

基于 X 射线光栅相位衬度的鲫鱼无损成像研究

冯大敏, 胡仁芳, 王圣浩, 高昆, 潘志云

(中国科学技术大学国家同步辐射实验室, 安徽合肥 230029)

摘要: 近年来, 光栅相位衬度成像成为当前 X 射线成像学界的研究热点, 因其与传统 X 光源的高度兼容性而被认为是未来临床医学无损诊断的关键技术. 与现有 X 射线吸收衬度成像技术相比, 相位衬度成像技术对软组织具有不可替代的分辨能力. 基于几何投影的 X 射线光栅相位衬度成像技术, 无损研究了本地鲫鱼的鱼体结构, 利用福尔马林溶液处理样品, 发现成像结果清楚地显示出鱼肠组织的结构. 这是第一次利用 X 射线光栅相位衬度成像技术观察到鱼肠组织.

关键词: X 射线光栅相位成像; 鲫鱼; 信息分离

中图分类号: O434 **文献标识码:** A doi: 10.3969/j.issn.0253-2778.2017.11.007

引用格式: 冯大敏, 胡仁芳, 王圣浩, 等. 基于 X 射线光栅相位衬度的鲫鱼无损成像研究[J]. 中国科学技术大学学报, 2017, 47(11):924-928.

FENG Damin, HU Renfang, WANG Shenghao, et al. Non-destructive grating-based phase contrast X-ray imaging of crucian carp[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2017, 47(11):924-928.

Non-destructive grating-based phase contrast X-ray imaging of crucian carp

FENG Damin, HU Renfang, WANG Shenghao, GAO Kun, PAN Zhiyun

(National Synchrotron Radiation Laboratory, University of Science and Technology of China, Hefei 230029, China)

Abstract: Recently, grating-based phase contrast X-ray imaging has become a hot spot, and it is considered the key technology for future clinical medical nondestructive diagnosis due its high compatibility with the conventional X-ray source. Compared with the existing X-ray absorption contrast imaging technology, phase-contrast imaging has the unique ability to distinguish soft tissues. Here the grating-based phase contrast X-ray imaging was used to nondestructively detect the structure of local crucian carp treated by formalin. The structure of the intestine tissues are shown clearly, the very first time using such imaging technology.

Key words: X-ray phase contrast imaging; crucian carp; information separation

0 引言

无损成像是在器官和动物全身层面进行活体生物检测的有用工具. 在目前常用的无损成像技术中,

可见光成像^[1]和核素成像^[2]主要是功能成像, 难以提供结构信息; 核磁共振成像^[3]能够提供功能信息和结构信息, 但是敏感度比较低, 价格昂贵; X 射线成像目前主要利用吸收衬度信号, 能快速便捷地获

收稿日期: 2017-04-07; 修回日期: 2017-05-31

基金项目: 中国科学技术大学预研项目(YZ2311600025)资助.

作者简介: 冯大敏, 女, 1990年生, 硕士. 研究方向: X射线相衬成像. E-mail: wc2013@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 潘志云, 博士/副研究员. E-mail: zhypan@ustc.edu.cn

取结构信息,但对于血管、关节处等软组织则不能直接成像,对于目前广泛应用于各医疗机构的乳腺 CT,受制于分辨率,较难诊断出早期乳腺癌.为了解决软组织成像问题,近年来,X 射线光栅相位衬度成像技术获得快速发展^[4].2008 年,Pfeiffer 等首先实现了吸收衬度信息、相位衬度信息以及散射衬度信息的同时获得^[5].与其他的无损检测方法相比,同时获得吸收衬度、相位衬度和散射衬度信息的 X 射线相位衬度成像技术能够提供独特的结构信息,可以作为小动物无损检测的有力工具.另外,基于光栅的 X 射线相位衬度成像能够使用传统 X 光管作为光源,从而摆脱了对同步辐射光源和微焦点光源的依赖,使其大规模实验研究和应用成为可能^[6].

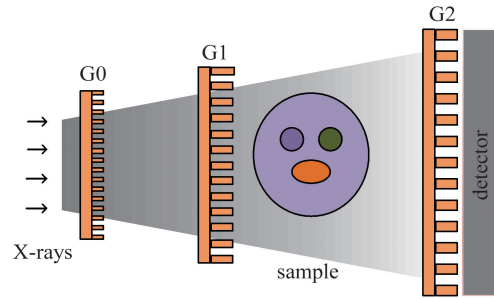
鱼是 X 射线成像研究中常用的验证装置原理和性能的动物样品,我们发现之前利用不同方法和装置获得的鱼成像结果中,难以看到鱼肠^[7].目前,X 射线相衬成像的研究工作集中在对装置的改进以及信息提取算法的优化方面^[6-11].考虑到鱼肠内多为食物残渣,经过 X 射线的照射会升温以及在环境中容易发生腐败,本文创造性地使用福尔马林溶液对鲫鱼进行固定脱水,特别是鱼肠,作为最长的消化管,经过固定,一定程度上避免了鱼肠随时间发生变化,并采用对比实验,研究 X 射线成像实验中肠子一直“隐身”的奥秘.基于几何投影的 X 射线光栅成像方法,通过信息分离算法,获得吸收衬度、相位衬度和散射衬度的图像.实验结果显示,对于新鲜鲫鱼,可以观察到鲫鱼轮廓、鱼骨以及鱼鳃,和前人成像结果一致^[12];而对于福尔马林溶液处理过的鲫鱼,则首次在 X 射线相位衬度成像中看到清晰的鱼肠组织.

1 实验

1.1 实验平台

基于几何投影的光栅相位衬度成像原理图如图 1 所示,主要包括 X 射线管、X 射线平板探测器和三块光栅(源光栅 G0、分束光栅 G1 和分析光栅 G2)^[13].其中,X 球管是固定钨靶,锥束照明,焦点为 1.0 mm.X 射线平板探测器的像素大小为 200 μm ,像素矩阵为 1024 \times 1024.三块光栅均为国家同步辐射实验室刘刚研究组采用 LIGA 技术制作.源光栅的周期为 120 μm ,金高度为 164 μm ,占空比为 0.5,分束光栅的周期为 60 μm ,金高度为 161.4 μm ,占空比为 1/3,分析光栅的周期分别为 120 μm ,金高

度为 171.5 μm ,占空比为 1/3.



(1)源光栅 G0、(2)吸收光栅 G1、(3)吸收光栅 G2

图 1 基于几何投影的光栅相位衬度成像原理图

Fig.1 Schematic diagram of non-interferometric grating-based X-ray phase contrast imaging system

1.2 样品制备

福尔马林溶液由甲醛、水、磷酸盐缓冲液等组成,其渗透力强,固定均匀,对组织收缩少,是最常用的固定剂^[14].本文将本地鲫鱼利用浓度为 10% 的福尔马林溶液(使用甲醛和水手动配置,甲醛为国药集团生产)浸泡处理后静置两个月.新鲜鲫鱼使用水合氯醛溶液麻醉后作为对照样品.实验时,佩戴手套,轻轻用镊子夹取鲫鱼,并放置在有机玻璃上.样品如图 2 所示.

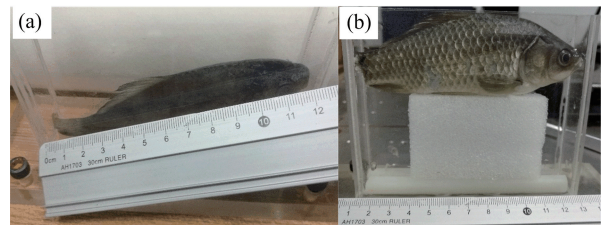


图 2 (a)福尔马林处理后的标本鲫鱼;(b)新鲜鲫鱼

Fig.2 Crucian carp treated by formalin (a) and fresh crucian carp (b)

1.3 实验步骤

首先采集暗电流校正图像 I_{offset} ,然后采集增益校正图像 I_{gain} ,最后把源光栅 G0、吸收光栅 G1 和吸收光栅 G2 移入光路中,完成有鲫鱼和无鲫鱼两种情况下的相位步进扫描.所谓相位步进扫描又叫条纹扫描方法,在光栅干涉仪中,相位步进方法的图像采集过程为:在一个光栅周期内垂直于光栅刻线方向等步长地移动光栅三步以上,分别用探测器记录每一步下得到的投影.步进的可以是三块光栅中的任意一块.也可以是光源甚至是物体.本次实验中,相位步进通过移动吸收光栅 G2 来完成.X 射线管的管电压为 50 kV,电流为 22.5 mA,探测器的单张曝光时间为 2 s.每张图像曝光 2 s,在一个分析光栅周

期内均匀移动 30 步, 每一步移动的步长为 $4 \mu\text{m}$. 对于每一步, 均采集 10 张图像取平均值以提高信噪比, 得到鲫鱼原始数据 I_{raw} . 对于每一步 X 射线曝光时间为 20s, 单次相位步进扫描时间大概需要 10 min.

探测器上某个像素的光强度可以表示为^[5]

$$I_k = b_0 + b_1 \cos \left[2\pi \left(\frac{k}{N} + \frac{D\theta}{p_2} \right) \right].$$

其中, k 是步数, N 是总步数, D 是吸收光栅 G1 和吸收光栅 G2 的距离, θ 是折射角, p_2 是吸收光栅 G2 的周期.

分别采用以下公式^[15]提取吸收衬度、相位衬度和散射衬度信息.

吸收衬度信息:

$$A = \ln \left(\frac{\sum_{k=1}^N I_k^s}{\sum_{k=1}^N I_k^r} \right).$$

相位衬度信息:

$$\theta = \frac{p_2}{2\pi D} \arg \left[\frac{\sum_{k=1}^N I_k^s \exp \left(-\frac{i2\pi k}{N} \right)}{\sum_{k=1}^N I_k^r \exp \left(-\frac{i2\pi k}{N} \right)} \right].$$

散射衬度信息:

$$V = \frac{\sum_{k=1}^N I_k^r \text{abs} \left[\sum_{k=1}^N I_k^s \exp \left(-\frac{i2\pi k}{N} \right) \right]}{\sum_{k=1}^N I_k^s \text{abs} \left[\sum_{k=1}^N I_k^r \exp \left(-\frac{i2\pi k}{N} \right) \right]}.$$

其中, r 表示背景图像, s 表示放入鲫鱼后的图像.

2 结果及讨论

图 2 是基于几何投影的光栅相位衬度成像实验装置获得的经福尔马林溶液处理鲫鱼和新鲜鲫鱼的吸收衬度、相位衬度和散射衬度图像. 其中, 红、绿、蓝色虚线框分别为背鳍、鱼中骨和鱼刺区域, 蓝色和绿色实线框分别为耳石和鱼肉区域, 红色实线方框 ((a)~(c) 图) 为鱼肠区域, 红色实线长方形框 ((d)~(f) 图) 为鱼鳔区域. 通过观察实验结果, 我们发现, 三种成像方式都能够清晰地显示出鲫鱼的轮廓以及内部的骨架, 但在背鳍、耳石、鱼鳔和鱼肠区域, 相位衬度图像(图 2(b) 和图 2(e)) 和散射衬度图像(图 2(c) 和图 2(f)) 比吸收衬度图像(图 2(a) 和图 2(d)) 更加清晰. 可见, 吸收衬度图像、相位衬度图像和散射衬度图像包含了不同的信息, 可以说三种成像方式相互独立而又相互补充.

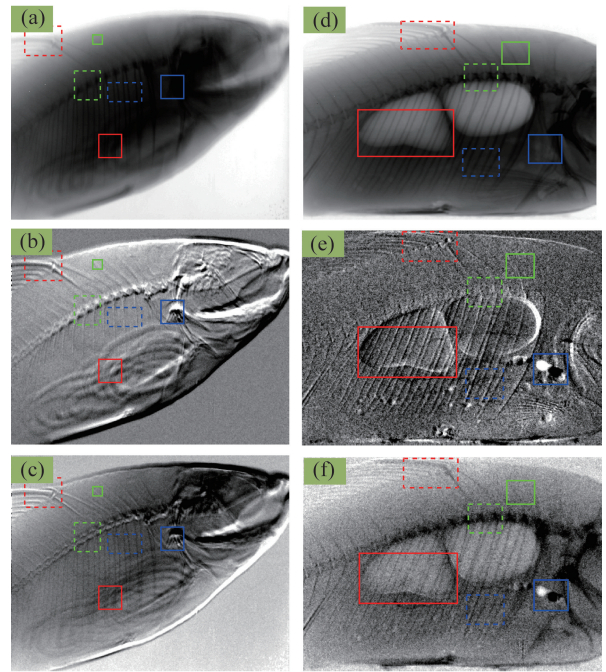


图 3 经福尔马林溶液处理鲫鱼的 (a) 吸收衬度图像、(b) 相位衬度图像和 (c) 散射衬度图像以及新鲜鲫鱼的 (d) 吸收衬度图像 (e) 相位衬度图像和 (f) 散射衬度图像
Fig.3 Attenuation-contrast images, phase-contrast images and extinction-contrast images of crucian carp treated by formalin and fresh crucian carp

与新鲜鲫鱼相比, 经福尔马林溶液处理鲫鱼在背鳍和鱼中骨区域的相位衬度图像(图 2(b)) 和散射衬度图像(图 2(c)) 的效果较好, 在鱼肉区域表现出更多的细节. 对比两种样品的实验结果, 在新鲜鲫鱼成像结果(图 2(d)~(f)) 中可以明显地观察到鱼鳔, 这在以往的结果中已经多次被观察到^[12]; 而在经福尔马林溶液处理鲫鱼成像结果(图 2(a)~(c)) 中, 却看不到鱼鳔. 在新鲜鲫鱼图像当中, 能够清晰地观察到整条鱼的轮廓, 说明鱼肉和空气对 X 射线的吸收衬度、相位衬度和散射衬度有显著差异. 同样的道理, 鱼鳔内外分别是空气和鱼肉, 这三种衬度信号的差值较大, 所以鱼鳔的轮廓也是可以清楚地观察到的. 对于经福尔马林溶液处理的鲫鱼, 经过两个月的浸泡, 福尔马林溶液已经充分地渗透到鱼肉组织和鱼鳔当中, 整条鱼经历了轻微脱水过程, 鱼鳔内外分别是福尔马林溶液和经过脱水的鱼肉. 实验结果显示两者的吸收衬度、相位衬度和散射衬度信号比较接近. 这是由于福尔马林溶液中的主要成分是甲醛 (HCHO), 鱼鳔周围的鱼肉组织多为碳、氢、氧、氮元素组成, 两者在元素的种类上有很大的相似性. 鱼鳔及其周围组织在元素种类和含量上的相近

导致了在经福尔马林溶液处理鲫鱼图像中鱼鳔的不可见。

值得注意的是,在经福尔马林溶液处理鲫鱼的成像结果(图 2(a)~(c))中,特别是在相位衬度图像(图 2(b))中,能够清晰地看到鱼肠组织的轮廓,而在新鲜鲫鱼的成像结果(图 2(d)~(f))中则完全看不到鱼肠组织.这是基于普通光源的 X 射线相位衬度成像技术进行成像研究以来第一次无损观察到鱼体中的鱼肠组织.在新鲜样品的试验中,之所以看不到鱼肠,是因为鱼肠界面两边都是软组织,折射率差别小.不仅折射角小,而且 X 射线可能要经过的不是一根鱼肠界面,可能会有一次以上的折射,多次折射导致大部分信号损失在光路上.Pfeiffer 等的老鼠实验也有这种效果,可以看见气管,但是看不到肠子.类似于本文的新鲜样品可以看见鱼鳔,但是看不到鱼肠^[16].

在生物活细胞中,所包含的主要成分为 C、H、O、N,其质量百分数比分别为 18.5%、9.5%、65%、3.3%,共占生物体权重的 96%.其余 4%为微量元素.按以下公式^[17]来计算吸收系数 δ 和折射系数 β :

$$\delta = \frac{r_e \lambda^2}{2\pi} \times \frac{n_{aH}}{X_H} (2X_H + X_C + X_N + X_O),$$

$$\beta = \frac{r_e \lambda^2}{2\pi} \times \frac{n_{aH}}{X_H} \left(f_{2H} X_H + f_{2C} \frac{X_C}{A_C} + f_{2N} \frac{X_N}{A_N} + f_{2O} \frac{X_O}{A_O} \right).$$

本次实验的电压为 50 kV,电流为 22.5 mA,X 射线的平均能量为 30 keV,根据文献^[18]可知:

$$f_{2H} = 1.10 \times 10^{-7}, f_{2C} = 5.10 \times 10^{-4},$$

$$f_{2N} = 1.14 \times 10^{-3}, f_{2O} = 2.11 \times 10^{-3},$$

带入上式计算可知

$$\frac{\delta}{\beta} = 1.09 \times 10^4.$$

正如文献^[18]所指出的, δ 大约是 β 的 1000 倍.

经过福尔马林溶液浸泡处理两个月后,鲫鱼的体重约为活体鲫鱼的 97%,其余的 3%为脱去的水分质量.本实验中鲫鱼体重为 1.01 kg,相应的氢元素和氧元素分别减少 3.37 g 和 26.93 g,C、H、O、N 的质量百分比变为 19.81%、9.82%、66.75%、3.62%^[19].可以利用碳、氢、氧、氮这四种主要成分的质量百分比变化,利用上述公式计算脱水后与脱水前样品相位项的比值为 1.03.可见,对于主要成分为碳、氢、氧、氮四种轻元素的样品,脱水后本身样品的相位项比含水样品的相位项要稍微大一些.在同样的实验条件下,在脱水样品中有可能看到在含水样品中看不到的结构.这也是在经福尔马林溶液浸泡脱水后的鲫鱼成像结果中能看到鱼肠,而在新鲜鲫鱼成像结果中看不到鱼肠的原因.这是在 Pfeiffer 等^[20]使用同步辐射光源进行相位衬度 micro-CT 获得老鼠肠子以来,首次使用基于普通光源相衬实验获得的肠子的信息.

另外一个有趣的现象是耳石区域的成像.在经福尔马林溶液处理鲫鱼样品的三种成像结果中均未观察到耳石.这是由于福尔马林的主要成分甲醛氧化后生成酸,从而中和耳石的主要成分碳酸钙,使其逐渐溶解消失^[21].

为了更好地评估成像效果,利用如下公式^[22]进行衬噪比的计算:

$$CNR = \frac{|\mu_1 - \mu_2|}{\sqrt{w_1 \sigma_1^2 + w_2 \sigma_2^2}}.$$

其中, μ 为吸收系数的平均值,代表所选矩形框的方差, w 为权重.计算结果如表 1 所列.

表 1 经福尔马林溶液处理鲫鱼和新鲜鲫鱼成像的衬噪比计算结果

Tab.1 Computing results of carrier noise ratio of images of crucian carp treated by formalin and fresh crucian carp

部位	序号	经福尔马林溶液处理鲫鱼			序号	新鲜鲫鱼		
		吸收衬度	相位衬度	散射衬度		吸收衬度	相位衬度	散射衬度
背鳍	1	2.081 9	1.717 3	1.689 8	8	1.912 2	0.014 7	1.198 3
鱼中骨	2	32.950 1	1.717 3	1.689 8	9	0.434 6	0.075	0.665 6
鱼刺	3	49.311 5	2.205 5	11.411	10	0.944 8	0.402 3	0.734 3
鱼肠	4	46.078 6	0.488 5	10.592 4	11	0.307 4	0.131 2	0.117 6
鱼肉	5	24.603	8.016 7	6.757 8	12	0.285 3	0.056 4	0.283 6
鱼耳石	6	30.125 6	0.163 4	7.078 3	13	0.867	0.078 3	0.694
鱼鳔	7	2.216 4	0.875 9	0.743 7	14	0.903 9	0.875 9	0.743 7

根据表 1 中提供的数据,绘制图 4,用以比较经福尔马林溶液处理鲫鱼和新鲜鲫鱼的衬噪比。

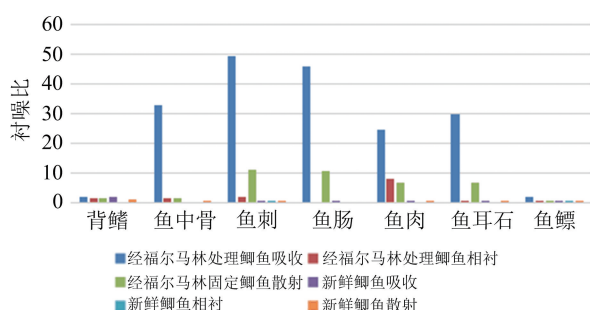


图 4 经福尔马林溶液处理鲫鱼和新鲜鲫鱼的吸收衬度图像、相位衬度图像和散射衬度图像的衬噪比
Fig.4 Carrier noise ratio of attenuation-contrast images, phase-contrast images and extinction-contrast images of crucian carp treated by formalin and fresh crucian carp

从图 4 可以看出,经福尔马林溶液处理鲫鱼的成衬噪比比新鲜鲫鱼对应的衬噪比要高.这说明有固定作用的福尔马林明显提高了样品成像的衬噪比.另外,经福尔马林溶液处理样品的吸收衬度图像的衬噪比明显高于相位衬度图像和散射衬度图像的衬噪比;而对于新鲜样品,三者的衬噪比不相上下,数值均较低.由此我们可以看到,相位衬度成像和散射衬度成像技术在经福尔马林溶液处理过的样品上有更大的优势和应用潜力。

3 结论

本文利用一种基于几何投影的光栅相位衬度成像技术,并结合福尔马林溶液浸泡样品的的方法,第一次无损观察到鱼体中的鱼肠组织.我们还发现,经福尔马林溶液处理鲫鱼样品的吸收衬度图像、相位衬度图像和散射衬度图像的衬噪比均比新鲜鲫鱼样品的衬噪比高.由此,本文的样品处理方法可以作为 X 射线光栅相位衬度成像无损检测实验样品处理方法的重要参考,下一步,本文将采用此方法在基于普通光源的 X 射线相位衬度实验平台上,对有代表性的其他样品,进行多次实验,研究福尔马林固定样品是否对无损检测的实验结果具有普遍的影响以及在何种程度上具有影响,并设立福尔马林溶液固定样品的时间梯度,探究固定时间对成像结果造成的差异.此外,下一代光源 X 射线自由电子激光光源的实现,样品实现三维运动,以及线探测器的应用,在逐步实现 X 射线光栅相位衬度三维成像的同时,也不断提高分辨率,甚至于,使用大尺寸光栅满足视场要求后,结合 X 射线相位衬度成像对 X 光机的兼容

性,便可直接改装到现有的 X 射线吸收成像仪器上.这些革新将会使得 X 射线光栅相位衬度成像进行无损检测技术不断发展的同时,获得的结果更加精细,也更具有现实价值。

参考文献(References)

- [1] ZHU F, ZHANG D, HE Y, et al. Application of visible and near infrared hyperspectral imaging to differentiate between fresh and frozen-thawed fish fillets[J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6: 2931-2937.
- [2] KOBA W, JELICKS L A, FINE E J. MicroPET/SPECT/CT imaging of small animal models of disease [J]. The American Journal of Pathology, 2013, 182: 319-324.
- [3] PICAUD J, COLLEWET G, IDIER J. Quantification of mass fat fraction in fish using water-fat separation MRI [J]. Magnetic Resonance Imaging, 2016, 34: 44-50.
- [4] MOMOSE A. Recent advances in X-ray phase imaging [J]. Japanese Journal of Applied Physics, 2005, 44: 6355-6367.
- [5] PFEIFFER F, BECH M, BUNK O, et al. Hard-X-ray dark-field imaging using a grating interferometer [J]. Nature Materials, 2008, 7: 134-137.
- [6] MOMOSE A, YASHIRO W, TAKEDA Y. X-ray phase imaging with Talbot interferometry [C]// Biomedical Mathematics: Promising Directions in Imaging, Therapy Planning, and Inverse Problems. Madison, Wisconsin: Medical Physics Publishing, 2009: 281-320.
- [7] PFEIFFER F, WEITKAMP T, BUNK O, et al. Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance X-ray sources [J]. Nature Physics, 2006, 2: 258-261.
- [8] PFEIFFER F, BUNK O, DAVID C, et al. High-resolution brain tumor visualization using three-dimensional X-ray phase contrast tomography [J]. Physics in Medicine & Biology, 2007, 52: 6923-6930.
- [9] PFEIFFER F, KOTTLER C, BUNK O, et al. Hard X-ray phase tomography with low-brilliance sources [J]. Phys Rev Lett, 2007, 98: 108105.
- [10] THIBAUT P, DIEROLF M, MENZEL A, et al. High-resolution scanning X-ray diffraction microscopy [J]. Science, 2008, 321: 379-382.
- [11] WEITKAMP T, DIAZ A, DAVID C, et al. X-ray phase imaging with a grating interferometer [J]. Optics Express, 2005, 13: 6296-6304.
- [12] DAVID C, BRUDER J, ROHBECK T, et al. Fabrication of diffraction gratings for hard X-ray phase contrast imaging [J]. Microelectronic Engineering, 2007, 84: 1172-1177.

(下转第 959 页)