

文章编号 1004 924X(2001)03 0212-04

# 基于奇值分解的三维光学切片 显微图像恢复算法研究

李睿凡<sup>1</sup>, 郭学彬<sup>1</sup>, 瞿安连<sup>2</sup>

(1. 华中科技大学电子与信息工程系, 湖北武汉 430074

2. 华中科技大学生物物理与生物化学研究所, 湖北武汉 430074)

摘要: 阐述了光学切片显微技术的基本原理, 分析了显微镜光学系统点扩展函数循环矩阵的奇异性造成荧光图像恢复质量大大降低所导致的病态问题, 应用降质模糊矩阵的奇值分解方法, 挑选出较大特征值, 并将空域问题的求解通过傅立叶变换转到频率域, 使计算的复杂度降低, 最终得到较为理想的复原图像。

关键词: 图像恢复; 光学切片显微术; 奇值分解; 傅立叶变换

中图分类号: TP391 文献标识码: A

## 1 引言

由于光电技术、信息技术的发展, 以及生物技术自身的推动作用, 三维荧光显微术已经成为分子生物学和细胞生物学研究中的有力工具<sup>[1]</sup>。三维光学切片显微技术<sup>[2]</sup>以图像恢复处理技术为核心。图像处理的质量和速度是评价恢复算法非常重要的两个方面。目前, 基于统计成像模型的处理方法<sup>[3]</sup>为人们所关注。这类方法的优势在于处理结果的图像具有较高的清晰度, 但由于它们大多采用迭代、递归算法求解, 使得计算量惊人, 不能满足显微成像的实时观察。最近领域滤波法虽然快速, 但使用记录数据的信息量太少, 恢复图像的质量不能令人满意。我们从图像处理的实时性和准确性出发, 将矩阵的奇值分解(SVD)方法<sup>[4]</sup>应用于荧光显微图像恢复, 在一定程度上能够满足图像处理的实时性和准确性的要求。

## 2 背景

### 2.1 三维光学切片成像原理

对于具有厚度为  $t$  的三维样本  $o(x, y, z)$ , 我们将它抽象成在  $z$  轴方向(光轴方向)共有  $K$  幅厚度为  $\Delta z$  的薄片, 光学成像系统的三维点扩展函数为  $s(x, y, z)$ 。当显微镜聚焦在第  $j$  层平面时,

它在第  $k$  层平面的点扩展函数为  $s(x, y, z_d)$ , 这里  $z_d = z_k - j \Delta z$ ,  $s(x, y, z_d)$  即为散焦二维点扩展函数。那么, 当显微镜焦平面在第  $k$  层位置, 所成的二维图像表示为:

$$i_k(x, y) = \sum_{j=0}^{k-1} [o_j(x, y) * s_{k-j}(x, y)] + n(x, y) \quad (1)$$

其中,  $o_j(x, y)$  表示样本的第  $j$  层切片, 符号  $*$  为卷积运算符,  $n(x, y)$  为系统噪声模型。从方程(1)很容易看出, 在三维荧光显微成像中, 通过光学切片方法获取的每一幅二维图像都包含焦平面内和焦平面外的光成分, 焦平面外的光成分对所成图像造成了干扰模糊, 使得所成图像难以识别, 同时, 光轴方向的图像分辨率被削弱。

在假定成像系统为线性的条件下, 上述关于光学切片的基本原理可以表示为三维卷积的形式:

$$i(x, y, z) = O(x, y, z) * s(x, y, z) + n(x, y, z) \quad (2)$$

通过列向量堆叠的方法可以将方程(2)表示矩阵形式:

$$g = Sf + n \quad (3)$$

这里我们假定  $o$  和  $i$  都为  $M \times M \times K$  维,  $g, f, n$  分别为  $i, o, n$  的列堆叠向量,  $S$  为点扩展函数  $s(x, y, z)$  对应的  $MMK \times MMK$  维的分块循环矩阵。

## 2.2 求解中的病态问题

现在, 我们感兴趣的是在已知三维成像数据  $g$  和三维点扩展函数  $S$  的情况下, 确定  $f$  的估计。假定  $S$  可逆,  $n$  是均值为零且具有协方差矩阵  $K$  的高斯噪声, 那么,  $f$  的最小线性平方估计<sup>[5]</sup>为:

$$f = (S^H K^{-1} S)^{-1} S^H K^{-1} g \quad (4)$$

其中,  $S^H$  为  $S$  的共轭转置。进一步, 我们假定噪声为不相关高斯白噪声, 那么,  $K = \sigma^2 I$ ,  $\sigma^2 \geq 0$ ,  $I$  为单位矩阵。(4)式可以简化为:

$$f = (S^H S)^{-1} S^H g \quad (5)$$

应该注意到  $f$  与  $\sigma$  无关。这一估计的方差为:

$$E\{\|f - f^2\|\} = Tr[(S^H K^{-1} S)^{-1}] \quad (6)$$

其中,  $Tr[\cdot]$  为矩阵求迹算子。由于  $E\{f - f^2\} = 0$ , 那么,  $f$  对的估计  $f$  是无偏的。在白噪声的情况下, 上述表达式简化为:

$$\text{var}(f) = \sigma^2 Tr[(S^H S)^{-1}] \quad (7)$$

对于矩阵  $S^H S$ , 如果它的秩为  $m$ , 那么,  $S^H S$  就有  $m$  个正特征值,  $\lambda_0 \geq \dots \geq \lambda_{m-1}$ , 相应地, 矩阵  $(S^H S)^{-1}$  的特征值为  $\lambda_0^{-1} \leq \dots \leq \lambda_{m-1}^{-1}$ 。上式可以表达为:

$$\text{var}(f) = \sigma^2 \sum_{k=0}^{m-1} \lambda_k^{-1}, \lambda_k \neq 0 \quad (8)$$

从上式可以看出, 对于  $\lambda_k < 1$ , 会产生很大的方差。而在实际的光学显微成像系统中, 点扩展函数含有大量的远小于 1 的特征值, 无论噪声方差  $\sigma^2$  如何小, 方差  $\text{var}(f)$  将会趋于无穷大。总之, 点扩展函数小特征值的存在是导致线性平方求解产生病态的原因。

## 3 奇值分解法

### 3.1 估计器的建立

设  $S^H S$  为  $n \times n$  的方阵, 具有  $m$  个正特征值, 对这  $m$  个特征值排序, 即得,  $\lambda_0 \geq \dots \geq \lambda_{m-1} > \lambda_m = \dots = \lambda_{n-1} = 0$ ,  $S$  的特征值为  $\mu$ 。显然,  $\lambda_k = |\mu_k|^2$ , 它们对应了  $n$  个相互正交的单位特征向量  $q^{(0)}, \dots, q^{(m)}, q^{(m+1)}, \dots, q^{(n-1)}$ , 如果取其中  $k$  个较大特征值为一组, 剩余  $m-k$  个较小特征值为另一组, 最后将零特征值归为一组, 则可以令:

$$V = (q^{(0)}, \dots, q^{(k-1)}, q^{(k)}, \dots, q^{(m-1)}, q^{(m)}, \dots, q^{(n-1)}) = (V_1, V_2, V_3) \quad (9)$$

由于  $S^H S$  为半正定的埃尔米特矩阵, 它可以酉对角化, 即:

$$V^H S^H S V = \begin{pmatrix} \Delta_1^2 & 0 & 0 \\ 0 & \Delta_2^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (10)$$

其中,  $\Delta_1 = \text{diag}(\mu_0, \dots, \mu_{k-1})$ ,  $\Delta_2 = \text{diag}(\mu_k, \dots, \mu_{m-1})$ , 将它们代入(10)可得到:

$$\begin{pmatrix} V_1^H \\ V_2^H \\ V_3^H \end{pmatrix} S^H S (V_1 V_2 V_3) = \begin{pmatrix} \Delta_1^2 & 0 & 0 \\ 0 & \Delta_2^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (11)$$

比较等式的两边, 得到:

$$V_1^H S^H S V_1 = \Delta_1^2 \quad (12. a)$$

$$V_2^H S^H S V_2 = \Delta_2^2 \quad (12. b)$$

$$V_3^H S^H S V_3 = 0 \quad (12. c)$$

于是,  $\Delta_1^{-1} V_1^H S^H S V_1 \Delta_1^{-1} = I_k$ ,  $\Delta_2^{-1} V_2^H S^H S V_2 \Delta_2^{-1} = I_{m-k}$ ; 令  $U_1 = S V_1 \Delta_1^{-1}$ , 则上式变为  $U_1^H U_1 = I_k$ , 同理, 可得  $U_2^H U_2 = I_{m-k}$ ,  $U_1$  和  $U_2$  的列向量都为正交向量, 通过补充列向量使得  $U = (U_1 U_2 U_3)$  为酉矩阵, 于是

$$U^H S V = \begin{pmatrix} U_1^H \\ U_2^H \\ U_3^H \end{pmatrix} S (V_1 V_2 V_3) \quad (13)$$

将它展开, 然后利用酉矩阵  $U$  的性质, 可以得到

$$U^H S V = \begin{pmatrix} \Delta_1 & 0 & 0 \\ 0 & \Delta_2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (14)$$

现在的问题归结为在选定特征值所对应的特征空间上寻找一个向量  $f$ , 使得  $\|g - S f\|_2$  达到最小。我们设  $z = V^H f$ ,  $c = U^H g$ , 其中,  $z = (z_1, z_2, z_3)^T$ ,  $c = (c_1, c_2, c_3)^T$ ,  $z_1, c_1 \in E^k$ ,  $z_2, c_2 \in E^{m-k}$ ; 那么,

$$\begin{aligned} \|g - S f\|_2^2 &= \|U^H (g - S f)\|_2^2 = \\ &= \|U^H g - U^H S V^H f\|_2^2 = \\ &= \left\| c - \begin{pmatrix} \Delta_1 & 0 & 0 \\ 0 & \Delta_2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} z \right\|_2^2 = \left\| \begin{pmatrix} c_1 - \Delta_1 z_1 \\ c_2 - \Delta_2 z_2 \\ c_3 \end{pmatrix} \right\|_2^2 = \\ &= \|c_1 - \Delta_1 z_1\|_2^2 + \|c_2 - \Delta_2 z_2\|_2^2 + \|c_3\|_2^2 \geq \|c_3\|_2^2 \quad (15) \end{aligned}$$

取  $z_1 = \Delta_1^{-1} c_1$ ,  $z_2 = \Delta_2^{-1} c_2$  时, 方差将达到下界。

同时, 对于  $f = Vz = \begin{pmatrix} \Delta_1^{-1} c_1 \\ \Delta_2^{-1} c_2 \\ z_3 \end{pmatrix}$ ,  $\forall z_3 \in E^{m-k}$ ,

$\forall z_3 \in E^{n-m}$ , 使得  $f$  达到极小值。

显然, 有:

$$f = V \begin{pmatrix} \Delta_1^{-1} c_1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} V \text{diag}(\Delta_1^{-1}, 0, 0) U^T g \quad (16)$$

它是  $f$  在空间  $E^k$  上的最佳估计。

### 3.2 估计器的统计特性

这一估计的偏差, 方差, 均方误差分别为:

$$\text{bias}_k(f_k) = V \Delta_2^{-1} U^H g \quad (17)$$

$$\text{var}_k(f_k) = \sigma^2 \sum_{j=0}^{k-1} \lambda_j^{-1} \quad (18)$$

$$\text{MSE}_k = \sigma^2 \sum_{j=0}^{k-1} \lambda_j^{-1} + \text{bias}_k(f_k) \times \text{bias}_k(f_k) \quad (19)$$

显然, (16) 式与 (17) 式存在一个折衷的问题。当

选取的特征值数目增加时估计偏差减小, 而噪声方差增大。反之亦然。而 (18) 为我们选择合理的特征值数目提供了理论依据。

### 3.3 算法实现

由于  $S$  被离散傅立叶变换的矢量对角化, 那么, 它的特征值可以通过对  $s(x, y, z)$  做傅立叶变换计算出来。相应的, 也就得到了  $S^H S$  的特征值  $\lambda = |s|^2$ 。这样, 就可以产生一个特征值的排队序列。如果给定方差, 我们就可以根据 (17) 确定选取的  $k$  个特征值及其所对应的特征向量。这样, 通过两次傅立叶变换我们就得到了复原图像。计算的复杂度是三维快速傅立叶变换的计算复杂度。

## 4 三维切片图像恢复实例

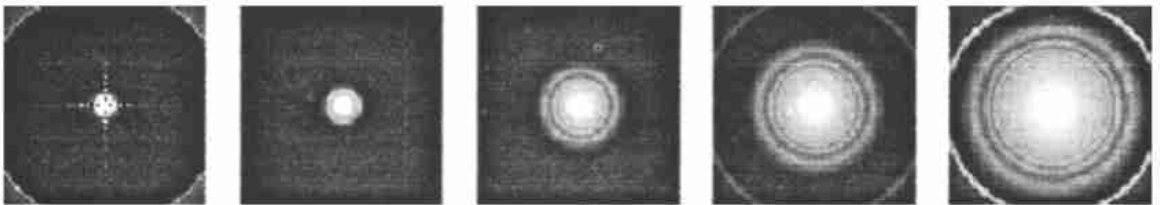


Fig. 1 2-D images (X-Y direction) of point spread function of the wide field microscope

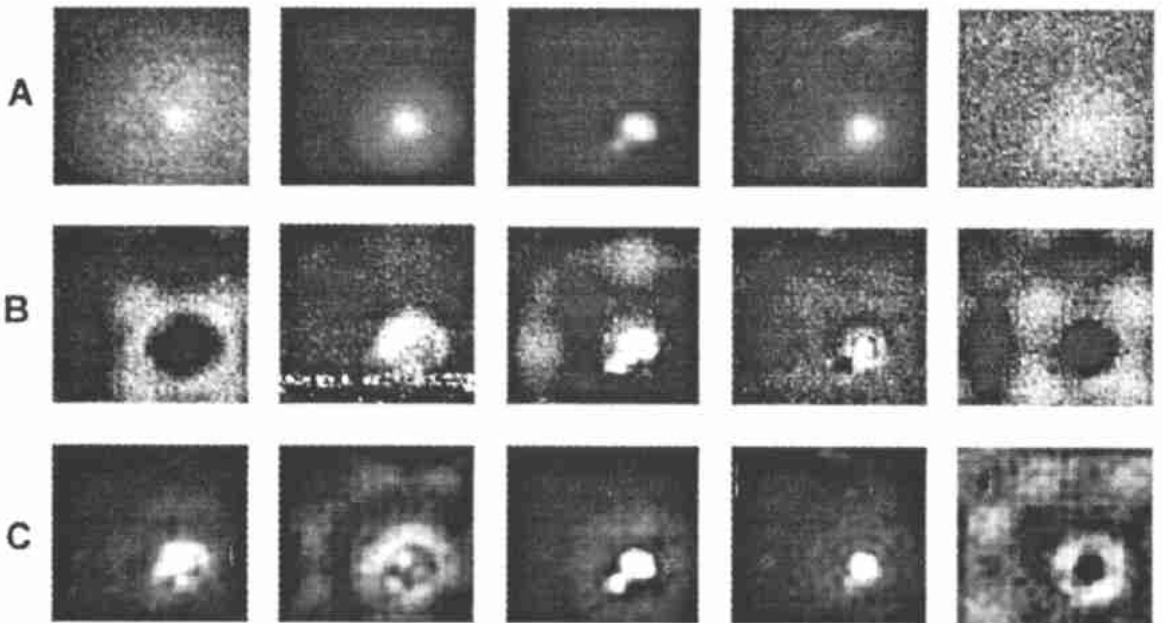


Fig. 2 Image restoration examples based on the SVD method. (A): original image data of the wide-field microscope; (B) and (C): corresponding reconstruction images by the SVD method. In group B, the evident amplified noise from too many selected eigenvalues. In group C, images achieved at the proper selected eigenvalue number.

我们对单个植物网状中柱的铁饼形细胞 (*Dictyostelium discoïdium*) 的三维宽场荧光成像数据进行了处理。记录数据来源于 (<http://www.ibc.wustl.edu/bcl/xcosm/xcosm.html>), 并且具有与显微镜点扩展函数相同的维数 ( $64 \times 64 \times 128$ ), 如图 1。试验环境为 AMD-K7-750MHzCPU, 内存为 256M。

从图 2 中我们可以看出, 记录图像受焦外荧光的影响而变得模糊; 奇值分解的调整算法可以去除焦外光的影响, 提高图像的对比度和细节信息。另外, 图中 C 组图像具有更好的平滑性, 而 B 组图像的噪声过大。这表明了特征值数目的合理选取可以在荧光图像恢复中起到抑制噪声的作用。

#### 参考文献:

- [1] Agard D A, Hiraoka Y, Shaw P, et al. Fluorescence microscopy in three dimensions[J]. *Methods Cell Biol*, 1989, 30: 353-377.
- [2] Castleman K R. Digital image processing[M]. 北京: 清华大学出版社, 1998.
- [3] McNally J G, Karpova T, Cooper J, et al. Three dimensional imaging by deconvolution microscopy[J]. *Methods*, 1999, 19: 373-385.
- [4] 蒋正新. 矩阵理论及其应用[M]. 北京: 北京航空学院出版社, 1988.
- [5] Preza C, Miller M I, Thomas L J, et al. Regularized linear method for reconstruction of three dimensional microscopic objects from optical sections[J]. *J. Opt. Soc. Am*, 1992, A9: 219-228.

## Image restoration algorithms based on singular value decomposition of 3 D optical sectioning microscopy

LI Rui fan<sup>1</sup>, GUO Xue bin<sup>1</sup>, QU Arr lian<sup>2</sup>

(1. *Department of Electronics and Information Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China*)

(2. *Institute of Biophysics and Biochemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China*)

**Abstract:** The paper discusses the basic theory of optical sectioning microscopy, and also analyzes the ill-posed problem caused by the degradation in fluorescence images resulting from the singularity of point spread function circular matrix of the microscope system. By applying the singular value decomposition, the bigger eigenvalues are selected and the ill-posed problem is solved. With the fast Fourier transform, this problem is transformed from space to frequency-domain, which simplifies the computation process. Finally, a good result is achieved.

**Key words:** image restoration; optical sectioning microscopy; singular value decomposition; Fourier transform

作者简介: 李睿凡(1975-), 男, 河北省保定市人, 硕士生, 1998年7月毕业于华中理工大学自动控制工程系, 现就读于华中科技大学电子与信息工程系。现主要从事信号重建与图像恢复技术的研究。E-mail: leejim@263.net

## 5 结 论

我们分析了线性最小平方求解产生病态的原因, 通过对点扩展函数分块循环矩阵的奇值分解, 调整较小特征值引起的线性最小平方解的不稳定, 对最小线性平方算法作了改进, 建立了一种稳定的、非迭代的快速反卷积荧光图像恢复算法, 在一定程度上能够满足荧光成像准确性和实时性的要求, 为细胞生物学中研究细胞分泌等生理活动提供了一种可选择的方案。本章的最后给出了一个生物标本图像恢复的实际例子, 保证了改进算法的正确性。