

文章编号: 0253-2239(2006)04-0595-5

双层散射介质的单次后向散射光谱分析*

邓 勇 骆清铭 鲁 强**

(华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室武汉光电国家实验室生物医学光子学研究部, 武汉 430074)

摘要: 从上皮组织的结构特点出发, 基于米氏(Mie)散射理论, 建立了双层散射介质的单次后向散射光谱的理论模型, 该模型通过偏振门屏蔽来自下层的噪声背景, 只保留来自上层的单次散射光。计算分析了粒子的形态学参量如平均尺寸及其分布、相对折射率变化时, 单次散射光谱的特征。并用傅里叶波形分析法研究了这些参量对单次后向散射光谱曲线形状及其谐波幅值的影响。结果表明, 这些只经历了表层粒子单次散射的光谱信号对表层粒子的平均尺寸及其分布、相对折射率具有灵敏性。对光谱曲线波纹结构的幅值、频率, 散射强度, 光谱谐波的幅值有直接的影响。研究结果对早期癌症的散射光谱特征识别及其特征提取有重要的实用价值。

关键词: 医用光学与生物技术; 散射光谱; 米氏理论; 散射介质

中图分类号: Q631; O436.2 文献标识码: A

Analyses of Single Backscattering Spectra for a Two-Layer Scattering Medium

Deng Yong Luo Qingming Lu Qiang

(The Key Laboratory of Biomedical Photonics of Ministry of Education, Wuhan National Laboratory for Optoelectronics, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

Abstract: Theoretical model of single backscattering spectra based on Mie scattering theory is established for a two-layer scattering media according to the structure characteristic of epithelium tissue. The theoretical model makes it possible to separate the singly backscattered light from the uppermost layer by subtracting the depolarised component from the backscattered light. The characteristic of scattering spectra is analysed by simulation calculation when the morphological parameters, including mean diameter, distribution and relative refractive index, change. The influences of mean diameter, distribution and relative refractive index of the particles of the uppermost layer on the single backscattering spectra curve and its amplitude of wave components of different orders are further studied by Fourier waveform analysis method. The results show that the single backscattering spectra are sensitive to the mean size, distribution and relative refractive index of the particles, which show direct influences on the amplitude, frequency of the ripple structure of spectra and the wave components of different orders. The simulation results can be used to identify and extract the characteristic of precancerous scattering spectra.

Key words: medical optics and biotechnology; scattering spectra; Mie theory; scattering medium

1 引 言

生物组织是混浊的光学介质, 对光的散射主要是弹性散射^[1,2]。近几年来, 利用生物组织的弹性散射光谱获得组织的结构和功能信息的新技术——散射光谱术(LSS), 正成为生物医学光子学领域的一个研究热点, 它的一个重要应用是癌症的早期探测。国际上很多研究小组进行了这方面的研究工

作, 如 L. T. Perelman^[3]通过对人的正常和发育异常的结肠、食管上皮组织的后向散射光谱进行傅里叶变换, 获得了每平方毫米面积内单位微米间隔内细胞核的数量。Michael B. Wallace^[4]对不同病例、不同位点的 Barrett 食管的散射光谱特征进行统计分析, 并与组织病理切片比较, 表明散射光谱技术的灵敏性和特异性达到 90%。V. Backman 和 R. S.

* 国家自然科学基金(60278017, 30470460)和教育部科学技术重大项目(10420)资助课题。

作者简介: 邓 勇(1966~), 女, 湖北宜昌人, 副教授, 博士后, 主要从事生物医学光学成像研究。

** 通信联系人。E-mail: luqiang@mail.hust.edu.cn

收稿日期: 2005-04-11; 收到修改稿日期: 2005-05-26

Gurjar^[5~8]通过探测口腔、膀胱、食管、结肠在发育正常、异常、原位癌阶段时的单次散射光谱,获得了直径大于 10 μm 的细胞核所占的百分数与单位面积细胞核密度数之间的对应关系。R. Drezek^[9]实验证明了宫颈癌细胞的形态、DNA 含量成分、染色质的网架结构的变化对散射光谱的强度有明显的影响。这些应用都是基于上皮组织是一个双层散射介质,上层是一薄层上皮细胞,下层是具有网状结构的基膜。人体发育正常上皮细胞核的直径典型值一般为 5~7 μm,发育异常或癌变时细胞异常增生,细胞核增大,核染色质增加。在散射光谱测量中,上皮细胞核视作类似球体的米氏(Mie)散射体,发育异常和癌变时,相对折射率增加,平均尺寸增大。因此通过探测来自上皮细胞核的单次后向散射光谱,能够进行癌症早期诊断。目前现有研究文献并未从理论上分析上皮细胞核的形态学参量对单次后向散射光谱的影响,本文从上皮组织的结构特征出发,基于米氏散射理论,建立了双层散射介质的单次后向散射光谱的理论模型。并采用傅里叶波形分析法,研究了单次后向散射光谱各次谐波的贡献与粒子尺寸、介质相对折射率以及粒子分布之间的关系。

2 理 论

2.1 单次散射光谱模型

双层散射介质模型类似 M. Bartlett^[10]的皮肤癌模型,如图 1 所示,假定为半无限的,其横向尺寸与光束宽度相比可视为无限大。上层是一单层球形粒子,视为米氏散射体用来模拟上皮细胞核,底层漫散射模拟与结缔组织相连的、具有强烈去偏性的基膜。

当一束平行于散射平面的线偏振光垂直入射在双层散射介质模型上,经上层粒子后向散射返回到表面的光信号经历了单次散射事件,仍然保持其偏振

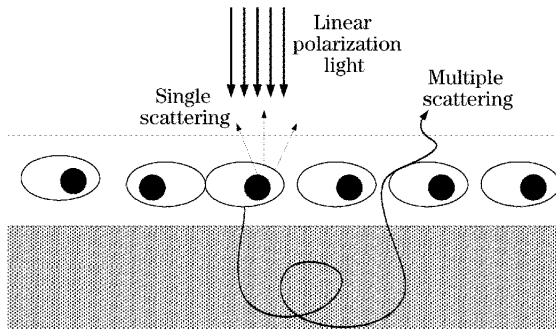


图 1 双层散射介质模型示意图

Fig. 1 Schematic diagram of a two layers scattering media model

性。散射后平行于散射平面的光强与垂直于散射平面的光有

$$I_{\parallel}^{\text{upper}}(\lambda) \gg I_{\perp}^{\text{upper}}(\lambda), \quad (1)$$

而光经过漫散射底物多次散射,返回到表面失去了原来的偏振性,散射后平行于散射平面的光强与垂直于散射平面的光强为

$$I_{\parallel}^{\text{bottom}}(\lambda) = I_{\perp}^{\text{bottom}}(\lambda), \quad (2)$$

由于入射偏振方向平行于散射平面,则与入射偏振方向平行和垂直的后向散射光强 $I_{\parallel}(\lambda)$ 、 $I_{\perp}(\lambda)$,二者差:

$$I_{\parallel}(\lambda) - I_{\perp}(\lambda) = I_{\parallel}^{\text{upper}} + I_{\parallel}^{\text{bottom}} - I_{\perp}^{\text{upper}} - I_{\perp}^{\text{bottom}} \approx I_{\parallel}^{\text{upper}}, \quad (3)$$

这样利用偏振门,最后获得的结果主要是来自表层粒子的单次散射光,且平行于散射平面:

$$I_{\parallel}^{\text{upper}}(\lambda) = I_{\parallel}^s(\lambda), \quad (4)$$

根据米氏理论,平行于散射平面的光强存在关系^[11]:

$$I_{\parallel}^s(\lambda) = [S_2(\theta, \lambda, n, d)]^2 I_{\parallel}^i(\lambda), \quad (5)$$

$I_{\parallel}^i(\lambda)$ 为平行于散射平面的入射光强。 λ 为入射波长, d 和 n 为粒子直径和相对折射率, θ 为散射角, $S_2(\theta, \lambda, n, d)$ 为散射幅值,且

$$S_2(\theta, \lambda, n, d) = \sum_{m=1}^{\infty} \frac{2m+1}{m(m+1)} b_m \omega_m(\cos \theta) + a_m \tau_m(\cos \theta), \quad (6)$$

其中

$$\begin{cases} a_m = \frac{\psi_m(\alpha)\psi'_m(\beta) - n\psi'_m(\alpha)\psi(\beta)}{\psi_m(\alpha)Z'_m(\beta) - n\psi'_m(\alpha)Z(\beta)}, \\ b_m = \frac{n\psi_m(\alpha)\psi'_m(\beta) - n\psi'_m(\alpha)\psi(\beta)}{n\psi_m(\alpha)Z'_m(\beta) - n\psi'_m(\alpha)Z(\beta)}, \end{cases} \quad (7)$$

$$\begin{cases} \omega_m(\cos \theta) = P_m^1(\cos \theta) / \sin \theta, \\ \tau_m(\cos \theta) = \frac{d}{d\theta} P_m^1(\cos \theta), \end{cases} \quad (8)$$

$$\alpha = 2\pi d / \lambda, \quad \beta = n\alpha, \quad (9)$$

式中 a_m, b_m 为米氏散射振幅, α, β 为尺寸参量, P_m^1 为一阶 m 次勒让德(Legendre)函数, ψ 和 Z 是里卡蒂-贝塞尔(Riccati-Bessel)函数。在计算中,考虑散射介质模型的上层是由单层粒子构成,计算必须将每个粒子的贡献都考虑在内。有文献表明正态分布或修正的对数正态分布能够重现生物组织的散射特性^[12]。因此来自上层粒子单次散射光谱,有下列积分方程:

$$I_{\parallel}^s(\lambda) = I_{\parallel}^i(\lambda) \int_{\Delta\Omega} d\Omega \int_{\Delta\Omega_0} d\Omega_0 \times \int_{\Delta\Omega} [S_2(\theta, \lambda, n, d)]^2 f(x) dx, \quad (10)$$

其中 $\Delta\Omega$ 、 $\Delta\Omega_0$ 分别是散射光收集角, 入射光的立体角, ΔD 是粒子尺寸范围, $f(x)$ 是粒子尺寸分布函数。

2.2 傅里叶波形分析

对模型(10)式计算的光谱数据归一化, 并把光谱区间 $[\lambda_1, \lambda_2]$ 上的 $2n+1$ 个点, 映射为 $[0, 2\pi]$ 上的 $2n+1$ 个点:

$$x_i = \frac{2\pi}{\lambda_2 - \lambda_1}(\lambda_i - \lambda_1), \quad (11)$$

$$(i = 1, 2, \dots, 2n+1)$$

函数值记为 $f(x_i)$, 这样 $f(x_i)$ 构成了 $[0, 2\pi]$ 上等间隔的数值系列, 且由于 $f(x)$ 在区间 $[0, 2\pi]$ 上连续可积且有界, 根据数学方法可知, $f(x)$ 可分解为如下的傅里叶级数形式:

$$f(x) = \frac{a_0}{2} + \sum_{p=1}^n [a_p \cdot \cos(px) + b_p \cdot \sin(px)], \quad (12)$$

a_p, b_p 是傅里叶系数, p 是展开区间 $[0, 2\pi]$ 上的谐波次数。表征波形特征的傅里叶系数的近似计算公式为

$$\begin{cases} a_p = \frac{2}{2n+1} \sum_{i=1}^{2n+1} f_i \cos\left(\frac{2\pi i}{2n+1} p\right), \\ b_p = \frac{2}{2n+1} \sum_{i=1}^{2n+1} f_i \sin\left(\frac{2\pi i}{2n+1} p\right), \end{cases} \quad (13)$$

$$(p = 1, 2, \dots, n)$$

进一步, (12)式可写为

$$f(x) = \frac{c_0}{2} + \sum_{p=1}^{2n+1} c_p \sin(px + \varphi_p), \quad (14)$$

式中 $c_0 = a_0$; $c_p = \sqrt{a_p^2 + b_p^2}$ 为 p 次谐波的幅值, $\varphi_p = \arctan(a_p/b_p)$ 为 p 次谐波的初相。 $c_0/2 = \frac{1}{2n+1} \sum_{i=1}^{2n+1} f_i$ 是光谱的平均值, 反映了单次散射光谱在展开区间 $[0, 2\pi]$ 上的总体强度, 是基波的幅值, 反映了基波在 $f(x)$ 光谱中所占的比重, φ_1 是基波的初相位, 反映了基波在波形中的构形位置。 $c_p (p \geq 2), \varphi_p (p \geq 2)$ 分别是高次谐波分量对波形的贡献及其在波谱中的构形位置。本文针对谐波分量的幅值进行讨论, 并把各次谐波分量相对于平均值归一化。

3 计算结果与讨论

3.1 粒子群的平均直径对单次散射光谱的影响

平均直径分别为 $d = 2.04 \mu\text{m}, 4.04 \mu\text{m}, 8.04 \mu\text{m}$ 的粒子群, 相对折射率为 $n = 1.19$, 介质的折射率 $n_m = 1.33$, 尺寸分布标准偏差 0.03 时,

$I_{\parallel}^s(\lambda)$ 与波长的关系如图 2 所示, 曲线的形状较复杂, 出现了一些极大极小值, 一类极大值变化幅度较大, 变化周期有一定的规律, 称为干涉结构, 另一类变化很快, 也没有一定规律, 称之为波纹结构。图中可以看出, 粒子直径愈小, 单次后向散射分量 $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 的光谱线愈平滑, 即 $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 的波纹幅值减小。而粒子直径增加, 波纹结构的幅值增大, 且振荡频率增加。可见粒子直径主要影响光谱曲线波纹结构的幅值, 振荡频率。进一步通过对光谱采用傅里叶级数逼近, 获得直径的变化对光谱基波及其高次谐波的影响, 如图 3 所示。通过分析发现, 直径大的粒子, 其光谱基波分量所占的比例较小, 与高次谐波的贡献差别不大, 而直径小的粒子, 基波分量所占比例较大。

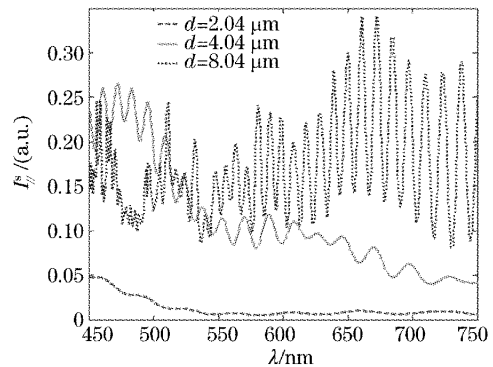


图 2 直径为 $2.04 \mu\text{m}, 4.04 \mu\text{m}$ 和 $8.04 \mu\text{m}$ 的粒子 $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 随波长的变化, 相对折射率 1.19, 标准偏差 0.03

Fig. 2 Wavelength dependence of $I_{\parallel}^s(\lambda)$ for particle diameter $2.04 \mu\text{m}, 4.04 \mu\text{m}$ and $8.04 \mu\text{m}$, relative refractive index $n=1.19$, standard deviation $\sigma=0.03$

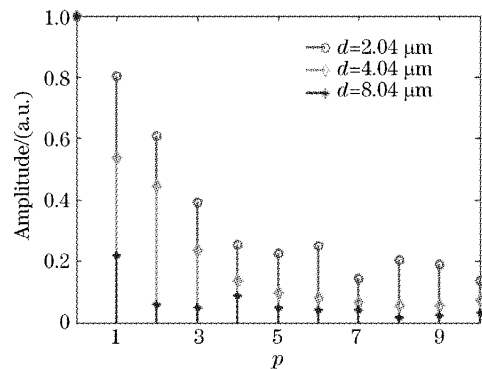


图 3 直径为 $2.04 \mu\text{m}, 4.04 \mu\text{m}$ 和 $8.04 \mu\text{m}$ 粒子的各次谐波幅值, 相对折射率 1.19, 标准偏差 0.03

Fig. 3 The amplitude of each wave component for particle diameter $2.04 \mu\text{m}, 4.04 \mu\text{m}$ and $8.04 \mu\text{m}$, relative refractive index $n=1.19$, standard deviation, $\sigma=0.03$

3.2 尺寸分布对单次散射光谱的影响

图 4 是 $d=4.04 \mu\text{m}$, 相对折射率为 1.19, 标准偏差分别为 0.03, 0.3, 1.2 时, $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 与波长的光谱曲线, 从单次后向散射光谱曲线可以看出, 当标准偏差变化时, 光谱的波纹结构有显著的变化。标准偏差愈小, 波纹结构的振荡幅值、振荡频率随波长的变化比较稳定; 标准偏差愈大, 波纹结构的幅值、振荡频率随波长的变化大。因为标准偏差小, 表明处于平均尺寸的粒子数多, 其它尺寸的粒子数少, 而标准偏差大, 表明小尺寸的粒子和大尺寸的粒子数增多。根据上面分析, 直径小的粒子使谱线平坦, 而大粒子使波纹结构的幅值增大同时, 频率增大。标准偏差的大小, 与粒子直径的影响类似, 即粒子尺寸分布主要影响光谱波纹结构的频率和幅值。进一步采用傅

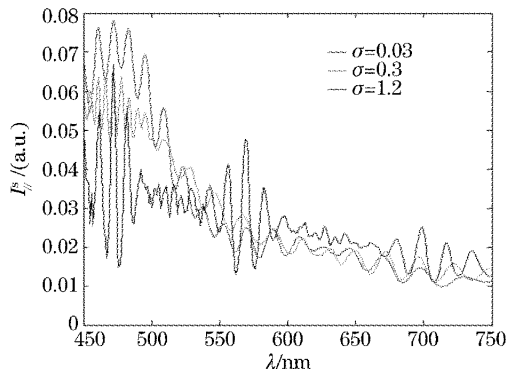


图 4 标准偏差为 0.03, 0.3, 1.2 时, $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 随波长的变化, 粒子平均直径 $4.04 \mu\text{m}$, 相对折射率 1.19

Fig. 4 Wavelength dependence of $I_{\parallel}^s(\lambda)$ for 0.03, 0.3 and 1.2 standard deviation, particles mean diameter $d=4.04$, relative refractive index $n=1.19$

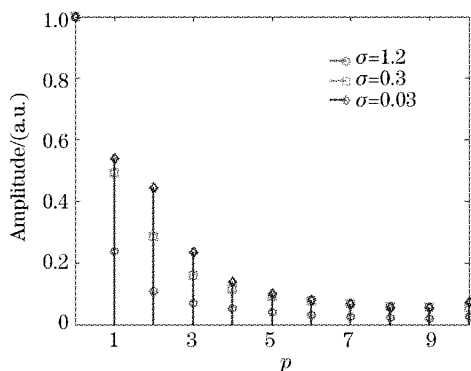


图 5 标准偏差为 0.03, 0.3, 1.2 时, $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 的各次谐波幅值变化, 粒子平均直径 $4.04 \mu\text{m}$, 相对折射率 1.19

Fig. 5 The amplitude of each wave component for 0.03, 0.3 and 1.2 standard deviation, particle mean diameter $d=4.04$, relative refractive index $n=1.19$

里叶级数逼近, 各次谐波的贡献如图 5 所示, 从图 5 看出, 标准偏差小, 光谱低次谐波的贡献大, 高次谐波的贡献相对小于些, 反之, 标准偏差大, 低次谐波与高次谐波分量所占比例相差不大。

2.3 粒子的相对折射率对单次散射光谱的影响

图 6 是 $d=4.65 \mu\text{m}$, 标准偏差为 0.03, 相对折射率取 $n=1.07, 1.09, 1.19$ 时, 单次后向散射光强 $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 随波长的变化。很明显, 折射率的微小变化, 能引起光谱的显著变化。散射光强度随折射率增加而增加。折射率变化, 波纹结构的幅值相应变化, 但是曲线干涉结构变化较小。进一步分析各谐波分量的幅值, 如图 7 所示, 发现折射率大, 基波的贡献大, 且谐波分量随谐波次数增加逐渐减小, 而对于小折射率情况, 各谐波分量呈波动趋势。

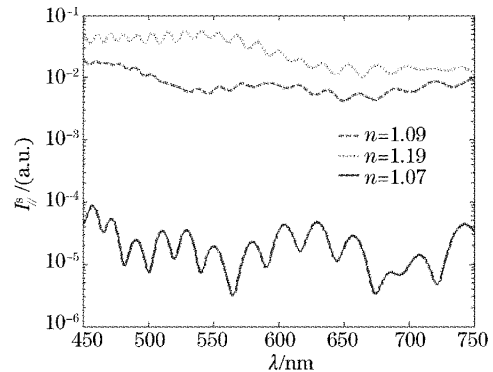


图 6 折射率为 1.19, 1.15, 1.07 时, $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 随波长的变化, $d=4.65 \mu\text{m}$, 标准偏差为 0.03

Fig. 6 Wavelength dependence of $I_{\parallel}^s(\lambda)$ for 1.19, 1.09 and 1.07 relative refractive index, particle mean diameter $d=4.04$, standard deviation $\sigma=0.03$

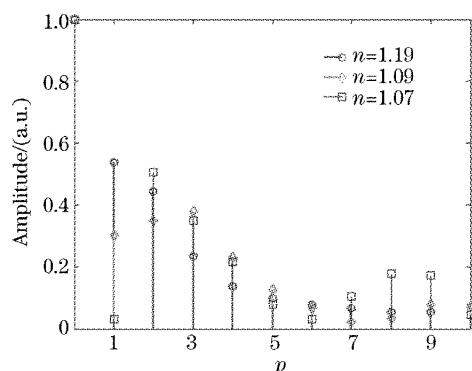


图 7 折射率为 1.19, 1.09, 1.07 时, $I_{\parallel}^s(\lambda)$ 的各次谐波幅值变化, $d=4.65 \mu\text{m}$, 标准偏差为 0.03

Fig. 7 The amplitude of each wave component for 1.19, 1.09 and 1.07 relative refractive index, particle mean diameter $d=4.04$, standard deviation $\sigma=0.03$

4 结 论

本文从米氏理论出发,建立了双层散射介质的单次散射光谱模型,并采用傅里叶波形分析方法,计算分析了双层介质的单次散射光谱的特征。结果表明:1)粒子直径大小主要影响光谱的波纹结构的幅值,振荡频率;大直径的粒子,其光谱基波分量所占的比例较小,而直径小的粒子,基波分量所占比例较大。2)标准偏差的大小对光谱波纹结构幅值影响最为显著;标准偏差愈小,光谱低次谐波分量的贡献大,高次谐波的贡献相对小于于些。3)折射率的大小对散射强度非常灵敏;折射率大,基波的贡献大。研究结果对早期癌症的散射光谱特征识别及其特征提取有重要的实用价值。

参 考 文 献

- Zhang Xiaojuan, Liu Ying, Gao Zonghui. Spatial-resolved diffuse reflectance of tissue close to source[J]. *Chin. J. Lasers*, 2005, **32**(4): 571~575 (in Chinese)
张小娟,刘 迎,高宗慧. 光源附近组织的空间分辨漫反射研究[J]. *中国激光*, 2005, **32**(4): 571~575
- Chen Yanru, ZHao Qi. Experimental study on property of a laser radiation side-scattered by the spherical particles distributed randomly[J]. *Acta Optica Sinica*, 2003, **23**(9): 1110~1114 (in Chinese)
陈延如,赵 琦. 随机分布粒子侧向散射光特性的实验研究[J]. *光学学报*, 2003, **23**(9): 1110~1114
- L. T. Perelman, V. Backman, M. Wallace *et al.*. Observation of periodic fine structure in reflectance from biological tissue; A new technique for measuring nuclear size distribution[J]. *Phys. Rev. Lett.*, 1998, **80**(3): 627~630
- Michael B. Wallace, Lev T. Perelman, Vadim Backman *et al.*. Endoscopic detection of dysplasia in patients with Barrett's esophagus using light-scattering spectroscopy [J]. *Gastroenterology*, 2000, **119**(3): 677~682
- Vadim Backman, Rajan Gurjar, Karmran Badizadegan *et al.*. Polarized light scattering spectroscopy for quantitative measurement of epithelial structures in situ[J]. *IEEE J. Sel. Topics Quant. Electron.*, 1999, **5**(4):1019~1026
- V. Backman, M. B. Wallace, L. T. Perelman *et al.*. Diagnosing cancers using spectroscopy [J]. *Nature*, 2000, **406**(6): 35~36
- Rajan S. Gurjar, Vadim Backman, Lev T. Perelman *et al.*. Imaging human epithelial properties with polarized light-scattering spectroscopy [J]. *Nature Medicine*, 2001, **7**(11): 1245~1248
- Vadim Backman, Venkatesh Gopal, Marim Kalashnikov *et al.*. Measuring cellular structure at submicrometer scale with light scattering spectroscopy [J]. *IEEE J. Sel. Topics Quant. Electron.*, 2001, **7**(6): 887~893
- Rebekah Drezek, Martial Guillaud, Thomas Collier. Light scattering from cervical cells throughout neoplastic progression; influence of nuclear morphology, DNA content, and chromatin texture[J]. *J. Biomed. Opt.*, 2003, **8**(1): 7~16
- Matthew Bartlett, Huabei Jiang. Measurement of particle size distribution in multilayered skin phantoms using polarized light spectroscopy[J]. *Phys. Rev. E*, 2002, **65**(3): 031906-1~031906-6
- Van de Hulst. *Light Scattering by Small Particles* [M]. New York: Dover, 1957. 40~59
- Judith R. Mourant, Tamara M. Johnson, James P. Freyer. Characterizing mammalian cells and cell phantoms by polarized backscattering fiber-optic measurements[J]. *Appl. Opt.*, 2001, **40**(28): 5114~5123