

文章编号:1002-2082(2007)01-0115-06

# 形体细胞的MCEM模型及其光散射分布特征

王亚伟, 崔青义, 卜敏, 洪云, 刘莹, 吴大建

(江苏大学理学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:** 针对光散射细胞微粒测量中真实形体细胞的取向对测量结果的影响问题, 基于 Rayleigh-Debye-Gans 理论和双椭球核式(CEM)模型在应用中的差异, 建立了CEM的修正模型(MCEM), 根据此模型系统讨论了细胞在不同入射角变化情况下其光散射强度分布所产生的变化, 得到了不同入射角下有核细胞光散射强度分布与有核细胞相关物理特征量的动态响应关系; 此外, 对有核细胞光散射强度分布进行拟合, 得到了有核细胞光散射强度分布函数。误差分析表明: 拟合结果可有效地应用于真实细胞光散射测量中的数值反演计算。

**关键词:** 光学测量; 细胞微粒; 光散射; 粒度分布

中图分类号: O436.2

文献标志码: A

## Light-scattering distribution and MCEM model of shape-cells

WANG Ya-wei, CUI Qing-yi, BU Min, HONG Yun, LIU Ying, WU Da-jian

(The Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** Based on the application difference in Rayleigh-Debye-Gans theory and CEM model, MCEM (modify co-central ellipse model) is established to eliminate the influence of the orientation effect of the shape-cell particles on measurement result in light scattering cell particles. Based on the MCEM theory, the variation of the light-scattering intensity distribution of cells is discussed systematically at the different incidence angles, the dynamic response relationship between the light-scattering intensity distribution and the relevant physical characteristic of the karyocyte at the different incidence angles was obtained. In addition, the scattering intensity distribution function of the karyocyte is acquired by fitting the scattering intensity distribution. The error analysis shows that the fitting result can be used in the numerical inversion calculation effectively for the light-scattering measurement of the real cell.

**Key words:** optical measurement; cell particle; light-scattering; granularity distribution

## 引言

细胞大小分布和形体特征的认识几乎受到生命科学每个领域的关注, 特别在临床医学应用方面, 常常利用细胞诊断学确定各种疾病。例如, 可以通过测量血液中CD4+T细胞的数目进行诊断; 通过测定红细胞体积分布宽度(RDW), 可判断患者

贫血的类型; 通过测定患者血尿中的细胞形态, 可捕捉肿瘤细胞, 并根据肿瘤细胞的形态不同, 判断是否为恶性及病症程度。随着先进的激光技术、半导体技术、光电技术、微电子技术、光纤技术和计算机技术的迅速发展和应用, 综合光、机、电、计算机于一体的激光散射测量技术<sup>[1]</sup>以其快速、简便、无

收稿日期: 2006-06-23; 修回日期: 2006-10-10

基金项目: 江苏大学创新基金(04cx06)

作者简介: 王亚伟(1957-), 男, 江苏镇江人, 教授, 主要从事光散射理论及其应用技术的研究工作。E-mail: jszjwyw@yahoo.com.cn

破坏性、精确、重复性好等优点在医学细胞自动检验领域中取得了巨大的发展和广泛的应用<sup>[2-7]</sup>。如 Coulter 公司的 VCS 自动白细胞分类仪综合了体积分析、高频传导分析和激光散射分析 3 种技术; WBC 及分类计数采用多角偏振散射分析 (MAPSS) 原理; BD 公司的流式细胞工作站采用了多光束散射技术等各种主要测量仪器基本上都应用了光散射原理。

光学检测中, 当生物细胞受到光照射时将发生: 光在细胞及细胞核边缘的衍射; 细胞质、细胞核及周围介质的不同折射率的折射和反射; 细胞内的吸收等现象。Mie 散射理论描述的是各向同性球体的弹性光散射, 将 Mie 理论<sup>[8-9]</sup>的散射图形与实验结果进行比较来确定颗粒或细胞的大小和折射率。Kaye 等人<sup>[10]</sup>进行了相关的实验, 得到了较好的结果。然而有核细胞是各向异性的 (细胞质、细胞核), 并且它们有可能具有不规则的形状。为了更接近地描述细胞的弹性光散射, 人们提出了各种不同的理论模型, 如二维的不透光圆盘<sup>[11]</sup>、均匀介质球模型<sup>[12]</sup>等。1972 年, Kerker 等人<sup>[13-14]</sup>提出一种镀膜球模型 (coated sphere model), 当人体细胞相对折射率接近于 1 时, 可以考虑应用 Rayleigh-Debye-Gans (RDG) 近似式。1986 年, Sloot 等人<sup>[15]</sup>通过改进 RDG 近似式的形状因子, 即应用 Modified Rayleigh-Debye-Gans (MRDG), 给出了一个球壳模型的弹性光散射。近期, 本课题组的 CEM<sup>[16-17]</sup>模型进一步修正了 Rayleigh-Debye-Gans 测量理论, 这些努力都对提高细胞的测量水平起到了重要作用。

虽然新的模型更加与真实细胞接近, 可以更准确地表示细胞的光散射分布, 但是, 细胞的形体引入了新问题的讨论, 即细胞在散射腔内不同取向时对散射幅值分布的影响及其相互关系的问题。对

此, 本文基于 Rayleigh-Debye-Gans 理论和双椭球核式 CEM 模型在实际应用中的不足, 从极化率分布函数的修正出发, 建立了任意入射角下的 MCEM 模型, 并根据此模型系统讨论了细胞在不同入射角变化情况下其光散射强度分布特征及其光散射强度分布变化与特征参数 (入射角、形体) 的关系。此外, 应用此 MCEM 模型进行数值计算和三维拟合, 得到了不同入射角下有核细胞光散射强度分布与有核细胞相关物理特征量的动态响应关系的解析表达式。误差分析结果表明: 拟合结果有效、可靠, 结论正确, 对真实细胞的光散射测量方法和技术很有指导意义。

## 1 任意入射角下形体细胞的光散射模型

### 1.1 Rayleigh-Debye-Gans 理论与 CEM 模型

基于 Rayleigh-Debye-Gans 近似 (或 Born 近似), 研究单一散射及弹性光散射的情况。

散射光的角强度<sup>[8]</sup>由下式给出:

$$I(\theta) = I_0 \frac{i_1(\theta) + i_2(\theta)}{2k_0^2 R^2} \quad (1)$$

散射光的振幅函数<sup>[8]</sup>为

$$\left. \begin{matrix} S_1(\theta) \\ S_2(\theta) \end{matrix} \right\} = ik_0^3 \alpha(r) P(\theta) \begin{cases} 1 \\ \cos \theta \end{cases} \quad (2)$$

式中:  $i_n(\theta) = |S_n(\theta)|^2$ ,  $\theta$  为探测角; 对于散射光的振幅函数  $S_n(\theta)$ , ( $n=1$ ) 时表示电场矢量垂直于散射面, ( $n=2$ ) 时表示电场矢量平行于散射面;  $\alpha(r)$  为极化率;  $P(\theta)$  为形态因子;  $I_0$  表示入射光的强度;  $R$  表示微粒到观察点的距离;  $k_0$  是微粒外传播区域内的传播常数,  $k_0 = (2\pi/\lambda_0)$ ,  $\lambda_0$  是入射光在真空中的波长。对于真实的有核细胞采用 2 个同心旋转椭球模拟<sup>[16]</sup>, 以  $\alpha'(r)$  表示体极化率, 令  $P'(\theta) = \alpha(r) \cdot P(\theta)$ , 对各部分进行研究可以得到<sup>[16]</sup>:

$$P'(\theta) = \eta \int_0^\pi d\varphi \int_0^{2\pi} d\rho \int_0^a \alpha'_a |m_a^2 - 1| e^{i2k_0 m_a r \sqrt{1 + (\eta^2 - 1) \cos^2(\rho) \sin^2(\varphi) \sin^2(\frac{\theta}{2})}} r^2 \sin(\varphi) dr + \eta \int_0^\pi d\varphi \int_0^{2\pi} d\rho \int_a^b \alpha'_b |m_b^2 - 1| e^{i2k_0 m_b r \sqrt{1 + (\eta^2 - 1) \cos^2(\rho) \sin^2(\varphi) \sin^2(\frac{\theta}{2})}} r^2 \sin(\varphi) dr \quad (3)$$

式中:  $m$  为折射率;  $\eta$  为形体参数。若  $\eta=1$ , 取极限  $a \rightarrow 0$  或  $m_a \rightarrow m_b$  或  $a \rightarrow b$  时, 可以得到解析解表达式:

$$P(\theta) = 3(\sin k_s b - k_s b \cos k_s b) / k_s^3 a^3 \quad (4)$$

式中  $k_s = 2m_b k_0 \sin(\frac{\theta}{2})$ 。

(4) 式与修正的 Rayleigh-Debye-Gans 近似的均匀球的结果一致<sup>[9]</sup>, 说明 CEM 模型与 Rayleigh-

Debye-Gans 近似在球体条件下有相同的结果。

## 1.2 MCEM 模型建立

CEM 模型可有效地表示光对形体细胞沿轴向入射条件下的散射情况, 并且从数学上表示了细胞内部及形体变化对散射光分布的影响。但是, 对于非球形细胞, 在通过光敏区时都存在一定取向, 即入射光线与细胞的轴向(定义本椭球模型的长轴为轴向)存在一定的夹角  $\beta$ 。在此, 考虑相同形体的细胞, 其入射角的变化直接影响光散射幅值的分布, 其中主要影响为极化率分布的变化, 考虑到椭球的

体极化率<sup>[18]</sup>为

$$\frac{(m^2-1)n_x}{1+(m^2-1)n_x}$$

式中:  $m$  为相对折射率;  $n_x = \frac{1-e^2}{2e^3} (\ln \frac{1+e}{1-e} - 2e)$ ,  $n_y = n_z = \frac{1}{2}(1-n_x)$ ,  $e = \sqrt{1 - (\frac{1}{\eta})^2}$ 。考虑入射角  $\beta$  的影响, 根据极化率的定义<sup>[18]</sup>以及该情况下的空间分布特征, 可以定义其体极化率为

$$N(m, \beta) = \sqrt{\left[ \frac{(m^2-1)n_x}{1+(m^2-1)n_x} \cos \beta \right]^2 + \left[ \frac{(m^2-1)n_y}{1+(m^2-1)n_y} \sin \beta \right]^2} \quad (5)$$

当  $\beta = 0^\circ$  时,  $N = \frac{(m^2-1)n_x}{1+(m^2-1)n_x}$ ;  $\beta = 90^\circ$  时,  $N = \frac{(m^2-1)n_y}{1+(m^2-1)n_y}$ 。可见与椭球体的长、短轴正向入射情况下的结果<sup>[16]</sup>相同。令

$$M_{0\beta} = N(\bar{m}, \beta) = \frac{1}{V} \int N(m, \beta) dV \quad (6)$$

$$M_{a\beta} = N(m_a, \beta), \quad V_a = (4/3)\pi\eta a^3 \quad (7)$$

$$M_{b\beta} = N(m_b, \beta), \quad V_b = (4/3)\pi\eta b^3 \quad (8)$$

式中:  $\bar{m}$  为体平均折射率;  $V$  为整个细胞的体积;  $V_a$  为细胞核的体积;  $V_b$  为细胞质的体积;  $a, b$  分别为细胞核与细胞质的短轴半径。可得

$$M_{0\beta} = \frac{1}{V_b} [M_{a\beta}V_a + M_{b\beta}(V_b - V_a)] \quad (9)$$

参见正向入射情况下的处理方法<sup>[16]</sup>, 可以得到  $\beta$  角入射情况下的细胞核和细胞质的体极化率:

$$\begin{cases} \alpha'_{a\beta} = \frac{3}{4\pi} M_{a\beta} \\ \alpha'_{b\beta} = \frac{\eta b^3 M_{0\beta} - \eta a^3 M_{a\beta}}{V_b - V_a} \end{cases} \quad (10)$$

由此根据散射幅值的定义<sup>[15]</sup>可得到其幅值分布:

$$P'(\theta, \beta) = \int_V \alpha'_\beta(r) |m^2(r) - 1| e^{i2k_0 m(r)r \sin(\frac{\theta}{2})} dV \quad (11)$$

将上式代入(1)式得

$$I(\theta, \beta) = I_0 \frac{i_1(\theta, \beta) + i_2(\theta, \beta)}{2k_0^2 R^2} \quad (12)$$

(11)式称为  $\beta$  入射角下的光散射幅值角分布, (12)式称为  $\beta$  入射角下的光散射强度角分布。

## 2 随机入射情况下的光散射分布特征及其拟合

### 2.1 形体、入射角变化时的光散射分布特征

上述结果(11)式和(12)式均无解析解, 对(12)式进行数值计算可得 FS(前向散射), 随入射角和形体因子的三维光散射分布如图 1 所示。

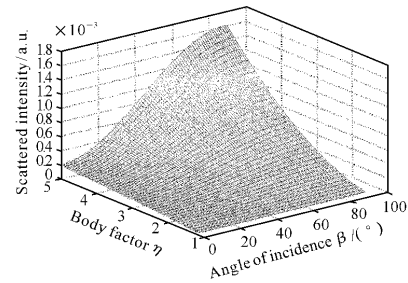


图 1 前向散射动态分布特征

Fig. 1 Forward-scattering dynamic distribution

取入射角  $\beta = 30^\circ$ , 根据(12)式进行数值计算获得形体变化时的散射分布如图 2(b), 图 2(a)为取入射角  $\beta = 0^\circ$  时形体变化时的散射分布, 从中可见入射角的变化对光散射强度的分布特征有一定影响。图 3 为图 2(b)与图 2(a)数学差分布的正、侧视图。从图 3 中可以看出: 随着形体因子的逐渐增大, 影响也逐渐增大, 不同入射情况其影响不同; 光散射强度的角分布受到的影响较小, 不同入射角入射对其光散射强度角分布的影响甚微。此外, 从图 2 可以发现: 随着形体参数的变大, 散射区域内的光强极大值、极小值的位置成非线性形态向小角度方向偏移。

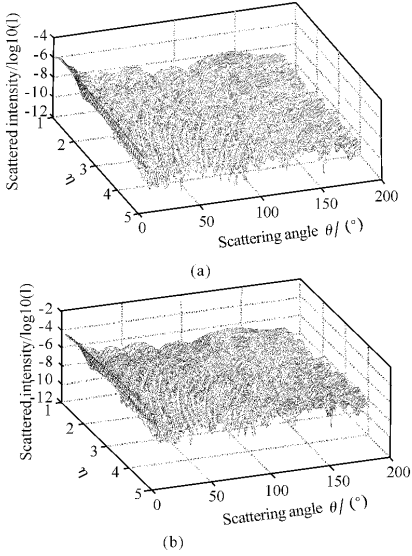


图 2 形体因子变化的 3-D 散射图

Fig. 2 3-D scattering distribution for a variety of the shape factor

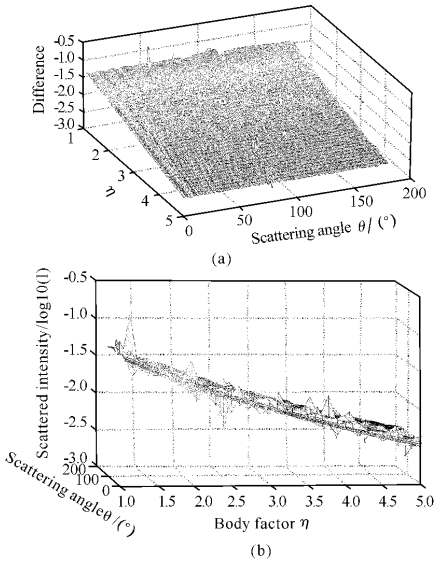


图 3 不同入射角下的散射差值分布

Fig. 3 Scattering difference distribution at a different angle of incidence

2.2 随机入射情况下的散射特征分布的拟合

根据 MCEM 模型, 对其结果(12)式, 令  $\theta = 0^\circ$  和  $\theta = 90^\circ$  (前向、侧向散射), 分别计算出其中的特征数据点, 对此数据点进行多项式非线性拟合可得到入射角与前向、侧向光散射强度分布的解析式

(称为光散射强度分布函数):

$$I'(0, \beta) = 10^{-5} \times (-7.4035\beta^3 + 17.444\beta^2 - 1.022\beta + 9.9945) \quad (13)$$

$$I'(\frac{\pi}{2}, \beta) = 10^{-7} \times (-2.058\beta^3 + 4.849\beta^2 - 0.2841\beta + 2.7719) \quad (14)$$

由此结果对该函数作图(如图 4 所示), 从图中原始数据分布与其拟合结果的对比可以看出其拟合效果较好, 光散射强度分布函数能够较好地反映入射角的变化对 FS 与 SS (侧向散射) 的影响。

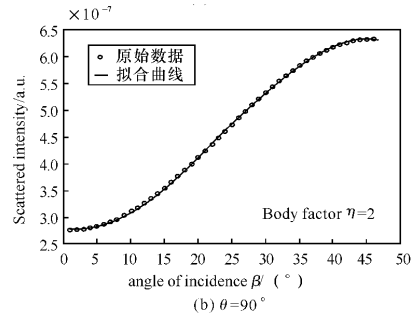
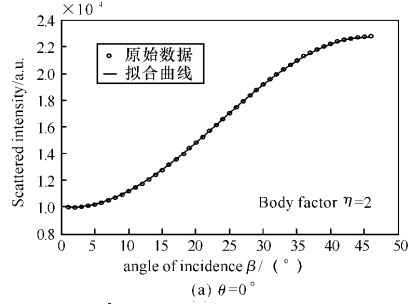


图 4 入射角的变化对前向与侧向散射分布的影响

Fig. 4 Variation of FS and SS scattering distribution with incident angle

对于任意入射角, 任意形体特征的细胞, 根据 MCEM 模型的结果(12)式, 进行数值计算与拟合, 可得到其光散射强度分布的拟合表达式(称为任意角下的光散射强度分布函数):

$$I_0(\eta, \beta) = 10^{-5} \times [(0.036571\eta^3 - 4.6051/\eta^2 + 6.1417\eta - 1.5862)\beta^3 + (-0.086168\eta^3 + 10.851\eta^2 - 14.471\eta + 3.7288)\beta^2 + (0.0052\eta^3 - 0.6544\eta^2 + 0.8727\eta - 0.225)\beta + (0.0421\eta^3 - 0.763\eta^2 + 7.3556\eta - 1.9985)] \quad (15)$$

3-D 分布拟合图(如图 5 所示)可由(15)式得

到。该分布与图1分布比较可见两幅图显示的分布特征基本一致。

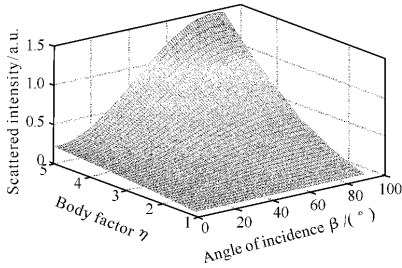


图5 前向散射动态分布特征拟合图

Fig. 5 Fitting of dynamic distribution in FS

### 3 结论

根据图5拟合结果与图1的比较,我们对其进行了误差分析。通过函数的差值计算得到在 $\eta=5$ 时的最大误差为 $E_{\max}=10.23\%$ ,在一般形体情况下误差均不大。其误差分布显示:形体因子越大,误差越大;当形体因子较大时,MCEM模型更趋近于细棒、圆柱体或纺锤体;在一般条件下,非球形细胞或变形条件下的细胞的形体因子不会太大。根据上述讨论结果可以看出:

- 1) 对于形体参数不大,形体和结构一定的细胞,散射时其散射幅值分布特征不变,但散射峰值随入射角增大而呈非线性增大;
- 2) 对于一定的入射角,形体参数增加时其散射峰值随形体参数增大而呈非线性增大;
- 3) 入射角的变化对于散射分布的影响与入射角成3次方的非线性关系,形体变化对散射的影响也成3次方的非线性关系。

因此,在以光散射理论为主要检测理论的细胞检测应用技术中,根据前向散射特征判断细胞大小分布时可以不考虑细胞形体的影响,而根据侧向散射特征判断细胞形体和结构时需要考虑细胞形体和细胞取向的影响。

#### 参考文献:

[1] CRAM L S, MARTIN J C, STEINKAMP J A, et al. New flow cytometric capabilities at the national flow cytometry resource [J]. Proc IEEE, 1992, 80(6): 912-917.

[2] MOURANT J R, CANPOLAT M, BROCKER C, et al. Light scattering from cells: the contribution of the nucleus and the effects of proliferative status

[J]. SPIE, 2000, 3917: 33-42.

[3] VADIM B, RAJAN G, PERELMAN L T, et al. Imaging and measurement of cell structure and organization with submicron accuracy using light scattering spectroscopy [J]. SPIE, 2002, 4613: 101-110.

[4] JORG N, CARSTEN G, ANDREAS H, et al. Angular distribution of light scattered by single biological cells and oriented particle agglomerates [J]. App Opt, 2003, 42(31): 6388-6397.

[5] 王亚伟, 贺安之. 真实测量时单分散光信号幅度分析函数所受的扰动 [J]. 应用光学, 2000, 21(6): 42-45. WANG Ya-wei, HE An-zhi. The effect on the signal amplitude distribution function for single particle in real-measuring [J]. Journal of Applied Optics, 2000, 21(6): 42-45. (in Chinese)

[6] YAO Cui-ping, LI Zheng, ZHANG Zheng-xi. New algorithm and system for measuring size distribution of blood cells [J]. Chinese Optics Letters, 2004, 2(5): 343-346.

[7] YANG Ye, ZHANG Zheng-xi, YANG Xin-hui, et al. Blood cell counting and classification by nonflowing laser light scattering method [J]. Journal of Biomedical Optics, 2004, 9(5): 995-1001.

[8] VAN De HULST H C. Light scattering by small particles [M]. New York: Wiley, 1957.

[9] SHIMIZU K. Modification of the Rayleigh-Debye approximation [J]. J Opt Soc Am, 1983, 73(4): 504-507.

[10] KAYE P H, LUDLOW I K, MILBURN M R. A scanning diffractometer for the rapid analysis of microparticles and biological cells [J]. Coll Interface Sci, 1979, 69(3): 571-589.

[11] MULLANEY P F, VAN DILLA M A, COULTER J R, et al. Cell sizing, light scattering photometer for rapid volume determination [J]. Rev Sci Instruments, 1969, 40(8): 1929-1934.

[12] MULLANEY P F, DEAN P N. The small angle light scattering of biological cells [J]. Biophys J, 1970, (10): 764-772.

[13] KERKER M, COOKE D D, CHEW H, et al. Light scattering by structured sphere [J]. JOSA, 1978, (68): 592-604.

[14] BRUNSTING A, MULLANEY P F. Light scattering from coated spheres: model for biological cells [J]. App Opt, 1972, (12): 675-682.

[15] SLOOT P M A, FIGDOR C G. Elastic light scattering from nucleated blood cells: rapid numerical

analysis[J]. App Opt, 1986, 25(9):3559-3565.

- [16] 吴大建,王亚伟. 有核细胞的弹性光散射模型[J]. 光学学报,2005,25(12):1670-1675.

WU Da-jian, WANG Ya-wei. The model for elastic light scattering from nucleated cells[J]. Acta Optica Sinica, 2005,25(12):1670-1675. (in Chinese)

- [17] 王亚伟,蔡兰,吴大建. 细胞形体和胞质厚度变化对光散射法测量细胞大小分布影响的分析与修正[J]. 中国激光,2005,24(10):1300-1304.

WANG Ya-wei, CAI Lan, WU Da-jian. Analyses

and modify to the influencing upon light scattering for the variety of the cell's body and cytoplasm's thickness in the measurement of their size distribution[J]. Chinese Journal of Lasers, 2005,24(10):1300-1304. (in Chinese)

- [18] Л Д朗道, E M 栗弗席兹. 连续媒质电动力学[M]. 北京:人民教育出版社,1978. 29-60.

LANDAU L D, LIFSCITZ E M. Electrodynamics of continuous medium[M]. Beijing: People's Education Press, 1978. 29-60. (in Chinese)

## 《应用光学》荣获陕西省优秀科技期刊奖

2006年12月下旬,陕西省出版物审读中心和陕西省科技期刊编辑学会根据国家新闻出版总署和省新闻出版局的要求,按照科技期刊编辑出版质量审读标准(百分制),对我省参评的148种科技期刊进行了编辑出版质量评审。本次评比采取1位审读专家只审核其中的1项,分12项进行打分,各项分值累计,按得分高低排序。本次获优秀期刊奖的期刊约占参评总数的1/3,《应用光学》荣获陕西省优秀期刊奖。这标志着《应用光学》又向前迈出了可喜的一步。

## 陕西省光学学会第四次会员代表大会 在中科院西安光机所召开

2006年12月24日,陕西省光学学会第四次会员代表大会在中国科学院西安光机所召开,来自全省光学区的近60位代表参加了大会。省科协副主席侯洵院士及学会部部长陈建国应邀出席。大会由第三届理事会秘书长周仁魁研究员主持。大会讨论通过了“陕西省光学学会第三届理事会工作报告”、“陕西省光学学会章程修改报告”、“陕西省光学学会第三届理事会财务审计报告”。大会选举产生了陕西省光学学会第四届理事会,中科院西安光机所赵卫所长、周仁魁研究员分别当选第四届理事会理事长、秘书长。