

基于骨架树的荧光共焦图像神经树突棘自动分割与检测方法^{*}

张建明¹, 任鑫博¹, 张梵彪², 张小丽¹

(1. 江苏大学 计算机科学与通信工程学院, 江苏 镇江 212013; 2. 南京理工大学 计算机科学与技术学院, 南京 210094)

摘 要: 提出一个荧光共焦图像中神经树突棘自动分割与检测方法。该方法采用新的自适应区域生长法对神经树突棘目标进行预分割, 基于种子点的路径规划算法, 以计算给定点到目标点的最短路径来获取初始主骨架; 通过建立最小生成树描述模型对骨架进行修剪, 利用种子点间的矢量角度变化及顶点距离值对突棘进行检测提取。实验结果表明, 该方法能很好地提取树突骨架, 并取得了较好的突棘检测效果。

关键词: 树突棘; 种子点; 区域分割; 骨架提取; 突棘检测

中图分类号: TP391 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-3695(2012)01-0340-04
doi:10.3969/j.issn.1001-3695.2012.01.094

Approach for automated segmentation and detection of dendrites and spines from fluorescence confocal image based on skeleton tree

ZHANG Jian-ming¹, REN Xin-bo¹, ZHANG Fan-biao², ZHANG Xiao-li¹

(1. College of Computer Science & Telecommunication Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu 212013, China; 2. College of Computer Science & Technology, Nanjing University of Science & Technology, Nanjing 210094, China)

Abstract: This paper proposed an approach for automated segmentation and detection of dendrites and spines from fluorescence confocal image. It presented a new adaptive region growing algorithm to the segmentation of the dendrite spines for the preprocessing at the beginning. And then, proposed path planning algorithm based on seed points to compute the shortest path between the origin point and the target point to get the initial skeleton. Used minimum spanning tree based on weight as the description module of the skeleton of dendrite spine. In this foundation, the research of detection of spines focused on the change of the vector angle in seed points and the vertices distance of a spine. Experiment shows that the proposed approach can effectively extract the skeleton of the dendrite and achieve a better result on spines detection.

Key words: dendrite spine; seed points; region segmentation; skeleton extraction; spines detection

0 引言

医学实验研究发现,神经的功能属性与它自身的形态结构有着不可分割的联系。作为神经细胞结构的重要组成部分,神经树突(dendrite)和树突分支上的棘状突起——神经突棘(spine),在参与大脑认知功能方面以及传递神经脉冲方面扮演着重要角色。而且,一些神经退化性疾病和遗传神经疾病(如阿尔茨海默氏和帕金森氏症)也都与神经树突棘的丢失、形态、数目及大小有关^[1,2]。因此,研究树突分支及突棘密度和分布的形态变化,对神经网络功能的认识和分析具有重要意义。

随着科技的发展,现代荧光显微方法——激光扫描共聚焦显微成像(CLSM)和双光子显微成像(2PLSM),成为研究树突棘结构的有力工具。然而,所得图像由于信号质量问题,存在高噪声、灰度分布不均等缺点,而且以往的神经图像分析需要大量的人力介入。因此,迫切需要研究对树突棘自动化分析的

方法。

目前,国外有一些半自动化树突棘分析方法^[3~6],但是检测树突棘的图像处理方法还不多。在分割上,文献[7]提出基于图像强度的局部方差阈值分割法,也有使用双阈值分割法^[8],但是这些方法都易受噪声影响。在树突棘检测上,Koh等人^[3]提出基于形态学的自动算法,并对树突结构进行量化,然而此种方法对噪声比较敏感,而且不能对所有形状 of 的树突进行识别提取。为使突棘可从树突上分离,Xu等人^[4]提出应用双地火法(two grass fire)对附连在树突上的突棘进行提取。与Koh的方法一样,该方法同样对突棘形态检测不能很好地描述。Yuan等人^[9]则通过检测树突棘上的临界点和高曲率点作为种子点,基于这些种子点提取到树突棘的骨架,并在骨架上引入MDL(minimum description length)规则来对树突棘进行模式分析与描述。

本文按照图1所示流程,研究神经树突棘的自动检测和提

收稿日期: 2011-06-16; **修回日期:** 2011-07-24 **基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(60802039), 江苏省自然科学基金资助项目(BK2010488); 南京理工大学自主科研计划资助项目(2010ZDJH07)

作者简介: 张建明(1964-), 男, 江苏镇江人, 教授, 博士, 主要研究方向为虚拟现实、图像处理、模式识别; 任鑫博(1986-), 男, 陕西西安人, 硕士研究生, 主要研究方向为图像处理、模式识别(rxb10000@126.com); 张梵彪(1986-), 男, 江苏苏州人, 硕士研究生, 主要研究方向为图像处理; 张小丽(1984-), 女, 河南宝丰人, 硕士研究生, 主要研究方向为图像处理、模式识别。

取方法。在阈值分割上,提出一种三维区域自适应生长算法,该算法通过生长判定准则对待判定体素点进行判别,选择是否纳入生长区域内。以 Yuan 的种子点检测方法检测出能代表树突棘的特殊点,在此基础上,提出一种新的骨架生成算法,并通过最小生成树对骨架进行模型描述,最后以种子点之间的矢量角度差异及突棘顶点距离来提取突棘,对突棘进行一定的模式分析。

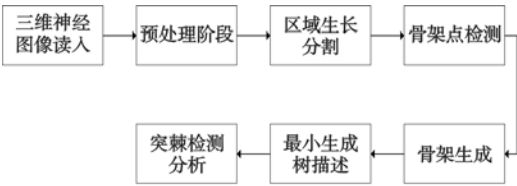


图1 神经树突棘图像提取与识别流程

1 预处理

光学显微镜获得的图像受以下两个问题的干扰:a) 光电倍增管的图像机制所产生的散射噪声;b) 光的衍射现象,任何一个像素都会受到周围其他像素的影响。而且,树突上的突棘属于微小结构,在现有光学分辨率下所得图像可能会包含一些强度微弱的突棘,以及噪声引起的微小突刺。为了能得到良好的观察效果,需要将获得的图像先进行预处理,而图像处理中有很多方法解决此问题。本文采用各项异性扩散先消除图像噪声,再通过泛洪填充法对一些微小空洞进行填充;最后使用偏微分法对图像进行增强处理。

2 阈值分割

图像预处理后,需要对图像感兴趣区域进行分割,为下一步骨架提取作准备。而目前图像处理中的分割方法有很多种,本文结合文献[9,10]的方法,提出一种新的三维区域自适应生长算法。区域生长算法需解决两个问题,即选取能具代表性的种子点以及生长判定准则。

2.1 区域生长判定准则

设 $Q(p)$ 表示当前已得到的由体素点 p 组成的生长区域; $W(q)$ 是待判定体素点 p 与其周围相邻像素组成的区域。 $Q(p)$ 与 $W(q)$ 会相交得到一个区域,定义为 $V(n)$ 。相交条件: $d(Q(p), W(q)) < d$,其中 $d(\cdot)$ 为两点间的距离。如图 2 所示,通过计算区域 $V(n)$ 内的平均光强度值 μ ,并与 $W(q)$ 中的体素点 q 进行光强值比较,若两者差值小于或等于二倍标准差 σ ,则判定体素点 q 可被归为生长区域内;否则,体素点 q 不予选取。

$$|I(x,y,z) - \mu| \leq 2 \times \sigma \tag{1}$$

其中: $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (I(x,y,z) - \mu)^2}{N(V(n))}}$; $\mu = \frac{1}{N(V(n))} \sum I(x,y,z)$; $N(V(n))$ 为区域 $V(n)$ 中的体素数目。

2.2 种子点选取

由于神经图像中的树突棘可能不止一条,因此就需要选择多个种子点在不同部位进行分割,而人工选取种子点耗费时间,同时也有一定的误差。本文根据荧光共焦树突图像中心位置具有较高的光强度值,可以对预处理后的图像进行局部强度值计算比较,找出各枝条的局部值较大点作为预选种子点放入备选集。本文的局部范围取 $3 \times 3 \times 3$ 立方体。

2.3 分割算法流程

- 树突棘图像根据需要进行分割,其主要流程如下:
- a) 读入经过预处理的树突棘图像,建立体数据集 V ,并复制体数据集得到其副本 C 。
 - b) 通过选取种子点,依据判定准则进行区域分割,循环执行直到没有新的点满足生长准则并入生长区域内。
 - c) 将分割的结果与先前的副本 C 执行“与”运算,这样可以消除预处理没有去除的噪声以及一些不需要的微小结构,进一步得到精确的图像。
 - d) 判断分割结果,如果与预期结果不符合,出现缺少部分感兴趣区域的分割,则从备选种子点中选取合适的种子点,与先前选取的种子点一同重新执行分割,返回到 b),重新进行分割;否则,分割结束。

此分割算法首先建立了对照集,在分割之后与原图像进行“与”运算,结果显示的是数据集 V 和副本 C 共同含有的部分,避免了区域生长中可能包含一些本身没有的微小结构,使分割结果的准确率更高。

3 骨架生成

3.1 算法描述

骨架种子点的检测,本文采用 Yuan 的种子点选取方法得到树突棘内部关键点,如临界点和高曲率点。在获得的种子点基础上,以基于路径规划(path planning)的算法获取树突棘的骨架线。路径规划思想是根据最短路径原则将给定两点连接起来。获取图像的骨架时,通常是选定一个参考点,然后将各分支的端点与参考点连接起来,得到一个最短距离路径。算法中,若以每两个相邻同枝种子点分别作为始端点和目标点,循环求取两点间最短路径,虽然结果更精确,但是计算较为复杂,时间花费较多。本文先以一个种子点为基准点,标记同区域(同一三维体)内所有体素点的距离,同时将所遇到的同区域种子点记录下来,构成同枝条的树突棘种子链;最后以基准点为始发端点,求取同枝条且过其他种子点的最短路径,从而得到树突的骨架线。

骨架生成算法具体步骤:

- a) 读入三维神经图像,建立体素数据 $volin$,构建先进先出的队列,建立两类链表,一个存放同枝的种子点 $B_k(k=1,2,\dots,N,N$ 为互不相连的树突数),一个存放单独的种子点 $S_n(n=1,2,\dots,m)$ 。
- b) 从保存种子点的数组中按索引取出未被标志的种子点 P ,放入队列,否则距离已全部分配完毕。
- c) 如果队列非空,返回头元素,执行 d),否则结束距离分配,返回执行 b)。
- d) 对 P 的 26 邻域的每一个体素 Q ,若 Q 在三维物体内部且没有被标记过距离,则把 Q 放入队列中。
- e) 对 Q 的 26 邻域中的每一体素 Y ,若 Y 在三维物体内部且被标记为 D ,则 Q 被标记为 $D + D(Q,Y)$ 。遍历 Q 的 26 邻域,直至使 $D + D(Q,Y)$ 有最小值时结束。其中 $D(\cdot)$ 为 Y 与 Q 间的欧氏距离值。
- f) 若 P 周围 26 邻域都被标记,则队列中删除 P 点,返回执行 c)。
- g) 在标记距离图的过程中,如果遇到种子数组中的其他点,表明该种子点与前面已有的种子点属同一枝条,将其归入

所属同一枝条链表 B_k 中,同时标志此种子点,下次距离分配开始时,此种子点被跳过。若当前三维体内距离分配完毕,尚未出现其他种子点,判定其为单独种子点,将其放入单独子点集链表 S 中。

本文算法计算速度快,可对多个相互分离的树突棘枝条进行识别,能较好地描述树突棘形状,以任何一个种子点开始搜索都能得到同一枝条上的关键信息,可通过计算最大距离确定分枝的末端点,而且对后期的突棘分析也有一定帮助。

3.2 距离值选取

在三维物体中,中心点与周围点的关系有 6 邻域、18 邻域、26 邻域。本文采用 26 邻域,可使结果更加精确。距离分配上采用欧氏距离标注两点间的路径。在 26 邻域中,三种距离分别取 $1, \sqrt{2} \approx 1.4, \sqrt{3} \approx 1.7$,如图 3 所示。

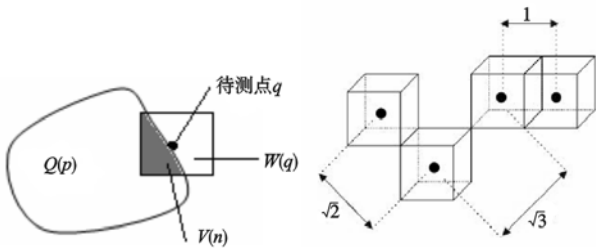


图2 生长区域判定示意图

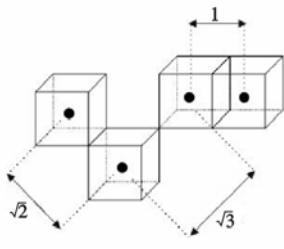


图3 三种距离关系

4 最小生成树模型的骨架修剪

神经形态具有树型结构,在获得树突的骨架后,为了更好地对树突棘遍历、修剪,需要建立树模型来描述树突棘的形态特征。本文采用加权最小生成树模型来描述树突棘的形态。权值定义如下:

设定点 $p_i (i=1, \dots, N)$ 为待连接的体素点, T_{ij} 为连接点 p_i 与点 p_j 间的权值。

$$T_{ij} = \frac{|I(p_i) - I(p_j)|}{5d(p_i, p_j)} \quad (2)$$

其中: $d(p_i, p_j)$ 为 p_i 与 p_j 间的欧氏距离, $I(p_i)$ 为该点的强度值函数。

根据之前的骨架提取算法得到树突骨架,其中可能会包含一些错误的连接,如图 4 所示,加权最小生成树则可以修整这些错误连接,使神经树模型能很好地显示原树突棘的结构。图中, $Q \rightarrow P, Q \rightarrow S$ 属于正确树状结构骨架; $Q \rightarrow P \rightarrow S$ 则属于错误连接。

5 突棘检测

生成树的基础上需要对树突上的突棘形态、真伪及数目变化进行研究。突棘分为连接在主体干上的附连突棘和与主体干分离的分离突棘两种类型。

a) 检测主干上各突棘的位置。定义以同枝条相邻的两个种子点作为矢量 n 的始末端点,即 $n = (x_2 - x_1, y_2 - y_1, z_2 - z_1)$ 。在同一个分支中的一定范围内(本文计算范围取值为 10),计算每两个相邻种子点的矢量 $n_k (k$ 为种子点数, $k=1, 2, \dots, m)$,比较它们之间的夹角 α 。由于树突自身的连通性和连续性,其主骨架干局部范围内的矢量方向变化是一个很小的值,而主干上点与突棘上种子点构成的矢量则有可能出现角度上的突变。因而,可判断出现角度突变的点是否为突棘上的种子点。如果是突棘点,记录主枝干到突棘顶点的距离 d_i ,最后

求得顶点距离 d_i 的平均值 d 作为其他未识别突棘的判定条件。

矢量角度差异准则及突棘顶点平均距离描述如下:

$$P_i = \begin{cases} \text{is a spine seed} & \text{if } \alpha > \theta_1 \\ \text{is not a spineseed} & \text{if } \alpha \leq \theta_2 \end{cases} \quad (3)$$

其中: θ_1 和 θ_2 分别为局部阈值。

$$d = \frac{\sum d_i}{N} \quad i=1, 2, \dots, N \quad (4)$$

其中: d_i 为第 i 个突棘的末端点到主干的距离, N 为记录的突棘数目。

如图 5 所示, B 点和 C 点的矢量角度值在一个很小的范围内变化,而 A 点的值产生明显的突变,因此 A 点对应矢量的末端点为突棘上的点,同时记录主干到该突棘顶点 E 的距离。

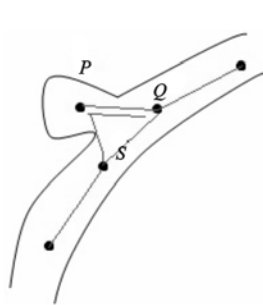


图4 基于加权最小生成树的描述模型

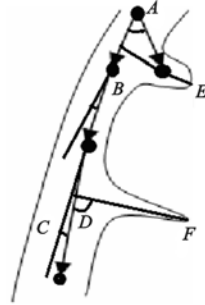


图5 矢量角度差异和顶点距离

b) 神经图像成像时,由于其他原因,一些突棘上的关键点(临界点、高曲率点)未能检测出来,同时树突自身所有的微小突起或突刺,使得突棘的检测变得困难。根据骨架提取算法,通过给定点可获得其到所有体素点的最短路径。本文先找出待检测突棘的末端点,然后,从此端点寻找到已生成的树型主干的最短路径,将其与先前得到的检验距离 d 比较,并加入矢量角度差准则,判断突棘真伪。如图 5 计算顶点 F 到主干的距离 $|FD|$,根据式(5)准则判断 $|FD|$ 是否符合条件。

顶点距离判定准则:

$$P_{i+1} = \begin{cases} \text{is a spine} & \text{if } d_{i+1} > d \\ \text{is not a spine} & \text{if } d_{i+1} < d \end{cases} \quad (5)$$

其中: $d = \frac{\sum d_j}{i}$, d_j 为第 j 个检测突棘。

6 实验及结果

实验平台使用 Visual Studio 2008,骨架图像输出格式为 VTK,观测软件为 ParaView。根据以上的流程及算法,对三维神经图形进行了大量实验,同时对算法在运行过程中又作了改善,取得了较为满意的结果。本文采用三维尺寸为 $512 \times 512 \times 18$ 两幅 MetaImage 格式图像数据,取 X - Y 平面截图显示。

图 6(a) 为 $512 \times 512 \times 18$ 原图,经过预处理,计算阈值分割的预选种子点,并需要人工选取合适的种子点。取坐标分别为 $(424, 48, 9)$ 和 $(80, 322, 14)$ 的点作为分割起始点。在分割过程中, d_0 取值不同,效果精细稍有差异,本文中 $d_0 = 3$,结果如图 6(b) 所示。经过检测,共找到 169 个能体现骨架特征的种子点。图 6(c) 是在分配好的距离图上寻找最短路径得到的骨架线,与原图比较可看出该算法能很好地识别多个神经树突。在图 6(c) 中本应显现突棘位置的地方,出现很多拐角,并

且许多不该相连的点都被连接,需进一步经过加权最小生成树处理。图 6(d)所示是在树描述的基础上对突棘的检测提取及整体显示。这里 θ_1 取弧度值 1.084 9, θ_2 取弧度值 0.211 6,顶点判定距离 $d=4.3$ 。

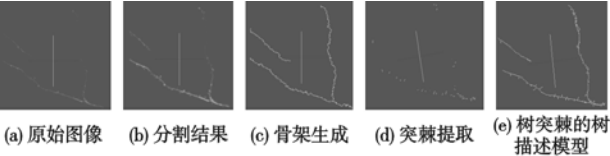


图6 512×512×18树突棘检测

图 7(a)中取点 (76,42,7) 作为区域分割起始点, $d_0=3$ 。从(b)共检测出 52 个点作为骨架提取的种子点。由突棘判定准则计算所得 $\theta_1=0.657$, $\theta_2=0.1433$, 顶点平均距离 $d=3.6$, 单独显示突棘提取结果如(c)所示。据(b)~(d)的观察对比, (c)中的突棘提取结果与(b)上的突棘形态结构能较好地吻合。与原图比较, (d)很好地反映了神经突棘的拓扑结构和几何特征。在(a)和(b)右上角都存在一个微小的块状区域, 但是(c)和(d)的结果中没有被识别出来。

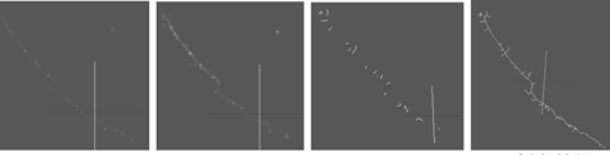


图7 512×512×14树突棘检测

7 结束语

本文通过一个图像处理流程研究树突棘骨架和突棘形态分析的检测与提取方法。该方法人工参与少,具有自动性,而且计算速度快、准确性较高,能很好地反映神经树突棘的形态特征和几何特性,而且文中的骨架生成算法有助于神经内部特

征的研究。

参考文献:

[1] HUMAN B T. Molecular and anatomical studies in Alzheimer's disease[J]. *Neurologia*,2001,16(3):100-104.

[2] SEGAL M. Dendritic spines and long-term plasticity[J]. *Nat Rev Neurosci*,2005,6(4):277-284.

[3] KOH I Y Y, LINDQUIST W B, ZITO K, *et al.* An image analysis algorithm for dendritic spines[J]. *Neural Comput*, 2002, 14(6):1284-1310.

[4] XU Xiao-yin, CHENG Jie, WITT R M, *et al.* A shape analysis method to detect dendritic spine in 3D optical microscopy image[C]//Proc of the 3rd IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: Nano to Macro. Arlington,VA:IEEE,2006:554-557.

[5] CHENG Jie, ZHOU Xiao-bo, MILLER E, *et al.* A novel computational approach for automatic dendrite spines detection in two-photon laser scan microscopy[J]. *Journal of Neuroscience Methods*. 2007,165(1):122-134.

[6] FAN Jiang, ZHOU Xiao-bo, DY G, *et al.* An automated pipeline for dendrite spine detection and tracking of 3D optical microscopy neuron images of in vivo mouse models[J]. *Neuroinformatics*,2009,7(2):113-130.

[7] SAUVOLA J, PIETAKSINEN M. Adaptive document image binarization[J]. *Pattern Recognition*,2000,33(2):225-236.

[8] WEAVER C M, HOF P R, WEARNE S L, *et al.* Automated algorithms for multiscale morphometry of neuronal dendrites[J]. *Neural Comput*, 2004,16(17):1353-1383.

[9] YUAN Xiao-song, ROYSAM B. MDL principle applied to dendrites and spines extraction in 3D confocal images[R]. [S. l.]:Rensselaer Polytechnic Institute,2007.

[10] 李朋娟,柳渊,严汉民.基于三维区域生长算法的脑灰质提取方法的研究[J]. *生物医学工程与临床*,2010,14(6):489-493.

[11] 王刚,高新波,姬红兵,等.基于区域增长技术的树状器官的骨架提取算法[J]. *西安电子科技大学学报*,2003,33(5):595-597.

[12] 彭丰平,鲍苏苏,曾碧卿.基于自适应区域生长算法的肝脏分割[J]. *计算机工程与应用*,2010,46(33):198-200.

(上接第 339 页)文献是通过以下两种方法进行改进:一方面在预处理中通过增强图像的方法(如灰度拉伸)增强图像的边缘信息;另一方面可以改进二值化方法,保证车牌信息的完整性。然而对图像的增强其实是对图像中车牌的增强,但是车牌的位置是未知的,所以对整幅图像的增强是一种盲增强,可能增强车牌的同时也增强了噪声和非车牌区域,甚至可能只增强了非车牌区域而把车牌区域减弱了,这对车牌定位的精度是不利的。而对于二值化效果的改进,是车牌定位领域研究的重要方向,但是由于外界环境的多变性,目前的二值化方法不能满足所有的情况,本文使用经典的 Otsu 方法,该方法对于大部分情况都有效,对于个别车牌漏检的情况,可以适当降低阈值重新定位。

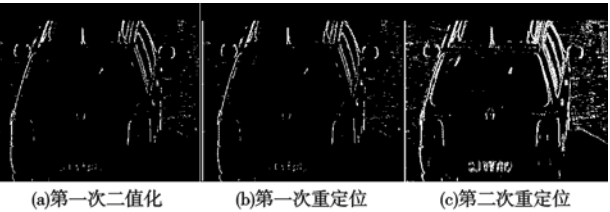


图9 图8(c)的重定位的二值图

5 结束语

为了使车牌定位的精度更高,本文提出了新的结合车牌边

缘信息和颜色统计特征的车牌检测方法。该方法充分利用了车牌的边缘和颜色信息,容易实现。实验表明,该方法准确率高、精确度好、实时性强,具有较强的应用价值。

参考文献:

[1] YU M, KIM Y D. An approach to Korean license plate recognition based on vertical edge matching[C]//Proc of IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics. Piscataway: IEEE Press,2000:2975-2980.

[2] 周泽华,胡学友,谭敏.基于 Log 算子边缘检测的车牌定位方法[J]. *自动化与仪器仪表*,2009(2):90-92.

[3] 卓均飞,胡煜.基于边缘检测和投影法的车牌定位算法研究[J]. *科技通报*,2010,26(3):438-441.

[4] 朱春满,房斌,尚赵伟,等.复杂背景下的多车牌定位技术研究[J]. *公路交通科技*,2010,27(7):147-153.

[5] 张引,潘云鹤.彩色汽车图像牌照定位新方法[J]. *中国图象图形学报*, 2001,6(4):374-377.

[6] 李莹,高满屯.基于边缘颜色信息的车牌定位算法[J]. *计算机仿真*,2009,26(8):262-265,303.

[7] 谢凤英,赵丹培. *Visual C++ 数字图像处理* [M]. 北京:电子工业出版社,2008.

[8] BERNSEN J. Dynamic thresholding of grey-level images [C]//Proc of the 8th International Conference on Pattern Recognition. 1986:1251-1255.