

基于光学相干层析技术的术中颈部组织三维成像

侯方¹, 杨子晗¹, 谷文青², 于洋², 赵敬柱², 梁艳梅^{1*}

¹南开大学现代光学研究所, 天津 300350;

²天津医科大学肿瘤医院甲状腺颈部肿瘤科, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津 300060

摘要 为了在甲状腺手术中辅助医生对切除的颈部组织进行快速的组织学判断, 使用自行搭建的光学相干层析(OCT)系统对行甲状腺切除术及淋巴结清扫术患者的切除组织进行三维成像, 并将其与二维 OCT 图像以及病理切片进行对比。对 21 个病例的切除组织分别采集 67 幅 1000 pixel×1000 pixel×630 pixel 的高分辨三维 OCT 图像, 对应 6 mm×6 mm×3.8 mm 的成像范围。可以从不同角度和不同的内部切面对三维 OCT 图像进行观察, 能够清楚地辨别成像范围内的甲状腺、甲状旁腺、淋巴结和脂肪组织, 并能够清楚地分辨淋巴结转移病变。高速、高分辨的三维 OCT 成像为甲状腺手术提供了一种术中病理诊断的方式, 在辅助医生做出手术决策方面具有一定的应用潜力。

关键词 医用光学; 三维成像; 光学相干层析技术; 甲状腺; 甲状旁腺; 淋巴结转移

中图分类号 TN247

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201939.0117001

Intraoperative Three-Dimensional Imaging of Neck Tissues Based on Optical Coherence Tomography

Hou Fang¹, Yang Zihan¹, Gu Wenqing², Yu Yang², Zhao Jingzhu², Liang Yanmei^{1*}

¹*Institute of Modern Optics, Nankai University, Tianjin 300350, China;*

²*Department of Thyroid and Neck Tumor, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China*

Abstract In order to assist the surgeons in the fast histological inspection of the excised tissues during the thyroid surgery, a home-made optical coherence tomography (OCT) system is used for the three-dimensional (3D) imaging of the excised tissues from the patients receiving the thyroid surgery and lymphadenectomy. The 3D OCT images are also compared with the corresponding two-dimensional OCT images and the histological images. The 67 high-resolution 3D OCT images with 1000 pixel×1000 pixel×630 pixel are acquired from the excised tissues of the 21 patients and the corresponding imaging range is 6 mm×6 mm×3.8 mm. It is convenient to observe the 3D OCT images from different perspectives or cross-sectional planes. The thyroid, parathyroid, lymph node and fat within the imaging range can be clearly identified, and the malignant lesions of lymphatic metastasis can also be distinguished. This high speed and high resolution 3D OCT imaging provides a method for the intraoperative histopathology and is promising to assist the surgeons for their intraoperative decision.

Key words medical optics; 3D imaging; optical coherence tomography; thyroid; parathyroid; lymphatic metastasis

OCIS codes 170.3880; 110.3175; 170.4500; 180.1655

1 引 言

近年来, 甲状腺疾病的发病率、死亡率逐年升高。2015 年, 甲状腺癌已经成为我国 30 岁以下女性患病率最高的癌症之一^[1]。外科手术是目前治疗癌症最为常见和有效的方法之一。在手术过程中,

对切除组织进行快速的病理判断, 能够有效地辅助医生进行进一步的手术决策, 从而有利于患者的康复和术后健康。

目前, 区分不同组织或判别组织是否病变的“金标准”是病理切片检查, 这就需要对切除的组织进行染色、切片、显微成像和对比判断等一系列操作, 效

收稿日期: 2018-07-30; 修回日期: 2018-08-01; 录用日期: 2018-08-23

基金项目: 国家自然科学基金(61875092, 11374167)、天津市科技支撑重点项目(17YFZCSY00740)

* E-mail: ymliang@nankai.edu.cn

率较低,难以实现实时诊断。在临床手术中,医生主要依靠肉眼观察进行判断,诊断的准确性难以保证。另外,“快速冰冻法”也是一种区分不同软组织的方法,但其平均耗时约为 25 min,需要消耗一部分组织,且存在漏检、误检的可能。

利用医学影像手段能够对生物组织进行实时无创检查。荧光成像技术和光学相干层析技术是目前在甲状腺手术中对组织进行检查的两种光学成像技术。荧光成像技术利用荧光剂或组织器官的自体荧光效应来区分甲状腺病变^[2]或在不同的组织中区分出甲状旁腺^[3-6]。但荧光方法多采用信号强度作为判断标准,荧光成像也多局限于表面二维成像,其能提供的空间信息有限。光学相干层析技术(OCT)是一种无损、高分辨的成像技术^[7],在生物组织中,其分辨率可达到 $1\sim 20\ \mu\text{m}$ ^[8],探测深度可达到 $2\sim 3\ \text{mm}$,且可以实现高速实时成像^[9-10]。目前,该技术已经被临床应用于眼睛^[11-12]、心血管^[13]疾病的诊断中,并在皮肤^[14]、口腔^[15-17]、消化道^[18]等方面开展了大量的临床前期研究。

2004年,Pantanowitz等^[19]使用谱域OCT对正常的、发生良性及恶性病变的甲状腺组织进行成像,并将二维OCT图像与病理切片进行对比,验证了将OCT应用于甲状腺成像和病变检测的可能性。2010年,Zhou等^[20]使用谱域OCT对发生不同病变的甲状腺进行三维成像^[20]。同年,McLaughlin等^[21]将OCT应用于区分良性与乳腺癌转移的淋巴结。2013年,Ladurner等^[22]首次使用OCT在颈部组织中鉴别甲状旁腺,准确率达到了80%以上。2017年,Erickson-Bhatt等^[23]使用谱域OCT对28位病人的甲状腺进行术中离体成像研究。2014年,于洋等^[24]使用时域OCT系统对颈部甲状腺、甲状旁腺、淋巴、脂肪等组织进行成像,通过与病理图像进行对比研究了OCT图像的特征。

目前,OCT技术多采用二维图像与组织病理图

像进行对比。在切除的组织中,淋巴、脂肪、结缔组织、肌肉以及可能存在的甲状腺常与旁腺组织混杂。在实际操作中,从单一的横向角度扫描成像得到的信息有限,甚至可能会由于观察角度的限制而对组织或病变做出错误的判断。以二维图像作为分辨组织或诊断病变的辅助标准,具有一定的限制性。

三维OCT图像可以从各个角度和切面对组织进行观察,能够更为直观地观察组织;将切面图像与组织病理图片进行对比,能够更为有效地分辨不同的软组织以及判断组织是否发生病变。本课题组使用自行搭建的扫频OCT系统对21例甲状腺肿瘤患者术中切除组织的67个位置进行三维扫描成像,并将三维OCT图像与二维OCT图像、病理切片进行对比分析。

2 实 验

2.1 实验样品

本实验在天津医科大学肿瘤医院进行,实验样品为21例患者在手术中切除的甲状腺腺叶组织或中央区组织。

2.2 实验系统

实验使用自行搭建的扫频光源OCT(SS-OCT)系统,其结构如图1所示。该系统扫描光源的中心波长为1310 nm,扫描范围为87 nm,扫描频率为100 kHz,输出功率约为20 mW(Santec, HSL-20-100-B)。系统采用马赫-曾德尔干涉仪结构,使用两个环形器提高反射信号光的利用率。使用振镜和扫描透镜(Thorlabs, LSM03)偏转出射光束,以实现样品的三维扫描成像。样品台由可以调节俯仰的平台与三维平移台组成。系统对组织的纵向分辨率约为 $11\ \mu\text{m}$,横向分辨率约为 $17\ \mu\text{m}$ 。系统照射到样品上的光功率约为15 mW,系统灵敏度为124 dB。采用自行设计的LabVIEW程序进行OCT系统控制、信号采集与数据存储。

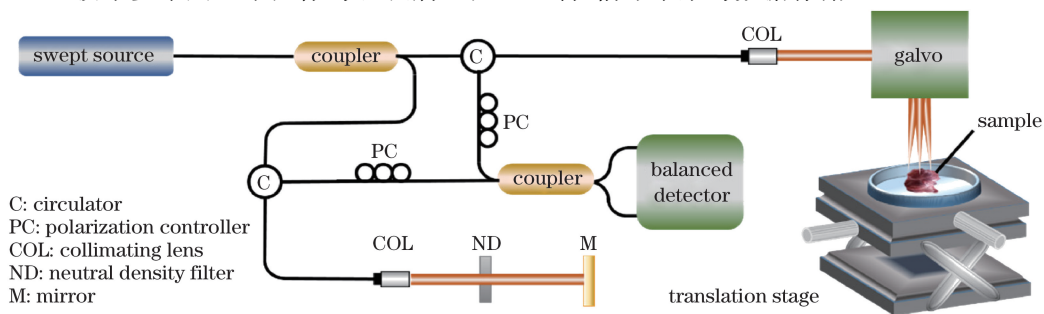


图1 扫频光源OCT系统示意图

Fig. 1 Schematic of SS-OCT system

2.3 实验方法

组织样品由外科医生切除并归类为腺叶或中央区组织。组织切除后立即进行 OCT 扫描成像。在扫描成像时,组织样品被放置于无菌培养皿中,移动平台对样品正反两面的全部位置进行扫描,并在显示屏上实时观察二维 OCT 图像,根据经验判断成像范围内的组织种类,并对感兴趣位置进行三维数据保存,同时记录样品编号和成像位置。OCT 成像完成后,组织样品被送至病理科进行组织病理学检查,随后根据记录的样品编号查证各三维 OCT 图像的病理学结果。

3 实验结果与分析

对 21 例患者切除组织的 67 个位置进行扫描,得到 67 幅三维 OCT 图像,每幅图像的像素为 $1000 \text{ pixel} \times 1000 \text{ pixel} \times 630 \text{ pixel}$,成像尺度对应自由空间的 $6.6, 3.8 \text{ mm}$ 。每幅三维图像的采集时间约为 10 s。根据与组织病理学结果的对比可知,所获得的 67 幅三维 OCT 图像包括 13 处甲状腺组织、5 个甲状旁腺、41 个淋巴结,有 34 幅三维图像中包含脂肪组织。所获得的三维 OCT 图像均能清楚地分辨组织中所包括的甲状腺组织、甲状旁腺、脂肪组织和淋巴组织。

图 2 为甲状腺组织的 OCT 图像和病理切片图像。图 2(a)为三维 OCT 图像,图 2(b)为其中的一帧二维 OCT 图像,图 2(c)为甲状腺组织的病理切片图像。从图 2(a)和图 2(b)中可以清晰地看到甲状腺组织中大小不等、呈不同形状的滤泡,如图中蓝色箭头所指,滤泡有明显的边界,这与图 2(c)病理切片的图像一致。在图 2(a)的三维图像中,通过选取显示的切面图像,可以观察到滤泡间沿不同方向分布的结缔组织,如图 2(a)中黄色箭头所指,而在二维 OCT 图像中,由于切面观察方向的限制,难以观察到结缔组织的结构信息。

图 3 为甲状旁腺组织与脂肪组织的 OCT 图像和病理切片图像。图 3(a)和图 3(b)分别为三维 OCT 图像及其中的一帧二维图。从图 3(a)和图 3(b)的左半部分可以清楚地看到一些散在的、直径较小且相对均一的小洞状结构,如图中蓝色箭头所指,这是甲状旁腺的典型结构,其小洞状结构对应甲状旁腺中散在的脂肪团;从图 3(a)和图 3(b)中的右半部分可以看到均匀疏松的微洞状结构,如图中绿色箭头所指,它们是由网状的纤维组织包裹的脂肪细胞集群,这部分组织是脂肪组织。这些结果与

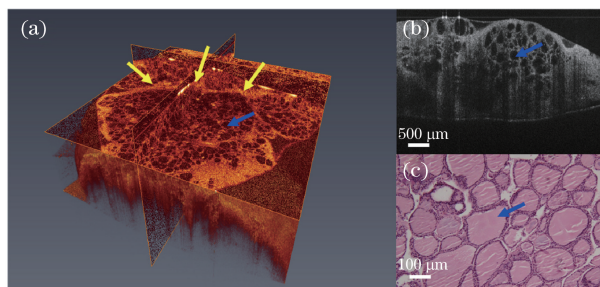


图 2 甲状腺组织的 OCT 图像和病理切片图像。(a)三维 OCT 图像;(b)二维 OCT 图像;(c)甲状腺的病理切片图像

Fig. 2 OCT images and histological images of thyroid. (a) 3D OCT image; (b) 2D OCT image; (c) histological image of thyroid

图 3(c)和图 3(d)的甲状旁腺组织和脂肪组织的病理切片一致。相比于图 3(b),可以从不同的视角和切面对图 3(a)所示的三维 OCT 图像进行观察,从而使得甲状旁腺和脂肪组织更易于区分,且其边界可以被清楚地界定。甲状旁腺由于体积较小、位置变异较大,因此在肉眼观察和二维 OCT 扫描过程中极易被忽略,而且容易将其与淋巴结等组织混淆。从三维 OCT 图像中可以更清楚地观察到甲状旁腺腺体中脂肪细胞的分布,以及甲状旁腺与周围其他组织的边界。

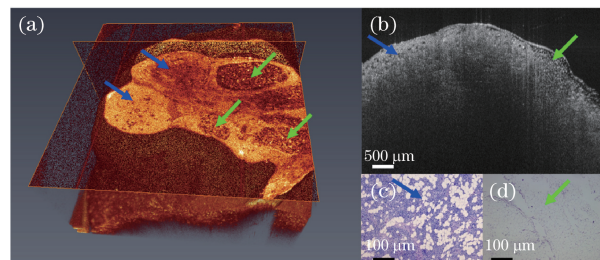


图 3 甲状旁腺与脂肪组织的 OCT 图像、病理切片图像。(a)三维 OCT 图像;(b)二维 OCT 图像;(c)甲状旁腺的病理切片图像;(d)脂肪组织的病理切片图像

Fig. 3 OCT images and histological images of parathyroid and fat tissue. (a) 3D OCT image; (b) 2D OCT image; (c) histological image of parathyroid; (d) histological image of fat tissue

图 4 为淋巴结组织的 OCT 图像和病理切片图像。图 4(a)为一转移淋巴结的三维 OCT 图像,图 4(b)为其中的一幅二维 OCT 图像,图 4(c)和图 4(d)为正常淋巴结和转移淋巴结的病理切片图像。正常淋巴结中的淋巴细胞聚集得比较紧密,如图 4(c)所示,故而在 OCT 图像中呈现为致密、均质无孔洞的结构,如图中绿色箭头所指;而在转移淋巴结中,转移的癌细胞一般随淋巴液进入淋巴结内部

并生长成为新的肿瘤,因此在病理和 OCT 图像中,其皮质部分一般仍保持为致密结构,但内部变得疏松,严重者会出现孔洞状结构,如图 4(a)和图 4(d)中黄色箭头所指。如果仅从图 4(b)中进行观察,极易将此淋巴结判断为正常淋巴结,但从图 4(a)的三维图像中可以清晰地看到淋巴结内部的孔洞结构。图 4(b)的右半部分有一些脂肪。

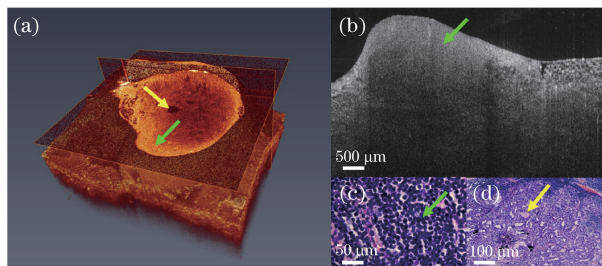


图 4 淋巴结组织的 OCT 图像和病理切片图像。(a) 三维 OCT 图像;(b) 二维 OCT 图像;(c) 正常淋巴结的病理切片图像;(d) 转移淋巴结的病理切片图像

Fig. 4 OCT images and histological images of lymph node tissue. (a) 3D OCT image; (b) 2D OCT image; (c) histological image of normal lymph node; (d) histological image of lymphatic metastasis

4 讨 论

以上实验结果表明,相比于二维 OCT 图像,三维 OCT 图像为颈部组织的分类和识别提供了更为丰富的信息。通过选取三维 OCT 图像不同方向的切面,可以为观察者提供更多、更直观的观察视角。作为一种无损、高分辨、快速的光学成像技术,OCT 能够在手术中对生物组织进行在体实时成像,如果能实现实时三维在体成像,将会极大地提升医生术中诊断的准确率。

与时域 OCT 和谱域 OCT 技术相比,扫频 OCT 技术可以获得更快的成像速度和更高的探测灵敏度。本课题组搭建的这套 SS-OCT 系统基于马赫-曾德尔干涉仪结构,并通过使用两个环形器来提高反射信号光的利用率。系统灵敏度在纵向上的扫描速度为 100000 line/s 的情况下达到了 124 dB。

在在体成像中,病人的呼吸、心跳以及不自主的活动都会影响 OCT 技术的成像质量,而呼吸是主要因素。正常成年人的呼吸频率约为 20 次/min。为了更清楚地显示组织的三维效果,本研究进行了 1000(A-line)×1000(B-scan) 的三维成像。目前,在在体成像中,三维 OCT 图像所包含的 A-line 线数通常低于这一量级,故而经常采用几百幅二维图组成

三维 OCT 图^[25-26]。对于 500(A-line)×500(B-scan) 成像,本课题组搭建的系统的成像速度可达 24 frame/min,可以在病人两次呼吸之间获得一幅三维 OCT 图,从而可降低呼吸造成的图像抖动。

本课题组研发的 SS-OCT 系统的横向、纵向采样间隔均为 6 μm,高于系统的空间分辨率,因此在图像显示时不需要通过插值来提高图像显示的效果。另外,本实验均是基于术中的离体样品进行的,在利用 SS-OCT 系统采集图像时,不存在因病人呼吸或不自主活动引入的二维图像之间的错位,因此采集三维图像是获取的三维数据的直接呈现。为了辅助医生更好地观察成像效果,本研究对数据进行了伪彩色处理。本课题组将在后续的在体成像研究中,针对实际中可能遇到的图像抖动问题探寻更为合适的三维重建算法。

本课题组开发的 SS-OCT 系统为将 OCT 技术应用于颈部组织的术中实时检测提供了可能性。若要实现术中在体成像,还要求设计与加工可适用于术中使用的小型探头。在后续研究中,本课题组将研发基于微机电系统的高速扫描微型探头,以实现颈部组织术中活体 OCT 三维成像。

在本实验中,主要由受过训练的外科医生和研究人员对实时 OCT 图像进行读图及判断。但在实际临床上,医务人员的经验不同,对 OCT 图像的阅读能力也有差别。本课题组已经证明了基于计算机的自动识别算法能够极大地提高颈部不同组织的分类和识别能力^[27],今后将在此基础上,进一步开展基于纹理特征分析和人工神经网络的计算机识别算法进行三维 OCT 图像的分割与识别方法的研究。

另外,本课题组将进一步积累颈部组织不同病变的三维 OCT 数据,制定规范的 OCT 图像的颈部组织病变特征判断标准,并以此为标准评价该技术对不同软组织及各类型病变的灵敏度和特异性,推进该技术在临床上的应用。

5 结 论

本课题组使用自行搭建的 SS-OCT 系统对甲状腺、甲状旁腺、脂肪和淋巴结组织进行三维成像,每幅三维图像的大小为 1000 pixel×1000 pixel×630 pixel,成像时间为 10 s,成像范围为 6 mm×6 mm×3.8 mm。研究结果证明:颈部组织的三维 OCT 成像能清晰地分辨不同的颈部软组织,并能对转移淋巴结进行识别;相对于二维 OCT 图像,三维 OCT 图像能更直观和全面地观察不同的生物组织,

提供更多的有效信息,可以更有效地辅助医生在手术过程中进行病理判断,协助医生做出进一步的手术决策。

参 考 文 献

- [1] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Brandao M, Iwakura R, Basilio F, *et al.* Fluorescence lifetime of normal, benign, and malignant thyroid tissues[J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(6): 067003.
- [3] Gahlen J, Winkler S, Flechtenmacher C, *et al.* Intraoperative fluorescence visualization of the parathyroid gland in rats[J]. Endocrinology, 2001, 142(11): 5031-5034.
- [4] McWade M A, Paras C, White L M, *et al.* A novel optical approach to intraoperative detection of parathyroid glands[J]. Surgery, 2013, 154(6): 1371-1377.
- [5] Kim S W, Lee H S, Ahn Y C, *et al.* Near-infrared autofluorescence image-guided parathyroid gland mapping in thyroidectomy[J]. Journal of the American College of Surgeons, 2018, 226(2): 165-172.
- [6] Jitpratoom P, Anuwong A. The use of ICG enhanced fluorescence for the evaluation of parathyroid gland preservation[J]. Gland Surgery, 2017, 6(5): 579-586.
- [7] Huang D, Swanson E, Lin C P, *et al.* Optical coherence tomography[J]. Science, 1991, 254(5035): 1178-1181.
- [8] Xue P, Fujimoto J G. Ultrahigh resolution optical coherence tomography with femtosecond Ti:sapphire laser and photonic crystal fiber[J]. Science Bulletin, 2008, 53(13): 1963-1966.
- [9] Klein T, Wieser W, Eigenwillig C M, *et al.* Megahertz OCT for ultrawide-field retinal imaging with a 1050 nm Fourier domain mode-locked laser[J]. Optics Express, 2011, 19(4): 3044-3062.
- [10] Zhang X, Huo T C, Wang C M, *et al.* Optical computing for optical coherence tomography[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 37286.
- [11] Rao H L, Zangwill L M, Weinreb R N, *et al.* Comparison of different spectral domain optical coherence tomography scanning areas for glaucoma diagnosis[J]. Ophthalmology, 2010, 117(9): 1692-1699.
- [12] Witkin A J, Ko T H, Fujimoto J G, *et al.* Ultra-high resolution optical coherence tomography assessment of photoreceptors in retinitis pigmentosa and related diseases[J]. American Journal of Ophthalmology, 2006, 142(6): 945-952.
- [13] Lu Y, Li Z L, Wang X Z, *et al.* Development of 50 kHz intravascular swept source optical coherence tomographic system[J]. Chinese Journal of Lasers, 2017, 44(2): 0207001.
卢宇, 李中梁, 王向朝, 等. 50 kHz 血管内扫频光学相干层析成像系统[J]. 中国激光, 2017, 44(2): 0207001.
- [14] Shi W S, Gao W R, Chen C L. Handheld swept source optical coherence tomography for imaging human skin *in vivo*[J]. Acta Optica Sinica, 2015, 35(11): 1117001.
史伟松, 高万荣, 陈朝良. 人体皮肤在体手持式扫频光学相干层析系统[J]. 光学学报, 2015, 35(11): 1117001.
- [15] Feldchtein F I, Gelikonov G V, Gelikonov V M, *et al.* *In vivo* OCT imaging of hard and soft tissue of the oral cavity[J]. Optics Express, 1998, 3(6): 239-250.
- [16] Hamdoon Z, Jerjes W, Upile T, *et al.* Optical coherence tomography in the assessment of suspicious oral lesions: an immediate *ex vivo* study[J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2013, 10(1): 17-27.
- [17] Li J H, Huang H, Tang Z L, *et al.* Measurement of enamel mineral density by optical coherence tomography[J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(8): 0817001.
李江华, 黄海, 唐志列, 等. 光学相干层析成像对牙釉质矿密度的定量测量[J]. 光学学报, 2013, 33(8): 0817001.
- [18] Luo S T, Fan Y W, Chang W, *et al.* Boundary region of stomach mucinous carcinoma with swept source optical coherence tomography[J]. Acta Optica Sinica, 2018, 38(5): 0517001.
罗斯特, 范应威, 常玮, 等. 扫频光学相干层析成像应用于判断黏液型胃癌边界区域[J]. 光学学报, 2018, 38(5): 0517001.
- [19] Pantanowitz L, Hsiung P L, Ko T H, *et al.* High-resolution imaging of the thyroid gland using optical coherence tomography[J]. Head & Neck, 2004, 26(5): 425-434.
- [20] Zhou C, Wang Y H, Aguirre A D, *et al.* *Ex vivo* imaging of human thyroid pathology using integrated optical coherence tomography and optical coherence microscopy[J]. Journal of Biomedical Optics, 2010, 15(1): 016001.
- [21] McLaughlin R A, Scolaro L, Robbins P, *et al.* Imaging of human lymph nodes using optical coherence tomography: potential for staging cancer[J]. Cancer Research, 2010, 70(7): 2579-2584.

- [22] Ladurner R, Hallfeldt K K J, Al Arabi N, *et al.* Optical coherence tomography as a method to identify parathyroid glands[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2013, 45(10): 654-659.
- [23] Erickson-Bhatt S J, Mesa K J, Marjanovic M, *et al.* Intraoperative optical coherence tomography of the human thyroid: feasibility for surgical assessment[J]. *Translational Research*, 2018, 195: 13-24.
- [24] Yu Y, Liang Y M, Shan H, *et al.* Application of optical coherence tomography in thyroid surgery[J]. *Chinese Journal of Endocrine Surgery*, 2014, 8(4): 306-308.
于洋, 梁艳梅, 单灏, 等. 光学相干层析术在甲状腺手术中的初步应用[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2014, 8(4): 306-308.
- [25] Muller B G, van Kollenburg R A A, Swaan A, *et al.* Needle-based optical coherence tomography for the detection of prostate cancer: a visual and quantitative analysis in 20 patients[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, 23(8): 086001.
- [26] Choi D, Lee J, Jeon M, *et al.* *In vivo* fascicle bifurcation imaging of rat sciatic nerve using swept-source optical coherence tomography[J]. *IEEE Access*, 2018, 6: 7713-7718.
- [27] Hou F, Yu Y, Liang Y M. Automatic identification of parathyroid in optical coherence tomography images[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2017, 49(3): 305-311.