

Segmentation d'images multi-résolution : application à l'extraction des mitoses en imagerie histologique

Vincent ROULLIER¹, Olivier LÉZORAY¹, Vinh-Thong TA², Abderrahim ELMOATAZ¹

¹Université de Caen Basse-Normandie - GREYC UMR 6072 CNRS, 6 Boulevard Maréchal Juin, F-14050 Caen, France

²LaBRI (Université de Bordeaux, CNRS), 351 cours de la Libération, F-33405 Talence Cedex, France
{vincent.roullier, olivier.lezoray, abderrahim.elmoataz-billah}@unicaen.fr,
vinh-thong.ta@labri.fr

Résumé – Dans cet article, nous présentons une méthode d'extraction des mitoses sur des images entières de coupes histologiques de cancer du sein. La segmentation proposée utilise une approche multi-résolution imitant le processus d'analyse du pathologiste. Chaque résolution est analysée en se focalisant sur une région déterminée à une résolution plus grossière. À chaque niveau, un affinage spatial par classification semi-supervisée est effectué pour une meilleure précision des contours. La segmentation proposée est entièrement non-supervisée et utilise des connaissances spécifiques du domaine.

Abstract – In this paper, we present a graph-based multi-resolution approach for mitosis extraction in breast cancer histological whole slide images. The proposed segmentation uses a multi-resolution approach which reproduces the slide examination done by a pathologist. Each resolution level is analyzed with a focus of attention resulting from a coarser resolution level analysis. At each resolution level, a spatial refinement by semi-supervised clustering is performed to obtain more accurate segmentation around edges. The proposed segmentation is fully unsupervised by using a domain specific knowledge.

1 Introduction

Le cancer du sein est la seconde cause de décès par cancer chez la femme. Le critère de Elston-Ellis [2] permet d'évaluer le grade d'un cancer à partir d'une analyse visuelle des biopsies de cancer de seins. Il prend en compte des informations morphologiques sur des noyaux, la formation des tubules et la prolifération des figures de mitoses (évaluée sur dix champs microscopiques consécutifs). Ce comptage fastidieux est moins représentatif qu'un comptage effectué sur l'ensemble de la préparation.

Avec le développement de scanners à lames entières performants, il est désormais possible d'obtenir une image à haute résolution de l'ensemble de la biopsie et d'y effectuer un comptage complet. Si ces scanners à lames entières sont une révolution dans le domaine de l'imagerie histologique, le traitement et l'analyse de ces images est une tâche très stimulante. Deux difficultés apparaissent : d'une part, l'image produite est relativement grande et son traitement nécessite des outils et algorithmes performants et d'autre part, la variabilité des pathologies rend leur extraction plus difficile. D'ailleurs, les méthodes décrites dans la littérature utilisent généralement des méthodes d'apprentissages [4, 5].

Dans cet article, nous proposons une méthode d'analyse et de segmentation multi-résolution non-supervisée utilisant la théorie des graphes. La stratégie proposée s'appuie sur une approche *top-down* imitant le processus d'interprétation du pathologiste lorsque celui-ci effectue son analyse du cancer du

sein à haute-résolution (il détermine les régions d'intérêt à faible résolution, affine sa sélection en augmentant la résolution et effectue le comptage à la plus haute résolution).

2 Approche multi-résolution

2.1 Principe

Les images de scanner à lames entières sont énormes (environ 40000×40000 pixels) et ne peuvent pas tenir en mémoire. Afin de faciliter leur visualisation et leur traitement, les biopsies acquises sont directement stockées sous la forme d'une pyramide irrégulière dans laquelle chaque niveau est une version réduite du niveau le plus fin (Figure 1-(a)). L'approche multi-résolution est donc naturelle pour les segmenter et cela permet de reproduire le processus d'analyse du pathologiste avec son microscope. La Figure 1-(b) illustre la démarche d'identification et de comptage des mitoses suivie par un pathologiste sur une lame. Ce processus se fait par une détection des régions d'attention : une fois ces dernières identifiées, le pathologiste passe à une résolution supérieure afin d'étudier des structures plus fines et de focaliser son attention sur des régions particulières. Ce processus se reproduit jusqu'à la résolution la plus fine permettant de visualiser et de comptabiliser les figures de mitoses. La méthode de segmentation multi-résolution proposée permet, par le passage d'une résolution à une autre, de se focaliser sur une région particulière et de réduire la taille de la région à traiter. Le processus de segmentation comporte deux

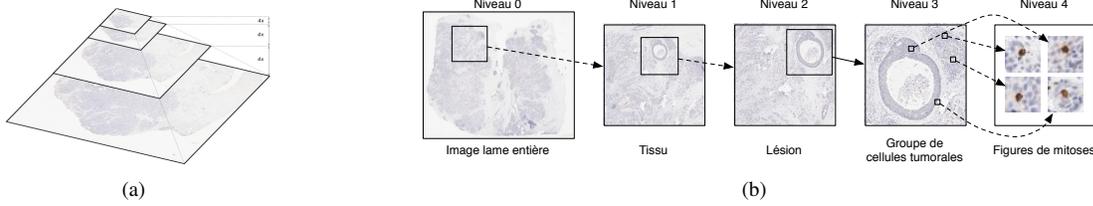


FIGURE 1 – (a) Exemple de la décomposition d’un tissu enregistré par un scanner à lame entière ; (b) Illustration de l’analyse visuelle multi-résolution effectuée par un pathologiste.

étapes importantes : la première est l’étape de segmentation effectuée à un niveau de résolution ; la seconde étape concerne le passage d’une résolution à une résolution supérieure. Au dernier niveau de résolution (la base de la pyramide, la résolution la plus fine), l’extraction des mitoses est effectuée.

2.2 Rappels sur la théorie des graphes

2.2.1 Définitions et Notations

Un graphe est une structure utilisée pour décrire un ensemble d’objets et une relation entre ces différents objets. Les objets sont appelés des *sommets* et le lien entre deux sommets est appelé une *arête*.

Un *graphe pondéré* $G = (V, E, w)$ est composé d’un ensemble fini $V = \{u_1, \dots, u_N\}$ de N sommets, un ensemble d’arêtes $E \subset V \times V$ et d’une *fonction de poids* $w : E \rightarrow \mathbb{R}^+$. Une arête de E connectant deux *sommets adjacents* u et v est noté (u, v) . On suppose que le graphe G est simple, connecté et non-orienté. Cela implique que w est symétrique (i.e. $w(u, v) = w(v, u)$ si $(u, v) \in E$ et $w(u, v) = 0$ sinon). Soit $\mathcal{H}(V)$ l’espace hilbertien des fonctions qui associent une valeur réelle à chaque sommet de V . Dans le cas d’utilisation des graphes sur des images, les sommets sont les pixels de l’image, les arêtes connectent les 8 voisins d’un pixel.

2.2.2 Opérateurs discrets sur graphe

L’opérateur *différence pondérée* $d_w : \mathcal{H}(V) \rightarrow \mathcal{H}(E)$ d’une fonction f sur une arête (u, v) connectant $u, v \in V$ est défini par $(d_w f)(u, v) = \sqrt{w(u, v)}(f(v) - f(u))$. Cet opérateur permet de définir l’opérateur *dérivée directionnelle* de f selon (u, v) ainsi : $\partial_v f(u) = (d_w f)(u, v)$. Nous pouvons donc définir l’opérateur *gradient pondéré* ∇_w d’une fonction f par $\forall u \in V, (\nabla_w f)(u) = (\partial_{v_1} f(u), \dots, \partial_{v_k} f(u))^T$. Cet opérateur correspond à la variation locale de la fonction f au sommet u et mesure la régularité de f dans le voisinage de u . Nous en déduisons donc la norme \mathcal{L}_2 du gradient pondéré défini par $\|(\nabla_w f)(u)\|_2 = \left[\sum_{v \sim u} w(u, v)(f(v) - f(u))^2 \right]^{1/2}$ et le laplacien $(\Delta_w^p f)(u) = \sum_{v \sim u} \gamma_p(u, v)(f(v) - f(u))$ avec $\gamma_p(u, v) = w(u, v)(\|(\nabla_w f)(u)\|_2^{p-2} + \|(\nabla_w f)(v)\|_2^{p-2})$. Plus de détails concernant ces définitions sont disponibles dans [1].

2.2.3 Régularisation sur graphe

Pour régulariser une fonction $f^0 \in \mathcal{H}(V)$ en utilisant le p -laplacien, nous considérons le problème variationnel suivant :

$$\min_{f \in \mathcal{H}(V)} \left\{ E_w(f, f^0, \lambda, p) = R_w(f, p) + \frac{\lambda}{2} \|f - f^0\|_2^2 \right\}. \quad (1)$$

Le premier terme, $R_w(f, p)$, est le terme de régularisation et est défini par $0 < p < +\infty : R_w(f, p) = \frac{1}{p} \sum_{u \in V} \|(\nabla_w f)(u)\|_2^p$. Le second terme est le terme d’attache aux données. Ce problème d’optimisation a une unique solution pour $p = 1$ et $p = 2$ qui satisfait, $\forall u \in V$,

$$\frac{\partial E_w(f, f^0, \lambda, p)}{\partial f(u)} = (\Delta_w^p f)(u) + \lambda(f(u) - f^0(u)) = 0.$$

Nous pouvons nous ramener au problème équivalent :

$$\left(\lambda + \sum_{v \sim u} \gamma(u, v) \right) f(u) - \sum_{v \sim u} \gamma(u, v) f(v) = \lambda f^0(u).$$

Pour approximer la solution, nous pouvons linéariser le système d’équations et utiliser la méthode de Gauss-Jacobi afin d’obtenir l’algorithme itératif suivant :

$$\begin{cases} f^{(0)}(u) = f^0(u) \\ f^{(n+1)}(u) = f^0(u) + \sum_{v \sim u} \lambda + \sum_{v \sim u} \gamma^{(n)}(u, v) \end{cases}, \quad (2)$$

avec $\gamma^{(n)}(u, v)$, la fonction γ défini précédemment (Section 2.2.2).

2.2.4 Classification semi-supervisée sur graphe

Nous pouvons adapter la régularisation présentée ci-dessus (Section 2.2.3) à un problème de classification semi-supervisée. Soit $G = (V, E, w)$ un graphe pondéré tel que les sommets de V sont connectés par une arête de E . La classification semi-supervisée de l’ensemble V consiste à grouper les éléments de V en k classes avec k connu. Pour cela, l’ensemble V est composé de données labellisées et non-labellisées. L’objectif est alors d’estimer le label d’une donnée à partir des données labellisées. Soit $C = \{c_i\}_{i=1, \dots, k}$, l’ensemble des classes, L est l’ensemble des sommets labellisés et $V \setminus L$ l’ensemble des données non-labellisées. Pour chaque sommet de L , sa classe d’appartenance est obtenue par une fonction $\mathcal{L} : L \rightarrow C$.

La situation peut être modélisée en considérant k fonctions de label initial (une par classe) $f_i^0 : V \rightarrow \mathbb{R}$, avec $i = 1, \dots, k$. Pour un sommet donné u , si $u \in L$ alors $f_i^0(u) = +1$ si $\mathcal{L}(u) \in c_i$ et $f_i^0(u) = -1$ sinon. Si $u \in V \setminus L$ alors $f_i^0(u) = 0$. Le classification s’effectue par k processus de classification. Cela correspond à estimer les fonctions $f_i : V \rightarrow \mathbb{R}$ pour chaque classe i en utilisant le processus de régularisation décrit précédemment.

2.3 Segmentation multi-résolution

2.3.1 Principe

Notre méthode de segmentation utilise une segmentation *top-down* reproduisant le processus d’interprétation du pathologiste en accord avec la spécificité du domaine de connaissance (décrit par le pathologiste). L’algorithme 1 résume l’ensemble des traitements du processus de segmentation.

Algorithm 1 Segmentation Multi-résolution de lames entières

- 1: $I_0^s = \text{Régularisation}(I_0)$
 - 2: $I_0^c = \text{Classification-2-classes}(I_0^s)$
 - 3: $I_0^r = \text{Affinage-des-contours}(I_0^c)$
 - 4: **for** $i = 1$ to 3 **do**
 - 5: $I_i^p = \text{Propagation-classification-précédente}(I_{i-1}^r)$
 - 6: $I_i^s = \text{Régularisation}(I_i^p)$
 - 7: $I_i^c = \text{Classification-2-classes}(I_i^s)$ inside one class of I_i^p
 - 8: $I_i^r = \text{Affinage-des-contours}(I_i^c)$
 - 9: **end for**
 - 10: $I_n = \text{Extraction-des-mitoses}(I_{n-1})$
-

À une résolution i donnée, une classification est effectuée en suivant les étapes suivantes :

- Nous simplifions l’image par la régularisation décrite précédemment (Section 2.2.3). Le graphe considéré est un graphe pondéré dont chaque sommet est un pixel de l’image, les arêtes connectent chaque pixel à ses huit voisins, et la fonction de poids est décrite par un noyau gaussien. La Figure 2 illustre le processus de régularisation appliqué sur nos images.
- Nous effectuons une classification en deux classes dans une région d’intérêt spécifique. La classification utilisée à cette étape est un k -means (avec $k = 2$) effectué sur l’histogramme couleur de l’image. Les algorithmes de classification sont très sensibles à l’initialisation et c’est pour cela que nous utilisons une version robuste à l’initialisation de l’algorithme [3]. La Figure 3 présente les résultats de la classification effectuée au niveau 0 et au niveau 1 dans une région d’attention.

Pour propager la classification d’une résolution à une résolution plus fine, nous effectuons les deux étapes suivantes :

- Le passage d’une résolution à une résolution plus fine s’effectue par une réplique pixel à pixel de la labellisation en prenant en compte le rapport entre les deux niveaux. Cette étape fait également partie du processus de segmentation multi-résolution puisque la réplique de la labelli-

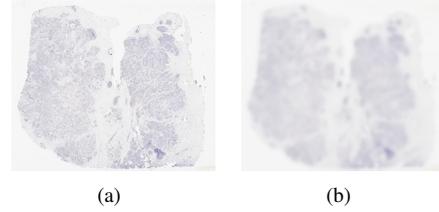


FIGURE 2 – (a) Image originale d’une lame virtuelle à faible résolution ; (b) image régularisée

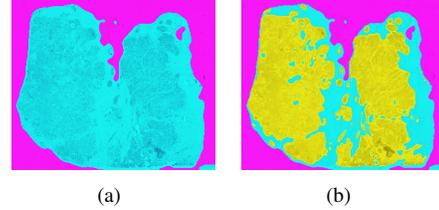


FIGURE 3 – (a) Image labellisée après la classification effectuée au niveau 0 (en rose le fond, en cyan le tissu) et niveau 2 (b) dans la région sélectionnée, la région cyan (en rose le fond, en cyan le tissu normal et en jaune les lésions)

sation est uniquement effectuée dans les régions d’intérêt. Le rapport entre les deux niveaux entraîne un effet escalier (“stair-casing”) sur les contours des régions labellisées (illustré sur la Figure 4).

- Afin d’éliminer cet effet, un algorithme d’affinage spatial est appliqué sur une bande étroite autour du contour séparant les deux classes obtenues au niveau précédent. Ce processus utilise le formalisme décrit dans la section 2.2.4. Le graphe considéré est un sous-graphe du graphe complet, l’ensemble des sommets correspond à l’ensemble des pixels autour du contour. La Figure 5 illustre le processus d’affinage des contours.

Au dernier niveau de résolution, nous effectuons une classification en deux classes sur l’histogramme issu de l’image mettant en valeur la composante rouge de l’image ($2R - V - B$) (Figure 6).

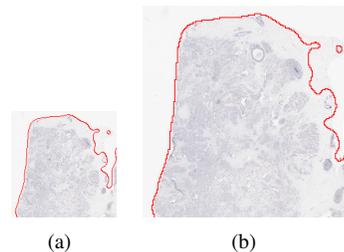


FIGURE 4 – (a) Image avec un contour obtenu à une résolution ; (b) le contour propagé à la résolution supérieur présentant un effet marche d’escalier

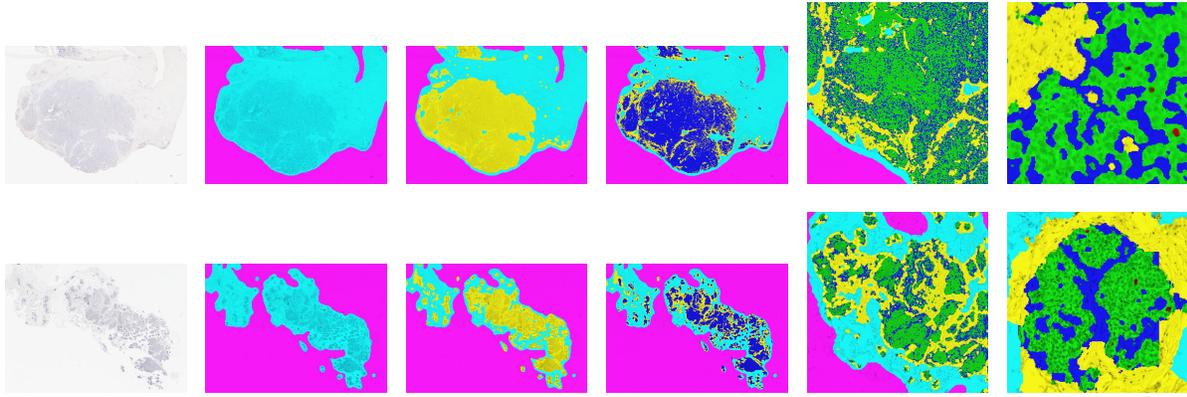


FIGURE 7 – Illustration de la segmentation multi-résolution ; première colonne : image originale ; seconde colonne : segmentation obtenue à la première résolution (fond en rose, tissu en cyan) ; troisième colonne : segmentation obtenue à la deuxième résolution (lésion en jaune) ; quatrième colonne : segmentation obtenue à la troisième résolution (stroma en jaune, lésion en bleu foncé) ; cinquième colonne : segmentation obtenue à la quatrième résolution (groupe de cellules tumorales en vert) ; sixième colonne : segmentation obtenue à la cinquième résolution (figures de mitoses en rouge)

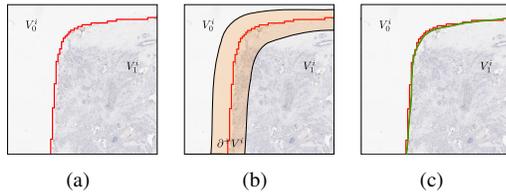


FIGURE 5 – (a) Contour superposé entre deux classes, (b) bande étroite superposée autour du contour ; (c) affinement spatial du contour original (en rouge) et du nouveau contour (en vert)

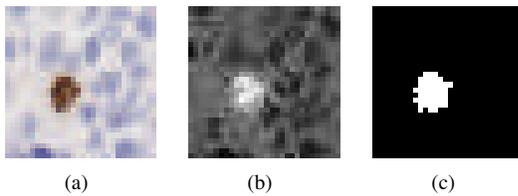


FIGURE 6 – (a) Agrandissement d'une figure de mitoses ; (b) image transformée (2R-V-B) ; (c) image après classification en deux classes (en blanc, la figure de mitoses)

3 Résultats et Conclusion

La Figure 7 présente les résultats de la segmentation multi-résolution sur deux lames histologiques. Le temps de traitement est d'environ 30 min pour une image pyramidale dont la taille de la base est de 45000x38000 pixels. Ce temps peut varier en fonction de la taille de la base de la pyramide et de la surface du tissu cancéreux.

Dans cet article, nous avons présenté une méthode de segmentation automatique non-supervisée permettant l'extraction des figures de mitoses sur des images histologiques de lames

entières. L'approche mise en œuvre imite le processus d'analyse du pathologiste lors de son diagnostic. Une évaluation quantitative des segmentations obtenues a montré que la segmentation des régions et l'extraction des figures de mitoses est correcte pour des grades faible et fort de cancer mais reste à améliorer pour les grades intermédiaires.

Références

- [1] A. Elmoataz, O. Lézoray, and S. Boughleux. Nonlocal discrete regularization on weighted graphs : a framework for image and manifolds processing. *IEEE transactions on Image Processing*, 17(7) :1047–1060, 2008.
- [2] C. W. Elston and I. O. Ellis. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer : experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 19(5) :403–10, 1991.
- [3] T. Kanungo, D.M. Mount, N.S. Netanyahu, C.D. Piatko, R. Silverman, and A.Y. Wu. An efficient k-means clustering algorithm : Analysis and implementation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 24(7) :881–892, 2002.
- [4] A. Ruiz, J. Kong, M. Ujaldon, K. Boyer, J. Saltz, and M. Gurcan. Pathological image segmentation for neuroblastoma using the gpu. In *ISBI*, pages 296–299, 2008.
- [5] N. Signolle, B. Plancoulaine, P. Herlin, and M. Revenu. Texture-based multiscale segmentation : Application to stromal compartment characterization on ovarian carcinoma virtual slides. In *Image and Signal Processing*, volume 5099, pages 173–182, 2008.