

图像融合方法在细胞图像处理中的应用*

李 勤 代彩虹 俞 信 王苏生

(北京理工大学光电工程系, 北京 100081)

曹恩华

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘 要 图像融合作为一项先进技术被引入到生物细胞图像处理中, 可实现图像的信息融合, 完成图像配准, 提高图像置信度, 改善检测性能和空间分辨能力, 最大限度地发掘细胞图像的信息资源。本文采用像素级的图像融合方法, 将细胞荧光图像和透射图像信息融为一体, 操作简便, 能准确判断细胞内部荧光位置, 有利于分析其生物机理和含义。

关键词 图像融合, 荧光图像, 透射图像。

1 引 言

图像融合是数据融合范围内主要以图像为研究对象的领域, 它把对同一目标或场景用不同传感器所获得的图像或用同一传感器用不同方式所获得的多重图像合成一幅图像, 在这幅图像中能反映多重原始图像中的信息, 以达到对目标和场景更精确、更全面地分析和判断。由于图像融合是数据融合的子集, 必然具有数据融合的优点, 能够提高传感器系统的有效性和信息的使用效益。

由于生物细胞荧光图像具有信号弱、信噪比低、信息量小的特点, 而许多重要信息反映在图像的一些细微变化上, 所以对图像处理有较高要求。将改进后的荧光显微镜获得的图像进行图像增强、去除噪声等前期处理后, 采用图像融合技术, 可实现图像的信息融合, 完成图像配准, 准确判断细胞内部发光位置, 提高图像置信度, 降低模糊度, 改善检测性能和空间分辨能力, 最大限度地发掘细胞图像的信息资源, 更有利于分析和判断其生物机理和含义。尽管国内外图像融合技术已渗透到军事、遥感和计算机视觉等许多领域^[1-7], 并且在医学图像处理中也得到了应用^[8], 但对生物学领域的图像进行融合处理, 本文作者至今还未见报道。

图像融合处理有基于像素级、特征级和判决级的多种方法, 其中利用高斯-拉普拉斯金字塔技术, 成功地实现了多重图像镶嵌、增加景深(对于多重多点聚焦图像)和消除目标的遮挡物等实验; 伪彩色显示可将不同传感器探测到的图像以不同颜色显示, 提高对图像的分辨能

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1997-09-15; 收到修改稿日期: 1998-01-19

力；近来小波变换又成为图像融合算法研究的焦点，在对可见光图像和红外图像融合研究中有不少工作^[9]，利用小波变换域实现了基于特征点的图像配准。本文所采用的算法是在 Alexander Toet 伪彩色算法^[5]基础上加以改进的基于像素的融合方法，操作方便快捷，结合细胞荧光图像需要定位研究的特点，对细胞荧光图像和透射图像进行融合，使融合图像充分显示源图像的信息，达到准确显示发光位置的目的。

2 算法模型

由于采用基于像素的融合方法，要求源图像大小相等，细胞所在位置相同，即两幅图像点对点，便于图像配准。本文中使用的荧光图像和透射图像是通过显微镜的同一光路获得，装置方框图如图1所示，可从硬件上保证图像配准，无需再从算法上调整；但荧光图像的获取需要暗场照明器，而透射图像就不需要。图像融合算法的具体操作如下：

1) 确定荧光图像 A 和透射图像 B 的共同成份， A 和 B 表示两幅图像的照度函数， i, j 是像元的坐标，其中 $\{A, B\} \in [0, 255]$ ，共同成份可以通过求两幅图像各相应像元灰度较小值实现，即：

$$A \cap B = \min \{A(i, j), B(i, j)\}$$

2) 从荧光图像上扣除共同成份得到荧光图像的特征成份 A^* ， $A^* = A - A \cap B$ ；从透射图像上扣除共同成份得到透射图像的特征成份 B^* ， $B^* = B - A \cap B$ 。

3) 从荧光图像中扣除透射图像的特征成份 B^* ，得到 $A - B^* = (A - B) + A \cap B$ ；从透射图像中扣除荧光图像的特征成份 A^* ，得到 $B - A^* = (B - A) + A \cap B$ 。这项操作是为了改善融合图像的效果。

4) 确定透射图像和荧光图像的不同部分， $B^* - A^* = B - A$ ，当 $|B^*| < |A^*|$ 时，定义 $B^* - A^* = 0$ 。此操作的目的是将两幅图像的不同部分作为背景，突出透射图像的特征，以便准确判断荧光的位置；该成份在融合图像中的比重由权重系数决定。

5) 将步骤3)和步骤4)中得到的结果按不同权重计算融合图像的灰度值：

$l = a(A - B^*) + b(B - A^*) + c(B^* - A^*)$ ， a, b, c 为权重系数；权重系数的选取可根据观察需要确定， $a + b + c = 1$ 。为使融合图像视觉效果更佳，还可对其进行对比度增强。

3 实例与讨论

对细胞荧光图像的观察，准确判断细胞内的发光位置，是对发光机理进行准确解释的前提，仅有荧光图像常常无法完成这项任务，必须与对应的细胞透射图像对照；但即使借助于透射图像，也只能通过人眼进行估计，误差较大。通过将两幅图像融合，从得到的图像上可以同时显示出荧光图像和透射图像的特点，以透射图像为背景确认发光位置，获得良好的视觉效果和准确的判断结果。

利用自行研制的数字化高灵敏度荧光显微镜获得荧光图像和透射图像，图像采集过程通

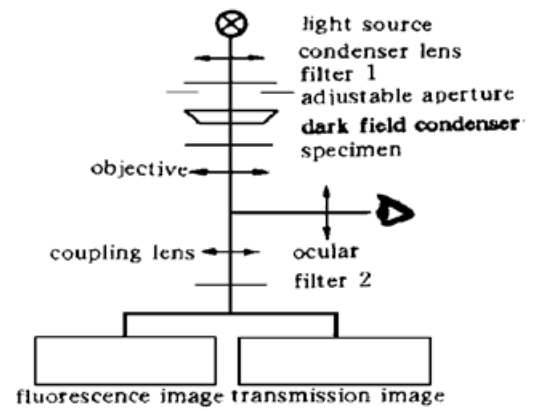


Fig. 1 The block diagram of the fluorescence microscope

过同一光路，保证了两幅图像完全配准。在对图像进行融合处理之前，先要对两幅图像进行图像对比度增强、去除噪声等处理，提高融合效果。

为了验证该方法在细胞图像处理中的实用性，本文采用了 HeLa 细胞(子宫颈癌细胞)的一组图像，图2(a)为荧光图像，图2(b)为透射图像，荧光标记物为溴乙啶，生化实验通常采用分离不同细胞器，分别分析各部分吸收荧光标记物的多少，方法复杂且需要较长时间；分析结果证实溴乙啶主要与脱氧核糖核酸(DNA)结合，分布于细胞核内。经过上述算法所述各步骤，得到它们的融合图像，很快就可以判断出准确的荧光位置。其中图3表示两幅图像的共同成份 $A \cap B$ ，图4(a)为荧光图像的特征成份 A^* ，图4(b)为透射图像特征成份 B^* ；从图2(a)中扣除图2(b)的特征成份 B^* ，即 $A - B^*$ ，得到图5(a)；从图2(b)中扣除图2(a)的特征成份 A^* ，即 $B - A^*$ ，得到图5(b)。两幅图像的不同成份为 $B^* - A^*$ ，如图6所示。将图5(a)，图5(b)和图6的三幅图像取不同权重即得到融合图像各象元的灰度值，图7为图2中两幅图像的融合结果，其中 $a = 0.5, b = 0.5, c = 0$ ；荧光图像和透射图像的信息均可被显示，从图中明显地看出溴乙啶主要被细胞核吸收，与生化实验结果一致；同时透射图像的结构也可

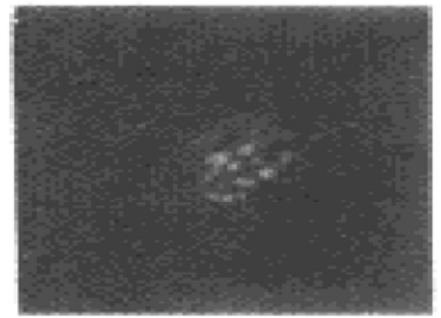
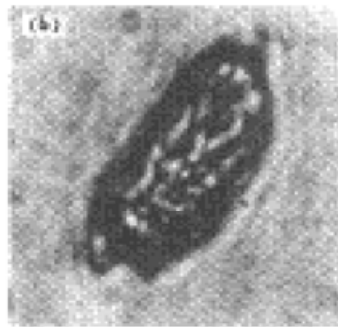
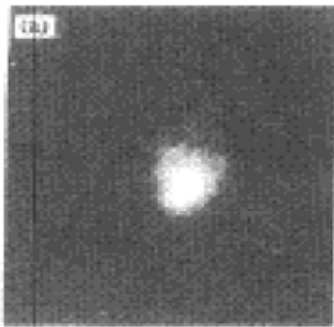


Fig. 2 (a) Fluorescence image of cell, (b) Transmission image of cell

Fig. 3 The common component of two original input images

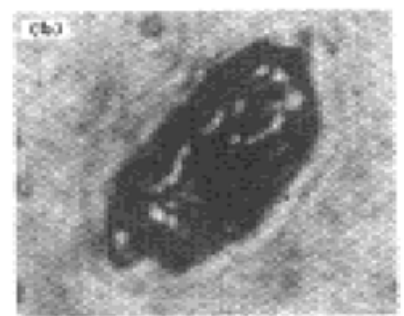
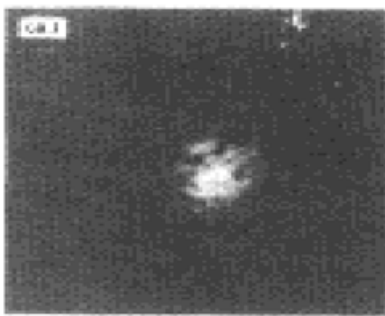


Fig. 4 (a) The unique component of fluorescence image, (b) The unique component of transmission image

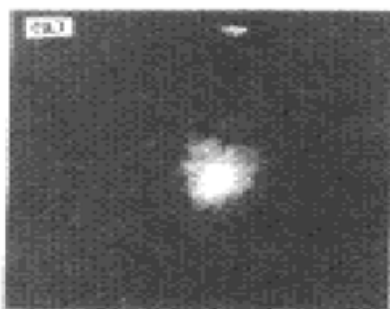


Fig. 5 (a) The unique component of transmission image is subtracted from fluorescence image, (b) The unique component of fluorescence image is subtracted from transmission image

观察到。对图7进行对比度增强得到图8, 显示效果更佳。



Fig. 6 The difference of transmission image and fluorescence image

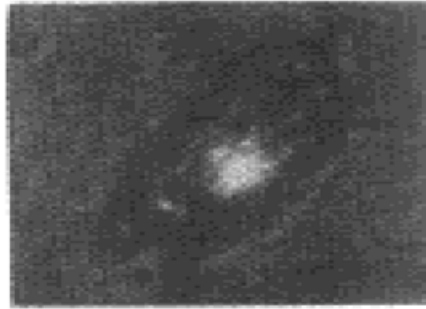


Fig. 7 The fusion image of fluorescence image and transmission image

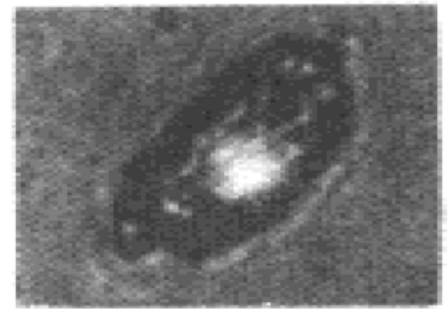


Fig. 8 The image of Fig. 7 after image contrast enhancement

为了进一步证实该算法的实用性, 又对 Hela 细胞另一组图像进行了融合处理。图9(a)为荧光图像, 图9(b)为相应的透射图像, 标记物为竹红菌甲素(Hypocrellin A, HA, 我国自行研制的一种光敏剂), 生化实验证实其主要分布于细胞膜和细胞浆, 表1列出了用荧光光度仪测得的数据; 融合后的图像如图10所示, 其中各权重系数分别为 $a = 0.7$, $b = 0.2$, $c = 0.1$; 经对比度增强处理后图像如图11所示。将图10与图9中的两幅图像进行对比可以看出, 图10基本显示出两幅图像的特点, 由于观察的目标主要是荧光图像, 因此荧光图像特征量的权重系数 a 较大, 透射图像作为背景权重系数 b 较小, 图中主要反映荧光图像的特点。若以透射图像为观察对象, 则透射图像的权重系数 b 应取较大值。

Table 1. The distribution of HA in Hela cell (Measured by fluorescence meter)

fraction	HA before irradiation/%
cytoplasm	93.0 ± 1.03
nucleus sap	2.2 ± 0.89
chromatin	4.8 ± 0.38

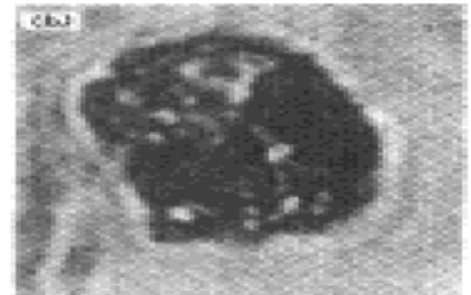
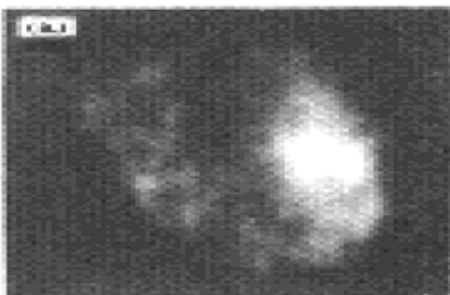


Fig. 9 (a) Fluorescence image of cell, (b) Transmission image of cell

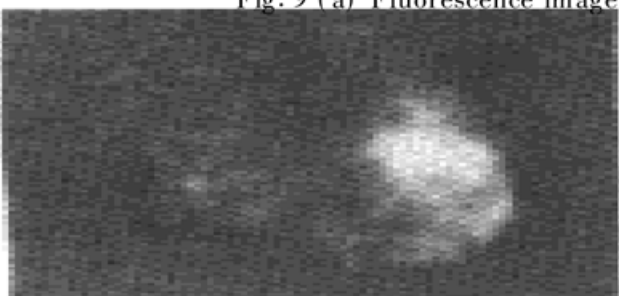


Fig. 10 The fusion image of fluorescence image and transmission image

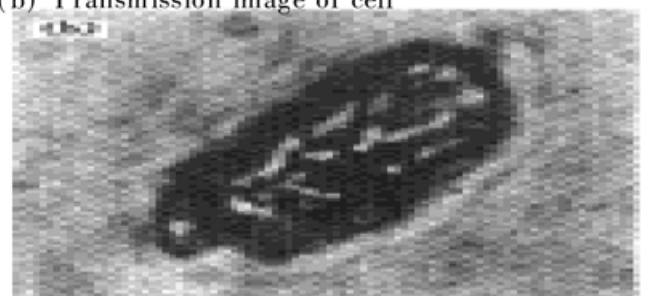


Fig. 11 The image of Fig. 10 after contrast enhancement

通过以上实例可以看出,本文采用的基于像素的融合方法使融合后的图像具有以下几个特点:

- 1) 实现细胞图像的荧光定位,便于分析实验机理作出正确判断;
- 2) 集两幅原始图像的特点为一体,信息不丢失,从而使占用的内存空间降低,便于进行存储和图像传输,特别适合今后计算机联网通讯的需要;
- 3) 处理过程操作简单,权重系数可根据观察需要进行调整;
- 4) 该算法不仅仅适用于两幅图像,多幅图像也可处理;对仪器性能和微机处理能力要求不高,具有广泛的适应性。

参 考 文 献

- [1] H. Li, B. S. Manjunath, S. K. Mitra, Multisensor image fusion using the wavelet transform. *Graphical Models and Image Processing*, 1995, **57**(3) ·235~ 245
- [2] Xiaoyu Jiang, Liwei Zhou, Zhiyun Gao, Multispectral image fusion using wavelet transform. *Proc. SPIE*, 1996, **2898** ·35~ 42
- [3] Alexander Akerman III, Pyramidal techniques for multisensor fusion. *Proc. SPIE*, 1992, **1828** ·124~ 131
- [4] Wenzhong Wei, Zhiyun Gao, Shiling Hu, A new algorithm of image registration in image fusion based on wavelet decomposition. *Proc. SPIE*, 1996, **2898** ·28~ 34
- [5] Alexander Toet, Jan Walraven, New false color mapping for image fusion. *Opt. Engng.*, 1996, **35**(3) ·650~ 658
- [6] Ze-Sun Jain, Yaw-geng A. Chau, Optimum multisensor data fusion for image change detection. *IEEE Trans. on Systems, Man, and Cybernetics*, 1995, **SMC-25**(9) ·1340~ 1347
- [7] Keith C. Drake, Richard Y. Kim, Pixel-level object segmentation using moment invariants as characterization features. *Proc. SPIE*, 1994, **2233** ·189~ 199
- [8] Stevan M. Vajdic, Henry E. Katz, Andrew R. Downing *et al.*, AI-based relational matching and multimodal medical image fusion: Generalised 3D approaches. *Proc. SPIE*, 1994, **2308** ·1565~ 1573
- [9] Hui Henry Li, Yi-Tong Zhou, Automatic visual/IR image registration. *Opt. Engng.*, 1996, **35**(2) ·391~ 400
- [10] 许娜飞, 李景福, 曹恩华等, HeLa 细胞对竹红菌甲素摄取的直接观察与动态过程分析. *生物物理学报*, 1995, **11**(2) ·261~ 266

Application of Imaging Fusion in Cell Images Processing

Li Qin Dai Caihong Yu Xin Wang Susheng
(*Opto-Electronic Department, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081*)
Cao Enhua

(*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101*)

(Received 15 September 1997; revised 19 January 1998)

Abstract Being an advance technique, the imaging fusion is applied in biology cell images processing. The resultant merged image would contain more information than any of the individual image. It can match the images and improve the confidence of images and spatial resolution. In this article, a simple pixel-based algorithm is applied to combine the fluorescence image and transmission image into a single composite image with extended information content. The method is also benefit to correctly judge the position of fluorescence and analysis of biological mechanism of fluorescence.

Key words image fusion, fluorescence image, transmission image.