

高倍率大视场细胞内镜成像系统研究

张伟¹, 牛春阳², 游兴海², 袁波¹, 王立强^{1,2*}, 杨青^{1,2}¹浙江大学光电科学与工程学院, 浙江 杭州 310027;²之江实验室超级感知研究中心, 浙江 杭州 311100

摘要 细胞内镜是一种具有超高放大倍率的内窥镜,能够在体内直接观察到染色的细胞核,对早期癌症的诊断具有重要意义,目前仅日本奥林巴斯公司拥有相应的技术。细胞内镜的核心是其头端部的光学成像系统,现有的细胞内镜成像系统在高倍率成像时视场范围较小,检查效率低。本文提出了一种高倍率大视场细胞内镜成像系统,采用 6 片球面系统实现了高性能低成本的大视场变焦内窥镜,并基于此搭建了细胞内镜成像系统。实验结果表明:该系统的物方分辨率达到了 181.0 lp/mm,放大倍数约为 500 倍,显微成像视场范围显著增大至 1200 $\mu\text{m} \times 670 \mu\text{m}$,是现有细胞内镜成像系统的 2 倍以上。在此基础上,采用深度学习方法为系统增添了细胞核分割功能,分割准确度达到了 96.58%,验证了所搭建的成像系统对细胞核形态细节的成像能力。

关键词 成像系统; 内窥镜成像; 光学设计; 细胞内镜; 细胞核分割

中图分类号 TN29; TP391.4

文献标志码 A

doi: 10.3788/AOS202141.1717001

Endocytoscopic Imaging System with High Magnification and Large Field of View

Zhang Wei¹, Niu Chunyang², You Xinghai², Yuan Bo¹, Wang Liqiang^{1,2*}, Yang Qing^{1,2}¹College of Optical Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China;²Research Center for Intelligent Sensing, Zhejiang Lab, Hangzhou, Zhejiang 311100, China

Abstract Endocytoscopy (EC), as a kind of endoscope with ultra-high magnification, enables the *in vivo* observation of stained nuclei directly, which is of great significance for the diagnosis of early-stage cancer. Only Olympus of Japan has the technology so far. The core component of EC is the optical imaging system at the tip, and the current endocytoscopic imaging system has a small field of view (FOV) during imaging at high magnification, which leads to low efficiency. In this study, an endocytoscopic imaging system with high magnification and a large FOV has been proposed. We use six-piece spherical system to realize a zoom endoscopic objective lens with a large FOV, which has merits of high performance and low cost. Then, we construct the endocytoscopic imaging system based on this lens. The experimental results show that the object resolution of our system arrives at 181.0 lp/mm, and the magnification is about 500 \times . In addition, the FOV of microscopic imaging is significantly increased to 1200 $\mu\text{m} \times 670 \mu\text{m}$, which is more than double that of the current endocytoscopic imaging system. On this basis, the nuclear segmentation function is added to the system by deep learning, and the segmentation accuracy reaches 96.58%, which verifies the imaging ability of our system for the details of nuclear morphology.

Key words imaging systems; endoscopic imaging; optical design; endocytoscopy; nuclear segmentation

OCIS codes 170.2150; 100.4996

收稿日期: 2021-02-23; 修回日期: 2021-03-22; 录用日期: 2021-03-29

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFC0119502)、浙江省重点研发计划(2018C03064)、中央高校基本科研业务费专项(2019FZA5016)

通信作者: *wangliqiang@zju.edu.cn

1 引言

细胞内镜(EC)是一种具有超高放大倍率的高端电子内窥镜,是上消化道早期癌症诊断的重要工具之一^[1-2]。在内镜检查过程中,当发现可疑病灶时,常规的诊断方式需要对可疑部位取活检进行病理检查,这种方式会对病灶造成一定程度的损伤,且诊断效率低;而细胞内镜结合术中染色可以直接在体内观察到细胞以及细胞核的状态,实现体内“光学活检”,诊断效率高^[3-5]。因此,细胞内镜系统及其应用逐渐成为了国内外的研究热点,但此项技术被日本的奥林巴斯公司垄断。

2003年,奥林巴斯公司发布了第一代细胞内镜系统,该系统采用的是导管内镜,需要借助母镜的器械通道才能完成检查。这种细胞内镜的放大倍率在14 inch(1 inch=2.54 cm)显示器上可以达到1100倍,但成像视场范围仅为 $120\ \mu\text{m} \times 120\ \mu\text{m}$ ^[6]。2005年,第二代细胞内镜系统将两个镜头同时集成到了内镜头端部,连接19 inch显示器时放大倍率可以达到450倍,视野范围为 $400\ \mu\text{m} \times 400\ \mu\text{m}$ ^[7]。前两代细胞内镜系统的放大倍率固定,难以直接找到病灶,所以需要母镜引导才能实现定位。因此,2009年,奥林巴斯公司开发出了第三代细胞内镜系统,该系统实现了连续变焦放大,使病灶的定位变得容易。这种内镜头端部只包含一个变焦物镜,连接19 inch显示器时最大放大倍率可以达到380倍,视场范围达到了 $700\ \mu\text{m} \times 600\ \mu\text{m}$ ^[8-9]。但是,380倍的放大倍率难以清晰地观察到细胞及细胞核的异常,所以在2015年该公司推出了第四代,也是最新一代的细胞内镜系统。该内镜系统连接26 inch显示器时可以实现500倍的连续变焦放大,视场范围为 $570\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$ ^[10]。第四代细胞内镜系统虽然提升了放大倍率,但显微观察的视场也缩减了一部分。为突破国外技术垄断,本课题组重点研究了如何在保证500倍放大倍率的同时进一步扩大显微成像视

场范围。

随着细胞内镜技术的不断成熟,细胞内镜在临床应用中的研究越来越多。Kumagai等^[11]利用细胞内镜系统成功观察到了食管上皮组织的细胞核,并发现不同类型病变下细胞核的形态分布各不相同。Ono等^[12]利用细胞内镜系统成功观察到了宫颈上皮组织的细胞核,并得出了使用细胞内镜对宫颈上皮内病灶进行光学细胞诊断可以达到高诊断准确率的结论。目前,医生的诊断大多基于对“体内病理”图像的主观判断,而大多数临床内窥镜医生并没有相关的病理诊断经验,所以细胞内镜系统需要提供定量精准的病理分析,辅助医生进行实时诊断,同时为细胞内镜诊断标准化研究提供探索性工具。根据临床研究,细胞核是“体内病理”的重要特征之一^[11-14],所以本文基于卷积神经网络(CNN)为细胞内镜成像系统增加细胞核分割功能,为病理诊断提供客观定量的分析依据^[15-16]。

2 系统结构

本文提出的高倍率大视场细胞内镜成像系统带有细胞核分割功能,系统整体结构如图1所示。其中,大视场细胞内镜成像是核心部分,主要包括内窥镜物镜、CMOS(互补金属氧化物半导体)图像传感器、编码电路以及图像采集电路等,其难点在于大视场变焦内窥镜物镜的设计,既要增加成像系统在显微观察时的视场范围,又要保证高倍率和高分辨,以满足该成像系统对细胞核等微小结构的清晰成像。在初期实验阶段,本系统主要对分辨率板和组织切片进行成像,目的是测量和验证该系统的成像性能。由于对分辨率板和组织切片成像时玻璃表面会对主动照明产生强反光,所以本实验中的照明方式采用的是背光照明。在对组织切片进行成像时,考虑到细胞核是细胞内镜下病理诊断的重要依据,所以本文基于深度学习方法为系统增加细胞核分割功能,主要步骤包括图像预处理、图像分块、卷积神经网络

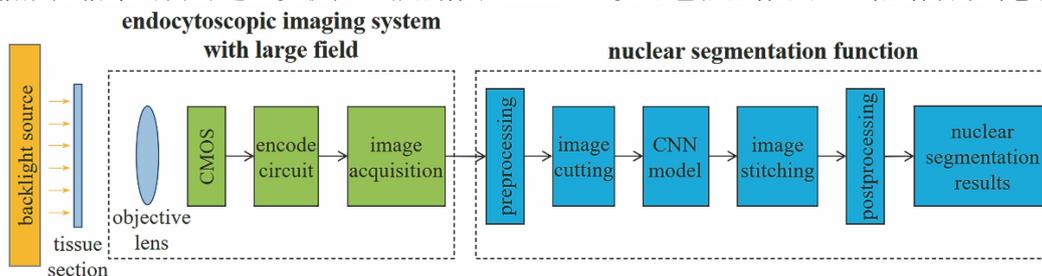


图 1 带有细胞核分割功能的大视场细胞内镜成像系统结构

Fig. 1 Structure of large-view field endocytoscopic imaging system with nuclear segmentation function

模型分割、图像拼接、图像后处理等。细胞核的准确分割能够说明该系统对细胞核形态细节具有较好的成像能力。

3 大视场细胞内镜成像系统

3.1 大视场变焦内窥镜的设计

细胞内镜实现连续变焦放大功能的关键部件是其前端的变焦内窥镜物镜,这是一种小口径、大视场的光学成像系统,对细胞内镜整体的放大倍率和视场范围具有决定性作用。目前,最先进的细胞内镜成像系统在最高放大倍率下的视场对角线长度仍然不足 1 mm,所以本文通过设计一个大视场变焦内窥镜物镜来提升视场范围,使其对角线长度达到 1 mm 以上,具体设计要求如表 1 所示。

表 1 大视场变焦内窥镜的设计要求

Table 1 Design requirements of zoom endoscopic objective lens with large-view field

Technical parameter	Value
Diameter /mm	<3
Zoom-focus /mm	0-100
Field of view /($^{\circ}$)	140
F number	6
Camera target /inch	1/6

高倍率大视场变焦内窥镜在设计时需要兼顾大视场常规成像和高分辨显微成像,而两者均受内窥镜尺寸的限制,如何在尺寸受限的情况下保证全视场像质逼近衍射极限是设计的难点。本课题组充分利用应用场景的合理性,即内窥镜可紧贴黏膜观察,在物镜设计中使成像物面与蓝宝石玻璃的最外壁重合,紧贴组织表面,并且以调焦组第一面镜片位置作为孔径光阑位置,实现光阑位置与调焦组的同步移动,保证大视场中的大角度光束可以顺利通过孔径光阑,实现更大的显微成像视场范围。所设计的变焦内窥镜从物体侧到像侧依次由负组、调焦组和正组组成,负组和调焦组均为一个胶合透镜,而正组由一个正透镜和一个胶合透镜构成。调焦组在牵引钢丝的拉力下可沿光轴移动,实现连续光学变焦放大功能。文献[17]提出了超紧凑光学变焦内窥镜成像系统,其模组总长达到了 19.7 mm,且用到了两个非球面透镜和一对由两个自由曲面光学元件组成的 Alvarez 透镜。与该系统相比,本课题组设计的变焦物镜成像系统结构更加简单,调焦更加方便,总共仅包含 6 个球面镜片,光学总长 7.8 mm,大

大缩短了内窥镜镜头端部的长度,有利于体内大角度弯曲观察。由于内窥镜物镜经常需要贴住表面进行显微观察,且还需要移动,以实现不同视场的显微成像,所以负组的第一片镜片选择耐磨性能较好的蓝宝石玻璃作为保护窗,用以保护光学镜组的第一面镜片不受磨损,从而保证长期稳定的成像性能。在正组的像方一侧还包含一个红外截止片,用以滤除照明光源中的近红外光,同时该截止片对可见光的透过率达到 99.5%,使得在可见光照明的场景下白平衡和颜色还原更加准确。经过 ZEMAX 软件设计和结构参数优化之后,大视场变焦物镜的光学结构如图 2(a)所示,经过加工封装得到了图 2(b)所示的细胞内镜成像模块,该模块包含大视场变焦物镜、CMOS 图像传感器和牵引钢丝,该模块的最宽外径为 5.5 mm。在此基础上,经过进一步完善封装最终得到了图 2(c)所示的细胞内镜探头,其外径为 9.8 mm,与目前临床上普遍使用的常规胃镜的外径相同。

高倍率大视场变焦内窥镜可以在 0~100 mm 范围内实现光学变焦放大,其有两种成像模式:一种是常规成像模式,物镜对远处聚焦;另一种是放大成像模式,调焦组在牵引钢丝的拉力下向成像面移动,物镜对近处聚焦。当探头贴在物体表面时,系统放大倍率达到最大,此时可以完成显微成像。在常规成像模式下,选择对物距 10 mm 处聚焦并计算了归一化坐标中 0° 视场角 (AXIS)、 15.05° 半视场角 (0.3 FIELD)、 30.55° 半视场角 (0.6 FIELD)、 46.95° 半视场角 (0.8 FIELD) 和 60.95° 半视场角 (1.0 FIELD) 等 5 个视场的光学传递函数值,如图 3(a)所示。在放大成像模式下,选择对物距 2 mm 处聚焦并计算了归一化坐标中 0° 视场角 (AXIS)、 16.53° 半视场角 (0.3 FIELD)、 33.82° 半视场角 (0.6 FIELD)、 53.09° 半视场角 (0.8 FIELD) 和 72.85° 半视场角 (1.0 FIELD) 等 5 个视场的光学传递函数 (MIF) 值,如图 3(b)所示。计算结果显示,在调制度为 0.26 时,两种成像模式下所有视场的像方空间频率均可以达到 150 lp/mm 以上。图 4 展示的是两种成像模式下大视场变焦内窥镜的点列图,各个视场下的均方根 (RMS) 半径均小于光学系统的艾里斑半径。因此,设计的大视场变焦内窥镜在全视场范围内的调制度均与衍射极限接近,最大成像视场超过 145° ,具有高分辨、大视场的优点。

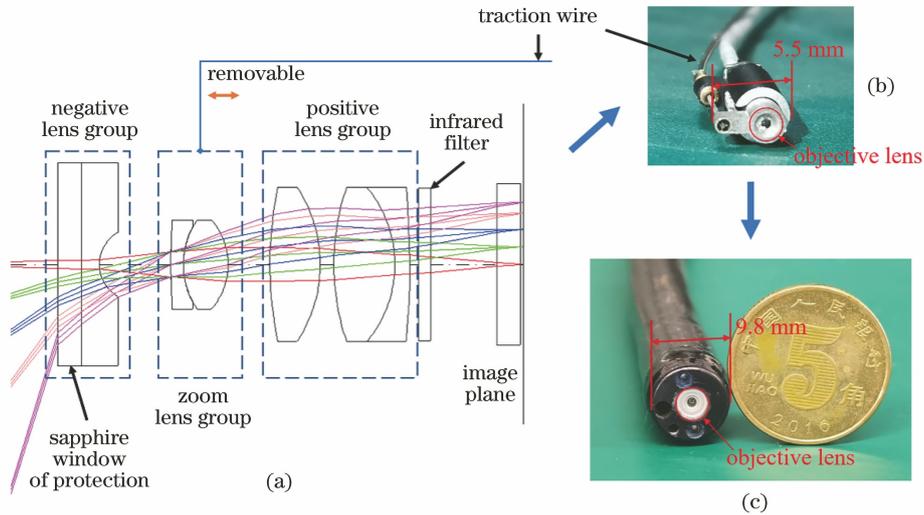


图 2 大视场变焦内窥镜物镜的设计和封装。(a)光学结构;(b)细胞内镜成像模块;(c)细胞内镜探头
 Fig. 2 Design and assembly of zoom endoscopic objective lens with large-view field. (a) Optical structure;
 (b) endocytoscopic imaging module; (c) endocytoscopic tip

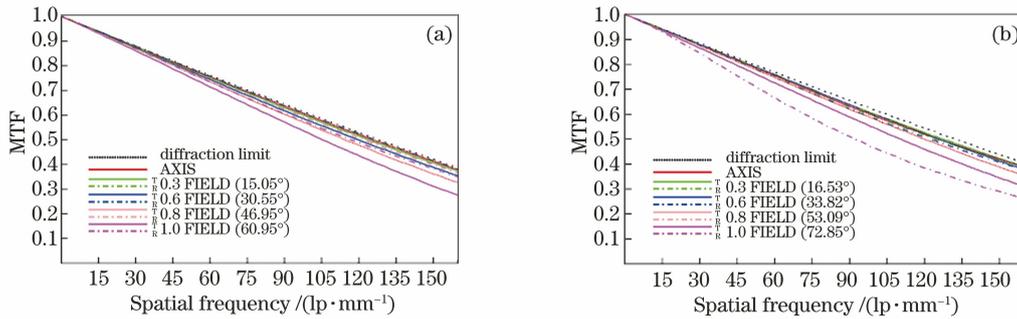


图 3 大视场变焦内窥镜物镜两种成像模式的光学传递函数。(a)常规成像模式;(b)放大成像模式
 Fig. 3 Modulation transfer function (MIF) of two imaging modes of zoom endoscopic objective lens with large-view field.
 (a) Conventional imaging mode; (b) magnifying imaging mode

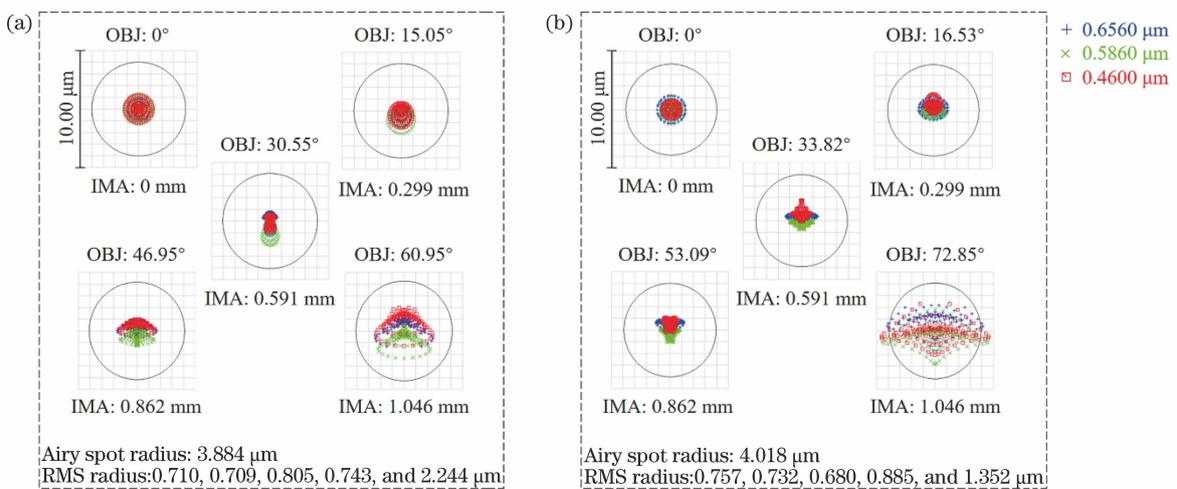


图 4 大视场变焦内窥镜物镜两种成像模式的点列图。(a)常规成像模式;(b)放大成像模式
 Fig. 4 Spot diagrams of two imaging modes of zoom endoscopic objective lens with large-view field.
 (a) Conventional imaging mode; (b) magnifying imaging mode

3.2 成像性能的实验分析

为了验证大视场细胞内镜成像系统的实际成像性能,搭建了如图 5 所示的实验系统。细胞内镜成像系统最重要的参数包括显微成像时的放大倍数、视场范围以及分辨率,所以针对这三个指标,采用拍摄分辨率板的方式进行测量,分辨率板型号为 Edmund $2'' \times 2''$ 的 USAF 1951 标准透射式分辨率板,其最高分辨率为 228.0 lp/mm 。在常规成像时,当物距为 20 mm 时,系统拍摄的分辨率板图像如图 6(a)所示,整个分辨率板都处于视野范围内。在显微成像时,探头贴住分辨率板的中心并调节焦距(顺时针旋转图 5 中的 TW 旋钮),采用最高放大倍率

进行成像,成像结果如图 6(b)所示,分辨率板的第 6 组和第 7 组位于图像中央。当连接 27 inch 医用显示器时,可以计算得到放大倍数约为 500 倍,视场范围约为 $1200 \mu\text{m} \times 670 \mu\text{m}$,分辨率可以达到 181.0 lp/mm 。所搭建的细胞内镜成像系统与奥林巴斯公司第一~四代细胞内镜成像系统的参数对比如表 2 所示。与第四代细胞内镜 GIF-Y0074^[10]相比,在放大倍数相当的情况下,本课题组设计的成像系统的视场范围是其 2 倍以上。可见,所设计并封装的大视场细胞内镜成像系统达到了预期的设计要求,在保证高倍率的同时,显著增大了显微成像的视场范围。

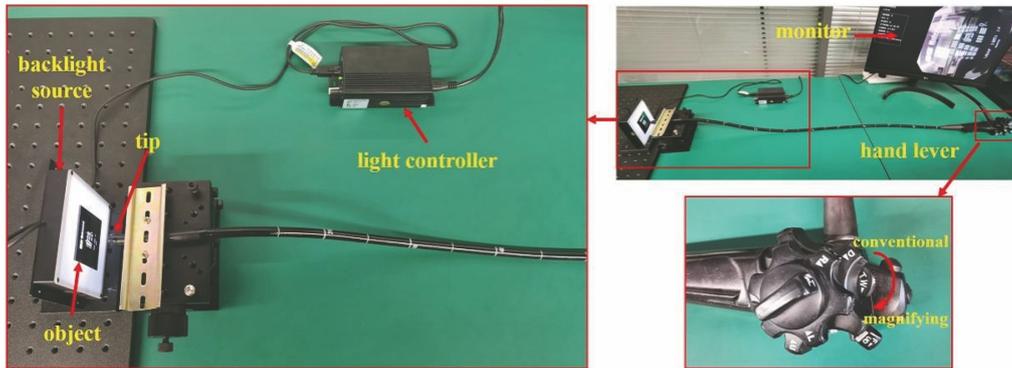


图 5 成像性能实验系统

Fig. 5 Imaging performance experimental system

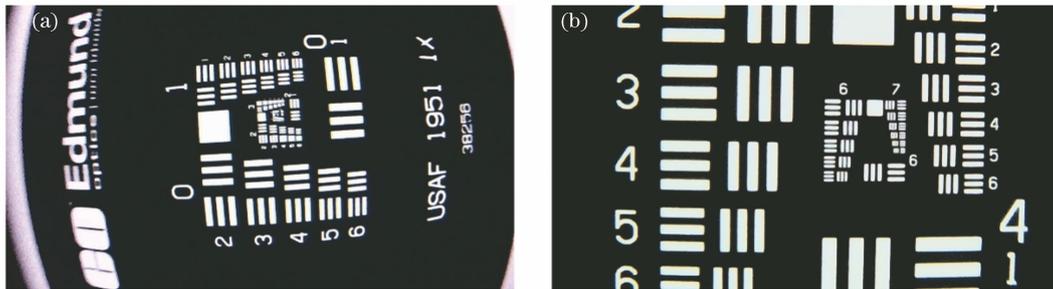


图 6 大视场细胞内镜成像系统拍摄的分辨率板图像。(a)常规成像;(b)显微成像

Fig. 6 Images of resolution target captured by endocytoscopic imaging system with large-view field.

(a) Conventional imaging; (b) micro-imaging

表 2 细胞内镜成像系统参数对比

Table 2 Comparison of parameters of endocytoscopic imaging systems

Imaging system	Year	Magnifying power (monitor size)	Field of view / ($\mu\text{m} \times \mu\text{m}$)	Magnifying mode
XEC120U ^[6]	2003	1125 (14 inch)	120×120	Fixed
XEC300F ^[6]	2003	450 (14 inch)	300×300	Fixed
GIF-Y0001 ^[7]	2005	450 (14 inch)	400×400	Fixed
GIF-Y0002 ^[9]	2009	380 (19 inch)	700×600	Gradual increase
GIF-Y0074 ^[10]	2015	500 (26 inch)	570×500	Gradual increase
Ours	—	500 (27 inch)	1200×670	Gradual increase

本课题组所设计的成像系统的未来目标是在活体中实现高分辨病理观察。在系统搭建完成的初期,选择可以长期保存且染色稳定的病理组织切片进行观察,以验证高倍率大视场细胞内镜成像系统是否可以对染色的细胞核进行清晰成像。实验所使用的组织切片均由浙江大学医学院中国人脑库提供,该类型的组织经免疫组化和苏木素核染后制成切片。采用本课题组设计的成像系统拍摄的切片图

像如图 7(a)所示;采用数字病理切片扫描仪(KF-PRO-020,KFBIO,宁波江丰生物信息技术有限公司)拍摄切片并截取近似同一块区域进行观察,观察结果如图 7(b)所示。对比图 7(a)、(b)可以看出:采用本课题组设计的成像系统拍摄的图像接近数字病理切片扫描仪拍摄的图像,染色细胞核的形态分布也非常相似,说明所设计的系统足以观察到细胞核等微小组织结构。

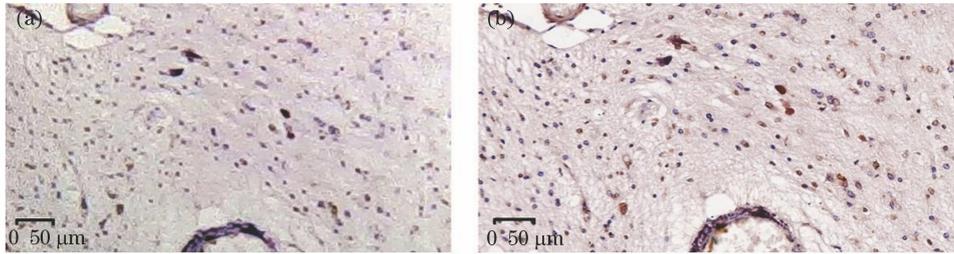


图 7 大视场细胞内镜成像系统与数字病理切片扫描仪拍摄图像的对比。(a)大视场细胞内镜成像系统拍摄的图像;
(b)数字病理切片扫描仪拍摄的图像

Fig. 7 Comparison of photos captured by endocytoscopic imaging system with large-view field and digital pathology section scanner. (a) Photo captured by endocytoscopic imaging system with large-view field; (b) photo captured by digital pathology section scanner

4 细胞核分割功能

根据 Kumagai 等^[11]和 Ono 等^[12]在细胞内镜临床应用中的研究发现,细胞内镜系统在食管和宫颈部位诊断病灶良恶性的主要依据为细胞核的特征,所以细胞内镜成像系统需要对染色细胞核的形态细节具有清晰成像的能力。在疾病发展的早期,细胞核的形态变化一般较为轻微,主观观察会导致诊断误差较大。因此,为了能够定量分析细胞核的形态特征,应采用深度学习方法为系统增加细胞核分割功能,这在细胞内镜辅助诊断及标准化研究中都具有一定的发展潜力。

4.1 数据集

本课题组基于病理组织切片进行初步研究,为高倍率大视场细胞内镜成像系统增加了组织切片染色细胞核的分割功能,使得该系统未来可迁移到真实的“体内病理”图像上。在 4 张不同的组织切片上共采集到 40 张不同区域的染色细胞核图像,对这些图像进行手动标注,制作出细胞核分割数据集,将其中的 10 张图像作为模型的测试集。由于所设计的成像系统的视场范围较大,所以每张图像中包含的细胞核数量众多,通过对标注结果进行统计得出 40 张图像中总共标注了约 9790 个细胞核。

4.2 分割方法及评价指标

深度学习在生物医学图像分割领域的应用已日趋成熟^[18-19],且相比于传统的图像分割方法,精度实现了较大提升。Ronneberger 等^[20]提出的 U-Net 网络是一个适用于生物医学图像分割的卷积神经网络^[21-22],该网络结构简单,实时性好,在 2015 年 ISBI 细胞追踪挑战中获得了冠军。因此,这里采用 U-Net 网络作为细胞核分割模型的基本框架。

由于原始细胞核图像尺寸较大,且单个细胞核目标较小,直接将原始图像用于训练对显存要求较高,且难以获得较好的分割效果,所以本课题组对用于训练的原始图像进行切割分块。通过这种方式,共获得 1212 张 128 pixel×128 pixel 的图像块,同时生成了 1212 张与之对应的标签图像块。然后,将这 1212 对图像块作为新的训练集,用来训练 U-Net 细胞核分割模型。当使用该模型对测试图像进行细胞核分割时,需要先将原始图像进行切割分块,再将每个图像块输入模型进行分割,并对各个图像块的分割结果进行拼接,最终通过后处理后输出细胞核分割结果。整个流程如图 8 所示,其中 U-Net 细胞核分割模型的框架^[20]如图 9 所示。

为了定量评价细胞核分割的准确性,采用准确性 A、特异性 S_p 、敏感性 S_s 和 Dice 系数 D 共 4 个指标进行评价。各指标的计算公式为

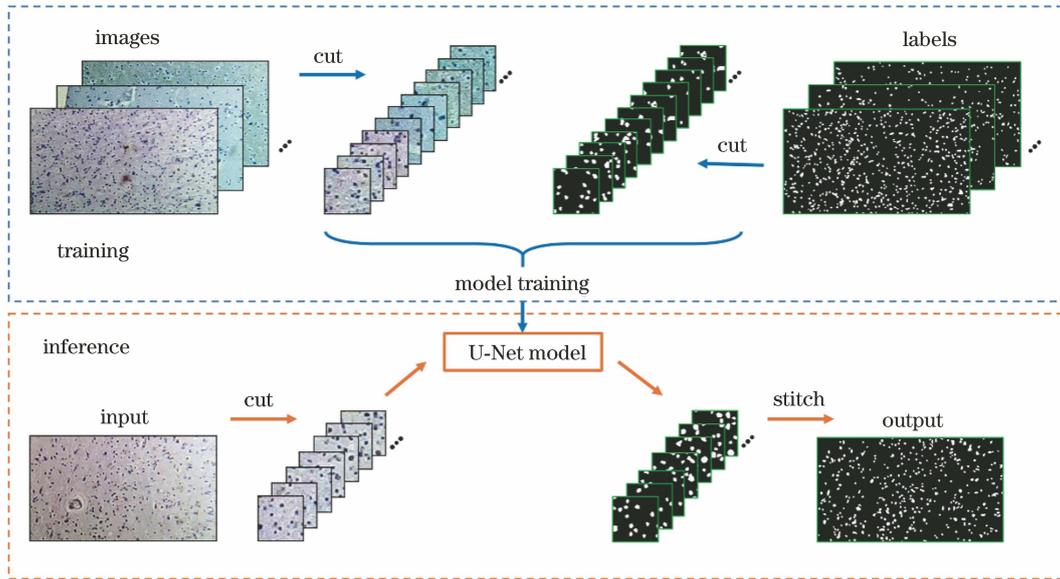


图 8 U-Net 细胞核分割模型的训练及推理流程

Fig. 8 Training and inference procedures of U-Net nuclear segmentation model

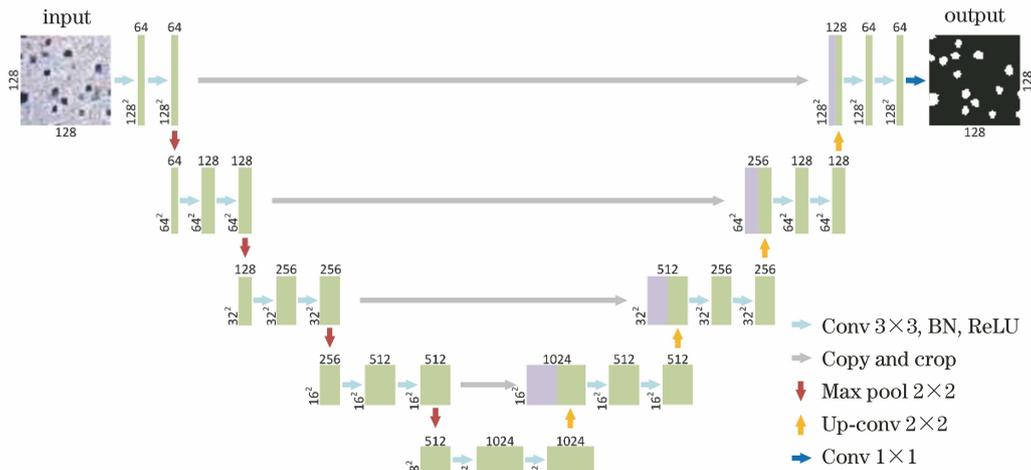


图 9 U-Net 细胞核分割模型的框架

Fig. 9 Structure of U-Net nuclear segmentation model

$$A = \frac{T_P + T_N}{T_P + T_N + F_P + F_N}, \quad (1)$$

$$S_p = \frac{T_N}{F_P + T_N}, \quad (2)$$

$$S_e = \frac{T_P}{T_P + F_N}, \quad (3)$$

$$D = \frac{2T_P}{2T_P + F_P + F_N}, \quad (4)$$

式中: T_P 表示细胞核像素正确分类的个数; T_N 表示背景像素正确分类的个数; F_N 表示细胞核像素错误分类的个数; F_P 表示背景像素错误分类的个数; Dice 系数是医学图像分割的重要度量, 表示真值和预测值之间的相似度, 值越大表示两者相似度越高^[23]。

4.3 分割结果及分析

实验在 Ubuntu 19.04 系统上利用 PyTorch 1.6.0 进行模型的搭建和训练。采用的损失函数为二进制交叉熵损失函数, 并采用 Adam 算法^[24]对损失函数进行了优化。经过 150 次迭代训练, 最终得到的 U-Net 模型在测试集上的分割效果如表 3 和图 10 所示。为了更好地展示分割效果, 图 10 用不同的颜色区分不同类型的分割区域, 其中绿色表示细胞核像素正确分类的部分 (T_P), 黑色表示背景像素正确分类的部分 (T_N), 红色表示细胞核像素错误分类的部分 (F_N), 蓝色表示背景像素错误分类的部分 (F_P)。从主观上观察分割结果可以发现, U-Net 模型的分割结果整体上呈现正确分割的绿色部分,

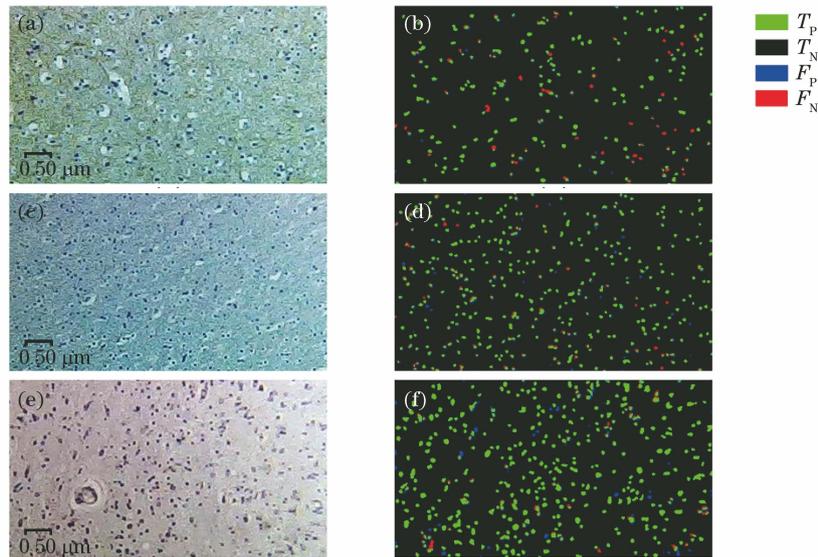


图 10 U-Net 模型的细胞核分割结果。(a)(c)(e)原始图像;(b)(d)(f)分割结果

Fig. 10 Nuclear segmentation results of U-Net model. (a)(c)(e) Original images; (b)(d)(f) segmentation results

但存在少量的细胞核误分类像素。表 3 中展示了 U-Net 模型对测试集中每张图像的分割结果,其中平均像素准确性 A 达到了 96.58%,特异性 S_p 平均值达到了 97.74%,敏感性 S_e 平均值达到了 83.52%,Dice 系数 D 的平均值也达到了 0.7803。可见,图像分块的方式为大视场细胞内镜成像系统增加了细胞核分割功能,有效地实现了大视场细胞内镜成像系统对病理组织切片中染色细胞核的分割,分割准确性较高,这也在一定程度上验证了所设计的成像系统对细胞核形态细节的成像能力,未来可进一步实现“体内病理”图像中活体染色细胞核的分割。

表 3 U-Net 细胞核分割模型在测试集图像上的分割结果

Table 3 Segmentation of U-Net nuclear segmentation model on the test images

Test image	A /%	S_p /%	S_e /%	D
Test_1	95.08	96.44	73.68	0.6409
Test_2	97.47	98.01	92.26	0.8726
Test_3	96.70	97.04	91.11	0.7559
Test_4	97.68	98.06	91.99	0.8316
Test_5	98.65	99.12	92.52	0.9076
Test_6	92.94	97.61	72.45	0.7922
Test_7	95.84	96.98	70.36	0.5915
Test_8	98.29	99.21	76.54	0.7841
Test_9	95.46	96.39	88.57	0.8223
Test_10	97.69	98.51	83.92	0.8042
Average	96.58	97.74	83.52	0.7803
Maximum	98.65	99.21	92.52	0.9076
Minimum	92.94	96.39	70.36	0.5915

5 结 论

采用 6 片球面系统实现了一种最大视场角超过 145° 的高分辨、大视场、变焦内窥镜,并在此基础上搭建了高倍率大视场细胞内镜成像系统,整个系统封装好的探头尺寸与临床上常规胃镜的外径相同。实验结果表明,所设计的成像系统与现有细胞内镜成像系统相比,最高放大倍率相同,显微成像视场范围为其 2 倍以上,且成像性能支持在组织切片上清晰地观察到染色细胞核;通过 U-Net 模型可将细胞核分割出来,分割准确性可以达到 96.58%,细胞核形态细节清晰且分割准确,在细胞内镜辅助诊断方面具有一定的发展潜力。

参 考 文 献

- [1] Kwon R S, Song L M W K, Adler D G, et al. Endocytoscopy [J]. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2009, 70(4): 610-613.
- [2] Goetz M, Malek N P, Kiesslich R. Microscopic imaging in endoscopy: endomicroscopy and endocytoscopy [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014, 11(1): 11-18.
- [3] Abad M R A, Shimamura Y, Fujiyoshi Y, et al. Endocytoscopy: technology and clinical application in upper gastrointestinal tract [J]. *Translational Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 5: 28.
- [4] Chen Y L, Li Y, Yin Y F, et al. Application of endocytoscopy in early cancer of upper gastrointestinal tract [J]. *Chinese Journal of Digestive Endoscopy*, 2018, 35(10): 773-776.

- 陈亚丽, 李赞, 尹跃霏, 等. 细胞内镜在上消化道早癌中的应用研究[J]. 中华消化内镜杂志, 2018, 35(10): 773-776.
- [5] Zhuang X D, Bai Y. Progress in endoscopic diagnosis of superficial esophageal squamous cell carcinoma[J]. Chinese Journal of Digestive Endoscopy, 2019, 36(4): 299-304.
- 庄小端, 白杨. 表浅食管鳞状细胞癌内镜下诊断进展[J]. 中华消化内镜杂志, 2019, 36(4): 299-304.
- [6] Kumagai Y, Monma K, Kawada K. Magnifying chromoendoscopy of the esophagus: *in-vivo* pathological diagnosis using an endocytoscopy system [J]. Endoscopy, 2004, 36(7): 590-594.
- [7] Kumagai Y, Kawada K, Yamazaki S, et al. Endocytoscopic observation for esophageal squamous cell carcinoma: can biopsy histology be omitted? [J]. Diseases of the Esophagus, 2009, 22(6): 505-512.
- [8] Neumann H, Fuchs F S, Vieth M, et al. Review article: *in vivo* imaging by endocytoscopy [J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2011, 33(11): 1183-1193.
- [9] Kumagai Y, Kawada K, Yamazaki S, et al. Current status and limitations of the newly developed endocytoscope GIF-Y0002 with reference to its diagnostic performance for common esophageal lesions[J]. Journal of Digestive Diseases, 2012, 13(8): 393-400.
- [10] Kumagai Y, Takubo K, Kawada K, et al. A newly developed continuous zoom-focus endocytoscope [J]. Endoscopy, 2017, 49(2): 176-180.
- [11] Kumagai Y, Takubo K, Kawada K, et al. Endocytoscopic observation of various types of esophagitis[J]. Esophagus, 2016, 13(2): 200-207.
- [12] Ono S, Nozaki A, Matsuda K, et al. *In vivo* optical cellular diagnosis for uterine cervical or vaginal intraepithelial neoplasia using flexible gastrointestinal endocytoscopy—a prospective pilot study [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 955.
- [13] Kumagai Y, Takubo K, Kawada K, et al. Diagnosis using deep-learning artificial intelligence based on the endocytoscopic observation of the esophagus [J]. Esophagus, 2019, 16(2): 180-187.
- [14] Minami H, Inoue H, Yokoyama A, et al. Recent advancement of observing living cells in the esophagus using CM double staining: endocytoscopic atypia classification [J]. Diseases of the Esophagus, 2012, 25(3): 235-241.
- [15] Caicedo J C, Goodman A, Karhohs K W, et al. Publisher correction: nucleus segmentation across imaging experiments: the 2018 data science bowl [J]. Nature Methods, 2020, 17(2): 241.
- [16] Moshkov N, Mathe B, Kertesz-Farkas A, et al. Test-time augmentation for deep learning-based cell segmentation on microscopy images [J]. Scientific Reports, 2020, 10: 5068.
- [17] Zou Y C, Chau F S, Zhou G Y. Ultra-compact optical zoom endoscope using solid tunable lenses [J]. Optics Express, 2017, 25(17): 20675-20688.
- [18] He C E, Xu H J, Wang Z, et al. Automatic segmentation algorithm for multimodal magnetic resonance-based brain tumor images [J]. Acta Optica Sinica, 2020, 40(6): 0610001.
- 何承恩, 徐慧君, 王忠, 等. 多模态磁共振脑肿瘤图像自动分割算法研究 [J]. 光学学报, 2020, 40(6): 0610001.
- [19] Golkov V, Dosovitskiy A, Sperl J I, et al. q-space deep learning: twelve-fold shorter and model-free diffusion MRI scans [J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2016, 35(5): 1344-1351.
- [20] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-Net: convolutional networks for biomedical image segmentation [M] // Navab N, Hornegger J, Wells W, et al. Image computing and computer-assisted intervention-MICCAI 2015. Lecture notes in computer science. Cham: Springer, 2015, 9351: 234-241.
- [21] 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.
- 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.
- [22] Chu J H, Li X C, Zhang J Q, et al. Fine-grained segmentation method for three-dimensional brain tumors using cascaded convolutional network [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2019, 56(10): 101001.
- 褚晶辉, 李晓川, 张佳祺, 等. 一种基于级联卷积网络的三维脑肿瘤精细分割 [J]. 激光与光电子学进展, 2019, 56(10): 101001.
- [23] Zhang W X, Zhu Z C, Zhang Y H, et al. Cell image segmentation method based on residual block and attention mechanism [J]. Acta Optica Sinica, 2020, 40(17): 1710001.
- 张文秀, 朱振才, 张永合, 等. 基于残差块和注意力机制的细胞图像分割方法 [J]. 光学学报, 2020, 40(17): 1710001.
- [24] Kingma D P, Ba J. Adam: a method for stochastic optimization [C] // Proceedings of the 3rd International Conference on Learning Representations, May 7-9, 2015, San Diego, CA, USA. New York: IEEE Press, 2015: 1-15.