

組織細胞連続切片画像の自動整合と3次元再構築

池原 裕介[†] 渡辺 弥壽夫[‡]

金沢工業大学 〒921-8501 石川県石川郡野々市町扇が丘 7-1

E-mail: [†]ike@venus.kanazawa-it.ac.jp, [‡]watanabe@infor.kanazawa-it.ac.jp

あらまし 本稿では、組織細胞連続切片画像間に存在する角度、スケール比などの差を SIFT 特徴量を用いて算出し、整合を行う方法を提案する。生体の組織細胞といったマイクロレベルの物体の連続切片画像を撮影する際、撮影環境の統一が困難なため、画像間に角度、スケール比等に差が発生する。この差を SIFT 局所特徴量を用いて算出し、整合を行う。一般的に細胞画像はコントラストが小さいため、従来の SIFT 対応点探索方法ではマッチングが困難である。そのため、SIFT 特徴量のオリエンテーションや対応点間スケール比などを用いた、高精度の対応点探索手法を実装した。

キーワード SIFT, 対応点探索, マッチング, 3次元再構築

1. はじめに

生体の3次元構造を様々な側面から解析するために、CT, MRI, PET等の技術が開発され、解剖学や組織学をはじめとする基礎医学はもちろん、基礎生物学の研究や医療現場でも利用されている[1]。これらの技術は、そのままでは観測(計測)できない3次元構造体である生体内部をマクロレベルでイメージングする。しかし、生体の組織細胞といったサブマイクロからナノメートルレベルの観測を行うには、標本をスライス、染色した後、電子顕微鏡を利用しなければならないため、3次元構築の技術は、CTとは異なる手法が必要とされる。

組織細胞の撮影の際に問題となるのが、撮影環境を統一できない点である。今回想定している環境は1mm小片を80nm間隔でスライスし、プレパラートを作成し電子顕微鏡で撮影するというものである。プレパラートは人の手で作られるため撮影対象を同一方向、同一場所に統一させることが困難であり、画像1枚ごとに角度や撮影位置等の変化が伴うことになる。従来、この整合は手動で行っていたが、撮影枚数が大量になると実質的に人の手による整合は不可能になる。細胞に穴を空けるなどして目印をつける方法もあるが、細胞の状態が損なわれてしまう[2]。そのため、この整合は目印などを用いずコンピュータで自動的に行うことが望ましい。本稿では画像間の角度差、スケール比、平行移動について整合を行う方法について記述する。

画像の回転、スケール変化、照明変化などに頑健な特徴量としてSIFTが挙げられる[3]。SIFTにより得られたキーポイントの特徴量を画像間マッチングに利用することにより、対応点探索が可能となる。しかし、連続切片画像は異なる部位を撮影しているため、共通部分が少なく、マッチングの精度が落ちてしまう。さらに、細胞画像は輝度勾配が少なく、SIFTによる特徴が出にくい画像であるため、従来の対応点探索方法では十分な精度が得られない場合がある。そのため、高精度の対応点探索方

法が必要となる。本稿では、SIFT特徴点のオリエンテーションを用いた対応関係の絞り込み、2対応関係間のスケール比を用いた絞り込みを提案し、その精度を検証する。

2. SIFT 特徴量

SIFT(Scale Invariant Feature Transform)特徴量は1999年にDavid G.Loweにより提案された、2次元画像のスケール変化、回転、明度変化に頑健な局所特徴量である[4]。SIFTアルゴリズムはキーポイント(特徴点)の検出(Detection)と特徴量の記述(Description)の2段階で構成されており、大きく分けると以下の4つの処理を行うことになる。

- 検出(Detection)
 - ①キーポイントの検出とスケール決定
 - ②キーポイントのローカライズ
- 記述(Description)
 - ③オリエンテーションの算出
 - ④特徴量の記述

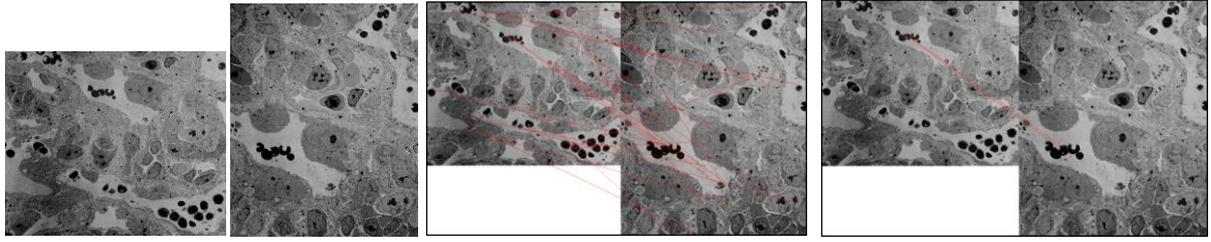
画像間のSIFT特徴量を比較することにより、画像の共通点を探索し、キーポイント間の座標関係から角度差、スケール変化量、平行移動量(以下、アフィン変換パラメータ、またはパラメータという)を計算する。これらの変形はアフィン変換で実現できる[5]。

3. アフィン変換パラメータ計算

対応関係から画像のアフィン変換パラメータを求める方法を説明する。基準画像をA、整合対象画像をBとする。画像AB間の角度差とスケール差を求め、それらの変形を画像Bに適用し、キーポイント間の座標距離から平行移動距離を求める。画像AのSIFT特徴点集合を A_1 、画像BのSIFT特徴点集合を B_1 とし、添え字が同じものは対応関係があるものとする。

3.1 角度差の算出方法

角度差は、キーポイント間のオリエンテーション角度の差の平均で求めることができる。特徴点を持つオリエ



(a) 比較画像 (b) $th=0.8$ での対応関係(誤検出含む) (c) $th=0.6$ での対応関係(対応関係が少ない)

図1 誤対応検出例

ンテーション角度をそれぞれ Ar_i, Br_i ($-\pi \leq Ar_i, Br_i < \pi$) とすると、角度差 θ は式(1)となる。

$$\theta = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \text{mod}(|Ar_i - Br_i|, 2\pi) \quad (1)$$

3.2 スケール比の算出方法

スケール比の算出には対応関係2組の、それぞれの画像のキーポイント距離の比から求める。2組の対応関係を $A_j B_j, A_k B_k$ とし、その xy 座標を Ax_j, Ay_j などとすると、対応関係 jk におけるスケール比 S_{jk} は式(2)となる。対応関係2組の組み合わせ全ての平均を求めることでスケール比を得る。ただし、分母が0となる場合は考慮に入れない。

$$S_{jk} = \frac{\sqrt{(Ax_j - Ax_k)^2 + (Ay_j - Ay_k)^2}}{\sqrt{(Bx_j - Bx_k)^2 + (By_j - By_k)^2}} \quad (2)$$

3.3 平行移動距離の算出方法

平行移動距離の算出は、角度差とスケール比の変形を適用した後、対応関係のキーポイントの座標距離の平均で求める。初めに画像Bのキーポイント座標に対して式(3)を掛け $trBx_i, trBy_i$ を得る。Sは画像AB間のスケール比、 θ は角度差とする。

$$\begin{bmatrix} trBx_i \\ trBy_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} S \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & S \cos \theta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} Bx_i \\ By_i \end{bmatrix} \quad (3)$$

画像Aのキーポイント座標 Axy_i と、画像Bの変換後のキーポイント座標 $trBxy_i$ の距離の差の平均を平行移動距離とする。式は(4)(5)のようになる。

$$X = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Ax_i - trBx_i) \quad (4)$$

$$Y = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Ay_i - trBy_i) \quad (5)$$

以上で、整合に必要なアフィン変換式(6)を得る。

$$\begin{bmatrix} s \cos \theta & \sin \theta & X \\ -\sin \theta & \cos \theta & Y \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (6)$$

4. 対応点探索

4.1 一般的な対応点探索方法

SIFTはキーポイントごとに128次元の特徴ベクトルを持つ。画像Aのキーポイント i の特徴ベクトルを $Ai_{vk} \{Ai_{vk} | k = 1, 2, \dots, 128\}$ 、画像Bのキーポイント j の特

徴ベクトル Bj を $Bj_{vk} \{Bj_{vk} | k = 1, 2, \dots, 128\}$ とし、キーポイント間のユークリッド距離 d を次のように定義する。

$$d(Ai, Bj) = \sqrt{\sum_{k=1}^{128} (Ai_{vk} - Bj_{vk})^2} \quad (7)$$

また、画像Aのキーポイント1点と画像Bの全てのキーポイント間で最も小さい d を d_1 、2番目に小さい d を d_2 とし、 $d_1 < d_2 \times th$ ($0 < th \leq 1.0$) を満たす2キーポイントを対応関係候補とする。以上は一般的なSIFTの対応点探索であるが[4][6]、SIFT特徴量の乏しい細胞画像に対してこの方法では対応関係を正確に得ることができない場合が多い。閾値を低くすれば得られる対応関係が少なくなり、パラメータの算出の精度が下がる。高くすれば誤った対応関係が発生してしまう。図1にその例を示す。 $th=0.8$ では誤検出が含まれ、 $th=0.6$ では対応関係が少ない。正しい対応関係のみを十分に得られる閾値の設定が必要となる。パラメータ計算では対応関係が多いほど精度が高くなるため、なるべく多くの対応関係を得たい。しかし、誤検出があると、特に平行移動量に大きな誤差が発生してしまう。最適な閾値を探る方法では、マッチング個数と誤検出発生率は比例するのでリスクが大きい。正確に多数の対応関係を得る別の方法が必要となる。この問題を解決する手法として、パラメータの計算方法を基とした多数決型対応点探索アルゴリズムを提案する。

4.2 オリエンテーションによる対応点探索

SIFTは回転不変性を持つためにオリエンテーションの算出を行う。オリエンテーションは特徴点を持つ輝度勾配方向である。正しい対応関係である場合、それぞれのオリエンテーション角度の差は比較画像の角度差を示し、誤った対応関係である場合は、異なる値を示すという特性を持つ。つまり、得られた対応関係のオリエンテーション角度差のヒストグラムを作成すると、特定の値、画像間の角度差付近に集中することになる。これを利用し、対応点探索を行う。ヒストグラム作成のために、初めにある程度精度の高い対応関係集合が必要である。キーポイント間の特徴量ベクトルのユークリッド距離が小さいものを選ぶか、または上記で示した一般的な対応点探索方法を低い閾値で適用することにより得ることができる。

4.3 スケール比による対応点探索

同様に、対応関係間のスケールによって対応点探索を行う。画像間の対応関係2組に着目する。2組の特徴点のそれぞれの画像での距離の比は、画像間のスケール比を示す。分かり易くするため、例を図2に示す。

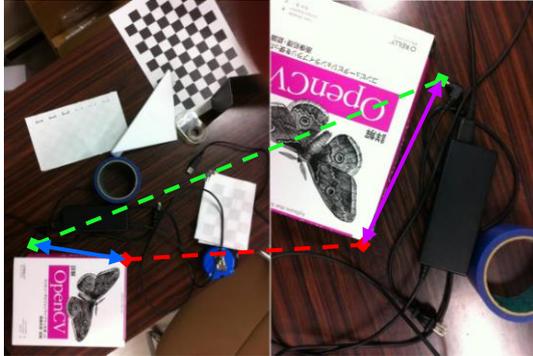


図2 画像間スケール比の関係

図2は同一撮影対象を異なる角度、倍率で撮ったものである。画像間の対応関係を赤と緑の実線で示す。この2組は正しい対応を示している。青線、紫線はそれぞれの対応関係を同一画像内で結んだものである。この青線と紫線の距離比は画像間のスケール比と同値となる。どちらかが誤った対応であれば異なる値を示す。この特性を利用し、対応関係2組を選ぶ全ての組み合わせのスケール比ヒストグラムを作り、スケール比による対応点探索を行う。

4.4 対応点探索アルゴリズムの実装・検証

以上を踏まえたうえで、対応点探索アルゴリズムを実装する。この実験のSIFTアルゴリズムはOregon State UniversityのRob Hessのプログラム[7]をベースとして作成している。始めに、ある程度精度が保証される対応関係集合が必要である。式(7)により、キーポイント間の特徴量ベクトルのユークリッド距離を計算し、それが小さい順に選ぶことでこれを得る。実験により対応関係上位80個程度まで精度が高いことが分かっているため、この80個を初期の対応関係集合とする。比較画像をA、Bとし、対応関係を $AB_i \{AB_i | i = 1, 2, \dots, 80\}$ とする。iはユークリッド距離順である。

得られた対応関係集合のキーポイント間のオリエンテーション角度の差を求める。 Ar_i を A_i のオリエンテーション角度、 Br_i を B_i のオリエンテーション角度とすると、角度差は式(8)となる($0 \leq \theta_i < 2\pi$)。

$$\theta_i = \text{mod}(|Ar_i - Br_i|, 2\pi) \quad (8)$$

($0 \leq r < 2\pi$)の区間をN分割し、 θ_i でヒストグラムを作成する。投票数はi個となる。最も頻度の高い区間に含まれる対応関係が正しいと推定できるので、この区間に含まれない対応関係を集合から除外する。

スケール比による対応点絞り込みも行う。スケール比

を得るには2組の対応関係が必要である。 AB_i から2組を選ぶ組み合わせは $i \times (i - 1) / 2$ 個となり、全ての組み合わせで投票を行う。2組の対応関係を AB_j, AB_k とし、それぞれのキーポイント座標を Ax_j, Ay_j, Bx_k, By_k などとする。2組間のスケール比は式(9)となる。ただし、分母が0のときは除外する。

$$S_{jk} = \frac{\sqrt{(Ax_j - Ax_k)^2 + (Ay_j - Ay_k)^2}}{\sqrt{(Bx_j - Bx_k)^2 + (By_j - By_k)^2}} \quad (9)$$

S_{jk} は0から非常に大きな値まで取り、偏りがあるため単純に区間分割するとよい結果が得られない。画像間のスケール比は実質的に0.1から10.0程度の値としかならないことを考え、ヒストグラムは $0.1 \leq S_{jk} < 10.0$ を0.1刻みで分割し、それ以外の値を外れ値として考慮しないものとする。

スケール比は対応関係2組で1つの値を取るため、対応関係の正否判定は角度のように単純にはできない。対応関係に正判定の得点を付け、一定得点以上であれば正しい対応関係であると判断する方法をとる。例えば、2組の対応関係 AB_m と AB_n であったとする。これらのスケール比が最頻区間に含まれている場合、mとnに1点ずつ得点を加え、含まれない場合は加点しないものとする。ある対応関係が含まれる組み合わせは $(i - 1)$ 個あるので、最高点は $(i - 1)$ 点となる。この得点率で対応関係の正否判断を行う

5. 評価実験

4.4で示した対応点探索システムの評価実験、検証を行う。実験画像は図3、4である。画像情報を表1に示す。左側を基準画像とする。画像のアフィン変換パラメータは、手動での整合結果をもとに算出してある。この対応点探索システムは、ヒストグラムの最頻区間のみを正しい対応関係としており、パラメータは最頻区間に含まれることが前提となっている。ヒストグラムの最頻区間が画像のパラメータを含むか検証する。図3、4の角度ヒストグラム、スケール比ヒストグラムを図5に示す。角度ヒストグラムは64分割である。また、画像ABのスケール比ヒストグラムの投票数は、それぞれ2512、2956である。

全てのヒストグラムで、アフィン変換パラメータを含む区間の頻度が最も高くなっている。式(8)(9)により、対応点の絞り込みが可能であることが分かる。

オリエンテーション、スケール比による対応点探索の精度検証を行う。対応関係の正否判定は、式(6)を適用した時のキーポイント間の座標距離で判定する。距離が5ピクセル以内であれば正、それ以上であれば否と判断する(式(10))。図3、4のキーポイント間のユークリッド距離上位80個の正対応関係個数はそれぞれ31、32であった。図3、4のオリエンテーションによる対応点探索結

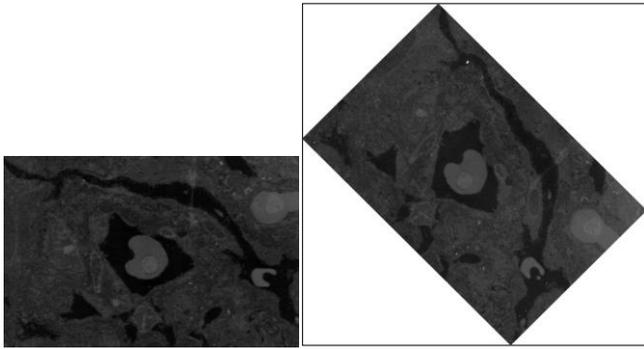


図3 実験画像 A

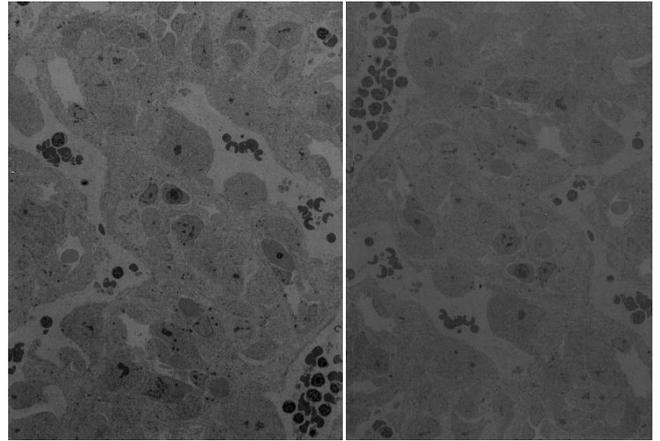
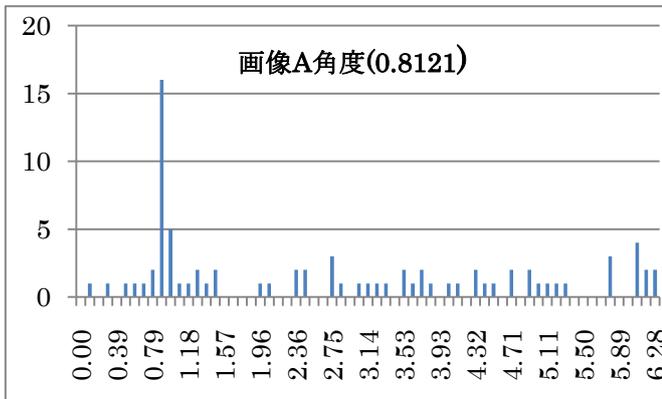


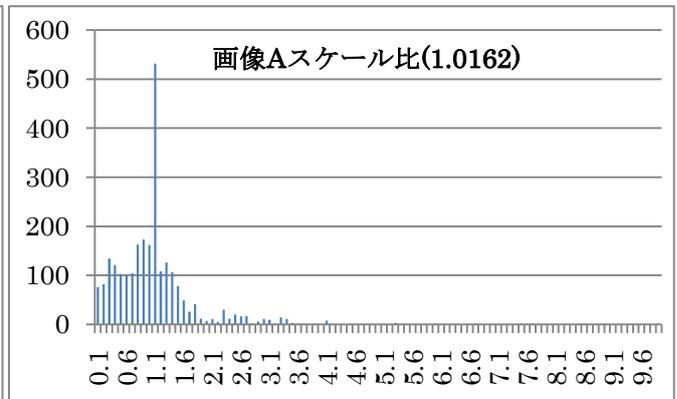
図4. 実験画像 B

表1 実験画像データ

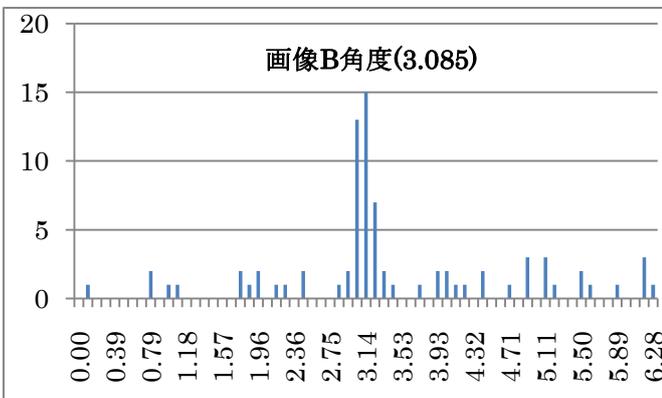
	ピクセルサイズ		キーポイント 数	回転量 左回 り rad	スケール 比	平行移動量	
	X	Y				X	Y
画像 A1	762	498	251	0.8121	1.0162	-68.55	-200.5
画像 A2	891	891	178				
画像 B1	632	837	1921	3.085	1.0307	38	29.2
画像 B2	605	870	443				



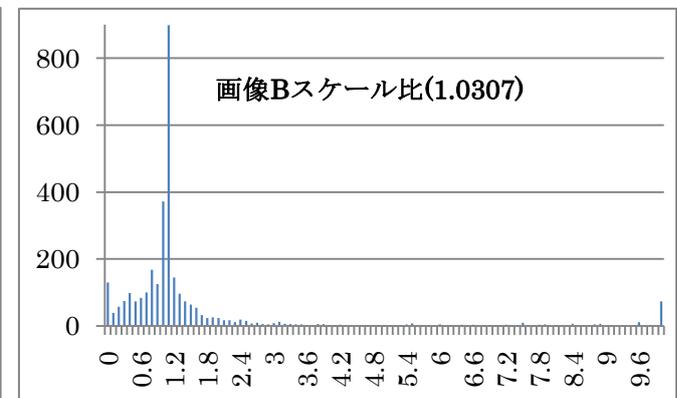
(a)画像 A 角度ヒストグラム



(b)画像 A スケール比ヒストグラム



(a)画像 B 角度ヒストグラム



(b)画像 B スケール比ヒストグラム

図5 ヒストグラム

$$\begin{aligned} tBx_i &= s \cos \theta tBx_i + \sin \theta tBy_i + X \\ tBy_i &= s \cos \theta tBy_i - \sin \theta tBx_i + Y \end{aligned}$$

$$\begin{cases} \sqrt{(Ax_i - tBx_i)^2 + (Ay_i - tBy_i)^2} \leq 5 & : \text{正} \\ \sqrt{(Ax_i - tBx_i)^2 + (Ay_i - tBy_i)^2} > 5 & : \text{否} \end{cases} \quad (10)$$

果，スケール比による対応点探索結果，2つの合算探索結果を表2，3に示す．Tを上位80個の対応関係集合，SをTからスケールによる対応点探索を行った集合，RをTからオリエンテーションによる対応点探索を行った集合，Cを正対応関係集合とする．

両方の画像で精度の向上が確認できる．図4では1個の誤検出があるが，式(10)の評価が厳しく設定されているためである．この誤検出のキーポイント座標関係を図6に示す．目視確認上では誤りには見えず，実質的な精度は100%である．得られる対応関係の個数は少ないが，精度の面においては優秀な対応点探索であると言える．

図3，4の画像に対しアフィン変換パラメータを算出し，整合を行った画像を図7に示す．左から基準画像，出力画像，半透明合成画像となっている．基準画像に重なるような変形を行っていることが分かる．しかし，対応点探索では誤検出がないにもかかわらず，図7(f)では若干のずれが発生している．これはパラメータの計算にキーポイントの座標を用いているため，画像全体の整合ではなく，キーポイント周辺の整合を行っているためだと考えられる．図7(f)の画像では主に右下部分の黒点集合にキーポイントマッチングが行われている．そのためその周辺では良い整合結果が得られているが，そこから

表2 図3の精度検証結果

C	S	R	S ∧ R
31	31	16	15
T	S ∧ T	R ∧ T	S ∧ R ∧ T
80	31	15	15
T精度	倍率精度	角度精度	合算精度
0.3875	1	0.9375	1

表3 図4の精度検証結果

C	S	R	S ∧ R
32	35	15	10
T	S ∧ T	R ∧ T	S ∧ R ∧ T
80	32	10	11
T精度	倍率精度	角度精度	合算精度
0.4	0.914286	0.666667	0.909091

離れている左上の部分ではずれが見られる．撮影時に射影変換的な歪みが発生している画像についても同様の問題が発生する．こちらは現在のパラメータ計算方法では完全な整合は不可能である．

最後に15枚の連続画像の統合実験を行う．図8に整合対象画像を示す．基準画像以外には様々なアフィン変換をかけ，整合性の実験を行う．また，手動整合画像も用意し，3次元モデルを作成時の精度検証を行う．なお，整合にかかった時間は55秒であった(Intel Core i7 K875 2.93GHz, シングルタスクのみ)．

整合結果を図9に示す．大きなずれは見受けられず，大体の位置は整合できているという結果となった．アフィンパラメータの値が的確に得られていることが分かる．次に手動整合した画像と図9の画像を用いて3次元モデルを作成し，比較する．3次元モデルの作成にはv-catというソフトを用いた．それぞれの3次元モデルで，中心付近を抽出した画像を図10に示す．自動整合画像はおおよその形は分かるが，若干歪であり，手動整合に比べ精度が落ちるという結果となった．

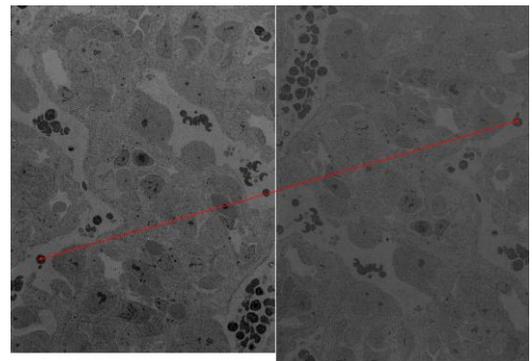


図6 誤検出とされるキーポイント間座標関係

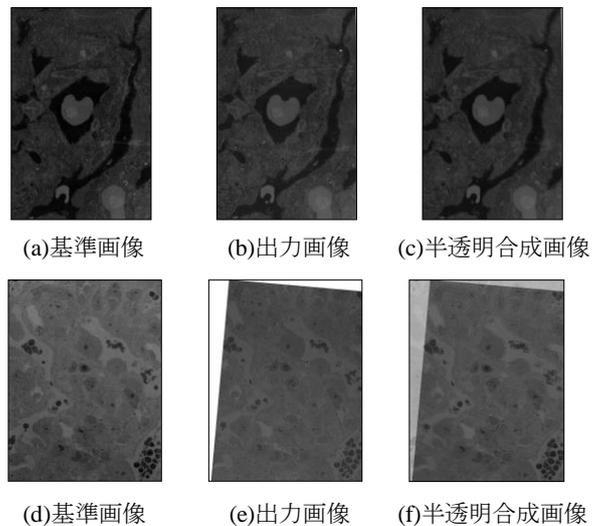


図7 整合結果

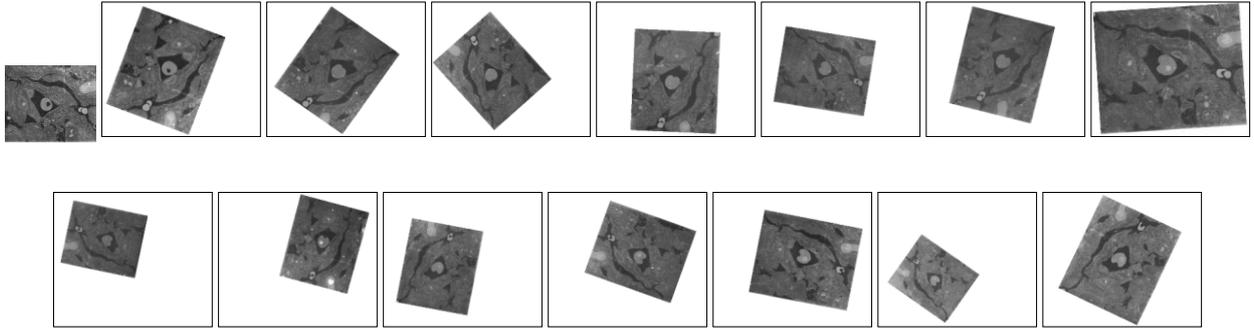


図8 整合対象画像(縮小表示)

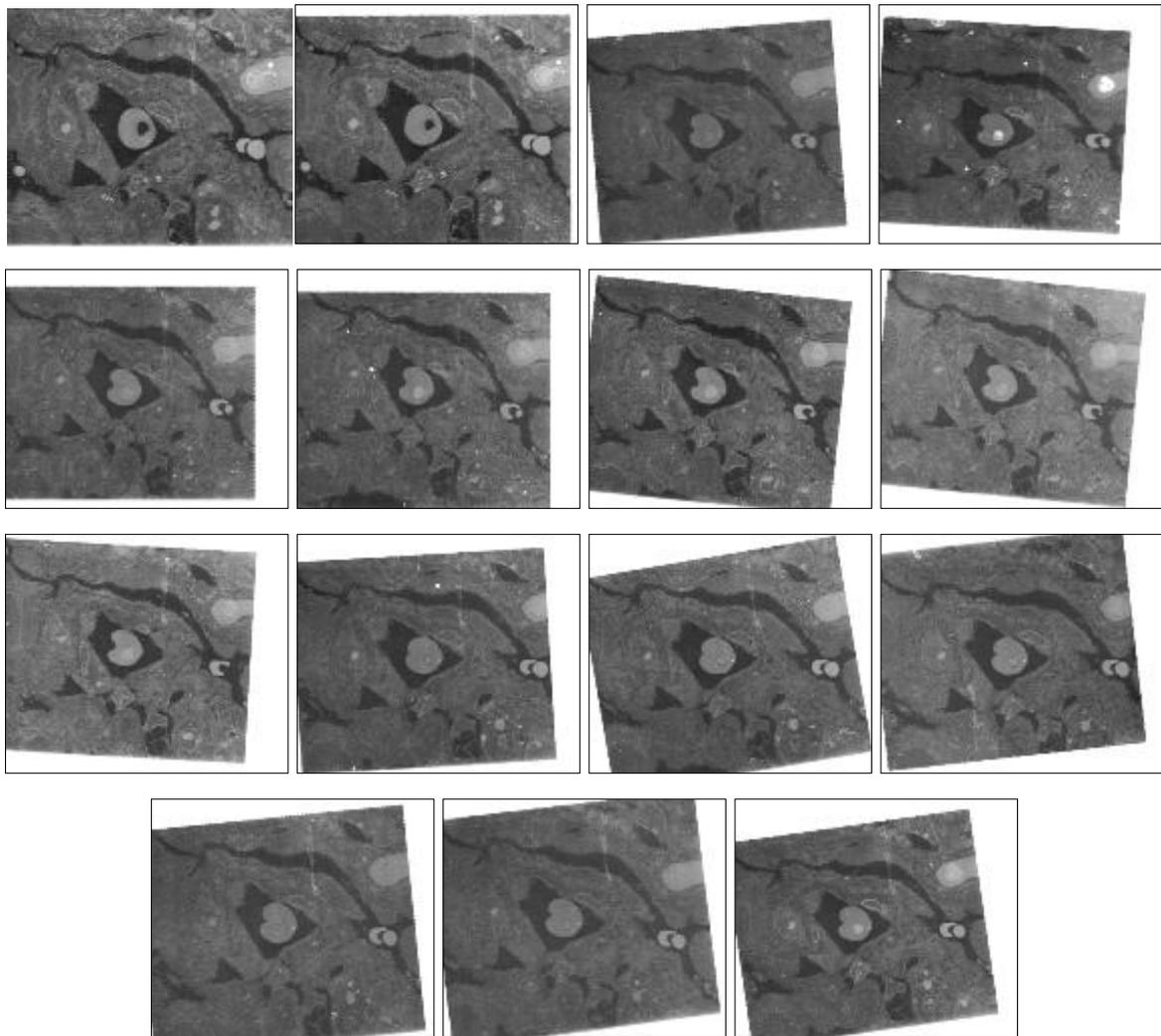


図9 整合結果画像

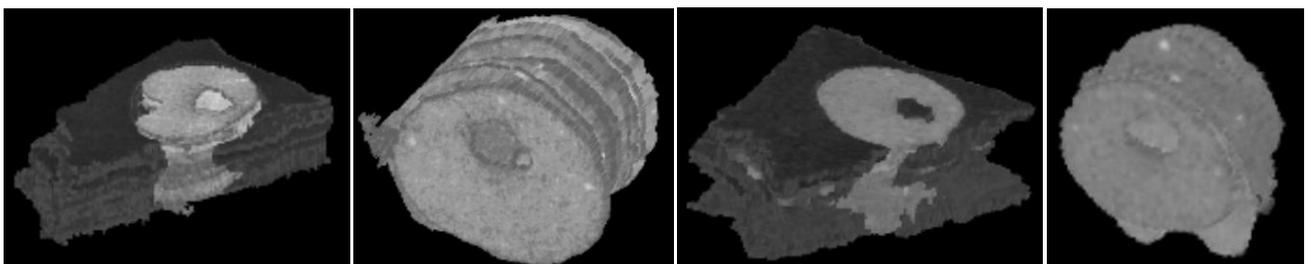


図10. 3次元モデル画像 (左側：手動整合画像，右側：自動整合画像)

6. まとめ

本研究では細胞の連続切片画像を SIFT アルゴリズムを用いて整合する方法，その際に必要な高精度の対応点探索方法を提案した．これにより精度の高い対応点探索が可能になり，その結果から角度差，スケール差，平行移動を含む細胞画像間の整合ができることを示した．本研究の今後の課題を挙げる．

- ・対応点探索が完全であっても画像の整合に誤差が発生する

マッチング箇所が偏っている場合に発生しやすい．画像全体から満遍なく対応点を検出できれば解決できるが，現在のアルゴリズムでは難しい．また，画像間で射影変換的な変形が含まれる場合，現在の方法では完全な整合が不可能である．

- ・画像全体の整合精度が低い

連続切片画像は画像全体を整合する必要があり，画像間の整合を繰り返すと誤差が蓄積してしまう．それが原因で画像の端同士では激しいずれが発生するという問題がある．2枚の画像間の整合精度のみを考えるだけでは解決は難しく，複数枚で画像の整合を行うなど，異なる方法が必要である．

謝辞

本研究を進めるにあたり，実験用の切片画像，知識を提供して頂いた金沢医科大学医学部分子細胞形態科学(解剖学)八田稔久教授に、深く感謝致します。

文 献

- [1] 医療用 X 線 CT 技術の系統化調査報告
<http://sts.kahaku.go.jp/diversity/document/system/pdf/045.pdf>
- [2] 小島清嗣，岡本洋一，“医学・生物学研究のための画像解析テキスト”，pp167-170，羊土社，2001.
- [3] 藤吉弘旦，“勾配に着目した画像特徴量と人物追跡”，電子情報通信学会誌，vol94，no.3，pp239-244，March，2011.
- [4] D.G.Lowe:”Object Recognition from Local Scale-Invariant Features ” International Conference on Computer Vision, Vol 60, No.2, pp1150-1157, 1999.
- [5] David A.Forsyth, Jean Ponce, COMPUTER VISION:A modern Approach, 共立出版, 2007.
- [6] 藤吉弘旦, コンピュータビジョン最先端ガイド 2, 八木康, 齊藤秀雄(編), アドコム・メディア, 2010
- [7] School of EECS, Oregon State University,
<http://web.engr.oregonstate.edu/~hess/>
- [8] 奈良先端科学技術大学院大学, “OpenCV プログラミングブック第2版”, 毎日コミュニケーションズ, 2009.