

生物组织连续切片的两步配准及快速重建

汤 敏^{1),2)} 王惠南¹⁾

¹⁾(南京航空航天大学自动化学院,南京 210016) ²⁾(南通大学电气工程学院,南通 226007)

摘 要 在图像预处理基础上,考虑到生物体在序列切片图像上的重心位置具有连续性的事实,提出 3 种新的逐步求精的自动配准方法。该方法首先采用力矩主轴法对两幅图像进行粗略配准,然后对已有的配准结果作微小干扰,当图像互信息最大时获得最终精确配准结果。针对生物组织连续切片数量巨大的特点,构建有序体数据结构,在此基础上采用 Shear-Warp 算法重建生物体内部结构。改进后的算法能够提高对体数据的遍历效率,减少对无效数据的访问,加速绘制过程。实验结果表明,新算法效果良好,便捷快速,值得推广应用于生物组织连续切片的科学计算可视化。

关键词 图像配准 科学计算可视化 Shear-Warp 算法 连续切片 组织图像

中图法分类号: TP319 **文献标识码**: A **文章编号**: 1006-8961(2008)09-1771-06

Stepwise Registration and Fast Reconstruction of Serial Tissue Section Images

TANG Min^{1), 2)}, WANG Hui-Nan¹⁾

¹⁾(College of Automation Engineering, Nanjing University of Aeronautics & Astronautics, Nanjing 210016)

²⁾(College of Electrical Engineering, Nantong University, Nantong 226007)

Abstract A novel method is proposed for two-step slices registration and fast Shear-Warp reconstruction of serial tissue section images. After image pre-processing, an automatic stepwise accuracy method was used for slices registration. Based on the elementary result of the principal axes transformation method, the final optimal result was achieved when maximized the mutual information reflected the matching suitability at a given position. Considering the large amount of serial tissue section images, an improved Shear-Warp algorithm based on sorted volumetric data structure was applied to reduce the access time of non-contribution data cells and consequently speed up the reconstruction process. Experimental results demonstrate that the method is effective and efficient, which is suitable for visualization of serial tissue section images.

Keywords image registration, visualization in scientific computing, Shear-Warp algorithm, serial section, tissue images

1 引 言

随着超薄切片、染色技术和高性能显微镜的广泛使用,生物组织连续切片 3 维重建技术在医学基础研究和临床疾病诊断中取得了巨大进展。在医学基础研究中,采用生物组织连续切片进行 3 维重建,能够清晰显示细胞内部超微结构,在阐明生物体组织结构与生理功能之间的关系以及形态学、比较解剖学、细胞化学定位等领域有着重要的

研究意义。该技术不但能够精确显示生物组织复杂的 3 维结构,还可以通过对 3 维结构的任意旋转、剖切、测量等操作,获得大量精确的解剖参数。在临床疾病诊断中,生物组织连续切片 3 维重建对于了解和掌握疾病的病因、病灶的性质、组织器官的发育与变异、肿瘤的浸润范围、疾病的分期、患者的愈后和临床病理诊断等方面都具有实际的临床应用价值。

在科学计算可视化技术中,体绘制技术最具前景。它直接将 3 维数据场转化为最终的 2 维图

收稿日期:2007-01-15;改回日期:2007-03-26

第一作者简介:汤 敏(1977 ~),女。讲师,2007 年于南京航空航天大学获精密仪器及机械专业博士学位。主要研究方向为生物医学图像处理及成像,发表论文 10 余篇。E-mail: tangmnt@yahoo.com.cn

像进行显示,不需要构造物体的表面几何描述。体绘制技术的难点在于如何达到交互应用的绘制速度,这往往需要强大的计算能力和高速的存储系统才能胜任。以往加速体绘制的方法要么是牺牲绘制质量来换取绘制速度,要么是购买并使用庞大昂贵的多处理器系统以及专用硬件,因此,研究普通配置计算机上的快速体绘制技术,具有重要意义。

对于已经发表的生物组织连续切片 3 维重建的主要文献^[1~5],归纳下来存在以下 3 个问题:(1)使用 SGI 图形工作站^[1~3]或高档配置计算机^[5],投资成本昂贵;(2)连续切片图像的配准采用手工方式^[2,3]或购买商业软件^[4]完成,前者费时费力,工程

浩大,后者则价格不菲,文件格式单一,缺乏灵活性;(3)采用的重建方法基本都是 Surface Tiling 和 Isocontouring 的表面绘制^[2,3,5],丢失了体数据的内部信息。针对上述不足之处,本文研究在普通配置计算机上,实现生物组织连续切片的自动配准和快速绘制,在保证图像质量的前提下,尽可能提高处理速度,减少人机交互,确保算法的准确性和快速性。

2 算法流程

整个算法流程如图 1 所示,主要包括图像预处理、配准以及重建这 3 个部分。各部分的主要功能简述如下:

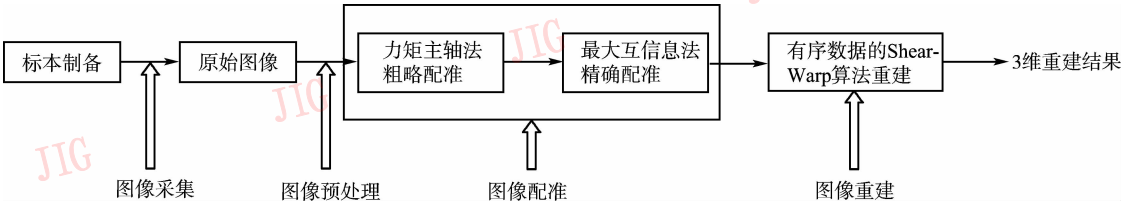


图 1 算法流程示意图
Fig. 1 Flowchart of the new algorithm

预处理:连续切片图像不可避免地存在图像卷折、破损、污染等现象,在图像预处理阶段进行人工筛选。(1)逐幅检查切片图像,剔除其中的卷折片和破损片;(2)手工剔除明显的大的杂质斑点;(3)在彩色空间中利用杂质、污迹和组织的色彩差异或色度差异区分目标和干扰;(4)将彩色图像转换为灰度图像,并进行线性灰度变换,使所有图像具有一致的灰度动态范围,在一定程度上消除染色不均匀的情况。

配准:获取连续切片图像时,每张切片都是人工放置到载玻片上的,难免出现平移和旋转的现象,所以重建之前要对图像序列进行配准。配准是指对于在不同时间和/或不同条件获取的两幅图像 $G_1(x_1, y_1, z_1)$ 和 $G_2(x_2, y_2, z_2)$, 寻求一个映射关系 $P:(x_1, y_1, z_1) \rightarrow (x_2, y_2, z_2)$, 使 G_1 上的每一个点在 G_2 上都有唯一的点与之对应,并且这两点对应同一解剖位置。

重建:配准以后的连续切片图像通过重建算法,建立 3 维物体结构,便于多角度多方位地观察,并且实现对 3 维物体的旋转、缩放、剖切、测量等功能。

3 逐步求精的两步配准法

配准方法通常分为硬定位法和软定位法。所谓硬定位法,是指在连续切片图像上找到某些基准点,通过对齐基准点达到配准目的。一般做法是在制作切片前打孔处理,从而在各切片上留下统一小孔,然后以这些小孔为基准定位点进行配准。但由于显微切片的组织块一般很小,小孔容易落到观察范围之外,而且孔径很难做到足够细小,过大的孔径势必破坏组织内部结构,影响重建工作。所谓软定位法,是指通过一定的配准算法,利用计算机编程得到连续切片图像间的配准参数。软定位法具有灵活、准确、可回溯性等优点,因此成为当前主要的研究方向^[6]。

考虑到生物组织切片图像背景噪声大、染色深浅不均、边界提取困难、相邻切片图像变化小等特点,这种类型的图像不论是寻找对应的定位点或进行相关运算都比较困难,因此,研究并提出一种新的逐步求精的自动配准方法。该方法基于一个普遍规律,即生物体在系列切片图像上的重心位置具有连续性。第 1 步,首先利用切片图像内部信息,采用力

矩主轴法^[7]对两幅图像进行粗略配准。力矩主轴法是借用经典力学中物体质量分布的概念,分别计算两幅图像像素点的质心和主轴,通过平移和旋转使两幅图像的质心和主轴对齐,从而达到配准目的。该方法具有全局最优的特点,配准后的图像大致对齐到理想位置附近,待配准参数的变化范围大大减小,为后续精确配准奠定基础。第 2 步,借鉴最大互信息法^[8]的基本思想,对已经得到的粗略配准结果作微小扰动,即分别在 $\pm x$ (左右平移)、 $\pm y$ (上下平移)以及 $\pm \varphi$ (顺/逆时针方向旋转一定角度)方向上计算图像的互信息,当互信息最大时获得最终精确配准结果。互信息的定义式为

$$\begin{aligned} I(A,B) &= H(A) + H(B) - H(A,B) \\ &= H(A) - H(A|B) \end{aligned} \tag{1}$$

式中, $H(A)$ 和 $H(B)$ 分别表示图像 A 和 B 的熵, $H(A,B)$ 表示图像 A 和 B 的联合熵, $H(A|B)$ 表示已知图像 B 时 A 的条件熵。实验中采用联合概率分布 $p_{AB}(a,b)$ 和完全独立时的概率分布 $p_A(a) \cdot p_B(b)$ 间的广义距离来估计互信息,即

$$I(A,B) = \sum_{a,b} p_{AB}(a,b) \log \frac{p_{AB}(a,b)}{p_A(a) \cdot p_B(b)} \tag{2}$$

逐步求精的两步配准法综合了力矩主轴法和最大互信息法两者的优点,既具备力矩主轴法计算量小、计算速度快的优点,也具备最大互信息法配准精确的优势,并且无需对图像进行分割和特征提取,人

机交互少,鲁棒性强。此外,还需说明的是,在实验中首先选取连续切片图像的中间一张作为基准图像(以 100 张图像序列为例,选取第 50 张作为中间图像),此图像不作调整,将其上一张(第 49 张)和下一张(第 51 张)分别以它为基准进行配准。获得配准参数后即进行变换得到结果图像,然后再以它们作为基准图像(以第 49 张图像作为基准配准第 48 张,以第 51 张作为基准配准第 52 张),依次类推配准过程。这样,可以有效地避免配准过程中可能产生的累积误差。

4 基于有序数据的 Shear-Warp 重建算法

Shear-Warp 算法^[9,10]原理如图 2 所示。该算法是将体绘制中的视线方向进行分解,简化从物体空间到图像空间的投影。首先将数据场从物体空间坐标系变换到中间坐标系,称为错切空间。在错切空间,所有视线方向平行于该空间的第 3 坐标轴方向。图 2 表示从物体空间到错切空间的平行投影变换,水平线表示体数据的水平切片,变换后这些切片都垂直于第 3 坐标轴(与视线方向夹角最小的坐标轴),并且视线也变换到与该坐标轴平行。其次在错切空间内将体素切片投影到中间过渡图像,再变换得到最终图像。

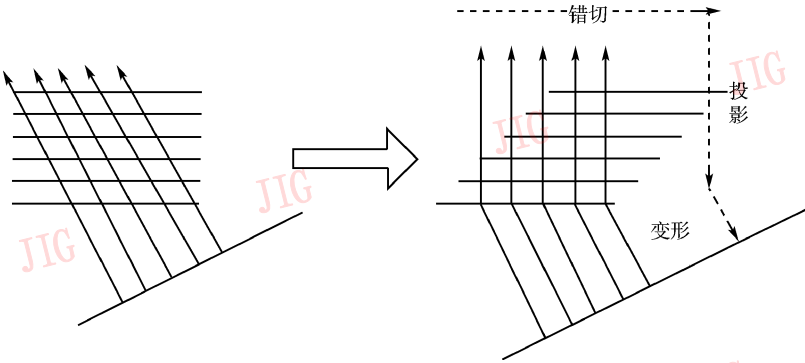


图 2 Shear-Warp 算法原理图

Fig.2 Principle of Shear-Warp algorithm

虽然 Shear-Warp 算法是目前运算速度最快的重建算法,但是由于生物组织连续切片本身数量巨大,多达数百乃至数千张图像,因此,仍需对算法进行改进,以便提高对体数据的遍历效率,减少对无效数据的访问。为此提出并构建有序体数据结构。根据体素值是有限整数的特点,对每个切片图像建立

一个以体素值为索引的动态数组。依次读取切片图像的体素值,将其位置信息存入动态数组相应单元。对于每个切片图像,各个体素值索引下的体素个数并不确定,用链表存储简单方便,但存储效率不高,因此,设计了图 3 所示的存储结构。用数据结构 SortedLayerData 表示每个切片图像,它由两个数组

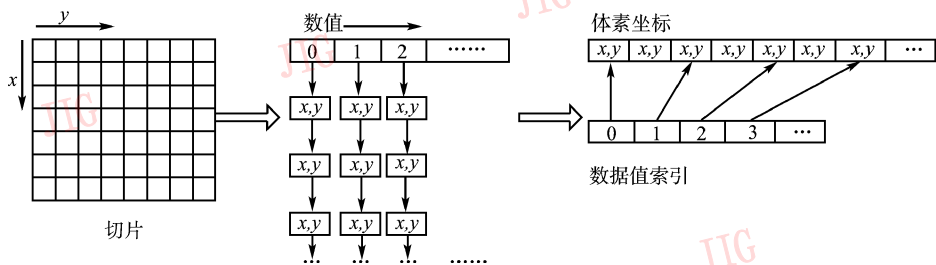


图 3 有序数据的存储结构

Fig. 3 Storage structure of sorted volumetric dataset

组成:(1)数组 `VoxelCoordinates` 按体素值大小依次存放该切片图像中体素的 x,y 坐标;(2)数组 `DataValueIndex` 存放各个体素值对应的所有体素坐标在数组 `VoxelCoordinates` 中的开始指针^[11,12]。

对于配准后的体数据,首先确定不透明体素的数值区间,然后通过有序体数据定位不透明体素,重建过程仅对不透明体素进行变换、采样、融合,从而快速跳过透明体素,加快绘制速度。改进后的 `Shear-Warp` 算法的伪代码如下:

```
For n = 0 to N - 1/N 为垂直于基本视向的图像层数
For v = ValueRange[j].Vmin to ValueRange[j].Vmax
Begin
For I = SortedVolume[n].DataValueIndex[v]
To SortedVolumem[n].DataValueIndex[v + 1] - 1
Begin
X = SortedVolumem[n].VoexlCoordinates[i].x
Y = SortedVolumem[n].VoexlCoordinates[i].y
Z = n
根据错切变换矩阵  $M_{SHEAR}$  计算  $V(x,y,z)$  在中间
图像平面的投影点  $P(x,y)$  对  $V(x,y,z)$  和  $P(x,$ 
 $y)$  进行体绘制的融合操作
END
END
根据  $M_{WARP}$  对中间图像进行变形变换转换到图像空间
```

5 实验结果

实验对象是一组某爬行动物的脊髓切片图像,冰冻切片在显微镜下放大拍摄。图 4 中左列是配准前的图像,右列是配准以后得到的结果。这种逐步求精的两步配准法无需对图像进行分割和特征提取,人机交互少,配准效果良好,鲁棒性较强。部分切片图像看上去有明显的大小变化,这是因为该爬行动物的脊髓在某些位置存在膨大现象。图 5 所示是对配准后的序列图像进行快速重建的结果。其中

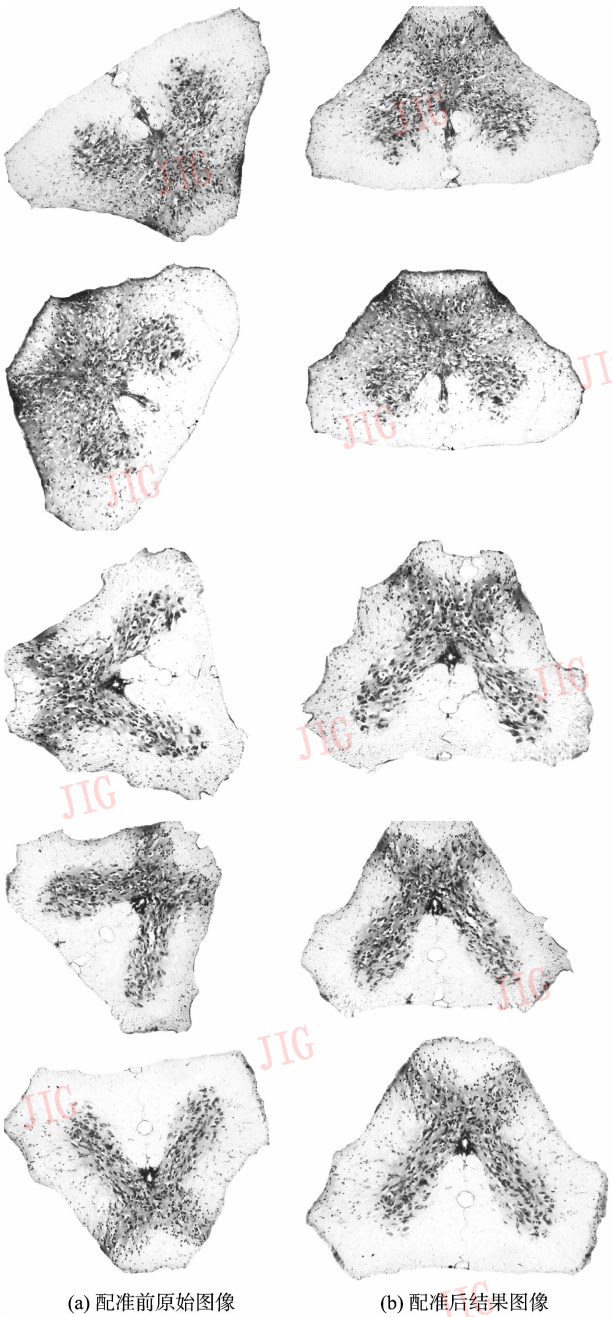


图 4 生物组织连续切片的配准结果

Fig. 4 Registration results of serial tissue section images

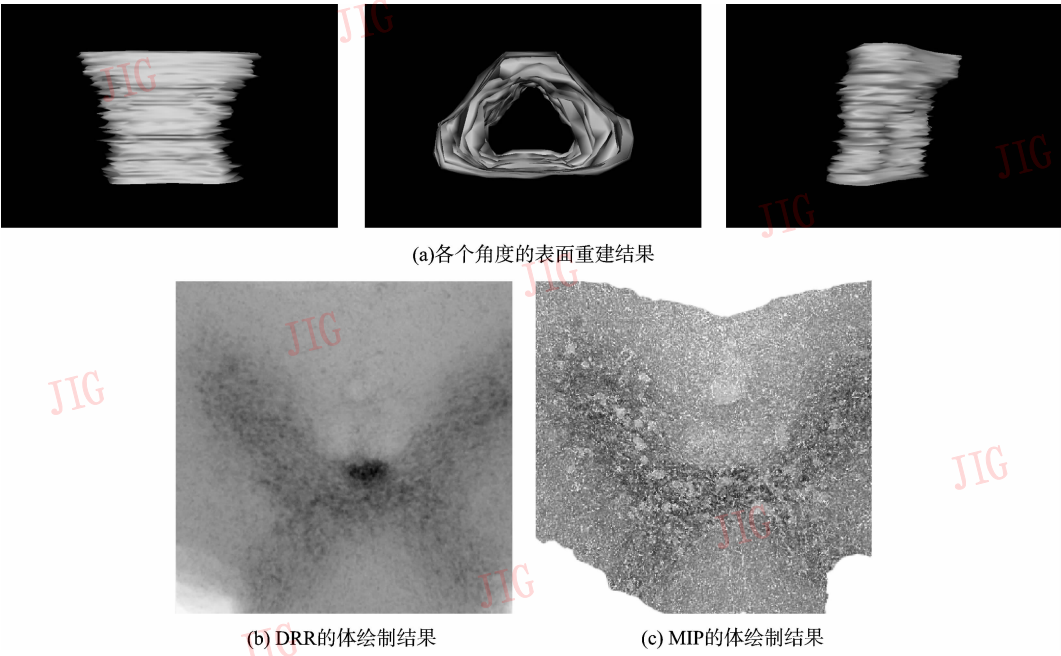


图 5 生物组织连续切片的快速重建结果
Fig. 5 Fast reconstruction results of serial tissue section images

第 1 行是从不同角度观察到的表面重建的结果,可以清晰地看到脊髓膨大的位置和程度;由于感兴趣区域是图像横断面,因此,图 5 中第 2 行所示为分别采用 DRR (digital reconstruction radiography) 和 MIP (maximum intensity projection) 光照模型对有序数据进行 Shear-Warp 体重建的结果,可以清楚地观测脊髓中灰质的分布和中央管的位置。基于有序数据的 Shear-Warp 体重建算法提高了对体数据的遍历效率,减少了对无效数据的访问过程,在速度上比单纯的 Shear-Warp 算法提高了 3~4 倍。

6 结 论

本文研究并提出在普通配置计算机上实现生物组织连续切片的两步配准和快速重建的方法。在图像预处理的基础上,考虑到生物体在系列切片图像上的重心位置具有连续性的事实,提出了一种新的逐步求精的自动配准方法,取得了良好效果。首先利用切片图像的内部信息,采用力矩主轴法对两幅图像进行粗略配准。配准后的图像大致对齐到理想位置附近,待配准参数的变化范围大大减小,为后续精确配准奠定基础。然后对已有的粗略配准结果作微小干扰,即分别

在 $\pm x$ (左右平移)、 $\pm y$ (上下移动) 以及 $\pm \varphi$ (顺/逆时针方向旋转一定角度) 方向计算图像互信息,当互信息最大时获得最终精确配准结果。逐步求精的配准方法既具备力矩主轴法计算量小、计算速度快的优点,又具备最大互信息法配准精确的优势,而且该方法无需对图像进行分割和特征提取,人机交互少,鲁棒性强。虽然 Shear-Warp 算法是目前运算速度最快的重建算法,但是由于生物组织连续切片本身数量巨大,甚至多达数千张图像,因此,通过构建有序体数据结构,对 Shear-Warp 算法进行改进,提高对体数据的遍历效率,减少对无效数据的访问,加快绘制速度。实验结果表明,本文算法思路清晰,效果良好,便捷快速,值得推广应用于生物组织连续切片的科学计算可视化。

参考文献 (References)

1 Chen Jing, Peng Cheng-lin, Chu Yan-fei, *et al.* Visualization of regenerated sciatic nerve of rat after injury[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2005, 22(2): 324~326. [陈箐, 彭承琳, 楚燕飞等. 周围神经损伤与再生的可视化研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2005, 22(2): 324~326.]
2 Duerstock B S, Bajaj C L, Borgens R B. A comparative study of the quantitative accuracy of three-dimensional reconstructions of spinal cord from serial histological sections[J]. Journal of Microscopy,

- 2003, **210**(2): 138 ~ 148.
- 3 Duerstock B S. Double labeling serial sections to enhance three-dimensional imaging of injured spinal cord [J]. Journal of Neuroscience Methods, 2004, **134**(1): 101 ~ 107.
- 4 Eric M B, Timothy W K, Carol J, *et al.* A Technique for quantitative three-dimensional analysis of microvascular structure [J]. Microvascular Research, 2002, **63**(3): 279 ~ 294.
- 5 Tao Ju. Building a 3D Atlas of the Mouse Brain[D]. Houston Texas, USA: Rice University, 2005.
- 6 Luo Shu-qian. Registration techniques for medical images [J]. International Journal of Biomedical Engineering, 1999, **22**(1): 1 ~ 8. [罗述谦. 医学图像配准技术[J]. 国外医学生物医学工程分册, 1999, **22**(1): 1 ~ 8.]
- 7 Alpert N M, Bradshaw D, Kennedy D, *et al.* The principal axes transformation: a method for image registration [J]. Journal of Nuclear Medicine, 1990, **31**(10): 1717 ~ 1722.
- 8 Josien P, Pluim W, Antonie Maintz J B, *et al.* Image registration by maximization of combined mutual information and gradient information [J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2000, **19**(8): 809 ~ 814.
- 9 Lacroute P, Levoy M. Fast Volume Rendering Using a Shear-Warp Factorization of the Viewing Transformation [A]. In: Proceedings of ACM Siggraph [C]. New York, NY, USA, 1994: 451 ~ 458.
- 10 Philippe G L. Fast Volume Rendering Using a Shear-Warp Factorization of the Viewing Transformation [D]. California: Stanford University, 1995: 29 ~ 127.
- 11 Zhu Ge-bin. Three Dimensional Reconstruction for Medical Images on Personal Computer [D]. Anhui: University of Science and Technology of China, 2003: 16 ~ 80. [诸葛斌. 基于微机的医学图像三维重建[D]. 安徽: 中国科学技术大学. 2003: 16 ~ 80.]
- 12 Lukas Mroz. Real-Time Volume Visualization of Low-End Hardware [D]. Vienna: Vienna University of Technology, 2001: 24 ~ 78.