

提高全场光学相干层析系统成像质量的方法

朱 越 高万荣 郭英呈

南京理工大学电子工程与光电技术学院, 江苏 南京 210094

摘要 报道了一套具有活体光学断层成像能力的全场相干层析系统(FF-OCT)。该系统基于 Linnik 白光干涉显微结构, 使用非相干光卤钨灯照明, 参考臂与样品臂采用完全相同数值孔径的显微镜成像, 实验测得的轴向分辨率为 $1.3 \mu\text{m}$, 横向分辨率为 $0.89 \mu\text{m}$, $640 \text{ pixel} \times 480 \text{ pixel}$ 的 CCD 采集干涉信号得到的成像深度为 $80 \mu\text{m}$ 。描述了基于单片机控制的相位调制方式, 采用该方法可提高成像速度(从 60 s/frame 提高到 1 s/frame 断层图)和图像信噪比(SNR), 并用所获得的洋葱表皮细胞的断层图(SNR 从 18.36 dB 提高到 23.30 dB)和三维图像验证其有效性。探究了由于大数值孔径显微镜和折射率不匹配产生球差的原因并给出补偿方法, 实验结果表明, 补偿后的断层图像呈现了更多的细节(SNR 从 25.41 dB 提高到 29.54 dB)。利用该系统还实现了人体手指皮肤在体细胞水平的细微结构断层成像。对人体肝组织进行成像表明, 所研制的 FF-OCT 系统有分辨正常组织与肝癌组织的能力, 从而证明了研制的全场光学相干层析系统在癌症诊断领域的价值。该系统的研制为取代冰冻切片检测的快速辅助诊断手段奠定基础。

关键词 医用光学; 全场光学相干层析术; 相干光学; 生物医学成像

中图分类号 TN247 文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201535.0517001

A Method of Improving Imaging Quality of Full-Field Optical Coherence Tomography

Zhu Yue Gao Wanrong Guo Yingcheng

School of Electronic and Optical Engineering, Nanjing University of Science and Technology,
Nanjing, Jiangsu 210094, China

Abstract A full-field optical coherence tomography (FF-OCT) system is reported, which has the capability of generating *in vivo* optical sectional images. The system is based on a Linnik white light interference microscope illuminated by tungsten halogen lamps, in which identical microscope objectives are used for both illumination and detection in reference and sample arms. Measured axial and lateral resolution of the developed system is $1.3 \mu\text{m}$ and $0.89 \mu\text{m}$ respectively. A $640 \text{ pixel} \times 480 \text{ pixel}$ CCD camera is used to capture interference signals with imaging depth of $80 \mu\text{m}$. A single chip-based control system is developed to modulate phase between both arms with the intention of higher signal-to-noise ratio (SNR) and faster acquisition speed, en face and 3D images of onion cells are presented, acquisition time is reduced from 60 s to 4 s per en face image and the SNR is improved from 18.36 dB to 23.30 dB compared with the system without it. The spherical aberration introduced by high-numerical aperture objectives and refractive index mismatch is considered theoretically and a compensation method is proposed. After compensating the spherical aberration experimentally, more details are shown in the en face images of onion cells (SNR is improved from 25.41 dB to 29.54 dB). Cell-level *in vivo* images of human finger skin are also presented. The imaging of liver tissue is performed, which demonstrates the potential value of FF-OCT in the early diagnosis of cancer. The apparatus proposed and developed will be helpful for the design of the practical device as a fast diagnostic means instead of the traditional frozen-section method.

Key words medical optics; full-field optical coherence tomography; coherence optics; biomedical imaging

OCIS codes 170.6900; 110.4500; 180.3170; 170.3880

收稿日期: 2014-11-18; 收到修改稿日期: 2014-12-12

基金项目: 国家自然科学基金(61275198, 60978069)、国防基础科研项目

作者简介: 朱越(1991—), 女, 博士研究生, 主要从事全场 OCT 方面的研究。E-mail: daoxiaomi1991@163.com

导师简介: 高万荣(1961—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事生物医学光学方面的研究。E-mail: wgao@njust.edu.cn(通信联系人)

1 引 言

光学相干层析(OCT)是一种非入侵性成像技术,最早在1991年被提出^[1],可对生物组织等获取在体光学断层成像,在生物医学领域具有重要的应用前景^[2-6]。然而,传统OCT的横纵分辨率大约为 $5\sim 30\ \mu\text{m}$,不足以分辨亚细胞结构,且逐点扫描的扫描方式也带来了成像速度慢的缺点^[7]。

1998年,Beaurepaire等^[8-9]提出了全场光学相干层析(FF-OCT)系统。FF-OCT系统以并行扫描方式的快速著称,一次扫描可得 X - Y 面的二维信息。结合大数值孔径(NA)显微物镜与宽带光源,FF-OCT可以同时获得超高横、纵分辨率,这种高分辨率的成像模式在组织细胞水平的成像中起着非常重要的作用,在国际上经常运用于生物组织和细胞的成像^[10],如清华大学薛平课题组对小鼠胚胎的三维动态成像^[11],南京理工大学高万荣研究小组对集成电路芯片、洋葱和猪肝等进行了成像^[12-14],法国Boccara小组对蝌蚪眼睛等生物组织的实验^[8]。这些对动物组织的深入研究是为了更好地应用于临床医学领域,FF-OCT在医学领域的应用有以下两个方面:1)对药品颗粒聚合物涂层的检测^[15]。由剑桥大学和利物浦大学共同研制出的检测药品涂层厚度的FF-OCT系统,对厚度为 $40\ \mu\text{m}$ 的涂层检测误差小于 $0.2\ \mu\text{m}$,系统分辨率为 $11\ \mu\text{m}\times 3.6\ \mu\text{m}$ (横向 \times 轴向)。这套系统的优势在于对涂层厚度及药丸内部结构的非破坏性,以及系统的低成本及易用性。但在轴向成像的方式上,全场需要合成三维再获得 X - Z 面信息,不及频域OCT直接获取深度信息方便。2)FF-OCT与内窥镜结合对离体人体乳腺组织的成像^[16]。该系统由法国郎之万研究所的研究小组研制,分辨率达 $3.5\ \mu\text{m}\times 1.8\ \mu\text{m}$ (横向 \times 轴向)。这项活检技术可以运用于支气管癌、结肠癌、胃癌、宫颈癌和囊泡癌等疾病的检测中,该应用使得临床医生能够更快地评估病变组织。然而,从成像结果来看,结合内窥镜之后的效果差于FF-OCT系统直接测得的结果,说明内窥镜的使用使部分细节信息丢失。

医用FF-OCT一直是最前沿、最有意义的应用领域,本文在对离体生物组织(洋葱表皮细胞、叶片细胞、猪肝组织等)充分研究的基础上,在硬件方面运用单片机调制相位,克服系统采用压电陶瓷(PZT)参考镜光强手动调制的缺点;在理论方面详细讨论了系统产生的球差并提出补偿方法,目的是提高这套基于Linnik结构FF-OCT系统的成像质量。

2 实验装置

图1为搭建的FF-OCT系统,该系统基于科勒照明结构Linnik干涉显微系统。采用卤钨灯光源(12 V/20 W),光谱范围约为 $200\ \text{nm}$,中心波长为 $550\ \text{nm}$,理论轴向分辨率为 $0.5\ \mu\text{m}$ 。一对完全相同的普通显微物镜(Olympus RMS20X-PF,20倍, $NA=0.5$)放置于干涉系统的两臂,理论横向分辨率为 $0.7\ \mu\text{m}$ 。YAG晶体作为参考镜(反射率8%),附着在PZT前端。PZT调制光程进行移相,获得干涉信号^[17-18]。面阵CCD(Matrox Iris GT300, $640\ \text{pixel}\times 480\ \text{pixel}$,像素大小 $7.4\ \mu\text{m}\times 7.4\ \mu\text{m}$,帧率110 fps)采集干涉信号。电脑控制单片机给正弦信号调制PZT,同时晶体管-晶体管逻辑电路(TTL)信号触发CCD,使得移相、采集和处理数据简单快速。

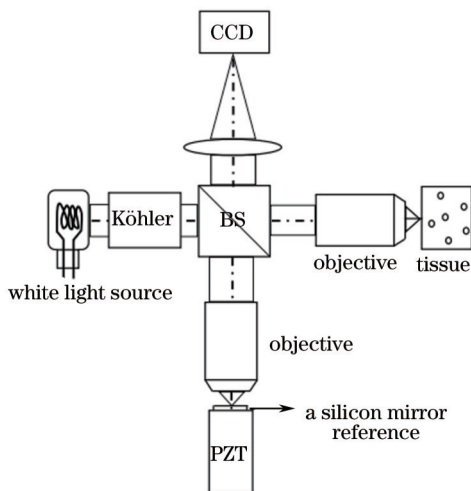


图1 FF-OCT系统

Fig.1 FF-OCT system

3 高速成像方法

FF-OCT是基于多步移相干涉测量的方法,对干涉条纹(相位)的调制与提取是关键。当样品臂和参考臂之间的光程差小于光源的相干长度时满足干涉条件,CCD上每个像素点 $p(x,y)$ 接收的干涉信号为 $I(x,y)$:

$$I(x,y) = \bar{I}(x,y) + A(x,y)\cos[\phi(x,y)], \quad (1)$$

式中 $\bar{I}(x,y)$ 为由非相干光形成的背景图像的光强, $\phi(x,y)$ 为参考光与样品光的相位差, $A(x,y)$ 为层析图像的振幅。

为了解调出一幅正面光学断层图像的振幅,需要对干涉信号进行调制。移相法为调制相位的方法之一,通过在参考光束和样品光束间引入移相量,采集几幅干涉图像后,对其光强信号进行加减运算滤除干涉项与背景图像信息来获得样品的层析图,该方法具有操作简单、信息存储和处理量小的优点,常采用三步移相法、四步移相法。在本课题组之前的研究中,系统使用四步移相法,每步移相 $\varphi = \pi/2$,那么 CCD上每个像素点采集到的信号 $I(x,y)$ 表示为

$$I(x,y) = \bar{I}(x,y) + A_i(x,y)\cos[\phi(x,y) + (n-3)\varphi], n = 1, 2, 3, \dots, \quad (2)$$

式中 $\cos[\phi(x,y) + (n-3)\varphi]$ 表示移相后的干涉项,随样品和参考镜上对应点 (x,y) 的相位差变化而变化; $A_i(x,y)$ 表示第 i 层组织层析图像的振幅,应用移相公式滤除背景光强 $\bar{I}(x,y)$ 和干涉项即可求出样品图像信息^[18]。操作中,需要手动输入对应的电压值来控制PZT的步进,输入4次电压值解调出一幅断层图,重复性较差,不能减小单次移相引入的误差。此外,采用手动方式控制PZT步进量的方法导致采集速度较慢,每次移相操作需要15 s左右的时间,一幅断层图从调制到采集时间约为60 s,无法对活体组织进行成像。虽然也可对PZT持续施加控制电压以获得连续步进的方法,但光源的相干长度为 $l_c = \lambda^2/\Delta\lambda = 1.5125 \mu\text{m}$,四步总移相量 $\varphi = 2\pi$ 对应来回光程为 $\Delta l = 0.55 \mu\text{m}$,连续采集三幅图后将引入 $\Delta = 3\Delta l = 1.65 \mu\text{m}$ 的光程差。由于光程差 Δ 超出相干范围 l_c ,干涉条纹消失,无法发生干涉。

为了克服上述缺点,其他研究小组采用了不同的解决方案。例如日本山形大学采用基于移相法的双通道外差检测法^[19],由两臂的液晶移相器(LCS)与脉冲配合对相干光引入 $\pi/2$ 的相位差,且由两台 CCD 分别接收,同时采集两幅干涉图,使得成像时间大为缩短,但系统使用的迈克尔孙干涉结构两臂不能独立调节,且双 CCD 的同步与采集信号的计算量很大。法国物理化学研究院采用偏振干涉^[20-21],由光弹性双折射调制器产生频率(50 kHz)极高的正弦信号调制两臂,参考光与样品光通过 CCD 前的检偏器后发生干涉。该方法采集速度快,但所使用的仪器非常复杂,由于利用的是偏振特性,该研究院采用的样品都被认为没有二向色性。而实际应用中,胶原蛋白、髓鞘、弹性纤维都是具有二向色性的生物组织,采用该方法对样品的选择有局限性。与前者克服采集速度慢的方法不同,本文采用了基于载频法实现信号采集的方案。载频法对单片机的控制电路有严格要求^[22],但可以实现很高的信噪比和更快的采集速度,比双 CCD 与光弹性双折射器件的方案容易处理,具有更好的生物医学应用潜力。

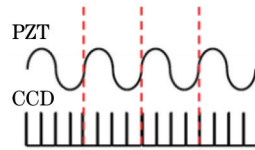


图2 同步 CCD 与 PZT 的触发信号

Fig.2 Synchronic signal of CCD and PZT

载频法移相过程中 CCD 上每个像素点 $p(x,y)$ 在不同时刻 t 时采集到的信号 $I(x,y,t)$ 可表示为

$$I(x,y,t) = \bar{I}(x,y) + A(x,y)\cos[\phi(x,y) + \Psi \sin(2\pi ft + \theta)], \quad (3)$$

式中 $\Psi \sin(2\pi ft + \theta)$ 代表单片机调制 PZT 的正弦信号。为了得到最好的信噪比,消去初始相位差的干扰,需要计算单片机调制信号的幅值与相位。每个周期内 CCD 采集 4 幅干涉图,那么 CCD 每像素采集到的 1/4 周期的振幅 $E_p(x,y)$ 可分别表示为^[5]

$$E_p(x,y) = \int_{p-1/74}^{p/74} I(x,y,t) dt, p = 1, 2, 3, 4. \quad (4)$$

将信号强度表达式按第一类 n 阶贝塞尔函数展开并对一幅图进行运算将正弦与余弦部分分离得到 Σ 。

与 \sum_c , 它们分别代表贝塞尔展开后的正弦与余弦部分:

$$\sum_s = E_1 + E_2 + E_3 - E_4 = (4T/\pi)\Gamma_s A \sin \phi, \quad (5)$$

$$\sum_c = E_1 + E_2 - E_3 + E_4 = (4T/\pi)\Gamma_c A \cos \phi, \quad (6)$$

式中 $E_1 \sim E_4$ 代表一个正弦周期内 CCD 每像素获得的光强, T 代表一个正弦信号的周期, 且有

$$\begin{cases} \Gamma_s = \sum_{n=0}^{+\infty} (-1)^n \frac{J_{2n+1}(\Psi)}{2n+1} \sin[(2n+1)\theta] \\ \Gamma_c = \sum_{n=0}^{+\infty} \frac{J_{4n+2}(\Psi)}{2n+1} \sin[2(2n+1)\theta] \end{cases}, \quad (7)$$

干涉信号的振幅 A 的平方正比于 $\sum_s^2 + \sum_c^2$, 用 f_{sum} 表示得到:

$$f_{\text{sum}} = \sum_s^2 + \sum_c^2 = [(4T/\pi)A]^2 [\Gamma_s^2 \sin^2 \phi + \Gamma_c^2 \cos^2 \phi], \quad (8)$$

由(8)式可知, 当 $\Gamma_s = \Gamma_c$ 时, 函数的后半部分为最大值, 正比于 Γ_c^2 且 f_{sum} 与相位差 ϕ 无关, 无需考虑两臂之间的初始相位差对信号的影响。而且 Γ 越大, 层析信号越强。将等式代入(7)式计算得到

$$\Psi = 2.45\theta = 0.96 \text{ rad}, \quad (9)$$

将上述因子代入, 优化以后得到

$$f_{\text{sum}} = \sum_s^2 + \sum_c^2 = [(4T\Gamma/\pi)A]^2. \quad (10)$$

此时, $\Gamma_s = \Gamma_c = \Gamma_{\text{max}} = 0.405$, 且信号与初始两臂的相位差无关, 得到关于层析图振幅 A 的平方。根据以上原理开发单片机, 在一个正弦信号周期中, CCD 采集 4 幅干涉图, 一幅断层图的振幅 $A(x, y)$ 由下式计算^[23]:

$$A(x, y) = [I(x, y, 1) - I(x, y, 2) - I(x, y, 3) + I(x, y, 4)]^2 + [I(x, y, 1) - I(x, y, 2) + I(x, y, 3) - I(x, y, 4)]^2. \quad (11)$$

如图 2 所示, 单片机连续发出 N 个调制信号, 系统断层图的振幅 $A^*(x, y)$ 可表达为

$$A^*(x, y) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left\{ [I(x, y, 4i-3) - I(x, y, 4i-2) - I(x, y, 4i-1) + I(x, y, 4i)] + [I(x, y, 4i-3) - I(x, y, 4i-2) + I(x, y, 4i-1) - I(x, y, 4i)]^2 \right\}^{1/2}. \quad (12)$$

综上所述, 该研究采用的载频法获得一幅断层图平均耗时为 4 s, 而移相法需要 60 s; 单片机控制操作简便, 免去了手动输入电压值的繁琐, 采集时间由单片机发出的正弦信号的频率决定; 重复多次采集可大幅提高图像信噪比。实验得出的结论和理论非常符合, 对比结果将在实验部分呈现。

4 数值孔径及折射率不匹配对成像质量的影响

4.1 折射率不匹配分析

在 FF-OCT 系统中, 通常两臂使用水浸显微物镜, 是为了在大数值孔径下尽可能匹配生物组织的折射率, 减少色散等像差。但是, 尽管使用水浸显微物镜, 这些像差依然存在。

如图 3 所示, 假设经过显微物镜后的会聚光的两条边缘光线以入射角 θ_1 入射, 在介质(折射率 n_1) 与组织(折射率 n_2) 的界面发生折射现象($n_2 > n_1$), 出射角为 θ_2 , 根据折射定律, 得到

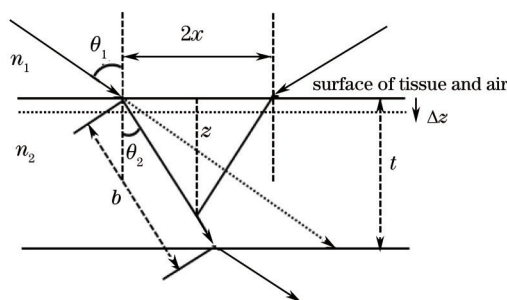


图 3 组织表面的几何光路

Fig.3 Geometric optical path between tissue surfaces

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2, \quad (13)$$

根据图 3 中 θ_2 的正切关系可以得到

$$\tan \theta_2 = \frac{x}{z}, \quad (14)$$

式中 x 为两边界光线在空气与组织界面的横向距离的一半, z 为初始状态光线聚焦的深度。当位移平台带动样品按图 3 的箭头方向轴向移动 Δz 的深度, 此时界面上的横向位置也改变了 Δx , θ_1 与 θ_2 满足

$$\tan \theta_1 = \frac{\Delta x}{\Delta z}, \quad \tan \theta_2 = \frac{x - \Delta x}{z}, \quad (15)$$

上式可简化为

$$z' = \frac{x - \Delta x}{\tan \theta_2}. \quad (16)$$

将(14)、(15)式代入(16)式得到

$$z' = z - \Delta z \frac{\tan \theta_1}{\tan \theta_2}. \quad (17)$$

令生物组织内实际的深度位移为

$$\Delta f = z' - z = -\Delta z \frac{\tan \theta_1}{\tan \theta_2}, \quad (18)$$

由于边缘光线满足

$$NA = n_1 \sin \theta_1, NA = n_2 \sin \theta_2, \quad (19)$$

得到生物组织内实际的深度位移 Δf 与位移平台移动距离 Δz 的关系为

$$\Delta f = -\Delta z \cdot \frac{\tan\left(\sin^{-1}\frac{NA}{n_1}\right)}{\tan\left(\sin^{-1}\frac{NA}{n_2}\right)}. \quad (20)$$

从(20)式可以看出, 在介质确定的情况下 Δf 与 Δz 同显微镜的数值孔径有关。其中负号代表方向。令

$$k = |\Delta f / \Delta z|, \quad (21)$$

当显微镜数值孔径由小到大变化, Δf 与 Δz 的比例关系如图 4 所示(其中 NA 值为 0 和 1 时取极限处理, 生物组织的主要成分为水, 折射率一般为 1.35~1.5^[24], 假设为 1.35)。

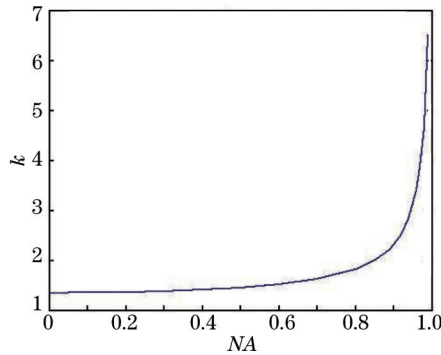


图 4 数值孔径与畸变程度的关系

Fig.4 Relationship between NA and degree of distortion

由图 4 可以看出, 当数值孔径为 0~0.2 时, Δf 与 Δz 两者相差不大, 且此时的系统分辨率低, 可以忽略两臂折射率不匹配的问题; 一旦当数值孔径跃升为 0.8 以上, 即高倍率显微镜时, Δf 与 Δz 成倍的关系对系统成像质量有严重的影响。考虑到水是生物组织的主要成分, 通常的解决办法为使用水浸显微镜, 医学领域考察的组织折射率一般在 1.35~1.5 之间, 实际上依然存在折射率不匹配的问题。

当 NA 很大时, 从显微镜出射的边缘光线与中心光束入射角的不同导致了球差的发生, 即旁轴光线不

能像边缘光线一样精确地聚焦在同样位置。尤其生物组织实际上是不均匀的,这会使衍射光斑变大,导致断层图细节的丢失^[25]。除了球差,还有离焦问题的存在:当光束在组织内会聚在焦点处,会出现相干平面后移(组织折射率大于介质的折射率),焦点平面会前移(折射现象),这时得到的断层图是离焦的。这些都是影响实际应用中病理诊断的不利因素。

传统的共焦显微镜中也会出现上述问题,解决方案是在样品上放置一定厚度的盖玻片来平衡显微物镜的球差^[26]。但FF-OCT系统基于干涉结构,需要保证两臂的完全一致,该方法不适合FF-OCT系统。为了弥补上述折射率不匹配所导致的球差问题,提出一种简易的校正方法:直接平衡显微物镜与组织薄层产生的球差。首先需要计算某一薄层组织的平均折射率,再将求得平均折射率代入组织薄层产生球差的公式,算出显微物镜产生的球差,最后令两者球差之和为零计算出需要移动显微物镜的距离,通过移动显微物镜到准确的位置来补偿组织产生的球差。

4.2 薄层组织的平均折射率

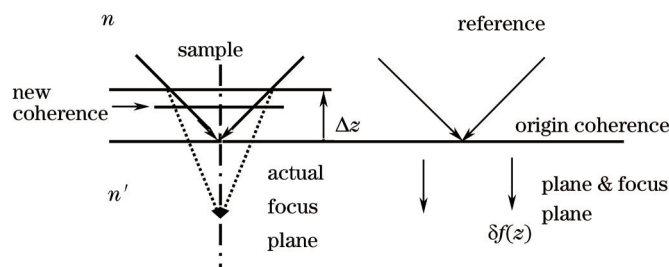


图5 组织表面的几何光路(计算折射率)

Fig.5 Geometric optical path at tissue surface (for calculation of refractive index)

利用离焦计算组织折射率。图5为模拟光线深入样品内部的示意图,黑色实线代表初始光线入射组织表面的光路,虚线代表移动样品后的光线入射内部的光路。当移动样品使得光线从表面深入样品内部时(设移动距离为 Δz),造成焦平面的下移($\Delta z \cdot \frac{n'}{n}$ 为实际焦平面距离移动之后表面的距离)和相干平面的上移($\Delta z \cdot \frac{n}{n}$ 为相干平面距离移动后表面的距离),为了使得样品焦平面在相干距离以内,需要参考臂进行光程补偿。参考臂实际补偿距离为 $\delta f(\Delta z)$ ^[27]:

$$\delta f(\Delta z) = n' \left(\Delta z \cdot \frac{n'}{n} - \Delta z \cdot \frac{n}{n} \right) = n' \Delta z \left(\frac{n'}{n} - \frac{n}{n} \right), \quad (22)$$

式中 n' 为样品折射率, n 为介质折射率,该研究中介质为空气。

具体实验过程如下:调整两臂显微物镜分别对参考镜和样品表面成像;接着使用精密电控位移平台往显微物镜方向移动样品,使光线深入样品内部,记录一次深度信息;移动参考镜及参考臂显微物镜以补偿光程差,同时保证显微物镜对参考镜面成像,记录一次参考镜的移动距离;直至样品臂光线深入景深以外,干涉条纹无法看清,停止实验。通过记录两臂的移动距离,代入(22)式可算出薄层平均折射率。求得的洋葱表皮细胞的平均折射率在实验部分给出。

4.3 球差补偿

分析显微物镜产生的球差,如图6所示,在FF-OCT系统中从显微物镜出射的光线入射组织内部,入射角为 θ_1 。

将显微物镜近似成一个棱镜光学系统,则由物镜产生的球差可近似表示为^[26]

$$W_{40} = 6kd^2 \Delta \left(\frac{1}{l} \right) \cdot \sin^4 \left(\frac{\theta_1}{2} \right), \quad (23)$$

式中 $k = 2\pi/\lambda$, $\Delta \left(\frac{1}{l} \right) = \frac{1}{l} - \frac{1}{l'}$ 表示显微物镜物面的光轴上两点 L 与 L' 范数空间距离的差异, d 表示 L 点通过显微物镜后像点距离主平面的距离。

分析由折射率产生的球差。如图3所示, θ_1 与 θ_2 分别表示组织表面的入射角与折射角,假设组织的厚度为 l ,由折射率不匹配产生的相位误差 ϕ 为

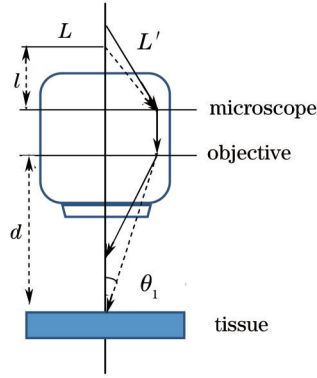


图 6 显微物镜内部的光路

Fig.6 Geometric optical path inside objective

$$\phi = kb[n_2 - n_1 \cos(\theta_1 - \theta_2)] = kt(n_2 \cos \theta_2 - n_1 \cos \theta_1), \quad (24)$$

式中 $k = 2\pi/\lambda$ 。使用折射定律和泰勒公式可以得出

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2, \quad (25)$$

$$\cos \theta_1 = (1 - \sin^2 \theta_1)^{1/2} \approx 1 - \frac{1}{2} \sin^2 \theta_1 \approx 1 - \sin^2 \left(\frac{\theta_1}{2} \right)^2, \quad (26)$$

$$\cos \theta_2 = \left(1 - \frac{4n_1^2}{n_2^2} \right)^{1/2} \cdot \sin \left(\frac{\theta_1}{2} \right)^2 \cdot \left[1 - \sin^2 \left(\frac{\theta_1}{2} \right)^2 \right]. \quad (27)$$

为了简化公式,令 $s = \sin(\theta_1/2)$, 此时

$$\phi = kt(n_2 - n_1) \cdot \left[1 + \frac{2n_1}{n_2} s^2 + 2(n_2 + n_1) \frac{n_1^2}{n_2^3} s^4 + 4(n_2 + n_1) \frac{n_1^4}{n_2^5} s^6 + \dots \right], \quad (28)$$

式中 s^4 的系数代表了初级球差,因此系数为

$$W_{40} = 2kt(n_2^2 - n_1^2) \frac{n_1^2}{n_2^3} \sin^4 \left(\frac{\theta_1}{2} \right). \quad (29)$$

令由显微物镜与折射率不匹配得到的球差之和为零,平衡球差公式为

$$2kt(n_2^2 - n_1^2) \frac{n_1^2}{n_2^3} \sin^4 \left(\frac{\theta_1}{2} \right) + 6kd^2 \Delta \left(\frac{1}{l} \right) \cdot \sin^4 \left(\frac{\theta_1}{2} \right) = 0, \quad (30)$$

简化后得到

$$\Delta \left(\frac{1}{l} \right) = - \frac{t(n_2^2 - n_1^2)n_1^2}{3d^2 n_2^3}. \quad (31)$$

该公式只适用于初级球差。实验中通过改变显微物镜将轴上点 L' 移动至点 L 补偿该处的初级球差,实验结果将在下文呈现。

虽然折射率不匹配带来一系列像差问题,但可以利用离焦求组织薄层的平均折射率^[27],再将求得的平均折射率代入(31)式,补偿球差改善该处的成像质量,还可以通过反复补偿的方法,得到更精准的折射率和更好的成像质量。

5 系统性能

5.1 轴向分辨率

OCT系统的轴向分辨率与光源带宽、相干长度有关,当光源的功率谱密度为高斯分布,中心波长为 λ_0 , 带宽为 $\Delta\lambda$, 光线在自由空间干涉后,系统轴向分辨率为^[28]

$$d_z = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} = 0.44 \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda}. \quad (32)$$

在 Gaussian 型照明光源情况下,系统轴向分辨率由(32)式计算,但实验中使用超宽带宽的光源,轴向分辨率需要重新计算。当系统为宽带光源,干涉光的相关函数被 sinc 函数调制,只要得到包络函数的半峰全宽,即为所求的轴向分辨率。对于最大入射角 θ_0 ,波数 κ_0 , z 为样品反射点到焦点的距离, z_0 为参考镜到焦平面的距离,均匀照明波数带宽为 $\Delta\kappa$,包络函数 $g(z)$ 或相关函数 $l(z)$ 可由下式给出^[29]:

$$g(z-z_0) = \frac{\sin\left[\frac{\Delta\kappa}{2}(z-z_0)(1+\cos\theta_0)\right]}{\frac{\Delta\kappa}{2}(z-z_0)(1+\cos\theta_0)}, \quad (33)$$

那么,宽带光源的轴向分辨率 d_z 为

$$d_z = \frac{1.78\pi}{\Delta\kappa(1+\cos\theta_0)}. \quad (34)$$

当光线以最大入射角 θ_0 入射,并且以镜面角度反射,波数的改变为 $\delta\kappa_z = 2\kappa_0 \cos\theta_0$,轴上反射光束波数的变化为 $\delta\kappa_z = 2\kappa_0$,因此,最大范围的空间频率为二者之差。另外,由于系统带宽较大,必须把波数带宽 $\Delta\kappa$ 考虑在内,(33)式中有 $\Delta\kappa' = \frac{\Delta\kappa}{2}(1+\cos\theta_0)$ 。总结来说,空间频率范围为

$$\Delta\kappa_z = 2\kappa_0(1-\cos\theta_0) + 2\Delta\kappa' = 2\kappa_0(1-\cos\theta_0) + \Delta\kappa(1+\cos\theta_0), \quad (35)$$

所以系统轴向分辨率应该结合(34)式与(35)式计算,约为 $0.5 \mu\text{m}$ 。

为了测量系统的轴向分辨率,样品臂和参考臂放置同样的载玻片,得到等厚干涉条纹,在干涉条纹的垂直方向进行拟合,如图7所示。对于折射率均匀的载玻片,两臂在空间上形成一个楔角,等厚干涉条纹平行于楔棱,由亮纹公式 $\Delta = 2nh + \lambda/2 = m\lambda$ 容易导出,从一个条纹过渡到另一个条纹,厚度变化为 $\Delta h = \lambda/(2n)$ 。轴向分辨率的定义是轴向两点之间能分辨的最小距离,由图7可以看出在偏离等光程处的两侧,振荡迅速衰减,这就表明表面起伏已经超出相干长度,即超出该系统能分辨的轴向距离。干涉条纹包络的半峰全宽即为该种方法的轴向分辨率,所以当半峰全宽为5条条纹时,系统实际轴向分辨率可由下式得出^[30]:

$$d_z = 2.5 \lambda/n, \quad (36)$$

式中 n 为空气折射率。由于介质是空气,对应折射率 $n=1$,中心波长为 550 nm ,得出轴向分辨率约为 $1.3 \mu\text{m}$,而理论计算结果到 $0.5 \mu\text{m}$,误差的主要原因一方面为外界环境因素,例如控制器的振动和光源的不稳定引起条纹的抖动,导致采集和拟合的偏差;另一方面为操作误差,放置载波片的载物台存在倾角,导致两臂干涉条纹的质量下降。

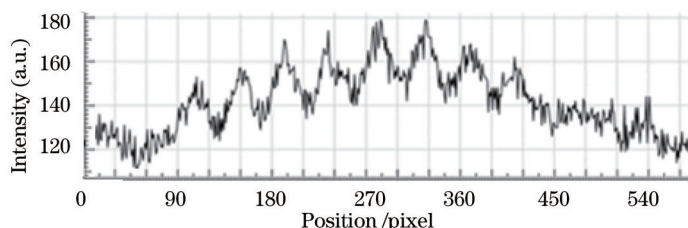


图7 干涉条纹强度

Fig.7 Interference fringe intensity

5.2 横向分辨率

OCT系统的横向分辨率被样品上两点发出的光线在像面各自产生的由衍射导致的弥散斑的大小限制,可由阿贝判据给出横向分辨率为

$$\Delta x = 1.22 \frac{\lambda}{2NA_{\text{obj}}} \approx 0.7 \mu\text{m}, \quad (37)$$

式中 NA_{obj} 为 FF-OCT 系统中显微物镜的数值孔径, λ 为波长。

由于实验室条件有限,没有足够细小的分辨率板能够直接进行成像测量,为此采用了两种间接测量的方法获得实际的横向分辨率。首先对 USAF-1951 标准分辨率板于样品台成像,如图8所示。标准分辨率板中红色方框放大的部分为测量图。取蓝色线条光强拟合,得到图8下方的曲线。峰谷之间光强的20%~80%

所占距离即为系统横向分辨率,多次测量取平均值,测得横向分辨率为 $1.65 \mu\text{m}$ 。

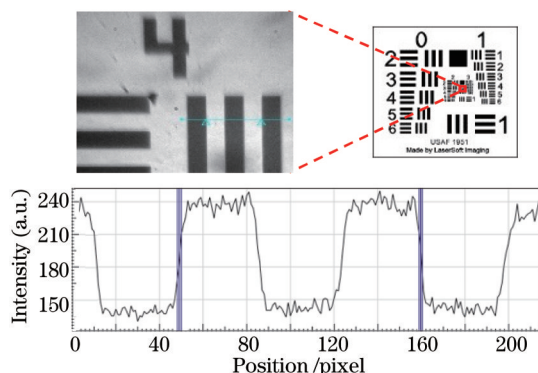


图 8 USAF-1951 标准分辨率板(第四组第一个)

Fig.8 USAF-1951 standard target (group 4, number 1)

使用第二种分辨率板测量。如图 9 所示,采用国家专业标准分辨率图案测量系统横向分辨率。图 9(a)是处理后的分辨率板,图 9(b)是标准 ZBN35003-1989 分辨率图案,图 9(c)为对图 9(b)中红色方块横向做光强拟合得到的曲线,此时,分辨率即为图 9(c)的半峰全宽,计算结果为 $0.89 \mu\text{m}$ 。可见第二种方法更接近理论值 $0.7 \mu\text{m}$,恢复出的分辨率板上残留的干涉条纹伪影是两者误差最主要的原因。

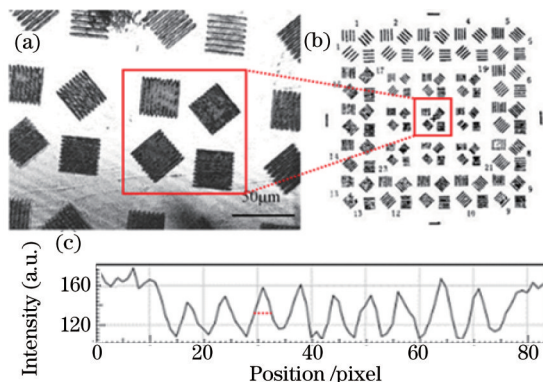


图 9 (a) A_5 号分辨率板图像; (b) 标准 ZBN35003-1989 分辨率图案; (c) 第 25 组横向光强拟合曲线

Fig.9 (a) Image of A_5 resolution target; (b) ZBN 35004-1989 national professional standard resolution target;

(c) line profiles crossing the nine lines in 25th group

6 样品成像结果与分析

为了验证使用载频法对系统成像质量的改善效果,采用移相法和载频法分别对洋葱表皮细胞的同一位置进行成像。图 10 是洋葱表皮细胞运用两种调制法得到的断层图,图 10(a)为移相法,图 10(b)为载频法,载频法得到的图像具有更清晰分明的细胞质与细胞壁,而且几乎每一颗细胞的细胞核都能看见,而手动移相法的结果相对模糊,噪点杂散分布。取图像最大灰度值为信号,取图像标准差为噪声,两者相除即为信噪比。计算得到图 10(a)、(b)的信噪比分别为 18.36 dB 和 23.30 dB,可见载频法使信噪比提高了 5 dB,证实了理论分析的正确性。

载频法采集速度的加快也为三维合成的实现增加了可能,图 11 为对洋葱表皮细胞进行三维成像的结果。其中图 11(a)为 X - Y 截面,图 11(b)为 X - Z 截面,图 11(c)为 Y - Z 截面,白色虚线框内均为同一颗细胞核的不同截面图。

进行补偿球差提高成像质量的实验。表 1 为其中一组使用精密电控位移平台(LNR50S, Thorlabs)记录轴向移动两臂的距离,等光程的初始坐标为第一组,随着两臂的移动记录每次的坐标,一直到干涉条纹模糊为止。结合(22)式计算得到洋葱样品薄层的平均折射率,如表 1 所示,折射率波动的原因纵向结构的差异导致折射率的改变,得到薄层厚度为 $80 \mu\text{m}$ 的洋葱表皮细胞的平均折射率为 1.35。

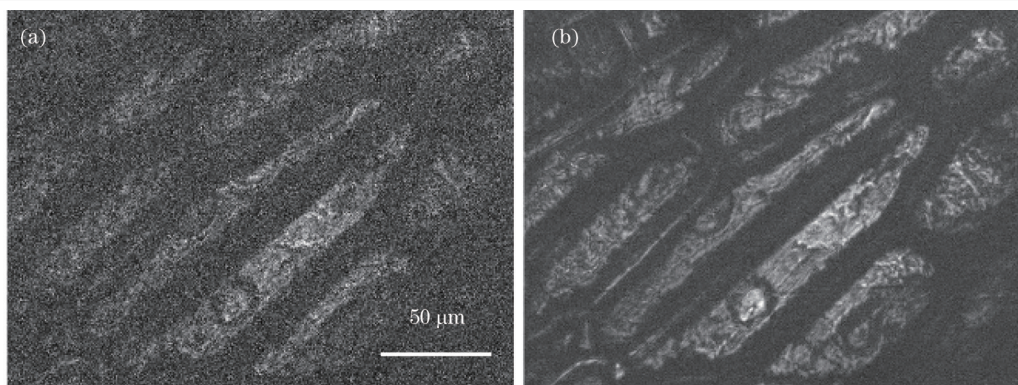


图 10 洋葱表皮细胞。(a)移相法得到的断层图;(b)载频法得到的断层图

Fig.10 Onion cells. (a) En face image of onion cells by phase-shifting; (b) en face image of onion cells by carrier frequency

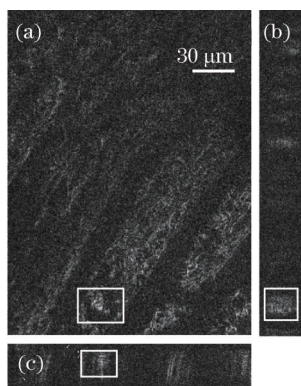


图 11 洋葱的三维图。(a) X - Y 截面;(b) X - Z 截面;(c) Y - Z 截面

Fig.11 3D image of onion cells. (a) X - Y section; (b) X - Z section; (c) Y - Z section

表 1 两臂轴向移动坐标及洋葱组织折射率

Table 1 Moving coordinate axially in both arms and refractive index of onion cells

Times	Axial coordinate value of sample	Axial coordinate value of reference	Refractive index of onion cells
	$(\Delta z) / \text{mm}$	$(\Delta f) / \text{mm}$	
1	0.1752	0.0059	/
2	0.1702	0.0107	1.40
3	0.1623	0.0157	1.27
4	0.1574	0.0206	1.40
5	0.1524	0.0243	1.32
6	0.1482	0.0293	1.40
7	0.1432	0.0323	1.27
8	0.1382	0.0350	1.24
9	0.1338	0.0373	1.24
10	0.1331	0.0383	1.55
11	0.1281	0.0411	1.25
12	0.1254	0.0461	1.44
13	0.1177	0.0551	1.47
14	0.1126	0.0588	1.32
15	0.1076	0.0624	1.31
16	0.1006	0.0674	1.31
17	0.0956	0.0715	1.35

得到洋葱表皮细胞的平均折射率后,用(31)式通过代入厚度值和样品与显微物镜最后一个表面的距离来求得球差。系统对洋葱表皮细胞的探测深度可达 $80 \mu\text{m}$,故设补偿厚度为 $80 \mu\text{m}$,计算得到洋葱折射率

约为 1.35,空气折射率为 1($t=80\ \mu\text{m}$, $n_2=1.35$, $n_1=1$)。为了分离离焦和球差两种因素来体现球差补偿的效果,实验将样品当作均匀折射率物体,运用相干平面移动到 $80\ \mu\text{m}$ 处焦平面的方法,进行离焦补偿。图 12 为补偿前后 $80\ \mu\text{m}$ 深度处洋葱表皮细胞的对比。图 12(a)为补偿前恢复出的断层图;图 12(b)为补偿离焦后恢复出的断层图;图 12(c)为补偿球差后得到的断层图,其中右边区域黑色虚线框内为细胞核,细胞质细节也比图 12(a)、(b)清晰,左边区域为不同深度的两颗洋葱表皮细胞。图 12(a)通过上述信噪比计算公式得到信噪比为 25.41 dB,图 12(b)计算结果为 26.38 dB,图 12(c)计算结果为 29.54 dB,比未作处理的断层图 12(a)提高 4 dB,比补偿离焦的断层图 12(b)提高 3 dB。该实验分离离焦与球差的因素,更明确地验证了补偿球差对 FF-OCT 系统成像质量的提高。

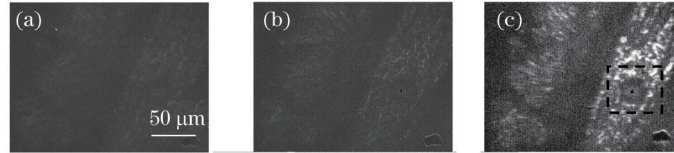


图 12 $80\ \mu\text{m}$ 深度处洋葱表皮细胞。(a) 补偿前的断层图;(b) 补偿离焦后的断层图;(c) 补偿球差后的断层图

Fig.12 Onion cells at depth of $80\ \mu\text{m}$. (a) En face image of onion cells before compensating aberration; (b) en face image of onion cells after compensating defocus aberration; (c) en face image of onion cells after compensating spherical aberration

用实验系统对洋葱表皮细胞的层析成像,如图 13 所示。图 13(a)~(e)是轴向不同深度的断层图。图 13(a)为细胞壁,图 13(e)为细胞质,每张断层图都很清晰。

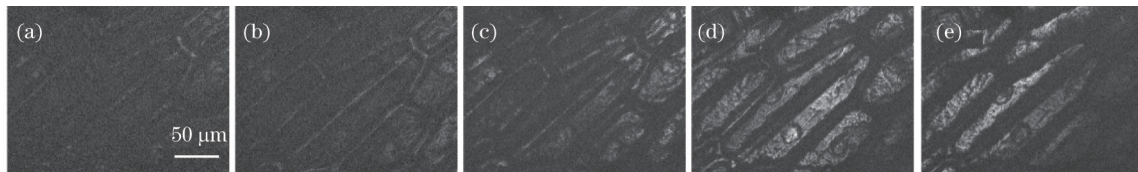


图 13 洋葱表皮细胞。(a)~(e)洋葱表皮细胞不同纵深方向的横断面图像

Fig.13 Onion cells. (a)~(e) X-Y en-face images of onion cells by FF-OCT at different depths

为了验证系统快速采集的能力,对 23 岁女性志愿者的手指外侧皮肤进行活体成像。皮肤最外侧为表皮层(深度约为 $60\ \mu\text{m}$),表皮层又分 4 层,包括角质层(约占 $30\ \mu\text{m}$)、颗粒层、棘层、基底层。基底层下面为真皮层,与真皮层紧贴的细胞为基底细胞。实验结果如图 14 所示,图 14(b)是皮肤的颗粒层(纵深约为 $35\ \mu\text{m}$),图 14(c)得到的是真皮乳头周围明亮的基底细胞(纵深约为 $65\ \mu\text{m}$)^[31]。对活体成像来说,运动会引起条纹消失,是影响成像结果的不利因素。之前的系统采用手动移相,采集速度慢,无法进行活体实验。采用载频法移相后,这项工作得以实现。这项研究将有助于今后结合内窥或者进行小型化手持式活体成像。

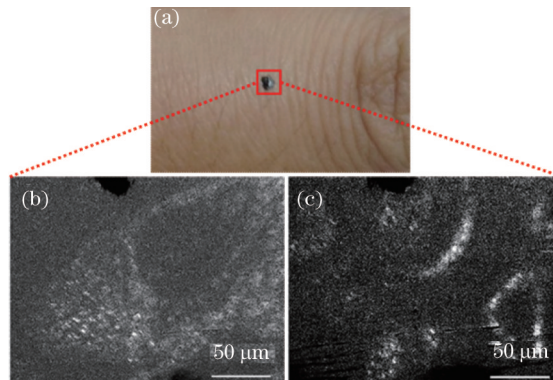


图 14 活体手指皮肤成像。(a) 手指外侧皮肤;(b) $35\ \mu\text{m}$ 处的颗粒层 FF-OCT 图像;(c) $65\ \mu\text{m}$ 处的真皮乳头周围明亮的基底细胞

Fig.14 En face images of *in vivo* human skin taken at various depths. (a) Outer skin of fingers; (b) stratum granulosum at $35\ \mu\text{m}$ under the surface; (c) dermal papillae surrounded by bright basal cells at $65\ \mu\text{m}$ under the surface

在中国和其他亚洲国家,由于饮食习惯,肝癌死亡率一直高居各类癌症的首位,所以对肝癌的快速诊断非常有必要。普通肝细胞的直径约为 $20\sim 30\ \mu\text{m}$,呈多角形。肝癌肿瘤细胞呈浸润性生长,使得肝细胞变得

模糊不可分辨^[32]。使用研制的系统对未经切片、苏木精-伊红(HE)染色处理的人体肝组织进行成像。取大小约为 $10\text{ mm} \times 5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ (长 \times 宽 \times 高)的块状肝癌组织成像,结果如图 15 所示,其中图 15(e)红框部分为正常组织区域,图 15(a)、(b)为其不同深度层析成像的结果,经过计算得到图 15(a)、(b)中白色方框内的一颗正常肝细胞大小约为 $25\text{ }\mu\text{m}$,符合描述;图 15(e)黑框部分为癌症组织区域,图 15(c)、(d)为其不同深度层析成像的结果。通过对比发现,图 15(a)中央与图 15(b)右上方区域可清楚看见多角形状的正常肝细胞,图 15(c)、(d)中癌细胞则具有相对均匀的分布特征。该成像结果表明所研制的 FF-OCT 系统有分辨正常组织与肝癌组织的能力。相对冰冻切片与石蜡切片需要复杂制片的过程,该技术提供了一种快速诊断癌症的方法,可对手术中突发状况进行实时诊断,也会减轻病人以及家属长期等待的痛苦。

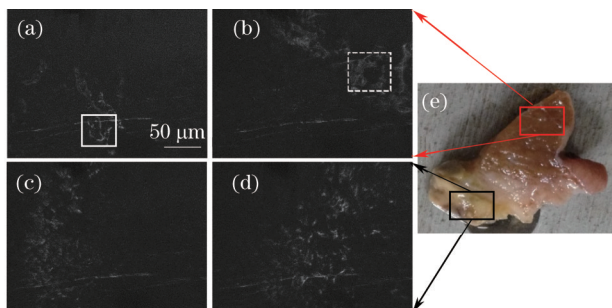


图 15 肝组织成像。(a)(b)正常肝组织不同深度断层图;(c)(d)肝癌组织不同深度断层图;(e)肝组织

Fig.15 En face images of liver. (a)(b) En face image of normal liver at different depths;

(c)(d) en face image of liver cancer tissue at different depths; (e) liver tissue

7 结 论

从相位调制和补偿球差两个方面综合提高系统的成像能力,对肝组织与癌细胞的对比展示了该系统在医学领域的潜在应用能力。利用单片机调制相位的方式与传统的移相法对洋葱表皮细胞的成像对比,结果表明信噪比从 18.36 dB 提高到 23.30 dB ,验证了该方法对成像质量的提高;对洋葱细胞的三维成像和手指皮肤的活体成像证实了系统采集速度的提高;测量了洋葱表皮细胞 $80\text{ }\mu\text{m}$ 深度的折射率并通过该研究提出的方法补偿球差,结果表明信噪比从 25.41 dB 提高到 29.54 dB ,证实了该方法的可行性。实验验证系统分辨率达 $0.89\text{ }\mu\text{m} \times 1.3\text{ }\mu\text{m}$ (横向 \times 轴向),从采集三维数据到处理数据需要的时间在 60 s 内。与现有系统相比,该系统具有成像质量好、器件使用量少、信号处理简单等优点,下一步将进行扩大成像范围的工作。

全场光学相干层析术是一种很有潜力的生物医学检测手段,无需对组织进行石蜡切片或冰冻以及染色处理,是一种非入侵成像方式。由于成像快速及超高分辨,该系统对手术中突发状况能够及时诊断,对于选择最佳治疗方案具有很大意义。

参 考 文 献

- Huang D, Swanson E A, Lin C P, *et al.*. Optical coherence tomography[J]. Science, 1991, 254(5035): 1178-1181.
- Hu Yan, Xiao Jianming. Application of optical coherence tomography in the diagnosis and treatment of coronary artery disease patients with borderline lesions[J]. Clinical Medicine, 2014, 34(5): 110-112.
胡 艳,肖践明. 光学相干断层成像技术在冠心病临界病变中的应用[J]. 临床医学, 2014, 34(5): 110-112.
- Zhang Wei, Lu Yiming, Wu Linhui, *et al.*. Hemoglobin diffuse optical tomography for breast tumor diagnosis: Phantom experiment and *in vivo* evaluation[J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(6): 0617001.
张 伟,卢奕名,武林会,等. 面向乳腺诊断的血氧扩散光学层析方法: 仿体实验与在体评估[J]. 光学学报, 2013, 33(6): 0617001.
- Li Jianguhua, Huang Hai, Tang Zhilie, *et al.*. Measurement of enamel mineral density by optical coherence tomography[J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(8): 0817001.
李江华,黄 海,唐志列,等. 光学相干层析成像对牙釉质矿密度的定量测量[J]. 光学学报, 2013, 33(8): 0817001.
- Yang Liu, Hong Wei, Wang Chuan, *et al.*. Flow velocity measurement based on speckle in optical coherence tomography[J]. Chinese

- J Lasers, 2012, 39(5): 0504002.
- 杨 柳, 洪 威, 王 川, 等. 基于光学相干层析散斑的流速测量方法[J]. 中国激光, 2012, 39(5): 0504002.
- 6 Ding Zhihua, Zhao Chen, Bao Wen, *et al.*. Advances in Doppler optical coherence tomography[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2013, 50(8): 080005.
- 丁志华, 赵 晨, 鲍 文, 等. 多普勒光学相干层析成像研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2013, 50(8): 080005.
- 7 Vabre L, Dubois A, Boccara A C. Thermal-light full-field optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2002, 27(7): 530-532.
- 8 Beaurepaire E, Boccara A C, Lebec M, *et al.*. Full-field optical coherence microscopy[J]. Optics Letters, 1998, 23(4): 244-246.
- 9 Dubois A, Vabre L, Boccara A C, *et al.*. High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope[J]. Applied Optics, 2002, 41(4): 805-812.
- 10 Dubois A, Moneron G, Grieve K, *et al.*. Three-dimensional cellular-level imaging using full-field optical coherence tomography[J]. Physics in Medicine and Biology, 2004, 49(7): 1227-1234.
- 11 Zheng J, Lu D, Chen T, *et al.*. Label-free subcellular 3D live imaging of preimplantation mouse embryos with full-field optical coherence tomography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2012, 17(7): 0705031.
- 12 Gao W. Effects of temporal and spatial coherence on resolution in full-field optical coherence tomography[J]. Journal of Modern Optics, 2014: 1-11.
- 13 Zhu Yue, Gao Wanrong. High-resolution full-field optical coherence tomography for biological tissue[J]. Chinese J Lasers, 2014, 41(8): 0804002.
- 朱 越, 高万荣. 全场高分辨生物组织光学层析成像[J]. 中国激光, 2014, 41(8): 0804002.
- 14 Zhu Xiaomeng, Gao Wanrong, Zhu Yue. Improved Köhler illumination-based full-field optical coherence tomography system[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(5): 0511002.
- 朱晓萌, 高万荣, 朱 越. 使用改进型科勒照明系统的全场光学相干层析成像系统[J]. 光学学报, 2014, 34(5): 0511002.
- 15 Li C, Zeitler J A, Dong Y, *et al.*. Non-destructive evaluation of polymer coating structures on pharmaceutical pellets using full-field optical coherence tomography[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014, 103(1): 161-166.
- 16 Lalive A, Boccara A C. *In vivo* and *in situ* cellular imaging full-field optical coherence tomography with a rigid endoscopic probe [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(10): 2897-2904.
- 17 Watanabe Y, Hayasaka Y, Sato M, *et al.*. Full-field optical coherence tomography by achromatic phase shifting with a rotating polarizer[J]. Applied Optics, 2005, 44(8): 1387-1392.
- 18 Moreau J, Loriette V, Boccara A C. Full-field birefringence imaging by thermal-light polarization-sensitive optical coherence tomography. II. Instrument and results[J]. Applied Optics, 2003, 42(19): 3811-3818.
- 19 Akiba M, Chan K P, Tanno N. Full-field optical coherence tomography by two-dimensional heterodyne detection with a pair of CCD cameras[J]. Optics Letters, 2003, 28(10): 816-818.
- 20 Dubois A, Vabre L, Boccara A C, *et al.*. High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope[J]. Applied Optics, 2002, 41(4): 805-812.
- 21 Parsa P, Jacques S L, Nishioka N S. Optical properties of rat liver between 350 and 2200 nm[J]. Applied Optics, 1989, 28(12): 2325-2330.
- 22 Moreau J, Loriette V, Boccara A C. Full-field birefringence imaging by thermal-light polarization-sensitive optical coherence tomography. I. Theory[J]. Applied Optics, 2003, 42(19): 3800-3810.
- 23 Dubois A, Grieve K, Moneron G, *et al.*. Ultrahigh-resolution full-field optical coherence tomography[J]. Applied Optics, 2004, 43(14): 2874-2883.
- 24 Tearney G J, Brezinski M E, Southern J F, *et al.*. Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 1995, 20(21): 2258-2260.
- 25 Giger B, Komitowski D, Jauch A, *et al.*. Optical sectioning and 3D-image reconstruction to determine the volume of specific chromosome regions in human interphase cell nuclei[J]. Optik, 1991, 86(4): 113-119.
- 26 Sheppard C J R, Congswell C J. Effects of aberrating layers and tube length on confocal imaging properties[J]. Optik, 1991, 87(1): 34-38.
- 27 Labiau S, David G, Gigan S, *et al.*. Defocus test and defocus correction in full-field optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2009, 34(10): 1576-1578.
- 28 Yang Yaliang. Full-Field Optical Coherence Tomography[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.

- 杨亚良. 全场光学相干层析成像研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- 29 Kino G S, Chim S S C. Mirau correlation microscope[J]. Applied Optics, 1990, 29(26): 3775-3783.
- 30 Wang Rui. Optical Coherence Tomography and Its Application in Embryonic Development[D]. Beijing: Tsinghua University, 2006.
- 王 瑞. 光学相干CT及其在胚胎发育学中的应用[D]. 北京: 清华大学, 2006.
- 31 Lucassen G W, Neerken S, Hendriks R F M, *et al.*. Confocal video imaging of human skin *in vivo*[C]. OSA/BOSD, AOIMP, 2002: MA5-1-MA5-3.
- 32 Wilkening S, Stahl F, Bader A. Comparison of primary human hepatocytes and hepatoma cell line Hepg2 with regard to their biotransformation properties[J]. Drug Metabolism and Disposition, 2003, 31(8): 1035-1042.

栏目编辑: 吴秀娟