

小鼠切片图像自动去背景方法的研究

罗洪艳, 杨维萍, 郑小林, 侯文生, 胡 南, 廖彦剑

(重庆大学生物流变科学与技术教育部重点实验室 重庆 沙坪坝区 400044)

【摘要】根据小鼠断面轮廓在连续切片图像中大体是渐变的特征, 研究采用了一种基于模板匹配的自动去背景方法, 即每次以新获得的一张切片的小鼠断面轮廓为模板对其相邻切片进行边缘提取, 然后结合进一步图像处理去毛刺以及利用拉格朗日插值形成连续轮廓, 再予以填充后与原始图像相与实现背景去除。结果表明, 该方法能有效地达到自动去除小鼠切片图像中背景的目的, 可大大减少手工去背景的工作量, 加快小鼠三维重建的进度。

关键词 边缘提取; 图像处理; 插值; 模板匹配

中图分类号 TP391

文献标识码 A

doi:10.3969/j.issn.1001-0548.2011.03.031

Study of Automatic Algorithm for Removing the Background in Slice Images of a Mouse

LUO Hong-yan, YANG Wei-ping, ZHENG Xiao-lin, HOU Wen-sheng, HU Nan, and LIAO Yan-jian

(Key Laboratory of Biorheological Science and Technology of Ministry of Education, Chongqing University Shapingba Chongqing 400044)

Abstract Removing the background in the cross-section slice images of a mouse is an important step for the reconstruction of a digital mouse model. According to the feature that the cross-section contour of a mouse in the successive slice images changes gradually for the most part, a method based on the template matching theory for removing the background is proposed in this study. More exactly, the newly detected edge of the mouse in a slice image is adopted as a template and referred to extract the contour in the adjacent slice image every time. Then the glitches and gaps in the extracted contour are removed by means of image processing such as the Lagrange interpolation to form a continuous contour. Finally, the refilled contour and the original image under go the logic operation to complete the background removal. The results indicate that this method performs well with the great advantages in reducing the manual workload and accelerates the process of 3D reconstruction of a mouse model.

Key words edge detection; image processing; interpolation; template matching

随着生命科学与信息技术的结合与发展, 生物机构及功能的数字化成为近年来生命科学研究的热點^[1-2]。在医学领域, 小鼠是目前用量最大、用途最广的哺乳类实验动物, 被广泛用于模拟人类疾病的动物实验和药物实验研究。运用数字化技术构建精确的小鼠形态结构模型, 为在小鼠上进行药理、病理、免疫、遗传等多项生理性和功能性科学研究提供了一种新的研究手段和平台, 将为医学研究和人类健康带来突破性的发展, 已引起各国研究者的关注^[3]。目前, 美国已采用小鼠切片彩色图像、反映功能信息的PET和反映解剖形态结构的X-CT图像重建出小鼠的心脏、脑等重要器官的三维模型^[4-5]。我国对于小鼠的单器官或组织重建也有一定的研究^[6], 但对于整体模型的构建研究甚少。

构建小鼠整体三维模型的过程包括小鼠数据

集的获取、配准、背景去除和三维重建步骤。其中, 背景去除是一类特殊的数字图像分割^[7], 可大大减少原始图像中的冗余数据, 从而提高三维重建的速度, 还可消除图像中的杂色背景对重建效果的视觉影响, 因而是不可缺少的重要环节。通常, 数量少的图片可采用手工勾勒目标区域轮廓的方式去除背景, 但对于有成百上千张图片的一套小鼠数据集, 手工方式的工作量巨大而繁琐, 且很难保证每张图片中小鼠轮廓勾勒的准确性、平滑性和连续性, 进而会影响三维模型重建的精确性^[8]。因此, 本文以小鼠彩色切片数据集为研究对象, 探讨基于模板参照, 并结合图像处理的方法实现对连续小鼠切片序列图像背景的自动去除, 为加快小鼠模型的精确构建及后续的整体形态及功能研究奠定可靠的基础。

收稿日期: 2010-01-22; 修回日期: 2011-02-24

基金项目: 国家自然科学基金(60871099, 30900323)

作者简介: 罗洪艳(1976-), 女, 博士, 副教授, 主要从事医学图像处理方面的研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本文研究采用由第三军医大学提供的一套小鼠彩色切片数据集。该套数据集采用CRYO-GEL介质包埋小鼠,经冰冻后铣切获得,并在前期已基于外部定标点完成了图像配准^[9]。整套数据集共有1 060张图片,由头部到尾部逐张依次编号。其中,前600张图片的铣切厚度为0.05 mm,600张之后图片的铣切厚度为0.1 mm,图像分辨率为4 064×2 704。为便于重建,先统一了相邻切片间的距离,前600张取双数编号的300张,加上后460张,共计760张,重新编号为001~760,并将原彩色图像转换成灰度图像便于后续处理。实验中要去除的切片背景主要包括由包埋小鼠的CRYO-GEL介质形成的灰白色区域以及由小鼠身体毛发造成的黑色区域。

1.2 基于模板参照的背景去除方法

针对小鼠切片数据集中小鼠断面图像的轮廓存在逐张渐变的规律,采用了一种模板参照的方法,即在序列切片中将已获得的一张切片中的小鼠断面轮廓作为与其相邻切片的模板进行其中的断面轮廓提取。以此类推,通过获得整套切片数据集的小鼠断面轮廓而完成背景去除工作。该方法的具体处理流程如图1所示,主要包括以下几个步骤。

1) 首张模板轮廓的制作:根据小鼠切片图像中轮廓的具体变化,选择具有代表性的图片,运用Photoshop软件中的磁性套锁,手动勾勒出小鼠轮廓作为模板。

2) 形成环区:分别以0.975倍和1.035倍的模板轮廓为内、外边界,形成一个环状区域,映射到与模板相邻的切片上。由于相邻切片中的小鼠断面轮廓具有相似性,因此待提取的小鼠断面轮廓正处于该环状区域中,就可将目标轮廓提取限制在一个极小的范围内,既可减少运算量,加快提取速度,还可有效地避免断面内小鼠器官轮廓的干扰。

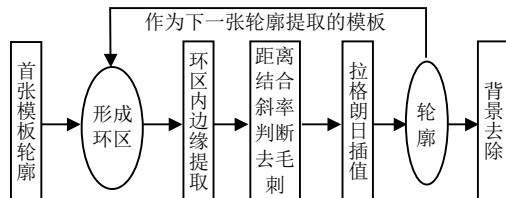


图1 基于模板参照的背景去除流程图

3) 环区内断面轮廓提取:小鼠原始切片如图2a所示,小鼠断面的外周轮廓和毛皮在颜色上有明显的差异,因此采用经典的Canny算子进行处理就能提取到小鼠的断面轮廓,如图2b所示。

4) 距离结合斜率判断去毛刺:从小鼠断面切片(见图2a)可以看出其轮廓曲线应是连续、平滑、闭合的,而采用Canny算子所得断面轮廓曲线存在大量的毛刺(见图2b)。为了去除毛刺,本文采用一种基于距离和斜率判断的方法,将所得轮廓曲线分为上、下半支,根据其上各点的位置按从左至右的顺序分别存入两个矩阵中,对模板轮廓曲线也作相同的处理。设由步骤3)所得轮廓和模板轮廓的上半支曲线上各点坐标构成的矩阵分别为 $I_{up} = \begin{bmatrix} x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_n \\ y_1, y_2, \dots, y_i, \dots, y_n \end{bmatrix}$

和 $J_{up} = \begin{bmatrix} \hat{x}_1, \hat{x}_2, \dots, \hat{x}_i, \dots, \hat{x}_m \\ \hat{y}_1, \hat{y}_2, \dots, \hat{y}_i, \dots, \hat{y}_m \end{bmatrix}$ 。首先判断所得轮廓上

半支曲线上是否存在同一横坐标处有多个点的情况。假设在 x_i 处存在多个点,即 $x_i = x_{i+1} = \dots = x_k, k \leq n$,则计算这些点与模板轮廓上半支曲线上该横坐标处的点(即点 $\hat{x}_r = x_i$)之间的距离。保留相距最近的点,即满足条件 $\min(|y_i - \hat{y}_r|, |y_{i+1} - \hat{y}_r|, \dots, |y_k - \hat{y}_r|)$ 的点,而将其余的点予以去除。然后,利用连续、渐变曲线的斜率变化是连续的,不会存在突变的现象,通过计算所得断面轮廓上半支曲线上各点的斜率,再选取适当的阈值逐点进行斜率判断,就可以找出毛刺点,予以去除。常用的斜率计算方法有两点差分法、三点差分法、四点差分法等。由于两点或三点差分法易受干扰,因此本文选择对干扰有较好抑制作用的四点差分法计算轮廓曲线上各点的斜率^[10]。假设经过距离判断处理后,所得轮廓上半支曲线上各点坐标的矩阵变为

$I'_{up} = \begin{bmatrix} x'_1, x'_2, \dots, x'_i, \dots, x'_p \\ y'_1, y'_2, \dots, y'_i, \dots, y'_p \end{bmatrix}$, 在点 (x'_i, y'_i) 处的斜率为 E_i , 则四点差分法的计算为:

$$E_i = \frac{(y'_{i+2} - y'_{i-2})}{2(x'_{i+2} - x'_{i-2})} + \frac{(y'_{i+1} - y'_{i-1})}{2(x'_{i+1} - x'_{i-1})} \quad (1)$$

以该点之前4点的斜率平均值(\bar{E}_{i-})和之后4点的斜率平均值(\bar{E}_{i+})作为斜率判断的阈值,即如果 $E_i \notin [\min(\bar{E}_{i-}, \bar{E}_{i+}), \max(\bar{E}_{i-}, \bar{E}_{i+})]$, 则 i 点为毛刺点,予以去除。同理,可以去除所得轮廓下半支曲线上的毛刺。



a. 第251张切片原图

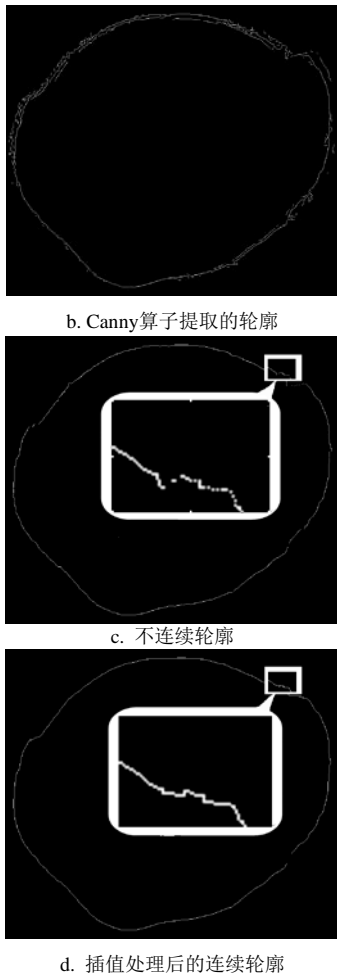


图2 小鼠切片及其处理结果示例

5) 拉格朗日插值消除不连续性: 经过上述步骤处理后所得的小鼠断面轮廓有时会出现不连续的现象(见图2c), 因此需要用插值的方法形成连续的轮廓曲线。鉴于所得轮廓存在的缺口都较小, 其前后多为连续的曲线段, 而拉格朗日插值方法简单易行, 对已知数据点较多、而断点较少的情况有良好的处理效果, 因此本文采用该方法消除所提取小鼠断面轮廓的不连续性。

设 I_{up} 经步骤 4) 处理后变为矩阵

$$I_{up}'' = \begin{bmatrix} x_1'', x_2'', \dots, x_i'', \dots, x_s'' \\ y_1'', y_2'', \dots, y_i'', \dots, y_s'' \end{bmatrix}$$

根据数字图像中点八邻域连续的定义, 当相邻两点的坐标值满足条件 $|x_i'' - x_{i+1}''| \leq 1$ 且 $|y_i'' - y_{i+1}''| \leq 1$ 时, 该两点是连续的。因此, 可以根据该条件确定缺口出现的位置。假设在点 i 和 $i+1$ 之间存在缺口, 缺口点数为 $x_{i+1}'' - x_i'' - 1$, 将缺口点的坐标表示为 (x_i'', y_i'') , 其中 $x_i''' = x_i'' + t$, 且 $t = 1, 2, \dots, x_{i+1}'' - x_i'' + 1$, 则拉格朗日插值多项式为:

$$y_i''' = \sum_{j=1}^t y_j'' L_j(x_i''') \quad (2)$$

式中, $L_i(x_i''')$ 为插值基函数, 其表达式为:

$$L_i(x_i''') = \prod_{\substack{j=-q+1 \\ j \neq 0}}^q \frac{x_i''' - x_{i+j}''}{x_i'' - x_{i+j}''} \quad j = -q+1, \dots, q \quad (3)$$

本文取 $q = 5$, 即将 i 点前后共计10点的已知坐标数据代入式(2)、(3)进行拉格朗日插值计算, 然后取整, 作为在缺口处插入点的纵坐标值, 填补缺口。同理, 可完成对下半支轮廓曲线中缺口处的插值处理, 从而形成如图2d所示的连续轮廓。将该轮廓作为下一张切片中轮廓提取的模板, 重复步骤2)~5), 反复循环就可实现对切片数据集中小鼠断面外周轮廓的连续提取。

6) 背景去除: 将所得轮廓内部填充为白色, 与原始图片进行运算, 即可去除背景。

2 实验过程与结果

本文在MATLAB软件中编程, 实现了基于模板参照的背景去除方法, 并进行了实验验证。尽管就小鼠整体而言, 主体躯干部分相邻切片轮廓的变化很小, 但进入一头一尾, 其轮廓的变化还是比较大。因此, 本文根据小鼠断面轮廓的变化情况, 采取了3类处理方式, 如图3所示: 1) 小鼠头部切片(编号段为1~104), 由于头部断面轮廓的变化太迅速, 上述基于模板参照的算法对其不太适用, 所以对该部分切片采用传统的手动分割方法去除背景; 2) 小鼠的颈部和躯干中不涉及前后肢的切片(编号段为105~200、231~606), 根据该类切片中小鼠轮廓的形态差异, 分别以第156张和第450张作为首张模板对两个编号段的切片采用基于模板参照的方法自动去除背景; 3) 涉及小鼠前后肢的切片(编号段为201~230、607~660), 由于单纯采用基于模板参照的方法有时会出现前后肢的部分轮廓丢失的现象, 所以对该类切片先分别以第231张和第606张切片的断面轮廓为首张模板, 对两个编码段的切片进行基于模板参照的自动轮廓提取, 再结合手工分割的方法补齐丢失的轮廓, 从而实现背景去除。

第2类中的代表性原始切片和相应的自动去除背景后的切片图像如图4所示。从图中可以看出, 基于模板匹配的方法在确保小鼠自身信息不丢失的前提下有效地去除了切片背景, 且切片中小鼠的外周轮廓平整光滑。整套小鼠切片去背景后经过Amira重建出的三维效果, 如图5所示。图5a、5b为小鼠重建后不同视角的整体三维图, 从图中可以看出, 重建图像表面平滑, 整体轮廓连续清晰, 基本未变形, 可满足对小鼠模型后续开发的要求。

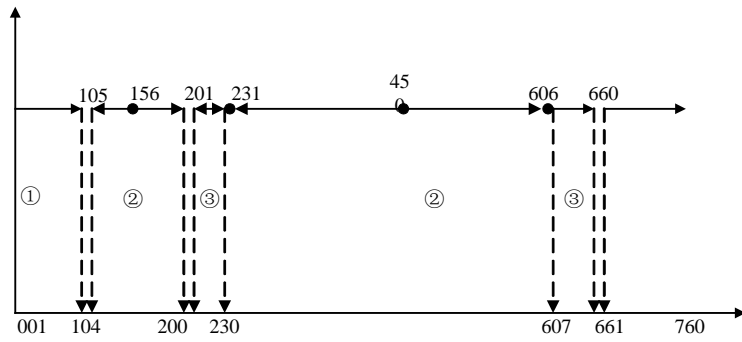
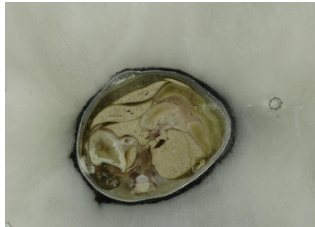


图3 小鼠切片去背景分类

黑点表示模板切片；箭头表示自动去背景的方向；①手工去背景；②自动去背景；③自动与手工结合去背景



a. 180张切片的原始图



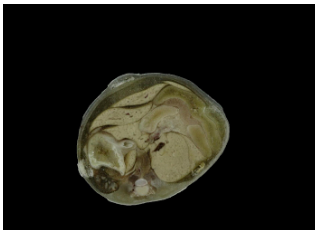
b. 377张切片的原始图



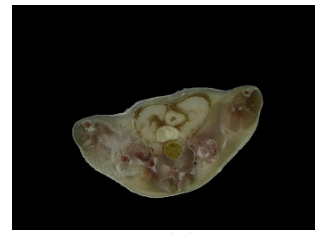
c. 573张切片的原始图



d. 180张切片去背景图



e. 377张切片去背景图



f. 573张切片去背景图

图4 采用基于模板匹配的方法自动去背景结果



a. 侧面的视图



b. 正面的视图

图5 去背景后小鼠切片的三维重建结果

3 讨 论

小鼠的三维模型在医学研究中有重要的作用。而近年来, 数字化医学的迅速发展, 特别是数字人体可视化计划的实施, 为数字化小鼠提供了大量的先验知识。数字人体研究有3个具有挑战性的问题, 就是分割、分割、再分割^[11], 而去背景实际上正是其中的第一次分割。

针对小鼠切片图像的背景去除, 经典的分割方法都存在一些弊端, 因而不能完全适用: 1) 阈值分割, 要求图像背景与目标有两种主要模式的颜色系或灰度级, 而在小鼠切片图像中, 目标小鼠内部颜色复杂且部分结构颜色与背景相似, 运用阈值分割的方法很容易将内部结构误判为背景; 2) 区域生长是以区域为处理对象, 利用区域内部和区域之间的同异性分辨图像的边界轮廓, 而种子点的选取是应用该方法的关键。但对于小鼠切片, 其断面图像外围有一层黑色的毛发也属于背景, 它并不一定连续, 给种子点的选取带来很大难度。本文的方法依次运用已获得的切片轮廓为模板在其相邻切片上限定一个小范围, 在该范围内进行轮廓提取, 再结合距离和斜率判断的方法完成去毛刺以及利用拉格朗日插值形成连续轮廓, 最后予以填充以达到去背景的目的。该方法充分利用了相邻切片轮廓具有相似性的特征, 有效地达到了对小鼠切片图像背景的自动去除。当然, 该方法也有一定的不足, 例如对于小鼠头部的切片图像难以准确提取轮廓, 以及对包含小鼠前后肢的切片图像所提取的轮廓有部分丢失的现象, 需要采用手工勾勒予以修正。尽管如此, 与完全采用传统的手工去背景方法相比, 该基于模板匹配的自动分割方法的应用可以大大节省操作时间和减少人为误差, 因而仍然具有很高的应用价值。

参 考 文 献

[1] 廖银萍, 余雳, 白雪岭, 等. 数字化大鼠动脉血管系统三维模型的建立[J]. 生物医学工程学杂志, 2008, 25(3): 552-555.
LIAO Yin-ping, YU Li, BAI Xue-ling, et al. 3D model construction for arterial vessels system of digital rat[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2008, 25(3): 552-555.

[2] TSUYOSHI G, HIDEYUKI I, KEIGO Y, et al. Microvasculature of small liver metastases in rats[J]. Journal of Surgical Research, 2000, 94 (1): 43-48.
[3] DWIVEDI S, KRISHNAN K B, SURYANARAYANAN S. Digital mouse phantom for optical imaging[J]. Journal of Biomedical Optics, 2007, 12(5):1-8.
[4] DOGDAS B, STOUT D, CHATZIOANNOU A F, et al. Digimouse: a 3D whole body mouse atlas from CT and cryosection data[J]. Physics in Medicine and Biology, 2007, 52(3): 577-587.
[5] DHENAIN M, RUFFINS S W, JACOBS R E. Three-dimensional digital mouse atlas using high-resolution MRI[J]. Developmental Biology, 2001, 232(2): 458-470.
[6] 陈骏, 孙喜太, 吴鸿雁. 基于计算机视觉技术的大鼠肝内血管三维重建[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(8): 977-980.
CHEN Jun, SUN Xi-tai, WU Hong-yan. Three-dimensional reconstruction of veins in rat liver based on computer visualization[J]. Acta Universitatis Medicinalis Nanjing (Natural Science), 2008, 28(8): 977-980.
[7] JAUCHEM J R, SEAMAN R L, LEHNERT-H M, et al. Ultra-wideband electro-magnetic pulses: Lack of effects on heart rate and blood pressure during two-minute exposures of rats[J]. Electro-Magnetics, 1998, 19(5): 330-333.
[8] LU S T, MATHAUR S P, AKYEL Y, et al. Ultra-wide band electromagnetic pulses induced hypotension in rats[J]. Physiol-Behav, 1999, 65(4-5): 753-761.
[9] 罗洪艳, 杨维萍, 李恺, 等. 数字小鼠切片数据集的自动配准[J]. 中国医学影像技术, 2009, 25(11): 2122-2125.
LUO Hong-yan, YANG Wei-ping, LI Kai, et al. Automatic registration for slice images of digital mouse[J]. Chinese Journal of Medical Imaging Technology, 2009, 25(11): 2122-2125.
[10] 吴水才, 王生贵, 自燕萍. 心电积分处理中心电波形的识别[J]. 九江师专学报, 1995,14(5): 16-18.
WU Shui-cai, WANG Sheng-gui, ZI Yan-ping. The ECG waveforms recognition based on ecg rntegral[J]. Journal of Jiujiang Teacher's College, 1995, 14(5): 16-18.
[11] 苏秀云, 裴国献. 中国数字人连续断层图像的局部聚类分割方法[J]. 解剖学报, 2007, 38(4): 793-796.
SU Xiu-yun, PEI Guo-xian. A local clustering segmenting method for anatomical cross-sectional image of chinese digital human[J]. Acta Anatomica Sinica, 2007, 38(4): 793-796.

编辑 黄 莘