

자궁종양 세포의 3차원 형태학적 분석

최익환^o, 최현주, 최홍국
인제대학교 컴퓨터공학부

3D morphological analysis of uterine tumor cell

Ik Hwan Choi, Hyun Ju Choi, Heung Kook Choi
School of Computer Engineering, Inje University

요 약

본 연구에서는 자궁종양 세포를 정상, 비정상으로 진단하기 위한 세포핵의 특성값 추출 방법으로 3차원 형태학적 분석 방법을 제안한다. 컨포컬 현미경을 이용하여 3차원 볼륨데이터를 획득하고 3차원 연결 성분 레이블링을 적용하였다. 레이블링 후, 각각의 세포핵으로부터 3차원 형태학적 특성값을 추출하였으며 정상세포핵과 비정상세포핵의 3차원 형태계측에 대한 차이를 비교하였다. 이는 잘린 단면의 각도나 두께에 따라 서로 다른 분석 결과를 나타내는 2차원 영상분석방법의 한계를 극복할 수 있으며 실체에 가까운 계측으로 보다 객관적이고 정확한 병리진단을 위한 보조도구로써 활용될 수 있다.

1. 서론

자궁경부암 진단법으로 널리 쓰이고 있는 세포진 검사(PAP smear)는 오진율이 10-50%에 이르는 것으로 알려져 있다[1]. 최근 이러한 오진율을 줄이기 위해서 컴퓨터를 이용해 검사결과를 판독하는 분석시스템을 도입함으로써 정확도를 높이려고 노력하고 있다.

그러나 컴퓨터를 이용한 2차원 형태학적 계측에 의한 판단은 전문의의 전문성과 경험을 대신하기에는 부족함이 있으며 세포나 세포핵이 정확한 구형태가 아니므로 잘린 각도나 두께에 따라 형태가 다르게 보여지며, 위, 아래로 세포가 어떤 형태를 이루고 있는지 알 수 없으므로 정확한 분석 결과를 얻기가 어렵다.

따라서 본 논문에서는 컨포컬 현미경을 사용하여

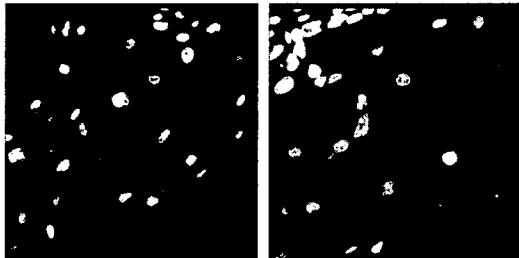
볼륨데이터를 획득하고 3차원 연결 성분 레이블링을 적용한 후, 레이블이 부여된 각각의 세포핵에 대하여 핵의 부피(Volume size), 핵의 표면적(Surface area), 핵이 얼마나 구형에 가까운지를 나타내는 핵의 구형성(Spherical shape factor)을 추출하고, 정상과 비정상 세포핵의 3차원 형태학적 계측에 대한 차이를 분석하고자 한다.

이는 정상과 비정상 세포핵의 3차원 형태학적 특성값을 정량적 수치로 표준화하기 위한 연구의 기반으로 활용하고자 한다.

2. 영상획득 및 재료

논문에 사용 된 영상은 cytokeraion 과 propidium iodide(PI)로 염색 된 10 두께의 자궁암조직을 컨포컬 현미경(Biorad MRC-1024)을 이용하여

630 배에서 50 두께로 획득한 연속된 셕션 영상이다. 디지털화 된 영상은 512 512 그레이 스케일 영상으로써 그림 1 은 본 연구에 사용된 볼륨데이터를 2 차원으로 프로젝션 시킨 영상이다.

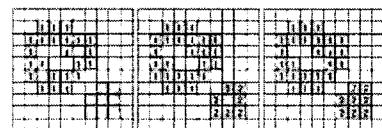
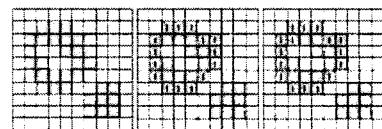


(그림 1) 볼륨 데이터

3. 3차원 레이블링

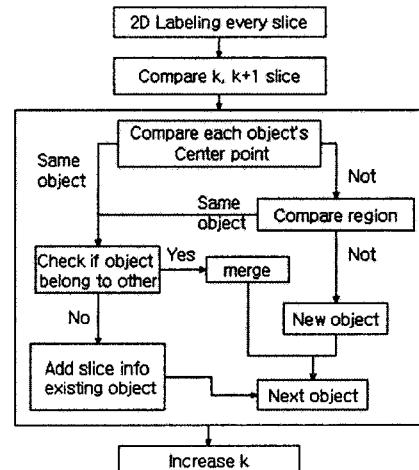
2차원 연결 성분 레이블링 알고리즘을 3차원으로 확장하기 위해 2차원 단면 영상에 레이블링을 적용한 후 그 정보를 바탕으로 연결성에 따라 동일 레이블을 부여하는 방법인 SIL(Slice information based labeling)을 사용하였다.

사용된 2차원 레이블링 방법은 CCCL(Contour based connected labeling)이며 제안된 알고리즘을 응용하는 방법이다[2,3]. 이는 입력 영상과 동일한 크기의 버퍼를 할당하고 그 값을 모두 0으로 초기화한다. 각 영역들은 1부터 시작하여 차례대로 라벨이 증가하며 매겨지게 된다. 만약 현재 스캔하고 있는 위치의 라벨 값이 0이면 경우 3가지로 나누어 처리된다. 먼저 바로 왼쪽에 있는 점의 픽셀 값과 현재 픽셀 값이 동일한 경우, 왼쪽의 픽셀과 동일한 라벨을 매긴다. 두 번째 현재 좌표에서 좌측 상단에 존재하는 픽셀의 값과 현재 픽셀의 값이 같지 않은 경우, 라벨 값을 1 증가시키고 현재 영역의 경계를 추적하면서 동일한 라벨을 적용한다. 세 번째, 위의 두 경우를 만족하지 않는 경우는 훈(hole) 추적을 시작한다. 스캔 시 만약 현재 스캔하고 있는 위치에 이미 라벨이 매겨져 있다면 다음 픽셀로 이동한다



(그림 2) CCCL 진행과정

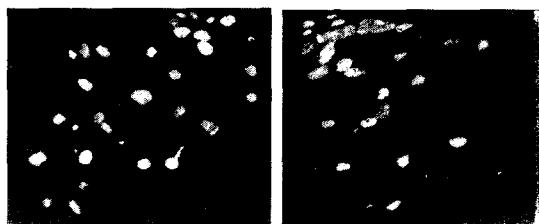
각 절편영상에 대한 2차원 레이블링이 끝난 후 그 정보를 바탕으로 아래의 방법으로 SIL을 적용하였다.



(그림 3) SIL 알고리즘

K번째 절편영상의 오브젝트정보들과 k+1번째 절편영상 오브젝트정보들을 비교하고 같은 3차원 오브젝트에 해당하는지 검사하여 볼륨데이터의 레이블링을 구축한다. 이때 필요한 레이블링 정보로는 오브젝트의 중심점, 영역크기, id가 필요하다. 비교하는 방법은 먼저 해당하는 k, k+1번째 object들 영역의 교집합 여부를 판단한다. 교집합이 생기지 않을 경우 비교대상이 아니다. 겹쳐질 경우 중심점에 해당하는 픽셀들이 연결되었는가를 비교한다. 만약 도넛 모양처럼 중심점에 해당하는 픽셀이 비어있거나 중심점에 해당하는 픽셀이 연결되지 않았을 경우에는 각 object들이 픽셀들을 조사하여 연결 점을 형성하는가를 비교한

다. Object들이 연결 점을 가지지 않을 경우에는 각 object들은 다른 object들이며 k+1번째 object의 경우 새로운 label이 된다. 그림 3은 SIL방법에 대한 알고리즘 흐름도이다



(그림 4) 레이블링 결과영상

4. 특징 추출

특징 추출은 전체영상이나 분할 된 영상이 가지고 있는 고유한 특성을 표현하고 객관적 수치로 나타내는 방법이다. 암세포 조직 영상에서 세포핵은 밝고 배경은 어둡게 나타나기 때문에 전처리 과정으로 문턱치를 정하여 이진 영상을 생성하였다[4]. 생성된 이진영상에 3D레이블링을 적용한 후 각각의 오브젝트에 대하여 형태학적 특징을 추출하였다. 추출한 형태학적 특징은 volume size, surface area, spherical shape factor이다[5,6]. Volume size와 surface area는 오브젝트의 부피와 겉넓이이며 spherical shape factor는 오브젝트가 얼마나 구형에 가까운가를 표현하는 특징으로 다음과 같이 유도된다.

구의 겉넓이(surface)와 구의 부피(Volume)는 각각

$$Surface = 4\pi r^2$$

$$Volume = \frac{4}{3}\pi r^3$$

이다. 겉넓이와 부피를 3제곱, 2제곱하면

$$Volume^2 = \left(\frac{4}{3}\pi r^3\right)^2$$

$$Surface^3 = (4\pi r^2)^3 = \left(\frac{3}{3}\right)^2 (4\pi r^2)^3 = 3^2 \cdot 4 \left(\frac{4}{3}\right)^2 \pi^2 r^6 \cdot \pi$$

$$= 3^2 \cdot 4 \cdot \left(\frac{4}{3}\pi r^3\right)^2 \cdot \pi$$

여기에서 구의 부피는 $\frac{4}{3}\pi r^3$ 이므로

$$Surface^3 = 36 \cdot Volume^2 \cdot \pi$$

가 된다. 우변을 좌변으로 나누면 값은 1이다.

$$\frac{36 \cdot Volume^2 \cdot \pi}{Surface^3} = 1$$

오브젝트가 구형에서 멀어질수록 면적에 비해 표면적이 더 커지므로

$$0 \leq \frac{36 \cdot Volume^2 \cdot \pi}{Surface^3} \leq 1$$

이 된다. 그러므로 spherical shape factor는 $0 \leq 36 \cdot Volume^2 \cdot \pi / Surface^3 \leq 1$ 이며, 0과 1사이의 값을 가진다.

이때 실제 메쉬로 구성된 오브젝트의 겉넓이를 수학적으로 근사치를 계산하기 위해서는 헤론의 공식을 사용하였다[7]. 헤론의 공식은 세변의 길이로부터 삼각형의 넓이를 구하는 공식으로 메쉬로부터 세변의 길이를 알고 있음으로 쉽게 넓이를 구할 수 있다. 삼각형의 넓이가 s, 세변의 길이를 각각 a, b, c라고 하면 헤론의 공식은 다음과 같다.

$$S = \sqrt{s(s-a)(s-b)(s-c)}$$

여기서 $s = (a+b+c)/2$ 이다. 따라서 오브젝트의 전체 겉넓이는

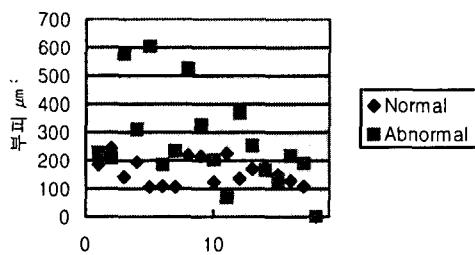
$$Surface = \sum \sqrt{s(s-a)(s-b)(s-c)}$$

이 된다.

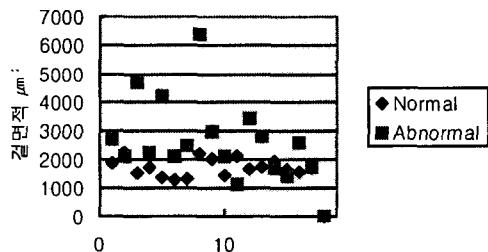
5. 실험결과

볼륨데이터에서 특징값을 추출하기 위해 자궁암 조직에서 정상조직과 병변이 의심되는 조직을 각각 50 두께로 획득하고 LSCM으로 볼륨데이터를 구하였다. 레이블링을 적용하여 구한 특징값들은 세포의 크기, 형태를 판단하기 위한 구형도, 세포내의 밀도를 측정하기 위한 인텐시티의 표준편차이다.

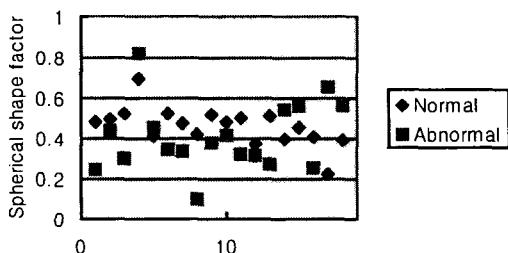
각각의 영상에서 얻어진 특징값을 나타낸 것이 그림 5-7이다. 그림 5는 각 세포의 크기를 구한 것이다. 병변이 의심되는 영상에서의 세포가 전반적으로 큰 것을 알 수 있다. 그림 6는 세포의 겉넓이를 구한 것으로 정상세포에 비해 병변이 의심되는 영상에서 전반적으로 큰 것을 알 수 있다. 그림 7는 세포의 형태를 보기 위하여 spherical shapr factor를 살펴본 것이다. 전반적으로 정상세포에 비해 병변이 의심되는 세포가 불규칙적이고 변화도가 높음을 알 수 있다.



(그림 5) 사이즈에 따른 분포



(그림 6) 겉면적에 따른 분포



(그림 7) 구형도에 따른 분포

6. 결론

본 연구에서는 자궁암세포의 진단에 있어서 기존의 2차원 영상 분석의 한계를 보완하기 위해, 3차원 특징을 잘 나타내는 피쳐들을 추출하였다. 이를 위하여 컨포컬 현미경을 이용하여 3D 영상을 획득하고, SIL을 이용하여 세포들을 레이블링 하였다. 레이블링을 통하여 얻어진 정보를 이용하여 세포의 볼륨을 얻고, 3차원 공간개념을 도입하여 특징값을 추출하였다. 추출된 특징값들은 volume size, surface area, spherical shape factor이며, 이 특징값들을 자궁암 세포의 볼륨데이터에 적용하여 정상세포핵과 비정상세포핵의 3차원 형태계측에 대한 차이를 비교해 보았다. 향후 과제로는 자궁암의 정상과 비정상 세포핵의 3차원 형태학적 특징값 뿐만 아니라 암세포 전이 단계를 구분 할 수 있는 특징들에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

[참고문헌]

- [1] James H. Tucker, et. al. Automated densitometry of cell populations in a continuous motion image cell scanner, Aug. 1987, Applied Optics, Vol.26, No.16
- [2] 황선규, 권영진, 김희율, 영상 분할을 위한 효과적인 영역 병합 방법, 제 15 회 신호처리 논문집, pp. 73, 2002.
- [3] Y. Ishiyama, C. Funaoka, F. Kubo, H. Takahashi, F. Tomita, "Labeling Board Based On Boundary Tracking", 11th ICPR, pp.34-38, 1992.
- [4] 최익환, 최현주, 이병일, 조남훈, 정구보, 최홍국, "자궁경부암세포의 3차원 분석을 위한 컨포컬 현미경 영상의 재구성 방법", Vol.6, No.1, pp.242-245, 2003.
- [5] Karsten Rodenacker, Ewert Bengtsen. "A feature set for cytometry on digitized microscopic images", Anal Cell Pathol, 25(1):1-36, 2003.
- [6] Mandar S. Joshi, Elliott D. Crouser, Mark W. Julian, Brandon L. Schanbacher, John Anthony Bauer, "Digital imaging analysis for the study of endotoxin-induced mitochondrial ultrastructure injury", Analytical Cellular Pathology, Volume 21, Number 1, 2000.
- [7] W. Dunham, Journey through Genius, Penguin Books, 1991.