

有核细胞 Mie 相函数的计算与分析

卜敏¹, 胡双双¹, 陆伟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 研究光在生物组织中的传输过程时需要更精确的散射相函数,这就需要研究细胞核对相函数的影响。基于几何散射逼近理论修正了单分散系有核细胞的 Mie 相函数、不对称因子 g 和二阶参量 γ ;分析了有核细胞形态及光学参量对 Mie 相函数角分布和 Airy 峰数的影响;对 g 和 γ 随入射光波长、细胞尺寸、核质比和折射率的变化规律进行了数值模拟。结果表明:Mie 相函数分布、Airy 峰数、 g 和 γ 不仅与细胞的大小有关,而且与细胞核占比及折射率有关,不能忽略细胞内部光学结构的影响。与 HG 相函数相比,Mie 相函数能够描述侧后向散射特征,更准确地计算 g 和 γ ,为研究细胞的免标记识别方法以及激光在生物组织中的传输特性提供了进一步的理论支持。

关键词 生物光学; 散射相函数; 不对称因子; 二阶参量; 有核细胞; 几何散射逼近

中图分类号 O436.2

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201744.0807003

Numerical Calculation and Analysis of Mie Scattering Phase Function of Nucleated Cells

Bu Min¹, Hu Shuangshuang¹, Lu Wei¹, Jin Weifeng², Wang Yawei¹

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

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

Abstract Studying the transmission of light in biological tissues requires more accurate scattering phase function. It is necessary to study the effect of nucleus on the phase function. In this study, the Mie phase function, asymmetric factor g and second order parameter γ of monodisperse nucleated cells are modified based on the geometric scattering approximation theory, the effects of the morphological and optical parameters on the angular distribution of the Mie phase function and number of Airy peaks are analyzed. The variations of g and γ with wavelength, cell size, nucleus ratio and refractive index are numerically simulated. The results show that the distribution of the Mie phase function, number of Airy peaks, g and γ are not only related to the cell size, but also to the nucleus proportion and refractive index. The effect of intracellular optical structure cannot be ignored. Compared with HG phase function, the Mie phase function can describe the side-backscattering characteristics and calculate g and γ more accurately. The Mie phase function provides further theoretical support for studying label free cell detection methods and transmission characteristics of laser in biological tissues.

Key words biotechnology; scattering phase function; asymmetric factor; second order parameter; nucleated cell; geometric scattering approximation

OCIS codes 170.1530; 290.5855; 290.5825; 200.4560

收稿日期: 2017-03-16; **收到修改稿日期:** 2017-04-24

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

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

1 引 言

医学光诊断和光治疗的发展需要研究光在生物组织中的传输规律,但生物组织的复杂性决定了用麦克斯韦方程获取电磁学解析结果的计算量较大,耗时长,不利于实现瞬时、在体测量。针对这一问题,研究人员发展了基于玻尔兹曼方程的光子传输理论,即忽略光的波动性,将光在组织中的传输看作是分散的光子流与组织中的等效微粒发生散射与吸收的过程。多种近似模型和理论证明了该方法的有效性^[1-4]。其中的蒙特卡罗法对光子的随机运动进行概率统计,然后将光子的传输规律描述成几率分布,可以用来验证各种近似解法的准确性^[5-9]。

相函数表征了散射能量的空间分布特征,是传输理论中的重要参数。在蒙特卡罗方法中,为了加快模拟速度,采用 HG 相函数确定光子的散射方向。该函数以不对称因子为唯一参量,具有很大的局限性:忽略了散射微粒的后向散射,无法区分非均质球微粒的散射差异,进而无法区分不同波长和偏振性的入射光对散射的影响。为了提高模拟精度,研究人员引入了改良后的双 HG^[10]、MHG^[11]和 LIU 相函数^[12]等,但它们都是经验公式,未能从根本上解决上述问题。随着计算机运算能力的大幅提高,有学者提出可以用离散的、不可解析的散射相函数计算累计概率分布函数,进而进行蒙特卡罗模拟^[13-16]。至此,运用 Mie 散射理论计算具有物理意义的相函数才有了实际应用的意义。

王清华等^[17-18]将散射体等效为均质球,应用 Mie 理论计算了相函数及其它的散射参量;Chalut^[19]将 Mie 理论用于椭球体的后向散射研究中。在这些工作的基础上,本课题组认为生物组织中的散射体具有有核细胞的结构特点,并应用几何散射逼近理论和偏心球模型对 Mie 相函数进行修正,通过编程计算了单个有核细胞的 Mie 相函数、不对称因子 g 和二阶参量 γ ;此外,采用数值模拟的方法研究了入射光波长和细胞形态对 Mie 相函数角分布、不对称因子和二阶参量的影响,为提高光在生物组织内传输特性的计算精度提供了理论支持。

2 理论及修正方法

2.1 Mie 相函数和光学参量

在散射理论中,相函数定义为某一方向上单位立体角上的散射能与所有方向上散射能的平均值之比,是一个归一化的无量纲量。相函数的数学表达式为^[20]:

$$P(\theta) = \frac{1}{C_{\text{sca}}} \frac{dC_{\text{sca}}}{d\Omega}, \quad (1)$$

式中 C_{sca} 为散射截面, θ 为散射角, Ω 为 θ 处的立体角。用 Mie 散射理论计算可得到单个球型散射微粒的归一化相函数为^[18]:

$$P(\theta) = \lambda^2 (|S_1|^2 + |S_2|^2) / (8\pi^2 C_{\text{sca}}) = (|S_1|^2 + |S_2|^2) / (2\pi\alpha^2 Q_{\text{sca}}), \quad (2)$$

式中 $\alpha = 2\pi r / \lambda$ 为粒径参量,平行和垂直散射复振幅 S_1 、 S_2 以及散射系数 Q_{sca} 分别为:

$$S_1 = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} (a_n \pi_n + b_n \tau_n), \quad (3)$$

$$S_2 = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} (a_n \tau_n + b_n \pi_n), \quad (4)$$

$$Q_{\text{sca}} = \frac{2}{\alpha^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2), \quad (5)$$

式中 λ 为入射光波长, r 为散射微粒半径, a_n 、 b_n 是与相对折射率 m 和 α 关的 Mie 系数,而 π_n 和 τ_n 均与散射角 θ 有关,可由递推公式迭代得出。

相函数的勒让德一阶矩和二阶矩分别定义为^[21]:

$$g_1 = \int_0^\pi P(\theta) \cos \theta \sin \theta d\theta, \quad (6)$$

$$g_2 = 0.5 \int_0^\pi P(\theta) (3\cos^2 \theta - 1) \sin \theta d\theta. \quad (7)$$

传输理论中两个重要的光学参量 g 和 γ 分别为:

$$g = g_1, \quad (8)$$

$$\gamma = (1 - g_2)/(1 - g_1). \quad (9)$$

2.2 几何散射逼近理论修正双层偏心球模型的 Mie 相函数

细胞是生物组织中的散射体,其结构比气溶胶、气泡等散射微粒更加复杂。细胞内有多种细胞器,细胞核的体积最大且在细胞内的位置常为偏心位。在所有的细胞器中,细胞核对细胞散射光角谱分布、散射相函数、不对称因子和二阶参量的影响是最大的。而且,基于细胞生物学角度考虑,细胞核特性的反演对病变和老化细胞的免标记检测也具有一定的意义。所以,为了突出细胞模型的主要特征,本文采用偏心球模型计算了双层粒子的相函数,并采用 Mie 散射理论的近似算法——几何散射逼近(GOA)方法——对双层偏心球模型的相函数进行了修正。

在 GOA 方法中,散射光强由代表衍射的 Fraunhofer 部分和代表折射、反射的 Fresnel 部分组成, C_{diff} 、 P_{diff} 、 C_{ref} 、 P_{ref} 分别表示这两部分的散射截面和相函数,Macke^[22] 将总的相函数定义为:

$$P(\theta) = \frac{C_{\text{diff}}P_{\text{diff}}(\theta) + C_{\text{ref}}P_{\text{ref}}(\theta)}{C_{\text{diff}} + C_{\text{ref}}}. \quad (10)$$

对于(10)式分母中的 C_{diff} 和 C_{ref} ,由其定义可知它们分别为:

$$C_{\text{diff}} = \frac{\lambda^2}{4\pi} \int_0^\pi |S_{\text{diff}}^2| \sin \theta d\theta, \quad (11)$$

$$C_{\text{ref}} = \frac{\lambda^2}{4\pi} \int_0^\pi |S_{\text{ref}}^2| \sin \theta d\theta. \quad (12)$$

对于(10)式中的分子,代入(2)式约去各自的散射截面后发现,Fraunhofer 部分和 Fresnel 部分的相函数只与这两部分对应的散射复振幅有关:

$$P_{\text{diff}} = \frac{\lambda^2}{8\pi^2 C_{\text{diff}}} |S_{\text{diff}}^2|, \quad (13)$$

$$P_{\text{ref}} = \frac{\lambda^2}{8\pi^2 C_{\text{ref}}} |S_{\text{ref}}^2|. \quad (14)$$

由此可见,偏心球的 Fraunhofer 和 Fresnel 散射复振幅 S_{diff} 和 S_{ref} 是求解 Mie 相函数和其他光学参量的关键。利用 GOA 解决有核细胞的散射复振幅的方法已用于血液细胞的散射研究中^[23-24], 这为利用 GOA 计算 Mie 相函数提供了依据。

对双层偏心球模型进行 GOA 分析后可知,有核细胞的 Fraunhofer 散射复振幅只与细胞和细胞核表面的衍射波有关,而且它们在平行和垂直于散射面方向上具有相同的形式:

$$S_{\text{diff}}(\theta) = a^2 \frac{J_1(\alpha \sin \theta)}{\alpha \sin \theta} + (t\alpha)^2 \frac{J_1(t\alpha \sin \theta)}{t\alpha \sin \theta}, \quad (15)$$

式中 J_1 为第一类 Bessel 函数;核质比 t 为内外球半径之比, $t = r/R$ 。

在 GOA 中,Fresnel 散射复振幅的表达式为^[25]:

$$S_{1,2}(\theta) = \sum_{p,q} \alpha E_{1,2} \left[\frac{\sin 2\theta_i}{\sin \theta |d\theta_p/d\theta_i|} \right]^{1/2} \cdot \exp \left[i\delta + \frac{i\pi}{2} \left(p + 1 - \frac{1}{2}q - \frac{1}{2}s - 2l \right) \right], \quad (16)$$

式中 E 与 Fresnel 反射系数有关, δ 为相位差, p 为内反射次数。当 $p=0$ 时, $E_{1,2} = r_{1,2}$,表示在微粒表面反射的光线。 $p>0$ 时, $E_{1,2} = (1 - r_{1,2}^2)(-r_{1,2})^{p-1}$,表示在微粒内反射次数为 $p-1$ 的光线;其中的 $r_{1,2}$ 为 Fresnel 反射系数, $r_1 = \frac{\cos \theta_i - m \cos \theta_r}{\cos \theta_i + m \cos \theta_r}$, $r_2 = \frac{m \cos \theta_i - \cos \theta_r}{m \cos \theta_i + \cos \theta_r}$ 。入射角 θ_i 、折射角 θ_r 、偏转角 θ_p 和散射角 θ 之间满足 $\theta_p = 2p\theta_r - 2\theta_i - p\pi + \pi$, $\theta_p = q\theta - 2l\pi$ 。在上半球入射时, $q=1$,在下半球入射时, $q=-1$ 。 l 取整数使得 $\theta \in [0, \pi]$ 。当相对折射率 $m > 1$ 时, $s = -1$;当 $m < 1$ 时, $s = 1$ 。相位差 $\delta = 2\alpha(\cos \theta_i - pm \cos \theta_r)$ 。

有核细胞的 Fresnel 散射复振幅由三部分组成:

$$S_{\text{ref}}(\theta) = \sum_{p=0}^{\infty} S(t, m, \theta) + S_{0j} + S_{1j}, \quad (17)$$

式中 m 为核质相对折射率。等号右边第一项为细胞核内所有 p 次反射光线的复振幅之和,直接用(16)式计

算。 S_{0j} 为细胞表面反射波的复振幅,将 $p=0$ 代入(11)式可计算得出其值,计算时限制 $\theta \in [0.5\pi, \pi]$ 。 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,将 $p=1$ 代入(16)式可计算得到其值。为了保证光线不射入细胞核,限制 $\theta_i \in [\arcsin(t + \zeta t \sin \phi), \pi/2]$, ϕ 定义为水平方向与两球心连线的夹角,偏心率 $\zeta = H/r$, H 为两球心的距离。

3 数值计算结果与讨论

3.1 模型与理论计算散射复振幅函数的可行性

从上述的定义可知,计算散射相函数、不对称因子和二阶参量的关键在于正确计算散射复振幅。为了验证偏心球模型和 GOA 的可行性,本文做了两项工作。当核质比逼近于 0 时,偏心球趋于均质球,故而首先运用本文的方法求出自然光入射时的散射光强角分布,如图 1 所示(图中还给出了根据 Mie 散射理论得到的散射光强角分布)。在计算中,设置入射光波长为 650 nm,细胞半径为 5 μm ,偏心率为 1,核质相对折射率为 1.14,细胞质相对于悬浮液的折射率为 1.0005,方位角为 30°。其次,运用 VirtualLab 虚拟仿真实验系统测量偏心球模型在特定角度与零度角的光强比。由于系统同轴要求的限制,只能测量两球心连线与光轴一致时(即 0°附近和 180°附近)的数值。GOA 理论计算结果与测量结果的比较如表 1 所示,取核质比为 0.3,方位角为 0,其他参量同上。可见,虽然两种方法各有限制,但可互为补充,证明了本文模型和理论的可行性。由此可推出相函数、 g 和 γ 是可信的。

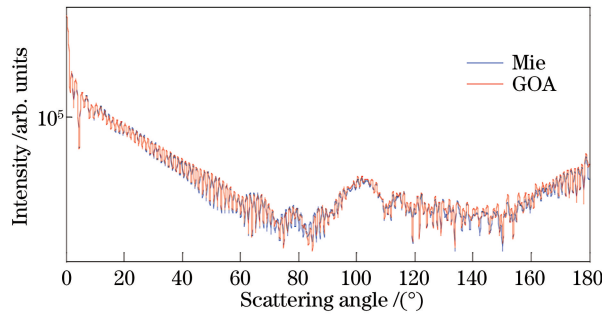


图 1 根据 GOA 理论和 Mie 散射理论得到的均质球的散射光强角分布

Fig. 1 Scattering light intensity angular distributions of homogeneous ball based on Mie & GOA

表 1 GOA 理论与 VirtualLab 虚拟实验得到的光强比

Table 1 Light intensity ratio got from GOA theoretical calculation and VirtualLab experiment

Scattering angle / (°)	Light intensity ratio			Scattering angle / (°)	Light intensity ratio		
	GOA / 10 ⁻⁴	VirtualLab / 10 ⁻⁴	Relative error / %		GOA / 10 ⁻⁷	VirtualLab / 10 ⁻⁷	Relative error / %
0	1000	1000	0	180	3.690	3.510	5.14
5	4.301	4.250	1.21	175	2.787	2.672	4.32
10	4.664	4.588	1.65	170	4.820	4.590	5.01
15	5.433	5.339	1.77	165	3.855	3.714	3.81
20	8.247	8.123	1.53	160	2.012	1.944	3.50

3.2 入射光波长和细胞形态对 Mie 相函数的影响

红外光的热效应、紫外光的穿透性和可见光在成像上的作用使得组织光学需要考虑波长对传输的影响。而不同的细胞具有不同的几何参量和光学参量,其相函数的角分布亦各不相同。以平行波束入射时,基于(10)~(17)式计算不同情况下 Mie 相函数的角分布。细胞的各个几何参量和光学参量都有一定的范围,模拟计算参数的选择不能偏离实际。根据现有的细胞生物学资料,确定各参量的取值范围如图 2 中的纵坐标所示。除变化的参量外,计算中的固定参量分别为入射光波长 650 nm、细胞半径 5 μm 、核质比 0.3、偏心率 1、核质相对折射率 1.14、细胞质相对于悬浮液的折射率 1.0005、方位角 30°。将这些参量设为标准样本细胞的参量。

图 2 分别表示了入射光波长、细胞半径、核质半径比和核质相对折射率变化时,归一化 Mie 相函数的角

分布,用伪彩色表示。它们具有相同的分布特征:前向小角处的相函数特别大,尤其是在紫外区,比其他波长区的大了两个数量级。随着散射角增大,相函数振荡减弱,在 120° 处达到最小值,此处对应着几何散射逼近理论中的 Alexander 暗带,原因是此区域只有 $p=0$ 时的表面反射光线。随后相函数振荡加剧,这种现象是 HG 相函数及其改进函数所没有的,在几何散射逼近理论中,这种后向散射的翘尾现象称为日冕区。与单球相比,双层球的翘尾现象更加明显,这是由于内外球的共轭后向散射光线发生了干涉,从而使得强度加倍。

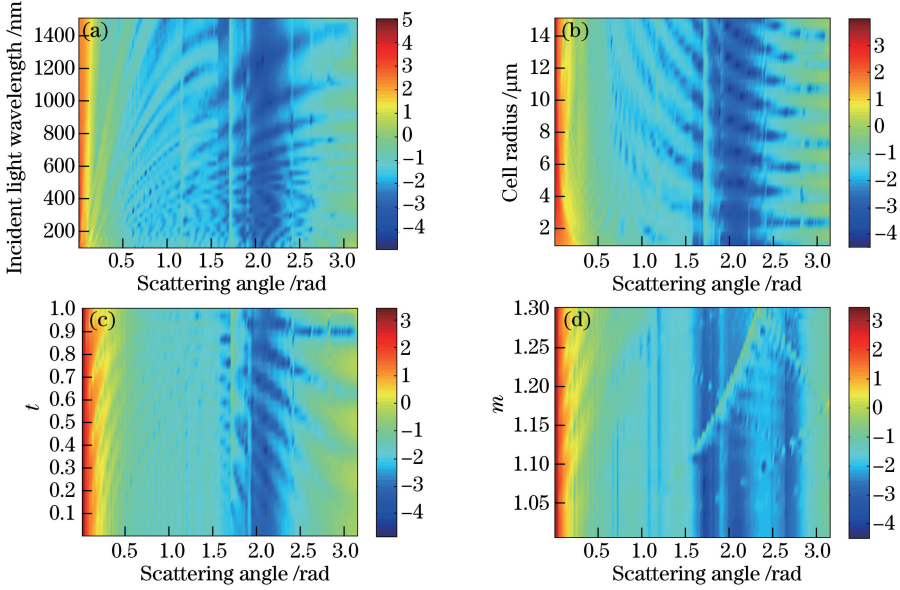


图 2 Mie 相函数随(a)入射光波长、(b)细胞半径、(c)核质比及(d)核质相对折射率变化时的角分布
Fig. 2 Angular distributions of Mie phase function with changes of (a) incident light wavelength, (b) cell radius, (c) t and (d) m

图 2 中也呈现出了明显不同的条纹特征,说明振荡变化的规律不同。几何散射逼近理论表明散射强度角分布存在高频变化的波纹(ripple)结构和低频变化的 Airy 结构。而双层模型内外光波之间的干涉会导致 ripple 结构更加复杂,对应着图 2 中各图的细碎纹路。对各图的 Airy 结构进行分析得出了 Airy 峰数量的极大值 N 与各参量之间的关系,如图 3 所示。从图 3 所示的 4 幅图中都可以得到标准样本细胞的 Airy 峰为 33 个,说明模拟结果是自洽的。由图 3(a)可以看出,紫外区的 N 值随波长增大而迅速减小,可见光区的 N 值则保持稳定,红外区的 N 值随波长增大而缓慢减小。图 3(b)表明, N 值随细胞半径的增大而先增加后减小,在细胞半径为 $11 \mu\text{m}$ 左右时达到峰值。图 3(c)表明在核质比为 $0.6\sim 0.9$ 区间内, N 值有一段快速增大

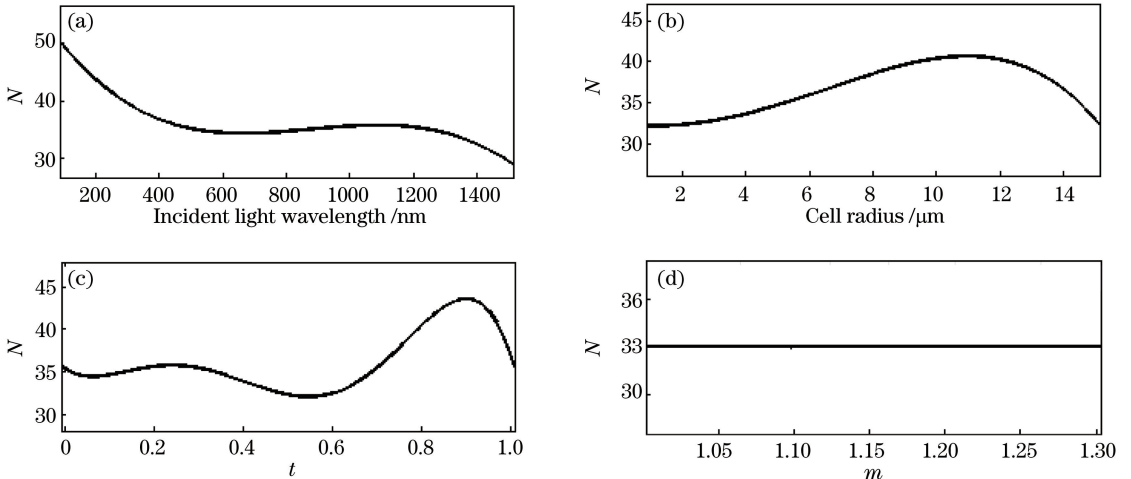


图 3 Airy 峰数量与(a)入射光波长、(b)细胞半径、(c)核质比和(d)核质相对折射率的关系

Fig. 3 Relationships between number of Airy peaks and (a) incident light wavelength, (b) cell radius, (c) t and (d) m

的过程,然后迅速降低。在核质比趋于 0 和 1(即细胞变为均质球)时具有相同的 N 值,说明 N 值与折射率无关。而图 3(d)则更明确了 Airy 结构与核质相对折射率无关。不同参数的样本细胞均能得到与图 3 类似的结果。

3.3 不对称因子和二阶参量

描述组织的光学性质需要考虑组织的各向异性,常用的物理量有不对称因子 g 和二阶参量 γ 。 g 为介于 0 和 1 之间的常数, $g=0$ 代表各向同性,瑞利散射就是这种情况; $g=1$ 表示完全的前向散射。 γ 是独立于 g 的光学参量,是研究组织漫射的重要参量^[26]。散点图上的 (g, γ) 可以表征单粒子的散射特性。 g 和 γ 的精确程度对传输理论精度的影响不能忽略。在现有的研究中,个别种类生物组织的这两个参量可以由实验得倒,蒙特卡罗模拟时这两个参量在经验值的基础上由随机数生成。

在计算了 Mie 相函数后,可以由(6)~(9)式计算单个有核细胞的不对称因子和二阶参量。取大小不同的细胞,它们的核质比为 0.3,偏心率为 1,核质相对折射率为 1.14,细胞质相对于悬浮液的折射率为 1.005,方位角为 30° 。图 4 表示采用最小二乘法拟合多项式后得到的不对称因子和二阶参量随入射光波长的变化。由图 4(a)可以看出,不对称因子在紫外区迅速增加,在可见光区和红外区只有微小的变化。尺寸不同的细胞在可见光区的对称因子相差很小,难以区分。但图 4(b)表明这些细胞的二阶参量有所不同,可以分辨出大小不同的散射体,且这些细胞的二阶参量均随着入射光波长的增大而增大。此外,从图 4(a)中还可以看出,当细胞较小时,不对称因子在红外区随着波长的增大而减小;而当细胞较大时,不对称因子则随着波长的增大而增大,这与实验中婴儿和成人脑组织的测量结果具有相同的规律^[27]。

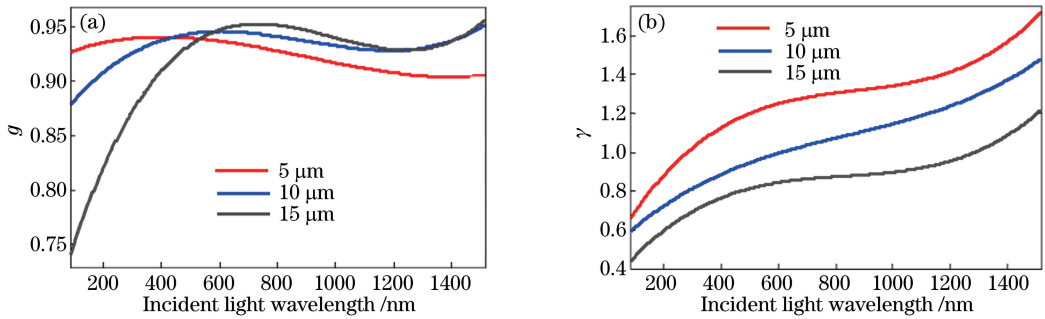


图 4 不同尺寸细胞的(a)不对称因子和(b)二阶参量随入射光波长的变化

Fig. 4 Variations in (a) g and (b) γ of cells of different sizes with incident light wavelength

由图 5 可以看出,核质比相同、折射率不同的细胞具有相似的性质,而折射率相同、核质比不同的细胞的性质则相差较大。这是由于当核质比较小时,折射率不同的核对细胞整体光学结构的影响较小。图 5(a)中三种细胞的不对称因子随细胞尺寸增大均先增加而后减小,而图 5(c)中却只有一种细胞呈现这样的规律。如果考察的直径范围扩大,即使在红蓝线所示的折射率和核质比下,还是能得到不对称因子先增加后减小的规律,其极大值对应的微粒的直径小于 $1 \mu\text{m}$,超出了细胞尺寸的下限。图 5(b)中三种细胞的二阶参量均随细胞直径的增大而减小,但区别不大,难以将它们区分开。而用图 5(a)中的不对称因子却可以将它们区分开,这与图 4 中的现象相反,但都说明不对称因子和二阶参量具有互补性,所以 (g, γ) 可用来表示微粒的散射特性。研究光在生物组织中传输时常用可见光波段和红外光波段,而紫外光波段则常用于光在大气中的传输。因此,在接下来的讨论中只考察可见光入射时核质比和折射率对不对称因子和二阶参量的影响。

计算得到了不同细胞的不对称因子随核质比的变化规律,如图 6 所示。核质比 t 趋于 0 时,同色曲线(实线和虚线)的不对称因子相同,这是由于此时的细胞为一个折射率为 1.005 的均质球体,核质相对折射率不再存在。在核质比 t 变化的全过程中,不同色、相同线型的曲线比较接近,图 5(a)也印证了这三种尺寸细胞的不对称因子相近。随着核质比增大,实线和虚线逐渐拉开距离,说明不对称因子对折射率的敏感性随核质比的增加而增大。当 $m=1.14$ 时,随着核质比增大,不对称因子先略微减小,而后几乎不变,但当核质比突破正常细胞的范围后,不对称因子急剧减小。当 $m=1.3$ 时,随着核质比增大,不对称因子单调减小。病变和老化细胞,特别是某些恶性肿瘤细胞,其细胞核会异常增大,核质体积比超过 50%,折算成本文定义的核质比为 0.8,这与图中实线加速减小的临界值相同。图中相同折射率曲线的不对称因子十分接近,难以分辨。考虑到图 3、图 4 中不

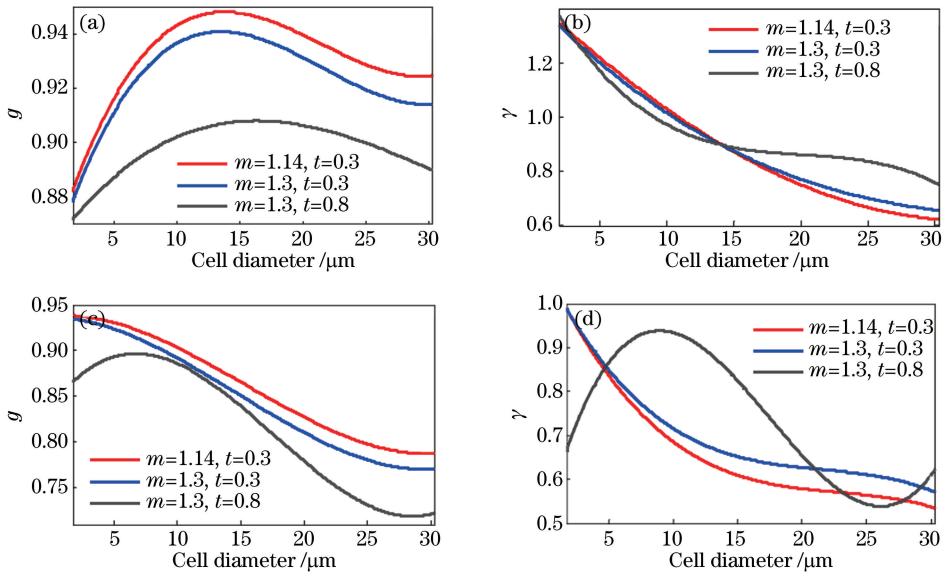


图 5 不同入射光波长下不同尺寸细胞的不对称因子、二阶参量与直径的关系。(a) 650 nm;(b) 650 nm;(c) 250 nm;(d) 250 nm
Fig. 5 Relationships between g , γ of cells with different diameters and diameter at different incident light wavelengths. (a) 650 nm; (b) 650 nm; (c) 250 nm; (d) 250 nm

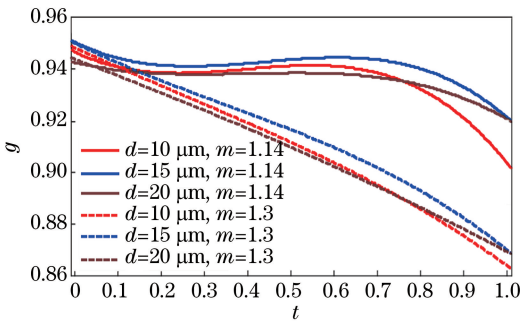


图 6 不同尺寸细胞的不对称因子与核质比的关系
Fig. 6 Relationship between g and t of cells with different diameters

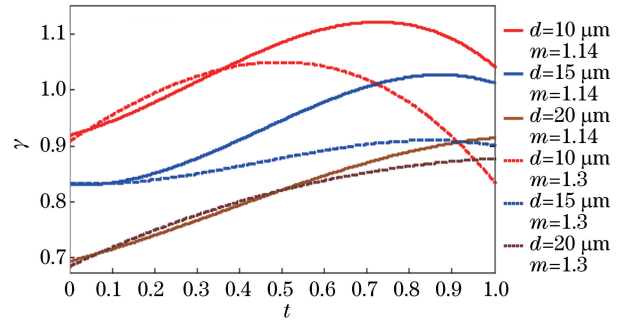


图 7 不同尺寸细胞的二阶参量与核质比的关系
Fig. 7 Relationship between γ and t of celles with different diameters

对称因子和二阶参量表现出的互补性,图 7 计算了相同样本的二阶参量。由图 7 可以看出,直径不同的细胞的二阶参量明显不同,这弥补了图 6 的不足。尺寸不同的细胞,其二阶参量的差别比不对称因子的差别更大,说明二阶参量对细胞的尺寸更为敏感,这与图 5(b)中表现出的递减性相对应。在图 7 中,除红色虚线外,二阶参量均随核质比的增加而增大。图 5(b)中 10 μm 处的蓝线在灰线之上,这是红色虚线二阶参量减小的原因。此外,与图 6 相同,核质比趋于 0 时相同颜色曲线的二阶参量也相同。

计算得到了不同尺寸细胞的不对称因子随核质相对折射率的变化规律,如图 8 所示。当核质比为 0.3 时,不对称因子随相对折射率的增大而缓慢减小。这是由于此时核在细胞中的占比很小,所以折射率对细胞的光学结构影响不大。当核质比增加到 0.8 时,随着相对折射率增大,不对称因子先小幅增加,而后快速减小。当核质相对折射率为 1 时,细胞趋于一个均质球,相同大小的细胞具有相同的不对称因子。图 9 计算了相同样本的 γ 值,与前面的讨论相同,对于相同核质比的样本细胞,其不对称因子相差不大,但二阶参量相差较大,如图 9 所示,这同样说明了不对称因子和二阶参量的互补性。

3.4 其他小细胞器对相函数的影响

除了细胞核外,细胞内还存在其他的小细胞器,如线粒体、核糖体、溶酶体和液泡等。这些小细胞器也会参与细胞的光散射,对整个细胞的相函数具有一定影响。但小细胞器的光学性质比较复杂,严格符合实际散射物理过程的相函数很难计算出解析解。在忽略细胞器散射光的干涉时,利用本文的计算方法重新计算

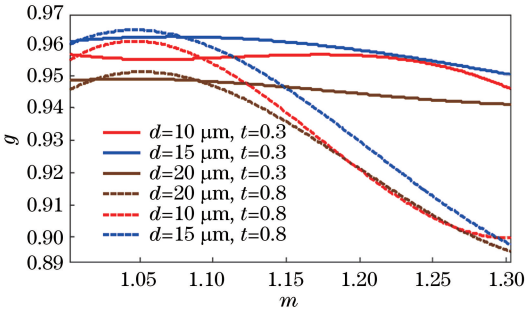


图 8 不同尺寸细胞的不对称因子与核质相对折射率的关系
Fig. 8 Relationship between g and m of cells with different diameters

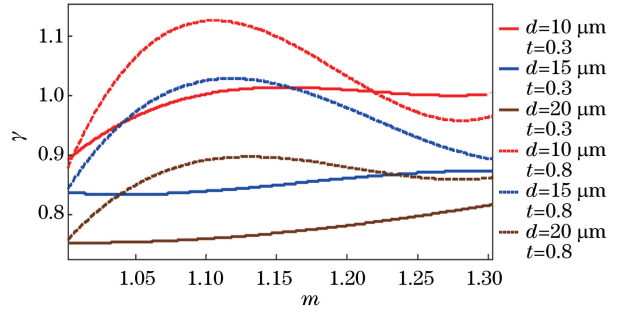


图 9 不同尺寸细胞的二阶参量与核质相对折射率的关系
Fig. 9 Relationship between γ and m of cells with different diameters

(13)、(14)式中的散射复振幅函数,可得到小细胞器对相函数的影响。正常细胞中的小细胞器多集中在细胞核附近,而癌细胞的恶性程度越高,小细胞器越趋向于均匀分布^[28],这就使得小细胞器的偏心率随着细胞恶性程度的提高而增大(在小细胞器大小不变的情况下)。分别计算得到了小细胞器在均匀分布和集中于细胞核分布时的散射相函数,结果如图 10 所示,计算过程中,除小细胞器外,其他参数与 3.2 节标准样本细胞的相同。图 10(a)中细胞的恶性程度高于图 10(b)中的,但两者的相函数没有本质区别,说明小细胞器对相函数的影响较小。进一步分析有小细胞器的有核细胞(图 10)和无小细胞器的有核细胞的相函数偏差,如图 11 所示,相函数在前向的偏差为正,在后向的偏差为负,表明小细胞器的存在使得散射光强更加集中于前向。后向的放大图表明,随着恶性程度增加,后向相函数的差值变小,但范围变大。这与用时域有限差分(FDTD)方法的计算结果相似^[28]。

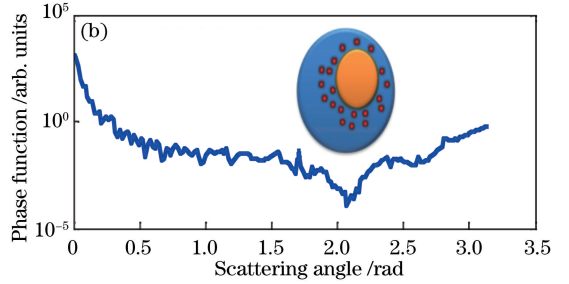
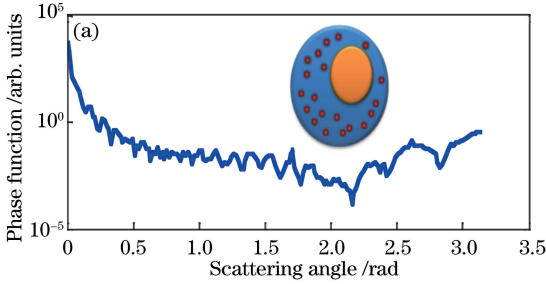


图 10 小细胞器分布不同的有核细胞的相函数角分布。(a)分布均匀;(b)集中于细胞核处

Fig. 10 Phase function angular distributions of nucleated cells with different small organelle distributions.

(a) Uniform distribution; (b) focus on the nucleus

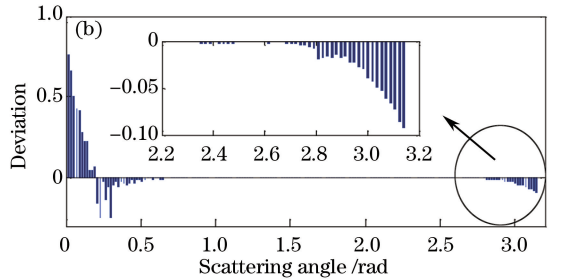
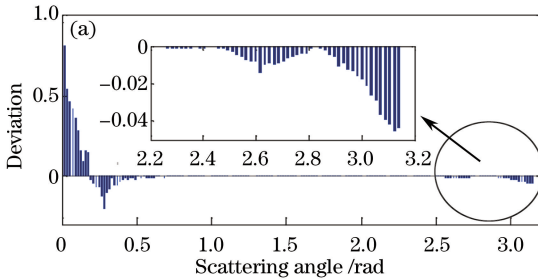


图 11 小细胞器分布不同的有核细胞与无小细胞器的有核细胞的相函数偏差。(a)分布均匀;(b)分布集中于细胞核处
Fig. 11 Phase function deviations between nucleated cells with different small organelle distributions and without small organelles. (a) Uniform distribution; (b) focus on the nucleus

4 结 论

为了精确得到光在生物组织中的传输特性,基于几何散射逼近理论修正了双层偏心球型细胞的相函数。

在确认了该方法的可行性后,首先计算了不同尺寸细胞的相函数随入射光波长、细胞半径、核质比和核质相对折射率的变化,并且给出 Airy 峰数随上述变量的分布;其次计算了不对称因子和二阶参量随上述参量变化的规律。结果表明:1)散射相函数具有很强的前向聚集特性,但侧后向相函数的分布与入射光和细胞参量有关;2)Airy 峰数随波长增大而减少,但在可见光区变化缓慢;Airy 峰数随细胞尺寸增大先缓慢增加而后快速减少,随核质比的变化比较平缓,但当核质比在 0.8 附近时快速增加而后又快速减少;折射率对 Airy 峰数无影响;3)不对称因子和二阶参量具有互补性,两者互相配合,能够实现细胞免标记识别;4)小细胞器对相函数的影响主要体现在前后向,与无小细胞器的有核细胞相比,小细胞器分布越集中,差异越大。与将细胞看作均质球并用 Mie 理论所得结果进行比较^[17-18]可知,本文计算的相函数可以反映细胞核的性质,通过不对称因子和二阶参量的异常变化可标记区分病变细胞和老化细胞,为实现细胞免标记识别和病变组织筛查提供可挖掘的光学散射信息。该研究考虑了小细胞器分布造成细胞内结构的差异对相函数的影响,为提高生物组织散射特性研究的精度提供了理论依据。

参 考 文 献

- [1] Gate L F. Comparison of the photon diffusion model and Kubelka-Munk equation with the exact solution of the radiative transport equation[J]. *Applied Optics*, 1974, 13(2): 236-238.
- [2] Kienle A, Patterson M S, Dögnitz N, *et al.* Noninvasive determination of the optical properties of two-layered turbid media[J]. *Applied Optics*, 1998, 37(4): 779-791.
- [3] Prahl S A, van Gemert M J, Welch A J. Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method[J]. *Applied Optics*, 1993, 32(4): 559-568.
- [4] Bonner R F, Nossal R, Havlin S, *et al.* Model for photon migration in turbid biological media[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1987, 4(3): 423-432.
- [5] Wilson B C, Adam G. A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue[J]. *Medical Physics*, 1983, 10(6): 824-830.
- [6] Ma G, Delorme J F, Gallant P, *et al.* Comparison of simplified Monte Carlo simulation and diffusion approximation for the fluorescence signal from phantoms with typical mouse tissue optical properties[J]. *Applied Optics*, 2007, 46(10): 1686-1692.
- [7] Liu Q, Zhu C, Ramanujam N. Experimental validation of Monte Carlo modeling of fluorescence in tissues in the UV-visible spectrum[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2003, 8(2): 223-236.
- [8] Liemert A, Kienle A. Light transport in three-dimensional semi-infinite scattering media[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2012, 29(7): 1475-1481.
- [9] Wang Jihui, Ding Yan, Chen Songlin, *et al.* Transport for photon beams of finite size in biological tissues based on Monte Carlo[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2014, 43(S1): 167-171.
王吉晖, 丁 艳, 陈松林, 等. 有限宽光束在生物组织中传输的蒙特卡罗方法[J]. *光子学报*, 2014, 43(S1): 167-171.
- [10] Kienle A, Forster F K, Hibst R. Influence of the phase function on determination of the optical properties of biological tissue by spatially resolved reflectance[J]. *Optics Letters*, 2001, 26(20): 1571-1573.
- [11] Cornette W M, Shanks J G. Physically reasonable analytic expression for the single-scattering phase function: errata [J]. *Applied Optics*, 1995, 34(4): 641.
- [12] Liu P. A new phase function approximating to Mie scattering for radiative transport equations[J]. *Physics in Medicine & Biology*, 1994, 39(6): 1025-1036.
- [13] Toublanc D. Henyey-Greenstein and Mie phase functions in Monte Carlo radiative transfer computations[J]. *Applied Optics*, 1996, 35(18): 3270-3274.
- [14] Bai Lu, Tang Shuangqing, Wu Zhensen, *et al.* Study of random sample scattering phase functions of polydisperse aerosol in ultraviolet band[J]. *Acta Physica Sinica*, 2010, 59(3): 1749-1755.
白 璐, 汤双庆, 吴振森, 等. 紫外波段多分散气溶胶散射相函数随机抽样方法研究[J]. *物理学报*, 2010, 59(3): 1749-1755.
- [15] Wu Z. Study on phase function in Monte Carlo transmission characteristics of poly-disperse aerosol [J]. *Optical Engineering*, 2011, 50(1): 123-128.
- [16] Hu Shuai, Gao Taichang, Li Hao, *et al.* Laser transfer properties of aerosols at near-infrared waveband based on sectional-weighted sampling of scattering phase functions[J]. *Chinese J Lasers*, 2015, 42(8): 0802008.

- 胡 帅, 高太长, 李 浩, 等. 基于相函数分段加权采样的近红外激光传输特性[J]. 中国激光, 2015, 42(8): 0802008.
- [17] Zhang Yingying, Wang Qinghua, Lu Hongyan, *et al.* Equivalent particle's model of biological tissue and calculation of Mie phase function[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2007, 16(1): 79-83.
张颖颖, 王清华, 陆红艳, 等. 生物组织光散射等效颗粒模型及 Mie 相函数计算[J]. 激光生物学报, 2007, 16(1): 79-83.
- [18] Wang Qinghua, Zhang Yingying, Lai Jiancheng, *et al.* Application of Mie theory in biological tissue scattering characteristics analysis[J]. Acta Physica Sinica, 2007, 56(2): 1203-1207.
王清华, 张颖颖, 来建成, 等. Mie 理论在生物组织散射特性分析中的应用[J]. 物理学报, 2007, 56(2): 1203-1207.
- [19] Chalut K J. Application of Mie theory to assess structure of spheroidal scattering in backscattering geometries [J]. Journal of the Optical Society of America A, 2008, 25(8): 1866-1874.
- [20] Zhu Y, Ding Z, Geisert M. Tissue scattering parameter estimation through scattering phase function measurements by goniometer[J]. Chinese Optics Letters, 2007, 5(9): 531-533.
- [21] Bevilacqua F, Depeursinge C. Monte Carlo study of diffuse reflectance at source-detector separations close to one transport mean free path[J]. Journal of the Optical Society of America A, 1999, 16(12): 2935-2945.
- [22] Macke A, Mueller J, Raschke E. Single scattering properties of atmospheric ice crystals [J]. Journal of the Atmospheric Sciences, 1996, 53(53): 2813-2825.
- [23] 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.
- [24] Wang Y W, Bu M, Shang X F, *et al.* Light scattering models of white blood cells and back-scattering distribution analysis of them[J]. Optica Applicata, 2011, 41(3): 527-539.
- [25] Yu H, Shen J, Wei Y. Geometrical optics approximation for light scattering by absorbing spherical particles [J]. Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer, 2009, 110(13): 1178-1189.
- [26] Gao Zhen, Ma Zhao, Liu Ying, *et al.* Semi-empirical analytical mode with high order parameter of the biological tissue optical diffuse reflectance[J]. Acta Physica Sinica, 2014, 63(13): 134208.
高 震, 马 招, 刘 迎, 等. 含有高阶参量的生物组织光学漫反射的半经验解析模型[J]. 物理学报, 2014, 63(13): 134208.
- [27] van der Zee P, Essenpreis M, Delpy D T. Optical properties of brain tissue[C]. SPIE, 1993, 1888: 454-465.
- [28] Zhang L, Qin Y, Li K X, *et al.* Light scattering properties in spatial planes for label free cells with different internal structures[J]. Optical and Quantum Electronics, 2015, 47(5): 1005-1025.