◇ 研究报告 ◇

自建光声超声双模态成像系统的肿瘤成像分析*

陈域迪¹ 陈盈娜¹ 覃 宇¹ 潘 晶¹ 陆 巍² 谭庆刚³ 易 勇⁴ 蒋 勇⁴ 程 茜^{1†}

(1 同济大学物理科学与工程学院声学研究所 上海 200092)
(2 上海交通大学医学院附属新华医院 上海 200092)
(3 同济大学材料科学与工程学院 上海 201804)

(4 深圳华声医疗技术有限公司 深圳 518000)

摘要现有B超成像可以提供基于声阻抗差异的组织解剖结构信息,而近年来研究发现,光声成像可以提供标记组织成分的分布和功能信息。本文基于商用B超仪和脉冲激光系统建立了光声超声双模态成像系统,实现了超声组织结构成像和光声生物功能的同时成像。首先基于血红蛋白在某些波段的较强吸光性,实现了肿瘤内部组织血管灌注图像;其次用链接有靶向抗体的纳米颗粒作为靶向光声造影剂,对恶性肿瘤边缘和内部的血管以及血管附近的肿瘤组织进行了成像。最终,通过超声和光声的融合图像提供的肿瘤结构信息与光声图像提供的肿瘤功能信息,可以准确识别肿瘤组织。

关键词 光声超声双模态成像系统,靶向光声造影剂,肿瘤成像

中图分类号: O426.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-310X(2017)05-0377-05 DOI: 10.11684/j.issn.1000-310X.2017.05.001

Tumor imaging using home-built ultrasound and photo-acoustic dual-modality imaging system

CHEN Yudi¹ CHEN Yingna¹ QIN Yu¹ PAN Jing¹ LU Wei² TAN Qinggang³ YI Yong⁴ JIANG Yong⁴ CHENG Qian¹

(1 Institute of Acoustics, School of Physics Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)
(2 Xinhua Hospital, Jiaotong University, Shanghai 200092, China)

(3 School of Material Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 201804, China)

(4 Shenzhen Wisonic Medical Technology Co., Ltd, Shenzhen 518000, China)

Abstract Currently, ultrasound imaging can provide the anatomical structure information of tissue based on the difference of acoustic impedance. However recent studies have found that photo-acoustic imaging can supply the distribution and functional information of labeled tissue components. In this study, we established a photo-acoustic (PA) & ultrasound (US) dual-modality imaging system based on a pulsed laser and a commercialized ultrasound imaging system, which achieved both structural imaging (US imaging) and functional imaging (PA imaging). Firstly, due to the absorption coefficient of hemoglobin on certain laser wavelength, we acquired the image of the vascular perfusion inside the tumor. Then, using some nano particles conjugated with targeted antibody as photo-acoustic contrast agent, we acquired the photo-acoustic images of the blood vessel distribution inside and on the surface of the malignant tumor. Finally, we can acquire both structural and functional information of tumor and its vasculature through fusing the US & PA images.

Key words PA&US dual-modality imaging system, Targeted photoacoustic contrast agent, Tumor imaging

²⁰¹⁷⁻⁰¹⁻⁰⁵ 收稿; 2017-03-10 定稿

^{*}国家自然科学基金项目 (11374231, 11574231, 11674249), 国家 863 项目 (2012AA022606)

作者简介:陈域迪(1991-),男,新疆乌鲁木齐人,硕士研究生,研究方向:生物医学超声。

[†]通讯作者 E-mail: q.cheng@tongji.edu.cn

1 引言

在常见的医学影像诊断方法中,声学影像诊断 因其提供组织解剖学结构、成像速度快、分辨率较 高、穿透深度深、无辐射、无损、价格低廉等优点已 被广泛应用在很多疾病的诊断中。但声学影像诊断 图像中的对比度反映的是组织的声阻抗率的差异, 或者是力学特性的差异,很多实体肿瘤组织与正常 组织之间以及肿瘤组织内部不同部位之间的声阻 抗率差异一般较小,因此声像的对比度较差,故提供 的肿瘤信息有效性较低。一般可采用超声微泡造影 增强的方式,借助微泡和血液之间强烈的声阻抗率 差异,通过检测血流灌注情况,提高血管增生密集的 肿瘤的检出率;如果将微泡进行靶向抗体的链接,可 实现靶向识别肿瘤。需要注意的是,微泡造影剂的 静脉注射会有可能出现肺毛细血管栓塞猝死等一 些问题。

光声成像技术由于其兼具超声的高穿透深度 和光吸收的高对比度,是近十多年来生物组织成像 的热点。光声成像的理论基础为生物光声效应:当 组织吸收脉冲光能后,通过不同途径将能量传递给 声子,即产生热波;热波形成的应变波,即在组织内 部形成光声信号,并可被超声换能器检测到^[1]。生 物组织的不同分子,如脱氧/含氧血红蛋白、胶原蛋 白、脂、水等,因其分子键的差异,分别具有不同的特 征光吸收峰,因此当对应波长的脉冲激光辐照时,即 可产生较强的光声信号^[1]。由于生物光声信号与生 物组织的分子组成密切相关,因此它能灵敏地反映 生物体的生理结构并提供生物体的功能信息^[2-3]。 所以,相比超声成像,光声成像可以提供更加丰富的 组织信息^[4]。

同时,也可以采用具有强光吸收的人工光吸收 体作为光声造影剂,如纳米金颗粒、碳纳米管、人造 黑色素等,对血管灌注进行高对比的成像;或者链接 上靶向抗体,对生物组织进行靶向成像;当纳米颗粒 尺寸足够小时,还可以突破血管屏障进入组织中,可 以实现某一组织区域的精准靶向成像。

目前光声成像的实验研究一般是基于开放式 超声平台,如Verasonics,Ultrasonix^[5-8]等,与脉冲 激光配合建立系统;优点是通用性强,适用面广,激 光的波段、超声的频带可以根据需求选择、可以导 出原始数据建立各种算法,但是开放式超声平台普 遍的缺点是图像处理功能较弱,成像质量较为一般, 因此在动物实验和临床实验中实时反馈有效信息 的能力较弱,且价格较贵。或者购买商用光声成像 系统,主要有iThera、VisualSonics、Endra^[9-11]等 多家商业化系统;这些系统软硬件设计较为完备、图 像处理功能很强,但是激光的波段一般受限,对不同 生物组织分子的成像受限,且价格高昂,占地面积 较大。

本文在商用便携式B超仪的基础上,开发了光 声/超声双模态成像系统,在保证激光的宽波段和 超声的宽频带的前提下,兼顾了图像处理功能、原 始数据导出功能、价格低廉,占地面积小等优点;并 将之应用在肿瘤诊断方面,实现了肿瘤周围组织血 管灌注光声成像;当用链接有靶向抗体的纳米金颗 粒作为靶向光声造影剂时,实现了恶性肿瘤内血管 分布的光声成像,融合超声像提供的结构信息与光 声像提供的血管分布信息,可以准确定位肿瘤组织。

2 实验系统

基于深圳华声医疗技术有限公司的便携式医 学超声系统 Clover 60, 通过硬件和软件的改装, 我 们与华声合作建立了同济华声可移动式光声超声 双模态影像系统,示意图如图1所示,该系统可 以实现同时、同屏显示组织的光声和超声双模态 图像。激光源为OPOTEK Phocus OPO脉冲激光 器,脉宽5~8 ns,脉冲重复频率为10 Hz,波长范围 690 nm~950 nm,以及1200 nm~2400 nm;实验中 使用波长为720 nm,单次脉冲能量为92 mJ,光纤束 出射端半径3mm。B超探头是自制的192通道L15-4线阵探头,扫描面总尺寸为38.4 mm×4 mm,单阵 元尺寸为0.2 mm×4 mm,阵元厚度为0.95 mm;成 像带宽为4~15 MHz,实验中成像频率为12 MHz; 受探头带宽的限制和高频超声信号在组织中的衰 减,该探头的超声成像的横向和纵向分辨率实测 为500 µm; 光声成像的分辨率略高, 约为130 µm。 ADC采样频率40 MHz,14 bit。

实验时,通过光纤束将激光引导至需成像的部位,使用医用超声耦合剂对探头和裸鼠肿瘤组织进行耦合。在一个成像周期内,通过成像仪主机的时序控制,间隔数百微秒依次发射两个触发信号给超声发射模块和激光发射模块,再由同一个超声探头依次接收超声和光声信号并同屏成像,同时用示波器监控超声和光声的成像时序,由于两者时间间隔

约为几百微秒,在临床中可以认为是同时成像,帧频 为10帧每秒。

为了增强肿瘤识别的灵敏度,我们采用吸光性 能良好的碳纳米管+纳米金颗粒组成光声造影剂, 可以通过血流灌注提供高对比度的光声像;同时, 根据所需成像的肿瘤组织特性,筛选和合成了特异 性抗体,链接上光声造影剂,以作为识别肿瘤的"触 手",发现并附着在肿瘤组织表面,达到靶向造影的 目的。





3 成像实验结果与分析

实验选取六周龄的裸鼠。在实验鼠左前肢腋下 进行了皮下瘤移植,移植的肿瘤细胞为胆管癌细胞, 在两周内发育成瘤,如图2所示。实验前我们使用 了1%的戊巴比妥对实验小鼠进行注射麻醉。



图2 实验裸鼠皮下瘤示意图

Fig. 2 Subcutaneous tumor of experimental murine model

在麻醉后先进行了无造影增强的光声超声双 模态成像,作为对照组;然后在小鼠尾静脉注射 连接有胆管癌特异性抗体 Clic1 的光声纳米造影剂 1 mL,浓度为0.2 mg/mL,在注射后 2 h、4 h、6 h分 别进行光声超声双模态成像,如图3所示,在获取的 图像上进行了光声部分与超声部分的融合,以便我 们观察造影增强部位图像信号的变化。需要注意的 是,由于是活体成像,裸鼠有呼吸运动,不同时刻下 探头辐照位置无法完全保持一致,略有位移。 图3(a)是对照组的光声和超声图像融合结果, 图中黑白部分为超声图像, 伪彩部分为光声图像。 其中, 黑白 Color bar 是超声图像灰度, 范围 0~255, 表示归一化后的超声信号强度; 伪彩 Color bar 是光 声图像灰度, 范围 0~120, 表示归一化后的光声信 号强度。从超声图像中, 我们可以清晰地看到小鼠 皮下移植瘤 (24 mm × 28 mm)的部分轮廓与尺寸, 而光声图像中可以看到激光辐照区域有较弱的光 声信号。由于实体肿瘤组织内部没有较大的成分和 密度变化, 因而入射光斑在肿瘤组织内部的散射分 布比较均匀, 且肿瘤组织内源性的光声造影剂 (蛋 白分子、脂质分子等) 对光的吸收也相对均匀。光声 信号的相对幅值在 40~50 的范围内, 信号整体幅值 不高。

注射造影剂2h、4h、6h后的超声光声融合图 像如图3(b)~3(d)所示。由于光声造影剂对血管的 灌注,在光声图像中可以看到明显的肿瘤内部血管 的横截面与肿瘤表面血管的纵剖面。血管截面的灰 度集中在70~100的范围内,图像对比度有了明显 的提高。且由于所使用的光声造影剂的尺寸较小 (~几十纳米),且肿瘤血管的渗透压较小,造影剂可 以穿透血管壁进入肿瘤组织中,并靶向定位在肿瘤 细胞上,因此在血管周边的肿瘤组织内也有一定浓 度的造影剂分布。所以,光声图像中除了血流灌注 还可以看到肿瘤内部细节性的结构,相对超声图像 展现出了更多的信息。

从图3(b)~3(d)的融合图像中,我们发现,6h 内肿瘤组织内的光声造影剂的浓度分布随着时间 的增加而增加,证实纳米造影剂可以持续的透过血 管进入组织内部。注射造影剂2h的情况如图3(b) 所示,肿瘤表面的血管纵剖面有较强的信号,肿瘤内 部的信号主要集中在两根血管附近,提示造影剂在 正在从血管渗透出来进入肿瘤组织;图3(c)中,即注 射造影剂4h后,光声信号覆盖的面积有所增加,但 血管内的光声信号幅值有所下降,提示有造影剂在 逐步从肿瘤内血管向周围组织扩散;图3(d)中,即 注射造影剂6h后,肿瘤内部组织的光声信号分布 明显扩散开来,但是肿瘤表面和内部的血管内的光 声信号幅度下降较多,提示更多的造影剂突破血管 屏障进入肿瘤内部,且由于其携带靶向抗体,因此可 以靶向定位在肿瘤内部并停留6h以上。这为临床 手术的术中组织状态实时监控提供了可能。

庄用声学



- 图3 光声-超声融合图像随造影剂注射时长的变化
- Fig. 3 PA&US fusion images of control group (a) and PA targeted contrast agent injected after 2 h, 4 h, 6 h (b)~(d)

4 讨论与结论

首先,基于商用的B超诊断仪,我们自行改装 建立了光声超声双模态成像系统,可以进行两种模 式的同时成像,以超声对组织结果成像,以光声对组 织成分或者靶向造影剂成像;其次,合成了链接有抗 体的靶向光声造影剂,采用该系统对荷瘤裸鼠的肿 瘤进行了直接成像和造影成像,由实验结果我们可 以发现,纳米尺度的光声造影剂具有以下几个特点:

(1) 可以增强肿瘤内部的光声信号2~3倍左右:

(2)尺寸可以控制在几十纳米范围内,可以突破 血管屏障进入组织内部,不存在堵塞体内毛细血管 的风险;

(3)结合靶向抗体后可以定位在肿瘤血管和肿 瘤组织内部,代谢时间较长,本文使用的造影剂代谢 时间超过6h,因此可以更好地实现某些治疗术的 术中监控;

(4) 我们也对使用的光声造影剂进行了生物毒 性测量,48 h内没有表现明显的生物毒性;

因此, 靶向光声纳米造影剂配合光声超声双模

态成像在肿瘤诊断中具有独有的优势,此项技术可 能为肿瘤早期的预检提供诊断依据,并有可能实现 术中组织状态实时监控。

另一方面,若结合光声信号的二维谱[1,12-13], 可以更加准确地提供肿瘤早期预检的诊断依据。光 声二维谱是指通过采集不同波长产生的组织光声 信号在声频率与激光波长两个维度上展开的光声 谱,可以提供组织的化学组成信息与组织的尺寸当 量,如图4(a)与4(b)所示,是本课题组开展的针对 某一类肿瘤的光声二维谱研究。图中Color bar为 光声信号功率级,单位是分贝,代表光声信号功率的 强弱程度。从谱中可以看出,肿瘤组织的二维谱在 690~750 nm/3~9 MHz, 1400~1600 nm/4~6 MHz 这些范围内的信号强度要明显高于正常组织,这两 个波段分别对应了血红蛋白与水对激光的吸收谱 峰,前者较强的高频信号说明肿瘤组织内部有更丰 富的微血管网络,后者较强的高频信号说明肿瘤组 织的离散、分化程度要比正常组织高,更容易激发 出高频的声信号。







- 参考文献
- CHENG Q, ZHANG H, YUAN J, et al. Technique development for photoacoustic imaging guided interventions[C]//SPIE BiOS. International Society for Optics and Photonics, 2015: 93232R-93232R-8.
- [2] 陶超, 刘晓峻. 生物医学光声成像的研究进展 [J]. 应用声学, 2012, 31(6): 401-409.
 TAO Chao, LIU Xiaojun. Progresses of photoacoustic imaging in biomedicine[J]. J. Appl. Acoust., 2012, 31(6): 401-409.
- [3] WANG X, PANG Y, KU G, et al. Noninvasive laserinduced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain[J]. Nat. Biotechnol., 2003, 21(7): 803–806.
- [4] MALLIDI S, LUKE G P, EMELIANOV S. Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance[J]. Trends Biotechnol., 2011, 29(5): 213–221.
- [5] XU M, WANG L V. Photoacoustic imaging in biomedicine[J]. Rev. Sci. Instrum., 2006, 77(4): 041101.
- [6] WILSON T, ZAGZEBSKI J, VARGHESE T, et al. The ultrasonix 500RP: A commercial ultrasound research interface[J]. IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control, 2006, 53(10): 1772–1782.

- [7] BRINKMANN S, VAGHADIA H, SAWKA A, et al. Methodological considerations of ultrasound-guided spinal anesthesia using the Ultrasonix GPSTM needle tracking system[J]. Can. J. Anaesth., 2013, 60(4): 407–408.
- [8] FOSTER F S, ZHANG M Y, ZHOU Y Q, et al. A new ultrasound instrument for in vivo microimaging of mice[J]. Ultrasound Med. Biol., 2002, 28(9): 1165–1172.
- [9] BOHNDIEK S E, BODAPATI S, van de SOMPEL D, et al. Development and application of stable phantoms for the evaluation of photoacoustic imaging instruments[J]. PloS One, 2013, 8(9): e75533.
- [10] MASON R P. Commentary on photoacoustic tomography[J]. J. Nucl. Med., 2015, 56(12): 1815–1816.
- [11] WANG X, FOWLKES J B, CANNATA J M, et al. Photoacoustic imaging with a commercial ultrasound system and a custom probe[J]. Ultrasound Med. Biol., 2011, 37(3): 484–492.
- [12] XU G, MENG Z X, LIN J D, et al. The functional pitch of an organ: Quantification of tissue texture with photoacoustic spectrum analysis[J]. Radiology, 2014, 271(1): 248–254.
- [13] XU G, DAR I A, TAO C, et al. Photoacoustic spectrum analysis for microstructure characterization in biological tissue: A feasibility study[J]. Appl. Phys. Lett., 2012, 101(22): 221102.