

反復演算による重なり合った粒子像の分離†

坂上 勝彦** 高木 幹雄††

多数個の粒子状物体の画像はしばしばデジタル画像処理の研究対象となっている。この場合、各粒子の中心座標値や半径を自動測定することが必要となるが、これまでの手法では複雑に重なり合った粒子像に対する測定は不可能であった。本論文では反復演算を利用して重なり合った粒子像を分離する手法を提案する。まず、原画像から抽出した粒子の輪郭点にいくつかのパラメータ（輪郭点の X, Y 座標値、各輪郭点の帰属が想定される円周の中心座標値およびこの想定確率）を割り当て、その初期値を計算しておく。次に反復演算によってこのパラメータの値を逐次更新し、収束した時点で中心座標値によりクラスタリングして粒子を分離する手法をとる。入力データに内在する誤差により発生する初期値の不適切さは、反復が進むにつれてしだいに取り除かれる。よって雑音に強く、また、いろいろなタイプの粒子像に対して柔軟に対応できる。粒子像の例として、臍細胞顆粒像、炭素微細粒子像、細胞集塊像を取り上げ、本手法を応用し良好な分離結果を得ることができた。

1. まえがき

多数個の粒子状物体の画像はしばしばデジタル画像処理の研究対象となっている。例としては顆粒^{1),2)}、(図1参照)、細胞集塊³⁾ (図17参照)、TiO₂ 微細粒子^{4),5)}、筋繊維断面像⁶⁾、赤血球⁷⁾、炭素微細粒子⁸⁾ (図16参照)などが挙げられる。臍細胞顆粒像の場合は移動を追跡するために個々の顆粒を分離し、それぞれの位置を正確に求める必要がある²⁾。細胞集塊の例では核(黒い粒子)の大小不同性や核間距離の不規則性が正常異常の判定の重要な特徴量となる³⁾。炭素微細粒子では品質管理のため個々の粒子の直径を測定する必要がある。

ところが、これらの粒子は互いに重なり合ったり接触したりしていることが多く、計算機による自動計測を困難なものにしている。そこで各粒子を分離同定しそれぞれの中心の座標、半径などを計測する技術の開発が重要な課題となるのである。従来の手法は距離変換を用いる手法と、輪郭を抽出し曲率などを使って各粒子を分離する手法とに大別できる。

距離変換^{1),3),7)}: 2値画像をその輪郭からの距離に比例した濃淡をもつ画像に変換することを距離変換という。この処理を行うと粒状物体の中心付近にピークが現れる。このピークの検出により粒子の中心と半径とを同時に求めることができる。重なり度合いが小さい場合は効果的だが、重なり方によっては粒子の中心

に相当する場所にピークが現れない(図2参照)。また、孤立点(とくに図3Aのような連結領域内の穴)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となる。逆に孤立点が重要な情報となることもありうる(図3B)。このため、むやみに雑音除去を施すのも好ましくない。

輪郭抽出⁴⁾⁻⁶⁾: 図4のような輪郭点列から各点における曲率を計算し、凹凸情報を抽出して粒子を分離する手法である。原理的には円周の一部さえあれば中心を求めることができるが、ヒゲなどの雑音があると曲率プロファイルはノイジーになり処理はきわめて困難となる。また、雑音を取り除く処理を行うと形状に関する細かい情報が失われるおそれがある。

文献9)では、グラフ理論によって輪郭点列を単純な形状のパターンに分割する手法が提案されているが、なめらかな輪郭点列を抽出するまでが困難であろう。ほかに Hough 変換を応用した曲線検出法なども提案されているが¹⁰⁾、検出したい粒子の大きさが一定でないときはむずかしいと考えられる。

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ピークの検出方法、輪郭抽出法では凹部の検出方法など、に多くのヒューリスティック・スレッシュールドが存在する。これらのしきい値は一般に入力画像データの状態(たとえば雑音の程度、スムージング処理の有無など)によって微妙に値を調節する必要があり、検出したい対象物体の性質(大きさなど)からだけでは決められないことが多い。

本論文では新しい視点に立って、反復演算を利用したアルゴリズムを提案する。まず、原画像から抽出した粒子の輪郭点にいくつかのパラメータ(輪郭点の

† Separation of Overlapping Particles by Iterative Method by KATSUHIKO SAKAUE and MIKIO TAKAGI (Institute of Industrial Science, University of Tokyo).

†† 東京大学生産技術研究所

* 現在 電子技術総合研究所パターン情報部



図 1 重なり合った粒子像の例 (膵細胞顆粒, 128×128×8bit)

Fig. 1 Example of overlapping particles (granules in a pancreatic cell).



図 2 距離変換像

Fig. 2 Distance transformation.

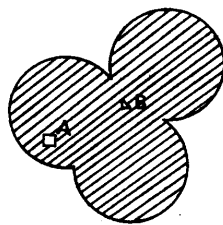


図 3 距離変換における穴の影響

Fig. 3 Effect of holes in distance transformation.

XY 座標値。各輪郭点の帰属が想定される円周の中心座標値およびこの想定の確率)を割り当て、その初期値を計算しておく。次に反復演算によってこのパラメータの値を逐次更新し、収束した時点で中心座標値によりクラスタリングして粒子を分離する。入力データに内在する誤差により発生する初期値の不適切さは反復が進むにつれてしだいに取り除かれるのである。

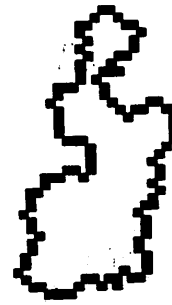


図 4 輪郭点列

Fig. 4 Extracted contours.

もちろん本手法にも多数のヒューリスティック・スレッショルドは存在する。反復プロセスにおける各種しきい値は、検出したい対象物体の性質だけから決めることができ、設定は比較的容易である。一方、初期値計算までの段階における各種しきい値は、本来入力画像データの状態に応じて微妙に調節する必要のあるものである。しかし、たとえそのしきい値の調節が不十分で初期値の不適切さが大きくなっても、後続の反復演算によってこの不適切さは取り除かれる。よって本アルゴリズムは雑音に強く、しかもいろいろなタイプの粒子像に対し柔軟に対応することができるのである。

反復演算を利用するアルゴリズムとしては弛緩法 (relaxation method)^{11), 14)}が有名である。弛緩法は画像の解釈が反復につれて変化するのに対し、本手法では画像の特徴量が反復によって変化する。このため、一般に解釈の初期値を前もって与えることのできないセグメンテーション (分割) 問題に対しては本手法のほうが弛緩法より効果的に応用できると考えられる。

2. アルゴリズム

アルゴリズムは3段階から成り立っている。本章では図1の右下にある粒子塊に対する処理を進めながら解説する。

2.1 輪郭点抽出

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われる。

(1) 処理の領域を限定するために、注目している粒子塊用のマスクを準備する。マスクは原画像を2値化し(濃淡レベル200以下を“1”), 注目している粒子塊に相当する連結領域を選び、それに対し膨張処理を2回施すという簡単な処理で得たものである。図5は図1の右下にある粒子塊用のマスクである。



図5 マスク領域
Fig. 5 Masked region.

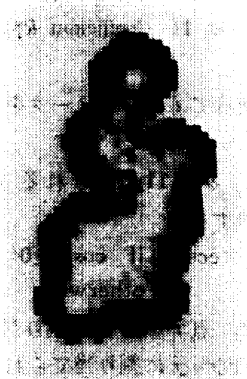


図6 微分オペレータ出力
Fig. 6 Result of differential operation.



図7 輪郭点抽出
Fig. 7 Extraction of edge pixels.

(2) 原画像のグラジェントをマスク内で計算する。微分オペレータとしては Robinson のオペレータ¹²⁾を使った。出力としてグラジェントの絶対値と方向コード(8方向)が得られる。図6はグラジェントの絶対値を濃淡表示したものである。

(3) 微分オペレータ出力画像からその尾根点を抽出する。図7はグラジェントの絶対値の大きい尾根点を100点選び出したものである。

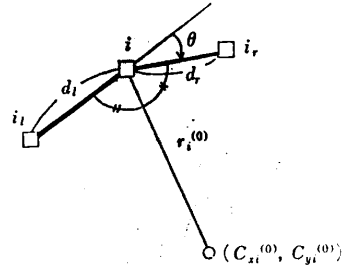


図8 中心座標の初期値の求め方
Fig. 8 Determining initial positions of centroids.

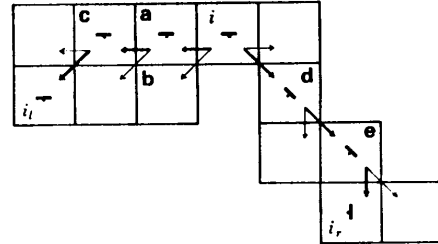


図9 エッジ点のリンク
Fig. 9 Linkage of edge pixels.

この尾根点が輪郭点として2.2節以降の処理の入力データとなる。

2.2 初期値の割当て

各輪郭点 ($1 \leq i \leq n$) は次のようなパラメータをもつ。

- (1) (X_i, Y_i) : 点 i の XY 座標値。
- (2) (C_{xi}, C_{yi}) : 点 i の帰属が想定される円周の中心座標値。
- (3) P_i : (2)の想定確率 ($0 \leq P_i \leq 1$)。

本段階では、これらのパラメータの初期値が計算され、割り当てられる。以下、上つき添字⁽⁰⁾は初期値を示すものとする。 $(X_i^{(0)}, Y_i^{(0)})$ は抽出した輪郭点の座標そのものである。

$(C_{xi}^{(0)}, C_{yi}^{(0)})$ は図8のようにして計算される。点 i_l, i_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。図9にその手順を示す。左側にリンクする場合は、点 i からはじめてまず2点 a, b を調べる。 a は、 i におけるグラジェント (▼: 下向き) に直角の方向の点、 b は a より1画素内側(粒子の内部側)の点である。 a, b のうちグラジェントの絶対値が i での値に近いほうを選ぶ。図9の場合は a である。さらに a を始点として同じ処理によって c にリンクし最終的に i_l に達する。同様に右方向へ $i \rightarrow d \rightarrow e \rightarrow i_r$ とリンクし求める2点 i_l と i_r を得るのである。点 i_l, i, i_r は近

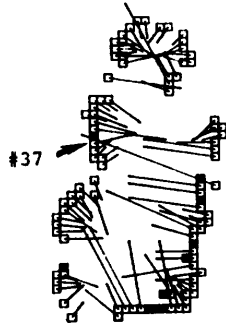


図 10 中心座標の初期値の分布

Fig. 10 Distribution of initial centroids.

似的にこの順で同一円周上にあると考えられるから、角 iij の 2 等分線の方向に中心があるとみなせる。図 8 の半径 $r_i^{(0)}$ は曲率 θ を使って (1) 式から求める。

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

図 10 は図 7 のデータに対する $(C_x^{(0)}, C_y^{(0)})$ 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 $(C_x^{(0)}, C_y^{(0)})$ とを線分で結んだものである。中心座標がとんでもない大きな値をもつものは図で表示した。かなりのばらつきがあり、この段階で中心座標をクラスタリングしても良好な結果は得られないであろう。なお図中の #37 は次節で触れる。

P_i は、初期値の段階では画素 i におけるグラジエントの絶対値 $\text{Mag}(i)$ に比例すると考えられる。よって次式を使って $P_i^{(0)}$ を決定する。

$$P_i^{(0)} = \begin{cases} \frac{\text{Mag}(i) / \text{Max}\{\text{Mag}(j)\}}{1 \leq j \leq n} & \text{if } r_{\min} \leq r_i^{(0)} \leq r_{\max} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2)$$

もし $r_i^{(0)}$ が小さすぎたり、大きすぎたりした場合 $P_i^{(0)}$ はゼロとして他の点の更新のためには使われないうようにしなくてはいけないであろう。 r_{\min} と r_{\max} はこの目的で導入したしきい値である。よって小さい値と大きい値を与えておけばよい。本実験では、 $(r_{\min}, r_{\max}) = (1, 15)$ 画素とした。

2.3 反復プロセス

この段階では前段階で準備された初期値が少しずつつじつまの合う値に更新される。

輪郭点 i のパラメータをたんに i の近傍の輪郭点の情報だけを使って更新するのでは大局的につじつまを合わせることはできない。そこで本論文では全輪郭点 ($1 \leq j \leq n$) のなかから i と同じ円周上に乗っている可能性の大きいもの (すなわち i と適合するもの) を選

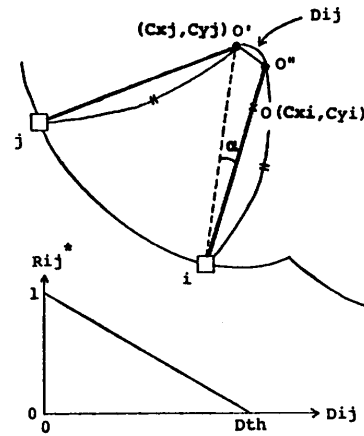


図 11 係数 R_{ij}^*

Fig. 11 Coefficient R_{ij}^* .

出し、それを使って i のパラメータを更新する方法を提案する。

まず係数 R_{ij} を図 11 に示される R_{ij}^* を使って次式のように定義する。

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

図 11 の O'' は、点 i から i に割り当てられた中心 (C_{xi}, C_{yi}) の方向へ j に割り当てられた半径 r_j だけ伸ばした点である。もし i と j が正確に同じ円周上であれば O' と O'' は重なるはずである。このとき $R_{ij}^* = 1$ となる。 O' と O'' の間の距離 D_{ij} が大きくなるにつれて R_{ij}^* は小さくなる。 $D_{ij} \geq D_{th}$ となれば $R_{ij}^* = 0$ となり i と j が同じ円周上にいる可能性はないとみなされる。さらに i から見たときの O' と O の方向のずれも考慮して (3) 式の R_{ij} を二つの点 i と j の間の適合性を評価する係数とする。 R_{ij} は i と同じ円周上にあると思われる点 j を選び出すための重要な尺度となる。図 11 のしきい値 D_{th} としては、平均的な粒子の半径の大きさを使えばよいであろう。本実験では $D_{th} = 6$ 画素とした。

P_j が小さい輪郭点のパラメータの値は信頼できない。そこで次式の Q_{ij} を定義する。

$$Q_{ij} = P_j \times R_{ij} \quad (4)$$

注目している点 i に対し Q_{ij} があるしきい値 Q_{th} より大きくなる j を選び出し、それらを使って i のパラメータを更新すれば、そのパラメータは大局的につじつまの合う値に変わることになる。このような j の集合を J とする ($J = \{j | Q_{ij} > Q_{th}\}$)。 Q_{th} は $Q_{ij} (1 \leq j \leq n)$ のヒストグラムを使って各 i について決定される。

このヒストグラムは双峰特性となるはずである。なぜならすべての j は i と同じ粒子に属するもの (Q_{ij} は大きな値) とそれ以外のもの (Q_{ij} は小さい値) に分けられるからである。よって Q_{th} 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¹³⁾を使った。

こうして選び出された J 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_j は ($C_{xi}^{(k+1)}, C_{yi}^{(k+1)}$) と ($X_j^{(k)}, Y_j^{(k)}$) との距離である。

$$C_{xi}^{(k+1)} = \frac{\sum_{j \in J} Q_{ij} C_{xi}^{(k)}}{\sum_{j \in J} Q_{ij}} \quad (5)$$

$$C_{yi}^{(k+1)} = \frac{\sum_{j \in J} Q_{ij} C_{yi}^{(k)}}{\sum_{j \in J} Q_{ij}} \quad (6)$$

$$r_i^{(k+1)} = \frac{\sum_{j \in J} Q_{ij} s_j}{\sum_{j \in J} Q_{ij}} \quad (7)$$

($X_i^{(k+1)}, Y_i^{(k+1)}$) は、($C_{xi}^{(k+1)}, C_{yi}^{(k+1)}$) から ($X_i^{(k)}, Y_i^{(k)}$) の方向へ $r_i^{(k+1)}$ だけ離れた点として一意に定めることができる。

i について選び出された J の要素数 N_i が多いほど i のパラメータの値は信頼できるはずである。よって P_i は次式で更新する。

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

N_i が N_{th} 以上になれば十分信頼できるとみなされ、 $P_i^{(k+1)} = 1$ となる。本実験では $N_{th} = 10$ とした。

$N_i \leq 1$ となる場合については特例的に正の確率をもつ至近点 2 個を J の代用として更新を行う。 $P_i^{(k+1)}$ は (8) 式より 0 となる。

以上のパラメータ更新プロセスを反復する。図 12, 13 がその結果である。図 12 は点 #37 (図 10 参照) についての Q_{ij} ($1 \leq j \leq n$) の分布の変化を示す。各グラフの横軸は Q_{ij} , 縦軸は頻度である。矢印(↑)は大津の方法で自動決定された Q_{th} である。反復を進めるにつれてしだいに分布が $Q_{ij} = 0$ のものと $Q_{ij} = 1$ のものの二つに分かれていくようすがよくわかる。

中心座標および輪郭点の座標の収束のようすを図 13 に示す。図 10 の初期値が急速に収束している。その特性は良好であり、反復 4 回目以降では更新前後の中心座標の値はほとんど変わらない。そこで次式で定義される $ERR(i)$ がすべての i について 0.2 画素以下になったときをもって収束終了と判定した。

$$ERR(i) = |C_{xi}^{(k+1)} - C_{xi}^{(k)}| + |C_{yi}^{(k+1)} - C_{yi}^{(k)}| \quad (9)$$

図 13 の例では反復 6 回後に終了した。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。ここで

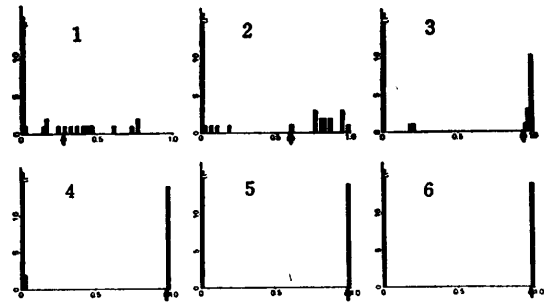


図 12 Q_{ij} の分布の変化

Fig. 12 Change of Q_{ij} distribution.

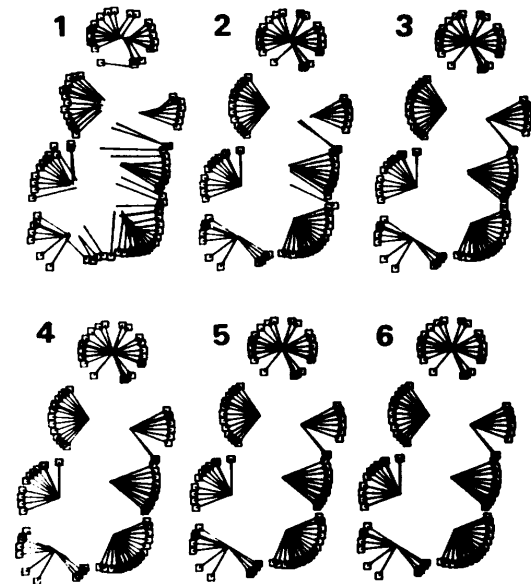


図 13 中心座標の収束のようす

Fig. 13 Convergence of centroid positions.



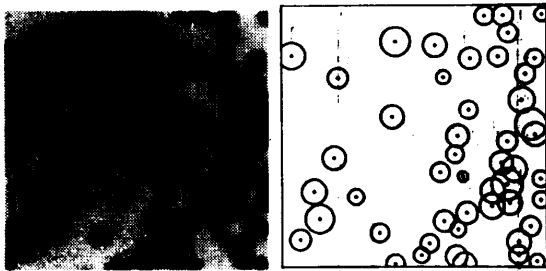
図 14 分離結果

Fig 14 Result of separation.

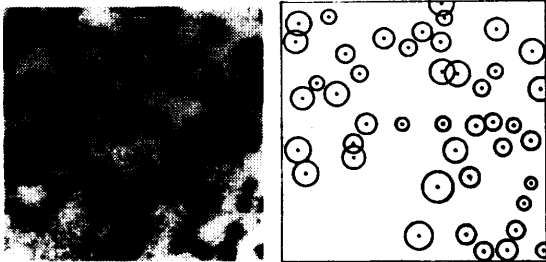
は、中心座標間の距離が 1 画素以内にあるものはすべて同じクラスタとする手法を使った。図 14 が分離結果である。

3. 実験結果および考察

2 章では一つの粒子塊に対する処理手順について述

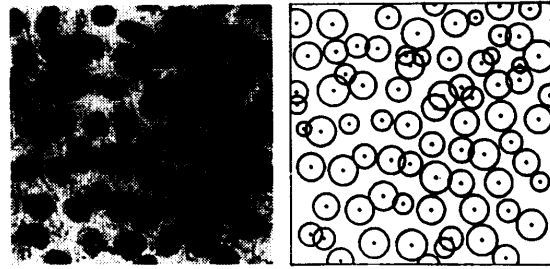


(a)

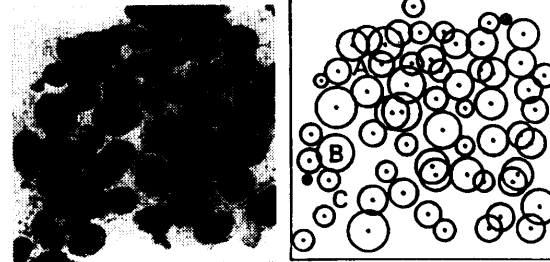


(b)

図 15 睽細胞顆粒像に対する処理結果
Fig. 15 Application to the granules

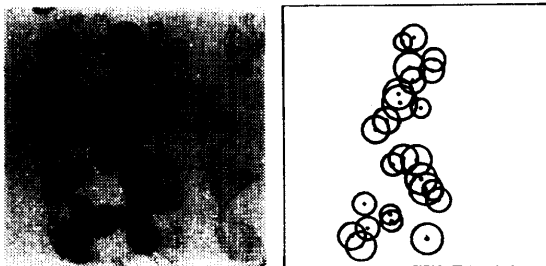


(a)

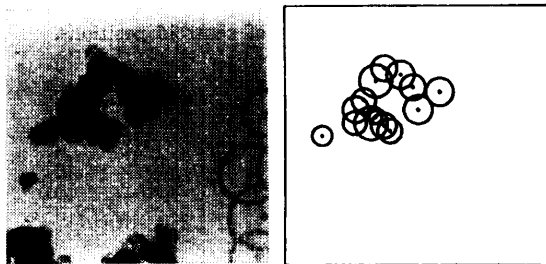


(b)

図 17 細胞集塊における重積核に対する処理
Fig. 17 Application to the overlaps of nuclei.



(a)



(b)

図 16 炭素微細粒子像に対する処理
Fig. 16 Application to the carbon-black particles.

べた。全画面にこのような分離すべき粒子塊が散らばっている場合は、原画像を2値化し連結領域番号付けを行ってその番号順に2章で述べた処理を施せばよい。ただし輪郭点を抽出する条件は $P_i^{(0)} \geq 0.3$ とした。

3種類の粒子画像(睽細胞顆粒像, 炭素微細粒子

像, 細胞集塊像)に対して処理を試みた。マスク用の2値画像を作るためのしきい値は、3種類の粒子像で異なる値を用いているが、それ以外は2章で述べた手法をそのまま用いている。 D_{th} 等のしきい値も同じである。図15, 16, 17に処理結果を示す。それぞれ原画像の右側に収束した中心座標とそれに対応する半径で決定される円を表示した。ただし中心座標の収束値に対応している輪郭点の数が N_{th} (10点)より少ないものは信頼できないとして表示していない。

$P_i^{(0)} \geq 0.3$ となるものに限って処理を行ったため輪郭のはっきりしない粒子がいくつか見落とされているが、おおむね良好な結果が得られている。処理結果から見た本アルゴリズムの特徴をまとめると次のようになる。

① 十分長い輪郭が確保できる重なり方の粒子に対しては、位置、半径とも正確な測定結果が得られる(図15(a), (b), 図16(a))。逆に十分な個数の輪郭データが得られない場合は不正確になったり検出できなかったりすることがある(図17(b)の粒子A, B, C)。

② 微分値の大きい画素を入力データとして使うため濃淡の異なる粒子が重なった場合でも効果がある(図16)。反面、粒子内部にテクスチャがある場合は、微分オペレータがそれを強調してしまうため誤差の原因となる(図17)。

4. むすび

重なり合った粒子像を反復演算によって分離し、各粒子の中心座標、半径を測定する手法について述べた。3種類の粒子像に応用しこれまでの手法では得られなかった良好な処理結果を得ることができた。

本手法の面白みは、いかげんに求めた初期値が反復演算によってもっともらしい値に変わっていく点にある。そこで、雑音除去などの前処理はいっさい行わず、しかもすべての画像に対し同一の方法で初期値を計算するという厳しい条件の下で実験を行ったが、それでも良好な結果が得られ、反復演算の有効性を実証することができた。実用に際しては、適当な前処理(たとえば核内部のテキスト除去)と組み合わせることにより、さらに満足のゆく結果が得られるであろう。また、反復プロセスにおける細かい手法(たとえば R_i の決定法、 P_i の更新法)はさらに改良の余地があると考えられる。

本手法の最大の欠点は処理時間である。図13の反復1回に35秒かかる(HP 2112 ミニコン使用)。この点についてはソフトウェア、ハードウェア両面において検討の余地があると考えられる。

謝辞 最後に日頃ご指導いただく東大生研尾上教授、坂内助教授、石塚助教授に感謝します。

参 考 文 献

- 1) 大槻, 鳥脇, 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) Takagi, M. and Sakaue, K.: The Analysis of Moving Granules in a Pancreatic Cell by Digital Moving Image Processing, *Proc. 4th Int. Joint Conf. on Pattern Recognition*, pp. 735-739 (1978).
- 3) Onoe, M., Kuno, Y. and Tenjin, Y.: Recognition of Adenocarcinoma in Automated Uter-

- ine Cytology, *ibid.*, pp. 883-885 (1978).
- 4) Arcelli, C. and Levialdi, S.: Picture Processing and Overlapping Blobs, *IEEE Trans. Comput.*, Vol. C-20, No. 9, pp. 1111-1115 (1971).
- 5) Arcelli, C. and Levialdi, S.: On Blob Reconstruction, *Comput. Gr. Image Process.*, Vol. 2, No. 1, pp. 22-38 (1973).
- 6) Eccles, M. J., McQueen, M. P. C. and Rosen, D.: Analysis of the Digitized Boundaries of Planar Objects, *Pattern Recogn.*, Vol. 9, No. 1, pp. 31-41 (1977).
- 7) 鈴木, 橋詰, 堀内, 横内, 山本: 血液像パタンの分類と処理, 昭55年度通信学会総合全国大会, S10-8 (1980).
- 8) Medalia, A. I. and Hornik, G. J.: Pattern Recognition Problems in the Study of Carbon Black, *Pattern Recogn.*, Vol. 4, No. 2, pp. 155-172 (1972).
- 9) Shapiro, L. G. and Haralick, R. M.: Decomposition of Two-Dimensional Shapes by Graph-Theoretic Clustering, *IEEE Trans. PAMI*, Vol. PAMI-1, No. 1, pp. 10-20 (1979).
- 10) Iannino, A. and Shapiro, S. D.: A Survey of the Hough Transform and Its Extension for Curve Detection, *Proc. Pattern Recognition and Image Processing '78*, pp. 32-38 (1978).
- 11) Rosenfeld, A., Hummel, R. and Zucker, S. W.: Scene Labelling by Relaxation Operations, *IEEE Trans. Syst., Man Cybern.*, Vol. SMC-6, No. 6, pp. 420-433 (1976).
- 12) Robinson, G.: Edge Detection by Compass Gradient Masks, *Comput. Gr. Image Process.*, Vol. 6, No. 5, pp. 492-501 (1977).
- 13) 大津: 濃淡分布からのしきい値決定法, 昭52年度通信学会情報部門大会, p. 145 (1977).
- 14) 坂上: 画像処理における反復演算の応用, 情報処理, Vol. 23, No. 7, pp. 641-650 (1982)*.

* 弛緩法と本論文で提案した反復演算との関連については文献14)に解説がある。なお、図10, 14, 15(a), 16(a)と同じ図は文献14)にも掲載されている。

(昭和57年8月31日受付)

(昭和58年2月14日採録)