

快速估计荧光分子断层成像中单个荧光物的深度

陈延平, 白 净*

清华大学生物医学工程系, 北京 100084

摘要 荧光分子断层成像支持在体无创研究长时间跨度的分子事件, 满足 21 世纪系统化地观测生命过程的要求。在其复杂且耗时的重建中, 先验信息有助于加快重建速度, 提高重建图像的质量。文章将求解荧光物的深度作为待优化问题, 由单幅荧光图像直接快速地估计深度信息。首先根据生物组织内的扩散模型和外推边界条件, 推导出生物体边界上两点处荧光强度的比值 R_f 。然后用粒子群优化算法, 在吸收系数和散射系数的估计区间内, 由最小化生物体边界上两点处模型值 R_f^M 与测量值 R_f^T 之间的差, 估计出荧光物的深度。不同尺寸荧光物的两个仿体实验的结果表明, 所提出的方法不需要网格剖分和重建, 能快速简单地估计出单个类似于球体的荧光物的深度。

关键词 荧光分子断层成像; 深度估计; 外推边界; 荧光扩散光层析成像; 扩散光层析成像

中图分类号: TN21; R318.51 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)06-1516-04

引言

荧光分子断层成像 (fluorescence molecular tomography, FMT) 利用特异性的荧光分子探针标记分子或细胞, 以这些标记的特定分子或细胞作为成像源, 在体观测它们在细胞与分子水平的变化。FMT 通过图像重建, 为研究荧光标记物在生物组织内的活性提供标记物的生物分布等三维信息, 克服了平面成像的局限性, 有助于疾病的早期诊断与生命机理的分析, 促进药物研制。与其他分子影像方法如 PET (positron emission tomography, PET) 相比, FMT 灵敏度较高、快捷简便、费用低、相对高通量, 支持在体无创地研究长时间跨度的分子事件, 满足 21 世纪系统化地观测生命过程的要求。近几年它发展迅速, 成为生物医学光学的一个研究热点, 为医学、生物学、药学、工程等领域专家所关注^[1-5]。

生物组织在可见光的短波长波段 ($\lambda < 600$ nm) 呈现高吸收低散射特性, 而在近红外波段 ($\lambda > 600$ nm), 呈现低吸收高散射特性。为了能探测到位于较深处的荧光物, FMT 中常采用近红外荧光探针, 在近红外波段进行光学成像, 是一种扩散光断层成像 (diffuse optical tomography, DOT)。FMT 和 DOT 的重建是一个非线性、不适定和病态的逆问题^[6]。DOT 重建中可融合先验信息以提高重建速度与/或结果的质

量^[7]。在 FMT 中有两类先验信息可用: (1) 荧光物的深度、位置信息; (2) 其他成像方法提供的组织光学特性与组织内部的结构信息^[8]。先验信息对于高精度的重建极其重要。荧光物和背景中不同区域的边界属于结构性先验信息, 功能性先验信息则包括组织的吸收、散射系数等^[3, 9]。解剖学成像如 MRI^[6, 10]、microCT^[11] 和超声^[12] 等提供高精度的小动物结构等先验信息, FMT 重建中整合这些先验信息, 能引导重建, 加速重建, 提高重建质量, 但是成像过程也变得复杂。生物组织的光学特性值大致范围已知, 对于个体的确切特性可用反射仪测得^[13], 在部分研究中作为已知量处理^[14, 15]。与 MRI 等提供结构信息一样, 通过反射仪测得组织光学参数的方法使得估计 d 的过程复杂。Okawa 将生物体的光学特性作为已知, 网格剖分后用空间滤波法求解逆问题, 从而得到荧光物的深度 d ^[14]。进行网格剖分是在获得生物体边界轮廓信息的基础上进行的, 获取边界轮廓和网格剖分是比较复杂的过程, 虽然有 Comsol 等网格剖分工具软件^[16]。探测器测得荧光信号强度 (灰度值) Gray 与生物体边界上的荧光信号强度 L 之间有一缩放比例关系, $\text{Gray} = L * \text{Ratio}$ ^[17]。 L 除了与组织的光学特性、深度 d 有关外, 还与荧光物受激发出的荧光强度 P 有关。 P 与荧光物所在处激发光的强度、荧光物的量子效率等有关。Ratio 和 P 的确定比较麻烦^[15]。Milstein 将激发光波段和荧光波段内生物体的光学特性作为相

收稿日期: 2009-06-18, 修订日期: 2009-09-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30670577, 60831003), 清华一裕元基金项目, 国家 (973 计划) 项目 (2006CB705700), 国家 (863 计划) 项目 (2006AA020803) 和中国博士后科学基金项目 (20080440391) 资助

作者简介: 陈延平, 1974 年生, 清华大学生物医学工程系博士后 e-mail: tochenyanping@163.com

* 通讯联系人 e-mail: deabj@mail.tsinghua.edu.cn

同的已知量,在用极大似然(maximum-likelihood, ML)估计一个含 Ratio 和 P 的系数 W 的基础上估计出荧光物的深度 $d^{[15]}$, W 值将影响 d 值的准确性。

本文由生物组织边界上的荧光信号强度 Gray 直接估计组织内单个类似于球体的荧光物的深度。先根据生物组织内光传播的扩散模型和外推边界条件,推导出生物体边界上两个位置处荧光光强的比值 R_f , 然后介绍将估计荧光物的深度信息 d 作为一优化求解问题,用粒子群优化(particle swarm optimization, PSO)算法快速估计荧光物深度的方法,最后通过不同尺寸荧光体的仿体实验验证所提的估计方法。

1 荧光物深度的估计

1.1 生物体表面处的荧光光强

外推边界条件假设介质物理界面上的辐射通量不为零,零点位于介质表面外 $Z_b = 2 * K * D$ 处。 $K = (1 + R_{\text{eff}})/(1 - R_{\text{eff}})$, R_{eff} 为有效反射系数,扩散系数 $D = 1/[3(\mu_a + \mu'_s)]$, μ_a 为吸收系数,约化散射系数 μ'_s 与散射系数 μ_s 之间关系为 $\mu'_s = (1 - g)\mu_s$, g 为各向异性因子。外推边界条件法常用于生物医学的研究与临床实践中^[18,19]。对于到生物体表面距离为 d 的荧光物 S , 根据外推边界条件 $\phi_0(\rho, z = -Z_b) = 0$, 在介质外 $z = -(2 * Z_b + d)$ 处引入一个镜像源 S' , 其强度与 S 的强度相同,符号相反,如图 1 所示。

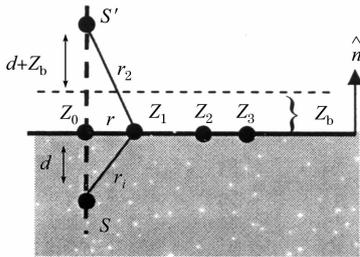


Fig. 1 Extrapolated boundary and measurements on the boundary

Z_0 为 S 到生物体表面最近点,位于 S 与 S' 的连线上。在边界上与 Z_0 相距 r 的探测点 Z_1 处有

$$\phi_{z=0} = \frac{P}{4\pi D} \left[\frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_1)}{r_1} - \frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_2)}{r_2} \right] \quad (1)$$

$$\left. \frac{\partial \phi}{\partial z} \right|_{z=0} = -\frac{P}{4\pi D} \left[\frac{d}{r_1^2} \left(\mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_1} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} r_1) + \frac{d + 2Z_b}{r_2^2} \left(\mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_2} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} r_2) \right] \quad (2)$$

其中 P 为荧光物受激发出的荧光的强度, $\mu_{\text{eff}} = [3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)]^{1/2}$, $r_1 = (r^2 + d^2)^{1/2}$, $r^2 = [r^2 + (d + 2Z_b)^2]^{1/2}$, r_1 和 r_2 分别为 S 和 S' 到探测点的距离。辐射通量密度矢量 $j(r) = -D \nabla \phi(r)$, 辐射强度 $L(r, \hat{s})$ 表示为平均散射强度与之和 $j(r)$

$$L(r, \hat{s}) = \frac{\phi(r)}{4\pi} + \frac{3j(r) * \hat{s}}{4\pi} \quad (3)$$

将(1)和(2)式代入(3)式,得到外推边界条件下 Z_1 处的荧光强度

$$L_{z=0} = \frac{1}{4\pi} \frac{P}{4\pi D} \left\{ \frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_1)}{r_1} - \frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_2)}{r_2} + 3D \left[\frac{d}{r_1^2} \left(\mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_1} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} r_1) + \frac{d + 2Z_b}{r_2^2} \left(\mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_2} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} r_2) \right] \right\} \quad (4)$$

由(4)式计算的结果与 Monte Carlo 模拟的结果相吻合^[18]。

1.2 荧光强度比

(4)式表明 $L_{z=0}$ 与荧光物的荧光强度 P 、 μ_a 与 μ_s , d 和 r 有关。由探测器得到的荧光信号强度值(灰度值)Gray 与 $L_{z=0}$ 之间有一缩放比例关系, $\text{Gray} = L_{z=0} * \text{Ratio}^{[17]}$, 表征荧光信号强度的 Gray 与 P , μ_a , μ_s , d , r 和 Ratio 有关。根据 Gray, Ratio, r , P , μ_a 与 μ_s 可算得 d , 但除了 Gray 和 r 是已知量, Ratio, P , μ_a 与 μ_s 未知或待测。

令:

$$L_p = \frac{1}{4\pi} \frac{P}{4\pi D} \quad (5)$$

$$L_r = \frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_1)}{r_1} - \frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_2)}{r_2} + 3D \left[\frac{d}{r_1^2} \left(\mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_1} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} r_1) + \frac{d + 2Z_b}{r_2^2} \left(\mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_2} \right) \exp(-\mu_{\text{eff}} r_2) \right] \quad (6)$$

(4)式转化为

$$L_{z=0} = L_p * L_r \quad (7)$$

定义生物体表面 A 和 B 两点处荧光强度比 R_f 为

$$R_f = \frac{\text{Gray}_A}{\text{Gray}_B} = \frac{L_{pA} * L_{rA} * \text{Ratio}}{L_{pB} * L_{rB} * \text{Ratio}} = \frac{L_{rA}}{L_{rB}} \quad (8)$$

上式说明去除 P 和 Ratio 的影响后, $R_f = \text{Gray}_A / \text{Gray}_B$ 仅与 μ_a , μ_s , d 和 r 有关。 μ_a 与 μ_s 的确切值未知,但是它们取值的范围已知。在 μ_a 与 μ_s 的取值区间内,根据 r 与边界测量值的 R_f 可估计出 d 。

1.3 荧光物深度估计

如图 1 所示, Z_0 为生物体边界上距离荧光源 S 最近的位置,光子从 S 传输到 Z_0 的距离最短,衰减最小,与生物体边界上其他位置的荧光光强相比, Z_0 处的荧光最强,经由简单的图像处理方法即可确定 Z_0 , S 与 Z_0 之间距离为 d 。在与 Z_0 距离 r 处选取点 Z_1 处的荧光强度 Gray_1 , 再在 Z_0 与 Z_1 延长线上选取 $N - 1$ 个点 $Z_i (i = 2, 3, \dots, N)$ 处的荧光强度 $\text{Gray}_i (i = 2, 3, \dots, N)$, Z_{i-1} 与 Z_i 之间的距离为 $r_{i-1}, i = 1, 2, \dots, N$ 。

根据 $\text{Gray}_i (i = 1, 2, 3, \dots, N)$ 与 $r_{i-1}, i = 1, 2, \dots, N$, 即可利用优化方法在 μ_a 与 μ_s 的取值区间 $(\mu_{a \text{ min}}, \mu_{a \text{ max}})$, $(\mu_{s \text{ min}}, \mu_{s \text{ max}})$ 内优化求解,按(9)式最小化 Fitness, 估计出 d

$$\text{Fitness} = \sum_{i, j=1(i \neq j)}^N |R_{ij}^T - R_{ij}^M| \quad (9)$$

其中测量值的 R_{ij}^T 为: $R_{ij}^T = \text{Gray}_i / \text{Gray}_j$, 模型值 R_{ij}^M 的根据(6)式计算: $R_{ij}^M = L_{ri} / L_{rj}$ 。

预定位流程如图 2 所示。先在荧光图像中确定点 Z_0 , 然后选点 $Z_i (i = 1, 2, 3, \dots)$, 提取点 Z_i 处的灰度值 Gray_i , 再用优化方法最小化式(9), 最后得到估计值 d 。

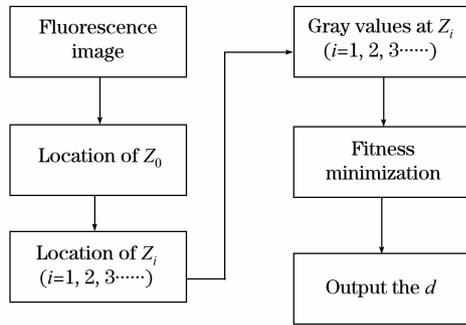


Fig. 2 Flow chart for the estimation

2 仿体实验

用 1% 的 Intralipid 装入玻璃筒内模拟均匀的生物组织。玻璃筒内直径 25 mm, 外直径 29 mm, 高度 72 mm。将 $400 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的荧光染料 ICG 溶液封装于内直径约 0.9 mm、外直径 1.3 mm 的玻璃毛细管内, 荧光柱高约 1 mm。用荧光成像系统^[17], 在毛细管中心线距离管壁 $d=6, 8, 10 \text{ mm}$ 三个位置分别进行成像。提取数据后用粒子群优化算法进行优化求解^[20], 每个位置实验的估计计算运行 100 次, 结果统计分析如图 3 和表 1 所示。

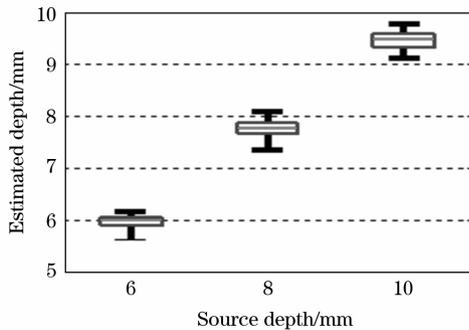


Fig. 3 Actual depth vs the estimated depth of small fluorescence source embedded in phantom

Table 1 Statistics of estimated results for small fluorescence source(mm)

	6	8	10
平均值	5.946	7.743	9.443
最大值	6.152	8.062	9.742
最小值	5.621	7.340	9.089
标准差	0.119	0.148	0.160

将上述实验中玻璃毛细管更换为外直径 4 mm, 内直径 2.5 mm 的玻璃管, 封装的荧光液柱高约 4 mm, 在 d 分别为

7.5, 9.5 和 11.5 mm 三个位置进行第二组实验, 每个位置的 100 个估计结果统计分析如图 4 和表 2 所示。

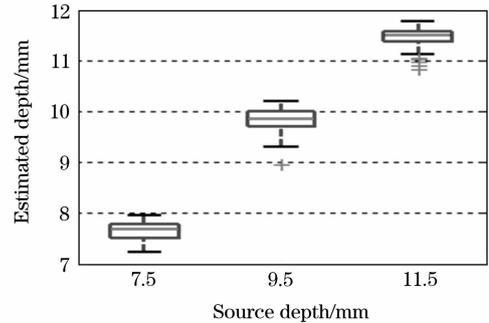


Fig. 4 Actual depth vs the estimated depth of large fluorescence source embedded in phantom

Table 2 Statistics of estimated results for large fluorescence source(mm)

	7.5	9.5	11.5
平均值	7.648	9.826	11.452
最大值	7.951	10.199	11.774
最小值	7.227	8.960	10.823
标准差	0.177	0.221	0.180

从表 1 和表 2 可知, 估计值与实际值的相对误差不超过 $\pm 10\%$ 。当荧光物位于较深处时, 估计结果的相对误差较大。比较图 3 和图 4, 当荧光物体积较小时, 估计结果的一致性较好, 随着中心与管壁距离的增加, 估计结果未出现奇异值, 荧光物体积较大时, 随着距离的增加, 估计结果中出现的奇异值的个数增加, 但这些奇异值与实际值的相对误差不超过 $\pm 10\%$ 。

3 总结

本文利用扩散模型和外推边界条件推导出生物体边界上两个位置处的荧光强度比 R_i , 将荧光物的深度 d 待优化估计的参数, 在 μ_a 与 μ_s 的取值区间内, 借助于粒子群优化算法, 最小化由模型计算得到的 R_i^M 与由测量值得到的 R_i^T 之间的差, 快速地估计出组织内的荧光物的深度 d 。本文提出的估计方法不需要复杂的网格剖分和耗时的逆问题求解, 计算速度快(在 1 G 内存、双核 2.8 GHz 的 PC 机上运行约 1 s), 适用于对均匀介质内类似于球体的单荧光物进行深度估计, 为更精确的三维重建提供先验信息。在临床上, 如乳腺组织的荧光成像检测, 可用本文所提的方法对乳腺组织内的荧光物富集位置进行估计定位。

参 考 文 献

- [1] Kirsch D, Dinulescu D, Miller J, et al. Natural Medicine, 2007, 13(8): 992.
- [2] Montet X, Figueiredo J, Alencar H, et al. Radiology, 2007, 242(3): 751.
- [3] TAN Yiyong, JIANG Huabei. Applied Optics, 2008, 47(12): 2012.
- [4] Sanz J, Fayad Z. Nature, 2008, 451: 953.

- [5] Weissleder R, Pittet M. *Nature*, 2008, 452: 580.
- [6] Yalavarthy P K, Pogue B W, Dehghani H, et al. *Optics Express*, 2007, 15(13): 8043.
- [7] Brooksby B, Jiang S, Dehghani H, et al. *Journal of Biomedical Optics*, 2005, 10: 051504.
- [8] ZHOU Lu, Yazici B, Ntziachristos V. *Proc. of SPIE*, 2008, 6868: 686800.
- [9] LIN Yuting, YAN Han, Nalcioglu O, et al. *Applied Optics*, 2009, 48(7): 1328.
- [10] Davis S C, Pogue B W, Springett R, et al. *Review of Scientific Instruments*, 2008, 79: 064302.
- [11] Kepshire D, Mincu N, Hutchins M, et al. *Review of Scientific Instruments*, 2009, 80: 043701.
- [12] Razansky D and Ntziachristos V. *Proc. of SPIE*, 2008, 6856: 685617.
- [13] Comsa D C, Farrell T J, Patterson M S. *Phys. in Medicine and Biology*, 2008, 53: 5797.
- [14] Okawa S, Yamada Y. In *Biomedical Optics*, OSA Technical Digest (CD) (Optical Society of America, 2008), paper BSuE41.
- [15] Milstein A B, Kennedy M D, Low P S, et al. *Applied Optics*, 2005, 44(12): 2300.
- [16] YAO Jun-jie, HU Gang, YUE Shu-hua, et al(姚俊杰, 胡刚, 岳蜀华, 等). *Chinese Journal of Biomedical Engineering(中国生物医学工程学报)*, 2008, 27(3): 360.
- [17] YAO Jun-jie, HU Gang, BAI Jing(姚俊杰, 胡刚, 白净). *Journal of Infrared and Millimeter Waves(红外与毫米波学报)*, 2008, 27(5): 330.
- [18] Rice B W, Cable M D, Nelson M B. *Journal of Biomedical Optics*, 2001, 6(4): 432.
- [19] TIAN Hui-juan, LIU Ying, WANG Li-jun, et al(田会娟, 刘迎, 王利军, 等). *Acta Physica Sinica(物理学报)*, 2009, 58(1): 244.
- [20] CAI Jiang-hui, ZHANG Ji-fu, ZHAO Xu-jun(蔡江辉, 张继福, 赵旭俊). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2009, 29(4): 1137.

Rapid Estimate of the Depth of Single Point Fluorescence Source for Fluorescence Molecular Tomography

CHEN Yan-ping, BAI Jing*

Department of Biomedical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract Fluorescence molecular tomography (FMT) supports monitoring molecular events non-invasively in vivo over a span of long time, and meets the demands of monitoring a process of life. Prior information can be applied to speed the complex and time-consuming reconstruction process and to enhance the quality of the reconstructed images for FMT. A method was proposed in the present paper to estimate rapidly the depth of fluorescence source. The estimation process was accomplished with an optimization algorithm, particle swarm optimization (PSO). Firstly the fluorescence intensity ratio R_f of two positions on the boundary of tissue was derived under extrapolated boundary condition and a diffusion model for the propagation of near-infrared photons in biological tissue. Then a PSO algorithm was applied to minimize the difference between the theoretical ratio R_f^T and the measured ratio R_f^M . The depth of fluorescence source was estimated after the rapid PSO optimization process. Two phantoms indicated that the proposed method can estimate the depth of single fluorescence source rapidly and easily without the time-consuming mesh generation and reconstruction process.

Keywords Fluorescence molecular tomography; Depth estimation; Extrapolated boundary; Fluorescence diffuse optical tomography; Diffuse optical tomography

(Received Jun. 18, 2009; accepted Sep. 22, 2009)

* Corresponding author