

基于光学显微成像和深度学习的无标记肺癌细胞活力检测方法

王慧慧^{1,2,3}, 梅正龙^{2,3}, 张宁^{1,2,3}, 邹雪^{2,3*}, 沈成银^{1,2,3*}

(1. 安徽医科大学第一附属医院, 安徽 合肥 230022; 2. 中国科学院合肥物质科学研究院健康与医学技术研究所, 中国科学院合肥肿瘤医院, 安徽 合肥 230031; 3. 安徽省医学物理与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031)

摘要: 该研究发展了一种基于显微成像和深度学习的无标记检测新方法。以非小细胞肺癌 A549 细胞系为对象, 构建了明场图像及对应细胞活力标注数据集。设计了双分支多尺度特征融合网络 Enhanced-UNet, 通过结合 UNet++ 的细节恢复能力与 DeepLabV3+ 的上下文建模能力, 并引入空间与通道压缩-激励和空洞空间金字塔池化模块, 强化细节与全局上下文特征提取。结果表明, 该模型在自建数据集上的平均交并比(mIoU)与平均 Dice 系数(mDice)达 0.762 3 和 0.855 6, 预测相关系数 $r=0.912$, 优于 UNet、SegNet、FCN、PSPNet、LinkNet 5 种主流模型。该方法无需使用化学试剂, 避免了对细胞状态的干扰, 能够连续动态监测 A549 细胞的生存情况, 为开发无标记肺癌细胞活力检测技术提供了有价值的参考。

关键词: 细胞活力检测; 光学显微; 肺癌细胞; 深度学习

中图分类号: O657.3; R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)08-0001-10

Label-free Lung Cancer Cell Viability Detection Method Based on Optical Microscopy Imaging and Deep Learning

WANG Hui-hui^{1,2,3}, MEI Zheng-long^{2,3}, ZHANG Ning^{1,2,3}, ZOU Xue^{2,3*}, SHEN Cheng-yin^{1,2,3*}

(1. The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China; 2. Hefei Cancer Hospital of CAS, Institute of Health and Medical Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Science, Hefei 230031, China; 3. Anhui Province Key Laboratory of Medical Physics and Technology, Hefei 230031, China)

Abstract: Lung cancer cell viability detection is widely used in anticancer drug development. However, conventional detection methods can hardly meet the demand for continuous and dynamic monitoring. In this study, a novel label-free detection method based on microscopic imaging and deep learning is developed. We take the non-small cell lung cancer A549 cell line as the object and construct a dataset containing bright-field images and corresponding cell viability annotations. For the algorithm, a dual-branch multi-scale feature fusion network Enhanced-UNet is designed, which combines the detail recovery capability of UNet++ and the context modeling capability of DeepLabV3+. Spatial and channel squeeze-and-excitation and atrous spatial pyramid pooling modules are introduced to strengthen the extraction of detailed and global contextual features. The results show that the proposed model achieves a mean intersection over union (mIoU) of 0.762 3 and a mean dice coefficient (mDice) of 0.855 6 on the self-built dataset, with a prediction correlation coefficient $r=0.912$, outperforming five mainstream models including UNet, SegNet, FCN, PSPNet and LinkNet. Without chemical reagents, this method avoids interference to cell status and enables continuous and dynamic monitoring of A549 cell survival, providing a valuable reference for developing label-free lung cancer cell viability detection technology.

Key words: cell viability detection; optical microscopy; lung cancer cells; deep learning

细胞活力检测广泛应用于肺癌药物研发等领域^[1], 通过评价药物作用下的肺癌细胞活力水平, 可开展靶向药物^[2]、化疗药物^[3]及免疫治疗药物^[4]的高效筛选。目前常用的细胞活力检测方法按检测信号

收稿日期: 2026-05-01; 修回日期: 2026-06-03

* 通讯作者: 沈成银, 博士, 研究员, 研究方向: 仪器研制及健康环境应用, E-mail: chyshen@aiofm.ac.cn

邹雪, 博士, 副研究员, 研究方向: 仪器研制及健康环境应用, E-mail: xzou@empt.ac.cn

来源可划分为4类:基于细胞膜完整性的染料排除法(如台盼蓝排除试验^[5])、基于细胞代谢活性的检测方法(如刃天青测定法^[6]与MTT法^[7])、基于活细胞内ATP含量的检测方法(如CellTiter-Glo法^[8]),以及基于核酸合成的间接活力评价方法(如BrdU掺入法^[9]与³H-胸苷掺入法^[10])。然而,这类传统检测方法普遍存在操作繁琐、耗时长缺陷,且所用化学试剂可能对细胞造成不可逆损伤,难以满足细胞活力连续动态监测的技术需求。

光学显微成像结合深度学习可用于不同形态细胞的自动化、高通量识别。Chen等^[11]将特征提取技术、深度学习算法与光子时间拉伸技术相融合,开发出一套高通量无标记成像系统,成功实现了白细胞与癌细胞的高精度分类。Stringer等^[12]将掩膜表示、深度学习网络与大规模多类型细胞标注数据集相结合,提出一套通用细胞分割算法Cellpose,可在无需重新训练或调参的情况下,实现显微图像中细胞的高精度分割。肺癌活细胞与死细胞在显微视野下具有显著的形态学差异:活细胞轮廓清晰完整、细胞核结构正常、细胞质饱满均匀;死细胞则表现为细胞膜皱缩或破裂、细胞核固缩碎裂或溶解、细胞质浑浊空泡化^[13-14]。由此可见,光学显微成像结合深度学习方法,具有应用于肺癌细胞活力无标记检测的潜力。

鉴于此,本研究开发了一种基于光学显微成像和深度学习的无标记肺癌细胞活力检测新方法。以非小细胞肺癌A549细胞系为研究对象,通过顺铂诱导细胞凋亡,构建了包含明场图像及对应细胞死活状态标注的专用数据集。算法设计层面,提出一种双分支多尺度特征融合网络Enhanced-UNet,结合了UNet++与DeepLabV3+的技术优势,引入空间与通道压缩-激励(SCSE)模块和空洞空间金字塔池化(ASPP)模块以强化细胞细节特征与全局上下文信息的提取能力,并通过改进注意力门控实现双分支特征的自适应深度融合,以实现细胞活力的无标记检测。

1 实验部分

1.1 细胞株与试剂

本研究所用肺腺癌细胞株A549购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。细胞培养所用DMEM培养基、胎牛血清及磷酸盐缓冲液(PBS)均购自上海达特希尔生物科技有限公司;胰酶消化液及青链霉素双抗购自上海碧云天生物技术有限公司;台盼蓝染液购自Biosharp公司;顺铂(CDDP)购自MCE公司。

1.2 细胞培养与数据收集

为了模拟药物开发过程,本研究使用肺癌治疗常用的化疗药物顺铂处理A549细胞,获得不同存活率的A549细胞明场显微图像,用于细胞活力检测方法的开发。

1.2.1 细胞培养实验 (1)选取对数生长期、贴壁良好的A549细胞接种于96孔板中,每孔加入100 μ L细胞悬液,约含5 000个细胞;(2)将接种完成的96孔板置于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的培养箱中培养24 h;(3)待细胞贴壁后,去除培养基并用PBS清洗。实验组各孔依次加入100 μ L配制好的顺铂-培养基混合液,顺铂浓度设为1.25、2.5、5、10、20、40 μ mol/L,覆盖临床有效血药浓度范围;对照组则加入等量不含顺铂的培养基(0 μ mol/L)。每种浓度设置3个复孔;(4)按上述方法设置3块相同的96孔板,分别设定药物作用时间为24、48、72 h,继续在培养箱中培养。实验重复进行3次以确保数据可靠性。

1.2.2 数据收集 使用BLD-220CF倒置显微镜(购自北京世纪科信科学仪器有限公司)拍摄细胞图像,选用10倍物镜。首先,固定96孔板的位置并拍摄各孔细胞的明场图像,记录染色前细胞的状态;随后吸去培养液,加入用PBS按1:9比例稀释并经滤菌处理的台盼蓝稀释液进行染色,染色时间3 min。染色完成后弃去染液,将96孔板重新置于显微镜载物台原位,对同一区域再次拍照,以获得对应区域染色后的明场图像,每个培养孔中仅拍摄一组染色前后对应的图片。整个操作(从染色前拍照到染色后拍照)在5 min内完成,以减少细胞代谢变化。

1.3 数据准备

1.3.1 数据集构建 通过对比台盼蓝染色前后的A549细胞显微图像,以染色结果为判定依据,使用Labelme^[15]工具对未染色显微图像中的活细胞与死细胞进行实例标注,类别分别定义为“live”与“dead”。本研究共完成200张图像的标注,其中“live”标注实例共19 921个,“dead”标注实例共

8 192个, 构建了包含RGB原图(JPG格式)及对应标注文件(JSON格式)在内的数据集。该数据集按70:15:15的比例随机划分为训练集、验证集和测试集, 且保证同一孔位的数据不跨数据集。

1.3.2 数据增强 为防止模型过拟合, 并提升其对显微成像中光照变化和噪声的适应能力, 在训练阶段引入多种数据增强策略, 包括: 水平翻转(概率0.5)、垂直翻转(概率0.5)、随机亮度调整(概率0.7)、随机对比度调整(概率0.7)、随机饱和度调整(概率0.5)、高斯噪声(概率0.5)标准差 $\sigma \in [3, 10]$ 、CLAHE增强(概率0.6)、随机锐化(概率0.4)权重 $\omega \in [0.1, 0.3]$ 。

1.4 模型构建

明场显微镜无标记细胞活力检测同时面临两大挑战: 一是细胞形态模糊、边界不清, 需要精细的局部细节特征; 二是细胞粘连、背景复杂, 需要强大的全局上下文建模能力。传统单分支模型难以同时兼顾这两种能力: UNet++擅长细节提取但长距离上下文建模不足, DeepLabV3+擅长上下文建模但小目标细节分割精度较低。因此本研究设计了双分支架构, 分别提取细节特征和上下文特征。然后, 在原始注意力门控机制基础上进行针对性改进, 并将其应用于双分支异构特征的自适应融合场景, 同时结合残差连接构建深度融合模块。最终构建出双分支多尺度特征融合网络Enhanced-UNet。该模型结构如图1所示。两个分支的输入图像尺寸统一为480×640, 输出特征图也保持一致, 并通过注意力门控机制实现深度融合(详见“1.4.3”)。

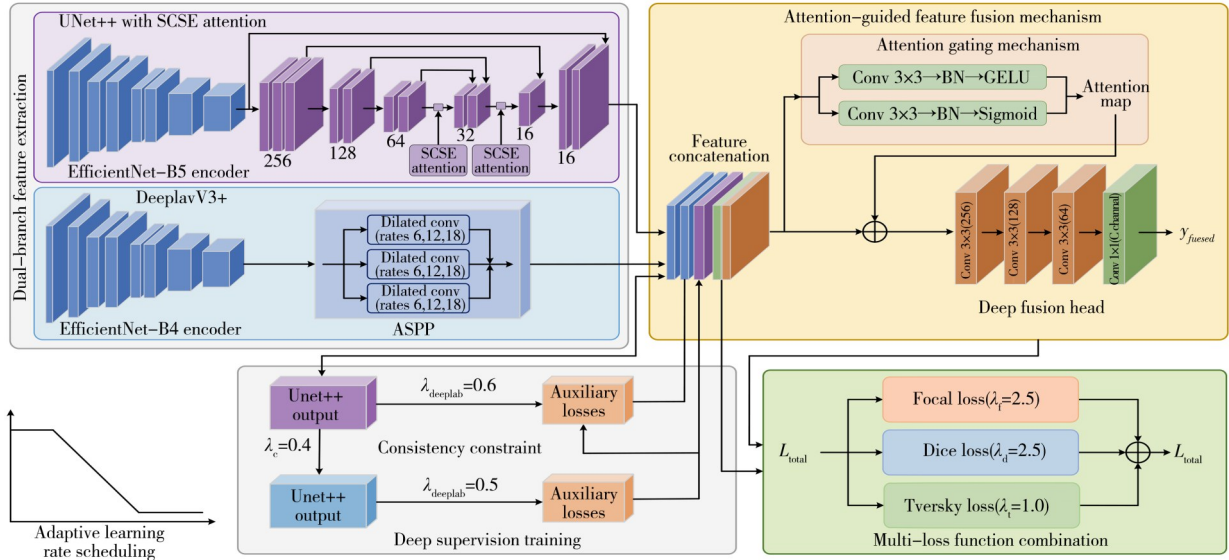


图1 Enhanced-UNet 双分支多尺度特征融合网络

Fig. 1 Dual-branch multi-scale feature fusion network of Enhanced-UNet

The model integrates a UNet++ main branch with embedded SCSE and an auxiliary DeepLabV3+ branch coupled with ASPP; it leverages an attention-gating mechanism to enable adaptive deep fusion of multi-scale features; and it adopts deep supervision, a hybrid loss, and adaptive learning-rate optimization to improve the training process (模型结合了嵌入SCSE的UNet++主分支与嵌入ASPP的DeepLabV3+辅助分支; 利用注意力门控机制实现多尺度特征的自适应深度融合; 采用深度监督、混合损失及自适应学习率优化训练过程)

1.4.1 主分支：高分辨率细节特征提取 主分支基于UNet++架构^[16], 使用EfficientNet-B5编码器, 该编码器旨在捕捉细胞的边缘与纹理细节。同时引入SCSE注意力模块^[17], 并行建模通道注意力与空间注意力, 有效强化细胞区域的特征响应, 从而提升模型对细胞的特征提取能力。该分支输出的高分辨率特征记为 F_{main} 。

针对输入图像 X , 主分支的高分辨率细节特征提取过程可表示为:

$$F_{main} = \text{SCSE}(\text{Decoder}_{\text{UNet++}}(\text{Encoder}_{\text{B5}}(X))) \quad (1)$$

$$\text{SCSE}(X) = X \cdot \sigma(\text{FC}(\text{GAP}(X))) + X \cdot \sigma(\text{Conv}_{1 \times 1}(X)) \quad (2)$$

其中, $\text{Encoder}_{\text{B5}}(\cdot)$ 为EfficientNet-B5编码器的多尺度特征提取函数, $\text{Decoder}_{\text{UNet++}}(\cdot)$ 为UNet++编码器的分辨率恢复函数, $\text{SCSE}(\cdot)$ 为空间与通道压缩-激励注意力模块的特征加权函数; σ 为Sigmoid激活函数, FC为全连接层, GAP为全局平均池化。

1.4.2 辅助分支：全局上下文语义建模 辅助分支基于 DeepLabV3+ 架构^[18]，使用更为轻量化的 EfficientNet-B4 编码器，满足上下文特征提取的同时，减少计算开销。并引入包含多组不同膨胀率 (Rates = [6, 12, 18]) 的 ASPP 模块^[19]，该模块可在不损失图像分辨率的前提下显著扩大模型感受野，与辅助分支的全局语义建模需求高度适配，可有效强化模型对全局上下文信息的提取能力。该分支输出的语义特征记为 F_{aux} 。

针对输入图像 X ，辅助分支的全局上下文特征提取过程可表示为：

$$F_{aux} = \text{Decoder}_{\text{DeepLabV3+}}(\text{ASPP}(\text{Encoder}_{\text{B4}}(X))) \quad (3)$$

$$\text{ASPP}(X) = \text{Concat}(\text{Conv}_{1 \times 1}(X), \text{Conv}_{3 \times 3}^{r=6}(X), \text{Conv}_{3 \times 3}^{r=12}(X), \text{Conv}_{3 \times 3}^{r=18}(X), \text{GAP}(X)) \quad (4)$$

其中， $\text{Encoder}_{\text{B4}}(\cdot)$ 为 EfficientNet-B4 编码器的特征提取函数， $\text{ASPP}(\cdot)$ 为空洞空间金字塔池化模块的多尺度上下文建模函数， $\text{Decoder}_{\text{DeepLabV3+}}(\cdot)$ 为 DeepLabV3+ 解码器的特征解码函数； $\text{Conv}_{3 \times 3}^{r=d}$ 表示空洞率为 d 的 3×3 卷积。

1.4.3 注意力引导的特征融合机制 为了有效融合主分支的细节信息与辅助分支的全局信息，强化与细胞区域相关的有效特征，抑制背景噪声及无效特征的响应，本文设计了一个结合改进型注意力门控与残差连接^[20]的深度融合模块。

首先，在通道维度上拼接两个分支的输出特征，得到初始融合特征 F_{fused} (式 1)。然后，利用改进的注意力机制对融合特征进行自适应加权。与传统的注意力门控机制不同，本文引入 GELU 激活函数^[21]，其软门控特性有助于保留细胞边界的微弱响应，提升模型对细胞的分割精度。其计算过程如下：

$$F_{fused} = \text{Concat}(F_{main}, F_{aux}) \quad (5)$$

$$A = \sigma \left(\text{BN} \left(\text{Conv}_{1 \times 1} \left(\text{GELU} \left(\text{BN} \left(\text{Conv}_{3 \times 3}(F_{fused}) \right) \right) \right) \right) \right) \quad (6)$$

$$F_{att} = A \odot F_{fused} \quad (7)$$

其中，Concat 表示沿通道维度的拼接操作； $\text{Conv}_{k \times k}$ 表示卷积核大小为 k 的卷积操作；BN 为批量归一化； σ 为 Sigmoid 激活函数，用于将注意力权重映射至 $[0, 1]$ 区间； $\odot$ 代表逐元素乘法，用于对特征图进行加权。

最后，加权后的特征 F_{att} 经深度融合头逐级降维，并结合残差连接，输出最终预测结果 Y_{pred} 的计算过程为：

$$Y_{pred} = \text{FusionHead}(F_{att}) + \text{Conv}_{1 \times 1}^C(F_{fused}) \quad (8)$$

其中，FusionHead($\cdot$) 为深度融合头的逐级降维卷积； $\text{Conv}_{1 \times 1}^C(\cdot)$ 为卷积核大小 1、输出通道数为 C 的卷积操作，用于将初始融合特征 F_{fused} 对齐至输出维度，实现残差连接； C 为分割任务总类别数 (背景、活细胞、死细胞， $C=3$)。

1.5 模型训练策略与实验设置

Enhanced-UNet 训练策略包括：输入图像尺寸 480×640 像素，Batch size=2，总训练轮数 50 (采用早停策略，patience=5)，EfficientNet-B4/B5 均使用 ImageNet^[22] 预训练，编码器未冻结，采用 AdamW 优化器、初始学习率 $1e-3$ 、权重衰减 $1e-4$ 、混合损失函数、深度监督与一致性约束策略。学习率调度采用带重启的余弦退火策略^[23]，重启周期为 17 个 epoch，最小学习率为 $1e-7$ 。

鉴于细胞图像中背景区域占比较大，且死细胞样本相对较少，单一损失函数难以取得理想效果，本研究设计了一种混合损失函数 L_{total} ，由 Focal Loss^[24]、Dice Loss，以及 Tversky Loss^[25] 加权组合而成：

$$L_{total} = \lambda_f L_{Focal} + \lambda_d L_{Dice} + \lambda_t L_{Tversky} \quad (9)$$

其中，各项损失的权重系数根据实验结果 (见 “2.5.4”) 最终设定为： $\lambda_f=2.5$ ， $\lambda_d=2.5$ ， $\lambda_t=1.0$ 。

为加速模型收敛并提升泛化能力，训练过程采用深度监督^[26]与一致性约束相结合的策略。总训练目标函数 L_{train} 定义如下：

$$L_{train} = L_{total}(Y_{pred}, Y_{gt}) + \lambda_u L(P_u, Y_{gt}) + \lambda_d L(P_d, Y_{gt}) + \lambda_c \text{MSE}(P_u, P_d) \quad (10)$$

其中， P_u 和 P_d 分别为主分支和辅助分支的概率输出， Y_{gt} 为真实标签。辅助监督权重设为 $\lambda_u=0.6$ ， $\lambda_d=0.5$ ，

一致性约束权重设为 $\lambda_c = 0.4$ 。

为验证 Enhanced-UNet 的性能优势, 本研究选择 5 个经典模型 UNet^[27]、FCN^[28]、SegNet^[29]、LinkNet^[30]、PSPNet^[31] 进行对比实验。所有模型均采用与 Enhanced-UNet 完全相同的数据增强策略(见“1.3.2”)与训练策略, 且均不使用测试时增强(TTA)。所有实验均在搭载 Intel Xeon Platinum 8470Q CPU、RTX 5090 32GB GPU 的云服务器上完成, 运行环境为 PyTorch 2.8.0、Python 3.12、CUDA 12.8。

1.6 模型评估指标

采用交并比 IoU、Dice 相似系数、细胞活力检测准确性(Accuracy)来评价模型性能。计算公式如下:

$$\text{IoU} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FP} + \text{FN}} \quad (11)$$

$$\text{Dice} = \frac{2 \times \text{TP}}{2 \times \text{TP} + \text{FP} + \text{FN}} \quad (12)$$

其中, TP 为真阳性, FP 为假阳性, FN 为假阴性。

$$\text{Accuracy} = 1 - \frac{1}{2} \left(\frac{|P_l - G_l|}{G_{\text{total}}} + \frac{|P_d - G_d|}{G_{\text{total}}} \right) \quad (13)$$

其中, P_l 为预测活细胞数, P_d 为预测死细胞数, G_l 为真实活细胞数, G_d 为真实死细胞数, $G_{\text{total}} = G_l + G_d$ 为真实总细胞数。

2 结果与讨论

2.1 不同活力 A549 细胞显微图像的建立

本研究采用顺铂处理非小细胞肺癌 A549 细胞, 以获得不同活力水平的细胞样本, 为后续深度学习模型的构建与训练提供数据支撑。实验同时设置梯度药物浓度与差异化作用时长, 模拟药物研发过程中药物浓度-时效的筛选场景。具体的药物处理参数如表 1 所示, 顺铂浓度梯度设定为 1.25、2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$, 每个浓度梯度分别对应 24、48、72 h 三个作用时长。

表 1 不同顺铂浓度及时长处理下的 A549 细胞活力

Table 1 Viability of A549 cells(%) after cisplatin treatment at different concentrations and exposure durations

Cisplatin concentration/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Cell viability/%		
	24 h	48 h	72 h
1.25	97.85 $\pm$ 1.19	95.55 $\pm$ 1.30	89.52 $\pm$ 1.81
2.5	97.22 $\pm$ 0.84	93.31 $\pm$ 1.57	86.84 $\pm$ 4.97
5	95.97 $\pm$ 1.81	78.25 $\pm$ 11.33	62.19 $\pm$ 14.21
10	92.16 $\pm$ 1.93	66.77 $\pm$ 7.35	27.09 $\pm$ 8.61
20	91.65 $\pm$ 2.30	58.43 $\pm$ 7.76	16.70 $\pm$ 4.58
40	84.62 $\pm$ 4.51	51.52 $\pm$ 6.20	15.75 $\pm$ 8.65

结果如图 2 所示, 经顺铂处理后, A549 细胞的活力区间为 3.91%~99.43%, 细胞活力变化呈现明显的浓度-时效依赖性特征: 随着顺铂浓度的升高与作用时间的延长, 细胞活力整体呈下降趋势。该结果表明, 本研究构建的细胞样本库可有效覆盖从高活力至低活力的连续区间, 能够为深度学习模型提供多样化的学习样本, 满足细胞活力检测任务的数据需求。

2.2 Enhanced-UNet 和 5 种主流深度学习模型综合性能对比与评估

本研究系统对比分析了所提出的 Enhanced-UNet 与 5 种主流深度学习分割模型(UNet、SegNet、FCN、PSPNet、LinkNet)的性能表现, 采用平均交并比(mIoU)、平均 Dice 系数(mDice)作为核心评估指标, 并进行 5 次随

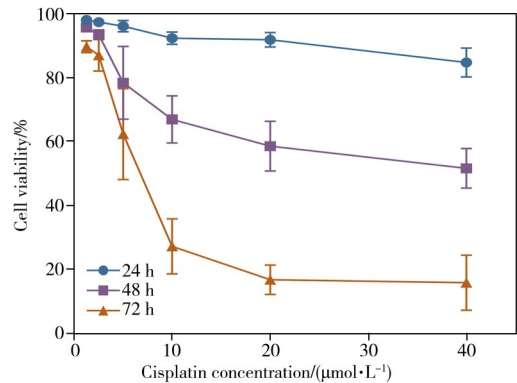


图 2 不同顺铂浓度及时长处理下 A549 细胞活力的变化趋势

Fig. 2 Trend of A549 cell viability changes under cisplatin treatment at different concentrations and exposure durations

机种子实验(seed = 42、43、100、300、500)报告“均值±标准差”。性能对比结果如表2所示, Enhanced-UNet在所有评估指标上均展现出最优性能: 其mIoU值达到0.7623, 相较于UNet(0.7191)提升约4.32%, 相较于性能较差的PSPNet(0.6210)提升超14%; 对应的mDice值为0.8556, 同样显著高于其他对比模型。这一结果证明, Enhanced-UNet在处理细胞显微图像这类背景复杂、目标形态多样的图像分割任务时, 具备较为明显的优势。

表2 Enhanced-UNet与5种主流模型的性能对比

Table 2 Performance comparison between Enhanced-UNet and five mainstream models

Model	mIoU	mDice	Parameter/M	MACs/G	Inference time/ms	Peak GPU Memory/M
Enhanced-UNet	0.7623±0.0068	0.8556±0.0072	51.04	191.65	25.74	968.3
UNet	0.7191±0.0032	0.8215±0.0033	32.52	49.93	3.87	306.0
FCN	0.6718±0.0148	0.7823±0.0127	12.93	46.88	3.06	522.1
Linknet	0.6811±0.0167	0.7971±0.0126	11.21	6.49	1.26	186.1
SegNet	0.6608±0.0059	0.7699±0.0025	9.38	125.16	5.00	412.6
PSPNet	0.6210±0.0091	0.7580±0.0061	21.63	18.83	1.93	135.1

bold numbers indicate the best value in each column

需要说明的是, 本研究的模型验证仅基于自建的A549细胞数据集开展, 存在一定的应用场景局限性。未来会进一步拓展其他肺癌细胞系(如H1299、PC9等)或临床原代肺癌细胞数据集, 以增强模型的泛化能力, 更全面地评估模型的通用性与鲁棒性, 提高其临床应用转化价值。

2.3 细胞分类效果对比

为全面验证 Enhanced-UNet在细胞分割与分类任务中的性能, 本研究进一步开展定量对比实验, 同时进行5次随机种子实验。对比结果如表3所示, Enhanced-UNet在两类细胞的分割分类任务中均表现最优, 尤其在死细胞分割任务上的优势突出, 其IoU高达0.8953, Dice达到0.9458。此外, 本研究还观察到所有6种对比模型在死细胞分割任务中的性能均显著优于活细胞。

表3 Enhanced-UNet与5种主流模型的细胞分类效果对比

Table 3 Comparison of cell classification performance between Enhanced-UNet and five mainstream models

Model	Live cell		Dead cell	
	IoU	Dice	IoU	Dice
Enhanced-UNet	0.6293±0.0124	0.7654±0.0137	0.8953±0.0025	0.9458±0.0034
UNet	0.5708±0.0079	0.7229±0.0029	0.8673±0.0045	0.9202±0.0052
PSPNet	0.5614±0.0116	0.7081±0.0095	0.6807±0.0082	0.8079±0.0042
Linknet	0.5342±0.0134	0.6891±0.0121	0.8280±0.0200	0.9050±0.0130
FCN	0.5189±0.0164	0.6661±0.0171	0.8247±0.0157	0.8985±0.0131
SegNet	0.5167±0.0101	0.6705±0.0061	0.8050±0.0021	0.8694±0.0088

bold numbers indicate the best value in each column

模型在活细胞与死细胞上的性能差异主要源于以下两个方面。第一, 数据增强与预处理操作可以在一定程度上强化明场图像中目标与背景的对比如^[32]。如图3所示, 经数据增强处理后, 死细胞在明场图像中呈现为边缘清晰、对比度高的深色区域, 具备更强的视觉辨识度。第二, 顺铂可诱导A549细胞发生凋亡^[33], 导致细胞皱缩、彼此分离^[34], 胞内成分聚集及细胞膜通透性变化, 从而显著放大活细胞与死细胞在折射率和密度上的差异^[35], 使得死细胞在明场图像下更易于识别。

基于上述特点, Enhanced-UNet所嵌入的SCSE注意力模块, 可精准定位并强化经边缘增强处理后的死细胞边界特征, 最终实现死细胞的高精度分割。这一技术思路与Liu等^[36]将类SCSE的通道-空间增强注意力模块应用于肺肿瘤分割的研究结论高度一致。

相较于死细胞, Enhanced-UNet在活细胞分割任务中的IoU值仅为0.6293, 这一性能差距主要源于明场显微成像技术固有的物理局限性^[37]。尽管如此, 如图4所示, Enhanced-UNet仍能较为准确地识别并分割活细胞的像素区域, 表明模型已成功学习到活细胞的细微纹理特征。后续研究可进一步引入弹性形变、滑窗裁剪及重叠瓦片拼接等图像预处理策略, 为提升活细胞分割精度探索可行路径。

需要说明的是, 当前版本的 Enhanced-UNet采用并行双分支后融合策略, 两个分支之间没有显式的跨尺度交互。如果遇到更为复杂的细胞图片, 需要进一步提升分割识别精度的, 可尝试在不同解码阶段互换或拼接两个分支的特征图(例如将UNet++的浅层细节特征注入DeepLabV3+的ASPP模块, 或

将DeepLabV3+的上下文特征反馈至UNet++的解码器), 实现多尺度互为主辅, 进一步提升分割识别精度。

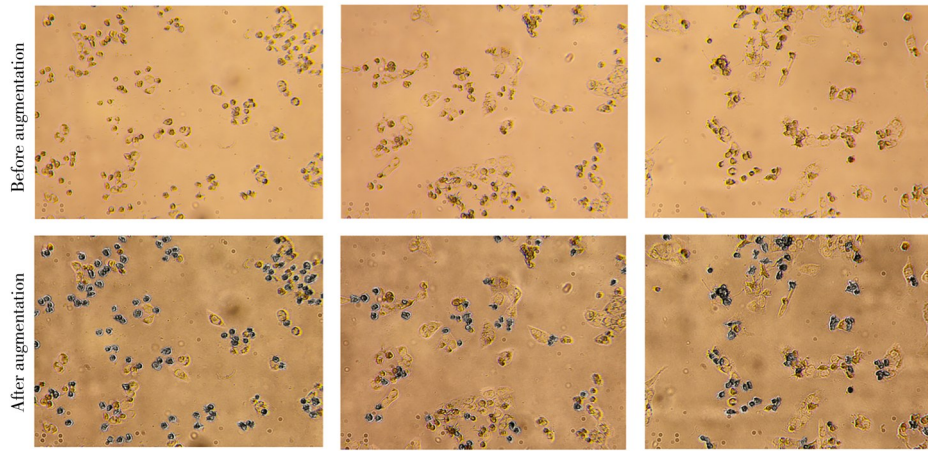


图3 A549细胞显微图像增强前后对比

Fig. 3 Comparison of A549 cell microscopy images before and after data augmentation

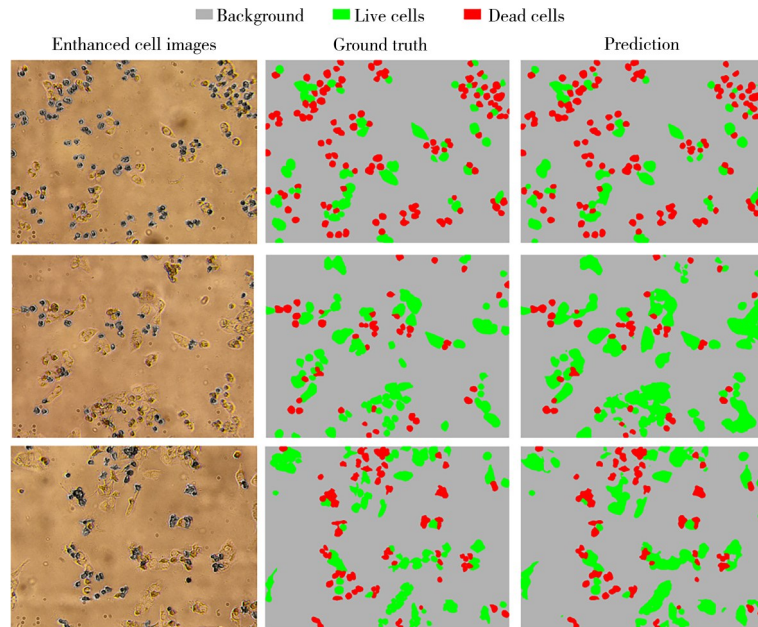


图4 Enhanced-UNet细胞分割效果示例图

Fig. 4 Representative examples of cell segmentation results obtained with Enhanced-UNet

2.4 细胞活力检测应用结果对比

为全面评估 Enhanced-UNet 在细胞活力定量预测任务中的应用性能, 本研究对所提出模型与其他5种主流深度学习模型开展定量对比实验。结果显示, Enhanced-UNet 在细胞活力检测任务中表现最优, 其检测准确率达0.888 9, 优于其他对比模型(表4)。同时, 回归分析结果表明(图5), Enhanced-UNet 预测的细胞活力值与真实值的相关系数(r)达到0.912, 证明模型的预测结果与真实值之间具有较强的一致性。上述结果进一步验证, 即使在活细胞分割性能相对有限的前提下, Enhanced-UNet 依然能够获得较强的细胞活力整体预测效能。

表4 Enhanced-UNet 与5种主流模型的细胞活力检测准确率对比

Table 4 Comparison of cell viability detection accuracy between Enhanced-UNet and five mainstream models

Model	Enhanced-UNet	LinkNet	FCN	SegNet	UNet	PSPNet
Cell viability accuracy	0.888 9	0.828 6	0.818 6	0.790 6	0.778 3	0.593 4

bold numbers indicate the best value in each column

2.5 消融实验

2.5.1 模块消融 为了验证 Enhanced-UNet 中关键创新组件的有效性, 对 Enhanced-UNet 模型开展了消融实验, 如表 5 所示。其中, 无辅助分支(w/o auxiliary branch)移除模型中的辅助分支以及后融合, 仅保留主分支; 无注意力(w/o attention)移除融合路径中的注意力门控, 采用无注意力的普通卷积融合结构; 无深度融合(w/o deep fusion)移除多级深度融合头, 采用单一的 1×1 卷积。结果表明, 相较于双分支的 Enhanced-UNet, 移除辅助分支后, mIoU 下降 1.22%, mDice 下降 0.89%; 移除注意力门控, mIoU 下降 5.93%, mDice 下降 4.50%; 移除深度融合头, mIoU 下降 1.62%, mDice 下降 1.30%。其中, 移除注意力门控后性能下滑最显著, 说明改进后的注意力门控对模型性能的贡献最大。

2.5.2 编码器消融 为了验证主分支采用 EfficientNet-B5 编码器、辅助分支采用 EfficientNet-B4 编码器这一异构设计的必要性, 进行了编码器消融实验, 结果如表 6 所示。“主 B5+辅 B4”的组合在 mIoU 和 mDice 上均优于其他 3 种组合(双 B5、双 B4、主 B4+辅 B5)。其中, 双 B5 的参数量更大但性能反而下降, 说明辅助分支过强会引入冗余信息; 双 B4 性能全面下降, 证实了主分支需要更强编码器。

表 6 编码器消融实验结果

Table 6 Encoder ablation experiment results

Main branch encoder	Auxiliary branch encoder	mIoU	mDice
EfficientNet-B5	EfficientNet-B4	0.762 3	0.855 6
EfficientNet-B5	EfficientNet-B5	0.749 7	0.843 3
EfficientNet-B4	EfficientNet-B5	0.746 5	0.845 5
EfficientNet-B4	EfficientNet-B4	0.715 4	0.821 8

bold numbers indicate the best value in each column

2.5.3 分支消融 为了全面量化评估所提 Enhanced-UNet 模型的综合性能, 本研究对其进行模型复杂度分析。如表 7 所示, 对比了不同架构在参数量、MACs、推理时间、峰值显存以及 mIoU 指标(进行 5 次随机种子实验)上的表现。实验结果表明, Enhanced-UNet 与单分支 UNet++ 相比, 尽管参数量从 32.04 M 增加至 51.04 M, MACs 从 53.10 G 增加至 191.65 G, 推理时间增加了 11.28 ms, 但 mIoU 提升了 1.22%; 与单分支 DeepLabV3+ 相比, 尽管 Enhanced-UNet 参数量从 18.62 M 增加至 51.04 M, MACs 从 20.94 G 增加至 191.65 G, 推理时间增加了 17.98 ms, 但 mIoU 提升了 10.36%。综合来看, 虽然计算开销有所增加, 但是 mIoU 也得到了较大提升, 由于细胞活力检测任务要求更高的细胞分割精度, 故这一计算代价是值得的。

表 7 模型复杂度对比表

Table 7 Model complexity comparison table

Model	Parameters/M	MACs/G	Inference time/ms	Peak GPU memory/M	mIoU
UNet++(EfficientNet-B5)	32.04	53.10	14.46	566.2	0.750 1 $\pm$ 0.002 3
DeepLabV3+(EfficientNet-B4)	18.62	20.94	7.76	191.9	0.658 7 $\pm$ 0.011 2
Enhanced-UNet	51.04	191.65	25.74	968.3	0.762 3$\pm$0.006 8

bold numbers indicate the best value

2.5.4 损失函数消融 为获得最优权重组合, 采用网格搜索策略, 在验证集上评估了 12 组不同权重配置下的 mIoU 指标, 结果如表 8 所示。可以看出, 混合损失函数中 Focal Loss、Dice Loss 与 Tversky Loss 的权重系数 $\lambda_f=2.5$, $\lambda_d=2.5$, $\lambda_t=1.0$ 组合取得最高 mIoU(0.762 3)。

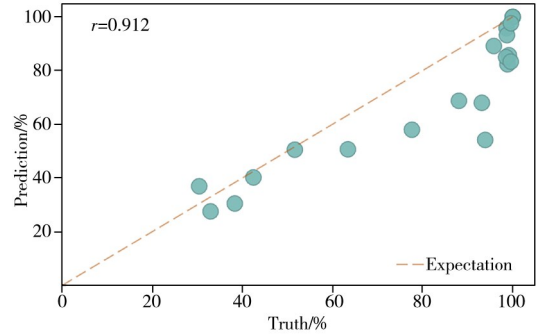


图 5 Enhanced-UNet 细胞活力预测值与真实值的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis between Enhanced-UNet predicted cell viability and ground truth values

表 5 模块消融实验结果

Table 5 Results of the module ablation experiment

Model	mIoU	mDice
Enhanced-UNet	0.762 3	0.855 6
w/o auxiliary branch	0.750 1	0.846 7
w/o attention	0.703 0	0.810 6
w/o deep fusion	0.746 1	0.842 6

表8 不同损失权重组合下的 mIoU 对比

Table 8 Comparison of mIoU under different loss weight combinations

Version	λ_f	λ_d	λ_t	mIoU	Version	λ_f	λ_d	λ_t	mIoU
1	2.5	2.5	1.0	0.762 3	7	3	3	2	0.742 5
2	2.5	1.0	2.5	0.733 3	8	3	3	4	0.757 4
3	1.0	2.5	2.5	0.735 1	9	2	4	2	0.745 3
4	1.0	1.0	1.0	0.756 2	10	3	2	4	0.750 3
5	3.0	1.0	3.0	0.757 0	11	2	2	1	0.753 9
6	3.0	3.0	1.0	0.735 6	12	2.5	2.5	2	0.757 1

bold numbers indicate the best value in each column

3 结 论

本研究针对主流细胞活力检测方法损伤细胞的问题,提出了一种基于明场显微成像与深度学习的无标记肺癌细胞活力检测方法,设计了结合多尺度特征与注意力机制的双分支模型 Enhanced-UNet,其性能优于UNet、SegNet等5种经典模型。在A549细胞数据集上,该方法预测的细胞活力与台盼蓝染色结果高度相关($r=0.912$),证明了利用明场形态学特征进行可靠活力预测的可行性,为开发无标记肺癌细胞活力检测技术提供了有价值的参考。

参考文献:

- [1] Yu J Z, Kiss Z, Ma W J, Liang R Q, Li T H. *Cancers*, **2025**, 17(1): 22.
- [2] Belloni A, Pugnaroni A, Rippo M R, Valerio S D, Giordani C, Procopio A D, Bronte G. *Crit. Rev. Oncol. /Hematol.*, **2024**, 194: 104246.
- [3] Carmichael J, Mitchell J B, DeGraff W G, Gamson J, Gazdar A F, Johnson B E, Glatstein E, Minna J D. *Br. J. Cancer*, **1988**, 57(6): 540-547.
- [4] Veith I, Nurmik M, Mencattini A, Damei I, Lansche C, Brosseau S, Groppero G, Corgnac S, Filippi J, Poté N, Guenzi E, Chassac A, Mordant P, Tosello J, Sedlik C, Piaggio E, Girard N, Camonis J, Shirvani H, Mami-Chouaib F, Mechta-Grigoriou F, Descroix S, Martinelli E, Zalzman G, Parrini M C. *Cell Rep. Med.*, **2024**, 5(5): 101549.
- [5] Nowak E, Kammerer S, Küpper J H. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **2018**, 69: 327-336.
- [6] Rampersad S N. *Sensors*, **2012**, 12(9): 12347-12360.
- [7] Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. *Int. J. Mol. Sci.*, **2021**, 22(23): 12827.
- [8] Crouch S P M, Kozlowski R, Slater K J, Fletcher J. *J. Immunol. Methods*, **1993**, 160(1): 81-88.
- [9] Taupin P. *Brain Res. Rev.*, **2007**, 53(1): 198-214.
- [10] Hu V W, Black G E, Torres-Duarte A, Abramson F P. *FASEB J.*, **2002**, 16(11): 1456-1457.
- [11] Chen C L, Mahjoubfar A, Tai L C, Blaby I K, Huang A, Niazi K R, Jalali B. *Sci. Rep.*, **2016**, 6: 21471.
- [12] Stringer C, Wang T, Michaelos M, Pachitariu M. *Nat. Methods*, **2021**, 18(1): 100-106.
- [13] Lan D, Wang L, He R Q, Ma J, Bin Y H, Chi X J, Chen G, Cai Z W. *Am. J. Transl. Res.*, **2018**, 10(5): 1295-1309.
- [14] Kong X B, Gao M, Liu Y T, Zhang P, Li M Y, Ma P W, Shang P P, Wang W, Liu H, Zhang Q, Feng F F. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2022**, 232: 113286.
- [15] Russell B C, Torralba A, Murphy K P, Freeman W T. *Int. J. Comput. Vis.*, **2008**, 77: 157-173.
- [16] Zhou Z W, Siddiquee M M R, Tajbakhsh N, Liang J M. *IEEE Trans. Med. Imaging*, **2020**, 39(6): 1856-1867.
- [17] Roy A G, Navab N, Wachinger C. Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention 2018(MICCAI 2018), Granada, Spain, **2018**, 11070: 421-429.
- [18] Chen L C, Zhu Y K, Papandreou G, Schroff F, Adam H. Computer Vision-ECCV 2018, Munich, Germany, **2018**, 11211: 833-851.
- [19] Chen L C, Papandreou G, Kokkinos I, Murphy K, Yuille A L. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, **2018**, 40(4): 834-848.
- [20] He K M, Zhang X Y, Ren S Q, Sun J. 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition(CVPR), Las Vegas, Nevada, USA, **2016**: 770-778.
- [21] Hendrycks D, Gimpel K. *arxiv*, **2016**. <https://arxiv.org/abs/1606.08415>.
- [22] Deng J, Dong W, Socher R, Li L J, Li K, Li F F. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition(CVPR), Miami, Florida, USA, **2009**: 248-255.
- [23] Loshchilov I, Hutter F. *arxiv*, **2016**. <https://arxiv.org/abs/1608.03983>.
- [24] Lin T Y, Goyal P, Girshick R, He K, Dollár P. 2017 IEEE International Conference on Computer Vision(ICCV), Venice, Italy, **2017**: 2999-3007.

- [25] Abraham N, Khan N M. 2019 IEEE 16th International Symposium on Biomedical Imaging(ISBI), Venice, Italy, **2019**: 683–687.
- [26] Huang H M, Lin L F, Tong R F, Hu H J, Zhang Q W, Iwamoto Y, Han X H, Chen Y W, Wu J. IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing(ICASSP), Barcelona, Spain, **2020**: 1055–1059.
- [27] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention(MICCAI), Munich, Germany, **2015**, 9351: 234–241.
- [28] Long J, Shelhamer E, Darrell T. 2015 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition(CVPR), Boston, Massachusetts, USA, **2015**: 3431–3440.
- [29] Badrinarayanan V, Kendall A, Cipolla R. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, **2017**, 39(12): 2481–2495.
- [30] Chaurasia A, Culurciello E. 2017 IEEE Visual Communications and Image Processing(VVIP), St. Petersburg, Florida, USA, **2017**: 1–4.
- [31] Zhao H S, Shi J P, Qi X J, Wang X G, Jia J Y. 2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), Honolulu, Hawaii, USA, **2017**: 6230–6239.
- [32] Shorten C, Khoshgoftaar T M. *J. Big Data*, **2019**, 6: 1–48.
- [33] Siddik Z H. *Oncogene*, **2003**, 22(47): 7265–7279.
- [34] Muhammed Y, Lazenby R A. *Anal. Methods*, **2024**, 16: 503–514.
- [35] Huang C H, Lai Y J, Chen L N, Hung Y H, Tu H Y, Cheng C J. *Sensors*, **2024**, 24(11): 3435.
- [36] Liu W H, Sun J H, Li H, Wang Y, Wang Z H. *iScience*, **2025**, 28(3): 111974.
- [37] Park Y K, Depeursinge C, Popescu G. *Nat. Photonics*, **2018**, 12(10): 578–589.

(责任编辑: 盛文彦)