

轻量化深度网络辅助于无透镜计算显微图像的细胞分类

王朝晖¹, 康欢¹, 陈多芳¹, 徐欣怡¹, 曾琦¹, 梁继民^{2**}, 陈雪利^{1*}

¹西安电子科技大学生命科学技术学院西安市跨尺度生命信息智能感知与调控重点实验室, 陕西 西安 710126;

²西安电子科技大学工程学院, 陕西 西安 710126

摘要 无透镜计算显微成像是一种低成本、高效的成像技术。这种成像方式具有大视野、高通量的特点,能够实时地对细胞进行无标记成像。提出了一种轻量化网络模型(Depthwise-ResNeXt),将该神经网络与无透镜计算显微成像进行有机结合,实现了实时准确的细胞分类。使用 SUM、MCF10A、ECa109、CL-1 四种细胞作为分类数据,Depthwise-ResNeXt 对这四类细胞的分类准确率达到 92.8%,参数量仅有 806 kB。该网络证明了神经网络与无透镜计算显微成像在细胞分类领域相结合的可能性,并大大降低了神经网络在细胞分类方面的应用成本。

关键词 生物光学; 数字全息; 计算显微成像; 无透镜成像技术; 细胞分类; 神经网络; 轻量化网络

中图分类号 TN26; TP181

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202249.0507204

1 引言

无透镜计算显微成像技术是一种前端采集、后端处理的显微方法^[1-3]。该技术通过传感器实时拍摄样本,并借助算法将得到的样本全息图像重建成为所需的显微物像。相较于传统显微镜,无透镜计算显微成像系统的成像视野由光源衍射后的 0 级光斑和传感器感光面积的大小决定,在具有大视野的同时保证了良好的分辨率,对细胞等物体有着极高的成像通量。对于细胞等透明物体,无透镜计算显微成像可以获取其相位信息,使得成像时不必对细胞进行染色剂处理。这种成像技术需要使用计算机进行重建成像,这使得无透镜计算显微成像天然适合与计算机图像处理相结合^[4-5]。

细胞分类在生物研究、临床医学、药物筛选等领域起到至关重要的作用。人们通常依靠显微镜观察细胞,借助细胞的图像信息分析细胞的繁衍、运动以及判断细胞的类别。对于肉眼难以区分的细胞,则会借助荧光^[6-7]、染色剂^[8]等手段增加细胞之间的对

比度,使细胞变得易于区分;或者通过阻抗法、流式细胞术^[9-10]、电导射频法、细胞化学特性应用技术^[11]等方法,借助机器进行分类。

目前,许多团队使用神经网络进行细胞分类。深度神经网络在分类领域有着广泛而成熟的应用。通过对待测样本某些模态信息的学习,神经网络能够实现精准的分类,在很多情况下其分类准确率要远高于其他方法^[12-14]。即便是对人眼难以区分的样本视觉信息,例如人眼很难从细胞形态上区分不同肿瘤细胞,而神经网络通过提取深层次细微特征,依然能进行很好的区分。Chen 等^[15]利用时间拉伸定量相位成像(TS-QPI)在流式细胞术下捕获高通量细胞,提出了一种利用形态学、光学相位等特征结合卷积神经网络进行分类的方法。在白细胞和癌细胞及低脂和高脂藻细胞的分类中,该方法的分类精度比传统基于尺寸的技术提高了 17%以上。Kim 等^[16]使用全息显微镜对细胞进行拍照,通过 VGG19 网络、主成分分析和多层感知器对细胞进行分类,证明了对未重建的全息图进行直接分割和分类的可行

收稿日期: 2021-10-15; **修回日期:** 2021-12-06; **录用日期:** 2022-01-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费(QTZX2185, JB211211)、国家重点研发计划(2018YFC0910600)、国家自然科学基金(81871397, 61901338)、“万人计划”人才、陕西省杰出青年科学基金(2020JC-27)、陕西省“特支计划”青年拔尖人才

通信作者: *xlchen@xidian.edu.cn; **jimleung@mail.xidian.edu.cn

性。Rubin 等^[17]通过迁移学习对细胞进行分类,使用 DCGAN 网络学习精子细胞的图像特征,然后用最新的全连接层替换 DCGAN 鉴别器的最后一个卷积层实现分类。他们将该网络应用于干涉相位显微成像下未染色的健康皮肤细胞和癌细胞的分类以及原发性癌细胞和转移性癌细胞的分类,取得了良好的效果。Kurnianingsih 等^[18]使用掩模+基于区域的卷积神经网络对 Herlev Pap 涂片数据集中的染色细胞进行分割和分类,宫颈癌细胞与正常细胞的分类准确率达到 98.9%,7 种宫颈癌细胞的分类准确率达到 95.9%。文献[19]针对奶牛乳腺炎问题,比较了四种机器学习方法对牛乳体细胞的分类效果,证明了随机森林模型对该问题的分类精度最高且可行。文献[20-21]对不同白细胞进行分类,为未来的实时床旁诊断系统提供了潜在的解决方案。文献[22]通过灰度共现矩阵提取偏振衍射流式细胞术下的细胞纹理特征,使用基于岭估计器的逻辑回归预测细胞凋亡的不同阶段,准确度与延时相衬显微镜方法相似。

神经网络结构复杂,参数多,运算量大,且训练

时需要使用先进的显卡。考虑到医院和生物研究机构的计算机性能以及如今移动端的流行,降低神经网络的成本开销是其推广应用的必经之路。本文提出了一种轻量化的神经网络(Depthwise-ResNeXt),利用该网络对无透镜计算显微成像系统采集的 SUM、MCF10A、ECa109、CL-1 细胞图像进行分类,证明了将这两者相结合进行细胞分类的可行性。结果表明,所提出的 Depthwise-ResNeXt 对 SUM、MCF10A、ECa109、CL-1 四种细胞的分类平均准确率达到 92.8%,而参数量仅有 806 kB,为残差网络(ResNet)的 1/14。

2 分类系统

本文将轻量化神经网络与无透镜计算显微成像相结合,使用轻量化神经网络辅助无透镜计算显微图像进行细胞分类。本文的分类系统示意图如图 1 所示。无透镜计算成像系统采集图像数据,并传入计算机,通过数据重建以及预处理,将得到的细胞图像输入到神经网络中进行分类识别。

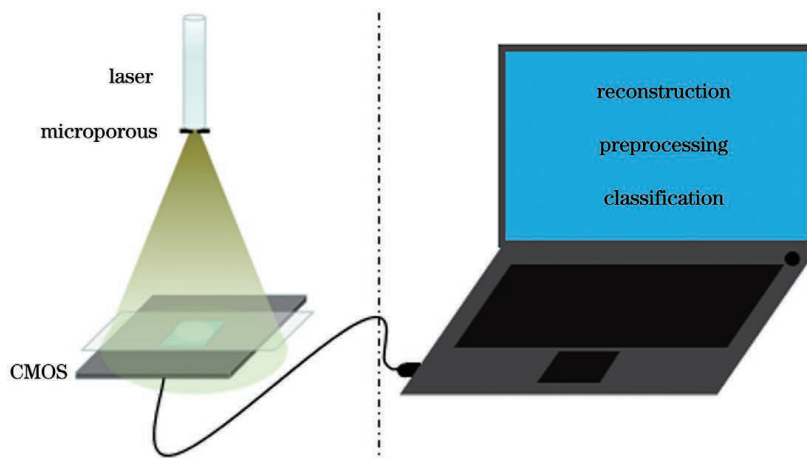


图 1 无透镜计算显微成像与分类系统

Fig. 1 Lens-less computational microscopic imaging and classification system

2.1 无透镜计算显微成像

无透镜计算显微成像系统具有大视野、非侵入的特点。无透镜计算显微成像系统通过前端采集加后端处理的方式得到显微图像。无透镜计算显微成像系统没有物镜,通过物光与参考光的干涉,得到物体的振幅与相位信息,将这些信息进行编码,通过计算机上的算法重建得到清晰的物像。

成像系统由激光光源、微孔和传感器组成。激光从光源经过微孔,并透过持物夹上的样本,照射在传感器上。传感器采集光信号并传给计算机。系统

采用激光二极管作为光源,输出功率为 1.5 mW,波长为 532 nm。采用像素大小为 1.67 μm 的互补金属氧化物半导体传感器(CMOS)采集信号。传感器与样本距离在 1 mm 以内。

实验系统基于 Gabor 全息光路,全息图的产生过程如下。激光二极管发射出相干光,经过微孔空间滤波后,形成球面光波继续传输。由于传输距离较大,照射到物体表面的光波可近似看作平面波,穿过物体分成散射光 O 和透射光 R 。散射光携带物体信息,又称为物光波,透射光不携带物体信息,又

称为参考光。两束光由于具有相干性,在传播一段距离后会在 CMOS 平面上发生干涉,形成的干涉图像即全息图。设传感器平面的物光复振幅为 $O(x, y)$, 参考光复振幅为 $R(x, y)$, 两者干涉场

$U(x, y)$ 表示为

$$U(x, y) = O(x, y) + R(x, y), \quad (1)$$

其强度 $I(x, y)$ 分布为

$$I(x, y) = |U(x, y)|^2 = |O(x, y)|^2 + |R(x, y)|^2 + O(x, y)R^*(x, y) + O^*(x, y)R(x, y) = |A_O|^2 + |A_R|^2 + 2A_O(x, y)A_R(x, y)\cos[\varphi_O(x, y) - \varphi_R(x, y)], \quad (2)$$

式中: (x, y) 为干涉面坐标; $*$ 表示取复共轭; $|O(x, y)|^2 + |R(x, y)|^2$ 为零级像, 表示背景光; $A_O(x, y)$ 为物光振幅; $A_R(x, y)$ 为参考光振幅; $\varphi_O(x, y)$ 为物光相位; $\varphi_R(x, y)$ 为参考光相位。其中, $O(x, y)R^*(x, y)$ 为真实像, $O^*(x, y)R(x, y)$ 表示真实重建像和孪生像共同的复振幅分布, 在图像层面表现为物体真实像周围分布着孪生像。孪生像为噪声, 影响重建图像的质量。

重建的过程为衍射的过程, 可以表示为

$$U(x_o, y_o; z) = \mathcal{F}^{-1}\{\mathcal{F}[I(x, y)]H(f_x, f_y; z)\}, \quad (3)$$

式中: $U(x_o, y_o; z)$ 为重建像; (x_o, y_o) 为再现面坐标; $\mathcal{F}(\cdot)$ 为傅里叶变换; $\mathcal{F}^{-1}(\cdot)$ 为傅里叶逆变换; f_x 和 f_y 分别为 x, y 方向上的空间频率; z 为物体到传感器的距离; $H(f_x, f_y; z)$ 为光波在自由空间中的传递函数, 表示为

$$H(f_x, f_y; z) = \begin{cases} \exp[ikz\sqrt{1 - (\lambda f_x)^2 - (\lambda f_y)^2}] & , \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < \frac{1}{\lambda} \\ 0 & , \text{others} \end{cases}, \quad (4)$$

式中: $k = \lambda / 2\pi$, 其中 λ 为光的波长。

无透镜计算显微成像系统采集并重建后的全视

野细胞图像如图 2(a)所示, 宽场显微镜获取的局部区域的细胞显微图像和同一区域的无透镜计算显微

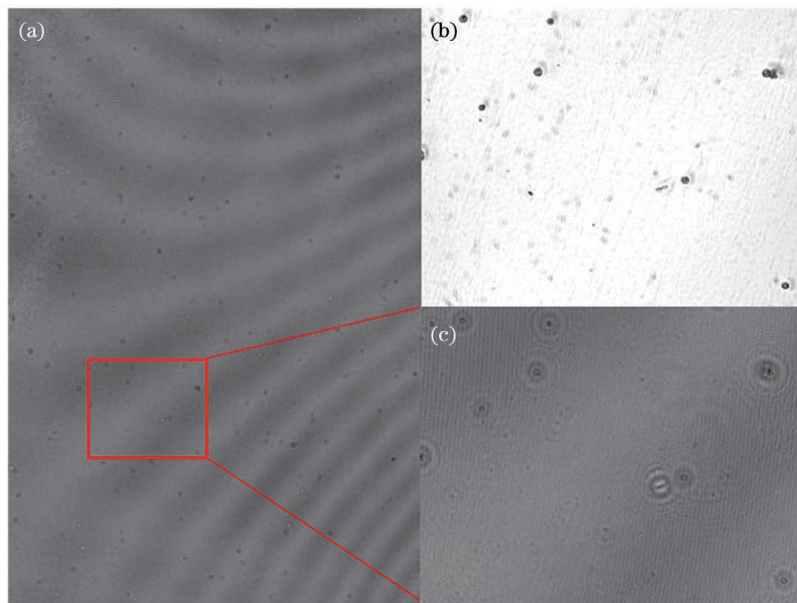


图 2 无透镜计算显微成像系统与 $4\times$ 物镜下的 ECa109 细胞图像。(a)无透镜计算显微成像系统采集的 ECa109 细胞的全视野图; (b)图 2(a)中圈出区域的细胞在 $4\times$ 物镜下的显微图像; (c)图 2(a)中圈出区域的细胞在无透镜计算显微成像系统中的图像

Fig. 2 Microscopic images of ECa109 cells under lensless computational microscopic imaging system and $4\times$ objective lens. (a) Full field-of-view image of ECa109 cells acquired by lensless computational microscopic imaging system; (b) microscopic image of ECa109 cells in square outlined in Fig. 2(a) under $4\times$ objective lens; (c) enlarged image of ECa109 cells in square outlined in Fig. 2(a) acquired by lensless computational microscopic imaging system

图像分别如图 2(b)、(c)所示。图 3 展示了无透镜计算显微成像系统下重建前和重建后的单个细胞图像。

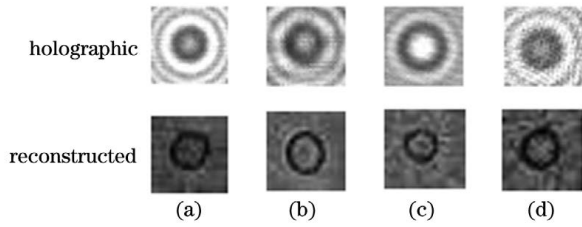


图 3 不同细胞的图像。(a)SUM 细胞;(b)MCF10A 细胞;(c)ECa109 细胞;(d)CL-1 细胞
Fig. 3 Images of different cells. (a) SUM cell; (b) MCF10A cell; (c) ECa109 cell; (d) CL-1 cell

2.2 Depthwise-ResNeXt 网络结构

实验尝试了三种经典的神经网络 GooLeNet^[23]、

ResNet^[24]和 DenseNet^[25],考虑到不同网络的运行速度,最终选取了 ResNet,并用瓶颈模块^[26]、组卷积^[27]+通道混洗^[28]、深度卷积^[29]、非对称卷积核^[30]四种轻量化结构对其中的模块进行改造和测试,得出了相应的准确率和参数量优化效果。

本文的网络结构是以 ResNet 为基准进行改进的,并参考了已有的 ResNeXt^[26]网络结构。Depthwise-ResNeXt 网络结构如图 4 所示,其中左右两翼的模块为有下采样和无下采样的卷积模块。卷积模块采用残差结构,特征图经过两个分支运算后相加输出。主分支从上往下依次为 1×1 卷积、 3×3 卷积以及 1×1 卷积。 3×3 卷积的参数占据了网络参数的大部分,可以通过降低第一个 1×1 卷积的输出通道数来压缩特征通道数,再通过第二个 1×1 卷积将特征通道数扩张回去。这样可以降低

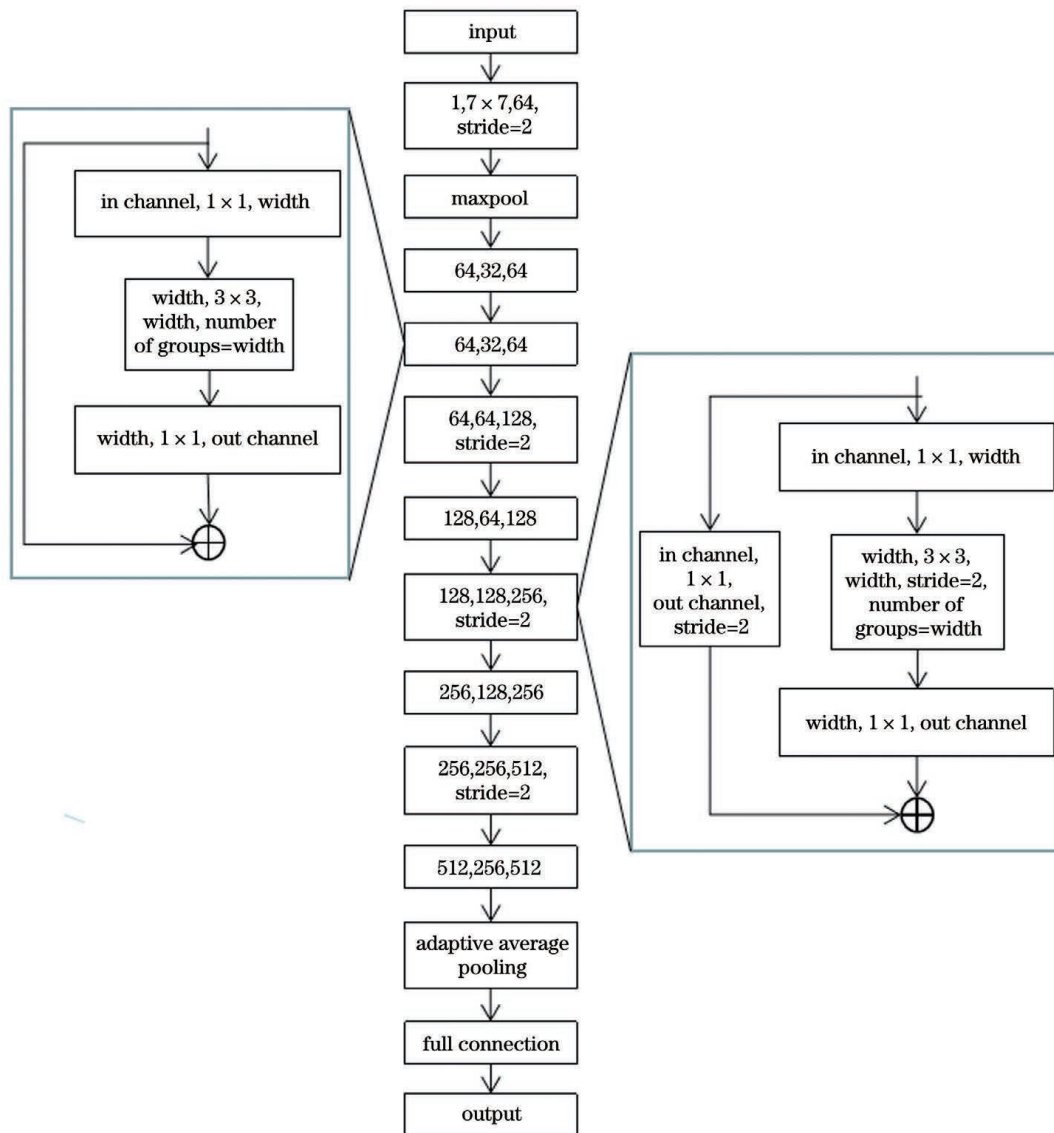


图 4 Depthwise-ResNeXt 网络结构
Fig. 4 Network structure of Depthwise-ResNeXt

中间 3×3 卷积的通道宽度,减少网络参数。图 4 中间部分为网络的整体架构,每个模块的前三个数字分别表示该模块的输入通道数、宽度和输出通道数,对应两翼模块中的相应参数。图 4 中所有卷积模块中的卷积层都采用深度卷积。深度卷积是一种特殊的组卷积。组卷积对卷积核进行分组,后续每个卷积核只需对同组内的特征图进行计算,降低了网络的计算量。而深度卷积将一个卷积核视为一组,通过最大化分组数来减少计算量。图 4 中只展示了卷积层与池化层,在具体的网络结构中,每层卷积层都与批量归一化层及 ReLU 激活函数相连接。

3 结果与讨论

3.1 数据获取与预处理

本文所使用的细胞是实验室培养的,所采集的细胞样本均为悬浮状态。每种细胞独立拍摄,将全视野中的细胞裁剪成单个细胞图后,制成四类细胞的数据集。细胞训练数据包括 SUM、MCF10A、ECa109、CL-1 四种细胞,数据数量分别为 5609、6137、6620、4709,训练验证集和测试集的大小分别占总数据集的 90% 和 10%,验证集的大小占训练验证集的 10%,一个完整批量的数据含细胞图片 128 张。图像数据由传感器采集后,使用角谱法[式(1)]进行重建。细胞图片通过分割算法提取。具体而言,我们先在焦平面附近重建出不同深度的图像,得到一个伪三维立体图。利用物体边缘在重建图像中会呈现最低值的特点^[31],将同一坐标上所有深度中值最低的点投影到同一平面,使得细胞物体在对应位置上呈现黑斑状。对该投影图像进行阈值分割,检测出细胞的数量和位置,再裁剪出细胞图像制成数据集,裁剪出的细胞全息图与重建图如图 3 所示。细胞数据在进入网络前经过了数据增强,采用翻转、旋转的方式将数据数量扩大到原有数据集的 6 倍。

3.2 网络训练细节与环境

本文所有的网络训练学习率均设置为 0.01,批量大小为 128,迭代次数为 300。选用交叉熵损失作为神经网络的损失函数。反传播算法使用 Adam 算法。本文编译环境为 Python 3.6,显卡型号为 NVIDIA GeForce GTX 1070,显存大小为 8 GB,内存大小为 32 GB。

3.3 网络测试结果

3.3.1 消融实验

为了观察不同结构对网络性能的影响,本节进行了消融实验。本节的消融实验主要分为两个方面,一是从网络的宽度与深度着手,改变网络的通道数和模块数,二是替换网络的部分结构。表 1 展示了网络在不同通道数和模块数下的实验结果,可以看出,64、64、128、256、512 的通道数与一层卷积层加四个卷积模块的深度是网络的最优尺寸。表 2 描述了不同轻量化结构对网络准确率、计算量、参数量及测试时间的影响,其中 All 表示通道混洗、非对称卷积核和瓶颈结构均应用于网络。本文计算量的计算是以一个批量为基准,测试时间为测试完测试集的运行时长。本文用来替换测试的网络结构为通道混洗^[25]、非对称卷积^[26]等其他轻量化结构或组合。通道混洗结构是指在组卷积输出后,将不同组输出的特征图在下一层输入前进行混洗,使每一组都有其他组输出的特征图,且每一组卷积都能学到更大范围的特征。而非对称卷积则是将卷积核的长与宽定义成不同的尺寸。串联的非对称卷积可以以更少的参数量和运算量实现与相应对称卷积核类似的效果。本文用 1×3 和 3×1 的非对称卷积核的串联计算来代替原本的 3×3 卷积层。在几种网络结构中,使用深度卷积结构的 Depthwise-ResNeXt 在准确率上的表现突出,在保证准确率的同时,将计算量和参数量降低到 ResNet 的 1/10 左右和 1/14 左右。

表 1 不同尺寸网络的实验结果

Table 1 Experimental results of networks with different sizes

Way to improve	Channel number					Test accuracy
	Conv 1	Layer 1	Layer 2	Layer 3	Layer 4	
Depthwise convolution	32	32	64	128	256	0.889
Depthwise convolution	64	64	128	256	512	0.928
Depthwise convolution	64	64	128	256	0	0.905
Depthwise convolution	64	128	256	512	1024	0.926

表 2 不同结构网络的实验结果

Table 2 Experimental results of different structured networks

Index	Channel shuffle	Depthwise convolution	Asymmetric convolution	Depthwise convolution & channel shuffle	Depthwise convolution & asymmetric convolution	All	ResNeXtM
Accuracy	0.922	0.928	0.922	0.913	0.911	0.908	0.921
Calculated amount / 10^9	1.04	1.01	1.03	1.01	1.01	1.00	1.04
Number of parameters /kB	846	806	830	806	803	803	846
Time /s	$1.17 \pm 5 \times 10^{-4}$	$1.12 \pm 4.2 \times 10^{-4}$	$1.18 \pm 1.4 \times 10^{-4}$	$1.13 \pm 2.2 \times 10^{-5}$	$1.12 \pm 2.4 \times 10^{-5}$	$1.15 \pm 2.2 \times 10^{-4}$	$1.16 \pm 6.4 \times 10^{-5}$

3.3.2 分类结果

本节展示了 Depthwise-ResNeXt 的分类结果,并选取了 ShuffleNet^[28]、MobileNet^[29]、GoogLeNet^[23]、ResNet^[24]、DenseNet^[25] 五种神经网络进行对比。图 5 是 Depthwise-ResNeXt 对 SUM、MCF10A、ECa109、CL-1 四种细胞进行分类的模糊矩阵,横向是真实值,纵向是预测值。可以看到网络对测试集中各类细胞的分类结果及相关指标,网络的分类准确率达到 92.8%。本文网络对 CL-1 的预测最好,对 SUM 的识别得最差。表 3 是本文网络与其他五种网络的对比结果,包括准确率、运算量、计算量以及运行时间。可以看出,与 ShuffleNet 和 MobileNet 两种轻量化网络相比,本文网络的准确率更高,运行时间更短。与 DenseNet、GoogLeNet、ResNet 三种经典网络相比,本文网络的运算量和参数量大大减少,而准确率相近。结合表 2 和表 3 可以看到,相较于计算量,轻量化网络的测试时间比轻量化前并未明显减少。我们认为主要原因有两点,

	CL-1	ECa109	MCF10A	SUM
CL-1	471	4	8	13
ECa109	0	589	15	33
MCF10A	7	35	590	21
SUM	4	24	3	492

图 5 Depthwise-ResNeXt 模糊矩阵

Fig. 5 Fuzzy matrix of Depthwise-ResNeXt

一是对于瓶颈结构、串联非对称卷积核等结构来说,尽管其使得网络的计算量减少,但是运算步骤并没有减少,甚至有所增加。如非对称卷积核,原本对称卷积核是一次卷积,而串联的非对称卷积核则需要通过两次卷积达到同样的运算效果。二是计算量的概念不同于时间,计算量只是对数学运算次数的统计,例如通道混洗结构,该结构的参数量和计算量都为 0,然而实际运行依然会消耗时间。

表 3 不同网络结构的对比

Table 3 Comparison of different network structures

Index	ShuffleNet	MobileNet	ResNet	DenseNet	GoogleNet	Depthwise-ResNeXt
Accuracy	0.885	0.870	0.924	0.931	0.924	0.928
Calculated amount/ 10^9	253.406×10^{-3}	1.944	10.460	10.247	4.88	1.01
Number of parameters /kB	345.460	2.228×10^3	11.172×10^3	6.952×10^3	5.598×10^3	806
Run time /s	$1.25 \pm 26 \times 10^{-4}$	$1.33 \pm 4.8 \times 10^{-4}$	$1.19 \pm 1.6 \times 10^{-5}$	$1.88 \pm 9.4 \times 10^{-4}$	$1.33 \pm 2.1 \times 10^{-4}$	$1.12 \pm 4.2 \times 10^{-4}$

4 结 论

使用无透镜计算显微成像技术与神经网络模型相结合,对细胞进行了成像分析。选取了 SUM、

MCF10A、ECa109、CL-1 四种细胞,测试了 MobileNet、ShuffleNet、ResNet、DenseNet、GoogleNet 等网络在细胞分类上的应用效果,从中选出最合适的网络进行改造。通过深度组卷积对卷

积的替换以及结构设计,所提出的网络模型 Depthwise-ResNeXt 对 SUM、MCF10A、ECa109、CL-1 的分类平均准确率可达 92.8%,表明无透镜计算显微成像与深度学习的结合极具应用前景。Depthwise-ResNeXt 的运算量仅有 1.012×10^9 ,参数量仅为 806 kB,是原始 ResNet 的 1/10 左右和 1/14 左右,降低了神经网络的应用成本,增加了神经网络在医疗生物应用领域中普及的可能性。细胞数据仅提供了形态学信息,相信随着显微技术的进一步改进,数据分辨率的提高能为网络的分类准确率带来质的飞跃。

参 考 文 献

- [1] Liu K X, He Z H, Cao L C. Pattern-adaptive error diffusion algorithm for improved phase-only hologram generation[J]. Chinese Optics Letters, 2021, 19(5): 050501.
- [2] Zhang C, Xing T, Liu Z Z, et al. Lens-free imaging method based on generative adversarial networks[J]. Acta Optica Sinica, 2020, 40(16): 1611003.
张超,邢涛,刘紫珍,等.基于生成对抗网络的无透镜成像方法[J].光学学报,2020,40(16):1611003.
- [3] Zhang H, Cao L C, Jin G F, et al. Progress on lensless digital holography imaging based on compressive holographic algorithm [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(8): 080001.
张华,曹良才,金国藩,等.基于压缩感知算法的无透镜数字全息成像研究[J].激光与光电子学进展,2020,57(8):080001.
- [4] Wang Y X, Wang D Y, Yang Y S, et al. Application and analysis in the biomedicine field using digital holographic technology[J]. Chinese Journal of Lasers, 2014, 41(2): 0209002.
王云新,王大勇,杨怡妹,等.数字全息技术在生物医学成像和分析中的应用[J].中国激光,2014,41(2):0209002.
- [5] Zhang J L, Chen Q, Zhang X Y, et al. Lens-free on-chip microscopy: theory, advances, and applications [J]. Infrared and Laser Engineering, 2019, 48(6): 0603009.
张佳琳,陈钱,张翔宇,等.无透镜片上显微成像技术:理论、发展与应用[J].红外与激光工程,2019,48(6):0603009.
- [6] Agarwal K, Machán R. Multiple signal classification algorithm for super-resolution fluorescence microscopy [J]. Nature Communications, 2016, 7: 13752.
- [7] Harder N, Eils R, Rohr K. Automated classification of mitotic phenotypes of human cells using fluorescent proteins [J]. Methods in Cell Biology, 2008, 85: 539-554.
- [8] Xu L P. Importance and clinical analysis of blood smear analysis in routine blood tests [J]. For All Health, 2014, 8(13): 69.
许立萍.血涂片分析在血常规检验中的重要性及临床分析[J].大家健康,2014,8(13):69.
- [9] Lyons A B, Parish C R. Determination of lymphocyte division by flow cytometry[J]. Journal of Immunological Methods, 1994, 171(1): 131-137.
- [10] Nie Z H, Seo M, Xu S Q, et al. Emulsification in a microfluidic flow-focusing device: effect of the viscosities of the liquids[J]. Microfluidics and Nanofluidics, 2008, 5(5): 585-594.
- [11] Xu G X, Zhen B Y, Zhang L B, et al. Electron microscopy enzyme cytochemistry technology and its application[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 1988, 7(3): 124.
徐根兴,真炳攸,张留保,等.电镜酶细胞化学技术及其应用[J].电子显微学报,1988,7(3):124.
- [12] Vasudevan M, Bhaduri A K, Raj B, et al. Delta ferrite prediction in stainless steel welds using neural network analysis and comparison with other prediction methods[J]. Journal of Materials Processing Technology, 2003, 142(1): 20-28.
- [13] du Jardin P, Ponsaillé J, Alunni-Perret V, et al. A comparison between neural network and other metric methods to determine sex from the upper femur in a modern French population [J]. Forensic Science International, 2009, 192(1/2/3): 127.e1-127.e6.
- [14] Wu K D, Wei G W. Comparison of multi-task convolutional neural network (MT-CNN) and a few other methods for toxicity prediction [EB/OL]. (2017-03-31)[2021-08-01]. <https://arxiv.org/abs/1703.10951>.
- [15] Chen C L, Mahjoubfar A, Tai L C, et al. Deep learning in label-free cell classification [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 21471.
- [16] Kim S J, Wang C Q, Zhao B, et al. Deep transfer learning-based hologram classification for molecular diagnostics[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 17003.
- [17] Rubin M R, Stein O, Turko N A, et al. TOP-GAN: stain-free cancer cell classification using deep learning with a small training set[J]. Medical Image Analysis, 2019, 57: 176-185.
- [18] Kurnianingsih, Allehaibi K H S, Nugroho L E, et al. Segmentation and classification of cervical cells using deep learning [J]. IEEE Access, 2019, 7: 116925-116941.
- [19] Yang W J, Xue H R, Bai J. Research and implementation of somatic cell classifier in milk[J]. Digital Technology & Application, 2021, 39(7):

- 114-116.
杨伟杰, 薛河儒, 白洁. 牛乳体细胞分类器的研究与实现[J]. 数字技术与应用, 2021, 39(7): 114-116.
- [20] Patil A M, Patil M D, Birajdar G K. White blood cells image classification using deep learning with canonical correlation analysis [J]. IRBM, 2021, 42 (5): 378-389.
- [21] Huang P, Wang J, Zhang J, et al. Attention-aware residual network based manifold learning for white blood cells classification[J]. IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics, 2021, 25 (4): 1206-1214.
- [22] Long F, Peng J J, Song W T, et al. BloodCaps: a capsule network based model for the multiclassification of human peripheral blood cells [J]. Computer Methods and Programs in Biomedicine, 2021, 202: 105972.
- [23] Szegedy C, Liu W, Jia Y Q, et al. Going deeper with convolutions[C]//2015 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, June 7-12, 2015, Boston, MA. New York: IEEE Press, 2015: 15523970.
- [24] He K M, Zhang X Y, Ren S Q, et al. Deep residual learning for image recognition [C] // 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, June 27-30, 2016, Las Vegas, NV, USA. New York: IEEE Press, 2016: 770-778.
- [25] Huang G, Liu Z, van der Maaten L, et al. Densely connected convolutional networks [C] // 2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, July 21-26, 2017, Honolulu, HI, USA. New York: IEEE Press, 2017: 2261-2269.
- [26] Xie S N, Girshick R, Dollár P, et al. Aggregated residual transformations for deep neural networks [C]//2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, July 21-26, 2017, Honolulu, HI, USA. New York: IEEE Press, 2017: 5987-5995.
- [27] Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton G E. ImageNet classification with deep convolutional neural networks [J]. Communications of the ACM, 2017, 60 (6): 84-90.
- [28] Zhang X Y, Zhou X Y, Lin M X, et al. ShuffleNet: an extremely efficient convolutional neural network for mobile devices [C]//2018 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, June 18-23, 2018, Salt Lake City, UT, USA. New York: IEEE Press, 2018: 6848-6856.
- [29] Howard A G, Zhu M L, Chen B, et al. MobileNets: efficient convolutional neural networks for mobile vision applications [EB/OL]. (2017-04-17) [2021-08-04]. <https://arxiv.org/abs/1704.04861>.
- [30] Szegedy C, Vanhoucke V, Ioffe S, et al. Rethinking the inception architecture for computer vision [C] // 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, June 27-30, 2016, Las Vegas, NV, USA. New York: IEEE Press, 2016: 2818-2826.
- [31] Tian L, Loomis N, Domínguez-Caballero J A, et al. Quantitative measurement of size and three-dimensional position of fast-moving bubbles in air-water mixture flows using digital holography [J]. Applied Optics, 2010, 49(9): 1549-1554.

Lightweight Deep Learning Network Assisted Cell Classification Using Lensless Computational Microscopic Imaging Data

Wang Zhaohui¹, Kang Huan¹, Chen Duofang¹, Xu Xinyi¹, Zeng Qi¹,
Liang Jimin^{2*}, Chen Xueli^{1*}

¹ Xi'an Key Laboratory of Intelligent Sensing and Regulation of Trans-Scale Life Information, School of Life Science and Technology, Xidian University, Xi'an 710126, Shaanxi, China;

² School of Electronic Engineering, Xidian University, Xi'an 710126, Shaanxi, China

Abstract

Objective Cell analysis is one of the most important application scenarios of microscopic images, and it plays a vital role in biological research, clinical medicine, drug screening, and other fields. With the rise of artificial intelligence, neural networks have become an important method for cell classification. The neural network has a complex structure, many parameters, a large amount of calculations, and requires advanced graphics cards for training. Taking account of the computer performance of hospitals and biological research institutions, as well as the popularity of mobile terminals today, it is necessary to reduce the computational overhead of neural networks. It can reduce the

corresponding medical and scientific research costs, which is conducive to the application and promotion of neural networks for cell classification. It is an urgent need for a method to accurately classify cells in real time and at low cost.

Methods Lensless computational microscopic imaging is a low-cost and efficient imaging technology. This imaging method has the characteristics of large field-of-view and high throughput. It can image cells in real time without mechanical focusing or staining. This paper proposes a lightweight network model named Depthwise-ResNeXt to accurately classify cells in real time through the seamless integration of the neural network and lensless computational microscopy. The imaging system (Fig. 1) consists of a laser source, micro-holes and sensors. The laser emitted from the light source passes through the micro-hole and the sample on the holder, and irradiates the sensor. The sensor collects the light signal and transmits it to the computer. The system uses a laser diode as the light source with an output power of 1.5 mW and a wavelength of 532 nm. The diameter of micro-holes is 40 μm . The signal acquisition uses a CMOS sensor with a pixel size of 1.67 μm . The distance between the sensor and the sample is within 1 mm.

We collect the data of four types of cells including SUM, MCF10A, ECa109, and CL-1 as experimental data. After collected by the sensor, the image data is reconstructed using the angular spectrum method (Equation 1). The cell picture is extracted by a segmentation algorithm. Specifically, we first reconstruct images at different depths near the focal plane to obtain a pseudo three-dimensional image. Taking advantage of the feature that the edge of the object shows the lowest value in the reconstructed image, we project the lowest point at all depths on the same coordinate to the same plane, so that the cellular object appears black spot-like at the corresponding position. We perform threshold segmentation on the projection image to detect the number and location of the cells, and then cut out the cell images to make a data set. In order to obtain more data, the cell data undergoes data enhancement before entering the network, and the number of data is expanded to 6 times of the original data by means of flipping and rotating.

After comprehensive consideration of the amount of calculation, the number of parameters, and the operating speed and accuracy of the experiment, our network chooses ResNet18 as the main body of our network. We try group convolution, channel shuffling, deep convolution, asymmetric convolution kernel, bottleneck structure and other lightweight methods, and conduct the ablation experiments. In the end, our network Depthwise-ResNeXt consists of a convolutional layer, a pooling layer, eight convolutional blocks, a global pooling layer, and three fully connected layers. The numbers of input and output channels of the convolution blocks of the network and the network depth are similar to those of ResNet18. The convolution block borrows the bottleneck structure of ResNeXt. The convolution layer of the main module is replaced by a depthwise convolution. The network learning rate is set to 0.01, and we iterate 300 times. The loss function uses cross entropy loss. The anti-propagation algorithm uses the Adam algorithm.

Results and Discussions The classification accuracy of Depthwise-ResNeXt reaches 92.8%. We test the computing capacity of the network with a batch as a benchmark. The computing capacity of the network is 1.01×10^9 , and the parameter capacity is only 806 kB, which are about 1/10 and 1/14 of those of Resnet, respectively (Table 2). Compared with other lightweight networks, our network reduces the calculated amount and numbers of parameters to a certain extent with higher accuracy. From the fuzzy matrix of the Depthwise-ResNeXt classification results (Table 3), it can be seen that the network has the best prediction of CL-1 and the worst recognition of SUM.

Conclusions This network proves the possibility of combining neural network and lensless computational microscopy in the field of cell classification, and greatly reduces the application cost of neural networks in cell classification. The cell data in this article only provides simple morphological information. We believe that, with the further improvement of the microscopy technology used, the improvement of data resolution can also bring a qualitative change to the classification accuracy of the network.

Key words biotechnology; digital holography; computational microscopy; lens-less imaging technology; cell classification; neural networks; lightweight networks