

制造辅助的光学相干层析成像方法研究

王玲^{1,2}, 郝健¹, 王中昆², 徐铭恩^{1,2*}

¹杭州电子科技大学自动化学院, 浙江 杭州 310018;

²浙江省医学信息与生物三维打印重点实验室, 浙江 杭州 310018

摘要 提出一种制造辅助的光学相干层析成像(M-OCT)方法来实现高分辨、无损、全纵深、大体积成像。该方法融合离散制造原理和显微层析成像方法,在离散制造过程中通过 OCT 获取高分辨率图像,离散制造和 OCT 扫描同步或交替进行,结合图像拼接算法,在完成制造的同时获取制造样品的三维全纵深图像。利用三维(3D)打印技术构建高分子支架并进行 M-OCT 验证,成像结果与微计算机断层扫描技术(Micro-CT)结果一致,而 M-OCT 相比 Micro-CT 可以更清晰地分辨出相邻层材料堆积融合状态及制造缺陷。基于 M-OCT 的高分辨率成像结果,量化了整个支架的打印层厚、不同区域的孔径、丝径。大体积、高分辨 OCT 为 3D 打印、细胞组装、生物制造、自动切片等离散制造过程的监控及无损检测提供了一种新方法。

关键词 成像系统; 光学相干层析成像; 大体积全纵深成像; 离散制造; 高分辨

中图分类号 TN247

文献标志码 A

doi: 10.3788/AOS202040.1111003

Study on Manufacturing-Aid Optical Coherence Tomography

Wang Ling^{1,2}, Hao Jian¹, Wang Zhongkun², Xu Ming'en^{1,2*}

¹School of Automation, Hangzhou Dianzi University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China;

²Zhejiang Key Laboratory of Medical Information and Three-Dimensional Bioprinting, Hangzhou, Zhejiang 310018, China

Abstract A manufacturing-aid optical coherence tomography (M-OCT) method is proposed to achieve imaging with high-resolution, non-destructivity, full-depth, and large-volume. This method combines the discrete manufacturing principle and microtomography. High-resolution images are obtained by OCT in the discrete manufacturing process. OCT scan and discrete manufacturing are conducted simultaneously or alternately, which combines the image mosaic algorithm, the full-depth three-dimensional (3D) image of the manufacturing samples is obtained at the same time as the manufacturing is completed. Polymer scaffolds are constructed using the 3D printing technology for M-OCT verification, and the imaging results are consistent with those of microcomputed tomography (Micro-CT). Moreover, when compared with Micro-CT, M-OCT can more clearly distinguish the stack-fusion state of adjacent layers of materials and the manufacturing defects. The thickness of the printing layer, the pore diameters and the strut diameters of different regions are quantified using the high-resolution imaging results of M-OCT. The large-volume and high-resolution OCT provides a new method for monitoring the discrete manufacturing processes such as 3D printing, cell assembly, biological manufacturing, and automatic biopsy and the non-destructive tests.

Key words imaging systems; optical coherence tomography; large-volume full-depth imaging; discrete manufacturing; high resolution

OCIS codes 110.4500; 110.6880; 110.2960

1 引 言

光学相干层析成像(OCT)^[1-2]因具有无损、非接触、高分辨率纵深成像的优势,在无损检测、临床医学、材料学、组织工程等领域具有广泛的应用^[3-7]。

但由于近红外光线的穿透能力弱,现有的 OCT 技术在大部分应用场合下的有效成像深度仍然有限(1~3 mm),并且成像范围有限,在很多应用场合中不能获得样本的全局结构功能信息,不能准确分析样本。其他的三维成像技术,如显微计算机断层扫

收稿日期: 2019-12-30; 修回日期: 2020-03-02; 录用日期: 2020-03-10

基金项目: 国家自然科学基金(61675059,31927801)、国家重点研发计划(2017YFC1103400)

* E-mail: xumingen@hdu.edu.cn.com

描(Micro-CT)^[8-9]、核磁共振成像(MRI)^[10-11]、三维超声成像^[12]等,也存在分辨率和成像体积不能兼顾的难题,且难以获得 20 μm 以内的高分辨率。在确保 OCT 高分辨率(1~15 μm)前提下扩展成像深度和成像范围,实现大体积、无损成像将具有重要的科学意义与应用价值。

为增大 OCT 的成像体积,研究者采用了光透明技术^[13]、数字去卷积方法^[14]等来扩展 OCT 的成像深度,但这类方法可以扩展的成像深度仍然有限,且效果取决于样品的透明性,但光透明技术可能会给样品带来损伤。也有研究者结合运动平台和图像拼接技术扩大 OCT 范围,实现全自动广域成像^[15]。根据运动平台的精度和控制方法,不同的研究团队采用了不同的图像拼接算法,如直接拼接^[16]、基于特征算法的配准^[17]、基于血管相似性的图像自动拼接^[18]、神经网络拼接^[19]等。这类方法操作简单、灵活,且可以很好地保持 OCT 的轴向分辨率和横向分辨率,缺点是没有实现成像深度的扩展,较少考虑深度方向图像拼接存在的光衰减灰度差异,此外也很少涉及横向周期性特征可能引起的图像拼接错误。也有团队通过在同一套系统中手动切换长焦距物镜和高倍物镜来实现多尺度横向范围成像^[20],但该方法分辨率在宽视场成像模式下是有限的。近来,Wang 等^[21]使用可调谐的垂直腔面激光器和硅光子集成电路(PIC)系统实现了立方米大体积成像;Song 等^[22]将结合广角镜头的全半导体可编程扫描光源用于数百立方厘米大体积成像。这类方法将超窄瞬时线宽扫描激光器与全域傅里叶域变换技术结合,实现了超长的纵向成像范围,利用广角镜头或长焦镜头实现了大范围横向成像,但实际的纵向穿透深度仍然受限于所成对象的穿透深度(mm 量级);另一方面,在硬件上很难实现对样品的横向平场扫描,在图像的后处理中也需要对图像进行场曲校正,且横向分辨率受到限制。现阶段,实现真正的高分辨、大体积、全纵深 OCT 仍然具有挑战。

为解决 OCT 分辨率和成像体积、成像深度无法兼备的难题,本研究提出了一种制造辅助的 OCT (M-OCT)方法。该方法结合离散制造原理和 OCT 微断层成像方法,通过纵深分段扫描和纵向自动拼接算法实现全纵深成像,再结合横向范围扩展和横向拼接算法,在确保高分辨率的前提下扩展了成像体积。离散制造是一种在工业生产中普遍采用的工艺方法。基于离散堆积快速成型的 3D 打印技术近年来得到快速发展,包括选择性激光烧结(SLS)技

术、立体光固化(SLA)技术、选择性激光熔化(SLM)技术、直接金属激光烧结(DMLS)技术、数字光处理(DLP)技术、电子束熔炼(EBM)技术、熔融沉积成型(FDM)技术、分层实体制造(LOM)技术、三维打印粘接成型(3DP)技术、多头喷射(PloyJet)技术等^[23],在航空航天、汽车、文化创意、医疗器械、组织工程、制药等领域获得广泛应用^[24-26]。本文将 3D 打印技术与 OCT 结合,实现大体积样本的个性化快速制造和高分辨、全体积成像。在 M-OCT 方法中,为实现高分辨图像的准确重建,在硬件控制上需要注意两个系统的时序协调性和空间定位的准确性,在后期图像处理上需要解决周期性图像拼接错位和深度图像拼接的灰度融合难题。

2 制造辅助的 OCT 系统与方法

2.1 M-OCT 系统

M-OCT 系统由基于熔融沉积原理的三维打印机(Regenovo Bio-Architect[®]-WS,杭州捷诺飞生物科技有限公司)和自主研发的谱域 OCT 系统构建^[27]。OCT 系统采用宽带光源,中心波长为 1310 nm,带宽为 245 nm;自制光谱仪的带宽为 126 nm,在空气中实际测量的系统轴向和横向分辨率分别为 4.6 μm 和 13 μm ,空气中成像深度达 3.5 mm,最大横向扫描区域为 10.0 mm \times 10.0 mm,A-scan 频率为 48 kHz。OCT 系统的样本检测探头包含机器视觉成像模块和二维高速振镜扫描模块,前者用于观测 OCT 横向扫描范围,后者用于 OCT 高分辨率横向图像采集,局域 OCT 的横向扫描区域为 7.5 mm \times 7.5 mm,采集像素数设置为 500 pixel \times 500 pixel。OCT 系统的样本检测探头挂载在喷头挂载臂上,配合喷头挂载臂沿 X/Y/Z 轴运动,完成横向扫描和纵向深度扫描。打印机的三轴运动定位精度为 1 μm ,可以满足不同区域横向扫描和纵向深度扫描的移动精度需求。打印机自带的三维定位模块,可以结合 OCT 的机器视觉成像模块,在打印和 OCT 扫描前完成样品制造和成像的位置映射测量,以确保打印和 OCT 系统的空间定位准确性。基于 Labview 自主开发的时序控制模块可定义打印和 OCT 扫描的时序,以确保打印和扫描成像效率最优化。

2.2 M-OCT 图像采集

不同的材料存在散射差异,穿透深度也不尽相同,为了避免单层打印误差累加的缺陷,在打印开始前需依据材料的 OCT 有效成像深度 D 和单层打印

层厚 S_s 确定纵向分段扫描的间隔打印层数 S_1 , 具体表达式为

$$S_1 = [D/S_s], \quad (1)$$

式中: D 取决于 OCT 系统的成像深度和所用材料的有效穿透深度, 一般选择材料实际穿透深度的 50%~70%^[28]; S_s 与三维打印机出丝直径呈线性关系, 一般根据材料的形变特性, 取经验值 0.6~1.5; $[\cdot]$ 表示取整函数。 D 可能包含多层结构信息, $S_1 > 1$ 时既保证了多层结构信息又可减少 OCT 图像采集时间。

图 1 为具体的图像采集流程图, 其中 $S_1 = 2$ 。依据所设计支架模型设置相应的打印参数, 在三维打印机确定纵向分段扫描的间隔打印层数后, OCT 样本检测探头中的二维高速振镜扫描模块进行实时横向扫描检测; 若支架尺寸超出设定的横向扫描范围, 则配合三维打印设备喷头臂 X/Y 向的运动, 采取棋盘式检测方式进行扫描, 即先检测模型的某一

区域, 再令喷头臂移动到其相邻的另一区域进行检测, 从左至右、从上至下依次实现横向面积扫描和纵向深度扫描, 此时即完成了一次纵深分段扫描检测。若不再需要打印, 则完成最后一段的 OCT 检测后结束检测; 若打印未完成, 在打印至下一个相同厚度时再次进行纵深分段扫描检测, 打印和扫描检测在整个过程中交替进行, 直至打印结束。

在 M-OCT 图像采集过程中, OCT 模块直接将检测信息传输至图像拼接模块。该模块通过横向和纵向拼接算法对两次相邻的 OCT 结果进行图像配准和拼接, 经过多次 OCT 扫描图像的横向拼接和纵向叠加, 最终完成整个 3D 打印模型的高分辨、全体积成像和显示。需要注意的是, 为了确保相邻纵向分段扫描的横向扫描范围一一对应, 每次扫描时 OCT 样本检测探头的 X/Y 坐标应保持一致; 另外 OCT 模块在检测时, 三维打印机的打印平台会随着打印厚度的增加而降低, 而下降的距离等于预设的打印层厚。

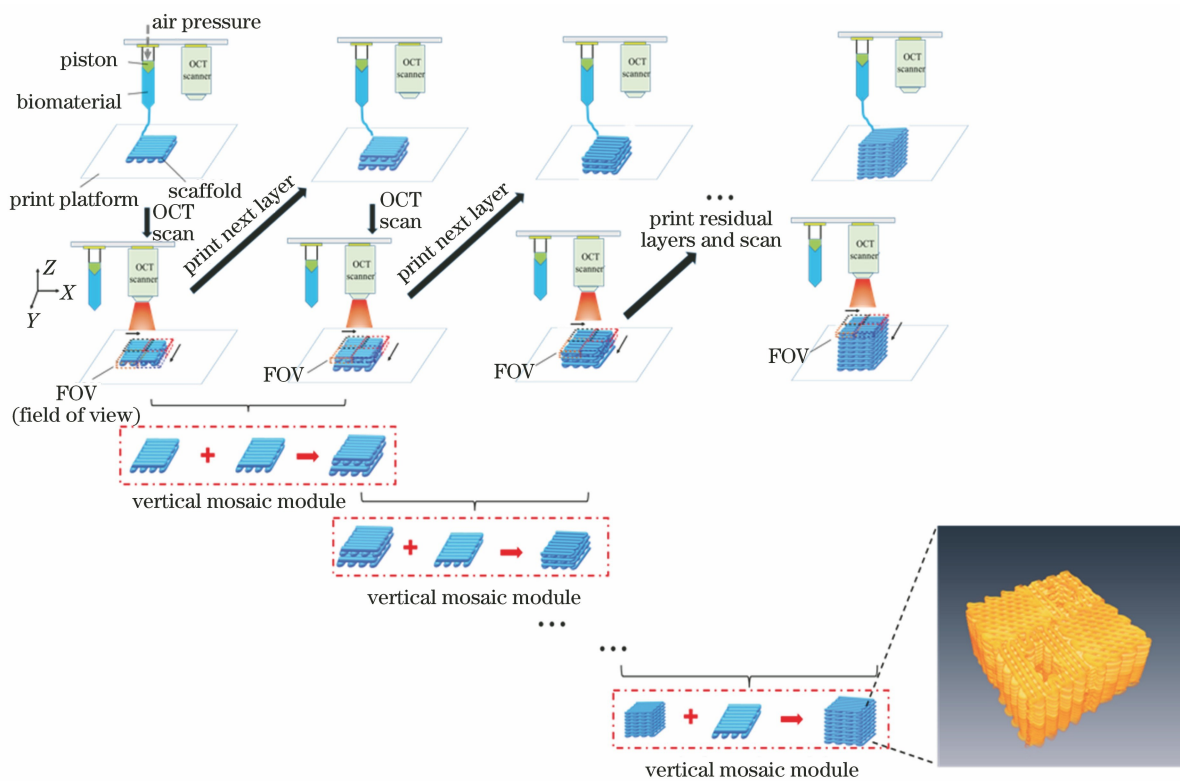


图 1 M-OCT 的图像采集流程图

Fig. 1 Flow chart of image acquisition in M-OCT

2.3 M-OCT 图像拼接与重建

将三维打印机三轴移动模块和棋盘式检测方法结合, 以获取样本多个不同区域的 XZ 横断图像集 $I(x, y, z)$ 。当前多个相邻横断图像集在 X 方向以及 Y 方向上存有 0.5 mm 重叠区域, 对图像先沿 X 方向

再沿 Y 方向进行拼接组合, 在当前打印厚度下实现了对样本的大面积成像, 如图 2(a)、(b) 所示。假设共采集 N 个体图像集, 其中包含 X 方向 N_1 个和 Y 方向 N_2 个, 并且满足 $N = N_1 \times N_2$ 。在喷头挂载臂上安装 OCT 样品检测探头时, 可能出现准直安装误差, 致

使重叠区域无法精确配准,很难使用直接拼接算法。此外,3D打印中相似的周期结构较多,在进行 OCT 图像横向拼接时,通过确定相邻拼接区的实际位移偏

差 x_n 和 $y_{n'}$ 来完成横向拼接。在 X 方向,根据打印结果特征,利用滑动窗口思想和归一化交叉互相关 (NCC)相似性度量算子来计算实际位移偏差 x_n :

$$x_n = \operatorname{argmax}_{0 \leq t < w - w_0} \frac{\sum [A_n(x, z) - \bar{A}_n] \times [A_{n-1}(t+x, z) - \bar{A}_{n-1}]}{\sqrt{\sum [A_n(x, z) - \bar{A}_n]^2 \times [A_{n-1}(t+x, z) - \bar{A}_{n-1}]^2}}, \quad (2)$$

式中: $1 \leq n < N_1$, 且 $n=0$ 时 $x_0=0$; $A_n(x, z)$ 表示第 n 个体图像集 I 中重叠区域在 (x, z) 位置处的图像灰度值; $A_{n-1}(t+x, z)$ 表示随 t 值滑动的第 $n-1$ 个体图像集中重叠区域在 $(t+x, z)$ 位置处的图像灰度值; \bar{A}_n 和 \bar{A}_{n-1} 表示相应体图像集中重叠区域的图像灰度均值; w 表示单个体图像集中图像的像素宽度; w_0 表示单个体图像集中重叠区域的图像像素宽度。

图 2(a)显示了 X 方向横断图像集的组合过程,则在 X 方向的拼接组合中每个体图像集可重新定义为

$$I_n(x, y, z) = I_n(x_n + w, y, z), \quad (3)$$

式中: $0 \leq y < m_1, 0 \leq z < h, x_0=0$; m_1, h 分别表示

单个体图像集沿 Y, Z 方向的像素个数。

沿 X 方向的相邻横断图像集的组合延伸了 XZ 横断图像的成像宽度,而沿 Y 方向的相邻横断图像集的组合扩展了成像序列数。假设沿 X 方向进行组合后存在 N_2 个新横断图像集,如图 2(b)所示,由于安装误差,重叠区域内横断序列图像无法一一对应,进而导致序列图像不连续,因此为获取连续的序列图像,需要求解 Y 方向相邻图像集间的位移偏差 $y_{n'}$ 。 Y 方向相邻横断图像集中的重叠区域及相似性度量准则是一个重要的突破口,图 2(b)中相邻体图像集中重叠区域序列图像记为 $H_{n'-1}(x, y, z)$ 和 $H_{n'}(x, y, z)$,则位移偏差 $y_{n'}$ 表示为

$$y_{n'} = \frac{2 \sum_{s=M/4}^{3M/4} \left| \operatorname{argmin}_{0 \leq p \leq M} \left[\sum_{x=1}^W \sum_{z=1}^V |H_{n'}(x, s, z) - H_{n'-1}(x, p, z)|^2 \right] - s \right|}{M}, \quad (4)$$

式中: $1 \leq n' < N_2$, 且 $n'=0$ 时 $y_0=0$; M 表示单个体图像集沿 Y 方向的像素数; W, V 分别表示经 X 方向组合后沿 X, Z 方向的总像素数; s 和 p 分别表示 $H_{n'}$ 和 $H_{n'-1}$ 体图像集中对应的位置索引。从(4)式可以看出,使用误差平方和算法作为图像间相似性判断准则,误差平方和值越小说明图像间越相似,通过该方法可确定多幅图像间的对应关系。为减小误差,应尽可能保证图像连续性,利用其平均值即 $y_{n'}$ 作为位移偏差的结果。则 Y 方向相邻横断图像集进行组合后可表示为

$$H_{\text{out}}(x, y, z) = \left\{ \bigcup_{n'=0}^{N_2-2} H_{n'}(x, y_{n'+1}, z) \right\} \cup H_{N_2-1}(x, y, z), \quad (5)$$

当 $N_2=1$ 时 $H_{\text{out}}(x, y, z) = H_0(x, y, z)$ 。

经过 X 方向和 Y 方向的组合后即可在当前打印厚度下实现大面积成像,而对于在不同打印厚度处的 OCT 图像集,均可采用相同的方法实现大面积成像,同时这也为整体样品成像提供了数据来源。图 2(c)为纵向(Z 方向)融合流程图。结合 2.2 节可知,为了保证每次深度扫描对应的 OCT 纵向的像

素数有效,确保每次纵向分段 OCT 扫描时聚焦一致且轴向光程差一致,并在此前提下确定每个纵向分段扫描的 Z 向有效像素数 P_z ,可利用先验知识求解,即

$$P_z = \frac{n_z \times L_k}{R}, \quad (6)$$

式中: n_z 表示光在当前 z 层材料中的折射率; L_k 表示第 k 次纵向分段扫描检测时打印平台下降的距离,可根据打印材料的形变特性进行适时调整; R 表示纵向分段扫描检测时对应深度方向的图像像素分辨率大小。

由于 OCT 穿透深度有限且穿透样品时光会衰减,因此 OCT 横断面图像的灰度值随着深度的增加而减小。为尽可能真实显示打印定制支架的纵向结构特征,使完成 X 和 Y 方向图像拼接后的相邻纵向序列图像在邻近深度区域的灰度尽可能一致,可通过求解邻近深度区域的灰度最大值并归一化相邻纵向序列图像灰度以解决纵向拼接时的灰度融合难题。在完成横向拼接后,假设纵向分段 OCT 扫描自下而上有 m 个大面积成像图像序列集 $H_{\text{out}}^{(m)}(x,$

y, z), 则样品整体深度的大体积成像结果可表示为

$$V_{\text{out}}^{(m)}(x, y, z) = \max\{V_{\text{out}}^{(m-1)}(x, y, z), H_{\text{out}}^{(m)}(x, y, z)\}, \quad (7)$$

式中: $m \geq 1$ 且 $V_{\text{out}}^{(1)}(x, y, z) = H_{\text{out}}^{(1)}(x, y, z)$; $\max\{V(x, y, z), H(x, y, z)\}$ 表示对体图像集 V 和 H 中的图像灰度取最大值。

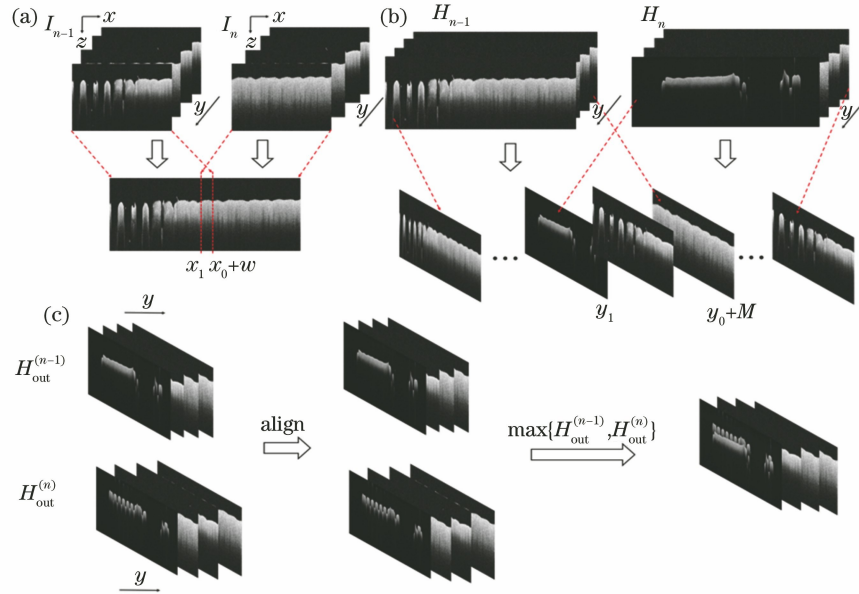


图 2 M-OCT 后处理流程图。(a) X 和(b) Y 方向的拼接组合流程图;(c)纵向叠加融合流程图

Fig. 2 Flowchart of M-OCT post-process. (a)(b) Flowchart of mosaic combination in X and Y directions; (c) flow chart of vertical stack-fusion

3 实验结果

3.1 M-OCT 与 Micro-CT 的比较

为了验证所提方法的可行性和准确性,使用相对分子质量为 6×10^4 和 8×10^4 的高分子材料聚己内酯(PCL)作为生物墨水,用 M-OCT 系统中的多喷头生物 3D 打印机来构建支架,支架的设计模型及打印路径如图 3 所示,在完成打印的同时利用 M-OCT 系

统实现打印支架的高分辨率全局成像。首先使用相对分子质量为 8×10^4 的 PCL 作为生物墨水打印 16 层,再切换打印喷头使用相对分子质量为 6×10^4 的 PCL 作为生物墨水打印 14 层,共计 30 层。每层有正方形和平行四边形孔形,设计模型大小为 $20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm} \times 9 \text{ mm}$,打印喷头内径为 0.5 mm ,每层层厚设置为 0.30 mm 。打印完成后,实测打印支架的大小为 $20.45 \text{ mm} \times 20.38 \text{ mm} \times 9.35 \text{ mm}$ 。

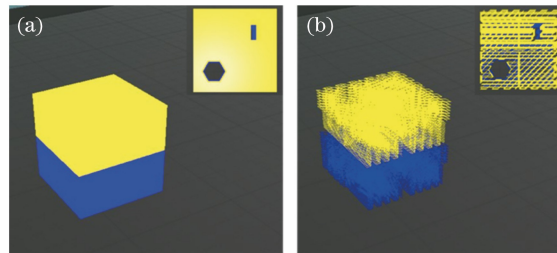


图 3 支架设计模型及其打印路径。(a)打印支架的三维模型;(b)打印支架的分层路径图

Fig. 3 Scaffold design model and its printing path. (a) 3D model of tissue engineering scaffold; (b) hierarchical path diagram of tissue engineering scaffold

OCT 单次扫描成像视场区域为 $7.5 \text{ mm} \times 7.5 \text{ mm} \times 3.5 \text{ mm}$ (在空气中),采集的图像像素大小为 $500 \text{ pixel} \times 500 \text{ pixel} \times 1024 \text{ pixel}$,PCL 折射率约为 1.52,在 PCL 支架样品中的图像像素分辨率为 $15 \text{ }\mu\text{m} \times 15 \text{ }\mu\text{m} \times 2.25 \text{ }\mu\text{m}$,A-scan 频率为 48 kHz ,

单个局域 OCT 图像采集时间为 5.2 s 。OCT 相邻横向扫描区域的重叠距离设置为 0.5 mm 。通过对 PCL 材料进行 OCT,发现其有效成像深度为 0.75 mm ,根据(1)式计算结果,选择打印一层作为 OCT 纵向分段扫描间隔,在每个厚度打印完成后利

用所提方法同步进行 OCT 扫描。为完成整个支架的成像,一共采集了 270 个 OCT 体数据,对应体积为 $21.0\text{ mm}\times 21.0\text{ mm}\times 12.5\text{ mm}$,整个图像采集时间为 23.4 min,M-OCT 拼接后支架部分对应的图像像素为 $1367\times 1359\times 4156$,计算得支架大小为 $20.50\text{ mm}\times 20.38\text{ mm}\times 9.351\text{ mm}$,接近游标卡尺测得的支架尺寸。使用 Micro-CT(SCANCO $\mu\text{CT}100$,杭州越波生物科技有限公司)对打印完成后的支架进行扫描检测成像,分辨率为 $34\text{ }\mu\text{m}\times 34\text{ }\mu\text{m}\times 34\text{ }\mu\text{m}$,样本采集区域为 $35\text{ mm}\times 35\text{ mm}\times 10\text{ mm}$,时间约为 75 min,支架的图像大小为 $604\times 600\times 275$,计算得支架尺寸为 $20.53\text{ mm}\times 20.40\text{ mm}\times 9.35\text{ mm}$ 。

图 4(a)为打印支架 M-OCT 的三维体渲染图像和 Micro-CT 检测的体渲染图像。从图 4(a)俯视图可以看出,M-OCT 很好地还原了打印支架的实际三维结构,M-OCT 显示的支架孔隙特征、实际打印图片与 Micro-CT 检测结果有较好的对应,没有出现结构错位,说明所提横向拼接算法准确,横向拼接

后的图像不存在由探头与打印运动机构准直性安装误差引起的结构显示错误。在 M-OCT 正六边形区域中观测到打印拉丝留下的毛刺结构,这在 Micro-CT 检测中也得到验证,但 M-OCT 中的显示更细腻,说明 M-OCT 的分辨率足够高,可以观测到打印过程中出现的微小结构偏差。从图 4(a)侧视图来看,在 M-OCT 和 Micro-CT 三维体渲染图中均可以观察到每一打印层的结构信息,但是,M-OCT 能更清晰地分辨出支架相邻层材料的堆积状态,这是因为 M-OCT 成像分辨率高于 Micro-CT;此外,M-OCT 三维渲染图在不同相对分子质量 PCL 间呈现出明显的灰度差异,而 Micro-CT 的三维渲染图的整体灰度一致,说明 M-OCT 能识别出不同相对分子质量的 PCL 打印切换,这是因为 M-OCT 具有更高的成像灵敏度。为验证 M-OCT 能准确地进行纵深扩展成像,对 XZ 方向不同横断截面的 M-OCT 结果与局部的 OCT 结果进行对照,图 4(b)为 M-OCT 选择的不同打印层,图 4(c)为所选择打印层

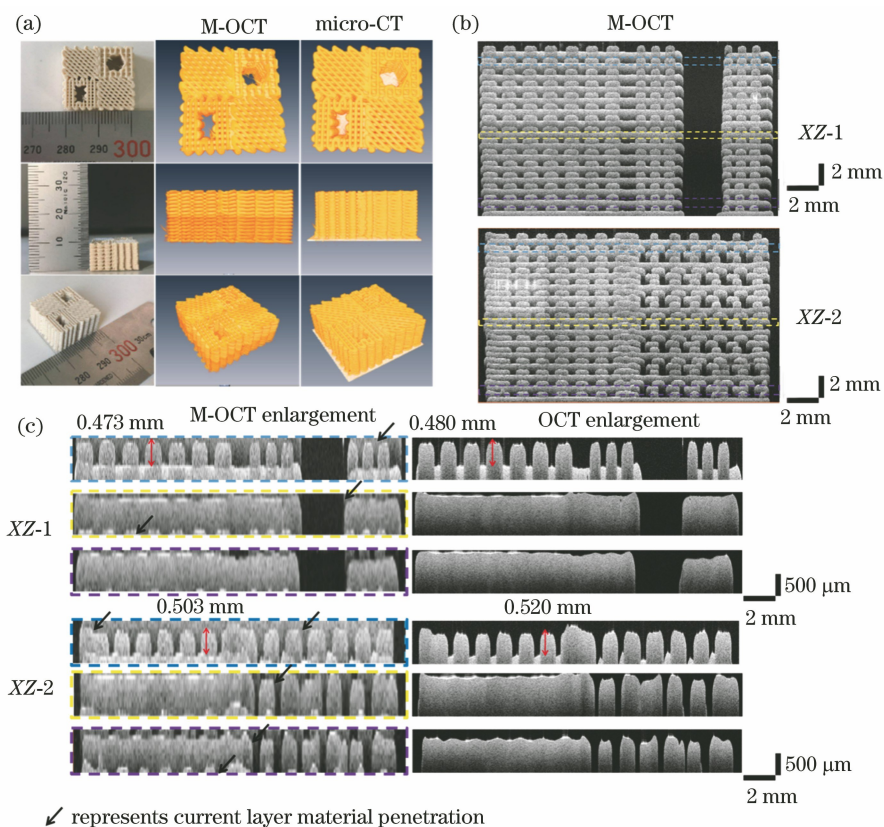


图 4 M-OCT 与 Micro-CT、OCT 的对比。(a) M-OCT 与 Micro-CT 三维模型的对比;(b) M-OCT 在不同 XZ 横断图像中选取的不同打印层;(c)图 4(b)中所选择区域的 M-OCT 与 OCT 的对比

Fig. 4 Comparison of M-OCT with Micro-CT and OCT. (a) Comparison between M-OCT and Micro-CT 3D models; (b) different printing layers selected in different XZ transverse images by M-OCT; (c) comparison between M-OCT of selected region in Fig.4(b) and OCT

的 M-OCT 与 OCT 的对比结果,发现打印 2 层支架时 OCT 的成像结果能与 M-OCT 对应起来。细致对比 M-OCT 和 OCT 的放大图可以看出,M-OCT 显示当前层打印会在前一层结构的通道渗透部分材料的信息。使用 ImageJ 软件对出丝直径的厚度进行测量,M-OCT、OCT 对应值分别为 0.473 mm 和 0.480 mm、0.503 mm 和 0.520 mm,与使用的打印喷头内径 0.5 mm 接近。OCT 测量结果比 M-OCT 稍大,这从另一侧面反映了当前层打印会对前一层结构产生挤压变形影响,M-OCT 比较真实地显示了打印过程材料堆积固化成型的结果。

3.2 基于 M-OCT 结果表征支架的特征结构信息

打印支架每层层厚、出丝直径、通道/孔隙直径是表征支架结构特性的重要参数,对支架特征评估、支架打印过程控制至关重要。基于 M-OCT 结果,结合 ImageJ 图像进行定量分析得到了这些特征结构参数。

首先从 M-OCT 和 Micro-CT 的 XZ 和 YZ 横断面图像量化分析了打印支架的每层层厚。支架不

同位置的 XZ、YZ 横断面图像如图 5 所示,可以看出,M-OCT 相比 Micro-CT 可以更清晰分辨出每一层的结构信息。图 5(a)、(b)分别为通过 M-OCT 和 Micro-CT 的横断面图像测量打印支架多层层厚的结果,将 4 层、8 层测量的结果平均到每一层,结果与设置的层厚(0.30 mm)相差不大,但 Micro-CT 由于不能清晰分辨出每层的结构,很难准确测量每层的实际层厚。通过对 M-OCT 的 XZ-1、XZ-2、YZ-1 及 YZ-2 横断面图像进行打印支架层厚计算,得到整个打印支架中的层厚均值分别为 0.30400, 0.29813, 0.30500, 0.30900 mm。从统计结果来看,四个横断面的平均层厚基本在所设计层厚值 0.30 mm 附近。每一层层厚的实际值是打印过程 Z 向位移调整的依据,每层层厚的计算结果如图 5(c) 所示,可以看出,实际打印支架的层厚并非均一,若每一层实际层厚与 Z 向位移调整有偏差,会影响下一层出丝直径和孔隙直径,同时多层累积误差会影响支架的整体厚度,这也是实测支架厚度与设计厚度出现 0.35 mm 偏差的原因。

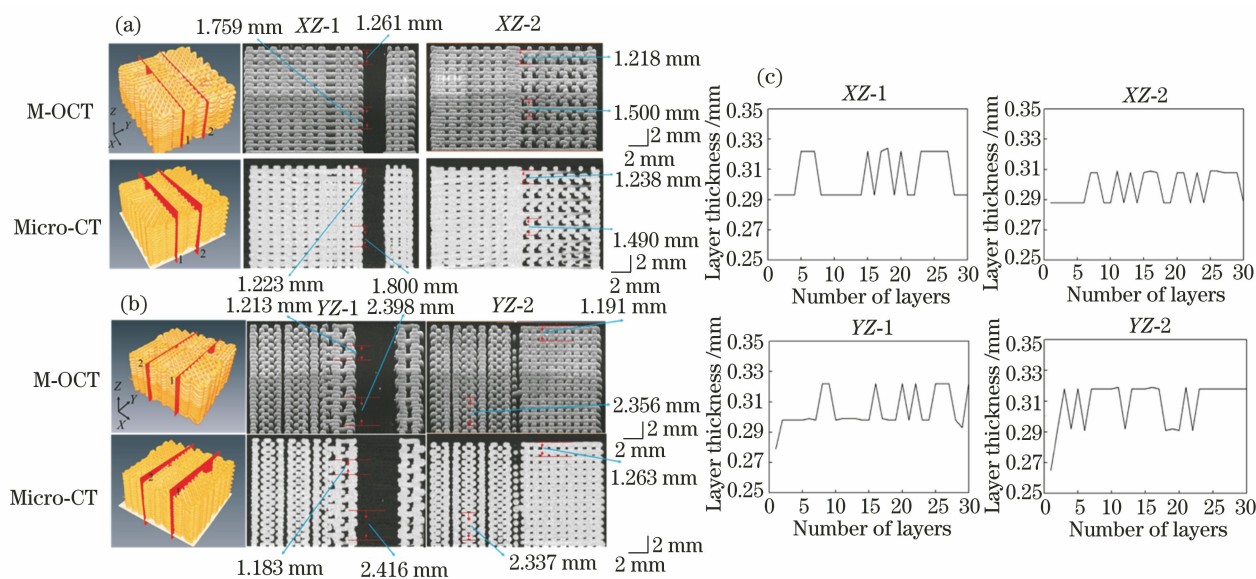


图 5 M-OCT 与 Micro-CT 的对比。(a) XZ 横断面的对比;(b) YZ 横断面的对比;(c) M-OCT 不同横断面的每层层厚曲线

Fig. 5 Comparison between M-OCT and Micro-CT. (a) Comparison of XZ cross-sections;

(b) comparison of YZ cross-sections; (c) thickness curves of each layer in different cross-sections of M-OCT

接下来从堆积成型 XY 面分析整个支架特殊通道的尺寸。图 6 为 M-OCT 和 Micro-CT 的 XY 面图像对比,从圆圈处可以观察到,M-OCT 与 Micro-CT 两者孔形形状和结构一致;从 M-OCT 的 XY-1、XY-2 的 en-face 面图像可以明显看出相邻层支架的灰度差异,并分辨出相邻层材料打印路径发生变化从而形成孔隙的情况。在 XY-1 平面,测得 M-

OCT 和 Micro-CT 打印支架中正六边形对角的最大长度分别为 4.996 mm 和 5.056 mm,在 XY-2 中分别为 5.143 mm 和 5.181 mm;在 XY-1 平面,矩形通道的长边长度分别为 5.056 mm 和 4.974 mm,在 XY-2 分别为 5.136 mm 和 5.150 mm。两个特殊通道在不同平面测得的结果不一致,相比 XY-1 面,在 XY-2 面中正六边形和长方形实际所测长度更大,

可能因为越接近支架底部,上面材料的堆积越容易使支架发生形变。M-OCT 和 Micro-CT 在正六边

形和长方形的测量结果中存在偏差,可能来源于两者分辨率不一致和测量误差。

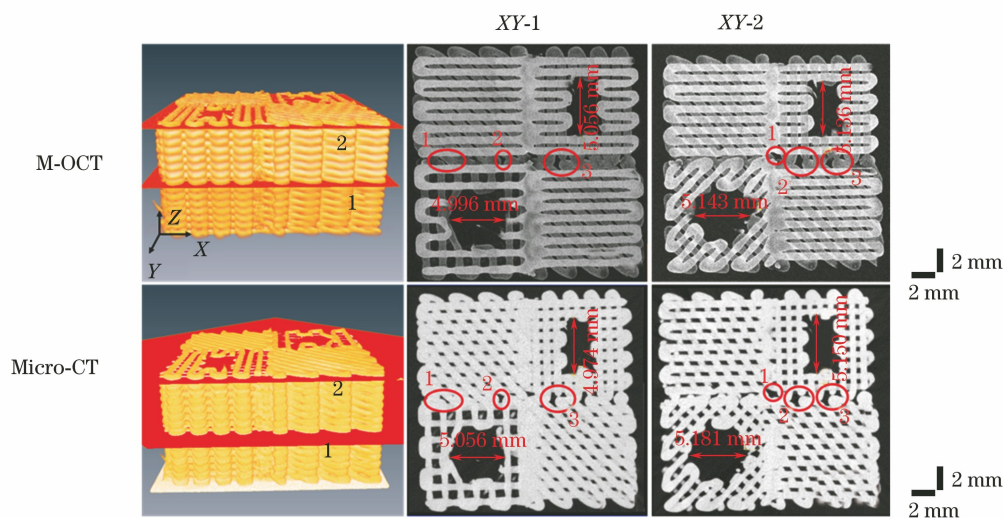


图 6 M-OCT 与 Micro-CT 的 XY(en-face)面对比

Fig. 6 Comparison between M-OCT and Micro-CT at XY (en-face) images

接着从 XY 平面分析支架孔隙均匀分布区域的孔隙。从 M-OCT 的 XY 横断图中选择 6 处区域并对其进行不同厚度处的孔隙大小进行定量评估,结果如图 7 所示。从图 7(b)可以看出,区域 1 和区域 6 在不同厚度处的孔隙尺寸变化最小,区域 5 在不同厚度处的孔隙尺寸变化最大,其余区域均有不同程度的差异变化。图 7(c)给出了不同区域的孔径尺寸统计结果:对于区域 1 和区域 6 的平行四边形孔形,模型的预设孔径值为 0.45 mm,利用等效直径法根据 M-OCT 的 XY 平面计算得到 30 层的平均孔径分别为 0.393 mm 和 0.37 mm,标准差为 0.0223 mm 和 0.0186 mm,与预设值存在一定的偏差,但区域 1 和区域 6 在不同厚度处的孔隙大小变

化差异最小;预设区域 2 和区域 4 通道直径分别为 1.0 mm 和 0.5 mm,根据 M-OCT 计算得到平均孔径为 0.85 mm 和 0.28 mm,标准差分别为 0.039 mm 和 0.059 mm,与预设值存在差异,不同厚度处区域 2 和 4 的孔隙大小变化差异比区域 1 和 6 要大,这是因为区域 2 和 4 靠近区域路径变化的边缘区,容易受平台运动加速度影响;预设区域 3 和区域 5 孔隙直径分别为 1.0 mm 和 1.0 mm,利用等效直径法计算得到区域 3 的平均孔径和标准差分别为 0.7375 mm 和 0.0583 mm,区域 5 的平均孔径和标准差分别为 0.8863 mm 和 0.0918 mm,区域 3 和 5 靠近具有不同通道孔形变化的边缘区,孔形呈现不规则特征,给量化预设与实际偏差带来了一定的困难。

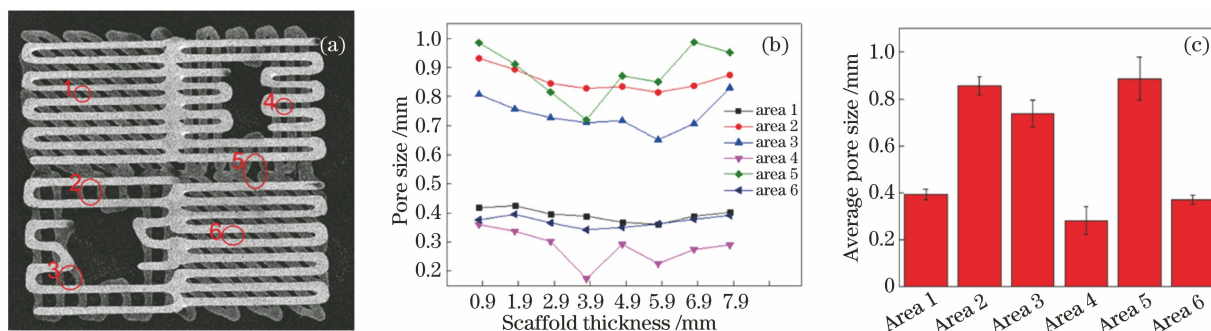


图 7 支架在不同厚度处不同区域的孔径大小。(a)区域选择示意图;(b)基于 M-OCT 的实测孔径尺寸随支架厚度的变化;(c)基于 M-OCT 的不同区域孔径尺寸的统计分析

Fig. 7 Pore size of scaffold in each area under different thicknesses. (a) Schematic of region selection; (b) measured pore size versus thickness of scaffold based on M-OCT; (c) statistical analysis of pore size in each area based on M-OCT

最后分析整个支架在打印不同层时不同区域的丝径大小,如图 8 所示。图 8(a)为区域选择示意图。图 8(b)为不同区域丝径随打印层数的变化关系,可以看出,区域 3、4、6 的丝径随厚度的变化最小,区域 1、2、5 因靠近具有不同孔形变化的边缘区,其丝径随厚度的变化较大,其中区域 1 变化最大。

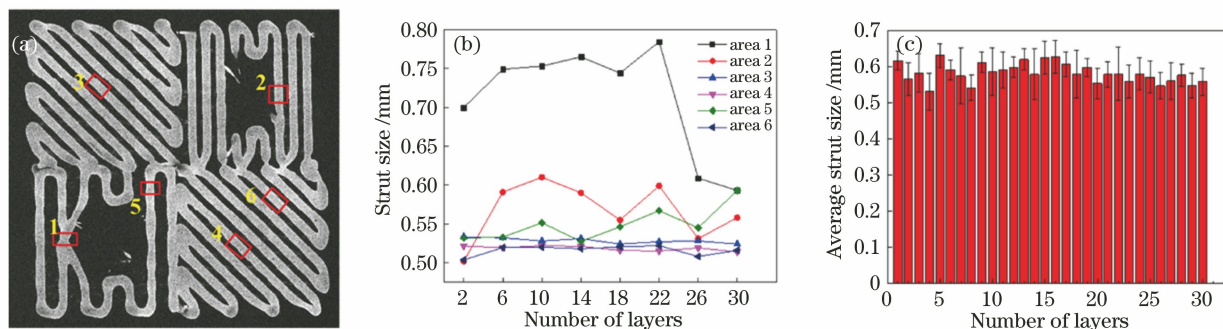


图 8 支架在不同打印层处不同区域的丝径大小。(a) 支架第 30 层的区域选择示意图;(b) 基于 M-OCT 不同区域的实测丝径大小随支架打印层数的变化关系;(c) 基于 M-OCT 不同打印层的实测丝径大小的统计分析

Fig. 8 Strut size of scaffold in each area at different printing layers. (a) Schematic of region selection of the 30th layer; (b) measured strut size in each area versus number of printing layers of scaffold based on M-OCT; (c) statistical analysis of measured strut size of each printing layer based on M-OCT

4 分析与讨论

结合离散制造原理和 OCT 微断层成像方法,提出了一种 M-OCT 方法。该方法可以在确保三维高分辨的前提下实现成像体积扩大和全纵深成像,理论上成像体积/成像深度不受限,达到甚至超过打印制品厚度,具有无辐射、非侵入、低细胞损伤、使用材料范围广、成像速度快等优点。所提方法中的成像系统并不局限于 OCT 和三维打印设备,任何具有一定穿透深度的无损光学层析成像设备(如双光子显微成像、激光共聚焦等)和能够提供高精度三轴运动的离散制造仪器均可作为成像系统进行扫描检测。

从图 3、4 可以看出, M-OCT 结果与设计模型、打印支架照片、Micro-CT 结果有较好的一致性,孔形、支架连通性在空间位置中均保持一致,说明 OCT 图像数据集后处理算法准确, M-OCT 具备大体积离散制造样品的可行性。从图 4(b)中还发现存在明显的灰度值分界线,即相对分子质量为 6×10^4 的 PCL 材料相比 8×10^4 PCL 材料要亮,这是因为基于材料的折射率差异形成了图像对比,谱域 OCT 技术灵敏度较高,本文用到的谱域 OCT 系统灵敏度达到 100 dB 以上,可以准确分辨出不同相对分子质量 PCL 的折射率差异。而 Micro-CT 使用 X-ray 作为光源,不同相对分子质量的 PCL 对 X 射

图 8(c)显示了整个支架 30 层的每层平均丝径大小的统计结果,每一层随机选择 20 个局部区域进行统计分析,可以看出,支架不同层的打印丝径存在不一致,与预设丝径大小 0.5 mm 存在差异且均大于预设值,这可能是由于预设打印层厚偏小,材料出丝时受到挤压引起的。

线的吸收差异不大,因此 Micro-CT 无法对材料切换的界面进行有效区分。M-OCT 的图像采集时间取决于 A-scan 的采集时间和成像像素数,本文中 A-scan 采样率为 48 kHz,成像 5512.5 mm^3 采集 6.912×10^9 个像素所需时间约为 23 min,相比 Micro-CT (12250 mm^3 采集 1.073×10^9 个像素需 75 min)、MRI,具有成像速度快的优势;同时提高了 A-scan 的采样率,若换成更快速的光谱仪或者扫频 OCT 系统(文献[29]可以达到 1.5 MHz),降低采样像素数,采用 GPU 加速算法^[30],可以进一步提高 M-OCT 的成像速度。M-OCT 可以保持原有 OCT 系统的分辨率,相比 Micro-CT、MRI、US 同样具有优势,可以更清晰地分辨出支架的每一层结构信息,如图 5(a)、(b)所示;能识别出相邻层材料打印路径变化形成的孔隙在不同层的灰度差异,如图 6 所示;对打印缺陷的细节分辨更清晰,如图 3(a)和图 6 所示。

M-OCT 可以获得离散制造物品的全局高分辨图像,相比传统 OCT 技术^[1-2],对离散制造物品结构特性的定量评估更准确,也为结构参数反馈控制制造过程和离散制造技术的提高提供了更精准的数据。根据 M-OCT 结果,对打印 PCL 高分子支架的层厚、特殊通道尺寸、规则孔隙直径、出丝直径等关键结构参数进行了量化评估,发现 PCL 这种形变较小材料的实测结构参数与设计值仍然存在偏差,尤其在路径变化区域,一方面说明实测打印制品内部

结构对有效评估制品质量的重要性,另一方面也表明 M-OCT 的检测结果对提高离散制造技术的必要性。比如 M-OCT 相比 Micro-CT 可以更准确地测量每层支架的层厚,如图 5(c)所示,作为打印过程 Z 向位移调整的依据,实际打印支架的层厚并非均一分布,而为了和 Micro-CT 结果对比,并没有对层厚实时调整,从而导致 30 层累加的实测支架厚度与设置厚度出现 0.35 mm 偏差,并且这种层厚和 Z 向位移调整的不匹配对出丝直径、孔隙的影响更大,如图 6~8 所示。

5 结 论

提出了一种 M-OCT 方法用于大体积样品的高分辨率成像和定量评估。打印大体积高分子支架进行 M-OCT,与 Micro-CT 进行对比,验证了 M-OCT 方法的可行性和准确性,体现了 M-OCT 成像分辨率高、灵敏度高、采集速度快等优势。M-OCT 既可实现水平方向成像面积的扩大又具有整体深度高分辨成像的能力,为监控离散制造过程,如 3D 打印、细胞组装、生物制造、自动切片等,及制造成品的无损检测提供了一种新方法。

参 考 文 献

- [1] Huang D, Swanson E, Lin C, et al. Optical coherence tomography [J]. *Science*, 1991, 254(5035): 1178-1181.
- [2] Fujimoto J, Drexler W. Introduction to optical coherence tomography[M]//Drexler W, Fujimoto J G. *Optical coherence tomography*. Cham: Springer, 2008: 1-45.
- [3] Gao Y, Li Z L, Zhang J H, et al. Automatic measurement method for corneal thickness of optical coherence tomography images [J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(3): 0311003.
高阳, 李中梁, 张建华, 等. 光学相干层析成像图像中角膜厚度的自动测量方法[J]. *光学学报*, 2019, 39(3): 0311003.
- [4] Wang L, Xu M G, Zhang L L, et al. Automated quantitative assessment of three-dimensional bioprinted hydrogel scaffolds using optical coherence tomography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(3): 894-910.
- [5] He Q Y, Li Z L, Wang X Z, et al. Automated retinal layer segmentation based on optical coherence tomographic images [J]. *Acta Optica Sinica*, 2016, 36(10): 1011003.
贺琪欲, 李中梁, 王向朝, 等. 基于光学相干层析成像的视网膜图像自动分层方法[J]. *光学学报*, 2016, 36(10): 1011003.
- [6] Chen C W, Betz M W, Fisher J P, et al. Macroporous hydrogel scaffolds and their characterization by optical coherence tomography[J]. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 2011, 17(1): 101-112.
- [7] Tang T, Zhao C, Chen Z Y, et al. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography and its application in inspection of industrial materials [J]. *Acta Physica Sinica*, 2015, 64(17): 174201.
唐毅, 赵晨, 陈志彦, 等. 超高分辨光学相干层析成像技术与材料检测应用[J]. *物理学报*, 2015, 64(17): 174201.
- [8] Ho S T, Huttmacher D W. A comparison of micro CT with other techniques used in the characterization of scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(8): 1362-1376.
- [9] Hagenmüller H, Kohler T, Hofmann S, et al. Monitoring and quantifying formation of tissue engineered human bone *in situ* by micro-computed tomography [J]. *Journal of Biomechanics*, 2006, 39: S218.
- [10] Lalande C, Miraux S, Derkaoui M, et al. Magnetic resonance imaging tracking of human adipose derived stromal cells within three-dimensional scaffolds for bone tissue engineering [J]. *European Cells and Materials*, 2011, 21: 341-354.
- [11] Appel A A, Anastasio M A, Larson J C, et al. Imaging challenges in biomaterials and tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(28): 6615-6630.
- [12] Rice M A, Waters K R, Anseth K S. Ultrasound monitoring of cartilaginous matrix evolution in degradable PEG hydrogels [J]. *Acta Biomaterialia*, 2009, 5(1): 152-161.
- [13] Xu X Q, Yu L F, Chen Z P. Optical clearing of flowing blood using dextrans with spectral domain optical coherence tomography [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, 13(2): 021107.
- [14] Siphanto R I, Thumma K K, Kolkman R G M, et al. Serial noninvasive photoacoustic imaging of neovascularization in tumor angiogenesis [J]. *Optics Express*, 2005, 13(1): 89-95.
- [15] Min E, Lee J, Vavilin A, et al. Wide-field optical coherence microscopy of the mouse brain slice [J]. *Optics Letters*, 2015, 40(19): 4420-4423.
- [16] Yoo J, Larina I V, Larin K V, et al. Increasing the field-of-view of dynamic cardiac OCT via post-acquisition mosaicing without affecting frame-rate or spatial resolution [J]. *Biomedical Optics Express*,

- 2011, 2(9): 2614-2622.
- [17] Ahdi A, Rabbani H, Vard A. A hybrid method for 3D mosaicing of OCT images of macula and optic nerve head[J]. Computers in Biology and Medicine, 2017, 91: 277-290.
- [18] Yang Y, Huang S Y. Retinal image mosaic base on genetic algorithm and automated blood vessel extracting approach [C] // Proceedings of the 7th World Congress on Intelligent Control and Automation, June 25-27, 2008, Chongqing, China. New York: IEEE, 2008: 7751-7756.
杨勇, 黄淑英. 基于遗传算法和血管自动提取方法的视网膜图像拼接[C] // 第七届智能控制和自动化世界大会会议, 2008年6月25日-27日, 2008, 重庆, 中国. 纽约: IEEE, 2008: 7751-7756.
- [19] Zhang J H, Huang Y H, Song Y C, et al. Convolutional neural network-based registration for mosaicing of microscopic images [J]. Journal of Electronic Imaging, 2019, 28(4): 043006.
- [20] Xu J J, Wei, Song S Z, et al. Scalable wide-field optical coherence tomography-based angiography for in vivo imaging applications [J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(5): 1905-1919.
- [21] Wang Z, Potsaid B, Chen L, et al. Cubic meter volume optical coherence tomography [J]. Optica, 2016, 3(12): 1496-1503.
- [22] Song S Z, Xu J J, Wang R K. Long-range and wide field of view optical coherence tomography for *in vivo* 3D imaging of large volume object based on akinetic programmable swept source [J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(11): 4734-4748.
- [23] Ngo T D, Kashani A, Imbalzano G, et al. Additive manufacturing (3D printing): a review of materials, methods, applications and challenges[J]. Composites Part B: Engineering, 2018, 143: 172-196.
- [24] Hollister S J. Porous scaffold design for tissue engineering[J]. Nature Materials, 2005, 4(7): 518-524.
- [25] Sochol R D, Sweet E, Glick C C, et al. 3D printed microfluidics and microelectronics[J]. Microelectronic Engineering, 2018, 189: 52-68.
- [26] Lim J H, Panda B, Pham Q C. Improving flexural characteristics of 3D printed geopolymer composites with in-process steel cable reinforcement [J]. Construction and Building Materials, 2018, 178: 32-41.
- [27] Si P J, Wang L, Xu M E. Tumor cell invasion imaging based on optical coherence tomography[J]. Chinese Journal of Lasers, 2019, 46(9): 0907003.
斯培剑, 王玲, 徐铭恩. 基于光学相干层析成像技术的肿瘤细胞侵袭成像 [J]. 中国激光, 2019, 46(9): 0907003.
- [28] Wang L, Xu M G, Zhang L L, et al. Automated quantitative assessment of three-dimensional bioprinted hydrogel scaffolds using optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(3): 894.
- [29] Singh M, Wu C, Liu C H, et al. Phase-sensitive optical coherence elastography at 1.5 million A-lines per second[J]. Optics Letters, 2015, 40(11): 2588-2591.
- [30] Kirk R W, Kennedy B F, Sampson D D, et al. Near video-rate optical coherence elastography by acceleration with a graphics processing unit [J]. Journal of Lightwave Technology, 2015, 33(16): 3481-3485.