

## 面向先进生物医学应用的光声显微成像术(特邀)

马海钢<sup>1,2,3\*</sup>, 吴家辉<sup>1,2,3</sup>, 朱亚辉<sup>1,2,3</sup>, 魏翔<sup>1,2,3</sup>, 于音什<sup>1,2,3</sup>, 任世利<sup>1,2,3</sup>, 陈钱<sup>1,2,3</sup>, 左超<sup>1,2,3\*\*</sup><sup>1</sup>南京理工大学电子工程与光电技术学院智能计算成像实验室(SCILab), 江苏 南京 210094;<sup>2</sup>南京理工大学江苏省光谱成像与智能感知重点实验室, 江苏 南京 210094;<sup>3</sup>南京理工大学智能计算成像研究院(SCIRI), 江苏 南京 210019

**摘要** 光声显微成像(PAM)是一种具有无损、多功能、高分辨率等特点的生物医学成像技术,通过检测光声信号进行图像重建可实现高分辨率和高深度的结构和功能成像,在生命科学、基础医学和医疗诊断中发挥着越来越重要的作用。首先概述光声显微技术的发展背景和原理特点,然后对利用光学增强、声学增强、人工智能增强及光学与声学互补的光声显微成像术促进成像性能提升的方法进行论述,最后讨论当前光声显微技术在生物医学研究中的广泛应用,并对未来技术的发展趋势进行展望。

**关键词** 生物医学影像; 光声显微成像; 高分辨; 多功能; 无损

中图分类号 O436

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP232447

## Photoacoustic Microscopy Imaging for Advanced Biomedical Applications (Invited)

Ma Haigang<sup>1,2,3\*</sup>, Wu Jiahui<sup>1,2,3</sup>, Zhu Yahui<sup>1,2,3</sup>, Wei Xiang<sup>1,2,3</sup>, Yu Yinshi<sup>1,2,3</sup>,  
Ren Shili<sup>1,2,3</sup>, Chen Qian<sup>1,2,3</sup>, Zuo Chao<sup>1,2,3\*\*</sup><sup>1</sup>Smart Computational Imaging Laboratory (SCILab), School of Electronic and Optical Engineering,  
Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, Jiangsu, China;<sup>2</sup>Jiangsu Key Laboratory of Spectral Imaging and Intelligence Sense, Nanjing University of Science and  
Technology, Nanjing 210094, Jiangsu, China;<sup>3</sup>Smart Computational Imaging Research Institute (SCIRI), Nanjing University of Science and Technology,  
Nanjing 210019, Jiangsu, China

**Abstract** Photoacoustic microscopy (PAM) is a noninvasive imaging technique that has undergone remarkable advancements and applications in the field of life sciences, basic medical research, and medical diagnostics. It operates on the unique principles of detecting photoacoustic signals and reconstructing them to create high-resolution, in-depth structural and functional images. This paper offers a comprehensive overview of the developmental background and unique principles behind photoacoustic microscopy. As we delve deeper, we explored various methods that have been employed to boost imaging performance. These include, but are not limited to, optical enhancement, acoustic enhancement, exploitation of artificial intelligence to augment the entire process. Moreover, there has been a significant focus on the harmonious integration of optics and acoustics in PAM. Ultimately, we discussed the extensive applications of current PAM in modern biomedical research and provided insights into the future developmental trends of this technique.

**Key words** biomedical imaging; photoacoustic microscopy; high-resolution; multi-function; non-destruction

## 1 引言

在微观与宏观层面上的生物组织可视化成像技术具有显著的科学价值,这些成像技术能够促进对生理

学和病理学问题的理解,实现对如糖尿病、肿瘤等疾病的诊断,以及对血红蛋白氧饱和度的实时成像和血糖检测,从而进行人体健康监测<sup>[1-4]</sup>。然而,当前的传统成像技术存在各种局限性,包括成像速度慢、图像分辨

收稿日期: 2023-11-07; 修回日期: 2023-12-14; 录用日期: 2023-12-21; 网络首发日期: 2024-02-02

基金项目: 国家自然科学基金(62275121, 12204239)、国家重大科研仪器研制项目(62227818)、国家重点研发计划(2022YFB2804600, 2022YFB2804603)、江苏省自然科学基金(BK20220946)、中央高校基本科研业务费专项资金资助(30923011024)

通信作者: \*mahaigang@njust.edu.cn; \*\*zuocho@njust.edu.cn

率不足及视场受限,这些因素都阻碍了相关领域的发展。例如:正电子发射断层扫描和功能性磁共振成像虽然提供了优异的穿透力,但空间和时间分辨率均较低;共焦显微镜和多光子显微镜等光学成像技术广泛应用于生物组织的高分辨率成像<sup>[5]</sup>,但由于生物组织是强散射介质,因此使用光学显微镜观察厚生物组织内部结构时会受到穿透深度的限制;虽然超声成像技术具有大穿透深度和高分辨率的特性,但仍然存在灵敏度和对比度不足的问题<sup>[6]</sup>。光声成像(PAI)是利用光声(PA)效应衍生的一种新兴的、发展迅速的非侵入式检测技术<sup>[7-12]</sup>,即将分布在生物组织中的光能和被生物分子吸收的光能部分或全部转换为热能,然后通过热弹性膨胀产生 PA 压力波,超声传感器捕获这些光声波,并通过对声信号进行分析处理从而进行图像重建。因此,与传统成像技术相比,光声成像技术不仅具有超声成像的深层穿透能力,还具有光学成像的高对比度和高分辨率等优点。根据成像系统的结构差异,PAI 可以划分为光声断层成像(PACT)、光声内窥成像(PAE)和光声显微成像(PAM)3 种主要成像方式。其中,PAM 具有从亚微米到亚毫米级的超高空间分辨率,并且由于生物组织对超声波的散射效应比对光子弱 2~3 个数量级,PAM 的成像深度可达数毫米,可以提供关于生物组织的结构、代谢、功能、分子对比及力学等信息<sup>[13-18]</sup>。与 PACT 相比,PAM 仅依靠逐点扫描

的方式获取光声信号,并且无需复杂的图像重建算法即可进行成像,在生物医学领域具有巨大的应用价值<sup>[16-18]</sup>。

PAM 是一种聚焦型成像技术,根据所使用的焦点类型,通常分为光学焦点 PAM 和声学焦点 PAM<sup>[18-19]</sup>,即光学分辨率 PAM(OR-PAM)和声学分辨率 PAM(AR-PAM)。OR-PAM 的横向分辨率取决于光学焦点的大小,具有微米级甚至亚微米级的横向分辨率,从而实现细胞器和细胞水平的成像,但成像深度较浅,仅为 1~2 mm。而 AR-PAM 采用更紧密的声学聚焦方式,通过利用弱光学和紧密的声学聚焦,可以实现超出生物组织光学扩散极限的深部组织成像。AR-PAM 的横向分辨率取决于超声换能器的中心频率和所使用的声学透镜。Maslov 等<sup>[20]</sup>采用频率为 50 MHz 的超声换能器和数值孔径(NA)为 0.44 的声学透镜,使得成像的横向分辨率和轴向分辨率分别达到了 45  $\mu\text{m}$  和 15  $\mu\text{m}$ ,而且成像深度高达 3 mm。AR-PAM 使用超高频超声换能器,可以提高轴向分辨率,但会限制成像深度。PAM 为了最大化成像系统的探测灵敏度,通常将激发光和超声探测设置为共轴共焦。如图 1 所示,常见的 PAM 实现方式可以分为 3 类,包括典型的透射式和反射式光声成像及基于暗场照明的光声成像。OR-PAM 可以在透射模式下工作,也可以在反射模式下工作,透射模式通常适用于对较薄的生物样品进行成像,

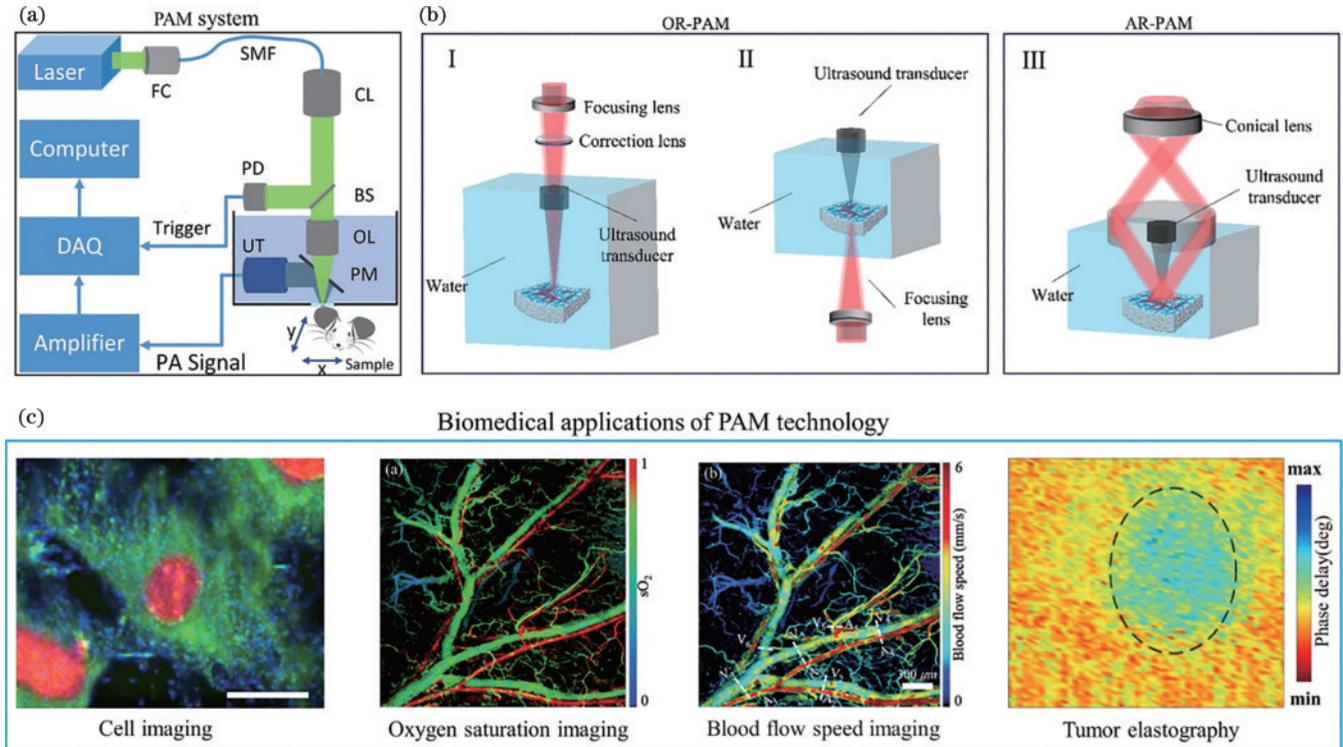


图 1 PAM 方式及其生物医学应用。(a)PAM 系统<sup>[16]</sup>; (b)PAM 系统的实现方式<sup>[18]</sup>, I 为透射式 OR-PAM, II 为反射式 OR-PAM, III 为基于暗场照明的 AR-PAM; (c)光声成像在生物医学上的应用<sup>[14, 17-18]</sup>  
 Fig. 1 PAM modalities and their biomedical applications. (a) PAM system<sup>[16]</sup>; (b) realizations of PAM systems<sup>[18]</sup>, I represents transmissive OR-PAM, II represents reflective OR-PAM, III represents AR-PAM based on dark-field illumination; (c) photoacoustic imaging in biomedical<sup>[14, 17-18]</sup>

而反射模式在活体成像中更为方便。AR-PAM 通常采用暗场照明,激光经锥形透镜后呈环形,首先通过聚光镜的反射在样本表面实现弱聚焦,然后在高频超声换能器的作用下可实现更紧密的声学聚焦,这种结构形式可以增大显微成像的深度。

近年来,光声显微成像技术一直处于快速发展阶段,在生物医学领域得到了广泛应用和研究,如对血管组织、皮肤组织和脑功能等的高分辨成像。然而,光声显微成像技术仍然存在一些挑战和限制,如成像深度和成像速度的限制,设备的成本和体积也是制约光声显微成像技术推广的因素。为了克服这些挑战,科研人员通过优化成像系统的设计和参数选择,在成像的分辨率、灵敏度和深度等方面取得了重大进展。为此,本文综述了光声显微成像技术的发展现状和最新的应用研究进展,旨在让相关领域的人士了解光声显微成像技术的发展历程,以促进开发更加高效的方法。本文结合近期研究,介绍了光学增强的光声显微成像术和声学增强的光声显微成像术,还介绍了人工智能增强的光声显微成像术和光学与声学互补的光声显微成像术,然后介绍了典型的 PAM 在生物组织的结构和功能显微成像方面的研究,最后总结了光声显微成像技术发展面临的挑战,并对 PAM 技术未来的发展方向进行展望。

## 2 光学增强的光声显微成像术

光学分辨率提升是光声显微成像技术获得高分辨率的关键。将针对光学分辨率的提升从两个方面进行详细阐述:首先,采用新型光学元件,如超透镜、贝塞尔光束及变焦透镜等,对光束进行整形以促进 PAM 性能提升,获得更高的空间分辨率;其次,利用空间光处理技术实现对入射光波前的精确控制,如使用空间光调制器进行波前整形,可以实现更精细和更复杂的光子聚焦模式,从而显著提升 PAM 的成像性能。

### 2.1 光束整形促进光声显微成像性能提升

PAM 性能的提升与光学参数配置的优化息息相关。合理的光学设计可以充分发挥光声成像的潜力,实现对细胞和亚细胞结构的精确动态成像。采用超透镜可突破传统光学衍射极限,获得更高空间分辨率。贝塞尔非球面波照明可在不牺牲焦点尺寸的情况下扩大景深。同时,变焦透镜的引入可实现无损变焦,动态调整照射区域和分辨率,全面提升光声显微成像的性能。通过创新的光学设计,PAM 必将可以实现更精细的成像。

#### 2.1.1 基于超透镜的光声显微成像术

亚波长成像在医学超声、无损检测和光声显微中具有关键应用价值。传统的成像方式受到衍射极限的限制,因为物体中的亚波长细节会在远离物体时呈指数级衰减。这些衰减波携带大量的横向波矢量。均匀介质的色散关系<sup>[21]</sup>为

$$k^2 = k_{\perp}^2 + k_{\parallel}^2 = (2\pi/\lambda)^2, \quad (1)$$

式中: $k_{\perp}$ 为纵向波矢大小; $k_{\parallel}$ 为横向波矢大小; $\lambda$ 为波长。可以看出,如果横向波矢大小 $k_{\parallel}$ 超过 $2\pi/\lambda$ ,那么纵向波矢大小 $k_{\perp}$ 就必须是虚数。简而言之,如果横向波矢过大,波将从源头迅速衰减。散射的声波包含传播波和渐逝波两种,为了打破衍射的限制,需要在渐逝波太弱无法检测之前就传输和捕获它们。在这里主要介绍放大渐逝波并在近场捕获的方法,该方法所谓的超透镜的基础<sup>[22-24]</sup>。超透镜是负折射率材料制成的透镜,它由 Pendry<sup>[22]</sup>在光学中首次提出。在传统的透镜中,图像的清晰度总是受到衍射极限的制约,这使传统透镜无法实现最小聚焦光斑。而 Pendry 发现在负折射率材料中,渐逝波可以被强烈放大,当这些波离开负折射率材料后,它们在成像平面衰减并得到重新构建,从而实现了完美成像。这种机制也同样适用于声波。尽管共振造成的材料损失对声学超透镜的性能造成了一定的限制,但已取得了一些令人鼓舞的进展<sup>[25-27]</sup>。Kaina 等<sup>[25]</sup>通过使用汽水罐构成的结构,已经实验验证了负折射率声学超透镜的概念。通常情况下,汽水罐仅产生单极共振,并导致一个负参数,即负有效体积模量。但是,通过打破单个负超材料的对称性,足以将其变成双负超材料,研究人员发现带隙中出现了一个展现负折射率的窄带。这种负折射率主要是由两个谐振器之间的多次散射所引起的。研究进一步验证了该负折射率声学超透镜的亚波长聚焦和成像能力,并发现其光斑宽度和分辨率分别比衍射极限下的高 7 倍和 3.5 倍,如图 2 所示。2023 年,Cao 等<sup>[28]</sup>设计了一种针形光束光声显微镜,该显微镜可以通过定制的衍射光学元件将景深扩展到大约瑞利长度的 28 倍,同时保持相对恒定的光束直径、均匀的轴向强度分布和可忽略的旁瓣。

亚波长成像技术在医学超声、无损检测和光声显微领域展现了重要的应用潜力。然而,传统成像方法受衍射极限的束缚,难以捕获和传输物体中的亚波长细节。负折射率材料的出现为打破这一限制提供了可能,它能够放大渐逝波并在近场中捕获该波,实现超透镜的功能。尽管当前的声学超透镜在材料损失方面存在一定的挑战,但通过创新的结构设计和材料优化,已取得大量的实验进展,为实现高分辨率和亚波长聚焦提供了有力证明。未来可以通过继续深化对负折射率材料的理解和优化设计,有望进一步推动亚波长成像技术的发展,为各领域的高分辨率成像应用打开新的可能。

#### 2.1.2 基于贝塞尔光束的光声显微成像术

OR-PAM 的分辨率主要受到光学衍射极限的限制,其范围从微米到亚微米。如引言部分所述,OR-PAM 的工作模式主要可以分为透射式和反射式。在透射式工作模式下,激光照明和光声信号检测通常位

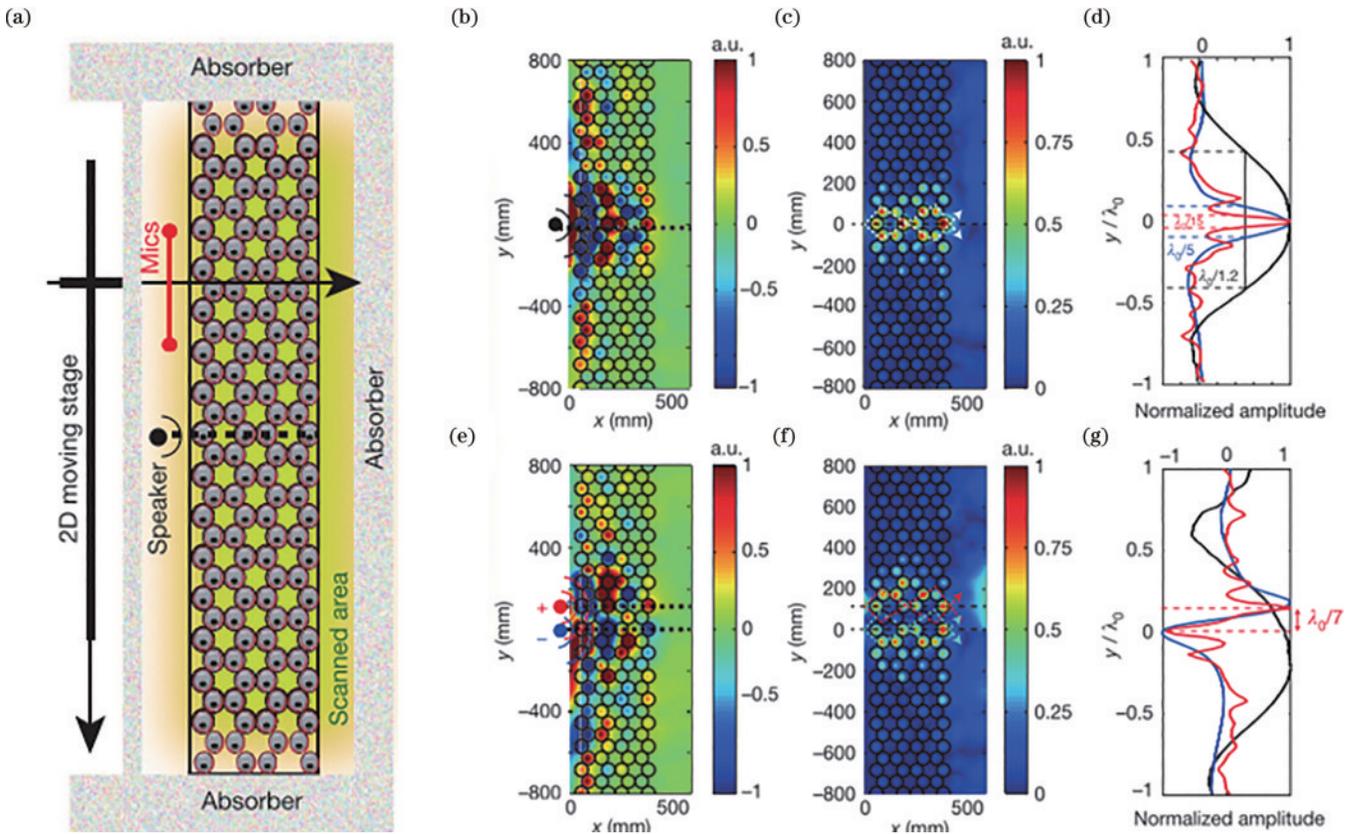


图 2 使用平面声学超透镜进行亚波长聚焦和成像的实验演示<sup>[25]</sup>。(a)124个汽水罐组成的平面透镜;(b) $f=417.5$  Hz 处的压力场真实部分;(c)补偿透镜内传播过程中发生的损耗后的压力强度场;(d)输出表面附近场的归一化幅度证明存在  $\lambda_0/15$  (红线) 的聚焦区域,而光源(蓝线)为  $\lambda_0/5$  宽,并且对照实验(黑线)即不带透镜时为  $\lambda_0/1.2$  宽;(e)~(g)与图 2(b)~(d) 相同,但两个光源异相发射声波以演示超分辨率,以  $\lambda_0/7$  的分辨率清楚地展示了相同的负折射结果

Fig. 2 Experimental demonstration of subwavelength focusing and imaging using a flat acoustic superlens<sup>[25]</sup>. (a) Flat lens composed of 124 soda cans; (b) real part of the pressure field at  $f=417.5$  Hz; (c) pressure intensity field after compensation of losses occurring during the propagation within the lens; (d) normalized amplitude of the field in the close vicinity of the output surface proves the existence of a focusing area of  $\lambda_0/15$  (red line) while the source (blue line) is  $\lambda_0/5$  wide and the source of the control experiment (black line), that is, without the lens, is  $\lambda_0/1.2$  wide; (e)~(g) as Fig. 2 (b)~(d), but for two sources that play sound out of phase to demonstrate super-resolution. It clearly demonstrates the same negative refraction results with a resolution of  $\lambda_0/7$

于完全相反的位置,而目标样品位于它们之间。这种系统配置的不足之处在于,样品必须非常薄,以使生成的光声信号能够穿透样品并到达另一侧的检测器。因此,这种透射模式只适用于对体外细胞或薄生物组织的成像<sup>[29]</sup>。相反,反射式 OR-PAM 采用了一种不同的配置,其中激光照明和光声信号检测位于样品的同一侧,这使得反射式 OR-PAM 具有显著的优势,因为它可以应用于各种体内成像应用<sup>[30-31]</sup>。

无论是透射式还是反射式的 OR-PAM,为了达到接近光学衍射极限的横向分辨率,都需要使用高数值孔径的物镜,其相应的代价是牺牲景深。由于景深有限,必须进行二维光栅扫描以及额外的深度切片,以获取深度方向的图像信息,这导致了较慢的成像速度<sup>[32-33]</sup>。为了同时满足大景深和高横向分辨率的要求,贝塞尔光束已被应用于光声显微系统,这种光束以非衍射的特性而著称<sup>[34-35]</sup>。与高斯光束光声显微系统不同,贝塞尔光束由于固有特性而不受衍射影响,贝塞

尔光束光声显微系统能够在不影响焦点尺寸的情况下扩展焦深。然而,由于贝塞尔光束存在旁瓣,会产生不必要的信号,最终在光学成像中会出现伪影<sup>[36]</sup>。最近的研究表明,利用非线性 Grueneisen 弛豫效应可有效抑制贝塞尔光束的旁瓣<sup>[32]</sup>,但该系统的工作模式是透射式,如前所述,其只适用于对体外细胞或薄生物组织的成像。为了将系统应用于各种体内成像应用,Jiang 等<sup>[33]</sup>开发出了反射式贝塞尔光束光声显微系统,他们使用 Matlab 函数“deconvblind”实现盲反卷积,有效提高了该系统最大振幅投影图像的对比度和分辨率。所提出的系统通过采用贝塞尔光束和盲反卷积算法解决了旁瓣的负面影响,能够解析非平坦厚生物组织中的体内单个毛细血管。然而,改进的光声显微系统由于使用低数值孔径的物镜,横向分辨率受到限制。此外,由于贝塞尔光束光声显微系统和高斯光束光声显微系统没有在相同的视场上进行体内成像实验,因此很难对两者进行公平比较。鉴于此,Park 等<sup>[37]</sup>提出了一种

反射式可切换亚波长贝塞尔光束光声显微系统和高斯光束光声显微系统,系统示意图如图 3(a)所示,通过简单地移除透镜即可轻松生成高斯光束。他们使用 532 nm 的脉冲激光,实现了贝塞尔光束光声显微系统和高斯光束光声显微系统的切换,横向分辨率分别为 300 nm 和 270 nm。贝塞尔光束光声显微系统的测量自由度约为 229  $\mu\text{m}$ ,比高斯光束光声显微系统高约 7 倍。

虽然改进的贝塞尔光束光声显微系统解决了旁瓣的影响,但其仍采用超声换能器以接触方式检测光声信号。为了解决这一问题,Hu 等<sup>[38]</sup>提出并证明了一种具有双非衍射贝塞尔光束的全光学光声显微系统。该系统利用双贝塞尔光束,不仅可以获得扩展的景深和提高对样品表面形貌的光声检测灵敏度,而且可以实

现可调节的激励区域并增强深度分辨能力。同时,该系统的超声光学检测克服了以往基于贝塞尔光束的光声显微系统受旁瓣影响的限制。通过数值模拟与实验测量得到了合适的贝塞尔光束参数,如图 3 所示,其中图 3(b)和图 3(c)是在物镜的焦距范围内进行模拟的结果,图 3(d)~(f)是贝塞尔光束沿  $z$  轴的直径和强度分布的实验结果,其  $x$ - $y$  截面图像是利用最大振幅投影算法根据数据得到重建的。他们所提出的系统显示出 2.4  $\mu\text{m}$  的最佳横向分辨率和 635  $\mu\text{m}$  的长焦深,比高斯光束的大 10 倍<sup>[38]</sup>。该团队利用该系统还对散射仿体和活体斑马鱼进行了实验,证明了基于双非衍射贝塞尔光束的全光学光声显微系统的活体成像能力,因其具有非接触和高空间分辨率的优势,有望在未来的临床试验中得到应用。

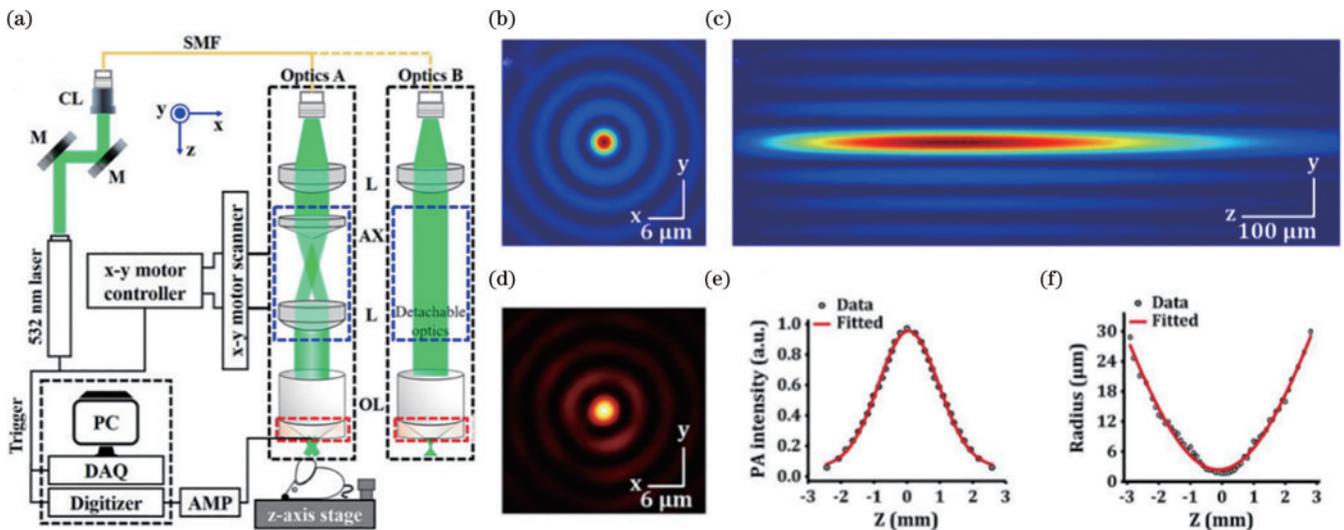


图 3 反射式可切换亚波长贝塞尔光束光声显微系统和高斯光束光声显微系统及贝塞尔光束参数的模拟与实验结果。(a)反射式可切换亚波长贝塞尔光束光声显微系统和高斯光束光声显微系统<sup>[37]</sup>; (b)(c)计算贝塞尔光束在  $z=0$  处的  $x$ - $y$  平面和  $x$ - $z$  平面中的强度分布<sup>[38]</sup>; (d)  $z=0$  处的横截面图像<sup>[38]</sup>; (e)(f)贝塞尔光束沿  $z$  轴的强度分布和实验直径<sup>[38]</sup>

Fig. 3 Reflective switchable subwavelength Bessel beam photoacoustic microscopic system and Gaussian beam photoacoustic microscopic system, simulation and experimental results of Bessel beam parameters. (a) Reflective switchable subwavelength Bessel beam photoacoustic microscopic system and Gaussian beam photoacoustic microscopic system<sup>[37]</sup>; (b) (c) intensity distribution of the calculated Bessel beam at the  $z=0$  plane in the  $x$ - $y$  and  $x$ - $z$  planes<sup>[38]</sup>; (d) cross-sectional image at  $z=0$ <sup>[38]</sup>; (e) (f) intensity distribution and experimental diameter of the Bessel beam along the  $z$ -axis<sup>[38]</sup>

### 2.1.3 基于变焦透镜的光声显微成像术

变焦透镜是一种光学元件,其焦距可以通过机械或电子方式得到调整,从而改变对入射光线的聚焦效果。2014年,Li等<sup>[39]</sup>开发出了一种具有高透率、大孔径、高损伤阈值和快速响应时间的变焦透镜。该透镜由一个容器构成,容器中充满光学流体并用弹性球形聚合物薄膜密封。该薄膜的半径与施加在其外部区域的电磁制动器的压力成正比。透镜的电调焦系统和平面显微镜物镜通过光学接口相互连接。透镜的焦距由高精度 USB 驱动器控制,其可提供从 0 mA 至 300 mA 的稳定电流输出,分辨率达到 0.1 mA。在控制电流范围内,当使用 0.3 NA 平场显微镜物镜时,可

实现 1  $\mu\text{m}$  的连续移动精度,测得最大焦点移动范围约为 2.82 mm。此外,焦平面之间的光斑深度重新聚焦时间仅需 15 ms,这比传统的机械扫描方式快得多。该课题组通过将该电动可变焦透镜与光声显微系统相结合,提出了一种有效的深度扫描方法,通过对碳纤维、小鼠耳朵和小鼠脑组织体内微血管进行成像实验,结果表明,该系统可以方便地进行光声聚焦扫描,并且能够有效降低机械复杂性,实现无惯性快速聚焦扫描和大范围连续调焦,对生物医学研究和临床诊断具有重要意义。通过控制电动可变焦透镜的电流,研究人员可以迅速适应不同深度或不同目标的成像需求,提高了成像质量和效率。

2017年, Yang等<sup>[40]</sup>使用可调谐声学梯度透镜开发出了一种具有快速轴向扫描能力的OR-PAM, 通过利用快速变化的超声波驻波调制该变焦透镜折光能力来连续改变OR-PAM的焦平面, 最终实现了750 μm的景深和短至1 ms的轴向扫描时间, 比OR-PAM中任何其他轴向扫描方法至少快1个数量级。就在同年, 该团队又对可调谐声学梯度透镜进行了改进, 他们将可调谐声学梯度透镜与光学延迟路径相结合, 通过一个输入激光脉冲获得多焦点, 从而实现了360 μm的景深, 然后他们对小鼠耳朵和小鼠脑血管系统进行体内成像, 证明了该系统扩展自由度的可行性。为了进一步提高分辨率和灵敏度, Ma等<sup>[41]</sup>开发出了一种无水耦合和阻抗匹配的光电探头, 该探头主要由可调物镜和光电探测器组成, 可以使光声皮肤镜系统实现量化和深度成像功能, 并能够创建具有高对比度和高分辨率的无标记体积血管图像, 最终测得的横向分辨率约为4.8 μm, 轴向分辨率约为52 μm。2021年, 该研究团队<sup>[42]</sup>采用可调节共焦光电物镜, 开发了一种附有特色光声指标的无创光声显微活检系统及临床应用方案。光电物镜主要由定制的可切换物镜和聚焦宽带(5~90 MHz)传感器组成, 成像策略是使用具有不同NA的可切换物镜和多尺度可调配置(焦点可调范围为0~3 cm)来调节皮肤表面下的光声焦点, 系统的横向分辨率为1.5~104 μm, 轴向分辨率为34~57 μm, 拓宽了光声显微镜使用的灵活性。

尽管变焦透镜在OR-PAM中发挥着关键作用, 但应用也面临一些挑战, 其中之一是光学透镜的复杂性和成本。高质量的变焦透镜通常需要精密的制造和校准, 这会增加系统的成本。此外, 机械或电子调焦系统也需要额外的工程设计和控制。然而, 随着光学技术的不断进步, 变焦透镜的性能和可用性正在逐渐改善。未来, 可以期待更多的创新和技术突破, 以克服这些挑战, 使变焦透镜在OR-PAM中的应用更加普遍和有效。

## 2.2 光学波前整形(SLM/DMD)促进光声显微成像性能提升

在光声显微成像中, 散射介质(如生物组织)的存在会大大降低入射光的强度, 从而导致接收到的光声信号非常微弱, 最终将显著影响成像的分辨率。因此, 如何克服散射介质的影响是光声领域的热点问题。

光学波前整形(WS)技术是一种能够调控光波前的先进技术, 这一技术最早由Vellekoop等<sup>[43]</sup>在2007年提出。WS通过在光路中引入特殊的器件, 如空间光调制器(SLM)或数字微镜器件(DMD), 来实现对光波前的精确调整。这些器件由众多微小的反射元件组成, 可以根据需要以高速切换的方式改变光波前的相位和振幅。这种能力使得光学波前整形技术成为了一种非常强大的工具, 能够对光束进行精确的调控和重塑, 以克服散射介质的影响。

WS的原理如图4所示。对于一个相对稳定的系统, 入射波与出射波是一一对应的, 当光子穿过散射介质时, 直线传播的特性会破坏, 如图4(a)所示。通过利用目标位置处的反馈信号, 并用计算机上预设的优化算法处理后, 将反馈信息提供给空间光调制器并实时刷新其加载的掩模<sup>[44]</sup>, 对入射光波前的相位或振幅预先进行调制, 以补偿散射介质对波前造成的畸变, 从而实现光在目标位置处的重新聚焦, 如图4(b)所示。为了提高光聚焦的强度以及速度, 最早应用于波前整形领域的算法主要有3种: 逐步序列算法、连续序列算法、分区算法。逐步序列算法每次只优化一个模块, 当该模块调制到最优相位时, 对应的目标位置处的光强值达到最大, 然后再逐步调制下一个模块。在这个过程中, 前一模块的调制不会干扰后一模块。当所有模块的相位值都达到最优相位时, 再将它们一起加载到空间光调制器上。连续序列算法与逐步序列算法的区别在于, 连续序列算法在调制下一个模块时保留了前一个模块的调制效果, 从而实现了连续调制, 而分区算法则是每次对一半的模块进行随机调制。从原理上不难看出, 分区算法的运行速度要比连续序列算法和逐步序列算法快很多, 并且能够适用于高噪声环境, 而逐步序列算法与连续序列算法更适用于无噪声或者低噪声环境。2012年, Conkey等<sup>[45]</sup>提出了一种更加优越的迭代优化算法, 即遗传算法, 因鲁棒性强, 该算法在后续的波前整形研究中得到了广泛的应用和发展。受此启发, 后面又陆续开发出多种优化算法应用于波前整形, 比如调和搜索算法<sup>[46]</sup>、模拟退火算法<sup>[47]</sup>、四元裂解算法<sup>[48]</sup>、粒子群算法<sup>[49]</sup>、Hadamard编码算法<sup>[50]</sup>、蝙蝠算法<sup>[51]</sup>、遗传-蚁群混合算法<sup>[52]</sup>、可分离自然进化策略<sup>[53]</sup>等, 显著提高了波前整形的鲁棒性、焦点强度及优化速度。

总的来说, 波前整形技术代表了成像领域的一个重大突破, 它使成像过程有了更大的控制度, 并克服了散射介质的限制, 从而使高分辨率成像技术在生物体内得到更广泛和有效的应用。通常情况下, 目标位置处的反馈信号是通过放置在散射介质后面的探测器(例如CCD相机或光电探测器)检测到的光强来获取的<sup>[45-56]</sup>。此外, 还有一种方法是在生物体内嵌入荧光粒子<sup>[57-59]</sup>。然而, 这些方法存在侵入性和创伤性, 从而限制了它们在生物体内的应用。因此, 研究人员一直在探索如何利用合适的引导星提供反馈来实现生物体内的无创和非侵入性聚焦。

PAI是一种基于光声效应的成像技术, PA信号可由位于体外的超声换能器所探测到, 其峰-峰值<sup>[60]</sup>表示为

$$V_{PA} = k\Gamma\eta_{th}\mu_a F, \quad (2)$$

式中:  $k$ 为检测灵敏度的常数系数;  $\Gamma$ 为将热能转换为压力波的 Grueneisen 参数;  $\eta_{th}$ 为被吸收的能量转换为

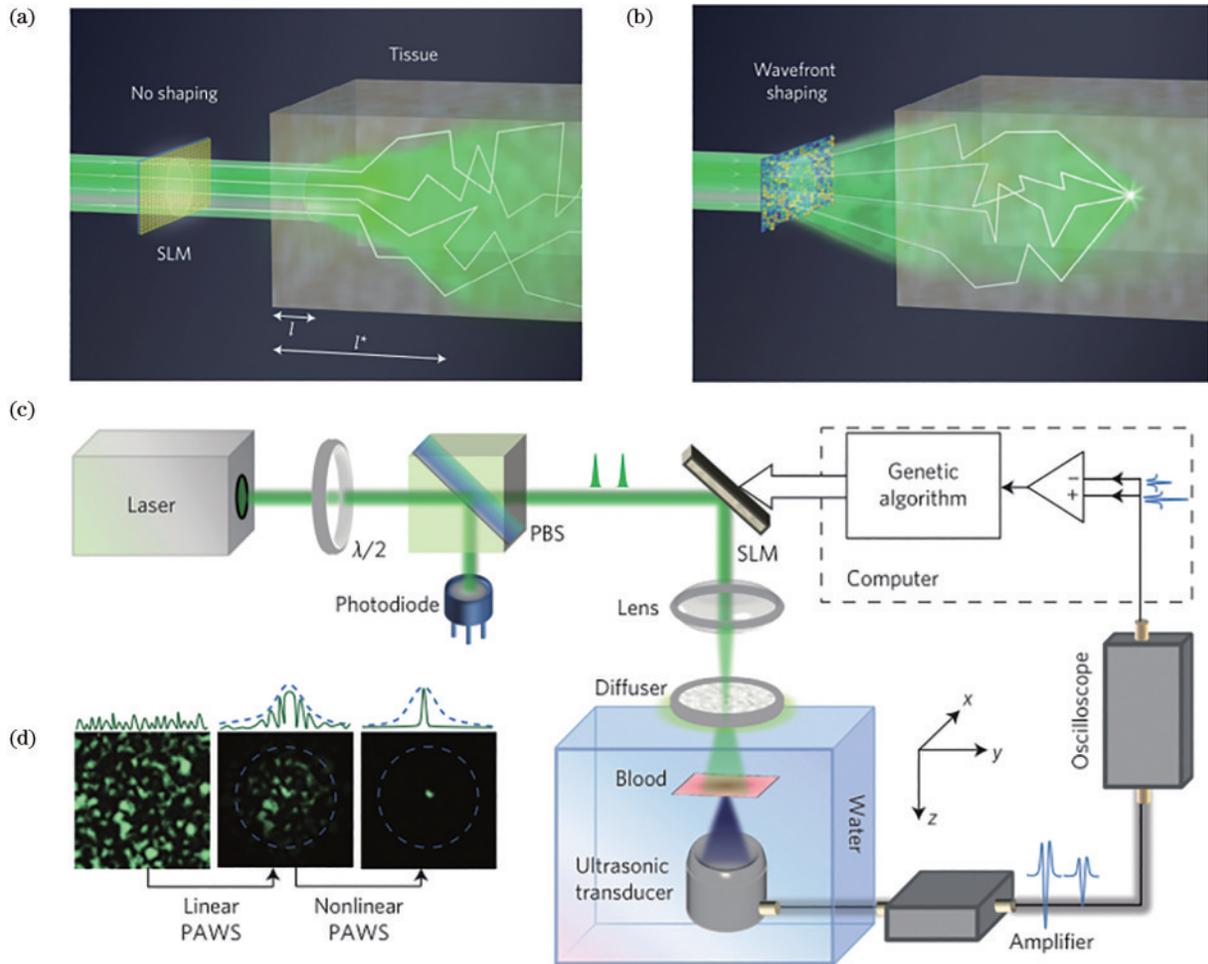


图 4 波前整形的原理。(a)波前整形前<sup>[44]</sup>;(b)波前整形后<sup>[44]</sup>;(c)波前整形实验装置<sup>[64]</sup>;(d)线性优化与非线性优化聚焦效果的对比<sup>[64]</sup>

Fig. 4 Principle of wavefront shaping. (a) Before wavefront shaping<sup>[44]</sup>; (b) after wavefront shaping<sup>[44]</sup>; (c) experimental setup for wavefront shaping<sup>[64]</sup>; (d) comparison between linear optimization and nonlinear optimization focusing effects<sup>[64]</sup>

热量的部分;  $\mu_a$  为光吸收系数;  $F$  为局部光通量。根据式(2), 可以推断出 PA 信号的峰-峰值与光通量呈线性关系<sup>[61]</sup>。因此, 利用位于目标外部的超声换能器探测 PA 信号, 可以实现对入射光通量的监测。当 PA 信号的峰-峰值增大时, 表明目标位置处的光通量相应增大, 将 PA 信号作为波前整形的反馈信号可以最大化目标位置处的光强度, 由于声信号在生物组织中的散射相较于光信号要弱 2~3 个数量级, 因此 PAI 结合了光学对比度和声学穿透性的优势<sup>[62]</sup>。与前文提到的两种方法不同, PA 信号可以由位于散射介质外部的超声换能器探测到, 这使得该方法具有无创性和非侵入性的特点, 因此, 自 2011 年 Kong 等<sup>[63]</sup>首次提出光声引导的波前整形技术以来, 该技术已广泛应用于生物医学成像领域。除了利用线性光声信号作为反馈来引导波前整形, Lai 等<sup>[64]</sup>在 2015 年研究发现可以利用双脉冲激励的方法获得基于 Grueneisen 弛豫效应的非线性光声信号, 如图 4(c) 和图 4(d) 所示。该方法可利用 PA 信号的非线性效应来打破声衍射的限制, 总的峰值通量增强因子可达到 6000, 这一技术显著推动了高分辨

率强光学聚焦技术在组织中的发展进程。

尽管已经讨论了将光声效应用作波前整形的反馈机制, 但波前整形也被认为是改善 PAI 的一种方法<sup>[65]</sup>。通过控制光在组织中的传播, 可以最大限度地减少多次散射引起的强度衰减, 从而提高 PA 信号的强度和穿透深度, 最终使 OR-PAM 的成像性能达到新的高度。经过进一步的设计和改进行, 光声引导的波前整形技术有望成为一个具有前景的工具, 能够将现有光声成像实现的信噪比、分辨率和潜在穿透深度提升到一个新的水平。

虽然光学波前整形技术在光声显微术中的应用前景广阔, 但也面临一些挑战。首先, SLM/DMD 的成本相对较高, 需要较高的技术要求, 限制了其在实验室和临床中的广泛应用。其次, 精确的波前控制需要对系统进行校准和稳定性维护, 这需要额外的工作和时间。然而, 随着技术的不断进步, 这些挑战正在逐渐克服。新一代的 SLM 和 DMD 设备正在不断推出, 成本逐渐下降, 性能逐渐提高。此外, 自动化和实时控制算法的发展也有助于简化设备的操作和维护。光学波前

整形技术作为光声显微术的关键组成部分,为提高成像性能提供了强大的工具。通过精确的光波前控制,可以实现超分辨成像、多模态成像、高速成像、深度调制成像和三维成像等多种成像模式,拓宽了光声显微术的应用领域。尽管面临一些挑战,但随着技术的不断发展,光学波前整形技术在生命科学和医学研究中的前景依然十分光明。

### 3 声学增强的光声显微成像术

声学增强对光声显微成像术至关重要,其成功实施涉及多个关键方面,包括设计高效的声学探测器、应用合成孔径算法等来促进声学分辨率的提升。首先,声学探测器的设计对 PAM 的性能提升不可或缺。声学探测器负责捕获声波信号,因此设计时需要考虑灵敏度和频率响应,优化的声学探测器可以提高成像质量和深度。其次,合成孔径算法在 PAM 中的应用可以获得更广泛和深入的信息,通过合成孔径方法,可以利用多个探测点和信号数据以改善成像深度和分辨率,从而实现更全面的生物组织成像。

#### 3.1 高效声学探测促进光声显微成像性能提升

超声探测器是光声显微系统的关键部件,决定了系统成像的整体性能。在光声显微术中,探测器的设计对实现高分辨率成像至关重要。探测器需要能够高效地检测光声信号,并将其转化为电信号以供处理和成像。超声探测器的技术参数主要有中心频率、带宽、灵敏度、响应时间等。中心频率和带宽影响了系统的轴向分辨率和可反映的吸收体的尺寸。探测器的灵敏度决定了其能够检测到多强的光声信号。高灵敏度的探测器可以提高信噪比,有助于实现更好的声学分辨率。探测器的响应时间需要足够快,以捕捉到短脉冲激光引起的快速光声信号。响应时间较长的探测器可能会降低分辨率。

##### 3.1.1 基于法布里-珀罗传感器的光声显微成像术

法布里-珀罗干涉仪(FPI)由夹在两个反射镜之间的透明薄膜组成<sup>[66]</sup>。入射超声波产生的压力变化导致结构的厚度和弹性光学发生变化,这又导致光学相移,然后干涉仪将这种光学相移转换成可测量的强度调制。

Yin 等<sup>[67]</sup>提出并实验验证了一种由刚性光纤耦合法布里-珀罗干涉仪和开放微腔组成的全光学微超声传感器,该传感器的示意图如图 5(a)所示。该传感器结构包括微米级的矩形金膜,此金膜通过飞秒激光的超快加工技术制成。加工后的膜片容易因外界压力而变形或偏转,可以成为悬臂梁感知动态声压,其传感原理完全依赖于对压力引起的 FPI 干涉相位变化的检测,这可以使光谱带侧滤波技术在宽带宽上进行固有的线性信号检测。与其他具有封闭空腔的 FPI 超声波传感器相比,这种使用微悬臂梁的“开放”传感器具有更高的灵敏度,可以在空气中进行宽带超声波检测。

在此之后,Yang 等<sup>[68]</sup>利用双光子三维光刻机在双包层光纤的端面加工法布里-珀罗腔。在此研究中,纤芯包层外径为 250  $\mu\text{m}$ ,纤芯直径为 9  $\mu\text{m}$ ,微腔传感单元尺寸只有 30  $\mu\text{m}$ ,可以高精度测量超声信号。此研究的超声传感器旨在提高超声信号的信噪比和信号稳定性。达到这个目的后,可利用双包层光纤的优势,将激发光和探测光同时耦合到双包层光纤中用于全光学内窥镜探测。最近,Ma 等<sup>[69]</sup>研究了一种透明的聚二甲基硅氧烷封装的光学微光纤超声传感器,用于具有可扩展空间分辨率和穿透深度的光声成像。该传感器由中间夹有一对串联传感器布拉格光栅之间的微光纤环组成,这形成了一个超声波敏感的法布里-珀罗腔,允许超声波/光束的自由传递和沿穿透深度的独特的针状超声波聚焦。该传感器的数据图如图 5(b)~(g)所示,因其灵敏度高、光学透明性好和聚焦能力强,可用于对小鼠耳和脑脉管系统的多尺度光声成像,这为开发用于生物医学和临床应用的光声成像设备提供了新的机遇。

##### 3.1.2 基于压电式超声换能器的光声显微成像术

压电式换能器是一种能够实现机械能到电能或电能到机械能转换的设备。其工作原理依赖于压电效应,即将机械应力引起的动能转化为电能。在生物医学领域,压电超声换能器已经有了广泛应用<sup>[70]</sup>。以 Dangi 等<sup>[71]</sup>的研究为例,他们制造了一种线性压电微机械超声换能器(PMUT)阵列,并将其集成到用于组织模型光声成像的装置中。该 PMUT 阵列包含 65 个数组元素,其中锆钛酸铅 PZT 薄膜用作压电层。这个 PMUT 阵列结合到定制的印刷电路板上,以便用于光声成像的光纤束紧密集成。此外,通过在不同组织模型上进行光声成像实验,确定了使用 PMUT 阵列进行光声成像的可行性,实现了对血液、靛青绿和铅笔芯的光声对比度成像。这些研究结果首次清晰展示了基于 PMUT 的手持式光声成像设备在光学和声学散射组织内目标成像方面的可行性。作为换能器的核心有源元件,压电材料的性能对整个换能器的性能至关重要,目前占主导地位的压电元件是铅基压电材料。在这一背景下,Ke 等<sup>[72]</sup>研究了无铅复合材料的设计和制造。这种复合材料表现出出色的特性,包括高厚度机电耦合系数、高压电常数、相对较低的机械品质因数及相对较低的声阻抗。通过制造中心频率为 5 MHz 的超声换能器,该研究展示了这种复合材料的卓越性能,具有 80% 的宽带宽和 -30 dB 的双向插入损耗,同时成功展示了光声图像的应用。这一研究表明,无铅材料在超声应用中有望成为铅基压电材料的有前途的替代品。为了更好地将光声成像应用于内窥镜成像,Wang 等<sup>[73]</sup>进行了一项关于紧凑型 4×4 压电微机械超声换能器阵列的设计、制造和表征及其在光声成像中的应用的研究。这种 PMUT 阵列的独特之处在于集成了 4  $\mu\text{m}$  厚的陶瓷 PZT,与溶胶-凝胶或溅射 PZT 相比,具

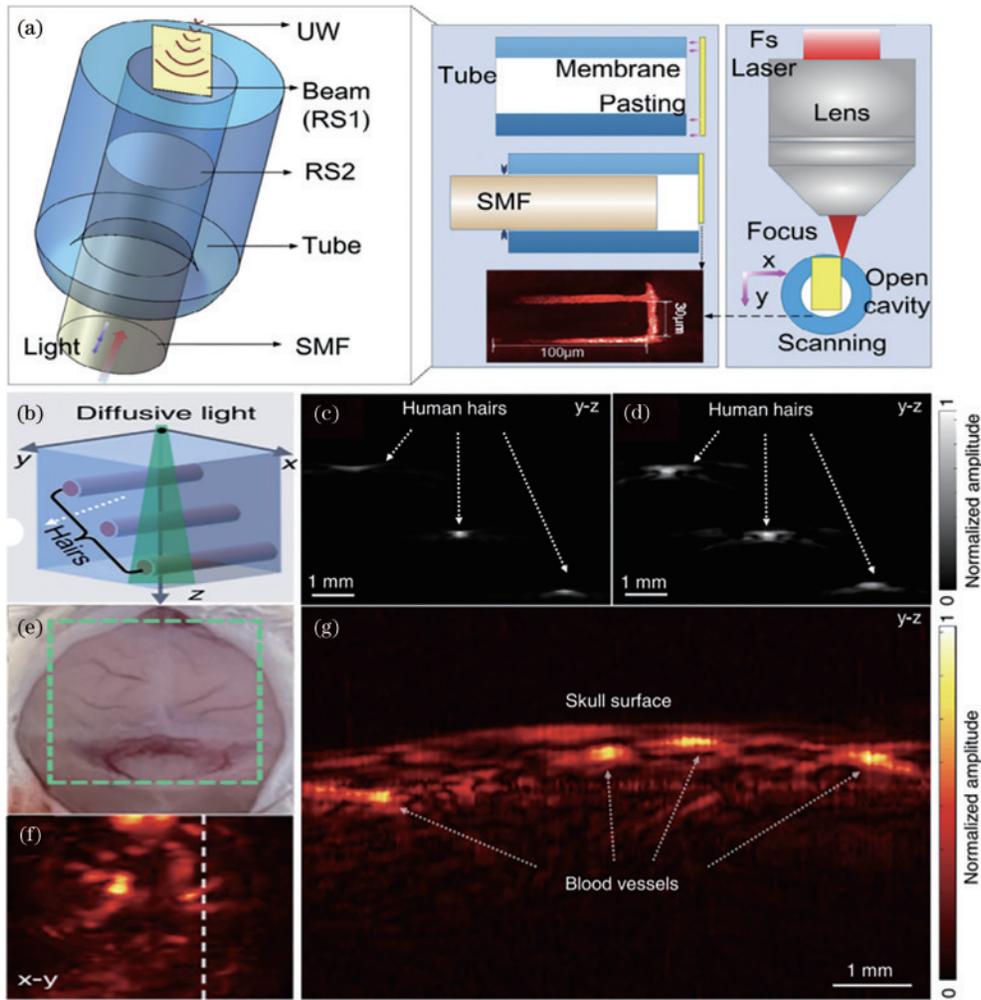


图5 法布里-珀罗干涉仪(FPI)的具体示意图和成像效果。(a)由刚性光纤耦合FPI和开放微腔组成的全光微超声传感器<sup>[67]</sup>;(b)毛发模型的声学分辨率光声显微成像的光照明示意图<sup>[69]</sup>;(c)(d)商用压电传感器和微光纤传感器获得的具有轻微横向偏移的3个人图像不同深度的毛发<sup>[69]</sup>;(e)去除头皮的老鼠头部的照片<sup>[69]</sup>;(f)小鼠脑血管的最大振幅投影图像<sup>[69]</sup>;(g)在y-z平面中沿虚线的B扫描图像<sup>[69]</sup>

Fig. 5 Specific schematic diagrams and imaging results of the Fabry-Perot interferometer (FPI). (a) Schematic diagram of an all-optical micro-ultrasound sensor composed of a rigid optical fiber-coupled FPI and an open microcavity<sup>[67]</sup>; (b) schematic illustration of optical illumination for photoacoustic microscopy with acoustic resolution on a hair model<sup>[69]</sup>; (c) (d) images of three individuals with slight lateral displacement at different depths of hair obtained using a commercial piezoelectric sensor and a microfiber sensor<sup>[69]</sup>; (e) photograph of a mouse head with the scalp removed<sup>[69]</sup>; (f) MAP image of mouse brain vasculature<sup>[69]</sup>; (g) B-scan image along the dotted line in the y-z plane<sup>[69]</sup>

有更高的压电系数和更低的应力。所制造的PMUT阵列具有仅1.8~1.6 mm<sup>2</sup>的小芯片尺寸,每个PMUT元件的直径为210 μm。这种PMUT阵列可以集成到外径小于3 mm的内窥镜探头中,用于体内早期癌症诊断和图像引导的肿瘤手术。这项研究工作凸显了使用陶瓷PZT制造用于内窥镜光声成像应用的高灵敏度PMUT的巨大潜力。

为了提高光声和超声皮肤镜的检测灵敏度和成像深度,Wang等<sup>[74]</sup>提出了一种双压电晶片换能器。通过应用双压电晶片换能器,在提高激发效率和接收带宽的同时,提高了光声和超声皮肤镜的成像深度和灵敏度。皮肤镜的成像探头的集成设计使其非常方便地检测人体皮肤。通过可视化皮下肿瘤和描绘从表皮到

皮下组织的不同皮肤层的完整结构来展示光声和超声成像性能。使用双压电晶片换能器的具体效果如图6所示,结果证实具有双压电晶片换能器的皮肤镜非常适合于光声和超声双模态成像,其可以为皮肤疾病提供多种信息。

### 3.1.3 基于微型环形谐振器的光声显微成像术

微型环形谐振器是一种基于光学原理的微型光学器件,其基本原理涉及光的共振现象。它通常由一个光学波导环形结构组成,光通过该环形结构,在环形内表面多次反射,从而形成一种共振现象<sup>[75]</sup>。对于高分辨率超声成像和光声层析成像,高灵敏度、宽带宽、小尺寸以及可扩展至精密间距的超声传感器矩阵至关重要。Ding等<sup>[76]</sup>研究了一种方法,将微环谐振器(MRR)

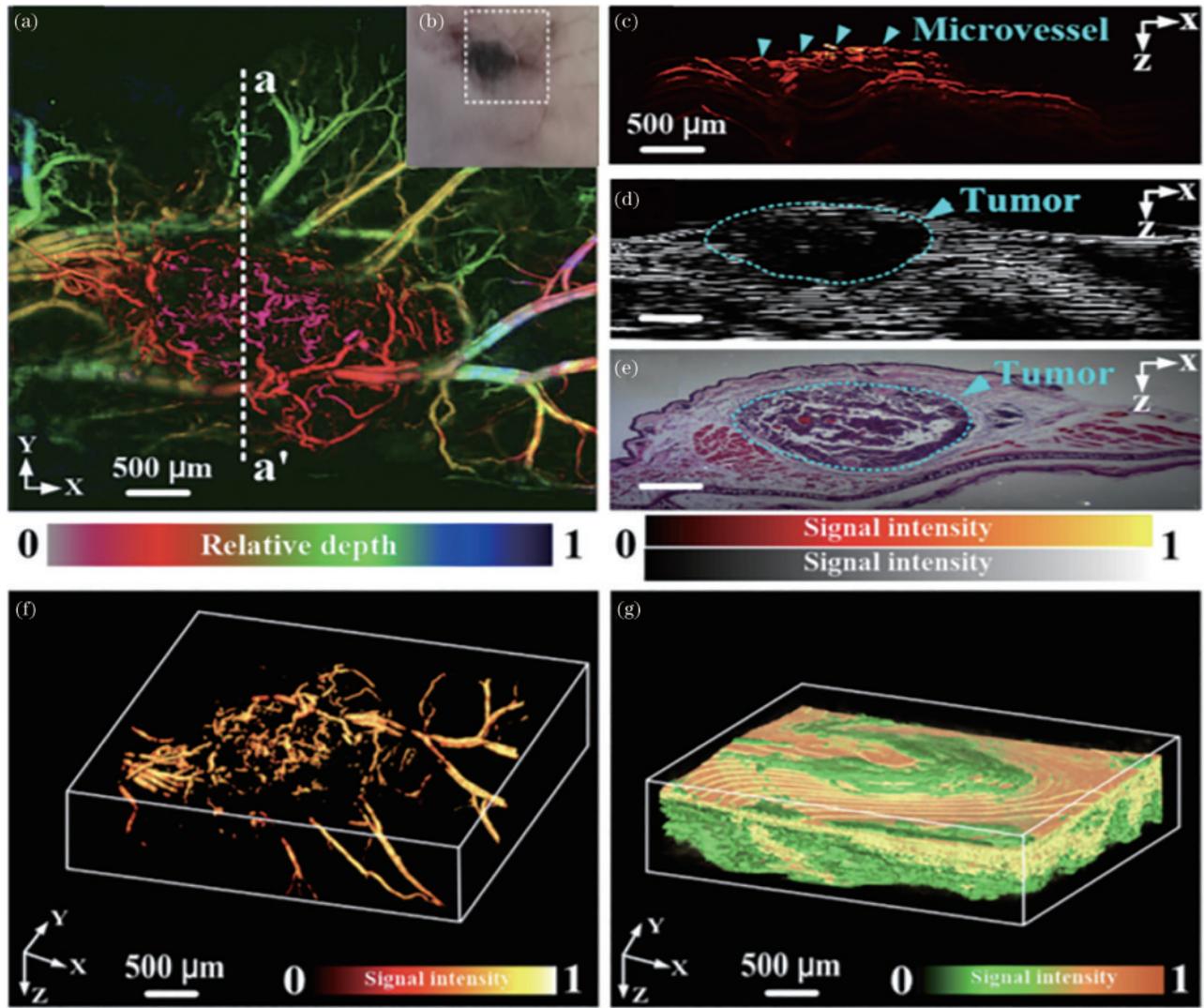


图 6 双压电晶片换能器的成像效果<sup>[74]</sup>。(a)肿瘤模型的微血管深度图像;(b)肿瘤模型的光学图像;(c)对应于图 6(a)中虚线的 PA 横截面图像;(d)对应于图 6(a)中虚线的超声图像;(e)用苏木精和伊红(H&E)染色的图像;(f)肿瘤区域的光声三维立体图像;(g)肿瘤区域的超声三维立体图像

Fig. 6 Images of the dual piezoelectric transducer's imaging results<sup>[74]</sup>. (a) Depth image of microvasculature in a tumor model; (b) optical image of the tumor model; (c) photoacoustic cross-sectional image corresponding to the dashed line in Fig. 6 (a); (d) ultrasound image corresponding to the dashed line in Fig. 6(a); (e) image stained with hematoxylin and eosin (H&E); (f) three-dimensional photoacoustic image of the tumor region; (g) three-dimensional ultrasound image of the tumor region

应用于硅平台,作为超声传感器的绝缘体。为提高传感器的灵敏度,他们采用了横向磁模式,以增强与包层的模式相互作用,减少由侧壁粗糙度引起的散射损耗。此超声传感器带宽在 6 dB 时达到 165 MHz。硅波导的高折射率有助于减小传感面积,相比聚合物 MRR,具有更小的尺寸。在绝缘体硅(SOI)平台上提出的高灵敏 MRR 非常有望用于大规模制造的集成密集超声传感器阵列。为了获得狭缝波导更高的声学检测灵敏度,Chu 等<sup>[77]</sup>提出了一种新型的狭缝聚二甲基硅氧烷(PDMS)聚合物微环超声传感器,这在以往的研究中未曾提及。通过理论分析传感器的声学检测原理<sup>[78]</sup>,优化了传感器的结构参数,并通过仿真验证了传感器的性能。仿真结果表明,设计的传感器具有超高的灵敏度和宽的带宽范围。

Li 等<sup>[79]</sup>报告了一种一次性超声传感慢性颅窗(USCCW),其特征在于采用了软纳米压印光刻工艺制造的集成透明纳米光子超声探测器。他们对传感器设计和相关制造工艺进行了优化,以显著提高检测灵敏度和可靠性。该传感器使用透明 MRR 集成到慢性颅窗表面的超声检测器,图 7(b)和图 7(c)显示了 MRR 以及带有光纤的玻璃盖玻片上的 MRR 包装示意图。通过外科手术将 USCCW 植入颅骨可创建一个独立的环境,既保持了光学访问,又消除了对光声成像外部超声耦合介质的需求,图 7(d)显示了具体成像过程。USCCW 技术为无障碍地实现对大脑皮层区域的光学访问提供了可能,同时实现了单毛细血管分辨率的 3D 等距 PAM。其轴向分辨率约为  $4 \mu\text{m}$ ,是迄今为止在活体光声脑成像中实现的最高轴向分辨率。通过

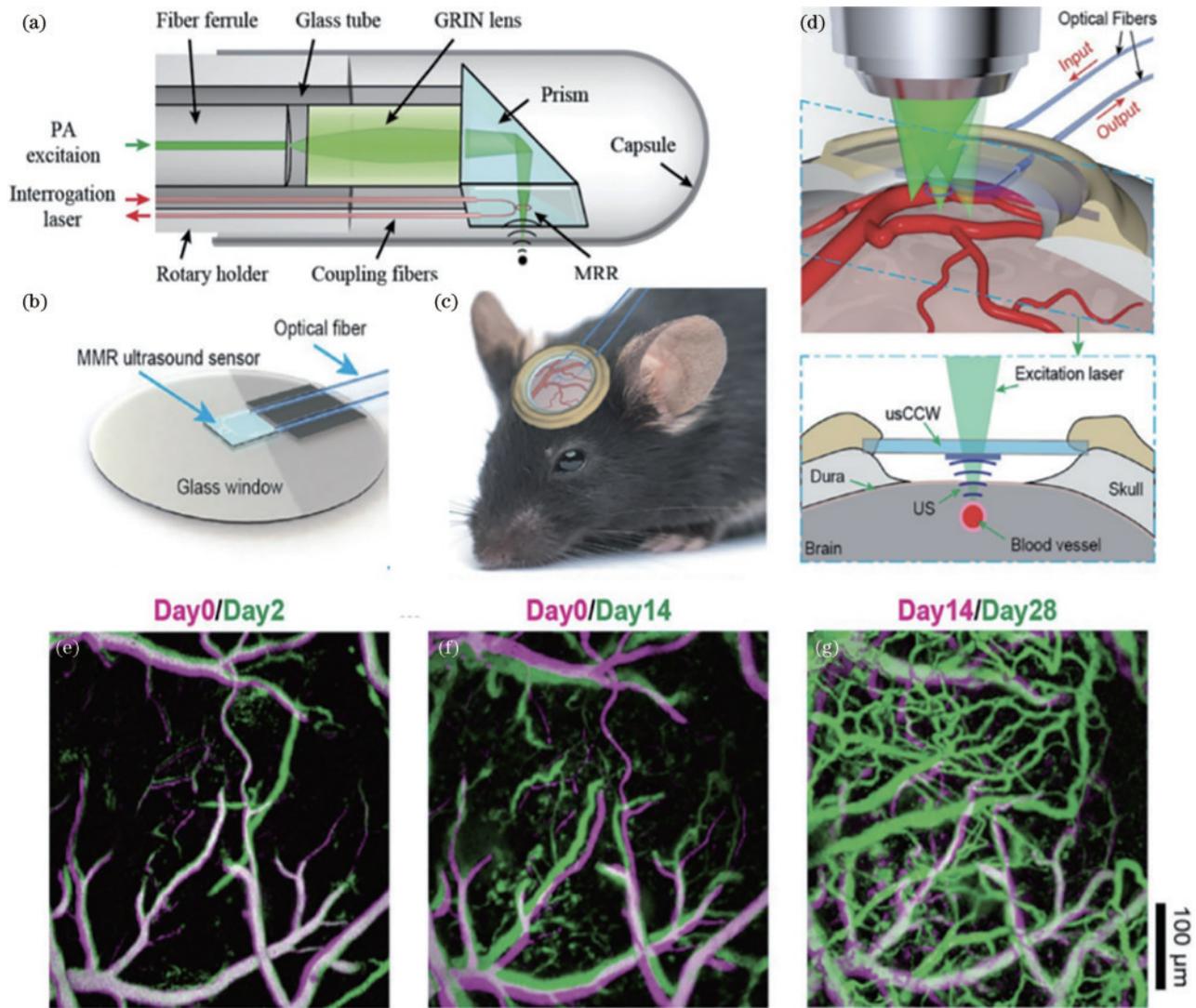


图 7 微型环形谐振器的示意图以及成像结果。(a)用于 PA 内窥镜探头的聚合物 MRR 示意图<sup>[78]</sup>;(b)带有光纤的玻璃盖玻片上的包装 MRR 示意图<sup>[79]</sup>;(c)安装在小鼠前额上的用于慢性颅窗的聚合物 MRR<sup>[79]</sup>;(d)利用透明聚合物 MRR 进行光学扫描的图示<sup>[79]</sup>;(e)~(g)在 28 天的时间里,小鼠大脑皮质血管的纵向 PAM 图像<sup>[79]</sup>

Fig. 7 Schematic diagram and imaging results of the micro-ring resonator. (a) Schematic diagram of a polymer MRR used for a PA endoscopic probe<sup>[78]</sup>; (b) schematic representation of the packaged MRR on a glass cover slip with optical fiber<sup>[79]</sup>; (c) polymer MRR installed on the front of a mouse for chronic cranial window<sup>[79]</sup>; (d) illustration of optical scanning using a transparent polymer MRR<sup>[79]</sup>; (e)~(g) longitudinal PAM images of the mouse cerebral cortex vasculature over 28 days<sup>[79]</sup>

应用 USCCW,他们成功演示了在 28 天内进行的活体小鼠皮质血管网络的光声显微成像,图 7(e)~(g)显示了 28 天内小鼠大脑皮质血管的纵向 PAM 图像。这一研究作为光声成像与现代脑研究的结合奠定了坚实的基础。

### 3.1.4 基于电容式微机械超声换能器的光声显微成像术

电容式微机械超声换能器(CMUT)是采用微机械加工技术制造的微机电设备,可用于接收和传输超声波信号<sup>[80]</sup>。相对于压电换能器,CMUT 技术具有引人注目的特性,例如宽频带和高接收灵敏度。Ilkhechi 等<sup>[81]</sup>进行了关于透明 CMUT 线性阵列的研究,这一阵列在可见光和近红外范围内具有高透明度。为了制造

这些器件,他们采用了一种特殊的方法,即用光敏苯并环丁烯作为结构层和黏合层。这种技术结合了玻璃钢锡氧化物衬底,用于有效地粘合晶片。氮化硅被用作膜材料以确保密封性和光学透明性。制造的传感器阵列包括 64 个和 128 个元件,浸没操作频率为 8 MHz,支持高分辨率成像。玻璃钢锡氧化物与薄金属条一起用作顶部电极的导电层,以最小化对设备透明度的影响。制造的器件在可见光波长范围内表现出的平均透明度为 70%,而在近红外范围内高达 90%。在 30 V 偏压下,阵列的信噪比(SNR)为 40 dB,激光能量密度为 13.5 mJ/cm<sup>2</sup>。具有 128 个通道的阵列提供的横向和轴向分辨率分别为 234 μm 和 220 μm。

Choi 等<sup>[82]</sup>提出了一种创新的光学超声和光声的

单次发射近场体积成像系统,采用了无传输模式的电容微机械超声换能器。这一系统实现了单次双模式成像,无需传统的超声换能器的传输模式。该系统采用位于 PDMS 中的中心频率为 2 MHz 的环形 CMUT 阵列,用于接收回波信号和 PA 信号,而系统以近场方法的干接触方式构建在 6 mm 厚的 PDMS 中。通过采用点目标(0.5 mm 金属丝和碳纳米管-PDMS 复合材料)进行点扩散函数(PSF)演示,成功地获得了体积图像结果。这一研究验证了所提出系统的可行性,其具有多项优点,包括单次双模态成像(USI 和 PAI)、无需电传输来驱动超声换能器、近场成像(6 mm)、低剖面、无水接触及反向模式激光照射。这一创新的系统为光学超声和光声成像领域带来了新的可能性。

### 3.2 合成孔径算法促进光声显微成像性能提升

为了在深度成像时保持较高的 SNR 和横向分辨率,AR-PAM 采用具有高 NA 的声学透镜。高 NA 透镜在聚焦区域提供高分辨率和 SNR,但会显著降低离焦区域的 SNR 和分辨率。为了克服这一问题,引入了合成孔径聚焦技术(SAFT),该技术通过将声学 NA 的立体角中的相应信号相加来改善成像性能。Jeon 等<sup>[83]</sup>提出了一种创新的 SAFT,通过利用在多个方向上执行的一维 SAFT 图像的每个增强频率分量,克服了传统 SAFT 的图像增强受到的限制。这些传统技术在累积信号时不考虑实际的光声波前。此外,采用这一新型 SAFT 技术输出的 AR-PAM 图像,相较于现有的 SAFT 图像质量,具有更高的图像质量。

自适应干涉校正合成孔径聚焦技术(IntC-SAFT)是一项用于改善 PAM 在景深、空间分辨率和信噪比方面的成像性能的技术。尽管传统的 SAFT 在重建过程中考虑了边界测量光声信号的相干性和适当的时间延迟,但并未遵循或违反了干涉波动理论。为了解决这一问题,Thomas 等<sup>[84]</sup>提出了一种基于波束合成的重建算法,该算法考虑了在 SAFT 中引入附加干扰项的干扰效应,同时在对光声波进行求和时适当考虑了耦合效应。此外,他们在组织模拟(琼脂)模型、鸡胸组织和叶脉中进行了实验验证研究。其中组织模拟(琼脂)模型的结果如图 8(b)和图 8(d)~(f)所示,鸡胸组织的实验结果如图 8(c)和图 8(g)~(i)所示。结果表明,Thomas 等提出的 IntC-SAFT 优于传统的 SAFT。

为了将其他方法的优势融合到 SAFT 中,Cai 等<sup>[85]</sup>提出了基于二维 SAFT 结合三维反卷积(SAFT+反卷积)的方法,以增加聚焦和离焦区域的图像分辨率。在聚焦和离焦区域,SAFT 提供了与深度无关的横向分辨率,确保与深度无关的 PSF,用于三维反卷积算法。经过二维 SAFT 处理后,与深度无关的横向和轴向分辨率为三维反卷积提供了与深度无关的 PSF,极大地减轻了关于 PSF 的校准工作,因为在聚焦区域只需要测量一个 PSF。实验结果表明,横向分辨率和轴向分辨率都有所提高,同时信噪比也有所增加。

血管的线图案特性将导致恢复的线遭受不连续问题。为了解决这一问题,Feng 等<sup>[86]</sup>开发了用于 SAFT 和基于方向性方法的去卷积的改进算法来增强图像。改进算法包括 FA-SAFT 和 D-MB 的反卷积。为了评估算法的性能,他们进行了一系列的成像实验并应用了两步算法,现有的 SAFT 和反卷积算法也被用于并排比较。与其他 SAFT 方法相比,FA-SAFT 通过引入锐化项来进一步提高分辨率和信噪比;而与其他反卷积方法相比,D-MB 的反卷积考虑了线条图案的一维稀疏性,因此更适用于线条图案。在这个两步算法中,FA-SAFT 提高了分辨率和信噪比,D-MB 反卷积则进一步提高了分辨率和信噪比,同时保持了图像保真度,具体对比结果如图 8(a)所示。因此,与其他 SAFT 和反卷积算法相比,此算法在分辨率、信噪比和图像保真度方面表现出了卓越的性能。

## 4 人工智能(AI)增强的光声显微成像术

OR-PAM 是一种结合了光学成像和光声效应的高分辨率显微成像技术,采用高分辨率的光学系统将光束聚焦到样品上,通过探测样品的高频声波信号,可以提供亚细胞级别的空间分辨率。现有的研究里 OR-PAM 通常适用于浅层结构的成像,例如血管成像、肿瘤检测、小鼠脑成像等。

近年来,人工智能技术得到空前发展,经典的人工智能技术机器学习在工业界和学术界引发热潮。其中,数据驱动的人工神经网络技术,即深度学习(DL)<sup>[87-90]</sup>受到医疗影像领域的广泛关注。深度学习旨在从训练数据中发现复杂的映射以实现现有参数空间问题的最优化。不同于往日计算能力的不足,现如今,图形处理器的计算能力允许神经网络不断地从深度<sup>[91-93]</sup>、宽度<sup>[94]</sup>、运算速度等方面不断提高,逐渐强化网络结构功能,拓展神经网络的应用,因此深度学习也被发掘并应用于光声显微术中以解决既存的问题。

将通过检索及调研的方式分析光学分辨率光声显微成像既存的问题并按照既存的问题总结近年来通过人工智能技术提升光学分辨率光声显微成像效果的研究内容。将从成像速度、成像深度与分辨率权衡、图像信噪比 3 个问题入手,图 9 是本节的内容概述。

### 4.1 AI 促进光声显微成像的速度提升

以往的光学显微镜系统使用光学扫描镜,它们通常具有较快的成像速度。PAM 系统也采用大范围的逐点扫描进行数据采集,然而却不能直接使用传统的光学扫描镜来提高成像速度,因为它们需要一个既能反射激发光束又能反射生成的光声信号的探头。所以机械扫描被重新考虑,例如高速音圈电机是目前最快的机械扫描方法之一,但成本高昂。其次,还有超声换能器阵列、微机电系统扫描镜及多边形扫描镜等方法,

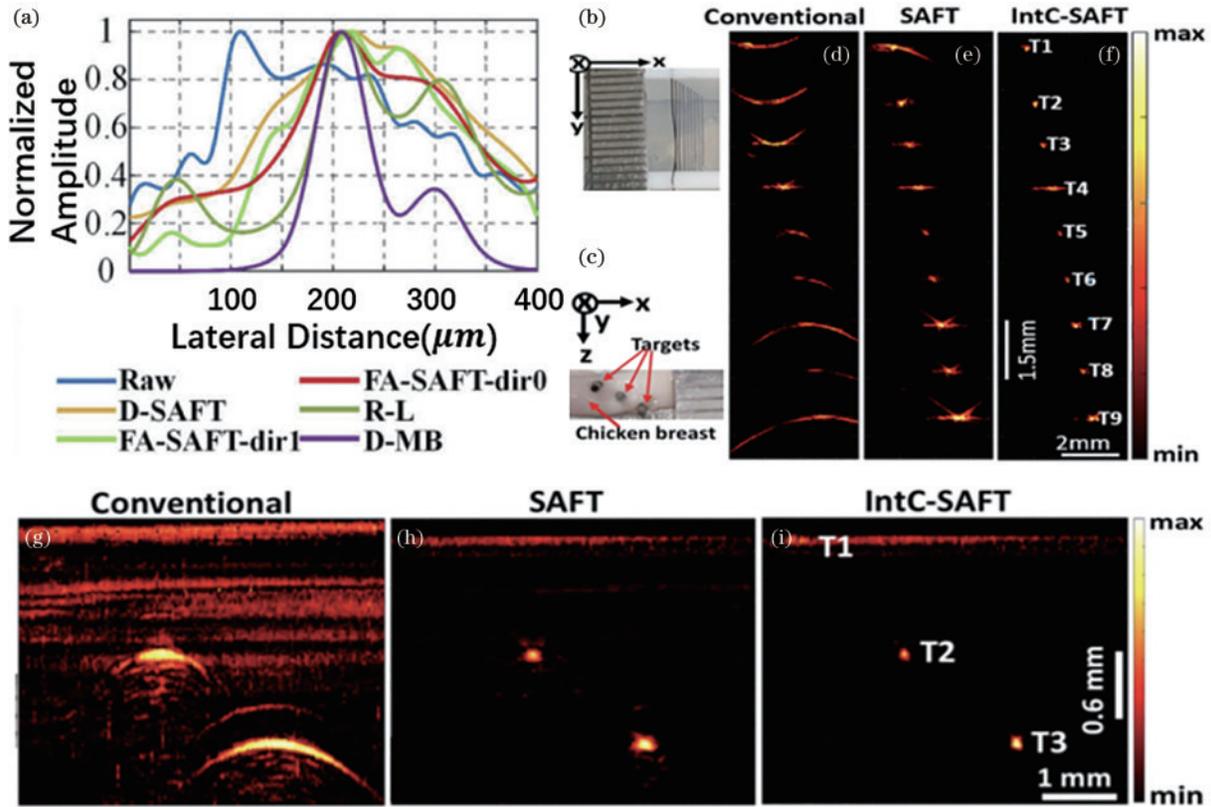


图 8 合成孔径算法和其他方法比较的效果。(a)不同方法在体内小鼠的效果<sup>[86]</sup>；(b)立方体(琼脂)模型的照片,其中九个线性目标(人的头发用T1~T9表示)间隔为1.2 mm<sup>[84]</sup>；(c)鸡胸肉的照片,其中在不同深度插入三支铅笔作为成像目标<sup>[84]</sup>；(d)~(f)常规技术、SAFT和IntC-SAFT获得的二维横截面<sup>[84]</sup>；(g)~(i)常规技术、SAFT和IntC-SAFT获得的2D重建图像,其中T1、T2、T3表示不同的铅笔<sup>[84]</sup>

Fig. 8 Effect of synthetic aperture algorithm compared with other methods. (a) Effects of different methods on mice *in vivo*<sup>[86]</sup>; (b) photo of a cube (gelatin) model with nine linear targets (denoted as T1–T9) spaced at 1.2 mm apart<sup>[84]</sup>; (c) photo of a chicken breast with three pencils inserted at different depths as imaging targets<sup>[84]</sup>; (d)–(f) 2D cross-sectional images obtained using conventional technique, SAFT, and IntC-SAFT<sup>[84]</sup>; (g)–(i) 2D reconstruction images obtained using conventional technique, SAFT, and IntC-SAFT, with T1–T3 representing different pencils<sup>[84]</sup>

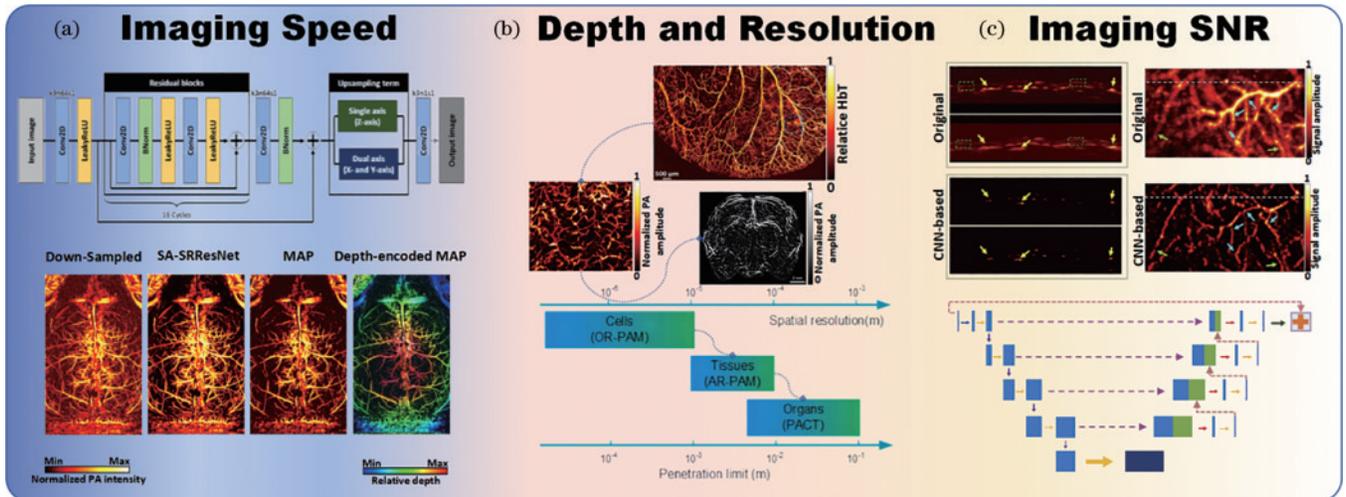


图 9 概述图。(a)神经网络提升OR-PAM成像速度及在小白鼠体内成像的结果展示<sup>[95]</sup>；(b)成像深度和分辨率的折中关系展示,分辨率由高到低为OR-PAM、AR-PAM、PACT,成像深度反之<sup>[96]</sup>；(c)神经网络对图像信噪比的提升

Fig. 9 Overview figures. (a) Neural network-enhanced OR-PAM's imaging speed and *in-vivo* imaging results in mice<sup>[95]</sup>; (b) trade-off relationship between imaging depth and resolution, with OR-PAM having the highest resolution and the lowest imaging depth, and PACT having the lowest resolution and the highest imaging depth<sup>[96]</sup>; (c) enhancement of image signal-to-noise ratio by neural networks

上述方法在不同程度上缓解了扫描速度下降的问题,但都有成本高的问题,难以广泛地应用在研究工作中。欠采样是一种简单的数据采集方法,通过牺牲数据量提升数据采集速度,目前也有很多研究采用弓形稀疏采样与一定的反演算法相结合的方法,实现成像速度的提升。这里比较常见的反演算法是压缩感知重建算法,它利用信号在某个合适的变换域中具有稀疏性的特点,通过少量的采样数据即可重构出完整的信号。然而压缩感知理论表明,为了能够以高概率准确重建信号,采样率必须接近信号的信息率,这无疑提升了数据采集的难度,且压缩感知本身的算法复杂度很高,最重要的是其在处理大规模数据时可能面临实时性的限制。综上,目前需要一种易实现、低成本、实时的光声成像扫描方法。深度学习由于具有成本低、高效、实时性强等特点,已应用于稀疏采样反演并取得了不错的效果。

Zhou 等<sup>[97]</sup>提出了一种使用 ResNet 的方法来提高稀疏 PAM 图像的质量,该方法可以同时保持良好的图像质量并加快图像采集速度。在这项工作中,使用的数据集是橡树和木兰叶脉的 PAM 图像。将叶子浸入带有黑色墨水的容器中 7 h 以上,然后将叶子放在载玻片上,并用硅胶(GE 密封剂)密封。对于每个 PAM 图像,用 OR-PAM 探针(分辨率为  $2\ \mu\text{m}$ ,由光束轮廓仪和  $10\times$  光束扩展器测量)在  $256\times 256$  扫描点上扫描叶片样品,扫描步长为  $8\ \mu\text{m}$ ;获得了包含 268 张原始全采样 PAM 图像的对地真实图像数据集,并通过  $2\times$  和  $4\times$  下采样获取对应低像素图像;再通过训练网络至损失函数的接受范围内,得到最终的神经网络参数。利用神经网络重建欠采样后的图像是一种高效、实时性强、成本低的方法。2021 年, Vu 等<sup>[98]</sup>使用深度图像先验(DIP)来改善欠采样 PAM 图像的质量。与其他 DL 方法不同, DIP 既不需要预先训练,也不需要完全采样的地面真相,能够灵活快速地在各种成像目标上实现。因为网络重建的时间与成像扫描相比是可以忽略的,上述的神经网络重建欠采样的方法成倍地提高了光声显微的成像速度。Zhao 等<sup>[99]</sup>提出的基于多任务残差密集网络的深度学习方法首次在超低激光剂量(减少至  $1/32$  的剂量)下重建出高分辨图像,该方法在激光剂量、成像速度和图像质量相互权衡中提升了后两者。

#### 4.2 AI 促进光声显微成像的分辨率及深度提升

在 PAM 中成像深度指的是能够有效获得清晰图像的最大探测深度。成像深度受到声波在组织中传播和散射的影响。较高频率的声波可以提供更好的空间分辨率,但它们会在组织中产生更大的衰减和散射,导致成像深度较浅。与之对应,往往会同时参考成像分辨率这一参数,成像分辨率是指系统能够分辨出两个相邻目标的最小距离。成像分辨率受到使用的声波频率和光学系统的数值孔径等因素的影响。较高频率的

声波可以提供更好的成像分辨率,但也会导致散射增加和信号衰减,从而限制了成像深度。不难看出上述二者之间存在相互制约的关系,而目前已有很多方法被用于单独提升成像分辨率或成像深度,如多波长光声显微成像、多模式或多模式组合成像、声学探测器阵列等。其中声学探测器阵列方法采用具有大孔径的阵列,可以提高接收信号的灵敏度和角度范围,从而同时提高成像深度和侧向分辨率。上述方法都具有一定的局限性,多波长光声显微成像和多模式或多模式组合成像在提升成像深度的同时都增加了系统复杂性和成本,而声学探测器阵列由于比单个探测器更昂贵、更复杂,并且需要更多的数据处理,难以在广泛的研究场所普及。下面将介绍关于神经网络提升 OR-PAM 成像深度和成像分辨率的研究。

OR-PAM 可以通过叠加  $N$  帧图像得到一幅高质量的密集定位图像,这样的方法以牺牲时间分辨率获取高空间分辨率图像。Kim 等<sup>[100]</sup>引入了基于深度神经的网络(DNN),通过从稀疏信息中重建稠密图像来加快基于定位的 PAI 的速度,用于三维无标签定位或 OR-PAM 和二维有标签定位协议。在不使用任何模拟数据的情况下,作者仅用三维 OR-PAM 和二维 PACT 图像对 DNNs 进行了训练和验证。其中三维 DNN 仅用几帧就能成功地从稀疏图像中重建出三维密集的超分辨率或 PAM 图像,如此密集的图像通常需要几十帧才能得到重建,大大缓解了牺牲时间分辨率的问题。该方法通过在 OR-PAM 中使用  $N$  帧,或者在 PACT 中使用  $N$  个染料液滴生成密集的基于定位的图像,该方法同样适用于 PACT。图 10(a)显示了该方法的网络结构和网络性能。

Zhao 等<sup>[101]</sup>提出基于神经网络的光学分辨率光声显微在体三维微血管成像和分割方法。提出的 DL 方法被称为基于 Hessian 矩阵的 3D 上下文编码器网络(HM3DCE-Net)。该模型的改进主要是考虑了脉管系统的特点,而不是修改了模型的结构。微血管系统的图像可以在不同的深度得到记录,从而获得各种内源性和外源性数据,因此可以克服之前提出的成像深度的限制。

图 10(a)为系统图,分别对小鼠脑、虹膜、后肢根部及小鼠耳血管进行成像。图 10(b)为 HM3DCE-Net 的 PAI 增强/分割过程的总体框架,该框架包括训练和测试两部分。在训练过程中,将原始图像的像素值归一化到  $[0, 1]$ ,切成小块,大小为  $256\times 256\times 16$  体素,所有数据都被切割成 8 的倍数(除 8 外),以方便数据扩充的过程。在进行裁剪操作(沿  $x/y/z$  方向的滑动步长分别为  $128/128/8$ )再进行数据增强处理后,总共获得了  $1280\times 256\times 256\times 16$  体素的子图像。图 10(c)为图像经深度编码以揭示图像质量的内容。图像中的不同颜色对应不同的深度(由 5 个颜色条表示)。第一行显示传统的基于 PAM 的图像,第二行显示基于 DL 的

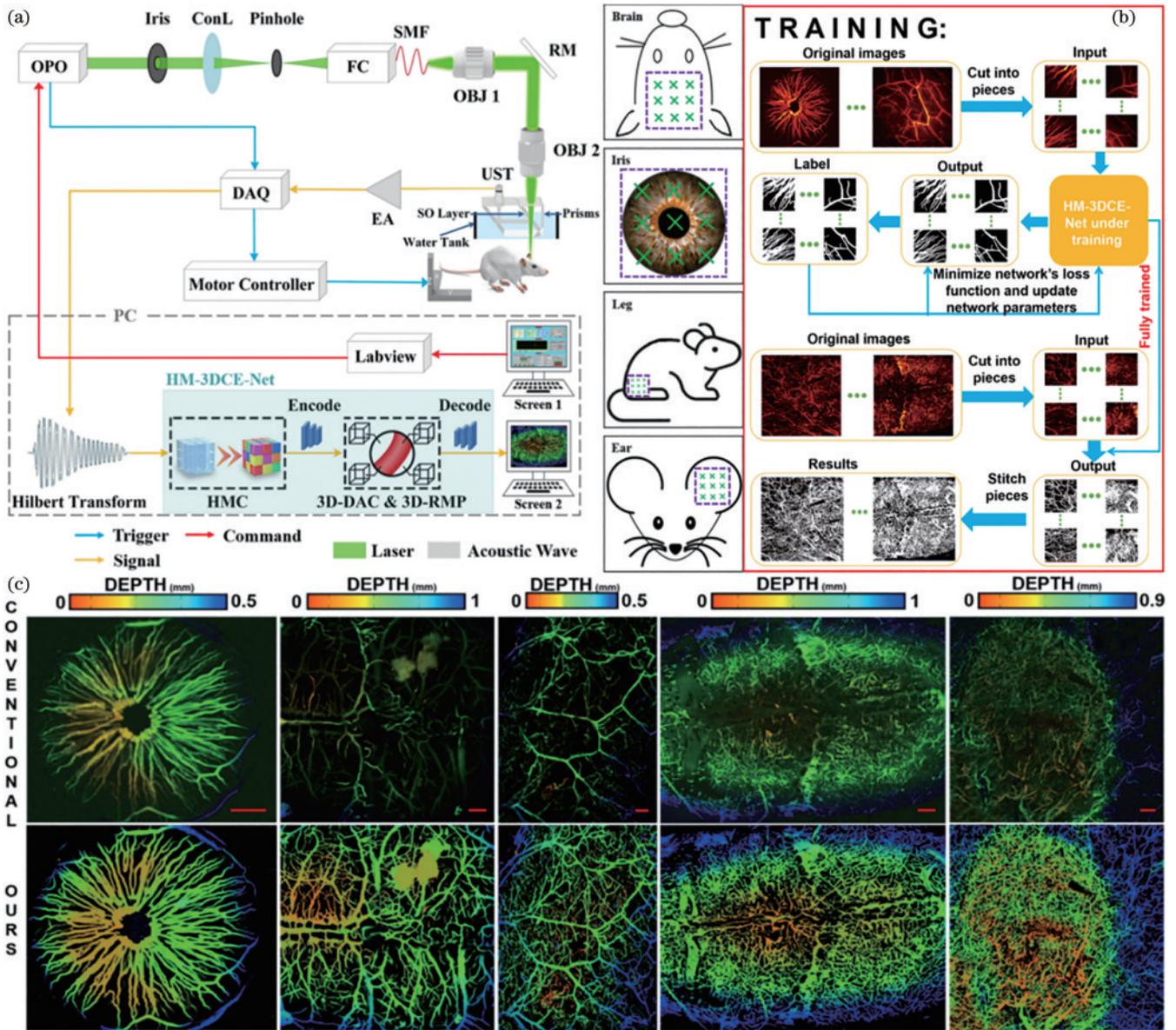


图 10 三维微血管成像系统、分割方法及成像效果。(a) 成像系统<sup>[100]</sup>; (b) 网络训练流程<sup>[101]</sup>; (c) 成像效果<sup>[101]</sup>

Fig. 10 Three-dimensional microvascular imaging system, segmentation method, and imaging results. (a) System diagram for imaging<sup>[100]</sup>; (b) network training process<sup>[101]</sup>; (c) imaging results<sup>[101]</sup>

PAM 获得的图像。

AR-PAM 的分辨率取决于几个因素: 脉冲光束的照射直径、超声换能器中心频率和带宽等参数及声波传播速度。其中与光学分辨率对应地, 可以通过超声换能器的中心频率来确定声学分辨率。AR-PAM 最大的特点是成像深度可以达到数毫米到数厘米的范围, 但分辨率会有一定损失。近年来, 深度学习方法也应用于 AR-PAM, 目的是在一定成像深度的基础上提升图像分辨率。

Cheng 等<sup>[102]</sup> 提出了一种基于深度学习生成对抗网络 (GAN) 的深穿透高分辨光声显微技术, 该方法采用 Wasserstein GAN (WGAN) 作为训练网络, 对低分辨率的 AR-PAM 图像向相同深度的高分辨率 OR-PAM

图像进行学习。GAN 包含两个子网络, 子网络分别为生成器 (G) 和判别器 (D), 且生成器与判别器之间有一种对抗合作的训练: G 产生一张与其或其标记极为类似的图片, 以蒙蔽 D; D 判别出正确结果并将结果反馈给 G。该 WGAN 中, 生成器以 AR 影像为生成器输入, 产生高分辨率影像, 并将影像传送给判别器, 以判断它们与地表实际情况及影像的相似度。在该研究中, 通过实验并结合 Python 库 Alumentations 进行数据扩充, 获得了 14 对小鼠耳 PAM 血管图像。其中, 使用 11 对图像对合成了 528 个图像对, 构成了训练集。该网络测试结果如图 11(a)~(c) 所示。

AR-PAM 的退化模型受成像深度和超声换能器中心频率的影响, 在不同的成像条件下会有所不同, 不能用单一的神经网络模型来处理。为了解决这个限

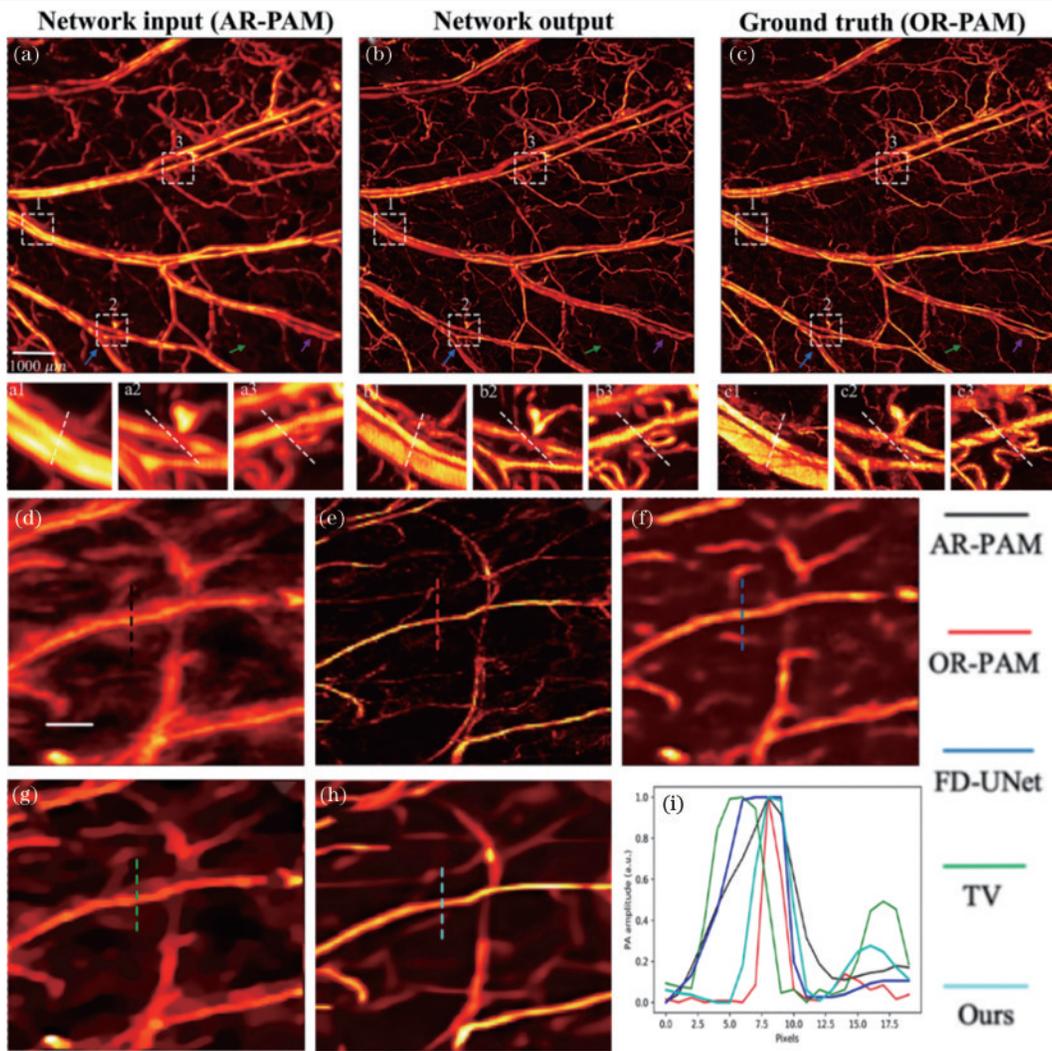


图 11 WGAN 的小鼠耳血管测试结果及基于深度 CNN 先验的自适应增强方法的测试结果。(a)~(c)WGAN 的输入 AR-PAM 图像,输出图像,对地真实 OR-PAM 图像<sup>[102]</sup>; (d)~(i)AR-PAM 成像结果,OR-PAM 成像结果,使用 FDU-Net 增强图 11(d) 的结果,采用全变分算法对图 11(d) 的增强结果,使用所提出的算法增强图 11(d) 的结果,沿虚线的信号强度分布,比例尺为 1 mm<sup>[103]</sup>

Fig. 11 WGAN results for mouse ear vasculature and results of an adaptive enhancement method with a deep CNN prior. (a)–(c) Input AR-PAM image of the network, output image of the network, ground truth of OR-PAM image<sup>[102]</sup>; (d)–(i) AR-PAM imaging result, OR-PAM imaging result, result enhanced using the FDU-Net on Fig. 11 (d), enhancement result using the total variation algorithm on Fig. 11 (d), result enhanced using the proposed algorithm on Fig. 11 (d), signal intensity distribution along the dashed line, scale is 1 mm<sup>[103]</sup>

制,Zhang 等<sup>[103]</sup>提出了一个补充框架,它结合了基于模型和基于学习的方法的优点并避免了它们的局限性,可用于增强 AR-PAM 图像的质量。首先使用深度卷积神经网络隐式地捕获目标血管图像的统计信息和结构信息,从而获得即插即用(PnP)先验,同时可以跳过设计复杂的手工正则化项的过程;接着这个 PnP 先验被进一步插入到基于模型的框架中,以便它能够自适应地处理变分退化过程。所提出的框架首先应用于模拟研究,其卓越的性能和适应性(具有巨大的动态范围)得到证明。此外,还进行了一些体内实验来测试该框架处理各种真实成像场景的能力。结果证明,该方法能够自适应增强跨不同成像系统和不同成像深度获得的 AR-PAM 图像,扩展了该方法的应用场景。基于

物理模型,推导了各种 AR-PAM 情况的 PSF 核,并将其用于增强模拟和体内 AR-PAM 图像,共同证明了该方法的有效性。从数量上来说,在所创建的三种仿真场景中,所提出的算法的峰值信噪比(PSNR)和结构相似性指数(SSIM)都达到了最佳性能,使用该算法进行体内测试时,SNR 和对比信噪比(CNR)值也分别从 6.34 和 5.79 显著提高到 35.37 和 29.66。体内成像结果如图 11(d)~(i)所示。

Meng 等<sup>[104]</sup>提出了一种基于 AR-PAM 的两阶段 DL 重建策略,以自适应地恢复不同离焦深度的高分辨率光声图像。作者开发了带有注意力门的残差 U-Net 来实现图像重建,并进行了体模和体内实验,来优化所提出的深度学习网络并验证所提出的重建方法的性

能。实验结果表明,该方法在成像系统使用  $4 \text{ mJ/cm}^2$  辐射能流的情况下将 AR-PAM 的焦深从  $1 \text{ mm}$  扩展到  $3 \text{ mm}$ ,此外,与对焦区域类似,可以提高距焦点  $2 \text{ mm}$  的区域的成像分辨率。

### 4.3 AI 促进光声显微成像的信噪比提升

在 OR-PAM 系统中因为一些物理和技术限制,图像信号的 SNR 通常较低,其中,激光脉冲能量、外部环境中的电磁干扰和系统噪声这三者是最为主要的原因。在光声成像中,激光脉冲照射到样本上,由此产生的热效应导致样本局部扩散,进而产生了压力波(即声波)。但是,由于人体无损成像的要求,激光脉冲的能量被限制在安全标准之内,进而限制了产生的声波的强度。如果声波的强度太小,相比于背景噪声,信号就显得较弱,从而使得 SNR 较低;其次,在光声成像系统中,电磁干扰可能来自多个源,如激光器、探测器、数据采集设备等,这些设备产生的电磁信号可能与从样本中接收到的声波信号混杂在一起,增加了噪声,也会导致 SNR 的降低;除了电磁干扰外,系统噪声还可能

来自多个源,如环境噪声、机械振动、探测器的电子噪声等,这些噪声同样会与从样本中接收到的声波信号混杂在一起,降低 SNR。将分析通过结合神经网络提升 OR-PAM 图像信噪比的近期研究。

He 等<sup>[105]</sup>提出了一种注意力增强的 GAN,它使用一个改进的 U 形网络生成器来去除 PAM 图像中的噪声。该网络不需要为不同的含噪图像手动选择设置,而是利用注意力增强型生成对抗网络提取图像特征,自适应去除不同程度的高斯、泊松和瑞利噪声。提出的方法的有效性在合成和真实数据集上都得到了验证,包括体模(叶脉)和活体(小鼠耳血管和斑马鱼色素)实验。其结构和去噪效果如图 12 所示。图 12(a)展示了 GAN 的结构。网络结构包含一个生成器(generator)和一个判别器(discriminator)。图 12(b)左侧为去噪前样本图像,分别为小鼠耳血管、斑马鱼色素及方框区域的放大,右侧为去噪后图像,分别为小鼠耳血管、斑马鱼色素及方框区域的放大,比例尺为  $500 \mu\text{m}$ 。

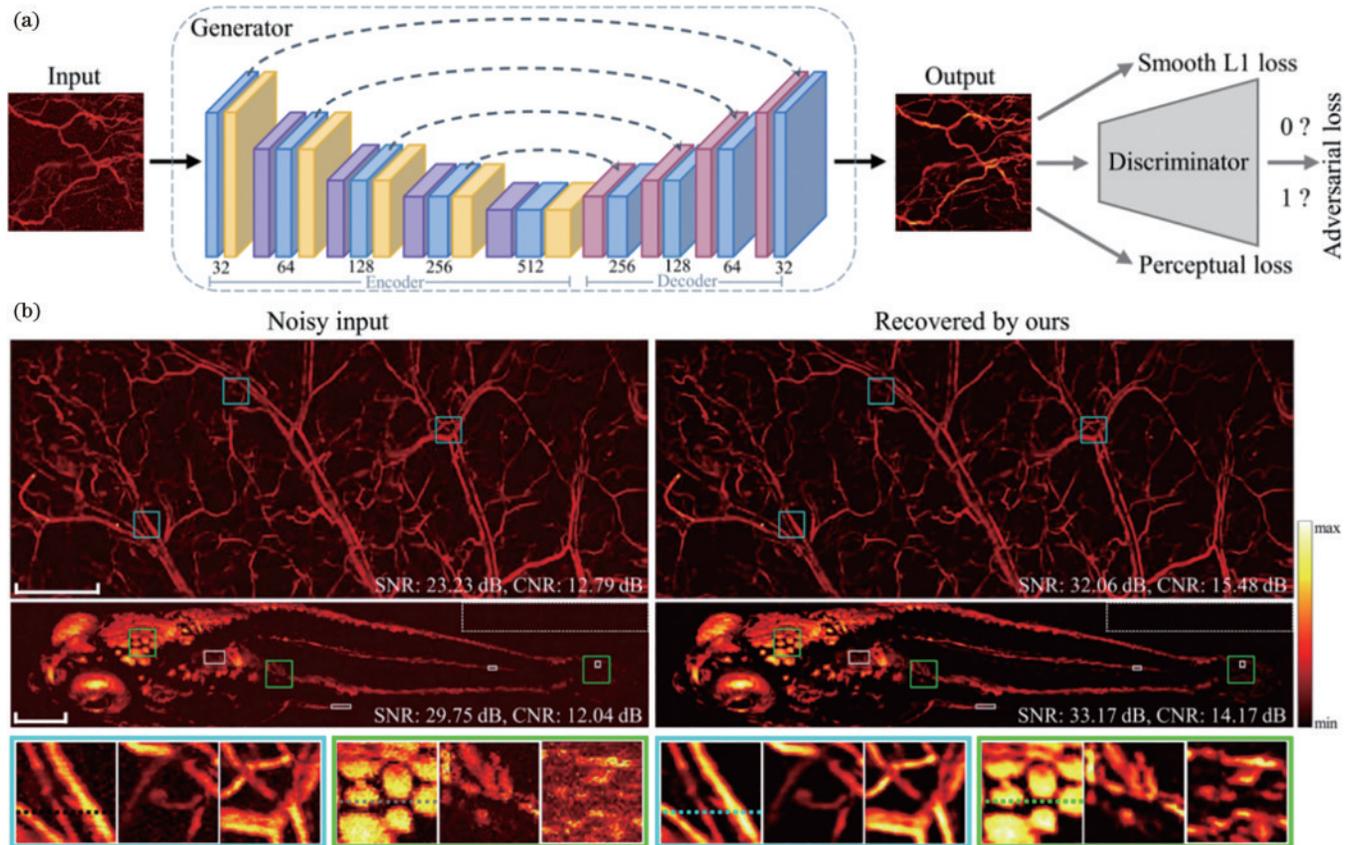


图 12 网络结构和去噪效果<sup>[105]</sup>。(a)网络结构;(b)小鼠耳血管和斑马鱼色素去噪效果展示

Fig.12 Network structure and denoising effect<sup>[105]</sup>. (a) Network structure; (b) demonstration of denoising effects on mouse ear vasculature and zebrafish pigment

Gao 等<sup>[106]</sup>开发了一种基于光声皮肤镜(PAD)的 四维(4D)光谱空间成像计算方法,以实现皮肤结构和功能成像的定量分析和优化。该方法考虑了异质性皮肤组织的光学和声学特性,可用于校正激发光的光场和可检测的超声场,并为多层皮肤组织提供准确的

PAD 单光谱分析或多光谱成像解决方案。进行了一系列实验,并使用从计算模型中获得的模拟数据集来训练神经网络,以进一步提高 PAD 系统的成像质量。该工作采用仿真方法获取数据集训练网络,提出两个网络,分别用于信号扩频与光声成像深度增大。

将 DL 应用在 PAM 中,值得一提的是已经有一些开源共享的光声数据集,包含 PAM 与 PACT。根据现有的文献,可以将已有的数据集分为两个主要类别:一类是基于生理数字体模的数据集,另一类是基于实验光声成像数据的数据集。Lou 等<sup>[107]</sup>提出了一种计算方法,该方法利用临床增强磁共振成像数据生成三维真实感数字乳房模型,并最终构建了具有不同 BIRADS 乳腺密度水平的数字乳房模型数据库,即光学和声学乳房模型数据库(OA-Breast)。此外,在文献[108]中,作者发布了两个真实的实验数据集(MSOT-Brain 和 MSOT-Burgen)以及一些数值模拟数据。在文献[109]中,还可以下载包含不同探头数量的采样数据的小鼠截面数据。而在文献[110]中,研究团队分享了一组从 OR-PAM 获取的小鼠脑数据。

## 5 光学与声学互补的光声显微成像术

在光声显微成像系统中,声学分辨率和光学分辨率是两个重要的概念。光学分辨率是指显微镜或成像系统能够分辨的最小细节大小。它由光学系统的参数决定,包括光源波长、物镜的数值孔径及成像传感器的像素尺寸等。通常情况下,光学分辨率较高,可以提供更清晰的图像。声学分辨率是指光声显微成像系统中声波探测的能力,即系统能够分辨的最小距离,声学分辨率系统可以提供更深位置的图像。在光声显微成像系统中,光学和声学分辨率相互弥补,并且可以共存。

在以往方法中,由于光焦点和超声焦点不对齐,图像质量和分辨率无法达到最佳状态<sup>[111]</sup>。在另一种方法中,光纤束用于为 OR-PAM 和 AR-PAM 传输光<sup>[112]</sup>。Moothanchery 等<sup>[113]</sup>提出了一种在单个成像系统中可切换声学分辨率和光学分辨率的光声显微镜(AR-OR-PAM),能够在同一样品上实现高分辨率和低分辨率,如图 13(d)和图 13(e)所示。使用可切换系统成功演示了  $4.2\ \mu\text{m}$ (成像深度约为  $1.4\ \text{mm}$ )的横向分辨率和  $45\ \mu\text{m}$ (成像深度约为  $7.6\ \text{mm}$ )的横向分辨率,并最终进行了体内血管成像。作者将 AR-OR-PAM 组合系统连接到自制板,通过将扫描头滑动到成像区域顶部,实现 AR 和 OR 扫描头之间的轻松切换。目前使用的 y 轴平移台移动范围为  $5\ \text{cm}$ ,因此 AR 和 OR 系统之间的切换是通过手动滑动来完成的,该系统如图 13(a)所示。

Ma 等<sup>[114]</sup>在 2020 年也提出了一种可切换光学和声学分辨率的光声皮肤镜,专用于人体皮肤的活体活组织检查。作者开发了一种可切换光学和声学分辨率的光声皮肤镜(S-OR-ARPAD),该光声皮肤镜可以在浅层皮肤层显微成像中从 OR 模式平滑过渡到在强烈散射的深层皮肤层内进行更大深度成像的 AR 模式,皮肤成像最大成像深度在  $1.2\ \text{mm}$  和  $1.8\ \text{mm}$  之间切换,横向分辨率可在  $4.4\ \mu\text{m}$  和  $47\ \mu\text{m}$  之间无缝切换。作者使用 S-OR-ARPAD 获取了负责解析不同皮肤层特

征的两种不同的分辨率模式,并通过对人体进行成像,展示了角质层、真皮乳头和水平丛微血管结构中具有强烈对比度的精细结构。该系统以及体内成像效果如图 13(c)所示,图 13(h)显示了 OR 和 AR 模式下手掌皮肤的横截面图像,尺寸为  $5\ \text{mm}\times 1.8\ \text{mm}$ 。其中绿色箭头表示网状真皮的血管,白色箭头表示皮下组织的血管。其中 Ep 表示表皮,De 表示真皮,Hy 表示皮下组织,SC 表示角质层,SB 表示基底层,SVP 表示浅表血管丛,DVP 表示深部血管丛,VN 表示血管网络,E-D 表示表皮-真皮交界层。图 13(i)和图 13(j)显示了图 13(h)中标记的深度范围内垂直于皮肤表面方向的最大幅度投影(MAP)。值得注意的是,AR 模式下的图像显示了 OR 模式图像中看不到的网状真皮和深层皮下组织的血管(白色箭头)。另一方面,与 AR 模式相比,OR 模式实现的分辨率更高。图 13(i)和图 13(j)描绘了表皮(表面以下  $0\sim 180\ \mu\text{m}$ )和表皮-真皮交界层(表面以下  $220\sim 550\ \mu\text{m}$ )的横向 MAP。这些图像揭示了皮肤表面和真皮乳头的精细细节,其中单个毛细血管环在 OR mode 中清晰可见。

Moothanchery 等<sup>[115]</sup>进一步提出了一种结合微电子机械系统(MEMS)扫描仪和光栅机械运动的高速、广域扫描集成 OR-AR-PAM 系统,使用 OR-PAM 在  $586\ \text{nm}$  下实现了  $5\ \mu\text{m}$  的横向分辨率和  $\sim 0.9\ \text{mm}$  的体内穿透深度,而使用 AR-PAM 在  $532\ \text{nm}$  下实现了  $84\ \mu\text{m}$  的横向分辨率和  $\sim 2\ \text{mm}$  的体内穿透深度。作者指出,由于先前系统<sup>[113]</sup>使用单激光,在 OR-PAM 扫描后,用户需要手动移动机械平台以转换为 AR 成像。尽管系统能够扫描同一区域,但不是同时成像,系统难以应用于高速动态的活体成像。MEMS 扫描仪显著改善了 OR-PAM 的成像速度<sup>[116]</sup>。在光学分辨率模式下使用 MEMS 扫描仪(基于 MEMS 扫描仪的 OR-PAM)后,已经开发出小型化手持式 PAI 设备<sup>[117]</sup>。基于 MEMS 扫描仪的组合 OR-AR-PAM 系统可用于同时采集浅层高分辨率图像和较低分辨率的深层组织图像,每次采集之间有  $50\ \mu\text{s}$  的延迟,此系统可用于临床前成像应用,包括血管生成、药物反应、生物标志物、大脑功能和基因活动,其中获取高分辨率浅层图像和低分辨率深层组织图像将是有益的。使用 MEMS 扫描仪的组合 OR-AR-PAM 还将有利于小型手持扫描设备的开发,特别是有利于检测湿疹和银屑病等炎症性皮肤病的微血管变化。为了让临床医生诊断这些皮肤状况的严重程度和药物反应,需要用于高分辨率浅表结构(例如毛细血管网和深层真皮血管结构)的可视化和量化的成像方式,以提供有关皮肤状况中潜在病理的补充信息。当使用 AR-PAM 无法轻松解析毛细血管网等高分辨率结构,并且使用 OR-PAM 无法解析真皮深处的脉管系统时,组合的 OR-AR-PAM 将非常有利于提升深层组织的高分辨率,这也是领域内所有生物医学成像的最终目标。作者提出的 OR-AR-PAM

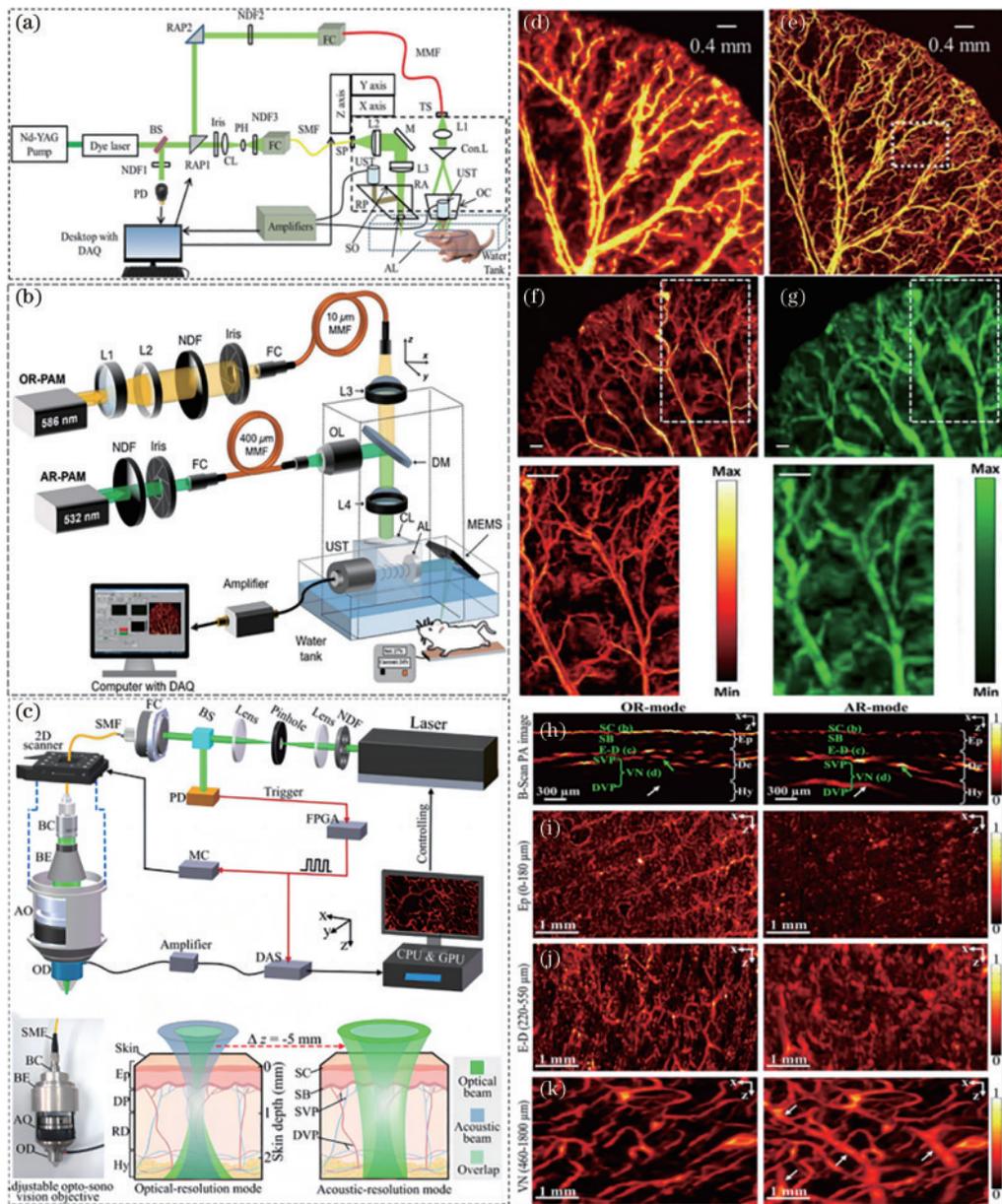


图 13 不同系统的光路和对应的成像结果。(a) 基于可切换 AR-OR-PAM 的扫描头系统的流程, 分束镜把光路分为两部分, 分别通过多模光纤和滤光装置实现声学 and 光学分辨率光声显微成像, 需手动切换模式<sup>[113]</sup>; (b) 基于 MEMS 的系统的流程<sup>[115]</sup>; (c) S-OR-ARPAD 系统, 光电声视觉物镜分别在 OR 与 AR 模式下, 对皮肤多层结构进行光激发和光声信号生成示意图<sup>[114]</sup>; (d) (e) AR-PAM 和 OR-PAM 获得的小鼠耳的体内光声图像<sup>[113]</sup>; (f) (g) OR-PAM 和 AR-PAM 获得的小鼠耳朵的 MIP 图像, 虚线框放大区域的比例尺为 500  $\mu\text{m}$ <sup>[115]</sup>; (h)~(k) S-OR-ARPAD 系统在 OR 和 AR 模式下的对手掌区域的连续横截面 PA 图像、位于皮肤表面以下 0~180  $\mu\text{m}$  的切片的横向最大振幅投影 (MAP)、表面以下 220~550  $\mu\text{m}$  的表皮-真皮交界层的横向 MAP、表皮-真皮交界层下方 460~1800  $\mu\text{m}$  深度处血管网络的横向 MAP 的对比<sup>[114]</sup>

Fig. 13 Optical paths of different systems and corresponding imaging results. (a) Flowchart of the switchable AR-OR-PAM scanning head system, where the beam splitter divides the optical path into two parts, and each passing through a multimode optical fiber and a filter device, ultimately enabling acoustic and optical resolution photoacoustic microscopy. Manual mode switching is required<sup>[113]</sup>; (b) flowchart of the MEMS-based system<sup>[115]</sup>; (c) schematic of the S-OR-ARPAD system, with illustrative diagrams of optical excitation and photoacoustic signal generation in skin multi-layer structures under both OR and AR modes of the optoacoustic visual objective<sup>[114]</sup>; (d) (e) *in vivo* photoacoustic images of a mouse ear obtained by AR-PAM and OR-PAM<sup>[113]</sup>; (f) (g) maximum intensity projection (MIP) images of the mouse ear obtained by OR-PAM and AR-PAM, and the scale in the enlarged region within the dashed box is 500  $\mu\text{m}$ <sup>[115]</sup>; (h)~(k) *in vivo* comparison under OR and AR modes of the S-OR-ARPAD system among continuous cross-sectional PA images of the palm region, lateral maximum amplitude projection (MAP) of the depicting slices from 0~180  $\mu\text{m}$  below the skin surface, lateral MAP of the epidermis-dermis junction from 220~550  $\mu\text{m}$  beneath the surface, and lateral MAP of the vascular network located at depths of 460~1800  $\mu\text{m}$  below the epidermis-dermis junction<sup>[114]</sup>

系统推进了实现各种生物医学成像应用的高分辨率深层组织成像这一最终目标。该系统和成像效果如图 13(b)所示。

## 6 生物医学应用

PAM 是一种新兴的生物医学成像技术,通过将光学和超声探测技术结合起来,能够以高分辨率成像的方式揭示生物组织的结构与功能信息。多年来,PAM 在生物医学研究领域取得了显著的突破,并呈现出巨大的应用潜力。在结构成像方面,PAM 可以提供生物组织的结构信息,并实现对其的三维成像。而在功能成像方面,PAM 还可以非侵入性地评估组织的生理参数,如血氧饱和度、血流速度和代谢率。如今,PAM 已成为生物医学研究中的重要手段,为研究人员提供了深入研究生物体内部结构形态和功能状态的新途径,同时也在药物转运研究和基因表达分析等领域发挥重要作用。

### 6.1 光声结构显微成像

生物组织的微观结构的特征尺寸是组织的一项基本属性,它指的是构成组织微小单元的大小,例如细胞团或色素团的大小、微血管的直径等。血管是生物体的重要组成部分,可提供维持生命所需的营养成分,排出新陈代谢产物等。血管微结构可以表征生物组织的生理和病理信息,如肿瘤、糖尿病和皮肤病等疾病,患有此类疾病的血管网络的微结构也会发生变化,因此对组织微结构信息进行评估有着极高的生物医学应用价值。由于具有高分辨的特点<sup>[118-119]</sup>,光声显微技术可以揭示皮下血管的微观结构,并用于对疾病的早期诊断和治疗。在对毛细血管实现高分辨率成像时,由于鼠耳具有丰富的毛细血管网络和较薄的厚度,为 PAM 成像中常用的生物模型。Hu 等<sup>[120]</sup>在搭建的 OR-PAM 系统中,利用 532 nm 激光对活体小鼠耳朵进行扫描成像,获得的图像能较好地揭示小鼠耳朵的微血管结构和密集的毛细血管网络,但是这种成像结果缺乏对比度,系统无法满足对活体动物进行实时成像的要求。Wang 等<sup>[121]</sup>利用波长可切换的光声显微成像技术对肿瘤微血管进行成像,以精确地引导光热治疗和评估治疗的效果。图 14 为利用 PAM 系统对小鼠耳朵进行成像的结果。图 14(b)所示的最大振幅投影图像和图 14(c)所示的深度编码图像可以清楚地显示动脉(A1 和 A2)、静脉(V1 和 V2)和微血管。经过对照,随着肿瘤的生长,血管数量增加,结构更加曲折,肿瘤周围的血管也具有显著的畸形。图 14(h)和图 14(i)所示的 PA 图像显示肿瘤内的微血管结构更致密,动静脉直径也变大。PAM 可以可视化并准确评估肿瘤微血管和肿瘤周围的供血动脉。孙彤等<sup>[122]</sup>在肝癌细胞检测中,利用双波长光声显微镜对血管网络进行高分辨成像,提取了肝小叶、癌旁和肿瘤中心血管的特征并进行了分析,相比于正常区域血管,肿瘤区域血管直径增

加,血管分布混乱。Kim 等<sup>[123]</sup>在光声显微成像系统中利用具有长焦距和大传感区域的环形超声换能器(RUT)实现共焦配置,解决传统 PAM 系统中光超声组合器(OUC)的声阻抗失配的问题,以提高系统的灵敏度。在相同比例的色图中,小鼠耳朵的微血管在图 14(j)中比在图 14(k)中更明显,成像范围边缘的毛细血管在图中也清晰可见。与传统的光声显微成像系统相比,基于 RUT 的 PAM 系统提高了灵敏度和信噪比,并改善了图像细节。Cao 等<sup>[28]</sup>开发了针状光束光声显微镜(NB-PAM),通过定制的衍射光学元件将景深扩展到约瑞利长度的 28 倍,如图 14(l)所示,采用可见光实现对小鼠脑血管的高质量成像,在图像边缘的深度区域依然能显示血管的细节,这为病理成像和体内器官水平成像提供了新的视角。

光声显微成像技术对血管形态结构进行成像具有天然的优势,而皮肤病多表现为微血管畸形病变,因此光声显微成像也适用于皮肤疾病的检测。Aguirre 等<sup>[124]</sup>利用超宽带光声显微镜获得了皮肤的超精细结构,如图 15(a)~(c)所示,并对比分析了正常皮肤与患有银屑病的皮肤在结构上的不同,与健康皮肤相比,患有银屑病的皮肤表皮厚度增加,真皮血管直径更大,结构更曲折。Cheng 等<sup>[125]</sup>提出了一种扩展景深的光声显微镜系统对损伤皮肤进行成像,采用衍射长焦透镜产生贝塞尔光束增加景深,该系统可在不同深度下实现相对恒定的横向分辨率,如图 15(d)所示,清晰地显示了表皮结构和新生血管的详细信息,帮助临床医生定量获取治疗结果。光声显微成像技术也可用于细胞结构成像方面。例如,对于单个红细胞和黑色素瘤细胞的成像,由于细胞内含有血红蛋白和黑色素等内源性吸收体,在可见光波段具有强烈的光学吸收效应,借助光声显微成像技术,可以实现对单个红细胞和黑色素瘤细胞的非标记成像<sup>[126]</sup>。Dong 等<sup>[127]</sup>采用光学微环谐振腔探测光声信号,实现了横向分辨率为亚微米的高分辨率 PAM。具有超宽的检测带宽和高的探测灵敏度的设备可以重构红细胞的三维结构。Shi 等<sup>[18]</sup>设计的紫外光定位的中红外 PAM 不仅解决了中红外激光的波长限制 PAM 横向分辨率的问题,而且可进行无标记成像,如图 15(e)所示,该图是纤维细胞无标记成像结果。此外,多波长频域光声显微镜(FDOM)<sup>[128]</sup>也适用于生物组织细胞成像,将 FDOM 与多光子显微镜集成到一个混合系统中进行成像,结果如图 15(f)所示。其中: I 为 808 nm 的 FDOM 成像,显示了注射到小鼠耳朵中的 B16F10 黑色素瘤细胞; II 为 488 nm 的 FDOM 成像,显示脉管系统和黑色素瘤细胞; III 为三次谐波产生 (THG) 图像,显示角质细胞和毛囊形态; IV 为二次谐波产生 (SHG) 图像,显示了表皮中胶原蛋白的分布; V 为成像目标的明视场图像; VI 为使用 4 种无标记显微形态获得的叠加图像,即 488 nm 和 808 nm 的 FDOM、SHG (522 nm) 和 THG (348 nm) 的荧光成

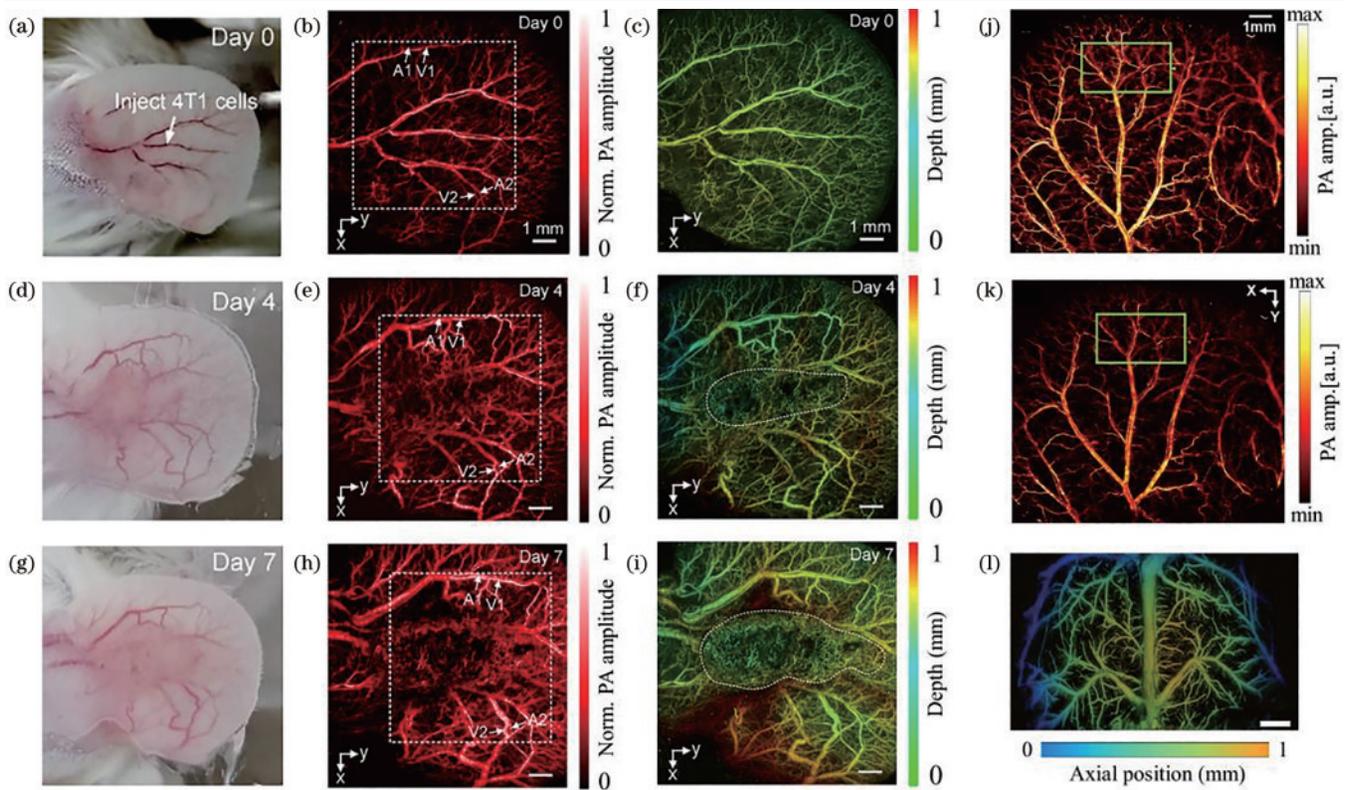


图 14 微血管检测成像。(a)注射 4T1 肿瘤细胞前的小鼠耳朵(第 0 天)<sup>[121]</sup>; (b)第 0 天小鼠耳朵的最大振幅投影微血管图像,虚线框是感兴趣的区域<sup>[121]</sup>; (c)第 0 天小鼠耳朵的深度编码微血管图像<sup>[121]</sup>; (d)第 4 天的小鼠耳朵<sup>[121]</sup>; (e)第 4 天小鼠耳朵的最大振幅投影微血管图像<sup>[121]</sup>; (f)第 4 天小鼠耳朵的深度编码微血管图像<sup>[121]</sup>; (g)第 7 天的小鼠耳朵<sup>[121]</sup>; (h)第 7 天小鼠耳朵的最大振幅投影微血管图像<sup>[121]</sup>; (i)第 7 天小鼠耳朵的深度编码微血管图像<sup>[121]</sup>; (j) (k) RUT 模块和传统的光声组合模块获得的小鼠耳内微脉管系统的图像<sup>[123]</sup>; (l) 小鼠在有颅骨时脑血管的可见光 NB-PAM, 显示了深度编码的脑血管网络<sup>[28]</sup>

Fig. 14 Microvascular detection imaging. (a) Mouse ear before injecting 4T1 tumor cells (Day 0)<sup>[121]</sup>; (b) maximum amplitude projection microvascular image of the mouse ear on Day 0. The dashed box represents the region of interest<sup>[121]</sup>; (c) depth-encoded microvascular image of the mouse ear on Day 0<sup>[121]</sup>; (d) mouse ear on Day 4<sup>[121]</sup>; (e) maximum amplitude projection microvascular image of the mouse ear on Day 4<sup>[121]</sup>; (f) depth-encoded microvascular image of the mouse ear on Day 4<sup>[121]</sup>; (g) mouse ear on Day 7<sup>[121]</sup>; (h) maximum amplitude projection microvascular image of the mouse ear on Day 7<sup>[121]</sup>; (i) depth-encoded microvascular image of the mouse ear on Day 7<sup>[121]</sup>; (j) (k) images of the mouse ear's microvasculature system obtained using the RUT module and traditional photoacoustic combination module<sup>[123]</sup>; (l) visible light NB-PAM of brain vasculature in a mouse with a skull, showing the depth-encoded brain vascular network<sup>[28]</sup>

像,和明场显微镜的结果相比,验证了混合成像结果的准确性。FDM 方法可使用廉价的连续波激光二极管代替昂贵的脉冲激光,极大地降低了生物组织成像检测的成本。

## 6.2 光声功能显微成像

光声功能显微成像在医学和生物科学领域有广泛的应用场景。首先在癌症研究方面,为了开发新的癌症诊断工具和疗法并改善患者预后,研究动物模型中肿瘤的生长和治疗至关重要<sup>[129]</sup>。具体地,癌症周围的血管生成和外周血管中的缺氧/高氧是决定癌症发生和恶性程度的重要因素,例如在图 16(a)中,通过 OR-PAM 技术,可以实现对血管和淋巴管的区分定位,同时为它们的结构和功能提供精细的图像信息<sup>[14]</sup>。光声成像可用于早期癌症诊断、肿瘤血流动力学研究和肿瘤治疗监测,能够揭示肿瘤的血供情况、氧合水平和生长动态,有助于制定个性化的治疗策略,如图 16(b)所

示<sup>[130]</sup>。对于癌症肿瘤,观察肿瘤区域的血流动力学参数至关重要,光声显微成像可以测量肿瘤内的血流速度、血管密度和血管形态。这些参数有助于了解肿瘤的血供情况,从而帮助诊断和监测治疗反应。氧合水平同样也是重要的可观测指标,通过测量血红蛋白和脱氧血红蛋白的吸收特性,光声显微成像可以估计组织中的氧合水平。这对于研究肿瘤的氧供应情况和肿瘤的新生血管形成非常有帮助。肿瘤血管形态是评估肿瘤生长状态的最直观参数,光声显微成像可以揭示肿瘤内部的血管结构,包括血管的分支和形态,有助于评估肿瘤的侵袭性和生长方式,帮助确定肿瘤的边界和周围正常组织的关系,有助于手术规划和肿瘤定位,图 16(c)和图 16(d)展示了光声成像的这一优势<sup>[131-132]</sup>。除此之外,通过使用特定的光学标志物或吸光性染料,光声显微成像不仅可以实现对特定受体或标志物在肿瘤内的分布和表达的成像,还可以深入了解细胞和组

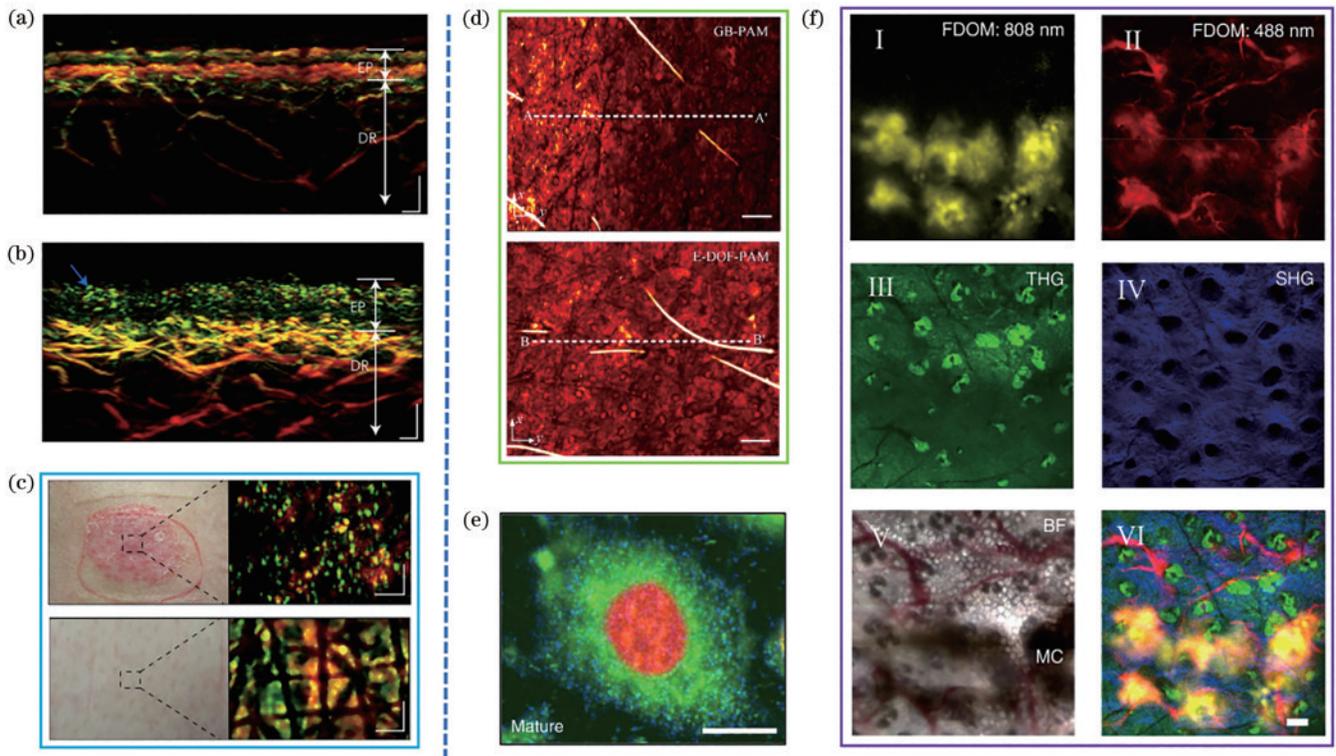


图 15 PAM 在皮肤结构、疾病和细胞水平的应用。(a)健康皮肤成像的横截面图像,清晰显示分层表皮结构(EP)和真皮内血管(DR)<sup>[124]</sup>; (b)银屑病皮肤成像的横截面图像,毛细血管(呈绿色)与表皮结构(EP)交错<sup>[124]</sup>; (c)银屑病皮肤区域顶部的照片及虚线区域的光声成像结果(上),健康皮肤区域的照片及光声成像结果(下),可见浅表皮肤凹陷<sup>[124]</sup>; (d)高斯光束光声显微系统(GB-PAM)和扩展景深光声显微系统(E-DOF-PAM)采集的光声图像<sup>[125]</sup>; (e)成纤维细胞的光声显微成像<sup>[18]</sup>; (f)注射黑色素瘤细胞(MC)后小鼠耳朵的混合 FDOM/多光子成像<sup>[128]</sup>

Fig. 15 Applications of PAM at the level of skin structure, diseases, and cells. (a) Cross-sectional image of healthy skin imaging, clearly showing the layered epidermal structure (EP) and blood vessels in the dermis (DR)<sup>[124]</sup>; (b) cross-sectional image of psoriasis skin imaging, with capillaries (shown in green) interlacing with the epidermal structure (EP)<sup>[124]</sup>; (c) top photograph of a psoriasis skin area and photoacoustic imaging results in the dashed region (above), and a photograph of healthy skin area and photoacoustic imaging results (below), showing superficial skin depressions<sup>[124]</sup>; (d) photoacoustic images acquired using Gaussian beam photoacoustic microscopy (GB-PAM) and extended depth-of-focus photoacoustic microscopy (E-DOF-PAM)<sup>[125]</sup>; (e) photoacoustic microscopic image of fibroblast cells<sup>[18]</sup>; (f) mixed FDOM/multi-photon imaging of a mouse ear after injection of melanoma cells (MC)<sup>[128]</sup>

织的生物学行为,如图 17(a)~(d)所示<sup>[121,133-134]</sup>。这种技术能够揭示细胞之间的相互作用和通信机制,为研究人员提供关于肿瘤生长、转移和治疗反应的宝贵信息。在癌症研究领域,识别和定位特定的标志物是至关重要的,因为这些标志物通常与肿瘤的侵袭性、恶性程度和预后有关。光声显微成像为研究者提供了一种无损、实时的方法,使他们能够在生物活体内精确地追踪这些标志物,这对于开发新的治疗策略和药物靶标非常有意义。此外,光声显微成像可以应用于各种癌症治疗的监测,如放疗、化疗和免疫疗法。例如,在进行放疗时,可以通过光声显微成像实时监测肿瘤组织的变化,确保辐射精确地定位到肿瘤,从而减少对周围健康组织的损伤。对于化疗和免疫疗法,此技术可以评估药物分布、药物摄取和细胞死亡的速度。

在心脑血管医学中,光声功能成像技术为血管狭窄、动脉瘤、心脏瓣膜病变、脑血管异常、心脏功能的诊

断和监测提供了新的解决方案。其独特优势在于,能非侵入性地提供高分辨率的组织图像,有助于早期识别并预测心脑血管疾病的风险。首先,光声功能成像能够精准描绘血管内壁的微小变化,如图 18(a)所示,对动脉粥样硬化等早期疾病有着敏锐的检测能力<sup>[135]</sup>,这有助于医生及时干预,避免更为严重的血管闭塞事件。动脉瘤,作为血管异常扩张的一种形态,其可能的破裂带来巨大的生命危险。光声成像在此方面可提供清晰的动脉瘤外形、位置和大小信息,为临床决策提供关键参考。在脑血管医学方面,如图 18(b)~(d)所示<sup>[136-138]</sup>,此技术也可以用于监测潜在的脑动脉瘤、脑缺血或出血,为诊断脑血管事件提供关键依据。此外,对于心脏瓣膜异常,传统诊断可能需要侵入性手段,而光声功能成像则可以非侵入性地评估瓣膜的结构和功能完整性,准确识别瓣膜狭窄或关闭不全等问题,为患者提供及时、准确的治疗建议。不仅如此,此技术在监

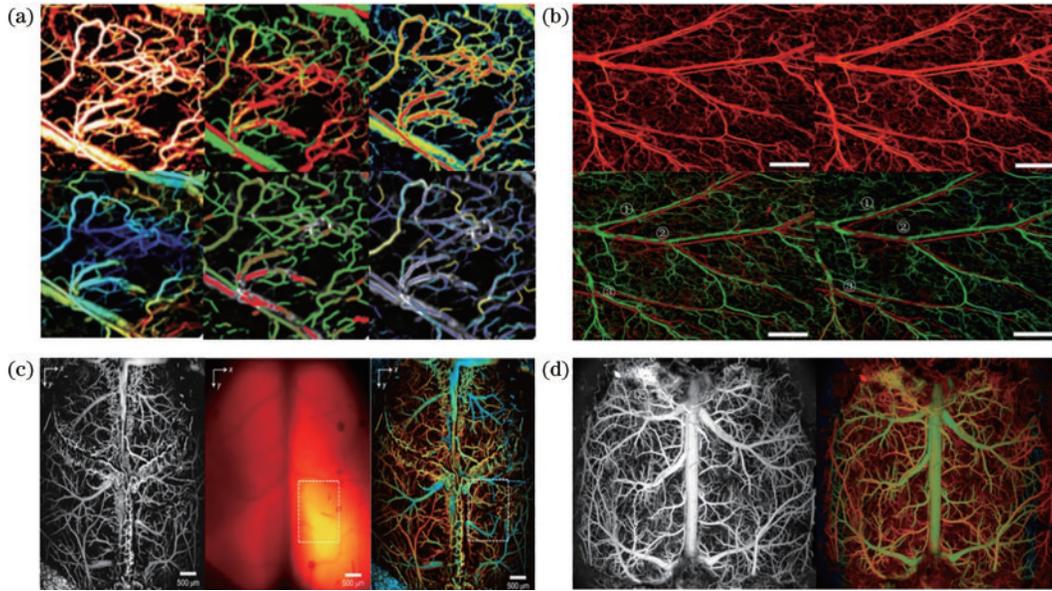


图 16 PAM 在肿瘤研究中的应用。(a) 肿瘤区域血红蛋白浓度、血氧饱和度、血流速度、深度、直径、弯曲度的 OR-PAM 图像<sup>[14]</sup>；(b) 超快双波长激发下氧饱和度的体内 OR-PAM 图像, 第一和第二脉冲波长分别为 532 nm 和 558 nm<sup>[130]</sup>；(c) 受影响乳房的 X 光片, 全癌乳房的深度编码光声血管造影, 肿瘤区域的矢状面图像<sup>[131]</sup>；(d) UFF-PAM 在 532 nm 处获得的小鼠整个大脑皮层的代表性  $x$ - $y$  最大振幅投影 (MAP) 图像, 以及用 532 nm 和 558 nm 双波长测量获得的同一小鼠大脑血红蛋白氧饱和度 ( $sO_2$ ) 图<sup>[132]</sup>

Fig. 16 Applications of PAM in tumor research. (a) OR-PAM images of hemoglobin concentration, oxygen saturation, blood flow speed, depth, diameter, and tortuosity in the tumor region<sup>[14]</sup>; (b) *in vivo* OR-PAM image of oxygen saturation with ultrafast dual-wavelength excitation. The first and the second pulses are 532 nm and 558 nm<sup>[130]</sup>; (c) mammograms of the affected breasts, depth-encoded photoacoustic angiogram of whole cancerous breasts, and sagittal plane image across tumor region<sup>[131]</sup>; (d) a representative  $x$ - $y$  maximum amplitude projection (MAP) image of a mouse brain vasculature over the entire cortex acquired by UFF-PAM at 532 nm, and the oxygen saturation of hemoglobin ( $sO_2$ ) map of the same mouse brain acquired with dual-wavelength measurements at 532 nm and 558 nm<sup>[132]</sup>

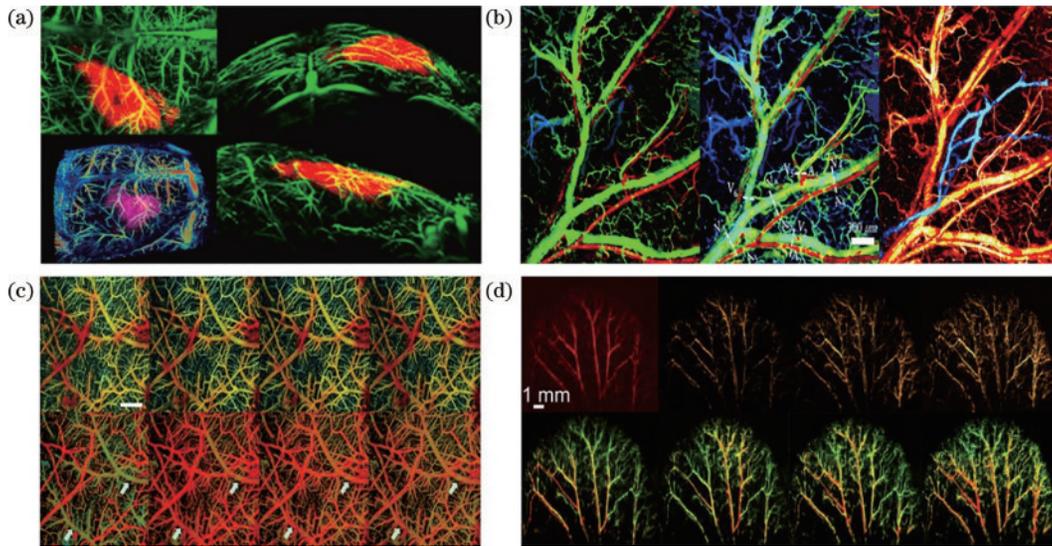


图 17 PAM 在细胞和组织中的应用。(a) 完整小鼠颅骨状态下的微血管和纳米粒子分布的合并光声图像<sup>[133]</sup>；(b) 小鼠耳内血液和淋巴管的五波长 OR-PAM 图像<sup>[131]</sup>；(c) 异氟醚不存在 (OFF) 和存在 (ON) 时脑 CHb、 $sO_2$  的头部受限 PAM 和血流速度<sup>[121]</sup>；(d) 注射肾上腺素后小鼠耳 PA 振幅变化百分比和注射肾上腺素后小鼠耳  $sO_2$  图像<sup>[134]</sup>

Fig. 17 Applications of PAM in cells and tissues. (a) Merged photoacoustic image of microvasculature and nanoparticles distribution in a complete mouse skull state<sup>[133]</sup>; (b) five-wavelength OR-PAM images of the blood and lymphatic vessels in the mouse ear<sup>[131]</sup>; (c) head-restrained PAM of cerebral CHb,  $sO_2$ , and blood flow speed in the absence (OFF) and presence (ON) of isoflurane<sup>[121]</sup>; (d) percentage change of PA amplitude of the mouse ear after epinephrine injection and  $sO_2$  images of the mouse ear after epinephrine injection<sup>[134]</sup>

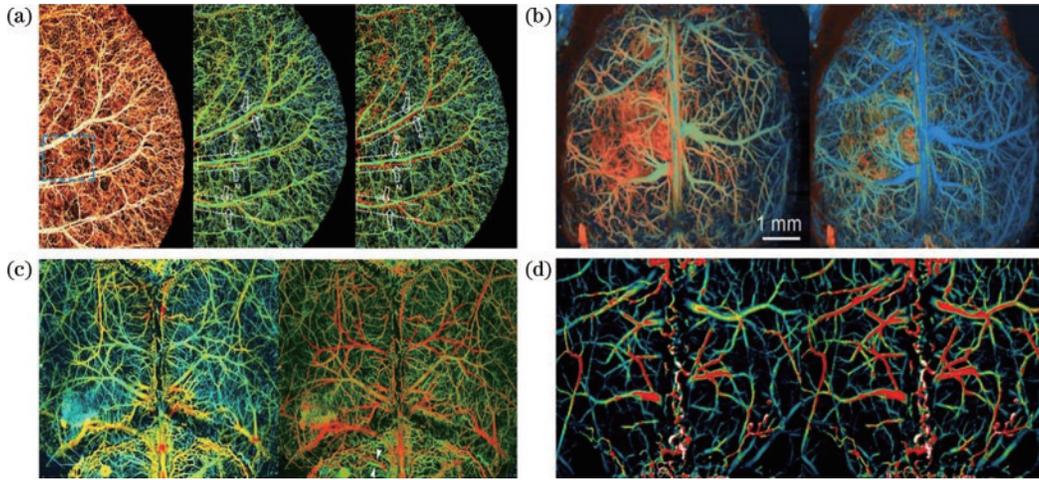


图 18 PAM 在脑血管医学中的应用。(a) 小鼠耳朵体内总血红蛋白浓度成像, 小鼠耳朵的线性  $sO_2$  图像, 小鼠耳朵的非线性  $sO_2$  图像<sup>[135]</sup>; (b) 在低氧挑战下获取的小鼠脑部高速成像, 显示氧气减少<sup>[136]</sup>; (c) 同时获取的高分辨率 CHb 和  $sO_2$  图<sup>[137]</sup>; (d) 模拟代谢性酸中毒前脑  $sO_2$  的基线图像和模拟代谢性酸中毒后的脑  $sO_2$  图像<sup>[138]</sup>

Fig. 18 Applications of PAM technology in cerebrovascular medicine. (a) From left to right: *in vivo* imaging of the total hemoglobin concentration in the mouse ear, linear  $sO_2$  image of the mouse ear, nonlinear  $sO_2$  image of the mouse ear<sup>[135]</sup>; (b) high-speed imaging of the mouse brain obtained under hypoxia challenge, showing reduced blood oxygenation<sup>[136]</sup>; (c) simultaneously acquired high-resolution maps of CHb and  $sO_2$ , respectively<sup>[137]</sup>; (d) baseline image of cerebral oxygen saturation ( $sO_2$ ) before simulated metabolic acidosis and image of cerebral  $sO_2$  after simulated metabolic acidosis<sup>[138]</sup>

测心脏和脑部功能方面也具有无可比拟的优势。光声成像可以实时捕捉心脏的收缩与舒张动作, 并评估脑部的血流和氧合状态, 为医生提供关于心脏和脑部的功能性数据, 这对于评估心功能、制定治疗方案和调整治疗策略都至关重要。

光声成像在探索神经活动时具有特定的优势。与传统的功能磁共振成像技术相比, 光声成像能够提供更快速且具有高空间分辨率的神经活动映射。这为神经科学家提供了一种强有力的工具, 用以研究脑网络是如何在特定任务和情境中协同工作的。此外, 光声成像在神经退行性疾病领域具有巨大的研究潜力。例如, 在阿尔茨海默病早期, 脑血流可能会出现异常。通过光声成像, 研究者可以在疾病的非常早期阶段捕捉到这些微妙的变化, 从而更早期地进行干预和治疗。同样地, 对于卒中和癫痫患者, 光声成像能够帮助医生定位受损区域, 评估伤害的程度, 并监测恢复进程。

## 7 总结及展望

PAM 经过近几十年的快速发展, 已经成为生命科学中的一种重要的无损、无标记的三维成像工具。该技术具有高分辨率、高对比度、无损伤、深穿透等优点, 可以在多个尺度和深度上揭示组织内部的结构和功能信息。当前 PAM 的进展主要集中在 4 个方面, 即光学增强和声学增强的 PAM、人工智能增强的 PAM 及光学与声学互补的 PAM。在光学增强方面, 超透镜、贝塞尔光束以及变焦透镜等新型光学设计极大地推动了 OR-PAM 的突破和拓展, 此外, 光学波前整形技术通过对入射波前进行精确调控, 允许光通过散射

介质 (如生物组织) 后重新聚焦, 大大增加了 PAM 的穿透深度, 为生物组织内部的高分辨率成像打开了大门。在声学增强方面, 各种新型高效声学探测器的设计及合成孔径算法的引入也显著增强了 AR-PAM 的细节还原能力。与此同时, 人工智能技术的引入可以增加成像的速度、成像深度、分辨率及图像的信噪比, 为光声显微图像提供了更多提升图像质量的可能性。最后, 光学与声学互补的 PAM 不仅可以获得清晰的浅表成像, 也可进行更深层次的组织观测, 提供全面的生物信息。得益于这些进展, PAM 在生物医学研究中的应用范围不断扩大, 展现出巨大的应用潜力。

本文综述了 PAM 的发展历程和最新进展, 重点介绍了光学增强的 PAM 和声学增强的 PAM 的原理、方法和应用。本文还介绍了深度学习等人工智能技术在分析大规模 PAM 图像、辅助重建与增加图像质量方面的优势。最后, 介绍了一些光学和声学互补的 PAM 系统, 以及 PAM 在生物医学方面的应用研究。PAM 能够以高分辨率成像的方式揭示生物组织的结构和功能信息, 这些进展表明 PAM 在生物医学成像领域有着广阔的前景, 为疾病诊断和生物研究提供了有力工具。

虽然 PAM 在生物医学成像领域的发展非常迅速, 其成像性能的持续提升仍存在巨大的发展空间。在光学增强方面, 由于 OR-PAM 采用紧密的光学焦点, 其景深有限, 这使得实现任意表面目标的高分辨率成像具有挑战性。为了解决这一问题, Li 等<sup>[139]</sup>开发了一种名为高速自适应光声显微镜的系统, 该系统可在 5 s 内在直径为 10 mm 的圆形成像区域上实现  $6 \mu\text{m}$  的

均匀横向分辨率。此外,随着光子工学和数字光处理技术的发展,更精密和个性化的光波整形将会实现对组织和细胞甚至分子尺度的光声显微成像<sup>[140-143]</sup>。在声学增强方面,各种创新高效的声学超敏感探测器的问世也将使声学分辨率达到一个新高度。此外,不同物理原理成像模式的结合也将赋予光声显微成像更多对生物组织功能和活动的检测能力。随着成像分辨率和检测能力的增强,光声显微术在生命科学各领域中的应用范围和影响力还将持续扩大。具体来看,在光学增强方面,纳米光子工程的发展使光子处于完全可控状态成为可能,这为激光波前精细化提供了物质基础。同时数字全息可以进行像素级的激光波前控制,实现复杂波前工程照射。这两者结合起来,有望在组织深处实现数十纳米直径的聚焦斑点。另一方面,先进的声学探测器在检测带宽、灵敏度等方面还有提升空间,同时多元探测器的组合使用也是增加 PAM 声学分辨率的重要手段。此外,深度学习越来越多地证明了其克服成像方式的物理限制的能力,在 PAM 中具有广阔的应用前景<sup>[144-145]</sup>。最后,不同模式图像的融合,如 PAM 与 PACT 的结合,可以使不同光声对比机理发挥协同作用,提供更丰富的生物信息。比较典型的尝试是 2023 年 Sun 等<sup>[146]</sup>将光声显微成像与光声计算机断层扫描相结合,提出了一种快速、高分辨率的光声成像方法来评估肝功能储备,该技术利用光声显微成像高分辨率的优势,揭示微血管形态并提供重要的组织功能信息,包括氧饱和度,其精确的定位能力提高了检测异常血管的准确性和视觉效果。此外,通过结合光声计算机断层扫描,还可以无创方式展示肝脏的实时动态可视化,这种可扩展的光声成像在评估酒精相关疾病的肝功能储备方面显示出巨大的潜力,具有广泛的临床应用价值。除了将 PAM 与 PACT 结合,还可将 PAM 与超声或光学相干层析成像等成像技术结合实现多模态成像,实现各成像技术的优势互补,提供更全面的生物组织信息,例如血管结构、血氧饱和度、肿瘤血管新生等。通过对系统结构的优化还可以提高成像速度和灵敏度,降低成本和复杂度,以使其适用于活体动态成像。

PAM 具有安全、高分辨率、实时成像等优点,成为研究生物体内微观结构和功能的理想工具。通过光声效应,可以获取组织中的吸收信息,从而实现对血管、细胞和组织的高对比度成像,这使得 PAM 在心血管疾病的深入研究、药物监测、肿瘤学、基因表达、干细胞和免疫系统、神经科学、疾病传感和早期诊断等领域有着巨大的应用潜力。首先,在心血管领域,PAM 将深化对心血管疾病的研究。通过高分辨率、高对比度的成像,PAM 可以实时监测动脉和血管壁的结构变化,提供更详细的心血管系统信息。这有望加速对动脉粥样硬化等疾病发病机制的理解,并为治疗方法的制定提供更为精准的依据。其次,PAM 在药物监测方面具

有潜在的巨大价值。通过监测药物在生物体内的输送和分布,研究人员可以更准确地评估药物的疗效和副作用。这对药物研发阶段的筛选和药物治疗期间的监测都具有重要意义,为个性化药物治疗提供了新的手段。在癌症研究中,PAM 可以实现对肿瘤血管的高分辨率成像,为肿瘤的早期诊断和治疗提供重要信息。此外,其能够对血流动力学进行实时监测,有助于了解肿瘤的血供情况,为精准治疗提供支持。未来,随着技术的进一步发展,PAM 有望成为癌症诊断和监测的重要工具。此外,PAM 在基因表达、干细胞和免疫系统研究方面也将取得显著进展。通过将光声成像与分子探测技术结合,可以实现对基因表达和细胞功能的高灵敏度检测,为生物医学研究提供更为全面的信息。在神经科学领域,PAM 可用于研究大脑结构和功能,高分辨率的成像能力使其能够观察神经元的活动和突触的变化,为理解神经系统疾病提供关键信息。未来,PAM 可能在脑科学中发挥更大作用,帮助揭示神经网络的复杂连接和脑功能的机制。最后,PAM 在疾病传感和早期诊断方面有望成为重要的工具。因高灵敏度和大成像深度,PAM 能够探测微小的生物学变化,为疾病的早期诊断和治疗提供突破口。在未来,PAM 可能成为疾病预防和干预的重要手段,促进更早期的治疗和更好的临床结果。

PAM 技术正处于高速发展期,这些潜在的技术突破都有望在不久的将来实现。随着硬件和软件条件的提升,PAM 定能具有更高的检测精度和生物组织透视能力。我们可以期待 PAM 继续不断创新和改进,为科学界和医学界带来更多的惊喜。随着不断突破技术障碍,PAM 将成为一个强大的工具,帮助我们更深入地探索和理解生命的奥秘。

## 参 考 文 献

- [1] 张涛,陶超,刘晓峻.基于光声成像的生物组织微结构定征研究进展[J].应用声学,2021,40(1):11-21.  
Zhang T, Tao C, Liu X J. Progress of tissue microstructure classification from photoacoustic imaging [J]. Journal of Applied Acoustics, 2021, 40(1): 11-21.
- [2] Lee C, Jeon M, Jeon M Y, et al. *In vitro* photoacoustic measurement of hemoglobin oxygen saturation using a single pulsed broadband supercontinuum laser source[J]. Applied Optics, 2014, 53(18): 3884-3889.
- [3] Mallidi S, Luke G P, Emelianov S. Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance [J]. Trends in Biotechnology, 2011, 29(5): 213-221.
- [4] Jin Y Y, Yin Y G, Li C Y, et al. Non-invasive monitoring of human health by photoacoustic spectroscopy [J]. Sensors, 2022, 22(3): 1155.
- [5] Horton N G, Wang K, Kobat D, et al. *In vivo* three-photon microscopy of subcortical structures within an intact mouse brain[J]. Nature Photonics, 2013, 7(3): 205-209.

- [6] Errico C, Pierre J, Pezet S, et al. Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging[J]. *Nature*, 2015, 527(7579): 499-502.
- [7] Zhu X Y, Huang Q, DiSpirito A, et al. Real-time whole-brain imaging of hemodynamics and oxygenation at microvessel resolution with ultrafast wide-field photoacoustic microscopy[J]. *Light: Science & Applications*, 2022, 11: 138.
- [8] Wang L V. Tutorial on photoacoustic microscopy and computed tomography[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2008, 14(1): 171-179.
- [9] Zhang W Y, Ma H G, Cheng Z W, et al. High-speed dual-view photoacoustic imaging pen[J]. *Optics Letters*, 2020, 45(7): 1599-1602.
- [10] Yao J J, Wang L V. Photoacoustic microscopy[J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2013, 7(5): 758-778.
- [11] Bell A G. On the production and reproduction of sound by light[J]. *American Journal of Science*, 1880, 3(118): 305-324.
- [12] Feng T, Ge Y X, Xie Y J, et al. Detection of collagen by multi-wavelength photoacoustic analysis as a biomarker for bone health assessment[J]. *Photoacoustics*, 2021, 24: 100296.
- [13] Ma H G, Cheng Z W, Wang Z Y, et al. Fast controllable confocal focus photoacoustic microscopy using a synchronous zoom opto-sono objective[J]. *Optics Letters*, 2019, 44(7): 1880-1883.
- [14] Liu C, Chen J B, Zhang Y C, et al. Five-wavelength optical-resolution photoacoustic microscopy of blood and lymphatic vessels[J]. *Advanced Photonics*, 2021, 3(1): 016002.
- [15] Xu X, Liu H L, Wang L V. Time-reversed ultrasonically encoded optical focusing into scattering media[J]. *Nature Photonics*, 2011, 5(3): 154-157.
- [16] Zhang X, Ding Q N, Qian X Q, et al. Reflection-mode optical-resolution photoacoustic microscopy with high detection sensitivity by using a perforated acoustic mirror [J]. *Applied Physics Letters*, 2018, 113(18): 183706.
- [17] Zhao Y, Yang S H, Chen C G, et al. Simultaneous optical absorption and viscoelasticity imaging based on photoacoustic lock-in measurement[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(9): 2565-2568.
- [18] Shi J H, Wong T T W, He Y, et al. High-resolution, high-contrast mid-infrared imaging of fresh biological samples with ultraviolet-localized photoacoustic microscopy [J]. *Nature Photonics*, 2019, 13(9): 609-615.
- [19] Wang L V, Yao J J. A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences[J]. *Nature Methods*, 2016, 13(8): 627-638.
- [20] Maslov K, Stoica G, Wang L V. *In vivo* dark-field reflection-mode photoacoustic microscopy[J]. *Optics Letters*, 2005, 30(6): 625-627.
- [21] Ge H, Yang M, Ma C, et al. Breaking the barriers: advances in acoustic functional materials[J]. *National Science Review*, 2018, 5(2): 159-182.
- [22] Pendry J B. Negative refraction makes a perfect lens[J]. *Physical Review Letters*, 2000, 85(18): 3966-3969.
- [23] Fang N, Lee H, Sun C, et al. Sub-diffraction-limited optical imaging with a silver superlens[J]. *Science*, 2005, 308(5721): 534-537.
- [24] Zhang X, Liu Z W. Superlenses to overcome the diffraction limit[J]. *Nature Materials*, 2008, 7(6): 435-441.
- [25] Kaina N, Lemoult F, Fink M, et al. Negative refractive index and acoustic superlens from multiple scattering in single negative metamaterials[J]. *Nature*, 2015, 525 (7567): 77-81.
- [26] Zhang S, Yin L L, Fang N. Focusing ultrasound with an acoustic metamaterial network[J]. *Physical Review Letters*, 2009, 102(19): 194301.
- [27] Park J J, Park C M, Lee K J B, et al. Acoustic superlens using membrane-based metamaterials[J]. *Applied Physics Letters*, 2015, 106(5): 051901.
- [28] Cao R, Zhao J J, Li L, et al. Optical-resolution photoacoustic microscopy with a needle-shaped beam[J]. *Nature Photonics*, 2023, 17(1): 89-95.
- [29] Zhang C, Maslov K, Wang L V. Subwavelength-resolution label-free photoacoustic microscopy of optical absorption *in vivo*[J]. *Optics Letters*, 2010, 35(19): 3195-3197.
- [30] Jeon S, Song H B, Kim J, et al. *In vivo* photoacoustic imaging of anterior ocular vasculature: a random sample consensus approach[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 4318.
- [31] Song W, Zheng W, Liu R M, et al. Reflection-mode *in vivo* photoacoustic microscopy with subwavelength lateral resolution[J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5 (12): 4235-4241.
- [32] Shi J H, Wang L D, Noordam C, et al. Bessel-beam Grueneisen relaxation photoacoustic microscopy with extended depth of field[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(11): 116002.
- [33] Jiang B W, Yang X Q, Luo Q M. Reflection-mode Bessel-beam photoacoustic microscopy for *in vivo* imaging of cerebral capillaries[J]. *Optics Express*, 2016, 24(18): 20167-20176.
- [34] Durnin J, Eberly J H, Miceli J J. Comparison of Bessel and Gaussian beams[J]. *Optics Letters*, 1988, 13(2): 79-80.
- [35] Lapointe M R. Review of non-diffracting Bessel beam experiments[J]. *Optics & Laser Technology*, 1992, 24 (6): 315-321.
- [36] Kim C, Park S J, Kim J, et al. Objective-free optical-resolution photoacoustic microscopy[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 18(1): 010501.
- [37] Park B, Lee H, Jeon S, et al. Reflection-mode switchable subwavelength Bessel-beam and Gaussian-beam photoacoustic microscopy *in vivo*[J]. *Journal of Biophotonics*, 2019, 12(2): e201800215.
- [38] Hu Y C, Chen Z J, Xiang L Z, et al. Extended depth-of-field all-optical photoacoustic microscopy with a dual non-diffracting Bessel beam[J]. *Optics Letters*, 2019, 44(7): 1634-1637.
- [39] Li B B, Qin H, Yang S H, et al. *In vivo* fast variable focus photoacoustic microscopy using an electrically

- tunable lens[J]. *Optics Express*, 2014, 22(17): 20130-20137.
- [40] Yang X Q, Jiang B W, Song X L, et al. Fast axial-scanning photoacoustic microscopy using tunable acoustic gradient lens[J]. *Optics Express*, 2017, 25(7): 7349-7357.
- [41] Ma H G, Yang S H, Cheng Z W, et al. Photoacoustic confocal dermoscope with a waterless coupling and impedance matching opto-sono probe[J]. *Optics Letters*, 2017, 42(12): 2342-2345.
- [42] Ma H G, Cheng Z W, Wang Z Y, et al. Quantitative and anatomical imaging of dermal angiopathy by noninvasive photoacoustic microscopic biopsy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(10): 6300-6316.
- [43] Vellekoop I M, Mosk A P. Focusing coherent light through opaque strongly scattering media[J]. *Optics Letters*, 2007, 32(16): 2309-2311.
- [44] Horstmeyer R, Ruan H W, Yang C. Guidestar-assisted wavefront-shaping methods for focusing light into biological tissue[J]. *Nature Photonics*, 2015, 9(9): 563-571.
- [45] Conkey D B, Brown A N, Caravaca-Aguirre A M, et al. Genetic algorithm optimization for focusing through turbid media in noisy environments[J]. *Optics Express*, 2012, 20(5): 4840-4849.
- [46] Wu Y L, Zhang X D, Yan H M. Focusing light through scattering media using the harmony search algorithm for phase optimization of wavefront shaping[J]. *Optik*, 2018, 158: 558-564.
- [47] Fayyaz Z, Mohammadian N, Salimi F, et al. Simulated annealing optimization in wavefront shaping controlled transmission[J]. *Applied Optics*, 2018, 57(21): 6233-6242.
- [48] Fang L J, Zhang X C, Zuo H Y, et al. Focusing light through random scattering media by four-element division algorithm[J]. *Optics Communications*, 2018, 407: 301-310.
- [49] Fang L J, Zuo H Y, Yang Z G, et al. Particle swarm optimization to focus coherent light through disordered media[J]. *Applied Physics B*, 2018, 124(8): 1-9.
- [50] Wu Z H, Luo J W, Feng Y H, et al. Controlling 1550-nm light through a multimode fiber using a Hadamard encoding algorithm[J]. *Optics Express*, 2019, 27(4): 5570-5580.
- [51] Wang Z Q, Zhao Q, Yu P P, et al. Bat algorithm-enabled binary optimization for scattered light focusing[J]. *Applied Physics Express*, 2019, 12(10): 102002.
- [52] Woo C M, Zhao Q, Zhong T T, et al. Optimal efficiency of focusing diffused light through scattering media with iterative wavefront shaping[J]. *APL Photonics*, 2022, 7(4): 046109.
- [53] Yang J M, He Q Z, Liu L X, et al. Anti-scattering light focusing by fast wavefront shaping based on multi-pixel encoded digital-micromirror device[J]. *Light: Science & Applications*, 2021, 10: 149.
- [54] Cheng Z T, Wang L V. Focusing light into scattering media with ultrasound-induced field perturbation[J]. *Light: Science & Applications*, 2021, 10: 159.
- [55] Vellekoop I M, Mosk A P. Phase control algorithms for focusing light through turbid media[J]. *Optics Communications*, 2008, 281(11): 3071-3080.
- [56] Feng Q, Zhang B, Liu Z P, et al. Research on intelligent algorithms for amplitude optimization of wavefront shaping[J]. *Applied Optics*, 2017, 56(12): 3240-3244.
- [57] Valzania L, Gigan S. Online learning of the transfer matrix of dynamic scattering media: wavefront shaping meets multidimensional time series[EB/OL]. (2022-10-08)[2023-09-08]. <http://arxiv.org/abs/2210.04033>.
- [58] Vellekoop I M, Cui M, Yang C. Digital optical phase conjugation of fluorescence in turbid tissue[J]. *Applied Physics Letters*, 2012, 101(8): 081108.
- [59] Tao X D, Fernandez B, Azucena O, et al. Adaptive optics confocal microscopy using direct wavefront sensing [J]. *Optics Letters*, 2011, 36(7): 1062-1064.
- [60] Gao R K, Xu Z Q, Song L, et al. Breaking acoustic limit of optical focusing using photoacoustic-guided wavefront shaping[J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2021, 15(8): 2000594.
- [61] Yu Z P, Li H H, Lai P X. Wavefront shaping and its application to enhance photoacoustic imaging[J]. *Applied Sciences*, 2017, 7(12): 1320.
- [62] 吕新品. 基于超像素方法和DMD的光声波前整形显微成像研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2020: 9-11.
- Lü X J. Research on photoacoustic wave pre-shaping microscopic imaging based on superpixel method and DMD[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2020: 9-11.
- [63] Kong F T, Silverman R H, Liu L P, et al. Photoacoustic-guided convergence of light through optically diffusive media[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(11): 2053-2055.
- [64] Lai P X, Wang L D, Tay J W, et al. Photoacoustically guided wavefront shaping for enhanced optical focusing in scattering media[J]. *Nature Photonics*, 2015, 9(2): 126-132.
- [65] Bossy E, Gigan S. Photoacoustics with coherent light[J]. *Photoacoustics*, 2016, 4(1): 22-35.
- [66] Lee B H, Kim Y H, Park K S, et al. Interferometric fiber optic sensors[J]. *Sensors*, 2012, 12(3): 2467-2486.
- [67] Yin X L, Shen Y D, Su D, et al. High-spatial-resolution ultrasonic sensor using a fiber-optic Fabry-Perot interferometer[J]. *Optics Communications*, 2019, 453: 124422.
- [68] Yang W, Zhang C L, Zeng J Q, et al. Ultrasonic signal detection based on Fabry-Perot cavity sensor[J]. *Visual Computing for Industry, Biomedicine, and Art*, 2021, 4(1): 1-6.
- [69] Ma J, Zhao J, Chen H W, et al. Transparent microfiber Fabry-Perot ultrasound sensor with needle-shaped focus for multiscale photoacoustic imaging[J]. *Photoacoustics*, 2023, 30: 100482.
- [70] Shung K K, Cannata J M, Zhou Q F. Piezoelectric materials for high frequency medical imaging applications: a review[J]. *Journal of Electroceramics*, 2007, 19(1): 141-147.
- [71] Dang A, Cheng C Y, Agrawal S, et al. A photoacoustic

- imaging device using piezoelectric micromachined ultrasound transducers (PMUTs) [J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2020, 67(4): 801-809.
- [72] Ke Q Q, Liew W H, Tao H, et al. KNNS-BNZH lead-free 1-3 piezoelectric composite for ultrasonic and photoacoustic imaging[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2019, 66(8): 1395-1401.
- [73] Wang H R, Chen Z F, Yang H, et al. A ceramic PZT-based PMUT array for endoscopic photoacoustic imaging [J]. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 2020, 29(5): 1038-1043.
- [74] Wang Z Y, Yang F, Ma H G, et al. Photoacoustic and ultrasound (PAUS) dermoscope with high sensitivity and penetration depth by using a bimorph transducer[J]. *Journal of Biophotonics*, 2020, 13(9): e202000145.
- [75] Chen S L, Guo L J, Wang X D. All-optical photoacoustic microscopy[J]. *Photoacoustics*, 2015, 3(4): 143-150.
- [76] Ding Z Q, Sun J L, Li C H, et al. Broadband ultrasound detection using silicon micro-ring resonators[J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2023, 41(6): 1906-1910.
- [77] Chu X X, Cui J G, Zhu M, et al. Design of ultra-high sensitivity slot micro-ring resonator acoustic sensor[J]. *Fiber and Integrated Optics*, 2022, 41(3/4): 83-95.
- [78] Dong B Q, Chen S Y, Zhang Z, et al. Photoacoustic probe using a microring resonator ultrasonic sensor for endoscopic applications[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(15): 4372-4375.
- [79] Li H, Dong B Q, Zhang X A, et al. Disposable ultrasound-sensing chronic cranial window by soft nanoimprinting lithography[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4277.
- [80] Wong L L P, Chen A I, Logan A S, et al. An FPGA-based ultrasound imaging system using capacitive micromachined ultrasonic transducers[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2012, 59(7): 1513-1520.
- [81] Ilkhechi A K, Ceroici C, Li Z H, et al. Transparent capacitive micromachined ultrasonic transducer (CMUT) arrays for real-time photoacoustic applications[J]. *Optics Express*, 2020, 28(9): 13750-13760.
- [82] Choi W Y, Kwon S W, Kim Y H, et al. Single-shot near-field volumetric imaging system for optical ultrasound and photoacoustics using capacitive micromachined ultrasonic transducer without transmission mode[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2020, 67(6): 1151-1158.
- [83] Jeon S, Park J, Kim C. Multiple direction synthetic aperture focusing technique for acoustic-resolution photoacoustic microscopy[J]. *Proceedings of SPIE*, 2019, 10878: 108781T.
- [84] Thomas A, Paul S, Mulani S, et al. Interference-corrected synthetic aperture focusing technique for photoacoustic microscopy[J]. *IEEE Sensors Letters*, 2023, 7(8): 6004104.
- [85] Cai D, Li Z F, Li Y, et al. Photoacoustic microscopy *in vivo* using synthetic-aperture focusing technique combined with three-dimensional deconvolution[J]. *Optics Express*, 2017, 25(2): 1421-1434.
- [86] Feng F, Liang S Q, Chen S L. Image enhancement in acoustic-resolution photoacoustic microscopy enabled by a novel directional algorithm[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(2): 1026-1044.
- [87] Jeon S, Kim J, Lee D, et al. Review on practical photoacoustic microscopy[J]. *Photoacoustics*, 2019, 15: 100141.
- [88] Choi W, Park B, Choi S, et al. Recent advances in contrast-enhanced photoacoustic imaging: overcoming the physical and practical challenges[J]. *Chemical Reviews*, 2023, 123(11): 7379-7419.
- [89] Gröhl J, Schellenberg M, Dreher K, et al. Deep learning for biomedical photoacoustic imaging: a review[J]. *Photoacoustics*, 2021, 22: 100241.
- [90] Goodfellow I, Bengio Y, Courville A. *Deep learning* [M]. Cambridge: The MIT Press, 2016.
- [91] Huang Q H, Tian H Z, Jia L Z, et al. A review of deep learning segmentation methods for carotid artery ultrasound images[J]. *Neurocomputing*, 2023, 545: 126298.
- [92] Guo Y M, Liu Y, Oerlemans A, et al. Deep learning for visual understanding: a review[J]. *Neurocomputing*, 2016, 187: 27-48.
- [93] Salehi A, Balasubramanian M. DDCNet: deep dilated convolutional neural network for dense prediction[J]. *Neurocomputing*, 2023, 523: 116-129.
- [94] Gutta S, Kadimesetty V S, Kalva S K, et al. Deep neural network-based bandwidth enhancement of photoacoustic data[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2017, 22(11): 116001.
- [95] Seong D, Lee E, Kim Y, et al. Three-dimensional reconstructing undersampled photoacoustic microscopy images using deep learning[J]. *Photoacoustics*, 2023, 29: 100429.
- [96] Yang C C, Lan H R, Gao F, et al. Review of deep learning for photoacoustic imaging[J]. *Photoacoustics*, 2021, 21: 100215.
- [97] Zhou J S, He D, Shang X Y, et al. Photoacoustic microscopy with sparse data enabled by convolutional neural networks for fast imaging[EB/OL]. (2020-06-08) [2023-11-03]. <http://arxiv.org/abs/2006.04368>.
- [98] Vu T, DiSpirito A, Li D W, et al. Deep image prior for undersampling high-speed photoacoustic microscopy[J]. *Photoacoustics*, 2021, 22: 100266.
- [99] Zhao H X, Ke Z W, Yang F, et al. Deep learning enables superior photoacoustic imaging at ultralow laser dosages[J]. *Advanced Science*, 2021, 8(3): 2003097.
- [100] Kim J, Kim G, Li L, et al. Deep learning acceleration of multiscale superresolution localization photoacoustic imaging[J]. *Light: Science & Applications*, 2022, 11: 131.
- [101] Zhao H X, Huang J, Zhou Q, et al. Deep learning-based optical-resolution photoacoustic microscopy for *in vivo* 3D microvasculature imaging and segmentation[J]. *Advanced*

- Intelligent Systems, 2022, 4(9): 2200004.
- [102] Cheng S F, Zhou Y Y, Chen J B, et al. High-resolution photoacoustic microscopy with deep penetration through learning[J]. *Photoacoustics*, 2022, 25: 100314.
- [103] Zhang Z Y, Jin H R, Zhang W W, et al. Adaptive enhancement of acoustic resolution photoacoustic microscopy imaging *via* deep CNN prior[J]. *Photoacoustics*, 2023, 30: 100484.
- [104] Meng J, Zhang X T, Liu L J, et al. Depth-extended acoustic-resolution photoacoustic microscopy based on a two-stage deep learning network[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(8): 4386-4397.
- [105] He D, Zhou J S, Shang X Y, et al. De-noising of photoacoustic microscopy images by attentive generative adversarial network[J]. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2023, 42(5): 1349-1362.
- [106] Gao Y, Feng T, Qiu H X, et al. 4D spectral-spatial computational photoacoustic dermoscopy[J]. *Photoacoustics*, 2023, 34: 100572.
- [107] Lou Y, Zhou W M, Matthews T P, et al. Generation of anatomically realistic numerical phantoms for photoacoustic and ultrasonic breast imaging[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2017, 22(4): 041015.
- [108] Guan S, Khan A A, Sikdar S, et al. Limited-view and sparse photoacoustic tomography for neuroimaging with deep learning[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 8510.
- [109] Davoudi N, Deán-Ben X L, Razansky D. Deep learning optoacoustic tomography with sparse data[J]. *Nature Machine Intelligence*, 2019, 1(10): 453-460.
- [110] Haq I U, Kawahara Y. Convolutional autoencoder-based reconstruction of vascular structures in photoacoustic images[J]. *Proceedings of SPIE*, 2020, 11359: 113591C.
- [111] Estrada H, Turner J, Kneipp M, et al. Real-time optoacoustic brain microscopy with hybrid optical and acoustic resolution[J]. *Laser Physics Letters*, 2014, 11(4): 045601.
- [112] Xing W X, Wang L D, Maslov K, et al. Integrated optical- and acoustic-resolution photoacoustic microscopy based on an optical fiber bundle[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(1): 52-54.
- [113] Moothanchery M, Bi R Z, Kim J Y, et al. High-speed simultaneous multiscale photoacoustic microscopy[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2019, 24(8): 086001.
- [114] Ma H G, Cheng Z W, Wang Z Y, et al. Switchable optical and acoustic resolution photoacoustic dermoscope dedicated into *in vivo* biopsy-like of human skin[J]. *Applied Physics Letters*, 2020, 116(7): 073703.
- [115] Moothanchery M, Pramanik M. Performance characterization of a switchable acoustic resolution and optical resolution photoacoustic microscopy system[J]. *Sensors*, 2017, 17(2): 357.
- [116] Yao J J, Wang L D, Yang J M, et al. Wide-field fast-scanning photoacoustic microscopy based on a water-immersible MEMS scanning mirror[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(8): 080505.
- [117] Park K, Kim J Y, Lee C, et al. Handheld photoacoustic microscopy probe[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 13359.
- [118] Zhou H C, Chen N B, Zhao H X, et al. Optical-resolution photoacoustic microscopy for monitoring vascular normalization during anti-angiogenic therapy[J]. *Photoacoustics*, 2019, 15: 100143.
- [119] Zhao H X, Chen N B, Li T, et al. Motion correction in optical resolution photoacoustic microscopy[J]. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2019, 38(9): 2139-2150.
- [120] Hu S, Maslov K, Wang L V. Second-generation optical-resolution photoacoustic microscopy with improved sensitivity and speed[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(7): 1134-1136.
- [121] Wang Z Y, Yang F, Cheng Z W, et al. Photoacoustic-guided photothermal therapy by mapping of tumor microvasculature and nanoparticle[J]. *Nanophotonics*, 2021, 10(12): 3359-3368.
- [122] 孙彤, 黄国家, 张振辉. 基于高分辨光声显微成像的肝癌微血管特征分析[J]. *中国激光*, 2023, 50(15): 1507105.  
Sun T, Huang G J, Zhang Z H. Characteristics analysis of micro-vessels liver cancer based on high resolution photoacoustic microscopy[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2023, 50(15): 1507105.
- [123] Kim H, Kim J Y, Cho S, et al. Performance comparison of high-speed photoacoustic microscopy: opto-ultrasound combiner versus ring-shaped ultrasound transducer[J]. *Biomedical Engineering Letters*, 2022, 12(2): 147-153.
- [124] Aguirre J, Schwarz M, Garzorz N, et al. Precision assessment of label-free psoriasis biomarkers with ultra-broadband optoacoustic mesoscopy[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1: 68.
- [125] Cheng Z W, Ma H G, Wang Z Y, et al. *In vivo* volumetric monitoring of revascularization of traumatized skin using extended depth-of-field photoacoustic microscopy [J]. *Frontiers of Optoelectronics*, 2020, 13(4): 307-317.
- [126] Xu M H, Wang L V. Photoacoustic imaging in biomedicine[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2006, 77(4): 041101.
- [127] Dong B Q, Li H, Zhang Z, et al. Isometric multimodal photoacoustic microscopy based on optically transparent micro-ring ultrasonic detection[J]. *Optica*, 2015, 2(2): 169-176.
- [128] Kellnberger S, Soliman D, Tserevelakis G J, et al. Optoacoustic microscopy at multiple discrete frequencies [J]. *Light: Science & Applications*, 2018, 7: 109.
- [129] Ma H G, Ding R X, Huang Q H. 3D confocal photoacoustic dermoscopy using a multifunctional sono-opto probe[C]//2021 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS), September 11-16, 2021, Xi'an, China. New York: IEEE Press, 2021.
- [130] Karmacharya M B, Sultan L R, Sehgal C M. Photoacoustic monitoring of oxygenation changes induced by therapeutic ultrasound in murine hepatocellular carcinoma[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 4100.
- [131] Zhang J D, Duan F, Liu Y J, et al. High-resolution photoacoustic tomography for early-stage cancer detection and its clinical translation[J]. *Radiology: Imaging Cancer*, 2020, 2(3): e190030.

- [132] Toi M, Asao Y, Matsumoto Y, et al. Visualization of tumor-related blood vessels in human breast by photoacoustic imaging system with a hemispherical detector array[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41970.
- [133] Cao R, Li J, Ning B, et al. Functional and oxygen-metabolic photoacoustic microscopy of the awake mouse brain[J]. *NeuroImage*, 2017, 150: 77-87.
- [134] Chen J B, Zhang Y C, He L Y, et al. Wide-field polygon-scanning photoacoustic microscopy of oxygen saturation at 1-MHz A-line rate[J]. *Photoacoustics*, 2020, 20: 100195.
- [135] Liu C, Liang Y Z, Wang L D. Optical-resolution photoacoustic microscopy of oxygen saturation with nonlinear compensation[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(6): 3061-3069.
- [136] Yao J J, Wang L V. Perspective on fast-evolving photoacoustic tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2021, 26(6): 060602.
- [137] Ning B, Sun N D, Cao R, et al. Ultrasound-aided multi-parametric photoacoustic microscopy of the mouse brain [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 18775.
- [138] Zhu B W, Li H H, Xie C Y, et al. Photoacoustic microscopic imaging of cerebral vessels for intensive monitoring of metabolic acidosis[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2023, 25(4): 659-670.
- [139] Li L Y, Qin W, Li T T, et al. High-speed adaptive photoacoustic microscopy[J]. *Photonics Research*, 2023, 11(12): 2084-2092.
- [140] Zhang Y L, Wang S S, She M Z, et al. Spectrally programmable Raman fiber laser with adaptive wavefront shaping[J]. *Photonics Research*, 2022, 11(1): 20-26.
- [141] Tu S J, Lei Q N, Cai Y J, et al. Generation of Lommel beams through highly scattering media[J]. *Chinese Optics Letters*, 2022, 20(9): 092501.
- [142] Li H H, Yu Z P, Zhong T T, et al. Towards ideal focusing of diffused light via optical wavefront shaping[J]. *Advanced Photonics*, 2023, 5(2): 020502.
- [143] Wu J, Feng T, Chen Q, et al. Photoacoustic guided wavefront shaping using digital micromirror devices[J]. *Optics & Laser Technology*, 2024, 174: 110570.
- [144] Yang J G, Choi S, Kim J, et al. Recent advances in deep-learning-enhanced photoacoustic imaging[J]. *Advanced Photonics Nexus*, 2023, 2(5): 054001.
- [145] Wei X, Feng T, Huang Q, et al. Deep Learning-powered biomedical photoacoustic imaging [J]. *Neurocomputing*, 2023: 127207.
- [146] Sun T, Lü J, Zhao X Y, et al. *In vivo* liver function reserve assessments in alcoholic liver disease by scalable photoacoustic imaging[J]. *Photoacoustics*, 2023, 34: 100569.