

基于改进YOLOv5s的免疫组化阳性细胞计数方法

陈星月¹, 贾子彦¹, 李青², 张大川², 潘玲佼¹, 沈大伟¹

1. 江苏理工学院电气信息工程学院, 江苏 常州 213001; 2. 常州市第一人民医院病理科, 江苏 常州 213004

【摘要】目的:提出一种基于改进YOLOv5s的免疫组化阳性细胞计数方法。**方法:**首先,针对阳性细胞的小目标特征,增加小目标检测层细化特征提取;其次,在颈部网络中使用双向加权特征金字塔网络替换PANet结构,实现多尺度特征融合;再次,增加坐标注意力机制CA模块,使模型更加关注小目标特征;最后,用EIoU损失函数替换原有的GIoU,增强模型检测性能。**结果:**在自建的免疫组化图像数据集上进行训练,改进后的模型平均精确率为89.3%,较原模型提升4.0%,且优于其他主流目标检测模型。同时,基于该方法构建的5年生存预测模型平均准确率为76.8%,平均AUC为0.81,表明模型具有较好的预测能力。**结论:**本研究模型能够快速检测免疫组化阳性细胞数量并有效地辅助医生进行生存预测工作。

【关键词】阳性细胞; 目标检测; YOLOv5s; 免疫组织化学; 生存预测

【中图分类号】R318; TP183

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2025)02-0167-08

Improved YOLOv5s based method for immunohistochemically positive cell counting

CHEN Xingyue¹, JIA Ziyang¹, LI Qing², ZHANG Dachuan², PAN Lingjiao¹, SHEN Dawei¹

1. School of Electrical and Information Engineering, Jiangsu University of Technology, Changzhou 213001, China; 2. Department of Pathology, Changzhou First People's Hospital, Changzhou 213004, China

Abstract: Objective To propose a novel method for immunohistochemically positive cell counting based on the improved YOLOv5s. **Methods** Regarding the small target characteristics of positive cells, a small target detection layer was added to refine feature extraction. Then, a bidirectional weighted feature pyramid network was used to replace path aggregation network (PANet) in the neck network for realizing multi-scale feature fusion. Additionally, the method used coordinate attention mechanism to make the model pay more attention to small target characteristics, and replaced the original GIoU with EIoU loss function for enhancing the detection performance. **Results** The model was trained on the self-built immunohistochemical image dataset. The average accuracy of the improved model was 89.3%, which was 4.0% higher than the original model and surpassed mainstream target detection models. The 5-year survival prediction model constructed with the method achieved an average accuracy of 76.8% and an average area under the curve of 0.81, demonstrating its superior prediction ability. **Conclusion** The proposed model can quickly detect the number of immunohistochemically positive cells and effectively assist doctors in survival prediction.

Keywords: positive cell; target detection; YOLOv5s; immunohistochemistry; survival prediction

前言

免疫组织化学利用特异性抗体与目标蛋白质相

互作用的方法进行细胞染色,染色后阳性细胞呈棕黄色^[1]。通过计数阳性细胞可以实现阳性率和染色强度的评估,从而确定肿瘤的危险程度和预后信息^[2]。目前绝大多数科室仍然依赖于人工诊断,通过人工计数或主观地对阳性表达进行分级来分析研究结果,存在耗时长且易受人为因素干扰的问题^[3]。随着计算机技术在临床应用的迅猛发展,衍生出了很多的图像分析与处理软件^[4]。其中,ImageJ是一款基于Java开发的软件^[5],Cerqueira等^[6]利用ImageJ软件进行比值定量分析以评判前列腺癌半冷冻消融后CD4⁺T和CD8⁺T细胞的浸润程度。Nandikanti等^[7]利

【收稿日期】2024-07-13

【基金项目】国家自然科学基金(62001196);江苏省第六期333高层次人才培养工程(2022-2);常州市5G+工业互联网融合应用重点实验室(CM20223015);常州市应用基础研究(CJ20220064,CJ20220059)

【作者简介】陈星月,硕士研究生,研究方向:医学图像处理、目标检测,E-mail: 643395909@qq.com

【通信作者】贾子彦,副教授,研究方向:可见光通信、机器视觉、5G研究,E-mail: jiaziyan@jsut.edu.cn

用 ImageJ 进行面积测量,完善对提上睑肌变化进行的分析。ImageJ 可以用于评估免疫组化染色结果,但在处理肌层三级淋巴结构(Tertiary Lymphoid Structure, TLS)区域时,由于阳性细胞多以聚集形式出现,ImageJ 无法准确分离计数,此时大多使用面积测量方法^[8]。然而测量时仍需手动设置和调整参数,同时对图像质量、染色强度等因素较为敏感,图像质量较差时可能导致测量结果不准确^[9]。此外,色差、杂质、板块等异物以及背景颜色也会使结果产生偏差^[10]。因此,为提高判读准确性和效率,进一步研发自动计数算法和工具,实现免疫组化染色结果自动判读具有重要意义^[11]。

随着人工智能在医学诊断上的发展,基于深度学习的目标检测算法可以实现细胞的自动化检测,提升病理医生的诊断效率^[12]。YOLOv5 是一种单阶段目标检测算法,它以回归问题的方式处理目标检测任务。通过使用一个神经网络,YOLOv5 能够直接从输入图像中预测目标的边界框和类别信息,从而实现目标的定位和计数功能。徐晓涛^[13]提出一种 YOLO-Dense 多尺度融合细胞检测计数模型,采用特征金字塔的多尺度预测思想,提高血细胞检测和计数的准确性和实时性。崔兆文^[14]将改进 YOLOv5 网络与凹点检测法相结合的血细胞分类模型与改进卷积神经网络的白细胞分类模型结合,形成血细胞计数模型。

相较于上述研究中的细胞,免疫组化图像中的阳性细胞具有面积小、难识别的特点。本研究通过改进 YOLOv5s 模型,实现阳性细胞自动计数,解决人工计数耗时久且一致性欠佳的问题,为医学图像分析领域的研究提供新的思路和方法。

1 改进 YOLOv5s 的阳性细胞计数模型

1.1 YOLOv5 目标检测算法

YOLOv5 包含 4 种网络模型,依次为 YOLOv5s、YOLOv5m、YOLOv5l 和 YOLOv5x。其中 YOLOv5s 的网络深度和模型宽度最小,鉴于本研究只识别阳性细胞这一类别,因此采用参数量和计算量较少的 YOLOv5s 为基础模型,其网络结构如图 1 所示,主要由输入端(Input)、主干网络(Backbone)、颈部网络(Neck)以及检测层(Head)4 部分组成。其中,输入端用于将图像输入网络并进行大小调整、归一化等预处理操作;主干网络采用 CSPDarknet53 结构进行图像特征提取;Neck 层通过 FPN^[15](Feature Pyramid Network)与 PANet^[16](Path Aggregation Network)结合实现多尺度特征融合;Head 层包含 3 个 Detect 检测器,用于不同尺度的特征图检测,最终获取目标位置及类别信息。

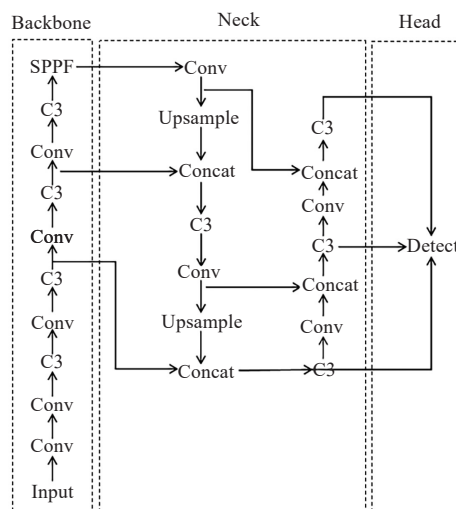


图1 YOLOv5s 网络结构

Figure 1 YOLOv5s network structure

1.2 增加小目标检测层

YOLOv5 输出特征层的尺寸通常是输入特征图尺寸的 1/32、1/16 和 1/8,即如果输入特征图的大小为 640×640,那么对应的输出特征层分别为 20×20、40×40 和 80×80。本研究通过 K-means 聚类方法得到数据集先验框的尺寸分布如图 2 所示,图中先验框高度集中于较小尺寸区域,可见阳性细胞属于微小目标。YOLOv5 原有的检测尺度在此场景下识别效果较差,依赖深层特征进行小目标检测可能会丢失部分细节信息。因此本研究根据阳性细胞出现的长宽先验信息,增加输入尺寸 1/4 的小目标特征层,对应 160×160 的检测特征图,用于检测 4×4 以上的目标,将该特征图与其他层级的特征图进行融合,从而更好地利用网络的语义信息以提升阳性细胞的识别精度^[17]。

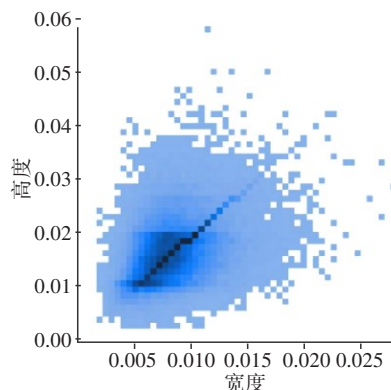


图2 数据集目标尺寸分布图

Figure 2 Scatter plot of label size distribution in dataset

1.3 改进 PANet 网络结构

YOLOv5 初始模型在特征融合时使用 3 个不同

尺度特征层进行融合,随着网络层数逐步加深,部分细胞特征信息的丢失在所难免。本研究在原有PANet网络结构中引入图3所示的BiFPN,将添加的小目标检测层也加入到特征融合中,从而更好地捕捉阳性细胞的细节和上下文信息。利用BiFPN_Add逐元素相加替换原来的concat连接方式,可以保持特征图的位置信息,有助于提高细胞的准确定位能力;同时避免concat操作中的冗余信息,实现更简洁和高效的特征融合,在一定程度上提高模型的性能。

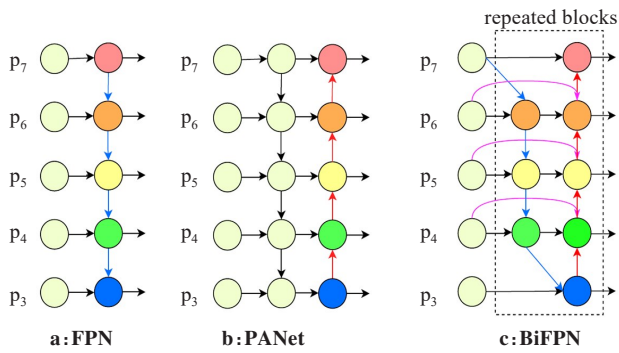


图3 3种Neck网络结构

Figure 3 Three types of Neck network structures

1.4 引入Eiou损失函数

YOLOv5采用GIoU作为损失函数,相较于传统的IoU,可以更好地反映预测框和目标框之间中心点的距离。然而,当两个框存在包含关系时,GIoU损失函数可能导致梯度不稳定或损失值不收敛的问题。因此针对阳性细胞分布密集和边界框之间重叠较多的特点,引入EIoU损失函数,使用宽度和高度的差异值代替传统的纵横比,更好地反映边界框之间的真实重叠情况,改进后的准确率(Precision)达到81.3%,提升2.4%,平均精确率(Average Precision, AP)达到87.8%,提升0.6%。EIoU损失函数的计算公式如下所示:

$$L_{\text{EIoU}} = L_{\text{IoU}} + L_{\text{dis}} + L_{\text{asp}} = 1 - \text{IoU} + \frac{\rho^2(b, b^{\text{gt}})}{c^2} + \frac{\rho^2(w, w^{\text{gt}})}{c_w^2} + \frac{\rho^2(h, h^{\text{gt}})}{c_h^2} \quad (1)$$

其中,预测框和真实框的宽度分别为 w, w^{gt} ,高度为 h, h^{gt} ,最小外接框的宽度和高度为 c_w 和 c_h , b 和 b^{gt} 分别代表两框的中心点, ρ 为两个中心点之间的欧式距离, c 则同时包围预测框和真实框的最小外接矩形的对角线距离。

1.5 增加坐标注意力机制CA模块

病理切片进行免疫组化染色时,部分细胞染色较浅,与免疫组化图像背景色差距较小,背景相似度高,不易识别。本研究在YOLOv5s颈部网络(Neck)

中引入坐标注意力机制CA模块^[18],CA模块结构如图4所示。将CA模块添加到图4所示的C3模块之前,使模型细化特征,以增强对染色较浅细胞的关注度,抑制背景因素的干扰。在进行特征提取和计数时,模型会更加注重染色较浅细胞的特征信息,实现更精准地计数。

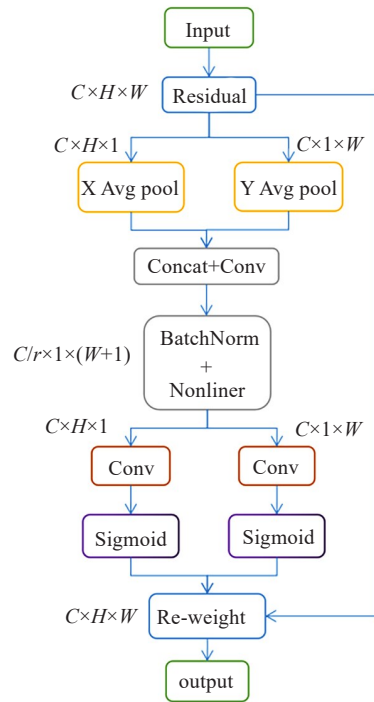


图4 CA模块结构

Figure 4 CA module structure

改进后的YOLOv5s模型的网路结构如图5所示,在颈部网络中引入BiFPN,通过BiFPN_Add替换concat减少模型参数,同时增加CA模块,并将损失函数替换为EIoU,最后加入输入尺寸为160×160的小目标检测层,改进后模型检测精度有效提升。

1.6 统计学方法

Kappa系数是一种用于衡量观察者之间一致性的统计指标,其取值为-1~1,0表示观察结果与随机一致,1表示完全一致,-1表示完全不一致。Kappa检验的计算通常使用混淆矩阵,其计算公式如下所示:

$$k = \frac{p_o - p_e}{1 - p_e} \quad (2)$$

其中, p_o 表示每一类中被正确分类的样本数量之和除以该类别总样本数。假设每个类别的样本数量分别为 a_1, a_2, \dots, a_c ,而预测的每个类别样本个数分别为 b_1, b_2, \dots, b_c ,总样本个数为 n ,则 p_e 表示如下:

$$p_e = \frac{a_1 \times b_1 + a_2 \times b_2 + \dots + a_c \times b_c}{n \times n} \quad (3)$$

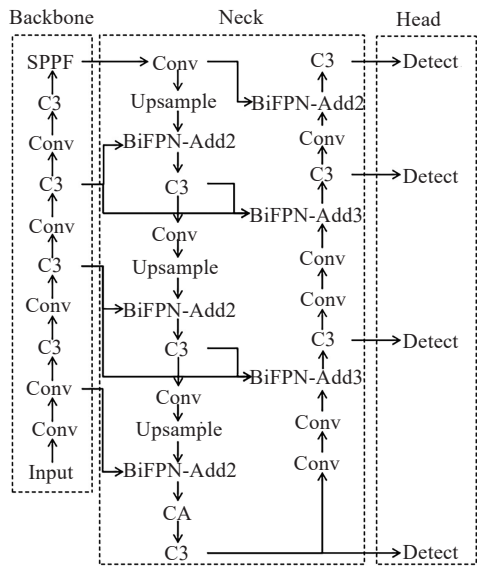


图5 改进后的网络结构
Figure 5 Improved network structure

皮尔逊相关系数(Pearson)是用来衡量两个变量之间的关联程度的指标。常见的相关性指标为相关系数和相关性的显著性水平。皮尔逊相关系数衡量了两个变量之间线性关系的强度和方向,其值为-1~1,-1和1分别表示完全负相关和完全正相关,而数值为0则表示两个变量之间没有线性相关性。当相关系数

接近-1或1时,表示变量之间的关系越强烈,当相关系数接近0时,表示变量之间的关系较弱。相关系数的显著性水平用于判断观察到的相关系数是否是由于随机因素导致的。 P 值表示在原假设为两个变量无关的情况下,观察到的相关系数或更极端情况出现的概率。

2 实验数据

2.1 数据采集

本研究实验数据为233例胃癌患者的免疫组化图像,由常州市第一人民医院提供。免疫组化染色后的组织病理切片通过KF-PRO-120数字切片扫描仪进行扫描,转换为全景数字切片图像。每例病例均处于200倍放大视野,由两名病理医师在未知肿瘤等级的情况下,于肿瘤的肌层TLS区域内,随机选取10个视野以TIF格式保存。

2.2 数据集制作

共采集CD8免疫组化染色图片1012张,将图片保存格式转换为jpg后,按照7:2:1随机划分为训练集、验证集和测试集,分辨率大小为1916×995。使用标注工具Labelimg手动绘制矩形框,对采集到图像中的阳性细胞进行标记,以获取免疫组化图像中阳性细胞的数量和位置信息。标注示例图片如图6所示。

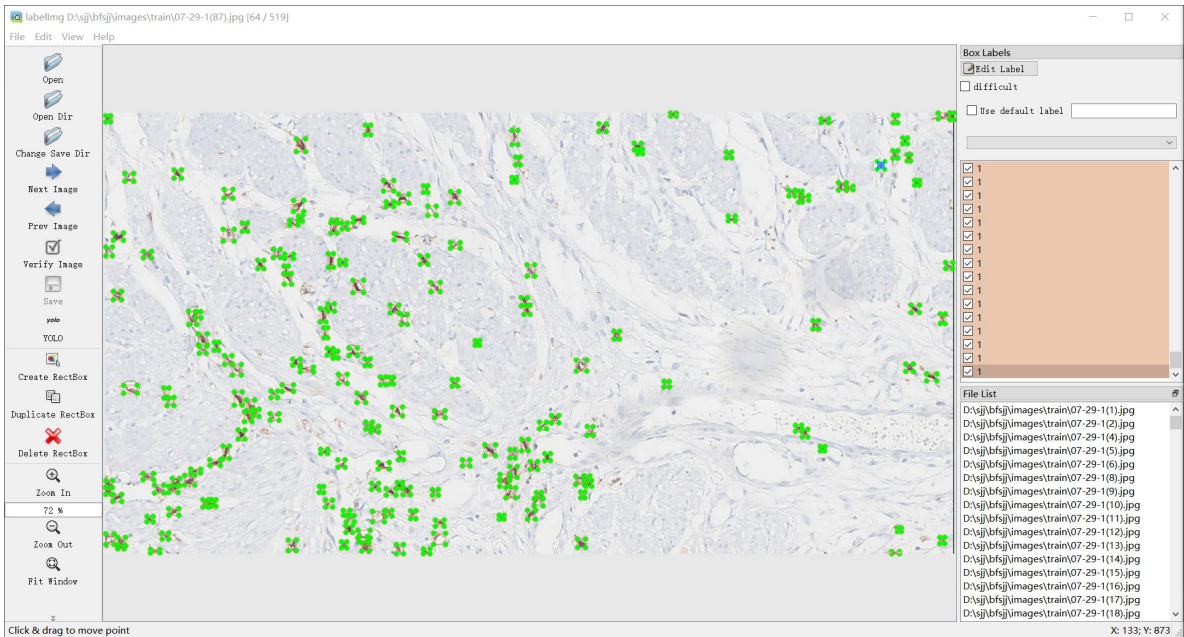


图6 阳性细胞标注图
Figure 6 Positive cell label map

3 结果

3.1 实验参数及评价指标

本研究使用的实验服务器版本为 Windows Server 2016 Standard, 处理器为 Intel(R)Xeon(R)

Silver 4310 CPU @2.10 GHz 3.30 GHz(2个处理器), 语言为Python 3.8.5,深度学习网络框架为Pytorch。模型训练的epochs设置为300轮,batch_size为4,初始的学习率为0.01,学习率动量为0.937。本研究使用平均精确率作为模型性能的评价指标,平均精确率为准确率(Precision)和召回率(Recall)绘制的曲线与坐标轴的面积,计算公式如下所示:

$$\text{Precision} = \frac{\text{TP}}{\text{FP} + \text{TP}} \times 100\%$$

(4)

$$\text{Recall} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \times 100\%$$

(5)

其中,TP为正确识别阳性细胞的数量,FP为将背景杂质识别为阳性细胞的数量,FN为将阳性细胞识别为背景的数量。

3.2 消融实验

为了验证改进后模型的有效性,以YOLOv5s模型为基础进行消融实验,平均精确率越高表示目标检测算法的性能越好。由表1可知每个改进点均提升模型的检测和计数性能,其中增加小目标检测层对精度的提升影响最大,平均精确率达到88.8%。改进后YOLOv5s模型的准确率不是最高的,这是因为引入CA模块可能导致模型偏向关注某些特征,而忽略其他部分特征,一定程度降低对小目标的检测能力和准确率。但改进后的模型更加注重平均精确率,最优平均精确率达到89.3%。模型经改进后检测平均精确率较原YOLOv5s提高4.0%,检测速度达到31.35 frame/s,适用于免疫组化计数的实时应用场景。

表 1 消融实验结果(%)

Table 1 Ablation study results (%)

YOLOv5s	小目标检测层	BiFPN	CA	准确率	召回率	平均精确率
√	×	×	×	85.9	77.6	85.3
√	√	×	×	87.2	83.9	88.8
√	×	√	×	88.7	79.4	87.1
√	×	×	√	87.8	79.6	87.0
√	√	√	√	87.8	82.4	89.3

3.3 不同检测模型对比实验

在自制的免疫组化图像数据集上,将本研究模型与当前主流目标检测模型进行对比。选择SDD (Single Shot MultiBox Detector)^[19]、Fast RCNN (Fast Region-based Convolutional Neural Network)^[20]、YOLOv3、YOLOv4^[21]、YOLOv7^[22]、YOLOv8^[23]进行对比实验,实验结果如表2所示。从表2可知,SDD、Fast RCNN、YOLOv3和YOLOv4模型生成权重文件体积较大且精度较低,不适合细胞计数;YOLOv7模型检测的平均精确率有所提高但权重较大;YOLOv8模型权重较小但检测精度不足。由表1可知原始的YOLOv5s模型平均精确率为85.3%,高于其他模型。由表2可知本研究模型检测结果显著提升,平均精确率达到89.3%,对比YOLOv5s模型提升4.0%。此外模型权重大小仅有15.65 MB,远小于其他模型,有利于后期的硬件部署。

3.4 细胞计数一致性与相关性检验

通过pyqt5构建图7所示免疫组化阳性细胞计数可视化界面,上传免疫组化图片后点击开始检测即可检测出图中CD8染色呈阳性的细胞数量。为验证

表 2 多种算法性能对比

Table 2 Performance comparison among various algorithms

模型	主干	平均精确率/%	权重大小/MB
SDD	VGG16	62.14	110.67
Fast RCNN	ResNet-50	60.06	108.01
YOLOv3	Darknet-53	49.06	235.05
YOLOv4	CSPDarknet53	55.73	244.58
YOLOv7	CSPDarknet53	76.30	71.32
YOLOv8	CSPDarknet53	68.20	21.47
本研究模型	CSPDarknet53	89.30	15.65

模型判读结果的有效性,随机选取82张CD8免疫组化染色图片进行实验:选取中位数作为cut-off值进行分组,高低表达组各41例,观察改进的YOLOv5s模型计数判读与人工判读、ImageJ面积判读CD8染色结果之间的一致性与相关性^[24]。改进的YOLOv5s模型计数:采用pyqt5进行界面设计,整合改进的YOLOv5s模型进行目标检测。选择待检测的CD8染色图像后,图像显示区域将实时反馈出检测后阳性

细胞的计数结果。人工判读:由两位病理医师在未知实验目的的情况下进行双盲阅片,计数每张图片内 CD8 染色呈阳性的细胞个数(CD8-Number)。ImageJ 判读:使用 Colour Deconvolution 插件分解免疫组化染色照片,得到红、黄和蓝 3 个通道图像。其

中,黄代表 CD8 染色通道。将其转换为 8 位灰度图像,再选择“Yen”方案自动识别感兴趣区域(Region of Interest, ROI)。通过对比分析得到最适合的 ROI 区域,随后计算出 ROI 区域的面积。判读结果如表 3 所示。

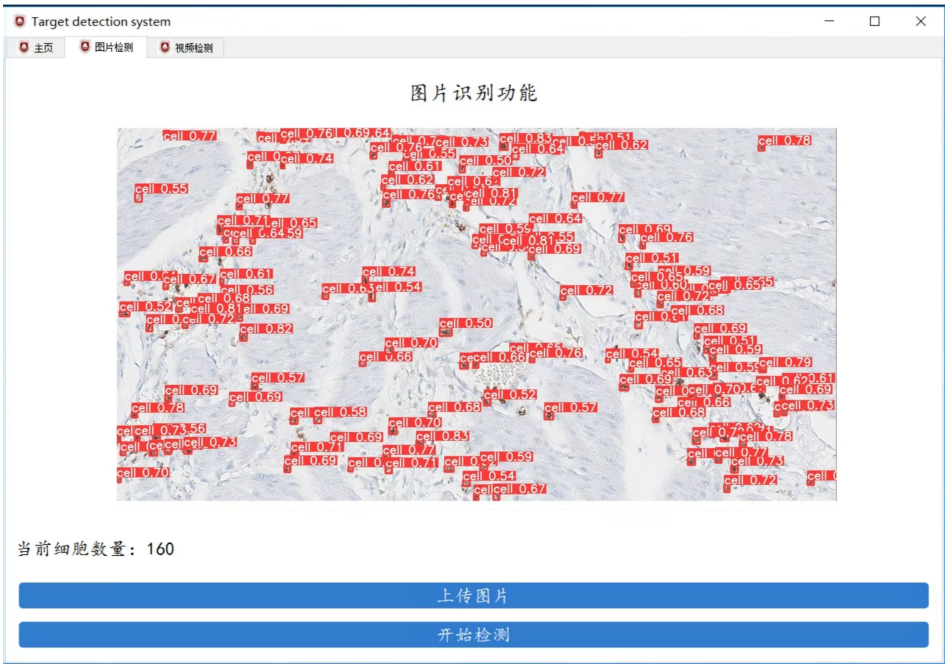


图 7 免疫组化阳性细胞计数界面

Figure 7 Immunohistochemically positive cell counting interface

表 3 判读结果统计

Table 3 Interpretation result statistics

取值	本研究模型/个	人工计数/个	CD8 面积/px
最小值	52	44.00	2 360
最大值	1 454	1 673.00	110 929
中位值	349	263.50	19 034

应用 SPSS25.0 进行数据分析,通过 Kappa 系数判断一致性^[25],由表 4 可知本研究模型与人工计数的评分一致性较好(Kappa=0.854, $P<0.01$),且高于 CD8 面积判读结果(Kappa=0.732, $P<0.01$)。

图 8 框内所示数字为本研究模型判读结果与人工判读、ImageJ 判读的组内相关系数(r),由图可知改进的 YOLOv5s 模型与人工判读呈显著正相关关系($r=0.95$, $P<0.01$),且相关系数高于 ImageJ 判读,从而验证了本研究所提方法的可靠性。

4 构建生存预测模型

4.1 数据准备

表 4 改进的 YOLOv5s 模型计数与人工判读、Imagej 判读的一性检验

Table 4 Consistency of improved YOLOv5s model counting with manual interpretation and Imagej interpretation

方式		人工计数CD8数量			
		高	低	Kappa	P值
本研究模型	高	38	3	0.854	<0.01
	低	3	38		
CD8面积	高	36	5	0.732	<0.01
	低	5	36		

为更全面地评估患者的生存风险,构建 Cox 比例风险模型以筛选与生存相关的特征和系数^[26],各特征间的相关性矩阵图如图 9 所示。利用改进后的 YOLOv5s 模型对患者免疫组化图像进行检测,获取各患者检测后的平均 CD8 阳性细胞数量。将其与患者 Cox 比例风险模型筛选后具备相关性的临床特征结合(如肿瘤大小、肿瘤分级、淋巴结转移情况等),构建前馈神经网络模型对患者进行 5 年生存预测^[27],如图 10 所示。信息在网络中单向传播,通过对输入

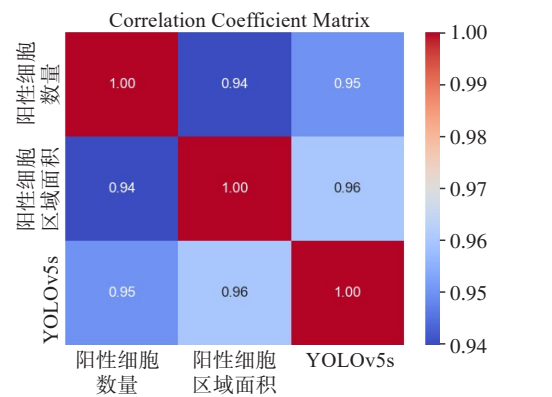


图8 改进的YOLOv5s模型计数判读与人工判读、ImageJ判读的相关性分析

Figure 8 Correlation analysis of improved YOLOv5s model counting interpretation with manual interpretation and ImageJ interpretation

数据进行非线性转换和特征提取学习潜在的关联性实现患者生存预测。

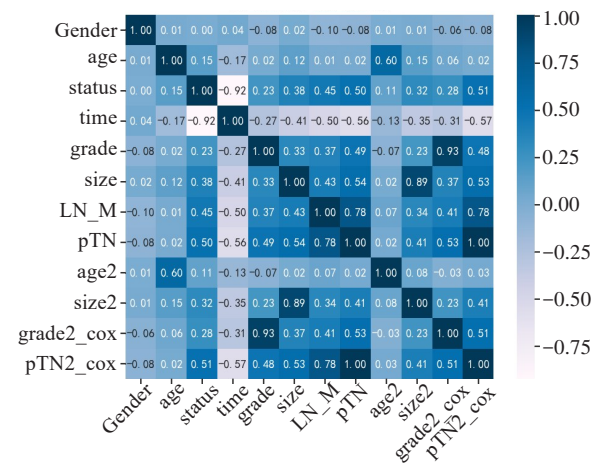


图9 相关性矩阵图

Figure 9 Correlation matrix plot

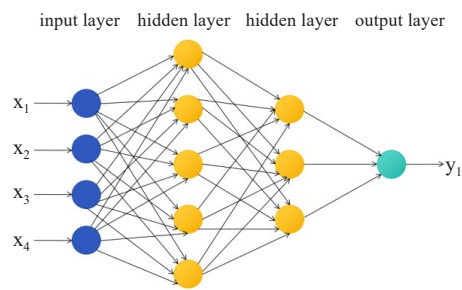


图10 前馈神经网络结构图

Figure 10 Feedforward neural network structure

4.2 关键参数测试

通过对隐藏层层数及节点数、总迭代次数等主要

参数进行多次测试,确定前馈神经网络模型最优参数。当预测模型的隐藏层个数为3时,模型预测的准确率最高,不同隐藏层层数的预测模型准确率如表5所示。

表5 不同隐藏层神经网络测试结果
Table 5 Test results of neural networks with different hidden layers

隐藏层层数	准确率/%	AUC
2	71.7	0.80
3	76.8	0.81
4	67.4	0.79

最终将预测模型的隐藏层层数设置为3,隐含层第一层节点数为6,第二层节点数为6,第三层节点数为4。输出层节点数设置为1,使用Sigmoid激活函数,用于二分类问题,代表5年生存与否。训练次数设置为100次,由于病例数量较少,不再划分验证集,将病例按照8:2进行训练和测试集划分,通过5折交叉验证,将数据集中样本随机打乱后,平均分成5个子数据集对模型进行评价。

4.3 模型性能评价

本研究采用模型的准确率和受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)作为评价模型的指标,其中AUC值越接近1,诊断准确性越高。利用训练后的网络模型进行5年生存预测,其ROC曲线结果如图11所示。由图11可知,使用5折交叉验证对模型进行评估后,其每个折叠的AUC均在0.7以上,平均AUC为0.81,具有较好的生存分类能力。

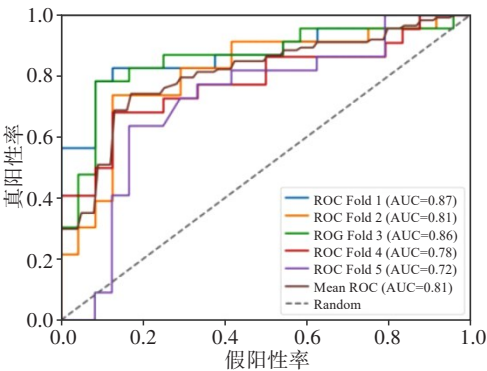


图11 受试者工作特征曲线图

Figure 11 Receiver operating characteristic curve

模型具体性能见表6,其测试集平均准确率为76.8%,可见训练后的前馈神经网络模型能够对患者的生存情况进行较为准确的预测。

表6 模型性能评价
Table 6 Model performance evaluation

折线	准确率/%	AUC
1	83.0	0.87
2	72.3	0.81
3	82.9	0.86
4	71.7	0.78
5	73.9	0.72

5 讨论与结论

本研究针对免疫组化阳性细胞计数的需求进行分析,提出一种改进YOLOv5s模型的计数方法,解决了人工计数免疫组化阳性细胞耗时长、准确率不高的问题。主要得到如下结论:(1)改进后的YOLOv5s模型在自制免疫组化图像数据集上的平均精确率达到89.3%,较原模型提升4.0%,且模型检测速度为31.35 frame/s。相较于以往的细胞计数模型,本研究模型在检测小目标特征的阳性细胞方面具备明显优势。(2)本研究方法的判读结果优于ImageJ判读,且与人工判读结果之间呈显著正相关关系,并具备高度的一致性,可有效替代原有的人工计数方法,解决了效率低和一致性欠佳的问题。(3)结合改进YOLOv5s模型的计数结果,构建的5年生存预测模型平均准确率为76.8%,平均AUC为0.81,具有较高的准确率和良好的预测效果,可有效辅助人工进行患者生存预测。

【参考文献】

[1] 李秀珠.食管癌免疫组化细胞图像分割方法研究[D].北京:北京交通大学,2022.
Li XZ. Research on immunohistochemical cell image segmentation method for esophageal cancer [D]. Beijing: Beijing Jiaotong University, 2022.

[2] Li P, Yuan J, Ahmed FS, et al. High counts of CD68⁺ and CD163⁺ macrophages in mantle cell lymphoma are associated with inferior prognosis[J]. Front Oncol, 2021, 11: 701492.

[3] Preisker S, Brethack AK, Bokemeyer A, et al. Crohn's disease patients in remission display an enhanced intestinal IgM⁺ B cell count in concert with a strong activation of the intestinal complement system [J]. Cells, 2019, 8(1): 78.

[4] 黎晨, 尤培蒙, 皮启星, 等. ImageJ软件在医学科研领域中的应用研究现状[J]. 甘肃科技, 2020, 36(2): 58-61.
Li C, You PM, Pi QX, et al. The application and research status of ImageJ software in medical research [J]. Gansu Science and Technology, 2020, 36(2): 58-61.

[5] 何宝林, 杨晚竹, 陈婷, 等. ImageJ软件在显微图像细胞计数中应用的可行性研究[J]. 医疗卫生装备, 2022, 43(2): 13-18.
He BL, Yang WZ, Chen T, et al. Feasibility study on application of ImageJ software to microscopy image cell counting [J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2022, 43(2): 13-18.

[6] Cerqueira MA, Ferrari KL, de Mattos AC, et al. T cells CD4⁺/CD8⁺ local immune modulation by prostate cancer hemi-cryoablation[J]. World J Urol, 2020, 38(3): 673-680.

[7] Nandikanti LH, Sammarco AG, Chen LY, et al. Levator bowl volume during straining and its relationship to other levator measures[J]. Int Urogynecol J, 2019, 30(9): 1457-1463.

[8] 余琦, 陈颖, 韩莉娟, 等. 利用Image J软件对家兔动脉粥样硬化病

变图像进行定量分析的方法[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2015, 23(4): 297-301.

Yu Q, Chen Y, Han LJ, et al. Quantitative analysis of histological images on rabbit's atherosclerotic lesions by using ImageJ software[J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2015, 23(4): 297-301.

[9] Dzulkifli FA, Mashor MY, Jaafar H. Colour thresholding-based automatic Ki67 counting procedure for immunohistochemical staining in meningioma[J]. Int J Comput Vision Robot, 2021, 11(3): 279-298.

[10] Eliceiri KW, Berthold MR, Goldberg IG, et al. Biological imaging software tools[J]. Nat Methods, 2012, 9(7): 697-710.

[11] 和子豪. 基于Darknet-SVM的肺癌IL-24免疫组化评分系统[D]. 北京: 北京交通大学, 2022.
He ZH. An immunohistochemical scoring system for IL-24 in lung cancer based on Darknet-SVM [D]. Beijing: Beijing Jiaotong University, 2022.

[12] Fiehn AM, Reiss B, Gögenur M, et al. Development of a fully automated method to obtain reproducible lymphocyte counts in patients with colorectal cancer [J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2022, 30(7): 493-500.

[13] 徐晓涛. 基于深度目标识别的细胞计数研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2020.
Xu XT. Research on cell counting based on deep target recognition [D]. Hefei: Anhui University, 2020.

[14] 崔兆文. 基于深度学习的血液细胞计数的研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
Cui ZW. Research on blood cell count based on deep learning [D]. Guiyang: Guizhou University, 2022.

[15] Lin TY, Dollár P, Girshick R, et al. Feature pyramid networks for object detection [C]//2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR). Piscataway, NJ, USA: IEEE, 2017: 936-944.

[16] Liu S, Qi L, Qin HF, et al. Path aggregation network for instance segmentation [C]//2018 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition. Piscataway, NJ, USA: IEEE, 2018: 8759-8768.

[17] Ju MR, Luo HB, Wang ZB, et al. The application of improved YOLOV3 in multi-scale target detection [J]. Appl Sci, 2019, 9(18): 3775.

[18] 郎斌柯, 吕斌, 吴建清, 等. 基于CA-BIFPN的交通标志检测模型[J]. 深圳大学学报(理工版), 2023, 40(3): 335-343.
Lang BK, Lü B, Wu JQ, et al. A traffic sign detection model based on coordinate attention-bidirectional feature pyramid network [J]. Journal of Shenzhen University (Science and Engineering), 2023, 40(3): 335-343.

[19] Liu W, Anguelov D, Erhan D, et al. SSD: single shot MultiBox detector [C]//Computer Vision-ECCV 2016. Cham: Springer International Publishing, 2016: 21-37.

[20] Wang CY, Liao HY, Wu YH, et al. CSPNet: a new backbone that can enhance learning capability of CNN [C]//2020 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition Workshops (CVPRW). Piscataway, NJ, USA: IEEE, 2020: 1571-1580.

[21] Bochkovskiy A, Wang CY, Liao HY. YOLOv4: optimal speed and accuracy of object detection [EB/OL]. (2020-04-23) [2023-03-21]. <https://arxiv.org/abs/2004.10934>.

[22] Wang CY, Bochkovskiy A, Liao HY. YOLOv7: trainable bag-of-freebies sets new state-of-the-art for real-time object detectors [C]//2023 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR). Piscataway, NJ, USA: IEEE, 2023: 7464-7475.

[23] Jocher G. Ultralytics YOLOv8 [EB/OL]. (2023-01-11) [2023-07-06]. <https://github.com/ultralytics/ultralytics>.

[24] 刘飞, 刘军. 鼻息肉与变应性鼻炎患者鼻黏膜IL-17水平及嗜酸性粒细胞计数变化及其相关性[J]. 山东医药, 2016, 56(29): 73-75.
Liu F, Liu J. Changes and correlation of IL-17 levels and eosinophil count in nasal mucosa of patients with nasal polyps and allergic rhinitis [J]. Shandong Medical Journal, 2016, 56(29): 73-75.

[25] Hamed ES, Kamel EO, Kasem MA. The effect of age on the CD16-positive cell count in human male blood [J]. Al-Azhar Assiut Med J, 2019, 17(2): 207-214.

[26] Tsuda T, Suzuki K, Inomata M, et al. Associations of immune checkpoint inhibitor therapy efficacy with clinical parameters and tumor-infiltrating CD68-positive cell counts in patients with EGFR-mutant non-small cell lung cancer [J]. Mol Clin Oncol, 2023, 18(5): 38.

[27] Barna AJ, Herold Z, Acs M, et al. High tumor-infiltrating lymphocyte count is associated with distinct gene expression profile and longer patient survival in advanced ovarian cancer [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(18): 13684.

(编辑:陈丽霞)