

关于均合法: The Proportionator

杨正伟

(川北医学院 形态定量研究室, 南充 637007)

Gardi 等^[1]提出并试用了一种抽样估计效率很高的体视学新方法——均合法 (proportionator)。该法的合作者 Gundersen 最近在第 13 届国际体视学大会 (北京, 2011 年 10 月) 上对此进行了介绍与演示。笔者在此谈点对该法基本原理的初步理解, 希望有利于该法的交流与推广。

均合法的基本方法是: 观察均匀随机抽选的切片, 摄取整个切片的图像, 借助自动图像分析 (automatic image analysis) 完整地将之分成一个个的视野 (field of view), 根据各个视野上某种结构特征 (例如某种色彩) 的量赋予各个视野一定的权重 (weight), 并在坐标轴 (Y) 上按照从小 \rightarrow 大 \rightarrow 小的权重顺序 [像修匀分合法 (smooth fractionator) 那样] 依次累积排列所有视野的权重, 然后在权重坐标轴上按照等距随机 (systematic random) 抽样方法抽选视野, 测量所选视野后再结合各个视野的权重进行结果计算。假设所有视野的累积权重 (accumulated weight) 总共为 Z (自动图像分析), 抽选了 n 个视野, 其权重分别为 z_1, z_2, z_3, \dots (自动图像分析), 从各个视野获得的计数结果分别为 x_1, x_2, x_3, \dots (逐个视野的人工测试——非自动图像分析), 则总结果 X 的无偏 (unbiased) 估计为:

$$X = (Z/n) \times [(x_1/z_1) + (x_2/z_2) + (x_3/z_3) + \dots]$$

这相当于先从各个视野计算一个比值 (单位权重的结果), 然后计算其平均, 再乘以总权重。换言之, 我们事先要知道总共有多少 (权重的) 视野, 然后抽选已知比例 (n/Z) 的视野来测量, 将各视野结果平均 (x_i/z_i) 后合在一起估计总量。从这个角度理解, 均合法近似分合法 (fractionator)。不过, 分合法是单纯根据视野 (和组织块、切片等) 的位置或数量来等距抽选一定分数 (比例) 的视野的, 而均合法视野抽样的间距 (Z/n) 是视野的权重, 是基于权重比例的加

权抽样: 视野权重愈小的被抽选的机会愈小, 视野权重愈大的被抽选的机会愈大。因此, 均合法抽样不是均匀抽样 (uniform sampling), 而是权重偏倚抽样 (biased sampling)。不过, 均合法在结果计算中进行了加权处理: 各视野的结果除以了各视野的权重 (即把各视野的结果先进行了平均), 因此抵消了加权抽样的权重偏倚, 最后得到了无偏估计结果。与单纯的等距抽样相比, 结合自动图像分析的均合法抽样之所以会有很高的效率, 不仅是因为电脑直接选出了测试视野 (给测试者测量), 更是因为: 均合法先根据权重对视野的排列进行了修匀或者说光滑 (smooth) 处理 (依次排序), 然后又基于权重进行等距抽样, 因此非常有效地降低了所选视野之间的变异 (就权重而言)。保证均合法抽样估计高准确性的一个关键是: 赋予各个视野的权重 (自动分析), 要与从各个视野所得计数结果 (人工测试) 呈正相关, 相关性愈强结果愈准。如果二者不相关或负相关, 最后估计结果的准确性就不高甚至很不准确 [即抽样误差 (sampling error) 大]。

虽然效率可能很高, 均合法的实际推广运用尚有难度。一是要有专门的自动图像分析系统, 二是要能准确有效地赋予各个视野一定的、最好与所测结构的所测量直接相关的权重, 因此对所测切片的制作质量和染色效果的要求很高。例如, 可能最好用免疫或荧光染色来高对比地显示所测结构^[1]。

参考文献 (References)

- [1] Gardi J E, Nyengaard J R, Gundersen H J G. Automatic sampling for unbiased and efficient stereological estimation using the proportionator in biological studies [J]. *Journal of Microscopy*, 2008, 230(1): 108-120.