



生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
ISSN 1000-3282, CN 11-2161/Q

《生物化学与生物物理进展》网络首发论文

题目: 基于正则化 U-net 分割模型的脑胶质瘤精准密度估计方法
作者: 夏瑞晨, 叶臣, 赵来定, 刘凯, 潘敏鸿, 姚佳烽
收稿日期: 2025-05-01
网络首发日期: 2025-09-11
引用格式: 夏瑞晨, 叶臣, 赵来定, 刘凯, 潘敏鸿, 姚佳烽. 基于正则化 U-net 分割模型的脑胶质瘤精准密度估计方法[J/OL]. 生物化学与生物物理进展.
<https://link.cnki.net/urlid/11.2161.Q.20250911.1008.002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

http://www.pibb.ac.cn/pibbcn/article/abstract/20250201?st=recent_adopted



生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics

基于正则化 U-net 分割模型的脑胶质瘤精准 密度估计方法*

夏瑞晨¹ 叶臣^{2**} 赵来定² 刘凯¹ 潘敏鸿^{3**} 姚佳烽⁴

(¹南京航空航天大学机电学院, 南京 210016; ²南京邮电大学通信与信息工程学院, 南京 210000; ³南京医科大学第一附属医院病理科, 南京 210029; ⁴暨南大学物理与光电工程学院, 广州 510632)

摘要 目的 在基于病理切片的脑胶质瘤临床诊断中, 细胞核密度估计是最关键的任务之一。脑胶质瘤密度估计通常高度依赖细胞核的分割效果, 而细胞核的形态多样性与染色差异性易导致语义分割模型的过拟合, 最终带来密度估计误差而影响临床决策。鉴于此, 本研究提出 U-net+DropBlock 分割模型驱动细胞核密度估计方法, 通过提升模型的泛化性以降低过拟合风险, 获得精确的细胞核密度估计。**方法** 首先, 对脑胶质瘤的全切片图像 (whole slice image, WSI) 进行预处理, 包括数据清洗、数据增强、颜色正则化、金标准确立等。其次, 利用脑胶质瘤全切片的补丁图像, 构建引入 DropBlock 正则化模块的 U-net 领域分割模型, 称为 U-net+DropBlock 模型。特别是, DropBlock 模块通过随机丢弃特征图中的区域信息, 能够削弱特征间的过度空间相关性, 以降低分割模型的过拟合风险。最后, 对各补丁图像中的细胞核分割结果进行密度计算与可视化, 以形成全切片范围的密度热力图。**结果** 与最先进的细胞核领域分割模型相比, 采用的 U-net+DropBlock 模型可获得更优的分割性能, 确保提出的密度估计方法的准确性。**结论** 提出的全域化细胞核密度估计方法, 可助力脑胶质瘤临床诊疗的精准化和高效化发展。

关键词 脑胶质瘤, 细胞核分割, 细胞核密度估计, U-net 语义分割, DropBlock 正则化

中图分类号 R730.4

* 国家自然科学基金 (62471225), 济纶医工智能科技 (南京) 有限公司基金 (2024 外 298), 南京邮电大学引进人才科研启动基金 (自然科学) (NY223134) 和江苏省高水平医院结对帮扶建设专项 (JDBFSQ202512) 资助。

**通讯联系人。叶臣, E-mail: yechen@njupt.edu.cn 潘敏鸿, E-mail: panminhong@jsph.org.cn

收稿日期: 2025-05-01, 接受日期: 2025-08-18

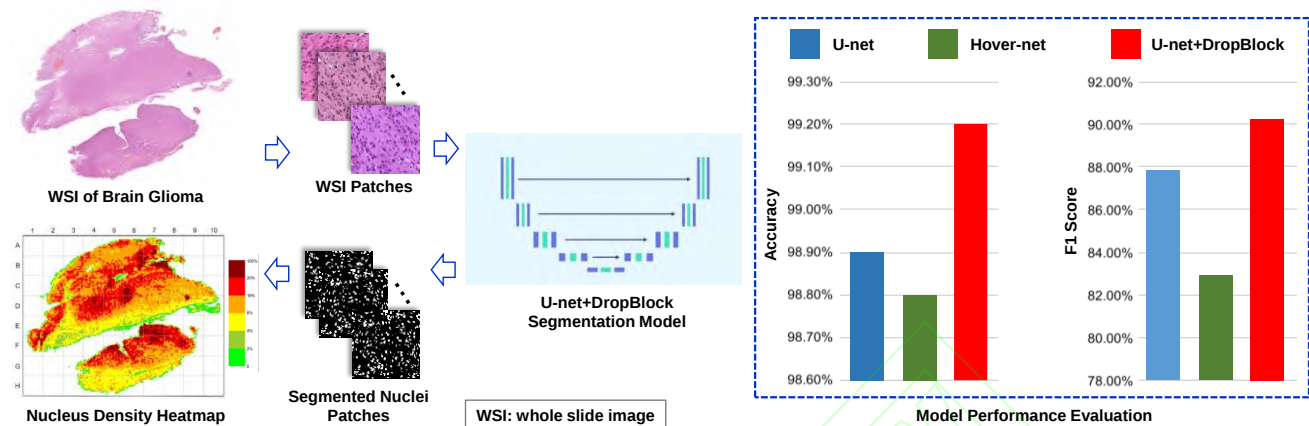
An Accurate Density Estimation Method of Brain Glioma Based on Regularized U-net Segmentation Model *

XIA Rui-Chen¹ YE Chen^{2**} ZHAO Lai-Ding² LIU Kai¹ PAN Min-Hong^{3**}
YAO Jia-Feng⁴

(¹ College of Mechanical and Electrical Engineering, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, China; ² School of Communications and Information Engineering, Nanjing University of Posts and Telecommunications, Nanjing 210000, China; ³ Department of Pathology, The

First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; ⁴ College of Physics and Optoelectronic Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Graphical abstract



Abstract Objective In the clinical diagnosis and grading of brain glioma from histopathological slides, whole-slide cell nucleus density estimation is a critical task. This metric is a key biomarker directly correlated with tumor malignancy, proliferative activity, and patient prognosis, as defined by the World Health Organization (WHO) classification system. Glioma density estimation typically relies heavily on the performance of underlying nucleus segmentation. However, segmentation accuracy is challenged by substantial heterogeneity in nucleus morphology and significant staining variations both across slides and within individual specimens. This variability often causes standard semantic segmentation models to overfit the training data, leading to considerable errors in density estimation. Such inaccuracies can compromise downstream pathological assessments, particularly the subjective and time-consuming manual selection of regions of interest (RoIs) for grading. To address these limitations, this study aims to develop a precise and robust whole-slide nucleus density estimation method that enhances model generalization and mitigates overfitting, thereby providing an objective, automated tool for glioma analysis. **Methods** We propose a systematic three-stage pipeline. (1)Preprocessing: Whole-slide images (WSIs) of glioma undergo comprehensive preprocessing, including automated data cleaning to discard blurry or artifact-contaminated patches, data augmentation through geometric transformations (e.g., rotation, flipping) to increase dataset diversity, and color normalization. The latter, based on RGB channel ratios, remaps the color space of all patches to a standardized target, reducing domain shifts caused by staining inconsistencies and improving model robustness. A rigorous semi-automated ground-truth annotation protocol is also implemented, where initial binarization assists annotators in accurately labeling even faint or blurry nuclei, ensuring high-quality training data. (2)Segmentation: Using the preprocessed patches, we construct a U-net-based segmentation model that incorporates the DropBlock regularization module—here termed U-net+DropBlock. Unlike standard Dropout, which removes individual neurons, DropBlock eliminates contiguous, spatially correlated regions within feature maps. This structural regularization disrupts undesirable spatial dependencies, forcing the network to learn a more distributed and robust feature representation, thereby reducing overfitting. (3)Quantitative Analysis: For each segmented patch, density is computed as the ratio of the total nucleus area to the total patch area—a more robust approach than simple nucleus counting, as it accounts for variations in nucleus size. Patch-wise density values are then assembled into a whole-slide density heatmap, offering an intuitive, global overview of tumor cellularity. **Results:** The U-net+DropBlock model was evaluated both quantitatively and qualitatively against state-of-the-art nucleus segmentation methods, including standard U-net and Hover-net. Quantitatively, our model achieved an F1-score of 90.1%, outperforming U-net and Hover-net, which both scored 87.6%. Qualitative analysis confirmed that our method effectively balances precision and recall, substantially reducing the over-segmentation artifacts common with U-net and the under-segmentation issues observed with Hover-net. This enhanced segmentation quality directly improved the accuracy and reliability of the proposed density estimation approach. **Conclusion:** The proposed whole-slide nucleus density estimation method provides a powerful tool for improving the precision and efficiency of glioma diagnosis. By enabling automated, rapid, and objective analysis of cellular density, it overcomes key limitations of manual pathological review. The generated heatmaps allow pathologists to rapidly identify high-density “hotspots” critical for accurate grading and prognostic evaluation, supporting a more standardized and reproducible RoI selection process. This work lays a solid foundation for developing advanced AI-assisted diagnostic systems, paving the way for more precise, efficient, and reproducible glioma assessments in clinical practice.

Key words: brain glioma, nucleus segmentation, nucleus density estimation, U-net semantic segmentation, DropBlock regularization

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (62471225), Foundation of Jilun Medical Intelligent Technology (Nanjing) Co., Ltd. (2024-298), Nanjing University of Posts and Telecommunications Introduced Talent Research Start-up Fund (Natural Sciences) (NY223134), and Jiangsu High-level Hospital Pairing Assistance Research Initiative (JDBFSQ202512).

** Corresponding author. YE Chen, E-mail: yechen@njupt.edu.cn PAN Min-Hong, E-mail: panminhong@jsph.org.cn

Received: May 1, 2025 Accepted: August 18, 2025

脑胶质瘤是中枢神经系统中最常见的原发性恶性肿瘤，起源于脑内胶质细胞，具有高侵袭性和复发性^[1]。脑胶质瘤的年发病率约为6.4万/10万，占有中枢神经系统原发恶性肿瘤的50.1%^[2]。脑胶质瘤的发病机制尚不明确，往往认为与环境改变和基因变异联系密切^[3]，临床表现因肿瘤位置和大小而异，常见症状包括头痛、癫痫发作和认知障碍等^[4]。临床诊断主要依靠影像学检查与病理学检查。影像学检查通常利用断层成像技术，以观测人体的内部结构^[5]，主要包括磁共振成像（magnetic resonance imaging, MRI）和计算机断层扫描（computed tomography, CT）^[6]。病理学检查通过获取活体组织，用于进行细胞级的微观观测^[7]。相比利用MRI、CT等依赖肿瘤宏观形态学的影像学检测，病理学则通过细胞与分子层面的显微分析，在肿瘤尚未形成可见的病灶影像时，即可实现早期观测，可能先于影像学检测判断肿瘤的产生^[8]。

脑胶质瘤的细胞核密度是疾病解析和病理分级的关键指标之一^[9]。根据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）最新发布的中枢神经系统肿瘤分类标准，细胞核的密度、异型性与肿瘤的恶性程度密切相关^[10]。脑胶质瘤的细胞核在某区域的密度越高，通常表明其细胞增殖越活跃，且恶性程度也越高。并且，借助细胞核的密度信息，可以更准确地将脑胶质瘤分为低/高级别^[11]，从而为临床提供更可靠的病理诊断依据。此外，细胞核密度估计可与其他病理特征相结合，例如细胞多形性、坏死和微血管增生等，进一步提高诊断的准确性^[12]。另一方面，细胞核密度与脑胶质瘤的预后密切相关，具体而言，细胞核的高密度通常与肿瘤的快速增殖和侵袭性相关，预示着较差的预后。因此，通过估计细胞核密度，可以更准确地预测脑胶质瘤患者的生存期，为临床治疗方案的制定提供重要参考。

组织病理学检查广泛应用于临床解析和诊断，已成为脑胶质瘤诊断的主要工具。然而，病理切片的解析仍依赖医生经验，存在几个明显的局限性：a. 人工解析需要花费大量时间，导致术中难以及时反馈结果；b. 具有一定的主观性，不同医生的解析结论可能存在不一致；c. 长时间的病理解析会导致医生的疲劳，可能导致疾病误诊。

在使用病理学图像的细胞密度估计、肿瘤细胞分级等典型任务中，细胞分割通常作为关键的数据预处理环节，且各任务中利用的细胞分割手法具有较强的通用性，很少出现专用性区分。

一方面，细胞密度估计任务通常由细胞分割、密度计算两个主要部分构成，并且，密度估计的效果高度依赖细胞分割的准确性。相应地，基于传统机器学习与深度学习，众多的细胞分割技术快速发展。传统机器学习需要先人工设计特征，如细胞的形状和纹理等，再将选定特征输入分类器，如支持向量机（support vector machine, SVM）^[13]和随机森林（random forest, RF）^[14]等，以分类目标像素，最终实现细胞分割。然而，基于传统机器学习的分割方法利用图像空间信息的能力有限，通常难以获得具有高性能的细胞分割。近年，随着人工智能（artificial intelligence, AI）技术的快速发展，许多利用深度学习框架的肿瘤细胞自动解析方法被提出^[15]，特别是，针对脑胶质瘤的细胞核分割与肿瘤分级方法。针对光学显微镜成像下的活组织切片图像，贾策等^[16]采用标准U-net模型^[17]分割细胞领域。然而，在细胞呈较复杂形态的情况下，采用的标准U-net分割模型易产生过拟合，难以准确地抽出细胞。相似地，Hiratsuka等通过标准U-net模型^[17]进行宫颈癌细胞分割，并用热力图呈现细胞密度^[18]。然而，该研究未考虑标准U-net分割模型可能带来的过拟合风险，且无法直接应用于针对脑胶质瘤的细胞分割。Schmidt等^[19]提出了StarDist网络并设计了独特的细胞分割方法，其假设大多数细胞呈“星凸多边形”，网络模型不直接分割像素，而是预测各像素为细胞中心的概率值，并从假定的中心点向外预测一组呈固定角度的射线长度，共同勾画细胞轮廓。然而，“星凸多边形”假设导致具有凹陷、细长或复杂拓扑结构的细胞轮廓勾画困难，难以应对纤维细胞和形态异常的癌细胞。韩继能等^[20]在研究中利用Hover-net网络^[21]对脑胶质瘤进行细胞核分割，再通过计算细胞核个数以估计胶质瘤密度，最终对感兴趣区（region of interest, ROI）进行病理解析。然而，含残差模块的Hover-net模型同样存在过拟合风险，往往造成细胞核的欠分割。简言之，深度学习驱动的传统肿瘤细胞分割手法易造成过拟合或欠拟合，缺乏足

够的泛化能力。此外，对细胞密度计算的两种典型方式，即简易的细胞数量占比^[20]和本研究采用的细胞核面积占比，第 5.4 节将进行对比性讨论。

另一方面，在针对脑胶质瘤等肿瘤细胞的分级任务中，通常也需要可靠的细胞分割手法。Mousavi 等^[22]首先对手动选定的 ROI 进行细胞核分割，再利用空间域分析的一系列图像处理算法解析细胞核分割结果，以识别坏死或微血管增生的区域，可作为脑胶质瘤级别的判定依据。然而，Mousavi 分级法根据科研者的主观判定以选定 ROI，缺乏客观的选定准则。Pei 等^[23]通过过度分割技术，即将图像中的各像素尽可能准确地分配到所属类别或簇中，并自然地形成划分的区域，选定其中的高密度细胞核区域以作为 ROI，用于肿瘤分级。然而，过度分割技术通常无法严密地抽出细胞核，可能导致选定的高密度区域不理想，并且，仅关注 ROI 为代表的局部区域，忽视其它区域。Barker 等^[24]根据脑肿瘤的形状、纹理与颜色对补丁图像进行特征降维和聚类分组，并在每组中选取一个代表性补丁作为 ROI，用于肿瘤分级。然而，Barker 分级法也仅关注 ROI 为代表的局部区域，缺乏对全切片图像（whole slice image, WSI）的全范围解析。简言之，传统的肿瘤分级方法的效果非常依赖细胞分割，但是，这些方法未进行或缺少充分的分割性能评估，且缺乏对 WSI 的全范围解析。

本研究将 DropBlock 正则化^[25]引入标准 U-net 分割网络^[19]，而生成具有高泛化性的 U-net+DropBlock 分割模型，用于脑胶质瘤的密度估计。首先，对脑胶质瘤 WSI 进行预处理，包括舍弃过度模糊的图像，通过翻转和旋转等操作实现数据增强，利用颜色归一化以缓解图像褪色，细胞核领域的金标准确立。其次，将 WSI 的补丁图像作为网络输入，通过在 U-net 架构中引入 DropBlock 正则化模块，构建 U-net+DropBlock 网络。U-net+DropBlock 网络通过随机丢弃区域性特征，以打破空间相关性，提升模型泛化能力。最后，计算补丁图像中细胞核领域所占的面积密度，并使用密度热力图进行可视化，以增强临床的实用性。

本研究的三个主要贡献如下：

- 提出的脑胶质瘤密度估计方法，首次使用正则化 U-net 分割模型，即 U-net+DropBlock，实现对 WSI 中呈复杂形态的细胞核分割。特别是，为适应脑胶质瘤 WSI 的 RGB 色彩三通道，将标准 U-net 分割网络^[19]的单通道输入层设计调整为三通道，并对输入图像数据进行颜色归一化；
- 通过遍历估计各区域的细胞核密度，实现脑胶质瘤 WSI 的全域解析；
- 实现脑胶质瘤密度估计的自动化和可视化，对其临床诊治的效率提升帮助巨大。

1. 数据集与数据预处理

1.1 WSI 数据集

Table 1 Brain glioma image dataset

表 1 脑胶质瘤图像数据集

Parameter	Value
No. of WSIs	225
WSI dimension range	80 000×50 000—250 000×150 000
Glioma grade	Grade 1—4
Patch size	480 × 480
No. of training samples	370
No. of validation samples	45
No. of test samples	45

本研究于 2024 年 5 月 8 日获得南京医科大学第一附属医院（江苏省人民医院）伦理委员会批准（伦申号：2024-SR-363）。如表 1 所示，通过苏木精-伊红染色剂处理的脑胶质瘤 WSI 共计 225 例，根据肿瘤从低

到高不同的严重程度, 包含 1、2、3 和 4 四个级别。脑胶质瘤 WSI 的尺寸在 $80\ 000 \times 50\ 000 - 250\ 000 \times 150\ 000$ 范围, 并将其划分为 480×480 的补丁图像。对于最终获得的 407 张补丁图像, 本研究将其划分为训练集、验证集和测试集, 分别为 370、45 和 45 张。

1.2 数据预处理

首先, 数据清洗舍弃过度模糊的 WSI 或补丁图像, 并对补丁进行颜色归一化以缓解褪色影响, 以尽可能充分使用补丁样本。其次, 提出金标准准则, 用于注释染色不明显的细胞核, 并将归一化后的补丁图像进行旋转、翻转等数据增强处理。

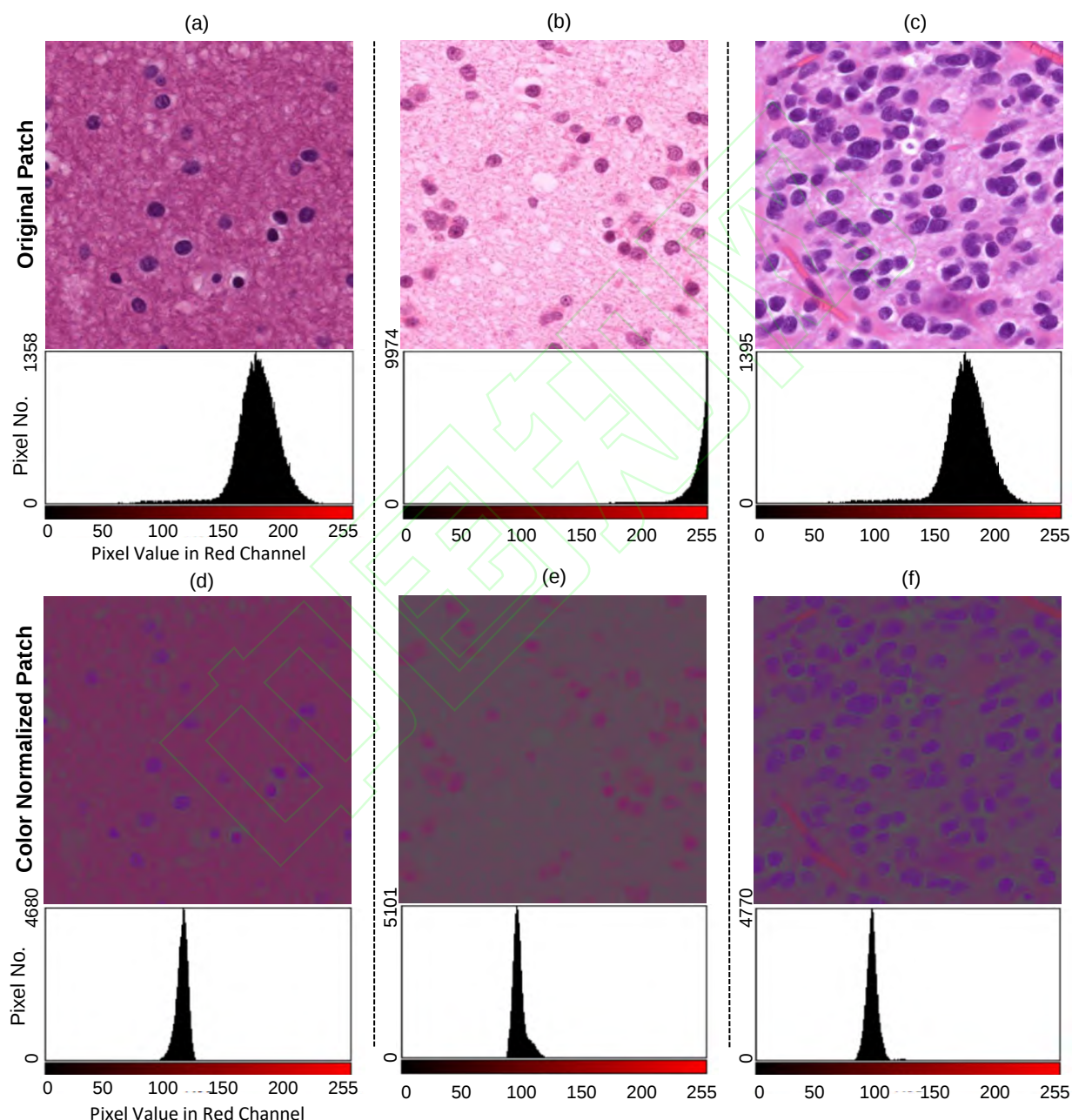


Fig.1 Examples of Color Normalization

图 1 颜色归一化示例

Note: (a–c) show original patches with varying staining degrees and their corresponding histograms of pixel value in the red channel. (d–f) show color normalized patches corresponding to those shown in (a), (b), and (c).

1.2.1 数据清洗与增强

对于不同染色程度的脑胶质瘤 WSI，本研究先将其划分成等尺寸的补丁图像，再移除掉受图像模糊或污渍噪声等影响的补丁，作为可用数据。为提升补丁图像的多样性，使用图像翻转、旋转等数据增强处理，助力语义分割模型的泛化性提升。

1.2.2 颜色归一化

本研究对各补丁图像进行颜色归一化，针对补丁中各像素的归一化公式为：

$$\begin{aligned} r &= \frac{R}{R+G+B}, \\ g &= \frac{G}{R+G+B}, \\ b &= \frac{B}{R+G+B}, \end{aligned} \quad (1)$$

其中， R 、 G 、 B 分别为红、绿、蓝三通道的像素值， r 、 g 、 b 为经颜色归一化后各通道的像素值，颜色归一化可缓解切片因褪色造成的像素分布改变。图 1a、1b 和 1c 分别展示三个染色程度不同的原补丁图像与像素直方图（histogram），它们的颜色归一化结果分辨展示于图 1d、1e 和 1f。由图 1 中各补丁对应的直方图可以看出，原补丁由于苏木精-伊红染色细胞核的褪色程度的不同，在红色通道上，像素特征分布差异较大。经过颜色归一化处理后，像素值分布主要集中于[80, 140]内范围。也就是，颜色归一化可使不同染色程度的补丁趋近同等程度的染色效果。特别是，对于像图 1b 所示的染色较差的补丁，经颜色归一化后，在红色通道的像素值（图 1e）分布趋同于其它补丁的归一化结果（图 1d, f）。通过颜色归一化处理，绿色和蓝色通道的像素值分布发生了与红色通道相似的像素值分布变化。

1.2.3 金标准确立

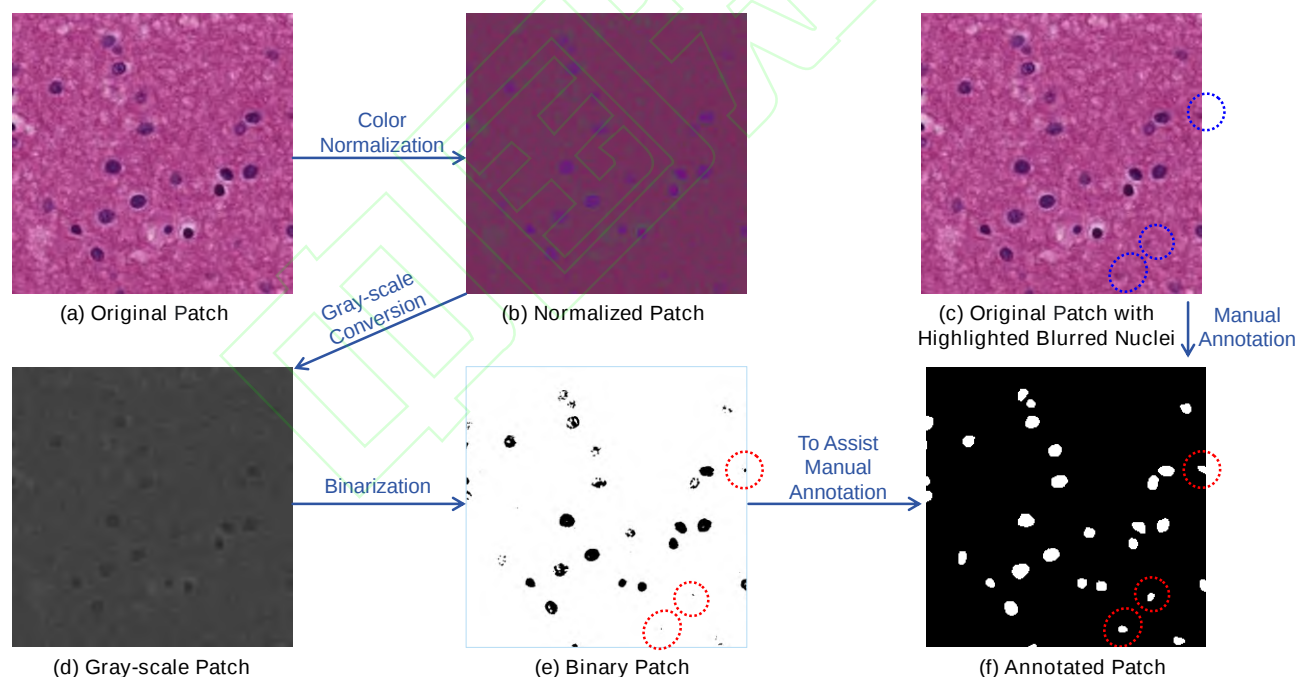


Fig.2 Procedure of annotated patch creation based on ground-truth criterion

图 2 基于金标准建立的手动注释流程

Note: Blue dashed circles present blurred nuclei in the original patch (f), and the corresponding locations in binary and annotated patches are respectively highlighted by red dashed circles in (d) and (e).

在病理切片中，细胞核的染色程度往往不同，具有多种成因：a. 由于组织固定不及时或固定液渗透不足，会导致细胞核内染色质结构改变，影响苏木精染色的结合程度，出现深浅差异^[26]；b. 苏木精染色时间过长或分化过度/不足，均会导致染色的深浅差异^[27]；c. 不同细胞所处的周期阶段不同，核内染色质的致密

程度存在差异, 染色亲和力不同也会出现染色差异^[28]; d. 不同批次染色的切片及保存时间长短, 会导致细胞核染色的深浅差异。

细胞核领域的金标准依赖人工注释, 具有一定的主观性, 并且, 部分模糊的细胞核领域容易被忽略。鉴于此, 针对细胞核注释, 本方法建立一个金标准准则。首先, 对图 2a 所示的原始补丁进行颜色归一化以缓解可能的褪色, 接着对如图 2b 所示的颜色归一化后的补丁进行灰值化处理, 灰值化后的补丁如图 2d 所示。其次, 借助大量灰值化补丁的直方图以归纳灰值像素的分布规律, 并经验性地设定能够划分像素个数显著的非细胞核背景与个数少量的细胞核前景的像素阈值, 最终获得如图 2e 所示的二值化补丁。最后, 对于像图 2e 中所高亮的细胞核位置, 有助于从原始补丁中寻找对应的模糊细胞核 (图 2c), 可规避一些由人工注释带来的风险, 获得图 2f 所示的稳健的注释补丁。

2. 提出的细胞核密度估计法

本章依次介绍脑胶质瘤密度估计的整体架构与各主要部分, 包括 WSI 数据预处理、基于 U-net+DropBlock 模型的细胞核分割、细胞核密度计算与可视化。

2.1 整体架构

图 3 展示提出的细胞核精准密度估计法的整体架构, 包含 3 个主要部分, 依次为 WSI 数据预处理、基于 U-net+DropBlock 模型的细胞核分割和细胞核密度计算与可视化。

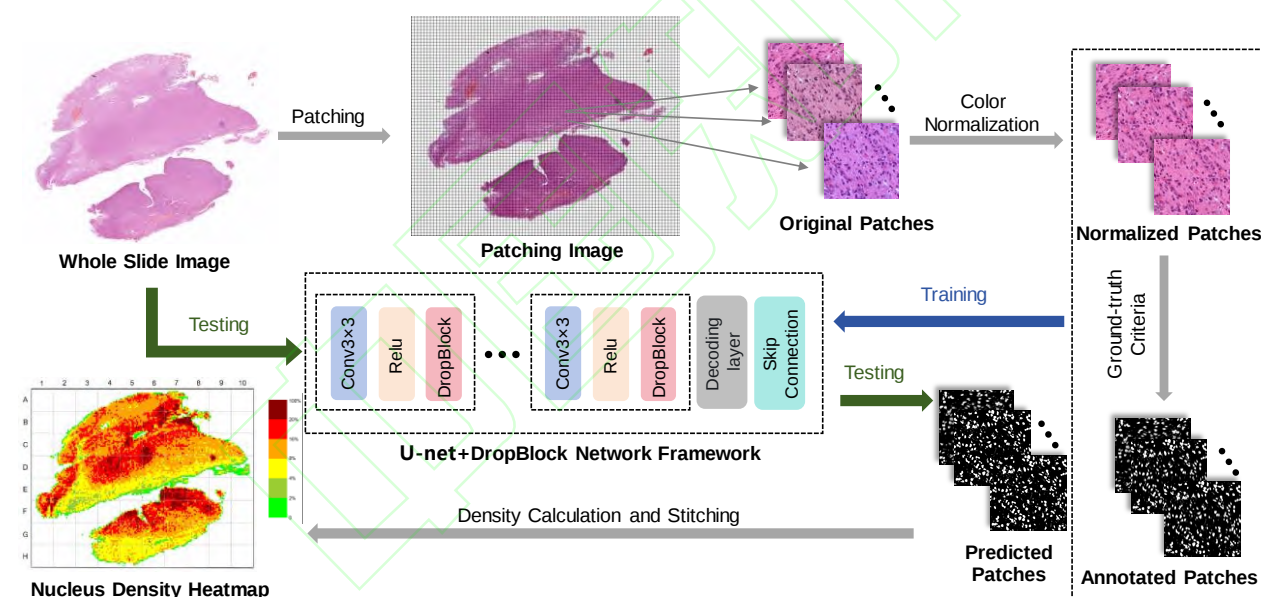


Fig. 3 Overall framework of our proposed nucleus density estimation method

图 3 提出的细胞核密度估计方法的整体架构

- 数据预处理: 对补丁化的 WSI 图像进行数据清洗与增强、颜色归一化和金标准注释等处理。
- 基于 U-net+DropBlock 模型的细胞核分割: 本研究基于标准 U-net 网络架构^[19], 引入 DropBlock 正则化模块^[28]并构筑 U-net+DropBlock 模型, 用于减小细胞核分割中的过拟合风险, 获得泛化性提升。
- 细胞核密度计算与可视化: 对于预测的细胞核分割结果, 计算细胞核在每个补丁图像中的占比, 并生成密度热力图。加之, 在密度热力图中添加区域划分, 以助力临床医生的高效诊治。

2.2 基于 U-net+DropBlock 模型的细胞核分割

2.2.1 标准 U-net 网络架构

U-net 是一种基于卷积神经网络 (convolutional neural network, CNN) 的流行架构, 最初于 2015 年由

Ronneberger 等提出, 专门用于生物医学图像分割任务^[17]。U-net 网络由编码器、解码器和跳跃连接三部分组成。编码器作用于从原补丁图像中提取特征, 即通过卷积层和池化层压缩图像的空间维度, 提取高级特征。解码器通过反卷积恢复原补丁的空间维度, 重建细胞分割图像。跳跃连接将编码器的低级特征直接传递给解码器, 使得细胞核的边界、位置等低级语义信息和形状、大小等高级语义信息融合, 以实现更精准的细胞核分割和定位。值得一提的是, 医学影像数据大量获取十分困难, 在有限数据量下降低模型的过拟合风险一直是个重要课题。

2.2.2 常见的 Dropout 正则化

为缓解 U-net 等神经网络的过拟合风险, 一个常见的方式是在其卷积层中引入 Dropout 正则化策略^[29]。Dropout 通过在训练时随机丢弃一部分神经元的输出, 强制网络学习更明显的特征^[30]。图 4a~c 分别展示原补丁、细胞核分割图、Dropout 丢弃策略示意图。如图 4c 所示, Dropout 的丢弃策略是随机丢弃单个神经元, 但是, 卷积层中的特征图像素间存在空间相关性^[31]。具体而言, 虽然 Dropout 使部分信息丢弃, 但是, 相邻神经元仍可提供相似信息, 模型仍能学习到冗余特征, 难以实质性地简化模型的复杂度, 打破模型对某些局部特征的依赖, 缓解过拟合的效果有限。此外, 由于卷积操作是局部的, 每个卷积核只处理输入特征图的一个局部区域, Dropout 随机丢弃神经元会破坏这种局部信息的连续性, 使得模型在训练过程中学习到的特征变得不稳定^[25]。

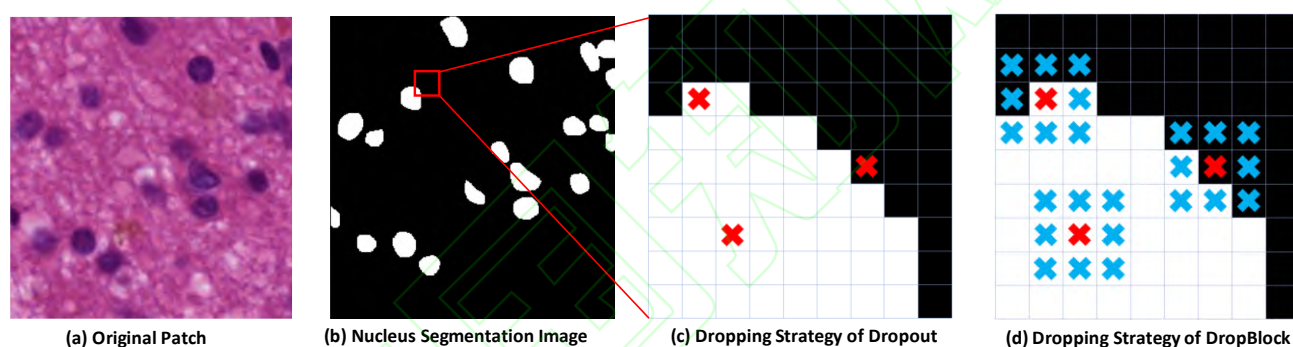


Fig.4 Comparison of dropping strategies between Dropout and DropBlock

图 4 Dropout 和 DropBlock 的丢弃策略对比

Note: (a) Original pathology patch. (b) Nucleus segmentation image corresponding to the original patch shown in (a). (c) Dropping strategy based on the Dropout strategy, referring to the segmentation image shown in (b). (d) Dropping strategy based on the DropBlock strategy compared with that in (c).

2.2.3 采用的 U-net+DropBlock 模型

Khaing 等^[32]提出了带有密集扩张模块的改良型 U-net 架构, 称为 ChoroidNET 网络, 其通过引入 DropBlock 正则化策略, 提升了眼部光学相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 图像中脉络膜层与血管的分割效果。然而, DropBlock 正则化尚未广泛用于肿瘤细胞的分割任务中。鉴于此, 本研究在标准 U-net 网络架构上, 引入 DropBlock 正则化模块, 以获得 U-net+DropBlock 模型。DropBlock 通过随机丢弃特征图中的块状区域, 以打破特征的空间稳定性 (图 4d)。DropBlock 的结构化丢弃方式迫使神经网络学习到更稳健的特征表示, 而不依赖于局部特征, 从而提升语义分割的泛化性^[25]。

本研究在标准 U-net 网络 (图 5a) 的各卷积层和线性整流函数 (rectified linear unit, ReLU) 中间, 增加 DropBlock 模块 (图 5b)。DropBlock 通过随机丢弃块状区域信息, 可以降低分割模型的过拟合风险。DropBlock 策略包含 3 个关键参数, 即丢弃块边长 L_{block} 、图像丢弃率 R_{drop} 和各像素丢弃率 γ 。 R_{drop} 指整个补丁图像中丢弃像素占比的期望值。 γ 的计算公式如下:

$$\gamma = \frac{R_{\text{drop}} \times L_{\text{feat}}^2}{(L_{\text{feat}} - L_{\text{block}} + 1)^2 \times L_{\text{block}}^2}, \quad (2)$$

其中, L_{feat} 表示特征图边长。式 (2) 的分子表示在不考虑丢弃块尺寸的情况下, 整个补丁图像被丢弃的期望面积, 而分母表示在考虑丢弃块尺寸的情况下, 整个特征图被丢弃的期望面积。本研究, 由于特征图尺寸 (480×480) 远大于丢弃块尺寸 (3×3), L_{block} 和 1 可忽略不计, 式 (2) 简化为:

$$\gamma = \frac{R_{\text{drop}}}{L_{\text{block}}^2}. \quad (3)$$

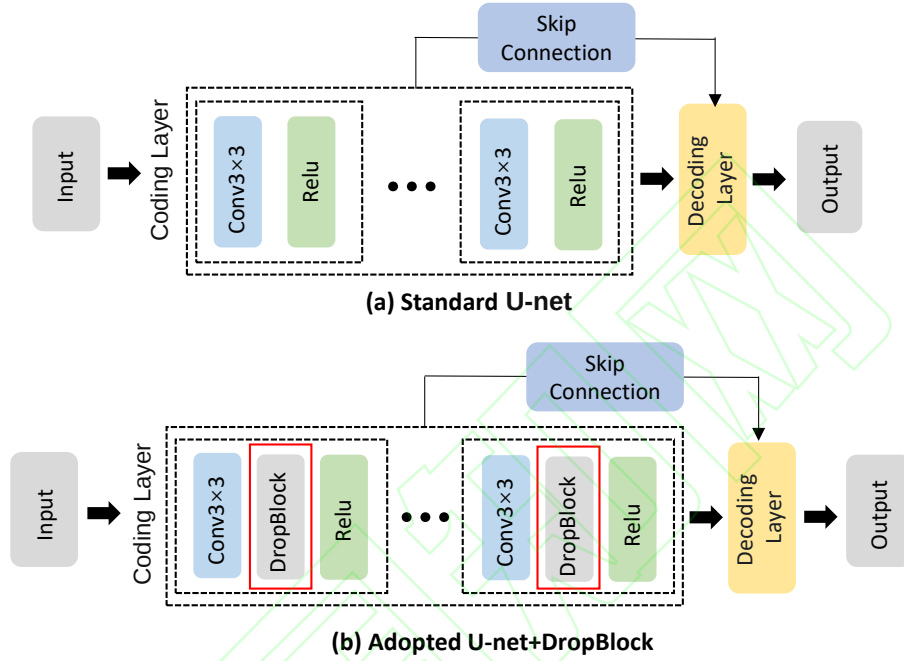


Fig.5 Comparison of standard U-net^[19] and adopted U-net+DropBlock

图 5 标准 U-net^[19]和采用的 U-net+DropBlock 对比

在训练阶段, 基于伯努利分布的随机采样而生成掩码 $\mathbf{M}$, 各元素 $M_{i,j}$ 为 0 或 1。其概率计算公式如下:

$$P(M_{ij} = k) = \begin{cases} 1 - \gamma, & k = 0 \\ \gamma, & k = 1 \end{cases}, \quad (4)$$

以 $\mathbf{M}$ 中各 0 值位置为中心, 生成边长为 L_{block} 的若干空间正方掩码, 并将这些正方掩码范围内的所有元素设为 0, 生成更新的掩码 $\mathbf{M}'$ 。再将 $\mathbf{M}'$ 与对应的特征图 $\mathbf{F}$ 进行逐像素相乘, 最终以实现 DropBlock 在特征图的随机丢弃。

在网络训练的反向传播中, 采用随机梯度下降法 (stochastic gradient descent, SGD), 用于权重更新。其计算公式为:

$$\mathbf{W}(t+1) = \mathbf{W}(t) - l \frac{\partial \mathcal{L}_{\text{CE}}}{\partial \mathbf{W}}, \quad (5)$$

其中, $\mathbf{W}(t)$ 为当前训练轮次 t 的权重, $\mathbf{W}(t+1)$ 为下一轮次的更新权重。 l 为学习率, 即权重更新的步长。 $\partial \mathcal{L}_{\text{CE}} / \partial \mathbf{W}$ 表示交叉熵损失函数 $\mathcal{L}_{\text{CE}}$ 对权重 $\mathbf{W}$ 的梯度。针对脑胶质瘤细胞核分割, 采用的 U-net+DropBlock 伪代码展示于图 6。

Algorithm 1 U-net+DropBlock for Nucleus Segmentation

Input: Training dataset $D_{\text{train}} = \{(\mathbf{X}_i, \mathbf{Y}_i)\}$

Output: Predicted segmentation $\hat{\mathbf{Y}}_i$

1 Construct U-net+DropBlock with softmax loss $\mathcal{L}_{\text{softmax}}$;

```

2 Parameter setting: Initialize learning rate  $\alpha_0$ , number of epochs  $T$ , dropping rate  $R_{\text{drop}}$ , dropping block
length  $L_{\text{block}}$ , and dropping probability of each pixel  $\gamma$ ;
3 for  $t = 1, 2, \dots, T$  do
4   Train on  $D_{\text{train}}$ ;
5   Forward propagation: Convolution layers with DropBlock and ReLU  $\rightarrow$  Up-sampling layers with
skip connection  $\rightarrow$  Predicted segmentation  $\hat{\mathbf{Y}}_i = h(\mathbf{W}(t); \mathbf{X}_i)$ ;
In particular, DropBlock generates several masks, each mask  $\mathbf{M}$  has same size of a corresponding
6   feature map  $\mathbf{F}$ .
7   Calculate the dropping probability of each pixel in a mask  $\mathbf{M}$ :
8      $\gamma = \frac{R_{\text{drop}}}{L_{\text{block}}^2}$ ;
9   for  $M_{i,j}$  in  $\mathbf{M}$  do
10     Probability  $P(M_{i,j} = k) = \begin{cases} 1 - \gamma, & k = 0 \\ \gamma, & k = 1 \end{cases}$ ;
11   end
12   Centralizing each location of  $M_{i,j} = 0$ , to generate several spatial square mask with all zeros,
generating an updated mask  $\mathbf{M}'$ ;
13    $\mathbf{F} = \mathbf{F} \times \mathbf{M}'$ ;
14   Backward propagation: Weight update by SGD  $\mathbf{W}(t+1) = \mathbf{W}(t) - l \frac{\partial L_{\text{CE}}}{\partial \mathbf{W}}$ ;
15 end
16 Obtain a trained field segmentation model  $h$ ;
17  $\hat{\mathbf{Y}}_i = h(\mathbf{W}; \mathbf{X}_i)$ 

```

Fig.6 Pseudocode flowchart

图6 伪代码流程图

Note: The number of Lines 1-17 indicates the execution steps of Algorithm 1.

2.3 细胞核密度计算与可视化

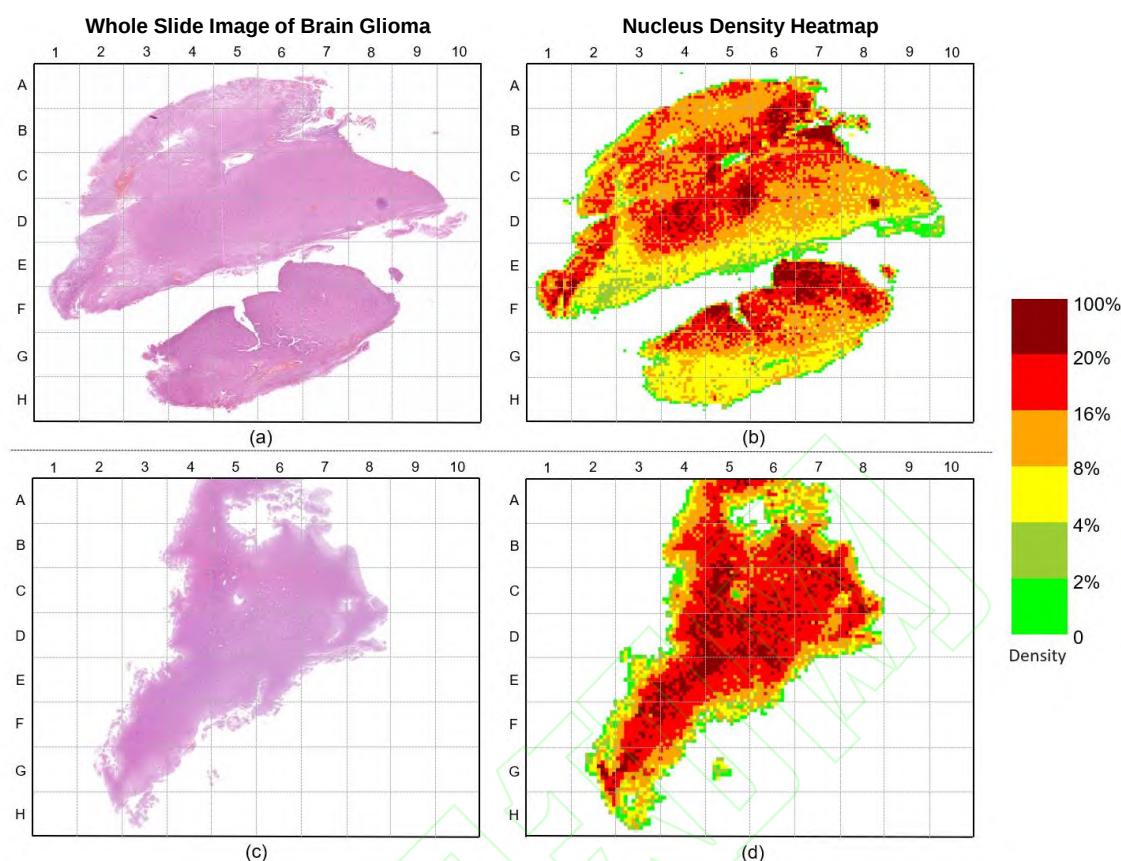


Fig. 7 Examples of nucleus density heatmap

图 7 细胞核密度热力图示例

Note: A whole slide image (WSI) of a large-sized brain glioma (a), with its corresponding nucleus density heatmap shown in (b). The WSI of a small-to-medium-sized glioma (c), and its corresponding heatmap (d).

为助力肿瘤疾病在临床上的高效、精准解析和诊治，本研究将分割出的细胞核进行密度计算，并将 WSI 全域的细胞核密度以热力图形式呈现。

2.3.1 细胞核密度计算

本方法将细胞核面积所占其补丁图像的面积比例，定义为细胞核密度，计算公式如下：

$$D_{\text{nuc}} = \frac{A_{\text{nuc}}}{H \times W}, \quad (6)$$

式 (6) 中， D_{nuc} 表示细胞核密度， A_{nuc} 表示细胞核所占面积，即像素数， H 、 W 表示补丁图像的高和宽。

2.3.2 全域密度可视化

根据补丁图像中细胞核密度的不同比例，用不同颜色进行区分。也就是，按照密度的 0%、2%、4%、8%、16%、20%、100%，划分为 6 个区间，依次使用绿色、黄绿色、黄色、橙色、红色和深红色表示。图 7a 和 7c 为脑胶质瘤 WSI 的两例，图 7b 和 7d 分别为其对应的细胞核密度热力图。其中，图 7b 中的 B6、B7、D4 等区域展示图 7a 的细胞核高密度区域，类似地，图 7d 中的 C5、D4、D5 等区域展示图 7c 的细胞核高密度区域。借助密度热力图的细胞核密度快速估计，有助于临床的高效解析和诊治，推动肿瘤医学研究的进一步发展。

3. 实验结果

3.1 参数设置

本实验使用 Gen Intel (R) Core (TM) i5-13400 处理器, 16 GB 内存、Windows 11 操作系统和 Matlab 2023、Python .8 数据处理工具。回顾表 1, 收集的脑胶质瘤数据集由不同染色/褪色程度和脑胶质瘤等级的病理切片构成。表 2 介绍本研究涉及的 3 种模型的参数设置。其中 Hover-net 使用的深度学习框架为 Pytorch .5.1, U-net 和提出的 U-net+DropBlock 的架构为 Tensorflow。补丁规格为 $480 \times 480 \times 3$, 在该尺寸下, 模型的分割效果最佳。在训练阶段, 为高效迭代网络模型, 训练批次设置为 4。通过多次训练和验证, 评估不同训练轮次下分割模型的验证集性能, 选定训练轮次, 即 Epoch 数, 为 30。

Table 2 Hyper-parameter setting for model training

表 2 模型的超参数设置

Hyper-arameter	Value		
	U-net ^[19]	Hover-net ^[24]	U-net+DropBlock (ours)
Patch Image Size		$480 \times 480 \times 3$	
Batch Size		4	
Epochs		30	
Layers	8	28	8
Loss Function	Cross-Entropy	Cross-Entropy + Mean Squared Error	Cross-Entropy
Learning Rate	1×10^{-2}	1×10^{-4}	1×10^{-2}
Optimizer	SGD	Adam	SGD
Dropping Rate	—	—	10%
Block Size	—	—	3×3

Note: SGD: stochastic gradient descent; Adam: adaptive moment estimation.

U-net 和 U-net+DropBlock 网络, 由 4 层上采样与 4 层下采样构成, 因此, 它们的网络层数都为 8。Hover-net 的网络架构基于预训练残差网络 (Pre-Trained ResNet50)^[33] 构建, 其编码器的层数为 18 层, 解码器的层数 10, 共 28 层。这 3 种模型的损失函数都选择交叉熵, 通过衡量真实标签分布和预测模型的概率分布之间的差异来评估模型的性能; Hover-net 还额外使用了均方误差损失函数, 其目的是预测每个细胞核内像素到细胞核水平和垂直方向边界的相对距离, 从而实现分割。为发挥各网络模型的最佳性能, U-net 和 U-net+DropBlock 的学习率设置为 1×10^{-2} , Hover-net 的学习率设置为 1×10^{-4} 。U-net 和 U-net+DropBlock 的优化器选择使用 SGD, 因为 SGD 优化器计算高效且易于实现^[34]。考虑到 Hover-net 的网络结构更加复杂, 因此沿用文献^[35]中使用的自适应矩估计法 (adaptive moment estimation, Adam)^[35], 使其在训练初期实现快速收敛。最后, 设置 U-net+DropBlock 中 DropBlock 模块的丢弃率为 10%, 丢弃块尺寸为 3×3 。

3.2 评估指标

本文使用准确率 (Accuracy)、Dice 系数、召回率 (Recall)、精确率 (Precision) 和 F1 分数评价模型性能。以上指标由真正例 (true positive, TP)、假正例 (false positive, FP)、真负例 (true negative, TN)、假负例 (false negative, FN) 计算。

$$\text{Accuracy} = \frac{TN+TP}{TP+TN+FP+FN}, \quad (7)$$

式 (7) 中的准确率表示分类正确的样本数占样本数的比例。

$$\text{Dice} = \frac{2 \times |\hat{Y} \cap Y|}{\hat{Y} + Y}, \quad (8)$$

式 (8) 中的 Dice 系数用于衡量模型预测结果与真实结果的相似程度, 其中 $\hat{Y}$ 、 Y 分别为细胞核分割的预测

值和真值。 $|\hat{Y} \cap Y|$ 表示预测值和真值交集的像素数量，即正确预测出的像素个数。

$$\text{Recall} = \frac{TP}{TP + FN}, \quad (9)$$

$$\text{Precision} = \frac{TP}{TP + FP}, \quad (10)$$

式(9)中的召回率指在所有实际为细胞核的样本中，被模型正确预测为细胞核的比例。类似地，式(10)中的精确率指在所有被模型预测为正例的样本中，实际为正例的比例。

$$F1 = 2 \times \frac{\text{Precision} \times \text{Recall}}{\text{Precision} + \text{Recall}}, \quad (11)$$

式(11)中的F1分数是召回率和精确率的调和平均数，用于综合衡量它们的效果。一般来说，召回率与精确率之间存在一种权衡关系。在某些情况下，为了提高召回率，可能会导致精确率下降，反之亦然。F1分数可以帮助召回率与精确率之间找到一个平衡，以更全面地评估模型性能。

3.3 细胞核分割性能评估

3.3.1 定性分析

图8展示标准U-net^[19]、Hover-net^[24]与U-net+DropBlock等3种语义分割模型的细胞核分割直观效果，其中红色高亮区域为过分割，即细胞核的分割领域大于其真值，而蓝色高亮区域为欠分割，即细胞核的分割领域小于其真值。显然，标准U-net的分割结果中出现许多过分割，Hover-net的分割结果中出现许多欠分割，而U-net+DropBlock分割结果中的过分割与欠分割都明显少于U-net与Hover-net结果。对于图8中展示的两组原始补丁图像，其中的细胞核具有“尺寸大、数量少”（第一行）与“尺寸小、数量多”（第二行）两种不同特点，引入DropBlock正则化的分割模型都表现出超过传统模型的较高性能。

3.3.2 定量分析

针对脑胶质瘤细胞核分割，表3展示标准U-net^[19]、Hover-net^[24]与采用的U-net+DropBlock等3种模型的定量分析结果。如表3所示，标准U-net与Hover-net取得的准确率为98.9%和98.8%，U-net+DropBlock取得了更高的99.2%。Hover-net的Dice系数为8.0%，标准U-net取得了更高的87.6%，加之，U-net+DropBlock取得了最高的90.1%。

值得一提的是，召回率、精确率和F1分数等指标的计算，均以细胞核领域为前景。相比Hover-net Recall结果（75.1%），采用的U-net+DropBlock取得了更高的95.8%，但稍低于标准U-net的97.6%。由于标准U-net模型易产生过拟合，导致细胞核的过分割出现^[36]，表示正确预测前景在其金标准的占比召回率最高。相比U-net的精确率结果（80.0%），U-net+DropBlock取得了更高的87.1%，但低于标准Hover-net的9.4%。引入残差模块的Hover-net模型，对细胞核的复杂边界分割时易出现欠分割，表示正确预测前景在全部预测前景的占比精确率最高。幸运的是，对于召回率和精确率的调和平均数F1分数，相比标准U-net的87.6%和Hover-net的8.0%，U-net+DropBlock获得了最高的90.1%。得益于DropBlock的随机特征丢弃策略，采用的U-net+DropBlock模型有效地降低了模型的过拟合，同时也规避了残差模块引起的细胞核欠分割，取得了整体上最好的量化性能。

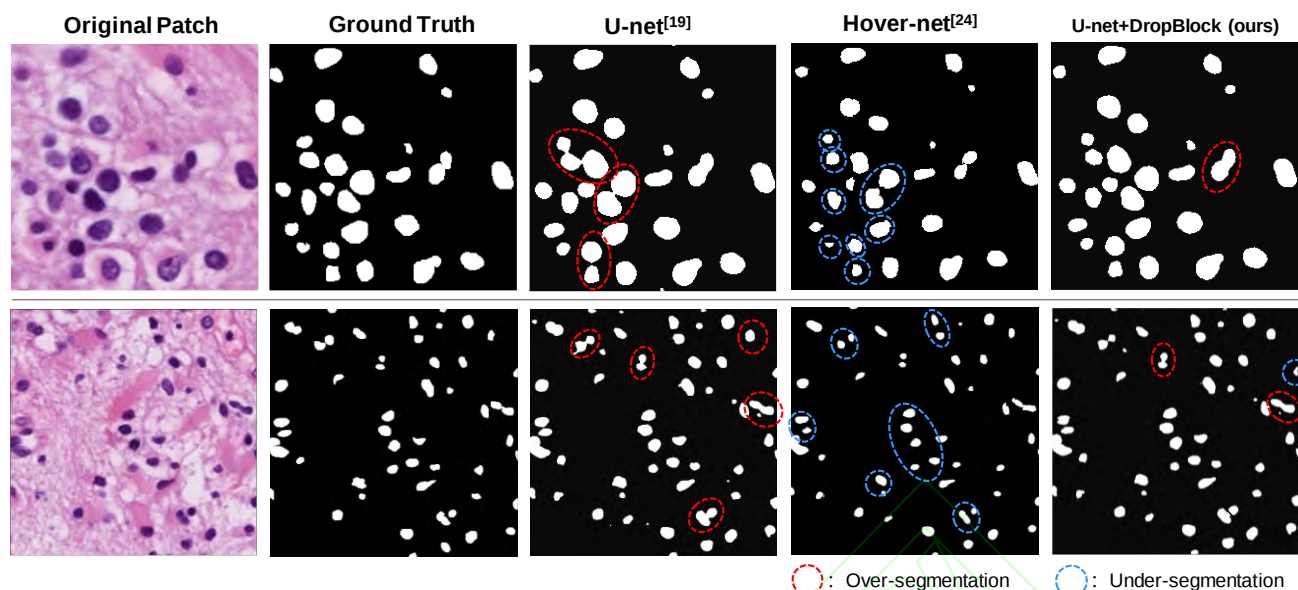


Fig.8 Qualitative comparison of nucleus segmentation results

图 8 细胞核分割结果的定性比较

需要说明的是, Dice 系数衡量的是预测掩码和真实掩码两个集合的重叠程度, 而 F1 分数是精确率和召回率的调和平均数, 两者含义虽然不同, 但对于图像的二元分割任务, 数学计算方式完全等价, 因此表 3 中呈相同的 Dice 系数与 F1 分数值。简单而言, 基于定性结果, U-net+DropBlock 在缓解欠分割和过分割上表现良好。基于定量结果, 相比 U-net 与 Hover-net, U-net+DropBlock 在准确率、Dice 系数和 F1 分数等结果上均有实质性提升。

Table 3. Quantitative comparison of nucleus segmentation approaches

表 3 细胞分割结果的定量比较

Segmentation Method	Accuracy	Dice	Recall	Precision	F1
U-net ^[19]	98.9%	87.6%	<u>97.6%</u>	80.0%	87.6%
Hover-net ^[24]	98.8%	8.0%	75.1%	<u>9.4%</u>	8.0%
U-net+DropBlock (ours)	<u>99.2%</u>	<u>90.1%</u>	95.8%	87.1%	<u>90.1%</u>

Note: The maximum value is highlighted with an underline.

4. 讨论

本章针对颜色归一化的作用、金标准确立的重要性、U-net+DropBlock 分割模型的局限性与细胞核密度计算方式的对比, 展开讨论。

4.1 颜色归一化的作用

从机器学习的视角来看, 颜色归一化能有效减小域间隙 (domain gap)。不同批次、不同染色深度的 WSI 可被视为来自不同数据域的样本。通过将 WSI 的颜色空间映射到一个标准化的目标空间, 可显著降低模型学习到与任务无关的颜色特征的风险, 使其能够更专注于学习细胞核的形态、纹理等具有泛化性的生物学特征。因此, 利用经过颜色归一化处理的 WSI 数据, 提出的 U-net+DropBlock 模型能够取得更高的泛化性能。颜色归一化通过式 (1) 改变切片图像在红、绿、蓝等三通道的像素值分布, 使图 2a~c 中分布相对分散的像素值, 聚集于特定的区间内 (图 2d~f), 缓解了切片褪色带来的不期待的像素值改变。本研究采用基于 RGB 通道比例的归一化方式, 其计算简单且高效。为提升极端染色差异时的鲁棒性, 未来将尝试 Stain-Tools^[37]或 Macenko^[38]等利用染色向量分解的归一化方式。

4.2 金标准确立的重要性

观察者差异 (inter-observer variability) 是病理学中的一个经典问题^[39], 源于诊断标准的主观性、个人经验的不同及视觉感知的细微差别, 尤其在评估细胞形态、边界等细微特征时尤为突出^[40]。本研究确立的半自动化金标准准则, 通过高亮 WSI 中不清晰的细胞核, 为研究者提供一个客观参考, 以规避主观判断带来的不确定性风险。金标准准则通过对原补丁图像进行颜色归一化、灰值化和二值化等一系列处理, 获得如图 3e 所示的二值化补丁, 以帮助规范地挑选出原补丁图像中显示模糊的细胞 (图 3c)。确立的金标准准则有助于规模更大、跨机构数据集的高质量标注, 形成一套标准化的操作流程, 对高性能细胞分割模型的构建至关重要。

4.3 U-net+DropBlock 分割模型的局限性

根据实验结果, 采用的 U-net+DropBlock 语义分割模型仍残留细胞核的一些过分割和欠分割, 也就是, 其难以彻底解决模型的过拟合问题。具体而言, 提出方法的分割误差主要出现于两种情况: a. 对于细胞核极度密集、严重重叠的区域, 难以区分独立的细胞个体; b. 在染色极度不均匀、存在伪影的区域, 模型会将染色不佳的胞浆或背景误识别为细胞核。对于呈极特殊病理形态的情况, U-net+DropBlock 分割模型的鲁棒性可能会受到挑战。此外, 尽管 DropBlock 正则化能够提升模型的泛化能力, 但其效果受两个关键参数较大, 即图像丢弃率 R_{drop} 与丢弃块边长 L_{block} , 需预先合适选择。鉴于此, 设计一种参数自适应的 DropBlock 策略, 将成为一个有前景的研究方向。

4.4 细胞核密度计算方式的对比

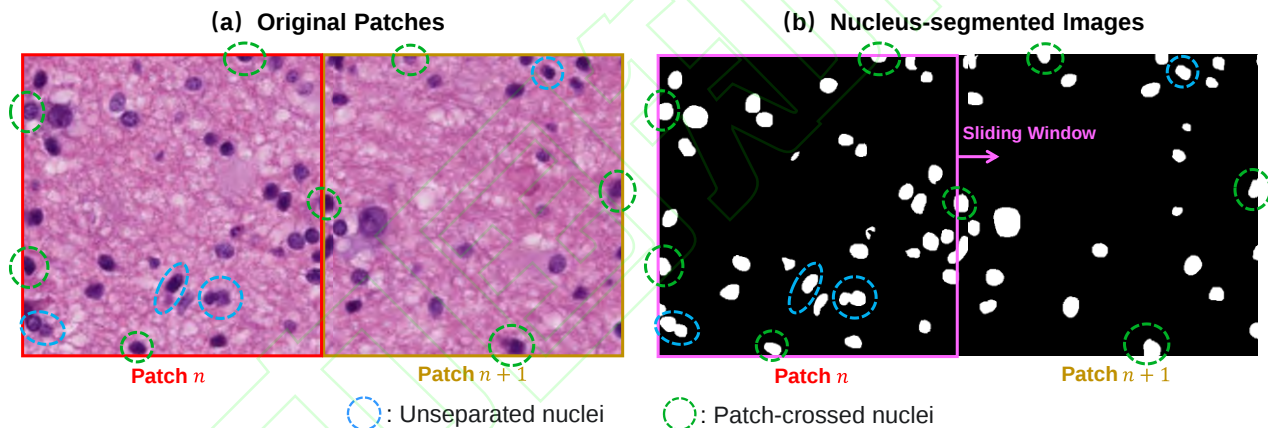


Fig. 9 A diagram of density calculation manner based on the number of nuclei^[20]

图 9 基于细胞核数量的密度计算方式示意图^[20]

细胞核的分割效果对脑胶质瘤密度估计的准确性至关重要, 同时, 基于分割结果的细胞核密度计算方式, 会相当影响最终密度估计的实用性。作为一个代表性的细胞核密度计算方式, 韩继能等^[20]使用滑动窗口计算各胶质瘤补丁图像中的细胞核数量, 并依据计算的细胞核数量占比, 形成 WSI 全域的密度热力图。然而, 根据细胞核数量占比的密度计算方式具有一些局限性 (图 9): a. 忽视了细胞核个体的尺寸信息; b. 对于多个细胞核未分开的领域 (见蓝色椭圆高亮), 可能被认定为仅存在一个细胞核; c. 对于跨补丁的细胞核领域 (见绿色椭圆高亮), 在对应各补丁的滑动窗口中可能会被重复计数。相对地, 本研究通过式 (6) 计算细胞核的面积占比以计算密度的方式, 能够综合展现细胞核个体的尺寸与数量信息, 更加客观地反应脑胶质瘤的形态表现。

4.5 临床应用价值

在临床实践中, 本研究提出的肿瘤细胞密度估计方法, 能够自动生成脑胶质瘤 WSI 的全域密度热力图, 以帮助医生快速锁定病变区域。并且, 相比仅基于细胞核数量的密度估计方法, 使用的基于细胞核面积占比

的估计方法, 进一步考虑细胞核尺寸, 且可以规避细胞核的重叠或重复计数问题。同时, 提出的脑胶质瘤密度估计方法, 能够为病理分级、预后预测等任务提供重要参考, 助力临床诊断决策的高效化与精准化。

5. 结论

针对传统分割模型在有限病理切片数据下的泛化性不足问题, 本研究提出了一种基于 DropBlock 正则化 U-net 的脑胶质瘤可视化密度估计方法。提出的方法通过引入结构性正则化策略, 结合标准化的数据预处理与金标准建立, 有效地提升了细胞核分割的泛化性。实验结果表明, 相比流行的 U-net 模型与 Hover-net 模型, 提出的 U-net+DropBlock 模型在准确率、Dice 系数与 F1 分数等关键指标上均表现出明显优势, 大幅缓解了过分割与欠分割问题。并且, 对于脑胶质瘤的 WSI, 提出的密度估计方法能够自动生成其全域密度热力图, 助力临床病理医生对 ROI 的快速锁定, 实现高效、精准诊断。未来, 将探究肿瘤密度与细胞个体异型性等病理特征的相关性, 并研发面向肿瘤的自动分级系统。

参考文献

- [1] 周含笑, 赵征, 江涛. 脑胶质瘤微环境研究进展与治疗新策略. 神经疾病与精神卫生, 2025, 25(1): 2-10
- Zhou H X, Zhao Z, Jiang T. J Neurosci Ment Health, 2025, 25(1): 2-10
- [2] Ostrom Q T, Price M, Neff C, *et al.* CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2016-2020. Neuro Oncol, 20, 25(12 Suppl 2): iv1-iv99
- [3] 荆林林, 吴晓昀, 安逸. 恶性脑胶质瘤组织中 FOXC2、ABCG2、LncRNA SNHG12 的表达及其临床意义. 实用癌症杂志, 2024, 39(11): 1802-1804
- Jing L L, Wu X Y, An Y. Pract J Cancer, 2024, 39(11): 1802-1804
- [4] 刘东, 吴晓龙, 梁建涛, 等. 基于文献计量学与可视化技术分析岛叶胶质瘤的全球研究现状及趋势. 中国微侵袭神经外科杂志, 2025, 30(1): 19-23
- Liu D, Wu X L, Liang J T, *et al.* Chin J Minim Invasive Neurosurg, 2025, 30(1): 19-23
- [5] Brant W E, Helms C A. Fundamentals of diagnostic radiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012: 50-65
- [6] Abd-Elghany A A, Naji A A, Alonazi B, *et al.* Radiological characteristics of glioblastoma multiforme using CT and MRI examination. J Radiat Res Appl Sci, 2019, 12(1): 289-293
- [7] Culling C F A, Allison R, Barr W. Cellular pathology technique. Oxford: Elsevier, 2014: 112-120
- [8] Kleihues P, Soylemezoglu F, Schöbale B, *et al.* Histopathology, classification, and grading of gliomas. Glia, 1995, 15(3): 211-221
- [9] Gates E H, Weinberg J S, Prabhu S S, *et al.* Estimating local cellular density in glioma using MR imaging data. AJNR Am J Neuroradiol, 2021, 42(1): 102-108
- [10] Louis D N, Perry A, Wesseling P, *et al.* The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. Neuro Oncol, 2021, 23(8): 1231-1251
- [11] McKnight T R, Lamborn K R, Love T D, *et al.* Correlation of magnetic resonance spectroscopic and growth characteristics within Grades II and III gliomas. J Neurosurg, 2007, 106(4): 660-666
- [12] Tynninen O, Aronen H J, Ruhala M, *et al.* MRI enhancement and microvascular density in gliomas. Correlation with tumor cell proliferation. Invest Radiol, 1999, 34(6): 427-434
- [13] Cortes C, Vapnik V. Support-vector networks. Mach Learn, 1995, 20(3): 273-297
- [14] Breiman L. Random forests. Mach Learn, 2001, 45(1): 5-32
- [15] Ahmed S F, Alam M S B, Hassan M, *et al.* Deep learning modelling techniques: current progress, applications, advantages, and challenges. Artif Intell Rev, 20, 56(11): 13521-13617
- [16] 贾策, 曹广福, 王晓峰, 等. 应用深度学习分割光学显微镜下的细胞图像. 生物化学与生物物理进展, 2022, 49(2): 395-400
- Jia C, Cao G F, Wang X F, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2022, 49(2): 395-400
- [17] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-Net: convolutional networks for biomedical image segmentation. In Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention-MICCAI 2015. Cham: Springer International Publishing, 2015: 234-241
- [18] Hiratsuka R, Kimura F, Ohshima K, *et al.* Whole Slide Image Analysis of Immunohistochemical Reaction of the DNA Replication-related Proteins in Endometrial Carcinoma//Proceedings of the 45th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society. Piscataway, NJ: IEEE, 2023: 1-5
- [19] Schmidt U, Weigert M, Broaddus C, *et al.* Cell detection with star-convex polygons. In Medical Image Computing

- and Computer Assisted Intervention-MICCAI 2018. Cham: Springer International Publishing, 2018: 265-273
- [20] 韩继能, 谢嘉伟, 顾松, 等. 基于全景病理图像细胞密度和异型特征的胶质瘤自动分级. 生物医学工程学杂志, 2021, 38(6): 1062-1071
- Han J N, Xie J W, Gu S, *et al.* J Biomed Eng, 2021, 38(6): 1062-1071
- [21] Graham S, Vu Q D, Raza S E A, *et al.* Hover-Net: simultaneous segmentation and classification of nuclei in multi-tissue histology images. Med Image Anal, 2019, 58: 101563
- [22] Mousavi H S, Monga V, Rao G, *et al.* Automated discrimination of lower and higher grade gliomas based on histopathological image analysis. J Pathol Inform, 2015, 6(1): 15
- [23] Pei L, Jones K A, Shboul Z A, *et al.* Deep neural network analysis of pathology images with integrated molecular data for enhanced glioma classification and grading. Front Oncol, 2021, 11: 668694
- [24] Barker J, Hoogi A, Depeursinge A, *et al.* Automated classification of brain tumor type in whole-slide digital pathology images using local representative tiles. Med Image Anal, 2016, 30: 60-71
- [25] Ghiasi G, Lin T Y, Le Q V. DropBlock: a regularization method for convolutional networks//Bengio S, Wallach H, Larochelle H, *et al.* Advances in Neural Information Processing Systems 31. Red Hook, NY: Curran Associates, Inc., 2018: 10727-10737
- [26] Singhal P, Sreedhar G, Singh N N, *et al.* Evaluation of histomorphometric changes in tissue architecture due to fixation delay. J Oral Maxillofac Pathol, 2017, 21(1): 70-75
- [27] Lorsuwannarat N, Kaewsanit A, Charoenpitakchai M, *et al.* Optimizing re-staining techniques for the restoration of faded hematoxylin and eosin-stained histopathology slides: a comparative study. J Histochem Cytochem, 2024, 72(11/12): 733-742
- [28] Mascetti G, Carrara S, Vergani L. Relationship between chromatin compactness and dye uptake for *in situ* chromatin stained with DAPI. Cytometry, 2001, 44(2): 113-119
- [29] Li D, Dharmawan D A, Ng B P, *et al.* Residual U-Net for Retinal Vessel Segmentation 2019 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP). Taipei, China, 2019: 919-923
- [30] Srivastava N, Hinton G, Krizhevsky A, *et al.* Dropout: a simple way to prevent neural networks from overfitting. J Mach Learn Res, 2014, 15: 1929-1958
- [31] Huang T, Zhen Z, Liu J. Semantic relatedness emerges in deep convolutional neural networks designed for object recognition. Front Comput Neurosci, 2021, 15: 625804
- [32] Khaing T T, Okamoto T, Ye C, *et al.* ChoroidNET: a dense dilated U-Net model for choroid layer and vessel segmentation in optical coherence tomography images. IEEE Access, 2021, 9: 150951-150965
- [33] Ozcan S, Mustacoglu A F. Transfer learning effects on image steganalysis with pre-trained deep residual neural network model. In 2018 IEEE International Conference on Big Data (Big Data). Seattle, WA, USA, 2018: 2280-2287
- [34] Stich S U. Local SGD converges fast and communicates little. arXiv. 2018. DOI:10.48550/arXiv.1805.09767
- [35] Kingma D P, Ba J. Adam: a method for stochastic optimization. arXiv. 2014. DOI:10.48550/arXiv.1412.6980
- [36] Guo C, Szemenyei M, Yi Y, *et al.* SA-UNet: Spatial Attention U-Net for Retinal Vessel Segmentation 2020 25th International Conference on Pattern Recognition (ICPR). Milan, Italy, 2021: 4330-4336
- [37] Vahadane A, Peng T, Sethi A, *et al.* Structure-preserving color normalization and sparse stain separation for histological images. IEEE Trans Med Imag, 2016, 35(8): 1962-1971
- [38] Macenko M, Niethammer M, Marron J S, *et al.* A method for normalizing histology slides for quantitative analysis. In 2009 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro. Boston, MA, USA, 2009: 1107-1110
- [39] Koran L M. The reliability of clinical methods, data and judgments (first of two parts). N Engl J Med, 1975, 293(13): 642-646
- [40] Elmore J G, Longton G M, Carney P A, *et al.* Diagnostic concordance among pathologists interpreting breast biopsy specimens. JAMA, 2015, 313(11): 1122-1132