

高性能光学相干层析成像的研究

薛平

清华大学物理系低维量子物理国家重点实验室, 北京 100084

摘要 介绍了光学相干层析成像在不断提升其性能方面的一些研究,其中主要包括在成像的分辨率、成像速度、成像探头等基础核心指标方面大幅提升的代表性工作。综述了清华大学物理系近二十多年来在光学相干层析成像研究方面的一系列重要进展,包括取得了纵向分辨率为 $0.64\ \mu\text{m}$ 的高分辨率成像、E3.5 长时间细胞活体的亚细胞分辨成像,成功研制了速度高达 40 MHz 的高速扫频激光器,实现了基于光计算的每秒 1000 万次轴向线扫描的超高速实时光学成像信息处理等。

关键词 成像系统; 光学相干层析成像; 光纤激光器; 光在组织中传播; 光数据处理

中图分类号 TN247

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202148.1517001

1 引言

光学相干层析成像(OCT)技术是一种新型的无损、高分辨光学断层三维成像方法^[1],在生物、医学、材料等许多领域中有着非常重要的应用,是现代光学影像领域的研究热点之一。OCT 技术是美国麻省理工学院研究小组发明的一种新型的光学断层成像技术,自其诞生以来,得到了飞速发展。通过相干选通门等方法,以及计算机数字信号和图像处理技术,OCT 技术可以无损非接触式地得到所测样品的微米量级分辨率的精细结构断层图像,与超声成像相比,由于 OCT 使用的是光波而不是声波,故其具有远高于超声成像的分辨率。与其他常见的临床影像方法如 X 光计算机断层扫描(CT)成像和核磁共振成像(MRI)相比,OCT 图像的分辨率高近百倍,因而可得到细胞分辨水平的组织断层图像。同时由于它不需要切取待测组织样品,只需要在体进行光扫描即可成像,因此国际上形象地将之称为“光学活检”。它具有无损、高分辨率、无辐射的特点,在生物医学,特别是临床有非常重要的应用,因而在近期得到了飞速发展。

OCT 成像最初由 Huang 等^[1]于 1991 年提出,利用相干门在样品内沿深度方向移动来获取不同的位置信息,属于第一代的时间域 OCT(TD-OCT)。随后发展为通过单次测量光谱获得一线结构信息的第二代傅里叶域或频域 OCT(FD-OCT)。FD-OCT 有两种类型:基于 CCD (Charge-coupled Device) 的光谱仪探测式的光谱 OCT (SD-OCT) 和基于扫频激光器的扫频 OCT (SS-OCT)。FD-OCT 技术起源于 1995 年 Fercher 等^[2]提出的光谱干涉仪,其光源带宽为 3 nm,中心波长为 780 nm,实现了眼膜型内部的一维测距和人眼在体角膜厚度的测量。1998 年 Usler 等^[3]采用“相干雷达”(Coherence Radar)系统实现了人体皮肤表面形态的在体测量,但这一时期由于探测光谱仪的限制,成像速度和轴向分辨率都不是非常理想,所以该方法没有得到广泛应用。直到 2000 年后,随着半导体激光器和高速 CCD 的发展,系统的成像速度和轴向分辨率得到了很大的提高,FD-OCT 才逐渐成为了 OCT 领域中的研究热点。2002 年, Wojtkowski 等^[4]首次使用 FD-OCT 实现了人眼眼底视网膜成像。2003 年,杜克大学的 Izatt 研究小组^[5]、哈佛医学院的 Bouma

收稿日期: 2021-06-17; **修回日期:** 2021-07-01; **录用日期:** 2021-07-06

基金项目: 国家自然科学基金(69908004, 90508001, 61227807, 61575108)、科技部国家高技术研究发展计划(2006AA02Z472)、国家重点基础研究发展计划(2009CB929400)

通信作者: *xuep@tsinghua.edu.cn

研究小组^[6]、维也纳大学的 Fercher 研究小组^[7]几乎同时各自独立地验证了 FD-OCT 相比于 TD-OCT 在信噪比方面的巨大优势,从此 FD-OCT 得到了突飞猛进的发展。2004 年,Nassif 等^[8]首次使用工业高速线阵 CCD 搭建了超快 FD-OCT,同时也实验验证了 FD-OCT 系统的灵敏度比 TD-OCT 系统高 21.7 dB。2006 年,Srinivasan 等^[9]使用 A-scan 采集速度为 25 kHz 和轴向分辨率为 3 μm 的 FD-OCT 系统,得到了超高分辨率的眼底视网膜图像。2008 年至 2009 年,Fujimoto 研究小组和 Wojtkowski 研究小组采用高速线阵 CMOS 相机,分别得到了超过 300 kHz^[10] 和 135 kHz^[11] 的 A-scan 速度。2014 年,Kim 等用 FD-OCT 系统首次对人的中耳进行了实时成像^[12]。国内清华大学、浙江大学、华中科技大学、深圳大学和中科院等单位都开展了 OCT 的相关研究。随着 OCT 在实际临床中的应用需求越来越广,人们对 OCT 成像方法提出越来越高的要求。为满足这些要求,需从根本上提升成像的分辨率、成像速度以及多功能集成等基础核心性能。恰恰是这些需求,一直推动着 OCT 技术的不断发展,促使 OCT 成像性能越来越高。

本文针对 OCT 的重要核心指标,如成像分辨率、成像速度、成像探头等方面展开探讨。其中,重点阐述清华大学物理系在光学相干层析成像领域的一系列重要研究进展,包括实现纵向分辨率为 0.64 μm 的高分辨率成像、对胚胎细胞的长时间活体亚细胞分辨成像、速度高达 40 MHz 的高速扫频激光器的成功研制,以及基于光计算的每秒 1000 万次轴向线扫描的超高速实时光学成像信息处理等。

2 高性能 OCT 的核心指标

2.1 成像分辨率

作为一种新型的疾病早期诊断手段,光学相干层析成像分辨率十分重要,只有具有高分辨率的系统,才能在疾病的早期就分辨出结构上的微小异常。在 OCT 成像中,分辨率越高,其所能探测到的样品的微观信息就越丰富。

通常而言,OCT 的横向分辨率的提高主要是通过提高物镜的数值孔径来实现,但由于 OCT 的横向分辨率与焦深存在相互制约的关系,作为一种三维成像技术,OCT 需要针对实际应用情况,折中考考虑分辨率与焦深,以确保清晰成像的深度和质量。为避免提高横向分辨率的同时损害焦深,2014 年,Nankivil 等^[13]提出用贝塞尔光束成像的方法来兼

顾横向分辨率与焦深,2014 年,Marie 等^[14]提出了数字动态对焦法(Dynamic focusing),以期解决或改善焦深范围制约的问题。

另一方面,时域和频域 OCT 成像的纵向分辨率均依赖于光源的带宽。这也是 OCT 成像优于其他成像方法的原因所在。根据纵向分辨率的定义 $\xi = \frac{2 \ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda^2}{\Delta \lambda}$,可知 OCT 如果要达到超高分辨率,即亚微米至纳米级的纵向分辨率,就需要数百纳米甚至千纳米带宽的超宽带光源。对于常用工作中心波长在 1 μm 附近的 OCT 系统而言,这样的带宽是很大的;尤其是对于扫频激光器而言,实现这么大的带宽具有一定的困难;目前能透过如此大带宽的光学器件也不容易获得;为保证高分辨率,成像系统的样品臂和参考臂的色散要在大带宽范围内保证一致,即做到所谓的色散平衡,也具有相当大的难度。2002 年,Vabre 等^[15]使用卤钨灯得到了 1.2 μm 的纵向分辨率,但由于卤钨灯功率大且亮度不高,该种光源的使用受限。超发光二极管(SLD)自广泛应用以来,由于其有合适的带宽,且结构紧凑,性能稳定,成为 OCT 的常用光源之一。将几个中心波长不同的 SLD 适当组合,可以获得更宽的带宽,从而提高纵向分辨率。脉冲激光器的大规模使用,为 OCT 提供了一种新的超宽带光源。1995 年,Fujimoto 小组的 Bouma 等^[16]用脉宽小于 10 fs 的锁模钛宝石激光器,获得了 3.7 μm 的纵向分辨率。1999 年,Fujimoto 小组的 Drexler 等^[17]用带宽 300 nm 的钛宝石激光器,获得了 1 μm 的高纵向分辨率。虽然飞秒激光器能够达到很高的纵向分辨率,但由于其成本高且不易操作,很难作为 OCT 的常规光源。因此,提高 OCT 成像的纵向分辨率至亚微米,仍具有挑战性。

针对成像的分辨率,尤其是 OCT 的纵向分辨率,本课题组在 1998 年研究初期就在实验测量成像系统的点扩展函数的基础上,通过解反卷积算法,提高了成像的分辨率,使图像的纵向分辨率从 25 μm 提高为 2 μm ,改进了约一个数量级。如图 1(a)所示,系统的实际分辨率由点扩展函数的半峰全宽(FWHM)确定,为 25 μm 。通过对图 1(b)样品信号处理后,所得到的图 1(c)信号的半峰全宽仅为 2 μm ,这说明分辨率得到极大地提高^[18]。

进一步,本课题组通过将飞秒激光脉冲耦合到空气石英微结构光纤,获得了超高纵向分辨率的光学相干 CT 成像。根据理论将成像系统的灵敏度定

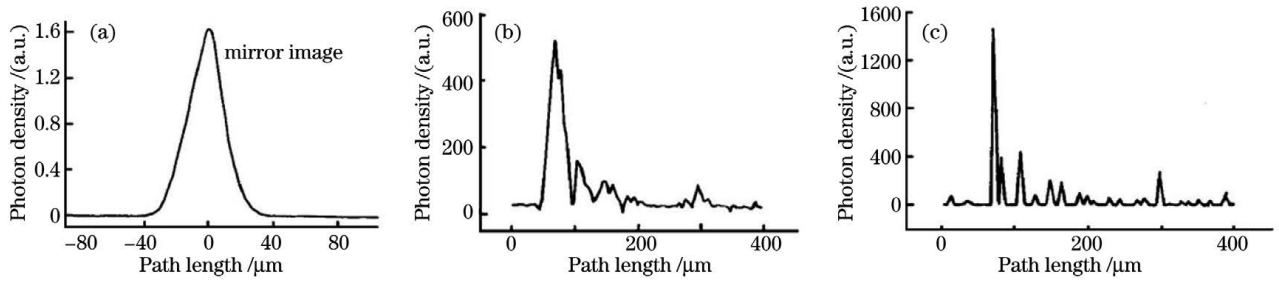


图 1 基于实测点扩展函数的 OCT 纵向分辨率的增强^[18]。(a) 实测的 OCT 系统纵向点扩展函数；(b) 实测的 OCT 纵向一线扫描的样品信号；(c) 解反卷积后的样品信号

Fig. 1 OCT longitudinal resolution enhancement based on measured point spread function^[18]. (a) Measured longitudinal point spread function of OCT system; (b) measured sample signal of OCT longitudinal line scan; (c) sample signal after deconvolution

义为 $R = \eta P_s / (h\nu B)$, 其中 η 、 P_s 、 h 、 ν 、 B 分别为探测器量子效率、样品光强度、普朗克常数、光频和探测带宽。实验中样品的光功率为 3 mW, 可知理论上的最高灵敏度为 115 dB, 实验测量值为 108 dB, 仅仅比理论极限低 7 dB。利用波长中心在 540 nm 的超连续光谱, 光谱范围为 450~700 nm, 实验获得

的自由空间纵向分辨率高达 $0.64 \mu\text{m}$, 由空气中的分辨率除以组织的折射率 (约等于 1.35) 可得组织中的实际空间分辨率为 $0.64 \mu\text{m} / 1.35 = 0.47 \mu\text{m}$ 。这个 OCT 的深度分辨率, 目前依然属于本领域最高分辨率之一^[19]。图 2(a) 是通过光谱分析仪测量得到的准直后超连续光谱的频谱, 所测量到的频谱

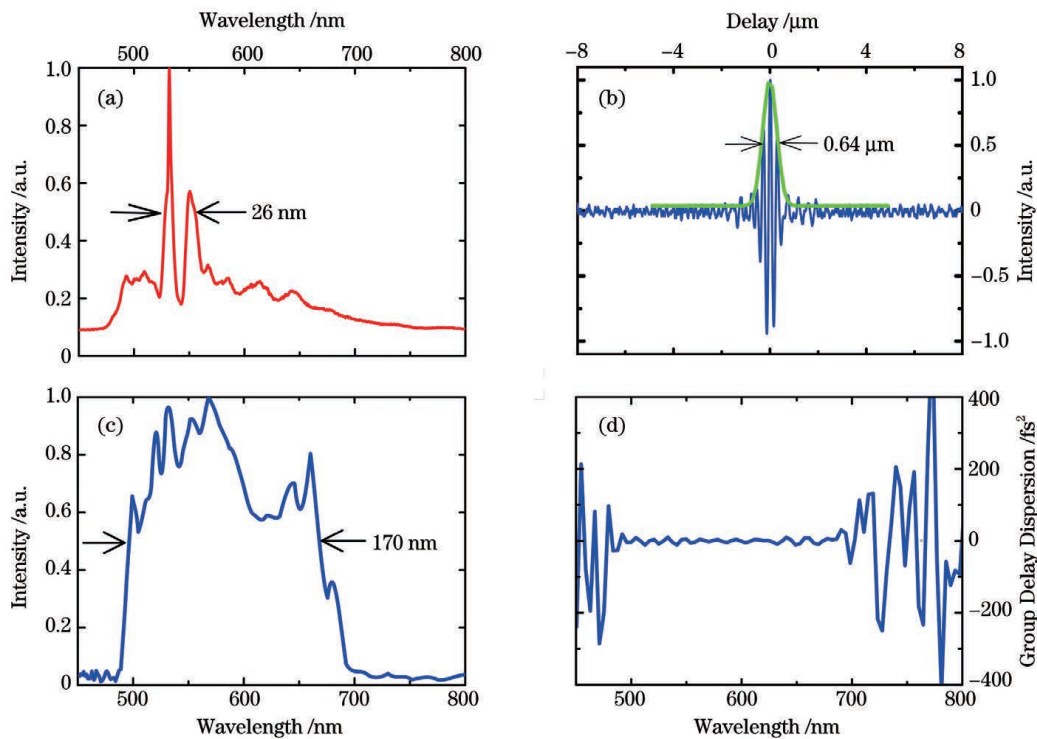


图 2 OCT 测量曲线 (图中竖直的虚线标示出明显的相关光谱特征)^[19]。(a) 光谱整形前晶体光纤出射的典型光谱；(b) 用反射镜为样品扫描得到的干涉信号, 其包络的半峰全宽为 $0.64 \mu\text{m}$ ；(c) (d) 通过图 2(b) 中干涉信号的傅里叶变换得到的实际探测响应的频谱及其相位失配曲线

Fig. 2 OCT measurements (The vertical dotted lines in the figure indicate the relevant distinct spectral features)^[19]. (a) Typical spectrum of crystal fiber emission before spectral shaping; (b) interference signal obtained by scanning a sample with a reflector, in which the half-height full width of the envelope is $0.64 \mu\text{m}$; (c) (d) spectrum and phase mismatch curve of the actual detection response obtained from the Fourier transform of the interference signal in Fig. 2 (b)

中心为 540 nm, 半峰全宽为 26 nm。探测器测量得到的光的干涉信号及其包络线如图 2(b) 所示。将此干涉信号作傅里叶变换, 就可以计算出探测器实际探测响应的光频谱范围, 如图 2(c) 所示。通过计算图 2(b) 中干涉信号包络的半峰全宽, 即可得到自由空间的 OCT 纵向分辨率。样品臂和参考臂的光群速度延迟或色散失配, 可以通过干涉信号的傅里叶变换的相位信息获得, 如图 2(d) 所示。可以看到, 色散失配在 480 nm 至 700 nm 区间很小, 这说明样品和参考臂的色散大光谱范围精准相等, 不会因失配降低分辨率。这也是确保获得高分辨率的重要原因之一。

如前所述, 为了获得更大范围的深度成像,

OCT 横向分辨率相对较低, 以保证有较大的焦深使得成像范围内的图像都具有较高的分辨率。但是, 对于微区成像, 特别是对于细胞水平的高清成像, 不仅要求深度分辨率高, 对横向分辨率也提出了较高的要求。为此, 本课题组 2012 年搭建了全场 OCT (FF-OCT) 系统, 为了精准匹配色散, 利用两个相同的水浸显微镜物镜(尼康 20 \times , 0.5 NA, NA 为数值孔径), 实现了横向分辨率为 0.7 μm 的显微成像, 而光源的中心波长为 600 nm、带宽为 180 nm, 对应在水中的分辨率也为 0.7 μm , 由此说明成像系统在三维方向的空间分辨率均为 0.7 μm 。由于全场 OCT 光照剂量远小于共聚焦显微成像, 因而可对活细胞进行长时间的活体成像。如图 3 所示, 本

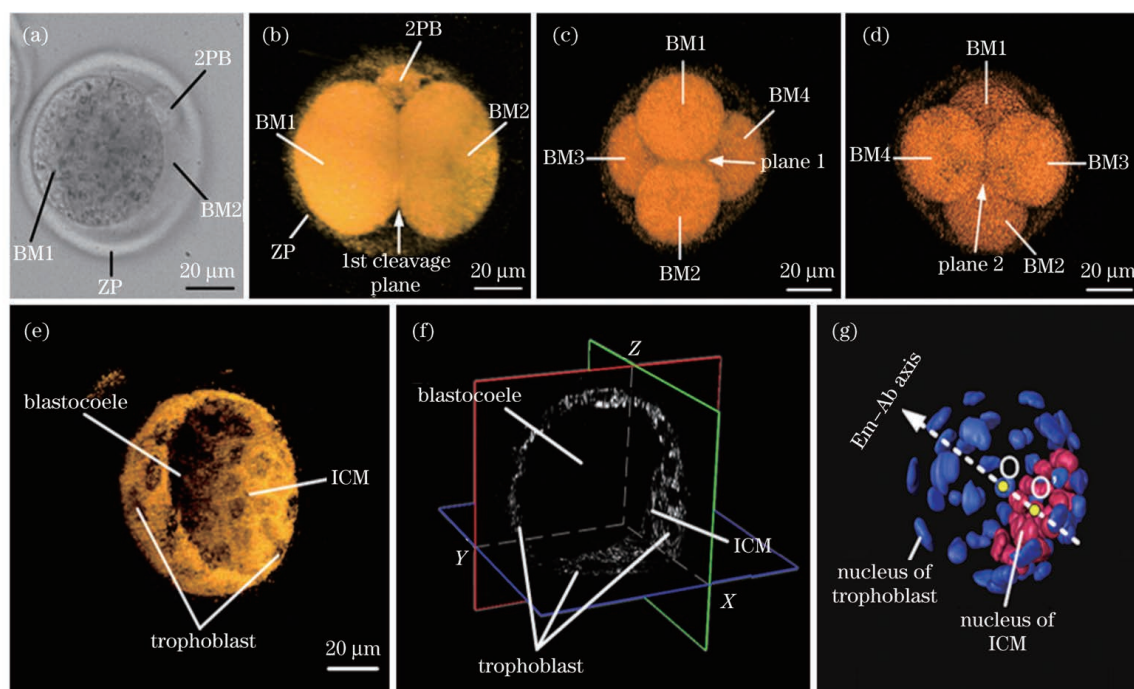


图 3 小鼠亚细胞活体成像^[20]。(a) 常规显微镜两细胞期胚胎的二维图像, 在观察平面, 受精卵分裂的平面即卵裂面(2PB)和卵裂球 2 (BM2) 均被卵裂球 1 (BM1) 所遮挡; (b) 对同一胚胎进行全场 OCT 成像, 并对 3D 数据集作旋转操作进行三维重建, 所得主要结构能够清楚显现; (c) 三维重建的四细胞阶段的胚胎, 在平面 1, 可以观察到 BM1 和 BM2 相互接触; (d) 相反的视角, 在与平面 1 垂直的平面 2 上可以观察到 BM3 和 BM4 接触; (e) 囊胚的三维重建; (f) 同一胚泡的横切面, 从中可以清晰分辨囊胚腔、滋养层和内细胞团(ICM); (g) 三维重建囊胚的分节细胞核, 其中点 O 是整个胚泡的几何中心, 点 O' 是 ICM 的中心, Em-Ab 轴是由包含两点 O 和 O' 的直线定义的

Fig. 3 Subcellular imaging of mice *in vivo*^[20]. (a) 2D image of a two-cell stage embryo with conventional 2D microscope, in the observation plane of which the first cleavage plane (2PB) and Blastomere 2 (BM2) are blocked by Blastomere 1 (BM1); (b) 3D reconstruction of the same embryo after rotational operation to the 3D dataset of FF-OCT, from which we can see that major structures are all clearly revealed; (c) 3D reconstruction of a four-cell stage embryo, in the plane 1 of which BM1 and BM2 contact with each other; (d) at the opposite angle of view, in the plane 2 perpendicular to plane 1, we can see that BM3 and BM4 contact with each other; (e) 3D reconstruction of a blastocyst; (f) cross-section view of the same blastocyst, in which blastocoele, trophoblast, and inner cell mass (ICM) are clearly visible; (g) 3D reconstruction of the segmented nuclei of this blastocyst, in which point O is the geometry center of the whole blastocyst and point O' is that of the ICM, and Em-Ab axis is defined by the line which contains the two points O and O'

课题组对小鼠受精卵从单个细胞、两细胞、四细胞一直发育形成囊胚(为期 3.5 天,记为 E3.5),进行了实时动态的活体三维断层成像。对植入前小鼠胚胎发育进行了不需要染色标记的三维亚细胞活体成像,定量测量了与早期模式和极性有关的参数,如受精卵中透明带的形状、第二极体位置、受精卵分裂的平面即卵裂面、囊胚轴等^[20-21];并进一步对减数分裂和有丝分裂中的纺锤体进行成像^[22],如图 4 所示。这些研究有助于加深人们对哺乳动物发育的相关生物学规律的认识,也为遗传性基因缺陷疾病的早期筛查提供了一种可能的新方法。博士生郑京镐也因其对这些工作的贡献,获得 2013 年本领域知名的 OCT News Student Paper Award,全球共 4 位学生获奖,郑京镐是唯一来自中国的学生^[23]。

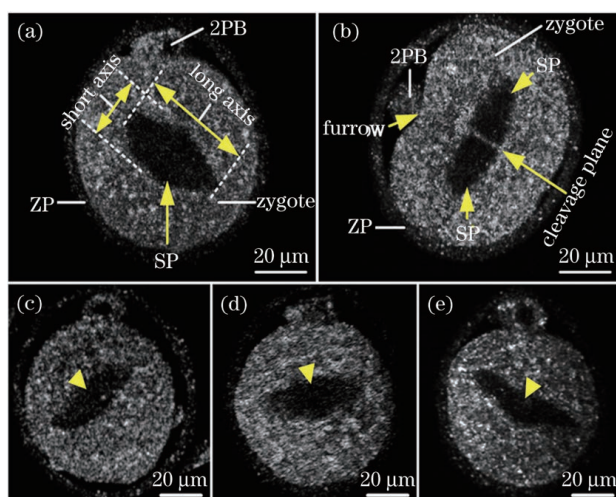


图 4 受精卵成像^[22]。(a)中期受精卵;(b)末期受精卵;
(c)~(e)其他具有有丝分裂纺锤体的受精卵(箭头处)

Fig. 4 Imaging of the zygotes^[22]. (a) Zygotes image at metaphase; (b) zygotes image at telophase; (c)-(e) other zygotes with mitotic spindles (arrow)

2.2 成像速度

和传统的 TD-OCT 相比,FD-OCT 不再依靠机械扫描来获得生物组织深度方向的一线扫描(A-scan)信号,其成像速度从传统时域方法的每秒几帧,发展到频域方法的每秒近百帧,提升显著。FD-OCT 相比于 TD-OCT 在信噪比方面具有巨大优势,因此 FD-OCT 得到了突飞猛进的发展。除前述进展外,2008 年 Donghak 等^[24]基于并行光探测技术,使用 Mach-Zehnder 干涉仪和拥有 256 个通道的波分复用器,实现了将宽带光等频率间距地分为多个单个频率并对其分别探测的目的,该系统也被称作光学波分复用 OCT(optical demultiplexer-

OCT)。该系统类似于 SD-OCT 系统,以 60 MHz 的线扫描频率保持着 SD-OCT 类系统的最高纪录。而 FD-OCT 技术的另一条发展路线则是所谓的基于扫频激光器的扫频 OCT,即 SS-OCT。此时 OCT 的成像速度取决于扫频光源的扫频速度。1997 年 Golubovic 等^[25]利用快速调谐的 $\text{Cr}^{4+}:\text{forsterite}$ 激光器实现了 2 kHz 的高速宽带波长扫描。2003 年开始,基于半导体光放大器(SOA)的扫频激光器出现,推进了 SS-OCT 的高速发展,Axsun Technologies 公司将激光器的扫描速率提升至 100 kHz。随后傅里叶锁模技术(FDML)出现,2010 年,Huber 小组^[26]使用多重 Buffer 技术将 FDML 整体的单向扫频速度提高至 5.2 MHz,而 4 个入射样品窗口的使用,使得总的扫描速率达到空前的 20.8 MHz。

一般而言,扫描速度的快慢,决定了成像速度的大小。但是当速度越来越快的时候,图像的数据量也越来越多,数据的处理时间就变成影响成像的制约因素。假设一个三维图像,沿三个维度都是 1000 个点,则图像就包含 10^9 个点,如果每秒刷新 30 次能够满足人眼的视频速度,则图像数据量将高达 30 Gbit/s,这就是所谓的 3D OCT 实时成像。可以看出,3D OCT 实时成像要求扫频激光的速度达到 30 MHz。目前,人们往往先采集大量的数据,然后进行数据处理,最后再显示图像。显然这种非实时显示的图像在实际应用中具有局限性。因此,如何提高数据的处理速度,也是最终提高实时成像速度的一个研究课题。

下面介绍本课题组在提高成像速度方面的相关工作,包括高速扫频激光器和高速数据处理的光计算等的研究进展。

一般 SS-OCT 的扫频激光器,扫描时频率或波数随时间不是线性变化,因此,后续数据处理需要进行线性校正处理,但是快速成像产生的海量数据需要处理很长的时间,因此如果能搭建快速线性扫频的激光器,就可以省去这部分时间,有助于加快成像速度。本课题组利用由声光偏转器和闪耀光栅等构成的滤波器,成功研制出 $2 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ 的高速扫频激光器,并且具有频率随时间扫描高度线性(线性系数达 0.99997)变化的特性,避免了传统扫频光源所需要的信号重采样和校正运算,极大地提高了成像速度,可达每秒上千帧的成像速度。该激光器也是当时世界上基于单一滤波器频率线性扫描最快的激光器。激光器扫描范围约 50 nm,中心波长为 1064 nm,

相干长度为 2 mm, 输出功率约 2.6 mW^[27]。该工作被认为是扫频激光器研究的重要进展, 并经由文

献^[28]进行了重点介绍和宣传。

图 5 所示为波数线扫描激光器的原理图。

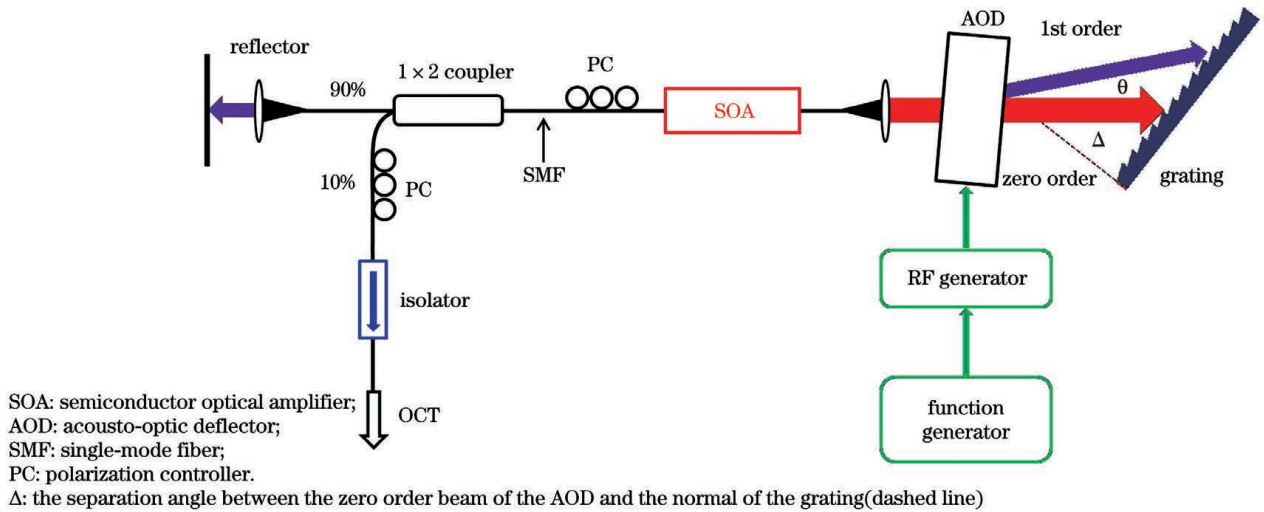


图 5 波数线扫描激光器的原理图^[27]

Fig. 5 Schematic of the k-linear swept laser^[27]

上述扫频激光器, 对于实现实时 3D OCT 成像的扫频激光速度要求(达到 30 MHz)还有差距。为此, 进一步研发了一种无惯性限制的基于全光的扫频激光器, 扫频速率为 40 MHz, 输出功率为 41.2 mW, 调谐范围为 40 nm, 波数扫描线性度 Pearson 相关系数 r 为 0.9996。该激光器如图 6 所示, 由一个超连续激光、一个光学带通组成的滤波器、线性啁啾光纤布拉格光栅、掺铒光纤放大器(EDFA)和两个缓冲级构成。这是真正进行生物组织高速成像且扫频速度最快的激光器^[29]。此前世界最快的扫频激光器的扫频速率为 20 MHz, 带宽仅为 9.2 nm, 是由加拿大 Park 研究组研制出来的。

如图 6 所示, 脉冲宽度为 150 ps、输出功率为 2 W、光谱范围为 460~2000 nm 的超连续白光光源(SC)提供了一个重复频率为 10 MHz 宽频脉冲激光序列, 该序列被耦合入单模光纤(SMF), 由光纤环行器和线性啁啾布拉格光纤光栅 1 滤波后, 得到中心波长为 1550 nm, 半峰全宽为 52 nm 的光谱, 然后进入由光纤环行器和线性啁啾布拉格光纤光栅 2 组成的光子时间延伸器。每个频谱脉冲被布拉格光纤光栅 2 的大群速度色散转换成占空比 < 25% 的时域波形, 后续由单模光纤和 2x2 光纤耦合器组成的缓冲级将波形的占空比填充至 100%。最后经过掺铒光纤放大器, 整形频谱, 增加激光功率, 以获得更好的成像灵敏度和分辨率。

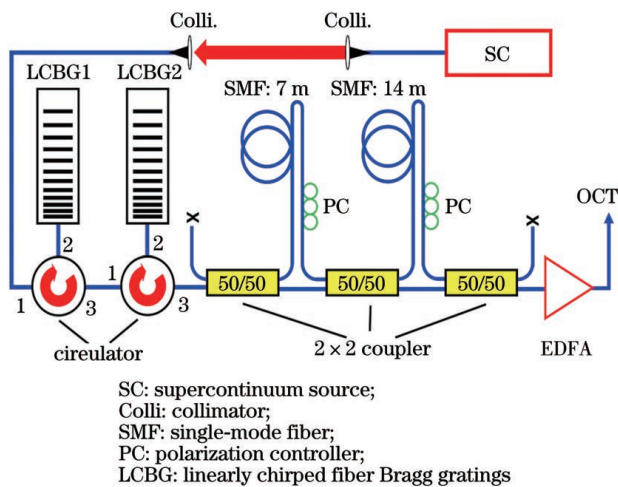


图 6 基于缓冲光时间扩展的 40 MHz 扫频光源原理图^[29]

Fig. 6 Schematic of the buffered optical time-stretch-based 40 MHz swept-source^[29]

目前这款激光器可满足实时三维成像的扫频速度要求。但随后另外一个瓶颈问题就是海量的数据处理。如前所述, 要实现实时高清三维光学相干层析成像和显示, 需要对 30 Gbit/s 的采样数据进行实时的傅里叶变换, 其中的瓶颈问题就是图像数据处理速度受限于现有的 CCD 获取数据的速度以及中央处理器(CPU)和图像处理器(GPU)的运算速度。所以如何进一步提高光学相干层析成像的处理速度, 成为目前大家关注的焦点。

针对这个问题, 本课题组提出了一种新型的高速光计算方法, 首次应用于光学相干层析成像并得到了实验验证。与目前国际上通常采用的 CCD、高性能 CPU 和 GPU 处理图像数据的频域光学相干

层析成像技术不同,本课题组采取具有计算功能的光路,高速处理包含样品三维结构信息的海量数据,最后直接实时地输出处理后的图像数据,该方法不会因为处理数据而造成延迟。这种新方法实现了每秒 1000 万次线扫描的高速光学相干层析成像,这也是迄今世界上最快的光学相干层析成像速度^[30]。基于光计算的高速光学相干层析系统彻底摆脱了传统方法受 CCD 积分时间和 CPU、GPU 的运算速度对成像速度的制约,并为实现 OCT 的实时三维快速成像提供了一条全新的道路。

基于光计算的 OCT(OC²T)实验原理示意图 7,超辐射光二极管(SLD)产生了以 1550 nm 为中心、平均功率为 22 mW、带宽为 40 nm 的低相干连续光,

被 10 GHz 带宽马赫-曾德尔强度调制器(MZM)调制,MZM 由任意波形发生器(AWG)产生的 $\cos(at^2)$ 波形信号驱动。采用 6.5 km 长的单模光纤和 OCT 干涉仪作为时间谱卷积的一阶色散介质和光谱滤波器。理论和实验证明,光经过上述的全光器件处理,相当于对于 OCT 信号进行了傅里叶变换。再进一步采用交流(AC)耦合平衡放大光电探测器对干涉仪的两个输出进行检测,该光电探测器能够消除共模噪声,提高系统的信噪比。最后,在 8 GHz 带宽示波器上显示了无直流波形,得到实时的渲染后的 OCT 图像数据。图 8 显示的是实时显示的实验数据和图像。图 8(a)中调制信号的长度为 100 ns,对应的光计算速度为 $1/100 \text{ ns} = 10 \text{ MHz}$ 。

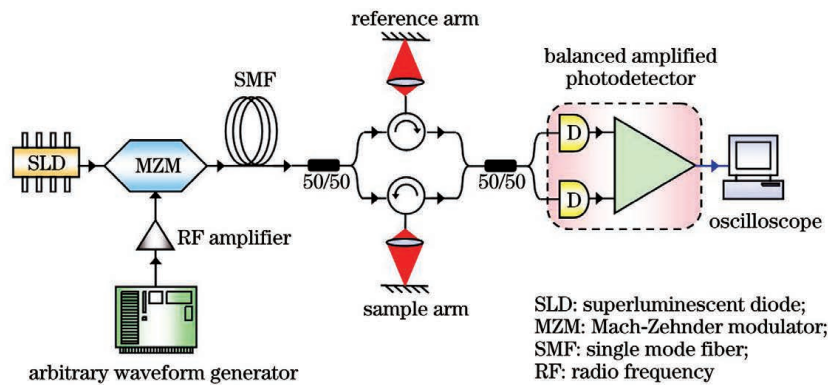


图 7 OC²T 实验装置原理图^[30]

Fig. 7 Schematic of the experimental setup of OC²T^[30]

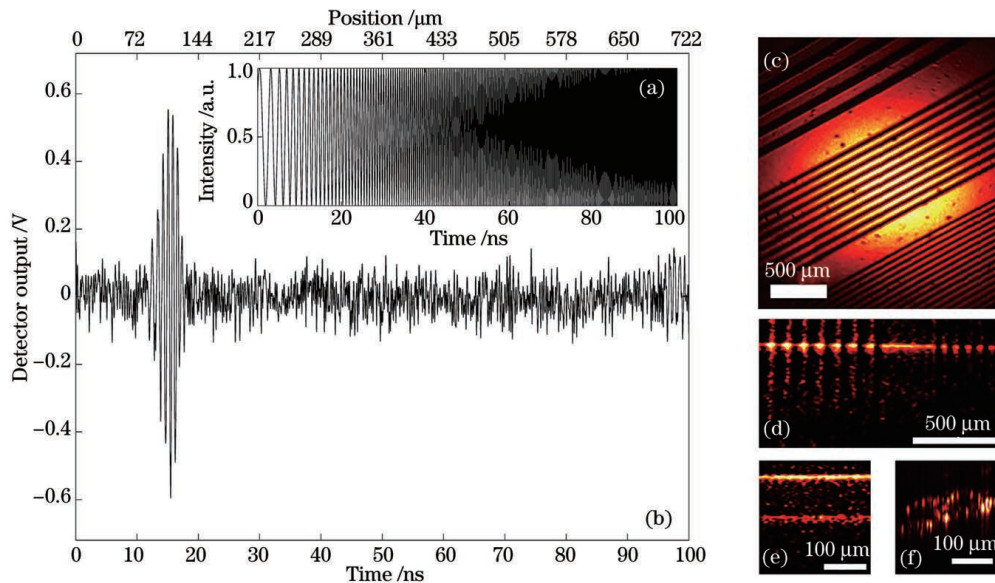


图 8 实验结果^[30]。(a) AWG 中使用的单周期 $\cos(at^2)$ 波形数据;(b)交流耦合平衡放大光电探测器测量的单个波形周期;(c)可变频率分辨率目标的面 OCT 图像;(d)可变频率分辨率目标的像;(e)盖玻片的图像;(f)洋葱层图像

Fig. 8 Experimental results^[30]. (a) A single period of the $\cos(at^2)$ waveform data used in AWG; (b) a single period of the waveform measured by AC-coupled balanced amplified photodetector; (c) en-face OCT image of a variable-frequency resolution target; (d) image of a variable-frequency resolution target; (e) image of a cover glass; (f) image of onion layer

上述工作经文献[31]进行了重点介绍和宣传,同行普遍认为该工作是本领域的重要进展。

2.3 成像探头

由于受光线穿透能力的限制,OCT 成像的深度有限。为了扩展应用范围,微小型 OCT 高分辨率探头的研究备受关注,因为人们可以借助细小的光纤导光到所需成像的部位,以解决穿透力有限的问题。事实上,内窥镜管的 OCT 成像探头一直被认为是用于内镜下检查内脏器官的有力工具。其中,环状探针广泛应用于动脉、食管、结肠等中空组织的成像。近年来,远端扫描备受关注,因为在这种情况下,整个纤维保持稳定,避免了传统近端扫描的扭曲和不均匀性。但由于驱动装置的存在,出现了遮挡阴影和探针尖端尺寸较大等问题。为解决该问题,本课题组研发了一款空心超声电机,该电机内含旋转物镜,可为光纤提供内部通道,使 360°圆周扫描无任何遮挡阴影。该探头外径为 1.5 mm,对于远端扫描内镜 OCT 的电动探头来说是超小的,视野不受遮挡。该探头采用定制的非球面直角透镜代替镜面或棱镜,使得数值孔径增大,因此横向分辨率高。成像分辨率为 $7.5 \mu\text{m}$ (轴向) \times $6.6 \mu\text{m}$ (横向),灵敏度为 96 dB。图 9 为探头结构的示意图^[32]。

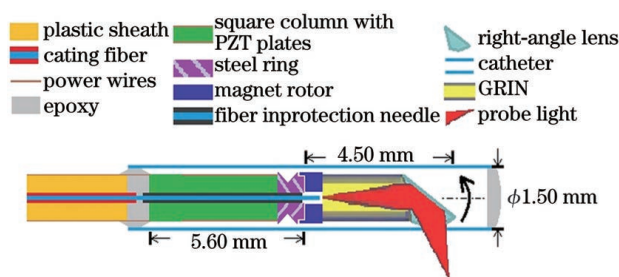


图 9 空心超声电机驱动的空心光纤旋转扫描光学相干断层扫描探针示意图^[32]

Fig. 9 Schematic of the stationary-fiber rotary scanning optical coherence tomography (OCT) probe driven by a hollow ultrasonic motor^[32]

进一步地,为了扩大高清晰成像的景深,利用记忆合金(SMA)弹簧,通过加载电流改变伸缩量,进而带动成像镜头实现变焦,成功研制出世界上第一款用于侧向成像的可变焦内窥 OCT 成像探头。这种探头因其是在 1.5 mm 管径下进行微型复杂结构的制作,十分具有挑战性,目前本研究领域仅有几个研究小组在开展这项研究。变焦的实现,为在大深度范围内进行高分辨成像提供了可能。图 10 是利用可变焦内窥探头对生物样品大深度范围的高分辨率成像结果,由浅至深,细胞结构清晰可见^[33]。在此前,麻省理工学院(MIT)研究的前端扫描的内窥

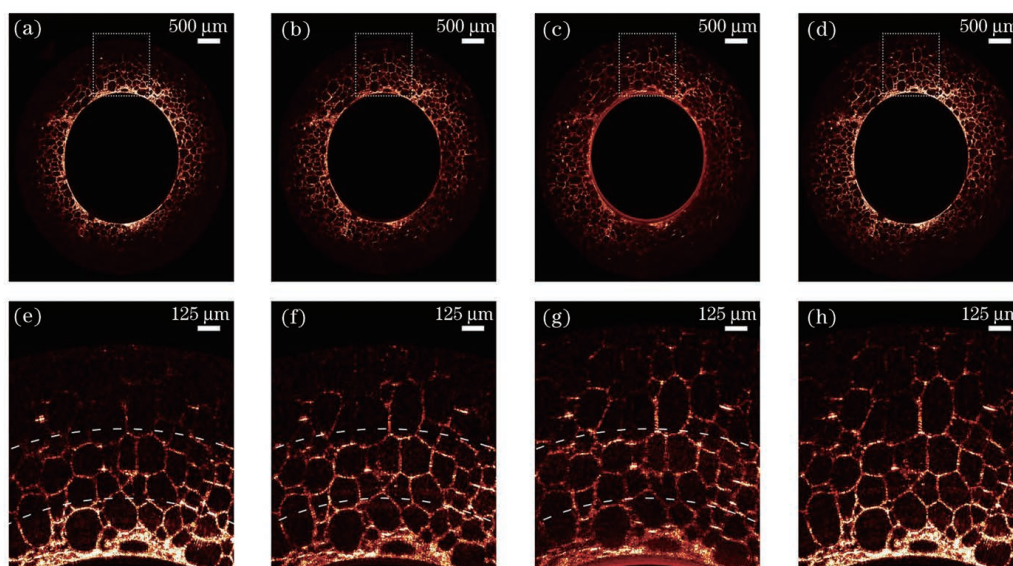


图 10 葡萄的 OCT 图像^[33]。聚焦位置为(a)浅层,(b)中间层,(c)深层;(d)图 10(a)~(c)的融合图像(C 模式扫描图片);(e)~(h)图 10(a)~(d)框中区域的 4 倍放大图像,其中白色虚线将图像分为三层,从下到上分别为浅层、中层、深层

Fig. 10 OCT images of a grape^[33]. The focal position is in the (a) shallow layer, (b) middle layer, and (c) deep layer; (d) fused image of Fig. 10(a)-(c) (C-mode scanning image); (e)-(h) $4\times$ zoomed-in images of the boxed regions in Fig. 10 (a)-(d), respectively, in which the white dashed lines divide the images into three layers from bottom to top: the shallow layer, the middle layer, and the deep layer

探头,其横向分辨率为 $6.2\ \mu\text{m}$,但管径为 $3.2\ \text{mm}$,管径比我们研制的管径大一倍。

我们研发的基于微型空心超声电机驱动的内窥探头,因其独特的优点,被文献[34]进行了重点介绍和宣传。

3 结 论

对光学相干层析成像的研究进行了相关阐述,重点介绍了提高其关键性能方面的一些研究,包括成像的分辨率、成像速度以及成像探头方面的代表性工作。清华大学物理系在光学相干层析成像研究的相关领域中,不仅取得了纵向分辨率为 $0.64\ \mu\text{m}$ 的高分辨率成像、E3.5 长时间细胞活体的亚细胞成像以及基于光计算的每秒 1000 万次轴向线扫描的超高速实时光学成像信息处理等一系列的进展,还成功研制出速度高达 40 MHz 的高速扫频激光器和基于中空微型超声电机驱动的可变焦光学微型探头,今后将继续推动光学相干层析成像的性能突破新的纪录。

谨以此文庆祝清华大学 110 年校庆!

参 考 文 献

- [1] Huang D, Swanson E A, Lin C P, et al. Optical coherence tomography[J]. *Science*, 1991, 254: 1178-1181.
- [2] Fercher A F, Hitzenberger C K, Kamp G, et al. Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry [J]. *Optics Communications*, 1995, 117(1/2): 43-48.
- [3] Usler G H, Lindner M W. "Coherence radar" and "spectral radar": new tools for dermatological diagnosis[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 1998, 3 (1): 21-31.
- [4] Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, et al. *In vivo* human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography [J]. *Journal of Biomedical Optics* 2002, 7: 457-463.
- [5] Choma M A, Sarunic M V, Yang C, et al. Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography [J]. *Optics Express*, 2003, 11(18): 2183-2189.
- [6] de Boer J F, Cense B, Park B H, et al. Improved signal-to-noise ratio in spectral-domain compared with time-domain optical coherence tomography[J]. *Optics Letters*, 2003, 28(21): 2067-2069.
- [7] Leitgeb R, Hitzenberger C, Fercher A. Performance of Fourier domain vs. time domain optical coherence tomography[J]. *Optics Express*, 2003, 11(8): 889-894.
- [8] Nassif N, Cense B, Hyle Park B, et al. *In vivo* human retinal imaging by ultrahigh-speed spectral domain optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 2004, 29(5): 480-482.
- [9] Srinivasan V J, Wojtkowski M, Witkin A J, et al. High-definition and 3-dimensional imaging of macular pathologies with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography [J]. *Ophthalmology*, 2006, 113(11): 2054-2065.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Cho N H, Jang J H, Jung W, et al. *In vivo* imaging of middle-ear and inner-ear microstructures of a mouse guided by SD-OCT combined with a surgical microscope [J]. *Optics Express*, 2014, 22(8): 8985-8995.
- [13] Nankivil D, Dhalla A H, Gahm N, et al. Coherence revival multiplexed, buffered swept source optical coherence tomography: 400 kHz imaging with a 100 kHz source[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(13): 3740-3743.
- [14] St Marie L R, An F A, Corso A L, et al. Robust, real-time, digital focusing for FD-OCM using ISAM on a GPU [J]. *Proceedings of SPIE*, 2014, 8934: 89342W.
- [15] Vabre L, Dubois A, Boccara A C. Thermal-light full-field optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 2002, 27(7): 530-532.
- [16] Tearney G J, Brezinski M E, Bouma B E, et al. Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 1995, 20 (21): 2258-2260.
- [17] Drexler W, Morgner U, Kärtner F X, et al. *In vivo* ultrahigh-resolution optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 1999, 24(17): 1221-1223.
- [18] Sun F, Xue P, Gao J S, et al. The reconstruction of optical coherence tomography image[J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, 20(8): 1043-1046.
孙非, 薛平, 高湍松, 等. 光学相干层析成像的图像重建[J]. *光学学报*, 2000, 20(8): 1043-1046.
- [19] Xue P, Fujimoto J G. Ultrahigh resolution optical

- coherence tomography with femtosecond Ti:Sapphire laser and photonic crystal fiber[J]. Chinese Science Bulletin, 2008, 53(13): 1963-1966.
- [20] Zheng J G, Chen T Y, Wang C M, et al. Label-free subcellular 3D live imaging of preimplantation mouse embryos with full-field optical coherence tomography [J]. Journal of Biomedical Optics, 2012, 17(7): 070503.
- [21] Zheng J G, Huo T C, Chen T Y, et al. Understanding three-dimensional spatial relationship between the mouse second polar body and first cleavage plane with full-field optical coherence tomography[J]. Journal of Biomedical Optics 2013, 18(1): 010503.
- [22] Zheng J G, Huo T C, Tian N, et al. Noninvasive three-dimensional live imaging methodology for the spindles at meiosis and mitosis [J]. Journal of Biomedical Optics, 2013, 18(5): 050505.
- [23] OCT News. OCT news 2013 student paper awarded to Jing-Gao Zheng from Tsinghua University [EB/OL]. (2013-01-17) [2021-06-12]. <http://www.octnews.org/articles/4271263/oct-news-2013-student-paper-awarded-to-jing-gao-zh/>.
- [24] Donghak C, Hiro-Oka H, Furukawa H, et al. Fourier domain optical coherence tomography using optical demultiplexers imaging at 60,000,000 lines/s [J]. Optics Letters, 2008, 33(12): 1318-1320.
- [25] Golubovic B, Bouma B E, Tearney G J, et al. Optical frequency-domain reflectometry using rapid wavelength tuning of a Cr⁴⁺:forsterite laser [J]. Optics Letters, 1997, 22(22): 1704-1706.
- [26] Wieser W, Biedermann B R, Klein T, et al. Multi-Megahertz OCT: high quality 3D imaging at 20 million A-scans and 4.5 GVoxels per second[J]. Optics Express, 2010, 18(14): 14685-14704.
- [27] Huo T, Zhang J, Zheng J G, et al. Linear-in-wavenumber swept laser with an acousto-optic deflector for optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2014, 39(2): 247-250.
- [28] OCT News. Feature of the week 2/2/14: Tsinghua University demonstrates linear-in-wavenumber swept laser with an acousto-optic deflector for OCT [EB/OL]. (2014-02-02) [2021-06-12]. <http://www.octnews.org/articles/5153455/feature-of-the-week-2-2-14-feature-of-the-week-tsi/>.
- [29] Huo T C, Wang C M, Zhang X, et al. Ultrahigh-speed optical coherence tomography utilizing all-optical 40 MHz swept-source[J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(3): 030503.
- [30] Zhang X, Huo T C, Wang C M, et al. Optical computing for optical coherence tomography [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37286.
- [31] OCT News. Feature of the week 11/26/2016: Tsinghua University demonstrates optical computing technique and achieves high speed OCT of 10 Mega-A-Scans/Second [EB/OL]. (2016-11-26) [2021-06-12]. <http://www.octnews.org/articles/6718909/feature-of-the-week-11-24-2016-tsinghua-university/>.
- [32] Chen T Y, Zhang N, Huo T C, et al. Tiny endoscopic optical coherence tomography probe driven by a miniaturized hollow ultrasonic motor[J]. Journal of Biomedical Optics, 2013, 18(8): 086011.
- [33] Liao W C, Chen T Y, Wang C M, et al. Endoscopic optical coherence tomography with a focus-adjustable probe [J]. Optics Letters, 2017, 42(20): 4040-4043.
- [34] OCT News. Feature of the week 10/13/13: Tsinghua University demonstrates a tiny OCT endoscopic probe using a hollow ultrasonic motor [EB/OL]. (2013-10-13) [2021-06-12]. <http://www.octnews.org/articles/4937563/feature-of-the-week-10-13-13-tsinghua-university-d/>.

Development of High-Performance Optical Coherence Tomography

Xue Ping

State Key Laboratory of Low-Dimensional Quantum Physics and Department of Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract

Significance Optical coherence tomography (OCT) is a depth-resolved biomedical *in vivo* imaging technique providing cross-sectional and three-dimensional (3D) images of tissue microstructure with a micrometer-scale resolution. In the past few decades, OCT has been employed in various applications, including clinical and material research areas. In this paper, some studies on improving the performance of OCT are introduced. Among them,

imaging resolution, imaging speed, and multifunctional integration are the basic core indicators of the imaging system. Recently, research on OCT conducted at the Department of Physics of Tsinghua University has achieved a series of important advances in improving imaging system performance.

Progress For high-resolution imaging, we achieved ultrahigh-resolution OCT with a supercontinuum by coupling femtosecond pulses generated from a commercial Ti:sapphire laser into an air-silica microstructure fiber. The visible supercontinuum from 450 to 700 nm centered at 540 nm was generated. A free-space axial OCT resolution of $0.64 \mu\text{m}$ was achieved. The sensitivity of the OCT system was 108 dB with an incident light power of 3 mW at a sample, only 7 dB below the theoretical limit.

For subcellular and long-time *in vivo* imaging, we developed a novel system of full-field OCT (FF-OCT) for label-free 3D subcellular *in vivo* imaging of preimplantation mouse embryos. As the sample received much less optical dose than in conventional confocal imaging, the preimplantation mouse embryos were alive even after several days' live imaging. Various typical preimplantation stages, including zygote, two-cell, four-cell, and blastocyst (at embryonic day 3.5, E3.5 for short), were investigated with a spatial resolution of $0.7 \mu\text{m}$ and imaging rate of 24 frame/s. These are the first *in vivo* studies with mammalian embryos at the beginning of their embryonic lives for understanding early patterning and polarity.

For high-speed imaging, a high-speed swept source is necessary for system setup. Real-time 3D high-definition OCT imaging requires $1000 x\text{-scan} \times 1000 y\text{-scan} \times 30$ times/s refresh rate, i. e., $1000 \times 1000 \times 30 = 30$ MHz, implying that the laser should have a sweeping speed of at least 30 MHz. Therefore, we devised an all-optical swept source with an A-scan rate of 40 MHz, the fastest one thus far. The inertia-free swept source, having an output power of 41.2 mW, tuning range of 40 nm, and high scan linearity in wavenumber with a Pearson correlation coefficient r of 0.9996, comprised a supercontinuum laser, an optical band-pass filter, a linearly chirped fiber Bragg grating, an erbium-doped fiber amplifier, and two buffer stages. With a sensitivity of 87 dB and a 6-dB fall-off depth of 0.42 mm, ultrahigh-speed sweeping OCT based on sweep laser (SS-OCT) imaging of biological tissue *in vivo* was demonstrated.

Ultrahigh-speed real-time optical imaging requires the real-time information processing of big image data. Real-time 3D high-definition OCT has a $1000 \text{ pixel } (X) \times 1000 \text{ pixel } (Y) \times 1000 \text{ pixel } (Z) \times 30$ times/s refresh rate, indicating that 30-Gbit/s data flow needs to be processed in real time. To address this challenge, we proposed a novel all-optical computing technique to process the signal in the spectral domain with a fiber-optics system other than compute interpolation based on fast Fourier transform algorithm (FFT) using an electronic computer, resulting in a significant reduction of processing time and enhancement of imaging speed. In the so-called optical computing OCT, the Fourier transform of the A-scan signal was optically processed in real time before the light was detected by a photoelectric detector. Low-coherence continuous wave (CW) light centered at 1550 nm with an average power of 22 mW and a bandwidth of 40 nm was generated by a superluminescent diode. The CW light was modulated by a 10-GHz-bandwidth intensity modulator, known as the Mach-Zehnder modulator (MZM). The MZM was biased by a power supply and driven by a $\cos(at^2)$ waveform signal generated by an arbitrary waveform generator (AWG). With this optical computing system, a processing rate of 10^7 A-scan per second was experimentally achieved, which is the highest speed for OCT imaging to the best of our knowledge.

Because tiny endoscopic probes work as its sample arms, the applied range of the proposed OCT technique can be expanded to various internal organs such as arteries and esophagus. To further enhance the feasibility of the proposed OCT technique, we also proposed and fabricated a prototype focus-adjustable endoscopic probe with an outer diameter of 2.5 mm and a rigid length of 32 mm based on a two-way shape-memory-alloy (SMA) spring and an in-house hollow-core ultrasonic motor. This novel probe has adjustable focus and hence a larger scanning range, with high resolution and no sensitivity loss. The focus-adjustable range was more than 1.5 mm, with a 100.3-dB sensitivity and the best lateral resolution of $\sim 4 \mu\text{m}$. With the use of a hollow-core motor, the probe can provide an unobstructed 360° field of view. To the best of our knowledge, this is the first demonstration of a focus-adjustable probe for C-mode scanning in endoscopic OCT. We believe that this novel probe will be useful in future biomedical applications.

Conclusion and Prospect This paper presents some remarkable research advances at Tsinghua University and is dedicated to celebrating the 110th anniversary of Tsinghua University.

Key words imaging system; optical coherence tomography; fiber lasers; light propagation in tissues; optical data processing

OCIS codes 170.4500; 060.3510; 170.3660; 200.4560