

Deep Learning in Synaptic Partner Prediction, Synaptic Cleft Segmentation, and Neuron Segmentation

Mikail Yayla

7. Februar 2019

Outline

- 1 Einführung**
- 2 Methoden**
- 3 Problemstellung**
- 4 Synaptic Partner Prediction**
- 5 Synaptic Cleft Segmentation**
- 6 Neuron Segmentation**
- 7 Literatur**

Outline

- 1 Einführung
- 2 Methoden
- 3 Problemstellung
- 4 Synaptic Partner Prediction
- 5 Synaptic Cleft Segmentation
- 6 Neuron Segmentation
- 7 Literatur

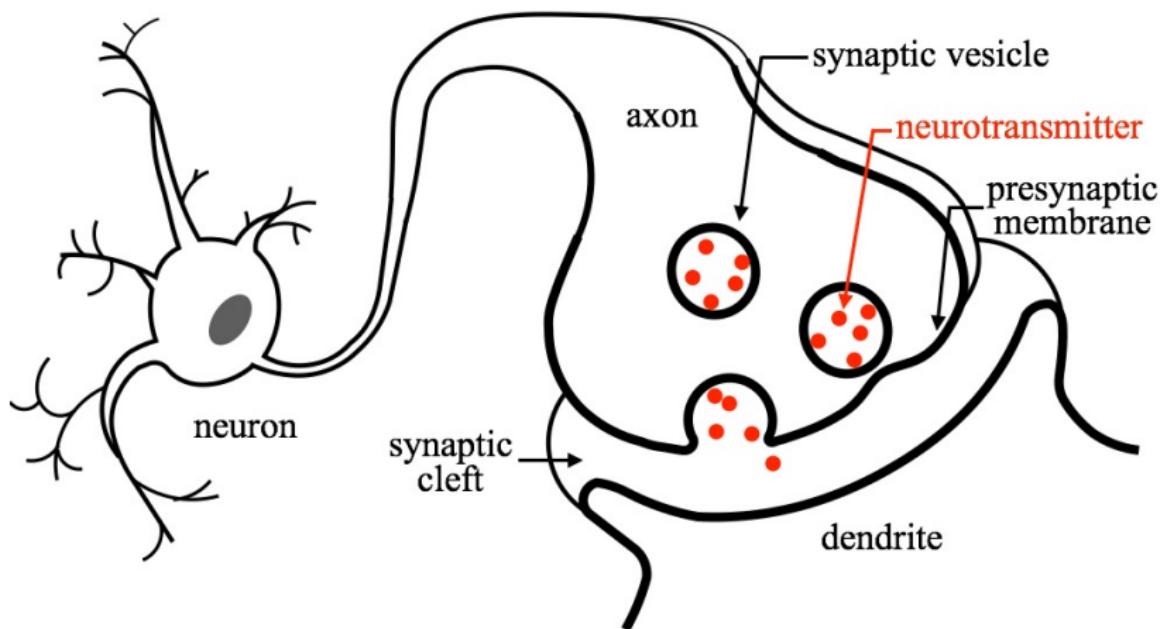
Konnektome



Lucchi et al., cvlab.epfl.ch/data/data-em/

- Human Connectome Project
- 10^{11} Neuronen, 10^{14} Synapsen
- Erstellung und Annotation aufwändig (3D Daten)
- Erfolge durch Anwendung von Deep Learning auf EM Daten

Neuronen und Synapsen



ks.uiuc.edu/Research/neuron

Outline

1 Einführung

2 Methoden

3 Problemstellung

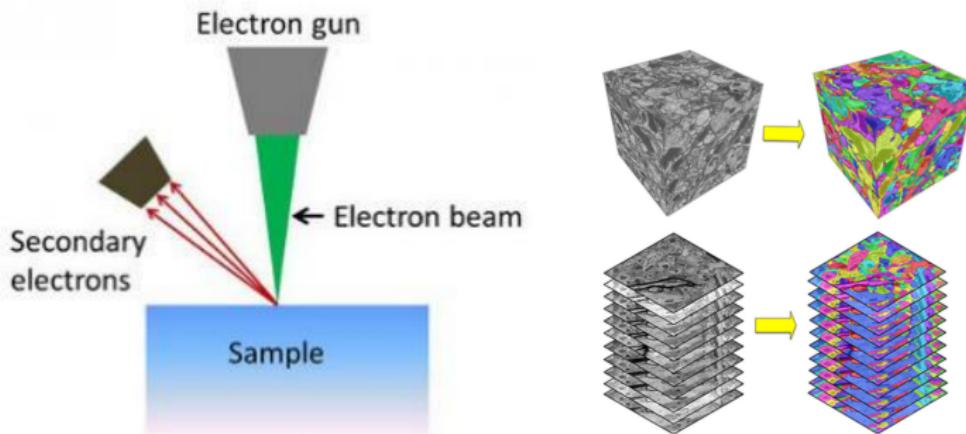
4 Synaptic Partner Prediction

5 Synaptic Cleft Segmentation

6 Neuron Segmentation

7 Literatur

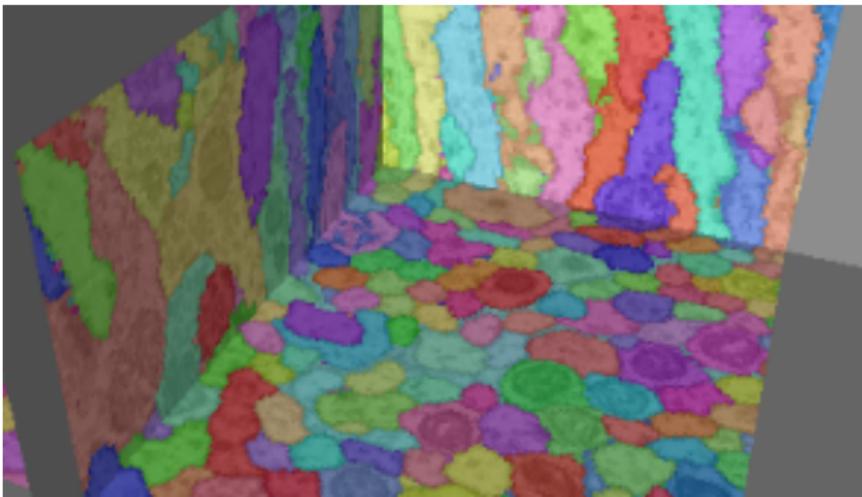
EM Daten mit Annotationen



engineering.com, ywcmatsci.yale.edu/sem

- Serial Section Electron Microscopy
- Annotation der 2D Daten von Experten
- Training des 3D CNN, automatische Annotation in 3D

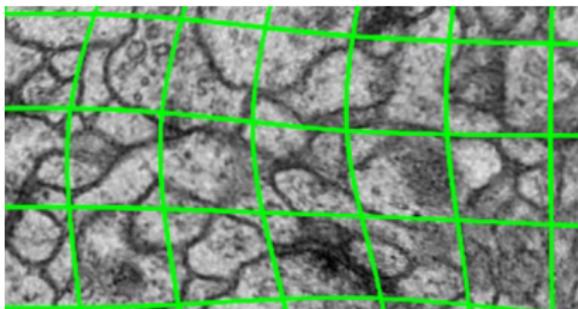
3D Rekonstruktion und Visualisierung



cremi.org/data/

- Spaghetti-Struktur
- Synapsen können überall da sein, wo Neuronen nah beieinander
- Drosophila Nervensystem: 250000 Neuronen, 10^7 Synapsen

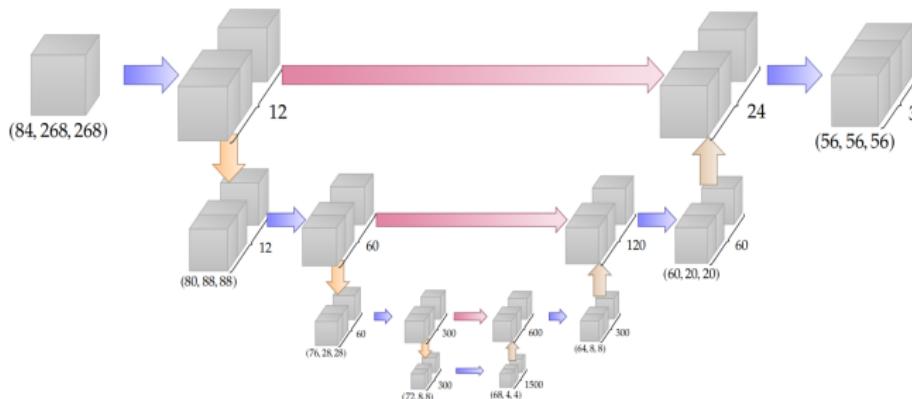
Data Augmentation in der Medizin



Ronneberger, imb.informatik.uni-freiburg.de/people/ronneber/u-net/index.html

- In der Medizin sind nur wenige Samples verfügbar
- Samples ähneln sich, Transformationen die plausible Varianz erzeugen
- Z.b. mit Gunpowder: Transponieren, Rotation, Intensitätsvariation, elastische Deformation, usw.

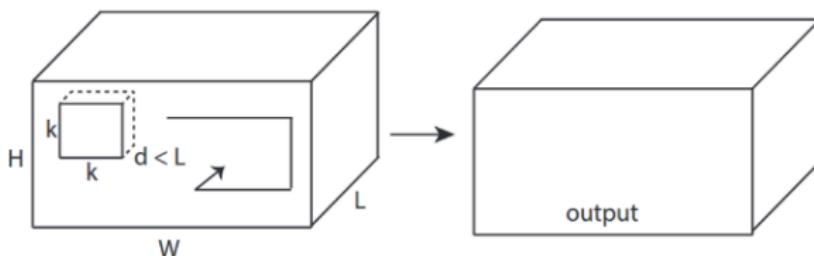
3D U-Net



Funke et al., 2018

- Lernt Segmentierung, sogar aneinander angrenzende Elemente
- Kommt mit sehr wenigen Trainingsdaten aus
- Räumliches Zusammenziehen und räumliche Ausdehnung
- Conv./UpConv., ReLu, Maxpool

3D Convolution



Tran et al., 2015

$$I_C(x, y, z) = \sum_w \sum_h \sum_l I(w, h, l) \cdot K(x - w, y - h, z - l)$$

Outline

1 Einführung

2 Methoden

3 Problemstellung

4 Synaptic Partner Prediction

5 Synaptic Cleft Segmentation

6 Neuron Segmentation

7 Literatur

CREMI Challenge: Drosophila Melanogaster

■ Ziele

- Funktion biologischer Nervensysteme untersuchen
- Methoden, Algorithmen und Werkzeuge weiterentwickeln

■ 3 Challenges mit annotierten Datensätzen

- Neuron Segmentation
- Synaptic Partner Prediction
- Synaptic Cleft Detection

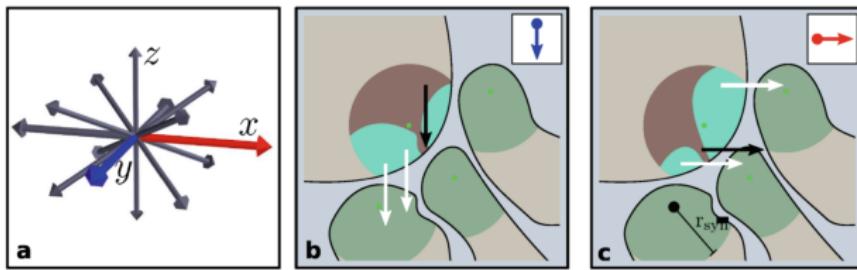
■ Datensatz

- 3 Training Volumes, 3 Test Volumes, ssTEM
- Anisotrop: $1250 \times 1250 \times 125$, Auflösung: $4 \times 4 \times 40$ nm
- Datensätze nicht perfekt

Outline

- 1 Einführung**
- 2 Methoden**
- 3 Problemstellung**
- 4 Synaptic Partner Prediction**
- 5 Synaptic Cleft Segmentation**
- 6 Neuron Segmentation**
- 7 Literatur**

Synaptic Partner Prediction (Buhmann et al.)



Buhmann et al., 2018

- Synaptische Spalten mit gerichtete Kanten annotieren
- Detektion und Partnerfindung in einem Schritt
- 3D U-Net Input: 3D CREMI Trainingsdaten
- 3D U-Net Output: n_e -dim Vektor für jeden Voxel des Inputs

Synaptic Partner Prediction (Buhmann et al.)

■ Allgemeine Formulierung

- Graph $G(V, E)$, mit Voxel $v \in V$
- Relationen zwischen Voxel: $e_{i \rightarrow j} = (v_i, v_j) \in E$
- Für jedes v_i betrachte nur n_e Kanten

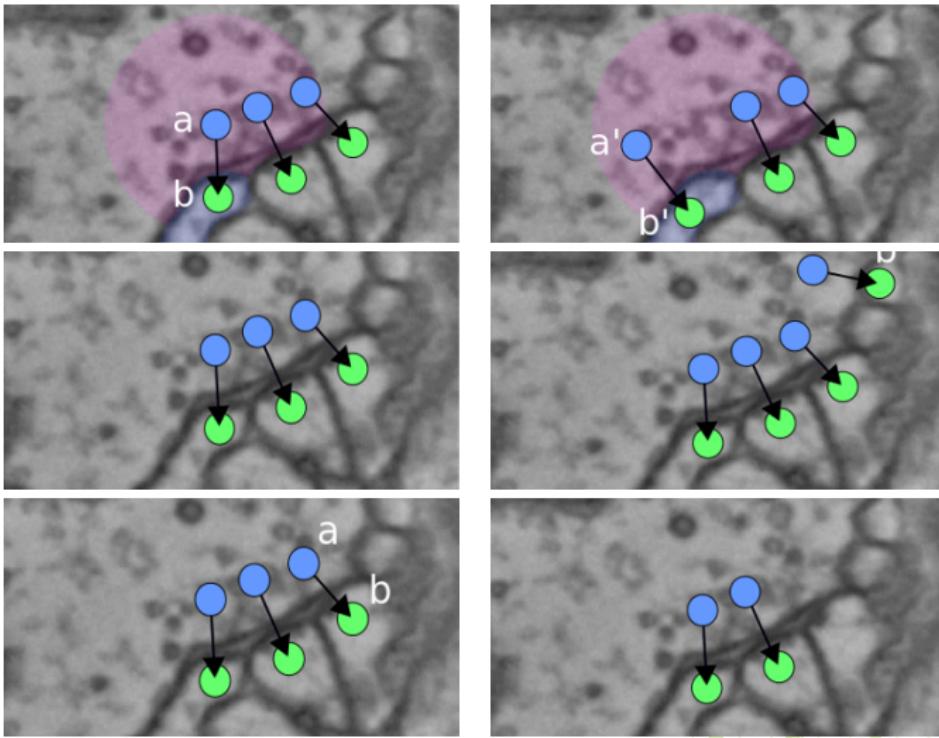
■ Kanten-Klassifizierung

- 3D U-Net soll für jedes v_i klassifizieren, ob $e_{i \rightarrow j} \in E^{syn}$
- n_e -dim Vektor y_j^i , Eintrag y_j^i hat score $s(e_{i \rightarrow j} = 1)$ falls $e_{i \rightarrow j} \in E^{syn}$

■ Konnektom-Formulierung

- Gerichteter Konnektom-Graph $G_c = (S, A)$
- Neuronen: $s \in S \subset P(V)$, Kandidaten $a \in A \subset P(E)$
- Falls $s(a_{k \rightarrow l}) > t_1$ mit ($k \neq l$) dann Synapse
- Mehrere Synapsen zwischen zwei Neuronen: falls
 $conf(a_{l \rightarrow k}^m) = \sum_{e \in a_{l \rightarrow k}^m} s(e) > t_2$, dann Synapse

Synaptic Partner Prediction: Evaluation



Synaptic Partner Prediction: Ergebnisse

■ 3D U-Net Architektur

- Drei convolutions ($3 \times 3 \times 3$), Maxpool ($3 \times 3 \times 1$)
- Am Ende $1 \times 1 \times 1$ convolution und sigmoid activation function

■ Ergebnisse der Studie

- Gittersuche für Hyperparameter: $t_1 = 0.5$, $t_2 = 2500$
- 3% Erhöhung des f-score auf 0.553, bestes Ergebnis (Jun 2018)
- 19% Verbesserung in accuracy, weniger FP

■ Ideen zur Verbesserung

- Klassifikation in Regression umformulieren
- Für jeden Voxel (x, y, z) Vektoren mit kontinuierlichen Zahlen

Outline

1 Einführung

2 Methoden

3 Problemstellung

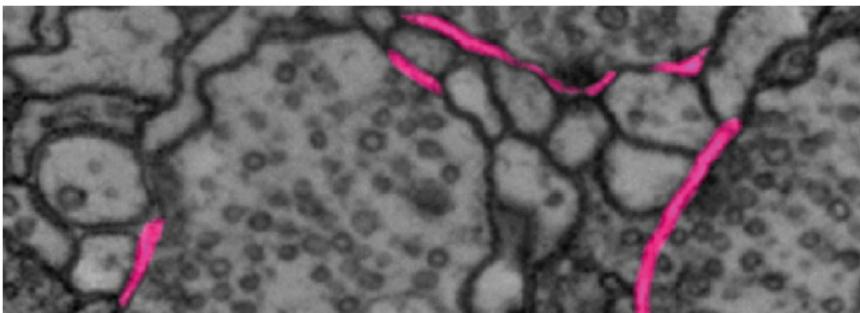
4 Synaptic Partner Prediction

5 Synaptic Cleft Segmentation

6 Neuron Segmentation

7 Literatur

Synaptic Cleft Segmentation (Heinrich et al.)



- Segmentierung von synaptischen Spalten mit voxelweiser Regression
- Data augmentation mit *Gunpowder*
- 3D U-Net Input: 3D CREMI Daten
- 3D U-Net Output: Signed Euclidian Distance Transform

Distance Transform

5,-1	4,-1	3,-1	2,-1	1,-1	0,-1	-1,-1	-2,-1
5, 0	4, 0	3, 0	2, 0	1, 0	0, 0	-1, 0	-2, 0
1,-4	0,-4	3, 1	2, 1	1, 1	0, 1	-1, 1	-2, 1

Qin-Zhong Ye, 1998

■ Verwendung

- Jeder Punkt zeigt minimalen Abstand zum nächsten zero-distance Punkt (ZDP)

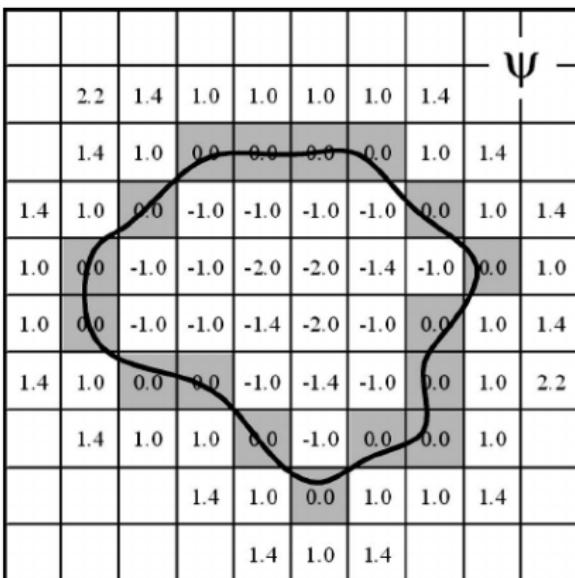
■ DT von Binärbild B

- $\Psi(x) = \min_{\forall y \in B} d(x, y)$

■ Signed Distance Transform

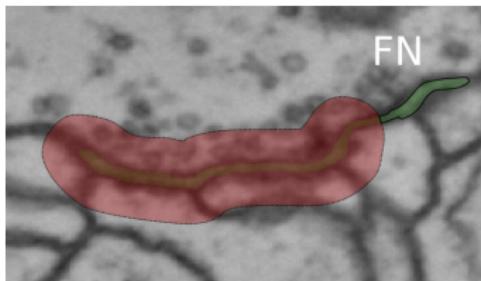
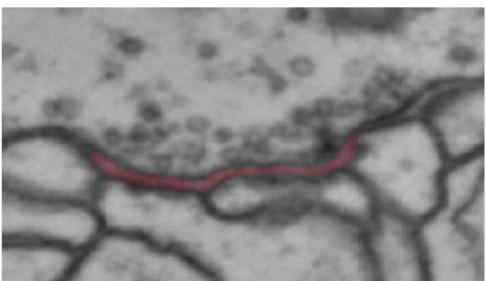
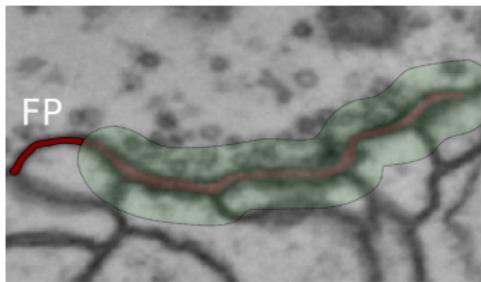
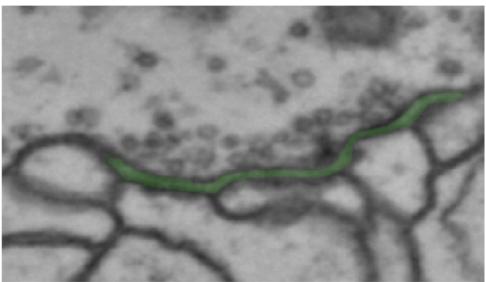
- Distance map definiert durch Komponenten von \vec{x} in jedem Voxel
- Zwischen -1 und 1 skalieren, damit weite Entfernungen gesättigt werden

Signed Euclidian Distance Transform



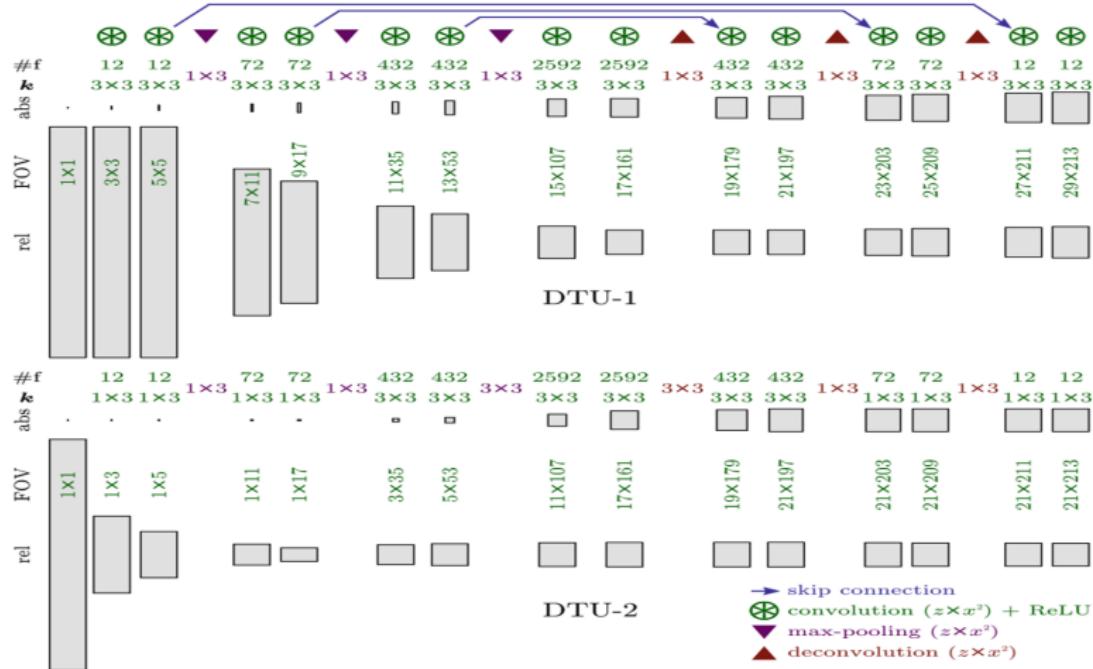
Qin-Zhong Ye, 1988

Synaptic Cleft Detection: Evaluation



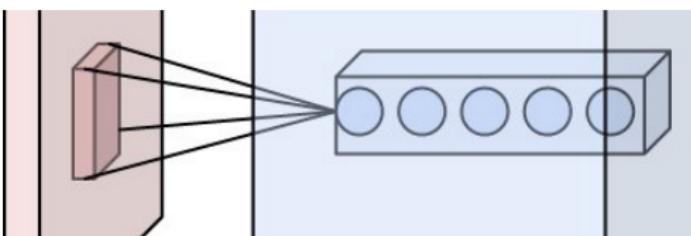
- Fehler: Anzahl falsch segmentierter Voxel

Isotropic vs. Anisotropic FOV



Heinrich et al., 2018

Synaptic Cleft Detection: Evaluation



cs231n.github.io/convolutional-networks/

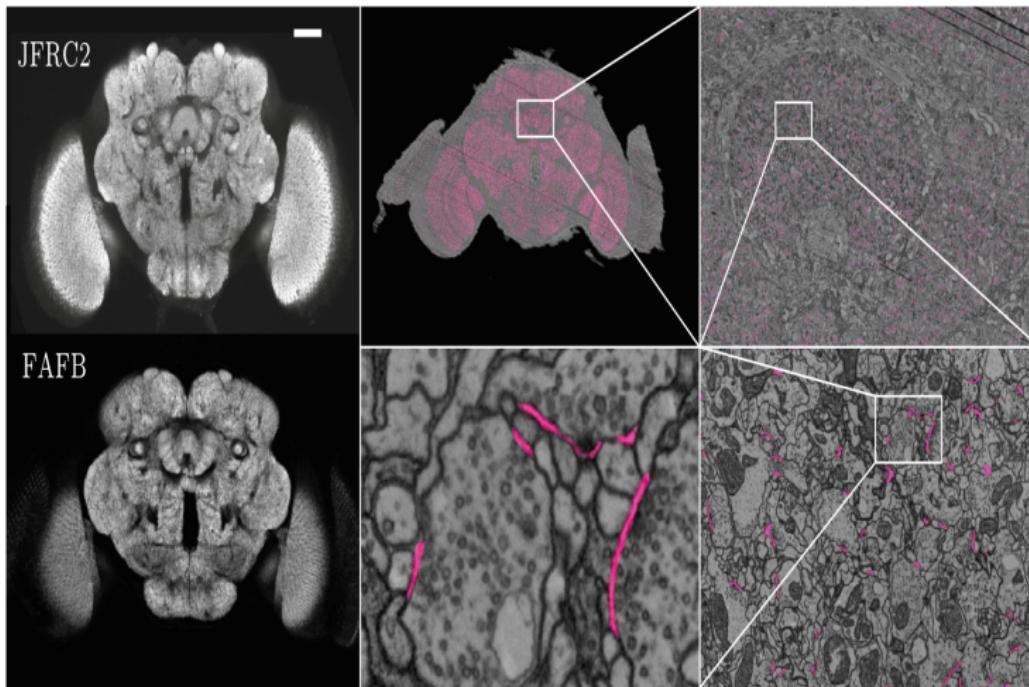
■ Profitieren 3D U-Nets von isotropic FOV ?

- Vergleiche DTU-1 (anisotroper FOV) mit DTU-2 (isotroper FOV)
- DTU-1: durchgehend 3D Convolutionen
- DTU-2: 2D Convolutionen bis features isotrop, danach 3D Conv.

■ DTU-2 übertrifft DTU-1

- Weniger Parameter, kleines Netz möglich, besser trainierbar
- DTU-2 hat f-score von 0.877, bestes Ergebnis (Jun 2018)
- DTU-2 hat alle syn. Spalten im Gehirn der Drosophila segmentiert

Segmentierung aller synaptischen Spalten



Heinrich et al., 2018

Outline

1 Einführung

2 Methoden

3 Problemstellung

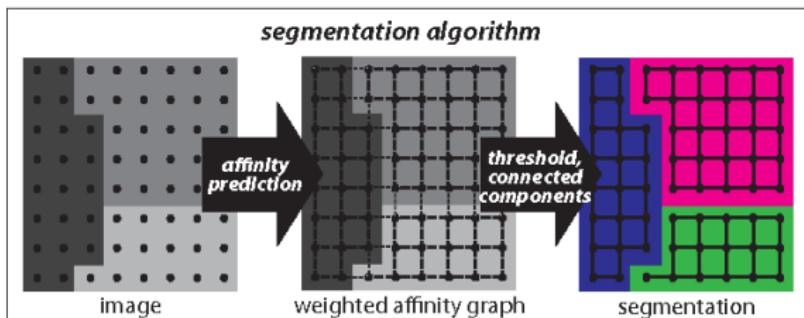
4 Synaptic Partner Prediction

5 Synaptic Cleft Segmentation

6 Neuron Segmentation

7 Literatur

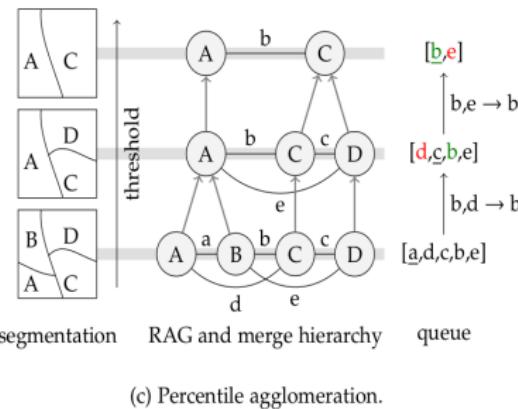
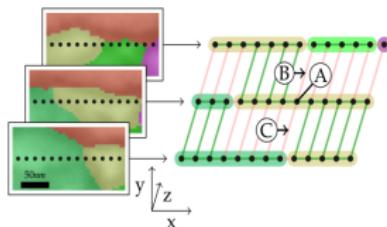
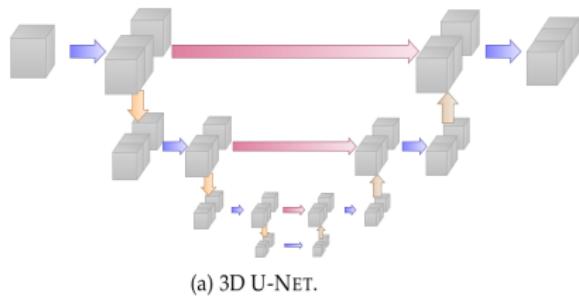
Neuron Segmentation mit Affinitäten



Turaga et al., 2009

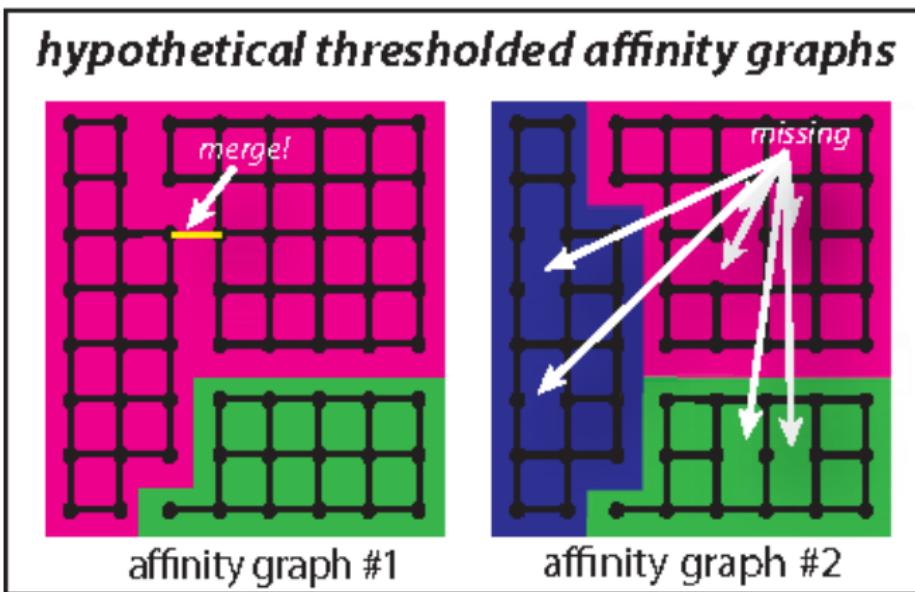
- Nutze Rand-Index als Gütekriterium für Segmentierung
- MALIS-basierter loss für 3D U-Net minimiert Rand-Index
- 3D U-Net berechnet Affinitäten-Graph
- Thresholding und Postprocessing zur Erzeugung von Segmenten

Neuron Segmentation Überblick



Funke et al., 2018

Sinnvolles Gütemaß für Segmentierung ?

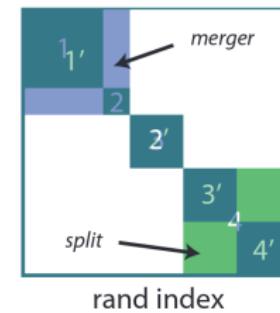
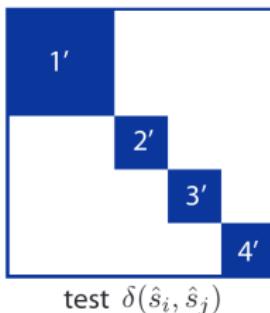
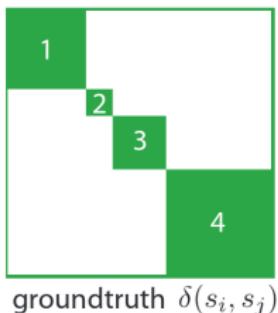


Turaga et al., 2009

Rand Index: Segmentierung sinnvoll bewerten

$$1 - RI(\hat{S}, S) = \binom{N}{2}^{-1} \sum_{i < j}^n |\delta(s_i, s_j) - \delta(\hat{s}_i, \hat{s}_j)|$$

- $\delta(s_i, s_j) = 1$ falls Pixel i und j zum gleichen Segment gehören, sonst 0
- Vergleiche berechnete Segmentierung \hat{S} mit GT Segmentierung S
- $1 - RI(\hat{S}, S)$ fungiert als objective function (measure of dissimilarity)



Turaga et al., 2009

Maximin Affinity A_{ij}^*

Wann sind zwei Pixel in einem Segment?

Kante P_{ij}^* bestimmt ob zwei Pixel im Affinität-Graph verbunden sind

$$P_{ij}^* = \arg \max_{P \in P_{ij}} \min_{\langle k, l \rangle \in P} A_{kl}$$

$$A_{ij}^* = \max_{P \in P_{ij}} \min_{\langle k, l \rangle \in P} A_{kl}$$

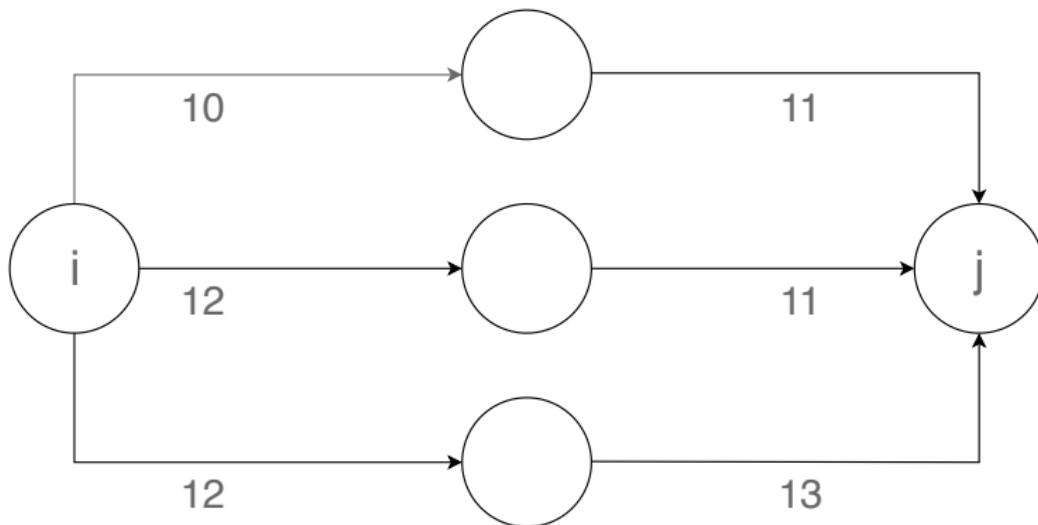
Theorem

- Pixelpaar ist im thresholded Graph verbunden, falls ihre maximin affinity größer ist als threshold θ

Beweis

- Pixelpaar ist im thresholded Graph verbunden, gdw. es einen Pfad zwischen ihnen gibt
- Im ursprünglichen Graph existiert dieser Pfad auch, bei diesem Pfad ist die minimale Affinität größer als θ
- Im thresholded Graph existiert der Pfad gdw. falls die maximin affinity dieses Pfades größer als θ ist

Maximin Affinity Beispiel



MALIS loss für Optimierung des Rand-Index

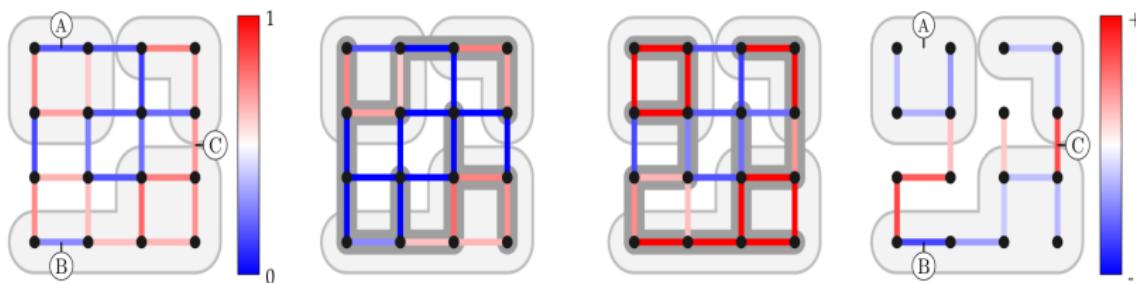
- $A_{mm(i,j)}^* \in [0, 1]$ der maximin Kante für Pixelpaar (i, j)
- I für Inputbild, W sind Parameter des Alg., der Affinitäten berechnet
- Loss, z.B. mit $L = 0.5(x - \hat{x})^2$

$$E(S, I; W) = \binom{N}{2}^{-1} \sum_{i < j}^n L(\delta(s_i, s_j), A_{mm(i,j)}^*(I; W))$$

Gradient descent, z.B. mit Update nach jedem Pixelpaar

- Wähle zufälliges Pixelpaar i und j aus zufällig gezogenem Trainingsbild
- Finde maximin affinity $A_{mm(i,j)}^*(I; W)$
- $W \leftarrow W + \eta \frac{\partial d}{\partial W} L(\delta(s_i, s_j), A_{mm(i,j)}^*(I; W))$

Vorteile von 3D U-Net mit MALIS loss



(a) Predicted affinities.

(b) Positive pass.

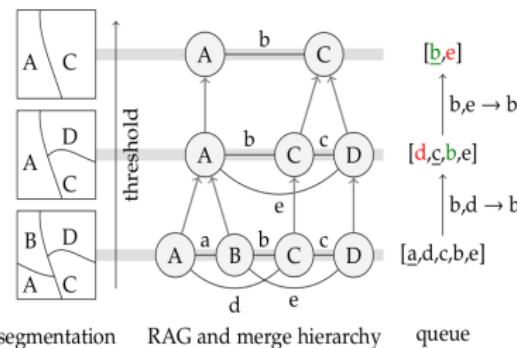
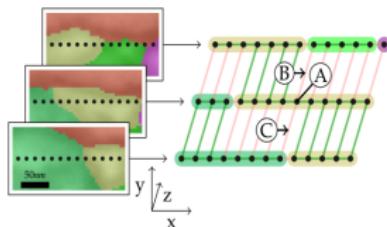
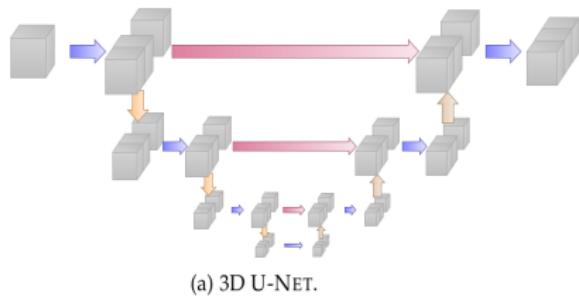
(c) Negative pass.

(d) Gradient of loss.

Funke et al., 2018

- MALIS loss minimiert Rand-Index
- Berechnung des MALIS loss Gradienten in $\mathcal{O}(n \log n + kn)$
- Vermeide FN und FP Gradientenbeiträge: Separierung von w_P und w_N

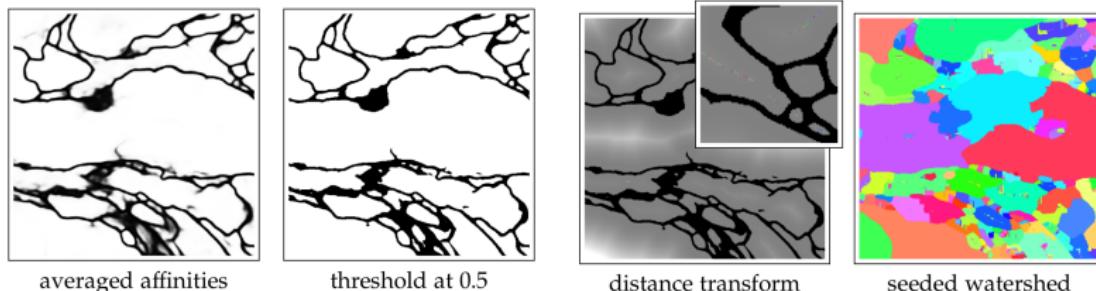
Neuron Segmentation Überblick



(c) Percentile agglomeration.

Funke et al., 2018

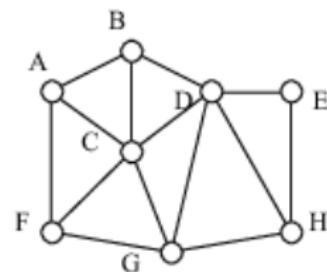
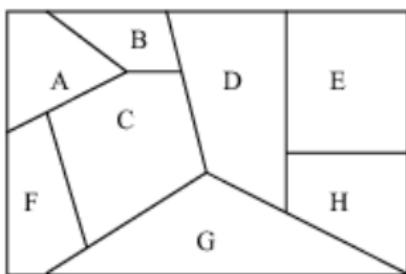
Fragment Extraction: Watershed Algorithmus



Funke et al., 2018

- **Tradeoff: zu viele Fragmente vs. zu wenige Fragmente**
 - Zu viele Fragmente verlangsamen Agglomeration
 - Fehler bei zu wenigen Fragmenten können nicht mehr korrigiert werden
- **Seeded Watershed Algorithmus bietet guten Trade-off**
 - Mittel der berechneten Affinitäten für jeden Voxel, threshold bei 0.5
 - Distance transform dieses Volumens berechnen
 - Jedes lokale Maximum als seed, *basin* (Flussbecken) wachsen lassen
 - Es kann zu oversegmentation kommen, Agglomeration notwendig

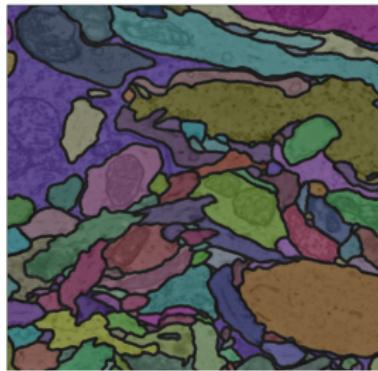
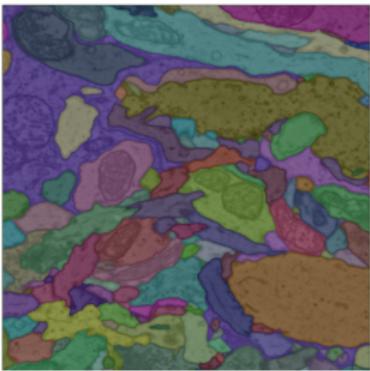
Hierarchical Fragment Agglomeration



Ruey-Feng Chang et al., 2004

- RAG der extrahierten Fragmente ist annotierter Graph $G = (V, E, f)$
 - V fragments
 - $E \subseteq V \times V$ sind Kanten zwischen benachbarten Fragmenten
 - $f : E \mapsto \mathbb{R}$ ist edge scoring function
- Agglomerations-Algorithmus
 - 1 Verschmelze zwei benachbarte Knoten, beginne mit Kante mit kleinstem f
 - 2 Berechne edge scores von Kanten die von der Verschmelzung betroffen sind und fange wieder bei 1. an, bis ein bestimmter Schwellwert erreicht ist

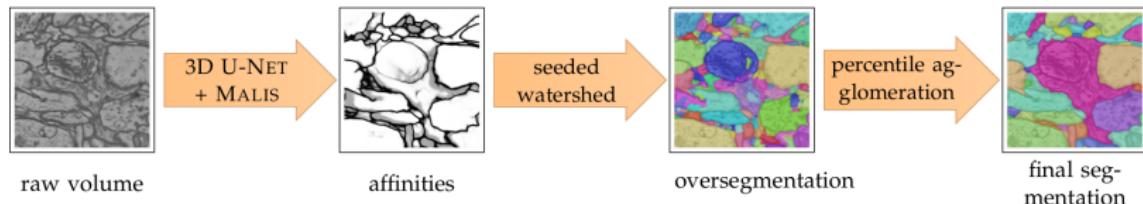
Neuron Segmentation Bewertungskriterien



cremi.org/metrics/

- Neuron-Segmentierungen werden mit der GT verglichen bezüglich
 - Variation of information (VOI)
 - Adapted Rand Error (RAND)
 - Tolerant Edit Distance (TED)
- Pixel nahe Objektgrenzen aus der Bewertung auslassen, um Mehrdeutigkeiten und Ungenauigkeiten zu vermeiden

3D U-Net mit Region Agglomeration: Ergebnisse



Funke et al., 2018

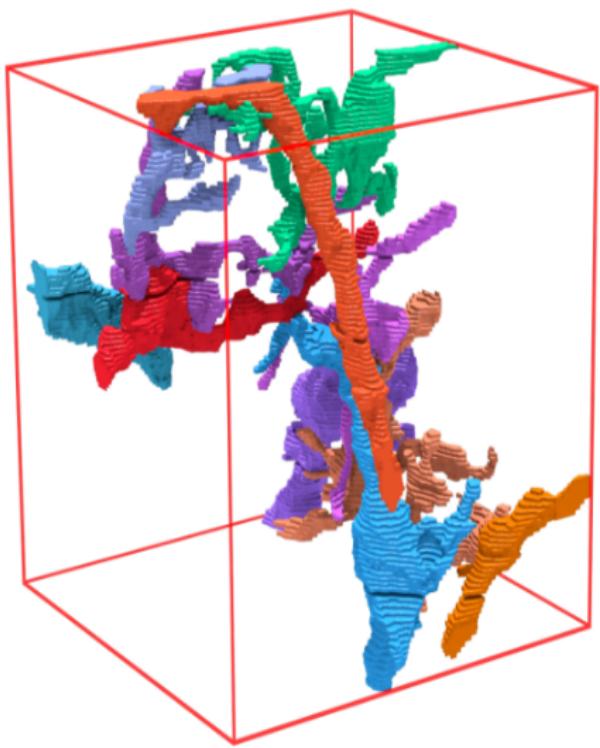
■ Zusammenfassung für Neuron Segmentation

- Affinitäten, Erzeugung von Regionen, iterative Agglomeration
- MALIS loss in quasilinearer Zeit, FP/FN passes, optimiert Rand-Index

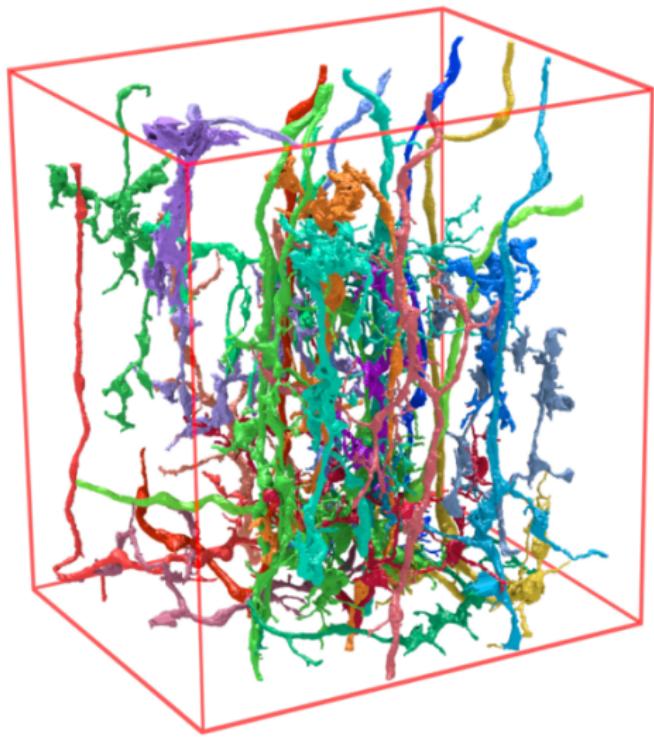
■ Verbessert Stand der Technik deutlich (May 2018)

- Tests auf CREMI mit ca. 250%, FIB-25 ca. 20% (isotrop, Neuronen hinter Facettenauge), SegEM ca. 20% (Retina und Cortex der Maus)
- Eine Methode für isotropic und anisotropic Datasets
- Laufzeit steigt linear mit Inputgröße; 2.6 s per Megavoxel

CREMI Neuron Segmentation (Funke et al., 2018)



FIB-25 Neuron Segmentation (Funke et al., 2018)



Takeaway Messages

- **Neuron segmentation** des DM Gehirns ist effizient möglich
- **Synaptic cleft detection** des DM Gehirns ist effizient möglich
- **Synaptic partner prediction** des DM Gehirns ist (noch) schwierig
- CNNs Can Learn to Generate Affinity Graphs for Image Segmentation
- You Should Use Regression to Detect Cells
- von Sebastian Seung, in "Connectome"
 - Genomes are a child's play compared to connectomes.
 - I am convinced that it will become possible to find human connectomes before the end of the twenty-first century.
 - Since the connectome defines the pathways along which neural activity can flow, we might regard it as the streambed of consciousness.

Outline

1 Einführung

2 Methoden

3 Problemstellung

4 Synaptic Partner Prediction

5 Synaptic Cleft Segmentation

6 Neuron Segmentation

7 Literatur

Literatur (1/2)

- Synaptic Partner Prediction from Point Annotations in Insect Brains.
Buhmann et al., 2018
- Synaptic Cleft Segmentation in Non-isotropic Volume Electron Microscopy of the Complete Drosophila Brain. Heinrich et al., 2018
- Large Scale Image Segmentation with Structured Loss based Deep Learning for Connectome Reconstruction, Funke et al., 2018
- 3D U-Net: Learning Dense Volumetric Segmentation from Sparse Annotation. Özçicek et al., 2016
- Learning Spatiotemporal Features with 3D Convolutional Networks. Tran et al., 2014
- Understanding the Effective Receptive Field in Deep Convolutional Neural Networks. Luo and Li et al., 2016
- U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. Ronneberger et al., 2015
- MICCAI Challenge on CREMI: <https://cremi.org/>. Funke et al.
- Gunpowder Tool. <http://funkey.science/gunpowder/>

Literatur (2/2)

- You Should Use Regression to Detect Cells. Kainz et al., 2015
- Convolutional Networks Can Learn to Generate Affinity Graphs for Image Segmentation. Turaga et. al, 2009
- Maximin affinity learning of image segmentation. Turaga et al., 2009
- Distance Transforms of Sampled Functions. Felzenszwalb et al., 2012
- The Signed Euclidean Distance Transform and Its Applications. Qin-Zhong Ye, 1988
- TED: A Tolerant Edit Distance for Segmentation Evaluation. Funke et al., 2017
- Objective Criteria for the Evaluation of Clustering Methods. Rand, 1971
- SegEM: Efficient Image Analysis for High-Resolution Connectomics. Berning et al., 2015
- Synaptic circuits and their variations within different columns in the visual system of Drosophila. Takemura et al., 2015
- Region-based image retrieval using edgeflow segmentation and region adjacency graph. Ruey-Feng Chang et al., 2004

Definition Rand Index (Rand, 1971)

- Gegeben $S = \{o_1, \dots, o_N\}$, und zwei Mengen die S unterteilen
- $X = \{X_1, \dots, X_r\}$ und $Y = \{Y_1, \dots, Y_s\}$
- Unterteilungen von X und Y sollen verglichen werden
 - a ist die Anzahl der Elementpaare in S , die in gleichen Teilmengen in X , und auch in gleichen Teilmengen in Y sind
 - b ist die Anzahl der Elementpaare in S , die in verschiedenen Teilmengen in X , und auch in verschiedenen Teilmengen in Y sind
 - c ist die Anzahl der Elementpaare in S , die in gleichen Teilmengen in X , und in verschiedenen Teilmengen in Y sind
 - d ist die Anzahl der Elementpaare in S , die in verschiedenen Teilmengen in X , und in gleichen Teilmengen in Y sind

$$R = \frac{a + b}{a + b + c + d} = \frac{a + b}{\binom{N}{2}}$$