中国科学技术大学电子工程与信息科学系

研究生学位论文工作检查报告

论文题目 果蝇电镜图像的全脑

血管三维重建与分析

学生姓名 陈思远

学生学号 SA19006157

指导教师 吴枫、陈雪锦

所在院系 信息科学技术学院

学科专业 信息与通信工程

研究方向 计算机视觉

填表日期 2022年3月3日

中国科学技术大学电子工程与信息科学系

二零一一年九月制表

一．开题内容

|  |
| --- |
| 简要介绍学位论文开题确定的选题、研究内容以及研究方法与思路。   1. **选题依据**   血管是生物运送血液的管道，按运输方向可分为动脉、静脉与微血管。动脉从心脏将血液带至身体组织，静脉将血液自组织间带回心脏，微血管则连接动脉与静脉，是血液与组织间物质交换的主要场所。生物体内各处血管病变会导致多种疾病。其中，大脑血管系统的变化是影响大脑的许多疾病的一个关键特征。原发性血管病变、血管危险因素(如糖尿病)、创伤性脑损伤、血管闭塞、中风等均影响脑血管网络，干扰正常微循环和血管功能。脑血管系统的改变也见于神经退行性疾病，如阿尔茨海默病、淀粉样病。这些阿尔茨海默病的特征会导致血管异常重塑。此外，血管稀疏性常被用作判别血管损伤的标志。因此，对全脑血管进行高分辨率的重建具有重要意义。  同时，随着电镜成像技术的发展已能对全脑组织进行高分辨率成像，使得对全脑血管进行高分辨率的重建成为可能。一个完整的果蝇大脑纳米级电镜扫描图像数据集 FAFB（Full Adult Fly Brain），物理分辨率能达到 纳米/体素，体量达到40万亿级像素。面对如此超大规模的图像数据，依靠人工处理和分析已不可能，如何高效分析超大规模脑数据，重建出有效的血管连接网络成为了一个亟需解决的问题。  fafbhome  图 1. 果蝇全脑电镜数据集FAFB   1. **研究内容**   本课题以高分辨率电镜图像中的果蝇全脑血管通路三维重构为目标，首先设计了图2所示重建流程，针对重建过程中的关键问题，重点研究血管分割和血管重建两个内容，首先研究**高分辨率电镜图像中的鲁棒血管区域分割**方法，以在全脑范围内不同脑区、不同血管形态的准确提取；其次，研究果蝇**全脑血管通路重构**方法，针对局部分割获得不连续、边界不准确等问题，基于血管通路形态特征进行连通性判断，最终得到一个较为完整的全脑血管拓扑，并完成对果蝇全脑血管分布的生物统计分析。具体地，   1. 高分辨率电镜图像中的鲁棒血管分割   描述果蝇电镜图像血管分割的问题、挑战、以及我们的思路。   1. 全脑血管通路重构   描述果蝇全脑血管重建的问题、挑战、以及我们的思路。  为了准确高效地得到脑部血管的拓扑结构，多年来众多研究人员基于光镜图像对不同生物、不同部位的血管重建进行了大量研究工作，但是目前还没有基于电镜图像的血管重建工作。血管重建工作可分为以下三个步骤：分割原图得到分割图、追踪分割图得到血管的几何模型、基于形态分析修正拓扑结构。目前脑血管分割的主流方法是三维卷积神经网络。此外血管拓扑结构的完整性、准确性也是各重建工作的焦点，为了获取准确的统计特征、拓扑结构，往往需要追踪、修正骨架处理。本课题针对以往方法存在的问题，设计了首个基于电镜图像的高效准确的果蝇全脑血管重建流程。  重建流程如图2：    图 2. 果蝇全脑血管重建流程。   1. **研究方法**   本节具体说明本课题的研究方法和技术路线。按照图2所示全脑血管流程设计，本课题首先进行电镜图像中的血管分割，然后进行血管追踪，再连接血管断裂最终得到全脑血管通路重建，最后在全脑血管通路重建基础上统计全脑范围内的血管形态特点及不同脑区分布以探究生物学意义。   * 1. **高分辨率电镜图像中的血管分割**   **【先讲述分割方法思路，利用先进的深度学习方法，调研决定使用3D UNet，然后介绍3D UNEt方法，重点介绍在果蝇血管分割中的改进策略；最后因为3D UNet是全监督的，所以需要构建数据集。不要上了就介绍数据集制作。】**  **3.1.1 制作分割数据集**  FAFB体量庞大，无法一次全部分割，因此在制作数据集前需要预处理。接着需充分了解血管特征做分析归类，再选择数据块去人工标记，制作出具有丰富多样性的电镜血管训练数据集，以便分割大规模的、多样化的数据。  **3.1.2 分割网络**  本文是首个电镜图像的血管重建工作，而三维连续性又是血管最重要的特征之一，所以全脑血管拓扑的完整性是本课题的重点。要生成连续性较好的分割结果，可以考虑使用三维卷积神经网络。使用三维卷积核对三维数据块进行分割，不仅能学习二维平面特征，还可以结合相邻切片的信息。当2D CNN遇到连续多个困难的数据时，由于只利用到当前帧的信息所以表现不佳。但是此时三维的连续性特征依然存在，如果采用3D CNN就能联系附近数据的信息判断是否符合连续性特征，从而优于2D 网络的分割结构。3D U-Net是三维分割网络的典型代表，由于其优异的性能，在医学图像的三维分割中得到了广泛的应用。综上所述，我们基于3D U-Net 进行全脑血管的分割。  3D U-Net由一个压缩路径和一个扩展路径组成。在压缩路径中，每个层包含两个3×3×3卷积和一个2×2×2池化层，分别用于提取特征和降采样。扩展路径中每一层先通过反卷积将特征图的尺寸乘2，同时将其个数减半，然后和左侧对称的压缩路径的特征图合并，来自相同分辨率层的快连接为合成图像提供了必要的高分辨率特征。在最后一层，1×1×1卷积将输出通道的数量减少到标签的数量。每个卷积后面都跟着ReLU层和批处理规范化（Batch Normalization）。  虽然3D U-Net在图像分割中展现出强大的表现力，但是它是各项同性的网络，所以运行速度较慢（各项同性与运行速度没有必然联系，这个“所以”没有任何道理。）。考虑到数据集的庞大，更需要使用更高效的模型来分割全脑血管。我们修改了网络以更高效地分割（cxj：修改的初衷是为了解决效率问题？那减小卷积核尺寸为何不行？修改的总体思路是什么？为啥单独减小z方向卷积核？而且又是为何分层？如果让你用两个关键词介绍你的改进思路，你会说哪两个关键词？各项异性？分阶段？分层级？）。  具体地，我们在3D UNet分割网络编码器部分的初始三层将Z方向的卷积核大小设为 1，也即使用二维卷积开始前三层的卷积，当网络的物理感受野接近各向同性后，将 z 方向的卷积核大小调整为与其他方向相同，也即使用各向同性的卷积核进行深层的卷积。通过这样的卷积过程，网络的参数量、计算量也显著减少，使得我们可以使用更大的图像块输入到网络(cxj:如果你一直强调减少参数量、计算量，那么在实验结果必须有这方面的参数对比，效率提高多少，计算量、参数量减少多少)，让网络使用随机梯度下降算法训练时，对梯度有更好的估计，加快网络的收敛速度，且更不易于陷于局部最优。这个网络被称为3D U-Net-aniso。    图 3. 左图为3D U-Net，右图为修正网络3D U-Net-aniso。   * 1. **血管追踪与断裂连接**   **3.2.1 基于NeuroGPS-Tree的血管追踪**  血管追踪（Tracing）是构建血管数字模型的过程。常用血管追踪算法受限于当前位置附近很小范围内的信息，容易受分割图里的噪声影响产生分割漏检导致断裂。由于我们的数据量庞大，更需要采用一种准确、高效的追踪方法。  除了血管重建，神经元重建工作中也常用到追踪算法，而神经元轴突树突和血管形态类似，都是管状结构，所以二者的追踪算法有相通之处。神经元追踪算法中的代表方法NeuroGPS-Tree算法在追踪时利用到更全局的信息，用镭射采样算法（Rayburst Sampling Method）判断当前点位置和计算半径，并采用丰富的后处理处理追踪错误，且高效便捷，适合处理大规模数据。因此，本课题采用NeuroGPS-Tree做基础血管追踪。NeuroGPS-Tree的流程图如图4。  NGPST流程图_new  图 4. NGPST追踪步骤，其中S8表示半径为8的球形领域  **3.2.2 连接断裂**  NeuroGPS-Tree在追踪超长血管时仍不可避免地产生一些错误断裂，所以还需要找出、连接断裂。如图5，先根据断裂处的形态规律初步找出所有可能的断裂，然后把连接问题转换为分类问题，用分类模型判断这些地方是否应该连接，从而精确高效地恢复全脑血管的连通性。    图 5. 连接断裂流程图  **（1）初步寻找断裂**  通过分析原图、分割图和追踪结果，我们发现了明显断裂处的形态规律：   1. 断裂处的两根血管距离很近； 2. 距离最近的两个点中至少一个点处于末端；   据此我们还总结了两种断裂类别，分别是类别1：血管沿主干分成两半（图6(a)）；类别2：在分叉处断裂（图6(b)）。图6（a）、（b）中不同颜色的片段表示追踪结果中不同的血管段，不同颜色点表示连接点，也是两个血管中距离最短的点。属于类别1的两根血管距离近，且方向有一致性，在中间位置断裂。而类别2的血管对虽然在断裂处方向不一定一致，但仍呈逼近趋势，于分叉处断开。  基于上述规律，我们在追踪结果中沿血管端点查找距离小于的其他血管，认为它们之间存在可能的连接关系。  设定追踪结果中共有个血管片段，令表示血管段（）。对血管段，先从追踪结果中找出的所有端点。对每个端点寻找距离小于的血管段，生成的候选集合。其中每个元素表示一个连接对，是中离最近的点。接着遍历端点集合的所有端点，合并所有候选集合可得对应血管片段的候选集合。最后遍历  并去除重复可得全脑范围的所有疑似连接对。  **（2）分类判定断裂**  在找出所有疑似断裂后，我们将断裂检测问题转换为分类问题，训练分类网络DenseNet3D来学习血管对之间的三维位置关系，从而判定断裂与否。本小节主要说明分类数据集的制作。  同上一节，用表示血管和可能存在连接关系，对应的连接点为和。以两点连接线的中点为中心，截取物理边长为的正方体，记作。将该立方体作为输入的第一个通道，表示两根血管的相对位置。除此之外还需要单独保留和作为另两个通道、，表示两个血管各自的位置。将这样三个立方体堆叠成四通道数据作为分类网络输入，从而有效表示断裂处的三维位置信息（如图6（d））。  我们将其中确是血管断裂且需要连接的样本划分为正样本（图6(a)、(b)），将不是断裂的样本划分为负样本（图6(c)）。我们人工寻找正、负样本作为分类数据集，用其训练DenseNet3D。接着测试全脑的疑似断裂数据块，再连接正样本处的断裂即可有效恢复全脑血管的连通性。    (a) 正样本：类别1 (b) 正样本：类别2 (c) 负样本 (d) 分类网络输入  图 6. 正负样本示例和网络输入示例。正样本包含两个类别，分别是沿主干断裂(a)和在分叉处断裂(b)；  负样本示例如(c)；用(d)所示的多通道输入表征血管对之间的位置关系。  **3.3全脑血管分布的统计分析**  为了研究血管形态、统计分布的生物学意义，我们基于这一重建结果对全脑范围的血管进行统计分析。具体需要将重建结果匹配到标准脑区模板，并统计不同脑区中血管的分布情况，包括粗细、形态、脑区差异等。 |

二．学位论文工作完成情况

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 简介已完成和待完成的学位论文工作，若存在与开题内容不同之处，应给予详细说明。  【注意这里是简介，也就是说针对你的研究内容和技术路线，简要介绍进展以及问题。所以请将数据集制作方法（预处理、下采样等放到上一章），完成的数据集规模介绍放在本章。】  **已完成的工作**   1. **血管分割**    1. **数据集制作**   本课题制作了首个电镜图像的血管分割数据集。  数据集预处理阶段我们将FAFB在X、Y轴上下采样四倍，并且分成1836×1836×26体素的数据块,共分出46796个三维图像块，每个块对应的物理尺寸是29.376×29.376×1.04立方微米。经分析不同区域的血管在形态上既有统一性又存在着多样性。其中统一性包括二维空间上波浪状边缘和平滑的内部区域，和三维空间良好的连续性；而多样性则指二维平面特征的多样性，如粗细、形状等（图7）。多样性具体表现在：   1. **形状多样性**   如图8（a），按平面形状可将血管分为细长形和圆形。其中细长型是当前血管段的中轴线与图像平面近似平行时呈现的，即纵剖面；与之相反，圆形血管则是血管段的横剖面。一般来说，虽然圆形血管仍然保持着内部的平滑，但是其周长却小于同半径的细长血管，因此边缘的波浪特征相对较弱。分割这种横剖面血管就体现了用3D CNN学习血管三维延续性的优势。   1. **粗细多样性**   果蝇脑部血管的粗细有一定范围，可分成三个等级：极细血管（<0.5微米）、细血管（0.5微米-1.5微米）、粗血管（>1.5微米），示例如图8（b）。   1. **数据分布多样性**   全脑各区域都有血管存在，而不同区域的细胞结构不尽相同，这就给分割网络的泛化性带来了不小的挑战。有些区域的平面特征和血管相似，容易被错检。如图8（c），该区域的细胞也具有内部平滑的特点，边缘也和血管边缘相似，因此很容易被误检。  血管分类  图 7. FAFB全脑血管多样性示例     1. （b） （c）   图 8.（a）形状多样性示例 （b）粗细多样性示例 （c）易混淆的区域  在充分了解了数据集和血管特性后，本课题按类别共选择了30个数据块进行人工标记，详情如表1。每种随机选择75%做训练集，25%做测试集。  表 1. 标记数据块详情   |  |  |  | | --- | --- | --- | | **数据特征** | **数据块个数** | **数据大小** | | **粗血管** | 连续10块 × 2 | (1972×1972×272)×2 | | **细血管** | 连续4块 × 1 | (1972×1972×116)×1 | | **圆血管** | 连续2块 × 1 | (1972×1972×64)×1 | | **相似块** | 不连续的4块 | (1972×1972×38)×4 |   **1.2 实验细节**      设置150个epoch，初始学习率为0.00002，使用Adam优化器，学习率衰减策略为分阶段衰减（MultiStepLR），分别在第10、30、60、110个epoch处衰减0.8。损失函数为交叉熵损失，评价指标为平均交并比（MeanIoU）。我们在输入网络前给FAFB每个数据块的各个轴施加了网络感受野大小[68, 68, 6]的边缘镜像填充以减少实验误差。网络输入由大小为[200, 200, 16]的滑动窗口读取，平移间隔为[68, 68, 6]。这种输入方式会在一些位置产生多个概率值，输出的概率图为各概率的均值。      测试时采用四个通用的语义分割测试指标平均交并比、精确率、召回率、F-score值以及平均耗时Tinference来验证方法的有效性。其中平均交并比（MeanIoU）是语义分割的标准度量。其计算真实值和预测值集合的交并比，表示基于全局的评价。精确率（Precision）从预测结果角度出发，描述了分割出来的正例有多少是准确的。召回率（Recall）从真实值角度出发，描述了测试集中真实的正例有多少被预测出来。而F-score是查准率和查全率的一个加权平均。准确率和召回率互相影响，理想状态下追求两个都高，但是实际情况是两者相互“制约”，这样就需要综合考虑它们，最常见的方法就是F-score。它能够较为全面地评价一个分割模型。平均耗时的定义为平均每个块所需的测试时间。**1.3 实验结果**  在测试数据集上的测试量化结果如表2所示，可视化结果如图9。  表2显示相比原始的3D U-Net，3D U-Net-aniso除了Precision稍低，其他指标都更好，这说明修正后的网络虽然增加了少量虚警，但是血管的完整性是有一定提升的，整体准确性更好，测试速度也更快。  除了定量指标，两个模型分割图的可视化对比也能印证3D U-Net-aniso的优越性。图9从左到右分别是标注、3D U-Net分割结果、3D U-Net-aniso分割结果的三维可视化图。首先总体上两个分割结果差别不大，和标注相比都增加了少量虚警，并且都有少量的血管缺失，但是从结构完整性上3D U-Net-aniso更优。这和表2的结论是一致的。  3D U-Net-aniso二维分割图如图10，绿色表示正确分割区域，蓝色表示漏检，红色表示虚警。可以看到大部分血管都被正确分割出，只有一些边缘被漏检。  出于对全脑血管连续性和处理大规模数据高效性的要求，3D U-Net-aniso 被选作全脑血管分割网络。我们使用了16块Titan XP GPU并行测试，共花费22天测试完全脑数据。全脑分割结果的点云可视化如图10的右图。（粗体表示最优）  表 2. 分割测试指标   |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 模型 | Precision | Recall | F-score | Mean IoU | Tinference | | 3D U-Net | **0.9821** | 0.8301 | 0.9018 | 0.9083 | 0′35″/块 | | 3D U-Net-aniso | 0.9739 | **0.9361** | **0.9546** | **0.9562** | **0′22″/块** |     图 9. 标注和两个分割模型的三维结果对比  从左往右分别是标注、3D U-Net分割结果、3D U-Net-aniso分割结果。  两个分割结果差别较小，但是3D U-Net-aniso有更好的血管结构连续性。    图 10. 3D U-Net-aniso二维分割图可视化、全脑血管分割的三维点云可视化  **2、血管追踪结果**  为从分割结果中得到血管骨架，本设计使用高效精确的NeuroGPS-Tree方法。如图11，NeuroGPS-Tree共追踪出2482个血管片段。    图 11. NeuroGPS-Tree血管追踪结果。  **3、断裂连接**  NeuroGPS-Tree在追踪超长血管时仍有少量断裂。我们先根据断裂的形态特点初步查找，再用分类模型具体判断。  在初步寻找阶段，我们先人工找到距离< 20（10.24）的30个血管对，检查它们是否是断裂。经统计其中断裂处的距离都<10（5.12），所以设置距离阈值=10（5.12）。接着把所有距离<的疑似断裂找出来，制作分类数据集。数据块的边长取40，用来表示断裂处附近20.48微米的信息。按断裂处的形态规律在全脑中共找出1799个疑似断裂处。  制作分类样本时我们找出158个正样本和78个负样本组成分类数据集，其中各随机选取75%作为训练集（177个），25%作为测试集（59个）。网络输入的大小是（3×40×40×40），第一个维度分别表示血管1的、血管2的以及相对位置。网络输出分类概率，概率值大于0.5的划分为正样本，否则是负样本。DenseNet3D在训练集（177个样本）上的正确率是0.9927，测试集（59个样本）的正确率为1.0。  接着测试全脑1799个数据块，预测出1720个正样本，79个负样本。经过人工校正，找出了错误预测共30个，正确率0.983。最后把正样本连接起来，共得到了284个血管簇（图12是三个连接簇示例）。经统计，284个血管簇的连接过程改变了1762 条血管片段的拓扑。最长的血管簇由705个血管通过908处连接而成，总长42.84毫米（见图14中横跨整脑的黄色血管）。    图 12. 三个连接簇示例。不同颜色表示追踪出的不同血管，经我们的连接算法可以找到断裂，还原其连通性。    图 13. 连接后的血管簇。其中黄色标记的是最长的血管簇，  它几乎横跨了整个脑，长度可达42.84毫米。  **4、统计分析**  如3.4节，为了进一步研究血管形态、统计分布的生物学意义，我们基于重建结果对全脑范围的血管进行统计分析，包括粗细、形态、不同脑区中血管的分布情况等。  **（1）血管粗细分布**  全脑血管骨架节点的半径分布如图14(a)，其横轴表示节点半径，单位为512nm/voxel，纵轴表示节点个数。可以观察到，横轴>1.6（819nm）处有明显的断层，放大如图14(b)。在全脑中可视化出来这些较粗的血管片段后发现，它们主要分布于脑基底和皮质区，形成一张血管包围网（图14(c)）。  这与以往的研究结论是一致的。脑血管通常被分为中央支和周围支，中央支是在脑发育初期从大脑基底部侵入脑实质的血管，而周围支则是随脑皮质层的分化而侵入形成的血管。机体的运动必须受大脑皮层的控制，而大脑基底是大脑中心的灰质核团，关乎到身体的随意运动的协调性，充分参与控制肌肉张力、整合处理感觉冲动信号，也关乎到机体精细运动的形成。正是因为脑基底和皮质区的对生物的重要意义，所以需要充足的血管供应。     1. (b) (c)   图 14.（a）全脑血管半径直方图，横轴表示节点半径，单位为512nm/pixel，纵轴表示对应的血管片段数  （b）半径 >1.6（819nm）的血管直方图 （c）半径 >1.6（819nm）的血管分布图  **（2）功能区血管差异**  为分析不同脑功能区的血管形态差异，我们把重建结果匹配到果蝇标准脑区，接着将处于同一个脑区的血管用一种颜色表示，如图15。可以观察到髓质区（区域1、5，图a、e）呈现非常明显、单一的渗透血管形态。更靠近内部的小叶区（区域2、4，图b、d）的血管相比髓质稍显杂乱，在方向上更丰富，但总体也是往内部延伸的趋势。而在最中间的扇形体区（区域3，图c），血管骨架的方向则更多样。  这种差异可能是因为相比于其他功能区，脑髓质就进化而言是较原始的，它控制所有非意识的日常活动（包括：体温的调节、血压、生化均衡和消化功能等）。由此验证可知脑功能区的不同类型的作用和血管形态之间有着密不可分的关系。      （a） （b） （c） （d） （e）  图 15. 各功能区血管可视化。 |

三．已取得的与论文研究内容相关的成果

|  |
| --- |
| 已发表或被接收发表的文章目录或其它相关研究成果。 |

四．下一步工作进度安排

|  |
| --- |
| 至论文答辩前的学位论文工作安排 |

导师签名： 研究生本人签名：

年 月 日