

研究速報

テクスチャ情報を利用した細胞領域分割

関 啓夢<sup>†</sup> 豊浦 正広<sup>††</sup> (正員)  
茅 暁陽<sup>††</sup> (正員) 会田 薫<sup>†††</sup>

Cell Segmentation with Texture Information

Hiromu SEKI<sup>†</sup>, Nonmember, Masahiro TOYOURA<sup>††</sup>,  
Xiaoyang MAO<sup>††</sup>, Members, and Kaoru AIDA<sup>†††</sup>, Nonmember

<sup>†</sup> 山梨大学大学院医学工学総合教育部, 甲府市

<sup>††</sup> 山梨大学大学院医学工学総合研究部, 甲府市

Interdisciplinary Graduate School of Medical and Engineering,  
University of Yamanashi, 4-3-11 Takeda, Kofu-shi, 400-  
8511 Japan

<sup>†††</sup> 山梨大学医学部第 3 内科, 中央市

Third Department of Internal Medicine, School of Medicine,  
University of Yamanashi, 1110 Shimokato, Chuo-shi, 409-  
3898 Japan

あらまし 本論文において, 我々は細胞領域内に複雑なテクスチャを含む細胞画像の適切な領域分割処理のために, ボロノイダイアグラムを利用した細胞領域分割手法にテクスチャ特徴を組み込むことを提案する。これにより高精度な細胞領域分割が実現されることを確認する。

キーワード 医用画像処理, 細胞領域分割, テクスチャ, ボロノイダイアグラム

1. まえがき

細胞画像から細胞数や個々の細胞の大きさ, 種類ごとの細胞の分布などを調べることは, 病気の早期発見や原因解明など, 病理診断や医学研究のための重要な処理の一つである。そのため, 画像内の細胞群に対し個々の形状や境界線を適切に把握するために行う領域分割処理に関する研究が行われている。これまで動的輪郭法 [1] やレベルセット法 [2], ボロノイダイアグラムを応用した手法 [3] が提案されている。

しかし, 近年では顕微鏡技術などの発達に伴い, 細胞の観測画像をより高度なものとして得ることができるようになったのに対して, 解析技術は追いつかず, それらの画像が有効利用できていない場合が多くある。特に領域分割においては, 観察対象とする細胞の種類や染色具合によって一様なアルゴリズムで処理することが困難であり, 汎用性に欠く。それらの原因として, 既存手法の多くは画像上の単純な輝度と色情報を利用しているという点が挙げられる。特に細胞領域が複雑なテクスチャをもつ場合, 処理が適切になされないことがある。

そこで本研究では, テクスチャ情報を利用した新し

い細胞領域分割手法を提案する。ボロノイダイアグラムを利用した細胞領域分割は, 境界追跡を行う手法に比べて, 境界があまり明確でない場合であっても位相的に正しい領域分割結果を得ることができるという利点に着目し, ボロノイダイアグラムを応用した既存手法にテクスチャ特徴を組み込むことで, 細胞画像内のテクスチャを考慮したより高精度な細胞領域分割を実現する。

2. ボロノイダイアグラムを利用した細胞領域分割

Jones ら [3] は細胞の核を母点とするボロノイダイアグラムを利用した細胞領域分割手法を提案した。ボロノイダイアグラムとは, 距離空間上の任意の位置に配置された複数の点 (母点) に対し, 同一距離空間上の他点がどの母点に最短となるかによって領域を分割するものである。Jones らは, 距離空間の定義にユークリッド距離と母点からの輝度差分の積算値を用いた。母点からの輝度差分の積算値とは注目画素と母点を結ぶ経路上にある全ての隣接画素間の輝度差分を 2 乗した値の合計である。図 1 に Jones らの手法の原理を示す。図 1 (a) に示される点 P が, 細胞核 A, B のどちらの細胞領域内に属する点であるかを考える際, ユークリッド距離のみで計算する場合は細胞核 A までの距離の方が, 細胞核 B までの距離より近い。Jones らの手法では, これに点 P から各細胞核までの輝度差分

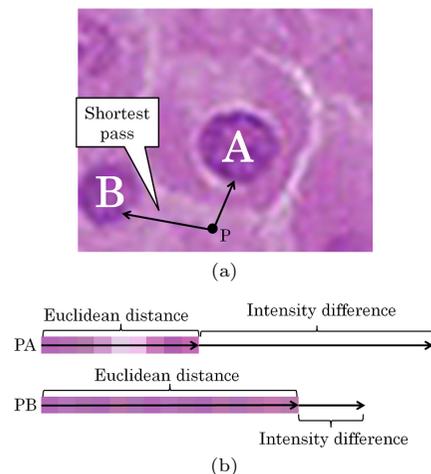


図 1 Jones らの手法の原理: (a) 点 P から二つの異なる細胞核 A, B までの経路, (b) ユークリッド距離と輝度差分の積算値による距離

Fig. 1 Principle of Jones's method: (a) Routes from point P to two different nuclei A and B, (b) Total distance as the sum of euclidean distance and intensity difference.

の積算値を距離に加える．細胞の境界付近では輝度差分が大きくなるため，注目画素と母点画素の間に細胞の境界があると，輝度差分の積算値も大きくなる．したがって，ユークリッド距離に加え，この積算値も距離として用いることで，ポロノイダイアグラムの境界を細胞の境界に近づけさせることができる．結果として，図 1 (b) に示すように，点  $P$  からの経路上に細胞の境界が輝度差分として現れる細胞核  $A$  よりも，経路上で細胞の境界を跨がない細胞核  $B$  のほうが距離が短くなるため，点  $P$  は細胞核  $B$  の形成する細胞の領域内に属する点であることが分かる．また，細胞膜が見えにくく，有意な輝度差分として境界を検出できない場合は，ポロノイダイアグラムの性質に基づき母点間の中間が境界となる．

Jones らの手法では，細胞領域内のある点と細胞核間の経路の決定にダイクストラ法を用いる．図 2 に示すように，細胞領域内の各画素をノードとし，その隣接画素間のコストとして距離を定義する．Jones らにより定義される隣接画素間の距離  $d$  は，その画素間のユークリッド距離  $d_E$ ，輝度差分を 2 乗した値  $d_I$  とすると次式 (1) で表される．

$$d = \frac{d_I + \lambda d_E^2}{\lambda + 1} \quad (1)$$

式 (1) 中の  $\lambda$  は距離計算におけるユークリッド距離と輝度差分の積算値の比重を調整するパラメータである．画像上の輝度変化が必ずしも意味のあるものとは限らないため，画像の特徴に合わせて適切なパラメータ設定を行う必要がある．

領域分割は，次の 1. から 5. により実現される．

1. 母点領域とする細胞核の画素を手動で抽出．
2. 1. で抽出した母点領域に対しラベリングを行う．母点領域とした画素以外の全画素に対し以下の処理を行う．
3. 式 (1) により隣接画素 (ノード) 間の距離  $d$  を求める．
4.  $d$  をノード間のコストとし，ダイクストラ法により各母点領域までの最短経路を求める．
5. 4. で求めた最短経路のうち最短距離をとる母点のラベルを割り当てる．

Jones らの手法において，輝度差分の積算値は細胞間のエッジを検出した際に距離を大きくすることを目的として用いられているが，細胞領域内部にテクスチャを含む場合，領域内において局所的に輝度が変化

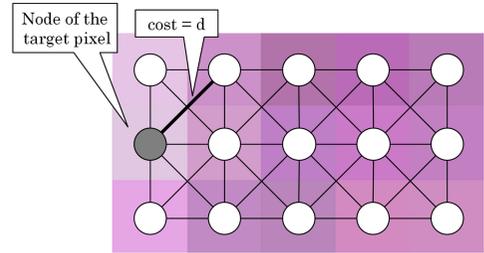


図 2 画素をノードとした画素間の隣接関係を表すグラフ  
Fig. 2 A graph with its nodes representing pixels and edges.

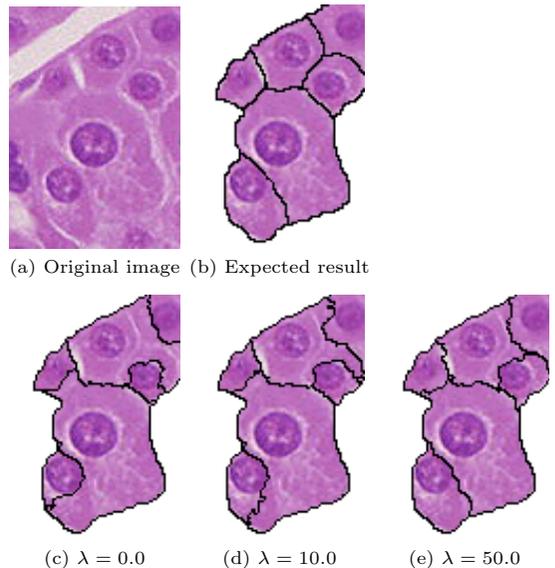


図 3 Jones らの手法による分割結果  
Fig. 3 Results of Jones's method.

するため，細胞の境界上でなくても輝度差分が大きくなる．したがって，このような場合は輝度差分の積算値を用いて細胞の境界の存在を検出することは困難である．図 3 に Jones らの手法による処理結果の例を示す．図 3 (a) は入力画像として使用した肝細胞癌のマイクロ像 [4] の一例である．図 3 (b) は期待される正確な分割結果を手動検出により示したものである．Jones らの手法を用いて領域分割処理を行った結果を図 3 (c) ~ (e) に示す．パラメータ調整によって大きく分割結果が変化するものの，いずれも期待される結果とは大きく離れた位置に境界をとる箇所が存在することが分かる．

### 3. 提案手法

#### 3.1 テクスチャ情報を利用した距離計算

領域内に複雑なテクスチャを含むような細胞間の境

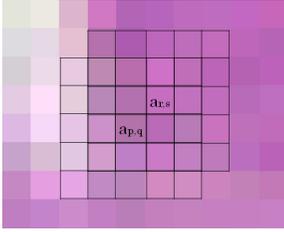


図 4 近傍窓領域によるテクスチャ特徴

Fig. 4 Texture feature vector defined as neighborhood window.

界は、テクスチャの変化として現れる。そのようなテクスチャ境界の境界近傍及び境界をまたぐ近傍画素同士の間では細胞領域内部よりもはるかに大きなテクスチャ特徴の違いがあり、これに基づいて検出できるものと考えられる。そこで、我々はまず、母点への経路上の各画素におけるテクスチャ特徴として図 4 のように各画素の近傍窓領域を定義する。テクスチャ特徴量として、同時生起行列や周波数スペクトルなど様々なものが提案されているが、近傍窓領域を特徴ベクトルとして利用することがその画素周辺の局所的なテクスチャ特徴を捉えるのに有効であることが近年のテクスチャ合成に関する一連の研究の中で示されている [5]。提案手法は輝度差分の代わりに、経路上の隣接画素同士のテクスチャ特徴ベクトル間の距離をテクスチャ差分として距離計算に利用することにより、テクスチャ領域内での局所的な輝度の変化による距離増大を抑え、テクスチャ境界として現れる細胞間境界の付近でのみ大きな距離を与える。

輝度を  $I$ 、テクスチャ特徴ベクトルとしての近傍窓領域の大きさが  $N \times N$  ( $N$  は奇数である) であるとし、経路上の隣接する二つの画素  $a_{p,q}$ 、 $a_{r,s}$  間のテクスチャ差分  $d_T(a_{p,q}, a_{r,s})$  は次式により求める。

$$d_T(a_{p,q}, a_{r,s}) = \frac{\sum_{i,j=-\lfloor N/2 \rfloor}^{\lfloor N/2 \rfloor} (I_{p+i,q+j} - I_{r+i,s+j})^2}{N^2} \quad (2)$$

提案手法では、式 (1) において、 $d_I$  の代わりに式 (2) から算出した母点までの経路上のテクスチャ差分の合計を用いることで、テクスチャが大きく変化する真の細胞境界の検出を可能にする。

図 3 (a) の入力画像に対し、提案手法を用いて領域分割処理を行った結果を図 5 に示す。窓領域のサイズは  $5 \times 5$  とし、パラメータ  $\lambda$  の調整による分割結果の変化を図 5 (a)~(c) にそれぞれ示す。

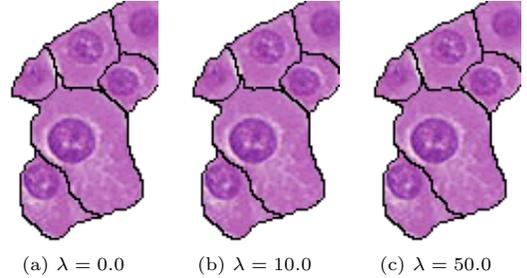


図 5 提案手法による分割結果  
Fig. 5 Results of our method.

図 3 (c)~(e) ではパラメータ  $\lambda$  の変化に合わせて結果が大きく変化した。これは、Jones らの手法においてはテクスチャ内部の輝度の変化が輝度差分の計算に影響を与え、輝度差分を用いた距離が正しく計算されないことにより、輝度差分に比重を置いた場合に境界検出の不良が生じてしまうためである。それに比べて、提案手法では図 5 (a)~(c) の結果がほとんど同じである。つまり、安定して正しいテクスチャ距離が計測できているため、ユークリッド距離に対する比重を大きくしても、正しい結果を得ることができる。

### 3.2 細胞核教示のためのインタラクション

ボロノイダイアグラムの作成に基づく細胞領域分割のためには、分割領域の母点領域として細胞核を与える必要がある。しかし、複雑なテクスチャを含む細胞画像からは単純な輝度情報のみで細胞核領域を推定することは困難である。Jones らは手動でこの母点を与えていた。我々は、細胞核の教示を利用者による少ないインタラクションによって実現する。細胞核は一般に一つの細胞に一つ含まれるものであり、細胞核は常に細胞領域で囲まれている。細胞核自体もテクスチャをもっているため、輝度と色を使った単純な方法で自動抽出することは困難である。テクスチャ合成に関する従来研究として、近傍のテクスチャの類似度を計算し、画素値を変化させる手法が提案されている [6]。我々はこれを改良し、繰り返し教示によって細胞核領域を教示できるようにした。以下の手順で細胞核の教示を行うことができる。

1. 細胞核領域中の一画素をクリックして指定する。
2. 指定画素の近傍窓領域の画素パターンに対して、似ている近傍パターンをもつ画素を抽出する。
3. 1. 及び 2. を細胞核領域が十分に選択されるまで繰り返す。

間質や類洞といった、対象とする細胞以外の領域に

対しても本手法を利用することで事前に抽出し、処理対象から除くことで、領域分割に支障が出るのを防ぐ。また、細胞核が見えにくく、教示による領域抽出が困難な細胞核が画像内に存在する場合、必要に応じて手動による抽出を併用する。

#### 4. むすび

複雑なテクスチャを含む細胞画像などでは、単純な輝度情報のみからでは細胞領域に対し適切な分割処理を行うことが困難な場合があった。本論文では、ポロノイダイアグラムを応用した細胞領域分割手法にテクスチャ特徴を組み込むことにより、分割処理においてより高精度な結果を得ることができた。今後の課題としては、連続スライス画像や時系列観測画像への拡張が挙げられる。隣接画素間で細胞数が一致することや、大きさが変化しないことを利用できれば、より精度の高い細胞領域分割が可能になるものと考えられる。また、あるテクスチャをもつ細胞領域内に、脂肪滴のようなテクスチャが明確に異なる領域が含まれている場合、領域分割に支障をきたす。そのような細胞に対しても対応できる、より頑健な手法を検討する必要がある

と考える。

#### 文 献

- [1] C. Zimmer, E. Labruyere, V.M. Yedid, N. Guillen, and J.C.O. Marin, "Segmentation and tracking of migrating cells in videomicroscopy with parametric active contours: A tool for cell-based drug testing," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol.21, no.10, pp.1212-1221, 2002.
- [2] M.E. Ambuhl, C. Brepant, J.J. Meister, A.B. Verkhovskiy, and I.F. Sbalzarini, "High-resolution cell outline segmentation and tracking from phase-contrast microscopy images," *J. Microscopy*, vol.245, pt.2, pp.161-170, 2012.
- [3] T.R. Jones, A. Carpenter, and P. Golland, "Voronoi-based segmentation of cells on image manifolds," *CVBIA*, pp.535-543, 2005.
- [4] 日本病理学会, 病理コア画像 <http://jsp.umin.ac.jp/corepictures2010/10/c12/03.html>
- [5] L. Wei and M. Levoy, "Fast texture synthesis using tree-structured vector quantization," *SIGGRAPH*, pp.479-488, 2000.
- [6] S. Brooks and N. Dodgson, "Self-similarity based texture editing," *SIGGRAPH*, pp.653-656, 2002.

(平成 24 年 6 月 15 日受付, 10 月 25 日再受付)