

东亚飞蝗消化道的三维重建方法研究^{*}

李德智^{1,2**} 刘志刚³ 孟瑞霞¹ 涂雄兵² 牙森·沙力² 张泽华^{2***}

(1. 内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010019; 2. 中国农业科学院植物保护研究所农业部生物防治重点开放实验室 北京 100081; 3. 深圳大学医学院 深圳 518060)

摘 要 本文主要研究东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilansis* (Meyen) 消化道可视化模型三维重建方法。采用冰冻切片技术将冰冻包埋剂 (OCT) 包埋后的飞蝗成虫做连续切片, 进行截面图像信息采集, 建立数据集; 通过 Photoshop、Image-Pro Plus (IPP) 软件对消化道截面图像进行分割、处理、序列化和三维重建。结果表明: 本实验成功构建飞蝗消化道三维结构模型。该模型可以任意旋转, 能从不同角度观察; 同时获得模型长度、面积和体积等解剖参数。为进一步研究蝗虫三维重建及农药的相互作用模型奠定基础。

关键词 东亚飞蝗, 消化道, 三维重建, OCT, Image-Pro Plus (IPP)

Study on three-dimensional reconstruction of the digestive tract of the oriental migratory locust *Locusta migratoria manilansis* (Meyen)

LI De-Zhi^{1,2**} LIU Zhi-Gang³ MENG Rui-Xia¹ TU Xiong-Bing²

Yasen · Shali² ZHANG Ze-Hua^{2***}

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China;

2. Key Laboratory for Biological Control of Ministry of Agriculture, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. College of Medical Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract A three-dimensional digital model of the digestive tract of *Locusta migratoria manilansis* (Meyen) was developed. Male adults were embedded in frozen embedding medium (OCT) and sliced into sections. Digital image information on each section was collected on a CCD and stored in a data set. Photoshop 7.0 and Image-Pro Plus (IPP) software were used to segment, process and merge images of each section, and then to successfully produce a three-dimensional reconstruction of digestive tract. The resultant three-dimensional image can be freely rotated and observed from any angle. Anatomical parameters as length, area and volume can be obtained easily.

Key words *Locusta migratoria manilansis*, digestive tract, three-dimensional reconstruction, OCT, IPP

三维重建技术是利用图像信息获取物体空间结构的一种技术, 它通过对一系列二维图像进行边界识别, 并分割处理后, 还原出被检对象的三维结构, 重建后的三维模型能够“真实”地再现组织或器官的表面轮廓, 改善可视化的质量, 这是实现计算机三维可视化的关键组成部分 (Li *et al.*, 2004)。通过对生物体组织结构三维重建和可视化, 阐明其与生理功能之间的关系, 以及在形态学、比较解剖学、细胞化学定位等领域中所起到的

重要作用 (Spitzer, 1997)。国内外三维重建可视化技术已经成为研究生物体组织的重要手段, 尤其在医学领域得到了广泛应用 (张玮和李杉, 1999; Lada and Eytan, 2005)。关于昆虫数字化虚拟和三维形态重建的研究却刚起步。国外仅见于一些关于昆虫局部结构特征的三维重建报道, 如基于激光扫描共聚焦显微镜 (confocal laser scanning microscope, CLSM) 技术, 对双翅目昆虫冈比亚按蚊雄性外生殖器和冈比亚按蚊触角叶内的

^{*} 资助项目: 国家 863 计划 (2006AA10Z236)、广东省“151”工程计划项目 (GDC35)。

^{**} E-mail: ldz_82927@163.com

^{***} 通讯作者, E-mail: lgbcc@263.net

收稿日期: 2011-4-9, 接受日期: 2011-05-20

神经纤维球的分布进行的三维重建(Klaus *et al.*, 2003; Ghaninia *et al.*, 2006); 基于核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)技术, 对膜翅目昆虫蜜蜂大脑的三维表面重建(Haddad *et al.*, 2004); Ai 等(2007)采用半薄切片技术对蜜蜂触角中的 Johnston's Organ 进行了连续切片, 并三维重建。国内目前开展了一些关于尘螨消化系统生物组织切片和基于激光扫描共聚焦显微镜(CLSM)平台的计算机昆虫嗅觉神经三维重建的研究工作(付丙鲜和祝增荣, 2008; Zhang *et al.*, 2008)。这些方法都是针对体积较小的昆虫或其局部结构进行的三维重建, 不适合对大个体的昆虫(如蝗虫)或其消化道的三维重建的研究。

蝗虫是重要的农业害虫之一, 国内学者对蝗虫的组织形态结构的研究由来已久。刘玉素和卢宝廉(1955, 1959, 1960)研究并阐述了东亚飞蝗消化系统、生殖系统、感觉器官和附肢的解剖和组织构造; 陆近仁和虞佩玉(1957, 1964)对东亚飞蝗头部、胸部的骨骼肌肉系统进行了研究和阐述; 郭郭等(1991)编写了《中国飞蝗生物学》一书。陈永林(2000)认为国内学者对东亚飞蝗的形态学和组织学研究, 对蝗虫的进一步研究提供了充分的科学依据。随着科学技术的进步和发展, 使得更深入的研究蝗虫形态结构与组织构造成为可能。蝗虫消化道是其重要的组织结构, 对其研究显得更为重要。

本文在前人研究基础上, 通过应用冰冻切片技术、图像信息采集技术以及新型软件对东亚飞蝗消化道结构进行三维重建和可视化研究。探讨了适合于对东亚飞蝗消化道进行三维重建研究的方法。这使得对东亚飞蝗消化道结构和生理功能的了解更进一步; 而消化道是农药作用的靶标, 为数字化模拟农药与蝗虫消化道相互作用模型建立提供了基础和依据; 同时, 东亚飞蝗作为一种教学模式昆虫, 其三维重建可视化模型也可为昆虫研究和教学提供形象直观、立体感强的三维动态图像资料及形态学数据, 有助于阐明组织结构与生理功能的相互关系。

1 材料与方法

1.1 材料准备

东亚飞蝗由作者实验室自己饲养, 选择体长 2.5 ~ 2.6 cm 之间的雄成虫, 且使虫体消化道处于

食物充盈状态。将虫体装入 7 mL 离心管中, 注入 OCT 包埋剂后, 于液氮中速冻, 制成圆柱形样本备用。

1.2 切片制作及图像数据采集

将样本固定在冻台模具上, 通过 LeiCa CM3050S 冰冻切片机对其横截面每 25 μm 连续切片。同时用位置固定的数码相机对样本横截面进行二维图像数据采集, 冰冻切片机的冻头最高点位置和 CCD 数码照相镜头采集图像的位置是相对固定的, 切片机每切一片, 冻头位置水平向前步进 25 μm , 最高点垂直位置固定不变, 不用重新调焦, 以保证获取图像条件的一致性。将获得的东亚飞蝗横截面二维图像输入电脑, 建立原始图像数据集。

1.3 图像配准

图像配准是指对于一幅图像寻求一种(或一系列)空间变换, 使它与另一幅图像上的对应点达到空间上的一致, 使两幅图像上所有的解剖点或感兴趣点都达到匹配。实验中有个别图像出现平移的, 通过比较相邻两幅截面图像的连续性和完整性, 在截面图像内部寻找定位结构, 利用计算机图像处理软件 Photoshop7.0 得到两幅连续截面图像间的配准参数, 进行修正后, 得到最终配准后的截面图像数据集。

1.4 图像分割

本实验将消化道外形作为感兴趣区域, 结合形态学与手工勾画的方法, 应用图像处理软件 Photoshop7.0 进行处理, 利用 Photoshop7.0 的钢笔工具将目标图像的边界勾勒出来, 填充前景色为黑色(黑色 $R = 0, G = 0, B = 0$), 并将图像模式转换为灰度模式。这样, 目标图像的灰阶值为 0。逐一将所有图像分割, 得到分割后的消化道外形图像数据, 建立分割后数据集。

1.5 三维重建可视化

三维重建可视化技术利用连续图像, 在计算机内部建立起组织或器官的三维结构, 即三维重建。应用三维图像处理软件 Image-Pro Plus(IPP, Media Cybernetics 公司), 点击 Sequence 下拉菜单中 Merge Files, 输入二维图像数据, 建立序列图像数据。于 Process 下拉菜单中 Segmentation 选择消化道截面区域, 确定灰度值为 16, 点击 Apply Mask

蒙皮,然后保存。由于图像数据量大,将原始图像数据分为4批,进行如上处理并保存。然后通过Sequence下拉菜单中Merge Image,将已保存的4个数据集合并成一个数据集。于Advanced下拉菜单中3D Constructor进行表面重建。根据软件对标尺的校正,以图片实际像素和切片的层距进行计算,将X,Y,Z坐标轴的比例设置为1:1:10,得到消化道三维模型,继续选择添加Volume Measurements即可实现基于表面的三维重建(Iso Surface)。全部重建过程在一台Inter core2 Q9400、2.6G CPU、内存为3.0G的PC计算机上完成。

1.6 测量

选择IPP中3D Measurements,对表面重建的立体图像进行分割后,测量各段的表面积、体积和

长度,即获得东亚飞蝗消化道的三维形态学参数。

2 结果与分析

2.1 东亚飞蝗消化道原始图像数据

通过冰冻切片技术对东亚飞蝗雄成虫进行横断面连续切片,获得1 176张横截面图像数据,从第21张起,选择奇数张作为消化道三维重建图像数据,共计577张,即切片间隔为50 μm 。图1(a)为第333张图像,从图中可见,东亚飞蝗的消化道边界清晰,并能够快速分辨出东亚飞蝗消化道的前胃和胃盲囊横截面轮廓。图1(b)为图像1(a)经过Photoshop7.0灰度化后,提取消化道区域获得的图像数据,消化道区域填充背景色为黑色(黑色 $R = 0, G = 0, B = 0$)。获得灰度化的、易分辨的消化道区域的图像数据集。

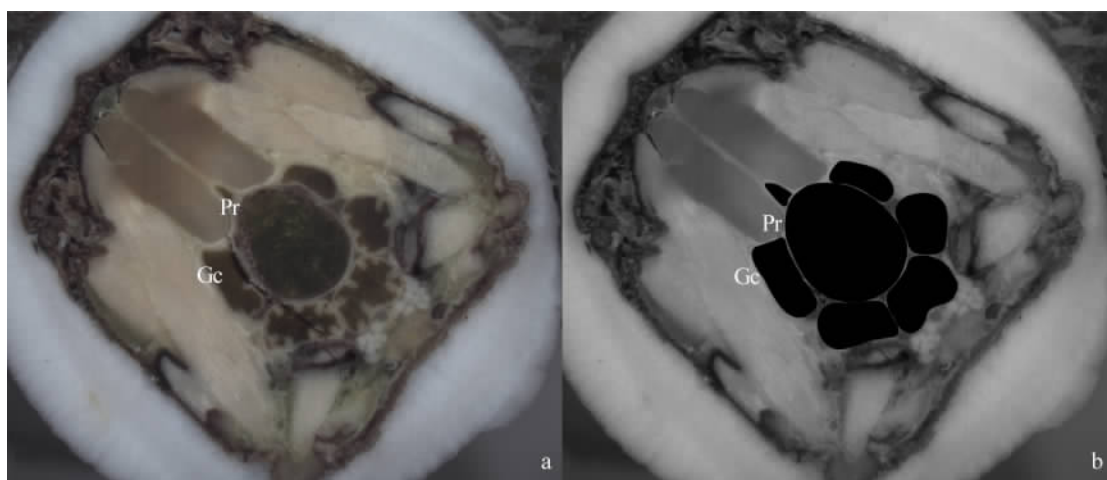


图1 东亚飞蝗横切面图像($\times 7$)

Fig. 1 The cross-section image of *Locusta migratoria manilensis* ($\times 7$)

a. 原始图像 Original image; b. 处理后图像 Processed image

Pr: 前胃 Proventriculus; Gc: 胃盲囊 Gastric caecum

2.2 东亚飞蝗消化道外形三维重建可视化结果

序列图像数据集蒙皮后提取感兴趣区域效果图说明消化道截面区域与其他组织很好的分开,同时减少图像信息,易于消化道三维重建(图2:a)。

通过3D Constructor进行表面重建,获得三维表面模型。图2(b、c、d)为序列截面图像数据集

重建得到的三维结构模型效果图,此三维表面模型可以任意旋转,同时从不同角度观察消化道形态结构。

利用IPP中3D Measurements,对表面重建的立体图像进行分割后,测量各段的体积和长度,即获得东亚飞蝗消化道的三维形态学参数。结果见表1。

表 1 东亚飞蝗消化道形态学三维解剖参数
Table 1 Three-dimensional anatomic parameters of digestive tract of *Locusta migratoria manilensis*

消化道 Digestive tract		参数 Parameters			
		长度 Length (mm)	表面积 Surface area (mm ²)	体积 Volume (mm ³)	体积比 Volume ratio (%)
前肠 Foregut	咽 + 食道 Pharynx + Esophagus	1. 42	9. 04	1. 09	1. 16
	嗉囊 Crop	4. 23	41. 49	18. 15	19. 35
	前胃 + 胃盲囊 Proventriculus + Digestive caeca	7. 15	128. 14	44. 19	47. 12
	中肠 Midgut	4. 63	50. 55	12. 77	13. 62
后肠 Hindgut	回肠 Ileum	4. 09	28. 35	6. 71	7. 15
	结肠 Colon	2. 28	22. 80	5. 28	5. 63
	直肠 Rectum	4. 23	23. 60	5. 60	5. 97
总计 Total		28. 03	303. 97	93. 79	100

3 讨论

三维重建是基于二维图像上的合成技术。因此,充分的二维图像原始数据,能够重建出失真度较小的三维图像。随着计算机技术和显微镜技术日新月异的发展,生物组织图像获取手段也与时俱进的发展,极大地促进了三维重建技术在生物学和医学研究中的应用。

连续切片技术是生物形态学微观结构研究的重要手段之一。对组织进行连续切片、染色、拍照,得到一系列的该组织平面断层图像。这要求对样本组织进行大量且高质量的连续切片,以保证提供足够完整的组织样本断面信息,得到效果好的三维重建断层图像。但是,在切片过程中,往往人为的使样本的一些细微结构在切片的过程中被破坏或改变,最终造成三维重建的精确性降低。更何况昆虫体壁被覆一层坚硬的外骨骼,切片易碎,难以制作连续的组织切片。虽然暴学祥等(1999)针对昆虫体壁连续切片提出了CP包埋法,也只能对于骨化程度不高的下唇须、下颚须、触角等结构进行切片。所以,对于骨化程度高的东亚

飞蝗成虫连续切片技术显然不能胜任,也就无法获取三维重建的图像。

CT 和 MRI 技术用于昆虫组织结构研究主要的优势是非侵入成像(Haddad *et al.*, 2004; Laissy *et al.*, 2004),对不同平面进行连续断层扫描获取图像。可以避免形态解剖对昆虫外部或者内部结构的损坏,而且可以得到昆虫组织、器官自然状态的空间结构分布(Lupu *et al.*, 2004; Davenel *et al.*, 2006)。硬件是 MRI 技术应用于昆虫研究的难题(王强和许升全, 2007)。对于昆虫研究,医学上用于人体扫描的 MRI 探测器过于庞大,且分辨率不足(2 mm),无法用于昆虫组织、器官成像;如果用于昆虫研究,就必须对 MRI 探测器有针对性的设计(Haddad *et al.*, 2004),以匹配待检样本,同时尽可能提高磁场强度,以提高分辨率。所以,硬件问题限制了 CT 和 MRI 技术用于东亚飞蝗三维重建图像的采集。

CLSM 技术用于昆虫组织结构的研究,由于昆虫外骨骼结构中具有易于被紫外光或者可见光所激发自体荧光物质(Galassi *et al.*, 1998),CLSM 能够在样本不同的焦平面进行扫描,对样本进行

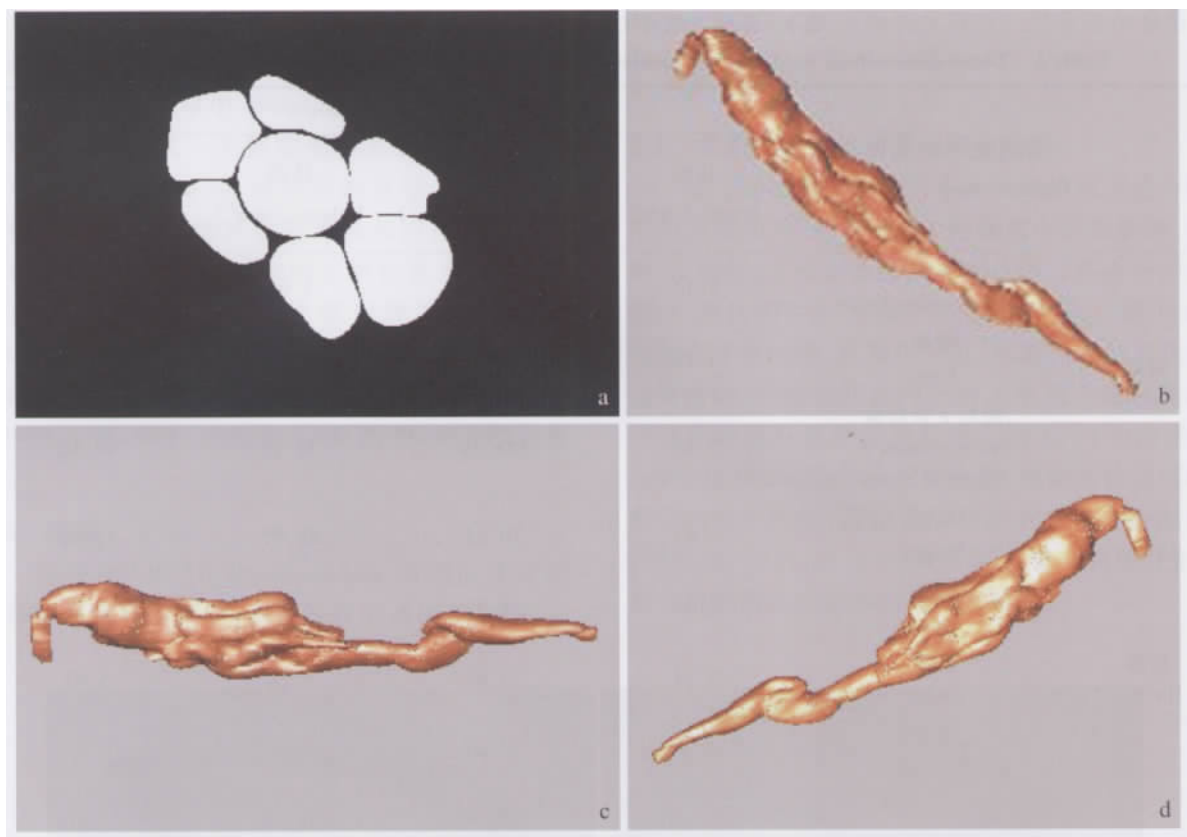


图2 a. 序列图像数据集蒙皮效果图; b. 东亚飞蝗消化道三维重建表面模型;
c. 水平方向旋转效果图; d. 侧方向旋转效果图

Fig. 2 a. Sequential image data set apply mask map; b. Three-dimensional reconstruction surface model map of the digestive tract of *Locusta migratoria manilensis*; c. Horizontal rotation map; d. Inclined rotation map

光学切片,从而得到细胞或组织内部细微结构的荧光图像。CLSM 理论上可以对厚度 $500\ \mu\text{m}$ 左右样本进行连续的光学断层扫描,但实际进行连续光学断层扫描厚度只有 $200\ \mu\text{m}$ 左右,这受限于激光的穿透力,对厚度过大的样本在检测过程中会造成严重的信号丢失 (White *et al.*, 1996; Diaspro *et al.*, 2002), 荧光图像的分辨率和完整性就会受到影响。另外,激光在不同介质中折射率是有差异的,这也会使最终荧光图像发生畸变 (Hell and Stelzer, 1995)。然而即使在一个几乎完全匹配的折射系统中,这样的畸变也会随着 CLSM 在样本中聚焦面的深入而产生 (王强和许升全, 2007)。所以,CLSM 技术不适用于对个体较大的东亚飞蝗进行断面图像采集。

本实验采用连续冰冻切片方法,通过 CCD 相机获取其断面截面图像。试验中,蝗虫样本经过液氮快速冷冻制成,这样做可以使蝗虫组织结构保存完整,不发生形变,不产生冰晶。在照相过程

中,作者拍摄样本的断面截面图像,并且根据东亚飞蝗雄成虫个体小的特点,如果选用普通的数码相机,则不能够采集到清晰的二维图像信息;同样,如果选用高清晰数码相机,虽然能够清楚的获得二维图像信息量,但是,因其数据量太大,一般为 $20 \sim 30\ \text{Mb}$,使得三维重建在一定程度上受到严重影响。况且,通常的计算机根本不能够运行,因此对计算机的性能要求也会随之增高,导致三维重建可视化的实用性降低。针对这些问题,作者进行了一系列的改进:采用 Z6010 单筒显微镜和 IMG500 CCD 相机 (500 万像素) 进行连接,并且,CCD 相机通过 USB 接口与一台普通电脑相连接,同时,在电脑上安装与 CCD 相机相匹配的 IC Capture 终端软件,并使照相设备固定在型号为 UC-V1 万向支架上。利用万向支架使得照相设备可以任意转向,从而调节照相设备的角度,改变位置。改进后作者发现,采集的图像清晰度较高,组织器官边界分明,每张图像的数据量控制在 $2.5 \sim$

3.0 Mb,达到了理想的实验要求。获得了东亚飞蝗截面二维图像数据,建立了原始二维图像数据库。其具有连续性、完整性、精确性及所含解剖信息量丰富等特点,为东亚飞蝗消化道的三维重建及可视化研究提供了对位更为准确、信息量更大的原始二维图像数据库。

目前,三维重建软件主要有 3D Med、3D Slicer、3D-DOCTOR、Mimics、Image-Pro Plus(IPP)、Amira 以及二次开发平台 VTK (Visualization Toolkit) 和 ITK (Insight Segmentation and Registration ToolKit) 工具包。本实验采用 IPP 软件,其具有强大的 2D 和 3D 图像处理、增强和分析功能,以及其 3D Constructor 的三维重建和测量功能操作简单,且容易学习,不需使用者花太多的时间,就能够对二维图像进行编辑和形态学操作。本实验实现了对东亚飞蝗消化道的三维重建并在此基础上构造肠道表面,以此反应各肠段的结构及毗邻关系,同时,还得到消化道三维形态学参数。

现在,三维重建方法在医学上主要有 3 种:不构造表面,对每个体素赋予颜色和阻光度,进行直接体绘制;直接从三维体数据生成等值面;利用断层间的轮廓线拟合表面。第一种属于体绘制的重建方法,后 2 种属于面绘制的重建方法。体绘制在一定程度上能反映实体内部结构细节,但运算量太大,即使利用高性能的计算机,仍然无法满足实际应用中交互操作的需要;而面绘制运算量小,能较好地反映结构的空间毗邻关系,缺点是易产生阶梯状形变,不能有效地反映重叠结构。因此,面绘制仍是目前的主流算法(秦绪佳等,2001)。针对东亚飞蝗消化道结构分支少、组织结构相对简单的特点和实验的具体要求,本文利用 IPP 软件实现了基于体素的表面重建,构造了肠道表面结构。

通过对东亚飞蝗进行整体连续冰冻切片,截面图像采集;再对消化道的结构进行图像配准、分割和信息提取,利用计算机三维重建技术集合系列切片,成功构建了其消化道的三维结构,并得到三维结构相关参数。其三维立体视觉效果使东亚飞蝗消化道形态直观性增强,为其功能研究提供完美的结构支持。更进一步了解东亚飞蝗消化道结构和生理功能的关系;而消化道是农药作用的靶标,为数字化模拟农药与蝗虫消化道相互作用

模型建立研究,提供了基础和依据。

作者实验中采集的东亚飞蝗原始图像数据集为研究东亚飞蝗其它组织的三维构建奠定了基础,其它结构的重建工作将陆续展开。将为更进一步了解东亚飞蝗内部组织结构和生理关系提供了依据;这也为昆虫解剖学提供重要的形态学依据和解剖学基础;从而为建立昆虫数字图书馆的提供很好的三维数字模型。

实验中也遇到了一些问题,在重建东亚飞蝗消化道三维结构模型中,图像分割完全是手工分割,比较费时;同时实验中采用的软定位方法,在精准度上还有待改进。希望在今后的研究中能够逐渐解决。

参考文献(References)

- Ai H, Nishino H, Itoh T, 2007. Topographic organization of sensory afferents of Johnston's organ in the honeybee brain. *J. Comp. Neurol.*, 502(6): 1030—1046.
- 暴学祥, 郑一平, 张恒山, 夏颖哲, 宋传涛, 1999. CP 包埋剂及其在昆虫体壁组织连续切片中的应用. *科学通报*, 44(7): 720—724.
- 陈永林, 2000. 中国的飞蝗研究及其治理的主要成就. *昆虫知识*, 37(1): 50—59.
- Davenel A, Quéllec S, Pouvreau S, 2006. Noninvasive characterization of gonad maturation and determination of the sex of Pacific oysters by MRI. *Magn. Reson. Imaging.*, 24(8): 1103—1110.
- Diaspro A, Fedefici F, Robello M, 2002. Influence of refractive-index mismatch in high-resolution three-dimensional confocal microscopy. *Appl. Optics.*, 41(4): 685—690.
- 付丙鲜, 祝增荣, 2008. 昆虫嗅觉神经的计算机三维重建. *昆虫知识*, 45(4): 668—673.
- Galassi DMP, De Laurentis P, Giammatteo M, 1998. Integumental morphology in copepods: assessment by confocal laser scanning microscopy (CLSM). *Fragmenta Entomologica (Roma)*, 30(1): 79—92.
- 郭郭, 陈永林, 卢宝廉, 1991. 中国飞蝗生物学. 北京: 山东科学技术出版社. 1—591.
- Haddad D, Schaupp F, Brandt R, Manz G, Menzel R, Haase A, 2004. NMR Imaging of the honeybee brain. *J. Insect Sci.*, 4(7): 1—7.
- Hell SW, Stelzer EHK, 1995. Lens aberrations in confocal fluorescence microscopy // Pawley JB (ed.). *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, Plenum Press, New York.

- 347—354.
- Klaus AV, Kulasekera VL, Schawaroch V, 2003. Three-dimensional visualization of insect morphology using confocal laser scanning microscopy. *Journal of Microscopy*, 212(2): 107—121.
- Lada A, Eytan A, 2005. How to search a social network. *Social Networks*, 27(3): 187—203.
- Laissy JP, Sebban V, Deux JF, Huart V, Mousseaux E, 2004. Noninvasive coronary artery imaging: CT and MR. *J. Radiol.*, 85(10 Pt2): 1798—1808.
- Li QY, Zhang SX, Liu ZJ, Tan LW, Qiu MG, Li K, Cui GY, Guo YL, Yang XP, Zhang WG, Chen XH, Chen JH, Ding SY, Chen W, You J, Wang YS, Deng JH, Tang ZS, 2004. The prestyloid compartment of the parapharyngeal space: a three-dimensional digitized model based on the Chinese visible human. *Surg. Radiol. Anat.*, 26(5): 411—416.
- 刘玉素, 卢宝廉, 1955. 东亚飞蝗消化系统组织与构造. *昆虫学报*, 5(3): 245—260.
- 刘玉素, 卢宝廉, 1959. 东亚飞蝗生殖系统解剖和组织构造. *昆虫学报*, 9(1): 1—11.
- 刘玉素, 卢宝廉, 1960. 东亚飞蝗的感觉器官和附肢的组织构造. *昆虫学报*, 10(3): 243—260.
- 陆近仁, 虞佩玉, 1957. 东亚飞蝗的骨骼肌肉系统 I. 头部. *昆虫学报*, 7(1): 1—19.
- 陆近仁, 虞佩玉, 1964. 东亚飞蝗的骨骼肌肉系统 II. 胸部. *昆虫学报*, 13(4): 510—535.
- Lupu M, Dimicoli JL, Volk A, Mispelter J, 2004. An efficient design for birdcage probes dedicated to small-animal imaging experiments. *MAGMA*, 17(3—6): 363—371.
- Ghaninia M, Ignell R, Hansson BS, 2006. The antennal lobe of the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*—innervation and three-dimensional reconstruction. *Arthropod Structure & Development*, 36(1): 1—17.
- 秦绪佳, 欧宗瑛, 纪凤欣, 袁野, 侯建华, 2001. 医学图像的交互分割及三维表面重建. *工程图学学报*, 22(2): 94—101.
- Spitzer VM, 1997. The visible human: a new language for communication in health care education. *Caduceus*, 13(2): 42—48.
- 王强, 许升全, 2007. 三维重建技术在昆虫研究中的应用与展望. 中国昆虫学会第八次全国会员代表大会暨 2007 年学术年会. 郑州. 138—144.
- White NS, Errington RJ, Fricker MD, Wood JL, 1996. Aberration control in quantitative imaging of botanical specimens by multidimensional fluorescence microscopy. *J. Microsc.*, 181(2): 99—116.
- Zhang YY, Sun X, Liu ZG, 2008. Morphology of the digestive system and three-dimensional reconstruction of *Dermatophagoides farinae*. *International Archives of Allergy and Immunology*, 146: 219—226.
- 张玮, 李杉, 1999. 生物组织连续切片图像的计算机三维重建研究的进展. *生物医学工程学杂志*, 16(3): 377—381.