

# 자궁경부암세포의 3차원 분석을 위한 컨포컬 현미경 영상의 재구성 방법

최익환, 최현주, 이병일, 조남훈\*, 정구보\*\*, 최홍국  
인제대학교 컴퓨터공학부, \*연세대학교 병리학교실, \*\*충북대학교 해부학교실

## Reconstruction method of confocal microscopic image for 3-dimensional analysis of uterine cervix cancer cell

Ik-Hwan Choi, Hyun-Ju Choi, Byeung-II Lee,  
Nam-Hoon Cho\*, Gu-Bo Jeong\*\*, Heung-Kook Choi

School of Computer Engineering, Inje University  
\*Dept. of Pathology, Yonsei University, \*\*Dept. of Anatomy, Chungbuk University

### 요 약

현미경을 통해 획득한 세포영상이나 조직영상은 질병의 유무나 암의 진행 정도를 파악하여 환자를 치료하기 위한 매우 중요한 요소이다. 하지만 현재 세포나 조직영상에 대한 분석은 광학현미경을 통해 얻어진 2차원 영상분석방법을 주로 이용하고 있으므로 잘린 단면의 각도나 두께에 따라 서로 다른 분석결과를 나타내는 문제점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 콘포컬 현미경을 사용하여 50nm 두께의 연속적 색선 영상을 획득한 후, 이를 바탕으로 자궁경부암세포를 3차원으로 재구성 방법을 제안한다. 본 연구의 결과는 2차원 정량분석에 대한 한계를 극복하고 정확한 진단과 예후 추정으로 환자에게 최적의 임상적 치료를 제공할 수 있는 기반을 마련하는데 활용하고자 한다.

### 1. 서론

자궁경부암이란 해부학적으로 자궁과 질이 연결된 경계에 위치한 자궁 경부에 생기는 악성 종양을 말한다. 암센터의 통계에 따르면 여성의 암 사망률 중 네 번째로 빈도가 높으며, 전세계적으로 매년 약 45만명의 새로운 환자가 발생하고, 연간 약 30만 명이 자궁경부암으로 사망한다[1].

높은 발생률과 사망률을 낮추기 위해서는 초기 병변을 가진 환자를 조기 발견하도록 하는 검진법을 체계화하는 것이 중요한데, 자궁경부암 진단법으로 널리 쓰이고 있는 세포진 검사(PAP smear)는 오진율이 10-50%에 이르는 것으로 알려져 있다[2,3]. 그러므로 위음성율을 낮추기 위해서는 판독의사의 경험과 주관적인 기준에 의한 오진의 위험을 줄일 수 있도록 객관적 지표에 의한 정확한 기준이 필요하며 기존의 2차원 영상분석에 있어서의 문제점에 대한 개선책이

요구되고 있는 실정이다.

컴퓨터를 이용한 2차원 영상분석에 있어서의 한계점은 전처리, 분할, 분석 등 방법에 대한 한계보다는 2차원 영상 자체가 가지는 문제점으로써 영상획득시 얻어지는 단면의 각도나 두께에 따라 다르게 보이며 위,아래로 세포가 어떤 형태를 이루고 있는지 알 수 없으므로 정확한 분석 결과를 얻기가 어렵다.

따라서 본 논문에서는 물리적 절편화에 따라 발생하는 세포의 변형을 막기 위해 콘포컬 현미경을 사용하여 150여개의 연속적 색선 영상을 획득하고 이를 기반으로 3차원 세포 모델을 생성하고 가시화하였다. 이는 세포의 3차원 재구성을 통한 형태학적 분석과 객관적 기준 제시를 위한 기반 연구로서 컴퓨터를 이용한 진단보조시스템에 활용하고자 한다.

### 2. 영상획득 및 재료

본 논문에서 사용된 영상은 cytokeraion과 propidium iodide(PI)로 염색된 10 $\mu$ m 두께의 자궁경부암조직을, 컨포컬 현미경(Biorad MRC-1024)을 이용하여 630배에서 50nm 두께로 획득한 150여개의 연속된 섹션 영상이다. 디지털화 된 영상은 512 $\times$ 512 그레이 스케일 영상이며 정상과 비정상 세포의 3차원으로 가시화 된 모양을 비교하기 위하여 전문가의 판단에 따른 정상과 비정상 세포의 연속된 섹션 영상 2 set를 획득하여 사용하였다. 그림1은 획득한 연속적 섹션 영상들 중 정상세포의 단면 영상이며 그림2는 비정상세포의 단면영상이다.

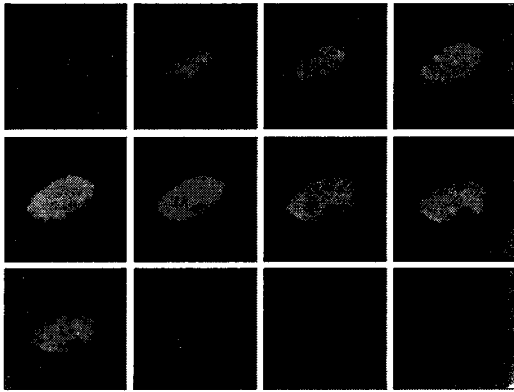


그림 1. 정상세포의 단면영상

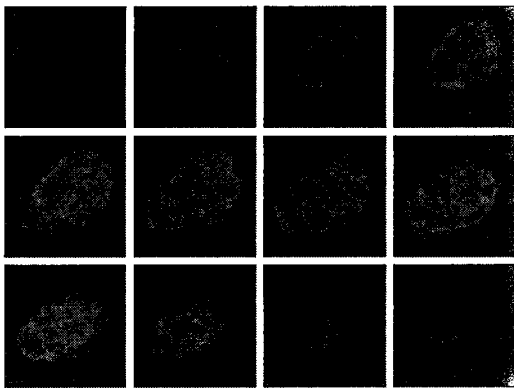


그림 2. 비정상세포의 단면영상

본 논문에서는 Microsoft사의 Visual C++을 이용하여 구현하였으며, OpenGL을 이용하여 가시화 하였다. 3차원 재구성을 위한 전체 스킴은 그림 3과 같다.

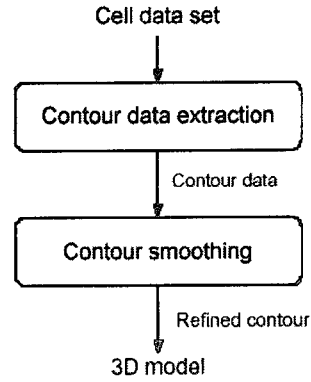


그림 3. 3차원 재구성을 위한 scheme

### 3.1 전처리

세포핵의 외곽선 추출시 잡음에 민감한 라플라시안을 적용하므로 전처리 과정으로 잡음을 제거하기 위하여 Gaussian filter를 적용하였으며 수식은 식(1)과 같다. 처리된 영상에서 세포핵을 분할하기 위하여 히스토그램을 이용하여 적절한 임계치(T)를 찾고 식(2)을 이용하여 이진화하였다[4].

$$g(i, j) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (1)$$

$$f(i, j) = 255 \text{ for } f(i, j) \geq T \quad (2)$$

$$f(i, j) = 0 \text{ for } f(i, j) < T$$

### 3.2 외곽선 추출을 통한 외곽선 추적

분할된 세포핵의 외곽선을 추출하기 위하여 이진화된 영상에 laplacian edge detector를 사용하였다. 뚜렷한 외곽선을 얻고 추출된 외곽선들이 폐곡선을 이룬다는 장점을 이용하기 위하여 2차 미분 연산자인 라플라시안을 영상에 적용하였다. 식은 식(3)과 같다. 실제 적용시에는 3 $\times$ 3 마스크를 사용하므로 식(4)와 같다.

$$\nabla^2 f = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \quad (3)$$

$$\nabla^2 f = 4z_5 - (z_2 + z_4 + z_6 + z_8) \quad (4)$$

## 3. 연구 방법

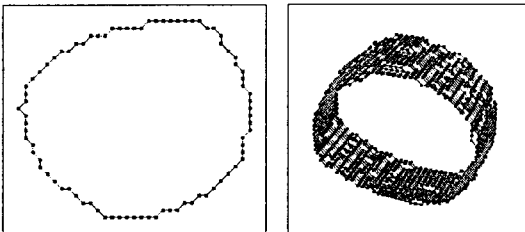
검출된 외곽선을 의미있는 정보로 변환하기 위하여 체인코드 알고리즘을 사용하여 추출한 세포핵의 외곽선을 따라 존재하는 픽셀의 정보를 획득하여 자료화시켰다. 알고리즘은 아래와 같다[5].

1. 오브젝트내의 한점에서부터 시작 (예 점1)
2. 다음 체인코드에 해당하는 점이 A에 속하는지 검사하고 해당하면 이동
3. 시작점 1에 도달할 때 까지 반복

|  |   |   |   |    |    |    |    |
|--|---|---|---|----|----|----|----|
|  |   |   |   |    |    |    |    |
|  |   |   | 1 | 16 | 15 | 14 |    |
|  |   |   | 2 |    |    |    | 13 |
|  | 5 | 4 | 3 | 9  | 10 | 11 | 12 |
|  | 6 | 7 | 8 |    |    |    |    |
|  |   |   |   |    |    |    |    |

그림4. 체인코드

그림5의 (a)는 하나의 단면영상에서 외곽선을 추출하였을 때 영상이며 이를 바탕으로 3차원적으로 구성한 것이 그림5의 (b)이다.



(a) 단면영상의 외곽선 (b) 외곽선의 3차원영상

그림5. 외곽선 추출영상

### 3.3 Re-contouring

얻어진 외곽선을 부드럽게 하기 위한 기존의 방법들은 원래의 외곽선보다 수축되게 하는 단점을 가지고 있으므로[6], 원래의 형상은 유지하면서 잡음을 제거하고 외곽선을 부드럽게 하기 위하여 re-contouring을 사용하였다[7].

Re-contouring 알고리즘은 단면 데이터의 수평 방향으로 데이터의 품질을 향상시키기 위한 방법으로 추출되는 점 데이터의 거리가  $\delta$ 가 되도록 원래의 단면 데이터에서 새로운 점 데이터를 추출하는 방식이다. Re-contouring 알고리즘을 적용하기 하기 위해 샘플링 비율을 결정하고 식 (5)에 의해서 unit chord

length  $\delta$ 을 계산하였다. 샘플링 비율은 일반적으로 데이터가 잡음을 많이 포함하는 경우에는 샘플링 비율을 작게 하여  $\delta$ 가 큰 단면 데이터를 얻고, 잡음을 적게 포함하는 경우에는 샘플링 비율을 크게 하면 좋은 결과를 얻을 수 있으므로 본 연구에서는 샘플링 비율을 0.7에서 0.9로 계산하였다.

$$\delta = \frac{\text{sum of chord length}}{\text{sampling ratio} \times \text{number of pts.}} \quad (5)$$

점 데이터를 샘플링하는 방식은 연속하는 임의의 두 점간의 거리가  $\delta$ 보다 큰 경우와 작은 경우로 나누어 생각할 수 있다. 첫 번째 경우는 두 점 사이에서 새로운 점 데이터가 샘플링 되기 때문에 새로운 현의 길이 (chord length)는  $\delta$ 와 같게 되고 두 번째 경우 그림6의 (b)와 같이 세 번째 점 데이터를 이용해서  $\delta_1 + \delta_2$ 가  $\delta$ 가 되도록 점 데이터를 샘플링한다. 이 경우에는 추출된 점 데이터의 현의 길이  $\delta_{\text{new}}$ 는 원래의 점 데이터와 삼각형을 이루기 때문에  $\delta$ 보다는 항상 작게 된다. 이러한 방식으로 점 데이터의 현의 길이의 분산이 0이 될때까지 샘플링을 반복한다.



(a) 초기 데이터 (b) 스플된 데이터

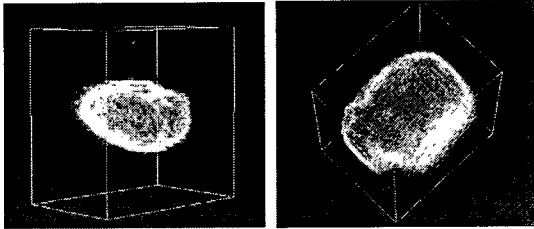
그림 6. Re-contouring의 샘플링방법

## 4. 결과

컨포컬 현미경으로부터 얻은 영상을 re-contouring 한 다음 3차원 공간상에서 2차원 슬라이스 영상들을 재구성 하였다. 아래의 그림7은 OpenGL을 이용하여 세포의 형태학적 특징을 관찰하기 위해 가시화 한 결과이다. 세포의 회전위치를 알기 위해 주변에 육면체를 두어 마우스 이벤트를 통하여 효과적으로 회전 및 확대, 축소가 가능하도록 하였으며, 조명을 준 컬러를 사용하여 입체감을 표현하였다.

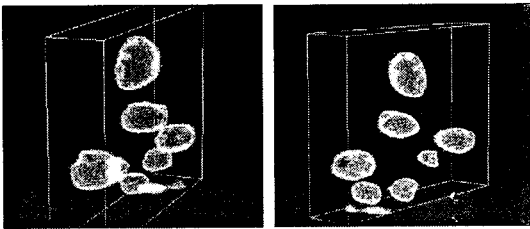
하나의 영상세트가 약 150개인 것을 감안해도 수행속도가 평균 1초이내에 들기 때문에 빠른 결과를 확인할 수 있었으나 ROI를 넓게 잡으면 소요시간이 길어졌다. 그림6의 (a)영상은 정상세포의 형태학적 특징

을 보여주고 있으며, (b)영상은 비정상세포의 형태학적 특징을 보여주고 있다. 비정상 세포는 정상세포에 비해 원형에서 벗어나 형태변이가 큰 것이 확인할 수 있다. 그림6의 (c),(d)영상은 여러 세포들을 함께 3차원으로 재구성하고 회전한 결과 영상이다.



(a) 정상세포

(b) 비정상 세포



(c) 여러 세포 가시화

(d) 회전한 결과

그림 7. 결과영상

## 5. 결론

본 논문에서는 자궁경부암세포를 컨포컬 현미경을 사용하여 연속적인 옵티컬 섹션 영상을 얻은 후, 3차원 영상으로 재구성하기 위하여 각 영상에서 윤곽선을 추출하고 이를 재구성하여 3차원 모델을 생성하였다. 이 재구성된 데이터는 진단을 위해 사용될 것으로 기대한다.

형태학적 인자의 구성이나, 진단 보조를 위한 데이터의 유효성 검증등이 차후 연구되면 병리진단에 크게 도움이 되는 소프트웨어로 사용될 것으로 기대한다.

## [참고문헌]

- [1] <http://www.ncc.re.kr> / 국립암센터
- [2] 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
- [3] F. Meyer, Automatic screening of cytological

specimens, 1986, CVGIP 35, pp.356-369

[4] Image Processing Analysis, and Machine Vision 1998

[5] A.K.Jain, Fundamentals of Digital Image Processing, Prentice hall, 1986.

[6] J. Oliensis, "Local reproducible smoothing without shrinkage," IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligent, Vol. 15, No. 3, pp. 307-312, 1993.

[7] 류재현, 이관행, "곡면 모델의 wiggle을 줄이기 위한 양방향 스무딩," Feb. 11, 2000, 한국 CAD/CAM 학회 학술발표회논문집, pp. 371-376.