

文章编号:1007-2780(2012)06-0808-06

基于种子点的粘连巨噬细胞图像的分割方法

王 平¹, 张 力¹, 周长其²

(1. 南昌大学 信息工程学院 电子信息工程系, 江西 南昌 330031, E-mail: zhangliatjdz@126.com;

2. 南昌大学 信息工程学院 自动化系, 江西 南昌 330031)

摘 要: 粘连细胞的分割是医学细胞图像处理中的关键, 随着形态学在图像分割中的应用, 分水岭分割成为粘连细胞分割中最有效的方法之一。然而, 由于巨噬细胞图像中的噪声和形态的不规则性, 传统分水岭算法容易产生过分割。若在经距离变换得到的距离图中提取“种子点”, 并将其中距离小于某一阈值的两两“种子点”合并得到新的“种子点”, 在新“种子点”重新分布的距离图基础上使用分水岭分割。实验结果表明: 该算法虽然要比传统分水岭算法多花费些时间, 但可以有效地分割粘连巨噬细胞并抑制过分割现象。分割后, 对细胞进行标记并提取细胞的特征参数, 如周长、面积、圆度因子、灰度均值等。

关 键 词: 粘连细胞分割; 分水岭; 过分割; 距离变换; 种子点; 特征参数

中图分类号: TP391.41

文献标识码: A

DOI: 10.3788/YJYXS20122706.0808

Segmentation Method to Adhesion Macrophage Image Based on Seeding Point

WANG Ping¹, ZHANG Li¹, ZHOU Chang-qi²

(1. Department of Electronic Information Engineering, Information Engineering School,
Nanchang University 330031, China, E-mail: zhangliatjdz@126.com;

2. Department of Automation, Information Engineering School, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

Abstract: Segmentation to adhesion cells is critical in image segmentation realm, with the morphology being used in image segmentation, watershed becomes one of the most efficient skills in solving adhesion cells. However, the traditional watershed algorithm is apt to cause over-segmentation for the noise and irregular shape of macrophages. If extracting the “seeding points” from the distance map, two “seeding points” is combined into one “seeding point” if the distance between them is under threshold after count the distances between each two “seeding points”. The redistribution distance map depending on the new seeding points is segmented by watershed. The simulation results show that the algorithm can effectively segment adhesion macrophages as well as restrain the over-segmentation phenomena with a little more time compared with the traditional method. After segmentation, we can mark the numbers to the cells and abstract the characteristic parameters such as circumference, area, roundness factor, mean gray and so on.

Key words: segmentation to adhesion cells; watershed; over-segmentation; distance transform; “seeding points”; characteristic parameters

收稿日期: 2012-07-16; 修订日期: 2012-08-12

基金项目: 江西省科技支撑计划项目(No. 2009BGB01900); 江西省自然科学基金(No. 2009JX02367)

作者简介: 王平(1958—), 女, 河南安阳人, 教授, 研究领域为图像分割, 模式识别。

1 引 言

巨噬细胞是判断人体免疫力的重要指标。其功能是除去受损的人体组织、坏死的细胞碎片和病原体等,在伤病人愈合过程中起着重要的作用。使用数字图像处理技术对巨噬细胞图像进行定性和定量分析,替代人工检测,为医生提供准确的数据,具有广阔的应用前景。

在医学细胞图像的获取过程中,经常会出现细胞粘连的情况,并严重影响后续巨噬细胞的自动分析、统计。由于医学细胞图像的噪声和形态的不规则性,很难找到一个合适的标准将其分割出来。在巨噬细胞图像分割方法中,常用分水岭分割,它可以区分两个或两个以上的粘连细胞。Vincent L^[1]等提出了一种基于浸没的分水岭方法,如图 1(a)所示,水位逐渐上升,若两股水流相遇,则筑坝将两粘连细胞分割开来。但传统分水岭分割会产生明显的过分割现象,如图 1(b)所示,距离变换后会产生一些“伪山谷”,Kim J B^[2]等使用小波分解变换与分水岭相结合的分割技术,卢中宁^[3]等使用一定的准则将分割后的两相邻区域根据特征和形态的相似性进行合并。本文的改进方法是:将经过距离变换后处在同一个细胞内的“种子点”合并为一点,因此,合并的准则就成了关键,此外,处于两个细胞内的“种子点”不能被合并;否则,前者会导致过分割,后者不能产生有效分割。此操作后,每个“种子点”代表一个细胞,过分割得到了抑制。

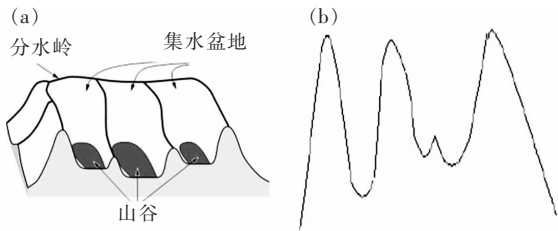


图 1 分水岭分割示意图。(a)地形图,(b)距离图的二维示意图。

Fig.1 Sketch map of the watershed segmentation. (a) Topographical map, (b) 2D sketch map of the distance map.

分割完后,就可以对细胞参数进行统计,包括周长、面积、圆度因子等,这些对后续的研究和判断都是非常有价值的。临床医生可以根据

巨噬细胞的参数判断病人的状况,做出适当的医治工作。

2 方 法

2.1 预处理

由于受到各种条件的限制和随机干扰,各种医学图像的质量在图像获取、传输和转换过程中往往会发生一定程度的下降^[4],比如灰度变化、噪声污染、几何畸变等。医学图像预处理的目的是简化图像数据^[5],为后续的图像处理做准备。图 2(a)是巨噬细胞图片 1,以它为例做下列步骤说明。

2.1.1 灰度化

由荧光显微镜拍照得到的是彩色图像,应先将其转化为灰度图像以减少计算量。虽然灰度图像没有彩色图像那么多的信息量,但仍可以反映出图像的局部和整体特性。 R 、 G 、 B 分别表示红、绿、蓝分量,gray 表示的是灰度化后的灰度值。

$$\text{gray} = 0.229R + 0.587G + 0.114B \quad (1)$$

2.1.2 OTSU 阈值分割

OTSU 阈值分割^[6]的基本思路是根据类间方差最大得到一个阈值,即每个像素的灰度值与该阈值的差的平方和最大。对每一个像素,若它的灰度值大于阈值,将其归于目标,否则它被归于背景。然而,它对噪声十分敏感,目标与背景的大小悬殊较大时误分割率会较高。

2.1.3 中值滤波

中值滤波法是一种非线性平滑技术,它将每一像素点的灰度值设置为该点某邻域窗口内的所有像素点灰度值的中值,式(2)是中值滤波公式。

$$g(x,y) = \text{med}\{f(x-k,y-l), (k,l \in W)\} \quad (2)$$

这里 $g(x,y)$ 和 $f(x,y)$ 分别是处理后的图像和原图像, W 是一个二维模版,此处使用 3×3 模版。

2.1.4 腐蚀与膨胀

结构元素是膨胀和腐蚀操作的基本组成部分,通常比待处理的图像小得多。由一个数值为 0 或 255 的矩阵组成。结构元素的原点指定了图像中需要处理的像素范围,结构元素中数值为 255 的点决定结构元素的领域在进行膨胀或腐蚀操作时是否需要参与计算。先进行腐蚀再膨胀称为开运算,能消除较小的地峡;闭运算则是先进行膨胀再腐蚀,能填充较小的空洞^[7-8]。

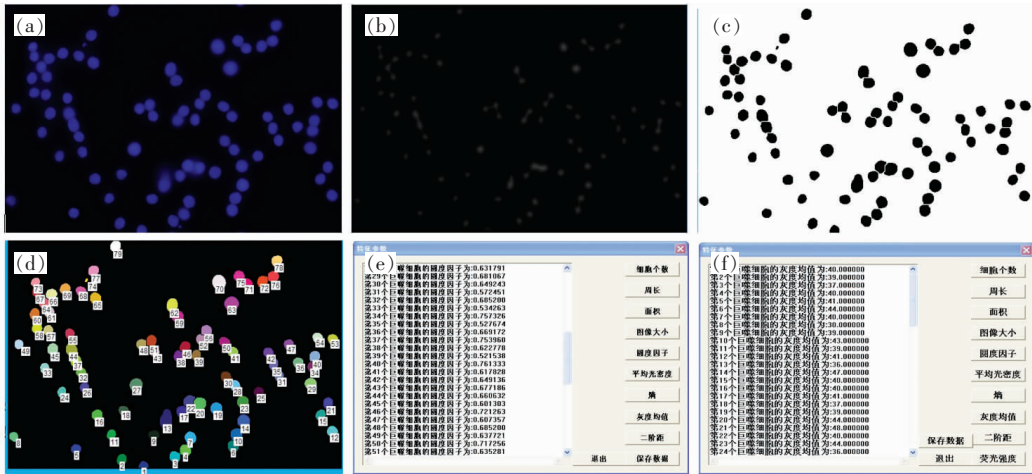


图 2 巨噬细胞图片 1 在各步骤下的结果。(a)巨噬细胞原图 1;(b)距离变换得到的距离图;(c)分水岭分割结果;(d)细胞标记;(e)特征参数提取(圆度因子);(f)特征参数提取(灰度均值)。

Fig. 2 Results of the macrophage image 1 under each step. (a)Original image;(b)Distance map after distance transform;(c)Result of watershed;(d)Cell marking;(e)Characteristic parameters abstracting(roundness factor);(f) Mean gray.

$$\begin{cases} A\ominus B = \{z \mid (B)_z \subseteq A\} \\ A\oplus B = \{z \mid (\hat{B})_z \cap A \subseteq \phi\} \end{cases} \quad (3)$$

2.2 改进分水岭算法

2.2.1 距离变换

预处理后,将所有像素分为两类,一是目标,另一类是背景。距离变换后,背景像素设为 0,每个目标像素设置为与所有背景像素距离的最小值。在本文中,使用一对 5×5 倒角模版进行前向和后向扫描,得到距离图,如图 2(b)所示,能得到近 98%的准确率^[9]。

2.2.2 寻求“种子点”

(1)在得到距离图后,将大于或等于周围 8 个像素值的非 0 像素点记为“种子点” $p_i(x_i, y_i)$ ($i=1,2,\dots,N$),存储坐标和灰度值信息到数组 M 中 $m_j=(x_i, y_j, f(x_i, y_i))\in M$,扫描完成后 M 中的元素有 n 个。

由于细胞的非圆性,每一个巨噬细胞可能会有数个“种子点”。根据距离图的信息得出“种子点”合并的准则,显而易见的是:“种子点”灰度值越大,细胞的尺寸就越大,合并的阈值就应该根据细胞的大小而变化。

(2)对于最初的 n 个“种子点”,每两点之间的距离就有 C_n^2 个。但对每一点而言,对于其他“种子点”将有 $n-1$ 个距离,取出其中的最小值存储在链表中;那么 n 个“种子点”就有 n 个值存入 L 中。将它们按从小到大的顺序排列,引入过滤因子 α ,阈值 T_{th} 可以根据式(4)得到:

$$T_{th} = L(\alpha n) \quad (4)$$

(3)两两“种子点”进行比较,若满足

$$\text{dis}(p_i, p_j) =$$

$$\sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2} < T_{th} \quad (5)$$

(4)新的“种子点” $p_{ij}(x_{ij}, y_{ij}, f(x_{ij}, y_{ij}))$ 产生,同时删去 p_i, p_j

$$\begin{cases} x_{ij} = \frac{x_i \times f(x_i, y_i) + x_j \times f(x_j, y_j)}{f(x_i, y_i) + f(x_j, y_j)} \\ y_{ij} = \frac{y_i \times f(x_i, y_i) + y_j \times f(x_j, y_j)}{f(x_i, y_i) + f(x_j, y_j)} \\ f(x_{ij}, y_{ij}) = \max\{f(x_i, y_i), f(x_j, y_j)\} \end{cases} \quad (6)$$

直到任何两“种子点”都不满足不等式(5)。

2.2.3 重新分布距离图

将新得到的“种子点”设为一个较大的值,如 255,那么“种子点”表示分水岭分割算法中的山谷,然后以“种子点”为中心向周围扩展递减。公式(7)中的 β 表示距离值递减的快慢程度,对应成地形图的陡峭程度,对结果并不会有明显的影响,在本文中 β 取 3。

$$\begin{aligned} d(x, y) &= g(x_n, y_n) - \beta \times \\ &\quad \text{dis}[(x, y), (x_n, y_n)] \end{aligned} \quad (7)$$

其中 $d(x, y)$ 为新距离图中像素的值,由式(7)算出的值会有小数的情况,均取整数, (x_n, y_n) 是距离当前像素 (x, y) 的最近“种子点”,扩展的前提是当前像素必需是目标,若是背景则仍记为 0。

2.2.4 分水岭分割

在 2.2.3 步骤之后,我们将其模拟成拓扑地

形图,在该地形图均匀降雨^[10],雨水首先注入“种子点”,并在它们周围蔓延,若是非粘连细胞的“种子点”,雨水会一直漫到地表面;若是粘连细胞的“种子点”,则会遇到从与其粘连的另一细胞“种子点”蔓延过来的另一股水流,筑坝将粘连细胞分割开来,如图 2(c)所示。

2.3 细胞标记和参数提取

2.3.1 细胞标记

分割完成之后,可将细胞染成彩色便于观察,为了区分不同的细胞,相邻细胞的颜色应不同,并在相应的细胞旁边标记序号 1、2、3...,如图 2(d)所示,使得后续的参数提取可以与细胞对应,方便观察到特定细胞的各个参数特征。

2.3.2 参数提取

提取细胞的特征参数,包括周长、面积、圆度因子、平均灰度、二阶矩等,如图 2(e)、2(f)所示。细胞的周长和面积可分别计算细胞外围的像素点数和全部像素点的个数。

设 z_i 是表示各灰度级的变量, $p(z_i)$, $i=0,1,$

$2,\cdots,L-1$ 表示与其对应的频率,其中 L 表示灰度级的个数。

对于每一个分割后的细胞,圆度因子:

$$R = \frac{4\pi S}{C^2} \tag{8}$$

平均灰度:

$$m = \sum_{i=0}^{L-1} z_i p(z_i) \tag{9}$$

二阶矩:

$$\mu_2(z) = \sum_{i=0}^{L-1} (z_i - m)^2 p(z_i) \tag{10}$$

熵:

$$e(z) = - \sum_{i=0}^{L-1} p(z_i) \log_2 p(z_i) \tag{11}$$

3 实验结果

事实上,没有一种分割方法是万能的,但可以使它适用于更多的情况下。由于“种子点”合并的阈值是根据细胞图像信息决定的,由于这种“学习”的过程,本文算法对其他图像也具有适用性:

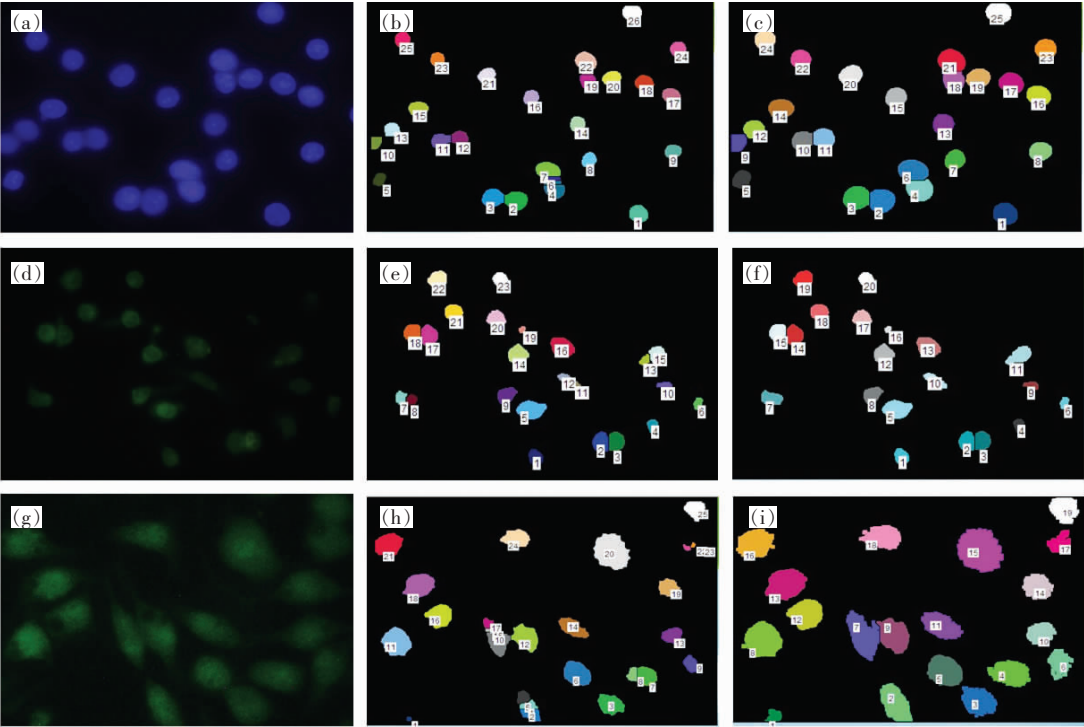


图 3 巨噬细胞图像 2、3、4 在传统分水岭算法和本文算法中的比较。(a)原图 2。(b)原图 2 传统分水岭分割。(c)原图 2 本文算法。(d)原图 3。(e)原图 3 传统分水岭分割。(f)原图 3 本文算法。(g)原图 4。(h)原图 4 传统分水岭分割。(i)原图 4 本文算法。

Fig. 3 Comparison between the traditional watershed and the algorithm in this paper to macrophage image 2,3,4. (a)Original image 2. (b) Traditional watershed to original image 2. (c) Algorithm in this paper to original image 2. (d) Original image 3. (e) Traditional watershed to original image 3. (f) Algorithm in this paper to original image 3. (g)Original image 4. (h) Traditional watershed to image 4. (i) Algorithm in this paper to original image 4.

表 1 传统分水岭与本文算法的对比

Table 1 Comparison between traditional watershed method and the algorithm in this paper

图像中的 细胞个数		本文算法得到的		传统分水岭算法得到的		相对误差/%		平均圆度 因子
		细胞个数与处理所需时间		细胞个数与处理所需时间		传统分水岭分割	本文算法	
		个数	时间/秒	个数	时间/秒			
图 2(a)	78	79	1.81	79	3.21	1.28	1.28	0.64
图 3(a)	25	26	1.34	25	2.56	4.00	0	0.63
图 3(d)	20	23	1.17	20	2.39	15.00	0	0.60
图 3(g)	19	25	2.12	19	3.78	31.58	0	0.46

不仅适用于类圆细胞的分割,还可用于形状不太规则的细胞分割。图 3 是本文算法和传统分水岭算法对其他图像的处理结果比较。可以看出,对于使用不同药剂而导致不同颜色的巨噬细胞、不同条件下取得的形态差异较大的巨噬细胞,本文算法对它们均适用,有些较好的通用性,有广阔的应用前景。

在表 1 中,从上到下可以看出,传统分水岭分割的相对误差逐渐增大,原因可能有两个,一是因为噪声,二是由于图像中细胞的非圆性逐渐增加(这是主要原因,因为噪声可以通过滤波和形态学操作消除)。实验结果提取的平均圆度因子证实了这一观点,虽然本文算法以牺牲一些时间为代价,但取得了良好的效果,还是值得的。

如图 3(i)所示,细胞 7 和 9 是粘在一起的两个巨噬细胞。我们的目标就是要将这两个细胞分割开来,同时又不能将这两个细胞分割成多个。传统分水岭算法固然可以解决粘连细胞 7 和 9 的分割,但却将圆度因子小的细胞 7 分割成 3 个细胞,对应于图 3(h)中的细胞 10、15 和 17,引起过分割。而本文算法不仅将图 3(i)中的细胞 7 和 9 分开,同时把细胞 7 中的多个“山谷”调整合并成最终的一个“山谷”,实现了精确的分割。

4 讨 论

“种子点”的合并规模取决于过滤因子 α ,它是一个 0 和 1 之间的数,并可用于估计图像中细胞的非圆程度。

α 越接近 0,被滤去的掉“种子点”越少,若为 0,本文算法就退化为传统的分水岭分割。因此选择适当的 α 至关重要; α 若取小了,会导致过分割;否则会出现无效的分割。

图 4(a)表示在图 2(a)、图 3(a)(d)(g)4 幅巨噬细胞图像中过滤因子与相对误差之间的关系,在图 2(a)中,过滤因子到 0.4 后相对误差会逐渐增长,在图 3(a),图 3(d)中,相对误差最小时过滤因子分别为 0.05 和 0.2,并且过滤因子越偏离它们,相对误差就越大;图 3(g)与图 2(a)的情况正好相反。当过滤因子超过 0.5 时,滤去的“种子点”过多,会导致明显的欠分割现象,对这 4 幅像都有一个较大的相对误差,这间接从另一个角度

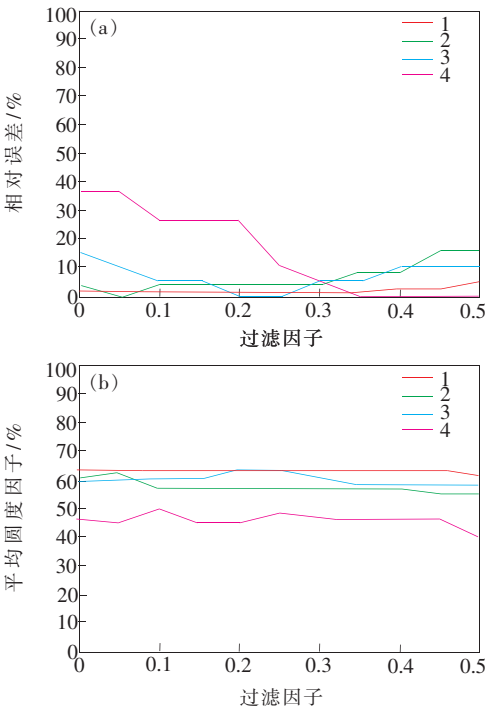


图 4 过滤因子的影响。(a)过滤因子与相对误差的关系。(b)过滤因子与平均圆度因子关系。

Fig. 4 Influence of filtering factor. (a) Relationship between filtering factor and relative error, (b) Relationship between filtering factor and average roundness factor.

证明了表 1 的观点。

图 4(b)显示了分割后巨噬细胞平均圆度因子与过滤因子之间的关系,虽然结果计算的平均圆度因子的变化趋势与相对误差没有对应关系,变化的范围也不会太大。但它们在一定程度上变化是相反的。实验结果表明:细胞平均圆度因子越大,等价于细胞更圆,相对误差也就越小。换句话说:也就是若图像的目标圆度因子越大,即越接近圆,过滤因子 α 就应取小些;反之亦然。

5 结 论

上述结果是在 VC++6.0 MFC 平台下实现

的,在对医学细胞图像处理中,分割是非常重要的,而分水岭分割由于能区分粘连细胞而广泛应用,由图像分割结果平均圆度因子大小可知巨噬细胞的形态不规则,距离变换后会有多个“山谷”出现在同一细胞区域内,导致过分割,本文使用基于“种子点”基础上修正距离图的方法来抑制过分割,具有准确度高、稳定性强等特点。之后,就可以对分割出来的细胞感兴趣的参数进行提取,若结合生物医学知识,便可成为后续细胞模式识别的重要依据。

致谢:感谢南昌大学第一附属医院提供的巨噬细胞图片。

参 考 文 献:

[1] Vincent L, Soille P. Watersheds in digital spaces: An efficient algorithm based on immersion simulations [J]. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 1991, 13(6): 583-598.

[2] Kim J B, Kim H J. Multiresolution-based watersheds for efficient image segmentation [J]. *Pattern Recognition Letters*, 2003, 24(1): 473-488.

[3] 卢中宁, 强赞霞. 基于梯度修正和区域合并的分水岭分割算法 [J]. *计算机工程与设计*, 2009, 30(8): 2075-2077.

[4] 范小聪, 李大海, 王琼华, 等. 基于背景重构的视频分割技术及应用 [J]. *液晶与显示*, 2011, 26(2): 229-233.

[5] 韩希珍, 陈朝东, 赵建. 基于 PDE 的非线性图像去噪与增强 [J]. *液晶与显示*, 2011, 26(1): 111-115.

[6] Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms [J]. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 1979, 9(1): 62-66.

[7] Gonzalez R C, Woods R E. *Digital Image Processing* [M]. 北京: 电子工业出版社, 2010: 688-692.

[8] 史国凯, 王琼华, 李大海, 等. 基于分割的离焦图像深度图提取方法 [J]. *液晶与显示*, 2012, 27(2): 229-234.

[9] Borgefors G. Transformations in arbitrary dimensions [J]. *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, 1984, 27: 321-345.

[10] Smet P D, Pires R L. Implementation and Analysis of an optimized rain falling watershed algorithm[C]//*Proc. of SPIE'00*. San Diego, USA: SPIE, 2000: 759-766.