

文章编号: 0253-2239(2005)12-1670-6

## 有核细胞的弹性光散射模型\*

吴大建 王亚伟 韩广才

(江苏大学理学院, 镇江 212013)

**摘要:** 提出一种新型的同心椭球构成的同心椭球 (CEM) 模型来模拟有核细胞, 以瑞利-德拜-甘斯 (Rayleigh-Debye-Gans) 近似理论为基础, 对细胞内不同部分的传播常量加以修正, 用该模型代替球系列模型, 研究其光散射特性。结果表明同心椭球模型更精确地反映了非球形有核细胞光散射的真实情况, 同时其前向、侧向及后向光散射精细谱的呈现, 可以在庞杂的细胞中辨别不同的细胞类型, 较好的应用于细胞的变形性研究和细胞分类研究的领域。

**关键词:** 医用光学与生物; 光散射; 细胞; 椭球体; 形体因子

中图分类号: O436.2 文献标识码: A

## Model for Elastic Light Scattering from Nucleated Cells

Wu Dajian Wang Yawei Han Guangcai

(Institute of Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212013)

**Abstract:** A model is presented to calculate the light scattering properties of nucleated cells which are mimiced by two concentric ellipsoids (CEM). The light-scattering characteristics are explored, deriving from the Rayleigh-Debye-Gans approximation and by simultaneous application of field averaging of the internal field and modification of the propagation constant inside the different cellular compartments. It is shown that the CEM is superior to the ball model. CEM can reflect the true configuration of the nonspherical nucleated cells more accurately. In addition, the simultaneous detection of the light-scattering intensities in the forward-, lateral-, and back-scattering directions can help distinguish the different cell types in heterogeneous population of nucleated cells, so it can be well used in cell classification and research of cell transfiguration.

**Key words:** medical optics biotechnology; light-scattering; cell; ellipsoid; body factor

### 1 引 言

对细胞大小分布和形体特征的认识几乎受到生命科学每个领域的关注, 特别在临床医学应用方面, 许多疾病的辅助诊断、疗效观察、预后判断都依赖于对细胞形态特征的识别。较先进的方法是光散射方法。生物细胞的光散射主要原因是: 光在细胞及细胞核边缘的衍射; 细胞质、细胞核及周围介质的不同折射率的折射; 不同光学边界的反射; 细胞内的吸收等。生物细胞的光散射图谱中包含了有关细胞尺寸 (或细胞群尺寸分布)、形状、容积、内部结构以及内容物含量等丰富的信息, 而弹性光散射技术<sup>[1]</sup>更是由于具有测量快速、简便、无破坏性、精确、重复性好等优点在生物医学领域吸引了大批的研究者<sup>[2~7]</sup>。以往的细

胞光散射主要是基于圆盘、球体、同心圆环、镀膜球<sup>[8]</sup>等简单的规则模型。但是, 从细胞形态学的角度来说, 细胞的形态与功能是密切相关的。细胞的形态多种多样, 有球形、杆形、立方形、梭形、星形、多角形和圆柱形等; 从细胞流变学的角度, 即使是标准的球形细胞, 在溶液中一定剪切力的作用下将变为椭球体<sup>[9]</sup>。所以, 简单的球体模型并不能精确地表示真实测量中的细胞。本文提出一种椭球壳模型, 应用修正的瑞利-德拜-甘斯 (Rayleigh-Debye-Gans) 近似理论<sup>[10]</sup>, 描述单个微粒的弹性光散射来研究有核细胞, 通过改变形体因子参量  $\eta$ <sup>[11]</sup>, 更加真实、精确、简便地反映多种类椭球形细胞, 可以较好应用于细胞的分类及细胞的变形性研究。

\* 中国博士后科学基金(2004035656)和江苏省教育厅自然科学基金(04kjb140017)资助课题。

作者简介: 吴大建(1979~), 江苏扬州人, 江苏大学助教, 主要从事生物物理方面的研究。E-mail: hyman@ujs.edu.cn

收稿日期: 2004-12-22; 收到修改稿日期: 2005-04-10

## 2 理 论

模型是基于瑞利-德拜-甘斯近似(或玻恩近似),并且仅仅研究单一散射及弹性光散射的情况。

散射光的角强度<sup>[12]</sup>由下式给出:

$$I(\theta) = I_0 \frac{i_1(\theta) + i_2(\theta)}{2k_0^2 R^2}, \quad (1)$$

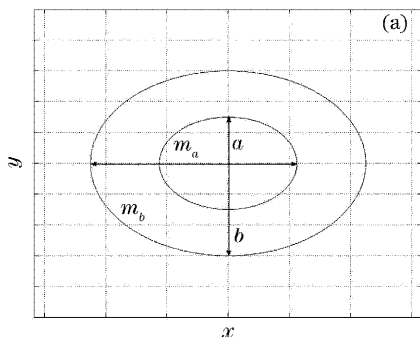
这里  $i_n(\theta) = |S_n(\theta)|^2$ ,  $\theta$  为探测角。散射光的振幅函数  $S_n(\theta)$ ,  $n = 1$  时表示电场矢量垂直于散射面;  $n = 2$  时表示电场矢量平行于散射面。 $I_0$  为入射光的强度;微粒到观察点的距离用  $R$  表示; $k_0$  为指微粒外传播区域内的传播常量  $k_0 = (2\pi/\lambda_0)$ , 这里  $\lambda_0$  为入射光在真空中的波长。

散射光的振幅函数<sup>[12]</sup> 为

$$\begin{cases} S_1(\theta) \\ S_2(\theta) \end{cases} = ik_0^3 \alpha(r) P(\theta) \begin{cases} 1 \\ \cos \theta \end{cases}, \quad (2)$$

极化率  $\alpha(r)$ , 形态因子<sup>[8]</sup>  $P(\theta)$  包含了细胞大小、形状和折射率  $m(r)$  等信息:

$$P(\theta) = \frac{1}{v} \int_v |m^2(r) - 1| \exp\left[i2k_0 r \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] dv, \quad (3)$$



$m(r)$ 与周围的介质的相对折射率。如果相对折射率接近1,且变化较小、相移较小,可以用发生区域代替内部<sup>[12,13]</sup>。Shimizu<sup>[10]</sup>给出了微粒内电磁场的传播常量的修正,(3)式中  $k_0$  用  $k_0 \cdot m(r)$  替换,可以用以求得大体积实体(例如有核细胞)的光散射。

## 3 同心椭球模型

真实的有核细胞采用两个同心旋转椭球模拟,内椭球指细胞核,其数学表式为

$$\frac{x^2}{\eta^2 a^2} + \frac{y^2}{a^2} + \frac{z^2}{a^2} = 1,$$

细胞核的相对折射率为  $m_a$ ;外椭球指细胞质,其数学表式为

$$\frac{x^2}{\eta^2 b^2} + \frac{y^2}{b^2} + \frac{z^2}{b^2} = 1,$$

细胞质的相对折射率为  $m_b$ ;  $\eta$  为细胞的形体因子(如图1)。

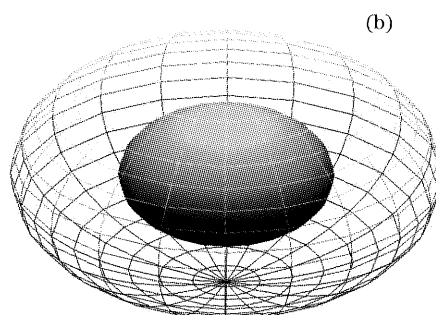


图1 同心椭球模型

Fig.1 Concentric ellipsoids model

有核细胞各部分的极化率不同。以  $\alpha'(r)$  表示体极化率:

$$\alpha(r) = \int_v \alpha'(r) dv, \quad (4)$$

考虑光线沿  $x$  轴方向正入射情况,引用椭球体的体极化率<sup>[14]</sup>:  $\alpha'_e(r) = \frac{(m^2 - 1)n_x}{1 + (m^2 - 1)n_x}$ , 其中

$$n_x = \frac{1 - e^2}{2e^3} \left[ \ln\left(\frac{1+e}{1-e}\right) - 2e \right],$$

$$e = \sqrt{1 - (1/\eta)^2},$$

当  $\eta \rightarrow 1$  时,  $n_x = \frac{1}{3} - \frac{2}{15}e^2$ 。

同心椭球内部的体极化率可以用均匀体按质量平均体极化率近似<sup>[15]</sup>:

$$\bar{\alpha}'_e(r) = \frac{(\bar{m}^2 - 1)n_x}{1 + (\bar{m}^2 - 1)n_x} =$$

$$\frac{1}{V} \int_v \frac{[m(r)^2 - 1]n_x}{1 + [m(r)^2 - 1]n_x} dV = M_0, \quad (5)$$

(5)式中各部分相应的折射率:

$$m(r) = \begin{cases} m_a, & 0 < v < v_a \\ m_b, & v_a < v < v_b \end{cases}$$

使得

$$M_0 = \frac{1}{V_b} [M_a V_a + M_b (V_b - V_a)], \quad (6)$$

这里  $M_a = \frac{(m_a^2 - 1)n_x}{1 + (m_a^2 - 1)n_x}$ , 细胞核的体积为  $V_a = (4/3)\pi\eta a^3$ 。  $M_b$  和  $V_b$  同样定义。非均匀椭球的极化率由  $\bar{\alpha} = \eta b^3 M_0$  表示,细胞核的为  $\alpha_a = \eta a^3 M_a$ 。因

此细胞质和细胞核的体极化率可以由(4) 式得

令  $p'(\theta) = \alpha(r)p(\theta)$ , 则将上述表达式代入:

$$\alpha'_a = \frac{3}{4\pi}M_a \quad \text{or} \quad \alpha'_b = \frac{\eta b^3 M_0 - \eta a^3 M_a}{V_b - V_a}, \quad (7)$$

$$p'(\theta) = \int_v \alpha'(r) |m^2(r) - 1| \exp\left[i2k_0 m(r) r \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] dv, \quad (8)$$

$$p'(\theta) = 8 \int_0^a \int_0^{\sqrt{a^2-y^2}} \int_0^{\sqrt{a^2-y^2-z^2}} \alpha'_a |m_a^2 - 1| \exp\left[i2k_0 m_a \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] dx dy dz +$$

$$8 \int_0^b \int_0^{\sqrt{b^2-y^2}} \int_0^{\sqrt{b^2-y^2-z^2}} \alpha'_b |m_b^2 - 1| \exp\left[i2k_0 m_b \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] dx dy dz, \quad (9)$$

由于积分限是椭球,且被积函数比较复杂,无法得到(9) 式的精确的解析解表达式,即使使用数值积分也无法得到计算结果.因此对(9) 式进行简化.令  $x' = x/\eta, y' = y, z' = z$ , 则  $dx' = (1/\eta)dx, dy' = dy, dz' = dz$ , 此时的积分限由椭球变为球,将上述结果代入(9) 式得

$$P'(\theta) = \eta \int_0^\pi d\varphi \int_0^{2\pi} d\rho \int_0^a \alpha'_a |m_a^2 - 1| \exp\left[i2k_0 m_a r \sqrt{1 + (\eta^2 - 1) \cos^2 \rho \sin^2 \varphi} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] r^2 \sin \varphi dr +$$

$$\int_0^\pi d\varphi \int_0^{2\pi} d\rho \int_0^b \alpha'_b |m_b^2 - 1| \exp\left[i2k_0 m_b r \sqrt{1 + (\eta^2 - 1) \cos^2 \rho \sin^2 \varphi} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] r^2 \sin \varphi dr, \quad (10)$$

此时(10)式虽然仍无解析解,但可以应用 Matlab 软件对其进行数值模拟.选取不同的参量代入,计算得到在各散射角方向的各种不同大小、不同形体因子、不同折射率的同心椭球模型的散射光强分布.

若  $\eta = 1$  时,取极限:  $a \rightarrow 0$  或  $m_a \rightarrow m_b$  或  $a \rightarrow b$  时,可以得到解析解表达式:

$$P(\theta) = \frac{3(\sin k_s b - k_s b \cos k_s b)}{k_s^3 a^3}, \quad (11)$$

其中  $k_s = 2m_b k_0 \sin(\theta/2)$ .

(11)式与修正的瑞利-德拜-甘斯近似的均匀球的结果一致<sup>[10]</sup>;说明,同心椭球模型瑞利-德拜-甘

斯近似在球体条件下有相同的结果。

### 4 不同形体因子、不同折射率的有核细胞弹性光散射

入射光波长为  $0.6328 \mu\text{m}$ . 取生理盐水悬浮介质的折射率为  $1.345$ . 应用 Matlab 软件对(10)式数值模拟,计算各种不同结构、大小、折射率的同心椭球的散射光强分布.

1)  $a=1 \mu\text{m}, b=1.5 \mu\text{m}, m_a=1.10, m_b=1.08$ , 不同形体因子的散射光强分布比较(如图 2).

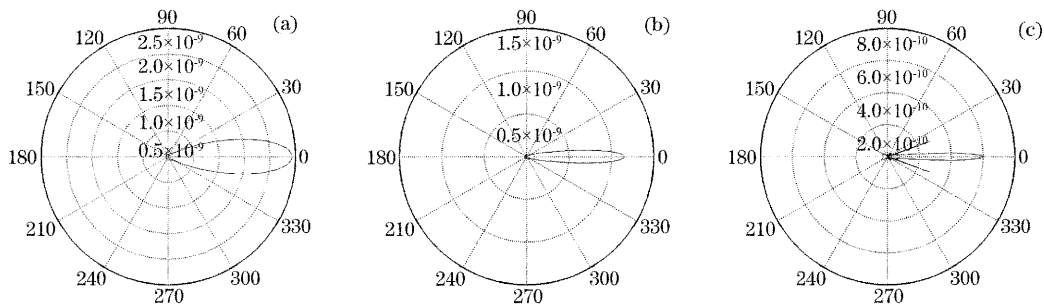


图 2 不同形体因子散射图。(a)  $\eta=1.5$ , (b)  $\eta=3$ , (c)  $\eta=5$

Fig. 2 Scattering patterns of different body factors. (a)  $\eta=1.5$ , (b)  $\eta=3$ , (c)  $\eta=5$

细胞的体积比较大,散射光强基本集中在前向;且随着形体因子的增大,前向散射的角度越集中,符

合米氏效应<sup>[16]</sup>的规律.当  $\eta=5$  时细胞的线度已很大,在衍射的影响下可以明显的看到其它的较强烈

纹出现。

子的侧向与后向散射分布也呈规则变化(如图 3)。

局部放大上图中心部分,可以看出不同形体因

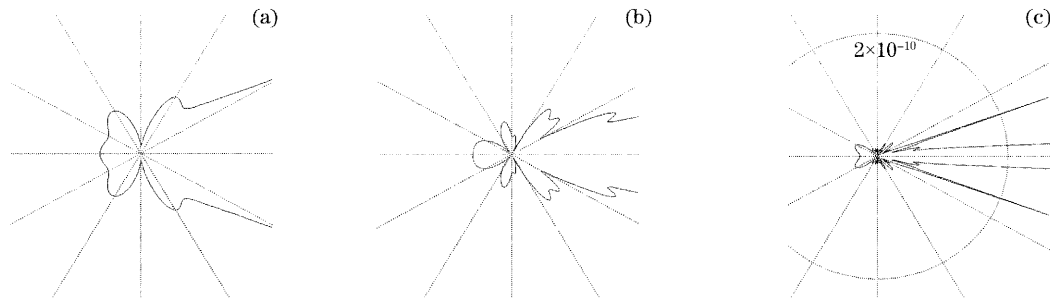


图 3 局部放大图 2。(a)  $\eta=1.5$ , (b)  $\eta=3$ , (c)  $\eta=5$

Fig. 3 Magnified images of partial patterns. (a)  $\eta=1.5$ , (b)  $\eta=3$ , (c)  $\eta=5$

2)  $\eta=2, m_a=1.10, m_b=1.08$ , 不同大小的椭球。

内椭球不变  $\alpha=1 \mu\text{m}$ , 外椭球变化。

外椭球不变  $b=1.5 \mu\text{m}$ , 内椭球变化(如图 4)。

随着外椭球的增大前向光散射将按米氏效应变化,从局部放大图中可以看出其侧向与后向散射分布成较规则变化,随着的增大逐渐出现多级条纹(如图 5)。

细胞的大小相同,三种情况的前向光散射几乎完全相同;但是由于内椭球发生了变化,使得侧向与后向散射分布发生了变化。

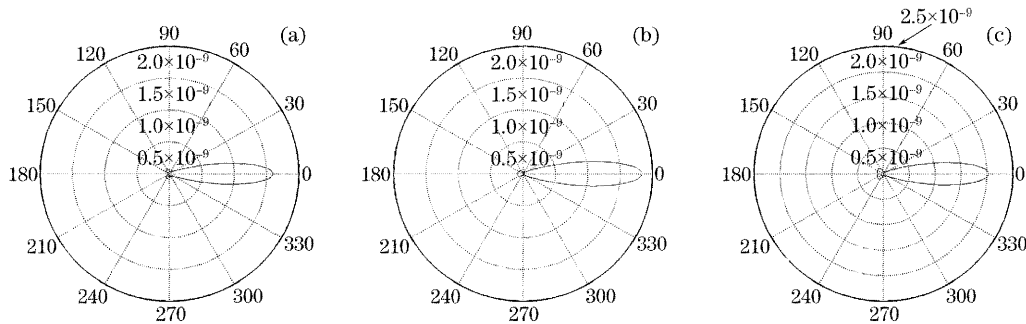


图 4 不同形体因子散射图,  $b=1.5 \mu\text{m}$ 。(a)  $a=0.5 \mu\text{m}$ , (b)  $a=1 \mu\text{m}$ , (c)  $a=1.2 \mu\text{m}$

Fig. 4 Scattering patterns of different body factors,  $b=1.5 \mu\text{m}$ . (a)  $a=0.5 \mu\text{m}$ , (b)  $a=1 \mu\text{m}$ , (c)  $a=1.2 \mu\text{m}$

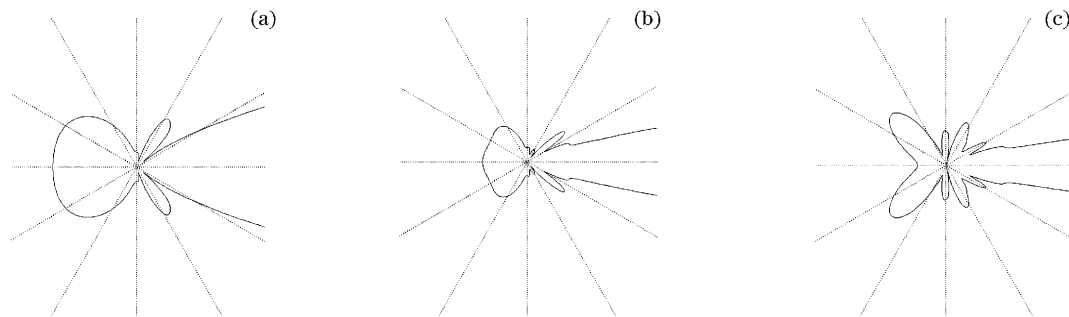


图 5 局部放大图 4,  $a=1 \mu\text{m}$ 。(a)  $b=1.5 \mu\text{m}$ , (b)  $b=2 \mu\text{m}$ , (c)  $b=2.5 \mu\text{m}$

Fig. 5 Magnified images of partial patterns,  $a=1 \mu\text{m}$ . (a)  $b=1.5 \mu\text{m}$ , (b)  $b=2 \mu\text{m}$ , (c)  $b=2.5 \mu\text{m}$

3)  $\eta=2, a=1 \mu\text{m}, b=1.5 \mu\text{m}$ , 不同折射率的椭球。

相同的大小的同心椭球体由于折射率的不同,前向光散射的范围一致,侧向与后向的光散射分布也几乎一致[如图 6(a')~图 6(c')],但散射光强度成倍增长。

从图 6(a)~图 6(c)中可看出相同的形体因子,

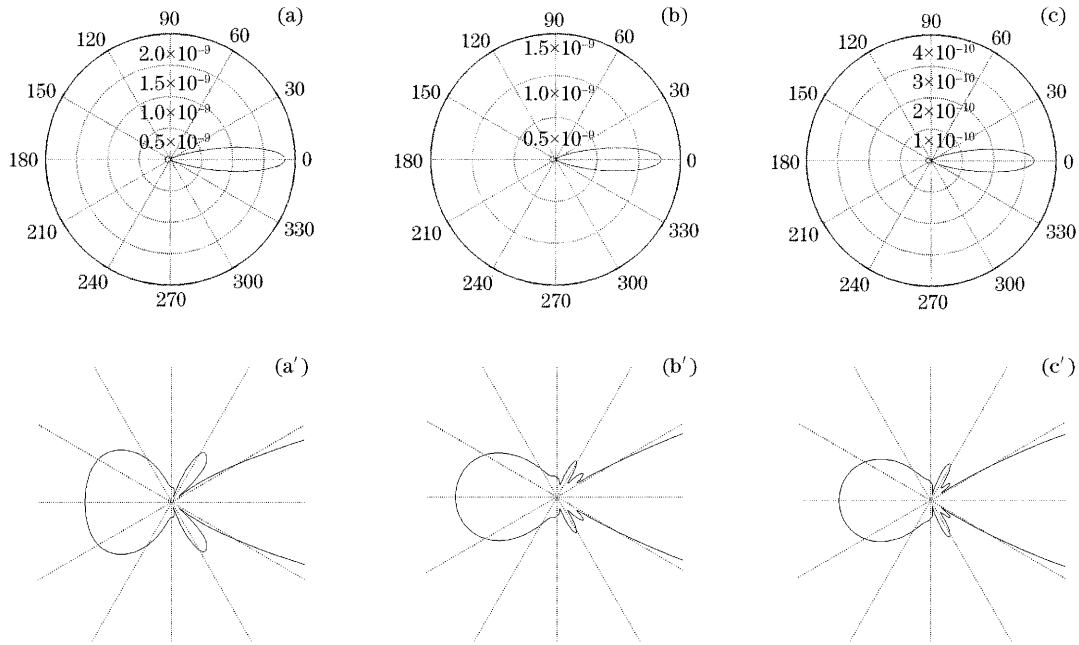


图 6 不同折射率的同心椭球和局部放大图。

(a)  $m_a=1.10, m_b=1.08$ , (b)  $m_a=1.10, m_b=1.0583$ , (c)  $m_a=1.05, m_b=1.03$

Fig. 6 Concentric ellipsoids and magnified images of partial patterns of different refractive index.

(a)  $m_a=1.10, m_b=1.08$ , (b)  $m_a=1.10, m_b=1.0583$ , (c)  $m_a=1.05, m_b=1.03$

### 5 同心椭球模型与球模型的米氏散射理论

根据米氏散射理论,当微粒的粒径到达  $a=1 \mu\text{m}$ 时,其无因次参量为  $\alpha=2\pi a/\lambda=9.93$ 。此时的米氏理论已过渡到夫朗禾费衍射,侧向及后向

已无散射光[如图 7(a)],而同心椭球模型在此条件下仍可得到侧向与后向的散射光强分布;对于粒径较小的微粒,计算其散射光强分布与同心椭球模型在细胞尺寸水平的散射光强分布几乎一致。

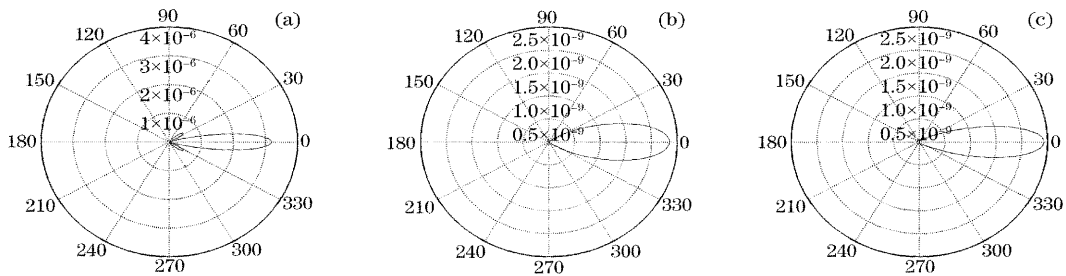


图 7 (a)  $a=0.9 \mu\text{m}$ , (b)  $a=0.5 \mu\text{m}$  的米氏散射光强, (c)  $a=1 \mu\text{m}, b=1.5 \mu\text{m}, m_a=1.10, m_b=1.08$  的同心椭球散射光强

Fig. 7 (a)  $a=0.9 \mu\text{m}$ , (b)  $a=0.5 \mu\text{m}$ , scattering intensity of Mie theory, (c)  $a=1 \mu\text{m}, b=1.5 \mu\text{m}, m_a=1.10, m_b=1.08$  scattering intensity of concentric ellipsoid

综上所述,同心椭球模型的散射符合一定的散射规律,可以满足多种形体、结构、折射率的细胞的要求,模拟多种类椭球形复合实体,可以较大的提高测量的精度和范围。

### 6 结 论

提出同心椭球模型代替通常所用的球模型来研究有核细胞的弹性光散射,以修正的瑞利-德拜-甘斯近似理论为基础,并以体平均极化率对同心椭球

内部区域进行修正,得到了同心椭球的散射光公式。理论研究结果表明,同心椭球模型在处理球体问题时与修正的瑞利-德拜-甘斯近似理论时完全一致的;不同的形体因子的同心椭球模型,前向散射完全符合米氏效应,侧向及后向散射随着形体的增大逐渐出现多级条纹,前向散射向衍射过渡;当内椭球大小变化而外椭球不变时,前向散射结果不变,但反映内部信息的侧向及后向散射将随着内椭球尺寸的减小而逐渐产生;当内椭球不变而外椭球变化时,前向散射结果满足米氏效应,但反映内部信息的侧向及后向散射将随着外椭球尺寸的增大而逐渐产生多级条纹;对于不同折射率、相同大小的同心椭球模型,散射光分布几乎不变,但强度大小要随着总体折射率的增大而增大。

因此,可以根据各方向的散射光强度的分布,区分出不同形态的细胞类型,在对变形的病变细胞、细菌等进行分析、识别、分类和计数等具有较高的应用意义。而对于实际问题中存在的细胞核和细胞质既不同心、也不同轴的情况还有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 L. Scott Cram, John C. Martin, John A. Steinkamp *et al.*. New flow cytometric capabilities at the national flow cytometry resource[J]. *IEEE*, 1992, **80**(6): 912~917
- 2 J. R. Mourant, M. Canpolat, C. Brocker *et al.*. Light scattering from cells; the contribution of the nucleus and the effects of proliferative status[J]. *Proc. SPIE*, 2000, **3917**: 33~42
- 3 Vadim Backman, Rajan Gurjar, Lev T. Perelman *et al.*. Imaging and measurement of cell structure and organization with submicron accuracy using light scattering spectroscopy[J]. *Proc SPIE*, 2002, **4613**: 101~110
- 4 Jorg Neukammer, Carsten Gohlke, Andreas Hope *et al.*. Angular distribution of light scattered by single biological cells and oriented particle agglomerates [J]. *Appl. Opt.*, 2003, **42**(31): 6388~6397
- 5 F. Bordin, C. Cametti, A. Di Biasio *et al.*. Quasi-elastic light scattering from large anisotropic particles; application to the red blood cells[J]. *Bioelectrochemistry*, 2000, **52**(2): 213~221
- 6 Gordon Videen, Dev R Prabhu, Melvin Davies *et al.*. Light scattering fluctuations of a soft spherical particle containing an inclusion[J]. *Appl. Opt.*, 2001, **40**(24): 4054~4057
- 7 Cuiping Yao, Zheng Li, Zhengxi Zhang. New algorithm and system for measuring size distribution of blood cells[J]. *Chin. Opt. Lett.*, 2004, **2**(5): 343~346
- 8 P. M. A. Slood, C. G. Figdor. Elastic light scattering from nucleated blood cells; rapid numerical analysis[J]. *Appl. Opt.*, 1986, **25**(9): 3559~3565
- 9 Yang Xinhui, Zhang Zhengxi, Jiang Dazong *et al.*. Forward light scattering of red blood cells[J]. *Laser Biology*, 1996, **5**(2): 821~828 (in Chinese)  
杨新慧, 张镇西, 蒋大宗 等. 红细胞的前向光散射[J]. *激光生物学*, 1996, **5**(2): 821~828
- 10 Koichi Shimizu. Modification of the Rayleigh-Debye approximation[J]. *J. Opt. Soc. Am.*, 1983, **73**(4): 504~507
- 11 Wang Yawei, He Anzhi, Liu Xiaolan. Probability characterization method of arbitrary particles distribution and its measurement[J]. *Acta Optica Sinica*, 2002, **22**(3): 363~367 (in Chinese)  
王亚伟, 贺安之, 刘晓然. 任意形体微粒分布的概率表述及其测量方法[J]. *光学学报*, 2002, **22**(3): 363~368
- 12 Milton Kerker. *The Scattering of Light and Other Electromagnetic Radiation* [M]. New York: Academic, 1969
- 13 H. C. van de Hulst. *Light Scattering by Small Particles* [M]. New York: Wiley, 1957
- 14 Л. Д. Ландау, Евгений Микхайлович Лифшиц. *Electrodynamics of Continuous Medium* [M]. Zhou Qi transl., Beijing: People's Education Press, 1978. 29~60 (in Chinese)  
Л. Д. 朗道, Е. М. 栗弗席兹. 连续媒质电动力学[M]. 周奇译, 北京: 人民教育出版社, 1978. 29~60
- 15 M. Kerker, D. D. Cooke, H. Chew *et al.*. Light scattering by structured sphere [J]. *J. opt. Soc. Am.*, 1978, **68**(5): 592~601
- 16 Wang Naining. *Application of Laser Measuring Technology in Particle Size* [M]. Beijing: Atomic Energy Press, 2000. 138~140 (in Chinese)  
王乃宁. 颗粒粒径的光学测量技术及应用[M]. 北京: 原子能出版社, 2000. 138~140