

## 基于凸优化的无荧光光场介观三维重建方法

王长淼 李晖 苏晨博 吴云韬

### Convex optimization-based mesoscopic 3D reconstruction method for fluorescence-free light fields

WANG Changmiao, LI Hui, SU Chenbo, WU Yuntao

引用本文:

王长淼, 李晖, 苏晨博, 等. 基于凸优化的无荧光光场介观三维重建方法[J]. 应用光学, 2024, 45(6): 1179–1188. DOI: 10.5768/JAO202445.0602002

WANG Changmiao, LI Hui, SU Chenbo, et al. Convex optimization-based mesoscopic 3D reconstruction method for fluorescence-free light fields[J]. Journal of Applied Optics, 2024, 45(6): 1179–1188. DOI: 10.5768/JAO202445.0602002

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.5768/JAO202445.0602002>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 水下光场的蒙特卡罗法求解

Monte Carlo method for solving underwater light field

应用光学. 2023, 44(2): 268–274 <https://doi.org/10.5768/JAO202344.0201005>

#### 高精度抗遮挡的四目相机三维重建系统

High-precision occlusion-resistant quad-vision camera 3D reconstruction system

应用光学. 2024, 45(2): 307–313 <https://doi.org/10.5768/JAO202445.0201005>

#### 压缩光场重建与深度估计

Compression light field reconstruction and depth estimation

应用光学. 2019, 40(2): 179–185 <https://doi.org/10.5768/JAO201940.0201001>

#### 基于闪烁体3D剂量测量系统中光场重聚焦位置的标定方法

Calibration method of light field refocusing position in 3D dose measurement system based on scintillator

应用光学. 2020, 41(4): 822–828 <https://doi.org/10.5768/JAO202041.0409804>

#### 基于深度学习的patch-match双目三维重建

Patch-match binocular 3D reconstruction based on deep learning

应用光学. 2022, 43(3): 436–443 <https://doi.org/10.5768/JAO202243.0302003>

#### 基于三维激光扫描的铁路罐车点云优化处理方法

Optimized processing method of point cloud of railway tank car based on 3D laser scanning

应用光学. 2022, 43(3): 460–465 <https://doi.org/10.5768/JAO202243.0302006>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

文章编号: 1002-2082 (2024) 06-1179-10

# 基于凸优化的无荧光光场介观三维重建方法

王长森<sup>1,2,3</sup>, 李 晖<sup>1,3</sup>, 苏晨博<sup>1,3</sup>, 吴云韬<sup>1,3</sup>

(1. 武汉工程大学 计算机科学与工程学院, 湖北 武汉 430205; 2. 中南林业科技大学涉外学院, 湖南 长沙 410211;  
3. 智能机器人湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430205)

**摘要:** 当前, 显微三维观测多采用特异性荧光染色, 会对样本造成不可逆的损伤, 存在成本高、光毒性等问题。提出了无荧光标记、介观高分辨率三维重建的方法, 即 RGB-MesoLFM。首先, 搭建了无荧光标记、白光介观光路, 解耦了 RGB 三波段光场数据; 然后, 根据波动光学点扩散函数, 计算出 RGB 三波段任意深度下的系统点脉冲响应; 最后, 基于凸优化理论构建目标函数, 将 RGB 三波段光场数据、点脉冲响应作为输入, 进行 3D 反卷积迭代, 可重建出任意深度下高分辨率目标物体的切片图像。该三维重建实验是基于鸡蛋胚胎切片的光场采样结果, 在重建切片序列间隔为 4  $\mu\text{m}$  的情况下, 获得 0~20  $\mu\text{m}$  范围下切片图像; 与传统荧光重建方法相比, 本文所提方法无需荧光, 采用白光即可成像; 其重建任意深度切片的峰值信噪比 (PSNR) 数值, 较传统方法提升约 10%。

**关键词:** 无荧光; 介观; 三维重建; 凸优化; 光场

中图分类号: TN29; O436

文献标志码: A

DOI: 10.5768/JAO202445.0602002

## Convex optimization-based mesoscopic 3D reconstruction method for fluorescence-free light fields

WANG Changmiao<sup>1,2,3</sup>, LI Hui<sup>1,3</sup>, SU Chenbo<sup>1,3</sup>, WU Yuntao<sup>1,3</sup>

(1. School of Computer Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China;  
2. Swan college, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410211, China;  
3. Hubei Key Laboratory of Intelligent Robot, Wuhan 430205, China)

**Abstract:** Currently, the microscopic 3D observation primarily relies on specific fluorescence staining, which will cause irreversible damage to samples and presents issues such as high cost and phototoxicity. A novel method for mesoscopic high-resolution 3D reconstruction without fluorescence was proposed, known as RGB-MesoLFM. First, a fluorescence-free labeled white-light mesoscopic circuit was constructed, where the RGB three-band light field data were decoupled. Subsequently, based on fluctuating optics point spread function, the point impulse response of the system at any depth within the three bands was computed. Finally, an objective function was developed using convex optimization theory, considering the RGB three-band light field data and point impulse response as input for 3D deconvolution iteration, which can reconstruct the slice image of the high-resolution target object at any depth. The 3D reconstruction experiment was based on the light field sampling results of egg embryo slices, and could obtain slice images in the range of 0~20  $\mu\text{m}$  with a sequence interval of 4  $\mu\text{m}$ . Compared with the traditional fluorescence reconstruction method, the proposed method does not require fluorescence, but uses white light for imaging. The reconstructed peak signal to noise ratio (PSNR) value of arbitrary depth slices is about 10% higher than that of traditional methods.

**Key words:** non-fluorescence; mesoscopic; 3D reconstruction; convex optimization; light field

收稿日期: 2023-08-07; 修回日期: 2023-11-09

**基金项目:** 国家自然科学基金 (51703071, 61771353); 武汉市知识创新计划-基础研究 (2022010801010350); 智能机器人湖北省重点实验室 (HBIRL2022203); 教育部数码激光成像与显示工程研究中心开放课题 (SDGC2134); 湖北省教育厅 (B2022062); 武汉工程大学研究生创新基金 (CX2022329, CX2022347); 武汉工程大学校长基金 (XZJJ2023033)

**作者简介:** 王长森 (1999—), 男, 硕士研究生, 主要从事光场显微成像研究。E-mail: 2235199581@qq.com

**通信作者:** 李晖 (1982—), 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事 3D 图像重建、光场显微成像、光学成像器件研究。

E-mail: lihui00317@163.com

## 引言

近年来,介观三维重建<sup>[1-3]</sup>由于其在医学成像<sup>[4]</sup>、病理分析<sup>[5]</sup>等领域具有广泛的应用前景,且所需光学器件搭建相对简单,已成为研究热点。介观尺度三维重建在时空分辨率和视野之间进行折衷,是一种连接微观世界和宏观世界的特殊显微重建技术,能实现多个尺度测量和介观体积的组织、胚胎、部分器官等物体的整体重建<sup>[6-7]</sup>,但存在空间带宽积有限、重建分辨率较低和无法解调三维位置等问题,并且侵入性的荧光标记带来的光漂白性和光毒性会对样本造成不可逆的损坏,大部分介观生物样本只适合无荧光标记。传统介观三维重建方法主要采用介观扫描光片荧光显微镜(LSFM)<sup>[8]</sup>和多光谱光声层析成像(MSOT)技术<sup>[9]</sup>。然而,光片扫描技术需要连续移动光片扫描整个物体,需要多次扫描获取样品信息,所需要的高精度扫描光片获取困难,对设备要求过高,且样品同样需要荧光标记。而 MSOT 成像技术无需荧光标记,虽能实现深度信息成像,但成像速率较慢,且空间分辨率较低,无法满足介观体积三维重建的要求。其他如双光子成像技术<sup>[10]</sup>,虽能实现成像高精度,但无法实现介观尺度大视野成像,并且也依赖荧光标记来获取样品信息。在上述背景下,非侵入式无需扫描一次拍摄获取物体三维信息、具有介观尺度成像能力的光场显微镜(LFM)<sup>[11]</sup>能弥补以上成像方法的不足,并且由于其光场重聚焦能力,结合重建算法能很好地扩展到介观三维重建问题中,为介观三维重建的研究提供一种更有效的方案。

LFM 通过在物镜和相机传感器之间插入微透镜阵列,来捕获样品所有方向上的角度和位置信息,可将样品的深度、形状和颜色等重要信息编码传至 2D 相机传感器(CCD)<sup>[12]</sup>,结合介观光场重建算法实现对样品完整的三维重建。随着计算机算力的提升和光学传感技术的成熟,光场介观三维重建方向成为研究热点并得到进一步发展<sup>[13]</sup>。其中,NÖBAUER T 等人<sup>[14]</sup>提出了一种模块化的介观尺度光场(MesoLFM)成像硬件和软件解决方案,可从小鼠皮层中记录 350  $\mu\text{m}$  深度、每秒 18 个体积和每秒约 40 M 体素的体积内的数千个神经元;XUE Y 等人<sup>[15]</sup>提出了一种计算微型中视镜(CM2),能在 8 mm $\times$ 7 mm 的视场和 2.5 mm 的自由度上,实现单镜头介观尺度三维成像;LI H 等<sup>[16]</sup>使用高分辨率光场显微镜(HR-LFM)进行了快速的体细胞成像。以上研究都致力于通过光场的方法提升介

观重建的深度或获得更均匀的空间分辨率,从而提高介观体积成像的精度和空间分辨率,但以上光场重建方法都需要荧光标记物体,使用激发光照明样本获取样本光场信息,损害了介观样本的活性,高光毒性、高光漂白性对样品造成了不可逆的损伤,而且大部分样品无法荧光标记,导致样品适用范围很小<sup>[17]</sup>。现有的无荧光光场重建相关研究中,ROSSI M<sup>[18]</sup>等人提出无需荧光标记光场高分辨率成像方法,通过光场子视图的互补编码信息提高光场图像分辨率,从而提升无荧光三维重建精度;LI H<sup>[19]</sup>等人提出光场非周期性提取算法,非周期地提取样本在子视图图对应像素点,能够提升光场重建子视图分辨率及光场介观三维重建的质量。但以上无荧光光场重建方法都不适用于介观尺度的物体成像,因为没考虑到光的衍射效应,使用简单的几何光学模型<sup>[20]</sup>,当光衍射对重建分辨率的影响无法忽略时<sup>[21]</sup>,几何光学模型已不适用于介观体积的无荧光样本重建,其三维重建结果质量较差。

基于以上述问题,本文针对无荧光标记的介观样品,提出无荧光光场高分辨率介观彩色三维切片重建方法(RGB-MesoLFM),首先搭建介观成像系统采集到三维样品 RGB(red-green-blue)三波段光场数据,并使用非周期算法分离出三波段子视图,然后根据构建波动光学系统 3D 点扩散函数模型(PSF),代入系统相关参数得到成像系统 RGB 三波段下的 3D PSF,最后将重建问题分解为各深度下 RGB 三波段的光场数据和 PSF 分别卷积结果的逆问题求解,构建无荧光介观三维重建目标函数,添加光场互补信息先验和自然图像先验两个正则化项,来提升各个深度下重建分辨率且减小重建伪影,通过交替方向乘子法(ADMM)对目标函数进行迭代求解,最终完成 3D 反卷积重建,从而得到无荧光介观样品的高分辨率三维 RGB 切片结果。在实验中,实验对象为介观尺度的无荧光标记的分辨率板和鸡蛋胚胎样品,RGB-MesoLFM 实现了在保证重建表面连续的条件下,切片序列重建间隔选取为 4  $\mu\text{m}$ ,能达到数十微米的重建深度和无需扫描的单帧采集时间。对比针对荧光样品重建算法,本文的重建方法在不同深度的重建结果分辨率更高,细节边缘更突出,其不同深度下重建结果的峰值信噪比(PSNR)和结构相似性指数(SSIM)等量化指标均优于上述两种重建算法,说明本文方法更适合复原出无荧光样品各个深度下的切片图像,完成介观无荧光样品三维 RGB 切片

重建。本文方法可拓宽介观三维重建的应用范围,且三维切片重建结果的质量也得到了显著提升。

## 1 RGB-MesoLFM 基本原理

本文提出无荧光光场高分辨率介观三维 RGB

切片重建方法(RGB-MesoLFM),如图1所示。图中①框表示 RGB 三通道无荧光光场数据采集步骤,②框表示根据波动光学理论构建介观成像系统点扩散函数,③框代表无荧光高分辨三维切片重建算法。

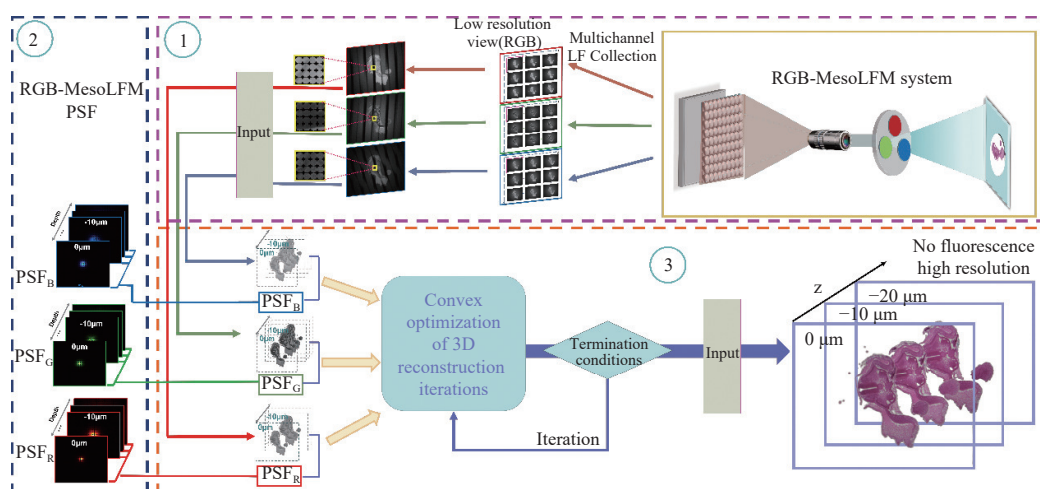


图1 系统流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of system flow

### 1.1 无荧光光场介观成像模型

如图2所示,首先建立光场介观成像模型,用于描述光场介观成像过程,构建无荧光光场介观成像模型如下:

$$g(x, y) = h(x, y, z) * f(x, y, z) + n_{\text{noise}} \quad (1)$$

式中:  $h(x, y, z)$  为系统点扩散函数(PSF);  $f(x, y, z)$  为样品的原始光场数据;  $*$  为卷积算子;  $n_{\text{noise}}$  表示根据光照水平和成像系统自身因素采用标准偏差的加性高斯噪声;  $g(x, y)$  为相机捕获到的二维光场图像,包括了样品的深度、形状和纹理等重要信息。

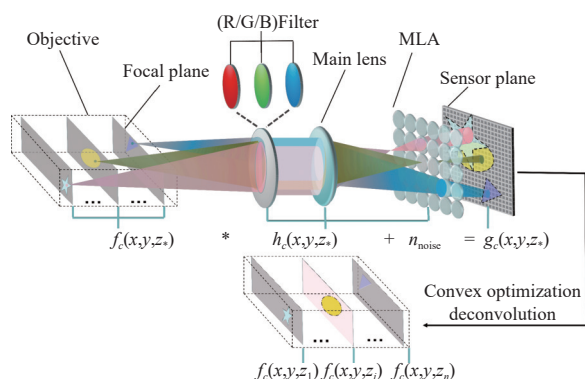


图2 光场介观成像和重建过程示意图

Fig. 2 Schematic diagram of mesoscopic imaging of light field and reconstruction process

物体的三维场景可视为不同深度的分割层,对于具有一定透明度的样品,相机上的图像可视为不同深度的切片图像与相应不同深度下的点扩散函数进行卷积叠加的结果。又因为在不同波长下系统的点扩散函数不同,通过添加 RGB 滤波片(中心波长分别为  $\lambda_c = \{R = 633 \text{ nm}, G = 540 \text{ nm}, B = 430 \text{ nm}\}$ ) 分别收集样品 RGB 三波段光场数据,因此式(1)可改写为

$$g_c(x, y, z_*) = \sum_{i=1}^n h_c(x, y, z_i) * f_c(x, y, z_i) + n_{\text{noise}} \quad (2)$$

式中:  $c \in \{R, G, B\}$ ;  $f_c(x, y, z_i)$  和  $h_c(x, y, z_i)$  为在波段为  $c$  且深度为  $z_i$  下的光场原始切片图像和系统点扩散函数(PSF);  $g_c(x, y, z_*)$  为在波段  $c$  下相机所记录的所有深度下的切片图像的叠加结果;  $z_* = \{z_1, z_2, \dots, z_n\}$  代表所有深度的集合。

因此三维重建问题为光场介观成像模型的逆问题求解,根据  $g_c(x, y, z_i)$ , 结合求得的系统三维点扩散函数进行逆问题重建,从而得到不同深度下样品的原始切片图像,完成对无荧光标记样品的三维 RGB 切片重建。

### 1.2 光场介观成像系统点扩散函数模型

根据波动光学理论,被照亮的样品上每个点可认为是独立的点光源,CCD 上记录到的光场图像

可以视为样品各个深度上众多点光源的强度叠加, 现根据式(2)构建的光场介观成像系统点扩散函数模型, 分析可以得成像物体上的采样点  $s_c(x, y, z)$  发出的球面波, 依次经过 RGB 滤波片和物镜, 到达微透镜阵列前的球面波为  $U_c(x, y, z)$ , 球面波穿过微透镜阵列后, 假定系统中微透镜孔径为方形孔径, 则经过微透镜阵列后的球面波可表示为

$$U'_c(x, y, z) = T(x, y)U_c(x, y, z) \quad (3)$$

式中:  $U'_c(x, y, z)$  和  $T(x, y)$  分别为穿过微透镜阵列后的波阵面和微透镜阵列的透过率函数,  $(x, y, z)$  为点光源真实场景坐标;  $T(x, y)$  代表放置在轴向深度为  $z$  处的微透镜, 对位于  $(x, y)$  处的球面波引起的振幅和相位的变化。

球面波从微透镜阵列传播到传感器的过程是非涅尔传播, 传感器上得到的波阵面  $U''_c(x, y, z)$  为

$$\mathcal{F}^{-1}\{\mathcal{F}\{U'_c(x, y, z)\}\exp[\frac{2\pi q f_{mla}}{\lambda} - q\pi f_{mla}(\xi^2 + \eta^2)]\} \quad (4)$$

式中:  $f_{mla}$  为微透镜阵列焦距;  $q$  为波矢;  $\lambda$  为波长;  $\xi$  和  $\eta$  分别为传感器平面坐标;  $\mathcal{F}$  和  $\mathcal{F}^{-1}$  为傅里叶变换和傅里叶逆变换。

最终采样点  $S_c(x, y, z)$  经过光场介观成像系统后在传感器平面上的 PSF 可以表示为

$$h_c(x, y, z) = |U''_c(x, y, z)|^2 \quad (5)$$

式中:  $h_c(x, y, z)$  为波长  $c \in \{R, G, B\}$  的点光源在系统中的点扩散函数, 取不同的成像深度  $z_i$ , 则可得到成像系统不同轴向深度下的二维点扩散函数  $h_c(x, y, z_i)$ 。

### 1.3 无荧光高分辨率光场介观三维切片重建算法

无荧光三维重建问题可转化为重建不同深度下无荧光二维原始切片图像序列, 基于凸优化理论构建目标函数, 将重建各个深度下原始切片图像序列问题转换为求解目标函数最优解, 目标函数的值与所有深度下切片重建的 RGB 图像质量正相关, 当所有深度下在目标函数中都为最小值时, 即为目标函数的最优解。输入为光场采集系统捕获的 RGB 三波段下不同深度的切片图像序列  $g_c(x, y, z_*)$  和点扩散函数序列  $h_c(x, y, z_*)$ , 其中  $z_* = \{z_1, z_2, \dots, z_n\}$  代表所有深度集合, 目标函数被构造为  $\hat{f}_{z_*} = \arg \min_{f_{z_*}} T_{\text{data}}(f_{z_*}) + \alpha T_{\text{MLA}}(f_{z_*}) + \mu T_{\text{TV}}(f_{z_*})$  (6)

式中:  $\mu$ 、 $\alpha$  为正则化系数;  $\hat{f}_{z_*}$  为重建后的不同深度下的高分辨率 RGB 切片图像, 即目标函数的最优解;  $f_{z_*} = \{f_{z_1}, f_{z_2}, \dots, f_{z_n}\}$  代表不同深度的二维切片重建结果集合;  $T_{\text{data}}(f)$  为数据保真项, 具体形式如式(7)。

$$T_{\text{data}}(f_{z_*}) = \sum_{i=1}^n \|h_c(x, y, z_i)f_c(x, y, z_i) - g_c(x, y, z_i)\|_2^2 \quad (7)$$

在光场成像系统中, 微透镜阵列可以捕捉不同角度样品的场景信息, 采用非周期性提取算法<sup>[19]</sup>对捕获的光场信息提取子视图。其中, 单个子视图包含了其他子视图的互补信息, 因此利用视图间的互补信息来提升各个深度切片图像的清晰度, 使各个重建深度下得到更好的重建切片结果, 可以构造视图间的强制约束  $T_{\text{MLA}}$ 。

$$T_{\text{MLA}}(f_{z_*}) = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k \sum_{j' \neq j}^k \|H_j^{j'}(F_j^{j'} P h_{c,j}(x, y, z_i) f_{c,j}(x, y, z_i) - g_{c,j'}(x, y, z_i))\|_2^2 \quad (8)$$

式中:  $k$  为子视图个数,  $j \in \{1, 2, \dots, k\}$ ,  $H_j^{j'} \in R^{N^2 \times N^2}$  为掩蔽矩阵, 处理微透镜阵列边缘遮挡的像素;  $F_j^{j'}$  为扭曲矩阵,  $j' \neq j$  表示  $j'$  为除了  $j$  之外的所有子视图;  $f_{c,j}(x, y, z_i)$  为在深度为  $z_i$  下第  $j$  个高分辨率子视图;  $g_{c,j'}(x, y, z_i)$  为其他光场子视图中在第  $j$  个子视图上的投影强度;  $P$  为光流配准算子;  $c \in \{R, G, B\}$ ;  $\|\cdot\|_2$  为 L2 范数。

为了对重建结果进行更好的约束, 使得最终的无荧光重建结果在各个深度下整体和边缘纹理更加平滑, 引入全变分正则项  $T_{\text{TV}}(f_{z_*})$ 。

$$T_{\text{TV}}(f_{z_*}) = \sum_{i=1}^n \|\nabla f_c(x, y, z_i)\|_2 \quad (9)$$

式中:  $\nabla$  为二维梯度算子,  $\nabla = (\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y})$ 。

### 1.4 迭代求解

本文使用交替方向乘子法 (ADMM) 迭代化求解目标函数, 首先添加辅助变量  $\Phi_{z_*} = f_{z_*}$ , 将目标函数改写为

$$T_{\text{TV}}(f_{z_*}) = \sum_{i=1}^n \|\nabla f_c(x, y, z_i)\|_2 \quad (10)$$

然后构建式(11)的增广拉格朗日函数:

$$L_p(\Phi_{z_*}, f_{z_*}, \lambda) = T_{\text{data}}(\Phi_{z_*}) + \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k \sum_{j' \neq j}^k \|H_j^{j'}(F_j^{j'} P h_{c,j}(x, y, z_i) f_{c,j}(x, y, z_i) - g_{c,j'}(x, y, z_i))\|_2^2 + \sum_{i=1}^n \|\nabla f_c(x, y, z_i)\| + \frac{\rho}{2} \|\Phi_{z_*} - f_{z_*}\|_2^2 + \eta(\Phi_{z_*} - f_{z_*}) \quad (11)$$

式中:  $\rho$  为一个固定的惩罚参数;  $\eta$  为拉格朗日乘子。给定初始的  $\Phi_{z_s}^0$ 、 $f_{z_s}^0$ , ADMM 迭代求解重建出不同深度无荧光高分辨率 RGB 切片图像, 迭代更新过程为式(12)的 3 个步骤, 具体见表 1。

$$\begin{cases} \Phi_{z_s}^{l+1} = \arg \min_{\Phi_{z_s}} L_{\rho}(\Phi_{z_s}, f_{z_s}^l, \varphi_z^l) \\ f_{z_s}^{l+1} = \arg \min_f L_{\rho}(\Phi_{z_s}^{l+1}, f_{z_s}, \varphi_z^l) \\ \lambda^{l+1} = \lambda^l + \rho(\Phi_{z_s}^{l+1} - f_{z_s}^{l+1}) \end{cases} \quad (12)$$

表 1 算法迭代步骤

Table 1 Algorithm iteration steps

**Algorithm 1****Input:**  $h_c(x, y, z_s)$ 、 $g_c(x, y, z_s)$ 、 $\alpha$ 、 $\mu$ .**Output:**  $f_{z_s} = \{f_{z_1}, f_{z_2}, \dots, f_{z_n}\}$ .**Ensure:** $L_{\rho}(\Phi_{z_s}, f_{z_s}, \lambda) = T_{\text{data}}(\Phi_{z_s})$ 

$$+ \alpha \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k \sum_{j' \neq j}^k \|H_j^j(F_j^j Ph_{c,j}(x, y, z_i) f_{c,j}(x, y, z_i) - g_{c,j'}(x, y, z_i))\|_2^2$$

$$+ \mu \sum_{i=1}^n \|\nabla f_c(x, y, z_i)\|_2^2$$

1:  $\Phi_{z_s}^0 = f_{z_s}^0 = g_c(x, y, z_s)$ ,  $\lambda^0 = 0$ ,  $l = 0$ .2: for  $l = 0$  to  $iter$  do3:  $\Phi_{z_s}^{l+1} = \arg \min_{\Phi_{z_s}} L_{\rho}(\Phi_{z_s}, f_{z_s}^l, \varphi_z^l)$ ;4:  $f_{z_s}^{l+1} = \arg \min_f L_{\rho}(\Phi_{z_s}^{l+1}, f_{z_s}, \varphi_z^l)$ ;5:  $\lambda^{l+1} = \lambda^l + \rho(\Phi_{z_s}^{l+1} - f_{z_s}^{l+1})$ ;7:  $l \leftarrow l + 1$ ;

8: stopping criteria met;

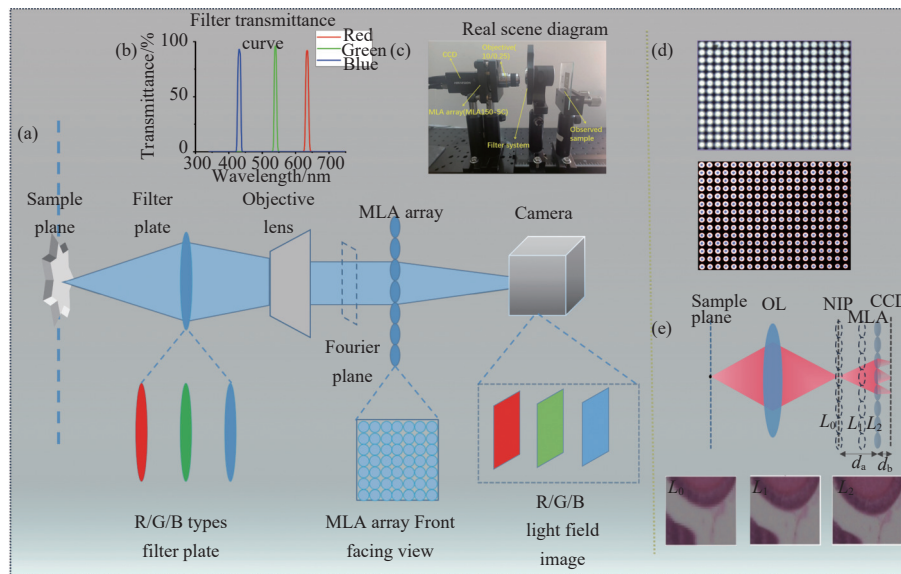
9: end for

10: return  $f_{z_s}$ .**2 实验装置搭建与光场数据获取**

基于微透镜阵列的无荧光介观光场采集系统由 RGB 滤波片轮轴、显微物镜、微透镜阵列和相机传感器(CCD)组成。系统光路如图 3(a) 所示。使用白光光源照明无荧光标记的样品, 样本发出的光经过 10nm 窄带宽滤波片分离, 依次通过显微物镜和微透镜阵列, 最后配合单色相机收集到不同波段的光场数据。使用单色相机的原因在于 RGB 相机的固有缺陷(如光谱串扰、色差散焦像差等)不利于无荧光三维介观切片重建, 但是单色相机配合滤波片分别采集样品 RGB 三波段光场数据, 不可避免地降低了时间分辨率。

实验中采用了江南显微镜公司的 185 型号物镜(放大倍数为 10, 数值孔径为 0.25 NA), 永兴感知公司的 NP 型号的 10 nm 窄带滤波片(三片滤波片中心波长分别为 633 nm、540 nm、430 nm), 索雷博公司的 MLA150-5C 型光学玻璃微透镜阵列(节距为 0.15 mm, 焦距为 5.2 mm, 阵列数为  $60 \times 60$ ), 以及迈德威视公司的 MV-SUA500M-T 型号的 CCD (像元尺寸  $2.2 \mu\text{m} \times 2.2 \mu\text{m}$ 、 $5 \times 10^6$  pixel, 传感器为  $1/2.5''$  CMOS, 像素数为  $2592 \times 1944$ )。

为保证所采集到光场数据的准确性, 采集实验装置的白图像, 并利用白图像对所使用的微透镜阵列进行标定, 利用峰值检测方法, 标定结果如图 3(d) 所示, 每个小透镜的中心都能清楚地标定出来。 $L_0$ 、 $L_1$  和  $L_2$  代表微透镜阵列处于不同轴向



(a) 无荧光 RGB-MesoLFM 装置示意图; (b) 真实场景图; (c) RGB 滤波片透过率曲线; (d) 微透镜阵列中心标定图 (局部); (e) 微透镜阵列位置标定。

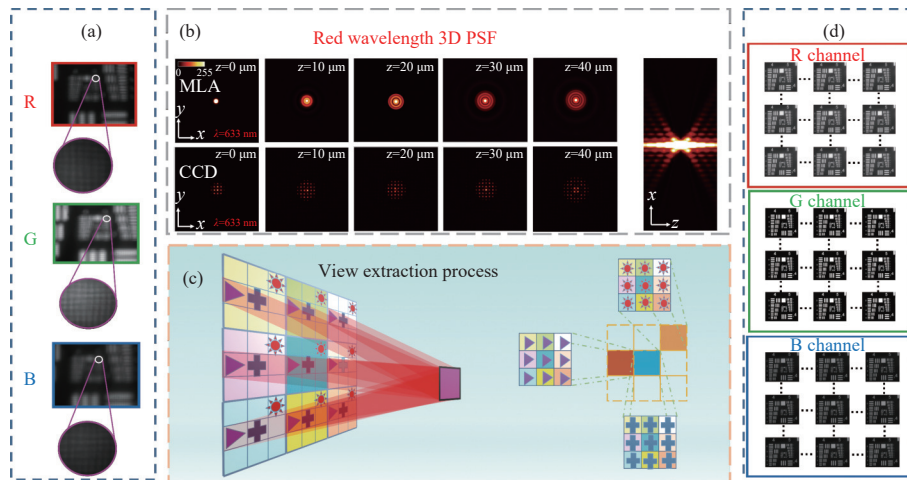
图 3 无荧光 RGB-MesoLFM 光场采集系统

Fig. 3 Non-fluorescent RGB-MesoLFM light field acquisition system

位置,传统的微透镜阵列置于物镜后焦面图3(e)  $L_0$  位置处,导致轴向分辨率不均匀和焦平面处重建伪影,降低三维成像质量,将 MLA 放置在离焦位置  $((1/d_a+1/d_b)>1/f_{ml})$ <sup>[19]</sup>,其中  $d_a$  和  $d_b$  分别表示微透镜阵列到后焦面和传感器的距离,  $f_{ml}$  为微透镜阵列中单个微透镜的焦距,有助于对相机传感器上的光学信号的空间和角度信息进行最佳密集采样。最终经过不同位置微透镜阵列对成像效果的测试,确定微透镜最佳位置为  $L_2$ ,此时 ( $d_a=23$  mm,  $d_b=4$  mm),图3(e)下方为微透镜阵列处于  $L_0$ 、 $L_1$  和  $L_2$  位置时获取到的在焦平面处的光场 RGB 切片图像。

确定的点扩散函数是无荧光彩色三维介观重建的前提,基于1.3节使用 ImageJ 软件对光场介观成像系统点扩散函数模型进行编程,输入系统相

关参数进行实验仿真,确定不同波段下系统 PSF。为了示意简洁,只展现红光波段成像系统的 PSF 仿真结果,如图4所示,红光波段下的点光源被微透镜阵列分离并记录到了 CCD 相机传感器上(图4(b)第2行),相对于在微透镜阵列前方未被分离的情况(图4(b)第1行),这种分离能进一步减少焦平面附近光场冗余信息,更有利于介观三维成像。系统点扩散函数在物空间是以间距  $D/M$  周期性分布( $D$  和  $M$  分别表示微透镜的宽度和物镜的放大倍数)。因此,只需计算出物空间每个深度层上中心微透镜对应的抽样点的点扩散函数,通过平移就可以得出该深度层上所有微透镜的 PSF,从而将系统点扩散函数矩阵的尺寸减为  $1/N$  ( $N$  为微透镜阵列中微透镜的个数),大幅降低光场三维重建的迭代时间。



(a)RGB-MesoLFM 系统采集到的 RGB 三波段原始光场数据;(b)为不同深度下点光源( $\lambda=633$  nm)在微透镜阵列前方(第1行)和 CCD 相机传感器上(第2行)的光强度信号(即系统 PSF)仿真结果,右侧为  $x$ - $z$  平面下系统的点扩散函数强度图;(c)光场子视角提取过程示意图;(d)RGB 三波段下光场子视角图像。

图4 光场数据自视角提取和系统 PSF

Fig. 4 Light field data self-view angle extraction and system PSF

考虑实际系统中成像器件的固有缺陷带来的混合像差(离焦、像散、球差、慧差)对 PSF 强度分布会造成影响,使用波动光学范畴下的光场数字自适应光学(DAO)方法<sup>[22-23]</sup>来估计本文光场介观成像系统中的像差波前,对三波段计算仿真的 PSF 进行调整,使其与实际光场采集系统的 PSF 相同。

最后,根据图4(c)的光场子视图提取过程提取出相应的子视图,本文选择非周期性提取方法<sup>[19]</sup>来获取光场高分辨率光场子视图,结果如图4(d)所示。

### 3 实验结果与分析

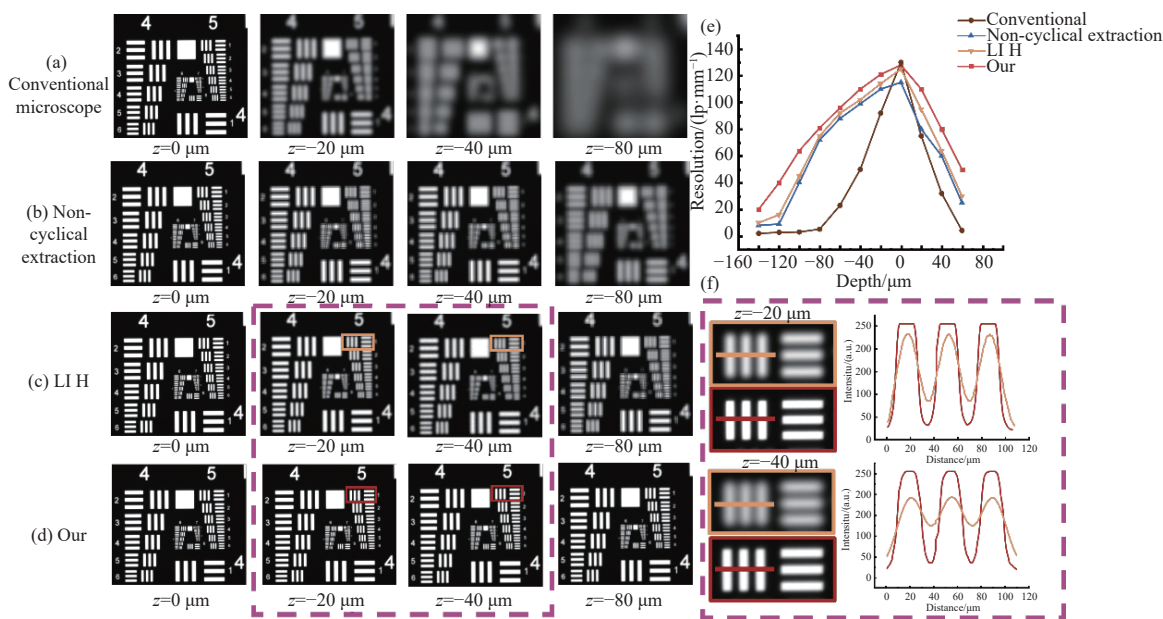
#### 3.1 无荧光分辨率板重建结果

为了证明本文 RGB-MesoLFM 方法不同深度下切片的重建效果,对 USAF-1951 分辨率目标板进行重建测试,在本实验中,分辨率目标板从焦平面平行( $x, y$ )平面平移,放置在不同深度  $z_i$  处,选取  $1 \mu\text{m} \sim 6 \mu\text{m}$  相邻轴向间隔进行多组重建测试,结果表明轴向分辨率能达到  $3.6 \mu\text{m}$ ,可重建出各个深度下的 RGB 切片图像。对比其他方法分析本文方法重建质量,对比算法选取无需荧光标记样本的非周期性提取算法<sup>[19]</sup>和 LI H<sup>[16]</sup>等人针对荧光样本

光场三维重建方法,重建对比结果如图5所示。

不同算法重建重建结果如图5所示,将分辨率板 RGB 重建结果转换为灰度图,结果如图5(b)~图5(e)中所示。从本文方法与其他两种算法重建结果可以看出,本文方法在不同深度下重建结果具有更高的分辨率,边缘细节更清晰。对比非周期性提取算法使用的几何光学 PSF 模型,本文基于波动光学理论确定系统的 PSF,更符合无荧光光场介观成像过程。对比图5(b)和图5(d)可以看出,本文不同深度下重建的无荧光切片图像分辨率更高,尤其是在焦平面( $z=0\text{ }\mu\text{m}$ )以外的深度,本文切片图像边缘细节更清晰,无重建伪影。对比 LI H 的方法,本文在非周期性提取高分辨率子视角图的前提下,构建光场子视角互补正则化项,过滤了微透镜边缘遮挡像素和矫正了图像扭曲,收集

其他视图的互补信息,将视图像素与其他视图上的该像素的投影强制约束,减小了因子视图冗余信息导致的模糊,并且增加了全变分正则化项平滑噪声,进一步增加了重建的无荧光切片图像分辨率。图5(f)为两种方法在 $z=-20\text{ }\mu\text{m}$ 和 $z=-40\text{ }\mu\text{m}$ 深度下分辨率板的放大对比图,右侧为沿着黄色和红色直线下分辨率板的强度直方图,可以看出,本文方法重建的分辨率板切片图像边缘更清晰,更加接近真实图像,而 LI H 的方法具有明显的重建伪影,重建效果较差。从图5(e)中可以看出,随着重建深度偏离焦平面,重建分辨率快速下降,对比其他两种算法,本文方法在不同深度下重建结果具有更高的分辨率以及更慢的下降速度,具有较强的鲁棒性。通过对比分析可知,本文方法能重建出无需荧光标记的高分辨率 RGB 介观三维切片结果。



(a) 宽场显微镜散焦结果; (b) 非周期性算法重建结果; (c) LI H 等人方法重建结果; (d) 本文方法重建结果; (e) 不同轴向深度重建分辨率对比直方图; (f) 图 5(c)、图 5(d) 中虚线框标记区域放大对比。

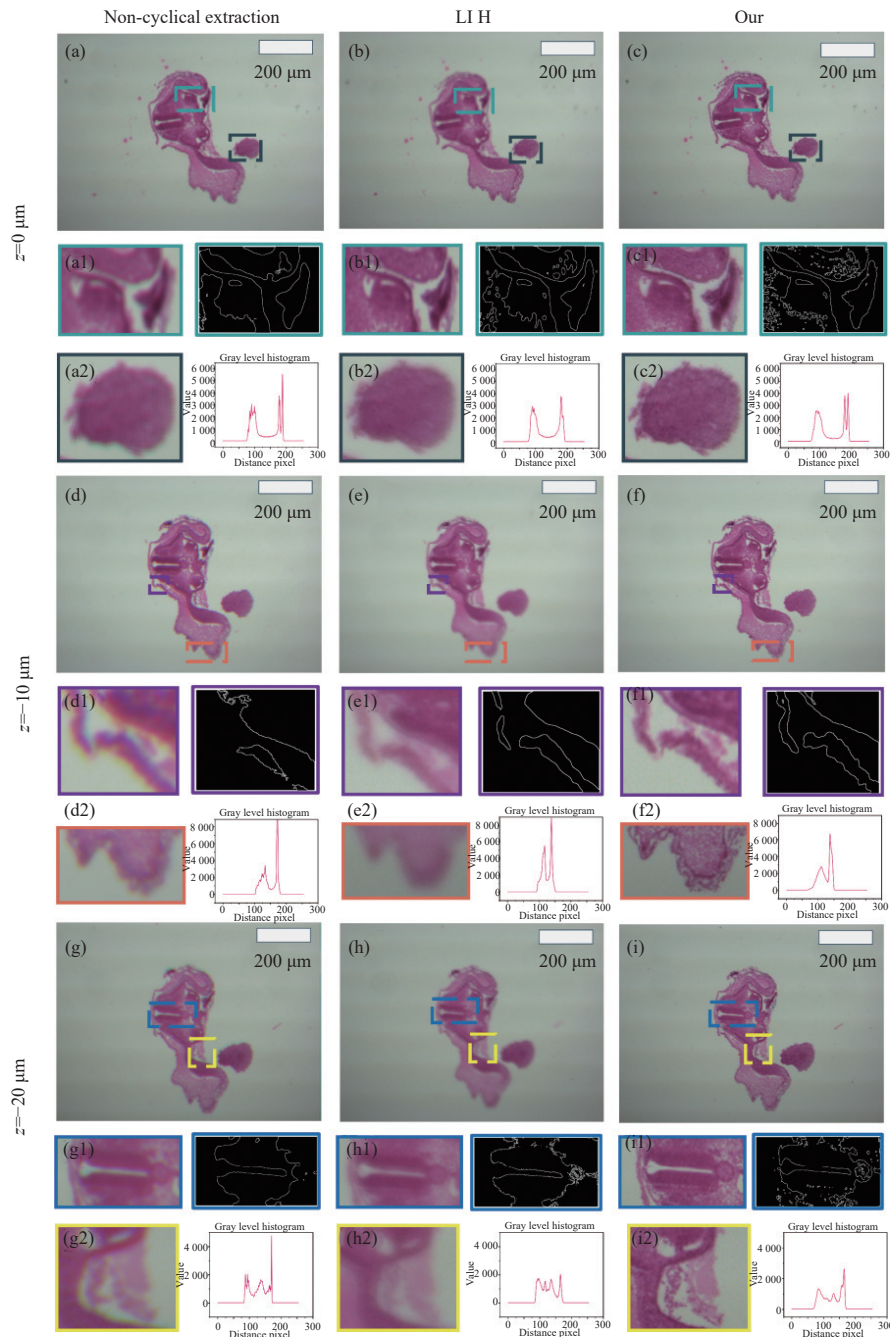
图 5 不同深度切片下美国空军-1951 分辨率目标的无荧光重建结果(灰度图)

Fig. 5 Results of fluorescence-free reconstruction of US Air Force-1951 resolution target under different depth slices (grayscale map)

### 3.2 鸡蛋胚胎重建结果分析

使用本文算法对 72 h 的鸡蛋胚胎切片进行无荧光高分辨率 RGB 三维切片重建,进一步说明该算法对无荧光生物样品重建的有效性。鸡蛋胚胎切片无需荧光标记,可被视为具有一定厚度及细微纹理结构的介观三维物体,鸡蛋胚胎的尺寸为  $1.1\text{ mm}\times 1.1\text{ mm}$ ,厚度约  $20\text{ }\mu\text{m}$ 。本文重建方法针对无荧光介观样品的 RGB 三维切片重建,减小了

荧光试剂对样本的侵害,并保持了成像的高分辨率,在景深范围内,三维切片序列间隔为  $6\text{ }\mu\text{m}$  的情况下能保证重建表面连续性,考虑到 PSF 矩阵数据量和系统重建效率,重建间隔选取为  $4\text{ }\mu\text{m}$ 。根据本文所提方法重建出  $0\sim -20\text{ }\mu\text{m}$  下各深度切片图像,并选取  $0\text{ }\mu\text{m}$ 、 $-10\text{ }\mu\text{m}$ 、 $-20\text{ }\mu\text{m}$  共 3 个深度下的 RGB 鸡胚切片结果,继续与 2.2 节中两种重建方法进行对比分析,结果如图 6 所示。



(a)、(d)、(g) 为非周期性提取算法不同深度重建结果; (a1)、(d1)、(g1) 为局部放大特写, 右侧为该特写区域的轮廓提取图; (a2)、(d2)、(g2) 为局部放大特写, 右侧为该特写区域图像的像素值分布表; (b)、(e)、(h) 为 LIH 的方法不同深度重建结果; (b1)、(e1)、(h1) 为局部放大特写, 右侧为该特写区域的轮廓提取图; (b2)、(e2)、(h2) 为局部放大特写, 右侧为该特写区域图像的像素值分布表; (c)、(f)、(i) 为本文方法不同深度重建结果; (c1)、(f1)、(i1) 为局部放大特写, 右侧为该特写区域的轮廓提取图; (c2)、(f2)、(i2) 为局部放大特写, 右侧为该特写区域图像的像素值分布表。

图6 3种算法72小时鸡蛋胚胎无荧光三维RGB切片重建结果对比

Fig. 6 Comparison of reconstruction results of 72-hour non-fluorescent 3D RGB slices of egg embryos by three algorithms

从图中可以看出, 与其他两种方法对比, 在  $0\ \mu\text{m}$ 、 $-10\ \mu\text{m}$ 、 $-20\ \mu\text{m}$  重建深度下, 本文对无荧光标记的鸡胚切片重建结果具有更小的噪声和更低的模糊度, 由于加入光场视图间的强制约束和光滑正则项, 将视图像素与其他视图上的该像素的

投影强约束, 使得视图明显获得更多有效像素信息; 且使用了全变分正则化项, 平滑了各个深度下的 RGB 切面图像。因此本文3个深度下的重建结果如图6(c1)、图6(f1)和图6(i1), 重建图像噪声更小, 边缘细节更清晰, 其轮廓提取结果具有更

高的精度。相比之下,非周期性提取算法重建结果图 6(a1)、图 6(d1)和图 6(g1),及 LI H 算法重建结果图 6(b1)、图 6(c1)和图 6(e1)都不能很好地重建切片图像,他们的轮廓提取精度较低。

同时根据式(2)光场结构,将重建步骤分解为多深度、RGB 三波段下的光场数据和 PSF 分别卷积结果的逆问题求解,而不是同时对三波段下光场数据统一处理,进一步减小了不同深度切片之间的波段冗余信息,更有利于三维重建。从图 6(c2)、图 6(f2)和图 6(g2)像素值分布图中可以看出,本文方法 3 个重建深度下局部细节的像素分布曲线平滑,像素值频率分布更均匀,重建结果具有更好的纹理细节,而其他两种方法像素值分布较为集中,且在低频信息部分出现了波峰,重建切片图像清晰度较低。由此证明,本文无荧光 RGB-Meso-LFM 方法对无荧光介观三维样品重建效果较好。

对重建结果进行定量对比,采用多种图像质量

评价函数分析重建切片图像质量,有参指标包括图像相似度函数(SSIM)和峰值信噪比函数(PSNR),无参指标包括 Brenner 函数和 Energy 函数。有参指标的参照图像是去除微透镜阵列的普通光学显微镜(其余光学器件参数与本文实验系统相同)机械调焦到相应深度下捕获到的二维高分辨率图像,结合求得的系统 PSF 反卷积去除其他非焦平面的失焦信息而生成的。

各质量评价函数数值越高,代表图像质量越高。从表 2 数据可知,本文提出的无荧光重建方法在整个重建深度均均优于其他两种方法,可以发现在  $z=0\ \mu\text{m}$ 、 $z=-10\ \mu\text{m}$ 、 $z=-20\ \mu\text{m}$  深度下的重建结果,本文方法相对于其他两种方法 PSNR 平均提升 10% 左右,其他评价指标数值也较高,随着重建深度的增加,重建图像模糊程度也在增加,但本文方法始终优于其他两种算法,保持较高的分辨率,具有较强的鲁棒性。

表 2 评价指标对比表

Table 2 Comparison of evaluation indicators

| Method                  | Depth/ $\mu\text{m}$ | SSIM           | PSNR         | Brenner       | Energy        |
|-------------------------|----------------------|----------------|--------------|---------------|---------------|
| Non-cyclical extraction | -0                   | 0.900 1        | 29.84        | 172.35        | 99.74         |
|                         | -10                  | 0.887 6        | 27.44        | 167.93        | 94.66         |
|                         | -20                  | 0.862 2        | 26.51        | 164.54        | 93.35         |
| LI H                    | -0                   | 0.914 9        | 31.34        | 179.24        | 95.71         |
|                         | -10                  | 0.890 1        | 28.12        | 173.87        | 93.45         |
|                         | -20                  | 0.872 1        | 27.80        | 168.46        | 92.16         |
| Our                     | -0                   | <b>0.925 6</b> | <b>34.59</b> | <b>206.36</b> | <b>128.25</b> |
|                         | -10                  | <b>0.901 3</b> | <b>32.51</b> | <b>202.45</b> | <b>116.36</b> |
|                         | -20                  | <b>0.911 6</b> | <b>31.00</b> | <b>199.60</b> | <b>108.14</b> |

## 4 结论

针对光场介观三维重建中荧光染料对样品的高光毒性、高漂白性的问题,本文提出一种基于凸优化理论的无荧光光场高分辨率介观三维 RGB 切片重建方法(RGB-MesoLFM)。基于凸优化理论构建目标函数 3D 反卷积迭代,还原不同深度下原始 RGB 切片图像。与现有的光场介观三维重建方法相比,本文方法无需荧光标记样品,根据波动光学模型确定系统的 3D 点扩散函数,并利用子视图之间的互补信息先验及自然图像先验进一步提升各个深度下三维重建质量,迭代求解目标函数,3D 反卷积出高质量介观三维 RGB 重建结果。对显微分辨率板和鸡蛋胚胎的重建结果表明,本文方法可在重建间隔为  $4\ \mu\text{m}$  的轴向深度下复原出样品各深度下原始切片图像,由于光场能以相机帧率单次

获取样品数据,可对介观尺度下无荧光样品进行实时光场数据采集,相对于其他三维重建方法具有更高的重建效率。重建结果表明,重建出的不同深度的介观 RGB 切片图像在直观视觉质量和客观量化指标方面均较优异。但本文方法仍旧存在提升的空间,后期工作将考虑联合优化多焦点光场数据,进一步减轻光场三维重建中不同深度下重建结果分辨率不均匀的程度。

## 参考文献:

- [1] FOO W, WIEDE A, BIERWIRTH S, et al. Automated multicolor mesoscopic imaging for the 3-dimensional reconstruction of fluorescent biomarker distribution in large tissue specimens[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(7): 3723-3742.

- [ 2 ] GAO S, LI M, NIZAM N I, et al. End-to-end reconstruction for mesoscopic fluorescence molecular tomography via deep learning[J]. *communications*, 2021, 562: 29-35.
- [ 3 ] YANG F, OZTURK M S, ZHAO L, et al. High-resolution mesoscopic fluorescence molecular tomography based on compressive sensing[J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2014, 62(1): 248-255.
- [ 4 ] BJÖRN S, ENGLMEIER K H, NTZIACHRISTOS V, et al. Reconstruction of fluorescence distribution hidden in biological tissue using mesoscopic epifluorescence tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(4): 046005.
- [ 5 ] CHEN Y, FAULKNER D, YANG F. Parallel fast 3D reconstruction for tumor microvascular network in mesoscopic fluorescent molecular tomography[C]//*Clinical and Translational Biophotonics*. [S. l.]: Optica Publishing Group, 2020: JTh2A. 17.
- [ 6 ] COSTANTINI I, BARIA E, SORELLI M, et al. MAGIC: a label-free fluorescence method for 3D high-resolution reconstruction of myelinated fibers in large volumes [EB/OL]. (2020-07-29). [2023-08-01]. <https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2020/07/29/2020.07.28.225011.full.pdf>.
- [ 7 ] SCARDIGLI M, PESCE L, BRADY N, et al. Comparison of different tissue clearing methods for three-dimensional reconstruction of human brain cellular anatomy using advanced imaging techniques[J]. *Frontiers in Neuroanatomy*, 2021, 15: 752234.
- [ 8 ] FIELD J J, SQUIER J A, BARTELS R A. Fluorescent coherent diffractive imaging with accelerating light sheets[J]. *Optics Express*, 2019, 27(9): 13015-13030.
- [ 9 ] NTZIACHRISTOS V, RAZANSKY D. Molecular imaging by means of multispectral optoacoustic tomography (MSOT)[J]. *Chemical Reviews*, 2010, 110(5): 2783-2794.
- [ 10 ] REN M, CHEN J, CHEN D, et al. Aberration-free 3D imaging via DMD-based two-photon microscopy and sensorless adaptive optics[J]. *Optics Letters*, 2020, 45(9): 2656-2659.
- [ 11 ] LEVOY M, NG R, ADAMS A, et al. Light field microscopy[C]//*ACM Siggraph 2006 Papers*. [S. l.]: ACM, 2006: 924-934.
- [ 12 ] BROXTON M, GROSENICK L, YANG S, et al. Wave optics theory and 3-D deconvolution for the light field microscope[J]. *Optics Express*, 2013, 21(21): 25418-25439.
- [ 13 ] WANG Z, ZHU L, ZHANG H, et al. Real-time volumetric reconstruction of biological dynamics with light-field microscopy and deep learning[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(5): 551-556.
- [ 14 ] NÖBAUER T, ZHANG Y, KIM H, et al. Mesoscale volumetric light-field (MesoLF) imaging of neuroactivity across cortical areas at 18 Hz[J]. *Nature Methods*, 2023, 20(4): 600-609.
- [ 15 ] XUE Y, DAVISON I G, BOAS D A, et al. Single-shot 3D wide-field fluorescence imaging with a computational miniature mesoscope[J]. *Science Advances*, 2020, 6(43): eabb7508.
- [ 16 ] LI H, GUO C, KIM-HOLZAPFEL D, et al. Fast, volumetric live-cell imaging using high-resolution light-field microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(1): 29-49.
- [ 17 ] WANG S, LI B, ZHANG F. Molecular fluorophores for deep-tissue bioimaging[J]. *ACS Central Science*, 2020, 6(8): 1302-1316.
- [ 18 ] ROSSI M, FROSSARD P. Graph-based light field super-resolution[C]//2017 IEEE 19th International Workshop on Multimedia Signal Processing (MMSP). New York: IEEE, 2017: 1-6.
- [ 19 ] LI H, YU Y, PENG J, et al. Resolution improvement of light field imaging via a nematic liquid crystal microlens with added multi-walled carbon nanotubes[J]. *Sensors*, 2020, 20(19): 5557.
- [ 20 ] IFTHEKHAR M S, HOSSAIN M A, HONG C H, et al. Radiometric and geometric camera model for optical camera communications[C]//2015 Seventh International Conference on Ubiquitous and Future Networks. New York: IEEE, 2015: 53-57.
- [ 21 ] CLEMENTS R J, DAVIDSON M, MODEL M A. Experimental test of the geometric model of image formation in bright-field microscopy[J]. *Journal of Microscopy*, 2021, 283(1): 3-8.
- [ 22 ] WU J, LU Z, JIANG D, et al. Iterative tomography with digital adaptive optics permits hour-long intravital observation of 3D subcellular dynamics at millisecond scale[J]. *Cell*, 2021, 184(12): 3318-3332.
- [ 23 ] WU J, GUO Y, DENG C, et al. An integrated imaging sensor for aberration-corrected 3D photography[J]. *Nature*, 2022, 612(7938): 62-71.