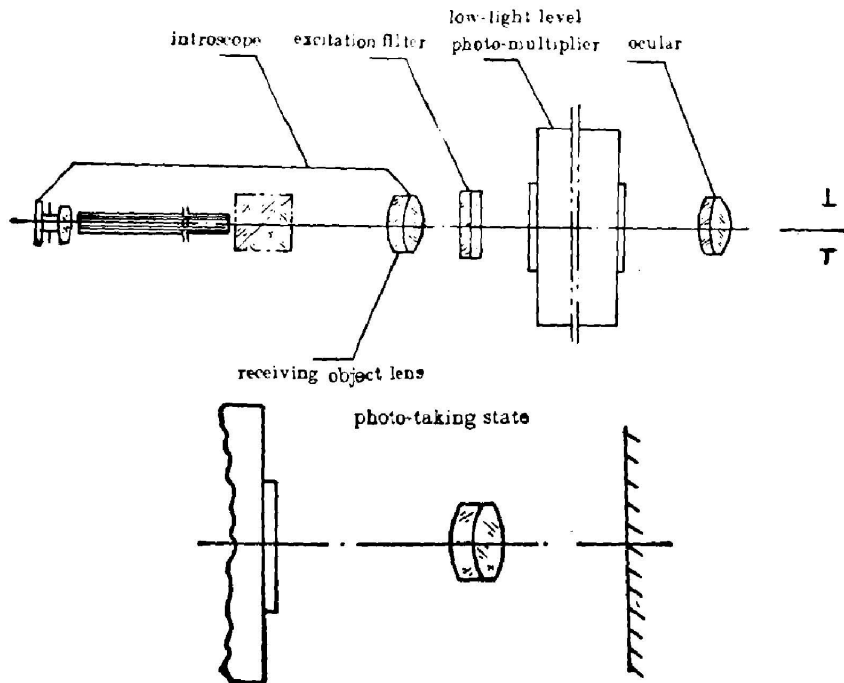


Fig. 2 Optical system of the fluorescence image multiplier

增强仪照相时的要求, 见图 2。经计算, 该物镜孔径角 $2u=13^\circ$, 视场角 $2\omega=9^\circ$, 双高斯镜头能满足这要求。

仪器目镜须具有观察和照相两个功能, 采用孔径较大的双高斯型镜头, 将它装配在一定位置上便可作仪器的照相镜头。所用底片为 72mm 和 135 胶卷。因仪器还要和示教镜配合, 所以目镜的焦距、相对孔径和视场的大小, 要和原内窥镜的照相镜头相符。

微光增强管一般都用于微光夜视, 接收自然光。本仪器接收的是 $\lambda=6300 \text{ \AA}$ 和 $\lambda=6900 \text{ \AA}$ 很窄的单色光, 于是在仪器的前端必须设计一块能接收 6300 \AA 和 6900 \AA 光的干涉滤光片, 因其接收光是受激而产生的荧光, 所以该滤光片称为激发滤光片。本文使用的激发滤光片是仅用来接收 6300 \AA 荧光的, 其光谱透过率曲线见图 3。

仪器的诊断光源是 $\lambda=5145 \text{ \AA}$ 的氩激光, 它通过内窥镜活检孔进入腔体。由于激光器因自激辐射会产生波长较长的微弱荧光, 其中难免有微量 6300 \AA 的红光输出, 进入人体后再被仪器接收,

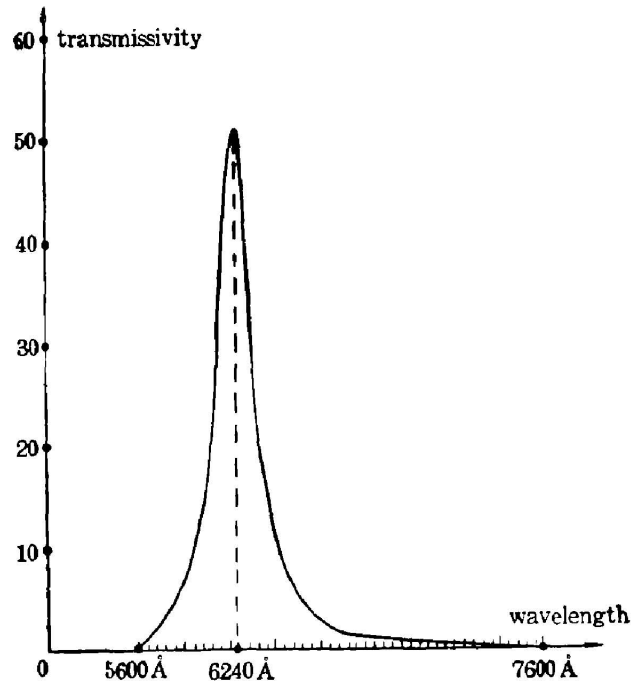


Fig. 3 Excitation filter

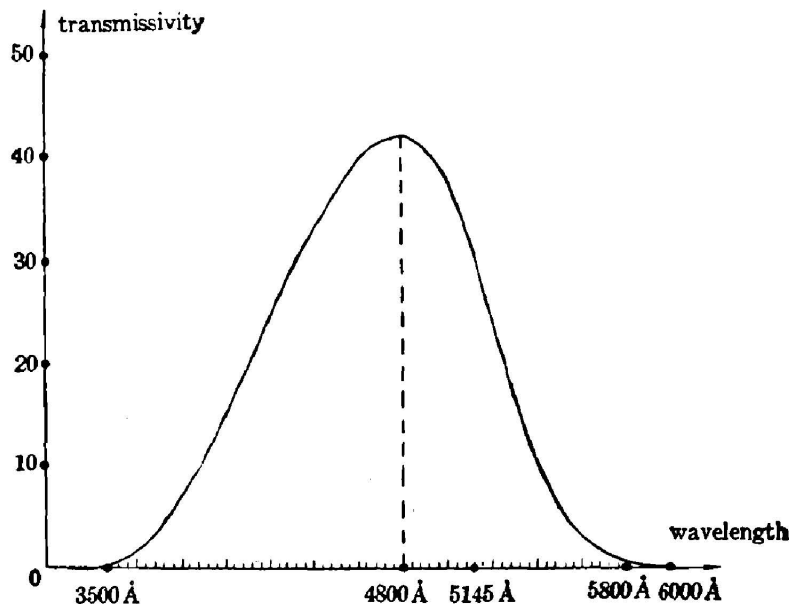


Fig. 4 Cut-of filter

并经微光管高倍数的增益,在像面就会产生背景光,降低荧光衬度,影响诊断正确性。为了降低背景光,在氩激光器的出口处设计一块截止 6000 \AA 以上光的截止滤光片,光谱透过率曲线见图 4。经实践证明,作诊断光用的氩激光输出功率在 $60 \sim 80 \text{ mW}$ 就能满足要求,因此截止滤光片的透过率要求不高。

2. 机械部分

仪器的机械部分主要是保证仪器的光学性能和精度。为提高检测率,避免杂光的干扰,采用了密封性好的双筒防光装置。

3. 微光增强管和控制电路的选定

仪器电路框图如图 5 所示,光源 3 V , 是两节 5 号电池。为考虑光谱匹配,选用了目前国内较理想的 XX1340 型三级静电微光像增强器,其光电阴极为 S25, 增益波段 $4300 \sim 7800 \text{ \AA}$, 最佳灵敏度在 5500 \AA , 但在 6300 \AA 处仍有较高的量子效率,等效背景照度最大值为 $2 \times 10^{-7} \text{ lx}$, 在理想的情况下,可探测到最小照度为 $3 \times 10^{-7} \text{ lx}$ 的荧光,从而有效地把人眼的视度扩展到 10^{-7} lx 以下中心鉴别率 32 lp/mm , 边缘畸变 4% , 基本上能满足

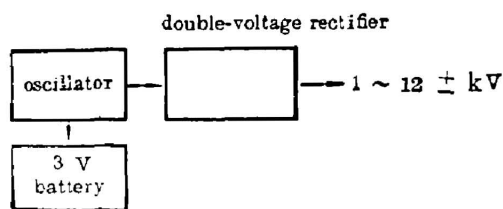


Fig.5 The block diagram of fluorescence image multiplier

成像质量。为防止微光增强管在强光下损坏,在 XX1340 型原有的防强光性能基础上,进一步加深了 ABC 电路控制点,保证仪器在输入光照度不大于 100 lx 情况下,仍可照常工作,使仪器对突发性的强闪光具有较好的防护能力。调节亮度控制电位器,使输出电压从 $1 \sim 12 \pm 1 \text{ kV}$ 连续可调。

四、仪器的性能和特点

1. 性能

- (1) 照相镜头的焦距 $f=18$;
- (2) 照相镜头的相对孔径 $1:2$;
- (3) 亮度增益不低于 2 万倍;
- (4) 当观察目标距内窥镜物镜表面的距离 $L=-5 \text{ mm}$ 时(内窥镜使用的最近距离),鉴别率为 8.8 lp/mm ;
- (5) 放大倍率:
 - (a) 荧光像增强仪在观察状态时的放大倍率

$$\Gamma_{\text{光强}} = 13.9 \times 4.8 \times 0.86 \times 0.072 = 4.11,$$

其中 13.9 为观察目镜的放大倍率, 4.8 为接收物镜的放大倍率, 0.86 为微光增强管的放大倍率, 0.072 为当观察目标距内窥镜的距离 $L=-30 \text{ mm}$ (常用距离) 时, 内窥镜物镜的放大倍率。

- (b) 荧光像增强仪照相时的放大率

$$\Gamma_{\text{光强}} = 3.2 \times 4.8 \times 0.86 \times 0.072 = 0.95,$$

其中 3.2 为照相镜头的放大倍率。

2. 特点

(1) 仪器体积小、重量轻、结构紧凑,既能定位、取样,又能观察、照相、示教。

(2) 仪器的像质较好,成像清晰,灵敏度较高。经临床和试验证明可检测到 $20 \times 20 \mu\text{m}$ 大小的肿瘤组织如图 6。血卟啉浓度相当于 $0.1 \mu\text{g}/\text{gram tissue}$ 。

(3) 合理地利用了滤光片和激光功率,降低了背景光。

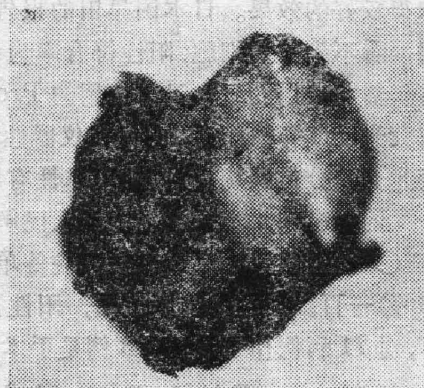


Fig. 6 $20 \times 20 \mu\text{m}$ carcinoma in the little white rat S_{180} on a hemacytometer checkbound unit length of $8 \mu\text{m}$ observed under a microscope

五、改进和讨论

(1) 仪器所用的激光滤光片波长是固定的,今后应改用 6300 \AA 、 6900 \AA 双波段滤光片或具有可调装置的多种波长滤光片,以便提高诊断能力。

(2) 由于人体血液中往往带有一些 5800 \AA 和 6350 \AA 等自源红色荧光,采用的滤光片在加工中截止深度不可能完全达到零,对于一般观察仪器是允许的,对增益 25000 倍的荧光像增强仪器就有影响,使仪器在使用中略带一些背景光,要提高滤光片的加工质量。

(3) 光导纤维的出射端,最好处理成带有弥散状的光斑,可降低由于光纤的光斑对荧光衬度的影响。

(4) 血卟啉的激发光是 4050 \AA 。由于 4067 \AA 的氩离子激光装置价格昂贵,尚未大量推广。采用氩离子激光作诊断光源,以 5145 \AA 的光作激发光,虽与血卟啉激发峰不重合,激发效率较低,但它可作染料激光的泵浦源、医疗激光用。实现一机两用,既方便了使用又减少了投资。

(5) 血卟啉与癌细胞结合产生的荧光与氩激光功率大小有关。功率大,荧光强,但背景光也随之增强。实践证实最佳功率为 $60 \sim 80 \text{ mW}$,既减少了对人体的影响,又提高了荧光衬度。

(6) 血卟啉在一定的浓度下,与其产生的荧光成线性关系,超过一定浓度,血卟啉浓度越高,荧光反而暗淡。因此,使用光敏效应原理诊断癌瘤时一定要选择恰当浓度的血卟啉。

血卟啉在 $\text{pH}10$ 和温度为 26°C 时,荧光激发效应最佳。检测时应尽量改善局部条件,避免出现假阴性。

(7) 本仪器结构简单,价格低,较实用,便于普及。如在仪器前端附加一组镜头,就可对体表和手术切片作荧光检测。若和光谱分析系统及电视装置配合,检测的可靠性还能提高。

六、结 论

美国、日本等国较早地进行了血卟啉荧光检测系统的研究,在体内外试验及临床应用都

取得较好的效果。日本国早田的报告,检测阳性符合率为91.7%(33/36);加藤认为能发现肉眼看不到的癌细胞,阳性符合率为90.9%(40/44)^[1]。Profio提出,可检测出1mm的肿瘤。本仪器与美国、日本目前使用的 Profio-Doiron 第二检查系统(以氦离子激光为激发光源)的荧光支气管镜相比,两者在仪器性能、观察手段、观察指标等方面大致相同。日本另附有荧光光谱分析系统,检测的可靠性有所提高。

两年多来,本仪器经中国人民解放军南京部队“八一”医院,中国人民解放军总后勤部“三〇一”医院及南京市鼓楼医院等单位对患有消化道(胃、食道、肠等)和呼吸道(声带、气管、肺等)一百多病例的临床使用,阳性符合率较高。其中鼓楼医院于1984年7月~1985年5月,对71病例作了检测(13例是手术切片,58例是临床病例荧光检测),结果见表1;“三〇

Table 1 Results of clinical diagnosis on patients with carcinomas by using fluorescence image multiplier

Diagnosis prior to fluorescence investigation	No. of Cases	Fluorescence diagnosis			Result by Operation or Follow-up			Concordance		
		++	+	-	Malignant	Benign	Indefinite	Yes	No	Indefinite
Gastric Cancer, very possible (a typical hyperplasia in one case)	6	4	0	2	4	2	0	6	0	0
Malignant change of gastric ulcer, very possible	4	1	2	1	3	1	0	4	0	0
Gastric Cancer associated with atypical cells	4	0	0	4	0	4	0	4	0	0
Multiple Gastric Ulcer	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Gastric Ulcer associated with virulent septic infection	2	1	0	1	1	1	0	2	0	0
Huge Gastric Ulcer	6	1	0	5	1	5	0	6	0	0
Gastric Ulcer	14	2	0	12	2	12	0	14	0	0
Gastric Cancer	5	5	0	0	5	0	0	5	0	0
Chronic Gastritis, with suspicion of cancer	5									
Elevation of Gastric Mucosa	2	1	0	1	0	1	1	1	0	1
Esophagus Carcinoma very possible	3	1	0	2	1	2	0	3	0	0
Esophagus Ulcer, with or without a typical hyperplasia	2	1	0	1	0	2	0	1	1	0
Esophagitis, ca to be ruled out	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0
Esophagus Granuloma	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0
Malignant Change Lung Cancer	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Total	58	20	2	36	19	38	1	55	2	1

一”医院和“八一”医院在1984年对17例临床病例和12例癌肿瘤作检测，阳性符合率91.7%。在这些病例的检测中，尚未见假阳性出现于完全正常的粘膜中，一般只见于急慢性炎症，尤其是胃肠道炎症，可能这与该处粘膜中的血管丰富、炎症充血时血液中残留的血叶啉相对集中以至局部浓度增高有关。对于非典型增生和溃疡面积较大而难以确诊的病例，通过荧光检测可提高鉴别能力。

用美国的Pritchard-1980型光度计对我们设计的仪器作亮度增益效果(表2)和有关光学参数的测试，该仪器的亮度增益和鉴别率均优于设计要求。

Table 2 Measure of fluorescence brightness gain

times	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
view filed	3°	3°	1°	3°	3°	3°	3°	3°	3°	3°	3°
brightness at the input surface of FIM $\times 10^{-7}$ (lx)	2.5	2.1	1.5	1.5	1.1	1.8	2.3	2.7	2.5	2.8	2.6
output brightness of the FIM $\times 10^{-3}$ (nt)	6.3	5.2	4.8	3.3	2.8	4.1	5.5	6.7	5.7	6.7	5.9
brightness gain $\times 10^{-4}$ (nt/lx)	2.5	2.4		2.2	2.5	2.3	2.4	2.5	2.3	2.4	2.3
brightness at the object examined $\times 10^{-6}$ (nt)	1.6	6.7		4.8	8.1	5.8	7.4	8.7	8.1	9.0	8.40

鉴于本仪器的性能特点，凡涉及到荧光诊断领域（包括恶性肿瘤和常见疾病的早期诊断）均可使用。随着激光、纤维技术的发展，各种类型光敏剂的问世及自源荧光研究的深入，内窥镜荧光像增强仪将会有新的前途。

参加这项工作的还有张琦，马虹等同志。

参 考 文 献

- [1] 加藤大典；《激光科学与技术》，1983，6，No. 4 (Jul)，112.

Design of a fluorescence image multiplier used for examining carcinomas

XIA AIDI

(Nanjing Optical Instruments Factory)

(Received 7 October 1985; revised 6 January 1986)

Abstract

This article describes the design principle, design method and characteristics in structure of a fluorescence image multiplier used to examine early intramural carcinomas or neoplasms. Its clinical values are also evaluated.