

一种适用于运动样本的FPM成像校正方案

孟宏宇^{1,2}, 段济杰^{1,2}, 旷雅唯^{1,2}, 何宏辉¹, 吴剑^{1,2}, 马辉^{1,3}, 迟颖⁴, 沈宏⁴

1.清华大学深圳研究生院/深圳市无损和微创医疗技术重点实验室, 广东 深圳 518055; 2.清华大学生物医学工程系, 北京 100084;
3.清华大学物理系, 北京 100084; 4. 西门子(中国)有限公司影像及数据处理开发部, 北京 100102

【摘要】目的:为解决FPM重建方法受样本移动干扰大的问题,设计新的数据采集和重建方案,加入平移校正和旋转校正部分,进行结果对比研究。**方法:**使用交替点亮采集方案,相位相关法进行平移校正,Hough法进行旋转校正,用仿真数据测试结果并进行误差分析。**结果:**含校正数据能清晰辨认出重建结果,而无校正数据几乎无法辨识,校正方案的有效性得到验证。**结论:**该校正方案适用于出现样本位移和旋转的FPM法校正,能够提高重建结果质量,增强FPM方法的鲁棒性和适用范围。

【关键词】运动样本;傅里叶叠层成像;显微术;图像重建;图像配准

【中图分类号】 TP751.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1005-202X(2016)10-1017-05

Correction method for Fourier ptychography microscopy imaging with motion sample

MENG Hong-yu^{1,2}, DUAN Chai-jie^{1,2}, KUANG Ya-wei^{1,2}, HE Hong-hui¹, WU Jian^{1,2}, MA Hui^{1,3}, CHI Ying⁴, SHEN Hong⁴

1. Shenzhen Key Laboratory for Nondestructive and Minimal Invasive Medical Technologies, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China; 2. Department of Biomedical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Department of Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 4. Corporate Technology Imaging & Data Processing for Emerging Markets, Siemens Ltd., Beijing 100102, China

Abstract: Objective To solve the problems of sample motion in Fourier ptychography microscopy (FPM) by designing a new data sampling and reconstruction method combined with translational correction and rotational correction, and analyzing results. **Methods** The LED board was alternately illuminated. The phase correlation method was used for translational correction, and Hough transform was used for rotational correction. The obtained results were tested by using simulated data, and the error was analyzed. **Results** With the correction data, reconstructed results were clearly recognized, while those from control group without correction data were almost unrecognizable. The validity of correction program was verified. **Conclusion** The correction method is suitable for FPM sample correction with translation and rotation, improving the quality of reconstructed results, enhancing the robustness, and expanding the scope of FPM method.

Key words: motion sample; Fourier ptychography; microscopy; image reconstruction; image registration

前言

FPM (Fourier Ptychography Microscopy) 是一种

近来提出的超分辨率显微技术,基本成像原理的提出发表于2013年Nature子刊Photonics^[1]。该方法改变常用透射显微镜的科勒照明方式,将光源改为LED点光源,假设在小张角区域内,LED发出的是准相干平面波,则可以通过增加LED照明角度的方式,获取显微镜图像的高频信息。等效于在不改变显微镜光路系统情况下,增加了物镜的数值孔径,如图1所示。由此,顺次点亮LED采集一组多角度低分辨率图像,通过迭代算法及与其配合的迭代过程校正

【收稿日期】 2016-07-18

【基金项目】 国家自然科学基金(81230035, 61527826); 清华-西门子联合研发项目(2000298695)

【作者简介】 孟宏宇, 硕士研究生, 专业方向: 生物医学工程, E-mail: menghy13@mails.tsinghua.edu.cn

【通信作者】 段济杰, 博士, 讲师, 主要研究领域: 生物医学信号及图像处理, E-mail: duan.chaijie@sz.tsinghua.edu.cn

方案^[2-7]即可还原出一张广视野、高分辨率图像。但该方法尚存在一定的不足之处,如样本全程需保持静止,出现移动时无法得到正确的重建结果,因此限

制了方法的应用范围。本文旨在实现一种在样本运动速度有限情况下,适用于FPM法重建的校正方案。

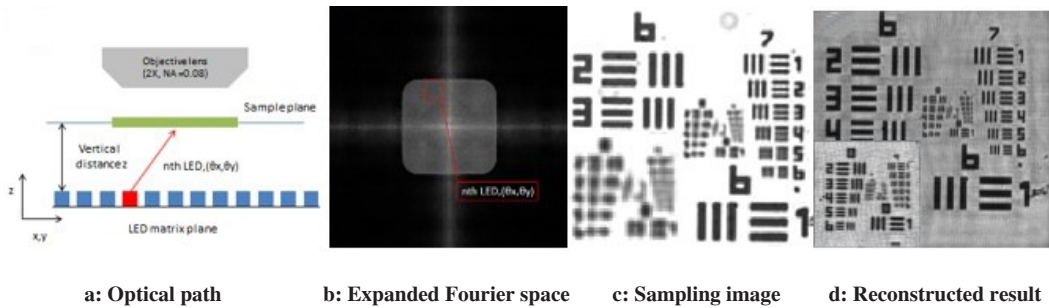


图1 FPM示意图
Fig.1 Sketch map of Fourier ptychography microscopy (FPM)

1 平移及其校正

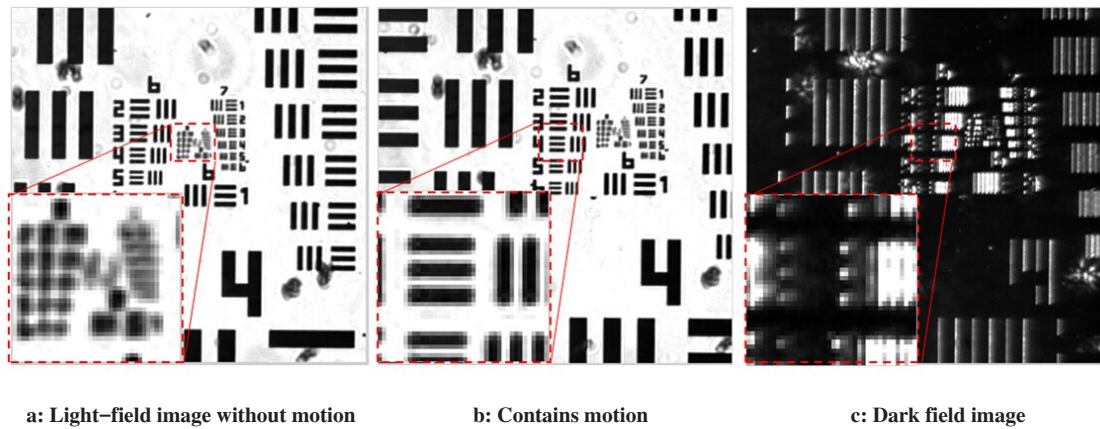
1.1 运动校正概述

显微镜采集图像的过程中,样本与相机之间存在的相对运动一般可以分解为4种形式:平移运动、旋转运动、镜头缩放及沿垂直于光轴的XOY平面的扫动。对生物样品而言,在FPM采集过程中,可能产生平移和旋转运动,比如细胞悬液中单个细胞的微小运动。如果选取的感光越区(ROI)内仅包含单个运动细胞和背景区域,则可以通过本文方法对运动进行校正,得到正确的重建结果,具有实际临床意义。

1.2 ROI区域校正

FPM法过程是:首先顺次点亮LED板采集一组低分辨率图像,而后,利用该图像组对某个ROI区域进行重建,以获得高分辨率图像。采集过程中,暗场

图像需要相对较长的曝光时间,因此相比亮场部分,更可能发生尺度较大的位移。样本出现相对位移后,被提取的ROI区域会发生变化。因此,FPM平移运动校正的首要工作是重新定位ROI区域。但暗场图像的明亮度低,数据量少,难以简单地用图像配准算法校正。由此,我们设计了一套新的FPM数据采集方案。首先采集中央图像并以其为基准;而后,每采集一幅暗场图像后迅速点亮中央LED采集一幅亮场图像,由于中央LED光强高,曝光时间短($\leq 10\text{ ms}$),因此在采集过程中,可以认为样本和相机之间没有发生相对移动。由此即得到一张对应该暗场图像的亮场图像,这一张亮场图像相对于中央无移动图像的位移相对更容易计算。典型采集图像如图2所示。



Region of interest (ROI) is circled by red dotted line square.

图2 典型的采集图像
Fig.2 Typical sampling image

在完成一轮采集后,得到两个数据集,同时包含亮场图像和暗场图像的重建图像数据集 imsetLRM (Low-resolution, ROI region, Motion);以及全部为亮场图像的的定位用图像数据集 imsetLCM(Low-resolution,

Clear, Motion)。对 imsetLCM运用图像配准领域的校正方法进行校正,计算相对移位位矢,而后定位被重建的核心 ROI 区域,并将其应用到重建数据集 imsetLRM 中,提取对应的新 ROI 块。流程图如图 3 所示。

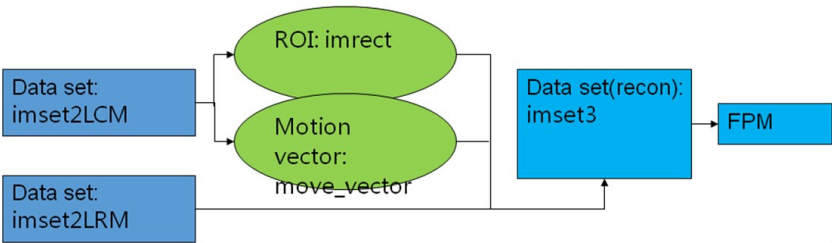


图 3 校正过程流程图
Fig.3 Flowchart of correction procedure

在平移校正部分,考虑到FPM方法要求重建速度同样尽可能快,这里采用相位相关法^[8-10]来对采集图像实现ROI区域校正。该方法是图像配准领域的常用算法,核心思想是求两张图像的互相关频谱的最大值相对移位量。当无噪声干扰时,冲激函数的唯一峰相对位移即为图像位移;当包含噪声时,反变换会得到多个峰,但最大峰相对稳定。

1.3 傅里叶空间校正

由于样本出现了空域内的相对LED和相机的位移,则LED到达样本的平面波函数发生了变化,因此,当该LED采集的对应低分辨率图像被放进高分辨率傅里叶空间进行迭代时,它们的空间位移也应被转换为对应的频域位移量。

用 r 代表无位移情况下LED相对于样本的位矢, r' 是有位移情况下的位矢, L 是当前LED相对于中心LED的位矢, M 是样本相对于静止样本的移位,波数记作 w_n ,则原始采集过程中,傅里叶空间放置位置的计算过程可写作:

$$LPT_{nx,ny} = \frac{w_n \cdot L_n}{|r_n| F_{x,y}}$$

在引入相对位移,计算出相对移动位矢 M 后,新的放置位置可记作:

$$LPTM_{nx,ny} = \frac{w_n \cdot (L_n + M_n)}{|r_n + M_n| F_{x,y}}$$

利用该式子找出傅里叶空间的位移量,即可实现对傅里叶空间放置位置的校正。

1.4 实验

对其进行仿真验证,实验平台为PC机Matlab平台,模拟重建结果见图4。随后我们将其应用于实际

样本,参数:LED:9×9;间距:5 mm;每张低分辨率图像移动量:随机生成(后测得最大值为113);物镜放大倍数:2×;NA=0.08;LED颜色:蓝;LED中心波长:472 nm;LED平面到样本平面距离Z:10 cm;相机模拟像素大小:3.75 μm×3.75 μm。结果见图5。图5a与图5c结果几乎完全相同,证明平移校正取得良好效果。

2 旋转及其校正

与平移部分类似,该部分工作同样可以分为样本ROI区域校正和傅里叶空间位移校正两个部分。采集方案可以沿用平移部分的采集方案,增加旋转纠正模块即可。

2.1 旋转校正方法与过程

旋转部分的常见校正方法是Hough方法^[9, 11]和Radon方法^[8, 12-14],对两种方法测试旋转校正的效果。在10轮随机生成FPM旋转图组校正中,Hough法的每图平均误差为0.25°,而Radon法则为0.53°,且存在较多的旋转方向判定错误现象。由此,选择Hough法作为主要矫正方法。旋转部分的傅里叶空间校正沿用平移校正部分的方法,加入对旋转角度影响的校正。

2.2 仿真实验

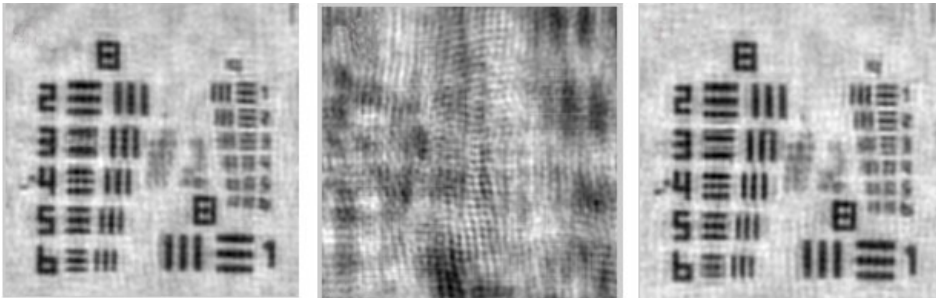
仿真部分参数与前相同。结果参见图6。整体误差有所增加,这是因为实验中发现旋转校正对很多图像存在1°左右的校正误差,这又会连带导致平移校正出现误差。因此,包含旋转现象的FPM重建效果不及单纯平移的校正效果好,但仍远远超出无校正方案。



图4 平移校正仿真结果

Fig.4 Result of motion correction

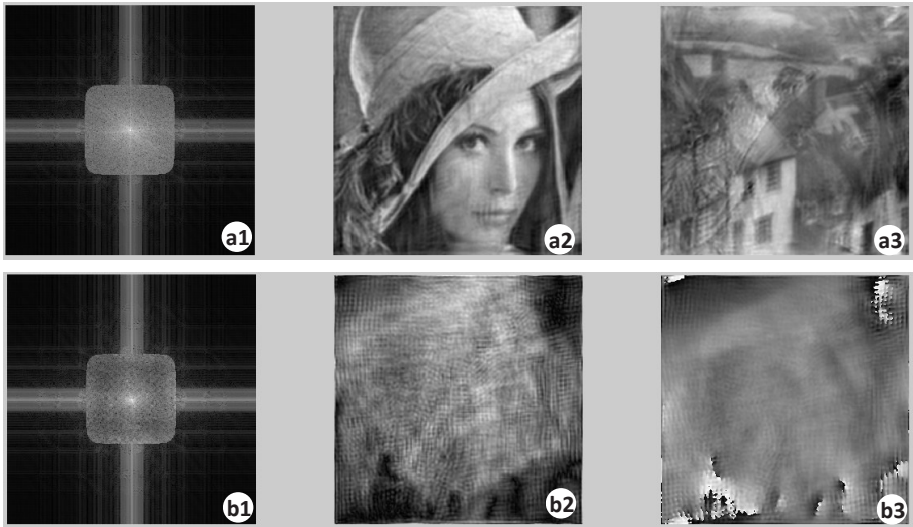
a: Original sampled dark-field image with noise and without correction; b: ROI after correction; c and d: Reconstructed intensity and phase images from corrected ROI region group; e and f: The first control group, FPM reconstruction result using motion images without correction; g and h: The second control group, reconstruction without motion.



a: Result of experiment group b: Control result without correction c: Control group without motion

图5 实际样本重建结果

Fig.5 Result of target correction



Group a in Fig.6 is correction results, group b is results without correction. Fig.6a1, a2, a3 are the Fourier space, intensity reconstruct result and phase result, while fig.6b1, b2, b3 are those of control group.

图6 旋转校正效果图

Fig.6 Results of rotation correction

3 结束语

本研究设计了一种适用于运动样本的FPM成像校正方案。基于新采集方案, 相位相关法与Hough法, 减小了平移与旋转对FPM成像质量的影响, 增强了方法的鲁棒性, 拓展了FPM的应用范围, 为该方法应用于动态样本成像打下基础。

【参考文献】

- [1] ZHENG G, HORSTMEYER R, YANG C, et al. Wide-field, high-resolution Fourier ptychographic microscopy [J]. *Nat Photonics*, 2013, 7(9): 739-745.
- [2] OU X, ZHENG G, YANG C, et al. Embedded pupil function recovery for Fourier ptychographic microscopy [J]. *Opt Express*, 2014, 22(5): 4960-4972.
- [3] HORSTMEYER R, YANG C. A phase space model of Fourier ptychographic microscopy [J]. *Opt Express*, 2014, 22(1): 338-358.
- [4] BIAN Z, DONG S, ZHENG G, et al. Adaptive system correction for robust Fourier ptychographic imaging [J]. *Opt Express*, 2013, 21(26): 32400-32410.
- [5] FIENUP J R. Phase retrieval algorithms: a comparison [J]. *Appl Opt*, 1982, 21(15): 2758-2769.
- [6] FIENUP J R. Reconstruction of a complex-valued object from the modulus of its Fourier transform using a support constraint [J]. *J Opt Soc Am A*, 1987, 4(1): 118-123.
- [7] FIENUP J R. Reconstruction of an object from the modulus of its Fourier transform [J]. *Opt Lett*, 1978, 3(1): 27-29.
- [8] 冈萨雷斯. 数字图像处理(MATLAB版)[M]. 北京: 电子工业出版社, 2006: 228-235.
- GONZALEZ R C. Digital image processing using MATLAB [M]. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2006: 228-235.
- [9] STOCKMAN G, SHAPIRO L G. Computer vision [M]. Prentice Hall, 2001: 279-290.
- [10] 申艳平. 医学图像配准技术[J]. *中国医学物理学杂志*, 2013, 30(1): 3885-3889.
- SHEN Y P. Review of image registration methods for medical images [J]. *Chinese Journal of Medical Physics*, 2013, 30(1): 3885-3889.
- [11] 于颖, 聂生东. 医学图像配准技术及其研究进展[J]. *中国医学物理学杂志*, 2009, 26(6): 1485-1489.
- YU Y, NIE S D. Progress on medical image registration and its application [J]. *Chinese Journal of Medical Physics*, 2009, 26(6): 1485-1489.
- [12] 郭嘉泰, 冯若冰, 周晋阳. 影响显微镜分辨率的几种因素[J]. *中国医学物理学杂志*, 2003, 20(4): 278-279.
- GUO J T, FENG R B, ZHOU J Y. The influence microscope distinguishes the rate's a few factors [J]. *Chinese Journal of Medical Physics*, 2003, 20(4): 278-279.
- [13] 宋智礼. 图像配准技术及应用的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2014.
- SONG Z L. Research on imaging registration algorithm and its applications [D]. Shanghai: Fudan University, 2014.
- [14] 赵辉. 基于点特征的图像配准算法研究[D]. 济南: 山东大学, 2006.
- ZHAO H. Study of image registration algorithm based on point feature [D]. Ji'nan: Shandong University, 2006.

(编辑: 黄开颜)