

研究简报

应用多媒体技术的生物学细胞图像分析系统
A STUDY OF CELL MORPHOLOGY IMAGE ANALYSIS SYSTEM
BASED ON MULTIMEDIA COMPUTER

李继龙 金曼宜

(中国水产科学研究院, 北京 100039)

Li Jilong Jin Manyi

(Chinese Academy of Fisheries Sciences, Beijing 100039)

关键词 计算机, 多媒体, 图象分析, 组织细胞分析

KEY WORDS Computer, Multimedia, Image analysis, Cell morphology analysis

生物工程与医学科学分析测试技术手段, 从60年代中期开始研制图象自动分析系统, 近年来有相当大的发展^[4,5]。自70年代染色体显带技术发展以来^[6], 染色体核型分析被广泛应用于细胞生物学研究领域^[7]。目前国际上计算机与图象分析技术在生物与医学分析中已发挥了相当大的作用, 成为主要分析测试手段之一, 使得许多生物医学形态分析由定性向定量研究发展^[8]。

目前市场上销售的欧美国家的图象自动分析系统价格十分昂贵, 国内在90年代研制的分析系统论文报道很少, 结果并不十分理想, 实际应用中还存在不少问题, 主要是针对性不强。为适应生物、医学等领域特别是渔业生物研究的需要, 我中心从1993年开始研制了集图象处理和数据统计为一体的生物细胞形态和密度分析处理系统(Bmipas), 该系统于1994年开始阶段试运用。本文介绍该系统的生物细胞形态和密度分析的研制、系统的软硬件构成和功能。

1 材料与方法

本系统由硬件和软件两部分构成。

1.1 硬件配置

1.1.1 计算机子系统 为使系统能够达到一定的处理速度, 计算机采用386或486以上档次的微机。由于系统需扩展图象采集系统, 因此, 计算机的配置要求具有以下特点: 1) 计算机显示卡应是TVGA或是SVGA, 并有feature接口; 2) 某些直接连显示卡的汉卡, 不能与系统需要安装的处理卡冲突; 3) 系统主机板应至少有2个空余的16位以上的扩展槽; 4) 配置打印机和鼠标器; 5) 有足够的内存(8MB以上), 以达到一定的运行速度; 6) 显示卡内存应为1MB以上; 7) 硬盘应在100MB以上。本系统选择了具有以上特点与功能的486微机为系统硬件开发平台。

1.1.2 摄像子系统 根据不同需要可进行不同配置, 它可以接可见光摄像系统, 也可以接红外摄像系统,

收稿日期: 1997-03-19。

甚至接 X 光或其他的摄象系统。各种配置都有不同要求,如显微物体分析需显微镜,宏观物体分析需摄物台等。由于生物细胞形态和密度分析属于微观分析且一般在可见光下进行,故其摄象系统配置应主要满足以下要求:①显微镜;带照像接口;②摄像头;主要考虑黑白、彩色、光敏度等参数,并带有视频输出。本系统选择了具有以上特点与功能的 MINTRON 工业摄像头和重光系列显微镜。而图象采集卡则采用 CREATIVE 系列多媒体卡。

1.2 主要技术与计算方法

1.2.1 软件开发环境操作界面 系统软件开发在 Windows 环境进行,采用最流行的 Windows SDK 开发工具、Microsoft C6.0 语言和多媒体技术。系统软件使用 Windows 独特的窗口、菜单、控制对话框等界面和鼠标操作手段,为使用者提供了经济而又面貌全新的应用系统。图象处理模块^[1]与计算方法的选择主要满足本主题需要。

1.2.2 图像采集与提高处理速度 多媒体图像采集系统已广泛用于计算机化教学和计算机娱乐等领域并以其优惠的价格和多功能所著称,但用于分析测试方面则很少有报道^[9]。本系统出于考虑优惠的价格和多而快速的处理功能而采用多媒体图像采集系统。在计算处理中采取多媒体和计算机内存管理技术相结合,从而解决了图像计算处理速度问题。

1.2.3 相对光密度计算 设显微镜玻片下入射光强度为 I_0 , 透过显微镜玻片的光强度为 I , 则^[2]:

$$I = I_0 e^{-lc}$$

e - 单位浓度的吸收系数; l - 光穿过物质的厚度; c - 物质浓度

这时,透过物质的透射率可表示为: $T = I/I_0$

而透过物质的光密度(A)可通过下式计算: $A = \log(1/T)$

本系统在计算光密度时采用相对量,即分别用摄像机直接接收到完全透过玻片的光强度(光强灰度)和透过物质后的光强度作为 I 和 I_0 来计算。

1.2.4 变异系数计算 已知标准差可用来比较两个或多个样本变异程度的大小。其计算方法如下^[3]:

$$CV = S / X$$

CV - 变异系数; S - 样本标准差; X - 样本平均数。

2 结果与应用多模块综合分析实例

2.1 结果

研制完成后,本系统主要由硬件和软件两部分构成。硬件系统主要包括计算机子系统和摄像子系统(图1);而软件系统主要分基础图象处理和组织细胞图像处理两部分。应用软件包构成包括公用模块、专题公用模块和组织细胞统计分析模块(BMI-CE)。

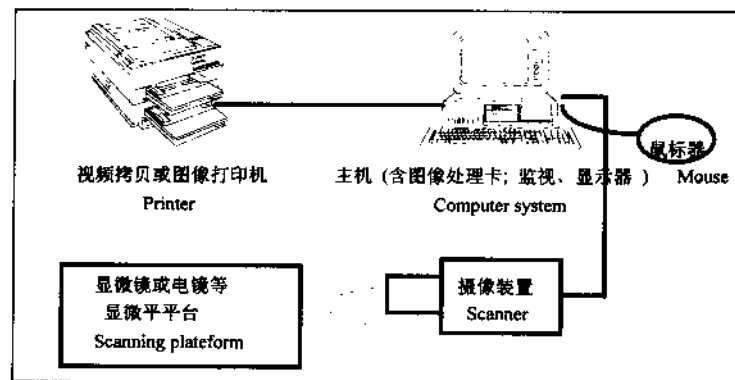


图1 系统结构框图

Fig.1 System sketch

2.1.1 公用模块 在图像分析软件包中,有些模块功能是相同的,如 Display、Configure、Enhance,其它相同的子模块有 Gray Damp、Profile、Autobnd、Annotate、LoadBmp 等。这些模块被放在同一 OBJ 或 DLL 动态库中,以备连接或运行时调用。

Display(显示)

Freeze 用于图象扫描。当捕获图象得到满意结果时,冻结图象。

Clear 用于图象扫描时刷新图像屏。

Save 用于扫描时存图,图像格式可任意选择以与其它系统兼容。

Load 对已存放在磁盘上的某图像进行显示。

Fit 用于图象扫描时调整摄像头视野与屏幕窗口的关系。

Show 扫描时显示图象尺寸和位置。

Masks 扫描时设置亮度/色彩掩码(屏蔽)。

Configure(显示或扫描调节)

Color Control 根据需要对屏幕上图象的亮度、饱和度、色彩度作任意调节。

Port Address 设置视频入口地址。

Buffer Address 设置视频缓冲区地址。

Video Buffer 设置视频缓冲区。

Align Video 视频位置调整。

Video Standard 设置视频格式(PAL 或 NTSC 格式)。

Interlaced Output 覆盖(替换)扫描屏。

Replicate Field 设定视场范围。

Source Select 视频输入端口。

Debugger 调试 Video。

Enhance(图像增强)

图像增强在图像处理中有着特殊的意义。如中值滤波使图像更清晰,均值滤波消除奇点,方向滤波突出边界,色彩表变换和直方图拉伸,可以突出增强图像的某种特征信息等。

Filt 滤波。

Mean 均值滤波(3×3)。

Median 中值滤波(3×3)。

Direction 方向滤波(3×3)。

Negative 图像取反使图象灰度值高低倒置产生负片效果。

Histogram 灰度直方图线性拉伸

一幅图像的灰度直方图,可反映出其组织与细胞灰度(光密度)分布及其所相应的象元个数。对这个直方图重新进行分布安排(即直方图拉伸),即可达到图像增强的效果。

Binary 图像二值化

图像的二值化处理,实际上是为特征图像提取做准备,它将多级灰度图象处理为二值灰度图像。

EditRect 矩形图块编辑

ClearRect 矩形图块清除;

CopyRect 矩形图块拷贝;

RotatRect 矩形图块旋转角拷贝。

EditPoly 任意形状图块编辑

Clearpoly 任意形状图块清除;

CopyPoly 任意形状图块拷贝;

RotatPoly 图块旋转角拷贝。

2.1.2 专题公用模块

LoadBmp 装图

在对某帧图像处理前,此模块将图像装入显示屏幕并将数据放在内存的适当位置,以备处理时调用,处理结束后需要保存的图像,必须用 Save 存盘。

GrayDamp 像元灰度值显示。

Profile 图像剖面光密度分析

该模块的主要功能是,通过选择不同的横断剖面,将其不同剖面的光密度(灰度)用曲线的形式表达出来,用于不同剖面的光密度比较分析。这一模块还适用于未经纯化的电泳图谱分析。

Autobnd 二值化图像边界的自动提取和特征计算

本模块的功能是,自动计算图像中图斑的周长、面积、光密度(含量)以及计算用户所框定的特征图像斑块的坐标位置、面积、光密度含量及序号等,并保存数据。

DataOutput 数据显示和打印输出。

Print Bmp 数据分析及位图输出/打印

- ①输出图斑自动边界提取中数据文件的分析结果,如光密度与面积的相关系数及变异系数;
- ②以图形形式输出细胞、细胞核和其它组织成份的坐标位置、面积、光密度含量及周长等数据,并保存数据在文件中。

Annotate 标注

选择该选择项,分析人员可在图像的任意处标注英文。

Exit 恢复系统设置并退出。

2.1.3 细胞图像分析(BMI-CE) 此软件包的特殊功能(ManuBound)是,计算分析人员所框定的细胞、细胞核和它的组织成份的坐标位置、面积、光密度含量及周长等数据,并保存数据在文件中。

2.2 应用多模块综合分析实例

由于计算机图像处理主要是根据图像的两类特征进行的,即第一为图像的灰度(光度)特征,第二是图像中各图斑的线性结构特征。目前计算机图像模式识别对复杂结构图像的处理,还不能达到十分令人满意的效果^[8]。所以借助各专业研究人员的经验,利用目视识别(主要利用图像的线性结构),再结合计算机的自动计算,就显得十分必要和无可代替了。本系统根据这一要求,增加了这一功能。本模块计算结果,数据被保存在文件中,数据文件内容以细胞分析为例可主要包括:细胞面积、细胞周长、细胞光密度总量、细胞光密度平均量、核面积、核周长、核光密度总量、核光密度平均量、线粒体面积、周长、光密度等。这一文件可用本系统的打印和统计分析软件包,将数据显示在屏幕上或用打印输出,也可以对其进行统计分析。

由于系统可应用于生物、医学等不同领域,因此,应根据需要而采用不同的多模块处理,处理实例如下。

2.2.1 生物细胞简单结构图象分析 所谓简单结构图象,是指特征图斑间相互分离、而且其背景与特征内容的光密度(灰度)有明显的差异。图 2、3 和 4 为其分析实例流程和处理分析结果。

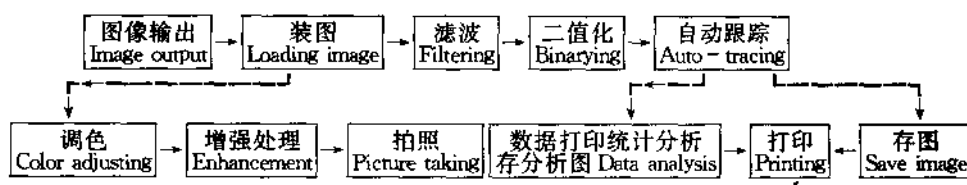


图 2 组织(或细胞)面积自动分析流程图

Fig.2 Organ(cell) area auto-analysis flow chart

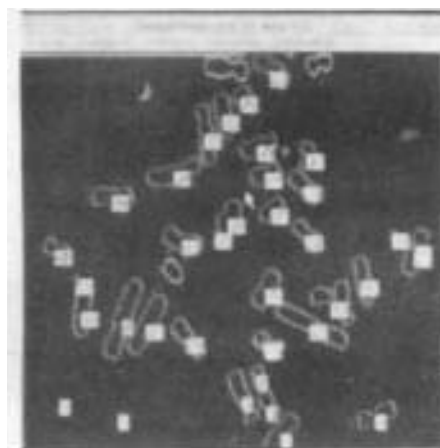


图3 细胞面积自动分析

Fig.3 Cell areas auto - analysis

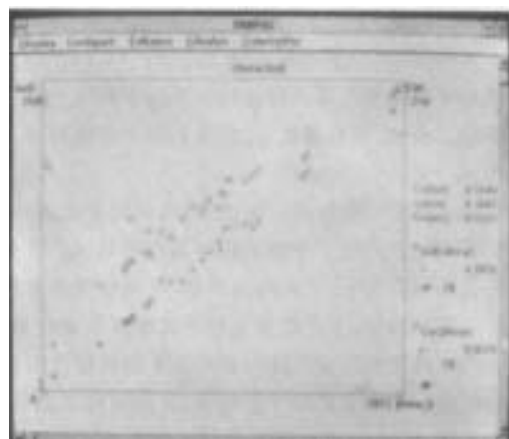


图4 细胞面积自动分析结果统计

Fig.4 Cell areas auto - statistics chart

2.2.2 复杂结构细胞图象分析 复杂结构细胞图象,是指在图像上,细胞间没有明显分界线或相互连接,从光密度上看没有明显差异,只能依靠结构目视辨认细胞的图象。图5、6和7为其分析实例流程和处理分析结果。

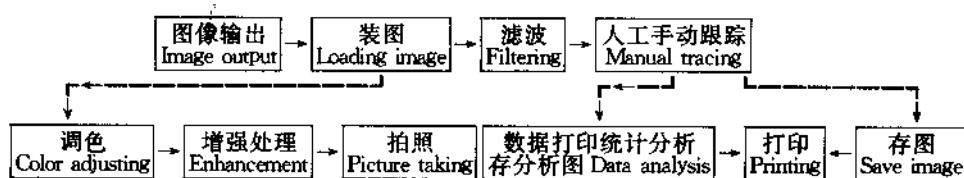


图5 组织(或细胞)面积等跟踪分析流程图

Fig.5 Organ(cell) tracing analysis flow chart



图6 组织(或细胞)面积等跟踪分析

Fig.6 Organ(cell) areas tracing analysis

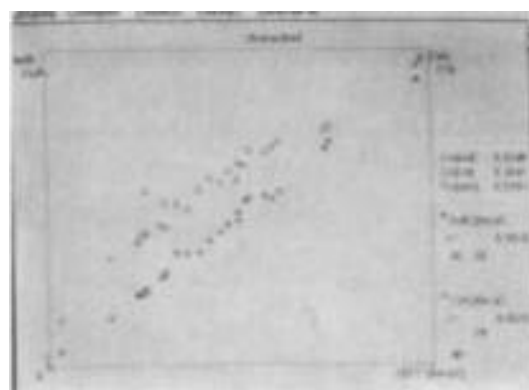


图7 组织(或细胞)面积等跟踪分析统计

Fig.7 Organ(cell) areas tralling analysis statistics

3 讨论

Bmipass 细胞图像分析处理软件系统由滤波、色彩表变换、直方图统计拉伸等各种图像增强处理功能模块及图像二值化、特征提取、边界提取和图像编辑等各种图像处理的基本功能模块和生物细胞的定量分析软件组成。

Bmipass 系统功能专业针对性强,通过图像输入和对其进行特征测量及统计计算等处理,可获得分析结果。它可广泛地应用于生物和医学等各种领域。在生物医学中,它可用于组织细胞的切片精细定量分析,计算各类细胞的 DNA 和蛋白质含量,识别单倍体或多倍体等;Bmipass 系统对生物、医学的宏观物体分析也有广泛的实用价值,如用红外或超声波等探头取代显微摄像,可用于结核、肿瘤等的检测分析。

Bmipass 系统采用多媒体图象采集卡除视野范围较为受限外,其灰度分辨率可以满足染色体分析要求。扫描几何分辨率主要取决于摄像头、显微镜和图象采集卡的综合参数,本系统的配置满足了一般分析的要求。系统在 Windows SDK 开发环境下研制,采用窗口、菜单、控制对话框等界面和鼠标操作手段,使系统配置经济、操作灵活。当前我国现有渔业生物生理生化及生态实验室一般都配有计算机和显微镜(或电镜等),系统在原有的计算机系统上配置摄像子系统和图像处理子系统后,计算机的其他功能不改变,可以正常地开展其它工作。

使用组织与细胞图像分析系统,进行组织与细胞图象的分析,可以减少渔业生物学研究中某些繁杂而枯燥的劳动、提高分析自动化水平和定量分析水平,一定程度上适应渔业生物研究等领域现代化研究的需要。

参 考 文 献

- [1] 马建波, 1992. C 语言图象处理程序集, 15-253. 海洋出版社。
- [2] 梁晓天等, 1988. 现代实验仪器的应用, 59-60. 北京科学技术出版社。
- [3] 王治方, 1995. 统计学原理, 92-94. 北京农业大学出版社。
- [4] Jain AK, 1989. Fundamentals of digital image processing, 1-30. Prentice Hall, Englewood Cliffs, (NJ 07632).
- [5] Xu J., 1992. Image analysis and its applications, 1-20. Singapore: world Scientific.
- [6] Piber J., 1992. Advance in mutagenesis, Automated cytogenetics in the study of mutagenesis and cancer. Springer-Verlag, 2: 127-153.
- [7] Lundsteen C., Martin AO., 1988. On the selection of systems for automated cytogenetic analysis. Am J Med Genet, 32: 72.
- [8] Lundsteen C. et al., 1986. Automatic classification of chromosome as part of routine system for clinical analysis. Cytometry, 7: 11.
- [9] Chips and Technologies, Inc., 1992. Technical Instructions for PC Video Board(微机视频卡随卡程序开发技术指南), 1-50. Unpublished.