

Графическая модель для распознавания гистологических изображений

Некрасов К. В., Шаповалов Р. В., Ветров Д. П.

knek91@gmail.com, shapovalov@graphics.cs.msu.su, vetrovd@yandex.ru

Москва, МГУ им. М. В. Ломоносова, факультет ВМК

Флуоресцентная микроскопия является мощным методом изучения белковых процессов в живом организме. Однако для проведения масштабных исследований требуется автоматизированный анализ клеточных изображений. В данной работе представлен новый подход, предназначенный для распознавания клеток на снимках живой ткани. В статье представлены высокоуровневые признаки для детектирования мембран и вероятностная графическая модель для распознавания клеток на изображении. Также показано, как настраивать параметры модели с помощью структурного метода опорных векторов (SSVM) и схемы Гиббса.

Probabilistic graphical model for histological image parsing

Nekrasov K., Shapovalov R., Vetrov D.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Fluorescence microscopy is a powerful technique to study protein processes. However, an automatic approach to histological image analysis is required for large-scale studies. Here we present a new approach for cellular tissue parsing. We present high-level features for membrane detection and a non-trivial probabilistic graphical model for cell recognition. We also present a method for model fitting based on structural SVM and Gibbs sampling.

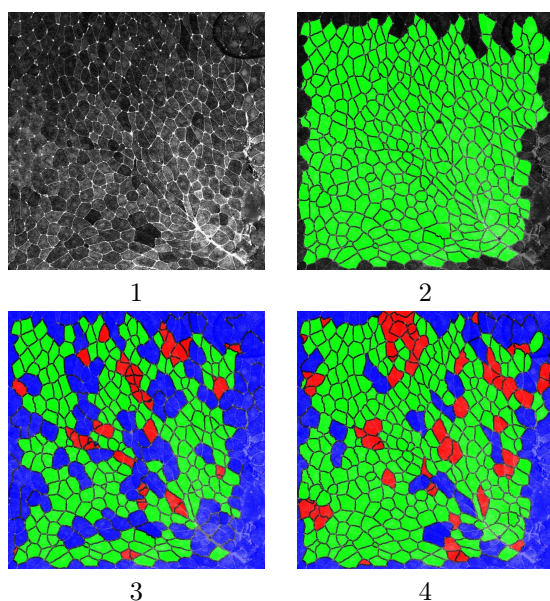


Рис. 1. (1) Исходное изображение; (2) ручная разметка; (3) логистическая регрессия; (4) SSVM + схема Гиббса. Зеленым цветом изображены верно размеченные клетки, красным — неверно размеченные, синим — области, которые алгоритм не смог классифицировать

Флуоресцентная микроскопия является мощным методом изучения белковых процессов в живом организме. Однако при необходимости крупномасштабных статистических измерений ручной анализ изображений занимает очень много времени. Автоматизированный анализ лишен этих недостатков и позволяет проводить серьезные исследования разнообразных клеточных популяций.

В данной работе представлен новый подход, предназначенный для автоматического распозна-

вания клеток на снимках подкрашенной живой ткани. В статье представлены высокоуровневые признаки для детектирования мембран и предложена графическая модель для распознавания мембранной структуры на изображении. В качестве алгоритма вывода в графической модели используется генерация значений переменных с помощью марковских цепей по схеме Гиббса [1]. В статье показано, как настраивать параметры модели с помощью структурного метода опорных векторов (SSVM).

Исходя из смысла предметной области, мы измеряем качество распознавания по точности нахождения клеток, однако обучение параметров модели основано на максимизации качества распознавания *межклеточных мембран*. Мембраны представляют собой границы клеток, поэтому возможен однозначный переход от мембранной разметки к клеточной. Разработанная графическая модель позволяет улучшить качество распознавания на 20% по сравнению с независимой классификацией мембран.

Постановка задачи

На снимках (рис. 1) хорошо различимы межклеточные мембраны — полосы ярких пикселей, которые образуют сетку на изображении. Каждая ячейка такой сетки соответствует клетке. Области стыка мембран мы будем называть *узлами*. Набор мембран, пересекающихся в некотором узле, будем называть *пучком*. На рис. 2 слева представлено увеличенное изображение, где узлы и ребра, представляющие мембраны, отмечены зеленым цветом.

Исходные снимки зашумлены. Мембраны и клетки представляют собой смесь из пикселей разной яркости, от самой низкой до самой высокой, поэто-

му методы вроде отсечения по яркости или водораздела работают плохо, даже если использовать их адаптивные варианты. Идея водораздела для распознавания границ состоит из расположения водосточников в локальных минимумах серого изображения; заливания рельефа из источников; и построении границ водораздела, когда разные источники встречаются.

Мы предлагаем разбить решение задачи на два независимых шага: нахождение узлов, и нахождение мембран между ними. Данная статья описывает только второй шаг, то есть набор узлов задается специалистом. Это позволяет сконцентрировать внимание на улучшении качества именно второго шага, исключив ошибки, вызванные неправильным обнаружением узлов. На практике же вместо экспертной разметки можно использовать детектор углов или адаптивное отсечение яркости по порогу.

Графическая модель

Основная идея заключается в представлении клеточной структуры в виде графа $G = (\mathcal{V}, \mathcal{E})$, в котором вершины соответствуют узлам, а ребра играют роль мембран. Задача состоит в том, чтобы при известных вершинах графа G найти множество ребер, соответствующее истинной разметке. На практике, если известно, что между двумя узлами есть мембрана, нетрудно найти ее клеточную маску как непрерывную кривую максимальной суммарной яркости, соединяющую два узла. Поэтому при известной структуре графа G легко получить пиксельную маску мембран на изображении, и задачу распознавания клеточной структуры можно считать решенной.

Назовем *расширенным* графом \hat{G} по отношению к G граф, в котором вершины соответствуют тем же узлам клеточной структуры, а ребра соединяют все пары узлов, расстояние между которыми не более r пикселей. Порог r выбирается так, чтобы множество ребер \hat{G} заведомо включалось в множестве ребер G , таким образом G — остовный подграф \hat{G} . Из множества вероятных ребер графа G нужно выбрать те, что соответствуют мембранам. Это можно делать независимо, построив классификатор на основе внешнего вида изображения между парой узлов. Однако такая стратегия не учитывает структурные ограничения, присущие реальной клеточной структуре, например, две мембраны не могут пересекаться в середине, а в одном пучке не могут сходиться больше 6–7 мембран. Таким образом, необходимо осуществлять совместную классификацию мембран, для чего в данной работе используется неориентированная графическая модель, включающая факторы высокого порядка.

Сформулируем функцию энергии, определенную на планарных графах G , являющихся остовными подграфами \hat{G} , такую что ее минимум соот-

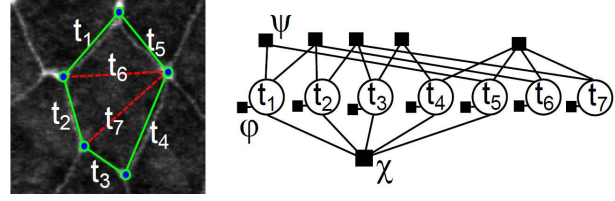


Рис. 2. Слева — пример части графа для клеток. Над каждым ребром подписана соответствующая скрытая переменная. Справа — соответствующий фактор-граф графической модели. Потенциалы φ определены на переменных t_i ; ψ — на пучках; χ — на гранях планарного графа, всевозможных циклах, здесь показан только один — ненулевой при данной конфигурации.

ветствует истинной структуре G :

$$E(G) = \sum_{i \in \mathcal{E}} \langle w_\varphi, \varphi_i \rangle + \sum_{j \in \mathcal{V}} \langle w_\psi, \psi_j \rangle + \sum_{k \in \mathcal{C}} \langle w_\chi, \chi_k \rangle,$$

где \mathcal{C} — множество всех граней планарного графа G , $\varphi_i, \psi_j, \chi_k$ — векторы признаков мембран, пучков и клеток, соответственно, и $w_\varphi, w_\psi, w_\chi$ — веса, настраиваемые на обучающей выборке (подробнее описано в следующем разделе), $\langle \cdot, \cdot \rangle$ — скалярное произведение.

Чтобы использовать аппарат графических моделей, сформулируем функцию энергии на расширенном графе $\hat{G} = (\hat{\mathcal{V}}, \hat{\mathcal{E}})$ фиксированной структуры. Каждому ребру \hat{G} приписывается скрытая переменная $\hat{t}_i \in \{0, 1\}$, причем для обучающей выборки нам известны истинные метки t_i , задающие отсутствие или наличие ребра между парами узлов. Энергия как функция от текущей разметки \hat{T} :

$$E(\hat{T}) = \sum_{i \in \hat{\mathcal{E}}} \langle w_\varphi, \hat{t}_i \varphi_i \rangle + \sum_{\substack{j \in \hat{\mathcal{V}} \\ I_j = \{(i,j) \in \hat{\mathcal{E}}\}}} \langle w_\psi, \psi_j(\hat{T}_{I_j}) \rangle + \sum_{\substack{k \in \hat{\mathcal{C}} \\ I_k = \{(i,i') \in \hat{\mathcal{E}}\}}} \langle w_\chi, \left(\prod_{i \in I_k} \hat{t}_i \right) \chi_k \rangle + \sum_{(i,i') \in \hat{\mathcal{E}}^2} \hat{t}_i \hat{t}_{i'} \rho_{ij}. \quad (1)$$

Примеры клеточного графа и построенного для него фактор-графа приведены на рис. 2. Мембранные признаки φ_i более подробно описаны в следующем разделе. Признаки пучка $\psi_j(\hat{T}_{I_j})$ зависят от того, какие мембраны пучка включены и описывают их число, минимальный и максимальный углы между соседними мембранами пучка. Клеточные признаки χ_k — это площадь и число ребер грани k . Потенциалы ρ_{ij} запрещают непланарные графы. Если два включенных ребра пересекаются, то $\rho_{ij} = \infty$, иначе $\rho_{ij} = 0$.

Оптимизация. Если в (1) вынести за скобки веса и просуммировать признаки, можно записать энергию в более компактном виде:

$$E(X, \hat{T}, W) = W^T X + \sum_{(i,i') \in \hat{\mathcal{E}}^2} \hat{t}_i \hat{t}_{i'} \rho_{ij},$$

где $W \equiv [w_\varphi, w_\psi, w_\chi]$, а X — конкатенация соответствующих сумм признаков. При фиксированных весах W энергия $E(X, \hat{T}, W)$ минимизируется с помощью выбора минимальной из разметок при генерации случайных разметок с помощью марковских цепей по схеме Гиббса из ненормированного распределения $\tilde{p}(\hat{T}) = \exp(-E(X, \hat{T}, W))$. Согласно схеме Гиббса, вместо выборки значений из многомерного распределения, итеративно выполняется выборка из одномерных распределений. На каждой итерации асинхронно обновляются значения всех величин \hat{t}_i . Пусть на предыдущей итерации была сгенерирована конфигурация $\{\hat{t}_i^n\}$, тогда генерация \hat{t}_i^{n+1} происходит по схеме:

$$\hat{t}_i^{n+1} \sim \tilde{p}(\hat{t}_i | \hat{t}_1^{n+1}, \dots, \hat{t}_{i-1}^{n+1}, \hat{t}_{i+1}^n, \dots, \hat{t}_{|\mathcal{E}|}^n). \quad (2)$$

В отличие от $\tilde{p}(\hat{T})$, для распределений в (2) подсчет нормировочной константы не представляет проблем. Для решения задачи максимизации в (4) выполняются 20 итераций схемы Гиббса. Выбирается конфигурация \hat{T}^n , на которой достигается максимум $\tilde{p}(\hat{T})$. В качестве начального приближения берется любая конфигурация с конечной энергией, например, задаваемая триангуляцией Делоне.

Настройка весов

Мы настраиваем веса энергии (1) с помощью структурного метода опорных векторов. Пусть дана обучающая выборка изображений, заданная расширенными графами и признаками, с верными разметками $\{X_i, \hat{T}_i\}_{i=1}^N$. Веса определяются как решение следующей оптимизационной задачи:

$$\frac{1}{2} \|W\|^2 + C \sum_{i=1}^N \xi_i \rightarrow \min_{W, \xi \geq 0}; \quad (3)$$

$$-E(X_i, T_i, W) \leq -E(X_i, \hat{T}_i, W) + \Delta(T_i, \hat{T}_i) - \xi_i, \forall i \forall \hat{T}_i. \quad (4)$$

Здесь C — структурный параметр алгоритма, определяющий силу регуляризации. Расстояние между истинной разметкой T и произвольной разметкой \hat{T} вычисляется по формуле

$$\Delta(T, \hat{T}) = \frac{\sum_i [t_i = 1 \& \hat{t}_i = 0]}{\sum_i [t_i = 0]} + \frac{\sum_i [t_i = 0 \& \hat{t}_i = 1]}{\sum_i [t_i = 1]}.$$

Первая дробь здесь задает долю ложноположительно распознанных, вторая — долю ложноотрицательно распознанных мембран. Ограничения (4) выполняются в том случае, если энергия принимает наименьшие значения на верной разметке, причем чем дальше разметка от верной, тем большие значения должна принимать функция энергии.

Задача (3)–(4) содержит экспоненциальное по числу переменных \hat{t}_i количество ограничений, поэтому используется специальный метод оптимизации на основе отсекающей гиперплоскости [2]. Он

заключается в приближении политопа ограничений, задаваемых ограничениями (4), более простым политопом, который уточняется итеративно. На каждой итерации добавляется наиболее нарушаемое при текущих весах ограничение, после чего веса пересчитываются с учетом уточненного множества ограничений. Процесс выполняется до сходимости. Поиск наиболее нарушаемого ограничения осуществляется при помощи схемы Гиббса по ненормированному распределению:

$$\tilde{p}(\hat{T}) = \exp(-E(X, \hat{T}, W) + \Delta(T, \hat{T})). \quad (5)$$

Поскольку функция расстояния $\Delta(T, \hat{T})$ может быть разложена в сумму по значениям отдельных переменных, процедура вывода (2) может быть применена с минимальными изменениями. Мы экспериментально установили, что более точные веса находятся, если при поиске наиболее нарушаемых ограничений в качестве начального приближения использовать истинную разметку (она известна для обучающей выборки). Эту эвристику можно обосновать тем наблюдением, что максимум (5) часто достигается для разметок, близких к T , поэтому такие локальные оптимумы предпочтительнее.

Извлечение признаков

Аппроксимация мембраны. Мы делаем предположение о том, что истинную мембрану можно начертить внутри квадрата, построенного на диагонали между двумя узлами на изображении. С помощью аффинного преобразования можно перейти к квадратной матрице яркостей, в которой нужно начертить линию из левого верхнего угла в правый нижний. Все дальнейшие построения мы делаем не выходя за рамки этой матрицы.

Мы предлагаем три варианта аппроксимации мембраны. Каждый из указанных ниже способов дает приемлемое приближение реальных мембран. На рис. 3 представлены примеры аппроксимации истинной и ложной мембран.

1. Диагональ матрицы.
2. Дуга окружности, полностью лежащая внутри квадрата и проходящая через его углы, обладающая максимальной средней яркостью пикселей.
3. Путь вниз-вправо с максимальной средней яркостью пикселей; может быть найден с помощью динамического программирования.

Унарные признаки. Имея аппроксимацию мембраны в виде кривой из пикселей, мы извлекали признаки x_i : длина кривой; суммарная яркость пикселей; число пиков яркости, максимальный пик; число вариантов построения кривой с помощью динамического программирования, число переходов вниз-вправо, максимальная длина прямого участка

Таблица 1. Точность, полнота и F-мера на тестовой выборке для базового метода (логистическая регрессия) и трех вариантов предложенного метода (с использованием различного подмножества членов (1))

метод	точн.	полн.	F1
Логистическая регрессия	0,82	0,45	0,58
SSVM (мембраны)	0,61	0,48	0,53
SSVM (мембраны, пучки)	0,76	0,62	0,68
SSVM (все признаки)	0,87	0,75	0,80

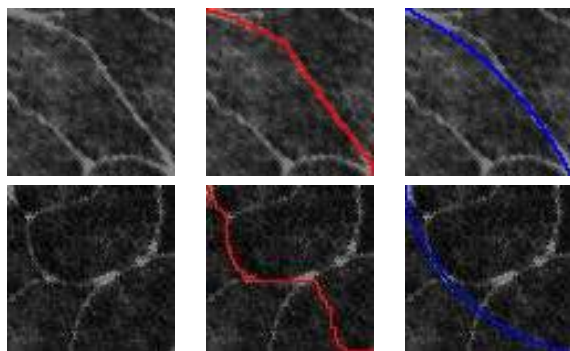


Рис. 3. Примеры аппроксимации мембраны. Синим цветом изображена круговая дуга, красным — динамическое программирование. Сверху аппроксимировалась истинная мембрана, снизу — ложная

в динамическом программировании, среднее и дисперсия длин прямых участков.

Как правило, для истинной мембраны различные приближения похожи друг на друга, так что имеет смысл добавить в список признаков ошибку между разными аппроксимациями. Мы использовали среднее, максимум и дисперсию по выборкам длин проекций точек каждой приближенной кривой на другую.

Чтобы учесть нелинейную зависимость от признаков, используется непараметрическая оценка плотностей $p(x_i | t_i)$, так что вместо исходных признаков мембран x_i используются гистограммы

$$p(t_i = 1 | x_i) = \frac{p(x_i | t_i = 1)}{p(x_i | t_i = 1) + p(x_i | t_i = 0)}.$$

Признаки потенциалов высокого порядка. Исходными признаками для пучков являются степень узла, минимальный и максимальный угол между мембранами. Для граней планарного графа таковыми являются площадь и число ребер. Вместо исходных признаков мы также переходим к их вероятностям, которые вычислялись в виде гистограмм по истинному графу G .

Эксперименты

Результатом работы алгоритма является список пар узлов, соединенных мембраной. Для выделения клеток на изображении, узлы из списка соеди-

няются кривыми максимальной яркости, как описано выше. Клетки выделяются как связанные области, ограниченные мембранами. Для исключения заведомо некорректно распознанных клеток, из результатов выбрасываются связанные области слишком большой или слишком маленькой площади.

Специалист задает набор истинных клеточных разметок $S = \{S_i\}$, с которым сравнивается полученный алгоритмом набор $\hat{S} = \{\hat{S}_j\}$. Мы говорим, что клетки S_i и \hat{S}_j похожи, если

$$\text{sim}_w(S_i, \hat{S}_j) = [S_i \in \text{dil}(\hat{S}_j, l) \& \hat{S}_j \in \text{dil}(S_i, l)],$$

где $\text{dil}(x, l)$ — морфологическое расширение области x на l пикселей. Параметр l выбирается вручную, пропорционально средней толщине мембраны, в данной статье $l = 10$.

С помощью функции схожести определяется число правильно распознанных клеток, и вычисляются точность $(\sum_{ij} \text{sim}_l(S_i, \hat{S}_j) / |\hat{S}|)$ и полнота $(\sum_{ij} \text{sim}_l(S_i, \hat{S}_j) / |S|)$. В качестве интегрального показателя используется F-мера — среднее гармоническое точности и полноты.

Простейшим подходом к разделению мембран на истинные и ложные является построение классификатора в предположении о независимости мембран. Для построения классификатора была использована регуляризованная логистическая регрессия [3] по признакам мембран. Параметр регуляризации λ и порог τ подбирались с помощью скользящего контроля по двумерной сетке.

Эксперименты проводились на трех размеченных специалистами снимках. Два изображения использовались при обучении, одна — для контроля. Результаты приведены в таблице 1.

Выводы

Предложенный нами алгоритм позволяет распознавать клетки с F-мерой 80%. Однако до сих пор мы рассматривали ситуацию, когда узлы задавались специалистом. Дальнейшим направлением работы является отказ от фиксации узлов, для чего планируется ввести в графическую модель дополнительные переменные для узлов.

Литература

- [1] Geman S., Geman D. Stochastic relaxation, gibbs distributions, and the bayesian restoration of images // IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1984. — Vol. 6, No. 6. — Pp. 721–741.
- [2] Joachims T., Finley T., Yu Ch.-N. J. Cutting-plane training of structural SVMs // Machine Learning. — 2009. — Vol. 77, No. 1. — Pp. 27–59.
- [3] Hosmer D. W., Lemeshow S. Applied Logistic Regression. — 2nd ed. — Wiley, 2000. ISBN 0-471-35632-8.