



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112004459 A

(43) 申请公布日 2020.11.27

(21) 申请号 201980023383.5

(22) 申请日 2019.02.01

(30) 优先权数据

62/625,967 2018.02.02 US

62/625,983 2018.02.03 US

62/793,843 2019.01.17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.09.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2019/000015 2019.02.01

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/148268 EN 2019.08.08

(71) 申请人 大学健康网络

地址 加拿大安大略省

(72) 发明人 拉尔夫·达科斯塔

克里斯托弗·吉布森

凯瑟琳·奥托利诺-佩吕

纳亚纳·塔兰基·阿南塔

苏珊·简·多恩 韦-良·莱昂

亚历山德拉·M·伊森

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司

责任公司 11240

代理人 曲在丹

(51) Int.Cl.

A61B 5/00 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

G06T 7/90 (2006.01)

G16H 50/20 (2006.01)

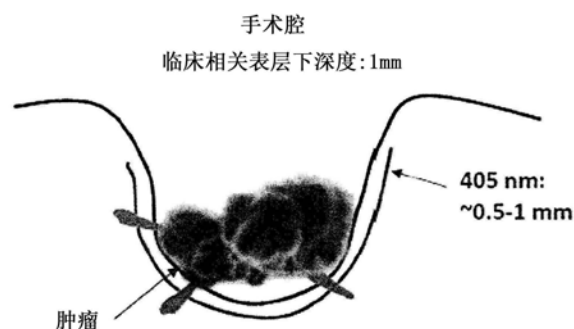
权利要求书21页 说明书29页 附图33页

(54) 发明名称

用于肿瘤可视化和切除的装置、系统和方法

(57) 摘要

公开了一种评估手术切缘的方法。该方法包括,在施用被配置为在癌变组织细胞中诱导约600nm至约660nm的发射的化合物之后,将手持式基于白光和荧光的成像装置的远端定位在手术切缘附近。该方法还包括利用手持式装置基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中诱导的波长的荧光发射。并且,基于在手术切缘的组织细胞中检测到的诱导的波长的存在或荧光发射量,确定手术切缘是否基本不含癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。该化合物可以是非活化、非靶向的化合物,例如ALA。



1. 一种评估手术切缘的方法,包括:

在施用被配置为在癌变组织细胞中诱导卟啉的化合物之后,将手持式基于白光和荧光的成像装置的远端定位在手术切缘附近;

利用该手持式装置基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射;和

基于在所述手术切缘的组织细胞中检测到的诱导的卟啉的存在或荧光发射量,确定所述手术切缘是否基本不含癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述化合物是非活化的、非靶向的造影剂、单模造影剂或多模造影剂。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的方法,其中所述化合物是5-氨基乙酰丙酸。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中定位所述手持式装置的所述远端包括将所述手持式装置的所述远端定位成邻近所述手术切缘而不接触所述手术切缘。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,进一步包括在基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射之前,使所述手术切缘周围的环境变暗。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中使所述环境变暗包括减少环境光、消除人工光和/或阻挡或以其他方式防止环境光和人工光到达所述手术切缘周围的预定区域。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中阻挡或以其他方式防止环境光和人工光到达所述手术切缘周围的预定区域包括将结构定位在所述手术切缘周围。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述结构包括盖布、遮蔽物或配置为阻挡所述光通过的其他结构。

9. 根据权利要求7或权利要求8所述的方法,其中定位所述结构包括将所述结构定位在所述手持式装置的一部分上。

10. 根据权利要求7或权利要求8所述的方法,其中定位所述结构包括将所述结构定位成至少部分地围绕或包围所述手持式装置和所述手术切缘,而不接触所述装置和/或所述手术切缘。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,进一步包括显示检测到的所述组织细胞中的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的图像或视频。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中检测和/或显示实时发生。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,进一步包括用白光照射所述手术切缘的组织细胞,并捕获所述手术切缘的白光图像或视频。

14. 根据权利要求13所述的方法,进一步包括在所述白光图像或视频上显示重叠所述组织细胞的检测到的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的至少一部分以基于所述白光图像和所述组织细胞的检测到的自体荧光发射以及所述手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射实时地形成所述手术切缘的合成图像。

15. 根据权利要求13所述的方法,进一步包括显示包括所述白光图像的第一图像或视频,以及显示包括所述组织细胞的检测到的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的

所述诱导的卟啉的荧光发射的第二图像或视频,其中所述第一图像或视频和所述第二图像或视频以并排方式显示。

16.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括从所述手持式基于白光和荧光的成像装置将有关白光图像或视频、所述组织细胞的检测到的自体荧光发射以及所述手术切缘的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的数据传输到显示装置。

17.根据权利要求16所述的方法,其中传输所述数据包括将所述数据从所述手持式基于白光和荧光的成像装置传输到无线实时数据存储和预处理装置,并且随后将所述数据从集线器传输到所述显示装置。

18.根据权利要求17所述的方法,进一步包括在将所述数据传输到所述显示装置之前,对所述实时数据存储和预处理装置中的数据预处理。

19.根据权利要求18所述的方法,其中预处理所述数据包括解压缩所述数据、从所述数据去除噪声、增强所述数据和/或平滑所述数据。

20.根据权利要求16-19中任一项所述的方法,其中所述数据是视频数据或图像数据。

21.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述基本上同时激发和检测的步骤在施用所述化合物后约15分钟至约6小时进行。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述基本上同时激发和检测的步骤在施用所述化合物后约2小时至4小时进行。

23.根据权利要求21所述的方法,其中所述基本上同时激发和检测的步骤在施用所述化合物后约2.5小时至3.5小时进行。

24.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中经口服、静脉内、通过气雾剂、通过灌注、通过浸泡、通过滴注和/或局部施用所述化合物。

25.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中以大于0mg/kg且小于60mg/kg的剂量施用所述化合物。

26.根据权利要求25所述的方法,其中以约15mg/kg至约45mg/kg的剂量施用所述化合物。

27.根据权利要求25所述的方法,其中以约20mg/kg至约30mg/kg的剂量施用所述化合物。

28.根据权利要求25所述的方法,其中以约30mg/kg至约55mg/kg的剂量施用所述化合物。

29.根据权利要求25所述的方法,其中以约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg或约55mg/kg的剂量施用所述化合物。

30.根据权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述化合物以大于60mg/kg的剂量施用。

31.根据权利要求1-30中任一项所述的方法,其中在手术之前、手术期间和/或手术之后施用所述化合物。

32.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括基于在所述手术切缘的组织细胞中检测到的所述诱导的卟啉的荧光发射量,鉴定所述手术切缘的一部分以用于额外的动作。

33. 根据权利要求32所述的方法, 其中所述额外的动作包括切除所述手术切缘中的鉴定的细胞。

34. 根据权利要求33所述的方法, 其中通过手术切除、施加光、热消融、烧灼、抽吸、靶向电离辐射和/或施加或去除热量来实现切除。

35. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中激发组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射包括将来自至少一个激发光源的光引导到包含所述手术切缘的手术腔中, 引导到切除的肿瘤或组织的外表面上, 或引导到所述切除的肿瘤或组织的一个或多个部分上。

36. 根据权利要求35所述的方法, 其中所述至少一个激发光源发射具有约375nm至约430nm的波长和/或约550nm至600nm的波长的光。

37. 根据权利要求36所述的方法, 其中所述至少一个激发光源发射具有约405nm的波长的光。

38. 根据权利要求36所述的方法, 其中所述至少一个激发光源发射具有约572nm的波长的光。

39. 根据权利要求36所述的方法, 其中所述至少一个激发光源包括: 第一激发光源, 其发射具有约375nm至约430nm或约405nm的波长的第一激发光; 和第二激发光源, 其发射具有约550nm至约600nm或约572nm的波长的第二激发光。

40. 根据权利要求39所述的方法, 其中同时或顺序地操作所述第一激发光源和所述第二激发光源。

41. 根据权利要求39或权利要求40所述的方法, 其进一步包括激发和检测被所述手术切缘的组织细胞吸收、靶向并包含在其中的近红外染料和/或红外染料的荧光。

42. 根据权利要求41所述的方法, 其中所述近红外染料和/或所述红外染料配置为被癌变组织细胞和/或血管吸收。

43. 根据权利要求39所述的方法, 其进一步包含第三激发光源, 所述第三激发光源发射具有约700nm至约850nm、约760nm至约800nm或约760nm的第三激发光。

44. 根据权利要求35-43中任一项所述的方法, 其中将来自至少一个激发光源的光引导到手术腔中包括将所述手持式基于白光和荧光的成像装置的远端插入所述手术腔中。

45. 根据权利要求35-44中任一项所述的方法, 其进一步包括定位配置为屏蔽所述手术腔和所述手持式基于白光和荧光的成像装置的远端免受环境和人工光的装置。

46. 根据权利要求45所述的方法, 其中在将所述手持式基于白光和荧光的成像装置的远端插入到所述手术腔中之后进行定位所述防护装置。

47. 根据权利要求44所述的方法, 其进一步包括沿多个方向将来自所述至少一个光源的激发光发射到所述手术腔中。

48. 根据权利要求44或权利要求45所述的方法, 其中所述手持式基于白光和荧光的成像装置的远端包括至少一个激发光源, 所述激发光源定位成沿多个方向将光引导到所述手术腔中。

49. 根据权利要求44所述的方法, 进一步包括致动围绕在所述手持式基于白光和荧光的成像装置的远端的周边定位的第一激发光源以照亮所述手术腔。

50. 根据权利要求49所述的方法, 进一步包括致动围绕在所述手持式基于白光和荧光

的成像装置的远端的周边定位的第二激发光源以照射所述手术腔。

51. 根据权利要求50所述的方法, 进一步包括致动围绕在所述手持式基于白光和荧光的成像装置的远端的周边定位的第三激发光源以照射所述手术腔。

52. 根据权利要求51所述的方法, 其中第一激发光源、第二激发光源和第三激发光源中的每一个基本上被同时致动。

53. 根据权利要求51所述的方法, 其中第一激发光源、第二激发光源和第三激发光源被顺序地致动或以重复的方式被顺序地致动。

54. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 进一步包括过滤来自所述手术切缘的发射, 所述发射响应于通过至少一个激发光源的照明, 所述至少一个激发光源被引导到包含所述手术切缘的手术腔中, 引导到切除的肿瘤或组织的外表面上, 或所述切除的肿瘤或组织的一个或多个部分上。

55. 根据权利要求54所述的方法, 其中过滤发射包括防止反射的激发光通过并且允许具有对应于组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光的波长的发射通过所述手持式装置的至少一个光谱波长过滤机制。

56. 根据权利要求54或55所述的方法, 其中过滤发射进一步包括允许具有与感应的红外或近红外荧光相对应的波长的发射。

57. 根据权利要求54-56中任一项所述的方法, 其中过滤发射进一步包括允许具有约450nm至约500nm、约500nm至约550nm、约550nm至约600nm、约600nm至约660nm和/或约660nm至约710nm的波长的发射通过。

58. 根据权利要求54-5457中任一项的方法, 其中过滤发射进一步包括允许具有约700nm至约1微米或约700nm至约750nm和约800nm至约1微米的波长的发射通过。

59. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中检测组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射包括检测来自包含在手术腔、切除的肿瘤或组织的外表面、或切除的肿瘤或组织的一个或多个部分的表面中的手术切缘的过滤后的发射, 过滤后的检测到的发射响应于引导到所述手术切缘的至少一个激发光源的照明。

60. 根据权利要求59所述的方法, 其中检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射进一步包括利用所述手持式基于白光和荧光的成像装置的图像传感器来检测所述过滤后的发射。

61. 根据权利要求60所述的方法, 进一步包括在远离所述手持式基于白光和荧光的成像装置的显示器上显示所述检测到的过滤后的发射。

62. 根据权利要求59或60所述的方法, 其中以有助于确定关于额外的手术干预的方式来显示所检测的过滤后的发射。

63. 根据权利要求59所述的方法, 其中检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射包括检测响应于具有约405nm的波长的第一激发光的发射。

64. 根据权利要求59或权利要求63所述的方法, 其中检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射包括检测响应于具有约575nm的波长的第二激发光的发射。

65. 根据权利要求59-64中任一项所述的方法, 其进一步包括检测所述手术切缘的组织

细胞中红外染料或近红外染料的存在。

66. 根据权利要求65所述的方法, 其中检测所述红外染料或近红外染料的存在指示所述组织的血管形成、血管灌注和/或血液汇集。

67. 根据权利要求66所述的方法, 其中检测所述手术切缘的组织细胞中的红外染料的存在包括响应于具有约760nm至约800nm的波长的第三激发光来检测发射。

68. 根据权利要求1所述的方法, 其中激发组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射包括将所述手持式装置的所述远端部分定位在包含所述手术切缘的手术腔中, 和移动所述手持式装置的所述远端以照射所述手术切缘的不同部分。

69. 根据权利要求68所述的方法, 其中移动所述手持式装置的所述远端部分包括致动所述手持式装置的可铰接的尖端。

70. 根据权利要求68所述的方法, 其中移动所述手持式装置的所述远端部分包括移动所述手持式装置的近端以改变所述手持式装置的远端的照明角度。

71. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中确定所述手术切缘是否基本不含癌细胞包括确定在所述手术切缘的组织细胞中检测到的诱导的卟啉的量是否超过阈值。

72. 根据权利要求11-71中任一项所述的方法, 其中显示所述组织细胞的检测到的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射的图像或视频包括以2D或3D显示所述图像或视频, 并且进一步包括在电视机、监视器、头戴式显示器、平板电脑、眼镜、3D耳机、虚拟现实耳机、增强现实耳机上和/或在作为纸或其他库存材料上的打印图像上显示所述图像或视频。

73. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述手术切缘包括一个或多个手术切缘。

74. 根据权利要求73所述的方法, 其中所述手术切缘之一形成包含肿瘤的切除组织的外表面。

75. 根据权利要求73或权利要求74所述的方法, 其中所述手术切缘之一是手术组织床, 从所述手术组织床中切除了包含肿瘤和/或癌细胞的组织。

76. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射是红色的。

77. 根据权利要求76所述的方法, 其中所述手术切缘的结缔组织细胞的自体荧光发射是绿色的。

78. 根据权利要求77所述的方法, 其中所述手术切缘的脂肪组织细胞的自体荧光发射是棕粉色的。

79. 根据前述权利要求中任一项所述的方法, 其中所述癌变组织细胞包括乳腺癌组织、脑癌组织、结肠直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织、癌性淋巴结组织、子宫颈癌组织、肺癌组织、胰腺癌组织、头颈癌组织、胃癌组织、肝癌组织或食管癌组织。

80. 一种可视化患者中关注组织的方法, 包括:

(a) 以诊断剂量向所述患者施用被构造为在癌变组织中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物;

(b) 在施用所述化合物后约15分钟至约6小时,从所述患者中切除包含所述诱导的卟啉的组织,其中切除所述组织产生手术腔;和

(c) 使用手持式基于白光和荧光的成像装置,观察至少一个所述被切除的组织细胞的手术切缘,一个或多个所述被切除的组织细胞的切片以及所述手术腔,以可视化包含在所述手术切缘的组织中的任何诱导的卟啉。

81. 根据权利要求80所述的方法,其中所述癌变组织细胞是:乳腺癌组织、脑癌组织、结肠直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织、癌性淋巴结组织、子宫颈癌组织、肺癌组织、胰腺癌组织、头颈癌组织、胃癌组织、肝癌组织或食管癌组织。

82. 根据权利要求80所述的方法,其中所述切除的癌变组织是乳腺癌组织。

83. 根据权利要求82所述的方法,其中所述乳腺癌组织是浸润性导管癌、原位导管癌、浸润性小叶癌和多灶性疾病之一。

84. 根据权利要求82所述的方法,其中所述癌变组织是癌淋巴结组织。

85. 根据权利要求80所述的方法,其进一步包括手术切除所述手术切缘中的包含诱导的卟啉的任何组织。

86. 根据权利要求80所述的方法,其进一步包括从所述切除的组织制备组织样本。

87. 根据权利要求86所述的方法,其进一步包括分期和/或诊断所述切除的癌变组织。

88. 根据权利要求80所述的方法,其中所述可视化用于指导手术、分期癌组织或分期淋巴结。

89. 根据权利要求80所述的方法,其中所述可视化允许外科医生最小化所述健康组织的切除。

90. 根据权利要求80所述的方法,其中所述化合物是氨基乙酰丙酸。

91. 根据权利要求90所述的方法,其中所述化合物是5-氨基乙酰丙酸。

92. 一种手持式基于白光和荧光的成像装置,用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种,包括:

主体,所述主体具有被配置为握在使用者手中的第一端部和被配置为将光引导至手术切缘的第二端部,其中所述主体包含:

至少一个激发光源,所述激发光源被配置为激发组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射;

滤波器,所述滤波器配置为防止反射的激发光通过并允许具有与组织细胞的自体荧光发射和组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射对应的波长的发射通过;

成像透镜;

图像传感器,其被配置为检测组织细胞的所述过滤后的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射;和

处理器,其被配置为接收所述检测到的发射并输出有关组织细胞的所述检测到的过滤后的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的数据。

93. 根据权利要求92所述的装置,其中所述装置的主体包括可灭菌的材料,并且所述装置被配置为被灭菌。

94. 根据权利要求92或权利要求93所述的装置,其中所述远端部分被配置为邻近所述

手术切缘定位而不接触所述手术切缘。

95. 根据权利要求92-94中任一项所述的装置, 其中所述至少一个激发光源发射具有约375nm至约800nm的波长的光。

96. 根据权利要求92-95中任一项所述的装置, 其中所述至少一个激发光源发射具有约375nm至约600nm的波长的激发光。

97. 根据权利要求92-96中任一项所述的装置, 其中所述至少一个激发光源发射具有约550nm至600nm的波长的光。

98. 根据权利要求92-96中任一项所述的装置, 其中所述至少一个激发光源包括: 第一激发光源, 其发射具有约375nm至约430nm的波长的第一激发光; 和第二激发光源, 其发射具有约550nm至约600nm的波长的第二激发光。

99. 根据权利要求92-98中任一项所述的装置, 其进一步包括第三激发光源, 其中所述第三激发光源发射具有约700nm至约850nm的波长的第三激发光。

100. 根据权利要求92-99中任一项所述的装置, 其中所述至少一个光源位于所述装置的主体的第二端部的尖端部分上。

101. 根据权利要求100所述的装置, 其中所述至少一个光源定位在所述装置的主体的第二端部的周边周围和/或定位在所述装置的主体的第二端部的端面上。

102. 根据权利要求92-101中的任一项所述的装置, 其中所述至少一个激发光源包括第一光源, 所述第一光源包括被配置为发射第一波长的光的多个LED。

103. 根据权利要求102所述的装置, 其中所述至少一个激发光源包括第二光源, 所述第二光源包括被配置为发射不同于所述第一波长的第二波长的光的第二多个LED。

104. 根据权利要求103所述的装置, 其中第一多个LED定位在所述装置的主体的第二端部的尖端部分的周边周围。

105. 根据权利要求104所述的装置, 其中所述第二多个LED定位在所述装置的主体的第二端部的尖端部分的周边周围。

106. 根据权利要求105所述的装置, 其中所述第一多个LED与所述第二多个LED以交替的方式定位在所述装置的主体的第二端部的尖端部分的周边周围。

107. 根据权利要求92-106中任一项所述的装置, 进一步包括白光光源, 以促进所述手术腔的白光成像。

108. 根据权利要求107所述的装置, 其中所述白光光源定位在所述装置的主体的第二端部的尖端部分上。

109. 根据权利要求108所述的装置, 其中所述白光光源包括被配置为发射白光的多个LED, 并且其中所述多个白光LED定位围绕在所述装置的主体的第二端部的尖端部分的周边和/或定位在所述装置的主体的第二端部的端面上。

110. 根据权利要求109所述的装置, 其中所述多个白光LED与所述至少一个激发光源以交替的方式定位。

111. 根据权利要求102-110中的任一项所述的装置, 其中所述至少一个激发光源进一步包括第三激发光源, 所述第三激发光源发射第三波长的光, 所述第三波长与所述第一波长和所述第二波长不同。

112. 根据权利要求111所述的装置, 其中所述第三激发光源定位为与所述第一激发光

源和第二激发光源相邻。

113. 根据权利要求112所述的装置, 其中所述第三激发光源被配置为激发包含近红外或红外染料的所述手术切缘的组织细胞。

114. 根据权利要求112所述的装置, 其中所述第三激发光源被配置为鉴定所述手术切缘中的血管形成或血液汇集。

115. 根据权利要求92-114中的任一项所述的装置, 进一步包括电源。

116. 根据权利要求115所述的装置, 其中所述电源被配置为向所述至少一个激发光源提供电力。

117. 根据权利要求116所述的装置, 其中所述电源被配置为向所有光源提供电力。

118. 根据权利要求92-117中任一项所述的装置, 其中每个光源是可单独致动的。

119. 根据权利要求92-118中任一项所述的装置, 其中两个或多个光源是可同时致动的。

120. 根据权利要求92-119中任一项所述的装置, 其中两个或多个光源是可顺序致动的。

121. 根据权利要求92-120中任一项所述的装置, 其中所述装置的主体的第二端部是细长的, 并且配置为至少部分地定位在包含手术切缘的手术腔内。

122. 根据权利要求92-121中任一项所述的装置, 其中所述装置的主体具有纵轴, 并且所述主体的第二端部相对于所述纵轴弯曲。

123. 根据权利要求92-122中任一项所述的装置, 其中所述装置的第一端部具有第一周长, 并且所述装置的第二端部具有第二周长, 其中所述第一周长大于所述第二周长。

124. 根据权利要求92-123中任一项所述的装置, 其中所述装置的第一端部配置为将所述装置支撑在直立位置。

125. 根据权利要求92-124中任一项所述的装置, 其进一步包括用于对所述装置充电的感应充电线圈。

126. 根据权利要求125所述的装置, 其中所述装置的主体的第一端部形成所述装置的底座, 并且其中所述感应充电线圈定位在所述装置的底座中以对所述装置无线充电。

127. 根据权利要求92-126中任一项所述的装置, 其中所述滤波器进一步配置为允许具有约600nm至约660nm的波长的发射通过。

128. 根据权利要求89-127中任一项所述的装置, 其中所述滤波器进一步配置为允许具有约500nm至550nm的波长的发射通过。

129. 根据权利要求127或权利要求128所述的装置, 其中所述滤波器进一步配置为允许具有约660nm至约800nm的波长的发射通过。

130. 根据权利要求92-126中任一项所述的装置, 其中所述滤波器包括红色、绿色以及近红外至红外滤波器带。

131. 根据权利要求92-130中任一项所述的装置, 其中所述成像透镜是广角成像透镜或鱼眼透镜。

132. 根据权利要求92-131中任一项所述的装置, 其中所述成像透镜定位在所述装置的主体的第二端部的尖端部分上。

133. 根据权利要求92-132中任一项所述的装置, 其中所述图像传感器具有单细胞分辨

率。

134. 根据权利要求92-133中任一项所述的装置,进一步包括至少一个散热器。

135. 根据权利要求92-134中任一项所述的装置,进一步包括与每个光源或每个LED相关联的散热器。

136. 根据权利要求92-135中任一项所述的装置,进一步包括用于通电/断电、图像模式/视频模式、激发光/白光以及滤波器开启/滤波器关闭中的至少一项的控件。

137. 根据权利要求92-136中的任一项所述的装置,进一步包括环境光传感器,其被配置为指示何时荧光成像条件合适。

138. 根据权利要求92-137中的任一项所述的装置,进一步包括至少一个端口,所述至少一个端口配置为接收充电电缆或配置为接收连接电缆。

139. 根据权利要求92-138中任一项所述的装置,其中所述装置的主体的第二端部的至少一部分是可铰接的,以改变成像角度和/或激发光的角度(入射角)。

140. 根据权利要求139所述的装置,其中所述第二端部的铰接是机械地或电子地致动的。

141. 根据权利要求92-140中任一项所述的装置,其中所述装置被配置为无线传输关于所述组织细胞中的检测到的过滤后的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的数据。

142. 根据权利要求92-141中任一项所述的装置,其中所述装置进一步包括传感器,所述传感器与所述装置的不同功能和/或组件相关联,并且被配置为提供所述功能或组件当前是否处于活动状态的指示,其中所述传感器包括温度传感器、湿度传感器、加速器和环境光传感器中的一种或多种。

143. 根据权利要求92-142中任一项所述的装置,其中所述图像传感器定位在所述装置的主体的第二端部的尖端部分中。

144. 根据权利要求92-143中任一项所述的装置,其中所述图像传感器定位在所述装置主体中,并且与所述装置主体的所述第二端部的尖端部分间隔开。

145. 根据权利要求144所述的装置,其进一步包含定位在所述主体中的一个或多个图像保存纤维或纤维束以将光和/或图像数据从所述图像透镜传输到所述图像传感器。

146. 根据权利要求92-145中任一项所述的装置,其中至少一个激发光源定位在所述装置主体中,并且与所述装置主体的所述第二端部的尖端部分间隔开。

147. 根据权利要求146所述的装置,进一步包括一个或多个导光管,其定位在所述装置主体中并且配置为将来自所述至少一个激发光源的激发光引导到所述装置主体的第二端的一个或多个端面。

148. 根据权利要求92-147中任一项所述的装置,其中使所述装置能够进行无线通信。

149. 根据权利要求92-148中的任一项所述的装置,其中所述装置被启用与蓝牙®和或Wi-Fi一起使用。

150. 根据权利要求92-149中任一项所述的装置,其中所述装置包括麦克风。

151. 根据权利要求92-150中任一项所述的装置,其中所述装置被配置为检测癌变细胞,所述癌变细胞含有通过施用治疗剂量的配置为在癌变组织中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物而诱导的卟啉。

152. 根据权利要求92-150中任一项所述的装置, 其中所述装置被配置为检测癌变细胞, 所述癌变细胞含有通过施用诊断剂量的配置为在癌变组织中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物而诱导的卟啉。

153. 根据权利要求151或权利要求152所述的装置, 其中所述非活化、非靶向化合物在所述外科手术过程之前、期间或之后施用。

154. 一种用于可视化手术切缘中的癌变细胞的多光谱系统, 包括:

根据权利要求92-153中任一项所述的手持式装置;

配置为显示由所述手持式装置的处理单元输出的数据的显示装置; 和

无线实时数据存储和预处理装置。

155. 根据权利要求154所述的系统, 进一步包括配置为接收所述手持式装置的灭菌箱。

156. 根据权利要求154或权利要求155所述的系统, 进一步包括用于对所述手持式装置进行无线充电的充电底座。

157. 根据权利要求154-156中的任一项所述的系统, 其中所述无线实时数据存储和所述预处理装置被配置为接收从所述手持式装置传输的视频和/或图像数据。

158. 根据权利要求157所述的系统, 其中所述无线实时数据存储和所述预处理装置进一步配置为记录音频。

159. 根据权利要求158所述的系统, 其中所述无线实时数据存储和所述预处理装置配置为将记录的音频与从所述手持式装置接收的视频数据和/或图像数据同步。

160. 根据权利要求154-159中任一项所述的系统, 其中所述无线实时数据存储和所述预处理装置被配置为预处理从所述手持式装置接收的数据。

161. 根据权利要求160所述的系统, 其中所述预处理包括解压缩所述数据、从所述数据去除噪声、增强所述数据和/或平滑所述数据。

162. 根据权利要求154-161中任一项所述的系统, 其中所述无线实时数据存储和所述预处理装置被配置为经由有线连接将从所述手持式装置接收的数据传输到所述显示装置。

163. 根据权利要求154-162中任一项所述的系统, 其中所述显示装置被配置为以并排格式或以叠加格式显示来自不同光源的图像, 其中荧光数据叠掩在白光数据上。

164. 根据权利要求155-163中任一项所述的系统, 其中所述手持式装置和所述高压灭菌器壳体被配置为与充电底座配合以允许在灭菌之后对所述手持式装置进行无线充电。

165. 一种用于手术切缘中的癌变细胞的基于白光和荧光可视化的试剂盒, 包括:

根据权利要求92-153中任一项所述的手持式装置; 和

配置为在癌变组织细胞中诱导卟啉的非靶向、非活化的化合物。

166. 根据权利要求165所述的试剂盒, 其中所述非靶向、非活化的化合物配置为局部、口服、静脉内、通过气雾剂、通过浸泡和/或通过灌洗施用。

167. 根据权利要求165或权利要求166所述的试剂盒, 其中所述非靶向、非活化的化合物配置为以大于0mg/kg且小于60mg/kg的诊断剂量或以60mg/kg或更高的治疗剂量施用。

168. 根据权利要求165-167中任一项所述的试剂盒, 其中所述非靶向、非活化的化合物配置为在手术切缘的可视化之前约15分钟至约6小时之间施用。

169. 根据权利要求168所述的试剂盒, 其中所述非靶向、非活化的化合物配置为在手术切缘的可视化之前约2小时至约4小时之间施用。

170. 根据权利要求165-169中任一项所述的试剂盒,其中所述非靶向、非活化的化合物是氨基乙酰丙酸。

171. 一种评估手术切缘的方法,包括:

在向患者施用配置为在癌变组织细胞中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物之后,和使用根据权利要求92-153中任一项所述的装置:

用激发光照射所述患者中的手术切缘的组织细胞;

检测来自包含诱导的卟啉的所述手术切缘的组织细胞的荧光发射;和

实时显示从中检测到荧光发射的所述组织细胞,以指导手术评估和/或所述手术切缘的治疗。

172. 根据权利要求171所述的方法,其中实时显示检测到荧光发射的所述组织细胞包括显示癌变组织细胞的位置。

173. 根据权利要求171所述的方法,其中照射所述手术切缘的所述组织细胞包括照射所述患者的淋巴结。

174. 根据权利要求173所述的方法,其中检测来自淋巴结的卟啉诱导的荧光发射是癌细胞已经转移的指示。

175. 根据权利要求173所述的方法,其中未能检测到来自淋巴结的卟啉诱导的荧光发射是癌细胞未转移的指示。

176. 根据权利要求171所述的方法,其中照射所述手术切缘的组织细胞包括照射从所述患者切除的组织的外表面。

177. 根据权利要求176所述的方法,其中未能检测到在所述切除的组织的外表面上的卟啉诱导的荧光发射是手术切缘可能没有癌变细胞的指示。

178. 根据权利要求176所述的方法,其中在所述切除的组织的外表面上检测卟啉诱导的荧光发射是癌变细胞可能残留在切除了所述组织的手术腔中的指示。

179. 根据权利要求171所述的方法,其中照射所述手术切缘的组织细胞包括照射切除了组织的手术腔的组织。

180. 根据权利要求179所述的方法,其中在所述手术腔中未能检测到卟啉诱导的荧光发射是所述手术切缘可能没有癌变细胞的指示。

181. 根据权利要求179所述的方法,其中在所述手术腔中检测卟啉诱导的荧光发射是并非所有癌变细胞都被切除并且所述癌变细胞可能残留在所述手术腔中的指示。

182. 一种评估淋巴结的方法,包括:

在施用配置为在癌变组织细胞中诱导卟啉的化合物之后,基本上同时激发和检测靶淋巴结的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光;

基于在所述靶淋巴结的组织细胞中检测到的诱导卟啉的荧光量,确定所述淋巴结是否基本不含癌变细胞。

183. 根据权利要求182所述的方法,进一步包括使用在所述淋巴结中检测到的所述诱导的卟啉的荧光发射的量来分期与所述淋巴结相关的肿瘤中的癌细胞。

184. 根据权利要求182或权利要求183所述的方法,进一步包括在所述手术切缘中基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射。

185. 一种用于手术切缘中的癌变细胞的基于白光和荧光可视化的试剂盒,包括:

根据权利要求92-153中任一项所述的手持式装置；和

多个尖端，配置为可与所述手持式装置上的尖端部分互换，其中每个尖端包括至少一个光源。

186. 根据权利要求185所述的试剂盒，其中第一尖端包括第一激发光源，且第二尖端包括第二激发光源，其中所述第一激发光源和第二激发光源发射不同波长的光。

187. 根据权利要求186所述的试剂盒，其中所述第一尖端和所述第二尖端中的至少一个进一步包括光谱滤波器。

188. 一种评估手术切缘的方法，包括：

在施用被配置为在癌变组织细胞中诱导约600nm至约660nm的发射的化合物之后，将手持式基于白光和荧光的成像装置的远端定位在手术切缘附近；

利用该手持式装置基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中诱导的波长的荧光发射；和

基于在所述手术切缘的组织细胞中检测到的诱导的波长的存在或荧光发射量，确定所述手术切缘是否基本不含癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。

189. 一种手持式基于白光和荧光的成像装置，用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种，包括：

主体，所述主体具有被配置为握在使用者手中的第一端部和被配置为将光引导至手术切缘的第二端部，其中所述主体包含：

至少一个激发光源，所述激发光源被配置为在暴露于成像剂或造影剂之后，在所述手术切缘的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中激发组织细胞的自体荧光发射以及波长为约600nm至约660nm的荧光发射；

滤波器，所述滤波器配置为防止反射的激发光通过并允许具有与组织细胞的自体荧光发射和在所述手术切缘的组织细胞中的约600nm至660nm的荧光发射对应的波长的发射通过；

成像透镜；

图像传感器，其被配置为检测组织细胞的所述过滤后的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的约600nm至约660nm的荧光发射；和

处理器，其被配置为接收所述检测到的发射并输出有关组织细胞的所述检测到的过滤后的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞中的约600nm至约660nm的荧光发射的数据。

190. 根据权利要求1-79中任一项所述的方法，其中所述手术切缘是在除了人类之外的动物中。

191. 根据权利要求190所述的方法，其中所述癌变组织是：肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

192. 根据权利要求80-91中任一项所述的方法，其中所述患者是除了人类之外的动物。

193. 根据权利要求192所述的方法，其中所述癌变组织是：肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

194. 根据权利要求92-153中任一项所述的装置，其中所述手术切缘是在除了人类之外

的动物中。

195. 根据权利要求194所述的装置,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

196. 根据权利要求154-164中任一项所述的系统,其中所述手术切缘是在除了人类之外的动物中。

197. 根据权利要求196所述的装置,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

198. 根据权利要求165-170中任一项所述的试剂盒,其中所述手术切缘是在除了人类之外的动物中。

199. 根据权利要求198所述的试剂盒,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

200. 根据权利要求171-181中任一项所述的方法,其中所述手术切缘是在除了人类之外的动物中。

201. 根据权利要求200所述的方法,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

202. 根据权利要求182-184中任一项所述的方法,其中所述组织细胞是在除了人类之外的动物中。

203. 根据权利要求202所述的方法,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

204. 根据权利要求185-187中任一项所述的试剂盒,其中所述手术切缘是在除了人类之外的动物中。

205. 根据权利要求204所述的试剂盒,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

206. 根据权利要求188所述的方法,其中所述手术切缘在除了人类之外的动物中。

207. 根据权利要求206所述的方法,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

208. 根据权利要求189所述的方法,其中所述手术切缘在除了人类之外的动物中。

209. 根据权利要求208所述的方法,其中所述癌变组织是:肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴肿瘤、皮脂腺肿瘤和软组织肉瘤。

210. 一种可视化患者中的疾病的方法,包括:

在施用被配置为在患病的组织细胞中诱导卟啉的化合物之后,将手持式基于白光和荧

光的成像装置的远端定位在手术部位附近；

利用该手持式装置激发和检测组织细胞的自体荧光发射和所述手术部位的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射；和

在所述手持式成像装置的处理单元处接收所述检测到的发射，并基于所述检测到的发射来输出所述手术部位的初始荧光图像，其中所述荧光图像包含在所述手术部位存在或不存在疾病的视觉指示。

211. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括分析所述图像的颜色、图案和纹理以确定是否存在疾病，其中所述疾病由所述初始图像中的红色荧光指示。

212. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括分析所述图像的颜色、图案和纹理以确定是否存在局灶性疾病，其中所述局灶性疾病由所述初始图像中的红色荧光的大的实心区域指示。

213. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括分析所述图像的颜色、图案和纹理以确定是否存在多灶性疾病，其中所述多灶性疾病由所述初始图像中的亮红色荧光的多个小区域指示。

214. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括分析图像的颜色、图案和纹理以确定存在的疾病的程度，其中存在的疾病的程度由与所述图像中的非红色荧光的数量相比的所述初始图像中的红色荧光的总量指示。

215. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括在输出所述手术部位的初始荧光图像之后指导所述手术部位的干预，其中指导所述干预包括将所述初始图像中的红色荧光区域鉴定为用于干预的区域。

216. 根据权利要求215所述的方法，其中所述干预包括放射疗法、消融、冷冻疗法、光动力疗法、腹腔镜检查、切除、活组织检查、刮除术、近距离放射疗法、高频超声消融、射频消融、质子疗法、溶瘤病毒、电场疗法和热消融中的一种或多种。

217. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括确定干预的有效性，包括：

在所述干预之后或期间，利用所述手持式装置激发和检测组织细胞的自体荧光发射和所述手术部位的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射；和

在所述手持式成像装置的处理单元处接收在所述干预之后或期间检测到的发射，并基于所述检测到的发射来输出所述手术部位的新初始荧光图像，其中所述新的荧光图像包含在所述手术部位存在或不存在疾病的视觉指示；和

将所述新的基于荧光的图像与所述初始图像进行比较以确定所述干预的有效性。

218. 根据权利要求217所述的方法，其中将所述新的基于荧光的图像与所述初始图像比较以确定干预的有效性包括将所述新的图像中的红色荧光量与所述初始图像中的红色荧光量进行比较。

219. 根据权利要求218所述的方法，其中当与先前的图像比较时，所述新的图像中的红色荧光的量的减少表明所述干预的效果。

220. 根据权利要求219所述的方法，进一步包括在输出所述手术部位的初始荧光图像之后指导所述手术部位的活组织检查或刮除术，其中指导所述活组织检查或刮除术包括将所述图像中的红色荧光区域鉴定为用于活组织检查或刮除术的区域。

221. 根据权利要求210所述的方法，进一步包括在输出所述手术部位的初始荧光图像

之后,在所述手术部位处指导近距离放射疗法,其中所述指导近距离放射疗法包括在所述初始图像中鉴定与红色荧光区域相邻的放射性种子植入的潜在位置。

222. 根据权利要求210-221中任一项所述的方法,其中所述化合物是非活化的、非靶向的造影剂、单模造影剂或多模造影剂。

223. 根据权利要求210或权利要求211所述的方法,其中所述化合物是5-氨基乙酰丙酸。

224. 根据权利要求210所述的方法,其中定位所述手持式装置的远端包括将所述手持式装置的远端定位成邻近所述手术部位而不接触所述手术部位。

225. 根据权利要求210-224中任一项所述的方法,进一步包括在激发和检测组织细胞的自体荧光发射和手术部位的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射之前,使所述手术部位周围的环境变暗。

226. 根据权利要求225所述的方法,其中使所述环境变暗包括减少环境光、消除人工光和/或阻挡或以其他方式防止环境光和人工光到达所述手术部位周围的预定区域。

227. 根据权利要求226所述的方法,其中阻挡或以其他方式防止环境光和人工光到达所述手术部位周围的预定区域包括将结构定位在所述手术部位周围。

228. 根据权利要求227所述的方法,其中所述结构包括盖布、遮蔽物或配置为阻挡所述光通过的其他结构。

229. 根据权利要求227或权利要求228所述的方法,其中定位所述结构包括将所述结构定位在所述手持式装置的一部分上。

230. 根据权利要求227或权利要求228所述的方法,其中定位所述结构包括将所述结构定位成至少部分地围绕或包围所述手持式装置和所述手术部位,而不接触所述装置和/或手术部位。

231. 根据权利要求210-230中任一项所述的方法,进一步包括显示所述组织细胞中的检测到的自体荧光发射和所述手术部位的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的图像或视频。

232. 根据权利要求210-231中任一项所述的方法,其中检测和/或显示实时发生。

233. 根据权利要求210-232中任一项所述的方法,进一步包括用白光照射所述手术部位的组织细胞,并捕获所述手术部位的白光图像或视频。

234. 根据权利要求233所述的方法,进一步包括在所述白光图像或视频上显示重叠所述组织细胞的检测到的自体荧光发射和所述手术部位的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的至少一部分以基于所述白光图像和所述组织细胞的检测到的自体荧光发射以及所述手术部位的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射实时地形成所述手术部位的合成图像。

235. 根据权利要求234所述的方法,进一步包括显示包括所述白光图像的第一图像或视频,以及显示包括所述组织细胞的检测到的自体荧光发射和所述手术部位的组织细胞中的所述诱导的卟啉的荧光发射的第二图像或视频,其中所述第一图像或视频和所述第二图像或视频以并排方式显示。

236. 根据权利要求210-235中任一项所述的方法,进一步包括从所述手持式基于白光和荧光的成像装置传输关于白光图像或视频、检测到的组织细胞自体荧光发射以及所述手

术部位组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射的数据到显示装置。

237. 根据权利要求236所述的方法, 其中传输所述数据包括将所述数据从所述手持式基于白光和荧光的成像装置传输到无线实时数据存储和预处理装置(例如, 集线器), 并且随后将所述数据从所述集线器传输到所述显示装置。

238. 根据权利要求237所述的方法, 进一步包括在将所述数据传输到所述显示装置之前, 对所述实时数据存储和预处理装置中的数据预处理。

239. 根据权利要求238所述的方法, 其中预处理所述数据包括解压缩所述数据、从所述数据去除噪声、增强所述数据和/或平滑所述数据。

240. 根据权利要求236-239中任一项所述的方法, 其中所述数据是视频数据或图像数据。

241. 根据权利要求210-240中任一项所述的方法, 其中基本上同时激发和检测的步骤在施用所述化合物后约15分钟至约6小时进行。

242. 根据权利要求241所述的方法, 其中所述基本上同时激发和检测的步骤在施用所述化合物后约2小时至4小时进行。

243. 根据权利要求241所述的方法, 其中所述基本上同时激发和检测的步骤在施用所述化合物后约2.5小时至3.5小时进行。

244. 根据权利要求210-243中任一项所述的方法, 其中经口服、静脉内、通过气雾剂、通过灌洗、通过浸泡、通过滴注和/或局部施用所述化合物。

245. 根据权利要求210-244中任一项所述的方法, 其中以大于0mg/kg且小于60mg/kg的剂量施用所述化合物。

246. 根据权利要求245所述的方法, 其中以约15mg/kg至约45mg/kg的剂量施用所述化合物。

247. 根据权利要求245所述的方法, 其中以约20mg/kg至约30mg/kg的剂量施用所述化合物。

248. 根据权利要求245所述的方法, 其中以约30mg/kg至约55mg/kg的剂量施用所述化合物。

249. 根据权利要求245所述的方法, 其中以约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg或约55mg/kg的剂量施用所述化合物。

250. 根据权利要求210-244中任一项所述的方法, 其中所述化合物以大于60mg/kg的剂量施用。

251. 根据权利要求210-250中任一项所述的方法, 其中在手术之前、手术期间和/或手术之后施用所述化合物。

252. 根据权利要求210-251中任一项所述的方法, 进一步包括基于在所述手术部位的组织细胞中检测到的所述诱导的卟啉的荧光发射量, 鉴定所述手术部位的一部分以用于额外的动作。

253. 根据权利要求252所述的方法, 其中所述额外的动作包括切除所述手术部位中的鉴定的细胞。

254. 根据权利要求253所述的方法, 其中通过手术切除、施加光、热消融、烧灼、抽吸、靶

向电离辐射和/或施加或去除热量来实现切除。

255. 根据权利要求210-254中任一项所述的方法, 其中激发组织细胞的自体荧光发射和所述手术部位的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射包括将来自至少一个激发光源的光引导到包含所述手术部位的手术腔中, 引导到切除的肿瘤或组织的外表面上, 或引导到所述切除的肿瘤或组织的一个或多个部分上。

256. 根据权利要求255所述的方法, 其中所述至少一个激发光源发射具有约375nm至约430nm的波长和/或约550nm至600nm的波长的光。

257. 根据权利要求255所述的方法, 其中所述至少一个激发光源发射具有约405nm的波长的光。

258. 根据权利要求255所述的方法, 其中所述至少一个激发光源发射具有约572nm的波长的光。

259. 根据权利要求255所述的方法, 其中所述至少一个激发光源包括: 第一激发光源, 其发射具有约375nm至约430nm或约405nm的波长的第一激发光; 和第二激发光源, 其发射具有约550nm至约600nm或约572nm的波长的第二激发光。

260. 根据权利要求259所述的方法, 其中同时或顺序地操作所述第一激发光源和所述第二激发光源。

261. 根据权利要求259或权利要求260所述的方法, 进一步包括激发和检测被所述手术部位的组织细胞吸收、靶向并包含在其中的近红外染料和/或红外染料的荧光。

262. 根据权利要求261所述的方法, 其中所述近红外染料和/或所述红外染料配置为被所述癌变组织细胞和/或血管吸收、靶向并包含在其中。

263. 根据权利要求259所述的方法, 其进一步包含第三激发光源, 所述第三激发光源发射具有约700nm至约850nm、约760nm至约800nm或约760nm的第三激发光。

264. 根据权利要求210所述的方法, 进一步包括, 当所述荧光图像以肿瘤中PpIX荧光图像的形式包含手术部位存在疾病的视觉指示时, 在所述图像中使用剂量学上代表肿瘤PpIX荧光的荧光确定在所述肿瘤中用于光动力疗法的PpIX的量, 并确定光动力疗法光传输的适当时机。

265. 一种预测组织样本中的纤维化的量的方法, 包括:

接收响应于激发光的照射的所述组织样本的荧光的RGB数据; 和

基于所述组织样本发射的荧光的存在或数量, 计算所述组织样本中所述绿色荧光的百分比、所述绿色荧光的密度和所述绿色荧光的平均绿色通道强度。

266. 根据权利要求265所述的方法, 其中所述激发光的波长为约350nm至450nm。

267. 根据权利要求266所述的方法, 其中所述波长为约375nm至约430nm和/或约550nm至600nm。

268. 根据权利要求266所述的方法, 其中所述波长为约405nm。

269. 根据权利要求266所述的方法, 其中所述波长为约572nm。

270. 根据权利要求265所述的方法, 进一步包括将所述组织样本中的绿色荧光的百分比、所述绿色荧光的密度和所述绿色荧光的平均绿色通道强度进行关联以预测所述组织样本中的纤维化的量。

271. 根据权利要求265-270所述的方法, 进一步包括基于所述组织样本中的纤维化的

预测量来增强患者的治疗计划。

272. 根据权利要求265-271所述的方法,其中所述组织先前暴露于非活化的、非靶向的造影剂、单模造影剂或多模造影剂。

273. 根据权利要求272所述的方法,其中所述化合物是5-氨基乙酰丙酸。

274. 根据权利要求265所述的方法,进一步包括基于所计算的绿色荧光的百分比、所述绿色荧光的密度以及所述组织样本中所述绿色荧光的平均绿色通道强度来对所述组织分类。

275. 根据权利要求274所述的方法,其中所述组织被分类为纤维化组织。

276. 权利要求265-275中任一项所述的方法,其中所述组织样本发射的荧光包括自体荧光发射。

277. 一种将样本中鉴定出的组织类型进行关联的方法,包括:

从暴露于组织学染色剂和被配置为在组织细胞中诱导卟啉的化合物的手术床、手术切缘或切除的组织标本中接收组织样本的数字化部分;

选择组织类别以分析所述组织样本;

确定用于所述组织样本中的一个或多个染色部分的第一面积值;

基于所述组织样本在被激发光照射时发射的荧光确定第二面积值,其中所述第一面积值和所述第二面积值对应于所选择的组织类别;和

比较所述第一面积值与所述第二面积值。

278. 根据权利要求277所述的方法,其中所述第一面积值对应于在所述组织样本的一个或多个染色部分中鉴定出的所选组织类别的量。

279. 根据权利要求276或权利要求278所述的方法,其中所述第二面积值对应于经由荧光发射在所述组织样本中鉴定出的所选组织类别的量。

280. 根据权利要求277-279中任一项所述的方法,其中所述组织样本被手持式成像装置发射的激发光激发以产生所述荧光发射。

281. 根据权利要求277-280中任一项所述的方法,进一步包括基于所述第一面积值与所述第二面积值的比较,确定所选择的组织类别与由手持式成像装置检测到的荧光发射的颜色之间的相关性的准确性。

282. 根据权利要求277-281中任一项所述的方法,其中所述选择的组织类别是结缔组织,并且所述荧光发射的颜色是绿色。

283. 根据权利要求277-281中任一项所述的方法,其中所述选择的组织类别是肿瘤、癌变细胞、癌前细胞、良性病变或淋巴结,并且所述荧光发射的颜色是红色。

284. 根据权利要求277-281中任一项所述的方法,其中所述选择的组织类别是脂肪组织,并且所述荧光发射的颜色是粉红色、粉红棕色或棕色。

285. 根据权利要求277-281中任一项所述的方法,其中所述选择的组织类别是血液,并且所述荧光发射的颜色是深红色、紫红色或棕色。

286. 根据权利要求277-281中任一项所述的方法,其中选择组织类别包括选择结缔组织、脂肪组织、血液和异常组织之一。

287. 根据权利要求285所述的方法,其中异常组织包括发炎组织、肿瘤、癌变细胞、病变、良性肿瘤和增生性病变。

288. 根据权利要求277-287中任一项所述的方法,进一步包括在所述数字化部分中的一个或多个部分周围创建关注区域,以细化所述第一面积值或所述第二面积值。

289. 根据权利要求277-288中的任一项所述的方法,进一步包括增大或减小所述第一面积值或所述第二面积值。

290. 根据权利要求280-289中任一项所述的方法,进一步包括使用所述手持式成像装置,激发和随后检测组织细胞的自体荧光发射和所述手术切缘的组织细胞的诱导的卟啉的荧光发射。

291. 根据权利要求277-290中任一项所述的方法,其中诱导的卟啉的荧光发射对应于癌变组织。

292. 根据权利要求277-291中任一项所述的方法,其中所述组织样本的荧光发射被具有约400nm至约450nm的波长的激发光激发。

293. 根据权利要求277-292中任一项所述的方法,其中确定所述组织样本中一个或多个染色部分的第一面积值包括确定所述一个或多个染色部分的对应于所选组织类别的面积。

294. 根据权利要求280-293中任一项所述的方法,其中如果所述第一面积值等于所述第二面积值,则确定所述成像装置准确地确定所述第二面积值。

295. 根据权利要求280-294中任一项所述的方法,其中如果所述第一面积值不等于所述第二面积值,则确定所述成像装置不准确地确定所述第二面积值。

296. 根据权利要求280所述的方法,进一步包括:

选择第二组织类别;

确定用于所述组织样本中的一个或多个染色部分的新的第一面积值;

基于所述组织样本在被激发光照射时发射的荧光确定新的第二面积值,其中所述新的第一面积值和所述新的第二面积值对应于所述第二选择的组织类别;

比较所述新的第一面积值与所述新的第二面积值;和

基于所述新的第一面积值与所述新的第二面积值的比较,确定所述第二选择的组织类型与由所述手持式成像装置检测到的荧光发射的颜色之间的相关性的准确性。

297. 根据权利要求296所述的方法,其中所述第二选择的组织类别是结缔组织,并且所述荧光发射的颜色是绿色。

298. 根据权利要求296所述的方法,其中所述第二选择的组织类别是肿瘤、癌变细胞或病变,并且所述荧光发射的颜色是红色。

299. 根据权利要求296所述的方法,其中所述第二选择的组织类别是脂肪组织,并且所述荧光发射的颜色是粉红色、粉红棕色或棕色。

300. 根据权利要求296所述的方法,其中所述第二选择的组织类别是血液,并且所述荧光发射的颜色是深红色、紫红色或黑色。

301. 根据权利要求296所述的方法,其中选择第二组织类别包括选择结缔组织、脂肪组织、血液和异常组织之一。

302. 根据权利要求301所述的方法,其中异常组织包括发炎组织、肿瘤、癌变细胞、病变、良性肿瘤和增生性病变。

303. 根据权利要求296-302中任一项所述的方法,其中所述组织样本的荧光发射被具

有约400nm至约450nm的波长的激发光激发。

304. 一种量化组织样本的荧光发射中颜色对比度的方法, 包括:

输入所述组织样本的RGB图像, 所述组织样本预先暴露于被配置为在组织细胞中诱导卟啉的化合物;

将所述RGB图像转换为数据集;

计算所述组织样本中的第一平均颜色强度和所述数据集中的对应值;

计算所述组织样本中的第二平均颜色强度和所述数据集中的对应值;

计算所述第一平均颜色强度的x和y坐标;

计算所述第二平均颜色强度的x和y坐标;

在色度图上针对所述第一平均颜色强度和所述第二平均颜色强度绘制所述x和y坐标;

和

用矢量连接所述坐标。

305. 根据权利要求304所述的方法, 进一步包括确定所述矢量的距离以便量化所述第一平均颜色强度与所述第二平均颜色强度之间的颜色对比度。

306. 根据权利要求304或权利要求305所述的方法, 进一步包括在手术切缘中限定关注区域, 所述第一平均颜色强度和所述第二平均颜色强度均是所述关注区域中的颜色的平均颜色强度。

307. 根据权利要求306所述的方法, 进一步包括手动界定所述关注区域。

308. 根据权利要求304-307中任一项所述的方法, 进一步包括对对照组、低剂量ALA组和高剂量ALA组重复所述过程。

309. 根据权利要求304-308中任一项所述的方法, 其中手术切缘具有来自成像装置的所述诱导的卟啉的荧光发射。

310. 根据权利要求309所述的方法, 其中所述成像装置是手持式装置, 其基本上同时激发并检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的所述组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射。

311. 根据权利要求304-310中任一项所述的方法, 其中所述第一平均颜色强度对应于手术切缘中的癌变组织, 并且所述第二平均颜色强度对应于所述手术切缘中的正常组织。

312. 根据权利要求304-310中任一项所述的方法, 其中所述第一平均颜色强度对应于手术切缘中的癌变组织, 并且所述第二平均颜色强度对应于所述手术切缘中的癌变组织。

313. 根据权利要求304-310中任一项所述的方法, 其中所述第一平均颜色强度对应于手术切缘中的结缔组织, 并且所述第二平均颜色强度对应于所述手术切缘中的结缔组织。

314. 根据权利要求304-310中任一项所述的方法, 其中所述第一平均颜色强度是绿色的第一阴影, 且所述第二平均颜色强度是绿色的第二阴影。

315. 根据权利要求304-310中任一项所述的方法, 其中所述第一平均颜色强度是红色的第一阴影, 且所述第二平均颜色强度是红色的第二阴影。

316. 根据权利要求304-310中任一项所述的方法, 其中所述第一平均颜色强度是绿色的阴影, 且所述第二平均颜色强度是绿色的阴影。

317. 一种量化样本中的组织类型的方法, 包括:

从暴露于组织学染色剂和被配置为在组织细胞中诱导卟啉的化合物的手术床、手术切

缘或切除的组织标本中接收组织样本的数字化部分；

选择组织类别以分析所述组织样本；和

确定与所述组织样本中的选择的组织类别相对应的所述组织的数量。

318. 根据权利要求3176所述的方法，其中所述组织样本由手持式成像装置发射的激发光激发以产生荧光发射。

319. 根据权利要求317或权利要求318所述的方法，进一步包括选择第二组织类别并确定在所述组织样本中与所述第二组织类别相对应的所述组织的数量。

320. 根据权利要求317-319中任一项所述的方法，其中所述选择的组织类别是结缔组织。

321. 根据权利要求317-320中任一项所述的方法，其中所述选择的组织类别是肿瘤、癌变细胞、癌前细胞、良性病变或淋巴结。

322. 根据权利要求317-321中任一项所述的方法，其中所述选择的组织类别是脂肪组织。

323. 根据权利要求317-322中任一项所述的方法，其中所述选择的组织类别是血液。

324. 根据权利要求317-323中任一项所述的方法，其中选择所述组织类别包括选择结缔组织、脂肪组织、血液和异常组织之一。

325. 根据权利要求324所述的方法，其中异常组织包括发炎组织、肿瘤、癌变细胞、病变、良性肿瘤和增生性病变。

326. 根据权利要求317-325中任一项所述的方法，进一步包括在所述数字化部分中的一个或多个部分周围创建关注区域，以便细化确定的所述组织的数量。

327. 根据权利要求317-326中任一项所述的方法，其中所述组织样本的荧光发射被具有约400nm至约450nm的波长的激发光激发。

328. 根据权利要求151或权利要求152所述的装置，其中所述非活化、非靶向的化合物是氨基乙酰丙酸。

用于肿瘤可视化和切除的装置、系统和方法

[0001] 本申请要求2018年2月2日提交的临时申请号62/625,967、2018年2月3日提交的临时申请号62/625,983和2019年1月17日提交的临时申请62/793,843的优先权,每个申请的全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0002] 本公开涉及用于肿瘤可视化和切除的装置、系统和方法。公开的装置、系统和方法还可用于分期肿瘤并评估手术切缘和标本,例如组织切缘、切除的组织标本和切除的肿瘤的组织切片以及切除了肿瘤和/或组织的组织床/手术床上的切缘。公开的装置、系统和方法还可以用于识别残留癌细胞、癌前细胞和卫星病灶中的一种或多种,并用于提供切除和/或治疗它们的指导。公开的装置可用于获得用于诊断和计划目的的材料。

背景技术

[0003] 手术是最古老的癌症治疗方法之一,并且是许多种类的癌症的有效治疗方法。取决于手术的目的,肿瘤外科手术可以采取不同的形式。例如,肿瘤外科手术可以包括活组织检查以诊断或确定癌症的类型或阶段、肿瘤切除以切除部分或全部肿瘤或癌变组织、探查性手术以定位或识别肿瘤或癌变组织、减瘤手术以在不负面影响其他身体结构的前提下,尽可能减小肿瘤的大小或切除尽可能多的肿瘤、和姑息性手术以解决由肿瘤引起的病况,例如身体器官的疼痛或受压。

[0004] 在其中以切除肿瘤或癌变组织为目标的手术中,外科医生在确定是否已去除所有癌症时常常面临不确定性。切除了肿瘤的手术床或组织床可以包含残留的癌细胞,即残留在切除了肿瘤的区域的手术切缘中的癌细胞。如果这些残留癌细胞保留在体内,则复发和转移的可能性增加。通常,根据肿瘤病理分析过程中切除的组织的手术切缘的检查,怀疑存在残留癌细胞会导致二次手术以从手术切缘切除额外的组织。

[0005] 例如,乳腺癌是女性中最常见的癌症,通常通过保乳手术(BCS)例如乳房肿瘤切除术来治疗,其在切除肿瘤的同时保留了尽可能多的健康乳房组织。BCS的治疗效果取决于完全切除恶性组织,同时保留足够的健康乳房组织以确保充分的乳房再造,如果切除过多的乳房组织则可能效果不佳。由于肿瘤与正常组织的对比度低,在标准白光(WL)手术室条件下可视化肿瘤切缘具有挑战性,导致约23%的早期浸润性乳腺癌患者和36%的原位导管癌患者的再次手术(即,二次手术)。再切除与更高的复发风险、较差的患者预后相关,包括减少乳房美容和增加医疗费用。BCS后手术切缘阳性(即,含有癌细胞的切缘)也与疾病特异性生存率降低有关。

[0006] 当前BCS的最佳实践涉及触诊和/或标本X光线照相术,很少有术中组织病理学指导切除术。标本X光线照相术使用X射线图像评估切除的组织切缘,且术中组织病理学(触摸准备或冷冻)评估癌细胞的小标本组织样本,这两种均受它们造成的时间延迟(约20分钟)和切除组织的阳性切缘到手术床的不准确共定位限制。因此,存在迫切临床需要,即实时的术中成像技术来评估切除的标本和手术床切缘,并为可视化和切除残留癌细胞、癌前细胞

和卫星病灶中的一种或多种提供指导。

发明内容

[0007] 本公开可以解决一个或多个上述问题和/或可能表现出一个或多个上述期望的特征。根据以下描述,其他特征和/或优点将变得显而易见。

[0008] 根据本公开的一个方面,公开了一种评估手术切缘和/或标本的方法。该方法包括,在施用被配置为在癌变组织细胞中诱导卟啉的化合物之后,将手持式基于白光和荧光的成像装置的远端定位在手术切缘附近。该方法进一步包括利用手持式装置基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中诱导的卟啉的荧光发射。并且,基于在手术切缘的组织细胞中检测到的诱导卟啉的存在或荧光发射量,确定手术切缘是否基本不含癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。

[0009] 根据本公开的另一方面,公开了一种在患者中可视化关注的组织的方法。该方法包括以诊断剂量向患者施用被构造为在癌变组织中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物。所述方法进一步包括在施用所述化合物后约15分钟至约6小时,从患者中切除包含诱导的卟啉的组织,其中切除所述组织产生手术腔。该方法还包括,使用手持式基于白光和荧光的成像装置,观察至少一个被切除的组织细胞的手术切缘,一个或多个被切除的组织细胞的切片以及手术腔,以可视化包含在手术切缘的组织中的任何诱导的卟啉。

[0010] 根据本公开的又一方面,公开了一种手持式基于白光和荧光的成像装置,用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。该装置包括主体,该主体具有被配置为握在使用者手中的第一端部和被配置为将光引导至手术切缘的第二端部。主体包含至少一个激发光源,该激发光源被配置为激发组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射。主体还包含滤波器,该滤波器配置为防止反射的激发光通过并允许具有与组织细胞的自体荧光发射和组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射对应的波长的发射通过。主体进一步包括成像透镜、配置为检测组织细胞的过滤后的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射的图像传感器、和配置为接收检测到的发射并输出有关组织细胞的检测到的过滤后的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射的数据。根据一个示例性实施方式,可以将主体内的滤波器机械地移入和移出图像传感器前面的位置。

[0011] 根据本公开的另一方面,公开了一种用于手术切缘中的癌细胞的基于白光和荧光的可视化的试剂盒。该试剂盒包括用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种以及配置为诱导癌变组织细胞中的卟啉的非靶向、非活化的化合物的手持式基于白光和荧光的成像装置。

[0012] 根据本公开的另一方面,公开了一种用于可视化手术切缘中的癌细胞的多光谱系统。该系统包括:手持式基于白光和荧光的成像装置,用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种;显示装置,配置为显示由手持式装置的处理器的输出的数据;和无线实时数据存储和预处理装置。

[0013] 根据本公开的又一方面,一种用于手术切缘中的癌细胞的基于白光和荧光的可视化的试剂盒,包括用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种的手持式基于白光和荧光的成像装置,和配置为可与手持式装置上的尖端部分互换的多个

尖端,其中每个尖端包括至少一个光源。

[0014] 根据本公开的另一方面,公开了一种手持式基于白光和荧光的成像装置,用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。该装置包括主体,该主体具有被配置为握在使用者手中的第一端部和被配置为将光引导至手术切缘的第二端部。主体包含至少一个激发光源,所述激发光源被配置为在暴露于成像剂或造影剂之后,在手术切缘的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中激发组织细胞的自体荧光发射以及波长为约600nm至约660nm的荧光发射。主体还包含滤波器,该滤波器配置为防止反射的激发光通过并允许具有与组织细胞的自体荧光发射和在手术切缘的组织细胞中的约600nm至660nm的荧光发射对应的波长的发射通过。主体进一步包括成像透镜、配置为检测组织细胞的过滤后的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中约600nm至约660nm的荧光发射的图像传感器,和配置为接收检测到的发射并输出有关组织细胞的检测到的过滤后的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的约600nm至约660nm的荧光发射的数据的处理器。

[0015] 根据本公开的另一方面,公开了一种评估手术切缘的方法。该方法包括,在施用被配置为在癌变组织细胞中诱导约600nm至约660nm的发射的化合物之后,将手持式基于白光和荧光的成像装置的远端定位在手术切缘附近。该方法还包括利用手持式装置基本上同时激发和检测组织细胞的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中诱导的波长的荧光发射。并且,基于在手术切缘的组织细胞中检测到的诱导的波长的存在或荧光发射量,确定手术切缘是否基本不含癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种。

[0016] 根据本公开的又一方面,公开了一种评估手术切缘的方法。该方法包括,在向患者施用配置为诱导癌变组织细胞中的卟啉的非活化的、非靶向的化合物后,和使用用于可视化手术切缘中的癌前细胞、癌变细胞和卫星病灶中的至少一种的基于白光和荧光的成像装置、使用激发光照亮患者手术切缘的组织细胞。该方法进一步包括检测包含诱导的卟啉的来自手术切缘中的组织细胞的荧光发射,和实时显示从中检测到荧光发射的组织细胞以指导手术切缘的手术评估和/或治疗。

[0017] 根据本公开的另一方面,公开了一种评估淋巴结的方法。该方法包括在施用配置为在癌变组织细胞中诱导卟啉的化合物之后,基本上同时激发和检测靶淋巴结的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光。该方法进一步包括基于在靶淋巴结的组织细胞中检测到的诱导卟啉的荧光量,确定淋巴结是否基本不含癌细胞。

[0018] 根据本公开的另一方面,公开了一种预测组织样本中的纤维化的量的方法。该方法包括:响应于激发光的照射,接收组织样本的荧光的RGB数据;以及基于组织样本发射的荧光的存在或数量,计算组织样本中绿色荧光的百分比、绿色荧光的密度和绿色荧光的平均绿色通道强度。

[0019] 根据本公开的又一方面,公开了一种在样品中鉴定的相关组织类型的方法。该方法包括从暴露于组织学染色剂和被配置为在组织细胞中诱导卟啉的化合物的手术床、手术切缘或切除的组织标本中接收组织样本的数字化部分。该方法进一步包括选择用于分析组织样本的组织类别,确定组织样本中一个或多个染色部分的第一面积值,基于组织样本在被激发光照射时发射的荧光来确定第二面积值,其中第一面积值和第二面积值对应于选择的组织类别,并将第一面积值和第二面积值进行比较。

[0020] 根据本公开的另一方面,公开了一种量化组织样本的荧光发射中的颜色对比度的

方法。该方法包括输入组织样本的RGB图像,该组织样本预先暴露于被配置为在组织细胞中诱导卟啉的化合物。该方法进一步包括将RGB图像转换成数据集,计算组织样本中的第一平均颜色强度和数据集对应的值,计算组织样本中的第二平均颜色强度和数据集对应的值,在第一平均颜色强度和第二平均颜色强度的色度图上绘制x和y坐标,并将坐标与矢量连接。

附图说明

[0021] 可以单独地或与附图一起从以下详细描述中理解本公开。包括附图以提供进一步的理解,并且附图被并入本说明书中并构成本说明书的一部分。附图示出了本公开的一个或多个示例性实施方式,并且与描述一起用于解释各种原理和操作。

[0022] 图1A是说明肿瘤细胞中的ALA向PpIX的转化的图;

[0023] 图1B示出了PpIX的峰吸收和发射;

[0024] 图2A是示出被配置为检测由405nm激发光激发的并被并入根据本公开的手持式多光谱装置的示例性实施方式的mCherry滤波器的示例性频带的图;

[0025] 图2B是暴露于405nm激发光的示例性手术腔的截面图;

[0026] 图3A是示出被配置为检测由405nm激发光和572nm激发光激发的并被并入根据本公开的手持式多光谱装置的示例性实施方式的mCherry滤波器的示例性频带的图;

[0027] 图3B是暴露于405nm激发光和572nm激发光的示例性手术腔的截面图,并且示出了根据本教导的不同波长的激发光的变化穿透深度;

[0028] 图4A是示出被配置为检测由760nm激发光激发的发射以及IRdye800的吸收和发射波长并被并入根据本公开的手持式多光谱装置的示例性实施例中的mCherry滤波器的示例性频带的图;

[0029] 图4B是示出IRdye 800的吸收和发射波长以及被配置为检测由760nm激发光激发的发射并被并入根据本公开的手持式多光谱装置的示例性实施方式中的长通滤波器的示例性频带的图;

[0030] 图5A-5C分别示出了根据本教导的手持式多光谱成像装置的第一实施方式的侧视图、透视图和放大的端视图;

[0031] 图5D和5E示出了与图5A和5B的装置一起使用的尖端的替代实施方式;

[0032] 图6A和6B示出了图5A-5C的装置的主体的截面图和尖端的透视图;

[0033] 图7A和7B示出了根据本教导的手持式多光谱成像装置的第二实施方式的主体的截面图和可移除尖端的截面图;

[0034] 图8A和8B示出了根据本教导的手持式多光谱成像装置的第三实施方式的主体的截面图和尖端的截面图;

[0035] 图9A和9B示出了根据本教导的手持式多光谱成像装置的第四实施方式的主体的截面图和可移除尖端的截面图;

[0036] 图10是根据本教导的手持式多光谱成像装置的第五实施方式的横截面;

[0037] 图11是根据本教导的手持式多光谱成像装置的第六实施方式的横截面;

[0038] 图12A和12B是根据本教导的与手持式多光谱成像装置一起使用的无线集线器的透视图;

- [0039] 图13是根据本教导的用于术中可视化肿瘤和手术切缘的系统的透视图；
- [0040] 图14是根据本教导的与手持式多光谱成像装置一起使用的消毒系统的透视图；
- [0041] 图15示出了说明正常组织自体荧光分布的一系列照片图像和曲线图；
- [0042] 图16示出了一系列照片图像和曲线图，其示出了代表性浸润性乳腺癌乳房肿瘤切除术/乳房切除术标本中的5-ALA荧光；
- [0043] 图17示出了在乳腺癌手术期间切除的结节的WL和FL图像；
- [0044] 图18示出了乳房切除术标本的WL和FL图像；
- [0045] 图19是在ALA乳房研究期间拍摄的乳房组织的荧光图像，显示了包含5%纤维化的乳房组织；
- [0046] 图20是在ALA乳房研究期间拍摄的乳房组织的荧光图像，显示了包含40%纤维化的乳房组织；
- [0047] 图21是在ALA乳房研究期间拍摄的乳房组织的荧光图像，显示了包含80%纤维化的乳房组织；
- [0048] 图22是描述用于量化图像中的绿色荧光并使图像中的绿色荧光的量与乳房肿瘤切除术标本中的纤维化百分比关联的方法的流程图；
- [0049] 图23是描述确定用H&E染色的福尔马林固定组织样本的相对组成的方法的流程图；
- [0050] 图24是描述确定肿瘤与正常组织FL颜色对比的方法的流程图；以及
- [0051] 图25是对照组、低剂量组和高剂量组的色度图。

具体实施方式

[0052] 现有的切缘评估技术专注于切除的样本，以确定手术切缘是否包括残留的癌细胞。这些技术由于它们不能将在切除的样本上检测到的阳性切缘准确地在空间上共定位到手术床而受到限制，本公开通过直接对手术腔成像克服了这一限制。

[0053] 用于减少再切除的其他非靶向技术包括将非靶向切缘剃除与护理BCS标准相结合的研究。尽管此技术可以减少再切除的总数，但该方法包括几个潜在的缺点。例如，较大的切除术与较差的美容效果有关，并且非靶向切除额外的组织与BCS的意图相矛盾。此外，使用这种技术的最终结果似乎与最近更新的ASTRO/SSO准则相冲突，该准则将阳性切缘定义为“墨水处肿瘤”，而没有发现更宽切缘的其他益处。Moran MS, Schnitt SJ, Giuliano AE, Harris JR, Khan SA, Horton J et al., "Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer," Ann Surg Oncol. 2014.21 (3):704-716最近的回顾性研究发现，与标准BCS相比，腔剃除后的再切除没有显著差异。Pata G, Bartoli M, Bianchi A, Pasini M, Roncali S, Ragni F., "保乳手术时额外的腔剃除提高了切缘状态检查的准确性 (Additional Cavity Shaving at the Time of Breast-Conserving Surgery Enhances Accuracy of Margin Status Examination)" Ann Surg Oncol. 2016.23 (9):2802-2808。如果最终发现切缘剃除有效，可以使用FL引导的手术，通过增加靶向进行剃除的手术切缘中特定区域的能力来细化过程，从而转向非靶向方法，其不加选择地切除额外的组织，成为一

种更符合BCS意图的靶向方法。

[0054] 本申请公开了用于基于荧光的肿瘤可视化的装置、系统和方法,包括体内和离体可视化和/或评估肿瘤、多灶性疾病和手术切缘,以及术中指导以切除残留的肿瘤、卫星病灶、癌前细胞和/或手术切缘中的癌细胞。在某些实施方式中,本文公开的装置是手持式的并且被配置为至少部分地定位在手术腔内。在其他实施方式中,装置是便携式的,没有有线连接。然而,在本公开的范围内的,装置可以大于手持式装置,并且替代地可以包括手持式组件。在这样的实施方式中,可以预期的是,手持式组件可以通过有线连接连接到更大的装置外壳或系统。

[0055] 还公开了使用该装置和/或系统进行术中体内成像的方法。成像装置可以是多光谱的。还考虑到该装置可以是高光谱的。除了提供关于包含在手术切缘内的细胞类型的信息之外,公开的装置和系统还提供关于包含在手术切缘内的细胞的位置(即,解剖学背景)的信息。另外,公开了使用该装置提供用于手术切缘的术中治疗的指导的方法,例如,手术切缘切除术的基于荧光的图像指导。本文公开的装置、系统和方法可以用于包括人类和动物的受试者。

[0056] 根据本公开的一个方面,一些公开的方法将公开的装置和/或系统的使用与配置为在肿瘤/癌细胞、癌前细胞和/或卫星病灶中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物的施用相结合。例如,可以给予受试者诊断剂量(即,不是治疗剂量)的化合物(成像/造影剂),例如前药氨基乙酰丙酸(ALA)。如本领域普通技术人员所理解的,低于60mg/kg的ALA剂量通常被认为是诊断性的,而高于60mg/kg的剂量通常被认为是治疗性的。如本文所公开的,ALA的诊断剂量可以大于0mg/kg且小于60kg/mg,约10mg/kg至约50mg/kg,约20mg/kg至40mg/kg,并且可以约5mg/kg,约10mg/kg,约15kg/mg,约20mg/kg,约25mg/kg,约30mg/kg,约35mg/kg,约40mg/kg,约45mg/kg,约50mg/kg或约55mg/kg的剂量施用于受试者。ALA可以口服、静脉内、通过气雾剂、通过浸泡、通过灌洗和/或局部施用。尽管考虑了用于可视化残留的癌细胞、癌前细胞和卫星病灶的诊断剂量,但是使用公开的装置、系统和在治疗和/或切除这些细胞和/或病灶期间提供指导的方法在本公开的范围内的。在这种情况下,外科医生的首选治疗方法可能会因个别外科医生的偏好而不同。这样的治疗可以包括例如,光动力疗法(PDT)。在其中考虑PDT或其他基于光的疗法的可能性的情况下,可能期望施用更高剂量的ALA,即治疗剂量而不是诊断剂量。在这些情况下,可以向受试者开具高于约60mg/kg的ALA剂量的处方。

[0057] ALA诱导肿瘤/癌细胞中的卟啉形成(原卟啉IX (PpIX)) (图1A显示了在肿瘤细胞内ALA向PpIX的转化),当由适当的激发光激发时,其导致来自包含PpIX的细胞的红色荧光,这增强了由装置成像的肿瘤/癌组织细胞和正常组织细胞(例如,胶原蛋白)之间的红绿色荧光对比。ALA本身是非荧光的,但是PpIX在约630nm、约680nm和约710nm下是荧光的,其中630nm的发射最强。图1B示出了当被具有405nm的波长的激发光激发时PpIX的荧光发射。或者,可以使用肿瘤/癌细胞或癌前细胞与正常/健康细胞之间的内源荧光差异,而无需成像/造影剂。

[0058] 在示例性实施方式中,将配置成在肿瘤/癌细胞、癌前细胞和/或卫星病灶中诱导卟啉的非活化,非靶向化合物在手术前约15分钟至约6小时、在手术前约1小时至约5小时、在手术前约2小时至约4小时,或在手术前约2.5小时至约3.5小时施用于受试者。这些示例

性的时间框架为肿瘤/癌细胞、癌前细胞和/或卫星病灶中的ALA转化为卟啉提供了足够的时间。可以口服、静脉内、通过气雾剂、通过浸泡、通过灌洗和/或局部施用ALA或其他合适的化合物。

[0059] 在其中化合物的施用不在期望或优选的时间框架内的情况下,可能会进一步诱导PpIX(或如果未在手术前施用化合物则是第一次诱导),通过例如,通过气雾剂组合物施用化合物,即将其喷射到手术腔内中或喷射到切除的组织上(在用于检查的切片之前或之后)。另外地或替代地,该化合物可以液体形式,例如作为手术腔的灌洗来施用。另外地或替代地,对于切除的标本,如果在切除后几乎立即将其浸入液体化合物(例如,液体ALA)中,则在切除的标本中可能会诱导PpIX。切除的组织浸入得越早,则在切除的组织中诱导PpIX或其他PpIX的机会就越大。

[0060] 在手术过程中,如果可能,外科医生切除肿瘤。然后,手持式基于白光和荧光的成像装置被用于鉴定、定位和指导切除了肿瘤的手术床中的任何残留的癌细胞、癌前细胞和/或卫星病灶的治疗。该装置还可用于检查切除的肿瘤/组织标本,以确定在切除的标本的外切缘上是否存在任何肿瘤/癌细胞和/或癌前细胞。这种细胞的存在可以指示阳性切缘,由外科医生在确定是否进一步切除手术床时考虑。在切除的标本的外切缘上鉴定的任何肿瘤/癌细胞的位置可以用来鉴定手术床上的相应位置,该位置可以作为进一步切除和/或治疗的目标。这在其中手术床本身的可视化无法鉴定任何残留的肿瘤/癌细胞、癌前细胞或卫星病灶的情况下可能特别有用。

[0061] 根据本公开的一个方面,提供了一种用于可视化肿瘤/癌细胞的手持式基于白光和荧光的成像装置。基于白光和荧光的成像装置可包括主体,该主体的尺寸和形状设计成可被使用者的单手握住并由其操纵。手持式基于白光和荧光的成像装置的示例性实施方式在图5A-5C中示出。如图所示,在一些示例实施方式中,主体可以具有大体上细长的形状,并且包括配置为被保持在使用者的手中的第一端部和配置为将光引导到切除的肿瘤的外表面上的手术切缘上的第二端部,在已切除的肿瘤的一个或多个切片上,在已切除肿瘤/组织的手术腔中或在暴露的手术床上。第二端可以进一步被配置为定位在包含手术切缘的手术腔中。装置的主体可以包括适合于灭菌的一种或多种材料,使得装置的主体可以例如在高压灭菌器中进行灭菌。合适的材料的实例包括聚丙烯、聚砒、聚醚酰亚胺、聚苯砒、乙烯氯三氟乙烯、乙烯四氟乙烯、氟化乙烯丙烯、聚氯三氟乙烯、聚醚醚酮、全氟烷氧基、聚砒、聚苯砒和聚醚酰亚胺。本领域普通技术人员将熟悉其他合适的材料。装置主体内可能不能承受高压灭菌器条件的组件,例如电子装置,可以固定或以其他方式包含在用于保护的外壳中,例如金属或陶瓷外壳。

[0062] 该装置可以配置为与手术盖布或遮蔽物一起使用。例如,发明人已经发现,当在成像区域中减少环境光和人工光时,图像质量提高。这可以通过减少或消除使用中的环境和/或人工光源来实现。可备选地,可以使用盖布或遮蔽物来阻挡来自发生成像的手术部位的环境光和/或人工光的至少一部分。在一个示例性实施方式中,遮蔽物可以配置为装配在装置的第二端上并且在装置上朝向和远离手术腔移动以改变可以进入手术腔的环境光和/或人工光的量。遮蔽物可以是圆锥形或伞形的。可替代地,该装置本身可以被包裹在盖布中,并且覆盖装置的端部的透明的护套部分配置为用白光和激发光照射手术部位。

[0063] 在一些实施方式中,装置可以包括有助于盖布附接以支持装置的无菌性的配置。

例如,盖布可以在盖布中所包含的非无菌装置与手术的无菌区域之间提供无菌屏障,从而使得完全包含在无菌盖布中的非无菌装置可以在无菌环境中使用。盖布可以覆盖装置,并且还可以提供从装置的远端延伸并覆盖邻近手术腔的区域的变暗遮蔽物,以保护手术腔区域免受来自装置以外的光源的光渗透。

[0064] 盖布或遮蔽物可包括聚合物材料,例如聚乙烯、聚氨酯或其他聚合物材料。在一些实施方式中,盖布或遮蔽物可以通过保持装置偶联到装置。例如,装置可以包括一个或多个凹槽,其被配置为与盖布或遮蔽物上的一个或多个特征相互作用,以将盖布或遮蔽物保持在装置上。另外地或替代地,盖布或遮蔽物可以包括保持环或带,以将盖布或遮蔽物保持在装置上。固定环或带可包括弹性带、卡环或类似的组件。在一些实施方式中,固定环或带可适于一次性使用。

[0065] 盖布或遮蔽物还可包括覆盖装置的远端的硬光学窗口或与之耦联,以确保从装置发射的光的准确透射。窗口可以包括诸如聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)的材料或其他刚性的,光学透明的聚合物、玻璃、硅酮、石英或其他材料。

[0066] 盖布或遮蔽物可能不会影响或改变装置的激发光。在405nm或IR/NIR激发下,盖布或遮蔽物的窗口可能不会自体荧光。此外,盖布或遮蔽物的材料可能不会干扰与装置之间的无线信号传输。

[0067] 如本领域普通技术人员将理解的,可以使用被配置为减少或去除环境光和/或人工光的盖布或遮蔽物的其他变型。

[0068] 另外地或可替代地,手持式基于白光和荧光的成像装置可以包括被配置为鉴定照明条件对于成像是否令人满意的传感器。例如,装置可以包括环境光传感器,其被配置为指示何时环境照明条件足以允许荧光成像,因为该荧光成像可能仅在足够黑暗的环境中有效。环境光传感器可以在环境光水平上向临床医生提供反馈。另外,系统进入荧光成像模式之前的环境光水平可以存储在图片元数据中。光级度在事后分析期间可能很有用。在白光成像模式期间,环境光传感器在启用白光LED或控制其强度方面也可能很有用。

[0069] 装置可以进一步包括包含在装置的主体内的至少一个激发光源,该激发光源被配置为激发组织细胞的自体荧光发射和手术切缘、手术床或切除的组织标本的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射。尽管为了在组织被切除后检查手术切缘和/或床以及检查切除的组织样本的目的在本文中讨论了装置的使用,但是发明人已经想到并且在本申请的范围内的是装置可以例如,在切除原发肿瘤期间用作区分肿瘤和非癌组织的指导。另外地或替代地,本申请的装置也可以用于指导切除卫星病灶和/或肿瘤。因此,装置还可用于在外科手术过程中进行实时调整。

[0070] 如图5A-5C所示,至少一个激发光源可以位于装置的一端上、周围和/或附近。每个光源可以包括例如,被配置为发射选定波长的光的一个或多个LED。在一些示例实施方式中,可以定位被配置为发射相同波长的光的LED,使得该装置沿多个方向发光。这在手术腔内提供了更好且更一致的照明。

[0071] 激发光源可以提供单一波长的激发光,该激发光被选择来激发组织自体荧光发射,其他生物组分(如液体)的自体荧光,以及在切除的肿瘤/组织的手术切缘和/或切除了肿瘤/组织细胞的手术床的手术切缘中包含的肿瘤/癌细胞中诱导的卟啉的荧光发射。在一个实例中,激发光可具有在约350nm-约600nm,或约350nm-约450nm和约550nm-约600nm的范

围内的波长,或例如405nm或例如572nm。参见图2A和2B。激发光源可以配置为发射具有约350nm-约400nm、约400nm-约450nm、约450nm-约500nm、约500nm-约550nm、约550nm-约600nm、约600nm-约650nm、约650nm-约700nm、约700nm-约750nm、约750nm-约800nm、约800nm-约850nm、约850nm-约900nm和/或其组合的波长的激发光。

[0072] 激发光源可以配置为提供两个或多个波长的激发光。如本领域技术人员将理解的,可以出于不同目的选择激发光的波长。例如,通过改变激发光的波长,可以改变激发光穿透手术床的深度。当穿透深度随着波长的相应增加而增加时,可以使用不同波长的光来激发手术床/手术切缘表面以下的组织。在一个实例中,波长在350nm至450nm范围内,例如约405nm $\pm$ 10nm的激发光,和波长在550nm-600nm范围内,例如约572nm $\pm$ 10nm的激发光可能穿透形成手术床/手术切缘的组织至不同深度,例如分别为约500 μ m-约1mm和约2.5mm。这将允许装置的使用者,例如外科医生或病理学家,可视化在手术床/手术切缘的表面和手术床/手术切缘的下表面处的肿瘤/癌细胞。参见图3A和3B。各个激发光源可以配置为发射具有约350nm-约400nm、约400nm-约450nm、约450nm-约500nm、约500nm-约550nm、约550nm-约600nm、约600nm-约650nm、约650nm-约700nm、约700nm-约750nm、约750nm-约800nm、约800nm-约850nm、约850nm-约900nm和/或其组合的波长的激发光。

[0073] 另外地或替代地,可以使用具有在近红外/红外范围内的波长的激发光,例如,具有在约760nm至约800nm,例如约760nm $\pm$ 10nm或约780nm $\pm$ 10nm的波长的激发光。此外,要穿透组织到更深的水平,这种类型的光源的使用可以与第二种类型的成像/造影剂结合使用,例如红外(IR)染料(例如IRDye 800,吡啶菁绿(ICG))。参见图4A和4B。例如,这将使手术切缘/手术床内的血管化、血管灌注和血液汇集的可视化成为可能,并且外科医生可以使用该信息来确定残留的肿瘤/癌细胞保留在手术床中的可能性。另外,可视化血管灌注以改善重建期间的吻合的功效将是有益的。

[0074] 因此,激发光可以包括一个或多个光源,该光源被配置为发射激发光,从而引起包含诱导的卟啉的靶组织发荧光,允许装置的使用者(例如外科医生)通过其荧光的颜色鉴定靶组织(例如,肿瘤、癌细胞、卫星病灶等)。响应于用激发光的照射,额外的组织组分可能发荧光。在至少一些实施例,额外的组织组分将发出与含有诱导的卟啉的靶组织不同颜色的荧光,允许装置的使用者(例如外科医生)在靶组织和其他组织之间进行区分。例如,当激发光发射具有约405nm的波长的光时,含有诱导的卟啉的靶组织将发出亮红色的荧光。同一手术部位、切缘、床或切除的标本中的结缔组织(例如,胶原蛋白、弹性蛋白等)在被相同的激发光照射时可能围绕和/或邻近靶组织,从而发出绿色荧光。此外,在同一手术部位、切缘、床或切除的标本中的脂肪组织,当被相同的激发光照射时,可能围绕和/或邻近靶组织和/或结缔组织,将发出粉红褐色的荧光。激发光的其他波长的添加可以为使用者(例如外科医生)提供关于手术部位、切缘、手术床或切除的标本的更多信息。例如,添加被配置为发射约572nm的激发光的激发光源将以相同的颜色露出上述组织,但是在手术部位、手术切缘、手术床或切除的标本的表面以下的深度。替代地或另外地,添加另一种激发光,该激发光被配置为发射约760nm的激发光,允许使用者(例如外科医生)鉴定手术部位、手术切缘、手术床或手术标本内的血管化区域。与不包含NIR染料的周围组织相比,使用NIR染料(例如IRDye800或ICG),血管化将在近红外(NIR)波段出现荧光。例如,与深黑色背景相比,血管化可能显示亮白色、灰色或紫色。装置可能包括额外的光源,例如用于手术切缘/手术床/组织

标本/乳房肿瘤切除术标本的白光(WL)成像的白光光源。在至少一些情况下,诸如例如,在诸如乳房肿瘤切除术的BCS期间,肿瘤的切除将产生包含手术床/手术切缘的腔。WL成像可用于获得腔内部和/或手术切缘的图像或视频,并提供腔的可视化。WL成像还可用于获取手术床或切除的组织样本的图像或视频。WL图像和/或视频为使用者(例如,外科医生)提供解剖和地形参考点。在WL成像下,手术床或切除的组织为使用者(例如外科医生和/或病理学家)提供有用的信息。例如,WL图像可以指示包含脂肪(脂肪(fat))组织的组织区域(其颜色显示为黄色),结缔组织(其颜色通常显示为白色)以及血液区域(其显示鲜红色或深红色)。另外,可以在WL图像中可视化湿气、因烧灼的炭化、用显色染料染色、术中或其他外源物体(例如,标记切缘、放置的导丝)。此外,WL图像可以提供上下文以便解释相应的FL图像。例如,FL图像可以提供“解剖背景”(即,背景组织自体荧光),并且相应的WL图像可以允许使用者更好地理解FL图像中所显示的内容(例如,与切除的标本相对的手术腔的图像)。WL图像也。使使用者可以在白光照射下将FL图像中的荧光特征共定位到解剖位置。

[0075] 白光光源可以包括一个或多个白光LED。可以适当地使用其他白光光源。如本领域普通技术人员将理解的,白光光源应该是稳定和可靠的,并且在长时间使用期间不会产生过多的热量。

[0076] 装置的主体可以包括控件,以允许在白光成像和荧光成像之间转换/切换。控件还可以使各种激发光源一起或分别地,以各种组合和/或顺序地使用。控件可以循环通过各种不同的光源组合,可以顺序地控制光源,可以选通光源,或者以其他方式控制光源使用的时间和持续时间。如本领域普通技术人员将理解的,控件可以是自动的、手动的或其组合。

[0077] 装置的主体还可包含光谱滤波器,其配置为防止反射的激发光通过并允许具有与组织细胞的自体荧光发射和组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射对应的波长的发射通过。在一个示例实施方式中,可以使用mCherry滤波器,其可以允许具有与红色荧光发射(自体荧光和诱导的卟啉发射两者)和绿色自体荧光对应的波长的发射通过,其中红带捕获脂肪组织自体荧光发射和PpIX发射,且绿带捕获结缔组织自体荧光发射。如图2A-2B和3A-3B所示,绿带可允许波长为约500nm至约550nm的发射通过,且红带可允许波长为约600nm至660nm的发射通过(还可能的是红带可以在约600nm至约725nm之间延伸)。mCherry滤波器可以进一步包括频带,该频带被配置为响应于红外激发光的激发而允许发射通过,例如,具有约790nm及以上的波长的发射。参见图4A。替代地,代替mCherry滤波器,可以使用多个滤波器,其中每个滤波器被配置为允许一个或多个发射带通过。在一个实例中,可使用800nm长通滤波器来捕获具有800nm或更大的波长的发射。参见图4B。另外地或替代地,可以使用滤光轮。如本领域技术人员将理解的,可以进一步定制滤波器以允许检测其他关注的组织组分,例如流体。

[0078] 手持式基于白光和荧光的成像装置还包括成像透镜和图像传感器。成像透镜或透镜组件可以配置为将过滤后的自体荧光发射和荧光发射聚焦在图像传感器上。广角成像透镜或鱼眼成像透镜是合适的透镜的实例。广角透镜可提供180度的视野。透镜也可以提供光学放大。对于成像装置而言,非常高的分辨率(例如,微米级)是期望的,使得可以在非常小的细胞组之间进行区分。这是理想的,以实现最大化在手术期间保留的健康组织的数量,同时最大化切除基本上所有残留的癌细胞、癌前细胞、卫星病灶的潜力的目标。图像传感器被配置为检测组织细胞的过滤后的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的

荧光发射,并且图像传感器可以被调谐以准确地表示卟啉荧光和组织自体荧光的光谱颜色。图像传感器可能具有4K视频功能以及自动对焦和光学变焦功能。可以使用CCD或CMOS成像传感器。在一个实例中,可以使用与滤波器组合的CMOS传感器,即,诸如由Ximea Company出售的那些的高光谱图像传感器。示例性滤波器包括可见光滤波器

[0079] (<https://www.ximea.com/en/products/hyperspectral-cameras-based-on-usb3-xispec/mq022hg-im-sm4x4-vis>) 和IR滤波器

[0080] (<https://www.ximea.com/en/products/hyperspectral-cameras-based-on-usb3-xispec/mq022hg-im-sm5x5-nir>)。手持式装置还可以包括处理器,该处理器配置为接收检测到的发射并输出有关组织细胞的检测到的过滤后的自体荧光发射和手术切缘的组织细胞中的诱导的卟啉的荧光发射的数据。处理器可能具有无缝运行同步程序的能力(包括但不限于无线信号监视、电池监视和控制、温度监视,图像接受/压缩和按钮按下监视)。处理器与内部存储器、按钮、光学元件和无线模块接合。该处理器还具有读取模拟信号的能力。

[0081] 该装置还可以包括无线模块,并配置为完全无线操作。它可以利用高吞吐量无线信号,并具有以最小的延迟传输高清视频的能力。该装置可能同时启用了Wi-Fi和蓝牙功能-Wi-Fi用于数据传输,蓝牙用于快速连接。该装置可以利用5GHz无线传输频段操作来与其他装置分离。此外,该装置可能能够作为软接入点运行,其消除了对互联网连接的需求,并使该装置和模块与患者数据安全性相关的其他装置隔离地保持连接。

[0082] 该装置可以配置用于无线充电并且包括感应充电线圈。另外地或替代地,该装置可以包括被配置为接收充电连接的端口。

[0083] 根据本公开的一个方面,在图5A-5C中示出了根据本教导的手持式多光谱成像装置100的示例性实施方式。装置100包括具有第一端部112和第二端部114的主体110。第一端部112的尺寸和形状被设置为由装置的使用者单手握持。尽管未示出,但是当第二端部被实现为可铰接的结构时,第一端部可包括被配置为致动装置、在不同光源之间切换和/或以其他方式控制不同光源以及操纵第二端部114的控件。

[0084] 如图5A-5C所示,装置100的第二端部114可以是锥形的和/或细长的,以利于将第二端部的端部或尖端116通过大小为2-3cm的手术切口插入到手术腔中,从该手术腔中切除肿瘤或癌组织。端部或尖端116包括围绕端部的周长或圆周和/或在装置100的端面118上的光源。端面118包括例如,广角透镜162。在一个示例性实施方式中,包括白光LED 122的第一白光光源120位于装置的尖端116和端面118上。包括例如LED 126形式的405nm激发光源的第二光源124也位于装置100的尖端116和端面118上。在一些实施方式中,LED 122和126可以交替的图案布置。在另一示例性实施方式中,在图5D中示出的,包括例如LED 130形式的575nm激发光源的第三光源128也位于尖端116和端面118上。在又一替代实施方式中,如图5E所示,包括配置为发射760nm激发光的LED 134的红外光源132形式的第四光源位于装置100的尖端116和端面118上。如本领域普通技术人员将理解的,可以变化的组合来提供这些各种光源,而不需要提供所有的光源。在一个示例性实施方式中,装置的尖端部分116是可拆卸的并且被配置为可与其他尖端互换。在这样的实施方式中,图5C-5E中所示的尖端可构成可在单个装置上可互换的不同尖端。本公开还考虑了包括光源和滤波器的其他组合的另外的尖端。示例性的尖端可能包括光源和滤波器的以下组合:405nm光和mCherry滤波器;无

滤波器的白光;IR/NIR光和800nm长通滤波器;IR/NIR光和mCherry滤波器;405nm光、IR/NIR光和mCherry滤波器;572nm光和mCherry滤波器;405nm光,572nm光和mCherry滤波器;405nm光,572nm光、IR/NIR光和mCherry滤波器;和572nm光、IR/NIR光和mCherry滤波器。使用可互换的尖端消除了必须在滤波器之间切换的设计挑战。如本领域普通技术人员将理解的,可以基于本公开创建其他组合。

[0085] 在其中尖端116是可移除和可更换的装置100的实施方式中,设想可以出售包含替换尖端的试剂盒。这样的试剂盒可以与装置本身结合提供,或者可以包括一种或多种与试剂盒中包含的尖端上包括的光源类型一起使用的化合物或染料。例如,具有405nm光源尖端的试剂盒可能包含ALA,而具有405nm光源和760nm光源尖端的试剂盒可能同时包含ALA和IRdye 800和/或ICG。光源和化合物的其他组合对于本领域普通技术人员将是显而易见的。

[0086] 图6A和6B示出了图5A-5C的实施方式的装置以及装置600的尖端616和端面618的截面图。端面618包括例如,广角透镜662。如图6A所示,装置600包括装置主体或外壳610,其包含感应充电线圈640、电子板642、用于为各种光源和电子板供电的电池644、用于将电子板642连接到相机模块/图像传感器648的电连接(多个)646和可能存在于附接到装置主体的尖端中的光源120、124、128和132中的任何一个。光源被光学透明窗口650覆盖。还为光源提供了散热器654。光谱滤波器/成像滤波器652位于相机模块/图像传感器648的前面。滤波器652可以是机械或手动可移动的。

[0087] 在一些实施方式中,该装置可以包括偏振滤波器。偏振特征可以是光谱滤波器或者并入光谱滤波器的分离器滤波器的一部分。光谱滤波器/成像滤波器可以是偏振滤波器,例如与光波片组合的线性或圆形偏振滤波器。这可以防止具有最小的镜面反射的组织成像(例如,来自白光成像的眩光),以及可以成像结缔组织(例如,胶原蛋白和弹性蛋白)中的荧光偏振和/或各向异性依赖性变化。另外,偏振滤波器可以允许使用者更好地可视化不同荧光颜色之间的对比度,并因此更好地可视化不同组织组分之间的边界(例如,结缔组织对比脂肪组织对比肿瘤)。换句话说,偏振滤波器可以用于FL成像下更好的边界定义。偏振滤波器还可以改善用于WL和FL图像的组织组分之间的图像对比度。

[0088] 图7A和7B示出了装置及其尖端部分、装置700和端面718的第二替代实施方式的主体的截面图。端面718包括例如,广角透镜762。如图7A所示,装置700包括装置主体或外壳710,其包含感应充电线圈740或充电端口(未示出)、电子板742、用于为各种光源供电的电池744、用于将电子板742连接到相机模块/图像传感器748的电连接(多个)746和可能存在于附接到装置主体的尖端中的光源120、124、128和132中的任何一个。光源被一个或多个光学透明窗口750覆盖。位于相机模块/图像传感器748前面的是可移除的光谱滤波器/成像滤波器752,其形成可移除的尖端部分的一部分,使得它可与上述尖端116互换。每个尖端包括单独的光源720、724、728和732,并且关联的滤波器752a、752b、752c、752d配置为防止反射的激发光通过(基于尖端上包含的光源),并允许响应于与特定尖端关联的特定激发光波长的发射的通过。另外,为主体710的尖端中的每个LED提供散热器754。主体710的尖端进一步包括电触点756a,其被配置为接触装置700的主体710上的对应电触点756b。还可以想到,在某些情况下,每个尖端上仅包括单个光源,并且在这种情况下,尖端可以不包括滤波器。

[0089] 图8A和8B示出了装置及其尖端部分、装置800和端面818的第三替代实施方式的主体的截面图。如图8A所示,装置800包括装置主体或外壳810,其包含感应充电线圈840或充

电端口(未示出)、电子板842、用于为各种光源供电的电池844、用于将电子板842连接到相机模块/图像传感器848的电连接(多个)846。代替围绕外壳810的外围和/或在装置800的尖端的端部上提供,光源包含在装置800的外壳810内。在该实施方式中,每个光源可以利用单个LED 120'、124'、128'和/或132'。每个光源都与散热器关联。另外,每个光源与相应的光导管860相关联,以将来自光源的光传送到装置800的端面818。该装置的尖端包括光学透明窗口850、广角透镜862、内部光导管环864a和外部光导管环864b。实心光导管将如下连接到环:环的一半(例如,左半部分)将连接到实心部件,使得另一个较小的光导管环可以同心地安装在内部。例如,该另一光导管的实心端将连接到内环的右半部分。每个环的整体将均匀地投射光,但是光将基本上以足够的扩散被传递到环的一部分,使得环均匀地发射。可以通过添加更多同心环来修改此设计以用于另外的光源(在该模型中,每个光导管仅传输来自一个光源的光)。光谱滤波器/成像滤波器852位于相机模块/图像传感器848的前面,其形成主体810的尖端部分的一部分。滤波器852可以是机械或手动可移动的。

[0090] 图9A和9B示出了装置及其尖端部分、装置900和端面918的第四替代实施方式的主体的截面图。如图9A所示,装置900包括装置主体或外壳910,其包含感应充电线圈940或充电端口(未示出)、电子板942、用于为各种光源供电的电池944、用于将电子板942连接到相机模块/图像传感器948的电连接(多个)946。代替围绕外壳910的外围和/或在装置900的尖端的端部上提供,光源包含在装置900的外壳910内。在该实施方式中,每个光源可以利用多个LED 122、126、130、134。用于每个光源的LED布置成与存在的每个其他光源的LED相邻,以形成代表存在的所有光源的一组LED。为每个LED提供散热器954。每组LED与各自的光导管960相关联,以将来自光源的光传送到装置900的尖端。装置的尖端包括光学透明窗口950、广角透镜962和每个光导管的远端,例如端部964a、964b、964c和964d。光谱滤波器/成像滤波器952位于相机模块/图像传感器948的前面,其形成主体910的尖端部分的一部分。滤波器952可以是机械或手动可移动的。

[0091] 图10示出了装置及其尖端部分、装置1000和端面1018的第五替代实施方式的主体的截面图。如图10所示,装置1000包括装置主体或外壳1010,其包含广角透镜1062、感应充电线圈1040或充电端口(未示出)、电子板1042、用于为各种光源供电的电池1044、用于将电子板1042连接到相机模块/图像传感器1048的电连接(多个)1046和可能存在于附接到装置主体的尖端中的光源120、124、128和132中的任何一个。光源被光学透明窗口1050覆盖。另外,在主体1010的尖端中为每个LED提供散热器1054。在该实施方式中,相机模块/图像传感器1048与装置1000的尖端间隔开。图像保存纤维1070位于相机模块/图像传感器1048的前面并且在相机模块/图像传感器1048和光谱滤波器/成像滤波器1052之间。图像保存纤维1070用于将来自装置远端的发射光传送到掩埋在形成图像的内部的照相机。滤波器1052可以是机械或手动可移动的。

[0092] 图11示出了装置及其尖端部分、装置1100和端面1118的第六替代实施方式的主体的截面图。如图11所示,装置1100包括装置主体或外壳1110,其包含感应充电线圈1140或充电端口(未示出)、电子板1142、用于为各种光源供电的电池1144、用于将电子板1142连接到两个相机模块/图像传感器1148a和1148b的电连接(多个)1146以及可能存在于装置的主体上的尖端中的光源120、124、128和132中的任何一个。每个光源与散热器1154相关联。光源被光学透明窗口1150覆盖。类似于图10的实施方式,该第六实施方式利用了光导/图像保存

纤维1170。如图所示,光导/图像保存纤维1170从广角成像透镜1162延伸到分束器1172。第一相机模块/图像传感器1148a在分束器1172的与光导1170相反的一侧上,并且与分束器直接相邻。在分束器1170的第二侧上,在第一相机模块/图像传感器1148a和光导1170之间,光谱滤波器/成像滤波器1152被定位直接邻近分束器1172。第二相机模块/图像传感器1148b与光谱滤波器/成像滤波器1152相邻并且通过光谱滤波器/成像滤波器1152与分束器1172间隔开。定位在第二相机模块/图像传感器1148b的前面的光谱滤波器/成像滤波器1152被配置为响应于激发光源而允许荧光发射通过。滤波器1152可以是机械或手动可移动的。

[0093] 该实施方式允许容易地在荧光(具有滤波器)和白光(无滤波器)成像之间转换。另外,两个传感器可以同时捕获完全相同的视场的图像,并且可以在显示器上并排显示。可以同时使用两个图像传感器进行3D立体成像,并且移除第二传感器中的滤波器,使得可以提供手术腔的3D表达。另外,其他功能(例如单色和全彩色成像)也可以实现,并且移除第二传感器中的滤波器。可将黑白图像和全彩色图像组合,益处是当与全彩色图像组合时,单色传感器提供增强型细节。

[0094] 在上述每个实施方式中,相机模块/图像传感器可与装置处理器上包含的相机固件相关联。处理器并入到装置的电子板中,就像上述无线模块一样。相机固件从成像传感器收集数据,根据需要执行无损数据压缩和重新采样,打包适合于软访问点定义的传输协议的图像和视频数据,时间戳数据包用于在适用时与音频注释数据同步,和实时传输要由无线集线器接收的数据。

[0095] 手持式多光谱成像装置配置为与无线集线器1200可操作地偶联。如图11A所示,无线集线器1200配置为从装置100接收数据并且经由有线连接将数据发送到可定位以供装置的操作者或附近的其他人观看的显示装置1280。无线集线器1200包括用于存储图像和音频的存储器。无线集线器可以包括麦克风,用于在装置100的使用期间记录音频并且给音频加时间戳以用于稍后与由装置发送的图像/视频数据同步。无线集线器1200包括固件,固件配置为实时地从相机模块接收数据、解压缩图像和视频数据、根据需要对数据进行预处理(去噪音、平滑)、基于时间戳信息同步音频和视频以及为有线传输到显示器准备数据。还可以想到的是,当装置本身不是无线的时,集线器可以有有线连接到装置和/或形成装置的电路的一部分。另外,在手术室中完成外科手术之后,无线集线器1200可被插入运行编目和分析软件的计算机1290中,以导入图像/视频(参见图12B)。

[0096] 显示器1280可以是可在手术室或实验室中使用的任何显示器。显示器1280包括固件,该固件被配置为通过有线连接将图像、视频和音频数据传输到外部显示器,通过图像捕获指示实时显示视频数据,显示来自不同光源并排上频率指令的图像,并与外部增强现实和虚拟现实系统集成以根据使用者喜好准备/调整显示设置。

[0097] 手持式多光谱成像装置100、无线集线器1200和显示器1280一起构成系统1300,该系统1300配置为允许术中可视化肿瘤和手术切缘。该系统也可以包括其他组件。例如,如图13所示,配置为允许术中可视化肿瘤和手术切缘的系统1300可以包括手持式多光谱成像装置100、无线集线器1200、显示器1280、无线充电底座1285和高压灭菌器容器1291。尽管未图示,但是该系统可以进一步包括配置为在肿瘤/癌组织细胞中诱导卟啉的非活化、非靶向化合物。

[0098] 如图14所示,高压灭菌器容器1291可以设置为与装置100一起使用的灭菌系统的

一部分。图14示出了圆柱形高压灭菌器容器1291,尽管可以设想其他形状的容器。容器1291可以具有底座1292,该底座1292配置为接收并支撑装置100的底座。如上所述,装置100的底座可以包括用于无线充电的感应充电线圈。容器的底座1292可配置为装配在无线充电底座1285内,并允许装置100的无线充电,同时将装置100保持在无菌、随时可用的状态。例如,容器可以形成透明套管,使得可以在不打开套管的情况下看到装置100和指示剂带,从而损害无菌性。在一个实例中,装置100用于成像,然后对其表面进行消毒,并将其放入带有高压灭菌器指示剂带的高压灭菌器箱中。将带有装置100的箱放在高压灭菌器中并进行消毒,然后将箱从高压灭菌器中取出并密封,放置在它坐落的充电底座1285上直到准备下一次手术。这种集成的灭菌和充电过程将确保在全球医院环境中均符合生物安全要求。

[0099] 根据本教导,现在将描述使用装置100的示例性方法。在手术之前,为患者开具诊断剂量的非活化、非靶向化合物,该化合物配置为诱导肿瘤/癌组织细胞中的卟啉,例如ALA。该剂量可以包括例如约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg或约55mg/kg。还如上所述,可以给予大于约60mg/kg的剂量。向患者提供在手术前约15分钟至约6小时、手术前约1至约5小时或手术前约2至约4小时服用该化合物的指导。如果患者不能口服该化合物,则可以静脉内施用。另外地或替代地,如先前所讨论的,可以在手术期间以气雾剂或灌洗的方式施用化合物。

[0100] 前药氨基乙酰丙酸(ALA)通过图1所示的过程诱导肿瘤/癌组织细胞中的卟啉形成。合适的ALA制剂的一个实例是以商品名Gliolan(氨基乙酰丙酸盐酸盐)商购的,由Photonamic GmbH and Co.制造的。该化合物通常被称为5-ALA。ALA的另一个示例性来源是Dusa Pharmaceuticals Inc.制造的Levulan[®] Kerastick[®]。如上所述,使用诊断剂量的ALA或5-ALA可能诱导肿瘤/癌组织细胞中的PpIX形成,因此可能会增加红色荧光发射,其可以增强使用该装置成像的肿瘤/癌组织细胞与健康组织之间的红绿色荧光对比度。

[0101] 在一个实例中,将口服5-ALA溶解于水中并由研究护士在手术前2-4小时之间以15或30mg/kg的5-ALA的剂量施用给患者。在本文所述的临床试验中使用的PRODIGI装置还描述在标题为“用于伤口成像和监视的装置和方法(Device and method for wound imaging and monitoring)”的美国专利号9,042,967中,该专利通过引用其全部内容并入本文。

[0102] 施用5-ALA或类似化合物后约2-4小时,手术开始。在本申请中,相对于BCS描述了外科手术过程。然而,本申请的范围不限于此,并且适用于针对所有类型的癌症的手术和病理分析,包括例如乳腺癌、脑癌、结肠直肠癌、鳞状细胞癌、皮肤癌、前列腺癌、黑素瘤、甲状腺癌、卵巢癌、癌性淋巴结、宫颈癌、肺癌、胰腺癌、头颈癌或食道癌。另外,本文公开的方法和系统可以用于除人类以外的动物的癌症,例如犬科动物或猫科动物。方法和系统可适用于例如,肥大细胞瘤、黑素瘤、鳞状细胞癌、基底细胞瘤、皮肤腺瘤、毛囊肿瘤、趋上皮淋巴瘤、间叶性肿瘤、良性成纤维细胞瘤、血管肿瘤、脂肪瘤、脂肪肉瘤、皮肤的淋巴瘤、皮脂腺肿瘤以及犬科和猫科动物软组织肉瘤。

[0103] 外科医生从定位肿瘤开始,然后切除肿瘤。如上所述,外科医生可以使用成像装置来定位肿瘤,尤其是在其中肿瘤包括许多肿瘤结节的情况下。另外,外科医生还可以在切除肿瘤的过程中使用成像装置以观察正在进行切除时的切缘(以与下面描述的方式基本相同的方式)。在外科医生切除肿瘤/癌组织之后,将装置100的远端114,包括至少尖端116和端

面118,通过手术切口插入已经切除了肿瘤/癌组织的手术腔中。外科医生操作握在外科医生手中的装置近端部分上的控件,以驱动白光光源并启动手术腔和手术床的白光成像(WL成像)。在WL成像期间,光谱滤波器未接合,从手术腔表面反射的光穿过广角成像透镜,并聚焦在装置100的主体110中的相机模块/图像传感器上。电子板上的处理器和/或其他电路将图像数据(或视频数据)传输到无线集线器1200,其中数据被存储和/或预处理并传输到显示器1280。外科医生/装置操作员可以根据需要在手术腔中向周围移动装置的尖端以对整个腔成像(或根据外科医生的意愿对尽可能多的腔进行成像)。在一些实施方式中,装置的远端部分可以是可铰接的,并且被控制为铰接远端部分,从而根据需要改变腔中白光入射的角度和方向以使整个腔成像。如本领域普通技术人员将理解的,可以通过各种方式实现远端部分的铰接。例如,远端可以是可手动铰接的,或者它可以通过机械、机电或其他手段来铰接。

[0104] 在WL成像之后,外科医生/装置操作员切换开关或以其他方式使用控件来关闭白光光源并驱动装置100上的一个或多个激发光源。激发光源(多个)可以单独、成组或同时接合。激发光源(多个)可以顺序地,以定时的方式或根据预定图案接合。当驱动激发光源(多个)时,将激发光引导到手术腔的手术床上,激发来自组织的自体荧光发射和来自位于手术切缘的肿瘤/癌组织细胞中的诱导卟啉的荧光发射。装置100的端面118上的成像镜头会聚焦发射,并且属于光谱滤波器允许通过的波长范围内的那些发射通过滤波器,以被装置主体110中的相机模块/图像传感器接收。电子板上的处理器和/或其他电路将图像数据(或视频数据)传输到无线集线器1200,其中数据存储和/或预处理并传输到显示器1280。因此,当手术腔被激发光照射时,外科医生可以在显示器上实时观察捕获的荧光图像。由于基本上同时激发和检测荧光发射,因此这是可能的。当外科医生观察荧光图像时,可以命令在显示器上并排显示相同位置的白光图像。以这种方式,外科医生有可能获得关于所观察的手术腔/手术床或切缘的位置/部分的背景信息。这使外科医生能够鉴定出腔/切缘中任何红色荧光的位置,这可能归因于腔/切缘中残留的癌细胞。除了红色荧光,FL成像还可以捕获代表结缔组织如胶原蛋白的绿色荧光。在某些情况下,在乳房中形成非常密集的结缔组织的自体荧光发射将发出明亮的绿色荧光。这使外科医生能够鉴定出密集的结缔组织区域,与可能代表脉管系统/血管化的深色区域(由于光吸收而变暗)区分开,因为更高血管化的组织可能潜在地表示与癌细胞相关的血管化。另外,通过结合任何红色荧光观察结缔组织的自体荧光,给外科医生提供有关可能代表残留癌细胞的红色荧光位置的背景信息。该背景信息可用于告知外科医生有关进一步治疗和/或切除手术床/手术切缘的决定以及有关重建程序的决定。

[0105] 与WL成像一样,在FL成像过程中,外科医生/装置操作员可以根据需要在手术腔中向周围移动装置的尖端,以成像整个腔(或根据外科医生的意愿对尽可能多的腔进行成像)。在一些实施方式中,装置的远端部分可以是可铰接的,并且被控制为铰接远端部分,从而根据需要改变腔中白光入射的角度和方向以使整个腔成像。如本领域普通技术人员将理解的,可以通过各种方式实现远端部分的铰接。例如,远端可以是可手动铰接的,或者它可以通过机械、机电或其他手段来铰接。

[0106] 尽管以在FL成像之前进行WL成像描述该过程,但可以在不进行WL成像的情况下逆向该过程和/或进行FL成像。

[0107] 除了查看手术腔的手术切缘之外,公开的手持式多光谱成像装置还可用于观察在手术过程期间可能暴露的淋巴结。通过在从受试者体内取出之前观察淋巴结,可以使用装置100观察到来自淋巴结内含有诱导的卟啉的细胞的红色荧光发射。这样的观察结果指示肿瘤/癌细胞已经转移,表明应切除淋巴结,并且可能需要额外的治疗。以这种方式使用成像装置允许该装置充当分期工具,验证癌症的阶段和/或根据由淋巴结中诱导的卟啉引起的红色荧光发射的存在或不存在来分期癌症。这样的过程还可以用于已经从受试者切除的淋巴结上,以确定在切除的淋巴结内是否包含肿瘤/癌细胞。独立于在体内、离体或在体外所使用的过程,获得的信息均可而用于告知外科医生有关进一步治疗和/或干预的决定。图17示出了在乳腺癌手术期间切除的结节的WL和FL图像。在图17中,切除的淋巴结的WL(顶部)和FL(底部)图像:a)在3名高剂量ALA患者的肿瘤阳性前哨淋巴结中检测到PpIX FL(左图:非常明显;中/右图:严重隐匿);b)分别显示正常结缔组织和脂肪组织的特征绿色和粉红色FL信号的来自5-ALA患者的肿瘤阴性淋巴结。比例尺=0.5cm。

[0108] 除了查看手术腔和淋巴结之外,对切除的肿瘤成像也有价值。可以对肿瘤的外表面(手术切缘)成像,期待鉴定癌细胞、癌前细胞和卫星病灶。切片后,也可以用成像装置查看切除的组织。图18示出了在乳腺癌手术期间切除的乳房切除术标本的WL和FL图像。在图18中,示出了来自施用30mg/kg 5-ALA的患者的(a)完整和(b)连续切片的乳房切除术标本的WL(左)和FL(右)图像。蓝线划定了明显的肿瘤边界。

[0109] 根据本公开的另一方面,可以预期的是,检测到的诱导卟啉的强度可以用作确定PDT的最佳时间框架的指导。例如,可以监视卟啉发射的荧光强度并确定它们何时处于峰值,并在该时间进行PDT以获取最佳结果。

[0110] 在标准WL下,区分乳房脂肪和结缔组织区域具有挑战性。FL成像揭示了经组织学验证的脂肪和结缔组织的一致的自体荧光(AF)特性,在405nm激发下分别显示为浅粉红色和亮绿色。当与5-ALA红色FL结合时,正常组织AF和PpIX的不同发射光谱在视觉上很容易区分(参见图15和16)。胶原蛋白和弹性蛋白是乳房结缔组织的主要组分,以其AF性能而闻名,并证实实在405nm下激发时在可见光谱的绿色(490-530nm)范围内发射。405nm激发LED和双波段发射滤波器(500-545nm和600-660nm)适用于使用5-ALA的乳腺肿瘤成像,因为它们提供了由红色PpIX和绿色结缔组织FL构成的合成图像,和脂肪组织的宽的绿色至红色FL(显示为粉红色)。尽管仅次于将癌组织与正常组织区分开来的主要目标,但脂肪和结缔组织的空间定位在残留癌的外科手术切除过程中提供了具有解剖学背景的图像指导,从而保留了健康组织以保持美容效果。

[0111] 使用蓝光照明的AF乳腺导管镜检查可以在光谱上区分健康的导管腔组织AF(亮绿色)和浸润性乳腺肿瘤组织。临床医生的影像数据表明,在健康的乳腺组织区域中的亮绿色AF。此外,使用5-ALA的临床表现表明,正面FL成像和内窥镜FL成像在临床上都是可行的。

[0112] 在一项临床试验期间,肿瘤AF强度和分布是异质的。定性地,与周围正常乳腺组织相比,强度范围从视觉上更亮、更暗或低对比度。此外,在标定的肿瘤以及正常组织区域中,标本中呈斑驳状的绿色荧光很常见,这可能是由于散布的结缔组织所致。内源性肿瘤房颤在不同的患者切除标本之间不一致,因此不是可靠的内在FL生物标志物,用于肉眼识别手术性乳腺肿瘤标本中的肿瘤(即,与周围的正常组织相比,并非所有肿瘤都更亮)。

[0113] 总体而言,肿瘤AF信号的差异可能代表每种肿瘤和周围正常区域的组成的差异。

较亮的肿瘤可能含有更多的纤维结缔组织,因此有特征性的亮绿色AF信号。然而,在其中健康的周围组织也具有致密结缔组织的高纤维的情况下,肿瘤和正常AF信号相似并且不能彼此区分,导致肿瘤相对于正常组织的低对比度。

[0114] 已知血液会增加405nm光的吸收,导致减少的发射。在成像前将完整的标本用盐水冲洗,以切除表面血液,然而,一旦进行面包块处理(bread-loafed),肿瘤血管中的血液可能影响肿瘤切片的AF强度。因此,更暗的肿瘤可能具有较低的结缔组织含量和较高的血管供应。

[0115] 在接受5-ALA的患者中,正常结缔组织和脂肪组织区域中的PpIX FL相对于肿瘤组织较低。虽然在较高的5-ALA组中用于检测肿瘤的诊断措施没有显著改善,但是发明人确实看到相对于较低的5-ALA组,肿瘤PpIX的中值浓度增加。

[0116] 发明人发现当被405nm的光激发时,结缔组织(胶原蛋白)的特征在于绿色AF(525nm峰值)。因此,还具有高度纤维化的坏死区域特征在于绿色AF。另外,在与肿瘤相关的脉管系统的内膜和外膜层中发现的胶原蛋白和弹性蛋白表现出亮绿色AF。位于健康组织和肿瘤组织中的脂肪细胞中均观察到500nm至600nm的宽AF发射。这可能是由于脂肪颜料的宽发射光谱。在使用成像装置的替代实施方式的宏观成像下,脂肪细胞的宽500-600nm FL发射特征在光谱和视觉上与肿瘤局部PpIX的窄红色(635nm峰值)FL发射特征不同。因此,含有PpIX的肿瘤细胞可与脂肪乳腺组织的背景区分开。

[0117] 使用405nm(例如+/-5nm)激发并在600-750nm之间检测ALA诱导的卟啉FL的多光谱或多频带荧光图像可用于区分结缔组织、脂肪组织、肌肉、骨骼、血液、神经、患病、癌前和癌组织。

[0118] 装置和方法可用于在切除的标本(乳房肿瘤切除术、乳房切除术、淋巴结)和/或手术腔的表面处或表面正下方可视化微观和宏观肿瘤灶(从细胞集合到毫米大小或更大的病变),并且这可能导致:

[0119] 在健康或发炎或血腥组织的背景下更好地可视化肿瘤灶/病变;

[0120] 与传统方法相比,使用FL成像可以更快地检测出微观肿瘤灶/病变;

[0121] 来自FL图像/视频的实时视觉指导,供临床医生在手术期间切除FL肿瘤灶/病变;

[0122] 在FL成像后确认更彻底的肿瘤切除(卟啉FL减少或其在FL指导的手术后不存在可能表明更多(或全部)肿瘤已被切除;

[0123] FL图像可用于实时对可疑的恶变前或恶性组织的靶活检

[0124] FL成像还可在手术期间鉴定淋巴组织(包括淋巴结)的宏观和微观肿瘤灶/病变;

[0125] PpIX红色荧光区域表示淋巴结中的肿瘤负荷程度;

[0126] 在手术过程中或手术后检测表面下的肿瘤病变;

[0127] 根据卟啉FL强度和颜色区分低、中和高有丝分裂指数肿瘤病变;

[0128] 具有音频注释的FL图像和视频,以记录肿瘤切除的完整性;

[0129] 可与病理报告相关,并用于计划再次切除、重建手术;

[0130] FL图像/视频可用于计划在乳腺癌或其他类型的癌症中进行局部X射线辐射治疗或近距离放射治疗种子治疗的植入;

[0131] 通过检测微观的残留肿瘤灶/病变来改善切缘评估;和

[0132] 结缔组织FL绿色、恶变前和恶性组织(红色)。

[0133] FL成像可与FL点光谱、拉曼光谱和成像、质谱测量、高光谱成像、组织病理学、MRI、CT、超声、光声成像、太赫兹成像、红外FL成像、OCT成像、偏振光成像、飞行时间成像、生物发光成像、为了检测患病组织、诊断所述病变组织、确认健康组织的存在、指导手术(或放射或化学疗法或癌症患者情况下的细胞疗法)的目的用于检查离体组织和/或手术腔的FL显微镜结合使用。

[0134] 预测值和图像数据的使用

[0135] 除了鉴定癌细胞或癌前细胞的能力之外,通过使用本文公开的装置和方法收集的图像数据可以用于多种目的。

[0136] 纤维化

[0137] 根据本公开的一个方面,使用本文公开的装置和方法收集的图像数据可用于纤维化的鉴定。纤维化是指乳房结缔组织密度增厚或增加。纤维乳房组织包括韧带、支持组织(基质)和瘢痕组织。乳房纤维化是由荷尔蒙波动引起的,特别是在雌激素水平方面,并且在月经周期开始之前可能更为严重。有时这些纤维组织比乳房区域的脂肪组织更突出,可能导致坚硬或橡胶状肿块。乳房手术或放射治疗后也可能发生纤维化。乳房对这些事件的反应是发炎、渗漏蛋白质、清理死去的乳腺细胞并铺设额外的纤维组织。纤维组织随着年龄的增长而变薄,更年期后纤维囊性变消退。

[0138] 在乳房ALA研究中使用PRODIGI相机收集的荧光RGB图像中,乳房中的结缔组织显示为绿色荧光。这是可以预期的,因为这反映了当用405nm光激发时胶原蛋白发射的波长,并且胶原蛋白是结缔组织的主要组分。因此,通过表征和量化图像中的绿色自体荧光,可以进行与结缔组织纤维化的关联。

[0139] 图19是在ALA乳房研究期间在患者的治疗期间拍摄的第一示例性图像。参与研究的临床医生报告,纤维化的百分之五(5%)的量,其对应于图19所示的乳房肿瘤切除术标本中发现的纤维化的百分比。如图19中可见,可见的绿色荧光的量大约与图像中的组织的约5%有关。

[0140] 图20是在ALA乳房研究期间在患者的治疗期间拍摄的第二示例性图像。参与研究的临床医生报告,纤维化的百分之四十(40%)的量,其对应于图20所示的乳房肿瘤切除术标本中发现的纤维化的百分比。如图20中可见,可见的绿色荧光的量大约与图像中的组织的约40%有关。

[0141] 图21是在ALA乳房研究期间在患者的治疗期间拍摄的第二示例性图像。参与研究的临床医生报告,纤维化的百分之八十(80%)的量,其对应于图21所示的乳房肿瘤切除术标本中发现的纤维化的百分比。如图21中可见,在荧光图像中视觉可见的绿色荧光的量大约与图像中的组织的约80%相关。

[0142] 基于在乳房肿瘤切除术标本的临床医生检查与成像的组织中的绿色荧光之间的上述观察到的相关性,可以利用乳腺组织的此类图像来预测组织中的纤维化的量。图22中的流程图描述了用于量化图像中的绿色荧光并使图像中的绿色荧光的量与乳房肿瘤切除术标本中的纤维化百分比关联的方法。定制/专有程序在MATLAB上运行。该方法包括确定图像中绿色自体荧光的百分比、绿色自体荧光的密度以及图像中的平均绿色通道强度以预测纤维化的百分比,如下文进一步讨论的。可以使用在根据本公开的手持式成像装置上运行的软件来进行该方法,或者替代地,可以在稍后的时间在与成像装置分开的装置上进行。

[0143] 根据本教导,输入关注的RGB图像。接下来,如蓝色所示,该软件将RGB图像转换为HSV格式(色调、饱和度和值)。还预期可以使用其他色彩空间,例如CMYK和HSL。本领域技术人员将理解,其他色彩空间也是可能的。如进一步讨论的,HSV格式可用于确定图像中绿色自体荧光的百分比和绿色自体荧光的密度。然后将色调、饱和度和值通道与HSV图像分开。色调通道中的所有值都乘以360,以获得0度至360度的色调径向值。在RGB图像上,可以使用MATLAB中的徒手绘制工具来鉴定关注区域(ROI)。使用者可以绘制关注的区域,该区域覆盖了图像中的整个标本切片减去背景和相邻切片。然后,软件可以创建关注区域的二进制掩码。接下来,软件可以通过使用图像中的标尺标签来校准该图像中每个像素的绝对面积,以 mm^2 为单位来计算关注区域的面积,以确定整个切片的面积。然后,该软件可以通过对色调值($70 < \text{色调} < 170$)进行阈值化来定位所有具有自体荧光绿色的像素,该色调值在自体荧光结缔组织中观察到的色调范围内。

[0144] 接下来,如图22中的黄色所示,软件可以计算图像中具有阈值色调的像素的数量,并计算检测到的绿色像素的以 mm^2 为单位的面积,以便确定绿色荧光的面积。然后,该软件可以通过计算绿色荧光的面积与整个切片的面积之比来计算绿色面积与标本切片总面积的比。该比提供绿色自体荧光的百分比,其对应于样品中像素的数量,并且可用于确定样品中纤维化的百分比。

[0145] 如图22中的粉红色所示,系统还可以计算所定义的关注区域的每 mm^2 内的绿色像素的数量(色调阈值)。然后,系统可以计算整个关注区域上每单位面积绿色像素的平均值,以获得绿色自体荧光的密度。绿色自体荧光的密度对应于样品中绿色像素的密度,并且可用于确定样品中纤维化的百分比。

[0146] 可替代地,代替使用HSV,如图22中的绿色所示,输入的RGB荧光图像可以分离成其对应的红色、绿色和蓝色通道。然后,软件可以使用关注区域的二进制掩码来定义图像绿色通道中的ROI。接下来,软件可以绘制绿色通道关注区域的强度直方图,并计算绿色通道关注区域的平均强度分布,以便确定平均绿色通道强度。然后,软件可以重复该最后一步,以仅在阈值被确定为绿色自体荧光的像素位置计算绿色通道的平均强度分布,以便确定绿色自体荧光的平均绿色通道强度。绿色自体荧光的平均绿色通道强度可对应于样本中绿色像素的强度,并可用于确定样本中纤维化的百分比。

[0147] 如图22中的灰色所示,软件可以将绿色自体荧光的百分比、绿色自体荧光的密度以及绿色自体荧光的平均绿色通道强度与临床医生评估的标本中的纤维化的百分比相关联。这些可用于预测和确定患者纤维化的百分比,以为患者提供适当的诊断。例如,纤维化百分比较高的女性在BCS后的美容效果可能较差。

[0148] 除纤维化外,还可以基于图像中的颜色做出有关图像中的组织组成或其他类型组织百分比的预测性确定。

[0149] 颜色

[0150] 装置收集的图像显示为复合彩色图像。当以荧光模式进行成像(405nm照明并捕获500-550nm和600-660nm范围内的发射光)时,合成图像包含由绿光(500-550nm)和红光(600-660nm)或其组合的发射产生的颜色光谱。从靶标发射的光的波长(对应于颜色)是特定荧光分子的存在的结果。例如,存在于肿瘤中的PpIX(5-ALA代谢产物)呈现红色荧光,而胶原蛋白是正常结缔组织的组分呈现绿色荧光。当组织中存在不同荧光分子的混合物时,

合成图像中的所得颜色归因于不同发射波长的组合。存在于靶组织中的每种类型的荧光分子的浓度/密度和内在荧光性质(某些荧光分子具有较强的内在荧光强度)将影响所得荧光颜色。

[0151] 颜色可用于帮助对收集的图像中包含的不同类型的组织分类。

[0152] 组织分类

[0153] 荧光颜色的分析(包括诸如色调、亮度、饱和度的特征)可以提供有关靶组织中不同组织(多个)的类型和相对数量的信息(即,肿瘤与结缔组织占靶组织的比例)。鉴于具有类似色调的组织可以通过亮度差异在视觉上(以及通过图像分析)进行区分,因此亮度特别适用于解释荧光图像。例如,在乳腺组织标本中,脂肪显示为浅粉红色,而PpIX荧光肿瘤可显示为一定强度范围的红色。在某些情况下,PpIX肿瘤荧光具有与背景正常脂肪组织相同的色调,然而光度的差异将使肿瘤中的PpIX显得“更亮”。另外,还可以使用图像分析软件来计算合成图像中视觉上不可感知的颜色特征的细微差异,以解释组织组分的差异或鉴定特定组织组分的存在。

[0154] 图像判读

[0155] 荧光颜色和组织组成之间的关系允许使用者解释合成彩色图像/视频(即,使用者将知道他/她正在看哪种类型的组织),并为使用者提供额外的信息,否则在白光检查下不明显,以指导临床决策。例如,如果靶组织对使用者(例如,外科医生)显示出亮红色的荧光,则使用者将理解,这意味着该区域内存在高密度的肿瘤细胞,并且可以选择通过从手术腔切除额外的组织来对信息采取行动。相反,如果组织出现微弱的红色荧光,则使用者可以决定不切除额外的组织,而取一小块组织以显微镜确认肿瘤的存在。

[0156] 因此,从这个意义上说,荧光的红色可被认为是组织类型和疾病存在的预测。除了查看图像中包含的颜色外,查看图像的临床医生、外科医生或其他医务人员还可以查看图像的图案或“纹理”。此外,不仅单一颜色的强度相关,而且颜色组合在一起也向临床医生提供信息。例如,图像中绿色的标识可以是图像中正常、健康的结缔组织(例如胶原蛋白或弹性蛋白)的标识符。颜色产生的图案还可以提供有关组织密度的指示。例如,斑块或斑驳绿色可能表示扩散的结缔组织,而实心绿色可能表示致密结缔组织。类似地,红色的大量实心块可能表示局灶性肿瘤或疾病,而散布在整个图像中的红点可能表示多灶性疾病。

[0157] 如上所述,看到颜色的相互作用或颜色对于彼此的位置也可以向临床医生提供信息。当红色荧光和绿色荧光同时出现在图像中时,可以看到健康组织(绿色荧光)内的疾病程度(红色荧光)。此外,红色(疾病)相对于绿色(健康组织)的定位可以在干预过程中指导临床医生切除或割除疾病。红色和绿色一起也可以描绘出患病组织与健康组织之间的边界,并提供健康组织解剖结构的背景信息以指导切除。这些颜色的组合一起还可以在诸如切除术的干预过程中向外科医生/临床医生提供反馈。即,随着患病组织被去除或以其他方式破坏,红色和绿色的可视化表达将改变。随着红色的消失和绿色变得更为普遍,外科医生将收到肯定的反馈,指出该疾病已被清除,从而使外科医生可以实时评估干预措施的有效性。这适用于许多类型的图像引导干预,包括例如腹腔镜、切除、活组织检查、刮除术、近距离放射疗法、高频超声消融、射频消融、质子疗法、溶瘤病毒、电场疗法、热消融、光动力疗法、放射疗法、消融和/或冷冻疗法。

[0158] 当查看图像的颜色/纹理/图案时,临床医生可能会区分诸如结缔组织、脂肪组织、

肿瘤和良性肿瘤(增生性病变)的组织组分。在一方面,临床医生可以获得健康组织与患病组织(绿色与红色)的整体图像,然后在患病组织内,根据红色荧光的强度(良性=弱强度,恶性=强强度)潜在地区分良性疾病和恶性疾病。可以鉴别出的良性疾病非限制性实例包括纤维腺瘤、增生、小叶癌、腺病、脂肪坏死、乳头状瘤、纤维囊性病和乳腺炎。

[0159] 一起观察红色和绿色荧光也可以帮助临床医生靶向活组织检查和刮除术。

[0160] 在检查淋巴结时,可能会鉴定亚临床疾病和/或明显疾病。荧光图像可用于鉴定淋巴系统、血管系统和包括浸润性疾病的间质空间中的转移性疾病。

[0161] 基于上述实例,多光谱图像中存在的特征可用于对组织分类并确定干预效果。特别地,可以使用多光谱图像中发现的特征进行以下操作:

[0162] 分类不同的组织类型;

[0163] 确定成像组织中存在或不存在的疾病的程度;

[0164] 指导给定区域的采样;

[0165] 进行诊断;

[0166] 做出有关干预反应的预后(荧光原发性肿瘤切除了吗?未累及淋巴结吗?鉴定先前未知的淋巴结受累)

[0167] 治疗计划

[0168] 用于指导治疗(例如,为前列腺癌种植放射性种子,靶向肿瘤进行放射治疗)

[0169] 预测疾病(乳房组织的密度(例如,胶原蛋白))

[0170] 对患者进行分类/分层以进行治疗,并根据图像确定后续治疗

[0171] 可以通过在本文所述的装置上或在单独的处理单元上运行的软件来进行对本文获得的图像的分析。图像分析和适当的软件的实例可以在例如2018年2月2日提交的标题为“伤口成像与分析(Wound Imaging and Analysis)”的美国临时专利申请号62/625,611和2019年1月15日提交的标题为“伤口成像与分析(Wound Imaging and Analysis)”的国际专利申请号PCT/CA2019/000002中活性,其各自的全部内容通过引用并入本文。

[0172] 根据本申请中描述的方法,由本申请中公开的装置收集的多光谱图像可能会导致进行以下操作:

[0173] 多光谱或多频带荧光图像可用于区分不同的组织组分,以确定给定组织组分相对于成像视野中其他组分的相对量。

[0174] 多光谱或多频带荧光图像可用于定性或定量(例如基于相对荧光特征)对健康组织与异常组织进行分类,以及对各种组织类型进行分类/表征。

[0175] 多光谱或多频带荧光图像可以用于训练或教育目的,以改善使用者对靶标的荧光图像判读。

[0176] 多光谱或多频带荧光图像可用于训练计算机算法(例如机器学习、神经网络、人工智能)以自动实时自动实现上述第1项和第2项。

[0177] 多光谱或多频带荧光图像可用于确定PpIX的浓度(半定量)。

[0178] PpIX荧光肿瘤的多光谱或多频带荧光图像可用于剂量测定(例如光动力疗法)或用于肿瘤的计划治疗。

[0179] 多光谱或多频带荧光图像可用于识别乳房纤维化。AF结缔组织的图案、强度、分布、扩散性等是组织纤维化、硬度和拉伸强度的指标。本文公开的多光谱或多频带荧光图像

可以提供有关给定荧光特征的发光度的信息,使用者可以通过该信息将肿瘤PpIX F1与具有相似色调但缺乏发光的脂肪组织区分开。

[0180] 多光谱或多频带荧光成像(使用5-ALA)能够检测到疾病(否则为临床隐匿性疾病),该疾病例如在成像的组织表面以下约2.6mm或更小(参见手稿图4)。

[0181] 多光谱或多频带荧光图像提供了疾病与正常组织之间的色彩差异,使得可以定义和可视化这些组织之间的边界。

[0182] 多光谱或多频带荧光可用于图像引导的活组织检查、手术切除或消融或冷冻疗法。

[0183] 多光谱或多频带荧光可用于原发性肿瘤标本的实时图像引导的切除(例如,乳房肿瘤切除术)以最大程度地减少对额外组织切除的需求和解剖原发性肿瘤的风险。在空间/解剖学上将原发性肿瘤标本与额外的组织切除相关联具有挑战性。切除单个标本可以改善乳房肿瘤切除术表面与腔体表面的共配准。此外,原发性肿瘤的解剖可能有助于将肿瘤细胞接种到手术腔中,并增加复发的风险。

[0184] 多光谱或多频带荧光图像可鉴定视野内的非组织组分(例如,牵开器、手术/血管夹、手术工具),其在成像和荧光引导的切除(例如,在暗室中)期间提供空间背景的视觉反馈。

[0185] 一种方法,其中多光谱或多频带荧光图像用于提取基于像素、ROI或视场的颜色(例如,RGB)通道、光谱分量(例如,波长直方图)。

[0186] 一种方法,其中对提取的颜色通道算术处理(例如,红色通道与绿色通道的比、伪像/噪声减少、直方图增强)以可视化和/或量化生物学特征(例如,结构、浓度差异、组织分化边界、深度),否则在原始图像中不可感知。

[0187] 一种方法,其中为了可视化和/或量化生物学特征(例如,结构、浓度差异、组织分化边界、深度)的目的,可以将多光谱或多频带荧光图像转换为替代色彩空间(例如CIE 1931实验空间),否则在原始图像中不可感知。例如,通过转换为实验空间颜色,这些颜色在RGB图像中是不可区分的,但在实验空间中在视觉和算术上都是可区分的。

[0188] 多光谱或多频带荧光图像可用于定量测量手动/自动定义的ROI的大小(包括面积)(例如,整个标本、绿色AF的面积)或在装置指定焦距范围内的任何焦距处手动/自动定义的ROI或组织分化边界之间的距离(例如,红色荧光肿瘤病灶和连续切片标本上的标本边缘之间的距离)。

[0189] 一种方法,其中将物理或光学校准标签放置在相机的视场内。

[0190] 根据本公开的另一方面,公开了一种量化利用所公开的手持式多光谱装置获得的荧光图像的方法(图23的第一方法)。另外,还公开了一种确定用所公开的手持式多光谱装置获得的荧光图像的准确性的方法(图23的第二种方法)。该方法在图23的流程图中示出。该方法在例如HALO成像软件上运行。还可以想到可以使用其他众所周知的软件。

[0191] 首先将讨论量化荧光图像的方法(在本文中称为第一方法),并且将参考图23中标识的各个步骤。如图23所示,第一种方法包括在成像软件中输入患者的组织活组织检查的数字化部分的步骤,使得该组织已被组织染色,例如苏木精和伊红染色(H&E染色),并且在手术前使患者接受5-ALA(步骤1)。

[0192] 例如,在图23的第一种方法中,对于在乳房肿瘤切除术之前接受5-ALA的患者,首

先从乳房肿瘤切除术标本中取出肿瘤活组织检查。活组织检查(例如核心活组织检查)取自例如在用手持式装置成像期间发红色荧光的区域,表明存在含有卟啉的组织(即,肿瘤)。然后用H&E染色对肿瘤活组织检查的一个或多个部分染色,并处理成一个或多个数字图像。如以下进一步讨论的,成像软件分析数字图像以量化肿瘤活组织检查。例如,软件可以确定肿瘤活组织检查包括40%的肿瘤组织、10%的脂肪组织、10%的结缔组织和40%的其他组织。这样可以允许使用者通过确定活组织检查内每种类型的组织的具体数量来量化肿瘤组织检查。这允许确认当用手持式装置成像时在发红色荧光的区域中存在肿瘤。

[0193] 如图23所示,在第一种方法的步骤2和3中,使用者在成像软件中打开期望的文件,然后例如在成像软件中打开组织分类器模块。在组织分类器模块内,可以选择一种或多种特定的组织类别(步骤4)。示例性组织类别包括例如,肿瘤组织、脂肪组织、结缔组织、非背景组织和炎症组织。然后,成像软件将根据所选的组织类别评估组织样本。

[0194] 如图23的步骤5-8所示,可以细化/改进成像软件以便提供更准确的程序。例如,使用者可以突出显示与每个所选组织类别相对应的被H&E染色的组织样本的特定区域(步骤5)。这可能有助于训练成像软件以鉴定特定的组织类型。例如,使用者可以在用H&E染色的组织样本中突出显示结缔组织,以帮助成像软件鉴定任何和所有结缔组织。

[0195] 成像软件还可以允许使用者通过实时调整来修改成像软件对组织样本的分类。例如,使用者可以查看成像软件对组织样本的分类(步骤6)。在一个实例中,成像软件可以将组织样本中的区域分类为包括结缔组织,并将其余区域分类为背景非组织。然后,使用者可以在任何分类错误的组织学正常结构周围创建关注区域(ROI)(步骤7)。例如,使用者可以鉴定被分类为实际上是背景非组织的结缔组织的区域的一个或多个部分。因此,使用者可以鉴定其中成像装置将部分误分类为结缔组织的一个或多个区域。这样的鉴定可以用于细化/改进成像装置,以便提高其在正确地鉴定组织中的准确性。使用者还可以在组织样本中突出显示其他关注区域,以进一步细化/改进每个组织类别的准确性(步骤8)。

[0196] 在图23的第一种方法的步骤9中,使用者可以在成像软件内运行组织分类器模块。因此,成像软件可以分析(例如,用H&E染色的组织的)数字图像,以便量化不同的组织组分。如上所述,这样可以允许使用者确定肿瘤活组织检查中的不同组织组分。因此,例如,可以从切除的组织标本中切除肿瘤活组织检查。肿瘤活组织检查的一个或多个部分可以用H&E染色并处理成数字图像。这些一个或多个部分可以基于来自所公开的多光谱装置的荧光发射的检测区域。例如,可以处理具有更大百分比的红色荧光(肿瘤组织)的肿瘤活组织检查的一部分以用于数字切片图像。然后,该软件(在图23的步骤9中)可以分析数字图像以确定在肿瘤活组织检查部分内的特定组织组分(及其数量)。因此,软件可以确定具有较大百分比的红色荧光的肿瘤部分具有大于平均量的脂肪组织。通过量化肿瘤活组织检查中的不同组织组分,使用者能够更好地研究和理解肿瘤(例如,肿瘤如何影响患者的健康)。

[0197] 还可以想到,成像装置可以在步骤9中(对于第一种方法)仅对组织样本的特定部分,例如,在组织样本内的特定关注区域上进行分析。在一些实施方式中,关注区域可以是组织样本的特定区域,其例如是整个组织样本的大小的三分之一。在其他实施方式中,关注区域可以是组织样本中距成像表面特定距离内的区域。

[0198] 成像软件可以提取图23的每个所选组织类别的面积值(例如,mm²)(步骤10)。例如,对于第一种方法,软件可以确定组织样本中每个所选组织类别的面积值。然后,软件可

以计算组织样本中特定组织组分的相对百分比(步骤11)。

[0199] 在图23的第二种方法中,并且如下文进一步讨论的,成像软件还可用于比较由H&E染色检测到的组织与由公开的多光谱装置检测到的组织。然后,成像软件可以基于该比较来确定所公开的多光谱装置的准确性。在这种情况下,用于数字图像部分的样本的类型可以不同。例如,代替获取核样本,可以使用整个安装过程。这允许在染色的组织样本和使用手持式成像装置成像的组织样本之间一对一或逐像素比较。例如,成像软件在相同的组织样本中比较用H&E染色染成粉红色的结缔组织和由公开的多光谱装置检测到的绿色自体荧光。如上所述,绿色自体荧光的存在和数量可以代表组织样本中结缔组织的存在和数量。然后,成像软件可以通过将粉红色染色(来自H&E染色)与绿色自体荧光(来自公开的多光谱装置)进行比较,确定所公开的多光谱装置的准确性。

[0200] 现在将参考图23中鉴定的各个步骤来讨论确定用所公开的手持式多光谱装置获得的荧光图像的准确性的方法(图23的第二种方法)。如图23所示,第二种方法包括在成像软件中输入切除的组织标本的组织活组织检查的数字化部分的步骤,例如在乳腺癌手术期间切除的乳房肿瘤切除术组织标本。如上所述,可以使用整体染色。数字化的组织切片是用组织学染色剂染色的组织,例如苏木精和伊红染色剂(H&E染色)。此外,数字化的组织切片是取自用本文公开的手持式成像装置成像的组织的活组织检查,其中患者在手术之前接受5-ALA(步骤1)。

[0201] 如图23所示,在第二种方法的步骤2和3中,使用者在成像软件中打开期望的文件,然后例如在成像软件中打开组织分类器模块。在组织分类器模块内,可以选择一种或多种特定的组织类别(步骤4)。示例性组织类别包括例如,肿瘤组织、脂肪组织、结缔组织、非背景组织和炎症组织。然后,成像软件将根据所选的组织类别评估组织样本。

[0202] 如图23的步骤5-8所示,可以细化/改进成像软件以便提供更准确的程序。例如,使用者可以突出显示与每个所选组织类别相对应的被H&E染色的组织样本的特定区域(步骤5)。这可能有助于训练成像软件以鉴定特定的组织类型。例如,使用者可以在用H&E染色的组织样本中突出显示结缔组织,以帮助成像软件鉴定任何和所有结缔组织。

[0203] 成像软件还可以允许使用者通过实时调整来修改成像软件对组织样本的分类。例如,使用者可以查看成像软件对组织样本的分类(步骤6)。在一个实例中,成像软件可以将组织样本中的区域分类为包括结缔组织,并将其余区域分类为背景非组织。然后,使用者可以在任何分类错误的组织学正常结构周围创建关注区域(ROI)(步骤7)。例如,使用者可以鉴定被分类为实际上是背景非组织的结缔组织的区域的一个或多个部分。因此,使用者可以鉴定其中成像装置将部分误分类为结缔组织的一个或多个区域。这样的鉴定可以用于细化/改进成像装置,以便提高其在正确地鉴定组织中的准确性。使用者还可以在组织样本中突出显示其他关注的域,以进一步细化/改进每个组织类别的准确性(步骤8)。

[0204] 在图23的第二种方法的步骤9中,软件可以在所选组织类别的背景下比较组织样本相对于H&E染色和相对于绿色自体荧光。在这种方法中,软件比较组织样本,以确定用所公开的手持式多光谱装置获得的荧光图像的准确性。在一个实例中,如果使用者选择结缔组织的组织类别,则将在H&E染色的组织中由软件检测到的结缔组织数量与在荧光组织中由软件检测到的结缔组织数量进行比较(在图23的步骤9中)。然后,该比较用于确定所公开的手持式多光谱装置是否充分捕获了组织样本中的结缔组织,或者如果给定颜色的荧光量

(其被理解为与特定的组织类型相对应),可以通过确定使用H&E染色染色时,同一样本中的组织类型(逐像素分析)将所述另一种方式关联。

[0205] 还可以想到,成像装置可以在步骤9中(对于第二种方法)仅对组织样本的特定部分,例如,在组织样本内的特定关注区域上进行分析。在一些实施方式中,关注区域可以是组织样本的特定区域,其例如是整个组织样本的大小的三分之一。在其他实施方式中,关注区域可以是组织样本中距成像表面特定距离内的区域。

[0206] 成像软件可以提取图23的第二方法中的每个所选组织类别的面积值(例如, mm^2) (步骤10)。对于第二种方法,成像软件可以计算使用H&E染色鉴定的结缔组织的第一面积值和使用公开的多光谱装置鉴定的结缔组织的第二面积值。成像软件可以进一步计算用H&E染色鉴定的肿瘤组织的第三面积值和用公开的多光谱装置鉴定的肿瘤组织的第四面积值。然后,使用计算的面积值,成像软件可以确定公开的多光谱装置的准确性(步骤11)。例如,成像软件可以使用第一和第二面积值来确定由H&E染色鉴定并且由公开的多光谱装置鉴定的结缔组织的百分比。因此,成像软件可以例如,确定H&E染色显示组织样本包括45%的结缔组织,并且所公开的多光谱装置显示组织样本包括45%的结缔组织。在该实例中,成像软件然后可以确定所公开的多光谱装置在其鉴定结缔组织的确定中是准确的(因为第一面积值等于第二面积值)。

[0207] 在另一实例中,成像软件可以例如,确定H&E染色显示组织样本包括35%的结缔组织,同时所公开的多光谱装置显示组织样本包括25%的结缔组织。在该实例中,成像软件然后可以确定多光谱装置在其鉴定结缔组织的确定中不准确并且需要细化,或者在鉴定结缔组织的确定中成像软件本身需要细化(因为第一面积值不等于第二面积值)。

[0208] 为了确定组织样本中每种组织类别的百分比,如上所讨论,成像装置可以使用面积值。例如,为了计算给定组织类别的相对百分比,成像装置可以将组织类别的面积值除以被分类为正常组织的面积。如上所讨论,被分类为正常组织的面积还可以包括由使用者特别鉴定为正常组织的任何关注区域。

[0209] 如上所讨论,成像装置还可以使用面积值来确定两个组分的比率。例如,以确定肿瘤组织与结缔组织的比例。因此,成像装置可以将被分类为肿瘤组织的组织的面积值除以被分类为结缔组织的组织的面积值。

[0210] 如上所讨论,将来自H&E染色的数据与荧光图像进行比较/关联(步骤12)。这可以用于确定所公开的多光谱装置的准确性)。因此,使用者可以确定多光谱装置准确地检测肿瘤组织的存在和数量,但是不能准确地检测结缔组织的存在和/或数量。这样可能有助于细化多光谱装置。

[0211] 所公开的多光谱装置可以通过改变装置的光学滤波器来细化。例如,可以改变光学滤波器的透射带以改变检测到的荧光。例如,这样可以允许观察到较少的绿色荧光,其可以更准确地与活组织检查中的结缔组织的实际存在关联。

[0212] 在一些实施方式中,所公开的成像装置可以与产生例如粉红棕色荧光发射的脂肪组织一起使用。在该实例中,使用者将选择脂肪组织的组织类别。在其他实施方式中,可以选择组织类别,例如血液和异常组织(例如,肿瘤、癌细胞、病变、良性肿瘤和增生性病变)。

[0213] 在选择第一组织类别之后,使用者然后可以选择第二组织类别。然后,成像软件将为第二组织类别创建新的第一面积值和新的第二面积值。然后,软件可以比较新的第一面

积值和新的第二面积值,如以上关于第一面积值和第二面积值所讨论的。

[0214] 还可以设想,所公开的成像软件允许使用者确定多光谱装置是否需要细化,而无需使用者高水平的专业知识。因此,成像装置提供了一种简单且自动化的系统来确定多光谱装置是否需要细化。

[0215] 成像软件可以与除了所公开的多光谱装置之外的其他装置一起使用。因此,成像装置可以与各种装置一起使用,以便确定装置的精度以及是否需要细化。

[0216] 可以设想,图23的步骤可以相互交换并且以与本文所公开的另外的顺序应用。另外,可以省略一个或多个步骤。

[0217] 根据本公开的另一方面,公开了一种量化颜色对比度的方法。例如,该方法可以用于量化肿瘤组织和正常组织之间的荧光颜色对比度。因此,将肿瘤组织的平均颜色强度与正常组织的平均颜色强度进行比较。在一些实施方式中,该方法可以用于量化结缔组织的不同强度之间的荧光颜色对比度。因此,将结缔组织的第一区域的平均颜色强度与结缔组织的第二区域的平均颜色强度进行比较。当用使用者的眼睛感知时,这种色彩对比度可能并不可靠。例如,第一区域和第二区域可能都具有非常相似的绿色自体荧光,使用者的眼睛可能无法辨别这两个区域之间的颜色差异。因此,图24的方法提供了鉴定这种颜色对比度的准确过程。图24的方法也可用于用H&E染色的组织样本量化颜色对比度。

[0218] 该方法在图24的流程图中示出。该方法可以在使用例如,MATLAB软件的专有/定制软件上运行。还可以设想,可以使用其他众所周知的软件代替MATLAB。

[0219] 如图24的步骤1所示,该方法包括将RGB图像(例如,RGB荧光图像)输入到成像软件中。因此,如上所讨论,RGB荧光图像可以是包括绿色和/或红色荧光的组织样本的图像。接下来,在步骤2中,成像软件可以将RGB图像转换为数据集以获得用于该图像的三刺激值。例如,成像软件可以将色度图(CIE彩色系统)上的RGB图像转换为XYZ值,以便提供RGB图像中每个像素的空间位置。

[0220] 成像软件还可以显示组织样本中的关注区域(ROI)(步骤3)。例如,使用者可以在组织的相应白光图像上划界关注区域。然后,成像软件可以在RGB图像中显示该相同的关注区域。在一个实例中,关注区域可以是包括高水平的结缔组织或肿瘤组织的特定区域。在另一个实例中,关注区域可包括肿瘤组织和正常组织。还设想,可以使用多于一个的关注区域。

[0221] 如图24的步骤4所示,使用者可以使用成像软件上的徒手画图工具来手动定义/重新定义关注区域。这样可以允许使用者针对特定应用修改和定制关注区域。

[0222] 在步骤5中,成像软件可以创建RGB图像的二进制掩码。如下面进一步讨论的,二进制掩码可以用于确定来自RGB图像的XYV值。只能为关注区域指定的区域创建二进制掩码。接下来,成像软件可以计算平均RGB值和平均XYZ值(步骤6)。例如,成像软件可以在结缔组织的绿色荧光部分上创建平均RGB值和相应的XYZ值。平均值可以例如是,关注区域中的平均绿色强度,并且平均XYV值可以是例如,相应的三刺激值。

[0223] 接下来,在步骤7中,成像软件可以从在步骤6中计算出的三刺激值中得出平均值“x”和“y”参数。可以根据以下公式计算“x”值: $x = X / (X + Y + Z)$,并且可以根据以下公式计算“y”值: $y = Y / (X + Y + Z)$ 。在步骤8中,使用者可以在色度图上绘制“x”和“y”坐标,以表示指定组织样本的平均颜色。例如,指定的组织样本在色度图上可以具有波长为520nm的绿色荧光

色。

[0224] 在一些实施方式中,成像软件可以在色度图上创建两个“x”和“y”坐标。这两个坐标可以源自相同的组织样本,使得一个坐标与肿瘤组织相关,而另一个坐标与正常组织相关。在其他实施方式中,一个坐标可以与肿瘤的第一区域中的肿瘤组织相关,而另一个坐标与相同肿瘤的第二区域中的肿瘤组织相关。

[0225] 如步骤9所示,成像软件然后可以将两个坐标与矢量连接。在一个实例中,在色度图上,第一坐标的波长为520nm(绿色),且第二坐标的波长为640nm(红色)(使得坐标分别代表健康组织和肿瘤组织)。矢量可以连接这两个坐标。然后,在步骤10中,成像软件可以测量第一坐标和第二坐标之间的欧氏距离矢量。欧氏距离矢量可以提供关于RGB图像中的绿色和红色荧光颜色之间的颜色对比度的指示。因此,欧氏距离矢量提供了一种方法/系统来量化绿色(正常组织)和红色(肿瘤组织)之间的颜色对比度。与健康组织相比,这可以允许使用者容易地确定标本中的正常组织。另外,这可以允许使用者量化差异。较大的差异可以指示具有更高密度的肿瘤组织,而较小的差异可以指示具有更低密度的肿瘤组织。另外地或可替代地,较大的差异可以指示患者中较高的ALA剂量。

[0226] 在一些实施方式中,第一坐标和第二坐标都可以代表肿瘤组织。因此,在色度图上,第一坐标可以具有640nm的波长,并且在色度图上,第二坐标可以具有700nm的波长。因此,第二坐标可与具有比第一坐标更深的红色外观的组织相关。这两个坐标之间的欧氏距离矢量可以使使用者确认两个样本之间确实存在颜色对比度(其仅根据使用者的视觉可能很难确定)。更具体地,欧氏距离矢量可以确认两个组织样本确实是不同的红色阴影。另外,基于欧氏距离矢量,成像软件可以确定具有更深的红色阴影(第二坐标)的组织样本具有比具有更浅的红色阴影(第一坐标)的组织样本更高的肿瘤细胞密度。这样可以允许使用者定量地确定一个或多个指定区域中的肿瘤细胞的相对密度。在一些实例中,具有较浅的红色阴影的组织样本可对应于良性组织,而具有较深的红色阴影的组织样本可对应于恶性组织。因此,成像系统可以允许使用者定量地确定组织样本是良性还是恶性的。

[0227] 如图24的步骤11所示,该方法还可包括对对照组、低剂量ALA组和高剂量ALA组重复所有上述步骤。然后,如上所讨论的,成像软件然后可以针对每个组计算例如肿瘤和正常组织的平均值“x”和“y”值(步骤12)。如上所讨论的,成像软件然后可以计算平均肿瘤组织和平均正常组织之间的欧氏距离矢量。

[0228] 在步骤13中,如图25所示,成像系统可以输出三个组(对照组、低剂量ALA和高剂量ALA)中的每一个的色度图。每个色度图可以包括通过矢量连接的两个点,该矢量描述每个组中的平均肿瘤颜色和平均正常组织颜色之间的距离。然后,使用者可以比较三个组的色度图以定量评估差异。

[0229] 可以设想,图24的步骤可以相互交换并且以与本文所公开的另外的顺序应用。另外,可以省略一个或多个步骤。

[0230] 受益于本公开的本领域普通技术人员将理解,本公开提供了各种示例性的装置、系统和方法,用于在手术切缘上对肿瘤和/或残留癌细胞进行术中或离体可视化。鉴于该描述,本公开的各个方面的进一步修改和替代实施方式对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0231] 此外,装置和方法可以包括为了图示和/或操作的清楚而从附图中省略的附加组

件或步骤。因此,该描述应被解释为仅仅是说明性的,并且是为了教导本领域技术人员实施本公开的一般方式。应当理解,本文所示和所述的各种实施方式将被视为示例性的。元件和材料以及那些元件和材料的布置可以代替本文中图示和描述的那些,可以颠倒部件和过程,并且可以独立地利用本公开的某些特征,对于受益于本文的描述的本领域技术人员全部是显而易见的。在不脱离本公开的精神和范围和以下权利要求包括其等同物的情况下,可以对本文所述的元件进行改变。

[0232] 应当理解,在本文阐述的特定实例和实施方式是非限制性的,并且可以在不脱离本公开的范围的情况下对结构、尺寸、材料和方法进行修改。

[0233] 此外,该描述的术语并不旨在限制本公开。例如,如图中所示,空间相对术语,例如“在...下方”、“在……下面”、“下部”、“上方”、“上部”、“底部”、“右侧”、“左侧”、“近端”、“远端”、“前面”等可用于描述一个元件或特征与另一元件或特征的关系。除了附图中所示的位置和方位之外,这些空间相对术语还意图包括使用或操作中的装置的不同位置(即,位置)和方位(即,旋转位置)。

[0234] 为了本说明书和所附权利要求书的目的,除非另有说明,否则应将在说明书和权利要求书中使用的表示数量、百分比或比例以及其他数值的所有数字理解为在所有情况下被术语“约”修饰,如果还没有的话。因此,除非规定相反的情况,否则本说明书和所附权利要求书中列出的数值参数是近似值,其可以根据寻求通过本公开获得的所需性质而变化。至少,并且不试图将等同原则的应用限制于权利要求的范围,每个数字参数应至少根据所报告的有效数字的数目并通过应用普通的舍入技术来解释。

[0235] 尽管阐述本公开的广泛范围的数值范围和参数是近似值,但是在具体实例中阐述的数值被尽可能精确地报告。然而,任何数值都固有地包含某些误差,这些误差必定是由它们各自的试验测量中出现的标准偏差引起的。此外,应理解本文公开的所有范围涵盖其中包含的任何和所有子范围。

[0236] 注意,如在本说明书和所附权利要求书中使用的,单数形式“一个(a)”、“一个(an)”和“该(the)”以及任何单词的任何单数使用包括复数指示物,除非清楚地和明确地限于一个指示物。如本文所用,术语“包括”及其语法变体意图是非限制性的,使得列表中的项目的列举不排除可以替换或添加到所列项目的其他类似项目。

[0237] 应当理解,虽然已经相对于本公开的各种示例性实施方式详细地描述了本公开,但是不应认为本公开限于此,因为在不背离所附权利要求的广泛范围(包括它们包括的等同方案)的情况下,可以进行多种修改。

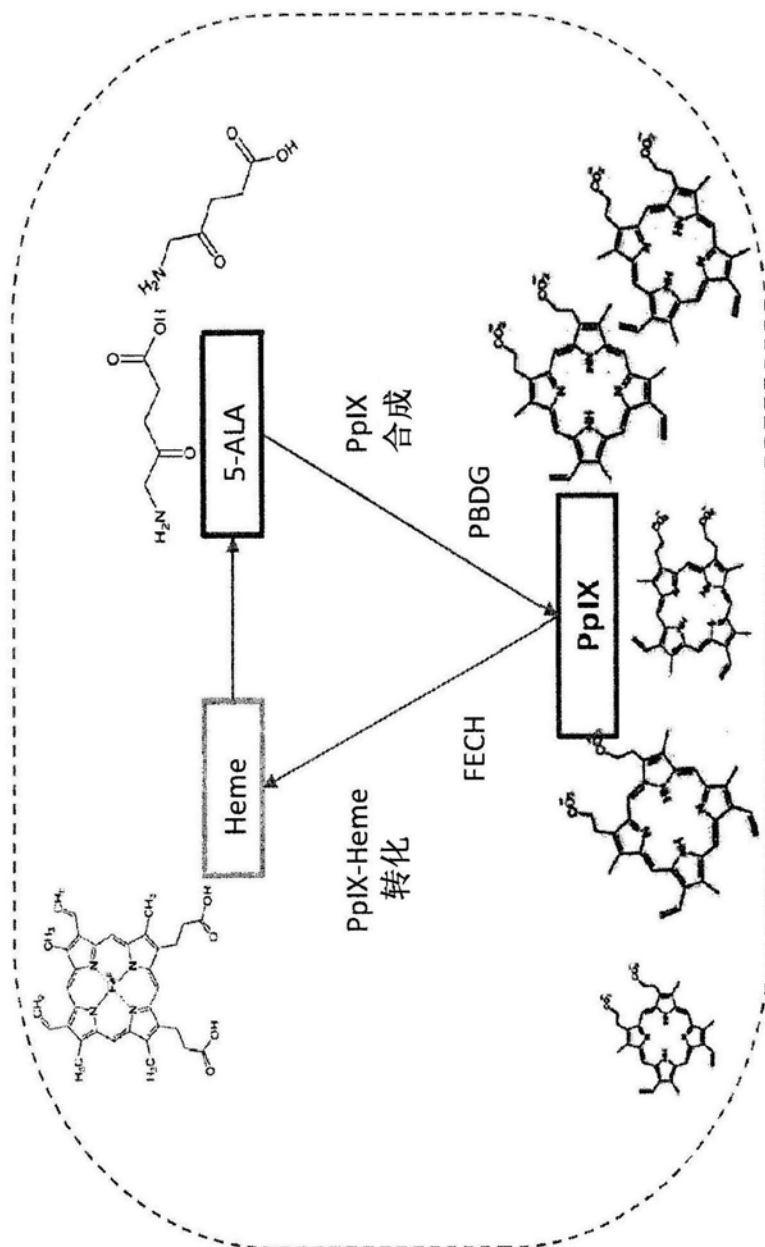


图1A

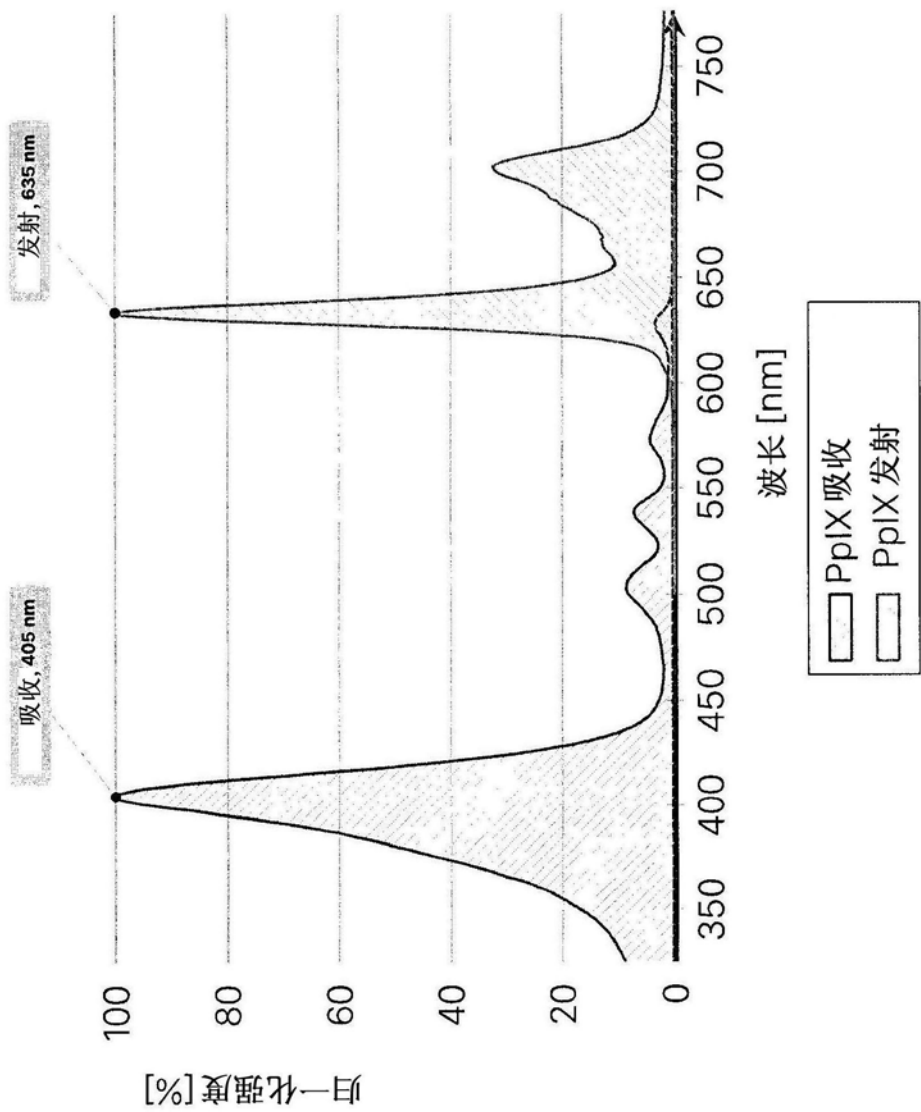


图1B

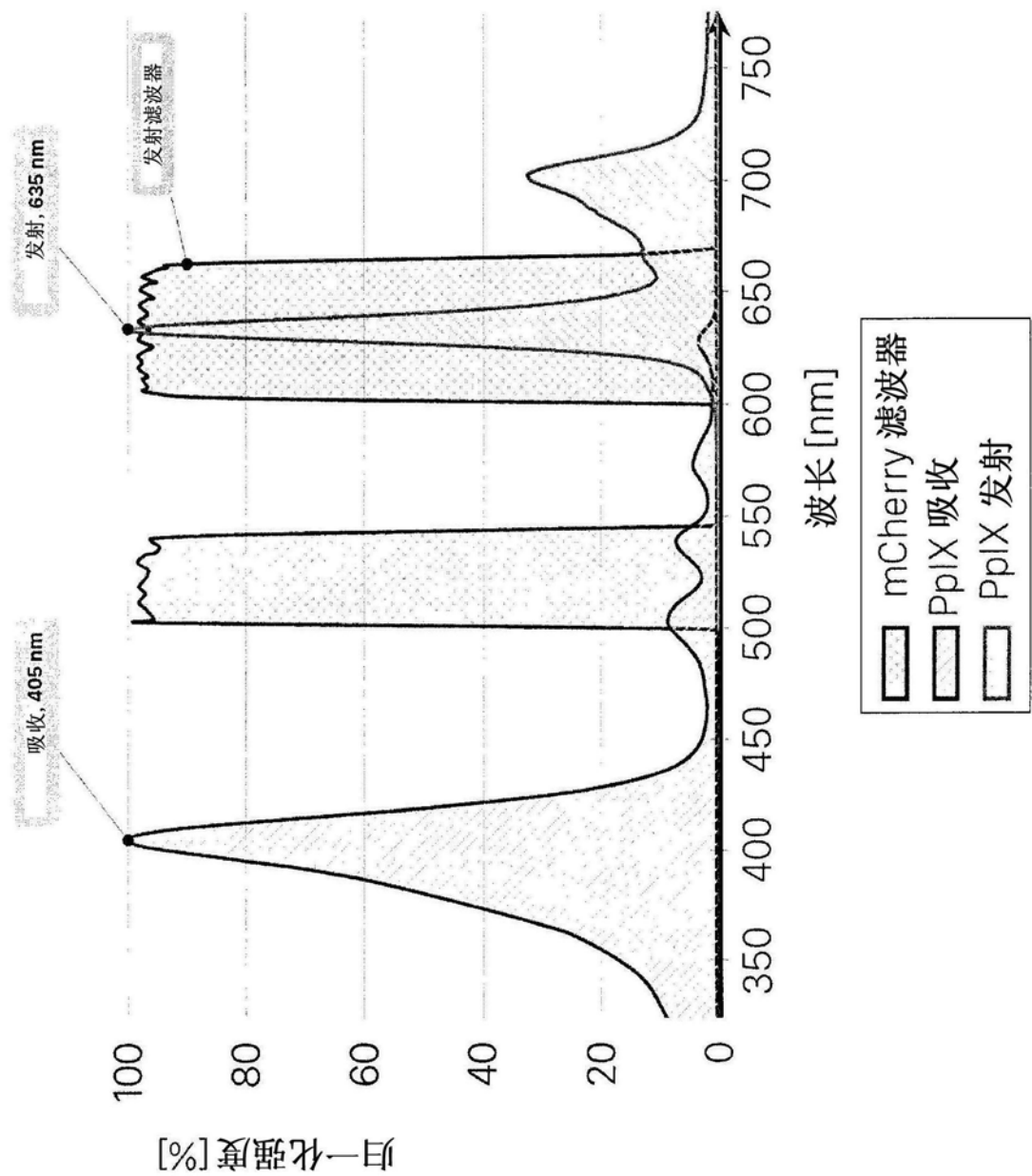


图2A

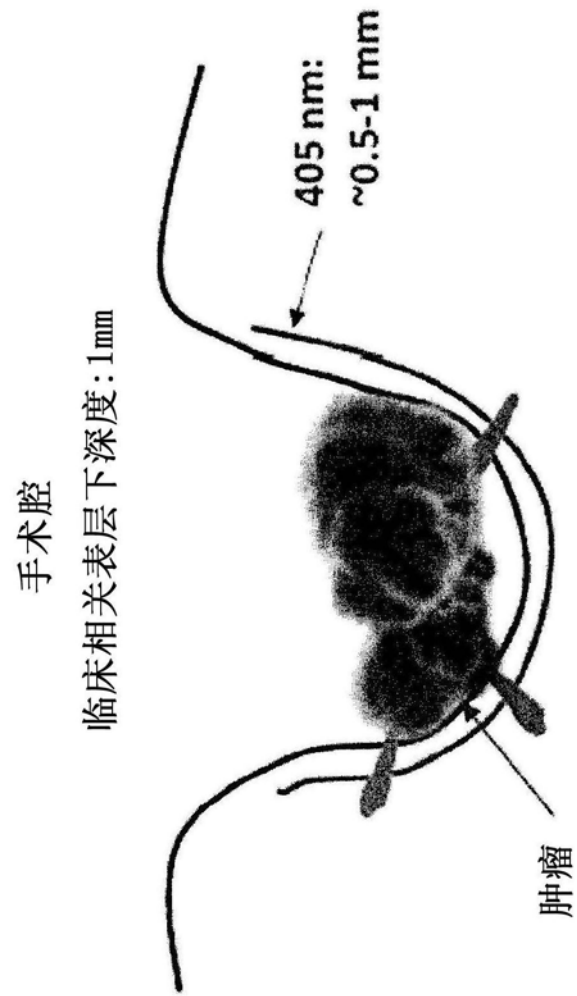


图2B

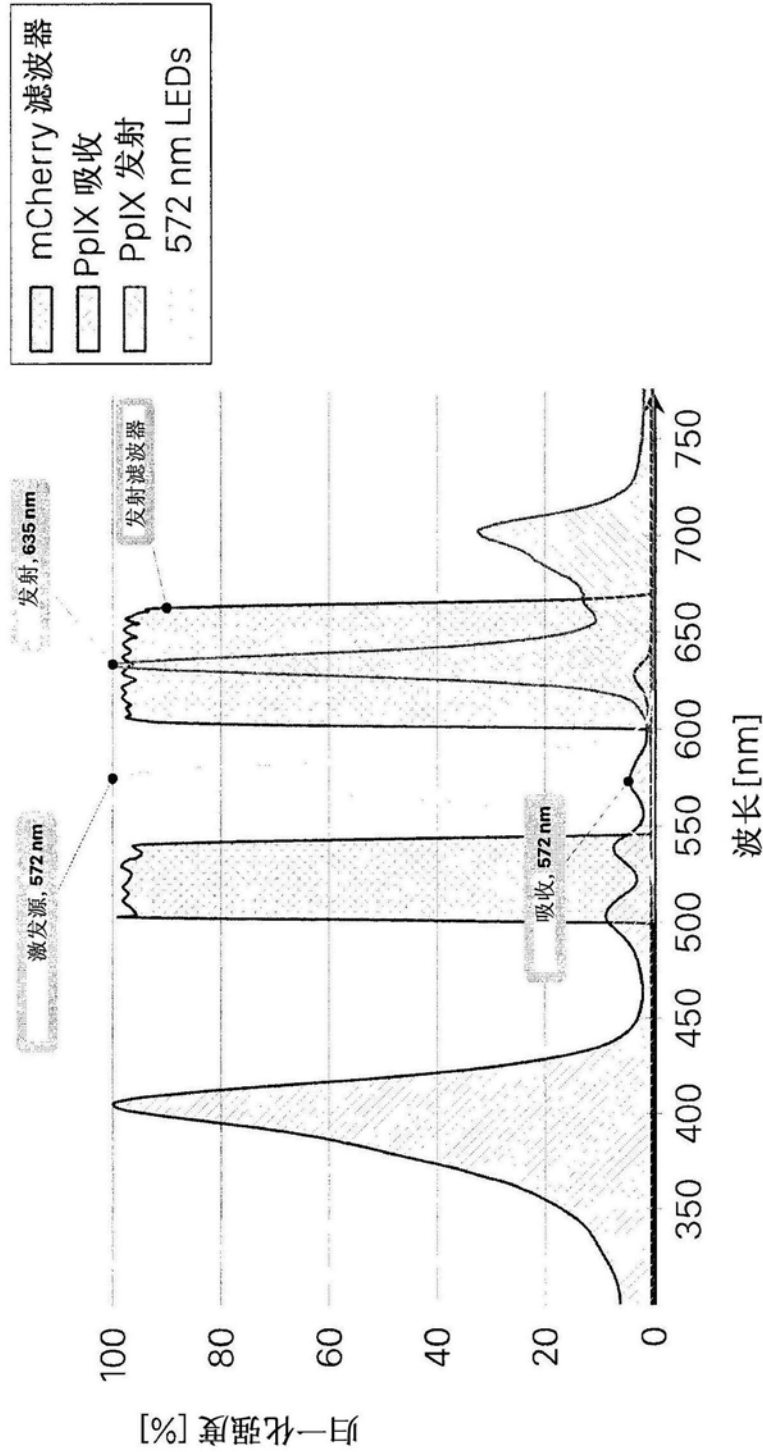


图3A

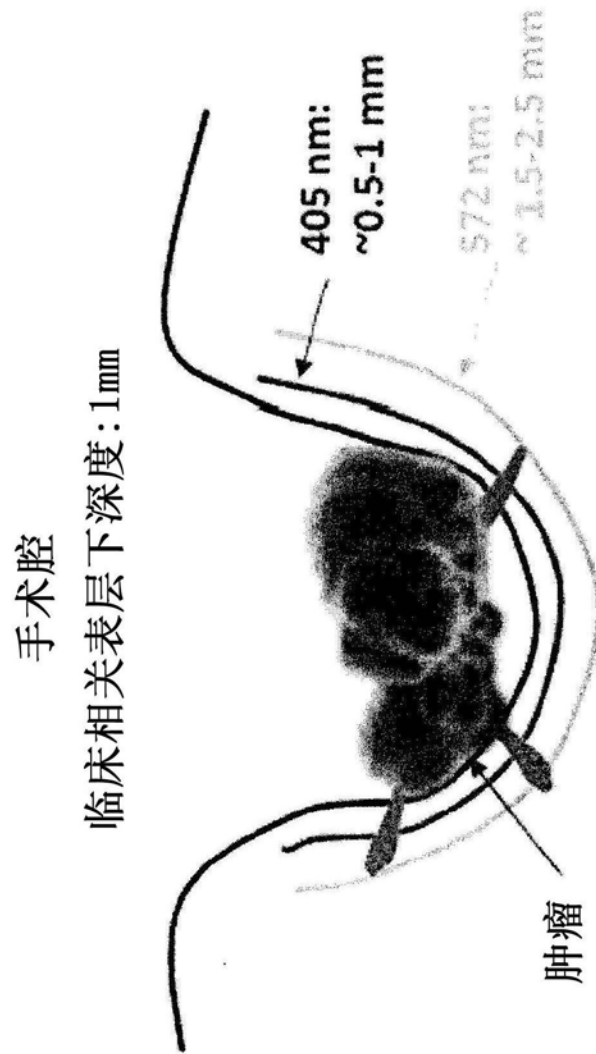


图3B

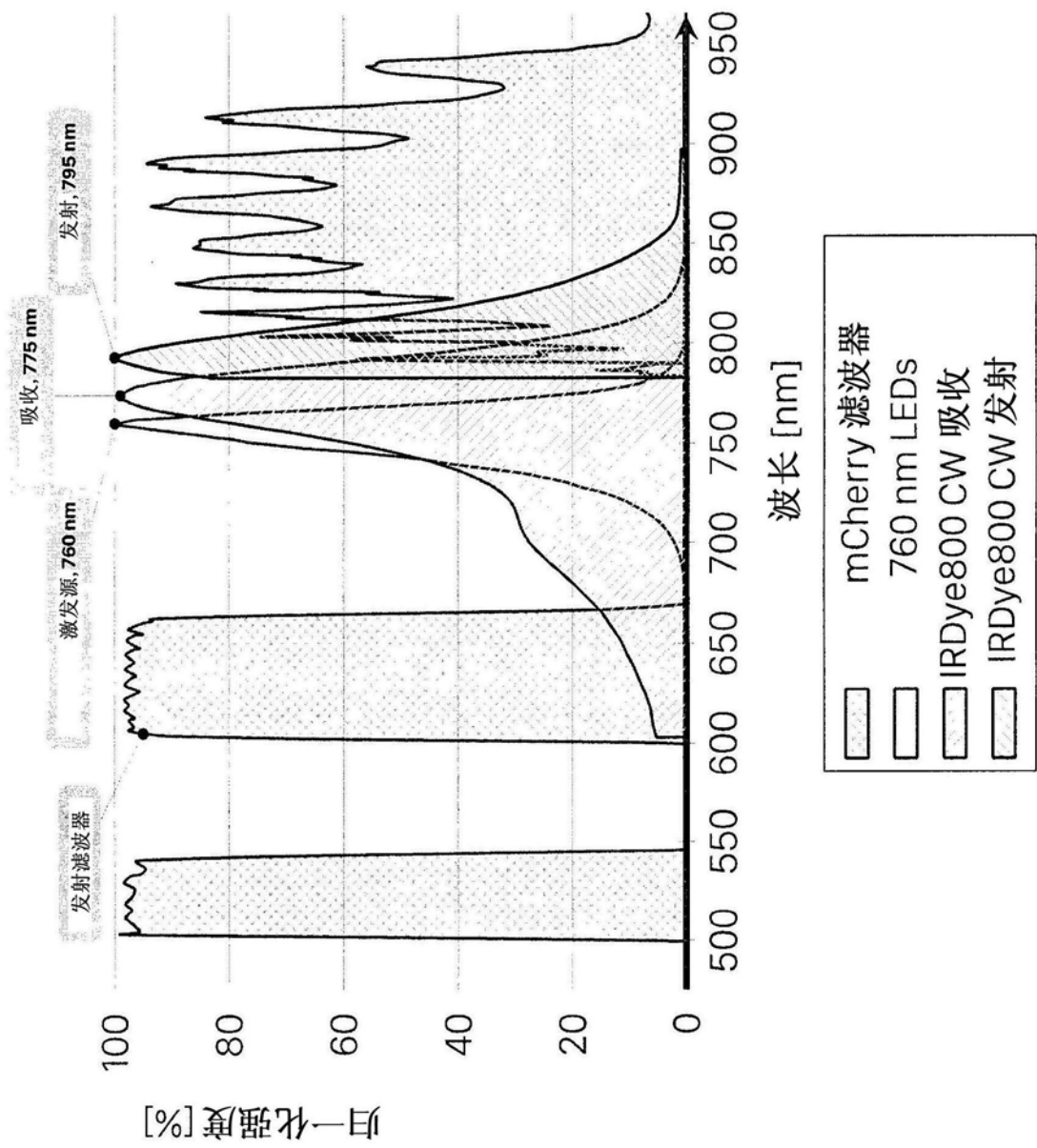


图4A

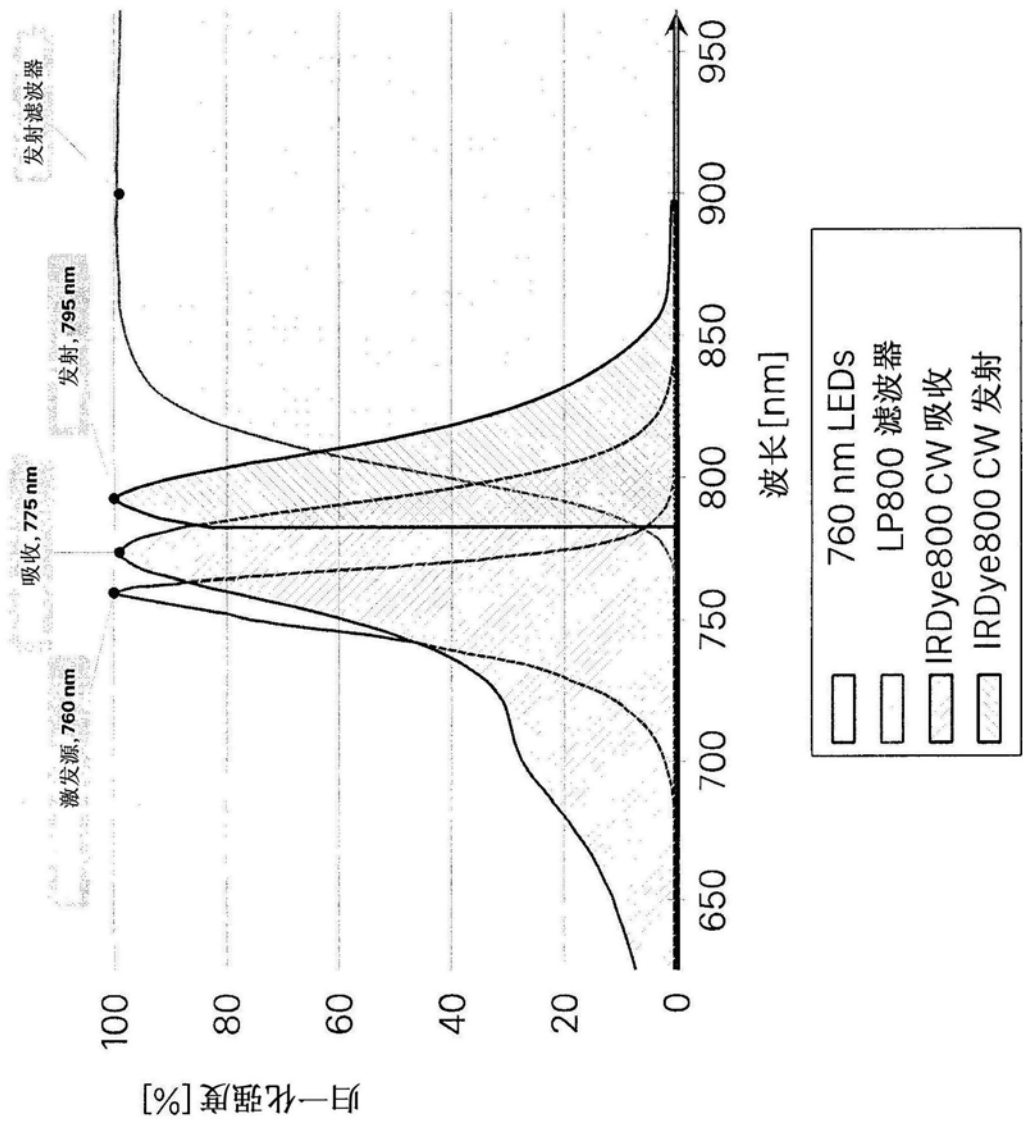


图4B

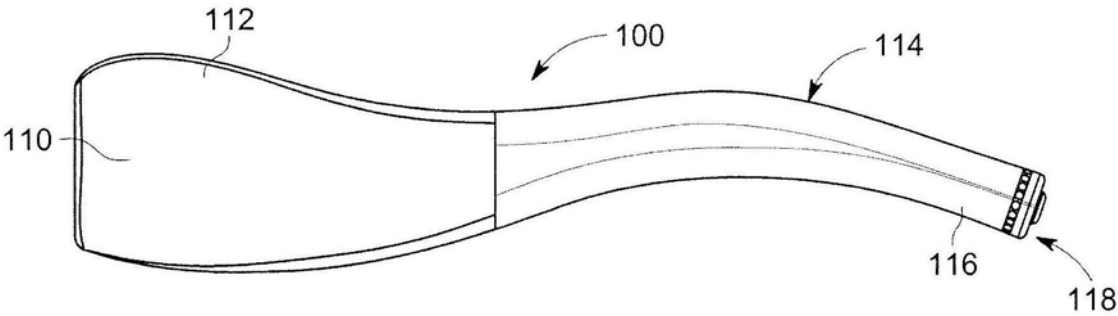


图5A

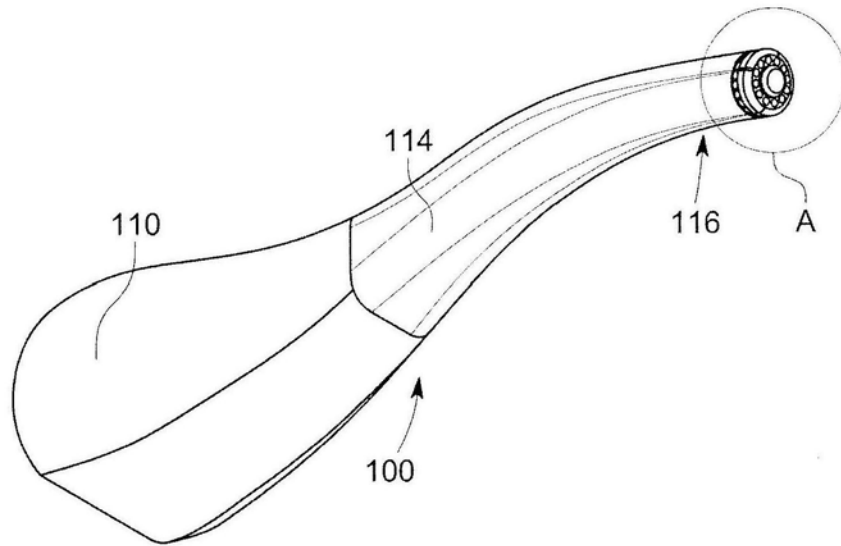


图5B

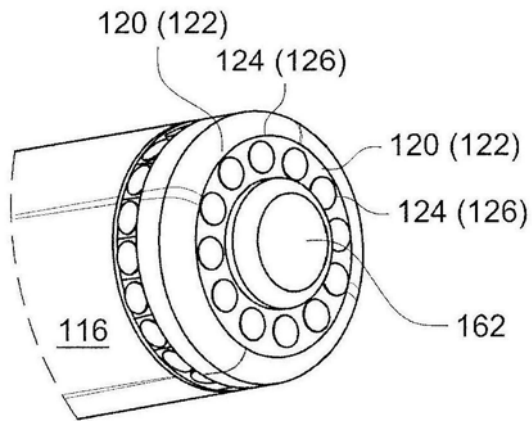


图5C

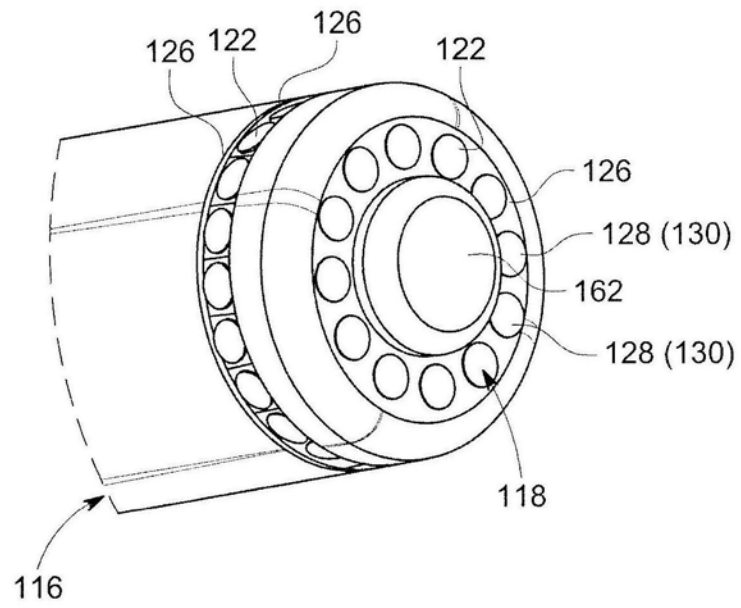


图5D

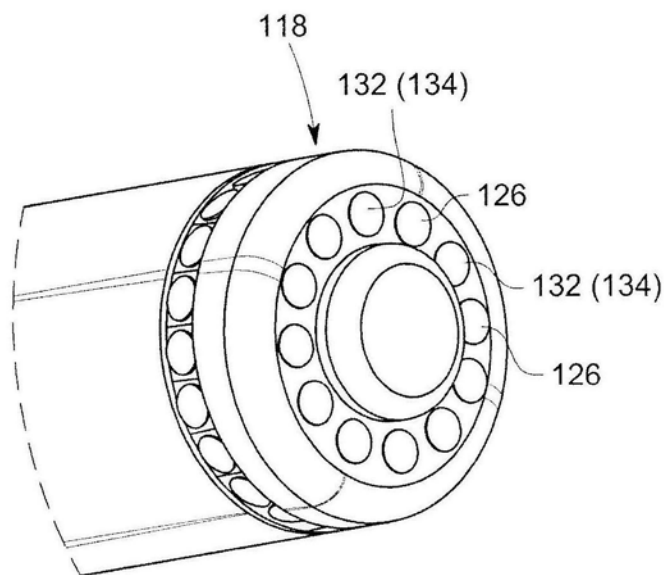


图5E

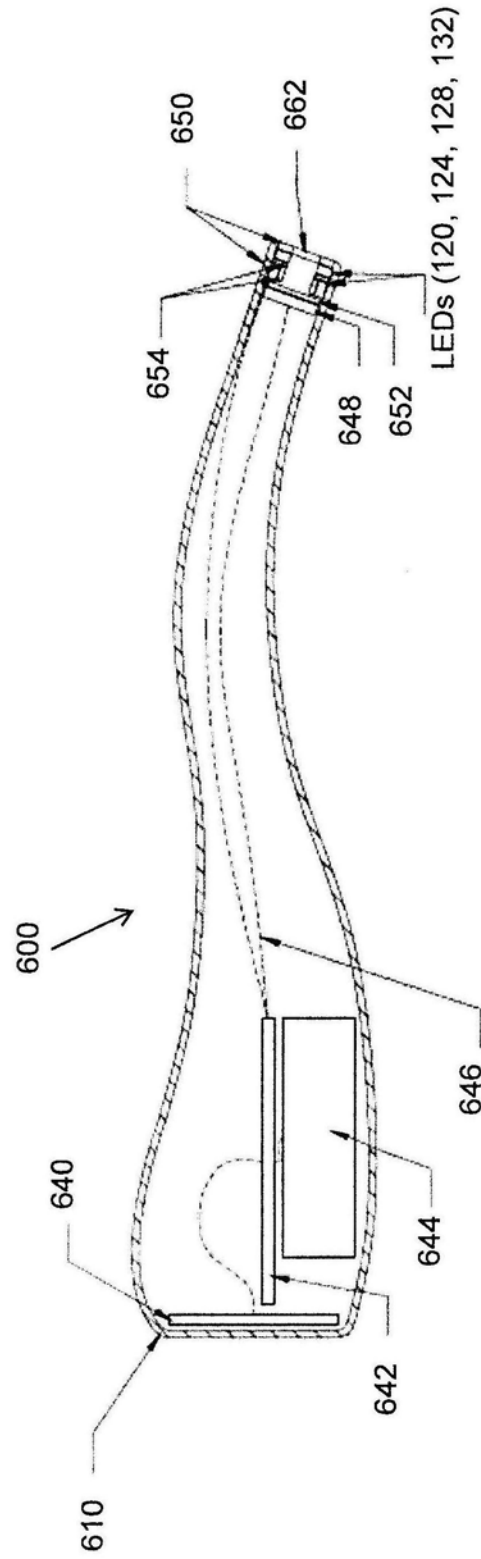


图6A

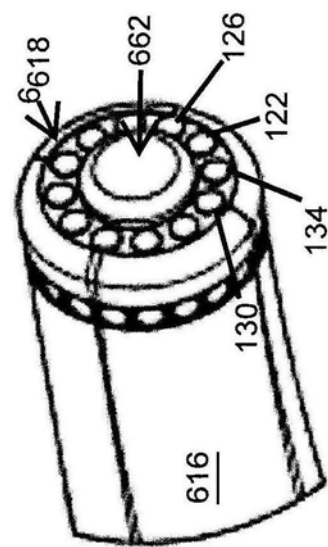


图6B

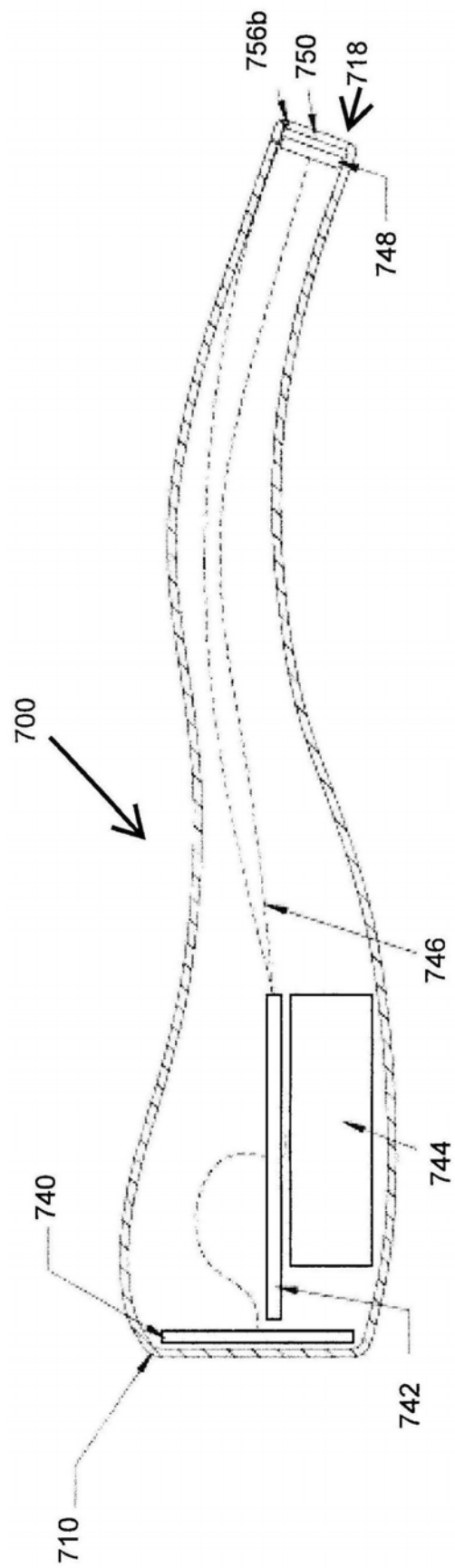


图7A

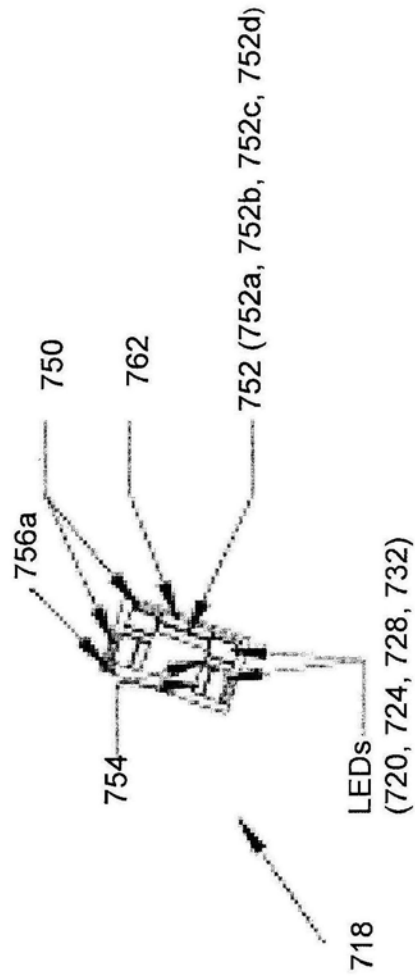


图7B

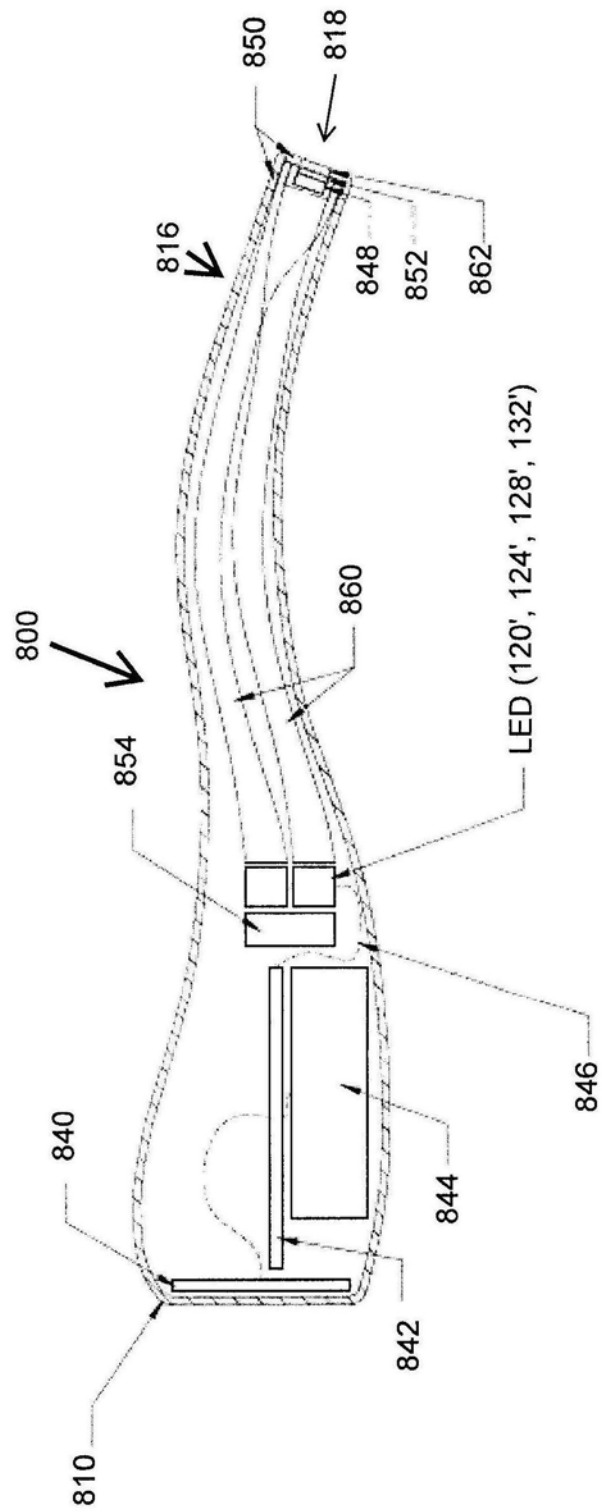


图8A

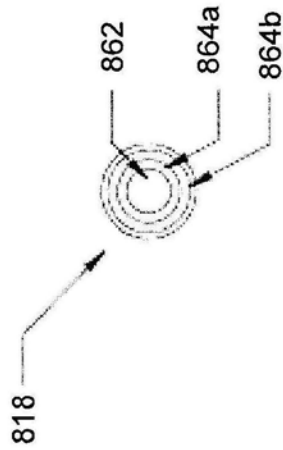


图8B

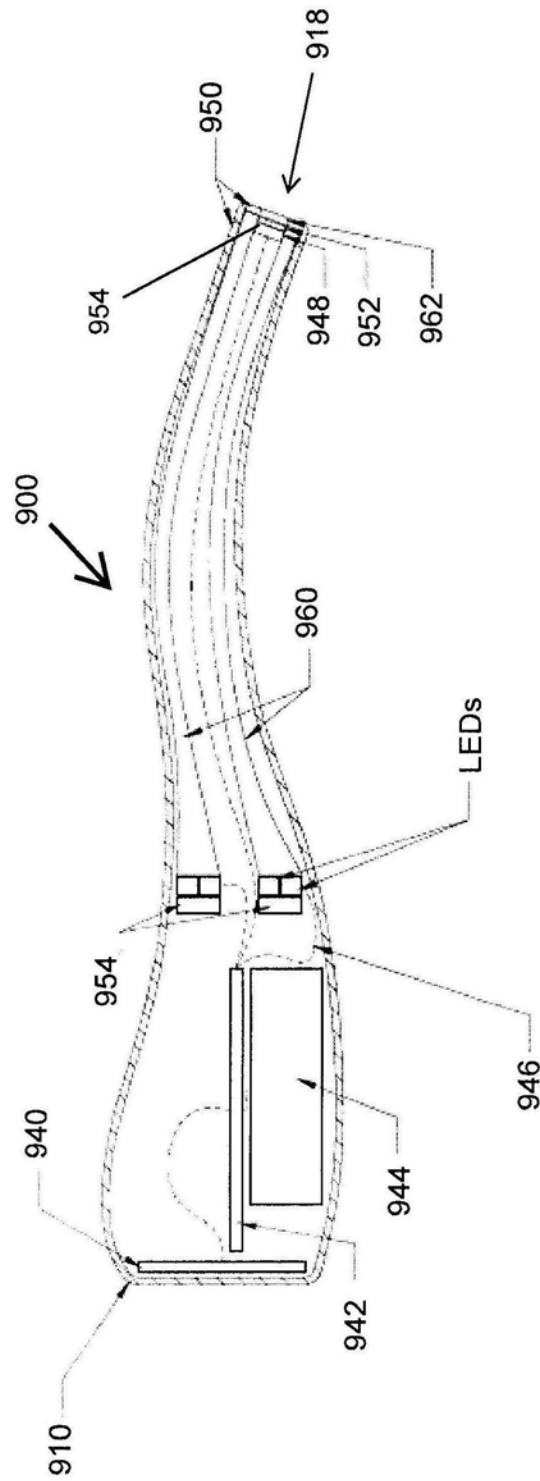


图9A

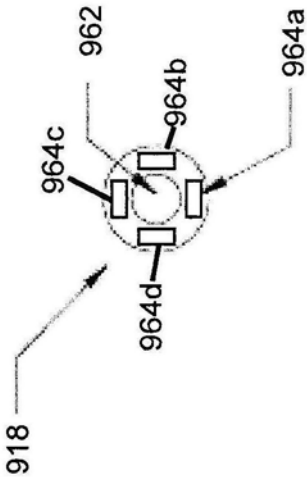


图9B

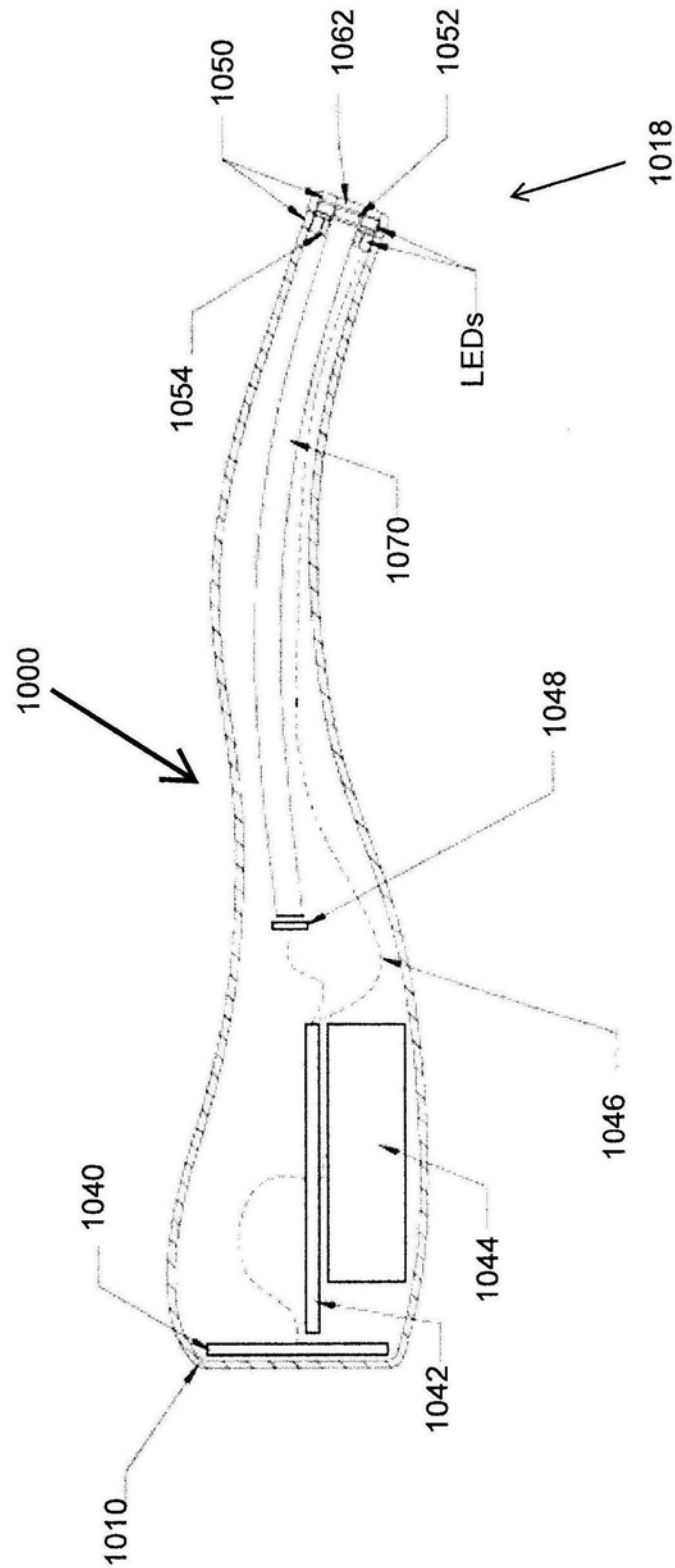


图10

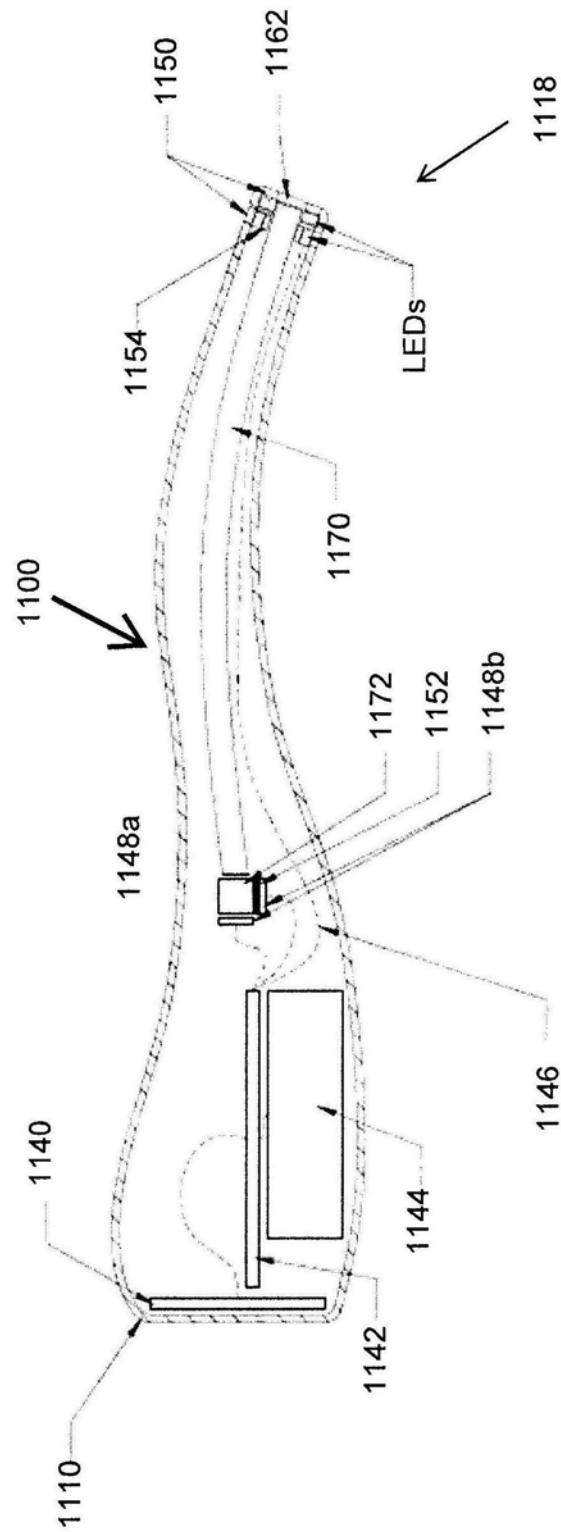


图11

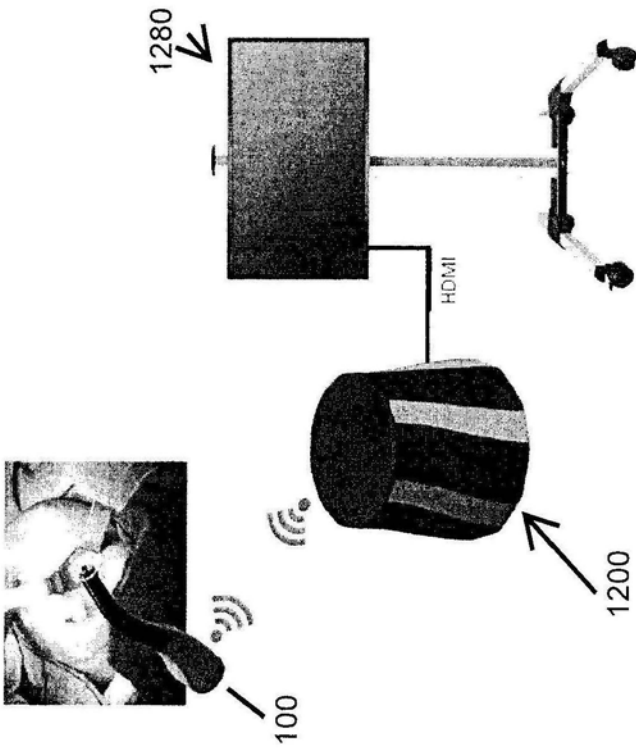


图12A

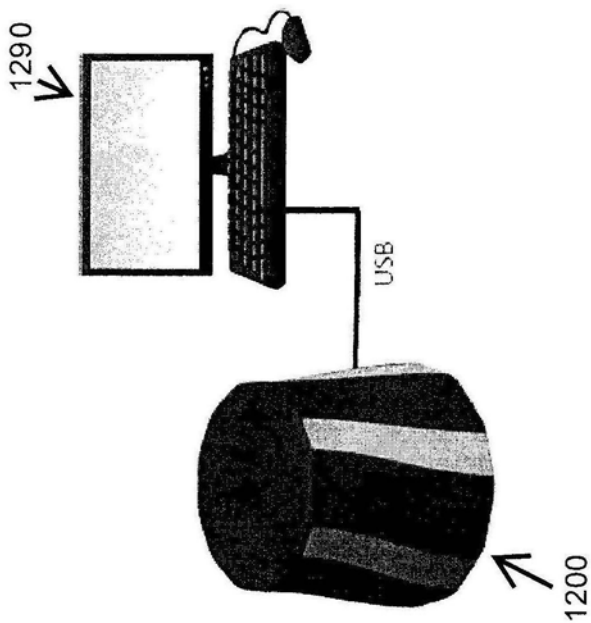


图12B

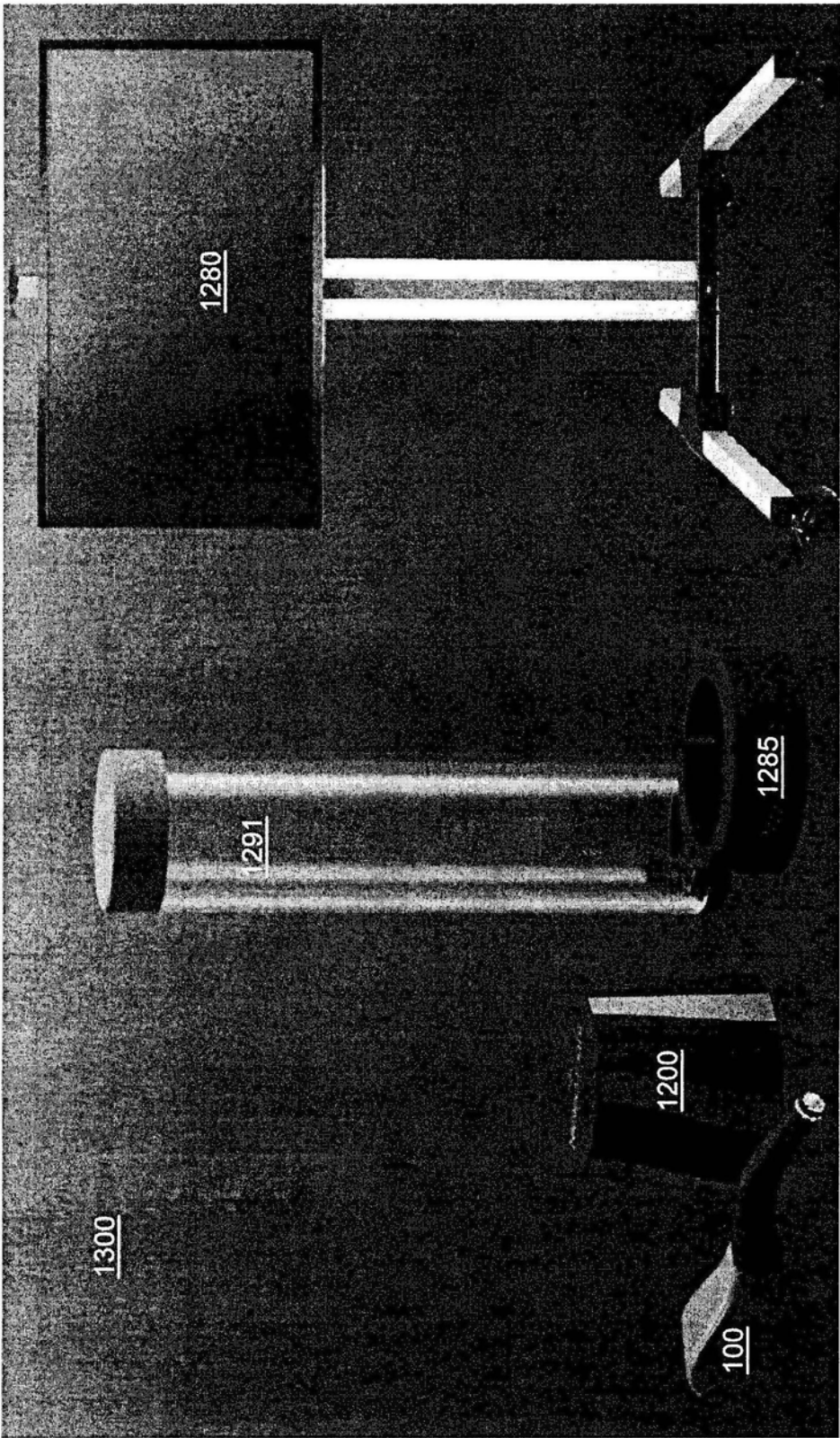


图13

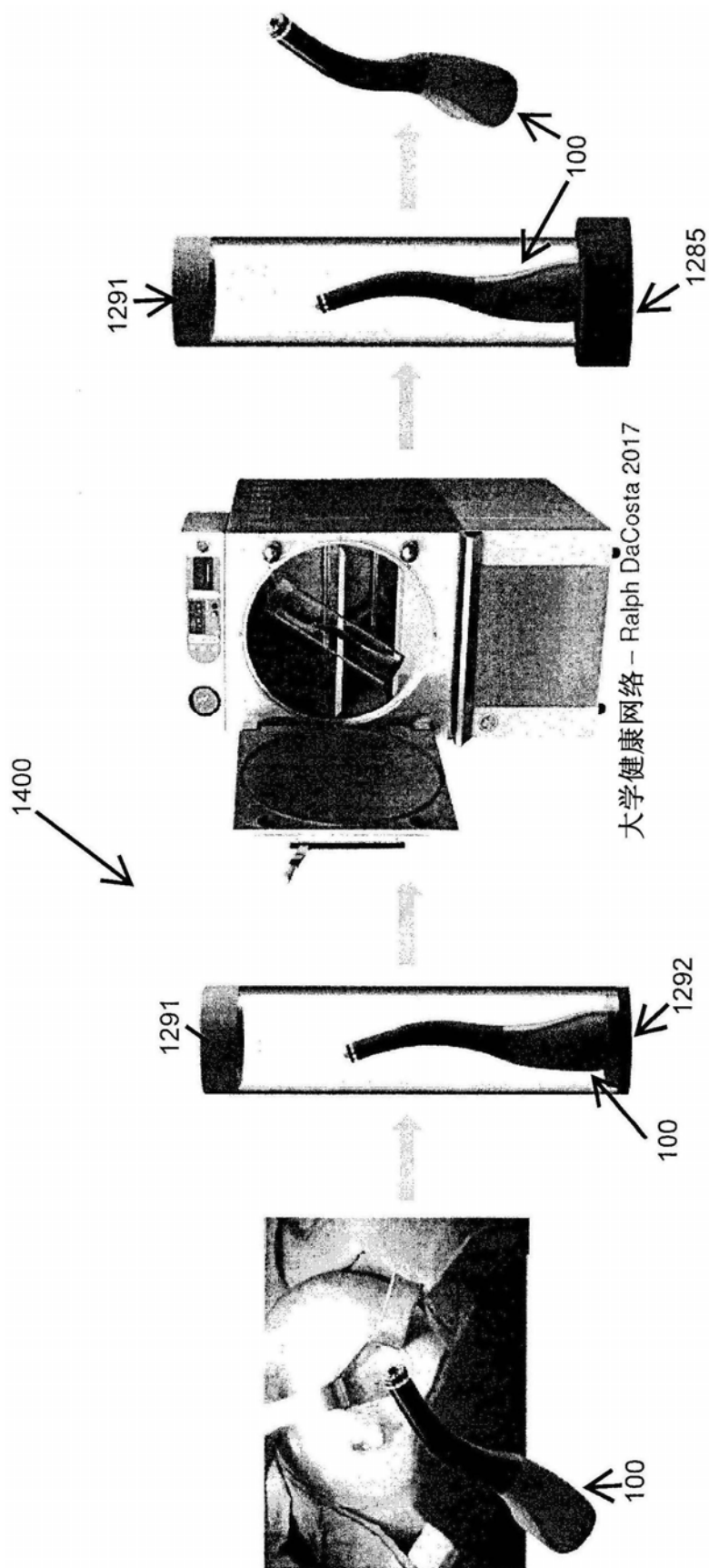


图14

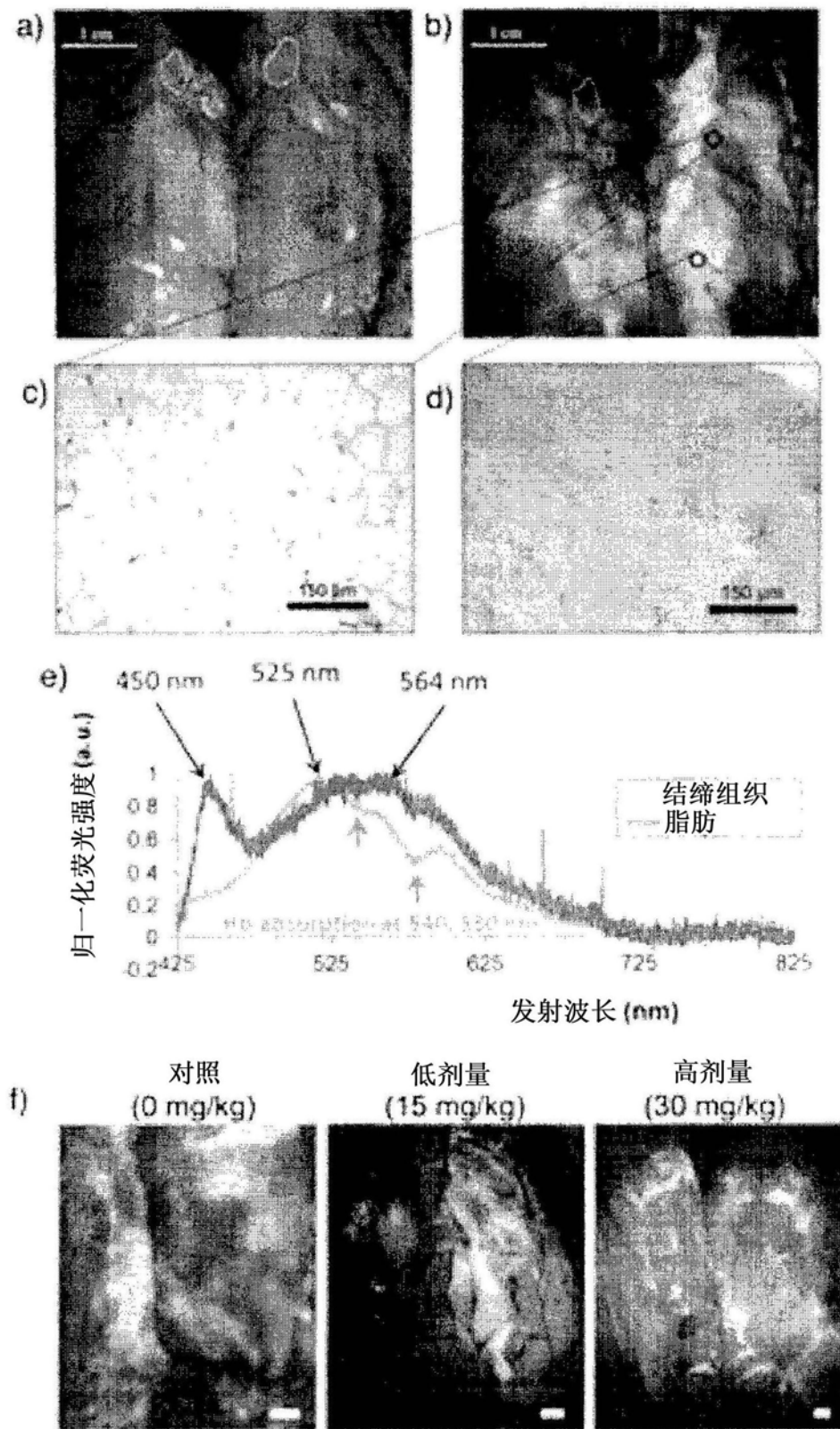


图15

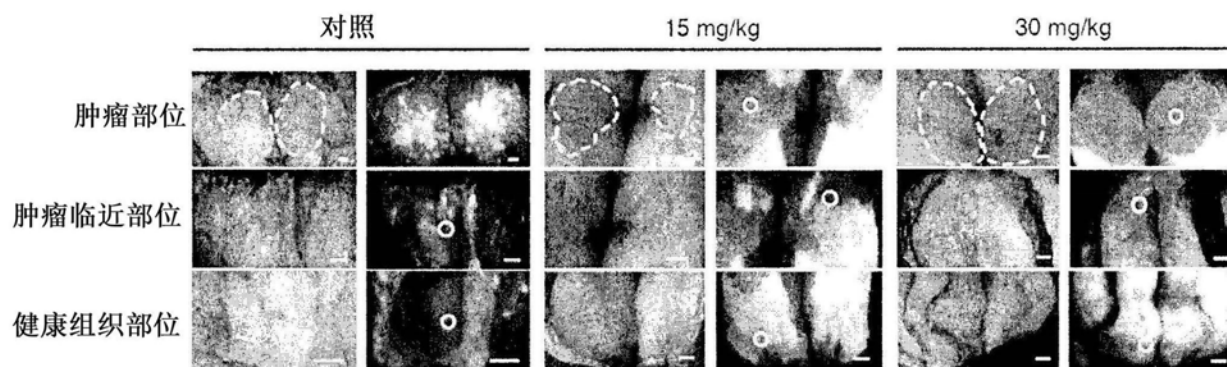


图16

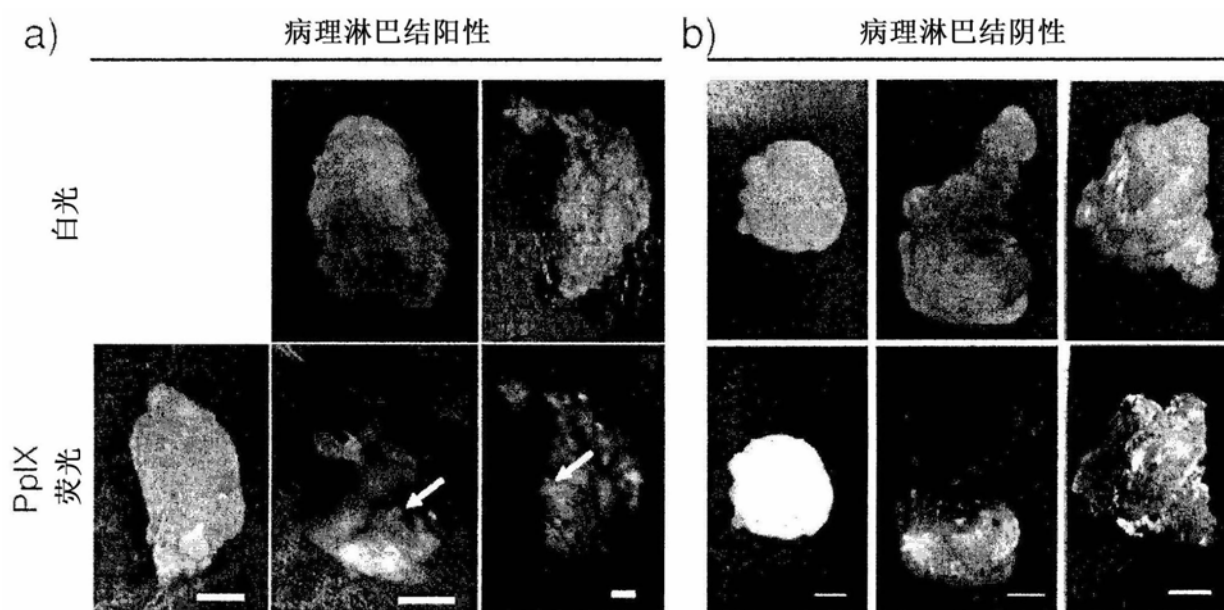


图17

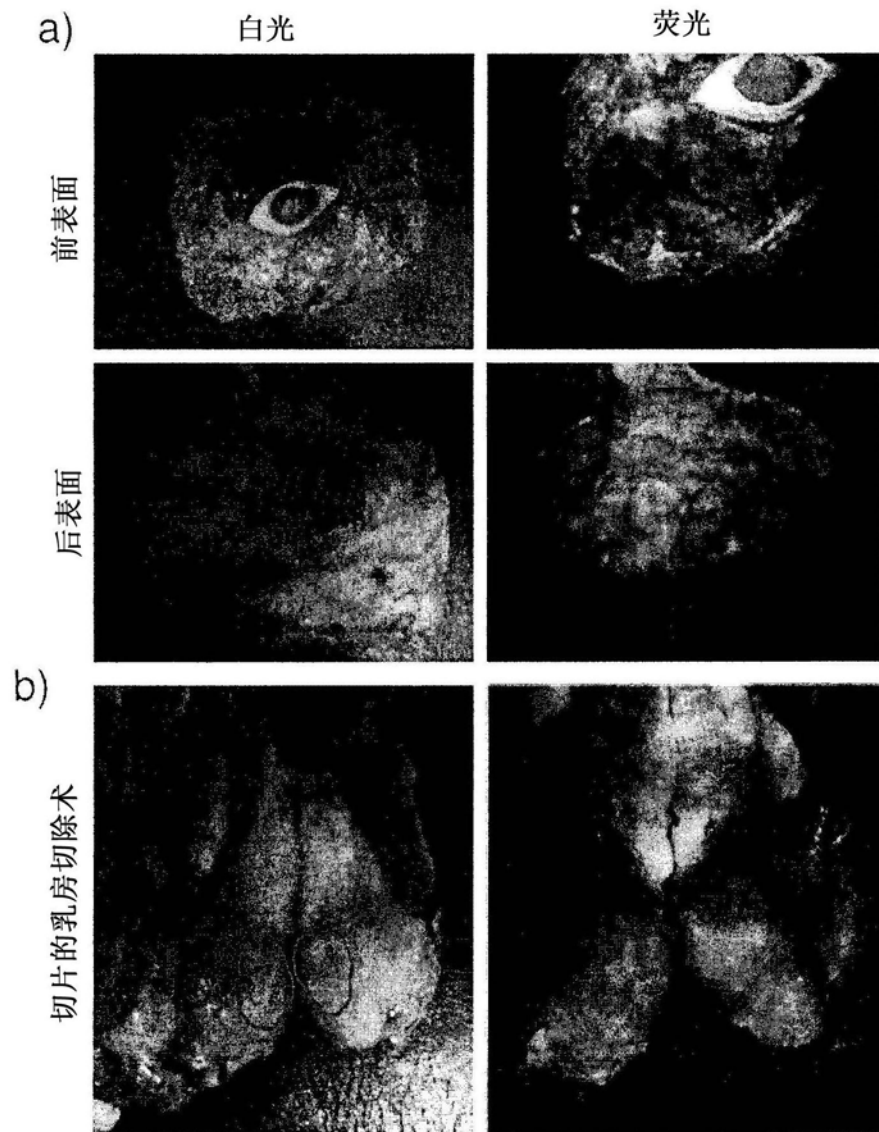


图18

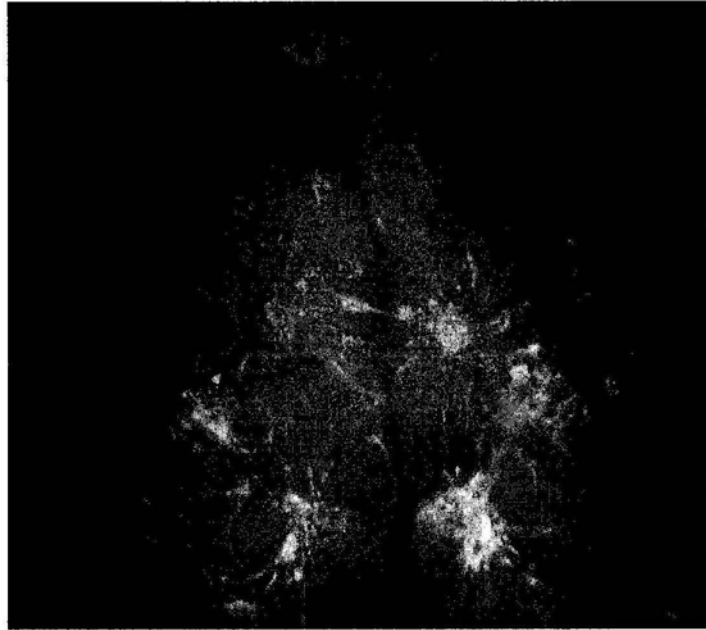


图19



图20

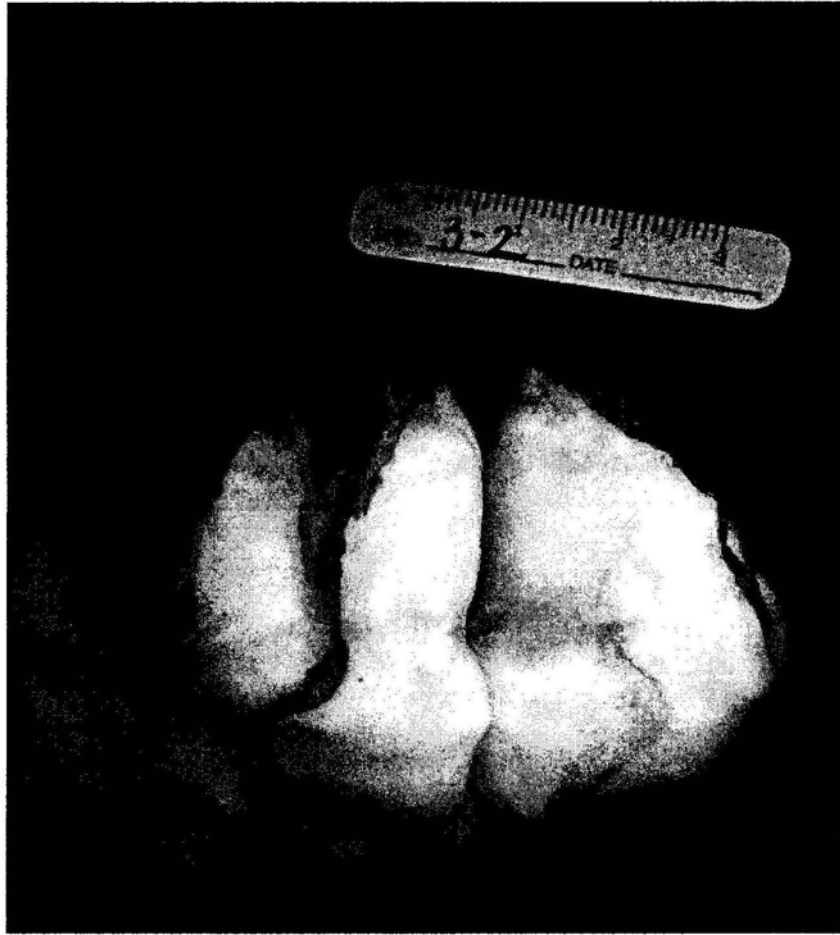


图21

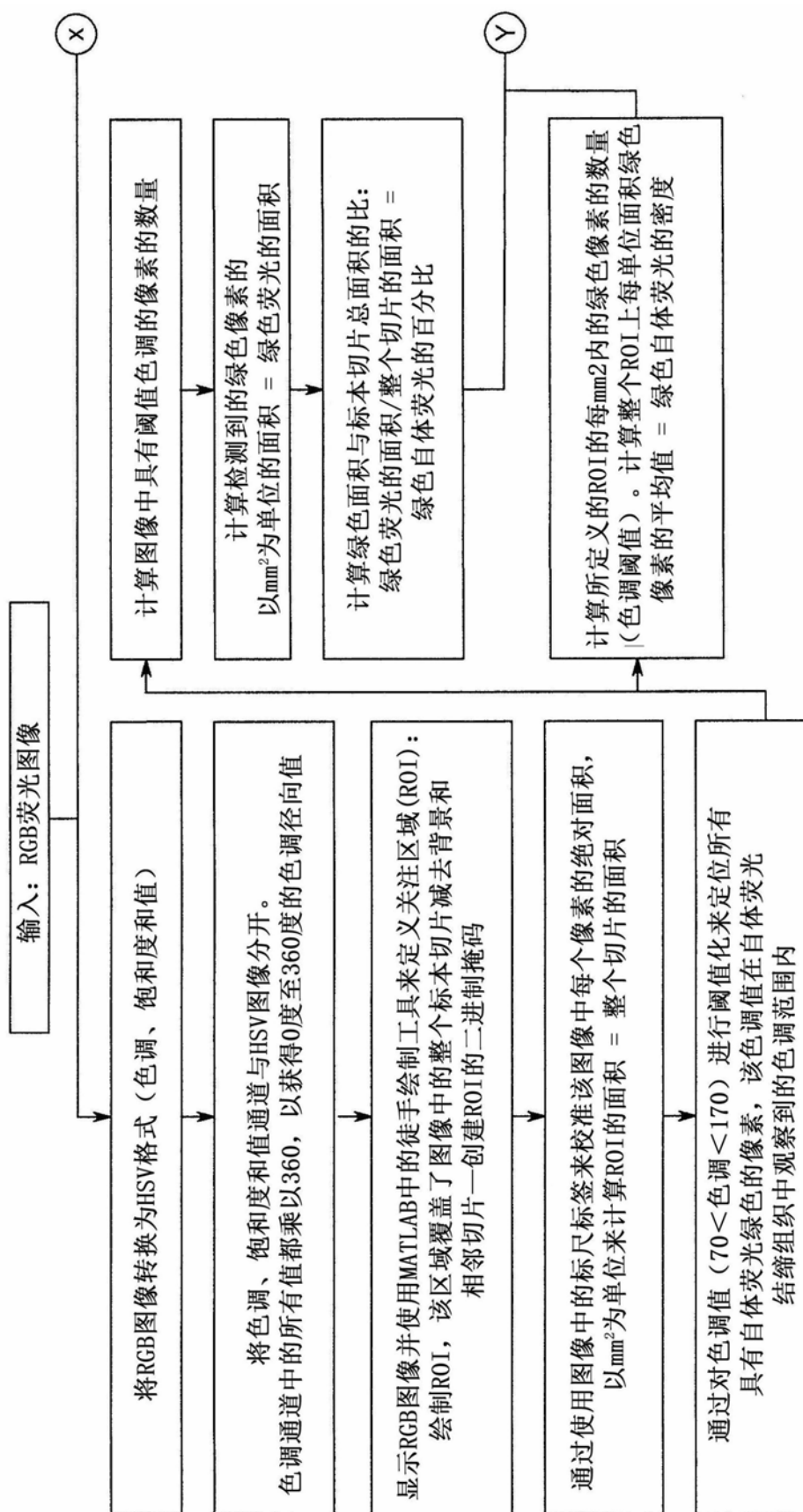


图22A

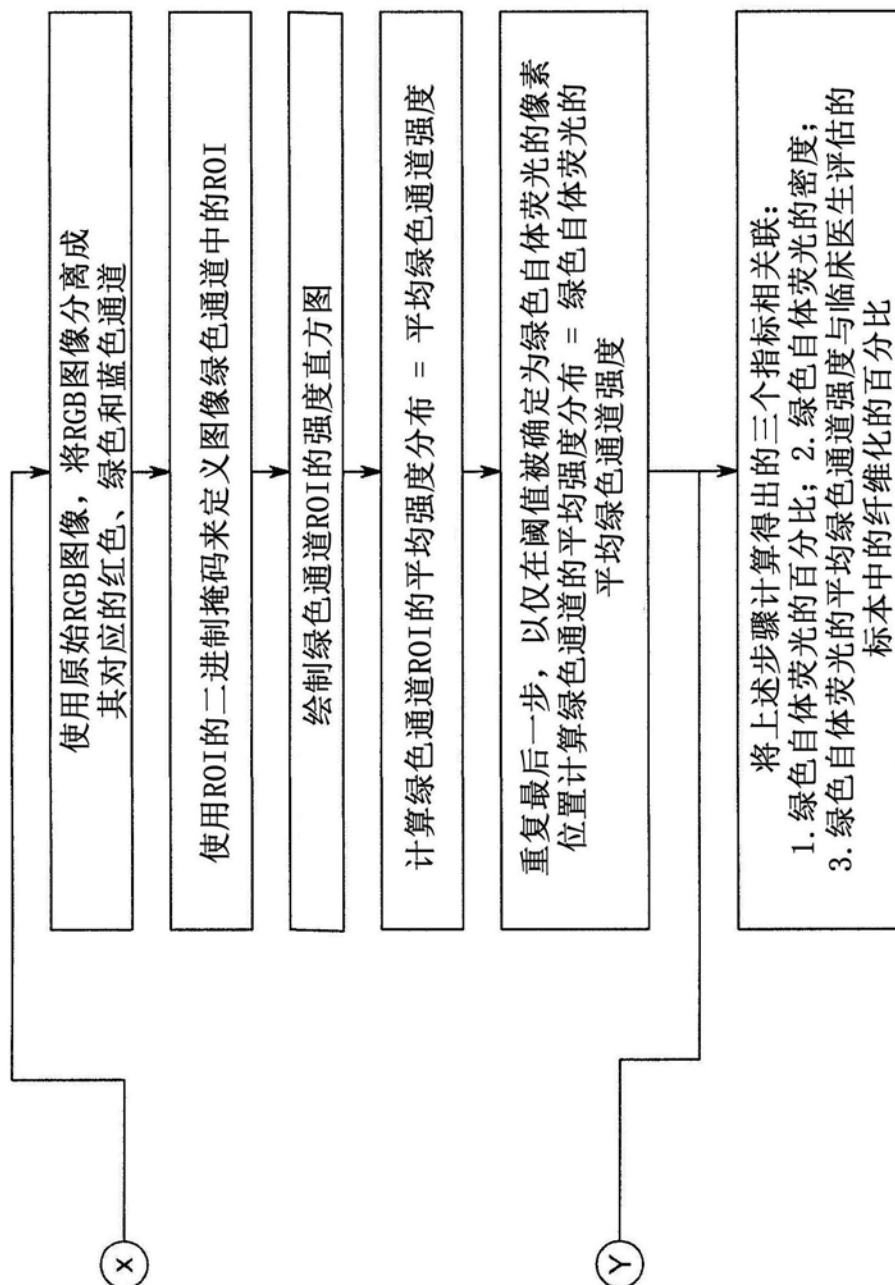


图22B

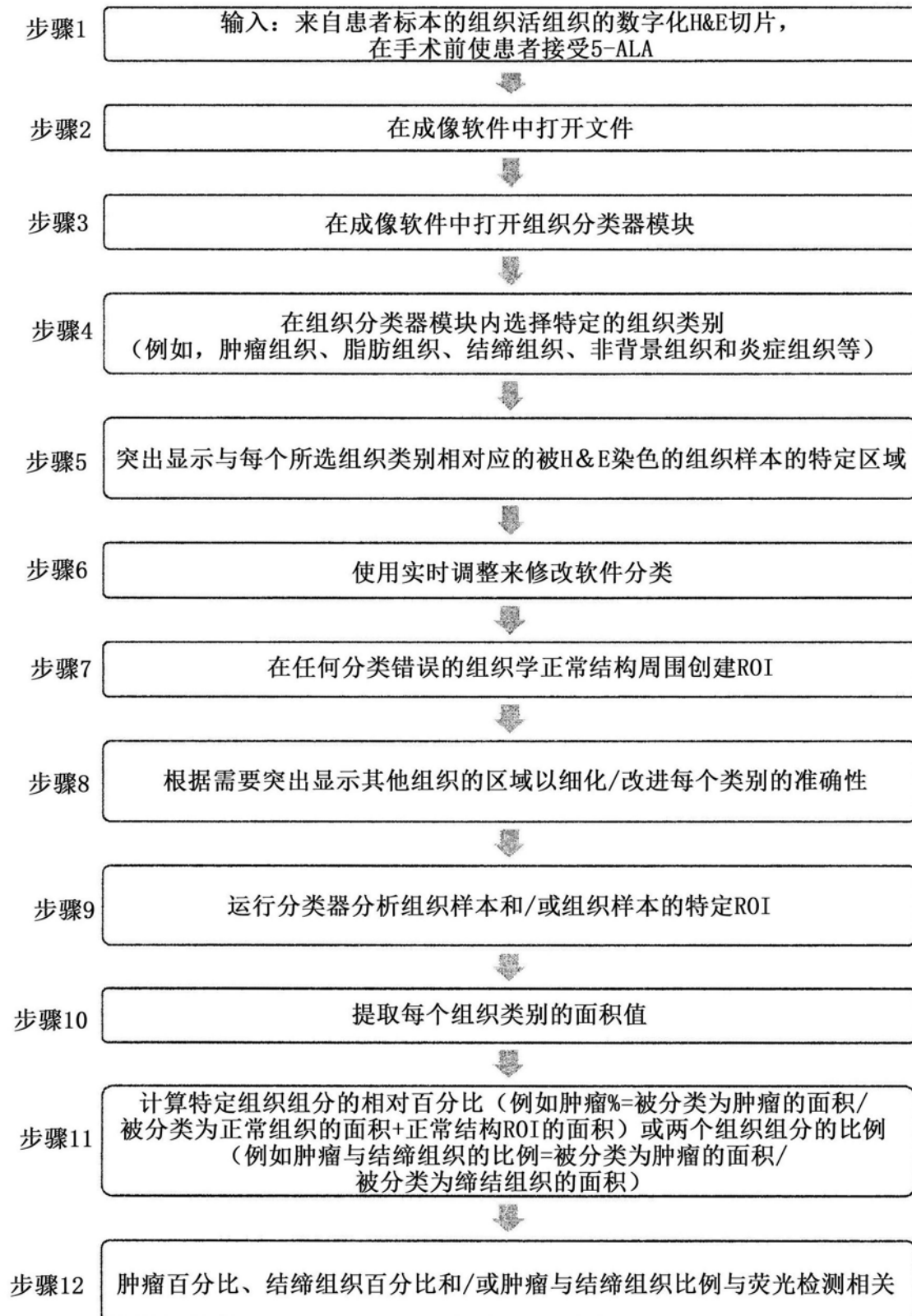


图23

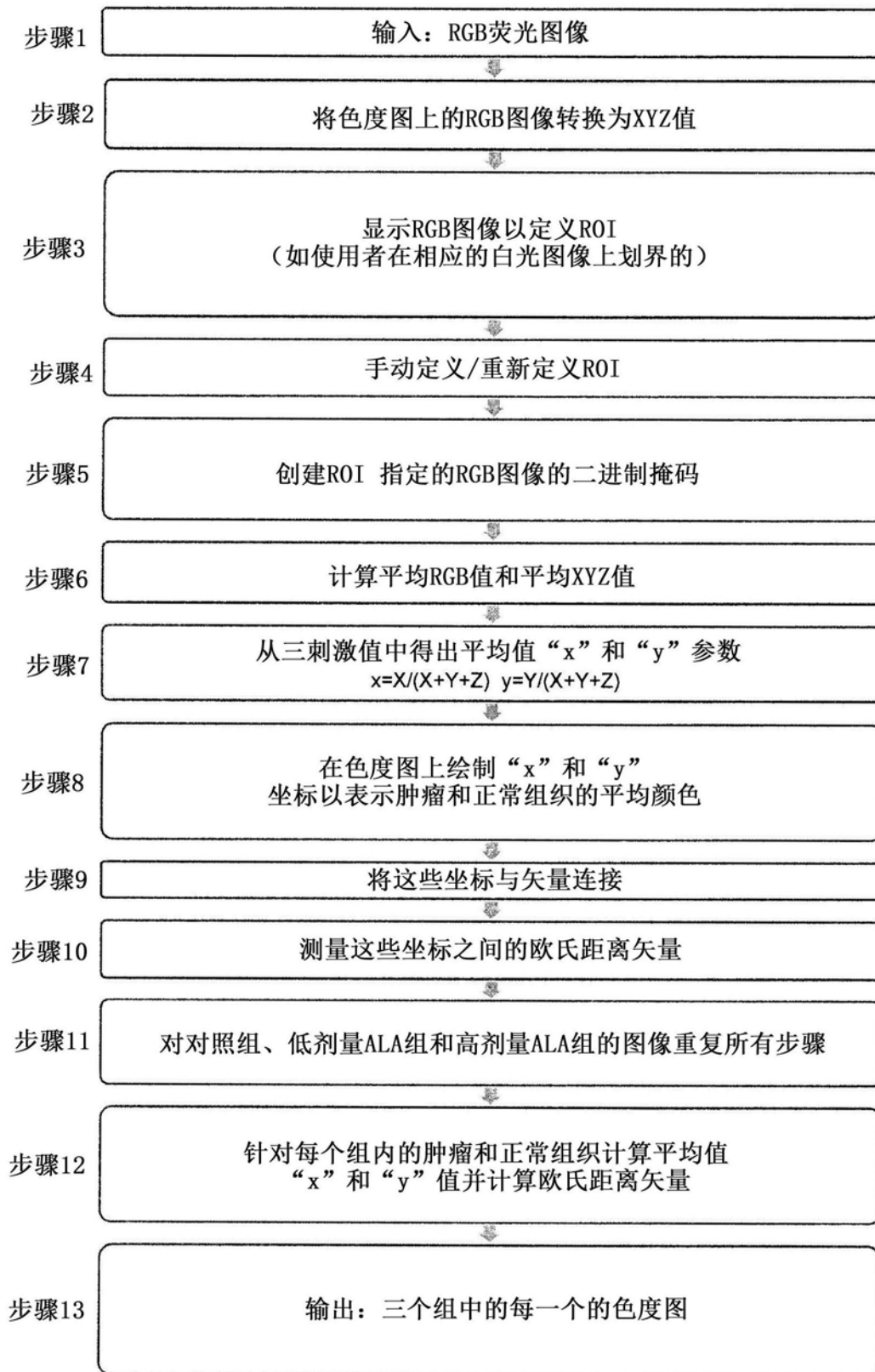


图24

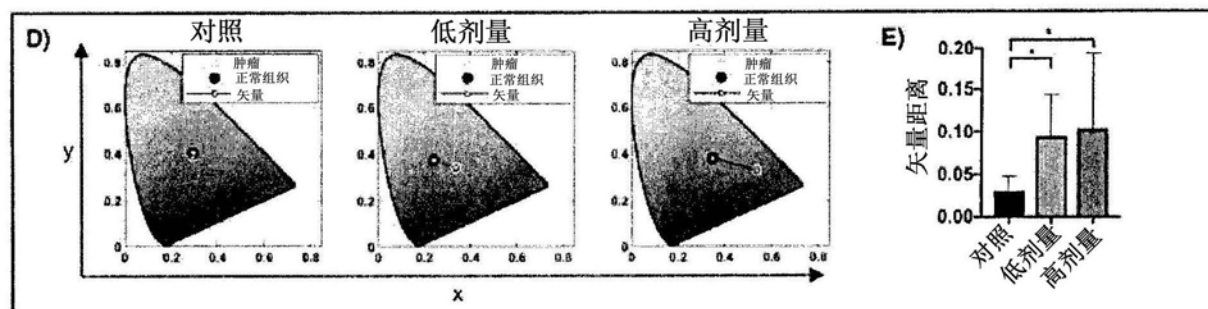


图25