

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 10 月 29 日 (29.10.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/215802 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 21/84 (2006.01) **G01N 21/01** (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/130607

(22) 国际申请日: 2019 年 12 月 31 日 (31.12.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201910330354.5 2019 年 4 月 23 日 (23.04.2019) CN

(71) 申请人: 中国科学院深圳先进技术研究院 (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。

(72) 发明人: 李慧 (LI, Hui); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。余佳 (YU, Jia); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055

(CN)。夏先园 (XIA, Xianyuan); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。陈廷爱 (CHEN, Tingai); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。郑炜 (ZHENG, Wei); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。

(74) 代理人: 深圳市科进知识产权代理事务所 (普通合伙) (SHENZHEN KEJIN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE); 中国广东省深圳市南山区粤兴三道二号虚拟大学园产业化基地 A701 室, Guangdong 518055 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,

(54) Title: OPTICAL IMAGING SYSTEM FOR PATHOLOGICAL EXAMINATION

(54) 发明名称: 一种用于病理检查的光学成像系统

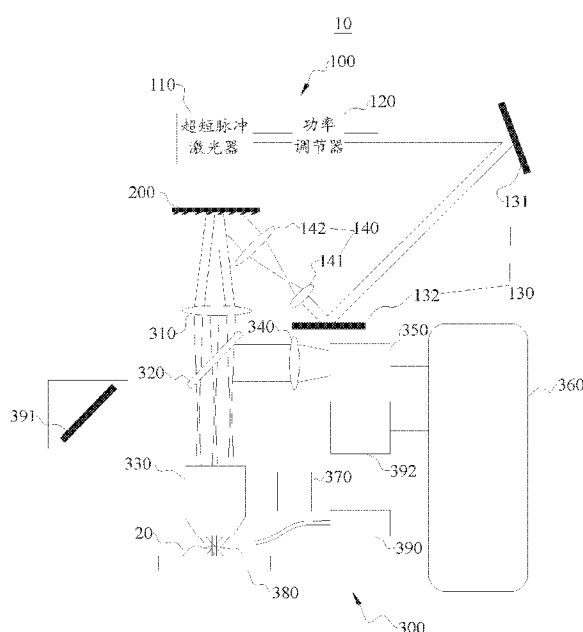


图 1

110 Ultra-short pulse laser
120 Power regulator

(57) Abstract: An optical imaging system (10) for pathological examinations, pertaining to the technical field of medical equipment. The system uses a pulse laser output device (100) to generate first ultra-short pulse laser and irradiate the first ultra-short pulse laser onto a dispersive assembly (200), and the dispersive assembly (200) spatially separates and disperses different single-color light components included in the first ultra-short pulse laser, into multiple second ultra-short pulse laser beams, which are then focused by an object lens (330), and recombined together on a focal plane of the object lens (330), thereby achieving time-domain focusing. The object lens (330) cooperates with the dispersive assembly (200), such that each second ultra-short pulse laser beam irradiates a sample as parallel light, thereby forming a wide field of lighting, increasing a region for exciting the sample (20) to generate a non-linear optical signal, and accelerating non-linear light microscopy (NLM) imaging of the sample (20). The invention uses fast optical biopsy imaging for tissues and avoids complex processing and physical biopsies, thereby accelerating pathological examinations.

PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 一种用于病理检查的光学成像系统(10), 涉及医疗设备技术领域, 通过由脉冲激光输出装置(100)产生第一超短脉冲激光, 并将第一超短脉冲激光照射在色散组件(200), 由色散组件(200)将第一超短脉冲激光包含的不同单色光组分在空间上分离开, 色散为多束第二超短脉冲激光, 进而由物镜(330)聚焦, 在物镜(330)的焦平面重新组合在一起, 形成时域聚焦, 同时由物镜(330)与色散组件(200)相配合, 使每束第二超短脉冲激光都以平行光的形式照射样本(20), 形成宽场照明, 增大激发样本(20)产生非线性光学信号的区域, 能够提升对样本(20)进行非线性光学显微成像NLM的速度, 利用快速的光学切片成像避免对组织进行复杂的处理及物理切片, 以提升病理检查的速度。

一种用于病理检查的光学成像系统

技术领域

本申请涉及医疗设备技术领域，具体而言，涉及一种用于病理检查的光学成像系统。

背景技术

肿瘤切除边界的术中评估对于优化手术方案、实施根治性切除以及避免再次手术意义重大，决定着肿瘤的预后和复发几率。组织病理学检查是用于评估肿瘤切除边界的金标准。然而，该技术涉及复杂的样品处理步骤，包括固定、脱水、包埋、切片、染色等，通常耗时 3-5 天，因而无法用于术中。

在实际的术中，取而代之的是快速冰冻切片技术，该技术基于对手术切除组织的快速冰冻实现切片处理，避免了固定、包埋等耗时操作，一般只需 15-30 分钟即可完成。然而，相对于常规组织病理学检查，快速冰冻切片技术的灵敏度、特异性，以及检测范围都非常有限，对于手术边界的评估能力欠佳。此外，一些组成特殊的组织，如以脂肪为主要成分的乳腺组织，是不易冻结的，这进一步限制了快速冰冻切片技术的应用范围。

发明内容

本申请的目的在于提供一种用于病理检查的光学成像系统，能够提升对样本进行 NLM (Nonlinear Optical Microscopy, 非线性光学显微成像) 的速度，利用快速的光学切片成像避免对组织进行复杂的处理及物理切片，以提升病理检查的速度。

为了实现上述目的，本申请实施例采用的技术方案如下：

本申请实施例提供一种用于病理检查的光学成像系统，包括脉冲激光输出装置、色散组件及 NLM 信号激发与探测装置；

所述脉冲激光输出装置产生第一超短脉冲激光,并将所述第一超短脉冲激光照射至所述色散组件;

所述色散组件将所述第一超短脉冲激光包含的不同单色光组分在空间上分离开,色散为多束第二超短脉冲激光;

所述NLM信号激发与探测装置利用所述多束第二超短脉冲激光照射样本,以激发所述样本产生NLM信号,并根据所述NLM信号重建出所述样本的NLM图像。

进一步地,所述色散组件为衍射光栅;

所述衍射光栅通过衍射将所述第一超短脉冲激光色散为所述多束第二超短脉冲激光。

进一步地,所述脉冲激光输出装置包括超短脉冲激光器和功率调节器;

所述超短脉冲激光器产生所述第一超短脉冲激光;

所述功率调节器将所述第一超短脉冲激光的功率衰减后,照射至所述色散组件。

进一步地,所述脉冲激光输出装置还包括反射件;

所述反射件将所述功率衰减的第一超短脉冲激光反射至所述色散组件。

进一步地,所述脉冲激光输出装置还包括扩束件;

所述扩束件将所述功率衰减的第一超短脉冲激光扩束后,照射至所述色散组件。

进一步地,所述NLM信号激发与探测装置包括管镜、二向色镜、物镜、成像透镜、第一感光元件及计算机控制处理单元;

所述多束第二超短脉冲激光透过所述管镜及所述二向色镜后,由所述物镜聚焦照射所述样本,以激发所述样本产生所述NLM信号;

所述 NLM 信号透过所述物镜后, 由所述二向色镜反射并透过所述成像透镜后被所述第一感光元件采集并转化为第一电信号;

所述计算机控制处理单元与所述第一感光元件电连接, 且接收所述第一感光元件输出的由所述 NLM 信号转化而来的第一电信号, 并基于所述第一电信号重建出所述样本的所述 NLM 图像。

进一步地, 所述 NLM 信号激发与探测装置还包括轴向驱动设备;

所述轴向驱动设备驱动所述物镜靠近或远离所述样本。

进一步地, 所述 NLM 信号激发与探测装置还包括平移载物台;

所述平移载物台承载所述样本, 并选择性地带动所述样本与所述物镜水平错动。

进一步地, 所述第一感光元件为彩色 CCD。

进一步地, 所述 NLM 信号激发与探测装置还包括第一反射镜、白光光源及第二感光元件;

在所述脉冲激光输出装置不工作时, 所述白光光源启动工作, 产生白光, 以照亮所述样本;

所述样本反射所述白光, 所述经样本反射的白光透过所述物镜, 并经所述第一反射镜反射后被所述第二感光元件采集并转化为第二电信号;

所述计算机控制处理单元接收所述第二感光元件输出的所述第二电信号, 并基于所述第二电信号, 重建出所述样本的白光图像;

在所述脉冲激光输出装置启动工作时, 所述第一反射镜不位于所述第一超短脉冲激光或所述多束第二超短脉冲激光所在的光路, 且所述白光光源不工作。

相对于现有技术, 本申请实施例提供一种用于病理检查的光学成像系统, 由脉冲激光输出装置产生第一超短脉冲激光, 并将第一超短脉冲激光照射在色

散组件，由色散组件将第一超短脉冲激光的不同单色光组分在空间上分离开，色散为多束第二超短脉冲激光，进而由 NLM 信号激发与探测装置对多束第二超短脉冲激光进行会聚后照射样本，并通过与色散组件相配合，形成时域聚焦宽场照明，增大激发样本产生 NLM 信号的区域，能够提升对样本进行 NLM 成像的速度，利用快速的光学切片成像避免对组织进行复杂的处理及物理切片，以提升病理检查的速度。

附图说明

图 1 示出了本申请实施例所提供的光学成像系统的一种示意性结构图；

图 2 示出了本申请实施例提供的光学成像系统的另一种示意性结构图。

图中：10-光学成像系统；20-样本；100-脉冲激光输出装置；110-超短脉冲激光器；120-功率调节器；130-反射件；131-第二反射镜；132-第三反射镜；140-扩束件；141-第一扩束镜；142-第二扩束镜；200-色散组件；300-NLM 信号激发与探测装置；310-管镜；320-二向色镜；330-物镜；340-成像透镜；350-第一感光元件；360-计算机控制处理单元；370-轴向驱动设备；380-平移载物台；390-白光光源；391-第一反射镜；392-第二感光元件。

具体实施方式

为了使本申请的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实施例，对本申请进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅用以解释本申请，并不用于限定本申请。

下面结合附图及具体实施例对本发明作进一步的说明。

光学切片层析显微成像技术能够避免对组织进行物理切片，简化样品处理步骤，在肿瘤切除边界的术中评估方面具有较大的应用潜力。其中，OCT

(Optical Coherence Tomography, 光学相干断层成像)、SRS (Stimulated Raman Scattering, 受激拉曼散射显微成像) 等依赖内源性对比度成像的技术所显示的结构与常规病理检查结果存在一定的差距, 无法直接由病理医生解读, 因而难以被广泛接受。依赖外源性对比度成像的技术中, SIM (Structure Illumination Microscopy, 结构光照明显微成像)、LSM (Light-Sheet Microscopy, 光片照明显微成像) 及 MUSE (Microscopy with Ultraviolet Surface Excitation, 紫外表面激发显微成像) 虽然成像速度快, 但只能获得组织的浅表信息, CFM (Confocal Fluorescence Microscopy, 共聚焦荧光显微成像) 采用点扫描成像模式, 成像速度慢, 并且穿透深度有限, 存在光漂白、光毒性等问题。

NLM 技术具有超强的组织穿透能力、固有的层析能力、低的光漂白和光毒性等显著优势, 但因同样采用点扫描成像模式, 也具有成像速度慢的缺陷。

请参阅图 1, 图 1 示出了本申请实施例所提供的光学成像系统 10 的一种示意性结构图, 该光学成像系统 10 可以用于病理检查, 以提升病理检查的速度。该光学成像系统 10 包括脉冲激光输出装置 100、色散组件 200 及 NLM 信号激发与探测装置 300。

其中, 该光学成像系统 10 在工作时, 脉冲激光输出装置 100 产生第一超短脉冲激光, 并将第一超短脉冲激光照射在色散组件 200, 由色散组件 200 将第一超短脉冲激光包含的不同单色光组分在空间上分离开, 色散为多束第二超短脉冲激光, 进而由 NLM 信号激发与探测装置 300 在利用多束第二超短脉冲激光照射样本 20, 以激发样本 20 产生 NLM 信号, 并利用样本 20 所产生的 NLM 信号重建样本 20 的 NLM 图像时, 采用与色散组件 200 相配合, 将一束第一超短脉冲激光色散得到多束第二超短脉冲激光, 时域聚焦后照射样本 20 的一个区域进行宽场成像的模式, 替换由一束第一超短脉冲激光空间聚焦后照

射样本 20 的一个点进行点扫描成像的模式，提升对样本 20 进行 NLM 成像的速度。

可选地，作为一种可能的实现方式，色散组件 200 可以采用衍射光栅，第一超短脉冲激光照射在衍射光栅时，衍射光栅通过衍射将第一超短脉冲激光色散为多束第二超短脉冲激光。

值得说明的是，在本申请实施例其他的一些实施方式中，色散组件 200 还可以采用除衍射光栅之外的其他一些结构或设备，比如，还可以采用色散棱镜作为色散组件 200，只要用作色散组件 200 的结构或设备能够将第一超短脉冲激光色散为多束第二超短脉冲激光即可。

可选地，作为一种可能的实现方式，脉冲激光输出装置 100 包括超短脉冲激光器 110 和功率调节器 120。

超短脉冲激光器 110 产生第一超短脉冲激光，并由功率调节器 120 将第一超短脉冲激光的功率衰减后，照射至色散组件 200，使得入射色散组件 200 的第一超短脉冲激光的光功率符合激光安全应用标准，比如 ANSI (AMERICAN NATIONAL STANDARDS INSTITUTE, 美国国家标准学会) 标准，同时确保照射在样本 20 表面的光功率不会对样本 20 造成光损伤或光毒性。

其中，可选地，作为一种可能的实现方式，超短脉冲激光器 110 可以选用高重复频率的超短脉冲激光器，比如重复频率为 80MHz 的钛宝石飞秒激光器，也可以选用其他高重复频率的飞秒、皮秒激光器，或其他能够用于样本 20 双光子激发荧光成像和二次谐波成像的激光器。

另外，产生第一超短脉冲激光的超短脉冲激光器 110 可以是波长可调谐的，比如上述覆盖 680–1020 nm 波段、重复频率为 80MHz 的钛宝石飞秒激光器，也可以是单一波长的，比如针对特定的荧光染料组合，吡啶橙和磺酰罗丹明

101, 选择 780 nm 或者 1040 nm 等波长的超短脉冲激光器, 作为该光学成像系统 10 用于 NLM 成像的光源, 获取近似于 H&E (Hematoxylin-Eosin, 苏木精-伊红) 染色切片的组织学图像, 相比 NLM 成像通常使用的波长可调谐飞秒脉冲激光器, 能够降低成本。

可选地, 作为一种可能的实现方式, 该脉冲激光输出装置 100 还包括反射件 130, 该反射件 130 将经功率调节器 120 衰减的第一超短脉冲激光反射至色散组件 200, 进而使超短脉冲激光器 110 和功率调节器 120 的位置无需固定不变, 而是能够根据光学成像系统 10 的具体架构设计需求进行协调。

比如, 作为一种可能的实现方式, 请继续参阅图 1, 反射件 130 可由第二反射镜 131 和第三反射镜 132 构成, 由第二反射镜 131 和第三反射镜 132 将功率衰减的第一超短脉冲激光反射至色散组件 200。

值得说明的是, 图 1 中反射件 130 包括第二反射镜 131 和第三反射镜 132 仅为示意, 在本申请实施例其他的一些可能的实现方式中, 反射件 130 还可以包括更多或更少的反射镜, 比如采用一个反射镜实现, 或者采用三个、四个甚至更多的反射镜实现, 只要反射件 130 能够将第一超短脉冲激光反射至色散组件 200 即可。

可选地, 作为一种可能的实现方式, 该脉冲激光输出装置 100 还包含扩束件 140, 该扩束件 140 将功率衰减的第一超短脉冲激光扩束后, 照射至色散组件 200。进而使照射在色散组件 200 上的第一超短脉冲激光的光束足够大, 从而使色散组件 200 能够将第一超短脉冲激光充分色散得到多束第二超短脉冲激光。

比如, 作为一种可能的实现方式, 请继续参阅图 1, 扩束件 140 可由第一扩束镜 141 和第二扩束镜 142 构成, 由第一扩束镜 141 和第二扩束镜 142 相配

合，将第一超短脉冲激光扩束后照射至色散组件 200。

值得说明的是，图 1 中扩束件 140 包括第一扩束镜 141 和第二扩束镜 142 仅为示意，在本申请实施例其他的一些可能的实现方式中，扩束件 140 还可以包括更多的扩束镜，比如采用四个扩束镜实现，只要扩束件 140 能够将第一超短脉冲激光扩束后照射至色散组件 200 即可。

可选地，请继续参阅图 1，作为一种可能的实现方式，NLM 信号激发与探测装置 300 包括管镜 310、二向色镜 320、物镜 330、成像透镜 340、第一感光元件 350 及计算机控制处理单元 360。

其中，二向色镜 320 能够使第二超短脉冲激光透过，而使 NLM 信号被反射。

由此，经过色散组件 200 色散得到的多束第二超短脉冲激光，透过管镜 310 后，多束第二超短脉冲激光之间的关系被调整为相互平行，再透过二向色镜 320 和物镜 330 后，每束第二超短脉冲激光被调整为平行光，且在物镜 330 的焦平面重新组合在一起，会聚照射至样本 20，形成时域聚焦宽场照明，以激发样本 20 产生 NLM 信号，比如双光子激发荧光信号、二次谐波信号等；并且，激发样本 20 所产生的 NLM 信号又透过物镜 330，照射在二向色镜 320 上，被二向色镜 320 反射并透过成像透镜 340 后被第一感光元件 350 采集并转化为第一电信号，由此，与第一感光元件 350 电连接的计算机控制处理单元 360 接收第一感光元件 350 输出的由 NLM 信号转化而来的第一电信号，并基于第一电信号重建出样本 20 的 NLM 图像。其中，由于多束第二超短脉冲激光时域聚焦后，单束第二超短脉冲激光以平行光形式照射样本 20 的一个区域进行宽场成像，相比于单束第一超短脉冲激光空间聚焦后仅照射样本 20 的一个点进行点扫描成像，提升了对样本 20 进行 NLM 成像的速度，从而使病理

检查在成像环节节约了时间，并利用 NLM 这种光学切片技术避免了在病理检查时进行物理切片，进而避免了复杂的物理切片前样品处理，提升了病理检查的速度。

其中，作为一种可能的实现方式，第一感光元件 350 可以采用彩色 CCD (Charge-Coupled Device, 电荷耦合元件)。由于通常需要采用多种染料对样本 20 的不同结构组分进行染色标记才能获得与临床病理检查接近的组织学图像，第一感光元件 350 所获得的 NLM 信号中通常包含有多种荧光信号，如果采用彩色 CCD，第一感光元件 350 就能够直接获取样本 20 的真彩图像，病理医生可以通过色彩差异区分不同种类的荧光信号，从而避免在成像系统的探测光路使用分光、滤光器件和多个探测器，简化了系统结构。

作为一种可能的实现方式，在本申请实施例中，物镜 330 的焦平面与色散组件 200 共轭，即色散组件 200 放置于管镜 310 的焦平面处，而管镜 310 与物镜 330 的距离等于管镜 310 的焦距加上物镜 330 的焦距，以使每束第二超短脉冲激光都以平行光的形式照射样本 20，形成宽场照明，进而实现宽场 NLM 成像，提升对样本 20 进行 NLM 成像的速度。

作为一种可能的实现方式，物镜 330 可以包括有多个可自由切换且放大倍率不同的物镜单元，用于实现多种尺度（即多种分辨率和多种视场大小）的病理成像。

可选地，请继续参阅图 1，作为一种可能的实现方式，NLM 信号激发与探测装置 300 还包括有轴向驱动设备 370，该轴向驱动设备 370 驱动物镜 330 靠近或远离样本 20，以调整多束第二超短脉冲激光会聚在样本 20 的不同深度，使得在对样本 20 进行成像时，能够获取样本 20 不同深度的信息，实现三维成像。

比如，作为一种可能的实现方式，轴向驱动设备 370 可以采用步进电机实现，并且，可在计算机控制处理单元 360 中配置相应的控制程序，以控制步进电机工作，进而带动物镜 330 靠近或远离样本 20。

可选地，请继续参阅图 1，作为一种可能的实现方式，NLM 信号激发与探测装置 300 还包括有平移载物台 380，该平移载物台 380 承载样本 20，并选择性地带动样本 20 与物镜 330 水平错动。

比如，作为一种可能的实现方式，平移载物台 380 可以采用电动载物台实现，并且，可在计算机控制处理单元 360 中配置相应的控制程序，以控制电动载物台工作，进而在需要时，可以控制电动载物台移动，进而带动样本 20 与物镜 330 水平错动，使得对样本 20 进行 NLM 成像时，能够获取样本 20 不同区域的信息，实现大面积成像。

可选地，请参阅图 2，图 2 示出了本申请实施例提供的光学成像系统 10 的另一种示意性结构图，作为一种可能的实现方式，该 NLM 信号激发与探测装置 300 还包括白光光源 390、第一反射镜 391 及第二感光元件 392。

其中，在脉冲激光输出装置 100 不工作时，样本 20 不会受激光激发产生 NLM 信号，此时，白光光源 390 启动工作，产生白光，样本 20 受白光照射反射白光信号，该经样本 20 反射的白光信号透过物镜 330，经过第一反射镜 391 反射后被第二感光元件 392 采集并转化为第二电信号，由此，与第二感光元件 392 电连接的计算机控制处理单元 360 接收第二感光元件 392 输出的由反射光信号转化而来的第二电信号，并基于该第二电信号，重建出样本 20 的白光图像，便于病理医生观察样本 20，此时，可以理解为光学成像系统 10 处于白光成像模式。

值得说明的是，在本申请实施例其他一些可能的应用场景中，还可以采用

目镜替换第二感光元件 392，即直接用目镜配合第一反射镜 391 及物镜 330 观察样本 20，无需由第二感光元件 392 结合计算机控制处理单元 360 实时采集白光图像用于观察。

并且，在本申请实施例中，脉冲激光输出装置 100 在工作时，第一反射镜 391 不位于第一超短脉冲激光或多束第二超短脉冲激光所在的光路，避免第一反射镜 391 阻断 NLM 成像，且白光光源 390 不工作，此时，可以理解为光学成像系统 10 处于 NLM 成像模式。

其中，上述白光成像模式可以用于在 NLM 成像前对样本 20 进行快速定位，包括感兴趣区域的选择和调焦。在白光成像模式下，通过目镜观察或实时采集样本图像的方式，医生可在 NLM 成像前对样本 20 进行观察，控制轴向驱动设备 370 驱动物镜 330 靠近或远离样本 20，进而使样本 20 处于物镜 330 的焦平面处；或者是控制平移载物台 380 将样本 20 中的感兴趣区域移至视场中央。并且，第一反射镜 391 还可以固定于一机械装置，比如拉杆、一维平移台等，或者是其他用于控制第一反射镜 391 移动的机械装置，当该光学成像系统 10 处于白光成像模式时，第一反射镜 391 被推入光路中，与物镜 330 及第二感光元件 392 等相配合，以供医生对样本 20 进行观察；而当该光学成像系统 10 处于 NLM 成像模式时，则移动第一反射镜 391 退出第一超短脉冲激光或第二超短脉冲激光所在的光路，以实现白光成像模式与 NLM 成像模式间的切换。

下面结合操作应用实例，对本申请实施例提供的光学成像系统 10 进行示例性说明。

首先对手术切除得到的组织进行近似于 H&E 染色的荧光标记，例如采用吖啶橙和磺酰罗丹明 101 对组织进行约 2 分钟的染色，然后采用缓冲液漂洗约

20 秒；随后，将经过漂洗的组织放置于平移载物台 380 上的样品盒内，盖上盖玻片，准备成像；接下来，先在低倍物镜下，例如 5 倍物镜下，采用白光成像模式调整组织样本的横向和纵向位置，确定成像区域后，将该光学成像系统 10 切换至 NLM 成像模式，在 NLM 成像模式下，采用荧光标记物相对应的激发波长，例如这里针对吖啶橙和磺酰罗丹明 101 可以选择 780 nm 的激发波长，对组织样本进行快速成像，获取组织样本的结构信息；根据成像结果，进一步确定需要观察精细结构的区域；然后将物镜切换至高倍镜下，例如 10 倍物镜下，对该区域进行高分辨 NLM 成像，病理医生可综合成像结果对肿瘤切除边界进行评估、作出诊断。其中，可以根据实际需求灵活调整成像方案，也可以对组织进行三维成像或大体积成像获得组织的三维结构信息，用以辅助诊断。从处理组织样品到成像观察，仅需几分钟到十几分钟就能完成，大幅度提升了病理检查的速度。成像结束后，可立刻将组织样品放入福尔马林进行固定，用于后续常规病理检查。

以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

权 利 要 求

1. 一种用于病理检查的光学成像系统，其特征在于，包括脉冲激光输出装置、色散组件及非线性光学显微成像 NLM 信号激发与探测装置；

所述脉冲激光输出装置产生第一超短脉冲激光，并将所述第一超短脉冲激光照射至所述色散组件；

所述色散组件将所述第一超短脉冲激光包含的不同单色光组分在空间上分离，色散为多束第二超短脉冲激光；

所述 NLM 信号激发与探测装置利用所述多束第二超短脉冲激光照射样本，以激发所述样本产生 NLM 信号，并根据所述 NLM 信号重建出所述样本的 NLM 图像。

2. 如权利要求 1 所述的光学成像系统，其特征在于，所述色散组件为衍射光栅；

所述衍射光栅通过衍射将所述第一超短脉冲激光色散为所述多束第二超短脉冲激光。

3. 如权利要求 1 所述的光学成像系统，其特征在于，所述脉冲激光输出装置包括超短脉冲激光器和功率调节器；

所述超短脉冲激光器产生所述第一超短脉冲激光；

所述功率调节器将所述第一超短脉冲激光的功率衰减后，照射至所述色散组件。

4. 如权利要求 3 所述的光学成像系统，其特征在于，所述脉冲激光输出装置还包括反射件；

所述反射件将所述功率衰减的第一超短脉冲激光反射至所述色散组件。

5. 如权利要求 3 所述的光学成像系统，其特征在于，所述脉冲激光输出装置还包括扩束件；

所述扩束件将所述功率衰减的第一超短脉冲激光扩束后，照射至所述色散组件。

6. 如权利要求 1-5 中任一项所述的光学成像系统，其特征在于，所述 NLM 信号激发与探测装置包括管镜、二向色镜、物镜、成像透镜、第一感光元件及计算机控制处理单元；

所述多束第二超短脉冲激光透过所述管镜及所述二向色镜后，由所述物镜聚焦照射所述样本，以激发所述样本产生所述 NLM 信号；

所述 NLM 信号透过所述物镜后，由所述二向色镜反射并透过所述成像透镜后被所述第一感光元件采集并转化为第一电信号；

所述计算机控制处理单元与所述第一感光元件电连接，且接收所述第一感光元件输出的由所述 NLM 信号转化而来的第一电信号，并基于所述第一电信号重建出所述样本的所述 NLM 图像。

7. 如权利要求 6 所述的光学成像系统，其特征在于，所述 NLM 信号激发与探测装置还包括轴向驱动设备；

所述轴向驱动设备驱动所述物镜靠近或远离所述样本。

8. 如权利要求 6 所述的光学成像系统，其特征在于，所述 NLM 信号激发与探测装置还包括平移载物台；

所述平移载物台承载所述样本，并选择性地带动所述样本与所述物镜水平错动。

9. 如权利要求 6 所述的光学成像系统，其特征在于，所述第一感光元件为彩色 CCD。

10. 如权利要求6所述的光学成像系统，其特征在于，所述NLM信号激发与探测装置还包括第一反射镜、白光光源及第二感光元件；

在所述脉冲激光输出装置不工作时，所述白光光源启动工作，产生白光，以照亮所述样本；

所述样本反射所述白光，所述经样本反射的白光透过所述物镜，并经所述第一反射镜反射后被所述第二感光元件采集并转化为第二电信号；

所述计算机控制处理单元接收所述第二感光元件输出的所述第二电信号，并基于所述第二电信号，重建出所述样本的白光图像；

在所述脉冲激光输出装置启动工作时，所述第一反射镜不位于所述第一超短脉冲激光或所述多束第二超短脉冲激光所在的光路，且所述白光光源不工作。

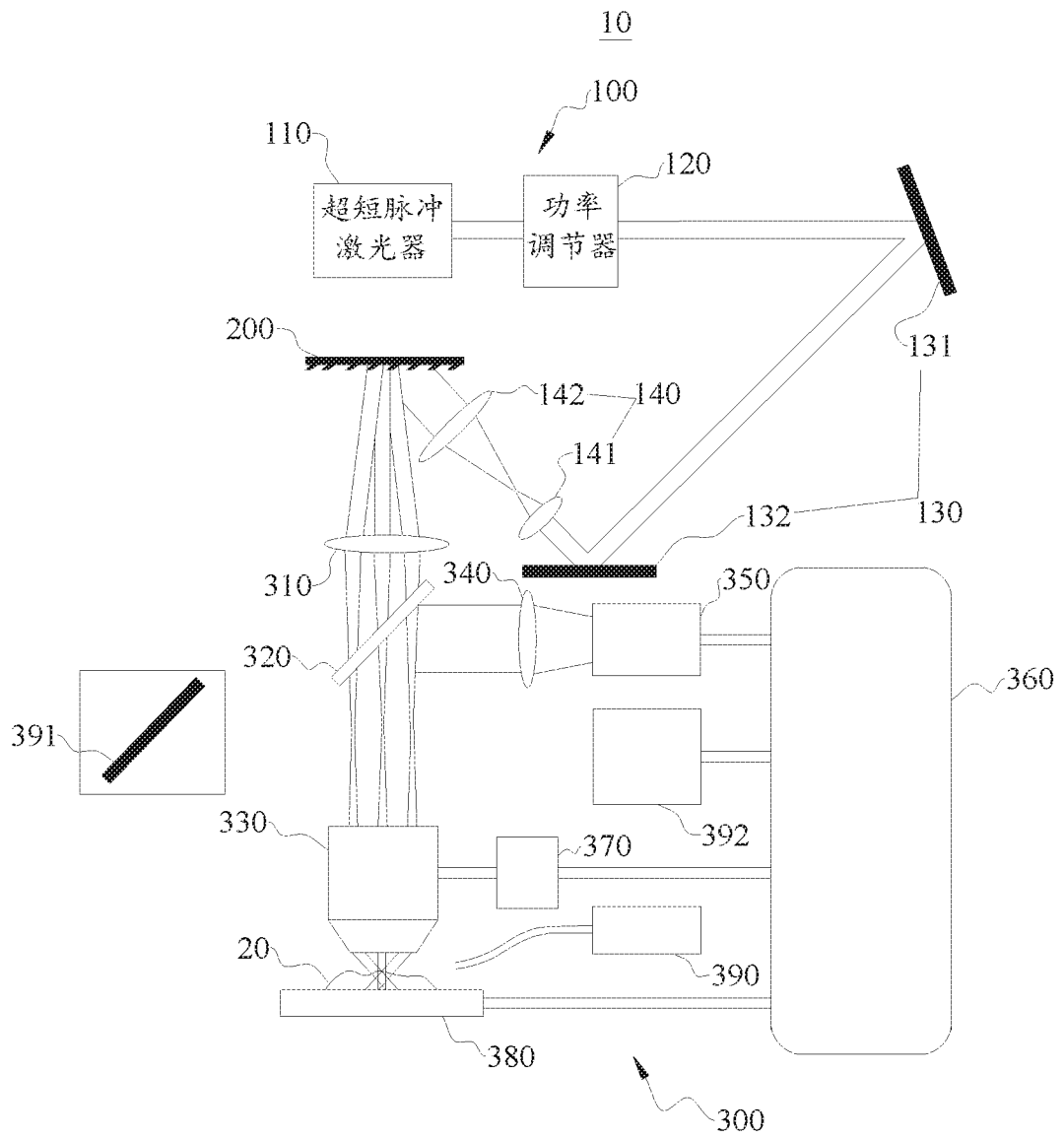


图 1

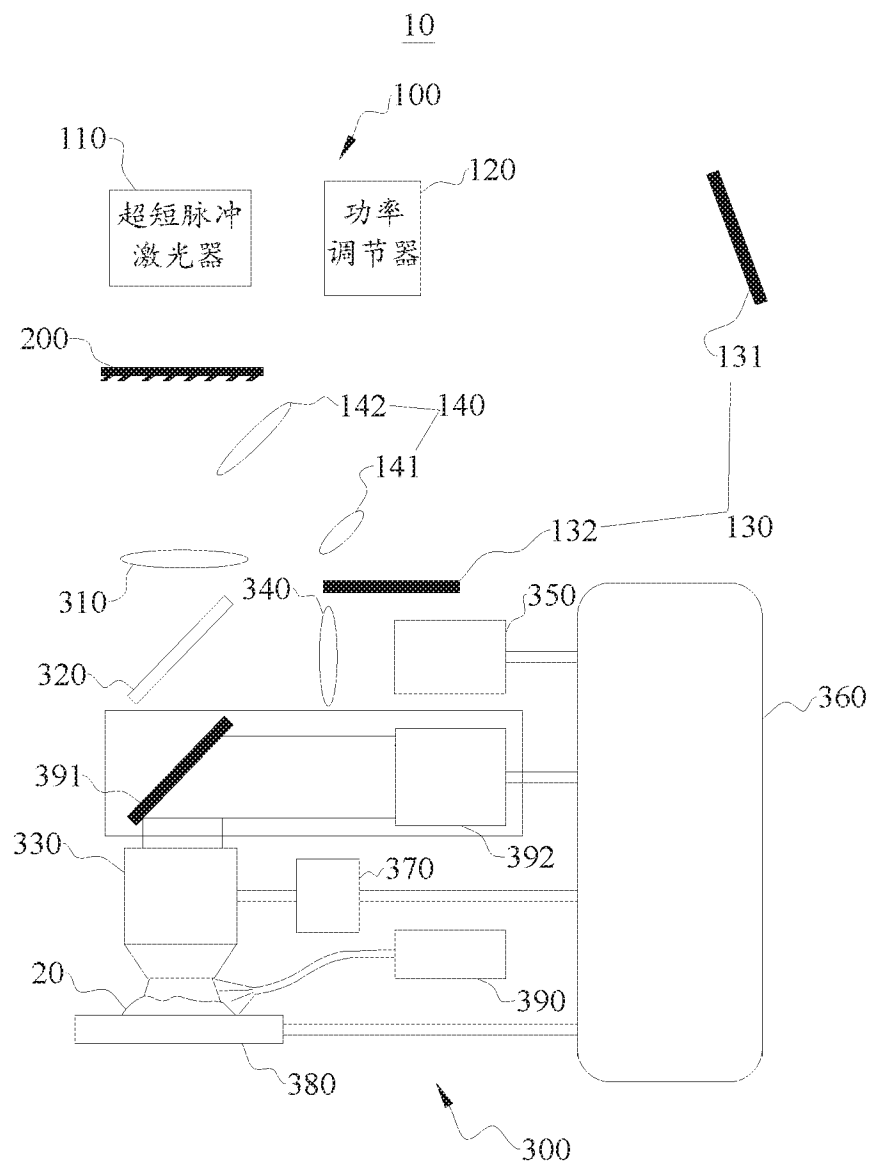


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/130607

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 21/84(2006.01)i; G01N 21/01(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNKI, CNPAT, WPI, EPODOC: 中国科学院深圳先进技术研究院, 李慧, 余佳, 夏先园, 陈廷爱, 郑炜, 非线性, 双光子, 谐波, 分光, 色散, 分束, 宽场, 散斑, non?linear, harmonic?, two?photo, spectroscopy, grating, prism

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 110057822 A (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 26 July 2019 (2019-07-26) claims 1-10	1-10
Y	CN 207163913 U (HANGZHOU CHOUTU TECHNOLOGY CO., LTD.) 30 March 2018 (2018-03-30) description, paragraphs [0006]-[0023], and figure 1	1-10
Y	CN 108303421 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 20 July 2018 (2018-07-20) description, paragraphs [0002], [0003], [0007]-[0017] and [0041]	1-10
A	WO 2012092295 A2 (THE UNIVERSITY OF UTAH RESEARCH FOUNDATION) 05 July 2012 (2012-07-05) entire document	1-10
A	CN 109187459 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 11 January 2019 (2019-01-11) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 March 2020

Date of mailing of the international search report

27 March 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/130607

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	110057822	A	26 July 2019	None	
CN	207163913	U	30 March 2018	None	
CN	108303421	A	20 July 2018	None	
WO	2012092295	A2	05 July 2012	None	
CN	109187459	A	11 January 2019	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/130607

A. 主题的分类 G01N 21/84(2006.01)i; G01N 21/01(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																				
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) G01N 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNKI, CNPAT, WPI, EP0D0C: 中国科学院深圳先进技术研究院, 李慧, 余佳, 夏先园, 陈廷爱, 郑炜, 非线性, 双光子, 谐波, 分光, 色散, 分束, 宽场, 散斑, non?linear, harmonic?, two?photo, spectroscopy, grating, prism																				
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 110057822 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2019年 7月 26日 (2019 - 07 - 26) 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 207163913 U (杭州筹图科技有限公司) 2018年 3月 30日 (2018 - 03 - 30) 说明书第[0006]-[0023]段、图1</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 108303421 A (清华大学) 2018年 7月 20日 (2018 - 07 - 20) 说明书第[0002]- [0003], [0007]-[0017], [0041]段</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2012092295 A2 (THE UNIVERSITY OF UTAH RESEARCH FOUNDATION) 2012年 7月 5日 (2012 - 07 - 05) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109187459 A (清华大学) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 110057822 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2019年 7月 26日 (2019 - 07 - 26) 权利要求1-10	1-10	Y	CN 207163913 U (杭州筹图科技有限公司) 2018年 3月 30日 (2018 - 03 - 30) 说明书第[0006]-[0023]段、图1	1-10	Y	CN 108303421 A (清华大学) 2018年 7月 20日 (2018 - 07 - 20) 说明书第[0002]- [0003], [0007]-[0017], [0041]段	1-10	A	WO 2012092295 A2 (THE UNIVERSITY OF UTAH RESEARCH FOUNDATION) 2012年 7月 5日 (2012 - 07 - 05) 全文	1-10	A	CN 109187459 A (清华大学) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-10
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 110057822 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2019年 7月 26日 (2019 - 07 - 26) 权利要求1-10	1-10																		
Y	CN 207163913 U (杭州筹图科技有限公司) 2018年 3月 30日 (2018 - 03 - 30) 说明书第[0006]-[0023]段、图1	1-10																		
Y	CN 108303421 A (清华大学) 2018年 7月 20日 (2018 - 07 - 20) 说明书第[0002]- [0003], [0007]-[0017], [0041]段	1-10																		
A	WO 2012092295 A2 (THE UNIVERSITY OF UTAH RESEARCH FOUNDATION) 2012年 7月 5日 (2012 - 07 - 05) 全文	1-10																		
A	CN 109187459 A (清华大学) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-10																		
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																				
<table border="0"> <tr> <td> * 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 </td> <td> “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件 </td> </tr> </table>			* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																			
国际检索实际完成的日期 2020年 3月 11日		国际检索报告邮寄日期 2020年 3月 27日																		
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 姜佩杰 电话号码 86-(10)-53962499																		

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/130607

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	110057822	A	2019年 7月 26日	无	
CN	207163913	U	2018年 3月 30日	无	
CN	108303421	A	2018年 7月 20日	无	
WO	2012092295	A2	2012年 7月 5日	无	
CN	109187459	A	2019年 1月 11日	无	