

应用小波边缘检测技术分析荧光寿命显微像

屈军乐 陈德智* 牛憨笨

(中国科学院西安光学精密机械研究所, 西安 710068)

摘 要 研究了小波图像边缘检测技术在荧光寿命显微像分析中的应用, 利用小波分析的多尺度特性进行了荧光寿命显微像的边缘提取。结果表明, 这种方法非常有效。

关键词 荧光寿命显微像, 小波, 边缘检测, 多尺度分析。

1 引 言

荧光寿命成像显微技术是近几年兴起的一门新技术^[1-4], 是生物学研究领域一种非常重要的研究方法。它是通过对样品微环境内荧光寿命的测量和成像, 以反映样品微环境及微结构的信息。为了提高数据处理的精度, 给出精确的统计结果, 对荧光寿命显微像的边缘检测是有效和必要的。在处理测量数据时, 需对所得数据进行限幅处理。其中, 对荧光强度过强点的鉴别至关重要, 因为这些点有可能来自样品的外部。目前在处理这个问题时, 人们往往给出一个荧光强度的门限值, 对高于这一门限值的点(奇异点)作为样品外部的点而不加处理^[5]。这种方法虽然简单, 但存在两个严重的问题: 一是门限值的选取强烈地依赖于实验者对测量样品的了解程度, 也就是与经验有关; 二是这些奇异点有可能并非样品的外部点, 而是由于 CCD 所记录到的光子数的统计涨落引起的随机噪声的影响所致。

图像的边缘点是指图像信号强度发生急剧变化的位置, 它包含了图像的绝大部分信息。通过对荧光寿命显微图像的边缘分析, 可以有效地区分样品图像和外部点, 从而刻画样品的空间大小、形状和微环境结构等信息特征并精确给出数据处理中的统计结果。

边缘检测对于图像处理和计算机视觉来说, 是一个重要课题。通常, 图像在不同的尺度下表现为不同的边缘特性。例如, 观察者所用的尺度较小时, 能够看到一些细节边缘; 而当观察者所用的尺度较大时, 细节边缘及细小的背景噪声被忽略掉了, 只保留了大的结构, 这就是多尺度分析的思想。近几年迅速崛起的小波分析技术, 最主要的思想就是多尺度分析, 因而成为图像多尺度边缘检测中一个崭新而锐利的工具^[6]。

本文介绍了小波边缘检测的一般理论, 并取三阶中心 B -样条函数作为光滑函数, 利用其一阶导数构造小波, 对荧光寿命显微图像的边缘提取进行研究; 在计算机上模拟了一幅荧光寿命显微图像, 利用所编制的程序对该图像进行了处理。结果表明, 这种方法对荧光寿命

* 西安交通大学电气工程学院, 西安 710049。

收稿日期: 1997-05-20; 收到修改稿日期: 1997-08-25

显微图像的处理非常有效。

2 小波多尺度图像边缘分析

多尺度边缘检测法是在不同的尺度下对信号进行光滑, 然后通过其一阶或二阶导数来检测急剧变化点。一阶导数的极大值对应着二阶导数的过零交叉点和光滑过的信号的拐点。

如果一个函数 $\theta(x)$ 满足积分等于 1 且在无穷远处衰减为 0, 便可以用作为一个光滑函数。假定 $\theta(x)$ 是二阶可导的, 并且用 $\psi'(x)$ 和 $\psi''(x)$ 表示其一阶和二阶导数

$$\psi'(x) = \frac{d\theta(x)}{dx}, \quad \psi''(x) = \frac{d^2\theta(x)}{dx^2} \tag{1}$$

根据定义 $\psi'(x)$ 和 $\psi''(x)$ 积分为零, 故可作为小波。并选取 $\Psi(x) = \psi'(x)$ 作为用于边缘检测的小波。文中使用记号 $\zeta(x) = \zeta(x/s)/s$ 表示任意函数 $\zeta(x)$ 的 s 因子伸缩。小波变换定义为 $W_s f(x) = f \circledast \Psi_s(x)$ 。据此定义, 有

$$W_s f(x) = f \circledast (s \frac{d\theta_s(x)}{dx}) = s \frac{d}{dx} (f \circledast \theta_s(x)) \tag{2}$$

因此, 小波变换 $W_s f(x)$ 是信号在尺度 s 下平滑后的一阶导数, 其局部极值点对应着 $f \circledast \theta_s(x)$ 的拐点: 模极大值点对应着平滑后信号的急剧变化点, 模极小值点对应着平滑后信号的缓慢变化点。因此模极大值点就是信号的边缘点。尺度 s 很小时, 这些边缘点反映了信号中小尺度结构的特征(包括高频噪声); 随着尺度 s 的增大, 信号中小的震荡(高频成份)被平滑掉, 大尺度结构的边缘特征得到保留。

2.1 一维小波的选取及信号快速分解算法

选取光滑函数 $\theta(x)$ 为三阶中心 B -样条函数, 取其一阶导数作为小波, 可以证明, 它是一个二进小波。定义 $S_{2^j} f(x) = f \circledast \theta_{2^j}(x)$ 。则有以下快速分解递推算法

$$\begin{cases} W_{2^{j+1}} f = S_{2^j} f \circledast G_j \\ S_{2^{j+1}} f = S_{2^j} f \circledast H_j \end{cases}, \quad j = 0, 1, 2, \dots, J \tag{3}$$

其中, $W_{2^j} f$, $S_{2^j} f$ 分别为 $W_{2^j} f(x)$ 和 $S_{2^j} f(x)$ 的离散; G 和 H 是相应的滤波器(见表 1^[6]), G_j 和 H_j 分别为在 G 和 H 的每两个系数之间插入 2^j 个 0; J 是可能的最大分解次数, $J = \log_2(N)$, N 是信号离散长度。通常, 为简便起见, 可以把 $S_{2^j} f(x)$ 直接取为 $f(x)$ 。通过分析 $W_{2^j} f$ 的模极大值, 就得到了一维信号在不同尺度下的急剧变化点, 即边缘点。

Table 1. Filter coefficients

n	H	G
- 1	0. 125	
0	0. 375	- 2. 0
1	0. 375	2. 0
2	0. 125	

2.2 二维小波的选取及图像快速分解算法

对于二维情况可以简单地选取

$$\Phi(x, y) = \theta(x)\theta(y) \tag{4}$$

作为光滑函数, θ 是上文中的一维光滑函数, 依旧取为三阶中心 B -样条函数。相应的, 二维小波有两个, 分别为

$$\psi^1(x, y) = \frac{\partial \Phi(x, y)}{\partial x} = \frac{d\theta(x)}{dx} \theta(y), \quad \psi^2(x, y) = \frac{\partial \Phi(x, y)}{\partial y} = \frac{d\theta(y)}{dy} \theta(x) \quad (5)$$

类似地, 使用记号

$$S_z^j f(x, y) = f \circledast \Phi_j^z(x, y), \quad W_z^j f(x, y) = f \circledast \Psi_j^z(x, y), \quad (6)$$

$$W_z^{2j} f(x, y) = f \circledast \Psi_{2j}^z(x, y), \quad \zeta_j(x, y) = (1/s) \zeta(x/s, y/s). \quad (7)$$

有以下的快速分解递推算算法

$$\begin{cases} W_z^{2j+1} f = S_z^j f \circledast (G_j, D) \\ W_z^{2j+2} f = S_z^j f \circledast (D, G_j), \\ S_z^{2j+1} f = S_z^j f \circledast (H_j, H_j) \end{cases} \quad j = 0, 1, 2, \dots, J \quad (8)$$

式中, $W_z^{2j+1} f$, $W_z^{2j+2} f$, $S_z^j f$ 分别为 $W_z^{2j} f(x, y)$, $W_z^{2j} f(x, y)$ 和 $S_z^j f(x, y)$ 的离散; G 和 H 是相应的一维滤波器。另外, D 是狄拉克(Dirac)滤波器, $S_z^j f \circledast (G, D)$ 表示用 G 和 D 分别对 $S_z^j f$ 进行行卷积和列卷积。

$W_z^{2j} f(x, y)$ 的模极大值表征了图像在 x 方向的急剧变化点, $W_z^{2j} f(x, y)$ 的模极大值表征了图像在 y 方向的急剧变化点, 而 $\sqrt{(W_z^{2j} f(x, y))^2 + (W_z^{2j} f(x, y))^2}$ 的极大值则综合表征了图像的边缘点。

3 模拟实验结果及分析

为了研究小波图像边缘检测技术在荧光寿命显微像分析中的应用, 在计算机上模拟产生了一幅荧光寿命显微像, 由于测量中的随机噪声主要由 CCD 的统计涨落引起, 且其标准偏差 σ_{RN} 服从泊松分布, 即 $\sigma_{RN} = \sqrt{N}$, 因此在产生的模拟图像中加入了 30% 的随机噪声。图 1 是该显微像的灰度图, 反映了样品内的微环境结构或微参数分布的信息, 由于噪声的影响, 使得样品图像的边缘模糊, 如果在数据处理中对样品内外的点不加区别, 势必导致严重的计算误差。

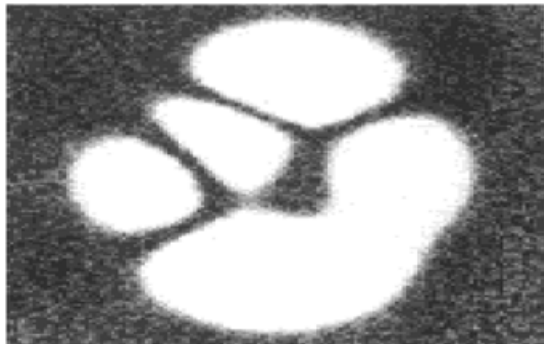


Fig. 1 Original image of Fluorescence lifetime t with 30% random noise

作者用上节所讲的二维小波分解算法对图 1 的数据进行了分解, 图 2 给出了不同尺度 ($j = 1, 2, 3, 4$)

下 $\sqrt{[W_z^{2j} f(x, y)]^2 + [W_z^{2j} f(x, y)]^2}$ 的灰度图。可见, 尺度 $j = 1$ 时, 检测到的边缘点主要为随机噪声[如图 2(a) 所示]; 随着尺度增大, 小粒度的

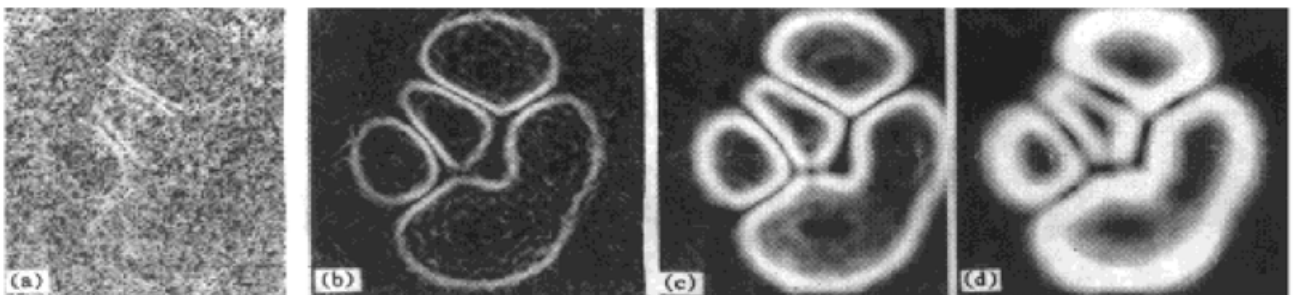


Fig. 2 Modulus images of wavelet transform with different scales ($j = 1, 2, 3, 4$). (a) Modulus image of wavelet transform when $j = 1$, (b) Modulus image of wavelet transform when $j = 2$, (c) Modulus image of wavelet transform when $j = 3$, (d) Modulus image of wavelet transform when $j = 4$

随机噪声被光滑掉了,大结构的轮廓清晰地显示出来[如图 2(b)所示];尺度继续增大,小的细节不断被光滑掉,大结构的边缘也逐渐变得模糊起来[如图 2(c)~图 2(d)所示]。至于最终选取哪个尺度确定图像的边缘,则取决于对图像的采样频率和欲分辨的图像细节的尺度,还要兼顾对图像细节的分辨率和对高频噪声的抑制。在本文的模拟实验中,用尺度 $j = 2$ 的结果确定荧光寿命显微像的边缘。它由所有具有局部模极大值的点构成。

结 论 小波图像边缘分析方法在荧光寿命成像显微技术中是一种很好的工具,对荧光寿命成像显微技术的发展具有重要意义。它可精确检测图像的边缘;描述样品的空间大小、形状和微环境结构等信息特征;对高频噪声有较强的抑制作用,因而可精确给出数据处理中的统计结果。

参 考 文 献

- [1] Joseph R. Lakowicz, Fluorescence lifetime sensing generates cellular images. *Laser Focus World*, 1992, (5): 60~ 63
- [2] Xue Feng Wang, Shigeki Kitajima, Teruo Uchida *et al.*, Time-resolved fluorescence microscopy using multichannel photon counting. *Appl. Spectrosc.*, 1990, **44**(1): 25~ 30
- [3] Xue Feng Wang, Teruo Uchida, Shigeo Minami, A fluorescence lifetime distribution measurement system based on phase-resolved detection using an image dissector tube. *Appl. Spectrosc.*, 1989, **43**(5): 840~ 850
- [4] Theodorus W. J. Gadella, Jr, Thomas M. Jovin *et al.*, Fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM): Spatial resolution of microstructures on the nanosecond time scale. *Biophys. Chem.*, 1993, (48): 221~ 239
- [5] Theodorus W. J. Gadella, Jr, Robert M. Clegg *et al.*, Fluorescence lifetime imaging microscopy: pixel-by-pixel analysis of phase-modulation data. *Bioimaging*, 1994, (2): 139~ 159
- [6] Stephane Mallat, Wen Liang Hwang, Singularity detection and processing with wavelets. *IEEE Trans. Inform. Theo.*, 1992, **IT-38**(2): 617~ 643

Application of Wavelet Edges Detection Method in Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy

Qu Junle Chen Dezhi* Niu Hanben

(Xi'an Institute of Optics & Precision Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068)

(Received 20 May 1997; revised 25 August 1997)

Abstract The application of wavelet multiscale edges detection method in the fluorescence lifetime imaging microscopy is studied. A Fluorescence lifetime image is analyzed, and the results show that this method is very effective.

Key words fluorescence lifetime imaging microscopy, wavelet, edges detection, multiscale analysis.

* School of Electrical Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049