

白细胞对偏振光的散射特性及散射特性与细胞结构的关系

卜敏¹, 胡双双¹, 陶兆禾¹, 金卫凤², 王亚伟¹

¹江苏大学理学院, 江苏 镇江 212013;

²江苏大学机械工程学院, 江苏 镇江 212013

摘要 为了研究白细胞对偏振光的散射特性,运用几何光学近似理论修正偏振光传输的斯托克斯-穆勒矩阵元,基于偏心球模型数值模拟了两束偏振化方向互相垂直的偏振光入射时,不同形状、大小、折射率的无粒白细胞的散射光强空间分布以及散射特性与细胞结构的关系。不同条件下偏振光散射三维分布图像呈现不同的条纹特征,表明分布规律与细胞模型的形体参量和光学参量具有相关性。散射光强的差值、比值、差和比的分析结果表明,偏振光的后向散射反映了细胞内部更丰富的结构信息和光学信息。

关键词 生物光学; 细胞分析; 光散射; 偏振光; 穆勒矩阵; 几何光学近似

中图分类号 O436.2

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201744.1007001

Scattering Characteristics of Leukocytes on Polarized Light and Relationship Between Scattering Characteristics and Cell Structure

Bu Min¹, Hu Shuangshuang¹, Tao Zhaohe¹, Jin Weifeng², Wang Yawei¹

¹Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China;

²School of Mechanical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

Abstract To study the scattering characteristics of leukocytes at polarized light incidence, we modify Stokes-Müller matrix elements for polarized light propagation by using the geometric optics approximation theory. On the basis of eccentric sphere model, we numerically simulate the scattering light intensity spatial distribution of the mitochondria free leukocytes with different shapes, sizes and refractive indices with two polarized beams incident, and polarization directions of the two beams are perpendicular to each other. The relationship between the scattering characteristic and cell structure parameters, such as shape, size, and refractive index, is numerically simulated. The three-dimensional distribution of polarized light scattering shows different fringe features under different conditions, which illustrates that the distribution is relevant to physical parameters and optical parameters. The analysis of differences, ratios, and ratios of difference to sum of the scattering intensity shows that the backscattering of the polarized light can reflect rich structural information and optical information in the cell.

Key words biotechnology; cell analysis; light scattering; polarized light; Müller matrix; geometric optics approximation

OCIS codes 170.1530; 290.5855; 290.5825; 200.4560

1 引言

白细胞是抵御病原入侵、制造抗体、疾病免疫的重要成分,其核象变化是临床诊断和免疫研究最重要的

收稿日期: 2017-04-07; 收到修改稿日期: 2017-06-15

基金项目: 国家自然科学基金(11404145)、中国博士后科学基金(2014M550268)、江苏省博士后科研资助计划(1301148C)

作者简介: 卜敏(1977—),女,博士,副教授,主要从事光散射理论、细胞光学检测方面的研究。

E-mail: bumin@sina.com

指标之一。由于现有的流式技术将细胞简化为单球模型,利用散射信号仅能反演细胞粒径的大小,因此必须依赖细胞染色后获得的荧光信号才能实现白细胞的五分类,导致在使用时需对细胞进行裂解和固着,并选择与光源、细胞蛋白相匹配的染色剂,增加了样品制备的难度和使用成本。

为了使流式技术中的散射信号广泛应用于白细胞分类识别,人们对复杂血细胞的散射特性展开了研究。Eremina 等^[1]采用离散信息源法(DSM),基于均质椭球模型模拟了红细胞的散射强度分布。Tsinopoulos 等^[2]采用边界元法(BEM),基于介电圆柱体模型数值模拟了红细胞的散射强度分布。王亚伟等^[3]利用瑞利-德拜-甘斯(RDG)近似,得到了基于同心双椭球模型的白细胞散射强度分布与特征量变化下的动态响应关系。Mourant 等^[4]通过测量细胞悬浮液的约化散射系数和散射相位函数,证明了单细胞线粒体在大散射角度时影响细胞的光散射特性。Arifler 等^[5]采用三维椭球模型,运用时域有限差分方法模拟了 4 种宫颈细胞的散射,指出原位癌细胞散射更强且深度依赖上皮深度。随着美国 Abbott 公司的多角度偏振光散射(MAPSS)技术专利在五分类血细胞分析仪中的应用,基于偏振的光学技术在生物细胞诊断领域中越来越重要^[6-10]。

本文基于偏振光的单粒子散射理论,利用几何光学近似(GOA)方法修正了偏振光传输的斯托克斯-穆勒矩阵元,采用白细胞的无粒偏心球模型,数值模拟了偏振化方向不同的线偏振光入射到具有不同几何参量和光学参量的白细胞时散射光强的空间分布,并对结果进行了分析。

2 偏心球模型、散射理论及修正方法

2.1 偏心球模型

白细胞中的淋巴细胞核为球形,其在细胞体积中所占比例大于 60%,且为偏位,如图 1(a)所示。单核白细胞中的球形核也占有一定比例,如图 1(b)所示。在机体发生重大免疫性疾病时,粒细胞核呈单球形。据此,建立类球核白细胞偏心球模型,如图 1(c)所示。计算时各形体参量如图 1(d)所示,其中 r 为细胞核半径, o' 为细胞核的球心, R 为细胞半径,坐标原点 o 为细胞的球心, H 为 2 个球心之间的距离,平行光入射方向为 x 轴,纸面内竖直向上的方向为 y 轴,入射光与 2 个球心连线组成的平面为入射面 xoy 平面(即纸面),垂直纸面向外的方向为 z 轴, θ 为散射角, φ 为从水平方向转向 2 个球心连线的角度。定义核质比 $t = r/R$, 偏心率 $\gamma = H/r$ 。 m 为细胞质相对悬浮液的相对折射率, m' 为细胞核相对细胞质的相对折射率。

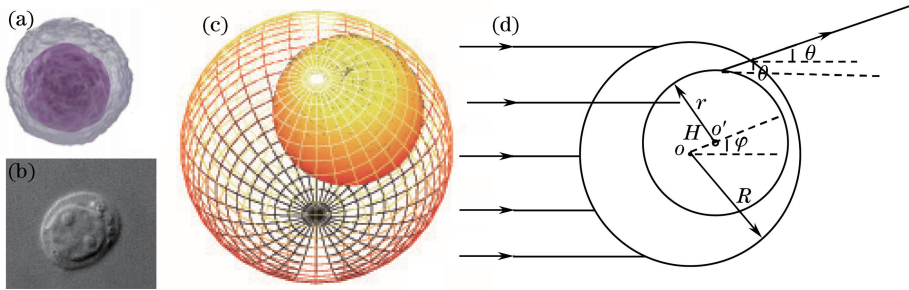


图 1 (a) 染色的淋巴细胞; (b) 未染色的单核细胞; (c) 偏心球模型; (d) 双层偏心球理论模型

Fig. 1 (a) Dyed lymphocyte; (b) undyed mononuclear; (c) eccentric sphere model;

(d) theoretical model of double layer eccentric sphere

2.2 散射理论

在矩阵光学中,散射光与入射光之间的光矢量关系可由琼斯矩阵^[11]变换得到:

$$\begin{pmatrix} E_1 \\ E_2 \end{pmatrix} = \frac{\exp(-ikl + ikl_z)}{ikr} \begin{pmatrix} J_{11} & J_{12} \\ J_{21} & J_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_{10} \\ E_{20} \end{pmatrix}, \quad (1)$$

式中 1 和 2 分别表示垂直于散射面和平行于散射面, E_{i0} 为入射光场量, E_i 为散射光场量, l 为测量点到散射体的距离,它在入射方向的分量为 l_z , k 为波数, J_{11} 、 J_{12} 、 J_{21} 和 J_{22} 为琼斯矩阵元素。

为了便于描述光的偏振特性,引入斯托克斯参量,结合穆勒矩阵与琼斯矩阵的关系和偏心球模型的对称性,可得

$$\begin{pmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} M_{11} & M_{12} & 0 & 0 \\ M_{12} & M_{11} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & M_{33} & M_{34} \\ 0 & 0 & -M_{34} & M_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I_0 \\ Q_0 \\ U_0 \\ V_0 \end{pmatrix}, \quad (2)$$

式中 I 为散射强度, Q, U, V 为散射光的斯托克斯参量, $M_{11}, M_{12}, M_{33}, M_{34}$ 穆勒矩阵元素, I_0 为入射强度, Q_0, U_0, V_0 为入射光的斯托克斯参量。穆勒矩阵各元素由散射振幅复函数 S 决定^[12], 即

$$\begin{cases} M_{11} = \frac{1}{2} (|S_1|^2 + |S_2|^2) \\ M_{12} = \frac{1}{2} (|S_1|^2 - |S_2|^2) \\ M_{33} = \frac{1}{2} (S_2 S_1^* + S_1 S_2^*) \\ M_{34} = \frac{i}{2} (S_1 S_2^* - S_2 S_1^*) \end{cases}, \quad (3)$$

式中 S_1^* 和 S_2^* 分别为垂直和平行散射复振幅的共轭。

2.3 基于 GOA 法的偏心球散射振幅函数修正

Mie 散射理论给出了散射振幅复函数 S 无穷级数的严格表达^[13]。在细胞偏心球模型中, 白细胞内部各向有微小差异, 因此必须在不考虑内部线粒体的情况下对 S_1 和 S_2 进行修正。根据 GOA 理论^[13], 外球由细胞膜和细胞质组成, 其散射光分为细胞膜表面的衍射光、细胞膜表面的反射光、经细胞质出射且不射入球核的光线。其中, 细胞膜表面衍射光的振幅函数为

$$S_{D_1}(\alpha, \theta) = S_{D_2}(\alpha, \theta) = \alpha^2 \frac{J_1(\alpha \sin \theta)}{\alpha \sin \theta}, \quad (4)$$

式中下标 D 表示衍射光, $1, 2$ 表示垂直和平行方向, 衍射在两方向上具有相同的形式, $\alpha = 2\pi r/\lambda$ 为粒径参量, λ 为入射光波长; J_1 为第一类 Bessel 函数。细胞膜表面反射光的振幅函数为

$$\begin{cases} S_{01} = \frac{\sqrt{2}}{2} \alpha \frac{\sin(\theta/2) - \sqrt{m^2 - \cos^2(\theta/2)}}{\sin(\theta/2) + \sqrt{m^2 - \cos^2(\theta/2)}} \exp\{i[2\alpha \sin(\theta/2) + \pi/2]\} \\ S_{02} = \frac{\sqrt{2}}{2} \alpha \frac{m^2 \sin(\theta/2) - \sqrt{m^2 - \cos^2(\theta/2)}}{m^2 \sin(\theta/2) + \sqrt{m^2 - \cos^2(\theta/2)}} \exp\{i[2\alpha \sin(\theta/2) + \pi/2]\} \end{cases}. \quad (5)$$

经细胞质出射且不射入球核的光线的振幅函数为

$$\begin{cases} S_{11} = \left\{ \alpha \left\{ 1 - \left[\left(m \cos \frac{\theta}{2} - 1 \right) \left(m - \cos \frac{\theta}{2} \right) \frac{(m^2 - 1)^2}{4m} \right]^2 \right\} \right\} / \left[2 \left(m^2 + 1 - 2m \cos \frac{\theta}{2} \right) \right] \cdot \\ \quad \sqrt{\left(m \cos \frac{\theta}{2} - 1 \right) \left(m - \cos \frac{\theta}{2} \right)} \exp\left\{ i \left[2\alpha \left(m^2 + 1 - 2m \cos \frac{\theta}{2} \right) + \frac{3\pi}{2} \right] \right\} \\ S_{12} = \left\{ \alpha \left\{ 1 - \left[\left(m \cos \frac{\theta}{2} - 1 \right) \left(m - \cos \frac{\theta}{2} \right) \frac{(m^2 - 1)^2}{4m \cos^2(\theta/2)} \right]^2 \right\} \right\} / \left[2 \left(m^2 + 1 - 2m \cos \frac{\theta}{2} \right) \right] \cdot \\ \quad \sqrt{\left(m \cos \frac{\theta}{2} - 1 \right) \left(m - \cos \frac{\theta}{2} \right)} \exp\left\{ i \left[2\alpha \left(m^2 + 1 - 2m \cos \frac{\theta}{2} \right) + \frac{3\pi}{2} \right] \right\} \end{cases}. \quad (6)$$

入射角 θ_i 位于区间 $[\arcsin(t + \gamma t \sin \varphi), \pi/2]$, 代入 $\theta = 2[\theta_i - \arcsin(\sin \theta_i/m)]$, 计算出这部分复振幅的散射角 θ 的取值范围。

调节悬浮液的折射率接近于细胞质的折射率, 确保平行光垂直入射细胞核, 且忽略散射光进入悬浮液时的偏转。细胞核的散射复振幅函数的衍射部分仍然由(4)式决定。与微粒的光学属性有关的部分为^[14]

$$S_{1,2}(\theta) = \sum_{p,q} a_{e1,2} \left[\frac{\sin(2\theta_i)}{\sin \theta |d\theta_p/d\theta_i|} \right]^{1/2} \exp \left[i\delta + \frac{i\pi}{2} \left(p + 1 - \frac{q}{2} - \frac{s}{2} - 2l \right) \right], \quad (7)$$

式中 p 为与内反射次数有关的整数。 q, s 为 ± 1 , 取值规则为: 上半球入射时 $q=1$, 下半球入射时 $q=-1$, 折射率 $m > 1$ 时 $s=-1$, $m < 1$ 时 $s=1$ 。 θ_p 为出射光线的偏转角, θ_p 与入射角 θ_i 、折射角 θ_r 和散射角 θ 的关系

为 $\theta_p = 2p\theta_r - 2\theta_i - p\pi + \pi, \theta_p = q\theta - 2\pi l$ 。相位差函数 $\delta = 2\alpha(\cos\theta_i - pm\cos\theta_r)$ 。l 取整数,使得 $\theta \in [0, \pi]$ 。 $e_{1,2}$ 定义为

$$e_{1,2} = \begin{cases} r_{1,2}, & p = 0 \\ (1 - r_{1,2}^2)(-r_{1,2})^{p-1}, & p > 0 \end{cases}, \quad (8)$$

其中 Fresnel 反射系数为

$$\begin{cases} r_1 = \frac{\cos\theta_i - m\cos\theta_r}{\cos\theta_i + m\cos\theta_r} \\ r_2 = \frac{m\cos\theta_i - \cos\theta_r}{m\cos\theta_i + \cos\theta_r} \end{cases} \quad (9)$$

对于在细胞质间来回反射的光线,光强会随反射次数的增加而急剧下降,因此忽略其对散射光强的贡献。整个细胞的散射振幅函数为

$$S_j(\theta) = \alpha^2 \frac{J_1(\alpha \sin \theta)}{\alpha \sin \theta} + S_{0j} + S_{1j} + (t\alpha)^2 \frac{J_1(t\alpha \sin \theta)}{t\alpha \sin \theta} + \sum_{p=0}^{\infty} S'(t, m', \theta), \quad (10)$$

式中 S_{0j} 为细胞表面反射波的复振幅; S_{1j} 为进入细胞但不与核接触而直接出射的光线的复振幅; $S'(t, m', \theta)$ 为细胞核内所有 p 次反射光线的复振幅之和; j 为 1 或 2, 表示垂直和平行散射面。

3 结果与讨论

3.1 模型与理论的可行性

利用 2 种方法论证模型和理论的可行性。首先,核质比为 0 时偏心球模型趋于均质球。用本文的修正理论计算自然光、垂直偏振光和水平偏振光入射时散射光强分布并与 Mie 散射理论对比,结果如图 2 所示。由图 2 可知 2 种计算方法结果一致。其次,运用 VirtualLab 软件虚拟仿真实验系统,测试表 1 所示参量条件下(φ 除外)双层偏心球模型在自然光入射时各角度散射光强与 0° 散射角光强的比值。由于该系统需要满足同轴的要求,因此 $\varphi = 0^\circ$ 且不能测试侧向散射数据。比较比值的原因是 VirtualLab 软件中的测量结果仅

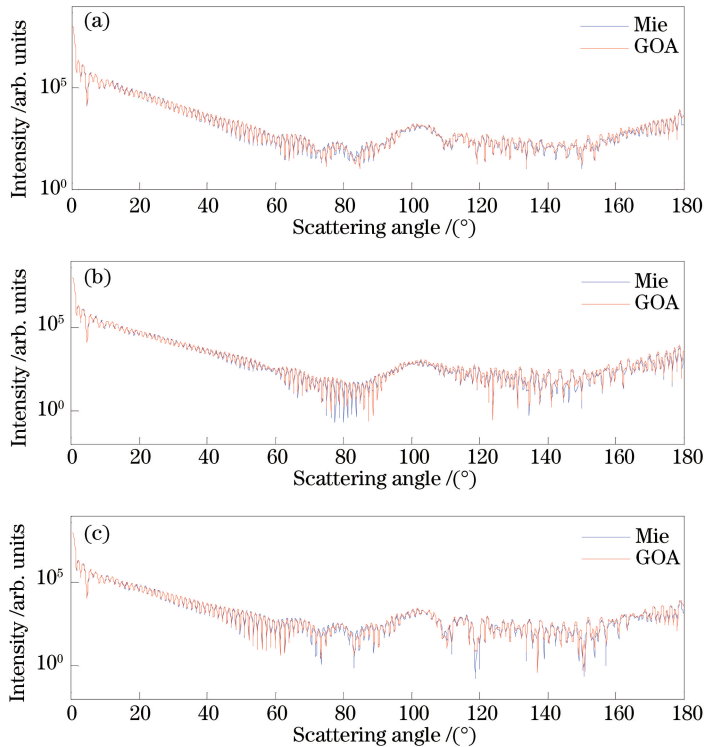


图 2 不同偏振模式入射时均质球的散射光强分布。(a)自然光;(b)垂直偏振光;(c)水平偏振光

Fig. 2 Scattering light intensity distributions of homogeneous ball with different polarization incidence modes.

(a) Natural light; (b) vertical polarized light; (c) horizontal polarized light

为相对值,只反映强度的分布。测试结果和理论计算结果的对比如表 2 所示。由表 2 可知仿真结果与理论计算结果一致。综上可知,本文的模型和理论具有可行性。

表 1 淋巴细胞散射模型的参数设置

Table 1 Parameters in scattering models of lymphocyte

Model	Parameter
Sphere model	$r = 15 \mu\text{m}, m_{\text{cell}} = 1.36, m_{\text{suspension}} = 1.3$
Eccentric sphere model	$R_{\text{cell}} = 15 \mu\text{m}, r_{\text{nucleus}} = 7.5 \mu\text{m}, t = 0.5, m_{\text{cell}} = 1.36, m_{\text{nucleus}} = 1.44, m_{\text{suspension}} = 1.3, \varphi = 30^\circ, \gamma = 0.6667, H = 5 \mu\text{m}$

表 2 数值计算结果与 VirtualLab 模拟结果对比

Table 2 Comparison of numerical results with VirtualLab simulation results

Scattering angle / (°)	GOA	VirtualLab	Relative error / %	Scattering angle / (°)	GOA	VirtualLab	Relative error / %
0	1	1	0	180	3.690×10^{-7}	3.510×10^{-7}	5.14
5	4.301×10^{-4}	4.250×10^{-4}	1.21	175	2.787×10^{-7}	2.672×10^{-7}	4.32
10	4.664×10^{-4}	4.588×10^{-4}	1.65	170	4.820×10^{-7}	4.590×10^{-7}	5.01
15	5.433×10^{-4}	5.339×10^{-4}	1.77	165	3.855×10^{-7}	3.714×10^{-7}	3.81
20	8.247×10^{-4}	8.123×10^{-4}	1.53	160	2.012×10^{-7}	1.944×10^{-7}	3.50

3.2 细胞形体模型对穆勒矩阵元的影响

分别采用偏心球模型和球模型计算单个淋巴细胞的穆勒矩阵,各几何参量和光学参量如表 1 所示。入射光的波长为 632.8 nm。偏心球模型的散射振幅函数由(10)式计算,球模型的散射振幅函数由 Mie 散射理论计算,结果如图 3 所示。由图 3 可知,偏心球模型的穆勒矩阵元 M_{11} 和 M_{33} 在前向 2° 范围内远大于其他位置,说明散射能量集中在前向小角度。其他角度散射能量呈振荡变化,散射角 θ 大于 90° 时振荡趋缓,但 M_{33} 振荡大于 M_{11} 。 M_{12} 和 M_{34} 也随 θ 增大而振荡, θ 小于 90° 时振荡幅度较大,大于 90° 时趋缓,数值在 1 附近变化。偏心球模型振荡幅值大于球模型振荡幅值的原因在于双层球的散射光发生干涉,加剧了极大与极小强度差的变化^[15]。在前向角度小于 40° 时,球模型的 M_{12} 和 M_{34} 小于偏心球模型,之后均趋于定值。可见,偏心球模型的穆勒矩阵元能反映更多细节特点,并能更真实地模拟白细胞的形态特点。

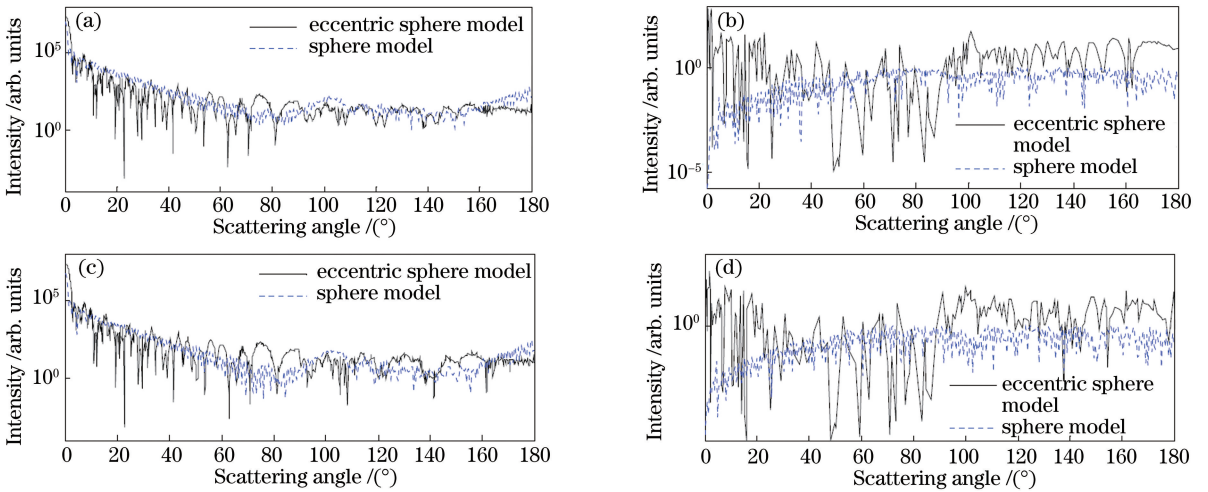


图 3 不同散射模型中穆勒矩阵元素的对数分布。(a) M_{11} ; (b) M_{12} ; (c) M_{33} ; (d) M_{34}

Fig. 3 Logarithmic distribution of Müller matrix elements in different scattering models.

(a) M_{11} ; (b) M_{12} ; (c) M_{33} ; (d) M_{34}

3.3 入射光偏振特性对散射光强分布的影响

分别将自然光、水平和垂直线偏振光、左旋和右旋圆偏振光的斯托克斯矢量代入(2)式,计算表 1 所示的偏心球模型在不同入射光偏振条件下散射光的光强分布,步长选为 1° ,步长内所有采样光强相加,计算结果

如图 4 所示。由图 4 可知：自然光与左旋、右旋圆偏振光的光强分布相同；散射角 $\theta < 90^\circ$ 时，线偏振光的分布与自然光相同， $\theta > 90^\circ$ 时水平线偏振光的光强大于垂直线偏振光。由此可知，散射光强分布受入射光性质影响，可以比较不同偏振化方向的线偏振光的光强分布。设入射的线偏振光可分解为 x 轴和 y 轴方向的振动分量 E_{x0} 和 E_{y0} 。如图 5 所示，在方位角为 φ 的散射平面内，(1) 式中线偏振入射光的垂直振动分量 E_{10} 和平行振动分量 E_{20} 为

$$\begin{cases} E_{10} = E_{x0} \cos \varphi + E_{y0} \sin \varphi \\ E_{20} = E_{x0} \sin \varphi - E_{y0} \cos \varphi \end{cases} \quad (11)$$

由琼斯矢量可知， $\varphi = 45^\circ$ 对应水平偏振光， $\varphi = 135^\circ$ 对应垂直偏振光。代入 (2) 式，计算线偏振光入射到白细胞上的散射光强空间分布。

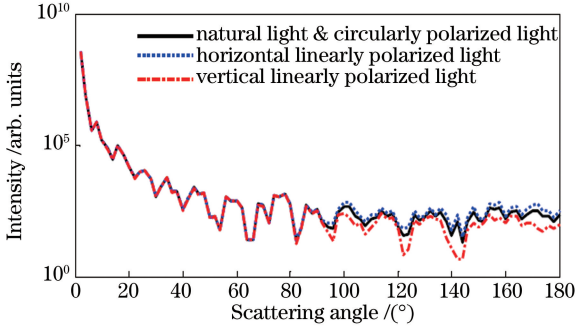


图 4 不同偏振模式入射时的散射光强分布

Fig. 4 Scattering light intensity distributions at different polarization incidence modes

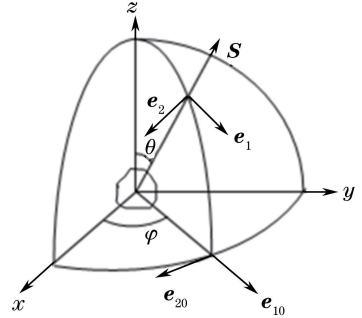


图 5 光散射坐标系示意图

Fig. 5 Schematic of light scattering coordinate system

图 6 所示为表 1 中淋巴细胞散射光强随散射角和入射线偏振光偏振化方向的变化规律。由图 6 可知偏振化方向对后向角分布有影响。其中水平线偏振光入射所得散射光强最大，其他偏振化方向的偏振光入射所得散射光强与之比值的分布如图 7 所示。由图 7 可知，当散射角 θ 小于 90° 时，入射光偏振化方向的影响较小，仅在 θ 为 $20^\circ \sim 50^\circ$ 及 $70^\circ \sim 90^\circ$ 时发生微小振荡；当 θ 大于 90° 时，不同偏振光入射对散射光强的分布产生明显影响，特别是在方位角约为 135° 和 315° 处，出现了频率不同的振荡调制现象，而在方位角约为 45° 和 225° 处散射光强没有变化，说明偏振化方向互相垂直的线偏振光入射时，散射光分布相差最大，可以引入光强差值与比值作为分析细胞形态特点的特征量。

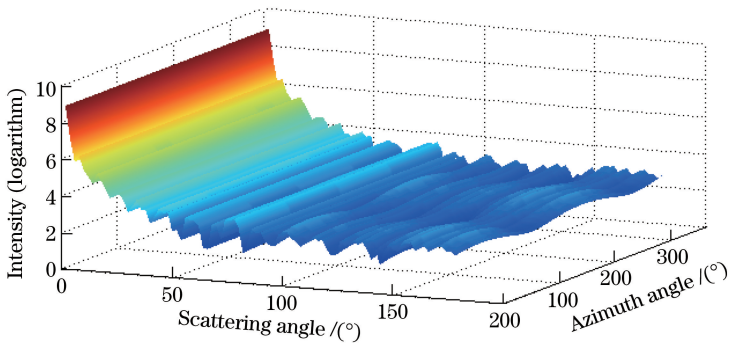


图 6 淋巴细胞散射光强随散射角和方位角的变化

Fig. 6 Variation of scattering light intensity with scattering angle and azimuth angle

3.4 细胞核质比对散射光强分布的影响

在表 1 所示的参量条件下改变核半径，即改变核质比 t ，计算水平和垂直偏振光入射时散射光强随散射角和核质比变化的对数分布，采样步长仍为 1° ，结果如图 8 所示。由图 8(a)、(b) 可知，线偏振光入射时，随着核质比和散射角的增大，散射光强条纹先疏后密再疏，即振荡频率先增大后减小。前向小角度 (小于 5°) 的光强不变；前向大角度 ($5^\circ \sim 60^\circ$) 的光强振荡频率增大且条纹逐渐密集，说明光强随核质比的增大而增大，而振荡频率随散射角的增大而增大；侧向 ($60^\circ \sim 100^\circ$) 光强振荡剧烈，条纹密集，但与核质比无明显关联；后

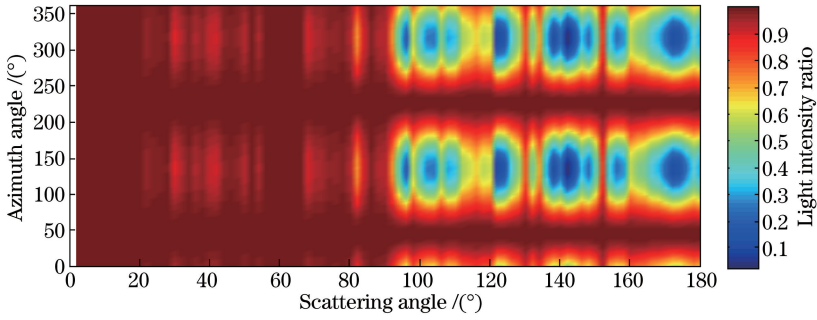


图 7 不同偏振模式入射时散射光强的相对分布

Fig. 7 Relative distribution of scattering light intensity at different polarization incidence modes

向(大于 100°)光强随核质比的振荡变化而变化,振荡频率随散射角的增大而变化趋缓。由图 8(c)可知,散射光强比值明显分为 3 个差异区域:前向,比值接近于 1,浅色条纹表示部分区域比值小于 1,且随核质比的增大而范围扩大;侧向,比值在 0.8 左右变化,与核质比无关;后向,比值复杂,但随着核质比的增大,变化幅度减小。由图 8(d)可知,在前向和后向,差值的数量级均约为 2,而与图 8(c)相比,在散射角 θ 约为 60° 时出现一个差值急剧变小的差异区域,与核质比无关。图 8 中在 θ 约为 90° 时,前后出现了截然不同的图谱,这是因为散射光中衍射部分的菲涅耳-基尔霍夫倾斜因子在 $\theta > 90^\circ$ 时为 0,因此后向散射不含衍射部分,与 $\theta < 90^\circ$ 时的散射呈现不同的规律。

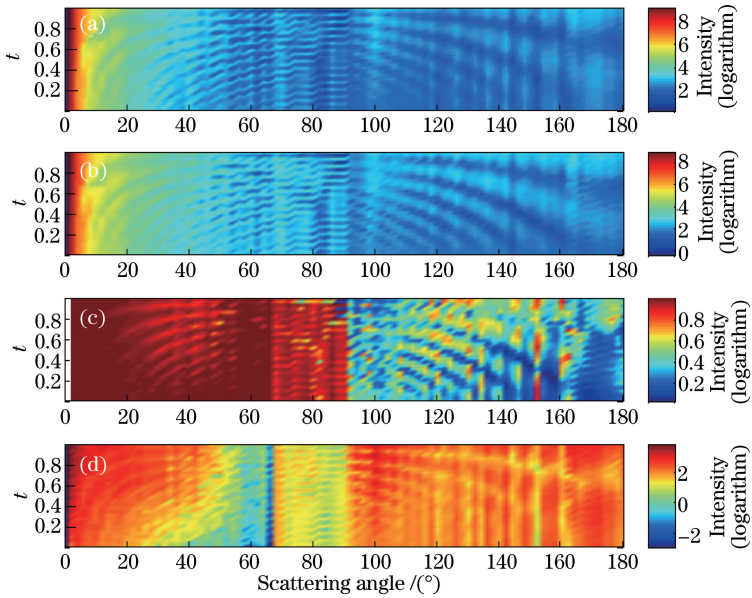


图 8 散射光强随散射角和核质比变化的对数分布。(a)水平线偏振光入射;(b)垂直线偏振光入射;

(c)图 8(a)与图 8(b)结果的比值;(d)图 8(a)与图 8(b)结果的差值

Fig. 8 Logarithmic distributions of scattering light intensity varying with scattering angle and ratio of nuclear to cytoplasmic.

(a) Horizontal linearly polarized light is incident; (b) vertical linearly polarized light is incident;

(c) ratio of Fig. 8(a) result to Fig. 8(b) result; (d) difference between Fig. 8(a) result and Fig. 8(b) result

3.5 细胞粒径参量对散射光强分布的影响

细胞半径是影响粒径参量的一个因素。在表 1 所示的参量下改变细胞大小即 R_{cell} ,保持核质比 $t=0.5$,细胞核半径 r_{nucleus} 随 R_{cell} 变化。考虑白细胞的形体特征, $R_{\text{cell}}=5\sim 50 \mu\text{m}$ 。其他参量和仿真方法不变。图 9 (a)所示为水平偏振光入射时散射光强随散射角和细胞粒径参量变化的对数分布。可以看出,前向散射光强随粒径的增大而迅速增大,侧向散射光强随粒径及散射角的增大而振荡变化,在后向小角度处出现了散射光强振荡缺失现象,且随着粒径的增大,缺失范围扩大,后向大角度处光强变化复杂,条纹呈现多频率调制且程度随粒径的增大而愈加剧烈。其他线偏振光入射有类似的结果。设垂直和水平偏振光入射所得散射光强分

别为 I_1 和 I_2 , 定义差和比 $k = (I_1 - I_2) / (I_1 + I_2)$, 结果如图 9(b) 表示。可以看出, 根据 k 可分为 5 个差异区间: 散射角 $\theta < 15^\circ$ 时, k 小于 0.1, 表明 2 种入射没有显著差异, 其范围随粒径的增大而扩大; $\theta = 15^\circ \sim 50^\circ$ 时, k 约为 0.2 并出现微小振荡; $\theta = 50^\circ \sim 65^\circ$ 时, k 为 0, 表明 2 种入射光的散射结果相同; $\theta = 65^\circ \sim 90^\circ$ 时, k 在 0.1~0.3 之间随 θ 和半径的增大而振荡变化; $\theta > 90^\circ$ 时, k 大于 0.3 且随 θ 的增大而振荡加剧, 粒径越小, 加剧程度越明显。

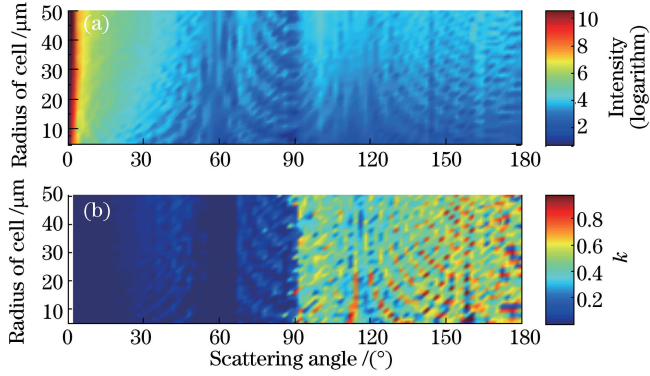


图 9 (a) 水平线偏振光入射时散射光强随细胞半径变化的对数分布; (b) 差和比

Fig. 9 (a) Logarithmic distribution of scattering light intensity varying with cell radius for horizontal linearly polarized light incidence; (b) ratio of difference to sum

入射光波长是影响粒径参量的另一个因素。图 10(a) 所示为可见光范围内不同波长的水平偏振光入射到表 1 中淋巴细胞时散射光强的对数分布。可以看出, 前向依然集中绝大部分的光强, 但是随着波长的增大, 光强呈现微弱的先减小后增大的趋势, 最小值出现在波长约为 600 nm 处。侧后向呈现不同的振荡图样。图 10(b) 所示为 2 种偏振光入射结果的差和比, 差异区间与图 9(b) 所示类似。

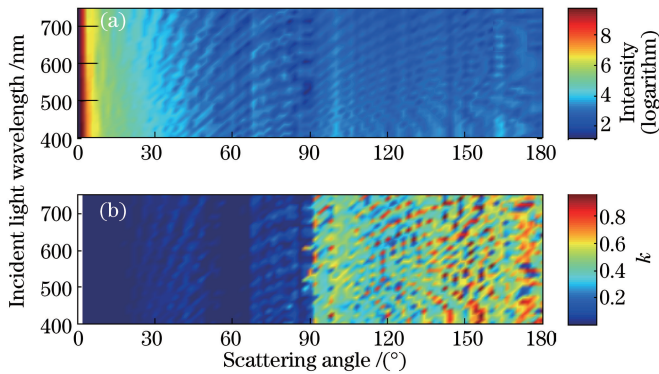


图 10 (a) 不同波长水平偏振光入射时散射光强的对数分布; (b) 差和比

Fig. 10 (a) Logarithmic distribution of scattering light intensity varying with wavelength for horizontal linearly polarized light incidence; (b) ratio of difference to sum

3.6 核质相对折射率对不同入射所得散射结果的影响

病变白细胞的折射率会发生变化, 因此需要考虑其对散射结果的影响。在偏心球模型中, 细胞质相对悬浮液的折射率接近于 1 才能保证平行光同时入射细胞和细胞核, 因此只需要考虑细胞核相对细胞质的相对折射率变化对散射结果的影响。采取表 1 所示的淋巴细胞, 核质相对折射率在 $[1, 1.5]$ 区间取值, 即 $m_{\text{nucleus}} = 1.36 \sim 2.04$, 其他参量和仿真方法不变。图 11(a) 所示为水平偏振光入射时散射光强随散射角和核质相对折射率变化的对数分布。可以看出, 全域散射光强均随相对折射率的增大而增大, 前向尤其明显, 而后向条纹为平行直线, 表示后向散射光强的角振荡频率与相对折射率无关。图 11(b) 所示为 2 种偏振光入射结果的差和比 k 。可以看出, 根据 k 可分为 3 个差异区间: 散射角 $\theta < 25^\circ$ 时, $k < 0.1$, 表明 2 种入射没有显著差异; $\theta = 25^\circ \sim 90^\circ$ 时, 随着相对折射率的增大 k 逐渐增大, 同时 k 增大的区域逐渐扩大; $\theta > 90^\circ$ 时, k 进一步增大, 随 θ 的增大而振荡变化且与相对折射率无明显关联。数据采集和拟合结果如图 11(c) 所示。可以看出, 出

现了呈规则分布的极值位置,从前向大角度开始,极大位置随相对折射率的减小向大角度移动,而极小位置从侧向开始随相对折射率的增大向大角度移动。以上所讨论的各参量对散射结果的影响与其他课题组的相近研究结果^[16-20]类似。

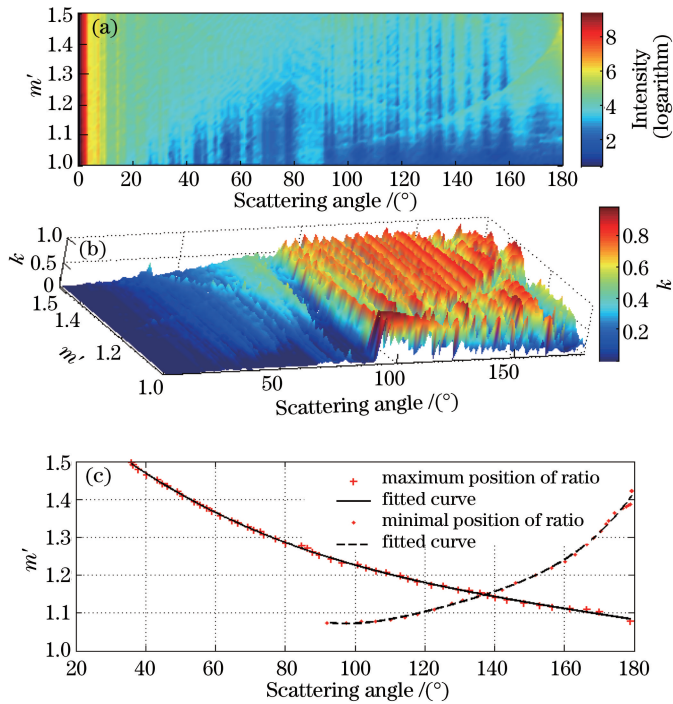


图 11 (a)水平线偏振光入射时散射光强随散射角和相对折射率变化的对数分布;(b)差和比;(c)极大和极小位置
Fig. 11 (a) Logarithmic distribution of scattering light intensity varying with relative refractive index for horizontal linearly polarized light incidence; (b) ratio of difference to sum; (c) maximum and minimum positions of ratio

4 结 论

根据白细胞的形体特点建立了无粒偏心球模型,运用 GOA 理论修正偏振光传输的斯托克斯-穆勒矩阵元。首先对不同入射光偏振模式的穆勒矩阵元进行数值计算,结果表明,不同偏振模式入射对细胞后向散射强度分布有影响,水平线偏振光和垂直线偏振光入射散射结果相差最大。其次模拟了白细胞在不同细胞核质比、细胞大小、细胞相对折射率时这 2 种偏振光入射的三维散射图谱,散射光强的指数均随散射角的增大而振荡变化,振荡频率随核质比的增大而减小,随细胞半径的增大而增大,不随相对折射率的增大而改变。最后去除衍射部分的影响,结果的数值分析表明 2 种入射的散射结果呈现不同的差异区间。1)当核质比变化时,2 个结果的比值在散射角区间 $[0^\circ, 65^\circ]$ 时接近于 1,但中间比值减小至 0.8 的区域随核质比的增大而扩大。当散射角在 $[65^\circ, 90^\circ]$ 区间时比值约为 0.8,当散射角在 $[90^\circ, 180^\circ]$ 区间时比值减小至小于 0.6,且核质比越小,比值越小。2)两个结果的差值具有相同的区间分布,且在散射角约为 60° 时出现一个差值急剧变小的区域。3)当细胞粒径参量变化时,定义了 2 个结果的差和比。结果表明,当散射角在 $[0^\circ, 15^\circ]$ 区间时,差和比小于 0.1 且范围随粒径的增大而扩大;散射角在 $[15^\circ, 50^\circ]$ 区间时差和比约为 0.2;散射角在 $[50^\circ, 65^\circ]$ 区间时差和比为 0;散射角在 $[65^\circ, 90^\circ]$ 区间时,差和比在 0.1~0.3 之间随散射角和粒径参量振荡变化;散射角在 $[90^\circ, 180^\circ]$ 区间时差和比大于 0.3,且随散射角的增大而振荡增大,粒径越小,增大越快。4)当相对折射率变化时,散射角在 $[0^\circ, 25^\circ]$ 区间时差和比小于 0.1;散射角在 $[25^\circ, 90^\circ]$ 区间时差和比增大,且散射角变化区间随相对折射率的增大而扩大;散射角大于 90° 时,差和比进一步振荡增大,但与折射率无关联。同一相对折射率时,从前向大角度开始,差和比的极大位置随相对折射率的减小而向大角度移动;从侧向开始,极小位置随相对折射率的增大向大角度移动。

本文的研究为单细胞流式检测技术的光学方法提供了更多理论依据,从而为白细胞精细分类和病变细胞

筛查提供了可挖掘的光学散射信息。这些现象的物理机制分析和实验验证是今后需要研究和解决的问题。

参 考 文 献

- [1] Eremina E, Eremin Y, Wriedt T. Analysis of light scattering by erythrocyte based on discrete sources method[J]. *Optics Communications*, 2005, 244: 15-23.
- [2] Tsinopoulos S V, Sellountos E J, Polyzos D. Light scattering by aggregated red blood cells[J]. *Applied Optics*, 2002, 41(7): 1408-1417.
- [3] Wang Yawei, Bu Min, Cui Qingyi, *et al.* Dynamic characters of light scattering intensity distribution for a nuclear-cell [J]. *Chinese J Lasers*, 2006, 33(10): 1434-1439.
王亚伟, 卜敏, 崔青义, 等. 有核细胞光散射强度分布的动态特性[J]. *中国激光*, 2006, 33(10): 1434-1439.
- [4] Mourant J R, Freyer J P, Hielscher A H, *et al.* Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics[J]. *Applied Optics*, 1998, 37(16): 3586-3593.
- [5] Arifler D, MacAulay C, Follen M, *et al.* Numerical analysis of dysplasia-associated changes in depth-dependent light scattering profile of cervical epithelium[C]. *SPIE*, 2013, 8798: 879809.
- [6] Ding Chizhu, Yang Kecheng, Li Wei, *et al.* Intensity distribution of polarized light scattering for a nucleated cell[J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(11): 1129001.
丁驰竹, 杨克成, 李微, 等. 有核细胞对偏振光的散射强度分布[J]. *光学学报*, 2013, 33(11): 1129001.
- [7] Kunnen B, MacDonald C, Doronin A, *et al.* Application of circularly polarized light for non-invasive diagnosis of cancerous tissues and turbid tissue-like scattering media[J]. *Journal of Biophotonics*, 2015, 8(4): 317-323.
- [8] Jacques S L, Roussel S, Samatham R. Polarized light imaging specifies the anisotropy of light scattering in the superficial layer of a tissue[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(7): 071115.
- [9] Du E. A study on quantitative polarization characterization of tissues for diagnosis applications[D]. Beijing: Tsinghua University, 2014.
杜娥. 偏振散射特征定量检测与组织病变诊断机理研究[D]. 北京: 清华大学, 2014.
- [10] Qu Tan, Wu Zhensen, Wei Yinyu, *et al.* Analysis of scattering of Laguerre-Gaussian vortex beam by biological cells [J]. *Acta Optica Sinica*, 2015, 35(s1): s129002.
屈檀, 吴振森, 韦尹煜, 等. 拉盖尔高斯涡旋光束对生物细胞的散射特性分析[J]. *光学学报*, 2015, 35(s1): s129002.
- [11] 廖延彪. 偏振光学[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [12] Yang Yu, Zhang Jiansheng. Forward scattering Müller matrix characteristics of ship wakes[J]. *Acta Optica Sinica*, 2011, 31(11): 1101006.
杨郁, 张建生. 船舰尾流前向散射的穆勒矩阵特性研究[J]. *光学学报*, 2011, 31(11): 1101006.
- [13] van de Hulst H C. Light scattering by small particles[M]. New York: John Wiley & Sons Incorporation, 1957: 201-208.
- [14] Ungut A, Grehan G, Gouesbet G. Comparisons between geometrical optics and Lorenz-Mie theory[J]. *Applied Optics*, 1981, 20(17): 2911-2918.
- [15] Bu Min, Wang Yawei, Jin Weifeng, *et al.* Effect of scattering intensity modulation on the study of cell morphology[J]. *Chinese J Lasers*, 2011, 38(11): 1104001.
卜敏, 王亚伟, 金卫凤, 等. 单核细胞散射光强调制在细胞形态研究中的作用[J]. *中国激光*, 2011, 38(11): 1104001.
- [16] Vo Quang Sang, Feng Peng, Mi Deling, *et al.* Research on properties of light scattering for non-spherical suspended particles in water based on T matrix model[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2015, 35(10): 2691-2696.
Vo Quang Sang, 冯鹏, 米德伶, 等. 利用 T 矩阵模型计算水体中非球形悬浮颗粒物光散射特性[J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(10): 2691-2696.
- [17] Wu Jinlei, Zhang Jinbi, Zhang Li, *et al.* Near forward light scattering characteristics of airborne particles[J]. *Acta Optica Sinica*, 2016, 36(5): 0529001.
吴金雷, 张金碧, 张莉, 等. 大气颗粒物近前向光散射特性研究[J]. *光学学报*, 2016, 36(5): 0529001.
- [18] Wang Jiajie, Han Yiping, Han Lu, *et al.* Scattering properties of a single nucleated cell scattered by a Gaussian beam [J]. *The Journal of Light Scattering*, 2014, 26(1): 8-12.
汪加洁, 韩一平, 韩璐, 等. 单核细胞对高斯激光波束散射特性理论分析[J]. *光散射学报*, 2014, 26(1): 8-12.
- [19] Wolf S, Voshchinnikov N V. Mie scattering by ensembles of particles with very large size parameters[J]. *Computer Physics Communications*, 2004, 162(2): 113-123.
- [20] Clark J P, Kim A D. Forward-peaked scattering of polarized light[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(22): 6422-6425.