

文章编号 1004-924X(2012)09-2035-06

多光谱阴道镜的微型化多通道滤光片设计

张建寰¹, 张陈涛¹, 卓 勇^{1*}, 陈延平¹, 林 珊¹, 孔令华²

(1. 厦门大学 机电工程系, 福建 厦门 361005;

2. 泰普生物科学(中国)有限公司, 福建 厦门 361009)

摘要:设计了一种可与阴道镜中的图像传感器集成的微型化多通道滤光片,以使阴道镜具有光谱成像能力。采用微光刻技术及真空多层镀膜技术制成微滤光片,内部微滤光单元的通光波长与病灶标志物反射光谱或荧光光谱的特征峰相对应,与图像传感器集成后,能够获取几幅与光谱特征峰对应的特征波长图像,这些图像凸显了病变组织与正常组织的差异,提供了宫颈组织上皮表面形态变化及上皮组织内病灶标志物含量变化的信息。已加工出通光波长为 $\lambda_1=630\text{ nm}$ 、 $\lambda_2=460\text{ nm}$ 、 $\lambda_3=515\text{ nm}$ 、 $\lambda_4=577\text{ nm}$ 的微滤光片,微滤光单元面积为 $10\text{ }\mu\text{m}\times 10\text{ }\mu\text{m}$,各通道带宽约为 40 nm ,透射率为 $30\%\sim 40\%$ 。实验显示微滤光片的光学性能已达到光谱成像的基本要求,与阴道镜集成后,能有效提高其诊断的灵敏度与特异性,减少活检频率。

关键词:多光谱阴道镜;多光谱成像;微型化多通道滤光片;图像传感器

中图分类号:TH744.1;TN713 文献标识码:A doi:10.3788/OPE.20122009.2035

Design of micro-arrayed multichannel optical filter for multispectral colposcope

ZHANG Jian-huan¹, ZHANG Chen-tao¹, ZHUO Yong^{1*},
CHEN Yan-ping¹, LIN Shan¹, KONG Ling-hua²

(1. *Department of Mechanical and Electrical Engineering,*
Xiamen University, Xiamen 361005, China

2. *Triplex International Biosciences(CHINA) Co.,Ltd., Xiamen 361009, China*)

* *Corresponding author, E-mail: zhuoyong@xmu.edu.cn*

Abstract: A micro-arrayed multichannel optical filter is proposed to allow the colposcopy to have an ability of multispectral imaging. The micro-arrayed filter is fabricated by micro-lithographic procedures and vacuum multilayer thin film coatings, and the wavelengths of light passing through the filter correspond to the characteristic peaks of the biomarkers in the reflectance or fluorescence spectra. After integrating the filter with an image sensor on colposcopy, multiple spectral images centered at different wavelengths can be obtained to provide the information about morphological changes on cervical surface and the quantitative variation of the biomarkers in cervical tissues. The micro-arrayed filter with four kinds of filter cells ($\lambda_1=630\text{ nm}$, $\lambda_2=460\text{ nm}$, $\lambda_3=515\text{ nm}$, $\lambda_4=577\text{ nm}$) has been fabricated successfully with an area of $10\text{ }\mu\text{m}\times 10\text{ }\mu\text{m}$ for each filter cell. The bandwidth of each filter cell is

收稿日期:2012-04-28;修订日期:2012-06-05.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 61172046);福建省自然科学基金资助项目(No. 2011J01363)

about 40 nm, and the transmittance is between 30% and 40%. Experiments demonstrate that the optical properties of micro-arrayed filter satisfy the basic requirements of multispectral imaging. After integrating with a colposcope, the sensitivity and specificity of colposcope diagnosis is improved significantly, which can reduce the biopsy frequencies for patients.

Key words: multispectral colposcope; multispectral imaging; micro-arrayed multichannel optical filter; image sensor

1 引言

在世界范围内,宫颈癌是威胁女性健康的第二大癌症,仅次于乳腺癌。据世界卫生组织统计,2008年以来全球每年的新发病例超过 50 万,其中 85% 在发展中国家^[1]。宫颈癌存在着一个长期的、可逆的癌前病变期,从 HPV(Human Papilloma Virus)感染发展至浸润癌通常需要 10 年左右^[2],早诊早治是阻断病情发展的关键。

宫颈癌筛查采用“三阶梯”的诊断模式^[3],但细胞学检查与阴道镜观察假阳性高,且阴道镜对于早期病灶检出率低,疑似患者常常需要通过活检进行确诊^[4]。阴道镜的本质是放大倍率可调的电子放大镜,通过观察宫颈上皮表面色泽轮廓及血管的变化进行诊断。然而 CIN(Cervical Intraepithelial Neoplasia)起源于上皮底层,从上皮底层向表层发展。CIN 早期主要为上皮内生物大分子的变化,上皮表层无明显改变,故早期诊断的准确性很大程度上取决于检验医师的经验。

近年来,许多科研小组正努力尝试各种非侵入式检测方法进行宫颈癌诊断^[4-6]。研究表明:光谱成像的方法能有效提高诊断的灵敏度与特异性,有望取代活检^[2,7-9]。病变宫颈组织中,血红蛋白、胶原蛋白、NADH(reduced form of Nicotinamide-adenine Dinucleotide)、卟啉、FAD(Flavin Adenine Dinucleotide)5 种物质含量的变化是导致反射光谱与荧光光谱改变的主要因素^[2,8-10]。

本文设计了一种微型化多通道滤光片(以下简称微滤光片),其通光波长与上述 5 种导致光谱变化的病灶标志物的特征波长(光谱特征峰所对应的波长)一致。将微滤光片与阴道镜中的图像传感器集成,便可采集特征波长对应的宫颈图像,这些图像凸显了病灶部位与正常部位的差异,反映出相应病灶标志物在宫颈内的分布变化情况。

该方法结合宫颈表面的形态变化及反射光谱、荧光光谱的变化进行诊断,能有效提高诊断的客观性,降低活检频率。

2 微滤光片的设计

2.1 微滤光片及特点

微滤光片采用微光刻技术及真空多层镀膜技术制成^[11-12]。图 1 所示为 4 通道微滤光片在显微镜观察下的局部放大图^[13]。它由 4 种不同通光波长 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 的窄带微滤光单元阵列组成,每一个微滤光单元只允许相应波长的光通过。将微滤光片与单色图像传感器(CCD 或 CMOS)集成,使得微滤光片中的每一个微滤光单元覆盖图像传感器中一定数目的像素。一次曝光成像后,通过简单运算,可实时输出 4 幅分别与 4 个通光波长 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 对应的光谱图像。与其他的多光谱滤光或分光器件相比,如滤光片轮盘、广义 Lyot 型滤光器、电子可调节滤光器、光学法色散散光器、液晶可调滤光器等,微滤光片体积小、质量轻,所获取的各幅特征光谱图像间像素与像素自动对准,无需进行复杂的空间校准工作。

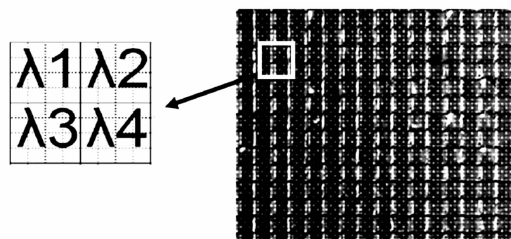


图 1 微滤光片在 500 倍显微镜观察下的局部放大图
Fig. 1 Part of a micro-arrayed filter as visualized under microscopy with magnification factor 500×

2.2 设计方案

病变宫颈组织中,病灶标志物含量的变化趋

势及其特征波长如表 1 所示^[2,7-10,14]。根据宫颈癌诊断时所使用的病灶标志物种类的不同,设计了以下 2 种类型的微滤光片方案。

表 1 病灶标志物的变化趋势及其特征波长

Tab. 1 Change trend of biomarkers and characteristic wavelengths

病灶标志物	变化趋势	特征波长(nm)
氧合血红蛋白	增加	415,542,577(吸收峰)
NADH	减少	460(荧光特征峰)
胶原蛋白	减少	390(荧光特征峰)
卟啉	增加	630(荧光特征峰)
FAD	减少	520(荧光特征峰)

2.2.1 双微滤光片方案

主体结构由 1 片分光镜(半透半反)及 2 台与微滤光片集成的一体化摄像机组成。一体化摄像机镜头内建、可自动聚焦。图 2 为该方案的结构示意图。

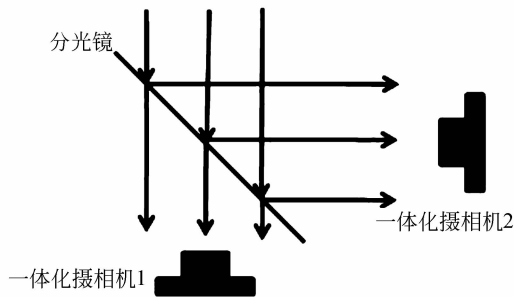


图 2 双微滤光片方案结构示意图

Fig. 2 Scheme of two micro-arrayed filters

一体化摄像机 1 的图像传感器为 SONY IMX036LLR 黑白 CCD,集成的微滤光片 a 如图 3(a)所示,4 个通光波长 390、460、520、630 nm 分别为胶原蛋白、NADH、FAD、卟啉荧光光谱的特征波长。该一体化摄像机用于采集以上 4 种病灶标志物在各自特征波长下的荧光图像。

一体化摄像机 2 的图像传感器为 SONY IMX036LQR 彩色 CCD,集成的微滤光片 b 如图 3(b)所示,用于采集特定波段的反射光图像及宫颈原始彩色图像。515 nm 能最大程度地暴露出醋酸处理后病变宫颈组织与正常组织的差异^[7]; 577 nm 为血红蛋白的特征吸收峰;740 nm 作为背景波长,在该波长附近,病变组织与正常组织的

光谱图像无明显区别^[8]。在后续的图片融合中,可将 740 nm 波长图像作为背景消弱其余特征波长图像中的背景部分,凸显病灶。 λ_1 通道为透明,允许所有波长的光进入,可得到宫颈的彩色图像,为了防止像素饱和溢出,该通道的透光率应与其余 3 个通道相当。该一体化摄像机所得图像经过了 2 次滤光,微滤光片 b 为第 1 次滤光,彩色 CCD 自带的 Bayer 滤光片为第 2 次滤光。采集图像后,须根据第 2 次滤光中 Bayer 滤光片对 515、577、740 nm 3 个波长的透过率,还原出这 3 个特征波长对应的光谱图像。

λ_1	λ_2
390 nm	460 nm
λ_3	λ_4
520 nm	630 nm

(a)微滤光片 a

(a)Micro-arrayed filter a

λ_1	λ_2
515 nm	577 nm
λ_3	λ_4
740 nm	透明

(b)微滤光片 b

(b)Micro-arrayed filter b

λ_1	λ_2	λ_3
390 nm	460 nm	515 nm
λ_4	λ_5	λ_6
577 nm	630 nm	透明

(c)微滤光片 c

(c)Micro-arrayed filter c

λ_1	λ_2
630 nm	460 nm
λ_3	λ_4
515 nm	577 nm

(d)微滤光片 d

(d)Micro-arrayed filter d

图 3 微滤光片滤光单元的通光波长及排列结构

Fig. 3 Wavelengths and arrangement of the micro-arrayed filters

SONY IMX036 黑白、彩色 CCD 图像传感器的像素数皆为 2 144(H)×1 588(V),像素大小为 2.5 μm ×2.5 μm 。在 1 片微滤光片上加工出 540 (H)×400(V)个规格为 10 μm ×10 μm 微滤光单元,使得每个微滤光单元恰好覆盖图像传感器上的 16 个像素。

该双微滤光片方案能够得到 5 种病灶标志物的特征波长图像、宫颈彩色图像及醋酸辅助处理后的特征波长图像,能最大限度地暴露出宫颈病灶部位。将病灶部位标记在彩色图像上,方便医师进行必要的活检及治疗。

2.2.2 单微滤光片方案

对双微滤光片方案进行简化,将 5 种病灶标志物的特征波长集成到 1 片微滤光片上,如图 3 (c)所示,并将该微滤光片与一体化摄像机中的 CCD 黑白图像传感器 SONY IMX036LLR 集成。该方案只需使用 1 片微滤光片、1 台一体化摄像

机,便可获取与胶原蛋白、NADH、FAD、卟啉、血红蛋白相对应的特征波长图像及宫颈黑白图像,能有效降低成本,减小仪器体积,但 6 通道的设计使得特征波长图像的分辨率损失较大,每张光谱图像的分辨率仅为 CCD 图像传感器的 1/6。通过减少诊断时所用特征波长的数量,亦可设计出多种单微滤光片 4 通道方案,图 3(d)所示为其中一种 4 通道微滤光片。

2.3 微滤光片制造

微滤光片中微滤光单元的尺寸、数量、通光波长及排列确定之后,采用微光刻技术及真空多层镀膜技术制造。下文以制造图 3(d)所示的 4 通道微滤光片为例说明微滤光片制造过程:

2.3.1 掩模板的制造

图 4(a)~(d)为制造 4 通道微滤光片所用的掩模板。掩模板内仅白色小方格可透过紫外光,且白色小方格尺寸与微滤光片微滤光单元的尺寸相等。掩模板 a 中白色小方格的排布与通光波长为 λ_1 的微滤光单元排布相同,在对 λ_1 通道进行光刻及镀膜过程中使用。同样,掩模板 b、c、d 中的白色小方格分别与微滤光片中通光波长为 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 的微滤光单元的排布相同。掩模板白色小方格的尺寸及位置精度决定了微滤光片微滤光单元的尺寸及排列。

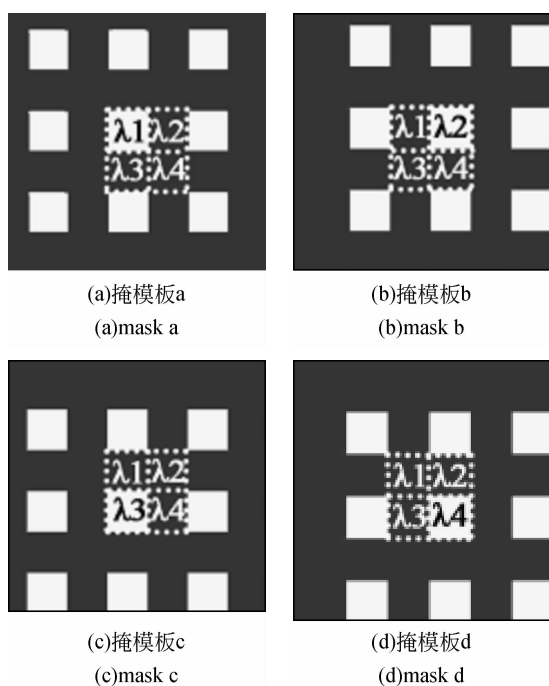


图 4 制造 4 通道微滤光片的掩模板

Fig. 4 A set of masks to fabricate a four-channel microarrayed filter

2.3.2 光刻

在清洁后的玻璃基板表面喷射一层厚度均匀的光刻胶,光刻胶凝固后,将其中一块掩模板覆盖在玻璃基板表面,严格对齐后,用一定波长的紫外光对其曝光,再用腐蚀液将曝光后的光刻胶除去。图 5 所示为使用掩模板 a 对 λ_1 通道进行光刻的过程。

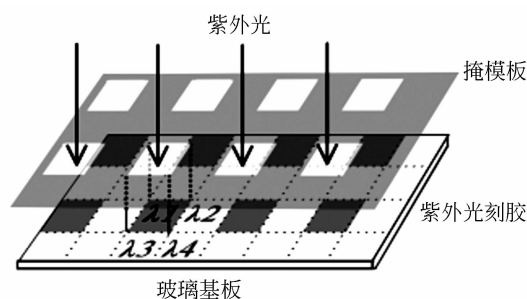


图 5 光刻过程

Fig. 5 Process of lithography

2.3.3 真空多层镀膜

在玻璃基板上去除光刻胶的位置进行真空多层蒸镀。使用 TiO_2 、 Al_2O_3 、 Ag 作为镀膜原料,所镀膜层由 12 层厚度为 40~150 nm 的薄膜组成。各层薄膜厚度由该通道的通光中心波长及带宽决定,镀膜过程中用光干涉法进行监控,监控的精度对微滤光单元的光谱特性有较大影响。

使用其余的掩模板,重复上述步骤(2)、(3),直至所有通道镀膜完成。

4 初步结果与分析

首先选择了如图 3(d)所示的一组波长,在厚度为 0.5 mm 的玻璃基板上,加工出 $540(\text{H}) \times 400(\text{V})$ 个大小为 $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ 的紧密排列的微滤光单元。图 6 为实际测得各通道光谱透射率曲线,各通道带宽约为 40 nm,透射率为 30%~40%,经计算,相邻波长之间的平均串扰程度为 16%。在光学洁净实验室中,将制备好的微滤光片与图像传感器 SONY IMX036LLR(像素大小为 $2.5 \mu\text{m} \times 2.5 \mu\text{m}$)集成,通过计算机控制的精密光学转动平台及二维移动平台,在光学显微镜观察下,使得微滤光片和图像传感器对齐,每个微滤光单元覆盖图像传感器中的 16 个像素。在使用集成后的一体化摄像机拍照时发现:所得图像

中的一些固定位置总是存在零散的饱和光亮点。将微滤光片置于光学显微镜下观察,在微滤光片的某些位置可看到透明的方形孔,方形孔的位置与图片中饱和光亮点的位置相对应。这是由于微滤光片膜层附着力不足,导致一些微滤光单元从玻璃基板脱落造成的。膜层附着力与基板材料、清洗工艺、膜层材料、镀膜工艺有关。现阶段正在改进清洗工艺,寻找更适宜的基板材料及镀膜材料以改善整体膜层的附着力。

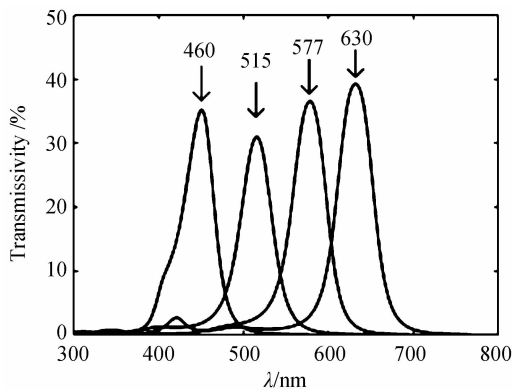


图6 微滤光片的光学特性曲线

Fig. 6 Optical properties of a micro-arrayed filter

5 结 论

病变宫颈组织中,病灶标志物含量的改变,导致其反射光谱、荧光光谱发生变化。本文根据病灶标志物的特征波长,设计、制造出相应的微滤光片,使得每个微滤光单元恰好覆盖图像传感器 SONY IMX036LLR 的 16 个像素。对微滤光片的光学性能进行了测试:各微滤光单元带宽约为 40 nm,透射率为 30%~40%,满足光谱成像的基本要求。将微滤光片与阴道镜中的图像传感器集成后,阴道镜便可获取与病灶标志物相对应的特征波长图像。这些图像凸显了病变宫颈组织与正常组织的差异,提供了宫颈上皮表面形态及上皮内病灶标志物的变化信息,能够有效提高阴道镜诊断的客观性。

下一步工作将进行相关病灶标志物的诊断测试,探讨微滤光片中光谱串扰程度对诊断结果的影响,并开展微滤光片制造工艺的实验研究,进一步提高微滤光片的光学性能:减少串扰,增加透射率,减弱边界效应等,为下一轮微滤光片的制造提供依据和指导。

参考文献:

- [1] FERLAY J, SHIN H-R, BRAY F, *et al.*. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; GLOBOCAN 2008 [J]. *International Journal of Cancer*, 2010, 127(12):2893-2917.
- [2] CHANG V TC, CARTWRIGHT P S, BEAN S M, *et al.*. Quantitative physiology of the precancerous cervix in vivo through optical spectroscopy [J]. *Neoplasia*, 2009, 11(4):325-332.
- [3] CARDENAS-TURANZAS M, FREEBERG J A, BENEDET J L, *et al.*. The clinical effectiveness of optical spectroscopy for the in vivo diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: Where are we? [J]. *Gynecologic Oncology*, 2007, 107(1, Supplement):S138-S146.
- [4] CANTOR S B, YAMAL J-M, GUILLAND M, *et al.*. Accuracy of optical spectroscopy for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: Testing a device as an adjunct to colposcopy [J]. *International Journal of Cancer*, 2011, 128(5):1151-1168.
- [5] ORFANOUDAKI I M, KAPPOU D, SIFAKIS S. Recent advances in optical imaging for cervical cancer detection [J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2011, 284(5):1197-1208.
- [6] MURALI K C, SOCKALINGUM G D, VIDYASAGAR M S, *et al.*. An overview on applications of optical spectroscopy in cervical cancers [J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2008, 4(1):26-36.
- [7] BALAS C. A novel optical imaging method for the early detection, quantitative grading, and mapping of cancerous and precancerous lesions of cervix [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2001, 48(1):96-104.
- [8] THEKKEK N, RICHARDS-KORTUM R. Optical imaging for cervical cancer detection: solutions for a continuing global problem [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2008, 8(9):725-731.
- [9] CHANG S K, MIRABAL Y N, ATKINSON E N, *et al.*. Combined reflectance and fluorescence spectroscopy for in vivo detection of cervical pre-cancer

- [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2005, 10(2): 024031.
- [10] EBENEZAR J, ARUNA P, GANESAN S. Synchronous fluorescence spectroscopy for the detection and characterization of cervical cancers in vitro [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2010, 86(1):77-86.
- [11] YI D, KONG L, WANG F, *et al.*. Instrument an Off-shelf CCD imaging sensor into a handheld multispectral video camera [J]. *Photonics Technology Letters*, 2011, 23(10):606 - 608.
- [12] KONG L, YI D, SPRIGLE S, *et al.*. Single sensor that outputs narrowband multispectral images [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, 15(1): 010502.
- [13] YI D, KONG L. Fabrication of densely patterned micro-arrayed multichannel optical filter mosaic [J]. *Journal of Micro/Nanolithography, MEMS and MOEMS*, 2011, 10(3):033020.
- [14] MOURANT J R, BOCKLAGE T J, POWERS T M, *et al.*. In vivo light scattering measurements for detection of precancerous conditions of the cervix [J]. *Gynecologic Oncology*, 2007, 105(2):439-445.

作者简介:



张建寰(1966—),男,黑龙江肇东人,博士,教授,2003年于哈尔滨工业大学获博士学位,主要从事光机电一体化技术及超精密光学测量技术的研究。E-mail: aeolus@xmu.edu.cn



张陈涛(1986—),男,福建漳平人,硕士研究生,2010年于哈尔滨工业大学获学士学位,主要从事视觉检测技术、光谱成像技术的研究。E-mail: zctyyy@163.com



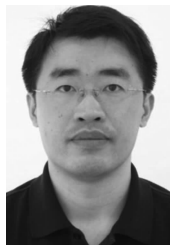
陈延平(1974—),男,福建莆田人,博士,副教授,2007年于华中科技大学获博士学位,主要从事生物医学检测及医学光电子技术的研究。E-mail: ypchen@xmu.edu.cn



林珊(1987—),女,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,2010年于哈尔滨工业大学获学士学位,主要从事光谱成像技术、图像处理算法的研究。E-mail: linshan0322@163.com



孔令华(1963—),男,天津人,博士,研究员,2004年于加拿大麦吉尔大学获博士学位,主要从事多光谱诊断仪器及微型化多光谱技术的研究。E-mail: konglinghua238@gmail.com



卓勇(1970—),男,福建莆田人,博士,副教授,主要从事光机电领域的相关研究。E-mail: zhuoyong@xmu.edu.cn

(本栏目编辑:马健)