

# 血液抹片-紅血球雙凹碟盤細胞膜切割

王清林	王清德	周承諭	馮麒豪
國立勤益科技大學 資訊管理系 clwang@ncut.edu.tw	國立勤益科技大學 資訊管理系 ctwang@ncut.edu.tw	國立勤益科技大學 資訊管理系 s39532023@student .ncut.edu.tw	國立勤益科技大學 資訊管理系 s39532010@student .ncut.edu.tw

## 摘要

在醫學診療上，可以利用血液抹片中紅血球的外觀、大小以及顏色、紅血球內部雙凹碟盤的大小，來診斷貧血症疾病。而目前的臨床實驗只針對紅血球的顏色深淺、直徑大小做為貧血判斷的依據，本研究從血液抹片影像中自動切割出紅血球及內部雙凹碟盤，並且借由切割出的紅血球外觀、大小、顏色、紅血球內部雙凹碟盤的大小與紅血球雙凹碟盤對紅血球之面積比例來提供貧血症疾病診斷時有效的參考資訊，進而做更精準之判斷。實驗顯示，本方法除了能提供上述資訊外，尚可提供血球與雙凹碟盤數值的中位數、平均數、標準差等可利用的資訊給醫師從不同領域為著眼點來判斷疾病。

**關鍵詞：**紅血球切割、色階轉換、影像封閉、影像擴張、影像切割。

## Abstract

In the medical clinic, you can use the appearance include size, shape, color and the double-concave dish size of red blood cells in the blood smear to diagnose the disease anemia. However, the present clinical trial only for the color shades of red blood cells, the size of diameter as judged based in anemia, the purpose of study is automatically cutting out of red blood cells and internal double-concave dish from the blood smear images, and cutting out of red blood cells' appearance to the double-concave dish of red blood cells' percentage, provide diagnostic validity of anemia' reference information, further make more accurate judgments. Experiments show that the method not only to provide the above information, but also provide the red blood cells and double-concave dish's median, average, standard deviation of data available to

physicians from different areas of focus to determine the disease.

**Keywords:** Red blood cells cutting, color gamut transformation, image closure, image expansion, image cut.

## 1. 緒論

紅血球(Erythrocytes; Red Blood Cell; RBC) [1]的體積很小(直徑約  $8\mu\text{m}$ ，厚度不超過  $2\mu\text{m}$ )呈雙凹碟狀，但可提供很大的表面積，使氧氣與二氧化碳等附著，並可彈性變形通過較小之微血管，通達全身各周邊組織。這些特性使其有效地在血中攜帶氧及二氧化碳到組織中，透過細胞間液與細胞進行氣體交換。

一般貧血症可由紅血球細胞與該細胞雙凹碟盤之面積比率來診斷出；紅血球可分成大血球、正血球、小血球。從這三種不同血球的數量，能診斷出貧血症的類型。故從血液抹片影像中，切割出紅血球細胞與該細胞的雙凹碟盤，是有其醫學上的重要意義。此研究之目的，便是在從血液抹片影像中，切割出紅血球細胞與該細胞雙凹碟盤，並計算每顆紅血球細胞的直徑，以及紅血球之細胞與其雙凹碟盤碟盤膜之面積比率，以協助醫生進行貧血診斷之依據。

本研究針對紅血球細胞膜切割提出一標記法，其好處可以求出各物件之 X 軸與 Y 軸座標，以及單顆物件之個數，並且可將有連接的點設定為相同編號，以方便瞭解被標示為相同編號的點為同一物件。再以經過編號的物件進行相關影像處理與分析，並且根據處理與分析的結果與數據進行紅血球雙凹碟盤切割與計算紅血球直徑，並將結果記錄下來，再提供這些紀錄給醫師進行貧血疾病之病理判斷。

近代由於醫療技術大為增進，人明病越來越多，其中對人類先天與後天疾病極具影響力以貧血症為主。貧血症現期可以有方法做醫療。醫師在臨床上判定貧血症的方式主要有二種，一、利用奈米劑滴在血液抹片上，再透過

顯微鏡等儀器去計算紅血球直徑值；二、利用肉眼辨識紅血球顏色的深淺度以判定紅血球所含之血色素值是否正常，但依靠肉眼去判定血色素是一種經驗值，所以沒有可靠的數值依據。

目前在臨床實驗上尚未使用紅血球面積去做判定，而本研究動機與目的是希望在從抹片影像中自動切割出紅血球內部雙凹碟盤，並借由切出紅血球的外觀、大小以及形狀、雙凹碟盤的大小，進行紅血球直徑、紅血球面積、雙凹碟盤面積計算，並將數據提供給醫師進行臨床實驗，更精準的進行貧血症疾病診斷。

本論文共分為五章，首先在第一章針對血液概況及貧血症做簡介，並說明做此研究的動機及目的；在第二章中，針對過去學者在紅血球與相關疾病做探討。接著在第三章中，介紹研究提出的血液抹片-紅血球雙凹碟盤細胞膜切割技術方法，第四章針對研究議題詳列其實驗結果。最後第五章總結本研究的成果。

## 2. 相關工作

本節回顧此研究會用到的影像處理相關技術及知識，首先在 2.1 節介紹紅血球形態；接著在 2.2 節對貧血症做介紹；在 2.3 節對於灰階影像轉換二值影像做探討；而在最末 2.4 節會介紹本研究中使用到數學形態學理論之相關技術。

### 2.1 紅血球

紅血球生成素主要作用於骨髓，其會刺激 BFU-E (burst-forming unit erythroid) 及 CFU-E (colony-forming unit erythroid) 等後期紅血球前驅細胞(erythroid progenitor cells)增生及分化為帶核紅血球(normoblasts)，而帶核紅血球逐漸成熟時，其細胞核會漸漸變小，最後細胞核會被逐出消失時便成為成熟的紅血球[5]。

在肺中氧濃度較高，血紅素與氧結合而形成氧合血紅素(oxyhemoglobin)，經由循環輸送至全身組織；在組織中氧濃度較低，氧被釋放並擴散出紅血球，經細胞間液到達各細胞。同時細胞中新陳代謝產生的二氧化碳被釋出經擴散到紅血球，經由循環送至肺時，二氧化碳即被釋放呼出。

### 2.2 貧血

貧血是指血液中的紅血球細胞數目減少、血色素降低或血容積減少的狀態，故

當紅血球、血紅素或血容量減少到一定標準以下時就被定義為貧血[2]。

貧血種類由於原因不同而有很多不同的型態如下：

1. 缺鐵性貧血：由於缺鐵而無法產生足夠的血紅素。
2. 缺乏維生素 B<sub>12</sub>：因紅血球成熟不良而造成嚴重貧血。
3. 再生不良性貧血(aplastic anemia)：骨髓因放射性或毒性等受損，減低骨髓產生血球的能力而造成。
4. 溶血性貧血(hemolytic anemia)：因紅血球損壞過快，超過其補充速度而造成，可因紅血球缺陷(如鐮刀形血球)或毒素而發生。
5. 海洋性貧血(thalassemia；舊稱地中海型貧血)：由於製造血紅素基因異常而產生，具遺傳性。
6. 失血性貧血：由於大量失血造成，其紅血球特性並無異常，只是數量不足。

### 2.3 灰階影像轉換成二值影像

二值影像是在灰階影像設立門檻值，並將高於門檻值的像素值設為255(白色)，低於門檻值的像素值設為0(黑色)。門檻值的選擇方法為先求出影像灰階分佈統計圖(如圖2-1所示)，而適當的門檻值將影像中的物件分離出來。

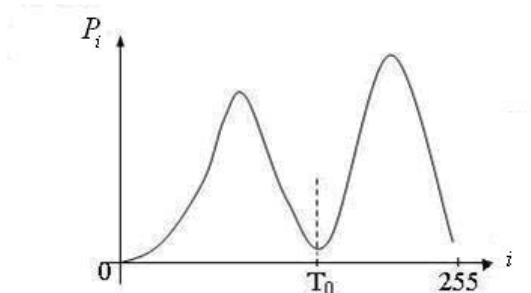


圖 2-1 灰階分佈統計圖

本研究採用Otsu 二值化技術[6]，利用統計學原理找出最佳門檻值。設各灰階值的像素個數分別為  $n_0 \dots n_{255}$  (其中  $n_0$  即灰階值為0的像素個數、 $n_1$  即灰階值為1 的像素個數，以此類推)，所有像素總和為N，灰階值i在該灰階影像中發生的機率套入的公式如下：

$$P_i = \frac{n_i}{N} \quad \text{when } P \geq 0 \quad \text{and} \quad \sum_{i=0}^{255} P_i = 1$$

這邊我們定義兩個區域  $C_1$  以及  $C_2$ 。  $C_1$  區域中

任一像素的灰階值  $n_i$  必定滿足  $0 \leq i \leq T_0$ ；而  $C_2$  區域中任一像素的灰階值  $n_i$  必滿足  $T_0+1 \leq i \leq 255$ 。決定  $T_0$  使得  $C_1$  內的變異數 (Within-variance) 加上  $C_2$  內的變異數之和最小。此條件是為了使  $C_1$  與  $C_2$  之間的時間分到最大，使其有較佳的分割效果。每個區域所發生的機率及像素平均值分別為  $W_1$ 、 $W_2$  和  $\mu_1$ 、 $\mu_2$ ，公式如下：

$$W_1 = \sum_{i=0}^k P_i \quad W_2 = \sum_{i=k+1}^{255} P_i$$

$$\mu_1 = \sum_{i=0}^k \frac{iP_i}{W_1} \quad \mu_2 = \sum_{i=k+1}^{255} \frac{iP_i}{W_2}$$

區域變異數分別為：

$$\sigma_1^2 = \sum_{i=0}^k (i - \mu_1)^2 \frac{P_i}{W_1}$$

$$\sigma_2^2 = \sum_{i=k+1}^{255} (i - \mu_2)^2 \frac{P_i}{W_2}$$

區域變異數的加權總和為：

$$T_0 = \text{Min} \{ P_1 \sigma_1^2(k) + P_2 \sigma_2^2(k) \}$$

## 2.4 數學形態學

此節會介紹一種使用於進一步切割物件的方法，此方法是在運用於影像處理上經常使用到的技巧詞彙-形態學(morphology)。型態學(morphology)通常被表示於處理動植物之形態與結構的生物學分支。而應用於數位影像處理領域的型態學，由於會使用到許多有關數學的觀念，因此形態學的詞彙也常被稱之為數學形態學(mathematical morphology)，屬於非線性(non-linear)分析方法。

型態學基本的運算有以影像與平移形狀[結構元素(structuring element)]的聯集(或交集)為定義之運算：膨脹(dilation)和侵蝕(erosion)，及結合前項：膨脹與侵蝕而延伸成的閉合(closing)與斷開(opening)，在本論文中運用到利用膨脹來擴大紅血球不完整的面積；利用斷開做切割紅血球之間輕微重疊處，所以在本論文只對膨脹和侵蝕做更進一步的介紹。

二值化影像的圖片，型態學將影像分為前景(foreground)與背景(background)，前景指的是標示為 1 的像素集合，背景指的是標示為 0 的像素集合。

膨脹(dilation)功能是為了要將二值化影像中的物件做「增大」或者「變厚」的處理，控制物件增大或變厚的方式與程度是使用一個結構元素。在此使用圖 2-2 說明如何使用結構元素去膨脹一個物件。圖 2-2(a)表示一張二值化影像的各像素值，圖 2-2(b)表示用於膨脹該物件的結構元素，我們使用的結構元素是三個像素長的對角線，對二值影像而言，結構元素是以 1 和 0 所構成的，如圖 2-2(b)，結構元素的原點在圖 2-2(b)中(黑粗框表示)。

膨脹是利用結構元素在影像上做對映，而在對映的過程中會查看二值影像前景的位置是否標示為 1。使用圖 2-2(c)說明如何使用圖 2-2(b)所表示之結構元素去膨脹圖 2-2(a)所表示的影像。在結構元素對映到像素  $\alpha$  時，由於 1 的位置(左黑框標示)可以與結構元素之原點重疊，因此可以利用結構元素對此重疊處進行膨脹，所以當像素  $\alpha$  附近的像素會從 0 變化為 1(淺灰色標示)；而當結構元素對映至像素  $\beta$  時，該位置(右黑框標示)並非為 0，以至於無法和結構元素重疊，而不會對像素  $\beta$  附近之像素點(深灰色標示)進行膨脹，所以像素  $\beta$  附近的像素點依舊為 0。圖 2-2(d)顯示結果影像中每一個標示為 1 的點，皆是在原始影像圖 2-2(a)中標示為 1 的像素值與結構元素重疊後之像素值。圖 2-3(a)所表達的影像去使用圖 2-3(b)表達的結構元素膨脹 5 次後的結果為圖 2-3(c)所表示，因為膨脹而變厚的部分如圖 2-3(d) 所示。膨脹運算以數學表示，令 A 藉由 B 進行膨脹表示為  $A \oplus B$ ，數學式定義如式 2-1：

$$A \oplus B = \{z | (\hat{B})_z \cap A \neq \phi\} \quad (\text{式 2-1})$$

其中  $\phi$  為空集合， $\hat{B}$  代表在二值影像中做對映，A 是原始圖形，B 是結構元素，

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

圖 2-2(a) 二值化影像的像數值

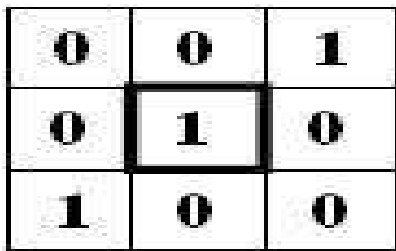


圖 2-2(b) 結構元素

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

圖 2-2(c) 進行膨脹影像之像素值

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	1	1	1	1	1	0
0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

圖 2-2(d) 膨脹後影像的像素值

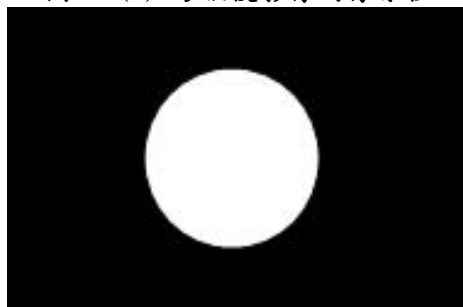


圖 2-3(a) 原始影像

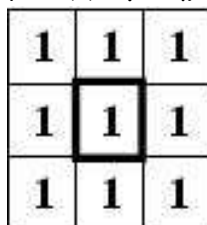


圖 2-3(b) 膨脹範例

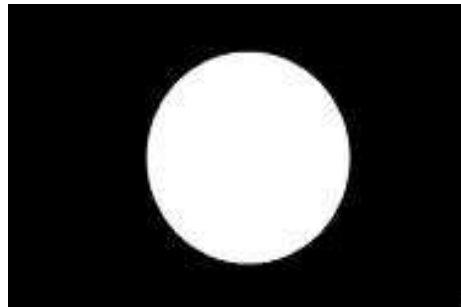


圖 2-3(c) 使用圖 2-3(b)之結構元素膨脹 5 次的結果

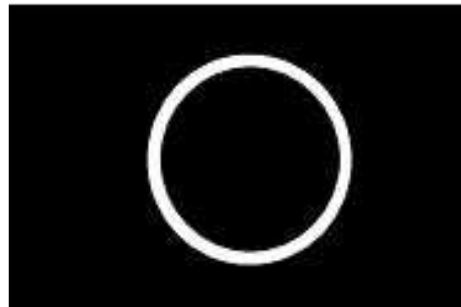


圖 2-3(d) 被膨脹後所增加的影像結果

侵蝕(erosion)的剛好與膨脹相反，是將二值化影像的物件做「收縮」或「變薄」。將物件收縮或變薄方式的程度是藉由一個結構元素(structuring element)控制著，在此使用圖 2-4 說明如何讓結構元素去侵蝕二值影像物件。圖 2-4(a)是二值化影像，圖 2-4(b)是用於侵蝕圖 2-4(a)之結構元素，結構元素的原點需要有清楚定義，在圖 2-4(b)中以黑色粗框標示出要平移的結構元素。

侵蝕的過程是讓結構元素在二值化影像中做平移，並且在平移的過程中查看影像前景中的那個位置可以完全符合結構元素的態樣，如圖 2-4(b)。在圖 2-4(c)中說明當結構元素平移到像素  $\alpha$  時，由於 1 的位置(左黑色粗標示)無法與結構元素重疊，所以像素  $\alpha$  會由 1 變成 0；而當結構元素平移到像素  $\beta$  時，由於 1 的位置(右黑粗框標示)可與結構元素重疊，所以像素  $\beta$  會依舊維持為 1。圖 2-4(d)則為侵蝕圖 2-4(a)後的結果，從此圖可以看出還留下 1 的位置，所以當結構元素平移到該像素位置時，可以與輸入影像標示 1 的像素重疊(也就是可和任何與圖 2-4(b)影像背景相同者做重疊)。將圖 2-5(a)所示的二值影像去使用圖 2-5(b)所表示

之結構元素進行侵蝕 5 次之後的結果如圖 2-5(c)，被侵蝕掉的部分顯示如圖 2-5(d)。在數學上，A 藉由 B 進行侵蝕時表示成  $A \ominus B$ ，定義為式 2-2：

$$A \ominus B = \{z \mid (B)_z \cap A^c \neq \phi\} \quad (式 2-2)$$

其中  $\phi$  為空集合，B 是結構元素。

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

圖 2-4(a) 二值化影像的像數值



圖 2-4(b) 膨脹運算

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

圖 2-4(c) 進行侵蝕影像之像素值

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

圖 2-4(d) 侵蝕後後影像的像素值

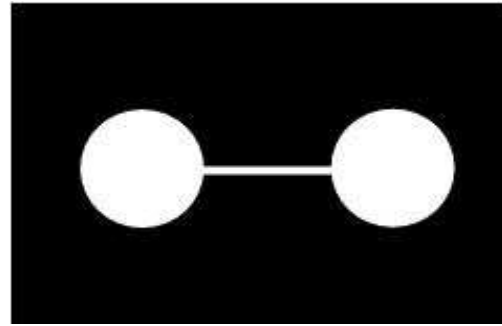


圖 2-5(a) 侵蝕範例

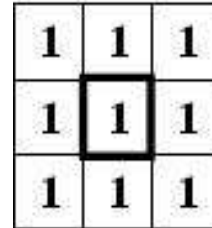


圖 2-5(b) 侵蝕範例

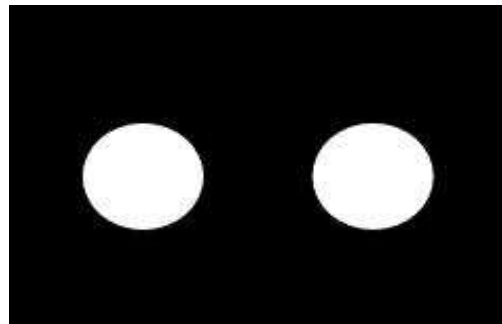


圖 2-5(c) 侵蝕範例

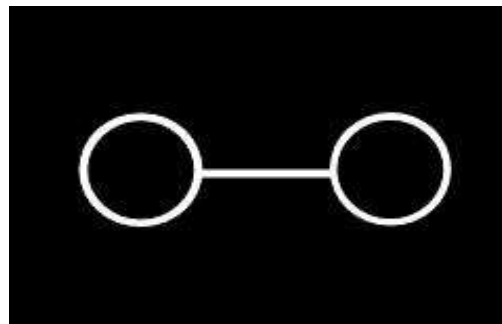


圖 2-5(d) 侵蝕範例

### 3. 血液抹片-紅血球雙凹碟盤細胞膜切割技術方法

由血液抹片影像中切割出紅血球及其內雙凹碟盤，並依據其外觀、顏色深淺、直徑大小、及雙凹碟盤對紅血球面積比例，提供醫生據以判定貧血，為本研究之目的，以下提出本研究方法。

由於處理需求原始影像大小為彩色(全彩)影像，在程式執行期間會將全彩圖形視為三維

陣列，以致程式在執行處理時因為讀取數據較多而費時，而血液抹片影像中多半隻為紅色值得深淺，所以將影像轉換為灰階影像並不會對實驗之效果有很大的影響。因此在程式執行前為加快處理速度，本方法先將全彩影像轉換為灰階影像，以利後續處理，本方法處理流程如圖 3-1，其先後步驟如下所述：

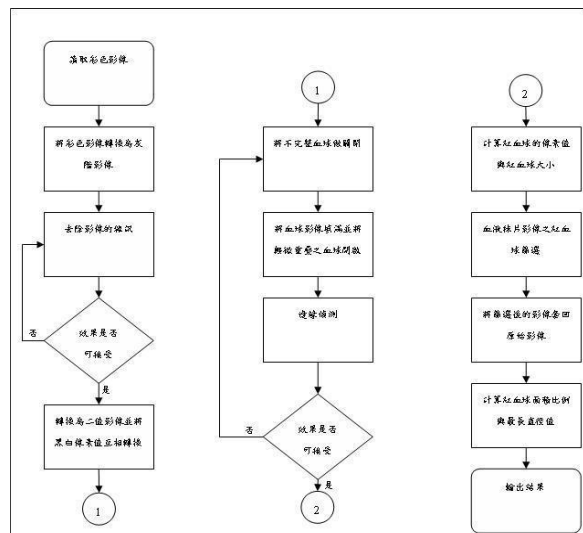
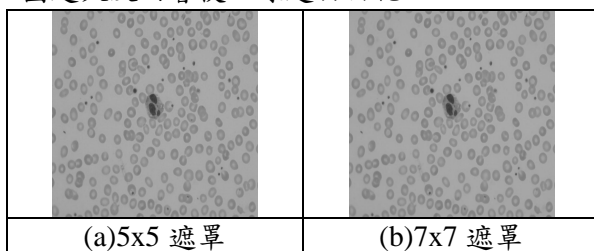


圖 3-1 研究步驟流程圖

### 3.1 轉換影像

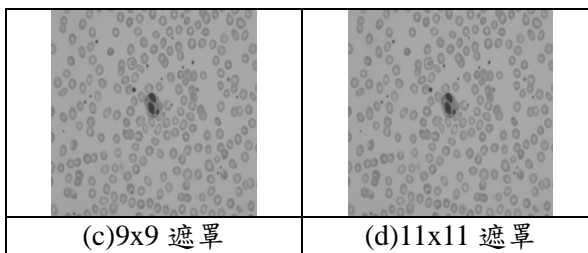
#### Step1. 去除雜訊

本研究先以取出矩陣數值將之排序，並利用中位數(median)的過濾器來進行雜訊去除，設法先將影像中物體面積較紅血球小的影像除去，因為比紅血球的面積可能是血小板或是散落且不屬於人體血液機能之物質，而這些物質將被視為影響紅血球的雜訊，將之去除可以使圖片更為明確的保留所要求的資訊。在使用中位元數做影像處理時，先設定一個 5x5 大小的二維陣列做為遮罩以進行去雜訊。爾後再分別把陣列範圍分別擴大到 11x11 進行處理，處理效果如圖 3-2。發現越大範圍的遮罩處理的訊效果都比基準值要好得多，但處理的遮罩範圍越大反而會使血球趨於白化。



(a)5x5 遮罩

(b)7x7 遮罩



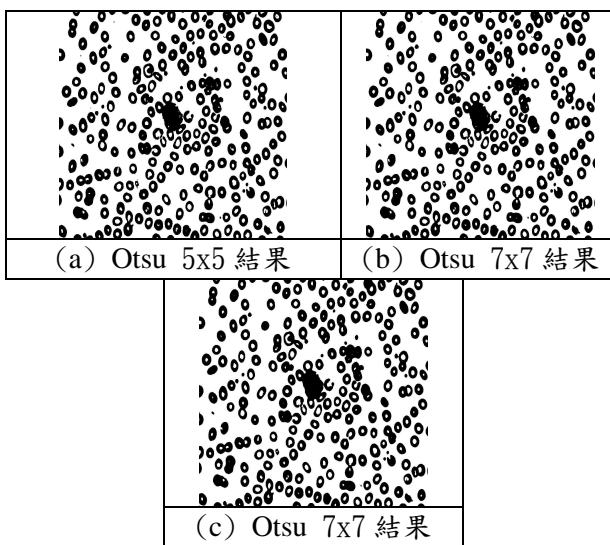
(c)9x9 遮罩

(d)11x11 遮罩

圖 3-2 以中位數去雜訊之圖形

#### Step2. 轉換二值影像

將去雜訊後的影像，使用 Otsu 的方法，進行影像門檻值之取得，門檻值運算是很重要的一項功能便是自背景中擷取物體，然後計算物體的大小或數量。如果門檻值數值太低，便可能縮小物體的大小或減少其數量。相對地，設定的數值太高，可能會留下多餘的背景。Otsu 方法是利用檢視影像的直方圖，將圖片針對每一個點都進行尋找門檻值的動作，爾後將切割出來的數值區分為兩個區塊，並分別計算兩區域的變異數總和，最後便尋找變異數總合之最小值，而此最小值，即為最佳的門檻值。當最佳門檻值出現後，既可把灰階影像轉換為二值影像，原理是將影像中所有灰階數值跟門檻值做比較，大於門檻值的數值將視為 1，小於臨界值的數值則視為 0。影像處理後即可得到二值影像，結果如圖 3-3。



(a) Otsu 5x5 結果

(b) Otsu 7x7 結果

(c) Otsu 7x7 結果

圖 3-3 Otsu 影像

Step3. 黑白數值互相轉換

將二值影像裡的 0 和 1 二種數值對換的原因，是為了方便使用者的觀看，更為凸顯血球的形狀以及位置，因此將此圖背景轉換為黑色，而血球轉換為白色。數值互相轉換後結果如圖 3-4。此圖中，不完整的紅血球的原因，有可能是因為數個紅血球之間會互相重疊(在彩色影像之下的效果)，也有可能是獨立血球本身的破裂，亦或是血球本身凹陷處剛好呈現於影像正上方。

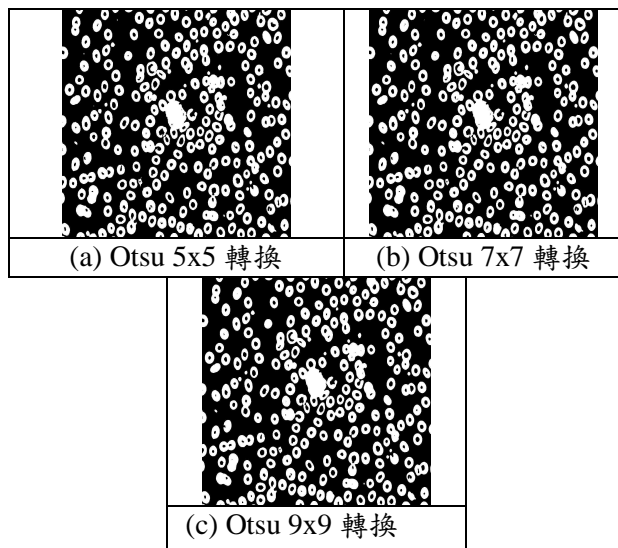


圖 3-4 黑與白數值互相轉換後的影像

3.2 影像型態處理

Step1. 將不完整的血球做關閉

使用膨脹(Dilation)連續三次，再進行侵蝕(Erosion)連續 3 次對影像中的紅血球相連之處做侵蝕以及利用膨脹來擴大紅血球的面積，藉以把不完整的紅血球做修補動作。進行完膨脹與侵蝕運算後的紅血球影像如圖 3-5。膨脹主要是以一個點像素值為 1 時將其為基準點，套上使用者設定之遮罩，如此一來便可以在二值影像中使物體「增大」或是「變厚」，此變厚的程度是由使用者設定之遮罩的態樣所控制。數學上，膨脹是以集合運算的方式來定義，原始圖 A 藉由結構元素 B 的膨脹標示為

$A \oplus B$ ，定義如式 3-1：

$$A \oplus B = \{z | (\hat{B})_z \cap A \neq \emptyset\} \quad (式 3-1)$$

侵蝕也是以一個點像素值為 1 時將其為基準點，套上使用者設定之遮罩，判斷是否與遮罩相符進行侵蝕，如此一來便可以將二值影像中的物件「收縮」或是「變薄」，就如膨脹一樣，收縮的方式和程度由使用者設定的遮罩態樣所控制。數學上侵蝕表示為原始圖 A 被結構元素 B 侵蝕標示為  $A \ominus B$ ，定義如式 3-2：

$$A \ominus B = \{z | (B)_z \cap A^c = \emptyset\} \quad (式 3-2)$$

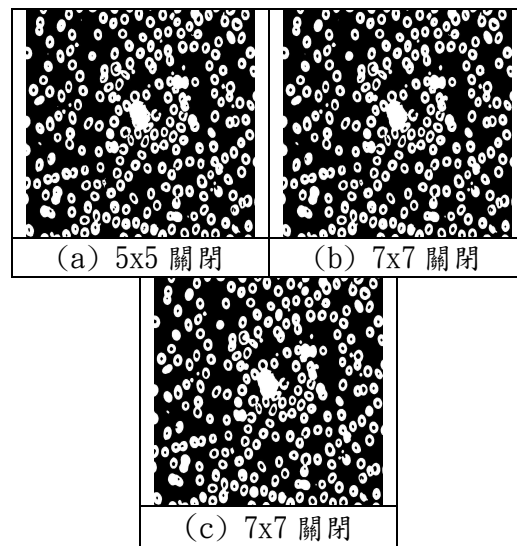


圖 3-5 將不完整血球影像做關閉的結果

Step2. 將血球影像填滿並將輕微重疊之血球開啟

為了要將紅血球的形狀保持完整所以接續使用的方法使紅血球變成橢圓形(血球的形狀)。首先針對紅血球進行填滿的動作，再將補齊後的紅血球影像，如圖 3-6，使用侵蝕連續三次，再進行膨脹連續 3 次，將已重疊或經過填補後而重疊的紅血球做開啟，或是將過小的物件清除，如圖 3-7，關閉與開啟分別是先對影像進行膨脹或先侵蝕效果則會不同。由於針對不同矩陣大小的影像進行到此步驟，遮罩大小為 5x5 的效果最為顯著，最後決定採用 5x5 遮罩為此次輸入結果之影像對紅血球做開啟。



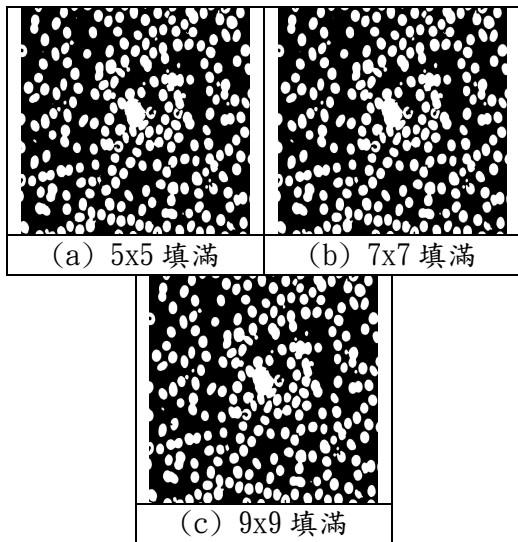


圖 3-6 將不完整的血球影像填滿

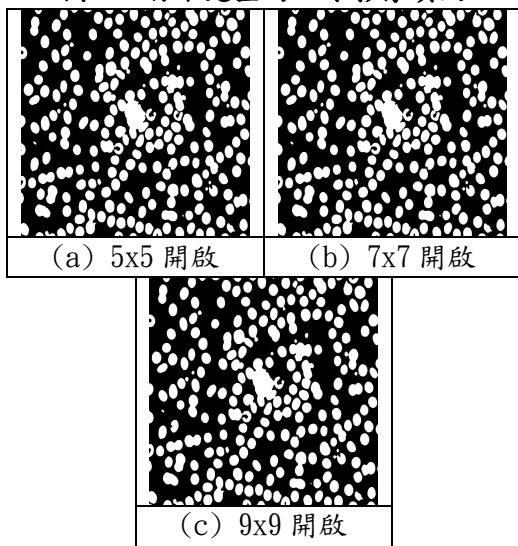


圖 3-7 將重疊血球影像開啟

Step3. 利用 Sobel 邊緣偵測將紅血球框出

使用 Sobel 邊緣偵測的方式針對 5x5 大小的紅血球影像進行畫框動作，並將畫框後之紅血球套回原圖，假如畫框後的紅血球比原圖的紅血球要還大則會重新對此紅血球進行侵蝕動作；反之如果畫框後的紅血球比原圖紅血球要來得小，則會進行膨脹動作。進行完畫框與套圖的影像如圖 3-8。

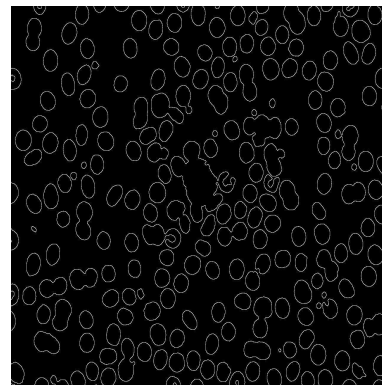
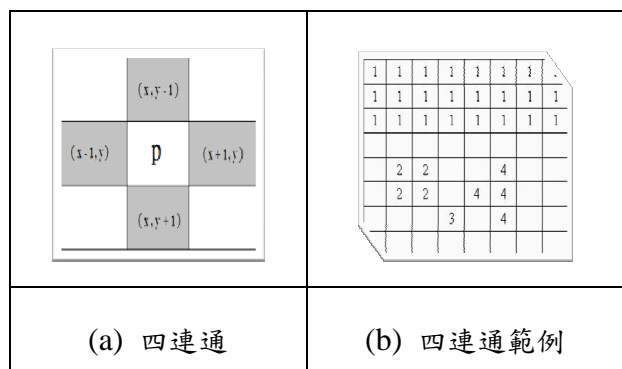


圖 3-8 邊緣偵測

### 3.3 紅血球篩選與踢除

Step1. 計算血球的像素值

先將影像進行標記動作，此方法主要是利用四連通(如圖 3-9(a))或是八連通(如圖 3-9(b))的方式，針對一點 P 點分別利用四連通與八連通進行判斷是否為同一物件，以四連通來說如果以 P 點為基準點，只要周圍(x,y-1)、(x-1,y)、(x+1,y)及(x,y+1)這些點像素值為 1 即標示為相同編號(如圖 3-9(b))。相對的，八連通也是以 P 點為基準點，只要周圍(x,y-1)、(x-1,y)、(x+1,y-1)、(x-1,y)、(x+1,y)、(x-1,y+1)、(x,y+1)及(x+1,y+1)這些點像素值為 1 即標示為相同編號(如圖 3-9(d))。如此一來，便可以將所有標示為相同之編號視為一物件，可以瞭解影像中總共有幾個物件，而物件中點的個數、每一點的座標值(x,y)也可以知道，這些參數值可以提供我們計算像素值、血球大小、面積比例及紅血球的最長直徑有很大的幫助。





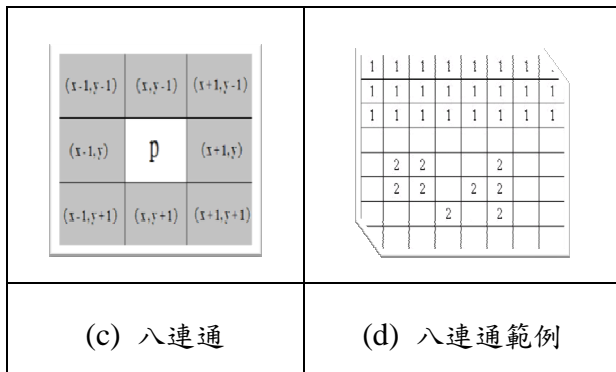


圖 3-9 標記連通圖

Step2. 計算血球大小

接著將二值影像一樣配合標記動作後進行計算其單一血球大小、全部血球大小、平均值與標準差。由於血液抹片影像中，紅血球占大部分，而紅血球大小決大多數會差不多大小，所以依此將整張影像物件之平均大小取正、負 1.5 個標準差，只要在標準差以內之物件我們做為保留，其他大於標準差的物件將被認定為過度重疊或是擠在一塊的物件，而將小於標準差的物件認定為血小板、過小的物件或是邊緣上不完整的血球，將之去除。

Step3. 血液抹片影像之紅血球篩選

計算像素值主要是利用白血球的像素值暗於紅血球像素值的特性，各以正、負數個標準差做實驗，其單顆平均值小於規定標準差則視為白血球會將之剔除，大於標準差的血球部份則保留不剔除，結果如圖 3-10(b)。再將計算血球大小後的數值，進行正、負數個標準差之實驗，只要落於標準差內的血球，都將視為紅血球並保存下來；落於標準差以外的血球則會被剔除，結果如圖 3-10(c)。

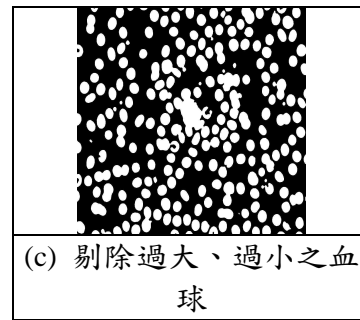
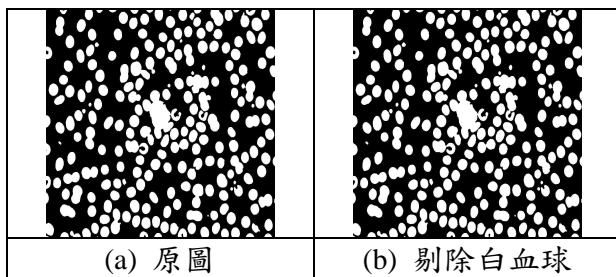


圖 3-10 血球篩選階段

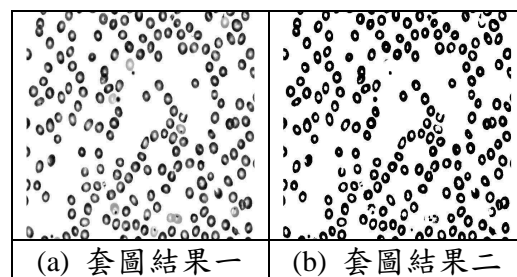
Step4. 將篩選後的影像套回原始影像

血球經過篩選後為可做為病理判定的血球物件，接著針對該影像再進行一次標記處理，重新對血球進行編碼。為了將所需之血球可以對應到原始影像中，我們將背景與前景顏色對換使背景像素值為 0 而將要套回原圖的物件轉為像素值 1，為了就是將其取代為原始影像中的物件，接著將有標記過的紅血球利用標記後每一點的(x,y)座標，從原圖上套過來，結果如圖 3-11(a)。此圖中最大的像素值不一定為 255 或是最小值不一定為 0，所以要將影像之像素值拉開到 0~255 之間，其數學表示方法為式 3-3：

$$P_i = \left( \frac{X_i - Min}{Max - Min} \right) * 255 \quad (式 3-3)$$

其中  $P_i$  代表為最後取得之像素值， $X_i$  代表原點像素值， $Max$  代表影像中最大像素值， $Min$  代表影像中最小像素值。

篩選後的結果如圖 3-11(b)。拉開後針對此圖進行 Otsu 運算，並且將黑白數值互相轉換，再進行一次使用中位數去除剩餘雜訊，結果如圖 3-11(c)。



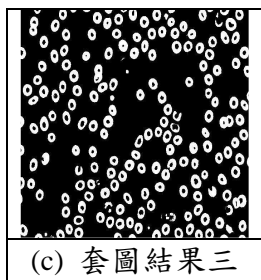


圖 3-11 套圖階段

### 3.4 紅血球之雙凹碟盤面積比例與最長直徑計算

Step1. 計算紅血球的面積比例

藉由上節 Step4 所求得之影像(圖 3-11(c))，與再做填滿的動作為一張影像圖示，分別將兩張圖都做標記(圖 3-12)，接著以填滿影像之影像圖示減去上節 Step4 所求得之影像(圖 3-11(c))所求得之影像即可求得其差值，此差值即為紅血球之雙凹碟盤面積。接著以此紅血球雙凹碟盤面積除上紅血球面積，即可求出雙凹碟盤對紅血球之比例。

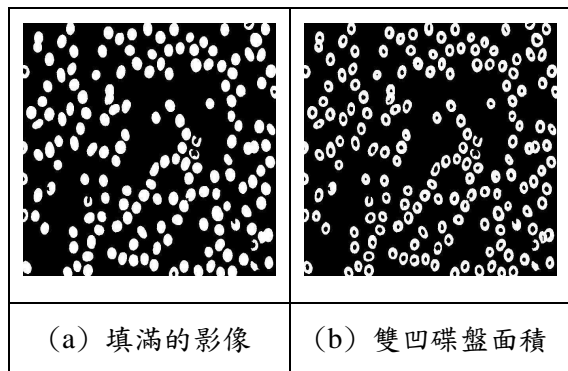


圖 3-12 標記欲計算紅血球的面積比例之影像

Step2. 求得紅血球的最長直徑值

標記過後的物件可以取得其座標值，接著針對每一物件中的每一個點分別與物件中其他點利用兩點間距離的公式如式 3-4：

$$D = \sqrt{(y_2 - y_1)^2 - (x_2 - x_1)^2} \quad (\text{式 3-4})$$

求出每個點之間的距離值，接著以 Max 函數求出每顆標記物件中之最大直徑距離，並將其視為該顆紅血球之最長直徑，最後所求得之直徑

值記錄於矩陣中。

## 4. 實驗結果與分析

本研究使用的電腦平台版本為 Intel(R) Core(TM)2 CPU 6420 @ 2.13GHz 2.13GHz，1.99GB RAM，系統版本為 Microsoft Windows XP Professional Version 2002 Service Pack 2，使用的工具為 Matlab6.5 與 MatlabR2008B。

實驗開始時的圖片為彩色影像，進行一開始操作時都因為彩色影片有 RGB 三種資料的數據較灰階的單一色彩來的多，但是經過詳細討論與資料取得，發現血液影像幾乎都為紅色數值的深淺，所以將之轉換為灰階影像後，對後續操作處理速度上的幫助可說是影響甚大。

進行對影像標記時，由於內建函式提供資料數據無法取得每一像素點的 x 軸座標與 y 軸座標，對後續針對單一物件的每一點做運算時會有問題，所以必須要利用標記後判別到每一物件中每個點後，利用矩陣紀錄 x 軸的座標與 y 軸的座標，對於而後的取得像素值、套圖及篩選等動作，有很大的幫助。

本研究之實驗針對紅血球細胞之最長直徑長度計算結果如圖 4-1；紅血球碟盤對紅血球細胞面積比例結果如圖 4-2。

物件	直徑長度	物件	直徑長度	物件	直徑長度	物件	直徑長度	物件	直徑長度	物件	直徑長度	物件	直徑長度	物件	直徑長度
1	27.203	26	27.459	51	23.854	76	27.785	101	25.298	126	27.459	151	27.893		
2	26.077	27	27.313	52	26.571	77	27.203	102	25.495	127	22.804	152	31.623		
3	26.173	28	26.401	53	43.012	78	26.077	103	29.12	128	25.554	153	25.807		
4	26.926	29	24.083	54	24.839	79	24.187	104	25.71	129	26.306	154	23.409		
5	28.018	30	25.495	55	29.155	80	30.887	105	25.495	130	25.08	155	27.659		
6	26.683	31	26.476	56	24.352	81	25.106	106	27.203	131	27.459	156	23.77		
7	23.537	32	30.806	57	26.627	82	25.08	107	21.633	132	20.396	157	26.926		
8	29.547	33	24.042	58	26.627	83	24.759	108	27.295	133	24.839	158	28.302		
9	42.755	34	25.71	59	28.443	84	27.203	109	24.739	134	27.295	159	25.632		
10	26.627	35	27.893	60	28.302	85	26.249	110	28.32	135	26.249	160	38.949		
11	29.732	36	23.77	61	26.926	86	26.249	111	25.239	136	27.893	161	25.632		
12	24.352	37	27.019	62	25.807	87	27.295	112	25.495	137	26.87	162	26.249		
13	26	38	27.659	63	25.239	88	27.203	113	26.077	138	22.561	163	26.907		
14	25.06	39	25.612	64	28.46	89	25.318	114	26.571	139	25	164	25.962		
15	27.893	40	22.204	65	24.187	90	25.495	115	26.833	140	24.739	165	26.173		
16	27.459	41	27.514	66	26.476	91	25.632	116	23.77	141	25.239	166	27.659		
17	32.757	42	31.828	67	25.71	92	27.459	117	26.42	142	23.195	167	26.401		
18	28.46	43	27.893	68	24.839	93	27.659	118	22.136	143	25.239	168	26.571		
19	21.633	44	22.472	69	25	94	25.08	119	22.361	144	24.515				
20	23.707	45	25.71	70	25	95	26.926	120	27.203	145	25.962				
21	29.833	46	23.601	71	25.179	96	23.087	121	24.042	146	28.32				
22	27.893	47	26.249	72	28.178	97	27.459	122	26.306	147	40.2				
23	28.443	48	26.627	73	29.206	98	27.459	123	33.287	148	25.71				
24	24.698	49	25.08	74	27.893	99	25.08	124	23.537	149	31.064				
25	25.495	50	27.459	75	25.179	100	24.739	125	25.632	150	25.807				

圖 4-1 紅血球直徑值

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	物件	面積比例	物件	面積比例	物件	面積比例	物件	面積比例	物件	面積比例	物件	面積比例	物件	面積比例
2	1	0	26	0.17674	51	0.2	76	0.11799	101	0.082816	126	0.14982	151	0.11946
3	2	0	27	0.13969	52	0.090737	77	0.057361	102	0.15203	127	0.13068	152	0.17256
4	3	0	28	0.16732	53	0.079075	78	0.088305	103	0.18129	128	0.11111	153	0
5	4	0	29	0.14078	54	0.15184	79	0.071247	104	0.12579	129	0.07431	154	0
6	5	0.18065	30	0.15823	55	0.10373	80	0.22199	105	0.07113	130	0.097778	155	0.15483
7	6	0.15	31	0.14165	56	0.072289	81	0.11648	106	0.13069	131	0.14519	156	0.073986
8	7	0.10294	32	0.19847	57	0.087719	82	0.076923	107	0.04491	132	0.10299	157	0.18716
9	8	0.083333	33	0.089239	58	0.046316	83	0.13208	108	0	133	0.03125	158	0.1125
10	9	0.10291	34	0.18818	59	0.10744	84	0.26087	109	0.1318	134	0.11293	159	0.13542
11	10	0.13423	35	0.1406	60	0.13718	85	0.14074	110	0.16667	135	0.095528	160	0.12005
12	11	0.18447	36	0.046117	61	0.21627	86	0.15385	111	0	136	0.16231	161	0.18085
13	12	0.15581	37	0.15192	62	0.15121	87	0.06621	112	0.10769	137	0.19608	162	0.092184
14	13	0.19444	38	0.2887	63	0.049881	88	0.16667	113	0.24348	138	0.14164	163	0.17871
15	14	0.1314	39	0.18686	64	0.1899	89	0.19469	114	0.15768	139	0.23733	164	0.099323
16	15	0.12724	40	0	65	0.15085	90	0.15546	115	0.15706	140	0.20682	165	0.14458
17	16	0.14451	41	0.25257	66	0.19763	91	0.091703	116	0.058394	141	0	166	0.13043
18	17	0.15949	42	0.21673	67	0.15165	92	0.11265	117	0.2183	142	0.06469	167	0.084011
19	18	0	43	0.14063	68	0.17464	93	0.10294	118	0.11081	143	0.071579	168	0
20	19	0.13499	44	0.021739	69	0.17437	94	0	119	0.10938	144	0.13507		
21	20	0.17632	45	0.21591	70	0.12017	95	0.1341	120	0.14629	145	0.11984		
22	21	0.11561	46	0.13466	71	0.12979	96	0.14054	121	0.068884	146	0.092975		
23	22	0.1332	47	0.11506	72	0.033929	97	0.096234	122	0.031873	147	0.10795		
24	23	0.19676	48	0.15521	73	0.18543	98	0.12476	123	0.1594	148	0		
25	24	0.14973	49	0.092342	74	0.098881	99	0.093541	124	0.089239	149	0.082577		
26	25	0.15402	50	0.13813	75	0.11468	100	0.1792	125	0.15171	150	0.22674		

圖 4-2 紅血球對紅血球碟盤面積比

## 5. 結論

依照目前對於貧血症類型之判定侷限於利用肉眼辨識紅血球顏色的深淺程度與紅血球細胞直徑的大小去做判定。本研究主要是可提供一個自動化的方法，為醫學上貢獻並提供紅血球雙凹碟盤對紅血球細胞面積比例以及紅血球細胞最長直徑值等額外對於在醫療上有用的參數，並可協助醫師藉由不同的領域做為著眼點，針對貧血症及相關血液症狀做更精準的病理判定。

## 參考文獻

- [1] 樓迎統、陳君侃、黃榮棋、王錫五，**生理學**，華杏出版，臺北(2006)。
- [2] 陳俐璇，“以紅血球生成素治療慢性C型肝炎併用 Ribavirin 與 Pegylated Interferon Alfa引起貧血之研究“，國立成功大學臨床藥學研究所，2006。
- [3] M. J. Black, G. Sapiro, D. H. Marimont, and D. Heeger, “Robust anisotropic diffusion,” *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 7, pp. 421-432, 1998.
- [4] Krantz SB, Erythropoietin. Blood.

1991;77: 419-34.

- [5] N. Otsu, “A threshold selection method from gray-level histograms,” *IEEE Trans. System Man Cybernetics*, vol. 9, No. 1, pp. 62-69, 1979.