

傅里叶域光学相干层析成像技术的研究进展

李培, 杨姗姗, 丁志华, 李鹏

浙江大学现代光学仪器国家重点实验室, 光电科学与工程学院, 浙江 杭州 310027

摘要 光学相干层析成像(OCT)可以实现生物组织内部微观结构的实时、高分辨率、三维成像,在临床诊疗与基础科学研究领域得到了广泛的应用。近年来,得益于光源与探测技术的发展,傅里叶域 OCT 已经成为 OCT 的主流模式,尤其推动了 OCT 微血管造影等功能成像技术的发展。以傅里叶域 OCT 为重点,回顾了 OCT 的工作原理,阐述了系统主要的性能参数及其影响因素,介绍了傅里叶域 OCT 在成像量程、成像速度以及功能成像方面的现状并对 OCT 的研究作了展望。

关键词 医用光学; 光学相干层析; 功能成像

中图分类号 TN247

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0207011

Research Progress in Fourier Domain Optical Coherence Tomography

Li Pei, Yang Shanshan, Ding Zhihua, Li Peng

State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation, College of Optical Science and Engineering,
Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China

Abstract Optical coherence tomography (OCT) enables three-dimensional internal micro-structural imaging of biological tissue in real time with high resolution, and it has wide range of applications in clinic diagnosis, treatment and basic scientific research. In recent years, thanks to the development of light sources and detection technology, Fourier domain OCT has become the mainstream OCT model, particularly has promoted the development of functional imaging technology, such as OCT microangiography. In this work, we review the principle of OCT based on Fourier domain OCT, and illustrate the primary performance parameters and their influence factors of system. The recent advances and expectations in imaging range, speed and functional extensions are introduced.

Key words medical optics; optical coherence tomography; functional imaging

OCIS codes 170.4500; 170.3880; 170.2665

1 引言

光学相干层析成像(OCT)可以实现生物组织内部微米量级的实时、高分辨率、三维(3D)成像,且具有非侵入、非接触等优点^[1-2]。其中,傅里叶域 OCT 通过对干涉条纹的光谱信号进行探测,可以并行获取样品组织内部轴向信息(深度方向)^[3-6]。近十年来,得益于光源与探测技术的发展,傅里叶域

OCT(包括谱域 OCT 和扫频 OCT)在探测灵敏度以及成像速度等方面具有巨大的优势,成为 OCT 的主流模式^[3-6],尤其推动了 OCT 微血管造影等功能成像技术的发展^[7-19]。目前,OCT 已经广泛应用于眼科临床诊疗,而心脑血管内成像是仅次于眼科的 OCT 第二大临床应用市场,且已有相关的商用系统问世。OCT 还在脑科学、肿瘤、消化道、呼吸道、皮肤、发生发育等领域有着重要的应用价值与前景。

收稿日期: 2017-05-23; **收到修改稿日期:** 2017-07-04

基金项目: 国家自然科学基金(61475143,11404285,61335003,61327007)、国家 863 计划(2015AA020515)、中央高校基本科研业务费专项资金(2017QNA5004)、教育部留学回国人员科研启动基金、浙江省科技厅公益技术研究社会发展项目(2015C33108)

作者简介: 李培(1992—),男,硕士研究生,主要从事光学相干层析成像方面的研究。E-mail: zju_lipei@zju.edu.cn

导师简介: 李鹏(1984—),男,博士,副教授,主要从事生物医学光学方面的研究。

E-mail: peng_li@zju.edu.cn(通信联系人)

本文以傅里叶域 OCT 为重点,系统回顾了 OCT 的工作原理,阐述了系统主要的性能参数及其影响因素,介绍了傅里叶域 OCT 在成像量程、成像速度以及功能成像方面的现状并对 OCT 研究作了展望。

2 工作原理

OCT 可以实现样品内部三维空间信息(X 、 Y 、 Z)的高速、高分辨率、高灵敏度获取。在深度(Z)方向上,OCT 基于光学低相干干涉原理实现空间信息的高灵敏度分辨成像,如图 1 所示。图 1(a)为迈克耳孙干涉仪的结构,光源的光辐射经过分光板之后分别进入参考臂与样品臂,两臂的反射光经过分光板再次汇合,由光电探测器探测。其中,参考臂是一个可直线平移的反射镜,可以改变参考臂的光程大小,样品臂是一个单层的反射面。当干涉仪所用光源是单色光

时(具有较长的相干长度,如激光),探测器测得的干涉信号随光程差 Δl 的变化如图 1(b)所示,是一种余弦函数的简谐振荡,可以表示为 $2E_R E_S \cos(2k \Delta l)$,即通常所说的光学干涉现象,其中 E_R 为参考臂的电场分量, E_S 为样品臂中的电场分量, k 为波数。然而,当干涉仪的光源是宽光谱光源(波数 k 有一定的宽度)时,每个光谱成分都会形成一个如图 1(c)和(d)所示的余弦函数的简谐振荡(干涉条纹),但是振荡频率各不相同。结果表明,当且仅当光程差为 0 的位置附近,各个光谱成分的干涉条纹会形成相长叠加,且随光程差的增大干涉信号迅速衰减,形成如图 1(e)所示的干涉包络,该现象即所谓的光学低相干干涉,常用于空间定位或测距。在垂直于深度方向的 X 和 Y 平面中,通过引入两维的空间扫描机制(一般可通过 X 、 Y 光学扫描振镜实现),即可以实现 OCT 三维成像。

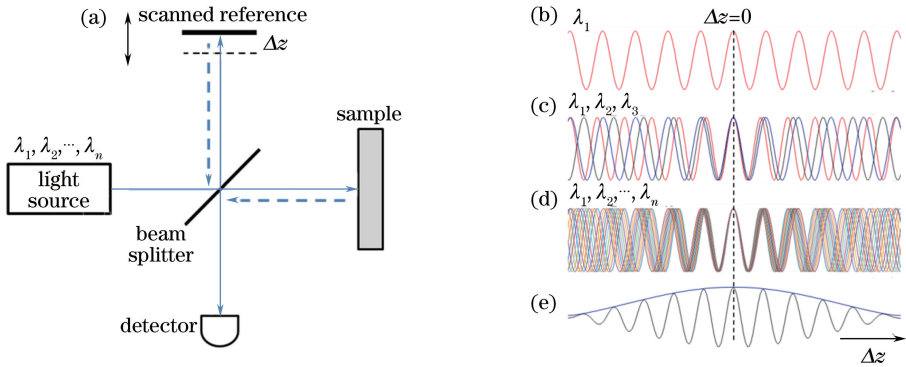


图 1 迈克耳孙干涉仪与光学低相干干涉。(a)迈克耳孙干涉仪;(b)干涉信号余弦函数简谐振荡;(c)(d)干涉条纹;(e)短相干长度光

Fig. 1 Michelson interferometer and optical low coherence interference. (a) Michelson interferometer; (b) cosine function simple harmonic oscillation of interference signal; (c)(d) interferometric fringe; (e) short coherence length light

如图 2 所示,类似于超声技术的命名方式,深度 Z 方向的单次扫描一般称为 A 扫描(A-scan), X 方向的多个 A-scan 构成一帧图像(B-frame),而 Y 方向的多个 B-frame 完成一个三维成像。不难看出,OCT 就是将原先一维的低相干测距技术发展成二维(三维)的成像技术,在科学研究(脑科学、心脏发育等)、临床诊疗(眼科、心脑血管内成像)等方面均具有重要的应用价值。

上述低相干干涉包络 $i_d(z)$ 还可以通过傅里叶域的方式进行探测,即对干涉信号的各个光谱成分进行分别记录,并通过傅里叶变换重构出深度分辨的干涉包络信号。其中,傅里叶域探测有光谱和扫频 2 种不同的光谱信号记录方式,其基本结构分别如图 3(a)和(b)所示。谱域 OCT 一般采用宽带光源照明,利用光谱仪等装置,将其低相干信号的各个光谱成分分散在空间上,并由高速

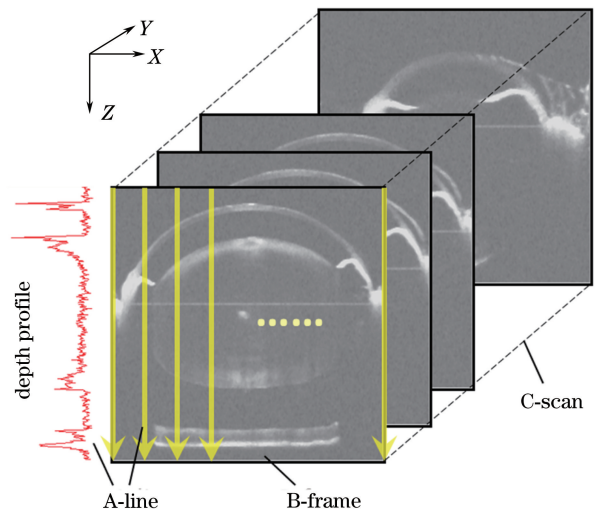


图 2 3D OCT 重构小鼠全眼活体图像
Fig. 2 Reconstruction of 3D OCT image for mouse full eye *in vivo*

线阵相机并行记录;而扫频 OCT 采用的是扫频光源照明,由于其低相干信号的各个光谱成分在时间上是分散的,因此可以用点探测器进行分时记录。光谱和扫频 OCT 虽然采用了不同的光谱信

号记录方式,但是其信号的重构过程是一样的,如图 3(c)所示。对应不同深度 Δz_1 、 Δz_2 、 Δz_3 的干涉光谱条纹在频率域进行傅里叶变换后得到空间域的深度信息。

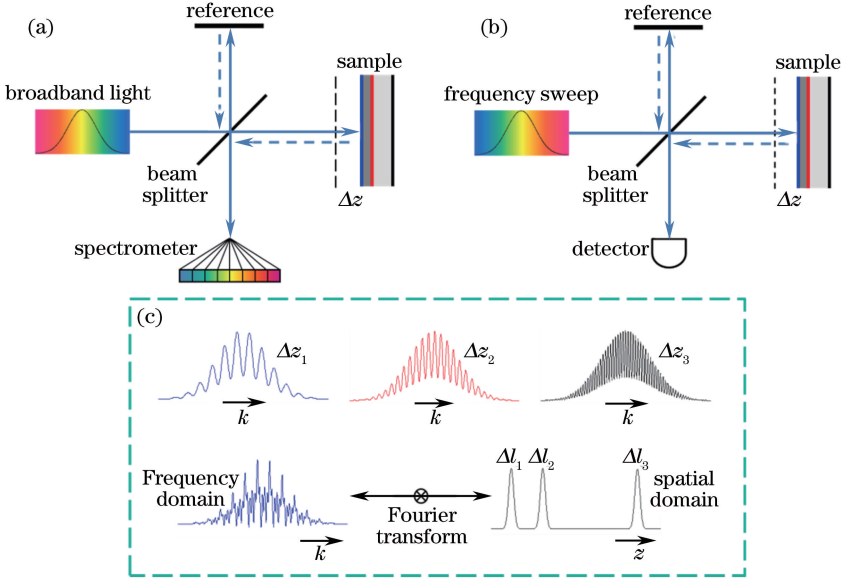


图 3 低相干干涉傅里叶域探测示意图。(a)光谱探测;(b)扫频探测;(c)频率域至空间域信号的重构

Fig. 3 Schematic of Fourier domain low coherence interference. (a) spectral domain detection; (b) swept source detection; (c) signal reconstruction from frequency domain to spatial domain

OCT 中宽光谱光源的功率谱可以用 $S(k)$ 表示,其中单一光谱成分在参考臂的电场分量 E_R 与样品臂中的电场分量 E_S 可以分别表示为

$$E_R = E_0 R_R \exp[j(kz_R - \omega t)], \quad (1)$$

$$E_S = E_0 R_S \exp[j(kz_S - \omega t)], \quad (2)$$

式中 E_0 为在参考臂或样品臂中未经反射(散射)的电场强度, R_R 和 R_S 分别为在参考臂和样品臂中的反射系数, k 为波数, z_R 和 z_S 分别为参考臂和样品臂的光程, ω 为光频率。

对于样品臂中光程差 $\Delta z = z_R - z_S$ 的反射面,由光波的叠加原理,其中忽略时间变量,则光谱成分的干涉信号 $I_d(k, \Delta z)$ 可以由(3)式表示,即为光谱中波数 k 与光程差 Δz 的函数:

$$\begin{aligned} I_d(k, \Delta z) &= \langle |E_R + E_S|^2 \rangle = S(k)(R_R + R_S) + \\ &\sqrt{R_R R_S} \cdot \text{Re}\{S(k) \exp(-jk \Delta z)\} = \\ &S(k)(R_R + R_S) + \sqrt{R_R R_S} S(k) \cos(k \Delta z). \end{aligned} \quad (3)$$

在时域探测中,扫描参考臂,利用单点探测器,以光程 z (与参考臂扫描时间一一对应)为变量直接记录 $i_d(\Delta z)$ 信息。忽略直流项,单点探测器的输出信号可以表示为干涉信号 $I_d(k, \Delta z)$ 对所有光谱成分的积分形式:

$$\begin{aligned} i_d(\Delta z) &= \int_{-\infty}^{+\infty} I_d(k, \Delta z) dk = \\ &\sqrt{R_R R_S} \cdot \text{Re}\left\{ \int_{-\infty}^{+\infty} S(k) \exp(-jk \Delta z) dk \right\} = \\ &\sqrt{R_R R_S} \cdot \text{Re}\{\gamma(\Delta z)\}, \end{aligned} \quad (4)$$

式中 $\gamma(\Delta z)$ 为光源的时间复相干度,其包络的最大幅度在光程差 $\Delta z = 0$ 的位置处,需要通过参考臂的逐点扫描获得全部深度方向上的信息 $i_d(\Delta z)$ 。

在傅里叶域探测中,参考臂固定,利用某种光谱分辨机制(谱域 OCT 中为光谱仪,扫频 OCT 中为扫频光源),以光谱 k 为变量记录干涉光谱信号 $I_d(k, \Delta z)$,然后通过傅里叶变换重构 $i_d(z)$ 信息。忽略直流项,将(3)式进行傅里叶变换为

$$\begin{aligned} i_d(z) &= \mathcal{F}\{I_d(k, \Delta z)\} = \\ &\int_{-\infty}^{+\infty} I_d(k, \Delta z) \exp(-jkz) dk = \\ &\gamma(\Delta z) \otimes \mathcal{F}\sqrt{R_R R_S} \delta(z \pm \Delta z), \end{aligned} \quad (5)$$

式中 \otimes 为卷积运算; \pm 为实数信号傅里叶变换导致的共轭镜像问题。可见,利用光谱分辨的探测技术,可以实现深度方向上信息的并行获取,不再需要参考臂的逐点扫描。

此外,在(5)式的推导中运用了维纳-辛钦定理,

即功率谱密度 $S(k)$ 与时间复相干度 $\gamma(\Delta z)$ 之间构成一对傅里叶变换对:

$$\gamma(\Delta z) = \int_{-\infty}^{+\infty} S(k) \exp(-jk \Delta z) dk. \quad (6)$$

对于光谱是高斯线型的光源,其归一化功率谱密度和时间复相干度可以表示为

$$S(k) = \frac{1}{\Delta k \sqrt{\pi}} \exp\left[-\left(\frac{k - k_0}{\Delta k}\right)^2\right], \quad (7)$$

$$\gamma(\Delta z) = \exp[-\Delta k^2 \Delta z^2], \quad (8)$$

式中 k_0 和 Δk 分别为该高斯光源的中心频率和频率宽度。相干长度 l_c 定义为干涉包络的半峰全宽,可以表示为

$$l_c = \frac{4\sqrt{\ln 2}}{\Delta k} = \frac{4\ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}. \quad (9)$$

3 性能参数

3.1 分辨率

传统光学显微镜的横向与轴向分辨率均取决于物镜的数值孔径。轴向分辨率对数值孔径的苛刻要求导致其工作距离较小,实际应用受限制。相比之下,OCT 最显著的一个优势就是其轴向分辨率主要依赖于光源的相干长度,在使用较小物镜数值孔径的情况下仍然具有较高的轴向分辨能力。OCT 的轴向分辨率 δ_z 取决于光源的相干长度 l_c ,对于高斯线型的光源可以表示为^[2]

$$\delta_z = \frac{l_c}{2} = 0.44 \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}. \quad (10)$$

在光源光谱带宽一定的情况下,中心波长 λ_0 越小,OCT 轴向分辨率越高。但是,由于生物组织散射和吸收的影响,OCT 可以选用的工作波段是有限的,一般在 800,1000,1300 nm 等波长附近。通常,针对具体的成像对象会有相应的工作波段要求,如

OCT 眼底成像中,由于眼组织中水吸收的影响,一般选用吸收较弱的 800 nm 波段;对于高散射性的生物组织成像(如皮肤等),OCT 则选用散射较弱的 1300 nm 波段;而针对眼底脉络膜成像同时会遇到吸收和散射的问题,可以选用折中 1000 nm 波段。此外,针对某些特定的应用(如光学材料的检测),OCT 可以采用可见光波段,极大地提高了轴向分辨率。因此,根据应用对象不同,确定系统的工作波段。在确定中心波长 λ_0 后,可以选用宽光谱的光源,提高 OCT 的轴向分辨率。虽然,理论上 OCT 的轴向分辨率 δ_z 与光源带宽 $\Delta \lambda$ 是简单的倒数关系,但是,在实际应用中,OCT 的轴向分辨率最终受限于可供选用的宽带光源、探测器、无源光学器件(如耦合器、环形器)以及光学系统的色散效应等。不过,随着技术的不断进步,OCT 的轴向分辨率也持续提高。

与传统光学显微镜类似,OCT 的横向分辨率 δ_x 取决于探测光束的聚焦状态,即物镜的数值孔径可表示为

$$\delta_x = \frac{4\lambda_0}{\pi} \cdot \frac{f}{D}, \quad (11)$$

式中 f 为聚焦物镜的焦距, D 为光束在样品臂聚焦物镜处光斑的直径。可以通过选用较高数值孔径的显微物镜,提高 OCT 的横向分辨率。但是,横向分辨率的提高受景深($2Z_R$)或共焦参数 b 的制约,可表示为

$$b = 2Z_R = \frac{\pi \delta_x^2}{\lambda_0}. \quad (12)$$

如图 4 所示,当 OCT 系统采用的聚焦透镜数值孔径较大时,聚焦到样品上的光斑尺寸较小,焦点处的横向分辨率较高,但景深相应减小,横向分辨率在景深范围外迅速下降。

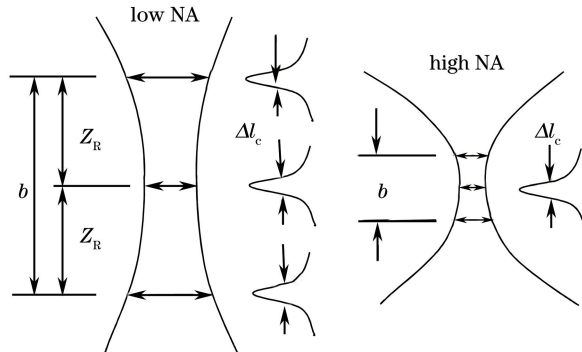


图 4 OCT 横向分辨率受数值孔径的影响

Fig. 4 Lateral resolution of OCT with different numerical apertures

3.2 成像速度

成像速度是 OCT 标志性的性能参数之一,且主要依据该参数对 OCT 进行分代。通常所谓的第一代 OCT,即时域 OCT,其 A-scan 线扫描速率一般为几百 Hz,最高可达 8 kHz;第二代 OCT,即傅里叶域 OCT,其成像速度达几十 kHz,是目前商用 OCT 的主流;第三代 OCT 仍然是基于傅里叶域光谱探测技术,但是由于线阵 CMOS 相机以及高速扫描光源的发展,其成像速度一般可以达到几百 kHz,甚至是几 MHz。

如前文所述,在深度方向上,时域 OCT 需要通过参考臂的逐点扫描,才能获得完整的深度信息,该机械扫描机制严重制约了 OCT 的成像速度。而在傅里叶域 OCT 中,利用光谱分辨的探测技术,实现深度方向上信息的并行获取,可以视为逐行扫描,极大地提高了成像速度。对于谱域 OCT,其成像速度主要取决于光谱仪中线阵相机的线扫描速率;对于扫频 OCT,则取决于光源的扫频速率。无论是线阵相机还是扫频光源均依赖于光电子工业技术的进步。在 OCT 信号探测方式上,值得思考的是,如果能够在 X 方向(甚至 Y 方向)也实现并行探测,即面扫描(甚至体扫描),将实现 OCT 的超高速成像。

3.3 信号噪声比

系统的信噪比可以定义为干涉信号功率与噪声光电流方差的比值,可以表示为

$$R_{\text{SNR}} = \frac{\langle I_{\text{D}} \rangle^2}{\sigma^2}. \quad (13)$$

对于时域 OCT 和傅里叶域 OCT,由于探测机制的不同,导致了两者在信噪比上的差异。先以时域 OCT 为例,为了简化分析,假设样品是位于 Z_s 距离处的单一反射面,则在一个时域 OCT 系统中总的探测光电流 I_{D} 为

$$I_{\text{D}} = \frac{\eta e}{h\nu} [P_{\text{R}} + P_{\text{S}} + \text{Re}\{E_{\text{S}}E_{\text{R}}^*\}], \quad (14)$$

式中 η 为探测器的量子效率, e 为电子电荷, $h\nu$ 为单个光子能量, P_{R} 和 P_{S} 分别为参考臂和样品臂的光功率。(14)式中的第三项为干涉信号项,干涉信号功率 P_{D} 可表示为

$$\langle P_{\text{D}} \rangle^2 = \left(\frac{\eta e}{h\nu} \right)^2 P_{\text{R}} P_{\text{S}}. \quad (15)$$

仅考虑散粒噪声的极限情况,且直流项中的 $P_{\text{S}} \ll P_{\text{R}}$ 可以忽略, OCT 的噪声方差 σ_{TD}^2 可以表示为

$$\sigma_{\text{TD}}^2 = \frac{\eta e}{h\nu} 2e P_{\text{R}} B_{\text{NEB}}, \quad (16)$$

式中 B_{NEB} 为系统的噪声等效带宽,也等于干涉信号探测电路的带宽,且 $B_{\text{NEB}} \propto 1/\tau$, τ 为每个像素点的探测器积分时间。由此可以得到系统信噪比为

$$R_{\text{SNR}} = \frac{\eta}{h\nu} \frac{P_{\text{S}}}{2B_{\text{NEB}}} = \frac{\eta}{2} \frac{P_{\text{S}}\tau}{h\nu}, \quad (17)$$

式中 $P_{\text{S}}\tau/h\nu$ 为从样品中每个像素点位置处返回的光子数,即 OCT 的系统信噪比与探测器在每个像素点收集到的光子数目成正比。由于后续分光器(假设分光比 50:50)的原因,每个像素点至少要返回 2 个光子才能被探测器探测,即 $R_{\text{SNR}} = 1$ 。要得到较高信噪比的 OCT 图像需要增强光功率或者增大每个像素点的积分时间,但是分别受生物组织安全光功率、成像速度的制约。

基于(17)式,不难发现傅里叶域探测相对于时域在信噪比方面的优势。为了便于比较谱域 OCT、扫频 OCT 和时域 OCT 的信噪比差异,假设这 3 个系统具有相同的光源功率(样品臂返回的信号光功率均为 P_{S})、像素点数(Z 方向的像素点数均为 $M/2$)和成像速度(相同的线扫描速率,即轴向扫描时间均为 t)。由于共轭镜像的原因,傅里叶域 OCT 信号采集通常需要 M 个通道,比时域探测多 1 倍。对于时域 OCT,由于参考臂的逐点扫描,单个像素点的积分时间 $\tau = 2t/M$,相应的信噪比为

$$R_{\text{SNR}}^{\text{TD}} = \frac{\eta}{M} \frac{P_{\text{S}}t}{h\nu}. \quad (18)$$

对于谱域 OCT,由于同时对轴向的 M 个像素点进行照明和探测,单个像素点的积分时间 $\tau = t$,相应的信噪比为

$$R_{\text{SNR}}^{\text{SD}} = \frac{\eta}{2} \frac{P_{\text{S}}t}{h\nu} = \frac{M}{2} R_{\text{SNR}}^{\text{TD}}. \quad (19)$$

而对于扫频 OCT,由于光源 M 个光谱成分是分时分输出,因此总的光功率可以达到 MP_{S} ,但是单个像素点的积分时间 $\tau = t/M$,相应的信噪比为

$$R_{\text{SNR}}^{\text{SS}} = \frac{\eta}{2} \frac{P_{\text{S}}t}{h\nu} = \frac{M}{2} R_{\text{SNR}}^{\text{TD}}. \quad (20)$$

可见,相比于时域 OCT,两种傅里叶域 OCT 的信噪比都提高到 $M/2$ 倍。对比谱域 OCT 和时域 OCT,不难发现谱域 OCT 信噪比的提高主要是得益于轴向逐行扫描的并行探测,使得单点的积分时间增大到 $M/2$ 倍。试想如果可以实现面阵探测,在总探测时间不变的前提下,单点的积分时间提高到 $\tau = Nt$ (N 为 A-scan 的数目),则理论上可以将信噪比进一步提高到 $MN/2$ 倍。

3.4 量 程

在 OCT 中,量程定义为可以探测到的最大光程差 Δz_{\max} 。在时域 OCT 中,其成像的量程取决于参考臂的行程大小。对于一定的轴向扫描速度,量程越大,所需的轴向扫描时间越长。

而在傅里叶域 OCT 中,最大量程 Δz_{\max} 主要取决于系统的光谱采样率 $\delta_s k$ 。由图 3 以及(3)式可以发现,光程差 Δz 越大,干涉光谱信号的频率就越高。根据奈奎斯特采样定理,系统的光谱采样率 $\delta_s k$ 决定了系统可记录到的最高频率的干涉光谱信号,即最大量程:

$$\Delta z_{\max} = \frac{\pi}{2n\delta_s k} \quad (21)$$

在谱域 OCT 中,其光谱采样率 $\delta_s k$ 主要由光谱仪中光谱范围和线阵相机中工作的像素数目决定,而上述 2 个因素又分别影响到 OCT 的轴向分辨率和成像速度。类似的,在扫频 OCT 中,其光谱采样率 $\delta_s k$ 主要由光源的扫频范围、探测器的带宽与模数转换(AD)的采样率决定。因此,在设计系统量程的时候需要折中考虑上述因素。

3.5 灵敏度随深度的衰减特性

如图 3 与式(5)所示,傅里叶域 OCT 信号可以通过其干涉光谱信号的傅里叶变换而得到。但是在实际应用中,系统的光谱分辨率 $\delta_r k$ 是有限的,随着探测深度的增大, $\delta_r k$ 宽度内的高频干涉光谱信号将无法被有效地分辨,导致灵敏度随深度的衰减。数学上, $\delta_r k$ 的影响可以表示成高斯函数的形式 $\exp[-4\ln(2)k^2/(\delta_r k)^2]$,相当于原干涉光谱 $I_d(k, \Delta z)$ 的每个采样点均卷积了该高斯函数。因而,原干涉光谱需要改写成卷积形式:

$$I'_d(k, z) = I_d(k, z) \otimes \exp\left[-\frac{4\ln(2)k^2}{(\delta_r k)^2}\right] \quad (22)$$

频率域的卷积经过傅里叶变换后相当于空间域的乘积,因此根据(22)和(23)式,OCT 信号可以表示为

$$i'_d(z) = \mathcal{F}\{I'_d(k, z)\} = i_d(z) \cdot \exp\left[-\frac{(\delta_r k)^2 z^2}{4\ln(2)}\right] \quad (23)$$

高斯函数的傅里叶变换仍是高斯函数,因而最终得到的 $i'_d(z)$ 信号是原 $i_d(z)$ 信号与一个高斯函数的乘积。如图 5 所示,原 $i_d(z)$ 信号由于光谱分辨率的影响受到了某一高斯函数线型的调制,导致 OCT 信号 $i'_d(z)$ 的幅度(系统的灵敏度)随深度的增

加而下降。在谱域 OCT 中,光谱分辨率取决于光谱仪中单色光谱成分的光斑大小以及线阵相机像素尺寸;而在扫频 OCT 中,光谱的分辨率则取决于光源单色光谱成分的瞬时线宽(或相干长度)。其中,光谱仪中光斑的大小可以通过优化光学设计而加以改善,但是受光学衍射极限的限制;而其余的影响因素则依赖于相关器件的发展。

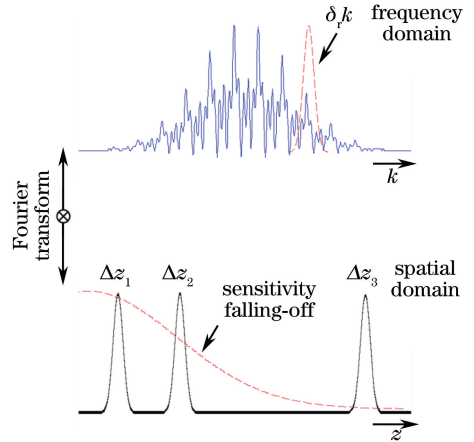


图 5 灵敏度随深度衰减特性示意图

Fig. 5 Sensitivity falling-off versus depth

OCT 的实际成像深度受系统的工作波段、探测光功率、量程、灵敏度随深度的衰减特性、组织散射与吸收特性等因素的综合影响。

4 未来主要研究方向

4.1 大量程成像

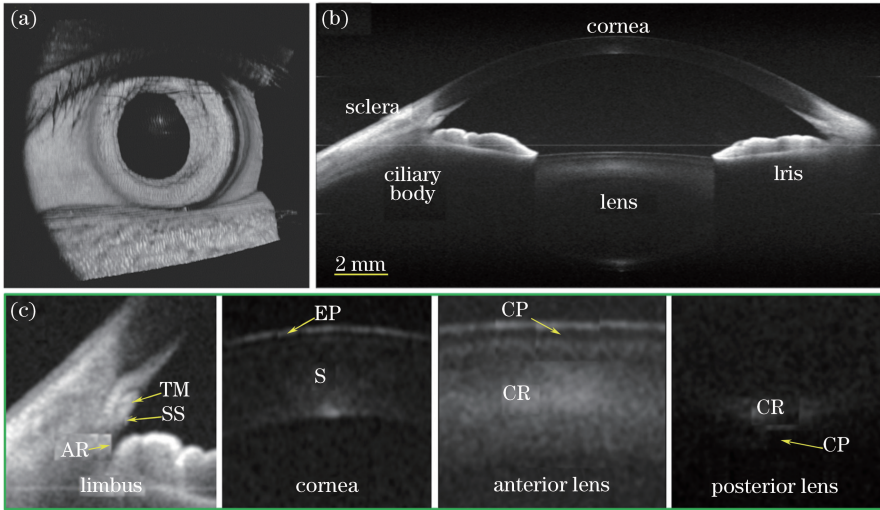
针对诸如眼前节成像等实际应用,要求 OCT 在深度方向上具有较大的成像范围,即量程。要实现大量程成像,傅里叶域 OCT 可以从以下方面考虑:1)共轭镜像的抑制;2)光谱采样率和分辨率的改善。

由于探测器实际记录的是干涉光谱条纹的实部信号,实值信号的傅里叶变换将形成共轭镜像,如(5)式中正负频率所示。为避免共轭镜像的干扰,在成像时一般将样品放置在零光程的一侧,实际仅有一半的量程可用。为了有效利用整个量程,诸多学者提出了消除镜像的方法^[3,6,20-26],其主要思想为构造出相应的虚部信号,与实部重新组成复解析信号,从而消除正负频率所导致的共轭镜像。其中,较为巧妙的一种方法是通过偏置扫描振镜的转轴引入一定的相位调制,实现全量程的 OCT 成像^[3,6,20-22]。

在谱域 OCT 中,光谱的采样率与分辨率主要由相机的像素数目与像素尺寸决定。随着光电子技术的进步,为了提高其光谱采样率,在 OCT 系统中先后引入了 2048^[6]、4096^[3] 像素线阵相机,结

合上述全量程技术,成功实现了全眼前节(覆盖眼角膜前表面至晶状体后表面)的快速 OCT 成像。如图 6 所示^[6],通过采用新型 InGaAs 线阵相机,并结合全量程成像技术,使得谱域 OCT 在 1050 nm 工作波长实现了 12 mm 的超大量程、120 kHz 的高速线扫描以及小于 10 μm 的轴向分辨率^[6]。不但可以在单次扫描内获得全眼前节的几何结构,而且可以清楚地观察

前房房角的结构^[20]。基于上述优点,该技术特别适用于人眼晶体动态调节的研究、人工晶体植入手术的相关研究、闭角型青光眼的全面检测(包括房角大小、前房深度和容积、虹膜厚度和弯曲、晶状体的位置和厚度等重要影响因素)。此外,该技术还具有稳定的相位信号,便于开展微血管造影^[27-28]、组织弹性特性成像^[29-30]等功能性的技术拓展。



TM: trabecular meshwork, SS: sclera spur, AR: angle recess, EP: epithelium, CP: lens capsule, CR: lens cortex, S: stroma

图 6 人眼全眼前节的三维成像。(a)全眼前节的三维图像(成像范围 12 mm×18 mm×18 mm); (b)全眼前节的横截面图;(c)角膜巩膜边缘区域、角膜、晶状体前部和后部的局部放大图像

Fig. 6 3D imaging of the whole anterior segment of the human eye. (a) 3D rendering of the full anterior segment (covering range of 12 mm×18 mm×18 mm); (b) typical cross-sectional image; (c) sub-regions of the corneo-scleral limbus, cornea, anterior and posterior parts of the crystalline lens

在扫频 OCT 中,光谱的采样率与分辨率主要受限于光源的瞬时线宽。Grulkowski 等^[31]提出了一种以垂直腔表面发射激光(VCSEL)为光源的扫频 OCT 系统,通过折中考虑分辨率、扫频速度等参数,该系统可以实现厘米量级的量程。但是,扫频 OCT 在单次扫频周期内,光源的输出光谱存在不稳定的非线性变化;在各次扫频周期期间,光谱的扫频触发和采样之间存在随机延时,导致采集得到的扫频光谱信号间存在极大的不稳定性,需要进行复杂的相位补偿才能用于 OCT 功能成像。

此外,还有学者提出了像素平移、光学频率梳及虚像相控阵列等方法,用以扩大谱域 OCT 的量程^[30]。像素平移法通过机械平移探测像素提高光谱采样率,拓展成像量程,使理论成像范围增加 1 倍。但机械平移操作存在着速度慢、不稳定和平移精确度难以控制的缺点。通过添加光学频率梳可以改善光谱采样函数,提高光谱分辨率,减缓系统灵敏度随深度的衰减。虚像相控阵列(VIPA)的方法是

利用 VIPA 将衍射光栅的光谱进一步细分,实现 81.87 mm 的成像量程^[30]。

4.2 高速成像

由于活体生物组织存在自发性的组织抖动,为避免组织抖动造成伪像,要求活体成像的速度越快越好。如前所述,由于傅里叶域 OCT 不需要轴向的机械扫描,因此,其成像速度远高于时域 OCT。

在谱域 OCT 中,其成像速度主要受限于线阵相机的线扫描频率。近年来,随着 CMOS 制造工艺的提高,CMOS 相机已经广泛应用于 OCT 成像,可以获得数百 kHz 的线扫描速度^[3]。由于相机的速度主要受限于像元的积分时间和读出时间,工作的像元数目越多,所需的读出时间将越长。CMOS 相机可以灵活设置工作像元的数目,通过减小工作像元的数目,可以获得更高的成像速度。Potsaid 等^[32]将 CMOS 作为数据采集器件引入到谱域 OCT 中,使得轴向线扫描速率达到了 310 kHz。为了进一步提高系统的成像速度,通过精确控制两个相机

的积分时间和读出时间,使两个相机交替进行信息采集,从而使系统成像速度在单个相机基础上提高1倍,成功实现了500 kHz的线扫描速率^[4,32]。在扫频OCT中,扫频激光技术(尤其是傅里叶域锁模激光技术FDML)和高速数据采集卡的快速发展都高效提高了扫频OCT的成像速度。Huber等^[33]首次将傅里叶域激光锁模技术应用于扫频OCT成像,经过近年来的发展,该技术已成功实现了数MHz量级的高速成像^[5,32]。

由(18)~(20)式可知,随着OCT线扫描速度的提高,单个像素的积分时间将极大的减小,为了保证足够的信号量,需要相应地提高样品的探测光功率。但是,由于生物组织光辐射安全标准的严格限制,探测光功率的可增强空间是有限的,因此,这种单纯以提高线扫描速度(减小像素积分时间)来提高OCT成像速度的办法是有一定局限性的。为了缓解上述局限性,通过多条A-line的并行探测(甚至是面扫描或体扫描)理论上可以有效提高OCT的成像速度^[23],但是在实际应用中,并行探测的各路信号之间通常会存在串号干扰的问题。最近,有学者提出通过虚像相位阵列(VIPA)细分光谱的方式实现多路的并行探测,成功实现16路的并行探测,将OCT的成像速度提高至3.2 MHz^[34]。利用各路信号的光谱间存在的细微差异,理论上可以有效抑制串号的干扰,但是该技术所采用的VIPA器件目前存在较大的损耗,还有待进一步的改善。

4.3 功能成像

常规OCT可以实现组织内部微观结构的三维成像,其对比度主要来源于不同组织光学背向散射特性的差异。为了进一步提高成像的生物特异性,学者们在生理功能信息的OCT提取方面开展了大量的研究工作。结合多普勒效应,可以获得诸如血流等运动的三维高分辨率信息^[32,35-36];结合光谱信息,可以实现组织吸收特性的三维获取^[37-38],特别是血氧浓度等参数的提取;结合偏振效应,可以实现组织双折射特性的三维获取,亦可以用于小梁网^[39]、视神经纤维层^[40]等特征组织的辨识。

如(3)式所示,样品内部深度方向的运动会改变光程差 Δz ,从而造成OCT干涉信号相位的变化。根据光的多普勒效应,相位的变化 ϕ 与运动的位移 D 的关系为: $\phi = 4\pi n / \lambda_0 \times D$,其中 n 为样品的光学折射率。这种基于相位变化的位移测量上限由系统的信噪比(SNR)决定,即约为 $\lambda_0 / 4\pi n \sqrt{R_{SNR}}$,一般可以达到nm量级;而位移测量下限受相位计算时 π 包裹效应的影响,一般约为 $\lambda_0 / 4n$ ^[28-30,32,41-44]。基于上述理论,通过OCT的相位信息可以实现血流流速的定量测量^[32,41]及生物组织运动特性的定量表征^[29-30,32]。如图7所示^[32],在心脏的发育过程中,心脏壁与腔内血流相互作用,构成了胚胎心脏发育的生物力学环境。在OCT微观结构成像的基础上,利用OCT的相位信息同时获得快速的血流流速测量以及慢速的心脏壁组织变形中应变率的测

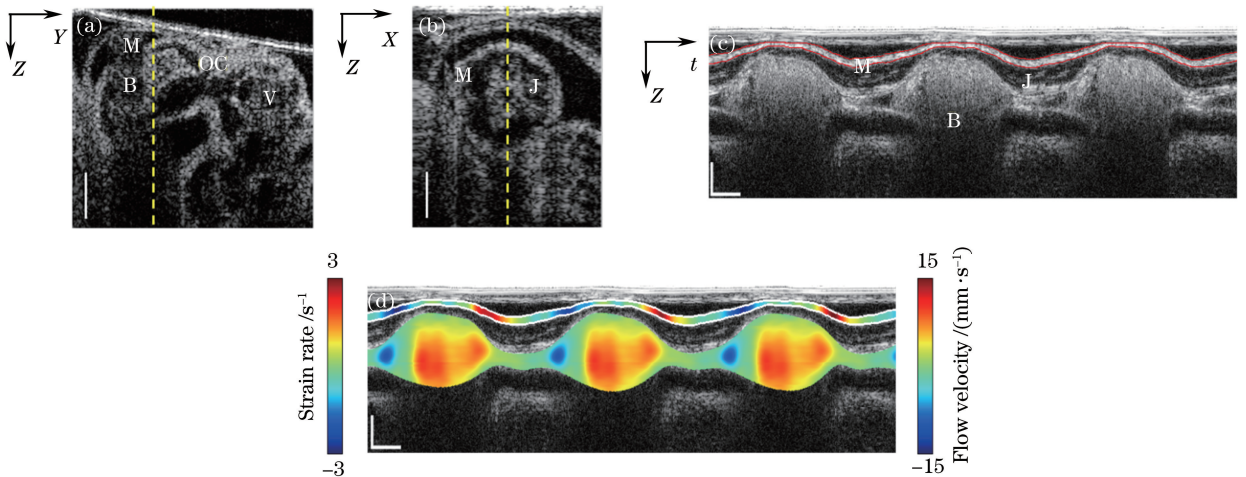


图7 鸡胚心脏OCT成像。(a)纵向截面图;(b)横向截面图;(c)沿(b)中黄色虚线的M-mode结构成像;(d)结合了心脏壁应变率和血管内血流速度的M-mode成像(纵向比例尺表示200 μm ,横向比例尺表示0.1 s)
Fig. 7 OCT images of chick embryonic heart. (a) Longitudinal section; (b) cross section; (c) M-mode structural image along the vertical dashed line in (b) which the boundary of myocardial wall is indicated by the solid curves; (d) M-mode structural image superimposed with radial strain rate of the myocardial wall and Doppler velocity of blood flow (The vertical scale bar is 200 μm , and the horizontal bar is 0.1 s)

量,为研究心脏发育过程中生物力学环境的变化提供了有效的手段^[32]。

微循环障碍与诸多疾病(如肿瘤^[45-46]、眼底视网膜疾病^[47]、脑血栓^[48]、皮肤等)的发生发展紧密相关,但目前的常规技术(如共焦显微术和多光子显微术)均需要荧光标记才能得到三维的微血管分布图像。特别是,向血管内注射荧光标记物质,常会伴随一定的副作用(如恶心、呕吐、甚至过敏性反应),不利于开展跟踪成像长期研究。基于 OCT 成像,以一定时间间隔、对同一空间位置进行多次采样,通过分析强度^[7-9]或者相位^[10-13]信息,将动态的血流信号从静态的组织背景信号中分离,进而在组织毛细血管水平实现无标记、高分辨率、三维光学相干血流运动造影(OCTA)^[14-16,18-19],如图 8 所示^[15]。该技术已经在眼底视网膜/脉络膜^[9-10,13,49]、眼表结膜^[27]、皮肤^[8,50]、脑科学^[11]、癌症^[46]等领域获得了广泛的应用。其中,在眼科临床应用中,OCT 不仅可以实现眼前节(角膜、房角、晶状体等)等结构成像,还能实现视网膜和脉络膜等重要活体眼组织微血管三维成像,可用于糖尿病性视网膜病变、老年性黄斑变性和青光眼等疾病的诊断和治疗。

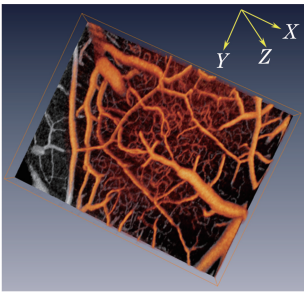


图 8 大鼠脑皮层的三维 OCTA^[15]

Fig. 8 3D label-free OCTA imaging of the rat cortex vasculature^[15]

5 结束语

光学相干层析术(OCT)自诞生以来,得到了快速发展和广泛应用。在成像深度、成像速度、成像分辨率和灵敏度等性能方面都获得了极大的提高。成像深度的提高拓展了光学相干层析技术的适用范围。成像速度的提高使得实时的三维成像成为可能。而成像分辨率的提高使得成像技术的分辨能力扩展到细胞与分子生物学水平,这为癌症等疾病的早期检测提供了依据和可能性。OCT 也与其他成像技术相结合,实现了功能拓展。这些都使得 OCT 在生物医学领域和工业检测等领域具备巨大的应用

潜力。未来 OCT 的研究方向仍将集中在更高速度的 OCT 的研制、更高分辨率 OCT 的发展、功能 OCT 的进一步优化拓展以及 OCT 技术的实际应用。

参 考 文 献

- [1] Huang D, Swanson E A, Lin C P, *et al.* Optical coherence tomography [J]. *Science*, 1991, 254 (5035): 1178-1181.
- [2] Fercher A F, Drexler W, Hitzenberger C K, *et al.* Optical coherence tomography-principles and applications [J]. *Reports on Progress in Physics*, 2003, 66(2): 239-303.
- [3] Grulkowski I, Gora M, Szkulmowski M, *et al.* Anterior segment imaging with spectral OCT system using a high-speed CMOS camera [J]. *Optics Express*, 2009, 17(6): 4842-4858.
- [4] An L, Li P, Shen T T, *et al.* High speed spectral domain optical coherence tomography for retinal imaging at 500000 A-lines per second [J]. *Biomedical Optics Express*, 2011, 2(10): 2770-2783.
- [5] Klein T, Wieser W, Reznicek L, *et al.* Multi-MHz retinal OCT [J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, 4 (10): 1890-1908.
- [6] Li P, An L, Lan G, *et al.* Extended imaging depth to 12 mm for 1050 nm spectral domain optical coherence tomography for imaging the whole anterior segment of the human eye at 120 kHz A-scan rate [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(1): 016012.
- [7] Barton J K, Stromski S. Flow measurement without phase information in optical coherence tomography images [J]. *Optics Express*, 2005, 13(14): 5234-5239.
- [8] Mariampillai A, Standish B A, Moriyama E H, *et al.* Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 2008, 33(13): 1530-1532.
- [9] Jia Y, Tan O, Tokayer J, *et al.* Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography [J]. *Optics Express*, 2012, 20 (4): 4710-4725.
- [10] Makita S, Hong Y, Yamanari M, *et al.* Optical coherence angiography [J]. *Optics Express*, 2006, 14 (17): 7821-7840.
- [11] Wang R K, Jacques S L, Ma Z H, *et al.* Three dimensional optical angiography [J]. *Optics Express*, 2007, 15(7): 4083-4097.
- [12] Fingler J, Zawadzki R J, Werner J S, *et al.* Volumetric microvascular imaging of human retina using optical coherence tomography with a novel

- motion contrast technique[J]. Optics Express, 2009, 17(24): 22190-22200.
- [13] Yu L F, Chen Z P. Doppler variance imaging for three-dimensional retina and choroid angiography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2010, 15(1): 016029.
- [14] Zhou L P, Li P, Pan C, *et al.* System of label-free three-dimensional optical coherence tomography angiography with high sensitivity and motion contrast and its applications in brain science[J]. Acta Physica Sinica, 2016, 65(15): 154201.
周丽萍, 李培, 潘聪, 等. 高灵敏、高对比度无标记三维光学微血管造影系统与脑科学应用研究[J]. 物理学报, 2016, 65(15): 154201.
- [15] Li P, Cheng Y X, Zhou L P, *et al.* Single-shot angular compounded optical coherence tomography angiography by splitting full-space B-scan modulation spectrum for flow contrast enhancement[J]. Optics Letters, 2016, 41(5): 1058-1061.
- [16] Li P, Cheng Y X, Li P, *et al.* Hybrid averaging offers high-flow contrast by cost apportionment among imaging time, axial, and lateral resolution in optical coherence tomography angiography [J]. Optics Letters, 2016, 41(17): 3944-3947.
- [17] Guo L, Li P, Pan C, *et al.* Improved motion contrast and processing efficiency in OCT angiography using complex-correlation algorithm[J]. Journal of Optics, 2016, 18(2): 025301.
- [18] Guo L, Shi R, Zhang C, *et al.* Optical coherence tomography angiography offers comprehensive evaluation of skin optical clearing *in vivo* by quantifying optical properties and blood flow imaging simultaneously [J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(8): 081202.
- [19] Cheng Y X, Guo L, Pan C, *et al.* Statistical analysis of motion contrast in optical coherence tomography angiography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(11): 116004.
- [20] Li P, Johnstone M, Wang R K. Full anterior segment biometry with extended imaging range spectral domain optical coherence tomography at 1340 nm[J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19(4): 046013.
- [21] An L, Wang R K. Use of a scanner to modulate spatial interferograms for *in vivo* full-range Fourier-domain optical coherence tomography [J]. Optics Letters, 2007, 32(23): 3423-3425.
- [22] Li P, Zhou L P, Ni Y, *et al.* Angular compounding by full-channel B-scan modulation encoding for optical coherence tomography speckle reduction[J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(8): 086014.
- [23] Yasuno Y, Endo T, Makita S, *et al.* Three-dimensional line-field Fourier domain optical coherence tomography for *in vivo* dermatological investigation [J]. Journal of Biomedical Optics, 2006, 11(1): 014014.
- [24] Wang K, Ding Z H, Zeng Y, *et al.* Sinusoidal B-M method based spectral domain optical coherence tomography for the elimination of complex-conjugate artifact[J]. Optics Express, 2009, 17(19): 16820-16833.
- [25] Dhalla A H, Izatt J A. Complete complex conjugate resolved heterodyne swept-source optical coherence tomography using a dispersive optical delay line[J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(5): 1218-1232.
- [26] Maheshwari A, Choma M A, Izatt J A. Heterodyne swept-source optical coherence tomography for complete complex conjugate ambiguity removal [J]. Journal of Biomedical Optics, 2005, 10(6): 064005.
- [27] Li P, An L, Reif R, *et al.* *In vivo* microstructural and microvascular imaging of the human corneoscleral limbus using optical coherence tomography [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(11): 3109-3118.
- [28] Li P, Ding Z, Ni Y, *et al.* Visualization of the ocular pulse in the anterior chamber of the mouse eye *in vivo* using phase-sensitive optical coherence tomography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19(9): 090502.
- [29] Li P, Shen T, Johnstone M, *et al.* Pulsatile motion of the trabecular meshwork in healthy human subjects quantified by phase-sensitive optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2013, 4(10): 2051-2065.
- [30] Li P, Reif R, Zhi Z W, *et al.* Phase-sensitive optical coherence tomography characterization of pulse-induced trabecular meshwork displacement in *ex vivo* nonhuman primate eyes [J]. Journal of Biomedical Optics, 2012, 17(7): 076026.
- [31] Grulkowski I, Liu J J, Potsaid B, *et al.* High-precision, high-accuracy ultralong-range swept-source optical coherence tomography using vertical cavity surface emitting laser light source [J]. Optics Letters, 2013, 38(5): 673-675.
- [32] Potsaid B, Gorczynska I, Srinivasan V J, *et al.* Ultrahigh speed spectral/Fourier domain OCT ophthalmic imaging at 70,000 to 312,500 axial scans per second. [J]. Optics Express, 2008, 16(19): 15149-15169.
- [33] Huber R, Wojtkowski M, Fujimoto J G. Fourier Domain Mode Locking (FDML): a new laser operating regime and applications for optical coherence tomography[J]. Optics Express, 2006, 14

- (8): 3225-3237.
- [34] Lee H Y, Marvdashti T, Duan L, *et al.* Scalable multiplexing for parallel imaging with interleaved optical coherence tomography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(9): 3192.
- [35] Zhao Y H, Chen Z P, Saxer C, *et al.* Phase-resolved optical coherence tomography and optical Doppler tomography for imaging blood flow in human skin with fast scanning speed and high velocity sensitivity [J]. *Optics Letters*, 2000, 25(2): 114-116.
- [36] Li P, Ding Z H, Ni Y, *et al.* Visualization of the ocular pulse in the anterior chamber of the mouse eye *in vivo* using phase-sensitive optical coherence tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, 19(9): 090502.
- [37] Faber D J, Mik E G, Aalders M C G, *et al.* Light absorption of (oxy-) hemoglobin assessed by spectroscopic optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 2003, 28(16): 1436-1438.
- [38] Kuranov R V, Qiu J Z, McElroy A B, *et al.* Depth-resolved blood oxygen saturation measurement by dual-wavelength photothermal (DWP) optical coherence tomography [J]. *Biomedical Optics Express*, 2011, 2(3): 491-504.
- [39] Yasuno Y, Yamanari M, Kawana K, *et al.* Visibility of trabecular meshwork by standard and polarization-sensitive optical coherence tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, 15(6): 061705.
- [40] Cense B, Chen T C, Park B H, *et al.* Thickness and birefringence of healthy retinal nerve fiber layer tissue measured with polarization-sensitive optical coherence tomography [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2004, 45(8): 2606-2612.
- [41] O'Hara K E, Schmoll T, Vass C, *et al.* Measuring pulse-induced natural relative motions within human ocular tissue *in vivo* using phase-sensitive optical coherence tomography [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(12): 121506.
- [42] Park B H, Pierce M C, Cense B, *et al.* Real-time fiber-based multi-functional spectral-domain optical coherence tomography at 1.3 μm [J]. *Optics Express*, 2005, 13(11): 3931-3944.
- [43] Li P, Liu A P, Shi L, *et al.* Assessment of strain and strain rate in embryonic chick heart *in vivo* using tissue Doppler optical coherence tomography [J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2011, 56(22): 7081-7092.
- [44] Wang R K, Kirkpatrick S, Hinds M. Phase-sensitive optical coherence elastography for mapping tissue microstrains in real time [J]. *Applied Physics Letters*, 2007, 90(16): 164105.
- [45] Jain R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307(5706): 58-62.
- [46] Vakoc B J, Lanning R M, Tyrrell J A, *et al.* Three-dimensional microscopy of the tumor microenvironment *in vivo* using optical frequency domain imaging [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15(10): 1219-1223.
- [47] Flammer J, Orgül S, Costa V P, *et al.* The impact of ocular blood flow in glaucoma [J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2002, 21(4): 359-393.
- [48] Malpass K. Stroke: retinal changes predict subsequent vascular events in ischemic stroke [J]. *Nature Reviews Neurology*, 2011, 7: 538.
- [49] Drexler W, Fujimoto J G. State-of-the-art retinal optical coherence tomography[J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2008, 27(1): 45-88.
- [50] Jia Y L, Li P, Dziennis S, *et al.* Responses of Peripheral Blood Flow to Acute Hypoxia and Hyperoxia as Measured by Optical Microangiography [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26802.