

转距和核距测量法在粒子体积估计中的对比*

张仁东 黄安培 杨正伟

(川北医学院形态定量研究室, 南充 637007)

【摘要】 目的: 从实际研究比较两种估计粒子体积的新体视学方法——核距测量法和垂直转距测量法的效率。方法: 获取 22 个近似圆盘状的器官, 从重量和比重计算出“真实”体积; 通过器官中心作垂直于器官某一面的四个同轴且互相垂直的随机垂直截面, 用铅笔将这些剖面轮廓描于纸上, 然后据上述两种方法估计各个器官的体积。结果: 从重量及比重计算的 22 个器官的“真实”体积为 $450 \pm 87\text{cm}^3$ (平均值 \pm 标准差), 从核距和转距测量法估计的体积分别为 447 ± 157 和 $459 \pm 95\text{cm}^3$, 前者的标准差显著高于后者 (F 检验, $P < 0.05$); 据核距和转距测量法, 从每个器官的四个剖面估计的四个体积之间的变异系数分别为 $47 \pm 27\%$ 和 $32 \pm 14\%$, 前者显著高于后者 (t 检验, $P < 0.05$)。结论: 垂直转距测量法比核距测量法更有效。

关键词 体视学 垂直截面 核距测量法 转距测量法 效率

The comparison between the nucleator and vertical rotator in a volume estimation of particles

Zhang Rendong, Huang Anpei, Yang Zhengwei

(Morphometric Research Laboratory, North Sichuan Medical College, Nanchong, 637007)

Abstract Objective: To compare the efficiency of two contemporary stereological volume estimators, the nucleator and the vertical rotator, in an actual study. Materials and Methods: 22 plate shaped organs were obtained and their ‘true’ volumes calculated from their density and weights; four co-axial vertical sections were cut through the center of each organ perpendicular to one side of the organ, the sections were traced on paper and then organ volumes were estimated using the two methods. Results: The ‘true’ volume of the 22 organs obtained from density and weights was $450 \pm 87\text{cm}^3$ (mean \pm SD), and the volumes estimated by the nucleator and rotator were 447 ± 157 and $459 \pm 95\text{cm}^3$, respectively, with the SD of the former being significantly higher than that of the latter (F -test, $p < 0.05$); the coefficient of variation between the four volumes estimated from the four sections of each organ with the nucleator was significantly higher than that with the rotator ($47 \pm 27\%$ vs $32 \pm 14\%$; t -test, $p < 0.05$). Conclu-

* 四川省卫生厅科学研究基金资助项目 (基金编号: 981002)

作者 杨正伟 2009-10-29 注: (1) 本文 (英文摘要除外) 的更正根据的是“中国体视学与图像分析”2000年第5卷第2期第113页上的勘误。 (2) 对于显微粒子 (例如细胞核), 只有当其固有且只有一个可辨认的“固定点” (例如核仁) 时才可用核距测量法或转距测量法估计其体积, 估计步骤通常是: 首先获得垂直切片 (本文介绍的情况) 或各向同性切片并抽选粒子, 选择通过了其“固定点”的粒子轮廓, 然后借助计算机辅助的体视学系统通过一系列的“点击”步骤 (在电脑显示器上进行) 由计算机算出粒子体积。

sion: The vertical rotator is more efficient than the nucleator.

Key words Stereology Vertical section Nucleator Rotator Efficiency

任意形状粒子体积无偏估计的最古老方法是卡瓦列里 (Cavalieri, 1598 - 1647, 意大利数学家) 原理, 它利用粒子的一组等距随机平行截面的总面积及截面间距 (二者相乘) 来估计粒子体积^[1]。对于显微粒子, 这种方法的缺点是必需要粒子的一组完整的连续截面, 容易受投影过多 (overprojection) 或投影过少 (underprojection) 以及截尾 (truncation) 效应的影响^[2]。几乎是在人们解决了实际测试过程中如何确定空间内的随机测试方向 (各向同性, isotropy) 的同时, 人们提出了若干可较好地克服以上缺点的测距法: 对于任意粒子的点取截距法 (point sampled intercepts)^[2] 以及对于包含有一个可确定固定点的粒子的核距测量法 (nucleator)^[3]、转距测量法 (rotator)^[4-5]。

就效率或抽样误差而言, 理论显示转距测量法优于核距测量法, 换句话说, 前者更有效, 但实际测试中情况是否如此就不一定; 对一组平面轮廓的模拟测量表明, 转距测量法的确比核距测量法更有效^[3]。对细胞核的体积估计既可用核距测量法也可用转距测量法, 考虑到后者理论上更有效, 文献^[6]利用了后者进行实际研究。本文利用一组“已知”体积的肉眼可见的大粒子——器官, 分别采用上述两种体视学方法来实际估计其体积, 从而直观比较这两种方法的效率, 为人们的方法选择进一步提供实践证据, 这无疑也有助于这些方法的推广应用。

1 材料与方 法

1.1 理论背景

1.1.1 垂直截面 (vertical section)^[7]

垂直于任一固定水平面的随机 (就水平面上的方向而言) 截面即垂直截面。该水平面的方向或垂

直于水平面的直线即垂直轴。空间内所有方向的直线测线都包含在某一方向上的垂直截面内。各向同性 (空间内随机方向) 直线测线与垂直轴之间的夹角 θ 在 $0-90^\circ$ 区间呈正弦加权分布, 即 θ 的概率密度函数等于 $\sin\theta$ 。因此, 在垂直截面内确定一各向同性测试方向 (与垂直轴之间的夹角) 的基本方法是: 在 $0-1$ 之间确定一个随机数字, 求其反余弦函数值^[7-8]。

1.1.2 核距测量法 (nucleator)^[3]

对于任一粒子, 事先在其内任意确定一个固定点, 然后在各向同性方向上从该点“发射”出一条直线, 这条直线将与该粒子的界面形成一个或多个交叉点 (对于凸型粒子始终只能形成一个)。由近至远依次分别测量从固定点至各交叉点之间的距离。假定从固定点分别至单数交叉点之间的距离的立方的总和为 $\sum e_0^3$, 从固定点分别至偶数交叉点之间的

 e_0^3

距离的立方的总和为 $\sum e_0^3$, 那么该粒子体积的无偏估计为 $(4\pi/3) \cdot (\sum e_0^3 - \sum e_0^3)$, 参见图 1。

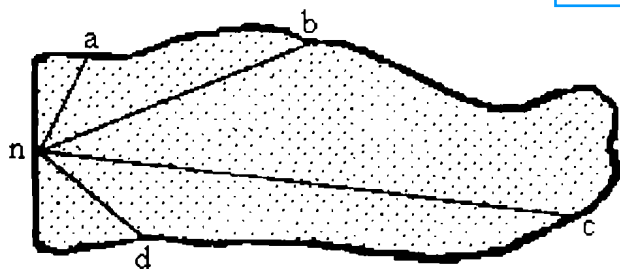
 e_0^3

1.1.3 垂直转距测量法 (vertical rotator)^[4-5]

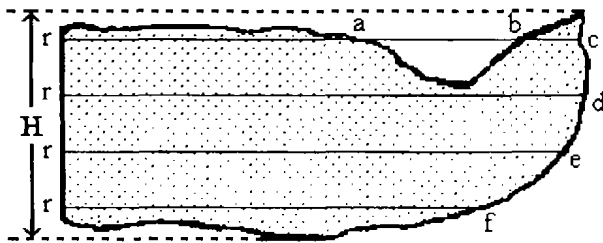
通过粒子内的任一固定点, 在一任意方向作一条贯穿整个粒子的直线, 以此为垂直轴, 与之垂直的平面即为水平面。然后在水平面上随机确定一个方向, 以垂直轴为起始向外周“扫射”出一截面, 即得粒子的一垂直截面。测量垂直轴方向上该垂直截面的高度 H 。沿垂直于垂直轴的方向随机 (就垂直截面上的位置而言) 叠加一组等间距排列的平行直线测线。假定穿过垂直截面的测线数为 n , 那么这 n 根测线之间的间距为 H/n 。就实用性和必要性考虑, n 取 3 或 4 即可。每根穿过垂直截面的测线将与垂直轴形成一个交叉点, 与粒子界面 (垂直截面上的其余周界线) 形成一个或多个交叉点 (对于

凸型粒子只能形成一个这样的交叉点)。测量从测线与垂直轴之间的交叉点，至与粒子界面交叉点之间的距离。假定至单数交叉点的距离的平方的总和为 $\sum e_o^2$ ，至偶数交叉点的距离的平方的总和为 $\sum e_e^2$ ，由此得从每根测线测得的一个转距的平方，即两个总和之差的绝对值： $|\sum e_o^2 - \sum e_e^2|$ 。n 个转距平方的平均乘以 $(\pi \cdot H)$ 即为该粒子体积的无偏估计，参见图 1。

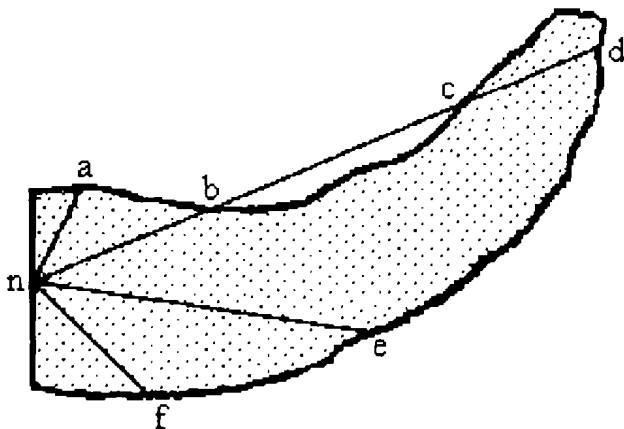
l_o^2 l_e^2



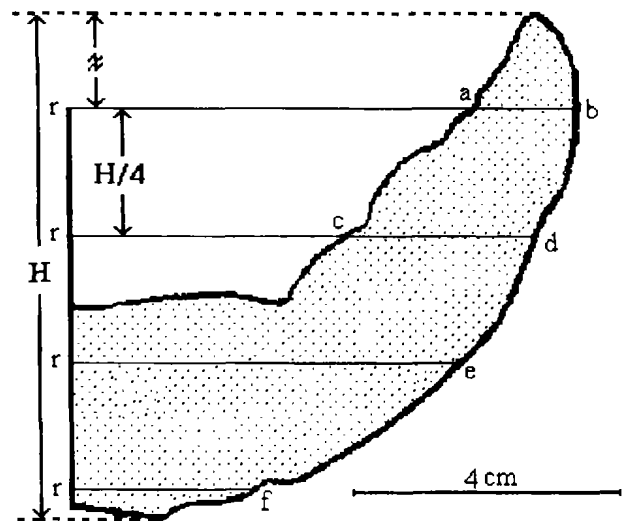
$$A: v = (4 \cdot \pi / 3) \cdot (na^3 + nb^3 + nc^3 + nd^3) / 4$$



$$B: v = (\pi \cdot H) \cdot [(ra^2 + rc^2 - rb^2) + rd^2 + re^2 + rf^2] / 4$$



$$C: v = (4 \cdot \pi / 3) \cdot [(na^3 + (nb^3 + nd^3 - nc^3) + ne^3 + nf^3) / 4$$



$$D: v = (\pi \cdot H) \cdot [(rb^2 - ra^2) + (rd^2 - rc^2) + re^2 + rf^2] / 4$$

图 1 示核距测量法(A、C)和转距测量法(B、D)

Fig. 1 Nucleator(A and C) and rotator(B and D)

1.2 材料

从川北医学院附属医院妇产科获取 22 个人体胎盘，经 Bouin 液固定后称重。利用已知比重的一定浓度的蔗糖溶液测得固定后胎盘的比重约为 1.06。重量除以比重得胎盘的真实体积。

胎盘为近似圆盘状的器官，将之任意置于水平工作台上，“圆盘”的一侧面朝下，该工作台平面即定义为水平面。利用一独立随机数字在水平面上随机确定一个方向，沿此方向通过胎盘的中心作一垂直于水平面的截面，通过该中心沿垂直于该截面的方向再作一垂直于水平面的截面，由此即得四个同轴的互相垂直的胎盘垂直截面。图 1 中示四个来自不同器官的垂直截面，图中箭头方向为垂直轴。用铅笔将这些截面轮廓描于纸上。

1.3 测量方法

1.3.1 核距测量法

以每个器官的垂直轴中心点为起始点，分别沿四个（一组）正弦加权的角度（与垂直轴之间的夹

角), 测量四个核距, 如上述计算每个核距的立方值 (参见图 1)。每个器官的四个垂直截面的 16 个核距立方值的平均乘以 $(4 \cdot \pi/3)$ 即得该器官体积的无偏估计 (参见图 1)。

正弦加权角度组的确定方法如下: 先利用一随机数字表确定 88 个 0.0000 - 0.2500 区间的随机数字, 例如 0.1048, 0.2237……, 分别为每个随机数字加上 0.25、0.50、0.75, 由此即得 88 组 (每组四个) 0 - 1 区间的等距随机数字, 例如 (0.1048, 0.3548, 0.6048, 0.8548), (0.2237, 0.4737, 0.7237, 0.9737)……。分别求这些数字的反余弦函数 (arccos) 值, 即得 88 组 0 - 90° 区间的正弦加权角度, 例如 (84, 69, 53, 31), (77, 62, 44, 13)……。由于从垂直轴的中心点测量核距有上下之分, 分别间隔为每组角度赋予正负号, 例如 (84, -69, 53, -31), (-77, 62, -44, 13)……, 以正号表示向上测量核距, 负号表示向下测量核距。

1.3.2 转距测量法

在各个垂直截面上, 沿垂直轴方向测量垂直截面的高度 H 。利用随机数字表确定一个 0 - ($H/4$) 区间的一个随机数字 x , 将此数值当作第一根直线测线距该垂直截面顶点之间的距离, 由此即可进一步确定其余三根等距平行测线的叠加位置 (见图 1)。然后如上述从每条测线测量并计算一个转距平方值, 从一个垂直截面上测得四个转距平方的平均乘以 $(\pi \cdot H)$ 即得一个体积; 从各个器官的四个垂直截面测得的四个估计值的平均即为该器官体积的无偏估计 (参见图 1)。

2 结果

从重量及比重计算的 22 个器官的体积为 $450 \pm 87 \text{cm}^3$ (平均值 \pm 标准差); 从核距和转距测量法估计的器官体积分别为 447 ± 157 和 $459 \pm 95 \text{cm}^3$ 。从核距测量法估计的 22 个器官体积的标准差显著高于转

距测量法 (F 检验, $p < 0.05$)。据核距测量法和转距测量法, 从每个器官的四个垂直截面估计的四个体积之间的变异系数分别为 $47 \pm 27\%$ 和 $32 \pm 14\%$, 前者显著高于后者 (t 检验, $p < 0.05$)。与从重量及比重计算的各个器官“真实”体积相比, 从核距测量法和转距测量法估计的各个器官体积的相对误差分别为 $28 \pm 21\%$ (范围 2 ~ 67%) 和 $16 \pm 13\%$ (范围 1 ~ 51%)。

3 讨论

核距测量法与垂直转距测量法相比, 前者的器官内变异 (即从每个器官的各个垂直截面测得的四个体积估计值之间的变异) 显著大于后者; 结果是利用前者测得的 22 个器官体积之间的变异也显著大于后者, 这有力地说明前者的抽样误差大于后者, 这与文献的理论分析一致。因此, 实践中应优先选择转距测量法用于粒子体积的估计。假定从重量及比重估计的器官体积是“真实”值, 那么分别从核距测量法和转距测量法估计的器官平均体积的相对误差均小于 2%, 这间接但惊人地显示了这两种体视学方法的无偏性。

体视学方法估计的器官平均体积的误差, 来源于三个方面: 器官本身的体积之间的变异, 描摹垂直截面的误差以及体视学方法本身的误差。如以方差 (标准差的平方) 来表示误差, 那么从核距测量法和转距测量法估计的平均体积的总误差中, 来源于胎盘本身体积变异的误差分别约占 31% 和 84%。最终估计的平均体积与“真实”平均体积相差极小间接提示描摹误差是一种随机误差, 几乎被完全“中和”掉。

参考文献

- [1] Cruz - Orive LM. Stereology: historical notes and recent evolution. Acta Stereol, 1987, 6/Suppl II: 43

- [2] Gundersen HJG. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R Thompson. *J Microsc*, 1986, 143: 3
- [3] Gundersen HJG. The nucleator. *J Microsc*, 1988, 151: 3
- [4] Gruz - Orive LM. Stereology: recent solutions to old problems and a glimpse into the future. *Acta Stereol*, 1987, 6/Suppl III: 3
- [5] Jensen EB, Gundersen HJG. The rotator. *J Microsc*, 1993, 170: 35
- [6] 杨正伟. 利用局部垂直切片和转距测量法研究生精小管内支持细胞核的位置和体积, 中国体视学与图像分析, 1999, 4 (3): 137
- [7] Baddeley AJ, Gundersen HJG, Cruz - Orive LM. Estimation of surface area from vertical sections. *J Microsc*, 1986, 142: 259
- [8] Mattfeldt T, Mall G, von Herbay A, et al. Stereological investigation of anisotropic structures with the orientator. *Acta Stereol*, 1989, 8: 671

乳腺浸润性导管癌生长方式的体视学参数和淋巴结转移与预后关系的评价

裴素丽 姜红光 夏庆欣 乔思杰

(河南省肿瘤医院病理科, 郑州, 450003)

【摘要】目的: 评价乳腺浸润性导管癌生长方式的体视学参数及淋巴结转移情况与预后的关系。方法: 根据体视学原理, 采用模板法, 测定癌实质体积密度 (V_v) 及癌巢的表面积密度 (S_v)。观察 H. E. 切片进行淋巴结转移计数, 比较 V_v 、 S_v 、淋巴结转移情况与预后的相关性。结果: 在与预后具有显著相关性的因素—淋巴结转移、癌实质体积密度 (V_v) 及癌巢的表面积密度 (S_v) 中发现, $S_v \leq 4.4$ 的患者中, 89.3% 生存 5 年以上, $S_v > 5.5$ 的患者中, 82.5% 死于 5 年以内。结论: 癌肿生长方式的体视学参数— S_v 值可作为独立判断预后的因素, V_v 、淋巴结转移是乳腺浸润性导管癌预后的相关因素。

关键词 乳腺肿瘤 体视学 淋巴结 预后

Prognostic evaluation of the stereological parameter of growth pattern and lymph node status in breast invasive duct carcinoma

Pei Suli, Jang Hongguang, Xia Qingxin, et al.

(HeNan tumor hospital, Zheng Zhou 450003)

Abstract Objective: Evaluate the value of the stereological parameter of growth pattern and lymph node status