

# 癌变组织偏振光散射成像

李冬至<sup>1,2</sup> 廖 然<sup>1</sup> 云天梁<sup>1</sup> 何永红<sup>1,2</sup> 马 辉<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>清华大学深圳研究生院光学检测与成像实验室, 广东 深圳 518055)  
(<sup>2</sup>清华大学物理系原子分子与纳米教育部重点实验室, 北京 100084)

**摘要** 以两种癌变样品为例,应用多种偏振成像方法得到各偏振参数图像,比较分析不同偏振参数区分癌变组织和正常组织的表征能力。研究表明这些偏振参数不但能够区分各向异性体系癌变,也能够对各向同性体系癌变进行表征,从而说明偏振方法可应用于癌变的检测。根据细胞的生理特征和光学特征,利用简单的球柱散射模型进行蒙特-卡罗模拟,很好地解释了实验现象,显示了偏振成像方法在检测癌变方面的潜力。

**关键词** 生物光学;癌变检测;偏振成像;生物组织

中图分类号 O436 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201138.s104002

## Polarization Scattering Imaging of Cancerous Tissue

Li Dongzhi<sup>1,2</sup> Liao Ran<sup>1</sup> Yun Tianliang<sup>1</sup> He Yonghong<sup>1,2</sup> Ma Hui<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Optical Imaging and Sensing, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong 518055, China  
<sup>2</sup>Key Laboratory for Molecular and Nanosciences, Education Ministry, Department of Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China

**Abstract** Base on two cancerous samples various polarization parameter images are obtained by using three kinds of polarization imaging methods. It is analyzed that different polarization parameters' character capabilities in different cancerous tissues and normal tissues. The results show that the polarization method can be applied to the detection of cancer. According to the physiological and optical properties of cell, the Monte-Carlo simulation using simple scattering model is carried which agrees the experiment results and shows the potential of polarization imaging in the detection of cancer.

**Key words** biological optics; cancerous detection; polarization imaging; tissue

**OCIS codes** 290.5855; 170.0180; 170.3880; 170.4580

## 1 引 言

光学技术具有无损伤、非接触和分辨率适中的特点,在生物医学领域日益得到广泛的重视和应用<sup>[1]</sup>。生物组织的生理和病理状态会影响其光学特性,因此可以通过测量光与生物组织相互作用过程中各种物理参数的变化区分正常组织和病变组织,以提供病理判断信息<sup>[2]</sup>。但大多数生物组织在可见和近红外光学波段是强散射体,多次散射会使光学图像的对比度降低。偏振成像方法可以减弱多次散

射光子对成像的影响,提高生物组织浅表层图像的对比度<sup>[3~5]</sup>。由于偏振成像方法利用散射光中偏振保持的那部分光子,它还可以提供表征生物组织光学特征的新参数<sup>[6~9]</sup>。

偏振成像方法主要获得的是浅表层组织信息,而皮肤的病变,特别是早期癌变,往往发生在皮肤的浅层组织中<sup>[10]</sup>,因此偏振成像方法在病变的早期临床诊断方面具有很大的潜力<sup>[11]</sup>。已有多种偏振成像方法进行皮肤病变诊断的研究报道,例如:

收稿日期: 2011-07-05; 收到修改稿日期: 2011-08-31

基金项目: 国家 973 计划(2006CB70570)和国家自然科学基金(60778044,10974114)资助课题。

作者简介: 李冬至(1983—),男,博士研究生,主要从事偏振成像应用方面的研究。E-mail: lidz06@mails.tsinghua.edu.cn

导师简介: 马 辉(1959—),男,博士,教授,主要从事生物医学光子学方面的研究。E-mail: mahui@tsinghua.edu.cn

(通信联系人)

Yaroslavsky 等<sup>[12]</sup>利用正交偏振差成像(DPI)方法有效去除多次散射光子和表面反射光,诊断皮肤病变。Ramella-Roman 等<sup>[13]</sup>将偏振度成像(DOPI)方法用于皮肤癌变的临床诊断,显示出 DOPI 在皮肤癌变的早期诊断等方面的应用潜力。最近,本课题组提出旋转线偏振光成像(RLPI)方法,它可以实现 DPI 和 DOPI 的功能,同时提供一组新参数,定量表征生物组织光学和结构特征,为临床诊断提供了新的可能手段<sup>[6,7]</sup>。

本文通过对各向异性和各向同性体系的癌变样品的检测,综合比较分析了 DPI,DOPI 和 RLPI 3 种偏振成像方法提供的不同参数图像对癌变组织和正常组织的表征能力。根据组织的生理特征和光学特征,利用简单的球柱散射模型和蒙特-卡罗模拟方法,解释了癌变引起的组织光学特征变化的来源,以及吸收等因素对测量结果的影响,说明了偏振成像在癌变诊断上的潜力。

## 2 实验装置和成像方法

### 2.1 实验装置

实验装置如图 1 所示。红光发光二极管(LED)的中心波长为 650 nm,入射光通过焦距为 5 cm 的透镜 L1 成为平行光束,再通过线偏振片 P1,以 25° 的倾角照射样品。在垂直样品表面的方向,用镜头 L2 和电荷耦合器件(CCD)(Q-imaging RETIGA EXi,12 位,696 pixel×520 pixel)收集并记录从样品返回的背向散射光,对照明区域进行成像(成像区大小 13 mm×20 mm)。样品上盖有玻璃片,可以将大部分来自样品表面的反射光移出探测光路。入射起偏角和背向检偏角分别通过可旋转的偏振片 P1 和 P2 进行调节。

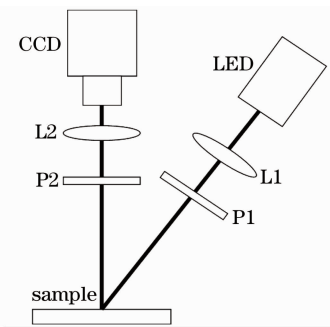


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic of experiment setup

### 2.2 成像方法

#### 2.2.1 DPL

将偏振光照射到样品上,测量背向散射光中与

入射光偏振态一致和正交的偏振分量光强  $I_{co}$  和  $I_{cr}$ 。从浅表层返回的光子经历的散射次数比较少,容易保持原有偏振成分,其贡献主要集中在  $I_{co}$  里;从深层返回的光子大多经过多次散射,基本失去了原有偏振态信息,对  $I_{co}$  和  $I_{cr}$  两个偏振分量的贡献完全相同。因此,单独测量  $I_{co}$  可以提高浅表层保偏光子的对比度,而单独测量  $I_{cr}$  可以减弱表层散射光的影响,有利于得到深层组织的图像。如将两分量相减,测量偏振差  $D_P = I_{co} - I_{cr}$ ,则可以基本消除深层组织返回的多次散射光对图像的贡献,提高浅表层组织光学成像的对比度<sup>[11,14]</sup>。

#### 2.2.2 DOPI

将偏振差对入射光强归一化,定义偏振度为<sup>[14]</sup>

$$D_{OP} = \frac{I_{co} - I_{cr}}{I_{co} + I_{cr}}, \quad (1)$$

偏振度反映的是样品对入射线偏振光的退偏程度。线偏振光获取和测量比较简单<sup>[15]</sup>,针对基于线偏振光入射的偏振成像光路偏振度为

$$D_{OP} = \frac{I(\theta_i, \theta_i) - I(\theta_i, \theta_i + \pi/2)}{I(\theta_i, \theta_i) + I(\theta_i, \theta_i + \pi/2)}, \quad (2)$$

式中  $\theta_i$  为入射线偏振光的偏振角。Jacques 等<sup>[2,3]</sup>曾将 DOPI 应用于皮肤诊断,对不同的皮肤组织病变的大量临床病例测量显示,线偏振光 DOPI 可以区分病变和正常皮肤组织。

#### 2.2.3 RLPI

采用线偏振光对各向异性的生物组织进行 DPI 和 DOPI 测量时,所得图像与入射偏振角和样品的取向有关<sup>[16,17]</sup>。RLPI 考察了不同入射偏振角和出射检偏角对线偏振差图像的影响;当入射偏振角为  $\theta_i$ ,出射检偏角分别为  $\theta_s$  和  $\theta_s + \pi/2$  时,获得偏振差为

$$D_{LDP}(\theta_i, \theta_s) = I(\theta_i, \theta_s) - I(\theta_i, \theta_s + \pi/2). \quad (3)$$

分别独立改变  $\theta_i$  和  $\theta_s$ ,得到一系列偏振差  $D_{LDP}(\theta_i, \theta_s)$  的图像。当把这些图像上的每个像素点按

$$D_{LDP}(\theta_i, \theta_s) = I_i \sqrt{A \cos(4\theta_s - \varphi_1) + B} \times \cos[2\theta_i - \varphi_2(\theta_s)] + I_i C \cos(2\theta_s - \varphi_3) \quad (4)$$

拟合,可以得到一组参数  $A, B, C, \varphi_1, \varphi_2$  和  $\varphi_3$ 。(4) 式中  $I_i$  为入射光强度,而  $A, B, C, \varphi_1$  和  $\varphi_3$  均与  $\theta_i$  和  $\theta_s$  无关,每个参数都形成一个反映生物组织结构与光学性质不同特征的新图像。当采用斯托克斯向量  $\mathbf{S} = [I, Q, U, V]^T$  和 Mueller 矩阵体系时,这些参数都可以表达为 Mueller 矩阵元的解析函数<sup>[7]</sup>。进一步实验和模拟研究中发现,  $A$  和  $B$  组合成新的参数  $G = A/B$  与浅层组织的各向异性结构有关,发现  $G$  能够反映浅表层组织中纤维状结构(如肌肉纤维和

胶原纤维)在成像面内排列的有序度<sup>[18]</sup>。在成像面内组织纤维结构的有序度越高, $G$ 越接近于1。另外, $\varphi_3/2$ 对应于有序排列纤维的取向。模拟研究还发现, $A, B$ 和 $G$ 等参数反映浅表层组织结构信息,而 $C$ 和 $\varphi_3$ 则包含了部分来自深层扩散光子的贡献,能够反映深层组织的结构信息<sup>[7]</sup>。尝试将RLPI方法应用于皮肤病变的临床诊断,发现参数 $G$ 可以表征真皮层胶原纤维增生和破损等病变<sup>[8]</sup>。

在RLPI测量中,利用当 $\theta_s = \theta_i$ 时的 $I(\theta_i, \theta_i)$ 和 $I(\theta_i, \theta_i + \pi/2)$ 可以实现DPI和DOPI测量。换言之,RLPI测量包含了DPI和DOPI测量所需的全部信息,获得光强 $I, D_P, D_{OP}$ 和 $A, B, C, \varphi_1, \varphi_3$ 以及 $G$ 等

参量的图像。

### 3 癌变组织偏振成像及讨论

#### 3.1 各向异性体系癌变组织的测量

很多生物组织都具有光学各向异性,当组织发生癌变时,其各向异性也会发生相应的变化。 $D_{OP}$ 是样品对入射线偏振光退偏程度的表征,而 $D_P$ 可以视作偏振度加权后的光强,RLPI各个参数也分别有各自的物理含义。图2是实验得到的裸鼠皮肤恶性黑色素瘤的参数图像,这些图像都对应样品的同一部位,但不同参量反映生物组织不同的结构与光学特征。

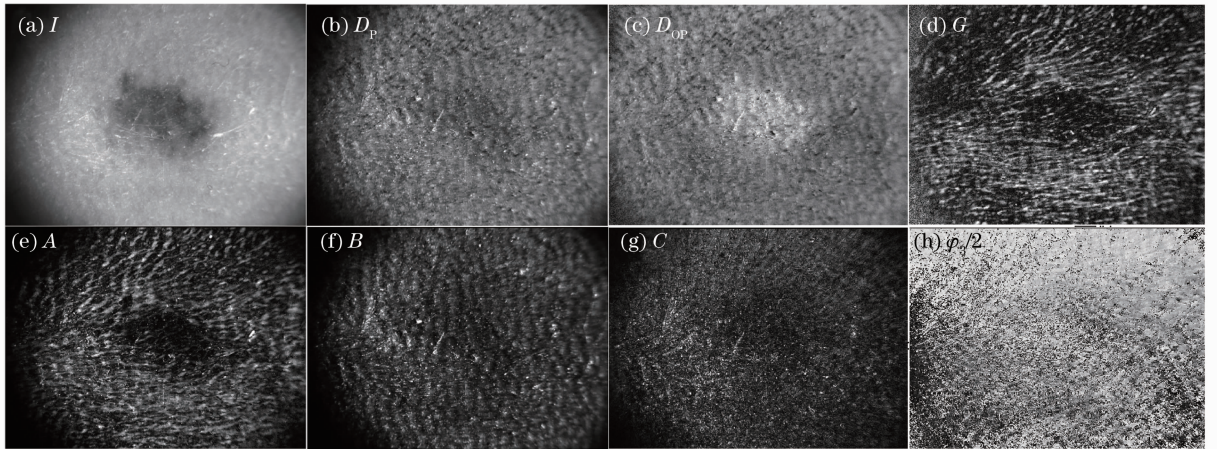


图2 恶性黑色素瘤参数图

Fig. 2 Polarization images of melanoma

$D_P$ 和 $D_{OP}$ 集中反映少次散射光子的贡献,改善了浅表层图像的对比度,如图2(b)和(c)所示。 $D_P$ 的量纲为光强, $D_{OP}$ 无量纲,两者的测量结果中都包含了散射和吸收的共同效应,但 $D_{OP}$ 对入射光强空间分布不敏感,只反映样品对入射线偏振光的散射

退偏程度。由于组织存在各向异性,用不同入射偏振角对组织进行 $D_P$ 和 $D_{OP}$ 成像,结果上存在着差异,如图3所示。但由于其测量简单,所以在生物组织的偏振特征进行定性的评估上具有优势。

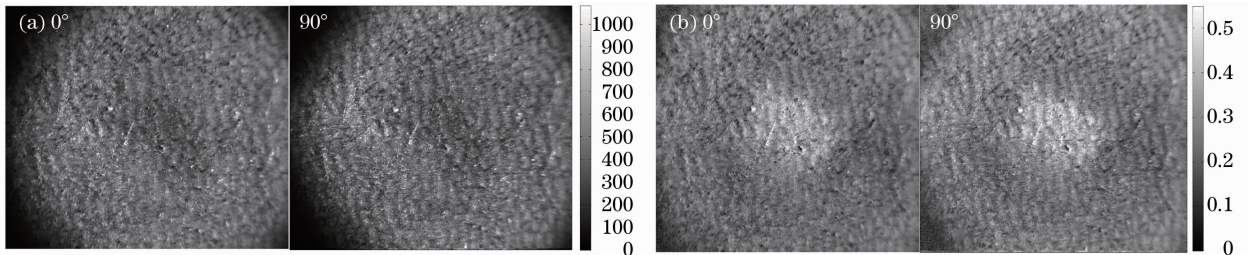


图3 (a)  $D_P$ 在入射偏振角为 $0^\circ$ 和 $90^\circ$ 的图像;(b)  $D_{OP}$ 在入射偏振角为 $0^\circ$ 和 $90^\circ$ 的图像

Fig. 3  $D_P$  images corresponding to  $0^\circ$  and  $90^\circ$  incident polarization angles; (b)  $D_{OP}$  images corresponding to  $0^\circ$  and  $90^\circ$  incident polarization angles

由图2(d)可见 $G$ 值图像表征的是各向异性程度,可以看到恶性黑色素瘤影响了裸鼠正常皮肤组织的各向异性分布。由于RLPI方法不受入射线偏振光角度的影响,所以可以为更好地对组织样品光

学特性进行定量测量提供了可能性。

#### 3.2 吸收的影响

在生物组织内还存在吸收效应,如图2(b)所示,恶性黑色素瘤的病变区 $D_P$ 值比正常区域偏小,



而图 2(c)所示为同一病变区  $D_{OP}$  值比正常区域大。Jacques 等<sup>[14]</sup>曾指出  $D_{OP}$  与皮肤中黑色素沉积等吸收物质无关,  $D_{OP}$  上的差异只反映样品结构变化。很明显,图 2(b)和(c)的结果与 Jacques 等的结论不完全符合。更多的  $D_{OP}$  实验测量结果表明  $D_{OP}$  与吸收有关。图 4(a)为雀斑和皮肤表面的油墨标记等测量图像,雀斑和油墨标记都在皮肤表面,而相应区域的  $D_{OP}$  值比周围皮肤的要大,这说明吸收对于  $D_{OP}$  有影响。因为吸收效应的大小与光子在样品中的传输路程有关,而多次散射光子因传输路程大而被吸收的要比少次散射光子多,所以虽然光强  $I$  和  $D_P$  都受到吸收的影响而变小,但  $I$  受到影响比  $D_P$  更大,因此  $D_{OP}$  反而增加。

为了更好地说明吸收对  $D_{OP}$  的影响,建立了双层介质模型<sup>[18,19]</sup>,上下两层均采用相同参数球柱介质,其中柱散射系数为  $10 \text{ cm}^{-1}$ ,球散射系数为  $6 \text{ cm}^{-1}$ ,其中上层无吸收而下层含有吸收介质。图 4(b)所示为随着吸收系数增强, $D_{OP}$  值变大;而图 4(c)所示为随着吸收层深度增大, $D_{OP}$  的值减小,即吸收效应的影响逐渐减小,并且当深度超过一定深度(此时为 5 个平均自由程)时吸收对  $D_{OP}$  影响可以忽略。这一特点可为黑色素类病变分期诊断的提供依据,并有可能用于其他色素类疾病诊断。图 2(c)所示为恶性黑色素瘤为吸收层较浅的情形,此时的  $D_{OP}$  图像病区整体比正常区要大。

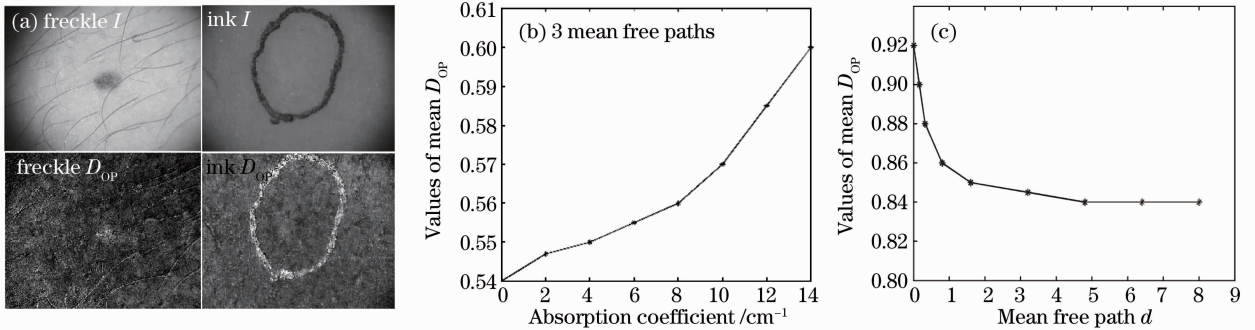


图 4 (a)皮肤雀斑和皮肤表面的油墨标记的光强图像和  $D_{OP}$  图像;(b)在吸收层深度 3 个平均自由程处, $D_{OP}$  的平均值随吸收系数的变化关系;(c)在吸收系数为  $2 \text{ cm}^{-1}$  时, $D_{OP}$  的平均值随吸收层深度的变化关系

Fig. 4  $I$  and  $D_{OP}$  images of freckle and ink line on human skin; (b) mean  $D_{OP}$  versus absorption coefficients at 3 mean free paths and (c) mean  $D_{OP}$  versus mean free path at absorption coefficient  $2 \text{ cm}^{-1}$

进一步研究发现,RLPI 中一些参数也受到吸收的影响, $A, B, C$  和  $G$  相应减小,但吸收介质处于不同深度时,各个参数受吸收的影响不同,详细特征仍需要更为深入的研究。

### 3.3 各向同性体系癌变组织的检测

组织中还有另一类各向同性体系组织如肝脏。图 5 所示为肝脏转移鼻咽癌的各参数图像。 $G$  的图像[如图 5(d)所示]病区与正常区的值都接近于零,可见正常组织和病变组织均为各向同性体系,由此引出各向同性体系癌变的检测问题。

表 1 各参数在正常与癌变区的值及其对比

Table 1 Values and contrasts of each parameters of the normal and cancerous tissue

	Normal tissue	Cancerous tissue	Contrast
$I$	536	818	0.21
$D_P$	133	190	0.17
$D_{OP}$	0.249	0.233	0.03
$B$	0.217	0.446	0.34

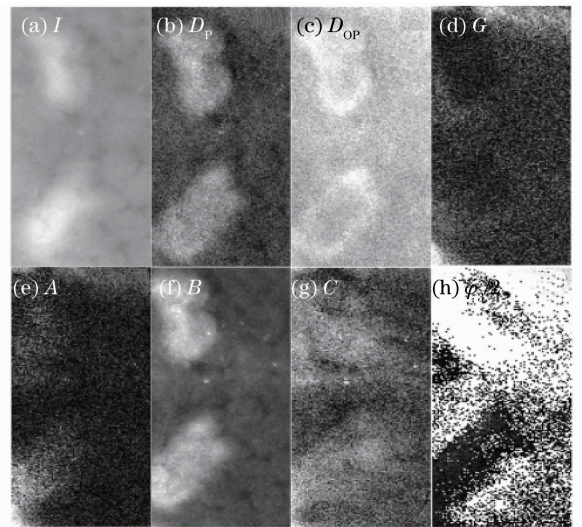


图 5 肝脏转移鼻咽癌的各参数图像

Fig. 5 Polarization images of the metastasis of nasopharyngeal carcinoma on liver

片可知,细胞增生,即单位散射体数目增多,造成散射系数增加;同时散射体如细胞器和细胞核等的粒

肝脏组织发生癌变时,由图 6(a)所示的病理切

径也会增大,亦使得散射系数增加。癌变样品的上述病理变化导致浅表层对入射线偏振光的退偏程度不同,使得  $D_P$  和  $D_{OP}$  参数图像会相应地变化,如图 5(b)和(c)所示。同时,由于 RLPI 的参数反映的是样品偏振特征,上述病理变化也会对 RLPI 的参

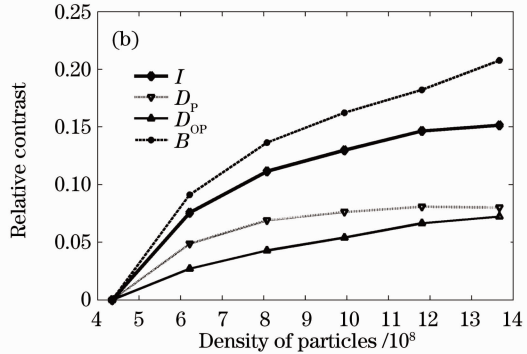
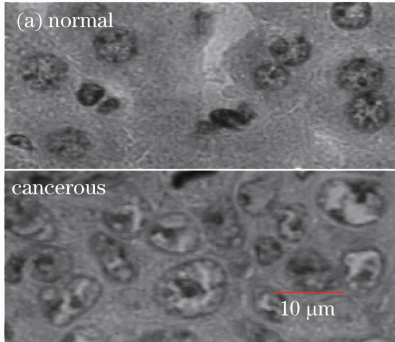


图 6 (a)肝脏转移鼻咽癌的正常和癌变组织学图像;(b)双组分体系中各参数对比度随粒子数浓度的变化关系

Fig. 6 (a) Normal and cancerous histology images of the metastasis of nasopharyngeal carcinoma on liver;

(b) the relative contrast versus the density of particles for a double-component turbid medium

为了更好地说明各向同性组织的癌变引起的各个偏振参数的变化趋势,通过建立各向同性散射模型来进行分析。从肝脏细胞的生理特征可知,其主要散射结构是细胞核和线粒体,粒子数浓度的比值约为 1:1000,细胞核平均直径为  $7 \mu\text{m}$ ,线粒体平均直径为  $0.7 \mu\text{m}$ 。采用球散射模型,其模拟程序的准确性已经得到验证<sup>[18]</sup>,以正常肝脏组织  $70 \text{ cm}^{-1}$  散射系数作为对比度基准,结果显示,单组分直径为  $7 \mu\text{m}$  的大粒子或直径为  $0.7 \mu\text{m}$  的小粒子体系都无法达到与实验一致的对比度结果。所以采用大小粒子混合的双组分散射模型,研究癌变增生即散射体粒子数浓度增大的情况下,参数对比度的变化。结合粒子数浓度的比值,由散射理论可知双组分体系大小粒子的散射系数比为 3:1。模型结果如图 6(b)所示,随着粒子浓度的增加, $I, D_P, D_{OP}$  和  $B$  等参数的对比度都增加。相较而言, $B$  的对比度比其他参数都大,说明它的变化最大。对比图 6(b)与表 1 可知,模拟得到的各参数对比度排序与生物实验的结果一致,这说明癌变样品各个偏振参数对比度的增加可能是由细胞增生引起的。

## 4 结 论

利用 3 种偏振成像方法来检测两种癌变样品,通过对多个方法参数的图像进行比较分析,表明偏振成像方法可以检测生物组织的癌变。对于含有吸收的癌变样品,经过多个实验证实, $D_P$  和  $D_{OP}$  受吸收影响,但吸收效应表现的行为不同。随吸收增大

数图像产生影响,如图 5(d)~(h)所示。从另一方面来说,这些参数图像可以表征癌变,从而说明 RLPI 可以应用于各向同性体系的癌变检测。通过对比发现,这些参数的对比度存在明显差异,其中  $B$  的对比度最高,而  $D_{OP}$  的对比度不如  $D_P$  和  $I$ 。

$D_P$  变小而  $D_{OP}$  增加,并且  $D_{OP}$  随吸收层深度变小而对吸收更加敏感。对于各向同性癌变样品  $I, D_P, D_{OP}$  和  $B$  的参数图像都能表征样品的癌变,但各个参数图像中的病区与正常区的对比度不同,其中  $B$  的对比度最大。根据生理条件和光学特征建立了双组分模型来研究粒子数浓度增加时各个参数的变化趋势,得到了与实验一致的结果。这说明这些偏振参数的增加可能是由癌变时的细胞增生引起的。

## 参 考 文 献

- 1 S. Gayen, R. Alfano. Emerging optical biomedical imaging techniques[J]. *Optics and Photonics News*, 1996, **7**(3): 17~22
- 2 S. Jacques, J. Ramella-Roman, K. Lee. Imaging skin pathology with polarized light[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, **7**(3): 329~340
- 3 S. Jacques, J. Ramella-Roman. Imaging skin with a polarized light video camera[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2002, **30**(s14): 69~70
- 4 Wang Yi, Chen Xiaodong, Li Haifeng *et al.*. Single-detector polarization-sensitive optical coherence tomography for biological tissue imaging [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36** (10): 2534~2537  
汪毅,陈晓冬,李海峰等.单探测器偏振相干层析的生物组织成像[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2534~2537
- 5 Xing Chong, Huang Jiashou, Luo Shuo. Measurement of turbid media's backscattering Mueller matrix[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2587~2592  
幸翀,黄家寿,罗硕.混浊介质后向散射 Mueller 矩阵的一种测量方法[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2587~2592
- 6 X. Jiang, N. Zeng, Y. He *et al.*. Investigation of linear polarization difference imaging based on rotation of incident and backscattered polarization angles[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2007, **34**(6): 659~663
- 7 R. Liao, N. Zeng, X. Jiang *et al.*. Rotating linear polarization imaging technique for anisotropic tissues [J]. *Journal of*

- Biomedical Optics, 2010, **15**(3): 036014
- 8 N. Zeng, X. Jiang, Q. Gao *et al.*. Linear polarization difference imaging and its potential applications[J]. *Applied Optics*, 2009, **48**(35): 6734~6739
- 9 Q. Zhu, I. Stockford, J. Crowe *et al.*. Experimental and theoretical evaluation of rotating orthogonal polarization imaging [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2009, **14**(3): 034006
- 10 N. Durr, T. Larson, D. Smith *et al.*. Two-photon luminescence imaging of cancer cells using molecularly targeted gold nanorods [J]. *Nano Letters*, 2007, **7**(4): 841~845
- 11 L. Wang, G. Cote, S. Jacques. Special section guest editorial-tissue polarimetry [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, **7**(3): 278~397
- 12 A. Yaroslavsky, V. Neel, R. Anderson. Demarcation of nonmelanoma skin cancer margins in thick excisions using multispectral polarized light imaging[J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2003, **121**: 259~266
- 13 J. Ramella-Roman, K. Lee, S. Prahl *et al.*. Design, testing, and clinical studies of a handheld polarized light camera [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, **9**(6): 1305~1310
- 14 S. Jacques, J. Ramella-Roman, K. Lee. Imaging superficial tissues with polarized light[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2000, **26**(2): 119~129
- 15 B. Laude-Boulesteix, A. De Martino, B. Drevillon *et al.*. Mueller polarimetric imaging system with liquid crystal [J]. *Appl. Opt.*, 2004, **43**(14): 2824~2832
- 16 S. Gayen, M. Zavallos, M. Alrubaiee *et al.*. Two-dimensional near-infrared transillumination imaging of biomedical media with a chromium-doped forsterite laser[J]. *Appl. Opt.*, 1998, **37**(22): 5327~5336
- 17 P. Wu, J. Walsh, Jr.. Stokes polarimetry imaging of rat-tail tissue in a turbid medium; degree of linear polarization image-maps using incident linearly polarized light [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, **11**(1): 014031
- 18 T. Yun, N. Zeng, W. Li *et al.*. Monte Carlo simulation of polarized photon scattering in anisotropic media [M]. *Opt. Express*, 2009, **17**(19): 16591~16602
- 19 Yun Tianliang, Zeng Nan, Li Wei *et al.*. Simulation and experiment of polarized light propagating in anisotropic tissue[J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(7): 1926~1929
- 云天梁, 曾楠, 李伟等. 各向异性生物组织中偏振光传输的模拟与实验[J]. *光学学报*, 2009, **29**(7): 1926~1929

栏目编辑: 韩峰