

Fourier Ptychographic Microscopy 영상에서의 딥러닝 기반 디지털 염색 방법 연구

황석민¹, 김동범², 김유정², 김여린², 허진철^{2,3}, 박은빈^{2,3}, 이종하^{2*}

계명대학교 의과대학 의학과 의용공학전공¹

계명대학교 의과대학 의용공학과²

(주) 인셉션랩³

Deep Learning Based Digital Staining Method in Fourier Ptychographic Microscopy Image

SeokMin Kim¹, Dongbum Kim², YuJeong Kim², YeoRin Kim², JinCheol Heo^{2,3}, EunBin Park^{2,3}, and JongHa Lee^{2*}

Dept. of Biomedical Engineering, School of Medicine, Keimyung University^{1,2}

Inceptionlab Inc.³

*segeberg@kmu.ac.kr

Abstract

In this study, cell images are got through digital staining in cells that do not have Hematoxylin and Eosin staining (H&E staining). H&E staining cells and non-staining cells are used. Mat data is extracted through Fourier ptychographic microscopy (FPM) to get Phase image and Amplitude image. Convert from Phase image to Amplitude image using Generative Adversarial Network (GAN) model. Then, cells are accurately classified through MASK R-CNN. A total of 100 images and 100 epochs were used in the GAN model, while MASK R-CNN used a total of 435 images, 20,000 labels, and 150 epochs. Eventually, we made an amplitude image similar to the actual amplitude image. The loss value of GAN was 1.2e-1, and the loss value of MASK R-CNN was 3.2e-1, and it was confirmed that it was similar.

1. 연구 배경

디지털 병리학에서 최근에는 딥러닝을 활용한 기술들이 대두가 되고 있다. 헤마톨실린과 에오신 염색(H&E 염색)이 된 세포에서 딥러닝을 활용한 기술이 많으며 특히 CNN (Convolutional Neural Networks)을 사용한 방법들이 많이 제안되고 있다. 딥러닝을 활용한 기술들은 영상 분할과 영상 특징 검출, 의사 결정 단계에 도달하기까지 넓은 방면으로 영향을 미치고 있다 [1]. 활용되는 많은 기술들 중에는 H&E 염색된 세포를 활용한 기술이 많지만 H&E 염색 자체에는 관심을 두고 있지 않다. H&E 염색은 세포를 식별하기 위해서는 꼭 필요한 염색이다. 왜냐하면 일반적으로 세포 염색을 하지 않고는 육안으로 세포를 식별하기 어렵기 때문이다 [2]. 세포 염색은 다른 조직 구성 요소 사이의 색의 차이로 구분을 쉽게 한다. 색의 차이로 인해 조직에 대비와 색상을 볼 수 있다 [3]. 그러나 H&E stain은 여러 단계의 방법을 거쳐야 되어 분석 과정이 복잡하고 시간이 오래 걸리고 염색의 색이 빠져 영구적이지 못하다. 그래서 본 연구는 세포 염색을 하지 않고 세포를 식별하는 방법을 연구한다 [4],[5]. 기존의 광학현미경은 위상차를 명암 차이로 변화시켜 세포를 관찰하기 때문에 세포 염색이 되지 않은 세포는 관찰하기 어렵다 [6]. 하지만 푸리에 타이코그래픽 현미경(FPM)은 간접적 측정이 필요하지 않은 푸리에 공간의 샘플 강도 영상만 획득하고 Image data를 얻을 수 있다. 매개 변수를 다른 값으로 조정하면 원하는 값으로 재구성할 수 있다. 본 연구는 푸리에 타이코그래픽 현미경을 사용해 얻은 Image data를 재구성하여 Phase image와 Amplitude image를 획득하고 이를 생산적 적대 신경망(GAN)을 이용해 Phase image로부터 Fake Amplitude image를 획득한다. 그리고 MASK R-CNN을 이용해 구분화를 한다.

2. 연구 방법

먼저 H&E 염색으로 염색이 된 세포를 FPM으로 서로 다른

입사 각도에서 비취 모델링을 통해 변환한다. 그 결과 Image data 551개를 얻을 수 있다. Matlab을 이용해 매개변수를 Angle 함수로 변환하면 Phase image를 얻을 수 있고 Abs 함수로 변환하면 Amplitude image를 얻을 수 있다. 그리고 정규화를 통해 영상처리를 하면 육안으로 식별이 가능한 이미지가 나온다.

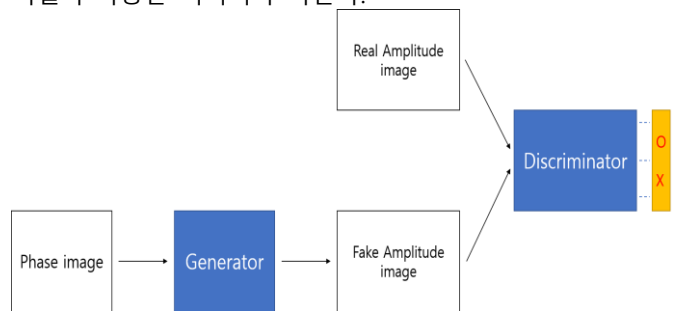


그림 1. GAN diagram

다음으로 GAN 모델에서 Discriminator는 진짜 amplitude image를 찾기 위해서 실제 이미지에 대한 구별에 대한 능력을 학습한다. Generator는 phase image로 fake amplitude image를 만든다. 이 과정을 반복하여 결과를 추출한다. 추출한 이미지를 MASK R-CNN으로 구분화를 시키기 위해 CVAT (Computer Vision Annotation Tool) 시스템 환경에서 Amplitude image를 이용해 영역 라벨링을 표시했으며 Anconada3를 이용해 가상환경을 만들었다. 가상환경 안에서 반복학습을 통해 MASK R-CNN 모듈을 만들었다.

3. 연구 결과

FPM으로 획득하고 정규화를 통해 변환한 Phase image, Amplitude image를 이용했다. 해당 이미지를 GAN 모델에 입력 이미지로 사용하고 Phase image, Amplitude image

각각 50개 이미지, 총 100개의 이미지와 Epoch는 100번으로 반복 학습을 시켰다. 위의 결과를 GAN 알고리즘의 판별망과 생성망, AVD 모델 값과 MASK R-CNN 값의 Loss를 평가하였다.

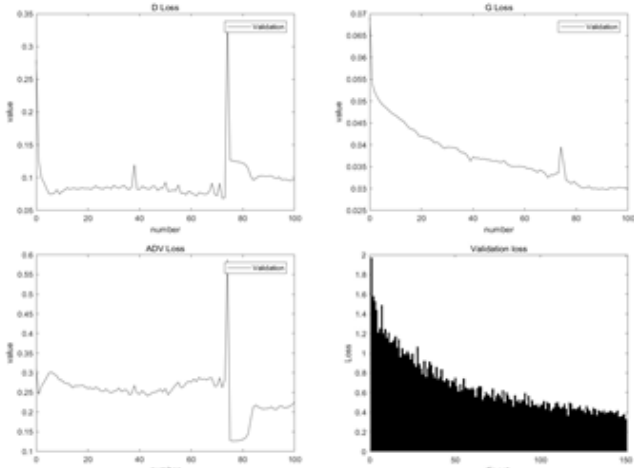


그림 2. Discriminator, Generator, AVD, MASK R_CNN Loss

Discriminator Loss는 판별망에서 영상이 만들어진 Fake Amplitude image 인지, Real Amplitude image 인지를 구별해주는 Loss이고 식으로 나타내면 밑의 식과 같다.

$$Loss_D = (Loss_{fake} + Loss_{real})/2$$

Discriminator Loss의 최댓값은 3.3e-1이고 최솟값은 6.8e-2이다.

Generator Loss는 생성망에서 실제 Real Amplitude image을 기반으로 Phase image로부터 만들어진 Fake Amplitude image와 Real Amplitude image의 Pixel 차이를 줄여주는 Loss이고 0으로 갈수록 비슷한 이미지를 생성하는 것을 알 수 있다. Generator Loss는 최댓값은 6.9e-2이고 최솟값은 2.9e-2이다.

ADV Loss는 GAN 알고리즘의 최종 결과 Loss로써 GAN 알고리즘의 생성망과 판별망의 판단자를 비교해 완성도를 나타내는 Loss이다. ADV Loss는 최댓값은 5.8e-1이고 최솟값은 1.2e-1이다.

다음으로 MASK R-CNN을 통해 세포핵과 세포질을 인식했다. 총 이미지 개수는 551장 중 사용한 이미지는 435장을 사용했고 Train image로 355장, Val image로 80장으로 Train image에서는 17,557개 라벨링을, Val image에서는 2,443개 라벨링을 만들어서 학습시켰다. Mask에서는 세포질과 세포핵 2개의 클래스 추가로 넣어 세포핵이 해당하는 값과 세포질이 해당하는 값을 분리시켜 비슷한 형태가 들어와도 잘 구분할 수 있도록 했다. Epoch는 150번으로 반복 학습을 시켰다. MASK R-CNN Loss는 최댓값은 1.9e0이고 최솟값은 3.2e-1이다.

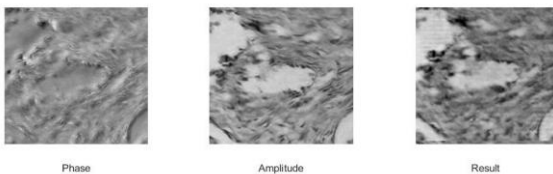


그림 3. Result of using GAN

그림 3. 에서 관찰할 수 있듯이 Epoch를 100번 한 결과 GAN 알고리즘으로부터 Phase image로 만든 Result image가 Amplitude image와 비슷하다.

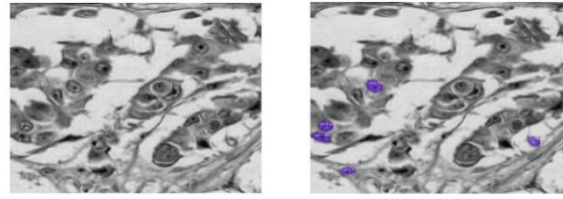


그림 4. Result of using MASK R-CNN

MASK R-CNN에서는 segmentation train을 통해 세포구별을 하고 학습되지 않은 세포 이미지를 넣으면 자동으로 세포질과 세포핵을 구분한 결과를 도출할 수 있다. 테스트 결과 정답을 표기한 라벨링과 비교했을 때 90% 이상의 세포를 detection 하였고 70%이상의 IOU 정확도를 보였다.

4. Conclusions

본 연구의 GAN 알고리즘에서는 100개의 이미지를 사용했고 지정된 부위에서의 변환에 있어서 우수한 성능을 보여줬다. 이후 다양한 부위에서 세포 이미지도 트레이닝 한다면 Amplitude image로 변환 가능하다 또한 세포 예측 뿐만 아니라 복원기술에도 활용가능한데 복원하기 전 데이터와 복원 후에 데이터를 트레이닝 한다면 역으로도 예측 가능하다.

MASK R-CNN에서는 20,000개의 라벨링을 했지만 사람이 한 라벨링과 비교했을 때에는 몇 개밖에 라벨링이 되지 않고 Loss또한 3.2e-1로 낮지 않은 값을 나타냈다. 그래서 20,000개의 라벨링을 더 한다면 사람이 한 라벨링과 비슷해질 것으로 보이며 Loss또한 1e-2 안으로 떨어질 것으로 예상된다.

5. Acknowledgements

이 연구는 보건복지부의 재원으로 디지털 병리 기반의 암 전문 AI 분석 솔루션 개발 사업의 지원을 받아 수행된 연구임(과제고유번호: HI21C0977).

6.참고 문헌

- [1] J. T. Gwak. "Digital Pathology Technology Status and Development Direction." *Electronic Engineering Society*, Vol 44, No.2, p36-41, 2017.
- [2] F. Yi, et al. "Automatic extraction of cell nuclei from H&E-stained histopathological images." *Journal of Medical Imaging*, Vol 4, No.2, p1-12, 2017.
- [3] P. N. Marshall, R. W. Horobin. "The oxidation products of Haematoxylin and their role in biological staining," *The Histochemical Journal*, Vol.4, p493-503, 1972.
- [4] G. Clark. "Comparison of various oxidants for alum hematoxylin", *Biotechnic and Histochemistry*, Vol 49, No.4, p225-227, 1974.
- [5] F. Zernike. "Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects." *Physica*, Vol 9, No.7, p686-698, 1942.
- [6] G. Zheng, R. Horstmeyer, C. Yang. "Wide-field, high-resolution Fourier ptychographic microscopy." *Nature Photonics*, Vol 7, p739-745, 2013.