

分水岭算法分割显微图像中重叠细胞

丛培盛 孙建忠

(同济大学化学系, 上海 200092)

摘要 为实现医学临床显微图像自动快速分析, 通过先将二值化后的图像进行距离变换, 然后采用快速灰度重建算法重建距离变换后图像, 最终用分水岭算法分割变换图像, 有效地避免了为防止过分割而提取分水岭标记点过分依赖于图像先验知识的缺陷, 实现自动探测目标细胞并分割重叠细胞, 并使其适合于临床对算法速度的要求。将算法进行了 C++ 程序实现, 并应用于实际临床脱落细胞和病理免疫组化显微图像的自动分割。经过多幅不同疾病、不同背景的临床图像的分割验证, 在光照均匀的情况下, 该算法可以快速实现图像中细胞的提取以及粘连细胞的自动分割, 完成一幅 768×576 图片的分割在 AMD1600+ 的 CPU 上处理时间小于 2s, 分割效果得到主任医师的认可, 因此, 该算法应用于临床细胞图像的分割是可行的。

关键词 分水岭 过分割 灰度重建 重叠细胞图像

中图法分类号: TP391.41 Q2-33 文献标识码: A 文章编号: 1006-8961(2006)12-1781-03

Application of Watershed Algorithm for Segmenting Overlapping Cells in Microscopic Image

CONG Pei-sheng, SUN Jian-zhong

(Department of Chemistry, Tongji University, Shanghai 200092)

Abstract In order to realize automatic and fast analysis of microscopic image, in this paper, the binarized image was first transformed to distance format. Fast grayscale reconstruction algorithm was then employed to reconstruct the transformed image. Finally Watershed algorithm was used to segment the result image. In this way, the defect of the watershed algorithm that the watershed marker extracting often depends on prior knowledge of the image is avoid and the algorithm to be suitable for real clinic practice and the auto segmentation of conglutination cells is realized. At last the algorithm was programmed with C++ and was used to segment the real clinical fall off cell and pathology cell images. After being applied to many different disease and different background cell image, result shows that the algorithm can pick up destination cells in a given image and automatically segment overlap cells accurately and rapidly under the condition of even illumination. For a given 768×576 image, the algorithm can finish the segmentation within 2 seconds in a AMD 1600+ CPU. And the segmentation result is certificated by director doctor. Thus it is feasible to apply the algorithm to the segmentation of clinical cell image.

Keywords watershed, over-segmentation, grayscale reconstruction, overlapping cell image

1 引言

临床细胞形态的自动化分析要求利用计算机图像处理技术快速准确地从图像中分割细胞并进行形态参数的计算, 其过程包括分割和识别两个步骤。细胞图像分割有自己特殊的要求, 一是得到的轮廓是闭合的, 另一个就是要分割粘连重叠细胞。一般来说,

粘连重叠细胞的分割主要有两种思路: 一是基于模型的方法, 例如基于 Hough 变化的模型和基于 Snake 活动轮廓的模型, 其优点是得到的轮廓是光滑闭合的, 并且算法对图像噪声不敏感, 稳定性好, 但算法执行效率低。另一类是基于数学形态学的方法, 主要是分水岭算法, 其优点在于能获得单像素宽的、连通的、封闭的和位置准确的轮廓^[1]。分水岭算法已应用于免疫细胞的自动分割^[1], 但由于采用了梯度图像, 所以

不适用于粘连在一起的中间无明显边界的细胞分割。分水岭算法还应用于分割重叠颗粒图像^[2],但没有采用快速分水岭算法,效率存在问题。

从临床的实时性要求和分割结果两方面综合考虑,本文采用基于分水岭的数学形态学方法来对重叠粘连细胞图像进行分割,并采用对距离函数的灰度重建以防止分水岭的过分割现象。文中算法均采用基于队列和顺序快速算法实现,使其执行效率和分割效果都能达到实际临床的要求。

2 基本原理

2.1 构造距离地形

二值粘连图像,经距离变换后,将背景设为 0,边界部分为 1,目标内部像素值按到边界距离逐渐递增,其快速算法可以通过倒角(Chamfer)来实现^[2,3],得到图 1(a)所示的地形图。

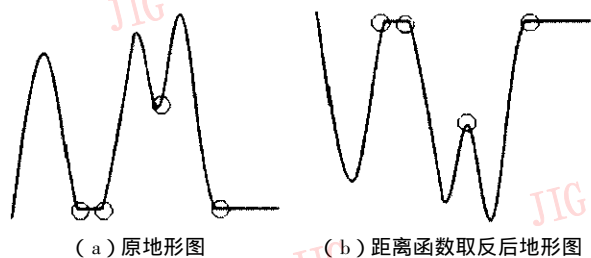


图 1 二值化图像距离变换示意图

Fig. 1 Distance transformation of binary image

此时的目的是得到图像的轮廓(如图中圆圈所示),需要先求取最大点然后逐渐从上到下扫描图像,直至扫描结束。为直观方便,将距离函数求反,得到图 1(b)所示图形,同样图中所需求得的轮廓用圆圈标记出来。

2.2 分水岭标记过程

标记过程采用溢流方式^[4]。首先,从取反后的距离函数最小值逐渐向上标记图像,如果两像素连通,则赋予同一标记,在距离值逐渐增加的过程中,如果一个像素的区域内未出现标记过的区域,则赋予新的标记,如果出现已标记的区域,则将该标记赋予此像素,效果如图版 I 图 1(a)所示。

当一个像素的领域内出现两个或两个以上的不同标记区域,那么该像素就是粘连部分的分界线,此时,在该位置“筑坝”,防止多个区域融合,此处即是所要求取的分水岭,效果如图版 I 图 1(b)所示,最

后得到的效果如图版 I 图 1(c)所示。

2.3 快速算法

快速算法^[5]描述如下:

(1) 图像经阈值分割并进行二值化处理后,对距离变换后的值求反。

(2) 对求反后的距离小于 0 的值采用位排序方法从小到大排序,得到排序数组。

(3) 对每一距离进行处理,按以下方法实现从排序后的数组中取出所有与当前距离相等的点;

将等于当前距离的所有点按照离已标记的区域的测地距离进行标记,按以下步骤完成:

① 若当前点与标记过的点的测地距离为无穷大,说明该点属于新的孤立区域,赋予一个新的标记值;

② 若距离出现多个最小值并最小值处属于多个标记块的时候,标记为分水岭;

③ 若距离最小值处只属于一个标记块的时候,将该点标记为该标记块。

2.4 过分割的处理

分水岭算法造成过分割的原因是灰度极值出现的波动。消除过分割可采用如下的基本原理。如果将图像 I 减去一幅度 h 得到图像 J ,即原图的每个点均在定义域范围减去幅度 h ,然后用 J 代替 I 进行灰度重建,得到的图像可以保持图像 I 原有的形态,而消除幅度小于 h 的微小差异^[5],经过灰度变化后的图像就能避免分水岭出现过分割,其快速算法可以通过结合序列(Sequence)算法和队列(Queue)的算法来实现^[6,7],图 2 中演示了 1 维曲线经过灰度重建后的效果,可以看出,通过灰度重建后,就可以消除微小波动,并且保留了原有的形态。

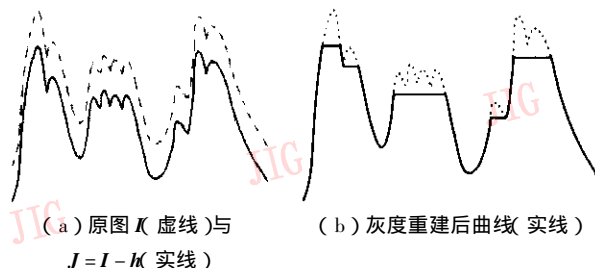


图 2 灰度重建效果示意图

Fig. 2 Effect illustration of gray-reconstruction

3 实际图像处理

图版 I 图 2(a)是来自临床的一幅典型的胸水

淋巴瘤图像 细胞核以及细胞浆经过染色后呈蓝色,背景中有呈红色的红细胞以及其他背景色。图像处理的目的是要自动分割提取呈蓝色的细胞并将重叠粘连的细胞自动分割,为细胞记数和计算细胞形态参数做准备。

由于图像中的干扰主要是未染色的血红细胞,这类细胞呈红色,因此在图像灰度化处理时需要消除红色干扰色。

采用直方图最大类间方差法将灰度图像按灰度分成 3 类,由于分析的目标是单个细胞,因此把细胞浆与细胞核合为一类,再对图像进行二值化处理,结果如图版 I 图 2(b)所示。

对得到的二值图像进行距离变换,并直接对图像进行分水岭分割,得到图版 I 图 2(c)所示的图像。

从图版 I 图 2(c)的分割结果看,分割效果并不理想,有不少单个细胞被分割成两个甚至 3 个细胞,这是典型的分水岭过分割现象,消除过分割现象大多是采用基于标记(Marker)的分水岭算法^[1,7],但标记提取并没有一种统一有效的方法,因此采用形态学快速灰度重建来避免过分割现象的产生,实践证明这种方法效果比较显著。

灰度重建防止过分割的过程为:对于距离函数变化后的结果,每一个非 0 值均减去一个合适深度,这个值与距离函数的计算有关系。由于求取的是 5 倍欧氏距离,所以取深度值为 5,进行灰度重建后再进行分水岭分割,分割的结果如图版 I 图 2(d)所示。可以看到,原来过分割的细胞,现在得到了很好地解决。

用算法处理不同疾病、不同色彩背景的临床显微图像,也取得了很好的效果,图版 I 图 3 列出了另外 3 幅图像的处理结果。

为进行比较,用 C 均值聚类算法把上面的图像也进行了处理,处理结果如图版 I 图 4 所示。从对比结果来看,聚类算法在目标与背景有显著对比时,可以取得较好的结果,但对于背景与目标差别较小的情况,例如图版 I 图 4(b),则会遗漏很多目标细胞,而当对于背景中有明显干扰的图版 I 图 4(c),聚类算法虽然区别开了目标与背景属于不同类,但仍需要人工干预,且无法分割粘连在一起的细胞。另外,聚类算法的时间效率无法与本文提到的算法相比,处理同样大小的图像,在同样的 PC 上需要几分钟的时间。

4 结 论

对本文提出的重叠细胞分割算法,采用 C++ 实

现,对显微镜采集的 768×576 大小的不同类别图像进行分割实验,结果如下:

(1) 准确度高 对于大多数粘连的细胞分割结果与视觉鉴别结果基本一致。

(2) 稳定性强 对单张图像进行多次分割实验,改变部分参数,分割结果稳定,基本没有明显的变化。

(3) 效率高 由于整个算法流程中,均采用效率非常高的距离变换算法、分水岭算法和灰度重建算法,因此在 AMD1600 + CPU 上运行,处理一幅 762×576 所需要的时间少于 2s,满足临床实际应用要求。

实际应用过程中,由于切片制作等原因造成的细胞自身粘连过份严重,以及成像质量不好诸如光照明显不均匀而造成二值化图像不够准确,都会对算法分割的准确度造成负面影响,故此算法还有待进一步改进。

参考文献 (References)

- 1 Xie Feng-ying, Jiang Zhi-guo, Zhou Fu-gen. Immune cell image segmentation based on mathematical morphology [J]. Journal of Image and Graphics, 2002, 7(11): 1119 ~ 1121. [谢凤英,姜志国,周付根. 基于数学形态学的免疫细胞图像分割 [J]. 中国图象图形学报, 2002, 7(11): 1119 ~ 1121.]
- 2 Liu Sheng-hao, Zeng Li-bo, Liu Bin, et al. Separating algorithm for overlapping granule image [J]. Computer Engineering, 2002, 28(2): 198 ~ 199. [刘生浩,曾立波,刘斌等. 重叠颗粒图象的分离 [J]. 计算机工程, 2002, 28(2): 198 ~ 199.]
- 3 Vincent L. Lecture notes on granulometries, segmentation and morphological algorithms [A]. In: Proceedings of the Summer School on Morphological Image and Signal Processing [C], Zakopane, Poland, 1995: 119 ~ 216.
- 4 Cui Qi. Image Process and Analysis-mathematical Morphological Methods and its Applications [M]. Beijing: Science Press, 2000: 139 ~ 145. [崔屹著. 图象处理与分析——数学形态学方法及应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 139 ~ 145.]
- 5 Vincent L, Soille P. Watershed in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations [J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1990, 13(6): 583 ~ 598.
- 6 Vincent L. Morphological grayscale reconstruction in image analysis: applications and efficient algorithms [J]. IEEE Transactions on Image Processing, 1993, 2(2): 176 ~ 201.
- 7 Sonka M, Hlavac V, Boyle R. Image Processing: Analysis, and Machine Vision (second edition) [M]. Beijing: Posts and Telecommunications Press, 2003: 18 ~ 19, 407 ~ 409. [Sonka M, Hlavac V, Boyle R 著. 图象处理、分析与机器视觉(第二版) [M]. 艾海舟等译, 北京: 人民邮电出版社, 2003: 18 ~ 19, 407 ~ 409]

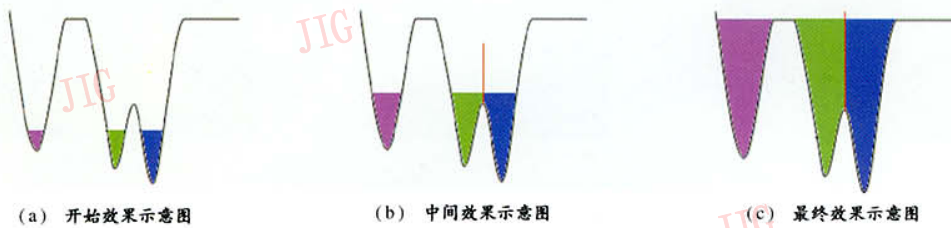


图1 分水岭标记过程

Fig.1 The procedure of watershed segmentation

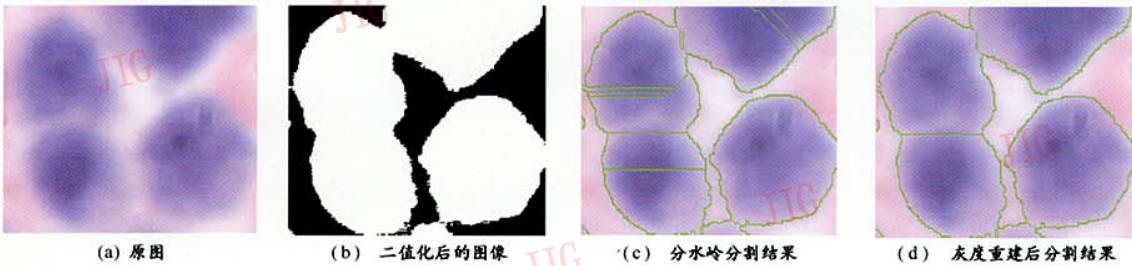


图2 分水岭图像分割结果

Fig.2 The result of watershed segmentation

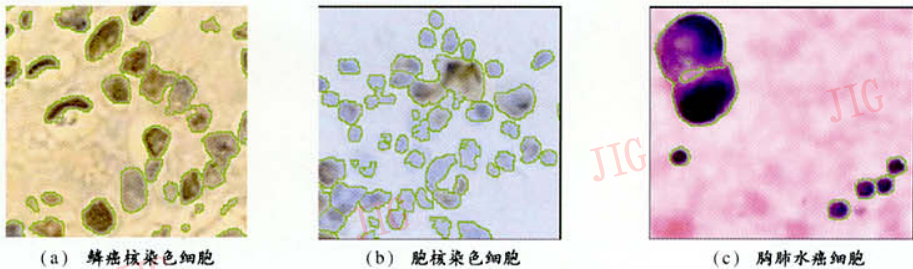


图3 不同类型细胞图像分割结果

Fig.3 Segment result of various kinds of cell image

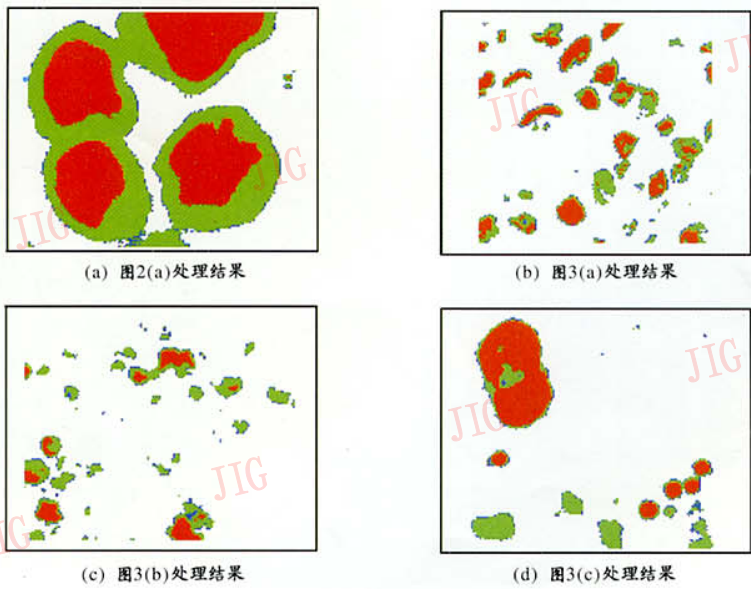


图4 用C 均值聚类算法对不同图像的处理结果

Fig.4 Analysis rersults of various images with C-mean clustering algorithm