

阑尾神经内分泌肿瘤病理切片 Ki-67 的计算机辅助评估

万真真¹, 张绍永¹, 刘芳^{3,4}, 施宁^{2*}, 韩帅¹, 李春雪¹

¹河北大学电子信息工程学院, 河北 保定 071002;

²河北软件职业技术学院, 河北 保定 071030;

³保定市儿童医院病理科, 河北 保定 071051;

⁴保定市儿童呼吸消化疾病临床研究重点实验室, 河北 保定 071051

摘要 阑尾神经内分泌肿瘤(ANENs)在各类阑尾恶性肿瘤中占很大比例,其重要的诊断标准之一为 Ki-67 增殖指数的大小。目前,Ki-67 指数的计算主要取决于病理医生的经验,人工计数过程繁琐,工作量较大。本研究旨在利用计算机图像分析算法对 ANENs 病理切片图像中的细胞进行处理,统计阳性细胞和阴性细胞的数量,并计算 Ki-67 这一指标,辅助病理医生进行综合评估。针对传统分水岭算法的过分割问题,采用强制最小技术修改距离变换对其进行改进,提出了改进型分水岭算法,并采用该算法对病理图像中的阳性细胞和阴性细胞进行分割、计数,然后将结果与病理医生的金标准进行比对。结果表明:改进型分水岭算法分割阴性粘连细胞的平均准确率为 93.4%,平均过分割率为 3.3%;计算机辅助处理 ANENs 病理图像 Ki-67 指标的平均准确率为 93.2%,平均误差率为 6.8%,处理图像平均时间由人工的 57.4 s 缩短到 29.5 s,大幅提高了工作效率。

关键词 医用光学; 计算机辅助评估; 病理切片; 阑尾神经内分泌肿瘤; Ki-67; 粘连细胞分割

中图分类号 R573

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202158.2417001

Computer-Aided Evaluation of Ki-67 on Pathological Sections of Appendiceal Neuroendocrine Neoplasms

Wan zhenzhen¹, Zhang Shaoyong¹, Liu Fang^{3,4}, Shi Ning^{2*}, Han Shuai¹, Li Chunxue¹

¹College of Electronic Information Engineering, Hebei University, Baoding, Hebei 071002, China;

²Hebei Software Institute, Baoding, Hebei 071030, China;

³Pathology Department, Baoding Children's Hospital, Baoding, Hebei 071051, China;

⁴Key Laboratory of Clinical Research on Children's Respiratory Digestive Diseases in Baoding City, Baoding, Hebei 071051, China

Abstract Appendiceal neuroendocrine neoplasms (ANENs) account for a large proportion of all types of appendiceal malignancies, and one of the important diagnostic criteria is the size of Ki-67 proliferation index. The calculation of the Ki-67 index mainly depends on the experience of pathologists; however, the manual counting process is tedious. Therefore, this study aims to calculate the number of positive and negative cells in the ANEN pathological sections using computer image analysis algorithm and calculate the Ki-67 index to assist the pathologist for conducting a comprehensive evaluation. Aiming to resolve the over-segmentation problem of the traditional watershed algorithm, we used a forced minimum technique to modify the distance and propose an improved

收稿日期: 2021-01-08; 修回日期: 2021-02-03; 录用日期: 2021-03-12

基金项目: 河北省研究生创新资助项目(CXZZSS2020010)

通信作者: *emailshining@126.com

watershed algorithm. Then, we segmented, recognized, and counted the positive and negative cells in pathological images, and matched them with the pathologist's gold standard. Our results show that the average accuracy of the proposed algorithm for the negative cells' segmentation is 93.4%, while the average over-segmentation rate is 3.3%. Moreover, the average accuracy of the Ki-67 index and average error rate of computer-aided processing ANENs pathological images are 93.2% and 6.8%, respectively. The average time of processing ANENs pathological images decreases artificial time consumption from 57.4 s to 29.5 s, which improves the working efficiency.

Key words medical optics; computer-aided evaluation; pathological section; appendiceal neuroendocrine neoplasms; Ki-67; adhesion cell segmentation

OCIS codes 170.530; 100.2960

1 引言

随着医学技术的发展,计算机辅助评估技术作为应用于病理学领域的一种新工具,为现代医疗辅助诊断提供了新的发展思路 and 方向^[1]。利用计算机分析算法,自动处理、统计病理图像中的病变信息,并定量评估各项指标,已成为辅助病理医生进行快速、准确诊断的一种潜在手段。

Ki-67 是一种与癌症细胞密切相关的核抗原,将其与其他肿瘤分子标记物相结合,可以直接、敏感、全面地反映细胞的增殖活性和数量,这对于判断肿瘤的恶性程度、预后和指导术后辅助治疗有着极重要的意义^[2]。阑尾神经内分泌肿瘤(ANENs)占阑尾各种恶性肿瘤的 50%~77%,其生物学行为隐匿,临床表现特异性低。ANENs 的重要诊断标准之一是 Ki-67 增殖指数的大小^[3-6]。2003 年, Sutton 等^[7]认为任何接受阑尾切除术的病人都应进行 ANENs 的 Ki-67 组织病理学评估。2016 年, Alexandraki 等^[8]对已发表的有关 ANENs 诊断的研究进行了综述,并提出了一个可行的诊断管理方案。2018 年, da Silva Abreu^[9]提出应对 ANENs 的 Ki-67 进行进一步深入研究,以评估 ANENs 的潜在风险、分类标准和手术方法。2018 年,毛威麟等^[10]根据 Ki-67 阳性指数对 ANENs 进行分级,并利用 GraphPad 计算机软件分析了 Ki-67 指标与患者 Kaplan-Meier 生存曲线的关系。2020 年, Robertson 等^[11]使用两种不同的病理图像分析平台对 Ki-67 指标进行分析,分析结果表明, Ki-67 的显著变化取决于病理图像中所包含阳性细胞的数量、形状和位置。如何准确地评估 Ki-67 指标,辅助病理医生进行诊断,已成为近年来的研究热点。

目前,临床上评估 Ki-67 指标的主流方法主要有 2 种:①人工计数法,又称“1000 细胞计数法”,即在肿瘤浸润边缘多达 1000 个肿瘤细胞中对 Ki-67 阳性细胞进行人工计数;②外观评定法,也被称为“目测法”,即通过目测粗略估计 Ki-67 阳

性细胞所占的百分比,对整体 Ki-67 的阳性率进行判断^[12]。然而,上述方法的评估结果大多取决于病理医生的经验,且医生人工计数过程繁琐,工作量较大。本研究旨在采用将距离变换和强制最小技术相融合的改进型分水岭算法自动分割 ANENs 病理图像中的被测特征细胞,并统计计数,自动计算出 Ki-67 的表达率,辅助病理医生进行医疗诊断,有效降低医生的工作量,提高诊断效率。

2 ANENs 病理图像的预处理

2.1 ANENs 病理图像的采集

本研究由本团队与保定市儿童医院合作完成。采用光学高倍电子显微镜及医学病理图像分析管理仪完成 ANENs 病理图像的采集^[13-16]。在显微镜下, ANENs 多呈实性巢状、腺泡状、梁状排列,部分呈岛屿状、菊形团状排列,肿瘤细胞形态均匀一致,为小或中等大小的细胞,呈圆形或多边形,胞质中等量或丰富,嗜伊红、双染或透亮^[17-18]。ANENs 病理图像包含不同的病变区域,如图 1 左图所示。Ki-67 核抗原标记染色的细胞如图 1 右图所示,①为呈黑褐色的阳性细胞,②为呈现浅褐色和浅蓝色的阴性细胞。

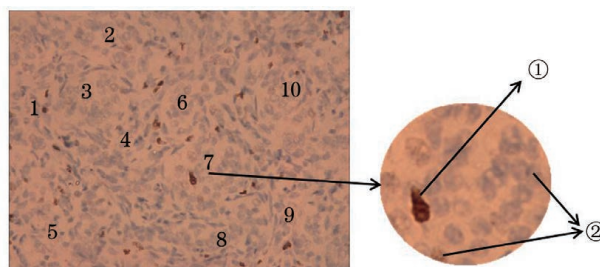


图 1 ANENs 病理图像

Fig. 1 Pathological section of ANENs

ANENs 病理图像包含着不同的病变区域,为了一次性多批次处理多个病变区域,将所有待处理图像依次统一重命名(如:1.jpg, 2.jpg)并存放在同一文件夹内。构造处理程序循环体,判断图像总数

量,逐一读取满足条件的图像并进行处理。自动处理、统计有效阳性细胞和阴性细胞的数目,并输出

Ki-67 指标值,辅助医生进行指标评估。系统设计方案如图 2 所示。

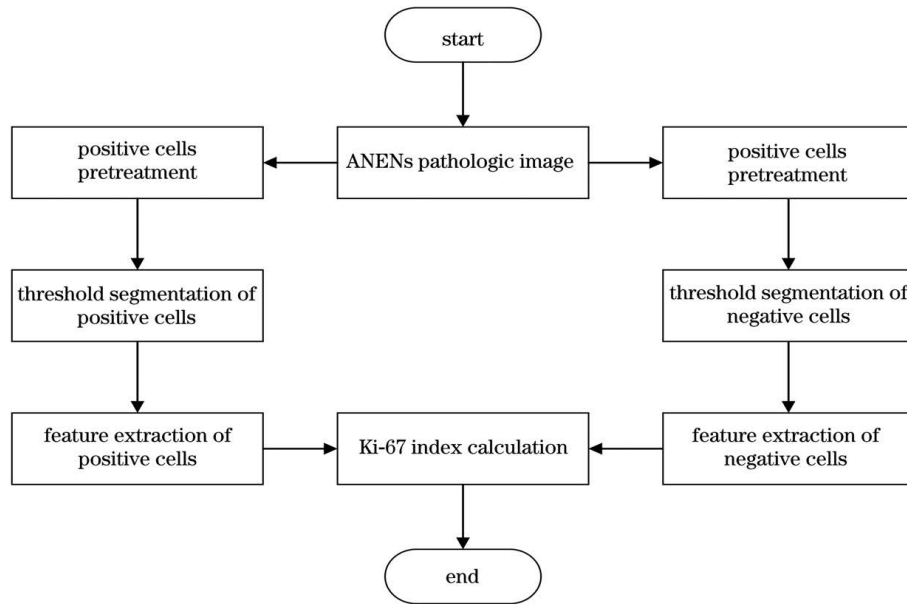


图 2 系统设计流程图

Fig. 2 Overall design flow chart of the system scheme

2.2 不同颜色模型的变换

ANENs 病理图像为真彩图像,阳性细胞和阴性细胞之间呈现三色差,不利于病理图像的细胞分割和分析。将 RGB 彩色图像转换为 YUV 色彩图像,以增强阳性细胞和阴性细胞之间的对比度,便于阈值分割和特征提取,降低计算机内存消耗,提高运行速度^[19-23]。

R、G、B 和 Y、U、V 各分量的值在 0~255 之间。RGB 彩色图像转换为 YUV 色彩图像的公式为

$$\begin{bmatrix} Y \\ U \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.299 & 0.587 & 0.114 \\ -0.169 & -0.331 & 0.500 \\ 0.500 & -0.419 & -0.081 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \quad (1)$$

ANENs 病理真彩图像转换成 YUV 色彩图像的效果如图 3 所示。

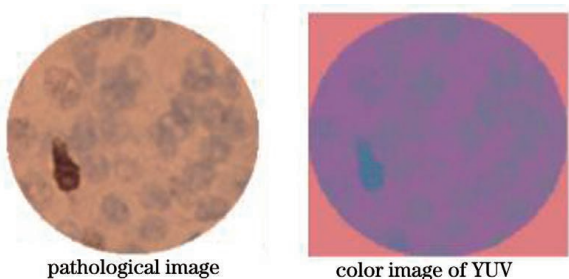


图 3 ANENs 病理图像(左)和 YUV 色彩图像(右)

Fig. 3 Image of ANENs pathological section (left) and color image of YUV (right)

3 ANENs 病理图像的特征提取

3.1 阈值分割

为使阳性细胞与阴性细胞得到较好的阈值分割效果,在 YUV 色彩空间下采用 roicolor 函数选定颜色区域,基于 Y、U、V 三个维度,将像素集合进行上限阈值和下限阈值的划分,用各个通道的阈值对图像进行二值化处理^[24-25],以实现阳性细胞与阴性细胞的分离,为下一步的粘连细胞分割、计数奠定基础。ANENs 病理图像的 YUV 色彩空间阈值分割效果如图 4 所示。

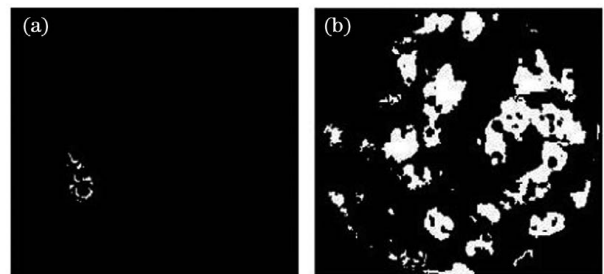


图 4 YUV 空间阈值分割图。(a)阳性细胞阈值分割; (b)阴性细胞阈值分割

Fig. 4 YUV spatial threshold segmentation images. (a) Threshold segmentation image of positive cell; (b) threshold segmentation image of negative cells

3.2 数学形态学处理

在阈值分割后的 ANENs 病理图像中,阳性细胞粘连着阴性细胞,细胞形态不利于分割、计数。本文利用数学形态学方法处理病理图像,滤除细微细胞杂质和噪声的干扰,填补细胞内部孔洞^[26-27]。数学形态学处理后的效果如图 5 所示。经过处理后,阳性细胞和阴性细胞的病理特征形态明显显现,有利于下一步的细胞分割。

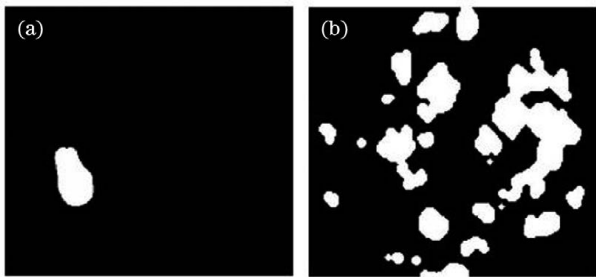


图 5 数学形态学处理后的效果图。(a)阳性细胞;
(b)阴性细胞

Fig. 5 Images processed by mathematical morphology.
(a) Positive cell; (b) negative cells

4 ANENs 病理图像的细胞分割

4.1 分水岭算法原理

传统的分水岭算法是一种基于确定的分水岭位置,用一组组封闭的曲线将图像分割成不同区域的算法。其基本思想是把图像看作是测地学上的拓扑

地貌,图像中每一点像素的灰度值表示海拔高度。拓扑地貌浸入水后,每一个局部极小值的影响域慢慢向外扩展,在两个集水盆汇合处构筑大坝,即形成分水岭^[28-30]。该算法具有精确定位图像边缘、得到封闭轮廓线、准确分割的特点,但其对微弱边缘响应敏感,图像中的噪声、物体表面的细微变化,都会导致算法产生过度分割的现象。

ANENs 病理图像中出现的细胞重叠和粘连现象会在很大程度上影响细胞的统计分析。准确分割重叠和粘连细胞,对于细胞数目统计以及 Ki-67 指标计算极为重要。阳性和阴性细胞在其粘连处必然存在形状或灰度的变化,分割细胞的关键在于在粘连处快速、准确地找到分割点集,利用分水岭算法分割点集,完成细胞分割。病理图像可能存在多个局部极小值,而传统的分水岭算法对局部极小值响应敏感,易引起细胞过分割问题。针对传统分水岭算法的过分割问题,本文采用“强制最小技术”修改距离变换,实现粘连阳性细胞和阴性细胞的准确分割,提高分割准确率。

4.2 改进型分水岭算法的细胞分割

二值图像距离变换通过标识空间点(目标点与背景点)距离^[31-32],将二值图像转换成一幅由大致圆形触摸斑点组成,与输入图像类似,目标和背景区域对比度更加适中的距离图像。实验中通常采用欧氏距离变换。欧氏距离变换的计算公式为

$$D(x, y) = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}, \quad (2)$$

$$D(x, y, z) = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2 + (z_2 - z_1)^2}, \quad (3)$$

$$D(x, y) = \sqrt{(x_1 - y_1)^2 + (x_2 - y_2)^2 + \dots + (x_n - y_n)^2}. \quad (4)$$

(2)、(3)、(4)式分别为二维、三维、 n 维空间各点之间的距离计算公式。

强制最小技术可以利用形态学重建的方式消除指定极小值以外区域的所有其他极小值区域,突出病理图像中特定的极小值区域。具体技术实现流程为:1)使用 imextendedmin 创建标记图像 marker; 2)调用函数 imimposemin 生成由标记图像(marker)标定的新极小值点,构造掩膜图像; 3)使用 imshowpair 函数将掩膜图像叠加到待处理的原始病理图上。一维极小值突出过程如图 6 所示,图中横轴为不同位置的极小值点,纵轴为距离变换后的像素灰度值。图 6(a)为一维数据,图 6(b)为极小值突出结果。由图 6(b)可以看出,原始图像的局部极

小值点经强制最小技术处理后,单个极小值点变得突出。

在进行距离变换之前,采用 bwareaopen 函数去除很小的点,消除噪声。欧氏距离变换从邻近像素点入手,每次只计算其与局部相邻的几个像素点距离的最小值,根据全局距离是局部距离按比例叠加而成的原理,对图像进行前后两次扫描,得到距离图像,进而进行距离图像的分水岭变换,得到对应的山脊分割线。利用山脊线将相应像素更改为背景,以便进行二值图像分割。

在基于距离变换的分水岭算法中,解决过分割问题的一个常见技巧是使用 imextendedmin 函数滤出微小的局部最小值,产生仅位于要分割的单元格

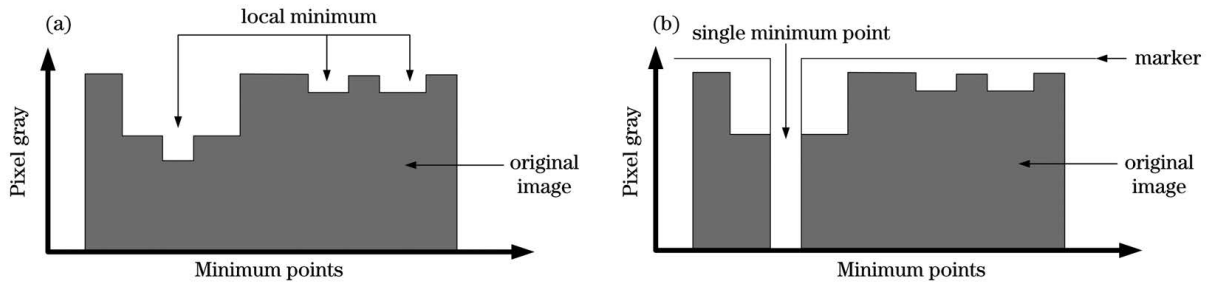


图 6 一维极小值突出过程。(a)一维数据;(b)极小值突出结果

Fig. 6 One-dimensional minimum highlight process. (a) One-dimensional data; (b) minimum highlight results

中间的小斑点,构建标记图像 marker,然后调用 imimposemin 函数修改距离变换,消除指定区域以外的其他极小值,使滤出位置不会出现最小值,而且背景像素和扩展的最大像素被强制为图像中唯一的局部最小值,从而构造掩膜(mask)。使用 imshowpair 函数在原始图像上叠加掩膜,再进一步对图像进行伸展,修改距离变换,使其仅在所需分割细胞位置具有最小值。然后重复上述改进型分水岭算法的各个步骤,将所有粘连和重叠细胞进行精准分割。

本文采用连通区域标记算法(bwlabel 函数)对从病理图像中分割出来的细胞进行数量统计。bwlabel 函数的作用是标记输入图像中的连通区域,对于不同的符合条件的连通区域,分别用不同的标号加以区别。输入图像连通区域的类别标签即为细胞的总数。调用 label2rgb 函数将不同的细胞

对象转换为不同的颜色,以实现各个细胞的区分,凸显细胞分割的清晰度。

改进型分水岭算法处理 ANENs 病理图像粘连细胞的效果如图 7、8 所示,传统分水岭算法分割阴性细胞与改进型分水岭算法分割阴性细胞的效果对比如图 9 所示。传统分水岭算法对阴性细胞的分割效果如图 9(a)~(c)所示,可见,传统分水岭算法对噪声的抑制能力不强,出现了过度分割的现象,导致局部分割线偏移,粘连细胞的分割效果粗略、杂乱。改进型分水岭算法对阴性细胞的分割效果如图 9(d)~(f)所示,可见,改进型分水岭算法消除了更多的噪声,降低了局部最小值和过细纹理的影响,并能够根据细胞的病理形态特征更好地分割粘连细胞,细胞得到了有效分离,而且每个细胞保持独立、完整的轮廓信息,分割脊线明显清晰、准确,为后续的 Ki-67 指标分析提供了正确的病理数据。

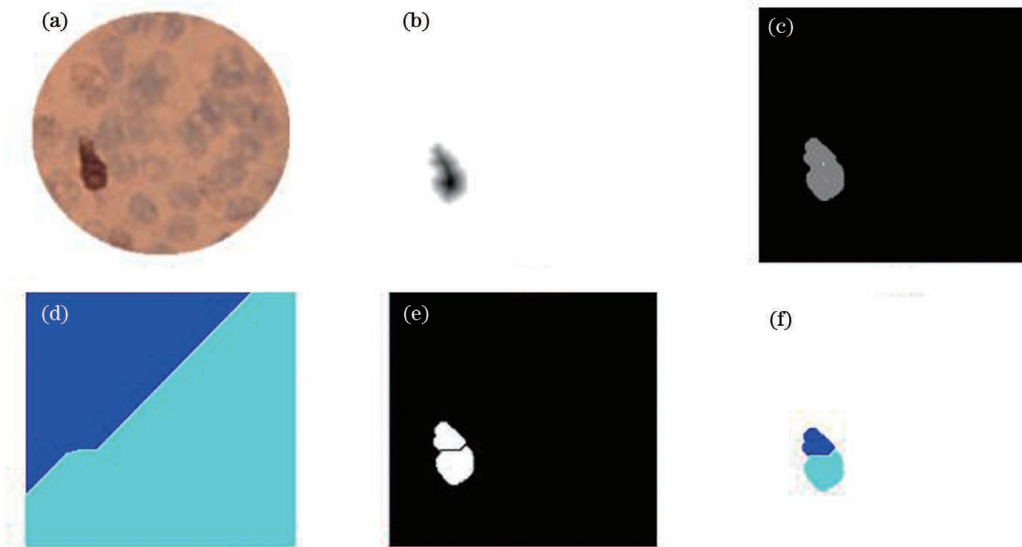


图 7 改进型分水岭算法处理阳性细胞的效果图。(a)ANENs 病理图像;(b)距离变换处理效果图;(c)强制最小技术处理后的效果;(d)改进型分水岭算法的处理效果;(e)二值图像的分割效果图;(f)彩色标记分割效果图

Fig. 7 Positive cells processing images obtained by improved watershed algorithm. (a) Image of ANENs pathological section; (b) distance transform image; (c) image by forced minimum technique processing; (d) image processed by improved watershed algorithm; (e) binary segmentation image; (f) color marker segmentation image

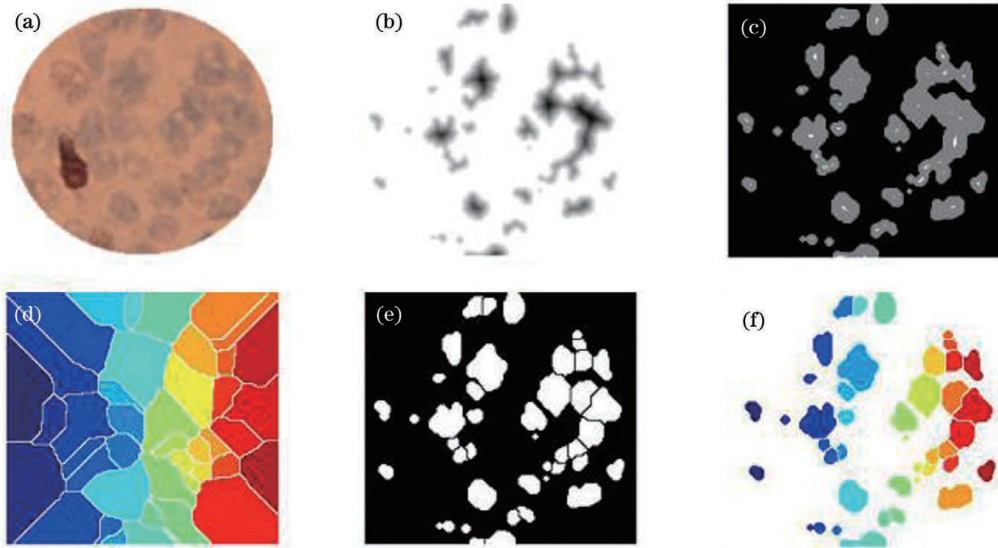


图 8 改进型分水岭算法处理阴性细胞的效果图。(a)ANENs 病理图像;(b)距离变换处理效果图;(c)强制最小技术处理后的效果;(d)改进型分水岭算法的处理效果;(e)二值图像分割效果图;(f)彩色标记分割效果图

Fig. 8 Negative cells processing images obtained by improved watershed algorithm. (a) Image of ANENs pathological section; (b) distance transform images; (c) image by forced minimum technique processing; (d) image processed by improved watershed algorithm; (e) binary segmentation image; (f) color marker segmentation image

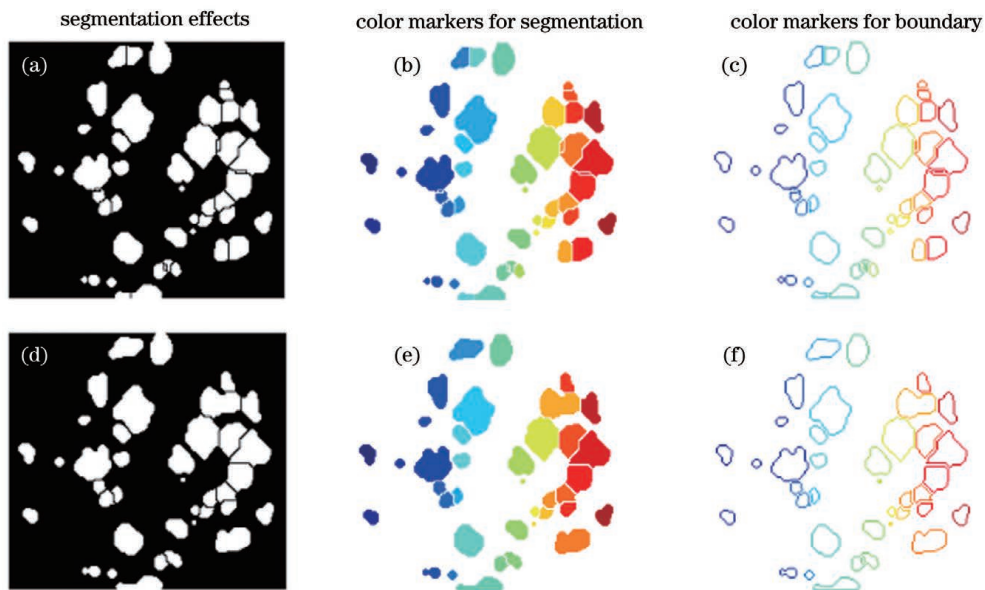


图 9 算法改进前后阴性细胞的分割效果图。(a)~(c)传统型分水岭算法;(d)~(f)改进型分水岭算法

Fig. 9 Negative cells segmentation effect diagrams before and after algorithm improvement. (a)~(c) Traditional watershed algorithm; (d)~(f) improved watershed algorithm

5 实验结果分析

本研究通过求解病理图像视野内所有病变区域中阳性细胞总数和阴性细胞总数的方式来实现 Ki-67 指标值(即阳性细胞百分率)的计算。

Ki-67 指标值的计算公式为

$$N_{\text{Ki-67}} = \frac{N_p}{N_p + N_n}, \quad (5)$$

式中: N_p 和 N_n 分别为病理图像视野内所有病变区域中阳性细胞总数和阴性细胞总数。

在实验过程中记录了改进型算法处理 ANENs 病理图像中阳性细胞的详细统计数据,如表 1 所示。计算机辅助处理得到的阳性细胞数与医生提供的标准数比较接近,满足病理诊断要求。将传统分水岭算法的过分割率与改进型分水岭算法得到的过分割率进行比对,结果如图 10 所示。由表 2 可以看出,传统

表 1 改进型分水岭算法处理阑尾神经内分泌肿瘤病理图像中阳性细胞的实验数据

Table 1 Experimental data of positive cells in ANENs pathological section images obtained by improved watershed algorithm

Cell image No.	Doctor	Quantity of positive cells		Diagnostic requirement
		Traditional algorithm	Improved algorithm	
1	10	12	10	Yes
2	11	13	11	Yes
3	12	14	12	Yes
4	9	12	9	Yes
5	8	11	8	Yes
6	13	15	12	Yes
7	11	13	11	Yes
8	10	12	10	Yes

表 2 阑尾神经内分泌肿瘤病理图像中阴性细胞的实验数据

Table 2 Experimental data of negative cells in ANENs pathological section images

No.	Negative cell number from doctor	Negative cell number from traditional algorithm	Over-segmentation rate from traditional algorithm / %	Negative cell number from improved algorithm	Over-segmentation rate from improved algorithm / %	Improved algorithm's accuracy / %
1	423	524	10.7	454	3.5	92.7
2	430	531	10.5	465	3.9	91.9
3	428	516	9.3	468	4.5	90.7
4	370	452	10.0	391	2.8	94.3
5	351	443	11.7	368	2.4	95.2
6	480	576	9.1	496	1.6	96.7
7	421	524	10.9	457	4.1	91.4
8	408	498	9.9	430	2.6	94.6

在阳性细胞和阴性细胞分割计数准确率要求的前提下,根据(5)式对 Ki-67 指标进行计算。对 100 组实验数据进行统计,随机抽取 30 组医生计算标准 Ki-67 值与计算机处理值(采用改进型分水岭算法)进行对比,结果如图 11 所示。表 3 的实验数据表明,计算机处理 ANENs(G1 期)病理图像 Ki-

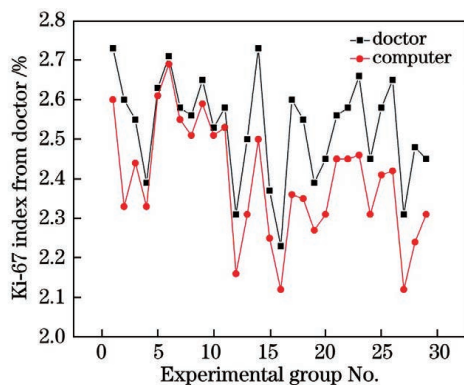


图 11 Ki-67 指标数据分析图

Fig. 11 Data analysis of Ki-67 index

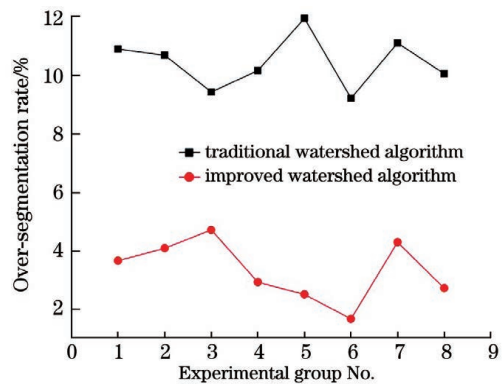


图 10 阴性细胞的过分割率数据

Fig. 10 Over-segmentation rate data of negative cells

分水岭算法处理阴性细胞的平均过分割率为 10.3%,改进型分水岭算法处理阴性细胞的平均过分割率为 3.3%,分割阴性粘连细胞的平均准确率为 93.4%。

67 指标的平均准确率为 93.2%,平均误差率为 6.8%。系统运行速度或执行时间是评估系统有效性的重要指标。本研究将病理医生处理切片图像的时间消耗与系统处理的时间消耗进行对比,结果如图 12 所示。可见,病理医生的平均时间消耗为 57.4 s,计算机的平均时间消耗降低到 29.5 s。这

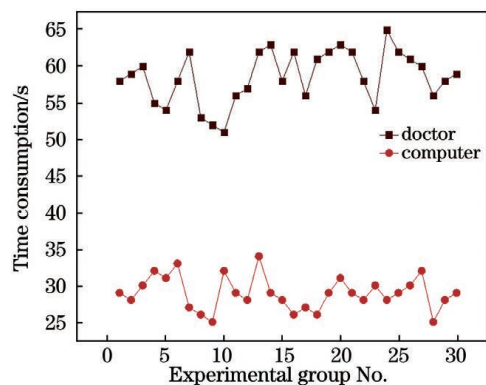


图 12 处理图像的时间消耗对比图

Fig. 12 Comparison of time consumption on image processing

表 3 阑尾神经内分泌肿瘤病理切片诊断指标实验数据

Table 3 Experimental data of diagnostic indicators of ANENs pathological sections

Experimental group No.	Ki-67 index from doctor /%	Ki-67 index from computer /%	Ki-67 accuracy rate by computer /%	Doctor's time consumption /s	Computer's time consumption /s	Error rate from computer /%	Diagnostic value	Diagnostic requirements
1	2.31	2.16	93.5	58	29	6.5	<3%	Yes
2	2.50	2.31	92.4	59	28	7.6	<3%	Yes
3	2.73	2.50	91.6	60	30	8.4	<3%	Yes
4	2.37	2.25	95.0	55	32	5.0	<3%	Yes
5	2.23	2.12	95.0	54	31	5.0	<3%	Yes
6	2.60	2.36	90.8	58	33	9.2	<3%	Yes
7	2.55	2.35	92.2	62	27	7.8	<3%	Yes
8	2.39	2.27	94.9	53	26	5.1	<3%	Yes

表明,计算机处理可以大幅提高病理图像的处理速度和工作效率。

6 结 论

阑尾神经内分泌肿瘤(ANENs)病理切片 Ki-67 指标的快速准确评估对于判断肿瘤的恶性程度、预后和指导术后辅助治疗具有重要意义。本文采用强制最小技术修改距离变换的改进型分水岭算法,对 ANENs 病理图像中阳性和阴性粘连细胞完成了分割、计数,有效降低了阴性细胞分割的平均过分割率。该算法对所需分割细胞区域的像素访问次数较少,效率较高。采用本文所提算法能较为准确地自动计算出 ANENs 病理图像的 Ki-67 指标,可辅助病理医生进行医疗诊断,有效减少了医生的工作量。在后续的研究中拟尝试加入人工智能神经网络算法来提升系统的性能,从而进一步推动医疗诊断技术的智能化发展。

参 考 文 献

- [1] Gómez M M Y, Escalante H J, Segura A, et al. Advances in artificial intelligence: IBERAMIA2016 [M]. Cham: Springer, 2016.
- [2] Lousberg L, Collignon J, Detry O. Appendiceal neuroendocrine neoplasms: incidentaloma or something we should worry about? [J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2020, 36(1): 48-54.
- [3] Hsu C, Rashid A, Xing Y, et al. Varying malignant potential of appendiceal neuroendocrine tumors: importance of histologic subtype [J]. Journal of Surgical Oncology, 2013, 107(2): 136-143.
- [4] Yao J C, Hassan M, Phan A, et al. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35, 825 cases in the United States [J]. Journal of Clinical Oncology, 2008, 26(18): 3063-3072.
- [5] Limaïem F, Bouhajja L, Sassi A, et al. Neuroendocrine tumors of the appendix: a retrospective study of 19 cases [J]. American Journal of Case Reports, 2017, 5(1): 7-10.
- [6] Moris D, Tsilimigras D I, Vagios S, et al. Neuroendocrine neoplasms of the appendix: a review of the literature [J]. Anticancer Research, 2018, 38(2): 601-611.
- [7] Sutton R, Doran H E, Williams E I, et al. Surgery for midgut carcinoid [J]. Endocrine-Related Cancer, 2003, 10: 469-481.
- [8] Alexandraki K I, Kaltsas G A, Grozinsky-Glasberg S, et al. Appendiceal neuroendocrine neoplasms: diagnosis and management [J]. Endocrine-Related Cancer, 2016, 23(1): R27-R41.
- [9] da Silva Abreu R P N. Appendiceal neuroendocrine tumors: approach and treatment [J]. Journal of Coloproctology, 2018, 38(4): 337-342.
- [10] Mao W L, Lü Y, Pu N, et al. Prognostic analysis and clinicopathological features of 20 patients with appendiceal neuroendocrine neoplasms [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery, 2018, 21(5): 564-568.
毛威麟, 吕洋, 浦宁, 等. 阑尾神经内分泌肿瘤临床病理特征及预后分析 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(5): 564-568.
- [11] Robertson S, Acs B, Lippert M, et al. Prognostic potential of automated Ki67 evaluation in breast

- cancer: different hot spot definitions versus true global score[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2020, 183(1): 161-175.
- [12] Koopman T, Buikema H J, Hollema H, et al. Digital image analysis of Ki67 proliferation index in breast cancer using virtual dual staining on whole tissue sections: clinical validation and inter-platform agreement[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2018, 169(1): 33-42.
- [13] Li T T, Feng D W, Li Q, et al. Quantitative detection method of fluorescence immunochromatography based on microscopic digital image[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2020, 47(11): 1107001.
李婷婷, 冯大伟, 李琦, 等. 基于显微镜数字图像的荧光免疫层析定量检测方法[J]. *中国激光*, 2020, 47(11): 1107001.
- [14] Nakamura A, Mizuta T, Shimotsuma Y, et al. Picosecond burst pulse machining with temporal energy modulation [Invited] [J]. *Chinese Optics Letters*, 2020, 18(12): 123801.
- [15] Li W T, Sun X L, Wang Y, et al. *In vivo* quantitative photoacoustic microscopy of gold nanostar kinetics in mouse organs [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(8): 2679-2685.
- [16] Li Q L, Chen K, Huang W C, et al. Minimally invasive photothermal ablation assisted by laparoscopy as an effective preoperative neoadjuvant treatment for orthotopic hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Letters*, 2021, 496: 169-178.
- [17] Tang L H. Epithelial neoplasms of the appendix[J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2010, 134(11): 1612-1620.
- [18] Virgone C, Cecchetto G, Alaggio R, et al. Appendiceal neuroendocrine tumors in childhood[J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 2014, 58(3): 333-338.
- [19] Shao Q, Xu C C, Zhou Y, et al. Cast shadow detection based on the YCbCr color space and topological cuts[J]. *The Journal of Supercomputing*, 2020, 76(5): 3308-3326.
- [20] Alwan Z A, Farhan H M, Mahdi S Q. Color image steganography in YCbCr space[J]. *International Journal of Electrical and Computer Engineering (IJECE)*, 2020, 10(1): 202-209.
- [21] Liu K, Li X J. De-hazing and enhancement methods for underwater and low-light images[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(19): 1910003.
刘柯, 李旭健. 水下和微光图像的去雾及增强方法[J]. *光学学报*, 2020, 40(19): 1910003.
- [22] Cai Y F, Chen T Y, Wang J, et al. Image noise reduction in computed tomography with non-local means algorithm based on adaptive filtering coefficients[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(7): 0710001.
蔡玉芳, 陈桃艳, 王珏, 等. 基于自适应滤波系数的非局部均值计算机层析成像的图像降噪方法[J]. *光学学报*, 2020, 40(7): 0710001.
- [23] Zhang J P, Yu F Q. Improved image measurement edge detection based on Canny operator[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(24): 241024.
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.
- [24] Phornphatcharaphong W, Eua-Anant N. Edge-based color image segmentation using particle motion in a vector image field derived from local color distance images[J]. *Journal of Imaging*, 2020, 6(7): 72.
- [25] Das B K, Dutta H S. GFNB: Gini index-based Fuzzy Naive Bayes and blast cell segmentation for leukemia detection using multi-cell blood smear images [J]. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 2020, 58(11): 2789-2803.
- [26] Gush T, Bukhari S B A, Haider R, et al. Fault detection and location in a microgrid using mathematical morphology and recursive least square methods [J]. *International Journal of Electrical Power & Energy Systems*, 2018, 102: 324-331.
- [27] Zhao X D, Zhang Y M, Dai X F, et al. Mathematical morphological binary image parallel processing using the approach of optical frequency filtering by a complex valued kernel[J]. *Acta Optica Sinica*, 1996, 16(9): 77-81.
赵晓东, 张以谟, 戴晓芳, 等. 利用复数核频域处理实现二值图像数学形态光学并行处理[J]. *光学学报*, 1996, 16(9): 77-81.
- [28] Gamarra M, Zurek E, Escalante H J, et al. Split and merge watershed: a two-step method for cell segmentation in fluorescence microscopy images[J]. *Biomedical Signal Processing and Control*, 2019, 53: 101575.
- [29] Zhao J W, Wang P, Liu C Q. Watershed image segmentation based on wavelet transform[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2003, 32(5): 601-604.
赵建伟, 王朋, 刘重庆. 基于小波变换的分水岭图像分割方法[J]. *光子学报*, 2003, 32(5): 601-604.
- [30] Liu X N, Wang Y T, Zhao C, et al. Research on image segmentation method of Lingwu long jujubes based on watershed [J]. *Computer Engineering and Applications*, 2018, 54(15): 169-175, 184.
刘向南, 王昱潭, 赵琛, 等. 基于分水岭算法的灵武长枣图像分割方法研究[J]. *计算机工程与应用*, 2018, 54(15): 169-175, 184.

- [31] Öfverstedt J, Lindblad J, Sladoje N. Stochastic distance transform: theory, algorithms and applications[J]. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 2020, 62(5): 751-769.
- [32] Coeurjolly D, Montanvert A. Optimal separable algorithms to compute the reverse Euclidean distance transformation and discrete medial axis in arbitrary dimension[J]. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2007, 29(3): 437-448.