

# 基于分形特征的模拟失重条件下 细胞骨架的图像分析

姚宇华 严 洪 熊江辉

(航天医学工程研究所, 北京 100094)

**摘 要** 细胞骨架的结构特点决定了不易找到量化细胞骨架图像的特征参数。为了描述模拟失重条件下细胞骨架的形态变化,以评价药物对失重的细胞学效应的防护效果,本文利用双毯法和数盒子数法分别计算细胞骨架微管和微丝图像的分形维数,利用图像的复杂度描述细胞骨架在不同环境中的形态变化。计算结果表明在模拟失重条件下细胞骨架图像的复杂度减弱,加入药物槲皮素后图像的复杂度略有恢复。利用分形维分析细胞骨架在模拟失重条件下图像的纹理变化,其结果表明分形维可以作为特征参数对失重环境中的细胞骨架图像进行定量分析。

**关键词** 图像分析 定量分析 模拟失重 细胞骨架

中图法分类号: TP391.41 R445 文献标识码: A 文章编号: 1006-8961(2004)02-0230-04

## Fractal Analysis for Cytoskeleton Image Under Simulated Microgravity

YAO Yu-hua, YAN Hong, XIONG Jiang-hui

(Institute of Space Medico-Engineering, Beijing 100094)

**Abstract** Cytoskeletal distortion was hard to describe straightly with some quantities due to the complexity of cytoskeletal structure and the morphological uncertainty. For describing the morphological modification of cytoskeleton under simulated microgravity and estimating the confront effect of drugs on cells under simulated microgravity, this paper focuses on get the characteristic parameter that quantify the morphological change of cytoskeletal images. Fractal analysis was applied here to quantify the morphological variation of the cytoskeleton under simulated microgravity. This paper used the methods of covering blankets and box-dimension estimation to count the image complexity for microtubules and microfilaments. To study the medical effect of quercetin, a kind of flavonoids, which could counterwork to effects of microgravity on cells, cytoskeleton image of cells treated by quercetin under simulated microgravity were also analysed. The image complexity of cytoskeleton was decreased under simulated microgravity, but it was partly inhibited by quercetin. The present results demonstrate that fractal dimension could show the texture change of cytoskeletal image under simulated microgravity, and it would be a promising approach to quantitative analysis of the morphological modification of cytoskeleton in different environments.

**Keywords** image analysis, quantitative analysis, simulated microgravity, cytoskeleton

## 1 引 言

细胞骨架是构成细胞的重要成分,是影响细胞形态的重要因素。细胞骨架的自组装过程是一种动态平衡,该过程易受到环境机械力变化的影响,因此在失重条件下各种细胞的骨架不可避免地受到重力变化的影响,其形态会发生很大变化。为了研究对抗这种模拟失重细胞学效应的措施,研究人员常将槲

皮素等药物加入,在模拟失重条件下培养的细胞中研究其对抗效应<sup>[1]</sup>。由于细胞骨架形态不固定,结构复杂,因此不易直接对细胞骨架进行定量分析。目前还没有适当的方法定量描述细胞骨架的形态变化,且对细胞骨架形态变化的定性描述还往往依赖于研究人员的经验,因此找到定量的指标反映失重条件下细胞骨架形态的变化具有十分重要的意义,同时利用这一指标可以评价药物对细胞的模拟失重效应的对抗效果。

图像的分形维能够表述图像空间纹理不同灰度级间的相关特性,是描述自然纹理图像的一个有用工具。细胞骨架结构类似自然纹理,杂乱无章,可以把它视为具有近似的分形特征,在适当的尺度范围内用分形理论对其进行分析。本文将利用图像的分形特征定量分析大鼠心肌细胞的细胞骨架的微管和微丝图像,描述失重条件下其细胞骨架形态的变化,并考察槲皮素对抗细胞的失重反应的效果。

## 2 分形维数的测定

因分形理论应用场合的不同,测定分形维数的方法有很多种定义。比较实用的有以双毯法<sup>[2]</sup>和数盒子法<sup>[3]</sup>。

### 2.1 双毯法

双毯法计算图像分形参数的思路是:将图像的纹理表面  $g(i, j)$  用一个尺度为  $2\epsilon$  的“地毯”进行覆盖,则该纹理表面面积可由上、下毯及表面之间的体积除以  $2\epsilon$  得到。地毯由上表面  $u_\epsilon(i, j)$  和下表面  $b_\epsilon(i, j)$  定义,初值取为

$$\begin{cases} u_0(i, j) = g(i, j) \\ b_0(i, j) = g(i, j) \end{cases}$$

其中,  $(i, j)$  为图像上的坐标值。依次取  $\epsilon = 1, 2, \dots$ , 此时  $b_\epsilon(i, j)$  和  $u_\epsilon(i, j)$  为

$$u_\epsilon(i, j) = \max\{u_{\epsilon-1}(i, j) + 1, \max_{|(m, n) - (i, j)| \leq 1} u_{\epsilon-1}(m, n)\} \quad (1)$$

$$b_\epsilon(i, j) = \min\{b_{\epsilon-1}(i, j) - 1, \min_{|(m, n) - (i, j)| \leq 1} b_{\epsilon-1}(m, n)\} \quad (2)$$

图像点  $(m, n)$  是与  $(i, j)$  相距小于等于 1 的 4 邻域点,考虑这些点的灰度值,可以确保上、下毯覆盖着待测的表面。据此计算上下毯面积为

$$A_\epsilon = \sum_{i, j} [u_\epsilon(i, j) - b_\epsilon(i, j)] / 2\epsilon \quad (3)$$

由上式即可求出分形表面的面积。对于纯分形的表面,其面积变化独立于尺度,即对任意不同尺度所作的测量都能获得相同的分形维。分形维数的另一种常用表现形式是

$$A_\epsilon = M\epsilon^{2-D} \quad (4)$$

其中,  $M$  是与分形表面面积有关的幅值参数;  $D$  为分形表面的分形维。对式(4)取双对数,再利用线性回归求该双对数的斜率  $K$ , 则

$$D = 2 - K \quad (5)$$

### 2.2 数盒子法

盒维数的基本定义为:设  $F$  是  $\mathbf{R}^n$  上任意非空的有界子集,  $N_\delta(F)$  是直径最大为  $\delta$ , 可以覆盖  $F$  的

集的最少个数,则  $F$  的上、下盒维数分别定义为

$$\underline{Dim}_B F = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\log N_\delta(F)}{-\log \delta} \quad (6)$$

$$\overline{Dim}_B F = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\log N_\delta(F)}{-\log \delta} \quad (7)$$

如果上、下盒维数相等,则称这共同的值为  $F$  的盒维数,记为

$$Dim_B F = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\log N_\delta(F)}{-\log \delta} \quad (8)$$

应用于图像,数盒子法的基本过程为:把数字灰度图像看作三维空间中的一个曲面  $Z = f(x, y)$ ,  $(x, y)$  为像素点的位置坐标,  $Z$  代表对应点的灰度值。设图像的大小为  $M \times M$ , 将图像的  $x-y$  平面分成大小为  $\delta \times \delta$  的格子,设在格子  $(i, j)$  里面像素点灰度的最大值和最小值分别为  $u_\delta(i, j)$  和  $b_\delta(i, j)$ , 且定义二者的差值为  $d_\delta = u_\delta(i, j) - b_\delta(i, j)$ 。对于所有边长为  $\delta$  大小的格子,非空的盒子总数  $N_\delta$  的计算公式为

$$N_\delta = \sum_{i, j} d_\delta(i, j) / \delta \quad (9)$$

对于不同的  $\delta$  值,由式(4)可求得一组点  $(\delta_i, N_{\delta_i}), i = 1, 2, 3, \dots, m$ 。

由式(8)可知,  $\log N_{\delta_i}$  与  $\log \delta_i$  成线性关系,且直线的斜率取负号就是图像曲面的分形维数。对于得到的一组点  $(\log N_{\delta_i}, \log \delta_i), i = 1, 2, 3, \dots, m$ 。利用最小二乘法进行线性回归即可得到直线的斜率  $K$ , 再取负号与图像的拓扑维相加就是图像曲面的估计分形维数  $D$ , 即

$$D = 2 - K \quad (5)$$

## 3 实验

分形反映的是图像纹理不规则性和复杂度的特征,既不易受灰度均值的影响,又不会因图像尺度的改变而产生大的变化,可以说比较适于分析细胞显微图像。利用双毯法与数盒子法分别求细胞骨架的微管和微丝的分形维数,以评判不同方法对细胞骨架图像分析的效果。

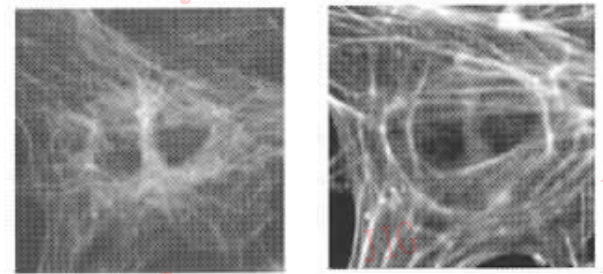
细胞骨架图像分为以下 3 组:静置条件下培养的细胞为对照组;在回转器上回转以模拟失重效应的细胞为回转组;回转同时加入槲皮素的细胞为加药组。从拍摄的细胞荧光图像中分割出单个细胞的图像,单个细胞图像经过缩放大小为  $140 \times 140$  像素。拍摄到的各细胞骨架图像数目如表 1 所示。

表 1 细胞骨架图像数目

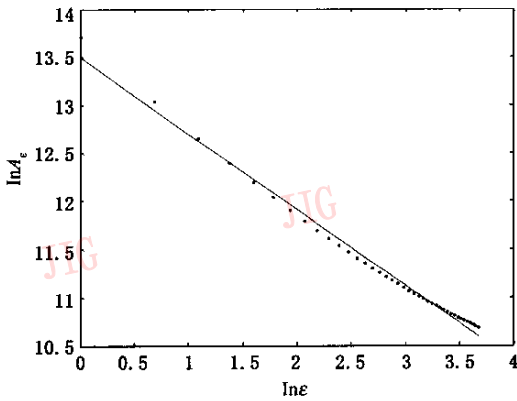
单位:幅

细胞骨架	对照组	回转组	加药组
微管	16	18	13
微丝	14	19	21

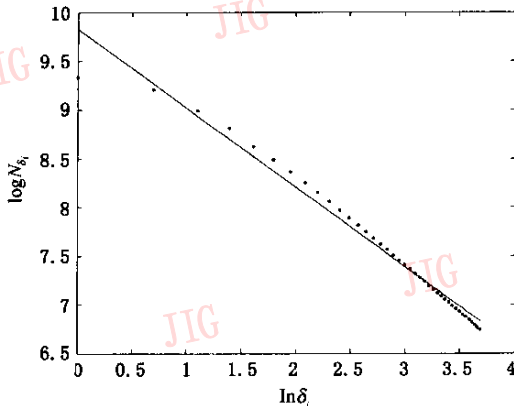
图 1 是两幅细胞骨架图像,分别利用双毯法和数盒子法求得对应的分形双对数坐标图。由图 1(c)、(d)可以看出细胞骨架图像的分形双对数坐标图均近似为直线,且其斜率均满足  $-1 < K < 0$ ,说明这些图像确实具有统计自相似的分形结构,分形维在无标度区也可认为是常数。



(a) 对照组微管图像 (b) 对照组微丝图像



(c) 双毯法计算对照组微管图像的分形维 ( $D=2.7884172$ )



(d) 数盒子法计算对照组微丝图像的分形维 ( $D=2.7000877$ )

图 1 细胞骨架图像的分形维数计算示例

采用双毯法计算微管图像的分形维,计算结果如表 2,以“均值±标准差(Mean±S. D.)”的形式给出,尺度  $\epsilon$  最大取到 40。经采用单向量方差分析<sup>[4]</sup>,对照组和回转组的数据具有显著性差异,而加药组与两组数据均没有显著性差异,但该组数据均值介于这两组数据之间。

表 2 细胞骨架微管分形特征参数统计结果(Mean±S. D.)

特征参数	对照组( $n=16$ )	回转组( $n=18$ )	加药组( $n=13$ )
分形维	$2.798 \pm 0.029^*$	$2.757 \pm 0.063$	$2.764 \pm 0.045^*$

注: \* 显著性差异  $P < 0.05$ 。

为了观察各组内数据样本空间离散的显性特征,统计了这三组数据的误差分布(如图 2 所示)。该图从视角的角度观察样本的离散度情况,图中的小方块表示平均数,线段的两端表示平均数的置信区间。由图 2 可以看出,对照组数据样本比较集中,即复杂度变化范围最小;回转组的数据平均值最小,其数据变化范围大,组内图像复杂度差异明显;加药组图像在复杂度方面介于二者之间并明显偏向于回转组。

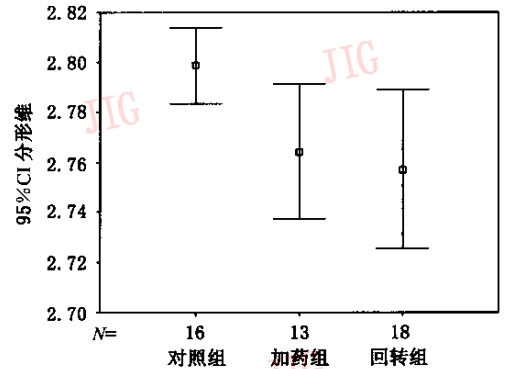


图 2 微管数据样本空间离散误差图

用另一种分形维算法——数盒子法计算微丝图像的纹理复杂度,尺度长度  $\delta$  取到 40。计算结果如表 3,组间差异仍然利用单向量方差分析方法判断其显著性差异。

表 3 细胞骨架微丝分形特征参数统计结果

特征参数	对照组( $n=14$ )	回转组( $n=19$ )	加药组( $n=19$ )
分形维	$2.6997 \pm 0.0025^*$	$2.6978 \pm 0.0022^*$	$2.6985 \pm 0.0020$

注: \* 显著性差异  $P < 0.05$ 。

由表 3 可以看出,加药组与其他两组的均值都没有显著性差异,但其分形维仍然介于二者之间。微丝三组数据的误差分布概况如图 3 所示。同样,图中的小方块表示平均数,线段的两端表示平均数的置信区间。由图 3 可以看出,微丝与微管图像复杂度的分布略有不同。

同。对于微管图像,加药组与回转组的数据分布特征较接近;而微丝的回转组与加药组数据样本值均比较集中,即复杂度变化范围小,对照组微丝数据比较分散。

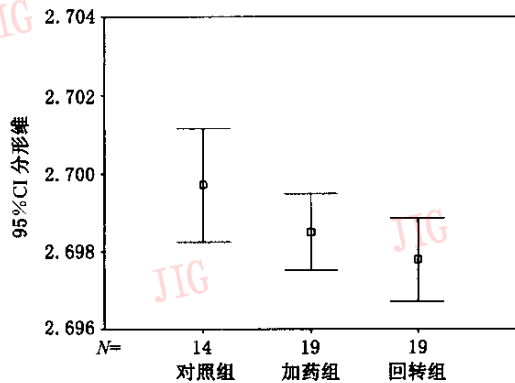


图 3 微丝数据样本空间离散误差图

## 4 结 论

在失重条件下细胞骨架的自组装环境要发生很大变化,这在很大程度上会影响细胞骨架的形态分布。一般认为,细胞在失重条件下受到的最大影响是细胞内部原有的稳态力平衡被破坏,各细胞器的活性及运动特性均要受到影响,特别是基于动态平衡的组装、渗透、化学反应等<sup>[5]</sup>,一般定性的结论是细胞骨架在失重条件下发生弥散变化<sup>[6]</sup>。

从大量的细胞骨架图像观测来看,在正常状态下进行自组装的细胞骨架纤维具有不同粗细的分支,骨架网络整体分布有一定的规则性,方向性,复杂程度高。在失重条件下细胞骨架的形态发生弥散性变化,图像纹理不明显,方向性变差。利用分形维定量计算的结果说明细胞骨架图像在失重条件下规则性变差,复杂度减弱,这一结果与实际观测相符。

实验证明槲皮素等类黄酮药物能有效改善心血管系统的病理性反应<sup>[7]</sup>,加药组的分形维介于对照组和回转组之间,但从表 2 和图 2 的结果来看,加药组的分形维数据与回转组数据很接近,说明槲皮素对微管的影响并不明显。对于微丝图像,加药组微丝图像的分形维平均值介于另两组之间,且分形维的离散度小,说明图像纹理规则性相对回转组增强,表示槲皮素对模拟失重条件下的微丝骨架改变有一定的恢复作用。

从分形对不同条件下的细胞骨架图像的分析结果来看,图像的分形维描述了失重条件下细胞骨架纹理分布的复杂程度,并作为一个定量指标比较了

对照组和回转组细胞骨架图像纹理的规则性变化。图像的分形分析结果也反映了槲皮素对细胞的失重反应有一定的对抗效果。

由于利用图像的分形特征分析细胞骨架图像的特点在国内尚不多见,因此,还需要更多的实验支持才能说明图像分形维对细胞骨架图像分析的有效性。这也正是今后要进一步做的工作。

## 参 考 文 献

- 1 李莹辉,丁柏,汪恭质,等. 药物对模拟失重条件下心肌细胞功能的保护作用[J]. 中华航空航天医学杂志,1999,10(2):73~76.
- 2 Peleg S, et al. Multiple resolution texture analysis and classification [J]. IEEE Transactions on Pattern Anal. and Machine Intelligence, 1984,6(6):518~523.
- 3 Therrien C W. An estimation theoretic approach to terrain image segmentation [J]. Computer Vision, Graphics and Image Processing, 1983,22(3):313~326.
- 4 李春喜,王文林等编著. 生物统计学[M]. 北京:科学出版社,1997:88~91.
- 5 Goldstein M A, Edwards R J, Schroeter J P. Cardiac morphology after conditions of microgravity during COSMOS 2044[J]. J Appl. Physiol, 1992,73(Suppl):94~100.
- 6 Tabony J. Morphological bifurcations involving reaction-diffusion processes during microtubule formation [J]. Science, 1994,264(8):245~248.
- 7 Itoigawa M, Takeya K, Ito C, et al. Structure-activity relationship of cardiogenic flavonoids in guinea-pig papillary muscle[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1999,65(3):267~272.



姚宇华 1977 年生,汉族,2000 年于装备指挥技术学院测量控制系航天测控工程专业获学士学位,2003 年于北京航空航天大学工程研究所人机与环境工程专业获硕士学位。主要研究方向为图像处理、信号处理。



严洪 1962 年生,汉族,副研究员,1983 年于山西师范大学物理系基础物理专业获学士学位,1996 年于国防科技大学电子科学与工程学院通讯与电子系统专业获硕士学位。主要研究方向为图像处理、信号处理。



熊江辉 1977 年生,汉族,1998 年于武汉大学生命科学学院生物学教学与科研人才培养基地班获理学学士学位,2001 年于北京航天医学工程研究所航空、航天与航海医学专业获硕士学位。主要研究方向为细胞分子生物学、生物信息学。