

引用格式: SHEN Xiaowen, WU Hongpeng, DONG Lei. Recent Advances of Photoacoustic Imaging Technology in Biomedicine (Invited)[J]. Acta Photonica Sinica, 2023, 52(3):0352105

申晓雯,武红鹏,董磊. 光声成像技术在生物医学中的研究进展(特邀)[J]. 光子学报, 2023, 52(3):0352105

# 光声成像技术在生物医学中的研究进展(特邀)

申晓雯,武红鹏,董磊

(山西大学 激光光谱研究所,量子光学与光量子器件国家重点实验室,太原 030006)

**摘要:**随着光声光谱的不断发展,以光声效应为基础所兴起的非侵入式光声成像技术正逐步成为生物医学的研究热点。该技术除具有光学成像优点外,还拥有声学深度传播优势,能够突破光学衍射极限、散射极限,获得高成像分辨率。本文介绍了光声成像的原理机制,对目前三种典型光声成像技术:光声断层成像技术、光声显微镜技术和光声内窥镜技术分别进行了介绍,总结对比了这三种成像技术的优势,同时总结了近十几年随着光声技术的不断发展,为提高其成像分辨率的各类方法,最后展望了三种技术的未来发展趋势。

**关键词:**光声光谱;生物医学;光声成像;结构成像

中图分类号:Q631

文献标识码:A

doi:10.3788/gzxb20235203.0352105

## 0 引言

生物医学成像技术在医学中有重要的地位和应用,该技术可以通过对比生物组织中所包含的血红蛋白、黑色素、胆红素、脂质和水等生物信息来鉴别健康组织和病变组织。这些生物信息在体内的分布情况反应了被检测组织的功能、病理状态等。对这些信息的进一步分析,可在生物医学领域为各种疾病的前期诊断、中期治疗检测以及最终治疗效果等提供重要依据。在目前的众多外科手术和医疗诊断中,为直观获取重要的生物医学信息,医学成像技术一直是研究人员们的重要研究课题,同时考虑到成像设备对人体的附带损伤情况,非侵入式获取活体组织中相关信息的成像方法已经成为生物医学领域的研究热点。医学成像方式主要分为光学成像技术以及声学成像技术,这两种相对成熟的成像技术已普遍应用于临床医学中。

光学成像技术可以测定不同原子或分子的独特光谱特性,被广泛应用于各个领域<sup>[1-3]</sup>。光子可为医学应用提供非电离且安全的辐射,光的吸收特性能揭示血管增生和高代谢的状态;光的散射光谱可提供相关尺寸信息;光的偏振现象可提供结构组成信息;光的多普勒效应所引起的光频移现象可提供血流信息。时至今日,基本成熟的光学成像技术大致分为:荧光成像技术(Fluorescence imaging)、生物发光成像技术(Bioluminescence imaging)、光学层析成像技术(Optical Coherence Tomography, OCT)。在可见光谱波段,血红蛋白、脂质和水对光线的吸收能力最低,尽管这样,血红蛋白对可见光的吸收也会使每厘米组织的光信号减少约 10 倍<sup>[4]</sup>。KATLER E 在 1929 年首次尝试利用光学辐射进行诊断成像时就已发现当光通过组织传播中的多重散射现象会导致介质表面下的相关成像特征变得非常模糊,临床应用也受到限制:在 400 nm 至 1 350 nm 光谱区域内,生物组织对光的吸收较弱,光波的传播平均自由程为 0.1 mm 量级,当超出 1 mm 的软组织成像时,光学系统将无法有效聚焦<sup>[6-9]</sup>,使得其成像的空间分辨率下降为成像深度的  $1/3^{[10]}$ 。因此,为了在更深的组织中实现荧光成像,研究人员已经开发了激发波长在 650 nm 至 900 nm 之间的近红外荧光成像(Near-Infrared Fluorescence Imaging, NIRF)技术。尽管现有的光学成像技术仍面临很多挑战,但光学成像

基金项目:国家重点研究发展计划(No. 2019YFE0118200),国家自然科学基金(Nos. 62235010, 62175137, 62122045, 62075119),山西省杰出青年基金(No. 20210302121003)

第一作者:申晓雯,605028812@qq.com

通讯作者:董磊,donglei@sxu.edu.cn

收稿日期:2023-01-11;录用日期:2023-02-08

<http://www.photon.ac.cn>

技术在分子成像研究和临床诊断中的作用越来越大,光学成像已经被用于探测人体的浅表层组织,如对脑部区域进行功能性活动的探测<sup>[11-14]</sup>、癌症、肿瘤的探测<sup>[15-16]</sup>、通过内窥镜过程揭示胃肠疾病相关的功能性活动等<sup>[17]</sup>。

由于光学成像方法需对成像对象进行预处理,且成像深度受限,故声学成像的方式逐步兴起。与光波相比,声波作为一种机械波,在同样的传播距离情况下,声波在生物组织的传播过程中的散射强度要比光波小2到3个数量级,所以声学成像技术可有效地深入深层组织中,从而获得具有高空间分辨率的图像。超声成像已广泛应用于临床医学中,重点应用于胎儿成像、生殖器官检测等。然而,在软组织中,声学成像的力学参数存在差异,而且它们与组织功能的关联并不显著,在成像过程中会出现成像散斑,故声学成像的缺陷在于其成像对比度并不高,不能有效反应组织的功能与特性。

综上所述,传统的纯光学成像和纯声学成像都存在其固有的缺陷。但是,若将二者相互融合为光声成像(Photoacoustic Imaging, PAI),则可以很好的解决这些问题。光声成像所采用的激光属非电离辐射,比X射线等电离辐射对生物组织更安全,是一种新颖且更安全的复合成像技术。

## 1 光声效应

光声成像技术是近十几年在生物医学上兴起的基于光声效应的新型成像技术。光声效应<sup>[18]</sup>是:当一束光线照射在所探测物质上时会发出声音,其音调高低取决于光的振动变化频率,同时还发现若能控制光的形式和特性便可控制声音的质量以获得各种有效的声音。BELL A根据这一原理设计了首台“光电话”实现了远距离的无线传输,这一发现拉开了“光声”发展的序幕。1964年,光声效应首次被应用到生物成像当中,AMAR L等运用非调Q模式的红宝石激光器将短脉冲激光射入到兔子右眼的视网膜上,照射在视网膜上的光线被组织吸收后产生的声波通过大脑和枕骨传播到相关探测器即可探测到信号。在对兔眼测试后其课题组在第二年进一步对人眼样本检测了相关的声信号,为之后激光对视网膜损伤程度的相关研究奠定了基础。1978年,ROSENCEWAIG A对比健康的人眼晶状体和患有白内障的人眼晶状体的光声光谱谱图,观察到色氨酸和酪氨酸残基的特征吸收峰存在的差异性,以此证实了这些蛋白在白内障形成过程中的作用。利用光声效应对生物软组织成像的方法于1981年被BOWEN T提出<sup>[19]</sup>,1983年研究人员利用一个 $20 \times 20$ 的阵列探测器对手进行光声成像实验测试,成功获取了一张可以清晰识别人手模型的投影图像,使光声成像原理运用于生物组织成像的可行性得以验证。1987年CROSS F W等在人类尸体上进行光声成像的研究,利用光声效应在人类尸体上区分出病变和健康的主动脉组织,同时证实了在血管成像过程中利用光声信号引导下切除目标组织的可行性。除对生物组织表面的激光照射成像外,广岛大学的研究人员在1985年开发了一种应用于组织切片或细胞悬浮液中生物成分分析的光声显微计算机分析仪,开创了将光声效应应用于检测液体信号的新思路。

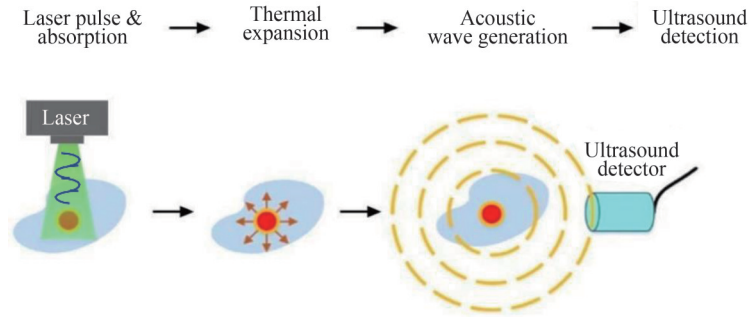
随着十九世纪七八十年代激光技术的蓬勃发展,在这些具有开创性光声效应研究的基础上,光声成像技术的发展迎来了曙光。在2000年后,以光声效应为基础的光声断层成像技术(Photoacoustic Computed Tomography, PACT)、光声显微镜(Photoacoustic Microscopy, PAM)、光声内窥镜(Photoacoustic Endoscopy, PAE)三大类光声成像技术逐步发展成型,进一步拓展了光声效应在生物医学上的应用。

## 2 光声成像原理

光声成像技术的原理如图1所示,它使用纳秒激光(脉冲持续时间 $< 10$  ns)来照射生物样品,生物组织因遵循朗伯比尔定律吸收光能而产生热膨胀,随着温度的上升,热弹性膨胀产生声波,由于声信号在生物组织中传播的时间要比光波长很多,并且无明显衰减,所以可用超声波传感器检测到光声信号(即超声波),所形成的光声信号满足

$$\nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{c^2} \frac{\partial}{\partial t^2} p(\mathbf{r}, t) = -p_0(\mathbf{r}) \frac{\partial \tau(t)}{\partial t}$$

式中, $p_0(\mathbf{r}) = \Gamma(\mathbf{r})A(\mathbf{r})$ 代表初始声压声源分布情况, $c$ 代表组织中的声速, $\tau(t)$ 代表激光脉冲的脉宽, $\Gamma(\mathbf{r})$ 和 $A(\mathbf{r})$ 是成像区域的Grüneisen系数和光吸收系数的空间分布函数。

图1 光声成像原理图<sup>[21]</sup>Fig.1 Schematic of photoacoustic imaging<sup>[21]</sup>

生物组织在光声效应的作用下产生的光声信号可由超声探测器接收,这就是应用于生物医学中的光声成像原理。又因为产生超声波的强度与吸收光能量的多少成正比关系,当检测不同的生物组织时,组织会产生不同强度的超声波,这样就可以用来区分正常组织和病变组织。

### 3 光声成像技术

光学成像技术在成像过程中存在衍射极限和散射极限,在光声成像出现之前,没有任何高分辨率的光学成像技术可以突破这些成像极限。虽然在二十世纪已有很多关于光声成像的研究,但很少有将其应用于生物医学检测的,直到二十一世纪初,美国华盛顿大学的WANG L V教授课题组开拓了生物光声成像研究,基于光声效应的各类生物成像技术才开始逐渐兴起,目前形成的光声成像技术大致分为以下三类:光声计算机断层扫描技术,该技术因其可深度穿透组织而被广泛应用于人体研究;光声显微镜技术,该技术以穿透深度为代价,在生物医学应用中提供了更高的成像分辨率;光声内窥镜技术,这是一种特殊形式的光声显微镜,运用特殊的扫描方式将系统微型化,使其更易于对内部器官实现高分辨率成像。每个研究方向又衍生出不同的研究分支<sup>[20]</sup>。

#### 3.1 光声计算机断层扫描技术

目前比较成熟的医学断层扫描成像技术包括:X射线计算机断层扫描(X-ray Computed Tomography, CT)、超声成像(Ultrasound, US)、磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)、正电子发射断层扫描技术(Positron Emission Computed Tomography, PET)<sup>[22-26]</sup>等,这些技术在对病人的疾病诊断中发挥着重要作用。但以上方法由于辐射的存在会对人体造成一定的损害,并不完全安全。而光声断层扫描技术(PACT)是基于光声效应发展出来的最早的对人体无辐射的一种安全的光声成像系统。

在传统的单光子成像技术中,当一束激光照射到生物荧光团上,荧光团受到光照吸收相应能量使得基态电子跃迁到高能级态,经过短暂的振动弛豫过程,电子返回到基态,同时会发射出相应的荧光光子来实现光学成像,并且在此基础上延伸出双光子、多光子成像技术,进一步提升了光学成像的分辨率(如图2(a))。而PACT不同于传统的光学成像技术,它是利用非聚焦、大直径的脉冲激光束均匀地照射组织表面以产生热和声脉冲响应,利用超声换能(Ultrasound Transducer, UST)在组织边界附近采集光声信号,经放大处理后通过光声图像的重建算法对光声信号的传播问题逆向求解(即反推所检测生物组织的成像区域光吸收分布情况),图2(b)给出了PACT的成像原理。

PACT是最早发展的光声成像技术。传统的PACT成像系统利用一束532 nm的激光束,经扩束镜扩束后,照射到物体表面,再利用单个超声换能器接收信号。图3中显示了最早的光声计算机断层扫描技术应用于生物医学检验上的成像系统图,为全面接收牙齿光照后产生的声信号,将接收器连接到线性位移台上进行垂直平面的信号接收,同时随转轴旋转360°以接收水平方向的声信号,信号经放大器放大后由数据卡采集,并在计算机上利用重建算法对图像进行重建,图3显示了重建后的牙齿光声图像。

仅由单个超声换能器扫描待测对象,耗时长且重建数据信号冗杂,成像结果对图像重建算法的要求很高,为解决以上问题,提出了阵列式超声换能器信号采集系统。对于不同的检测对象应用的阵列也不同,在检测小型动物或者对生物组织表面平面扫描时一般利用线性阵列的超声换能器更便于收取信号。2015年



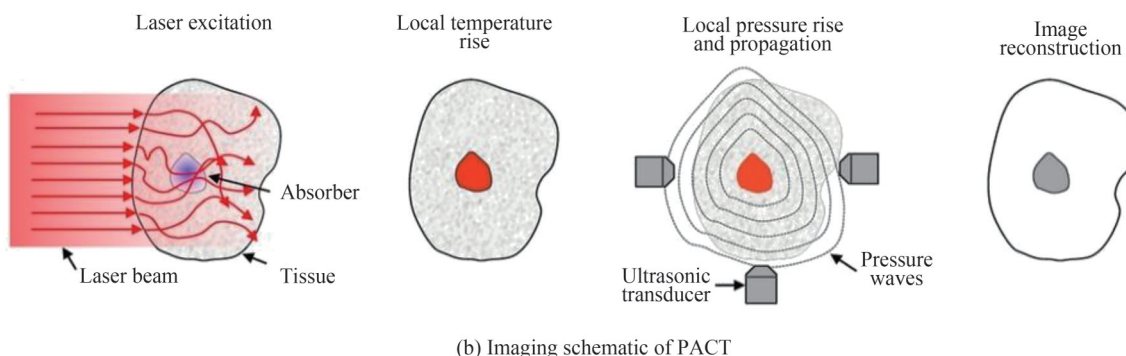
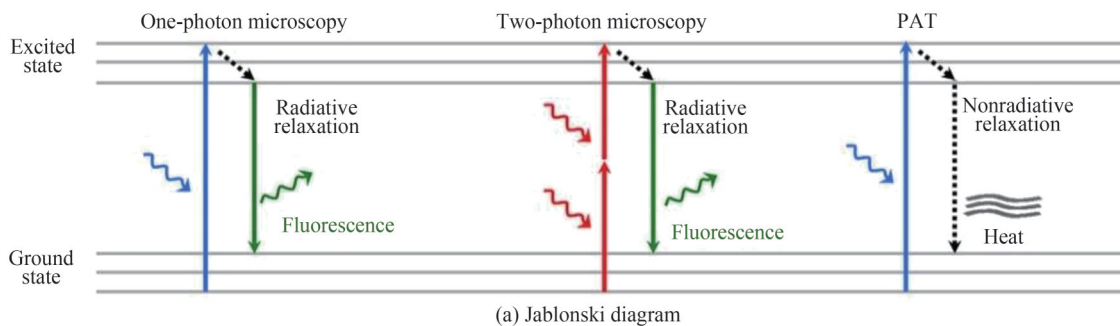


图2 光声计算机断层成像技术原理图<sup>[27]</sup>

Fig.2 Schematic diagram of photoacoustic computed tomography<sup>[27]</sup>

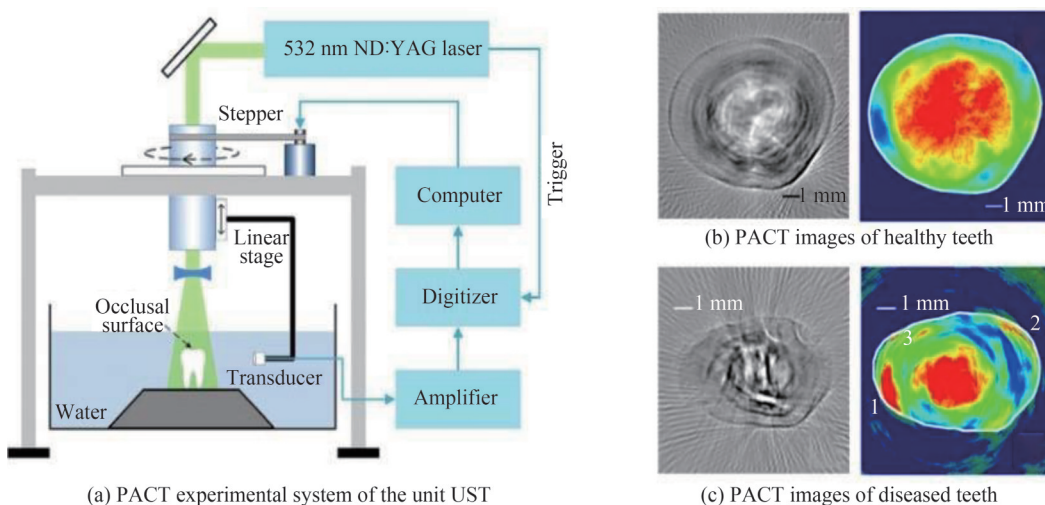


图3 传统的单元超声换能器PACT成像系统<sup>[28]</sup>

Fig.3 Traditional PACT imaging system with unitary ultrasound transducer<sup>[28]</sup>

WANG L V等<sup>[29]</sup>提出了一种高频全视场线性阵列PACT成像系统,如图4所示。光声信号由线性换能器阵(MS550D, Visualsonics Inc)接收,该阵列包含256个元件,元件间距为 $55\ \mu\text{m}$ ,每个超声换能器的中心频率为40 MHz,带宽为33 MHz。他们利用线性阵列组对活体斑马鱼实现了高分辨成像,PACT成像图和超声成像图合成之后的图可以清晰地区分活体斑马鱼的脊柱和躯干血管。2017年,该课题组的LIL<sup>[30]</sup>等开发出了单脉冲全景PACT系统,利用全环形超声换能器阵列对小鼠全身扫描探测,该系统不仅具有高时空分辨率( $125\ \mu\text{m}$ 分辨率、 $50\ \mu\text{s}/\text{帧}$ 的数据采集速度和50 Hz帧速率)、大穿透深度(活体横截面宽度48 mm)、还能对小鼠进行体内结构和功能实时全景成像,实现了小动物大脑及全身的实时成像,在小动物全身成像方面取得了突破性进展,该系统结构和小动物全身成像结果如图5所示。在人体成像方面,PACT目前较多应用在检测乳腺癌疾病上,为了可以更全面的扫描乳房以获得成像结果,如图6所示的半球形超声换能器阵列被设计用于人体乳房疾病筛查,同时,以乳腺癌疾病检测为契机,PACT技术的临床转化相关研究也逐渐成



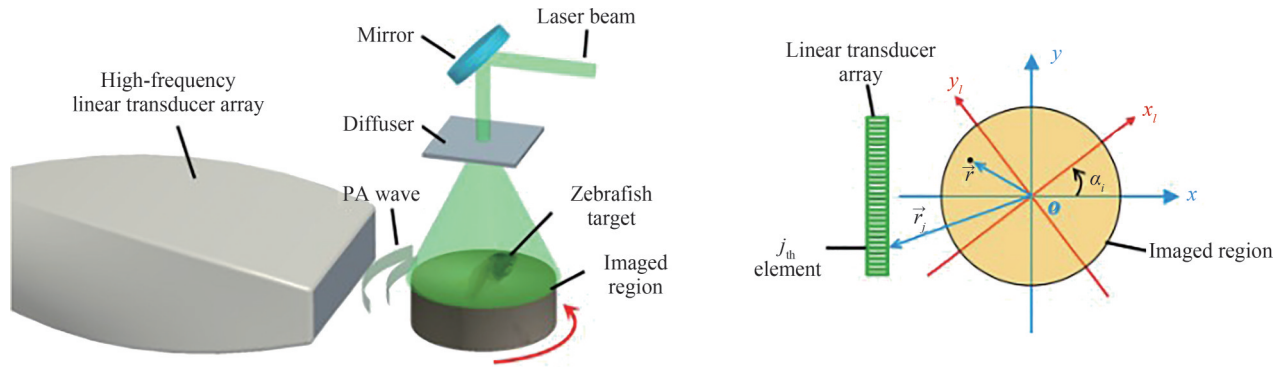


图4 高频全视场线性阵列PACT成像系统<sup>[29]</sup>

Fig.4 High-frequency full-field linear array PACT imaging system<sup>[29]</sup>

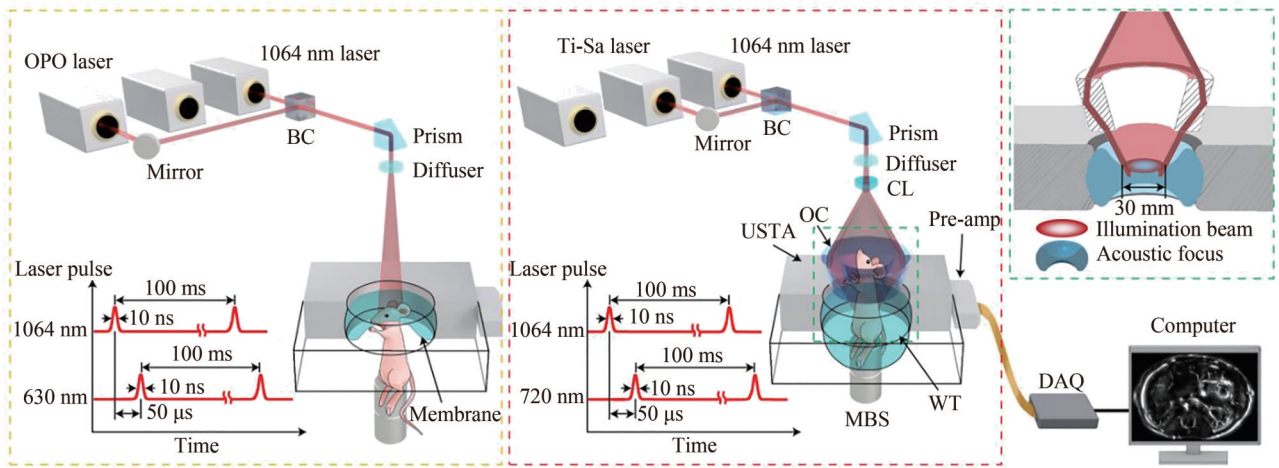
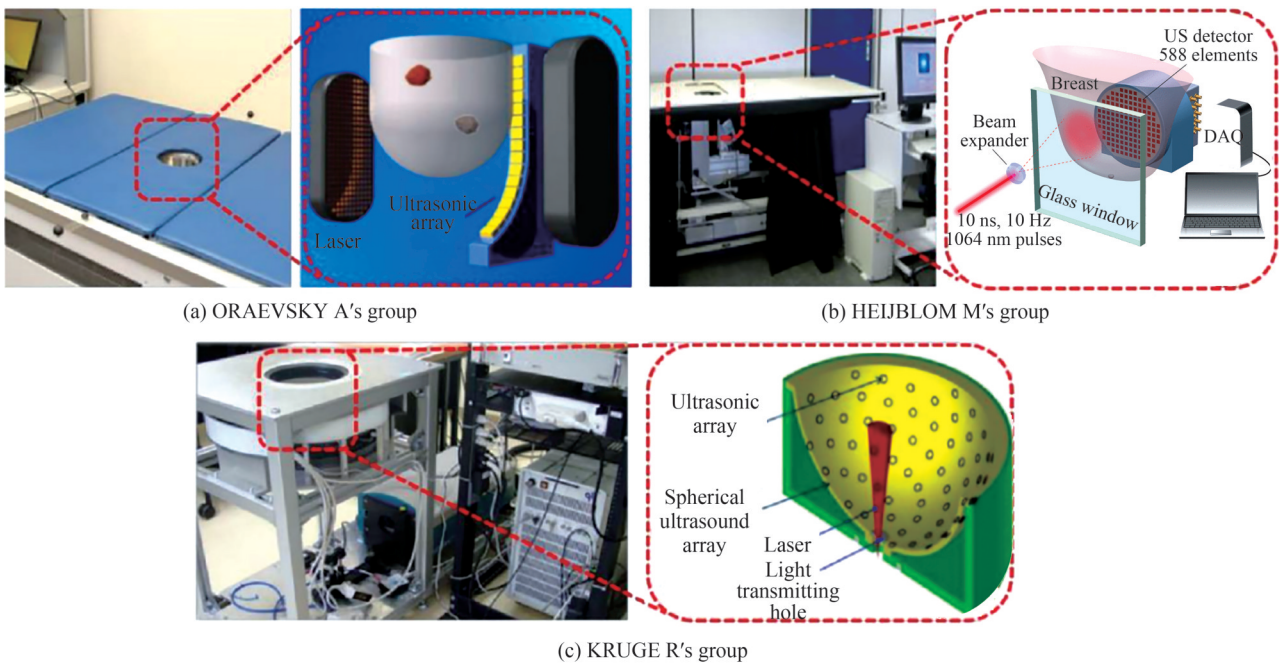


图5 单脉冲全景PACT成像系统<sup>[30]</sup>

Fig.5 Single-pulse panoramic PACT imaging system<sup>[30]</sup>



(a) ORAEVSKY A's group

(b) HEIJBLUM M's group

(c) KRUGE R's group

图6 不同形式的适用于人体乳腺癌检测的PACT系统<sup>[35-36]</sup>

Fig.6 Different PACT systems for human breast cancer detection<sup>[35-36]</sup>

熟,美国的ORAEVSKY A<sup>[31-32]</sup>、KRUGE R<sup>[33-34]</sup>、荷兰的HEIJBLOM M<sup>[35-36]</sup>等课题均提出了不同形式的适用于人体乳腺癌检测的PACT系统,如图6所示。

为提升该技术的成像分辨率,光声图像的重建方法常用的有反投影法<sup>[37-38]</sup>、拉东变换<sup>[39]</sup>或者傅里叶变换算法<sup>[40]</sup>等,随着近几年人工智能技术的兴起,光声图像的重建过程可与机器学习、深度学习<sup>[41]</sup>等结合,以提高成像分辨率与图像重建速度。

PACT技术突破了光学成像极限,其优点在于能对从细胞到器官大小不等的生物结构进行多尺度高分辨率的成像,灵敏度非常高,无背景噪声影响且成像结果无多余的散斑影响,然而由于其成像优势在于宏观图像,尽管具有很好的成像深度但其分辨率并没有很大优势,且宏观图像与微观图像的对比机制差异很大,所以将光声效应应用于显微成像技术中是现阶段的另一重要研究课题。

### 3.2 光声显微镜技术

相比于PACT系统的厘米级穿透深度成像优势来说,光声显微成像技术(PAM)的优势在于同一穿透深度下它具有更高的成像分辨率。LUUKKALA M于1979年首次提出光声显微镜<sup>[42]</sup>,利用斩波频率为900 Hz的He-Ne激光器的激发光源照射于邮票上,接收到了很强的光声信号并得到了相应的邮票光声成像图,首次证明了光声效应可应用于显微成像技术。1981年南京大学声学研究所物理系研制成我国第一台光声扫描显微镜<sup>[43]</sup>,但该技术最初只是用来对金属材料、半导体器件等进行成像而并未应用于生物医学成像当中。直至2005年,WANG L V设计出第一台暗场反射式光声显微镜后<sup>[44]</sup>,光声显微镜技术才正式步入生物医学领域。

光声显微成像是一种聚焦型、小直径的单点聚焦扫描技术,传统的光声显微成像系统使用一束聚焦后的激光束照射到待测物体上,结合X-Y扫描位移台或者二维振镜系统实现机械扫描或者光学扫描,超声换能器接收到扫描的二维声信号后可重建出三维组织信息。光声显微成像系统的光声信号产生于光和声焦点重叠的点,因此通常根据焦点类型将光声显微成像系统分为两类:声学分辨率光声显微镜(Acoustic-Resolution PAM, AR-PAM)和光学分辨率光声显微镜(Optical-Resolution PAM, OR-PAM),二者聚焦方式如图7所示。

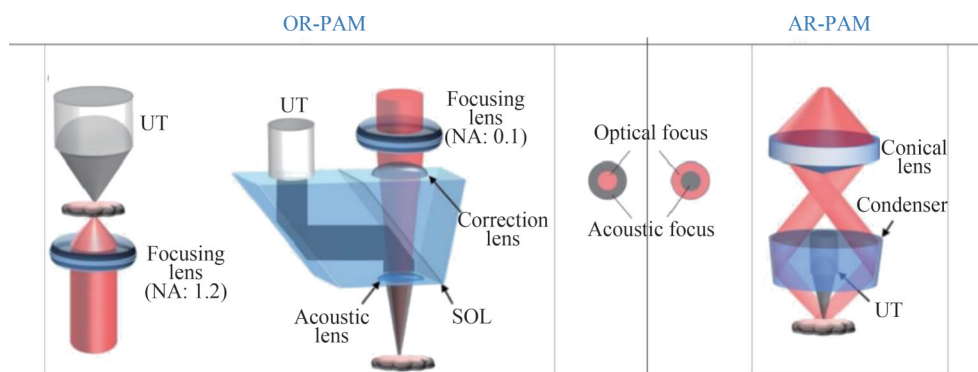


图7 OR-PAM与AR-PAM成像原理对比<sup>[27]</sup>

Fig.7 Comparison of OR-PAM and AR-PAM imaging principles<sup>[27]</sup>

#### 3.2.1 声学分辨率光声显微成像技术(AR-PAM)

声学分辨率光声显微成像技术(AR-PAM)的声学焦点要比光学焦点小,2005年,WANG L V等首次提出用于活体成像的暗场反射模式的第一代光声显微镜就是AR-PAM。为获取高分辨率和高灵敏度图像,他们使用一个与光照同轴共焦的高频、大数值孔径的球聚焦超声换能器来探测光声信号,采用暗场辐射模式照射生物组织,实现了声、光焦点的重合,得到了45  $\mu\text{m}$ 的横向分辨率和3 mm左右的最大成像深度。AR-PAM克服了光学成像极限,并已经探索了多种生物医学信息,例如解剖成像当中的微血管网络和内部器官结构成像,功能成像当中的氧饱和度、血动力学过程和血管舒张等,并且AR-PAM也已在心脏病<sup>[45]</sup>、神经学<sup>[46]</sup>、皮肤科<sup>[47]</sup>和肿瘤学<sup>[48]</sup>等领域开展了许多研究。

### 3.2.2 光学分辨率光声显微成像技术(OR-PAM)

尽管第一台 AR-PAM 具有  $50\ \mu\text{m}$  的横向分辨率,已经满足了许多生物医学成像应用需求,然而如果需要分辨  $4\ \mu\text{m}\sim 9\ \mu\text{m}$  直径的毛细血管,则需要更高的分辨率成像系统,但是如果仍在暗场共焦 PAM 的基础上提高横向和轴向分辨率,则光声信号的传递深度将会大幅减小,所以为了避免提高分辨率而导致的成像深度降低,WANG L V 等<sup>[49]</sup>于 2008 年提出了第一代 OR-PAM,它不仅具备了更高的成像分辨率( $\sim 5\ \mu\text{m}$ ),成像深度也达到了  $0.7\ \text{mm}$  的范围。另外,OR-PAM 的光学聚点比声学聚点小,其横向分辨率由光学焦点大小决定,可实现几百纳米到几微米之间的亚细胞成像效果。2010 年,同课题组的 HU J 等<sup>[50]</sup>对第一代 OR-PAM 成像系统的光声耦合方式进行了改进开发出了第二代 OR-PAM,其成像系统如图 8 所示。第一代 OR-PAM 系统利用两个直角棱镜中间叠加硅酮油以实现光声耦合,激光可穿过硅酮油照射到待测生物组织上,组织因光声效应产生的超声波经棱镜反射后由超声换能器接收相应信号,虽然该系统已经实现了活体小鼠的微血管成像,但是超声信号经棱镜反射后使得大部分纵波转换成了横波,而超声换能器对纵波探测灵敏度高而对横波探测灵敏度低,所以第一代成像系统会因为损失了部分声信号而导致其灵敏度未能有效地提升。第二代 OR-PAM 则将光声耦合部分的其中一个直角棱镜替换成一个平行四边形棱镜,此时声信号经棱镜折射后再次转换为纵波形式由超声换能器接收成像,与第一代成像系统相比,有效地将探测灵敏度提高了  $18.4\ \text{dB}$ 。

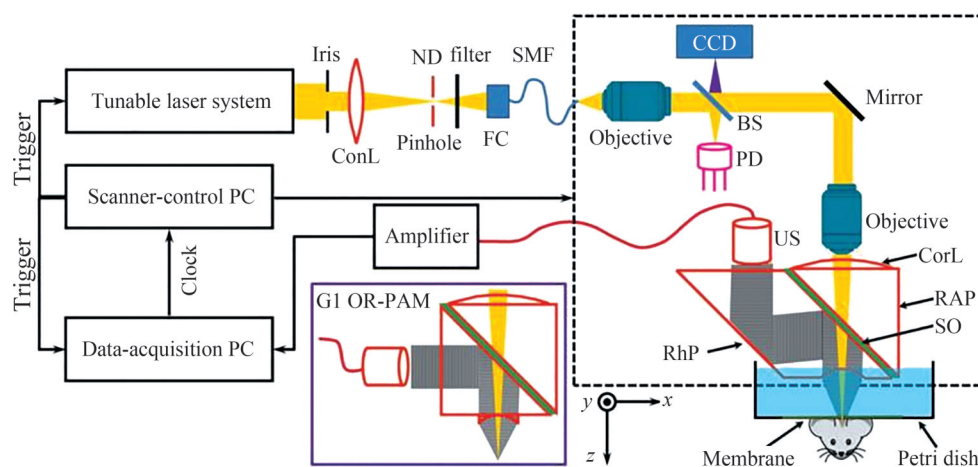


图 8 WANG L V 课题组设计的第二代 OR-PAM 系统图<sup>[50]</sup>

Fig.8 Diagram of the second generation OR-PAM system designed by WANG L V's group<sup>[50]</sup>

然而这种传统的光声显微成像系统随着生物医学检验要求的不断提高,在近几年的发展过程中遇到了新问题:1)仅由单一的入射光源照射待测组织,难以得到具有多对比度的成像结果,对检验结果的分析单一;2)为能实时检测活体组织,要求光声显微成像系统具有可高速扫描、对时间敏感的扫描机制;3)传统的超声探头灵敏度依赖于传感器的尺寸,尺寸越小,探测灵敏度越差,仅能工作在动物麻醉状态或静息状态下,且无法兼顾小型化与功能成像。针对以上三方面问题,国内外各课题组凭借各自优势开展了成像系统优化,有效的提高了成像速度与成像分辨率。

由于血液在  $532\ \text{nm}$  附近的光谱范围内具有高吸收系数,所以大多数 OR-PAM 光声成像系统入射光束仅使用一束  $532\ \text{nm}$  激光照射生物组织以激发更好的声信号,WANG L V 课题组的第二代 OR-PAM 系统利用  $532\ \text{nm}$  激光对活体小鼠耳朵扫描成像如图 9 所示,可以看出成像结果虽然较好的揭示了小鼠耳朵的微血管结构以及密集的毛细血管网络,但是这种成像结果缺乏对比度,难以观测到单个红细胞在血管内的流动情况,还不能满足对活体动物的实时成像功能。

为了实现多对比度的光声成像结果,2012 年 WANG L V 课题组<sup>[51]</sup>首次提出了应用于 OR-PAM 的双波长系统,该系统选用  $532\ \text{nm}$  激光作为入射光的同时加入了一个拉曼频移器, $532\ \text{nm}$  波段的激光经拉曼频移器转换为  $559\ \text{nm}$  波长激光,此时光路中同时存在两种波长激光,两束激光再通过一个偏振分束器重新组合。该系统实现了小鼠心脏血管系统在高氧、缺氧时的光声成像,不仅清楚的得到了成像结果还监测到了氧气浓度变化过程中呼吸和心跳的频率浮动情况。这一成像系统有力地证明了多波长系统应用于 OR-PAM 对



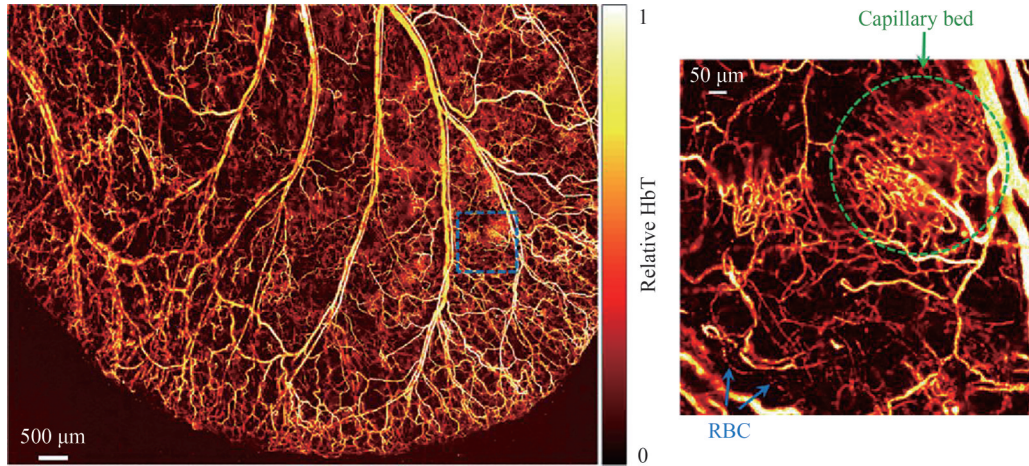
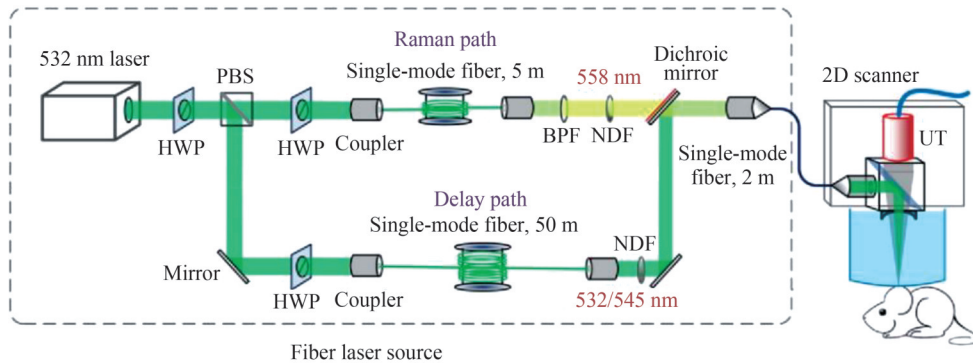
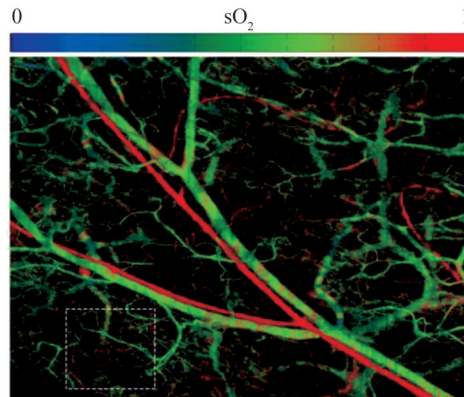


图9 第二代OR-PAM系统对活体小鼠耳朵的成像结果<sup>[50]</sup>  
 Fig.9 Imaging results of the second generation OR-PAM system on the ears of live mice<sup>[50]</sup>

高度动态生物医学检测成像的可能性,但是此篇报道的功能性显微成像系统并未给出具体的双波长成像系统图。直到加拿大HAJIREZA课题组<sup>[52]</sup>于2014年首次实验证明了以受激拉曼散射效应(Stimulated Raman Scattering, SRS)激发多波长激光可应用于光声成像,OR-PAM成像系统中利用光纤可更方便地调节入射光来实现多对比度成像。2017年,国内香港城市大学王立代教授课题组的梁贻智详细的介绍了双波长系统,图10(a)给出该课题组设计的双波长成像系统图。双波长系统分为两条光路,一条为拉曼光路利用长度为5 m的单模光纤中的受激拉曼散射效应(SRS)<sup>[53]</sup>将532 nm激光转换为558 nm;另一束光路通过50 m的单模光纤将532 nm脉冲激光源延迟220 ns,滤掉因SRS形成的545 nm激光后与558 nm波段激光一起耦合到光纤束中照射到所探测生物组织上,所得血氧饱和和成像图如图10(b)所示,可清晰的区分动脉与静脉,



(a) Optical path diagram of the dual-wavelength imaging system



(b) Photoacoustic imaging of blood oxygen saturation of the dual wavelength imaging system

图10 双波长光学分辨率光声显微成像系统<sup>[53]</sup>  
 Fig.10 Dual-wavelength optical resolution photoacoustic microscopy imaging system<sup>[53]</sup>

并且可以实时监测到血管内血氧饱和度(Oxygen Saturation,  $sO_2$ )分布情况。为了满足双波长光声成像系统图像的绘制,该课题组同时利用光谱解混算法计算方式来分析成像结果中的血氧饱和和浓度,算法为

$$sO_2 = \frac{k_{\lambda_2}^{de} PA_{\lambda_1} - k_{\lambda_1}^{de} PA_{\lambda_2}}{(k_{\lambda_2}^{de} PA_{\lambda_1} - k_{\lambda_1}^{de} PA_{\lambda_2}) + (k_{\lambda_1}^{ox} PA_{\lambda_2} - k_{\lambda_2}^{ox} PA_{\lambda_1})} \quad (1)$$

式中,PA代表不同波长下的光声信号幅值, $k$ 表示不同波长下的不同吸收系数,利用该算法监测到红细胞在从动脉流向静脉时血氧饱和度逐渐降低的现象,这一报道很好地证明了多波长成像系统在快速功能性光声成像中的潜力。

通过双波长系统测量的光声信号可计算监测 $sO_2$ ,其中利用这种算法进行的常规计算中PA信号的振幅与血液对入射光的吸收系数呈线性关系,然而当吸收系数较高时,PA信号幅度可能与吸收系数呈非线性关系<sup>[54]</sup>,此时会导致 $sO_2$ 测量误差较大,故该课题组于2019年开发了一种非线性、三波长OR-PAM技术来补偿损失的 $sO_2$ 误差信号<sup>[55]</sup>。图11给出三波长成像系统结构。

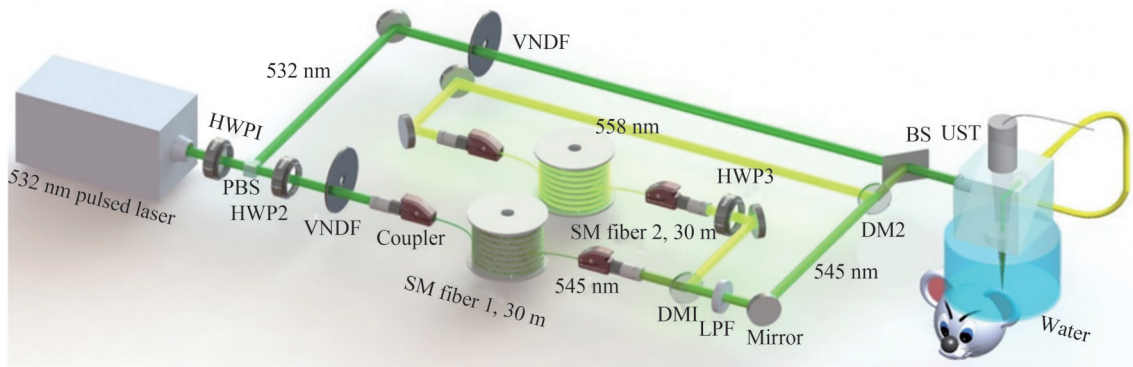


图 11 三波长 OR-PAM 成像系统示意图<sup>[55]</sup>

Fig.11 Schematic diagram of the three-wavelength OR-PAM imaging system<sup>[55]</sup>

三波长系统在双波长系统的基础上加入第三束光路,利用长为30 m的单模光纤在SRS效应条件下泵浦出545 nm激光束,将532 nm、545 nm和558 nm脉冲的时间延迟分别为0、150 ns和300 ns,从而实现三个PA信号的时间分离。PA信号振幅与 $sO_2$ 的非线性函数表示为

$$PA = K\Gamma\eta F [1 - \exp(-r(sO_2\epsilon^{ox} + (1 - sO_2)\epsilon^{de}))C_{HbT} \Delta z] \quad (2)$$

为求式中三个未知数 $sO_2$ 、 $rC_{HbT} \Delta z$ 、 $K\Gamma\eta$ ,利用检测所得的三个波长值进行迭代计算,经过迭代后的 $sO_2$ 值收敛到一个稳定值处完成非线性补偿。利用三波长系统对小鼠耳朵进行的非线性补偿成像结果与双波长成像结果对比如图12所示,可以清楚的看出进行非线性补偿后的血管成像图中静、动脉区分更加明显,且血氧饱和度分布更清晰,非线性补偿 $sO_2$ 成像方法可以减少因吸收饱和引起的整体误差,比线性结果更接近实际值。利用三波长功能成像的这一技术进步可进一步扩大OR-PAM的生物医学应用。

近年来,王立代教授提出的双波长OR-PAM系统已被普遍应用于对各类生物组织扫描成像,微血管以及血氧饱和度的高分辨率、多对比度成像监测。但是在该技术中由于扫描方法的限制,一次扫描中只能获得两种类型的对比度,这样就使得该方法扫描过程十分耗时,难以满足捕捉生物组织中动态的功能信息的要求。为了改进这种方法,该课题组于2021年首次提出了五波长OR-PAM系统<sup>[56]</sup>,同时利用532 nm、545 nm、558 nm、570 nm和620/640 nm五种波段激光源用于实现体内的血红蛋白浓度、氧饱和度、血流速度和淋巴管的多对比度成像。图13给出五波长系统的装置图,532 nm基频光经过SRS效应泵浦出545 nm、558 nm、570 nm和620/640 nm波段激光,其中532 nm、545 nm、558 nm和570 nm波长用来血管成像,可以清楚的区分静动脉的同时还可以实时检测血流速度、深度、血管直径和弯曲度,532 nm和620/640 nm波长结合伊文思蓝染色液染用于淋巴管及其周围血管对比成像。图14为利用该系统对小鼠耳朵的成像结果。

图14成像结果与图12中三波长成像系统图对比,新型的五波长成像系统利用单一光源在扫描成像过程中,可以展现出包括血氧饱和度、血液流速、淋巴管分布等在内的多对比度信息,显著的提升了OR-PAM系统的实时响应和多对比度功能性成像系统性能,并且展示了这项技术在早期癌症检测、监测淋巴循环和大脑成



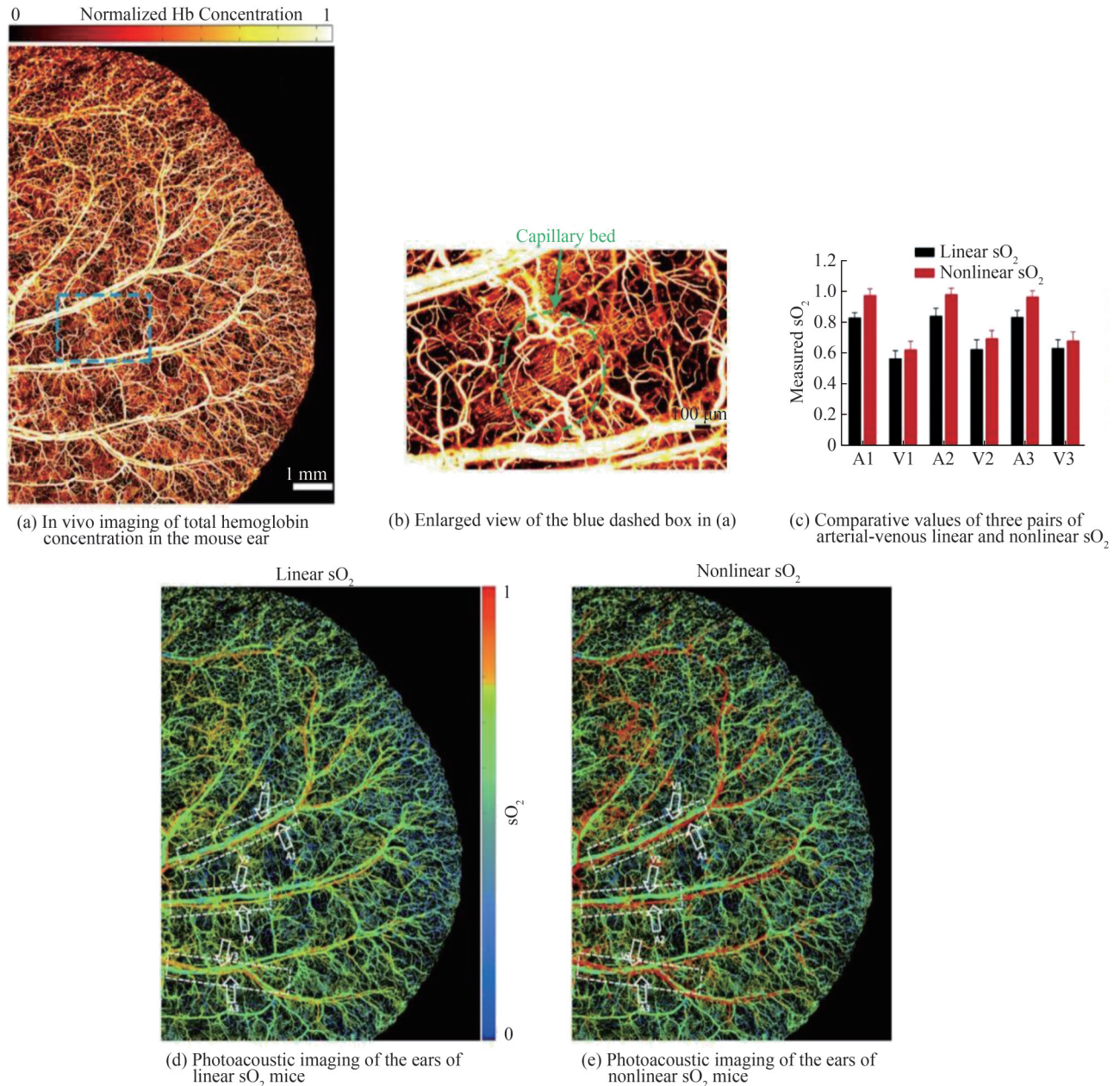


图12 三波长成像系统下的小鼠耳朵成像图<sup>[55]</sup>  
 Fig.12 Imaging of mouse ears under a three-wavelength imaging system<sup>[55]</sup>

像方面的潜在应用,这项技术的进步为未来发展多对比度光声显微成像技术提供了有效的理论与实验基础。

王立代课题组通过对入射光路的激光源进行改进,提出了多波长成像系统,通过这种方法淘汰了传统的因单一光源而导致的耗时长、对比度少的OR-PAM系统,在一定程度上提升了成像速度与成像效果,但是在成像系统扫描部分,仍使用传统扫描模式对生物组织进行扫描,这种传统的扫描方法因步进电机自身较笨重,且生物组织表面不均匀(例如肿瘤、大脑),单一的机械扫描方式无法及时获得光声共聚焦后的有效声信息。随着生物医学技术的不断发展,中国“脑计划”于2021年9月正式启动,人类脑部神经的复杂程度用以上的扫描方式远远不能实现高分辨率快速实时的成像。为解决这一问题国内外大多数课题组在搭建光声成像系统时,选用光学扫描方式来对生物组织进行逐点扫描,光学方式相比于机械扫描方式速度有一定提升并且可以达到视频速率成像的标准,但由于振镜倾斜扫描角度的超低灵敏度,该方法视场和图像质量明显降低,使其不适合应用于光声成像技术。2014年,与王立代课题组合作的YEH C博士等<sup>[57]</sup>将机械扫描方式与光学扫描方式结合在同一成像系统中提出了一种全电动光学分辨率光声显微镜(Fully



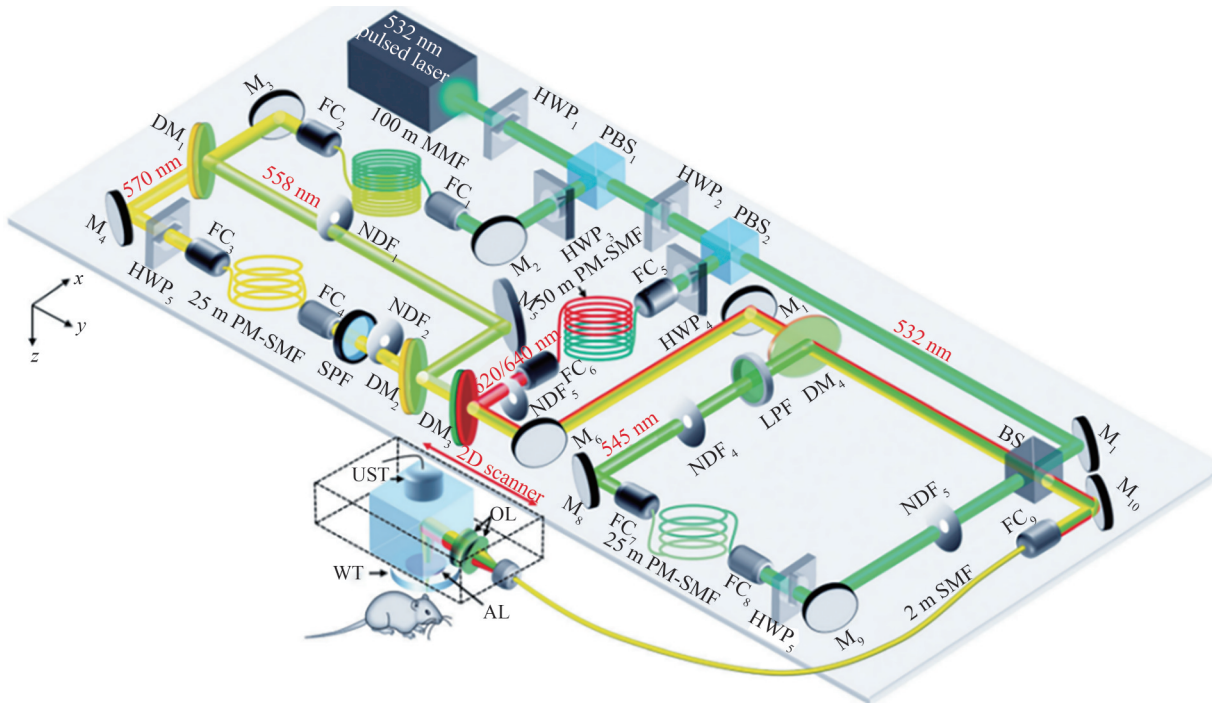


图13 王立代课题组提出的五波长OR-PAM的原理图<sup>[56]</sup>

Fig.13 Schematic diagram of the five-wavelength OR-PAM proposed by Lidai Wang's group<sup>[56]</sup>

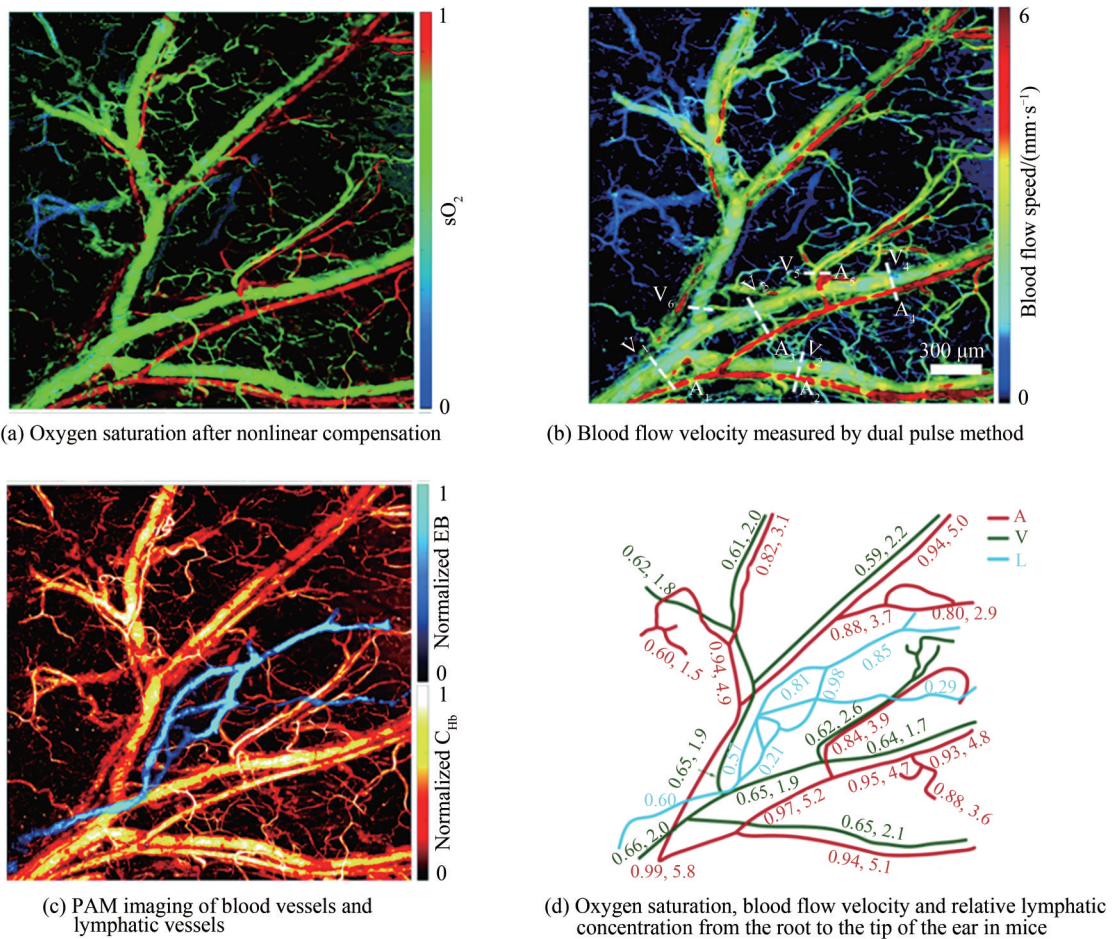


图14 利用五波长OR-PAM对小鼠耳内血液和淋巴管成像结果<sup>[56]</sup>

Fig.14 Results of imaging blood and lymphatic vessels in the mouse ear using five-wavelength OR-PAM<sup>[56]</sup>

Motorized Optical-Resolution Photoacoustic Microscopy, FM-OR-PAM), 该系统可提供五种扫描模式, 相比于第二代 OR-PAM 系统成像速度有效地提高了 20 倍, 且对于表面不均匀的生物组织可实现宽视野的扫描成像结果, 然而这种扫描方式依旧没有避免其扫描探头笨重的问题, 尽管 WANG L V 等<sup>[58]</sup>采用了更快的音圈电机来提高机械扫描速度, 但在 1 mm 的范围内, 成像速度远低于实时成像所需的视频速率速度。因此, 提出了水浸式光学扫描来提高成像灵敏度<sup>[59]</sup>, 这种技术将扫描仪浸入水中, 以实现光波和声波的同轴传播来保持高灵敏度, 包括倾斜扫描角度。然而, 由于水的阻力高于空气的阻力, 扫描仪在水中的扫描速度显著降低, 使其不能获得视频速率的成像结果。

不同于上述扫描机制, 近年来已经出现了几种非扫描方法。YANG J 等<sup>[60]</sup>提出了无动量体积空间不变分辨率光声显微镜 (Spatially Invariant Resolution Photoacoustic Microscopy, SIR-PAM), 该显微镜利用数字显微器件产生传播过程中保持不变的正弦条纹并应用二维傅里叶光谱仪采集信号, 实现具有扩展景深 (Depth Of Field, DOF) 的非扫描成像。虽然 DOF 技术的出现具有令人满意的成像结果, 但获取活体图像成像速度仍需花费至少 21 s。LI Y 等<sup>[61]</sup>提出光声地形图, 用于以 2 kHz 的帧速率进行高速光声成像。仅使用一个无聚焦超声换能器在激光照射下获取图像而无需扫描, 然而, 在对每个物体进行成像之前, 需要进行耗时的校准, 并且过度暴露在激光辐射下可能会影响组织样品的光吸收能力。为提高光声显微成像扫描速度, 中国科学院深圳先进技术研究院宋亮研究员、刘成波副研究员团队与美国德克萨斯 A&M 大学 ZOU J 教授团队合作, 于 2020 年研制出基于自由空间光传输和 MEMS 高速扫描成像的跨尺度光声显微成像技术, 实现了对活体小动物从微观到宏观的跨尺度无创高速成像<sup>[62]</sup>, 利用该系统获得的结构信息 (肿瘤血管生成)、功能信息 (氧代谢) 和分子信息 (肿瘤生物标志物) 可以准确地映射肿瘤边界的准确轮廓以及肿瘤在周围组织中的血液流动情况。在脑功能研究方面, 除了血流动力学信息外, 神经动力学也可以使用以上系统进行成像, 并进行适当的病情预标记。这一技术为中国“脑计划”中的全脑神经元活动的光声成像监测技术提供了有力的实验基础。2022 年 6 月该课题组提出了一种视频速率高分辨率单像素非扫描光声显微镜 (Single-Pixel Nonscanning Photoacoustic Microscopy, SPN-PAM) 成像系统<sup>[63]</sup>, 使用单像素探测器来捕获图像, 并使用空间光调制器来调制发光的光模式。单像素探测器收集每个调制模式的信号, 以获得对象的编码空间信息, 通过解码光调制与探测器信号强度之间的相关性, 可以重建物体图像。与传统的光栅扫描成像方法相比, 单像素重建的方式可实现非扫描机制, 有效消除了传统的扫描形式带来的限制。此外, 单像素成像的重构过程基于逆变换, 而不是 CS 技术中的迭代过程<sup>[64-65]</sup>, 因此, 计算过程中花费的时间显著降低。通过这些改进, 视频速率单像素非扫描 PAM 将成为未来生物医学成像和临床转化研究可替代的强大工具。

在近几年, 各课题组对 OR-PAM 系统入射光路或者扫描机制的不断改进有效地提升了系统多对比度成像结果与成像速度, 但在成像系统信号接收部分, 传统的信号接收方式是通过超声换能器探测声信息, 而这种信号探测方式的灵敏度依赖于传感器尺寸, 尺寸越小则灵敏度越差, 随着传感器尺寸增大其灵敏度会提升, 但也会造成整个光声成像系统体积庞大, 从而不适用于自由活动的活体动物实时监测成像。尤其在脑成像中, 传统的压电换能器只能在小动物麻醉与静息状态下进行成像, 这样并不能有效的提取大脑在正常运转活动时的神经信息, 所以对接受信号的传感器改进也是国内外研究的重点之一。WANG L V 课题组在提出第一代 OR-PAM 系统后为降低光声成像系统的成本, 曾提出利用连续调制光作为入射光源激发光声信号<sup>[66]</sup>, 然而连续调制光的功率很小且激发出的光声信号也比较微弱, 传统的超声换能器工作在兆赫兹频段, 无法响应连续调制光的千兆赫兹频段信号, 虽然该课题组已有可以探测到连续光激发出的光声信号探测器, 但其灵敏度远未达到细胞水平成像。直到 2011 年, 华南师范大学唐志列教授课题组<sup>[67]</sup>将传统的探测气体的微型谐振腔改造成用于探测生物组织光声信号的光声微腔探测器, 才获得亚细胞尺度、多对比度的光声显微图像, 这种设备不仅具有高灵敏度、便携轻巧的特点, 还可以对研究生物细胞的功能性结构成像有着重要的实际应用意义。

尽管连续调制激光大大降低了光声显微成像系统的成本, 但因其重复率低并不能对活体进行动态成像, 故光声成像系统大部分选用脉冲激光源作为入射光源激发光声信号, 所以接收由脉冲激光激发的兆赫兹频率段的声信号除选用传统的超声换能器外, 体积小且灵敏度高的光纤传感器逐渐在光声显微成像中显露优势。光纤传感器除了用于对大型工程结构进行健康监测, 近年来也被用于生命健康监测, 金龙等<sup>[68]</sup>于 2016 年提出了适用于光声显微成像系统的新型小型光纤激光传感器, 激光发出两种频率略有不同的正交偏



振模式,产生射频拍频信号。超声波诱发双折射变化,导致拍频变化。这种超声波传感器在 50 MHz 带宽上提供了 40 Pa 的噪声等效压力,获得 48  $\mu\text{m}$  的轴向分辨率和 3.3  $\mu\text{m}$  的侧向分辨率,视野可达 1.57  $\text{mm}^2$ ,同时,该传感器对环境扰动具有很强的抵抗力,这有利于实际情况下光声成像应用。随着光声成像技术在国内的不断发展,利用光纤传感器技术制作成像系统的信号接收器也获得了很大进展,其中最具有优势的是暨南大学的关柏鸥课题组。光纤传感器可探测各频段的声波信号,当所探测的声波频率  $f < \text{kHz}$  时,会引起光纤的轴向应变,该课题组将声压转为作用于光纤激光器谐振腔上的侧向压力<sup>[69]</sup>利用弹性模片探测压力信号可实现与零级海洋噪声水平相当的最小可测声压。在低频范围(20 kHz~1 MHz)光纤因受到声压影响而引起其径向应变,这个频段的光纤传感器常用来进行水通信,例如在水下寻找飞机失事后的黑匣子,实现水下超声的“脉冲—回波”成像<sup>[70]</sup>。2005年该课题组提出了对高频( $f > 1 \text{ MHz}$ )超声波敏感的光纤传感器<sup>[71]</sup>,且解调成本低、解调分辨率高,还具有高稳定性,抗干扰能力强,这些特点可以应用于对自由活动的实验对象的实时光声成像。2018年该课题组的梁贻智等<sup>[72]</sup>提出了一种基于非聚焦侧视光纤超声传感器的 OR-PAM 技术,相比于商用传统的超声换能器,这种光纤传感器将信噪比提高了 16.3 dB,实现了高速、高灵敏、大视场的光声扫描显微成像。为了实时探测可自由活动的小鼠脑部神经信息,该课题组将双波长入射、二维扫描振镜和光纤传感器集合在一起,开发出重量  $< 6 \text{ g}$ ,适用于小鼠的头戴式光声显微成像系统<sup>[73]</sup>。该系统具有很强的抗干扰能力,不仅能实时监测自由运动状态下的小鼠脑神经信息,还能检测到电刺激下小鼠体内的血氧饱和度,成功地实现了小型可穿戴光声成像系统的多对比度成像。以小鼠为基础实验对象,在达到实时高分辨率多对比度成像后,可将该系统逐渐应用于对猪和人体的可穿戴式光声显微成像系统的研究,在小型光声成像系统的临床应用上迈进了一大步。

综上所述,光声显微成像系统在近十几年已经取得了很多实质性的进展,在入射光路部分,多波长光路的提出,成功提供了多对比度下的光声成像结果,且双波长入射光路已被广泛应用于国内外各课题组搭建的光声显微成像系统中;二维振镜、MEMS 振镜、以及单像素非扫描机制的不断更新发展给光声显微系统提供了可达到视频速率的宽视场扫描结构;接收信号的传统超声换能器通过组合成不同阵列结构可用于接收形状、结构等不同检测对象的声信号,同时,对 MHz 以上高频范围,近年来光纤传感器也被用作监测自由活动的小动物脑成像传感器,它有小型、灵敏、实时、抗干扰、可穿戴的特点,并已取得了显著效果。

### 3.3 光声内窥镜技术

光声内窥镜(PAE)系统可以通过微型 MEMS 扫描装置和光纤传感器将系统整体体积压缩,以对生物体进行成像。然而对于生物的内部组织和器官,例如:消化系统、血管内壁,PACT 和 PAM 技术优势并不明显,因此研究人员参考已发展成熟的光学内窥镜方式将其与光声效应相结合,对体内更深的内部组织和器官进行成像。PAE 于 2009 年被首次报导(图 15),WANG L V 等<sup>[74]</sup>提出了内置的光学激发和微电机声探测的旋转式机械扫描系统,并建立了 PAE 概念。

PAE 有三种主要的成像方式:第一种是光声计算机内窥镜(PCE),与 PACT 相似,它采用平面超声换能器或换能器阵列进行区域性的声信号接收,并需要相应的重建算法来形成图像;第二种是声学分分辨率光声内窥显微镜(AR-PAEM),它通常将聚焦型超声换能器所接收的声信号与激光束聚焦于同一点来成像;第三种是光学分辨率光声内窥显微镜(OR-PAEM),它使用高度聚焦的激光束来代替 AR-PAEM 中的区域照明。PCE 的穿透深度最高可达 5.5 mm,但空间分辨率较低;而 OR-PAEM 的空间分辨率最高可达 3.0  $\mu\text{m}$ <sup>[76]</sup>。

近年来,PAE 系统主要通过扫描系统的改进来提升分辨率,一种是改进机械式扫描系统:2010 年 XING 等<sup>[75]</sup>设计并制造了一种基于环形阵列的 PCE 系统,2015 年,PIAO Z 等<sup>[76]</sup>报道了一种基于导管的高速 IVPA 成像系统,2016 年,XIAO J 等<sup>[77]</sup>提出了一种空心结构和环氧透镜聚焦传感器用于 AR-PAEM 的开发,2017 年提出了基于合成孔径聚焦技术的侧视 PAE 探针<sup>[78]</sup>,实现了沿径向大自由度上的高横向分辨率。2018 年为了解决胃肠道成像中探头光学离焦导致的横向分辨率下降问题,YANG J M 等<sup>[79]</sup>开发了自聚焦 PAE (AF-PAE)系统,并于 2019 年,提出了一种形状自适应的全景 OR-PAEM 系统<sup>[80]</sup>。

然而基于机械扫描的 PAE 系统,通常采用外置电机旋转器和线性工作台,这使得其过于笨重和不稳定。故有另一种基于光学扫描机构的 PAE 系统,此类系统具有操作简单、结构紧凑、扫描速度快等优点。2017 年,GUO H 等<sup>[81]</sup>提出了一种基于微机电系统(MEMS)扫描镜的高分辨率 PAEM 探头。2018 年,



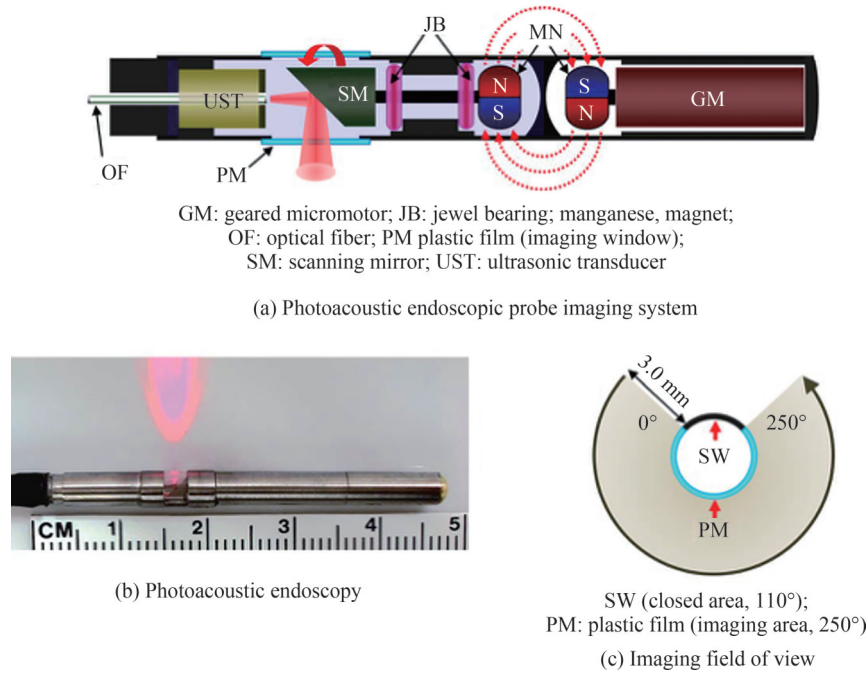


图 15 光声内镜探头示意图<sup>[74]</sup>  
Fig.15 Schematic diagram of the photoacoustic endoscopic probe<sup>[74]</sup>

BEARD 等<sup>[82]</sup>报道了一种使用新型 Fabry-Pérot (FP) 声学传感器的微型内镜探头。2019 年, LI G 等<sup>[83]</sup>还提出了直径 2.4 mm 的微型 PAE 探头。

PAE 与其他成像内镜模式的结合也可以提供全面的生物组织解剖和功能信息。2011 年, JANSEN K 等<sup>[84]</sup>报道了一种用于冠状动脉粥样硬化成像的混合血管内光声和超声成像技术, 适用于临床内窥镜应用。2012 年, WANG L V 等<sup>[85]</sup>首次开发了一种结合 PAE 和 EUS 检测内脏器官的混合系统, 采用了 523 nm 和 640 nm 的脉冲激光对体内淋巴系统进行成像。2013 年, XI L 等<sup>[86]</sup>提出了一种结合光学分辨率光声显微镜 (OR-PAM) 和 OCT 的双模图像探针。2014 年, ABRAN M 等<sup>[87]</sup>设计了一种混合内窥镜, 可以同时活体动脉进行光声成像、超声成像和荧光成像。除此之外, 2015 年, JIANG 等又提出了一种结合 OCT、OR-PAM 和 US 的三模态内窥镜探头系统。PAE 技术虽然是三种光声成像技术中兴起最晚的技术, 但是不难发现其发展速度很快, 并且主要提供了多尺度的成像优势, 在临床医学上的深度成像有十分重要的研究意义。PAE 技术由于其可以更深度地进入组织检测成像所以在消化系统、血管内壁、生殖系统等成像中很多研究。

光声成像技术在近十几年的发展进程中, 不仅在科研实验中发展迅速, 在于临床医学的不断结合过程中也取得了不少成就, 以上所述三种光声成像方式的各自优势总结于表 1 中。

表 1 三种光声成像方式优缺点对比  
Table 1 Comparison of the pros and cons of the three photoacoustic imaging methods

| Method | Application   | Resolution                                 | Depth   | Range                     | Additional algorithms | Cost      |
|--------|---|--|---------|---------------------------|-----------------------|-----------|
| PACT   | Wide range imaging of small animals or humans                     | Low (hundreds of microns)                  | Deep    | Large                     | Need                  | Expensive |
| AR-PAM | Subcellular, cellular, and tissue level imaging                   | High                                       | Shallow | Limited by scanning range | No need               | General   |
| OR-PAM |   | (hundreds of nanometers – several microns) |         |                           |                       |           |
| PAE    | Imaging of vascular lining, digestive system, reproductive system | high (more than ten microns)               | Shallow | Rounded (mostly)          | No need               | General   |

## 4 总结与展望

近十几年兴起的光声成像技术正在快速地发展成为临床医学上的实用成像技术,并取得了不少成就,其中PACT技术可大体积、广深度地实时成像,未来结合相关造影剂,可进一步提升该技术的成像深度及成像灵敏度,被期望应用于人体脑部成像以及乳房成像等。PAM技术突破了光学“软极限”,且具有高成像分辨率的优势,将成为主流的光学显微成像技术,随着该技术的发展,可与其他技术相结合(微型机器人、人工智能等)不断提高其成像分辨率,并应用于临床。PAE技术虽然起步较晚,但是其应用目标主要为狭窄的心血管和消化道成像,因此需要将光照部件和超声信号接收部件融合在狭小的区域内,通过旋转的扫描镜实现管壁断面成像,在血管内光声成像应用和血管管壁成分检测方面有重要应用前景。总而言之,光声成像技术的未来发展将朝着成像结果具有高分辨率、高时效性、高准确性的方向发展,仪器设备将变的实时、小型、实用、低成本,并逐步走向成熟。

### 参考文献

- [1] SOROKIN P P, GLOWNIA J H. Nonlinear spectroscopy in astronomy: Assignment of diffuse interstellar absorption bands to L(a)induced, two photon absorption by H<sub>2</sub> molecules[J]. Chemical Physics Letters, 1995, 234(1-3): 1-6.
- [2] SMITH G D, CLARK R J H. Raman microscopy in archaeological science[J]. Journal of Archaeological Science, 2004, 31(8): 1137-1160.
- [3] RYCZKOWSKI J. IR spectroscopy in catalysis[J]. Catalysis Today, 2001, 68(4): 263-381.
- [4] CONTAG C H, CONTAG P R, MULLINS J I, et al. Photonic detection of bacterial pathogens in living hosts[J]. Molecular Microbiology, 1995, 18(4): 593-603.
- [5] MONTET X, NTZIACHRISTOS V, GRIMM J, et al. Tomographic fluorescence mapping of tumor targets[J]. Cancer Research, 2005, 65(14): 6330-6336.
- [6] WANG L V, HU S. Photoacoustic tomography: in vivo imaging from organelles to organs [J]. Science, 2012, 335 (6075): 1458-1462.
- [7] WANG X, PANG Y, 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.
- [8] XU X, LIU H, WANG L V. Time-reversed ultrasonically encoded optical focusing into scattering media [J]. Nature Photonics, 2011, 5(3): 154-157.
- [9] WANG L V. Multiscale photoacoustic microscopy and computed tomography[J]. Nature Photonics, 2009, 3(9): 503-509.
- [10] CULVER J P, NTZIACHRISTOS V, HOLBOKE M J, et al. Optimization of optode arrangements for diffuse optical tomography: A singular-value analysis[J]. Optics Letters, 2001, 26(10): 701-703.
- [11] OELSCHLAGEL M, MEYER T, MORGENSTERN U, et al. Mapping of language and motor function during awake neurosurgery with intraoperative optical imaging[J]. Neurosurgical Focus, 2020, 48(2): E3.
- [12] WANG J, YANG M, YANG L, et al. A confocal endoscope for cellular imaging[J]. Engineering, 2015, 1(3): 351-360.
- [13] FU Ling. Advances in optical neuroimaging research [J]. Acta Biophysica Sinica, 2007, 23(4): 314-322.  
付玲. 光学神经成像研究进展[J]. 生物物理学报, 2007, 23(4): 314-322.
- [14] QIN H, LU J, JIN W, et al. Multichannel fiber photometry for mapping axonal terminal activity in a restricted brain region in freely moving mice[J]. Neurophotonics, 2019, 6(3): 035011.
- [15] ZHAO F, MCGINNITY T M. A low-cost real-time three-dimensional confocal fluorescence endomicroscopy imaging system[C]. 2011 IEEE First International Conference on Healthcare Informatics, Imaging and systems Biology, IEEE, 2011:126-133.
- [16] HSU M, LIAO J C. Endoscopic fluorescence imaging of bladder cancer: Photodynamic diagnosis and confocal laser endomicroscopy. in advances in image-guided urologic surgery[M]. New York: Springer New York, 2014.
- [17] BEG S, WILSON A, RAGUNATH K. The use of optical imaging techniques in the gastrointestinal tract[J]. Frontline Gastroenterology, 2015, 7(3): 207-215.
- [18] BELL A G. On the production and reproduction of sound by light [J]. American Journal of Science, 1880, 3 (118) : 305-324.
- [19] BOWEN T. Radiation-induced thermoacoustic soft tissue imaging[J]. IEEE Ultrasonics Symposium, 1981,2: 817-822.
- [20] GONG Xiaojing, MENG Jing, CHEN Jianhua, et al. Biomedical photoacoustic tomography technology and its clinical applications[J]. Journal of Integration Technology, 2013, 2(5): 53-59.  
龚小竞, 孟静, 陈健桦, 等. 生物医学光声成像技术及其临床应用进展[J]. 集成技术, 2013, 2(5): 53-59.
- [21] FATIMA A, KRATKIEWIC K, MANWAR R, et al. Review of cost reduction methods in photoacoustic computed tomography[J]. Photoacoustics, 2019,15: 100137.
- [22] CNUDDÉ V, MASSCHAELE B, DIERICK M, et al. Recent progress in X-ray CT as a geosciences tool[J]. Applied

- Geochemistry, 2006, 21(5): 826-832.
- [23] LU G, FEI B. Medical hyperspectral imaging: a review[J]. Biomedical Optics Express, 2014, 19(1): 010901.
- [24] ALDRICH M B, MARSHALL M V, SEVICK-MURACA E M, et al. Seeing it through: translational validation of new medical imaging modalities[J]. Biomedical Optics Express, 2012, 3(4): 764-776.
- [25] KHERLOPIAN A R, SONG T, DUAN Q, et al. A review of imaging techniques for systems biology[J]. BMC System Biology, 2008, 2(1): 1-18.
- [26] XU M, WANG L V. Time-domain reconstruction for thermoacoustic tomography in a spherical geometry [J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2002, 21(7): 814-822.
- [27] WANG L V, YAO J. A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences[J]. Nature Methods, 2016, 13: 627-638.
- [28] CHENG R, SHAO J, GAO X, et al. Noninvasive assessment of early dental lesion using a dual-contrast photoacoustic tomography[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 1-9.
- [29] LI G, LI L, ZHU L, et al. Multiview Hilbert transformation for full-view photoacoustic computed tomography using a linear array[J]. Biomedical Optics Express, 2015, 20(6): 066010.
- [30] LI L, ZHU L, 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(5): 0071.
- [31] ORAEVSKY A A, KARABUTOV A A, SOLOMATIN S V, et al. Laser optoacoustic imaging of breast cancer in vivo[C]. SPIE, 2001, 4256: 6-15.
- [32] ANDREEV V G, KARABUTOV A A, ORAEVSKY A A. Detection of ultrawide-band ultrasound pulses in optoacoustic tomography[J]. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, 2003, 50(10): 1383-1390.
- [33] KRUGER R A, LAM R B, REINECKE D R, et al. Photoacoustic angiography of the breast[J]. Medical Physics, 2010, 37(11): 6096-6100.
- [34] KRUGER R A, KUZMIK C M, LAM R B, et al. Dedicated 3D photoacoustic breast imaging[J]. Medical Physics, 2013, 40(11): 113301.
- [35] HEIJBLUM M, STEENBERGEN W, MANOHAR S. Clinical photoacoustic breast imaging: the twente experience[J]. IEEE Pulse, 2015, 6(3): 42-46.
- [36] HEIJBLUM 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: 3874-3887.
- [37] XU M, WANG L V. Universal back-projection algorithm for photoacoustic computed tomography[J]. Physical Review E, 2005, 71(1): 016706.
- [38] DENG Kexin, CUI Manxiu, ZUO Hongzhi, 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.
- [39] HALTMEIER M, SCHERZER O, BURGHOLZER P, et al. Thermoacoustic tomography and the circular Radon transform: Exact inversion formula[J]. Mathematical Methods in the Applied Sciences, 2007, 17(4): 635-655.
- [40] KÖSTLI K P, BEARD P C. Two dimensional photoacoustic imaging by use of Fourier-transform image reconstruction and a detector with an anisotropic response[J]. Applied Optics, 2003, 42(10): 1899-1908.
- [41] LI J, WANG C, CHEN T, et al. Deep learning-based quantitative optoacoustic tomography of deep tissues in the absence of labeled experimental data[J]. Optica, 2022, 9: 32-41.
- [42] PENTTINEN A, LUUKKALA M. The impulse response and pressure nearfield of a curved ultrasonic radiator [J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 1976, 9(10): 1547-1557.
- [43] The first scanning photoacoustic microscope successfully developed—a new tool for materials science research [J]. Journal of Optoelectronics·Laser, 1982, (1): 65.  
我国第一台扫描光声显微镜研制成功——为材料学的研究提供新型工具[J]. 光电子·激光, 1982, (1): 65.
- [44] MASLOV K, STOICA G, WANG L V. In vivo dark-field reflection-mode photoacoustic microscopy [J]. Optics Letters, 2005, 30(6): 625.
- [45] ZEMP R, SONG L, BITTON R, et al. Realtime photoacoustic microscopy of murine cardiovascular dynamics[J]. Optics Express, 2008, 16(22): 18551-18556.
- [46] STEIN E W, MASLOV K, WANG L V. Noninvasive, in vivo imaging of the mouse brain using photoacoustic microscopy[J]. Journal of Applied Physics, 2009, 105(10): 102027.
- [47] FAVAZZA C P, WANG L V, JASSIM O W, et al. In vivo photoacoustic microscopy of human cutaneous microvasculature and a nevus[J]. Biomedical Optics Express, 2011, 16(1): 016015.
- [48] KIM C, CHO E, CHEN J, et al. In vivo molecular photoacoustic tomography of melanomas targeted by bioconjugated



- gold nanocages[J]. *ACS Nano*, 2010, 4(8): 4559-4564.
- [49] MASLOV K, ZHANG H F, HU S, et al. Optical-resolution photoacoustic microscopy for in vivo imaging of single capillaries[J]. *Optics Letters*, 33(9): 929-931.
- [50] HU S, MASLOV K, WANG L V. Second-generation optical-resolution photoacoustic microscopy with improved sensitivity and speed[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(7): 1134-1136.
- [51] WANG L, MASLOV K, XING W, et al. Video-rate functional photoacoustic microscopy at depths[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(10): 06007.
- [52] PARSIN H, ALEXANDER F, ROGER Z. In-vivo functional optical-resolution photoacoustic microscopy with stimulated Raman scattering fiber-laser source[J]. *Biomed Optics Express*, 2014, 5(2): 539-546.
- [53] KOEPLINGER D, LIU M, BUMA T. Photoacoustic microscopy with a pulsed multi-color source based on stimulated Raman scattering[C]. 2011 IEEE International Ultrasonics Symposium, IEEE, 2011: 296-299.
- [54] WANG J, LIU T, JIAO S, et al. Saturation effect in functional photoacoustic imaging[J]. *Biomedical Optics Express*, 2010, 15(2): 021317.
- [55] LIU C, LIANG Y, WANG L V. Optical-resolution photoacoustic microscopy of oxygen saturation with nonlinear compensation[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(6): 3061-3069.
- [56] LIU C, CHEN J, ZHANG Y, et al. Five-wavelength optical-resolution photoacoustic microscopy of blood and lymphatic vessels[J]. *Advanced Photonics*, 2021, 3(1): 016002.
- [57] LI L, YE H C, HU S, et al. Fully motorized optical-resolution photoacoustic microscopy[J]. *Optics Letters*, 2014, 39: 2117-2120.
- [58] WANG Lidai, MASLOV K, YAO Junjie, et al. Fast voice-coil canning optical-resolution photoacoustic microscopy[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(2): 139-141.
- [59] WANG L, MASLOV K, YAO J, et al. Development of real-time photoacoustic microscopy [C]. *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2011*, SPIE, 2011, 7899: 136-142.
- [60] YANG J, GONG L, XU X, et al. Motionless volumetric photoacoustic microscopy with spatially invariant resolution[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 780.
- [61] LI Y, LI L, ZHU L, et al. Snapshot photoacoustic topography through an ergodic relay for high-throughput imaging of optical absorption[J]. *Nature Photonics*, 2020, 14(3): 164-170.
- [62] ZHANG C, ZHAO X, XU S, et al. Multiscale high-speed photoacoustic microscopy based on free-space light transmission and a MEMS scanning mirror[J]. *Optics Letters*, 2020, 45(15): 4312-4315.
- [63] CHEN N, YU J, LIU L, et al. Video-rate high-resolution single-pixel non-scanning photoacoustic microscopy [J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13: 3823-3835.
- [64] ZHANG Z, MA X, ZHONG J. Single-pixel imaging by means of Fourier spectrum acquisition [J]. *Nature Communications*, 2015, 6(1): 6225.
- [65] ZHANG Z, LIU S, PENG J, et al. Simultaneous spatial, spectral, and 3D compressive imaging via efficient Fourier single-pixel measurements[J]. *Optica*, 2018, 5(3): 315-319.
- [66] MASLOV K, WANG L V. Photoacoustic imaging of biological tissue with intensity-modulated continuous-wave laser[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, 13(2): 024006.
- [67] TAN Z, TANG Z, WU Y, et al. Multimodal subcellular imaging with microcavity photoacoustic transducer[J]. *Optics Express*, 2011, 19(3): 2426-2431.
- [68] LIANG Y, JIN L, WANG L, et al. Fiber-laser-based ultrasound sensor for photoacoustic imaging [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 40849.
- [69] GUAN B O, JIN L, CHENG L, et al. Acoustic and ultrasonic detection with radio-frequency encoded fiber laser sensors[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2017, 23(2): 302-313.
- [70] LIU D, LIANG Y, JIN L, et al. Highly sensitive fiber laser ultrasound hydrophones for sensing and imaging applications[J]. *Optics Letters*, 2016, 41(19): 4530-4533.
- [71] GUAN B O, TAM H Y, LAU S T, et al. Ultrasonic hydrophone based on distributed Bragg reflector fiber laser[J]. *IEEE Photonics Technology Letters*, 2005, 17(1): 169-171.
- [72] LIANG Y, LIU J, JIN L, et al. Fast-scanning photoacoustic microscopy with a side-looking fiber optic ultrasound sensor[J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(11): 5809-5816.
- [73] GUAN B O, JIN L, MA J, et al. Flexible fiber-laser ultrasound sensor for multiscale photoacoustic imaging [J]. *Opto-Electronic Engineering*, 2021, 48(8): 08200081.
- [74] YANG J M, MASLOV K, WANG L V. Photoacoustic Endoscopy[J]. *Optics Letters*, 2009, 34(10): 1591-1593.
- [75] YUAN Y, YANG S, XING D. Preclinical photoacoustic imaging endoscope based on acousto-optic coaxial system using ring transducer array[J]. *Optics Letters*, 2010, 35(13): 2266-2268.
- [76] PIAO Z, MA T, LI J, et al. High speed intravascular photoacoustic imaging with fast optical parametric oscillator laser at

- 1.7  $\mu\text{m}$ [J]. *Applied Physics Letters*, 2015, 107(8): 083701.
- [77] XIAO J, LI Y, JIN W, et al. Photoacoustic endoscopy with hollow structured lens-focused polyvinylidene fluoride transducer[J]. *Applied Optics*, 2016, 55(9): 2301-2305.
- [78] LI X, XIONG K, YANG S. Large depth of field optical-resolution colorectal photoacoustic endoscope [J]. *Applied Physics Letters*, 2019, 114(16): 163703.
- [79] YANG J M, LI C, CHEN R. Optical-resolution photoacoustic endomicroscopy in vivo[J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(3): 918-932.
- [80] XIONG K, WANG W, GUO T, et al. Shape-adapting panoramic photoacoustic endomicroscopy [J]. *Optics Letters*, 2019, 44(11): 2681-2684.
- [81] GUO H, SONG C, XIE H, et al. Photoacoustic endomicroscopy based on a MEMS scanning mirror[J]. *Optics Letters*, 2017, 42(22): 4615-4618.
- [82] ANSARI R, ZHANG E Z, DESJARDINS A E, et al. All-optical forward-viewing photoacoustic probe for high-resolution 3D endoscopy[J]. *Light: Science and Applications*, 2018, 7(1): 758-766.
- [83] LI G, GUO Z, CHEN S L, et al. Miniature probe for forward-view wide-field optical-resolution photoacoustic endoscopy[J]. *IEEE Sensors Journal*, 2018, 19(3): 909-916.
- [84] JANSEN K, STEEN A, BEUSEKOM H, et al. Intravascular photoacoustic imaging of human coronary atherosclerosis[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(5): 597-599.
- [85] YANG J M, FAVAZZA C, CHEN R, et al. Simultaneous functional photoacoustic and ultrasonic endoscopy of internal organs in vivo[J]. *Nature Medicine*, 2012, 18(8): 1297-1302.
- [86] XI L, DUAN C, XIE H, et al. Miniature probe combining optical-resolution photoacoustic microscopy and optical coherence tomography for in vivo microcirculation study[J]. *Applied Optics*, 2013, 52(9): 1928-1931.
- [87] ABRAN M, CLOUTIER G, CARDINAL M H R, et al. Development of a photoacoustic, ultrasound and fluorescence imaging catheter for the study of atherosclerotic plaque[J]. *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, 2014, 8(5): 696-703.

## Recent Advances of Photoacoustic Imaging Technology in Biomedicine (Invited)

SHEN Xiaowen, WU Hongpeng, DONG Lei

(*State Key Laboratory of Quantum Optics and Quantum Optics Devices, Institute of Laser Spectroscopy,  
Shanxi University, Taiyuan 030006, China*)

**Abstract:** With the development of photoacoustic spectroscopy, non-invasive photoacoustic imaging technology based on the photoacoustic effect is gradually becoming a research hotspot in biomedical applications. This technology combines the benefits of optical imaging with the advantages of acoustic depth propagation, allowing it to break through the optical diffraction limit and scattering limit while maintaining a high imaging resolution. This article first introduces the principal mechanism of photoacoustic imaging and then introduces the three typical photoacoustic imaging technologies: photoacoustic computed tomography, photoacoustic microscopy and photoacoustic endoscopy. Furthermore, the benefits of these three imaging technologies are compared, and the various methods to improve imaging resolution over the last ten years are summarized. Finally, the future development trend of the three technologies is forecasted.

Photoacoustic tomography was the first photoacoustic imaging technique to be developed. Traditional medical tomography plays an important role in diagnosing diseases, but that is not completely safe due to the presence of radiation that can cause some damage to the human body. Photoacoustic tomography is one of the safe imaging methods based on the photoacoustic effect that is radiation-free. Since the 1990 s, photoacoustic computed tomography has made significant progress. Researchers have improved the imaging resolution and imaging reconstruction speed of photoacoustic computed tomography by increasing the number of ultrasound transducers and improving the accuracy of the algorithm. This technology has achieved many excellent results in human breast cancer detection.

The advantage of photoacoustic microscopy is that it has a higher imaging resolution at the same penetration depth than the photoacoustic computed tomography system. The photoacoustic signals of

photoacoustic microscopy systems are generated at the point where the light and acoustic focal points overlap, so, photoacoustic microscopy systems are usually divided into two categories based on the type of focal point: acoustic-resolution photoacoustic microscopy (AR-PAM) and optical-resolution photoacoustic microscopy (OR-PAM). Researchers are particularly interested in the study of optical resolution photoacoustic microscopy because it can obtain high-resolution imaging results at the subcellular, cell, and tissue levels while allowing for non-invasive detection in vivo and can also be miniaturized under certain conditions for more suitable application in clinical detection technology. In 2005, WANG Lihong designed the first dark-field reflective photoacoustic microscope, and then photoacoustic microscopy technology officially entered the biomedical field. In the last few years, this type of imaging system has made a lot of substantial progress through continuous research on the optical path part, scanning part, and signal receiving part.

To image deeper internal tissues and organs, researchers have combined the mature optical endoscopy approach with photoacoustic effects to create photoacoustic endoscopy. In 2009, WANG Lihong was the first to report a rotary mechanical scanning system with built-in optical excitation and micromotor acoustic detection and establish the concept of photoacoustic endoscopy. This method has been continuously improved and optimized by the researchers.

The future development of photoacoustic imaging technology will be toward imaging results with high resolution, high timeliness, and high accuracy. Instrumentation will become real-time, small, practical, low-cost, and gradually mature.

**Key words:** Photoacoustic spectroscopy; Biomedicine; Photoacoustic imaging; Structural imaging

**OCIS Codes:** 110.5120; 170.5120; 110.5120; 300.6360