

光谱比值在细胞多光谱图像分割中的应用

张燕 曾立波 吴琼水 谢文娟

(武汉大学电子信息学院, 武汉 430079)

摘要 为了对细胞多光谱图像进行快速、准确的分割,首先探讨了光谱比值在细胞多光谱显微图像分割中的应用,然后提出了利用多光谱图像的光谱信息,并结合传统分割方法的一种新的细胞自动分割方法。该方法首先通过从扣除背底后的多光谱图像中选择两个波段图像进行光谱比值操作来生成一幅比率图像,然后对该图像进行自动多阈值分割、二值形态学操作,最终获得了细胞的胞浆和胞核覆盖层。该方法首次将光谱比值技术应用到细胞多光谱显微图像分割中,对骨髓细胞图像的自动分割实验表明,该方法具有分割准确、分割速度快、受外界干扰少的特点,该方法也可以推广到其他多光谱显微图像的分割中。

关键词 图像分割 多光谱 光谱比值 骨髓细胞

中图分类号: TP391.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-8961(2005)03-0286-04

The Implement of Spectrum Ratio in the Segmentation of Cell Multi-spectral Micrograms

ZHANG Yan, ZENG Li-bo, WU Qiong-shui, XIE Wen-juan

(School of Electronic Information, Wuhan University, Wuhan 430079)

Abstract In this paper, the application of spectrum ratio to the segmentation of cell multi-spectral micrograms is discussed and a new cell segmentation method is presented which combines spectrum information of multi-spectral images with traditional segmentation methods. Firstly, background is removed from the multi-spectral images. Secondly, two selected bandwidth images are divided to make a new ratio grey image. Thirdly, the new grey image is segmented with automatic multi-threshold methods. Finally, the segmented regions are smoothed by morphological operations and the overlays of the plasm and the nucleus are obtained. In this paper, spectrum ratio technique is firstly introduced into the segmentation of cell multi-spectral micrograms. The experiments with a diagnosis system on marrow cell images prove that this approach for segmenting cell images is rather accurate, fast, and robust to noise, and this method can be extended to the segmentation of other types of multi-spectral micrograms.

Keywords image segmentation, multi-spectral, spectrum ratio, marrow cell

1 引言

长期以来,人们一直在努力寻找有效的图像分割方法,但图像分割是图像处理中的重要问题,同时也是一个学术难题。细胞图像的分割是细胞自动识别的第1步和关键性问题,因为其分割质量(即与细胞的吻合程度)将直接影响到特征参数抽取的准确性和分类系统的最终识别率。如今对自动分割血

液细胞的方法已开展了不少研究^[1],其中对细胞核区和背底的分割多采用从原始直方图中直接找谷底、全局取阈值等方法,但它们都存在着自适应能力差的特点,其原因是,①由于随机噪声的干扰,并不是所有谷底都是最佳阈值;②因血液细胞图像直方图具有多峰性,故任何一种全局阈值法都无法对其进行准确分割^[2]。

笔者将成像光谱技术^[3]应用到细胞显微图像的自动分割与识别研究中,由于该技术在获得细胞形态

基金项目: 国家科技部“十五”攻关项目(2001BA210A02)

收稿日期: 2004-03-16; **改回日期:** 2004-09-08

第一作者简介: 张燕(1980~),女,2002年获武汉大学测控技术与仪器专业工学学士学位,现为武汉大学测试计量技术与仪器专业硕士研究生,并在武汉大学电信学院科学仪器工程技术中心从事软件开发研究工作。主要研究方向为模式识别、数字信号处理和图像处理。E-mail: yaner_98@163.com

的同时又能获得细胞的光谱图,因此能够将细胞的形态和成分信息结合起来进行分析。武汉大学科学仪器工程技术和武汉大学医学院联合研制了骨髓(血)细胞诊断系统,该系统首次将多光谱技术应用到显微图像中,它不仅能判断骨髓(血)细胞彩色显微图像中是否存在异常细胞,进而可用于疾病的诊断。为了解本文算法效果,笔者首先利用该系统采集了30幅多光谱细胞显微图像,然后利用多光谱图像的光谱信息,并结合传统的细胞分割方法,很好地实现了骨髓细胞多光谱显微图像的自动分割。

试验用的涂片均采用瑞氏染色法进行染色处理,图像均利用武汉大学科学仪器工程技术和中心研制的多光谱显微图像分析系统采集。该系统采用日本 Olympus BX41 显微镜,美国 Pixera 摄像机,试验在 100 倍物镜下,400 ~ 700nm 波长范围内,采用 LCTF 滤光^[3],每 10nm 采集一幅图像,共采集了 30 幅多光谱图像,加上彩色合成的 R、G、B 3 幅图像,一共是 33 幅图像。

2 骨髓细胞多光谱图像的分割

2.1 光谱比值原理

对于采集的 30 幅多光谱图像,虽可以采用任意一个波段的图像进行分割,但是由于不同类型骨髓细胞有的颜色差别较小,而且染色深浅也很难完全一致,因此单纯利用某一个波段的颜色差别很难准确地区分出细胞核、细胞浆和背底。为此,笔者分析了细胞图像在 33 个波段下的光谱特性,试图从中找出不同类别物质的光谱特性差别,再利用这些差别来对图像进行分割。

图版 I 图 1 是一幅典型的骨髓细胞多光谱图像的一个部分,它是由 33 幅多光谱图像合成的一幅彩色图像,图 1 是图版 I 图 1 中背底、成熟的红细胞、细胞浆和细胞核的光谱曲线。图 1 的横坐标是波长,纵坐标是灰度。图 1 中的每个点代表图版 I 图 1 的每个波段单色图像各物质的平均灰度,于是对应每种物质,就有 33 个不同波段的灰度值。从图 1 的光谱曲线可以看出,细胞核、细胞浆和背底具有不同的光谱特性,即背底的光谱曲线比较平缓,而成熟的红细胞、细胞浆和细胞核的光谱曲线则有明显的谷底,但它们的光谱曲线均存在一些差异。

然而,由于任意一个波段,各类物质的灰度值差异并不是很大,特别是晚幼红细胞的细胞浆和成熟

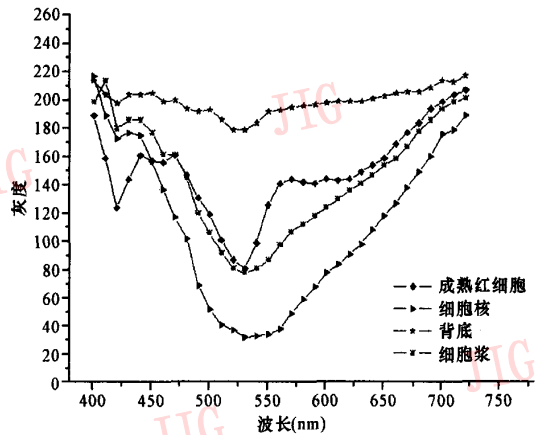


图 1 光谱曲线

Fig. 1 Spectrum curve

红细胞的差别非常微小,而且由于骨髓细胞的各类细胞之间也存在一些差异,这就导致光谱曲线的一致性并不是很好,其反映在光谱曲线图上就会出现不同种类物质的光谱曲线的交叉和重叠,因此,单纯采用某个波段下的单色图像进行分割,并不能取得良好的效果。笔者经过研究各类物质的光谱曲线后发现,由于采用光谱比值能够加大各类物质的光谱差异,从而可便于其后的分割。

光谱比值是进行多光谱分析的一个传统方法^[4]。光谱比值的原理就是用某个波长较长波段的图像 M_1 除以某个波长较短波段的图像 M_2 ,然后乘以一个比例因子 f 来生成一幅新的图像 M_3 ,使得在图像 M_3 中,待分割的几类目标的灰度值差异较原图像有很大的提高,以便进一步分割。其用公式表达如下:

$$M_3 = f \cdot (M_1/M_2) \quad (1)$$

根据笔者的实验经验,文中将比例因子 f 设为 128 较为适宜。

获取光谱比值的具体方法是,首先选择两个波段,然后对每个波段图像像素,利用公式(1)对这两个波段图像的灰度进行运算来生成一幅新的单色图像,再利用这个单色图像进行自动阈值分割,本文采用的是最大方差阈值法^[5]进行分割,取得了良好的效果。为了使分割效果更好,笔者采用每两类物质分别进行分割的逐级分割方法。

例如,从图 1 中可见,在 560nm 处,成熟红细胞、细胞浆、细胞核的灰度值分别约为 140、100、40;而在 420nm 处,成熟红细胞、细胞浆、细胞核的灰度值分别约为 125、180、175。如果用 560nm 波段的图像除以

420nm 波段的图像来生成一幅比率图像,则成熟红细胞、细胞浆、细胞核在比率图像中的灰度值分别约为 1.12、0.56、0.23。由此可以看出,成熟红细胞、细胞浆、细胞核在生成的比率图像中的灰度值差别很大,由于用最大类间方差法就可以很好的将它们分开,因此,笔者采用谱比值的方法来加大各类物质之间的灰度差异,以便很好地将各类物质分开。另外,由于比值得到的是相对值,因此就大大减小了染色深浅以及感光单元灵敏度对图像分割结果的影响。

2.2 波段的选取

采用光谱比值的目的是要使得在生成的新图像中,各类别的类内距离减小,类间距离增大,而评价新图像是否最有利于分割的一个重要标准就是各类间的距离。根据这个原理,笔者采用类内类间距离作为可分离性判据^[6]来从 33 个波段中挑选出最适合于将各类别分开的两个波段。寻找这两个波段的方法是首先将 33 个波段两两组合为一组,然后采用穷举法^[6]遍历所有可能的波段组,并对应不同的波段组,先通过分别求出两种物质对应的灰度比值来构成特征空间,然后求出这两类物质的可分性判据(笔者采用的是类内类间距离),并据其比较分类时的错误率,错误率最小的一组即为所求的两个波段。穷举法是一种最优搜索算法,因为其可以保证所得的结果是最优的。由于本文系统中仅采集了 33 个波段的图像,因此穷举法的计算量并不大,而且最佳波段只需一次选取即可,所以使用穷举法是完全可行的。

2.3 分割算法的实现

细胞分割的流程如图 2 所示,详细实现步骤如下:

(1) 由于本系统在采集多光谱图像时,已经对背底进行了校正,使得背底在所有波段下的灰度值都趋于一致,即基本上都趋于 190,而且背底的灰度值与其他细胞的差别很大。这样,就可以在某个能使背底与其他细胞灰度差别最大的波段下,直接采用固定阈值法将图像分割为背底和非背底。从图 1 中可以看出,由于在 580nm 处,背底与其他细胞的灰度差别最大,因此笔者在 580nm 波段的图像中取固定阈值为 190,用于去除图像的背影。

(2) 选择最能将成熟红细胞和其他骨髓细胞分开的两个最佳波段,首先生成一幅比率图像,然后在比率图像中采用最大类间方差法将成熟红细胞从图像中去除。这样删除了背底区域和成熟红细胞区域

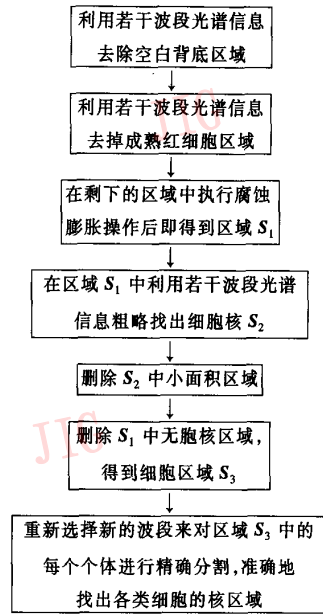


图 2 多光谱图像分割流程图

Fig. 2 Flow chart of multi-spectrum image segmentation

后就可以得到有待识别的骨髓细胞区域。

(3) 执行腐蚀、膨胀等二值形态学^[7]操作,通过去除一些小的颗粒来得到粗略包含胞浆和胞核的区域 S_1 。

(4) 选择两个波段图像,首先进行比值操作,然后对得到的比率图像,在 S_1 所标记的区域,利用最大方差阈值法找到一个全局的阈值,即可以把胞浆和胞核分开,也就得到粗略包含胞核的区域 S_2 ,这样分割的效果虽比较粗略,但速度很快。

(5) 删除粗略的胞核区域 S_2 中的小面积区域,并将删除的部分用胞浆标记填充,然后再删除没有与胞核相连的区域,即得到胞浆和胞核区域 S_3 ,而 S_3 就是一个一个的细胞了。

(6) 由于前面的分割是一个粗略的分割,因此,应再选若干个波段,并以每个细胞作为分割单位,再利用波段光谱信息对它进行精确分割来准确地分割出每个细胞的胞核和胞浆。

具体的分割过程可以从图版 I 图 2(a) 至图 2(d) 中看出。图版 I 图 2(a) 是一幅骨髓细胞多光谱图像,图版 I 图 2(b) 是经过上述分割第 3 步后得到的覆盖层图像,图中红色区域为粗略包含胞浆和胞核的区域 S_1 。图版 I 图 2(c) 是经过第 4 步后得到的覆盖层图像,图中黄色区域为粗略包含胞核的区域 S_2 。图版 I 图 2(d) 是经过第 5 步后得到的覆盖层图像,图中红色和黄色区域为细胞

区域(包括胞浆和胞核) S_3 。

3 试验与分析

图版 I 图 3 和图版 I 图 4 是两幅多光谱图像的分割结果。图版 I 图 3(a)中有一个晚幼红细胞,图版 I 图 4(a)中右上方为一淋巴细胞,下方为一中性分叶核细胞。图版 I 图 3(b)和图版 I 图 4(b)分别是运用本文所述方法对图版 I 图 3(a)和图版 I 图 4(a)进行自动分割后的图像。图版 I 图 3(c)和图版 I 图 4(c)分别是对图版 I 图 3(a)和图版 I 图 4(a)利用固定阈值去除背底后,采用类间方差阈值法分割后的图像。在图版 I 图 3(a)中,由于晚幼红细胞胞浆的颜色与成熟红细胞的顏色很接近,因此很容易被误认为是成熟红细胞,然而利用光谱比值后,分割后的图像(图版 I 图 3(b))就完全消除了成熟红细胞对胞浆的影响;而图版 I 图 3(c)中,就有部分成熟红细胞被误分为胞浆。图版 I 图 4(a)的中性分叶核细胞的胞浆中有大量小颗粒,且其颜色与胞核接近,而分割后的图像(图版 I 图 4(b))中,中性分叶核细胞的胞核与胞浆则分割清晰;而图版 I 图 4(c)中,其中性分叶核细胞的胞浆区域中就误分了部分胞核。图版 I 图 4(a)中,由于淋巴细胞的核浆比很大,且浆的颜色与核非常接近,因此采用一般的分割方法,其分割效果很差,然而采用本文的方法分割后的图像图版 I 图 4(b)中胞核与胞浆则分割清晰。

本系统已在 Windows 2000 环境下,用 VC++ 编程语言实现,笔者用本文方法对采集的 500 多幅骨髓细胞多光谱图像进行了分割试验,由分割结果发现(通过目测分割的效果来评判分割的准确率),对于胞核的分割,除了酸性粒细胞和碱性粒细胞的分割准确率在 86% 左右以外,其他各类细胞胞核的分割准确率均达 96%;对于胞浆的分割,除了晚幼红细胞的分割准确率在 85% 左右以外(因其胞浆的光谱特性与成熟红细胞的光谱特性非常接近),其他各类细胞胞浆的分割准确率均达 93%。分割的准确性结果表明,利用本方法实现骨髓细胞自动分割是成功的。

和传统的血细胞分割方法相比,本文所述分割方法具有分割精度高、处理速度快(在 PIV 1.7G,内存 256M 的机子上进行自动图像分割,对于大小为 1024×1024 的图像平均处理时间小于 1s)、受外界

干扰少(新产生的图像是建立在两幅图像取对数相比的基础上)和对所有骨髓(血)细胞都能进行良好分割的特点。

4 结 论

本文探讨了光谱比值技术在细胞多光谱显微图像分割中的应用,并以此提出了一种基于光谱比值的骨髓细胞多光谱显微图像自动分割方法。试验证明,此方法具有分割准确、速度快、受细胞种类和噪声影响小的特点。该方法也可用于其他多光谱图像的分割,笔者将该方法成功地应用于宫颈细胞多光谱显微图像的分割中,试验证明其分割效果良好。该骨髓(血)细胞诊断系统已于 2003 年 12 月顺利通过了国家“十五”攻关课题验收。实验证明,光谱比值技术不但可以成功地应用于遥感领域,也可以很好地在医学细胞图像领域发挥作用。

参考文献 (References)

- 1 Zhang Yong, Sun Yanhua, Yu Lie. Sequential segmentation of leukocyte image with color parameters[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University, 1998, 32(8): 52 ~ 56. [张勇,孙岩桦,虞烈.一种有效的白细胞图像彩色空间序贯分割方法[J].西安交通大学学报, 1998, 32(8): 52 ~ 56.]
- 2 Wang Haojun, Zheng Chongxun, Yan Xiangguo. Study on image segmentation for blood cells based on an adaptive and multi-scale thresholding approach [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University, 2001, 35(4): 390 ~ 397. [王浩军,郑崇勋,闫相国.基于自适应多尺度的血液细胞图像阈值分割方法研究[J].西安交通大学学报, 2001, 35(4): 390 ~ 397.]
- 3 Gat Nahum. Imaging spectroscopy using tunable filters: A review [J]. Proceedings of SPIE on Wavelet Applications VII, 2000, 4056: 50 ~ 64.
- 4 Castleman Kenneth R. Digital image processing [M]. New York: Prentice Hall, 2001. [[美]Castleman Kenneth R 著,朱志刚等译.数字图像处理 [M].北京:电子工业出版社, 2002, 2: 456.]
- 5 Ostu N. A threshold selection method from gray-level histogram [J]. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, 1979, SMC-9(1): 62 ~ 66.
- 6 Bian Zhaoqi, Zhang Xuegong, et al. Pattern recognition [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2002: 178 ~ 189. [边肇祺,张学工,等.模式识别 [M].北京:清华大学出版社, 2002: 178 ~ 189.]
- 7 Cui Yi. Image processing and analysis —— Mathematical Morphology Methods and applications [M]. Beijing: Science Press, 2000: 15 ~ 28. [崔屹.图像处理与分析——数学形态学方法及应用 [M].北京:科学出版社, 2000: 15 ~ 28.]

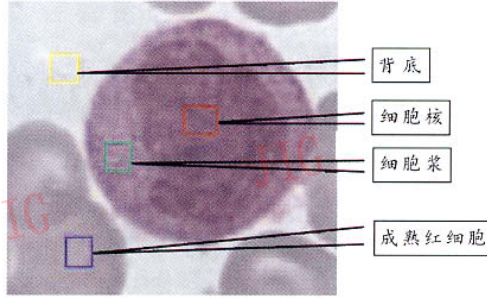


图1 骨髓图像

Fig.1 Marrow cell image

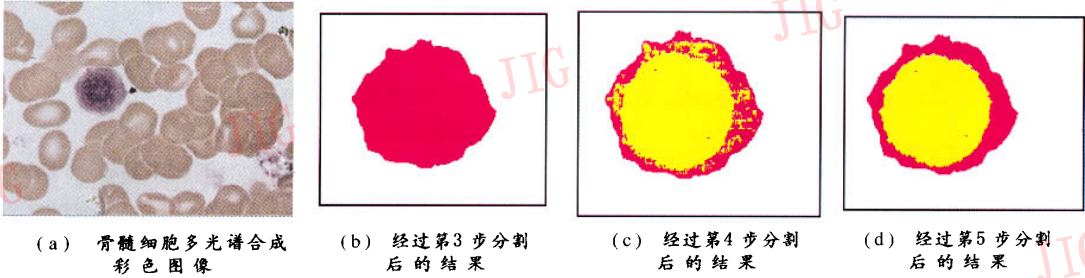


图2 骨髓细胞多光谱图像本文方法的分割示意图

Fig.2 Segmentation sketch map for marrow cell multi-spectrum image by textual method

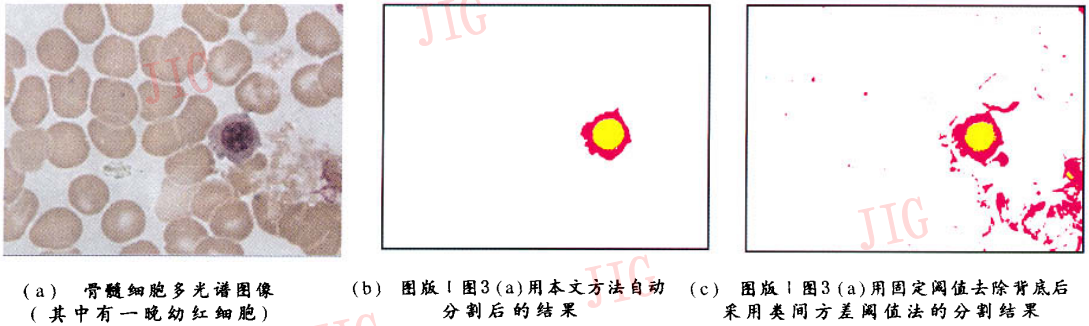


图3 晚幼红细胞不同方法的分割对比

Fig.3 Contrast of different segmentation method for metarubricyte

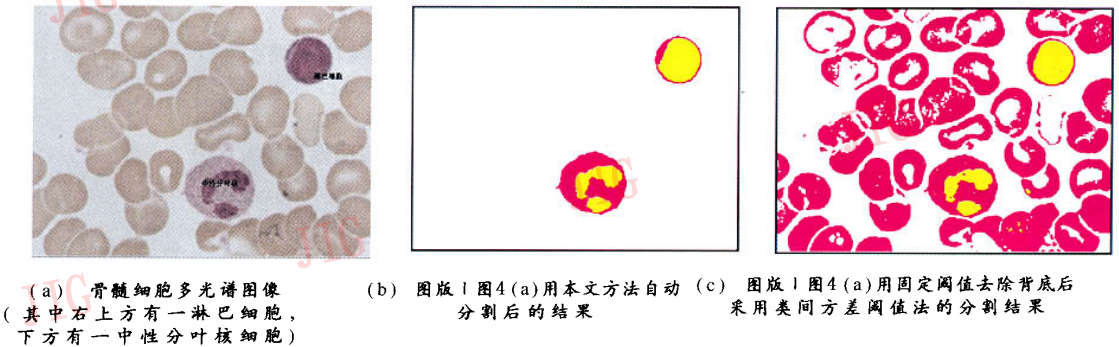


图4 淋巴细胞和中性分叶核细胞不同方法的分割对比

Fig.4 Contrast of different segmentation method for lymphocyte and neutrophilic segmented granulocyte