



用于脑功能研究的生物光子学技术研究进展

苏 黎, 李天明*

(电子科技大学电子科学与工程学院 成都 610054)

【摘要】 脑成像技术是生物医学工程研究的热点。现有传统脑成像手段, 如 X 射线成像 (X-ray)、磁共振成像 (MRI) 等已发展成熟, 广泛应用于科学研究和临床诊疗。然而这些成像技术大多具有侵入性、设备体积庞大、成像成本高昂等局限性, 且难以适用于特殊人群, 如新生儿。该文介绍了几种可用于脑成像的微观光学分子成像模态, 这些方法大多无创、成本较低且性能优异, 具有广阔的发展前景。在给出了它们的成像原理、系统组成以及关键技术后, 总结了已有的研究成果和现阶段研究进展。最后, 通过列举和比较这几种成像模态的优缺点讨论了脑成像技术未来的发展方向。

关键词 扩散光学层析成像; 脑功能成像; 近红外光谱技术; 光学分子成像; 光声成像; 微波热声成像
中图分类号 TN209; Q6 **文献标志码** A **doi:**10.12178/1001-0548.2022041

Progress Of Biophotonics Technology in Brain Function Research

SU Li and LI Tianming*

(School of Electronic Science and Engineering, University of Electronic Science and Technology of China Chengdu 610054)

Abstract Brain imaging is a hot spot field in the biomedical engineering research. Current traditional brain imaging modalities, such as X-ray, magnetic resonance imaging (MRI) and other methods, are mature and have been widely applied for scientific research and clinical diagnosis and treatment comprehensively. However, most of these imaging techniques have limitations such as invasiveness, bulky equipment, and high imaging costs, and are difficult to apply to special populations, such as neonates. This paper introduces several microscopic optical molecular imaging modalities that can be used for brain imaging. Most of these methods are non-invasive, low-cost and excellent in performance, and have broad development prospects. After giving their imaging principles, system components, and key techniques, the existing research results and the current state of these imaging modalities are summarized. Finally, the future development directions of the brain imaging techniques are discussed through enumerating and comparing the merits and limitations among these imaging modalities.

Key words diffuse optical tomography; functional brain imaging; near-infrared spectroscopy; optical molecular imaging; photoacoustic imaging; thermoacoustic imaging

1999 年, 美国哈佛大学医学院 Ralph Weissleder 教授首次提出了分子影像的概念。即利用传统成像模态对生物体内有标记或无标记的特定分子进行细胞或分子水平的在体成像, 追踪和检测其在生物体内的运动和变化, 揭示生理和病理特征^[1]。分子影像成像模态通常分为宏观分子成像和微观分子成像。目前, 常用于脑成像的宏观分子成像技术包括: X 射线成像 (X-ray)、计算机断层扫描成像 (computed tomography, CT)、磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射断

层扫描成像 (positron emission tomography, PET)、单光子发射计算机断层扫描成像 (single-photon emission computed tomography, SPECT) 和超声成像 (ultrasonic imaging, USI) 等模态^[2]。常用微观分子脑成像技术有: 激光共聚焦显微成像、光学分子成像, 如多光子成像 (multiphoton microscopy, MPM)、光谱成像 (spectral imaging, SI)、近红外光谱技术 (near-infrared spectroscopy, NIRS)、扩散光学层析成像 (diffuse optical tomography, DOT)、光声成像 (photoacoustic imaging, PAI) 以及与其相似的微

收稿日期: 2022-01-31; 修回日期: 2022-09-21

作者简介: 苏黎 (1982-), 男, 博士生, 主要从事生物医学电磁成像方面的研究。

*通信作者: 李天明, E-mail: Tianming@uestc.edu.cn

波诱导热声成像 (microwave-induced thermoacoustic imaging, MI-TAI), 简称微波热声成像 (TAI)^[3]。

X-ray 和 CT 成像的优点是对高密度组织 (如颅骨) 的成像灵敏度高、分辨率高, 可用于诊断是否存在颅内出血、颅内压增加等病症。CT 血管造影 (CTA) 能显示大脑各动脉及其主要分支, 空间分辨率小于 1 mm, 成像对比度高。X-ray 和 CT 成像的主要缺点是对低密度软组织灵敏度低, 成像速度慢, 设备昂贵, 存在电离辐射对人体有损伤^[4]。

磁共振成像 (MRI) 的优点是非侵入性、成像分辨率高, 对低密度软组织具有较高的灵敏度, 适用于多种人脑疾病的诊断。血氧水平依赖对比功能磁共振成像法 (blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging, BOLD-fMRI) 已经被用于绘制工作、记忆、语言、运动、情感等复杂人脑认知活动图谱。MRI 成像对比度高、成像深度不受限, 但同时也存在着成像速度慢、设备庞大不可携带、成像成本高昂、设备运行时噪声污染严重对患者不友好以及排斥患者体内金属部件等缺点^[5]。

PET 可定量测定脑灌注参数, 如脑血流量 (cerebral blood flow, CBF)、脑血容量 (cerebral blood volume, CBV) 和葡萄糖代谢等指标。但 PET 的分辨率和对病灶的定位准确性存在局限, 且设备笨重、成本高, 存在电离辐射危害^[6]。SPECT 是另一种核医学成像技术, 与 PET 相比采用不同的放射性示踪剂, 如 ^{99m}Tc(锝)、¹³³Xe(氙) 等。SPECT 脑成像可用于显示脑组织的形态学病理特征, 也可测定 CBF、CBV 等氧代谢指标。SPECT 设备成本高, 具有电离辐射危害, 成像过程操作复杂、难度较大^[7]。

超声成像 (USI) 是一种临床上广泛使用的检测手段, 具有设备小巧、操作简便、空间分辨率高、成像深度好的优点, 并且能实时成像、成像成本低。USI 对肌肉、关节、血管等软组织和骨骼表面结构成像效果良好, 但因脑组织与颅骨的声阻抗差异巨大, 超声难以穿透颅骨, 导致成人脑组织成像对比度较差^[8]。

本文总结了几种可用于脑成像的微观光学分子成像技术, 包括 MPM、SI、NIRS、DOT、PAI 以及 TAI。给出并讨论了它们的成像原理、关键技术以及发展现状。最后, 在综合了当下以及未来的科学研究和临床应用需求的情况下, 对脑成像技术的发展方向进行了展望。

1 多光子成像

1.1 多光子成像原理

1931 年, 德国科学家 Goppert 提出了多光子激发的概念^[9]。其原理是: 不同于传统单光子激发的线性过程, 多光子激发是一个非线性过程, 即位于基态的荧光分子, 在强光 (高密度光子) 激发下, 同时吸收多个激发光子 (如双光子激发同时吸收两个光子) 从基态跃迁至激发态。由激发态跃迁至亚稳态, 最后由亚稳态回到基态并辐射出一个光子。这一过程可由 Jablonski 能级图说明^[10]。

MPM 一般包括双光子激发荧光成像 (two-photon excited fluorescence, 2PEF) 和三光子激发荧光成像 (three-photon excited fluorescence, 3PEF)。相较于单光子激发荧光成像, MPM 具有不可比拟的优点: 1) MPM 通常采用波长更长的近红外光进行激发, 光子更加容易进入组织体, 成像的探测深度更大; 2) 具有自动抑制焦点平面荧光的特性, 光漂白现象很小; 3) 降低了光对生物组织的毒性和损伤, 无创, 可进行长时间在体监测^[11]。

1.2 双光子激发荧光显微脑成像

多色双光子荧光显微成像 (multicolor 2PEF, M2PEF) 采用不同发射光谱的荧光发色团标记生物体组织中特定的细胞和蛋白质, 达到成像和监测特定标记物的目的。文献 [12] 对活体猕猴大脑进行 M2PEF 成像, 获得了皮层以下 500 μm 处的血管和神经元图像。文献 [13] 提出了彩色多光子穿行显微镜技术, 成像分辨率达到微米级别。并实现了小鼠脑皮层组织的三维多色成像。

荧光寿命成像显微技术 (fluorescence lifetime imaging microscopy, FLIM) 是一种利用物质自身分子荧光寿命这一特异性进行荧光标记, 以获取特定分子及其所处微环境的物理化学以及生物学信息的成像技术。物质分子受到光脉冲激发并发生跃迁, 在其处于激发态的平均停留时间, 叫做荧光寿命。双光子 FLIM 可用于阿尔兹海默症和帕金森氏症等脑神经疾病的研究^[14-15]。该技术系统构成复杂、设备昂贵且探测深度十分有限, 目前只能达到脑皮层以下几百微米, 同时时间分辨率较低。

双光子光纤内窥镜技术是将 2PEF 技术与光纤内窥镜 (fiber endoscope, FE) 相结合, 用来获得活体组织器官内部的图像, 成像对比度更高。并与微电机系统 (micro-electro-mechanical system, MEMS) 结合, 使得系统设备体积更加小型化。文献 [16]

报道了一种使用 1 mm 光学组件、探头重量仅为 0.6 g 的高分辨率双光子 FE，并实现了对小鼠脑神经元活动的功能性钙成像。目前，双光子内窥镜的缺点主要集中在荧光收集效率低、成像的空间分辨率不高等方面。

1.3 三光子激发荧光显微脑成像

3PEF 使用的荧光蛋白激发波长为 1 600~1 800 nm，具有更大成像深度的潜在优势。同时非线性激发过程使得 3PEF 具有更高的信噪比。文献 [17] 使用 GCaMP6s 标记的神经元功能 3PEF，完成了对位于小鼠大脑约 1 mm 深度的海马锥体层中的上百个神经元的活动记录。文献 [18] 将 3PEF 与 FLIM 技术结合，实现了 600 μm 的成像深度，分辨率达 1.9 μm 以上。文献 [19] 实现了小鼠大脑表面以下 2 100 μm 的成像深度，是迄今报道的活体小鼠脑成像的最大成像深度。目前，三光子显微成像技术的提升主要受限于成像设备的性能，如光源能量的大小和荧光探针对三光子的吸收能力。

综上所述，MPM 在脑成像研究领域已经取得长足进步，在低侵入性、空间分辨率、成像深度等重要指标上都有了明显提升，但总的来说，MPM 的局限性仍主要在于成像深度上，目前报道的活体小鼠脑成像深度不超过 2 000 μm ；另一方面，MPM 系统较为复杂、成本高且成像耗时，造影剂的使用使得 MPM 存在潜在的毒性风险。以上局限性限制了 MPM 向人脑成像方向发展。

2 光谱成像

SI 将光谱成像技术和图像融合技术结合，获得了生物组织包含空间信息的光谱图像，克服了传统光学成像不能定位识别的缺点^[20]。光谱成像技术具有无创、灵敏度和分辨率高、携带信息丰富、成像范围广等优点。SI 包括多光谱成像 (multispectral imaging, MSI) 和高光谱成像 (hyperspectral imaging, HSI)。

2.1 多光谱成像

MSI 使用多种染料同时标记多个生物分子，然后通过光解混 (unmixing) 技术提取每个像素点的光谱信息而不是传统成像产生的红、绿、蓝三原色图像。MSI 大大提升了成像携带信息的能力，克服了光谱重叠问题，具有对生物体内物质新陈代谢和信号传导等过程实时监测的能力。MSI 系统主要由光源、分光器件、光探测器以及数据采集处理设备组成^[21]。

光谱成像通过测定生物组织血管中的氧合/脱氧血红蛋白的浓度，计算血氧饱和度和血流量。文献 [22] 使用 MSI 技术监测了大鼠对侧前爪刺激对局部性缺血的影响。文献 [23] 提出了一种多光谱漫反射成像系统，并对在体大鼠脑血液动力学和脑组织散射特性进行了评估。文献 [24] 使用太赫兹 MSI 实现了对脑缺血最早提前 2 h 的监测。目前，MSI 技术荧光探测深度仍然较低，容易受到环境光线干扰导致图像对比度不高。

2.2 高光谱成像

HSI 也是一种将光谱技术与数字成像技术结合，从而获得每个像素点包含空间分布和光谱特征信息成像模态。MSI 和 HSI 的主要区别在于它们的光谱分辨率。HSI 通常测量的是连续光谱，而 MSI 仅测量有限个离散光波波段，光谱分辨率远不及 HSI^[25]。

HSI 能够获取不同组织细胞和分子的光谱特征和空间信息。如通过测量氧合血红蛋白 (oxygenated hemoglobin, HbO)、脱氧血红蛋白 (deoxygenated hemoglobin, HbR) 和总血红蛋白 (total concentration of hemoglobin, HbT) 浓度的变化和空间分布，可以评估脑组织氧代谢和血流动力学响应等生理活动^[26]。文献 [27] 报道了一种使用 HSI 技术评估脑缺血的方法，证明了 HSI 用于大鼠脑缺血研究的可行性。文献 [28] 提出了一种新的 HSI 系统，绘制了暴露的在体小鼠脑组织在微血管水平上的脑组织血液动力学响应和脑细胞新陈代谢状态分布。高光谱成像具有无创、无接触、空间分辨率高、包含信息丰富等优点。然而从宏观上看，HSI 在探测深度上仍具有较大的局限性，仅限于皮肤或组织表层的成像，有时甚至需要将脑组织直接暴露在光源之下，某种程度上仍然停留在实验室阶段。同时，成像过程需要处理大量数据，导致 HSI 的时间分辨率受到限制。

3 近红外光谱技术

近红外光谱是指波长在 800~2 500 nm 范围内的光谱。近红外光在组织体内的传播呈现出高散射、低吸收的特性。因此这一区域被称为生物组织的“光学窗口”。1977 年，Jobsis 通过对细胞色素-c-氧化酶在体氧化还原状态的监测，开启了近红外光谱应用于生物医学领域研究的大门^[29]。

近红外光谱技术利用 HbO 和 HbR 在 805 nm 附近吸收系数的差异，测算血红蛋白浓度水平、监

测生物组织血液动力学响应。NIR 光在人体组织中传播路径呈现“香蕉型”，由修正的比尔-朗伯定理(modified Beer-Lambert law, MBL)描述。通过求解半无限介质中由修正的 MBL 导出的一系列最小二乘方程，可以在使用两个波长的情况下得到氧合血红蛋白浓度的变化($\Delta[\text{HbO}]$)、脱氧血红蛋白浓度的变化($\Delta[\text{HbR}]$)以及总的血红蛋白浓度的变化($\Delta[\text{HbT}]$)^[30]。

NIRS 的测量方法分为 3 种：连续波(continuous wave, CW)、时域(time domain, TD)和频域(frequency domain, FD)。CW 方法系统设备简单、高效、成本低，是目前临床使用最为广泛的方法，各大医疗设备厂家已经推出了自己的商用功能近红外光谱成像技术(functional NIRS, fNIRS)产品，如日立公司的 ETG-4000 系统。

文献[31]使用一套时域 NIRS 系统测定了比格犬脑血红蛋白浓度的绝对值。在随后的成人脑实验中也观察到了脑皮层脱氧血红蛋白浓度对于生理活动的响应。文献[32]通过测量光学参数并与生理学参数进行联系比对，证明了人脑活动可以通过测量脑组织光学特性参数进行评估^[33]。文献[34]使用基于 NIRS 的三维光学断层扫描技术，无创地重建了新生儿整个大脑的 HbO 和 HbR 浓度图像，用以评估局部脑损伤情况。文献[35]报道了一种基于 CW 测量方式的 fNIRS 成像仪，空间分辨率达到 2 cm，时间分辨率达到 8 s。文献[36]提出了基于 NIRS 的无创、高精度血糖浓度检测方法，检测结果精度达到临床应用水平。

fNIRS 具有无创、低成本、可穿戴和便携性等优良特性，使得该技术特别适用于大脑认知神经科学领域的研究和临床应用。文献[37]使用 fNIRS 系统监测了大脑前额叶皮层的激活情况。文献[38]证明了 fNIRS 可以用来检测大脑语言功能活动。脑神经发育监测是 fNIRS 应用的重要领域之一，可以为预防或预警儿童早期大脑神经发育障碍提供依据^[39-40]。另一方面，fNIRS 在其他如阿尔兹海默症^[41]、帕金森氏症^[42]等神经退行性疾病的观测上也具有广泛的应用价值。此外，也可用于如抑郁症^[43]、精神分裂^[44]、强迫症^[45]、孤独症谱系障碍^[46]等多种精神类疾病的研究上。

有很多研究小组已经开发出了一整套用于 fNIRS 信号处理的软件平台，如 Homer2^[47]。用户可以通过导入数据，完成相应设定后一键得到成像结果。文献[48]证明了较之小波变换和傅里叶变

换，希尔伯特-黄变换更加适合 NIRS 信号处理。文献[49]开发了一种用于在线消除 NIRS 信号基线漂移的方法，用于校正血液动力学参数的测量。

近年来，NIRS 设备朝着小型化、无线可穿戴且无运动限制等方向发展。Obelab 公司和 Artinis 公司开发的基于电池供电的无线穿戴式 NIRS 设备去除了线缆的束缚，拓展了 NIRS 的应用场景。华中科技大学、电子科技大学、哈尔滨工业大学和天津大学等科研机构也开发出了自己的 NIRS 设备^[50-53]，取得了较好的科研效果。但也应该看到，由于采用了有限个发射和接收光极，且排列稀疏，NIRS 技术的空间分辨率较低，通常只达到厘米量级。

4 扩散光学层析成像

DOT 同样利用了生物组织对近红外光的“窗口”特性，通过安放在组织体表面的光源(source)和探测器(detector)向组织体发射近红外光并接收经生物组织散射的出射光，获得表面入射光和出射光的分布；通过求解光在组织中传播的正问题(forward problem)和搜索计算数据与实测数据最佳匹配的逆问题(inverse problem)，重建出组织体内部光学参数(吸收系数 μ_a 、散射系数 μ_s 或扩散系数 D)的空间分布^[54]。虽然与 NIRS 存在相似之处，但 DOT 技术具有更加显著的优势。首先，DOT 通过采用更加紧密的光源-探测器(source-detector, SD)排列，可以获得更高的空间分辨率；其次，通过对光学参数空间分布的重建，DOT 可以实现对脑神经激活区域或肿瘤等病灶部位的准确定位。

输运理论将光的传播视为光子在物体中被吸收或弹性散射的过程，是一种基于能量守恒的理论，也被称作辐射传输理论，使用辐射传输方程(radiative transfer equation, RTE)描述^[55]。DOT 求解正问题通常采用扩散方程(diffuse equation, DE)^[56]，它是 RTE 的一阶球谐展开近似，其他典型数学模型包括蒙特卡洛模型、亥姆霍兹方程等。然而，对于复杂形状物体的 DE 模型求解也是困难的，因此实际中多使用数值求解方法，如有限元法、有限差分法和边界元法。

逆问题求解是指在给定组织表面光参数分布的情况下，使用一种图像重建算法，通过反复求解光传播的正问题，实现计算值无限逼近于测量值，从而反演出组织内部光学参数的分布^[57]。DOT 重建

算法大致可分为两类：一类是线性方法，另一类是非线性方法。线性方法是一个欠定问题，需要先验信息来约束可能的解。非线性方法的提出是为了弥补线性方法的不足，广泛采用迭代优化的策略。常用的非线性方法有牛顿法^[58]和共轭梯度法^[59]。文献[60]提出了一种新的基于非负约束 L1-范数正则化优化的重建方法，简化了矩阵运算，提升了计算速度。文献[61]提出了一种基于同伦摄动迭代的优化方法，显著减少了迭代次数和重建计算时间。文献[62]将卷积神经网络用于 DOT 图像重建，平均测试准确度达到了 91%^[62]。

DOT 的测量方式也分为连续波 (CW)、时域 (TD) 和频率 (FD)。CW 测量方式系统设备简单、测量速度快。但这一测量方式在学术界存在一定争议，即认为这种仅通过测量光强的方式不能同时唯一地重建出组织体的吸收系数和散射系数^[63]。FD 测量方式不仅可以测量光强的改变还能测量光相位角的变化，但系统设备复杂、成本高。TD 测量方式灵敏度和信噪比高、线性度好，但系统体积庞大、成本高昂。传统 DOT 脑机接口 (brain-computer interface, BCI) 设计使用基于光纤的光源和探测器结构，优点是可实现高通道密度布置、分辨率高，如高密度 (high-density dot, HD-DOT) 系统^[64]。但这种结构的局限性在于机械结构复杂、制作难度大，视场范围 (field of view, FoV) 有限且受到运动任务限制。因此，BCI 的设计在朝着无光纤、无线、可穿戴、可覆盖全头皮的方向发展。文献[65]报道了一种模块化的无光纤、全头皮测量 BCI 系统，S-D 最小间距为 14 mm，在存在头发的情况下获得了高质量的数据。文献[66]开发出一种基于近红外光 LED 的无光纤、可穿戴柔性 BCI 结构，S-D 最小间距约为 15 mm，在真实人脑形状仿体实验中，成像深度达到了 35 mm。

DOT 在神经影像学领域的研究具有广泛的应用。文献[67]首次成功将 DOT 用于成人视觉皮层成像，近年来，其他诸如体感处理^[68]、语言处理^[69]、听觉处理^[70]、前额叶皮层参与的工作记忆活动^[71]以及婴儿情绪言语^[72]等脑功能活动成像研究日益兴起。传统脑功能成像手段，如 fMRI 在应对婴儿患者的诊断时遇到了巨大的挑战。而 DOT 以其无创、便携等优点非常适合婴儿脑损伤或脑发育的临床检测。文献[73]开创性地报道了使用 DOT 探测脑功能区激活的研究，通过实验证明了 DOT 可以用于评估新生儿脑功能障碍。近年来此类研

究逐渐向深入化、临床化发展，如新生儿脑中风研究^[74]、脑室内出血^[75]和缺氧缺血性脑疾病^[76]等。此外，研究人员开发出了基于任务的脑电 (electroencephalography, EEG) 和 DOT 联合的双模态系统，用来评估成人和新生儿癫痫的发作活动^[77-78]。DOT 对于评估大脑无刺激事件的静息态功能连接 (resting-state functional connectivity, RSFC) 同样具有意义。文献[79]开始并验证了健康成人 RSFC 扩散光学层析成像 (functional connectivity DOT, fcDOT) 的可行性。文献[80]提出了一种用于重建新生儿 RSFC 图像的 fcDOT 方法，证明了该方法是一种空间分辨率极高、定位十分准确的光学 RSFC 成像技术。文献[81]提出了一种全脑 DOT 脑网络的框架，结果显示该方法重建出的多个 RSFC 模板与 fMRI 模板具有显著的相似性。文献[82]报道了基于锁相光子计数技术的用于血液动力学参数检测的多波长 DOT 技术。系统具有较高的灵敏度、较宽的动态范围和较强的抗干扰能力。在之后的实验中验证了系统的性能，表明该方法具有对低对比度的组织光学参数的检测能力，临床应用前景广阔。

综上所述，扩散光学层析成像虽然以其突出的低成本、无创性、可穿戴性和对光学参数的三维重建能力等优点受到广泛青睐，但空间分辨率较低、图像重建步骤复杂耗时、设备佩戴繁琐、操作过程容错率较低等因素仍是限制 DOT 发展的主要原因。因此，进一步提升系统的空间和时间分辨率，设计出性能优良的人机接口以提升设备无线化便携化水平，简化成像操作步骤，提高成像速度是 DOT 技术成像系统未来发展的重要方向。另一方面，DOT 还可以与其他成像技术结合组成多模态成像系统，扬长避短，拓展应用范围。

5 光声/热声成像

5.1 光声成像

PAI 是基于光声效应发展起来的一门成像技术。1880 年，贝尔发现了光声效应^[83]。即用一个周期调制的太阳光信号照射吸收物质时，该物质会产生声波信号。因此，光声成像就是物质在吸收短脉冲激光照射的能量后，向外发出超声信号，位于体外的超声信号换能装置接收这些带有组织体发色团信息的信号，并通过算法重建出图像的过程^[84]。

PAI 将超声的高分辨率特性与生物组织对光的高灵敏度和特异性特性相结合，比纯光学成像、超

声成像和微波成像更具优势。PAI 弥补了纯超声或纯微波等传统成像的短板, 保留了生物组织对特定光谱良好吸收这一对比度来源的同时, 仍可以做到在宏观大尺寸对象的高空间分辨率成像, 并且成像深度达到厘米级。

现有光声成像分为光声显微成像 (photoacoustic microscopy, PAM)、光声内窥成像 (photoacoustic edoscopy, PAE) 和光声断层成像 (photoacoustic tomography, PAT) 3 种模态。PAM 多用于组织浅表或单细胞成像, PAE 主要用于血管、肠胃等内脏器官成像。两种成像模态与本文主题关联度不高, 这里不作重点介绍。HbO 和 HbR 是 PAT 主要依赖的发色团, 也是一种组织内源性造影剂。因此 PAT 可以绘制脑血管解剖结构和反映脑功能活动的血液动力学参数分布的二维或三维图像。

近年来, 世界上多个研究小组已经完成了基于 PAT 的小动物脑成像研究。2008 年, 美国华盛顿大学报道了使用 PAT 对注射外源性造影剂的大鼠大脑皮层和血管的在体图像重建, 系统横向分辨率达到了 $60 \mu\text{m}$ ^[85]。文献 [86] 报道了一个 PAT 系统, 并对小鼠整个大脑的血管系统以及 RSFC 进行成像, 横向分辨率为 $125 \mu\text{m}$, 成像深度达到 48 mm 。文献 [87] 使用 PAT 对小鼠整个大脑的微血管网络进行了重建。文献 [88] 报道了使用一种高分辨率的多光谱光声层析扫描系统对小鼠脑神经结构和功能进行了大深度、高特异性成像。文献 [89] 开发出了一种宽视场、高时空分辨率的 PAT 系统, 能够跟踪小鼠大脑快速变化的神经元活动。文献 [90] 使用一种快速、高分辨率便携式光声显微镜对恒河大猴脑血管结构和功能进行了活体成像研究, 证明了该方法可以无标记检测血液动力学响应。文献 [91] 开发了一种可穿戴的 PAT 设备, 用于清醒运动大鼠脑血流动力学的无创高速检测。该设备仅重 8 g , 横向分辨率为 $243 \mu\text{m}$ 。

氧饱和度 (oxygen saturation, SO_2) 测量对评估新生儿由于缺氧引发的脑组织损伤具有重要意义。文献 [92] 使用 PAT 对妊娠中期等效小鼠模型中急性母体乙醇暴露后胎儿大脑的 SO_2 进行成像, 观测到了其明显的下降趋势。此外, PAT 可用于新生儿无创在体脑成像研究^[93-94]。神经元电活动伴随着葡萄糖和氧的消耗, 因此通过检测大脑血糖代谢和氧代谢指标就可以了解大脑功能活动情况。文献 [95] 通过光声计算机层析扫描 (PACT) 对前爪刺

激的大鼠大脑反应进行成像, 发现了葡萄糖摄取量随神经元活动的变化。

目前, PAT 用于脑成像领域的研究仍基本局限在小动物实验上, 成人脑颅骨对超声信号强烈的散射和衰减导致光声信号幅度减小、带宽展宽, 影响了成像深度和空间分辨率。为了克服光学穿透限制, 人们也采用了另一种激发方法, 即采用微波进行超声信号的激发^[96-97]。

5.2 微波热声成像

TAI 是一种基于热声效应原理发展起来的成像技术。与光声效应类似, 物质接收微波频段的电磁波照射后, 会产生热声波信号, 这一过程称为热声效应。位于组织体外的传感器接收热声信号后, 重建出组织体内发色团分布的图像。不考虑生物组织对微波磁损耗的情况下, TAI 的内生对比度来源主要有两个: 组织中的带电粒子和极性分子 (如水分子)。微波热声成像具有更高的组织穿透能力和较高的空间、时间分辨率。然而同光声成像类似, 脑成像时颅骨导致热声信号指标变差, 影响脑成像分辨甚至造成伪影。

目前, 微波热声脑成像研究主要采用微波热声层析成像 (thermoacoustic tomography, TAT) 技术。文献 [98] 对恒河大猴进行穿过完整颅骨情况下的二维成像, 实现了接近 3 mm 深度脑组织的清晰成像, 分辨率为 4 mm 。文献 [99] 制作了一种人类颅骨包裹下的仿体, 用来模拟真实脑组织出血性中风症状, 可以检测到直径约为 0.9 mm 的目标物。文献 [100] 通过对离体成人颅骨覆盖下的琼脂仿体组织的经颅成像, 验证了 TAT 对成人人脑具有较强的穿透力。并能对大鼠躯主要血管和器官进行清晰可见的成像^[100]。文献 [101] 使用 TAT 对新生小鼠进行在体生发基质出血检测, 为 TAT 用于新生儿在体脑出血检测提供了依据。

微波热声成像技术具有无创、便携、高分辨率的优点。但由于生物组织 TAI 的对比度来源是带电粒子和极性分子, 难以对反映脑功能活动的血红蛋白浓度和氧饱和度等指标进行测量, 单独使用 TAI 很难对大脑功能活动进行成像。因此将 TAI 与其他能够反映血管血液动力学响应的成像模态 (如 NIRS) 相结合, 组成多模态成像系统^[102] 就可以对生物组织结构进行高分辨率成像, 同时还可以检测氧代谢指标的分布和变化, 从而获取组织体功能活动信息。

6 总结与展望

本文着重介绍了几种微观光学分子脑成像技术,总结了每种成像模态在脑成像领域的典型发展历程和研究现状,最后结合它们自身的优势和局限性讨论了这几种成像模态未来的发展方向。总体而言,MPM和SI这两种显微成像模态以其高分辨率、高灵敏度特性能够提供分子和细胞水平的成像,多应用于离体切片或浅表组织的成像,在对生物细胞、分子乃至遗传信息表达的检测上具有巨大实用价值。但二者的显著缺点是成像深度较小,很难应用于器官级别或深层脑组织成像。而NIRS、DOT、PAT和TAI这4种成像模态显著地提升了成像深度,但它们也存在着空间分辨率低、成像深度小或成像信息种类单一等局限性。因此,融合了单一模态优点的多模态成像技术成为脑成像技术的另一个发展方向。但无论怎样,上述成像模态还是有着几乎共同的优势,即高灵敏度、在体、无创、便携、低成本等。如果再对空分辨率和成像深度进行大幅提升,微观光学分子脑成像技术必将迎来更加广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] WEISSELEDER R. Molecular imaging: Exploring the next frontier[J]. *Radiology*, 1999, 212(3): 609-614.
- [2] WEISSELEDER R, PITTET M J. Imaging in the era of molecular oncology[J]. *Nature*, 2008, 452(7187): 580-589.
- [3] DARNE C, LU Y, SEVICK-MURACA E M. Small animal fluorescence and bioluminescence tomography: A review of approaches, algorithms and technology update[J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2013, 59(1): R1.
- [4] QIN D L. Overview of microct with much more higher spare resolution than normal ct[J]. *China Medical Devices Information* 2003, 9(5): 27-29.
- [5] WU D, ZHANG J. Recent progress in magnetic resonance imaging of the embryonic and neonatal mouse brain[J]. *Frontiers in Neuroanatomy*, 2016, 10: 18.
- [6] ERMAKOVA O, ORSINI T, GAMBADORO A, et al. Three-dimensional microCT imaging of murine embryonic development from immediate post-implantation to organogenesis: Application for phenotyping analysis of early embryonic lethality in mutant animals[J]. *Mamm Genome*, 2018, 29(3-4): 245-259.
- [7] STAM M K, VERWER E E, BOOIJ J, et al. Performance evaluation of a novel brain-dedicated SPECT system[J]. *Ejnmri Physics*, 2018, 5(1): 4.
- [8] EYDING J, WILKENING W, POSTERT T. Brain perfusion and ultrasonic imaging techniques[J]. *European Journal of Ultrasound*, 2002, 16(1-2): 91-104.
- [9] GÖPPER-T-MAYER M. Elementary processes with two quantum transitions[J]. *Annalen Der Physik*, 2009, 18(7-8): 466-479.
- [10] 崔权, 陈忠云, 张智红, 等. 多色双光子成像技术进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2017, 54(6): 060002.
CUI Q, CHEN Z Y, ZHANG Z H, et al. Recent advances in multicolor two-photon imaging technique[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2017, 54(6): 060002.
- [11] LI S, GENG J X, LI Y, et al. New advances in biomedical applications of multiphoton imaging technology[J]. *Acta Physica Sinica*, 2020, 69: 228702.
- [12] SANTISAKULTARM T P, KERSBERGEN C J, BANDY D K, et al. Two-photon imaging of cerebral hemodynamics and neural activity in awake and anesthetized marmosets[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2016, 271: 55-64.
- [13] ABDELADIM L, MATHO K S, CLAVREUL S, et al. Multicolor multiscale brain imaging with chromatic multiphoton serial microscopy[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1662.
- [14] TYURIKOVA O, ZHENG K, RINGS A, et al. Monitoring Ca²⁺ elevations in individual astrocytes upon local release of amyloid beta in acute brain slices[J]. *Brain Research Bulletin*, 2018, 136: 85-90.
- [15] CHAKRABORTY S, NIAN F S, TSAI J W, et al. Quantification of the metabolic state in cell-model of parkinson's disease by fluorescence lifetime imaging microscopy[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19145.
- [16] LEE C M, ENGELBRECHT C J, SOPER T D, et al. Scanning fiber endoscopy with highly flexible, 1 mm catheterscopes for wide-field, full-color imaging[J]. *Journal of Biophotonics*, 2010, 3(5-6): 385-407.
- [17] OUZOUNOV D G, WANG T, WANG M, et al. In vivo three-photon imaging of activity of GCaMP6-labeled neurons deep in intact mouse brain[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(4): 388.
- [18] NI H, XU Z, LI D, et al. Aggregation-induced emission luminogen for in vivo three-photon fluorescence lifetime microscopic imaging[J]. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2019, 12(5): 1940005.
- [19] LIU H, DENG X, TONG S, et al. In vivo deep-brain structural and hemodynamic multiphoton microscopy enabled by quantum dots[J]. *Nano Letters*, 2019, 19(8): 5260-5265.
- [20] GARINI Y, YOUNG I T, MCNAMARA G. Spectral imaging: Principles and applications[J]. *Cytometry Part A*, 2010, 69A(8): 735-747.
- [21] 马雪洁. 基于多光谱成像的在体组织检测方法研究[D]. 天津: 天津大学, 2019.
MA X J. Research on detection method of in vivo tissue based on multispectral imaging[D]. Tianjin: Tianjin University, 2019.
- [22] LUCKL J, BAKER W, SUN Z H, et al. The biological effect of contralateral forepaw stimulation in rat focal cerebral ischemia: A multispectral optical imaging study[J]. *Frontiers in Neuroenergetics*, 2010, 2: 19.
- [23] NISHIDATE I, MUSTARI A, KAWAUCHI S, et al. Simultaneous evaluation of cerebral hemodynamics and light scattering properties of the in vivo rat brain using

- multispectral diffuse reflectance imaging[J]. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2017(123): e55399.
- [24] 王与焯, 孙忠成, 徐德刚, 等. 基于太赫兹时域光谱系统的脑缺血检测[J]. *光学学报*, 2020, 40(4): 0430001.
WANG Y Y, SUN Z C, XU D G, et al. Detection of cerebral ischemia based on terahertz time-domain spectroscopy[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(4): 0430001.
- [25] 刘立新, 李梦珠, 赵志刚, 等. 高光谱成像技术在生物医学中的应用进展[J]. *中国激光*, 2018, 45(2): 0207017.
LIU L X, LI M Z, ZHAO Z G, et al. Recent advances of hyperspectral imaging application in biomedicine[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(2): 0207017.
- [26] GIANNONI L, LANGE F, TACHTSIDIS I. Hyperspectral imaging solutions for brain tissue metabolic and hemodynamic monitoring: Past, current and future developments[J]. *Journal of Optics*, 2018, 20(4): 044009.
- [27] FU C, MA K, LI Z, et al. Rapid, label-free detection of cerebral ischemia in rats using hyperspectral imaging[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2020, 329: 108466.
- [28] GIANNONI L, LANGE F, SAJIC M, et al. A hyperspectral imaging system for mapping haemoglobin and cytochrome-c-oxidase concentration changes in the exposed cerebral cortex[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2021, 27(4): 1-11.
- [29] JOBSIS F. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters[J]. *Science*, 1977, 198(4323): 1264-1267.
- [30] DELPY D T, COPE M, ZEE P, et al. Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement[J]. *Physics in Medicine & Biology*, 1988, 33(12): 1433.
- [31] CHANCE B, MARIS M B, SORGE J, et al. Phase modulation system for dual wavelength difference spectroscopy of hemoglobin deoxygenation in tissues[C]//Time-Resolved Laser Spectroscopy in Biochemistry II, OE/LASE '90. Los Angeles: SPIE, 1990, 1204: 481-491.
- [32] VILLRINGER A, CHANCE B. Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function[J]. *Trends in Neurosciences*, 1997, 20(10): 435-442.
- [33] NOVI S L, ROBERTS E, SPAGNUOLO D, et al. Functional near-infrared spectroscopy for speech protocols: characterization of motion artifacts and guidelines for improving data analysis[J]. *Neurophotonics*, 2020, 7(1): 1-15.
- [34] GIBSON A P, AUSTIN T, EVERDELL N L, et al. Three-dimensional whole-head optical tomography of passive motor evoked responses in the neonate[J]. *Neuroimage*, 2006, 30(2): 521-528.
- [35] LUO Q, NIOKA S, CHANCE B. Functional near-infrared imager[C]//Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue: Theory, Instrumentation, Model, and Human Studies II. BIOS '97, Part of Photonics WEST. San Jose: SPIE, 1997, 2979: 84-93.
- [36] LIU J, LIU R, XU K. Accuracy of noninvasive glucose sensing based on near-infrared spectroscopy[J]. *Applied Spectroscopy*, 2015, 69(11): 1313-1318.
- [37] 李成军. 近红外光谱技术用于前额叶皮层工作记忆作用的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2005.
LI C J. On the prefrontal cortex function in working memory with near-infrared spectroscopy[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2005
- [38] 周蕊. 中英文言语流畅性任务的语言间差异的fNIRS研究[D]. 天津: 天津师范大学, 2015.
ZHOU S. Brain activation pattern difference between Chinese and English verbal fluency task: An fNIRS Study[D]. Tianjin: Tianjin Normal University, 2015.
- [39] 邹雨晨, 李燕芳, 丁颖. 早期高级认知发展与前额叶功能发育的fNIRS研究[J]. *心理发展与教育*, 2015, 31(6): 761-768.
ZOU Y C, LI Y F, DING Y. fNIRS studies of the development of early advanced cognitive ability and prefrontal function[J]. *Psychological Development and Education*, 2015, 31(6): 761-768.
- [40] VANDERWERT R E, NELSON C A. The use of near-infrared spectroscopy in the study of typical and atypical development[J]. *Neuroimage*, 2014, 85(1): 264-271.
- [41] LI R, NGUYEN T, POTTER T, et al. Dynamic cortical connectivity alterations associated with Alzheimer's disease: An EEG and fNIRS integration study[J]. *NeuroImage: Clinical*, 2019, 21: 101622.
- [42] STUART S, VITORIO R, MORRIS R, et al. Cortical activity during walking and balance tasks in older adults and in people with Parkinson's disease: A structured review[J]. *Maturitas*, 2018, 113: 53-72.
- [43] HUSAIN S F, YU R, TANG T B, et al. Validating a functional near-infrared spectroscopy diagnostic paradigm for major depressive disorder[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 9740.
- [44] KUMAR V, SHIVAKUMAR V, CHHABRA H, et al. Functional near infra-red spectroscopy (fNIRS) in schizophrenia: A review[J]. *Asian Journal of Psychiatry*, 2017, 27: 18-31.
- [45] LIAO J, LI T, DONG W, et al. Reduced prefrontal-temporal cortical activation during verbal fluency task in obsessive-compulsive disorder: A multi-channel near-infrared spectroscopy study[J]. *Journal of Psychiatric Research*, 2018, 109: 33-40.
- [46] ZHANG F, ROEYERS H. Exploring brain functions in autism spectrum disorder: A systematic review on functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) studies[J]. *International Journal of Psychophysiology*, 2019, 137: 41-53.
- [47] HUPPERT T J, DIAMOND S G, FRANCESCHINI M A, et al. HomER: a review of time-series analysis methods for near-infrared spectroscopy of the brain[J]. *Applied Optics*, 2009, 48(10): D280-D298.
- [48] 周振宇, 杨宏宇, 龚辉, 等. 基于希尔伯特-黄变换的近红外脑功能成像信号分析[J]. *光学学报*, 2007, 27(2): 307-312.
ZHOU Z Y, YANG H Y, GONG H, et al. Brain signal analysis of functional near-infrared imaging based on Hilbert-Huang transform[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007,

- 27(2): 307-312.
- [49] KE Z, JI Y, LI Y, et al. Online removal of baseline shift with a polynomial function for hemodynamic monitoring using near-infrared spectroscopy[J]. *Sensors*, 2018, 18(1): 312.
- [50] 郑毅. 基于连续光的便携式近红外脑功能成像系统的研制[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
ZHENG Y. Development of a Portable continuous-wave NIR instrument for brain function imagin[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2006.
- [51] 余坚. 多通道脑血氧检测系统设计[D]. 成都: 电子科技大学, 2015.
YU J. Multi-channel brain blood oxygen detecting system[D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2015.
- [52] 张岩. 基于近红外光谱技术的脑功能活动信号提取方法研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2012.
ZHANG Y. Study of signal extraction method in brain activity measurement by near infrared spectroscopy[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2012.
- [53] 孟伟. 基于多通道数字锁相系统的脑功能光学成像相关研究[D]. 天津: 天津大学, 2014.
MENG W. Near-Infrared functional brain imaging studies based on multi-channel digital lock-in detection system[D]. Tianjin: Tianjin University, 2014.
- [54] YAMADA Y, OKAWA S. Diffuse optical tomography: Present status and its future[J]. *Optical Review*, 2014, 21(3): 185-205.
- [55] ISHIMARU A. Wave propagation and scattering in random media[J]. *Proceedings of the IEEE*, 1991, 79(10): 1359-1366.
- [56] ARRIDGE S R. Optical tomography in medical imaging[J]. *Inverse Problems*, 1999, 15(2): R41.
- [57] 阮平巧. 基于形状的扩散光学层析成像理论与技术研究[D]. 天津: 天津大学, 2010.
RUAN P Q. Investigations on shape-based diffuse optical tomography: Theory and methodology[D]. Tianjin: Tianjin University, 2010.
- [58] SCHWEIGER M, ARRIDGE S R, NISSILÄ I. Gauss-Newton method for image reconstruction in diffuse optical tomography[J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2005, 50(10): 2365.
- [59] ARRIDGE S, SCHWEIGER M. A gradient-based optimisation scheme for optical tomography[J]. *Optics Express*, 1998, 2(6): 213-226.
- [60] 王兵元, 陈玮婷, 马文娟, 等. 基于非负约束 L1-范数正则化的乳腺扩散光学层析成像重建方法[J]. *光学学报*, 2016, 36(11): 1117002.
WANG B Y, CHEN W T, MA W J, et al. Reconstruction method of breast diffuse optical tomography based on non-negative-constraint l1-norm regularization[J]. *Acta Optica Sinica*, 2016, 36(11): 1117002.
- [61] TONG S, HAN B, LONG H, et al. An accelerated sequential subspace optimization method based on homotopy perturbation iteration for nonlinear ill-posed problems[J]. *Inverse Problems*, 2019, 35(12): 125005.
- [62] XU Q, WANG X, JIANG H. Convolutional neural network for breast cancer diagnosis using diffuse optical tomography[J]. *Visual Computing for Industry, Biomedicine and Art*, 2019, 2(1): 6.
- [63] ARRIDGE S R, LIONHEART W. Nonuniqueness in diffusion-based optical tomography[J]. *Optics Letters*, 1998, 23(11): 882-884.
- [64] JOSEPH D K, HUPPERT T J, FRANCESCHINI M A, et al. Diffuse optical tomography system to image brain activation with improved spatial resolution and validation with functional magnetic resonance imaging[J]. *Applied optics*, 2006, 45(31): 8142-8151.
- [65] CHITNIS D, COOPER R J, DEMPSEY L, et al. Functional imaging of the human brain using a modular, fibre-less, high-density diffuse optical tomography system[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(10): 4275-4288.
- [66] 苏黎, 熊志豪, 杨浩, 等. 一种低成本, 高性价比的穿戴式扩散光学断层人脑成像系统[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2020, 47(5): 439-447.
SU L, XIONG Z H, YANG H, et al. A low-cost high performance-to-price ratio wearable diffuse optical tomography system for human brain imaging[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2020, 47(5): 439-447.
- [67] ZEFF B W, WHITE B R, DEGHANI H, et al. Retinotopic mapping of adult human visual cortex with high-density diffuse optical tomography[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(29): 12169-12174.
- [68] HABERMEHL C, HOLTZE S, STEINBRINK J, et al. Somatosensory activation of two fingers can be discriminated with ultrahigh-density diffuse optical tomography[J]. *Neuroimage*, 2012, 59(4): 3201-3211.
- [69] HASSANPOUR M S, EGGBRECHT A T, PELLE J E, et al. Mapping effective connectivity within cortical networks with diffuse optical tomography[J]. *Neurophotonics*, 2017, 4(4): 041402.
- [70] FISHELL A K, BURNS-YOCUM T M, BERGONZI K M, et al. Mapping brain function during naturalistic viewing using high-density diffuse optical tomography[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 11115.
- [71] LANCIA S, COFINI V, CARRIERI M, et al. Are ventrolateral and dorsolateral prefrontal cortices involved in the computerized Corsi block-tapping test execution? An fNIRS study[J]. *Neurophotonics*, 2018, 5(1): 011019.
- [72] SHEKHAR S, MARIA A, KOTILAHTI K, et al. Hemodynamic responses to emotional speech in two-month-old infants imaged using diffuse optical tomography[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 4745.
- [73] CHANCE B. A novel method for fast imaging of brain function, non-invasively, with light[J]. *Optics Express*, 1998, 2(10): 411-423.
- [74] CHALIA M, DEMPSEY L A, COOPER R J, et al. Diffuse optical tomography for the detection of perinatal stroke at the cot side: A pilot study[J]. *Pediatric Research*, 2019, 85(7): 1001-1007.
- [75] SMYSER C D, WHEELLOCK M, LIMBRICK D D, et al. Neonatal brain injury and aberrant connectivity[J].

- NeuroImage, 2018, 185: 609-623.
- [76] MARTINEZ B M, DIEZ S J, KAPELLOU O, et al. Iconography: Predicting motor outcome and death in term hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Neurology*, 2011, 76(24): 2055-2061.
- [77] SINGH H, COOPER R J, LEE C W, et al. Mapping cortical haemodynamics during neonatal seizures using diffuse optical tomography: A case study[J]. *Neuroimage Clinical*, 2014, 5(C): 256-265.
- [78] CHALIA M, LEE C W, DEMPSEY L A, et al. Hemodynamic response to burst-suppressed and discontinuous electroencephalography activity in infants with hypoxic ischemic encephalopathy[J]. *Neurophotonics*, 2016, 3(3): 031408.
- [79] WHITE B R, SNYDER A Z, COHEN A L, et al. Resting-state functional connectivity in the human brain revealed with diffuse optical tomography[J]. *Neuroimage*, 2009, 47(1): 148-156.
- [80] FERRADAL S L, LIAO S M, EGGBRECHT A T, et al. Functional imaging of the developing brain at the bedside using diffuse optical tomography[J]. *Cerebral Cortex*, 2016, 4: 1558-1568.
- [81] KHAN A F, ZHANG F, YUAN H, et al. Brain-wide functional diffuse optical tomography of resting state networks[J]. *Journal of Neural Engineering*, 2021, 18(4): 046069.
- [82] ZHANG L, CAO B, HE X, et al. High-Sensitive multiwavelength dynamic diffuse optical tomography system: A preliminary investigation[J]. *Frontiers in Physics* 2020, 8: 600812.
- [83] BELL A G. On the production and reproduction of sound by light[J]. *American Journal of Science*, 1880(118): 305-324.
- [84] PALTAUF G, NUSTER R, FRENZ M. Progress in biomedical photoacoustic imaging instrumentation toward clinical application[J]. *Journal of Applied Physics*, 2020, 128(18): 180907.
- [85] WANG L V. Tutorial on photoacoustic microscopy and computed tomography[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2008, 14(1): 171-179.
- [86] LEI L, ZHU L, CHENG M, et al. Single-Impulse panoramic photoacoustic computed tomography of small-animal whole-body dynamics at high spatiotemporal resolution[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1(5): 1-11.
- [87] ZHANG P, LI L, LIN L, et al. High-Resolution deep functional imaging of the whole mouse brain by photoacoustic computed tomography in vivo[J]. *Journal of Biophotonics*, 2018, 11(1): e201700024.
- [88] OLEFIR I, GHAZARYAN A, YANG H, et al. Spatial and spectral mapping and decomposition of neural dynamics and organization of the mouse brain with multispectral optoacoustic tomography[J]. *Cell Reports*, 2019, 26(10): 2833-2846.
- [89] JIN T, QI W, LIANG X, et al. Photoacoustic imaging of brain functions: Wide field-of-view functional imaging with high spatiotemporal resolution[J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2022(2): 2100304.
- [90] QIN W, GAN Q, YANG L, et al. High-Resolution in vivo imaging of rhesus cerebral cortex with ultrafast portable photoacoustic microscopy[J]. *NeuroImage*, 2021, 238: 118260.
- [91] TANG J B, XI L, ZHOU J, et al. Noninvasive high-speed photoacoustic tomography of cerebral hemodynamics in awake-moving rats. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*[J]. *Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2015, 35(8): 1224-1232.
- [92] SHAN T, ZHAO Y, JIANG S, et al. In-Vivo hemodynamic imaging of acute prenatal ethanol exposure in fetal brain by photoacoustic tomography[J]. *Journal of Biophotonics*, 2020, 13(5): e201960161.
- [93] HERRMANN S, PETROV I Y, PETROV Y, et al. Cerebral blood oxygenation measurements in neonates with optoacoustic technique[C]//*Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2017*. SPIE BiOS. San Francisco: SPIE, 2017, 10064: 117-123.
- [94] DANGI A, ROY K, AGRAWAL S, et al. A modular approach to neonatal whole-brain photoacoustic imaging[C]//*Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2020*. SPIE BiOS. San Francisco: SPIE, 2020, 11240: 317-325.
- [95] YAO J, XIA J, MASLOV K I, et al. Noninvasive photoacoustic computed tomography of mouse brain metabolism in vivo[J]. *Neuroimage*, 2013, 64(1): 257-266.
- [96] KRUGER R A, REINECKE D R, KRUGER G A. Thermoacoustic computed tomography –technical considerations[J]. *Medical Physics*, 1999, 26(9): 1832-1837.
- [97] WANG L V, ZHAO X, SUN H, et al. Microwave-Induced acoustic imaging of biological tissues[J]. *Review of Scientific Instruments*, 1999, 70(9): 3744-3748.
- [98] YUAN X, WANG L. Rhesus monkey brain imaging through intact skull with thermoacoustic tomography[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2006, 53(3): 542-548.
- [99] LIN H, LI T, JIANG H. Technical note: Thermoacoustic imaging of hemorrhagic stroke: A feasibility study with a human skull[J]. *Medical Physics*, 2017, 44(4): 1494-1499.
- [100] YAN A, LIN L, LIU C, et al. Microwave - Induced thermoacoustic tomography through an adult human skull[J]. *Medical Physics*, 2019, 46(4): 1793-1797.
- [101] ZHAO Y, SHAN T, CHI Z, et al. Thermoacoustic tomography of germinal matrix hemorrhage in neonatal mouse cerebrum[J]. *Journal of X-Ray Science and Technology*, 2019, 28(1): 1-11.
- [102] SU L, XU S Z, HUANG Y X, et al. Developing a near-infrared spectroscopy and microwave-induced thermoacoustic tomography-based dual-modality imaging system[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2021, 92(12): 124901.