

基于强度传输方程和微分干涉相差显微镜的 定量相位成像及其在乳腺癌诊断中的应用

蔡双双^{1,2}, 郑龙飞^{1,2}, 曾碧新^{1,2}, 李润³, 徐敏^{2,4*}

¹温州医科大学生物医学工程学院, 浙江 温州 325035;

²温州医科大学激光与光子生物医学研究所, 浙江 温州 325035;

³费尔菲尔德大学机械工程系, 美国 康州 06824;

⁴费尔菲尔德大学物理系, 美国 康州 06824

摘要 结合光的强度传输方程和微分干涉相差(DIC)显微镜设计了一套定量相位显微成像系统,用以同时揭示癌变过程组织微结构的三维改变以及由此导致的光散射特性的变化。采集 257 例乳腺浸润性导管癌未染色石蜡包埋组织切片的 DIC 图像,由强度传输方程获得其二维分布相位图,并由散射相定理进一步导出空间分辨的光散射特性图。结果表明:乳腺浸润性导管癌的分级与组织的约化散射系数、各向异性因子高度相关;随着癌症分级的提高,乳腺浸润性导管癌组织的约化散射系数显著增大,各向异性因子显著减小。利用所得的光散射特性参数预测乳腺浸润性导管癌的癌症分级,准确率可达 88%。DIC 显微镜自身具有的无标记、高图像衬度等特点使得该实验方法也可以用于新鲜组织或冰冻组织切片,并可用于实时、快速的病理诊断。

关键词 医用光学; 定量相位成像; 强度传输方程; 微分干涉相差显微镜; 散射相定理; 光学病理术

中图分类号 O436

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0307015

Quantitative Phase Imaging Based on Transport-of-Intensity Equation and Differential Interference Contrast Microscope and Its Application in Breast Cancer Diagnosis

Cai Shuangshuang^{1,2}, Zheng Longfei^{1,2}, Zeng Bixin^{1,2}, Li Run³, Xu Min^{2,4}

¹School of Biomedical Engineering, Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China;

²Institute of Lasers and Biomedical Photonics, Wenzhou Medical University, Wenzhou,
Zhejiang 325035, China;

³Department of Mechanical Engineering, Fairfield University, Connecticut 06824, USA;

⁴Department of Physics, Fairfield University, Connecticut 06824, USA

Abstract A quantitative phase imaging system capable of revealing three-dimensional changes of microstructure and light scattering properties of cancer tissues is developed based on the transport-of-intensity equation using the differential interference contrast (DIC) microscope. The DIC images of unstained paraffin embedded tissue sections of 257 patients with invasive ductal carcinoma are acquired with the quantitative phase imaging system. The corresponding two-dimensional phase maps are obtained with the calculation of the transport-of-intensity equation. The spatially resolved optical properties of the tissues are computed from the two-dimensional phase maps using the scattering-phase theorem afterwards. The results show that the grade of invasive ductal carcinoma has strong correlation with reduced scattering coefficients and anisotropy of tissues. When the grade of invasive ductal carcinoma increases, the reduced scattering coefficient of invasive ductal carcinoma tissues increases significantly,

收稿日期: 2017-08-15; 收到修改稿日期: 2017-09-16

基金项目: 国家自然科学基金(81470081)、浙江省自然科学基金重点项目(LZ16H180002)、温州市公益性科技计划(Y20170218)

作者简介: 蔡双双(1981—),女,博士,副教授,主要从事激光与光子生物医学方面的研究。E-mail: css@wmu.edu.cn

* 通信联系人。E-mail: mxu@fairfield.edu

while the anisotropy decreases significantly. The retrieved optical parameters are shown to distinguish invasive ductal carcinoma with different grades with a high accuracy of 88%. Owing to the label-free and high-contrast characteristics of DIC microscope, the proposed approach is also applicable for fresh or frozen tissues, and may have promising applications in real-time and rapid cancer diagnosis.

Key words medical optics; quantitative phase imaging; transport-of-intensity equation; differential interference contrast microscope; scattering phase theorem; optical pathology

OCIS codes 170.4730; 100.5070; 110.0180; 170.6930

1 引 言

第三次全国死因回顾抽样调查结果表明,中国城乡居民癌症死亡率在过去 30 年增长了八成以上^[1]。癌症已成为中国城市居民的首要死因,农村居民的第二位死因。病理诊断是目前癌症诊断的“金标准”,但是,传统的病理诊断不但耗时,无法实现实时诊断,而且还存在一定的主观判断失误,难以对肿瘤的侵袭性强弱进行有效区分。因此,对量化、无标记、实时且客观的新型病理诊断方法的研究一直备受关注。

癌化伴随着组织微环境的变化^[2]。微环境的改变会影响组织光折射率的空间分布,并由此导致其光散射特性的变化。光的散射对组织的微结构和组成高度敏感,已被成功用于检测和评估其他手段未能发现的病变早期组织在亚波长尺度的形态及生化特性的改变^[3-6]。Wu 等^[7]、Xu 等^[8]发现由醋酸白引起的人体上皮细胞亚微米量级的变化可成功地用弹性光散射光谱进行识别和量化。2011 年,Uttam 等^[9]发现细胞核的光折射率与癌变过程相关。同年,Wang 等^[10]发现组织折射率的改变可用于表征前列腺癌和乳腺微钙化。2015 年,Sridharan 等^[11]发现前列腺癌复发患者的各向异性因子比未复发患者的显著减小。需要指出的是,组织的光散射特性与其量化的相位图之间存在本质的内在关联,具有空间分辨的光散射特性图可由散射相定理从其定量相位图中直接导出^[12-13]。

定量相位显微成像是研究生物组织等透明弱吸收物体内部微结构变化的一种有效方法。基于强度传输方程(TIE)的相位恢复方法、基于光的干涉原理的干涉显微和数字全息显微,以及基于迭代算法的 Gerchberg-Saxton (GS)法和 Ptychographic Iterative Engine (PIE)法等是目前定量相位成像中最常用的方法。与后两类方法相比,基于强度传输方程的相位恢复方法无需依赖高度相干光源和复杂的干涉实验装置,亦无需进行大量迭代与复杂运算,因此得到了广泛研究。2010 年,Kou 等^[14]发现基于强度传输方程的定量相位恢复方法也适用于微分

干涉相差(DIC)显微镜。与明场显微等其他手段相比,DIC 显微镜具有更好的空间光学分层能力^[15],结合 DIC 显微镜的强度传输方程定量相位成像能获得更好的空间分辨率,国内学者也相继针对其开展了大量研究^[16-18]。上述工作大多集中于强度传输方程的求解方法、相位重构条件、方程求解误差分析与补偿等方面,对于基于强度传输方程的定量相位显微成像技术在癌症诊断中的应用研究则较少。

本文结合光的强度传输方程和 DIC 显微镜设计了定量相位显微成像系统,以揭示癌变过程中组织形态和光散射特性的改变,并将其应用于乳腺浸润性导管癌的分级诊断。与文献[10-11]采用的复杂的光学结构不同,该系统直接建立在商品化的 DIC 显微镜上,无需显微镜光路的改造和复杂的迭代算法,而且充分利用了 DIC 显微镜自身的成像优势。

2 基本原理

2.1 强度传输方程

1983 年,Teague^[19]利用亥姆霍兹方程在傍轴近似条件下首次推导出了光的强度传输方程,用以描述沿光轴方向光强的变化与垂直于光轴平面光场相位之间的定量关系:

$$-k \frac{\partial I(r_{\perp})}{\partial z} = \nabla_{\perp} \cdot [I(r_{\perp}) \nabla_{\perp} \varphi(r_{\perp})], \quad (1)$$

式中 k 为波数, $I(r_{\perp})$ 和 $\partial I(r_{\perp})/\partial z$ 分别为焦点平面的光强分布及光强沿光轴方向的变化梯度, $\varphi(r_{\perp})$ 为焦点平面的相位分布, r_{\perp} 和 z 分别为横向和轴向坐标, ∇_{\perp} 为仅作用于 r_{\perp} 平面的二维梯度算子。

(1)式中焦点平面的光强分布 $I(r_{\perp})$ 及光强的轴向微分 $\partial I(r_{\perp})/\partial z$ 可由实验测得。对于 $\partial I(r_{\perp})/\partial z$,最简单的情况仅需沿光轴方向采集两幅 DIC 图像,通过数值差分估算就可以得到^[20]:

$$\frac{\partial I(r_{\perp})}{\partial z} \approx \frac{I(r_{\perp}, \Delta z) - I(r_{\perp}, 0)}{\Delta z}, \quad (2)$$

式中 $I(r_{\perp}, 0)$ 和 $I(r_{\perp}, \Delta z)$ 分别为焦点及失焦条件下的 DIC 图像, Δz 为两幅图像之间的失焦距离。 Δz 的取值决定了光强轴向微分 $\partial I(r_{\perp})/\partial z$ 的计算精度,其下限由光强的测量噪声决定,上限由图像的

最高空间频率 f_{\max} 决定^[21]：

$$2\Delta z \leq \frac{2.45}{\pi\lambda f_{\max}^2}, \quad (3)$$

式中 λ 为光波波长。

2001 年, Allen 等^[22] 给出了强度传输方程的快速傅里叶变换求解方法。该方法首先引入辅助函数 $\Psi(r_{\perp})$, 令

$$\nabla_{\perp} \Psi(r_{\perp}) = I(r_{\perp}) \nabla_{\perp} \varphi(r_{\perp}), \quad (4)$$

将强度传输方程转换成泊松方程的形式：

$$-k \frac{\partial I(r_{\perp})}{\partial z} = \nabla_{\perp}^2 \Psi(r_{\perp}); \quad (5)$$

随后, 对(5)式左右两边作快速傅里叶变换得到 $\Psi(r_{\perp})$, 即

$$\Psi(r_{\perp}) = \mathcal{F}^{-1} q_{\perp}^{-2} \mathcal{F} \left[k \frac{\partial I(r_{\perp})}{\partial z} \right], \quad (6)$$

式中 \mathcal{F}^{-1} 和 \mathcal{F} 分别为傅里叶逆变换和正变换, $q_{\perp}^2 = q_x^2 + q_y^2 = \partial^2/\partial x^2 + \partial^2/\partial y^2$ (x, y 分别为 r_{\perp} 平面的二维直角坐标, q_x, q_y 分别为在傅里叶空间对 x, y 的共轭变换)。将(6)式代入(4)式, 再经过一次傅里叶变换, 最终可获得焦点平面相位 $\varphi(r_{\perp})$ 的二维分布：

$$\varphi(r_{\perp}) = -\mathcal{F}^{-1} q_{\perp}^{-2} \mathcal{F} \{ \nabla_{\perp} \cdot [I^{-1}(r_{\perp}) \nabla_{\perp} \psi(r_{\perp})] \}. \quad (7)$$

尽管快速傅里叶变换是强度传输方程的一种近似求解方法, 但在样品相位连续分布的情况下已能满足大部分应用场合的需求, 并且避免了复杂耗时的算法迭代。

2.2 散射相定理

表征生物组织等块状混浊介质光散射特性的参数散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 可通过散射相定理从空间分辨的相位图 $\varphi(r_{\perp})$ 中获得^[12]：

$$\mu_s L = 2 \langle 1 - \cos \Delta\varphi \rangle, \quad (8)$$

$$\mu'_s L = \frac{1}{2k^2} \langle |\nabla\varphi|^2 \rangle, \quad (9)$$

$$g = 1 - \frac{\langle |\nabla\varphi|^2 \rangle}{4k^2 \langle 1 - \cos \Delta\varphi \rangle}, \quad (10)$$

式中 L 为样品厚度, $\Delta\varphi = \varphi - \langle \varphi \rangle$, $\langle \rangle$ 表示空间平均, $|\nabla\varphi|^2 = (\partial\varphi/\partial x)^2 + (\partial\varphi/\partial y)^2$ 为平方相位梯度。散射相定理不仅适用于均匀介质, 而且适用于非均匀介质。对于组织切片等非均匀介质, 空间分辨的散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 可通过对空间局部区域取平均来获得。

3 实验结果与讨论

整个定量相位成像系统建立在一台商品化的 DIC 显微镜 (A1 型, Zeiss 公司) 上, 采用三维电动平台 (ProScan III 型, Prior 公司) 控制样品扫描和自动聚焦。显微镜光源采用卤素灯, 照明采用科勒结构, 并通过窄带干涉滤色片选择入射光波长为 (550 ± 5) nm。显微物镜采用放大倍数为 40 的长工作距离物镜, 数值孔径为 0.6; 聚焦镜的数值孔径取 0.2。采用 CCD 相机 (MarkII 型, Cannon 公司) 记录 DIC 图像, 每幅图像大小取 $2500 \text{ pixel} \times 2500 \text{ pixel}$, 放大倍数为 40 的物镜下对应像素大小为 $0.064 \mu\text{m}$ 。实验中离焦距离 Δz 取 $1 \mu\text{m}$ 。利用 Micro-manager 平台控制、执行整个数据采集过程, 包括样品扫描、自动聚焦、DIC 图像记录与保存; 利用 MATLAB 软件完成数据分析。

首先利用直径为 $10 \mu\text{m}$ 的标准聚苯乙烯球对成像系统进行校准与参数优化。将质量分数为 5% 的聚苯乙烯球原液与水按 1:20 的体积比进行稀释, 充分分散后用移液枪取少量滴于载玻片上, 盖上盖玻片, 轻压, 使溶液均匀扩散形成单层聚苯乙烯球悬浊液 (厚度约为 $10 \mu\text{m}$), 最后用透明速干胶密封盖玻片四周。采集单层聚苯乙烯球悬浊液在焦点和失焦条件下的 DIC 图像, 利用快速傅里叶变换求解强度传输方程, 得到焦点平面的二维相位分布图, 结果如图 1 所示。图中左下角箭头所指白色虚线区域即为某个聚苯乙烯球在相位图中的位置, 小球周围的光晕为球的衍射所致。利用散射相定理, 对图中每个聚苯乙烯球所在区域分别计算散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g , 并取平均。表 1 所示为相应的实验值与理论值的对比结果, 理论值 $\mu_s = Q_s/D$, $\mu'_s = \mu_s(1-g)$, 其中 Q_s 和 D 分别为聚苯乙烯球的散射效率和直径, Q_s 和 g 可由 Mie 散

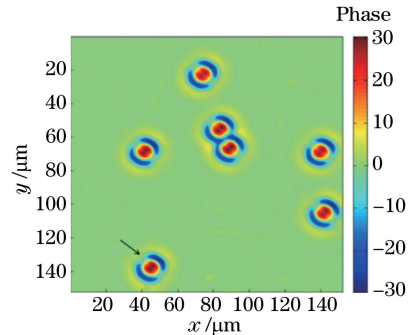


图 1 单层聚苯乙烯球 (直径 $10 \mu\text{m}$) 悬浮液的相位图
Fig. 1 Phase map of monolayer polystyrene sphere (diameter of $10 \mu\text{m}$) suspension

射理论计算得到^[23-24]。由表 1 可知,实验值与理论值基本一致。实验结果表明,在 DIC 显微镜平台下,根据强度传输方程可快速重构样品的二维相位分布,并准确测量其光散射特性参数。

表 1 聚苯乙烯球(直径 10 μm)散射特性参数的实验值与理论值

Table 1 Experimental and theoretical values of scattering parameters of polystyrene sphere (diameter of 10 μm)

Parameter	Experimental value	Theoretical value	Relative error /%
$\mu_s / \mu\text{m}^{-1}$	0.2211	0.2297	3.7
$\mu'_s / \mu\text{m}^{-1}$	0.0204	0.0210	2.9
g	0.9077	0.9086	0.1

在此基础上采集乳腺癌组织的 DIC 数据。选择实验样品为石蜡包埋的乳腺浸润性导管癌组织微阵列,未选择新鲜或冰冻组织切片的原因在于样品的保存及短时间内收集一定数量的病例存在困难。组织微阵列购自美国 Biomax 公司,共包含癌症分级为 1~3 级的病例 257 例(1 级 87 例,2 级 98 例,3 级 72 例),且每个病例都带有性别、年龄、癌症分级、分期、TNM(T 为原发灶,N 为淋巴结,M 为远处转移)、免疫组化(雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人类表皮生长因子受体(HER))等临床数据。每张组织微阵列切片的厚度为 5 μm ,每组样品包含从同一组织蜡块上切下的 3 张相邻切片。其中,1 张经苏木精-伊红(HE)染色后作为参照,由经验丰富的病理医生诊断,并根据诊断结果(癌症分级、分期)标记对应的特征癌化区域;其余 2 张未染色,直接用于定量相位显微成像及随后的组织光散射特性分析。残留于切片中的石蜡会对实验结果造成一定影响,但是脱蜡过程极易造成组织微观结构的改

变,甚至坍塌,由此引入的实验误差可能更大,因此实验中未对组织微阵列切片进行脱蜡处理。

根据病理医生标记的特征癌化区域,在低倍物镜下找到对应的位置,再在放大倍数为 40 的物镜下采集数据。由于组织切片的差异,数据采集的位置与病理医生标记的结果较难完全一致,因此特征癌化区域应尽量选择癌细胞多且分布较为集中的位置,这样实验中即使出现一定的位置偏移也能保证采集到的始终是癌细胞区域。图 2 所示为乳腺浸润性导管癌组织的成像结果。图 2(a)和图 2(b)中从左往右各列分别对应于样品的染色图像、散射系数图、约化散射系数图和各向异性因子图。由染色图像可知,对于分级为 1 级的乳腺癌组织,细胞大小、形状仍较规则,细胞边界较清晰;而对于分级为 3 级的乳腺癌组织,细胞大小、形状变得很不均匀,细胞核分裂严重,且细胞边界模糊。由图 2 可知,组织的各向异性因子图很好地揭示了癌化中细胞的这些变化。细胞核对应于各向异性因子较小的区域。对于分级为 1 级的乳腺癌组织,各向异性因子图中细胞的结构较为清晰;而对于分级为 3 级的乳腺癌组织,各向异性因子图中细胞的结构模糊,且各向异性因子总体变小。各向异性因子变小说明散射结构的尺度变小,这是癌化过程中细胞核内部分裂的直接表现。该结果说明,基于强度传输方程和 DIC 显微镜的定量相位成像技术不仅可以揭示组织形态的精细结构,还可以定量描述组织结构的微小变化。

根据癌症分级对 257 个病例的散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 的实验数据分布进行统计,结果如图 3 所示。为了减少组织切片差异引入的误差,每个病例采集 2~3 个区域,计算结果取平均

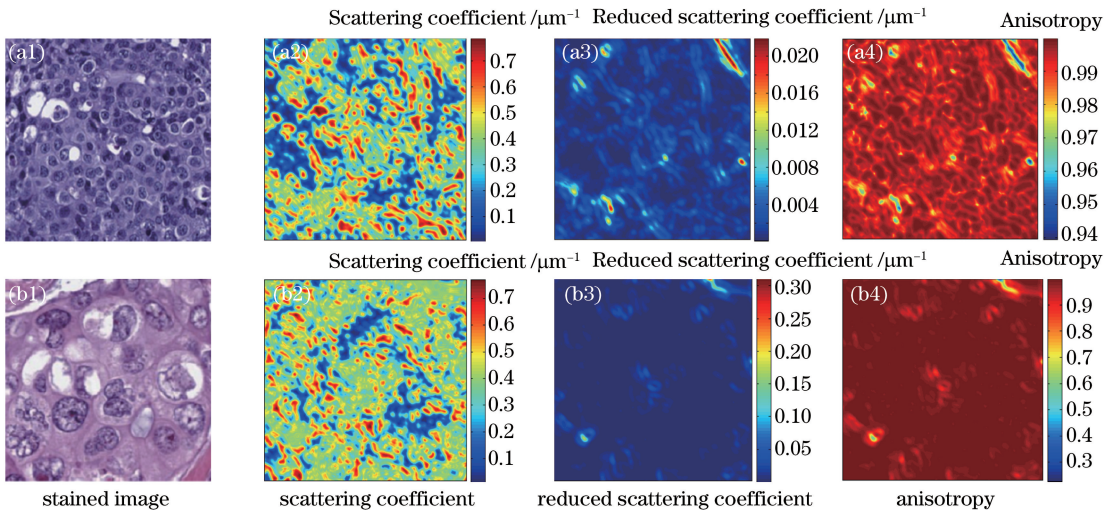


图 2 乳腺浸润性导管癌组织的成像结果。(a) 1 级;(b) 3 级

Fig. 2 Imaging results of invasive ductal carcinoma tissues. (a) Grade 1; (b) grade 3

后再进行统计。癌症分级则由经验丰富的病理科医生根据传统的病理学诊断方法确定。图 3 中各列从左往右分别对应于散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 和

各向异性因子 g 。由图 3 可知,随着癌症分级的提高,乳腺浸润性导管癌组织的散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 增大,各向异性因子 g 则相应减小。

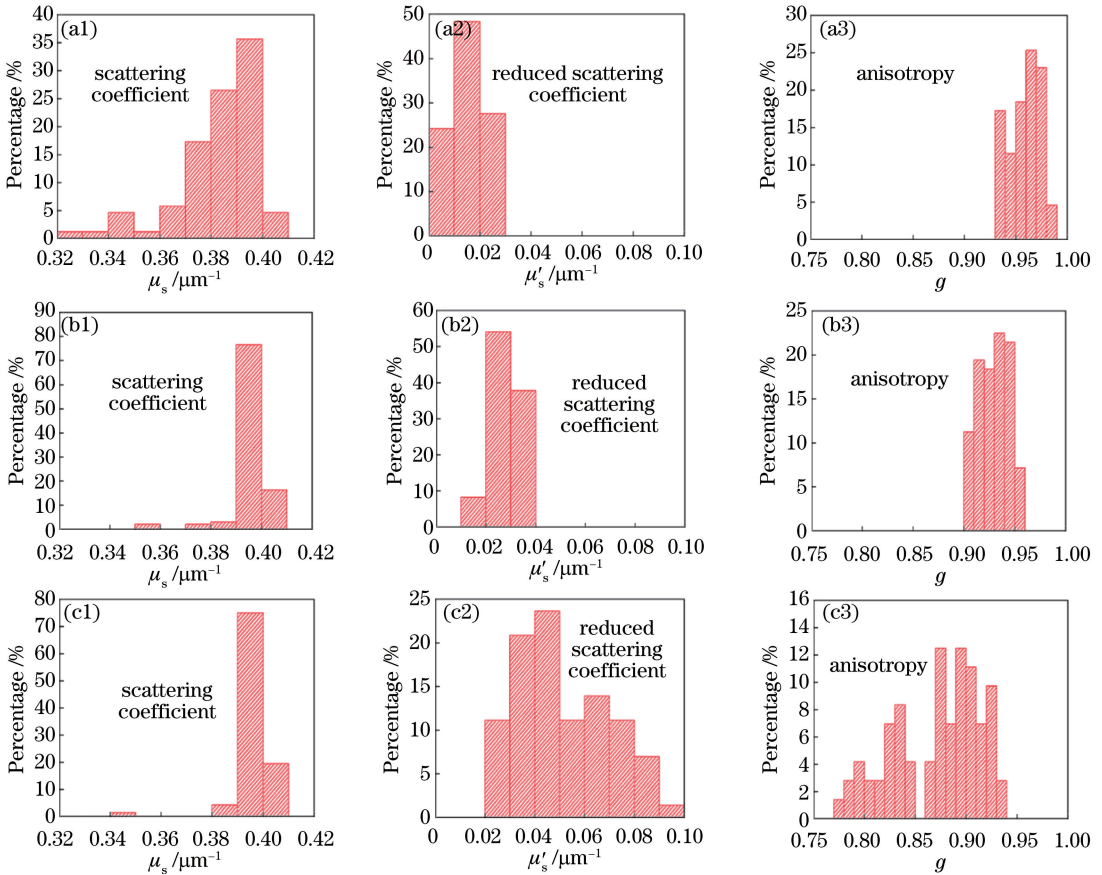


图 3 不同分级乳腺浸润性导管癌组织的散射系数、约化散射系数和各向异性因子的实验数据分布直方图。
(a) 1 级; (b) 2 级; (c) 3 级

Fig. 3 Histograms of scattering coefficient, reduced scattering coefficient, and anisotropy of invasive ductal carcinoma tissues with different cancer grades. (a) Grade 1; (b) grade 2; (c) grade 3

进一步根据癌症分级计算散射系数 μ_s 、约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 的测量平均值,并分析不同分级间各参数变化的显著性,结果如表 2 所示,其中括号内给出的是各测量值对应的标准差,不同分级间数据变化的显著性由显著性水平 P 值(t 检验)来衡量。由表 2 可知,虽然散射系数 μ_s 在 1~2 级乳腺浸润性导管癌组织之间的差异仍比较显著 ($P=3.5 \times 10^{-10}$),但在 2~3 级之间的差异则不再显著 ($P=0.58$)。散射系数 μ_s 与组织的质量密度相关。这说明早期癌细胞增殖组织的质量密度增加较快,当癌变达到一定程度后,组织的质量密度会趋于稳定。约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 在不同分级乳腺浸润性导管癌组织间的变化非常显著。随着癌症分级的提高,约化散射系数 μ'_s 的测量平均值从 $0.0160 \mu\text{m}^{-1}$ 增至 $0.0510 \mu\text{m}^{-1}$,各向异性因子

表 2 257 例乳腺浸润性导管癌组织切片的散射系数、约化散射系数和各向异性因子的实验测量结果

Table 2 Experimental results of scattering coefficient, reduced scattering coefficient, and anisotropy of tissue sections from 257 cases with invasive ductal carcinoma tissues

Grade	$\mu_s / \mu\text{m}^{-1}$	$\mu'_s / \mu\text{m}^{-1}$	g
1	0.3814 (0.0204)	0.0160 (0.0063)	0.9584 (0.0154)
2	0.3961 (0.0072)	0.0279 (0.0059)	0.9297 (0.0147)
3	0.3968 (0.0073)	0.0510 (0.0173)	0.8716 (0.0435)

g 的测量平均值则从 0.9584 减至 0.8716。其中, 1~2 级、2~3 级之间散射系数 μ_s 的 P 值分别为 3.5×10^{-10} 、0.59,约化散射系数 μ'_s 的 P 值分别为 5.1×10^{-28} 、 6.3×10^{-25} ,对应的各向异性因子 g 的 P 值分别为 1.9×10^{-27} 、 5.2×10^{-25} 。约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 的改变直接反映了组织在三

维结构上的微小变化。实验结果表明,约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 可用于有效区分处于不同癌症分级的乳腺浸润性导管癌组织。

4 数据训练与预测

根据表 2 的统计结果,选择约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 为特征值,利用支持向量机(SVM)建立乳腺浸润性导管癌组织的初步分级模型。选择 SVM 主要在于其在解决小样本、非线性及高维模式识别中表现出的特有优势。训练前首先分别对 μ'_s 和 g 进行归一化处理,并根据癌症分级将各病例的标签设置成 $-1, 0, +1$ (分别对应 1、2、3 级)。在 MATLAB 平台下利用 LIBSVM(3.22 版)工具箱进行相关训练^[25]。SVM 核函数选择高斯型径向基函数(RBF),即

$$K(\mathbf{V}_i, \mathbf{V}_j) = \exp(-\gamma \|\mathbf{V}_i - \mathbf{V}_j\|^2) \quad (11)$$

式中 K 为核函数, $\gamma > 0$ 为核函数参数, $\mathbf{V}_i, \mathbf{V}_j$ 分别

表 3 基于 SVM 的乳腺浸润性导管癌病理切片分级结果与病理诊断结果对比

Table 3 Comparison of diagnosis results of invasive ductal carcinoma given by SVM and pathological diagnosis

Pathology result		Predicting result based on SVM			Predicting accuracy / %
Grade	Case number	Grade 1	Grade 2	Grade 3	
1	17	13	4	0	76.5
2	19	0	18	1	94.7
3	14	0	1	13	92.9

5 结 论

定量相位显微成像技术与散射相定理相结合为研究癌变过程中组织形态和光散射特性的改变提供了一种有效手段。本研究针对乳腺浸润性导管癌的研究发现,癌症分级与组织的约化散射系数 μ'_s 及各向异性因子 g 高度相关。随着癌症分级的提高,乳腺浸润性导管癌组织的约化散射系数 μ'_s 显著增大,各向异性因子 g 显著减小。利用实验所得的约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g , 借助 SVM 建立了乳腺浸润性导管癌的初步分级模型,准确率可达 88%。分级模型中所用的约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 是对整个图像窗口的平均,如果将数据分析集中于细胞核、细胞间质等对癌变过程更敏感的区域,可能会进一步提高预测结果的准确度。

为了提高实验效率,选择未染色石蜡包埋的组织切片作为样品,基于 DIC 显微镜自身的无标记特点及优异的空间光学分层能力,后续实验可以采用新鲜组织或冰冻组织切片。此外,该定量相位显微成像系统直接建立在一台商品化的 DIC 显微镜上,

为第 i 、第 j 个特征值向量, $\|\cdot\|$ 表示范数。实验中通过选择核函数参数 γ 和惩罚参数 c (对误差的宽容度)来优化模型。利用网络搜索法和五折交叉验证,最终确定最优核函数参数 γ 和惩罚参数 c 分别为 0.5 和 32。在五折交叉验证的基础上,将所有数据按 80:20 的比例随机分成训练组和测试组。取 $\gamma=0.5, c=32$, 对训练组数据进行训练得到分级模型。随后,利用该模型对测试组数据(1 级 17 例, 2 级 19 例, 3 级 14 例, 共计 50 个病例)进行预测,结果如表 3 所示。由表 3 可知,预测结果准确率为 88%, 其中 1 级病例的预测准确率为 76.5%, 2 级病例为 94.7%, 3 级病例为 92.9%。分级模型中所用的约化散射系数 μ'_s 和各向异性因子 g 是对整个图像窗口的平均,可能会造成某些有用信息的丢失,这可能是导致 1 级预测结果准确率偏低的原因。如果将数据分析集中于对癌变过程更敏感的细胞核、细胞间质等特定区域,则可能进一步提高预测结果的准确度。

不涉及显微镜光路改造,且避免了复杂、耗时的迭代算法,可以方便地与荧光等其他显微成像手段结合,用于全面揭示癌化过程中组织从形态到生理状态的改变,因此在癌症诊断与预后中具有一定的应用前景。此外,本研究不是立足于正常组织与癌症组织的区分上,而是实现了不同癌症分级组织病理切片的分类,且获得了较高的预测准确度,在癌症诊断与预后方面具有更高的应用价值。

参 考 文 献

- [1] 陈竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008.
- [2] Laconi E, Doratiotto S, Vineis P. The microenvironments of multistage carcinogenesis[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2008, 18(5): 322-329.
- [3] Intes X, Chance B. Non-PET functional imaging techniques: Optical[J]. *Radiologic Clinics of North America*, 2005, 43(1): 221-234.
- [4] Dhar A, Johnson K S, Novelli M R, *et al.* Elastic scattering spectroscopy for the diagnosis of colonic lesions: Initial results of a novel optical biopsy technique[J]. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2006, 63

- (2): 257-261.
- [5] Bigio I J. Real-time pathology to guide breast surgery: Seeing alone is not believing [J]. *Clinical Cancer Research*, 2012, 18(22): 6083-6085.
- [6] Müller M G, Valdez T A, Georgakoudi I, *et al.* Spectroscopic detection and evaluation of morphologic and biochemical changes in early human oral carcinoma [J]. *Cancer*, 2003, 97(7): 1681-1692.
- [7] Wu T T, Qu J Y, Xu M. Unified Mie and fractal scattering by biological cells and subcellular structures [J]. *Optics Letters*, 2007, 32(16): 2324-2326.
- [8] Xu M, Wu T T, Qu J Y. Unified Mie and fractal scattering by cells and experimental study on application in optical characterization of cellular and subcellular structures [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, 13(2): 024015.
- [9] Uttam S, Bista R K, Hartman D J, *et al.* Correction of stain variations in nuclear refractive index of clinical histology specimens [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(11): 116013.
- [10] Wang Z, Tangella K, Balla A, *et al.* Tissue refractive index as marker of disease [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(11): 116017.
- [11] Sridharan S, Macias V, Tangella K, *et al.* Prediction of prostate cancer recurrence using quantitative phase imaging [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 09976.
- [12] Xu M. Scattering-phase theorem: Anomalous diffraction by forward-peaked scattering media [J]. *Optics Express*, 2011, 19(22): 21643-21651.
- [13] Iftikhar M, de Angelo B, Arzumanov G, *et al.* Characterizing scattering property of random media from phase map of a thin slice: The scattering-phase theorem and the intensity propagation equation approach [C]. *SPIE*, 2011, 7896: 78961O.
- [14] Kou S S, Waller L, Barbastathis G, *et al.* Transport-of-intensity approach to differential interference contrast (TI-DIC) microscopy for quantitative phase imaging [J]. *Optics Letters*, 2010, 35(3): 447-449.
- [15] Noguchi A, Ishiwata H, Itoh M, *et al.* Optical sectioning in differential interference contrast microscopy [J]. *Optics Communications*, 2009, 282(16): 3223-3230.
- [16] Zuo C, Chen Q, Qu W J, *et al.* Noninterferometric single-shot quantitative phase microscopy [J]. *Optics Letters*, 2013, 38(18): 3538-3541.
- [17] Cheng H, Shen C, Zhang C, *et al.* Phase retrieval algorithm combining transport of intensity equation and angular spectrum iterative [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2014, 41(6): 0609001.
程鸿, 沈川, 张成, 等. 强度传输方程和角谱迭代融合的相位检索算法 [J]. *中国激光*, 2014, 41(6): 0609001.
- [18] Zuo C, Chen Q, Sun J S, *et al.* Non-interferometric phase retrieval and quantitative phase microscopy based on transport of intensity equation: A review [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2016, 43(6): 0609002.
左超, 陈钱, 孙佳嵩, 等. 基于光强传输方程的非干涉相位恢复与定量相位显微成像: 文献综述与最新进展 [J]. *中国激光*, 2016, 43(6): 0609002.
- [19] Teague M R. Deterministic phase retrieval: A Green's function solution [J]. *Journal of the Optical Society of American*, 1983, 73(11): 1434-1441.
- [20] Cheng H, Zhang Q B, Wei S, *et al.* Phase retrieval based on transport-of-intensity equation [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2011, 40(10): 1566-1570.
程鸿, 章权兵, 韦穗, 等. 基于强度传输方程的相位检索 [J]. *光子学报*, 2011, 40(10): 1566-1570.
- [21] Mitome M, Ishizuka K, Bando Y. Quantitativeness of phase measurement by transport of intensity equation [J]. *Journal of Electron Microscopy*, 2010, 59(1): 33-41.
- [22] Allen L J, Oxley M P. Phase retrieval from series of images obtained by defocus variation [J]. *Optics Communications*, 2001, 199(1/2/3/4): 65-75.
- [23] Wiscombe W J. Improved Mie scattering algorithms [J]. *Applied Optics*, 1980, 19(9): 1505-1509.
- [24] Mätzler C. MATLAB functions for Mie scattering and absorption [M]. Berne: University of Bern, 2002: 1-24.
- [25] Chang C C, Lin C J. LIBSVM: A library for support vector machines [J]. *ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology*, 2011, 2(3): 1-27.