

# 基于改进 Mask R-CNN 和 DeepSort 的 致密细胞识别与追踪

黄圳鸿<sup>1,3</sup>, 胡学娟<sup>1,3\*</sup>, 陈玲玲<sup>2,3</sup>, 胡亮<sup>1,3</sup>, 徐露<sup>1,3</sup>, 连丽津<sup>3</sup>

<sup>1</sup>深圳技术大学中德智能制造学院, 广东 深圳 518118; <sup>2</sup>深圳技术大学健康与环境工程学院, 广东 深圳 518118;

<sup>3</sup>广东省先进光学精密制造重点实验室, 广东 深圳 518118

**摘要** 为了解决现有算法对密集细胞识别精度不高及空间轨迹错误相连的问题, 建立了一种针对斑马鱼尾部中性粒细胞密集细胞的识别与追踪网络, 该网络通过改进的 mask region-based convolutional neural network (Mask R-CNN) 及 DeepSort 对细胞进行识别与追踪。首先, 从自搭建的光学投影层析成像 (OPT) 系统获取细胞图像; 然后, 改进 Mask R-CNN 中训练模块的 Huber 掩膜损失、优化神经网络参数, 并在检测模块中拓展灰度级动态范围来提高边缘检测性能, 实现细胞的识别; 最后, 利用 DeepSort 结合改进的逐帧关联思想将定位的二维像素坐标转换为三维空间坐标, 进行轨迹连接。实验结果表明: 所提网络的训练效率提高了约 50%; XZ 和 YZ 面细胞分割精准率分别达到了 98.99% 和 97.83%, 比未改进的 Mask R-CNN、U-Net、形态学和分水岭分割等的分割效果均有显著提高; 在细胞关联性为 75% 时, 可重建出 79.6% 的斑马鱼中性粒细胞轨迹。该网络能够较好地实现对高度重叠细胞的识别分割与轨迹重构, 将二维定位拓展到三维空间, 不仅为密集微观生物的分类识别提供了借鉴参考, 而且为病理学研究中细胞应激反应提供了一个重要的直观模型。

**关键词** 成像系统; 目标检测; 卷积神经网络; 细胞分割; 三维追踪

中图分类号 TP181

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP202259.1811004

## Dense Cell Recognition and Tracking Based on Mask R-CNN and DeepSort

Huang Zhenhong<sup>1,3</sup>, Hu Xuejuan<sup>1,3\*</sup>, Chen Lingling<sup>2,3</sup>, Hu Liang<sup>1,3</sup>, Xu Lu<sup>1,3</sup>, Lian Lijin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sino-German College of Intelligent Manufacturing, Shenzhen Technology University,  
Shenzhen 518118, Guangdong, China;

<sup>2</sup>College of Health Science and Environment Engineering, Shenzhen Technology University,  
Shenzhen 518118, Guangdong, China;

<sup>3</sup>Key Laboratory of Advanced Optical Precision Manufacturing Technology of Guangdong Provincial Higher  
Education Institute, Shenzhen 518118, Guangdong, China

**Abstract** A recognition and tracking network for dense neutrophil cells in the zebrafish tail was designed to address the problems that previous algorithms have low accuracy in recognizing dense cells and wrongly connected spatial trajectories. In this study, the enhanced mask region-based convolutional neural network (Mask R-CNN) was paired with the upgraded three-dimensional DeepSort to identify and track dense neutrophil cells. First, using self-built optical projection tomography (OPT) for image acquisition. Then, in the Mask R-training CNN's module, we enhanced the Huber mask loss, adjusted the neural network parameters, and increased the gray-level dynamic range in the detection module to optimize the edge detection performance and achieve accurate cell recognition. Finally, the cell trajectory is reconstructed using DeepSort and the improved frame-by-frame correlation notion. Experimental results indicate that this method improves network training efficiency by ~50%, and cell segmentation accuracy reached 98.99% and 97.83% in XZ/YZ plane, respectively, which are significantly higher than the unimproved Mask R-CNN, U-Net, morphology, and watershed segmentation algorithms. Moreover, 75 visual zebrafish neutrophil trajectories were reconstructed. The proposed network can better recognize, segment, and reconstruct the pathway of highly overlapping cells and expand two-dimensional positioning into three-dimensional space than conventional networks. It serves as a guide for identifying and characterizing dense microorganisms and a useful model for cell stress response in pathogenic research.

**Key words** imaging systems; target detection; convolutional neural network; cell segmentation; three-dimensional tracking

收稿日期: 2021-06-07; 修回日期: 2021-07-02; 录用日期: 2021-07-28

基金项目: 广东省普通高校特色创新项目(2021KTSCX111)、深圳市坪山区科技创新专项(PKSG202006)、深圳技术大学自制实验仪器设备项目(JSZZ202102023)

通信作者: \*huxuejuan@sztu.edu.cn

## 1 引言

随着生命科学领域的研究发展,对生物细胞时间和空间特征的分析,有利于促进对生物系统生理特征的了解。分析个体细胞在生物体中受病理或药理作用下的迁移规律是生物医学领域中的重要组成部分,因而研究细胞在三维空间位置的变化具有重要意义。斑马鱼细胞因其繁殖生长快、组织透明度高、易于施药观察等优点,成为研究细胞追踪迁移的优良载体<sup>[1-2]</sup>。通过对细胞运动规律的研究,可以充分了解细胞在生物体中的运动特点,为一些病理研究打下实验基础,例如癌症中癌细胞的转移<sup>[3]</sup>及炎症反应中白细胞向伤口组织迁移的规律等。

细胞图像序列目标检测和图像序列多目标追踪技术是近几年的研究热点。2013年, Henry等<sup>[4]</sup>开发了PhagoSight算法,该算法基于改进的Otsu算法结合时间和空间特性进行目标识别追踪,能够实现三维吞噬细胞的分割和迁移可视化,但其对于密集细胞仍会产生不准确的分割。2018年, Liu等<sup>[5]</sup>利用深度学习技术在宽场显微镜中实现了更精确的细胞三维定位追踪,但其对实验数据的采集质量要求较高,不易实现。刘晓悦等<sup>[6]</sup>提出的基于方向梯度直方图结合支持向量机(HOG-SVM)的改进检测跟踪算法及李景文等<sup>[7]</sup>提出的mask region-based convolutional neural network(Mask R-CNN)结合卡尔曼滤波的目标定位算法均能实现目标的追踪,但是不适用于多目标及复杂场景下的检测。由于细胞在生物体中的存在具有多样性、复杂性等特性,会随着体内机能的改变而做出响应,所以对细胞进行准确分割具有一定难度。近年来的图像分割技术主要利用主动轮廓,或依据目标图像的形态、纹理等特征对目标进行分割,但这些方法对目标的特征明显性要求较高,不利于复杂背景下重叠目标的分割<sup>[8-10]</sup>。随着卷积网络在机器视觉的运用,基于学习的分割在图像处理中越来越多,如R-CNN<sup>[11]</sup>、Fast R-CNN<sup>[12]</sup>、SegNet<sup>[13]</sup>、U-Net<sup>[14-15]</sup>等。但是各种分割方法通常针对于特定的目标,在处理其他研究对象的时候总存在分割准确率低的问题,因而选用分割方法时,应针对自己研究对象的特性进行选择。

斑马鱼胚胎是医学研究细胞在药物特异性下反应的优良载体,但是斑马鱼体内中性粒细胞数量多而且持续运动,在进行平面光学成像时会出现细胞重叠情况,不利于正确诊断细胞三维轨迹。Mask R-CNN<sup>[16-18]</sup>是近年来一个较好地用于实例分割的神经网络,能够同时进行目标检测和实例分割等。有多个研究将该网络运用在医学图像的识别上,如乳腺肿瘤的分割<sup>[19]</sup>、肺结节CT图像的分类<sup>[20]</sup>等。

本文针对由自主搭建的光学投影层析成像(OPT)系统采集的斑马鱼尾部中性粒细胞图像,建立了一种结合改进Mask R-CNN的模型(Mask R-

CNN++)与DeepSort<sup>[21]</sup>三维追踪算法的细胞识别追踪网络,针对训练效率低下及致密细胞识别率低的问题,优化参数并改进了掩膜损失函数,并在DeepSort算法基础上提出了两次累计距离误差最小改进的三维追踪算法。实验结果表明,该网络能够在小样本情况下对密集重叠细胞进行精确分割追踪,为细胞多序列目标检测和追踪的研究提供了解决方案,可以将二维平面识别拓宽到三维的空间轨迹追踪,有助于研究生物样本的直观结构及其免疫细胞的运动、分析药物和免疫细胞在生物体内的定位及其相互作用,为药物研究提供确凿光学证据。

## 2 成像系统搭建及数据获取

为了获得有效的细胞序列图像,在成像前30 min应该诱导斑马鱼样本尾部损伤以刺激中性粒细胞向伤口移动;本实验组采用角度复用的OPT系统对斑马鱼中性粒细胞进行图像采集,如图1所示。首先将样品固定在旋转台上置于样品池中,然后通过两个正交的OPT系统从相互垂直的两个方向每隔15.3 s以0.9°的角度间隔采集202帧正交投影图像,并通过后期细胞光学切片重组为三维结构,该技术在三维追踪时不需要对样本的每个时间点进行三维成像,减少了对细胞的光毒性。图2分别为同一时刻下的XZ和XY面的细胞投影图。从图中可以看出,斑马鱼尾部中性粒细胞聚集严重,多数重叠在一起。OPT是目前研究活体三维成像的一个热点方向,但多角度采集图像信息会造成荧光信号的交叠,因而寻求一种准确的图像细胞识别方法,对于荧光目标的三维动态研究具有重要意义。

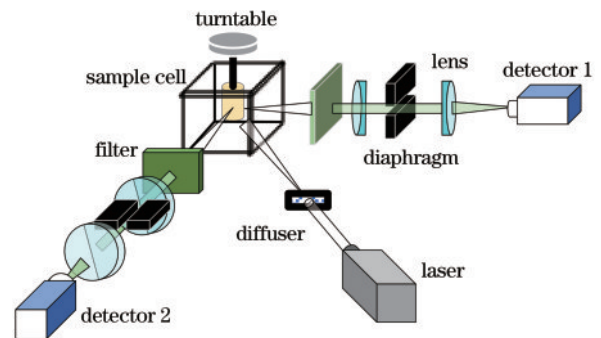


图1 角度复用OPT系统

Fig. 1 Angularly multiplexed OPT system

## 3 细胞识别与追踪模型建立

### 3.1 总方案设计

图3为斑马鱼细胞识别与追踪模型流程图。首先使用改进卷积网络对细胞图像进行识别,然后利用识别细胞的位置信息进行细胞运动轨迹的重构。

### 3.2 斑马鱼细胞识别追踪模型

为了能够准确识别与分割斑马鱼尾部中性粒细

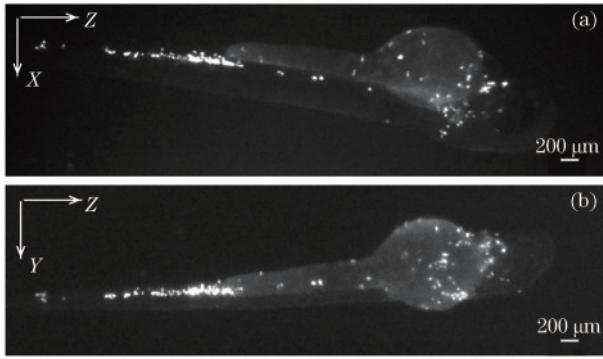


图 2 重建后的细胞图片。(a) XZ 向;(b) YZ 向  
Fig. 2 Reconstructed cell images. (a) XZ direction;  
(b) YZ direction

胞,并且建立起斑马鱼尾部中性粒细胞的三维空间轨迹图,本实验组将 Mask R-CNN 和 DeepSort 深度学习模型结合起来,且为了能够更好地对重叠严重的斑马

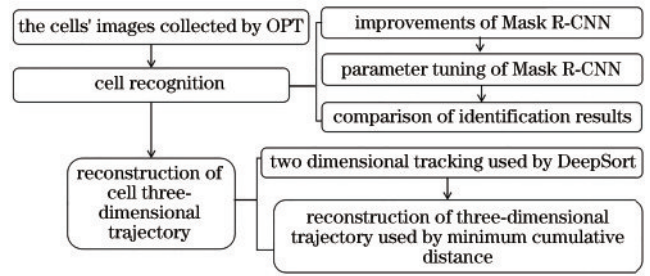


图 3 斑马鱼细胞识别与追踪模型流程图  
Fig. 3 Flow chart of zebrafish cell identification and tracking model

鱼尾部中性粒细胞图像进行识别分割,在原有的学习模型中进行了适应性的改进,以得到最佳的三维重构性能。中性粒细胞的最终识别与追踪模型结构如图 4 所示,主要由改进的 Mask R-CNN++ 及改进的三维轨迹追踪 DeepSort++ 两部分组成。

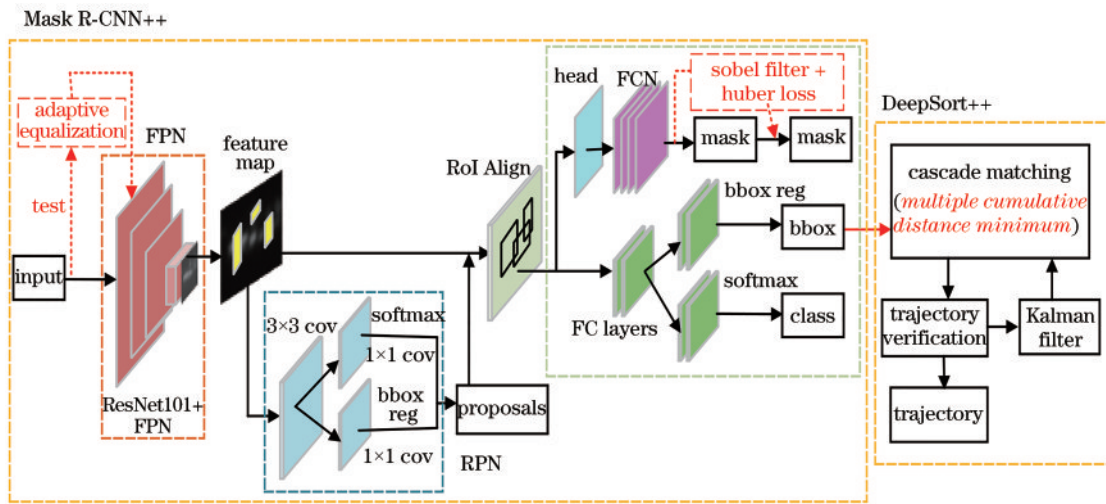


图 4 斑马鱼细胞识别与追踪模型结构图  
Fig. 4 Structure diagram of zebrafish cell recognition and tracking model

3.2.1 基于 Mask R-CNN 的改进算法:

Mask R-CNN++

Mask R-CNN 主要由输入层、feature pyramid networks (FPN) 卷积层、region proposal network (RPN) 模块、RoIAlign、Mask 预测分支及 BoundingBox 分类和坐标回归分支组成<sup>[22-23]</sup>。ROIAlign 层会对 FPN 预测特征图与 RPN 模块输出的建议候选区域进行目标类别、位置和二值掩膜损失函数的计算,并反馈给网络得到更精确的目标区域。在 Mask R-CNN 中,网络的损失函数  $L_{Mrcnn}$  包含目标分类损失  $L_{cls}$ 、检测边框回归损失  $L_{box}$  和掩膜分割损失  $L_{mask}$ ,即损失函数的表达式为

$$L_{Mrcnn} = L_{cls} + L_{box} + L_{mask} \quad (1)$$

但 Mask R-CNN 求掩膜损失时主要依赖区域信息,忽视了边界预测,对边界的分割准确度不高,并且需要进行多次迭代训练才能收敛。因而,本实验组在

原始网络的掩膜损失函数中增加 Sobel 滤波器以及 Huber 损失的掩膜边缘算法,以实现预测掩膜边缘信息的预测及提取。

$$L = \begin{cases} \frac{1}{2}(y - \hat{y})^2, & |y - \hat{y}| \leq \delta \\ \delta \cdot \left( |y - \hat{y}| - \frac{1}{2}\delta \right), & |y - \hat{y}| > \delta \end{cases}, \quad (2)$$

$$L_{MASK} = L_{mask} + L. \quad (3)$$

式中:  $y$  为标注的掩膜区域;  $\hat{y}$  为预测的掩膜区域;  $\delta$  为预测偏差;  $L_{MASK}$  为最终的掩膜损失。Huber 损失同时具备均方误差 (MSE) 和平均误差 (MAE) 这两种损失函数的优点。损失函数的改进增加了损失的收敛速度、提高了网络训练效率及训练模型的准确性。

由于原始细胞图像对比度较低,目标像素间的对比弱,因此在图像检测网络中增加了自适应直方图均衡化,拓展图像灰度级动态范围,增加局部对比度,

消除图像在不同背景中存在的差异性,以此来增加目标识别的准确性。

### 3.2.2 基于 DeepSort 优化的三维追踪算法: DeepSort++

为了解决密集细胞前后帧不同细胞的错误关联问题,通过 Mask R-CNN++ 检测出来位置信息,利用 DeepSort 在二维追踪的基础上使用优化累计距离误差最小化的算法来重建轨迹。细胞的三维追踪框架如图 5 所示。

DeepSort 通过递归的卡尔曼滤波来预测单方向上细胞的运动趋势,然后利用 OPT 系统同一时刻 Z 轴高度的一致性来合成每一帧细胞  $(x, y, z)$  的中心点位置,找出同一细胞在相邻帧之间空间和时间上的联系,并通过最近邻匹配法预测是否为同一细胞。由于斑马鱼图像细胞聚集现象较为严重,本实验组提出了一种比较两次累计距离最小值的优化方法,该方法能够降低关联错误细胞的概率。首先预测同一细胞在后两帧  $k+1$  和  $k+2$  帧的位置;其次利用最近邻算法

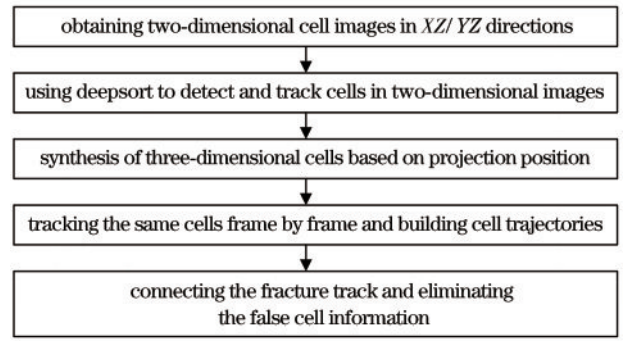


图 5 三维细胞追踪框架图

Fig. 5 Three-dimensional cell tracking framework

找出  $k+1$  帧满足阈值的位置细胞数  $n, n < 1$  时,将其作为下一帧的起点,  $n = 1$  时,记入轨迹中,  $n > 1$  时,预测这些细胞在  $k+2$  帧上;最后,通过两次预测点和匹配的位置距离累计最小值确定  $k+1$  帧的细胞位置,并加入轨迹中。改进后的三维追踪算法流程如图 6 所示。

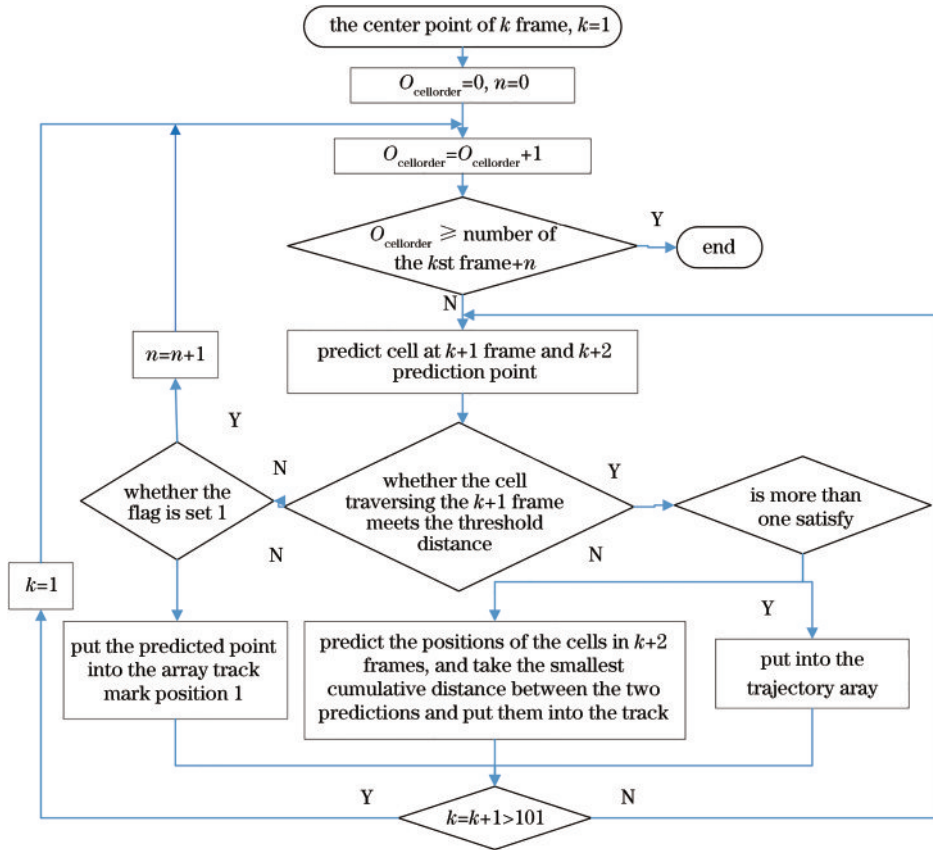


图 6 三维追踪算法流程图

Fig. 6 Three-dimensional tracking algorithm flow chart

## 4 模型训练和实验结果

模型训练前,首先进行数据集的制作;其次调整网络参数,进行网络调优;然后对比改进网络与其他网络的识别精准度,验证改进算法的可行性;最后利用识别

的细胞位置信息进行三维轨迹的重构。

### 4.1 Mask R-CNN 数据集制作

斑马鱼细胞的图像在两个方向共有 202 帧,取其中 101 帧用于训练验证,剩余 101 帧用于测试。首先对训练验证的 101 张图像进行双线性插值放大 100 倍,使原

来  $448 \times 320$  的像素面积变为  $4480 \times 3200$ , 此方法不会降低图片的分辨率反而细化了图片的信息, 再把图像裁剪为  $448 \times 320$  大小, 可在一定程度上增加数据集大小, 但由于图像大部分为背景, 所以只取包含目标的 808 张图像进行语义标注。利用图形语义标注工具 Labelme 对细胞区域进行标注, 生成对应目标位置信息的 json 文件及对应区域的 mask 图, 得到目标 (cell) 和背

景, 具体如图 7 所示。然后将 808 份标注文件按照 3:1 的比例分为训练集和验证集。最后取另一份 101 张原始细胞图像, 通过数据扩增至 202 张作为测试集, 使得训练集、验证集及测试集之间的比例为 3:1:1。对原始图像采用了旋转、对称、扭曲、加噪声等数据扩增方法来模拟不同场景下采集的图像, 不仅增加了数据集大小, 也验证分割模型的可行性。图 8 为部分扩增数据图。

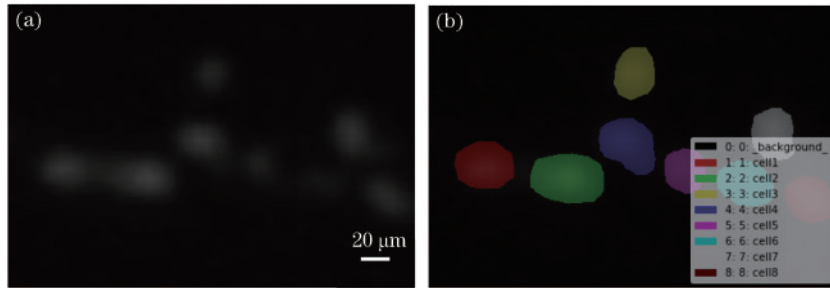


图 7 Labelme 标注生成 mask。(a) 细胞原图; (b) mask 图

Fig. 7 Mask generated by Labelme. (a) Original map of cells; (b) mask map

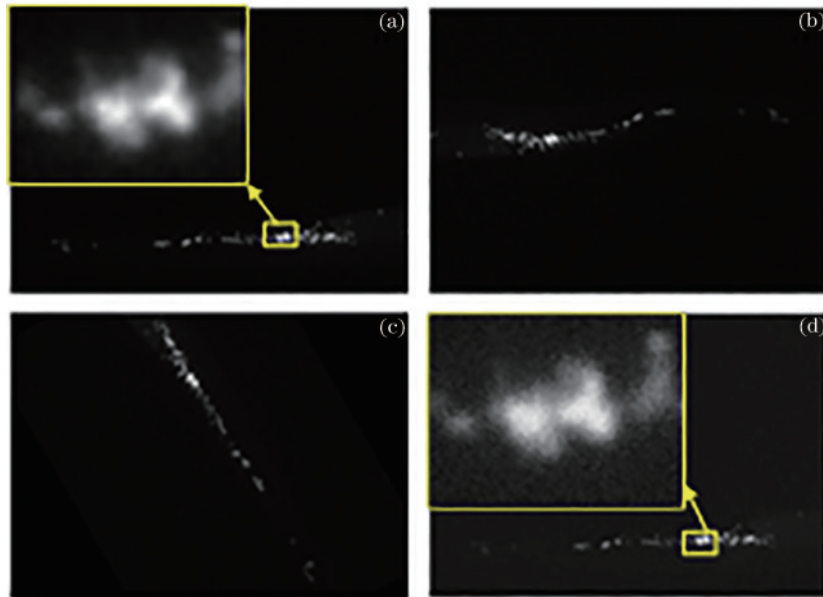


图 8 数据扩增。(a) 原图; (b) 扭曲; (c) 旋转; (d) 加噪

Fig. 8 Data augmentation (a) Original; (b) distortion; (c) overturn; (d) add noise

#### 4.2 Mask R-CNN++ 网络参数调优

所采用的 Mask R-CNN 算法属于深度学习方法在图像分割领域的应用, 因此首先需要配置深度学习环境。本实验硬件配置包括 Windows 7 64 位操作系统、显存为 8 GB 的 GPU、HP-Z440 工作站; 本实验软件部分包括 Python 3.6, Cuda 9.0 Toolkit, Cudnn, TensorflowGPU-1.5.0, 其中 Tensorflow 是一种开源的深度学习框架, 可用于搭建实验所需的卷积神经网络及相应的机器学习算法。

本实验研究对象仅包含了目标和背景两种, 为了使模型能够准确分类, 可对训练时迭代次数、交并比阈值 (iou\_thresholds)、感兴趣区域 (ROI) 的大小、每次迭

代随机抽取的训练集数等模型参数进行合理的设置, 具体如表 1 所示。

在模型训练中, 学习率是最影响性能的超参数之一, 决定了收敛速度, 预测损失权重与其密切相关:  $W_t = W_{t-1} - \epsilon t \times (\partial L / \partial W)$ , 其中  $W$  是权重,  $L$  是损失函数,  $\epsilon t$  则是学习率。相比于其他超参数, 学习率以一种更加复杂的方式控制着模型的有效容量, 当学习率最优时, 模型的有效容量最大; 学习率越低, 损失函数的变化速度就越慢, 容易过拟合; 而学习率过高容易发生梯度爆炸, 损失函数振动幅度较大, 模型难以收敛<sup>[24-25]</sup>。为了寻找合理的学习率, 对不同学习率下的训练情况进行了对比, 结果如图 9 所示。从图中可以看

表 1 网络参数设置

Table 1 Parameter setting of network

Parameter	Meaning	Value
STEPS_PER_EPOCH	The number of pictures per epoch in training	100
VALIDATION_STEPS	The number of pictures per epoch in validation	33
DATASET_TRAIN	The number of training set	606
LEARNING_RATE	Determine whether the objective function can converge	0.001-0.01
WEIGHT_DECAY	Reduce model over fitting	0.0001
IoU_THRESHOLDS	The thresholds of intersection over union	0.5/0.75
EPOCH	Number of iterative training	80

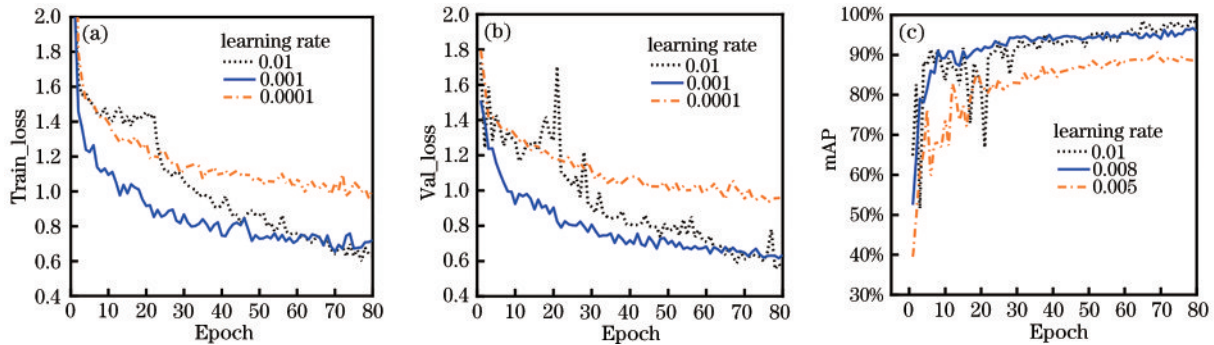


图 9 不同学习率下损失及 mAP 的比较。(a)不同学习率下的训练损失;(b)不同学习率下的验证损失;(c)不同学习率下的 mAP  
Fig. 9 Comparison of loss and mAP under different learning rates. (a) Training loss under different learning rates; (b) validation loss under different learning rates; (c) mAP under different learning rates

出,当学习率为 0.001 时,其损失曲线及 mean average precision(mAP)均比较稳定且收敛较好。

在不同学习率下,模型训练的准确率有较大差异,但其训练达到稳定的时间效率差距不大,具体如表 2

所示。抽取部分模型进行验证集准确率的对比,从不同学习率下的第 11、21、60 个模型 mAP<sup>11</sup>、mAP<sup>21</sup>、mAP<sup>60</sup> 的值可以明显看出,当选取合适的学习率时,收敛速度较快且训练网络稳定。

表 2 不同学习率下的时间效率以及部分模型 mAP

Table 2 Time efficiency and part of the model mAP under different learning rates

Learning rate	Training time /s	Frequency /((frame·s <sup>-1</sup> ))	mAP <sup>11</sup>	mAP <sup>21</sup>	mAP <sup>60</sup>
0.01	26295	0.304	0.8926	0.6681	0.9586
0.001	26134	0.306	0.9092	0.9205	0.9532
0.0001	26459	0.302	0.6727	0.8138	0.8811

当使用不同的回归函数改进掩膜边界损失时,其收敛速率均有差别。图 10 为原始网络与为掩膜增加 MSE、Sigmoid 和 Huber 三种不同损失下验证集的 mAP 变化曲线。从图中可以看出:当使用 Huber 对掩膜的边界进行回归损失时,其收敛速率最高,当其训练到第 25 次后, mAP 几乎处于稳定状态;而原始网络则需要训练到第 60 次后方能达到稳定,训练时间大约缩短为原始网络的 1/2,换言之,效率提高了 50%。

### 4.3 细胞图像分割结果

图 11 为 Mask R-CNN++ 模型在学习率为 0.001 时的损失曲线,从第 35 个 epoch 后,模型的训练损失及平均准确率均值趋于稳定,结合 mAP 曲线,最终选择第 47 个模型进行细胞的检测。

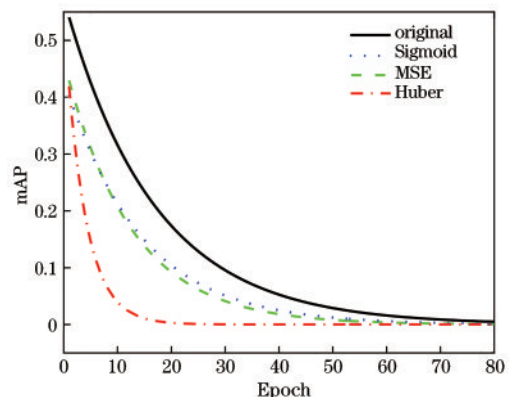


图 10 不同改进损失下 mAP 的变化曲线  
Fig. 10 mAP change curves under different improvement losses

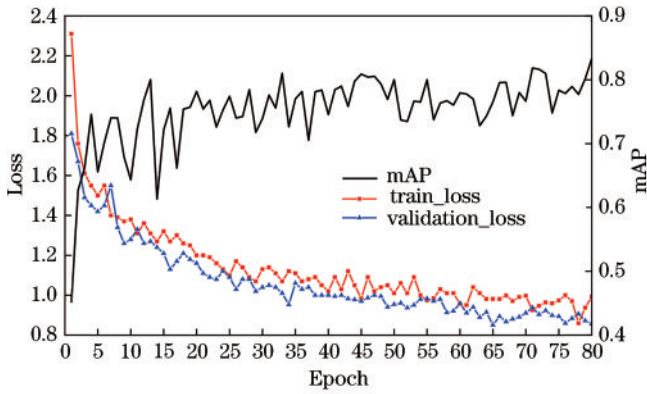


图 11 606 个训练集在学习率为 0.001 时训练模型的损失  
Fig. 11 Loss of 606 training sets when learning rate is 0.001

为了验证 Mask R-CNN++ 训练的模型对斑马鱼中性粒细胞分割的准确性、有效性和优越性,将其分割结果分别与基于改进的分水岭算法<sup>[26-27]</sup>、基于形态学算法、基于原始 Mask R-CNN 及 U-Net<sup>[15,28]</sup> 的分割结果进行了对比,结果如图 12 所示。由于该细胞投影图所含细胞个数较多且多个细胞交叠在一起,通过荧光强度值的细微差别很难直接利用阈值的分水岭或是形态学的边缘检测分割出来;而 U-Net 更适用于二分类,即背景和目 标,但是对于粘连在一起的目标,其无法准确地进行区分不同的个体。从图 12 可以看出,基于改进的 Mask R-CNN 的分割远优于其他算法,当多个细胞互相重叠时,分水岭算法和形态学算法很难将细胞分离,而 U-Net 为了避免错误识别会将大量目标当成背景分类。

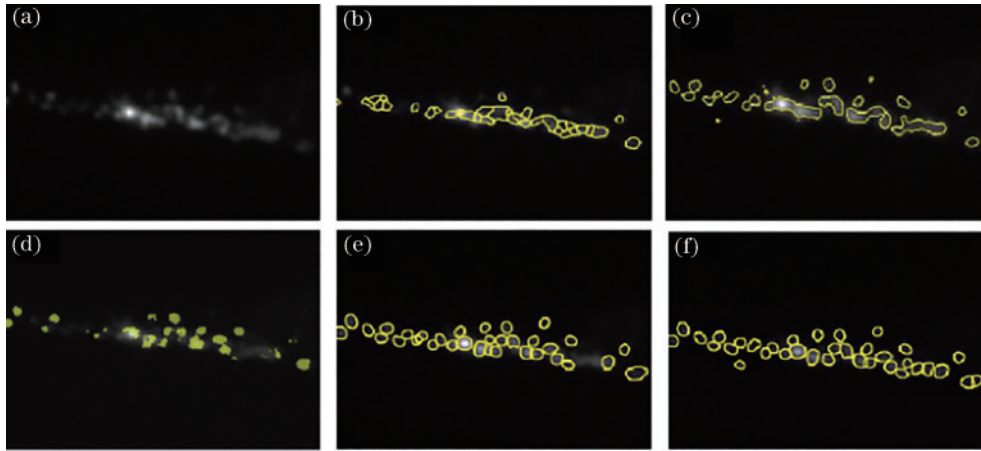


图 12 分割结果局部对比。(a) 细胞原图; (b) 基于改进的分水岭分割; (c) 形态学分割; (d) 基于 U-Net 的分割; (e) 基于 Mask R-CNN 的分割; (f) 基于改进的 Mask R-CNN 的分割

Fig. 12 Local comparison of segmentation results. (a) Original cell image; (b) watershed segmentation based on gradient transformation; (c) morphological segmentation; (d) segmentation based on U-Net; (e) segmentation based on Mask R-CNN; (f) segmentation based on Mask R-CNN++

以精准率 (precision) 和召回率 (recall) 作为评价标准,其表达式为

$$\begin{cases} R_{\text{precision}} = \frac{N_{\text{TP}}}{N_{\text{TP}} + N_{\text{FP}}} \\ R_{\text{recall}} = \frac{N_{\text{TP}}}{N_{\text{TP}} + N_{\text{TN}}} \end{cases}, \quad (4)$$

式中:  $N_{\text{TP}}$  为有效识别数;  $N_{\text{FP}}$  为错误识别数;  $N_{\text{TN}}$  为未识别数。

表 3 为不同算法对细胞分割的精准率和召回率。

表 3 不同算法对细胞分割的精准率和召回率

Table 3 Precision and recall of cell segmentation by different algorithms unit: %

Algorithm	XZ plane		YZ plane	
	Precision	Recall	Precision	Recall
Morphology <sup>[8]</sup>	71.64	56.81	84.89	71.87
Watershed <sup>[26-27]</sup>	85.28	82.73	85.24	73.31
U-Net <sup>[15]</sup>	97.76	68.29	97.61	67.20
Mask R-CNN <sup>[16]</sup>	96.25	95.90	94.08	96.30
Mask R-CNN++	98.99	96.74	97.86	98.07

从表 3 可以看出: 基于 Mask R-CNN++ 的斑马鱼细胞分割算法的精准率和稳定性均远优于形态学及分水岭; 相较于 U-Net, Mask R-CNN++ 虽然在精准率上并无明显优势, 但是其召回率高出很多, 即在同等情况下能够准确识别更多的细胞; 相较于原始 Mask R-CNN, Mask R-CNN++ 的精准率与召回率均有部分提升。最终基于改进的 Mask R-CNN 斑马鱼中性粒细胞检测算法在两个方向的平均精准率为 98.42%, 召回率为 97.41%, 将该模型运用在扩增的数据集中, 结果如图 13 所示, 验证了模型的可行性。

#### 4.4 斑马鱼尾部中性粒细胞的三维追踪结果

在利用 DeepSort 进行二维细胞追踪时, 使用 Mask R-CNN++ 检测出的边框位置信息建立模型, 通过设定距离阈值预测前后帧的同一细胞。图 14 为深度学习得到的同一方向的关联细胞在不同帧图片中的位置及编号。

在二维追踪的基础上使用优化累计距离误差最小化的算法对其进行三维的逐帧关联追踪, 202 帧图像

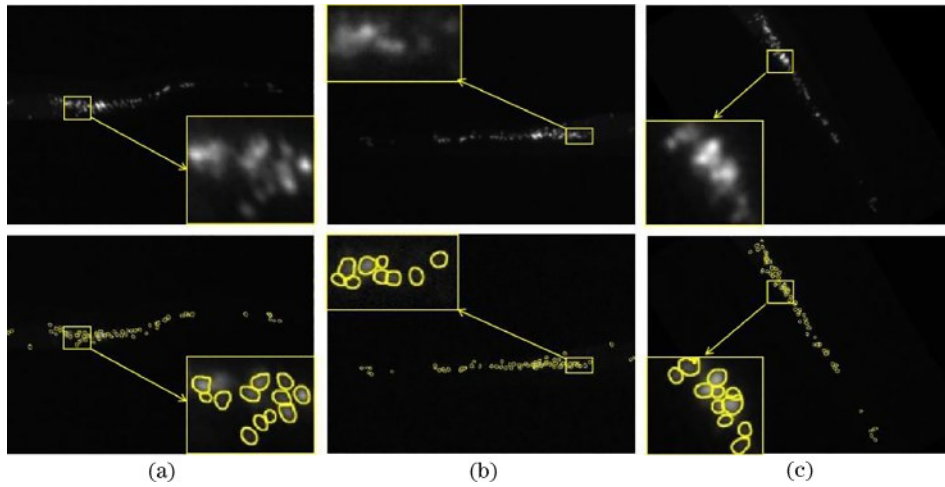


图 13 数据扩增分割效果。(a)扭曲;(b)加噪;(c)旋转

Fig. 13 Effect of segmentation in data augmentation. (a) Distortion; (b) add noise; (c) overturn

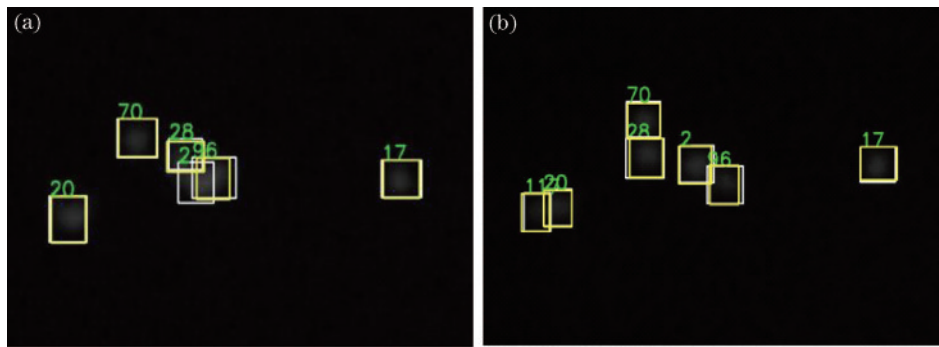


图 14 DeepSort 深度学习跟踪的结果。(a)第 20 帧图片的部分细胞;(b)第 30 帧图片的部分细胞

Fig. 14 Results of tracking by DeepSort. (a) Part of cells in 20th frame; (b) part of cells in 30th frame

在 Mask R-CNN++ 共检测出了 11012 个有效细胞,可估计斑马鱼尾部中性粒细胞数约为 54 个。将关联细胞数低于 75 个的轨迹剔除,最终重建出了 43 条细胞运动的三维轨迹,重建误差在 75% 的准确率能够达到 79.6%,并统计了每一帧细胞相对于第一帧起始位置在 Z 轴上的位移量。细胞轨迹图如图 15 所示,其中

[图 15(a)]是斑马鱼尾部中性粒细胞的三维轨迹图,[图 15(b)]是中性粒细胞的位移图。从[图 15(b)]可以看出,斑马鱼尾部中性粒细胞极大部分都沿着 Z 轴减小的位置移动,即向尾部诱导损伤部位迁移,可以得出斑马鱼尾部中性粒细胞有着向炎症部位移动的特性。

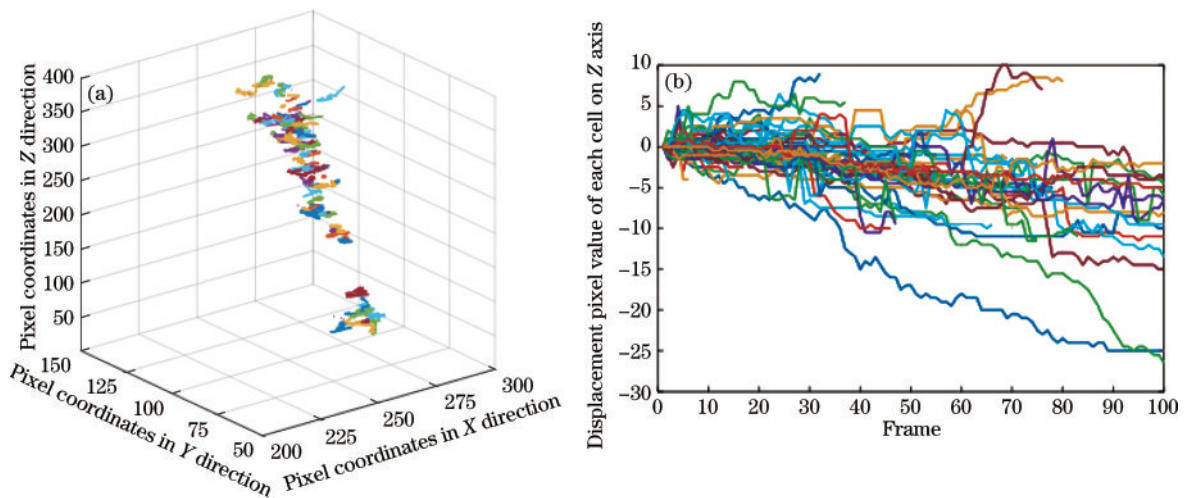


图 15 细胞轨迹图。(a)细胞的三维轨迹图;(b)细胞相对于第一帧 Z 轴的位置变化

Fig. 15 Cell trajectory (a) Three-dimensional trajectory map of cells; (b) position of cell relative to Z axis of first frame changes



## 4 结 论

基于角度复用 OPT 采集的斑马鱼中性粒细胞进行了细胞的识别以及运动轨迹的重构。所提通过增加 Huber 的边界掩膜损失函数改进 Mask R-CNN 联合基于累计距离最短改进的三维 DeepSort 的细胞识别与轨迹追踪算法, 不仅提高了卷积网络的训练速率, 而且可以对少量数据的样本进行有效的训练和测试, 并成功识别分割出重叠严重的细胞, 分割精准率达到 98.42%、召回率达到 97.41%, 最终在关联性为 75% 时重构了 43 条可视化归轨迹, 轨迹重构准确率为 79.6%, 保证了重建后细胞轨迹在空间和时间上的准确性与连续性。所提方法为生物医学密集目标的图像处理提供了一个借鉴方法。该方法也可以推广应用到复杂背景或密集微观生物识别上的研究, 为光学显微系统下采集的其他介观乃至微观组织或细胞的识别分类以及迁移轨迹的探测提供了方案, 该方法可实现二维平面到三维空间的转变, 这对于癌症转移的研究和炎症反应中白细胞向组织损伤部位的迁移至关重要。

### 参 考 文 献

- [1] Outtandy P, Russell C, Kleta R, et al. Zebrafish as a model for kidney function and disease[J]. *Pediatric Nephrology*, 2019, 34(5): 751-762.
- [2] 朱雨, 杨光, 李思崑, 等. 斑马鱼肌肉结构的定量偏振成像[J]. *光学学报*, 2019, 39(8): 0811001.  
Zhu Y, Yang G, Li S M, et al. Quantitative polarization imaging of zebrafish muscle structures[J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(8): 0811001.
- [3] Mikula K, Špir R, Smíšek M, et al. Nonlinear PDE based numerical methods for cell tracking in zebrafish embryogenesis[J]. *Applied Numerical Mathematics*, 2015, 95: 250-266.
- [4] Henry K M, Pase L K, Ramos-Lopez C F, et al. PhagoSight: an open-source MATLAB® package for the analysis of fluorescent neutrophil and macrophage migration in a zebrafish model[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72636.
- [5] Liu K, Qiao H, Wu J M, et al. Fast 3D cell tracking with wide-field fluorescence microscopy through deep learning[EB/OL]. (2018-05-14) [2021-05-06]. <https://arxiv.org/abs/1805.05139>.
- [6] 刘晓悦, 王云明. 基于 HOG-SVM 的改进跟踪-学习-检测算法的目标跟踪方法[J]. *科学技术与工程*, 2019, 19(27): 266-271.  
Liu X Y, Wang Y M. Improved tracking-learning-detection target tracking method based on HOG-SVM[J]. *Science Technology and Engineering*, 2019, 19(27): 266-271.
- [7] 李景文, 陈文达, 姜建武. 一种改进 Mask R-CNN 的运动目标定位方法[J]. *科学技术与工程*, 2020, 20(31): 12916-12921.  
Li J W, Chen W D, Jiang J W. An improved moving target localization method for mask R-CNN[J]. *Science Technology and Engineering*, 2020, 20(31): 12916-12921.
- [8] 张加朋, 于凤芹. 基于 Canny 算子改进型的影像测量边缘检测[J]. *激光与光电子学进展*, 2020, 57(24): 241024.  
Zhang J P, Yu F Q. Improved image measurement edge detection based on Canny operator[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(24): 241024.
- [9] Ai L, Gao X L. Topology optimization of 2-D mechanical metamaterials using a parametric level set method combined with a meshfree algorithm[J]. *Composite Structures*, 2019, 229: 111318.
- [10] Chen T W, Chen Y L, Chien S Y. Fast image segmentation based on K-Means clustering with histograms in HSV color space[C]//2008 IEEE 10th Workshop on Multimedia Signal Processing, October 8-10, 2008, Cairns, Queensland. New York: IEEE Press, 2008: 322-325.
- [11] Chen C, Liu M Y, Tuzel O, et al. R-CNN for small object detection[M]//Lai S H, Lepetit V, Nishino K, et al. *Computer Vision-ACCV 2016. Lecture notes in computer science*. Cham: Springer, 2016, 10115: 214-230.
- [12] Ren S Q, He K M, Girshick R, et al. Faster R-CNN: towards real-time object detection with region proposal networks[J]. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2017, 39(6): 1137-1149.
- [13] Lu J Y, Wang Y Z, Zhu Y Q, et al. P\_SegNet and NP\_SegNet: new neural network architectures for cloud recognition of remote sensing images[J]. *IEEE Access*, 2019, 7: 87323-87333.
- [14] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-net: convolutional networks for biomedical image segmentation[M]//Navab N, Hornegger J, Wells W M, et al. *Medical image computing and computer-assisted intervention-MICCAI 2015. Lecture notes in computer science*. Cham: Springer, 2015, 9351: 234-241.
- [15] 李大湘, 张振. 基于改进 U-Net 视网膜血管图像分割算法[J]. *光学学报*, 2020, 40(10): 1010001.  
Li D X, Zhang Z. Improved U-net segmentation algorithm for the retinal blood vessel images[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(10): 1010001.
- [16] He K M, Gkioxari G, Dollár P, et al. Mask R-CNN [C]//2017 IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV), October 22-29, 2017, Venice, Italy. New York: IEEE Press, 2017: 2980-2988.
- [17] He K M, Gkioxari G, Dollár P, et al. Mask R-CNN[J]. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2020, 42(2): 386-397.
- [18] 孙跃军, 屈赵燕, 李毅红. 基于改进的 Mask R-CNN 的乳腺肿瘤目标检测研究[J]. *光学学报*, 2021, 41(2): 0212004.  
Sun Y J, Qu Z Y, Li Y H. Study on target detection of breast tumor based on improved mask R-CNN[J]. *Acta Optica Sinica*, 2021, 41(2): 0212004.
- [19] Chiao J Y, Chen K Y, Liao K Y K, et al. Detection and classification the breast tumors using mask R-CNN on sonograms[J]. *Medicine*, 2019, 98(19): e15200.

- [20] Liu M L, Dong J Y, Dong X H, et al. Segmentation of lung nodule in CT images based on mask R-CNN[C]//2018 9th International Conference on Awareness Science and Technology (iCAST), September 19-21, 2018, Fukuoka, Japan. New York: IEEE Press, 2018: 95-100.
- [21] Bewley A, Ge Z Y, Ott L, et al. Simple online and realtime tracking[C]//2016 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP), September 25-28, 2016, Phoenix, AZ, USA. New York: IEEE Press, 2016: 3464-3468.
- [22] 李大军, 何维龙, 郭丙轩, 等. 基于Mask-RCNN的建筑物目标检测算法[J]. 测绘科学, 2019, 44(10): 172-180.  
Li D J, He W L, Guo B X, et al. Building target detection algorithm based on Mask-RCNN[J]. Science of Surveying and Mapping, 2019, 44(10): 172-180.
- [23] Sun X D, Wu P C, Hoi S C H. Face detection using deep learning: an improved faster RCNN approach[J]. Neurocomputing, 2018, 299: 42-50.
- [24] Smith L N. Cyclical learning rates for training neural networks[C]//2017 IEEE Winter Conference on Applications of Computer Vision (WACV), March 24-31, 2017, Santa Rosa, CA, USA. New York: IEEE Press, 2017: 464-472.
- [25] Goyal P, Dollár P, Girshick R, et al. Accurate, large minibatch SGD: training ImageNet in 1 hour[EB/OL]. (2017-06-08)[2021-05-08]. <https://arxiv.org/abs/1706.02677>.
- [26] 刘聪, 董文飞, 蒋克明, 等. 基于改进分水岭分割算法的致密荧光微滴识别[J]. 中国光学, 2019, 12(4): 783-790.  
Liu C, Dong W F, Jiang K M, et al. Recognition of dense fluorescent droplets using an improved watershed segmentation algorithm[J]. Chinese Optics, 2019, 12(4): 783-790.
- [27] 缪慧司, 梁光明, 刘任任, 等. 结合距离变换与边缘梯度的分水岭血细胞分割[J]. 中国图象图形学报, 2016, 21(2): 192-198.  
Miao H S, Liang G M, Liu R R, et al. Watershed algorithm using edge gradient combined with distance transformation for segmentation of blood cells[J]. Journal of Image and Graphics, 2016, 21(2): 192-198.
- [28] 薛文渲, 刘建霞, 刘然, 等. 改进U型网络的眼底视网膜血管分割方法[J]. 光学学报, 2020, 40(12): 1210001.  
Xue W X, Liu J X, Liu R, et al. An improved method for retinal vascular segmentation in U-net[J]. Acta Optica Sinica, 2020, 40(12): 1210001.