

偏振光成像技术用于肿瘤病变检测的研究进展*

何宏辉¹⁾ 曾楠¹⁾ 廖然¹⁾ 马辉^{1, 2)**}

¹⁾ 清华大学深圳研究生院, 深圳市无损监测与微创医学技术重点实验室, 光学检测与成像研究所, 深圳 518055;

²⁾ 清华大学物理系, 北京 100084)

摘要 偏振光成像是一种非标记、无损检测技术, 它与现有非偏振光学方法硬件兼容, 但能提供更丰富的样品结构和光学信息, 并且对亚波长微观结构变化十分敏感。最近, 偏振光成像方法在生物医学, 特别是肿瘤癌症检测领域显示出很好的应用前景。本文介绍了常用的偏振光散射成像方法, 包括偏振差、偏振度、旋转线偏振成像、偏振显微、穆勒矩阵成像等, 并展示这些偏振方法在生物医学领域, 特别是癌症检测方面的最新研究进展。目前偏振差、偏振度等成像方法已被初步用于皮肤癌的诊断, 而穆勒矩阵包含更为丰富的组织微观结构信息, 因而具有更好的诊断应用前景。通过对穆勒矩阵进行分解、变换等处理, 可获得具有明确物理意义的成像参数, 并发展为针对不同应用的特异性方法。目前, 随着新型光源、偏振器件和探测器的出现, 特别是数据计算处理能力的急剧提升, 偏振成像在数据解释和测量方法方面的研究快速发展, 已经在生物医学领域显示出很好的应用前景。

关键词 偏振光, 散射, 生物医学, 成像, 穆勒矩阵

学科分类号 O43, R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0034

光学成像方法因具有非侵入、低损伤、亚细胞分辨率等特点而成为生物医学等诸多研究领域广泛应用的工具。光有四个基本特性量: 强度、波长、相位及偏振。其中人眼可直接观察的强度(明暗)和波长(颜色)成为各种几何光学和光谱技术的基础; 光的相位信息无法被人眼直接观察, 但也可通过干涉、衍射被间接探测, 成为波动光学和信息光学的基础。相比之下, 由于人眼对偏振不敏感, 以及偏振光学基本理论、偏振操控方法和器件、偏振信息提取方法等相关领域研究的滞后, 光的偏振属性一直没有得到足够的关注, 应用范围相对较小。近年来, 随着新型光源、偏振器件和探测器的出现, 特别是数据计算处理能力的急剧提升, 偏振方法开始在生物医学、天文、大气遥感、材料等研究领域引起越来越广泛的关注^[1-4]。

大部分生物组织在可见光波段都是高散射介质, 光在组织中传播时往往经历多次散射, 失去原本携带的相位和偏振信息, 直接影响光学成像的对比度和分辨率^[5]。因此, 散射是各种生物医学光学方法首先要考虑的问题。通过对光子的偏振状态进

行合适的筛选, 我们可以抑制多次散射并丧失原有偏振态的“扩散光子”对图像的贡献, 提高保持原有偏振的少次散射“弹道光子”和“蛇行光子”的作用, 从而改善图像质量^[6]。同时, 由于散射过程中光子偏振态的改变与散射介质的微观结构有密切关系, 对散射光的偏振态进行测量可以获得散射体丰富的结构信息。因此, 偏振光学成像方法在生物医学研究领域具有广阔应用前景。

近年来, 人类恶性肿瘤等疾病发病率逐年上升, 早期诊断对提高病人生存率和生活质量至关重要。相关临床研究结果表明, 超过 80% 的癌变早期起源于浅表上皮组织^[7]。偏振光学成像方法抑制的多次散射光子大多来自较深层的组织, 因此偏振光学方法能提高浅层组织成像质量, 是一种有潜力

* 国家自然科学基金(11174178, 11374179, 10974114, 60778044, 60578003, 61205199, 61405102, 41106034)和深圳市科技计划(CXZZ20140509172959978)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0755-26036238, E-mail: mahui@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2015-01-29, 接受日期: 2015-03-04

的癌症辅助诊断手段。20 世纪 90 年代, Anderson 等^[8]首先将“偏振差”方法应用于皮肤癌的检测, 此后 Jacques 等^[9]获得了“偏振度”参数。临床成像结果表明, “偏振度”参数具有区分皮肤癌变和正常组织边界的能力。然而生物组织内部结构复杂, 多种纤维状结构会对包括“偏振度”在内的偏振测量参数产生影响, 为此人们尝试寻找更多与特定微观结构对应的偏振参量^[10]。最近, 穆勒矩阵作为一种能全面反映介质偏振光学特性的表征方法得到了越来越多的关注, 并被初步用于癌变组织检测^[11]。此后, 为了解决穆勒矩阵元物理意义不够清晰, 信息难以提取等问题, 穆勒矩阵分解等方法陆续被提出, 并应用于生物医学检测^[12-14]。本研究组提出了“旋转线偏振”成像方法, 获得了一组与样品取向无关的参数^[15], 进而在此基础上发展了穆勒矩阵变换概念^[16], 针对多类癌变组织的成像结果显示这些变换参数的应用潜力^[17]。

目前偏振光成像方法应用于生物医学研究遇到的主要挑战在于: 获得的偏振数据如何分析, 即如何分离提取反映特定结构、适合生物医学检测的特定参量。为此本研究组针对生物组织具有的复杂各向异性结构, 建立了“球-柱散射模型”^[18-19], 并发展了与之相应的蒙特卡洛模拟程序, 成为研究生物组织偏振光成像的重要工具^[20-21]。综上所述, 偏振光成像方法是一种很有潜力的生物医学检测方法, 其具有独特的优势: 首先, 偏振方法与现有非偏振光学方法硬件兼容, 通过在现有光路加入偏振器件即可实现偏振检测; 其次, 偏振光成像方法能提供比非偏振光学方法更丰富的样品结构信息, 并且对亚波长微观结构变化十分敏感。本文将介绍偏振光散射成像方法学研究及其在生物医学领域应用的最新进展, 特别是在肿瘤癌症等疾病诊断方面的初步应用, 展示偏振光成像技术在生物医学领域的未来发展前景。

1 光的偏振及偏振的表征

光的偏振来源于电磁波的横波特性: 光的电场振动沿某一特定方向或其变化呈现特定规律时即为偏振光, 而自然光的电场振动在所有方向随机分布。根据电场振动轨迹的不同可将偏振光分为线偏振、圆偏振以及椭圆偏振光, 部分偏振光则可看成自然光与完全偏振光的组合^[22]。常用的表征光的偏振态及其变化的方法有三种: 琼斯矢量 - 琼斯矩阵

(Jones vector-Jones matrix), 邦加球(Poincare sphere), 斯托克斯矢量 - 穆勒矩阵(Stokes vector-Mueller matrix), 下面对这三类表示方法做简要介绍。

琼斯矢量表示法用如式(1)所示的二维列矢量表示电场的 x 与 y 方向分量, 此时介质的偏振光学特性可以通过一个 2×2 的琼斯矩阵描述。琼斯矢量 - 琼斯矩阵表示法最大优势在于包含了光的相位信息, 可以处理干涉等相位相关的检测。然而琼斯矢量只能用于描述完全偏振光, 无法处理在强散射介质中普遍存在的退偏现象。

$$\begin{pmatrix} E'_x \\ E'_y \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} J_{11} & J_{12} \\ J_{21} & J_{22} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix} = J \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix} \quad (1)$$

邦加球表示法是一种非常直观的图示法^[23]。邦加球球面上的点代表完全偏振光, 其两个方位角可确定偏振态。邦加球内的点表示部分偏振光, 因此邦加球代表了所有可能出现的偏振状态的集合。使用邦加球表示偏振态最大的优势在于直观, 例如偏振光的改变可以在邦加球上体现为特定的移动轨迹, 但这一方法对于偏振相关的定量计算并不适用。

$$\begin{pmatrix} I' \\ Q' \\ U' \\ V' \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} m_{11} & m_{12} & m_{13} & m_{14} \\ m_{21} & m_{22} & m_{23} & m_{24} \\ m_{31} & m_{32} & m_{33} & m_{34} \\ m_{41} & m_{42} & m_{43} & m_{44} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{pmatrix} \quad (2)$$

斯托克斯矢量表示法用如式(2)所示的四维列矢量表示 4 个不同的光强分量, 此时介质的偏振光学特性就可以通过一个 4×4 的穆勒矩阵描述。与琼斯矢量 - 琼斯矩阵表示法相比, 斯托克斯矢量采用光的强度分量, 不包含相位信息, 能定量描述部分偏振光和非偏振光。考虑到生物组织大多属于强散射介质, 偏振光在其中传播时会发生散射退偏, 因而目前在生物医学领域的研究中, 大多采用穆勒矩阵作为组织样品偏振特性的描述方法^[23]。穆勒矩阵包含了样品的丰富微观结构信息, 然而研究结果显示穆勒矩阵的 16 个阵元均同时受到多个结构的共同影响, 代表的物理意义并不明确。因此如何从穆勒矩阵中分离提取与结构等物理量对应的偏振参数非常重要。

2 偏振光散射成像方法在生物医学领域的应用现状

早在 1976 年 Bickel 等^[24]就指出分析光的偏振特性可以帮助获得生物材料的一些结构信息, 此后

偏振在生物医学领域的应用研究逐渐增加. 偏振方法的实际应用需要解决两方面的问题: a. 偏振测量数据如何解释, 即研究偏振变化与组织结构间的关系; b. 如何实现偏振的准确测量, 即发展面向具体应用的偏振成像方法. 本节将综合这两方面的研究现状, 按照时间发展顺序介绍常用的一些偏振成像和检测方法, 并展示生物医学样品的具体成像结果.

2.1 偏振“门控”成像与探测

光子在经过散射介质, 例如生物组织后, 可划分为“弹道光”、“蛇行光子”和“扩散光子”三类. 前两类光子经历散射较少, 保留了传播方向、偏振等信息, 而扩散光子经历的多次散射使其原有信息变得杂乱, 形成图像的背景噪声. “门控”成像技术的基本原理即通过特定筛选手段, 滤除扩散光子的影响. 常用的门控技术包括利用不同光子到达探测器时间差异的“时间门”、利用不同光子空间分布差异的“空间门”等. 偏振光同样可用来筛选光子, 起到“偏振门”的作用^[25-27]. 例如 Schmitt 等^[28]提出对于含有不同粒径散射体的介质, 使用线偏振和圆偏振对成像对比度改善情况有所差异. Dogariu 等^[29]发现散射介质背向成像的偏振强度分布特征主要来源于少次散射光子, 表明“偏振门”和“时间门”所选择的光子类似. Morgan 和 Emile 等^[30-31]研究了散射增强时“弹道光”数量与偏振度之间的关系, 并指出对于较大的米氏(Mie)散射和较小的瑞利(Rayleigh)散射, “偏振门”均可提高成像质量. Mackintosh 和 Bicout 等^[32-33]分析了“线偏振门”和“圆偏振门”的适用范围, 提出当介质中散射体尺寸远大于探测波长时(米氏散射为主), 背向探测圆偏振光保偏能力强于线偏振, 而散射体尺寸小于探测波长时(瑞利散射为主), 背向探测线偏振保偏能力更强. 此后 Hielscher 和 Ghosh 等^[34-35]细致研究了散射体尺寸、散射系数、各向异性因子等对偏振态分布、散射退偏等的影响. 基于上述实验和计算获得的结论, “偏振门”思想和方法被逐步应用于生物医学、大气遥感、水下物体探测等多个领域^[36-40]. 在生物医学研究方面, Jaillon, Wang 和 Mehrubeoglu 等^[41-43]通过分析出射光偏振状态的空间分布提取了生物组织的散射系数、粒径大小、旋光物质浓度等信息, Sankaran 等^[44]对真实生物组织和仿体偏振测量结果进行了比较, 为“偏振门”方法用于实际组织样品提供了参考. Kunnen 等^[45]则通过分析圆偏振光经过组织背

向散射后的变化, 区分癌变与正常组织. “偏振门”概念近年来在生物医学研究中不断扩展, 逐渐形成了不同的偏振成像方法.

2.2 偏振差及偏振度成像

偏振差(difference polarization, DP)和偏振度(degree of polarization, DOP)是最早被应用于临床诊断的偏振成像方法. 光学成像方法用于组织时通常探测深度有限, 偏振方法能提高浅层组织的成像对比度, 因此偏振差和偏振度方法适合应用于皮肤疾病的检测. Anderson 等^[8]发现偏振差方法用于皮肤疾病诊断时能消除表面反射光对图像的影响, 此后 Mourant 等^[46]将偏振差方法应用于癌变组织的区分. Demos 等^[47-48]将偏振差与多波长探测技术相结合, 利用不同波长的光在组织中穿透深度的差异对皮下组织进行了成像. Yaroslavsky 等^[49-50]将多波长偏振差和共聚焦显微镜共同用于皮肤癌组织的边界确定. 上述偏振差应用均基于线偏振光, 当线偏振光照射到组织等样品上时, 可将出射的偏振分量定义为: 与入射光偏振态一致的分量(I_{co})和与入射光偏振态垂直的分量(I_{cr}). 从组织浅表层散射返回的光子大多为保持原有偏振的“弹道”和“蛇行”光子, 它们主要集中于 I_{co} 中; 从组织深层散射返回的“扩散光子”偏振变得无序, 对 I_{co} 及 I_{cr} 的贡献相当. 若将两分量相减可获得如式(3)所示的偏振差(入射偏振角为 θ_i , 检测偏振角分别为 $\theta_s = \theta_i$ 及 $\theta_s = \theta_i + \pi/2$), 可大为降低来自组织深层“扩散光子”对成像的影响, 有效提高浅表组织成像质量^[51].

$$DP = I_{co} - I_{cr} = I(\theta_i, \theta_i) - I(\theta_i, \theta_i + \pi/2) \quad (3)$$

$$DOP = \frac{I_{co} - I_{cr}}{I_{co} + I_{cr}} = \frac{I(\theta_i, \theta_i) - I(\theta_i, \theta_i + \pi/2)}{I(\theta_i, \theta_i) + I(\theta_i, \theta_i + \pi/2)} \quad (4)$$

偏振度是将偏振差用入射光强归一后获得的参数, 偏振度成像结果与入射光强分布无关, 反映入射线偏振光经过样品之后保持原有偏振的能力. 由于是与光强分布之比, 偏振度成像能排除组织黑色素等吸收的影响^[9]. 偏振度参数表达如式(4)所示.

Jacques 等^[52]最早尝试利用偏振度成像检测皮肤基底细胞癌、皮肤鳞状细胞癌等病变, 结果表明偏振度成像能提高癌变与正常皮肤组织之间的对比度, 适合界定病变边界. 此后该小组开发了小型化手持偏振成像仪, 并用于辅助手术切除皮肤癌变组织^[53-54]. 图1所示为皮肤基底细胞癌组织偏振度成像结果, 可以看到癌变与正常组织存在明显差异^[51].

偏振差和偏振度成像方法的装置光路简洁, 仅需要用一束特定偏振方向(一般为水平方向)线偏振

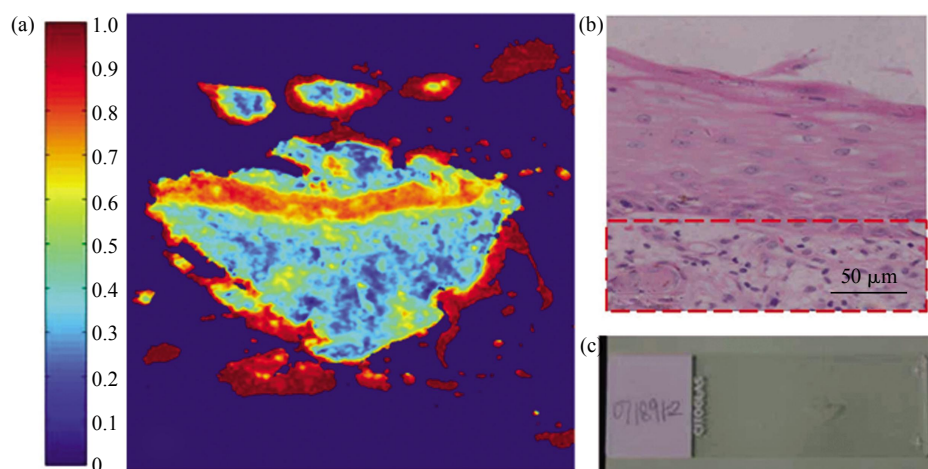


Fig. 1 Degree of polarization imaging result of human skin basal cell carcinoma tissue

图1 皮肤基底细胞癌组织偏振度成像结果

(a) 偏振度图像, DOP 值较大的带状区域为癌变组织区域. (b) 对应染色切片显微图像, 红色矩形框所示为癌变组织. (c) 成像所使用样品, 28 μm 厚未经染色的皮肤基底细胞癌组织^[51].

光照射样品, 在探测光路分别获取平行和垂直方向偏振分量即可. 因此偏振差和偏振度方法较容易与其他光学方法如内窥镜等相结合. 然而偏振差和偏振度参数特异性不强, 受到多种组织微观结构变化的共同影响, 并且当组织中含有各向异性纤维状结构时, 偏振差和偏振度成像结果将随着样品取向改变而发生变化, 对其应用产生限制.

2.3 旋转线偏振成像

偏振差和偏振度成像具有病变检测的能力, 然而由于采用特定偏振态光源照明, 它们会受到样品各向异性, 例如纤维状结构取向的影响. Pierangelo 等^[10]发现, 用内窥镜对宫颈组织进行偏振度成像时, 选择不同偏振方向的光源照明所获结果差异明显, 这种由纤维结构带来的图像差异对定量分析产生了极大困难. 考虑到各向异性结构在生物组织中广泛存在, 本研究组提出了旋转线偏振成像 (rotating linear polarization imaging, RLPI) 方法^[15, 55], 通过旋转起偏光路偏振片改变入射线偏振光的偏振角 θ_i , 然后将检偏光路偏振片在 θ_s 和 $\theta_s + \pi/2$ 角度分别检测光强, 可获得偏振差. 测量中通过改变入射偏振角 θ_i 和探测偏振角 θ_s , 可获得一系列偏振差图像 $DP(\theta_i, \theta_s)$. 将这一系列 DP 数据依次对 θ_i 和 θ_s 进行拟合处理, 可获得如式(5)所示的函数关系式.

$$DP(\theta_i, \theta_s) = \sqrt{A \cos(4\theta_s - \phi_1) + B \cos[2\theta_i - \phi_2(\theta_s)] + C \cos(\theta_s - \phi_3)} \quad (5)$$

式(5)中存在 A , B , C , ϕ_1 , ϕ_2 , ϕ_3 等独立参

量, 其中除 ϕ_2 之外的参量均与 θ_i 和 θ_s 无关, ϕ_2 与 θ_s 有关, 这些参数均与样品的某些微观结构存在关联. 实验发现, 参数 A 和 B 可组合成新的参数 $G=A/B$, 它可反映各向异性程度, 即纤维状结构的有序度, 参数 ϕ_3 则可反映各向异性结构的排列方向^[56]. 此后本研究组设计了小型化成像仪器, 并用于荨麻疹等皮肤疾病的诊断^[57]. 此外旋转线偏振方法还被用于纺织品的检测, 不同深度样品的探测

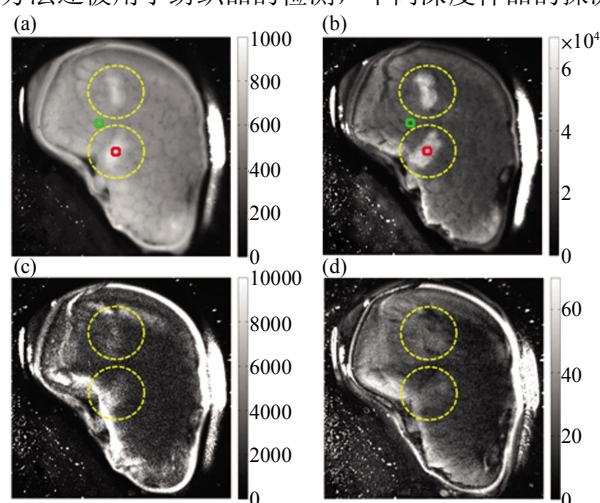


Fig. 2 Rotating linear polarization imaging results of a nude mouse's liver with metastasis of nasopharyngeal carcinoma

图2 小鼠肝脏转移鼻咽癌组织旋转线偏振参数成像结果

(a) 普通光强度, 黄色所示为癌变区域. (b) B 参数成像结果. (c) A 参数成像结果. (d) C 参数成像结果. 可以看到 B 参数具有比普通光强成像更好的对比度^[59].

等^[58-60]. 图 2 所示为旋转线偏振参数应用于小鼠肝脏转移鼻咽癌成像的结果, 可以看到参数具有区分癌变和正常区域的潜力^[59].

旋转线偏振成像通过拟合一系列入射和检测偏振角不同的偏振差图像, 消除了样品中各向异性结构取向对成像的影响. 同时旋转线偏振成像参数具有相对清晰的物理意义, 适合某些种类病变特别是皮肤疾病的检测. 旋转线偏振成像方法的主要问题在于所需时间较长, 此外拟合所获参数并未完全将各向异性与各向同性结构产生的效应分离. 旋转线偏振成像方法为后续关于穆勒矩阵成像的研究提供了明确的方向, 成为穆勒矩阵变换方法提出的重要基础.

2.4 偏振显微

生物医学研究中光学显微成像是必不可少的手段. 显微成像能提供很多重要的微观结构和生理信息, 而在病理诊断中, 对固定、染色后的组织切片进行显微观察更是多种疾病确诊的“金标准”. 现有光学显微成像方法大多需要对样品进行染色、标记等处理, 这会对细胞的正常生理过程产生不同程度的影响. Oldenbourg 等^[61-62]提出将偏振与光学显微镜结合, 通过测量双折射的改变可获得细胞的多种结构信息, 并设计了基于液晶可调波片的新型偏振显微镜 Pol-scope. 偏振显微的最大优势在于无需对样品进行染色、标记, 是完全无损的细胞成像方法. 此后 Oldenbourg 等^[63]对偏振显微镜进行了发展完善, 提出优化成像参数, 并最终推出商用仪器 Abrio 成像系统. Abrio 系统适合测量细胞等散射效应不明显的样品, 通过获取双折射分布情况可以实现样品动力学过程的实时观察, 如细胞分裂等^[64-65]. 此外偏振显微还在海洋微生物学、化学等领域有广泛应用^[66-67]. 图 3 所示为 Abrio 显微镜测量海绵骨针所获结果, 海绵是海洋或淡水环境中的一种简单多细胞生物, 骨针相当于其骨架. 骨针形态是海绵分类的重要依据, 图 3 中可以看到不同位置的骨针具有不同的双折射分布.

最近针对散射效应明显的生物样品, 提出一些新的偏振显微参数和方法. 例如 Arteaga 等^[68]在穆勒矩阵成像系统中加入物镜, 实现了简单的高速穆勒矩阵显微成像系统, 可对 $1\sim 2\ \mu\text{m}$ 的样品进行成像. 本课题组研发了可用于商用光学显微镜的起偏、检偏模块, 通过在光学显微镜上加装这一模块, 即可获得包括普通光成像在内的大量信息, 由于偏振光对亚微米结构敏感, 这一系统适合观察细

胞内的变化.

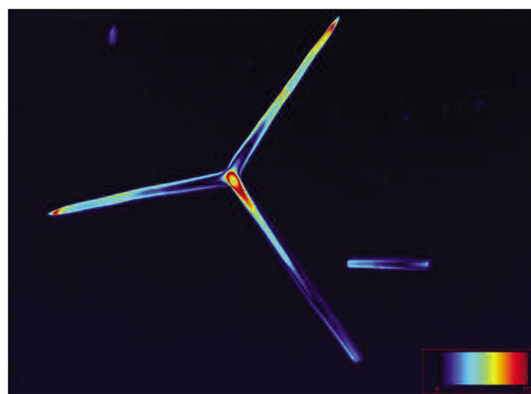


Fig. 3 Polarization microscopic imaging result of sponge spicule sample (40× magnification)

图 3 海绵骨针样品偏振显微相位延迟的大小分布(40 倍放大)

偏振显微方法作为一种非标记的细胞级成像手段具有广阔的应用空间, 目前商用的 Abrio 成像系统参数特异性较高, 通过测量双折射分布可获取结构信息, 适合研究细胞、海洋微生物等散射效应不明显的样品. 然而对于组织切片等散射退偏效应无法忽略的样品, 现有偏振显微参数将产生较大的误差. 因此对于生物医学诊断而言, 需要对现有偏振显微成像参数进行优化, 或者寻找更具特异性的显微成像指标.

2.5 穆勒矩阵

本文第 1 节已提到, 穆勒矩阵是适合生物医学研究的偏振表征方法. 穆勒矩阵包含了丰富的组织结构信息, 近年来穆勒矩阵相关的偏振成像方法被越来越多地用于生物医学研究.

2.5.1 穆勒矩阵成像

常用的穆勒矩阵成像方式有两种: 点光源照明(平行细光束照明)和面光源照明(宽场照明). 点光源照明穆勒矩阵成像适用于性质均匀的样品, 通过分析样品穆勒矩阵的空间二维强度分布特征, 可以了解其内部的结构和光学信息. Cameron 等^[69]最早利用蒙特卡洛模拟和小球悬浊液实验总结了点光源照明时各向同性体系背向散射穆勒矩阵的基本特征. 此后 Hielscher 等^[70]指出, 样品点光源照明背向穆勒矩阵空间二维分布特征能用于提取散射系数、散射颗粒大小等参量, 他们还特别提出 m_{44} 矩阵元强度的差异能用于区分癌变与正常组织. Rakovic 等^[71]通过比较模拟和实验结果总结了点光

源照明背向穆勒矩阵元与结构参数存在的可能关系。Cameron 等^[72]进一步研究了包含多种不同粒径的聚苯乙烯小球悬浊液穆勒矩阵的差异, 提出了获取每种颗粒散射系数的方法。Dillet 等^[73]则利用 m_{11} , m_{12} 与 m_{22} 阵元获得了散射体系的平均有效粒径。针对实际生物组织具有的不同特性, 提出多种组织模型并用来分析结构和光学参数与穆勒矩阵元之间的关系, 例如 Baravian 和 Wang 等^[74-76]分别研究了双折射大小对穆勒矩阵空间分布的作用。本研究组针对各向异性组织建立了球-柱偏振散射模型^[18], 在骨骼肌等组织上进行了验证^[19], 并进一步发展获得了包含双折射、旋光、柱上双折射等效应的复杂模型, 总结了各模型体系下点光源照明穆勒矩阵的特点, 提出了定量提取样品微观结构信息的参数和方法^[20-21]。点光源照明背向穆勒矩阵可用于某些组织检测, 例如 Itoh 等^[77]比较了含正常和破损红细胞的血液组织背向穆勒矩阵的差异, 显示出这一方法用于血液疾病诊断的可能性。Yao 和 Xia 等^[78-79]用点光源照明背向穆勒矩阵研究骨骼肌的肌节结

构, 并提出定量指标反映骨骼肌组织的生理变化。

分析点光源照明穆勒矩阵空间二维分布虽然可获得大量信息^[80], 但这一方法目前仅能用于处理性质均匀的样品, 对于大多数非均匀的生物组织而言, 面光源(宽场)照明成像更为合适。例如 Antonelli 等^[11]对人体肠癌组织进行了面光源照明背向穆勒矩阵测量, 并指出 m_{22} 和 m_{33} 阵元可用于区分癌变与正常区域, 此后他们提出了穆勒矩阵多波长成像概念, 分析了不同波长照明条件下正常与癌变组织穆勒矩阵的差异^[81-82]。利用蒙特卡洛模拟该小组指出小散射结构和吸收是造成癌变和正常组织偏振成像对比度差异的可能原因^[14, 83]。本研究组测量了具有不同微观结构组织的面光源照明背向穆勒矩阵, 总结了一些基本规律, 提出穆勒矩阵可帮助区分各向同性和各向异性组织, 了解各向异性的主要来源等^[84]。本研究组将面光源照明背向穆勒矩阵成像方法应用于不同类型的癌变组织^[17], 图 4 所示为皮肤基底细胞癌成像结果, 其中对角阵元 m_{22} , m_{33} 在癌变与正常组织上存在明显差异。

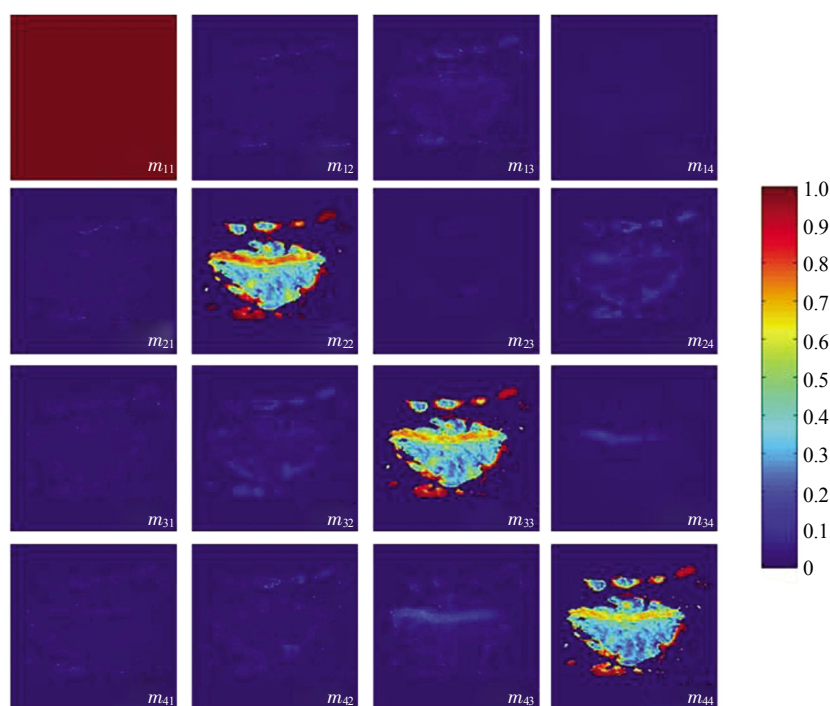


Fig. 4 Backscattering Mueller matrix imaging results of human basal cell carcinoma tissue

图 4 皮肤基底细胞癌组织背向穆勒矩阵成像结果

图中可以看到对角阵元值较大, 表明样品散射退偏效应明显, 且癌变与正常区域存在明显差异^[51]。

上述研究结果显示穆勒矩阵包含了大量组织微观结构信息, 具有应用于生物医学领域, 特别是

病变诊断的潜力。然而穆勒矩阵元物理意义不够明晰, 与微观结构无法对应等问题限制了特异性成像

参数的提取, 为了解决这一问题, 近年来多种基于穆勒矩阵的计算方法被提出, 例如穆勒矩阵分解和变换等.

2.5.2 穆勒矩阵分解

穆勒矩阵分解通过数学运算将穆勒矩阵转化为具有明确物理意义的参数, 目前应用最广泛的穆勒矩阵极化分解(mueller matrix polar decomposition, MMPD)于 1996 年由 Lu 和 Chipman 提出^[12], 该方法将介质的穆勒矩阵分解为 3 个基本子矩阵的乘积, 分别代表样品的二色性、相位延迟、散射退偏特性. 由于矩阵运算不具对易性, 上述子矩阵乘积的顺序会对穆勒矩阵分解结果产生影响, Ghosh 和 Morio 等^[85-86]对不同的分解顺序进行了分析, 结果表明 Lu-Chipman 分解具有物理意义, 适于生物医学研究. Azzam^[87]提出了另一种适用于部分偏振光在透明各向异性介质中传播过程的穆勒矩阵微分分解方法. 此后 Ortega 和 Ossikovski 等^[88-92]对该方法进行了修正使其能广泛用于各向异性介质. Ortega 等^[93]将穆勒矩阵微分分解与极化分解方法进行了对比, 并尝试将其用于背向成像结果的分析^[94]. 由于穆勒矩阵分解方法能获得具有明确物理意义的参数, 因此分解方法具有生物医学应用潜力. 本研究组通过模型、蒙特卡洛模拟和实验分析了组织中不同各向异性来源对穆勒矩阵分解参数的影响, 来源包括柱散射、柱上双折射、介质双折射等, 为应用提供了参考^[95-96]. Swami 等^[97]和 Ghosh 等^[98-99]考虑到实际测量中线偏振的便利性, 提出了仅使用 9 个穆勒矩阵元进行分解的方案^[97], 并分析了实验测量条件对分解结果可能产生的影响.

穆勒矩阵分解将介质的穆勒矩阵表示为如式(6)所示的 3 个基本子矩阵相乘形式:

$$M = M_D M_R M_\Delta \quad (6)$$

3 个子矩阵分别描述样品的二色性 D 、相位延迟 R 、散射过程 Δ , 通过进一步的数学运算即可获得介质的散射退偏、相位延迟、旋光、二色性大小和相位延迟方向等信息. Lu-Chipman 分解方法所获参数表达如式(7)~(10), 其详细推导过程可参见文献[12]:

$$M = M_{11} \begin{bmatrix} 1 & M_{12} & M_{13} & M_{14} \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{31} & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{41} & M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{bmatrix} \quad (7)$$

二色性定义为:

$$D = \sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2}, \quad (0 \leq D \leq 1) \quad (8)$$

散射退偏为:

$$\Delta = 1 - \frac{\text{tr}(m_\Delta)}{3}, \quad (0 \leq \Delta \leq 1) \quad (9)$$

线性相位延迟为:

$$\delta = \cos^{-1} \{ [(M_R(2,2) + M_R(3,3))^2 + (M_R(3,2) - M_R(2,3))^2]^{1/2} - 1 \} \quad (10)$$

穆勒矩阵分解通过数学方法获得了一组具有清晰物理学意义的参数, 提供了一种新的偏振成像方法. 尽管分解的数学过程基于透射方向建立, 然而对部分生物医学样品的成像结果显示, 背向穆勒矩阵分解成像同样具有区分病变组织的潜力. 例如 Chung 等^[100]将穆勒矩阵分解参数应用于口腔癌变组织检测; Wood 等^[101]发现穆勒矩阵分解参数可反映皮肤胶原纤维的破坏, 用于某些皮肤疾病的诊断; Pierangelo 等^[82]分析了肠癌组织的穆勒矩阵分解参数成像结果, 并指出散射退偏、相位延迟参数可帮助区分癌变和正常组织; Shukla 等^[102]发现穆勒矩阵分解参数具有宫颈癌早期诊断的潜力. 之后 Pierangelo 等^[10]指出穆勒矩阵分解参数可辅助区分处于不同病变阶段的宫颈上皮瘤组织; Wang 等^[103]利用 9 个线偏振相关穆勒矩阵元进行分解, 并将参数用于胃癌组织的定量检测; Qi 等^[104-105]则将线偏振相关穆勒矩阵分解与内窥结合用于动物在体消化道内病变成像.

本研究组将穆勒矩阵分解的散射退偏、相位延迟、二色性参数用于皮肤基底细胞癌、甲状腺乳头状腺癌、宫颈癌等组织(图 5), 结果表明, 对不同类型癌变, 上述参数具有不同成像对比度, 其中皮肤基底细胞癌组织中代谢相关细胞器密度增加使得散射退偏参数适合进行检测, 而甲状腺乳头状腺癌和宫颈癌的病理相关各向异性结构可反映于相位延迟参数上^[17,51].

综上所述, 穆勒矩阵分解通过数学方法将原本物理学意义不够明晰的穆勒矩阵元转化为具有物理学意义的参数, 并进一步与某些微观结构联系起来, 显示出在病变诊断方面的应用潜力. 现有研究表明, 穆勒矩阵分解方法适合于组织、细胞等各类样品, 其参数不受各向异性结构取向的影响. 穆勒矩阵分解方法目前还有需要进一步研究的问题, 例如其数学模型基于透射方向提出, 成像参数在背向散射方向定量分析的准确性还有待分析. 此外, 穆勒矩阵分解方法需要测量全部 16 个矩阵元, 因而对成像速度要求较高.

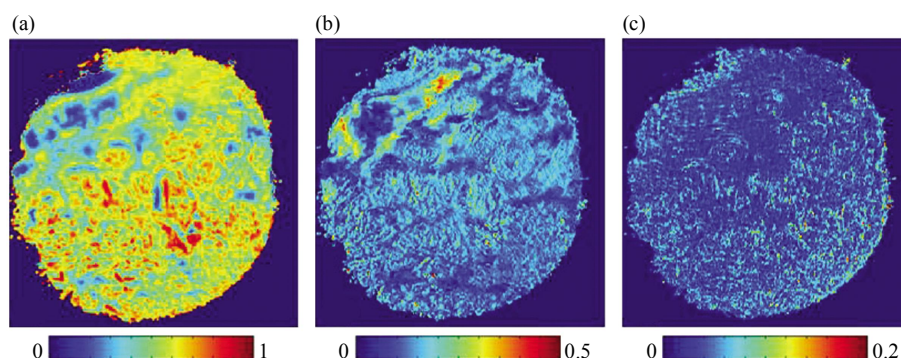


Fig. 5 Mueller matrix polar decomposition imaging results of human cervical carcinoma tissue

图 5 宫颈癌组织背向穆勒矩阵分解成像结果

(a) 散射退偏. (b) 相位延迟. (c) 二色性. 样品左上正常组织的相位延迟偏大, 散射退偏偏小^[51, 84].

2.5.3 穆勒矩阵变换

偏振光成像方法应用于生物组织时面临两大问题: 首先, 偏振图像中包含的大量结构信息难以提取; 其次, 偏振测量极易受到各向异性纤维状结构的影响, 而这类结构在生物组织中普遍存在. 为了获得反映组织样品微观结构的特征参数, 我们需要从穆勒矩阵等偏振表征量中分离提取与样品角度无关, 仅仅体现本征属性的成像指标. 在对各向异性样品进行的实验和模拟研究中, 本研究组发现样品的穆勒矩阵元随着纤维结构在成像面内取向变化表现出周期性的强度改变, 这种强度变化可被表达成三角函数的形式^[106]. 从强度周期性变化的矩阵元中可获得一组相互独立的参数, 如式(11)所示, 参数 A , b , t 均与样品在成像面内的取向无关, 而 x 参数体现了各向异性结构在成像面内的方向. 上述对穆勒矩阵进行的定量分析称为穆勒矩阵变换 (mueller matrix transformation, MMT)^[16].

$$\begin{cases}
 b = \frac{m_{22} + m_{33}}{2} \\
 t_1 = \frac{\sqrt{(m_{22} - m_{33})^2 + (m_{23} + m_{32})^2}}{2} \\
 A = \frac{2b \cdot t_1}{b^2 + t_1^2} = \frac{2 \cdot \frac{m_{22} + m_{33}}{2} \cdot \frac{\sqrt{(m_{22} - m_{33})^2 + (m_{23} + m_{32})^2}}{2}}{\left(\frac{m_{22} + m_{33}}{2}\right)^2 + \frac{(m_{22} - m_{33})^2 + (m_{23} + m_{32})^2}{4}} \quad (11) \\
 A \in [0, 1] \\
 \tan(2x) = \frac{m_{31}}{m_{21}}
 \end{cases}$$

穆勒矩阵变换参数与样品结构之间存在对应关系, 其中 A 参数反映样品各向异性程度: 当 A 接近 1 意味着纤维状结构完全有序排列, 当 A 接近 0 意味着体系为各向同性^[51]. 参数 b 与样品散射退偏和吸收均有关, 反映了小散射结构的变化: 当参数 b 较大时意味着体系的散射退偏较小, 小散射颗粒密度较大^[17]. 参数 x 可从不同阵元提取: 从 m_{22} , m_{33} 阵元获取的 x 具有较好的成像信噪比, 但是能区分的角度区间较小; 从 m_{12} , m_{21} , m_{13} , m_{31} 阵元获取的 x 能区分成像面内所有取向的纤维结构, 但是信噪比较低^[107]. 穆勒矩阵变换参数与微观结构之间明确的对应关系使其能用于不同领域, 例如纺织品的区分^[58].

目前穆勒矩阵变换参数已显示出病变组织检测潜力, 本研究组将参数用于皮肤基底细胞癌、甲状腺乳头状腺癌、宫颈癌、乳腺癌等组织, 发现 b 参数适合区分皮肤基底细胞癌变与正常组织, A 参数可显示甲状腺乳头状腺癌、宫颈癌癌变与正常组织间的区别^[17]. 利用模型和蒙特卡洛模拟研究我们发现, b 参数成像对比度主要来自于癌变与正常组织中代谢相关细胞器浓度的差异, A 参数成像对比度来自癌变产生的纤维增生或破坏^[51]. 图 6 所示为不同癌变组织穆勒矩阵变换参数成像结果, 这些结果表明穆勒矩阵变换参数具有生物医学应用的潜力.

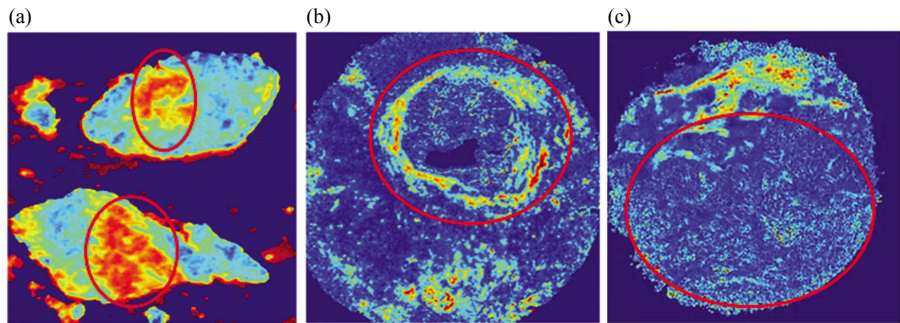


Fig. 6 Mueller matrix transformation imaging results of different cancerous tissues

图 6 不同癌变组织穆勒矩阵变换成像结果

(a) *b* 参数应用于皮肤基底细胞癌, 红色标记部分为癌变区域. (b) *A* 参数应用于甲状腺乳头状腺癌, 红色标记部分为癌变区域. (c) *A* 参数应用于宫颈癌, 红色标记部分为癌变区域^[17, 51].

表 1 总结了不同的偏振成像方法各自特点. 穆勒矩阵变换通过矩阵元之间的运算获得了一组不受各向异性结构取向影响的偏振成像参数, 并且所获参数具有明确物理学意义, 分别与样品各向异性程度、散射颗粒浓度、纤维取向等微观结构相关, 具有成为特异性诊断指标的能力. 穆勒矩阵变换参数的获得并不需要全部 16 个穆勒矩阵元, 因此成像速度更快. 目前穆勒矩阵变换方法还处于初步研究阶段, 未来尚有更多变换成像参数有待提出.

Table 1 Characteristic features of different polarization imaging techniques

表 1 不同偏振成像方法的特点

偏振成像方法	信息量	参数物理意义	各向异性取向影响	成像速度
偏振差, 偏振度	小	较清晰	是	快
旋转线偏振	大	清晰	否	慢
穆勒矩阵成像	大	不清晰	是	慢
穆勒矩阵分解	大	清晰	否	慢
穆勒矩阵变换	大	清晰	否	快

2.5.4 偏振成像参数的穆勒矩阵表示

穆勒矩阵包含了样品的全部偏振信息, 因此偏振成像参数均可通过穆勒矩阵元表示, 这意味着获得样品的穆勒矩阵相当于获得了全部偏振成像指标. 例如偏振差的穆勒矩阵表达如式(12)所示:

$$DP=m_{21}+m_{22} \tag{12}$$

偏振度的穆勒矩阵表达如式(13)所示:

$$DOP=\frac{m_{21}+m_{22}}{m_{11}+m_{12}} \tag{13}$$

旋转线偏振参数的穆勒矩阵表达如式(14)所示:

$$\left\{ \begin{array}{l} B=(m_{22}^2+m_{23}^2+m_{32}^2+m_{33}^2)/2; \\ A=\sqrt{B^2-(m_{22}m_{33}-m_{23}m_{32})^2} \\ C=\sqrt{m_{21}^2+m_{31}^2} \\ \tan\phi_3=m_{31}/m_{21} \end{array} \right. \tag{14}$$

穆勒矩阵表达形式的偏振成像参数揭示出一种广义的穆勒矩阵变换概念, 即穆勒矩阵变换包含 2.5.3 节所述的过程但并不限于, 通过选择不同的变换方式可从穆勒矩阵中提取体现介质不同结构和光学信息的偏振参数. 穆勒矩阵变换不仅包含了上述所有偏振成像方法, 同时还能获得更多特异性成像指标.

2.6 偏振与其他光学成像方法结合

偏振方法与现有光学方法兼容, 通过在现有光学方法中加入适合的偏振器件就可实现偏振成像和探测. 此外偏振方法可提供丰富的微观结构信息, 并提高浅表组织成像质量, 因此偏振方法被普遍用于与其他光学方法结合, 包括偏振光散射谱、偏振敏感光学相干层析、偏振荧光、偏振二次谐波、偏振共聚焦显微技术等.

Perelman 等^[108]基于光散射信号提出了光散射谱(light-scattering spectroscopy, LSS)方法, LSS 方法可区分表层上皮组织细胞核单次与多次信号, 提供细胞核大小、形态、染色质含量等信息, 为相关疾病的定量诊断提供了可能. Gurjar 等^[2, 6]将偏振和 LSS 方法结合, 形成了偏振光散射谱方法, 提高了浅层组织检测的准确性. 该方法已形成临床装置用于皮肤、食道等病变的诊断. 偏振敏感光学相干层析技术(polarization sensitive optical coherent tomography, PS-OCT)是将偏振与光学相干层析 OCT 结合形成的功能性 OCT 成像技术^[109], PS-OCT 不仅能得到传统 OCT 层析图像, 还能得到背向反射光偏振状态随穿透深度的改变情况. Jiao 等^[110-111]将 PS-OCT 用于烧伤皮肤成像, 获得了比传统 OCT 更好的成像对比度, 本课题组利用 PS-OCT 分析了肌肉、肌腱等组织双折射特性与结构的关系^[112]. 目前 PS-OCT 在牙齿、皮肤、骨骼、眼睛等相关病变检测方面都有所应用^[113-115]. 偏振荧光成像(fluorescence polarization imaging, FPI)利用偏振光激发荧光分子, 并检测荧光偏振状态变化^[116]. 荧光的偏振特性与样品信息密切相关, 因此可用于获取样品特征. Anderson 等^[49-50]利用荧光偏振度界定皮肤基底细胞癌组织边界. 本课题组基于双光子荧光显微成像系统获得了偏振荧光成像显微镜^[117]. 目前偏振荧光方法在生物膜测量、蛋白质、DNA 分子间相互作用等领域都得到了应用^[118]. 偏振二次谐波(polarization dependent optical second harmonic imaging)将二次谐波成像与偏振结合, 具有高空间分辨率、高成像深度、非标记、无损伤等特点^[119]. Stoller 等^[120]发现偏振二次谐波成像能获得鼠尾胶原纤维的结构信息, 并将该方法用于分析肌腱中胶原纤维的取向^[121].

目前在生物医学特别是病变诊断方面, 偏振显微及偏振内窥技术是较有潜力的方法. 将穆勒矩阵变换等参数与病理显微技术结合, 将获得组织丰富的结构信息, 有望为病理医生的诊断提供辅助. 而偏振内窥作为一种无损检测技术, 适合对人体器官内表面上皮病变进行诊断, 为组织活检等提供帮助.

3 展 望

近年来, 偏振光散射成像方法由于其具有的无标记、低损伤、潜在信息量巨大并对亚波长微观结构敏感等独特优势已经引起越来越广泛的关注, 并在生物医学领域显示出巨大的应用潜力. 偏振光学

方法同现有非偏振光学技术在硬件上兼容, 可以通过在现有装置上增加偏振器件, 在不明显改变光路设置前提下进行升级. 随着新型光源、偏振器件、检测方法和计算芯片的出现, 偏振光成像系统将有望变得更加小型、快速、低成本、应用方便, 能够适合于生物医学不同领域的实际需求. 然而, 偏振方法在走向成功应用之前还有一些急需解决的关键问题: 首先, 目前已知的偏振参数多种多样, 但大多缺少与微观结构或病理诊断指标之间的明确对应关系. 以穆勒矩阵为例, 其 16 个矩阵元完备表征样品的偏振光学特性, 并具有组合形成海量新参数的可能. 如何对所获大量偏振测量数据进行更有效、更细致的分类和解释, 并面向具体应用, 例如特定种类的癌症寻找针对病变结构的特异性偏振参量就变得至关重要, 决定了偏振成像方法的应用前景. 这需要发展更加合理的偏振光散射模型, 使其微观和宏观结构都更加接近真实的生物组织, 并可根据实际情况进行灵活调整. 利用急剧提升的计算机模拟和数据分析处理能力, 破解偏振光散射与组织微观结构之间复杂关系, 寻找特异性偏振参量. 另一方面, 小型、快速、低成本、操作简单的偏振成像系统将迅速改善不同种类病变组织数据的收集效率, 急剧扩充临床样本数据库, 使我们有可能利用正在迅速发展的大数据技术, 采用合适的统计分析手段, 从实验数据中寻找偏振敏感特异性检测指标, 并最终结合生物组织偏振散射模型与计算模拟结果, 形成具有特异性的偏振成像病理诊断方法. 如何实现生物组织偏振的准确测量是另一个亟待解决的问题. 由于偏振指标对于样品的微观结构和光学特性变化非常敏感, 并且穆勒矩阵的各个阵元之间、偏振图像不同像素之间存在强烈关联, 偏振成像装置的优化和校准对偏振测量的灵敏度和准确性影响很大, 需要通过优化仪器矩阵设计使得输出的偏振参数如穆勒矩阵的误差尽可能低, 并利用偏振性质已知的样品确定成像装置的偏振校准矩阵. 此外偏振成像通常需要对多个光强图进行计算, 图像对准对于偏振测量质量影响很大. 针对悬浮的细胞、微生物等样品, 缩短偏振分量测量时间差或发展同时性偏振测量方法也变得非常重要, 而如何通过同时性测量和时间关联运算获得生物体系动力学信息, 正在成为偏振成像研究的热点问题. 最近几年, 古老的光学领域不断产生新的突破, 光源(2014 年 LED), 光路器件(2009 年光纤), 探测器(2009 年 CCD)和成像方法(2014 年超分辨)所代表

的整个光学方法各个环节接连获得诺贝尔奖, 新型光源、偏振调控器件、探测器和运算芯片层出不穷, 新的偏振测量原理、测量方法、数据处理技术和大数据分析技术快速发展, 预示着偏振光成像技术在生物医学领域具有十分光明的发展前景。

参 考 文 献

- [1] Ghosh N, Vitkin I A. Tissue polarimetry: concepts, challenges, applications, and outlook. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, **16**(11): 110801
- [2] Qiu L, Pleskow D K, Chuttani R, *et al.* Multispectral scanning during endoscopy guides biopsy of dysplasia in Barrett's esophagus. *Nature Medicine*, 2010, **16**(15): 603–607
- [3] Socas-Navarro H, Bueno J T, Cobo B R. Anomalous polarization profiles in sunspots: possible origin of umbral flashes. *Science*, 2000, **288**(5470): 1396–1398
- [4] Cui X, Rohl A L, Shtukenberg A, *et al.* Twisted aspirin crystals. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, **135**(9): 3395–3398
- [5] Wang L, Ho P P, Liu C, *et al.* Ballistic 2-D imaging through scattering walls using an ultrafast optical Kerr gate. *Science*, 1991, **253**(5021): 769–771
- [6] Gurjar R S, Backman V, Perelman L T, *et al.* Imaging human epithelial properties with polarized light-scattering spectroscopy. *Nature Medicine*, 2001, **7**(11): 1245–1248
- [7] Backman V, Wallace M B, Perelman L T, *et al.* Detection of preinvasive cancer cells. *Nature*, 2000, **406**(6791): 35–36
- [8] Anderson R R. Polarized light examination and photography of the skin. *Archives of Dermatology*, 1991, **127**(7): 1000–1005
- [9] Jacques S L, Ramella-Roman J C, Lee K. Imaging skin pathology with polarized light. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, **7**(3): 320–340
- [10] Pierangelo A, Nazac A, Benali A, *et al.* Polarimetric imaging of uterine cervix: a case study. *Optics Express*, 2013, **21**(12): 14120–14130
- [11] Antonelli M R, Pierangelo A, Novikova T, *et al.* Mueller matrix imaging of human colon tissue for cancer diagnostics: how Monte Carlo modeling can help in the interpretation of experimental data. *Optics Express*, 2010, **18**(10): 10200–10208
- [12] Lu S Y, Chipman R A. Interpretation of Mueller matrix based on polar decomposition. *Journal of the Optical Society of America A*, 1996, **13**(5): 1106–1113
- [13] Pierangelo A, Manhas S, Benali A, *et al.* Multispectral Mueller polarimetric imaging detecting residual cancer and cancer regression after neoadjuvant treatment for colorectal carcinomas. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, **18**(4): 046014
- [14] Novikova T, Pierangelo A, Manhas S, *et al.* The origins of polarimetric image contrast between healthy and cancerous human colon tissue. *Applied Physics Letters*, 2013, **102**(24): 241103
- [15] 蒋啸宇, 曾 楠, 何永红, 等. 基于旋转偏振角的线偏振扫描成像方法研究. *生物化学与生物物理进展*, 2007, **34**(6): 659–663
- Jiang X Y, Zeng N, He Y H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2007, **34**(6): 659–663
- [16] He H, Zeng N, Du E, *et al.* A possible quantitative Mueller matrix transformation technique for anisotropic scattering media. *Photonics & Lasers in Medicine*, 2013, **2**(2): 129–137
- [17] Du E, He H, Zeng N, *et al.* Mueller matrix polarimetry for differentiating characteristic features of cancerous tissues. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, **19**(7): 076013
- [18] Yun T, Zeng N, Li W, *et al.* Monte Carlo simulation of polarized photon scattering in anisotropic media. *Optics Express*, 2009, **17**(19): 16590–16602
- [19] He H, Zeng N, Liao R, *et al.* Application of sphere-cylinder scattering model to skeletal muscle. *Optics Express*, 2010, **18**(14): 15104–15112
- [20] Du E, He H, Zeng N, *et al.* Two-dimensional backscattering Mueller matrix of sphere-cylinder birefringence media. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, **17**(12): 126016
- [21] Du E, He H, Zeng N, *et al.* Characteristic features of Mueller matrix patterns for polarization scattering model of biological tissues. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2014, **7**(1): 1350028
- [22] 梁铨廷. *物理光学*. 北京: 机械工业出版社, 1983
- Liang Q. *Physical Optics*. Beijing: China Machine Press, 1983
- [23] 廖延彪. *偏振光学*. 北京: 科学出版社, 2003
- Liao Y B. *Polarization Optics*. Beijing: Science Press, 2003
- [24] Bickel W S, Davidson J F, Huffman D R, *et al.* Application of polarization effects in light scattering: a new biophysical tool. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1976, **73**(2): 486–490
- [25] 徐可欣, 高 峰, 赵会娟. *生物医学光子学*. 北京: 科学出版社, 2007
- Xu K X, Gao F, Zhao H J. *Biomedical Photonics*. Beijing: Science Press, 2007
- [26] 李 伟, 云天梁, 何宏辉, 等. 偏振光在散射介质中的传播与成像. *中国科学 G*, 2007, **37**: 94–100
- Li W, Yun T L, He H H, *et al.* *Scientia Sinica Physica, Mechanica & Astronomica*, 2007, **37**: 94–100
- [27] Shao H, He Y, Li W, *et al.* Polarization-degree imaging contrast in turbid media: a quantitative study. *Applied Optics*, 2006, **45**(18): 4491–4496
- [28] Schmitt J M, Gandjbakhche A H, Bonner R F. Use of polarized light to discriminate short-path photons in a multiply scattering medium. *Applied Optics*, 1992, **31**(30): 6535–6546
- [29] Dogariu M, Asakura T. Polarization-dependent backscattering patterns from weakly scattering media. *Journal of Optics*, 1993, **24**(6): 271–278
- [30] Morgan S P, Khong M P, Somekh M G. Effects of polarization state and scatterer concentration on optical imaging through scattering media. *Applied Optics*, 1997, **36**(7): 1560–1565
- [31] Emile O, Bretenaker F, Floch A L. Rotating polarization imaging in turbid media. *Optics Letters*, 1996, **21**(20): 1706–1708
- [32] Mackintosh F C, Zhu J X, Pine D J, *et al.* Polarization memory of multiply scattered light. *Physical Review B*, 1989, **40**(13): 9342–

- 9345
- [33] Bicout D, Brosseau C, Martinez A S, *et al.* Depolarization of multiply scattered waves by spherical diffusers: influence of the size parameter. *Physical Review E*, 1994, **49**(2): 1767–1770
- [34] Hielscher A H, Mourant J R, Bigio I J. Influence of particle size and concentration on the diffuse backscattering of polarized light from tissue phantoms and biological cell suspensions. *Applied Optics*, 1997, **36**(1): 125–135
- [35] Ghosh N, Patel H S, Gupta P K. Depolarization of light in tissue phantoms-effect of a distribution in the size of scatterers. *Optics Express*, 2003, **11**(18): 2198–2205
- [36] Chang P C, Flitton J C, Hopcraft K I, *et al.* Improving visibility depth in passive underwater imaging by use of polarization. *Applied Optics*, 2003, **42**(15): 2794–2803
- [37] Schechner Y Y, Karpel N. Recovery of underwater visibility and structure by polarization analysis. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*, 2005, **30**(3): 570–587
- [38] Nothdurft R, Yao G. Expression of target optical properties in subsurface polarization-gated imaging. *Optics Express*, 2005, **13**(11): 4185–4195
- [39] Kartazayeva S A, Ni X, Alfano R R. Backscattering target detection in a turbid medium by use of circularly and linearly polarized light. *Optics Letters*, 2005, **30**(10): 1168–1170
- [40] Yang P, Wei H L, Kattawar G W, *et al.* Sensitivity of the backscattering Mueller matrix to particle shape and thermodynamic phase. *Applied Optics*, 2003, **42**(21): 4389–4395
- [41] Jallion F, Saint-James H. Scattering coefficient determination in turbid media with backscattered polarized light. *Journal of Biomedical Optics*, 2005, **10**(3): 034016
- [42] Wang X, Yao G, Wang L H. Monte Carlo model and single-scattering approximation of the propagation of polarized light in turbid media containing glucose. *Applied Optics*, 2002, **14**(4): 792–801
- [43] Mehrubeoglu M, Kehtarnavaz N, Rastegar S, *et al.* Effect of molecular concentrations in tissue-simulating phantoms on images obtained using diffuse reflectance polarimetry. *Optics Express*, 1998, **3**(7): 286–297
- [44] Sankaran V, Joseph T W, Duncan J M. Polarized light propagation through tissue phantoms containing densely packed scatterers. *Optics Letters*, 2000, **25**(4): 239–241
- [45] Kunnen B, Macdonald C, Doronin A, *et al.* Application of circularly polarized light for non-invasive diagnosis of cancerous tissues and turbid tissue-like scattering media. *Journal of Biophotonics*, DOI: 10.1002/jbio.201400104
- [46] Mourant J R, Freyer J P, Hielscher A H, *et al.* Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics. *Applied Optics*, 1998, **37**(16): 3586–3593
- [47] Demos S G, Radousky H B, Alfano R R. Deep subsurface imaging in tissues using spectral and polarization filtering. *Optics Express*, 2000, **7**(1): 23–28
- [48] Demos S G, Alfano R R. Optical polarization imaging. *Applied Optics*, 1997, **36**(1): 150–155
- [49] Yaroslavsky A N, Neel V, Anderson R R. Fluorescence polarization imaging for delineating nonmelanoma skin cancers. *Optics Letters*, 2004, **29**(17): 2010–2012
- [50] Yaroslavsky A N, Salomatina E V, Neel V, *et al.* Fluorescence polarization of tetracycline derivatives as a technique for mapping nonmelanoma skin cancers. *Journal of Biomedical Optics*, 2007, **12**(1): 014005
- [51] 杜 娥. 偏振散射特征定量检测与组织病变诊断机理研究[D]. 北京: 清华大学物理系, 2014
- Du E. A Study on Quantitative Polarization Characterization of Tissues for Diagnosis Applications [D]. Beijing: Tsinghua University, 2014
- [52] Jacques S L, Ramella-Roman J C, Lee K. Imaging superficial tissues with polarized light. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2000, **26**(2): 119–129
- [53] Jacques S L, Samantham R, Isenath S, *et al.* Polarized light camera to guide surgical excision of skin cancers. *Proceedings of SPIE*, 2008, **6842**: 68420I
- [54] Ramella-Roman J C, Lee K, Prah S A, *et al.* Design, testing, and clinical studies of a handheld polarized light camera. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, **9**(6): 1305–1310
- [55] Jiang X, Ma H, He Y. Linearly polarized light imaging method and device. U.S. Patent No. 8,447,079. 21 May 2013
- [56] Liao R, Zeng N, Jiang X, *et al.* Rotating linear polarization imaging for quantitative characterization of anisotropic tissues. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, **15**(3): 036014
- [57] Zeng N, Jiang X, Gao Q, *et al.* Linear polarization difference imaging and its potential applications. *Applied Optics*, 2009, **48**(35): 6734–6739
- [58] Sun M, He H, Zeng N, *et al.* Probing microstructural information of anisotropic scattering media using rotation independent polarization parameters. *Applied Optics*, 2014, **53**(14): 2949–2955
- [59] Li D, He H, Zeng N, *et al.* Polarization imaging and scattering model of cancerous liver tissues. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2013, **6**(3): 1350025
- [60] Liao R, Zeng N, Li D, *et al.* Penetration depth of linear polarization imaging for two-layer anisotropic samples. *Applied Optics*, 2011, **50**(23): 4681–4687
- [61] Oldenbourg R, Mei G. New polarized light microscope with precision universal compensator. *Journal of Microscopy*, 1995, **180**(2): 140–147
- [62] Oldenbourg R. A new view on polarization microscopy. *Nature*, 1996, **381**(6585): 811–812
- [63] Oldenbourg R. Polarized light microscopy: principles and practice. Cold Spring Harbor Protocols, 2013, pdb-top078600
- [64] Wang W H, Meng L, Hackett R J, *et al.* Developmental ability of human oocytes with or without birefringent spindles imaged by Polscope before insemination. *Human Reproduction*, 2001, **16**(7): 1464–1468
- [65] Liu L, Oldenbourg R, Trimarchi J R, *et al.* A reliable, noninvasive technique for spindle imaging and enucleation of mammalian oocytes. *Nature Biotechnology*, 2000, **18**(2): 223–225

- [66] Tugulu S, Harms M, Fricke M, *et al.* Polymer brushes as ionotropic matrices for the directed fabrication of microstructured calcite thin films. *Angewandte Chemie International Edition*, 2006, **45** (44): 7458–7461
- [67] Jaffé L F. Marine plants may polarize remote *Fucus* eggs *via* luminescence. *The Biological Bulletin*, 2004, **207**(2): 160–160
- [68] Arteaga O, Baldris M, Anto J, *et al.* Mueller matrix microscope with a dual continuous rotating compensator setup and digital demodulation. *Applied Optics*, 2014, **53**(10): 2236–2245
- [69] Cameron B D, Rakovic M J, Mehrubeoglu M, *et al.* Measurement and calculation of the two-dimensional backscattering Mueller matrix of a turbid medium. *Optics Letters*, 1998, **23**(7): 485–487
- [70] Hielscher A H, Eick A A, Mourant J R, *et al.* Diffuse backscattering Mueller matrices of highly scattering media. *Optics Express*, 1997, **1**(13): 441–453
- [71] Rakovic M J, Kattawar G W, Mehrubeoglu M, *et al.* Light backscattering polarization patterns from turbid media: theory and experiment. *Applied Optics*, 1999, **38**(15): 3399–3408
- [72] Cameron B D, Li Y, Nezhuvungal A. Determination of optical scattering properties in turbid media using Mueller matrix imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, **11**(5): 054031
- [73] Dillet J, Baravian C, Caton F, *et al.* Size determination by use of two-dimensional Mueller matrices backscattered by optically thick random media. *Applied Optics*, 2006, **45**(19): 4669–4678
- [74] Baravian C, Dillet J, Decruppe J P. Birefringence determination in turbid media. *Physical Review E*, 2007, **75**(3): 032501
- [75] Wang X D, Wang L H. Propagation of polarized light in birefringent turbid media: a Monte Carlo study. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, **7**(3): 279–290
- [76] Wang X D, Wang L H. Propagation of polarized light in birefringent turbid media: time-resolved simulations. *Optics Express*, 2001, **9**(5): 254–259
- [77] Itoh M, Yamanari M, Yasuno Y, *et al.* Polarization characteristics of multiple backscattering in human blood cell suspensions. *Optical and Quantum Electronics*, 2005, **37**(13–15): 1277–1285
- [78] Ranasinghesagara J C, Yao G. Imaging 2D optical diffuse reflectance in skeletal muscle. *Optics Express*, 2007, **15** (7): 3998–4007
- [79] Xia J, Weaver A, Gerrard D E, *et al.* Monitoring sarcomere structure changes in whole muscle using diffuse light reflectance. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, **11**(4): 040504
- [80] He H, Zeng N, Li W, *et al.* Two-dimensional backscattering Mueller matrix of sphere-cylinder scattering medium. *Optics Letters*, 2010, **35**(14): 2323–2325
- [81] Pierangelo A, Benali A, Antonelli M R, *et al.* *Ex-vivo* characterization of human colon cancer by Mueller polarimetric imaging. *Optics Express*, 2011, **19**(2): 1582–1593
- [82] Pierangelo A, Manhas S, Benali A, *et al.* *Ex vivo* photometric and polarimetric multilayer characterization of human healthy colon by multispectral Mueller imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, **17**(6): 066009
- [83] Antonelli M R, Pierangelo A, Novikova T, *et al.* Impact of model parameters on Monte Carlo simulations of backscattering Mueller matrix images of colon tissue. *Biomedical Optics Express*, 2011, **2**(7): 1836–1851
- [84] Sun M, He H, Zeng N, *et al.* Characterizing the microstructures of biological tissues using Mueller matrix and transformed polarization parameters. *Biomedical Optics Express*, 2014, **5**(12): 4223–4234
- [85] Morio J, Goudail F. Influence of the order of diattenuator, retarder, and polarizer in polar decomposition of Mueller matrices. *Optics Letters*, 2004, **29**(19): 2234–2236
- [86] Ghosh N, Wood M F G, Vitkin I A. Influence of the order of the constituent basis matrices on the Mueller matrix decomposition-derived polarization parameters in complex turbid media such as biological tissues. *Optics Communications*, 2010, **283** (6): 1200–1208
- [87] Azzam R M A. Propagation of partially polarized light through anisotropic media with or without depolarization: A differential 4×4 matrix calculus. *Journal of the Optical Society of America*, 1978, **68**(12): 1756–1767
- [88] Ortega-Quijano N, Arce-Diego J L. Depolarizing differential Mueller matrices. *Optics Letters*, 2011, **36**(13): 2429–2431
- [89] Ortega-Quijano N, Arce-Diego J L. Mueller matrix differential decomposition. *Optics Letters*, 2011, **36**(10): 1942–1944
- [90] Ossikovski R. Differential matrix formalism for depolarizing anisotropic media. *Optics Letters*, 2011, **36**(12): 2330–2332
- [91] Ossikovski R. Retrieval of a nondepolarizing estimate from an experimental Mueller matrix through virtual experiment. *Optics Letters*, 2012, **37**(4): 578–580
- [92] Ossikovski R. Differential and product Mueller matrix decompositions: a formal comparison. *Optics Letters*, 2012, **37**(2): 220–222
- [93] Ortega-Quijano N, Haj-Ibrahim B, Garcia-Caurel E, *et al.* Experimental validation of Mueller matrix differential decomposition. *Optics Express*, 2012, **20**(2): 1151–1163
- [94] Kumar S, Purwar H, Ossikovski R, *et al.* Comparative study of differential matrix and extended polar decomposition formalisms for polarimetric characterization of complex tissue-like turbid media. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, **17**(10): 105006
- [95] Guo Y, Liu C, Zeng N, *et al.* Study on retardance due to well-ordered birefringent cylinders in anisotropic scattering media. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, **19**(6): 065001
- [96] Guo Y, Zeng N, He N, *et al.* A study on forward scattering Mueller matrix decomposition in anisotropic medium. *Optics Express*, 2013, **21**(15): 18361–18370
- [97] Swami M K, Manhas S, Buddhiwant P, *et al.* Polar decomposition of 3×3 Mueller matrix: a tool for quantitative tissue polarimetry. *Optics Express*, 2006, **14**(20): 9324–9337
- [98] Ghosh N, Wood M F G, Vitkin I A. Mueller matrix decomposition for extraction of individual polarization parameters from complex turbid media exhibiting multiple scattering, optical activity, and linear birefringence. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, **13** (4): 044036

- [99] Ghosh N, Wood M F G, Vitkin I A. Polarimetry in turbid, birefringent, optically active media: A Monte Carlo study of Mueller matrix decomposition in the backscattering geometry. *Journal of Applied Physics*, 2009, **105**(10): 102023
- [100] Chung J R, Jung W Y, Hammer-Wilson M J, *et al.* Use of polar decomposition for the diagnosis of oral precancer. *Applied Optics*, 2007, **46**(15): 3038–3045
- [101] Wood M F G, Ghosh N, Vitkin I A, *et al.* Proof-of-principle demonstration of a Mueller matrix decomposition method for polarized light tissue characterization *in vivo*. *Journal of Biomedical Optics*, 2009, **14**(1): 014029
- [102] Shukla P, Pradhan A. Mueller decomposition images for cervical tissue: Potential for discriminating normal and dysplastic states. *Optics Express*, 2009, **17**(3): 1600–1609
- [103] Wang W, Lim L G, Srivastava S, *et al.* Roles of linear and circular polarization properties and effect of wavelength choice on differentiation between *ex vivo* normal and cancerous gastric samples. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, **19**(4): 046020
- [104] Qi J, Ye M, Singh M, *et al.* Narrow band 3×3 Mueller polarimetric endoscopy. *Biomedical Optics Express*, 2013, **4**(11): 2433–2449
- [105] Qi J, Barrière C, Wood T C, *et al.* Polarized multispectral imaging in a rigid endoscope based on elastic light scattering spectroscopy. *Biomedical Optics Express*, 2012, **3**(9): 2087–2099
- [106] He H, Zeng N, Du E, *et al.* Two-dimensional and surface backscattering Mueller matrices of anisotropic sphere-cylinder scattering media: a quantitative study of influence from fibrous scatterers. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, **18**(4): 046002
- [107] He H, Sun M, Zeng N, *et al.* Mapping local orientation of aligned fibrous scatterers for cancerous tissues using backscattering Mueller matrix imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, **19** (10): 106007
- [108] Perelman L T, Backman V, Wallace M, *et al.* Observation of periodic fine structure in reflectance from biological tissues: a new technique for measuring nuclear size distribution. *Physical Review Letters*, 1998, **80**(3): 627–630
- [109] Hee M R, Huang D, Swanson E A, *et al.* Polarization-sensitive low-coherence reflectometer for birefringence characterization and ranging. *Journal of the Optical Society of America B*, 1992, **9**(6): 903–908
- [110] Jiao S L, Wang L H. Two-dimensional depth-resolved Mueller matrix of biological tissue measured with double-beam polarization-sensitive optical coherence tomography. *Optics Letters*, 2001, **27**(2): 101–103
- [111] Jiao S L, Yu W, Stoica G, *et al.* Contrast Mechanisms in polarization-sensitive Mueller-matrix optical coherence tomography and Application in burn imaging. *Applied Optics*, 2003, **42**(25): 5191–5197
- [112] 阳利锋, 曾楠, 陈东胜. 偏振敏感光学相干层析对鸡肉组织两种变质过程的表征. *中国激光*, 2011, **38**(12): 1204002
Yang L F, Zeng N, Chen D S. *Chin J Lasers*, 2011, **38**(12): 1204002
- [113] Fried D, Xie J, Shafi S, *et al.* Imaging caries lesions and lesion progression with polarization sensitive optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, **7**(4): 618–627
- [114] Yamanari M, Miura M, Makita S, *et al.* Phase retardation measurement of retinal nerve fiber layer by polarization-sensitive spectral-domain optical coherence tomography and scanning laser polarimetry. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, **13**(1): 014013
- [115] Xie T, Guo S, Zhang J, *et al.* Use of polarization-sensitive optical coherence tomography to determine the directional polarization sensitivity of articular cartilage and meniscus. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, **11**(6): 064001
- [116] Chocovich W J, Bolger R E, Burke T. Fluorescence polarization-a new tool for cell and molecular biology. *Nature*, 1995, **375**(6528): 254–256
- [117] Li W, Wang Y, Shao H, *et al.* Probing rotation dynamics of biomolecules using polarization based fluorescence microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 2007, **70**(4): 390–395
- [118] Lundblad J R, Laurance M, Goodman R H. Fluorescence polarization analysis of protein-DNA and protein-protein interactions. *Molecular Endocrinology*, 1996, **10**(6): 607–612
- [119] Fine S, Hansen W P. Optical second harmonic generation in biological systems. *Applied Optics*, 1971, **10**(10): 2350–2353
- [120] Stoller P, Kim B M, Rubenchik A M, *et al.* Polarization-dependent optical second-harmonic imaging of a rat-tail tendon. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, **7**(2): 205–214
- [121] Stoller P, Reiser K M, Celliers P M, *et al.* Polarization-modulated second harmonic generation in collagen. *Biophysical Journal*, 2002, **82**(6): 3330–3342

Progresses of Polarization Imaging Techniques and Their Applications in Cancer Detections*

HE Hong-Hui¹⁾, ZENG Nan¹⁾, LIAO Ran¹⁾, MA Hui^{1,2)**}

¹⁾ Shenzhen Key Laboratory for Minimal Invasive Medical Technologies, Institute of Optical Imaging and Sensing, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China;

²⁾ Department of Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract Polarization imaging techniques are capable of probing the structural and optical properties of anisotropic turbid media. These techniques are compatible in optical layout with the corresponding none polarized optical techniques, but can provide far richer micro structural information of the complex samples, especially the structures in the sub-wavelength scale. As a label-free, non-destructive method, polarization imaging has shown many potential applications in biomedical studies and clinical practices. In this paper, we present a brief introduction on different existing polarization imaging techniques including the difference polarization (DP), degree of polarization (DOP), rotating linear polarization imaging (RLPI), polarization microscopy and Mueller matrix imaging. Moreover, we summarize the recent progresses of these polarization imaging techniques being applied in biomedical studies and clinical practices, such as detection and diagnosis of different cancers. The Mueller matrix provides the comprehensive representation of the polarization properties which are closely linked to the micro structure of the tissues. We present the recent studies in Mueller matrix polar decomposition (MMPD) and Mueller matrix transformation (MMT) to extract from the Mueller matrix elements groups of new polarization parameters with clearer physics meanings or more explicit connections to the structural features. The MMPD parameters, which reflect the depolarization, retardance and diattenuation properties of samples, and the MMT parameters, which are closely related to the anisotropy and density of sub wavelength small scatterers, are applied to characterize the distinctive features of human skin basal carcinoma, papillary thyroid carcinoma and cervix cancer in clinical samples. With the rapid technological advances in the light sources, polarization modulation optics, detectors and processors, polarization imaging devices are likely to be made smaller, faster, cheaper and easier to operate, which will open up new frontiers in biomedical studies and clinical applications.

Key words polarization, scattering, biomedical studies, imaging techniques, Mueller matrix

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0034

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (11174178, 11374179, 10974114, 60778044, 60578003, 61205199, 61405102, 41106034), and The Science and Technology Project of Shenzhen (CXZZ20140509172959978).

**Corresponding author.

Tel: 86-755-26036238, E-mail: mahui@tsinghua.edu.cn

Received: January 29, 2015 Accepted: March 4, 2015