

以區域生長與形態學來估計大鼠聲門面積之研究

吳順德¹
國立臺灣師範大學
機電科技系
助理教授
sdwu@ntnu.edu.tw
黃基礎²
國立臺灣師範大學
生命科學系
教授
jchwang@ntnu.edu.tw

賴正倫¹
國立臺灣師範大學
機電科技系
研究生
697730246@ntnu.edu.tw
吳忠信²
國立臺灣師範大學
生命科學系
副教授
megawu@ntnu.edu.tw

陳良榮¹
國立臺灣師範大學
機電科技系
研究生
698730097@ntnu.edu.tw
呂文助¹
國立臺灣師範大學
機電科技系
研究生
andylu0501@gmail.com

摘要

聲門動態變化在喉生理學研究上是相當重要的課題。本論文目的是以影像處理方式計算聲門面積，以往研究方法都有計算速度太慢或準確性不足的缺點，故本研究提出一影像處理方法來改善上述缺點。此方法包括三個處理步驟：1) 擷取紅色(R)成分影像；2) 利用區域生長，來界定對象或聲帶的開放區域，並獲得該地區的聲門；3) 應用形態學來刪除孤立對象的區域；經由獲得紅色成分影像，根據區域種子點使用區域生長定義出目標，最後以形態學來準確計算出面積。經由實驗結果證明本研究方法在大鼠聲門影像分析上有不錯的準確率並能同時加快影像處理速度。

關鍵詞：聲門、區域生長、形態學

Abstract

The dynamic change of glottal area is a critical subject in the field of laryngeal physiology. This paper focuses on the method of using the image processing to estimate the glottal area. Until now, the lack of efficiency and accuracy is still the problem in most of previous studies. Therefore, our research provides an image processing method to solve these problems. The approach involves three process steps. 1) Extract Red color components of the target image; 2) using region-growing to delineate the subject, or the vocal fold opening region; 3) applying a morphology operator to remove the isolated subject regions and to obtain the area of the glottis. The experimental results demonstrate both the accuracy and computational efficiency for the glottal area estimation can be greatly improved by using the proposed method.

Keywords: Glottal area, Region-growing,

Morphology.

1. 前言

聲門在呼吸週期時的活動：吸氣時聲門面積會增大並降低吸氣氣流的阻力；相對的，呼氣時聲門面積會縮小，也就是增加聲門對呼氣氣流的阻力。此種調控是由喉返神經(Recurrent Laryngeal Nerve, RLN)調節肌肉活動來執行[1-4]。一般在進行臨床實驗前，會先進行動物實驗，在聲門研究方面會採用大鼠來進行實驗。當外來化學物質(例如辣椒素)刺激大鼠呼吸系統，刺激物質隨血液循環流入肺、會興奮肺迷走神經的C纖維，正常大鼠會有防禦性的閉氣，導致聲門關閉，進而阻斷外來異物吸入呼吸道。如果聲門沒有閉合那就表示防禦機制出了問題，也就表示呼吸道不受保護，因此造成呼吸道及肺臟直接受到有害物的刺激。

根據文獻指出以外來化學物質刺激大鼠後觀察其聲門反應的研究方法可以分為以下三部分來探討[1]-[4]：

(1) 觀察甲杓肌(Thyroarytenoid electromyogram) 肌電圖活動：此方法目的是要證實甲杓肌肌電圖活動是否增強。如果增強，就表示興奮肺C纖維時，聲帶內收作用可能增強，甚至有可能導致聲門完全關閉。這會造成呼氣氣流不順暢甚至根本無法通過，也就是聲門下的壓力增大。

(2) 觀察聲門下壓力(Subglottic pressure, SGP)：此方法主要是在大鼠聲門下安裝壓力轉換感測器，用來記錄聲門下壓力的變化。其中，聲門在呼吸週期中呈現外展與內收活動。外展時聲門直徑加大，對於氣流阻力小，所測得之SGP小；當聲門內收時，直徑較小而阻力增加，可以測得之SGP較大。

(3) 以影像的方式觀察聲門面積變化：此方法可以直接記錄聲門在外來刺激作用下的運動變

化情形。

根據實驗(1)與(2)結果證實，當肺 C 纖維興奮後，喉返神經所控制的 TA，其放電活性顯著增強，引起 TA 強力收縮，導致聲門關閉，氣流無法順利通過聲門，使聲門下壓力大大增強(如圖 1 所示)。由於以往文獻大都在探討(1)與(2)，關於(3)的文獻相當少，只有以人工方式將影像檔以 Flash 軟體根據時間軸所呈現的畫格，逐格觀察聲門移動的位置，捕捉聲門在吸氣時外展的程度以及呼氣時內收後的直徑大小，再利用 PhotoImpact 軟體手動圈選聲門面積大小，此方法處理一張圖須 1~3 分鐘，是相當耗時的。故本研究希望以影像處理方法來改善計算大鼠聲門面積效率。

以往聲門影像取得的方式可分為三種：(1)核磁共振影像 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) 的技術[5]-[6]：屬於非侵入式系統，雖然拍攝效果不錯，但是設備價錢相當昂貴；(2)內視鏡：屬於侵入式系統，目前只有用於人類喉部的內視鏡[7]-[9]。由於線徑不夠纖細，故不適用於體型相對較小的老鼠；(3)數位相機：為最簡易與便利的拍攝設備。數位相機有下述幾個優點：方便、便宜、操作容易、解析度符合本實驗的需求，故本研究採用數位相機來拍攝聲門運動。

通常在分析聲門影像大都是以聲門面積波形(glottis area waveform, GAW)圖來分析聲帶對於不同條件刺激時的變化[10]-[11]。聲門面積波形圖是根據大鼠聲帶外展與內收影像，以時間-面積來表示聲門活動變化。這需要一個有效的影像處理程序，準確界定聲門區域和計算面積。為了準確界定聲門區域，影像分割是最常運用的方式。

影像分割的目的是將感興趣的區域 (Region of Interest, ROI) 經過一些影像處理方法定義為目標(object)，除了目標外都稱為背景(background)。文獻中介紹了幾種影像分割的方法，包含邊緣偵測[12]-[13]和主動輪廓[14]-[18]的方法來進行分割。在邊緣檢測上，若是聲門區域顏色較相近，則無法描繪出邊緣。而主動輪廓則是會先定義一個初始輪廓，再經由計算慢慢向內收縮至聲門外圍。此法在計算聲門面積上相當耗時且對於雜訊非常敏感。其它方法為閾值的選定[19-20]與區域生長[21-23]。閾值選定在對於灰度值分佈較為平均或平滑的影像，處理上會產生極大的誤差。區域生長是以找出最低灰度值做為種子點，再設定強度值生長。相較於前面三種方法，區域生長在計算速

度上是比較快的，故本研究採用區域生長的方法來界定出聲門區域範圍。為了更準確計算出聲門區域面積，我們採用型態學(Morphology)中侵蝕與膨脹的方法來消除不需要的區域[24]-[25]。

本研究架構如下所示：第 2 節首先介紹最廣泛的 Otsu 分割方法[26]對於本實驗影像所產生的問題，接著詳細敘述本研究所採用之另一種適合本研究影像的影像處理方法；第 3 節敘述影像處理過程。其中，包含聲門影像擷取、參數設定與實驗結果；第 4 節探討結論與未來方向。

2. 方法

本論文首先介紹最廣泛的 Otsu 分割方法[26]對於本實驗影像所產生的問題，接著詳細敘述本研究所採用區域生長[21]-[23]結合形態學[24]-[25]的影像處理方法。

2.1 Otsu Method

Otsu 算法可以說是自適應計算單一閾值(用來轉換灰度圖像為二值圖像)的簡單方法[26]。對輸入的灰度圖像作直方圖累積進行分析，再利用平均值、變異數及標準差將直方圖分成兩個部分，使得兩部分之間的距離最大。劃分點就是求得的閾值。一般適合用於灰度值較為分開的影像，算是較為簡略的分群方法。由於本實驗即為灰度值分部較為集中的例子(如圖 2 所示)，所以在影像處理上會產生極大的誤差(如圖 3(c)所示)。

2.2 區域生長與形態學

在本論文中我們所提出的方法包含：1)擷取 R 成分影像；2)區域生長；3)形態學。這三個程序步驟是用於分割出大鼠聲門區域，方法隨後會詳細敘述，影像處理程序流程圖如圖 4 所示。

2.2.1 RGB 影像轉灰階：

一張 RGB 的色彩影像是一個色彩像素(color pixels)的 $M \times N \times 3$ 陣列。其中每個色彩像素是在 RGB 影像一特定空間位置中的紅、綠、藍成分三合一(如圖 5 所示)所組成。一張 RGB 影像我們可以視為三個灰度影像的一個堆疊(如圖 6(a)所示)，使得當我們將紅、綠、藍送進顯示器的輸出端時，會在螢幕上產生一張彩色影像(如圖 6(b)所示)。由於大鼠聲門影像成分中，紅色成分相對於綠色與藍色成分比重大很多，以區域生長方法時綠色與藍色成分

影響不大，故只取紅色成分影像(如圖 6 (a)所示)，以減少 RGB 轉換成灰階的計算時間。

2.2.2 區域生長(Region-Growing)：

區域生長方法是基於區域的分割，根據所定義之特性，將像素或子區域聚合。可將原影像的邊緣強化，準確分割出需要的區域，對於區域的分割或合併都有非常好的效果。此外還可以去區域外的雜訊點，並使用一個選定的種子直接描繪對象。在該地區增長的方法，選擇種子點和停止準則是成功的關鍵。種子點往往被選擇在最低灰度像素並用於該地區的增長[21]-[23]。然而，對於本研究的情況，最低灰度像素點若不在聲帶內的開放區域，將導致錯誤的分割。為了克服這缺點，我們先分割出聲門區域範圍，根據紅色成分影像直方圖，找出最低的灰度值的點當作種子(seed)開始增長。若鄰近之像素有相同特性，例如特定的灰度範圍、紋理或色彩，則添加進來進行區域生長。

2.2.3 形態學(Morphological)：

形態學通常是在抽取影像成分的特徵方法。例如，影像邊緣或是骨架。在此，本研究則應用了形態學上最廣泛使用的方法：(A)侵蝕(Erosion)；(B)膨脹(Dilation)來準確計算出聲門區域面積，詳細方法分別介紹於下：

(A) 侵蝕(Erosion)：

利用結構元素對原來的物體做消滅的動作。將影像 A 以結構元素 B 採用四方向的方式做侵蝕之後，產生 C 之影像(如圖 7(a)所示)[24]-[25]。本研究是將聲門區域範圍以侵蝕的方式來消除孤立點對象(如圖 8(f)所示)。

(B) 膨脹(Dilation)：

它的意思正好與侵蝕相反，它是利用結構元素對原來的物體做放大的動作。將影像 A 以結構元素 B 採用四方向的方式做擴張後，產生 C 之影像(如圖 7(b)所示) [24]-[25]。本研究是將侵蝕完之聲門區域範圍來膨脹聲門區域(如圖 8(g)所示)。

3. 影像處理過程

3.1 聲門影像擷取

本計畫採用數位相機來擷取大鼠聲門活動的影像，在立體解剖顯微鏡上架設數位相機直接觀察聲門的動態變化，並且將聲門經由外來

刺激的運動變化情形拍攝下來。數位相機擷取影像速度為14 frames/ses，影像大小為480×640 pixels。拍攝時間從施打辣椒素前1分鐘，直到大鼠聲門呼吸慢慢回復到正常活動週期，大約30分鐘(總共25200 frames)。

3.2 參數設定

本實驗樣本為國立台灣師範大學生命科學系神經生理實驗室所飼養的 Wistar 品系雄性大鼠。本研究首先分割出大鼠聲門區域範圍以降低區域生長選錯種子點所造成之誤差，使得影像大小為 215×104 pixels。由於大鼠聲門影像成分幾乎都是紅色，故擷取 R 成分影像來處理。根據 R 成分影像直方圖找出最低灰度像素點當作起始種子點。區域生長的停止條件則以種子點與周圍區域灰度值相差 10% 為基準，以八聯通方式進行生長，當灰度值差異超過 10% 時則停止生長。最後，以半徑為 1 的 pixel 作侵蝕，再以半徑為 3 的 pixel 作膨脹找出大鼠聲門區域範圍面積。

3.3 實驗結果

本實驗根據數位相機來記錄大鼠聲門變化，接著以本實驗所提出的 4 個步驟來執行(如圖 8 所示)。大鼠在未施打辣椒素刺激時，根據影像序列圖(如圖 9 所示)與聲門面積波形(如圖 10 所示)可以看出呼吸週期是相當規律的，但經過施打辣椒素刺激後，會造成呼吸暫停(如圖 11 所示)，接著慢慢回復為正常的呼吸週期(如圖 12 所示)，根據聲門面積波形圖(如圖 13 所示)可以清楚的看出大鼠經由辣椒素刺激前後的變化情形。其中辣椒素的劑量為 1.25 μ g/kg，。首先取出不同開閉大小的大鼠聲門影像(如圖 14 所示)，比較本實驗所提出影像處理程序與 Otsu 方法在計算聲門區域面積上的準確率(如表一所示)。經由實驗結果可知使用 Otsu 方法誤差是相當大，而本研究之影像處理程序計算出的面積精確度有 90% 以上，準確率是相當高的。

4. 結論與未來方向

本實驗主要結合生命科學與工程學上的知識來進行大鼠聲門的研究與分析。使得在計算大鼠聲門面積時可以電腦自動化且準確，改善以往手動圈選聲門面積所造成的時間浪費，使得往後研究更為便利。其中實驗中最需要特別注意的是光源問題，因為在進行拍攝時，大鼠隨著時間的增加，氣管會流出液體，造成反光的現象。故在做影像處理時很容易會

造成誤判，使得誤差相對增加，所以在拍攝時要特別注意。本實驗演算法是以 matlab 軟體撰寫，在處理 100 張圖片需費時 3 分鐘，也就表示一張圖要 0.556 秒。是無法達到即時的效果，因此未來將規劃以 C 語言程式來撰寫演算法。目的在建立一完整的系統，整合橫膈肌 (Diaphragm) 與甲杓肌肌電圖訊號、聲門下壓力訊號、血壓訊號、高倍數攝影機與影像擷取卡經由影像處理的訊號。預期可以增加計算聲門面積的速度與精確度，達成訊號整合、同步且即時的目標，以便在分析訊號上更為方便且快速。

參考文獻

- [1]Kun-Ze Lee, David D. Fuller, I-Jung Lu, Li-Chi Ku and Ji-Chuu Hwang, "Pulmonary C-fiber receptor activation abolishes uncoupled facial nerve activity from phrenic bursting during positive end-expired pressure in the rat", *J Appl Physiol*, Vol.104, pp. 119-129, 2008.
- [2] Kun-Ze Lee, David D. Fuller, Li-Chu Tung, I-Jung Lu, Li-Chi Ku, and Ji-Chuu Hwang," Uncoupling of upper airway motor activity from phrenic bursting by positive end-expired pressure in the rat", *J Appl Physiol*, Vol. 102, pp. 878-889, 2007.
- [3]I-Jung Lu, Kun-Ze Lee and Ji-Chuu Hwang, "Capsaicin-induced activation of pulmonary vagal C fibers produces reflex laryngeal closure in the rat", *J Appl Physiol*, Vol. 101, pp. 1104-1112, 2006.
- [4] I-Jung Lu, Kun-Ze Lee, Jin-Tun Lin and Ji-Chuu Hwang," Capsaicin administration inhibits the abducent branch but excites the thyroarytenoid branch of the recurrent laryngeal nerves in the rat", *J Appl Physiol*, Vol. 98, pp. 1646 - 1652, 2005.
- [5] M Ahmad, J Dargaud, A Morin, F Cotton, "Dynamic MRI of Larynx and Vocal Fold Vibrations in Normal Phonation", *Journal of Voice*, Vol. 23, pp. 235-239, 2007
- [6]Amini, L.; Soltanian-Zadeh, H.; Lucas, C.; Gity, M., "Automatic segmentation of thalamus from brain MRI integrating fuzzy clustering and dynamic contours", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol. 51, pp. 800 - 811, 2004.
- [7] Skalski, A.; Zielinki, T.; Deliyski, D., "Analysis of vocal folds movement in high speed videoendoscopy based on level set segmentation and image registration", *Signals and Electronic Systems, 2008. ICSES '08. International Conference* , pp. 223 - 226 , 2008 .
- [8] Yuling Yan; Xin Chen; Bless, D., "Automatic tracing of vocal-fold motion from high-speed digital images", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 53, pp. 1394 -1400, 2006 .
- [9] Chao Tao; Yu Zhang; Jiang, J.J., "Enhanced snake based segmentation of vocal folds", *Biomedical Imaging: Nano to Macro, 2004. IEEE International Symposium* , Vol. 1 , pp. 812 - 815 15-18, 2004.
- [10] R. Timke, H. von Leden, and P. Moore, "Laryngeal vibrations: measurements of the glotticwave; part I. The normal vibratory cycle," *Arch.Otolaryngol.*, vol. 68, pp. 1 - 19, 1958.
- [11] J. P. Noordzij and P. Woo, "Glottal area waveform analysis of benign before and after surgery," *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, vol. 105, pp. 441- 446, 2000.
- [12]Naik, S.K.; Murthy, C.A., "Standardization of edge magnitude in color images", *IEEE Transactions on Image Processing*, Vol. 15, pp. 2588 - 2595, 2006.
- [13]Pellegrino, F.A.; Vanzella, W.; Torre, V., "Edge Detection Revisited", *IEEE Transactions on systems, Man, and Cybernetics, Part B*, Vol. 34, pp. 1500 - 1518, 2004.
- [14]M. Kass, A. Witkin, and D. "Terzopoulos, Snakes: Active contour models", *Int. J. Comput. Vision*, vol. 1, pp. 321 - 331, 1988.
- [15]Krinidis, S.; Chatzis, V., " Fuzzy Energy-Based Active Contours", *IEEE Transactions on Image Processing*, Vol. 18, pp. 2747 - 2755, 2009.
- [16]Darolti, C.; Mertins, A.; Bodensteiner, C.; Hofmann, U.G., "Local Region Descriptors for Active Contours Evolution", *IEEE Transactions on Image Processing*, Vol. 17, pp. 2275 - 2288, 2008.
- [17]Michailovich, O.; Rathi, Y.; Tannenbaum, A., "Image Segmentation Using Active Contours Driven by the Bhattacharyya Gradient Flow", *IEEE Transactions on Image Processing*, Vol. 16, pp.2787 - 2801, 2007.
- [18]Hua Li; Yezzi, A., "Local or Global Minima: Flexible Dual-Front Active Contours" , *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol. 29, pp. 1 - 14, 2007.
- [19]Batenburg, K.J.; Sijbers, J., "Optimal Threshold Selection for Tomogram Segmentation by Projection Distance Minimization", *IEEE Transactions on Medical Imaging*, Vol. 28, pp. 676 - 686, 2009.
- [20]Gustafson, S.C.; Costello, C.S.; Like, E.C.; Pierce, S.J.; Shenoy, K.N., "Bayesian Threshold Estimation", *IEEE Transactions on Education*,

Vol. 52, pp. 400 - 403, 2009.

[21]Dehmeshki, J.; Amin, H.; Valdivieso, M.; Xujiong Ye, "Segmentation of Pulmonary Nodules in Thoracic CT Scans: A Region Growing Approach", *IEEE Transactions on Medical Imaging*, Vol. 7, pp. 467 - 480, 2008.

[22]Qiyao Yu; Clausi, D.A., "IRGS: Image Segmentation Using Edge Penalties and Region Growing", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol. 30, pp. 2126 - 2139, 2008.

[23]Qiyao Yu; Clausi, D.A., "SAR Sea-Ice Image Analysis Based on Iterative Region Growing Using Semantics", *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, Vol. 45, pp. 3919 - 3931, 2008.

[24] R. M. Haralick, S. R. Stenberg, and X. Huang, "Image analysis using mathematical morphology," *IEEE Transactions on Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. PAMI-9, pp. 532-550, 1987.

[25]Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods & Steven L. Eddins, *Digital Image Processing Using MATLAB*, 1st Edition.

[26]N. Otsu, "A threshold selection method from gray-level histogram," *IEEE Transactions on System, Man, Cybern.*, vol. SMC-9, pp. 62 - 66, 1979.

圖表彙整

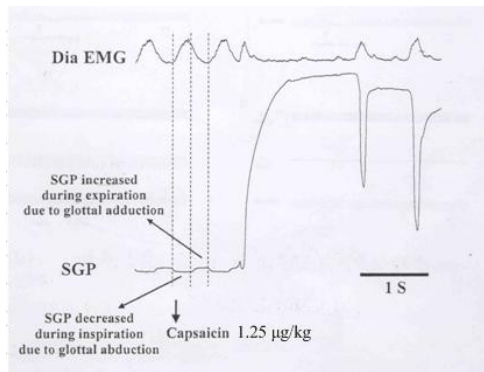


圖 1：橫膈肌肌電圖與聲門下壓力相關性示意圖。

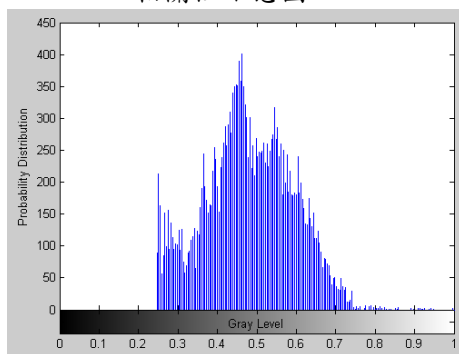


圖 2：圖 3(b)之灰階影像直方圖。

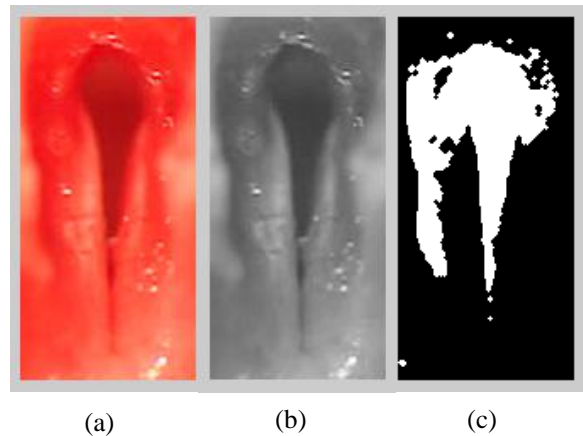


圖 3：大鼠聲門影像。(a)原始影像；(b)灰階影像；(c)Otsu 閾值二值化結果。

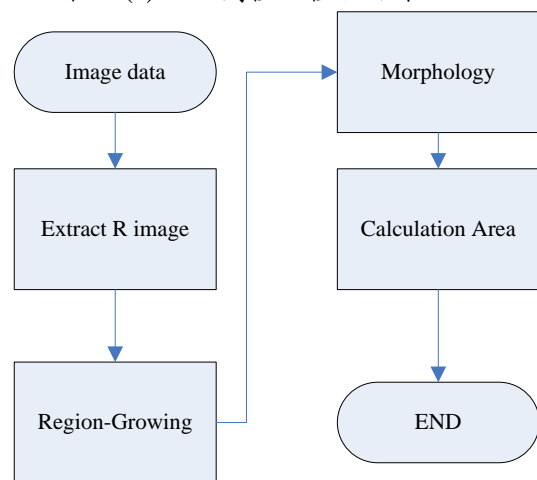


圖 4：影像處理流程圖。

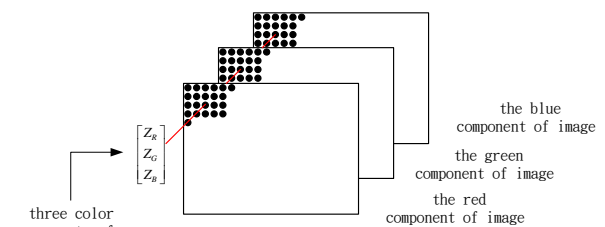
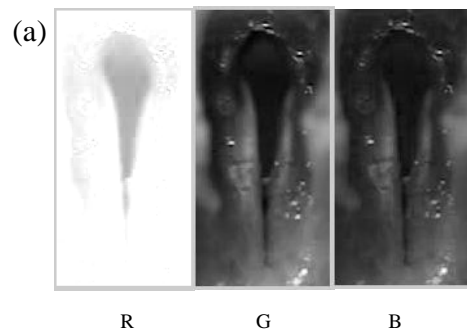


圖 5：顯示一張 RGB 彩色影像是由相對應的三張成分影像像素所組成。



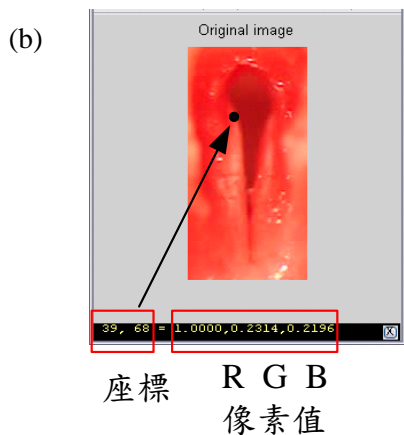


圖 6:(a)第一排從左至右分別為 RGB 中 R、G、B 成分影像;(b)RGB 三張成分影像合成。

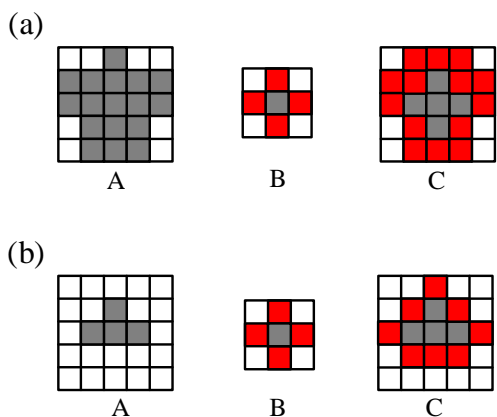


圖 7:(a)侵蝕示意圖;(b)膨脹示意圖。

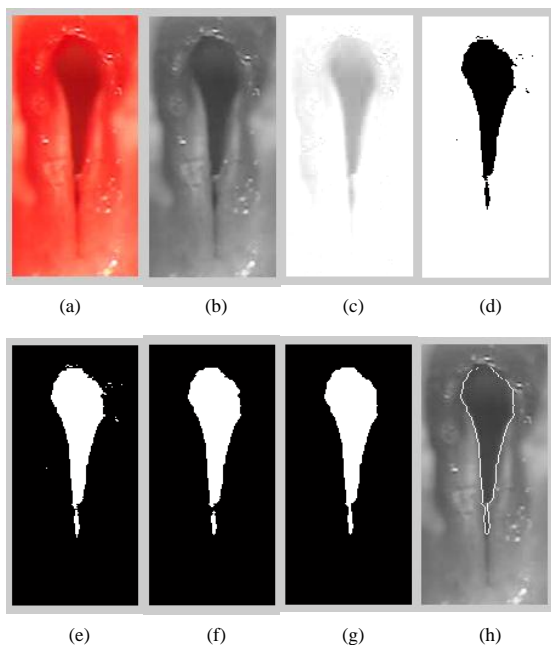


圖 8: 本實驗提出的分割方法。(a)原始影像;(b)灰度影像;(c)R成分影像;(d)區域生長影像;(e)負片影像;(f)侵蝕影像;(g)膨脹影像;(h)聲門區域範圍。

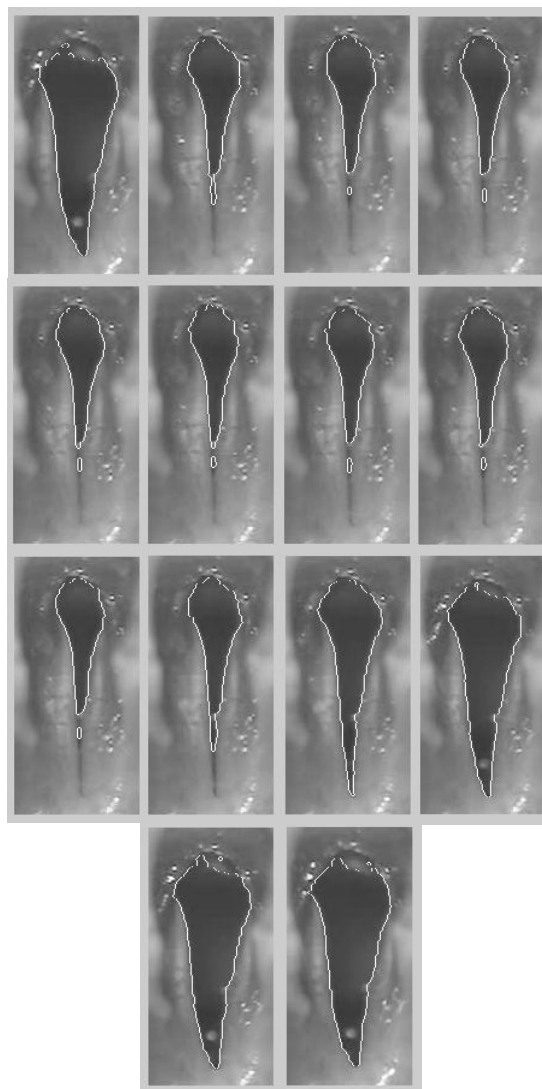


圖 9: 大鼠聲門正常呼吸週期序列圖(14 frames/sec)。

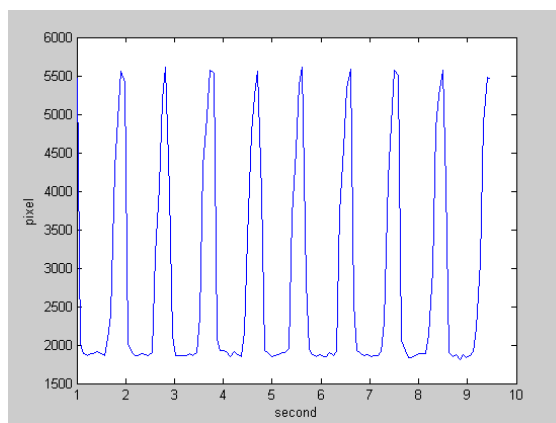


圖 10: 大鼠聲門正常呼吸週期波形圖。

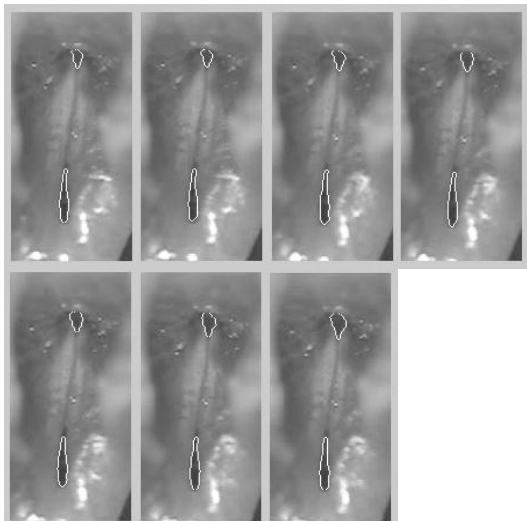


圖 11：施打辣椒素刺激大鼠聲門之一半週期序列圖(7 frames/sec)。

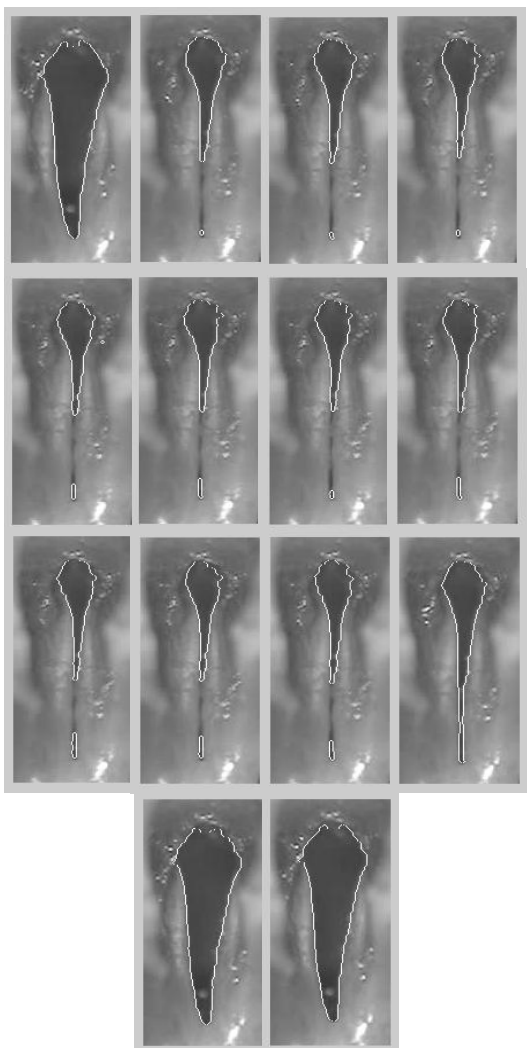


圖 12：施打辣椒素刺激大鼠聲門之回復週期序列圖(14 frames/sec)。

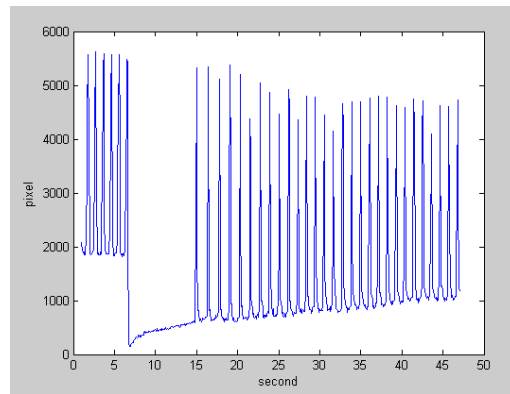


圖 13：大鼠聲門正常呼吸週期波形圖。

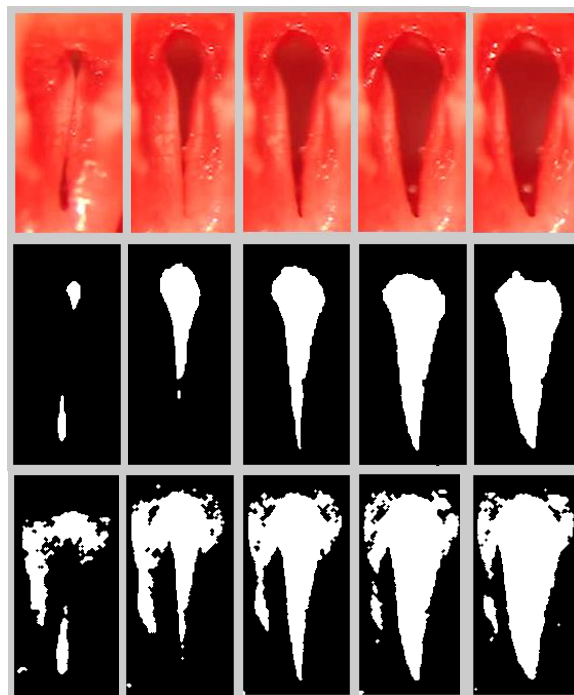


圖 14：第一列為原始影像，第二列為本實驗提出之影像處理程序，第三列為 Otsu 方法。

表 1：圖 14 之效果比較；

①)Ground truth; ②)本實驗提出之影像程序方法; ③)Otsu method; ④)本實驗計算面積準確度; ⑤)Otsu method 計算面積準確度。

	1	2	3	4	5
①	530	2446	4250	5446	6433
②	504	2340	3994	5275	6105
③	3633	6183	7310	8353	9356
④	95.09%	95.6%	93.97%	96.86%	94.9%
⑤	685.4%	252.7%	172%	153.3%	145.4%