

二次谐波用于透明化皮肤的在体成像方法

韩琴¹, 吴航军¹

(1.浙江大学冷冻电镜中心, 杭州 310058)

摘要: 皮肤是人体重要的器官, 免疫荧光标记是常用的研究方法, 该方法存在标记流程长、光毒性和荧光淬灭的缺点。使用二次谐波成像, 无需荧光标记且对胶原纤维结构改变高度敏感, 是一种适合皮肤病理研究的方法。结合二次谐波的在体成像方法, 可直接对皮肤原位成像, 所得结果具有明显的生理意义和参考价值。

关键词: 二次谐波; 在体成像; 透明化; 皮肤

中图分类号: Q-334

文献标识码:

A method for in vivo imaging of transparent skin Using Second harmonic generation

Han Qin¹, Wu HangJun¹

(1.Center of Cryo-Electron Microscopy, Zhejiang University, Hang Zhou 310058, China)

Abstract: Skin is an important organ and is usually studied by immunofluorescence, which has some shortcomings such as long labeling process, phototoxicity and fluorescence quenching. The use of second harmonic imaging, which does not require fluorescent labeling and is highly sensitive to structural changes of collagen fibers, is a suitable method for the study of skin pathology. Combined with the second harmonic in vivo imaging, the skin can be directly imaged in situ, and the results have physiological significance and reference value.

Keywords: Second harmonic generation; In-vivo imaging; optical clearing; skin

1 背景

皮肤作为人体的第一道防线和最大的器官，参与全身的功能活动，以维持机体和外界自然环境的对立统一；皮肤能接受外界的各种刺激并通过反射调节使机体更好地适应外界环境的各种变化，具有十分重要的生理作用。光学显微镜以优越的亚微米级的分辨率，常被用于皮肤组织的微观结构研究^[1]，其中免疫荧光技术因特异性强等优点而在皮肤相关研究中被广泛使用。常规免疫荧光需经过复杂的荧光标记流程，荧光成像会产生光毒性且长时间激光照射容易引起荧光淬灭。二次谐波产生（Second Harmonic generation, SHG）成像技术能弥补免疫荧光技术的缺点。

SHG 是一个相干二阶非线性光学过程，信号仅在非中心对称的样品中才存在^[2-4]，成像无需荧光标记且信号对结构改变高度敏感。生物组织中的结构蛋白如胶原蛋白、肌球蛋白、微管等可通过 SHG 直接无标记成像。皮肤组织中含有丰富的胶原纤维，许多皮肤疾病会引起胶原纤维结构改变，使用对结构改变高度敏感的 SHG 观察不同皮肤层的形态学变化来进行组织病理学诊断。

由于生物组织对可见光和近红外光的强烈散射和吸收作用，光学显微镜对组织的成像深度受到极大限制^[1,5,6]。为了提升成像深度和图像质量，通常采用光学清除（OC）的方法来降低光散射^[6-8]。皮肤是高度散射介质，需通过光学清除来提高成像深度。1997 年，Tuchin 首次利用组织浸没的方法研究了皮肤组织的光学清除^[9]，此后皮肤组织经常被用作光学清除的机理及透明化试剂的研究。

皮肤透明化研究多集中于离体组织开展，本文提供一种在体成像的研究方法，利用二次谐波信号研究透明化处理皮肤信息，为皮肤相关的研究提供参考。

2 材料与方法

2.1 实验材料