

論文94-31B-11-12

## 영상 처리를 이용한 정자의 운동 특성 분석

### (Analysis of Motional Characteristics of Sperm Using Image Processing)

沈勳燮\*, 李阮珍\*, 朴光錫\*, 白宰昇\*\*

(Hoon Sup Shim, Won Jin Yi, Kwang Suk Park and Jae Seung Paick)

#### 要 約

본 논문에서는 영상처리 방법을 이용하여 정자의 운동 특성을 분석하는 자동화된 방법을 개발하였다. 시스템의 구성은 별도의 전용 프로세서를 사용하지 않고 PC와 간단한 영상처리 보드로 이루어진다. 영상 처리 보드는 영상을 받아들이는 데 사용되며 PC는 영상을 처리한 다음 분석해서 정자의 운동 특성을 나타내 주는 특성 변수의 값을 계산한다. 분석 알고리듬으로서 중요한 것은 정자의 위치 검출 알고리듬과 정자의 운동 경로를 추적하는 Match matrix 방법이다. 분석한 결과를 수작업 방법 그리고 전용 프로세서를 이용하는 방법과 비교하여 신뢰할 만한 결과를 얻었다.

#### Abstract

In this paper, we developed an analyzing method of the motional characteristics of sperm, using image processing technology. Without the aid of a dedicated image-processor, this system consists of a personal computer(PC) and a simple image processing board. The image processing board is used for acquiring images from a microscopic imaging source. The PC processes the images from the board and computes the parameters of motional characteristics of sperms. The algorithm of the site detection of sperms and the "Match Matrix Method" is noteworthy. After comparing the results of our method with those of the manual method, and with those of the method using a dedicated image-processor, we concluded that our method is useful and reliable.

#### I. 서 론

\*正會員, 서울大學校 醫科大學 의공학 教室

(Dept. of Biomedical Eng., College of Medicine, Seoul National Univ.)

\*\*正會員, 서울大學校 醫科大學 비뇨기과학 教室

(Dept. of Urology, College of Medicine, Seoul Nat'l Univ.)

接受日字 : 1994年 6月 7日

불임의 원인에는 다양한 원인과 검사방법이 있을 수 있겠지만 가장 기본적이고 중요한 검사 방법으로 정자의 특성 분석이 널리 이루어지고 있다. 정자의 특성 분석은 크게 운동특성 분석과 형태적 특성 분석으로 구분된다.

정자운동이 지난 복잡성 때문에 아직 그것이 지난

잠재적인 진단정보가 완전히 규명되지는 않았지만 정자의 운동력이 정자 분석에 있어서 중요한 진단정보로 인정받아 왔다. 따라서 정자의 운동력을 객관적이고 정량적인 방법으로 분석해내기 위한 시도가 지난 30여년간 지속적으로 이루어져 왔지만 이 방법들은 근본적으로 수작업 중심이어서 시간이 많이 걸리고 비효율적이라는 한계를 지니고 있었다. 하지만 최근에 들어 컴퓨터와 영상처리 기술의 급격한 발전이 정자 운동 분석에 적용되면서, 오랜동안 풀리지 않았던 문제의 해결에 청신호를 보내고 있다. 본 연구에서는 현재의 발전된 컴퓨터와 비디오 기술을 바탕으로 새로운 정자운동 분석방법을 제안하고 실현했다. 이 방법의 주된 특징은 연속적인 각 순간에서 개별적인 정자들의 위치를 자동으로 결정하고, 전체적인 정자운동 특성을 정량적으로 구해내는 것이다. 본 연구에서는 이러한 분석과정의 자동화를 위하여 사용자의 작업을 최소화하고, 신뢰성있는 운동특성을 얻어낼 수 있는 분석 방법을 개발하였다.

## II. 정자 운동 영상의 수집

정자운동의 분석을 위해서는 실시간의 영상을 획득해 정자의 여러 운동 특성을 정량적으로 구해 낼 수 있도록 연속적인 영상을 수집할 수 있어야 한다. 영상 수집부는 위상차 현미경(Olympus BH-2s), CCD 카메라(Thoshiba), 모니터, 영상 수집 보드(PCVISION plus)가 장착된 PC로 구성된다(그림1).

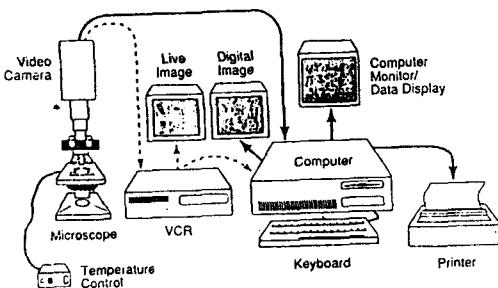


그림 1. 전체적인 시스템 구성

Fig. 1. Configuration of the system.

위상차 현미경을 통해 관찰되는 정자의 운동 영상이 CCD 카메라에 잡히게 되면 이 카메라와 연결된 영상수집 보드에 의해서 영상은 디지털화된다. CCD 카메라는 현미경의 영상을 일반 비디오 신호로 변환시켜서 표준 RS/170 신호를 발생한다. 대부분의 경우에는 CCD 카메라에서 나오는 영상을 바로 디지털

화 할 수 있는 영상수집 보드를 이용하여 컴퓨터에 직접 입력시킬 수 있게 한다. 수집된 영상의 명도와 조도를 영상수집 보드를 통해 조절해 준다.

영상을 수집하기 위하여 본 연구에서 사용된 영상수집 보드는 주 컴퓨터가 메모리로 한번에 1 화소의 8비트 데이터(Z-모드) 또는 한번에 인접한 8 화소의 1비트 데이터(X-모드)를 가져오는 것이 가능하다. 본 연구에서는 가능한 한 많은 데이터를 가져오기 위해 X-모드를 이용한다. 따라서 Z-모드에 비해 연속적인 영상을 8배 더 빠르게 수집한다. 물론 얻어진 영상은 1비트로 이루어진 이진영상이다. 정자의 운동 영상은 배경과 머리, 꼬리만으로 이루어진 단순한 영상이므로 운동 특성 분석에는 이진 영상이 오히려 더 유리하다.

## III. 분석 알고리듬

### 1. 영상 처리

CCD 카메라에 잡힌 영상에 대해 그림2와 같은 과정으로 처리를 했다.

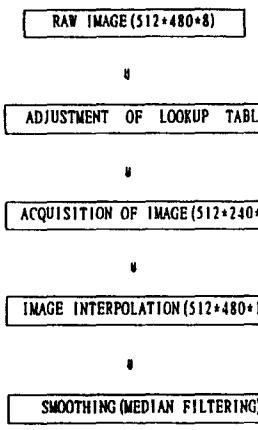


그림 2. 영상처리 알고리듬

Fig. 2. Algorithm of image processing.

먼저 영상수집 보드에 의해 실시간으로 보여지는 영상들(그림3)을 X-모드 접근이 가능하도록 루업 테이블(lookup table)을 조절해 준다. 루업 테이블은 영상수집 보드의 하나의 레지스터인데 이 레지스터에 어떤 값을 들을 써 주느냐에 따라 모니터에 보여지는 영상이 바뀌게 된다. 영상의 한 화소는 256가지의 밝기를 가지게 되는데 이 루업 테이블을 조정함으로써 밝기의 가지수를 바꿀 수 있다. 즉 이진영상의 경우에는 경계값(threshold)을 설정한 다음 이 값 이상은 255(white)의 밝기로 해주고 이 값 미만은 0(black)의 밝기로 해주면 된다. 그런 다음 PC의 메모리로 영상을 읊긴다. 각각의 화소가 0 또는 255이므로 한 비트씩 8개의 화소

를 수집해도 정보를 잃지 않는다(X-모드 수집). 이때 정자 운동의 왜곡(aliasing)을 막기 위해 30(frames/sec)의 속도로 영상을 수집한다.



그림 3. CCD 카메라의 출력 영상  
Fig. 3. Image of CCD camera.



그림 4. 이진 영상  
Fig. 4. Binary image before filtering.



그림 5. 메디안 필터링 후 영상  
Fig. 5. Image after median filtering.

여기서 수집된 영상은 그림4와 같이 거칠고 불완전한 영상이므로 메디안 필터(median filtering)를 거쳐 정자를 검출하기에 적합한 영상으로 변환시켜 준다

(그림5). 메디안 필터는 기본적인 영상처리 알고리듬 가운데 하나로서 이미지의 거칠은 둘레를 완만하게 해주고 따로 떨어진 작은 점들을 제거한다. 여기서는 가로 3, 세로 3의 9화소 크기를 갖는 커널을 이용하여 필터링한다.

## 2. 정자 위치 검출

영상 처리를 거친 각각의 영상은 한 프레임당(여기서 프레임은 수집되는 연속적인 영상가운데 하나를 나타낸다.)  $512 \times 480$ 의 2차원 배열로서 메모리에 저장된다. 따라서 배열의 위치가 화소의 좌표를 나타낸다. 전체 배열에는 각각 0 또는 1 하나의 정보만 가지고 있다. 1로 표시된 부분이 정자로 등록될 수 있는 부분들이다. 먼저 첫번째 줄(row)에서 오른쪽 열(column)로 검색을 해 나간다. 도중에 1이 나타나면 이 열의 좌표를 저장한 다음 계속해서 0이 나올 때까지 검색한다. 0이 나타나면 바로 이전 열의 좌표와 처음에 저장한 좌표의 중심을 계산한다. 이 중심 열의 위치에서 바로 그 아래 줄로 이동한다. 이동한 줄에서 왼쪽 열로 1이 나올 때까지 검색해서 좌표를 저장한 다음 오른쪽으로도 마찬가지로 검색을 한다. 다시 여기서 중심 열을 계산하고 아래 줄로 이동한다. 이 과정을 아래 줄로 이동했을 때 0이 나올 때까지 반복한다. 0이 나오면 위에서 검출된 부분의 정보를 “정자의 판별과 중심 좌표 계산” 루틴으로 넘기고 다시 처음부터 검색이 시작된다. 이렇게 하면 이진영상의 모든 1로 이루어진 부분을 검출해 낼 수 있다.

## 3. 정자의 판별과 중심 좌표 계산

검출된 부분에 대해 전체 화소 수를 계산한다. 이 전체 화소 수가 정자의 머리 크기를 나타내는 미리 정의된 최대 화소수와 최소 화소수의 범위 안에 들어가면 정자를 나타내는 부분으로 판별하여 중심 좌표 (center of mass)를 계산한다. 계산 식은 식 (1), (2)에 나타냈다. 이것은 무게의 중심좌표를 계산하는 일반적으로 알려진 식이다. 계산된 정자의 중심 좌표에는 발견된 프레임과 순서에 따라 차례대로 고유번호 (ID)를 할당한다. 각각의 고유번호는 프레임을 나타내는 번호와 프레임 내에서 정자의 발견 순서를 나타내는 번호로 이루어진다. ( $m$  프레임,  $n$  정자 번호)

$$X_i(m, n) = \frac{\sum x f_i(x)}{\sum f_i(x)} \quad (1)$$

$$Y_i(m, n) = \frac{\sum y f_i(y)}{\sum f_i(y)} \quad (2)$$

#### 4. 정자의 등록과 운동 경로 추적

정자의 운동 경로를 추적하기 위해 Match Matrix를 이용한다. 경로를 추적하기 위해서는 현재 프레임의 정자가 다음 프레임의 몇 번째 정자로 움직였는지 결정해야 한다. 이를 위해 현재 프레임의 정자 좌표을 중심으로 정자가 최대로 움직일 수 있는 윈도우를 설정해서 이 윈도우 내에 들어오는 다음 프레임의 정자 고유번호를 등록한다. Match Matrix는 이렇게 등록된 정자의 고유번호를 프레임 차례대로 메트릭스로 구성한 것이다. 그림6에 간단한 Match Matrix의 예를 보았다. 여기서 메트릭스의 각 값은 다음 프레임의 정자의 고유번호를 나타낸다. 예를 들면 (1,2)의 정자는 (2,3)-(3,4)-(4,6)-(5,5)로 추적되었음을 알 수 있다.

정자 frame	1	2	3	4	5	6	7	8	...
1	1	3	2	5	6	8	7	10	
2	25	3	4	5	7	9	8	12	
3	2	3	5	6	4	9	7	9	
4	3	4	6	8	7	5	10	22	
...									

그림 6. 정자의 운동 경로를 추적하는 Match Matrix

Fig. 6. Match Matrix representing sperm paths.

이와 같은 방법으로 추적된 정자의 경로를 그림7에 나타내었다.



그림 7. 추적된 정자의 경로

Fig. 7. Estimated paths of sperms.

#### 5. 정자운동 특성의 분석

Match matrix를 분석해서 연속적으로 일정한 프레임 이상 추적된 정자들을 대상으로 특성 파라미터를 계산한다. 농도와 운동력(motility)은 보통 3~5 프레임 이상 추적된 정자의 경로를 분석하고 속도 파라미터 및 운동 유형 파라미터는 보통 5프레임 이상 추적된 경로를 분석한다.

1) 곡선 속도(VCL - Velocity of Curvilinear Line) : 추적된 경로를 따라 이동한 거리를 경과한 시간으로 나누어 준 값이다. 활동성에 대한 가장 중요한 척도가 된다. 여기서 M은 한 경로에서 추적된 정자의 중심 좌표 수이고 N은 전체적인 추적된 경로의 수이다.  $\Delta t$ 는 연속한 두 프레임간 시간 간격이다.

$$VCL_j = \frac{\sum_{i=1}^{M-1} \sqrt{(x_{i+1} - x_i)^2 + (y_{i+1} - y_i)^2}}{(M-1)\Delta t} \quad (3)$$

$$VCL = \frac{\sum_{j=1}^N VCL_j}{N} \quad (4)$$

2) 선형 속도(VSL - Velocity of Straight Line) : 추적된 경로의 처음 위치와 마지막 위치 사이의 직선 거리를 전체 경과 시간으로 나누어 준 값이다. 주요 운동 파라미터로서 선형속도가 20um/s (threshold velocity)보다 작은 정자의 경로에 대해서는 운동력(motility)이 없는 것으로 판단한다.

$$VSL_j = \frac{\sqrt{(x_M - x_1)^2 + (y_M - y_1)^2}}{(M-1)\Delta t} \quad (5)$$

$$VSL = \frac{\sum_{j=1}^N VSL_j}{N} \quad (6)$$

3) 평균 속도(VAP - Velocity of Average Path) : 추적된 경로를 평균한 경로(average path)를 따라 이동한 전체 거리를 경과 시간으로 나누어 준 값이다. 전체적으로 5 점 이동 평균값(5 point running average)을 이용한다. 처음 좌표와 마지막 좌표는 1 점 평균값(1 point average)을 이용하고 처음에서 두번째와 마지막에서 두번째는 3 점 평균값(3 point average)을 이용한다.

$$3 \leq k \leq M-2 \quad \bar{x}_k = \frac{1}{5} \sum_{i=k-2}^{k+2} x_i \quad \bar{y}_k = \frac{1}{5} \sum_{i=k-2}^{k+2} y_i \quad (7)$$

$$VAP_j = \frac{\sum_{i=1}^{M-1} \sqrt{(\bar{x}_{i+1} - \bar{x}_i)^2 + (\bar{y}_{i+1} - \bar{y}_i)^2}}{(M-1)\Delta t} \quad (8)$$

$$VAP = \frac{\sum_{j=1}^N VAP_j}{N} \quad (9)$$

4) 운동력(MOT - Motility) : 전체 정자 중 운동력이 있는 정자의 비율이다. 선형속도가 경계값 이상일 때 운동력이 있는 정자로 판별된다. 가장 전통적인 활동성 척도이다.

5) 선형성(LIN - Linearity) : 선형속도와 곡선속도

의 비로써 직선성이 강할 수록 1에 가깝다.

$$LIN = \frac{VSL}{VCL} \quad (10)$$

6) 측두거리(LHA - Lateral Head Amplitude) : 원래의 이동 경로에서 평균 이동 경로(average path)로의 수직 거리 또는 추적된 중심 좌표와 평균 좌표사이의 거리이다. 보통 이 값을 두배해서 이용한다. 이 값이 클수록 경로 변화가 심하고 복잡한 운동을 한 정자이다.

$$LHA_i = 2 \cdot MAX_{i=1}^{M-1} \left\{ \sqrt{(\bar{x}_i - x_i)^2 + (\bar{y}_i - y_i)^2} \right\} \quad (11)$$

$$LHA = \frac{\sum_{i=1}^N LHA_i}{N} \quad (12)$$

7) 특활성(HYP - Percentage of Hyperactivated sperm) : VCL과 LHA가 기준 값보다 크고 동시에 LIN가 기준값보다 작은 정자의 전체 정자에 대한 백분율이다. 이 값이 클수록 복잡한 운동을 한 정자가 많음을 의미한다.

#### IV. 결 과

정액 표본 28 개를 수작업 방법(이하 MAN 방법)으로 분석한 뒤 비디오 레코더로 녹화해, 본 연구에서 고안한 분석 방법(이하 SNU 방법)과 별도의 전용처리 장치를 이용하는 방법(이하 CTS 방법)으로 분석한 다음 그 결과를 통계처리를 이용해 비교 분석해 보았다.

##### 1. 수작업 방식과의 비교

서울대 병원 임상병리과의 비뇨기과의 검사자들이 각 정액표본의 농도와 운동력을 측정한 결과(MAN 방법)를 SNU 방법과 CTS 방법으로 분석한 결과와 paired-test로 비교해 보았다. 그림8(a)에 농도에 대한 비교 결과가 나타나 있고, 그림8(b)에 운동력에 대한 비교 결과가 나타나 있다. 농도와 운동력 모두 수작업 방법과 SNU, CTS 양 방법 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다. 이것은 검사자들이 검사한 사점과 비디오 녹화 시점사이에 2.3 시간 정도의 차이가 있었고, 대부분의 정액 표본의 농도가 너무 높은 편에 기인한다. 정액의 농도가 높게 되면 동일한 정자의 추적 윈도우 내에 다른 정자들이 나타나 많은 경우 추적에 실패하거나 잘못된 정자를 추적하는 오류가 발생하게 된다. 따라서 정확한 분석을 위해서는 정액을 회석시켜 관찰하는 것이 원칙으로 되어있으

나. 본 연구에서는 정액을 회석하지 않고 그대로 관찰해 차이가 발생했다. 실제로 정액의 농도가 낮은 환자들의 경우에서는 차이가 발견되지 않았다. 수작업 방식으로는 정액의 속도 파라미터를 구해낼 수 없어서 농도와 운동력만을 비교했다.

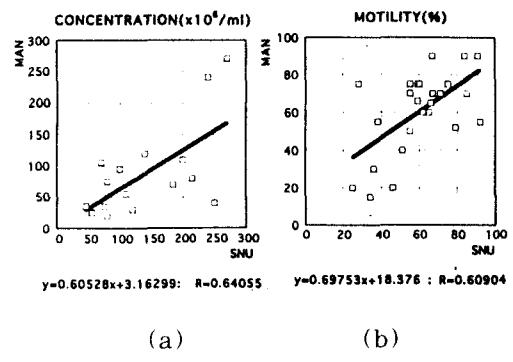


그림 8. (a)농도(MAN방법-SNU방법)  
(b)운동력(MAN방법-SNU방법)

Fig. 8. (a)Comparison of results for the concentration between MAN method and SNU method.  
(b)Comparison of results for the motility between MAN method and SNU method.

##### 2. CTS 방법과의 비교

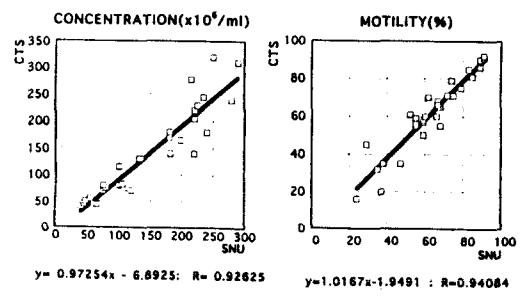


그림 9. (a)농도(SNU방법-CTS방법)  
(b)운동력(SNU방법-CTS방법)

Fig. 9. (a)Comparison of results for the concentration between SNU method and CTS method. (b)Comparison of results for the motility between SNU method and CTS method.

그림9(a)와 그림9(b)에 본 연구에서 고안한 방법과 CTS방법과의 비교 결과를 나타내었다. 농도, 운동력, 선형속도, 곡선속도, 선형성등 파라미터 모두에 대해 통계적으로 차이가 없었다. CTS 방법의 경우에는 따로 구성되어 있는 영상 처리 장치를 통해 정자 머리의 경계를 추출해 낸 뒤 그것으로부터 중심 좌표를 계산하기 때문에 처리 정보의 감소로 처리속도는 SNU 방법보다 빠르지만 불완전한 경계 추출의 영향으로 계산된 중심 좌표의 정확도는 다소 떨어지게 된다.

### 3. 운동 특성을 간의 상호 관련도

표1에 각각 구한 운동특성의 상호관련도가 나타나 있다. 선형속도와 곡선속도는 서로 매우 상호 관련도가 높게 나타났으나, 선형성과 속도 파라미터들 간의 상호 관련성은 떨어지는 것으로 나타났다.

표 1. 운동 특성간 상호 관련도

Table 1. Degree of correlation of motional characteristics.

	운동력	선형속도	곡선속도	선형성
운동력	1			
선형속도	0.0073	1		
곡선속도	0.2186	0.9150	1	
선형성	-0.4433	0.4475	0.0546	1

이 같은 결과는 운동 특성을 활동성에 관한 것과 운동 유형에 관한 것으로 나누어 고찰할 필요가 있음을 암시한다. 즉 정자의 활동성을 나타내는 척도로 정자 운동의 유형을 예측하는 것은 불가능하며, 그 역도 마찬가지다. 따라서 정확한 정자운동 분석을 위해서는 정자의 활동성과 유형에 대한 척도가 모두 고려되어야만 한다. 기존의 연구들은 정자의 활동성에 대한 분석에 치중되어 왔고 따라서 특정 집단의 불임 환자의 경우에는 그 원인이 알려지지 않아왔다. 따라서 정자 운동 유형에 대한 분석은 정확한 불임의 원인 규명에 필수적인 단계이고, 여기에서 정자 형태 분석의 필요성도 제기된다.

### V. 토의 및 결론

불임 진단에 있어서 가장 기초적인 검사 가운데 하나인 정액 검사를 별도의 전용 프로세서를 사용하지 않고 PC를 이용하여 자동화된 정자 운동 특성 분석 방법을 개발했다.

정자의 운동 특성 파라미터로서 활동성을 나타내는 척도로 MOT, VSL, VCL등을 구했고, 운동 유형을 나타내는 척도로 LIN, LHA등을 검출했다. 기본 파라미터로서 CON도 계산했다.

정액 분석시 정액내의 정자의 농도가 높은 경우 실험 결과에서 언급한 대로 추적에 실패하는 경우가 많이 생기게 되어 분석이 제대로 이루어지지 않았다. 이러한 문제점에 대한 해결책으로서 고농도 정액에 대해서는 회색 시켜 검사하는 것이 권장되고 있다. 현재의 시스템은 PC의 속도 제한으로 인해 분석하는데 상당한 시간(한 표본당 15~20분)이 걸리지만 PC의 성능을 향상시키고 알고리듬을 개선한다면 분석 시간이 3~5분으로 줄어들 것으로 기대된다.

정액 분석은 기본적으로 운동성과 함께 형태적 특성도 고려되어야 한다. 현재의 방법은 운동 특성만 분석하게 되어 있지만 궁극적으로는 형태적 특성 분석에 관한 연구는 필수적이다. 두 가지 특성을 통합한 정자의 특성 분석에 관한 연구는 불임의 정확한 원인 규명에 지대한 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

\* 본 연구는 한국과학재단의 핵심전문연구과제 지원으로 이루어졌다.

### 参考文献

- [1] Mahony MC, et al. "Evaluation of semen parameters by means of automated sperm motion analyzers." Fertile Sterile 1988;49:876-880.
- [2] Katz DF, et al. "Automatic Analysis of Human Sperm Motion" J Androl 1987;8:170-181.
- [3] Serdia O. Mack, et al. "Quantitztion of Specific Parameters of Motility in Large Numbers of Human Sperm by Digital Image Processing" Biol Reprod 1988;38:270-281.
- [4] Steven Tessler, et al. "Linear and Nonlinear Mouse Spermatozoa Motility Patterns." J Androl 1985;6:35-44.
- [5] Davis Russell o, et al. "Standardization and Comparability of CASA Instruments" J Androl 1992;13:81-86.
- [6] Katz DF, et al. "Automated Semen Analysis" Curr Probl Obstet Gynecol Fertile 1989;12(5):165-200.

## 著者紹介

沈 勳 燮(正會員)



1970年 2月 18日生. 1992年 2月  
서울대학교 공과대학 제어계측과  
졸업(공학학사). 1994年 2月 서울  
대학교 대학원 의공학과 졸업(공  
학석사). 1994年 3月 ~ 현재  
(주)메디슨 연구원

李 院 珍(正會員)




1969年 9月 16日生. 1994年 2月  
서울대학교 공과대학 전기공학과  
졸업(공학학사). 1994年 3月 ~  
현재 서울대학교 대학원 의공학과  
재학중

朴 光 錫(正會員)



1957年 5月 21日生. 1980年 2月  
서울대학교 공과대학교 전자공학  
과 졸업. 1985年 8月 서울대학교  
대학원 박사학위 취득. 1985年 11  
月 서울대학교 의과대학 전임강  
사. 1987年 11月 ~ 1988年 11月  
미국 ULCA 의과대학 연수. 1988年 4月 서울대학교  
의과대학 조교수

白 宰 昇(正會員)



1953年 3月 14日生. 1977年 2月  
서울대학교 의과대학 졸업(의학  
사). 1980年 2月 서울대학교 대학  
원 석사 취득(의학석사). 1984年  
8月 서울대학교 대학원 박사 취득  
(의학박사). 1977年 ~ 1982年 2  
月 서울대학교 비뇨기과 전공의. 1987年 2月 ~  
1989年 3月 서울대학교 비뇨기과 전임강사.  
1989年 7月 ~ 1991年 1月 샌프란시스코 캘리포니아  
대학 비뇨기과 연구원. 1989年 7月 ~ 현재 서울대  
의과대학 비뇨기과학 교실 부교수