

融合小波散射与胶囊网络的类器官图像分割方法

杨红蕊^{1,2,3}, 李刚⁴, 陈泽新⁵, 翟羽佳^{6,7}, 徐莹莹^{1,2,3}

1. 南方医科大学生物医学工程学院, 广东 广州 510515; 2. 广东省医学图像处理重点实验室, 广东 广州 510515; 3. 广东省医学成像与诊断技术工程实验室, 广东 广州 510515; 4. 南方医科大学南方医院惠侨医疗中心, 广东 广州 510515; 5. 广东省类器官工程技术研究中心, 广东 广州 510530; 6. 广东医科大学附属肿瘤医院, 广东 湛江 524001; 7. 暨南大学药学院, 广东 广州 511436

【摘要】目的:构建并验证一种基于深度学习的类器官图像自动分割方法,旨在解决当前类器官分割中误识别率高、边界模糊、泛化性差的问题,以帮助研究人员更快更好地跟进和分析类器官细胞结构的生长情况。**方法:**在U-Net架构的基础上,引入小波散射系数矩阵与胶囊卷积模块,构建类器官图像分割模型OrgCapsU-Net,并在不同组织来源的3个类器官图像数据集上分别进行训练和测试。**结果:**与当前主流分割算法对比,OrgCapsU-Net能更好地区分类器官与杂质,分割边界也更加平滑,4个评估指标在3个数据集上均达到最优的结果。**结论:**OrgCapsU-Net实现良好的分割性能,能够适用于不同组织来源的类器官,在体外建模、高通量药物筛选以及个性化医疗方面具有较好的应用前景。

【关键词】医学影像分割;类器官;胶囊网络;小波散射网络

【中图分类号】R318;TP183

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2025)04-0435-08

An organoid segmentation method incorporating wavelet scattering and capsule network

YANG Hongrui^{1,2,3}, LI Gang⁴, CHEN Zexin⁵, ZHAI Yujia^{6,7}, XU Yingying^{1,2,3}

1. School of Biomedical Engineering, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Image Processing, Guangzhou 510515, China; 3. Guangdong Provincial Engineering Laboratory for Medical Imaging and Diagnostic Technology, Guangzhou 510515, China; 4. Huiqiao Medical Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 5. Guangdong Research Center of Organoid Engineering and Technology, Guangzhou 510530, China; 6. Cancer Center, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China; 7. College of Pharmacy, Ji'nan University, Guangzhou 511436, China

Abstract: Objective To develop and validate an automated organoid image segmentation approach based on deep learning for addressing the issues of high misidentification rate, blurred boundary and poor generalization in current organoid segmentation, thereby facilitating researchers to monitor and analyze organoid growth more efficiently. **Methods** The wavelet scattering coefficient matrix and capsule convolution module were integrated into the U-Net architecture to construct the organoid image segmentation model OrgCapsU-Net which was trained and evaluated on 3 organoid image datasets from different tissue sources. **Results** Compared with current mainstream segmentation algorithms, OrgCapsU-Net could better distinguish organoid and impurity, and lead to smoother segmentation boundaries, achieving superior performance across 4 evaluation metrics on 3 datasets. **Conclusion** OrgCapsU-Net delivers excellent segmentation performance and can be applied to organoids from various tissue sources, showing strong potential for applications in the *in vitro* model establishment, high-throughput drug screening, and personalized medicine.

Keywords: medical image segmentation; organoid; capsule network; wavelet scattering network

【收稿日期】2024-12-11

【基金项目】国家自然科学基金(61803196);广东省基础与应用基础研究基金(2020B1212060039,2022A1515011436)

【作者简介】杨红蕊,硕士,研究方向:医学图像处理, E-mail: 1722758676@qq.com

【通信作者】徐莹莹,副教授,研究方向:生物医学图像分析、生物信息学, E-mail: yyxu@smu.edu.cn

前言

随着干细胞培养技术的发展,以及哺乳动物发育、组织稳态和细胞外基质等深入研究,一种新的体外细胞培养技术——类器官技术,在过去10年间展现出强劲的发展势头。它利用干细胞的自组织特性,在三维细胞培养介质中加入特定的生长因子和细胞

外基质,以模拟体内微环境,培育出能够再现原生器官组成、结构和部分功能的“微组织”^[1]。类器官培养系统可以利用经组织活检或手术切除提取的肿瘤细胞进行体外扩增,形成患者来源的类器官,作为疾病模型进行临床前疗效评估,从而预测患者对不同治疗方案的响应,帮助指导药物选择^[2-3]。相比传统的细胞系模型和患者源性异种移植模型,类器官在时间经济成本与模拟准确度之间达到较好的平衡,有利于进行高通量药物筛选^[4]。近年来,类器官在高通量药物筛选中的可行性已经得到广泛验证^[5-7],相关产业化体系也在逐步形成^[8]。

成像技术与以深度学习为代表的计算机视觉技术的协同进步,使大家能以无损的方式自动监测类器官的生长动态,极大地推动类器官在药物筛选中的应用进程。目标识别与分割作为生物图像分析中的关键步骤,能够帮助提取感兴趣的区域,从而进行更为精确的分析和判断。在成本等多重因素的考虑下,当前应用于药物筛选的类器官图像以二维成像为主,这导致悬浮于三维空间中的类器官在图像上常常表现出重叠、失焦的问题^[9]。此外,不同组织来源,甚至微小培养差异下的类器官在大小和形状上也往往存在较大的异质性,再加上类器官分布的不均匀、复杂的背景,以及光照条件的变化,均为类器官的识别和分割工作带来挑战。

近年来,随着 R-CNN^[10]、YOLO^[11]、U-Net^[12]等系列框架的提出与优化,深度学习逐渐在目标识别与分割领域大放异彩。但在类器官分割方面,大多数研究都只采用分水岭等传统图像处理方法^[13-15],或对现有经典深度学习框架直接套用^[16-19],很少提出针对类器官分割的特定模型,导致分割精度尚存在较大的提升空间。同时,也有一些方法对经典框架做出改进。例如,Wang 等^[20]开发 RDAU-Net,将动态卷积与注意力机制引入 U-Net 架构,在膀胱癌类器官数据集上取得较好的结果。Martin 等^[21]提出 MU-Net,精简 U-Net 架构,以较短的训练时间在数据量较小的脑器官图像上实现较好的分割效果。然而,这些模型对数据集的依赖都相对严重,只能应对特定组织来源的类器官,在处理包含复杂背景的图像时分割精度无法保障。

针对上述问题,本研究以 U-Net 架构为基础,提出一种结合小波散射与胶囊网络的类器官图像分割模型 OrgCapsU-Net。其中,小波散射是一种关注不同尺度和方向的图像信息的手工特征提取方法,通过将提取到的散射系数矩阵拼接到主干网络中,能够获得更加丰富的特征表达,充分利用图像信息。胶囊网络则引入了更为高级的特征编码形式,通过将普通卷积替换成胶囊卷积,可以提高模型对复杂

模式的识别能力。OrgCapsU-Net 模型在 3 个不同组织来源的类器官数据集上进行验证,并与当前主流分割方法进行对比,实现最好的分割性能。同时,模型在保持分割边缘轮廓光滑、防止误识别及缺失识别方面表现突出,有较好的应用前景。

1 数据与方法

1.1 数据集构建

本研究使用 3 个数据集,如表 1 所示。其中,第一个数据集为鼻咽癌类器官数据集,来源于南方医院的 14 例鼻咽癌患者,已获得医学伦理委员会的批准(批准号:NFEC-2020-163)。将类器官培养于 384 孔板中,用放大倍数为 4 的显微镜对各个孔中的类器官拍摄得到尺寸不等的原始全孔图像 140 张。用 Sobel 边缘检测算法将图像中超出培养孔的区域去除后,把图像统一缩放至 4 000×4 000,然后由两名专家手工标注,勾画出类器官区域。标注完成后,从每幅图像中随机裁剪小图像块,小图像块相对于全孔图像的宽度比在 0.1~0.5 间,然后将其缩放至 512×512,得到包含 50 000 张图像的数据集。

为了评估 OrgCapsU-Net 对不同组织来源类器官图像的适用性,本研究还下载另外两个目前可公开获取的数据集,来源组织分别是人类十二指肠^[19]与小鼠肠道^[22],在补充标签并对图像进行裁剪与缩放后,构建如表 1 所示的两个数据集。3 个数据集均按照 7:1:2 的比例划分训练集、验证集和测试集。

表1 本研究采用的3个数据集
Table 1 Three datasets used in the study

来源组织	图像大小	图像数目	数据集划分(训练/验证/测试)
鼻咽癌	512×512	50 000	35 000 / 5 000 / 10 000
小鼠肠道	512×512	4 000	2 800 / 400 / 800
人类十二指肠	512×512	1 654	1 159 / 165 / 330

1.2 模型框架

1.2.1 OrgCapsU-Net 网络 本研究以 U-Net 架构为基础,提出一种结合小波散射与胶囊网络的类器官图像分割模型 OrgCapsU-Net。如图 1 所示,输入图像 F_i 在编码器中经过 5 次下采样后,得到特征图 F_e ,其大小为输入图像的 1/32,然后经解码器依次上采样,输出分割结果,中间使用跳跃连接来平衡低层次的空间信息与高层次的语义信息。与 U-Net 不同的地方有两点。首先,输入图像被送入小波散射网络(详见第 1.2.2 小节)获得额外的 61 通道的特征图 F_w ,与 F_e 拼接后一起进行第 4 次下采样。该设计旨在弥补主干网络特征提取的不足,以充分利用图像信息。

其次,OrgCapsU-Net编码器的第2、3次下采样以及对应的解码器部分的卷积和反卷积结构替换成了胶囊卷积(详见图1与第1.2.3小节)与胶囊反卷积;相应地,在普通卷积与胶囊卷积交接地带的特征图形状需要进行重组,因此加入4个Reshape函数。

积的表达形式与前向推理机制提高了模型对复杂模式的识别能力,尤其在网络层数较少时,可以提取更丰富的语义信息。此外,小波散射与胶囊卷积都具有相对优越的等变性,可以为模型引入几何先验信息,提高对小样本训练的友好性。

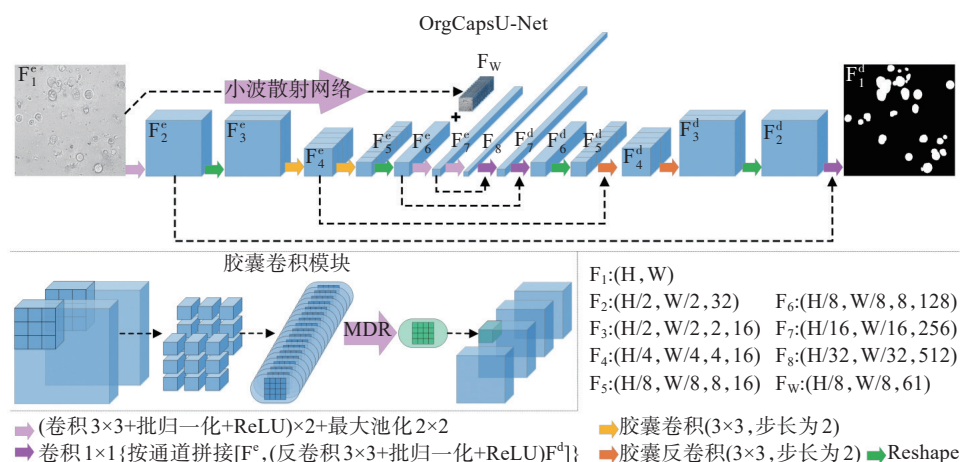


图1 OrgCapsU-Net模型架构

Figure 1 OrgCapsU-Net architecture

MDR是掩膜动态路由算法, F^e 与 F^d 分别代表来自编码器与来自解码器的特征图

1.2.2 小波散射网络 小波散射网络是一种基于小波变换的特征提取方法,致力于从不同尺度和方向来分析图像,由Bruna等^[23]在2013年首次提出。如式(1)所示,原始图像 x 与一个小波簇 $\psi_{\lambda_i}(x)$ 卷积并取模后,再卷积一个尺度函数 $\phi_j(x)$,可得到一阶散射图像 $S^1(x)$ 。其中,小波簇 $\psi_{\lambda_i}(x)$ 是由母小波 $\psi(x)$ 通过二进制缩放和旋转得到,描述为: $\psi_{\lambda_i}(x) = 2^{2j}\psi(2^j\theta^{-1}x)$, $\lambda = 2^j\theta$,缩放因子 j 满足 $1 \leq j \leq J$ (J 代表最大尺度),旋转角度 θ 满足 $\theta = 2\pi l/L$, $l = 0, 1, \dots, L$ (L 代表旋转次数)。尺度函数 $\phi_j(x) = 2^{-2j}\phi_j(2^{-j}x)$, $\phi_j(x)$ 一般定义为高斯函数。

$$S^1(x) = |x * \psi_{\lambda_i}| * \phi_j \quad (1)$$

$\psi_{\lambda_i}(x)$ 相当于带通滤波,可以提取高频信息; $\phi_j(x)$ 相当于低通滤波,保证提取到的特征具有平移不变性和形变稳定性,但二者是正交的,若在 $\psi_{\lambda_i}(x)$ 后直接卷积 $\phi_j(x)$,将提取不到任何信息,因而引入模运算。模算子会丢失部分高频信息,而将网络级联又可以将其恢复,如式(2)所示,经过 m 级级联后,图像信息被散射到不同的路径 $p = \{\lambda_n = (j_n\theta_n)\}_{1 \leq n \leq m}$ 上。级联层数越多,恢复的信息就越全面,理论证明,当网络级联3层时,散射能量可达99%以上。

$$S^m(x) = |x * \psi_{\lambda_1}| * \psi_{\lambda_2} * \dots * \psi_{\lambda_m} * \phi_j \quad (2)$$

与卷积神经网络(Convolutional Neural Network, CNN)只使用网络最后一层的输出不同,由于小波簇

的正交特性,不同层的特征之间不具有相关性,因而小波散射网络的输出是所有层特征的总和。本研究设置 $m=3, J=3, L=4$,分别提取到来自第1~3层的1、12、48个,共61个 64×64 的特征系数矩阵。其中,第1层为全局特征,携带能量最高,噪声也最高;第2、3层为局部特征,着重细节。不同尺度下的各阶散射系数如图2所示。

1.2.3 胶囊网络 胶囊网络的概念最早是由Hinton等^[24]在2011年提出的。与CNN以神经元作为基本单元,使用标量输出代表其激活强度不同,胶囊网络将个体神经元替换成了一组神经元组成的向量,这些神经元组成一个整体,称为胶囊,其输出是一个向量,描述胶囊所对应特征的各项属性,如大小、位置、方向、颜色、纹理等,并用向量的模来表示胶囊的激活程度,模越大,激活程度越高,而传统的CNN里每个神经元都是独立的个体,无法刻画位置、角度等信息,因此胶囊网络能够极大提升模型性能。

给定第 l 层的 m 个胶囊,要求第 $l+1$ 层的第 j 个胶囊,计算过程如图3a所示。首先,将胶囊 μ_i^l 乘以对应的变换权重矩阵 W_{ij} 得到预测胶囊 $\hat{\mu}_i^l$,然后按照耦合系数 c_{ij} 对各个预测胶囊加权求和,并将其输入激活函数Squash(见算法1步骤4),得到胶囊 v_j^{l+1} 。其中,矩阵 W_{ij} 由模型反向传播学习得到;Squash函数在不改变胶囊方向的前提下,将其模映射到(0,1)区间内;耦合系数 c_{ij} 则经动态路由(Dynamic Routing, DR)算

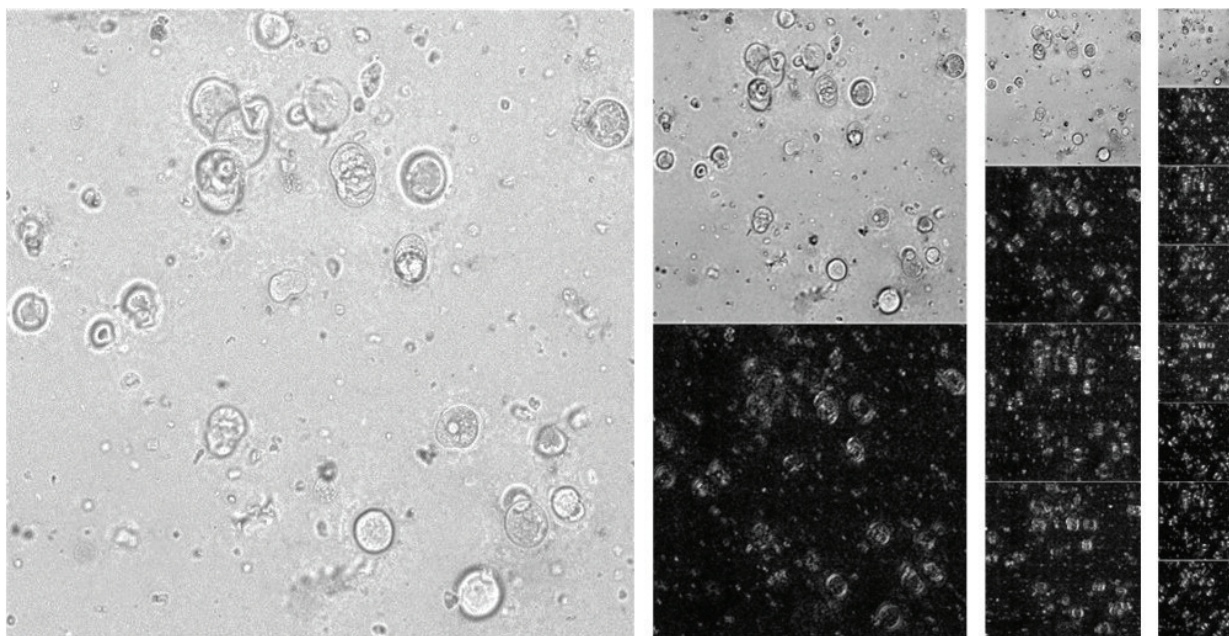


图2 散射系数矩阵示例

Figure 2 Example of scattering coefficient matrix

从左到右依次为输入图像以及第1、2、3阶尺度函数作用下的散射系数矩阵示例

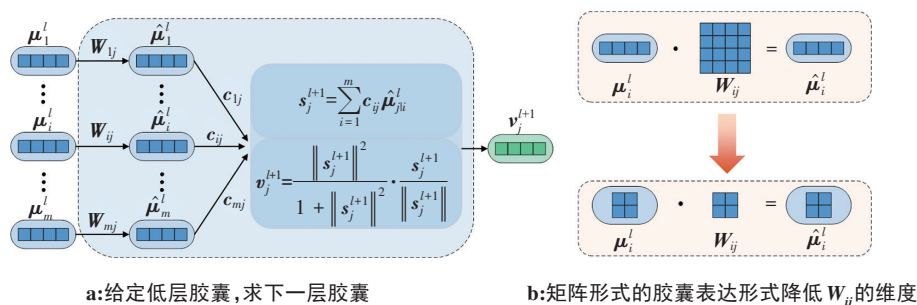


图3 胶囊网络基本单元结构

Figure 3 Basic unit of capsule network

法^[25]在前向传播中迭代得到。DR算法的计算过程如算法1所示,首先在迭代初始为每一个低层预测胶囊分配同等的权重,并将其聚类中心作为对高层胶囊的预测,然后分别计算它们与高层胶囊之间的相似性,相似性高的在下一次迭代中会被赋予更高的耦合系数。高层胶囊与耦合系数在迭代中被逐步更新,迭代的最终结果是与高层胶囊具有较强共识的低层胶囊获得更高的耦合系数。 c_{ij} 满足 $\sum_{j=1}^n c_{ij} = 1$,这使得低层胶囊只能选择性地与少量高层胶囊建立连接。

算法1的过程如下所示:

输入: $\hat{\mu}_i^l, r$

输出: c_{ij}, v_j^{l+1}

步骤1: 将所有 $b_{ij} (1 \leq i \leq m, 1 \leq j \leq m)$ 初始化为0

M1: 将所有 $keep_{ij} (1 \leq i \leq m, 1 \leq j \leq m)$ 初始化为1

步骤2: 循环 r 次:

步骤3: 对所有的 c_{ij} : $c_{ij} \leftarrow \frac{\exp(b_{ij})}{\sum_{k=1}^n \exp(b_{ik})}$

M2: 记 $t_{ij} = c_{ij} \cdot keep_{ij}$, 对所有的

$$c_{ij}: c_{ij} \leftarrow \begin{cases} keep_{ij}, & \text{if: } t_{ij} \geq \frac{\sum_{j=1}^n t_{ij}}{n} \\ 0, & \text{else} \end{cases}$$

步骤4: 对第 $l+1$ 层的第 j 个胶囊: $s_j^{l+1} = \sum_{i=1}^m c_{ij} \hat{\mu}_{ji}^l$

步骤5: 对第 $l+1$ 层的第 j 个胶囊:

$$v_j^{l+1} = \text{squash}(s_j^{l+1}) = \frac{\|s_j^{l+1}\|^2}{1 + \|s_j^{l+1}\|^2} \cdot \frac{s_j^{l+1}}{\|s_j^{l+1}\|}$$

步骤6: 对所有的 b_{ij} : $b_{ij} \leftarrow b_{ij} + \hat{\mu}_{ji}^l \cdot v_j^{l+1}$

步骤1~6为动态路由算法,加上步骤M1、M2则为掩膜动态路由算法。

等变性描述模型针对输入的各种变换(平移、旋转、视角变换等)对输出保持同等变换的能力。CNN的卷积核权重绑定与最大池化分别赋予其平移等变性和局部微小形变等变性,但这两种运算都忽略特

征的空间位置信息,在低层特征的空间关系被破坏时,高层特征仍然可能被激活,这使得CNN缺乏对其他变换的等变性,需要更多的训练数据进行补偿。相对而言,胶囊网络的变换权重矩阵 W_{ij} 编码了高低层胶囊之间的整体-部分关系,DR机制保证低层胶囊只有在具备正确空间关系的前提下,才能激活高层胶囊,这使得网络能够应对更复杂的模式与层次结构信息,数据依赖性更低。

由于胶囊网络的DR算法需要较大的显存和算力,目前尚不能实现较深的网络堆叠。本研究在第2、3次下采样中使用胶囊卷积,这是考虑到单个类器官在图像中的占比,期望矩阵 W_{ij} 能够编码出对单类器官识别有用的信息。同时,采用刘展^[26]提出的掩膜动态路由算法(见算法1),该算法使用贪心策略在迭代过程中逐步屏蔽掉那些与高层胶囊相似度更低的低层胶囊,在强共识胶囊子集中挑选更强共识的胶囊,使算法更快收敛。此外,如图3b所示,胶囊向量被表述成了胶囊矩阵^[27],这有助于降低矩阵 W_{ij} 的维度,缓解过拟合。

1.3 模型训练

1.3.1 损失函数 由于图像中属于类器官的像素所占比重较少,存在前景背景不平衡的问题,本研究采用焦点损失函数来提高分割精度,定义如下:

$$L = -\frac{1}{HW} \sum_{y=0}^H \sum_{x=0}^W [\eta(1-\hat{s}_{xy})^\gamma s_{xy} \log(\hat{s}_{xy}) + (1-\eta)\hat{s}_{xy}^\gamma (1-s_{xy}) \log(1-\hat{s}_{xy})] \quad (3)$$

其中, \hat{s}_{xy} 代表第 x 行、第 y 列的预测像素值; s_{xy} 为对应的真实像素值; H 和 W 分别是图像的高度和宽度; η 和 γ 是超参数,分别设置为0.25和2; η 是平衡因子,表示正负样本比例; γ 是焦点因子,用于调节模型对易分样本和难分样本的关注程度。

1.3.2 训练配置与参数 使用自适应矩估计优化算法(Adam)进行模型训练,初始学习率为0.001,动量为0.9,批处理大小为4。使用早停策略,验证集损失下降连续10次迭代不超过0.001则停止训练,以防过拟合。采用五折交叉验证法,测试结果为五折的平均值。同时,训练过程中使用各种数据扩增手段,包括随机添加一些手工制造的伪类器官(指定灰度值的一些椭圆形图案),以及随机翻转、平滑、噪声(包括高斯噪声、椒盐噪声)和CutOut(随机地把图像的指定区域以0填充)。

1.4 评估指标

本研究采用精确率(Precision)、召回率(Recall)、交并比(Intersection over Union, IoU)、骰子相似系数(Dice Similarity Coefficient, DSC)4个指标来评估模型性能。将被正确识别为类器官的像素数(真正例)记为TP,假正例记为FP,假负例记为FN,真负例记为

TN,各指标定义如下:

$$\text{Precision} = \text{TP}/(\text{TP} + \text{FP}) \quad (4)$$

$$\text{Recall} = \text{TP}/(\text{TP} + \text{FN}) \quad (5)$$

$$\text{IoU} = \text{TP}/(\text{TP} + \text{FP} + \text{FN}) \quad (6)$$

$$\text{DSC} = 2\text{TP}/(2\text{TP} + \text{FP} + \text{FN}) \quad (7)$$

2 结果

2.1 分割结果对比

本研究在3个不同的数据集上对OrgCapsU-Net进行评估,3个数据集来源于不同的组织。其中,鼻咽癌类器官数据集数据量相对较大。图4显示,3个数据集中类器官形态差异较大,来自小鼠肠道类器官数据集的类器官边缘明显比另外两个数据集更复杂。同时,图像中还存在不同的杂质,鼻咽癌类器官数据集中的杂质主要是培养孔中的其他物质,另外两个数据集则主要是失焦类器官。此外,同一幅图像中的类器官也存在尺度和分布密度的差异。

为了证明模型的优越性,将其与当前几种流行的图像分割方法以及类器官分割领域的其他工作进行对比,这些方法包括nnU-Net^[28]、Mask R-CNN^[29]、Mu-Net等。各模型分割视觉效果如图4所示,OrgCapsU-Net能够有效滤除培养孔中的杂质(黄色箭头)和失焦类器官(蓝色箭头),同时,模型的分割边缘也更符合视觉感知(紫色箭头)。模型性能的定量评估结果如图5所示,OrgCapsU-Net整体上表现最优。在数据量较大时,各模型均能较好地完成任务,但当数据量减少时,大部分模型的性能均有所下降,而OrgCapsU-Net仍能保持较好的准确性和鲁棒性。

2.2 消融实验

为了验证各模块的性能,本研究在鼻咽癌类器官数据集上进行消融实验,结果如表2所示。为了保证比较的公平性,对于小波散射网络,将61个小波散射系数矩阵替换为3个连续的卷积层加池化操作得到的61个64×64的特征图。对于胶囊卷积模块,则将其替换为相同通道数的卷积层,同时对模块的位置和数目也进行验证。另外,实验还证明小波散射网络和胶囊卷积模块能够弥补数据扩增的不足。

2.3 OrgCapsU-Net用于类器官生长状况评估

OrgCapsU-Net能够生成清晰的分割边界,为类器官的形态学分析提供有力支持。本研究统计和对比3个数据集中分割得到的单个类器官的大小与形态分布,探讨了不同组织来源类器官之间的异质性。具体而言,首先将3个原始数据集的测试图像输入OrgCapsU-Net进行类器官识别。随后,对分割后的二值图像进行连通图分解,提取出单个类器官的边界。每个数据集中随机抽取3 000个类器官,统计其

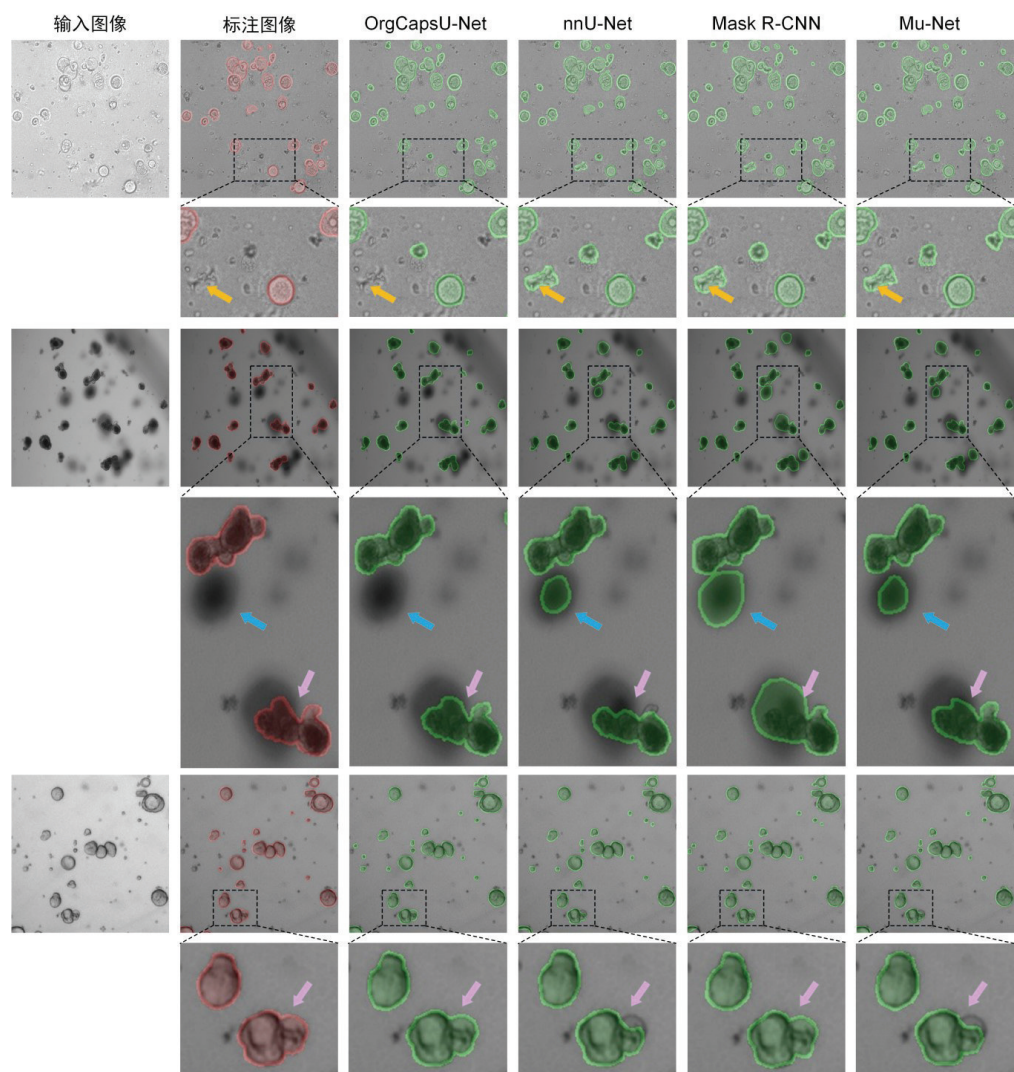


图 4 分割效果视觉对比

Figure 4 Visual comparison of the segmentation results

从上到下 3 幅输入图像分别来自鼻咽癌类器官数据集、小鼠肠道类器官数据集以及人类十二指肠类器官数据集

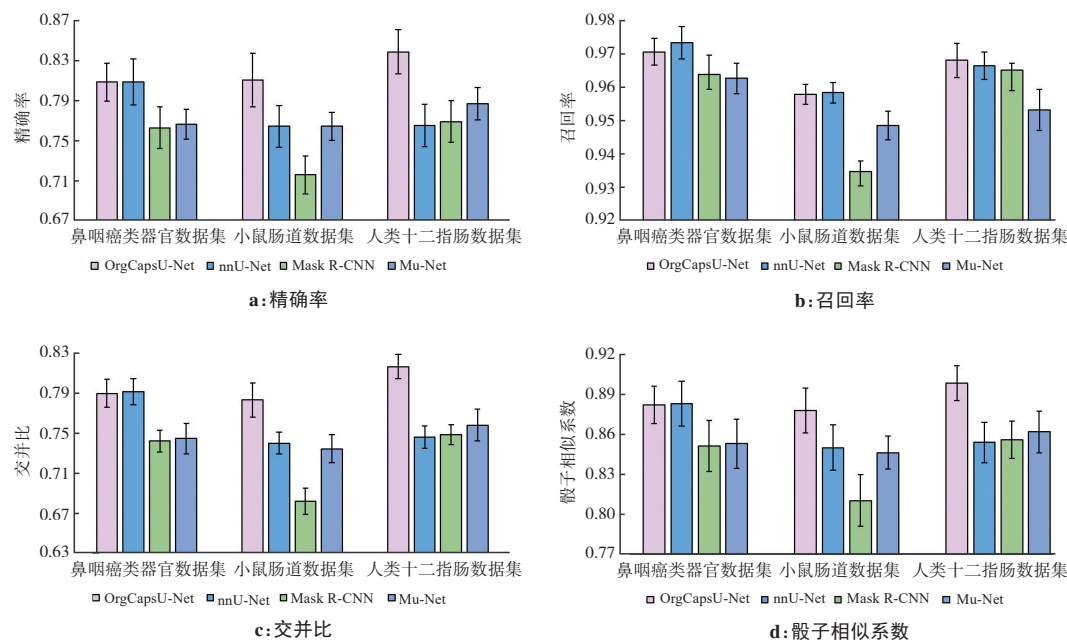


图 5 分割效果定量比较

Figure 5 Quantitative comparison of the segmentation results

表2 不同配置对模型性能的影响
Table 2 Effects of different configurations on model performance

小波散射网络	胶囊卷积模块	数据扩增	精确率	召回率	交并比	骰子相似系数
√	(2, 3)	√	0.809	0.971	0.789	0.883
√	(2, 3)	×	0.783	0.971	0.764	0.867
×	(2, 3)	√	0.708	0.965	0.691	0.817
√	×	√	0.713	0.968	0.696	0.821
√	2	√	0.746	0.968	0.727	0.842
√	3	√	0.780	0.970	0.761	0.865
√	4	√	0.725	0.967	0.707	0.828
√	(3, 4)	√	0.727	0.967	0.719	0.830

第1行是本研究最终确定的配置;第2列中(2, 3)表示在第2,3次下采样中使用胶囊卷积,2表示
仅在第2次下采样中使用胶囊卷积

面积、离心率(Eccentricity, Ecc)、超周长指数(Excess Perimeter Index, EPI)^[30]和透光度(Transmittance, Trans)4个指标,并绘制出如图6所示的直方图。其中,Ecc用于量化类器官的扁平程度,EPI用于衡量类器官边缘的复杂性,反映细胞浸润程度,Trans则表示类器官对光线的透程度,反映其内部结构密度和组织特性。3个指标的计算公式如下所示:

$$Ecc = \sqrt{1 - \frac{b^2}{a^2}} \tag{8}$$

$$EPI = \frac{P_a - P_e}{P_e} \tag{9}$$

$$Trans = 1 - \frac{Avg(|I_{(x,y)} - I_b|)}{255} \tag{10}$$

其中, a 和 b 分别为类器官拟合椭圆的半长轴与半短轴; P_e 表示类器官的等效周长,即与类器官等面积的圆的周长; P_a 则表示实际周长; $I_{(x,y)}$ 表示位于类器官内的像素点的灰度值; I_b 表示背景像素值,是类器官周围若干个像素点的平均灰度值。

3个数据集中的类器官展现了各自独特的形态特征。如图6所示,鼻咽癌数据集中的类器官偏小偏圆,透光性适中,边缘大多平滑,但也有少部分类器官呈现较明显的凸起;小鼠肠道数据集中的类器官大部分较小,边缘不规则程度高,存在扁平类器官,透光度呈双峰分布;人类十二指肠数据集中的类器官则偏大偏圆,边缘规则,透光度较高。该结果与已有临床认知较为一致。在利用OrgCapsU-Net提取单个类器官以后,可以借助深度学习计算和统计更深层次的特征,从而获得更全面的类器官信息;结合不同时间点的类器官图像,可以追踪类器官的发育动态;若引入不同种类的药物处理数据,还可以通过类器官形态的变化评估药物疗效。OrgCapsU-Net为上述分析奠定基础。

3 讨论

类器官能够在体外模拟人体器官发育过程、进

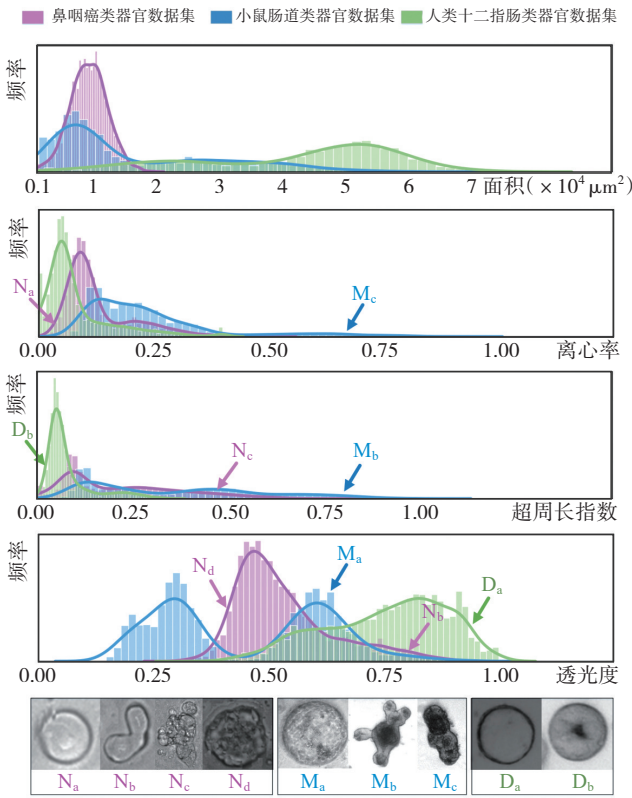


图6 3个数据集的单类器官形态分布比较
Figure 6 Comparison of single organoid morphological distribution across 3 datasets

最后一行是来自3个数据集的类器官图像示例,为方便展示,均缩放至同一大小

行疾病建模及药物筛选,拍摄类器官培养过程并利用人工智能进行图像分析能够无损并自动地评估其生长状况,其中,单个类器官的图像分割是智能分析中的核心步骤。现有的类器官图像分割研究多是简单移植经典的深度学习分割算法,在处理包含杂质、气泡等背景复杂的图像时准确率较差,且多只针对特定组织来源的类器官进行测试实验,方法的鲁棒性无法保证。由此,本研究提出一个融合小波散射与胶囊卷积的类器官图像分割模型 OrgCapsU-Net,在多个不同来源组织的数据集上实现准确和稳定的

性能,能有效区分单个类器官和杂质,获得更为光滑的分割边缘。

相比于现有的类器官分割工作,OrgCapsU-Net的架构是针对图像中类器官大小形态多样、背景复杂等特点进行设计的,因而具有更佳的准确性和鲁棒性。首先,小波散射网络和胶囊卷积能够为模型引入几何先验知识,使其步骤更丰富的特征表达,并具备对更多变换的等变性,这也解释了模型对不同大小、亮度、形态的类器官以及杂质的区分能力。其次,针对类器官复杂背景,采用特定的数据扩增方法对模型进行训练,进一步提升对杂质的分辨能力。同时,本文消融实验证明,即使在数据扩增不足时,OrgCapsU-Net模型仍然能够取得较好的性能,对小样本训练较为友好。

OrgCapsU-Net仍然存在一些不足。首先,动态路由算法的迭代机制使得模型比普通卷积具有更长的推理时间;其次,胶囊卷积模块的位置是针对特定尺度输入图像的,当类器官尺度发生变化时,如单个类器官占输入图像的四分之一或更多时,需要对模型架构进行调整;另外,模型对于重叠度较高的类器官的分离效果不够理想。因而,未来可能的方向是对动态路由算法进行优化,或对胶囊卷积进行调整,使其能够进行更深层次的堆叠,获取更优的分割性能;同时也将考虑构建三维类器官数据集,以更好地处理类器官重叠问题。此外,未来工作将基于OrgCapsU-Net建立类器官图像分析平台,构造简单易用、功能强大的实用型类器官分析工具。

【参考文献】

- [1] Balani S, Nguyen LV, Eaves CJ. Modeling the process of human tumorigenesis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15422.
- [2] Dutta D, Heo I, Clevers H. Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems[J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(5): 393-410.
- [3] Tuveson D, Clevers H. Cancer modeling meets human organoid technology[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 952-955.
- [4] Du YH, Li XN, Niu QK, et al. Development of a miniaturized 3D organoid culture platform for ultra-high-throughput screening[J]. *J Mol Cell Biol*, 2020, 12(8): 630-643.
- [5] Kim S, Choung S, Sun RX, et al. Comparison of cell and organoid-level analysis of patient-derived 3D organoids to evaluate tumor cell growth dynamics and drug response[J]. *SLAS Discov*, 2020, 25(7): 744-754.
- [6] van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients[J]. *Cell*, 2015, 161(4): 933-945.
- [7] Nuciforo S, Fofana I, Matter MS, et al. Organoid models of human liver cancers derived from tumor needle biopsies[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(5): 1363-1376.
- [8] Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer[J]. *Cell*, 2014, 159(1): 176-187.
- [9] 王玥, 施慧琳, 靳晨琦, 等. 类器官领域发展现状及展望[J]. *中国生物工程杂志*, 2023, 43(8): 1-10.
- Wang Y, Shi HL, Jin CQ, et al. Development status and prospects of organoids[J]. *China Biotechnology*, 2023, 43(8): 1-10.
- [10] Ren SQ, He KM, Girshick R, et al. Faster R-CNN: towards real-time object detection with region proposal networks[J]. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 2017, 39(6): 1137-1149.
- [11] Redmon J, Divvala S, Girshick R, et al. You only look once: unified, real-time object detection[C]//2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR). Piscataway, NJ, USA: IEEE, 2016: 779-788.
- [12] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-Net: convolutional networks for biomedical image segmentation[C]//Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention-MICCAI 2015. Cham: Springer International Publishing, 2015: 234-241.
- [13] Fei KY, Zhang JZ, Yuan J, et al. Present application and perspectives of organoid imaging technology[J]. *Bioengineering (Basel)*, 2022, 9(3): 121.
- [14] Gil DA, Deming D, Skala MC. Patient-derived cancer organoid tracking with wide-field one-photon redox imaging to assess treatment response[J]. *J Biomed Opt*, 2021, 26(3): 036005.
- [15] Borten MA, Bajikar SS, Sasaki N, et al. Automated brightfield morphometry of 3D organoid populations by OrganoSeg[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5319.
- [16] Deben C, De La Hoz EC, Compte ML, et al. OrBITS: label-free and time-lapse monitoring of patient derived organoids for advanced drug screening[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2023, 46(2): 299-314.
- [17] Bao D, Wang L, Zhou XF, et al. Automated detection and growth tracking of 3D bio-printed organoid clusters using optical coherence tomography with deep convolutional neural networks[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1133090.
- [18] Matthews JM, Schuster B, Kashaf SS, et al. OrganoID: a versatile deep learning platform for tracking and analysis of single-organoid dynamics[J]. *PLoS Comput Biol*, 2022, 18(11): e1010584.
- [19] Kassis T, Hernandez-Gordillo V, Langer R, et al. OrgaQuant: human intestinal organoid localization and quantification using deep convolutional neural networks[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12479.
- [20] Wang XW, Wu CY, Zhang SD, et al. A novel deep learning segmentation model for organoid-based drug screening[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1080273.
- [21] Martin BC, Chane SC, Clouchoux C, et al. Mu-Net a light architecture for small dataset segmentation of brain organoid Bright-Field images[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(10): 2687.
- [22] Domènech-Moreno E, Brandt A, Lemmetyinen TT, et al. Tellu-an object-detector algorithm for automatic classification of intestinal organoids[J]. *Dis Model Mech*, 2023, 16(3): dmm049756.
- [23] Bruna J, Mallat S. Invariant scattering convolution networks[J]. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 2013, 35(8): 1872-1886.
- [24] Hinton GE, Krizhevsky A, Wang SD. Transforming auto-encoders[C]//Artificial Neural Networks and Machine Learning-ICANN 2011. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011: 44-51.
- [25] Sabour S, Frosst N, Hinton GE. Dynamic routing between capsules[C]//Proceedings of the 31st International Conference on Neural Information Processing Systems. Red Hook, NY, USA: Curran Associates Inc., 2017: 3859-3869.
- [26] 刘展. 基于胶囊网络的图像分类和分割方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- Liu Z. Research on image classification and segmentation based on capsule network[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.
- [27] Hinton GE, Sabour S, Frosst N. Matrix capsules with EM routing[C]//International Conference on Learning Representations. 2018.
- [28] Isensee F, Petersen J, Klein A, et al. nnU-Net: self-adapting framework for U-Net-based medical image segmentation[EB/OL]. (2018-09-27). <https://arxiv.org/abs/1809.10486>.
- [29] He KM, Gkioxari G, Dollár P, et al. Mask R-CNN[C]//2017 IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV). Piscataway, NJ, USA: IEEE, 2017: 2980-2988.
- [30] Chen ZZ, Ma N, Sun XW, et al. Automated evaluation of tumor spheroid behavior in 3D culture using deep learning-based recognition[J]. *Biomaterials*, 2021, 272: 120770.

(编辑:陈丽霞)