

文章编号: 0253-2239(2010)s100401

采取等值面高曲率种子和水平集速度图像的 三维神经目标高效分割

肖 亮

(南京理工大学计算机科学与技术学院, 江苏 南京 210094)

摘要 神经目标自动分割是神经树脊检测、识别和重建的核心技术之一。提出了一种新颖的三维荧光共焦图像神经目标的水平集分割方法。第一步, 采取各向异性曲率流平滑和增强图像, 然后生成水平集速度图像。第二步, 通过计算局部等值面曲率的极大值自动生成神经目标的种子点, 该种子点对应于局部的脊点或者谷点。第三步, 快速行进算法计算初始水平集形状图像。最后, 利用初始水平集速度图像作为输入, 利用基于形状的水平集算法自动分割神经目标。该方法通过采取对应于局部的脊点或者谷点种子点生成定为目标位置, 加速了水平集演化算法的计算时间。双光子或荧光激光图像中神经目标分割实验证明了算法的有效性。

关键词 生物光学; 神经目标分割; 水平集方法; 等值面曲率; 神经树脊

中图分类号 Q63, TP391 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/AOS201030.s100401

Efficient 3D Neuron Object Segmentation Exploiting Level Set Speed Images and High Local Iso-surface Curvature Seeds

Xiao Liang

(School of Computer Science and Technology, Nanjing University of Science and Technology,
Nanjing, Jiangsu 210094, China)

Abstract Automatic segmentation is a core technology for dendritic spines detection, identification and reconstruction. A novel level set segmentation method is proposed for neuron object in 3D fluorescence confocal images. In the first step, 3D image are smoothed and enhanced by curvature anisotropic diffusion filter, and then the level set speed images are computed. In the second step, the seed points of neuron object are computed automatically located at the extreme local iso-surface curvature, which correspond to the local ridge or valley points on neuron object. Then in the third step, the fast marching method is used to produce the initial level set shape images. In the last step, the initial level set shape images are passed as input to the shape detection based level set algorithm to compute the final 3D neuron object. This method reduces the computation time by minimizing level set propagation, which converges at the optimal object within a fixed iteration number. Experiments on 2-photon lasers or 3D fluorescence confocal images demonstrate that this method is effective and efficient.

Key words biotechnology; neuron object segmentation; level set method; iso-surface curvature; dendritic spines

OCIS codes 170.3880; 170.1420

1 引 言

目前, 关于哺乳类动物脑认知功能的研究是神经科学、生化和信息科学领域的交叉课题。神经目标的树突脊结构被视为神经的生物电路, 是信息传

输的生理和化学通道。树突棘是神经元树突上的功能性突起结构, 通常作为突触后成份与投射来的轴突共同构成完整的突触连接。树突棘的形态与结构具有明显的可塑性, 其变化通常会引起突触功能的

收稿日期: 2010-03-17; **收到修改稿日期:** 2010-05-19

基金项目: 国家自然科学基金(60802039), 南京理工大学自主科研重大项目(2010ZDJH07) 资助课题。

作者简介: 肖 亮(1976—), 男, 博士, 副教授, 主要从事先进计算、图像工程, 多维信号处理方面的研究。

E-mail: xtxiaoliang@163.com

改变,对于中枢神经系统疾病的诊断和治疗等具有重要意义^[1]。三维(3D)荧光或激光共焦成像技术可以获得关于神经细胞的三维图像,从而利用图像分析技术和模式识别技术可以量化神经树突结构^[2]。其中,为了有效的检测、识别和重建树突脊结构,在三维图像中提取分割出神经树突脊目标是一个关键技术。尽管目前已经提出了很多的关于树状或管状结构目标的分割算法,但是三维荧光或激光共焦成像中的神经树突脊目标自动分割仍然是具有挑战性的问题^[2~4]。其原因包括很多方面,如:1)神经树突脊目标本身是具有非常细窄的管形结构组成的树形或网状目标,而背景却比较复杂;2)成像过程的模糊效应,使得带分割图像的目标与背景之间的对比度并非十分明显;3)成像系统的噪声干扰,当噪声密度较高时容易出现结构化的相干斑。基于上述原因,传统的基于像素的和基于区域的分割方法,很难在复杂背景中分割出网状目标。基于水平集(Level set)的方法通过曲线演化的形式,能够在演化过程中不断的分裂与合并,具有复杂目标拓扑形状自适应能力,是很有前途的图像分割技术^[5]。但是水平集方法对于三维神经细窄管形结构组成的树形或网状目标的分割,仍然存在收敛速度慢,需要人工的设定多个初始化水平集等问题。

本文针对 3D 神经树突脊图像的特点,提出了一种形状初始检测的水平集分割算法。算法中,为了消除对比度不明显和噪声干扰等,首先采取非线性曲率流平滑和增强图像,然后计算水平集速度图像;然后通过计算局部等值面曲率的极大值自动生成神经目标的种子点,该种子点对应于局部的脊点或者谷点;基于计算的种子点,利用快速行进算法计算初始水平集形状图像。最后,利用初始水平集速度图像作为输入,利用基于形状的水平集算法自动分割神经目标。本文方法通过采取对应于局部的脊点或者谷点种子点生成定为目标位置,加速了水平集演化算法的计算时间。三维荧光或激光共焦图像中神经目标分割实验证明了算法的有效性。

2 水平集方法的基本原理

Level Set 方法是由 Sethian 和 Osher 于 1988 年提出,最近十几年得到广泛的推广与应用,它将低维闭合曲线隐含地表达为高维空间的水平集,通过 Level Set 的进化隐含地求解曲线的运动,其最大的优点能够自适应追踪曲线的拓扑形状变化,而且可以获得唯一的满足熵条件的弱解。Level Set 函数

的演化满足一类 Hamilton-Jacobi 方程^[5],

$$\phi + F|\nabla\phi| = 0, \quad (1)$$

式中 F 是与图像有关的项(如梯度信息等)以及与曲线的几何形状有关的函数,称为速度函数,控制曲线的演化方向和演化强度;而 ϕ 为 Level Set 函数。当 F 为符号不变的速度函数时,称为静态 Hamilton-Jacobi 方程或 Eikonal 方程。如果用 $T(\mathbf{p})$ 表示曲线运动到 $\mathbf{p} = (x, y, z) \in \mathbf{R}^3$ 点的时刻,称函数 $T(\mathbf{p})$ 为到达时间函数。任意时刻 t 演化的曲线完全由下式决定

$$C(t) = \{\mathbf{p} | T(\mathbf{p}) = t\}, \quad (2)$$

假定 T 是界面经过一个指定点 x 的时间,这样 T 就满足到达时间的梯度和界面的运动速度成反比关系方程:

$$1 = F \cdot |\nabla T|, \quad (3)$$

在给定的边值条件,如果能求得方程(3)的解,那么对于任意时刻,就可由(2)式得到曲线 $C(t)$ 。Level Set 算法视 C 是一个高维函数 ϕ 的零水平集,这样所关心的曲线是对应于 $T(\mathbf{p})$ 取不同常数时的不同水平集。由于水平集演化方程为典型双曲偏微分方程,因此可通过迎风格式,选择更精确的有限差分模板,通过特征速度 F 的符号方向上选择有偏差分来精确估计离散的空间导数不足^[6],建立关于 $T(\mathbf{p})$ 在网格点上的非线性代数方程组的联立方程组,并利用迭代法求解,

$$\left[\begin{array}{l} \max(D_x^- T_{i,j,k}, -D_x^+ T_{i,j,k}, 0)^2 + \\ \max(D_y^- T_{i,j,k}, -D_y^+ T_{i,j,k}, 0)^2 + \\ \max(D_z^- T_{i,j,k}, -D_z^+ T_{i,j,k}, 0)^2 \end{array} \right]^{1/2} = 1/F_{i,j,k}, \quad (4)$$

式中, D^- 和 D^+ 分别是后向差分和前向差分算子。但是该方法具有 $O(N^3)$ 计算复杂性,利用到达时间法中曲线运动具有单向运动特点, Sethian 又提出了仅具有 $O(N^2 \lg N)$ 的快速行进(Fast Marching)方法。其基本处理方法是网格点分为三类:1)活动点:是指所有网格点中时间 T 固定的点,或者称为种子点,时间 $T(x, y) = 0$;2)窄带点:所有在窄带中的点叫做窄带点。本文算法中定义为种子点的三维 8-邻接的点,时间为 $T_{i,j,k} = 1/F_{i,j,k}$;3)除了活动点和窄带点以外,所有其他的网格点为远离点, $T_{i,j,k} = T_{\max}$ 。对三维目标,快速行进法的基本步骤为

- 1) 开始循环:设点 (i, j, k) 是窄带中具有最小时间 T 的点;
- 2) 标识点 (i, j, k) 为活动点,并从窄带中删除;

3) 标识点 (i, j) 的8-邻接点:如果点 (i, j) 的邻接点为活动点,则不改变时间;如果其邻接点为窄带点,则按照(4)式更新邻接点的时间;如果其邻接点为远离点,则标识该邻接点为窄带点,同时按照(4)式更新该邻接点的时间;

4) 如果某一点的到达时间超过指定的阈值,则结束循环,否则,跳到1);

上述快速行进法比一般水平集方法效率高,但是它的应用范围局限于关于速率不能改变符号的水平集方法,不如水平集方法普遍。

3 本文方法

3.1 计算水平集速度图像

无论是三维荧光还是激光共焦成像所获取的图像,不可避免的存在噪声。为了抑制噪声,并有效的保持图像中管状的神经结构,首先利用 Otsu 算法分割算法得到基本的目标形状位置^[7],作为先验目标的信息,然后采取一种图像非线性滤波方法“自蛇”(Self-Snake)模型^[8,9]进行背景图像进行平滑,而对目标进行结构自增强。对三维图像 $u_0(x, y, z)$,设梯度为 $\nabla u = (u_x, u_y, u_z)$,该模型可表示为

$$\frac{\partial u}{\partial t} = |\nabla u| \operatorname{div} \left[g(|\nabla u|) \frac{\nabla u}{|\nabla u|} \right], \quad (5)$$

式中 $g(|\nabla u|) = 1 / \left[1 + \left(\frac{|\nabla u|}{K} \right)^2 \right]$, $K > 0$ 。自蛇模型可以看作是将尺度图像 $u(x, y, z, t)$ 按照自身的所有的水平集线按照(5)式的运动。(5)式可展开为两项,即

$$\frac{\partial u}{\partial t} = |\nabla u| \operatorname{div} \left[g(|\nabla u|) \frac{\nabla u}{|\nabla u|} \right] = F_{\text{diff}} + F_{\text{shock}}, \quad (6)$$

式中 $F_{\text{diff}} := g(|\nabla u|) |\nabla u| \operatorname{div} \left(\frac{\nabla u}{|\nabla u|} \right)$, $F_{\text{shock}} := \nabla g \cdot \nabla u$ 分别称为扩散项和冲击项。因此同时具有噪声抑制和边缘增强的作用。实验中,对于各向异性自蛇模型的数值实现,扩散项采取中心差分,冲击项采取迎风格式,建立迭代格式进行求解。假设滤波后的图像为 $u(x, y, z)$,则计算其梯度幅度图像 $|\nabla u|$ 。对梯度幅度图像,实施 Sigmoid 滤波算法^[10],将梯度幅度图像规整化为 $[0, 1]$ 区间的速度图像 $F(x, y, z)$

$$F[u(x, y, z)] = \frac{1}{1 + \exp \left[- \left(|\nabla u| - \beta \right) / \alpha \right]}, \quad (7)$$

式中 α, β 为非线性映射区间参数。

3.2 利用局部等值面曲率计算种子点

为了有效定位图像中的管状神经目标,定位检测目标上的若干关键点。根据文献^[11, 12]的研究,图像中的局部等值面曲率的极值点对应于图像目标上灰度面的脊点和谷点。将这些脊点和谷点组织起来形成种子点,这些种子点提供了很好的目标信息。考虑某三维点 (x, y, z) 的等灰度面片(Iso-gray surface)记为 dS ,计算该点的海森矩阵为

$$\mathbf{H} = \begin{bmatrix} u_{xx} & u_{xy} & u_{xz} \\ u_{xy} & u_{yy} & u_{yz} \\ u_{xz} & u_{yz} & u_{zz} \end{bmatrix}, \quad (8)$$

则将该海森矩阵旋转至以梯度 $g = \nabla u$ 方向为 x 轴方向(如图1所示),

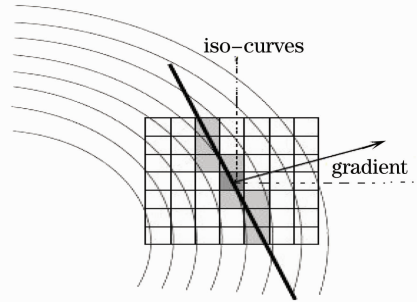


图1 海森矩阵旋转示意图

Fig. 1 Illustration rotation of Hessian matrix

其结果矩阵为

$$\mathbf{H}' = \begin{pmatrix} u_{gg} & 0 \\ 0 & \begin{matrix} u_{vv} & u_{vw} \\ u_{vw} & u_{ww} \end{matrix} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} u_{gg} & \\ & \mathbf{H}'_t \end{pmatrix}, \quad (9)$$

式中 u_{gg} 表示滤波后图像沿梯度方向的2阶导数, \mathbf{H}'_t 是垂直于梯度方向的切平面的2阶海森矩阵。令 λ_1 和 λ_2 为其特征值,且 $\lambda_1 \leq \lambda_2$,则对应的主曲率($k_1 \geq k_2$)与特征值的关系为

$$k_1 = \frac{-\lambda_1}{\|g\|}, \quad k_2 = \frac{-\lambda_2}{\|g\|}, \quad (10)$$

基于上述关系计算得到曲率 k_1 ,然后在 $3 \times 3 \times 3$ 的邻域内的大于平均曲率值 μ 的高曲率点作为种子点。

3.3 基于快速行进法检测初始形状的水平集分割方法

由于三维荧光或激光共焦图像中神经目标是由具有非常细窄的管形结构组成的树形或网状目标,对比度弱,背景却比较复杂。

本文方法主要包括四个关键性步骤。

1) 计算水平集速度图像: 对输入的三维图像实施各向异性曲率流滤波, 抑制噪声并得到平滑和边缘保持的图像; 对滤波图像计算梯度的幅度, 然后通过 Sigmoid 滤波进行增强计算, 得到水平集速度图像。

2) 种子点计算: 对各向异性曲率流滤波后图像, 基于微分几何方法逐点计算等值面曲率, 然后根据等值面曲率的选取局部极值点作为神经目标结构的种子点。

3) 快速行进法: 以第 2 步计算得到的种子点作为输入, 利用快速行进法得到初始的水平集分割图

像的距离图像。

4) 从快速行进法计算得到的结果作为初始形状信息, 利用第 1 步计算得到的水平集速度图像, 利用 Malladi 的形状检测的水平集算法进一步进行分割, 得到最终的分割结果。其水平集控制方程为^[6]

$$\phi_t + F(1 - \epsilon K) |\nabla \phi| = 0, \quad (11)$$

式中 F 为(7)式所定义的速度图像 $F(x, y, z)$, 而 K 为平均曲率 $K = \text{div} \left(\frac{\nabla u}{|\nabla u|} \right)$, ϵ 为相对性权重。自动分割方法系统流程如图 2 所示。

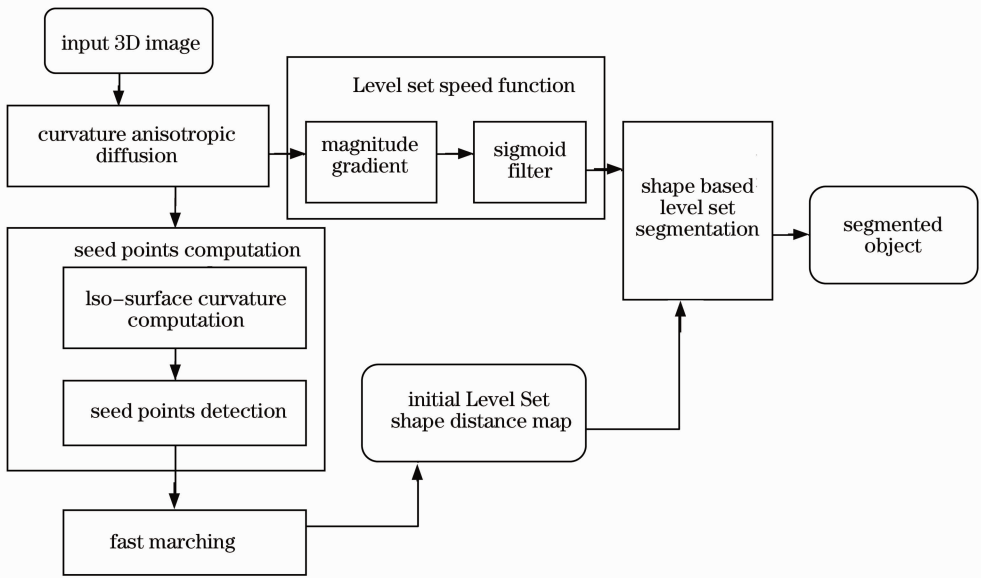


图 2 本文方法的系统流程

Fig. 2 Pipeline of the proposed method

4 实验结果

本文方法全部由 C++ 实现, 给出两组实验。实验 1 中采取 Neocortical Layer 6 Axons 的样本数据, 由 Imperial College London 的 MRC Clinical Sciences Center 利用双光子激光显微镜采集^[13], 3D 图像通过软件 Paraview 进行绘制显示。图 3 列出了对一幅双光子激光显微三维图像的分割结果及其中间步骤图像。其中图 3(a) 为原始采集的 3D 图像, 其中含有较多的背景噪声, 经过各向异性曲率流滤波后, 算法得到噪声抑制和边缘增强的中间图像, 如图 3(b) 所示; 快速行进法得到的形状距离图, 如图 3(c) 所示; 图 3(d) 为自动分割方法的最终结果。

图 4 列出了乔治亚理工大学 Potter 实验室采集的一幅荧光共焦显微图像的分割过程。图 4(a) 为原始荧光共焦图像 (416 pixel × 256 pixel ×

35 pixel), 图 4(b) 是噪声抑制和增强的图像, 图 4(c) 是快速行进法得到的形状距离图, 图 4(d) 为自动分割算法的最终结果。

上述实验采用所提出的方法均能非常有效的提取神经目标。而且由于本文方法通过采取对应于局部的脊点或者谷点种子点生成定为目标位置, 加速了水平集演化算法的计算时间。经时间统计, 在 Dell Optiplex 960, T5500 Intel Core 2 Duo CPU, 3.00 GHz w/ 3.2 GB 内存环境下, 该分割方法对图 3 和图解进行处理分别所需的时间为 187s 和 96 s。如果采取在分割目标的每个分枝人工设定起始和终端种子点, 分别所需的时间为 1231s 和 5789 s, 提出的方法为约人工种子方法的 59 倍。这说明所提出的方法是非常高效的, 同时无需人工设定种子点, 是一种很有前途的自动化方法。

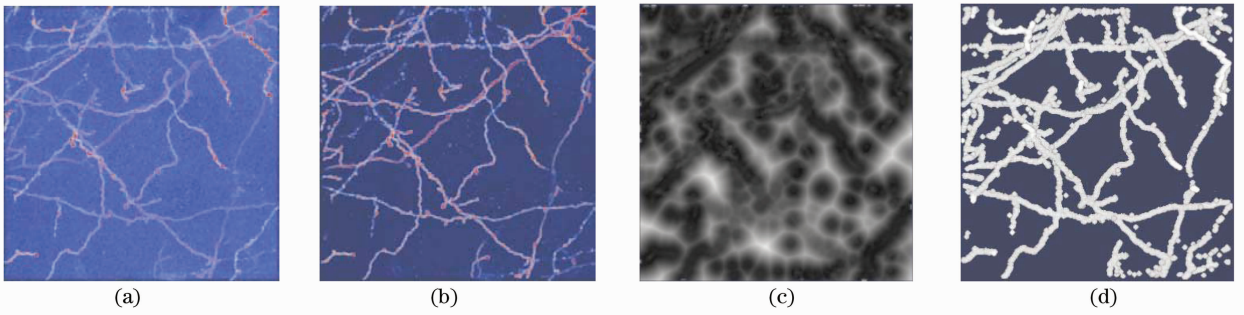


图 3 双光子激光图像的分割结果。(a) 原始 3D 图像；(b) 噪声抑制与增强图像；
(c) 快速行进法得到的形状距离图；(d) 最终结果

Fig. 3 Segmentation results for 2-photon lasers images. (a) original 3D image;
(b) noise suppressing and enhancement image; (c) shape distance map obtained by fast marching; (d) final results

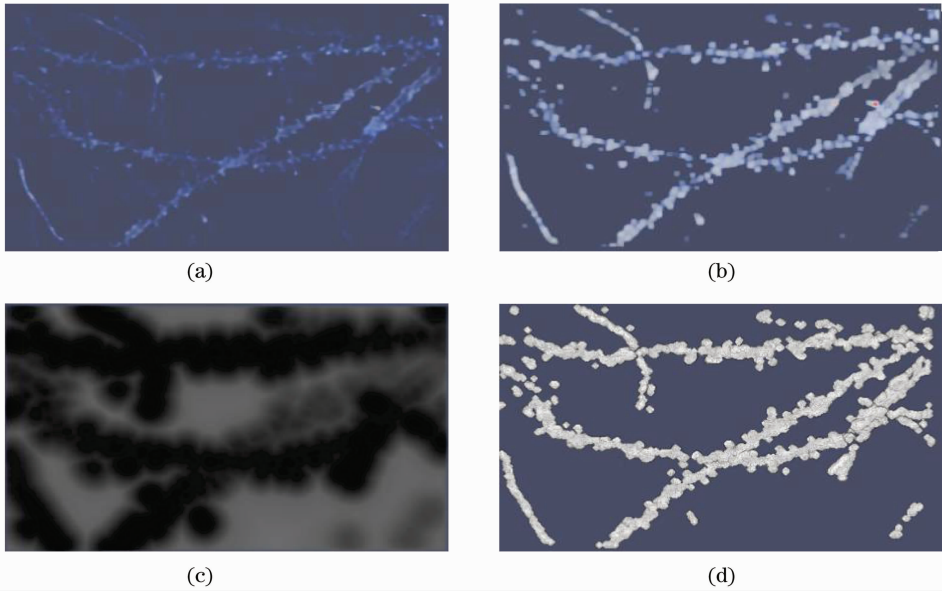


图 4 荧光共焦显微图像的分割结果。(a) 原始 3D 图像；(b) 噪声抑制与增强图像；
(c) 快速行进法得到的形状距离图；(d) 最终结果

Fig. 4 Segmentation results for 2-photon lasers images. (a) original 3D image;
(b) noise suppressing and enhancement image; (c) shape distance map obtained by fast marching; (d) final results

5 结 论

本文提出了一种面向三维神经目标的微观树脊结构的目标分割方法。该方法基于形状的水平集分割算法,采取图像的目标和背景的预分割和各向异性曲率流相结合,对图像的目标进行增强,重新定义水平集速度图像;并基于局部海森矩阵的微分信息,检测得到目标的种子点作为形状信息;以计算得到的种子点作为输入,利用快速行进法得到初始形状信息,利用 Malladi 的形状检测的水平集算法得到最终的分割结果。实验说明所述方法能够很有效的提取出三维目标。

致谢 对美国 Rensselaer Polytechnic Institute (RPI)的 Badri Roysam 实验室提供部分种子点检测的开放 C++代码和乔治亚理工大学 Potter 实验室提供荧光共焦显微图像表示感谢。

参 考 文 献

- 1 M. London, M. Hausser. Dendritic computation[J]. *Ann. Rev. Neurosci.*, 2005, **28**(1): 503~532
- 2 J. Cheng, X. Zhou, E. Miller *et al.*. A novel computational approach for automatic dendrite spines detection in two-photon laser scan microscopy [J]. *J. Neurosci Meth.*, 2007, **165**(1): 122~134
- 3 Y. Zhang, X. Zhou, R. M. Witt *et al.*. Dendritic spine detection using curvilinear structure detector and LDA classifier[J]. *Neuron image*, 2007, **36**(2): 346~360

- 4 X Xu, S. T. C. Wong. Optical microscopic image processing of dendritic spines morphology [J]. *IEEE Signal Proc. Mag.*, 2006, **23**(4): 132~135
- 5 S. Osher, J. Sethian. Fronts propagating with curvature dependent speed; algorithms based on the Hamilton-Jacobi Formulation[J]. *J. Comput. Phys.*, 1988, **79**: 12~49
- 6 R. Malladi, J. A. Sethian, B. C. Vermuri. Shape modeling with front propagation: a level set approach [J]. *IEEE T. Pattern Anal.*, 1995, **17**(2): 158~175
- 7 N. Otsu. A threshold selection method from gray-level histogram [J]. *IEEE T. Syst. Man. Cy. B.*, 1979, **9**(1): 62~66
- 8 R. Malladi, J. A. Sethian, Image processing: flows under min/max curvature and mean curvature [J]. *Graphical Models and Image Processing*, 1996, **58**(2): 127~141
- 9 A. El-Fallah I., G. E. Ford. The evolution of mean curvature in image filtering[C]. *IEEE Internat. Conf. on Image Processing*, 1994, **1**: 298~302
- 10 Xiao Manjun, Chen Siying, Ni Guoqiang *et al.*. Tone reproduction method by a local model of visual adaptation based on sigmoid function[J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(11): 3050~3056
肖蔓君, 陈思颖, 倪国强 等. 基于 Sigmoid 函数局部视觉适应模型的真实影像再现 [J]. *光学学报*, 2009, **29**(11): 3050~3056
- 11 Nicu D. Cornea, Deborah Silver, Xiaosong Yuan *et al.*. Computing hierarchical curve-skeletons of 3D objects[J]. *Visual Comput.*, 2005, **21**(11): 945~955
- 12 Xiaosong Yuan, Joshua T. Trachtenberg, Steve M. Potter *et al.*. MDL constrained 3-D grayscale skeletonization algorithm for automated extraction of dendrites and spines from fluorescence confocal images[J]. *Neuroinformatics*, 2009, **7**(4): 213~232
- 13 http://diademchallenge.org/neocorticae_layer_b_axens_readme.html, 2010.3.1