

# 多样本光学相干血流运动造影技术及应用

李培, 李鹏

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

**摘要** 血流是衡量机体生理功能和病理状态的重要指标, 血流检测需要一种有效的、活体、无标记、毛细血管水平的三维血流灌注成像手段。光学相干血流运动造影(OCTA)技术将血红细胞与周围组织的相对运动作为内源性的血流标记特征, 取代常规外源性的荧光标记物。综合利用光学低相干技术的空间散射信号收集能力以及动态光学散射技术的运动识别能力, 在三维空间中识别动态血流区域, 剔除静态周围组织, 实现一种活体、无标记、三维光学血流运动造影, 快速获取毛细血管水平的血流灌注形态结构与生理功能信息。针对多样本 OCTA 技术进行了系统性的回顾, 主要包括无标记血流造影的运动对比度机制, 微小血流运动高灵敏度检测方法, 独立多样本的高效并行采集策略, 以及该技术在脑皮层血流成像中的应用研究。

**关键词** 医用光学; 光学相干层析; 微血管造影; 运动对比

中图分类号 TN247

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0307001

## Mass Sample Optical Coherence Tomography Angiography Technology and Application

Li Pei, Li Peng

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

**Abstract** Blood flow is the vital indicator to measure the body's physiological functions and pathological condition. Blood flow testing requires an effective, live, unmarked, capillary level three-dimensional blood flow perfusion weighted imaging approach. Optical coherence tomography angiography (OCTA) technique uses the relative motion of red blood cells and the surrounding tissue as an endogenous marker of blood flow to replace conventional exogenous fluorescent markers. The spatial scattering signal acquisition capability of the optical low-coherence and the motion recognition capabilities of the dynamic optical scattering technology are comprehensively utilized to identify dynamic blood flow area in three-dimensional space, exclude the static surrounding tissue, achieve a living, unmarked, three-dimensional optical blood flow angiography, and obtain capillary blood flow perfusion morphology structure and physiological function information of the capillary level rapidly. This paper systematically reviews the mass sample OCTA technique that primarily includes the motion contrast mechanism of unmarked blood flow angiography, a detection method for high-sensitive tiny blood flow motion, an effective strategy for parallel acquisition of independent mass samples, and the application research of this technique on cortex blood flow imaging.

**Key words** medical optics; optical coherence tomography; microangiography; motion contrast

**OCIS codes** 170.4500; 170.3880

收稿日期: 2017-07-24; 收到修改稿日期: 2017-08-28

基金项目: 国家 973 计划(2015AA020515)、国家自然科学基金(61475143, 11404285, 61335003, 61327007)、浙江省科技厅公益技术研究社会发展项目(2015C33108)、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

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)

# 1 引 言

血流灌注是衡量机体生理功能和病理状态的重要指标,血流检测对组织生理和病理状况的评估与诊断具有极其重要的意义<sup>[1-4]</sup>。活体血流灌注成像有助于深入理解诸如脑卒中(中风)、阿尔兹海默症(老年痴呆)、心肌梗塞、癌症、眼底疾病等与血流灌注相关的病理机制,提高疾病的诊断效率,为疾病的治疗及药物开发提供重要的理论指导和评价手段。

光学成像技术一般具有较高的分辨率,有望实现对单根毛细血管的分辨,结合光谱、频率等信号还可以提取组织代谢的生理功能信息。普通的荧光标记成像虽然具有单根血管的空间分辨能力,然而其成像深度、视场及深度方向的分辨能力受限。基于共焦显微术和多光子显微术的荧光成像虽然可以实现组织微观结构和血流灌注分布的三维在体成像,但是其成像深度(300~400 μm)有限,难以得到病灶组织全面的信息。特别地,由于荧光成像一般需要注射荧光标记物,常会引发一系列的副作用,长期使用还会导致残留标记物在体内积累,不利于长期、频繁的跟踪检测,也不适用于大规模目标人群的筛查工作。现有的激光多普勒和激光散斑技术虽然可以实现无标记的血流相对测量,在揭示病变机制与选择治疗方案方面也发挥了重要的作用,但是这类基于高相干光的成像技术缺乏深度分辨的能力。因此,需要一种有效的血流灌注成像手段,实现无标记、毛细血管水平的高分辨、实时高速的血流灌注三维网络形态结构与生理功能信息提取。

光学相干血流运动造影(OCTA)技术是在传统的基于光学低相干原理的光学相干层析(OCT)成像技术基础上发展起来的一种血流灌注成像手段。

OCTA 技术将血红细胞与周围组织的相对运动作为内源性的血流标记特征,取代常规外源性的荧光标记物,结合了 OCT 技术的三维空间分辨能力以及动态散射技术的运动识别能力,能够高灵敏度地区分静态的组织背景和动态的血流信号,实现微血管三维深度分辨的高血流对比度成像<sup>[5-8]</sup>。该项功能成像技术在眼科、脑科学等领域的医学研究与临床应用具有重要的价值与前景。

国内外诸多研究小组在该领域开展了大量的研究工作,表 1 列举了代表性的相关技术。在技术发展的过程中,研究者们逐渐意识到上述活体无标记的三维光学血流灌注成像技术集中存在如下三个亟需解决的关键问题:1)运动噪声的有效抑制,即如何避免外界对散射信号的干扰。血流信号来源于红细胞的相对运动,但是组织的自发性抖动和周围环境的扰动均会形成运动噪声,因此,这种通过光学散射矢量变化检测血流运动的血流成像技术极易受到运动噪声的干扰,需要通过研究上述干扰性运动噪声和血流运动信号之间的特征差异,实现运动噪声的有效抑制。2)微小运动信号的高灵敏度探测,即如何检测微小的散射信号的变化。由于毛细血管内的血流运动极为微小(约 0.5 mm/s,考虑到高速成像对应的时间间隔,一般对应纳米量级的运动),极易湮没在上述运动噪声之中。因此,这种通过光学散射变化检测运动的血流成像技术需要充分利用散射矢量信号,以满足极高运动探测灵敏度的需要。3)独立散射样本的并行采集,即如何高速获得大量的散射信号的样本。在观察散射矢量变化、判断动态或静态区域的过程中,由于散射信号内禀的随机性,单次观测结果缺乏准确性,需要快速收集足够的散射矢量样本,综合多次独立观测结果,提高动静态判断的准确性。

表 1 无标记三维光学血流成像的主要研究小组及其方法

Table 1 Main research groups and their methods for unmarked three-dimensional optical blood flow imaging

Research groups	Blood flow extraction		Samples acquired from
	Signals	Algorithm	
Mariampillai A, <i>et al.</i> <sup>[9]</sup>	Intensity/amplitude	Variance	Temporal
Vakoc B J, <i>et al.</i> <sup>[2]</sup>	Intensity/amplitude	Differential	Temporal
Enfield J, <i>et al.</i> <sup>[10]</sup>	Intensity/amplitude	Correlation	Temporal
Jia Y L, <i>et al.</i> <sup>[11]</sup>	Intensity/amplitude	Correlation	Wavelength
Makita S, <i>et al.</i> <sup>[12]</sup>	Phase	Differential	Temporal
Yu L, <i>et al.</i> <sup>[13]</sup>	Phase	Variance	Temporal
Fingler J, <i>et al.</i> <sup>[14]</sup>	Phase	Variance	Temporal
Wang R K, <i>et al.</i> <sup>[15]</sup>	Complex	Differential	Temporal
Guo L, <i>et al.</i> <sup>[16-18]</sup>	Complex	Correlation	Angular + wavelength + temporal

针对上述问题,各研究小组分别提出了各具特色的解决方案。在信号利用方面,由于相位可以探测亚波长的运动,具有极高的运动敏感度,因此,单纯基于光学散射强度信号的方法丢失了最敏感的相位信息<sup>[2,9-11]</sup>,在微小血流的高灵敏识别方面缺乏优势;但是另一方面,在系统噪声不变、矢量的幅度信号较弱的时候,相位信息将受到系统噪声的严重干扰,因此单纯基于光学散射相位信号的方法在抗干扰方面缺乏优势<sup>[12-14]</sup>,同时也丢失了散射幅度所携带的运动信息;相比之下,复数信号可以综合幅度和相位两个方面的信息,在微小血流识别方面具有更高的运动灵敏度<sup>[15]</sup>。在核心算法方面,差值运算中仅使用了单个样本实现单次动静态判断,因此单次判断的准确性较低<sup>[2,15]</sup>;方差运算虽然利用了多个样本的统计结果,但是需要同时涉及多个时间点,增加了运动噪声的影响<sup>[9,13-14,19]</sup>;相比之下,互相关运算利用空间窗口就可以实现多个样本的统计,在提高判断准确性的同时可以避免引入更多的运动噪声干扰<sup>[10-11]</sup>。在样本量获取方面,为了弥补单次观测的随机性,常规的办法是在时间上重复多次采样,增加散射样本量,但是这种方法会成倍地加大血流成像时间,严重制约技术的实用性,因此需要高效高速的散射样本采集方案。Jia等<sup>[11]</sup>提出了一种基于光谱多样性的办法来实现多个独立样本的并行获取,但是由于轴向分辨率的限制,单纯使用光谱途径所能得到的独立样本量有限,无法完全满足血流成像需求<sup>[20-21]</sup>。针对上述问题,Cheng等<sup>[22]</sup>近年来通过深入理解无标记血流对比度的理论机制,独立发展了一种基于复数互相关的微小运动检测算法<sup>[16]</sup>,提出了一种基于角度多样性的独立样本并行采集方法,以及一种基于混合多样性策略实现独立样本高效采集的方案<sup>[17-18]</sup>。

本文针对多样本 OCTA 技术进行了系统性的回顾,主要包括无标记血流造影的对比度机制,微小血流运动高灵敏度检测方法,独立多样本的高效并行采集策略,以及该技术在脑皮层血流成像中的应用研究。

## 2 无标记血流造影机制

通常,OCT 信号的每一个像元可以看成是由若干随机分布的亚分辨散射粒子贡献的结果,如图 1(a)所示。每一个随机分布的散射粒子的微小贡献可以表示成一个随机的子相矢量  $\beta_l \exp(j\varphi_l)$ ,其中  $\beta$  为幅度,  $\varphi$  为相位,  $l$  为单个散射粒子序数。如

图 1(b)所示,一个单独的 OCT 像元信号的相矢量(合幅度为  $\alpha$ ,合相位为  $\theta$ )即为这些随机的子相矢量的线性叠加<sup>[17]</sup>:

$$\alpha \exp(j\theta) = \sum_{l=1}^M \beta_l \exp(j\varphi_l), \quad (1)$$

利用“随机相矢量和”的数学统计模型可以定量地表征该像元信号的相矢量  $\alpha \exp(j\theta)$  的统计特性。在动态血流区域,血红细胞的运动会引起亚分辨散射粒子空间分布的动态变化,从而子相矢量随时间变化(即子相矢量是随机且动态变化的);在静态组织区域,亚分辨散射粒子的空间分布可被视为稳定的,不随时间变化,其对应的子相矢量在时间上为常量(即子相矢量是随机但时不变的)。因此,最终的动态血流区域和静态组织区域的相矢量(即复数值 OCT 信号)在时间维度上具有不同的概率分布,如图 1(c)所示。尽管信号的时间统计差别有助于在 OCT 图像中从静态的组织背景中识别出动态的血流,但需要非常高的重复采样以确保统计有效性,实际应用中并不可取。为了有效地区分动态和静态的信号,需利用额外的对比度算法来量化同一横断面进行重复 B 扫描获得的信号动态变化,如差分算法、散斑方差算法和互相关算法等。经算法运算得到的信号值即为 OCTA 信号。基于“随机相矢量和”的模型分别得到了基于 OCT 幅度结构信号和基于幅度差分(AD)的 OCTA 信号的动态和静态区域的理论统计曲线,如表 2 所示。其中  $\sigma_s$  和  $\sigma_d$  分别为静态背景和动态血流信号统计分布的标准差,  $C$  为常量,下标 d,s 分别表示动态或静态。

表 2 OCT 幅度信号和 AD OCTA 信号的统计特性<sup>[22]</sup>

Table 2 Statistical characteristics of OCT amplitudes and AD OCTA signals<sup>[22]</sup>

Item	OCT amplitude $a_{d/s}$	AD OCTA $ a_{AD,d/s} $
Dynamic	Rayleigh: $\frac{a_d}{\sigma_d^2} \exp\left(-\frac{a_d}{2\sigma_d^2}\right)$	Truncated Gauss: $\frac{2}{\sqrt{2\pi}\sigma_d} \exp\left(-\frac{a_{AD,d}^2}{2\sigma_d^2}\right)$
	Gauss: $\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_s} \exp\left[-\frac{(a_s - C)^2}{2\sigma_s^2}\right]$	Gauss: $\frac{1}{\sqrt{\pi}\sigma_s} \exp\left(-\frac{a_{AD,s}^2}{4\sigma_s^2}\right)$

通常,静态组织区域具有较小的信号值,可以选取合适的阈值来去除,仅保留动态信号得到最终的血流运动造影图。事实上,动态的和静态的 OCTA 信号统计分布之间会存在残余的重叠,导致阈值分割误判(即残余的静态组织信号加上被去除的动态

血流信号),从而降低了图像的血流对比度,如图 1 (d)中虚线所示。利用分割误判率(CER)来衡量重叠程度<sup>[22]</sup>,其被定义为重叠区域部分占动态或静态

分布总的区域面积的概率百分比。减小 CER,有助于更好地区分动态和静态信号,提高血对比度,从而便于理解造影图像中的血管特征。

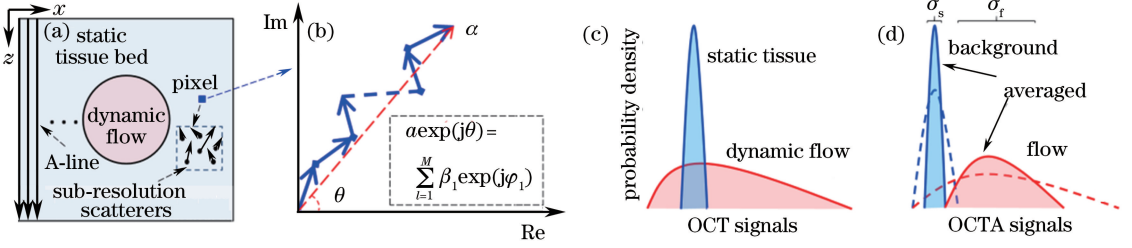


图 1 (a) OCT 断层结构成像原理图;(b)一个像元对应的 OCT 信号相当于若干随机子相矢量的线性叠加;(c) OCT 动态或静态的相矢量和具有不同的概率分布;(d) OCTA 信号,进一步的平均可以减小曲线分布的方差(见填充区域)<sup>[17]</sup>  
 Fig. 1 (a) Imaging schematic of an OCT structural cross section; (b) OCT signal of an individual pixel is equivalent to a linear sum of some random sub-phasors; (c) OCT dynamic of static resultant phasors have different probability distributions; (d) OCTA signals, the averaging further suppresses the variances of the distributions (filled areas)<sup>[17]</sup>

### 3 基于复数互相关的微小血流运动检测

基于互相关算法的 OCTA 技术能够有效地区分动态血流和静态组织信号。在传统的方法中,通过对同一空间位置并具有一定时间间隔的相邻 B 扫的 OCT 幅度(或强度)信号做互相关,得到具有低相似度的动态血流信号和高相似度的静态组织信号,从而提取出血流信号。然而该方法对于信号较弱的区域易受噪声的影响,导致血流对比度受到限制。本课题组提出了一种基于复数互相关的 OCTA 算法,利用同时包含幅度和相位信息的动态和静态复数信号做相关性分析,高灵敏地将低相关度的动态血流信号从高相关度的静态组织信号中提取出来,能够检测微小血流运动<sup>[16]</sup>,如图 2 所示。对复数值的 OCT 信号,首先进行上采样,实现亚像素精度的图像错位矫正。所涉及的提取血流信号的复数互相关算法为:

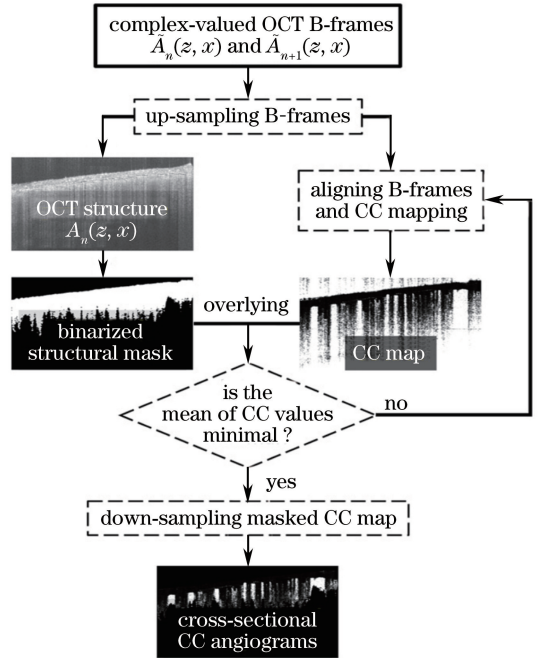


图 2 基于复数互相关的 OCTA 成像算法流程图<sup>[16]</sup>  
 Fig. 2 Flow chart of OCTA imaging algorithm based on complex cross-correlation<sup>[16]</sup>

$$C_n(z, x) = 1 - \frac{\left| \sum_{p=0}^{P-1} \sum_{q=0}^{Q-1} \tilde{A}_n(z+p, x+q) \tilde{A}_{n+1}^*(z+p, x+q) \right|}{\sqrt{\sum_{p=0}^{P-1} \sum_{q=0}^{Q-1} [A_n(z+p, x+q)]^2} \sqrt{\sum_{p=0}^{P-1} \sum_{q=0}^{Q-1} [A_{n+1}(z+p, x+q)]^2}}, \quad (2)$$

式中  $\tilde{A}_n(z, x) = A_n(z, x) \exp[i\varphi(z, x)]$  表示第  $n$  幅 B 扫复数信号,  $z$  表示深度方向,  $x$  表示横向方向,  $A_n$  对应复信号的幅度,  $\varphi$  则对应相位。“\*”表示复共轭,  $P$  和  $Q$  分别表示所选取的信号元素窗口

纵向和横向长度,  $p$  和  $q$  为对应的窗口序号。(2)式计算得到的为去相关值。考虑到深层组织的静态信号易受到噪声影响,呈现与实际的动态血流信号接近的相关度值,本研究对 OCT 结构图像进行二值

化处理产生结构掩模,以此来滤除噪声区域。为了恢复图像原始的数据量进行了下采样操作。最终得到基于复数互相关的 OCTA 造影图像。

利用所提出的算法计算得到的去相关值,可用于并行矫正生物组织的较大抖动所造成的整体图像错位。通常,可以利用整幅相关图的均值来评价图像优劣程度。倘若图像存在整体错位,那么均值就会偏大。因此,通过像素平移改变相邻 B 扫之间的错移量,使得均值最小,即可很大程度地减少生物组织较大抖动的影响。此外,相比于传统的基于强度信号互相关的 OCTA 成像算法,所提出的方法综合了散射信号的幅度和相位信息,在血流成像方面呈现出更高的血流对比度。

图 3 为运用基于复数互相关的 OCTA 法得到的小鼠脑皮质微血管网络造影图像。如图 3(a)所示,可以清晰地看到微血管错落有致的分布。图 3(b)显示了沿着图 3(a)中的深度  $z$  方向的最大强度投射图,可以看到血管与周围背景组织之间具有较高的血流对比度,血管间相互连接清晰可见。图 3(c)展示的是图 3(b)中黄色虚线位置的  $(z, x)$  二维平面剖视图,其结合了 OCT 断层结构及血流图像。

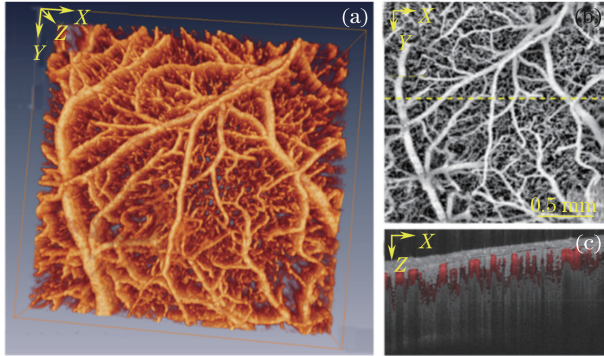


图 3 基于复数互相关的 OCTA 微血管造影的小鼠脑皮质图像。(a)三维渲染图;(b)相应的正视造影图;(c)对应(b)图中黄色虚线位置的 OCT 断层结构与血流造影图相结合的剖视图<sup>[16]</sup>

Fig. 3 A mouse cortex microangiography via complex cross-correlation-based OCTA. (a) Three-dimensional rendering image; (b) corresponding en face angiogram; (c) OCT structural cross section overlaid with blood flow signals at the position marked by the yellow dashed line in Fig. (b)<sup>[16]</sup>

由于受系统的扫描速率和信号采集速率限制,所提出的基于复数互相关的 OCTA 算法是通过基于 B 扫帧间的二维操作来实现微小血流信号的提取,同时能够矫正图像整体错位。然而,由生物组织抖动造成的错位往往是三维方向的。进一步提高系

统速率,并采用基于体间的三维操作,在更加精确地矫正图像整体错位的同时,能够提高血流信号的探测灵敏度。

## 4 独立散射样本的并行采集

Cheng 等<sup>[22]</sup>基于 OCTA 信号的时间统计特性研究得出:对多个独立的子造影图求平均,可以减小 CER,增强血流图像的血流对比度。平均的概念涉及到多个维度,包括基于时间、空间、波长和角度多样性等。其中,时间平均的方法涉及在同一断层位置进行重复的 B 扫描,以获得随时间变化的 B 扫序列图并作平均<sup>[20]</sup>。然而,时间平均法的缺点是需要花费更多的时间来获得足够多的 B 扫样本,这极大地限制了成像速度;空间平均的方法需要对任一幅断层面造影图中邻近的像素求平均,然而相邻像素间的残余相关性会影响最终的血流对比度,且该类方法极大地影响了图像的清晰度;Jia 等<sup>[11]</sup>提出了一种基于裂光谱的微血管血流运动造影对比度提高方法,其并行采集独立散射样本、获取独立子造影图的方法是:对 OCT 光谱信号沿着波长方向进行分割得到不同的子谱带,其对应的 OCT 图像具有不同的散斑图样,进而分别产生独立的子造影图。然而该类裂光谱方法会降低血流图像的纵向分辨率。以上这些方法的本质是在各自的维度空间上并行收集独立的散射样本信号,进而得到独立的子造影图像。这些子造影图来自同一空间区域,但具有独立的信号成分。对这些子造影图求平均,能够抑制 OCTA 信号的方差并减小残余的重叠[图 1(d)中的填充区域],从而增强血流对比度。

### 4.1 多角度并行采集

本课题组提出了一种基于全空间调制谱分割的多角度独立散射样本并行采集方法,能够获取角度分辨的若干独立的 OCTA 子造影图像,并复合平均以提高 OCTA 血流对比度<sup>[18]</sup>。

图 4(a)描绘了典型的 OCT 系统样品臂部分。准直光束的中心与扫描镜的转轴轴心重合。通常,为获得较高的横向成像分辨率,要求照射到样品臂物镜上的探测光束的直径尺寸尽量大,从而使照射光束距离转轴中心存在一定的偏移量  $\delta$ 。而在探测光束沿着横向扫描的过程中,偏移量  $\delta$  会引入样品臂光程连续的 B 扫调制,其调制频率  $f_m$  与偏移量  $\delta$  满足线性函数关系<sup>[18,23]</sup>:

$$f_m = \frac{2k\delta\omega}{\pi}, \quad (3)$$

式中  $k$  表示光源的中心波数,  $\omega$  表示扫描镜的角速度。因此,在如图 4(b)所示的横向扫描调制谱中,不同的调制频率对应着探测光的不同入射角度。对该调制谱进行分割,可获得入射角度分辨的相互独立的 OCT 干涉子光谱。这些子光谱包含不同的独立散射成分,于是便能够产生多角度分辨的相互独立的散射样本。然而,由于 OCT 光谱仪记录的是实值的干涉光谱,其沿着横向作傅里叶变换得到空间域的厄米共轭的调制谱。该 B 扫调制谱中的正负频率成分重叠且无法被区分,如图 4(c)所示。因此,需要首先得到复数值的干涉光谱。

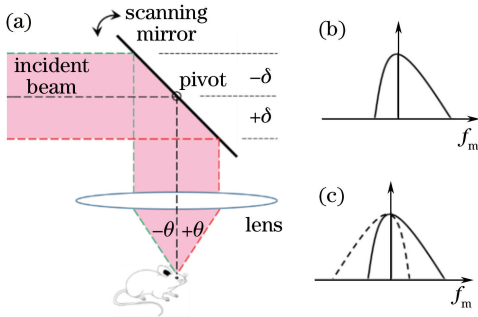


图 4 (a)典型的 OCT 系统样品臂示意图;  
(b)偏移量  $\delta$  引入的 B 扫调制频率  $f_m$  ;  
(c)正负 B 扫调制频率重叠<sup>[18]</sup>

Fig. 4 (a) Schematic of a typical sample arm in an OCT system; (b) B-scan modulation frequency  $f_m$  induced by off-pivot offset  $\delta$ ; (c) overlap between the negative and positive B-scan modulation frequencies<sup>[18]</sup>

图 5 描绘了基于全空间调制谱分割的多角度独立散射样本并行采集方法流程图。所采用的实验系统为一典型的谱域 OCT:光源采用中心波长 1325 nm、带宽 100 nm 的超发光二极管,确定了空气中的成像纵向分辨率为  $7.7 \mu\text{m}$ ;光谱仪采用 InGaAs 线阵相机(线扫速率为 147 kHz,2048 pixel 单元);每帧 B 扫图像由 512 条 A 扫线构成,确定了每秒 190 帧图像的速率。首先,对于获取的谱域 OCT 实数干涉光谱信号,通过在深度  $z$  域去除其中一共轭项,重构出复数干涉光谱  $\tilde{S}(k, x)$ 。其次,对所得到的复数谱沿着快扫描  $x$  方向进行傅里叶变换,在空间频率  $\nu$  域便获得全空间的横向扫描调制谱。并利用高斯型滤波器组将完整的调制谱分割成若干子谱(图 5 中以分割成两部分为例)。最终,从得到的若干子谱中可以产生对应的角度分辨的独立散射样本,进一步利用微血管造影算法产生对应的独立子造影图,并最终复合平均得到新的具有改善的运动对比度的造影图。

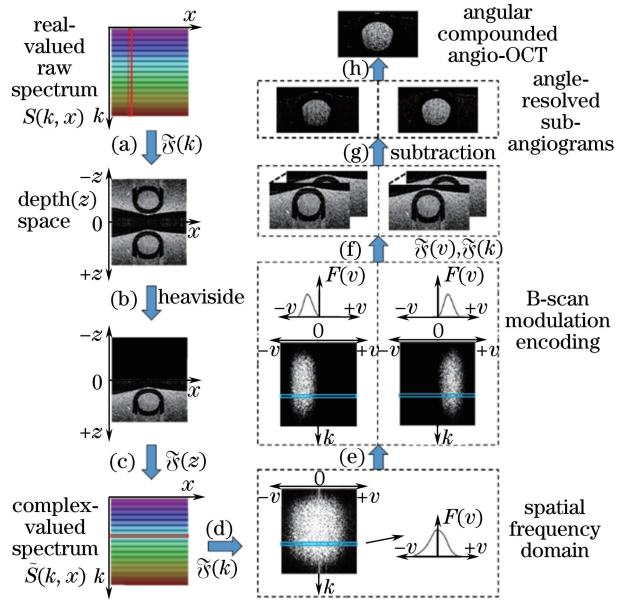


图 5 角度复合型 OCTA 方法流程图。(a)~(c)通过在深度域去除其中一共轭项,重构出复数光谱  $\tilde{S}(k, x)$  ;  
(d)~(e)在空间频率域利用高斯型滤波器组将 B 扫调制谱分割成两部分;(f)~(h)产生角度分辨的独立子造影图,并复合成新的造影图<sup>[18]</sup>

Fig. 5 Flow chart of angular compounded OCTA method.  
(a)-(c) Complex-valued spectrum  $\tilde{S}(k, x)$  is reconstructed by removing one of the two conjugate terms in the depth space;  
(d)-(e) B-scan modulation spectrum is split into halves using a Gaussian filter bank in the spatial frequency domain;  
(f)-(h) angle-resolved independent sub-angiograms are generated and compounded for a new angiogram<sup>[18]</sup>

图 6 展示了利用传统法和所提出的角度复合法获得的在体老鼠脑皮质三维微血管造影图像。图 6(a)是血管网络的三维透视图。图 6(b)和(c)分别是利用传统法和角度复合法得到的某一深度的剖视图,图 6(d)和(e)分别对应另一深度下的剖视图,其中黄色箭头指示提高的血流对比度。如图中箭头所指位置,角度复合法呈现出更高的血流对比度和更清楚的血管连接。

在所提出的角度复合型 OCTA 中,空间频率域的全空间确保了宽的 B 扫调制谱和探测光入射角范围,这有助于补偿由于在空间频率域分割光谱所导致的轴向分辨率下降。为了获取空间频率域的全空间,同时避免调制谱的复共轭存在,本课题组在深度域去除了反射率分布的其中一共轭项,来重构出复数值的 OCT 干涉光谱。而传统的全量程复数谱域 OCT 方法中,通过使扫描光速偏离轴心来牺牲一半的空间频率域消除复共轭,并实现深度域的全量程成像<sup>[23]</sup>。

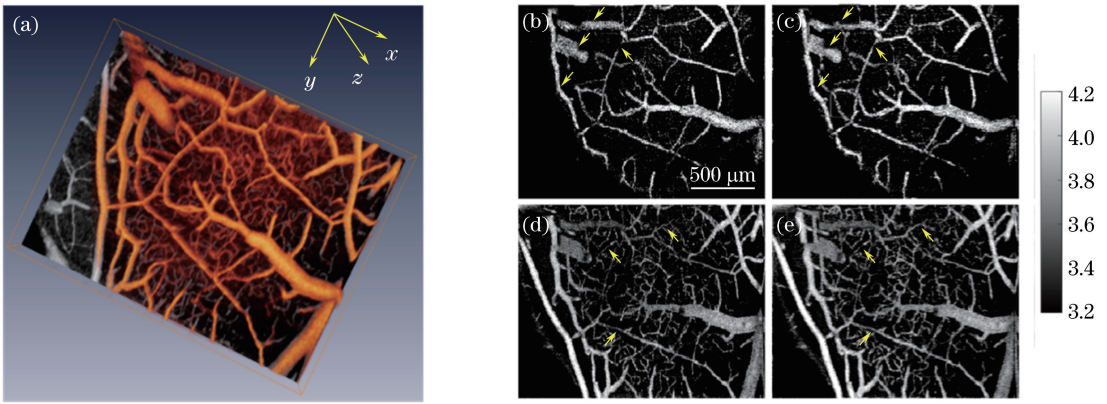


图 6 利用传统法和所提出的角度复合 OCT 法获得的在体老鼠脑皮质三维微血管造影图像。

(a)血管网络的三维透视图;利用(b)传统法和(c)所提方法得到的某一深度的剖视图;

利用(d)传统法和(e)所提方法得到的另一深度(约 100  $\mu\text{m}$ )的剖视图<sup>[18]</sup>

Fig. 6 Three-dimensional angiograms of the conventional method and proposed angular compounded OCT method in mouse cortex *in vivo*. (a) Three-dimensional perspective drawing of vasculature; section view at a superficial depth by using (b) conventional method and (c) proposed method; section view at a deeper depth ( $\sim 100 \mu\text{m}$ ) by using (d) conventional method and (e) proposed method<sup>[18]</sup>

先前已有人提出了类似的角度复合法用于去除 OCT 结构成像中的散斑<sup>[24]</sup>,其通过对 B 扫多普勒频移编码区分不同角度的探测光。然而本研究所提方法与之大不相同。在文献[24]所述的方法中,为了区分 B 扫调制谱中的复共轭成分,将样品臂探测光束偏离扫描镜转轴中心,使得整个 B 扫调制谱被完全平移至零频率的某一边。然而要使正负共轭谱完全分离,要求一次横向扫描中有非常高的 A 扫频率,这样才能确保足够的采样点数,即对应足够大的多普勒频移,然而这将极大地限制成像速度。另外值得一提的是,所提出的基于调制谱分割的角度复合方法,也可以有效地抑制 OCT 结构成像的散斑噪声<sup>[25]</sup>。

#### 4.2 混合多样性策略实现多样本高效采集

在基于时间、空间、波长或角度等多样性的平均方法中,增加子造影图数目,能够改善 OCTA 造影图像质量,提高信噪比。若能够获取足够多的子造影图,就可以实现理想的血流对比度。然而这对于任一单独的平均方法却难以做到,因为随着子造影图数目的增加,各自的平均法会导致成像时间大大增加、分辨率严重降低等问题。本课题组提出了一种混合多样的多样本高效策略,权衡各种平均法的缺陷,最优化地提高 OCTA 中的血流对比度<sup>[17]</sup>。

采用自制的 OCTA 系统可以实现基于时间、空间、波长和角度混合多样的独立散射样本高效采集,并高效地优化 OCTA 的成像血流对比度。系统为一扫频 OCT 装置,光源为垂直腔面发射激光器

(VCSEL,型号为 SL1310V1,美国 Thorlabs 公司),其中心波长为 1300 nm,带宽为 100 nm,空气中的轴向分辨率为 16  $\mu\text{m}$ ,工作线扫率为 100 kHz。系统的成像范围约为 12 mm。由于在高散射组织中的穿透深度小于 3 mm,因此,整个深度范围可以被充分利用并分成若干部分,用于同时对不同探测角度的组织实现角度分辨的成像。如图 7(a)所示,通过在探测光束中嵌入一块厚度适当的盖玻片,产生三种不同的光程路径。经过不同路径的光经历不同的群延迟,并以不同的角度照射在样品上。在整个成像范围内的不同深度共计可同时得到三幅角度分辨的子造影图,由此实现了基于量程编码的多角度并行采集。采用步进式正交扫描模式获取三维立体数据,如图 7(b)所示。在该扫描模式中,快扫  $x$  方向共包含 512 条 A 扫线,慢扫  $y$  方向共包含 200 步,每一步共重复 B 扫( $t+1$ )次,即在不同时间点总共产生  $t$  幅子造影图。为了实现波长多样性,使用高斯型滤波器组把原始的 OCT 干涉光谱分割成  $w$  个子谱。对每个子谱作傅里叶变换,便产生对应光程编码的  $a$  幅角度分辨的子造影图。最终,得到一组混合不同产生机制的子造影图  $G(t, w, a)$ ,其中  $t, w$  和  $a$  分别表示时间、波长和角度维度。对相邻的 B 扫 OCT 幅度信号作差分运算,用于分析 OCTA 信号的时间动态特性。

为了验证所产生的子造影图的独立性以及血流对比度的提高,在血流仿体实验中分别进行了时间、波长和角度多样性方法的验证。在三维的子造影

图中任选  $y$  方向的一步,同时在断层面上( $z, x$ )上选取  $100 \text{ pixel} \times 150 \text{ pixel}$  窗口大小的二维数据,计算子造影图之间的相关系数( $C_{t/w/a}$ )用于独立性评价。对于每种平均方法测得的相关系数如图 8(a)所示,图中蓝色和红色分别是静态背景区域和动态血流区域的测量结果,可以看出,各相关系数均小于 0.1 且非常接近于随机数组得到的相关系数。各相关系数的值与相同元素尺寸大小的二维随机数组的相关性计算结果相比,可以认为由每种平均方法得到的若干子造影图相互间是完全独立的。为了评价每种平均方法的血流对比度提高情况,采用了文献[25]所

定义的基于直方图的 CER 量化评价标准,在血流仿体实验中测量了不同维度的 CER 随子造影图平均的数目  $N_i$  的变化曲线,如图 8(b)所示。从中可以看出每种平均方法具有几乎相同的 CER- $N$  变化关系。未做任何平均的原始造影图的 CER 值为 0.29,随着平均数目的增加呈现指数衰减变化,且当平均数目达到 18 时,CER 能够降低至 1%。以上结果证明了时间、波长和角度平均的方法在原理上是等效的,从而可以对这些方法进行组合构建多样本混合平均,来最大化提高血流对比度的同时,权衡各自单独作用时的负效果。

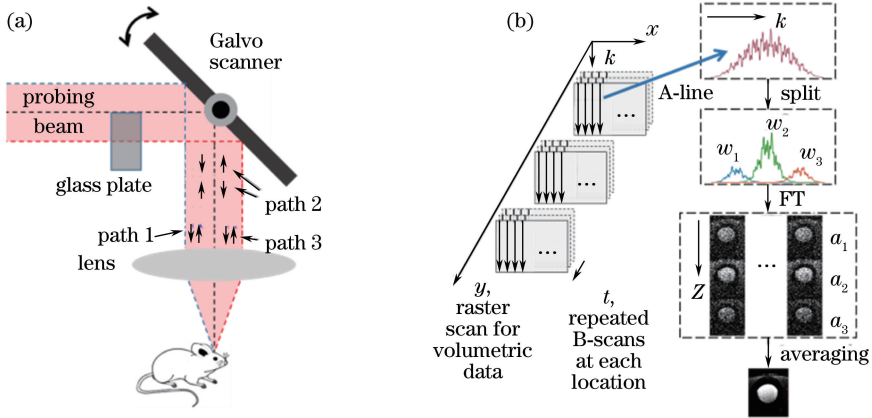


图 7 (a)扫频 OCT(SSOCT)样品臂示意图;(b)阶梯式光栅扫描模式以及一组混合的子造影图组  $G(t, w, a)$ <sup>[17]</sup>  
Fig. 7 (a) Schematic of the sample arm in swept source OCT (SSOCT); (b) stepwise raster-scanning mode and collection of a hybrid set of sub-angiograms  $G(t, w, a)$ <sup>[17]</sup>

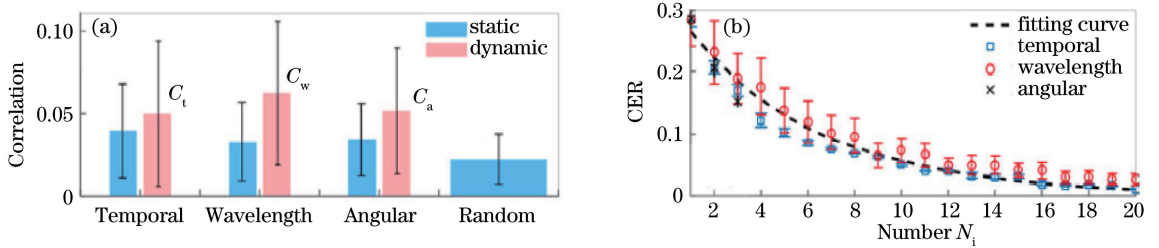


图 8 (a)不同方法得到的子造影图之间的相关系数;(b) CER 随子造影图个数的变化<sup>[17]</sup>  
Fig. 8 (a) Correlation coefficients between the sub-angiograms generated by different methods;  
(b) CER as a function of the number of sub-angiograms<sup>[17]</sup>

对所得的混合子造影图  $G(t, w, a)$  平均,获得新的造影图。用于混合平均的子造影图数目由时间、波长和角度方法分别产生的数目(分别记作  $N_{it}, N_{iw}$  和  $N_{ia}$ )而确定:

$$N = N_{it} \times N_{iw} \times N_{ia}. \quad (4)$$

图 9 展示了利用多样本混合平均法得到的代表性的老鼠脑皮质血流造影投射图像,其中红色箭头所指位置具有提高的血流对比度,红色圆圈所指位置为脑皮质中深层血管,色度条表示这 4 幅图的灰

度显示范围<sup>[17]</sup>。图 9(a)是未做平均所得到的造影图。图 9(b)为平均 3 幅角度子造影图后所得到的造影图。图 9(c)为对角度和波长混合平均后所得到的结果,其中  $N_{ia} = 3, N_{iw} = 3$ ,总平均数为 9。图 9(d)为对角度、波长和时间混合平均得到的结果,其中  $N_{ia} = 3, N_{iw} = 3, N_{it} = 2$ ,总平均数为 18。与传统的未做任何平均得到的造影图相比,可以直观地看到混合平均后血流对比度得到了提高。如红色箭头所指的位置,大血管和毛细血管网络的清晰



度及血管的连接随着总平均数的增加而得到改善。红色圆圈所指的是脑皮质深层的血管,在较高血流对比度的图中能够被清晰地识别出来。因此,在保

证相同的子造影图总数目并达到相同的理想的血流对比度情况下,同任一单独的平均法相比,混合平均法并没有导致严重的成像时间增长和分辨率下降。

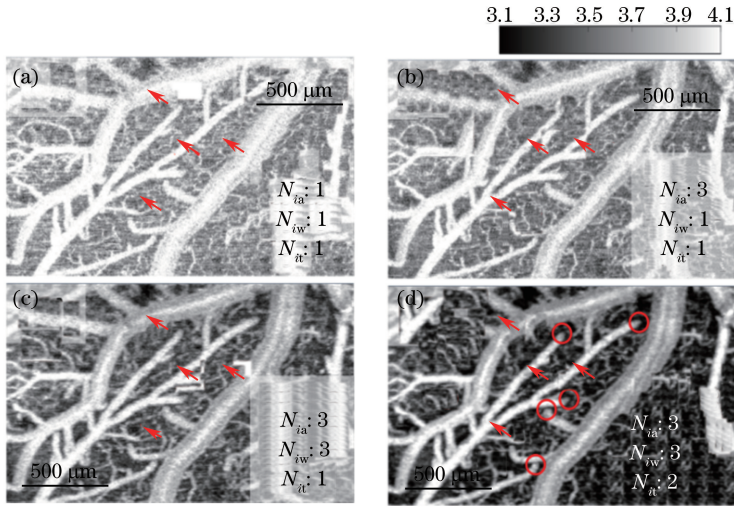


图 9 利用混合平均法得到的代表性的老鼠脑皮质血流造影投影图像。(a)未做平均;  
(b) 3 幅角度分辨子造影图平均;(c) 9 幅子造影图混合平均;(d) 18 幅子造影图混合平均<sup>[17]</sup>

Fig. 9 Representative projection angiograms using hybrid averaging method in mouse cortex *in vivo*.

(a) No averaging; (b) averaging of 3 sub-angiograms of angular resolution; (c) hybrid averaging of 9 sub-angiograms;  
(d) hybrid averaging of 18 sub-angiograms<sup>[17]</sup>

在多样本混合平均 OCTA 中,空间平均法被广泛应用于 OCTA 中。这里,空间平均仅在血流仿体实验中作验证,因为血流仿体的光学特性在空间上是均匀的。以足够的空间间隔随机选取像素单元,实现空间的独立散射样本采集,并复合平均得到空间的子造影图,而不是对相邻的像素直接求平均,因为这会导致采集的样本之间存在残余的相关性。测得利用空间法得到的相邻子造影图之间的相关系数为:静态区域  $0.029 \pm 0.021$  和动态区域  $0.038 \pm 0.036$ ,验证了子造影图之间的相互独立性。并且其 CER- $N$  变化曲线与拟合曲线完好吻合(拟合度  $R^2$  为 0.97)。对于非均匀的样品,选择具有一定空间相关性的相邻像素做空间平均是为了避免图像的模糊。

所提出的多样本混合平均策略可以对 OCTA 的设计提供指导性的帮助。时间、波长和角度法在血流对比度提高方面是等效的,其中最重要的参数是总的平均子造影图的数目。根据 CER- $N$  的关系,总平均数可由所需要的血流对比度来确定。然后,总平均数可以被分配在不同的平均方法中,即  $N_{it}$ 、 $N_{iw}$  和  $N_{ia}$ 。越大的  $N_{it}$ 、 $N_{iw}$  和  $N_{ia}$  数目分别表示更多的成像时间、更糟糕的轴向分辨率和横向分辨率。对于一个所需要的血流对比度,分配的权衡可根据实际情形来优化。例如,在具有宽的光源光

谱的成像中,  $N_{iw}$  可选择稍大些;对于成像量程大、物镜数值孔径高的系统成像中,  $N_{ia}$  可选择稍大些。

## 5 局部缺血性脑中风成像应用

利用实验室所研制的高灵敏度、高对比度 OCTA 成像系统,开展了大鼠脑血管局部缺血性中风模型成像研究<sup>[26]</sup>。实验中对大鼠以腹腔注射方式注入玫瑰红染料,并对暴露的脑皮质血管区域进行激光照射,形成局部缺血性血管堵塞,以模拟中风模型。图 10(a) 和 (b) 分别是中风形成前后的 OCTA 三维微血管网络造影的最大值投影图像,图 10(c) 是中风形成之后第 10 天的血管造影图。在中风形成之前,可以清晰地观察到左侧的三根大血管,并且有较丰富的毛细血管分布在观测窗口内;中风形成的第一天,两根大血管完全堵塞,邻近的原先密布的毛细血管部分发生堵塞,并且毛细血管受损区域主要围绕受损的大血管,受损严重;中风形成的第 10 天,两根大血管基本恢复,并出现明显的血管增生。利用 OCTA 成像能够清晰地呈现大鼠脑血管局部缺血性中风前到血管受损再到血管恢复的整个过程,同时能够直观地反映血管的形态和分布密度的变化,对理解这类血管疾病的病理特征具有重要的意义。

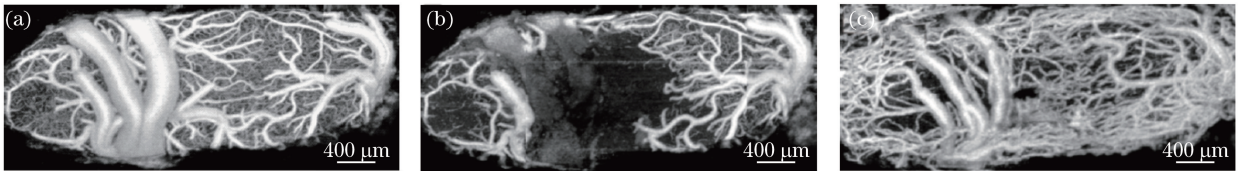


图 10 大鼠脑血管局部缺血性中风模型 OCTA 成像。(a) 中风形成前;(b) 形成后第一天;(c) 中风形成后第 10 天<sup>[26]</sup>

Fig. 10 OCTA imaging of local ischemia stroke model of a rat cerebral vessels. (a) Before stroke; (b) the first day after the formation of stroke; (c) the tenth day after the formation of stroke<sup>[26]</sup>

## 6 结束语

本文系统性地回顾了无标记、多样本 OCTA 技术及其应用, 主要内容包括基于随机矢量和模型的 OCTA 血流对比度机制, 基于复数互相关的 OCTA 高灵敏度微小血流运动探测方法, 基于光谱、角度、时间等混合多样性的独立散射矢量样本高速采集策略以及脑血流的相关应用研究。上述研究进展对于提高 OCTA 的性能以及拓宽其在生物医学领域的应用具有重要的意义。

### 参 考 文 献

[1] Meyer E P, Ulmann-Schuler A, Staufenbiel M, *et al.* Altered morphology and 3D architecture of brain vasculature in a mouse model for Alzheimer's disease [C]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105 (9): 3587-3592.

[2] 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.

[3] Jain R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. Science, 2005, 307(5706): 58-62.

[4] Carmeliet P, Jain R K. Angiogenesis in cancer and other diseases[J]. Nature, 2000, 407(6801): 249-257.

[5] Gao S S, Jia Y L, Zhang M, *et al.* Optical coherence tomography angiography [J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2016, 57(9): Oct27-Oct36.

[6] Spaide R F, Fujimoto J G, Waheed N K. Image artifacts in optical coherence tomography angiography [J]. Retina, 2015, 35(11): 2163-2180.

[7] Zhang A Q, Zhang Q Q, Chen C L, *et al.* Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison [J].

Journal of Biomedical Optics, 2015, 20 (10): 100901.

[8] Wang R K, Jacques S L, Ma Z, *et al.* Three dimensional optical angiography[J]. Optics Express, 2007, 15(7): 4083-4097.

[9] 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.

[10] Enfield J, Jonathan E, Leahy M. In vivo imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT) [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2 (5): 1184-1193.

[11] Jia Y L, Tan O, Tokayer J, *et al.* Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography[J]. Optics Express, 2012, 20 (4): 4710-4725.

[12] Makita S, Hong Y, Yamanari M, *et al.* Optical coherence angiography[J]. Optics Express, 2006, 14 (17): 7821-7840.

[13] Yu L, Chen Z. Doppler variance imaging for three-dimensional retina and choroid angiography [J]. Journal of Biomedical Optics, 2010, 15(1): 016029.

[14] Fingler J, Schwartz D, Yang C, *et al.* Mobility and transverse flow visualization using phase variance contrast with spectral domain optical coherence tomography [J]. Optics Express, 2007, 15 (20): 12636-12653.

[15] Wang R K, An L, Francis P, *et al.* Depth-resolved imaging of capillary networks in retina and choroid using ultrahigh sensitive optical microangiography [J]. Optics Letters, 2010, 35(9): 1467-1469.

[16] 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.

[17] 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.
- [18] 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.
- [19] Barton J, Stromski S. Flow measurement without phase information in optical coherence tomography images[J]. Optics Express, 2005, 13(14): 5234-5239.
- [20] Wang R K K, Zhang A Q, Choi W J, *et al.* Wide-field optical coherence tomography angiography enabled by two repeated measurements of B-scans [J]. Optics Letters, 2016, 41(10): 2330-2333.
- [21] Gao S S, Liu G, Huang D, *et al.* Optimization of the split-spectrum amplitude-decorrelation angiography algorithm on a spectral optical coherence tomography system[J]. Optics Letters, 2015, 40(10): 2305-2308.
- [22] 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.
- [23] Leitgeb R A, Michaely R, Lasser T, *et al.* Complex ambiguity-free Fourier domain optical coherence tomography through transverse scanning[J]. Optics Letters, 2007, 32(23): 3453-3455.
- [24] Wang H, Rollins A M. Speckle reduction in optical coherence tomography using angular compounding by B-scan Doppler-shift encoding [J]. Journal of Biomedical Optics, 2009, 14(3): 030512.
- [25] 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.
- [26] 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.