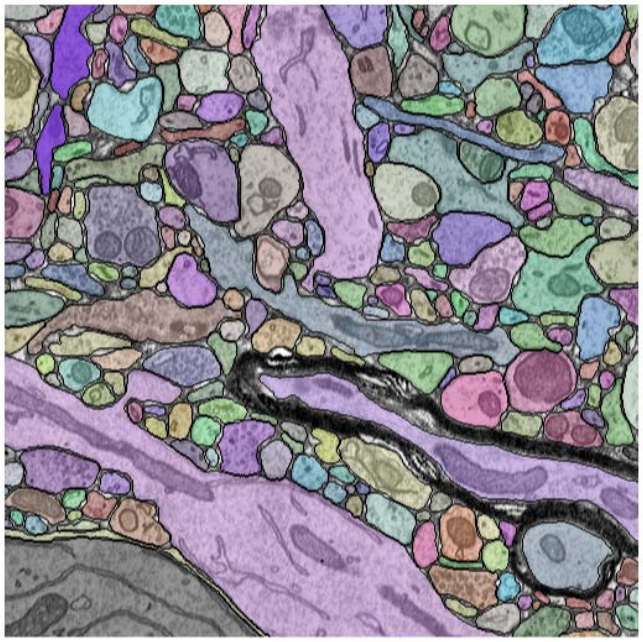
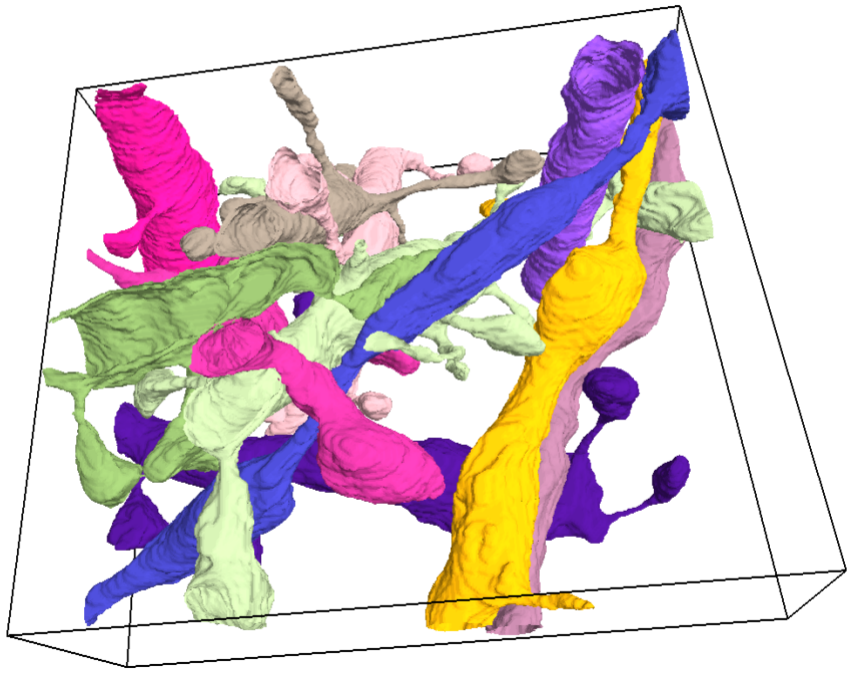
Flood filling networksによる神経細胞膜セグメンテーション

窪田芳之[1]、浦久保秀俊[2]
[1]自然科学研究機構 生理学研究所
[2]京都大学大学院 情報学研究科

2018年生体ボリュームイメージング研究会第3回研究会
(2019/2/22久留米大学福岡サテライト)
http://www.sssem.info/registration-18-3.html

今回はISBI2013コンテスト用のATUM/SEM像を題材にflood filling networks (FFN)にチャレンジします。





Somatosensory cortex; ATUM/SEM像；1024 x 1024 pixel (4 x 4 nm); 30 nm/slice100枚

http://brainiac2.mit.edu/SNEMI3D/

必要条件：

1. **ハイパフォーマンスデスクトップPC**（30万円～）
   OS：Linux (Ubuntu推奨), Windows 10
   GPU:NVIDIA GTX1080ti以上

2. **Python3.6, Cuda9.0, Cudnn7.X**

3. 教師セグメンテーションの作成にかける時間：1～2週間

4. FFNのトレーニングにかかる時間：２～３週間

必要条件：

Pythonがインストールされたpcの適当なディレクトリにて：

> **git clone https://github.com/google/ffn**
FFN (Linuxand macOS)を
ダウンロードしてください。

> **git clone https://github.com/urakubo/ffn_windows**
Windows版FFN, EM画像, 教師セグメンテーション,
前処理用プログラム, [200,400,700万回]トレーニング済モデル,
後処理用プログラム、今回のpptを
ダウンロードしてください。

必要条件：

Python3.6が動く環境にて
FFN をダウンロードしたディレクトリに行き：

> **pip install requirements.txt**

と実行してください。
FFNに必要なモジュールがインストールされます。
requirements.txt 中の ”tensorflow” は
“tensorflow-gpu” にしてください！

作業手順：

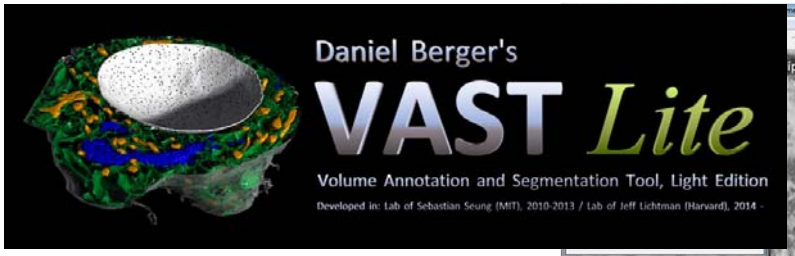
注意！：FFNを用いた神経細胞膜のセグメンテーションは大掛かりな仕事です。**<u>一か月</u>**を見込んでください。

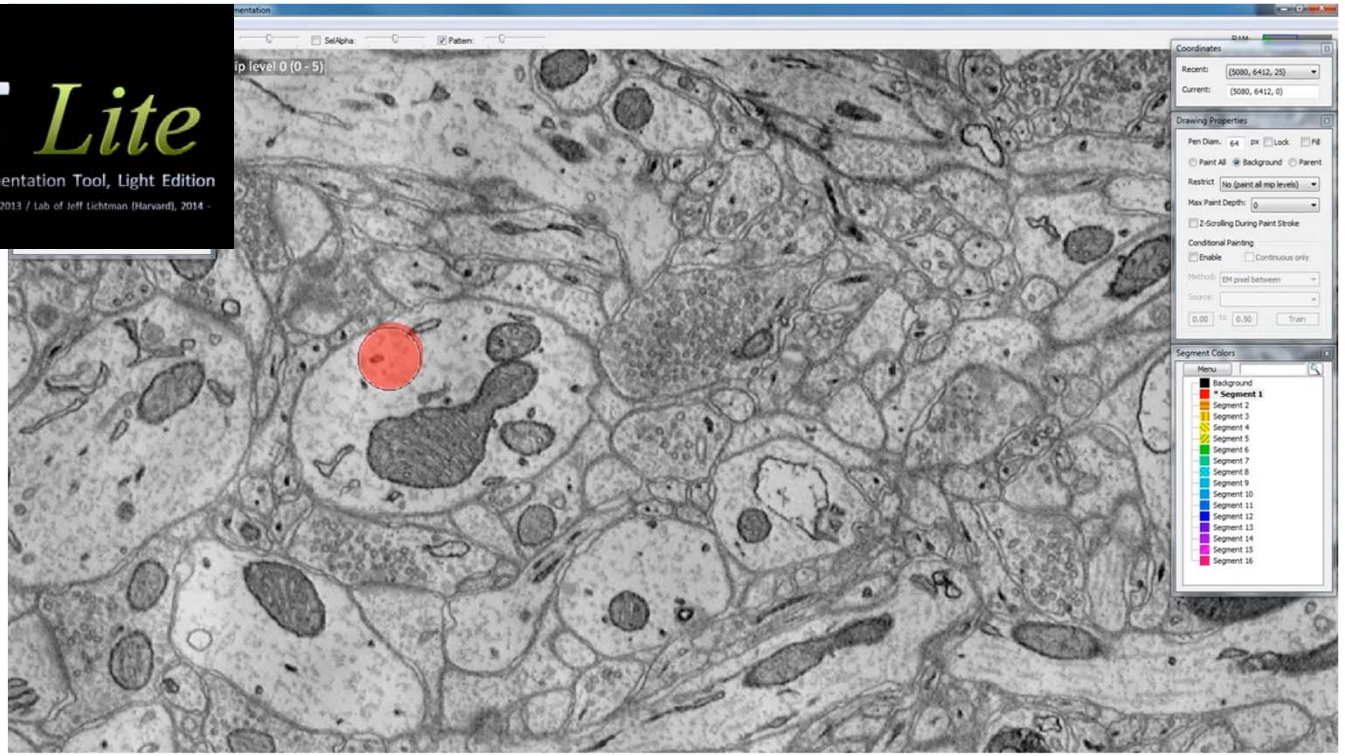
1．教師セグメンテーションの作成	：１～2週間
2．前処理	：30分～１時間
3．FFNトレーニング	：２～3週間
4．インファレンス（推論）	：10分～１時間
5．後処理	：5分
6．視覚化	：さまざま

ここから、具体的な手続きの話を始めます。

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

1．教師セグメンテーションの作成
おすすめ：Vast lite



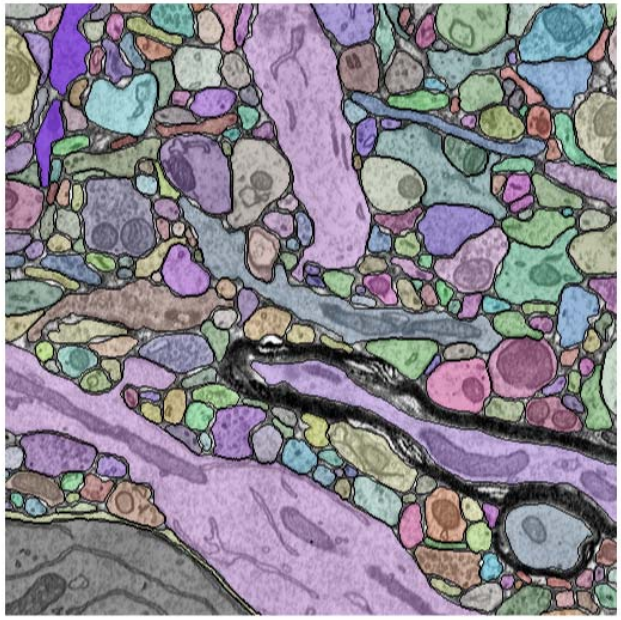


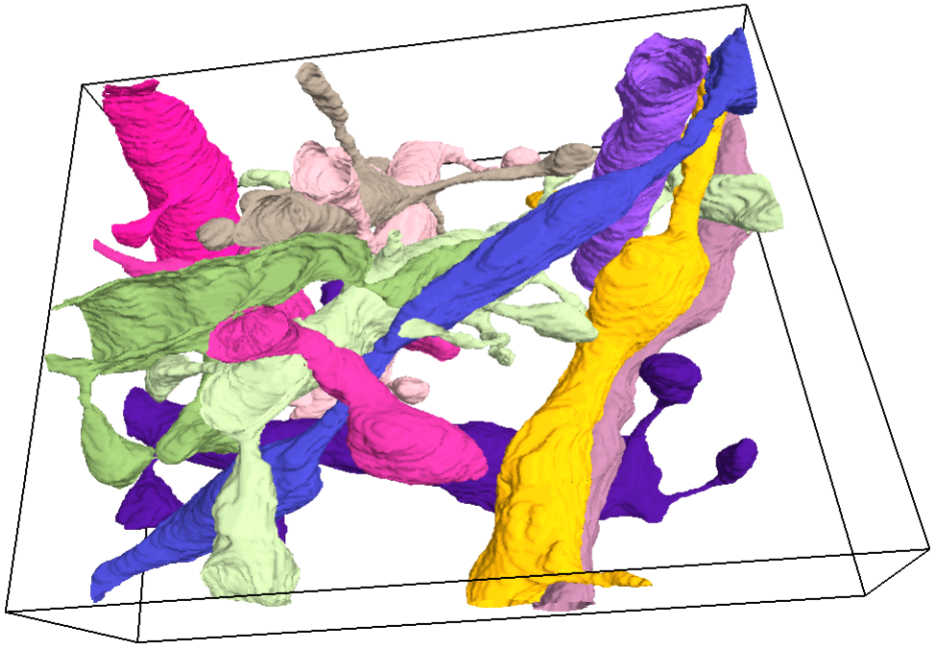
512 x 512 pixel (4 x 4 nm/pixel), Z: 50枚程度必要

Daniel Berger et al.： https://software.rc.fas.harvard.edu/lichtman/vast/

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

1．今回はISBI2013コンテスト用に教師セグメンテーションが用意されています。





1024 x 1024 pixel (4 x 4 nm); 30 nm/slice100枚（#こんなに要りません）

http://brainiac2.mit.edu/SNEMI3D/

2. FFNによるセグメンテーション：前処理１

1. EM画像ファイル0001.png, …, 0099.png を image.h5ファイル(hdf5形式)へ変換します。

> cp [FFN]/utils/png_to_h5.py [image]/
> cd [image]
> python png_to_h5.py image.h5
> python png_mean_std.py

2. hdf5形式の教師セグメンテーションファイル 0001.png, …, 0099.png を ground_truth.h5 ファイル (hdf5形式) へ変換します。

> cp [FFN]/utils/png_to_h5.py [segment]/
> cd [segment]
> python png_to_h5.py ground_truth.h5

と実行します。

2. FFNによるセグメンテーション：前処理２

3. ground_truth.h5 から、さらに中間形式ファイルaf.h5を作成します。

```
> mkdir   preprocessed_files
> python  compute_partitions.py ¥
    --input_volume  [image]/ground_truth.h5:raw ¥
    --output_volume  preprocessed_files/af.h5:af ¥
    --thresholds  0.025,0.05,0.075,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9 ¥
    --lom_radius  24,24,24 ¥
    --min_size  10000
```

5-30分程度かかります。

compute_partitions.py transforms the label volume into an intermediate volume where the value of every voxel A corresponds to the quantized fraction of voxels labeled identically to A within a subvolume of radius lom_radius centered at A.

2. FFNによるセグメンテーション：前処理２

3. ground_truth.h5 から、さらに中間形式ファイルaf.h5を作成します。(Windows)

```
> mkdir   preprocessed_files
> python  compute_partitions.py ^
    --input_volume  [image]/ground_truth.h5@raw ^
    --output_volume  preprocessed_files/af.h5@af ^
    --thresholds  0.025,0.05,0.075,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9 ^
    --lom_radius  24,24,24 ^
    --min_size  10000
```

5-30分程度かかります。

compute_partitions.py transforms the label volume into an intermediate volume where the value of every voxel A corresponds to the quantized fraction of voxels labeled identically to A within a subvolume of radius lom_radius centered at A.

2. FFNによるセグメンテーション：前処理３

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

4. af.h5から、さらに中間形式ファイルその２ tf_record_file を作成します。

> Python build_coordinates.py ¥
--partition_volumes validation1:preprocessed_files/af.h5:af ¥
--coordinate_output preprocessed_files/tf_record_file ¥
--margin 24,24,24

5-30分程度かかります。

compute_partitions.py produces a TFRecord file of coordinates in which every partition is represented approximately equally frequently.

2. FFNによるセグメンテーション：前処理３

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

4. af.h5から、さらに中間形式ファイルその２ tf_record_file を作成します。(Windows版)

```
> Python  build_coordinates.py ^
    --partition_volumes   validation1@preprocessed_files/af.h5@af ^
    --coordinate_output   preprocessed_files/tf_record_file ^
    --margin 24,24,24
```

5-30分程度かかります。

compute_partitions.py produces a TFRecord file of coordinates in which every partition is represented approximately equally frequently.

3. FFNによるセグメンテーション：トレーニング（2-3週間）

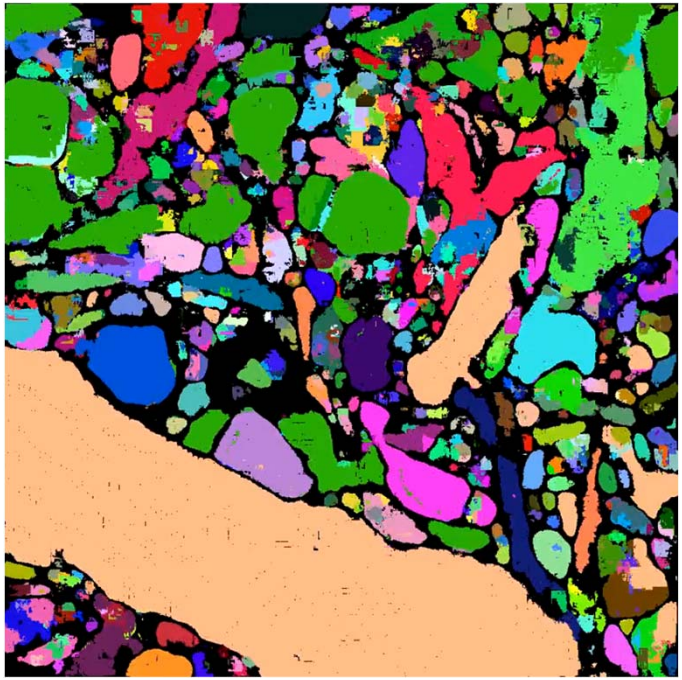

```
> mkdir training_results
> python train.py ¥
    --train_coords  preprocessed_files/tf_record_file ¥
    --data_volumes  validation1:[image]/image.h5:raw ¥
    --label_volumes  validation1:[segment]/ground_truth.h5:raw ¥
    --model_name  convstack_3d.ConvStack3DFFNModel ¥
    --model_args  "{¥"depth¥": 9, ¥"fov_size¥": [33, 33, 17], ¥"deltas¥": [8, 8, 4]}" ¥
    --image_mean  131 ¥
    --image_stddev  62 ¥
    --train_dir  training_results ¥
    --max_steps  1000000
```

image_mean, image_stddevに画像の平均強度を記入します。

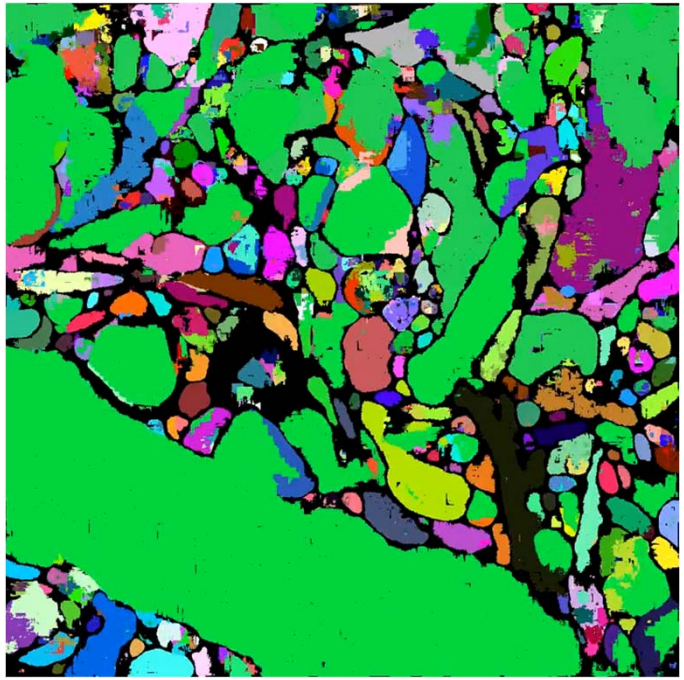
max_step は最大トレーニングステップです。最低数百万ステップのトレーニングを行う必要があります。

3. FFNによるセグメンテーション：トレーニング（2-3週間）

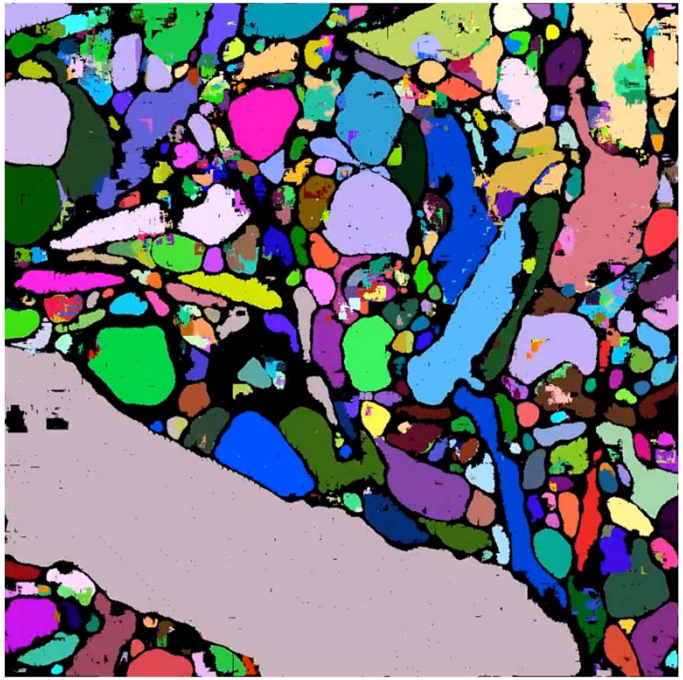
教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化



200万回(1週間)



400万回（2週間）



700万回(3週間)

3. FFNによるセグメンテーション：トレーニング（2-3週間）(Windows)


```
> mkdir training_results
> python train.py ^
    --train_coords preprocessed_files/tf_record_file ^
    --data_volumes validation1@[image]/image.h5@raw ^
    --label_volumes validation1@[segment]/ground_truth.h5@raw ^
    --model_name convstack_3d.ConvStack3DFFNModel ^
    --model_args "{¥"depth¥": 9, ¥"fov_size¥": [33, 33, 17], ¥"deltas¥": [8, 8, 4]}" ^
    --image_mean 131 ^
    --image_stddev 62 ^
    --train_dir training_results ^
    --max_steps 1000000
```

image_mean, image_stddevに画像の平均強度を記入します。

max_step は最大トレーニングステップです。最低数百万ステップのトレーニングを行う必要があります。

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

3. FFNによるセグメンテーション：トレーニング（2-3週間）

実行中

```
> INFO:tensorflow:global_step/sec: 3.80672
> I0215 15:00:32.707586  2520 tf_logging.py:115] global_step/sec: 3.80672
> INFO:tensorflow:global_step/sec: 3.79602
> I0215 15:00:59.050953  2520 tf_logging.py:115] global_step/sec: 3.79602
> INFO:tensorflow:Saving checkpoints for 1137 into training_results¥model.ckpt.
> I0215 15:01:08.571619  2520 tf_logging.py:115] Saving checkpoints for 1137 into training_results¥model.ckpt.
> INFO:tensorflow:global_step/sec: 3.76007
> I0215 15:01:25.647177  2520 tf_logging.py:115] global_step/sec: 3.76007
  …
```

モデルファイルの生成の確認

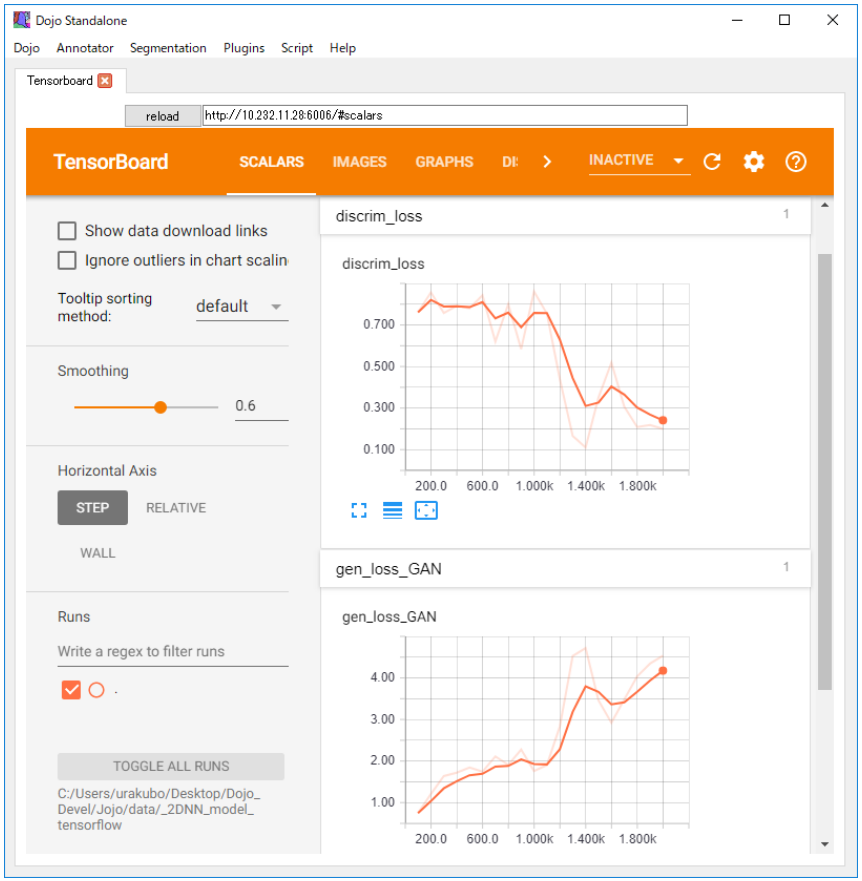
```
> ls training_results
…
model.ckpt-XXXXX.data-00000-of-00001
model.ckpt-XXXXX.index
model.ckpt-XXXXX.meta
```

model.ckpt-XXXXX が生成されたモデル、XXXXXがトレーニング回数です。

3. FFNによるセグメンテーション：トレーニング（2-3週間）

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

> tensorboard --logdir=training_results
Webブラウザを起動して
http://localhost:6006
にアクセスすると視覚的に進捗を確認できます。



4. FFNによるセグメンテーション：インファレンス（推論）0.1～1時間

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

```
> python run_inference.py ¥
    --inference_request="$(cat configs/inference.pbtxt)" ¥
    --bounding_box 'start { x:0 y:0 z:0 } size { x:512 y:512 z:100 }'
```

赤字に推定する画像の範囲を記入してください。

4. FFNによるセグメンテーション：インファレンス（推論）0.1～1時間

Windows版

```
> python run_inference_win.py ^
        --image_size_x 512 ^
        --image_size_y 512 ^
        --image_size_z 100 ^
        --parameter_file configs/inference.pbtxt
```

赤字に推定する画像の範囲を記入してください。

4. FFNによるセグメンテーション：インファレンス（推論）0.1〜1時間

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

設定ファイル configs/inference.pbtxt を次の様に編集します。

```
image {
  hdf5: "[image]/image.h5:raw"
}
image_mean: 131
image_stddev: 62
checkpoint_interval: 1800
seed_policy: "PolicyPeaks"
model_checkpoint_path: "training_results/model.ckpt-10000"
model_name: "convstack_3d.ConvStack3DFFNModel"
model_args: "{¥"depth¥": 9, ¥"fov_size¥": [33, 33, 17], ¥"deltas¥": [8, 8, 4]}"
segmentation_output_dir: "inference_results"
inference_options {
  init_activation: 0.95
  pad_value: 0.05
  move_threshold: 0.9
  min_boundary_dist { x: 1 y: 1 z: 1}
  segment_threshold: 0.6
  min_segment_size: 1000
}
```

推定したいEM画像ファイル

4. FFNによるセグメンテーション：インファレンス（推論）0.1～1時間

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

設定ファイル configs/inference.pbtxt を次のように編集します。**(Windows版)**

```
image {
  hdf5: "[image]/image.h5@raw"
}
image_mean: 131
image_stddev: 62
checkpoint_interval: 1800
seed_policy: "PolicyPeaks"
model_checkpoint_path: "training_results/model.ckpt-10000"
model_name: "convstack_3d.ConvStack3DFFNModel"
model_args: "{¥"depth¥": 9, ¥"fov_size¥": [33, 33, 17], ¥"deltas¥": [8, 8, 4]}"
segmentation_output_dir: "inference_results"
inference_options {
  init_activation: 0.95
  pad_value: 0.05
  move_threshold: 0.9
  min_boundary_dist { x: 1 y: 1 z: 1}
  segment_threshold: 0.6
  min_segment_size: 1000
}
```

推定したいEM画像ファイル

4. FFNによるセグメンテーション：インファレンス（推論）0.1～1時間

次の様な実行結果が表示されます：

```
> supervoxel:4  seed(zyx):(16, 41, 181)  size:1086990  iters:1789
> I0606 16:33:02.489075 140613148661504 inference.py:554] [cl 0]
> Starting segmentation at (16, 43, 231) (zyx)
> I0606 16:33:03.679193 140613148661504 inference.py:554] [cl 0]
> Created
> supervoxel:5  seed(zyx):(16, 43, 231)  size:52429  iters:49
> I0606 16:33:03.679701 140613148661504 inference.py:554] [cl 0]
> Starting segmentation at (16, 54, 71) (zyx)
> I0606 16:33:28.232540 140613148661504 inference.py:554] [cl 0]
> Created
...
```

```
> ls training_results/0/0/
seg-0_0_0.npz
seg-0_0_0.prob
```

“seg-0_0_0.npz”が推論セグメンテーションファイル(numpy形式)です。

5. FFNによるセグメンテーション：後処理 (0.1時間)

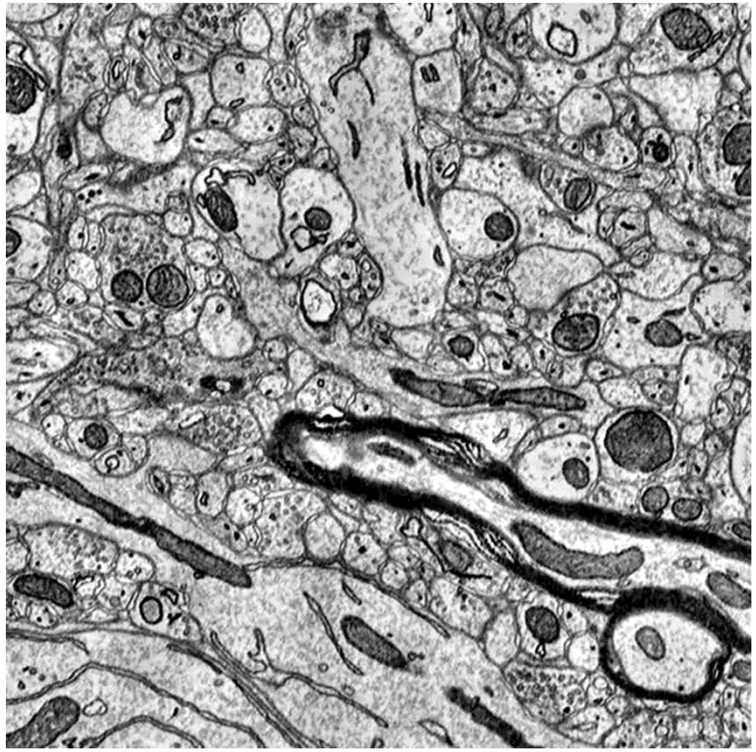
推論セグメンテーションファイル(numpy形式)からpng形式へ変換します。

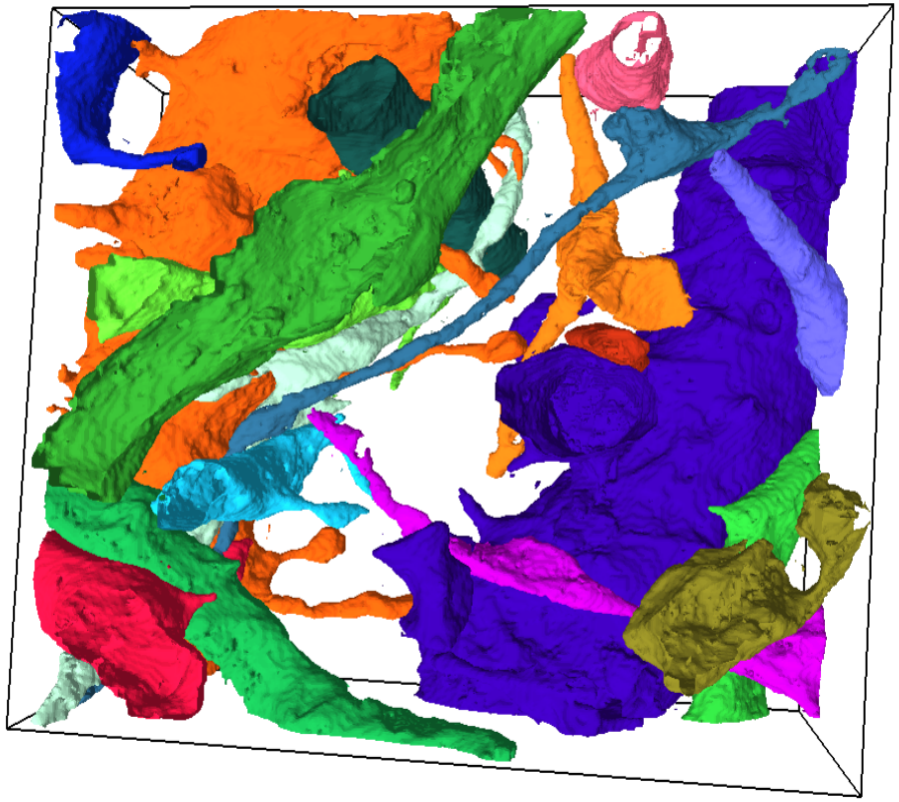
```
> cp  [FFN]/ffn/inference_results/0/0/seg-0_0_0.npz  [postprocessing]/
> cd  [postprocessing]
> python  npz_to_png.py
> ls inferred_segmentation/

    0000.png
    0001.png
    0002.png
    …
    0049.png
```

推論結果セグメンテーションファイルがpng形式に変換されて出力されます。

教師画像
前処理
トレーニング
推論
後処理
視覚化

6. 推論結果の視覚化：





GPUリソースは借りる方法もあります。

Google クラウド, さくら高火力サーバほか