

# 重なり合った粒子像の繰返し演算による分離

坂上勝彦・高木幹雄(東大生研)

## 1. はじめに

互いに重なり合ったり接触したりしている複数粒子のデジタル画像は顕微鏡画像処理などの分野において極めて頻りに研究対象となっている。例としては顆粒(図1参照)<sup>[1][2]</sup>、細胞集塊<sup>[3]</sup>、TiO<sub>2</sub> 微細粒子<sup>[4][5]</sup>、筋繊維断面像<sup>[6]</sup>、赤血球<sup>[7]</sup>などが挙げられ、各粒子を分離同定しそれぞれの中心の座標、半径などを正確に計測する技術の開発は重要な課題である。

従来の手法は距離変換を用いる手法と輪郭を抽出し曲率(curvature)などを使って各粒子を分離する方法とに大別できる。

**距離変換**<sup>[1][3][7]</sup>: 重なりの場合が小さい場合は効果的。重なり方によっては粒子の中心付近に局所最大値(local maximum)が現われない。(図2参照)孤立点の存在によって大きな誤差が生じる。よって雑音除去処理が必要。逆に孤立点が重要な情報となることもあり得る。

**輪郭抽出**<sup>[4][5][6]</sup>: 円周の一部さえあれば中心を求めることができる。ヒゲなどの雑音に弱い。また、雑音を取除くと形状に関する細かい情報が失われる恐れがある。(図3参照)

他にHough変換を応用した曲線検出法なども提案されているが、<sup>[8]</sup>検出したい粒子の大きさが一定でないときは困難であると考えられる。

これらの方法は処理能力を決定する重要な部分、たとえば距離変換法における局所最大値の検出方法、輪郭抽出法では凹部(concavity)の検出方法など、に多くのヒューリスティック・スレッシュホールドが存在する。これらの閾値は一般に値の選定が難しく、結果に大きく影響を及ぼす。さらに、雑音に対処するための様々なスムージング法が考案されており、それが処理能力の一般性を著しく限定しているように思える。

本稿では新しい視点に立って、繰返しの手法を利用したアルゴリズムを提案する。粒子につ

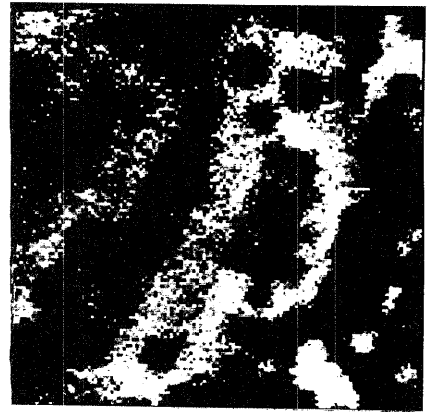


図1. 重なり合った粒子像の例(脾細胞顆粒).

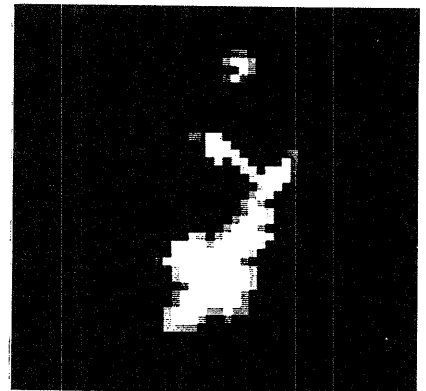


図2. 図1の右下粒子塊に対する距離変換像.

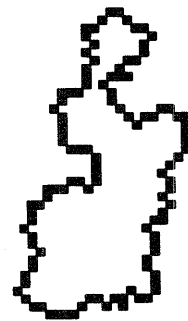


図3. 図1の右下粒子塊の輪郭.

いてのパラメータ（輪郭上にある画素の座標，中心の座標）を並列演算を繰返すことによって更新してゆき，収束した時点で中心座標値をクラスタリングして粒子を分離するのである。入力データに存在していた「あいまい性」は繰返しを続けるにつれて次第に取除かれる。従って，雑音に対して強く，しかも閾値の設定が比較的容易なアルゴリズムとなった。なお，輪郭点列を繰返し演算で分割する問題についてはすでに報告した。<sup>[9]</sup> 本稿はそれを一般化し，輪郭抽出という処理を行なわずに済むようにしている。

パラレル演算の繰返しを行なうアルゴリズムとしては弛緩法 (Relaxation Method) が有名である。<sup>[10][11]</sup> しかし我々のアルゴリズムは，これとは異なりレベル集合や，微妙な係数（適合係数）を準備する必要がないという点を特徴としている。

## 2. アルゴリズム

アルゴリズムは三段階から成立っている。本章では図2，図3と同じ粒子塊に対する処理結果と平行してアルゴリズムについて解説する。

### 2-1. 微分処理

まず，原画像から粒子の輪郭点と思われる画素を抽出する。処理は次のような手順で行なわれる。

- (1) 微分オペレータ (3x3 Robinson's Operator <sup>[12]</sup>) を使って原画像のグラジエントを計算する。図4は，その振幅値を表示したものである。
- (2) グラジエントの振幅の画像からその尾根点を抽出する。これが粒子の輪郭点の候補となるわけである。図5は振幅値の大きい尾根点を100点選り出したものである。

この尾根点が2-2，2-3の処理の入力データとなる。

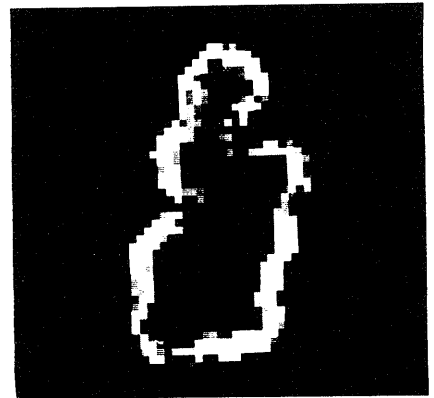


図4. 微分オペレータ出力。

### 2-2. 初期値の割当て

各尾根点は次のようなパラメータを持つ。

- (1)  $(X_i, Y_i)$  : 点  $i$  の座標。
- (2)  $(C_{xi}, C_{yi})$  : 点  $i$  が属していると思われる粒子の中心座標。
- (3)  $P_i$  :  $(C_{xi}, C_{yi})$  が正しいものとみなすことのできる確率。

本段階では，これらのパラメータの初期値が計算され，割当てられる。以下，スーパーサイフィックス  $(^0)$  は初期値を示すものとする。

$(C_{xi}^{(0)}, C_{yi}^{(0)})$  は図6のようにして計算される。点  $j_l, j_r$  は，注目している点  $i$  を始点として微分画像上でエッジを3画素分リンクすることによって得た点である。点  $j_l, i, j_r$  は，

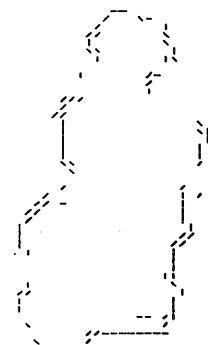
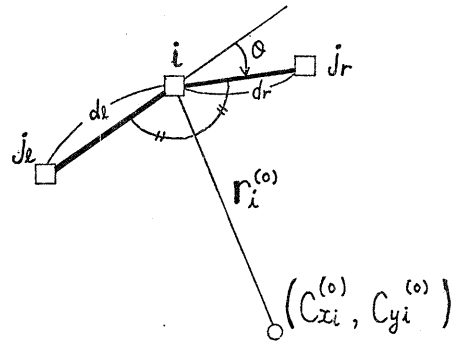


図5. 尾根点の抽出。

この順で同一円周上にあると考えられるから半径  $r_i^{(0)}$  は次式で算出することができる。

$$r_i^{(0)} = \frac{(d_i + d_r)}{2} \times \frac{1}{2|\sin(\theta/2)|} \quad (1)$$



$(C_{xi}^{(0)}, C_{yi}^{(0)})$  は  $i$  の座標  $(X_i^{(0)}, Y_i^{(0)})$  と  $r_i^{(0)}$  から簡単に求めることができる。

$P_i^{(0)}$  は、 $\text{Mag}(i)$  (画素  $i$  におけるグラジエントの振幅) に比例すると考えられる。よって次式を使って定義する。

$$P_i^{(0)} = \begin{cases} \text{Mag}(i) / \text{Max Mag}(j) & \text{if } r_{\min} \leq r_i^{(0)} \leq r_{\max} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2)$$

もし  $r_i^{(0)}$  が小さすぎたり、大きすぎたりした場合  $P_i^{(0)}$  はゼロとすべきであろう。  $r_{\min}$  と  $r_{\max}$  は、この目的で導入した閾値である。本実験では、 $(r_{\min}, r_{\max}) = (2, 10)$  とした。図7は、図5のデータに対する  $(C_{xi}^{(0)}, C_{yi}^{(0)})$  の分布を示したものである。 $(X_i^{(0)}, Y_i^{(0)})$  を ■ で表示し、それと  $(C_{xi}^{(0)}, C_{yi}^{(0)})$  とを線分で結んだものである。

顆粒画像の場合、2-1 (第一段階) と 2-2 (第二段階) で用いた手順は効果的であった。しかし、ここまでの段階は本質的に対象の性質に依存する部分である。よって他の対象を扱う場合は適宜に変更を加える必要がある。

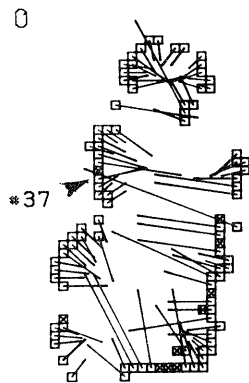


図7. 中心座標の初期値の分布。

### 2-3. 繰返しプロセス

この段階では前段階で準備された初期値が、繰返し演算によって収束する。まず係数  $R_{ii}$  が図8に示される  $R_{ii}^*$  を使って次式のように定義される。

$$R_{ii}' = \begin{cases} R_{ii}^* \times \cos \alpha & \text{if } \cos \alpha \geq 0 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (3)$$

$R_{ii}'$  は2つの点  $i$  と  $i'$  の間の適合性を評価する係数である。すなわち、 $i$  が  $i'$  と同じ粒子に属すると仮定した時、それがつじつまの合う事象であるかどうかを示す係数で、 $i$  と同じ粒子に属すると思われる点  $i'$  を選択出すための重要な尺度となる。ただしこの場合、 $i'$  の信頼性も考慮する必要がある。よって、次の  $Q_{ii}'$  を使って適合性を評価することにする。

$$Q_{ii'} = P_{i'} \times R_{ii'} \quad (4)$$

すべての点  $i'$  について  $Q_{ii'}$  を計算しそのヒストグラムを計算するとそれは双峰特性となるはずである。なぜならすべての  $i'$  は  $i$  と同じ粒子に属するもの ( $Q_{ii'}$  は大きい値) とそれ以外のもの ( $Q_{ii'}$  は小さい値) に分けられるからである。よって  $i$  とよく適合する  $i'$  を選ぶ出すための閾値は容易に自動決定することができる。本実験では大津の方法<sup>[13]</sup>を使った。

こうして選出された  $i'$  (selected  $i'$ 's) を使って  $(C_{xi}, C_{yi})$  と  $r_i$  は次のように更新される。ただし  $S_{i'}$  は  $(C_{xi}^{(k+1)}, C_{yi}^{(k+1)})$  と  $(X_i^{(k)}, Y_i^{(k)})$  の間の距離である。

$$C_{xi}^{(k+1)} = \frac{\sum_{(\text{selected } i'\text{'s})} Q_{ii'} C_{xi}^{(k)}}{\sum_{(\text{selected } i'\text{'s})} Q_{ii'}^{(k)}} \quad (5)$$

$$C_{yi}^{(k+1)} = \frac{\sum_{(\text{selected } i'\text{'s})} Q_{ii'} C_{yi}^{(k)}}{\sum_{(\text{selected } i'\text{'s})} Q_{ii'}^{(k)}} \quad (6)$$

$$r_i^{(k+1)} = \frac{\sum_{(\text{selected } i'\text{'s})} Q_{ii'} \times s_{i'}}{\sum_{(\text{selected } i'\text{'s})} Q_{ii'}^{(k)}} \quad (7)$$

$(X_i^{(k+1)}, Y_i^{(k+1)})$  は  $(C_{xi}^{(k+1)}, C_{yi}^{(k+1)})$  と  $r_i^{(k+1)}$  を使い、さらに  $(C_{xi}^{(k)}, C_{yi}^{(k)})$  から  $(X_i^{(k)}, Y_i^{(k)})$  へ方向を点  $i$  から中心へ方向として一意に定めることができる。確率  $P_i$  は次のようにして更新する。

$$P_i^{(k+1)} = \begin{cases} (N_i - 1) / (N_{th} - 1) & \text{if } r_{min} \leq r_i^{(k)} \leq r_{max} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (8)$$

ただし  $N_i$  は注目している  $i$  について実際に選ばれた  $i'$  の数である。

$C_{xi}, C_{yi}, X_i, Y_i, P_i$  を更新するプロセスを何回も繰返すのである。ただし実際のプログラムでは  $N_i \leq 1$  の場合については  $P_j^{(k)} > 0$  となる  $j$  の中から点  $i$  に最も距離の近いものを2点選び、それを選ばれた  $i'$  として (5), (6), (7) 式の更新を行なう。もちろん  $P_i^{(k+1)} = 0$  とする。

図9, 図10は繰返し演算の結果である。(Dth = 6, Nth = 10) 図9は点#37 (図7参照) についての  $Q_{ii'}$  の分布の変化の様子を示す。縦軸は  $Q_{ii'}$  で、 $i'$  を  $Q_{ii'}$  の大きい順に横軸に沿って並べたものである。点線は大津の方法で求められた閾値である。もちろん点線より  $Q_{ii'}$  が上にある  $i'$  が選択され (5), (6), (7) 式の selected  $i'$ 's として使われる。繰返しを進めるにつれて次第に分布が  $Q_{ii'} = 0$  のものと1のものとの2つに分かれていく様子がよくわかる。

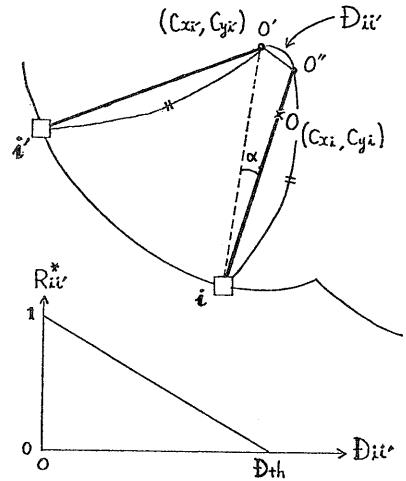


図8. 係数  $R_{ii'}$ .

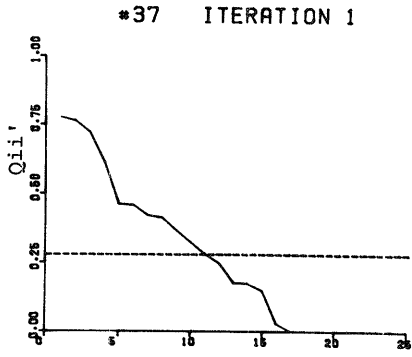


図9-1. 繰返し1回.

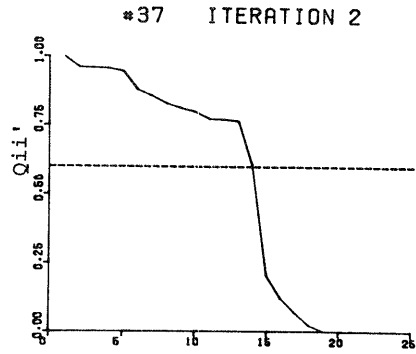


図9-2. 繰返し2回.

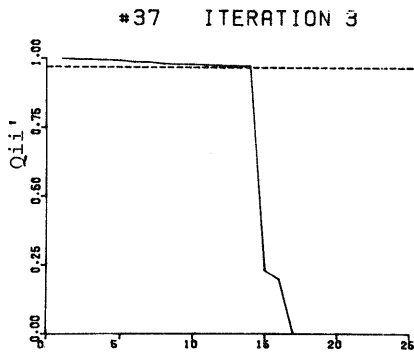


図9-3. 繰返し3回.

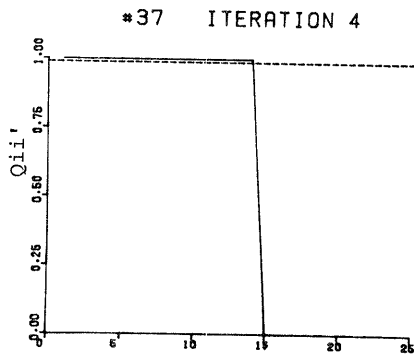


図9-4. 繰返し4回.

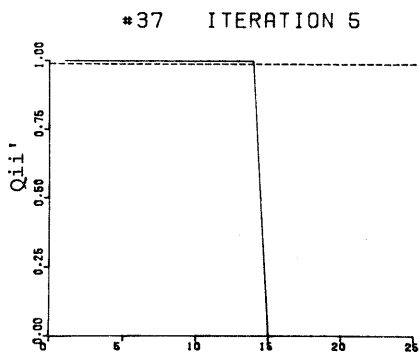


図9-5. 繰返し5回.

図9.  $Q_{ii}'$ の分布.

図7の点#37 (すなわち  $i=37$ ) に注目してすべての  $i$  について  $Q_{ii}'$  を計算し、その値の大きいものを横軸に沿って並べたグラフである。

1

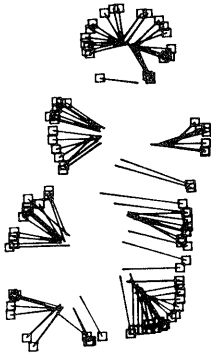


図10-1. 繰返し1回.

2

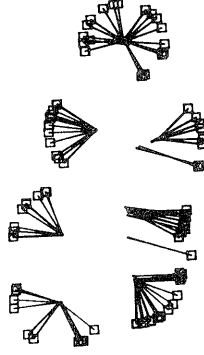


図10-2. 繰返し2回.

3

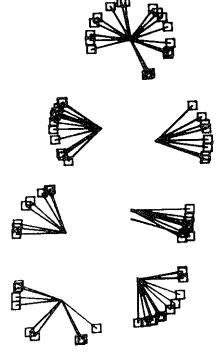


図10-3. 繰返し3回.

4

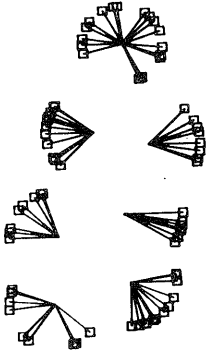


図10-4. 繰返し4回.

5

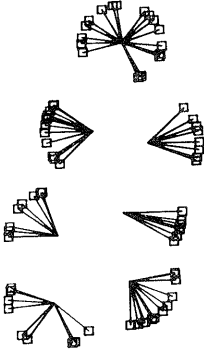


図10-5. 繰返し5回.

6

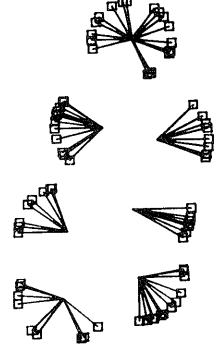


図10-6. 繰返し6回.

図10. 中心座標値の収束の様子.

中心座標  $(C_{xi}, C_{yi})$  の収束の様子を図10に示す。図7において大きく散らばっている初期値が繰返し1回でまとまり始め、2回目以降急速に収束していく様子がよくわかる。収束の特性は極めて良好であり、繰返し4回目以降において更新前後の中心座標の値はほとんど変わらない。この収束の終わった中心座標値は簡単な方法でクラスタリングすることが可能であり、粒子を分離することができるのである。なお、繰返しプロセスは初期値割当てプロセスとは異なり、対象物の性質とは独立していると考えられる。

### 3. 実験結果

前章で述べたアルゴリズムを図1の全画面に適用した結果が図11である。収束した中心座標値とそれに相当する半径で決定される円を表示してある。中心座標の収束値に対応している輪郭点数が  $N_{th}$  より少ないものは信頼できないとして表示していない。初期確率  $P_i^{(0)}$  が 0.3以上となる画素 1172点を選び出し、それ

を入力データセットとして処理を行なった。ただしアルゴリズムの性格上、輪郭点数が多き場合はそれを一度に処理するのは能率が悪い。そこで、比較的接近している点をまとめあげ、100点程度のサブクラスタに分割してからそれぞれについて繰返し処理を行なうプログラムにしてある。次式で定義される  $ERR(i)$  がすべて  $\epsilon$  以下になったときをもって収束終了と判定した。

$$ERR(i) = |Cxi(k+1) - Cxi(k)| + |Cyi(k+1) - Cyi(k)| \quad (9)$$

収束までに要する繰返しの回数はいくつものサブクラスタにおいて7回程度であった。

$P_i^{(0)} \geq 0.3$  となるものに限って処理を行なったため輪郭のはっきりしない粒子は見落されているが、おおむね良好な結果が得られている。図12は、やはり脾細胞

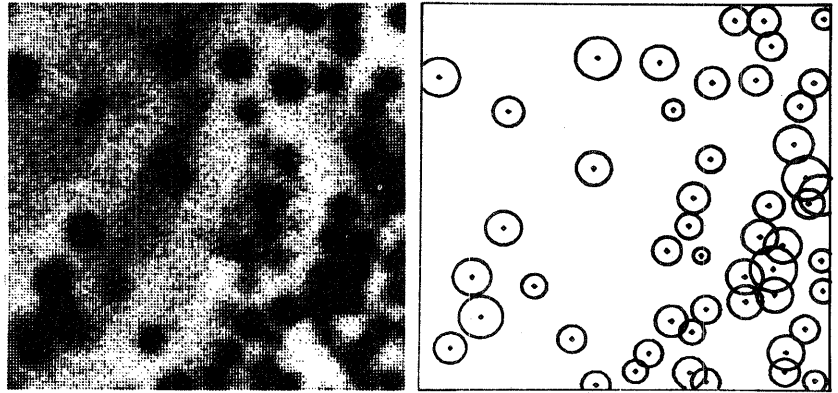


図11. 図1についての最終処理結果

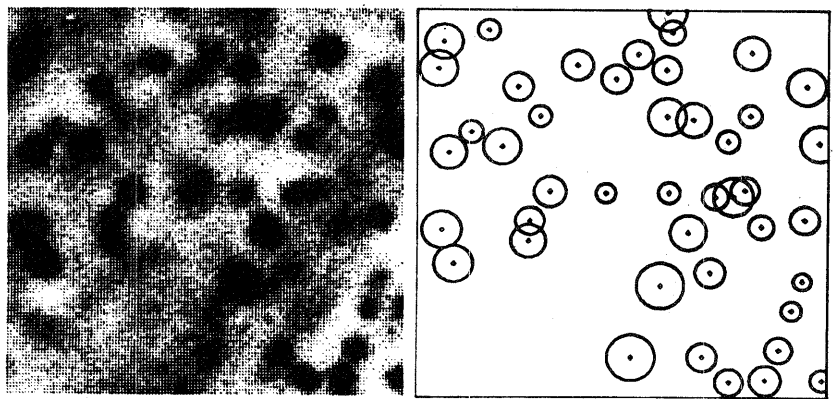


図12. 脾細胞顆粒像(図1とは別の画面)に対する処理.

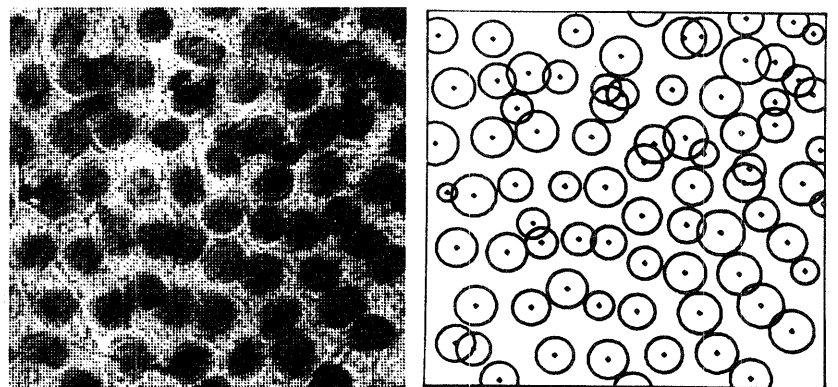


図13. 細胞集塊に対する処理.

顆粒像についての結果である。図13は細胞集塊<sup>[3]</sup>に対する処理例である。黒い粒子は核である。もちろんすべてのパラメータは第2章で用いたものと全く同じである。ちなみに  $(P_{min}, P_{max}, D_{th}, N_{th}) = (2, 10, 6, 10)$ 。

#### 4. おわりに

重なり合った粒子像データを繰返し演算によって各粒子に分離する手法について述べた。あいまい性を繰返し演算によって少しずつ取除くという方法であるため、雑音に強く、同じパラメータの値でいろいろな場合に対し良好な結果が得られた。初期値を設定するプロセスを各対象物用に若干の変更を加えるだけで、どのような粒子画像に対しても応用が可能であると思われる。

最後に日頃御指導頂く尾上教授、坂内助教授、石塚助教授に感謝します。

#### REFERENCES

- [1] 大槻, 島脇, 福村, "Texture 識別を伴う生体組織顕微鏡画像の自動計測," 通信学会論文誌, vol. 61-D, No. 2, pp. 135-142, 1978.
- [2] M. Takagi and K. Sakaue, "The analysis of moving granules in a pancreatic cell by digital moving image processing," Proc. of the 4th IJCP, pp. 735-739, Nov. 1978.
- [3] M. Onoe, Y. Kuno, and Y. Tenjin, "Recognition of adenocarcinoma in automated uterine cytology," *ibid*, pp. 883-885.
- [4] C. Arcelli and S. Levialdi, "Picture processing and overlapping blobs," *IEEE Trans. Computers*, vol. C-20, pp. 1111-1115, Sep. 1971.
- [5] C. Arcelli and S. Levialdi, "On blob reconstruction," *Computer Graphics and Image Processing*, vol. 2, no. 1, pp. 22-38, 1973.
- [6] M. J. Eccles, M. P. C. McQueen, and D. Rosen, "Analysis of the digitized boundaries of planar objects," *Pattern Recognition*, vol. 9, no. 1, pp. 31-41, 1977.
- [7] 鈴木, 橋詰, 堀内, 横内, 山本, "血痕像パタンの分類と処理," 昭和55年通信学会総会全国大会 S10-8.
- [8] A. Iannino and S. D. Shapiro, "A survey of the Hough transform and its extension for curve detection," *Proc. of Pattern Recognition and Image Processing '78*, pp. 32-38, 1978.
- [9] 坂上, 高木, "重なり合った粒子像の分離方法について," 昭和54年通信学会情報部門大会, 116.
- [10] A. Rosenfeld, R. M. Hummel, and S. W. Zucker, "Scene labelling by relaxation operations," *IEEE Trans. Syst., Man, Cybern.*, vol. SMC-6, pp. 420-433, June 1976.
- [11] 坂上, 高木, "SPIDER開発を通じた新たなデジタル画像処理アルゴリズムの現状 [2] - 弛緩法の応用 -," 情報処理学会コンピュータ・ビジョン研究 3-3, 1979.
- [12] G. Robinson, "Edge detection by compass gradient masks," *Computer Graphics and Image Processing*, vol. 6, pp. 492-501, 1977.
- [13] 大津, "濃淡分布の5のしきい値決定法," 昭和52年通信学会情報部門大会, 145.