

文章编号: 1001-2486(2001)04-0078-05

## 脑功能光学成像研究进展\*

胡德文, 雷震

(国防科技大学自动控制系, 湖南长沙 410073)

**摘要:** 首先对脑功能成像技术的研究背景和发展历程进行了简单的回顾, 然后对脑功能光学成像方法进行了分类综述, 主要介绍了电压敏感性染色成像、内源光学成像、光学相干层析成像、神经元活动相关光信号成像等成像方法的原理和最新进展, 并总结了选择光学成像系统所应考虑的因素, 最后, 通过对各种成像方法的分析和比较, 提出了改进和完善脑功能光学成像技术的建议, 并对脑功能光学成像技术的发展前景指出了一些可能的方向。

**关键词:** 脑功能成像; 内源信号; 电压敏感染料; 光学相干层析; 神经元活动相关光信号

中图分类号: Q632 文献标识码: A

## Optical Imaging of Functional Brain: An Introductory Review

HU De-wen, LEI Zhen

(Department of Automatic Control, National Univ. of Defense Technology, Changsha 410073, China)

**Abstract:** The background and development of functional brain imaging are briefly reviewed. The optical imaging technologies of brain function are then introduced and classified. Several methods including voltage sensitive dyes imaging, optical imaging based on intrinsic signals, optical coherence tomography imaging, event-related optical signals imaging are summarized and compared, and the key factors of how to choose an optical imaging system recording fast brain activity are summed up. Based on the analysis and comparison, we suggest how to improve functional brain imaging technologies and point out possible directions for further research.

**Key words:** functional brain imaging; intrinsic signals; voltage sensitive dyes; optical coherence tomography; event-related optical signals

人类和动物处理信息的超凡能力发生在大脑难以置信的复杂活动中, 而对大脑这种复杂活动的工作机制的研究是 21 世纪科学研究中最具有挑战性的研究课题之一<sup>[1]</sup>。

脑功能成像是以神经活动产生的血流或代谢方面的变化为信号, 经过图像处理并运用成像技术, 将脑的活动以直观的图像形式表达出来。近年来, 应用脑图像观察脑的功能已引起学术界的广泛注意, 各种研究脑功能的技术不断地得到完善和发展, 并取得了较大的进展。在脑功能成像中, 虽然正电子发射断层显像技术 (PET) 和功能磁共振成像技术 (fMRI) 特别吸引人, 但直到最近, 诸如 PET 和 fMRI 技术所能达到的映射准确度的水平还很有限。Amiram Grinvald 创造了一种建立于跟踪因提供氧给激活的“微处理器”而引起的血液颜色变化的光学成像方法<sup>[2]</sup>。使用这种技术, 能够得到很高的时空分辨率, 可以完全地映射出个体皮层柱——大脑的“微处理器”。

目前应用比较广泛的光学成像方法是: 内源光学成像和利用电压敏感染料的染色成像法。这两种方法都是通过探测相应的脑组织的电活动或局部新陈代谢活动所引起的光学性质的微小变化来进行功能成像的。

光学成像技术正处于迅速发展时期, 它在脑科学研究领域的使用日益广泛, 以前主要应用于研究视觉皮层, 近几年已经开始出现了研究听觉皮层的工作。在诸多的成像方法中光学成像方法之所以能够异军突起, 是因为它具有以下其它方法所无法比拟的优点: (1) 基于脑活动时脑内组织光学性质变

\* 收稿日期: 2001-04-05

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (00JJY2060); 中科院模式识别国家重点实验室开放课题基金资助项目; 校预研基金项目基金资助项目 (JC00-03-012)

作者简介: 胡德文 (1963-), 男, 教授, 博士。

化的光学成像技术能够对活脑的皮层激活区进行更为直接的成像。(2)相对于fMRI技术来说,这种技术具有更高的时空分辨率,它是唯一有希望满足用来研究神经元集合的动力学和功能组织所需要的时空分辨率的成像技术。(3)它的成本较fMRI等低廉。(4)光学成像系统的体积小、重量轻,特征信号较易获得,具有成熟的技术支撑背景。因而可以预见脑功能光学成像方法将在脑功能的研究中发挥越来越大的作用。

下面来介绍几类有代表性的脑功能光学成像技术,并具体介绍各种方法的主要特点。

## 1 染色成像技术 (Voltage Sensitive Dye Imaging, VSD)

染色成像技术是最早对神经元活动进行成像的方法之一,后面将要提到的内源光学成像技术就是从电压敏感染料的光学成像技术<sup>[3]</sup>的基础上发展而来的。运用适当的染料(常用的染料为电压敏感染料)对皮层直接染色,可以大为增强用普通成像设备取得脑功能活动图像的能力。

此方法的基本原理是通过观察细胞膜电势的改变来识别神经是否在活动。电压敏感染料是一种能够作为反应细胞膜电势改变的光学传感器的化合物。这种物质可用于对活体标本进行染色,应用于大脑时,它们附着在活体细胞膜的外表层而不影响它们的正常功能。一旦被引入标本,电压敏感染料将会随着神经细胞膜电势的功能改变迅速改变它们发出的荧光的强度和波长。

最早,在用电压敏感染料的光学实验中,首次观察到光散射信号,并在海马脑片的试验中用与染料吸收带有一定波长差的散射光所成图像相减的方法去校正。它可以结合内源信号光学成像方法,或是探针记录方法,进行脑功能活动的多方位研究,因而是目前正运用的一种方法。

从最初的哺乳动物的脑片VSD成像结果表明,这种光学成像技术是对哺乳动物进行在体实验研究的有力工具<sup>[3-5]</sup>。虽然使用染料,不可避免会带来潜在的光毒性和药理学方面的影响,而且染料的价格太高,但用来克服这种技术的缺陷的多种尝试已被成功实施,并且随着新型染料的出现和未来在体探针遗传工程的发展,将会使实验更加容易,而且会使这种技术的应用范围更加广泛。

## 2 内源光学成像技术 (optical imaging based on intrinsic signals)

现在我们讨论的内源光学成像技术中所指的内源信号,是指那些由神经元活动所引起的有关物质成分、运动状态的改变而导致其光学特性的变化在与某些特定波长的光子相互作用后得到的包含了这些特性的光信号。Frostig等人的研究表明<sup>[6]</sup>,内源信号至少包含3种成分:(1)局部血流量的变化。(2)血红蛋白氧饱和水平的变化。(3)散射光的变化。

在这里,我们把内源光学成像进一步细分为两种,即开窗型内源光学成像、无损伤内源光学成像。下面分别加以阐述:

### 2.1 开窗型内源光学成像

1986年由Grinvald提出了一种基于内源信号的脑光学成像技术(optical imaging based on intrinsic signals),并观察到了大脑皮层的功能构筑<sup>[2]</sup>。开窗型内源光学成像技术是目前空间分辨率最高的一种脑成像技术。由于不用毒性染料,这种技术很适合于活体在位记录和长期记录,甚至可以在神经外科手术时对人进行实验<sup>[7]</sup>。据目前所知,世界上已有两个实验室对人进行了实验。

在国内,复旦大学生命科学院脑科学研究中心和立人实验室的寿天德教授一组自行研制了国内第1套基于内源信号的脑功能光学成像系统<sup>[8]</sup>,成功地活体显示了猫视皮层的方位功能柱,并发现相差90°的不同光栅刺激引起的方位图在空间上大体呈镶嵌互补关系<sup>[9]</sup>。并用脑光学成像术研究了不同空间拓扑位置对应的皮层区的对光栅刺激空间频率的反应特性,试验结果表明,猫的初级视皮层方位功能图的空间频率反应除了具有柱状分布特点外,还随皮层对应的视网膜空间拓扑位置而变化,进而推断空间频率柱的分布可能有赖于其空间拓扑位置<sup>[10]</sup>。另外,由文献[11]可知,他们还对猫初级视皮层较大范围内的水平—垂直方位光栅刺激敏感区和倾斜方位光栅刺激敏感区的大小及其反应强度进行了定量分析。结果澄清了以往一些电生理研究结果的不同,并为方位倾斜这一心理效应提供了更为可靠的生理学解释。

开窗型内源光学成像技术提供了相对来说比较高的空间分辨率,在目前已达到约0.1mm的高空间分辨率和每秒25帧以上的视频速度<sup>[12]</sup>,具有可连续长时间记录、使用简便、费用较低等特点。这使它很适合皮层区内的组织功能映射,成为在各种脑功能研究中的有力工具。

## 2.2 无损伤内源光学成像

除了开窗实验外,通过薄的颅骨和通过硬脑膜获得皮层图的工作可以实现无损伤脑功能内源光学成像。国外已有不开颅就可进行内源信号的记录的报告<sup>[13]</sup>。Frostig等人于1990年及Masino等人于1993年成功地进行了这类实验研究。它们采用了贯穿组织深度比短波长更好的红外光进行研究,在猫的不透明的硬脑膜保留的情况下,所观察的视皮层的“方位柱”与直接剥露皮层成像所得到的结果一样。这类方法除用于薄颅骨的实验动物,还可用于婴儿的脑功能研究,也可将实验对象的颅骨刮薄以利于研究。

无损伤的内源光学成像,因其适用于人脑的研究,以后还会大大加强这方面的研究工作。随着光电技术的发展,这种通过无损伤的手段来进行脑研究的技术日趋成熟,将会成为一种非常具有挑战性的功能成像方法。

另外,内源光学成像方法可以结合解剖学方法例如单神经元的生物胞素标注来阐明神经构筑和功能的联系。为探测皮层动力学,内源光学成像也可结合前面提到的利用电压敏感染料的染色成像方法。

## 3 光学相干层析成像技术 (Optical Coherence Tomography, OCT)

层析成像技术,是人类在诊断学中重要的工具。基于光学弱相干反射测量而发展起来的光学相干层析 (Optical Coherence Tomography, 简称 OCT) 成像是一种新型成像技术。它采用低相干的近红外光作为光源,采用迈克尔逊干涉仪进行相干选通,就可以得到只包含尺度相应于相干长度的一薄层生物组织的信息的信号。它是集生物学、医学、光学及信息图像处理技术为一体的新技术,目前主要用于对人眼和其它生物组织进行层析成像。

清华大学现代应用物理系单原子分子测控实验室的陈炜、薛平等建立了国内第一台以超辐射发光二极管 (SLD) 和超短脉冲飞秒激光为光源的光纤化光学相干层析成像研究系统<sup>[14]</sup>。另外,他们在国内还首次将 OCT 技术应用于医学研究领域。

光学相干层析成像技术将新发展的光学技术与超灵敏探测合为一体,加上现代计算机图像处理,已经发展成为一门新兴的层析成像诊断技术,与纤维光学和内窥镜系统相结合可形成临床实用设备,用于体内检测或治疗过程的监控是很有前途的。借助内窥镜系统, OCT 技术可以诊断浅表组织层中早期的胃肠道癌,达到可完全治愈水平。

由于采用的是光学成像,避免了辐射等造成的潜在危害,因而对人体组织发育将提供安全的监测手段。与其它医学中常用的光学、光谱测量方法及诸多成像方法相比, OCT 具有高时空分辨和在体测量,操作简单、高灵敏度、大动态范围等特点,同时还可进行非侵入的无损探测和快速、实时的活体测量等。

## 4 干涉成像光谱方法 (Spectroscopy Technology of Interference Imaging)

干涉成像光谱方法是一种研究脑功能的新方法,也是当前研究的一个热点。用来成像的干涉成像光谱仪是20世纪80年代末发展起来的一种较先进的新型成像光谱仪。

干涉成像光谱在原理上具有高光谱分辨率与高“能量穿透力”等优点,适于对可见和红外弱辐射的探测。理论分析表明,在相同情况下,与典型色散型成像光谱仪相比,干涉成像光谱的能量通过力要高300倍左右,而光谱分辨率一般也高两个数量级以上。但是,由于一般的干涉成像光谱仪中都必须有一套精度要求很高的动镜系统,给研制带来了许多困难。为了克服这一问题,90年代以来,国际上出现了一种新型干涉成像光谱技术——无动镜干涉成像光谱技术。

在干涉成像光谱技术中,代表性的原理有:使用迈克尔逊干涉仪的时间调制干涉成像光谱方法以

及使用萨纳克干涉仪的空间调制干涉成像光谱方法<sup>[12]</sup>。它们的共同特点是：有很高的利用目标总信息的能力，即所谓高通量特点；有高的光谱分辨率；有宽的光谱范围，最重要的是提取目标信号的同时还可以得到目标的图像。正由于这类新技术具有得到目标图像与光谱的能力，所以它们在人脑功能研究中具有重要的使用价值。若将这类技术与无损伤脑功能成像技术融合起来，这将是脑功能研究中的一种有深远意义的新型成像技术。

西安光机所的安葆青、相里斌等研制的大孔径静态干涉成像光谱仪——LAS形式，具有原理简单、能量通过力高、成本低（不高于色散型成像光谱仪的研制成本）、体积超小等优点。详细内容参考文献[15]

## 5 神经元活动相关光信号成像（Event-Related Optical Signals, EROS）

神经元活动相关光信号这类内源信号是由光学散射特性变化所引起的，这种散射改变伴随随皮层活动时水和离子的活动、毛细血管的膨胀以及神经递质的释放等过程。根据光的散射理论可知，光通过介质时介质中的粒子以及粒子分布的密度涨落都可以导致光散射的发生，而神经元的活动即是由上述的水和离子的活动、细胞的泳动、细胞外空间膨胀和收缩等微过程所组成，因而神经元活动直接导致了散射光的改变，由此可知散射光信号的时间过程是快捷的。

Frostig 等人在研究海马脑片时发现，与神经元活动有着直接联系的散射光信号幅度很微弱，仅占 0.01%，尽管这些快速的散射光信号很微弱，但由于它更能直接反映神经元的活动，所以很值得加以细致的研究。G. Gratton 和 M. Fabianic 领导的实验室力图实现散射光的优点，利用从纤维光源来的近红外光去研究人脑活动的变化<sup>[16]</sup>，他们称此方法为 EROS，即与事件相关的光学信号。当纤维光源置于头皮时光贯穿颅骨进入颅内并被脑组织散射。EROS 用置于头皮的感光器件，他们仅距光源几厘米去测量光通过的时间。EROS 具有与 EEG 相似的时间分辨率。用移动探测器探测光出现的时间，EROS 也可定位散射变化的源头，定位精度约为 1cm。

文献[17]中的结果表明：通过视觉刺激由枕骨皮层引出的快速 EROS 响应（潜伏期约 100ms）具有亚厘米级的空间定位和亚秒级的时间分辨率。另外，G. Gratton 等人研究了是否激活区的深度也能够被估计出来<sup>[18]</sup>。实验表明多源探测器距离可用来估计引起 EROS 信号的皮层区深度。

神经元活动相关光信号技术直接地探测反应神经元活动的光散射信号，是一种非侵入性研究特定脑区活动的时间过程的方法。以前的数据表明 EROS 具有较高的时间分辨率，并能够提供细微的表层激活映射。

## 6 结论和分析

从目前的研究成果来看，理想的脑功能成像技术至少需要考虑以下几个方面：（1）最好是无损伤性。这种方法不仅适用于人脑的研究，而且能够满足某些研究工作及临床应用的要求；（2）能够进行三维的、动态的成像。（3）具有高时空分辨率。（4）有成熟的技术支撑。（5）成本适中。

由以上分析可知，脑功能光学成像技术是一个很有发展潜力的前沿课题，尤其是利用内源光学信号的成像技术，更为研究脑的高级认知功能提供了强有力的工具。由于具有空间的高分辨本领和快速性、可连续长时间记录、费用较低、设备成本不高、使用简便等特点，显然还将继续在动物和幼儿的脑研究以及某些特定场合中发挥作用，成为很有前景的脑功能光学成像技术。

今后将会大力加强无损伤的人脑成像和光谱方法学和仪器的研究。由于近红外光的高穿透组织的能力，并且一定强度的近红外光对人体组织不会造成伤害，因而基于近红外内源光学信号的层析功能成像或定域谱方法将会大大增强脑功能研究的能力。

以上所谈到的多种脑功能光学成像方法各有千秋。虽然光学成像方法能够得到高的时间分辨率和空间分辨率，但是其穿透脑壳的能力毕竟有限。并且所有无损伤探测方法都不能满足所有要求，但可能在现有的观察设备基础上，将工作深入一步。值得提出的是脑的光学成像方法与其它方法有很强的互补性，如果将以上的光学成像方法和传统的神经解剖学及神经生理学技术相结合，并运用单个神经

元记录方法,将会使直接观察神经元集合更加容易。另外,在不断改进和完善脑功能成像技术的同时如果能够注意与其他脑研究手段结合起来是非常重要的,例如在用脑成像技术研究脑的功能区及其相互关系时,采用分子生物学、生理学等多种手段结合的方式对功能区的构造和特点进行细致的研究,将会大大有助于我们对脑功能本质的理解。

### 参考文献:

- [1] 包尚联,王卫东. 脑功能成像技术的进展 [A]. 中国医学物理年会报告,1998.
- [2] Grinvald A, Lieke E, Frostig RD et al. Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals [J]. *Nature*, 1986: 324 - 364.
- [3] Grinvald A, et al. Visualization of the spread of electrical activity in rat hippocampal slices by voltage sensitive optical probes [J]. *J Physiol.*, 1982, 333: 269 - 291.
- [4] Orbach, H. S., Cohen, L. B.. Optical monitoring of activity from many areas of the in vitro and in vivo salamander olfactory bulb: a new method for studying functional organization in the vertebrate central nervous system [J]. *J. Neurosci.*, 1983, 3, 2251 - 2262
- [5] Lieke, E. E., Frostig, R. D., Arieli, A., Ts'o, D. Y., Hildesheim, R., Grinvald, A.. Optical imaging of cortical activity; Real-time imaging using extrinsic dye signals and high resolution imaging based on slow intrinsic signals [J]. *Annu Rev of Physiol*, 1989, 51: 543 - 559.
- [6] Frostig RD, Lieke EE, Ts'o Dan, et al. Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in-vivo high resolution optical imaging of intrinsic signals [J]. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1990, 87: 6082 - 6086.
- [7] Haglund M M, Ojemann G A, Hochman D W. Optical imaging of epileptiform and functional activity in human cerebral cortex [J]. *Nature*, 1992, 385: 668 - 671.
- [8] 张, 俞洪波, 寿天德. 基于内源信号的脑光学成像系统的研制 [J]. *生物物理学报*, 1999, 21 (3): 597 - 604.
- [9] 俞洪波, 寿天德. 脑光学成像术揭示的猫初级视皮层方位倾向性效应 [J]. *生理学报*, 2000, 52, 431 - 434.
- [10] 俞洪波, 寿天德. 用脑光学成像术研究不同空间拓扑位置猫初级视皮层的空间频率反应特性 [J]. *生理学报*, 2000, 52 (5): 411 - 415.
- [11] 俞洪波, 刑大军, 寿天德. 脑内源信号光学成像术: 视皮层的方位功能柱的活体显示 [J]. *中国神经科学杂志*, 2000, 16, 352 - 359
- [12] 唐孝威主编. 脑功能成像 [M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999: 126 - 143.
- [13] Bonhoeffer T, Grinvald A.. Optical imaging based on intrinsic signals: the methodology [A]. In: Toga AW, Mazziotta. Eds. *Brain Mapping: The Methods*. San Digo: Academic, 1996, 55 - 97.
- [14] 陈炜, 薛平, 袁韬, 陈颀延. 新型成像技术的实验系统研究 [J]. *光学技术*, 2000, 26 (3): 217 - 219, 221.
- [15] 安葆青, 相里斌, 高瞻. 一种新型干涉成像光谱仪光学系统研究 [J]. *光学技术*, 1999, 1.
- [16] M Barinaga. New imaging methods provide a better view into the brain. *Science*. 1997, 276 (27): 1974 - 1976.
- [17] Gabriele Gratton, Monica Fabiani, Paul M. Corballis, Donald C. Hood, Marsha R. Goodman-Wood, Joy Hirsch, Karl Kim, David Friedman, Enrico Gratton. Fast and Localized Event-Related Optical Signals (EROS) in the Human Occipital Cortex: Comparisons with the Visual Evoked Potential and fMRI [J]. *NeuroImage*, 1997, 6 (3).
- [18] Gabriele Gratton, Anita Sarno, Ed Maclin, Paul M. Corballis, Monica Fabiani. Toward Noninvasive 3-D Imaging of the Time Course of Cortical Activity: Investigation of the Depth of the Event-Related Optical Signal [J]. *NeuroImage*, 2000, 11 (5).



