

基于线性化动态范围变换的光学投影层析三维成像

王洁琳¹, 廖日威¹, 曾亚光³, 肖 化¹, 唐志列^{1,2}

¹华南师范大学物理与电信工程学院, 广东 广州 510006;

²广东省量子调控工程与材料重点实验室, 广东 广州 510006;

³佛山科技学院电子与信息工程学院, 广东 佛山 528000

摘要 传统的光学投影层析受相机感光元件动态范围及曝光时间的限制,难以对具有复杂空间结构分布的样品获取其完整且精细的三维结构信息。针对传统光学投影层析三维成像系统存在的问题,提出了在传统光学投影层析技术中引入朗伯体光源以及线性化动态范围变换的新方法。使用朗伯体光源照射样品,通过多次曝光分别对样品进行图像采集,获取相机实际响应曲线,线性化处理曲线中非线性响应区域以解决传统多次曝光动态范围变换存在的非线性失真和假象问题,然后应用图像融合技术对多次曝光获取的原始图像数据进行融合,运用反投影算法重构样品三维成像,从而获得具有复杂空间结构样品的精细三维结构信息。理论分析与成像结果表明,这种基于光学投影层析的三维结构成像新方法可以获得复杂空间结构样品更多的信息。

关键词 成像系统; 光学投影层析; 朗伯体光源; 线性化动态范围变换; 三维结构成像

中图分类号 O436.2 **文献标识码** A

doi: 10.3788/AOS201737.0511003

Three-Dimensional Imaging of Optical Projection Tomography Based on Normalized Dynamic Range-Transform

Wang Jielin¹, Liao Riwei¹, Zeng Yaguang³, Xiao Hua¹, Tang Zhilie^{1,2}

¹ School of Physics and Telecommunication Engineering, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China;

² Guangdong Provincial Key Laboratory of Quantum Engineering and Quantum Materials, Guangzhou, Guangdong 510006, China;

³ School of Electronic and Information Engineering, Foshan University, Foshan, Guangdong 528000, China

Abstract The dynamic range and exposure time of the camera are the main limitation for the traditional optical projection tomography to achieve the intact and detailed three-dimensional information of samples with complicated spatial structure. The normalized dynamic range-transform of three-dimensional imaging acquisition and process are used to solve the existing conundrum of traditional three-dimensional imaging based on the optical projection tomography technology, by means of setting the Lambert source and carrying on the new method of normalized dynamic range-transform. Setting multiple exposures to get the image of sample, normalizing the tested response curve of the camera for solving the non-linear distortion and false appearance existing in the traditional high dynamic range, using the image fusion theory to improve the image processing program, then reconstructing the sample by the reverse projection algorithm, and get the three-dimensional structure of the sample finally. From the analysis of imaging result, the normalized dynamic range-transform of three-dimensional imaging acquires more information of samples with complicated spatial structure, more details of different areas are able to be observed through this way.

Key words imaging systems; optical projection tomography; Lambert source; normalized dynamic range-transform; three-dimensional imaging of structure

OCIS codes 110.6880; 080.1235; 100.6890; 350.2660

收稿日期: 2016-11-18; **收到修改稿日期:** 2017-01-03

基金项目: 国家自然科学基金(61575067)、广东省自然科学基金重点项目(S201302002810)

作者简介: 王洁琳(1992—),女,硕士研究生,主要从事光信息处理方面的研究。E-mail: 1017565425@qq.com

导师简介: 唐志列(1963—),男,博士,教授,博士生导师,主要从事光信息处理和激光共聚焦显微镜等方面的研究。

E-mail: tangzhli@sclu.edu.cn(通信联系人)

1 引 言

光学投影层析(OPT)是近年来新兴的三维成像技术之一。2002年,Sharpe等^[1]在 Science 首次报道了该技术,英国 MRC 小组已经实现对于小鸡胚胎基因表达吸收以及荧光 OPT 三维显微成像。OPT 相比于其他三维成像技术具有成本低、速度快以及能够对动物胚胎和一些宏观的组织进行高分辨率的荧光^[2-4]和非荧光三维成像^[5-6]。以往的 OPT 成像过程中,通过记录样品每个角度的投影成像作为三维成像重构的基础,每次投影成像的数据采集需要根据样品的透射特性以及相机的响应特性来设置曝光时间。然而对于具有复杂空间结构特性的物质,传统 OPT 三维成像技术存在很大限制,譬如,对样品中相对透明的区域设置合适的曝光时间,则相对不透明区域不能完全显现;但若加大曝光时间,则相对透明区域会饱和。为了实现 OPT 对具有复杂空间结构物质的更精细且符合人眼感知特点的三维成像,本文提出了一种在传统 OPT 成像基础上引入朗伯体光源以及线性化动态范围变换的新方法,即采用朗伯体光源照射样品提高成像的精度且保证像面在线性化动态范围变换内,在图像采集过程中设置多次曝光时间。虽然采用多次曝光方法扩大成像动态范围是一种熟知方法,但传统的多次曝光高动态范围变换方法存在一个根本性的缺陷,就是对于不同的成像区域需要选择不同的输出函数,为了使某区域的图像最清晰,需要人为(主观)地选择输出函数。而每个区域的输出函数并不是线性的,从而导致在图像融合过程中的非线性失真和假象。为了从根本上解决这个问题,提出了线性化高动态范围变换新方法,即首先测量出 CCD 相机的实际响应曲线,并对相机的实际响应曲线中的非线性响应区域进行归一化处理(即线性化),然后以线性化响应曲线做为基准,以相机的实际响应曲线与线性化响应曲线的偏差来确定该区域的输出函数,然后在 OPT 的滤波反投影(FBP)成像处理过程中将同一场景不同曝光时间的图像数据进行融合,以 Radon 变换将样品三维结构反演输出。该方法不仅获取了物质的完整三维结构信息,而且比传统 OPT 成像更加精细、更贴近人眼对样品的感知程度。

2 基于线性化动态范围变换的 OPT 三维成像原理

2.1 基于 OPT 的三维成像实验系统

基于 OPT 原理的三维成像系统如图 1 所示。将样品倒置于折射率匹配池中并固定于步进电机上,照明光源发出的光经均光板成为照度均匀的扩散光,投射到样品上。在这个过程中,步进电机由计算机控制进行驱动,使得样品旋转。为了满足近似直线投影,均光板的面积远大于样品被照射面积,光源满足朗伯发射面条件。远心镜头系统距样品的距离较远(工作距离为 160 mm),成像的景深通过景深板测量可达到 6 mm 左右^[7-8]。透射光经远心透镜成像到高速相机(Basler acA2040-180 km,德国),由高速 CMOS 工业相机采集图像并传送到计算机。利用数据采集卡(DAQ)输出信号同步控制相机采集与电机转动频率,重建算法采用 FBP 算法重建出各个断层的二维图形,再通过二维图像重构成三维结构成像^[6]。

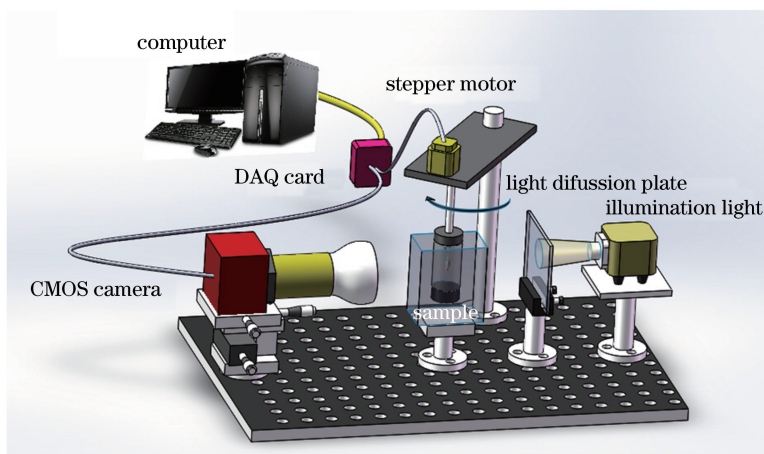


图 1 基于 OPT 的三维成像系统简图

Fig. 1 Three-dimensional imaging system based on OPT

2.2 OPT 精细三维成像原理

OPT 成像结合了计算机断层扫描(CT)成像原理^[9]与显微技术,通过采集样品在各个方向的投影数据,在计算机中进行反投影重建重构出样品的三维结构。OPT 与 CT 的不同之处在于它是经过远心光学系统的近似直线投影,是一种光吸收成像,透过样品出来的透射光包含了吸收特性的光学信息,再通过远心光学系统得到其光学投影图像,再运用 FBP 算法,得到最终的三维显微结构成像。

设均光板面积为 S ,均光板中心垂直方向上的光强为 I_0 ,与垂直方向夹角为 θ 的方向上的光强为 I_θ 、亮度为 L_θ 。光源经过均光板后,成为一个均匀的发光面,也称朗伯发射面(其亮度不随方向角改变,即亮度为一个常数 L),则有:

$$I_\theta = I_0 \cos \theta = LS \cos \theta. \quad (1)$$

当样品被照射面积大小远小于发光面时,角度 θ 的大小可近似为 0,则光线经过样品后的透射光到达相机可看成一个近似直线投影过程,因此可利用 CT 成像原理近似模拟整个成像过程。

基于 CT 的原理与算法^[9],设进入样品的光强为 I ,出射的光强为 I' ,样品的吸收系数为 μ ,射线在样品中经过的路径为 l ,则有:

$$\ln(I'/I) = \int_0^L \mu dl. \quad (2)$$

在满足近似直线投影情况下,样品通过光学成像系统的光强类似于 CT 中的 X 射线直接穿透物体,CMOS 单元接收的是样品光学吸收系数的投影量。选取任意两个剖层面,其中剖层面与电机转轴垂直,因此电机转轴垂直于相机像素行,样品的每层投影对应于相机上的某行像素。

定义空间坐标 (x, y, z) ,获取单角度投影成像时,设沿光传播方向为 z 方向,进入样品前的光强分布为 $I_{(x,y)}$,穿透样品后进入相机的光强分布为 $I'_{(x,y)}$, θ 为转动的角度, l' 为投影路径,单角度照射样品的投影面分布函数 $F_{(x,y,\theta)}$ 可表示为^[9]

$$F_{(x,y,\theta)} = \int_0^{l'} \mu(x,y,\theta) dl' = \ln[I'_{(x,y)}/I_{(x,y)}]. \quad (3)$$

设样品一个剖层面 (x, z) 的反投影函数值为 $K_{(x,z)}$;各个角度相应投影卷积函数为 $c(u, v)$,其中 u 为 x 方向变化量, v 为 z 方向变化量,可得其分布为^[9]

$$K_{(x,z)} = \int_0^{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F_{(u,v)} * c(x-u, z-v) du dv d\theta. \quad (4)$$

在得到各个剖层不同旋转角度投影量后,经计算机 FBP 算法重建后可得到各个层析图像,进一步可获取样品三维光吸收结构^[9]。FBP 算法可表示为^[10]:

设三维反投影空间函数分布为 $\phi_{(x,y,z)}$, Y 为图像投影面高度,得到了样品的三维反投影空间函数分布即可获取样品的三维结构重组图像:

$$\phi_{(x,y,z)} = \int_0^Y K_{(x,z)} dy. \quad (5)$$

理论上只要对 $0 \sim \pi$ 的角度进行投影即可。实验中投影角度变化是通过控制步进电机来实现的^[11-12],为防止电机转动过程中偏离轴心,在实际实验中需要旋转 $0 \sim 2\pi$ 的角度,如图 2 所示。

2.3 图像采集

图 3(a)~(c)展示了同一场景下不同曝光设置后图像不同透射率区域的信息^[13]。图 3(a)通过低曝光得到了红肚玻璃鱼高透射率区域的信息,较好地保留了鱼的表层以及相对透明部分的信息,低透射率部分的信息会丢失,因此鱼的内部结构相对模糊;图 3(b)为中度曝光图像,也就是正常数码相机能够达到的较好的效果,图中较均衡的保留了各区的的信息,但是高透射率部分呈现过饱和的状态,鱼鳍以及一些表皮已观察不到,而低透射率部分也就是昏暗部分细节相对清晰;图 3(c)为过曝光图像,随着曝光时间的增加,得到了大量低亮度范围区域的细节,可以大致观察到鱼体内脏的具体结构,其中还能看到一个气泡的存在。不同曝光时间设置只能获取样品不同透射率区域的信息,这也是目前传统 OPT 技术对复杂空间结构物体进行完整三维成像极大的阻碍。

根据线性化动态范围变换原理,其前提条件是获取同一场景多次曝光采集的图片,在保证样品麻醉处理

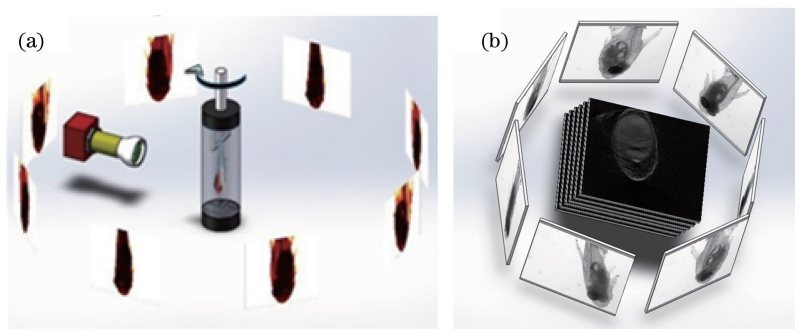


图 2 OPT 三维成像原理。(a)不同角度采集示意图;(b)反投影层析成像示意图

Fig. 2 Three-dimensional imaging principle of OPT. (a) Acquisition schematic of each angle;
(b) schematic of reverse projection tomography imaging

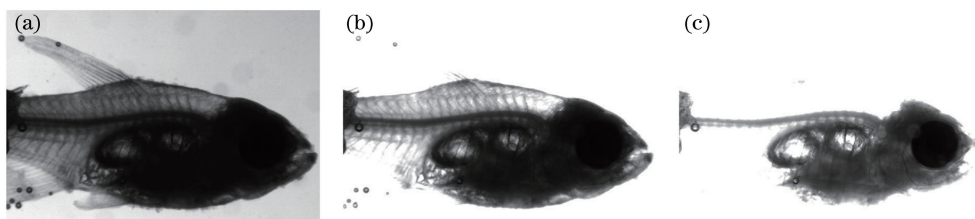


图 3 同一场景不同曝光处理的图像。(a)低曝光图像;(b)适度曝光图像;(c)过曝光图像

Fig. 3 Pictures of different exposure time in the same scene. (a) Under-exposing image;
(b) moderate-exposing image; (c) over-exposing image

制备完整(这里使用 MS-222 鱼用专用安定剂对样品进行麻醉处理,水温控制在 $10\sim 27\text{ }^{\circ}\text{C}$,一般 300 mL 的水中加入一滴即可)以及实验平台设备稳定性的基础上,如图 4 所示,需要 CMOS 相机同一场景定点拍摄并捕捉多组不同曝光量的图像,且曝光量需严格量化而非单纯低曝光或者过曝光控制。采用 LabVIEW 编程控制相机曝光时间,并且在同一场景多次改变曝光时间($0.3\sim 1.9\text{ ms}$,取 8 次不同曝光时间)并捕捉图像,这样便可得到红肚玻璃鱼的全方位 360° (每 1.8° 取一组,共 200 组 1600 张图片)的二维数据。

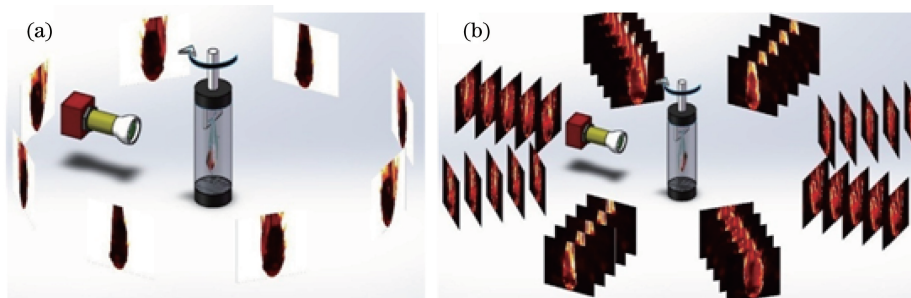


图 4 全方位多次曝光处理示意图。(a)全方位采集样品各个方向的图片;(b)每个角度多次曝光采集示意图
Fig. 4 Schematic of omni-directional multiple exposures. (a) Picture of omni-directionality from the sample;
(b) schematic of acquisition with multiple exposures each angle

选择 0.3 ms 作为最短曝光时间以实现样品高透射率区域的可视化,选择 1.9 ms 作为最终曝光时间来
实现样品低透射率区域的可视化,在 $0.3\sim 1.9\text{ ms}$ 之间等间隔选取 6 次曝光时间,共取 8 次不同曝光时间值
的投影成像,每个曝光值取 200 个角度进行成像,总时间设置为 1600 s ,采集的数据以灰度图形式保存。

2.4 图像线性化处理与动态范围变换

在传统的 OPT 中,由于无法恰当选取相机线性响应特性较好的曝光时间,常常存在低曝光与过曝光的
情况,因而较难获得精确的成像结果。而在最新的 OPT 图像处理过程中也往往忽略相机实际响应曲线,一
般都是手动选择曝光时间以达到避免相机的非线性响应区域目的^[14],无法保证相机处于线性响应的状态也
无法准确地消除其影响。在特征曲线上取等间隔的多次曝光时间,得到不同 Z 值的多张图像,在获取相机

的响应状态的前提下(图 5)将非线性响应区域归一化处理。图 5 中蓝色曲线为实测 Basler acA2040-180 km 相机 0.3~1.9 ms 曝光时间的响应状态曲线,排除实验干扰,分析可得除前两次曝光时间以外的其他曝光时间响应大致处于线性响应的状态,将分析所得明显处于非线性响应的区域以线性区域为基准进行修正,图 5 中红色虚线为非线性区域修改后的响应状态。

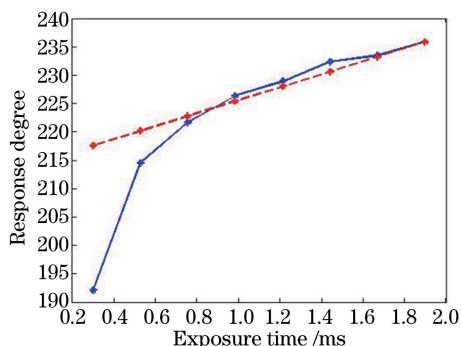


图 5 实测不同曝光时间的响应状态曲线图

Fig. 5 Test response curves with different exposure time

在以上传统动态范围图像处理^[15]过程中,最终得到的结果实际上是由不同区域存在的不同曝光量的图像拼接而成,较之单次曝光图像能保留更丰富的信息,却也存在着成像结果明显失真、成像质量降低的问题。因此,通过多次曝光得到样品不同区域细节信息图像后,采用归一化算法对不同区域曝光时间进行修正,在克服了相机非线性响应的基础上,使得输出图像上每个像素点的曝光时间一致,降低了图像的失真程度,使成像结果更加符合人眼识别特点。

3 实验结果与分析

为了得到较好的效果,需要先对原始二维图像进行预处理:

1) 图像配准。通过配准可以调整图像序列,纠正实验系统中样品轴心的偏移造成失真的成像结果(图 6)。

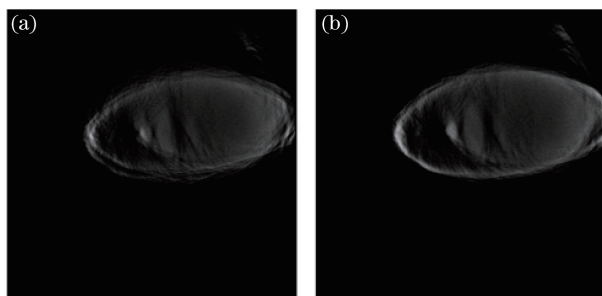


图 6 图像配准前后对比。(a)配准前图像;(b)配准后图像

Fig. 6 Contrast before and after image registration. (a) Before image registration; (b) after image registration

2) 消除尾迹。通过调整阈值消除样品周围的幻影,找到比较适合的阈值范围进行成像(图 7)。

经过响应曲线实测、非线性响应部分线性化处理之后,对不同曝光时间图像进行动态范围变换处理,通过图 8 对比观察得到,传统不同曝光时间的 OPT 可实现的三维成像受到极大地限制,而经过线性化范围变换成像处理的三维成像相对较完整地保存样品大部分的信息,有利于进一步地观察与研究,如图 8(b)所示。通过曝光时间线性化处理之后,将动态范围变换图像进行修正,使得图像中每一像素点曝光时间一致。通过观察对比可得,本文实验处理方法在解决非线性失真和假象问题的基础上获得了样品更多的信息。

再经过以上图像配准与消除尾迹的预处理步骤之后,反投影重建出样品三维结构。最终将三维成像数据导入 Amira,得到样品的精细三维结构成像。图 9 为传统 OPT 与线性化动态范围变换 OPT 的三维成像对比图,分析可得,图 9(b)经过线性化动态范围变换的三维结构成像结果比图 9(a)中传统 OPT 三维结构成像能得到样品更加丰富且更加精细的结构信息,如样品表皮的结构信息基本都保留下来,内脏部分的结构信

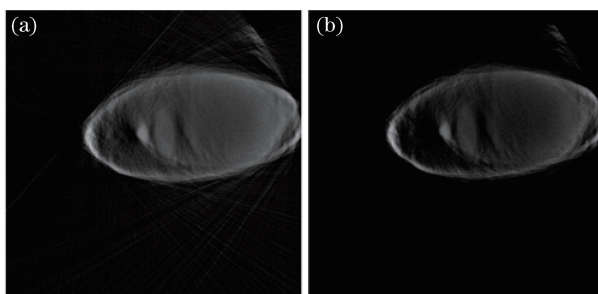


图 7 阈值调整前后对比。(a)阈值范围[0 4];(b)阈值范围[0.5 4]

Fig. 7 Contrast before and after threshold-adjustment. (a) Range of threshold [0 4]; (b)range of threshold [0.5 4]

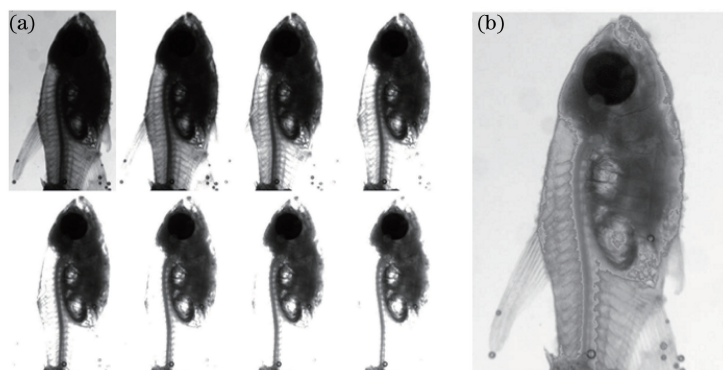


图 8 线性化动态范围变换 OPT 成像过程图。(a)传统 OPT 图像(0.3~1.9 ms);
(b)线性化动态范围变换 OPT 图像

Fig. 8 Imaging process of normalized dynamic range-transform OPT. (a) Traditional OPT images (0.3-1.9 ms);
(b) normalized dynamic range-transform processing OPT images

息也更为细致,同时也更加符合人眼识别特点。如图 10 所示,取自定义空间坐标 XYZ 某一切面图为例,图 10(a)为 YZ 平面第 166 个切面图,从图中可观察到红肚玻璃鱼鱼体的脊椎结构;图 10(b)为 XZ 平面第 166 个切面图,从图中可观察鱼体的脊椎与内脏部位分布;图 10(c)为 XY 平面第 300 个切面图,图中包含了鱼体脊椎与内脏部位的截面信息。

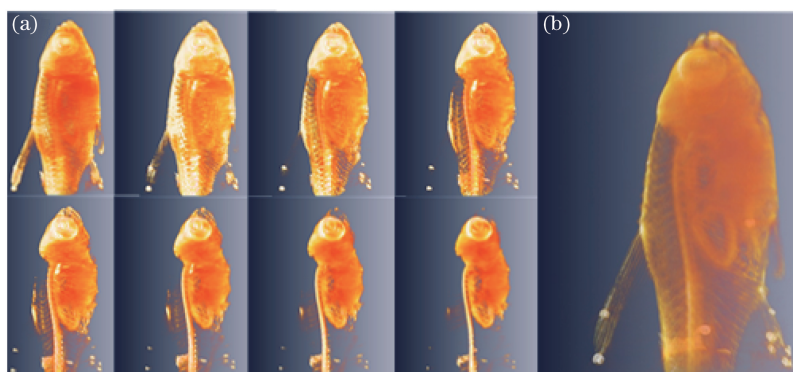


图 9 三维成像对比图。(a)传统 OPT 图像(0.3~1.9 ms);(b)线性化动态范围变换 OPT 图像
Fig. 9 Three-dimensional imaging contrast. (a) Traditional OPT images (0.3-1.9 ms);
(b) normalized dynamic range-transform processing OPT images

4 结 论

采用红肚玻璃鱼样品对结合朗伯体光源以及线性化动态范围变换的 OPT 方法进行修正,通过实测获取曝光时间区域响应曲线,将非线性响应区域进行线性化处理,使输出图像还原相机线性响应状态且更加符

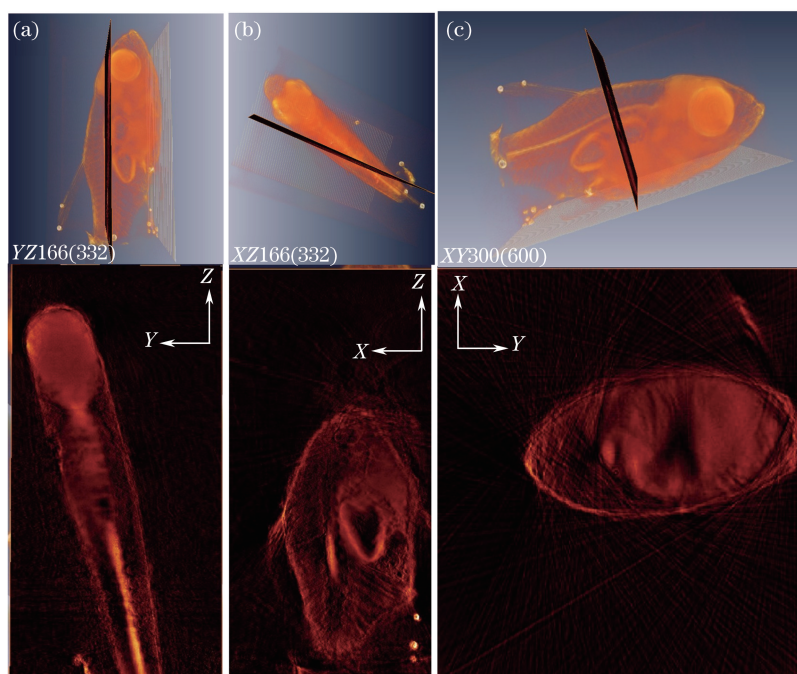


图 10 归一化动态范围变换 OPT 不同视角三维成像。(a) YZ 视图第 166 个切片截面图(共 332 个切片);
(b) XZ 视图第 166 个切片截面图(共 332 个切片);(c) XY 视图第 300 个切片截面图(共 600 个切片)

Fig. 10 Three-dimensional imaging of normalized dynamic range-transform OPT from different views.

(a) The 166th slice section from YZ view (332 slices totally); (b) the 166th slice section from XZ view (332 slices totally);
(c) the 300th slice section from XY view (600 slices totally)

合人眼识别特点。经过对比,得到的三维成像结果比传统 OPT 三维成像结果获得了样品更加丰富的信息,不仅能够将样品表层以及内部结构分布信息都较完整地保存下来,且降低成像的失真程度,实现了对于具有复杂空间结构样品的精细三维结构成像。在现有条件下,图像采集处理时间过长限制了对样品的活体实时动态观测的可能性,对程序、算法、设备的优化是关键。实验只涉及对生物的结构成像,引入或结合其他成像技术如激光散斑效应有望实现对生物体的功能三维成像优化。

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Schafer D, Gibson E A, Amir W, *et al.* Three-dimensional chemical concentration maps in a microfluidic device using two-photon absorption fluorescence imaging[J]. *Optics letters*, 2007, 32(17): 2568-2570.
- [3] Mc Ginty J, Taylor H B, Chen L, *et al.* *In vivo* fluorescence lifetime optical projection tomography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2011, 2(5):1340-1350.
- [4] Wang Mao, Li Chunyan, Sun Yunfei, *et al.* Research of near-infrared small living animal fluorescence imaging system [J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(6): 0617003.
王 懋, 李春炎, 孙云飞, 等. 近红外小动物活体荧光成像系统的研制[J]. *光学学报*, 2013, 33(6): 0617003.
- [5] Bassi A, Fieramonti L, D'Andrea C, *et al.* *In vivo* label-free three-dimensional imaging of zebrafish vasculature with optical projection tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(10): 100502.
- [6] Ye Linlin, Xue Yanling, Tan Hai, *et al.* X-ray phase contrast micro-tomography and its application in quantitative 3D imaging study of wild ginseng characteristic microstructures[J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(12): 1234002.
叶琳琳, 薛艳玲, 谭 海, 等. X 射线相衬显微层析及其在野山参特征结构的定量三维成像研究 [J]. *光学学报*, 2013, 33(12): 1234002.
- [7] Serov A, Lasser T. High-speed laser Doppler perfusion imaging using an integrating CMOS image sensor[J]. *Optics Express*, 2005, 13(17): 6416-6428.
- [8] Serov A, Steinacher B, Lasser T. Full-field laser Doppler perfusion imaging and monitoring with an intelligent CMOS

- camera[J]. *Optics Express*, 2005, 13(10): 3681-3689.
- [9] Zhuang Tiange. CT principles and algorithms[M]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University Press, 1992.
庄天戈. CT原理与算法 [M]. 上海: 上海交通大学出版社, 1992.
- [10] Kak A C, Slaney M. Principles of computerized tomographic imaging[M]. New York: IEEE Press, 2001.
- [11] Wang Y, Wang R K. High-resolution computed tomography of refractive index distribution by transillumination low-coherence interferometry[J]. *Optics Letters*, 2010, 35(1): 91-93.
- [12] Chen L, McGinty J, Taylor H B, *et al.* Incorporation of an experimentally determined MTF for spatial frequency filtering and deconvolution during optical projection tomography reconstruction[J]. *Optics Express*, 2012, 20(7): 7323-7337.
- [13] Jacobs K, Loscos C, Ward G. Automatic high-dynamic range image generation for dynamic scenes[J]. *IEEE Computer Graphics and Applications*, 2008, 28(2): 84-93.
- [14] Fei P, Yu Z, Wang X, *et al.* High dynamic range optical projection tomography (HDR-OPT)[J]. *Optics Express*, 2012, 20(8): 8824-8836.
- [15] Zhu Xiuming. Research on construction and visualization of high dynamic range image[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
朱秀明. 高动态范围图像的合成及可视化研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.