

可见-近红外二区双通道荧光成像系统

刘雯^{1*}, 倪沪桅², 钱骏^{2*}

- (1. 浙江师范大学 浙江省光信息检测与显示技术研究重点实验室 物理与电子工程学院, 浙江 金华 321004;
2. 浙江大学 现代光学仪器国家重点实验室 光及电磁波研究中心 光电科学与工程学院 先进光子学国际研究中心, 浙江 杭州 310058)

摘要: 本文基于光学手段, 开发出了一套能够兼顾可见光与近红外二区(NIR-II)窗口的双通道宏观成像系统, 能够实时输出具有 NIR-II 荧光信息的高质量明场图像, 解决了常规的 NIR-II 宏观成像系统提供的荧光图像与明场图像割裂较大的问题。实验中利用不同厚度的脂肪组织测试了吲哚菁绿的 NIR-II 窗口荧光信号分别在 1 100~1 700 nm 长通滤光片与 1 300~1 700 nm 长通滤光片下的抗散射能力与成像表现。接着利用所搭建的双通道宏观成像系统分别在小鼠以及大鼠模型上实现了淋巴结成像并模拟进行了淋巴结的切除手术, 模拟了对腹腔淋巴结清扫的过程。最后, 在大鼠模型上添加了不同厚度的生物脂肪组织, 模拟实际手术中脂肪组织覆盖在淋巴结上的情况, 观察双通道系统的穿透能力。可见近红外二区双通道荧光成像系统通过给操作者提供直观的影像信息, 缩减手术时间、提高患者的预后, 在临床手术导航中具有较大的应用潜力。

关键词: 荧光成像技术; 双通道宏观成像系统; 近红外二区; 临床手术导航
中图分类号: O43

Visible-NIR-II dual-channel fluorescence imaging system

LIU Wen^{1*}, NI Hu-Wei², QIAN Jun^{2*}

- (1. Key Laboratory of Optical Information Detection and Display Technology of Zhejiang, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China;
2. State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentations, Centre for Optical and Electromagnetic Research, College of Optical Science and Engineering, International Research Center for Advanced Photonics, Zhejiang University, Hangzhou, 310058, China)

Abstract: A dual-channel macroscopic imaging system has been developed based on optical methods, which can simultaneously capture the visible light and near-infrared second window (NIR-II) fluorescence. It could provide high-quality bright-field real-time images with the NIR-II fluorescence information, addressing the significant disparity issue between fluorescence and bright-field images in conventional NIR-II macroscopic imaging systems. In the experiment, the anti-scattering capability and imaging performance of NIR-II fluorescence signals of indocyanine green (ICG) were tested using different thicknesses of adipose tissues in the band of 1 100-1 700 nm and 1 300-1 700 nm respectively. Subsequently, the dual-channel macroscopic imaging system was used to obtain lymph node images of mouse and rat models, simulating the lymph node resection surgery and mimicking the process of abdominal lymph node clearance. Finally, different thicknesses of biological adipose tissues were added to the rat model to simulate the presence of adipose tissues covering the lymph nodes during actual surgery, and the penetration capability of the dual-channel system was observed. The visible and near-infrared second window dual-channel fluorescence imaging system provided the intuitive visual information to the operator, reducing surgery time and improving the patient prognosis, and held great po-

基金项目: 国家自然科学基金(61975172 和 82001874), 中央高校基本科研业务费专项资金(2020-KYY-511108-0007), 浙江省自然科学基金(LQ21F050007)资助项目。

Foundation items: Supported by the National Natural Science Foundation of China (61975172 and 82001874), Fundamental Research Funds for the Central Universities (2020-KYY-511108-0007) and Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (LQ21F050007).

作者简介(Biography): 刘雯(1993-), 女, 讲师, 博士学位, 研究方向为生物光学成像方法。

***通讯作者(Corresponding author):** E-mail: wenliu@zjnu.edu.cn, E-mail: qianjun@zju.edu.cn.

tential for application in clinical surgical navigation.

Key words: fluorescence imaging, double-channel macroscopic imaging system, near-infrared second window, clinical surgical navigation

引言

目前,根治性切除、器官移植等手术是治愈癌症的最主要手段^[1]。CT、MRI、PET 等技术在现阶段已经能够较好地术前提供癌变区域的准确影像报告^[2],但由于设备工作环境和辐射等限制,这些设备难以实时导航手术。荧光成像技术作为一种无电离辐射(电磁辐射低,对生物组织无损伤)、使用条件不苛刻的实时成像手段,并能够标记一些传统影像方法观察不到的组织,已经在部分外科手术中得到广泛运用^[3-4]。利用近红外一区(NIR-I, 760~900 nm)窗口进行生物荧光成像的近红外荧光导航系统已被广泛运用于癌症切除^[5]、血管吻合等显微外科手术中。然而,传统的可见光和 NIR-I 窗口的光学成像手段通常无法穿透一定厚度的生物组织,因此探测器无法捕捉到皮肤或器官下方的荧光信号。并且,标记物周边的生物组织在可见光、NIR-I 窗口通常具有较强的自发荧光,这会导致荧光图像信号背景比相当有限。传统可见光、NIR-I 窗口有限的灵敏度与穿透深度是该技术在一些复杂手术环境中难以提供有效指导意见的重要原因^[6]。

随着研究者们对近红外二区(NIR-II, 900~1880 nm)窗口更加深入的认识,具有低散射、低生物自发荧光以及适度吸收的 NIR-II 成像窗口愈发受到生命科学与临床医学等多个领域的青睐^[7]。近年来,基于 NIR-II 窗口的荧光成像技术在灵敏度和成像深度等方面取得了显著进展^[8-9],显示出在手术导航中巨大的潜力,有望解决传统荧光导航系统中存在的假阳性率高、病灶边缘对比度差等问题^[10]。在肿瘤切除手术中,转移性淋巴结与原发肿瘤的根治性切除是手术成功的关键^[11]。由于淋巴结通常沿着主要大血管分布并且周边可能伴有输尿管、神经,如何保证在不损伤到重要脏器或组织的前提下^[12],在体内的复杂环境中精准定位到需要切除的淋巴结无疑是一个巨大的挑战。对主要大血管、输尿管、神经的损伤均会引发严重的并发症,因此外科医生需要在顺利完成肿瘤切除手术的同时,尽可能地减少对患者的损伤、保证患者在术后能够恢复到较好的状态。

武汉大学洪学传教授团队在 2017 年利用 NIR-

II 窗口宏观成像系统以及 NIR-II 探针在荷瘤小鼠模型上实现了对肿瘤边界的描绘,并且在 NIR-II 窗口宏观成像系统的引导下进行了相应的淋巴结切除手术,展现了 NIR-II 窗口在手术导航中的巨大潜力^[13]。然而,在手术中仅凭 NIR-II 窗口荧光图像,外科手术医生很难实时判断手术器械与病灶的相对位置,手术医生需要通过不停地观察显示屏幕与目标对象方能保证手术的顺利进行。正因如此,可见光通道与 NIR-II 窗口荧光通道的整合在实际手术导航中就显得极为重要^[14],可以帮助外科手术医生快速发现病灶,并且能直接对其进行切除等相关操作。一个兼顾可见光与 NIR-II 窗口的荧光导航系统无疑能够帮助外科手术医生在复杂的手术环境中获取病灶的准确位置,并流畅地进行切除手术^[15]。中国科学院自动化研究所田捷教授团队采取可见光通道相机与近红外相机并行放置的方式搭建了开放式的 NIR-II 荧光手术导航系统,通过软件处理的方式克服了不同机位导致的视差问题^[16],并在临床脑胶质瘤^[17]、肝癌^[16]、宫颈癌^[18]等多种临床手术中展开应用,帮助手术医生快速发现病灶进行精准切除,显著提高了手术的效果,改善了患者的预后。然而,该方法由于成像光路不一致,双通道采集到的图像存在视角差别,不能直接使用所见图像,非常依赖后期软件进行校正处理。

在本研究中,我们通过镜前分光的方式,首先搭建了兼顾可见光与 NIR-II 窗口的双通道宏观成像系统,通过光学方法克服了不同机位存在的视差问题,既可以捕捉到 NIR-II 探针的荧光图像,又能获得人眼看到的可见光图像,最终将两者进行实时融合后输出,帮助使用者通过一个界面能够直观得到病灶的边界信息与位置信息。本系统的处理速度快,输出帧数高(20 帧每秒),可以直接适用于各种不同的应用场景。而中科院通过软件处理视差的系统中,近红外二区图像的帧数只有 2 帧每秒,并且在不同的使用场景下,需要对软件的融合算法做出不同的调整优化。为了确认本系统在未来临床领域的表现,我们选择临床广泛使用的吲哚菁绿(Indocyanine Green, ICG)作为荧光探针进行后续的验证实验,并利用搭建的双通道宏观成像系统跟踪

记录了淋巴结切除手术的全过程。我们首先对 ICG 与血清的混合溶液进行了 NIR-II 窗口荧光光谱的测量,确保了 ICG 可以作为 NIR-II 窗口荧光探针使用。随后,我们利用不同厚度的脂肪组织测试了 ICG 的 NIR-II 窗口荧光信号分别在 1 100 nm 长通滤光片与 1 300 nm 长通滤光片下的抗散射能力与成像表现。后续为了进一步验证该系统能否在手术过程中提供良好的手术导航效果,我们利用所搭建的双通道宏观成像系统,分别在小鼠以及大鼠模型上实现了淋巴结成像并模拟进行了淋巴结的切除手术,模拟了对腹腔淋巴结清扫的过程。最后,我们在大鼠模型上添加了不同厚度的生物脂肪组织,模拟实际手术中脂肪组织覆盖在淋巴结上的情况,观察双通道系统的穿透能力。

1 研究方法

1.1 双通道宏观成像系统

硬件方面(如图 1 所示),光纤口出射的 793 nm 激光经小口径准直器准直出射后,经透镜与工程漫射片扩束后被均匀地投射到待测样品上并能保证完全覆盖探测区域,最终激发出照射区域的荧光探针信号。在探测端,设立统一的进光口对可见光与 NIR-II 荧光进行收集,保证可见光通道与 NIR-II 荧光通道具有相同的视场与观测角度,避免视差的产生。从统一进光口进入的生物图像经过二向色镜(DMLP900,陕西雷亚特光电科技有限责任公司,中国)后,按照波长差异被分为可见光信号与 NIR-II 荧光信号。可见光信号经由可见光镜头(35 mm, F1.4, LOMOSEN Ltd, China)被可见光相机(BIG-EYE10000KPA, ToupTek, China)收集,同样 NIR-II 荧光信号经由近红外镜头(35 mm, F1.4, TEKWIN SYSTEMS, China)被 InGaAs 相机(SW640, TEKWIN SYSTEMS, China)收集,最终经计算机软件处理后获得实时的活体可见光图像、活体近红外二区荧光图像以及两者的融合图像,从而实现实时等视场的双通道活体成像。

1.2 荧光探针的选择和准备

在双通道宏光成像系统辅助下的淋巴结切除手术中,我们选择临床通过 FDA 认证的 ICG 作为荧光探针^[19],更加贴近临床手术场景。ICG 在生物体内可以被肝脏快速地提取到胆汁中去,不会残留已知的任何代谢物。ICG 由于其安全性高并能够与血液中的脂蛋白结合,在近几十年里一直作为近红外荧光探针被运用于血管造影。并且,在近些年的研

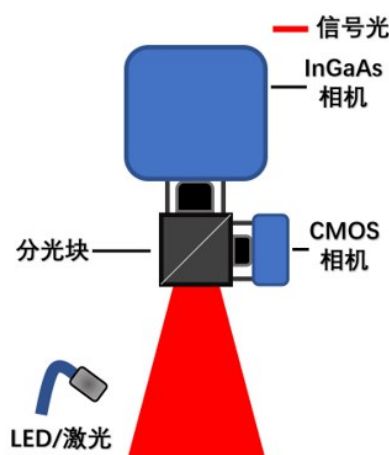


图1 实时可见-近红外二区双通道宏观成像系统。

Fig. 1 Real-time visible-NIR-II dual-channel macroscopic imaging system.

究中,ICG 被发现具有 NIR-II 窗口的拖尾荧光信号,可作为 NIR-II 荧光探针继续在活体血管成像中使用。本文所使用的 ICG 购自 Sigma,以及离体实验模拟 ICG 同血液内蛋白结合的胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS)购自 Gibco。

1.3 生物组织模拟液的制备

为获取探针 ICG 的相关表征,我们配置了 1% 浓度的 Intralipid 作为生物组织模拟液,具体操作如下:

1. 利用 10% FBS 溶液配置 0.1 mg/ml 的 ICG 血清溶液模拟 ICG 在体内同蛋白结合后的状态;
2. 使用内径 0.5 mm 的毛细管吸取足量的 ICG 血清溶液,并裁去毛细管的多余部分置于内径 3 cm 的培养皿底部,利用 UV 胶将毛细管两端封口并固定于培养皿底部,保证毛细管内的 ICG 血清溶液不泄漏;
3. 由于毛细管尺寸过小,原本 NIR-II 通道成像系统的放大倍数难以满足成像需求,利用 C-mount 延长环(CML05, Thorlabs, USA)增加镜头像方距离以提高放大倍数;
4. 通过移液枪缓慢加入 1% 浓度的 Intralipid,厚度每增加 1 mm(0~5 mm),利用改造后的 NIR-II 通道成像系统在 793 nm 激发光照射进行记录。

1.4 小动物的准备和手术处理

所有的动物实验和饲养程序都严格按照浙江大学动物实验机构伦理委员会的要求进行。严格按照浙江大学动物实验机构伦理委员会的要求进行。实验选用 8 周大小的 ICR 雌性小鼠(体重 20~22 g)、CD(SD)雌性大鼠(体重 340~360 g)。

动物淋巴结成像实验前,通过腹腔注射 1% 戊巴比妥将动物进行麻醉(75 mg/kg,小鼠为~150 μ L,大鼠为~1.50 mL),褪去动物待观察部位的毛发,通过足垫注射适量的 ICG 探针(1 mg/mL,小鼠为 75 μ L,大鼠为 250 μ L),待 5 分钟后 ICG 得到一定程度的释放吸收,对动物进行成像实验。

2 结果与讨论

2.1 双通道宏观成像系统分辨率的测定

首先我们通过对照 USAF1951 分辨率板(负片)进行了相关的分辨率测试(背板为近红外波段的 LED 光源),我们分别在可见光通道、NIR-II 通道以及融合通道对 USAF1951 分辨率板(负片)进行了成像。

如图 2a 所示,可见光相机由于整体发展水平较高工艺较为成熟,像元较小为 4.6 μ m \times 4.6 μ m,故此可见光通道可以完全识别第一组别,分辨率可以达到 3.56 lp/mm。如图 2b 所示,用于近红外荧光信号探测的 InGaAs 相机像元较大为 25 μ m \times 25 μ m, NIR-II 通道仅能识别到第一组别第一元素,分辨率在 2 lp/mm 左右。

由于现阶段高灵敏度的 InGaAs 相机的像元尺寸比较大,远大于发展相对比较成熟的可见光相机,因此在同样放大倍数的光学系统下,InGaAs 相机所能提供的图像分辨率较低。经过校准融合后的画面如图 2c 所示,融合后的分辨率也在 2 lp/mm 左右,此时视场为 12 cm \times 15 cm。

目前,该可见光与 NIR-II 窗口荧光的双通道宏

观成像系统足以捕捉到毫米级的荧光图像,并同时呈现相应的明场图像,足以运用于大部分宏观条件下的使用场景。随着 InGaAs 相机的研究和发展,在未来的工作中,我们会利用更高像素数、更小像元的相机,进一步优化系统,实现大视场、高分辨率的近红外二区荧光成像^[20]。

2.2 临床探针 ICG 的相关表征

在中心波长 793 nm 的激光激发下,我们基于一款探测波段在 900 ~2 200 nm 的光纤光谱仪(NIR 2200, Ideaoptics Instruments, China)利用荧光光谱测量系统,测量到了 10% FBS 溶液中 0.1 mg/mL 的 ICG 在 NIR-II 窗口的单光子荧光光谱如图 3a 所示。这意味着,ICG 在血液中同蛋白结合后在 NIR-II 窗口仍旧有一定的荧光拖尾。图 3b 为拍摄得到的 ICG 在可见光与 NIR-II 窗口荧光的双通道图像。

可以发现即使在 NIR-II 窗口存在拖尾荧光,基本也集中在 1 300 nm 之前。我们选择 1 100 nm 以上荧光信号以及 1 300 nm 以上荧光信号进行对比测试。实验结果如图 3c 所示,在宏观成像系统下,ICG 在 1 100 nm (FELH1100, Thorlabs, USA) 和 1300 nm (FELH1300, Thorlabs, USA) 长通条件下对抗散射的能力差距不明显,但在信号强度上有着较大差距。在 1 100 nm 长通条件下,当 1% Intralipid 的厚度增加至 3 mm 时,受散射影响毛细管的半高全宽(FWHM)开始上升,而 1 300 nm 长通条件下受到的散射影响则相对较小,如图 3d 所示。此外,随着 1% Intralipid 的厚度不断增加,为了获取良好的成像效果,就必须不断地提高激发光功率。ICG 由于本身

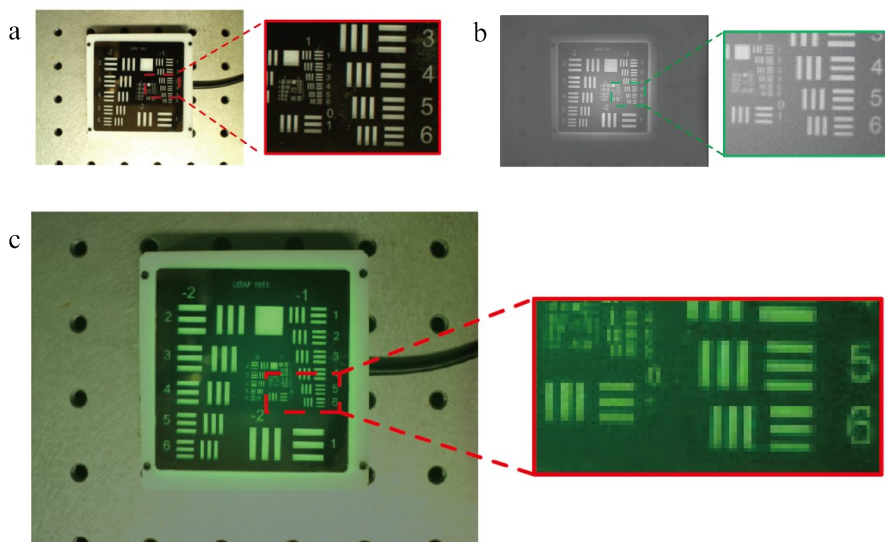


图2 (a) 可见光通道分辨率测试;(b) NIR-II 通道分辨率测试;(b) 融合通道分辨率测试

Fig. 2 (a) Visible light channel resolution test; (b) NIR-II channel resolution test; (c) Fusion channel resolution test.

在 1 300 nm 以上的分量较少,其在 1% Intralipid 的厚度增加至 3 mm 时想要获得 1 300 nm 以上的荧光信号,功率密度已经达到了 66.9 mW/cm^2 ,而在同样条件下获得 1 100 nm 以上的荧光信号仅需 25.0 mW/cm^2 。现阶段,利用 ICG 的长波长信号(1 300 nm 乃至 1 500 nm 以上的荧光)势必需要激发光具备较高的功率密度,而这也增加对生物的安全隐患。

综合考虑,本系统采用的激发光中心波长为 793 nm,生物组织在该处具有较低的光吸收^[21]。在之后的活体实验中我们选择利用 ICG 1 100 nm 以上的荧光信号进行成像,该波段相对亮度较高、受自发荧光干扰小,在生物组织内的散射较小,具备一定的组织穿透能力^[22]。

2.3 小鼠淋巴结成像

对后肢两足垫注射 75 μL 1 mg/mL ICG,等待五

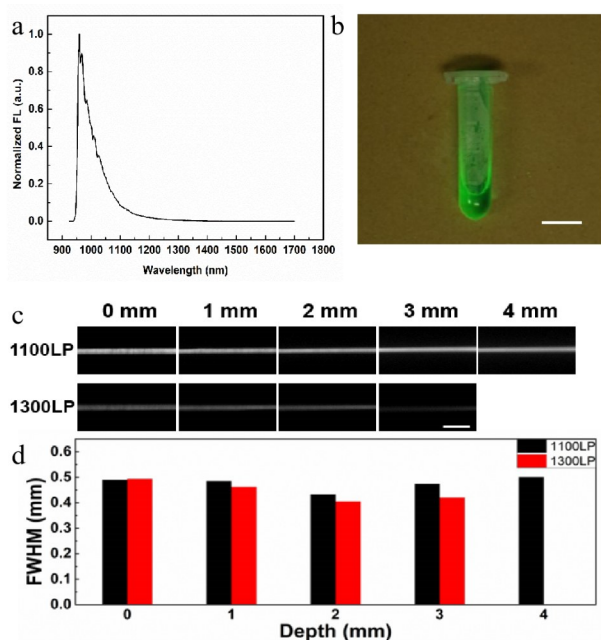


图3 (a) 10% FBS 溶液中 ICG 的 NIR-II 窗口荧光光谱;(b) 793 nm 激光激发下的 ICG(0.1 mg/mL, 10% FBS) 双通道融合图像,比例尺 2 cm;(c) 在 NIR-II 区,不同厚度的 1% Intralipid 下装有 0.1 mg/mL ICG(10% FBS 溶液)的毛细管荧光图像;(d) 图为相应的 FWHM 测量值,比例尺 2 mm

Fig. 3 (a) Fluorescence spectrum of indocyanine green (ICG) in 10% FBS solution in the NIR-II window; (b) Dual-channel fused image of ICG (0.1 mg/mL, 10% FBS) under 793 nm laser excitation, scale bar 2 cm; (c) Fluorescence image of capillary tubes containing 0.1 mg/mL ICG (10% FBS solution) under different thicknesses of 1% Intralipid in the NIR-II region; (d) Corresponding FWHM measurement values, scale bar 2 mm

分钟后,在 793 nm 激发光照射下,我们利用实时双通道宏观成像系统对小鼠进行皮下淋巴结成像(如图 4a-4c 所示),并对 NIR-II 通道图像中的划线区域进行 FWHM 测量。利用融合后的双通道图像,我们可以直接获得小鼠腹股沟等皮下淋巴结与淋巴管的位置与形态,并且足以识别直径在 0.63 mm 的细小管道(图 4b)。需要注意的是,图 4b 中蓝色圆圈内的微弱信号在图像融合之后变得难以识别,这也意味着融合过程中需要对荧光信号尤其是比较微弱的部分进行一定程度的增强。

接下来我们通过开腹手术,打开小鼠的腹腔,模拟在双通道宏观成像系统的支持下对腹腔淋巴结的进行切除。待腹腔打开后,用 PBS 缓冲液简单洗去血渍后,挪开肠道等器官即可在双通道宏观成像系统中看到被 ICG 标记的腹腔淋巴结以及与其相连接的淋巴管(图 4d)。在双通道宏观成像系统的辅助下,我们比较轻松地就能找到被 ICG 标记的相关淋巴结、淋巴管(皮下以及腹腔内),但由于小鼠体型与组织厚度偏小,即使通过肉眼也能比较轻松地发现淋巴结,不足以凸显该系统在手术中的辅助作用,所以在后续工作中我们在该系统的辅助下进行了大鼠的淋巴结切除手术。

2.4 大鼠淋巴结成像

实验动物为大鼠,基本操作与流程同前一小节相仿,对前肢、后肢足垫各注射 250 μL 1 mg/mL ICG,等待五分钟后,在激发光照射下,我们利用实时双通道宏观成像系统对小鼠进行皮下淋巴结成像(如图 5a、5b 所示)。即使大鼠相较于小鼠表皮更厚也更加粗糙,利用融合后的双通道图像,我们依旧可以直接获得大鼠腹股沟、腋窝等皮下淋巴结、淋巴管的位置与形态,相应地激发光功率需要一定程度地提高。

2.5 大鼠淋巴结切除过程

我们通过开腹手术,打开大鼠的腹腔,模拟在双通道宏观成像系统的支持下对腹腔淋巴结的进行切除,并记录了整个手术过程,详见附件中的视频 1,该视频为每秒 20 帧。打开腹腔之后,我们就能从融合画面中判断出被 ICG 标记的淋巴结的大体位置(图 6a)之后,我们根据绿色荧光信号的指示将上方遮挡的肠道、子宫、脂肪等器官与组织挪开,直至绿色信号完整的显露。此时,由于脂肪组织的包覆,通过明场图像勉强能够判断淋巴结与淋巴管的实际位置(图 6b,左图蓝圈),但有着双通道图像的

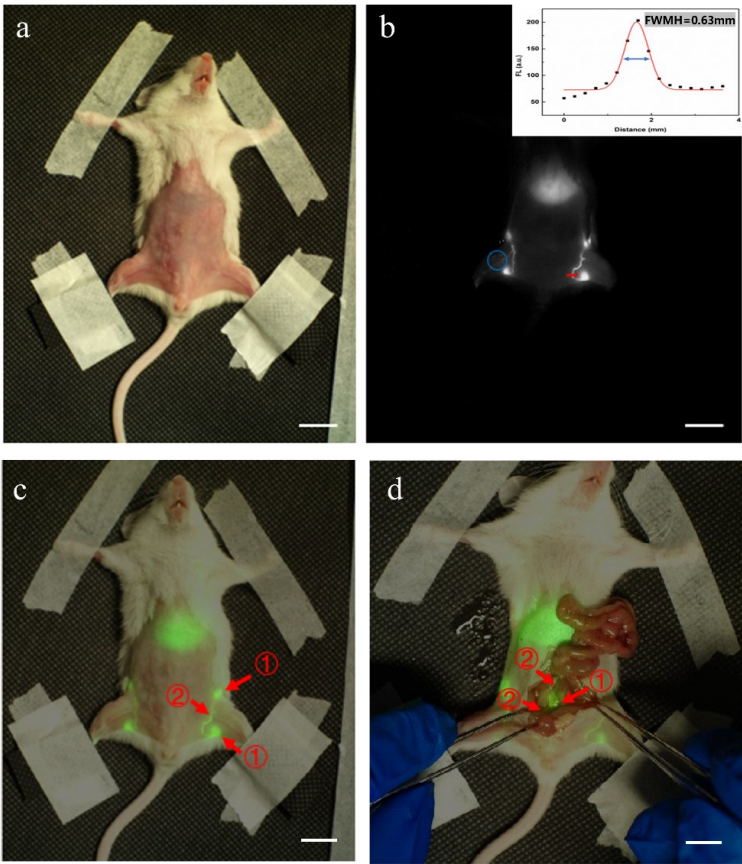


图4 (a) 小鼠皮下淋巴结可见光通道图像;(b) 小鼠皮下淋巴结 NIR-II 通道图像,插图是对 (b) 中划线区域进行 FWHM 测量;(c) 未开腹前小鼠皮下淋巴结融合通道图像;(d) 小鼠开腹手术后的腹腔淋巴结融合成像. ① 为腹腔内的淋巴结,② 为与淋巴结相连的淋巴管,图像比例尺均为 2cm。

Fig. 4 (a) Visible light channel image of subcutaneous lymph nodes in mice; (b) NIR-II channel image of subcutaneous lymph nodes in mice, with an inset showing FWHM measurement in the region marked by the dashed line; (c) Fused channel image of subcutaneous lymph nodes in mice before laparotomy; (d) Fused imaging of abdominal lymph nodes in mice after laparotomy. ① Represents lymph nodes in the abdominal cavity, ② Represents lymphatic vessels connected to the lymph nodes. Image scale bars are 2 cm for all images

支持,通过观察融合通道的图像,这一过程将会将极大地简化,从而加快手术进程,显著缩短手术进行的时间。

我们对照双通道绿色信号的位置,剥去附近的脂肪组织,两个腹腔内的淋巴结就清晰地显示出来了,如图 6c 所示。最后,将切除后的淋巴结放置于双通道宏观系统下进行观察,如图 6d 所示。

2.6 双通道宏观成像系统穿透能力

在大动物乃至临床手术中可能出现较厚的脂肪组织覆盖在淋巴结上方的情况,导致淋巴结的寻找需要花费较多时间。为了模拟这一情况,我们在大鼠模型中采用不同厚度脂肪组织覆盖于淋巴结上方,并运用双通道宏观成像系统进行观察。

实验结果如图 7 所示,当脂肪厚度在 2.5 mm 左

右时,我们还能获取脂肪组织下的荧光信号,虽然我们无法看到脂肪下的精细结构,但足以获得了病灶的大致位置,为后续手术指示了方向;而当脂肪厚度达到 4.5 mm 时,荧光信号不再能够穿透上层的脂肪组织。这就意味着,利用目前的双通道宏观成像系统,我们可以观测到~3 mm 厚度组织以下的标记物信号。因此在实际手术过程中,我们能够借助 CT、MRI 等检测手段先于术前获得病灶的大致范围,再利用双通道宏观成像系统对病灶进行细致的定位与手术切除。

3 结论

我们采用镜头前分光的方式搭建了一套能够同时进行可见光与 NIR-II 窗口荧光成像的双通道宏观成像系统,选取通过 FDA 认证的临床可用荧光

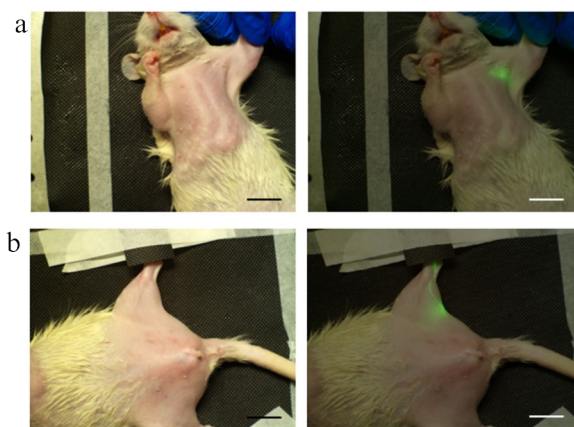


图5 大鼠皮下淋巴结成像:(a)为腋窝淋巴结;(b)为腹股沟淋巴结。图像比例尺均为2 cm,左列为可见光通道,右列为融合通道图像

Fig. 5 Subcutaneous lymph node imaging in rats: (a) axillary lymph node; (b) inguinal lymph node. Image scale bars are 2 cm, left column represents visible light channel, and right column represents fused channel images

探针 ICG 作为造影剂进行后续的实验。首先,我们通过体外的表征实验确认了所搭建的双通道宏观成像系统利用 ICG 在 1 100 nm 以上的荧光信号具备活体实时成像的能力。之后在双通道宏观成像系统的辅助下,我们分别在小鼠、大鼠模型上进行了皮下淋巴结成像以及腹腔淋巴结的切除手术。同时,我们利用不同厚度的脂肪组织模拟了一些复杂手术环境中可能存在的厚组织遮挡问题,证实了该系统对深层病灶的切除工作也具备一定的指导作用。本文中搭建的双通道系统能够兼顾明场与 NIR-II 荧光图像,具备(亚)毫米级的分辨率、3~5 mm 左右的穿透深度,能够为使用者在癌症肿瘤切除、前哨淋巴结切除等开放性临床手术中提供实时的病灶影像支持,具有较大的临床手术使用潜力。

References

- [1] Desantis C E, Lin C C, Mariotto A B, *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2014 [J]. *CA-A Cancer Journal for Clinicians*, 2014, **64**(4): 252-71.
- [2] DAI Yu, YANG Dong-Peng, YU Dan-Ping, *et al.* Mussel-Inspired Polydopamine Coated Lanthanide Nanoparticles for NIR-II/CT Dual Imaging and Photothermal Therapy [J]. *JACS applied materials & interfaces*, 2017, **9**(32):26674-26683.
- [3] Handgraaf H J, Verbeek F P, Tummers Q R, *et al.* Real-time near-infrared fluorescence guided surgery in gynecologic oncology: a review of the current state of the art [J]. *Gynecologic Oncology*, 2014, **135**(3): 606-13.
- [4] ZHANG Wei, GAO Feng, WU Lin-Hui, *et al.* A time-do-

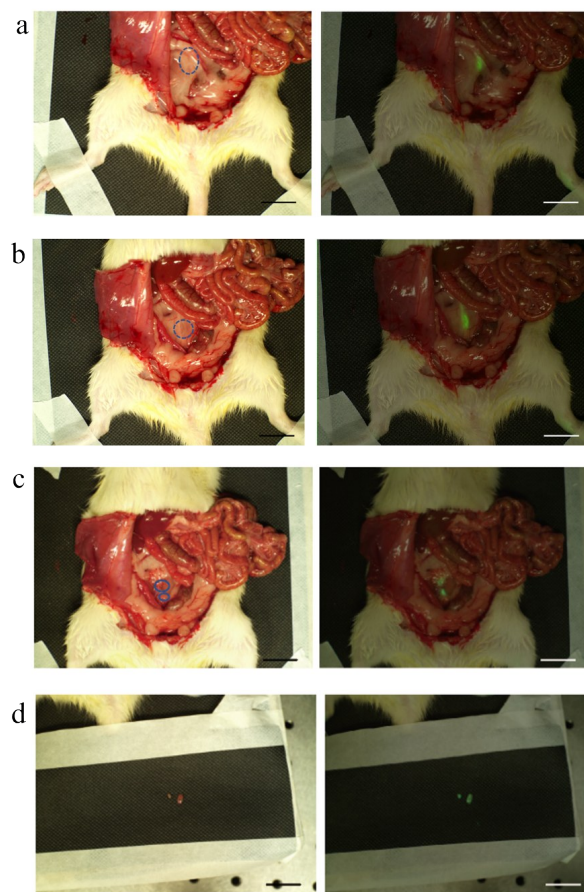


图6 (a)为打开腹腔后的影像,左图蓝色虚线圆圈内为荧光通道指示区域;(b)为挪开遮挡器官、组织后的影像,左图蓝色虚线圆圈内为荧光通道指示区域;(c)为去除淋巴结上方的脂肪组织后得到的淋巴结影像,左图蓝色圆圈内为荧光通道指示区域;(d)为切除后的淋巴结影像。图像比例尺均为2 cm,左列为可见光通道,右列为融合通道图像

Fig. 6 (a) Image after opening the abdominal cavity, with the blue dashed line circle indicating the fluorescence channel region; (b) Image after moving away the obstructing organs and tissues, with the blue dashed line circle indicating the fluorescence channel region; (c) Lymph node image obtained after removing the fat tissue above the lymph node, with the blue circle indicating the fluorescence channel region; (d) Image of the excised lymph node. Image scale bars are 2 cm, left column represents visible light channel, and right column represents fused channel images

main diffuse fluorescence and optical tomography system for breast tumor diagnosis [J]. *J. Infrared Millim. Waves.* (张伟,高峰,武林会,马文娟,等.面向乳腺肿瘤诊断的时域扩散荧光—光学层析成像系统[J].*红外与毫米波学报*), 2013, **32**(2):181~186.

- [5] Ishizawa T, Fukushima N, Shibahara J, *et al.* Real-time identification of liver cancers by using indocyanine green fluorescent imaging [J]. *Cancer*, 2009, **115** (11) : 2491-504.

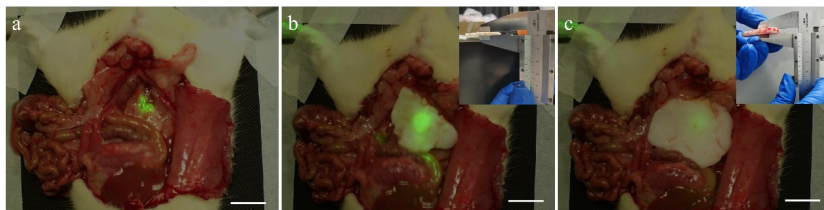


图7 从左至右依次为 (a) 无脂肪组织; (b) 2.5 mm 厚脂肪组织; (c) 4 mm 厚脂肪组织覆盖情况下的淋巴结影像, 插图为脂肪组织厚度测量结果. 图像比例尺均为 2 cm, 均为融合通道图像

Fig. 7 From left to right: (a) Lymph node image without fat tissue; (b) Lymph node image with 2.5 mm thick fat tissue; (c) Lymph node image with 4 mm thick fat tissue coverage, with an inset showing the measurement results of fat tissue thickness. Image scale bars are 2 cm, all are fused channel images.

- [6] ZHANG Weri-Qi, HU Zhen-Hua, TIAN Jie, *et al.* A narrative review of near-infrared fluorescence imaging in hepatectomy for hepatocellular carcinoma [J]. *Annals Of Translational Medicine*, 2021, **9**(2): 171.
- [7] FENG Zhe, YU Xiao-Ming, JIANG Min-Xiao, *et al.* Excretable IR-820 for in vivo NIR-II fluorescence cerebrovascular imaging and photothermal therapy of subcutaneous tumor [J]. *Theranostics*, 2019, **9**(19): 5706-5719.
- [8] QUE Bu-Jun, PENG Shi-Yi, GENG Wei-Hang, *et al.* The fluorescence in vivo wide-field microscopic imaging technology and application in the second near-infrared region [J]. *J. Infrared Millim. Waves.* (阙步军, 彭士屹, 耿伟航, 等. 近红外二区荧光宽场显微活体成像技术和应用 [J]. *红外与毫米波学报*), 2022, **41**(1): 181-198.
- [9] FENG Zhe, QIAN Jun. Advances on in vivo Fluorescence Bioimaging in the Second Near-Infrared Window [J]. *Laser & Optoelectronics Progress.* (冯哲, 钱骏. 近红外二区荧光活体生物成像技术研究进展 [J]. *激光与光电子学进展*), 2022, **59**(6): 0617001.
- [10] FENG Zhe, LI Yuan-Yuan, CHEN Si-Yi, *et al.* Engineered NIR-II fluorophores with ultralong-distance molecular packing for high-contrast deep lesion identification [J]. *Nature Communications* **14**, 5017 (2023).
- [11] Suhail Y, Cain M P, Vanaja K, *et al.* Systems Biology of Cancer Metastasis [J]. *Cell Systems*, 2019, **9** (2) : 109-127.
- [12] Van Keulen S, Hom M, White H, *et al.* The Evolution of Fluorescence-Guided Surgery [J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2023, **25**(1): 36-45.
- [13] SUN Yao, DING Ming-Min, ZENG Xiao-Dong, *et al.* Novel bright-emission small-molecule NIR-II fluorophores for in vivo tumor imaging and image-guided surgery [J]. *Chemical Science*, 2017, **8**(5): 3489-3493.
- [14] Interventional Medicine Center Association, CHA. Expert consensus on the application of near-infrared fluorescence imaging in lymph node dissection for esophageal cancer (Version 2021) [J]. *Chinese Journal of Interventional Radiology* (Electronic Edition), 2021, 09(04): 351-359. 中国医院协会介入医学中心分会. 近红外荧光成像在食管癌淋巴结清扫术中的应用专家共识(2021版) [J]. *中华介入放射学电子杂志*, 2021, 09(04): 351-359..
- [15] WU Yi-Fan, SUO Yong-Kuan, WANG Zheng, *et al.* First clinical applications for the NIR-II imaging with ICG in microsurgery [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, **10**: 1042546.
- [16] HU Zhen-Hua, FANG Cheng, LI Bo, *et al.* First-in-human liver-tumour surgery guided by multispectral fluorescence imaging in the visible and near-infrared-I/II windows [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, **4**(3) : 259-271.
- [17] SHI Xiao-Jing, ZHANG Zhe, ZHANG Ze-Yu, *et al.* Near-Infrared Window II Fluorescence Image-Guided Surgery of High-Grade Gliomas Prolongs the Progression-Free Survival of Patients [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2022, **69**(6) : 1889-1900.
- [18] QU Qiao-Jun, NIE Hui-Long, HOU Shuang, *et al.* Visualisation of pelvic autonomic nerves using NIR-II fluorescence imaging [J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2022, **49**(13): 4752-4754.
- [19] Björnsson O G, Murphy R, Chadwick V S. Physicochemical studies of indocyanine green (ICG): absorbance/concentration relationship, pH tolerance and assay precision in various solvents [J]. *Experientia*, 1982, **38** (12) : 1441-2.
- [20] LI Xue, SHAO Xiu-Mei, TANG Hen-Jing, *et al.* Inoperable pixels of 256? 1 element linear InGaAs near-infrared focal plane arrays [J]. *J. Infrared Millim. Waves.* (李雪, 邵秀梅, 唐恒敬, 等. 近红外 256*1 元 InGaAs 焦平面探测器无效像元研究 [J]. *红外与毫米波学报*), 2011, **30** (5): 409-411.
- [21] Bashkatov A, Genina E, Kochubey V, *et al.* Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2 000 nm [J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2005, **38**(15) : 2543-2555.
- [22] HONG Guo-Song, Antaris A L, DAI Hong-Jie. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, **1**(1): 0010.