

DOI:10.13718/j.cnki.xsxh.2018.04.009

基于曲率和活动轮廓模型的重叠细胞分割算法^①

杨秀杰¹, 李法平²

1. 重庆电子工程职业学院 计算机学院, 重庆 401331;

2. 重庆电子工程职业学院 软件学院, 重庆 401331

摘要: 提出了一种基于曲率和活动轮廓模型的重叠细胞分割算法, 用于解决重叠细胞显微图像边界难以自动分离的问题. 该算法使用 Otsu 算法和形态学滤波得到重叠细胞整体轮廓, 并根据其曲率信息来定位细胞边界接触点, 再采用活动轮廓模型分割得到重叠区域轮廓, 最后结合边界接触点信息将其与整体轮廓拼接得到单个细胞轮廓. 实验结果表明, 算法实现了重叠细胞的分割, 分割得到的细胞完整度高, 且算法具有一定的鲁棒性, 表明该算法用于重叠细胞的分割是可行、有效的.

关键词: 重叠细胞分割; 曲率; 活动轮廓模型; Otsu 算法

中图分类号: TP391

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2018)04-0041-07

基于细胞学涂片的检查技术, 是目前医学上普遍采用的筛查技术, 它可以有效地发现癌症前病变和早期迹象, 同时, 该技术也是细胞胚胎学、病理学的重要辅助研究手段. 然而, 基于人工识别的传统细胞学筛查方式存在工作量大、成本高、可靠性与准确性受到医师专业技术和个人因素的影响等问题, 因此基于计算机和图像处理技术的细胞显微图像自动识别技术具有较大的应用价值^[1-2].

重叠细胞分割在整个系统中起着基础性作用, 已有学者做了大量研究工作. 文献[3]给出了一种基于改进模糊形态学的方法实现图像分割的算法, 但是算法速度慢, 对于重叠细胞分割效果不明显. 文献[4]结合 K 均值聚类和分水岭变换, 将其拓展到彩色细胞图像分割中, 但在聚类时需要一定的先验信息, 其聚类效果直接影响到分割结果的稳定性. 文献[5]使用交替结构元素对重叠细胞进行腐蚀, 避免过度分割和失真现象, 提出了一种改进的重叠细胞图像分割方法, 但其受重叠细胞外形影响较大, 仅限于重叠红细胞分割, 即细胞形状与圆形较为接近时分割效果较好. 文献[6]提出了一种基于变分水平集的细胞分割方法, 实现了细胞质的快速分割, 但其只对显微注射过程中的单细胞进行分割, 对于重叠细胞分割仍存在着一定的问题. 文献[7]采用改进的分水岭算法对重叠细胞进行分割, 能够实现重叠细胞分割, 但当细胞自身粘连严重时, 其分割效果一般, 很难将细胞完整地分离开来. 文献[8]提出了一种利用模糊相异性函数实现邻域特征的彩色图像分割算法, 但该方法对重叠细胞分割效果一般.

综上所述, 当细胞高重叠以及细胞外形非规则时如何将细胞完整地提取出来是一个难点, 本文在研究已有方法的基础上, 提出了一种基于曲率和活动轮廓模型的重叠细胞分割算法用于解决该问题. 文中先使用 Otsu 算法得到重叠细胞的整体轮廓, 并采用形态学滤波去除背景带来的影响; 然后, 根据提取得到的重叠细胞整体轮廓曲率的极值来确定细胞的边界接触点, 并采用活动轮廓模型分割得到重叠区域轮廓; 再根据边界接触点信息, 将重叠区域轮廓与整体轮廓拼接得到单个细胞轮廓. 最后, 通过对比

① 收稿日期: 2017-11-09

基金项目: 重庆市教委项目(KJ1729408); 重庆市教委教改重点项目(162071)

作者简介: 杨秀杰(1979-), 女, 四川广安人, 硕士, 副教授, 主要从事数字媒体应用技术、虚拟现实(VR)等方面的研究.

实验,验证算法的有效性.

1 基于曲率和活动轮廓模型的重叠细胞分割算法

1.1 重叠细胞整体分割和曲率计算

为分割得到单个细胞轮廓,本文先分割得到重叠细胞整体轮廓,它由单个细胞轮廓叠加而成.由于重叠细胞显微图像的背景和前景灰度值存在着一定的差异,在灰度直方图中存在着 2 个波峰,具体如图 1 所示(宫颈细胞显微图像)^[9-10]:

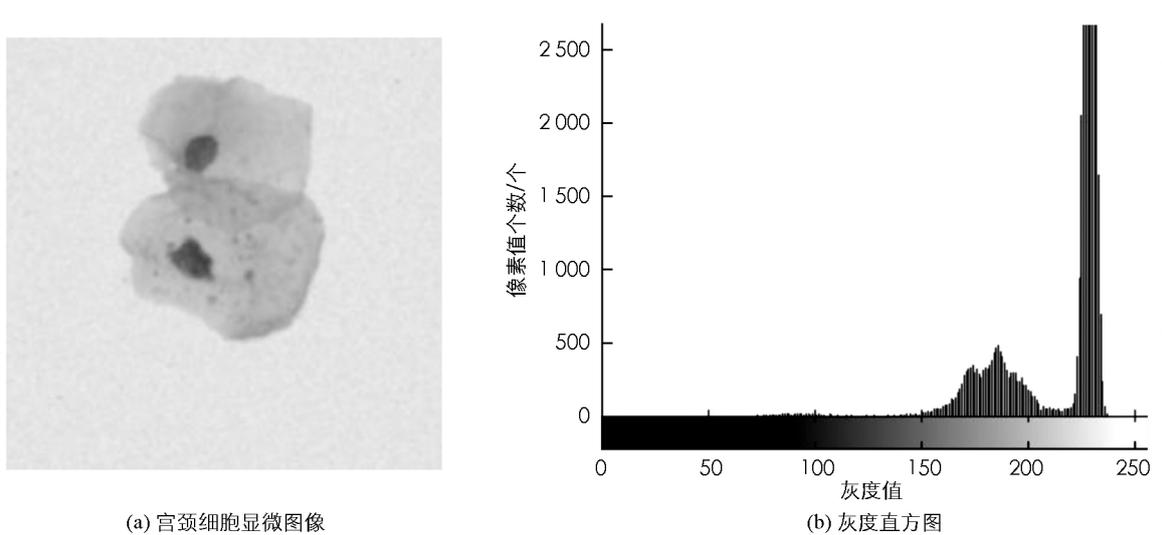


图 1 宫颈细胞显微图像及其灰度直方图

本文在分割得到重叠细胞整体轮廓时采用 Otsu 算法确定最佳阈值,使得 σ^2 值最大时的 k 值即为所求的最佳阈值 T , $k = \arg \max_{0 < t < L-1} (\sigma^2)$, 其中 L 为图像灰度级. Otsu 算法主要使类间方差 (σ^2) 最大化,即找到图 1(b) 中的波谷位置,实现图像的分割,具体计算公式为

$$\sigma^2 = \omega_0 (u_0 - u)^2 + \omega_1 (u_1 - u)^2 \quad (1)$$

其中, ω_0 为目标像素所占的比例, μ_0 为目标像素的灰度均值, ω_1 为背景像素所占的比例, μ_1 为背景像素的灰度均值, μ 为整个图像的灰度均值. 通过计算得到的二值化后图像如图 2(a) 所示.

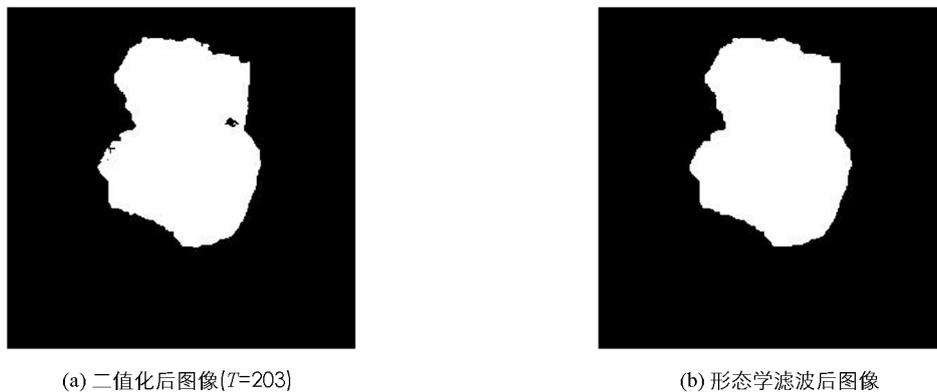


图 2 处理后的宫颈细胞显微图像

从图 2(a) 可知,经过二值化后,图像中存在着一定的空洞,图像边缘也存在着不同程度的毛刺,这主要是成像时光照等因素导致的. 本文采用形态学滤波,模板使用半径为 3 mm 的圆形,滤波后结果如图 2(b) 所示. 经形态学滤波后,基本去除光照等带来的影响,在一定程度上增强了本文算法的鲁棒性. 为定位细胞边界接触点的位置,计算轮廓曲线(如图 3 所示)的曲率,即找到弯曲度最大且方向为向内(取值为负

值) 的点.

设轮廓曲线 C , 长度为 L , 某一点 $C(p)$ 在平面坐标下的表示为

$$C(p) = (x(p), y(p)) \quad 1 \leq p \leq L \quad (2)$$

其中 $x(p), y(p)$ 为其横纵坐标, 则 $C(p)$ 点的曲率可定义为

$$\kappa = \frac{x'_p y''_p - x''_p y'_p}{((x'_p)^2 + (y'_p)^2)^{\frac{3}{2}}} \quad (3)$$

根据各点的曲率值及与两细胞核(使用 $k1, k2$ 来表示, 图 3 中上半部分细胞核为 $k1$, 下半部分为 $k2$) 之间的位置关系, 最后取曲率负极值点 $p1$ (曲率值为 -0.26) 和次负极值点 $p2$ (曲率值为 -0.18) 作为两细胞轮廓的交点.

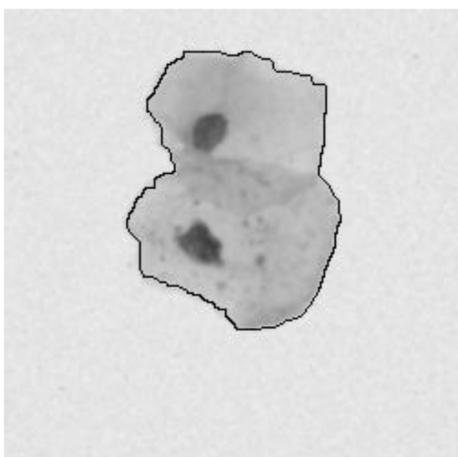


图 3 宫颈细胞显微图像

整体分割结果(黑色为轮廓线)

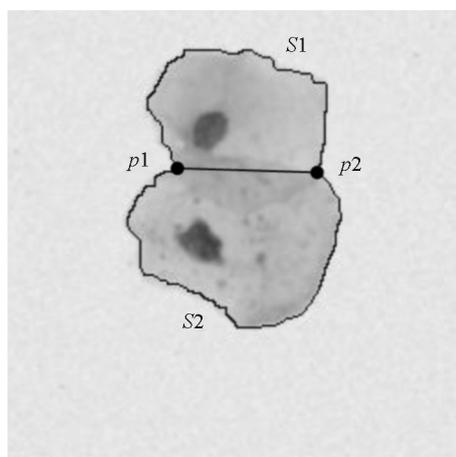


图 4 宫颈细胞显微图像

边界接触点($p1, p2$)

由图 4 可知, 直线 $p1p2$ 上部的曲线 $S1$ 、下部的曲线 $S2$ 分别为两细胞的部分轮廓线. 通过活动轮廓模型找到重叠区域的轮廓, 同样根据直线 $p1p2$ 将其分解为两部分, 与 $S1$ 和 $S2$ 拼接后, 即可得到单个细胞完整的轮廓, 以实现重叠细胞分割.

1.2 活动轮廓模型

本文所用活动轮廓模型为非局部活动轮廓模型, 具体参考文献[7]. 设输入图像为 f^0 , 其特征空间为 $f: [0, 1]^2, \Omega \subset [0, 1]^2$ 为其感兴趣区域, 如图 4 中两细胞中间的重叠部分, 则其轮廓可表示为 $\partial\Omega$, 求解其轮廓可简化为如下最小化问题:

$$\min_{\Omega} \{\epsilon(\Omega) = E(\Omega) + \gamma L(\Omega)\} \quad (4)$$

上式中 $E(\Omega)$ 为区域的能量函数, $L(\Omega)$ 是描述轮廓($\partial\Omega$) 的描述项, 本文直接使用曲线长度作为描述项, γ 为其权重. 非局部活动轮廓模型定义为:

$$E(\Omega) = \bar{E}(\Omega) + \bar{E}(\Omega^c) \\ \bar{E}(\Omega) = \iint_{\Omega} K(x, y) dx dy \quad (5)$$

Ω^c 为 Ω 区域的补集, 具体如图 5 所示, $K(x, y)$ 为其核函数, 描述了该区域的性质, 其值由带权重的高斯核函数和距离函数计算得到, 具体如下所示:

$$K(x, y) = G_{\sigma}(x, y) d(p_x, p_y) \quad (6)$$

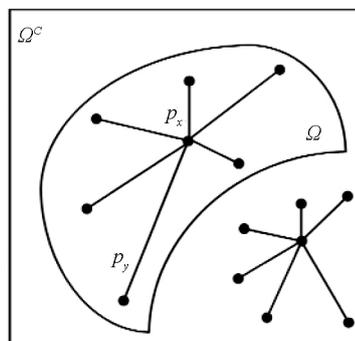


图 5 局部小块示意图

上式中, $G_{\sigma}(x, y) = \begin{cases} e^{-\frac{\|x-y\|^2}{2\sigma^2}} & \text{if } \|x-y\|_{\infty} \leq \xi, \xi \text{ 控制局部区域选取的宽度, } d(p_x, p_y) = \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$, 表示两点的灰度差异, p_x, p_y 为区域中的两点, 具体见图 5. 在实际仿真计算时, 小块尺寸的选取会对分割结果造成影响, 同时也对计算速度产生影响, 是以后改进的一个方向. 图 6 是人为生成图像的分割结果.

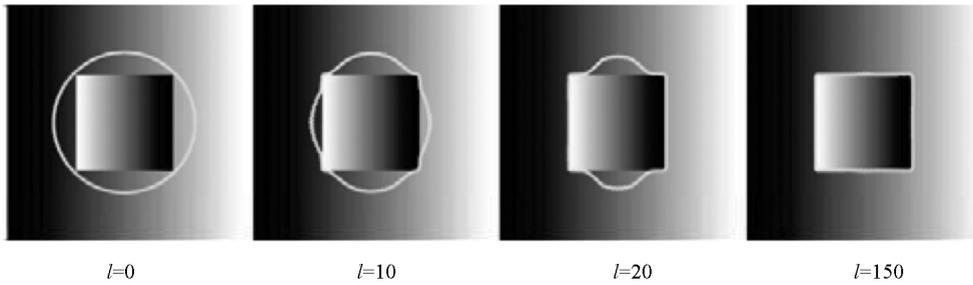


图 6 人为生成图像活动轮廓模型分割过程(l 为迭代次数)

由图 6 可知, 该活动轮廓模型可以将不同特征下的区域分割开来, 在本文细胞重叠区域分割时, 效果较好, 具体见实验结果及分析部分, 非局部活动轮廓模型建立步骤为:

- Step1: 归一化输入图像 f^0 , 初始化水平集函数($\alpha\Omega^l$), 初始值 $l = 0$;
- Step2: 初始化参数 a, ξ, σ, γ ;
- Step3: 计算得到特征空间 $f: [0, 1]^2$;
- Step4: 计算核函数 $G_{\sigma}(x, y), K(x, y)$;
- Step5: 计算能量函数微分 $\nabla E(\alpha\Omega^l)$ 和曲线变化微分 $\nabla L(\alpha\Omega^l)$;
- Step6: 计算得到 $\alpha\Omega^{l+1} = \alpha\Omega^l - \xi(\nabla E(\alpha\Omega^l) + \gamma\nabla L(\alpha\Omega^l))$;
- Step7: $l = l + 1$, 判断两次 $\alpha\Omega$ 的差值, 达到要求则停止循环, 否则跳回 Step5.

完成对重叠细胞的整体轮廓分割和重叠区域轮廓分割后, 为了得到单个细胞的完整轮廓, 实现重叠细胞的分割, 本文根据细胞边界接触点得到的直线 p_1p_2 , 将上述轮廓线进行拼接, 具体拼接方法见 1.3 节中的算法步骤: Step5.

1.3 算法实施步骤

本文整体算法步骤如下:

- Step1: 由(1)式计算得到整体分割的最佳阈值 T ;
- Step2: 选取形态学模板, 进行形态学滤波, 得到最终重叠细胞的整体轮廓;
- Step3: 计算重叠细胞整体轮廓曲率, 查找曲率中负极值点和次负极值点, 将其作为细胞边界接触点 p_1 和 p_2 ;
- Step4: 使用活动轮廓模型分割得到重叠区域轮廓;
- Step5: 在得到重叠细胞整体轮廓分割和重叠区域轮廓后, 根据接触点(p_1, p_2) 信息进行拼接得到单个细胞轮廓.

通过上述步骤得到两区域轮廓后, 为了得到最终结果(单个细胞外部轮廓), 根据其交点情况, 对得到的区域进行拼接或者插值操作. 判断其是否具有交点 p_1 和 p_2 , 若有交点, 则在交点处, 将轮廓线分为 4 部分 S_1, S_2, S_3, S_4 , 具体如图 7(a) 所示.

S_1, S_2 为 Step2 中得到的细胞外部轮廓, 其为单个细胞轮廓的一部分; S_3, S_4 为 Step4 中得到的两细胞重叠区域轮廓, 同样为单个细胞轮廓的一部分. 具体方法为: 根据直线 p_1p_2 与其相对位置关系, 求解由细

胞核位置 (x_{k1}, y_{k1}) 到直线 $p1p2$ 的中点 (x_{p1p2}, y_{p1p2}) 得到的线段(线段参数为 a_1, b_1, c_1)与曲线 $S3$ 的交点,即

$$\begin{cases} a_1x + b_1y + c_1 = 0, x \in [x_{k1}, x_{p1p2}], y \in [y_{k1}, y_{p1p2}] \\ C_{S3}(x, y) = 0 \end{cases} \quad (7)$$

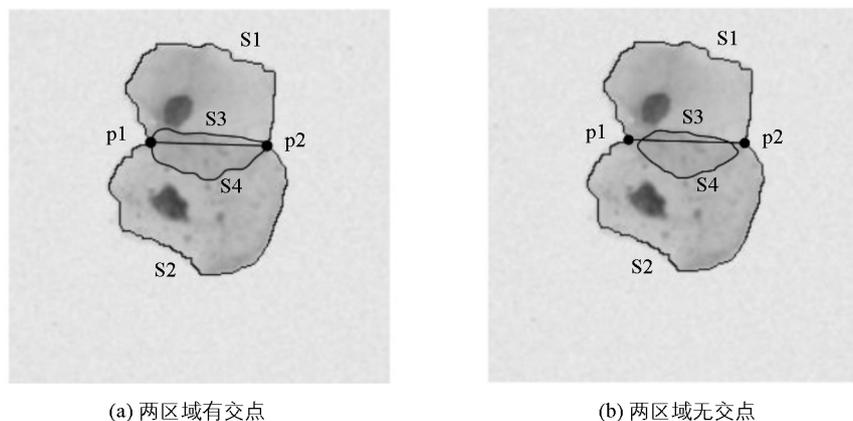


图7 宫颈细胞显微图像各区域轮廓分割结果

若上述方程组有解,说明 $S3$ 不为细胞 $k1$ 的外部轮廓,则其为细胞 $k2$ 的外部轮廓,得到单个细胞的最终轮廓($k1$ 为 $S1 + S4$, $k2$ 为 $S2 + S3$).

若计算得到两区域无交点,如图7(b)所示,则将重叠区域轮廓在和直线 $p1p2$ 相交处将其断开,得到 $S3$ 、 $S4$.在与点 $p1$ 和点 $p2$ 连接时,采用二次曲线进行拟合,以填补空缺处轮廓线.若出现单个交点时,则在有交点处根据直线 $p1p2$ 与其相对位置关系直接进行拼接;无交点处则采用二次曲线进行拟合、填补处理.由于细胞相交区域默认位于细胞内部,故不会出现3个以上的交点.

2 实验结果及分析

本文实验部分将50幅重叠的宫颈细胞显微图像进行分割,图像尺寸为:250×250像素,开发环境为Matlab 2014a,在PC机上运行,CPU:I5-2400 3.1 GHz, RAM:14 GB.为了说明算法的分割效果,本文将分割结果与医生手工分割结果进行比较,并和文献[5]的分割结果进行对比.

图8为部分分割结果,图像(a)–(c)为原始输入图像;图像(d)–(f)为活动轮廓模型初始化,图中圆形即为初始化的水平集函数,其圆心位于直线 $p1p2$ 上(图中已经将重叠细胞外部整体轮廓进行标注,并标记了两细胞边界接触点);图像(g)–(i)为活动轮廓模型分割结果,即两细胞重叠区域轮廓;图像(j)–(o)为单细胞分割结果,由图像(d)–(f)中外部整体轮廓和图像(g)–(i)中重叠区域轮廓组合而成;图像(p)–(r)、图像(s)–(u)为对应图像中医生手工分割单细胞结果;图像(v)–(x)为文献[5]分割结果.

分析图8中不同方法对图像1–3的分割结果可以得到,本文算法能将重叠细胞有效分离开来,实现了高重叠细胞的显微图像分割,且分割结果接近于医生手工分割结果.针对重叠区域轮廓较为明显的重叠细胞,本文分割效果较好,活动轮廓模型能准确找到重叠区域边界,如图像1和图像2的分割结果与医生手工分割结果接近,误差较小.然而,对于图像3,两细胞重叠区域轮廓较模糊,在分割时较难将其准确分割出来,故图8中(o)和(u)误差较大,但相对文献[5]已经有较大提高.本文采用分割区域面积误差比(w)来定量评价分割结果,计算公式为

$$w = \frac{|area_1 - area_2|}{area_2} \quad (8)$$

其中, $area_1$ 表示本文算法的分割区域面积, $area_2$ 表示医生手工分割区域面积,表1为面积误差比、算法运行的空间和时间代价(均为单幅图像).

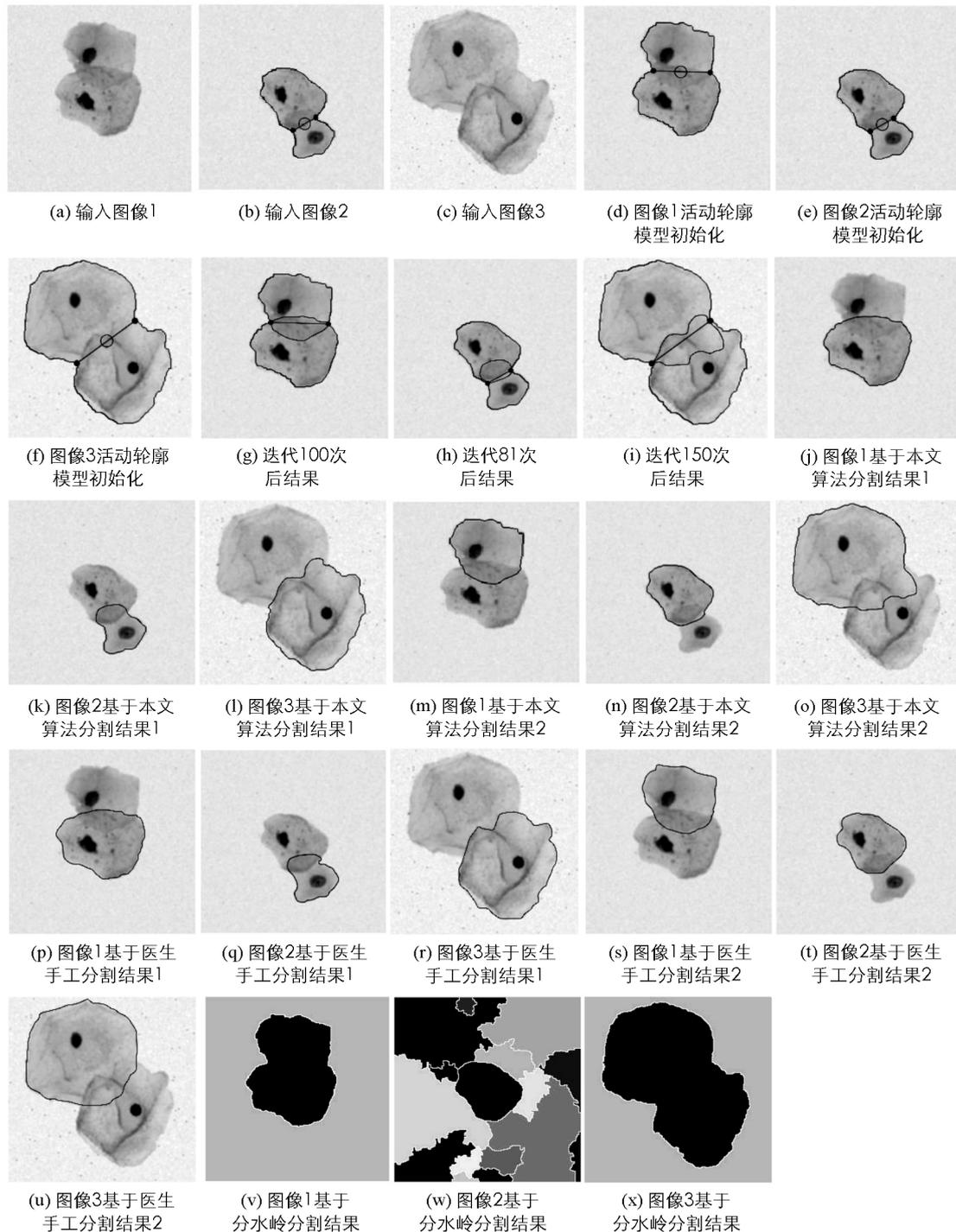


图 8 部分实验结果

表 1 各算法、时间和空间代价

算法	w	运行时间/s	额外的空间代价(MB)
本文	0.11	3	589
文献 5	0.83	0.01	1

由表 1 可知, 本文算法的平均面积误差百分比(w)为 0.11, 说明与医生手工分割的结果较为接近; 而文献[5]算法的误差较大, 为 0.83, 具体如图 8(v)所示, 未能将单个细胞分离出来, 得到的为重叠细胞整体轮廓, 故 w 值较大, 个别图像超过 1. 在算法运行时间、空间代价上, 由于本文采用活动轮廓模型进行分割, 算法相对复杂, 其值比文献[5]较大.

由图8和表1对比可知,本文提出的算法实现了重叠细胞显微图像的分割,特别在高度重叠情况下依然能够实现细胞分离.本文算法对重叠细胞的分割结果接近于医生手工分割结果,单张图像面积误差比为0.11,且由图8分割结果可知,其轮廓较为完整.与文献[5]比较可知,本文算法在分割结果上优于文献[5],但在算法复杂度和运行空间代价上大于文献[5],以后可做出改进.

3 结 论

本文提出了一种基于曲率和活动轮廓模型的重叠细胞分割算法,用于解决当细胞高重叠、细胞外形不规则时,提取细胞不完整的显微图像的问题.首先,使用Otsu算法得到重叠细胞的整体轮廓,并通过形态学滤波去除背景噪声带来的影响;然后,根据重叠细胞整体轮廓曲率信息来定位两重叠细胞的边界接触点;最后,结合边界接触点信息将其与整体轮廓拼接得到单个细胞轮廓.在实验结果及分析部分,本文将实验结果与医生手工分割结果和文献[5]算法分别进行比较,实验结果表明,本文提出的算法实现了重叠细胞分割,分割结果优于文献[5]算法,得到的细胞完整度高,且算法具有一定的鲁棒性.但算法复杂度相对较高,以后可在算法时间代价、空间代价上进行改进,并可将其推广到彩色图像中.

参考文献:

- [1] 漆鹏杰,刘秀波,仲兆准,等.显微细胞图像有形成分自动识别[J].计算机系统应用,2015,24(5):11-18.
- [2] 杨小青,杨秋翔,杨 剑.基于形态学的显微细胞图像处理与应用[J].计算机系统应用,2016,25(3):220-224.
- [3] 唐俊奇.多处理机系统中曲面轮廓图像处理的并行化研究[J].西南大学学报(自然科学版),2014,36(2):156-163.
- [4] 苏 娜,薛河儒.重叠牛乳体细胞判别和分割方法的研究[J].计算机工程,2011,37(7):231-233.
- [5] 武宗茜,王 鹏,丁天怀.活动轮廓模型在重叠藻细胞计数中的应用[J].计算机工程,2012,38(3):209-211.
- [6] 赵雯典,邓振生.基于边缘竞争模糊水平集的脑部磁共振图像自动分割[J].计算机应用,2013,33(9):2683-2685.
- [7] 丛培盛,孙建忠.分水岭算法分割显微图像中重叠细胞[J].中国图象图形学报,2011,11(12):1781-1783.
- [8] 施成湘.基于邻域特征的彩色图像分割方法[J].西南师范大学学报(自然科学版),2015,40(2):106-110.
- [9] XU Y, YU H, QIN H, et al. Inhibition of Autophagy Enhances Cisplatin Cytotoxicity Through Endoplasmic Reticulum Stress in Human Cervical Cancer Cells [J]. Cancer letters, 2012, 314(2): 232-243.
- [10] 刘 岳,王小鹏,于 挥,等.基于形态学多尺度修正的模糊C均值脑肿瘤分割方法[J].计算机应用,2014,34(9):2711-2715.

Overlapping Cells Segmentation Algorithm Based on Curvature and Active Contour Model

YANG Xiu-jie¹, LI Fa-ping²

1. Computer College, Chongqing College of Electronic Engineering, Chongqing 401331, China;

2. Software College, Chongqing College of Electronic Engineering, Chongqing 401331, China

Abstract: In this paper, an algorithm of overlapping cell segmentation based on curvature and active contour model has been proposed to solve the problem that it is difficult to automatically separate microscopic image boundaries of overlapping cells. The algorithm uses the Otsu algorithm and morphological filtering to get the whole outline of the overlapping cells, and according to its curvature information to locate the border contact points of the two cells. Then an active contour model is used to extract the contour of the overlapping region. Finally, according to the information of the border contact points, the algorithm obtains the single cell's contour by connecting the whole outline of the overlapping cells to the contour of the overlapping region. The experimental results show that the proposed algorithm can extract the contour of the overlapping cells, the integrity of the segmented cell is high, and the algorithm is robust to a certain extent. The algorithm for segmentation of overlapping cells is feasible and effective.

Key words: overlapping cells segmentation; curvature; active contour model; Otsu algorithm