

整合光散射信息的生物细胞相位成像系统

季颖^{1*}, 傅爽², 陶兆禾¹, 梁敏捷¹, 王亚伟¹

¹江苏大学理学院, 江苏 镇江 212013;

²江苏大学机械工程学院, 江苏 镇江 212013

摘要 提出了一种可将光散射信息整合到干涉相位成像系统的设计方法。建立了均质细胞、单核细胞、双核细胞模型,通过分析样品的相位分布信息快速定量提取样品的形态特征,确定了样品的亚结构特征。通过红细胞和中性粒细胞实验,指出了结合散射信息的必要性和优势。研究结果验证了所提系统的可行性,并提出了改进方向。该系统结构简单、便于操作,为细胞形态结构特征的快速无损检测提供了参考。

关键词 生物光学; 形态; 相位成像系统; 散射; 生物细胞

中图分类号 O436.1

文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP56.091701

Biological Cell Phase Imaging System Integrated with Optical Scattering Information

Ji Ying^{1*}, Fu Shuang², Tao Zhaohe¹, Liang Minjie¹, Wang Yawei¹

¹Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China;

²School of Mechanical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

Abstract A design method for an interferometric phase imaging system integrated with optical scattering information is proposed. Three types of cell models, i. e., homogeneous cells, monocytes, and binuclear cell models, are established. The morphological characteristics of a sample can be extracted quickly and quantitatively by analyzing the phase distribution information of the sample. Thus, the substructure characteristics of the sample can be determined accurately. The necessity and advantages of combining scattering information are demonstrated through experiments on the red blood cells and neutrophils. The research results establish the feasibility of the proposed system. Additionally, the direction for improvement is proposed. The system has a simple structure and is easy to operate, and it can provide a reference for the rapid, non-destructive detection of morphological and structural characteristics of cells.

Key words biotechnology; morphology; phase imaging system; scattering; biological cell

OCIS codes 170.0110; 170.3880; 100.3175; 100.5070

1 引言

细胞是所有生命活动的基本单元。不同细胞有不同的形态和结构,对应着不同的功能,同种细胞在不同的状态下也对应着不同形态;因此,细胞形态结构检测技术的发展对临床医学诊断、疾病发病机制等生命科学研究具有重要意义。生物细胞大多是无色透明的,传统的光学成像方法难以获取细胞的形态结

构信息。针对这一问题,许多技术应运而生,如细胞苏木精-伊红(HE)染色技术、荧光显微技术、激光扫描共聚焦显微技术、原子力显微镜等^[1-4]。其中,细胞 HE 染色技术、荧光显微技术和激光扫描共聚焦显微技术应用范围较广,但都包含细胞染色或荧光标记的步骤,操作过程较为繁杂,而且会在一定程度上破坏细胞的生物活性;原子力显微镜虽然精度高、无染色步骤,但成像范围较小,处理速度偏慢。因此,研究无

收稿日期: 2018-09-06; 修回日期: 2018-10-13; 录用日期: 2018-11-26

基金项目: 国家自然科学基金(11474134)、江苏省六大人才高峰(2015-DZXX-023)

* E-mail: jy@ujs.edu.cn

损伤、免标记、非接触式且高效的细胞检测方法成为当前的热点问题。光散射测量^[5]在临床检验中现已广泛应用于血细胞分类检测。该方法的主要依据是Mie散射理论^[6-7],散射光的强度、偏振度等散射参数与散射物大小及折射率等性质有紧密关系,因此可通过研究光的散射图谱得到关于散射物质结构的丰富信息。但由于理论限制,传统的Mie理论仅对球形模型有效,传统的瑞利散射理论只适用于尺寸和入射光波长差不多的粒子,光散射测量方法虽然已经用于细胞结构信息的快速定性分析,但在定量分析方面仍存在一定困难。近几十年发展迅速的数字全息定量相位显微成像技术^[8-10]也是一种重要的免标记无损检测技术,该技术基于光干涉或衍射原理对样品成像,由于光的波动特征、各亚细胞结构折射率及厚度的不同,光线在穿过细胞时会产生相移^[11],利用细胞的相移特性能够定量地反演出细胞的折射率和形态信息。该技术具有全视场、非接触、无损伤、实时性和量化的独特优势^[12],已成为细胞性质和动力学行为等方面研究的主流技术之一^[13];但是该技术中细胞的物理厚度和折射率分布信息耦合在相位信息中难以分离,尤其是在异质样品三维亚结构的识别上,其功能仍有待挖掘。考虑到散射信号对细胞亚结构存在性敏感的特性,本文设计了一种可在获取样品干涉相位信息的同时采集样品散射信号的装置,利用散射光强信息对经由相位信息获取的样品形态结构特征进行校正和完善。

2 成像装置与检测流程

整合光散射信息的生物细胞相位成像系统装置图如图1所示。该系统基于共轴迈克耳孙干涉光路和米劳干涉装置设计,由三个模块组成,在图1中用虚线框表示,分别为光束整形系统、干涉成像系统、扩束准直系统。光源(He-Ne激光器)发出的光沿直线传输经过一个由透镜L1、视场光阑FD、透镜L2、孔径光阑AD组成的光束整形系统后,传输至分光镜BS1,发生反射继续向下传播,通过透镜L3后到达分光镜BS2,分光镜BS2将这束光分成了两部分:一部分发生反射传输到反光镜R上,另一部分透射至样品上。透射至样品上的光穿过载物台时再次分成了两部分(载物台材质是半透半反镜):一部分发生了反射,反射光与之前反光镜R反射回来的光在分光镜BS2处相遇并发生干涉,然后经过了透镜L3、分光镜BS1、显微镜MO和透镜L6,光束信号经过显微镜MO的放大后传输至干涉图像接收器,最后接受到的

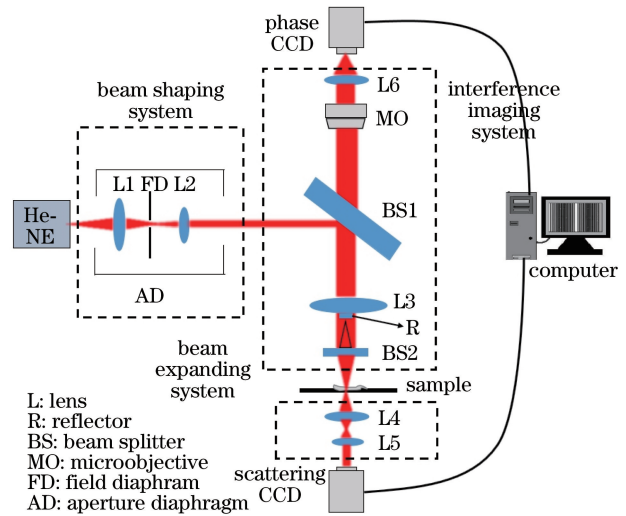


图1 整合光散射信息的生物细胞相位成像系统示意图

Fig. 1 Schematic of biological cell phase imaging system integrated with optical scattering information

显微干涉图像传输至计算机进行相位恢复等处理分析;另一部分透射到样品上的光同时透射穿过了载物台,这部分光束就包含了样品的散射信息,然后再经过由透镜L4和透镜L5组成的扩束准直系统,包含散射信息的光被散射信息接收器所接收,最后传递给计算机处理得到关于样品的散射幅值分布信息。

上述数字显微成像系统的优势在于可免标记地同时获取样本在同一位姿下的干涉图样和散射光强分布,并进行综合分析,从而更准确、快速地获得样品结构信息。系统通过两个电荷耦合器件(CCD)同时分别采集样品的干涉相位信息和散射信息,通过干涉图可恢复出样品的相位信息。本文主要由相位分布图提取样品在入射方向上的定量结构信息,其中,借助散射信息对样品结构类别进行初步判别,并在此基础上进行定量分析,从而提高检测的准确度。工作流程如图2所示。

3 检测原理及实验分析

考虑到血细胞形态特征的识别在生命科学、临床检验等领域具有重要的意义,本节以白细胞的几个典型亚类模型为例开展仿真分析。为了突出不同亚细胞结构的特征,建立了均质样品模型(无核细胞)、单核细胞模型和双核细胞模型。参考血细胞的生理学特征,上述模型均设为规则球体,半径设为 $9\ \mu\text{m}$,其中,单核细胞的细胞核半径设为 $3.5\ \mu\text{m}$,双核细胞的细胞核半径分别设为 $3.5\ \mu\text{m}$ 和 $2\ \mu\text{m}$,细胞质折射率设为1.37,细胞核折射率设为1.45,周围介质折射率选取为1.33。图3是所建立的模型示意图。

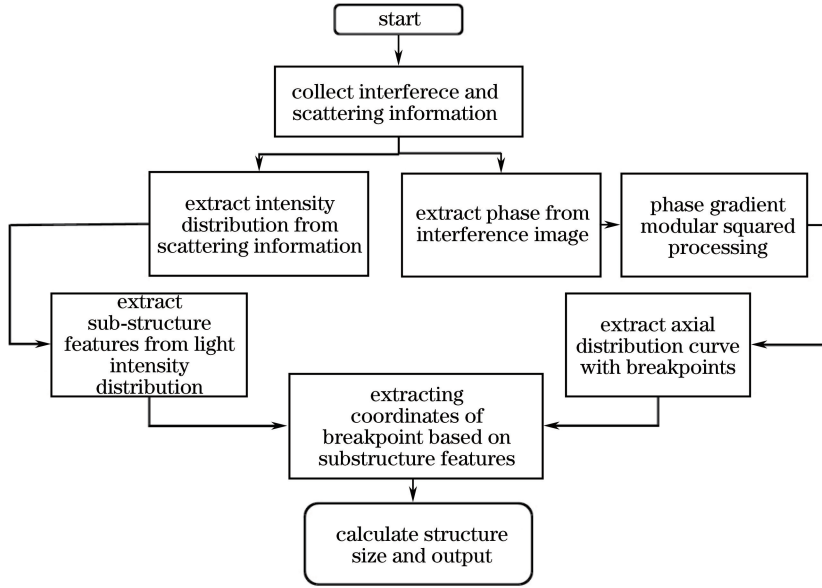


图2 系统工作流程

Fig. 2 Flow chart of system

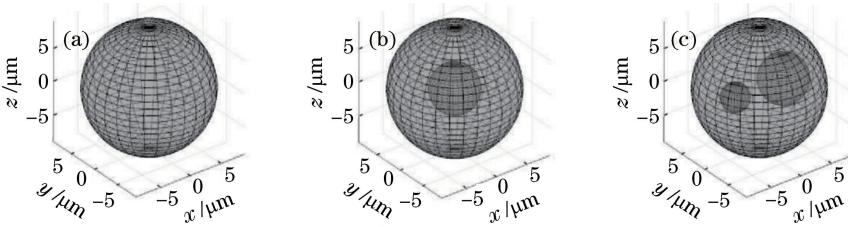


图3 模型示意图。(a)均质细胞;(b)单核细胞;(c)双核细胞

Fig. 3 Schematic of model. (a) Homogeneous cells; (b) monocytes; (c) binuclear cells

3.1 相位信息分析

基于相位信息可定量的特性,首先对上述模型进行相位恢复和解构分析。对采集到的干涉图样进行希尔伯特变换^[14]和解包裹运算即可获得样品的相位分布信息。以单核细胞模型为例,设其位于图3(b)所示的空间坐标系中,平行光束沿 x 轴方向入射,依次穿过各层结构,不同位置穿过的细胞质和细胞核厚度不同,细胞培养液、细胞质和细胞核的折射率分别为 n_m, n_1, n_2 。在 YOZ 面上,该模型引起的总相移 $\varphi(y, z)$ 为

$$\varphi(y, z) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^{h(y,z)} [n_c^x(y, z) - n_m] dx, \quad (1)$$

式中: $h(y, z)$ 表示在 (y, z) 处光穿过的不同介质的轴向厚度; λ 表示入射光波长; $n_c^x(y, z)$ 表示细胞内 (y, z) 处沿 x 轴方向的折射率分布; n_m 是细胞外介质的折射率。在实际细胞中,在同一介质内部折射率可能会有微小的差异,为了简化运算,选取平均折射率 $n_c(y, z)$ 来替代 $n_c^x(y, z)$, 因此模型引起的相移可以简化为

$$\varphi(y, z) = \frac{2\pi}{\lambda} [n_c(y, z) - n_m] h(y, z). \quad (2)$$

对于图3(b)所示的坐标系,光束沿 x 轴入射,在光束入射方向的横截面(YOZ 面)上根据(2)式得到具体的相位分布公式:

$$\varphi(y, z) = \frac{2\pi}{\lambda} [(n_1 - n_m) \times 2 \times \sqrt{R_1^2 - y^2 - z^2} + (n_2 - n_1) \times 2 \times \sqrt{R_2^2 - y^2 - z^2}]. \quad (3)$$

式中 R_1, R_2 表示单核细胞模型外胞与细胞核半径。

仿真获得该模型对应的相位分布,如图4(b)所示。采用相同方法得到均质细胞和双核细胞的相位分布,如图4(a)、(c)所示。

图4展示了各模型的相位分布情况,图中颜色的变化对应着相位值的变化。相位分布可以在一定程度上反映样品的结构特征,但是,对比图4(b)和(c)可知,单核细胞与双核细胞难以直观地分辨出来。这是因为细胞模型的轴向厚度与折射率信息耦合在一起,共同影响着相位的分布,所以无法直接从中得到细胞的亚结构信息。考虑到折射率是物体的

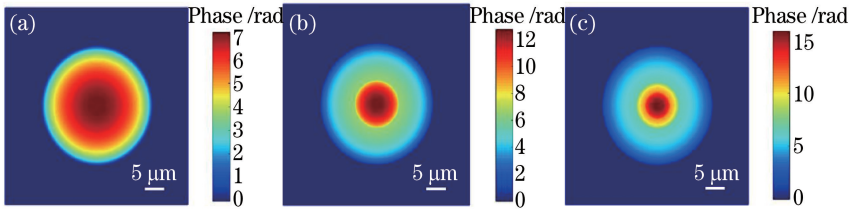


图4 相位分布图。(a)均质细胞;(b)单核细胞;(c)双核细胞

Fig. 4 Phase distributions. (a) Homogeneous cells; (b) monocytes; (c) binuclear cells

固有属性,折射率不同的区域对应着不同的介质,即样品的不同亚结构,所以折射率的分布往往代表了样品亚结构的分布。结合相位函数的定义及其表达式,可通过梯度运算将折射率的变化从相位分布中提取出来^[15],折射率变化的区域就对应着样品亚结构的边界。例如,采用梯度算子来处理单核细胞的相位分布[(3)式],得到Y方向上的相位梯度:

$$\frac{\partial \varphi(y, z)}{\partial y} = \frac{2\pi}{\lambda} \left[(n_1 - n_m) \times \frac{-2y}{\sqrt{R_1^2 - y^2 - z^2}} + \right. \quad (4)$$

$$\left. (n_2 - n_1) \times \frac{-2y}{\sqrt{R_2^2 - y^2 - z^2}} \right]。$$

相位梯度的数值会在折射率发生变化处改变符号,如(4)式中 $\varphi(y, z)$ 的值随 y 的增加而下降时,(4)式的值将为负,并且在灰度图里表现为阴影,造形成态识别的困难。为此,本文对相位梯度分布再进行模平方处理,使其全部体现为正值,以更清晰地展示不同结构的边界。根据以上分析,各样品模型的相位梯度模平方分布如图5所示。

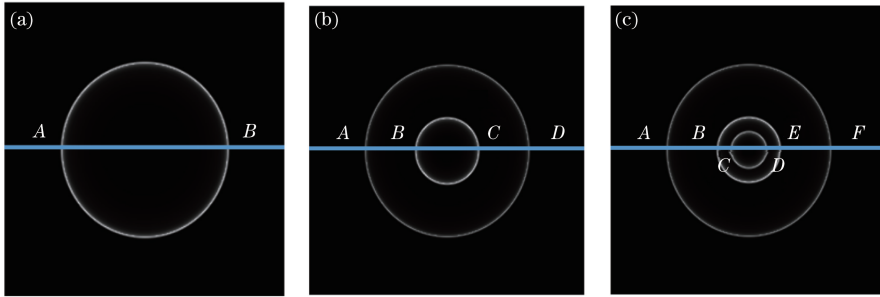


图5 相位梯度的模平方处理图。(a)均质细胞;(b)单核细胞;(c)双核细胞

Fig. 5 Modulus square processing of phase gradient. (a) Homogeneous cells; (b) monocytes; (c) binuclear cells

图5显示了各模型在光入射方向上的形态特征。为了进一步定量展示结构特点,在梯度的模平方分布图上沿中心轴线提取相应的分布曲线,如图6所示(非中心轴线亦可提取相应数据,文中以轴向数据为例进行分析)。对照图5与图6可知,均质细胞A、B两点

是一对细胞外胞边界点,单核细胞中A、D和B、C分别对应外胞、细胞核边界点。以此类推,双核细胞A、F和B、E以及C、D分别为细胞外胞、细胞大核、细胞小核的边界点。为了计算各对边界点之间的距离,提取各曲线上的突变点横坐标,数据如表1所示。

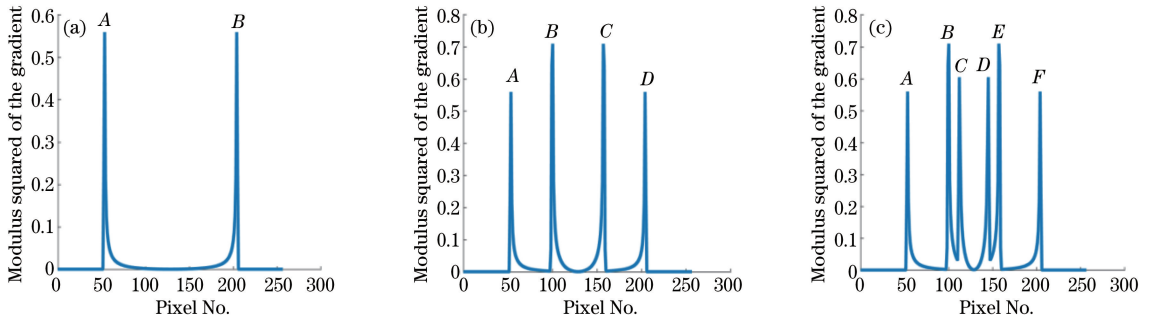


图6 相位梯度模平方轴向分布曲线。(a)均质细胞;(b)单核细胞;(c)双核细胞

Fig. 6 Axial distribution of modulus square of phase gradient. (a) Homogeneous cells; (b) monocytes; (c) binuclear cells

表1 轴向分布曲线的突变点横坐标

Table 1 Horizontal coordinates of break points in axial distribution curve

Cell type	Horizontal coordinate of break point
Homogeneous	A(53) B(204)
Monocyte	A(53) B(100) C(157) D(204)
Binuclear	A(53) B(100) C(112) D(145) E(157) F(204)

表2 测量值与模型参数对比

Table 2 Comparison of measured values with model parameters

Cell type	Design parameter / μm (cell diameter/nuclear diameter)	Measured value / μm (cell diameter/nuclear diameter)	Average error rate / %
Homogeneous	18.00	17.76	1.33
Monocyte	18.00/7.00	17.76/6.94	1.08
Binuclear	18.00/7.00/4.00	17.77/6.71/3.88	2.81

由表2可知,测量的参数与建立模型时设计的参数基本一致,三种细胞模型误差率分别为1.08%、1.33%、2.81%。随着亚结构复杂程度的增加,误差会有一定增长,但是均处于可接受的范围,表明上述相位信息分析方法具有一定的有效性。

但是上述方法也有一定的不足之处,如在确定各突变点与对应结构的边界关系时,是建立在已知细胞类型(无核、单核、双核)的情况下进行对照确认的。而在实际样本的测定中,相位梯度的突变不如仿真情形下明显和规则。此外,噪声等因素会导致曲线出现非结构变化引起的波动,尤其是对亚结构复杂的样本,如果不清楚细胞内部大致的结构分布,很难将突变点与细胞结构边界一一对应起来。以双核细胞模型为例,假设不知道该样品为双核细胞,仅通过图6(c)观察该样品相位梯度模平方轴向分布曲线上存在数对突变点,除去最外侧通常对应细胞外胞边界的一对突变点A、F外,剩余各点难以分辨判断,因此该方法在亚结构比较复杂的情况下提

以上为各类型样品轴向分布曲线的突变点像素横坐标信息。仿真预设的记录平面尺寸为 $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$,记录图像的像素尺寸为 $255\ \text{pixel} \times 255\ \text{pixel}$,因此相邻像素之间的距离为 $30/255\ \mu\text{m}$ 。根据表1中数据及已知的各突变点对应的边界关系,可以计算出样品的结构尺寸。将其与建模时的设计参数进行对比,如表2所示。

取尺寸信息存在一定困难。

3.2 基于样品散射光强分布信息的亚结构特征分析

考虑到样品散射信息对其亚结构分类的敏感性,利用光散射信息对上述相位检测结果进行修正与完善。由于实验条件限制,仅采用 VirtualLab 光学仿真实验系统搭建光路对图3所示的无核、单核、双核三种样品模型进行样品散射光强分布的分析。相关参数设置与3.1节一致,光源波长设为 $632.8\ \text{nm}$,光线入射方向按照成像装置的设计,设置为图3各坐标系中 x 轴方向,与上节相位信息分析中光束入射方向一致。根据 Mie 理论模拟光屏上接收到的散射光强分布图。为了突出光强的变化信息,散射光强值取平方处理。同时,为了更直观地量化强度的分布,提取散射光强分布图中对角线上的数据,得到散射光强相对分布曲线。各个细胞模型对应的散射光强分布图和散射光强相对分布曲线见图7,其中A为振幅。

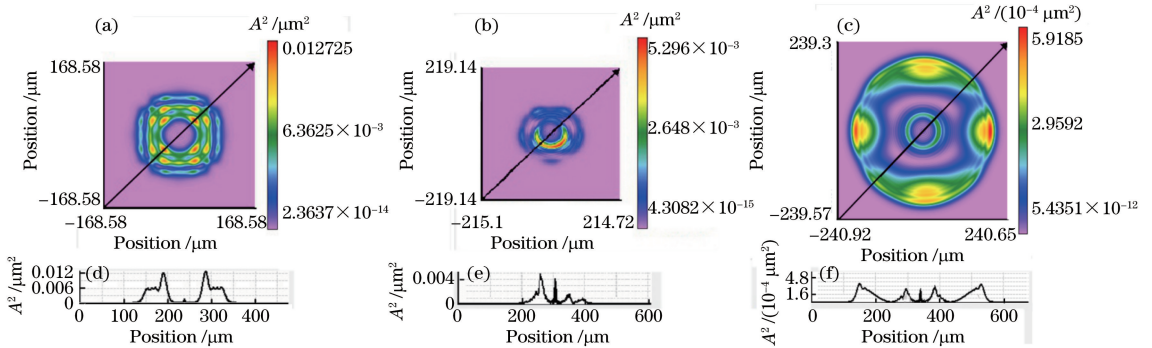


图7 模型的散射光强分布图及散射光强的对角线分布曲线。(a)(d)均质细胞;(b)(e)单核细胞;(c)(f)双核细胞

Fig. 7 Scattered light intensity distributions of models and diagonal distributions of scattered light intensity.

(a) (d) Homogeneous cells; (b) (e) monocytes; (c) (f) binuclear cells

观察图 7(a)可知,上述三种模型的散射光强分布有着明显区别。无核细胞的内部介质均匀分布,对应的散射光强分布整体是对称的,散射光强相对分布曲线也呈对称分布,曲线存在两个最大值。联系三幅图可以看出,细胞亚结构的复杂程度与曲线峰值数量呈非线性增长关系,单核细胞的光强分布范围较小,集中在 $200\ \mu\text{m}$ 范围内,双核细胞分布范围较大,约为单核细胞光强分布范围的两倍。均质细胞核与双核细胞的光强分布曲线在边界处对应峰值,而单核细胞则没有。通过上述分析可知,对于均质细胞和有核细胞,其对应的散射光强分布曲线有不同特点,且不同之处较为明显,比如均质细胞散射光强分布较为对称,曲线突变点较少,而非均质细胞光强分布不对称,峰值数量与亚结构的复杂程度呈非线性增长关系。本课题组对微粒的光散射性质作了较为系统的研究^[16-17],如针对血细胞有核、无核时的散射光强分布特点,对红细胞和白细胞五亚类进行了分析总结,指出细胞核占比的不同会引起光强次低频调制条纹的变化,因此,可以通过对比分析散射光强分布快速地定性判断细胞亚结构特点。在临床上,光散射分析方法已广泛应用于批量血细胞快速分类^[18];但是该方法在细胞形态表征方面也有局限,在精确定量分析方面存在不足^[19]。

3.3 基于散射信息校准的生物细胞形态特征相位检测

由上述分析可知,光相位和光散射信息在细胞形态无损检测方面各具优势又各有瓶颈。考虑整合两者的长处对样品形态进行分析,以达到提高检测准确度的目的。如 3.1 节所述,以图 3(c)所示的双核细胞模型为例,若不知道样品内部结构性质,仅观察图 6(c)的相位分布曲线,除去最外侧通常对应细胞外胞边界的一对突变点 A、F 外,剩余各点难以分辨判断。而由 3.2 节可知,细胞内部结构的变化

对应着不同的散射光强分布,并且其区别较为明显。通过对照分析,可以先确定样品结构为双核细胞结构,那么外胞与两个细胞核分别对应一对边界点,体现在梯度模平方曲线上为三对突变点。再按同一介质突变点值相近的原则,结合相位梯度模平方处理图,将各个点准确对应:A、F 为外胞边界,B、E 为较大细胞核边界,C、D 为较小细胞核边界。最后,根据各边界点横坐标计算尺寸信息,如 3.1 节中表 1、表 2 所示。

相位梯度分布曲线利用其对折射率变化敏感的特性对样品形态进行检测,而亚结构、噪声乃至相位恢复过程的误差等都会对曲线的分布产生影响,因而实际样本的相位梯度分布比模型仿真复杂得多,更增大了亚结构信息提取的难度。本文以健康人血红细胞为样品进行了实验分析。实验样品为人血红细胞,将获得的人体血液静置 $15\sim 20\ \text{min}$,分层后除去上清,对剩下的红细胞层进行稀释,获得红细胞样品。图 8(a)是实验获得的人血红细胞相位分布图,图 8(b)是对应的相位梯度模平方曲线。通过对比记录平面尺寸与像素关系,可以获得各突变点之间的距离,在本次实验中,接收面尺寸为 $138\ \mu\text{m}\times 136\ \mu\text{m}$,像素为 $927\ \text{pixel}\times 923\ \text{pixel}$,也就是说水平方向上相邻像素点间距为 $138/927\ \mu\text{m}$ 。从样品对应的梯度信息曲线图 8(b)可以看出,梯度变化最大的①②两点非常清晰地对应着样品的边界点,横坐标分别为 2 和 37,可以计算出样品直径为 $5.21\ \mu\text{m}$ 。边界点①②之间有多个突变点(③④⑤⑥)。在不知道样品性质的情况下,仅仅观察图 8 无法确定该细胞是否为有核细胞,但结合散射光强分布信息分析可知该样品为均质无核细胞(受条件限制,未进行光散射信息的实验检测,该结论借鉴均质无核细胞的总体光散射性质),因此该样品为有核细胞的假设不成立。

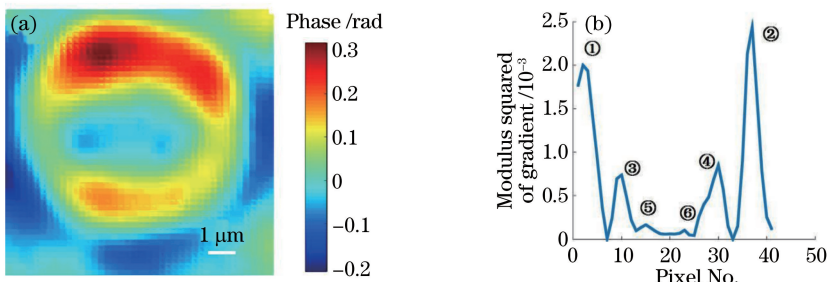


图 8 人血红细胞的光相位信息。(a)相位分布;(b)相位梯度模平方轴向分布曲线

Fig. 8 Phase information of human red blood cells. (a) Phase distribution; (b) axial distribution of modulus squared of phase gradient

根据曲线两端突变点坐标已知细胞尺寸为 $5.21\ \mu\text{m}$,且曲线内侧存在一对明显波动③④,再根据散射信息已知是均质无核细胞,可以判断突变点③④是形状厚度引起的相移,且分布位置比较对称。结合上述条件,突变点③④正好对应红细胞中间下凹圆盘边界,图中横坐标分别为 10.3 和 30,像素点间距为 $138/927\ \mu\text{m}$,因此中间下凹圆盘直径尺寸为 $2.93\ \mu\text{m}$ 。该结论与红细胞相符较好。

再以结构较红细胞更为复杂的中性粒细胞为例进行分析。相关资料表明^[20-21],中性粒细胞呈球形且表面常伴有突起,未成熟中性粒细胞有一个球形核,成熟细胞的核呈杆状或是 3~5 个分叶状,情况比较复杂。实验人血中性粒细胞样品系人体血液用 Ficoll 分层液法分离并用 $50\ \mu\text{mol}$ 的 CORM-2(外源性一氧化碳释放分子)干预获得的。该实验样品在水平方向上的像素尺寸为 $350/927\ \mu\text{m}$ 。图 9(a)是实验获得的人血中性粒细胞的相位分布图,图 9(b)是对应的相位梯度模平方分布图。从图 9(b)中可以看出,最外层突变点①②的像素坐标为 30 和

69。除去对应样品边界点的两个突变点①②外,还存在一些细微的波动(③④)。①②外侧的波动主要由噪声引起,内侧的波动③④可能是形状不规则的核或细胞器引起,也有可能是噪声。仅通过相位信息分析该样品内部结构信息时,难以将有效的形态信息分辨和提取出来。为了将突变点与细胞亚结构边界一一对应,有必要预先了解细胞亚结构的基本类别(例如有无核、核占比大小等)。结合散射光强分布信息分析可知该样品为有核细胞(受条件限制,本文未进行光散射信息的实验检测,该结论借鉴自均质有核细胞的总体光散射性质),因此③④对应着细胞核边界点的可能性较大。在这样的预设条件下,测得③④两点像素坐标分别为 43 和 51。由此可以推断,该样品外胞直径为 $14.7\ \mu\text{m}$,细胞核直径为 $3\ \mu\text{m}$,与实际细胞结构基本符合。需要说明的是,为精确获知样品的三维形态结构,需要多角度采集其相位信息并通过形态重建算法对形态进行恢复,本文的设计可为提高细胞形态特征快速无损检测的准确度提供参考。

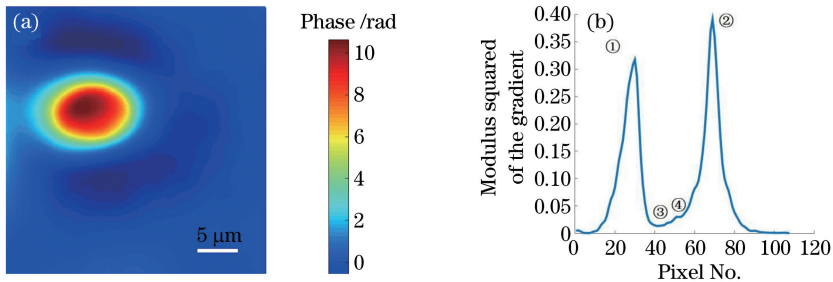


图 9 人血中性粒细胞分析图。(a)相位分布图;(b)相位梯度模平方轴向分布曲线

Fig. 9 Analysis diagram of human neutrophils. (a) Phase distribution; (b) axial distribution of modulus square of phase gradient

从上述双核细胞模型和红细胞及人血中性粒细胞的实验中可以看出,仿真样品具有规则的形状并且没有受到噪声干扰,样品结构的边界点比较容易确定,结构简单的样品(如均质细胞、单核细胞)甚至不需要散射信息分析就可以确定各个边界点。但是在实际细胞实验中,样品本身的复杂性和不均匀性、光波的不稳定性、各种噪声的存在等都会增加样品亚结构空间位置识别的难度,这就需要通过散射信息分析先确定亚结构类别,再据此做进一步的分析。

4 结 论

利用干涉相位成像技术定量分析细胞亚结构时,在大致判断出其结构特点后再有针对性地提取细节信息可有效提高检测质量。针对临床医学对生

物细胞形态结构及其动态变化快速检测准确识别的需求,提出的整合光散射信息的生物细胞相位成像系统,结构简单紧凑,可同时采集样品在同一位姿下的散射光强分布和相位分布信息并进行分析处理。通过分析样品的散射光强分布定性确定样品亚结构的大致类型(如细胞器的个数),进而在此基础上根据样品引起的相移定量计算出轴向相位梯度的模平方分布等数据,由此来判断计算亚结构特征,而相位分布可以表征样品在入射光方向上的外部轮廓。该系统可为细胞等透明物体的结构特征测量提供一种简单高效的方法。但该系统也存在一定的局限性,对于结构复杂的样品,其亚结构的精准重建需要从更多角度来分析散射信息和干涉相位信息,但是本系统尚不具备多角度同步测量的功能。这些将在后

续的工作中进一步开发、完善。

参 考 文 献

- [1] Oosterwijk J C, Mesker W E, Ouwkerk-van Velzen M C M, *et al.* Fetal cell detection in maternal blood: a study in 236 samples using erythroblast morphology, DAB and Hbf staining, and FISH analysis[J]. *Cytometry*, 1998, 32(3): 178-185.
- [2] Anderson C M, Georgiou G N, Morrison I E, *et al.* Tracking of cell surface receptors by fluorescence digital imaging microscopy using a charge-coupled device camera. Low-density lipoprotein and influenza virus receptor mobility at 4 degrees C[J]. *Journal of Cell Science*, 1992, 101(2): 415-425.
- [3] Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscope[J]. *Scanning*, 1988, 10(4): 128-138.
- [4] Rugar D, Hansma P. Atomic force microscopy[J]. *Physics Today*, 1990, 43(10): 23-30.
- [5] Allen T. Particle size measurement [M]. 5th ed. London: Chapman & Hall, 1997.
- [6] Kerker M. The scattering of light and other electromagnetic radiation[M]. New York: Academic Press, 1969.
- [7] Bohren C F, Huffman D R. Absorption and scattering of light by small particles[M]. Hoboken: John Wiley & Sons, 1983.
- [8] Rappaz B, Marquet P, Cuhe E, *et al.* Measurement of the integral refractive index and dynamic cell morphometry of living cells with digital holographic microscopy[J]. *Optics Express*, 2005, 13(23): 9361-9373.
- [9] Xu Y Y, Wang Y W, Jin W F, *et al.* New progress on quantitative phase microscopy and phase retrieval for biological cells [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2014, 51(2): 020006.
徐媛媛, 王亚伟, 金卫凤, 等. 生物细胞定量相位显微技术及相位恢复方法的新进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2014, 51(2): 020006.
- [10] 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.
- [11] Curl C L, Bellair C J, Harris P J, *et al.* Quantitative phase microscopy: a new tool for investigating the structure and function of unstained live cells [J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2004, 31(12): 896-901.
- [12] Wang Y X, Wang D Y, Yang Y S, *et al.* Application and analysis in the biomedicine field using digital holographic technology[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2014, 41(2): 0209002.
王云新, 王大勇, 杨怡姝, 等. 数字全息技术在生物医学成像和分析中的应用[J]. *中国激光*, 2014, 41(2): 0209002.
- [13] Curl C, Harris T, Harris P, *et al.* Quantitative phase microscopy: a new tool for measurement of cell culture growth and confluency *in situ* [J]. *Pflugers Archiv*, 2004, 448(4): 462-468.
- [14] Popescu G, Ikeda T, Best C A, *et al.* Erythrocyte structure and dynamics quantified by Hilbert phase microscopy[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2005, 10(6): 060503.
- [15] Tang W B. Characterization of biological cell morphological and dynamical characteristics based on optical phase gradient analysis [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017.
唐文波. 基于光相位梯度分析的生物细胞形态及动力学特征表征[D]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- [16] Bu M. The approximate model of blood cells and its light scattering characteristics [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2011.
卜敏. 血液细胞逼近模型及其光散射特征的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2011.
- [17] Bu M, Wang Y W, Jin W F, *et al.* Effect of scattering intensity modulation on the study of cell morphology[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2011, 38(11): 1104001.
卜敏, 王亚伟, 金卫凤, 等. 单核细胞散射光强调制在细胞形态研究中的作用[J]. *中国激光*, 2011, 38(11): 1104001.
- [18] Zhang S M. The determination principles and scattergram characters of leukocyte 5-part differential hematology analyzer [J]. *China Medical Device Information*, 2008, 14(12): 1-9, 44.
张时民. 五分类法血细胞分析仪测定原理和散点图特征[J]. *中国医疗器械信息*, 2008, 14(12): 1-9, 44.
- [19] Wu D J. Theory of relationship between cell morphology and light scattering characteristics distribution [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2005.
吴大建. 细胞形态与其光散射特征分布关系理论

[D]. 镇江: 江苏大学, 2005.

371-385.

[20] Hwang T L, Aljuffali I A, Lin C F, *et al.* Cationic additives in nanosystems activate cytotoxicity and inflammatory response of human neutrophils: lipid nanoparticles versus polymeric nanoparticles [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2015, 10(1):

[21] Skoutelis A T, Kaleridis V, Athanassiou G M, *et al.* Neutrophil deformability in patients with sepsis, septic shock, and adult respiratory distress syndrome [J]. *Critical Care Medicine*, 2000, 28(7): 2355-2359.