

早期胚胎全场 OCT 图像的边界去模糊研究*

王一鸣¹⁾ 王婷¹⁾ 于吉¹⁾ 张纾²⁾ 田宁^{1)**}

(¹⁾ 沈阳师范大学物理科学与技术学院, 沈阳 110000; (²⁾ 华中农业大学理学院, 武汉 430000)

摘要 全场光学相干层析成像技术(全场 OCT)是研究早期胚胎形态发育的最理想成像设备, 然而所采集图像难免受噪声干扰. 这些噪声可模糊早期胚胎内不同组织结构的边界, 从而给基于图像边界的结构划分带来干扰. 为解决这一问题, 本文运用中值滤波、维纳滤波、各向异性扩散算法处理全场 OCT 获得的早期胚胎图像, 并运用信噪比、均方误差、峰值信噪比和边缘保留等指标评价图像处理效果. 结果表明: 经各向异性扩散算法处理的早期胚胎图像, 可完整地保留原始图像信息, 且边界最清晰, 视觉效果最好.

关键词 全场光学相干层析, 去噪, 早期胚胎

学科分类号 TP391.4, TP274+2

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0353

建立在迈克耳孙干涉仪基础上的光学相干层析技术(optical coherence tomography, OCT)具有非接触、无损伤、高分辨率、低成本、快速成像和实时监测等优点^[1]、已被广泛地应用到眼科^[2]、皮肤科^[3]、心血管系统^[4]、口腔和牙齿组织^[5]、癌症诊断和治疗^[6]等医学领域. 2013 年清华大学薛平团队利用全场 OCT 技术成功拍摄到早期胚胎图像, 将 OCT 的应用范围拓展到生殖发育领域^[7]. 由于全场 OCT 非侵入、非标记、高分辨、纵向层析等特点, 它是目前为止研究早期胚胎形态发育的最理想的三维无创技术.

全场 OCT 作为一种光学成像设备, 所采集图像不可避免地会受噪声干扰, 影响图像质量及有用信息的提取. 全场 OCT 噪声主要有散斑噪声、扫描噪声、探测器噪声、光源噪声和电路噪声等. 常见的减少噪声方法有两种: 其一是基于系统构造的方法, 去噪效果明显, 但具有价格昂贵、结构复杂等缺点; 其二是利用图像数字信号处理技术, 不需要改变系统结构、去噪效果较好、应用性强. 例如, 在基础研究方面, 于凯等^[8]提出的最小失真法、信息扩展法和最大熵法, 可以很好地处理 OCT 图像, 能够提高 OCT 图像的对比度、信噪比和视觉效果. 殷代强等^[9]提出利用散斑约束变分方

法能够有效地去除 OCT 图像的散斑噪声问题. 在临床应用方面, 在眼科中, 用复扩散滤波对视网膜 OCT 图像进行降噪, 校正运动伪差, 使眼底细微结构更清晰^[10], 在皮肤科中, 用最小化 Csiszar I-散度的测量方法对 OCT 图像散斑噪声最小化处理, 不仅减小散斑噪声、提高信噪比、还能保持清晰的边缘效果^[11].

早期胚胎作为新生命的开端, 其包含多种组织结构, 如核区、胞质区、透明带、第二极体等. 由于各结构折射率的差别, 全场 OCT 系统可获得早期胚胎内部多种结构的图像^[7]. 受噪声干扰, 将导致早期胚胎全场 OCT 图像中各组织的边界不明确, 这将严重影响基于图像分割的早期胚胎形态发育研究. 鉴于此, 本文针对小鼠早期胚胎的全场 OCT 图像, 运用中值滤波、维纳滤波、各向异性扩散算法进行去噪处理, 并通过信噪比、均方误差、峰值

* 国家自然科学基金(11604112), 辽宁省自然科学基金(2015020715), 沈阳师范大学优秀人才支持计划(BS201433), 沈阳师范大学自主科研计划(L201514)和沈阳师范大学博士启动计划(51600209)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 024-86575015, E-mail: tiann517@aliyun.com

收稿日期: 2017-09-06, 接受日期: 2018-09-05

信噪比和边缘保留等指标客观评价去噪效果, 以期找到既提高组织边界辨识度, 又不损失图像细节信息的有效降噪方法.

1 材料与方法

1.1 生物样品制备

6~8 周龄 ICR 小鼠(购买并饲养于清华大学实验动物部)以雌雄 1:1 比例合笼, 次日早晨见明显阴道栓的雌鼠表明已受孕. 将受孕雌鼠饲养 24 h 后, 脱颈椎处死, 无菌摘取卵巢及输卵管, 并于体视显微镜下将二者分离. 随后, 将玻璃针插入输卵管伞端, 慢慢挤出玻璃针内 F12 (Invitrogen), 冲出输卵管内二细胞期胚胎. 经 F12 清洗后, 筛选出形态及折光性良好的二细胞期胚胎, 多聚甲醛固定, 再经 PBS 清洗后, 用于全场 OCT 成像观测.

1.2 全场 OCT

全场 OCT(图 1)建立在 Linnik 干涉结构基础

上, 以卤素灯(Philips, 250W)为宽带照明光源. 入射光束经透镜 1 (L_1)后, 射入分光棱镜 (beam splitter, BS), 再由 BS 分为两束, 分别射向参考臂和样品臂, 随后投射在两个相同型号的显微物镜 (Nikon, 20 \times , N.A.0.5, water immersion)的后焦面上, 实现均匀照明, 即柯勒照明. 样品的后向散射光及由反射晶体产生的反射光, 在 BS 处汇聚, 当二者满足干涉条件时发生干涉. 干涉光束由透镜 2 (L_2)汇聚在面阵 CCD (IMPERX, MDC-1004, 1004 \times 1004, 48 Hz, 像素大小为 7.4 $\mu\text{m}\times$ 7.4 μm , 输出为 12 位数字信号)上. 参考臂由压电陶瓷 (piezoelectric ceramics, PZT) (PI, PI-900Z100, 4.6 $\mu\text{m}/100\text{V}$) 调制. 样品臂由步进电机 (卓立汉光 SC3, 最小步长, 0.3 μm) 控制纵向位移. 全场 OCT 的横向分辨率为 0.7 μm , 纵向分辨率为 1.1 μm , 纵向步长设为 1.2 μm , 系统的信噪比为 87 dB.

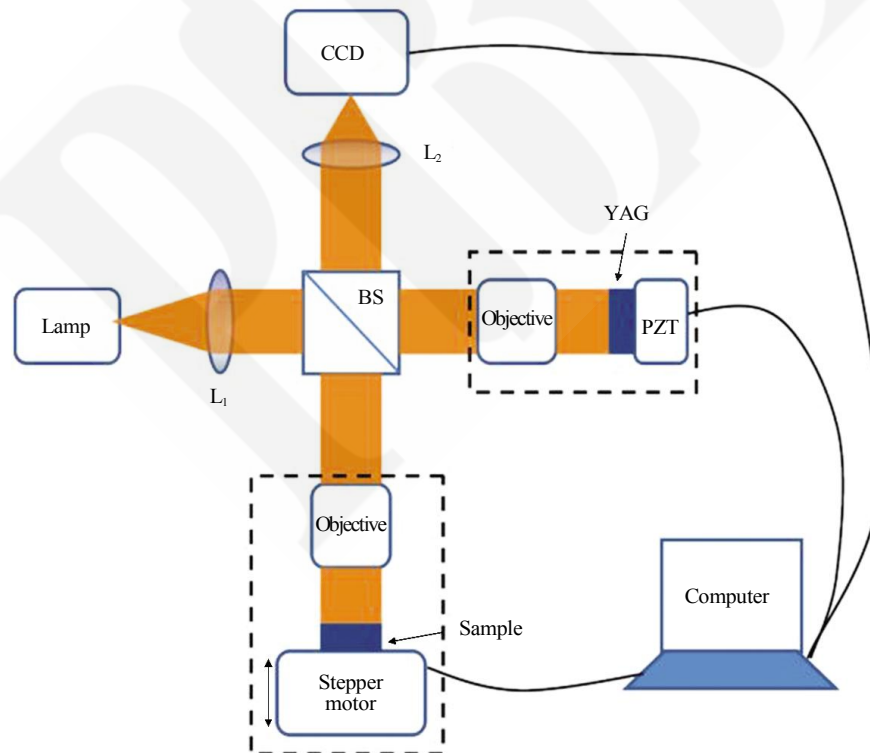


Fig. 1 Schematic diagram of full-field OCT

1.3 去噪方法

本文通过 matlab 实现中值滤波 (median filter, MF)、维纳滤波 (wiener filter, WF) 和各向异性扩散算法 (anisotropic diffusion, AD).

a. 中值滤波法是一种非线性的平滑滤波技术^[12], 以某点 (x, y) 为中心的小窗口内的所有像素的灰度按从大到小的顺序排列, 若像素为奇数个, 则其中间值作为 (x, y) 处的灰度值, 若像素为偶数

个, 则取 2 个中间值的平均值作为 (x, y) 处的灰度值. 本文中值滤波窗口大小为 3×3 .

b. 维纳滤波是从噪声中提取信号的一种滤波方法. 通过估计每个像素的局部均值和方差, 从而实现图像的自适应去噪^[12-13]. 均值和方差分别为:

$$\mu = \frac{1}{MN} \sum_{(x,y) \in S} a(x,y); \sigma^2 = \frac{1}{MN} \sum_{(x,y) \in S} a^2(x,y) - \mu^2, \text{ 此处}$$

S 为图像中每个像素的 $M \times N$ 邻域.

维纳滤波估计值为 $b(x, y) = \mu + \frac{\sigma^2 - \delta^2}{\sigma^2} [a(x, y) - \mu]$. δ^2 是噪声方差, 如果没有给出, 则自动以所有局部估计方差的均值代替. 本文 $M \times N$ 设为 7×7 .

c. 各向异性扩散算法是一种非线性算法, 基本思想是求解初始值为原始图像的非线性扩散方程 (简称 PM 扩散模型)^[14]. PM 模型简而言之就是利用梯度算子来辨别分别由噪声和边缘引起的图像梯度变化, 然后去除由噪声引起的小梯度变化, 同时保留由边缘引起的大梯度变化, 这个过程迭代进行, 直至噪声被去除. 其数学表达式如下: $\partial I(x_1, t) / \partial t = \nabla \cdot [c(x_1, t) \nabla I(x_1, t)]$; $c_1(x_1, t) = \exp[-(|\nabla I(x_1, t)|/k)^2]$; $c_2(x_1, t) = 1 / \{[|\nabla I(x_1, t)|/k]^{1+\alpha} + 1\}$, $\alpha > 0$, 其中 $I(x_1, t)$ 为图像信号; x_1 为图像坐标轴; t 为迭代数; $c_1(x_1, t)$ 、 $c_2(x_1, t)$ 为扩散函数; k 为扩散因子随图像梯度幅度单调递减情形^[14]. 本文 t 设为 10, k 设为 5.

1.4 评价方法

为客观评价几种去噪方法的效果, 本文采用信噪比 (signal to noise ratio, SNR)、均方误差 (mean squared error, MSE)、峰值信噪比 (peak signal to noise ratio, $PSNR$) 及边缘保留 (edge preservation index, EPI) 4 个指标来衡量这些方法的降噪效果.

a. $SNR = 10 \log_{10} [\max(S^2) / \sigma^2]$, 其中 S 代表像素的灰度值, σ 代表像素灰度值的标准差. SNR 数值越大, 去噪效果越好.

b. $MSE = \frac{1}{M \times N} \sum_{(i,j)=1}^{M,N} (J^*(i,j) - J(i,j))^2$, 其中 J^* 和 J 分别表示原始图像和去噪后图像. MSE 表征实际降噪效果, MSE 越小, 降噪效果越好.

c. $PSNR = 10 \times \log_{10} (\frac{255^2}{MSE})$. $PSNR$ 值越大, 图像间差异越小, 处理结果越有效.

$$d. EPI = \frac{\Gamma(\Delta S - \overline{\Delta S}, \Delta \hat{S} - \overline{\Delta \hat{S}})}{\sqrt{\Gamma(\Delta S - \overline{\Delta S}, \Delta S - \overline{\Delta S}) \Gamma(\Delta \hat{S} - \overline{\Delta \hat{S}}, \Delta \hat{S} - \overline{\Delta \hat{S}})},$$

其中 S 和 \hat{S} 分别代表原始图像像素的灰度值和去噪

后图像像素的灰度值; ΔS 和 $\Delta \hat{S}$ 分别代表在原图像和去噪后图像上执行拉普拉斯算子操作, 进行边缘提取; $\overline{\Delta S}$ 和 $\overline{\Delta \hat{S}}$ 分别代表 ΔS 和 $\Delta \hat{S}$ 的一个 3×3 邻域区域的像素灰度平均值. EPI 值越接近 1, 表明处理方法对图像边界信息的保护能力越强.

2 结果与讨论

图 2a 为全场 OCT 系统采集的二细胞期胚胎的光学图像. 可以看到, 受电子元件及光路的影响, 原始图像中存在大量噪声, 肉眼可见图像不清晰. 二细胞期胚胎中不同组织以不同灰度像素集合的方式呈现, 组织之间存在边界, 受噪声影响, 边界不明确. 而图像边界对基于图像分割技术的胚胎形态研究至关重要. 为提高图像质量, 明确边界位置, 本文采用中值滤波、维纳滤波及各向异性扩散算法处理原始图像, 处理结果见图 2b~d. 可见, 几种降噪方法均有效地改善了图像质量. 由一维“灰度-位置”曲线可见 (图 3), 中值滤波、维纳滤波在去噪的同时, 均不同程度地泯灭了同组织内不同亚区域之间的像素差异, 降低同一组织内的灰度值波动, 使灰度值趋于均匀化. 而各项异性扩散算法可较完整地保留图像原始细节 (保留了同一组织区域内灰度值的波动), 同时达到较好的去噪效果. 生物样品作为复杂散射体, 不仅不同结构之间光学性能不一致 (如折射率不同), 而且同一组织内部, 也可能由于病变、变异等原因造成光学性能的差异. 光学性能的不同, 在光学图像中的体现就是灰度值的变化. 例如, 全场 OCT 采集的二细胞期胚胎中, 核区和胞质区域二者折射率的差别, 造成光学图像中二者灰度的差异, 核区对应低像素值区域, 胞质对应高像素值区域. 胞质内部可能由于不同细胞器的存在, 或变异体的出现 (如空泡), 也会在灰度上呈现出高低的涨落, 这种涨落可能对应着重要的生物学意义, 不可轻易去除.

进一步, 本文通过定量的评价体系比较中值滤波、维纳滤波及各项异性扩散算法对二细胞期胚胎全场 OCT 图像的处理效果. 我们比较了 SNR 、 MSE 、 $PSNR$ 及 EPI 值 (表 1). 可见, 各个算法都有效地提高了图像质量, 提高了 SNR . 各向异性扩散算法的 MSE 最小、 $PSNR$ 最大、 EPI 数值最大, 说明其与原图像差异最小, 对图像边缘信息保护能力最强, 实际降噪效果更为有效.

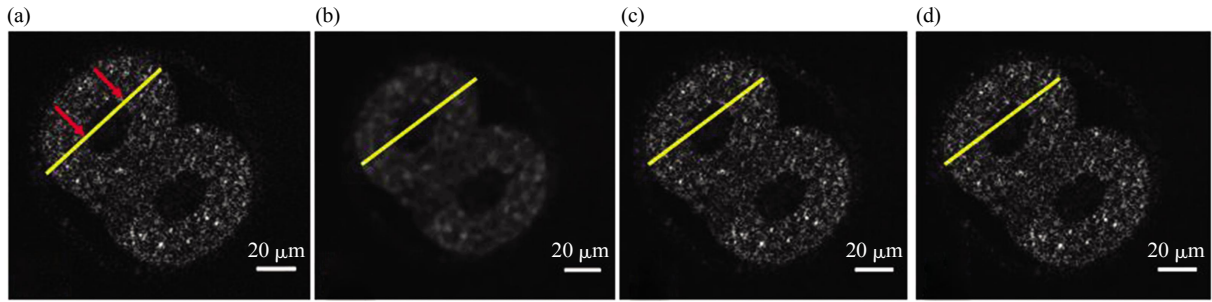


Fig. 2 Comparison of two-cell embryo full-field OCT images after noise reduction with median filter(b), wiener filter (c) and anisotropic diffusion algorithm (d)

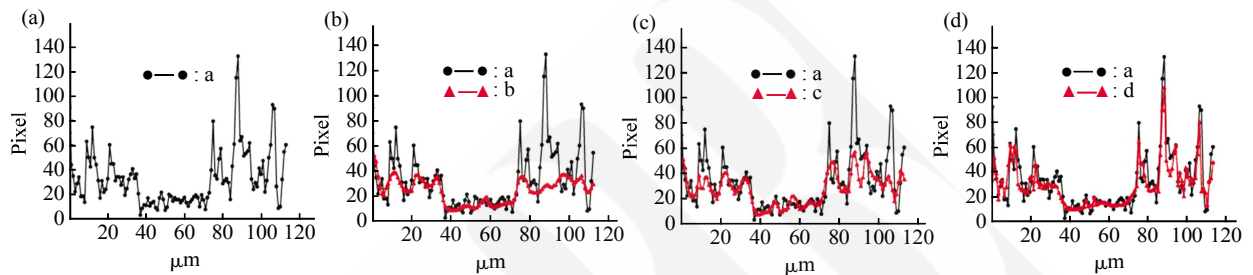


Fig. 3 One-dimensional fold line of pixel and position

(a) shows the fold line of pixel and position on the yellow straight line in Figure 2a. The similar estimates for the yellow straight lines in Figure 2b-d are shown in (b-d).

Table 1 Denoising results of different methods

	SNR	MSE	PSNR	EPI
Original image	28.7	0	-	1.0
Median filter image	32.0	9.4	38.4	0.1
Wiener filter 7x7 image	30.3	7.3	39.5	0.2
Anisotropic diffusion image	29.0	3.6	42.5	0.4

3 结 论

针对全场 OCT 系统采集早期胚胎图像中存在噪声问题, 本文通过中值滤波、维纳滤波、各向异性扩散算法进行去噪, 并利用 SNR、MSE、PSNR 和 EPI 评价去噪效果. 考虑到生物样品的特殊性, 图像中的边界与细节都对应着重要的生物学意义. 综合比较, 本文发现各向异性扩散算法的去噪效果显著, 可提高边界的对比效果, 并较完整地保留了图像细节, 是比较理想的早期胚胎全场 OCT 图像去噪方法.

参 考 文 献

[1] Fercher A F, Drexler W, Hitzenberger C K, et al. Optical coherence tomography—principles and applications. Reports on Progress in

Physics, 2003, 66(2): 239–303

[2] Adhi M, Duker J S. Optical coherence tomography-current and future applications. Current Opinion in Ophthalmology, 2013, 24(3): 213–221

[3] Mamalis A, Ho D, Jagdeo J. Optical coherence tomography imaging of normal, chronologically aged, photoaged and photodamaged skin: a systematic review. Dermatol Surg, 2015, 41(9): 993–1005

[4] 刘小宁, 杨跃进, 吴永健, 等. 光学相干断层成像方法评价冠状动脉介入治疗术后即刻药物洗脱支架贴壁情况. 中国循环杂志, 2013, 28(5): 356–359
Liu X N, Yang Y J, Wu Y J, et al. Chinese Circulation Journal, 2013, 28(5): 356–359

[5] Shimada Y, Sadr A, Burrow M F, et al. Validation of swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) for the diagnosis of occlusal caries. Journal of Dentistry, 2010, 38(8): 655–665

[6] Hatta W, Uno K, Koike T, et al. A prospective comparative study of optical coherence tomography and EUS for tumor staging of

- superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2012, **76**(3): 548–555
- [7] Zheng J G, Lu D Y, Chen T Y, *et al.* Label-free subcellular 3D live imaging of preimplantation mouse embryos with full-field optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, **17**(7): 070503
- [8] Kai Y, Liang J, Lei W, *et al.* How to optimize OCT image. *Optics Express*, 2001, **9**(1): 24–35
- [9] Yin D Q, Gu Y, Xue P. Speckle-constrained variational methods for image restoration in optical coherence tomography. *Journal of the Optical Society of America A-Optics Image Science and Vision*, 2013, **30**(5): 878–885
- [10] 张明蓉, 李跃杰, 王立伟, 等. OCT 图像运动伪差校正算法的研究. *中国医疗器械杂志*, 2015, **39**(1): 5–12
Zhang M R, Li Y J, Wang L W, *et al.* *Chinese Journal of Medical Instrumentation*, 2015, **39**(1): 5–12
- [11] 沈婷梅, 顾 瑛, 王天时, 等. 光学相干层析成像中散斑噪声减小算法. *中国激光*, 2008, **35**(9): 1437–1440
Shen T M, Gu Y, Wang T S, *et al.* *Chinese Journal of Lasers*, 2008, **35**(9): 1437–1440
- [12] Hagag A, Amin M, Elsamie F E A. Simultaneous denoising and compression of multispectral images. *Journal of Applied Remote Sensing*, 2013, **7**(1): 073511
- [13] Sim K S, Teh V, Nia M E. Adaptive noise Wiener filter for scanning electron microscope imaging system. *Scanning*, 2016, **38**(2): 148–163
- [14] 姚芦鹍, 余桂英, 张宝武, 等. 几种 OCT 图像散斑降噪算法的研究与比较. *中国计量学院学报*, 2015, **26**(3): 336–340
Yao L Y, Yu G Y, Zhang B W, *et al.* *Journal of China University of Metrology*, 2015, **26**(3): 336–340

Boundary Deblurring of Full-field OCT Image of Early Embryo*

WANG Yi-Ming¹⁾, WANG Ting¹⁾, YU Ji¹⁾, ZHANG Shu²⁾, TIAN Ning^{1)**}

¹⁾ College of Physics Science and Technology, Shenyang Normal University, Shenyang 110000, China;

²⁾ College of Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430000, China)

Abstract The full-field optical coherence tomography (FF-OCT) is one of the best technologies to study the morphological development of the early embryo, while its images suffer from some noises. Due to the noises, the boundaries between the different organizations in the early embryo are ambiguous, which would cause interference of organization segmentation. To solve this problem, this paper processed full-field OCT images of early embryos with the median filter, wiener filter and anisotropic diffusion algorithm, and evaluated the noise reduction effect using the signal-to-noise ratio, the mean square error, peak signal to noise ratio and edge retention index. It was shown that early embryo images after noise reduction with anisotropic diffusion algorithm kept most of the original information with relatively clear boundaries. Therefore, anisotropic diffusion algorithm is suggested to be the best denoising method for FF-OCT imaging in terms of the visual effect.

Key words optical coherence tomography, noise reduction, early embryo

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0353

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (11604112), Liaoning Natural Science Foundation (2015020715), Shenyang Normal University Scientific Research Program (L201514), Doctor Start-up Fund of Shenyang Normal University (51600209), and Talent Support Program of Shenyang Normal University (BS201433).

**Corresponding author.

Tel: 86-24-86575015, E-mail: tiann517@aliyun.com

Received: September 6, 2017 Accepted: September 5, 2018