

國立台灣師範大學 光電科技研究所

碩士論文

Institute of Electro-Optical Science and Technology
National Taiwan Normal University

活體超高解析度光譜光學同調斷層掃描系統的
研發與皮膚應用

in vivo Ultrahigh resolution spectroscopic optical
coherence tomography (UHR-SOCT):
development and it's application in Dermatology

指導教授：郭文娟 博士

李敏鴻 博士

研究生：張正宜

中華民國 一〇二 年 七 月

致謝

美好的時光總是過得特別快，用”光陰似箭”這句成語來形容也不為過。碩士兩年的生涯說長不長、說短也不短，但是這段回憶卻永恆存在於腦海中。

首先，要特別感謝我的指導教授 **郭文娟**老師，謝謝老師您收留我這位剛開始對光學一竅不通的學生，並且細心、耐心、不厭其煩的教導我在生醫光電領域的專業知識，當研究遇到困難時不遺餘力的幫助我們，並為我們加油打氣，當我們做實驗做累的時候，總是會提醒我們趕快休息，老師的關心與教導是我做研究最堅強的後盾。我常常跟別人說，我們老師就像迷霧中的燈塔，帶領我們避開危險的事物，指引我們走上光明的道路。老師也常說”做人比讀書重要”這句話真的是金玉良言讓我受用無窮。再給老師敬上十二萬分的感謝。謝謝老師。

感謝 **李敏鴻**老師在論文的研究上鼎力支持與幫助，謝謝 **許怡仁**老師、**宋孔彬**老師、**蘇振隆**老師，在口試上的指導讓碩論更加的完整。感謝 **周瑞蓉**助教在行政上大力的幫忙，讓我在陽明放心的學習。

接下來，要感謝實驗室的夥伴們，忘不了大夥一起烤肉、爬山、運動的點點滴滴。**逸翔**學長是個開心果讓實驗室充滿了歡笑，回想與學長一起做實驗的時候，不時出考題考我，做實驗前一起擬定實驗全攻略，這些時光真的很開心，也讓我學到很多東西。**俊欽**學長 感謝您總是會仔細聆聽我的問題，不管是在生活上或者研究上，並且提出您的想法與看法，這些寶貴的意見讓我受益良多，畢業後也不時的關心實驗室的學弟們，實在”揪感心”。**孟群**學長 您的手真巧，光纖保護套都可以做的與手工藝品一樣精美，思緒反應很快，總是能舉一反三。**哲彥** 您真的是很拼命，看你無時無刻都在奮鬥，祝你工作之後一帆風順。**岳銘** 從生物背景轉到光電領域，最後再看到您優秀的表現，我相信之後在職場上做任何事情都能如魚得水。**君宇** 真是佩服你的毅力，為了做實驗好幾個月都沒有周休二日，不過做研究不正需要您這種毅力嗎!!堅持到最後總會開花結果的。

最後，我要謝謝我的家人，全心全意的幫助我、鼓勵我，當我心情低落時，安靜的聽我訴說並給與意見，或者帶我出門散散心，所以家人是心靈的避風港呢，也感謝家人在生活上提供精神與物質的支持，讓我能毫無後顧之憂完成學業，真的是太感謝你們了，我愛你們。

102.7.30 張正宜 于 師大

中文摘要

非黑色素瘤(non-melanoma skin cancer, NMSC)與黑色素癌(melanoma)的早期偵測對於癒後仍然是一個關鍵的因素，雖然組織切片與組織學檢查是診斷的黃金準則，但進行所有皮膚病灶的組織切片是不可行的，另外目前癌變的發展基本上僅觀察皮膚病灶顏色、形狀和外觀的變化。然而，皮膚表面下的變化基本上是與表面一樣重要。光學同調斷層掃描(Optical Coherence Tomography, OCT)是一種新穎且具有潛力的活體皮膚腫瘤成像技術。在本研究中，我們成功開發一種超高速(45kHz A-scan rate)、超高解析度的光譜域光學同調斷層掃描影像系統，使用超連續光源以達到在組織內小於 $3\mu\text{m}$ 的軸向解析度，並且可以提供活體人體皮膚組織的三維(three-dimensional, 3D)斷層影像，如血管瘤、痣和甲壁。我們還提出一個“moment”的光譜分析演算法，它可以提供量化的光譜偏態，我們測試幾種類型的仿體包括蓋玻片、奈米合金、含氧血紅素、去氧血紅素。最後，我們運用相同的方法於活體高散射的組織進行測試。

關鍵字: 非黑色素瘤、黑色素癌、光學同調斷層掃描、光譜域光學同調斷層掃描、動差。

Abstract

Early detection remains a key factor for non-melanoma skin cancer (NMSC) as well as melanoma for a positive prognosis. Although biopsy and histological examination remain the gold standard for diagnosis, performing biopsies to all skin lesions is not feasible. Besides, currently the cancerous development is basically monitored on the changes in color, shape, texture and appearance of skin lesions. However, the sub-surface changes are fundamentally as important as the surface. Optical Coherence Tomography (OCT) is a new imaging modality with promising potential for in vivo imaging of skin tumor. In this study, we successfully developed an ultrafast (45kHz A-scan rate), ultrahigh resolution spectroscopic spectral domain OCT imaging system, using supercontinuum light source, which can achieve smaller than $3\ \mu\text{m}$ axial resolution in tissue and can provide three-dimensional (3D) in vivo tomograms on human skin tissues like Angioma, nevus and the nailfold. We also proposed a spectrum analysis algorithm by using the index of “moment”, which can provide the quantification of spectrum skewness. We tested several kinds of phantom including the cover glass, AuAg alloy nanoparticles, oxygenated hemoglobin and deoxy-hemoglobin. Finally, we implemented the same algorithm on the in vivo highly scattering tissues.

Key Words: non-melanoma skin cancer, melanoma, Optical Coherence Tomography, spectroscopic spectral domain OCT, moment

目錄

致謝	I
中文摘要	II
英文摘要	III
目錄	IV
圖目錄	VI
表目錄	IX
第一章 緒論	1
1.1 研究動機與目的	1
1.2 文獻回顧	3
1.3 論文架構	4
第二章 理論背景	6
2.1 頻域光學同調斷層掃描術 (Spectral domain OCT, SD-OCT)	6
2.1.1 SD-OCT 原理	6
2.2 光譜光學同調斷層掃描術 (Spectroscopic OCT, SOCT)	8
2.3 短時傅立葉轉換(Short-time Fourier Transform, STFT)	9
2.4 光譜儀最大掃描深度(Z max)	11
2.5 光學同調斷層掃描術的空間解析度	12
2.5.1 軸向解析度	12
2.5.2 橫向解析度	14
2.6 生物組織的光學特性	15
2.7 動差(Moment)	16
第三章 實驗架構	18
3.1 實驗系統介紹	18
3.2 實驗元件	19
3.2.1 光源	19
3.2.1 光譜儀	20
3.3 仿體製備	21
3.3.1 載體製作	21
3.3.2 血液仿體製作	21
3.4 訊號擷取與處理	23
3.5 Moment 演算法	24

第 4 章 結果與討論	25
4.1 空間解析度	25
4.1.1 軸向解析度	25
4.1.2 橫向解析度	27
4.2 信號訊雜比(Signal to Noise Ratio , SNR)	30
4.3 仿體測試	31
4.3.1 鏡子	31
4.3.2 彩色濾光片(Colored Glass Filter).....	34
4.3.3 載體	36
4.3.4 奈米合金粒子	39
4.3.5 帶氧血紅素	43
4.3.6 去氧血紅素	46
4.4 皮膚樣品量測	50
4.4.1 血管瘤	50
4.4.2 痣	54
4.4.3 手指甲壁皮膚	59
4.5 利用 moment 於皮膚樣品量測	62
4.5.1 moment 偏態選擇	62
4.5.2 moment 運用於高散射樣品量測	63
第五章 結論與未來展望	69
參考文獻	70

圖目錄

圖 2-1	SD-OCT 系統	6
圖 2-2	時域與頻域 SOCT	9
圖 2-3	(a)頻域，(b)時域，兩者互為傅立葉轉換關係.....	11
圖 2-4	高斯光場聚焦大小及景深示意圖.....	14
圖 2-5	光在組織內的行走路徑.....	15
圖 2-6	近紅外光組織吸收圖.....	16
圖 2-7	(a)正偏態 (b) 負偏態.....	17
圖 2-8	moment 示意圖.....	17
圖 3-1	SD-OCT 架構	18
圖 3-2	光源輸出的光譜強度.....	19
圖 3-3	經元件後未干涉的光譜.....	20
圖 3-4	載體俯視圖	21
圖 3-5	載體剖面圖	21
圖 3-6	全血.....	22
圖 3-7	血漿與紅血球分離.....	22
圖 3-8	血氧儀所量測到全血加酵母的血氧飽和濃度變化.....	23
圖 3-9	訊號擷取與處理.....	23
圖 3-10	moment 演算法流程圖.....	24
圖 4-1	光學空間解析力定義.....	25
圖 4-2	軸向解析度.....	26
圖 4-3	Thorlabs USAF 1951 解析度測試片	27
圖 4-4	(a)(b)高倍物鏡測試片二維影像	28
	(c)高倍物鏡測試片二維影像一段邊界.....	28
	(d)對邊界取微分後的點擴散函數.....	28
圖 4-5	(a)(b)低倍物鏡測試片三維影像	29
	(c)低倍物鏡測試片三維影像一段邊界.....	29
	(d)對邊界取微分後的點擴散函數.....	29
圖 4-6	各深度鏡子反射訊號強度.....	30
圖 4-7	(a)不同深度鏡子反射回來的光譜訊號	32
	(b)不同深度鏡子反射回來的光譜面積變化	32
	(c)不同深度鏡子反射回來的光譜偏態變化.....	32
	(d)不同時間鏡子反射回來的光譜訊號	33
	(e)不同時間鏡子反射回來的光譜面積變化.....	33
	(f)不同時間鏡子反射回來的光譜偏態變化.....	33
圖 4-8	彩色濾光片外觀.....	34

圖 4-9	彩色濾光片穿透率	34
圖 4-10	(a)鏡子干涉光譜 (b)經彩色濾光片干涉光譜 (c)STFT 光譜訊號	35
圖 4-11	載體剖面圖	36
圖 4-12	載體 OCT 影像圖	36
圖 4-13	(a)蓋玻片第一層光譜 (b) 蓋玻片第二層光譜 (c)載玻片第一層光譜	37
圖 4-14	(a)載體 M0 面積圖	38
	(b)載體 M1/M0 偏態圖	38
	(c)載體 M1/M0 散佈圖	38
圖 4-15	(a)奈米合金 TEM 圖	39
	(b)奈米合金吸收光譜	39
圖 4-16	(a)蓋玻片第一層光譜	40
	(b)蓋玻片第二層光譜	40
	(c)經奈米合金載玻片第一層光譜	40
圖 4-17	(a)奈米合金 OCT 影像圖	41
	(b)奈米合金 M0 面積圖	41
	(c)奈米合金 M1/M0 偏態圖	41
	(d)奈米合金 M1/M0 散佈圖	41
圖 4-18	奈米合金與載體一維量化圖	42
圖 4-19	(a)載體加入帶氧血紅素	43
	(b)帶氧血紅蛋白莫耳消光係數	43
圖 4-20	(a)蓋玻片第一層反射光譜 (b) 蓋玻片第二層反射光譜	44
	(c)經帶氧血紅素的載玻片第一層反射光譜	44
圖 4-21	(a) 帶氧血紅素 OCT 影像圖 (b) 帶氧血紅素 M0 面積圖 (c) 帶氧血紅素 M1/M0 偏態圖 (d) 帶氧血紅素 M1/M0 散佈圖	45
圖 4-22	(a)載體加入去氧血紅蛋白	46
	(b)去氧血紅蛋白莫耳消光係數	46
圖 4-23	(a)蓋玻片第一層反射光譜 (b)蓋玻片第二層反射光譜	47
	(c)經去氧血紅素的載玻片第一層反射光譜	47
圖 4-24	(a)去氧血紅素 OCT 影像圖 (b) 去氧血紅素 M0 面積圖 (c) 去氧血紅素 M1/M0 偏態圖 (d) 去氧血紅素 M1/M0 散佈圖	48
圖 4-25	帶氧血紅素與去氧血紅素一維量化圖	49
圖 4-26	帶氧血、去氧血、玻片的光譜圖	49
圖 4-27	(a)皮膚鏡血管瘤影像	51
	(b)血管瘤三維影像	51
	(c)血管瘤(X-Y)平面影像深度圖	51
圖 4-28	(a)血管瘤(X-Z)平面二維影像示意圖。	52
	(b-1) 正常皮膚，(b-2~4)血管瘤。	52
圖 4-29	(a) (b) (c) 血管瘤各切面影像	53

圖 4-30	(a) 皮膚鏡平坦痣影像。	55
	(b) 平坦痣的 OCT 三維影像。	55
	(c) 平坦痣的(X-Y)平面影像深度圖。	55
圖 4-31	(a) 平坦痣 (X-Z)平面影像示意圖。	56
	(b-1) 正常皮膚圖，(b-2~4) 平坦痣影像圖。	56
圖 4-32	(a) 凸型痣 (X-Z)平面影像示意圖。	57
	(b)(c)(d) 凸型痣三維影像	57
	(e)凸型痣 (X-Y)平面影像深度圖	57
圖 4-33	(a)凸型痣(X-Z)平面影像示意圖 (b-1)正常皮膚，(b-2~4) 凸型痣	58
圖 4-34	(a)甲壁剖面示意圖 (b)甲壁(X-Z)平面影像圖 (c) 甲壁(X-Y)平面影像圖	
	(d)甲壁(Y-Z)平面影像圖。	61
圖 4-35	血管瘤二維圖	62
圖 4-36	(a) M1/M0 散佈圖	62
	(b) M3/M0 散佈圖	62
圖 4-37	(a) M1/M0 強度圖	63
	(b) M3/M0 強度圖	63
圖 4-38	(a)OCT 豬皮 1 號圖	64
	(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起	64
	(c)三區塊 M1/M0 圖	64
	(d)把三區塊 M1/M0 值取平均值與標準差	64
圖 4-39	(a) OCT 豬皮 2 號圖	65
	(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起	65
	(c)三區塊 M1/M0 圖	65
	(d)把三區塊 M1/M0 值取平均值與標準差	65
圖 4-40	(a)OCT 血管瘤 1 號圖	67
	(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起	67
	(c)五區塊 M1/M0 圖	67
	(d)把五區塊 M1/M0 值取平均值與標準差	67
圖 4-41	(a)OCT 血管瘤 2 號圖	68
	(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起	68
	(c)三區塊 M1/M0 圖	68
	(d)把三區塊 M1/M0 值取平均值與標準差	68

表目錄

表 1-1	醫學影像運用於皮膚.....	3
表 3-1	光源詳細規格.....	19
表 3-2	光譜儀詳細規格.....	20
表 4-1	Thorlabs USAF 1951	28
表 4-2	各深度鏡子反射訊號 SNR	30
表 4-3	奈米合金與載體一維量化值.....	42
表 4-4	帶氧血紅素與去氧血紅素一維量化值.....	49

第一章 緒論

1.1 研究動機與目的

皮膚是人體最大的器官，它的總面積約 1.5 到 2 平方公尺，是人體抵禦有害光線及病菌入侵的第一道防線。皮膚表皮主要由三種細胞構成，製造黑色素的黑色素細胞 (melanocyte)、圓柱型的基底細胞 (basal cell) 及扁平的鱗狀細胞 (squamous cell)，紫外線過度曝曬是皮膚細胞轉化成惡性腫瘤的主要因素之一。紫外線所導致皮膚癌的原理是破壞細胞中的 DNA，而造成細胞修復能力遭受破壞，降低了免疫系統，再加上其它有利的因素，就導致皮膚癌的發生。

皮膚癌的發生機率不管在世界上或台灣都有逐年上升的趨勢而國人常見的 10 大癌症序位皮膚癌總是位居第 8 或第 9 位[1]。皮膚惡性腫瘤分為非黑色素瘤與黑色素瘤，屬於非黑色素瘤的有基底細胞瘤[2](basal cell carcinoma, BCC)、鱗狀細胞癌[2](squamous cell carcinoma, SCC)等，最常見的皮膚癌為基底細胞瘤又稱侵蝕性潰瘍，臨床上約佔百分之 70 至 85 都屬於此類型，癌細胞源於表皮最深層，初期出現塊狀丘疹、呈疣狀隆起，而後破潰為潰瘍灶改變，不規則，邊緣隆起，似火山口狀。鱗狀細胞癌又稱上皮細胞癌，臨床上約佔百分之 15 至 20，主要從有鱗狀上皮覆蓋的皮膚開始，初期就有潰瘍發生，呈結節、菜花狀、蝶狀且常伴有化膿，惡臭及疼痛。少數情況下，真皮層內的血管也可能因為化學物質、紫外線、輻射線等因素而產生癌化現象。然而近年來，血管型態對於疾病判別產生一定的重要性[3]，如無色素黑色素瘤[4](amelanotic melanoma)、表層基底細胞瘤[5] (superficial basal cell carcinoma)、表皮原位癌[5] (Intra-epidermal carcinoma)、銀屑病[5](psoriasis)等，可以藉由觀察血管型態來增加診斷的準確度。

黑色素瘤(malignant melanoma of skin)是皮膚癌死亡率最高，極容易轉移擴散的腫瘤，臨床上約佔百分之 5，黑色素瘤源於黑色素細胞，東方人黑色素瘤

好發於身體肢端，如手指、腳趾、腳掌等部位，初期與一般痣相同，人們常常會忽視它，繼之病灶不斷擴大、變硬、伴有癢痛感，發現時通常已經出現轉移的情形。

現在臨床上診斷皮膚癌的方法有組織切片、皮膚鏡等，並以組織切片為判斷皮膚癌的黃金準則，但是組織切片是屬於侵入式的病理檢查，需要手術、麻醉、縫合，傷口也很有可能感染、產生疤痕甚至導致癌細胞擴散等風險。皮膚鏡(dermoscope)又稱為表皮透光顯微鏡，已廣泛運用於黑色素瘤的臨床診斷[6]，由光源(LED)、物鏡等所組成，使用簡單，傳統皮膚鏡需要在皮膚塗上耦合液(礦物油、凝膠等)，使皮膚減少反光，增加透光度但有機會造成皮膚炎的負作用而且接觸式皮膚鏡會人為改變病灶型態，造成誤判的情形。偏振光皮膚鏡，主要是利用偏振光原理不需塗抹耦合液，就可消除皮膚表面強反射光的影響，從而可以觀察到皮下組織的型態，但卻不利於表皮的病灶診斷。以上兩種方法都是屬於型態學做為基礎，判斷根據是以醫生的主觀經驗，並依照經驗歸納出一些規則，如判斷黑色素瘤的 ABCDE 規則，A(asymmetry)不對稱性、B(border)邊緣、C(color)顏色、D(diameter)，E(elevation)隆起，這些都缺少準確性及客觀性。

組織切片與皮膚鏡都是屬於二維影像，在醫學影像上可以提供一定的資訊做判讀，但可能會因切除的病灶區塊、觀察的位置不同而造成診斷上的差異，所以我們以光譜域光學同調斷層掃描(spectral Domain optical coherence tomography, SD-OCT)架構下建立超高解析度的三維斷層影像，並可以依觀察物的不同來快速切換物鏡(5 倍、10 倍)，提供更多橫向的組織資訊，我們使用寬頻光源(760nm-960nm)，而此波段水對組織的吸收微弱，有利於我們觀察皮膚上的吸光物質光譜變化如黑色素(melanin)、帶氧血紅素(Oxygenated-hemoglobin, HbO₂)、去氧血紅素(deOxygenated-hemoglobin, Hb)，若能進一步量測血氧含量(StO₂)這個參數就等於間接知道腫瘤組織位置，對於腫瘤位置判斷非常有幫助，所以我們將作一系列的仿體測試來模擬皮膚的吸光物質並提出定性方法來

量化光學參數，希望之後可以提供醫生更客觀、更詳細的診斷資訊。

1.2 文獻回顧

非侵入式斷層影像運用於皮膚研究上

皮膚醫學影像是以非侵入方式取得內部組織影像的技術，醫學影像發展至今已發展出多種影像技術，如表 1-1 所示，核磁共振成像(Nuclear magnetic resonance imaging, NMRI)、電腦斷層掃描 (Computerized tomography, CT)，都因解析度不足，無法用在皮下組織型態成像。雷射掃描共焦顯微鏡、雙光子共焦顯微鏡，可以量測活體細胞尺度的組織影像，已經有文獻表示觀察到腫瘤細胞與正常細胞的不同[7-8]，共焦顯微鏡的優點是高軸向解析度，但因為需要螢光染色且穿透深度僅有幾百微米、成像速度慢，造成使用上有所限制。超音波斷層攝影術，可依探頭頻率、掃描方向而產生不同影像品質，超音波軸向解析度與穿透深度呈反比，穿透深度是超音波斷層攝影術的優點，但影像品質仍然不足以觀察到皮膚組織細微結構。皮膚鏡，使用方便可看到皮膚表面型態影像，但不具有斷層影像的能力。

Imaging Method	Resolution	Penetration Depth	In vivo Use	Continue Use
Computed Tomography (X-ray)	2-3mm	Entire body	Yes	<5min
Magnetic Resonance Imaging	2-3mm	Entire body	Yes	<30min
Ultrasound	500mm	10-20cm	Yes	Yes
Optical coherence Tomography	10 μ m	2-3mm	Yes	Wavelength Dependent
Confocal Microscopy (520nm CW)	1-5 μ m	0.2-0.5mm	Yes	10s
Multiphoton Microscopy (Ti:S pulsed)	0.4-1 μ m	0.2-0.5mm	No	500s
Harmonic Generation Microscopy (Cr:F pulsed)	0.3 μ m	1.5mm	Yes	20hr

表 1-1 醫學影像運用於皮膚。

光學同調斷層掃描術(Optical Coherence Tomography, OCT)是利用低同調干涉術的原理(Low Coherence Interferometry, LCI)於西元 1990 年代初期由 James. G. Fujimoto 等人所發展的光學診斷技術[9]，具非侵入性、高解析度、即時掃描、非游離輻射的特點，與組織切片一樣是縱斷面成像，符合傳統觀察的習慣。目前可

探測深度約 2-3 釐米，且軸向及橫向解析度都達到微米等級，在過去十年，就已經運用 OCT 研究活體皮膚組織結構[10]，因此證明 OCT 已經可以看到皮膚的角質層、表皮層、真皮層、血管、毛囊、及汗腺[11]，目前出現幾種研究，一.組織型態上的變化，如皮膚彈性、老化、保濕、乾燥、腫瘤的特徵變化[12]，二.發炎反應，如銀屑病(psoriasis)，扁平苔癬(lichen planus)，紅斑性狼瘡(cutaneous lupus erythematosus)[13]等。

目前用於皮膚科的功能性光學同調斷層掃描術，有光學都卜勒斷層掃描術(Doppler OCT, DOCT)，它可以偵測到皮膚底下的血流速度及方向，起先在臨床上應用於觀察葡萄酒色斑(port-wine stain, PWS)的治療追蹤[14]。極化靈敏式光學斷層掃描攝影術(Polarization Sensitive OCT, PS-OCT)，利用組織分子排列不同所造成的光學雙折射現象，已經有用於偵測膠原蛋白、皮膚燒傷，侵入性基底細胞癌的研究出現[15]。光譜光學同調斷層掃描術(spectroscopic optical coherence tomography, SOCT)於西元 2000 年由 U. Morgner 等人提出，藉由 SOCT 增加影像對比，並觀察到非洲蛙蝌蚪皮膚上的黑色素細胞(Melanocytes)與間葉組織(Mesenchyme)吸收光譜[16]。現今已經有很多文獻利用 SOCT 量測出血氧飽和濃度[17]，血氧飽和濃度是非常重要的生理參數，例如低血氧飽和度，表示組織處於缺氧狀態，缺氧可能引起細胞死亡病變進而造成冠狀動脈硬化甚至癌症的發生。

1.3 論文架構

本論文的主要內容為以 SD-OCT 系統針對仿體與人體皮膚進行光譜量測與分析，並實現三維掃描皮膚組織結構與型態，內容分為以下章節：

第一章：闡述本論文研究動機與目的以及 OCT 臨床研究背景。

第二章：介紹在本論文用到背景知識如 SD-OCT 原理、時頻轉換法(STFT)、動差(moment)等計算方式。

第三章 :說明實驗架構、仿體製作流程、實驗方法。

第四章 :系統的空間解析度測試並以仿體實驗結果來證明系統的可行性，最後展示於人體皮膚血管瘤、黑色素母斑與甲壁的三維造影。

第五章 :總結並提出未來可能的發展。

第二章 理論背景

2.1 頻域光學同調斷層掃描術 (Spectral domain OCT, SD-OCT)

頻域光學同調斷層掃描技術(SD-OCT)是利用寬頻光源的低同調性質，將光線射入待測物的內部，因待測物內各層組織折射率不同造成光線的反射，這些反射光回來與參考端的光進行干涉，最後我們藉由光譜儀接收訊號，將此干涉訊號做時頻轉換，就可以分析樣品深度資訊。頻域 OCT 最大的優點在於不用來回推動參考端的鏡子就可以得到一次軸向掃描的資訊，且成像速度遠大於時域 OCT。

2.1.1 SD-OCT 原理

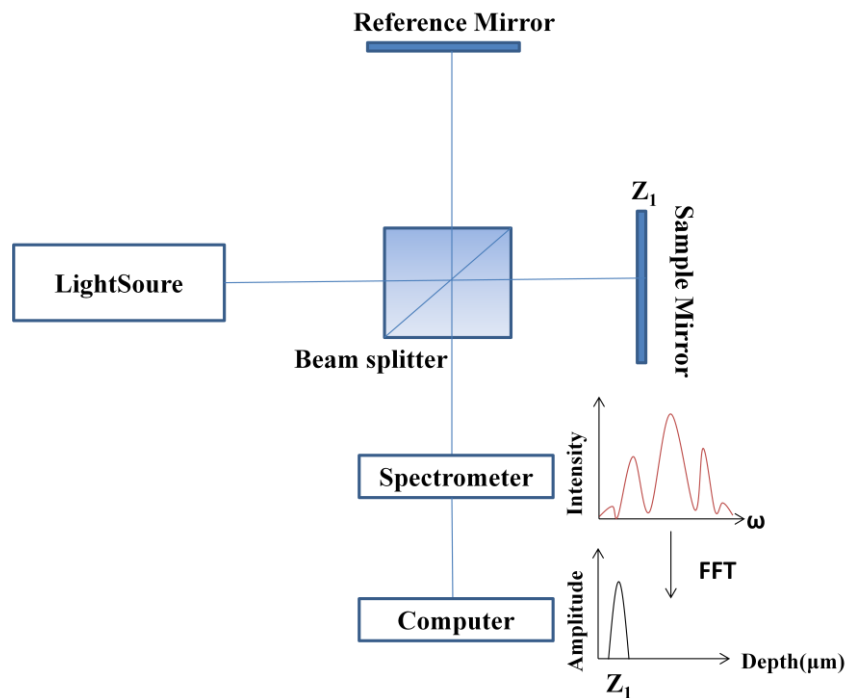


圖 2-1 SD-OCT 系統。

本系統架設是以麥克森干涉儀為基礎發展出來的 SD-OCT，如圖 2-1 所示，光源通過分光鏡後，分成兩道光，一道光經過鏡子端反射(參考端)，另一道光經過待測物端反射(樣品端)，兩道光於分光鏡重合產生干涉，我們假設參考端的電場為 E_R 、樣品端的電場為 E_S 。分別表示如(2-1)式、(2-2)式

$$E_R = G(k)a_R e^{i2kr} \quad (2-1)$$

$$E_S = G(k) \int_{z_0}^{\infty} a(z) e^{i2kn(z)(r+z)dz} \quad (2-2)$$

其中 $G(k)$:光源的頻譜、 n :折射率、 a_R :參考端反射光電場強度、 $a(z)$:受測物每一層反射光電場強度、 r :參考端移動的距離、 z :參考端反射面在初始位子($r=0$)時與受測物表面的路徑差。因此我們在偵測端的總干涉訊號 $I(k)$ 可以表示為光譜頻率強度 E_R 與 E_S 總和平方乘積:

$$I(k) = G(k)^2 \left| a_R e^{i2kr} + \int_{z_0}^{\infty} a(z) e^{i2kn(z)(r+z)dz} \right|^2 \quad (2-3)$$

我們把(2-3)式展開

$$I(k) = G(k)^2 \left[(a_R)^2 + 2 \int_{z_0}^{\infty} a(z) \cos[2kn(z)z] dz + \int_{z_0}^{\infty} a(z) e^{i2kn(z)(r+z)dz} \int_{z_0}^{\infty} a(z') e^{i2kn(z')(r+z')dz'} \right] \quad (2-4)$$

整理並代入 $a_R=1$ ，表示參考端與樣品端光強一樣， $r=0$ ，表示參考端與樣品端不需掃描得到下列數學式。

$$I(k) = G(k)^2 \left(1 + 2 \int_{z_0}^{\infty} a(z) \cos[2kn(z)z] dz + \int_{z_0}^{\infty} \int_{z_0}^{\infty} a(z) a(z') e^{i2kn(z-z')dzdz'} \right) \quad (2-5)$$

其中第一項為直流項(DC)、第二項為樣品互干涉、第三項為樣品的自干涉 (Autocorrelation)。

由上述得知，所得到的每一個干涉訊號，都是因為不同相位差所造成的，在待測物距離光程差越遠的地方，產生高頻的干涉光譜；反之，越靠近表面的地方，產生較低頻的光譜。組織間內部也會因各層介面的反射而產生干涉訊號。我們再將干涉訊號用傅立葉轉換成時域干涉條紋後，將得到樣品結構資訊：

$$I(t) = FFT\{I(k)\} \quad (2-6)$$

如此便可換算出物體各層面的深度位置，此為 SD-OCT 系統深度解析原理。

2.2 光譜光學同調斷層掃描術 (Spectroscopic Optical Coherence Tomography, SOCT)

SOCT 是 SD-OCT 的延伸應用，它並不是光學架構，而是一種訊號的分析方法。SOCT 分為時域 SOCT(Time-Domain SOCT)與頻域 SOCT(Frequency-Domain SOCT)，如圖 2-2 所示，由於時域 SOCT 成像速度慢，我們在本論文中所建立的是頻域 SOCT。SOCT 藉由干涉儀架構獲取完整干涉訊號後由光譜儀接收，假如我們收到的訊號如下：

$$\begin{aligned} SOCT(\omega) &= |E_R(\omega) + E_S(\omega)|^2 \\ &= |E_R(\omega)|^2 + |E_S(\omega)|^2 + 2E_S^*(\omega)E_R(\omega)\cos(\omega t) \end{aligned} \quad (2-7)$$

再利用 STFT 於干涉項 $2E_S^*(\omega)E_R(\omega)\cos(\omega t)$ 時可得

$$S(\omega) = \int 2E_R(\omega')E_S^*(\omega')\cos(\omega't)e^{\frac{-(\omega'-\omega)^2}{2u^2}}e^{-i\omega'z}d\omega' \quad (2-8)$$

所以我們可以去解析出組織內不同深度的光譜特性。寬頻光源內含有不同波長，根據不同波段在同一組織具有不同的光學參數，因此可分析不同組織的吸收係數、血氧飽和度、結構與成分。SOCT 也可以利用這些的吸收特性來模擬對比劑的功用。例如帶氧血紅素與去氧血紅素的吸光特性不同，我們就可以分析其光譜來做圖而描繪出動脈、靜脈的血管。

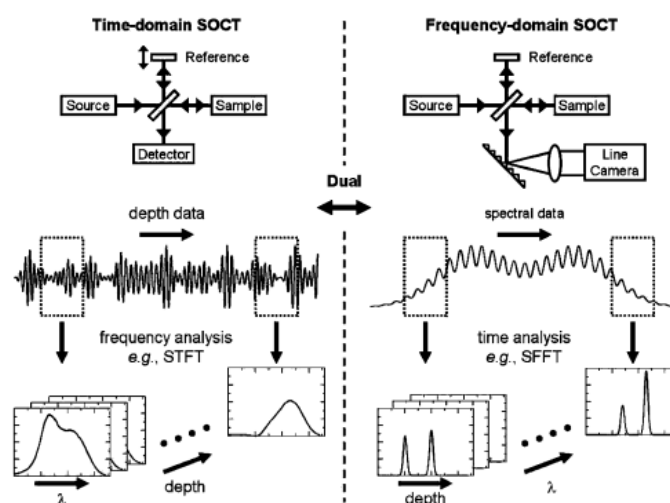


圖 2-2 時域與頻域 SOCT[18]。

2.3 短時傅立葉轉換(Short-time Fourier Transform, STFT)

此章節介紹短時傅立葉轉換。為了研究訊號在局部範圍的頻域特徵，1946 年由 Gabor 提出加了窗函數的傅立葉轉換，由此可知短時傅立葉轉換是由傳統傅立葉轉換推導而來，所以我們先從傅立葉轉換開始推導，傅立葉轉換數學式如下：

$$X(f) = \mathcal{F}[x(t)] = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)e^{-i2\pi ft} dt \quad (2-9)$$

其中 $x(t)$:時域訊號、 $x(f)$:頻域訊號。

STFT 數學定義，即是一個函數乘上一段時間不為零的窗函數再進行一維的傅立葉轉換。再將這個窗函數沿著時間軸挪移，所得到一系列的傅立葉變換結果排開則成為二維表象。

STFT 的物理意義，即是把時變的訊號切割成一個個區塊，接著對每一區塊的訊號做傅立葉轉換，產生一個二維的時間-頻率圖。

STFT 數學式如下：

$$X(\tau, \omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \omega(t - \tau)x(t)e^{-i2\pi f} dt \quad (2-10)$$

其中 $x(t)$ ：時域訊號， $X(\tau, \omega)$ ：頻域訊號， $\omega(t)$ ：窗函數。

它與傳統傅立葉轉換不一樣的地方為，在訊號進行傅立葉轉換之前，會先乘上一個窗函數(window function)，而這個窗函數只在有限時間區間內不為 0。窗函數的選擇方面，包含了有 Hamming、Hanning、Gaussian 等。

Windows size 與 Frequency resolution 是有相互關係的，式子如下：

$$\text{Windows size} = \frac{fs}{\Delta f} \quad (2-11)$$

$$\text{Frequency resolution} = 2 \cdot \frac{fs}{\text{WindowSize}} \quad (2-12)$$

由(2-12)式得知選擇較大的 Window Size 會得到較佳的頻域解析度，但是會犧牲掉時域解析度；反之，選擇較小的 Window Size 將會得到較佳的時域解析度，較差的頻域解析度。所以我們可以視當下的訊號來調控 Windows size，來達到我們所需要的頻域解析度。

2.4 光譜儀最大掃描深度(Z max)

在 SD-OCT 系統架構中，訊號接收端是由光譜儀接收，假設我們接收到的干涉光譜 $I(k)$ 由 N 個離散的偵測器接收，經由傅立葉轉換，得到一系列 $\Delta\tau$ 時間延遲的 $N/2$ 個離散點，如圖 2-3 所示

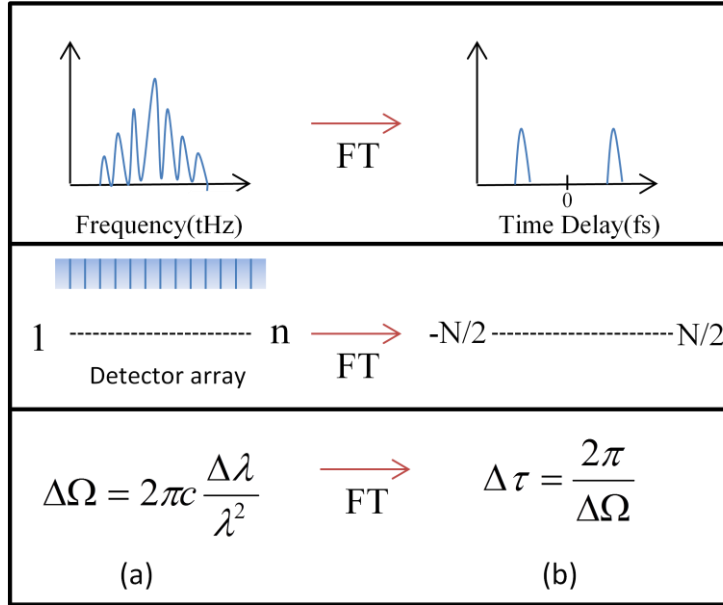


圖 2-3 (a)頻域，(b)時域，兩者互為傅立葉轉換關係。

其中 $\Delta\tau$ 由可偵測的光譜寬度 $\Delta\Omega$ 所決定：

$$\Delta\Omega = \frac{2\pi}{\Delta\tau} \cong 2\pi c \frac{\Delta\lambda}{\lambda^2} \quad (2-13)$$

將(2-13)式帶入 $\frac{c}{n_{ave}}$ ，其中 n_{ave} 為假設樣品所有反射率的平均值，即可轉換為時域。由此可知最大掃描深度 Z_{max} 可以取決於時域點數($N/2$)，除以 2 是因為光是來回經過樣品端，表示如下：

$$Z_{max} = \frac{1}{2} \left(\frac{N}{2} \cdot \Delta\tau \cdot \frac{c}{n_{ave}} \right) = \frac{1}{4n_{ave}} \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} N \quad (2-14)$$

由(2-14)式可以看出偵測器與最大掃描深度的關係。

2.5 光學同調斷層掃描術的空間解析度

2.5.1 軸向解析度

在 OCT 系統中，軸向解析度決定的是光源的頻寬而中心波長決定於穿透深度，在許多 OCT 相關文獻裡，通常定義光源同調長度的一半為系統的軸向解析度，而同調長度就是指光源的自相干函數 (self-coherence function, SCF) 的半高全 (full-width at half-maximum, FWHM) 乘上光速 C ，由 Wiener-khintchine 定理得知，時間同調函數與光源頻譜互為傅立葉轉換關係，證明如下：

$$\begin{aligned}
 \int \Gamma(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E(t) E^*(t-\tau) dt e^{-i\omega\tau} d\tau \\
 &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E(t) E^*(t-\tau) e^{-i\omega(t-\tau)} e^{-i\omega\tau} d\tau dt \\
 &= \int_{-\infty}^{\infty} E(t) e^{-i\omega t} \int_{-\infty}^{\infty} E^*(t-\tau) e^{-i\omega(t-\tau)} d\tau dt \\
 &\quad \text{令 } \tau' = t - \tau \\
 &= \int_{-\infty}^{\infty} E(t) e^{-i\omega t} \int_{-\infty}^{\infty} E^*(\tau') e^{-i\omega\tau'} d\tau' dt \\
 &= E^*(\omega) \int_{-\infty}^{\infty} E(t) e^{-i\omega t} dt \\
 &= E^*(t) E(t) = P(\omega) \tag{2-15}
 \end{aligned}$$

$P(\omega)$ 為光源頻譜，假設光源的頻譜是高斯分佈，則時間同調函數也是高斯分佈，可表示如下

$$P(\omega) \propto e^{-\frac{(\omega-\omega_0)^2}{2W^2}} \tag{2-16}$$

其頻譜的半高寬值為 $\Delta\omega$

$$\Delta\omega = 2[2\ln 2]^{\frac{1}{2}}W \quad (2-17)$$

將光源頻譜做傅立葉轉換就得時間同調長度 τ_c

$$\tau_c = \frac{2[2\ln 2]^{\frac{1}{2}}}{W} \quad (2-18)$$

因此光源頻譜頻寬與時間同調關係如下：

$$\Delta\omega \cdot \tau_c = 8\ln 2 \quad (2-19)$$

再經由以下參數變換

$$\Delta\omega = 2\pi\Delta f = 2\pi c \frac{\Delta\lambda}{\lambda^2} \quad (2-20)$$

將上式(2-20)帶入式(2-19)得

$$\tau_c = \frac{8\ln 2}{\Delta\omega} = \frac{8\ln 2}{2\pi c} \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} \quad (2-21)$$

同調長度等於同調時間乘上光速

$$l_c = \tau_c \cdot c$$

$$l_c = \frac{4\ln 2}{\pi} \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} \quad (2-22)$$

由(2-22)式得知同調長度與中心波長平方乘成正比與頻寬成反比，所以越寬頻的光源所得到的同調長度就越短，因此只有在光程差很小的距離才會進行干涉以達到高軸向的斷層影像。OCT 的軸向解析度為同調長度的一半，因為光從需要從樣品端來回，所以光走的距離是真實的兩倍，表示如下：

$$\Delta z = \frac{l_c}{2} = \frac{2\ln 2}{\pi} \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} = 0.44 \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} \quad (2-23)$$

2.5.2 橫向解析度

OCT 的橫向解析度，決定於物鏡光斑的大小，如圖 2-4 所示，假設一道平行光為高斯分佈的光場強度，經過一個焦距 f 的透鏡，透鏡的直徑為 D ，光會聚焦於焦距上，焦點光斑半徑大小 ω_0 ，而光斑直徑 $2\omega_0$ 就是高斯光束空間上的解析度

$$2\omega_0 = \frac{4\lambda f}{\pi D} \quad (2-24)$$

透鏡焦點的位置光斑最小，所以此為系統最佳的橫向解析度，但隨著焦平面逐漸遠離，光斑大小將逐漸變大，則橫向解析度就會變差，關係如下式：

$$\omega(z) = \left\{ \omega_0^2 \left[1 + \left(\frac{\lambda z}{\pi \omega_0^2} \right)^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (2-25)$$

其中 z 為與焦平面的距離。我們定義聚焦點大小為光斑兩倍時此時焦點與焦平面上的距離為此透鏡的景深(Depth of Focus)，表示如下：

$$b = \frac{2\pi\omega_0^2}{\lambda} \quad (2-26)$$

由(2-26)式得知景深距離與橫向解析度成反比，如何再兩者之間取得平衡是很重要的，所以我們在架構上做些改變，變成可以依觀測物的不同切換物鏡倍數大小，以達到當時所需的橫向解析度及穿透深度。

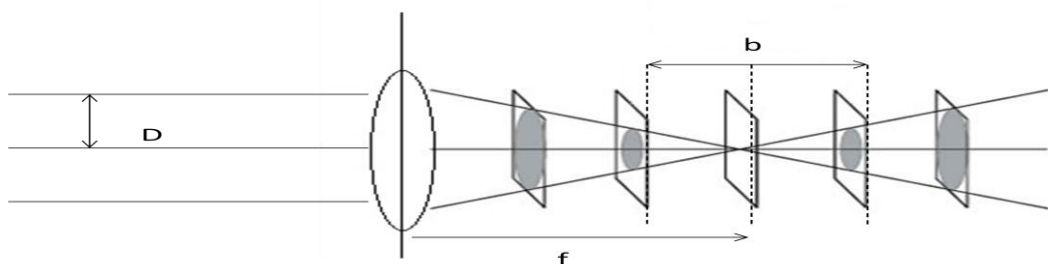


圖 2-4 高斯光場聚焦大小及景深示意圖。

2.6 生物組織的光學特性

光在組織間的傳遞是由其光學參數所決定。為了量化光學參數，就有學者提出光學係數的概念。光入射到組織的時候，會因組織的成分而影響吸收特性，結構、形狀影響散射特性。光學研究中，了解組織內部的散射與吸收有助於我們分析生物組織的光學特性。

一. 散射係數 (Scattering coefficient, $\mu_s [cm^{-1}]$)

光在行經含有散射介質時，光子會因為碰撞到散射物質而產生散射光，光子散射的路徑分為四種，如圖 2-5 所示，彈道光子(ballistic photons)為未完全被散射掉的光子、蛇行光子(snake photons)為弱散射光子、背向散射(backscattered photons)、擴散光子為(diffusive photons)為多次散射之光子。散射係數越大表示光子與大量的散射物質碰撞，如墨汁;反之當散射係數小，光子直接穿過介質。而 OCT 則是利用生物組織的背向散射光子所獲得的資訊來造影成像。

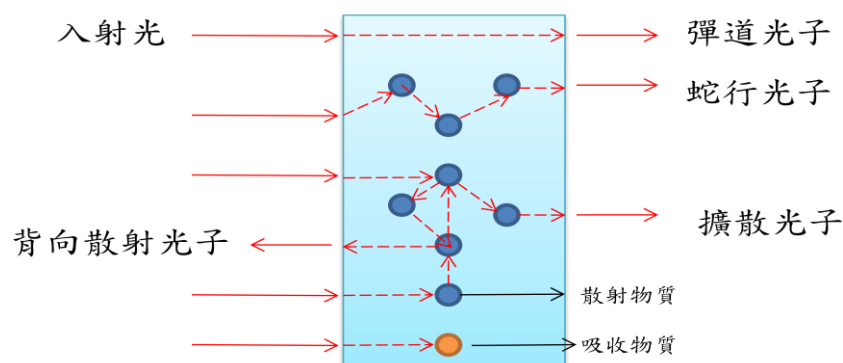


圖 2-5 光在組織內的行走路徑。

二. 吸收係數(Absorption coefficient, $\mu_a [cm^{-1}]$)

吸收係數亦可稱為消光係數(extinction coefficient, k)，光在行經吸收介質時，部分的光能量會被吸收掉甚至消失，影響吸收係數大小的有組織的密度與組織

的成分等。如圖 2-6 所示，在生物組織中有不同的吸光物質如黑色素(melanin)及血紅素(hemoglobin)等，所以我們將利用這些吸光物質來做光譜分析之研究。

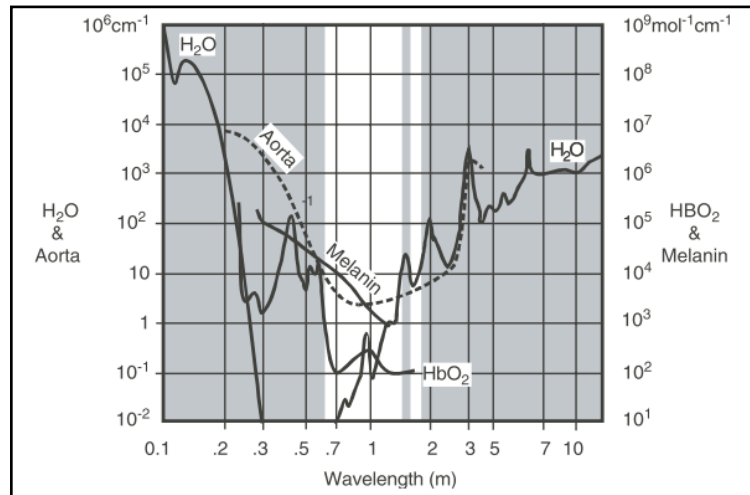


圖 2-6 近紅外光組織吸收圖[19]。

2.7 動差(Moment)

一個機率分佈以完整描述隨機變數 X 時，我們通常會找些方法來象徵此筆隨機資料的主要特性，例如 X 的動差函數。我們以機率與統計學的角度來定義動差，動差分為一階動差、二階動差、三階動差到 n 接動差。

1. 一階動差(First moment)，運用機率分佈的質量概念，可視為分佈的質心，也代表隨機變數 X 的平均值(average value)、期望值(mean)，一般符號用 m_1 。
2. 二階動差(Second moment)，主要量測隨機變數 X 相對於期望值的擴散性與延伸程度，我們稱為變異數(variance)。
3. 三階動差(Third moment)，隨機變數 X 分佈的不對稱性，我們稱為偏態係數。偏態係數分為正偏態(right skewed)與負偏態(left skewed)，正偏態指隨機變數 X 右側的尾部比左側長，絕大多數的值(包括中位數在內)位於平均值的左側;反之負偏態指隨機變數 X 左側的尾部比右側長，絕大多數的值(包括中位數在內)位於平均值的右側，如圖 2-7 所示。

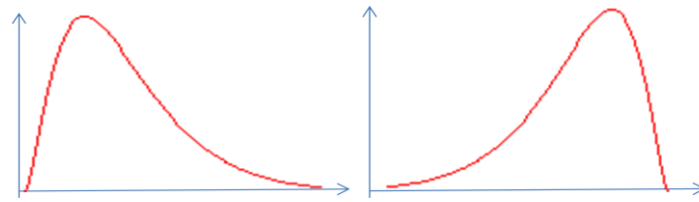


圖 2-7 (a)正偏態。(b)負偏態。

由上敘動差的特性，我們定義的一個利用動差參數來描述光譜能量的分配情形。如下所示

$$M_j = \sum_{x=1}^n f(x) \cdot (x - C)^j \quad (2-27)$$

其中 $f(x)$ 為光譜強度圖， n 為光譜強度資料的長度， C 為我們預設的中心點位置， j 為次方數。由式 2-27 可以看出 M_0 為整個光譜的面積， M_1 為光譜的偏態特性，動差越高階表示光譜左右兩端的權重越大，圖 2-8 為式 2-27 示意圖，上方隔線內是光譜資料，下方隔線是我們所產生的係數，把光譜訊號乘上係數後再把值相加，就會得到 moment 值，當長波長所留的資訊越多， M 值就會負越大(負偏態)；反之，短波留的資訊越多， M 值就會正越大(正偏態)，如圖 2-7 所示，就此可以分析光譜吸收的特性。

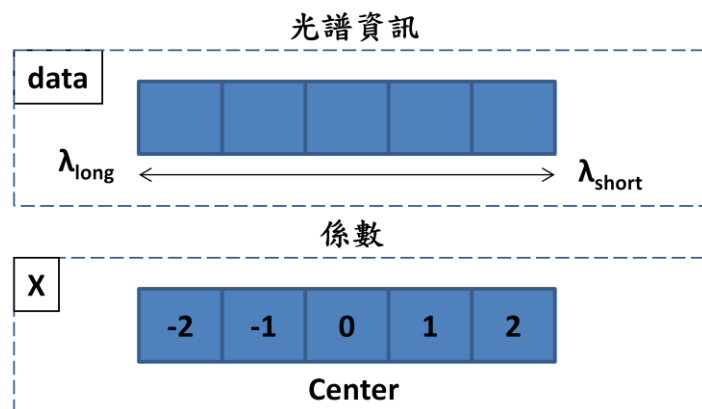


圖 2-8 moment 示意圖。

第三章 實驗架構

3.1 實驗系統介紹

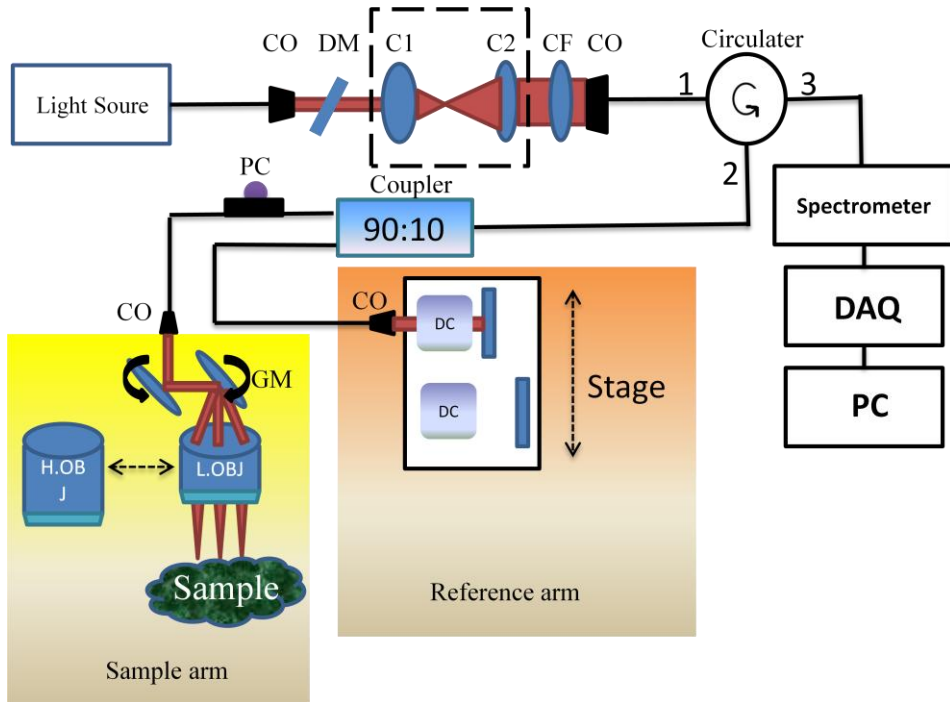


圖 3-1 SD-OCT 架構。

本論文是使用頻譜域光學同調斷層掃描術(SD-OCT)為主要架構，如圖 3-1 所示，並以超連續白光雷射(Super Continuum Fiber Laser)做為光源。光源的頻寬為近紅外光 (650nm-1700nm)，訊號接收端使用高速線掃瞄式近紅外光波段的光譜儀，可偵測的波段為 760nm 到 960nm 共 200nm。為了保護光譜儀避免接收到無法偵測波段的光，所以在光源出光端架設 1000nm 以上反射的分色鏡(Dichroic Mirror, DM)，780nm 以下吸收的彩色濾光片(color filter, CF)來保護光譜儀。進入光纖化干涉儀架構會由準直器(collimator, CO)來收光，但因為雷射出光的光斑太小無法有效把光耦合進準直器，所以我們架設五倍放大光斑的擴束系統以提高準直器的收光效率。光進入準直器後會先經過 Circulator，此裝置可以確保光不會經由原光路反射回去以保護光源。接著光經過 10:90 分光比的耦合器(Coupler) 把

光分為兩道，一道稱為參考端，另一道稱為樣品端。由於在掃描生物樣品時參考端的光強會遠大於樣品端，所以我們設計讓樣品端擁有九成的光強，參考端為一成光強。參考端我們架設一組電動平移台來做高倍物鏡與低倍物鏡的色散補償 (Dispersion compensation, DC) 玻璃切換系統。樣品端是由訊號產生器 (Function Generator) 控制的掃描振鏡 (Galvanometer Scanner, GM) 系統並在光纖上設置一組極化控制器 (Polarization Controller, PC) 來調控干涉波包的形狀以得到較好的干涉效率，可依掃描樣品影像需求自由搭配高倍物鏡 (10x)、低倍物鏡 (5x)。最後以達到快速、超高解析度、大範圍的三維結構掃描系統。

3.2 實驗元件

3.2.1 光源

OCT 系統中軸向解析度與橫向解析度是各別獨立的。由 2.5.1 節得知，欲獲得好的軸向解析度就必須具有高頻寬、低時間同調。而我們使用超連續白光雷射 (Super Continuum Laser) 均符合以上特性，其規格與輸出波形如下：

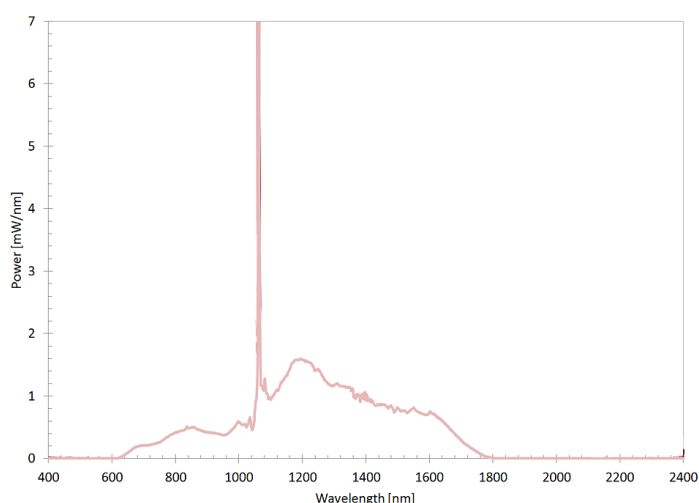


圖 3-2 光源輸出的光譜強度。

Band width	650nm-1700nm
Total Power	1w
Seed Laser Wavelength	1064nm

表 3-1 光源詳細規格。

3.2.2 光譜儀

本系統可以觀察皮膚上吸光物質的光譜變化，如黑色素、血紅素等。我們所選光譜儀的可偵測光譜範圍落在 760nm-960nm。在測試活體樣品時為了避免活體的呼吸、心跳等外在擾動造成影像失真，需要光譜儀能快速擷取掃描影像，所以光譜儀使用線掃瞄的 CMOS 感光元件，其 A-scan 取得速度最快能達到 45K/s 的速度。依公式(2-14)所示，欲得到較深的 Z-max 及高光譜儀解析度，跟偵測器的數量息息相關。因此我們使用一條線掃瞄擁有 4096 pixels 的偵測器。經換算在空氣中我們的 Z-max 深度達到 3.7mm，光譜解析度為 0.048nm。其規格如下：

Feature	
Spectral range(nm)	760-960
Center Wavelength(nm)	860
Resolution(nm/pixel)	0.048
Spectrometer Pixels	4096
A-scan Rate(Line/second)	45,000

表 3-2 光譜儀詳細規格。

圖 3-3 是實測未干涉波形，我們可以發現波形上載了一種低頻訊號，這是因為光譜儀上的感光元件因鍍膜層產生的自相干涉，且這震盪訊號會造成短時傅立葉轉換後光譜會有四爪型的形狀。

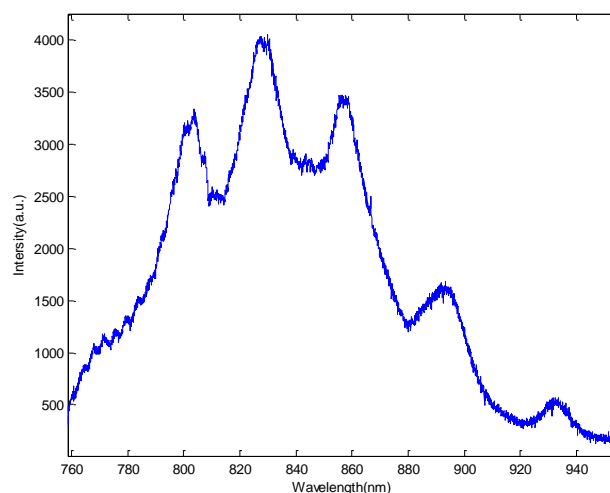


圖 3-3 經元件後未干涉的光譜。

3.3 仿體製備

3.3.1 載體製作

首先我們製作仿體的載體。由於市面上所販售有凹槽的載玻片，會因製作品質而造成不穩定的因素，如凹槽拋光不完全、有刮痕等，所以我們將自行製作凹槽深度約 170 μm 的載體。方法如下：

1. 使用三片 18mm*18mm 的德製蓋玻片，並用吹球把上面的灰塵微粒清理乾淨。
2. 使用 2.5mm*7.5mm 的載玻片，重複步驟 1 的清理動作。
3. 把三片的蓋玻片排列成如圖 3-4 的樣子，其中載玻片與蓋玻片使用 NOA.68 光學膠做黏合，如圖 3-5 所示。
4. 放置一天，等待膠體乾燥。

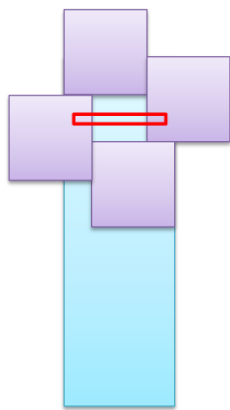


圖 3-4 載體俯視圖。

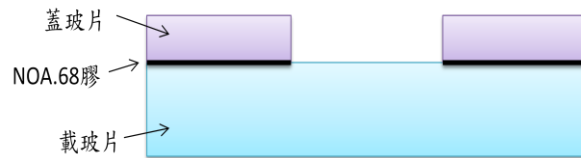


圖 3-5 載體剖面圖。

3.3.2 血液仿體製作

人的全血中，包含血漿、血小板、白血球及血紅素。血紅素約佔血液體積的 43%、白血球約 1%、血小板小於 1%，剩餘的血漿約佔 55%。我們會抽自己的血液做下列的仿體製作：

1. 帶氧血紅素

我們使用 BD Vacutainer 的肝素鈉(Sodium Heparin)真空抽血管來保存血液。肝素鈉是一種抗凝血的物質，可以避免血液凝固。當抽出來的全血會使用血

氧儀(NOVA stat profile critical care xpress)量測當時的血氧飽濃度。全血是血漿及紅血球都混合在一起，如圖 3-6 所示，所以我們會靜置一段時間讓紅血球沉澱，以分離血漿及紅血球，如圖 3-7 所示。血紅素(hemoglobin)為紅血球主要成分，每個紅血球含的血紅素約兩億個血紅素分子，佔紅血球重量 30%，血紅素主要成分是一種含二價鐵的蛋白質“血紅蛋白”它可以與氧分子結合，形成帶氧血紅蛋白(oxygenated hemoglobin, HbO₂)，HbO₂ 對藍光有較高的吸收特性，對紅光吸收性相對較低，因此血液呈現鮮紅色，而我們抽出來的血液就屬於此種類型。



圖 3-6 全血[20]。 圖 3-7 血漿與紅血球分離[20]。

2. 去氧血紅素

當氧氣從氧合血紅蛋白釋放出來，就會形成去氧血紅蛋白(dexoy-hemoglobin, Hb)，其顏色偏暗紅色，如何從 HbO₂ 變成 Hb，步驟如下：

1. 取出 0.016 克的酵母菌混合 0.041 cc 的水倒入具有肝素的採血管裡，蓋上蓋子且均勻的混合。
2. 從沉澱的血紅素裡抽取 0.5 cc，注入已經混合好的酵母混合液裡均勻搖晃，並靜置 40 分鐘以上，就形成 HbO₂。

我們混和酵母菌並利用血氧儀(NOVA stat profile critical care xpress)所量測出來的血氧飽合度變化，如圖 3-8 所示

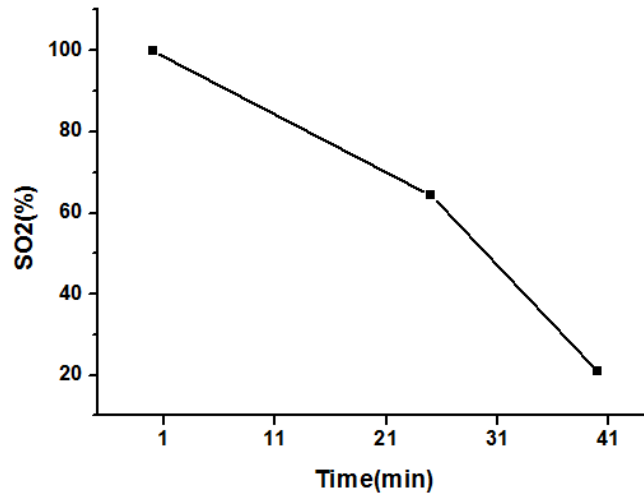


圖 3-8 血氧儀所量測到全血加酵母的血氧飽和濃度變化。

最後我們把做好的 HbO_2 與 Hb 倒入載體並利用熱熔膠把載體周圍封住以隔絕空氣。

3.4 訊號擷取與處理

本系統使用 Labview 虛擬元件軟體做為人機控制的介面，負責設定光譜儀參數、資料擷取參數、即時顯像等。

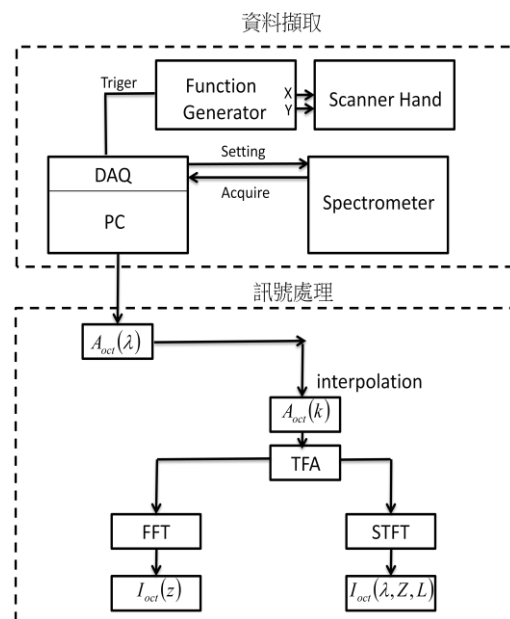


圖 3-9 訊號擷取與處理。

由圖 3-9 可知分為資料擷取與訊號處理。資料擷取部分最主要的核心為訊號產生

器，X 軸與 Y 軸訊號輸入三角波並依掃描樣品設定參數，如掃描範圍、對稱性等，而且觸發線可以控制電腦上的 DAQ 卡何時開始擷取光譜儀收到的訊號。收到的光譜進入到訊號處理的部分，我們把訊號內差成頻率間隔相同的 k-domain 訊號。時頻轉換分為兩個部分，一為快速傅立葉轉換，把訊號做快速傅立葉轉換取實部並以對數做圖得到二維影像。另一部分為短時傅立葉轉換，輸入窗函數之後進行時頻轉換，如 2.3 節所示，最後得到各個深度的光譜資訊。

3.5 Moment 演算法

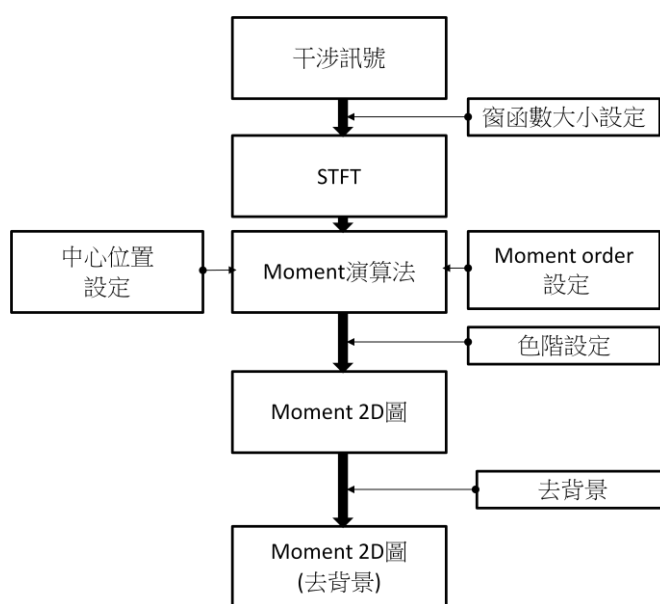


圖 3-10 moment 演算法流程圖。

我們會把拿到的干涉訊號做短時傅立葉轉換，其中會設定窗函數的大小以符合我們當時樣品的時域、頻域解析度，例如：高散射樣品時，我們會選用大的窗函數，讓波長解析度差減少散射效應。時頻轉換後會拿到深度對應波長強度的二維圖，此二維圖是一條軸向的光譜資訊，接著我們就設定係數中心位置與 moment 的階數設定，此係數會乘上光譜資訊得到一個深度的 moment 值，如圖 2-8 所示，隨後我們會做 moment 零階(m0)與 moment 一階(m1)的運算，再把 m1 除上 m0，此動作是為了把面積變化除掉只留下單純的偏態變化，接著就會得到一條軸向 m1/m0 的 moment 值，再把所有軸向的值重新排列就得到 moment 二維圖，為了更明顯看出偏態的變化我們會把色階圖設定成二值化，再以 m0 為依據設定閾值把雜訊去除，最後就得到我們的 moment 去背景二維圖。

第 4 章 結果與討論

4.1 空間解析度

在光學空間解析度的定義下，我們依照瑞利準則(Raylieigh Criterion)為依據。我們假設兩個量測點可以表示為兩個點擴散函數(Point Spread Function, PSF)。當兩函數圖型分開時，此時兩點為可以分辨，如圖 4-1(a)所示。當函數的最大值與另一個函數的零值重和時，此時為兩點恰可解析，如圖 4-1(b)所示，此距離我們定義為瑞利極限(Raylieigh Limit)，超過瑞利極限，則無法再分辨此物體，如圖 4-1(c)所示。

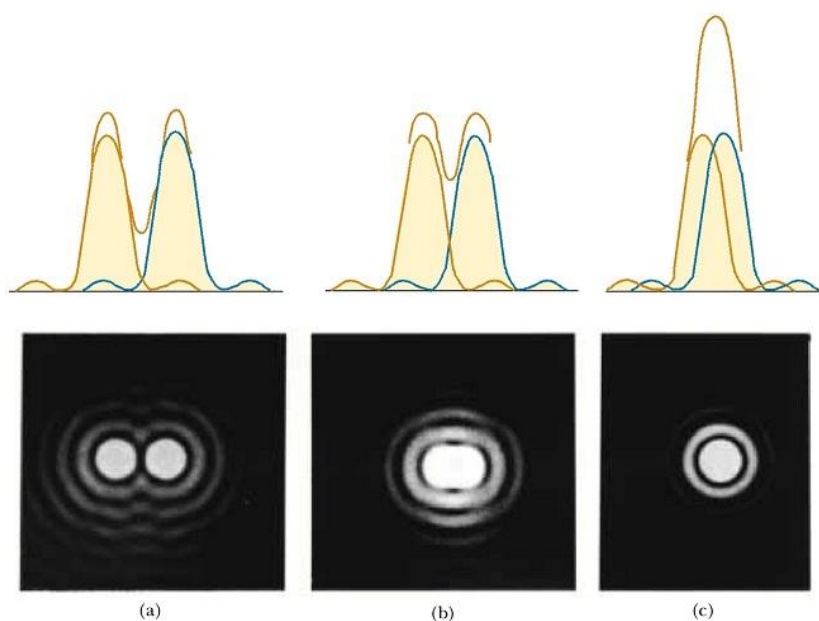


圖 4-1 光學空間解析力定義[21]。

4.1.1 軸向解析度

根據瑞利準則定義，如果兩影像是一個高斯分佈的點擴散函數，系統可以分辨出此兩點，那麼它們之間的距離就是系統點擴散函數的半高全寬值(Full Width at Half Maximum, FWHM)，而同調長度就是取決於系統量測到訊號的 FWHM。本系統可偵測頻寬為 200nm，中心波長為 860nm，理論值帶入 2.5.1 節 (2-23)式

$$\Delta z = \frac{l_c}{2} = 0.44 \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} = 1.627\mu\text{m}$$

算出理論的軸向解析度為 $1.627\mu\text{m}$ ，此軸向解析度會受限於光譜可偵測的頻寬。本系統軸向解析度測試是利用平面鏡所得的干涉圖經時頻轉換得到時域深度訊號，並取訊號的 FWHM 值。我們對訊號做 $10*\log(\text{Signal})$ ，其 -3dB 點為此訊號的 FWHM，如圖 4-2 所示，發現 FWHM 為 1.4 個點，一個點為 $1.85\mu\text{m}$ 由此得知軸向解析度為 $2.59\mu\text{m}$ 。理論值與實測值不同的原因是因為光源本身不是高斯光源，因此轉換後的時域點擴散函數並非高斯分佈，而取訊號的半高寬可能會造成誤差。另一種因素是可能樣品端與參考端的光路色散不匹配，所造成的軸向解析力下降

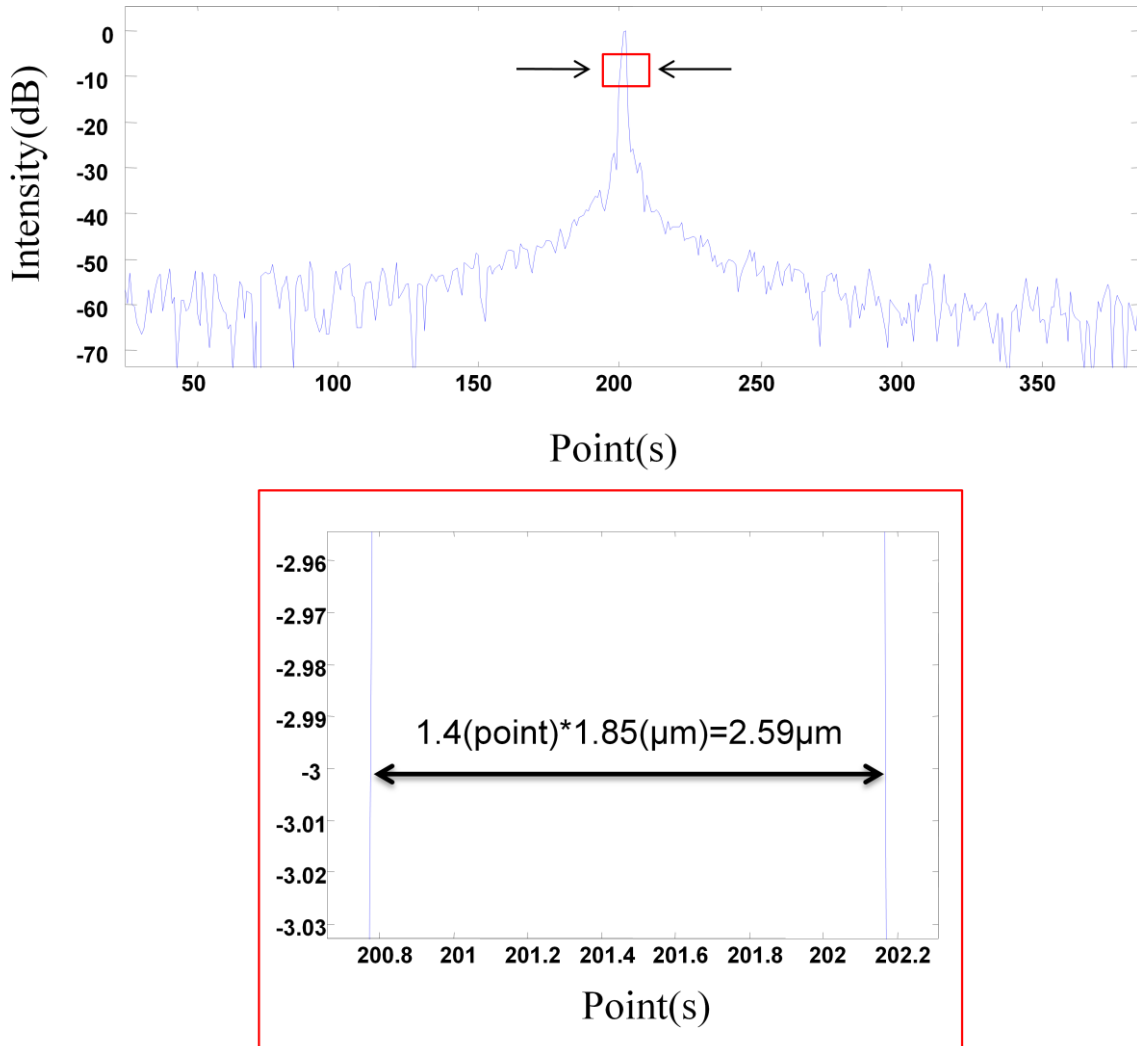


圖 4-2 軸向解析度。

4.1.2 橫向解析度

本系統橫向解析度驗證是利用 Thorlabs USAF 1951 解析度測試片(1951 USAF resolution test chart)做為標準樣品，如圖 4-3 所示，其詳細規格，如表 4-1 所示，範圍從 $500\mu\text{m}$ 到 $0.78\mu\text{m}$ 都有，共有 10 組圖案，每組有 5 層，每層有 3 個小圖案，由大到小依序排列。我們將解析力測試片置於物鏡的焦平面，掃描二維與三維影像。高倍物鏡(10x)掃描以二維方式呈現，我們可以從圖 4-4(b)發現當鏡面反射訊號寬度為 $6.2\mu\text{m}$ 時已逼近系統橫向解析度的極限。低倍物鏡(5x)掃描以三維方式呈現，從圖 4-5(a)發現鏡面反射訊號為 $8.7\mu\text{m}$ 時，影像已經模糊了。之後掃描測試片的鍍膜邊界，所得到訊號就是測試片邊緣的步階函數(Step Function)與系統的点擴散函數(Point Spread Function, PSF)的摺積，如圖 4-4(c)、4-5(b)所示，對此訊號做微分就能得到系統橫向的点擴散函數，如圖 4-4(d)、4-5(c)所示，再取此微分訊號的半高寬值乘上步距即可得到系統的橫向解析力。用高倍物鏡時，其光點移動的步距約為 $3.2\mu\text{m}$ ，得到橫向解析力為 $6.4\mu\text{m}$ 。用低倍物鏡時，其光點移動的步距約為 $4\mu\text{m}$ ，得到橫向解析力為 $9.3\mu\text{m}$ 。可以發現使用鍍膜邊界微分後的橫向点擴散函數與掃描影像出現模糊失真的組別寬度是相近吻合的。

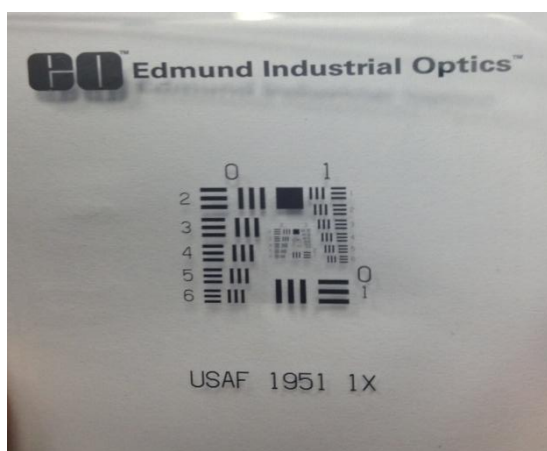


圖 4-3 Thorlabs USAF 1951 解析度測試片。

單元寬 (μm)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	500.00	250.00	125.00	62.50	31.25	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98
2	446.43	223.21	111.36	55.68	27.86	13.89	6.96	3.47	1.74	0.87
3	396.83	198.41	99.21	49.50	24.80	12.41	6.20	3.11	1.55	0.78
4	354.61	176.68	88.34	44.25	22.10	11.04	5.52	2.76	1.38	
5	314.47	157.73	78.74	39.37	19.69	9.84	4.90	2.46	1.23	
6	280.90	140.45	70.13	34.97	17.54	8.77	4.39	2.19	1.10	

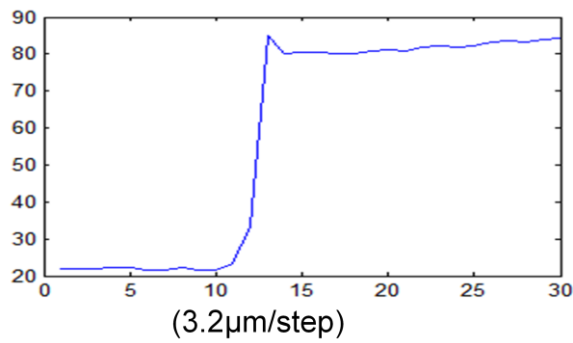
表 4.1 Thorlabs USAF 1951。



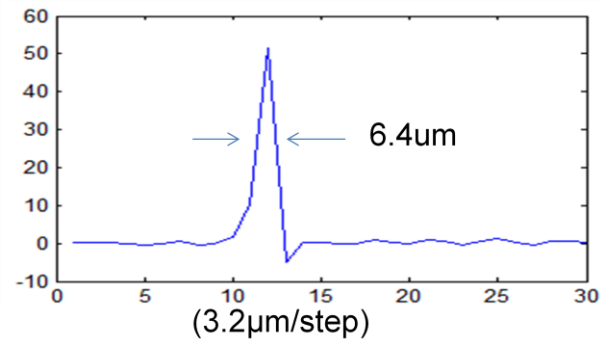
(a)



(b)

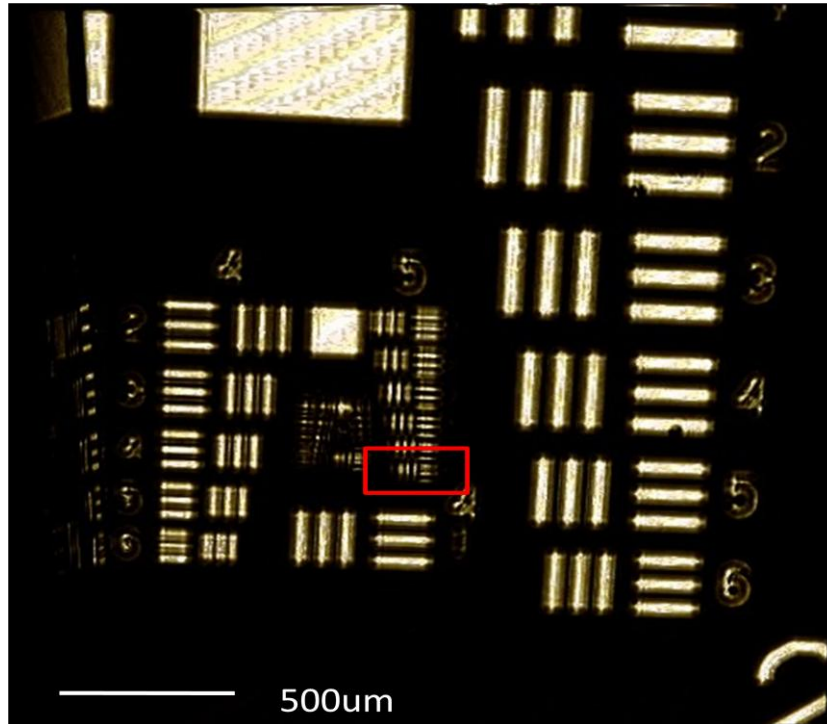


(c)

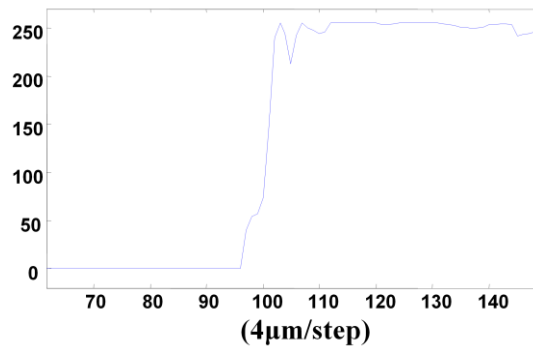


(d)

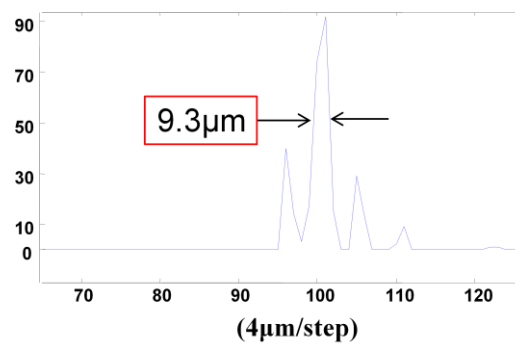
圖 4-4 (a)(b)高倍物鏡測試片二維影像。
(c)高倍物鏡測試片二維影像一段邊界。
(d)對邊界取微分後的點擴散函數。



(a)



(c)



(b)

圖 4-5 (a)低倍物鏡測試片三維影像。
 (b)低倍物鏡測試片三維影像一段邊界。
 (c)對邊界取微分後的點擴散函數。

4.2 信號訊雜比(Signal to Noise Ratio , SNR)

OCT 系統的靈敏度，又稱光學動態範圍。掃描生物樣品時可得到深度資訊，而這些資訊的影像品質就決定於光學動態範圍。所以我們就以不同深度的反射鏡模擬樣品每層反射回來的訊號。定義如下

$$SNR(dB) = 20 \log \left(\frac{Signal}{Noise_{mean}} \right) \quad (4-1)$$

其中 $Signal$ = 訊號最大值， $Noise_{mean}$ = 訊號最大值左右兩旁的雜訊平均，從表 4-2 可以看出光程差為 $1220\mu m$ 之後 SNR 迅速下降，所以我們會盡量把樣品第一層反射介面靠近光程為 $200\mu m$ 的地方以得到較好的 SNR。

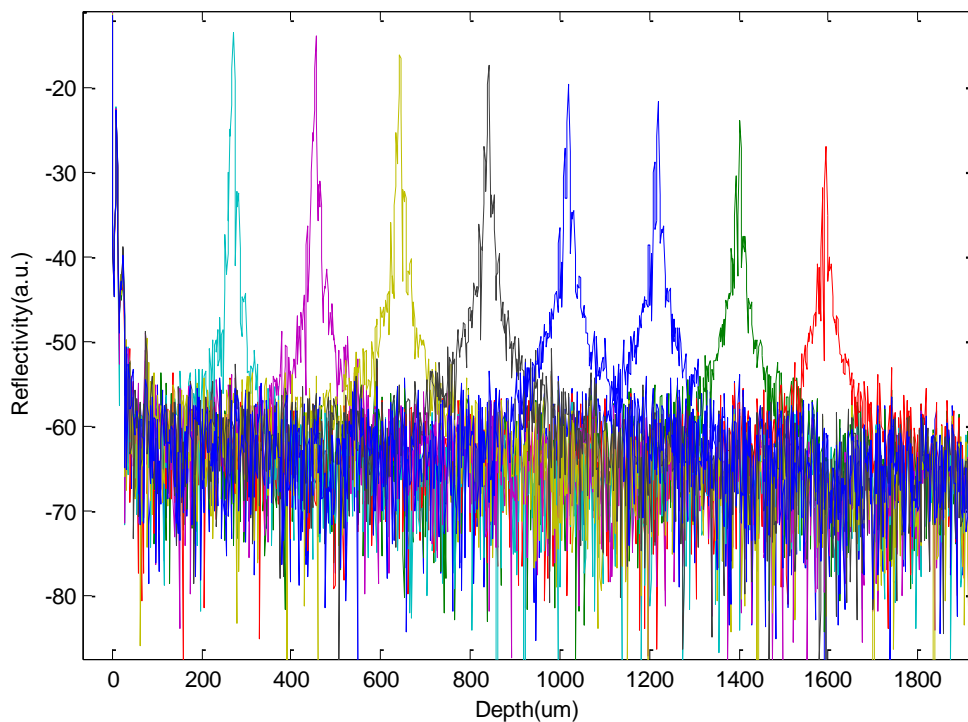


圖 4-6 各深度鏡子反射訊號強度。

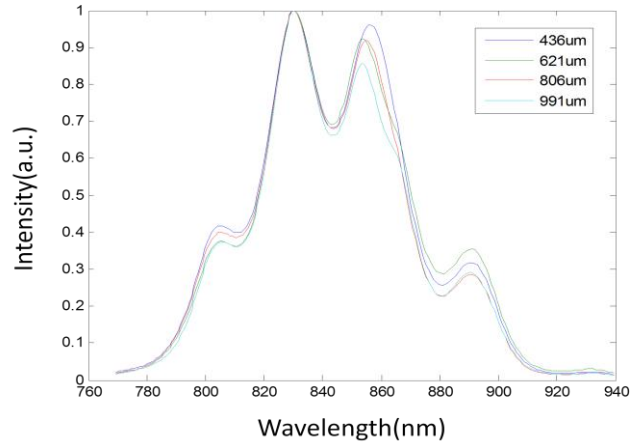
	270 μm	455 μm	640 μm	840 μm	1020 μm	1220 μm	1400 μm	1600 μm
SNR (dB)	46.9	45.7	44	43.4	42.8	41.2	38.9	36

表 4-2 各深度鏡子反射訊號 SNR。

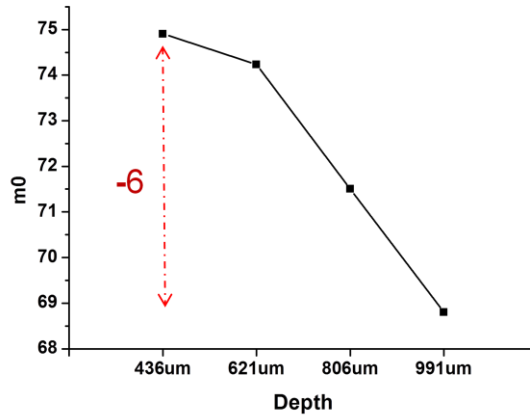
4.3 仿體測試

4.3.1 鏡子

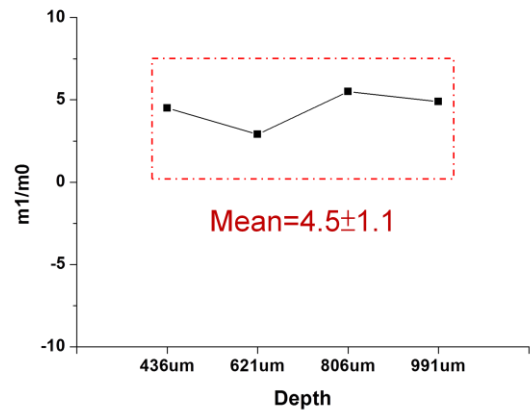
當生物樣品在不同深度時，反射回去的光譜會因光經過的組織吸收、散射特性有所變化。我們要如何確定此種變化是樣品特性所造成的或者是系統不穩定所造成的?所以我們就在不同深度擺上反射鏡，經由短時傅立葉後取出光譜資訊，並由 moment 演算法來看光譜的差異。圖 4-7(a)可以看出在不同深度光譜訊號除了深度超過 991 μm 光譜形狀有些微變化，其整體上還算一致。我們 moment 演算法把中心位置定在 845nm，圖 4-7(b)為各深度光譜面積的值，可以發現從 436 μm 到 991 μm ，面積共掉了 6 點。隨後我們計算 M1/M0 的偏態值，M1 除 M0 的動作是為了防止不同反射強度下，M0 面積所影響偏態數值大小，所以我們把面積大小除掉，只留下單純光譜變化的值，圖 4-7(c)是各深度的偏態變化，如果長波長被吸收是屬於正偏態，反之，短波長被吸收是屬於負偏態，而這四點深度的偏態均屬於正偏態其平均值為 4.45，標準差為 1.1。所以之後做的仿體測試面積差異在 6 點與偏態編準差值在 1.1 點可能是深度造成系統不穩定的變化。接著我們做同一深度不同時間的反射鏡光譜訊號，可以從圖 4-8(d)可以發現光譜都無變化，之後我們再把圖 4-8(d)的光譜去做 moment 分析，其中 M0 的變化量非常小，如圖 4-8(e)所示，M1/M0 偏態值可以發現其標準差為 0.2，如圖 4-9(f)，因此時間對光譜變化是不會有影響的。



(a)

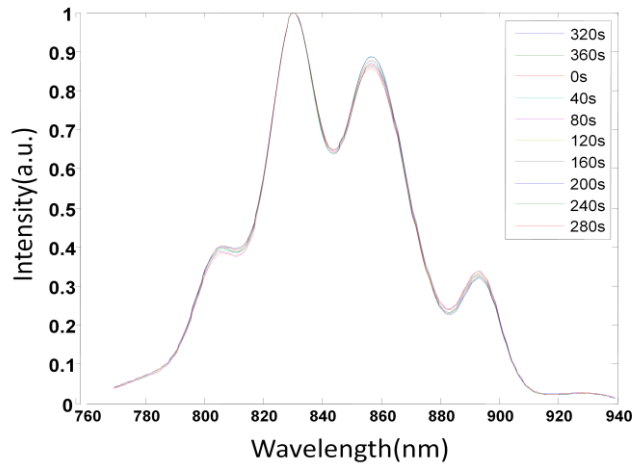


(b)

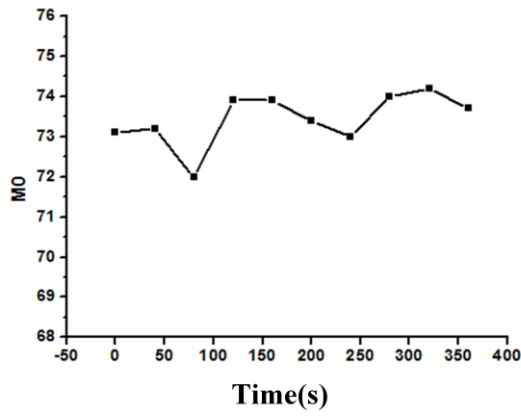


(c)

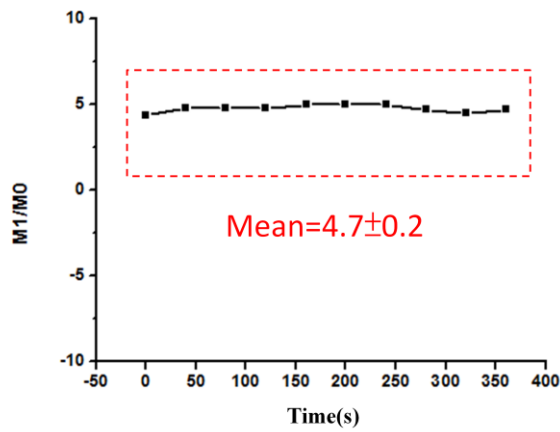
圖 4-7 (a)不同深度鏡子反射回來的光譜訊號。(b)不同深度鏡子反射回來的光譜面積變化。(c)不同深度鏡子反射回來的光譜偏態變化。



(d)



(e)



(f)

圖 4-7 (d)不同時間鏡子反射回來的光譜訊號。(e)不同時間鏡子反射回來的光譜面積變化。(f)不同時間鏡子反射回來的光譜偏態變化。

4.3.2 彩色濾光片(Colored Glass Filter)

此時我們加入有吸光特性的仿體以模擬光譜吸光的特性。我們使用 Throlabs FGS900 Bandpass Colored Glass Filter，外觀如圖 4-8 所示，它是一個 315nm-710nm 通過的帶通濾光片，可以發現它的波長在 760nm 穿透率為 20%、860nm 穿透率 5%、到 960nm 時為 0%，如圖 4-9 所示。此時我們先做一筆無彩色濾光片的鏡子訊號，光譜干涉訊號，如圖 4-10(a)所示。隨後放入彩色濾光片，光譜干涉訊號如圖 4-10(b)，可以明顯發現長波長的訊號被吸收掉，之後把訊號做短時傅立葉轉換得到此深度的光譜訊號再把訊號歸一化，如圖 4-10(c)所示，可以發現不管是干涉訊號或者是經短時傅立葉轉換後的光譜訊號其吸收的特性都與圖 4-9 的穿透率一樣。

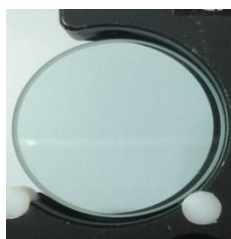


圖 4-8 彩色濾光片外觀。

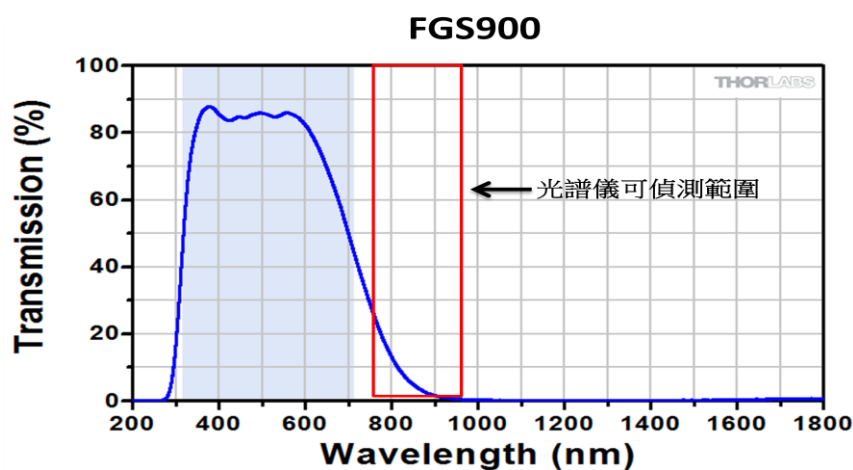
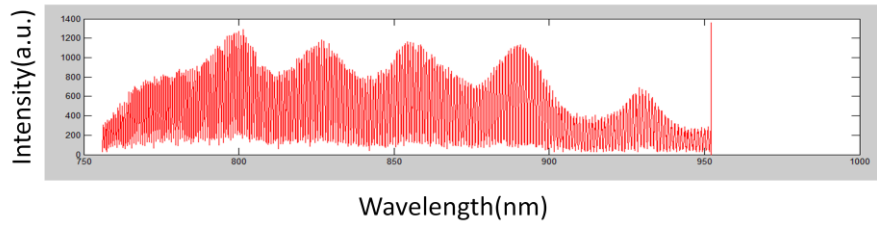
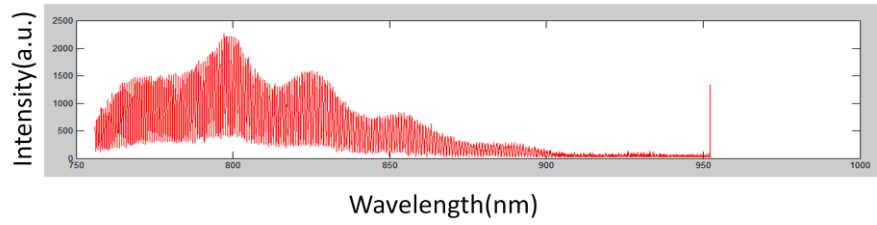


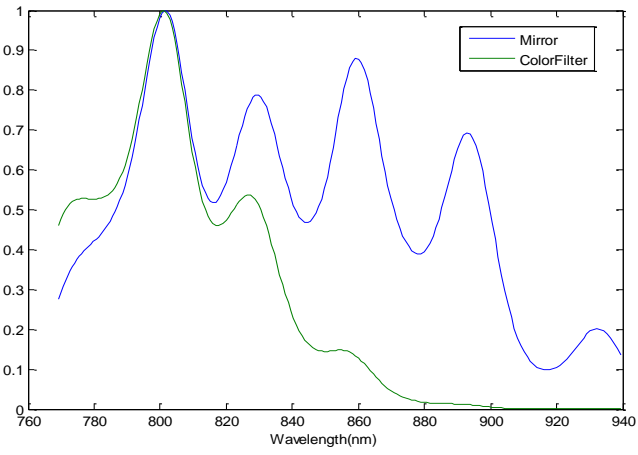
圖 4-9 彩色濾光片穿透率。



(a)



(b)



(c)

圖 4-10 (a)鏡子干涉光譜。(b)經彩色濾光片干涉光譜。(c)STFT 光譜訊號。

4.3.3 載體

接下來我們做載體內不加任何仿體的空白實驗。圖 4-11 為載體的剖面示意圖。我們掃描載體得到深度影像，如圖 4-12 所示，任取三條軸向資訊，並看各層的光譜變化，其三層光譜形狀幾乎相同，如圖 4-13 所示，之後再經過去除背景雜訊，畫出 M0 面積圖，如圖 4-14(a)所示與 M1/M0 偏態圖，如圖 4-14(b)所示。偏態圖色階設定是大於零值為紅色;小於零值為藍色，可以發現圖三層介面的偏態都大於零。再把 M1/M0 的 2D 圖以一維散佈圖方式呈現，可以明顯看到此三層的偏態幾乎都穩定的在正偏態，如圖 4-14(c)所示。

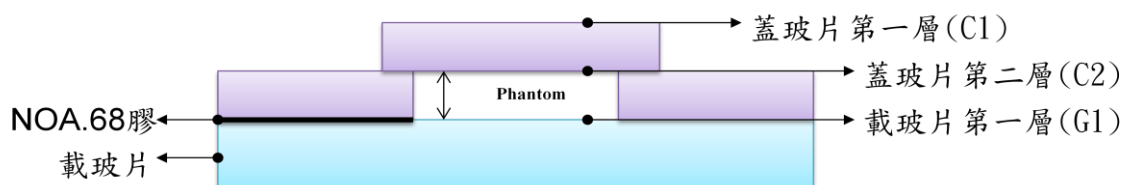


圖 4-11 載體剖面圖。

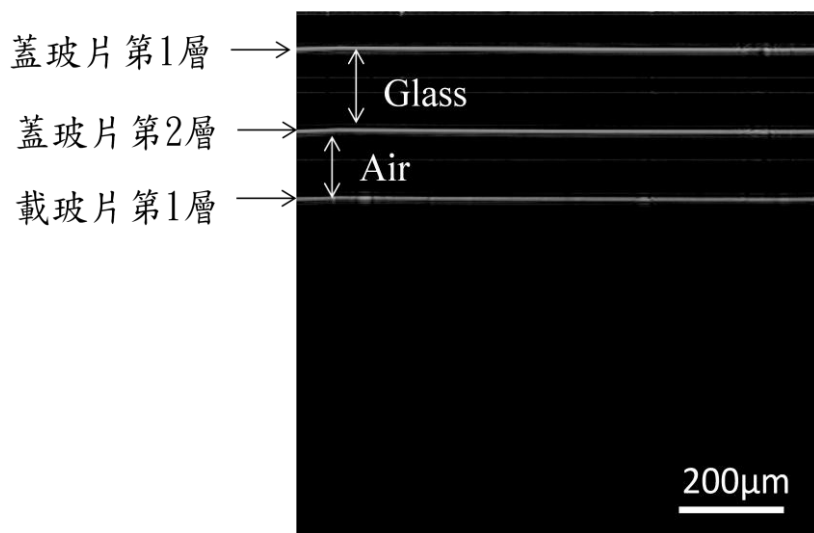
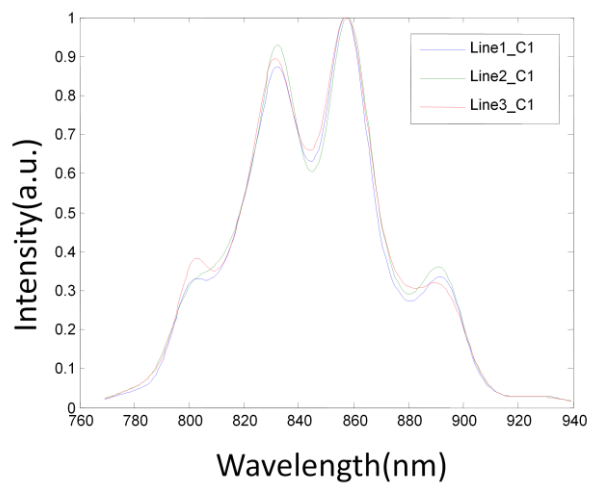
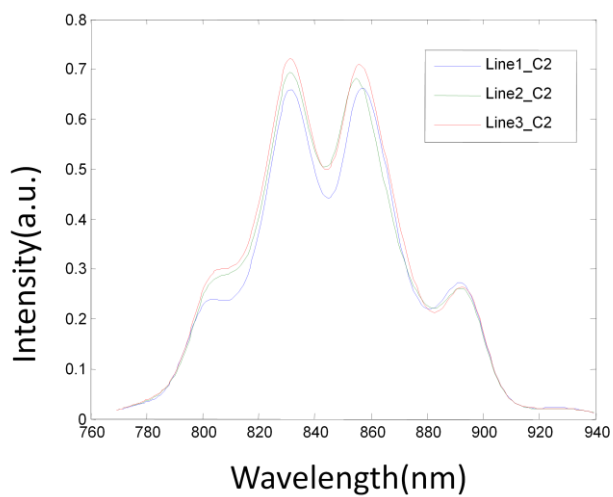


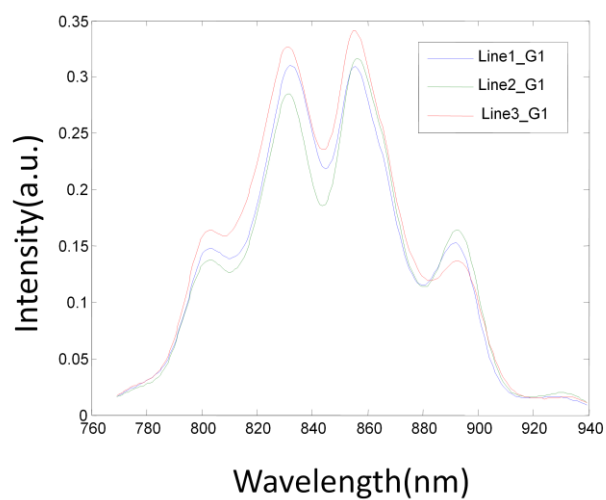
圖 4-12 載體 OCT 影像圖。



(a)

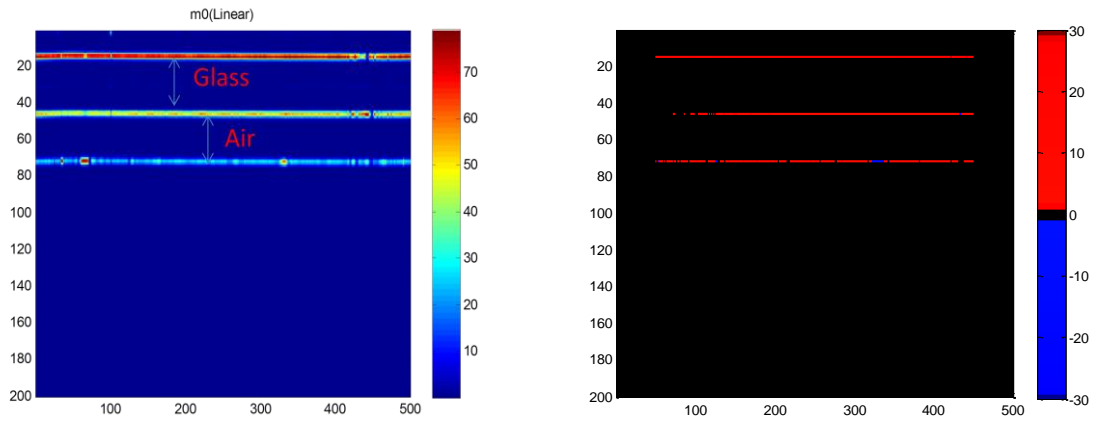


(b)



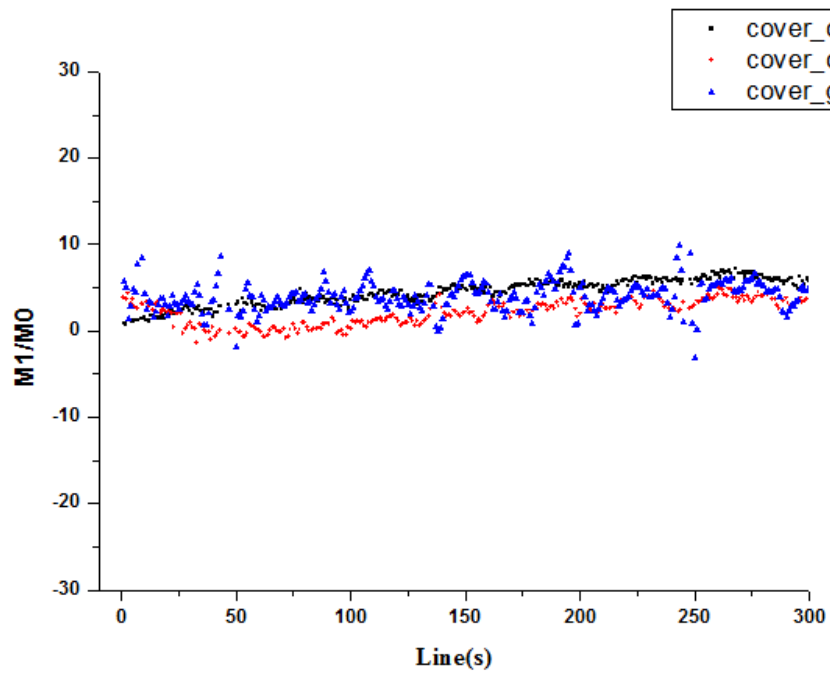
(c)

圖 4-13 (a)蓋玻片第一層光譜。(b) 蓋玻片第二層光譜。(c)載玻片第一層光譜。



(a)

(b)



(c)

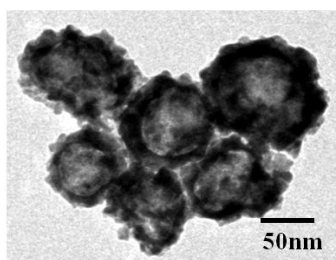
圖 4-14 (a)載體 M0 面積圖。

(b)載體 M1/M0 偏態圖。

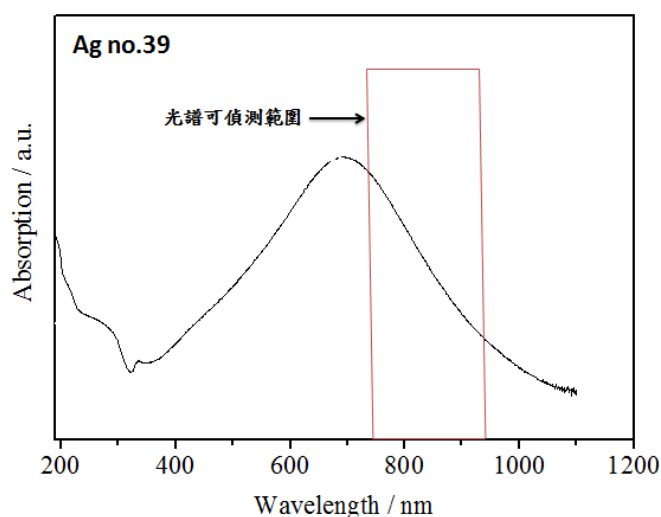
(c)載體 M1/M0 散佈圖。

4.3.4 奈米合金

運用於生物醫學影像的外加對比劑有很多種類，具有近紅外光區吸收的奈米合金是首選，是因為“生物光學之窗”(biological optical window) 的波段能避免皮膚組織的吸收，以達到較深層組織的偵測與治療。經 4.3.3 節載體空白實驗驗證後，此次實驗是利用奈米合金來做仿體測試。穿透式電子顯微鏡(Transmission Electron Microscopy; TEM)所拍出來的仿體 Ag no.39，如圖 4-15(a)所示，外型為圓形粗糙表面，其光譜吸收特性為短波長吸收，如圖 4-15(b)所示。我們實際量測的光譜發現第一層(C1)與第二層(C2)的光譜變化不大，但經過仿體的第三層(G1)短波長部分就明顯被吸收掉，如圖 4-16 所示，也可以從 M1/M0 的一維與二維圖發現此現象，如圖 4-17 所示。



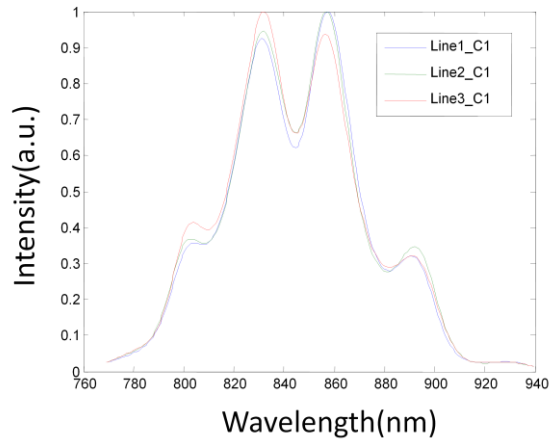
(a)



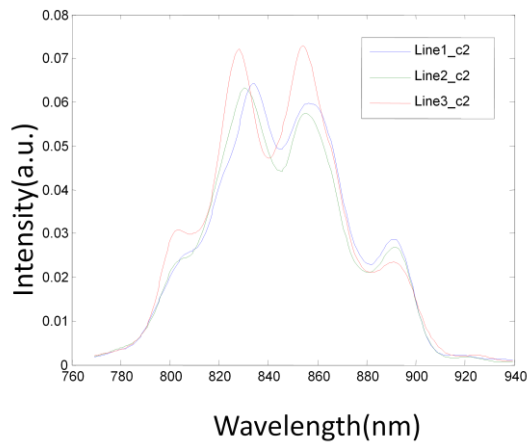
(b)

圖 4-15 (a)奈米合金 TEM 圖。

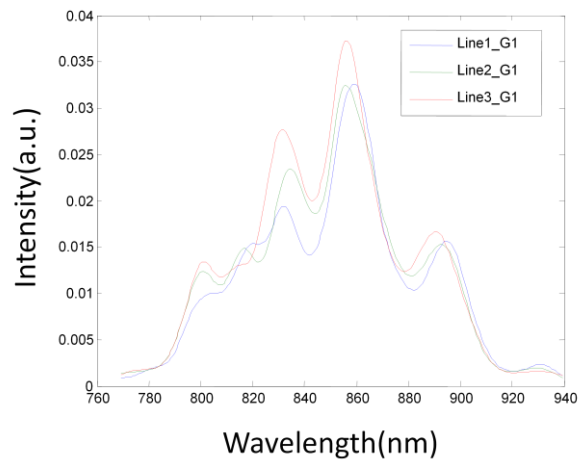
(b)奈米合金吸收光譜。



(a)

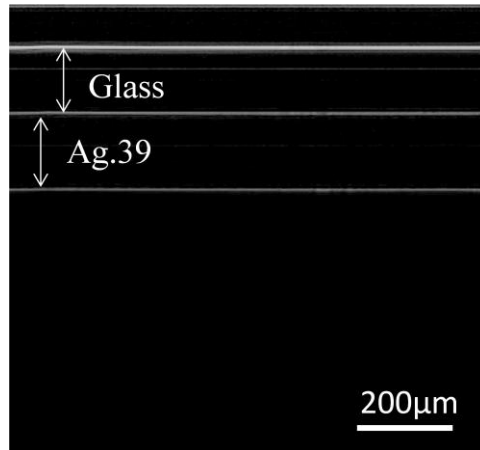


(b)

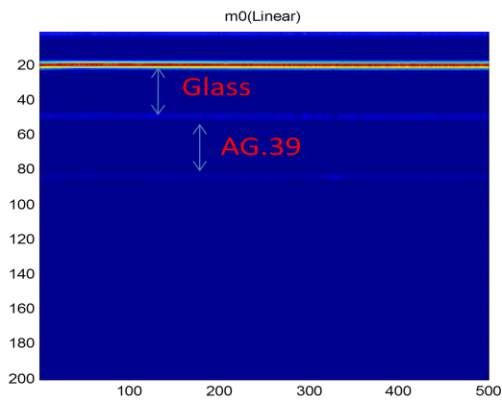


(c)

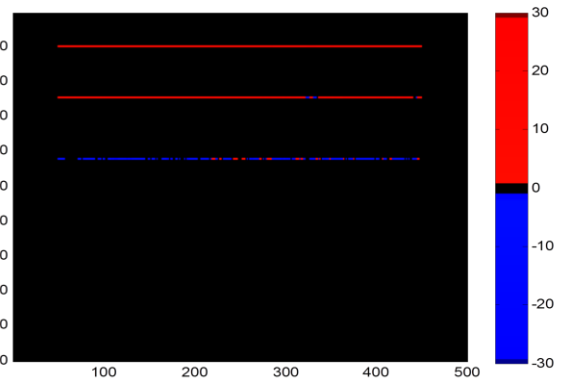
圖 4-16(a)蓋玻片第一層光譜(b)蓋玻片第二層光譜(c)經奈米合金載玻片第一層光譜。



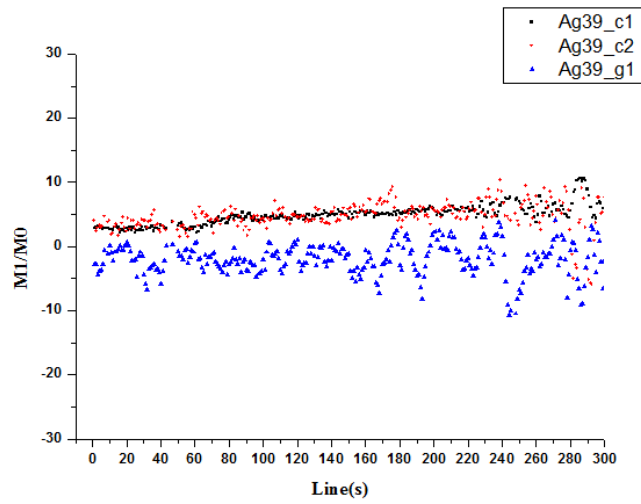
(a)



(b)



(c)



(d)

圖 4-17 (a) 奈米合金 OCT 影像圖。(b) 奈米合金 M0 面積圖。(c) 奈米合金 M1/M0 偏態圖。(d) 奈米合金 M1/M0 散佈圖。

最後我們把空白載體與奈米合金 M1/M0 一維圖量化做比較，如圖 4-18 所示，使用 OriginPro8 統計軟體裡面的 One-Way ANOVA 做統計分析，每筆各取 300 點以上來做分析，可以明顯發現 Cover_c1 與 Cover_g1 是無差異的 ($p=0.125$)，Ag39_c1 到 Ag39_g1 的平均值是往負偏態移動且具有顯著差異的。
 (***: $p\text{-value}<0.05$)。

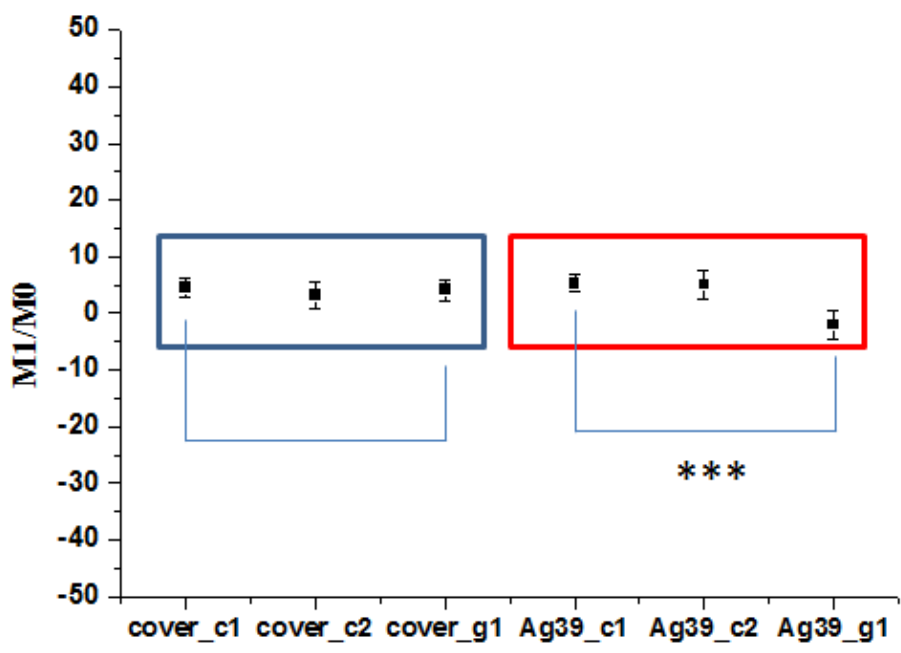


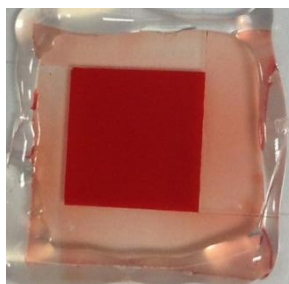
圖 4-18 奈米合金與載體一維量化圖。

	Cover_c1	Cover_c2	Cover_g1	Ag39_c1	Ag39_c2	Ag39_g1
M1/M0	4.5±1.5	2.8±1.6	4.1±1.8	5.2±1.4	5±2.4	-2±2.5

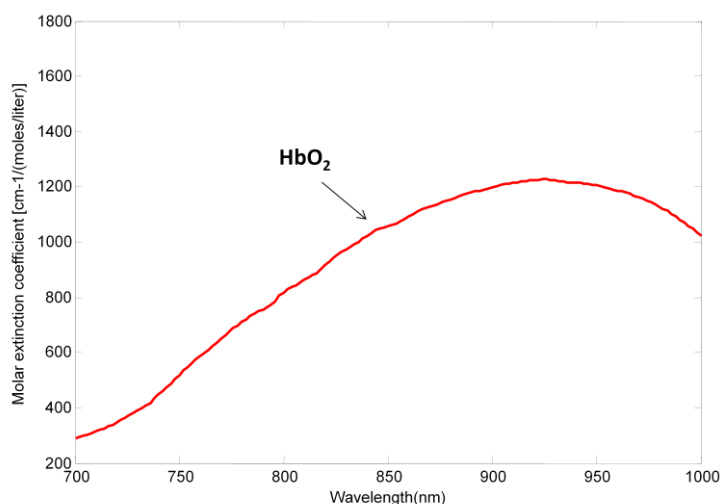
表 4-3 奈米合金與載體一維量化值。

4.3.5 帶氧血紅素

我們從仿體製備 3.3.2 節中所分離的紅血球放入載體內，並用熱融膠封閉四周以防氧化，如圖 4-19(a)所示，其利用血氧儀量測測此管血液的血氧濃度為 89%，所以此種血球屬於帶氧血紅素居多。從莫耳消光係數可以發現長波長被吸收比較多，如圖 4-19(b)所示，經仿體後反射回來的載玻片第一層(G1)光譜訊號長波長也明顯的被吸收掉，如圖 4-20(c)所示，再看偏態的一維與二維圖其中正偏態的值居多，但負偏態也是有少量出現，如圖 4-21 所示，其原因可能當時血液並非 100%都是帶氧血素，裡面參雜一些去氧血紅素而載玻片反射的訊號是經過這些血液總合的效應，而偏態不是全部都是正偏態。



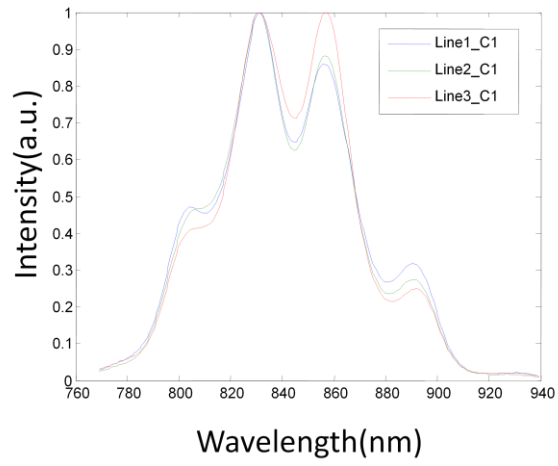
(a)



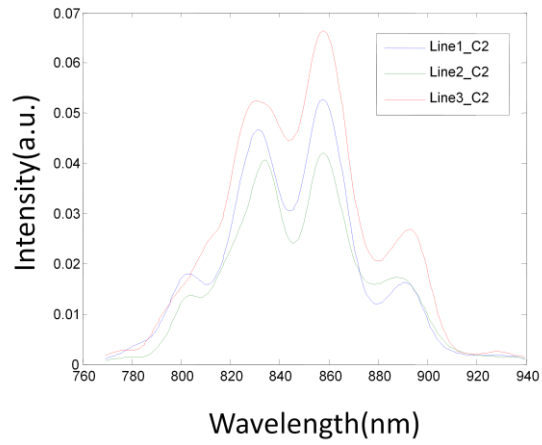
(b)

圖 4-19(a)載體加入帶氧血紅素。

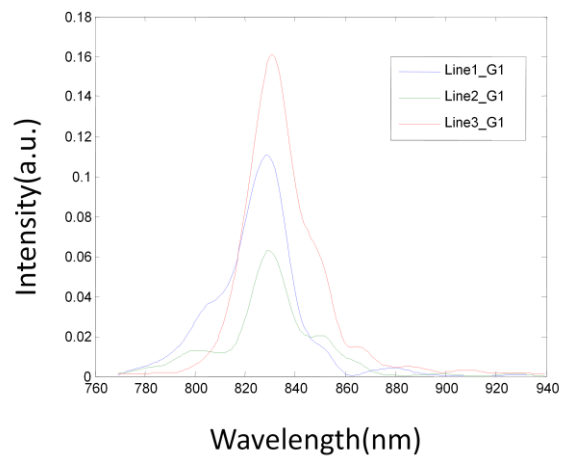
(b)帶氧血紅蛋白莫耳消光係數[22]。



(a)

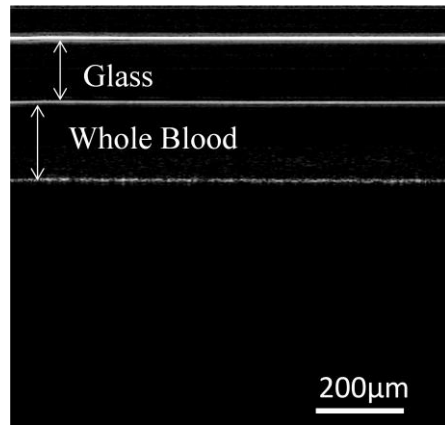


(b)

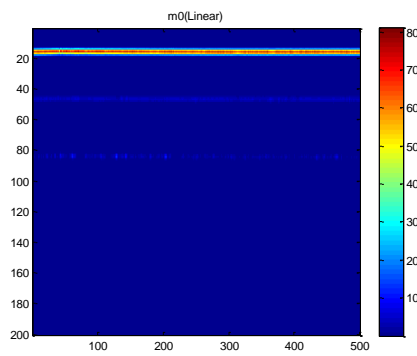


(c)

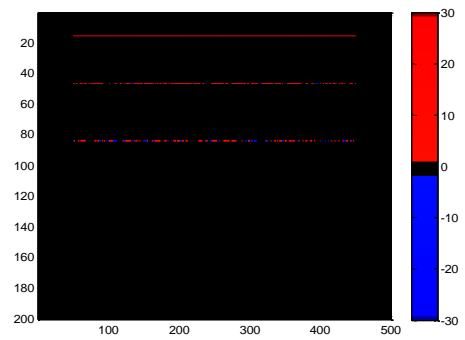
圖 4-20 (a)蓋玻片第一層反射光譜。(b) 蓋玻片第二層反射光譜。
(c)經帶氧血紅素的載玻片第一層反射光譜。



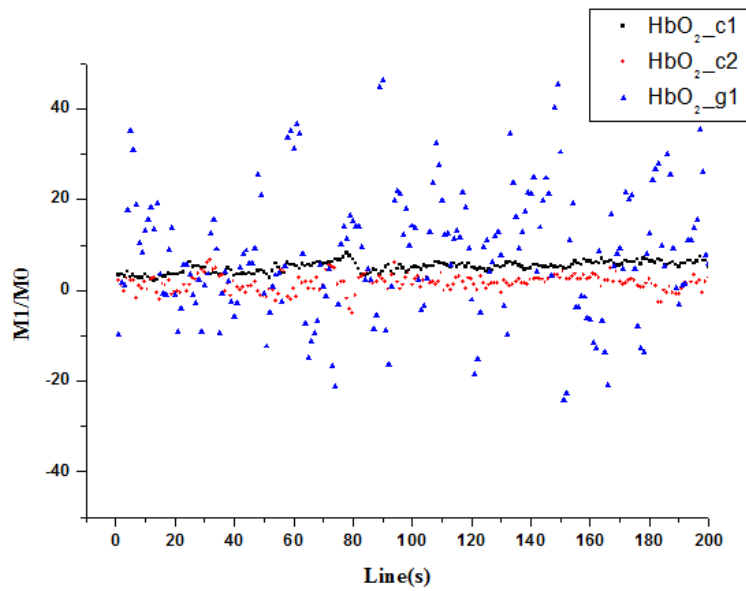
(a)



(b)



(c)

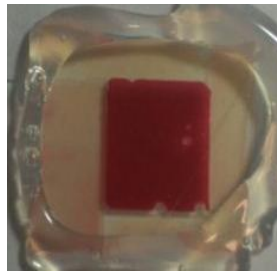


(d)

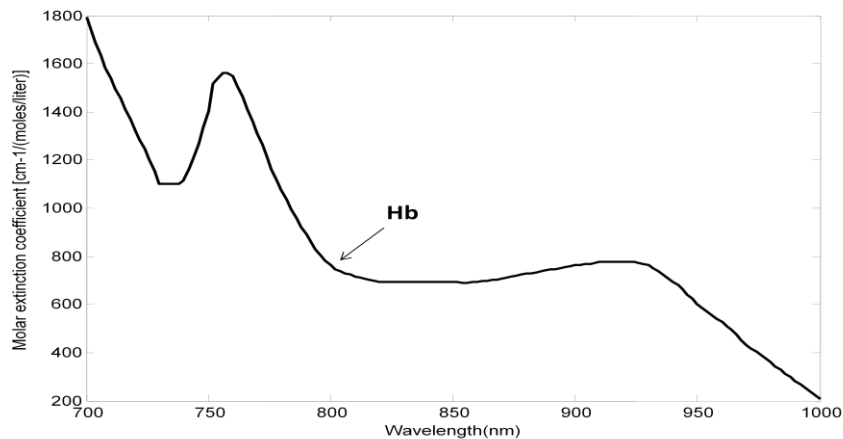
圖 4-21 (a) 帶氧血紅素 OCT 影像圖。(b) 帶氧血紅素 M0 面積圖。(c) 帶氧血紅素 M1/M0 偏態圖。(d) 帶氧血紅素 M1/M0 散佈圖。

4.3.6 去氧血紅素

我們從仿體製備 3.3.2 節中所製作紅血球加酵母菌的仿體放入載體內，並用熱融膠封閉四周以防氧化，如圖 4-22(a)所示，我們利用血氧儀量測出來的血氧濃度約 20%，是屬於去氧血紅素，其莫耳消光係數為短波長吸收特性，如圖 4-22(b)所示，接下來擷取三條軸向的光譜資訊圖來做比較，如圖 4-23 所示，可以清楚發現三條軸向光譜的第一層(C1)與第二層(C2)反射光譜訊號沒有吸收的特性，但經去氧血紅素反射介面(G1)的光譜，短波長的部分都被吸收掉，之後再取各層橫向訊號，M1/M0 的二維圖可以看到 C1 與 C2 屬於正偏態到 G1 就從正偏態往負偏態移動，如圖 4-24(c)所示，再把圖 4-24(c)畫成一維圖散佈圖也可以明顯發現它屬於負偏態，如圖 4-24(d)所示。此變化與理論莫耳消光係數的現象一致。



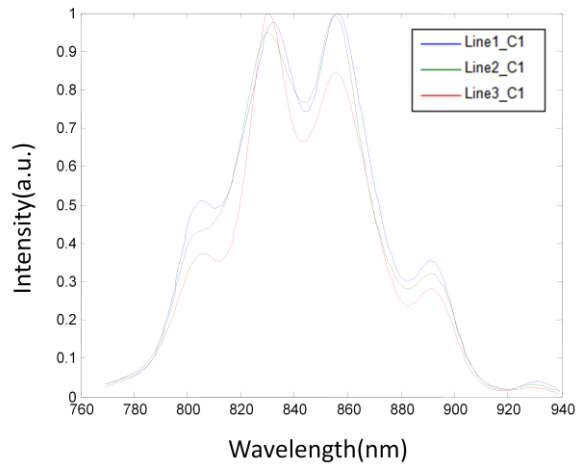
(a)



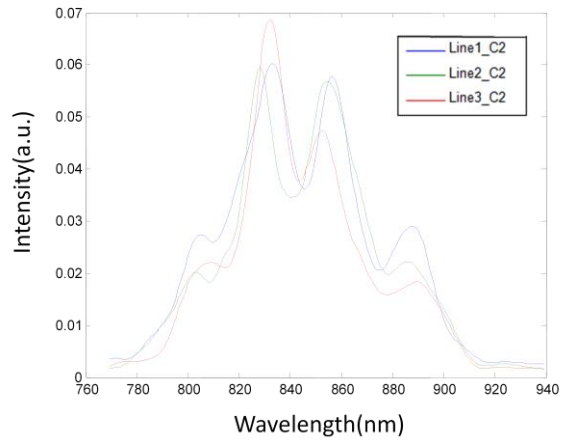
(b)

圖 4-22 (a)載體加入去氧血紅蛋白。

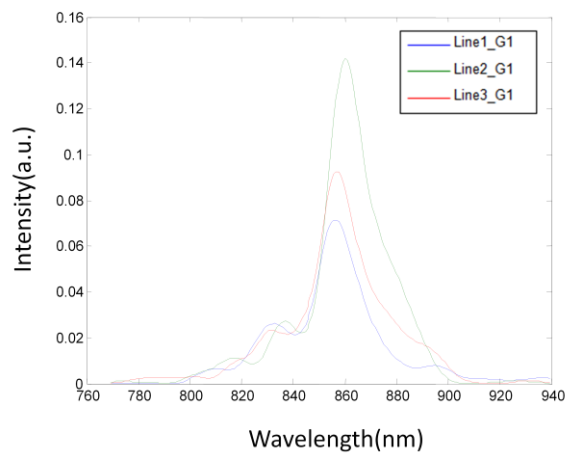
(b)去氧血紅蛋白莫耳消光係數[22]。



(a)

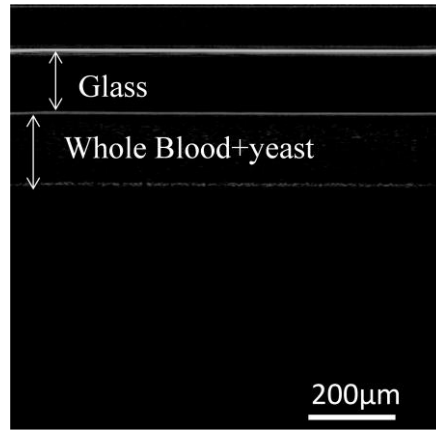


(b)

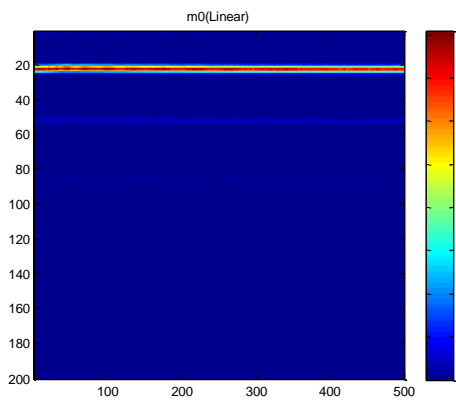


(c)

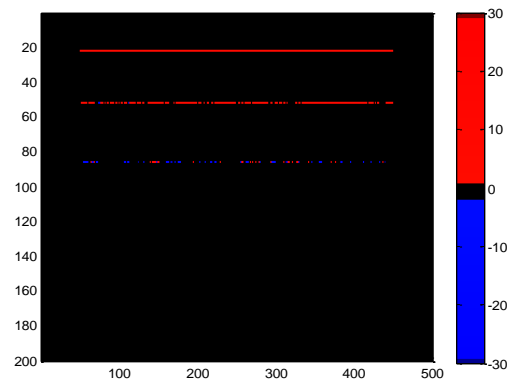
圖 4-23 (a)蓋玻片第一層反射光譜。(b)蓋玻片第二層反射光譜。
(c)經去氧血紅素的載玻片第一層反射光譜



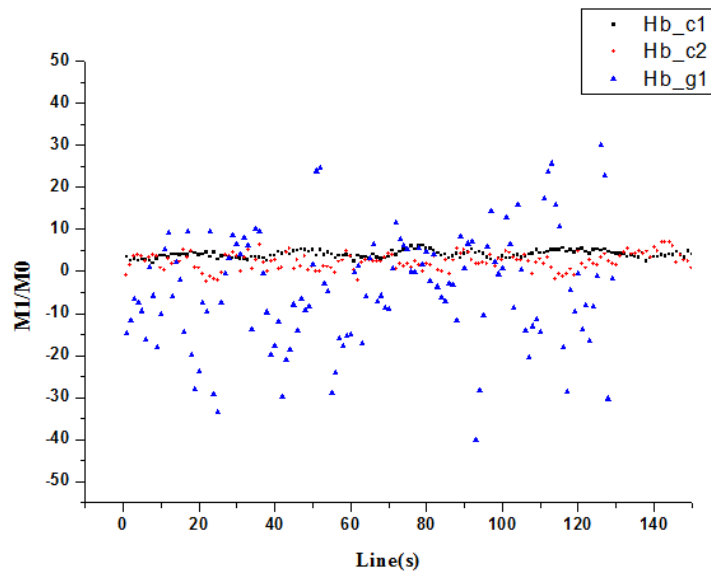
(a)



(b)



(c)



(d)

圖 4-24 (a) 去氧血紅素 OCT 影像圖。(b) 去氧血紅素 M0 面積圖。(c) 去氧血紅素 M1/M0 偏態圖。(d) 去氧血紅素 M1/M0 散佈圖。

最後我們把帶氧血紅素與去氧血紅素的 M1/M0 一維圖量化做比較，如圖 4-25 所示，使用 OriginPro8 統計軟體裡面的 One-Way ANOVA 做統計分析，Hb_c1 到 Hb_g1 的平均值是往負偏態移動且具有顯著差異，符合長波長被吸收的特性，HbO₂_c1 到 HbO₂_g1 的平均值是往正偏態移動且具有顯著差異，符合短波長被吸收的特性。最後再把帶氧血紅素、去氧血紅素、玻片訊號歸一化並畫在一起，如圖 4-26 所示。(***:p-value<0.05)。

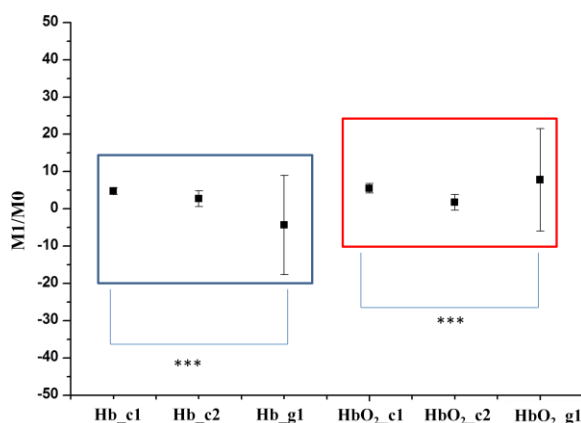


圖 4-25 帶氧血紅素與去氧血紅素一維量化圖。

	Hb_c1	Hb_c2	Hb_g1	HbO ₂ _c1	HbO ₂ _c2	HbO ₂ _g1
M1/M0	4.7±0.8	2.7±2.1	-4.3±13.2	5.5±1.3	1.7±2.1	7.8±13.7

表 4-4 帶氧血紅素與去氧血紅素一維量化值。

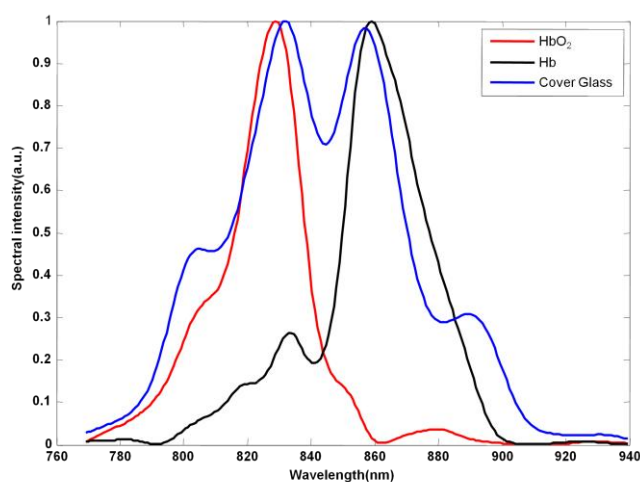


圖 4-26 帶氧血、去氧血、玻片的光譜圖。

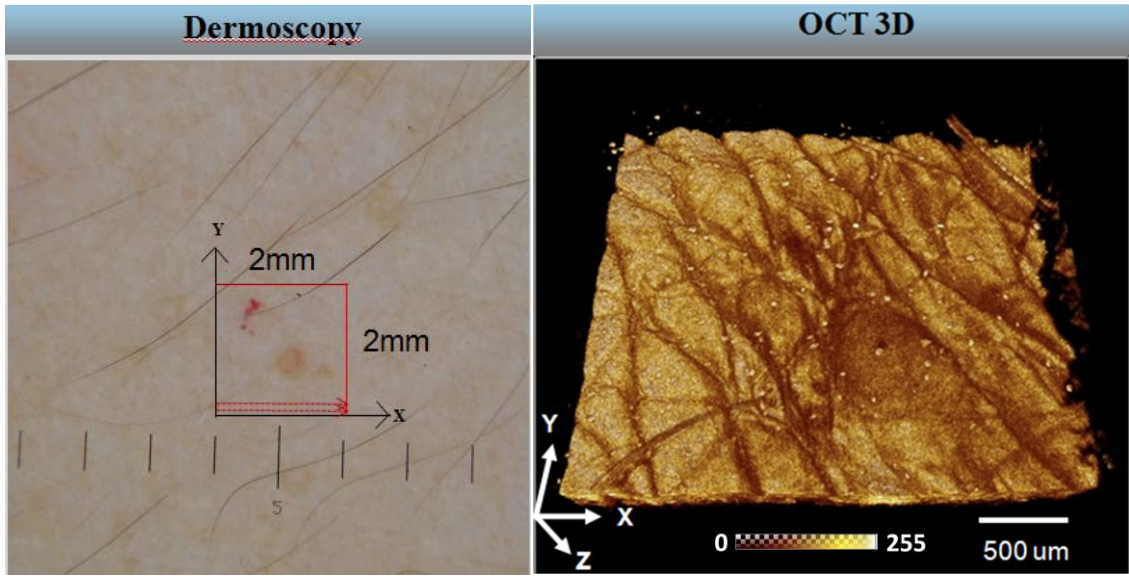
4.4 皮膚樣品量測

本系統擁有 SD-OCT 快速成像、高靈敏度、高解析度的特點，並以快速大範圍掃描並重建出三維影像。本小節的血管瘤、痣、甲壁是以每條 A-scan 為 75 μ s 的光譜儀積分時間，以 26fps 速度取得長*寬*深(2mmX2mmX3.7mm)或長*寬*深(4mmX4mmX3.7mm)影像，並以低倍物鏡掃描血管瘤、痣，高倍物鏡掃描甲壁。

4.4.1 血管瘤

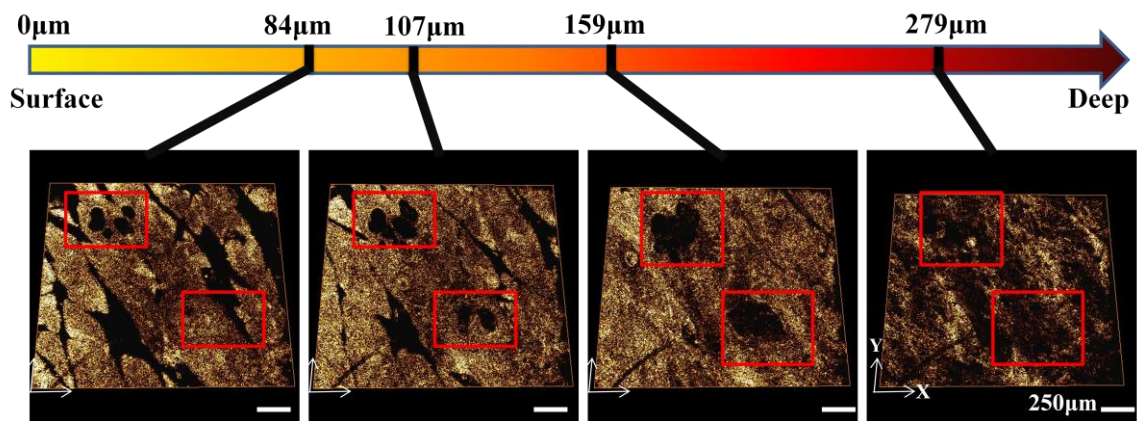
血管瘤是發生於血管組織的一種腫瘤，是由大量毛細血管、微靜脈和小靜脈形成的血管叢所造成的，多為良性腫瘤，且血管瘤會隨著時間而消失。血管瘤好發於嬰兒時期，少數在成年期發現，其身體各個部位都有可以發生。血管瘤分為表淺型與深層型，表淺型是位於皮膚表面且多屬於微血管性血管瘤，可以見到表皮有鮮艷的紅色小球，外觀為不規則形微凸於表皮，大小從數毫米到公分都有，輕壓它時會有血液消退的現象，但之後會發現血液慢慢的充滿起來。我們在這探討最常見的表淺型血管增生血管瘤。

我們量測受試者 A 的表皮血管瘤，圖 4-27(a)為皮膚鏡下的影像，左上角及右下共角有 2 顆血管瘤，圖 4-27(b)為我們掃描出來的二維皮膚影像其範圍為 2mm*2mm 並用 Avizo 軟體重組成三維影像，圖 4-27(c)為三維影像從表面(X-Y)往下切片不同深度的影像，可以清楚分辨出皮膚的紋理及血管瘤型態大小。我們再從三維影取出橫切面(X-Z)影像如圖 4-28(a)，圖 4-28(b)可以分出角質層(Stratum corneum)、表皮層(Epidermis)、乳凸層(Papillary)、真皮層(Dermis)，並明顯看出真皮層內有很多圓孔狀的洞，那是微血管(blood vessel,BV)被正切，長條型樹枝狀則是微血管被橫切所造成，我們再把三維影像隨機切取，可以清楚發現血管瘤周圍都有連著從真皮層向上長的微血管，血管瘤內有霧狀斑點那是微血管壁細胞群聚的組織如圖 4-29(a)(b)且兩個血管瘤有血管互相連接，如圖 4-29(c)所示，由此可以初步推斷這是由微血管所組成的血管瘤而且此兩顆血管瘤有血管相互連接。



(a)

(b)

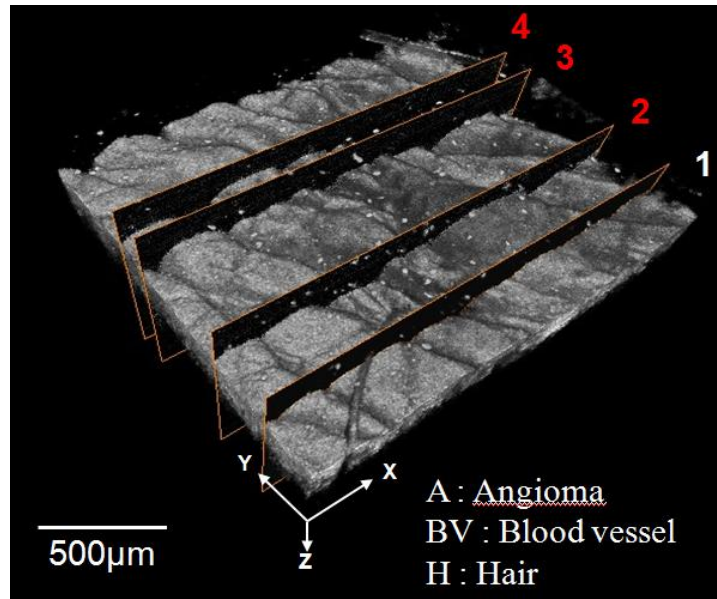


(c)

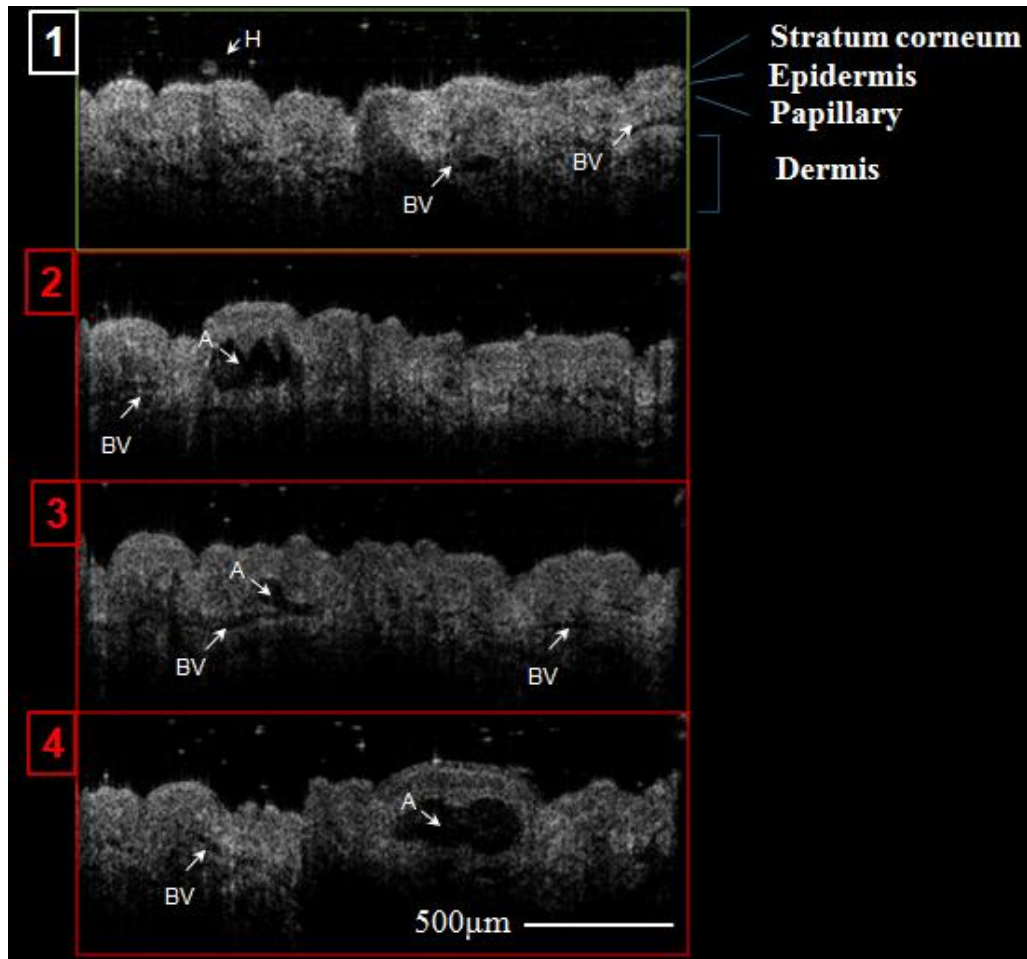
圖 4-27 (a)皮膚鏡血管瘤影像。

(b)血管瘤三維影像。

(c)血管瘤(X-Y)平面影像深度圖。



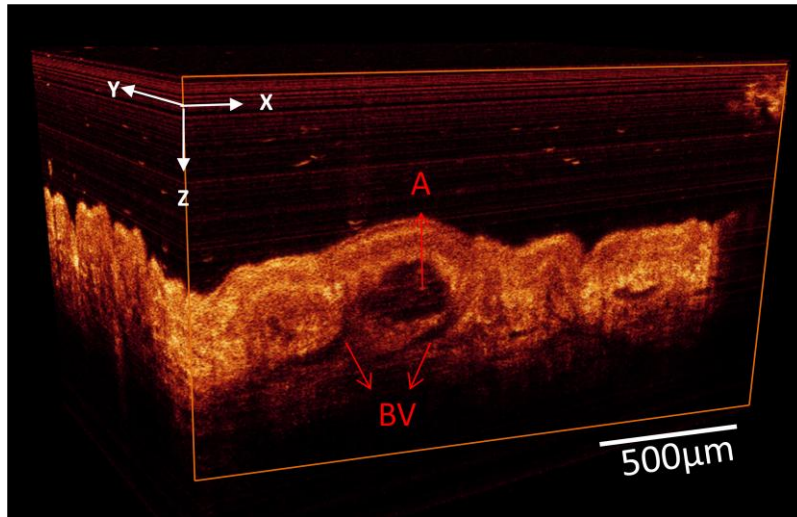
(a)



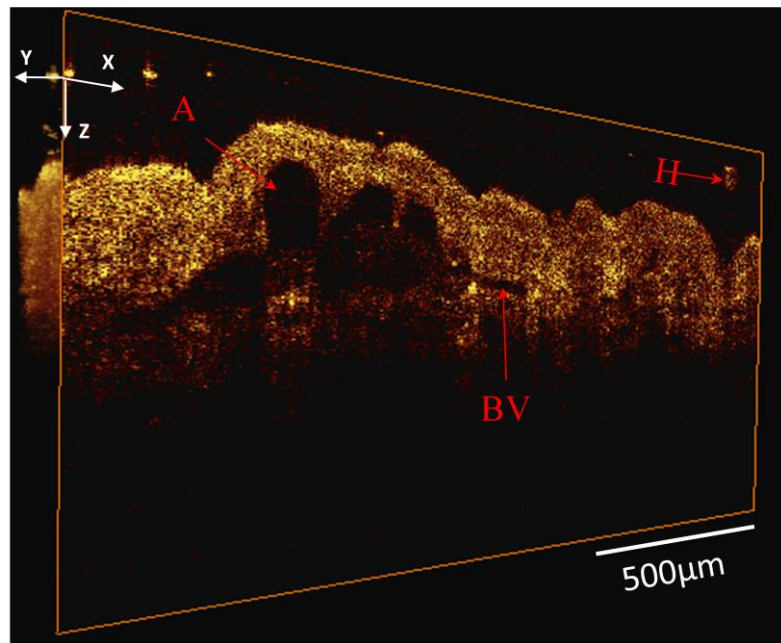
(b)

圖 4-28 (a) 血管瘤(X-Z)平面二維影像示意圖。

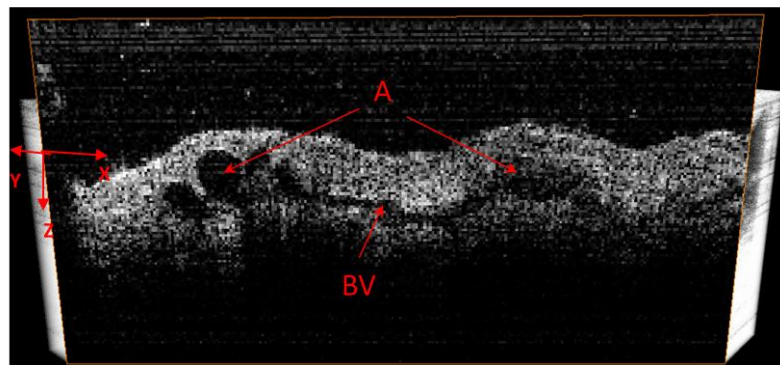
(b-1) 正常皮膚，(b-2~4)血管瘤。



(a)



(b)



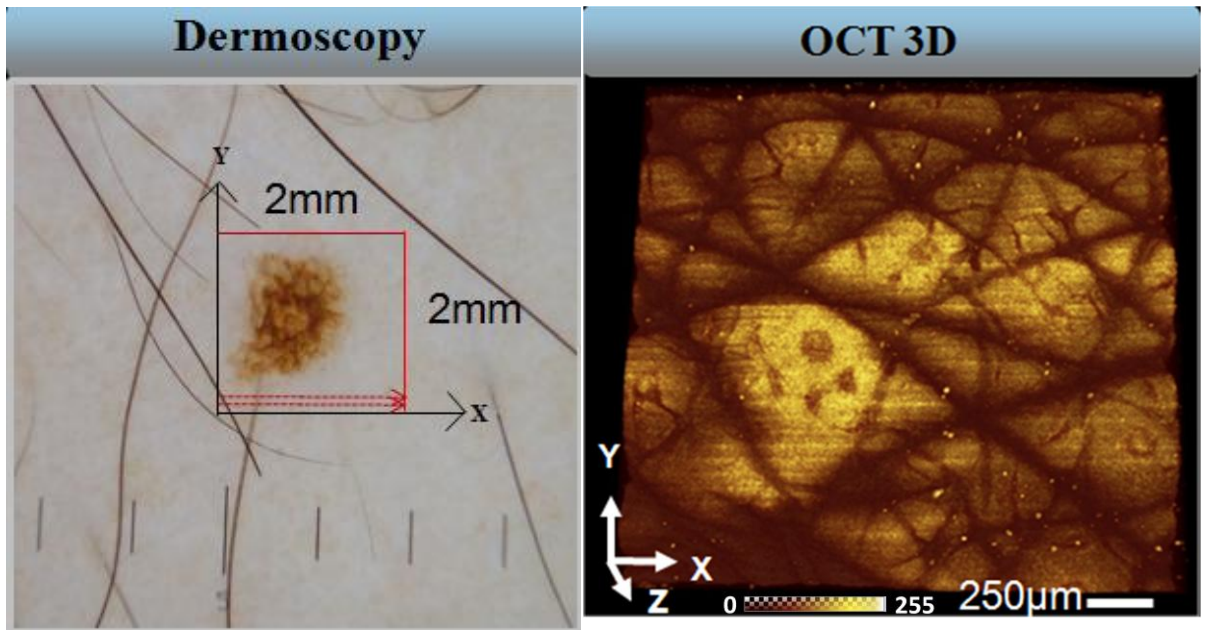
(c)

圖 4-29 (a) (b) (c) 血管瘤各切面影像

4.4.2 痣

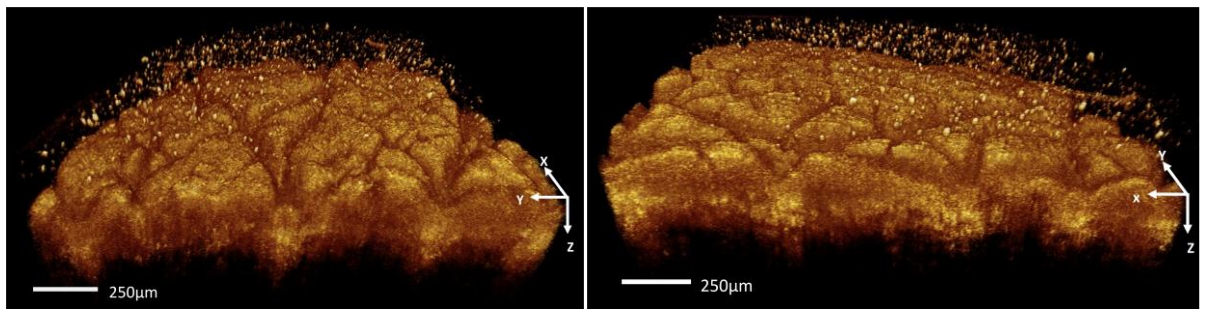
痣是每個人身上都多多少少都會有的黑色素斑點，痣在醫學上稱為痣細胞或黑色素細胞痣，是表皮層或真皮層內黑色素細胞增生所導致，以痣的分布位置分為三類，為皮內痣(intra dermal naevus)、混合痣(Compound naevus)、交界痣(junctional naevus)。痣細胞逐漸脫離基底層而完全進入真皮層內稱為皮內痣，呈結節狀，可長毛，成人多見。痣細胞在表皮層與真皮層交界處之外還深入到真皮層部分，外觀顏色比交界痣還要深的暗褐色，觸感上略微凸起稱為混合痣，當面積大時有毛是交界痣向皮內痣演變的過渡型。交界痣顧名思義痣細胞位於表皮層與真皮層交界處，一般光滑無毛，少數會自行消退。痣幾乎都是良性的，但極少數痣會因外在刺激而產生癌變，癌變的症狀有下列幾種現象，如痣的範圍突然擴大，形狀突然改變等。傳統皮膚鏡只能觀察皮膚表面的型態變化，當皮下型態改變就無法提早發現，而本系統可以克服皮膚鏡無法觀察皮膚底下型態的障礙，進而觀察到痣區型態上的變化。

我們量測受試者 B 的痣區，可以發現 OCT 三維影像痣區有黑色斑點，可能是黑色素群聚造成光被吸收掉而無法穿透到組織下方，因此從圖 4-30(c)不同深度切面會有網格的形狀產生，我們再看不同面，發現痣區的部分幾乎與旁邊正常皮膚一樣高度，如圖 4-30(c)(d)。圖 4-31(b-2)(b-3)(b-4)明顯看到痣區有往真皮突出的手指狀影像(↖)，而且表皮與真皮交界處有明顯的反射訊號，那是黑色素細胞生長在交界處因折射率差異甚大所造成的。所以初步研判它是屬於平坦型無毛的交界痣。



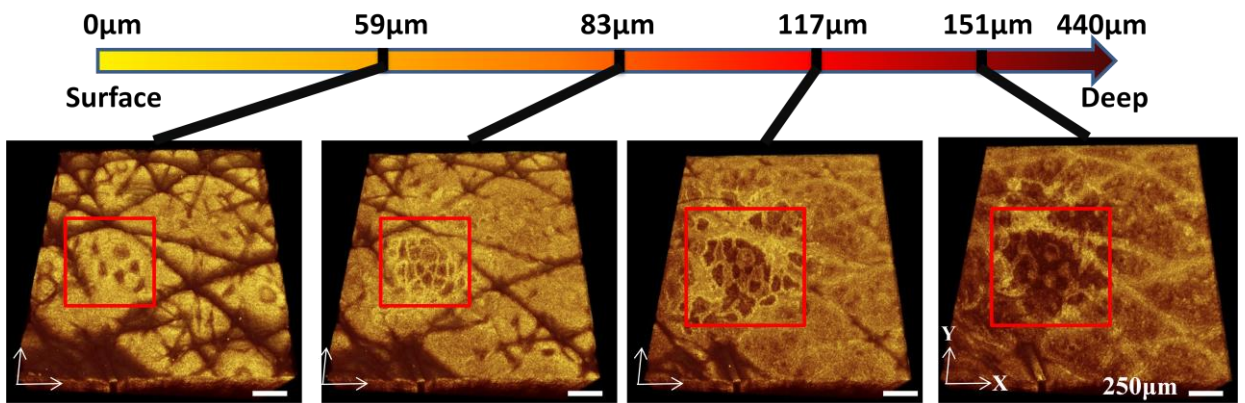
(a)

(b)



(c)

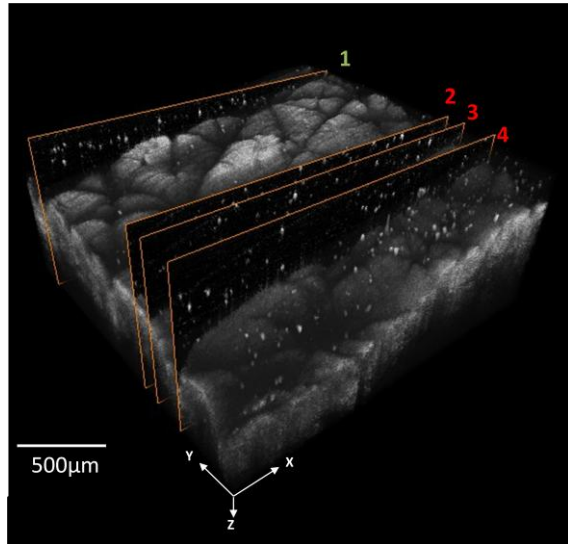
(d)



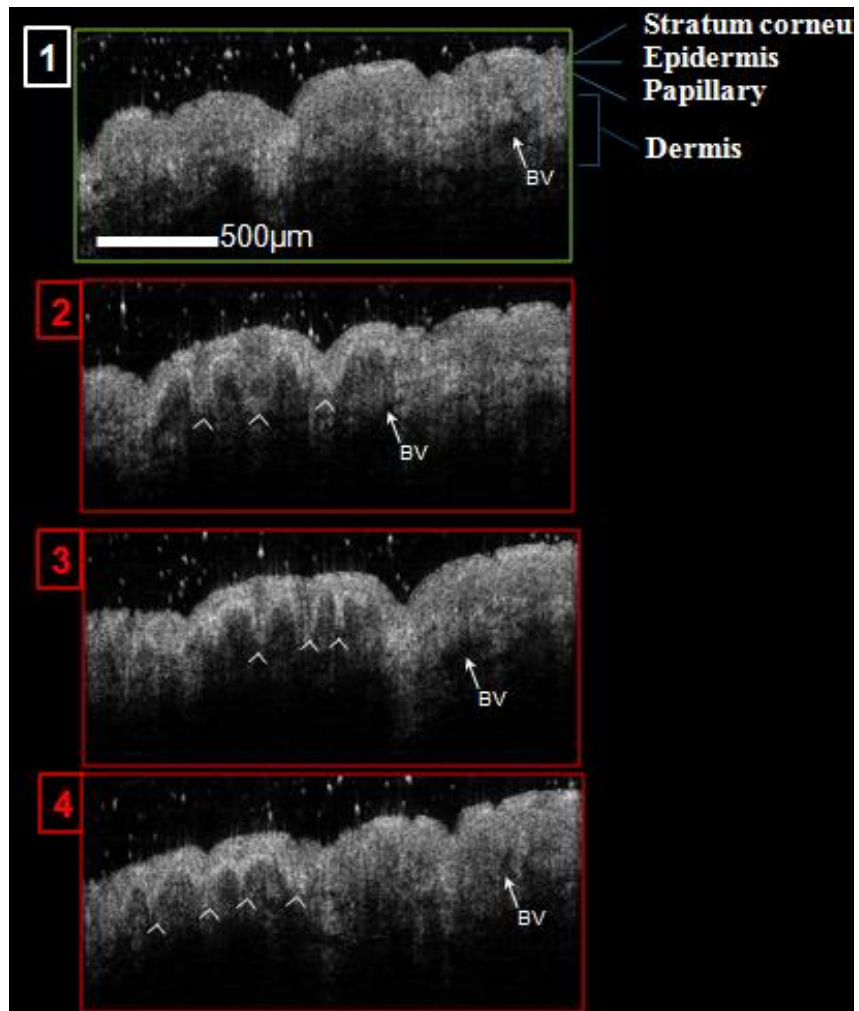
(e)

圖 4-30 (a) 皮膚鏡平坦痣影像。 (b)(c)(d) 平坦痣的 OCT 三維影像。

(e) 平坦痣的(X-Y)平面影像深度圖。



(a)



(b)

圖 4-31 (a) 平坦痣 (X-Z)平面影像示意圖。

(b-1) 正常皮膚圖，(b-2~4) 平坦痣影像圖。

接著量測受試者 A 的痣區，掃描範圍為 4mm*4mm 大小。從皮膚鏡上無法清楚看到毛髮從哪些方向生長出來，只能看到毛髮交錯於皮表上，但是從 OCT 三維影像可以清楚發現毛髮是從痣區中心點長出來，如圖 4-32 (b)。我們再把 OCT 三維影像從不同角度觀看，可以明顯發現受試者 A 的痣是高於周圍皮膚如圖 4-32(c)(d)。圖 4-33(b-2)(b-3)(b-4)明顯看到痣區有凸出的手指形狀影像(*)，所以初步研判它是屬於凸型有毛的混合痣。

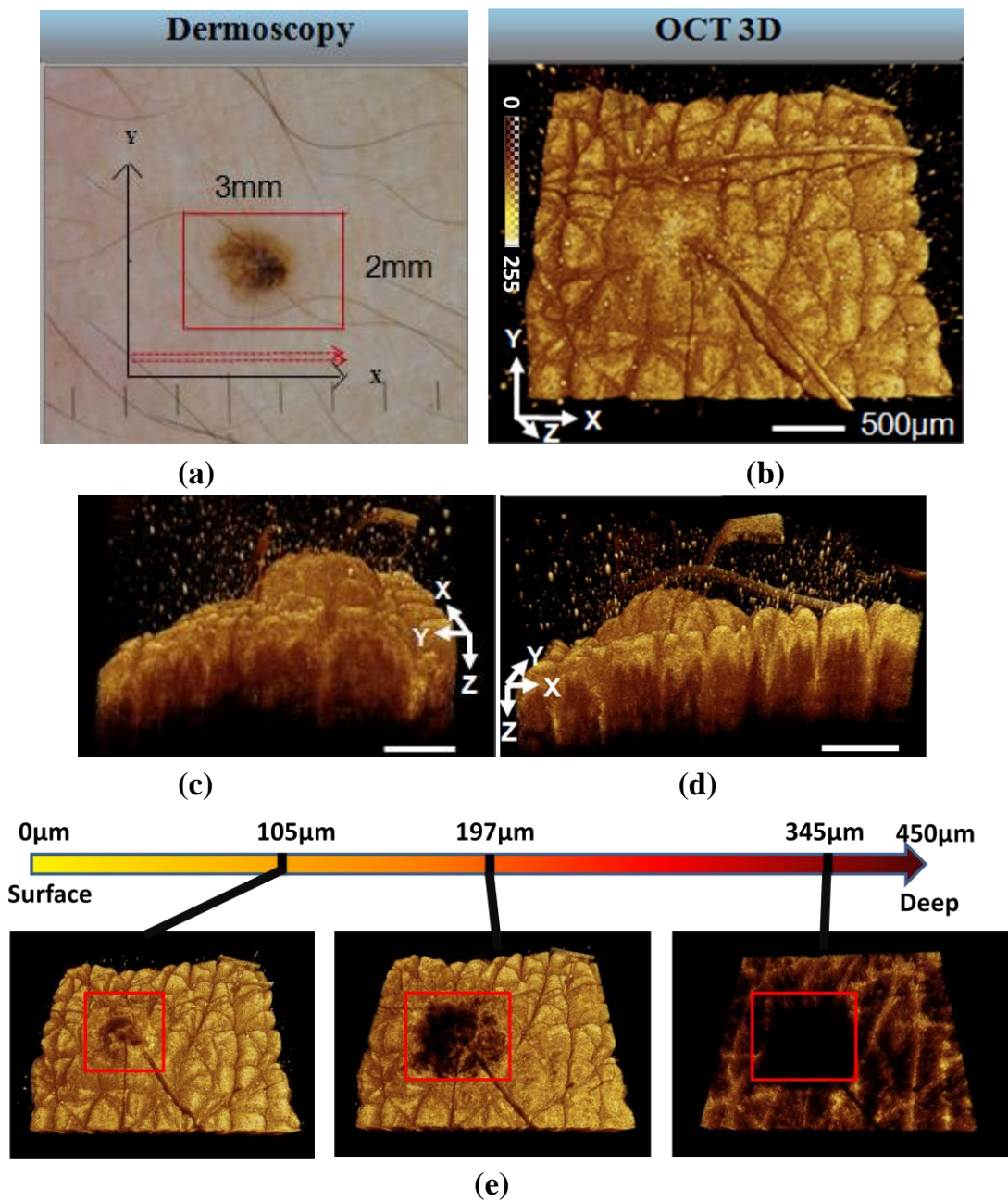
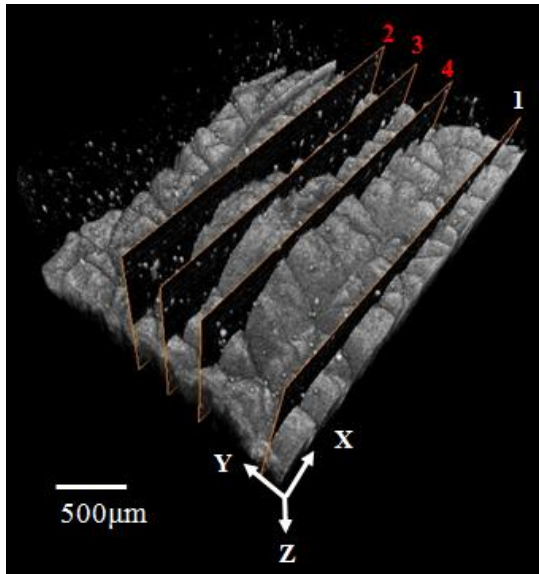
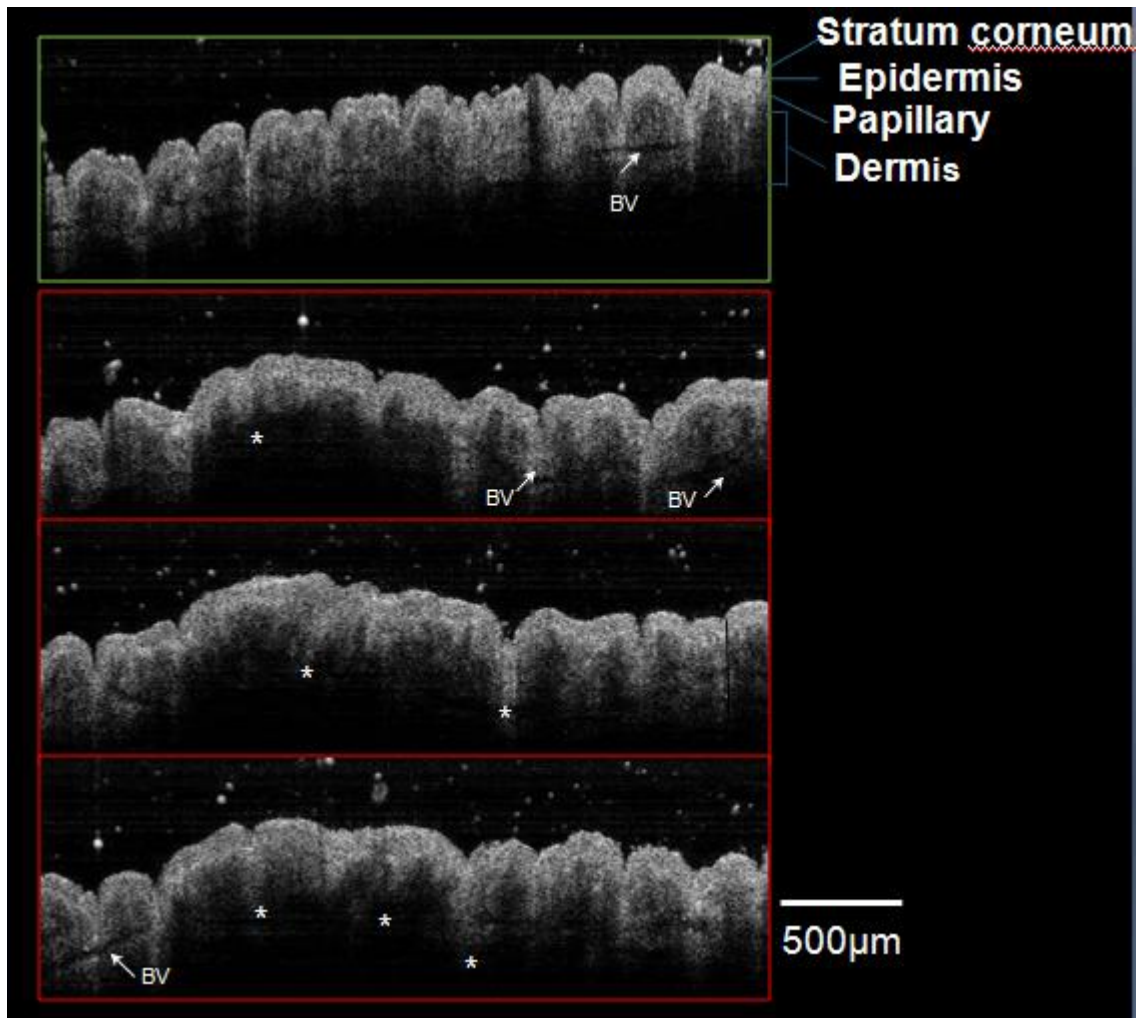


圖 4-32 (a)凸型痣的影像。(b)(c)(d) 凸型痣三維影像。(e) 凸型痣 (X-Y)平面影像深度圖。



(a)



(b)

圖 4-33(a) 凸型痣(X-Z)平面影像示意圖。(b-1)正常皮膚，(b-2~4) 凸型痣。

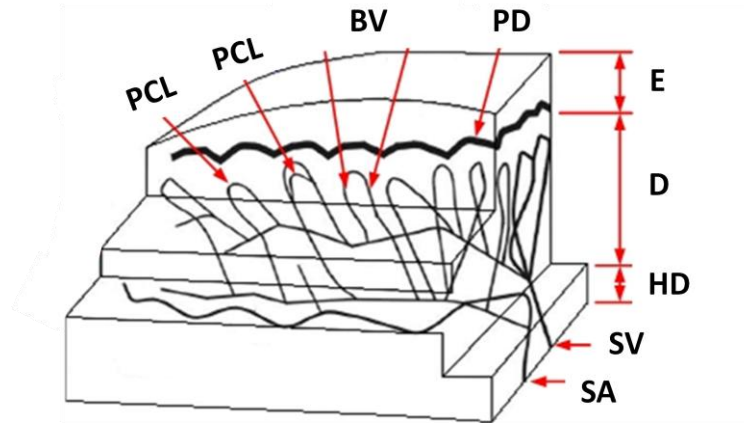
4.4.3 手指甲壁皮膚

微循環是人體血液系統最基礎的結構，它是連接動脈系統與靜脈系統的橋梁，也是向組織提供養分、氧氣並攜帶走細胞消耗的廢棄物與其他代謝物，由此可見微循環是維持生命重要的生理作用。近年來國內外有文獻指出，不同的疾病都有伴隨著微循環障礙，如心血管疾病(腦中風)等。年齡增加、生活習慣不良、工作壓力大、久坐不動等都容易造成微循環的改變，根據病理學，如不考慮外在因素(病毒、化學物、微生物)引起的疾病，疾病可能是組織缺氧造成細胞損傷的原因之一，日本醫學專家野英世也說過”疾病的發生可能是身體缺氧的信號”。由此可見如何改善身體微循環是現代人的值得注意的一個話題。

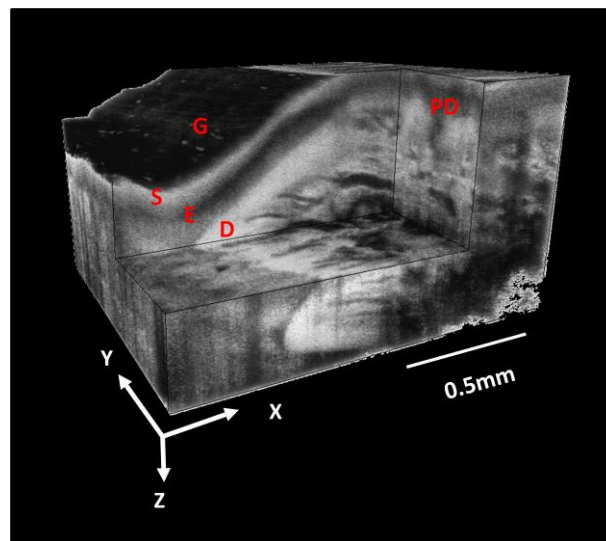
人體可以觀察到微循環的地方有眼底脈絡膜、舌頭等，而最方便觀察到的末梢微循環為甲壁微循環而且已經運用在臨床上。甲壁的血管來自於指動脈，指動脈分出小動脈(small artery, SA)進入真皮層並在真皮層分細動脈，互相連結行成真皮乳凸層(papillary dermis, PD)的細動脈叢，之後細動脈會接到毛細血管的輸入支，之後毛細血管會急遽轉彎接入真皮乳凸的細靜脈叢此為輸出支隨後進入小靜脈(small vein, SV)，而甲壁毛細血管的輸入支與輸出支形如髮夾狀，故稱毛細血管絆(papillary capillary loops, PCL)如圖 4-34(a)。目前觀察甲壁末梢血管主要有型態與流速，我們主要來觀察型態上的變化。在 1984 年起由大陸學者田牛等將毛細血管絆形態大致分類為 16 項且持續增加中，型態改變可能伴隨著不同疾病的發生，如管絆纖細，可能末梢供血不足與缺血性疾病、老年動脈硬化有關。

接著我們量測受試者 C 的甲壁影像，從圖 4-34(c)可明顯發現角質層、表皮層、基底層(basement membrane, BM)，以及在真皮層可以清楚看到血管(blood vessel, BV)與微血管絆，隨後把二維 OCT 影像組成三維如圖 4-34(b)，並切不同面的影像去觀察，圖 4-34(d)左面為指甲方向，右面為甲壁方向，影像可以清楚看到有許多微血管往指甲方向流之後反轉回流向甲壁方向，很像三維圖微血管絆的現象。圖 4-34(e)平面有許多微血管被切各種角度的影像，如圓形孔洞就是血管流向指甲

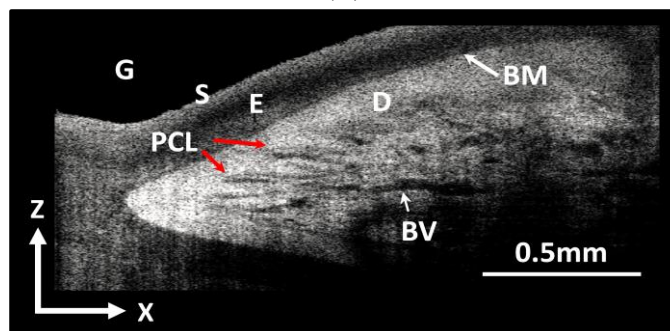
方向被正切的原因。由此可知我們利用 OCT 三維掃描可以從不同角度、深度去觀察微血管的型態進而彌補微循環儀只能看到皮膚表面的缺點。



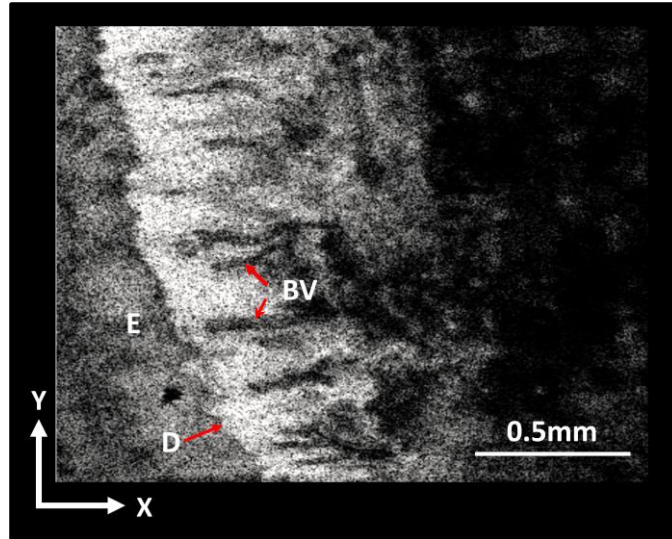
(a)



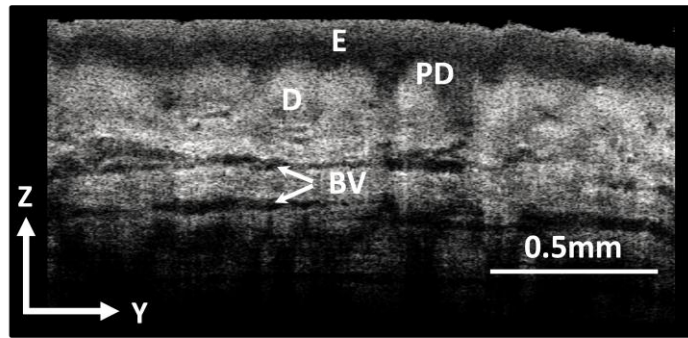
(b)



(c)



(d)



(e)

圖 4-34 (a)甲壁剖面示意圖。(b) 甲壁三維圖。(c)甲壁(X-Z)平面影像圖。(d) 甲壁(X-Y)平面影像圖。(e)甲壁(Y-Z)平面影像圖。

4.5 利用 moment 於皮膚樣品量測

4.5.1 moment 偏態選擇

由 2.7 節得知 moment 偏態有 $M1$ 、 $M3$ 、... 等的選擇，當階數越高表示外側的光譜權重越重，而 $M0$ 為光譜的面積值。所以我們就以血管瘤為樣品來測試，取血管瘤上方(c1)、血管瘤下方(g1)、正常皮膚(norSkin)三個地方的 $M1/M0$ 、 $M3/M0$ 來做分析，如圖 4-35 所示。從圖 4-36 可以發現經過血管瘤的反射面(g1)偏態明顯偏下，未經血管瘤的皮膚與正常皮膚分布區域相同，隨後我們再把散佈圖畫成強度(Histogram)圖分佈並畫出曲線圖，也可以明顯發現 $M1$ 與 $M3$ 的各部位偏態都一樣，如圖 4-37 所示。所以我們以 $M1/M0$ 來做樣品分析，是因為 $M1/M0$ 的外面光譜權重比較低而不會犧牲掉中間光譜的資訊。

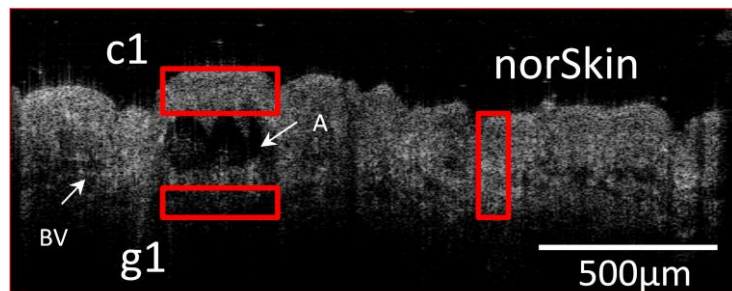


圖 4-35 血管瘤二維圖

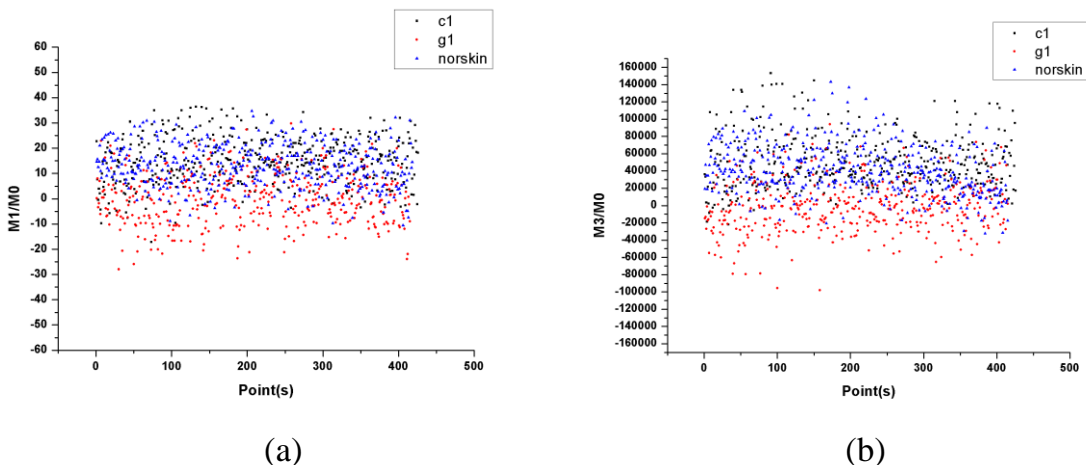


圖 4-36 (a) $M1/M0$ 散佈圖。(b) $M3/M0$ 散佈圖。

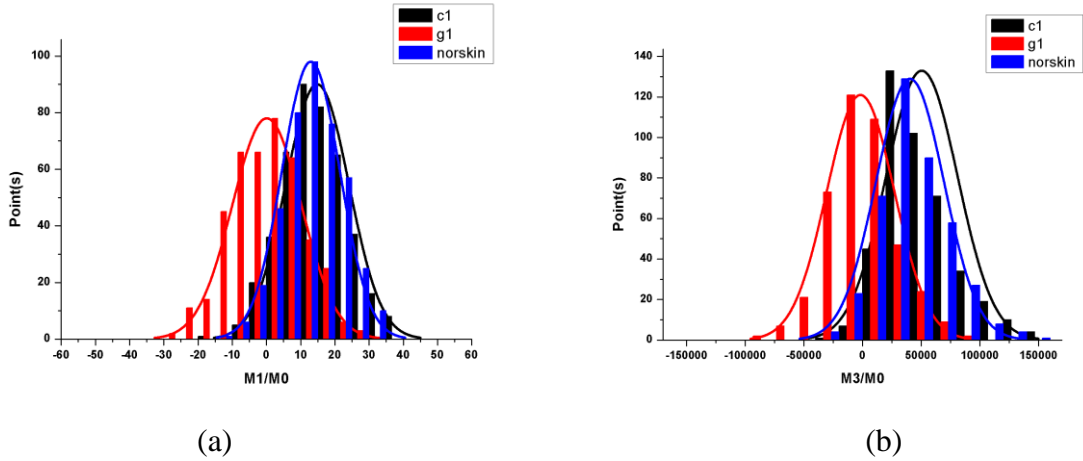
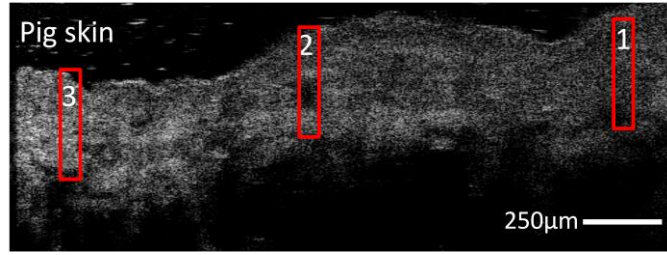


圖 4-37 (a) M1/M0 強度圖。

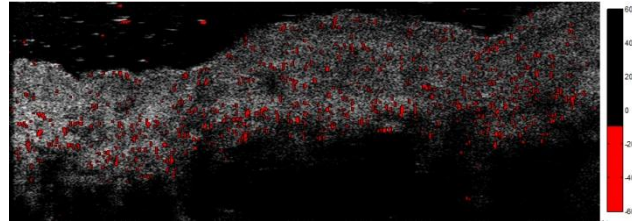
(b) M3/M0 強度圖。

4.5.2 moment 運用於高散射樣品量測

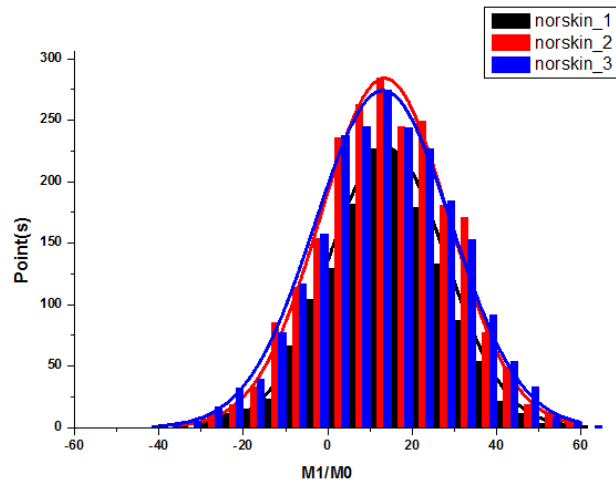
由 2.3 節得知短時傅立葉的窗函數大小決定波長的解析度，由於在高散射的樣品我們希望它的波長解析度差以減少光譜散射效應，所以我們在這裡選用 1024 的窗函數並以 M1/M0 來做偏態分析，中心位置設為 849nm。這次我們選用血管瘤皮膚做測試並以豬皮來做空白實驗。從豬皮與皮膚的 M1/M0 的強度圖發現我們所選的區塊色階 0 ± 10 的地方幾乎都重疊在一起，為了突顯出光譜的吸收變化，所以我們的色階定意為正偏態為黑色，負偏態值 -10 到 0 值為黑色，-10 以下為紅色。豬皮內有少許的紅點可能是豬皮組織散射光譜所造成的偏態誤判，如圖 4-38(b)、4-39(b) 所示，隨後我們在豬皮區塊選左、中、右三區塊做 M1/M0 強度分布圖分析，可以明顯發現此兩筆豬皮三個區塊的偏態是相同的無變化 ($p=0.14$ 、 $P=0.5$)，如圖 4-38(d)、4-39(d) 所示，由此可見少許的光譜散射效應對統計上分析的結果影響不大。



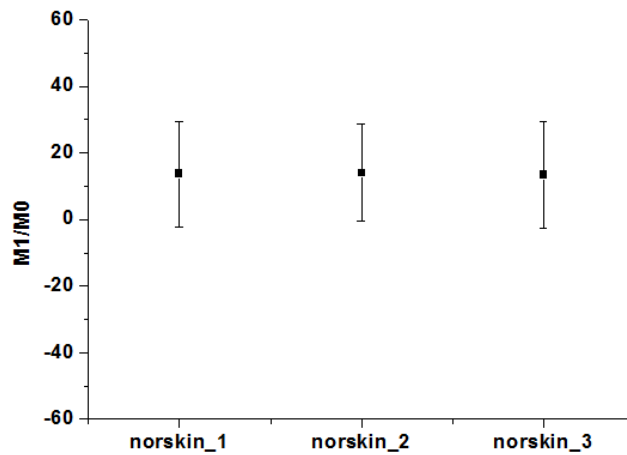
(a)



(b)

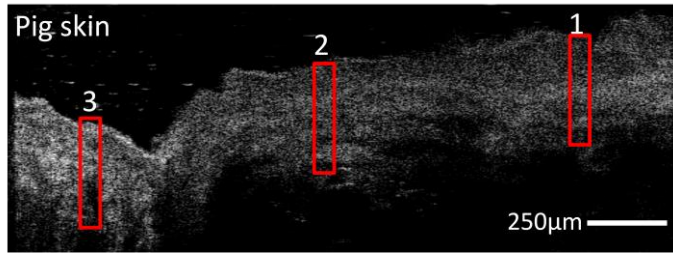


(c)

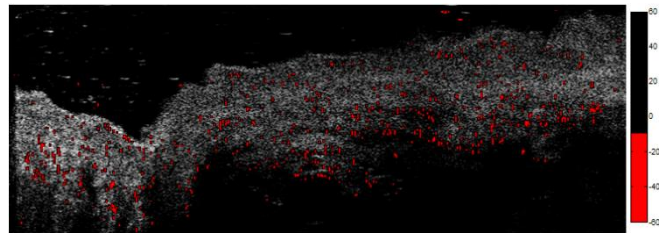


(d)

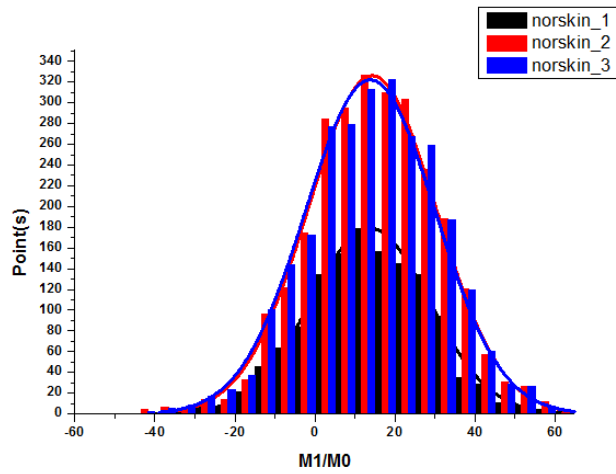
圖 4-38 (a)OCT 豬皮 1 號圖。(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起。(c)三區塊 M1/M0 圖。
(d)把三區塊 M1/M0 值取平均值與標準差。



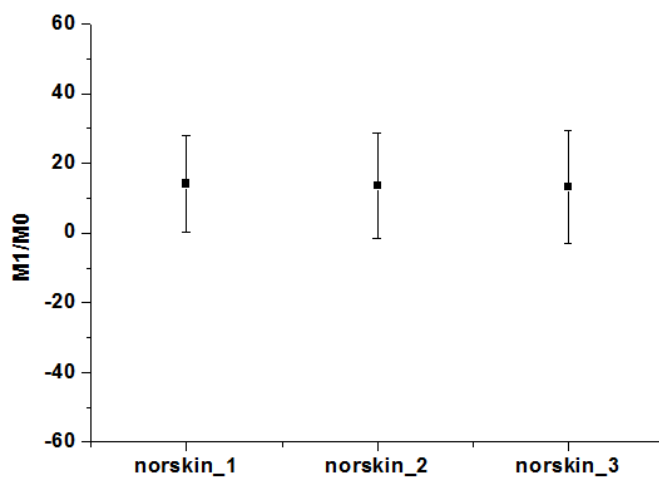
(a)



(b)



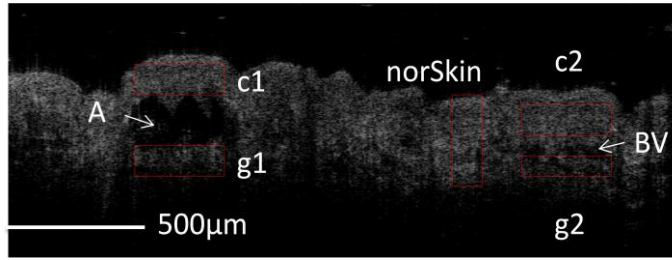
(c)



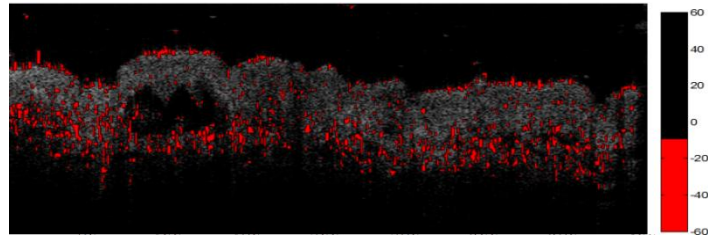
(d)

圖 4-39 (a)OCT 豬皮 2 號圖。(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起。(c)三區塊 M1/M0 圖。(d)把三區塊 M1/M0 值取平均值與標準差。

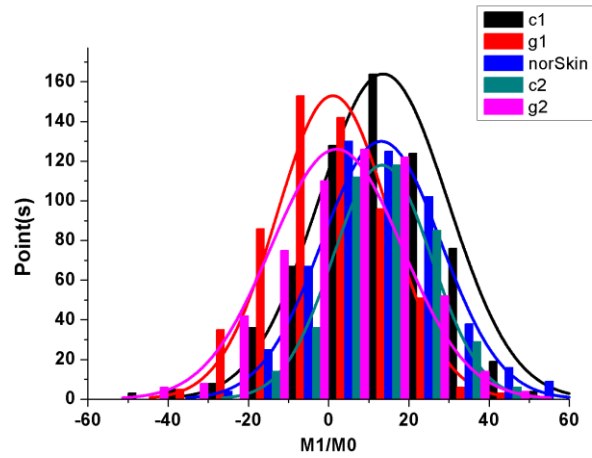
接下來我們分析血管瘤兩筆資料，第一筆血管瘤可以清楚發現在活體皮膚上真皮層的位置有許多血管分佈，血管瘤位於左方，如圖 4-40(a)所示，不知道此分佈是否在 moment 光譜分析會造成何種變化?所以我們就取血管瘤上方(c1)、血管瘤下方(g1)、正常皮膚(norSkin)、正常皮膚上方(c2)與正常皮膚下方(g2)這五個區塊做 M1/M0 強度圖分析。從圖 4-40(d)可以明顯看出 c1 到 g1 偏態平均值是往負方向變化，c2 到 g2 的偏態平均值也是往負方向移動，兩者 P 值均小於 0.05 有顯著差異(***:p-value<0.05)，此變化可能是真皮層與血管瘤內富有微血管，而微血管含去氧血紅素較多所造成的光譜變化，而 norSkin、c1、c2 屬於正偏態。第二筆血管瘤的位置是位於右方，如圖 4-41(a)所示，再從偏態平均值觀察，c1 與 g1 是往負偏態移動，如圖 4-41(d)所示，但是變化不明顯可能是此區的血管瘤含氧量比較高的關係所造成。



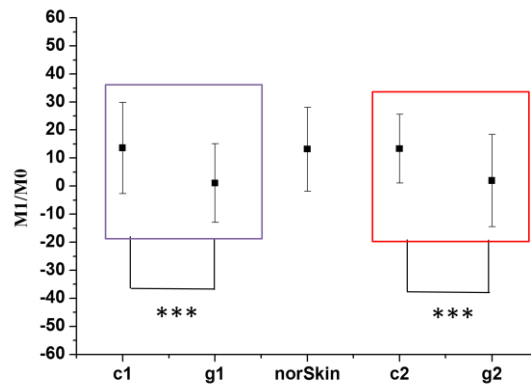
(a)



(b)

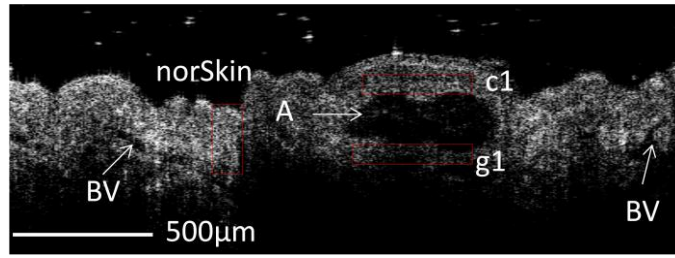


(c)

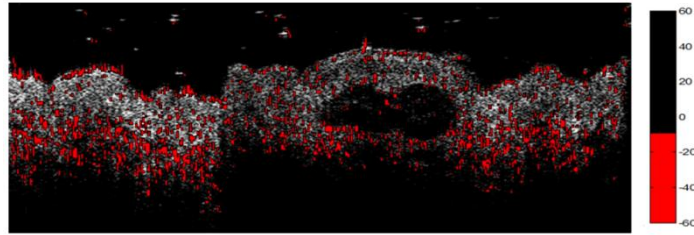


(d)

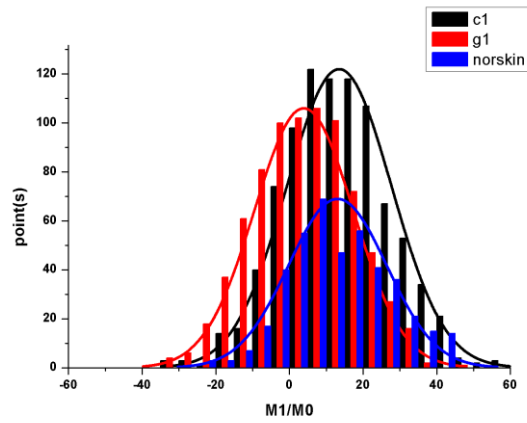
圖 4-40 (a)OCT 血管瘤 1 號圖。(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起。(c)五區塊 M1/M0 圖。(d)把五區塊 M1/M0 值取平均值與標準差。



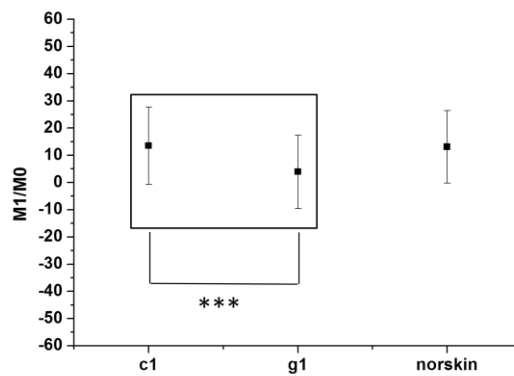
(a)



(b)



(c)



(d)

圖 4-41 (a)OCT 血管瘤 2 號圖。(b)偏態圖與 OCT 圖畫在一起。(c)三區塊 M1/M0 圖。(d)把三區塊 M1/M0 值取平均值與標準差。

第五章 結論與未來展望

在本論文中，我們已經成功架設出 SD-OCT 三維掃描系統，並利用 moment 演算法去量化光譜變化，對各種仿體、生物樣品進行實測與分析，在整個研究中歸納出幾項結論。

1. 在實測的系統空間解析度，軸向解析度為 $2.59\mu\text{m}$ ，橫向解析度部分高倍物鏡為 $6.2\mu\text{m}$ 、低倍物鏡為 $8.7\mu\text{m}$ 。軸向解析度距離理論值 $1.6\mu\text{m}$ 還相差約 $1\mu\text{m}$ ，可能是因為參考端與樣品端的色散還不能完全匹配，希望之後在色散補償片的設計作修改以達到接近理論值的軸向解析度。
2. 我們架設出以 SD-OCT 為基礎的超高速度、超高解析度三維斷層影像掃描系統，並實際運用於活體皮膚組織，我們從掃描血管瘤可以清楚看到血管瘤的型態、大小，痣區部分可以看到痣的分佈、浸潤深度，甲壁微血管也可以明顯發現血管的分佈型態等，未來希望可以提高系統的運算速度以達到更快的成像速度。
3. 在光譜仿體測試可以發現不同樣品的光譜特性，並利用 moment 演算法分析 1 筆載體空白實驗與 3 筆不同吸光特性的仿體並從量化光譜變化與理論相同，在未來希望可以再做多次的仿體測試以驗證實驗重複性及系統穩定性。
4. 在 moment 演算法運用於高散射樣品，可以清楚看到經過不同吸光物質偏態色階的變化。但從實驗數據看到單筆各區塊(如皮膚上方，血管瘤下方等)的偏態值重疊區塊很大，所以我們在色階設定必須二值化才能清楚分辨而且在豬皮樣品上也出現少許偏態的變化，其原因有可能是 moment 演算法對於高散射樣品的靈敏度不夠導致無法分出更細微的光譜變化，如何減少散射光譜對於 moment 演算法的影響是我們將來需要積極解決的問題。

參考文獻

- [1] 衛生署國民健康局
(<http://www.bhp.doh.gov.tw/BHPNet/Web/News/News.aspx?No=201206210001>)
- [2] D. Gutierrez-Mendoza, R. Narro-Llorente, M. Karam-Orantes, V. Fonte-Avalos, E. Martinez-Luna, S. Toussaint-Caire and J. Domiguez-Cherit, "Dermoscopy Clues in Pigmented Bowen's Disease," *Dermatology research and practice*, 62(4), 597-604 (2010)
- [3] R. P. Braun, M. Oliviero, I. Kolm, L. E. French, A. A. Marghoob and H. Rabinovitz, "Dermoscopy: what's new?," *Clinics in dermatology*, 27(1), 26-34 (2009)
- [4] P. Sbrano, N. Nami, L. Grimaldi and P. Rubegni, "True amelanotic melanoma: the great masquerader," *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*, 63(3), e307-308 (2010)
- [5] Y. Pan, A. J. Chamberlain, M. Bailey, A. H. Chong, M. Haskett and J. W. Kelly, "Dermatoscopy aids in the diagnosis of the solitary red scaly patch or plaque-features distinguishing superficial basal cell carcinoma, intraepidermal carcinoma, and psoriasis," *J Am Acad Dermatol*, 59(2), 268-274 (2008)
- [6] R. P. Braun, H. S. Rabinovitz, M. Oliviero, A. W. Kopf and J. H. Saurat, "Dermoscopy of pigmented skin lesions," *J Am Acad Dermatol*, 52(1), 109-121 (2005)
- [7] G. Pellacani, A. M. Cesinaro and S. Seidenar, "In vivo assessment of melanocytic nests in nevi and melanomas by reflectance confocal microscopy," *Modern Pathology*, 18(4), 469-474 (2005)
- [8] P. Guitera, S. W. Menzies, C. Longo, A. M. Cesinaro, R. A. Scolyer and G. Pellacani, "In vivo confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases," *The Journal of investigative dermatology*, 132(10), 2386-2394 (2012)

- [9] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito and J. G. Fujimoto, "Optical Coherence Tomography," *Science*, 254(5035), 1178-1181 (1991)
- [10] J. Welzel, E. Lankenau, R. Birngruber and R. Engelhardt, "Optical coherence tomography of the human skin," *J Am Acad Dermatol*, 37(6), 958-963 (1997)
- [11] J. Weissman, T. Hancewicz and P. Kaplan, "Optical coherence tomography of skin for measurement of epidermal thickness by shapelet-based image analysis," *Optical Society of America*, 12(23), 5760-5769 (2004)
- [12] J. Lademann, A. Knüttel, H. Richter, N. Otberg, R. v. Pelchrzim, H. Audring, H. Meffert, W. Sterry and K. Hoffmann, "Application of Optical Coherent Tomography for Skin Diagnostics," *Laser Physics*, 15(2), 288–294 (2005)
- [13] J. Welzel, M. Bruhns and H. H. Wolff, "Optical coherence tomography in contact dermatitis and psoriasis," *Archives of dermatological research*, 295(2), 50-55 (2003)
- [14] Y. Zhao, Z. Chen, C. Saxer, Q. Shen, S. Xiang, J. F. d. Boer and J. S. Nelson, "Doppler standard deviation imaging for clinical monitoring of in vivo human skin blood flow," *Optics Letters*, 25(18), 1358-1360 (2000)
- [15] M. C. Pierce, R. L. Sheridan, B. Hyle Park, B. Cense and J. F. de Boer, "Collagen denaturation can be quantified in burned human skin using polarization-sensitive optical coherence tomography," *Burns*, 30(6), 511-517 (2004)
- [16] U. Morgner, W. Drexler, F. X. Kartner, X. D. Li, C. Pitris, E. P. Ippen and J. G. Fujimoto, "Spectroscopic optical coherence tomography," *Optics letters*, 25(2), 111-113 (2000)
- [17] J. U. Kang and X. Liu, "High Resolution Hemoglobin Oxygen Saturation Level Imaging Using Morlet Wavelet Transformed Spectroscopic Optical Coherence Tomography," *In Proceedings of ISBI*, 1431-1434 (2010)
- [18] A. L. Oldenburg, Chenyang Xu and S. A. Boppart, "Spectroscopic Optical Coherence

- Tomography and Microscopy," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 13(6), 1629-1640 (2007)
- [19] A. F. Fercher, W. Drexler, C. K. Hitzenberger and T. Lasser, "Optical coherence tomography—principles and applications," *REPORTS ON PROGRESS IN PHYSICS*, 66,239–303 (2003)
- [20] blood
[\(<http://en.wikipedia.org/wiki/Blood>\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Blood)
- [21] 光學空間解析力定義
[\(<http://www.kshitij-school.com/Study-Material/Class-12/Physics/Diffraction-and-polarization/Resolution-of-single-slit-and-circular-apertures.aspx>\)](http://www.kshitij-school.com/Study-Material/Class-12/Physics/Diffraction-and-polarization/Resolution-of-single-slit-and-circular-apertures.aspx)
- [22] 帶氧血紅素與去氧血紅素的莫耳消光係數
[\(<http://omlc.ogi.edu/spectra/index.html>\)](http://omlc.ogi.edu/spectra/index.html)