

偏振光应用于癌症早期检测的研究进展

杜玲艳, 詹旭

(四川理工学院自动化与电子信息学院, 四川 自贡 643000)

摘要: 介绍了偏振光在偏振门技术、后向偏振散射光谱术、米勒矩阵测量方面的应用, 且引入了偏振门的上皮组织成像将更清晰, 后向偏振散射光谱对上皮组织细胞核的尺寸分布、粒子数密度及相对折射率的变化相当敏感, 米勒矩阵也能反映散射介质的光学特征等观点。因而认为偏振光在癌症早期检测技术中具有潜在应用意义。

关键词: 医用光学和生物技术; 偏振门; 偏振散射光谱; 米勒矩阵

中图分类号: Q632 O436.2

文献标识码: A

引言

光的偏振是指在空间某一固定观察点所观测到的光的电场方向的时间变化特性。当偏振光入射生物组织后, 其透射光或反射光的偏振状态是易测量的, 散射光的偏振退化、偏振分量之间的转换、自然光散射后偏振分量的出现都是反映组织和细胞综合结构参数、以及随机散射介质特征的信息源, 即散射光的偏振作用能产生关于生物材料的有用信息, 通过记录生物组织散射光的不同参数的时空响应, 再根据相应的数学物理模型反推可获得生物组织的结构、功能和形态信息。而肿瘤的形成往往最先反映于上皮细胞核形态学参数的变化, 如细胞核尺寸、核浆比、核染色质的增加。测量上皮细胞后向散射光谱有望检测到早期癌症信号, 从而实现早期治疗。因而偏振检测技术在生物医学中的应用成为当前国际上研究的热门课题, 主要有以下几个方面。

1 偏振门技术

1.1 原理及特点

人体表面附着一层粘性的, 多细胞的上皮组织层, 上皮组织层及其及下面的支撑结构共同构成了粘膜内层。光穿过上皮组织层时, 将被各种大小的细胞器(如线粒体和细胞核)所散射, 这些线粒体的折射率比它们周围的细胞质的折射率要高。并且细胞核的直径明显大于

光波波长^[1]。被细胞器所散射的主要是前向散射光, 但也有部分后向散射光。为了探测与发育异常有关的上皮细胞核的变化, 必须把从上皮组织层反射来的光与从下面的组织反射来的光区别开来。由于光在组织中穿过的深度大大超过了上皮细胞的厚度, 所以来自于上皮细胞的后向散射光的振幅非常小, 且容易被下层组织的漫散射背景光所遮盖。为了分析后向散射光的成份, 必须去除背景光对上皮组织层散射光的影响。偏振门技术是一种使用偏振光分离出上皮细胞的散射光的实验方法。当偏振光穿过混浊的介质如生物组织时将失去它原有的偏振性, 相比较而言, 经过了单次散射事件的散射光仍保持原有的偏振性。如果让线偏振光入射到生物组织等混浊介质上, 出射光通过另一检偏器来进行检测, 让探测部分偏振片的偏振方向与入射部分偏振片的偏振方向成不同的夹角, 如 0° 和 90° , 就可以实现偏振门技术。

1.2 偏振门技术的应用

偏振门技术已被广泛应用于组织光学成像中。Jacques 等人通过测量返回光的偏振度, 完成了生物的近表皮组织的成像^[2,3], 结果表明使用了偏振门技术的成像质量远比利用普通光成像好。Kartazayeva 等人利用圆偏振光完成了混浊介质中粒子的成像^[4], 并证明了在包含大量粒子的混浊介质内, 利用圆偏振光成像比线偏振光更优越。

收稿日期: 2010-05-20

基金项目: 四川理工学院科研启动项目(07ZR19)

作者简介: 杜玲艳(1983-), 女, 湖北枝江人, 讲师, 硕士, 主要从事组织光学方面的研究。

2 偏振散射光谱术

2.1 原理及特点

生物细胞的大量信息可以用来研究生物系统的生理过程, 还可以监视癌症或癌症前期细胞的形态和生理变化。而细胞形态学的变化概括了整个肿瘤形成的过程, 是肿瘤确诊的关键特征, 肿瘤的形成也往往最先反映于细胞形态学的变化。如癌症早期最重要的特征即表现为上皮层内肿瘤细胞的细胞核尺寸、核浆比、核染色质的增加。病理学研究表明, 若能检测到这些癌症的早期信号并治疗, 大部分患者可以痊愈^[5]。

偏振散射光谱术 (LSS) 是一种无损在体光学检测技术, 它首先探测后向偏振散射光, 而后基于米氏理论获得有关细胞形态变化的信息, 目前正成为生物医学光子学领域的一个研究热点。我们知道, 细胞核数十纳米尺寸地增加即可导致散射光谱的显著差异^[5]。且由于该技术采用光谱而不是光强作为探测量, 测量精度可以轻易突破衍射限, 不受光纤尺寸的限制。正是由于它的无损在体检测及高灵敏性, 使得近年来国内外很多研究小组都开始有关 LSS 成像机理、技术改进以及临床应用方面的研究, 并取得了一定的成果。

后向偏振散射光谱测量系统如图 1 所示, 系统主要由入射光调节部分和信号光探测部分构成。入射光调节部分的作用是产生准直的线性可见偏振光, 通过消偏振分光棱镜反射到样品表面。在散射光的检测部分, 偏振片 P2 充当检偏器的作用, 通过 P2 可以选择后向射光中与 P1 分别平行和垂直的分量。经样品所散射的光由透镜 L3 聚焦后通过光纤导入光谱仪进行探测。

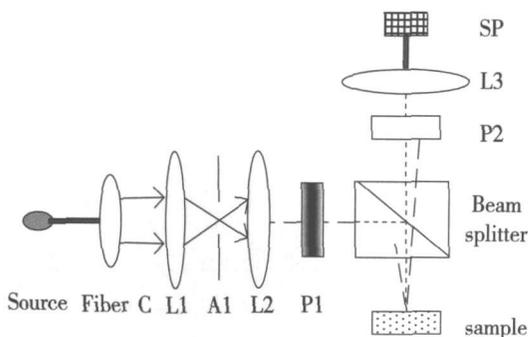


图 1 后向偏振散射差分光谱测量系统

2.2 偏振散射光谱术的应用

Bachman^[69] 通过测量上皮组织的后向偏振散射差分光谱, 结果显示了偏振散射差分光谱对上皮组织光学特性参数的敏感性, 并把细胞核看作米氏散射体, 基于米氏理论采用最小二乘法拟合光谱数据, 获得了正常的和癌变的结肠细胞核的尺寸分布、粒子数密度以及相对折射率。

Mourant 等人对 AT3.1/AT6.1 细胞以及从中分离出的细胞核的后向散射光强进行了测量, 证明了散射光的角分布对于生物组织内的散射体的尺寸的敏感性^[10]。Kim^[11] 和 Roy^[12] 等人也指出, 对偏振差分信号的光谱、散射角及方位特性的全面分析, 潜在地能探测结肠上皮组织内早期肿瘤的变化。

邓勇等^[13-14] 建立了双层散射介质的单次后向散射光谱的理论模型, 计算分析了粒子的形态学参量变化时的单次散射光谱的特征, 并用傅里叶波形法研究了形态学参量对单次后向散射光谱曲线及其谐波幅值的影响。结果表明单次散射光谱信号对表层粒子的形态学参量具有灵敏性, 且形态学参量的变化对光谱曲线的幅值、频率、散射光强都有直接影响。并通过测量随方位变化的后向漫散射光的偏振差分信号, 获得了类上皮组织模型中粒子的尺寸分布及相对折射率。

鞠栅^[15-16] 等人引入并行计算方法, 采用斯托克斯参量和米勒矩阵分别描述光子包和介质的偏振特性, 完成了可用于模拟偏振散射光谱的并行偏振蒙特卡罗程序, 并利用该程序研究了组织光学参量和入射角等参量对平均探测深度的影响, 结果表明, 组织的各向异性因子和入射角都将影响平均探测深度。

杜玲艳^[17] 等人构建了一套后向偏振散射光谱测量系统, 并将此系统初步应用于区别不同时期的鼻咽癌细胞, 结果表明常规的光谱技术很难分辨出癌变过程中不同时期的鼻咽癌细胞, 而后向偏振散射光谱可能探测到显著差异。

3 漫散射米勒矩阵

3.1 原理及特点

在细胞组织中, 亚细胞器官是很重要的散射体, 而由细胞和细胞外蛋白如弹性蛋白和胶原蛋白组成的结缔组织, 也具有强的散射特性。研究表明, 当把偏振光入射到散射介质表面时, 测量并分析入射点周围区域后向漫散射光的偏振态和光强的函数关系, 可以确定散射介质的光学特性参量, 如约化散射系数、吸收系数及粒子尺寸等^[18]。倘若入射光只是某种特定偏振态的线偏振光或圆偏振光, 测定的后向漫散射光的空间分布模式则不能全面描述散射介质的特性^[19]。如果不断改变光学系统中线偏振片及波片之间的夹角, 分别让不同偏振态的光入射到散射介质上, 即引入米勒矩阵 (4×4 矩阵) 记录高散射介质后向散射光强的空间分布。从而用来区分不同介质的光学特性。

后向漫散射米勒矩阵的测量系统如图 2 所示, 该系统分为入射光调制和信号光探测两部分。在入射光调制部分, 偏振片 P1 产生直线偏振光, 半波片 R1 作为旋

光器把线偏振光的偏振方向旋转到所需方位, $1/4$ 波片 R_2 用来产生圆偏振光, 设定 R_1 , R_2 快轴方位可以把激光调制成任意所需偏振态。在探测部分, $1/4$ 波片 R_3 和偏振片 P_2 组成一个检偏器, 调节 R_3 快轴和 P_2 偏光轴的方位角, 可以提取出信号光中任意所需偏振成分。

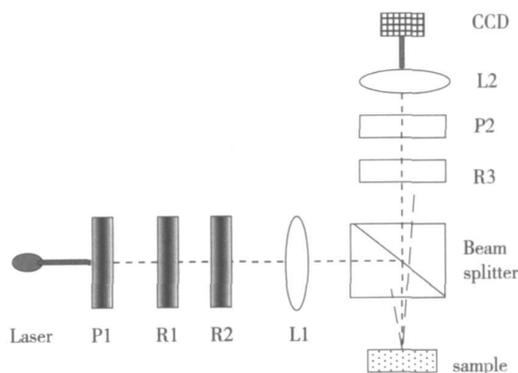


图 2 后向漫散射米勒矩阵测量系统

3.2 米勒矩阵的应用

1997年, Andreas H. Hielscher^[20]等人采用波长为 543nm 的 He-Ne 激光垂直入射到表面积为 $4 \times 4\text{cm}^2$ 的散射介质面上, 通过变换检偏器和起偏器的方向, 测量出了直径分别为 204nm 和 2040nm 的聚乙烯小球悬浮液的后向漫散射米勒矩阵, 结果表明米勒矩阵中的 M_{22} , M_{23} , M_{32} , M_{33} 四个元素中散射光强的方位变化能很好的区别两种不同尺寸的粒子, 而后又对鼠纤维细胞进行了实验, 实验证明, M_{44} 元素可用来鉴别癌和的非癌的鼠纤维细胞。

2002年, Xueding Wang^[21]等人用基于米氏散射理论的蒙特卡罗方法模拟了葡萄糖溶液中后向散射米勒矩阵, 分析了葡萄糖浓度对米勒矩阵的影响。结果表明, 当葡萄糖浓度变化时, 后向散射米勒矩阵中 M_{21} 元素的光强分布将有相应角度的旋转。因此, 可以通过分析米勒矩阵预言人体内葡萄糖浓度的变化。

2004年, Ihor Berezhnyy^[22]实验研究了混浊介质的散射米勒矩阵基于时间分辨的偏振模式。在实验中采用波长为 806nm 、频率为 76MHz 的脉冲激光以 20° 角入射到表面积为 $2.29 \times 2.29\text{cm}^2$ 的散射介质面上, 通过由时间控制的可旋转 $1/4$ 波片和偏振片来测量硅水悬浮液的散射米勒矩阵。实验证明, 对同一种粒子, 改变门信号延迟时间, 会明显影响米勒矩阵的光强分布; 且对于相同的门信号延迟时间, 米勒矩阵光强的空间分布对粒子尺寸、约化散射系数的变化都很敏感。

4 结束语

综上所述, 引入了偏振门技术的成像质量更优越; 偏振散射光谱能敏感地反映细胞形态的变化; 米勒矩阵

则能敏感地反映散射介质光学特性参量及尺寸的变化, 这些有关偏振光的应用有望在早期探测到有关细胞癌变的信息, 从而大大提高癌症的治愈率。

然而, 由于我们对生物组织偏振散射的机理性认识还不够深入, 偏振散射光谱测量系统及米勒矩阵测量系统距离产品化和临床应用还有很大的距离, 还有许多需要改进的地方。

要将这些技术应用于临床上肿瘤细胞的实时观测, 以下几个问题还急待解决:

(1) 关于偏振门机制。在组织光学中, 偏振光在生物组织内的传播仍是一个理解的不够深刻的光学现象^[23]。来自深层组织的多次散射究竟是由什么引起的, 在深层组织的散射光中, 是否仍存在着保偏性很好的光子。因此, 弄清楚偏振光在组织内的传播是至关重要的。

(2) 有关细胞的散射理论。米氏理论只是基于麦克斯韦方程组及其相应的边值条件得出的平面电磁波对于均匀小球的散射的解。我们只能是近似的用米氏理论来研究细胞的散射。那么, 肿瘤细胞形状与排列规则的变化对散射光谱会有什么影响, 上皮细胞中, 除了细胞核之外的其他细胞结构如线粒体对散射光谱的影响。

(3) 有关组织模型。我们不能很好的了解偏振门的机制, 还没有找到既能模仿生物组织形态结构的复杂性, 又能模仿生物组织的光学特性的理想组织模型。然而, 在偏振门实验中使用活组织也存在几个缺点: 首先, 活组织的光学特性和物理模型都不能按预先的方式进行变化或控制, 这一点在我们进行重复性的, 可控性实验中是至关重要的; 此外, 在某些情况下, 想要分离上皮组织和深层组织也有困难。

若上述问题得以解决, 必将进一步推动偏振光在癌症早期检测中的应用。

参考文献

- [1] Backman V, Gurjar R, Balizadegan K, et al Polarized Light Scattering Spectroscopy for Quantitative Measurement of Epithelial Cellular Structures in situ [J]. IEEE J Sel Quant Electron 1999, 5(4): 1019-1026
- [2] Jacques S L, Ranello-Roman J C, Lee K. Imaging skin pathology with polarized light [J]. J Biomed Opt 2002, 7(3): 329-340
- [3] Jacques S L, Ranello-Roman J C, Lee K. Imaging superficial tissues with polarized light [J]. Laser Surg Med 2000, 26: 119-129
- [4] Kartazayeva S A, Xiaohui N, Alfano R R. Backscattering target detection in a turbid medium by use of circularly and linearly polarized light [J]. OPTICS LETTERS, September 2005, 30(10), 1168-1170

- [5] Coffey D. Special Lecture[C]. Presented at the CapCURE 7th Annual scientific retreat Lake Tahoe, 2000 21-24
- [6] Kim Y L, Liu Y, Backman V, et al Simultaneous Measurement of Angular and Spectral Properties of Light Scattering for Characterization of Tissue Microarchitecture and Its Alteration in Early Precancer [J]. IEEE J Sel Quan Elect, 2003, 9(2): 243-256.
- [7] Gurjar R S, Backman V, Peheln L T, et al Imaging Human Epithelial Properties with Polarized Light Scattering Spectroscopy [J]. Nature Medicine, 2001, 7(11): 1245-1248.
- [8] Backman V, Gopal V, Kalashnikov M, et al Measuring cellular structure at submicrometer scale with light scattering spectroscopy [J]. IEEE J Sel Quan Elect, 2001, 7(6): 887-893
- [9] Liu Y, Kim Y L, Backman V. Development of a Bioengineered Tissue Model and its Application in the Investigation of the Depth Selectivity of Polarization Gating [J]. Applied Optics, 2005, 44(12): 2288-2299.
- [10] Mourant J R, Johnson T M, Carpenter S, et al Polarized angular dependent spectroscopy of epithelial cells and epithelial cell nuclei to determine the size scale of scattering structures [J]. Biomed Opt, 2002, 7(3): 378-387.
- [11] Kim Y, Liu Y, Wali R K, et al Simultaneous measurement of angular and spectral properties of light scattering for characterization of tissue microarchitecture and its alteration in early precancer [J]. IEEE J Sel Top Quantum Electron, 2003, 9(2): 243-257.
- [12] Roy H K, Liu Y, Wali R K, et al Four dimensional elastic light scattering fingerprints as preneoplastic markers in the rat model of colon carcinogenesis [J]. Gastroenterology, 2004, 126(4): 1071-1081.
- [13] 邓勇, 鲁强, 骆清铭. 双层散射介质的单次后向散射光谱分析 [J]. 光学学报, 2006, 26(4): 595-599
- [14] 邓勇, 鲁强, 骆清铭. 用基于方位分辨的漫后向散射光确定粒子尺寸分布及相对折射率 [J]. 光学学报, 2006, 26(8): 1214-1219.
- [15] 鞠栅, 邓勇, 鲁强. 用于偏振散射光谱术研究的并行蒙特卡罗程序 [J]. 光学学报, 2007, 27(3): 510-514.
- [16] 鞠栅, 邓勇, 鲁强. 浅表组织后向散射检测中偏振门的蒙特卡罗研究 [J]. 光学学报, 2007, 27(8): 1465-1469
- [17] 杜玲艳, 黄丹, 詹旭. 鼻咽癌后向偏振散射光谱研究 [J]. 四川理工学院学报: 自然科学版, 2009, 22(3): 110-112
- [18] Hilscher A H, Mourant J R. Influence of particle size and concentration on the diffuse backscattering of polarized light from tissue phantoms and biological cell suspensions [J]. Applied Optics, 1997, 36(1): 125-135.
- [19] 胡锐, 邓勇, 鲁强. 混浊介质二维后向漫散射米勒矩阵的测量 [J]. 光子学报, 2006, 35(6): 910-914
- [20] Andreas H, Hilscher Angelia A, Eick Judith R, Mourant et al Diffuse backscattering Mueller matrices of highly scattering media [J]. Opt Exp, 1997, 1(13): 441-454
- [21] Wang Xueming, Yao Gang, Lihong V Wang. Monte Carlo model and single-scattering approximation of polarized light propagation in turbid media containing glucose [J]. Appl Opt, 2002, 41(4): 792-801.
- [22] Ihor Berezhnyy, Aristide Dogariu. Time-resolved Mueller matrix imaging polarimetry [J]. Opt Exp, 2004, 12(19): 4635-4669.
- [23] Liu Yang, Kim Young L, Backman V. Development of a bioengineered tissue model and its application in the investigation of the depth selectivity of polarization gating [J]. Applied Optics, 2005, 44(12): 2288-2299.

Research Progress on Application of Polarized Light in Pre-cancer Detection

DU Ling-yan, ZHAN Xu

(School of Automation and Electronic Information, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract The application of polarized light in polarization gating technology, polarized backscattering spectra technology and measure of Mueller matrices are introduced comprehensively. Moreover, imaging superficial tissues with polarization gating will be more advantageous, the polarized backscattering spectrum is primarily sensitive to the size distribution, particle number density and relative refractive index of nuclei in epithelial cells, and Mueller matrix is well known to describe many optical elements and materials. It is considered that polarized light can be used for pre-cancer detection potentially.

Key words medical optics and biotechnology; polarization gating; polarized scattering spectrum; Mueller matrix