



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107080594 A  
(43)申请公布日 2017.08.22

(21)申请号 201710078301.X

(22)申请日 2017.02.14

(30)优先权数据

16155623.8 2016.02.15 EP

(71)申请人 徕卡仪器(新加坡)有限公司

地址 新加坡,新加坡城

(72)发明人 M·库斯特 G·塞梅利斯

(74)专利代理机构 北京思益华伦专利代理事务  
所(普通合伙) 11418

代理人 赵飞 郭红丽

(51)Int.Cl.

A61B 90/20(2016.01)

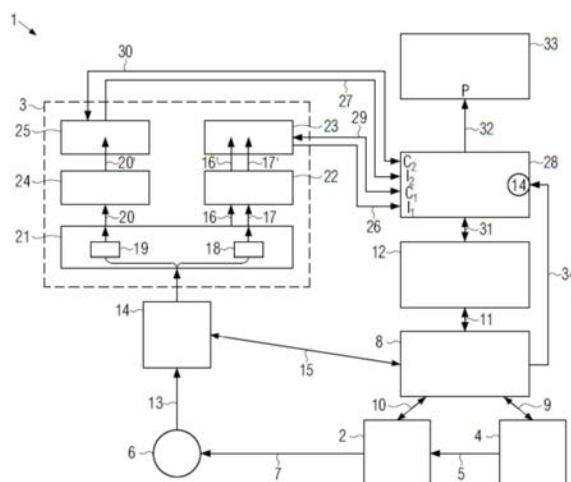
权利要求书2页 说明书13页 附图6页

(54)发明名称

多光谱荧光显微镜及其照明滤波器系统和观察系统

(57)摘要

本发明涉及一种多光谱荧光成像的照明滤波器系统,其包括第一光学滤波器。本发明还涉及一种多光谱荧光成像的观察系统,其包括适于将光图像分成沿着第一光路的第一光部分和沿着第二光路的第二光部分的分束器。为了改进已知的照明滤波器系统和观察系统,因此这些系统仅利用一个光源来工作,能够同时捕获至少一个荧光信号和可见反射光的信号,并允许用于从被照明的物体获得不同图像的均匀照明,第一光学滤波器适于淬灭本发明的照明滤波器系统中的可见光谱内的至少一个荧光激发带的光,并且第一光部分包括在可见光谱中的至少一个荧光发射带,且第二光部分包括本发明的观察系统中的可见反射光。



1. 一种用于医学成像、特别是多光谱荧光成像的照明滤波器系统(2),包括适于淬灭可见光谱内的至少一个荧光发射带(Em.1、Em.2)的光的第一光学滤波器(35)。

2. 根据权利要求1所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第一光学滤波器(35)适于淬灭波长为500-560nm的光和/或波长为620-650nm的光。

3. 根据权利要求1或2所述的照明滤波器系统(2),还包括适于衰减至少一个荧光激发带(Ex.1、Ex.2)的光的第二光学滤波器(36)。

4. 根据权利要求3所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第二光学滤波器(36)适于衰减波长为390-420nm的光和/或波长为750-800nm的光。

5. 根据权利要求3或4所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第二光学滤波器(36)被配置为从第一操作位置(37)移动到第二操作位置(38),其中,在所述第一操作位置(37)中,所述第二光学滤波器(36)与所述第一光学滤波器(35)处于光通信中,在所述第二操作位置(38)中,所述第二光学滤波器(36)与所述第一光学滤波器(35)不处于光通信中。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第一光学滤波器(35)是带阻滤波器,其适于透射除了在可见光谱中的淬灭荧光发射带(Em.1、Em.2)之外的荧光激发带(Ex.1、Ex.2)和可见光。

7. 根据权利要求3至6中任一项所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第二光学滤波器(36)是带阻滤波器,其适于透射除了衰减的荧光激发带(Ex.1、Ex.2)之外的所有波长的可见光。

8. 根据权利要求3至7中任一项所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第二光学滤波器(36)包括空间带阻滤波器图案(43),所述空间带阻滤波器图案(43)具有在所述第二光学滤波器(36)上的第一照明路径(47)的100%的覆盖率,并且具有在所述第二光学滤波器(36)上的第二照明路径(48、49、50)的小于100%的覆盖率。

9. 根据权利要求8所述的照明滤波器系统(2),其中,所述空间带阻滤波器图案(43)在提供在所述第二光学滤波器(36)上的多个照明路径(47-50)上延伸,并且所述覆盖率在每个照明路径(47-50)中是不同的。

10. 一种用于医学成像、特别是多光谱荧光成像的观察系统(3),包括分束器(21),所述分束器(21)适于将光图像(13)分成沿着第一光路(18)的第一光部分(16、17)和沿着第二光路(19)的第二光部分(20),其中所述第一光部分(16、17)包括在可见光谱中的至少一个荧光发射带(Em.1、Em.2),并且其中所述第二光部分(20)部分包括可见反射光。

11. 根据权利要求10所述的观察系统(3),其中,所述第一光部分(16、17)包括至少两个荧光发射带(Em.1、Em.2)。

12. 根据权利要求10或11所述的观察系统(3),其中,所述第一光部分(16、17)包括在500-560nm的波长范围内的光和/或在620-650nm的波长范围内的光。

13. 根据权利要求11或12所述的观察系统(3),还包括在所述第一光路18中的带通滤波器(22),其适于仅透射所述荧光发射带(Em.1、Em.2)的光。

14. 根据权利要求11至13中任一项所述的观察系统(3),还包括在所述第二光路(19)中的带阻滤波器(24),其适于淬灭所述荧光发射带(Em.1、Em.2)的光,所述带阻滤波器(24)优选地还适于淬灭荧光激发带(Ex.1、Ex.2)的光。

15. 一种诸如显微镜(1)或内窥镜、特别是手术多光谱荧光显微镜的医学成像装置(1),

包括根据权利要求1至10中任一项所述的照明滤波器系统(2),其中,所述第一带阻滤波器(35)被布置成与光源(4)和/或根据权利要求11至14中任一项所述的观察系统(3)处于光通信中。

## 多光谱荧光显微镜及其照明滤波器系统和观察系统

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于例如在诸如手术显微镜、特别是手术多光谱荧光显微镜之类的显微镜或内窥镜中进行的医学成像、特别是多光谱荧光成像的照明滤波器系统,所述照明滤波器系统包括第一光学滤波器。本发明还涉及一种用于例如在诸如手术显微镜、特别是手术多光谱荧光显微镜之类的显微镜或内窥镜中执行的医学成像、特别是多光谱荧光成像的观察系统,所述观察系统包括适于将光图像、比如从被照明物体接收的图像分成沿着第一光路的第一光部分和沿着第二光路的第二光部分的分束器。

[0002] 此外,本发明涉及包括这种照明滤波器系统和/或观察系统的医学成像装置,比如显微镜或内窥镜或手术显微镜、特别是手术多光谱荧光显微镜。本发明还涉及一种用于照明和观察物体的医学成像方法,例如显微镜术方法或内窥镜术方法,所述方法包括用照明光照明物体,其中从被照明物体接收的光图像被分成沿着第一光路的第一光部分和沿着第二光路的第二光部分。

### 背景技术

[0003] 例如从De Grand和Frangioni的“Operational near-infrared fluorescence imaging system prototype for large animal surgery”(用于大型动物手术的操作的近红外荧光成像系统原型),Technology in Cancer Research&Treatment(癌症研究与治疗技术),第2卷,第6期,2003年12月,第1-10页中或者从Sato等人的“Development of a new high-resolution intraoperative imaging system(dual-image videoangiography, DIVA) to simultaneously visualize light and near-infrared fluorescence images of indocyanine green angiography”(同时显现吲哚菁绿血管造影术的光和近红外荧光图像的新的分辨率术中成像系统(双图像视频血管造影, DIVA)的开发),Acta Neurochirurgica(2015),第157卷,第1295-1301页中,可以知晓用于同时成像来自物体的荧光图像和反射可见光的彩色图像的显微镜系统。这些系统需要两个光源、针对每个光源的照明滤波器系统以及用于捕获从物体发射的荧光以及可见反射光的图像的观察系统。使用两个光源是设备密集的、昂贵的并且需要庞大的仪器。此外,这些系统由于使用两个光源而显现出照明的不均匀性,并且与这些系统一起每次只能使用一个荧光团。

### 发明内容

[0004] 因此,本发明的目的是改进用于例如在诸如手术显微镜、特别是手术多光谱荧光显微镜之类的显微镜或内窥镜中所进行的医学成像、特别是多光谱荧光成像的已知照明滤波器系统和观察系统,因此这些系统仅利用一个光源来工作,能够同时捕获至少一个荧光信号和反射的可见光的信号,并允许用于从被照明的物体获得不同图像的均匀照明。

[0005] 对于最初提及的照明滤波器系统,该目的被实现,因为第一光学滤波器适于淬灭可见光谱内的至少一个荧光发射带的光。

[0006] 对于开头提及的观察系统,该目的被解决,因为分束器适于将光图像分成第一光

部分和第二光部分,所述第一光部分包括沿着第一光路的可见光谱中的至少一个荧光发射带,所述第二光部分包括沿着第二光路的反射可见光。

[0007] 对于最初提及的成像方法,通过将来自被照明物体接收到的光分成包括沿着第一光路的可见光谱中的至少一个荧光发射带的第一光部分和包括沿着第二光路的反射可见光的第二光部分来解决该问题。

[0008] 本发明的照明滤波器系统可以仅仅利用一个光源来同时捕获至少一个荧光信号和反射光的信号,因为第一光学滤波器仅淬灭可见光谱内的荧光发射带。在本申请的意义上,可见光谱是波长为390至780nm的光。这样,只有对应于荧光信号的波长即荧光发射带被移除,而其他波长的光、例如可见光和荧光激发光可以通过第一光学滤波器。这允许同时捕获来自照明系统所照明的物体的荧光信号和可见信号。

[0009] 由于包含了特定分束器,本发明的观察系统允许同时捕获来自所观察的物体的至少一个荧光信号以及物体的可见反射图像。这虑及了更加时间有效的观察,因为不需要一个接一个地捕获不同的荧光信号。这同样适用于本发明的成像方法。

[0010] 根据本发明的解决方案可以通过以下有利的特征来改进,这些有利的特征彼此独立并且可以独立地组合。此外,关于本发明装置进行描述的所有特征都可以被使用并且因此应用于本发明的显微镜术方法中。

[0011] 例如,本发明的照明滤波器系统可以适于多光谱成像,特别是多光谱荧光成像。照明滤波器系统可以适于多光谱荧光显微镜。这种多光谱荧光显微镜同时获取至少两个、优选地三个或更多个图像,比如例如两个或更多荧光信号,或者可见反射率图像以及至少两个荧光信号。前面的列举不是详尽的,并且照明滤波器系统可以很容易适配于要被获取的所需多光谱图像。

[0012] 根据照明滤波器系统的实施方式,第一光学滤波器可以适于淬灭波长为500-560nm的光和/或波长为620-650nm的光。波长为500-560nm的光对应于荧光素的发射光谱(或带)。波长为620-650nm的光对应于荧光团5-氨基酮戊酸(5-amino levolinic acid)诱导的原卟啉IX(5-ALA/ppIX)的发射光谱。

[0013] 如果第一光学滤波器适于淬灭可见光谱内的至少两个荧光发射带的光,则可以与可见反射光的信号一起同时捕获至少两个荧光信号。第一光学滤波器可以适于淬灭在500-560nm的波长内的光和波长为620-650nm的光。利用这种滤波器,仅仅使用一个光源,可以与可见反射光的图像一起同时捕获荧光信号以及5-ALA/ppIX信号。

[0014] 在一个实施方式中,照明滤波器系统还可以包括适于衰减荧光激发带的光的第二光学滤波器。第二光学滤波器可以适于衰减波长为390-420nm的光和/或波长为750-800nm的光。使用适于衰减波长为390-420nm的光的第二光学滤波器,可以降低5-ALA/ppIX和荧光的激发带中的光的强度。当第二光学滤波器适于衰减波长为750-800nm的光时,可以降低吲哚菁绿(ICG)的激发带中的光的强度。第二光学滤波器可以用于避免对观察物体的不必要的损坏,这在手术显微镜中使用照明滤波器系统用于观察对荧光激发带范围内的光敏感的组织时可能是重要的。为了避免损坏组织,例如在仅捕获可见图像的情况下,第二光学滤波器可以与第一光学滤波器一起使用,或者代替第一光学滤波器而被使用。

[0015] 在一个实施方式中,第二光学滤波器可以被配置为从第一操作位置移动到第二操作位置,其中在第一操作位置中,第二光学滤波器与第一光学滤波器处于光通信中,在第二

操作位置中,第二光学滤波器与第一光学滤波器不处于光通信中。如果在其第一操作位置中,则第一光学滤波器和第二光学滤波器处于光通信中,这意味着被引导到并通过第一光学滤波器的照明光随后在其第一操作位置遇到并通过第二光学滤波器。换句话说,表述“光通信”意味着沿着相同的光路布置的相应元件。

[0016] 用于将光束引导通过照明滤波器系统的光学滤波器的替代实施方式可以是可适用的。可以将第一光学滤波器和第二光学滤波器中的每一个配置成从第一操作位置可移动到第二操作位置,其中在第一操作位置中,光学滤波器与光源处于光通信中,在第二操作位置中,光学滤波器与光源不处于光通信中,其中当第二光学滤波器处于其第二操作位置中时,第一光学滤波器处于其第一操作位置中,反之亦然。还可以使用照明滤波器系统,其中将第一光学滤波器和第二光学滤波器布置成彼此不处于光通信中,并且其中显微镜的光源被配置为从光源与第一光学滤波器处于光通信中的第一操作位置移动到光源与第二光学滤波器处于光通信中的第二操作位置。

[0017] 在另一示例中,第一光学滤波器可以是淬灭所有荧光发射带的带阻滤波器。例如,如果要捕获三个荧光信号,则第一光学滤波器可以是淬灭相应的三个荧光发射带的三带阻滤波器。还有可能使用串联布置的多个单带阻滤波器,串联布置即一个接一个地处于光通信中。

[0018] 第二光学滤波器可以是衰减所有荧光激发带的带阻滤波器。在同时获取三个荧光信号的示例中,第二带阻滤波器可以是衰减所有三个荧光激发带的光的三带阻滤波器。同样,可以将具有串联的三个单带阻滤波器的系统用作第二带阻滤波器。

[0019] 根据本申请,淬灭光意味着基本上消除相应波长的所有光。在本申请的意义上而言,对光进行衰减意味着减少相应波长的光。淬灭是衰减相应波长的所有光的特定实施方式。

[0020] 表述“与第一带阻滤波器不处于光通信中”意味着第二光学滤波器在其第二操作位置中可以完全被布置在照明路径之外,或者第二带阻滤波器包括基本上透射所有波长的光的照明路径区域。

[0021] 第一光学滤波器可以是适于透射除了落入可见光的光谱中的淬灭荧光发射带之外的荧光激发带和可见光的带阻滤波器。

[0022] 在一个示例性实施方式中,第一光学滤波器可以是陷波滤波器,例如在要同时捕获两个荧光信号的情况下的双陷波滤波器,或者在要同时捕获三个荧光图像的情况下的三陷波滤波器,等等。同样,可以将多于一个的陷波滤波器元件串联布置为第一光学滤波器,以便消除要捕获的任何荧光发射带的光。

[0023] 第二光学滤波器也可以是带阻滤波器。它可以适于透射除了可见光谱中的衰减的荧光激发带之外的所有波长的可见光。

[0024] 在另一实施方式中,照明滤波器系统可以包括适于仅透射荧光激发带的光的第三光学滤波器。第三光学滤波器可以仅透射具有激发待观察的物体中的相应荧光团所需的所有荧光激发带的波长的光。

[0025] 第三光学滤波器可以是带通滤波器。第三光学滤波器可以被配置为从第一操作位置移动到第二操作位置,其中在第一操作位置中,第三光学滤波器与第一光学滤波器(并且优选地也与在其第一操作位置中的第二光学滤波器)处于光通信中,在第二操作位置中,第

三光学滤波器与第一光学滤波器不处于光通信中。

[0026] 通过第二光学滤波器衰减荧光激发带允许调节荧光激发的强度,并且可以用于在没有荧光模式时使用照明滤波器系统的情况下淬灭荧光激发,从而避免向激发光不必要地暴露组织。

[0027] 第二光学滤波器可以适于调节荧光激发带的衰减程度。调节衰减程度允许相对于白光(或可见光)的强度调节激发光的强度,从而提供物体的均匀照明并且改善在使用本发明照明滤波器系统的显微镜中捕获的信号/图像的质量。照明滤波器系统可以包括适于调节衰减程度的控制系统。例如,第二光学滤波器可以包括具有不同衰减程度—即,将荧光激发带的光衰减到不同程度—的一系列滤波器元件或滤波器区。这样的系统例如可以包括三个不同的滤波器,一个完全淬灭荧光激发带的光,另一个具有50-75%的荧光激发带的透射率,第三滤波器具有约25-50%的荧光激发带的透射率。控制系统可以被配置为将相应的滤波器移动到与第一光学滤波器的光通信中,以便实现预期的衰减程度。在另一实施方式中,第二光学滤波器可以是包括多个衰减元件或衰减区域的可变滤波器,每个衰减元件或衰减区域针对荧光激发带具有不同的透射率,并且因此允许改变衰减程度。

[0028] 在另一实施方式中,第二光学滤波器可以包括空间带阻滤波器图案,所述空间图案具有在第二光学滤波器上的第一照明路径的100%的覆盖率,并且具有在第二光学滤波器上的第二照明路径的小于100%的覆盖率。带阻滤波器图案可以是作为空间图案应用在基板上的带阻滤波器涂层。“覆盖率”是利用滤波器使光通过照明路径的照明路径的部分或一部分。例如80%的覆盖率意味着通过照明通路的光的80%被滤波,而另外20%的光未被滤波通过。例如可以通过嵌入一定量的滤波化合物或者通过在相应的照明路径中的滤波器上涂覆一定量的滤波材料来实现覆盖率。

[0029] 第三光学滤波器可以包括空间带通滤波器图案,所述空间图案具有在第三光学滤波器上/通过第三光学滤波器的第一照明路径的100%的覆盖率,并且具有在第三光学滤波器上的第二照明路径的小于100%的覆盖率。带通滤波器图案可以是作为空间图案应用在基板上的带通滤波器涂层。

[0030] 表述“照明路径”限定了照明光路覆盖在滤波器上的特定区域。如果滤波器相对于光源移位,则滤波器上的照明路径同样改变。在这方面中,应当注意,滤波器上的不同照明路径可以部分重叠。因此,可以在单个滤波器上提供多个不同的照明路径。

[0031] 在基板上具有图案化涂层的滤波器的情况下,滤波器或基板可以基本上透射所有照明光。例如,基板可以是玻璃基板。在特定照明路径内的涂覆区域与未涂覆区域的比率确定了针对所述照明路径的衰减的百分比。覆盖率是涂覆区域相对于照明路径的总区域的比率。

[0032] 带阻滤波器涂层可以总是衰减相应荧光激发带的100%。因此,特定照明路径内的涂层的百分比确定所述照明路径中的荧光激发带的衰减程度。

[0033] 带通滤波器涂层可以总是对于相应的荧光激发带具有100%的透射率,同时淬灭即基本上消除所有其他波长。因此,覆盖率确定具有在荧光激发波长之外的波长的光的衰减程度。正因为如此,例如可以调节白光的强度的衰减程度。本发明的强度调节允许在仅具有一个光源的显微镜中使用照明系统,所述光源例如是发射例如波长为300-900nm、优选为380-800nm的照明光的光源。

[0034] 空间滤波器图案,比如例如以空间图案应用在基板上的滤波器涂层,同样可以允许相对于彼此调节不同荧光激发带的强度。例如,基板可以完全涂覆有第一涂层,所述第一涂层是针对第一荧光激发带和第二荧光激发带的双带通滤波器涂层。基板可以进一步用空间图案涂覆有仅针对第二荧光激发带具有100%透射率的单带通滤波器涂层材料,所述空间图案如上下文所述。这样,可以相对于第二荧光激发带中的光的强度来调节第一荧光激发带中的光的相对强度。

[0035] 根据另一实施方式,空间图案可以在提供在基板上的多个照明路径上延伸,并且覆盖率—即涂覆区域与照明路径的总区域的比率—在每个照明路径中是不同的。覆盖率可以从一个照明路径到另一个照明路径逐步地或逐渐地改变。

[0036] 可以沿着运动轴线在基板上布置多个照明路径,相应的滤波器被配置为沿着该运动轴线从其第一操作位置移动到其第二操作位置。例如,基板可以是片,即具有基本上矩形的,优选的是细长形状的,玻璃板。该片可以沿着沿该片的纵向轴线的线性运动轴线而移动。在另一个实施方式中,基板可以是盘形的,该盘可以具有旋转运动轴线。盘可以绕其中心旋转,以便从第一操作位置移位到第二操作位置中。其他实施方式也同样是可能的。例如,基板可以具有带有不同的、相区别的照明路径的矩形形状,所述照明路径不重叠并且当相应地移走基板时可以各自地被放置在照明光路中。

[0037] 在一个实施方式中,空间图案可以包括多个涂层贴片,即基板被涂覆的点。相邻贴片的中心优选地彼此基本上等距离地间隔开。为了实现不同的覆盖率,即在特定照明路径中的不同的涂层比率,贴片的区域可以在基板上变化。贴片的中心可以是几何中心,例如直径彼此交叉的圆的中心或者其中对角线相交的诸如正方形、矩形、菱形或平行四边形之类的不同形状的中心。贴片的区域是所述贴片所覆盖的基板的表面。

[0038] 在一个实施方式中,涂层贴片可以是涂层正方形。正方形的对角线长度可以变化,优选地沿着基板的运动轴线变化。这样,可以获得具有沿着运动轴线逐渐下降的覆盖率的空间图案。

[0039] 例如,在基板是片的情况下,可以在片的纵向以及宽度方向上应用固定数目的涂层贴片/涂层正方形。在纵向和宽度方向上,正方形的相邻中心之间的距离可以相同。在宽度方向上,所有相邻正方形可以具有相同的对角线长度,因此具有相同的面积。在纵向方向上,对角线长度以及因此的正方形的面积可以连续地增加。

[0040] 优选地,贴片中心之间的距离以及贴片/正方形的长度显著小于照明路径的面积。“显著小于”意味着贴片的距离/长度小10的数量级。

[0041] 本发明的照明滤波器系统允许调节照明光的不同波长的强度,比如荧光激发带的强度和白光(或可见光)强度。本发明允许各自地调节这些强度,即相对于第一荧光激发带来调节白光的强度,或者允许相对于第二荧光激发带来调节白光和第一荧光激发带的强度。这改善了同时捕获从物体反射的可见光的图像以及荧光发射带的信号。

[0042] 在观察系统的一个实施方式中,第一光部分包括至少两个荧光发射带。因此,本发明允许同时捕获来自物体的可见反射光的彩色图像以及两个荧光带,通过应用本发明的观察系统,至少一个荧光带在可见光谱之外,但是也可以是两个荧光带都在可见光谱之外。

[0043] 第一光部分可以包括在500–560nm(荧光发射带)的波长范围内的光和/或在620–650nm(5-ALA/ppIX发射带)的波长范围内的光。

[0044] 观察系统的分束器可以是反射基本上所有要捕获的荧光发射带并且对所有可见光具有基本上100%透射率的多色镜。

[0045] 在另一实施方式中,观察系统还可以在第二光路中包括适于仅透射荧光发射带的光的带通滤波器,这允许聚焦和改善由例如布置成在第一光路中与所述带通滤波器处于光通信中的传感器所检测到的荧光发射信号。

[0046] 观察系统还可以在第二光路中包括适于淬灭荧光发射带的光的带阻滤波器。带阻滤波器优选地也可以适于淬灭荧光激发带的光。这改善了由例如布置成与带阻滤波器处于光通信中的传感器所检测到的可见反射光的信号,所述传感器例如是像CCD设备的彩色相机。

[0047] 本发明还涉及一种医学成像装置,比如包括上述照明滤波器系统和/或上述观察滤波器系统的显微镜或内窥镜。

[0048] 本发明还涉及一种医学成像装置,其中,第一带阻滤波器被布置成与光源处于光通信中。如上所提及,医学成像装置可以仅包含单个光源。

## 附图说明

[0049] 在下文中,参考附图在示例性实施方式中更详细地描述了本发明。正如上面所解释的那样,可以自由组合实施方式中的各种特征。如果对于特定应用,不需要由特定特征所实现的优点,则可以省略该特征。

[0050] 在附图中,相同的附图标记被用于相对于其设计和/或其功能彼此对应的元件。

[0051] 在附图中:

[0052] 图1示出了根据本发明实施方式的医学成像装置的示意性框图;

[0053] 图2A示出了5-ALA/ppIX的激发和发射带和光谱;

[0054] 图2B示出了吲哚菁绿(ICG)的激发和发射光谱和带;

[0055] 图2C示出了在本发明的示例性实施方式中使用的光的光谱部分在可见光和近红外(NIR)光的光谱上如何分布;

[0056] 图3A示出了在根据第一实施方式的照明滤波器系统中使用的滤波器的光谱特性(透射率);

[0057] 图3B示出了包括具有图3A的光谱特性的滤波器的第一实施方式的照明系统;

[0058] 图4A示出了根据第二实施方式的照明滤波器系统;

[0059] 图4B示出了由如图4A所示的照明滤波器系统所包含的各个滤波器的光谱特性以及整个照明滤波器系统的光谱特性;

[0060] 图5A示出了图5B的光学滤波器在相应的照明路径中的光谱特性;

[0061] 图5B示出了具有空间图案涂层的第一可变光学滤波器;

[0062] 图5C示出了具有空间图案涂层的第二可变光学滤波器;

[0063] 图5D示出了图5C的光学滤波器在相应的照明路径中的光谱特性;

[0064] 图6A示出了根据本发明实施方式的观察系统的滤波器和分束器的光谱特性(透射率和反射率);以及

[0065] 图6B示出了包括具有图6A所示光谱特性的滤波器和分束器的根据实施方式的观察系统。

## 具体实施方式

[0066] 首先,参考图1解释诸如内窥镜或显微镜1之类的包括示例性照明滤波器系统2以及示例性观察系统3的医学成像装置的设计和功。显微镜1包括光源4,光源4应用根据本发明的显微镜术方法来将照明光5发射到待观察物体6上。照明滤波器系统2与光源4以及物体6处于光通信中,也就是说,照明系统2处于从光源到物体6的照明光5的光路中。

[0067] 照明滤波器系统2对照明光5进行滤波和光谱修改。如下面将关于本发明的照明滤波器系统2的优选实施方式更详细解释的那样,它调节照明光5内的特定部分相对于彼此的强度。因此,光谱修改后的照明光7离开照明滤波器系统2并且被引导到物体6上。对光谱修改后的照明光7进行特别地适配以便改善多光谱荧光显微镜术方法。在所示出的实施方式中,对由照明滤波器系统2所提供的光谱修改后的照明光7进行适配以便同时捕获反射的可见图像以及两个荧光信号,这也将下面更详细地进行描述。

[0068] 光源4以及照明滤波器系统2都由控制器8调整。控制器8经由双向信号线9与光源4连接,控制器8可以经由该双向信号线9调整例如照明光5的强度或者在具有两个不同光源的光单元的情况下选择用于发射照明光5的相应光源。控制器8还经由另一个双向信号线10来调整照明滤波器系统2—例如通过设置用于调节某些滤波器的衰减程度的滤波器以便调节包括在频谱修改后的照明光7中的某些光谱带的光强度的比率。使用双向信号线9、10允许光源4和滤波器系统2的设置的环路控制。

[0069] 控制器8本身经由另一双向信号线11而与用于输入显微镜的设置的控制器接口12耦合。

[0070] 在限定的显微镜设置14处将光图像13从物体6发送到观察系统3。在图1中,诸如观察系统3所使用的元件、工作距离、放大率之类的显微镜观察设置14被表示为框。控制器8可以经由另一信号线15调节显微镜的观察参数。在观察系统3的分束器21中将从物体6发送到观察系统3的光图像13分成沿着第一光路18的第一光部分16、17和沿着第二光路19的第二光部分20。第一光部分16、17包括两个荧光发射带。第二光部分包括反射可见光(VISR),即从物体反射的可见光。第一光部分16、17通过带通滤波器22。离开带通滤波器22的第一光部分的第一发射带和第二荧光发射带16'、17'被荧光传感器23捕获。荧光传感器23例如可以是荧光相机,举例而言,如果荧光发射带在近红外范围内,则荧光传感器23为NIR相机。

[0071] 第二光部分20通过带阻滤波器24。离开带阻滤波器24的第二光部分的反射可见光20'被第二传感器25捕获。第二传感器25可以是可见相机,比如例如是电荷耦合器件(CCD)。

[0072] 第一传感器23经由信号线26将包括关于捕获的荧光发射带的信息的第一图像读出 $I_1$ 发送到处理单元28。第二图像读出 $I_2$ 经由信号线27从第二传感器25发送到处理单元28。图像读出 $I_2$ 包含由传感器25捕获的反射可见光20'的图像数据。

[0073] 处理单元28还分别通过双向信号线29和30连接到传感器23和传感器25中的每一个。经由这些双向信号线29、30,处理单元28控制传感器23和25,并读出所述传感器23、25的设置,以允许处理单元28对传感器23、25进行环路控制。处理单元28本身可以通过将相应的参数输入到控制器接口12中并经由信号线31发送该设置来接收来自显微镜的用户的设置。

[0074] 处理单元28可以处理图像读出 $I_1$ 和 $I_2$ 。在优选实施方式中,伪图像P可以由处理单元28生成并且经由信号线32从处理单元28发送到显示设备33、比如例如监视器。即使未在

图1中示出,伪图像P也可以存储在文档系统中。伪图像P可以是来自荧光(FL)传感器23的图像读出 $I_1$ 和来自可见照相机25的VISR图像读出 $I_2$ 的合并体。应该注意,合并的伪图像P不仅仅是图像读出 $I_1$ 和 $I_2$ 的重叠。伪图像P没有遮掩任何图像读出信息(通过重叠两个图像读出 $I_1$ 和 $I_2$ 则将是这种情况),而是以自然的方式在VISR图像读出 $I_2$ 内呈现荧光图像读出,类似于注入明亮的染料。伪图像P可以实时生成,这允许显微镜1的用户在一个合并图像中捕获白光图像和荧光信号的组合。

[0075] 为了提高伪图像P的质量,图像读出 $I_1$ 和 $I_2$ 可以被均匀化。均匀化可以校正图像光学的照明中的不均匀性和渐晕,否则所述照明中的不均匀性和渐晕会因为视场的周边可能在周边比在中心明显更暗而导致视场上的不均匀亮度。此外,均匀化的图像读出 $I_1$ 和 $I_2$ 可以在合并之前彼此对准。例如,可以进行空间校正变换以校正两个传感器23和25的相对位置中的对准误差,并且考虑到传感器23和25之间的平移、旋转和放大率失配可以应用数字滤波器。此外,可以对图像读出、特别是从荧光传感器23接收的图像读出 $I_1$ 设置阈值,以便去除来自荧光传感器23的暗电流,从而避免在荧光信号的测量中的假贡献。

[0076] 控制器8可以经由信号线34向处理单元28提供可能是由用户经由控制器接口12输入的显微镜设置14的数据,所述数据诸如例如是工作距离、放大率以及照明滤波器系统2的设置、光源1。

[0077] 图2A至图2C示出了荧光团5-氨基酮戊酸诱导的原卟啉IX(5-ALA/ppIX)(图2A)和吲哚菁绿(ICG)(图2B)的激发和发射光谱。Ex.1ppIX指示5-ALA/ppIX的激发带,Em.1ppIX指示原卟啉IX的荧光发射带,Ex.2ICG指示ICG的荧光激发带,而Em.2ICG指示ICG的荧光发射带。

[0078] 图2C的图表示出了根据波长的荧光激发和发射带以及可见光谱、特别是可见反射(VISR)光。如下面将更详细地解释的那样,在所示出的示例性实施方式中,将图2C中限定的VISR光谱引导到第二传感器25、即VISR传感器上。将荧光发射带Em.1ppIX和Em.2ICG引导到传感器23、即荧光传感器。因此,图2C中所指示的可见反射光的光谱对应于图1中的第二光部分20'。在图2C中所指示的两个荧光发射光谱Em.1ppIX和Em.2ICG分别对应于第一光部分16'和17'。

[0079] 为了清楚地区分光谱带,特别是排除原卟啉IX(photoporphyrin IX)的荧光激发带并且避免荧光激发带与可见光谱、特别是可见反射光的重叠,使用本发明的照明滤波器系统2和观察系统3,如下面将要解释的那样。

[0080] 首先,参考图3A和图3B解释根据第一实施方式的示例性照明滤波器系统2的设计和性能。图3B示出了与光源4处于光通信中的照明滤波器系统2的示例性实施方式。将照明滤波器系统2布置在照明光5的光路中。照明滤波器系统2包括第一光学滤波器35。第一光学滤波器35可以是带阻滤波器。第一光学滤波器35适于淬灭可见光谱内的荧光发射带的光。在所示出的实施方式中,分别地淬灭ppIX和ICG的荧光发射带Em.1和Em.2。第一光学滤波器35总是与光源4处于光通信中,因此要由传感器23检测的荧光发射带总是由照明滤波器系统2从照明光5中消除。

[0081] 所示出的实施方式的照明滤波器系统2还包括第二光学滤波器36。第二光学滤波器36是可选的,其可以是带阻滤波器。第二光学滤波器36被配置为从图3B中虚线所指示的第一操作位置37移动。在第一操作位置37中,第二光学滤波器36与第一光学滤波器35处于

光通信中,也即是说,当第二光学滤波器36处于其第一操作位置37中时,照明光5通过第一光学滤波器35和第二光学滤波器36二者。

[0082] 第二光学滤波器36被配置为从第一操作位置37移动到第二操作位置38,在所述第二操作位置38中,第二光学滤波器36与第一光学滤波器35不处于光通信中。在第二操作位置38中,第二光学滤波器36未被布置在照明光5的光路中,因此如果第二光学滤波器36处于其第二操作位置38中,则照明光5仅通过第一光学滤波器35而不通过第二光学滤波器36。

[0083] 箭头指示第二光学滤波器36从其第一操作位置37到其第二操作位置38的转变39。例如可以通过将滤波器36移进和移出与第一光学滤波器35的光通信中来进行此转变39。

[0084] 在图3A中可以看出,第一光学滤波器35是这样的带阻滤波器,其适于透射ppIX的Ex.1和Ex.2ICG的荧光激发带的光以及可见光的整个光谱和与可见光相邻的NIR光的一部分—除了ppIX的被淬灭的荧光发射带Em.1之外。

[0085] 在一个实施方式中,第一光学滤波器35可以是淬灭Em.1ppIX和Em.2ICG的激发带的双陷波滤波器。

[0086] 第二光学滤波器36适于透射除了由所述第二光学滤波器36衰减的荧光激发带Ex.1和Ex.2之外的可见反射光。

[0087] 这样,荧光激发带可以被导通和关闭。

[0088] 本发明的照明滤波器系统2允许相对于白光和/或不同荧光激发带的强度来调节荧光激发的强度。当例如需要最大激发功率但是对于使用显微镜的目镜而言最大白光照明太亮时,这种相对强度调节是有用的。

[0089] 本发明的照明滤波器系统2还可以用于例如使用根据第二实施方式的照明滤波器系统2来调节激发光和白光(或可见光)的强度比。下面参考图3A和图3B来解释第二实施方式的照明滤波器系统2的设计和功

[0090] 示例性照明滤波器系统2的另一实施方式的设计和功

将参考图4和图5来进行解释。图4和图5中所示出的照明滤波器系统2的实施方式包括用于消除荧光发射带Em.1ppIX和Em.2ICG处的任何光的第一光学滤波器35,其可以是双陷波滤波器。图4和图5中所示出的实施方式的照明滤波器系统2还包括适于衰减荧光激发带Ex.1ppIX和Ex.2ICG的光的第二光学滤波器36。第二光学滤波器36被配置为从它与第一光学滤波器35处于光通信中的第一操作位置37移动到第二操作位置38。在第一操作位置37和第二操作位置38之间的转变39通过沿着运动轴线40移动第二光学滤波器36来实现。

[0091] 第二光学滤波器36可以包括矩形基板,在所

示实施方式中为载波片41,并且运动轴线40对应于基板41的纵向方向L。

[0092] 在基板41的空间图案43中应用带阻滤波器涂层42,该图案43将在下面更详细地描述。

[0093] 图4和图5中所示出的实施方式的照明滤波器系统2还包括适于仅透射荧光激发带Ex.1ppIX和Ex.2ICG的光的第三光学滤波器44。第三光学滤波器44可以是带通滤波器44。类似于第二光学滤波器36,第三光学滤波器44被配置为从第一操作位置37移动到第二操作位置38,其中,在第一操作位置37中,第三光学滤波器44与第一光学滤波器35处于光通信中,在第二操作位置38中,第三光学滤波器44与第一光学滤波器35不处于光通信中。

[0094] 第三光学滤波器44同样被包括在类似于基板41的基板45中,基板45也由具有矩形

形状的干净载波片组成,并且其可以在从第一操作位置37到第二操作位置38的转变39期间沿着其纵向轴线L移动,该纵向轴线L与运动轴线40相同。

[0095] 第三光学滤波器44的基板45包括在与基板41上的第二光学滤波器36的空间图案43相类似的空间图案43中应用的带通滤波器涂层46。

[0096] 空间图案43允许通过第二光学滤波器36将荧光激发带Ex.1ppIX和Ex.2ICG的强度从100%逐渐衰减到0%,并且通过第三光学滤波器44将白光的强度从0逐渐到100%透射率。

[0097] 滤波器36和44是可变滤波器,其允许分别地取决于它们在照明光5沿着纵向方向L/运动轴线40的路径中的位置来调节荧光激发带和白光强度的透射率。这是通过涂层42、46的空间图案43来实现,其在所示出的实施方式中对于第二光学滤波器36和第三光学滤波器44二者来说是相同的。

[0098] 空间图案43具有第一照明路径47的100%的覆盖率。覆盖率是指涂覆面积相对于与通过照明滤波器系统2的相应滤波器44、36的光的面积相对应的照明路径的总面积的比率。

[0099] 空间图案43具有在基板41、45上的第二照明路径48的小于100%的覆盖率。在所示出的实施方式中,在示例性第二照明路径48中涂层覆盖率为0%,意味着在与第二照明路径48相对应的位置上根本没有涂层46被涂覆到基板41、45,因此这与在其中滤波器不处于光通信中的第二操作位置38相同。在基板41、45的一端上的第一照明路径47和在沿着基板41、55的纵向方向L的相对端上的第二照明路径48之间提供有多个照明路径,作为示例,在图5B和图5C中示出了来自其中的两个另外的照明路径49和50。

[0100] 将多个照明路径48、49、50、47沿着运动轴线40布置在基板41、45上。空间图案43包括多个涂层贴片51。在所示出的实施方式中,涂层贴片51是涂层正方形52。相邻贴片51/正方形52的中心53等距离地一即以彼此相同的距离d一间隔开。然而,贴片51的面积A沿着运动轴线40变化。在所示出的示例中,贴片51的长度l对应于沿着运动轴线40变化的涂层正方形52的对角线长度l。详细来说,即,涂层正方形52的对角线从与沿着运动轴线40的方向没有涂层的第二照明路径48相邻的区域逐渐增加到具有完全、即100%涂层的第二照明路径47。空间图案43从图5中左侧所示出的第一照明路径47中的100%空间覆盖率开始,并且覆盖率沿着运动轴线40逐渐下降,直到在相对侧—图5中所示出的右侧—上的第二照明路径48中完全不存在。

[0101] 覆盖率,即照明路径的涂覆面积与总面积的比率,确定了在第二带阻滤波器36的情况下的荧光激发带的透射率的百分比,以及在所示出的实施方式中带通滤波器44对具有波长为大约400-750nm的白光的透射率以及因此的强度。这可以针对在图5A和图5D中的四个示例性照明路径47至50而看出。

[0102] 因此,可以各自地调节光谱修改后的照明光7中的荧光激发带以及白光部分的强度。所有三个滤波器的组合导致了具有白光和激发强度之间的期望比率的光谱修改后的照明光7的光谱,如图4B中的一个示例所示。图4B从左至右示出了:双陷波滤波器35的荧光发射带的猝灭、带通滤波器44对白光部分的衰减、第二带阻滤波器36对荧光激发光的衰减。所有这三个滤波器都处于光通信中并且导致在图4B的右侧所示出的光谱修改后的照明光7。

[0103] 为了获得涂层42、46的几乎逐渐变化的覆盖率,涂层贴片51/涂层正方形52的中心

53之间的距离d应该显著短于照明路径的直径54。这样,滤波变得更均匀。在这方面的明显较短意味着至少10的量级。

[0104] 最后,参考图6解释观察系统3的示例性实施方式。图6B示出了观察系统3的示意性设计,并且图6A示出了观察系统3的组件的光谱特性(透射率和反射)。

[0105] 观察系统3包括分束器21,其适于将被照明物体6的光图像13分成沿着第一光路18的第一光部分16、17和沿着第二光路19的第二光部分20。第一光部分16、17包括荧光发射带ppIX的Em.1和ICG的Em.2。第二部分20包括反射可见光。在所示出的实施方式中,分束器21是多波段的二向色镜(Polychronic mirror)55,其反射具有荧光发射带Em.1和Em.2中的波长的光,并透射除了落入白光光谱中的荧光发射带Em.1之外的所有可见光谱的光。观察系统3还包括在上面已经关于图1解释过的两个滤波器22和24以及两个传感器23和25。

[0106] 此外,第一光部分16、17在到达传感器23之前所通过的滤波器22可以是适于仅透射荧光发射带Em.1和Em.2的光的带通滤波器。第二光部分20在到达传感器25之前所通过的滤波器24可以是适于淬灭荧光发射带Em.1、Em.2以及荧光激发带Ex.1、Ex.2的光的带阻滤波器。

[0107] 附图标记

1	显微镜/医学成像装置
2	照明滤波器系统
3	观察系统
4	光源
5	照明光
6	物体
7	光谱修改的照明光
8	控制器
9	信号线
10	信号线
11	信号线
12	控制器接口
13	光图像
14	显微镜设置
15	信号线
16、16'	第一光部分
17、17'	第一光部分
18	第一光路
19	第二光路
20	第二光部分/VISR

[0108]

[0109]

21	分束器
22	带通滤波器
23	第一传感器/FL 传感器
24	带阻滤波器
25	第二传感器/VISR 传感器
26	信号线
27	信号线
28	处理单元
29	信号线
30	信号线
31	信号线
32	信号线
33	显示设备
34	信号线
35	第一光学（带阻）滤波器
36	第二光学（带阻）滤波器
37	第一操作位置
38	第二操作位置
39	转变
40	运动轴线
41	基板
42	带阻滤波器涂层
43	空间图案
44	第三光学（带通）滤波器
45	基板
46	带通滤波器涂层
47	第一照明路径
48	第二照明路径
49	第三照明路径

[0110]

50	第四照明路径
51	涂层贴片
52	涂层正方形
53	涂层贴片/正方形的中心
54	照明路径的直径
55	多波段二向色镜
A	涂层贴片/正方形的面积
d	相邻中心之间的距离
Ex.1	ppIX 的激发带
Em.1	ppIX 的发射带
Ex.2	ICG 的激发带
Em.2	ICG 的发射带
$I_1$	图像读出 (FL)
$I_2$	图像读出 (VISR)
L	纵向方向
l	贴片的长度/正方形的对角线
P	伪图像
VISR	可见反射光



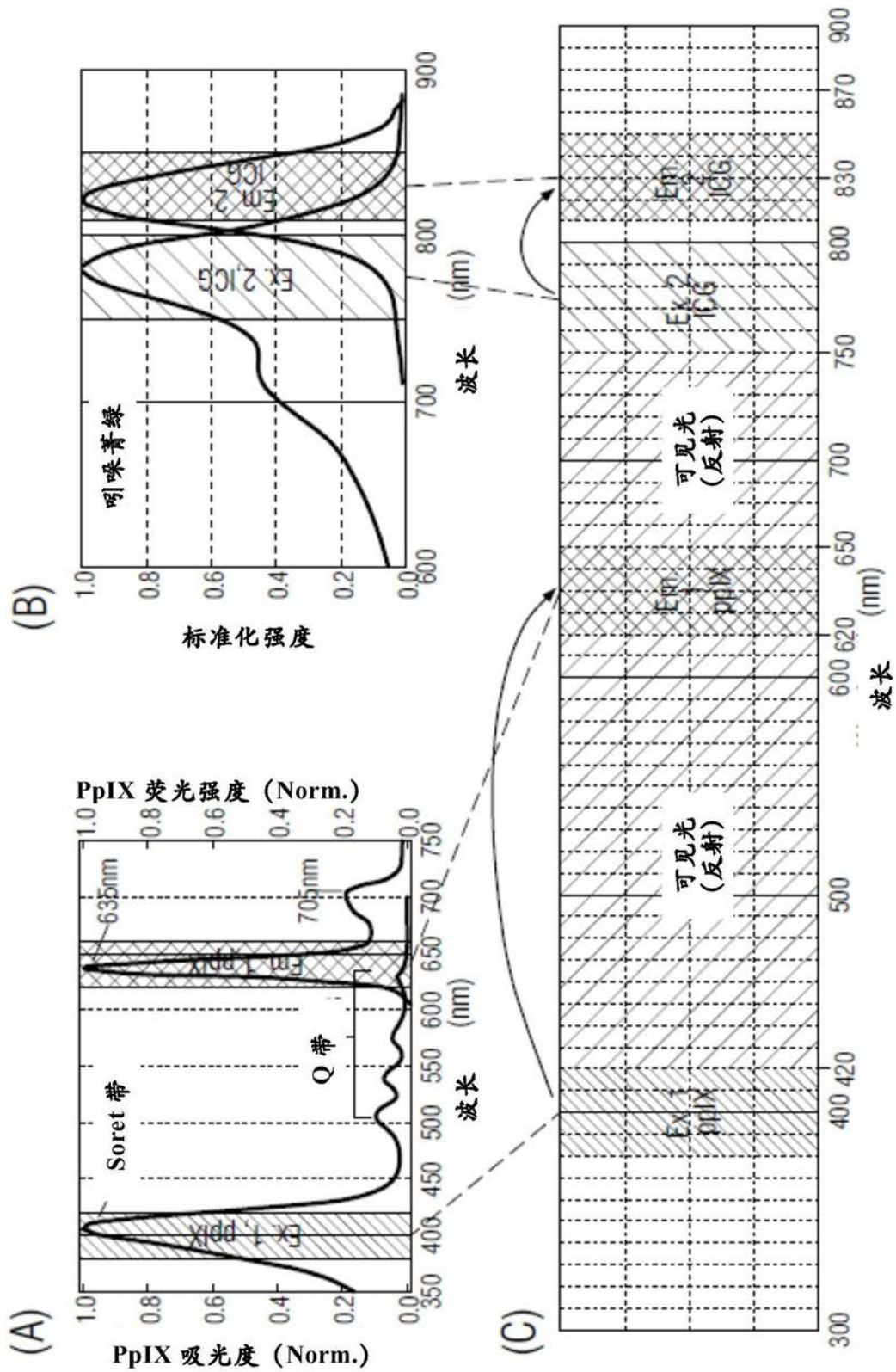


图2

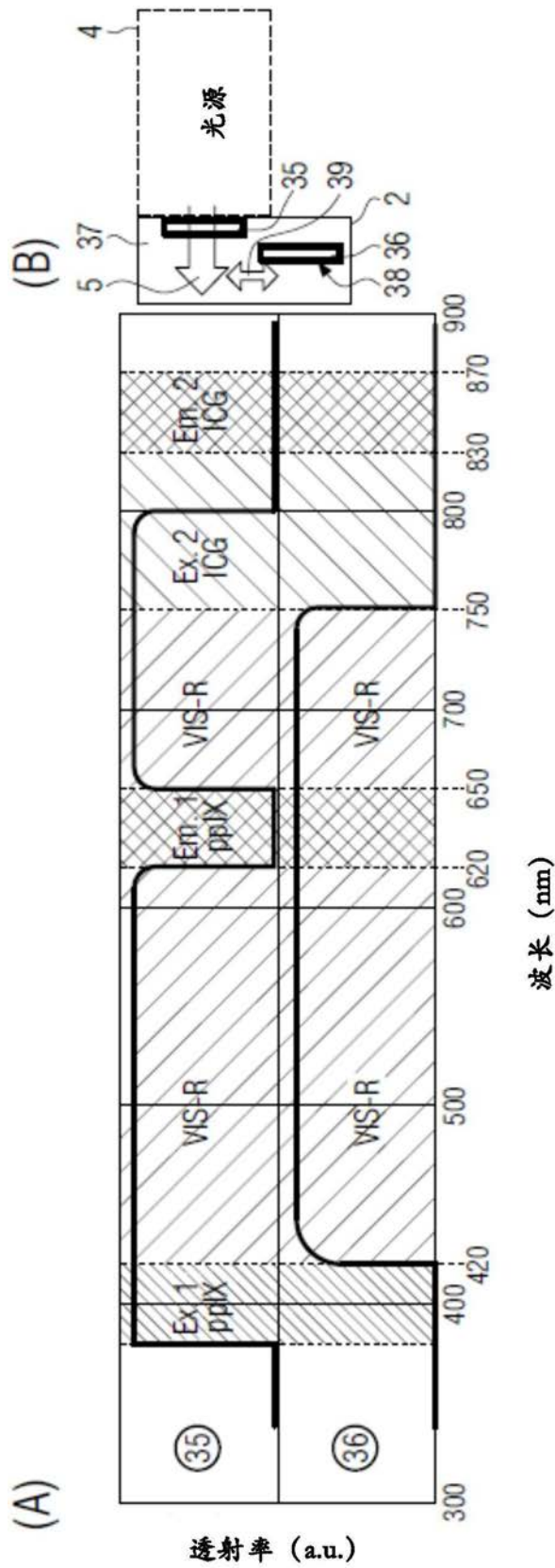


图3

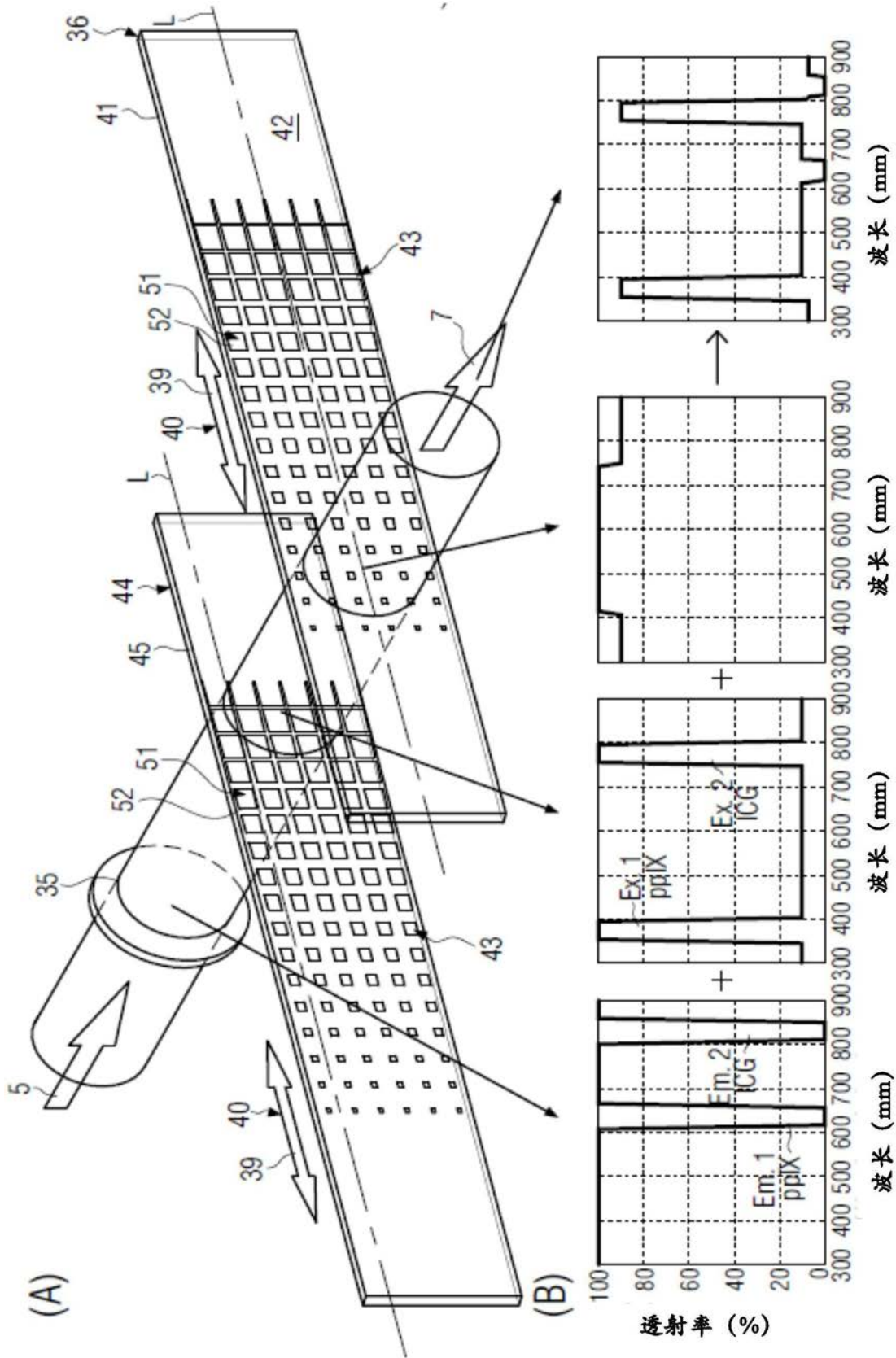


图4

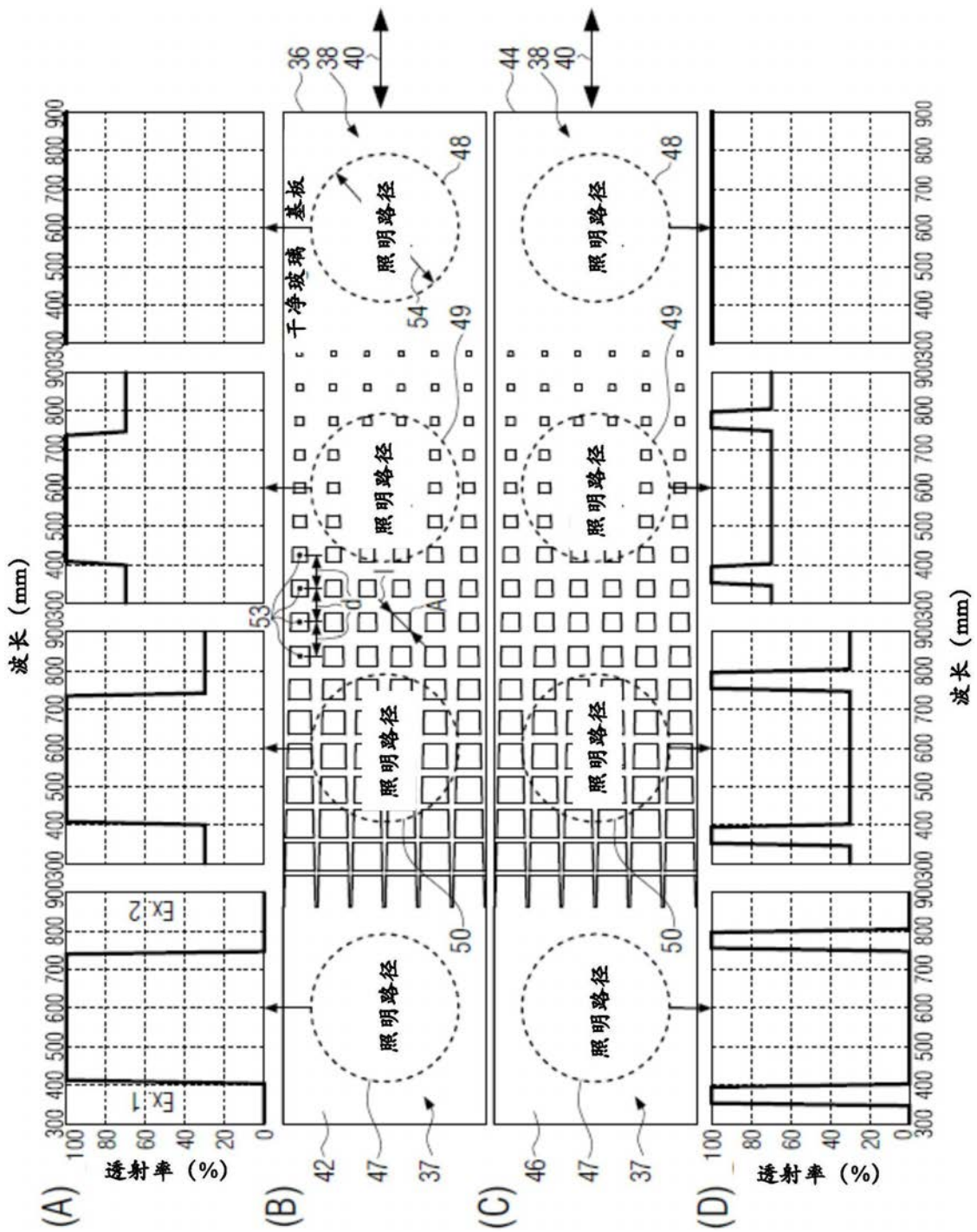


图5

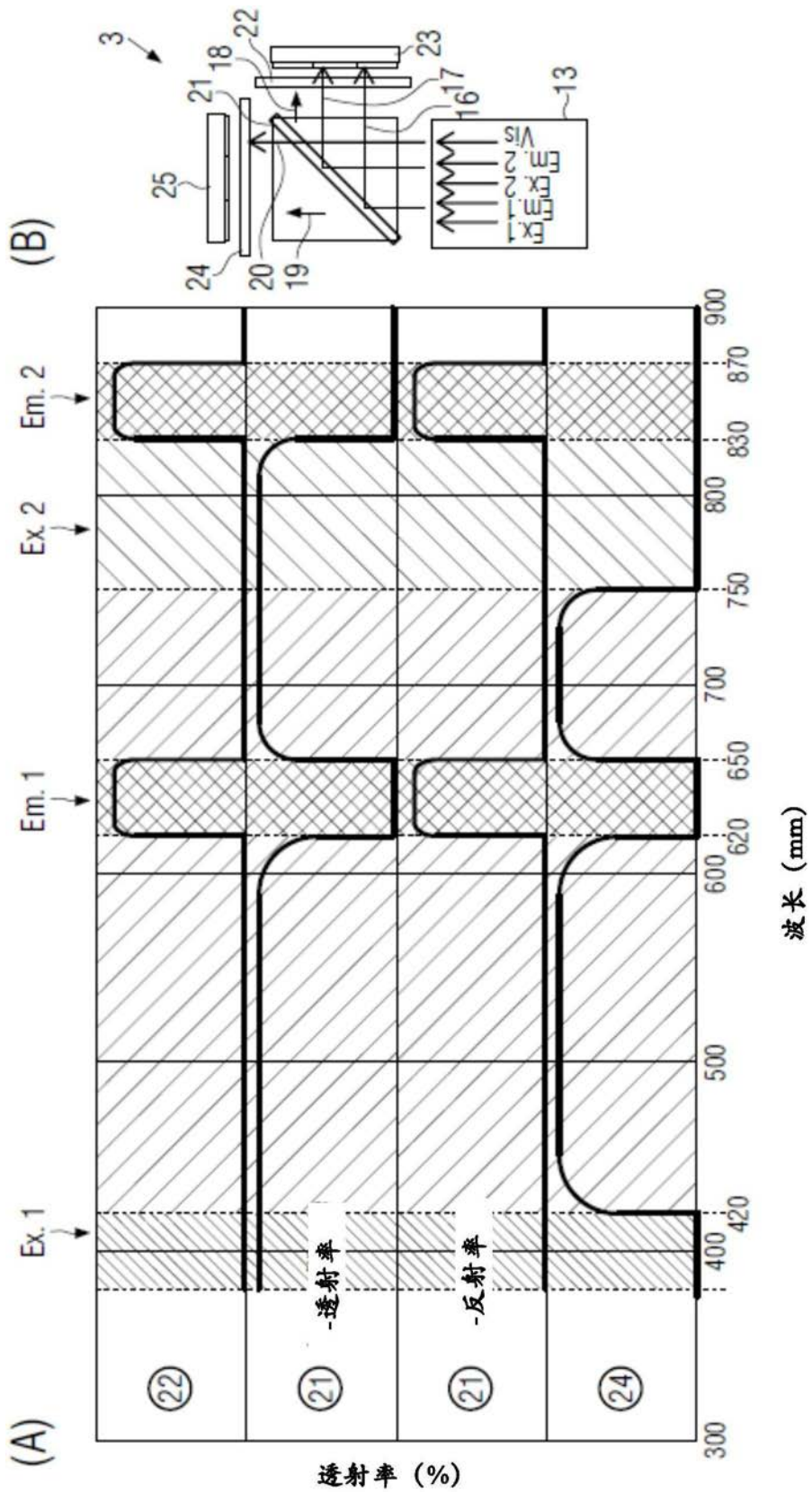


图6

专利名称(译)	多光谱荧光显微镜及其照明滤波器系统和观察系统		
公开(公告)号	<a href="#">CN107080594A</a>	公开(公告)日	2017-08-22
申请号	CN2017110078301.X	申请日	2017-02-14
[标]申请(专利权)人(译)	徕卡仪器(新加坡)有限公司		
申请(专利权)人(译)	徕卡仪器(新加坡)有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	徕卡仪器(新加坡)有限公司		
[标]发明人	M库斯特 G塞梅利斯		
发明人	M·库斯特 G·塞梅利斯		
IPC分类号	A61B90/20		
CPC分类号	A61B1/00186 A61B1/043 A61B1/045 A61B1/0646 G02B5/28 G02B21/16 A61B5/0071 G01N21/6458 G01N2021/6419 G01N2021/6471 G01N2201/061 G02B21/0012		
代理人(译)	赵飞 郭红丽		
优先权	2016155623 2016-02-15 EP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种多光谱荧光成像的照明滤波器系统，其包括第一光学滤波器。本发明还涉及一种多光谱荧光成像的观察系统，其包括适于将光图像分成沿着第一光路的第一光部分和沿着第二光路的第二光部分的分束器。为了改进已知的照明滤波器系统和观察系统，因此这些系统仅利用一个光源来工作，能够同时捕获至少一个荧光信号和可见反射光的信号，并允许用于从被照明的物体获得不同图像的均匀照明，第一光学滤波器适于淬灭本发明的照明滤波器系统中的可见光谱内的至少一个荧光激发带的光，并且第一光部分包括在可见光谱中的至少一个荧光发射带，且第二光部分包括本发明的观察系统中的可见反射光。

