❖实验研究

Synchrotron radiation phase contrast CT imaging of in vitro biological soft tissue

ZHANG Jianfa[1*], CHEN Xiujun[1], LI Wenjing[1], HUANG Zhongjie[1], ZHONG Chaosen[1], ZHOU Guangzhao[2], LIN Shunfa[1]

(1. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, China; 2. Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201204, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the feasibility of in vitro biological soft tissue imaging by using synchrotron radiation phase contrast CT. **Methods** Three samples of resected human cardia, two samples of resected human esophageal carcinoma and esophagus, as well as two samples of middle cerebral artery tissue extracted from corpses were fixed and air-dried at room temperature for synchrotron radiation phase contrast CT imaging. The images of soft tissue structures were observed and compared with pathological findings. **Results** The images of synchrotron radiation phase contrast CT showed three-layer structure of cardia and esophagus, mucous, submucosa and muscular layer. The surface of mucous layer was smooth. The images of esophageal carcinoma showed cancerous tissue infiltrating esophageal wall. The wall and lumen of cerebral arteries could be also clearly displayed. **Conclusion** Synchrotron radiation phase contrast CT imaging can clearly display fine structures of in vitro biological soft tissue.

[**Key words**] Synchrotron radiation; Tomography, X-ray computed; Soft tissue

DOI:10.13929/j.1003-3289.201707062

离体生物软组织同步辐射相衬 CT 成像

张建发[1*],陈秀君[1],李雯靖[1],黄钟杰[1],钟朝森[1],周光照[2],林顺发[1]

(1.汕头大学医学院第一附属医院放射科,广东 汕头 515041;
2.中国科学院上海应用物理研究所,上海 201204)

[**摘 要**] **目的** 探讨同步辐射相衬 CT 对离体生物软组织成像的可行性。**方法** 将手术切除人贲门标本 3 块、食管及食管癌标本各 2 块及自尸体标本提取的大脑中动脉组织 2 块固定并自然干燥,之后行同步辐射相衬 CT 成像,观察成像显示的软组织结构,并与病理结果进行对照。**结果** 同步辐射相衬 CT 图像清晰显示正常贲门及食管壁 3 层结构,即黏膜层、黏膜下层及肌层,黏膜面光整;在食管癌标本则显示癌组织浸润食管壁;对大脑中动脉组织可清晰显示脑动脉管壁及血管腔内状况。**结论** 同步辐射相衬 CT 成像能清晰显示离体生物软组织的细微结构。

[**关键词**] 同步辐射;体层摄影术,X 线计算机;软组织

[**中图分类号**] R322;R814.42 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1003-3289(2018)02-0171-05

[**基金项目**] 2015 年度汕头市医疗科技计划项目(汕府科[2015]123 号)。

[**第一作者**] 张建发(1974—),男,江西余干人,博士,副主任医师。研究方向:医学影像诊断及同步辐射相衬 CT 成像。

[**通信作者**] 张建发,汕头大学医学院第一附属医院放射科,515041。E-mail:xns497028345@126.com

[**收稿日期**] 2017-07-14 [**修回日期**] 2017-11-29

自 1895 年德国物理学家伦琴发现 X 线以来，X 线成像技术飞速发展，但面临着辐射剂量增加和衬度分辨率低等问题。传统 X 线检查通过组织间不同吸收系数而成像，软组织分辨率低，无法显示肌腱、韧带、软骨、血管、神经及与周围组织密度差别不大的软组织肿瘤。同步辐射相衬成像是一种新的成像理论和技术，可将 X 线折射效应引入空间相位偏移分布，利用不同组织折射系数的差异进行成像，主要应用相差衬托信息（当 X 线穿透样品后 X 线强度会重新分配）并依靠 X 线通过样品的折射效应。目前同步辐射相衬成像已广泛应用于诸多领域，如生物医学及材料科学[1-3]等。本实验利用上海光源的 BL13W1 线站对离体人贲门、食管、食管癌及脑血管标本进行同步辐射相衬 CT 成像，观察以成像模式显示软组织细微结构的可行性。

1　材料与方法

1.1　样品制备　收集 5 例食管癌患者手术切除标本和 2 具尸体标本的大脑中动脉，以生理盐水反复冲洗，清除手术切除标本表面黏液及出血，并尽量冲洗大脑中动脉腔内淤血，以 10％福尔马林固定 1 天后，于 3 个食管癌手术切除标本中远离肿瘤的贲门区纵向完整提取 3 块细长贲门组织，约 10 mm×4 mm×3 mm，包括黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层；于另外 2 个食管癌手术切除标本中分别提取食管癌组织及正常食管 2 块，大小同上，其中食管癌组织包括肿瘤组织、交界区及肉眼观正常食管壁，正常食管包括黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层；于尸体标本大脑中动脉提取长约 10 mm 的血管组织。将以上样本以 10％福尔马林固定 2 天，自然干燥后置于塑料管内以备同步辐射相衬 CT 成像。

1.2　同步辐射相衬 CT 成像及图像重建　于上海光源 BL13W1 线站实验站对上述样本行同步辐射相衬 CT 成像。在 CT 数据采集过程中，令样本围绕圆柱轴行 180°旋转，每旋转 180°获得 900 帧投影，每帧投影曝光时间约 1 s（图 1）。采用 X-TRACT 和 Amira 软件分别对数据进行二维及三维重建。

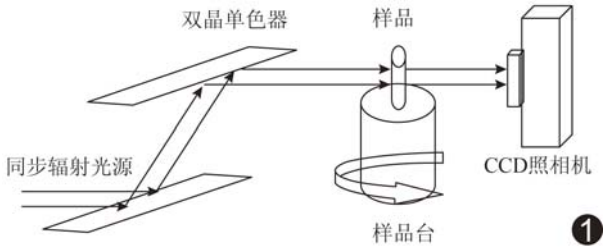

图 1　同步辐射相衬 CT 示意图

1.3　病理学检查　成像后的样本经脱水、石蜡包埋后，以 4 μm 厚切片，经 HE 染色后采用光学显微镜观察，并与同步辐射相衬 CT 图像进行对比。

2　结果

2.1　离体正常贲门及食管同步辐射相衬 CT 成像　可清晰显示离体正常贲门壁（图 2）及食管壁（图 3）的

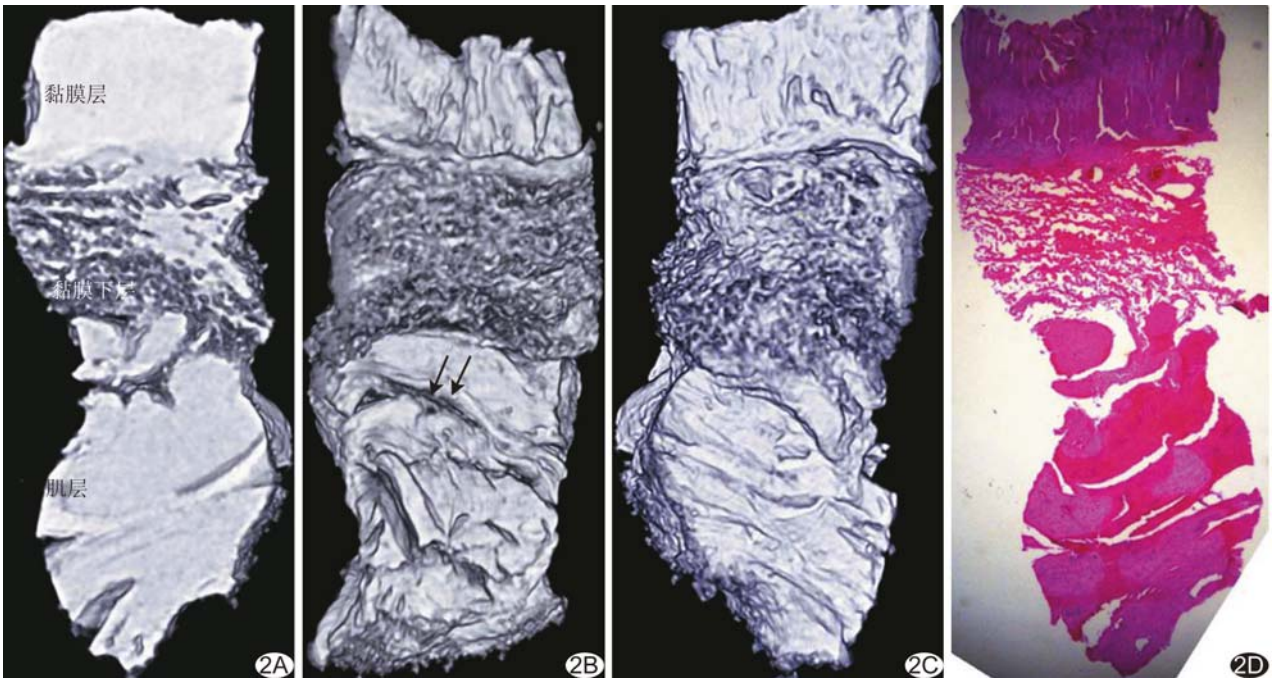

图 2　离体正常贲门壁同步辐射相衬 CT 图像及病理图　CT 轴位（A）及三维重建（B、C）图像可清晰显示贲门壁三层结构（黏膜层、黏膜下层、肌层），箭示裂隙，黏膜层及肌层完整，三层结构间边界清晰，与病理图（HE，×40）所示相对应（D）

图 3　离体正常食管壁同步辐射相衬 CT 图像　轴位(A)及三维重建(B)图像可清晰显示食管壁三层结构(黏膜层、黏膜下层、肌层)，箭示裂隙，食管壁表面光整

细微结构，包括黏膜层、黏膜下层及肌层。黏膜层和肌层之间被疏松且呈“蜂窝状”的黏膜下层分开，黏膜层表面光整。肌层内可见多条管状低密度影。

2.2　离体食管癌标本同步辐射相衬 CT 成像　可清晰显示食管癌浸润食管壁，表现为肿瘤破坏黏膜层，仅见少许黏膜残留，黏膜下层完全被肿瘤组织浸润至破坏消失，肿瘤组织与正常食管壁间界限不清，食管壁形态不规则，黏膜面凹凸不平(图 4)。肌层内亦可见多条管状低密度影。

2.3　离体血管同步辐射相衬 CT 成像　可清晰显示正常血管壁及腔内淤血，血管壁均匀、光整，边缘清晰；三维重建图像可显示血管壁表面结构(图 5)。

3　讨论

同步辐射相衬成像主要应用相差衬托信息并依靠 X 线通过样品的折射效应。由折射率公式[$n=1-\delta+i\beta$(其中 $\delta=r_e\rho_e\lambda^2/2\pi$，$\beta=\mu\lambda/4\pi$，n 为折射率，$r_e$为经典电子半径，$\rho_e$为材料中电子的平均密度，λ 为波长，μ 为 X 射线的线吸收系数[4]，i 为虚数)]可知，δ 与相位有关，β 与吸收系数 μ 有关[5]。如对于物质 C_2H_4，25 keV的 X 线相位相关指标 δ 值为 3.5×10^{-7}，而吸收相关指标 β 为 8.1×10^{-11}，δ 比 β 大 3 个数量级，且相衬可达 0.000 3 g/cm^3，因此，理论上同步辐射相衬成像对碳、氢、氧、氮等物质构成的软组织的分辨率比常规 X

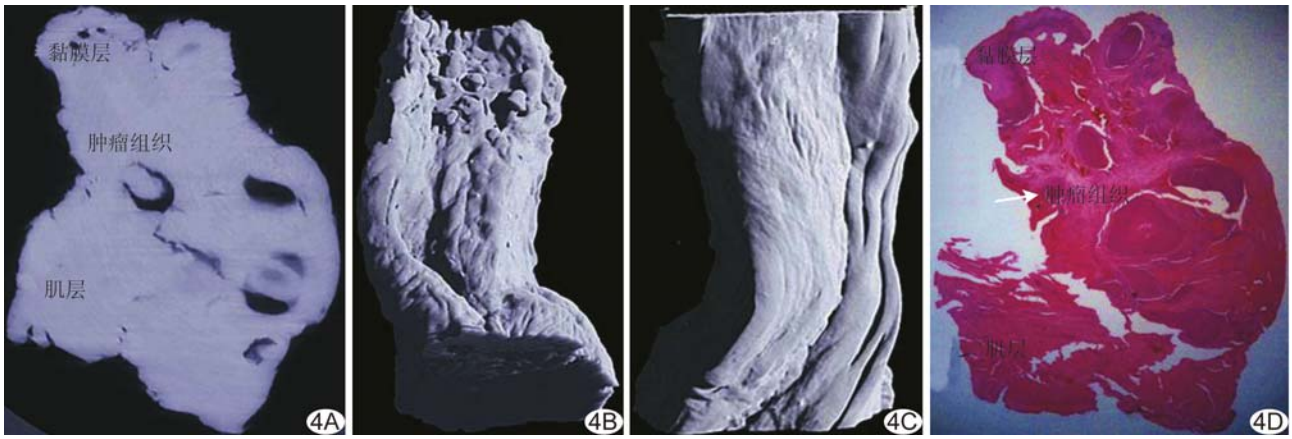

图 4　离体食管癌标本同步辐射相衬 CT 图像及病理图　A. 轴位图像显示黏膜下层消失，肿瘤组织与食管壁间边界不清；B、C. 三维重建图像显示食管形态不规则，黏膜面凹凸不平(B)，肌层表面尚光整(C)；D. 病理图(HE，×40)

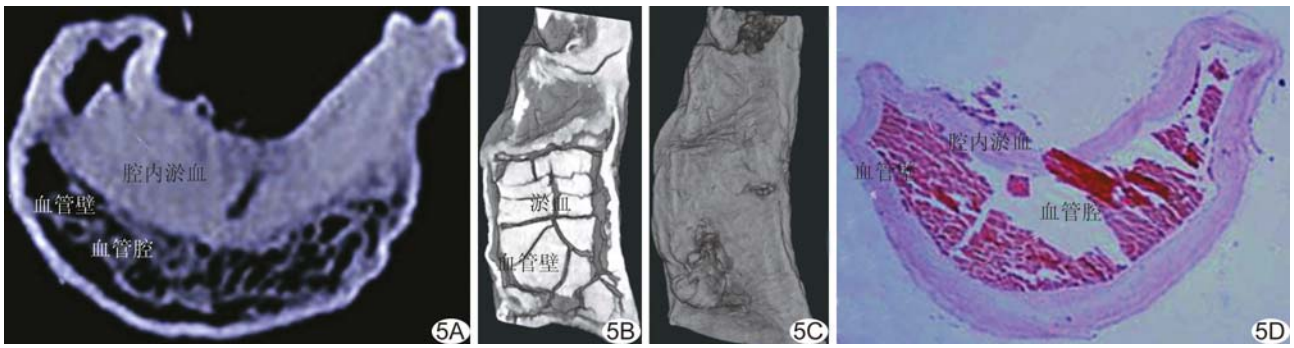

图 5　离体脑血管同步辐射相衬 CT 图像及病理图　A. 轴位图像显示血管壁及腔内淤血；B、C. 三维重建图像显示血管壁、血管腔、腔内淤血(B)和血管壁表面结构(C)；D. 病理图(HE，×40)

吸收成像高 1 000 倍左右[6]。近年来同步辐射相衬成像发展迅速，并已有多种技术用于实验，包括 X 线干涉法、衍射增强成像、类同轴法及光栅成像[7]，并应用于多种软组织成像。Miao 等[8]利用同步辐射相衬 CT 观察小鼠脑结构，包括皮质、脑室、基底节、丘脑及小脑，可显示脑组织缺血损伤后直径约 7.4 μm 的微小血管改变。Takeda 等[9]采用同步辐射相衬 CT（类同轴法）对 Wistar 大鼠肝血管进行成像，发现在不使用对比剂的前提下可清晰显示直径约 0.03 mm 的微小血管。Montgomery 等[10]发现，同步辐射相衬 CT 可显示犬前列腺尿道移行细胞癌坏死区、炎性区域及病变组织与其正常组织的边界。Momose 等[11]利用 X 线干涉仪获得了清晰的小鼠肝血管树图像。Grandl 等[12]利用光栅成像及 Talbot 图像干涉仪进行乳腺癌体外成像，可清晰显示微小结节及细微钙化灶。Leong 等[5]以类同轴法进行小鼠肺泡成像。Tao 等[4]利用同步辐射相衬 CT 成像显示裸鼠胃癌。相位衬度成像主要依赖 X 线的折射作用，与 X 线的吸收无关，故可使用更高能量的 X 线进行成像，被样本吸收的辐射剂量更少，可明显减少对生物组织的辐射损伤；其设备装置简单，只需 1 个双晶单色仪、样品台和 1 个探测器。

本研究所用光源为 1 台 8 个周期的混合型扭摆器光源，周期长度 14 cm，能量覆盖范围 8.0～72.5 keV，磁隙调节范围为 17～35 mm。将 1 台固定出射光斑的液氮冷却单色器放置在距离光源 28 m 处，单色器晶体由 1 套 Si(111)晶体和 1 块 Si(311)晶体组成。高精度样品台可沿 x、y、z 轴（3 个方向）进行平移及绕轴旋转，平移精度 1 μm。光束线的光斑接收角为 1.5×0.2 $mrad^2$。X 线能量优化在 15 keV。高准直单色光投射至样品，通过样品的 X 线束产生吸收及位移信息，X 线束传播 9 cm 后，通过涅菲尔衍射变换，位移信息被转换位可测量的信号强度。采用 CCD 照相机（像素 2 048×2 048，分辨力 3.7 μm×3.7 μm）将探测的信号转换成图像。成像过程中需要注意以下各项：①根据实验参数选择合适的 IL-XPCT 成像距离，使相位衬度像最佳；②严格校正样品旋转平台转轴与 CCD 照相机探测平面的相对位置，使两者尽量平行，以尽量减小 CT 重构伪影；③采集 IL-XPCT 投影数据，同时采集白场像和暗场像（分别为光束线站有光但样品不在光路中和光束线站无光时探测器采集的图像）；④图像处理和 CT 重构，采用 X-TRACT 对 IL-XPCT 投影数据进行相位恢复及数据重构获得二维图像，利用 Amira 进行图像三维重建，并对各个投影数据的背景噪声、样品旋转平台旋转轴轴心位置、环形伪影等进行校正。

目前胃肠道主要成像方法为 CT、MR 及内镜等，诊断血管病变则主要有 CTA、MRA 及 DSA 等手段，但其空间分辨力多为毫米级，不能满足临床精确观察分析组织结构的需求。相位衬度成像在生物软组织成像方面效果良好，分辨力能达到微米级水平。本实验中，同步辐射相衬 CT 成像清晰显示离体正常贲门壁及食管壁的 3 层结构，尤其是疏松的黏膜下层表现为“蜂窝状”，可与黏膜层及肌层截然分开；离体正常食管及食管癌标本肌层内均可见多条管状低密度影，可能是在样本的固定和自然干燥过程中纤维收缩所导致的裂隙；显示食管癌浸润食管壁的情况，即黏膜下层消失，肿瘤组织与食管壁分界不清，食管形态不规则，黏膜面凹凸不平；在不使用对比剂的前提下，同步辐射相衬 CT 可清晰显示离体血管壁及血管腔内结构，三维重建图像还可显示血管壁表面结构。

本研究为实验性研究，所用样本经固定和自然干燥，导致水份丢失，与在体组织不同。目前同步辐射相衬 CT 成像尚不能用于临床，但本研究结果提示，此项技术或可为影像学诊断生物软组织疾病提供新的研究方向。另外，同步辐射相衬 CT 成像视野小，不适用于大样本，但有学者[13]指出，可使用 Talbot 图像干涉仪，结合常规 X 线球管成像，以获得更大的成像视野。

（致谢：感谢中国科学院上海应用物理研究所、上海光源提供实验设备及技术支持。）

[参考文献]

[1] Larsson DH, Vågberg W, Yaroshenko A, et al. High-resolution short-exposure small-animal laboratory X-ray phase-contrast tomography. Sci Rep, 2016, 6: 39074.

[2] Hudspeth M, Sun T, Parab N, et al. Simultaneous X-ray diffraction and phase-contrast imaging for investigating material deformation mechanisms during high-rate loading. J Synchrotron Radiat, 2015, 22(1): 49-58.

[3] Lahlali R, Karunakaran C, Wang L, et al. Synchrotron based phase contrast X-ray imaging combined with FTIR spectroscopy reveals structural and biomolecular differences in spikelets play a significant role in resistance to Fusarium in wheat. BMC Plant Biol, 2015, 15: 24.

[4] Tao Q, Luo S. Investigation of gastric cancers in nude mice using X-ray in-line phase contrast imaging. Biomed Eng Online, 2014, 13: 101.

[5] Leong AF, Buckley GA, Paganin DM, et al. Real-time measurement of alveolar size and population using phase contrast X-ray imaging. Biomedical Optics Express, 2014, 5 (11): 4024-4038.

[6] Richards DG, Brown TH, Manson JM. Endoscopic ultrasound in the staging of tumours of the oesophagus and gastro-oesophageal junction. Ann R Coll Surg Engl, 2000,82(5):311-317.

[7] Olivo A, Castelli E. X-ray phase contrast imaging: From synchrotrons to conventional sources. La Rivista Del Nuovo Cimento, 2014,37(9):467-508.

[8] Miao P, Wu Z, Li M, et al. Synchrotron radiation X-ray phase-contrast tomography visualizes microvasculature changes in mice brains after ischemic injury. Neural Plast, 2016,2016:3258494.

[9] Takeda T, Momose A, Wu J, et al. Vessel imaging by interferometric phase-contrast X-ray technique. Circulation, 2002,105(14):1708-1712.

[10] Montgomery JE, Wesolowski MJ, Wolkowski B, et al. Demonstration of synchrotron X-ray phase contrast imaging computed tomography of infiltrative transitional cell carcinoma of the prostatic urethra in a dog. J Med Imaging (Belingham), 2016,3(1):015504.

[11] Momose A, Takeda T, Itai Y. Blood vessels: Depiction at phase-contrast X-ray imaging without contrast agents in the mouse and rat-feasibility study. Radiology, 2000, 217 (2): 593-596.

[12] Grandl S, Scherer K, Sztrókay-Gaul A, et al. Improved visualization of breast cancer features in multifocal carcinoma using phase-contrast and dark-field mammography: An ex vivo study. Eur Radiol, 2015,25(12):3659-3668.

[13] Huang S, Kou B, Chi Y, et al. In-line phase-contrast and grating-based phase-contrast synchrotron imaging study of brain micrometastasis of breast cancer. Sci Rep, 2015,5:9418.

《中国医学影像技术》投稿要求(一)

1　总体要求　文稿应具有科学性、先进性、创新性和可读性,力求重点突出,论点明确,资料详实,数据可靠,结构严谨,写作规范,表达准确,文字精炼。文稿撰写应遵照国家标准 GB 7713 科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式,GB 6447 文摘编写规则,GB 7714 文后参考文献著录规则;专家述评 4 000 字左右,研究论著、综述类论文 5 000 字左右,经验交流一般不超过 2 500 字,个案报道不超过 1 000 字。

2　题目　力求高度概括、言简意赅且能反映论文的主题,文题字数一般不超过 20 个汉字,尽量不设副标题,题目中尽量不使用阿拉伯数字开头。

3　作者　作者姓名标注在文题下方,按贡献大小顺序排列,投稿后作者署名及顺序不得随意修改或变更。具备下列条件者可列为作者:①参加选题、研究工作并能解释论文有关问题者;②起草或修改论文中关键性理论或主要内容者;③能对编辑部的修改意见进行核修,并最终同意该文发表者。对研究工作有贡献的其他人可在致谢中列出。通信作者姓名旁应上标加注“*”号,其应对全文内容负责,还应具有对读者提出的质疑进行答辩的能力和义务。如有外籍作者,应征得本人同意,并附有本人签字。

4　单位　在作者的下一行写出单位的全称(具体到科室)、省市和邮政编码。署名作者分别在多个单位者,应分别写出各单位的全称(具体到科室),并用阿位伯数字在对应的署名作者右上角标注。

5　英文题目　应简明扼要,便于检索,与中文题名内容上应一致,以不超过 10 个实词为宜。除已得到整个科技界或本行业科技人员公认的缩略词语外,不宜使用缩略词语。

6　英文作者　用汉语拼音拼写,姓前名后,姓氏全部大写,名首字母大写,双名首字母大写。例如:王小五,写为:WANG Xiaowu。依据《中国人名汉语拼音字母拼写规则》(国家标准编号:GB/28039-2011),姓氏“吕”的汉语拼音应为“LYU”。

7　英文单位　应与中文单位对应,按查阅本单位官方网站或咨询相关职能部门,规范英文单位名称。