

文章编号:1004-9037(2013)05-0620-06

肿瘤细胞断层图像轮廓的三维极坐标插值方法

撒 昱¹ 张 莹¹ 王 平² 庞青松² 李瑞健² 胡新华³ 黄彧¹ 冯远明^{2,1}

(1. 天津大学天津市生物医学检测技术与仪器重点实验室, 天津, 300072; 2. 天津医科大学肿瘤医院, 天津, 300060;
3. East Carolina 大学物理系, Greenville, NC 27858, USA)

摘要:利用“细胞CT”——激光扫描共聚焦显微镜可以获得肿瘤细胞三维断层图像,实现肿瘤细胞三维可视化,为此提出了一种针对细胞断层图像轮廓的三维极坐标插值方法,以图形形态学中心为极坐标原点,将轮廓点转换为由极坐标表示。按极角采样获得离散轮廓点数据,综合多层轮廓信息,依照表面轮廓变化趋势,进行均匀三次B样条拟合完成插值。针对肿瘤细胞核常见的分支核结构,利用曲率角点检测和数学形态学相结合的方法实现轮廓分割,并采用基于阈值半径的轮廓匹配方法实现分支轮廓对应,继而实现细胞分支核插值。结果显示,本方法可实现细胞及细胞核的三维插值,插值后轮廓表面三维重建表现出良好的曲面光滑性和连续性,表明极坐标插值数据可为细胞三维形态结构测量提供便利。

关键词:肿瘤细胞;分支核;极坐标;形态学方法;样条插值

中图分类号:TP391.4;R730 **文献标志码:**A

3D Interpolation Method Using Contour Points in LSCM Cell Image Stack in Polar Coordinate System for 3D Reconstruction

Sa Yu¹, Zhang Ying¹, Wang Ping², Pang Qingsong², Li Ruijian²,
Hu Xinhua³, Huang Yu¹, Feng Yuanming^{2,1}

(1. Tianjin Key Laboratory of Biomedical Detecting Techniques and Instruments,
Tianjin University, Tianjin, 300072, China;

2. Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin, 300060, China;

3. Department of Physics, East Carolina University, Greenville, NC 27858, USA)

Abstract: Laser scanning confocal microscope (LSCM), which is also called 'Cell CT', can be used to acquire image stacks of live cancer cells. These images are of great significance to fulfill the 3D-visualization on cell level. With regard to this study, a 3D interpolation method based on contour points is proposed in polar coordinate system. In the new method, the origin of coordinate system is chosen to be a morphological center instead of the traditional geometric center. Resample the contour points by polar angle firstly, then fit the discrete points with uniform cubic B-spline to perform the interpolation, which can integrate multi-slice counter shape information. For a common nucleus structure, branched nucleus, a special method combining image morphological methods and corner detection methods based on curvature scale space is considered to solve contour division issue, and their correspondence problem is solved through a threshold radius method. The 3D reconstruction result shows the smooth and natural surface of cells and nucleus. It indicates that the interpolation method does help for precise measurement of cell morphology and clinic study as well.

Key words: tumor cells; branched nucleus; polar coordinate system; morphological methods; spline interpolation

引 言

类似人体断层扫描 CT,激光扫描共聚焦显微镜(Laser scanning confocal microscope, LSCM)被称为“细胞 CT”,可以获得活细胞连续断层“光学切片”,对细胞断层图像的处理可以实现细胞三维可视化及三维形态参数的精确测量^[1]。和其他医学断层图像类似, LSCM 细胞断层图像也存在各向分辨率不同的现象^[2]。点光源激发、针孔探测使切向可以达到高分辨率,而纵向机械移动的局限使成像间距远大于切向像素间距。如果直接将断层数据用于三维重建和显示会造成重建后模型表面粗糙,阶梯形变明显。因此,需要在相邻断层图像间插值,获得合理的层间图像,使层间和层内像素点间距一致,实现二维图像渐变,进而使三维模型光滑化^[3]。

常用的插值方法可分为两大类:基于灰度的插值和基于形状的插值^[4]。基于灰度的插值方法基于这样的假设:图像对应的像素灰度值或轮廓形状在待插值方向成线性变化,通过对采样点的灰度值线性加权平均得到插值点的灰度值^[5];该方法会造成边缘模糊,不利于三维目标提取及测量。基于形状的插值方法通过对距离变换后的相邻两张图像对应像素的距离值线性插值得到插值层距离值,对距离值符号的判断得到插值层轮廓形状^[6-8];该方法可以保留目标的形状轮廓信息,实现层间形状均匀过渡变化,但须计算图上每一点到边缘的距离,计算量较大。

对于细胞三维断层图像,其突出特点在于细胞结构的复杂多样性,现有的仅考虑两层图像信息的插值方法难以对 LSCM 细胞图像实现较好的插值。为此,本文提出综合多层轮廓信息的三维极坐标插值方法。新方法将二维轮廓置于极坐标下,轮廓点直角坐标转化为极径和角坐标。对于已成序列排列的断层图像,提取多层图像相同角坐标的轮廓离散点进行曲线拟合,以获得插值层轮廓点位置。同时,放弃传统几何形心作为极坐标原点的做法,应用数学形态学方法确定原点,保证采样极径和轮廓点一一对应。针对细胞核分叶的特殊情况,采用基于角点的轮廓分割方法实现极坐标下的插值。鉴于肿瘤细胞核形状的相对复杂性,仅以细胞核轮廓插值为例说明本文三维插值方法。

1 基于肿瘤细胞断层图像轮廓的三维插值方法

1.1 极坐标原点

通常直角坐标变换极坐标时会选择截面图形的几何形心作为极坐标原点,这种方法对分布均匀对称的简单凸细胞是可行的。但在不规则的细胞核轮廓情况下,如细胞核凹陷等,几何形心可能偏离图像中心或位于轮廓之外,如图 1 所示。在该情况下进行极坐标变换可能造成一条极径对应多个轮廓点的情况,使插值混乱。

因此,对于有凹陷或突出的无分叶细胞核图像,本文采用数学形态学开运算去除周围突起,只保留图像核心区域,以核心区域中心作为极坐标原点,由于是形态学处理得到的中心,因而被称为形态学中心(见图 1),下文提到的图形中心均为形态学中心。

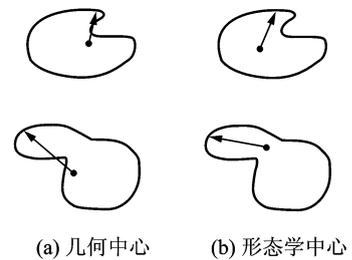
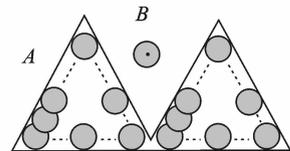
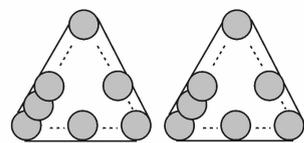


图 1 不规则细胞核轮廓的几何中心和形态学中心

形态学运算是针对二值图像依据数学形态学的集合论方法发展起来的图像处理方法。定义一种特殊的邻域,称之为“结构元素”,它和二值图像对应区域进行特定的逻辑运算,逻辑运算的结果为相应像素值。常见的形态学运算有腐蚀和膨胀^[9],开运算是基于这两种基本运算的操作,先对图像腐蚀,然后膨胀,如图 2 所示。开运算的作用效果是去除细小的对象,平滑轮廓,去除尖峰,在纤细点处



(a) 结构元素 B 在集合 A 内平移,进行逻辑运算



(b) 开运算的结果

图 2 开运算示意图

分离物体等,如图 3 所示。



(a) 二值化图像用不同尺寸结构元素开运算结果



(b) 核心区域中心作为极坐标原点即形态学中心

图 3 开运算查找核心区域

1.2 极坐标变换

通过上述方法得到的细胞核二值图的极坐标原点表现出良好的空间匹配性。应用形态学开运算所得图形的中心基本位置一致,仅稍有偏差。基于理想轮廓中心坐标基本对齐的事实,需对图层进行轮廓坐标校准,即平移各层轮廓,使各层中心均居于 z 向坐标轴上。原始共聚焦图像即是以时间序列保存为三维数组 $V(x, y, z)$, 平移使图形中心对齐后的共聚焦断层轮廓图像以成像顺序构成三维数组 $V(x, y, z)$, 每个轮廓点有唯一的直角坐标,按照直角坐标转极坐标公式可以用极角 θ 、极径 r , 及纵向 z 坐标表示,构成三维数组 $I(\theta, r, z)$ 。

从极角为 0 开始,以不变的采样间距对轮廓点重采样,每个极角采样对应三维模型表面一条轮廓线上多个离散点。当极角采样间距取值足够小时,可以提取到足够多的轮廓线,代表三维模型表面形态特征信息。对每条轮廓插值后可以得到插值层的轮廓,为保证原始细胞形态结构的一致性,需将插值后的图形反平移回原始位置。原始图像图层按平移向量反平移,插值层则以上下两层平移向量的差值做线性平分后的平移向量做反平移。

1.3 基于 B 样条的轮廓插值

某一极角下,轮廓点呈离散分布,可通过曲线拟合来获得中间插值层轮廓点位置。将传统断层图像基于相邻两层原始图像信息插值得到中间层插值图像的二维插值方法变换成三维轮廓点的一维曲线插值,三次 B 样条结合 4 层轮廓的信息获得插值点的位置信息。

曲线拟合是指用连续曲线近似地刻画或比拟平面上离散点组所表示的坐标之间的函数关系^[10]。目前已有多种方法实现离散点曲线拟合插值,如最简单的线性插值、应用多项式函数的拉格

朗日插值、牛顿插值以及更精确的分段低次插值等,各种插值具有各自的优势和相对适应的范围。综合考虑各种插值方法和细胞轮廓的实际情况,本文认为均匀三次 B 样条插值更为适宜。

B 样条具有表示和设计自由曲线曲面的强大功能,是一种统一、通用、有效的标准算法,在曲面重构中被广泛采用^[11-13]。它继承了已有贝塞尔(Bezier)样条曲线的优点,同时克服了其存在的不足,具有如下特性:局部性,即局部控制点决定曲线局部形态,但各分段曲线组成连续光滑总体曲线;保凸性,曲线各点均落在以直线连接各端点的控制多边形构成的凸包内,保持原有的曲线凹凸形态;几何不变性,变差缩减性等^[14]。正是基于 B 样条曲线的这些良好性质,可以应用于细胞三维轮廓线插值,保持三维轮廓的基本形状,实现光滑连接,并简单修正原始轮廓,去除棱角,三维重建后模型表面平滑,更加逼真^[15]。

B 样条曲线方程在节点区间 $x \in [t_i, t_{i+1})$ 定义为

$$P(x) = \sum_{i=0}^n P_i N_{i,k}(x) \quad (1)$$

式中: $P_i (i = 1, 2, \dots, n)$ 是控制多边形的顶点, $N_{i,k}$ 为 k 阶 ($k-1$ 次) B 样条基函数。设 $T = (t_0, t_1, t_2, \dots, t_m)$ 是 $m+1$ 个非递减数的集合, $t_0 \leq t_1 \leq t_2 \leq t_3 \leq \dots \leq t_m$ 。 t_i 称为节点, 集合 T 称为节点向量(Knot vector), 半开区间 $[t_i, t_{i+1})$ 是第 i 个节点区间(Knot span)。

由 De Bor 和 Cox 分别导出的 B 样条递推定义使计算更加简便,得到普遍认同^[16]

$$N_{i,k}(x) = \begin{cases} 1 & t_i < x < t_{i+k} \\ 0 & \text{其他} \end{cases} \quad (2)$$

$$N_{i,k}(x) = \frac{x - t_i}{t_{i+k-1} - t_i} N_{i,k-1}(x) + \frac{t_{i+k} - x}{t_{i+k} - t_{i+1}} N_{i+1,k-1}(x) \quad (3)$$

式中: k 为 B 样条幂次, t_i 等为节点,基函数在节点区间具有局部支撑性的性质,即

$$N_{i,k}(x) \begin{cases} \geq 0 & x \in [t_i, t_{i+k}] \\ = 0 & \text{其他} \end{cases} \quad (4)$$

1.4 分叶形细胞核

对于有分叶的细胞核图像,极坐标中心的确定应该根据图像形状特性,即由简单闭合单图形,颈部逐渐细化到最终形成多轮廓分支的过程,如图 4 所示。原始细胞图像三维数组 $V(x, y, z)$, 从第 N

张图像开始显示图像分支,即当 $z=N$ 时,二值图像上有两个连通域。采用分段插值的方式,对分支前的图像轮廓数据采用和单轮廓插值相同的方法进行插值,即形态学开运算确定图形中心,直角坐标转换为极坐标,按极角间隔采样获得离散轮廓点数据,均匀三次 B 样条拟合获得中间插值层轮廓点位置。对分支图像的插值需要考虑的是轮廓对应问题。将 $z=N-1$ 张图像,即分支前一张,进行轮廓分割,分成和两支对应的两段轮廓,即可按照单轮廓插值进行,关键的问题是如何合理分割图形轮廓。借鉴计算机模式识别领域角点的概念,并结合数学形态学运算,实现合理分支轮廓分割。

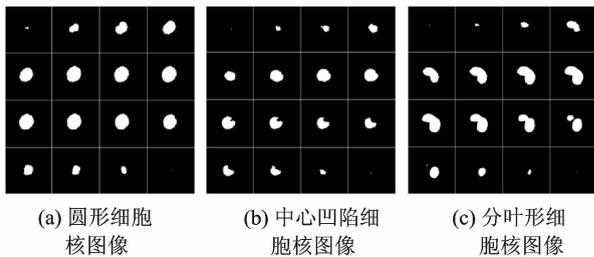


图 4 3 种典型细胞核 LSCM 二值化图像

1.4.1 颈部分离中心

分支前一张图像有着明显的图形特征,有明显的分支颈部区域,该区域两侧内凹,有明显的曲率变化,颈部区域较其他区域更细,这正符合细胞核分裂过程中,中间凹陷从而实现细胞核分离的事实(见图 5(a))。首先将该图像做形态学骨骼化处理,得到图像骨骼(见图 5(b))。骨骼是指图像中央的“支撑”部分,即中轴,是描述图像几何及拓扑性质的重要特征之一。在原始图像上进行腐蚀运算,即一层一层剥离二值化图像像素点,同时检测骨骼图像上最先被腐蚀运算作用到的像素点,也就是图像上颈部最细处的中轴点,记录该点为颈部分离中心(见图 5(c))。

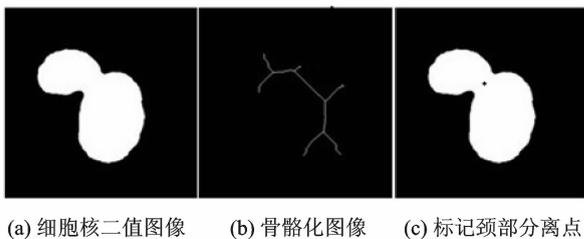


图 5 颈部分离示意图

1.4.2 角点检测

角点是二维图像的重要特征点,包含图形图像

的形状位置等重要特征,可以有效地减少数据量,在三维场景重建、目标跟踪、目标识别、图像配准中起重要的作用。分支细胞图像上颈部凹陷处就是保留图像重要特征的角点,如果能检测出颈部角点,即能实现轮廓的准确分割。

本文采用计算曲线曲率极值的方法得到角点位置。普遍认为角点是二值图像亮度变化剧烈的点或图像边缘轮廓上曲率极大值的点^[17]。采用 He 及 Yung^[18]提出的基于自适应阈值和动态支撑域的多曲率尺度角点检测方法,先在低尺度下计算曲率获取初始的候选角点,然后利用取局部阈值和候选角点的角度移除圆角点和量化噪声及边缘细节产生的伪角点。尽管此方法检测角点快速有效,但不可避免地会有伪角点遗漏。结合实际情况,加注约束条件,即角点到颈部分离中心的距离应小于所有轮廓点到颈部分离中心的平均距离,最终结果显示出良好的角点检测率。

1.4.3 轮廓分离匹配

连接颈部分离中心和角点可以将轮廓在细颈部分割成两部分,并且和分支后的轮廓有良好的形状对应关系,如图 6 所示。细胞核分支情况下轮廓的对应问题较好解决,也可以采用阈值半径的轮廓匹配方法计算各个封闭轮廓的中心,上层中心 C 在下层投影为 C' ,判断 C' 是否在以下层中心 C_2 为圆心和给定阈值为半径的圆形区域内,如图 7 所示,判定两轮廓匹配。对匹配好的分支轮廓可以采用单轮廓极坐标插值的方法完成轮廓插值。

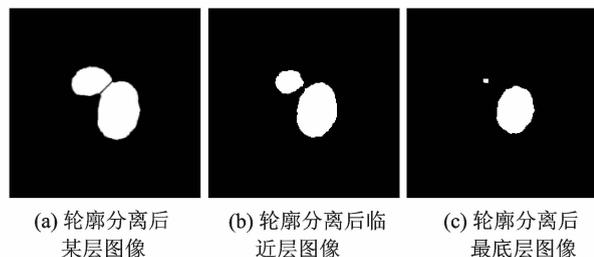


图 6 轮廓分离示意分割

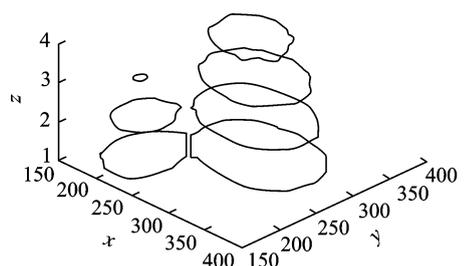


图 7 三维分支轮廓对应匹配

2 实验结果分析

为检测新型三维插值方法处理细胞三维图像的效果,本文以肿瘤细胞激光扫描共聚焦显微图像为例进行了实验研究。所用的细胞断层图像由激光扫描共聚焦显微镜(Zeiss LSM510, Zeiss, Germany)对全细胞进行三维“光学层切”成像获得。图像组采集参数设定为: z 向采样间距为 $0.5 \mu\text{m}$, x, y 方向像素长度为 $0.07 \mu\text{m}$,图像尺寸为 $512 \text{像素} \times 512 \text{像素}$ 。 z 向与 x, y 方向分辨率的差异决定了相邻层图像之间插值的层数,此参数用于插值计算中。两原始图像之间通过本文介绍方法插值获得形状逐渐过渡的 6 层图像,使 x, y, z 三方向分辨率一致。用于细胞断层图像轮廓三维插值的是二值化后的细胞核及全细胞断层图像,三维重建算法采用 Marching Cubes^[19]算法,对处理后的二维断层轮廓数据进行三维重建。由图 8 中经新插值方法处理后重建所得的结果可以看出,表面重建效果有明显改善。

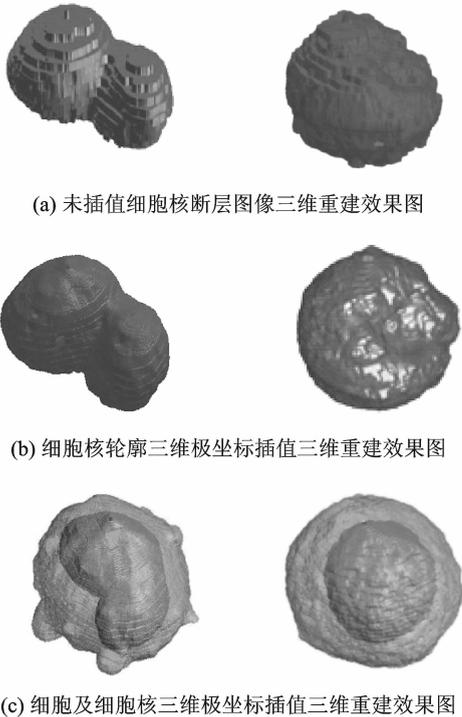


图 8 细胞三维重建效果图

3 结束语

本文提出了一种针对细胞共聚焦扫描断层图像轮廓的三维插值方法,以形态学开运算确定图形形态学中心,作为极坐标原点,将三维轮廓点直角坐标转换为极坐标,按极角间隔采样获得离散轮廓

点数据,均匀三次 B 样条拟合获得中间插值层轮廓点位置。尤其针对细胞核特殊的分支结构,结合数学形态学处理和基于曲率的角点检测实现轮廓线的合理分支对应。结果显示,经本方法插值后轮廓线的表面三维重建表现出良好的曲面光滑性和连续性。

极坐标变换插值的一项优势是插值结束后,可直接获得细胞图像的半径分布,有利于细胞三维形态的提取。由于细胞及细胞核形态结构的复杂多样性,算法的普适性尚有待进一步改善,下一步要做的工作就是针对多种细胞及细胞核形状对算法进行改进,并尝试使用多种样条函数实现轮廓点拟合,对比分析,选择更适合细胞断层轮廓三维重建的算法。

参考文献:

- [1] 张莹,冯远明,王贺,等. 用于细胞三维结构观察的现代显微影像仪器及相关技术[J]. 现代仪器, 2011, 17(3): 1-5.
Zhang Ying, Feng Yuanmin, Wang He, et al. Modern microscopic imaging equipments and related technologies for cell three-dimensional structure observation [J]. Modern Instrument, 2011, 17(3): 1-5.
- [2] 高放,赵杰. 一种改进的线性图像插值算法[J]. 电子设计工程, 2012, 20(15): 12-14.
Gao Fang, Zhao Jie. An improved linear image interpolation algorithm [J]. Electronic Design Engineering, 2012, 20(15): 12-14.
- [3] Higgins W E, Morice C, Ritman E L. Shape-based interpolation of tree-like structures in three-dimensional images[J]. IEEE Trans Med Imaging, 1993, 12(3): 439-450.
- [4] Yang L, Li D, He A, et al. A review of interpolation in multi-dimensional reconstruction of medical images[J]. J Biomed Engineering, 2003, 20(4): 728-732, 737.
- [5] Pan M S, Yang X L, Tang J T. Research on interpolation methods in medical image processing [J]. J Med Syst, 2012, 36(2): 777-807.
- [6] Raya S P, Udupa J K. Shape-based interpolation of multidimensional objects[J]. IEEE Trans Med Imaging, 1990, 9(1): 32-42.
- [7] Bors A G, Kechagias L, Pitas I. Binary morphological shape-based interpolation applied to 3-D tooth reconstruction[J]. IEEE Trans Med Imaging, 2002, 21(2): 100-108.
- [8] 周莹莉,曾立波,刘均堂,等. 基于图像处理的菌落自动计数方法及其实现[J]. 数据采集与处理, 2003,

- 18(4):460-464.
- Zhou Yingli, Zeng Libo, Liu Juntang, et al. A method for automatic colony counting based on age processing and its realization[J]. *Journal of Data Acquisition and Processing*, 2003, 18(4): 460-464.
- [9] 闫文忠,沈树群. 基于数学形态学的染色体自动计数算法[J]. *数据采集与处理*, 2008, 23(S): 73-76.
- Yan Wenzhong, Shen Shuqun. Automatic chromosome counting algorithm based on mathematical morphology[J]. *Journal of Data Acquisition and Processing*, 2008, 23(S): 73-76.
- [10] Fried J, Zietz S. Curve fitting by spline and Aakima methods: possibility of interpolation error and its suppression[J]. *Phys Med Biol*, 1973, 18 (4): 550-558.
- [11] 王瑜,郑津津,周洪军,等. 断层轮廓的双三次非均匀B样条曲面重构[J]. *中国科学技术大学学报*, 2011, 41(15): 384-391.
- Wang Yu, Zhen Jinjin, Zhou Hongjun, et al. Bicubic non-uniform B-spline surface reconstruction for slice contour[J]. *Journal of University of Science and Technology of China*, 2011, 41(5): 384-391.
- [12] 荣成城,周健,罗立民. 基于B样条插值函数的人脑MR图像非刚体配准方法[J]. *数据采集与处理*, 2007, 22(1): 78-83.
- Rong Chengcheng, Zhou Jian, Luo Limin. Non-rigid method for brain MR image registration based on B-splines interpolation function[J]. *Journal of Data Acquisition and Processing*, 2007, 22(1): 78-83.
- [13] 李开宇. 基于B样条插值的图像边缘检测[J]. *南京航空航天大学学报*, 2007, 2(39): 198-203.
- Li Kaiyu. Image edge detection based on B-spline interpolation[J]. *Journal of Nanjing University of Aeronautics and Astronautics*, 2007, 2 (39): 198-203.
- [14] Lehmann T M, Gonner C, Spitzer K. B-spline interpolation in medical image processing[J]. *IEEE Trans Med Imaging*, 2001, 20 (7): 660-665.
- [15] Okaniwa S, Nasri A, Lin H, et al. Uniform B-spline curve interpolation with prescribed tangent and curvature vectors[J]. *IEEE Trans Vis Comput Graph*, 2012, 18(9): 1474-1487.
- [16] De Boor C. On calculating with B-splines[J]. *Journal of Approximation Theory*, 1972, 6: 56-62.
- [17] He X C, Yung N H C. Corner detector based on global and local curvature properties [J]. *Opt Eng*, 2008, 47 (5): 57008.
- [18] He X C, Yung N H C. Curvature scale space corner detector with adaptive threshold and dynamic region of support [C]// 17th International Conference on Pattern Recognition. Cambridge, United Kingdom: Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc, 2004: 791-794.
- [19] Delibasis K S, Matsopoulos G K, Mouravliansky N A, et al. A novel and efficient implementation of the marching cubes algorithm[J]. *Comput Med Imaging Graph*, 2001, 25 (4): 343-352.

作者简介:撒昱(1975-),男,博士,讲师,研究方向:细胞三维测量与分析;张莹(1988-),女,博士,研究方向:医学物理;王平(1960-),男,博士,教授,研究方向:肿瘤放射治疗学;庞青松(1975-),男,博士,教授,研究方向:肿瘤放射治疗学;李瑞健(1987-),男,硕士研究生,研究方向:肿瘤放射治疗学;胡新华(1957-),男,博士,教授,研究方向:细胞三维测量与分析;黄彧(1990-),女,学士,研究方向:细胞三维测量与分析;冯远明(1959-),男,博士,教授,研究方向:医学物理, E-mail: y. m. feng@yahoo. com.