

文章编号: 0253-2239(2003)05-0612-04

蒙特卡罗模拟重建组织的自体荧光光谱*

陈晓冬 郁道银 谢洪波 徐 智 张阳德

(天津大学精密仪器与光电子工程学院光电信息技术科学教育部重点实验室, 天津 300072)

摘要: 分别以一个双层的正常胃肠壁模型(包括正常粘膜层和粘膜下层)和一个双层的癌变胃肠壁模型(包括癌变粘膜层和粘膜下层)为研究对象,通过蒙特卡罗模拟计算出每层组织产生的荧光,从而重建出正常和癌变组织的自体荧光光谱,并和实验结果进行了比较。理论重建的光谱和实验测得的光谱在整体形状上的一致性表明,蒙特卡罗方法能够精确地模拟组织中荧光的产生和传输过程,明确解释癌变导致的组织生荧团信息的变化,从而确定组织是否发生病变。

关键词: 生物光学; 自体荧光光谱; 蒙特卡罗模拟; 胃肠壁模型; 光子

中图分类号:

文献标识码: A

1 引 言

目前,人们已经对荧光光谱法应用于医学诊断进行了比较深入的研究。利用组织自体荧光已证明可以检测各种各样的疾病,包括消化道病变^[1~3]、皮肤病变^[4]、血管病变^[5]以及其它部位组织病变^[6,7]等等。但是现有的大部分方法都是依据研究有限数量的标本得出的经验模型,对于组织产生荧光的分布及生化信息很少了解。然而组织的化学变化正是病变以及其他组织异常的开始^[8]。

如果能够根据各层组织光学参量重建出组织的自体荧光光谱,那么结合临床检测得到的荧光光谱,可以明确解释癌变导致的组织生荧团信息的变化,从而确定组织是否发生病变。

蒙特卡罗方法以其特有的灵活性,成为研究生物组织中光传输方面问题的一个较为理想的模型^[9]。它能模拟各种性质组织中的光传输,适用于各种组织边界条件,并且没有引入近似条件^[10]。它能够解释组织的物理化学特性,提供组织的生化信息,以探测体内的组织病变。本文利用激发波长和发射波长处的蒙特卡罗模拟作为研究手段,对分层组织模型进行检测,应用蒙特卡罗模拟计算出组织荧光光谱,并和实验测得的光谱进行比较。

2 组织荧光传输理论分析

根据光子迁移理论,光在混浊介质中的传播是由光子的传播路径以及离散节点来描述的,这些离散节点就是吸收、散射和荧光产生的位置。取光子的初始权重为 1,在光子传输过程中,由于和组织发生相互作用,导致权重减少。定义光子权重的减小因子为 $a(\lambda_{ex})$,则该光子损失了 $[1 - a(\lambda_{ex})]$ 权重。光子被吸收时,有可能会产生波长为 λ_{flu} 的荧光,产生概率取决于组织生荧团的量子产额 $\Phi(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 。设每层组织内的生荧团具有均一量子产额,则产生的荧光光子权重等于 $[1 - a(\lambda_{ex})]\Phi(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$,并且其初始运动方向是各向同性的。定义它的初始运动方向为 s ,从这一点开始,通过一个加权的光子模型模拟荧光光子的传播。

波长为 λ_{flu} 的荧光光子在组织中运动时发生多次散射,每次散射减少的权重为 $a(\lambda_{flu})$ 。在模型中,假定产生的荧光不会导致二次发射,也就是只有波长为 λ_{ex} 的光子才能激发出荧光。

当一个光子穿过边界时,需要确定光子究竟是发生反射还是从边界透过,非散射光的内反射可以根据菲涅耳反射系数获得。图 1 为激发光子以及产生的荧光光子在组织中的随机行走示意图。图中,实线和虚线分别表示激发光子及荧光光子的传输路径。射出组织表面的波长为 λ_{flu} 的荧光光子即为可测得的荧光。图 2 为整个荧光光子模拟流程图。图中,参量 μ_a 、 μ_s 和 g 分别表示组织的吸收系数、散射系数和各向异性因子, r 是激发光子被组织吸收的位置。

* 天津市自然科学基金(03702811)和教育部高等学校重点实验室访问学者基金[教技厅函(2000)3号]资助课题。

E-mail: xdchen@public.tpt.tj.cn

收稿日期:2002-01-28; 收到修改稿日期:2002-04-25

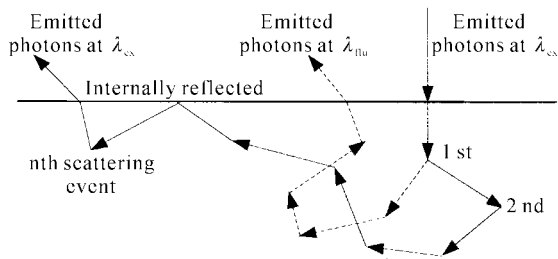


Fig. 1 Random walk nature for photon in tissue

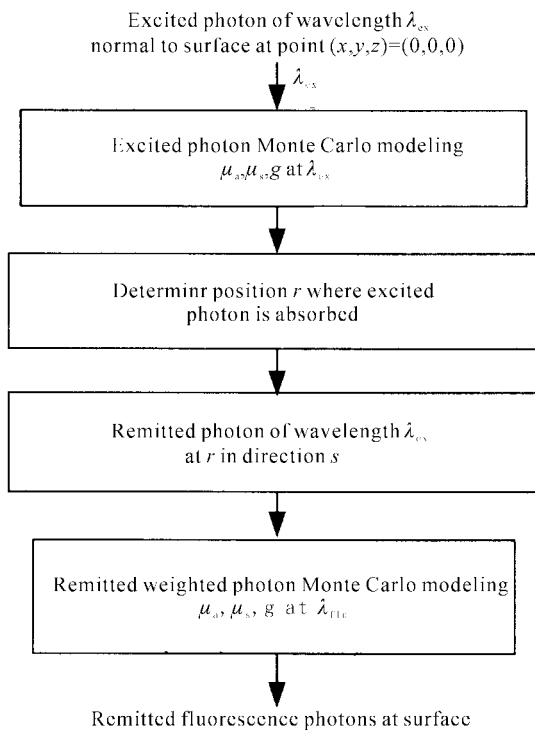


Fig. 2 Schematic diagram for Monte Carlo simulation of fluorescence photon

一个初始权重为 1, 波长为 λ_{ex} 的激发光子在一个分层的组织介质中, 经过多次散射, 激发出多个波长为 λ_{flu} 的荧光光子, 一部分荧光光子经过多次散射之后逸出组织表面, 根据 Wu 等^[11] 的研究, 在深度 z_1 和 z_2 之间的组织产生的荧光能量为

$$F_{layer}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}) = \int_{z_1}^{z_2} \beta(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z) \Phi(z) G(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z) dz, \quad (1)$$

其中, $\Phi(z)$ 为组织中沿着 z 轴的一维激发光能量分布函数, $G(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z)$ 是依赖于波长的荧光逸出函数, $\beta(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z)$ 是组织的固有荧光系数, 定义为激发波长处生荧团吸收系数 $\mu_a(\lambda_{ex})$ 和发射波长处生荧团量子产额 $\Phi(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 的乘积。设在每一层组织内部有着均一的生荧团量子产额, 则在每层组织内, β 和组织的深度 z 无关, (1) 式可转化为

$$F_{layer}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}) = \beta(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z) \int_{z_1}^{z_2} \Phi(z) G(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z) dz, \quad (2)$$

令
$$\eta_{layer}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}) = \int_{z_1}^{z_2} \Phi(z) G(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}, z) dz,$$

(2) 式可进一步简化为

$$F_{layer}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}) = \beta(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}) \eta_{layer}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}). \quad (3)$$

$\eta_{layer}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 可认为是荧光探测效率函数, 即获得特定层组织中的一个自体荧光信号的可能性。

另外, 利用光纤收集荧光的实验系统不能测得组织表面总的逸出荧光 $F(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$, 对于确定的探测结构, 仪器检测到的荧光能量 $F_{det}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 和总的组织荧光逸出能量 $F(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 之间的关系为

$$F(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}) = k D_d(\lambda_{flu}) D_f(\lambda_{flu}) F_{det}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu}), \quad (4)$$

其中, k 是一个常量, 表示总的组织逸出荧光和被检测到的荧光的比值。 $D_d(\lambda_{flu})$ 为探测器的响应函数, $D_f(\lambda_{flu})$ 为光纤依赖于波长的传输效率。本文实验系统采用石英玻璃材料的光纤(长度为 1.5 m), 在可见光波段(400 ~ 700 nm), 响应函数 $D_d(\lambda_{flu})$ 和 $D_f(\lambda_{flu})$ 近似保持不变。因此, 根据(4) 式可得, 组织表面的逸出荧光光谱 $F_{det}(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 和实际测得的光谱近似成比例关系, 即两个光谱的形状基本一致。由于本文只考虑不同光谱的形状比较, 因此在后面的分析中, 利用实际测得的荧光光谱代替组织表面的逸出荧光光谱以简化计算, 而结果将保持不变。

3 组织荧光光谱的重建

胃肠壁组织包括粘膜层、粘膜下层、肌肉层和浆膜层。对照实验系统的激发光波长为 360 nm, 具体结构参见文献[12], 由于激发光仅能够到达粘膜下层^[3], 因此只有粘膜层和粘膜下层组织产生荧光。本文分别建立一个半无限大双层的正常胃肠壁模型和癌变胃肠壁模型分析组织荧光, 如图 3(a) 和图 3(b) 所示, 并利用蒙特卡罗方法重建正常和癌变组织的自体荧光光谱, 同实验结果进行比较。

我们在 400~700 nm 之间等间隔地取 31 个不同的波长, 各层组织的固有荧光系数 $\beta(\lambda_{ex}, \lambda_{flu})$ 是依照已发表的激发和发射波长处人体胃肠壁的正常和癌变组织参量^[13] 计算得到的, 而组织的荧光探测效率函数 η_{layer} 通过蒙特卡罗模拟计算得到, 因此各层组织产生的荧光可由(3) 式获得。

图 4(a) 和图 4(b) 分别显示了胃肠壁正常组织

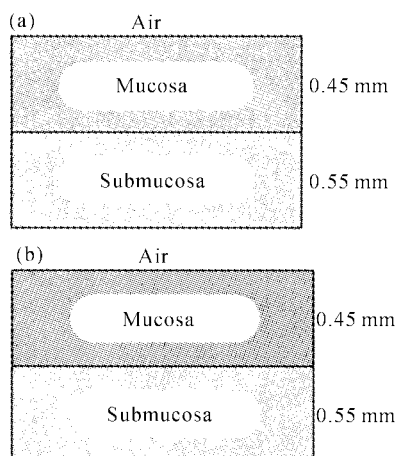


Fig. 3 A bilayer gastrointestinal normal tissue and a cancerous tissue model. (a) Normal tissue; (b) Cancerous tissue

和癌变组织的两个荧光产生层的荧光探测效率 η 在可见光波段的变化曲线。从图中粘膜层的荧光探测效率曲线可以看出,血红蛋白在 420 nm 和 540 nm 处对荧光有很强的吸收作用。在 600~700 nm 波段,癌变粘膜层的荧光探测效率比正常粘膜层要高,本文认为这是由于癌变组织特异积聚人体内源性血卟啉及其衍生物的敏化发光所致。另外,癌变粘膜层吸收了绝大部分的激发光,只有极少量的光到达癌变组织的粘膜下层,导致该层的荧光产额很少,如图 4(b)所示。

图 5(a)和图 5(b)分别显示了胃肠壁正常组织和癌变组织根据理论重建的光谱曲线和实验测得的曲线,实验测得的光谱曲线详见文献[12]。图中的光谱曲线都已经进行比例缩放,使对应光谱的最大值相等,便于比较光谱形状的变化。从图中可以看出,不论是正常组织还是癌变组织,通过蒙特卡罗模拟重建的光谱和实验测得的光谱在整体波形上是基本一致的。但是在 520~580 nm 波段以及 630~680 nm 波段,重建光谱和实验光谱有一定的差别,本文认为造成这两个波段差异的原因,一部分是由于光探测器的响应函数以及光纤的传输效率在不同波长存在一定的差别,另外 520~580 nm 波段的差异也可能是由于已发表参量^[13]对应的组织和文献[12]所测组织中血红蛋白的含氧量不同造成的。此外,由图 5(a)和图 5(b)可见,正常与癌变组织光谱的实验结果和理论结果之间有着相同的偏差,并不会影响体现癌变信息的真实性,即理论重建结果能够很好地区分正常和癌变组织。

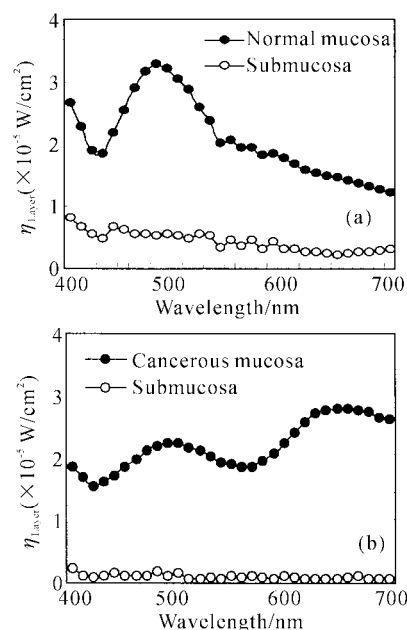


Fig. 4 The fluorescence detection efficiency factor η of normal and cancerous tissue at different wavelengths. (a) Normal tissue; (b) Cancerous tissue

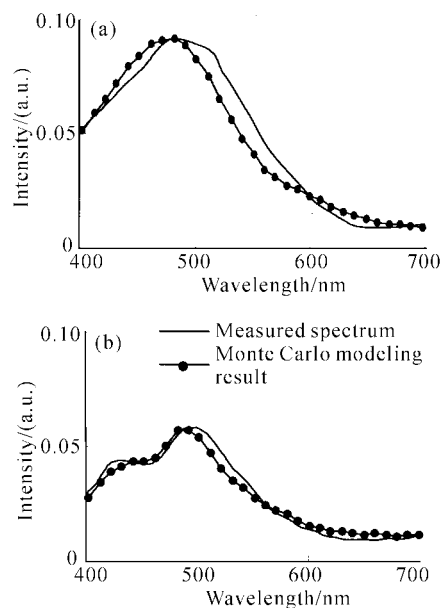


Fig. 5 The comparison of reconstructed spectrum from Monte Carlo modeling results to measured fluorescence spectrum. (a) Normal tissue; (b) Cancerous tissue

结论 本文利用一个两层的胃肠壁模型(包括粘膜层和粘膜下层)来重建正常和癌变组织的自体荧光光谱,通过蒙特卡罗模拟计算出每层组织产生的荧光,最终得到总的组织逸出荧光光谱,并和文献[12]的实验光谱进行比较。结果表明,利用蒙特卡罗模

拟重建的光谱和实验测得的光谱在整体波形上是基本一致的,验证了蒙特卡罗方法适用于研究分层组织中荧光的分布及传输规律。该方法能够明确解释癌变导致的组织生荧光团信息的变化,从而能够确定组织是否发生病变。

参 考 文 献

- 1 Chwirot B W, Chwirot S, Jedrzejczyk W *et al.*. Ultraviolet laser induced fluorescence of human stomach tissues: Detection of cancer tissues by imaging techniques. *Lasers Surg. Med.*, 1997, **21**(2):149~158
- 2 Dhingra J K, Perrault D F, Mcmillan K *et al.*. Early diagnosis of upper aerodigestive tract cancer by autofluorescence. *Arch. Otolaryngol. -Head Neck Surg.*, 1996, **122**(11):1181~1186
- 3 Cothren R M, Sivak M V, Dam V J *et al.*. Detection of dysplasia at colonoscopy using laser-induced fluorescence: A blinded study. *Gastrointestinal Endoscopy.*, 1996, **44**(2):168~176
- 4 Zeng H S, Calum M, David I *et al.*. Spectroscopy and microscopy studies of skin tissue autofluorescence emission. *Proc. SPIE*, 1995, **2324**:198~207
- 5 Engels S A, Johansson J, Stenram U *et al.*. Malignant tumor and atherosclerotic plaque diagnosis using laser-induced fluorescence. *IEEE J. Quant. Electron.*, 1990, **26**(12):2207~2217
- 6 Wang C Y, Kenny H, Chen C T *et al.*. A multivariate statistical algorithm for analyzing fluorescence spectroscopy of oral squamous cell carcinoma-an animal model approach. *Proc. 19th International Conf. IEEE*, 1997, **61**:1058~1061
- 7 Gillenwater A, Jacob R, Ganeshappa R *et al.*. Noninvasive diagnosis of oral neoplasia based on fluorescence spectroscopy and native tissue autofluorescence. *Arch. Otolaryngol. -Head Neck Surg.*, 1998, **124**(1):1251~1258
- 8 Meyers R A. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. University of Wisconsin; John Wiley & Sons Ltd., 2000. 20~56
- 9 Wang L H, Jacques S L, Zheng L Q *et al.*. MCML-Monte Carlo modeling of photon transport in multi-layered tissues. *Comput. Methods Programs Biomed.*, 1995, **47**(10):131~146
- 10 Lu Qiang, Zeng Shaoqun, Luo Qingming *et al.*. Monte Carlo modeling of multi-excited fluorescence microscopy of turbid media. *Acta Optica Sinica (光学学报)*, 2001, **21**(9):1073~1078 (in Chinese)
- 11 Wu J, Feld M S, Rava R P *et al.*. Analytical model for extracting intrinsic fluorescence in turbid media. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(19):3585~3595
- 12 Chen Xiaodong, Yu Daoyin, Xie Hongbo *et al.*. Laser-induced autofluorescence of cancerous gastric tissues. *J. Tianjin University (天津大学学报)*, 2002, **35**(2):187~190 (in Chinese)
- 13 Zonios G I, Cothren R M, Arendt J T *et al.*. Morphological model of human colon tissue fluorescence. *IEEE Transactions on Biomedical Engng.*, 1996, **43**(2):113~121

Reconstruction of Tissue Autofluorescence Spectra by Monte-Carlo Modeling

Chen Xiaodong Yu Daoyin Xie Hongbo Xu Zhi Zhang Yangde
 (College of Precision Instrument and Optoelectronics Engineering, Tianjin University,
 Key Laboratory of Optoelectronic Information Science & Technology,
 Ministry of Education, Tianjin 300072)

(Received 28 January 2002; revised 25 April 2002)

Abstract: By investigating a bilayer gastrointestinal normal tissue (including mucosa and submucosa layers) and a cancerous tissue model (including adenoma and submucosa layers), the laser-induced autofluorescence (LIAF) spectra by Monte-Carlo simulation are reconstructed. The good correlation between the reconstructed spectra and experimental spectra suggested that Monte-Carlo simulation can accurately describe the generation and transportation of fluorescence in tissue and therefore can detect cancerous tissue by revealing the real biophysical and biochemical information of tissue.

Key words: biological optics; laser-induced autofluorescence (LIAF) spectrum; Monte-Carlo simulation; gastrointestinal tissue model; photon