

· 特邀综述 ·

非标记、定量化的穆勒矩阵偏振成像在辅助临床诊断中的应用

沈元星^{1,2}, 姚悦³, 何宏辉¹, 刘少雄⁴, 马辉^{1,3,5*}

¹清华大学深圳国际研究生院, 广东省偏振光学检测与成像工程技术研究中心, 深圳市无损监测与微创医学技术重点实验室, 光学检测与成像研究所, 广东 深圳 518055;

²清华大学生物医学工程系, 北京 100084;

³清华大学清华-伯克利深圳学院, 广东 深圳 518071;

⁴深圳市第六人民医院(南山医院), 华中科技大学协和深圳医院, 广东 深圳 518052;

⁵清华大学物理系, 北京 100084

摘要 近年来,随着新型光学器件的出现与数据处理能力的提升,偏振光学成像技术在生物医学领域的应用逐渐增多。穆勒矩阵因可以完满地表述样品的偏振信息,且测量装置可与传统光学仪器兼容,非常适合于生物医学样品的研究。同时,与非偏振光学方法相比,穆勒矩阵对亚波长结构敏感,还可以额外提供包括双折射、二向色性在内的样品的光学各向异性信息。介绍了穆勒矩阵偏振成像的基本理论与装置,包括穆勒矩阵参量的提取、背向散射成像、偏振显微成像、偏振内窥与偏振染色等在生物医学检测中具有一定应用潜力的方法和技术,并展示了穆勒矩阵成像在肝癌、乳腺癌、胃肠肿瘤等多种病理组织辅助诊断中的最新研究进展。穆勒矩阵偏振成像作为一种非标记、定量化、无损伤的快速检测技术,在生物医学领域显示出了广阔的应用前景。

关键词 医用光学; 穆勒矩阵; 偏振测定; 散射; 微观结构; 生物医学

中图分类号 O436.3

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207001

Mueller Matrix Polarimetry: A Label-Free, Quantitative Optical Method for Clinical Diagnosis

Shen Yuanxing^{1,2}, Yao Yue³, He Honghui¹, Liu Shaoxiong⁴, Ma Hui^{1,3,5*}

¹Guangdong Research Center of Polarization Imaging and Measurement Engineering Technology, Shenzhen Key Laboratory for Minimal Invasive Medical Technologies, Institute of Optical Imaging and Sensing, Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong 518055, China;

²Department of Biomedical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

³Tsinghua-Berkeley Shenzhen Institute, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong 518071, China;

⁴Shenzhen Sixth People's Hospital (Nanshan Hospital), Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong 518052, China;

⁵Department of Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract Of late, with the emergence of new optical devices and technological advances in data processing, polarization techniques are being increasingly used in biomedicine. Mueller matrix calculus is suitable for describing the polarization properties of biomedical specimens because of its mathematical completeness and compatibility with common optical equipment. Compared with traditional non-polarization optical methods, Mueller matrix polarimetry is sensitive to the scattering induced by subwavelength structures and can provide more information about anisotropic optical properties, including the birefringence and diattenuation of a sample. In this review, we introduce

收稿日期: 2019-11-11; 修回日期: 2019-11-29; 录用日期: 2019-12-11

基金项目: 国家自然科学基金(61405102, 61527826, 41475125, 11174178, 11374179, 10974114, 60778044, 60578003, 61205199, 41106034)、深圳市科技计划(JCYJ20170412170814624)

* E-mail: mahui@tsinghua.edu.cn

Mueller matrix calculus and related technologies that have great application potential in biomedical studies, including the Mueller matrix decomposition and transformation methods, transmission Mueller matrix microscopes, backscattering Mueller matrix imaging equipment, Mueller matrix endoscopes, and polarization staining techniques. Further, we summarize the improvements in clinical diagnosis made using Mueller matrix polarimetry, such as detection of liver cancer, gastrointestinal cancer, and breast ductal carcinoma tissues. As a label-free, noninvasive, quantitative, and rapid imaging method, Mueller matrix polarimetry has broad application prospects in biomedical studies and clinical diagnosis.

Key words medical optics; Mueller matrix; polarimetry; scattering; microstructure; biomedicine

OCIS codes 110.5405; 120.5410; 260.5430; 290.5855

1 引 言

光学成像方法具有非侵入、低损伤、亚细胞分辨率等特点,在生物医学领域得到了广泛应用。其中,偏振成像方法因对组织的微观结构特征比较敏感,一直被视作极具潜力的非标记生物医学诊断工具之一。长期以来,受限于偏振光学仪器与偏振光学信息处理方法的成熟,基于偏振这一光的基本属性的方法学研究一直相对滞后。然而,近些年新型光源、偏振测量仪器的陆续发展,及数据计算能力的快速提升,使得偏振方法在不同领域受到越来越多学者的关注,生物医学光学就是其中的领域之一^[1-6]。大多数的生物组织都是高散射介质,当光在组织中传播并经历多次散射后,会损失原本携带的光学信息,并影响最终成像的对比度和分辨率^[7]。利用偏振技术对光子进行筛选,可以抑制这一部分散射光子对图像的影响,提高成像质量^[8]。此外,光在生物样品中传播时偏振态也会发生改变,而这些变化的偏振态包含了样品丰富的微观结构信息。

穆勒矩阵是一种能完全表征样品偏振属性的方法,无论是应用于厚组织的背向散射成像,还是薄切片组织的透射成像,其对病变组织的诊断能力是其他方法无法比拟的^[9-10]。穆勒矩阵对样本偏振信息的记录完整而全面,穆勒矩阵的测量方法丰富多样,测量设备的兼容性强,这些优势使得诸如显微镜、内窥镜等传统光学仪器可以通过升级已有的光路实现穆勒矩阵的测量,在不改变原有使用方式的前提下获得样本更多的微观结构信息,特别是亚波长微观结构的信息。此外,由于单个穆勒矩阵阵元与特定的微观结构缺乏明确的关联,且样品中各向异性结构的取向变化对穆勒矩阵测量结果的影响较大,因此,如何从穆勒矩阵中有效提取具有明确物理意义的参数是实际应用中面临的巨大挑战^[11]。当前,穆勒矩阵作为一种新兴的生物医学成像方法,已在多种癌组织检测中表现出了潜在的辅助诊断能力。本文将简要介绍穆勒矩阵的测量原理与装置,并着重

介绍穆勒矩阵偏振成像在生物医学光学领域取得的一些研究进展,初步展示基于穆勒矩阵的偏振测量及成像方法在生物医学领域的应用潜力。

2 原理与装置

2.1 穆勒矩阵透射与背向散射成像

穆勒矩阵偏振测量的一大优势是可以通过在传统的非偏振光学仪器中添加起偏装置(PSG)和检偏装置(PSA)来实现穆勒矩阵的测量,在不改变原有仪器设备使用习惯的前提下丰富所获取的样品结构信息。穆勒矩阵的测量方法有多种,可通过在 PSG 和 PSA 中分别旋转偏振片和四分之一波片,实现水平偏振光、垂直偏振光、45°线偏振光、135°线偏振光、左旋圆偏振光、右旋圆偏振光不同的起偏、检偏态组合,并测量 16 次或 36 次不同组合下的光强,从而计算得到样品的穆勒矩阵。考虑到实际操作过程中偏振片的旋转经常会引起图像的变形,因而目前更常用的穆勒矩阵测量方法是 Azzam^[12]提出的双波片旋转法。图 1 所示分别为在传统的实验室背向散射成像装置^[11]和商用透射显微镜^[13-14]中添加起偏装置、检偏装置进行相应升级,利用双波片旋转法实现的穆勒矩阵测量装置。其中,P 为线偏振片,QW 为四分之一波片,L 为透镜。这两种装置均采用红光 LED(中心波长 632 nm,带宽 50 nm)作为光源,测量时,起偏装置和检偏装置中的偏振片固定,且通光轴均处于水平方向,四分之一波片以 1:5 的转速比同步转动,波片每转动到一个特定位置,CCD 就记录一次光强信号。针对得到的 30 个原始光强值,使用傅里叶级数进行分解,将每个穆勒矩阵阵元用 α_n 、 β_n 组合表示,即可反解出样品的穆勒矩阵,公式为

$$I = \alpha_0 + \sum_{n=1}^{12} (\alpha_n \cos 2n\theta_1 + \beta_n \sin 2n\theta_1) \quad (1)$$

式中: α_n 、 β_n 为傅里叶系数; θ_1 为波片 1 的旋转角度; I 为每次测量得到的原始光强值。双波片旋转法的更多信息可参阅文献^[12],关于穆勒矩阵测量方法

的更多介绍可参阅文献[15-17]。

基于穆勒矩阵的偏振成像测量装置的主要优势在于其全面完整地提供了样本的定量的结构信息。传统的偏振光学仪器如偏振显微镜等,在白光照明下看到的是色彩斑斓的偏振干涉图像,这些图像适

合作作定性分析,而无法精确地定量测量,同时仅适用于观察样本中双折射的分布,无法反映复杂生物介质的退偏等信息。穆勒矩阵偏振成像方法弥补了这些不足,延伸了偏振光学成像的适用范围,更加符合临床应用上的需求。

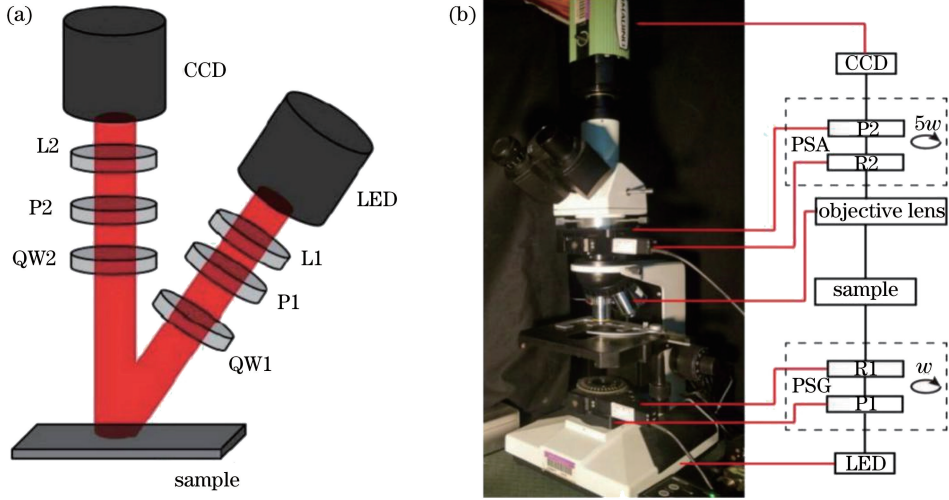


图 1 原理图。(a)穆勒矩阵背向散射成像原理图^[11]; (b)穆勒矩阵透射显微镜实物图及原理图^[14]

Fig. 1 Schematics. (a) Schematic of the backscattering Mueller matrix imaging equipment; (b) photograph and schematic of transmission Mueller matrix microscope

2.2 穆勒矩阵极化分解与穆勒矩阵变换

穆勒矩阵包含了丰富的样品微观结构信息,可以在临床诊断中用来区分不同的组织并进行诊断。然而,穆勒矩阵并不具有明确的物理意义。这意味着样品特定结构的变化会同时反映在多个穆勒矩阵阵元中,单一的穆勒矩阵阵元无法反映特定的微观结构特征,且包括穆勒矩阵在内的偏振测量方法均会受到样品中各向异性结构在成像面内方位角改变的影响^[11]。因此,在实际的生物医学应用中,如何从穆勒矩阵中获得一组分离了样品各向异性结构取向影响,且能反映特定结构信息的参量,就变得极为重要。目前已有多种穆勒矩阵参数的提取分析方法^[18-31],比较常用的有穆勒矩阵分解和穆勒矩阵变换法。

穆勒矩阵分解的基本思想是将光与介质的相互作用分解为简单的物理过程的组合,并基于此推导出具有明确物理意义的参数^[14-25]。常见的穆勒矩阵分解方法包括微分分解^[19-21]、极化分解^[27]等,其中,由 Lu 与 Chipman 于 1996 年提出的穆勒

矩阵极化分解(MMPD)法^[27]恰当地描述了类生物组织介质的主要偏振属性,因此在生物医学研究中应用得较为广泛。MMPD方法将光与生物介质的相互作用按照二向色性、相位延迟、退偏发生的先后顺序,分解为三个基本子矩阵相乘的形式,即

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_\Delta \mathbf{M}_R \mathbf{M}_D, \quad (2)$$

式中: \mathbf{M}_Δ 为退偏矩阵; \mathbf{M}_R 为相位延迟矩阵; \mathbf{M}_D 为二向色性矩阵。它们的表达式为

$$\mathbf{M}_\Delta = \begin{bmatrix} 1 & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{P}_\Delta & m_\Delta \end{bmatrix}, \mathbf{M}_R = \begin{bmatrix} 1 & 0^T \\ 0 & \mathbf{m}_R \end{bmatrix}, \quad (3)$$

$$\mathbf{M}_D = \begin{bmatrix} 1 & \mathbf{D}^T \\ \mathbf{D} & m_D \end{bmatrix}, \quad (3)$$

这里,二向色性矩阵 \mathbf{M}_D 可由(4)式推导出,

$$\begin{cases} D = \sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2}, D \in [0, 1] \\ \mathbf{D} = [M_{12} \ M_{13} \ M_{14}]^T \\ m_D = \sqrt{1 - D^2} \mathbf{I} + (1 - \sqrt{1 - D^2}) \mathbf{D} \mathbf{D}^T \end{cases}, \quad (4)$$

其中: \mathbf{I} 为 3×3 单位矩阵。随后,退偏矩阵 \mathbf{M}_Δ 可由(5)式推导出:

$$\begin{cases} \mathbf{M}' = \mathbf{M}\mathbf{M}_D^{-1} = \mathbf{M}_\Delta \mathbf{M}_R = \begin{bmatrix} 1 & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{P}_\Delta & \mathbf{m}_\Delta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{0} & \mathbf{m}_R \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{P}_\Delta & \mathbf{m}_\Delta \mathbf{m}_R \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & \mathbf{0}^T \\ \mathbf{P}_\Delta & \mathbf{m}' \end{bmatrix} \\ \mathbf{P}_\Delta = \frac{\mathbf{P} - \mathbf{m}\mathbf{D}}{1 - D^2} \\ \mathbf{m}_\Delta = \pm [\mathbf{m}'(\mathbf{m}')^T + (\sqrt{\lambda_1\lambda_2} + \sqrt{\lambda_2\lambda_3} + \sqrt{\lambda_3\lambda_1})\mathbf{I}]^{-1} \times [(\sqrt{\lambda_1} + \sqrt{\lambda_2} + \sqrt{\lambda_3})\mathbf{m}'(\mathbf{m}')^T + \sqrt{\lambda_1\lambda_2\lambda_3}\mathbf{I}] \end{cases}, \quad (5)$$

式中： $\mathbf{m}' = \mathbf{m}_R \mathbf{m}_D$ ； $\mathbf{P} = \mathbf{m}_R \mathbf{D}$ ； \mathbf{m} 为 3×3 的子矩阵； $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ 分别为 $\mathbf{m}'(\mathbf{m}')^T$ 的特征值。利用式(5)可继续推得相位延迟矩阵 \mathbf{M}_R 。由式(2)~(5)可推导得到由介质产生的具有明确物理意义的二向色性 D 、线性相位延迟 δ 、线性双折射快轴角度 θ 、旋光 ψ 、退偏 Δ 等参数，部分参数的具体表达为

$$\begin{cases} D = \sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2}, D \in [0, 1] \\ \delta = \arccos\{\sqrt{[\mathbf{M}_R(2, 2) + \mathbf{M}_R(3, 3)]^2 + [\mathbf{M}_R(3, 2) - \mathbf{M}_R(2, 3)]^2} - 1\} \\ \theta = 0.5 \arctan\left(\frac{r_2}{r_1}\right) \\ \Delta = 1 - \frac{|\text{tr}(\mathbf{m}_\Delta)|}{3}, \Delta \in [0, 1] \end{cases}, \quad (6)$$

关于 MMPD 参数的具体推导及更多细节可参阅文献[27-29]。

穆勒矩阵变换法(MMT)就是对一系列标准仿体的穆勒矩阵进行定量分析，提出与样品取向无关，仅体现样品本征结构属性的一组参量^[11, 30-31]的方法。本研究组发现，纤维结构的取向变化使得部分穆勒矩阵阵元的强度表现为周期性改变，并可以表达成三角函数的形式^[11]：

$$\begin{cases} m_{22} = t_1 \cos 4x + b \\ m_{33} = -t_1 \cos 4x + b \\ m_{23} = m_{32} = t_1 \sin 4x \\ m_{12} = m_{21} = 2t_2 \cos 2x \\ m_{13} = m_{31} = 2t_2 \sin 2x \\ m_{42} = -m_{24} = 2t_3 \sin 2x_3 \\ m_{34} = -m_{43} = 2t_3 \cos 2x_3 \end{cases}. \quad (7)$$

由此可从中获得一组独立变化的参数，对样品的不同属性进行表征，部分参数为

$$\begin{cases} 1 - b = 1 - \frac{m_{22} + m_{33}}{2} \\ t_3 = \sqrt{m_{42}^2 + m_{43}^2} \\ x_3 = \frac{1}{2} \arctan\left(-\frac{m_{42}}{m_{43}}\right) \\ x = \alpha = \arctan \frac{m_{23} + m_{32}}{m_{22} - m_{33}} \\ A = \frac{2b \cdot t_1}{b^2 + t_1^2}, A \in [0, 1] \end{cases}. \quad (8)$$

穆勒矩阵变换参数与样品结构之间的关系很明显，如： $1 - b$ 与样品的散射退偏能力相关，主要反映

微小散射结构的变化； A 反映样品的各向异性程度， A 越接近 1，表明纤维结构的密度越高且排列越有序； t_3 与样品线性相位延迟的大小有关； x_3, α 与样品的各向异性结构取向有关等。MMT 参数目前已被用于多种具有不同结构生物组织的成像^[14]。

3 穆勒矩阵成像在生物学中的应用

3.1 背向散射检测

作为描述介质偏振属性的方法，穆勒矩阵可以提供丰富的组织微观结构信息。考虑到厚组织具有较高的散射退偏特性，面向组织原位、在体成像应用时，通常需要使用背向散射检测方式。此外，大多数组织都包含胶原纤维、弹性纤维、肌纤维等各向异性结构，这些结构会引起二向色性与双折射的改变。大量的成像结果表明，样品的散射退偏特性主要表现在对角阵元 $m_{11}, m_{22}, m_{33}, m_{44}$ 中，非退偏介质的对角阵元值为 1，而退偏会使这些阵元值减小。其中线退偏主要体现在 m_{22} 和 m_{33} 阵元上，而圆退偏主要体现在 m_{44} 阵元上。来源于样品散射结构的各向异性体现在左上角的 3×3 阵元上，当样品中不存在各向异性散射结构时，表现为对角矩阵，若 $m_{12}, m_{13}, m_{21}, m_{31}$ 出现了正或负的取值，则表明该介质具有散射结构等引起的二向色性。来源于样品双折射的各向异性体现在右下角的 3×3 阵元上，若 $m_{24}, m_{34}, m_{42}, m_{43}$ 出现了正或负的取值，表明该介质存在双折射引起的相位延迟。如图 2 所示为 4 种具有典型结构特征的厚组织(鸡心肌组织、牛骨骼肌组织、猪肝组织、猪脂肪组织)的背向穆勒矩阵成

像结果,可以看到鸡心肌和牛骨骼肌组织的穆勒矩阵为非对角矩阵,且 m_{22} 与 m_{33} 存在差异,表明样品具有明显的各向异性。此外,由 m_{12} 、 m_{13} 、 m_{21} 、 m_{31} 取值的分布特征可以进一步看出,心肌组织与骨骼肌组织的纤维排列模式存在明显差异,这些差异导致了二向色性分布的变化,并可通过 2.2 节提到的穆勒矩阵分解法或变换法提取参数定量表征。与之相比,肝脏与脂肪组织具有大致相等的对角阵元取值,表明这两种组织为各向同性组织,且脂肪组织的

退偏特性更强。对于肝脏组织而言,其 m_{24} 、 m_{34} 、 m_{42} 、 m_{43} 阵元存在网格结构,这表明各向同性的肝小叶组织周围的结缔组织具有明显的双折射,通过进一步的计算分解或参数变换可得到双折射大小、光轴方向等信息。由此可见,穆勒矩阵可以反映生物组织的结构特征,这些信息具有成为诊断指标的潜力^[32]。由于基于穆勒矩阵的背向散射成像可用于非接触、无标记测量,因此这一方法已被应用于多种体表病变的检测^[31-35]。

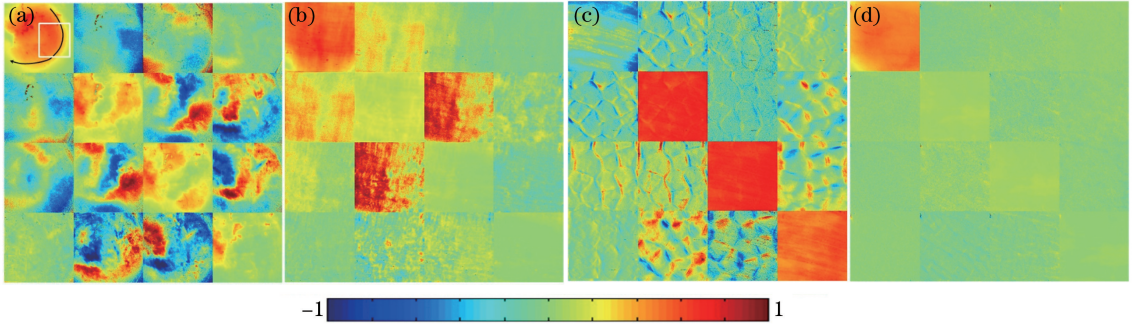


图 2 4 种生物组织的背向散射穆勒矩阵^[32],所有穆勒矩阵的阵元均根据 m_{11} 进行了归一化处理,对角阵元(m_{11} 、 m_{22} 、 m_{33} 、 m_{44})的色标范围为 $[-1,1]$,其余阵元为 $[-0.1,0.1]$ 。(a)鸡心肌组织, m_{11} 阵元中的黑色箭头表示肌纤维的取向; (b)牛骨骼肌组织;(c)猪肝脏组织;(d)猪脂肪组织

Fig. 2 Backscattering Mueller matrices of four biological samples^[32]. All the Mueller matrix elements are normalized by the m_{11} . The color codes are from -1 to 1 for m_{11} , m_{22} , m_{33} , and m_{44} , and from -0.1 to 0.1 for other elements. (a) Chicken heart tissue, the black arrow line in m_{11} indicates the approximate orientation of muscle fibers; (b) bovine skeletal muscle tissue; (c) porcine liver tissue; (d) porcine fat tissue

除了用于在体病理检测外,利用 MMPD 与 MMT 参量还可以量化地监测组织结构属性的改变。如图 3 所示,本课题组利用背向散射穆勒矩阵测量装置研究了裸鼠皮肤紫外线损伤特征,观察了三组裸鼠在皮肤未受到损伤、受到不同程度紫外线损伤后以及自我修复过程中,偏振属性的变化,并运

用穆勒矩阵及衍生参量进行量化分析。裸鼠在受到紫外线损伤及自我修复过程中,反映各向异性程度的参数 A 均表现为先下降后上升的趋势,使用防晒霜之后参数 A 的变化幅度减小,而对照组则表现为水平曲线,表明通过穆勒矩阵参数可实时定量地监控紫外线照射导致的正常皮肤组织有序纤维排列的

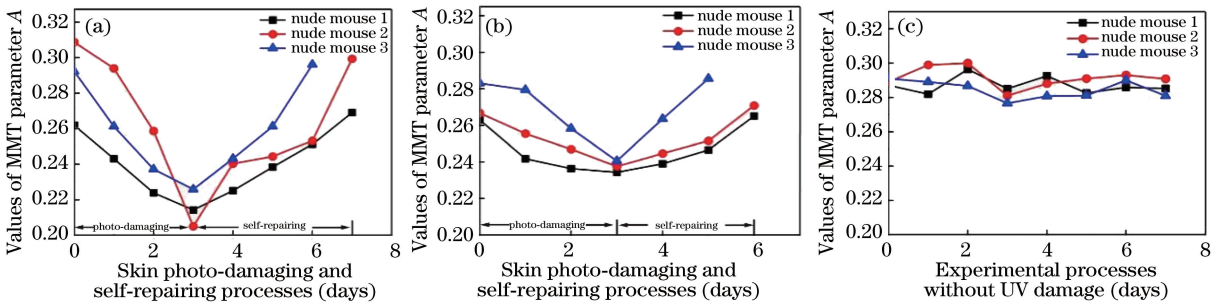


图 3 使用防晒霜前后裸鼠皮肤样品 MMT 参量 A 的均值曲线图^[36],所有分布曲线下面积已归一化,水平坐标轴均分为 400 份。(a)未使用防晒霜;(b)使用防晒霜;(c)对照组,未暴露于紫外线

Fig. 3 Average values of MMT parameter A for three nude mouse skin samples without and with the application of sunscreen^[36]. The areas under the frequency distribution curves are normalized to 1, and the horizontal axis is divided into 400 parts. (a) Without the application of sunscreen; (b) with the application of sunscreen; (c) not exposed to UV radiation

损伤程度,以及后续自我修复时纤维的恢复过程^[36]。穆勒矩阵成像具有的定量化分析能力,对以定性为主的传统病理诊断具有极佳的辅助诊断价值。

为了更好地理解生物组织偏振成像中对比度的形成机制,以便于对实际成像结果进行分析,可以采用蒙特卡罗模拟来研究光子在复杂介质中的背向散射过程^[37-38]。通过建立不同介质的光子散射与传播模型,如球-双折射模型^[39-41]、球-柱-双折射模型^[42-44]等,可以更好地研究光子与类生物介质的相互作用。球-柱-双折射模型已在多种生物样本成像结果中得到了验证^[45-47]。背向散射穆勒矩阵测量还可被应用于背向散射穆勒矩阵显微镜^[48]、穆勒矩阵内窥成像等^[49-53]。

3.2 透射检测

病理切片等薄组织样品(厚度为数微米)的散射退偏通常较弱,因此使用透射成像更加合适。穆勒矩阵透射显微镜是一种非标记的可用于组织切片样本检测的工具,采用它对包括肝癌^[54]、宫颈癌^[32]、甲状腺癌^[55]、乳腺癌^[14]、胃肠肿瘤^[56]等多种病变组织的研究结果表明,薄组织的偏振属性主要表现在双折射引起的线性相位延迟上,即 m_{24} 、 m_{34} 、 m_{42} 、

m_{43} 阵元。因此,基于 MMPD、MMT 获得的线性相位延迟 δ 、各向异性参量 t_3 、方向参量 x_3 、 θ 具有较大的应用潜力,有望为医生的诊断提供重要辅助。

穆勒矩阵偏振成像的一个典型应用场景即肝纤维化的定量检测。在肝组织病变过程中,炎症反应与纤维增生伴随着肝炎—肝硬化—肝癌的整个病变过程,这会使组织中的总纤维含量上升^[57]。基于这一特点,可以通过测量肝脏活检组织的穆勒矩阵参数对其纤维化程度进行定量化评估^[58]。本课题组利用穆勒矩阵透射显微镜测量了不同分期的肝组织病理切片,并将其由肝纤维化到肝癌的发展过程按照临床标准分为 F1~F4 期,结果表明,穆勒矩阵定量参数的改变可与肝脏病变过程、临床分期准确匹配^[54]。图 4 展示了研究中基于 MMPD 和 MMT 不同参量的定量分析结果,其中 θ 参量图反映了肝纤维化分布的取向, δ 参量体现出不同区域的肝纤维密度。进一步地,本课题将这些参数图像转化为如图 4(e)、(f) 所示的定量指标,以便于后续的诊断及分期(图 4 中的参数 t 即上文介绍的参数 t_3)。这一研究显示了穆勒矩阵参数在肝纤维化和肝癌临床病理诊断方面的应用潜力。此外,其他如甲状腺癌组织

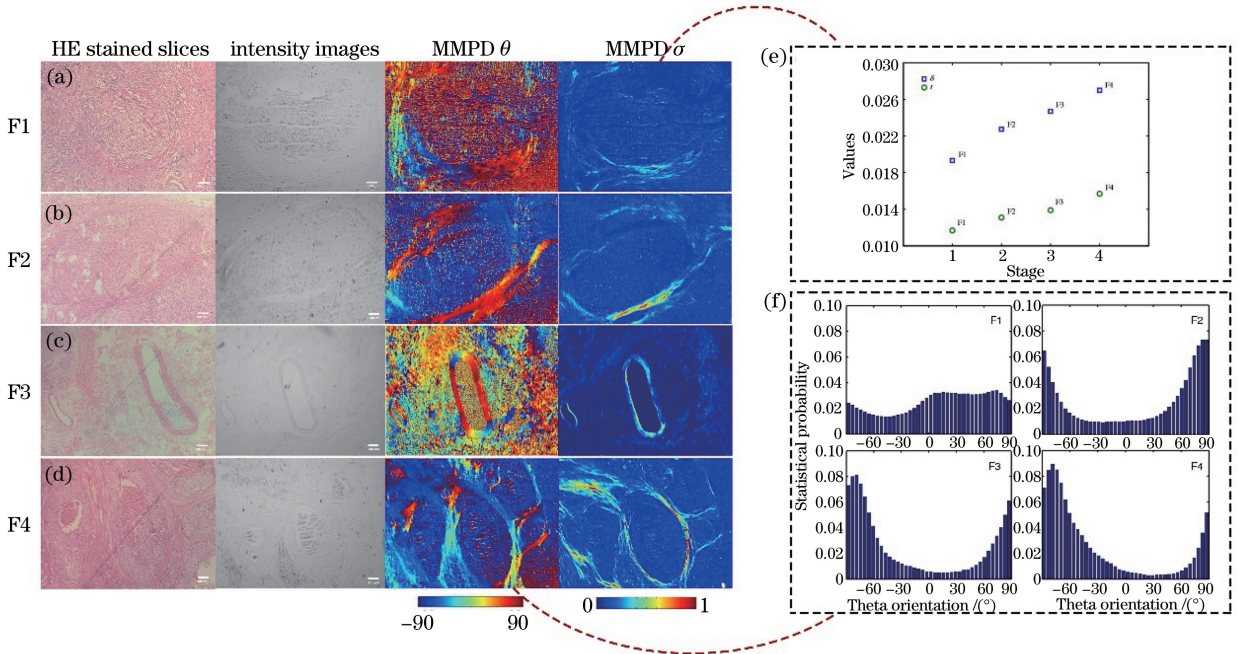


图 4 $8\ \mu\text{m}$ 厚肝纤维化组织脱蜡切片在不同分期的图像以及部分偏振参数的定量化表示^[54]。(a) F1 期;(b) F2 期;(c) F3 期;(d) F4 期;(e) 不同分期的相位延迟 δ 与 t 参量的均值图;(f) 不同分期的 θ 参量下纤维分布图像直方图

Fig. 4 Images of $8\text{-}\mu\text{m}$ -thick dewaxing slice of liver tissue with fibrosis in different stages and quantitative representation of some polarization parameters^[54]. (a) F1 stage; (b) F2 stage; (c) F3 stage; (d) F4 stage; (e) average experimental values of parameters δ and t in different stages; (f) statistical distribution histograms of experimental results for parameter θ in different stages

的纤维密度也会随着病变程度的加深而升高,这种变化同样可反映在相应的穆勒矩阵参数图像中^[55]。

除了纤维含量差异外,纤维的分布特征也有可能成为另一个判断病变程度的指标。临床上,克罗恩病(CD)和肠腔结核(ITB)均具有肉芽肿这一典型结构,而肉芽肿周围遍布着由炎症反应产生的纤维。本研究组使用穆勒矩阵透射显微镜成像后发现,在不同的参量图像下,这两种病变肉芽肿周围的纤维排布明显不同。如图5所示,克罗恩病组织的肉芽肿周边存在大股有序分布的纤维,而肠腔结核组织的肉芽肿周边则存在小股的网状排布纤维,且克罗恩病组织在单一区域内的肉芽肿的数量也略

多。基于这些结构差异,可以利用图像纹理方法区分上述两种病变,并可以提取辅助诊断的量化指标^[56]。

此外,本研究组在乳腺导管癌分期诊断研究中发现,在不同分期的样本中,纤维结构存在着明显不同的分布特征。从MMPD和MMT的部分参数图像中分割出纤维结构区域,然后使用灰度共生矩阵方法(GLCM)得到新的图像纹理特征参数,就可以对纤维结构进行量化评价^[14]。上述研究初步表明穆勒矩阵显微成像参数可以用于不同种类的病理组织的定量诊断,根据这些参数图像的纹理分析还可以获得更多具有临床应用价值的参数。

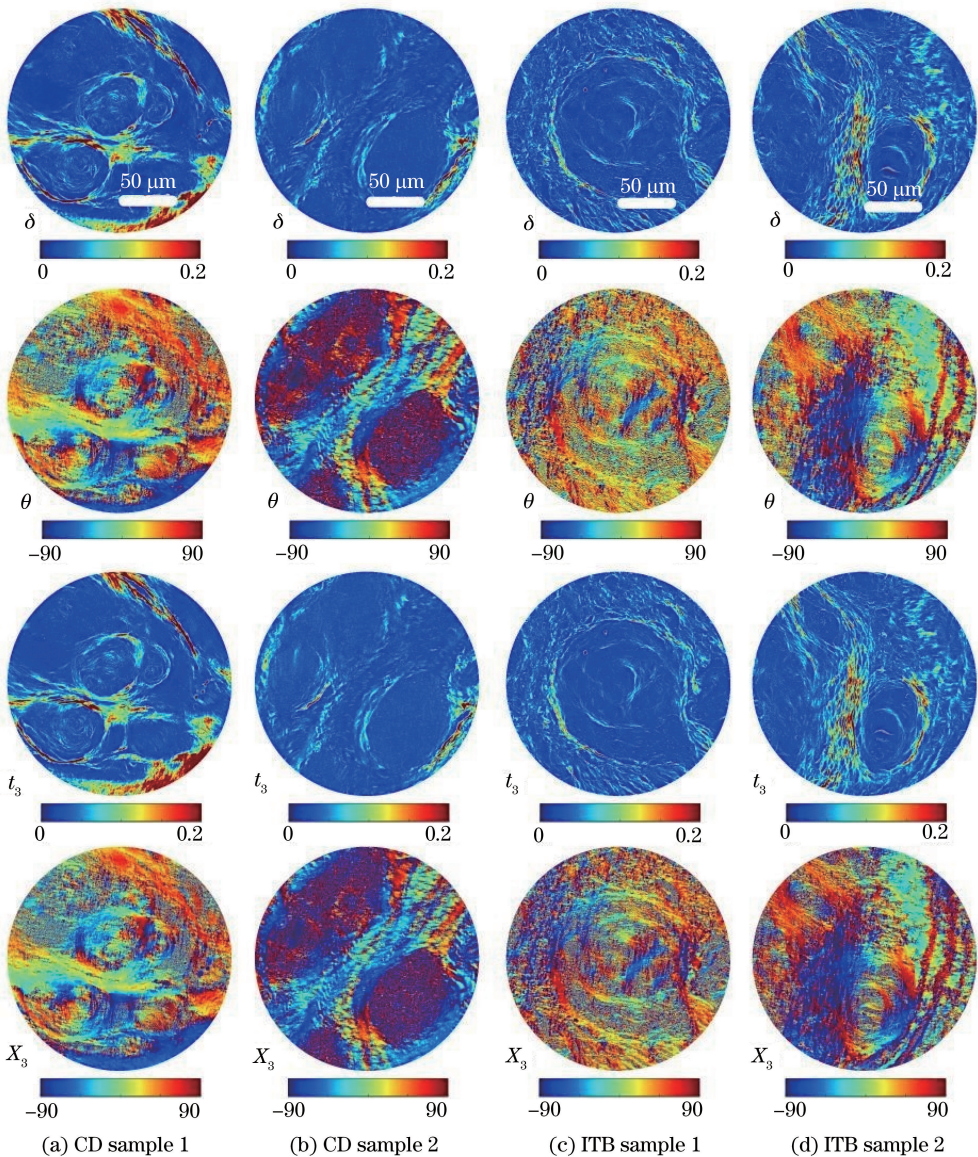


图5 穆勒矩阵衍生 δ 、 θ 、 t_3 、 x_3 参量图像^[56]。(a)(b)克罗恩病;(c)(d)肠腔结核

Fig. 5 Mueller matrix derived parameters images δ , θ , t_3 and x_3 ^[56].

(a)(b) Crohn's disease samples; (c)(d) gastrointestinal luminal tuberculosis tissues

3.3 穆勒矩阵成像研究的其他相关进展

近期,本研究与英国牛津大学某研究组开展合作,共同研究了自聚焦透镜阵列的相位调制机理,然后将该机理成功地应用于内窥镜原理样机中,对乳腺癌组织进行穆勒矩阵成像与量化分析。图6为该装置与现有穆勒矩阵透射显微镜成像结果的对比,可以看出,这一装置可以实现乳腺组织正常区域和病变区域较为准确的点探测区分^[59]。该项研究与前述内窥背向散射成像共同表明了穆勒矩阵偏振

成像在术中低损伤即时病理诊断方面具有极大的应用潜力,其易于量化的特点为辅助临床医生进行组织区分及良恶性判别提供了潜在可能,而这些恰恰是传统内窥镜所欠缺的。在传统的病理诊断中,为了观察不同的结构,需要使用不同的染色方法,如HE染色、免疫组化染色等。而基于穆勒矩阵参数的偏振染色方法通过不同参量的组合,就可以对切片实现不同的染色效果。如:利用 δ 、 θ 两个参量设计的“偏振染色”法,可以实现对非染色切片中的纤

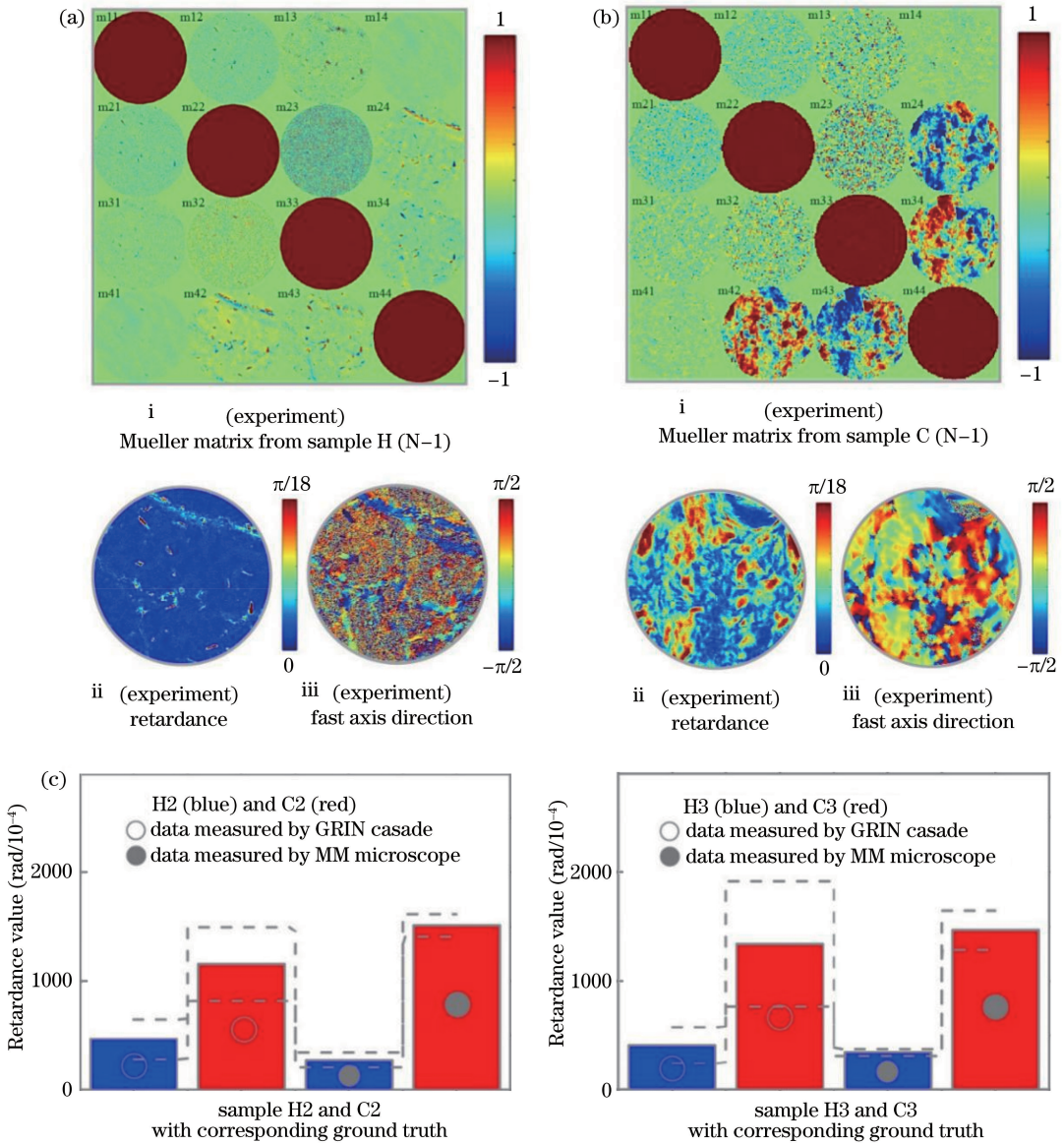


图6 不同样本的穆勒矩阵图、相位延迟图、快轴方向图,以及不同样本的自聚焦透镜检测与穆勒矩阵透射显微镜成像的相位延迟图像均值与标准差对比^[59]。(a)健康乳腺组织;(b)乳腺癌组织;(c)相位延迟图像均值与标准差对比

Fig. 6 Mueller matrixs, retardances and fast axis directions of the different samples and statistic histograms (mean value and the standard deviation of the retardance) of different samples measured by the GRIN lens cascades and a conventional MM microscope^[59]. (a) Healthy breast tissue samples; (b) breast cancer samples; (c) mean value and the standard deviation of the retardance

维结构实现虚拟染色。与传统的纤维染色方法相比,“偏振染色”法额外提供了纤维走向信息,并可实现定量分析,同时将染色时间从最快 1~2 h 缩短到 3~5 min,更加适合应用于术中的病理诊断。

除了数据分析和信息提取外,穆勒矩阵成像方法在硬件方面也取得了一系列进展。在成像速度方面,目前的分时穆勒矩阵测量装置所需时间仍偏长,仅适合于测量静态样品。为了实现动态样品的穆勒矩阵成像,可使用分焦平面(DoFP)偏振相机开发穆勒矩阵显微镜。DoFP 相机的每个像元传感器分别固定有不同取向的检偏元件,可以同时实现对不同角度线偏振光甚至圆偏振光的检偏,并即时成像。DoFP 还可以用于背向装置,如内窥镜,实现术中动态穆勒矩阵成像。随着硬件水平的快速提升,DoFP 正朝着小型化方向发展^[60]。除此之外,还可结合偏振与波长两个维度,实现多波长穆勒矩阵显微镜^[61]。与单色光穆勒矩阵显微镜相比,采用多波长穆勒矩阵测量可获取更多的关于组织的细节结构信息,并有助于了解成像对比度的来源。这些研究从不同的侧面完善了穆勒矩阵显微成像方法在生物医学领域的应用,弥补了现有实验装置的一些不足。

4 结束语

近些年来,新型光学器件与大数据分析技术的快速发展极大地促进了偏振成像与测量方法在生物医学领域的应用。穆勒矩阵成像作为一种新兴的偏振成像方法^[62-64],不但可以方便地与显微镜、内窥镜等传统的光学仪器融合,而且具有对组织的亚波长微观结构特征敏感,以及可提供样本丰富的微观结构信息等独特优势。然而,在真正将其应用于生物医学成像乃至临床之前,还需要解决如何获取特异性穆勒矩阵成像参量,研究样本库偏少及测量装置集成化小型化等问题。目前相关的研究尚主要集中于穆勒矩阵成像与测量数据解释分析、参数信息提取等方面,相关穆勒矩阵成像装置的产业化探索也才刚刚展开。随着偏振方法在生物医学研究领域关注度的提高,相信穆勒矩阵等偏振技术凭借测量快速、非标记、低损伤、易于量化的优势,将为精准诊疗等提供重要的辅助作用。

参 考 文 献

[1] Tuchin V V, Polarized light interaction with tissues [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(7): 071114.

- [2] Novikova T, Meglinski I, Ramella-Roman J C, et al. Special section guest editorial: polarized light for biomedical applications [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(7): 071001.
- [3] Wang L V, Cot' e G L, Jacques S. L. Guest editorial: special section on tissue polarimetry [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, 7(3): 278.
- [4] Ghosh N. Tissue polarimetry: concepts, challenges, applications, and outlook [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(11): 110801.
- [5] Tuchin V V, Wang L V, Zimnyakov D A. Optical polarization in biomedical applications [M]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2006.
- [6] Kunnen B, MacDonald C, Doronin A, et al. Application of circularly polarized light for non-invasive diagnosis of cancerous tissues and turbid tissue-like scattering media [J]. *Journal of Biophotonics*, 2015, 8(4): 317-323
- [7] Qiu L, Pleskow D K, Chuttani R, et al. Multispectral scanning during endoscopy guides biopsy of dysplasia in Barrett's esophagus [J]. *Nature Medicine*, 2010, 16(5): 603-606.
- [8] Gurjar R S, Backman V, Perelman L T, et al. Imaging human epithelial properties with polarized light-scattering spectroscopy [J]. *Nature Medicine*, 2001, 7(11): 1245-1248.
- [9] Qi J, Elson D S. Mueller polarimetric imaging for surgical and diagnostic applications: a review [J]. *Journal of Biophotonics*, 2017, 10(8): 950-982.
- [10] Alali S, Vitkin A. Polarized light imaging in biomedicine: emerging Mueller matrix methodologies for bulk tissue assessment [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(6): 061104.
- [11] He H H, Zeng N, Du E, et al. Two-dimensional and surface backscattering Mueller matrices of anisotropic sphere-cylinder scattering media: a quantitative study of influence from fibrous scatterers [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(4): 046002.
- [12] Azzam R M A. Photopolarimetric measurement of the Mueller matrix by Fourier analysis of a single detected signal [J]. *Optics Letters*, 1978, 2(6): 148-150.
- [13] Wang Y, He H H, Chang J T, et al. Differentiating characteristic microstructural features of cancerous tissues using Mueller matrix microscope [J]. *Micron*, 2015, 79: 8-15.
- [14] Dong Y, Qi J, He H H, et al. Quantitatively characterizing the microstructural features of breast ductal carcinoma tissues in different progression stages by Mueller matrix microscope [J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(8): 3643-3655.
- [15] Goldstein D H. Mueller matrix dual-rotating retarder

- polarimeter [J]. *Applied Optics*, 1992, 31 (31): 6676-6683.
- [16] Goldstein D H, Chipman R A. Error analysis of a Mueller matrix polarimeter[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1990, 7(4): 693-700.
- [17] David B, Pezzaniti J L, Chipman R A. Mueller matrix algorithms [J]. *Proceedings of SPIE*, 1992, 1746: 231-246.
- [18] Gil J J. Polarimetric characterization of light and media: physical quantities involved in polarimetric phenomena[J]. *Applied Physics*, 2007, 40 (1): 1-47.
- [19] Ortega-Quijano N, Arce-Diego J L. Mueller matrix differential decomposition[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(10): 1942-1944.
- [20] Ortega-Quijano N, Arce-Diego J L. Depolarizing differential Mueller matrices [J]. *Optics Letters*, 2011, 36(13): 2429-2431.
- [21] Ossikovski R. Differential matrix formalism for depolarizing anisotropic media [J]. *Optics Letters*, 2011, 36(12): 2330-2332.
- [22] Ossikovski R. Retrieval of a nondepolarizing estimate from an experimental Mueller matrix through virtual experiment[J]. *Optics Letters*, 2012, 37(4): 578-580.
- [23] Ossikovski R. Differential and product Mueller matrix decompositions: a formal comparison [J]. *Optics Letters*, 2012, 37(2): 220-222.
- [24] Ortega-Quijano N, Haj-Ibrahim B, García-Caurel E, et al. Experimental validation of Mueller matrix differential decomposition[J]. *Optics Express*, 2012, 20(2): 1151-1163.
- [25] Kumar S, Purwar H, Ossikovski R, et al. Comparative study of differential matrix and extended polar decomposition formalisms for polarimetric characterization of complex tissue-like turbid media [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(10): 105006-105312.
- [26] Goldstein D H. *Polarized light [M]*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2016.
- [27] Lu S Y, Chipman R A. Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1996, 13 (5): 1106-1113.
- [28] Ghosh N, Wood M F G, Vitkin I A. Mueller matrix decomposition for extraction of individual polarization parameters from complex turbid media exhibiting multiple scattering, optical activity, and linear birefringence [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, 13(4): 044036.
- [29] Ghosh N, Wood M F G, Vitkin I A. Polarimetry in turbid, birefringent, optically active media: a Monte Carlo study of Mueller matrix decomposition in the backscattering geometry [J]. *Journal of Applied Physics*, 2009, 105(10): 102023.
- [30] He H H, Chang J T, He C, et al. Transformation of full 4×4 Mueller matrices: a quantitative technique for biomedical diagnosis [J]. *Proceedings of SPIE*, 2016, 9707: 97070K.
- [31] He H, Zeng N, Du E, et al. A possible quantitative Mueller matrix transformation technique for anisotropic scattering media[J]. *Photonics & Lasers in Medicine*, 2013, 2(2): 129-137.
- [32] Sun M H, He H H, Zeng N, et al. Characterizing the microstructures of biological tissues using Mueller matrix and transformed polarization parameters [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5 (12): 4223-4234.
- [33] He H H, Sun M H, Zeng N, et al. Mapping local orientation of aligned fibrous scatterers for cancerous tissues using backscattering Mueller matrix imaging [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, 19(10): 106007.
- [34] Pierangelo A, Nazac A, Benali A, et al. Polarimetric imaging of uterine cervix: a case study [J]. *Optics Express*, 2013, 21(12): 14120-14130.
- [35] Pierangelo A, Manhas S, Benali A, et al. Multispectral Mueller polarimetric imaging detecting residual cancer and cancer regression after neoadjuvant treatment for colorectal carcinomas [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(4): 046014.
- [36] Dong Y, He H H, Sheng W, et al. A quantitative and non-contact technique to characterise microstructural variations of skin tissues during photo-damaging process based on Mueller matrix polarimetry [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 14702.
- [37] Cameron B D, Raković M J, Mehrübeoglu M, et al. Measurement and calculation of the two-dimensional backscattering Mueller matrix of a turbid medium [J]. *Optics Letters*, 1998, 23(7): 485-487.
- [38] Raković M J, Kattawar G W, Mehrübeoglu M, et al. Light backscattering polarization patterns from turbid media: theory and experiment [J]. *Applied Optics*, 1999, 38(15): 3399-3408.
- [39] Baravian C, Dillet J, Decruppe J P. Birefringence determination in turbid media [J]. *Physical Review E*, 2007, 75(3): 032501.
- [40] Wang X D, Wang L V. Propagation of polarized light in birefringent turbid media: a Monte Carlo study [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, 7(3): 279-290.
- [41] Wang X D, Wang L V. Propagation of polarized light in birefringent turbid media: time-resolved simulations [J]. *Optics Express*, 2001, 9(5): 254-

- 259.
- [42] Yun T L, Zeng N, Li W, et al. Monte Carlo simulation of polarized photon scattering in anisotropic media [J]. *Optics Express*, 2009, 17 (19): 16590-16602.
- [43] Du E, He H H, Zeng N, et al. Two-dimensional backscattering Mueller matrix of sphere-cylinder birefringence media [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(12): 126016.
- [44] Du E, He H H, Zeng N, et al. Characteristic features of Mueller matrix patterns for polarization scattering model of biological tissues [J]. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2014, 7 (1): 1350028.
- [45] He H H, Zeng N, Liao R, et al. Application of sphere-cylinder scattering model to skeletal muscle [J]. *Optics Express*, 2010, 18(14): 15104-15112.
- [46] Guo Y H, Liu C L, Zeng N, et al. Study on retardance due to well-ordered birefringent cylinders in anisotropic scattering media [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, 19(6): 065001.
- [47] Guo Y H, Zeng N, He H H, et al. A study on forward scattering Mueller matrix decomposition in anisotropic medium [J]. *Optics Express*, 2013, 21 (15): 18361-18370.
- [48] Chen Z H, Yao Y, Zhu Y H, et al. A colinear backscattering Mueller matrix microscope for reflection Muller matrix imaging [J]. *Proceedings of SPIE*, 2018, 10489:104890M.
- [49] Qi J, Ye M L, Singh M, et al. Narrow band 3×3 Mueller polarimetric endoscopy [J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, 4(11): 2433-2449.
- [50] Qi J, Elson D S. A high definition Mueller polarimetric endoscope for tissue characterisation [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25953.
- [51] Vizet J, Manhas S, Tran J, et al. Optical fiber-based full Mueller polarimeter for endoscopic imaging using a two-wavelength simultaneous measurement method [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21 (7): 071106.
- [52] Rivet S, Bradu A, Podoleanu A. 70 kHz full 4×4 Mueller polarimeter and simultaneous fiber calibration for endoscopic applications [J]. *Optics Express*, 2015, 23(18): 23768-23786.
- [53] Fu Y F, Huang Z W, He H H, et al. Flexible 3×3 Mueller matrix endoscope prototype for cancer detection [J]. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 2018, 67(7): 1700-1712.
- [54] Wang Y, He H H, Chang J T, et al. Mueller matrix microscope: a quantitative tool to facilitate detections and fibrosis scorings of liver cirrhosis and cancer tissues [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21 (7): 071112.
- [55] Du E, He H H, Zeng N, et al. Mueller matrix polarimetry for differentiating characteristic features of cancerous tissues [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, 19(7): 076013.
- [56] Liu T, Lu M, Chen B G, et al. Back cover: distinguishing structural features between Crohn's disease and gastrointestinal luminal tuberculosis using Mueller matrix derived parameters [J]. *Journal of Biophotonics*, 2019, 12(12): e201900151.
- [57] Xu S Y, Wang Y, Tai D C S, et al. qFibrosis: a fully-quantitative innovative method incorporating histological features to facilitate accurate fibrosis scoring in animal model and chronic hepatitis B patients [J]. *Journal of Hepatology*, 2014, 61(2): 260-269.
- [58] Dubreuil M, Babilotte P, Martin L, et al. Mueller matrix polarimetry for improved liver fibrosis diagnosis [J]. *Optics Letters*, 2012, 37 (6): 1061-1063.
- [59] He C, Chang J T, Hu Q, et al. Complex vectorial optics through gradient index lens cascades [J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4264.
- [60] Chang J T, He H H, Wang Y, et al. Division of focal plane polarimeter-based 3×4 Mueller matrix microscope: a potential tool for quick diagnosis of human carcinoma tissues [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(5): 056002.
- [61] Zhou J L, He H H, Chen Z H, et al. Modulus design multiwavelength polarization microscope for transmission Mueller matrix imaging [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, 23(1): 016007.
- [62] Wu C Q, Zhang R, Fan Y Y, et al. Convolution interpolation for division of focal plane polarimeter [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2019, 48(8): 0804001. 吴晨奇, 张然, 樊元义, 等. 分焦面偏振探测系统的卷积插值方法 [J]. *光子学报*, 2019, 48 (8): 0804001.
- [63] Yan Z G, Sun W P, Li J, et al. Identification of metals and dielectrics based on mueller matrix [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2019, 56 (14): 142401. 闫振纲, 孙卫平, 李杰, 等. 基于穆勒矩阵的金属和电介质识别方法 [J]. *激光与光电子学进展*, 2019, 56(14): 142401.
- [64] Xiao Y Y, Jiang X Y, Chen H. Measurement method of Müller matrix based on trajectories on Poincare sphere [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2018, 55(12): 122603. 肖悦娱, 蒋晓勇, 陈华. 基于邦加球轨迹的穆勒矩阵测量法 [J]. *激光与光电子学进展*, 2018, 55(12): 122603.