

## 非干涉无标记三维折射率显微成像的研究进展

仝展\*, 任雪松, 张子晗, 苗玉彬\*\*, 孟国香

上海交通大学机械与动力工程学院, 上海 200240

**摘要** 光学衍射层析成像以折射率为内源性染料, 非侵入式地获取生物样本的三维结构信息, 并有希望实现对活体样本(如活细胞等)的长时间动态观测, 在生物医学和生命科学领域具有重要的意义。然而, 光学衍射层析成像依赖于弱散射近似和干涉测量, 前者极大地限制此项技术在集群细胞和组织等厚样本上的观测表现, 后者则会显著地增加成像系统的复杂度。针对上述问题, 研究人员开发了一类基于非干涉强度测量原理的衍射层析成像技术。首先, 对非干涉强度衍射层析成像进行基本描述, 包括其成像系统、成像指标和重建问题等; 接下来从非干涉相位恢复、三维光学传递函数、多层递归正向传播模型和神经网络 4 条技术路线介绍非干涉强度衍射层析成像的研究成果和最新进展, 并对上述方法进行比较; 最后讨论当前面临的问题和挑战以及未来的研究方向。

**关键词** 衍射层析成像; 非干涉强度测量; 正向物理成像模型; 三维折射率重建

中图分类号 O436.1

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP232435

## Research Progress on Non-Interferometric Label-Free Three-Dimensional Refractive Index Microscopy

Tong Zhan\*, Ren Xuesong, Zhang Zihan, Miao Yubin\*\*, Meng Guoxiang

School of Mechanical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

**Abstract** Optical diffraction tomography (ODT) uses refractive index (RI) as endogenous dyes to non-invasively obtain three-dimensional (3D) structural information of biological samples, and is promising to achieve long-term dynamic observation for living samples (such as live cells, etc.), which is of great significance in the fields of biomedical and life sciences. However, ODT relies on weak scattering approximation and interferometric measurement. The former greatly limits the observation performance of this technology on thick samples such as clustered cells and tissues, and the latter significantly increases the complexity of the imaging system. To address these issues, researchers have developed a class of diffraction tomography based on the principle of non-interferometric intensity measurement. First, a basic description of non-interferometric intensity diffraction tomography (IDT) is provided, including its imaging system, imaging metrics, and reconstruction problem; Then, we introduce the research results and latest progresses of non-interferometric IDT from four technical routes: non-interferometric phase retrieval, 3D optical transfer function, multi-layer forward propagation model, and neural network, and compare the above methods; Finally, current problems and challenges as well as future research directions are discussed.

**Key words** diffraction tomography; non-interferometric intensity measurement; forward physical imaging model; 3D refractive index reconstruction

## 1 引言

在病理学、肿瘤学、血液学和神经学等生物医学和生命科学研究中, 可视化活细胞和组织样本的微观结构、整体形貌及动态生理过程具有重要意义<sup>[1-10]</sup>。这便要求开发强大的光学显微成像技术, 特别是具有与微

观结构相匹配的空间分辨率、与动态生理过程相匹配的时间分辨率的技术。

由于细胞接近于无色透明, 对光的吸收率低, 在明场显微成像模式下图像衬度低, 样本的结构信息难以直接获取。研究人员通常借助外源性染料, 如化学染料或荧光染料, 以提高成像衬度从而识别不同的亚细

收稿日期: 2023-11-06; 修回日期: 2023-11-23; 录用日期: 2023-11-27; 网络首发日期: 2023-12-12

基金项目: 国家自然科学基金(51975361, U1931137)

通信作者: \*agony\_cxy@sjtu.edu.cn; \*\*ybmiao@sjtu.edu.cn

胞结构组分。特别是近几十年发展的超分辨率荧光显微成像技术<sup>[11-14]</sup>, 由于其兼具高空间分辨率(突破了光学衍射极限)和高分子特异性, 成为了单细胞成像的有力工具。此外, 共聚焦<sup>[15-16]</sup>、双光子<sup>[17-18]</sup>或多光子<sup>[19-20]</sup>以及光片<sup>[21-22]</sup>等荧光显微成像技术蓬勃发展, 提供了组织等厚样本的三维结构信息。然而, 荧光显微成像技术也存在着一定的局限: 首先, 光毒性和光漂白极大地影响活体样本正常的生理过程<sup>[23-24]</sup>, 因而对活体样本进行长时间动态观测受到限制; 其次, 更多感兴趣的细胞结构组分目前无法被荧光标记, 难以获取样本的全貌。

相比之下, 利用样本调制(或编码)后的透射光的光场性质, 如相位<sup>[25-26]</sup>、散射<sup>[27-30]</sup>和偏振<sup>[31]</sup>等, 能够以无标记(或非侵入)的方式反演样本的结构信息, 这样可以克服上述基于化学染料或荧光染剂的显微成像技术中存在的一些问题。本文聚焦基于相位的显微成像技术, 具体来说, 光波场的相位编码了细胞等透明样本内部折射率或厚度的变化, 因此可以作为内源性染料有效地表征样本的结构信息。在 1942 年和 1955 年, 泽尼克相衬(ZPC)显微镜<sup>[32]</sup>和微分干涉(DIC)显微镜<sup>[33]</sup>分别被发明, 通过光场的调制, 它们将相位编码至强度, 直接在明场显微成像模式下观察到通常“不可见”的结构。凭借这一项重大突破, 泽尼克相衬显微镜的发明者 Frits Zernike 获得了 1953 年诺贝尔物理学奖。时至今日, 它们仍是活细胞成像的主流工具。但是, 它们所记录的强度和样本的相位不是线性映射关系, 因此仅适用于定性分析, 归类为定性相位成像技术。随着生命科学和生物医学研究的深入, 定量地分析获取样本的形态结构信息的需求日益迫切, 因而研究人员开发了定量相位成像技术。顾名思义, 其核心问题是从强度测量中定量地恢复“丢失”的相位, 按照测量方式主要可以分为 2 类, 即干涉测量和非干涉测量。干涉测量以全息术为代表, 基于干涉效应将样本的相位编码于强度(或全息干涉图样)中, 解析地从强度中解码反演出样本的相位<sup>[34-36]</sup>。至于非干涉测量, 一般则基于衍射效应从强度测量中直接或迭代地反演出样本的相位, 以光强传输方程(TIE)<sup>[37-39]</sup>、Gerchberg-Saxton(GS)算法<sup>[40]</sup>、叠层成像<sup>[41-42]</sup>和傅里叶叠层成像(FP)<sup>[43-45]</sup>等为代表。综述文章<sup>[46-49]</sup>对上述相位成像技术进行了详细的介绍, 感兴趣的读者可以阅读以深入了解。

然而, 在相位成像技术中, 相位定义为样本的折射率沿光轴的路径积分, 因此该技术仅可有效分辨具有相同折射率样本的厚度变化或具有相同厚度样本的折射率变化, 缺乏揭示样本真实三维结构的能力。为了准确地获取样本的形态学信息, 如细胞体积、细胞核形状和核质比等, 三维折射率成像技术成为下一步的发展目标。

研究人员首先将计算机断层扫描(CT)拓展至可见光波段, 发展为光学投影层析成像技术(OPT)<sup>[50-51]</sup>。其正向物理成像模型为傅里叶切片定理, 即假设光在样本中沿直线传播, 在平面光入射下, 测量平面(垂直

于光轴)上获取的定量相位信息为样本的三维折射率分布沿光轴的积分, 这也是名字中“投影”的由来。而在傅里叶空间中, 这相当于收集了样本折射率频谱一个平面上的空间频率信息, 这便是“傅里叶切片定理”的由来。“切片”平面的位置取决于平面光相对于样本的照明角度, 因此, 一般通过样本旋转来获取更多的空间频率信息以优化重建质量。不过, 光学投影层析成像技术在细胞或组织成像中应用受限, 原因在于可见光波长和样本的微观结构尺寸接近, 此时光沿直线传播的假设不再合理, 其波动性质无法忽略, 在样本中传播具有极强的衍射效应, 因而重建质量不佳。

考虑入射光在样本中传播的衍射效应, 研究人员开发了光学衍射层析成像技术(ODT)<sup>[52-60]</sup>, 由于和本文主题的关系密切, 接下来对这一技术进行较为详细的介绍, 对此项技术感兴趣的读者请参考综述文章<sup>[61-64]</sup>。其正向物理成像模型是傅里叶衍射定理, 即在弱散射近似的假设下, 建立了样本的三维散射势频谱到测量平面上的一阶散射光波场频谱的映射关系,

$$\tilde{u}_{s1}(\mathbf{k}_{\perp}, z_M) = \frac{i \exp(i\mathbf{k}_{\parallel} z_M)}{2k_{\parallel}} T_0(\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{in}}) \tilde{V}(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{\text{in}}), \quad (1)$$

式中:  $\tilde{u}_{s1}(\mathbf{k}_{\perp}, z_M)$  为测量平面上的一阶散射光波场频谱,  $\cdot$  代表  $\cdot$  的傅里叶变换,  $z_M$  为测量平面的纵向空间坐标;  $\mathbf{k} = (\mathbf{k}_{\perp}, k_{\parallel})$  为频域(或傅里叶空间)三维坐标,  $\mathbf{k}_{\perp}$  对应于横向空间坐标  $\mathbf{r}_{\perp}$ (或  $(x, y)$ ),  $k_{\parallel}$  对应于纵向空间坐标  $r_{\parallel}$ (或  $z$ );  $k^{\text{in}}$  为平面入射光的波矢,  $\mathbf{k}_{\perp}^{\text{in}}$  为入射光波矢在横向平面上的分量。  $T_0(\mathbf{k}_{\perp})$  为物镜的传递函数, 其理想定义为

$$T_0(\mathbf{k}_{\perp}) = \begin{cases} 1, & |\mathbf{k}_{\perp}| \leq k_0 NA_0 \\ 0, & |\mathbf{k}_{\perp}| > k_0 NA_0 \end{cases}, \quad (2)$$

式中:  $k_0$  为光在真空中的波数,  $k_0 = 2\pi/\lambda$ ,  $\lambda$  为光波长;  $NA_0$  为物镜的数值孔径。  $\tilde{V}(\mathbf{k})$  为样本的三维散射势频谱, 样本的散射势定义为

$$V(\mathbf{r}) = k_0^2 [n^2(\mathbf{r}) - n_m^2], \quad (3)$$

式中:  $n(\mathbf{r})$  为样本的三维折射率分布;  $n_m$  为背景介质的折射率。

傅里叶衍射定理的几何解释如图 1(b)所示, 由于满足  $\mathbf{k}_{\perp}^2 + \mathbf{k}_{\parallel}^2 = k_m^2$ ,  $\tilde{V}(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{\text{in}})$  在几何上相当于截取样本三维散射势频谱的一个球面, 即埃瓦尔德球(Ewald sphere), 且此球面相对于频域原点的偏移量取决于平面入射光的波矢  $\mathbf{k}^{\text{in}}$ 。在透射式显微成像系统中, 假设只有透射光被收集, 这对应着光轴正方向的半球面(负方向的半球面对应着反射光情况)。此外, 物镜的传递函数  $T_0(\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{in}})$  在几何上进一步截取样本三维散射势频谱的部分球面。而  $\tilde{u}_{s1}(\mathbf{k}_{\perp}, z_M)$  为二维测量平面上的一阶散射光波场频谱。这样, 傅里叶衍射

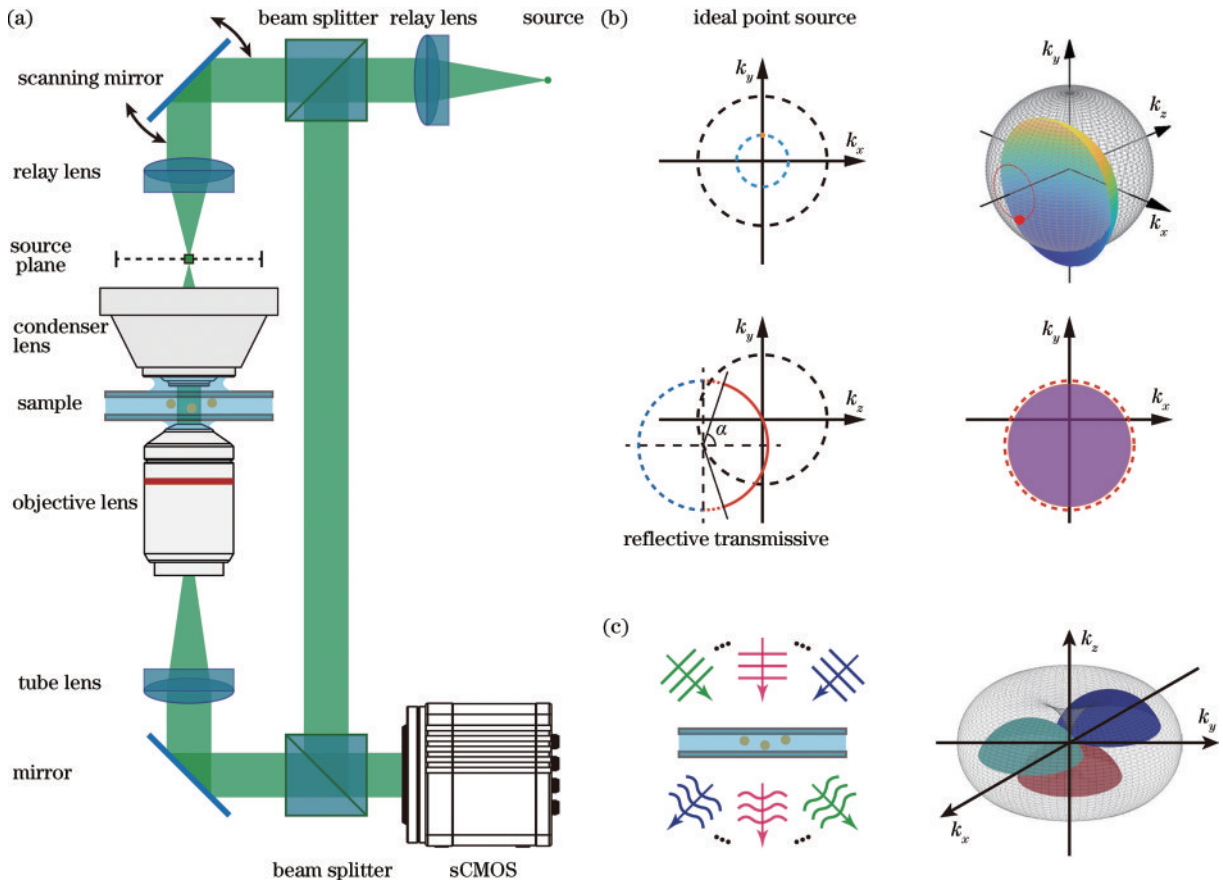


图1 光学衍射层析成像技术。(a)光学衍射层析成像的实验装置;(b)傅里叶衍射定理的演示说明;(c)照明角度扫描以收集样本不同的空间频率信息

Fig. 1 ODT. (a) Experimental setup of conventional ODT; (b) demonstration of the Fourier diffraction theorem; (c) illumination angle scanning to collect different spatial frequency components of the sample

定理的几何意义为二维测量平面上获取的空间频率信息为样本部分球面上三维空间频率信息的投影,且此部分球面的位置取决于平面入射光的波矢。

此外,需要注意的是,在传统光学衍射层析成像中,基于干涉测量获取的是测量平面上的总光波场,在一阶 Born 近似的假设下,总光波场是平面入射光波场和一阶散射光波场的叠加,

$$u_M(\mathbf{r}_\perp, z_M) = u^{\text{ill}}(\mathbf{r}_\perp, z_M) + u_{\text{sl}}(\mathbf{r}_\perp, z_M)。 \quad (4)$$

为保证三维折射率的重建质量,需要获取足够多的空间频率信息。由于埃瓦尔德球的球心取决于平面入射光的波矢,因此可以通过样本旋转<sup>[57]</sup>或照明角度扫描<sup>[54, 56]</sup>来收集不同的空间频率信息,如图 1(c)所示。传统光学衍射层析成像系统如图 1(a)所示,与宽场显微镜的区别主要有 2 点:首先是额外参考光路的引入以实现干涉(全息)测量;其次是采用激光等高相干光源并添加照明角度扫描装置。

至于三维折射率的重建,这里简要介绍直接反演重建算法。已知信息包括  $L$  个具有不同照明角度的平面入射光  $\{u^{\text{ill}}(\mathbf{r}_\perp)\}_{\ell=1}^L$ 、相应的测量平面上总光波场的复振幅分布  $\{u_M(\mathbf{r}_\perp)\}_{\ell=1}^L$  及正向物理成像模型(即傅里叶衍射定理)。在第  $\ell$  个照明角度下,首先根据式(4)

计算测量平面上的一阶散射光波场复振幅分布  $u_{\text{sl}}^\ell(\mathbf{r}_\perp)$ , 然后根据傅里叶衍射定理计算出相应的三维散射势频谱  $\tilde{V}^\ell(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{\text{ill}})$ ; 接下来遍历所有照明角度,得到样本的三维散射势频谱估计  $\tilde{V}(\mathbf{k})$ (相当于“合成孔径”); 最后进行三维傅里叶逆变换,并计算映射为样本的三维折射率估计。但是,直接反演重建算法存在插值伪影问题,借鉴计算机断层扫描的解决方案,研究人员开发了反向滤波重建算法<sup>[65-66]</sup>,这里不作赘述。

研究报道称传统光学衍射层析成像技术可以实现对单细胞、多细胞和组织切片等样本的快速有效观测,空间分辨率可以达到光学衍射极限(横向 200 nm 和轴向 400 nm),时间分辨率最高可达秒级<sup>[23, 67-68]</sup>。然而,传统光学衍射层析成像技术存在着一些缺点:首先是其正向物理成像模型是基于—阶 Born 或 Rytov 近似<sup>[69]</sup>的,仅适用于弱散射样本;其次是依赖于全息干涉测量,难以兼容于目前广泛使用的宽场显微镜,需要复杂的干涉装置,且不可避免地携带干涉测量的缺点,如相干散斑噪声等。

针对传统光学衍射层析成像技术中弱散射近似假设和干涉测量的相关弊端,近些年已经涌现出大量研究旨在克服其中存在的问题。本篇综述着眼于采用非干涉强度测量的衍射层析成像技术,区别于传统光学衍射

层析成像技术,称之为非干涉强度衍射层析成像技术。接下来,对非干涉强度衍射层析成像技术进行了基本描述,包括其广义成像系统、成像指标和三维重建问题;然后,回顾非干涉相位恢复、三维光学传递函数、多层递归正向传播模型和神经网络这4条技术路线的相关研究成果和最新进展,并对上述方法进行对比;最后讨论此项技术当前面临的问题和挑战以及未来的研究方向。

## 2 非干涉强度衍射层析成像技术的基本描述

### 2.1 广义成像系统和成像指标

非干涉强度衍射层析成像技术的广义成像系统如图 2(a)所示,以目前广泛使用的商业宽场显微镜为主体,主要包含 3 个模块,即入射照明模块、显微成像模

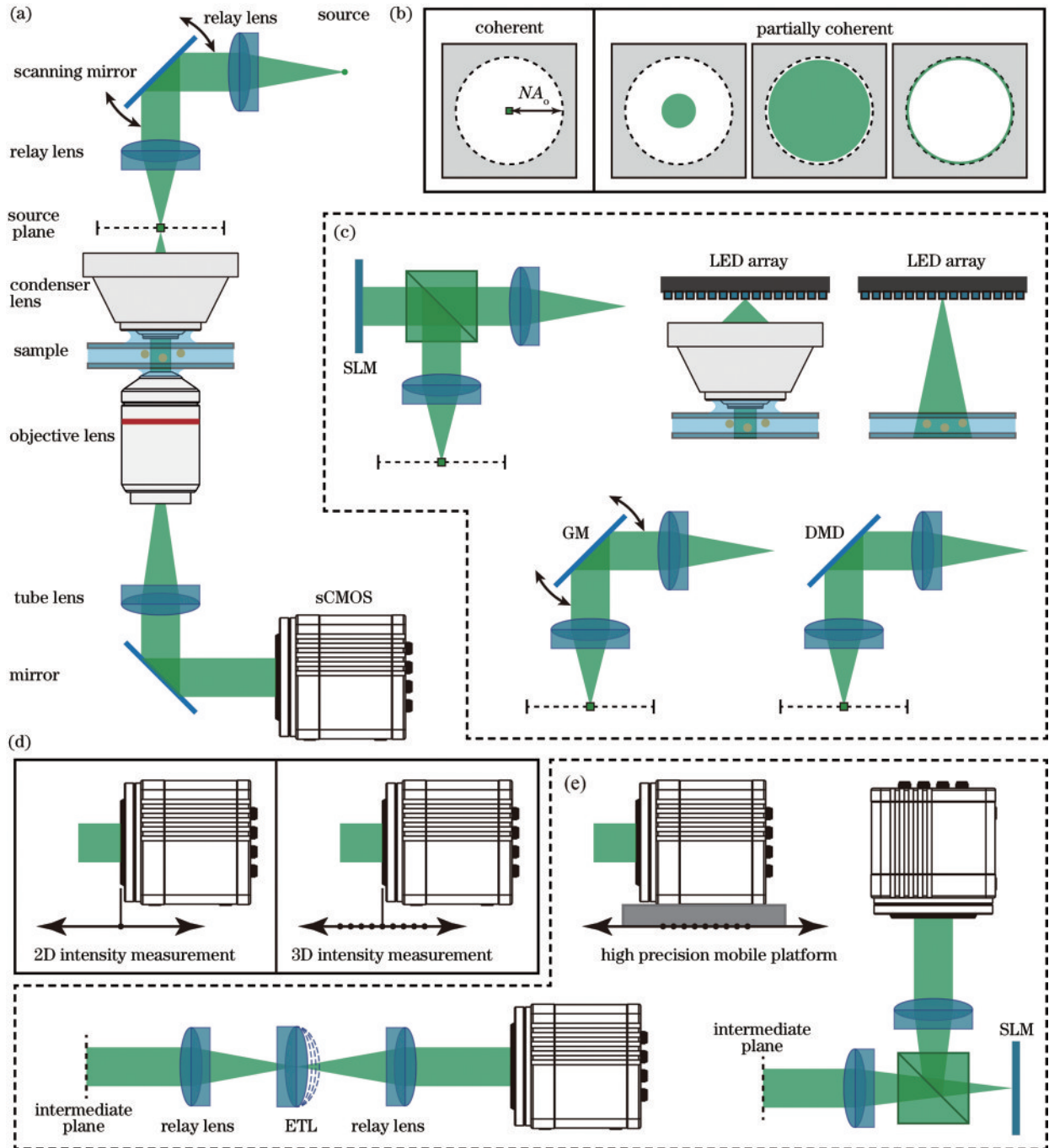


图 2 广义的非干涉强度衍射层析成像系统。(a)成像系统原理示意图;(b)相干光和部分相干光的示例(聚光镜前焦面上的光强分布);(c)不同的照明角度扫描装置;(d)二维对焦强度测量或三维离焦强度测量;(e)不同的三维离焦强度测量装置

Fig. 2 Generalized imaging system of non-interferometric IDT. (a) Schematic of the imaging system; (b) examples of coherent and partially coherent illumination (intensity distribution at the front focal plane of the condenser lens); (c) different illumination angle scanning devices; (d) 2D (in-focus) intensity measurement or 3D (defocus) intensity measurement; (e) various 3D defocus intensity measurement devices

块和强度采集模块。

非干涉强度衍射层析成像技术要求提供准单色相干光或部分相干光,如图 2(b)所示。可通过在聚光镜前焦面上布置一定形状的光阑获得预期的部分相干光,如具有不同尺寸参数的圆域或环域照明<sup>[70]</sup>。至于准单色相干光,则需要将显微镜原有的光源替换为激光或 LED 光源等,并添加样本旋转或照明角度扫描装置以收集样本不同的空间频率信息。由于样本的尺寸微小,目前样本旋转装置的精度难以满足要求,而照明角度扫描则可以通过空间光调制器(SLM)<sup>[71]</sup>、LED 阵列面板<sup>[72-77]</sup>、扫描振镜(GM)<sup>[78-79]</sup>和数字微镜器件(DMD)<sup>[80]</sup>等精准实现,如图 2(c)所示,在目前研究中采用更为普遍。

显微成像模块是由物镜和筒镜组成的无限远共轭成像系统,主要起放大作用。通过配置具有不同放大倍数和数值孔径的物镜,以追求不同的空间分辨率和视场等成像指标。

至于强度采集模块,为匹配计算成像的需要,通常布置二维对焦强度采集装置或三维离焦强度采集装置,如图 2(d)所示。顾名思义,二维对焦强度采集装置仅采集单张二维对焦强度图像,而三维离焦强度图像装置额外采集具有相同轴向间隔的离焦强度图像。如图 2(e)所示,轴向离焦强度采集可以通过高精度位移平台<sup>[81]</sup>、电控离焦透镜(ETL)<sup>[82-84]</sup>或 SLM<sup>[85-86]</sup>等实现。

成像指标主要包括三维折射率的重建质量、空间分辨率、视场、时间分辨率、重建速度和成像深度等。需要注意的是,这些成像指标之间存在着一定的制衡,如空间分辨率和视场通常难以兼顾。而三维计算显微成像的目标是,针对具体的应用场合,通过硬件编码和计算解码的方式保证主要的指标要求。

## 2.2 三维折射率重建问题

已知信息包括入射照明光波场  $u_0(\mathbf{r}_\perp)$ 、对应的测量强度  $I$  及正向物理成像模型  $\mathcal{M}\{\cdot\}$  (包括成像系统的各项参数),据此来重建样本的三维折射率估计  $\hat{n}(\mathbf{r})$ 。从数学角度,可以将此三维折射率重建问题描述为一个优化问题,

$$\operatorname{argmin}_{\hat{n}(\mathbf{r}) \in \mathbb{C}} c\left[\mathcal{M}\left\{\hat{n}(\mathbf{r})\right\} u_0(\mathbf{r}_\perp)\right], I] + \tau \times r[\hat{n}(\mathbf{r})], \quad (5)$$

式中:第一项  $c(\cdot)$  为损失函数(或成本函数),用于衡量预测强度和测量强度之间的误差,通常采用欧几里得距离;第二项  $r(\cdot)$  为正则化函数,用于抑制实际测量中的噪声或施加关于样本的先验知识,如折射率的稀疏分布或平滑分布等。

## 3 非干涉强度衍射层析成像技术的发展现状和方法对比

### 3.1 非干涉相位恢复

在传统光学衍射层析成像的重建端,一个关键是获取测量平面上光波场的复振幅分布,包括幅值(或强

度)和相位。目前,光电传感器仅可以捕获光波场的强度,而相位等其他光波场信息丢失,这涉及著名的相位恢复问题<sup>[87-89]</sup>,即如何通过强度定量地恢复相位,从而获得二维光波场的复振幅分布。传统光学衍射层析成像技术利用干涉(全息)测量来完成相位恢复。此外,在二维定量相位成像技术中,研究人员还开发了一类基于非干涉强度测量原理的定量相位恢复方法,如 GS 算法、叠层成像、傅里叶叠层成像和光强传输方程等。近年来,为了解决干涉测量中存在的问题,工作人员开展了一系列通过采用非干涉测量的相位恢复方法实现衍射层析成像的研究。其主要优势在于可以兼容于目前广泛使用的商业宽场显微镜系统(仅需要少量的硬件调整和替代),避免了干涉测量的缺点,如复杂的干涉装置、高相干光源及散斑噪声等。

#### 3.1.1 基于光强传输方程的强度衍射层析成像

光强传输方程是一个二阶椭圆偏微分方程,建立了光在传播过程中光强沿光轴方向的变化量和垂直于光轴的平面上光波场的相位之间的映射关系<sup>[37-38]</sup>,

$$-k_0 \frac{\partial I(\mathbf{r}_\perp, z_M)}{\partial z} = \nabla \cdot [I(\mathbf{r}_\perp, z_M) \nabla \phi(\mathbf{r}_\perp, z_M)], \quad (6)$$

式中: $I(\mathbf{r}_\perp, z_M)$  为测量平面上的光强分布; $\nabla$  为作用于横向平面  $\mathbf{r}_\perp$  的哈密顿算子; $\phi(\mathbf{r}_\perp, z_M)$  为测量平面上的相位分布。因此,在已知测量平面上的光强分布(直接测量得到)和光强轴向微分(以光强的数值差分近似,如  $\partial I(\mathbf{r}_\perp, z_M)/\partial z \approx [I(\mathbf{r}_\perp, z_M) - I(\mathbf{r}_\perp, z_M - \Delta z)]/\Delta z$ ) 的情况下,通过数值求解光强传输方程且无须进行相位解包裹就可以获得测量平面上光波场的相位分布<sup>[90]</sup>,从而得到测量平面上总光波场的复振幅分布,

$$u_M(\mathbf{r}_\perp, z_M) = \sqrt{I(\mathbf{r}_\perp, z_M)} \exp[i\phi(\mathbf{r}_\perp, z_M)]. \quad (7)$$

计算显微成像系统如图 3(a)所示,以宽场显微镜为主体,硬件改变主要有 3 点,首先是准单色相干光源,其次是布置照明角度扫描装置,最后是添加三维离焦强度采集装置,以获取至少 2 张离焦光强图像。如图 3(b)所示,在不同照明角度的平面入射光下,基于光强传输方程得到测量平面上总光波场的复振幅分布后,三维折射率重建流程与传统光学衍射层析成像基本相同,在此不作赘述。

如图 3(c)所示,三维折射率的定量重建表现在聚苯乙烯微球样本上得到了验证。此外,单细胞(如肺癌细胞、HeLa 细胞)和多细胞样本(如实球藻)的三维折射率成像分别如图 3(d)~(f)所示<sup>[72]</sup>。但是,基于光强传输方程的相位恢复方法对噪声敏感,对采集的光强图像信噪比要求高。然而,普通相干光源(如 LED 阵列面板)在大照明角度下一般难以提供足够的入射光强,因此采集的强度图像信噪比较低,相位恢复精度将随之降低。因此,基于光强传输方程的强度衍射层析

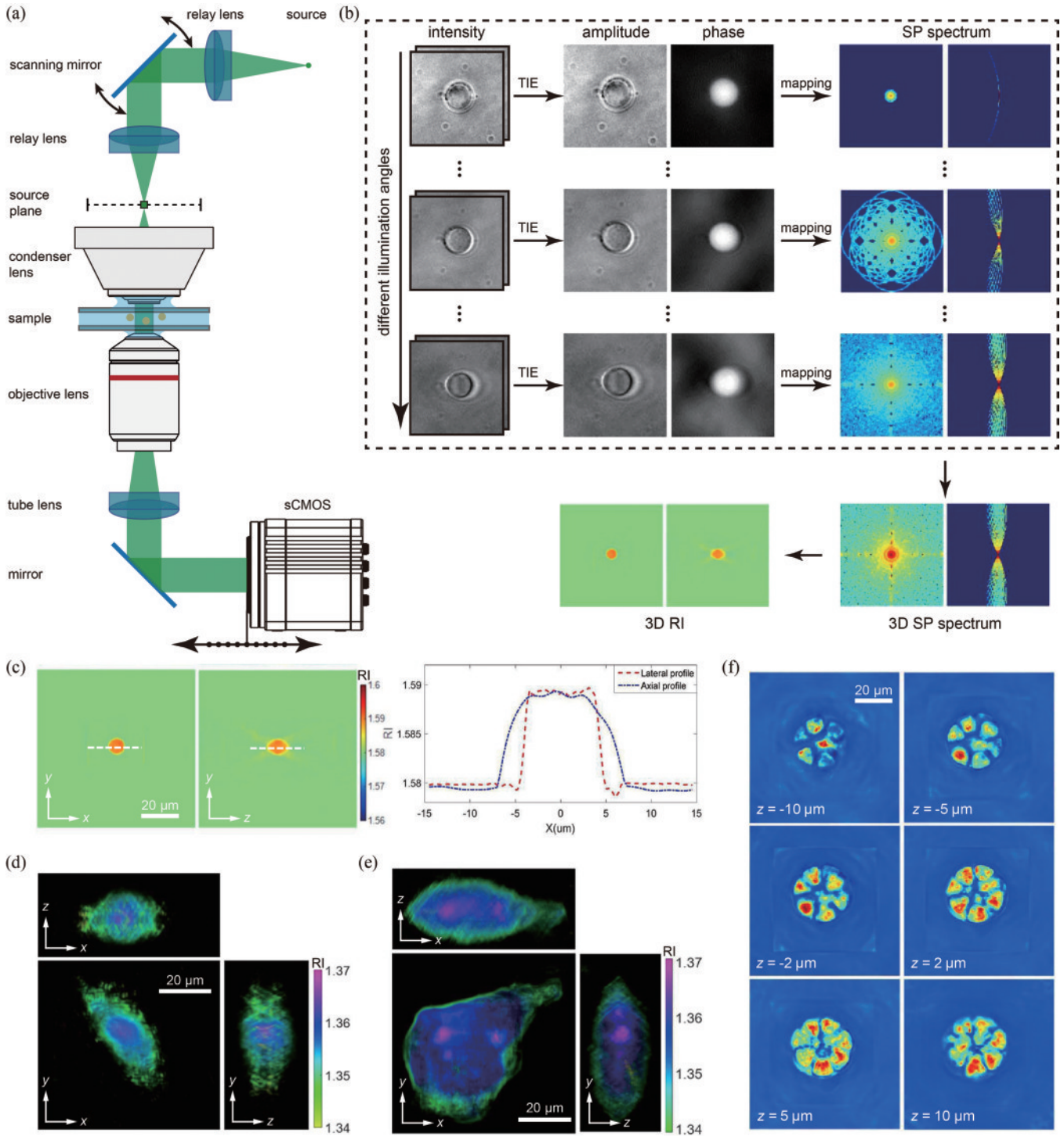


图3 基于光强传输方程的强度衍射层析成像<sup>[72]</sup>。(a)实验装置原理示意图；(b)三维折射率重建流程；(c)~(f)聚苯乙烯微球、肺癌细胞、HeLa细胞和实球藻的三维折射率重建

Fig. 3 TIE-based IDT<sup>[72]</sup>. (a) Schematic of the experimental setup; (b) flowchart of the 3D RI reconstruction process; (c)–(f) 3D RI reconstruction of polystyrene microsphere, lung cancer cell, HeLa cell, and pandorina morum

成像在空间分辨率和重建质量之间存在着一定的权衡。

### 3.1.2 基于Kramers-Kronig关系的强度衍射层析成像

Kramers-Kronig关系描述了一个复函数 $f(x)$ 实部和虚部之间的映射关系<sup>[91]</sup>,

$$\text{Im}[f(x)] = -\frac{1}{\pi} p.v. \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\text{Re}[f(x')]}{x' - x} dx', \quad (8)$$

式中: $p.v.$ 为柯西主值。当复函数的实部和虚部其中之一已知时,在一定条件下,另一者可以根据Kramers-Kronig关系解析地求解得到。因此,Baek等<sup>[79]</sup>利用Kramers-Kronig关系解决光学衍射层析成像中的相位

恢复问题。如图 4(b) 所示,通过测量平面上光强分布(光波场的实部)解析地求解得到相位分布(光波场的虚部),这里直接给出结果,具体推导详见文献[79],

$$u_M(\mathbf{r}_\perp) = \exp \left\{ \frac{\log [I_M(\mathbf{r}_\perp)]}{2} - \frac{i}{\pi} p.v. \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\log [I_M(\mathbf{r}'_\perp)]}{2(\kappa' - \kappa)} d\kappa \right\} + i\mathbf{k}^{\text{ill}} \mathbf{r}_\perp \quad (9)$$

同时,Back 等<sup>[79]</sup>给出解析求解需要满足的条件:一是

平面入射光的照明角度刚好等于物镜可收集的最大入射角度(以下称为极限匹配照明条件);二是散射光远弱于平面入射光(即弱散射近似的假设)。

计算显微成像系统如图 4(a) 所示,以宽场显微镜为主体,硬件改变主要有 2 点,首先是准单色相干光源,其次是添加照明角度扫描装置,并且需要进行严格的对准以满足极限匹配照明条件。在不同照明角度的平面入射光下,利用 Kramers-Kronig 关系得到测量平面上总光波场的复振幅分布后,三维折射率重建流程与传统光学衍射层析成像基本相同,在此不作赘述。

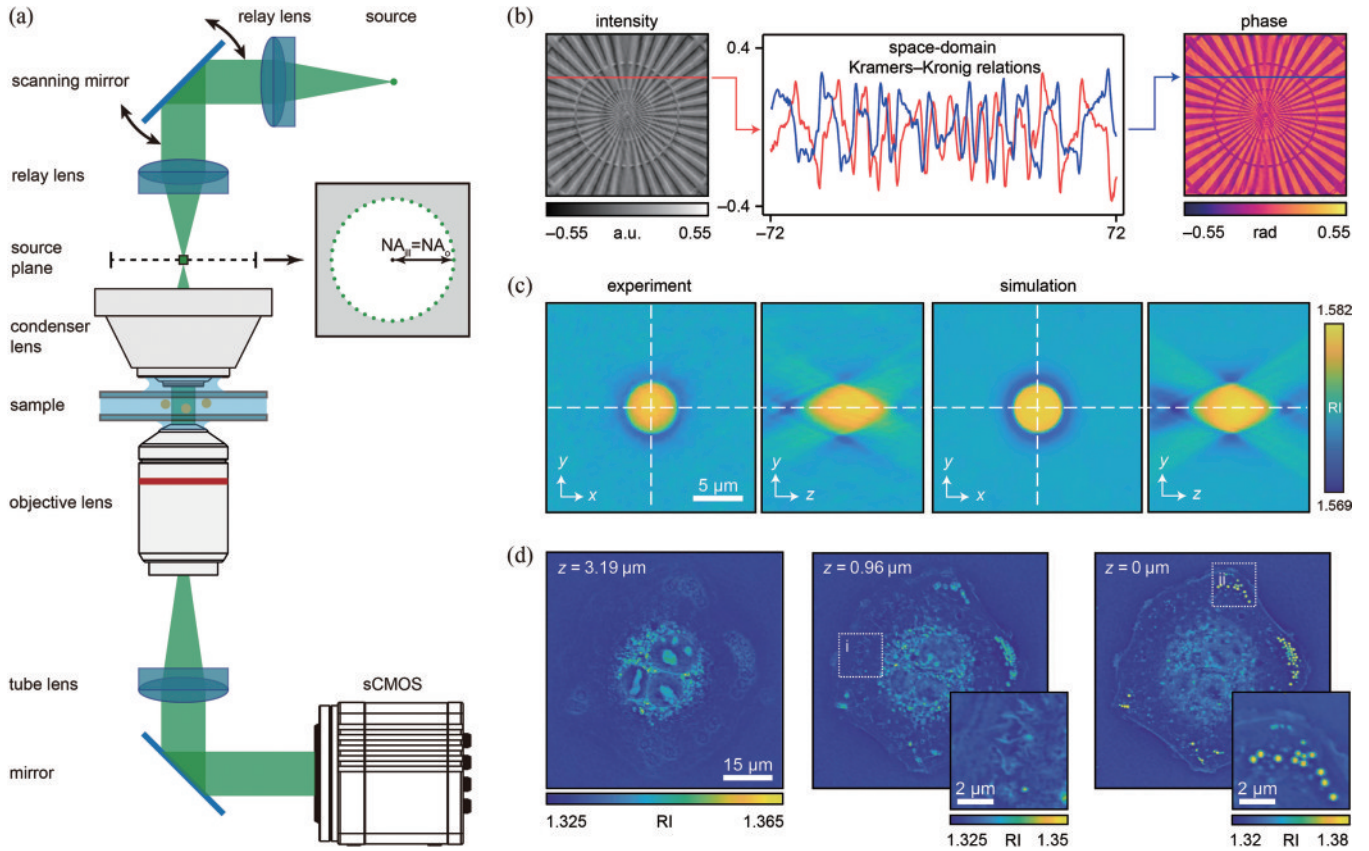


图 4 基于二维 Kramers-Kronig 关系的强度衍射层析成像<sup>[79]</sup>。(a) 实验装置原理示意图; (b) 基于 Kramers-Kronig 关系从强度(复函数的实部)重建相位(复函数的虚部); (c)(d) 聚苯乙烯微球和 A549 细胞的三维折射率重建

Fig. 4 IDT based on 2D Kramers-Kronig relations<sup>[79]</sup>. (a) Schematic of the experimental setup; (b) the phase (imaginary part of a complex function) can be reconstructed from the intensity (real part of a complex function) based on the 2D Kramers-Kronig relations; (c)(d) 3D RI reconstruction of polystyrene microsphere and A549 cell

如图 4(c) 所示,三维折射率的定量重建表现在聚苯乙烯微球样本上得到了验证(光学实验和数值仿真结果高度相符)。此外,单细胞样本(A549 细胞)的三维折射率成像如图 4(d) 所示<sup>[79]</sup>。但是,在基于二维 Kramers-Kronig 关系的强度衍射层析成像中,极限匹配照明条件提出了严格的对准要求,并且实验装置应具有高度的稳定性,否则,将极大地影响三维折射率的重建质量。为了解除极限匹配照明条件这一严苛要求, Li 等<sup>[92]</sup>将 Kramers-Kronig 关系从二维推广至三维。

首先,从相位光学传递函数的角度解释极限匹配照明条件可以被打破的原因。如图 5(a) 所示,在二维

情况下,当不满足极限匹配照明条件时,相位光学传递函数的 2 个共轭对称圆将有部分区域重叠互相抵消(代表着相位部分频率信息的丢失),此时光波场的相位(虚部)无法通过强度(实部)得到完全的解析的求解;只有当满足极限匹配照明条件时,相位光学传递函数的 2 个共轭对称圆仅在原点处重叠互相抵消(代表着相位的平凡模糊性<sup>[93-94]</sup>),此时光波场的相位(虚部)可以通过强度(实部)得出完全的解析的求解。而在三维情况下,如图 5(b) 所示,相位光学传递函数几何上表征为 2 个关于原点对称的共轭球面,在任意照明条件下均仅在原点处重叠互相抵消(代表着相位的平凡

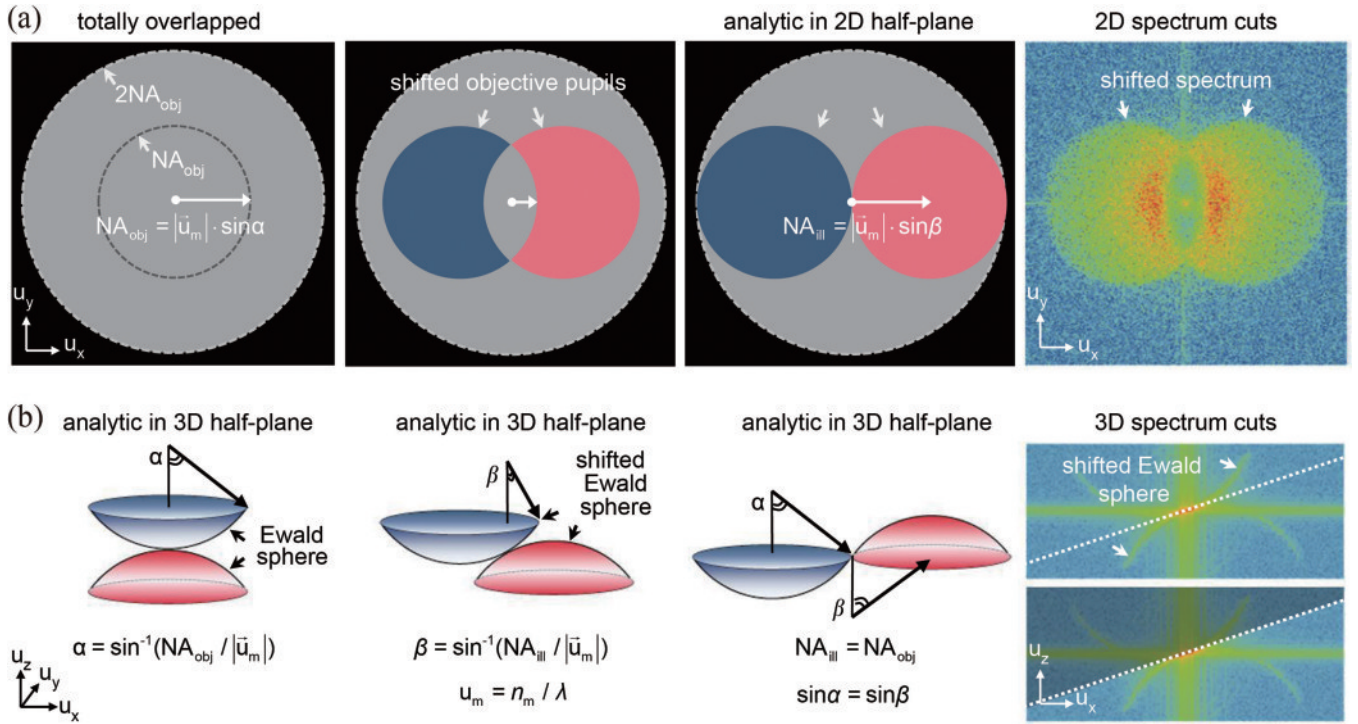


图5 不同照明条件下二维和三维相位光学传递函数以及测量强度频谱<sup>[92]</sup>。(a)二维情况；(b)三维情况

Fig. 5 Phase optical transfer functions under different illumination conditions and corresponding intensity spectrum<sup>[92]</sup>.

(a) 2D case; (b) 3D case

模糊性)。因此,基于三维Kramers-Kronig关系,在任意照明角度的平面入射光下,光波场的相位(虚部)均可以通过强度(实部)得到完全的解析的求解。

Li等<sup>[92]</sup>引入一个三维复相位函数,其具体定义为

$$\phi_s(\mathbf{r}) = \ln \frac{u_M(\mathbf{r})}{u^{III}(\mathbf{r})}. \quad (10)$$

此时,正向物理成像模型不再依赖传统光学衍射层析成像中的傅里叶衍射定理,其建立的是样本的散射势频谱到复相位函数频谱之间的映射关系,具体推导详见文献[92],

$$\tilde{\phi}_s(\mathbf{k}) = \tilde{V}(\mathbf{k}) T_o^+(\mathbf{k} + \mathbf{k}^{III}), \quad (11)$$

式中: $T_o^+(\mathbf{k})$ 为物镜的广义三维传递函数,其定义详见文献[92]。从几何投影角度来看,傅里叶衍射定理建立的是从部分球面(三维)到平面(二维)的映射,此处的正向物理成像模型建立的是从部分球面(三维)到部分球面(三维)的映射。

同样,三维复相位函数的实部是已知的,可由三维离焦测量强度计算得到,

$$\text{Re}\{\phi_s(\mathbf{r})\} = \frac{1}{2} \ln I_M(\mathbf{r}), \quad (12)$$

这样,在任意照明条件下,复相位函数的虚部都可以通过对其实部应用三维Kramers-Kronig关系进行解析求解得到。值得指出的是,Kramers-Kronig关系本质上是希尔伯特变换的一个特殊情况,而希尔伯特变换在傅里叶空间中表达为半空间上 $\pm \frac{\pi}{2}$ 的相移滤波<sup>[93]</sup>,利

用此性质可以实现快速数值计算。如图6(a)所示,三维折射率的重建流程如下:

- 1) 数据预处理,包括照明角度校正和背景强度归一化;
- 2) 应用Kramers-Kronig关系求解复相位函数的虚部(即在傅里叶空间中进行半空间相移滤波);
- 3) 基于正向物理成像模型和合成孔径,得到样本的三维散射势频谱估计;
- 4) 进行三维傅里叶逆变换并计算映射为样本的三维折射率估计。

在计算显微成像系统方面,此项技术与基于光强传输方程的强度衍射层析成像技术基本相同,同时依赖照明角度扫描和轴向离焦强度采集,不同于光强传输方程最少仅须采集2张离焦强度图,计算显微成像系统的轴向离焦强度采集应满足一定的采样要求以实现合适的三维空间频率覆盖。如图6(b)和图6(c)所示,三维折射率的定量重建表现在聚苯乙烯微球样本上得到了验证,并实现了对单细胞样本和多细胞厚样本(如秀丽隐杆线虫)的三维折射率成像,研究报道称最高可实现横向206 nm和轴向520 nm的空间分辨率<sup>[92]</sup>。

应用三维Kramers-Kronig关系的主要优势在于打破了极限匹配照明条件的限制,在任意照明条件下,三维复相位函数的虚部均可以通过其实部得到解析计算。但是,此项技术同时依赖于照明角度扫描和轴向离焦强度采集,这导致了繁琐且冗余的数据采集过程。



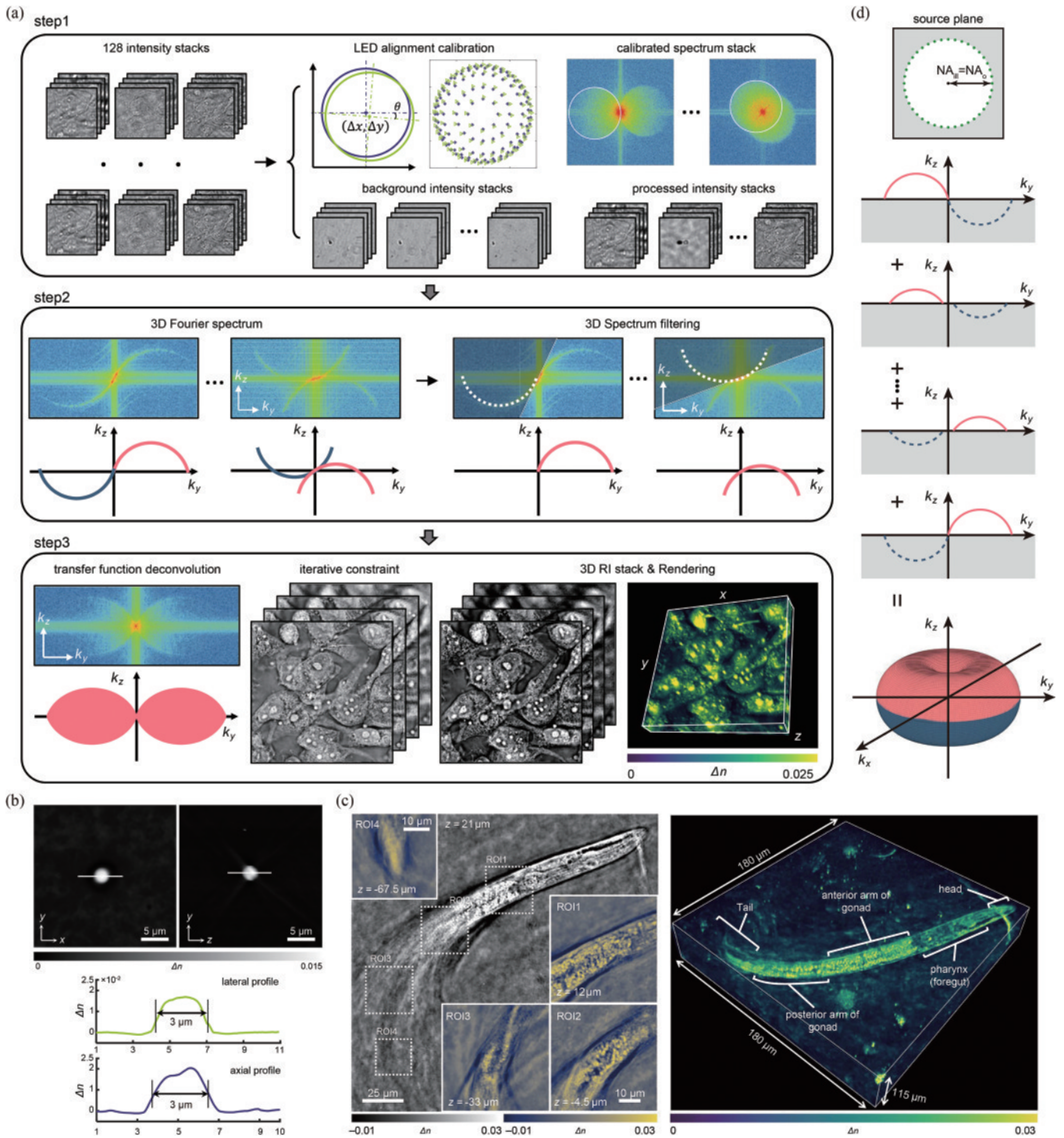


图6 基于三维Kramers-Kronig关系的强度衍射层析成像。(a)三维折射率重建流程<sup>[92]</sup>;(b)(c)聚苯乙烯微球和秀丽隐杆线虫的三维折射率重建<sup>[92]</sup>;(d)满足极限匹配照明条件的环形部分相干光及其空间频率覆盖<sup>[96]</sup>

Fig. 6 IDT based on 3D Kramers-Kronig relations. (a) Flowchart of the 3D RI reconstruction process<sup>[92]</sup>; (b) (c) 3D RI reconstruction of polystyrene microsphere and *C. elegans*<sup>[92]</sup>; (d) partially coherent incident light satisfying the extreme matched illumination condition and its spatial frequency coverage<sup>[96]</sup>

在研究报道中,标准程序需要在128个LED灯珠照明下分别采集201张离焦强度图像,每张强度图像曝光时间为200 ms,数据采集时间总计约为1.5 h<sup>[92]</sup>。这严重降低了此方法的时间分辨率,限制了动态生理过程的观测应用,并且对数据存储和计算构成了极大的挑战。针对繁琐且冗余的数据采集问题,Ullah等<sup>[96]</sup>采用满足

极限匹配照明条件的环形部分相干照明,如图6(d)所示,在此照明方案下,三维复相位函数在频域上半空间仍具有解析性,并且相位光学传递函数具有广阔的空间频率覆盖。此项工作将相干照明推广至部分相干照明,这将极大地缩短数据采集过程:一方面,不再需要照明角度扫描,仅采集一组三维离焦强度序列即可;另

一方面,部分相干照明可以提供更大的入射强度,这意味着更短的相机曝光时间。研究报道称仅需记录 101 帧离焦强度图像,且曝光时间从 200 ms 缩减至 15 ms<sup>[96]</sup>。

### 3.1.3 基于傅里叶叠层成像的强度衍射层析成像

傅里叶叠层成像的核心是迭代型相位恢复和合成孔径<sup>[43, 97]</sup>:通过在样本空间和测量平面之间迭代地施加已知的约束条件(如测量平面上的强度分布)来恢复光波场的相位分布,并且将不同照明角度下收集的空间频率信息拼接。其主要优势在于可以同时实现大视场和高分辨率,打破了这二者之间“天然”存在的制约。因此,Horstmeyer 等<sup>[98]</sup>和 Zuo 等<sup>[77]</sup>将傅里叶叠层成像的核心思想引入非干涉强度衍射层析成像中。

至于正向物理成像模型,仍采用傅里叶衍射定理,即样本的三维散射势频谱到二维测量平面上一阶散射场频谱之间的映射关系。为追求更大的空间带宽积,同时考虑了明场和暗场强度情况。在一阶 Born 近似以及明场和暗场不同条件下,测量平面上总光波场与一阶散射光波场之间的关系<sup>[77]</sup>为

$$u_M(\mathbf{r}_\perp) = \begin{cases} u_{s1}(\mathbf{r}_\perp) + u^{in}(\mathbf{r}_\perp), & \text{bright field} \\ u_{s1}(\mathbf{r}_\perp), & \text{dark field} \end{cases} \quad (13)$$

而在一阶 Rytov 近似以及明场和暗场不同条件下,测量平面上总光波场与一阶散射光波场之间的关系<sup>[77]</sup>为

$$u_M(\mathbf{r}_\perp) = \begin{cases} u^{in}(\mathbf{r}_\perp) \exp[u_{s1}(\mathbf{r}_\perp)/u^{in}(\mathbf{r}_\perp)], & \text{bright field} \\ u^{in}(\mathbf{r}_\perp) \left\{ \exp[u_{s1}(\mathbf{r}_\perp)/u^{in}(\mathbf{r}_\perp)] - 1 \right\}, & \text{dark field} \end{cases} \quad (14)$$

至于三维折射率重建问题,已知信息包括具有  $L$  个不同照明角度的平面入射光  $\{u^{in\ell}(\mathbf{r}_\perp)\}_{\ell=1}^L$  及其对应的测量强度  $\{I_M^\ell(\mathbf{r}_\perp)\}_{\ell=1}^L$ 、正向物理成像模型(包括样本三维散射势到测量平面上一阶散射光波场之间的映射关系,测量平面上总光波场和一阶散射光波场之间的映射关系)。如图 7(a)所示,三维折射率的重建流程<sup>[77]</sup>主要如下:

1) 初始化样本的三维散射势频谱估计  $\tilde{V}(\mathbf{k}) = \mathbf{0}$ ;

2) 对于第  $\ell$  个平面入射光,选取对应的三维散射势频谱  $\tilde{V}^\ell(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{in})$ ;

3) 根据傅里叶衍射定理即式(1)计算出测量平面上一阶散射光波场频谱  $\tilde{u}_{s1}^\ell(\mathbf{k}_\perp)$ ;

4) 进行二维傅里叶逆变换,得到测量平面上一阶散射光波场  $u_{s1}^\ell(\mathbf{r}_\perp)$ ;

5) 基于一阶 Born 或 Rytov 近似以及明场或暗场条件,计算得到测量平面上的总光波场  $u_M^\ell(\mathbf{r}_\perp)$ ;

6) 施加测量平面上总光波场的强度约束,

$$u_M^\ell(\mathbf{r}_\perp) = \sqrt{I_M^\ell(\mathbf{r}_\perp)} \frac{u_M^\ell(\mathbf{r}_\perp)}{|u_M^\ell(\mathbf{r}_\perp)|};$$

7) 更新测量平面上一阶散射光波场估计  $u_{s1}^{\ell+1}(\mathbf{r}_\perp)$ ;

8) 进行二维傅里叶变换,更新测量平面上一阶散射光波场频谱估计  $\tilde{u}_{s1}^{\ell+1}(\mathbf{k}_\perp)$ ;

9) 根据傅里叶衍射定理即式(1)计算并更新三维散射势频谱  $\tilde{V}^{\ell+1}(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{in})$ ;

10) 对于  $\ell = 1, 2, \dots, L$ , 执行步骤 2)~9);

11) 执行步骤 2)~10), 直至迭代收敛。

在计算显微成像系统方面,此项技术与基于二维 Kramers-Kronig 关系的衍射层析成像技术基本相同,在此不作赘述。该技术的主要优点在于将低倍物镜获取的大量低分辨率强度图像所包含的空间频率信息在频域拼接,从而创建大视场和高分辨率的三维折射率分布。图 7(b)为对 HeLa 细胞的折射率重建结果,以  $10\times$  和  $0.4\text{NA}$  物镜获得了相当于  $1.3\text{NA}$  物镜的成像分辨率,横向分辨率为  $390\text{ nm}$ ,轴向分辨率为  $899\text{ nm}$ ,兼具低倍物镜的大视场( $1.77\text{ mm}^2$ )<sup>[77]</sup>。

但是,考虑到实际应用,基于傅里叶叠层成像的强度衍射层析成像存在 2 个严重问题。首先,为保证迭代重建的快速稳定收敛,要求不同照明角度对应的三维散射势频谱之间存在着一定的重叠。因此,数据采集量急剧增加,研究报道称标准程序总计采集 3001 张强度图像<sup>[77]</sup>,漫长的数据采集严重地降低了此方法的时间分辨率,对三维动态观测构成了极大的挑战。其次,此方法的迭代重建耗时久,研究报道称全视场三维折射率重建时间约为  $22.7\text{ h}$ <sup>[77]</sup>,对未来追求的实时观察也构成了极大的挑战。针对上述庞大的数据量问题,Zhou 等<sup>[99]</sup>提出加速策略,通过优化可能存在的数据冗余以降低数据采集需求。如图 7(c)所示,明场照明条件下稀疏环形 LED 照明和暗场照明条件下照明复用相结合的策略在保证三维折射率重建质量的前提下,将采集的强度图像数量从 3001 张减少到 73 张<sup>[99]</sup>,减轻了存储和计算的负担,实现了三维折射率重建的计算加速。

### 3.1.4 基于 TIE 和 FP 的强度衍射层析成像

已经指出,如图 8 所示,在单张二维对焦强度测量条件下,其对应的光学相位函数几何上表征为 2 个关于原点对称的共轭圆。这 2 个共轭圆一般存在部分区域的重叠抵消,这意味着三维折射率重建将伴随着部分低频信息丢失的困扰。只有满足极限匹配照明条件时,2 个共轭圆仅在原点处重叠,此时,不再有频率信息丢失问题。然而,极限匹配照明条件需要光学成像系统严格精确的对准和高稳定性。针对一般照明条件下可能存在的相位频率信息丢失的问题,上述提出的一种解决方案是测量三维离焦强度,但是其巨大的数据采集量严重降低了时间分辨率。Zhou 等<sup>[100]</sup>发现,在任意照明条件下,单张二维离焦强度对应的相位光学传递函数中 2 个共轭对称圆虽然有重叠,但重叠区域不会完全抵消,这样便存在着相位从强度测量中完全恢复的可能性。于是提出了结合光强传输方程和傅里

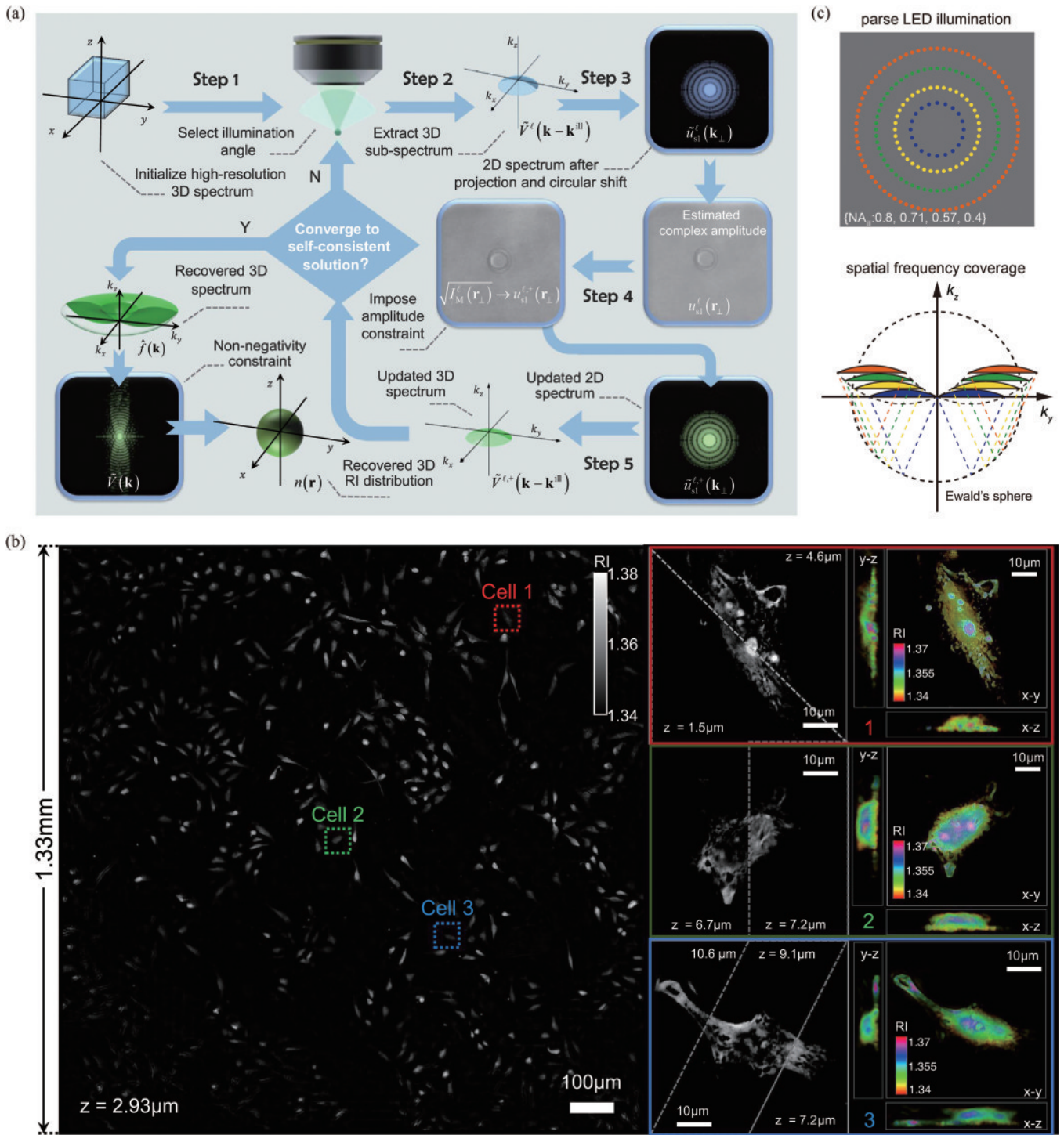


图7 基于傅里叶叠层成像的强度衍射层析成像。(a)三维折射率重建流程<sup>[77]</sup>；(b)HeLa细胞的三维折射率重建<sup>[77]</sup>；(c)明场稀疏照明和暗场照明复用的加速优化策略<sup>[99]</sup>

Fig. 7 FP-based IDT. (a) Flowchart of the 3D RI reconstruction process<sup>[77]</sup>; (b) 3D RI reconstruction of HeLa cell<sup>[77]</sup>; (c) accelerated optimization strategy based on sparse bright field illumination and multiplexed dark field illumination<sup>[99]</sup>

叶叠层成像的衍射层析成像,通过离焦强度中包含的相衬信息来规避极限匹配照明条件这一严格要求。在每个照明角度下,分别采集对焦和离焦强度图像各一张,进行基于光强传输方程的求解得到对焦测量平面上粗略的相位估计。由于光强传输方程求解中采用的有限差分近似和相位差异,部分非线性高频信息丢失。因此,引入傅里叶叠层成像中的迭代施加强度约束以

补偿非线性误差,最终实现定量的三维折射率重建。

至于正向物理成像模型,首先利用傅里叶衍射定理描述从样本的三维散射势到二维对焦测量平面上—阶散射光波场的映射关系,接下来建立了二维对焦测量平面和离焦测量平面上—阶散射光波场之间的映射关系,

$$\tilde{u}_{s1}(\mathbf{k}_{\perp}, z_M + \Delta z) = \exp(i\mathbf{k}_{\parallel} \Delta z) \tilde{u}_{s1}(\mathbf{k}_{\perp}, z_M), \quad (15)$$

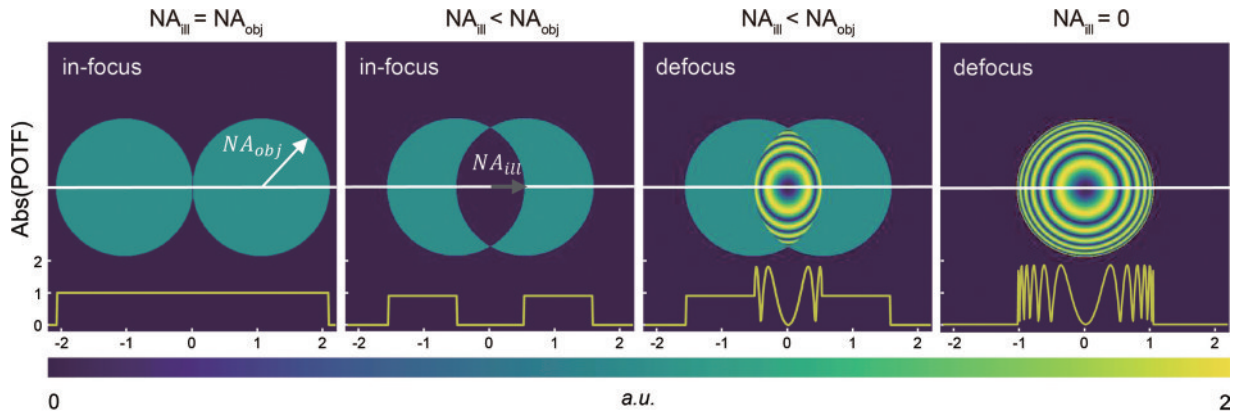


图 8 不同照明条件下二维对焦和离焦强度所对应的相位光学传递函数的绝对值<sup>[100]</sup>

Fig. 8 Absolute value distribution of the POTFs under different illumination conditions and at different focal planes<sup>[100]</sup>

最后需要注意的是对焦和离焦测量平面上的一阶散射光波场和总光波场(以及强度)之间的映射关系,可参考式(13)或式(14)。

至于三维折射率重建问题,已知信息包括正向物理成像模型、具有  $L$  个不同照明角度的平面入射光  $\{u^{in\ell}(\mathbf{r}_{\perp})\}_{\ell=1}^L$  以及相应的对焦测量平面上的强度  $\{I_M^{\ell}(\mathbf{r}_{\perp}, z_M)\}_{\ell=1}^L$  和离焦测量平面上的强度  $\{I_M^{\ell}(\mathbf{r}_{\perp}, z_M + \Delta z)\}_{\ell=1}^L$ 。如图 9(a)所示,重建流程主要如下。

1) 在第  $\ell$  个平面入射光下,基于对焦和离焦测量平面上的强度  $I_M^{\ell}(\mathbf{r}_{\perp}, z_M)$  和  $I_M^{\ell}(\mathbf{r}_{\perp}, z_M + \Delta z)$ ,通过光强传输方程求解得到对焦测量平面上的总光波场估计  $u_M^{\ell}(\mathbf{r}_{\perp}, z_M)$ ,接下来计算得到对焦测量平面上的一阶散射光波场  $u_{s1}^{\ell}(\mathbf{r}_{\perp}, z_M)$ ,根据傅里叶衍射定理更新第  $\ell$  个照明角度对应的散射势频谱  $\tilde{V}^{\ell}(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{in})$ 。

2) 遍历所有照明角度,执行步骤 1),得到样本的三维散射势频谱的初始估计  $\tilde{V}(\mathbf{k})$ 。

3) 在第  $\ell$  个平面入射光下,选取对应的散射势谱  $\tilde{V}^{\ell}(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{in})$ ,根据傅里叶衍射定理计算出对焦测量平面上的一阶散射光波场,施加测量强度约束以更新一阶散射光波场的估计;光波场正向传播至离焦测量平面,施加测量强度约束以更新一阶散射光波场估计;然后反向传播回对焦测量平面,再次施加测量强度约束以更新一阶散射光波场估计;最后,根据傅里叶衍射定理更新第  $\ell$  个照明角度对应的散射势频谱  $\tilde{V}^{\ell+1}(\mathbf{k} - \mathbf{k}^{in})$ 。

4) 遍历所有照明角度,执行步骤 3),更新样本的三维折射率谱的估计  $\tilde{V}^{\dagger}(\mathbf{k})$ ,直至迭代收敛。

在计算显微成像系统方面,此项技术与基于光强传输方程的衍射层析成像技术基本相同,同时依赖照明角度扫描和轴向离焦强度采集。如图 9(b)所示,三维折射率的定量重建表现通过聚苯乙烯微球样本得到验证,并在一定程度上解决了非干涉强度衍射层析成像中常见的折射率低估问题<sup>[100]</sup>。图 9(c)和图 9(d)为 C2C12 细胞和 HeLa 细胞的三维折射率重建,可以清

晰地观察细胞器结构,研究报道称横向分辨率最高可达到  $254 \text{ nm}$ <sup>[100]</sup>,验证了此三维无标记成像方法在生命科学和生物学中的适用性。

### 3.2 基于三维光学传递函数的强度衍射层析成像

以上介绍的方法本质上仍和传统光学衍射层析成像技术密切相关,正向物理成像模型均采用傅里叶衍射定理或其变体,三维折射率重建流程大体上亦相同。主要的区别(或贡献)在于以非干涉测量的方式恢复测量平面上光波场的复振幅分布,克服了干涉(全息)测量的一些缺点。其中,测量平面上光波场的相位分布是一个关键的媒介,但需要指出的是相位分布亦是从小测量强度重建得到的。因此,研究人员追求直接建立从样本的三维折射率(或散射势)到测量强度的映射关系,跳过相位这一媒介。接下来分别按照相干光和部分相干光照明条件介绍相应的研究进展。

#### 3.2.1 相干光照明下基于三维光学传递函数的方法

首先,介绍相干光照明条件下的正向物理成像模型。在一阶 Born 近似的假设下,以光学传递函数为媒介建立了测量平面上的强度(成像系统的输出)和样本的介电常数衬度分布(成像系统的输入)之间的映射关系。样本的介电常数衬度定义为

$$\Delta\epsilon(\mathbf{r}) = 4\pi[n^2(\mathbf{r}) - n_m^2] = \Delta\epsilon_{\text{re}}(\mathbf{r}) + i\Delta\epsilon_{\text{im}}(\mathbf{r}), \quad (16)$$

此处直接给出建立的映射关系,具体的推导详见文献[73],

$$\tilde{I}_M(\mathbf{k}_{\perp} | \mathbf{k}^{in}) = B\delta(\mathbf{k}_{\perp}) + \int \left[ T_{\text{re}}(\mathbf{k}_{\perp}, z | \mathbf{k}^{in}) \Delta\tilde{\epsilon}_{\text{re}}(\mathbf{k}_{\perp}, z) + T_{\text{im}}(\mathbf{k}_{\perp}, z | \mathbf{k}^{in}) \Delta\tilde{\epsilon}_{\text{im}}(\mathbf{k}_{\perp}, z) \right] dz, \quad (17)$$

式中:  $\tilde{I}_M(\mathbf{k}_{\perp} | \mathbf{k}^{in})$  是在某一照明角度下采集的二维测量强度频谱;  $B$  是背景强度(假设均匀分布);  $\delta(\cdot)$  是二维狄拉克函数;  $\Delta\tilde{\epsilon}_{\text{re}}(\mathbf{k}_{\perp}, z)$  和  $\Delta\tilde{\epsilon}_{\text{im}}(\mathbf{k}_{\perp}, z)$  分别是某一  $z$  平面上样本介电常数衬度的实部频谱和虚部频谱。  $T_{\text{re}}(\mathbf{k}_{\perp}, z | \mathbf{k}^{in})$  和  $T_{\text{im}}(\mathbf{k}_{\perp}, z | \mathbf{k}^{in})$  分别是某一  $z$  平面上和某一照明角度下介电常数衬度实部和虚部的传递函数,具体定义分别为

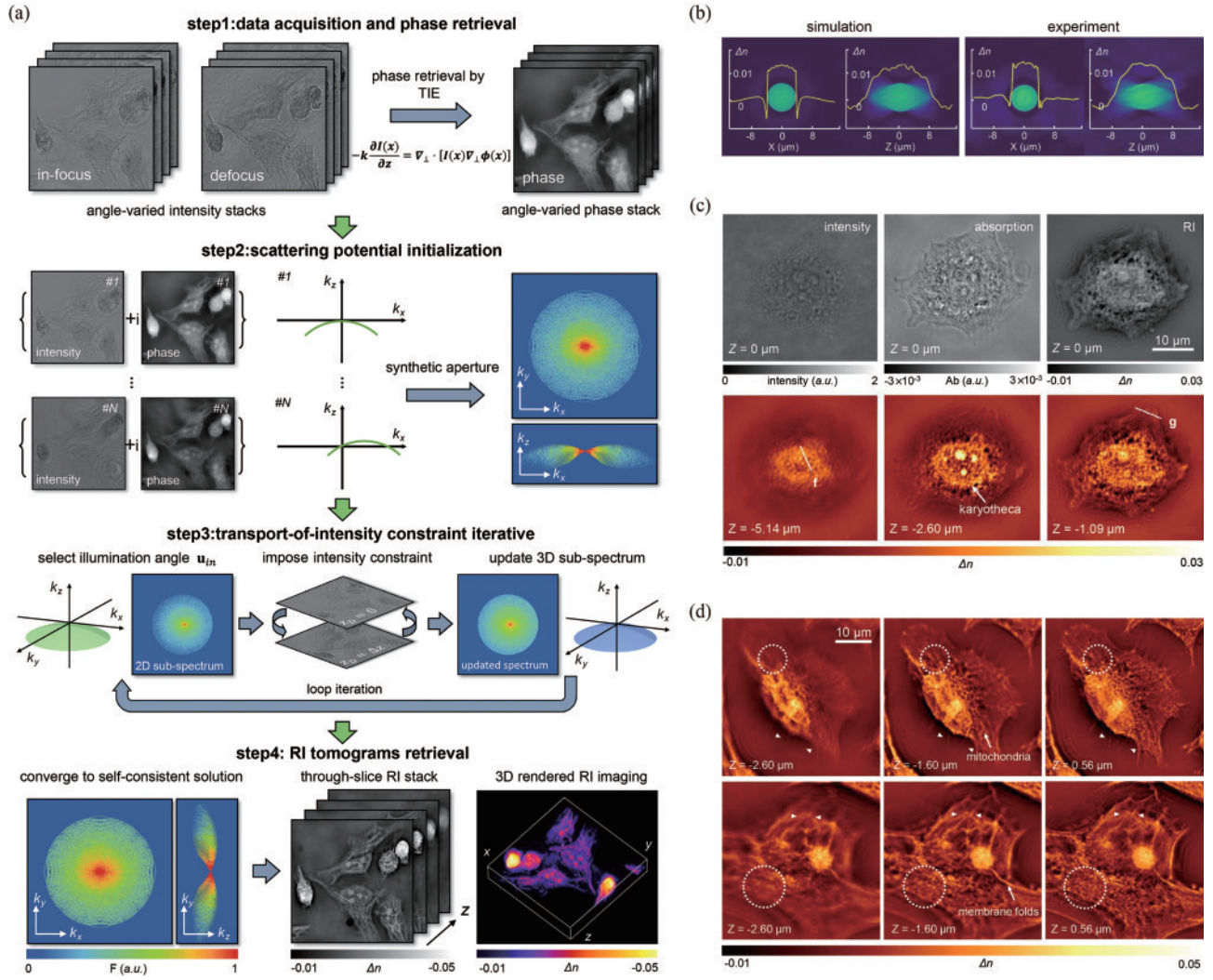


图9 基于光强传输方程和傅里叶叠层成像的强度衍射层析成像<sup>[100]</sup>。(a)三维折射率重建流程；(b)~(d)聚苯乙烯微球、C2C12细胞和HeLa细胞的三维折射率重建

Fig. 9 TIE- and FP-based IDT<sup>[100]</sup>. (a) Flowchart of the 3D RI reconstruction process; (b)–(d) 3D RI reconstruction of polystyrene microsphere, C2C12 cell, and HeLa cell

$$T_{\text{Re}}(\mathbf{k}_{\perp}, z | \mathbf{k}^{\text{ill}}) = \frac{ik_0^2}{2} \left\{ T_o(\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}}) \frac{\exp\left\{-i\left[\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}\right]z\right\}}{\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}} - T_o(\mathbf{k}_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}}) \frac{\exp\left\{i\left[\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}\right]z\right\}}{\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}} \right\}, \quad (18)$$

$$T_{\text{Im}}(\mathbf{k}_{\perp}, z | \mathbf{k}^{\text{ill}}) = -\frac{k_0^2}{2} \left\{ T_o(\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}}) \frac{\exp\left\{-i\left[\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}\right]z\right\}}{\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} - \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}} + T_o(\mathbf{k}_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}}) \frac{\exp\left\{i\left[\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}\right]z\right\}}{\sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}^{\text{ill}})^2}} \right\}. \quad (19)$$

考虑式(17)中积分在实际中的离散化,以求和近似,将其改写为

$$\tilde{I}_M[\ell] = B\delta(\mathbf{k}_\perp) + \sum_m \{T_{\text{Re}}[m, \ell]\Delta\tilde{\epsilon}_{\text{Re}}[m] + T_{\text{Im}}[m, \ell]\Delta\tilde{\epsilon}_{\text{Im}}[m]\}, \quad (20)$$

式中:横向空间频域坐标省略,轴向空间坐标以  $m$  表示,代表着第  $m$  个轴向切片平面;微分  $dz$  对应的轴向间隔

$\Delta z$  融合到光学传递函数  $T_{\text{Re}}[m, \ell]$  和  $T_{\text{Im}}[m, \ell]$  中。

至于三维折射率重建问题,已知信息包括正向物理成像模型、不同照明角度下采集的二维强度序列  $\{I_M[\ell]\}_{\ell=1}^L$ 、不同照明角度下和不同  $z$  平面上相应的光学传递函数  $T_{\text{Re}}[m, \ell]$  和  $T_{\text{Im}}[m, \ell]$ 。重建流程如图 10(a) 所示,为保证稳定重建,采用的反卷积重建算法为

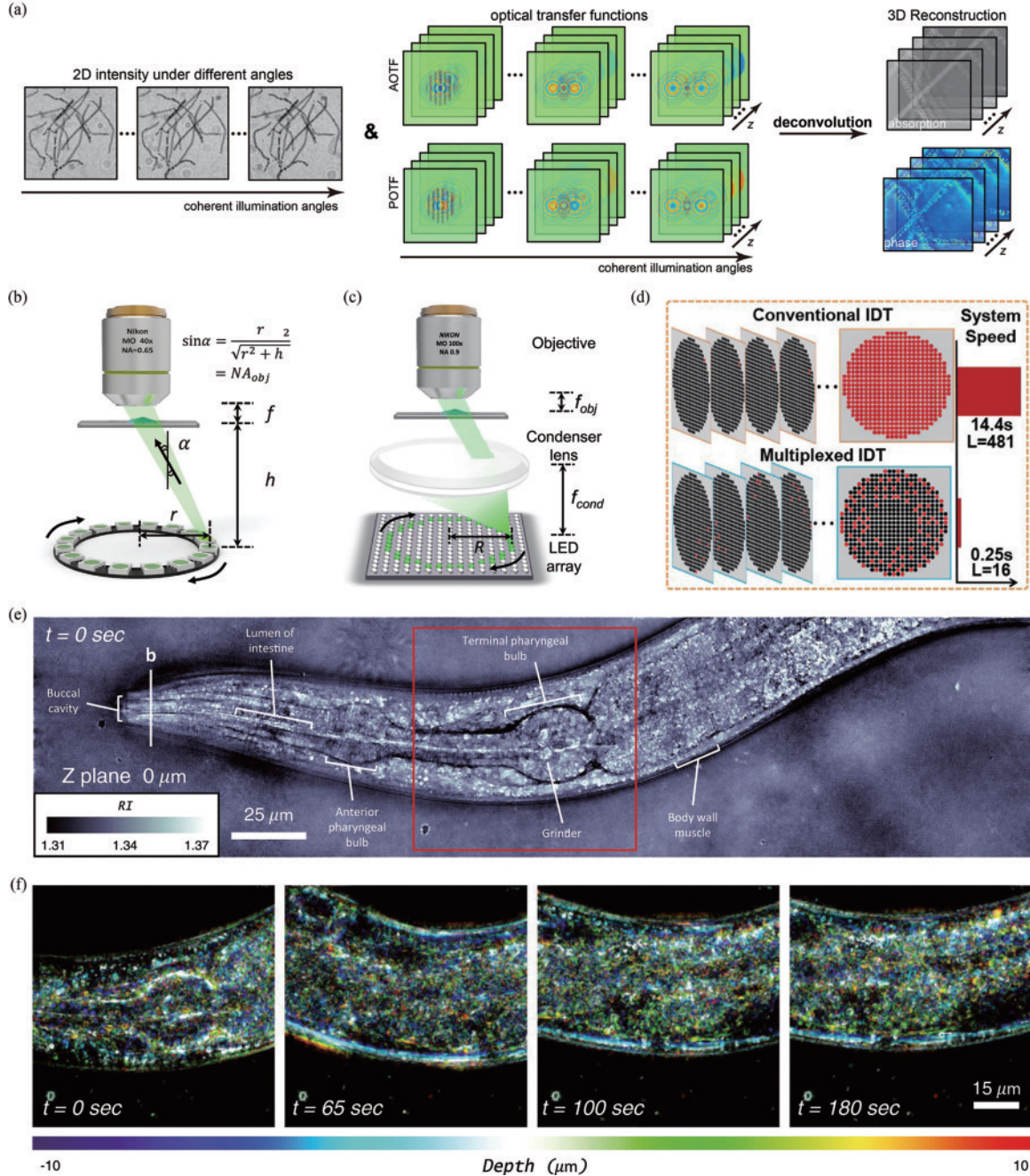


图 10 相干光照明下基于光学传递函数的强度衍射层析成像。(a)三维折射率重建流程<sup>[73]</sup>; (b)满足极限匹配照明条件的 LED 照明方案<sup>[74]</sup>; (c)在图 10(b)中加入聚光镜以提高照明数值孔径<sup>[75]</sup>; (d)稀疏照明复用的优化策略<sup>[76]</sup>; (e)对秀丽隐杆线虫的三维折射率重建<sup>[74]</sup>; (f)对秀丽隐杆线虫的三维延时摄影<sup>[74]</sup>

Fig. 10 Coherent optical transfer function (C-OTF)-based IDT. (a) Flowchart of the 3D RI reconstruction process<sup>[73]</sup>; (b) LED illumination satisfying the extreme matched illumination condition<sup>[74]</sup>; (c) a condenser lens is added into Fig. 10(b) to increase the illumination NA<sup>[75]</sup>; (d) acceleration strategy using a sparse multiplexed LED illumination<sup>[76]</sup>; (e) RI reconstruction of *C. elegans* at  $x-y$  plane<sup>[74]</sup>; (f) 3D time-lapse imaging of *C. elegans*<sup>[74]</sup>

$$\Delta\epsilon_{\text{Re}}[m] = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{1}{A} \left\{ \left[ \sum_{\ell} |T_{\text{Im}}[m, \ell]|^2 + \beta \right] \odot \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Re}}^*[m, \ell] \odot \tilde{I}_M[\ell] \right] - \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Re}}^*[m, \ell] \odot T_{\text{Im}}[m, \ell] \right] \odot \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Im}}^*[m, \ell] \odot \tilde{I}_M[\ell] \right] \right\} \right\}, \quad (21)$$

$$\Delta\epsilon_{\text{Im}}[m] = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{1}{A} \left\{ \left[ \sum_{\ell} |T_{\text{Re}}[m, \ell]|^2 + \alpha \right] \odot \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Im}}^*[m, \ell] \odot \tilde{I}_M[\ell] \right] - \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Re}}[m, \ell] \odot T_{\text{Im}}^*[m, \ell] \right] \odot \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Re}}^*[m, \ell] \odot \tilde{I}_M[\ell] \right] \right\} \right\}, \quad (22)$$

式中： $\alpha$ 和 $\beta$ 分别是对应于介电常数衬度虚部和实部的正则化参数； $\odot$ 代表着矩阵的点乘运算。 $A$ 为归一化项，其详细定义为

$$A = \left[ \sum_{\ell} |T_{\text{Re}}[m, \ell]|^2 + \alpha \right] \odot \left[ \sum_{\ell} |T_{\text{Im}}[m, \ell]|^2 + \beta \right] - \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Re}}[m, \ell] \odot T_{\text{Im}}^*[m, \ell] \right] \odot \left[ \sum_{\ell} T_{\text{Re}}^*[m, \ell] \odot T_{\text{Im}}[m, \ell] \right]. \quad (23)$$

在计算显微成像系统方面，此项技术与基于傅里叶叠层成像的强度衍射层析成像技术基本相同，在此不作赘述。此方法的优势在于重建速度快，是有潜力实现三维实时观测的技术之一。为追求实时观测，研究人员进一步优化减少测量强度中的数据冗余以提高此方法的时间分辨率。如图 10(b)所示，Li 等<sup>[74]</sup>提出满足极限匹配照明条件的照明方案，这样测量强度以非常小的冗余度包含了介电常数衬度高频和低频信息。研究报道称该方案仅须采集 8 张二维强度图像，最高可实现约 10 Hz 的体积帧率，以最小运动伪影完成对活体秀丽隐杆线虫的三维动态观察，如图 10(e)和图 10(f)所示，横向和轴向空间分辨率分别达到 487 nm 和 3.4  $\mu\text{m}$ <sup>[74]</sup>。Li 等<sup>[75]</sup>通过添加聚光镜进一步提高计算显微成像系统的数值孔径，如图 10(c)所示，将横向和轴向分辨率提高至 346 nm 和 1.2  $\mu\text{m}$ 。如图 10(d)所示，Matlock 等<sup>[76]</sup>提出了多路复用照明策略，将照明条件从相干光扩展到部分相干光，从物理模型的角度进行部分相干光照明方案的优化设计，追求

最大化空间频率带宽和最小化数据冗余，防止相位频率信息丢失。研究报道称，采用优化的部分相干光照明方案后，强度采集数量从 481 张减少至 16 张，数据采集时间从 14.4 s 减少至 0.25 s<sup>[76]</sup>，可实现接近实时的数据采集，最大程度上减少了活体样本的运动伪影。

### 3.2.2 部分相干光照明下基于三维光学传递函数的方法

介绍部分相干光照明下基于三维光学传递函数的强度衍射层析成像技术。首先，简要地介绍部分相干光照明相对于相干光照明在时间分辨率方面的优势，主要有 2 点：首先是部分相干光近似于若干个相干光的线性叠加，这样在部分相干光照明下收集的强度所包含的空间频率信息大致上等于若干个相干光照明下收集的强度所包含的空间频率信息，不再需要照明角度扫描；其次，一般来说，部分相干光相比相干光具有更高的照明强度，这样图像传感器的曝光时间可以更短，进一步地加速了数据采集过程。综述文章[101]同样对部分相干光照明下基于三维光学传递函数的衍射层析成像技术的原理、实验装置和实验结果进行了详细的介绍，感兴趣的读者可以阅读作进一步的了解。

至于部分相干光照明下的正向物理成像模型，在弱散射（一阶 Born 或 Rytov）近似的假设下，以光学传递函数为媒介直接建立三维测量强度与样本三维散射势之间的映射关系，这里直接给出在空域中建立的映射关系，具体的推导过程详见文献[102]和文献[103]，

$$I_M(\mathbf{r}) = B + P(\mathbf{r}) \otimes H_P(\mathbf{r}) + A(\mathbf{r}) \otimes H_A(\mathbf{r}), \quad (24)$$

式中： $I_M(\mathbf{r})$ 为三维离焦强度； $B$ 为背景强度（假设均匀分布，故省略空间坐标 $\mathbf{r}$ ）； $P(\mathbf{r})$ 和 $A(\mathbf{r})$ 分别是样本散射势的实部和虚部（对应着相位和吸收）； $H_P(\mathbf{r})$ 和 $H_A(\mathbf{r})$ 分别是对应于散射势实部和虚部的三维点扩散函数； $\otimes$ 代表卷积运算。在频域中，式(24)重写为

$$\tilde{I}_M(\mathbf{k}) = B\delta(\mathbf{k}) + \tilde{P}(\mathbf{k})T_P(\mathbf{k}) + \tilde{A}(\mathbf{k})T_A(\mathbf{k}), \quad (25)$$

其中，三维光学相位和吸收传递函数分别定义为

$$T_P(\mathbf{k}_{\perp}, \mathbf{k}_{\parallel}) = \frac{i\lambda}{4\pi} \times \left\{ \frac{T_o(\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp})T_o(\mathbf{k}'_{\perp})[S(\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}) - S(\mathbf{k}'_{\perp})] \times \delta\left(\mathbf{k}_{\parallel} + \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp})^2}\right)}{\delta\left(\mathbf{k}_{\parallel} + \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp})^2}\right)} \right\} d^2\mathbf{k}'_{\perp}, \quad (26)$$

$$T_A(\mathbf{k}_{\perp}, \mathbf{k}_{\parallel}) = \frac{\lambda}{4\pi} \times \left\{ \frac{T_o(\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp})T_o(\mathbf{k}'_{\perp})[S(\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp}) + S(\mathbf{k}'_{\perp})] \times \delta\left(\mathbf{k}_{\parallel} + \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp})^2}\right)}{\delta\left(\mathbf{k}_{\parallel} + \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp})^2} - \sqrt{k_0^2 - (\mathbf{k}'_{\perp} + \mathbf{k}_{\perp})^2}\right)} \right\} d^2\mathbf{k}'_{\perp}, \quad (27)$$

式中： $T_o(\mathbf{k}_{\perp})$ 为物镜的传递函数； $S(\mathbf{k}_{\perp})$ 为聚光镜前焦面上部分相干光的分布； $\mathbf{k}'_{\perp}$ 为部分相干光的入射波矢集合。

计算显微成像系统如图 11(a) 所示,以商业宽场显微镜为主体,为实现不同的部分相干照明方案,需要添加部分相干照明调制装置,并且需要添加轴向离焦强度采集装置。

至于三维折射率的重建问题,核心是式(25)的求解。在至少采集 2 组部分相干照明方案下的三维离焦强度图像及相应的三维光学传递函数(计算得到)后,便可计算得到折射率的实部和虚部,如图 11(c) 中 HeLa 细胞的重建结果所示。但需要强调的是,由于锥角缺失问题,式(25)通常是欠定的,这意味着重建是一个不定问题。为实现稳定可靠的重建,一般采用先进的正则化反卷积算法进行求解<sup>[84, 105-107]</sup>。

为提高三维折射率成像的时间分辨率,在弱吸收的合理假设下,Soto 等<sup>[101]</sup>采用散射势实部和虚部的线性近似关系,

$$A(\mathbf{r}) = \epsilon P(\mathbf{r}), \quad (28)$$

式中:  $\epsilon \in [0, 0.1]$ , 对于纯相位物体而言,  $\epsilon = 0$ , 这样仅须采集单个部分相干照明方案下的三维离焦强度图像。利用等效光学传递函数  $T_{\text{EFF}}(\mathbf{k}) = T_P(\mathbf{k}) + \epsilon T_A(\mathbf{k})$ , 将式(25)重写为

$$\tilde{I}_M(\mathbf{k}) = B\delta(\mathbf{k}) + \tilde{P}(\mathbf{k})T_{\text{EFF}}(\mathbf{k}). \quad (29)$$

采用基于维纳正则化的反卷积算法进行求解,其数学形式的描述为

$$\tilde{P}(\mathbf{k}) = \frac{[\tilde{I}_M(\mathbf{k}) - B\delta(\mathbf{k})]T_{\text{EFF}}^*(\mathbf{k})}{|T_{\text{EFF}}(\mathbf{k})|^2 + \gamma}, \quad (30)$$

式中:  $\gamma$  是维纳正则化参数。如图 11(d) 和图 11(e) 所示,聚苯乙烯微球和硅藻样本的三维折射率重建结果验证了此方法对弱吸收样本的有效性<sup>[101]</sup>。同时,如图 11(b) 所示,三维光学传递函数与部分相干照明方案密切相关,因而一些研究开展最优部分相干照明方案的探索<sup>[70, 81, 108-112]</sup>。Li 等<sup>[70]</sup>基于三维相位光学传递函数的指标,如空间频域覆盖率、非低值频域覆盖率和三维相位传递函数非零区域幅值的绝对平均值,发现满足极限匹配照明条件的环形部分相干照明在普通对称照明方案(包括圆形和环形照明方案)中是最优的。然而,在实际应用中,极限环形部分相干照明方案的表现不尽如人意,原因主要有 2 点:首先是其照明强度相对较低,因此采集的强度图像信噪比低;其次是需要精确对准,否则将严重降低重建质量。

为实现最佳的三维折射率重建质量,Li 等<sup>[70]</sup>基于合成孔径思想提出了多个照明方案下的频域合成重建算法。基于经验的启发,选择两个相干参数为 0.32 和 0.65 的圆域照明(实现相位光学传递函数的低频覆盖)和一个相干参数为 0.95 的匹配环域照明(实现相位光学传递函数的高频覆盖),以实现对样本空间频率信息尽可能完整的获取。相应的重建算法如下,

$$\tilde{P}(\mathbf{k}) = \sigma_1 \frac{\tilde{I}_M^1(\mathbf{k})}{T_P^1(\mathbf{k})} + \sigma_2 \frac{\tilde{I}_M^2(\mathbf{k})}{T_P^2(\mathbf{k})} + \sigma_3 \frac{\tilde{I}_M^3(\mathbf{k})}{T_P^3(\mathbf{k})}, \quad (31)$$

其中,每项的加权系数由最小线性二乘法确定,

$$\sigma_i = \frac{T_P^{i*}(\mathbf{k})T_P^i(\mathbf{k})}{|T_P^1(\mathbf{k})|^2 + |T_P^2(\mathbf{k})|^2 + |T_P^3(\mathbf{k})|^2}. \quad (32)$$

研究报道称通过采用高数值孔径的照明和物镜,理论上最高可以实现 200 nm 的横向分辨率和 645 nm 的轴向分辨率<sup>[70]</sup>。

### 3.3 基于多层递归正向传播模型的强度衍射层析成像

在上述非干涉强度衍射层析成像技术中,其正向物理成像模型无论是傅里叶衍射定理及其变体或是三维光学传递函数,均基于弱散射(一阶 Born 或 Rytov)近似的假设,即仅考虑入射光波场与样本之间的一阶弹性散射。这对弱散射样本(如单细胞)的三维折射率成像是有效且快速的。然而,对于光学厚的或多重散射的样本(如集群细胞或组织样本等),弱散射近似不再适用,这将极大地限制上述非干涉强度衍射层析成像技术在此类样本上的表现与应用。为了打破弱散射样本的限制,研究人员开始聚焦于开发更为准确的正向物理成像模型,其中的代表便是多层递归正向传播模型<sup>[78, 113-118]</sup>。

如图 12(a) 所示,多层递归正向传播模型将样本轴向离散为  $K$  个薄切片,以此来逼近入射光在样本中的真实传播过程。从数学角度来看,可以将光在样本中沿光轴方向的传播近似为一层一层的递归传播。以第  $k$  层薄切片为例,入射光波场与这一层薄切片的折射率(或散射势)耦合产生出射光波场,此出射光波场亦是第  $k+1$  层薄切片的入射光波场。因此,正向传播问题可简化为  $\{u(x, y, k\Delta z), n_k(x, y)\} \mapsto u(x, y, (k+1)\Delta z)$  这一单层传播范式。同时,需要指出的是,考虑入射光在单层薄切片中的传播,弱散射近似的假设又将变得合理。这里,直接介绍 multi-slice beam propagation(MSBP)模型,具体推导见文献<sup>[78, 119]</sup>。此外, multi-layer Born(MLB)和 split-step non-paraxial(SSNP)等模型详见文献<sup>[114]</sup>和文献<sup>[117, 120]</sup>。

在 MSBP 模型中,光波场在第  $k$  层薄切片中的传播遵循标量衍射理论和傍轴近似,

$$u(x, y, (k+1)\Delta z) = \exp[ik_0\Delta z n_k(x, y)] \times \mathcal{P}_{\Delta z} \left\{ u(x, y, k\Delta z) \right\} = \exp[ik_0\Delta z n_k(x, y)] \times \mathcal{F}_{2D}^{-1} \left\{ \exp\left(i\sqrt{k_0^2 - k_x^2 - k_y^2} \Delta z\right) \mathcal{F}_{2D} \left\{ u(x, y, k\Delta z) \right\} \right\}, \quad (33)$$

式中:  $\mathcal{P}\{\cdot\}$  是传播算子。MSBP 模型在单层薄切片中的传播在物理上可解释为入射光波场沿着光轴方向自由传播了  $\Delta z$  距离,并且第  $k$  层薄切片中的折射率分布对入射光波场施加了相位调制作用。

入射光在样本中进行正向传播后,在测量平面上的光波场和强度分布可计算为

$$u(x, y, z_M) = \mathcal{F}_{2D}^{-1} \left\{ T_0(k_x, k_y) \mathcal{F}_{2D} \left\{ \mathcal{P}_z \left\{ u(x, y, K\Delta z) \right\} \right\} \right\}, \quad (34)$$



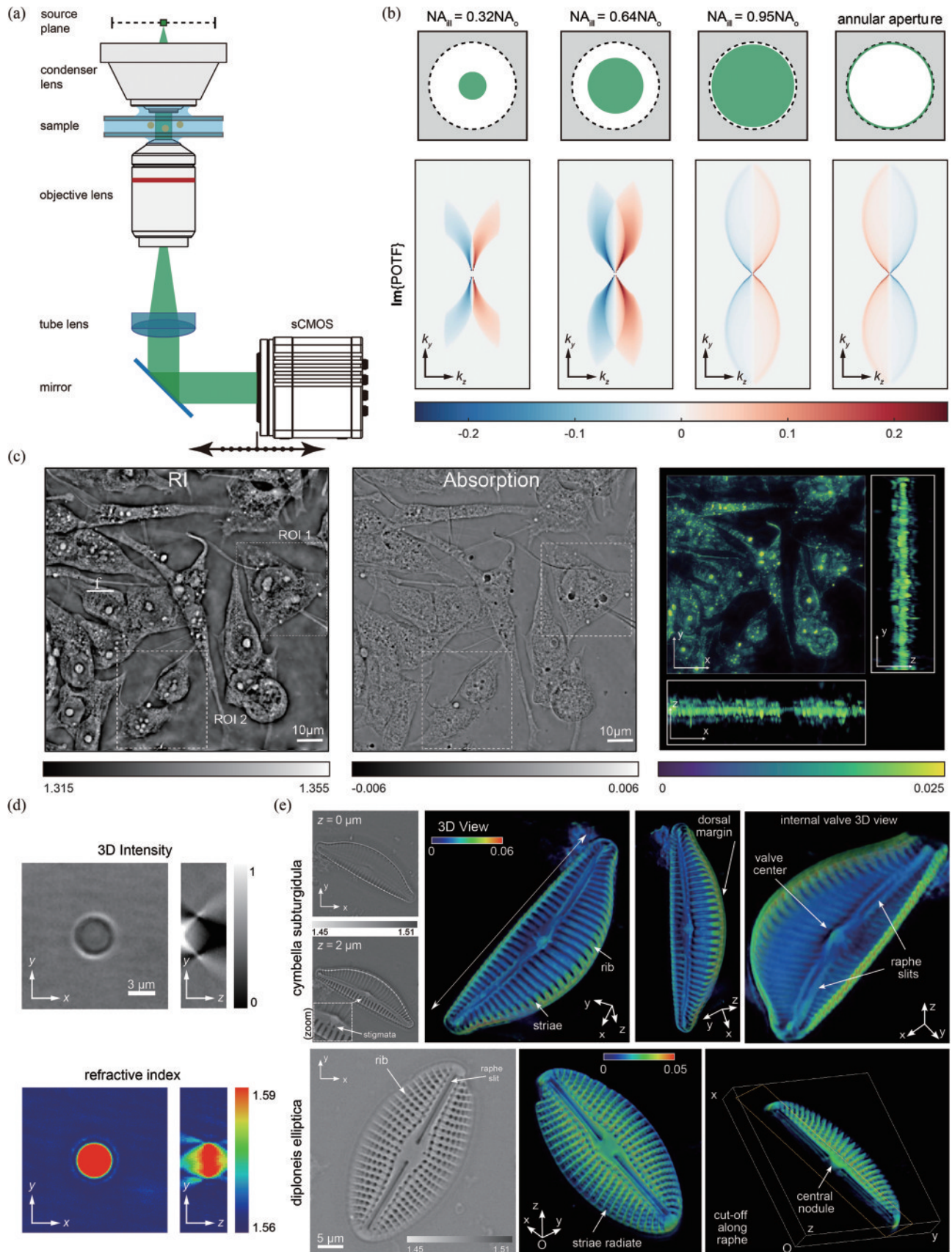


图 11 部分相干光照条件下基于光学传递函数的强度衍射层析成像。(a)实验装置原理示意图；(b)不同部分相干照明条件及对应的三维相位光学传递函数<sup>[70]</sup>；(c)~(e)HeLa细胞<sup>[104]</sup>、聚苯乙烯微球<sup>[101]</sup>和硅藻<sup>[101]</sup>的三维折射率重建  
 Fig. 11 Partially coherent optical transfer function (PC-OTF)-based IDT. (a) Schematic of the experimental setup; (b) 2D plots of 3D POTF section in an axial plane for four different illumination apertures<sup>[70]</sup>; (c)~(e) 3D RI reconstruction of HeLa cell<sup>[104]</sup>, polystyrene microsphere<sup>[101]</sup>, and cymbella suburgidula diatom<sup>[101]</sup>

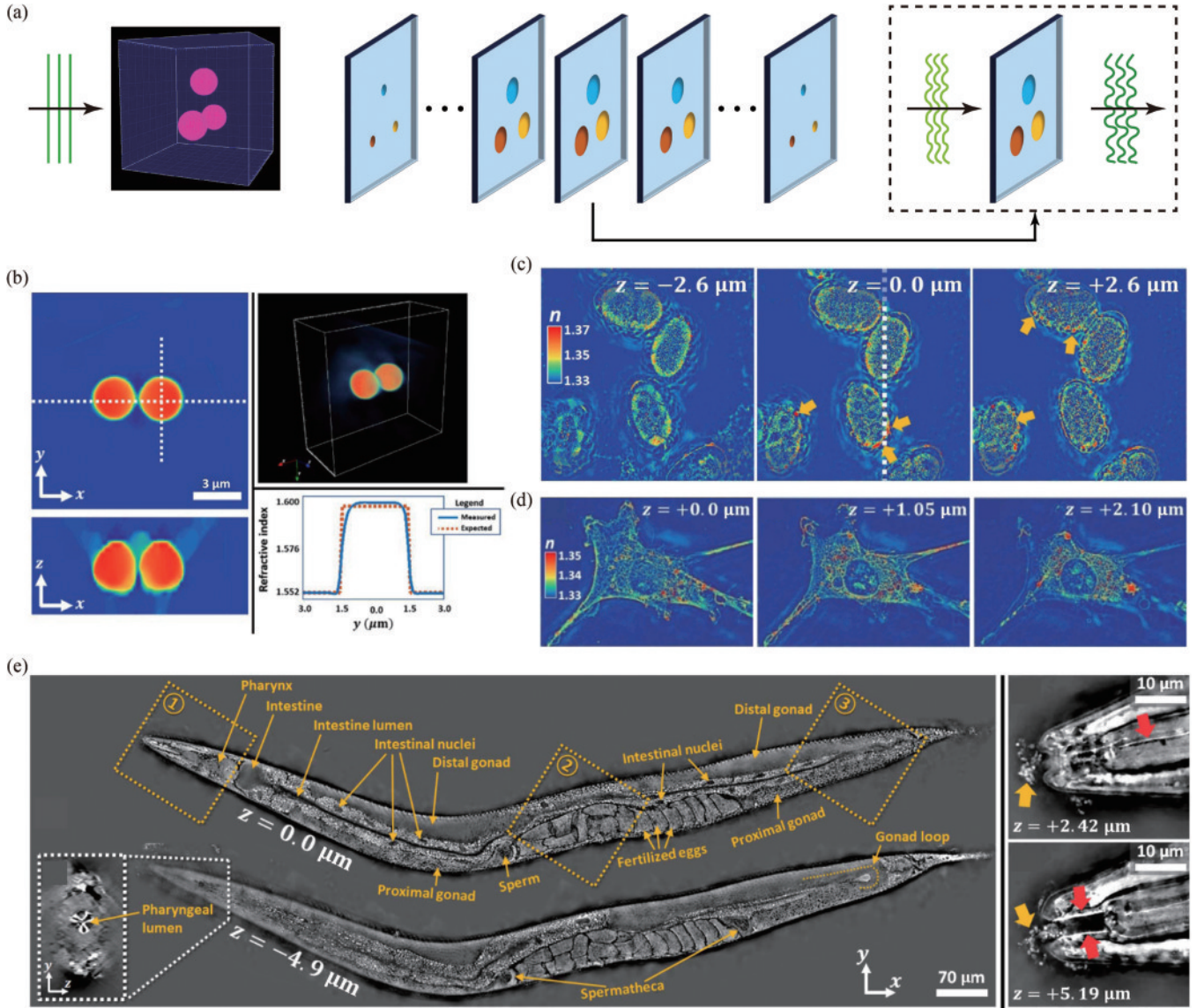


图 12 基于多层递归正向传播模型的强度衍射层析成像<sup>[78]</sup>。(a)多层递归正向传播模型的演示说明;(b)~(e)聚苯乙烯微球、秀丽隐杆线虫幼虫、成纤维细胞和秀丽隐杆线虫成虫的三维折射率重建

Fig. 12 Multi-slice forward propagation model-based IDT<sup>[78]</sup>. (a) Schematic of the multi-slice forward propagation model; (b)–(e) 3D RI reconstruction of polystyrene microsphere, a *C. elegans* embryo cluster, 3T3 cell, and whole *C. elegans* worm

$$I_M(x, y, z_M) = |u(x, y, z_M)|^2, \quad (35)$$

式中： $\hat{z}$ 是三维样本的出射平面以及共轭于测量平面的样本平面之间的轴向距离，当样本中心被成像系统聚焦时， $\hat{z} = -K\Delta z/2$ 。

这里以电介质微球对平面入射光的散射问题对比一阶 Born 近似模型、一阶 Rytov 近似模型和多层递归正向传播模型(以 MSBP 模型为例)的预测精度，而米氏散射理论提供了此问题的解析解。将电介质微球的半径和折射率设置为扫描参数以模拟不同的散射效应，如图 13(c)中纵向平面上总光波场的强度所示，随着电介质微球的半径和折射率增大，强度的幅值范围增大且变化更为剧烈，这说明散射效应在增强。由于散射相对于光轴的对称性，仅展示了一个纵向平面上的总光波场的强度分布，且以结构相似性指标(SSIM)来衡

量不同正向物理成像模型的预测精度。如图 13(a)和图 13(b)中不同物理成像模型的 SSIM 所示，一阶 Born 和 Rytov 近似模型仅在弱散射条件下表现尚佳，在散射效应强烈的情况下则失效；相比之下，多层递归正向传播模型在一定程度上可以打破弱散射近似的限制，扩展了应用范围。

至于重建问题，已知信息包括具有  $L$  个照明角度的平面入射光  $\{u^{inl}(\mathbf{r}_\perp)\}_{\ell=1}^L$  及其对应的测量强度  $\{I_M^{\ell}(\mathbf{r}_\perp)\}_{\ell=1}^L$ 、正向物理成像模型  $\mathcal{M}\{\cdot\}$ 。这样，重建问题的数学描述为

$$\operatorname{argmin}_{\hat{n}(\mathbf{r}) \in \mathcal{C}} \sum_{\ell=1}^L c \left( \mathcal{M}\{\hat{n}(\mathbf{r}) | u^{inl}(\mathbf{r}_\perp)\}, I_M^{\ell}(\mathbf{r}_\perp) \right) + \tau \times r[\hat{n}(\mathbf{r})], \quad (36)$$

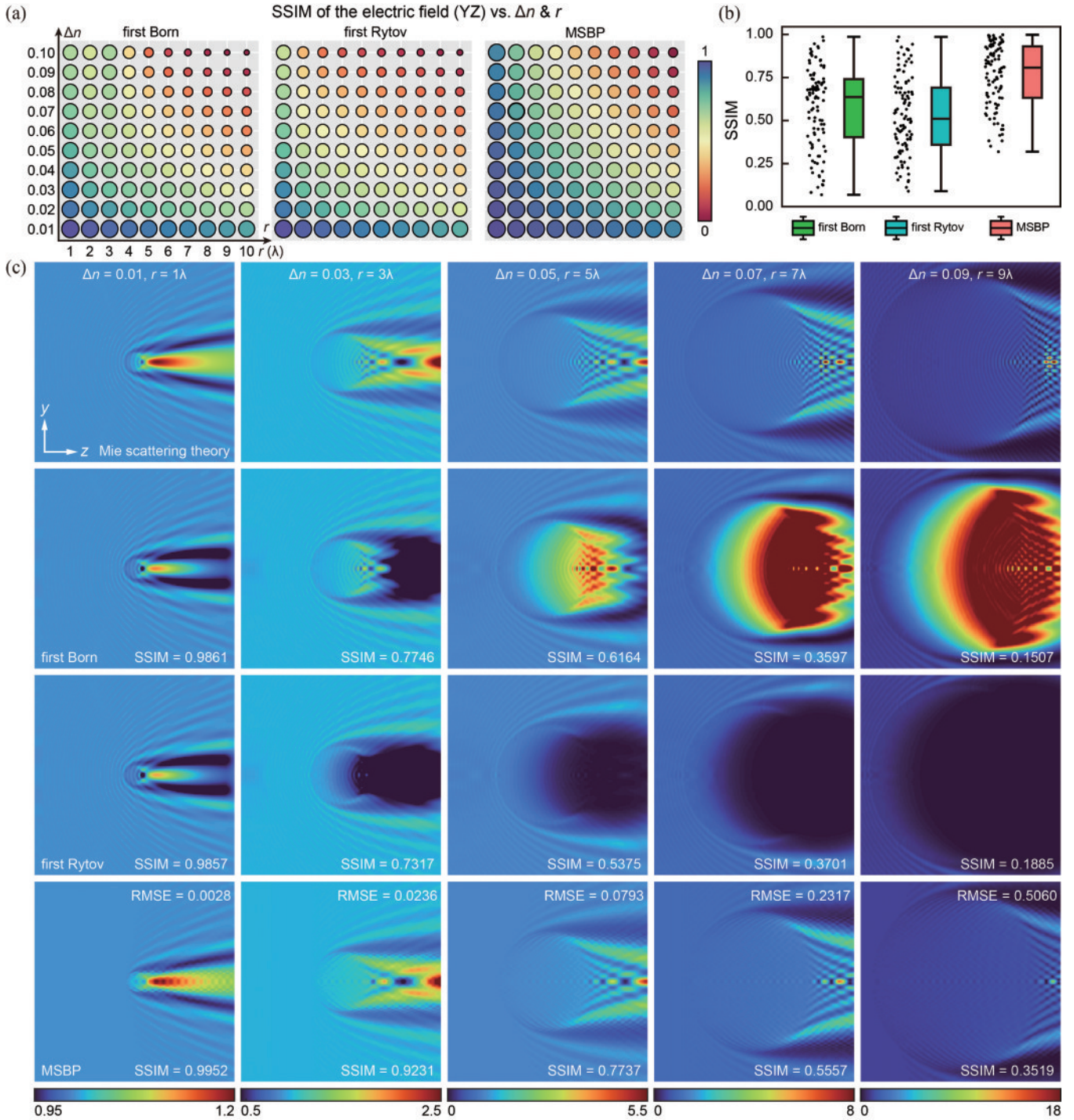


图 13 根据电介质微球对平面入射光的散射比较一阶 Born 近似模型、一阶 Rytov 近似模型和多层递归正向传播模型的预测精度。(a)不同正向物理成像模型预测的纵向平面上的强度与理论强度之间的 SSIM 随着电介质微球半径和折射率变化的分布情况;(b)图 13(a)中 SSIM 的散点图和箱型图;(c)纵向平面上强度分布的预测示例

Fig. 13 Comparison of the first-order Born, first-order Rytov, and MSBP models by predicting the scattering of light for a dielectric sphere. (a) SSIM between the ground truth intensity of the wavefield at the  $y$ - $z$  plane and those predicted by different forward physical imaging models versus the radius of the dielectric sphere and the RI contrast; (b) scatter-plots and box-plots of the SSIM values in Fig. 13(a); (c) representative examples of the intensity of the wavefield at the  $y$ - $z$  plane

式中:第一项  $c(\cdot)$  为损失函数,用于衡量预测强度和测量强度之间的误差,通常采用欧几里得距离;第二项  $r(\cdot)$  为正则化函数,用于抑制实验中的噪声或施加关于样本的先验知识,如折射率的平滑分布。对于上述优化问题的求解,一般采用梯度下降算法等来实现。

然而,由于正向物理成像模型的高度非线性,梯度难以得到显示的计算,通常采用交替投影算法或次梯度下降算法(如近端梯度下降算法等)求解。关于此类优化问题的求解,可参考文献[121]。

在计算显微成像系统方面,此项技术与基于傅里叶

叠层成像的衍射层析成像技术基本相同,在此不作赘述。此方法的主要优势在于不再受限于弱散射近似,如图 12(b)所示,聚苯乙烯微球与背景介质的折射率衬度可以更大(约为 0.04,而上述基于弱散射近似的强度衍射层析成像技术的实验中折射率衬度仅约为 0.01)。图 12(c)~(e)所示的秀丽隐杆线虫幼虫、成纤维细胞和秀丽隐杆线虫成虫等厚生物样本的折射率重建展示了极佳的三维成像表现,研究报道称横向和轴向分辨率最高可达 240 nm 和 900 nm<sup>[78]</sup>。但是,这伴随着极大的计算代价,研究报道称标准程序下全视场三维折射率重建大约需要 20 h<sup>[78]</sup>。

### 3.4 基于神经网络的强度衍射层析成像

近年来,神经网络在图像处理领域取得了巨大的成功,特别是在基于编码和解码的端到端任务中被证明具有极大的潜力和优势<sup>[122-126]</sup>。因此,最近十年来,研究人员将神经网络引入强度衍射层析成像中,以解决其中 2 个核心问题:正向物理成像模型和反向三维折射率重建。

#### 3.4.1 建立准确的正向物理成像模型

强度衍射层析成像技术的关键之一是建立一个准确的正向物理成像模型,它对三维折射率重建质量有着极为重要的影响,特别是针对于打破弱散射近似和扩大成像深度等问题。一般来说,正向物理成像模型在计算精度和速度之间一般存在着一定的权衡,即越准确的正向物理成像模型往往越难以显式地进行梯度计算实现三维折射率重建,而神经网络为解决这一矛盾提供了可能。一方面,神经网络有希望建立一个准确的正向物理成像模型,快速准确地从样本的三维折射率预测二维测量平面上的强度或总光波场分布;另一方面,神经网络模型可以快速方便地执行梯度反向传播。神经网络在正向物理成像模型方面的相关研究进展主要可以分为监督式学习和无监督学习两类。

如图 14(a)所示,监督式学习基于样本折射率和理论强度(或总光波场)数据对集合,以数据驱动的方式通过预测强度和理论强度之间的误差回传更新神经网络中的可学习参数,从而拟合建立一个准确的正向物理成像模型。然而,监督式学习仅可以在数值仿真中开展,因为真实样本的三维折射率分布是无法准确获知的。此外,在数值仿真中,理论强度的获取仍须依赖于精确的正向物理成像模型,如麦克斯韦方程组。因此,计算生成大量的训练数据集是非常耗时的,对神经网络的训练构成了极大的挑战。

至于无监督学习,目前常用的策略是加入物理信息的约束,即物理信息神经网络(PINN)。如图 14(b)所示,以 Saba 等<sup>[127]</sup>提出的 MaxwellNet 为例,在神经网络的输出端,损失函数不再预测光波场和真实光波场之间的误差,而是预测光波场应该满足亥姆霍兹方程(物理信息所包含的偏微分方程)时的误差。研究报道称,在二维和三维情况下,MaxwellNet 的预测精度均

接近 COMSOL 软件,且计算速度得到了极大的提升,计算时间分别从 COMSOL 的 13 s 和 2472 s 减少至 17 ms 和 44.9 ms<sup>[127]</sup>。基于 MaxwellNet 的光学衍射层析成像在仿真和实验中得到了验证,在不同类别的样本上展示出不错的泛化能力。无监督学习的问题在于如何仅在物理信息的约束下保证解的适定性,如 MaxwellNet 中自然传播的光波场均满足亥姆霍兹方程,解的唯一性在理论上难以得到保证。

#### 3.4.2 自动微分计算加速三维折射率重建

在基于多层递归正向传播模型的强度衍射层析成像技术中,由于正向物理成像模型的高度非线性,难以显式地获得损失函数关于折射率的梯度,因而三维折射率重建通常采用交替投影算法或次梯度下降算法等实现。在当前的深度学习架构平台中,研究人员开发了先进的自动微分计算包(如 PyTorch 中的 Autograd),以计算图(computational graph)的形式隐式地计算损失函数关于训练参数的梯度,从而方便地执行梯度下降算法。因此,研究人员将自动微分计算引入基于多层递归正向传播模型的强度衍射层析成像中<sup>[128-129]</sup>,以期改善三维折射率重建质量。具体来说,如图 14(c)所示:将样本的三维折射率(或散射势)作为神经网络中的可学习参数,而神经网络中的前向模型定义为强度衍射层析成像中的正向物理成像模型;最后,调用自动微分计算包计算出损失函数关于折射率的梯度,从而执行梯度下降算法实现三维折射率重建。此外,此方法还兼容深度学习中开发的其他先进工具,如优化器和去噪器等。

#### 3.4.3 神经网络对三维折射率的重新参数化

近年来的一些研究将三维折射率重新参数化(reparameterization)为神经网络的输出,如图 14(d)所示,进而通过训练拟合神经网络的输入或可学习参数,以期改善三维折射率重建问题的求解效果。Zhou 等<sup>[130]</sup>将 deep image prior (DIP)引入非干涉强度衍射层析成像中,将三维折射率重新参数化为神经网络的输出,而神经网络的输入则为满足正态分布的伪随机噪声,根据预测强度和测量强度之间的损失函数更新神经网络的权重参数,而不是直接优化三维折射率,研究报道称这样可以减轻锥角缺失问题带来的伪影。Liu 等<sup>[131]</sup>引入神经辐射场(NeRF),以多层感知器(MLP)为媒介建立三维空间坐标到三维折射率的映射关系。此方法的优势在于任何空间位置的折射率都可以通过训练的多层感知器输入坐标进行检索,有效解决大型三维数据重建的计算和存储瓶颈问题。

#### 3.4.4 直接优化基于物理模型的方法的三维折射率重建

由于锥角缺失问题和弱散射近似的假设,基于物理模型的强度衍射层析成像重建质量不佳,存在着轴向分辨率低和折射率低估等问题。因此,研究人员尝试将基于物理模型的方法的三维折射率重建作为神经

网络的输入,以数据驱动的方式克服上述问题,改善三维折射率重建质量<sup>[132]</sup>。但是,此方法目前仅可以在数值仿真中开展监督式学习,然后直接推广或进行迁移训练用于光学实验。数值仿真中监督式学习流程如

图 14(e)所示,给定的三维折射率分布(同时作为神经网络的标签)经一个准确的正向物理成像模型产生理论强度,然后由基于物理模型的方法计算出三维折射率的初始估计并作为神经网络的输入,以数据驱动的

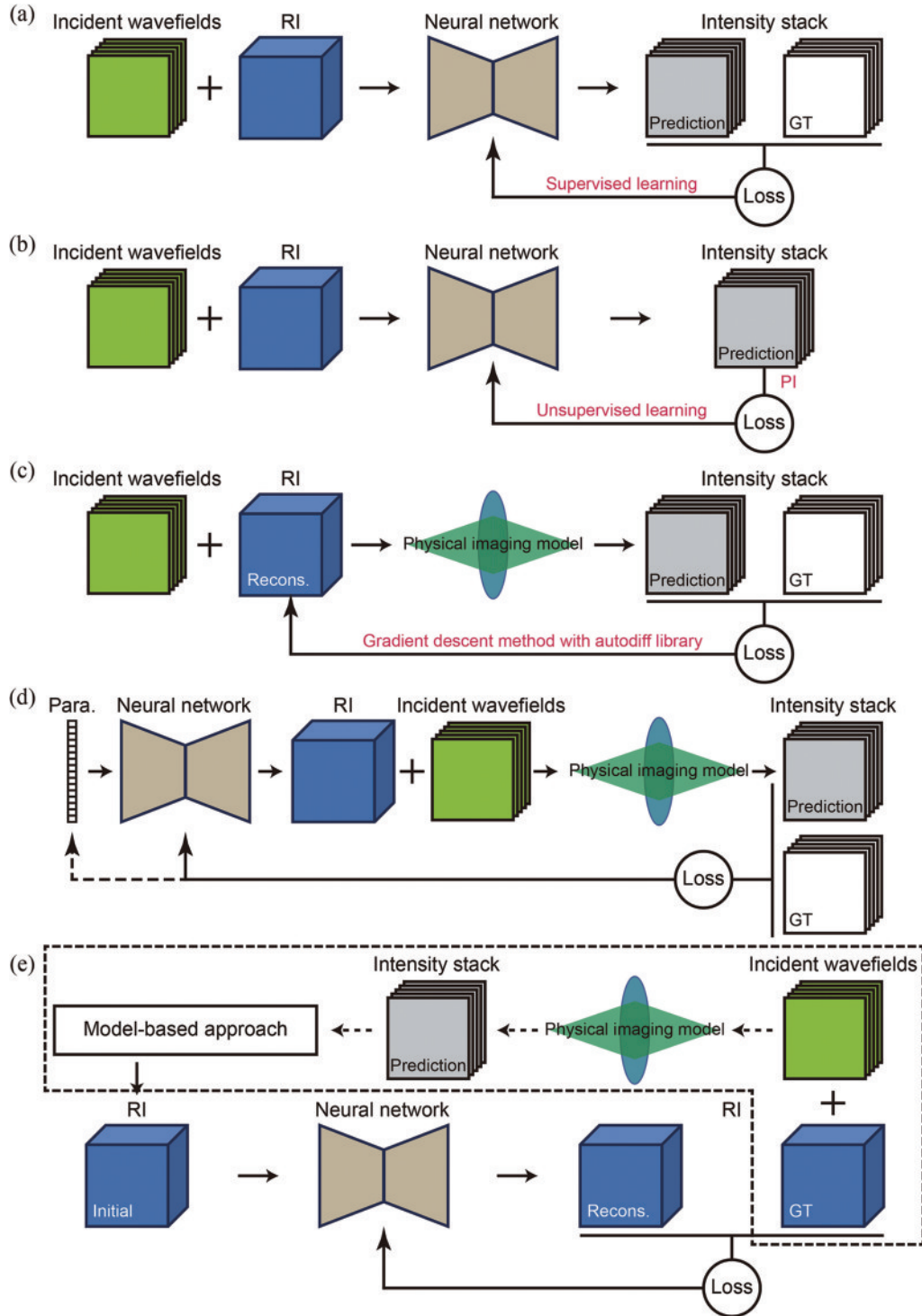


图 14 神经网络在强度衍射层析成像中的应用。(a)以数据驱动的方式建立正向物理成像模型;(b)引入物理信息神经网络以非监督学习的方式建立正向物理成像模型<sup>[127]</sup>;(c)应用自动微分计算库函数执行梯度下降算法<sup>[129]</sup>;(d)神经网络对输入的重参数化<sup>[130-131]</sup>;(e)神经网络提升传统基于物理模型的方法的三维折射率重建表现<sup>[133-134]</sup>

Fig. 14 Neural network-based IDT. (a) Data-driven approach to establish a forward physical imaging model; (b) physical information neural network is used to perform unsupervised learning to build a forward physical imaging model<sup>[127]</sup>; (c) automatic differentiation library is used to perform gradient descent algorithm<sup>[129]</sup>; (d) re-parameterization of 3D RI reconstruction using neural network<sup>[130-131]</sup>; (e) neural network is used to improve the 3D RI reconstruction performance of traditional physical model-based methods<sup>[133-134]</sup>

方式直接优化三维折射率重建。

针对红细胞这一类型生物样本, Lim 等<sup>[133]</sup>提出 TomoNet。在数值仿真中, 对于不同形态、尺寸和空间位置的模拟红细胞, 由离散偶极子近似(DDA)模型产生理论总光波场, 通过基于一阶 Rytov 近似的光学衍射层析成像技术计算出三维折射率的初始估计。研究报道称, 数值仿真和光学实验的结果证明以数据驱动的方式抑制锥角缺失问题(补充缺失的空间频率信息)后, 提高了空间分辨率和重建质量。但是, 此方法对其他类型的生物样本缺少泛化能力。Matlock 等<sup>[134]</sup>采用自然图像生成三维折射率分布以提高神经网络的泛化性能。在数值仿真中, 通过 SSNP 模型产生理论强度, 由基于相干光学传递函数的强度衍射层析成像技术计算出三维折射率的初始估计。研究报道称, 该方法除了有效地抑制锥角缺失问题引起的伪影, 还可以改善多重散射样本的重建质量, 突破物理模型所包含的弱散射近似的限制。

### 3.5 非干涉强度衍射层析成像技术的方法对比

总体而言, 非干涉强度衍射层析成像技术目前存在着非干涉相位恢复、三维光学传递函数、多层递归正向传播模型和神经网络 4 条技术路线。由于基于神经网络的方法并不是一条完全独立的技术方案, 通常在

正向物理成像模型和三维重建算法基础上与前三种方法存在着紧密的联系, 此处仅对前三种方法进行简单的对比。首先, 针对样本对光散射的正向预测问题, 从正向物理成像模型的角度来看, 基于非干涉相位恢复和三维光学传递函数的方法均是基于弱散射近似的, 而基于多层递归正向传播模型的方法则不受弱散射近似限制, 因而其在弱散射样本和多重散射样本上的正向散射预测精度均优于前两种方法, 这在图 13 所示的数值仿真中得到了验证。其次, 至于样本的应用范围和三维折射率的重建质量, 前两种方法仅考虑一阶弹性散射光, 因此仅适用于单细胞等弱散射样本, 相比之下, 基于多层递归正向传播模型的方法考虑了高阶散射光, 因此可扩展应用至集群细胞和组织等光学厚样本, 并且在探测深度、对比度和分辨率等图像质量指标上将有一定的优化和改善。最后, 在重建速度方面, 得益于弱散射近似下正向物理成像模型的线性化, 若前两种方法采用直接重建算法, 则重建时间(秒或分级别的时间复杂度)一般大幅度领先基于多层递归正向传播模型的方法(小时或天级别的时间复杂度), 且最有希望实现对活体样本的三维动态实时监测。前三条技术路线具体技术方案的特征和对比归纳于表 1 中。

表 1 不同衍射层析成像技术的对比  
Table 1 Comparison of different diffraction tomography techniques

Technology	Measurement method	Whether illumination scanning is required	Whether 3D intensity collection is required	Number of intensity images recorded / frame	Whether matched illumination condition is required	Scattering approximation	Key issue
ODT <sup>[54-58]</sup>	Interferometric	Yes	No	100-200	Yes	First-order Born or Rytov approximation	Mechanical illumination scanning
TIE-based IDT <sup>[72, 90]</sup>	Non-interferometric	Yes	Yes	~148	Yes	First-order Born or Rytov approximation	Careful tuning of defocus distance
2D K-K-based IDT <sup>[79]</sup>	Non-interferometric	Yes	No	~30	Yes	First-order Born or Rytov approximation	-
3D K-K-based IDT <sup>[92, 96]</sup>	Non-interferometric	Yes	Yes	101-25728	No	First-order Born or Rytov approximation	Large amount of intensity dataset Large amount of intensity dataset;
FP-based IDT <sup>[77, 98-99]</sup>	Non-interferometric	Yes	No	73-3001	Yes	First-order Born or Rytov approximation	time-consuming iteration for RI reconstruction
TIE-FP-based IDT <sup>[100]</sup>	Non-interferometric	Yes	Yes	~754	No	First-order Born or Rytov approximation	Time-consuming iteration for RI reconstruction
C-OTF-based IDT <sup>[73-76]</sup>	Non-interferometric	Yes	No	8-481	Yes	First-order Born or Rytov approximation	-
PC-OTF-based IDT <sup>[70, 83-84]</sup>	Non-interferometric	No	Yes	130-300	Yes	First-order Born or Rytov approximation	-
MLFPM-based IDT <sup>[78, 114, 117]</sup>	Non-interferometric	Yes	No	24-200	Yes	Multiple scattering	Time-consuming iteration for RI reconstruction

## 4 总结与展望

总体来看,三维衍射层析成像技术有 3 大发展趋势:从干涉测量到非干涉测量,以简化计算显微成像系统;从弱散射样本到多重散射样本,以拓展生物样本的应用范围;从相干光照明到部分相干光照明,以提升成像的时间分辨率。这些想法均在数值仿真和光学实验中得到了验证,展示了此项三维无标记成像技术在生命科学和生物医学领域巨大的潜在应用价值。目前,最新研究表明此项技术在细胞识别和计数<sup>[96]</sup>以及小鼠胚胎发育的三维动态监测<sup>[129]</sup>等得到了初步的应用。

然而,三维折射率显微成像技术目前仍存在着一些难点问题。首当其冲的是锥角缺失问题,这直接导致轴向分辨率低(对应着光学切片能力)和伪影问题。其次,时间分辨率(或采集速度)和重建速度严重阻碍了活体样本三维动态实时监测的实现。此外,在生物医学成像的应用方面,截至目前,已经在单细胞和集群细胞等样本上验证了三维折射率成像的表现,却缺少对组织等厚样本或多重散射样本的观测应用研究;对于细胞内部化学物质来说,分子特异性低,需要有经验的技术人员进一步地处理分析以获取有用的形态学信息。综合考虑当下技术瓶颈以及研究热点,本文总结了未来非干涉强度衍射层析成像技术的潜在发展方向。

1) 深度学习方法的引入和有机结合,可用于非干涉强度衍射层析成像技术本身的改善和三维折射率重建的后处理等。前者主要通过引入深度学习模型优化求解三维折射率重建问题,以期实现快速准确的三维折射率显微成像,特别是在锥角缺失问题和多重散射样本条件下如何减少伪影并改善空间分辨率<sup>[133-135]</sup>;后者则是对三维折射率重建所包含的形态学信息进行后处理以拓展技术在生命科学和生物医学领域的应用,如通过三维图像分割以识别不同的亚细胞结构<sup>[136-137]</sup>,或对细胞和病原体等进行快速、准确和高通量的分类<sup>[138-139]</sup>,这对细胞动力学、细胞过程评估、临床疾病诊断、药物筛选分析和微生物组等研究具有重要的意义。

2) 结合组织透明化处理等方法,对集群细胞和组织等光学厚样本进行三维显微成像深度方向上的探索。组织透明化处理通过组织脱水、折射率匹配和蛋白质解离等方式减少光吸收和光散射<sup>[140]</sup>,与机械切片方法相比,组织的完整性得到很好的保留,这意味着接下来可以利用非干涉强度衍射层析成像技术获得更为准确的三维结构信息。组织透明化处理在三维荧光显微成像领域中被验证可以有效提高探测深度、图像对比度和空间分辨率<sup>[141]</sup>。因而,有希望将组织透明化处理方法和非干涉强度衍射层析成像技术集合拓展在神经科学、脑科学和病理学等领域。

3) 结合其他显微成像技术实现多模态成像,为生命科学和生物医学研究提供多尺度多维度全面互补的

信息。例如,参考传统光学衍射层析成像技术的最新进展,将非干涉强度衍射层析成像技术与超分辨率荧光显微成像技术相结合,超分辨率荧光显微成像技术提供分子特异性并提升成像分辨率,而非干涉强度衍射层析成像技术则提供全景成像信息,通过对它们进行合理的互补使用可以最小化光毒性和光漂白等问题,有希望实现生物动力学过程的长时间观测<sup>[23, 142]</sup>。此外,非干涉强度衍射层析成像技术用于测量细胞内的脂质含量,而拉曼光谱成像技术用于确定脂质的分子组成,实现以无标记和非侵入性的方式监测细胞形态和分子组成<sup>[143-144]</sup>,成为研究各种细胞过程的重要工具。

4) 非干涉强度衍射层析成像技术基本原理和重建算法与其他三维成像方法的相互借鉴。最新的研究将非干涉强度衍射层析成像技术的基本原理推广至计算化学成像<sup>[145]</sup>、相干反斯托克斯拉曼散射成像<sup>[146]</sup>、三维偏振层析成像<sup>[147]</sup>和 X 射线相位层析成像<sup>[148]</sup>等,且可见光、红外光、太赫兹波、深紫外光、极紫外光、X 射线和电子等不同波长尺度的三维成像方法在倾斜照明扫描等成像测量原理和重建算法上可以相互借鉴,取长补短,探索实现三维材料的原子级排布表征和微纳元件(如集成电路)复杂三维结构的无损缺陷检测等。

## 参 考 文 献

- [1] Liu P Y, Chin L K, Ser W, et al. Cell refractive index for cell biology and disease diagnosis: past, present and future[J]. *Lab on a Chip*, 2016, 16(4): 634-644.
- [2] Olson E, Levene M J, Torres R. Multiphoton microscopy with clearing for three dimensional histology of kidney biopsies[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(8): 3089-3096.
- [3] van Royen M E, Verhoef E I, Kweldam C F, et al. Three-dimensional microscopic analysis of clinical prostate specimens[J]. *Histopathology*, 2016, 69(6): 985-992.
- [4] Glaser A K, Reder N P, Chen Y, et al. Light-sheet microscopy for slide-free non-destructive pathology of large clinical specimens[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1: 84.
- [5] Nombela-Arrieta C, Manz M G. Quantification and three-dimensional microanatomical organization of the bone marrow[J]. *Blood Advances*, 2017, 1(6): 407-416.
- [6] Selby M, Delosh R, Laudeman J, et al. 3D models of the NCI60 cell lines for screening oncology compounds [J]. *SLAS Discovery: Advancing Life Sciences R & D*, 2017, 22(5): 473-483.
- [7] Collot M, Ashokkumar P, Anton H, et al. MemBright: a family of fluorescent membrane probes for advanced cellular imaging and neuroscience[J]. *Cell Chemical Biology*, 2019, 26(4): 600-614.
- [8] Ueda H R, Ertürk A, Chung K, et al. Tissue clearing and its applications inneuroscience[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2020, 21(2): 61-79.

- [9] Kim D, Lee S Y, Lee M, et al. Holotomography: refractive index as an intrinsic imaging contrast for 3-D label-free live cell imaging[M]//Kim J K, Kim J K, Pack C G. Advanced imaging and bio techniques for convergence science. Advances in experimental medicine and biology. Singapore: Springer, 2021, 1310: 211-238.
- [10] Andreou C, Weissleder R, Kircher M F. Multiplexed imaging in oncology[J]. Nature Biomedical Engineering, 2022, 6(5): 527-540.
- [11] Hell S W, Wichmann J. Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy[J]. Optics Letters, 1994, 19(11): 780-782.
- [12] Gustafsson M G L. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy [J]. Journal of Microscopy, 2000, 198(2): 82-87.
- [13] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, et al. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution [J]. Science, 2006, 313(5793): 1642-1645.
- [14] Rust M J, Bates M, Zhuang X W. Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)[J]. Nature Methods, 2006, 3(10): 793-796.
- [15] Cox I, Sheppard C, Wilson T. Super-resolution by confocal fluorescent microscopy[J]. Optik, 1982, 60: 391-396.
- [16] Nie S M, Chiu D T, Zare R N. Probing individual molecules with confocal fluorescence microscopy[J]. Science, 1994, 266(5187): 1018-1021.
- [17] Denk W, Strickler J H, Webb W W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy[J]. Science, 1990, 248(4951): 73-76.
- [18] So P T C, Dong C Y, Masters B R, et al. Two-photon excitation fluorescence microscopy[J]. Annual Review of Biomedical Engineering, 2000, 2: 399-429.
- [19] König K. Multiphoton microscopy in life sciences[J]. Journal of Microscopy, 2000, 200(2): 83-104.
- [20] Williams R M, Zipfel W R, Webb W W. Multiphoton microscopy in biological research[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2001, 5(5): 603-608.
- [21] Keller P J, Stelzer E H. Quantitative *in vivo* imaging of entire embryos with digital scanned laser light sheet fluorescence microscopy[J]. Current Opinion in Neurobiology, 2008, 18(6): 624-632.
- [22] Stelzer E H K. Light-sheet fluorescence microscopy for quantitative biology[J]. Nature Methods, 2015, 12(1): 23-26.
- [23] Dong D S, Huang X S, Li L J, et al. Super-resolution fluorescence-assisted diffraction computational tomography reveals the three-dimensional landscape of the cellular organelle interactome[J]. Light, Science & Applications, 2020, 9: 11.
- [24] Lichtman J W, Conchello J A. Fluorescence microscopy [J]. Nature Methods, 2005, 2(12): 910-919.
- [25] Popescu G. Quantitative phase imaging of cells and tissues[M]. New York: McGraw-Hill, 2011.
- [26] Park Y, Depeursinge C, Popescu G. Quantitative phase imaging in biomedicine[J]. Nature Photonics, 2018, 12(10): 578-589.
- [27] Zumbusch A, Holtom G R, Xie X S. Three-dimensional vibrational imaging by coherent anti-stokes Raman scattering[J]. Physical Review Letters, 1999, 82(20): 4142-4145.
- [28] McCreery R L. Raman spectroscopy for chemical analysis [M]. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.
- [29] Bertolotti J, van Putten E G, Blum C, et al. Non-invasive imaging through opaque scattering layers[J]. Nature, 2012, 491(7423): 232-234.
- [30] Katz O, Heidmann P, Fink M, et al. Non-invasive single-shot imaging through scattering layers and around corners via speckle correlations[J]. Nature Photonics, 2014, 8(10): 784-790.
- [31] Demos S G, Alfano R R. Optical polarization imaging[J]. Applied Optics, 1997, 36(1): 150-155.
- [32] Zernike F. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects[J]. Physica, 1942, 9(7): 686-698.
- [33] Nomarski G. Differential microinterferometer with polarized waves[J]. J. Phys. Radium Paris, 1955, 16: 9-11.
- [34] Gabor D. A new microscopic principle[J]. Nature, 1948, 161(4098): 777-778.
- [35] Cuche E, Bevilacqua F, Depeursinge C. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging[J]. Optics Letters, 1999, 24(5): 291-293.
- [36] Cuche E, Marquet P, Depeursinge C. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms [J]. Applied Optics, 1999, 38(34): 6994-7001.
- [37] Teague M R. Irradiance moments: their propagation and use for unique retrieval of phase[J]. Journal of the Optical Society of America, 1982, 72(9): 1199-1209.
- [38] Teague M R. Deterministic phase retrieval: a Green's function solution[J]. Journal of the Optical Society of America, 1983, 73(11): 1434-1441.
- [39] Streibl N. Phase imaging by the transport equation of intensity[J]. Optics Communications, 1984, 49(1): 6-10.
- [40] Gerchberg R W. Phase determination from image and diffraction plane pictures in the electron microscope [J]. Optik, 1971, 34: 275-284.
- [41] Faulkner H M L, Rodenburg J M. Movable aperture lensless transmission microscopy: a novel phase retrieval algorithm[J]. Physical Review Letters, 2004, 93(2): 023903.
- [42] Faulkner H M L, Rodenburg J M. Error tolerance of an iterative phase retrieval algorithm for moveable illumination microscopy[J]. Ultramicroscopy, 2005, 103(2): 153-164.
- [43] Zheng G, Horstmeyer R, Yang C. Wide-field, high-resolution Fourier ptychographic microscopy[J]. Nature Photonics, 2013, 7(9): 739-745.
- [44] Tian L, Li X, Ramchandran K, et al. Multiplexed coded illumination for Fourier Ptychography with an LED array microscope[J]. Biomedical Optics Express, 2014, 5(7): 2376-2389.
- [45] Zuo C, Sun J S, Chen Q. Adaptive step-size strategy for noise-robust Fourier ptychographic microscopy[J]. Optics



- Express, 2016, 24(18): 20724-20744.
- [46] 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.  
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.
- [47] 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.  
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.
- [48] Zheng G, Shen C, Jiang S W, et al. Concept, implementations and applications of Fourier ptychography[J]. Nature Reviews Physics, 2021, 3(3): 207-223.
- [49] 穆书奇, 董大山, 施可彬. 无标记光学成像技术[J]. 激光与光电子学进展, 2022, 59(12): 1200001.  
Mu S Q, Dong D S, Shi K B. Label-free optical imaging technology[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2022, 59(12): 1200001.
- [50] Sharpe J, Ahlgren U, Perry P, et al. Optical projection tomography as a tool for 3D microscopy and gene expression studies[J]. Science, 2002, 296(5567): 541-545.
- [51] Sharpe J. Optical projection tomography[J]. Annual Review of Biomedical Engineering, 2004, 6: 209-228.
- [52] Wolf E. Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data[J]. Optics Communications, 1969, 1(4): 153-156.
- [53] Carter W H. Computational reconstruction of scattering objects from holograms[J]. Journal of the Optical Society of America, 1970, 60(3): 306-314.
- [54] Choi W, Fang-Yen C, Badizadegan K, et al. Tomographic phase microscopy[J]. Nature Methods, 2007, 4(9): 717-719.
- [55] Maire G, Drsek F, Girard J, et al. Experimental demonstration of quantitative imaging beyond Abbe's limit with optical diffraction tomography[J]. Physical Review Letters, 2009, 102(21): 213905.
- [56] Sung Y, Choi W, Fang-Yen C, et al. Optical diffraction tomography for high resolution live cell imaging[J]. Optics Express, 2009, 17(1): 266-277.
- [57] Habaza M, Gilboa B, Roichman Y, et al. Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers[J]. Optics Letters, 2015, 40(8): 1881-1884.
- [58] Kim K, Yoon J, Park Y. Simultaneous 3D visualization and position tracking of optically trapped particles using optical diffraction tomography[J]. Optica, 2015, 2(4): 343-346.
- [59] Müller P, Schürmann M, Guck J. The theory of diffraction tomography[EB/OL]. (2015-07-02)[2023-06-08]. <https://arxiv.org/abs/1507.00466>.
- [60] 魏婉雪, 何苗, 徐坚, 等. 一种大视野快速光学衍射层析成像技术[J]. 中国激光, 2023, 50(3): 0307109.  
Wei W X, He M, Xu J, et al. Large field-of-view fast optical diffractive tomographic microscopy[J]. Chinese Journal of Lasers, 2023, 50(3): 0307109.
- [61] Wolf E. Principles and development of diffraction tomography[M]//Consortini A. Trends in optics. Amsterdam: Elsevier, 1996: 83-110.
- [62] Kozacki T, Kujawińska M, Kniażewski P. Investigation of limitations of optical diffraction tomography[J]. Opto-Electronics Review, 2007, 15(2): 102-109.
- [63] Kim K, Yoon J, Shin S, et al. Optical diffraction tomography techniques for the study of cell pathophysiology[J]. Journal of Biomedical Photonics & Engineering, 2016, 2(2): 020201.
- [64] 杨泽文, 张璐, 吕宁, 等. 生物折射率三维无标记定量成像研究进展[J]. 中国激光, 2022, 49(5): 0507201.  
Yang Z W, Zhang L, Lü N, et al. Progress of three-dimensional, label-free quantitative imaging of refractive index in biological samples[J]. Chinese Journal of Lasers, 2022, 49(5): 0507201.
- [65] Devaney A J. A filtered backpropagation algorithm for diffraction tomography[J]. Ultrasonic Imaging, 1982, 4(4): 336-350.
- [66] Vouldis A T, Kechribaris C N, Maniatis T A, et al. Three-dimensional diffraction tomography using filtered backpropagation and multiple illumination planes[J]. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 2006, 55(6): 1975-1984.
- [67] Kim K, Lee S, Yoon J, et al. Three-dimensional label-free imaging and quantification of lipid droplets in live hepatocytes[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 36815.
- [68] Simon B, Debailleul M, Houkal M, et al. Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution[J]. Optica, 2017, 4(4): 460-463.
- [69] Born M, Wolf E. Principles of optics: electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light [M]. Amsterdam: Elsevier, 2013.
- [70] Li J J, Chen Q, Sun J S, et al. Three-dimensional tomographic microscopy technique with multi-frequency combination with partially coherent illuminations[J]. Biomedical Optics Express, 2018, 9(6): 2526-2542.
- [71] Maurer C, Jesacher A, Bernet S, et al. What spatial light modulators can do for optical microscopy[J]. Laser & Photonics Reviews, 2011, 5(1): 81-101.
- [72] Li J J, Chen Q, Zhang J L, et al. Optical diffraction tomography microscopy with transport of intensity equation using a light-emitting diode array[J]. Optics and Lasers in Engineering, 2017, 95: 26-34.
- [73] Ling R L, Tahir W, Lin H Y, et al. High-throughput intensity diffraction tomography with a computational microscope[J]. Biomedical Optics Express, 2018, 9(5): 2130-2141.
- [74] Li J J, Matlock A C, Li Y Z, et al. High-speed *in vitro* intensity diffraction tomography[J]. Advanced Photonics, 2019, 1(6): 066004.
- [75] Li J J, Matlock A, Li Y Z, et al. Resolution-enhanced intensity diffraction tomography in high numerical

- aperture label-free microscopy[J]. *Photonics Research*, 2020, 8(12): 1818-1826.
- [76] Matlock A, Tian L. High-throughput, volumetric quantitative phase imaging with multiplexed intensity diffraction tomography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(12): 6432-6448.
- [77] Zuo C, Sun J S, Li J J, et al. Wide-field high-resolution 3D microscopy with Fourier ptychographic diffraction tomography[J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2020, 128: 106003.
- [78] Chowdhury S, Chen M, Eckert R, et al. High-resolution 3D refractive index microscopy of multiple-scattering samples from intensity images[J]. *Optica*, 2019, 6(9): 1211-1219.
- [79] Baek Y, Park Y. Intensity-based holographic imaging via space-domain Kramers-Kronig relations[J]. *Nature Photonics*, 2021, 15(5): 354-360.
- [80] Hugonnet H, Kim Y W, Lee M, et al. Multiscale label-free volumetric holographic histopathology of thick-tissue slides with subcellular resolution[J]. *Advanced Photonics*, 2021, 3(2): 026004.
- [81] Chen M, Tian L, Waller L. 3D differential phase contrast microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(10): 3940-3950.
- [82] Fahrbach F O, Voigt F F, Schmid B, et al. Rapid 3D light-sheet microscopy with a tunable lens[J]. *Optics Express*, 2013, 21(18): 21010-21026.
- [83] Rodrigo J A, Soto J M, Alieva T. Fast label-free microscopy technique for 3D dynamic quantitative imaging of living cells[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(12): 5507-5517.
- [84] Soto J M, Rodrigo J A, Alieva T. Label-free quantitative 3D tomographic imaging for partially coherent light microscopy[J]. *Optics Express*, 2017, 25(14): 15699-15712.
- [85] Lazarev G, Hermerschmidt A, Krüger S, et al. LCOS spatial light modulators: trends and applications[M]. Weinheim: Wiley, 2012.
- [86] Qu J Q, Zou L M, Chen Y J, et al. Realization of non-mechanical lateral and axial confocal microscopic laser scanning with a phase only liquid crystal spatial light modulator[J]. *Key Engineering Materials*, 2014, 613: 167-172.
- [87] Fienup J R. Phase retrieval algorithms: a comparison[J]. *Applied Optics*, 1982, 21(15): 2758-2769.
- [88] Klivanov M V, Sacks P E, Tikhonravov A V. The phase retrieval problem[J]. *Inverse Problems*, 1995, 11(1): 1-28.
- [89] Shechtman Y, Eldar Y C, Cohen O, et al. Phase retrieval with application to optical imaging: a contemporary overview[J]. *IEEE Signal Processing Magazine*, 2015, 32(3): 87-109.
- [90] Ikezaki A, Nomura T. Phase-unwrapping-free and iterative reconstruction methods for propagated refractive index tomography[J]. *Japanese Journal of Applied Physics*, 2018, 57(9S1): 09SB03.
- [91] de L Kronig R. On the theory of dispersion of X-rays[J]. *Journal of the Optical Society of America*, 1926, 12(6): 547-557.
- [92] Li J J, Zhou N, Sun J S, et al. Transport of intensity diffraction tomography with non-interferometric synthetic aperture for three-dimensional label-free microscopy[J]. *Light: Science & Applications*, 2022, 11: 154.
- [93] Fannjiang A. Absolute uniqueness of phase retrieval with random illumination[J]. *Inverse Problems*, 2012, 28(7): 075008.
- [94] Grohs P, Koppensteiner S, Rathmair M. Phase retrieval: uniqueness and stability[J]. *SIAM Review*, 2020, 62(2): 301-350.
- [95] Diaz R E, Alexopoulos N G. An analytic continuation method for the analysis and design of dispersive materials [J]. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 1997, 45(11): 1602-1610.
- [96] Ullah H, Li J J, Zhou S, et al. Parallel synthetic aperture transport-of-intensity diffraction tomography with annular illumination[J]. *Optics Letters*, 2023, 48(7): 1638-1641.
- [97] Zheng G. Fourier ptychographic imaging a MATLAB tutorial[M]. San Rafael: Morgan & Claypool Publishers, 2016.
- [98] Horstmeyer R, Chung J, Ou X Z, et al. Diffraction tomography with Fourier ptychography[J]. *Optica*, 2016, 3(8): 827-835.
- [99] Zhou S, Li J J, Sun J S, et al. Accelerated Fourier ptychographic diffraction tomography with sparse annular LED illuminations[J]. *Journal of Biophotonics*, 2022, 15(3): e202100272.
- [100] Zhou S, Li J J, Sun J, et al. Transport-of-intensity Fourier ptychographic diffraction tomography: defying the matched illumination condition[J]. *Optica*, 2022, 9(12): 1362-1373.
- [101] Soto J M, Rodrigo J A, Alieva T. Optical diffraction tomography with fully and partially coherent illumination in high numerical aperture label-free microscopy[J]. *Applied Optics*, 2018, 57(1): A205-A214.
- [102] Streibl N. Three-dimensional imaging by a microscope [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1985, 2(2): 121-127.
- [103] Bao Y J, Gaylord T K. Quantitative phase imaging method based on an analytical nonparaxial partially coherent phase optical transfer function[J]. *Journal of the Optical Society of America A, Optics, Image Science, and Vision*, 2016, 33(11): 2125-2136.
- [104] Bai Z D, Chen Q, Ullah H, et al. Absorption and phase decoupling in transport of intensity diffraction tomography [J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2022, 156: 107082.
- [105] Jenkins M H, Gaylord T K. Three-dimensional quantitative phase imaging via tomographic deconvolution phase microscopy[J]. *Applied Optics*, 2015, 54(31): 9213-9227.
- [106] Bao Y J, Gaylord T K. Iterative optimization in tomographic deconvolution phase microscopy[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2018, 35(4): 652-660.

- [107] Long J M, Chun J Y, Gaylord T K. ADMM approach for efficient iterative tomographic deconvolution reconstruction of 3D quantitative phase images[J]. *Applied Optics*, 2021, 60(27): 8485-8492.
- [108] Soto J M, Rodrigo J A, Alieva T. Partially coherent illumination engineering for enhanced refractive index tomography[J]. *Optics Letters*, 2018, 43(19): 4699-4702.
- [109] Hugonnet H, Lee M, Park Y. Optimizing illumination in three-dimensional deconvolution microscopy for accurate refractive index tomography[J]. *Optics Express*, 2021, 29(5): 6293-6301.
- [110] Li J J, Zhou N, Bai Z D, et al. Optimization analysis of partially coherent illumination for refractive index tomographic microscopy[J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2021, 143: 106624.
- [111] Xiong B, Li X X, Zhou Y, et al. Snapshot partially coherent diffraction tomography[J]. *Physical Review Applied*, 2021, 15(4): 044048.
- [112] Huang J H, Bao Y J, Gaylord T K. Analytical phase optical transfer function for Gaussian illumination and the optimized illumination profiles[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2021, 38(5): 750-764.
- [113] Zhang Y B, Cui Z, Ji X Y, et al. 3D Fourier ptychographic microscopy based on the beam propagation method and time-reversal scheme[J]. *IEEE Access*, 2019, 7: 129402-129410.
- [114] Chen M, Ren D, Liu H Y, et al. Multi-layer Born multiple-scattering model for 3D phase microscopy[J]. *Optica*, 2020, 7(5): 394-403.
- [115] Hu J, Li S Z, Xie H, et al. Multi-slice ptychographic imaging with multistage coarse-to-fine reconstruction[J]. *Optics Express*, 2022, 30(12): 21211-21229.
- [116] Sun M L, Shao L N, Zhang J R, et al. High-resolution 3D Fourier ptychographic reconstruction using a hemispherical illumination source with multiplexed-coded strategy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(4): 2050-2067.
- [117] Zhu J B, Wang H, Tian L, et al. High-fidelity intensity diffraction tomography with a non-paraxial multiple-scattering model[J]. *Optics Express*, 2022, 30(18): 32808-32821.
- [118] Mu S Q, Shi Y T, Song Y T, et al. Multislice computational model for birefringent scattering[J]. *Optica*, 2023, 10(1): 81-89.
- [119] Kamilov U S, Papadopoulos I N, Shoreh M H, et al. Optical tomographic image reconstruction based on beam propagation and sparse regularization[J]. *IEEE Transactions on Computational Imaging*, 2016, 2(1): 59-70.
- [120] Lim J, Ayoub A B, Antoine E E, et al. High-fidelity optical diffraction tomography of multiple scattering samples[J]. *Light: Science & Applications*, 2019, 8: 82.
- [121] Yeh L H, Dong J, Zhong J S, et al. Experimental robustness of Fourier ptychography phase retrieval algorithms[J]. *Optics Express*, 2015, 23(26): 33214-33240.
- [122] Sinha A, Lee J, Li S, et al. Lensless computational imaging through deep learning[J]. *Optica*, 2017, 4(9): 1117-1125.
- [123] Lin X, Rivenson Y, Yardimci N T, et al. All-optical machine learning using diffractive deep neural networks[J]. *Science*, 2018, 361(6406): 1004-1008.
- [124] Rivenson Y, Zhang Y B, Günaydin H, et al. Phase recovery and holographic image reconstruction using deep learning in neural networks[J]. *Light: Science & Applications*, 2018, 7(2): 17141.
- [125] Barbastathis G, Ozcan A, Situ G H. On the use of deep learning for computational imaging[J]. *Optica*, 2019, 6(8): 921-943.
- [126] Tong Z, Ye Q, Xiao D F, et al. Quantitative pure-phase object reconstruction under single-shot Fourier measurement via deep learning[J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2021, 143: 106619.
- [127] Saba A, Gigli C, Ayoub A B, et al. Physics-informed neural networks for diffraction tomography[J]. *Advanced Photonics*, 2022, 4(6): 066001.
- [128] Kamilov U S, Papadopoulos I N, Shoreh M H, et al. Learning approach to optical tomography[J]. *Optica*, 2015, 2(6): 517-522.
- [129] Pierré W, Hervé L, Paviolo C, et al. 3D time-lapse imaging of a mouse embryo using intensity diffraction tomography embedded inside a deep learning framework[J]. *Applied Optics*, 2022, 61(12): 3337-3348.
- [130] Zhou K C, Horstmeyer R. Diffraction tomography with a deep image prior[J]. *Optics Express*, 2020, 28(9): 12872-12896.
- [131] Liu R H, Sun Y, Zhu J B, et al. Recovery of continuous 3D refractive index maps from discrete intensity-only measurements using neural fields[J]. *Nature Machine Intelligence*, 2022, 4(9): 781-791.
- [132] Sun Y, Xia Z H, Kamilov U S. Efficient and accurate inversion of multiple scattering with deep learning[J]. *Optics Express*, 2018, 26(11): 14678-14688.
- [133] Lim J, Ayoub A B, Psaltis D. Three-dimensional tomography of red blood cells using deep learning[J]. *Advanced Photonics*, 2020, 2(2): 026001.
- [134] Matlock A, Zhu J B, Tian L. Multiple-scattering simulator-trained neural network for intensity diffraction tomography[J]. *Optics Express*, 2023, 31(3): 4094-4107.
- [135] 边丽衢, 李道钰, 常旭阳, 等. 大规模计算重建理论与方法[J]. *激光与光电子学进展*, 2023, 60(2): 0200001.
- Bian L H, Li D Y, Chang X Y, et al. Theory and approach of large-scale computational reconstruction[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2023, 60(2): 0200001.
- [136] Lee M, Lee Y H, Song J, et al. Deep-learning-based three-dimensional label-free tracking and analysis of immunological synapses of CAR-T cells[J]. *eLife*, 2020, 9: e49023.
- [137] Juyeon P, Bai B J, DongHun R, et al. Artificial intelligence-enabled quantitative phase imaging methods for life sciences[J]. *Nature Methods*, 2023, 20(11): 1645-1660.
- [138] Pavillon N, Hobro A J, Akira S, et al. Noninvasive detection of macrophage activation with single-cell resolution through machine learning[J]. *Proceedings of*

- the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(12): E2676-E2685.
- [139] Ryu D, Kim K, Cho H, et al. Label-free 3-D quantitative phase imaging cytometry with deep learning: identifying naive, memory, and senescent T cells[J]. *The Journal of Immunology*, 2020, 204(1\_Supplement): 85-86.
- [140] Zhu X P, Huang L M, Zheng Y, et al. Ultrafast optical clearing method for three-dimensional imaging with cellular resolution[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(23): 11480-11489.
- [141] Oliveira L M C, Tuchin V V. Optical clearing and tissue imaging[M]//*The optical clearing method*. SpringerBriefs in physics. Cham: Springer, 2019: 107-138.
- [142] Chowdhury S, Eldridge W J, Wax A, et al. Structured illumination multimodal 3D-resolved quantitative phase and fluorescence sub-diffraction microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(5): 2496-2518.
- [143] Paidi S K, Shah V, Raj P, et al. Coarse Raman and optical diffraction tomographic imaging enable label-free phenotyping of isogenic breast cancer cells of varying metastatic potential[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 175: 112863.
- [144] Anantha P, Liu Z H, Raj P, et al. Optical diffraction tomography and Raman spectroscopy reveal distinct cellular phenotypes during white and brown adipocyte differentiation[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023, 235: 115388.
- [145] Zhao J, Matlock A, Zhu H B, et al. Bond-selective intensity diffraction tomography[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 7767.
- [146] Heuke S, Rigneault H, Sentenac A. 3D-coherent anti-Stokes Raman scattering Fourier ptychography tomography (CARS-FPT)[J]. *Optics Express*, 2021, 29(3): 4230-4239.
- [147] Song S, Kim J, Moon T, et al. Polarization-sensitive intensity diffraction tomography[J]. *Light: Science & Applications*, 2023, 12: 124.
- [148] Lee K, Lim J, Park Y, et al. Full-field quantitative X-ray phase nanotomography via space-domain Kramers-Kronig relations[J]. *Optica*, 2023, 10(3): 407-414.