



华夏英才基金学术文库

光学分子影像 技术及其应用

田捷 杨鑫 秦承虎 等 编著

MSCs
+
VEGF

0 1 3 5 7 14 21 28



科学出版社

www.sciencep.com

丁

张其成才江吉照博士主编

光学分子影像 技术及其应用

张其成 江吉照 主编

科学出版社



华夏英才基金学术文库

光学分子影像技术及其应用

田 捷 杨 鑫 秦承虎 等 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书是一本专门介绍光学分子影像技术及其应用的著作,力图通过对光学分子影像的基本概念、基本原理、成像方法、研究进展和应用前景进行详细的介绍,为从事医学影像研究和生命科学研究的科研人员提供相关的理论知识和技术方法。作者在分子影像学领域做了大量的研究工作,内容涵盖了光学分子影像成像的多种模态,包括自发荧光断层成像、激发荧光断层成像,以及光学与 CT、DOT 融合的多模态成像,并详细介绍了光学分子影像前向仿真平台,同时,本书也重点介绍了光学分子成像在生命科学基础研究及药物研发领域的应用。

本书内容既有理论算法,又有关键技术,既有系统介绍,又有应用实例,是理论、技术与应用相结合的产物。本书内容新颖、翔实,论述清楚,可作为高等院校模式识别等专业的教材,也可供专门从事医学影像专业的科研人员和应用开发人员学习、参考。

图书在版编目(CIP)数据

光学分子影像技术及其应用/田捷等编著. —北京:科学出版社, 2010. 10
(华夏英才基金学术文库)

ISBN 978-7-03-029150-9

I. ①光… II. ①田… III. ①影像诊断 IV. ①R445

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 193144 号

责任编辑:王志欣 孙 芳 / 责任校对:冯 琳

责任印制:赵 博 / 封面设计:耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010 年 10 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2010 年 10 月第一次印刷 印张: 16

印数: 1—3 000 字数: 307 000

定价: 55.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

随着人类基因组测序的完成和后基因组时代的来临,疾病的早期精确诊断已成为国家重大战略需求,如何从细胞分子水平认识疾病的发生、发展机理,实现特异性的在体无创检测,将会极大推动生命科学领域的发展,同时,也将提高人口健康水平与人民生活质量。其中,作为 20 世纪末医学影像领域重要科学成就之一的分子影像技术,突破了传统影像技术仅能显示由细胞分子改变所引起的解剖结构变化的局限,改变了传统离体方法不能在体连续观测药物作用机理及治疗效果的局限,在分子生物学与临床医学之间架起了相互连接的桥梁。分子影像是医学影像技术与现代分子生物学相结合而产生的一门综合交叉学科,它可以在细胞分子水平上实现生物体生理、病理变化的实时、无创、动态、在体成像,代表了医学影像技术发展的新方向。值得一提的是,基于光学成像技术、信息处理技术、分子生物学、化学和计算数学的光学分子影像,已经成为分子影像领域的研究热点之一,具有很高的学术价值和应用潜力。光学分子影像作为一种重要的分子影像成像模态,与其他传统活体成像技术相比,具有灵敏度高、无放射性、结果直观、测量快速、费用低廉等诸多优点,因而已经发展成为一种理想的活体小动物成像方法,可用于在体观测小动物体内肿瘤的发生、发展和转移过程,新药研发过程中的药物筛选与疗效评价,以及药物的安全评估和在体临床前药理研究,具有广阔的发展前景。我们关于光学分子影像的研究工作始于 2003 年,主要针对光学分子影像基础理论、重建算法、仿真平台、成像系统、生物应用等方面存在的挑战性问题开展相关的研究工作,同时,我们也非常希望能够与国内外分子影像研究领域的同行,齐心协力共同推动分子影像,特别是光学分子影像新方法、新技术、新设备的突破与创新,为重大疾病防治和重大新药创制的国家战略需求做出自己的贡献。

本书的出版得到了诸多方面的帮助和支持。感谢国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2006CB705700, 2011CB707700)、国家自然科学基金(81027002, 81071205)、中国科学院知识创新工程重要方向项目(KGCX2-YW-907)、中国科学院“百人计划”的大力资助和长期支持。感谢华夏英才基金的资助。本书是在中国科学院自动化研究所复杂系统与智能科学重点实验室医学影像处理研究组多年来所积累的工作和参与包括分子影像在内的医学影像工作的各位博士生、硕士生、博士后的前期工作基础上完成的。感谢徐敏、代晓倩、张星、向德辉、杨飞、邓可欣、郑健、董迪参与本书第 3 章的撰写和修改工作,感谢西安电子科技大学的梁继民、屈晓超、任努努、陈雪利、陈多芳、侯彦宾、彭宽参与本书第 5 章的撰写和修

改工作,感谢朱守平、刘凯、冯金超、韩冬、马喜波、钟江宏、吴萍、孙粒、张博、刘俊廷、薛贞文、高秋娟、郭伟、常志军参与本书其他部分章节的撰写和修改工作,他们为本书的最终完成付出了辛劳,做出了很大的贡献;同时,还要感谢吕玉杰、李慧、骆劼、闫国瑞、刘丹、石金、杨薇、戴亚康、陈健、薛健、杨飞、李秀丽等在光学分子影像技术及其应用研究中所做的工作和贡献。

2008年4月发表在*Nature*上的综述论文 Imaging in the era of molecular oncology 中指出光学分子影像技术已越来越广泛地用于肿瘤复杂性、多样性及在体行为的研究。2008年7月发表在*Nature Reviews Drug Discovery* 杂志上的综述文章 Molecular imaging in drug development 指出包括光学成像在内的分子影像技术可以极大加快药物的研发速度,缩短临床前研究时间,减少新药研制的资金投入。由此可见,光学分子影像在肿瘤机理、药物研发等领域具有广阔的研究和应用空间。然而,限于我们的学识、人力和资金,光学分子影像的相关研究工作尚无法做到尽善尽美,我们想通过本书来抛砖引玉,带动更多的有识之士共同开展光学分子影像技术及其应用的研究,推动我国光学分子影像的研究与应用,为疾病机理研究和新型药物研发提供一个崭新的技术平台。

限于作者水平,加之撰写整理时间仓促,书中难免存在疏漏不足之处,衷心希望广大读者给予批评指正。

田 捷

2010年9月

目 录

前言

第 1 章 光学分子影像	1
1.1 概述	1
1.1.1 分子影像概述	1
1.1.2 光学分子影像概述	2
1.2 成像系统	3
1.2.1 成像设备	4
1.2.2 多模态在体成像系统	5
1.3 应用与发展	6
1.3.1 当前研究及应用	6
1.3.2 发展特点	8
参考文献	11
第 2 章 分子影像相关生物医学知识	12
2.1 生物发光简介	12
2.1.1 生物发光原理	12
2.1.2 生物发光常见类型	12
2.1.3 生物发光与荧光的区别	15
2.1.4 小结	16
2.2 分子探针	18
2.2.1 探针简介	18
2.2.2 生物分子探针	18
2.3 转基因动物	20
2.3.1 实验动物简介	20
2.3.2 转基因动物的构建方法	23
2.3.3 转基因实验小鼠	26
2.3.4 疾病动物模型	31
2.4 本章小节	33
参考文献	34
第 3 章 医学图像处理和分析	36
3.1 引言	36

3.2 医学图像分割	37
3.2.1 医学图像分割概述	37
3.2.2 基于区域的图像分割方法	38
3.2.3 基于边缘的图像分割方法	40
3.2.4 形变模型	42
3.3 医学图像配准	43
3.3.1 医学图像配准概述	43
3.3.2 图像配准方法的分类	44
3.3.3 基于特征的图像配准	45
3.3.4 基于灰度的图像配准	48
3.3.5 刚性配准与仿射配准	50
3.3.6 非刚性图像配准	52
3.4 医学图像可视化	55
3.4.1 医学图像可视化概述	55
3.4.2 三维表面重建和面片化简	56
3.4.3 体绘制	58
3.5 小结	65
参考文献	65
第4章 光学分子成像技术	70
4.1 引言	70
4.2 DOT 技术	71
4.2.1 DOT 原理	71
4.2.2 DOT 系统	73
4.2.3 DOT 的应用	76
4.3 FMI 技术	78
4.3.1 FMI 原理	78
4.3.2 FMT 重建技术	81
4.3.3 FMI 系统	84
4.3.4 FMI 应用	88
4.4 OCT 技术	89
4.4.1 OCT 原理	89
4.4.2 OCT 系统	91
4.4.3 OCT 应用	93
4.5 激光共聚焦显微成像技术	94
4.5.1 激光共聚焦显微成像原理	95

4.5.2 激光共聚焦显微成像系统	96
4.5.3 激光共聚焦显微成像的应用	96
4.6 光声层析成像技术	97
4.6.1 PAT 原理	98
4.6.2 PAT 系统	100
4.6.3 PAT 应用	102
4.7 Cerenkov 荧光断层成像技术	102
4.7.1 Cerenkov 荧光断层成像技术发展历程	102
4.7.2 CLT 原理、系统及其应用	105
4.7.3 CLT 系统	105
4.7.4 CLT 应用	106
参考文献	106
第5章 光学分子影像仿真平台	112
5.1 光学分子影像概述	112
5.2 现有光学分子影像仿真软件及程序介绍	112
5.3 光学分子影像仿真平台——MOSE	114
5.3.1 核心结构	115
5.3.2 操作界面部分	121
5.4 MOSE 核心结构算法介绍	124
5.4.1 光子在生物组织中的传输模型	125
5.4.2 自由空间中光传输理论及模型	131
5.4.3 表面重建算法	135
5.4.4 面片化简算法	135
5.5 MOSE 仿真实验的对比验证	136
5.5.1 表面透射光强数据的准确性验证	136
5.5.2 探测光强数据的可靠性验证	138
5.6 小结	140
参考文献	141
第6章 BLI 技术	143
6.1 BLI 技术概述	143
6.1.1 BLI 技术的发展历程	143
6.1.2 BLI 技术的特点	144
6.1.3 BLI 技术的应用	145
6.1.4 BLI 技术的发展前景	148
6.2 BLI 技术的原理	148

6.3	BLI 前向问题的研究	150
6.3.1	基于辐射传输方程的方法	151
6.3.2	MC 算法	154
6.4	自发光光源重建算法	155
6.4.1	有限元方法	155
6.4.2	边界元方法	161
6.4.3	多光谱方法	162
6.4.4	多模态方法	165
6.4.5	其他方法	169
6.5	BLT 系统	178
6.5.1	系统的构建	178
6.5.2	系统的校准	186
6.5.3	系统的改进与发展	192
6.6	BLT 实验	193
6.6.1	仿体 BLT 实验	193
6.6.2	小动物 BLT 实验	195
6.6.3	基于多光谱的 BLT 实验	197
	参考文献	200
第 7 章	基于多模态融合的光学分子影像技术	206
7.1	多模态分子影像技术简介	206
7.1.1	多模态融合的意义	206
7.1.2	常见的多模态融合技术	207
7.1.3	光学分子影像技术的多模态融合	208
7.2	micro-CT 与 BLT 系统的融合	209
7.2.1	micro-CT 系统简介	209
7.2.2	micro-CT 系统与光学系统的配准与映射	215
7.2.3	micro-CT 引导的 BLT	219
7.3	DOT 与 BLT 技术的融合	220
	参考文献	223
第 8 章	光学分子影像的应用	226
8.1	光学分子影像在生物学中的应用	226
8.1.1	基因调控与表达及活性检测中的应用	226
8.1.2	生物发育与细胞学检测中的应用	227
8.1.3	蛋白质及脂质过氧化物物质检测中的应用	228
8.2	光学分子影像在药学中的应用	230

8.2.1 药物研究与开发中的应用	230
8.2.2 药物监督检查中的应用	231
8.3 光学分子影像在肿瘤学中的应用	233
8.3.1 肿瘤的发生机理研究中的应用	233
8.3.2 肿瘤的早期诊断中的应用	234
8.3.3 肿瘤治疗研究中及临床前后的应用	235
8.4 光学分子影像在其他领域的应用	238
8.4.1 神经认知方面的应用	238
8.4.2 心血管疾病治疗方面的应用	238
8.4.3 微生物及 ATP 检测方面的应用	239
8.5 本章主要内容	239
参考文献	240

第 1 章 光学分子影像

1.1 概 述

自 X 射线被发现以来,医学影像技术大致经历了结构成像、功能成像,以及分子影像的阶段^[1]。分子影像依赖自身特有的成像原理,特别是光学分子影像,使人们能够更加清楚、准确地认识生命的奥秘。

1.1.1 分子影像概述

进入 21 世纪,随着人类基因组测序工作的完成,人们迫切需要从分子细胞水平去认识生命的本质,探求疾病的发生发展机理,从而实现疾病的早期预警和治疗,提高疾病的治疗效果^[2]。传统分子生物学的离体(in vitro)方法不能对基因、蛋白质的功能和活动进行原位观察;生物医学病理与药理的临床前与临床在体(in vivo)水平研究受到高成本、长周期、基本人伦道德与动物福利等的约束;传统医学影像技术难以做到未致病状态下基因、分子及细胞水平的生命体结构与功能异常的检测、疾病早期诊断与预后评估。因此,能够实时在体地揭示分子细胞水平信息的医学影像技术受到国内外的高度重视。图 1.1 依次从器官、组织、细胞和基因水平说明了分子影像的机制。

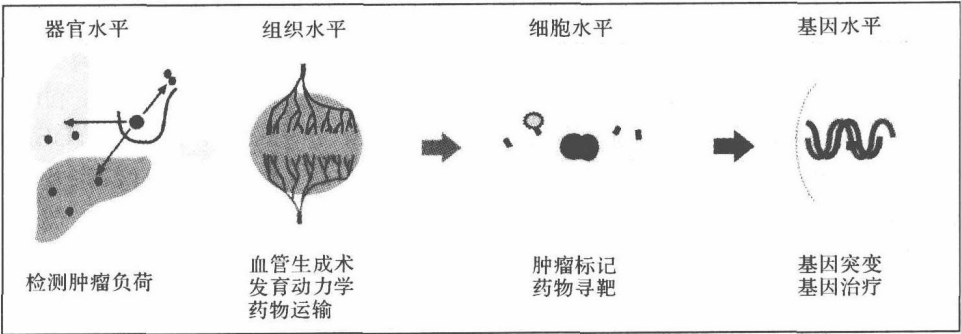


图 1.1 从器官、组织、细胞和基因水平说明分子影像的机制^[3]

分子影像是指无损伤地在分子水平上探测生物体内的分子,并给出体内分子分布信息的医学影像技术,是研究特定基因功能、生物体生长发育、疾病发生发

展、药物在体定量评估和药效动力学变化的生命特征提取与分析的有效工具^[4],其横跨分子生物学、医学、生物化学、物理学、信息科学、计算机科学等的综合交叉学科。分子影像技术是能够在细胞和分子水平对生物过程进行表征和测量的生物医学成像技术^[5],具有实时动态、高特异性、高灵敏度显像、在体等特点,为特定生物功能分子的在体活动规律探索与研究开辟了新的途径^[5,6]。图 1.2 显示了离体和在体成像的对比。

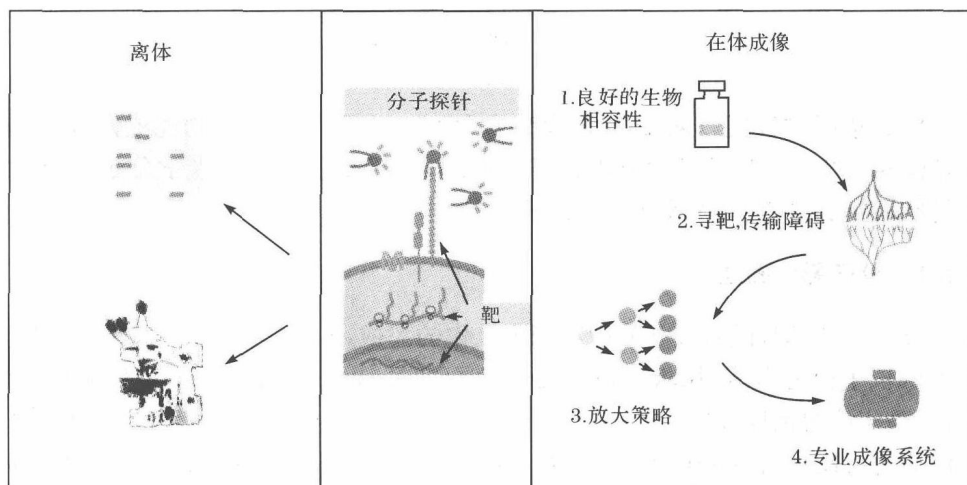


图 1.2 离体与在体分子影像关键因素对比示意图^[3]

分子影像的基本原理是:成像系统探测生物体内特定报告子引发的反应生命特征的微弱电磁或机械信号,经过信号放大及医学图像处理与分析,借助人机交互最终实现分子水平生命过程的可视化。

分子影像的实现方式主要有建立在传统医学影像技术与现代分子探针技术结合基础上的磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射断层成像(positron emission tomography, PET)、单光子发射断层成像(single photon emission computed tomography, SPECT)、超声成像(ultrasound imaging, USI)等宏观分子成像和激光共聚焦显微成像、显微荧光成像等微观分子成像,以及近年来出现的光学分子成像,如生物发光分子成像、荧光分子成像、光声成像、荧光寿命成像和太赫兹成像等^[7]。

1.1.2 光学分子影像概述

光学分子影像学是分子影像学(molecular imaging)的有生力量。自 1977 年 Jöbsis 在 *Science* 上首次报道血红蛋白和细胞色素在特定近红外光区域的吸光特性,并建立了近红外光谱技术(near-infrared spectroscopy, NIRS)以来,光学成像

技术逐步得到重视。20 世纪末,随着生物组织光学与现代分子生物学的深入研究,特别是分子探针技术与微弱信号探测技术的突破性进展,促使了利用特定分子标记物跟踪生物作用过程的在体光学分子成像技术的产生。在体光学分子影像极大提高了对同一小动物身上连续动态的复杂生物作用过程的观测能力,并树立起分子成像技术成功应用的范例^[7],这极大鼓舞了分子影像学界,并进一步推动了整个分子影像研究的前进。当使用可见光或近红外光对生物体进行监测时,为了获得所观察目标的三维信息,现代断层成像技术研究取得了较大突破,如扩散光学层析成像技术(diffuse optical tomography, DOT)、激发荧光断层成像技术(fluorescence molecular tomography, FMT)^[8]和生物发光断层成像技术(bioluminescence tomography, BLT)等的出现。相对于其他分子成像技术,如 MRI、PET、USI 等,光学分子成像具有独特的优点,如非电离、非接触、高通量及低成本等。

在体光学分子影像技术中最具有代表性的成像方式是荧光成像和生物发光成像。

荧光成像需要外部光源激发生物体内的荧光标记物^[9],从而获得影像信号。常用的荧光标记物有荧光基团之称。荧光基团的原子核外层电子受到外部光子激发后从基态跃迁至高能级激发态。激发态电子不稳定,会自动回落至低能级轨道,同时,辐射出特定波长的光子。这部分由于能级跃迁辐射出的光子经过生物组织的吸收与散射作用,最终被高灵敏度与分辨率的光学探测器捕获与放大。这就是荧光成像的基本原理。常用的荧光标记物有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)、红色荧光蛋白(DsRed)及 ICG 等。

生物发光成像的信号源是在生物体内特定报告基因表达的蛋白质酶催化作用下的生物化学反应过程中由化学能转化而成的单一波长的光子,这些被生化作用诱发产生的光子经过与生物体的复杂作用,最终透射出来,被体外光学成像系统检测,经过信号放大与处理,呈现出来的即是生物发光分子图像,这是生物发光成像的基本原理。目前,研究与使用最广泛的报告基因是萤火虫荧光素酶(FLuc)基因。

由于平面光学分子影像技术不能对所观察的目标进行定量的三维观察,无法满足现代生物医学研究的需求,因此,融合数学、光学、信息科学与计算机技术, FMT 与 BLT 等成为现代分子医学断层成像技术的重要发展方向之一。

1.2 成像系统

成像系统,尤其是多模态光学分子成像系统,不仅是光学分子影像实现的重

要组成部分,也是光学分子影像科学研究与技术革新的关键环节之一。

1.2.1 成像设备

为了实现光学分子成像,需要在生物体外用专门的探测设备进行探测,这些成像设备的组成、与被观察目标的探测距离、光学成像的视野等都与分子成像方法有关。虽然不同的光学分子成像模态,探测原理与探测设备都有差异,但一般的光学分子影像的成像设备的组成部分都有光信号接收器,如光电倍增管或电子耦合器件(CCD)、光学透镜、激光器、计算机及相关生物医学信号处理和小动物麻醉与监护等辅助设备。

不同模态的光学分子成像探测设备相互差异明显。每一种成像仪都有探测灵敏度、空间分辨率和时间分辨率等指标参数。对于光学分子影像来说,只有被观察的物体能够产生足够多的反应生命特征的光子并入射到光学探测器才能成像清晰。微观光学分子影像的探测设备视野在微米或亚微米数量级,灵敏度与分辨率很高,构造复杂,如常见的多光子或单光子显微镜、激光共聚焦扫描显微镜(laser scanning confocal microscope, LSCM)、频谱编码内窥镜、荧光共振能量转移显微镜、受激辐射分子成像等^[10],它们一般适用于离体或者近距离在体显微观察。宏观光学分子影像的视野在厘米或毫米数量级,如荧光成像与生物发光成像,能够适用于小动物预临床研究或人体临床研究。相对于前者,宏观光学分子影像设备结构简单,多采用非接触式体外探测的方法。

由于在体光学分子影像技术相比于离体成像设备简单、成本低、视野大,能够系统地观察生物变化过程,因此,在体成像系统的研究与开发进步巨大^[13]。下面简要介绍在体荧光成像与生物发光成像的探测设备的成长历程。1994年,美国科学家钱永健开始改造 GFP^[14~16],于是出现了使用激光器与 CCD 组合的平面在体荧光成像。1998年,美国斯坦福大学的 Contag 与其夫人等成立 Xenogen 公司,采用英国 Andor 公司的微光成像仪,成为首家生物发光成像设备生产商,如图 1.3(a)所示的 IVIS200 成像系统。2004年,美国弗吉尼亚理工大学王革教授等开发出 BLT 系统,系统原理如图 1.4 所示。这中间总共不超过 10 年时间,相比于以往任何传统医学成像设备的研究开发,不可同日而语。2009年,中国科学院自动化研究所分子影像研发中心独立自主开发的生物发光成像系统成功交付广州中科恺盛医疗科技有限公司使用并商业化,成为我国具备原始创新的首台有报道的在体光学分子影像设备,如图 1.3(b)所示。

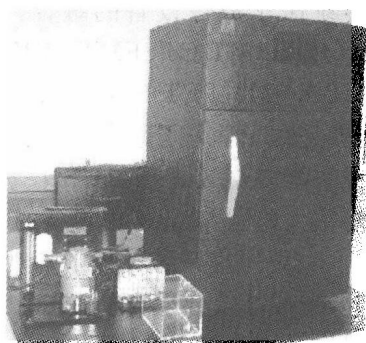
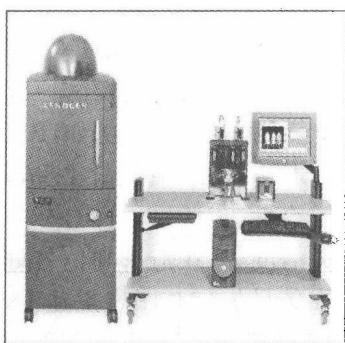
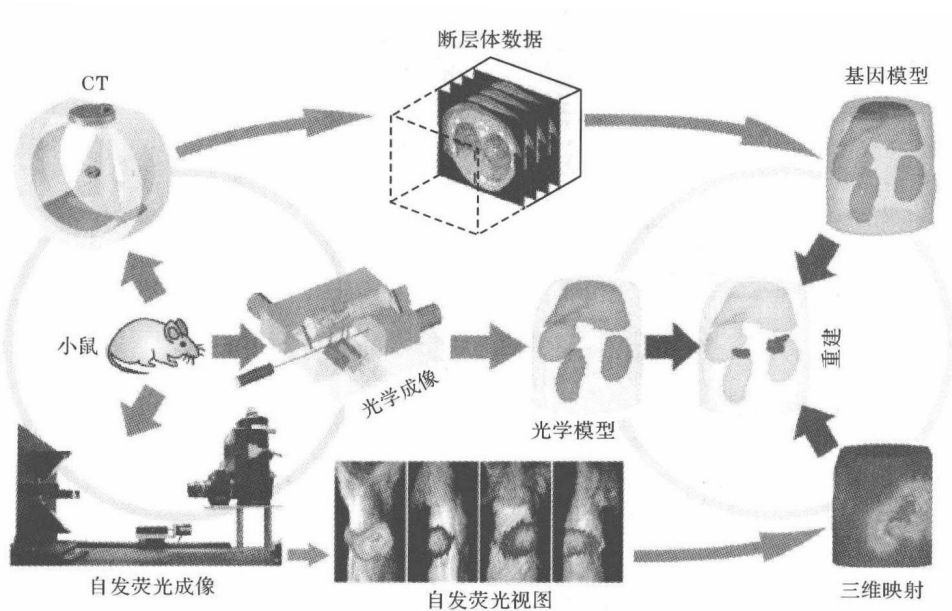


图 1.3 在体生物发光成像设备^[11,12]



1.2.2 多模态在体成像系统

随着在体成像技术研究的深入,在同一生物体上探测多源信号成为可能,这种可能成为现实依靠的就是多模态在体成像系统^[18]。多模态成为在体光学成像系统的一个发展趋势。

可见光或近红外光信号探测器与其他电磁信号接收设备的整合推动了分子

影像与传统医学成像设备的融合。早期出现的有 DOT-PET、DOT-CT、DOT-MR、FMI-CT、FMT-CT、FMT-MRI、PET-FMT, 现阶段出现了 BLT-CT、BLT-PET、BLT-X 射线、PET-FMI/BLI-X 射线等, 这些在体成像系统的探测原理有一个共性, 就是在光学分子影像基础上引进吸收传统医学影像技术。例如, BLT-CT 在体成像系统需要 X 光管和 CCD。然而, 多模态在体成像系统在设计上和以往单一模态有很大差别, 需要考虑设备的电磁兼容性、安全性、灵敏度、分辨率等; 在空间布局上, 需要考虑系统整体的外观、尺寸、操作灵活度等; 在造影与信号处理流程上, 需要形成高效合理的多模态在体探测方式; 在信号处理与图像重建上, 需要建立信息融合理论与多源信号处理方法。图 1.5 是 BLT、X 射线和 γ 射线成像融合的三模态光学成像系统^[19]。

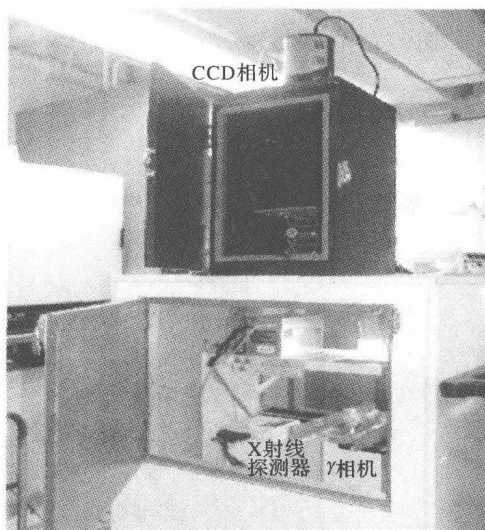


图 1.5 BLT、X 射线和 γ 射线成像综合系统^[19]

1.3 应用与发展

光学分子成像虽然起源于 1994 年钱永健改造 GFP 基因的成功及荧光成像的出现, 但在 2000 年以后已广泛应用于分子生物学、肿瘤转移及人类疾病建模、药物开发及评估等研究领域。在预临床与临床研究, 特别是小动物在体成像研究中的应用, 推动了光学分子影像科学研究的发展与技术的革新。

1.3.1 当前研究及应用

光学分子影像进入 21 世纪后取得了极大的发展, 在体成像研究的进步是光