

斑马鱼视网膜细胞图像的分割研究

杜培明, 汪宁宁, 史晓丽

(安徽工业大学 电气信息学院, 安徽 马鞍山 243000)

摘要: 针对斑马鱼视网膜细胞图像分割时细胞粘连比较严重的情况, 采用了边界距离变换和模拟浸水原理的分水岭变换相结合的方法。首先采用距离变换的方法提取细胞区域的局部极小值作为种子点, 合并距离过小的错误种子点, 然后使用分水岭算法进行分割。实验结果表明, 该方法能够有效地分割斑马鱼视网膜细胞图像, 成功地解决了分水岭变换中粘连细胞的过分割问题, 且计算速度快。

关键词: 粘连细胞; 距离变换; 分水岭变换

中图分类号: TP317.4

文献标识码: A

文章编号: 1674-7720(2012)04-0034-03

Image segmentation of zebra fish retinal cells

Du Peiming, Wang Ningning, Shi Xiaoli

(School of Engineering & Information, Anhui University of Technology, Maanshan 243000, China)

Abstract: For image segmentation cases of zebra fish retinal cells in serious overlapped, the paper uses the boundary distance transform and the principle of immersion simulation method of combining watershed transform. The basic principle is extracting the local minimum values of cells as a regional seeds point by using distance transformation. It deletes the error seed points which are too close, and then divided by the watershed algorithm. Experimental results show that the method can effectively split the image of zebra fish retinal cells. The method has successfully solved the over-segmentation problem of watershed transformation in cells adhesion, and the calculation is fast.

Key words: overlapping cells; distance transform; watershed transform

细胞计数是生物医学检查的一项重要内容, 生物体中的细胞有其生理功能, 在不同生理状态下, 可引起细胞数量和质量的改变。这种变化是判断有无疾病以及疾病种类和严重程度的重要依据。而在实际细胞图像中, 经常会出现多个细胞聚在一起的现象, 称为细胞粘连。在计数的过程中, 需要把这些粘连的区域分割成一个个独立的细胞。近年来, 针对分割粘连细胞的问题, 研究人员提出了很多分割方法^[1-2]。其中, 分水岭图像分割方法^[3]是一种基于数学形态学的经典算法, 它以快速、准确、有效等特点越来越受到人们的重视, 目前已广泛应用于图像分割领域。分水岭图像分割方法采用的原理主要有模拟浸水过程^[4]和模拟降水过程^[5]两种。使用分水岭算法对图像进行分割, 可以产生单像素宽的连续边界, 但是通常由于噪声等因素的影响, 使得直接使用分水岭算法对图像进行分割会产生过分割现象。为了避免或抑制过分割现象, 国内外的学者提出了很多方法, 总结起来有两种: 一种是在应用分水岭算法之前进行预处

理, 抑制噪声等的影响^[6]; 另一种是在分水岭分割后, 根据某种准则进行区域合并。

斑马鱼视网膜细胞图像的一个特点就是细胞粘连非常严重, 这给斑马鱼视网膜细胞图像的分割带来了很大的困难。本文在对斑马鱼视网膜细胞图像进行分割时, 针对粘连比较严重的情况, 先对图像进行预处理, 然后使用分水岭方法进行分割。

1 斑马鱼简介

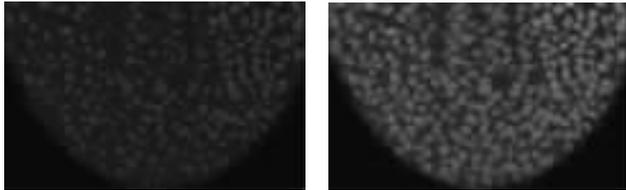
斑马鱼是一种体长 3~4 cm 的热带鱼, 因其色彩鲜明的斑纹得名。这种小鱼虽然十分常见, 却一直是科学家关注的焦点, 因为它具有自我修复破损视网膜的独特能力。对斑马鱼视网膜能够自我修复的能力进行研究, 其视网膜内的放射状胶质细胞能够分化成健康的视网膜细胞, 从而修复受损的视网膜。科学家发现, 人类的视网膜中也拥有类似于斑马鱼能够修复视网膜的细胞。研究人员在老鼠身上进行的移植实验已经成功。向患有视网膜疾病的老鼠体内移植放射状胶质细胞, 这些细胞

图形、图像与多媒体

Image Processing and Multimedia Technology

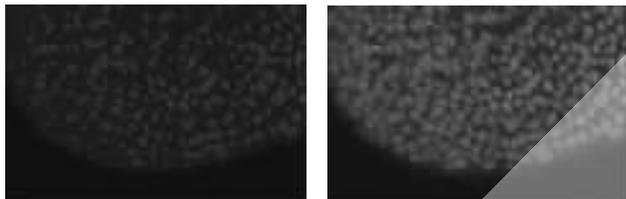
分化健康视网膜细胞,使视网膜功能恢复。如果这项技术能够应用于人类,将会使数以万计患有眼部疾病的患者重见光明。

彩色斑马鱼视网膜细胞图像如图 1(a)和图 2(a)所示,其灰度化图像分别如图 1(b)和图 2(b)所示。



(a) 彩色斑马鱼视网膜细胞图像 (b) 灰度化图像

图 1 斑马鱼视网膜细胞图像 1(299×184)



(a) 彩色斑马鱼视网膜图像 (b) 灰度化图像

图 2 斑马鱼视网膜细胞图像 2(288×186)

由图 1 和图 2 所示的斑马鱼视网膜细胞图像可以看出,图中有多处粘连的细胞区域,特别是图 2 中左下部分区域,有多处多个细胞粘连的现象。

2 距离变换

距离变换在分割一群相互粘连的近圆形物体的情况下比较有用。针对斑马鱼视网膜细胞图像中大块的粘连细胞,首先采用距离变换的方法,提取粘连细胞区域中各细胞近似中心点处的信息。

距离变换是将一幅表示目标的二值图像转化为一幅灰度图像,这幅灰度图像中某点的灰度值就是表示原始二值图像中相应坐标点关于最近目标的距离。常用的距离度量方法有欧氏距离、城市街区距离和棋盘距离。本文使用近似的欧氏距离,在保证运算结果不影响分割效果的前提下,无需浪费大量的时间和存储空间来计算精确的欧氏距离,因此采用 Chamfer 3/4 距离变换。

在进行距离变换之前,先对其灰度化图像进行二值化。要得到某一像素点的全局距离值,需要对图像进行前后两次扫描。前向扫描时,按从上到下、从左到右的顺序,取上邻域的最小值改变当前距离值;再反向扫描,按从下到上、从右到左的顺序,利用邻域值进行修正,修正后模板中心点的距离值即为该点的全局距离值。在对图像进行 Chamfer 3/4 距离变换后,灰度值为 0 的像素点变换前后距离值不变,而非 0 像素点距 0 值像素点的距离越远灰度值越大。

对距离变换后的图像进行取反运算,使背景距离值为最大。这样在细胞的近似中心点处出现了局部灰度极小值,且局部灰度极小值点到细胞边界各处的距离近似

相等,类似于圆的圆心。这些局部灰度极小值点对分割有很重要的作用,需要对其进行提取。

3 种子点获取及合并

在经过距离变换后的灰度图像中,目标区域已经出现了局部极小值点,对这些极小值点进行标记,这些标记的局部极小值点称为种子点。在斑马鱼视网膜细胞图像中,由于几个细胞互相粘连,会导致在一个细胞区域内部出现多个种子点,而每个种子点在分割时都代表一个细胞,这样一个细胞就会被分割成多个区域,从而导致过分割。为了正确地分割这些粘连的细胞,需要合并种子点,删除错误的不应出现的种子点。

本文根据种子点之间的距离值进行合并。计算两个种子点之间的距离,并统计最大和最小距离值,求出平均距离。根据平均距离,设阈值对种子点进行合并,删除距离过小的种子。根据计算的距離值获取种子点的具体方法如下。

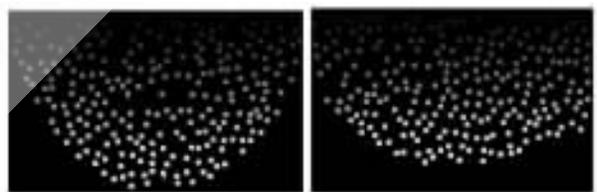
(1) 遍历距离图像,获取 5×5 邻域的极小值,并设 $bMin = true$;

(2) 获取极小值点的上邻域标记 $label$ 。判断扫描过的点是否有标记,如果标记过 ($label \neq 0$),赋为相同标记值;否则标记值+1,再赋为标记;

(3) 将其 5×5 邻域像素点都赋予该种子标记值作为种子区域,并统计种子中心点的位置;

(4) 删除两个距离过小的种子。设定阈值 $threshold$,计算任意两个种子中心点之间的距离 dis 。若 $dis \leq threshold$,则将前一个种子标记删除,后续各标记值都相应减 1。

图 1 和图 2 所示的两幅斑马鱼视网膜图像的种子图像如图 3 所示。种子点是按从小到大的顺序进行标记的,值为 $1, 2, 3, \dots$ 。



(a) 种子图像 1, $threshold=6$ (b) 种子图像 2, $threshold=6$

图 3 种子图像

4 分水岭变换

基于模拟浸水的分水岭变换过程中,水从盆地中慢慢上涨,当处在不同盆地中的水快要相交时,在相交处修建水坝(分水线)进行阻隔,最后得到一个个水坝和被淹没的各个盆地,从而达到分割的目的。在对斑马鱼视网膜细胞图像经过以上预处理的基础上,对得到的种子图像使用分水岭方法进行分割,具体算法如下:

(1) 统计直方图,获取初始水位 $minVal$,水位上升 $Val++$;

(2) 扫描图像,获取图像中未被标记且小于水位的像素点;

(3) 判断种子附近点像素,若附近有单一的种子点,

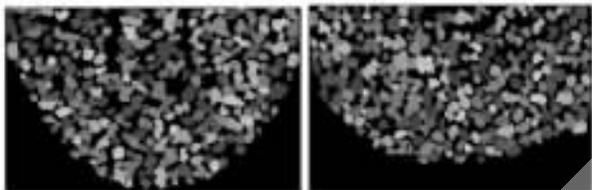
《微型机与应用》2012 年 第 31 卷 第 4 期

图形、图像与多媒体

则置为标记;若有多个种子点(有标记但和当前标记值不同),则置为分水岭, $bEdge=true$, 并设 $bover==false$;

(4)若 $bover==false$, 转到步骤(2)重复生长, 直至水位不再上升为止 $bover==true$ 。

以上所论述方法已通过 Visual Studio 2008 编程实现。对图 3 所示的两幅斑马鱼种子图像使用分水岭变换, 得到的分割结果如图 4 所示, 分割出的每个区域都用不同的颜色表示以示区分。从两幅结果图可以看出, 在有多细胞粘连的区域处用深色分水线分割开了, 分水线两侧的区域分属于两个不同的细胞。



(a) 分割结果 1

(b) 分割结果 2

图 4 分水岭分割结果

表 1 为对两幅斑马鱼视网膜细胞图像的分割结果进行统计的结果。根据数据可以看出, 两幅图像的分割区域个数与人工观察得到的个数误差分别为 -3.79% 和 -5.24% , 只有很少一部分粘连在一起的细胞未被分开, 还有极小的部分存在过分割现象。经过分析发现, 存在误差的原因有: 由于图像中有些细胞边界比较模糊, 图像中有非细胞物质的存在, 容易判读成细胞; 有极少数细胞粘连特别严重, 没有被分开。误差在允许的范围之内, 可以被忽略。

表 1 分割结果统计表

图像索引	人工观察	分割区域数	未分割	过分割	错误率/%
1	264	254	-15	+5	-3.79
2	267	253	-18	+4	-5.24

通过对斑马鱼视网膜细胞图像的分割研究发现, 在

处理轮廓模糊、边界不清的粘连细胞图像时, 使用距离变换的方法可获取区域局部极小值, 分离出粘连在一起的区域; 再合并相近的种子点, 可以减少过分割现象; 最后使用分水岭分割算法, 较好地解决了粘连细胞区域的分割问题。实验证明, 本文提出的方法能有效地分割斑马鱼视网膜细胞图像, 但仍存在一定的欠分割现象。

参考文献

- [1] 潘晨, 闫相国, 郑崇勋. 一种分割重叠粘连细胞图像的改进算法[J]. 中国生物医学工程学报, 2006, 25(4):390-395.
- [2] 林小竹, 王彦敏, 杜天苍. 基于分水岭变换的目标图像的分割与计数方法[J]. 计算机工程, 2006, 32(15):181-183.
- [3] GONZALEZ R C, WOODS R E. Digital image processing (2nd Ed.)[M]. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2007.
- [4] VINCENG L, SOILLE P. Watershed in digital spaces: an efficient algorithm based immersion simulations[J]. IEEE Transactions on PAMI, 1991, 13(6):538-598.
- [5] 袁晓辉, 许东, 夏良正, 等. 基于形态学滤波和分水线算法的目标图像分割[J]. 数据采集与处理, 2003, 18(4):455-459.
- [6] 王宇, 陈殿仁, 沈美丽, 等. 基于形态学梯度重构和标记提取的分水岭图像分割[J]. 中国图象图形学报, 2008, 13(11):2176-2180.

(收稿日期: 2011-11-22)

作者简介:

杜培明, 男, 1964 年生, 硕士, 副教授, 主要研究方向: 图像处理, 计算机视觉。

汪宁宁, 女, 1987 年生, 硕士研究生, 主要研究方向: 图像处理。

史晓丽, 女, 1987 年生, 硕士研究生, 主要研究方向: 图像处理。