

文章编号 1004 924X(2002)05 0509 04

三维内部构造显微镜设计

李 昊¹, 胡拥军², 朱仁芝¹, 张竟敏¹, 黄文浩¹

(1. 中国科学技术大学 精密机械与精密仪器系, 安徽 合肥 230027;

2. 中国科学技术大学 电子工程与信息科学系, 安徽 合肥 230027)

摘要: 通过连续切片获取生物体二维断层图像然后进行三维重建日益成为生物医学中研究生物体内部三维立体结构的主要途径。在对显微镜用薄片切片结构及三维重建技术的研究的基础上, 本文提出了三维内部构造显微镜的设计方案, 解决了生物切片过程中的样品定位、样品切削、断层图像采集、系统控制诸多问题。以本系统获得的二维断层图像为原始数据, 利用自行设计三维重建软件, 得到了真彩的表面重建和任意切面重建结果。

关键词: 三维重建; 连续切片; 显微镜

中图分类号: TH742.1 文献标识码: A

1 引言

随着医学影像技术的日益成熟以及各种各样的医学影像设备(如 CT、MRI 等)在医院中的广泛使用, 研究人员可以通过这些设备重建生物体内部组织的三维图像。以连续切片的方法获取生物体二维断层图像然后进行三维重建同样也在不断发展中, 并成为研究生物体内部三维立体结构的另一重要途径。

从一组二维断层图像上理解研究对象内部的三维结构是非常困难的, 即使对于经验丰富的人员也很难准确地描述内部组织的立体结构和确定变体的方位。所以, 三维重建是对病变体进行定量分析(如计算体积, 表面积和空间定位等), 提高诊断准确率的重要保证。^[1]

图 1 描述了体视化的主要过程^[2]:

无论采用什么显示方式, 首先则要获取连续的二维图像。由 CT 等断层扫描设备经过图像重建可以产生一系列断层图像, 断层图像经过图像插值得到所需要的各向同性的体数据^[3]。CT 断层图像厚度在 mm 尺度, 丢失了层与层间的大部分信息, 重建结果的分辨率低, 并且 CT 只能得到灰度图像, 所以只能做灰度和伪彩色重建。CT

是通过射线扫描而得到样品的断层图像, 没有破坏样品的完整性。在实际研究中, 研究对象并非均要求保持结构的完整, 并且 CT 设备受切片厚度的限制对于体积较小的样品不能适用。本文提出了三维内部构造显微镜的设计方案, 可以进行连续薄片切片, 利用 CCD 扫描样品剩余部分截面而得到样品的一系列真彩色、高分辨率的断层图像。

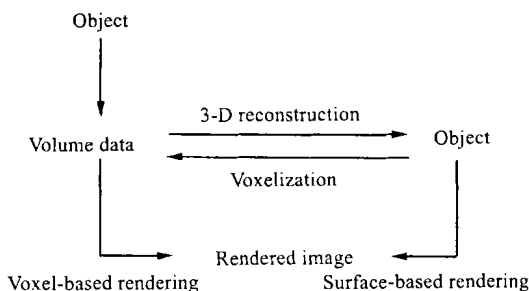


图 1 三维体视化主要过程

Fig.1 Process of volume rendering.

2 内部构造显微镜观察法

连续切片的计算机三维重建是要对研究对象进行连续薄片切片, 利用图像采集系统获取二维断层图像, 然后对这一系列二维图像利用计算机进

行处理从而得到结构的立体形态。

医院普遍都备有切片机,可以制作石蜡和冰冻切片,并且切片的厚度在 μm 尺度,超薄切片机则可以制作几十 nm 的切片。能够制作薄片是相对于 CT 的明显的优势。图 2(a) 描述了目前三维重建的流程,即样本固定 \rightarrow 切片制作 \rightarrow 切片染色 \rightarrow 观察统计及三维重建^[4]。

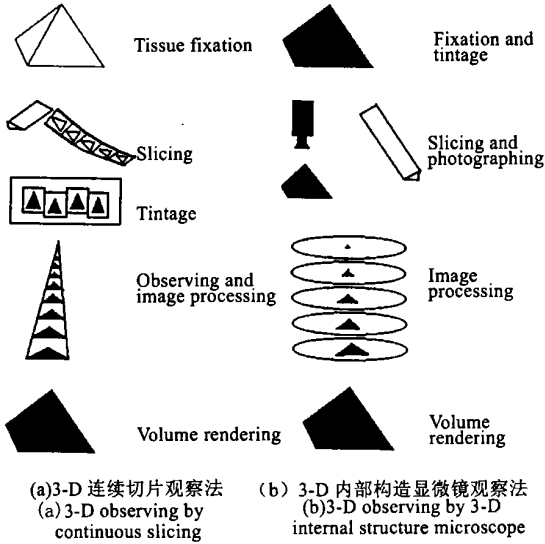


图 2 两种三维观察法的对比

Fig. 2 Comparison of two 3_D observing methods.

按照图 2(a) 的流程,每张切片染色以后,目标区色彩鲜明,边缘清晰,易于目标图像检出和图像分割。但是事实上目前的应用主要是对二维切片图像进行观察及做一些参数统计,三维可视化则存在着一些问题。这些问题集中在切片的形状精度和切片间的相互位置上。切得的每一张切片展平后要粘着在载玻片上在显微镜下读取数据,切片间的相互位置事实上已经发生了变动,切片已经几何变形。正确地判断切片数据和将切片图形准确地对齐是连续切片三维重建的重要步骤,它直接影响着重建结果和参数计算的准确性。目前在切片定位上并没有有效的方法^[5-6]。

本文引入的三维内部构造显微镜按照图 2(b) 描述的流程获取生物样品的二维断层图像并进行三维重建^[4]。这种方法的优点在于:其一,可以获得真彩二维断层图像。CCD 摄像头可以获取真彩色位图,分辨率最少可以达到 640×480 像素。其二,切片厚度可以小到 μm 甚至 nm 尺度。最后,由于切片厚度的尺度减小,可以进行微

小生物体的研究。

为解决定位问题,我们设计了弹簧夹持机构。组织经过固定、染色处理后置于弹簧夹持机构中固定,只具有 z 方向的一个自由度,在进给轴的带动下做上下移动。控制电路保证了切片与图像采集的交替进行。整个流程归纳为:固定 \rightarrow 整体染色 \rightarrow 切片及断面图像采集 \rightarrow 切片重建。与连续切片观察法不同,显微镜的 CCD 获取的是样品剩余部分断面的二维图像,由于样品不能旋转,样品中心不能发生位移,则相邻断层图像的中心及目标区轮廓相互重合。

3 系统设计

3.1 系统原理

把已经整体着色并包埋好的试样置于弹簧夹持机构中固定,由进给机构带动其做间歇的 Z_1 向直线运动。切片厚度也即进给量 Δz 可以在控制面板中指定。如图 3 所示。

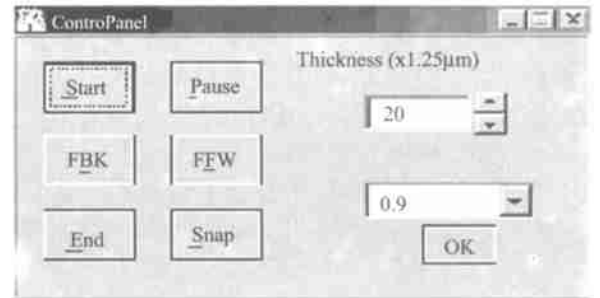


图 3 控制程序面板

Fig. 3 Panel of the control program.

控制程序由切片厚度(Thickness)及步进电机步距计算出发给电机的步进脉冲数:

$$Pulse = \frac{2\pi \times \frac{b}{P}}{Deg}$$

$Pulse$ 为步进脉冲数, b 为切片厚度, P 为主轴系统滚珠丝杠螺距, Deg 为步进电机步距角。

主轴旋转一周完成一次切削。主轴位置传感器的输出占用控制卡一个端口,并在主轴经过以后跳变至高电平。控制程序扫描控制卡各个端口,检测到主轴的位置信号为“1”时主程序调用图像采集函数读取当前断层图像并存储在硬盘,随之向步进电机发出步进脉冲带动进给轴进给 Δz ,同时置控制卡主轴位置端口为“0”,从而完成

一次切片过程, 即切片 → 抓图 → 进给。系统的控制原理如图 4 所示:

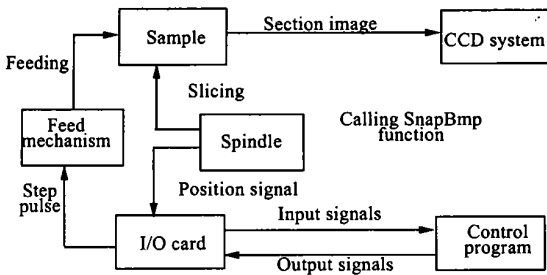


图 4 系统控制原理

Fig. 4 System control principle.

3.2 机构设计

系统由主轴系统、进给系统、图像采集系统、弹簧夹持机构以及控制电路构成。如图 5 所示。主轴系统包括主轴、主轴臂、生物切片刀刀架。主轴和电动机间为皮带传动。进给系统包括步进电机和滚珠丝杠。图像采集系统包括 CCD、PCI 图像采集卡、CCD 支架、照明装置。CCD 支架固定在面板上, CCD 可以做 x, y, z 方向的移动。图像采集卡对由 CCD 输入的视频信号进行实时采集, 经 A/D 转换后将数字图像在计算机屏幕上显示。控制程序调用图像采集函数读取显示窗口客户区的图像并存储在硬盘。

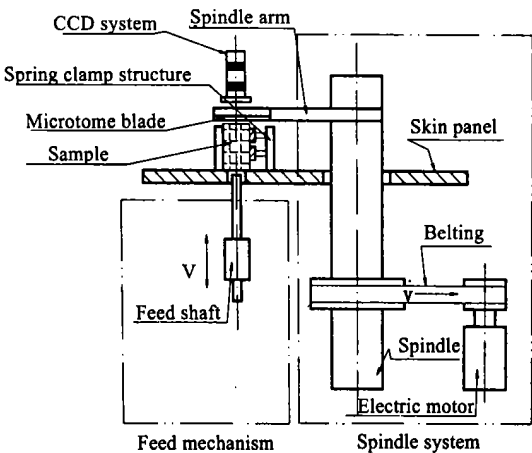


图 5 系统结构

Fig. 5 System structure.

3.3 实验结果

我们取高 25mm, 最大截面直径 12mm 的椭圆形植物果实为样品, 以白蜡包埋, 使用三维内部

构造显微镜共取得 590 张断面图像。

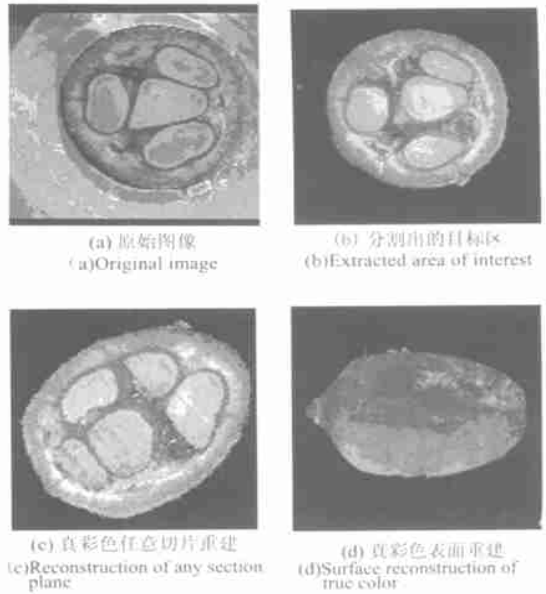


图 6 实验结果

Fig. 6 Final results.

实验条件:

生物样品	植物果实
包埋尺寸	36×27×40mm ³
包埋介质	白蜡
切削刀具	日本 FEATHER 公司专用切片刀
进给量	40μm
主轴回转速度	48rpm
CCD 摄像头	Panasonic w_v_GP410
物镜	CCTV LENS
照明方式	偏射照明

图 6 (a) 为 CCD 摄取的其中一幅 640×480 像素的二维图像。使用图像分割算法剥离出目标区如图 6 (b) 所示。具有真彩色的任意切面重建的结果及表面重建的结果分别如图 6 (c) 和 6 (d) 所示。真彩色、高分辨率的结果无疑满足了生物医学研究的迫切需求。

4 结论

本文提出了新型的三维内部结构显微镜的设计方案。显微镜以不同于现有切片制作的流程制作切片以获取样品的连续的二维断层图像, 并用于三维表面重建及任意切面的重建。显微镜的弹

簧夹紧机构用于生物样品的定位, CCD 图像采集系统则摄取样品剩余部分断面的图像而非切除部分的断面图像, 保证了相邻切片的轮廓对应, 解决了轮廓的配准问题。重建的结果验证了以三维立

体构筑法的原理为基础设计的生物切片机具有自己明显的优点。

本项目受中国科学技术大学生命科学学院交叉学科科研基地经费的支持。

参考文献:

- [1] Townsend D W. Image Reconstruction for Medical Applications[J]. Advances in Computer Graphics. 1991, (6): 389_419.
- [2] Kaufman A. 3D Volume Visualization[J]. Advances in Computer Graphics. 1991, (6): 175_203.
- [3] 管伟光. 体视化技术及其应用[M]. 北京: 电子工业出版社, 1998. 6_7.
- [4] 横田秀夫. マイクロスライサを用いた 3 次元内部構造顕微鏡システムの開発[D]. 日本东 京大学 工学部, 1997. 2_2.
- [5] 张玮, 李杉. 生物组织连续切片图像的计算机三维重建研究的进展[J]. 生物医学工程学杂志, 1999, 16(3): 377_381.
- [6] 洪泉, 陈德强, 黄文浩. 一种基于图像内部信息的轮廓匹配和切片对齐新方法[J]. 中国图像图形学报, 2001, A6(2): 152_158.

Design of a 3_D internal structure microscope

LI Hao¹, HU Yong_jun², ZHU Ren_zhi¹, ZHANG Jing_min¹, HUANG Wen_hao¹

- (1. Department of Precision Machinery and Precision Instrumentation, USTC, Hefei 230027, China;
2. Department of Electronic Engineering and Information Science, USTC, Hefei 230027, China)

Abstract: Reconstruction from series slice images has become an important method to observe the 3D internal structure of biological samples. Based on the study of microtome structure and 3D reconstruction technology, several methods on designing a 3_D internal structure microscope are proposed, and such problems as sample fixing, slicing, slice image acquiring and system control have been resolved. Using 2D series section images acquired by the system, the true color 3D reconstructions of the surface and any section plane have been achieved.

Key words: 3D reconstruction; series slice; microscope

作者简介: 李 昊(1975-), 男, 河南偃师人, 中国科学技术大学二年级硕士研究生, 主要从事生物三维内部构造显微镜的研究。