

文章编号 1004-924X(2012)06-1188-06

谱域光学相干层析成像量化技术 及其在生物组织定量分析中的应用

张芹芹¹, 吴晓静², 朱思伟², 高志³, 袁小聪^{1*}

(1. 南开大学 现代光学研究所 光学信息技术科学教育部重点实验室, 天津 300071;

2. 南开大学人民医院 分子医学与纳米光学实验室, 天津 300121;

3. 克莱姆森大学 生物工程系, 南罗来纳州 克莱姆森 29634)

摘要: 研究了谱域光学相干层析(SDOCT)成像系统的量化技术, 通过量化 OCT 图像来获得生物组织内部的信息特征对组织光学散射特性进行定量分析。给出并讨论了单次散射模型, 具有轴向点散射函数(PSF)的单次散射模型和多次散射模型, 利用平均 A-scan 算法和非线性最小二乘法曲线拟合, 研究不同浓度 Intralipid™ 溶液的散射特性。实验显示, Intralipid™ 溶液的散射系数与浓度在 1%~10% 间基本呈线性关系, 验证了具有 PSF 的单次散射模型比较适用于本文的谱域光学相干层析成像系统。利用该模型对小鼠的新鲜肝脏进行量化研究, 得到小鼠新鲜肝脏在波长 λ_0 为 1550 nm 时的散射系数为 8.9 mm^{-1} 。本文的研究为该项技术今后在临床医学上对各种疾病的诊断和治疗奠定了基础。

关键词: 光学相干层析成像; 生物组织; 谱域; 散射模型; 量化

中图分类号: R814.42; Q-331 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20122006.1188

Quantitative spectral domain optical coherence tomography and its application to quantitative analysis of biological tissues

ZHANG Qin-qin¹, WU Xiao-jing², ZHU Si-wei², GAO Zhi³, YUAN Xiao-cong^{1*}

(1. Key Laboratory of Optical Information Science & Technology of the Ministry of Education, Institute of Modern Optics, Nankai University, Tianjin 300071, China;

2. Laboratory of Molecular Medicine and Nano Optics, Nankai University Affiliated Hospital, Tianjin 300121, China;

3. Department of Bioengineering, Clemson University, Clemson 29634, USA)

* Corresponding author, E-mail: xcyuan@nankai.edu.cn

Abstract: The quantitative analysis of spectral domain optical coherence tomography was researched to acquiring interior information of biological tissues. The single-scattering model, confocal single-scattering model and multiple-scattering model were presented and discussed. An average A-scan algorithm and a nonlinear curve-fitting method were employed to explore the scattering features of Intralipid™. Experiments show that the relation of scattering coefficients and concentrations is linear in

收稿日期: 2011-12-27; 修订日期: 2012-03-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 61036013); 天津市科学技术委员会基金资助项目(No. 11JCZDJC15200)

concentrations from 1% to 10% of Intralipid™. Furthermore, it confirms that the confocal single-scattering model is suitable to our spectral domain optical coherence tomography. In addition, the confocal model was used to study fresh rat liver with a scattering coefficient λ_0 of 8.9 mm^{-1} at 1550 nm . Obtained results demonstrate that the quantitative spectral domain optical coherence tomography can be used for clinical diagnosis of diseases in a great potential.

Key words: optical coherence tomography; biological tissue; spectral domain; scattering model; quantitative analysis

1 引 言

光学相干层析成像技术(Optical Coherence Tomography, OCT)是一种高灵敏度,高分辨率,非侵入无损实时成像的测量技术。基于低相干光干涉的测量法,利用近红外宽带光源照射到待测组织上,依据光相干产生的干涉来探测组织不同深度的信息,以获得组织的特性。谱域光学相干层析成像技术是继时域光学相干层析成像技术发展而来的,它由宽带光源照明的迈克尔逊干涉仪和光谱仪组成,参考臂固定不动从而无需对样品进行轴向扫描,直接测量干涉信号的光谱,对所测的光谱进行快速傅里叶逆变换得到样品不同纵向深度的信息。谱域光学相干层析成像(Spectral domain OCT, SDOCT)技术具有高灵敏度,高成像速度等优点。最近几年科研人员提出对 OCT 进行量化^[1-6],这是一种对生物组织光学特性进行研究的新技术,目前还处于起步阶段,主要研究正常组织与不正常组织的散射系数的差别^[2-5]。生物组织的光学参数(吸收系数 μ_a 和约化散射系数 μ_t)可以提供组织生理过程的许多相关信息,对临床医学的研究具有一定的意义。其中,约化散射系数 μ_t 由吸收系数 μ_a 和散射系数 μ_s 组成,即 $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ 。当光在组织中传输时,大部分的光被散射,只有一小部分被吸收,因此,光的吸收可以被忽略,散射是主要的考虑因素,即 $\mu_t \approx \mu_s$ 。量化 OCT 技术根据算法对生物组织的 OCT 图像^[7-9]提取散射系数 μ_s ,所得到的散射系数反映了生物组织的内部特性,比如炎症,癌变等,对临床医学上各种疾病的研究具有重要意义。本文主要利用生物组织模拟液 Intralipid™得到了适应于本实验室谱域 OCT 系统的散射模型并进行了验证,为进一步的研究奠定了基础。

2 谱域 OCT 原理

实验用谱域 OCT 的原理如图 1^[10]所示,超连续光源(Fianium-SC450-FC, $450 \sim 1800 \text{ nm}$)发出的宽带光经过 2×2 光纤耦合器被分成参考光和样品光;在试验中用宽带滤光片进行滤光,得到中心波长 λ_0 为 1550 nm ,带宽 $\Delta\lambda$ 为 40 nm 的高斯型光谱。样品光经过准直透镜准直后,入射到扫描振镜,由成像透镜聚焦后照射到待测样品上,光被样品散射后按原路返回并与返回的参考光在耦合器处干涉汇合,干涉信号从光纤耦合器的另一端输出,被光谱仪接收并经光谱仪中的衍射光栅展开,经成像透镜聚焦后由线阵 CCD 采集并转换为电信号,数字化后输入计算机,将所得数据进行傅里叶变换,即可得到样品的一维深度信息;在此基础上,通过样品臂上的二维振镜进行横向扫描就可重建样品的二维或者三维层析图像,从而获得被测样品的组织结构信息。

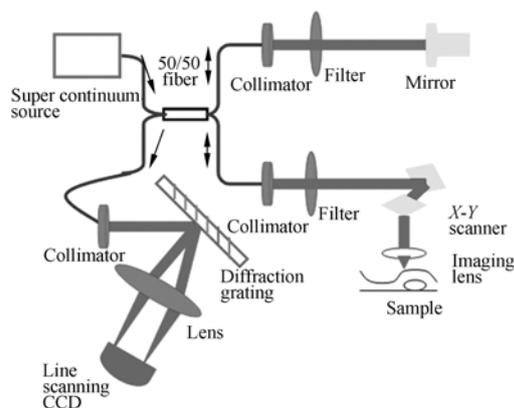


图 1 谱域 OCT 系统装置图

Fig. 1 Setup of SDOCT system

本文系统搭建的光谱仪是由准直透镜($f = 150 \text{ mm}$, Thorlabs),闪耀光栅(1200 lines/mm ,

Thorlabs), 消色差透镜($f=300$ mm, Thorlabs) 和线阵 CCD(e2v AViiVA SM2 CL, $4\ 096 \times 1\ 10$) 组成。为了减少采集和运算时间, 在实验过程中用 2 048 个像素来接收干涉信号。由以上参数可知光谱仪的分辨率为 0.058 nm, 在空气中最大探测深度为 10.36 mm^[11]。

3 OCT 模型

在 OCT 中, 当从样品反射回来的样品光与反射回来的参考光满足光程匹配条件时, 即光程差在光源的相干长度以内(相干门)才会发生干涉, 干涉信号的光强分布由光谱仪接收。

单次散射模型是指只有单次散射回来的光构成的 OCT 信号, 由于 OCT 信号是随着深度逐渐减弱的, 因此 OCT 信号近似满足比尔吸收定律:

$$I(z) \propto \exp(-2\mu_s z), \quad (1)$$

其中, $I(z)$ 是干涉的光强信号。另外, 由于样品臂成像透镜的共焦特性, 即只有在焦深范围内反射回去的光才是对信号有用的, 焦深以外反射回去的光会带来噪声, 因此必须考虑轴向点扩散函数 (PSF):

$$I(z) \propto \frac{\exp(-2\mu_s z)}{\left(\frac{z-z_{cf}}{z_R}\right)^2 + 1}, \quad (2)$$

式中 z_{cf} 是焦点位置; z_R 是“表观”瑞利长度。 z_0 是高斯光束瑞利长度, 是由束腰半径 w 和光源的中心波长 λ_0 决定的, 表达式为: $z_0 = \pi n \omega^2 / \lambda_0$ 。“表观”瑞利长度 z_R 与 z_0 的关系为: $z_R = \alpha z_0$, 当样品内部的反射面为镜面反射时, $\alpha=1$; 当反射面为漫反射面时, $\alpha=2$ ^[12]。

多次散射模型是指除了单次散射光, 还考虑了多次散射光对信号的影响, 是在扩展的惠更斯-菲涅尔理论的基础上得到的^[13], 表达式为:

$$I(z) \propto \exp(-2\mu_s z) + \frac{2\exp(-\mu_s z)[1 - \exp(-\mu_s z)]}{\left(\frac{w_s}{w_h}\right)^2 + 1} + [1 - \exp(-\mu_s z)]^2 \left(\frac{w_h}{w_s}\right)^2, \quad (3)$$

式中, 第一项是单次散射对信号的贡献, 第三项是多次散射对信号的贡献, 第二项为两者的交叉项。其中, w_s 和 w_h 分别是散射之前和散射之后探测光的束腰大小, 二者满足 $w_s^2/w_h^2 = 1 + [2w_0/\rho_0(z)]^2$, w_0 是入射样品光在聚焦透镜面的

束腰大小; ρ_0 是横向相干长度, 可表示为 $\rho_0(z) = \sqrt{3/\mu_s} z \frac{\lambda_0}{\pi \theta_{rms}} \frac{nf}{z}$ 。其中, f 是聚焦透镜的焦距; θ_{rms}

是散射角的均方根, 满足 $\theta_{rms} \approx \sqrt{2(1-g)}$, g 是各向异性因子; n 是样品的平均折射率。

4 谱域 OCT 的量化技术

基于上述 3 个模型, 单次散射模型没有考虑到焦深对信号的影响, 适用于动态聚焦的情况。对于普通的 OCT 成像系统, 焦深是必须考虑的因素, 因此可用具有轴向点扩散函数的单次散射模型和多次散射模型来进行数据拟合, 从而获得样品的散射系数。为了获得不同样品的散射信息, 本文利用数据拟合的方式从 OCT 图像中提取组织的散射系数 μ_s 。

在 OCT 系统中, 干涉信号 I 是深度 z 与光学参数的函数, 定义函数为: $I = f(z, \mu_s, \mu_a)$, 即 $I = A \frac{\exp(-2\mu_s z)}{\left(\frac{z-z_{cf}}{z_R}\right)^2 + 1} + B$ 。在数据拟合中, 定义目标函

数为: $\chi^2 = \sum_{i=1}^N (I_i - f(z_i, \mu_s, \mu_a))^2$, 利用非线性最小二乘法求解 (μ_s, μ_a), 使得平方和函数 χ^2 取得最小值。由于求解 χ^2 最小值的最优解是一个迭代过程, 故利用 Levenberg-Marquardt 方法进行求解。首先从获得的 OCT 图像中选取感兴趣的区域 (Region of Interest, ROI), 对这个区域的不同 A-scan 进行平均, 获得一个随深度平均变化的光强信号 I , 然后利用上述算法和模型进行曲线拟合, 来提取散射系数 μ_s 。

IntralipidTM 溶液和聚苯乙烯微球溶液是最典型的组织仿真样品, 因此使用 IntralipidTM 溶液作为标定样品来确定适用于谱域 OCT 系统的模型。IntralipidTM 溶液是临床用于肠外营养的主要长链脂肪注射液, 其规格目前主要有 3 种: IntralipidTM 10%, IntralipidTM 20%, IntralipidTM 30%。在本实验中使用 IntralipidTM 20% (华瑞制药有限公司) 及其稀释液作为生物组织模拟样本, 其主要成份包括: 大豆油、卵磷脂、甘油和水。通过加入蒸馏水, 将 20% 的 IntralipidTM 稀释成浓度分别为 1%, 3%, 5%, 7%, 9% 和 10% 的溶液, 然后装入样品池中进行干涉扫描。对这些不同浓度

的 IntralipidTM溶液的 OCT 图像分别利用具有轴向 PSF 的单次散射模型和多次散射模型进行数据拟合,拟合结果如表 1 所示。

表 1 实验拟合结果

Tab. 1 Results of experiment (mm^{-1})

浓度/(%)	PSF 单次散射模型	多次散射模型
1	1.102 6	1.143 7
3	1.717 7	1.254 0
5	2.474 9	2.291 4
7	3.098 1	1.325 3
9	3.915 7	1.343 1
10	4.045 3	1.365 5

由表可知,利用具有轴向 PSF 的单次散射模型拟合得到的溶液散射系数与浓度间基本呈线性关系,然而利用多次散射模型得到溶液的散射系数不呈线性关系。由于 IntralipidTM溶液随着浓度的增加,溶液中粒子的密度增加,从而导致光子发生散射的概率增加,散射系数变大,因此散射系数与溶液浓度基本呈线性关系。图 2(a)和(b)分别给出了 IntralipidTM溶液利用具有轴向 PSF 的单次散射模型和多次散射模型获得散射系数随浓度变化的曲线图。根据以上分析,具有轴向 PSF 的单次散射模型更适用于本文的谱域 OCT 系统。

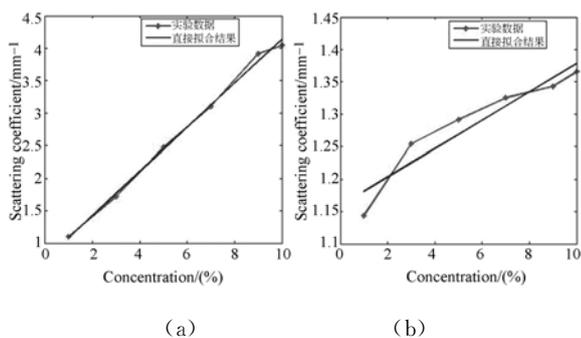
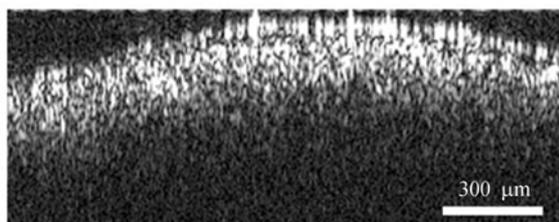


图 2 具有轴向 PSF 的单次散射模型(a)和多次散射模型(b)获得的 IntralipidTM溶液的散射系数随浓度变化的曲线图

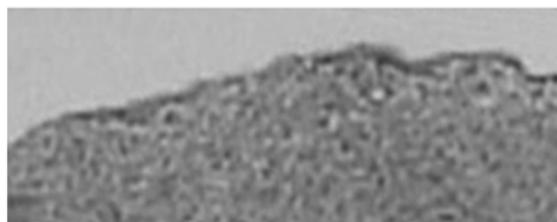
Fig. 2 Curves of scattering coefficient and concentration of IntralipidTM using confocal single-scattering model (a) and multiple-scattering model (b), respectively.

同时,本文对小鼠的新鲜肝脏进行了量化研究。首先,利用本文的谱域光学相干层析成像系统对小鼠新鲜的肝脏进行成像,得到 2 048 pixel

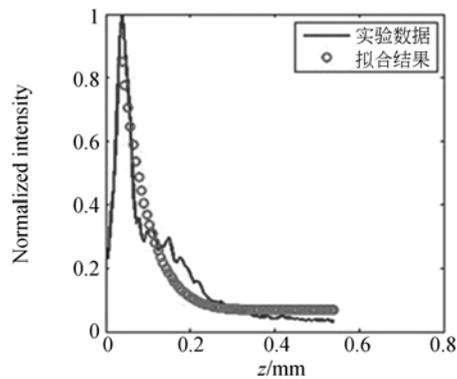
$\times 500$ pixel 的 OCT 图像;然后,对得到的图像选取 100-lines 的区域(ROI)进行平均,得到一个平均的 A-scan,最后利用上述算法对平均的 A-scan 进行非线性曲线拟合,从而得到小鼠肝脏的散射系数。小鼠肝脏做完 OCT 扫描成像后,经 10% 中性福尔马林固定,酒精梯度脱水,二甲苯透明,浸蜡及包埋后,利用 Leica2255 切片行 $5 \mu\text{m}$ 厚切片,常规 HE(苏木素-伊红)染色,并在 OlympusBX51 显微镜镜下观察,采集图像,以便与 OCT 成像结果进行比较。图 3 分别给出了小



(a)



(b)



(c)

图 3 小鼠的新鲜肝脏 OCT 图(a)与病理图(b)对比,(c)实线是提取的 OCT 图的平均 A-scan,点圈线是用具有 PSF 的单次散射模型进行非线性拟合的结果

Fig. 3 OCT images (a) and pathological sections (b) of fresh rat liver; (c) Average A-scan extracted from OCT images in solid line and the corresponding nonlinear curve fitting result using confocal single-scattering model in point circle line.

鼠新鲜肝脏的 OCT 图(a)和相对应的病理图(b)。图 3(c)中实线是提取的 OCT 图的平均 A-scan,点圈线是用具有 PSF 的单次散射模型进行非线性拟合的结果,得到小鼠新鲜肝脏的散射系数为 8.9 mm^{-1} 。

参考文献[12]中在波长 λ 为 800 nm 时,小鼠肝脏的散射系数为 9.7 mm^{-1} ,而实验系统的波长 λ_0 为 1 550 nm,从参考文献[14]得知随着波长的变大,散射系数是变小的,因此实验结果与参考文献基本一致,进一步验证了本文提出的谱域光学相干层析成像系统量化技术的可行性,为以后的临床医学上应用奠定了基础。

5 结 论

本文提出了谱域光学相干层析成像系统的量

化技术,得出并讨论了 3 种散射模型。利用非线性最小二乘法进行曲线拟合,并用不同浓度的 Intralipid™ 溶液得到散射系数与浓度(1%~10%)基本呈线性关系,验证了具有 PSF 的单次散射模型比较适用于本文的谱域光学相干层析成像系统。最后,利用具有 PSF 的单次散射模型对小鼠的新鲜肝脏进行量化研究,得到小鼠新鲜肝脏在波长 λ_0 为 1 550 nm 时的散射系数为 8.9 mm^{-1} 。量化 OCT 技术获得的散射系数需要大量具有统计意义的的数据,然而本文在研究小鼠肝脏时并没有给出其统计结果,这需要在以后的工作中进行补充。本文对谱域光学相干层析成像系统的量化技术的研究,为在临床医学上各种疾病的研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] FABER D J, FREEK J, VAN DER MEER, MAURICE C. G. Aalders, quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography[J]. *Optics Express*, 2004,12(19):4353-4365.
- [2] LIU ZH M, GUO ZH Y, ZHUANG ZH F, *et al.*. Quantitative optical coherence tomography of skin lesions induced by different ultraviolet B sources [J]. *Phys. Med. Biol.*, 2010,55:6175-6185.
- [3] SIMON S. GAO, ANPING XIA, TAO YUAN, *et al.*. Oghalai, quantitative imaging of cochlear soft tissues in wild-type and hearing-impaired transgenic mice by spectral domain optical coherence tomography[J]. *Optics Express*, 2011,19(16):15415-15428.
- [4] OLUYORI K A, TOMLINS P H, HAGI-PAVLI E, *et al.*. Bader and Farida fortune, quantitative analysis of optical coherence tomography and histopathology images of normal and dysplastic oral mucosal tissues[J]. *Lasers Med. Sci.*, 2011, DOI10.1007/s10103-011-0975-1.
- [5] YANG Y, WANG T H, BISWAL N C, *et al.*. Optical scattering coefficient estimated by optical coherence tomography correlates with collagen content in ovarian tissue[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011,16(9):0905041-3.
- [6] 李刚,郑羽,林凌,等. 在多层介质中的频域 OCT 蒙特卡罗仿真[J]. *光学 精密工程*, 2008,16(7):1285-1294.
- LI G, ZHENG Y, LIN L, *et al.*. Monte Carlo simulation of Fourier-domain OCT in multi-layered media[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2008,16(7):1285-1294. (in Chinese)
- [7] LEE P, GAO W, ZHANG X. Performance of single-scattering model versus multiple-scattering model in the determination of optical properties of biological tissue with optical coherence tomography[J]. *Appl. Opt.*, 2010,49:3538-3544.
- [8] FABER D J, van der MEER F J. Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography[J]. *Opt. Express*, 2004,12:4353-4365.
- [9] LEVITZ D, THRANE L, FROSZ M, *et al.*. Determination of optical scattering properties of highly-scattering media in optical coherence tomography images[J]. *Opt. Express*, 2004,12:249-259.
- [10] 彭诚,张芹芹,袁小聪,等. 谱域 OCT 成像系统在口腔组织检测中的应用[J]. *光学 精密工程*, 2011,

19(8):1931-1936.

PENG CH, ZHANG Q Q, YUAN X C, *et al.*. Application of spectral domain optical coherence tomography to oral cavity tissue test[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2011,19(8):1931-1936. (in Chinese)

- [11] XI P, MEI K, BRAEULER T, *et al.*. Evaluation of spectrometric parameters in spectral-domain optical coherence tomography[J]. *Applied Optics*, 2011,50(3):366-372.

- [12] VAN LEEUWEN T G, FABER D J, AALDERS M

C, *et al.*. Measurement of the axial point spread function in scattering media using single-mode fiber-based optical coherence tomography [J]. *Quantum Electron.*, 2003, 9:227-233.

- [13] THRANE L, YURA H T, ANDERSEN P E. Analysis of optical coherence tomography systems based on the extended Huygens-Fresnel principle [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2000,17:484-490.

- [14] PARSA P, JACQUES S L, NISHIOKA N S. Optical properties of rat liver between 350 and 2 200 nm[J]. *Appl. Opt.*, 1989,28:2325-2330.

作者简介:



张芹芹(1986—),女,山东潍坊人,博士研究生,2007年于曲阜师范大学获得学士学位,主要从事光学相干层析成像技术的应用研究。E-mail: qinqinfh@163.com



吴晓静(1985—),女,天津人,硕士,实习研究员,2007年、2010年于南开大学分别获得学士、硕士学位,主要从事细胞分子生物学方面的研究。E-mail: okitasan@yahoo.cn



朱思伟(1963—),男,天津人,硕士,教授,硕士生导师,1981年至1989年就读于南开大学和天津医科大学8年制医学专业本硕联读班,1989年获医学硕士学位,近年来致力于应用物理新技术和新方法在肿瘤学上的应用研究。E-mail: siweiz@medmail.com.cn



高志(1963—),男,教授,1988年于天津大学获得硕士学位,1999年于美国迈阿密大学获得博士学位,之后在明尼苏达州大学进行细胞组织工程博士后研究。主要致力于各种细胞在形成功能组织过程中的机制研究,利用细胞显微操作技术、激光细胞显微操纵术、基于相干光和非线性光学的三维图像技术等先进的光学技术手段,通过多尺度模拟技术探讨微环境中细胞间的相互作用。E-mail: zgao@clemson.edu

导师简介:



袁小聪(1963—),男,上海人,长江学者特聘教授, SPIE Fellow, OSA Fellow, 教授,信息科学技术学院副院长,1985年、1988年于天津大学分别获得学士及硕士学位,伦敦大学国王学院(King's College London)光学博士学位(1994),剑桥大学卡文迪许实验室(Cavendish Laboratory)博士后(1994-1999),1999~2008在新加坡南洋理工大学微电子系任教(tenured),主要从事微纳光学、矢量光束、光镊技术、表面等离子体共振传感与成像等领域的研究。E-mail: xcyuan@nankai.edu.cn