

· 成果快报 ·

细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统的研究

孙 翌 沈 涛 吴华珍 李 光 罗守华 顾 宁*

(东南大学生物科学与医学工程学院, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京 210096)

[关键词] 高分辨显微 CT 系统; 生物组织成像; 校准算法; 字典学习

生物组织的高精度三维成像可提供大量生物学信息, 在生物学研究中具有十分重要的作用^[1]。显微 CT 系统是高效、准确的三维成像手段, 在高精度成像领域有广泛的应用^[2]。为实现生物学组织结构的高精度三维成像, 要求显微 CT 系统分辨能力达到亚微米水平。但受制于 X 射线源焦点尺寸、探测器成像质量和运动控制系统位移精度等问题, 传统显微 CT 系统的分辨率始终难以达到这一要求。本课题组研发了透镜耦合式高分辨 X 线探测器, 将成像分辨能力提升至亚微米尺度^[3]; 为配合探测器系统的分辨能力, 研制了高精度平移台, 保证了设备的精确机械定位; 同时提出了基于单点模体的优化几何校准算法, 满足了设备高精度校准的要求; 在搭建高精度系统的基础上, 提出了基于字典学习的低剂量重建算法和三维字典去环算法, 结合其他伪影抑制算法^[4], 可在较低辐射剂量下, 获取高质量的成像结果。以上述工作为基础, 课题组完成了细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统的研制, 系统成像分辨能力达到亚微米尺度, 最短扫描时间小于 30 分钟。在此高分辨显微 CT 系统平台上, 进一步开展了生物学成像研究, 获得了卵细胞、骨小梁、小鼠卵巢等组织的高精度三维图像, 并通过图像分析, 实现了生物信息的提取, 验证了系统对微小生物学组织结构进行高精度三维成像的能力。

1 高分辨显微 CT 系统硬件开发与算法研究

1.1 系统整机简介

细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统整机见图 1 所示。



图 1 细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统

该系统具有亚微米级分辨能力, 最短扫描时间小于 30 min, 最高像素分辨率可达到 400 nm, 其分辨率优于大部分主流显微 CT 系统。该系统与目前主流显微 CT 系统性能参数对照见表 1 所示。

从下表可见, 目前主流显微 CT 系统的最高像素分辨率在亚微米级至微米级之间, 配合以 FDK 为基础的重建算法, 在材料科学、电子学和地质研究等领域发挥重要作用。但由于硬件系统及重建算法的限制, 目前显微 CT 系统在应用于细胞团等生物软组织成像时, 存在扫描时间长、辐射剂量大等问题, 难以满足生物样本扫描的需求。本课题组通过对系统核心 X 线探测器系统硬件、低剂量重建算法及基于混合扫描的内重建方法的创新, 并进一步深入研究了生物学组织样本的成像方式, 使得细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统在具有亚微米级分辨能力的同时, 又具有扫描时间短、辐射剂量低、图像信噪比高等特点, 在生物学软组织成像及生物信息

收稿日期: 2016-04-18; 修回日期: 2016-06-08

* 通信作者, E-mail: guning@seu.edu.cn

表 1 高分辨 CT 系统参数对照表

制造商	东南大学	蔡司	GE	Bruker	Scanco
系统型号	—	Xradia410 versa ^[5]	Phoenix nanotoms ^[6]	Skyscan 1172 ^[7]	ViVaCT 40 ^[8]
最小像素分辨率	0.4 μm	0.1 μm	0.5 μm	0.5 μm	5 μm
内重建	基于混合扫描的内重建方法	Scout-and-Scan	无	无	无
重建算法	低剂量重建算法、基于 GPU 快速 FDK 等	FDK 等常规重建算法	FDK 等常规重建算法	基于 GPU 快速 FDK 算法	基于 GPU 快速 FDK 算法
适用范围	生物软组织、生命科学、材料科学、电子学等	材料科学、电子学、工件质检等	材料科学、电子学、工件质检等	材料科学、制药工程、电子学、地质研究等	材料科学、电子学、地质研究等

分析等方面具有独特的优势。

该系统核心部件包括微焦点 X 射线源、透镜耦合式高分辨 X 线探测器系统、运动控制系统以及计算机系统等。透镜耦合式高分辨 X 线探测器系统由多镜头 X 线/可见光光学转换系统和光学 CCD 组成,是成像放大和光子采集的关键部件;运动控制系统是搭载成像设备和受检样本的系统部件,控制设备的位置和运动;计算机系统配备有低剂量重建软件、高精度参数校正软件以及三维可视化、骨密度分析、脂肪分析等高级分析软件,是设备控制中枢和图像处理平台。高分辨显微 CT 系统结构原理图如图 2 所示。

1.2 高分辨显微 CT 系统关键部件的开发

基于系统成像分辨率较高的特性,针对传统显微 CT 系统的技术局限,重点开发了透镜耦合式高分辨 X 线探测器系统,以及高精度的运动控制系统等关键设备和器件。

多镜头 X 线/可见光光学转换系统和可见光 CCD 共同构成了透镜耦合式高分辨 X 线探测器系

统。其中多镜头 X 线/可见光光学转换系统是高分辨 X 线探测器系统的成像放大部分,其原理是在 X 射线几何放大基础上,利用闪烁体将 X 射线转换为可见光,再通过可见光光学系统进一步放大,以此实现分辨率的提高。该系统采用高转化效率的 CsI (TI) 闪烁体^[9],保证了系统的成像信噪比,同时搭载了 5 倍、10 倍和 20 倍倍率的物镜,通过切换物镜可实现不同空间分辨率的成像。多镜头 X 线/可见光光学转换系统见图 3 所示。由该系统转化产生的可见光被可见光 CCD 采集,并最终实现 X 射线投影图像的采集。

在多镜头 X 线/可见光光学转换系统中,由于物镜的景深与分辨率相互制约,高倍镜头的景深较小,因此与高倍物镜相匹配的闪烁体厚度很薄,对相应打磨工艺提出了很高要求。本课题组探索了晶体超薄打磨技术,可加工厚度低至 5 μm 、径向平整度小于 1 μm 的 CsI (TI) 超薄闪烁体。该超薄闪烁体可匹配高放大倍率的物镜,保证探测器系统的有效成像。上述超薄闪烁体材料虽可有效应用于系统成像,但因闪烁体厚度小、发光量低,应用高倍物镜成

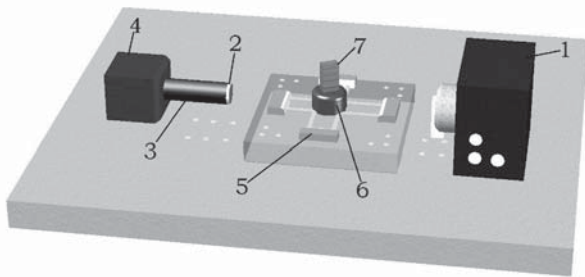


图 2 细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统结构原理示意图

1. 微焦点 X 射线源; 2. 超薄闪烁体; 3. 光学透镜系统;
4. 可见光 CCD; 5. 高精度平移台; 6. 旋转台;
7. 生物组织样本

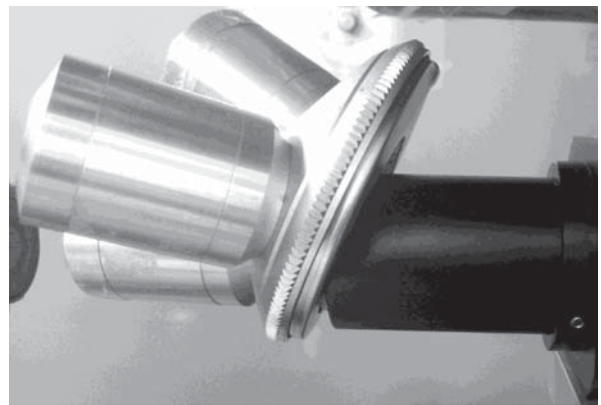


图 3 多镜头 X 线/可见光光学转换系统

像时,成像系统存在严重的光子饥饿,导致其成像信噪比低、成像时间较长。为进一步提升系统成像信噪比,提高成像时间分辨率,构建了闪烁体发光模型,提出了一种拓展系统景深的算法^[10,11]。该方法建立了闪烁体连续发光模型并推导出复合点扩散函数,基于凸集投射算法和全变差理论,可在理想条件下完全恢复由于闪烁体厚度与光学系统景深不匹配造成的图像模糊。通过上述两种方法的结合,有效地提高了图像信噪比,实现了X线/可见光光学转换系统的高分辨特性。

由于高分辨显微CT的X射线探测器系统具有亚微米级的成像分辨能力,相应要求设备机械定位精度应达到微米水平,以满足高分辨率成像的要求。为此,设计制作了基于陶瓷电机的高精度二维平移台。经中国计量科学院鉴定,该平移台定位精度和重复定位精度均优于1微米。高精度二维平移台具有精度高、振动小和稳定性高的特点,位移量达到微米量级,可方便、快捷地将样本定位至准确位置。静止状态下,平移台通过锁死操作保证了样本位置的稳定性,避免了成像过程中其他设备的启停或运转造成的样本位移。高精度二维平移台见图4所示。

通过多镜头X线/可见光光学转换系统和高精度平移台等关键部件的开发,保证了显微CT系统的成像质量和设备机械定位精度,为系统高精度成像奠定了硬件基础。

1.3 基于单点模体的优化校准算法

系统几何校正的准确性是高分辨CT系统保证图像质量的先决条件。由于高分辨显微CT系统分辨率较高,传统校正模体和校正算法难以满足该系

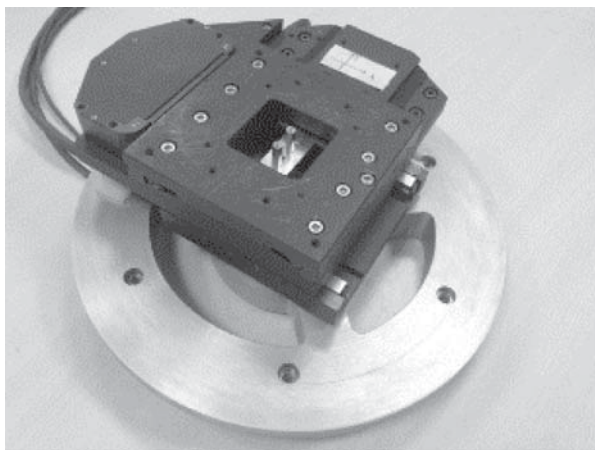


图4 高精度的二维平移台

统校正精度的要求,因此开发了基于单点模体的高分辨CT系统优化校准算法^[12]。算法以单点模体的所有投影点之间连线的相交程度作为目标函数,其变量为锥形束CT的主要几何参数,包括平面内偏角、旋转轴位置、中平面位置、射线源焦点到探测器的距离和探测器左右偏角等,通过对目标函数的极小化迭代,求出系统最佳几何参数的大小。与犹他大学Noo的方法^[13]相比较,该方法在高分辨显微CT系统矫正中,可获得精度更高的结果。

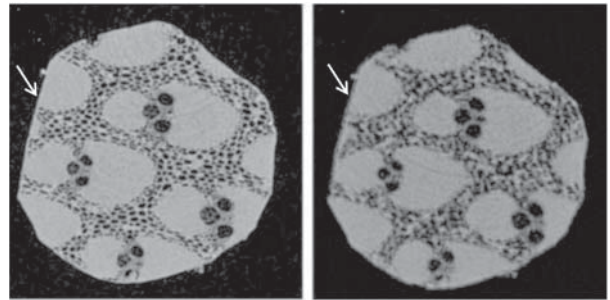


图5 左图为基于单点模体的优化校准算法的重建结果,物体图像清晰;右图是Noo的校正算法的重建结果,物体图像模糊,存在伪影

1.4 基于字典学习的图像处理算法研究

高分辨显微CT系统针对生物样本设计了低剂量的扫描方式,以减少射线对生物学样本的伤害,但同时也引入了大量噪声,影响成像质量。为解决这一问题,项目组构建了基于字典学习^{[14][15][16]}的低剂量图像重建算法,利用学习后的字典对噪声图像分解和重构,可在保留有效信息的情况下,有效降低图像噪声水平,保证图像质量^[17,18]。该算法主要分为三步:(1)使用较高剂量标本图像作为训练集,得到训练字典;(2)通过统计迭代重建方法获取数据保真项;(3)用基于字典的稀疏表达获取类似于TV最小化的结果。

X射线探测器像元存在响应不一致的问题,会在重建图像中引入环状伪影,影响成像质量。基于字典学习的环状伪影滤除算法可通过图像字典训练,构建表达相应信息的字典,利用该字典进行图像重构,可有效滤除环状伪影,并保留物体结构信息^[19]。由图6所见,图中三行图像展示了该算法的效果,其中第一列为原始图像,第二列为使用二维字典的算法效果,第三列为使用三维字典的算法效果。

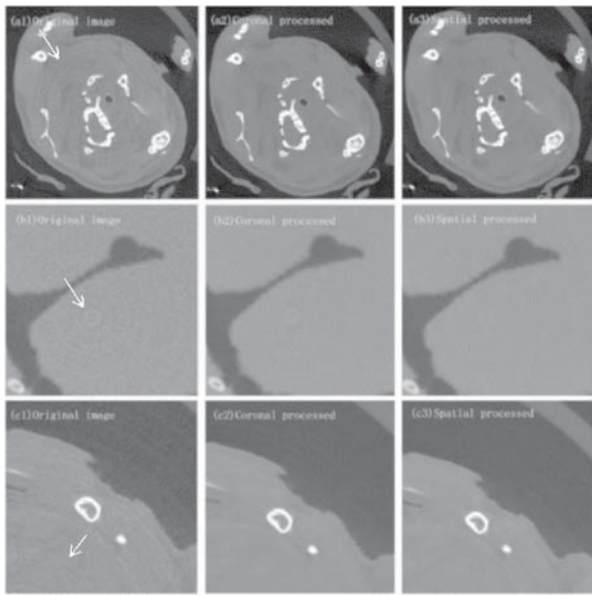


图 6 环状伪影去除结果,箭头处为环状伪影

2 高分辨显微 CT 系统应用

利用研发的高分辨显微 CT 系统,本课题组对生物学组织,如果蝇复眼、植物组织、鱼卵细胞以及小鼠脏器等,进行了成像实验与分析研究。为满足成像要求,需要对样本组织进行固定、染色和包埋等处理,以增强其组织对比度,并固化样本形态以便进行显微 CT 成像扫描。例如,在小鼠卵巢成像研究中,取出卵巢后,首先使用 10% 的福尔马林处理卵巢组织,固定样本形态;之后使用柠檬酸铅进行组织染色,以增强组织之间的对比度;最后用石蜡包埋组织,固定其位置,并制作便于扫描的生物学组织样本^[20]。经过上述处理后,选择合适的扫描参数和成像分辨率对样本组织进行显微 CT 扫描,并重建其高分辨率断层图像。

利用高分辨断层图像,可计算一系列生物学参数,例如骨骼样本的骨密度、骨小梁结构以及脂肪组织样本的体脂比等;另外,通过三维体绘制方法,可清晰显示样本的生物学形态,并进一步获取其组织结构信息。图 7 为相应的重建结果,从上到下每行分别为果蝇复眼、竹子、鱼卵细胞、小鼠卵巢的成像效果:第一列为样本示例图片,第二列为断层重建图像,第三列为三维体绘制结果。成像结果细节显示准确,样本结构清晰,在图 7 中所示的成像实验中,果蝇头部整体结构及其复眼细微结构、竹签细导管、分化中的卵细胞及其卵黄、卵巢卵泡等组织结构有清晰成像,借助高分辨断层图像及后续数据分析,可有效获取相应生物学信息。

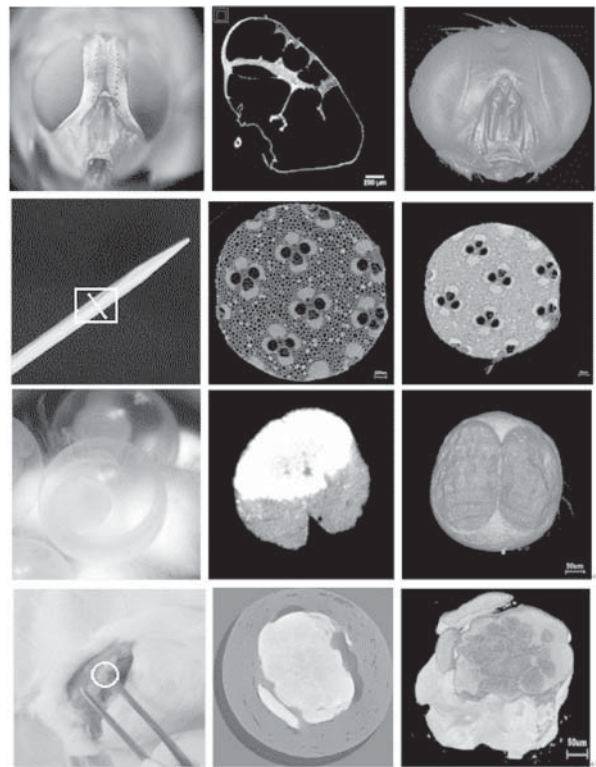


图 7 生物学样本、高分辨显微 CT 系统断层图像、体绘制图像
从上到下为:果蝇头部;竹签(标注位置为断层图像位置);
鱼卵二期;小鼠卵巢(图中标示)

3 总结与展望

高分辨显微 CT 成像技术既是 CT 成像发展的前沿领域,也是生物组织三维成像的全新手段。本课题通过对多镜头 X 线/可见光光学转换系统、高精度平移台等关键部件的开发,结合适用于该系统的参数校准方法以及基于字典学习的图像处理算法,构建了细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统。该系统具有亚微米级空间分辨能力和较好的组织分辨能力,可对昆虫、植物、卵细胞团以及小鼠脏器等生物组织样本进行高分辨率三维成像,并提供了基于高分辨 CT 图像的骨小梁分析、血管分析等生物学信息分析功能,为生物学组织研究提供了崭新的手段。

应用于生物软组织成像时,组织分辨率是决定高分辨显微 CT 系统成像质量的一个重要参数。提升组织分辨率,是细胞团成像与分析用高分辨显微 CT 系统进一步发展的方向。在显微 CT 系统软组织成像方式的研究中,目前 X 线相衬成像和光子计数探测器是这一领域的研究热点。相衬成像是一种利用 X 射线携带的相位信息对物体内部结构

进行重建的方式,对低吸收、低密度物质有很好的成像效果,多应用于同步辐射光源下的 X 射线探测系统。近年来,利用光栅可实现普通 X 射线源下的相衬成像^[21],但仍然存在成像信噪比较差、对光栅等硬件设备要求高等问题。光子计数探测器是一种新型的 X 射线探测系统,可通过一次扫描获取多个射线能谱段的数据,并实现低剂量多能重建,能够有效降低辐射剂量并提高成像信噪比,但光子计数探测器制作工艺尚不完善,目前应用范围有限。随着上述技术的发展及其缺陷的解决,相衬成像和光子计数探测器必能有效应用于高分辨显微 CT 系统,生物组织成像的软组织分辨能力问题将会大大提高,高分辨显微 CT 在生物组织方面的应用也将更加广泛。

致谢 本研究项目得到国家自然科学基金(项目批准号:61127002,61179035)和东南大学苏州纳米技术协同创新中心的支持。

参 考 文 献

- [1] Sasov A, Liu X. Compensation of mechanical inaccuracies in micro-CT and nano-CT. *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering*, 2008, 7078: N/A.
- [2] Holdsworth DW, Thornton MM. Micro-CT in small animal and specimen imaging. *Trends in Biotechnology*, 2002, 20(8): S34—S39.
- [3] 李光, 罗守华, 顾宁. Nano CT 成像进展. *科学通报*, 2013(7): 501—509.
- [4] Xie S, Li C, Li H, et al. A level set method for cupping artifact correction in cone-beam CT. *Medical Physics*, 2015, 42(8).
- [5] http://www.zeiss.com.cn/microscopy/zh_cn/products/x-ray-microscopy/xradia-410-versa.html
- [6] <http://www.ge-mcs.com/zh/metrology/3d-metrology/nanotom.html>
- [7] <http://bruker-microct.com/products/1172.htm>
- [8] <http://www.scanco.ch/en/systems-solutions/preclinical.html>
- [9] Zhang AD, Ju LI, Sun LX, et al. Detection Efficiency Study of CdWO₄, CsI(Tl) and PbWO₄ for 9 MeV Industrial CT. *Nuclear Electronics & Detection Technology*, 2011, 31(11): 1202—1204.
- [10] Li G, et al. A method of extending the depth of focus of the high-resolution X-ray imaging system employing optical lens and scintillator. *BioMedical Engineering OnLine*, 2015, 14(1): S15.
- [11] 王小龙, 等. X 射线成像闪烁体的光场渲染. *光子学报*, 2013, 42(12): 1528—1533.
- [12] Jiang RJ, et al. A wire scanning based method for geometric calibration of high resolution CT system. *Proc SPIE 9412, Medical Imaging 2015*.
- [13] Noo F, Clackdoyle R, Mennessier C, et al. Analytic method based on identification of ellipse parameters for scanner calibration in cone-beam tomography. *Physics in Medicine and Biology*, 2000, 45(11): 3489.
- [14] Aharon M, Elad M, Bruckstein A. K-SVD. An algorithm for designing over complete dictionaries for sparse representation. *IEEE Transactions on Signal Processing*, 2006, 54(11): 4311—4322.
- [15] Qiong X, Hengyong Y, Xuanqin M, et al. Low-dose X-ray CT reconstruction via dictionary learning. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2012, 31(9): 1682—97.
- [16] Donoho DL, Huo X. Uncertainty principles and ideal atomic decomposition. *Information Theory, IEEE Transactions on*, 2001, 47(7): 2845—2862.
- [17] Yang C, Shi L, Jiang Y, et al. Radiation dose reduction with dictionary learning based processing for head CT. *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine*, 2014, 37(3): 483—493.
- [18] 李中源, 李光, 孙翌, 等. 一种基于全局字典学习的小动物低剂量计算机断层扫描降噪方法. *生物医学工程学杂志*, 2016(2).
- [19] Li ZY, Li G, Sun Y, et al. Ring artifacts removal via spatial sparse representation in cone beam CT[C]// *SPIE Medical Imaging*, 2016.
- [20] 高晟凯, 柏婷婷, 金鸿雁, 等. 小鼠卵巢的高分辨显微 CT 观测. *东南大学学报: 医学版*, 2015(2): 202—204.
- [21] Pfeiffer F, Weitkamp T, David C. X-ray phase contrast imaging using a grating interferometer. *Euro physics News*, 2006, 37(5): 13—15.

The research of High Resolution Micro-CT system for imaging and analyzing of cell mass

Sun Yi Shen Tao Wu Huazhen Li Guang Luo Shouhua Gu Ning

Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, School of Biomedical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096

Key words Micro-CT system; imaging of biological tissue; calibration algorithm; dictionary learning