

三维全深度复频域光学相干层析成像系统及其 对人体皮肤的在体成像

南楠^{1,2} 步鹏¹ 郭昕^{1,2} 王向朝^{1,2}

(¹中国科学院上海光学精密机械研究所信息光学与光电技术实验室, 上海 201800)

²中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要 基于正弦相位调制建立了用于人体皮肤在体三维成像的全深度复频域光学相干层析(FDOCT)成像系统。通过在不同横向位置获取的干涉谱信号中引入正弦相位调制,利用傅里叶变换结合带通滤波的方法重建复干涉谱信号,使成像深度范围扩大为原来的两倍,且适合对活体组织进行在体成像。通过优化相位调制周期内的采样点数,提高了镜像抑制比。基于该系统在体获得了人体皮肤的三维全深度层析图,图中角质层、表皮层及真皮乳头层等皮肤层状结构清晰可见,镜像消除比约为 36 dB。

关键词 成像系统;医疗与生物成像;光学相干层析;正弦相位调制

中图分类号 TN247 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201239.0704002

Three-Dimensional Full-Range Complex Fourier Domain Optical Coherence Tomography System for *Vivo* Imaging of Human Skin

Nan Nan^{1,2} Bu Peng¹ Guo Xin^{1,2} Wang Xiangzhao^{1,2}

(¹Laboratory of Information Optics and Opt-Electronic Technology, Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China
²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract A three-dimensional (3D) full-range complex Fourier domain optical coherence tomography (FDOCT) system based on sinusoidal phase-modulating method is developed for *vivo* imaging of human skin. A complex spectral interferogram is retrieved based on Fourier transform analysis and bandpass filter of phase-modulated interference spectra, which is recorded with sinusoidal phase modulation introduced during lateral beam scanning. With the system, the depth imaging range is doubled and the signal-to-noise ratio degrading with the lateral scanning is avoided. Also the system is suitable for *vivo* imaging. 3D *vivo* full-range OCT images of human skin is achieved with the proposed system. In the images, the stratum corneum, the epidermis and the upper dermis can be clearly identified. By optimizing the sampling number in one modulation period, the complex conjugate rejection ratio is improved, which is about 36 dB.

Key words imaging systems; medical and biological imaging; optical coherence tomography; sinusoidal phase modulation

OCIS codes 170.3880; 170.4500; 120.5060

1 引言

光学相干层析(OCT)成像是一种非侵入的高

分辨率光学断层成像技术^[1],在生物学研究与临床医疗领域有广泛的应用前景。频域 OCT(FDOCT)

收稿日期: 2012-03-09; 收到修改稿日期: 2012-04-06

基金项目: 国家自然科学基金(60938003,60878092)资助课题。

作者简介: 南楠(1982—),女,博士研究生,主要从事光学相干检测与层析成像技术等方面的研究。

E-mail: nan8219@126.com

导师简介: 王向朝(1957—),男,研究员,博士生导师,主要从事信息光电子技术方面的研究。

E-mail: wxz26267@siom.ac.cn(通信联系人)

相对于时域 OCT 具有更快的采集速度与更高的灵敏度,可实现对生物组织的三维在体成像^[2]。然而,FDOCT 在对探测的实数干涉谱信号进行傅里叶变换时会产生与被测物体真实结构图像关于零光程差位置对称分布的复共轭镜像。实际测量中,当零光程差位置处于被测物体内部时,镜像的混叠会导致真实图像难以识别;若将零光程差位置移到物体外部,则系统成像深度范围会缩小为原来的一半^[3]。

为了消除镜像,全深度复频域光学相干层析成像方法被提出^[4-8]。该方法通过重建复干涉谱条纹,并对其进行傅里叶变换获得层析图,避免了镜像的产生。其中,一种称为同步 B-M 扫描的镜像消除方法通过在横向扫描(B-scan)样品的同时引入相位调制^[6](M-scan),使得一次横向扫描就可以获得一幅全深度的二维断层结构(B-scan)图。然而由于该方法采用线性相位调制,随着横向扫描距离的增加,被测样品将与灵敏度最高的零光程差位置越来越远,导致图像的灵敏度随横向扫描距离的增加而降低。正弦相位调制的幅度较小,且不随时间单调增加,可以使被测样品始终处于灵敏度较高区域。另外,正弦相位调制比线性相位调制更容易实现高速扫描。本研究小组^[9]前期曾将正弦相位调制方法与并行频域 OCT 系统结合实现了全深度成像。本文进一步将正弦相位调制方法与 B-M 扫描方法结合^[10],建立了一套基于正弦相位调制的三维全深度复频域 OCT 系统,并基于该系统实现了对人体皮肤的三维在体成像。

需要指出的是,与文献[10]通过低通滤波器提取基频和倍频谐波分量重建复干涉谱信号不同,本文采用傅里叶变换结合带通滤波方法重建时变复干

涉谱信号,保证了系统对样品运动有一定冗余度,使之更适合对活体组织进行在体成像。另外,理论模拟和实验分析了正弦相位调制周期内的采样点数对镜像消除效果的影响,并通过优化相位调制周期内的采样点数,提高了镜像抑制比。

2 方 法

2.1 基于正弦 B-M 扫描的镜像消除方法

正弦 B-M 扫描法是指在对样品横向扫描的同时,通过压电陶瓷(PZT)带动干涉仪参考臂反射镜沿轴向前后做正弦振动,生成随横向扫描时间(位置)变化的正弦相位调制干涉谱信号,然后通过对该信号进行时间(空间)傅里叶变换滤出基频和倍频谐波分量重建复干涉谱信号^[10]。然而,基于文献[10]的方法只实现了静态样品的成像。本文采用傅里叶变换结合带通滤波的方法,保证系统对样品运动有一定冗余度,使之更适合对活体组织进行在体成像。

正弦相位调制的干涉谱信号可表示为

$$I(k, t) = I_0(k) + 2 \sum_n S(k) \sqrt{R_{S_n} R_R} \times \cos[\phi_n + z \cos(\omega_c t + \theta)], \quad (1)$$

式中 $I_0(k)$ 为参考镜与样品反射强度之和, $S(k)$ 为光源光谱密度函数, R_{S_n} 与 R_R 分别为样品第 n 层反射面的反射率与参考镜反射率, ϕ_n 是样品第 n 层反射面与参考面光程差及样品内流体运动引起的相位之和, $z = 2ka$ 为调制深度, a 为 PZT 振动的振幅, $\omega_c = 2\pi f_c$ 为 PZT 正弦调制角频率, f_c 为正弦调制频率, θ 为初始相位, t 表示探测光束扫描到被测样品不同横向探测点所对应的时间。(1)式可以展开为

$$I(k, t) = I_0(k) + 2 \sum_n S(k) \sqrt{R_{S_n} R_R} \times \{J_0(z) - 2J_1(z) \cos(\omega_c t + \theta) \sin \phi_n + 2J_2(z) \cos[2(\omega_c t + \theta)] \times \cos \phi_n - 2J_3(z) \cos[3(\omega_c t + \theta)] \sin \phi_n + 2J_4(z) \cos[4(\omega_c t + \theta)] \cos \phi_n - \dots\}, \quad (2)$$

将(2)式对时间 t 做傅里叶变换后得到干涉信号的时间频谱为

$$F(k, \omega) = \mathcal{F}_t[I(k, t)] = I_0(k) \delta(\omega) + \sum_{m=-\infty}^{\infty} (-1)^m J_{2m}(z) \exp(i2m\theta) \delta(\omega - 2m\omega_c) \otimes \mathcal{F}_t \left[\sum_n B_n \cos \phi_n(t) \right] + \sum_{m=-\infty}^{\infty} (-1)^m J_{2m+1}(z) \exp[i(2m+1)\theta] \delta[\omega - (2m+1)\omega_c] \otimes \mathcal{F}_t \left[\sum_n B_n \sin \phi_n(t) \right], \quad (3)$$

式中 $B_n = 2S(k) \sqrt{R_{S_n} R_R}$, J_m 是 m 阶贝塞尔函数, δ 是狄拉克函数, \otimes 表示卷积, $\mathcal{F}_t(\cdot)$ 表示做时间 t 的傅里叶变换。根据(3)式可得

$$\begin{cases} \mathcal{F}_t \left[\sum_n B_n \sin \phi_n(t) \right] = \frac{F(k, \omega - \omega_c)}{-J_1(z) \exp(i\theta)} \\ \mathcal{F}_t \left[\sum_n B_n \cos \phi_n(t) \right] = \frac{F(k, \omega - 2\omega_c)}{-J_2(z) \exp(i2\theta)} \end{cases}, \quad (4)$$

式中 $F(k, \omega - \omega_c)$ 与 $F(k, \omega - 2\omega_c)$ 分别代表以正弦相位调制干涉信号的基频与倍频为中心分布的频谱。当采样频率足够高, 保证样品运动引起的基频分量与倍频分量展宽相互不重叠, 通过两个带通滤波器以基频分量 $F(k, \omega_c)$ 和倍频分量 $F(k, 2\omega_c)$ 为中心滤出 $F(k, \omega - \omega_c)$ 与 $F(k, \omega - 2\omega_c)$, 滤波带宽分别为 $\omega_c/2 < \omega < 3\omega_c/2$ 和 $3\omega_c/2 < \omega < 5\omega_c/2$ 。对(4)式进行时间 t 的逆傅里叶变换, 即可计算出复频域干涉谱 $\tilde{I}(k)$ 为

$$\tilde{I}(k) = \sum_n B_n \cos \phi_n - i \sum_n B_n \sin \phi_n. \quad (5)$$

再对其沿 k 做傅里叶变换就可以得到被测样品消除镜像的结构图。在相位解调过程中, 需要预先确定调制深度 z 与初始相位 θ 的值, 其计算方法参见文献[10]。

2.2 调制参数的选取与优化

在相位调制时调制频率、密集采样率的选取十分重要。调制频率首先需满足能够采集到完整的基频、二倍频与三倍频频谱用于调制深度的计算和复干涉谱的重建。此时调制频率 f_c 应小于等于采样频率 f_s 的 $1/8$ 。若采样频率 f_s 不变, 当 $f_c = f_s/8$ 时的干涉信号调制频谱如图 1(a) 所示, 各频谱分量

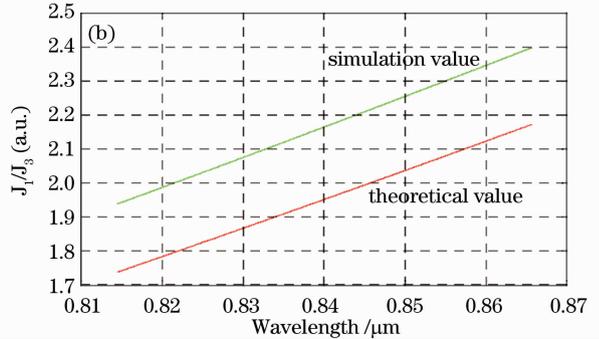
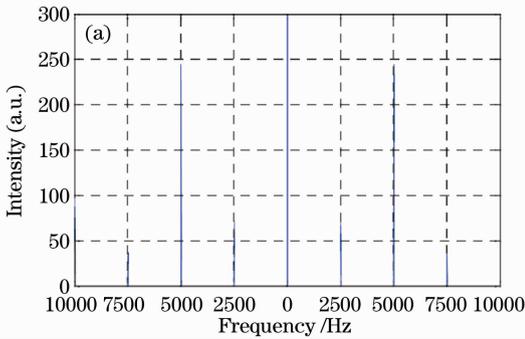


图 1 (a) 840 nm 波长调制干涉信号的时间频谱; (b) $\text{ratio}(\lambda)$ 曲线图

Fig. 1 (a) Temporal frequency spectrum of interference signal at 840 nm; (b) curves of $\text{ratio}(\lambda)$

在测量活体样品的过程中, 周围环境的振动、被测样品的整体运动、被测样品内部血流的运动以及被测样品结构变化引起的相位变化都会引起干涉信号时间频谱的展宽。当频谱展宽使各频率分量相互重叠时便会影响镜像消除效果。为避免这种影响, 可以通过提高采样速率的方式降低各种运动引起的干涉信号时间频谱展宽; 也可以通过提高聚焦在样品上的探测光斑内的采样点数来降低样品的结构变化引起的干涉信号时间频谱展宽。聚焦在样品上的探测光斑大小决定了系统的横向分辨率, 每个光斑内的采样点数称为密集采样率。密集采样率越高样品的结构变化引起的时间频谱展宽越小, 但是对于

中心间距为 $f_s/8$, 即允许由样品运动或结构变化引起的每个频谱分量展宽为 $\pm f_s/16$ 。在计算调制深度时需根据干涉信号的时间频谱计算出一阶、三阶贝塞尔函数的比例随波长的变化曲线 $\text{ratio}(\lambda)$ ^[10]。当 $f_c = f_s/8$ 时, 由于每个正弦调制周期抽样点数 M 较少, 引起的抽样误差较大, 计算出的一阶、三阶贝塞尔函数的比例误差较大, 因此计算出的调制深度误差较大。图 1(b) 为 $M=8$ 时的 $\text{ratio}(\lambda)$ 曲线图, 其中虚线为用 Matlab 软件模拟一个单一镜面样品的干涉信号, 并采用本文提到的方法计算出 $\text{ratio}(\lambda)$ 曲线; 实线为根据设定的中心波长调制深度计算出的不同波长处的贝塞尔函数比例 $\text{ratio}(\lambda)$ 。在图 1(b) 中两条曲线并未完全重合, 中心波长处的计算值与设定值的偏差 $\Delta\text{ratio}(840)$ 及镜像消除比随 M 的变化如图 2 所示。图中 $\Delta\text{ratio}(840)$ 随着每调制周期采样点数 M 的增加而减小, 可以证明这种偏差是抽样误差引入的。因此, 可以得出每调制周期采样点数 M 越多, 抽样误差越小, 镜像消除比越大。另外当 M 大于 32 后镜像消除比变化不大, 这是因为 M 大于 32 后 $\text{ratio}(840)$ 计算值与设定值的偏差小于 $\Delta\text{ratio}(840)$ 的计算精度, 不会影响调制深度的计算。

相同样品体积需要的采样时间越长、数据量也越大。此外, 每调制周期的采样点数 M 越多, 各级频谱分量的间距就越小, 越容易发生频谱重叠。因此综合以上因素, 选择 $M=16$, 密集采样率为 60。

3 实 验

建立了如图 3 所示的光纤型三维全深度复 FDOCT 系统。该系统中宽带光源(中心波长 $\lambda_0 = 840 \text{ nm}$, 带宽 $\Delta\lambda = 50 \text{ nm}$, Superlum)发出的光经 50/50 光纤耦合器分别射入参考臂与样品臂。参考臂端光纤输出的光经准直后照射在参考镜上。参考镜被固定在 PZT 上。在横向扫描过程中 PZT 控制

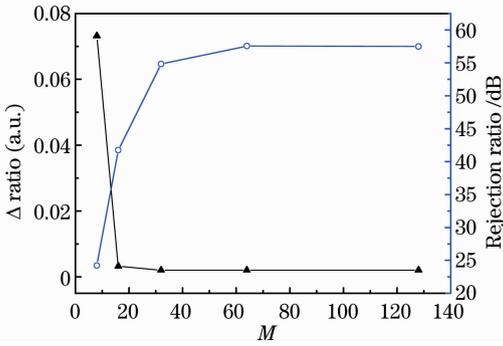


图 2 每调制周期不同采样点数 M 对调制深度计算及镜像消除比的影响

Fig. 2 Depth of modulation error and the complex rejection ratio varying with sampling numbers M in one modulation period

参考镜沿轴向做正弦运动,在干涉信号中加入正弦相位调制。参考臂光路中的中性密度滤波片用来衰减参考镜反射光的强度,色散补偿片用来补偿参考臂与样品臂光路引入的色散差异。样品臂光纤输出的光经准直后通过振镜被物镜聚焦在样品上。振镜的转轴轴心位于物镜的前焦点形成近似远心光路,保证在扫描样品时不引入额外的相移。参考镜与样品返回的散射光重新被耦合进光纤,互相干涉并通过光纤耦合器进入光栅光谱仪中。光谱仪包含两个消色差透镜分别用来把入射光准直照在反射式光栅上以及将光栅出射的光聚焦在线阵 CCD 相机上。线阵 CCD 的读出速率为 20 kHz,其决定了 FDOCT 采集一个干涉谱(A-scan)的速率。CCD 采集的干涉谱被图像采集卡收集送入计算机。计算机上运行自行开发的 Labview 软件程序,用于样机的二维横向扫描控制、CCD 图像采集以及 OCT 图像的重建。该系统工作在 20 kHz A-scan 线速率情况下,在距离零光程差位置 0.2 mm 处测得的灵敏度为 95 dB。系统的纵向分辨率由宽带光源的带宽决定,约为 $6.2 \mu\text{m}$; 横向分辨率由探测光斑大小决定,约为 $17.0 \mu\text{m}$ 。

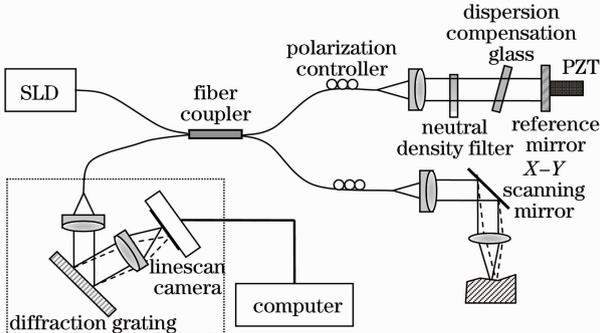


图 3 三维复 FDOCT 系统图

Fig. 3 Schematic of 3D complex FDOCT system

为了验证每个正弦相位调制周期内的采样点数 M 对镜像消除效果的影响,对一张白纸进行了成像。实验中,为了避免结构变化引起的干涉信号时间频谱展宽,仅对一个横向测量点进行成像。在相同采样频率下, M 分别取 8、16 和 32 时采用本文提出的方法得到的 A-scan 信号如图 4 所示。根据图 4 中的最大峰值处信号强度(对应白纸表面)与其关于零光程差位置对称分布的镜像位置处信号强度,计算得到 $M=8、16、32$ 时的镜像消除比分别为 30.0、36.5、41.2 dB。每调制周期采样点数越多镜像消除比越大的趋势与理论分析一致,但是镜像消除比的测量值比理论值低一些,这可能是在测量过程中电子噪声和 PZT 振动偏差导致调制深度计算不准确造成的。另外, M 取值越大越容易受到环境噪声的扰动而降低镜像消除比。因此实际测量时 M 取 16 较为适宜。

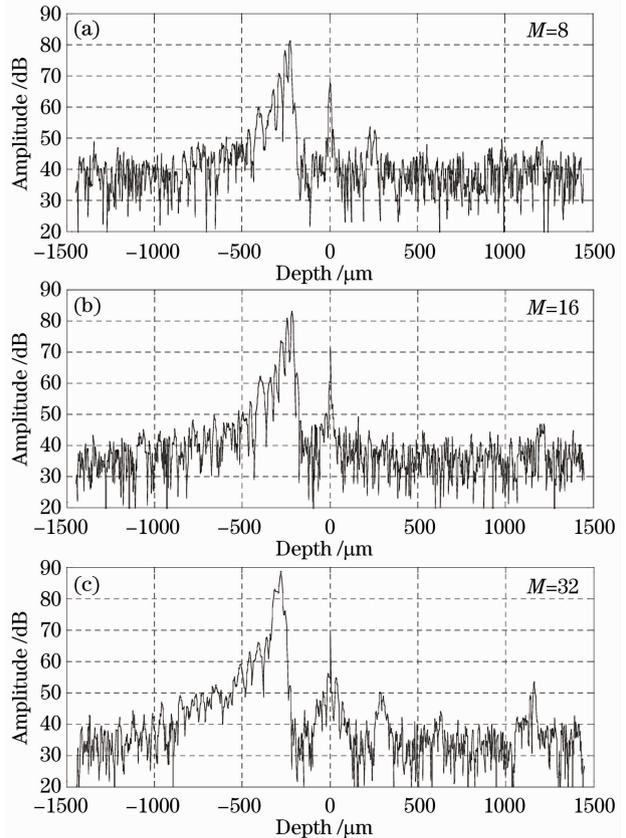


图 4 每调制周期采样点数 M 不同时白纸的去镜像 A-scan 图像

Fig. 4 A-scan signal of a white paper with different sampling numbers M in one modulation period

利用上述系统及参数设置对人体手指指尖皮肤进行了在体成像实验。实验前在指尖皮肤上涂抹甘油,降低皮肤表面的反射和光在皮肤组织中的多次

散射效应,增加探测光的穿透深度。实验中 CCD 的线读出速率设置为 20 kHz,正弦相位调制频率设为 CCD 采样频率的 1/16,即 1.25 kHz。调制电压 1.5 V,对应中心波长的调制深度为 2.63。为了减小结构变化引起的干涉信号时间频谱展宽,采用密集采样的方式,密集采样率为 60,即 X 方向扫描 0.2 mm,采集 512 个 A-scan 干涉谱数据,组成 B-scan 数据。采用本文提出的算法,对 B-scan 数据中的干涉谱信号去直流背景、 k 域等间隔插值后,沿调制方向(B-scan 扫描方向)进行傅里叶变换。再利用带通滤波器滤出以基频分量和倍频分量为中心的频谱,根据(4)式和(5)式求出复频域干涉谱。最后对复干涉谱沿 k 域进行逆傅里叶变换即可得一幅消除镜像的 B-scan 层析图像。

人体手指皮肤的成像结果如图 5 所示。图 5(a)和(b)分别为未去镜像与去镜像的 B-scan 层析图。图 5(a)表现了零光程差位置置于物体内部时,真实结构与镜像相互混叠,使得图像难以分辨的情况。因此

在未去镜像的情况下需将物体置于零光程差位置的一侧,并将获得的结构图像去掉反映镜像的一半。图 5(b)采用文中提出的方法消除了图 5(a)中的镜像后,获得了物体的真实结构图像,无需再去掉结构图中的一半,因此使成像深度范围扩大为原来的 2 倍。另外,图 5(b)不但去掉了镜像,而且由于滤波的作用,信噪比也得到了提高。图 5(c)与(d)分别为未去镜像与去镜像对应的第 114 个 A-scan 信号[图 5(b)中黄色箭头标示处]。与图 5(c)的比较可以看出图 5(d)有较好的镜像消除效果,图 5(d)中峰值处的镜像消除比约为 36 dB,平均镜像消除比大于 30 dB。另外,由于去镜像的过程使能量更加集中在真实信号部分,信噪比得到了增强。但是图中也反映出部分直流量没有完全消除,这可能是测量过程中光源的光强调制所导致。在二维图中可以清晰地分辨出人体手指皮肤组织的角质层、表皮层及真皮乳突层等皮肤结构。

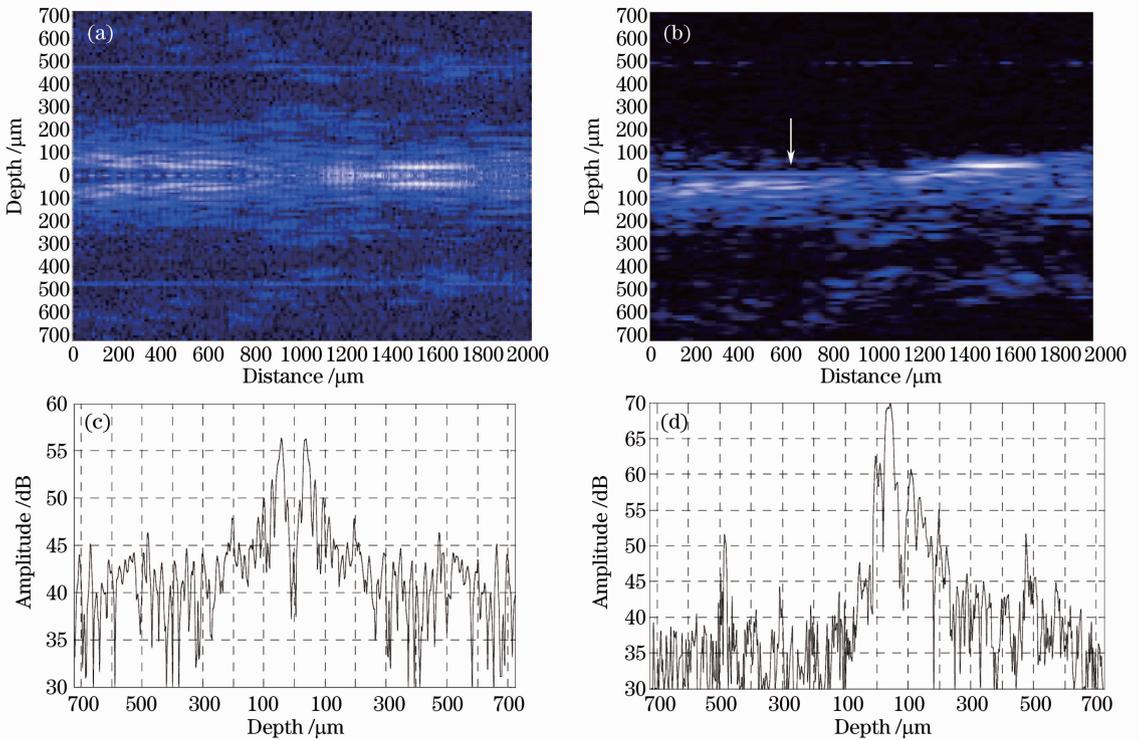


图 5 手指皮肤未去镜像(a)和去镜像(b)的二维层析图;黄色箭头标示处相应的未去镜像(c)和去镜像(d)的 A-scan 图像

Fig. 5 Tomograms of human finger skin (a) with and (b) without complex conjugate ambiguity; corresponding A-scans with (c) and without (d) complex conjugate ambiguity

通过扫描获得人体手指指尖皮肤的三维全深度图像。利用两个振镜分别沿 X 方向快速扫描和沿 Y 方向慢速扫描获得一系列 B-scan 图像。每次 X 扫描不同横向测量点获得一幅 B-scan 图像,沿 Y 方向的扫描可获得不同纵向测量点的 B-scan 图像。

对每个 B-scan 干涉信号逐一处理即可获得一组 B-scan 全深度层析图,重构出全深度三维层析图像。图 6 为人体手指皮肤的去镜像三维层析图,为了减少样品运动及缩短采样时间,图像尺寸设定为 $0.2 \text{ mm}(X) \times 0.2 \text{ mm}(Y) \times 1.45 \text{ mm}(Z)$,由 $512 \times$

100×512 个点组成。这样一个三维数据的采集时间约2.5 s。目前,该系统的 A-scan 线速率主要受到线阵 CCD 相机的线读出速率限制,未来可采用更高速率的线阵 CCD 相机,使图像采集速度和成像视场范围进一步得到提高。

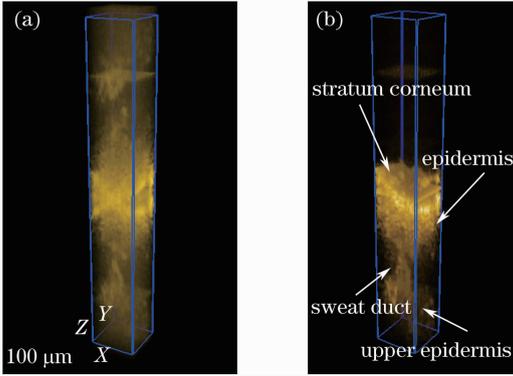


图 6 手指皮肤未去镜像(a)与去镜像(b)的三维层析图
Fig. 6 3D tomographic images of human finger skin with (a) and without (b) complex conjugate ambiguity

4 结 论

建立了基于正弦相位调制的三维全深度复频域 OCT 系统,讨论了每个正弦相位调制周期采样点数对镜像消除效果的影响。基于该系统在体获得了人体皮肤的三维全深度层析图像,镜像消除比约为 36 dB。该系统采用傅里叶变换结合带通滤波的方法重建复频域干涉谱,使正弦 B-M 扫描去镜像技术可以用于对活体组织的三维在体成像并有望实现对活体组织内部动态信息如血流的全深度多普勒成像。

参 考 文 献

- 1 D. Huang, E. Swanson, C. Lin *et al.*. Optical coherence tomography[J]. *Science*, 1991, **254**(5035): 1178~1181
- 2 Duan Lian, He Yonghong, Zhu Rui *et al.*. Development of a spectrum domain 3D optical coherence tomography system[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2528~2533
段 炼, 何永红, 朱 锐 等. 三维谱域光学相干层析成像系统的研制[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2528~2533
- 3 R. Leitgeb, C. Hitzenberger, A. Fercher. Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography[J]. *Opt. Express*, 2003, **11**(8): 889~894
- 4 A. F. Fercher, R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger *et al.*. Complex spectral interferometry OCT[C]. *SPIE*, 1998, **3564**: 173~178
- 5 S. Zotter, M. Pircher, E. Götzinger *et al.*. Sample motion-insensitive, full-range, complex, spectral-domain optical-coherence tomography [J]. *Opt. Lett.*, 2010, **35** (23): 3913~3915
- 6 Y. Yasuno, S. Makita, T. Endo *et al.*. Simultaneous B-M-mode scanning method for real-time full-range Fourier domain optical coherence tomography [J]. *Appl. Opt.*, 2006, **45** (8): 1861~1865
- 7 A. Bachmann, R. Leitgeb, T. Lasser. Heterodyne Fourier domain optical coherence tomography for full range probing with high axial resolution [J]. *Opt. Express*, 2006, **14** (4): 1487~1496
- 8 B. Baumann, M. Pircher, E. Götzinger *et al.*. Full range complex spectral domain optical coherence tomography without additional phase shifters [J]. *Opt. Express*, 2007, **15** (20): 13375~13387
- 9 Bu Peng, Wang Xiangzhao, O. Sasaki. Fourier-domain optical coherence tomography based on sinusoidal phase modulation[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(8): 1470~1474
步 鹏, 王向朝, 佐佐木休己. 正弦相位调制的频域光学相干层析成像[J]. *光学学报*, 2007, **27**(8): 1470~1474
- 10 Wang Kai, Ding Zhihua, Wu Tong *et al.*. Complex-conjugate resolved spectral domain optical coherence tomography imaging [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(s1): 32~36
王 凯, 丁志华, 吴 彤 等. 谱域光学相干层析去复共轭成像 [J]. *光学学报*, 2009, **29**(s1): 32~36

栏目编辑: 韩 峰