

# 哈爾濱工業大學

## 毕业设计（论文）开题报告

题 目：钙荧光成像下的神经元活动提取

专 业      自动化

学 生      汪 岷 丞

学 号      SZ170320115

指导教师      吴晓军教授

日 期      2021 年 11 月 24 日

哈尔滨工业大学教务处制

<b>1</b>	<b>课题来源及研究的目的是和意义</b>	<b>1</b>
1.1	课题来源与研究背景 . . . . .	1
1.2	研究目的与意义 . . . . .	1
<b>2</b>	<b>国内外在该方向的研究现状及分析</b>	<b>2</b>
2.1	钙荧光成像技术 . . . . .	2
2.2	深度学习在钙荧光数据集上的运用 . . . . .	2
<b>3</b>	<b>主要研究内容</b>	<b>2</b>
<b>4</b>	<b>研究方案</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>进度安排，预期达到的目标</b>	<b>4</b>
<b>6</b>	<b>课题已具备和所需的条件、经费</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>研究过程中可能遇到的困难和问题，解决的措施</b>	<b>4</b>
<b>8</b>	<b>主要参考文献</b>	<b>4</b>

# 1 课题来源及研究的目的和意义

## 1.1 课题来源与研究背景

大脑是整个已知宇宙中最重要的复杂系统之一，生物的一切高级活动都是神经活动在行为上的表达。研究大脑一直以来就是整个生物学领域让人激动的话题。随着科学技术的发展，我们对于大脑的认识从静态的解剖学上升到了神经活动。借助光遗传手段和超高分辨率的光学显微镜<sup>[1]</sup>，我们可以采集得到神经元的实时钙离子浓度，以此代表神经元的兴奋/抑制活动。这一方法的提出极大的促进了神经科学的发展，让学界能够在活的一个脑区上同时采集大量神经元活动，并与动物行为学研究结合从而建立了微观神经元活动和宏观行为的桥梁。近年来，大量杰出的工作借由此得以能够开展，例如<sup>[2]</sup>。

但这一方法同样也存在严重局限性，最重要的一点就是从原始钙荧光图像中提取神经元活动信息难度很大，非常依赖于关于神经元形状的外部先验。而由于成像分辨率有限，一个神经元通常只有几十个分辨率的大小，同一细胞在不同的实验环境下形状非常不一样，无法给出一个同一的结论。目前主流的方法是采用人工勾画轮廓<sup>[2]</sup>，费时费劲并且效果因人而异。

## 1.2 研究目的与意义

随着光学显微技术，激光技术等技术的发展，钙荧光发展了高分辨率的双光子成像<sup>[3]</sup>，微型化从而可以让实验动物自由活动的迷你显微镜<sup>[4]</sup>，成像面积扩大的广域成像，可植入深脑的终端显微镜。最近的成果已经将可以同时成像的细胞数目扩大到了数万甚至百万的数量级<sup>[5]</sup>，数据量高达 TB 乃至 PB 级。然而，实际结合行为学的研究通常只有几十个神经元的活动数据。主要瓶颈就在于人工挑选细胞的低下效率。

神经科学的一个重要发现是神经网络，即神经元并非单个或简单的叠加集群起作用，而是通过兴奋性/抑制性突触相互连接。形成了非常复杂升级网络。得益于算力的提升，采用这一神经网络思想的深度学习算法在近年来得以真正实现，并且取得了令人惊异的优秀效果。特别是在图像处理领域，神经网络算法大行其道，在目标识别等领域<sup>[6]</sup>取得了极大进展。

立足以上两点，本课题希望在神经元钙荧光数据上通过深度学习方法识别细胞形状并提取活动数据从而代替目前的人工识别。

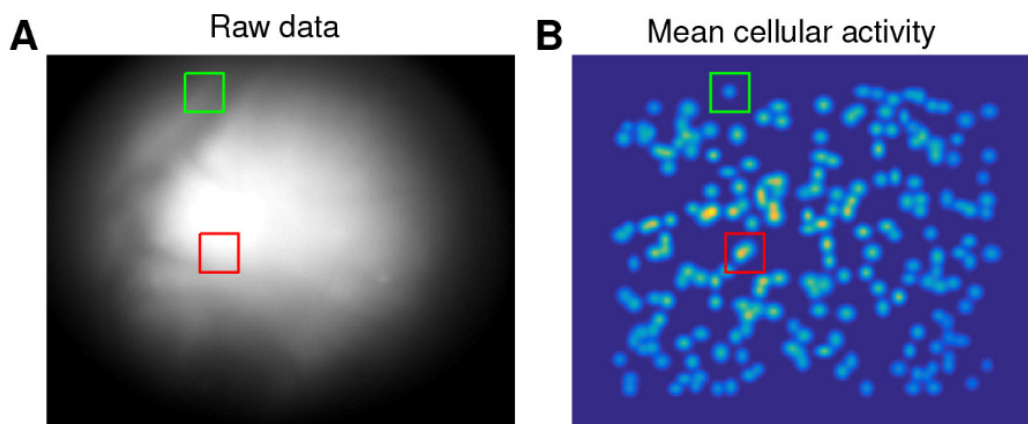


图 1: 原始图像与神经元活动<sup>[7]</sup>

## 2 国内外在该方向的研究现状及分析

### 2.1 钙荧光成像技术

从上个世纪末被发明以来<sup>[1]</sup>，钙荧光成像一直都是神经科学领域最热门的几个技术之一。学界对于分析钙荧光数据也开发了很多不同的方法<sup>[8][9]</sup>

总的来说，传统处理方法从原始钙荧光数据到需要多个步骤。首先要修复图像的整体非刚性变换；第二需要抑制严重的图像噪声；第三需要处理光学显微镜在分辨极限上不可避免的光学卷积；第四还要分离各个细胞成像的重叠部分；非常繁琐。为了解决这一问题 Liam Paninski 团队提出了同步的解决办法<sup>[9]</sup>，采用非负矩阵分解的办法处理图像。

假设：

$$A = S * T + n$$

其中  $A$  是原始图像， $S$  是神经元的形状，即空间信息。 $T$  是神经元的活动，即时间信息， $n$  是噪声。

现在要找到  $T$  的一个估计  $T'$  使得损失函数最小化。

损失函数定义为

$$\|S * T' - A + n\|$$

这一方法在效率上超过了传统的分布数据处理，相比与同样采用矩阵分解的 PCA 则准确性更高。矩阵分解迭代是非凸且非一致的，所以这一方法的效果很大程度上取决于初始化。在实践中， $S$  通常由人工观察得到。最近有实验采用电镜成像并降采样之后作为细胞形状的外部先验<sup>[10]</sup>，可以避免繁琐的人工重复劳动。但成本更加昂贵并且流程复杂。

### 2.2 深度学习在钙荧光数据集上的运用

由上面的讨论可以知道，引入神经元形状的外部先验对于神经元活动是非常重要的。有不少工作致力于用深度学习的方法找到神经元形状，减少人工操作<sup>[11][12]</sup>。但这一思路存在很大的局限性：缺少金标准。采用监督学习的方法训练神经网络，其准确率不可能超过 ground truth 本身。但是目前的数据集的 ground truth 只能通过人工标注，而在低分辨率图像上进行标准本身就非常困难，并且数据量非常缺乏。

另一种运用神经网络的方法是，使用神经网络辅助传统方法。上面介绍的基于矩阵非负分解 (CNMF-E) 的方法<sup>[7]</sup> 相比于其他方法，一个显著的缺陷是容易出现假阳性。就有工作在 CNMF-E 的基础上采用深度学习的办法，剔除假阳性结果<sup>[13]</sup>。

## 3 主要研究内容

- 3.1 减少人工干预：提出一种算法能够高质量自评价从原始钙荧光图像数据中提取出神经元钙离子活动数据。
- 3.2 使用深度学习算法：训练一个神经网络预测细胞形状，结合已有的矩阵非负分解的方法得到钙活动数据。
- 3.3 克服现有多阶段方法的弊端：最终的结果是神经元活动数据，事实上我们并不关心细胞形状。那么我们将它看作一个中间步骤，在训练神经网络时定义 loss function 为实际活动序列和预测序列的相关性。从而做到 end to end。

## 4 研究方案

神经网络的大致构架如图 2 所示。第一步，从原始图像中抽取部分关键帧，这一步的目的是减少计算量。第二步，输入 backbone 网络得到 feature map；其中 backbone 网络使用了 Swin Transformer<sup>[14]</sup>。第三步，通过一个 FPN 和 position embedding 之后进入一个类似 DETR<sup>[15]</sup> 的网络，这一步是进行 instance prediction，从而得到我们想要的细胞形状。最后将通过已有矩阵分解算法，以上面得到的细胞形状为初始条件得到钙荧光活动轨迹。

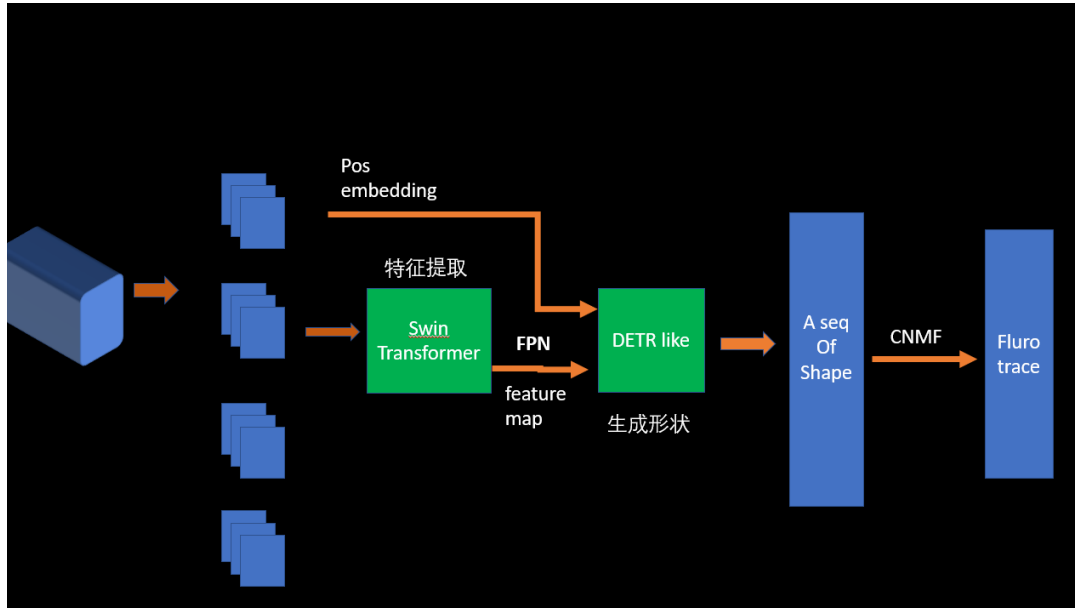


图 2: 前向推理

与学界已有的方案不同的是，我们不将得到细胞形状作为一个单独的子任务终点来构建，而是直接建立原始数据和钙荧光活动序列的关系。具体的来讲，利用 DETR 使用 transformer<sup>[16]</sup> 得到目标形状序列，并且采用 Hungarian algorithm 将网络预测序列和 ground truth 序列进行匹配的方法，我们可以建立预测的细胞形状与 ground truth 的钙荧光活动序列之间的一一对应关系。所以我们的网络训练后向传播是从最终结果即钙荧光活动数据开始的。

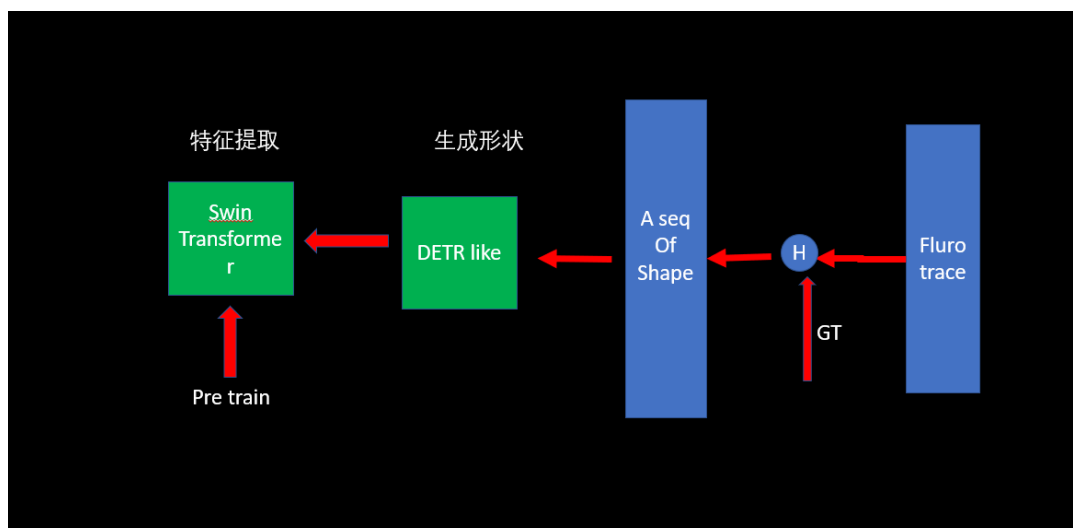


图 3: 后向传播

## 5 进度安排，预期达到的目标

2021 年 11 月-2022 年 1 月：可行性验证，学习神经网络编程。2022 年 2 月-3 月：完成网络构建，开始训练并修改。2022 年 4 月-5 月：后期工程完善，论文撰写。

## 6 课题已具备和所需的条件、经费

学院吴晓军老师给予深度学习与图像处理的理论指导。中科院深圳先进院周鹏程老师给予钙荧光数据集的理论指导和数据提供，先进院徐放老师提供 GPU 计算集群。

## 7 研究过程中可能遇到的困难和问题，解决的措施

问题：loss function 是通过钙荧光活动数据间接计算的，反向传播过程中可能存在信息丢失，模型难以收敛。

解决方案：采用类似 mutual information 的 metrics，避免过度正则化带来的信息损失。

## 8 主要参考文献

- [1] Smetters D, Majewska A, Yuste R. Detecting action potentials in neuronal populations with calcium imaging[J]. Methods, 1999, 18(2): 215-221.
- [2] da Silva J A, Tecuapetla F, Paixão V, et al. Dopamine neuron activity before action initiation gates and invigorates future movements[J]. Nature, 2018, 554(7691): 244-248.
- [3] Stosiek C, Garaschuk O, Holthoff K, et al. In vivo two-photon calcium imaging of neuronal networks[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003, 100(12): 7319-7324.
- [4] Zhang L, Liang B, Barbera G, et al. Miniscope GRIN lens system for calcium imaging of neuronal activity from deep brain structures in behaving animals[J]. Current protocols in neuroscience, 2019, 86(1): e56.
- [5] Demas J, Manley J, Tejera F, et al. Volumetric calcium imaging of 1 million neurons across cortical regions at cellular resolution using light beads microscopy[J].

bioRxiv, 2021.

- [6] Zhao Z-Q, Zheng P, Xu S-t, et al. Object detection with deep learning: A review[J]. IEEE transactions on neural networks and learning systems, 2019, 30(11): 3212-3232.
- [7] Zhou P, Resendez S L, Rodriguez-Romaguera J, et al. Efficient and accurate extraction of in vivo calcium signals from microendoscopic video data[J/OL]. Elife, 2018, 7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29469809>.
- [8] Mukamel E A, Nimmerjahn A, Schnitzer M J. Automated analysis of cellular signals from large-scale calcium imaging data[J]. Neuron, 2009, 63(6): 747-760.
- [9] Pnevmatikakis E A, Soudry D, Gao Y, et al. Simultaneous denoising, deconvolution, and demixing of calcium imaging data[J]. Neuron, 2016, 89(2): 285-299.
- [10] Turner N L, Macrina T, Bae J A, et al. Multiscale and multimodal reconstruction of cortical structure and function[J/OL]. bioRxiv, 2020. <https://www.biorxiv.org/content/early/2020/10/24/2020.10.14.338681>.
- [11] Klibisz A, Rose D, Eicholtz M, et al. Fast, simple calcium imaging segmentation with fully convolutional networks[G] // Deep Learning in Medical Image Analysis and Multimodal Learning for Clinical Decision Support. [S.l.]: Springer, 2017: 285-293.
- [12] Soltanian-Zadeh S, Sahingur K, Blau S, et al. Fast and robust active neuron segmentation in two-photon calcium imaging using spatiotemporal deep learning[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2019, 116(17): 8554-8563.
- [13] Tran L M, Mocle A J, Ramsaran A I, et al. Automated curation of CNMF-E-extracted ROI spatial footprints and calcium traces using open-source AutoML tools[J]. Frontiers in Neural Circuits, 2020, 14: 42.
- [14] Anon. Swin Transformer: Hierarchical Vision Transformer using Shifted Windows[J], 2021.
- [15] Carion N, Massa F, Synnaeve G, et al. End-to-end object detection with transformers[C] // European Conference on Computer Vision. 2020: 213-229.
- [16] Dosovitskiy A, Beyer L, Kolesnikov A, et al. An image is worth 16x16 words: Transformers for image recognition at scale[J]. arXiv preprint arXiv:2010.11929, 2020.