

皮肤增生性疤痕组织的双光子显微图像纹理分析

谢志明¹⁾ 陈冠楠^{1),2)} 陈建新¹⁾ 杨坤涛²⁾ 陈荣¹⁾

¹⁾ (医学光电科学与技术教育部重点实验室(福建师范大学),福州 350007)

²⁾ (华中科技大学光电子科学与工程学院,武汉 430074)

摘要 依据皮肤增生性疤痕组织的病理特点,对其细胞外间质成分——胶原纤维和弹力纤维的双光子显微图像进行边缘方向、胶原纤维密度分布、弹力纤维几何形态等三方面的特征提取,并采用 mean-shift 等算法对这些特征进行了分析,最后将它们综合起来提出了一个评判公式。利用该式对 118 幅皮肤增生性疤痕组织的双光子显微图像进行统计分析,判断错误率为 5.1%。分析结果表明,提出的纹理特征与分析方法能有效地判断皮肤是否疤痕化,为临床外科整形手术治疗皮肤疤痕中的精确定位皮肤疤痕的边界提供依据。

关键词 增生性疤痕 双光子显微图像 胶原纤维 弹力纤维 纹理分析

中图法分类号: TP391 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-8961(2009)09-1862-05

Texture Analysis on Two-photon Excited Microscopic Images of Human Skin Hypertrophic Scar Tissue

XIE Zhi-ming¹⁾, CHEN Guan-nan^{1),2)}, CHEN Jian-xin¹⁾, YANG Kun-tao²⁾, CHEN Rong¹⁾

¹⁾ (Key Laboratory of Opto-electronic Science and Technology for Medicine(Fujian Normal University),

Ministry of Education, Fuzhou 350007) ²⁾ (School of Opto-electronic Science and Engineering,

Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

Abstract According to the pathological characteristics of skin hypertrophic scar tissue, texture features on the edge direction, density distribution and geometric morphology are extracted from two-photon excited microscopic images of scar tissue and used to distinguish the normal tissue from scar tissue. Algorithms of mean-shift are applied to analyze the extracted texture features. Finally, a compositive formula is presented for quantitatively analyzing images. 118 two-photon excited microscopic images originated from human hypertrophic scar tissue are statistically analyzed based on this formula and the inaccuracy rate is 5.1%. These results indicate that texture features and analytic methods proposed in this paper are effective on distinguishing the normal tissue from scar tissue and accurately fixing on their border.

Keywords hypertrophic scar, two-photon excited microscopic image, collagen fiber, elastic fiber, texture analysis

1 引言

疤痕组织是人体创伤修复过程中的一种自然产物,外伤、感染、烧伤、物理化学损伤及外科手术等均可造成疤痕的形成与增生。当创伤修复过程异常

时,以成纤维细胞为主的细胞增殖、活性增强,以胶原为主的细胞外基质成分大量沉积,发生真皮过度增生,形成病理性疤痕,即增生性疤痕(hypertrophic scar)和疤痕疙瘩(keloid scar)^[1-2]。目前,病理性疤痕的治疗是目前公认的临床医学中一个非常棘手的问题,虽然自1844年开始的手术治疗,经过100多

基金项目:国家自然科学基金项目(60711120031,60778046)

收稿日期:2008-04-21;**改回日期:**2008-07-15

第一作者简介:谢志明(1985~),男。福建师范大学光学工程专业硕士研究生。主要研究方向为数字图像处理。E-mail:xiezhiming1017@126.com

通讯作者:陈冠楠,E-mail:edado@163.com

年的历史,发展到今天的外科治疗、物理疗法、药物治疗、基因疗法等多种多样的治疗方法^[3],但是,很多病人在疤痕组织形成之后的数月或数年后,无法忍受疤痕组织所带来的疼痛、搔痒和红肿等不适的临床症状而不得不进行外科整形手术。在临床手术过程中一直困扰临床医生的一个问题是,如何准确地识别正常组织和疤痕组织的边界,手术切除范围过小则容易遗留疤痕组织,导致疤痕症状复发而不得不进行第 2 次手术治疗;而切除范围过大则破坏了正常组织,扩大了创伤面积^[4],影响了疤痕治疗的效果。如果能精准地定位皮肤疤痕的边界,医生就能够不依靠临床经验而依靠科学手段有效地治疗皮肤疤痕。因此,借助高精度的成像仪器并对获得的图像进行处理,有可能成为解决这一问题的有效途径。

目前国内外关于皮肤增生性疤痕组织显微图像的纹理分析的相关报道比较少见,尤其是针对具有高精度的双光子显微图像^[5-6]进行纹理分析的文章尚未见报道。本文利用 LSM510 型激光扫描共聚焦显微镜获得的皮肤增生性疤痕组织的双光子显微图像,针对其主要细胞外间质成分——胶原纤维和弹力纤维,进行一系列的纹理特征提取,从而区分正常皮肤组织和疤痕皮肤组织,进而有效地确定皮肤疤痕的边界,为医生手术切除疤痕组织提供科学根据。

2 特征提取

对福建医科大学附属第一医院提供的年龄从 10 岁至 50 岁的 12 例患者的皮肤增生性疤痕组织,分别进行双光子显微成像,获得 118 幅图像。图 1 给出了 10 岁病人的皮肤增生性疤痕组织中细胞外间质成分——胶原纤维和弹力纤维的双光子显微图像,其中图 1(a)和图 1(c)代表胶原纤维成分,图 1(b)和图 1(d)代表弹力纤维成分。由于所成图像都有较佳的对比度,所以感兴趣区域的提取可直接采用阈值法。而由于皮肤胶原纤维和弹力纤维的纹理所具有的独有特点,常用的纹理分析特征如共生矩阵、游程矩阵等都不能有效地描述皮肤弹力纤维和胶原的纹理,所以将依据皮肤疤痕组织的特点,通过提取边缘方向、密度分布和几何形态等特征进行分析。

2.1 边缘方向特征

无论是胶原纤维还是弹力纤维,在正常组织中

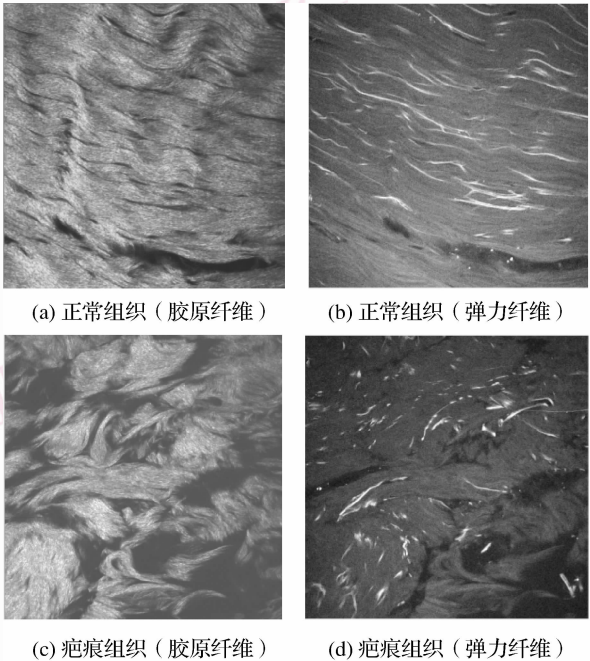


图 1 人体皮肤增生性疤痕组织和其边缘正常组织的双光子显微图像

Fig. 1 Two-photon excited microscopic images of scar tissue and its nearby normal tissue

的分布排列都是规则有序的,而在疤痕组织中由于胶原纤维的大量沉积,它们的排列呈现出紊乱无序的规律。根据这一病理现象可以提取边缘方向这一特征作为评判的一个参量。使用边缘检测算子(如 sobel 算子等)得到图像的梯度信息,并用式(1)计算出各个强边缘点(即边缘值大于一定阈值的点)的方向,应用到图 1 上获取的边缘方向直方图见图 2 和图 3。

θ = arctan(gradY / gradX) (1)

式中,gradY,gradX 分别为垂直,水平方向上的梯度值,θ 即为边缘的方向角。

从图 2 和图 3 中可以看出,正常组织弹力纤维和胶原纤维的边缘方向呈峰状分布,表明其排列规则有序,而疤痕组织的 2 个边缘方向直方图则趋于水平分布,没有明显的峰状,表明其排列紊乱无序。选用熵这一参量来定量描述分布的规则性,分布越随机则熵值越大,其计算公式如式(2)所示:

en = - ∑ p(θ) log p(θ) (2)

得到图 2,图 3 的熵值见表 1。

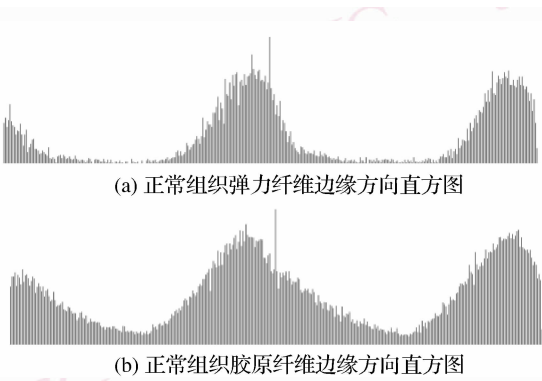


图 2 正常组织的两个边缘方向直方图
Fig 2 Edge direction histogram of normal tissue



图 3 疤痕组织的两个边缘方向直方图
Fig. 3 Edge direction histogram of scar tissue

表 1 边缘方向熵值表
Tab. 1 Entropy of edge direction

	正常弹力纤维	疤痕弹力纤维	正常胶原纤维	疤痕胶原纤维
熵	0. 404 865	1. 659 835	1. 151 137	1. 560 912

2.2 胶原纤维密度分布特征

在正常皮肤组织中,胶原纤维各处的密度较为一致,存在有疏有密的地方较少,而在皮肤疤痕的组织中,大量沉积的胶原纤维的结构发生了改变,其密度的分布不像正常组织一样,有疏有密的地方较多,密度分布不大一致。又由于在双光子成像技术过程中,胶原纤维的成像来自于其光学二次谐波产生信号,疤痕组织的部分胶原纤维结构发生了变化,并不是所有的胶原纤维都能显现出来,所以不能直接拿胶原纤维密度的大小来作为一个评判特征,但是只提取显现出来的胶原纤维的密度,分析其密度的分布规律却能在一定程度上反映皮肤的疤痕化。

密度分布特征的提取算法如下:设置一定大小的模板,只要将它的绿色像素数目超过一定阈值,就将它看成一个胶原纤维单元,记录下其中的绿色像素数目。选取一定步长,待模板滑过整幅图后,即可得到一个 1 维数组,数组的长度就为整幅图的胶原纤维单元数目,而数组中每一项的值则为对应单元中绿色像素数目。

各个胶原纤维单元的绿色像素占有率就代表了一种密度水平,占有率越高,说明绿色像素数目越多,此单元的密度水平越高,其计算公式见式(3)。针对图 1 的两幅显微图可以得到表 2 的统计结果。从表 2 可以看出正常组织中占有率为 100% 的胶原纤维单元占全部胶原单元数目的 71.37%,而疤痕组织则为 48.04%。说明正常组织中胶原纤维的密

度分布较为一致,较多部位的密度都在同一水平线上,而疤痕组织的密度分布较为分散,许多部位的密度都处于不同的水平线上。

$$percent = \frac{GreenNum}{MaskSize} \tag{3}$$

式中,percent 为绿色像素占有率,GreenNum 为单元中绿色像素数目,MaskSize 为给定模板的大小。

表 2 模板分布统计表
Tab. 2 Statistical result of density distribution

	单位:%			
绿色像素占有率	85	90	95	100
正常胶原单元百分比	0. 69	0. 88	2. 18	71. 37
疤痕胶原单元百分比	1. 55	2. 43	2. 98	48. 04

2.3 弹力纤维几何特征

皮肤的弹力纤维较细小,呈现丝状,所以可以将它的几何方向作为评判的一个参量。虽然弹力纤维的形状并不是严格意义上的直线,但是可以用它最具有线性的部分,即最长的连续直线部分来表征它的方向。提取算法如下:

(1)对原图进行旋转变换,旋转角度从 0°以 1°为步长增加至 180°,并采用线性插值以消除图像边界的锯齿。插值公式为

$$\begin{aligned} f(x,y) = & (1-a)(1-b)g(l,k) + \\ & a(1-b)g(l+1,k) + \\ & b(1-a)g(l,k+1) + \\ & abg(l+1,k+1) \end{aligned} \tag{4}$$

式中, $g(x,y)$ 为插值前图像的灰度值, l,k 分别为小于 x,y 的最大整数, 且 $a = x - l, b = y - k$ 。

应用到图 1 上所获得的图像如图 4 所示。限于篇幅, 这里只列出了旋转 20° 的图。

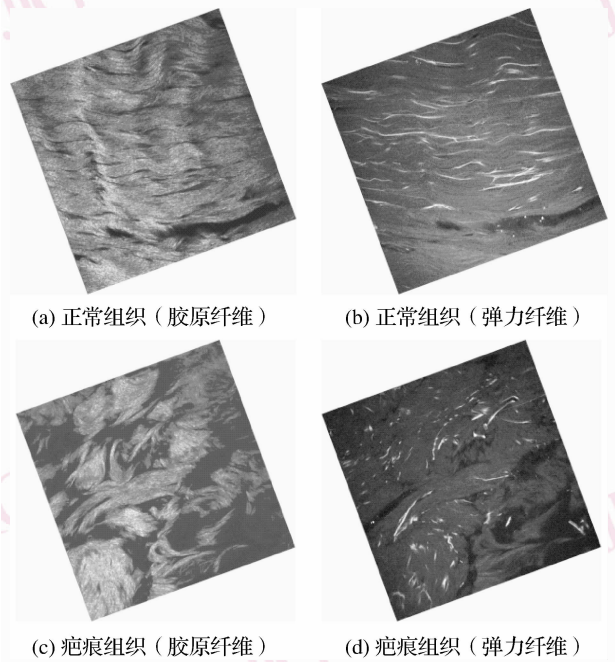


图 4 旋转 20° 的皮肤增生性疤痕组织和其边缘正常组织的显微图像

Fig. 4 20° rotation result of two-photon excited microscopic images

(2) 对每幅图的旋转图进行直线提取, 即提取每一行中连续的弹力纤维, 并记录下每一段的起点, 长度以及所在图像的角度。

(3) 对第 (2) 步所得的数据按照长度进行排序, 提取前 n 组数据作为后续分析的数据源。其中 n 为预先设定的一个门限值。 n 应取较小的值, 使得提取的数据都是最具有线性特征的部分。

在所提取的几何特征向量中, 包含了横坐标, 纵坐标, 长度以及方向角 4 个分量, 对其用 mean-shift 算法^[7]进行聚类分析。因为样本点在各个方向上分布一致, 所以选取高斯函数作为核函数, 如式 (5) 所示, 其中 H 为选取的窗宽。

$$K(x) = \begin{cases} e^{-\frac{1}{2}\|x\|^2} & \|x\| < H \\ 0 & \text{其他} \end{cases} \quad (5)$$

而后对所得的聚类中心进行统计, 即可得到弹力纤维的方向分布信息。图 1 的统计结果见表 3。

表 3 聚类结果统计表
Tab. 3 Statistical result of clustering

	正常组织	疤痕组织
聚 类 中 心 方 向 角	1. 000 000	4. 000 000
	3. 000 000	5. 000 000
	7. 524 979	133. 603 483
	4. 000 000	67. 500 000
	4. 500 000	137. 416 333
	5. 000 000	75. 725 067
	9. 603 483	140. 603 483
	5. 500 000	71. 000 000
	11. 584 191	143. 603 483
	13. 415 809	72. 500 000
	16. 260 570	147. 544 879
	17. 091 904	150. 603 483
二阶矩	8. 419 852	153. 584 191
	24. 069 458	2 711. 907 247

从表 3 的统计结果可以看出, 良好组织的纹理方向角大致分布在 $1^\circ \sim 17^\circ$ 这个小区间里, 方差仅为 24, 说明整个组织的纤维分布规则有序, 大都以一定方向角分布。而损坏组织的纹理方向角范围为 $4^\circ \sim 155^\circ$, 几乎包含了整个空间角, 方差为 2 711, 说明组织的纤维分布不规则, 以随机角度分布。

3 统计结果及分析

对 118 幅皮肤增生性疤痕组织的双光子显微图进行特征统计分析后, 可以得到以下结论:

边缘方向: 此特征对大多数图都有效, 只有极个别的受噪声污染严重的图不能得到正确的结果, 对于这一点可以采取一些预处理的措施如平滑消噪等。一般在使用时应取较大的边缘阈值, 保证提取的都是强边缘点;

密度分布: 此特征对大多数图都有效。其主要的参数就是模板的大小和移动的步长, 一般移动步长为模板大小的一半, 而模板大小应取较小的值, 以获得较多的胶原纤维单元, 使得结果具有统计意义。其不足在于只能适用于胶原纤维, 而弹力纤维由于形状是丝状, 不是块状, 且其区域面积较小, 密度分布特征不适用;

几何特征: 此特征对大多数图有效。因为它综合了长度、角度、空间等多个几何特征来考虑, 且方向角度可以多达 180 个, 所以比较有效。长度阈值是一个比较关键的参数, 影响到被提取特征的数量,

一般提取前 60 至 100 个特征向量即可。由于胶原纤维的形状与弹力纤维相差太大,此特征不能适用于胶原纤维。值得注意的是,特征向量中的长度不能作为一个准确的评判标准,虽然在疤痕组织中许多弹力纤维都出现断裂收缩的情况,其长度要小于正常组织中的弹力纤维,但是在部分图像中断裂的纤维彼此多处有连接,长度不能准确地反映出这一情况,只有角度二阶矩可以,因为多处断裂纤维连接成的线段必然具有不同的方向。

将这 3 方面的特征综合考虑,可以得到一个评判公式:

$$Q = 2\omega P - \frac{(\lambda_1 E_1 + \lambda_2 E_2)}{2} - \frac{\beta S}{M} \tag{6}$$

式中,下标 1,2 分别代表弹力纤维和胶原纤维 2 个通道, $\omega, \lambda_1, \lambda_2, \beta$ 分别为相应权重系数, S 为角度二阶矩, P 为模板百分比, E 为边缘方向熵, M 为归一值,可取为

$$M = \frac{\sum_{\theta=0}^{179} (\theta - 90)^2}{180} \tag{7}$$

针对本文所处理的图像,考虑到各个特征的取值范围,取权重系数 $\omega = 1.5, \lambda_1 = 0.8, \lambda_2 = 0.8, \beta = 3$ 得到的结果见表 4,最终结果为正值的是正常组织,而疤痕组织为负值,最终判断错误率为 5.1%。

表 4 皮肤纤维显微图像特征统计结果
Tab. 4 Statistical result of texture features

病例	总图像数	正确数	误判数
10 ~ 13 岁	17	17	0
14 ~ 16 岁	23	21	2
17 ~ 19 岁	29	28	1
21 ~ 23 岁	26	25	1
48 ~ 50 岁	23	21	2
总计	118	112	6

4 结 论

针对人体皮肤增生性疤痕组织中细胞外间质成

分——胶原纤维和弹力纤维的高精度双光子显微图像,根据皮肤疤痕的病理特点提取了边缘方向、胶原纤维密度分布和弹力纤维几何形态 3 个方面的纹理特征,并用 mean-shift 等算法对获取的特征进行了分析。而后对福建医科大学附属第一医院提供的患者的 118 幅皮肤增生性疤痕组织的双光子显微图像进行了特征统计,分析说明了各个特征的特点和适用范围,并将这些特征综合起来提出了一个评判公式。错误率为 5.1% 的评判结果表明这些特征能有效地判断皮肤是否疤痕化,为医生定位疤痕组织的边界从而进行有效的手术切除提供了依据。提出的纹理特征及分析方法对于同类双光子显微图像的纹理分析处理具有一定实用或参考价值。

参考文献 (References)

1 Tsao S S, Dover J S, Arndt K A, *et al.* Scar management: Keloid, hypertrophic, atrophic and acne scars[J]. *Semin Cutan Med Surg.* 2002, **21**(1):46-75.

2 Lee Julia Yu-yun, Yang Chao-chun, Chao Sheau-chiou. Histopathological differential diagnosis of keloid and hypertrophic Scar[J]. *American Journal of Dermatopathology*, 2004, **26**(5):379-384.

3 Chen M A, Davidson T M. Scar management: Prevention and treatment strategies[J]. *Current Opinion in Otolaryngology & Head & Neck Surgery*, 2005, **13**(4):242-247.

4 Batra R S. Surgical techniques for scar revision[J]. *Skin Therapy Letter*, 2005, **10**(4):4-7.

5 Zhuo Shuang-mu, Chen Jian-xin, Luo Tian-shu, *et al.* Multimode nonlinear optical imaging of the dermis in ex vivo human skin based on the combination of multichannel mode and Lambda mode[J]. *Optics Express*, 2006, **14**(17):7810-7820.

6 Lin S J, Jee S H, Dong C Y. Multiphoton microscopy: A new paradigm in dermatological imaging [J]. *European Journal of Dermatology*, 2007, **17**(5):361-366.

7 Comaniciu D, Meer P. Mean shift: A robust approach toward feature space analysis [J]. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2002, **24**(5):603-619.