DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.04.042

果可靠且方法简单。从实验结果看设计 PCR 检测引物时应注意:引物的 3' 端尽可能的不为碱基 T,引物的长度不应太短（应大于 16～17 mer）以保证退火温度较高,这样可大大减少假阳性结果的出现率。

关键词:t-PA;突变体;PCR 重叠延伸法
中图法分类号:R394.3　　文献标识码:B

参考文献:

[1] 萨姆布鲁克. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版. 北京:科学出版社, 1996. 50—55, 282—283, 915.
[2] 林万明. PCR 技术和应用指南[M]. 北京:人民卫生出版社, 1995. 25—59.

（编辑　陈聪连）

文章编号:1000-5404(2000)04-0398-02

技术方法

一种利用傅立叶描绘子匹配大脑切片的方法

Matching of brain sections based on fourier descriptors

吴宝明[1],廖维宏[2]　（第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]第五研究室;[2]第三研究室;重庆　400042）

提　要:目的　研究匹配脑部切片的方法,汇聚组合来自不同动物的生理数据。方法　首先,将大鼠中脑组织切片数字化,用 3 条封闭特征轮廓表示,一组大鼠中脑 38 张的连续切片被作为与其它任何切片匹配的标准模板。然后,将每一切片的轮廓作傅立叶展开,通过计算两切片对应轮廓的尤拉距离,结合 3 轮廓的权重,定义两切片间的“相似函数”。最后,根据实验组切片与标准模板切片之间相似函数的大小实现两者的匹配。结果　本算法成功地实现了实验脑切片与标准脑切片的区配。结论　本方法可望广泛应用于脑组织功能的研究。

大脑功能组织研究对于理解神经环路功能起着十分重要的作用[1]。常规的方法是将微电极插入动物大脑的特定结构记录特定刺激引起的神经电活动,由测微计记录下响应神经元在大脑中的位置,再将动物处死进行大脑切片,利用组织学方法识别出电极的轨迹。然而,大量动物实验后所有这些神经元位置的组合显示常常是一件十分枯燥乏味的工作,也缺乏精度。鉴于目前尚缺乏这方面的自动算法,本文提出一种基于傅立叶描绘子的匹配算法,实现脑切片的自动配准。

1　材料与方法

我们选择大鼠中脑听觉区作为实验模型验证方法的有效性。

1.1　脑切片数字化

用冰冻切片机沿冠状面将大鼠（300 g）中脑切成 60 μm 厚的切片,用甲酚紫罗兰染色显示细胞体。然后将他们固定在载玻片上用解剖显微镜观测(放大倍数为×17)。在每一切片上,可以正确地辨别出大脑的内外边界,每一个边界代表不同于周围的液体组织的一个神经组织表面。在中脑解剖水平接近导水管地方另有一群细胞体浓度堆积形成的灰质神经结构,它的轮廓被作为第 3 条(或中间)边界。上述 3 条边界一起构成了我们所研究脑切片的特征曲线。利用图像输入设备将切片图像输入计算机,上述 3 边界的坐标由点输入设备读取和三者标志一起存档。对于实验组我们同时记录存储微电极轨迹与记录到的神经元位置。而另一只大鼠沿着脑干长度为 2.3 mm 的片段被连续切成 38 片,作为匹配实验切片的模板(标准组)。图 1 给出标准组大鼠第 13 片中脑切片数字化后边界曲线（A）与连续 38 片边界曲线的 3D 显示（B）。十字标记代表标准脑切片的中心轴位置。从图 1 可以观察到各切片轮廓的变化,注意左侧有些切片仅有一个边界。

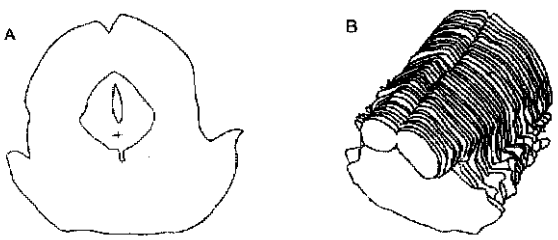


图 1　**A**:标准组大鼠中脑第 **13** 片切片数字化后边界曲线。**B**:连续 **38** 片中脑标准切片的 **3D** 显示轮廓变化

1.2　脑切片描述

考虑我们的情形,匹配问题属于封闭曲线的描述与识别。有人已研究出不同的方法[2,3]描述封闭曲线,这里我们采用 Zahn

作者简介:吴宝明(1962—),男,江苏省吴县人,博士,副研究员,主要从事生物信号与图像处理方面的研究,发表论文 20 余篇。电话:(023)68757455

收稿日期:1999-10-05;修回日期:2000-01-24

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

等[2]提出的傅立叶描绘子方法。简而言之,封闭曲线的傅立叶展开中各谐波分量 A_k 包含曲线几何形状有关的信息,它们满足旋转、移位和边界大小不变特性。傅立叶描绘子为我们描述切片边界提供了一个合适的选择。进一步假定两个封闭曲线 g 和 g^*,它们的谐波系数分别用 A_k 和 A^*K 表示,两条曲线之间相似度的一个合理的测量是计算向量狖A_k狋$_1^N$ 与狖A^*_k狋$_1^N$ 之间的欧几里德距离:

$$S_A[\gamma,\gamma^*]\sum_1^N \mid A_K-A^*_K \mid^2 \qquad (1)$$

其中,N 为谐波的数量。

为了消除由于冰冻切片太簿,造成小 k 值时 A_k 出现失真,影响匹配结果,我们采用了三点平均对曲线进行适当平滑:

$$g(i)=\sum_{k=-n/2}^{n/2}h(k)f(i+k) \qquad (2)$$

这里,f(i)是封闭曲线 g 的第 i 个点。测试表明,当 h(k)选择等于狖0.3, 0.4, 0.3狋时,可取得较满意的滤波效果。

此外,由于采用点输入设备对边界进行数字化,各点之间线段长度不可能均匀。为了加速计算,我们采用等长度的多边形曲线逼近数字化边界[4]。

1.3 脑切片识别

在中脑,每一切片可以有 1 到 3 个边界,且外、中、内边界具有不同的变化剧烈程度。为此,我们提出了根据切片边界数目与各边界变化实现实验组与标准组切片匹配的算法。如果两切片的边界数量不同,它们被判断为不同的切片。如果数目相同(如 2 或 3),首先计算每一边界对之间的欧几里德距离 $S_A[\gamma,\gamma^*]$,然后通过线性组合定义一个相似函数 S:

$$S=W_1{}^*S_A[\gamma1,\gamma1^*]+W_1{}^*S_A[\gamma2,\gamma2^*]+W_3{}^*S_A[\gamma3,\gamma3^*] \qquad (3)$$

这里,W_1, W_2 和 W_3 分别代表 3 个边界的权重系数。

进一步根据各边界在整个“标准”脑切片中变化确定权值,原则是变化越小,权值也越小。为了评价边界的变化,我们引入参数 D_{ik},定义为相邻第 k 与第(k-1)个切片第 i 个边界傅立叶函数之间的欧几里德距离:

$$D_{ik}=\sum_{r=1}^{N}(A^{ik}r-A^{i(k-1)}r) \qquad (4)$$

其中,$A^{ik}r$ 是第 k 个脑切片的第 i 个边界的傅立叶展开中第 r 个谐波分量的幅度。最后,我们将 D_{ik} 的平均值作为权值赋予每个边界。

2　结果

利用上述算法,我们已成功地实现实验脑切片与标准脑切片的匹配。图 2 给出一个显示匹配效果的实例,虽然两者之间细节存在差异,仍可发现两者整体的相似性,结果与我们主观判断相吻合。

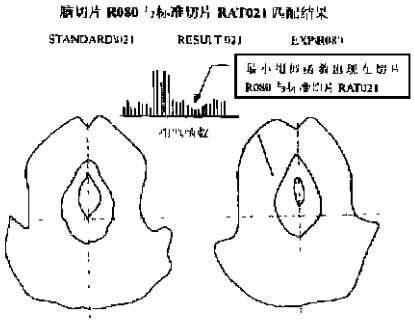


图 2　实验脑切片(右)与标准切片匹配结果

通过组合一系列动物实验切片,我们能够得到具有共同生理特性的神经元在中脑听觉区中的分布。图 3 给出一个中央矢状面 (Midsaggital) AM 声刺激响应听觉神经元分布组合图,每一点代表从不同大鼠记录到的响应神经细胞的位置,实线边界代表响应区域。结果是由同等重量范围的大鼠实验得到。

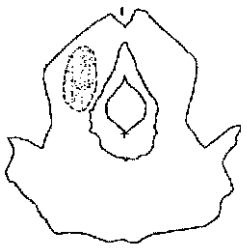


图 3　匹配到同一标准切片(23)的 7 个实验切片的相应神经元分布

3　结论

研究结果表明本算法能成功地把实验动物大脑切片匹配到标准切片之上,并且可把不同动物取得的生理数据显示在同一大脑拼图上。本方法可望广泛应用于脑组织功能研究工作。

关键词:脑部切片;匹配;傅立叶描绘子;电生理
中图法分类号:R311　　文献标识码:B

参考文献:

[1] Kiang N Y S, Godfrey D A, Norris B E, *et al*. A block model of cat cochler nucleus[J]. J Comp Neurol, 1975, 162(3): 221—246.

[2] Zahn C T, Roskies R Z. Fourier descriptors for plane closed curves, IEEE Trans[J]. Computers, 1972, 21(4): 269—281.

[3] Freeman C H. Boundary encoding and processing[A]. In: Lipkin T, Resenfeld R. Picture processing and psychopictorics [M]. New York: Academic Press, 1970. 241—306.

[4] Uesaka Y. New fourier descriptor applicable to open curves[J]. Electronics Communications Japan. 1984, 67(8): 1—10.

(编辑　刘　鹏)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net