

HE 染色病理切片最优二值化算法研究

叶含笑 傅 斌 夏炳江

(浙江中医药大学 浙江 杭州 310053)

摘 要 基于阈值的图像区域分割难点在于阈值的选择。目的:为 HE 染色病理切片区域分割提供通用稳定的算法,对感兴趣区域进行二值化。方法:选择前景色和背景色作为种子点,求取种子点的 RGB 值欧氏距离作为阈值,对图像二值化分割,与颜色深度的最大类间方差法、颜色深度迭代法等多种自适应获取的阈值二值化图像分割效果进行比较。结果:基于背景色和前景色种子点选择的颜色欧氏距离对图像二值化分割稳定性和准确性最好。结论:在区域划分合理的情况下,以种子点颜色深度的欧氏距离阈值进行二值化,可以提取到感兴趣区域。

关键词 阈值图像分割 颜色欧氏距离 最大类间方差法 颜色深度迭代法

中图分类号 TP249 文献标识码 A DOI:10.3969/j.issn.1000-386x.2014.05.054

ON OPTIMAL BINARISATION ALGORITHM OF HE DYEING PATHOLOGICAL SECTION

Ye Hanxiao Fu Bin Xia Bingjiang

(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China)

Abstract Threshold-based segmentation of image region has the difficult in threshold selection. Objective: Providing a general and stabilised algorithm for the segmentation of HE dyeing pathological section regions, and binarising the interested regions. Method: choosing the foreground and background colours as the seed points and calculating the RGB value Euclidean distance between the seed points as the threshold, then dividing the image in binarisation way; comparing it with the segmentation effects of several threshold binarised images adaptively obtained from the maximum between-cluster variance method of colour depth and the colour depth iterative method, etc. Results: the colour Euclidean distance based on background and foreground colours seed point selection has best stability and accuracy on image binarisation segmentation. Conclusion: under the circumstance of reasonable regional division, and binarising with Euclidean distance threshold of seed points' colour depth, the interested regions can be extracted.

Keywords Threshold image segmentation Colour Euclidean distance Maximum between-cluster variance Colour depth iteration

0 引 言

图像分割是指把图像分解成各具特性的区域并提取出感兴趣目标的技术和过程^[1],它是计算机视觉需要解决的关键问题,分割结果的好坏直接影响到后续工作的准确性,目前图像分割的方法主要包括基于区域阈值的图像分割法,基于边缘判断的图像分割法。根据图像灰度或彩色特征可选择基于阈值的图像分割方法,二值图像分割法适合于前景与背景灰度或色彩差别大的情况^[2],比如染色后的病理切片,显微镜下的生物医学样本。阈值方法又分全局阈值和局部阈值两种^[3],阈值分割法中的关键是阈值的选择^[4],针对阈值的选择方法又有直方图分析法,基于模式分类的方法:包括类别方差准则分类法、最小错误概率分类法,已知某些约束条件的最优阈值, P-tile-thresholding(P 片法)、聚类的方法、局部自适应阈值选取等。

图像分割的好坏必须从分割的效果来判断^[5]。至今,还没有一个判断分割是否完全正确的准则,也没有一种标准的方法能够解决所有的分割问题。只有一些针对具体问题或要求满足

一定条件的方法。病理切片为了便于观察,往往用染色的方法让目标组织与别的器官有较显著的区别,因此病理切片表现的直方图峰值比较明显,适用于基于阈值二值化图像分割的方式对目标区域进行提取。

但在图像阈值分割中往往会遇见以下情况,以 T2 颜色深度表示背景颜色深度的最大值, T1 表示前景色颜色深度的最小值,以 T2 和 T1 分别表示背景色和前景色的阈值,阈值 T2 二值化保留一些大面积的、且有灰度值含有大于 T1 的点的前景区域,而不需要小面积的区域(T1 大于 T2),这时会遇到这样的问题:当阈值选为 T2 时会把一些小面积区域也保留下来;若把阈值增大到 T1,小面积的区域没了,但是原来大面积的区域又会减小;若要直接去掉阈值 T2 二值化图像中面积小于某一值的区域,需要计算每个区域的面积,计算量大,而且有的区域中并没有含有大于 T1 的点,为此根据 HE 染色病理切片前景色和背景色混合情况,本文给予了 4 像素乘 4 像素区域划分的方式进行

收稿日期:2012-11-12。浙江省教育厅 2012 年度科研计划项目(Y201224333);浙江省钱江人才计划项目(QJD0802007)。叶含笑,副教授,主研领域:医学图像处理。傅斌,助理研究员。夏炳江,硕士生。

小范围的二值化分割,在图 9 中获得了很好的效果。

1 阈值确定情况下的病理切片二值化图像分割效果

HE 单色染色的病理切片可通过一维颜色深度的特点选择合适的方式进行二值化,图 1 和图 2 分别为由数字显微镜采集的小鼠染色病理切片。

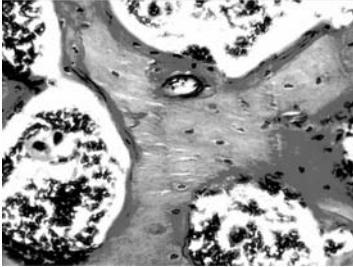


图 1 脊椎病理切片 1

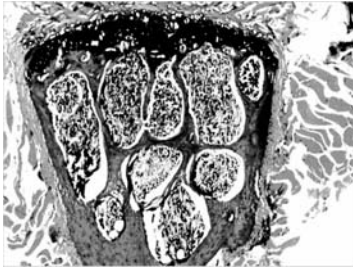


图 2 脊椎病理切片 2

彩图和灰度图转化为二值化图像时,由于阈值选取不当,二值化图像会发生失真。采用红色信息颜色深度,以默认阈值为 0.5 转化后的二值化图片如图 3 和图 4 所示。



图 3 阈值为 0.5 时二值化图像 1



图 4 阈值为 0.5 时二值化图像 2

图 3 和图 4 效果采用 MATLAB 函数 im2bw() 获得,以彩图 RGB 颜色分量中主色调 R 的颜色值作为二值化转换色,以 0.5 为阈值,将图像中 R 的值大于 0.5 的像素替换为值 1 (白色),其他替换为值 0 (黑色),同时忽略其他颜色。二值图与原图对比后,原本需要保留的骨组织信息严重丢失,可见单一的 0.5 阈值不适合这一系列的骨组织病理切片二值化。

2 最大类间方差法阈值求取及分割效果

最大类间方差法是由日本学者大津 (Nobuyuki Otsu) 于 1979 年提出的,是一种自适应的阈值确定的方法,又叫大津法,简称 OTSU。它是在最小二乘法原理基础上推导出来的,其基本思路是将直方图在某一阈值处,分割成两组,当被分成的两组平均灰度值的方差为最大时,确定为阈值。具体描述为按图像的灰度特性,将图像分成背景和前景两部分,当取最佳阈值时, Nobuyuki Otsu 认为背景应该与前景差别最大,在 OTSU 算法中这个衡量差别的标准就是最大类间方差,也就是说背景和前景之间的类间方差越大,说明构成图像的两部分的差别越大。

当目标和背景混淆时会导致两部分差别变小,使类间方差最大的分割意味着错分概率必须为最小。类间方差法对噪音和目标大小十分敏感,它仅对类间方差为单峰的图像产生较好的分割效果。当目标与背景的大小比例悬殊时,类间方差准则函数可能呈现双峰或多峰,此时分割效果不好,最大类间方差法 (OTSU) 的公式推导如下:

设一幅图像的灰度值为 m 级,灰度值为 i 的像素数为 n_i ,此时我们得到以下信息:

$$\text{总像素: } N = \sum_{i=1}^m n_i \quad (1)$$

$$\text{各灰度值的概率: } p_i = \frac{n_i}{N} \quad (2)$$

然后用 k 将其分成两组 $C_0 \in \{1 \sim k\}$ 和 $C_1 \in \{k+1 \sim m\}$, 各组产生的概率如下:

C_0 产生各级灰度的概率:

$$w_0 = \sum_{i=1}^k p_i \Rightarrow w(k) \quad (3)$$

C_1 产生的各级灰度概率:

$$w_1 = \sum_{i=k+1}^m p_i \Rightarrow 1 - w(k) \quad (4)$$

C_0 组的灰度平均值:

$$\mu_0 = \sum_{i=1}^k \frac{i p_i}{w_0} = \frac{\mu(k)}{w(k)} \quad (5)$$

C_1 组的灰度平均值:

$$\mu_1 = \sum_{i=k+1}^m \frac{i p_i}{w_1} = \frac{\mu - \mu(k)}{1 - w(k)} \quad (6)$$

其中 $\mu = \sum_{i=1}^m i p_i$ 是整个图像的灰度平均值, $\mu(k) = \sum_{i=1}^k i p_i$ 是阈值为 K 时灰度的平均值,全部采样的灰度平均值为 $\mu = w_0 \mu_0 + w_1 \mu_1$, 两组间的方差用下式求出:

$$\begin{aligned} \sigma^2(k) &= w_0 (\mu_0 - \mu)^2 + w_1 (\mu_1 - \mu)^2 \\ &= w_0 w_1 (\mu_1 - \mu_0)^2 = \frac{[\mu w(k) - \mu(k)]^2}{w(k) [1 - w(k)]} \end{aligned} \quad (7)$$

从 $1 \sim m$ 间改变 K , 求式 (7) 为最大值的 K , 即求 $\max \sigma^2(k)$ 的 k^* 值, 此时, k^* 值便是阈值。式 (7) 为方差公式, 当方差最大时, 可以认为此时前景和背景差异最大, 也就是此时的灰度是最佳阈值。而推导过程可以看出, 该方法是将彩图通过随机的一维颜色转化为灰度图后再进行背景和前景颜色深度作最大类间方差的。因此在彩色图转化为灰度图时, 存在颜色信号丢失和形状失真现象。图 5 和图 6 分别为原图通过类间方差最大获取阈值后转化而成的二值化图像。图 5 由图 1 灰度化后通过灰度级类间方差最大求取阈值后二值化而成, 其阈值为 0.67843。



图5 通过最大类间方差法获得阈值后转化的图像1

图6由图2灰度化后通过灰度级类间方差最大求取的阈值转化而成的二值化图像,其阈值为:0.63922。



图6 通过最大类间方差法获得阈值后转化的图像2

求取最大类间方差法阈值:

```
sum = csum = 0.0;
n = 0;
% 计算总的图像的点数和质量矩
for(k = 0; k <= 255; k++)
{
    sum += (double)k * (double)pixelNum[k];
% sum 为像素总和
    n += pixelNum[k];
% n 为图像总的点数,归一化后就是累积概率
}
fmax = -1.0; % 类间方差不可能为负,所以 fmax 初始值为 -1 不影响计算的进行
n1 = 0;
for(k = 0; k < 255; k++)
% 对每个灰度(从0到255)计算一次分割后的类间方差
{
    n1 += pixelNum[k];
% n1 为在当前阈值遍前景图像的点数
    if(n1 == 0) { continue; } % 没有分出前景后景
    n2 = n - n1; % n2 为背景图像的点数
    if(n2 == 0) { break; }
% n2 为0表示全部都是背景图像,与 n1 = 0 情况类似,之后的遍历不可能使前景点数增加,此时可以退出循环
    csum += (double)k * pixelNum[k];
% 前景的“灰度的值 * 其点数”的总和
    m1 = csum/n1; % m1 为前景的平均灰度
    m2 = (sum - csum)/n2; % m2 为背景的平均灰度
    otsu = (double)n1 * (double)n2 * (m1 - m2) * (m1 - m2);
% otsu 为类间方差
    if(otsu > fmax)
    {
        fmax = otsu; % fmax 始终为最大类间方差(otsu)
        threshValue = k;
% 取最大类间方差时对应的灰度的 k 就是最佳阈值
    }
}
```

通过观察后可知图5和图6骨组织信息保留比较完整,并且图6的分割效果要优于图5,但还是可以用肉眼观察到两张图片的失真情况。

3 迭代法阈值求取及分割效果

Ridler和Calvard在1978年曾提出过选取阈值的一种迭代法,但是十分耗时,Trussel对此作了简化,即任意将直方图划分为两部分,并计算每一部分的平均灰度,然后用两个平均灰度级的平均值作为新的分割阈值。具体操作步骤如下:

(1) 求出图像中的最大和最小灰度值 Z_1 和 Z_k (可根据图像的灰度直方图确定其最大和最小),令阈值初值 $T^k = \frac{Z_1 + Z_k}{2}$ 。

(2) 根据阈值 T^k 将图像分割成目标和背景两部分,求出两部分的平均灰度值 Z_0, Z_B ,公式如下:

$$Z_0 = \frac{\sum_{Z(i,j) < T^k} Z(i,j) \times N(i,j)}{\sum_{Z(i,j) < T^k} N(i,j)} \quad (8)$$

$$Z_B = \frac{\sum_{I(i,j) > T^k} Z(i,j) \times N(i,j)}{\sum_{I(i,j) > T^k} N(i,j)} \quad (9)$$

式中, $Z(i,j)$ 是图像上 (i,j) 点的灰度值, $N(i,j)$ 是 (i,j) 点的权重系数,一般 $N(i,j)$ 取值为1。

(3) 求出新的阈值:

$$T^{k+1} = \frac{Z_0 + Z_B}{2} \quad (10)$$

(4) 当 $T^k = T^{k+1}$ 时,迭代结束,否则 $K \leftarrow K + 1$ 。

图7为小鼠脊椎图片1通过灰度级迭代法获取阈值进行二值化图像转化后与原图一起显示的图像。迭代后取得的二值化分割阈值为0.74902,与图像灰度级最大类间方差求取的阈0.67843相差0.07059。

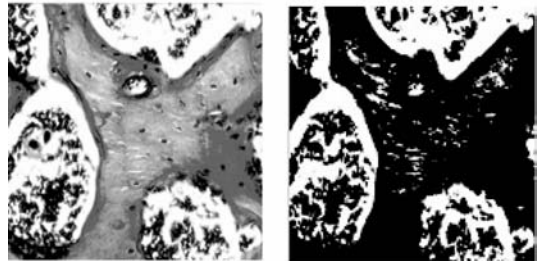


图7 灰度级迭代法阈值二值化图像1

图8为小鼠脊椎图片2通过灰度级迭代法获取阈值进行二值化图像转化后与原图一起显示的图像。迭代后取得的二值化分割阈值为0.6666667,与图像灰度级最大类间方差求取的阈0.63922相差0.02745。

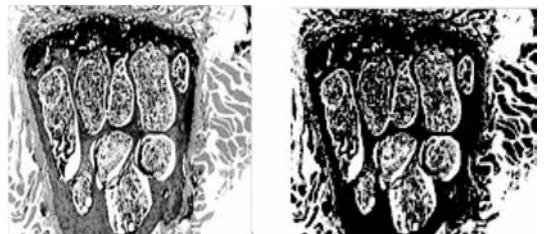


图8 灰度级迭代法阈值二值化图像2

迭代法阈值的求取:

```
ZMax = max( max(I) );
ZMin = min( min(I) );
TK = (ZMax + ZMin)/2;
bCal = 1;
iSize = size(I);
while( bCal)
iForeground = 0;
iBackground = 0;
ForegroundSum = 0;
BackgroundSum = 0;
for i = 1 : iSize(1)
for j = 1 : iSize(2)
tmp = I(i,j);
if( tmp >= TK)
iForeground = iForeground + 1;
ForegroundSum = ForegroundSum + double( tmp );
else
iBackground = iBackground + 1;
BackgroundSum = BackgroundSum + double( tmp );
end
end
end
ZO = ForegroundSum/iForeground;
ZB = BackgroundSum/iBackground;
TKTmp = uint8( (ZO + ZB)/2 );
if( TKTmp == TK)
bCal = 0;
else
TK = TKTmp;
end
end
disp( strcat( '迭代后的阈值:', num2str(TK) ) );
newI = im2bw( I, double( TK )/255 );
```

通过观察,用灰度级迭代法获取阈值后二值化分割的图7和图8分割效果明显优于最大类间方差求取的阈值分割的图5和图6,而两者阈值相减后的绝对值大小也进一步说明了图6分割效果要优于图5,同时通过肉眼观察可得染色病理切片采用灰度级迭代法获取阈值后二值化图像分割是最优方法。

4 基于区域划分的欧氏距离获取阈值图像分割

两点间欧氏距离的数学模型及属性如下所示:

设 $\xi, \eta \in V$ 将 $|\xi - \eta|$ 称为 ξ 与 η 间的距离,记为 $d(\xi, \eta)$,即:

$$d(\xi, \eta) = |\xi - \eta| = \sqrt{\langle \xi - \eta, \xi - \eta \rangle} \quad (11)$$

性质:

$$1) \quad \forall \xi, \eta \in V \quad d(\xi, \eta) \geq 0$$

$$\xi \neq \eta \text{ 时 } d(\xi, \eta) > 0 \quad (12)$$

$$2) \quad d(\xi, \eta) = d(\eta, \xi) \quad (13)$$

根据图像颜色前景色和背景色的特点划分成4像素乘像素区域,以 $x1$ 代表所选区域骨组织切片任意点的像素 RGB 颜色模型中的 R 值, $y1$ 代表任意点像素的 G 值, $z1$ 代表任意点像素的 B 值。 $x2, y2, z2$ 分别代表背景像素的 RGB 值。

由上所述任意点像素与背景像素点 RGB 颜色之间的欧氏距离可以用算术表达为:

$$d = \text{sqrt}((x1 - x2)^2 + (y1 - y2)^2 + (z1 - z2)^2) \quad (14)$$

通过颜色欧氏距离计算,在 d 大于最后一个像素与背景颜色的欧氏距离的情况下,颜色取值为1,其他为0,假如背景颜色不均匀可适当调整不等号右边的值, d 值的调整以观察二值化分割效果为参考。

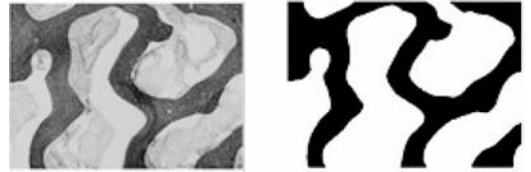


图9 为原图及通过欧氏距离分割后的提取到的骨小梁欧氏距离最佳阈值求取:

```
iSize = size(I); % 划分区域
out1 = zeros( iSize(1), iSize(2) );
for i = 1 : iSize(1)
for j = 1 : iSize(2)
v1 = [ HSV( i, j, 1 ), HSV( i, j, 2 ), HSV( i, j, 3 ) ];
d1 = sqrt( sum( (v1 - clrWhite).^2 ) );
% clrWhite 为灰度级为 255 转换的 HSV 空间的像素值
if d1 < d,
% d 为各像素 HSV 值与白色 HSV 值相差后的平均值,该值为
自适应值
out1( i, j ) = 1;
else
out1( i, j ) = 0;
end
end
end
```

由图9获得的图像二值化,从图像分割效果可以得出,按区域划分后以骨小梁为前景色,其他为背景色,RGB 颜色值的欧氏距离作为阈值对图像进行二值化,提取到完整的骨小梁。

5 结语

通过对多张 HE 染色骨组织病理切片图像分割效果进行比较,发现基于颜色欧氏距离的阈值选取的二值化图像分割方法针对 HE 染色病理切片的分割是最优的方法。图像分割作为感兴趣区域获取的关键步骤,图像分割算法的通用性和准确性研究对于机器视觉来说具有重要意义,骨小梁提取是骨组织计量必须要解决的关键问题,也是难点,对 HE 染色病理切片进行区域划分并进行基于颜色欧氏距离阈值获取的图像二值化分割,可以成功提取到骨小梁等感兴趣区域。骨小梁面积测定能定量反应骨质疏松情况,而骨质疏松可以见于多种疾病,如股骨头坏死,原发性骨质疏松症等,在骨科学实验研究中 HE 染色病理切片骨小梁面积检测是衡量多种研究效果的重要指标,因此 HE 染色骨小梁的提取具有重要的科研意义。

参 考 文 献

- [1] Smolka B, Konrad W, Wojciechowski. A new method of texture binarization[J]. Computer Analysis of Images and Patterns, 1997, 1296: 629-636.

然后,我们研究一下定位误差的问题。图7所示为在不同噪声水平下的定位性能。从图中可以看出,当 $(M/N) > 20\%$,定位性能基本保持稳定,且定位误差小于0.5个像素。

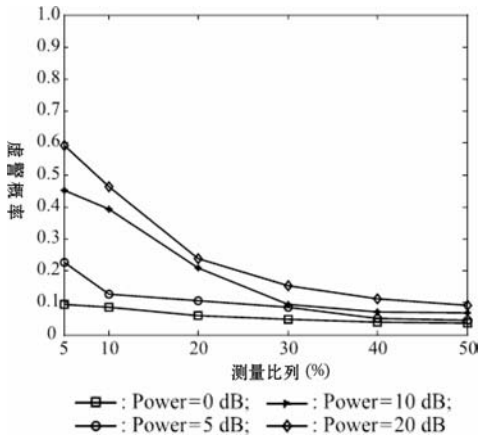


图6 不同压缩比例和不同SNR条件下的虚警概率

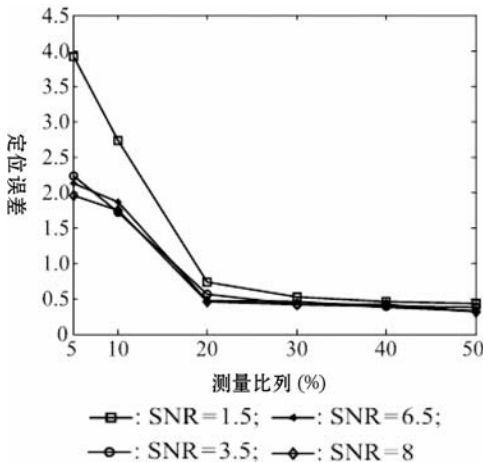


图7 不同压缩比例和不同SNR条件下的定位性能

图8所示为不同压缩比例下的检测和定位结果。即使在压缩比例降为50%,30%,20%时,都能够有效地实现运动目标的检测和定位。

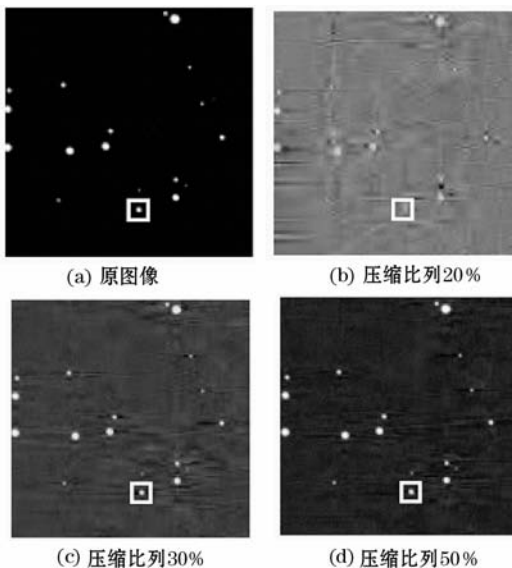


图8 不同压缩比例下的检测和定位结果

通过以上的仿真,我们发现本文所提出的算法在有效控制计算量的条件下能够很好地实现运动目标的检测和定位。

4 结 语

本文提出了一种基于压缩感知算法的天文遥感图像中小运动目标的检测和定位方法。由于天文遥感图像本质上是稀疏的,因此我们可以采用压缩感知理论更加有效的表示。采用带约束的稀疏优化算法能够有效地利用较少的样本实现目标的精确定位。仿真结果表明,本文所提出的算法能够得到和以往算法近似的结果,但是本文算法有效降低了计算量,而且解决了空中监测系统的带宽问题。

参 考 文 献

- [1] Bobin J, Starck J L, Ottensamer R. Compressed sensing in astronomy [J]. IEEE Journal of Selected Topics in Signal Processing, 2008, 2 (5): 718 - 726.
- [2] Donoho D. Compressed sensing [J]. IEEE Trans. on Information Theory, 2006, 52(4): 1289 - 1306.
- [3] Candès E, Romberg J, Tao T. Robust uncertainty principles: exact signal reconstruction from highly incomplete frequency information [J]. IEEE Trans. on Information Theory, 2006, 52(2): 489 - 509.
- [4] Candès E. Compressive sampling [C] // Proc. of the International Congress of Mathematics, 2006.
- [5] Feng C, Valae S, Tan Z. Multiple target localization using compressive sensing [C] // Proc. of the 28th IEEE Conference on Global Telecommunications, 2009: 4356 - 4361.
- [6] Wright J, Yang A, Ganesh A, et al. Robust face recognition via sparse representation [J]. IEEE Trans. on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2010, 31(2): 210 - 227.
- [7] Liu B, Fu P, Meng S, et al. Compressive sensing signal detection algorithm based on location information of sparse coefficients [J]. International Journal of Digital Content Technology and its Applications, 2010, 4(8): 79 - 85.
- [8] Cevher A, Sankaranarayanan. Compressive sensing for background subtraction [C] // Proc. of the 9th European Conference on Computer Vision, 2008: 155 - 168.
- [9] Tropp J A, Gilbert A C. Signal Recovery From Random Measurements Via Orthogonal Matching Pursuit [J]. IEEE Trans. Inf. Theory, 2007, 53 (12): 4655 - 4666.
- [10] Chen S S, Donoho D L, Saunders M A. Atomic Decomposition by Basis Pursuit [J]. SIAM Rev., 2009, 43(1): 129 - 159.
- [11] Töreyn B U, Cetin A E, Aksay A, et al. Moving object detection in wavelet compressed video [J]. Signal Processing: Image Communication, 2011, 20(3): 255 - 264.

(上接第218页)

- [2] Li Gang, Wan Youchuan. Adaptive Watershed Segmentation of Remote Sensing Image Based on Wavelet Transform and Fractal Dimension [J]. Advances in Intelligent and Soft Computing, 2012, 111: 57 - 67.
- [3] Nava-Ortiz M, Gómez-Flores W, Díaz-Pérez A, et al. Evaluation of Binarization Algorithms for Camera-Based Devices [J]. Pattern Recognition, 2011, 6718: 164 - 173.
- [4] Zhang Zhihong, Ma Guangsheng, Zhao Zhijiang. A New Image Auto-Segmentation Algorithm Based on PCNN [J]. Bio-Inspired Computational Intelligence and Applications, 2007, 4688: 152 - 161.
- [5] Ivan Lizarazo, Paul Elsner. Improving Urban Land Cover Classification Using Fuzzy Image Segmentation [J]. Transactions on Computational Science VI, 2009, 5730: 41 - 56.