

Neuron segmentation using 3D wavelet integrated encoder-decoder network

摘要

动机：3D神经元分割是神经元数字重建的关键步骤，这对于探索大脑回路和理解大脑功能至关重要。然而，神经元的细线状神经纤维可能会在大范围内扩散，这给神经元分割带来巨大的计算成本。同时，强烈的噪音和断开的神经纤维给任务带来了巨大的挑战。

结果：在本文中，我们提出了一种基于3D小波和深度学习的3D神经元分割方法。首先将神经元图像划分为神经元立方体以简化分割任务。然后，我们设计了第一个3D小波集成编码器-解码器网络3D WaveUNet，以分割立方体中的神经纤维；小波可以帮助深层网络抑制数据噪声并连接断裂的光纤。我们还使用最大的可用带注释神经元图像数据集BigNeuron生成神经元立方体数据集（NeuCuDa）来训练3D WaveUNet。最后，将分割成立方体的神经纤维组装起来，生成完整的神经元，并使用可用的自动跟踪算法对神经元进行数字重建。实验结果表明，我们的神经元分割方法可以完全提取噪声神经元图像中的目标神经元。集成的3D小波可以有效提高3D神经元分割和重建的性能。

关键词： 1. 3D神经元 2. 图像分割 3. 降噪 4. 小波

1 引言

神经元重建旨在通过在神经元图像中追踪神经纤维，建立神经元形态结构的数字模型，这对探索大脑微观结构和了解大脑功能具有重要意义。现在已经存在许多关于神经元重建的方法，然而，低信噪比和断开的神经纤维通常是这些算法的一大挑战。深度学习在许多领域都取得了优异的成绩，也被应用到3D神经元分割中(Huang et al., 2020; Jiang et al., 2021; Klinghoffer et al., 2020; Li et al., 2017; Li and Shen, 2020)。由于神经纤维可以分布在非常大的大脑区域，因此要分割完整的神经元需要处理一个大的神经元图像，这导致基于深度网络的三维神经元分割的计算成本很大。此外，近期的研究(Li et al., 2020; Zhang, 2019; Zou et al., 2020)表明，深度网络中使用的采样操作会产生混叠效应，从而导致噪声传播，破坏了基本的目标结构。由于神经元图像中存在大量的噪声，并且神经元具有良好的线状结构，因此三维神经元分割对这些混叠效应更为敏感。

因此，目前基于三维深度网络的分割方法可能无法很好地处理噪声神经元图像中具有细线状结构的三维神经元。

2 相关工作

2.1 神经元重建

最近的脑成像技术，包括微光学断层扫描(MOST) (Li et al., 2010)、荧光断层扫描(fMOST) (Gong et al., 2013)、清晰成像(Chung et al., 2013; Chung and deisserth, 2013)、蛋白质组的放大分析(MAP) (Ku et al., 2016)和通过分子内环氧化物键防止降解的恶劣条件下稳定化(SHIELD) (Park et al., 2019)等，为动物大脑神经元重建奠定了基础。

各种3D数据可视化软件，如Vaa3D (Peng等人, 2010b)、NeuroBlocks (Ai-Awami等人, 2016)、ManSegTool (Magliaro等人, 2017)、TeraVR (Wang等人, 2019b)等，已经被开发出来，以显示神经元图像中的复杂树形纤维，并帮助经验丰富的技术人员追踪神经元。由Peng等人发起的BigNeuron项目(Peng et al., 2015)发布了数百张光学神经元图像，并由经验丰富的专家对其进

行高精度重建。在NeuroMorpho上发布了超过1105个数字重建的神经元。Org (Ascoli et al., 2007), 而相应的神经元图像则不可用。

人工重建全脑图像中数以百万计的神经元是不可能的, 因此人们设计了各种自动神经元跟踪算法。BigNeuron项目(Peng et al., 2015)收集了SnakeTracing (Wang et al., 2011)、All-Path-Pruning (APP) (Peng et al., 2011)、APP2 (Xiao and Peng, 2013)、neurogptree (Quan et al., 2016)、Rivulet (Liu et al., 2016)、Rivulet2 (Liu et al., 2018b)等数十种算法, 并将其集成到Vaa3D软件中(Peng et al., 2010b)。

一般来说, 这些算法基于图论对神经元形态和神经纤维进行数学建模。然而, 它们要么将背景噪声归类为神经纤维, 要么遗漏了大量的神经纤维, 如图1所示。换句话说, 虽然跟踪算法对图像质量敏感, 但现有的神经元成像技术通常存在低信噪比的问题。

2.2 神经元分割

基于隐式场表达的三维重建方法..... 重建前对神经元进行分割是提高神经元跟踪算法性能的有效方法。受计算机视觉、模式识别和自然语言处理等方面的优越性能启发, 深度学习也被引入到3D神经元分割中(Huang et al., 2020; Jiang et al., 2021; Klinghoffer et al., 2020; Li et al., 2017; Li and Shen, 2020; Wang et al., 2019a)。第一个用于神经元分割的3D残差深度网络是在(Li et al., 2017)中提出的。作者通过应用多尺度核和3D U-Net改进了他们的方法(Wang et al., 2019a)。由于这些深度网络以原始神经元图像作为输入, 因此需要很高的计算成本。Li和Shen(2020)设计了3D U-Net Plus, 将目标神经元与其周围的神经纤维分离开来。由于3D U-Net Plus是在大小为32 128 128的神经元图像上进行训练和评估, 在图像降采样过程中可能会出现小神经纤维消失的情况。上述基于深度网络的神经元分割方法不适用于具有长距离纤维的神经元。Jiang et al. (2021)利用射线射击模型设计了用于3D神经元图像分割的双通道双向长短期记忆(Bidirectional Long - short Memory, BLSTM)。作者从二维神经元图像中逐片提取神经纤维, 这种方法没有利用相邻二维神经元切片中神经数据之间的相关性。为了利用未标记的3D神经元数据, 研究了自监督和弱监督的3D神经元分割方法(Huang et al., 2020;Klinghoffer et al, 2020)。在所有这些工作中, 采用BigNeuron (Peng et al., 2015)神经元图像来测试他们的方法。

2.3 深度神经网络中的混叠效应

近期研究(Li et al., 2020;Zhang, 2019;Zou et al., 2020)揭示了深度学习中的混叠效应, 这是由深度网络中常用的采样操作引入的。混叠导致深度网络中噪声的积累, 破坏了目标的基本结构, 对噪声图像中的三维神经元分割是非常有害的。为了抑制深度网络中数据的低频和高频成分之间的混叠, Richard (Zhang, 2019)通过在普通卷积神经网络(cnn)的下采样前应用低通滤波器来设计抗混叠CNN。Zou等人(2020)提出了一种自适应内容感知低通滤波层, 以适应不同位置和特征通道的不同频率。这些工作只考虑了输入数据的低频分量, 无法提取和利用高频分量所代表的细节。Li等人(2020)将离散小波变换(DWT)集成到深度网络中, 以分离不同频率区间的分量。它们说明了小波变换在帮助深度网络提取鲁棒特征、保持基本对象结构和恢复数据细节方面的有用性。

上述工作抑制了2D深度网络中的混叠效应, 而3D深度网络无法对3D神经元进行分割。三维神经元图像中含有大量的噪声, 且神经元呈线状, 在三维深度网络中容易被混叠破坏。受Li等人(2020)的启发, 我们尝试将3D小波变换引入深度学习, 以抑制3D深度网络中的混叠效应。在之前的作品中, 如Shi and Pun (2017);Yang等人(2019)等, 3D小波已被开发为深度网络的预处理或后处理工具。Shi and Pun(2017)利用三维小波将高光图像分解成各个分量小波域, 并在分量上应用三维cnn提取特征进行高光图像分类。Yang等(2019)利用3D cnn在3D小波域中预测高光

谱图像的系数，实现高光谱图像的超分辨率重建。在这些工作中，只有哈尔小波被用来评价他们的方法。由于它们没有将三维小波集成到三维深度网络中，因此无法抑制三维深度网络中的混叠效应。相反，在本文中，我们将3D小波变换在PyTorch中重写为网络层，适用于各种离散小波(如Haar, Cohen和Daubechies小波)，并且可以灵活地集成到3D深度网络中，以抑制网络中的混叠效应。

在本文中，我们将3D DWT/IDWT重写为通用网络层，并设计3D小波集成编解码器网络，以改善三维神经元在噪声图像中的分割和重建。

3 本文方法

3.1 本文方法概述

我们的三维神经元分割方法的流程如图1所示，总结如下:1. 分区。具有长距离神经纤维的神经元可能分布在较大的脑区，这导致在大尺寸图像中进行三维神经元分割的计算成本很高。因此，将神经元图像分割成小的立方体，以简化分割任务。我们将立方体的 $z - y - x$ 尺寸(深度-高度-宽度)设置为 $32 \times 128 \times 128$ (对于脑成像技术，如MOST，典型的体素分辨率为 $1 \text{微米} \times 0.35 \text{微米} \times 0.35 \text{微米}$)，这是神经元立方体中神经纤维的连通性和以下分割的计算复杂性之间的折衷。2. 分割。使用训练有素的3D WaveUNet，我们在立方体中分割神经纤维。3D WaveUNet是一个集成了3D小波的编码器-解码器网络，这些小波是在神经元立方体数据集NeuCuDa上训练的。网络架构和NeuCuDa分别在2.2节和2.3节中描述。3. 组装。根据神经元图像中的立方体位置，将分割后的神经纤维进行组合，完成神经元的三维分割。4. 重建。基于分割的神经元图像，我们使用APP2 (Xiao and Peng, 2013)算法重建神经元。考虑到其较低的计算复杂度，我们选择APP2作为本文的基准算法。

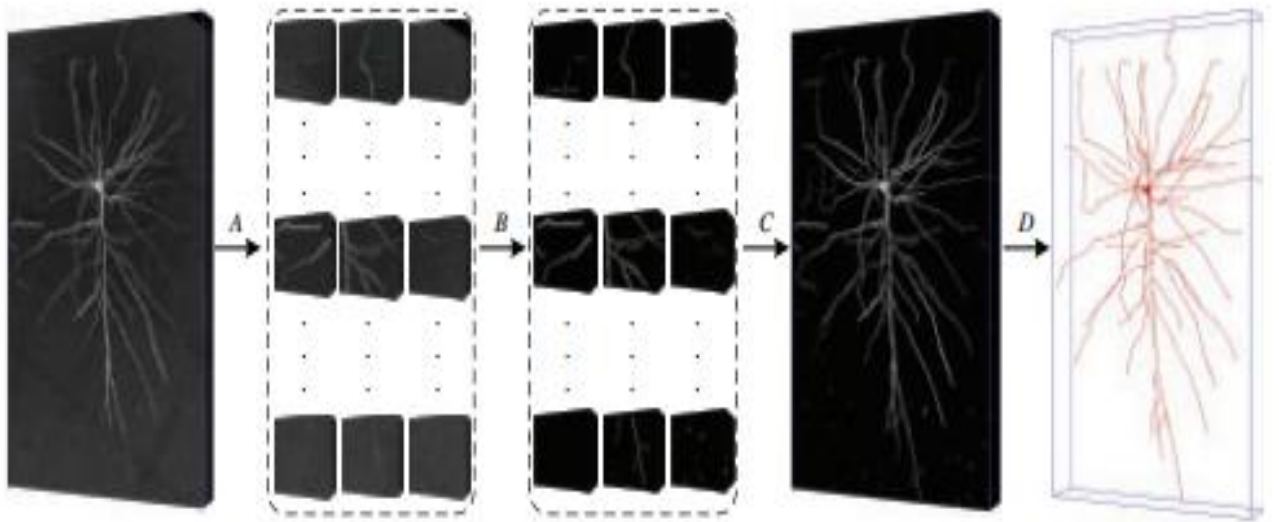


图1. 方法流程

3.1.1 3D DWT/IDWT layers

我们将三维小波变换和逆小波变换 (IDWT) 重写为通用网络层，将三维小波变换集成到深度网络中。对于给定的三维神经元数据 $x \in \mathbb{R}^{d \times m \times n}$ ，以及一个三维离散小波的8个滤波器，即1个低通滤波器填充 f_{lll} 和7个高通滤波器填充 $f_{llb}, f_{lbl}, f_{lbb}, f_{bll}, f_{blb}, f_{bbl}, f_{bbb}$ ，3D DWT将数据分解为1个低频分量 X_{lll} 和7个高频分量 $X_{llb}, X_{lbl}, X_{lbb}, X_{bll}, X_{blb}, X_{bbl}, X_{bbb}$ ，在

$$X_{c_0 c_1 c_2} = (\downarrow 2)(f_{c_0 c_1 c_2} * X), c_0, c_1, c_2 \in \{l, b\} \quad (1)$$

和 $*$ ， $(\downarrow 2)$ 分别表示三位卷积和原始下采样。理论上，每个组件的大小在每个维度上都是 X 的 $1/2$ ，即

$$X_{c_0 c_1 c_2} \in \mathbb{R}^{\lfloor \frac{d}{2} \rfloor \times \lfloor \frac{m}{2} \rfloor \times \lfloor \frac{n}{2} \rfloor}, c_0, c_1, c_2 \in \{l, b\} \quad (2)$$

因此， d, m, n 通常是偶数。采用双滤波器 $f_{c_0 c_1 c_2}$ ， $c_0, c_1, c_2 \in \{l, b\}$ ，3D IDWT基于8个分量重构原始数据 X ，

$$X = \sum_{c_0, c_1, c_2 \in \{l, b\}} f'_{c_0 c_1 c_2} * (\uparrow 2) X_{c_0 c_1 c_2} \quad (3)$$

其中 $(\uparrow 2)$ 表示原始上采样操作。正交三维小波的双滤波器与原滤波器相同，

$$f'_{c_0 c_1 c_2} = f_{c_0 c_1 c_2}, c_0, c_1, c_2 \in \{l, b\} \quad (4)$$

公式 (1) 和 (3) 表示 3D DWT 和 IDWT 的前向传播，从这些表达式推导反向传播的梯度是很困难的。幸运的是，现代深度学习框架 PyTorch (Paszke et al, 2017) 可以自动推断张量算法的梯度。我们已经将 3D DWT 和 IDWT 重写为 PyTorch 中的通用网络层，这将公开供其他研究人员使用。利用这些层可以灵活地设计端到端的三维小波集成深度网络。

对于有噪声的神经元立方体 X ，随机噪声大多表现在其高频成分中，而基本的神经纤维结构则以低频成分呈现。因此，三维 DWT 和 IDWT 可以在保持神经纤维结构的同时对神经元立方体进行去噪。小波变换将神经元数据的大小减半，IDWT 对其进行恢复，是三维深度网络中常用的采样操作的良好替代品。它们可以用来减少三维深度网络中的混叠效应，提高三维神经元分割和重建的性能。

3.1.2 3D WaveUNets 的架构

在本节中，作者使用 3D DWT 和 IDWT 来设计 3D WaveUNet，以提高神经元分割性能，从而更好地重建。通过用 3D DWT/IDWT 代替采样操作，设计了四个基于 3D 小波的双结构 (WADS)，如图 2 所示。相比之下，WADS-DDc (图 2a) 和 WADS-DIn (图 2b) 的设计分别是将 DS-PDc 和 DS-ScIn 中的下采样操作替换为 3D DWT。在它们的前向处理中，将特征映射进行三维 DWT 分解为 8 个分量，只保留低频分量提取鲁棒的高层特征，舍弃 7 个高频分量。WADS-DI (图 2c) 和 WADS-DIDn (图 2d) 分别在其正向和反向过程中应用 3D DWT 和 3D IDWT 进行下采样和上采样。在正演过程中，在对特征映射进行三维 DWT 分解的同时，保留低频分量提取鲁棒高级特征，并将七个高频分量通过分支路径传输，在三维 IDWT 中反向进行特征映射上采样。

WADS-DID利用去噪块对高频分量进行滤波，去噪块采用硬收缩实现。利用这7种对偶结构，我们设计了7个三维编码器-解码器网络，其中包括4个小波集成网络(3D WaveUNets)，用于神经元分割。命名为3D U-Net(x)， $x \in \{PU, PDc, ScIn\}$ 和 3D WaveUNet(y)， $y \in \{DDc, DIIn, DI, DIDn\}$ 。

3.2 神经元立方体数据集

当我们将大的神经元图像分割成小的立方体进行神经元分割时，收集合适的数据集来训练和评估3D waveunet是至关重要的。我们在这里介绍由BigNeuron图像生成的神经元立方体数据集NeuCuDa。BigNeuron中的神经元图像是利用不同的成像设备，从蚕蛾、青蛙、老鼠等多种动物身上捕获的。神经元数据的多样性有助于训练健壮深度网络。总结如下：

1. 选择。在BigNeuron中，一些神经元重建不能提供神经元的完整信息(如神经纤维半径)。对于这样的神经元图像，我们不能正确地标记纤维进行分割。因此，我们在设计NeuCuDa时排除了这些神经元图像。从剩下的89张神经元图像中，我们随机选择61张图像生成用于3D深度网络训练的神经元立方体，28张图像生成测试立方体。28个测试图像也将用于评估2.1节中提出的重建方法的性能。

2. 标签。对于所选的89(61 - 28)个神经元图像中的每一个，我们根据其标准数字重建生成一个3D 0-1标签矩阵。图像中的每个体素被分配为0(背景)或1(神经纤维)。图7显示了一个带有3D标签矩阵的神经元图像示例。

3. 切割。从三维图像中随机剪切大小为32 128 128的神经元立方体。同时，从三维标签矩阵中切割出它们的标签立方体。图7显示了三个示例神经元立方体。

NeuCuDa包含19251和7132个神经元立方体，分别用于3D WaveUNet的训练和测试。

4 复现细节

4.1 与已有开源代码对比

代码实现方面，1. 参考了作者通过BigNeuron数据集制作NeuCuDa数据集的方法。

2. 在训练分割模型时，使用作者实现的3D DWT和IDWT层构造了一个Neuron_WaveSNet_Din神经网络，该网络在下采样阶段使用3D DWT, 上采样阶段使用反卷积。

3. 使用训练后的神经网络模型对来自一个神经元的立方体进行图像分割，并重组分割图像，构造完整神经元图像的分割结果。

4. 修改了作者根据swc文件生成标签的方式，提高了原有数据标签的质量。

修改后关键代码：

```

def get_connect_points(self, another_node, r_offset=0, depth=64, height=256, width=256):
    """
    ...
    """
    assert isinstance(another_node, NeuronNode)
    coordinates = []

    radius = (self.radius + another_node.radius) / 2
    distance = self._distance_with_another(another_node=another_node)
    if distance < radius:
        return coordinates
    interpolated_coordinates = self._get_coordinate_interpolate_points(
        point1: (self.z, self.y, self.x),
        point2: (another_node.z, another_node.y,
                 another_node.x))
    radius_step = (self.radius - another_node.radius) / (len(interpolated_coordinates) + 1)
    for i in range(len(interpolated_coordinates)):
        radius_current = self.radius - (i + 1) * radius_step + r_offset
        coordinate_current = get_around_points(interpolated_coordinates[i], radius=radius_current,
                                                resolution=self.resolution)
        coordinates.extend(coordinate_current)

    return coordinates

def _get_coordinate_interpolate_points(self, point1, point2):
    delta = np.array(point2) - np.array(point1)
    distance = np.linalg.norm(delta)
    num_points = int(distance)
    if num_points == 0:
        return [tuple(point1)]
    step = delta / num_points
    interpolated_points = [tuple(point1 + i * step) for i in range(num_points + 1)]
    return interpolated_points

```

4.2 实验环境搭建

实验代码环境详细配置在复现代码中的environment.yml文件中, 这里展示主要配置, Pytorch, python3.10, opencv。

实验室提供的服务器用于训练模型。

用于展示和加载3D神经元图像的软件Vaa3D。

4.3 创新点

由于复现的分割神经元的效果始终没有达到预期, 模型参数调节并没有完成, 因此, 并没有对论文产生实质性的创新。但是在复现论文的过程中, 我对该任务存在的一些问题有了很详细的认识, 因此产生了两个具体的创新想法以达到解决问题的目的。

1. 在对数据集的制作中, 作者需要通过BigNeuron提供的swc文件生成每个神经元的标签图像, 但是作者生成的标签与实际神经元图像在某些部分存在很大差异, 这将会很影响模型的训练效果。因此, 我认为可以对标签制作入手, 通过算法设计, 生成与图像匹配度更高的标签, 以提高数据集的标签质量, 进而提高模型的分割效果。
2. 在实现分割模型整体框架的搭建过程中, 我认为可以对模型框架的encoder部分做进一步的改进, 作者创作了一个3D小波层, 用于encoder部分的下采样过程, 用于解决模型在下采样过程中某些特征丢失的问题。在这里, 我提出在同一下采样层, 使用三

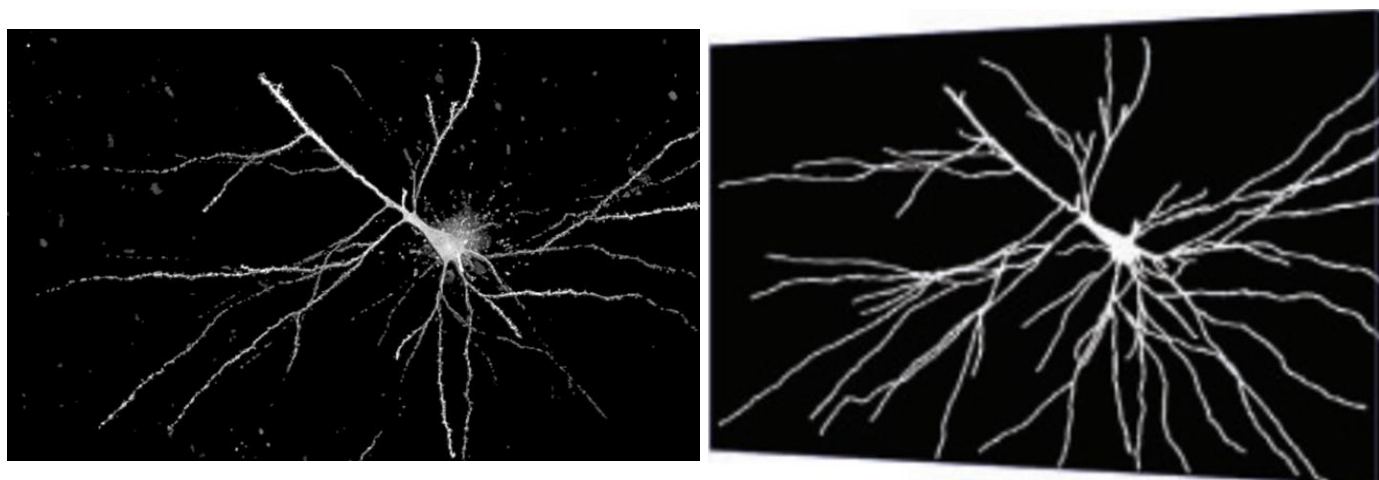
个不同尺度卷积核并行提取图像特征，进行交叉融合，作为encoder部分每一层的网络设计。因为神经纤维的结构在不同尺度下所提取的特征存在明显差异，通过这种方式的特征提取，以维持神经纤维在下采样过程中带来的特征丢失问题。

5 实验结果分析

训练后模型性能对比，表一是训练3D神经元分割模型后的性能指标与作者模型性能指标的对比，从表中可以看出，本模型在神经元纤维上的召回率高于作者的召回率将近十个百分点，这就意味着，模型在分割神经元上的程度高于作者的很多。但是，精确度和IoU要低于作者很多，这使得模型的整体分割效果与作者所实现的效果还有明显差距。需要在模型的参数上做进一步的调整。实验最后，附有对于一个完整神经元使用分割模型后进行拼接达到的效果图。

Table 1

Class	recall_rate	precision	IoU
My_network			
0_rpi	0.9816	0.9993	0.9810
1_rpi	0.9486	0.3808	0.3731
Total_precision	0.9812		
Author_network			
0_rpi	0.9943	0.9980	0.9923
1_rpi	0.8126	0.5984	0.5258
Total_precision	0.9924		



图神经元分割效果图

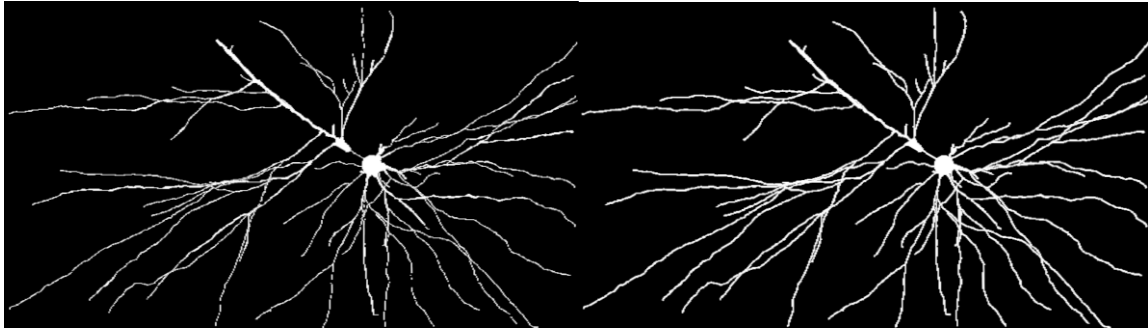


图2: 标签增强效果图, 左侧为作者代码生成标签效果, 右侧是优化后代码生成效果

6 总结与展望

3D神经元分割在神经元数字重建中扮演着关键角色, 对于大脑回路的探索和大脑功能的理解至关重要。然而, 细线状神经纤维在大范围内扩散, 计算成本巨大, 同时噪音和断裂的神经纤维带来了挑战。本文提出了基于3D小波和深度学习的神经元分割方法, 通过划分神经元图像为立方体、设计3D WaveUNet网络、使用BigNeuron生成神经元立方数据集, 并最终组装和重建神经元, 实现了对噪声神经元图像中目标神经元的完全提取。集成的3D小波显著提高了3D神经元分割和重建的性能。

在复现过程中, 虽然未达到预期效果, 但通过实验发现了标签制作和模型框架方面的问题, 提出了两个创新点以解决这些问题。首先, 在标签制作方面, 可以通过算法设计生成与图像匹配度更高的标签, 提高数据集标签质量。其次, 在模型框架方面, 可以对encoder部分进行改进, 使用不同尺度卷积核并行提取特征, 以维持神经纤维在下采样过程中的特征丢失问题。这些创新点有望进一步提升神经元分割模型的性能。实验结果表明, 在目前的参数调整下, 模型在神经元分割上的召回率相对较高, 但精确度和IoU有待提高, 需要在模型的参数和设计上进行进一步优化。最后, 通过展示对一个完整神经元的分割和重建效果, 可以直观地评估模型在实际神经元图像上的应用效果。

参考文献

- [1] Li Q, Shen L. Neuron segmentation using 3D wavelet integrated encoder-decoder network[J]. *Bioinformatics*, 2022, 38(3): 809-817.