

文章编号 1004-924X(2026)19-2959-10

螺旋相差显微镜辅助人工智能细胞识别

朱昌浩^{1,2}, 付佳鑫^{1,2}, 雷 潇^{1,2}, 孙旭辉⁴, 张 超^{1,3}, 洪煦昊^{1,2*}, 秦亦强^{1,3*}

(1. 南京大学 固体微结构物理国家重点实验室, 江苏 南京 210093;

2. 南京大学 物理学院, 江苏 南京 210093;

3. 南京大学 现代工程与应用科学学院, 江苏 南京 210023;

4. 司百诺光电科技(苏州)有限公司, 江苏 苏州 215513)

摘要: 基于人工智能(Artificial Intelligence, AI)算法的生物图像细胞识别技术在医疗诊断领域正发挥着越来越重要的作用。为了提高生物细胞图像的AI识别率, 得到有助于AI识别的生物细胞图像, 通过构建螺旋相差显微镜系统, 在成像前进行径向希尔伯特变换处理, 同时利用样品的透射振幅及相位信息进行成像, 直接得到边缘增强的显微图像。并使用通用型人工智能细胞识别算法Cellpose-SAM对所得图像进行细胞轮廓分割及形态结构预测。实验中, 以口腔上皮细胞样品为例, 验证了螺旋相差滤波能够提升细胞图像的AI识别率及AI预测细胞形态的准确度。螺旋相差滤波图像的AI识别率可达96%, 相较于明场图像54%的识别率实现了大幅提升。此外, 通过红细胞、Hepa1-6肝癌细胞和HUVEC人脐静脉内皮细胞样品验证了该方法的泛化性。该方法是一种提升生物细胞图像AI识别率及AI识别算法泛化性的普适性方法。

关键词: 螺旋相差显微镜; 图像边缘增强; 图像预处理; 人工智能; 细胞识别

中图分类号: O766⁺.1; O438 **文献标识码:** A

doi: 10.3724/OPE.20263419.2959

CSTR: 32169.14.OPE.20263419.2959

Spiral phase contrast microscopy for improvement of artificial intelligence cell recognition

ZHU Changhao^{1,2}, FU Jiabin^{1,2}, LEI Xiao^{1,2}, SUN Xuhui⁴, ZHANG Chao^{1,3},

HONG Xuhao^{1,2*}, QIN Yiqiang^{1,3*}

(1. National Laboratory of Solid State Microstructures, Nanjing University,
Nanjing 210093, China;

2. School of Physics, Nanjing University, Nanjing 210093, China;

3. College of Engineering and Applied Sciences, Nanjing University, Nanjing 210023, China;

4. Sibainuo Optoelectronics Technology (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou 215513, China)

* Corresponding author, E-mail: xhhong@nju.edu.cn; yqqin@nju.edu.cn

Abstract: Artificial intelligence (AI)-based cell recognition in biological images is increasingly important in medical diagnostics. To improve recognition accuracy by acquiring images better suited to AI analysis,

收稿日期: 2026-07-12; **修订日期:** 2026-08-03.

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(No. 2022YFA1405000, No. 2022YFA1205100); 国家自然科学基金资助项目(No. 12274214, No. 12474327, No. 92463304)

a spiral phase-contrast microscopy system was developed. A radial Hilbert transform was applied before image acquisition, and both the transmission amplitude and phase information of the specimen were used to directly generate edge-enhanced microscopic images. The generalist AI algorithm Cellpose-SAM was subsequently employed for cell contour segmentation and cell pose prediction. In proof-of-concept experiments with oral epithelial cells, spiral phase-contrast filtering substantially improved both the cell recognition rate and the accuracy of predicted cell poses. A recognition rate of 96% was achieved with spiral phase-contrast images, compared with 54% for bright-field images. The applicability of the method across cell types was further validated using red blood cells, Hepa 1-6 hepatoma cells, and human umbilical vein endothelial cells. These findings demonstrate the potential of spiral phase-contrast microscopy as a broadly applicable optical preprocessing approach for improving AI-based cell recognition accuracy and supporting algorithm generalizability across diverse biological specimens.

Key words: spiral-phase-contrast microscopy; image edge enhancement; image pre-processing; artificial intelligence; cell recognition

1 引言

基于深度学习和细胞特征识别的AI算法及其与显微镜技术的结合已应用于病毒传染病的抗体检测^[1]、泛癌检测^[2-4]、骨髓初步分析^[5]、通过细胞核形态预测乳腺癌风险^[6]、小鼠脑部电镜图像实例分割^[7]以及睑板腺图像多粒度分割^[8]等领域。然而,要实现高效准确的AI识别,不仅需要普适性的AI识别算法^[9-11],还需要所识别的图像中携带足够多的特征信息。边缘信息是图像中最重要的信息之一,反映了生物样品的结构轮廓和细胞的形态特征。通过基于数学微分的Sobel算子、Canny算子、Laplacian of Gaussian(LoG)算子,基于增强高频细节锐化边缘的Unsharp Mask(USM)算法^[12],以及适用于非均匀光照图像的多种Retinex算法^[13-14]等方法增强生物样本图像的边缘信息,有助于AI算法的识别及病灶分割,目前已应用于肺结节的诊断^[15]、癌变区域辅助标记^[16]、脑肿瘤分割^[17]等方面。

然而,上述方法基于传统光学显微镜采集的RGB彩色图像,只包含样品的空间振幅分布信息,限制了AI细胞识别准确度的提升。近年来,高光谱成像技术被应用于细胞分析,该方法通过获取样品的空间信息及光谱信息,在干细胞分化监测、癌细胞识别、纳米粒子示踪等领域展现出独特优势^[18-19]。华东师范大学李庆利团队将分子高光谱成像技术应用于白细胞识别与定量形态

表征^[20],以及与深度卷积神经网络结合用于胆管癌病理诊断^[21],为胆管癌的自动化诊断提供了新途径。

由于生物细胞样品的透明度一般较高,透射振幅分布一般较为均匀,透射相位中携带着更丰富的形貌信息。通过相差显微镜及微分干涉显微镜可以将样品相位信息转化为振幅信息^[22-23],有助于生物细胞样品的检测。但上述两种方法依赖于复杂的光路结构且有严格的光路准直性要求,限制了其在显微镜领域的应用。螺旋相差(Spiral-phase-contrast, SPC)滤波作为主流图像边缘增强方法之一,通过在傅里叶面处放置螺旋相位片进行频谱调控,可实现透射振幅及相位的边缘信息提取,可以实现透射相位信息的利用以及突出样品边缘信息。近期,暨南大学朱文国团队基于4f系统及液晶涡旋波片实现了白光螺旋相差滤波成像,推进了螺旋相差滤波在显微成像领域的应用^[24]。

本文基于螺旋相差滤波原理,研究了其在AI识别中的增益效应及系统集成方案。通过对商用显微镜光路的简便改造,利用其光路中存在第二傅里叶面的特点,在该处放置螺旋相位片,在成像前对图像进行螺旋相差滤波(即径向希尔伯特变换)处理,同时利用样品的透射振幅及相位信息,实现了边缘增强的成像效果,具有光路简单,鲁棒性强,成像速度快等优势,并以多种生物细胞样品及Cellpose-SAM细胞识别算法为例进

行细胞识别及形态预测。与普通明场图像及经过算法后处理的明场图像相比,螺旋相差滤波图像细胞识别率及预测形态相似度均得到显著提升,进一步提高了AI识别算法的泛用性。该研究在细胞识别、图像处理、AI医疗诊断等领域具有重要意义。

2 实 验

2.1 螺旋相差滤波原理

螺旋相差滤波是通过在成像光路的频谱面放置螺旋相位片(Spiral Phase Plate, SPP),对图像进行径向希尔伯特变换处理,使频谱面在径向任意方向均具有 $n\pi$ 的相位差,从而实现全方向的边缘增强效果^[25-26]。由于拓扑荷数 $n=1$ 的螺旋相位片对应的点扩散函数具有最窄的半峰宽,边缘增强效果最佳,因此通常选用 $n=1$ 的螺旋相位片^[27-28]。以螺旋相差滤波常用的 $4f$ 系统为例, $4f$ 系统由两个焦距为 f 的透镜组成,物平面位于第一个透镜的前焦面,第一个透镜的后焦面同时也是第二个透镜的前焦面为傅里叶面,成像面位于第二个透镜的后焦面,整个系统长度为 $4f$ 。将拓扑荷数为1的螺旋相位片放置于傅里叶面中心位置,其透射系数表达式为:

$$H(r, \varphi) = \text{circ}\left(\frac{r}{R}\right) \exp(i\varphi), \quad (1)$$

其中: $\text{circ}\left(\frac{r}{R}\right) = \begin{cases} 1, r \leq R \\ 0, r > R \end{cases}$ 为圆域函数, R 为螺旋相位片半径。设光线经过物体进入 $4f$ 系统的入射电场分布为 $E_{\text{in}}(r, \varphi)$,则出射电场分布为入射电场 $E_{\text{in}}(r, \varphi)$ 与系统点扩散函数 $h(r, \varphi)$ 的卷积:

$$E_{\text{out}}(r, \varphi) = E_{\text{in}}(r, \varphi) \otimes h(r, \varphi), \quad (2)$$

其中 $h(r, \varphi)$ 为螺旋相位片透射系数 $H(r, \varphi)$ 的傅里叶变换:

$$h(r, \varphi) = -\frac{k}{f} \exp(i\varphi) \int_0^R J_1\left(\frac{k}{f} r \rho\right) \rho d\rho, \quad (3)$$

其中: k 为入射光波数, f 为透镜焦距, J_1 为一阶贝塞尔函数,将式(3)代入式(2)可得出射电场表达式满足如下关系^[29]:

$$E_{\text{out}}(r, \varphi) \propto \exp[i\psi_{\text{in}}(r, \varphi)] g_{\text{Am}}(r, \varphi) \exp[i\delta_{\text{Am}}(r, \varphi)] + iE_{\text{in}}(r, \varphi) g_{\text{Ph}}(r, \varphi) \exp[i\delta_{\text{Ph}}(r, \varphi)], \quad (4)$$

其中: $\psi_{\text{in}}(r, \varphi)$ 为入射光场的相位分布, $g_{\text{Am}}(r, \varphi)$ 和 $g_{\text{Ph}}(r, \varphi)$ 分别为振幅梯度及相位梯度, $\delta_{\text{Am}}(r, \varphi)$ 和 $\delta_{\text{Ph}}(r, \varphi)$ 分别为振幅梯度以及相位梯度的方向角。光场强度为 $|E_{\text{out}}(r, \varphi)|^2$,由式(4)可得,经过螺旋相位片滤波后的图像,其空间强度分布与样品透射振幅梯度和透射相位梯度呈正相关。样品中均匀区域透射振幅梯度及相位梯度较小,对应成像区域光强较弱,而样品边缘区域透射振幅及相位变化较大,对应成像区域光强较强。因此,该系统可以实现边缘增强的图像处理效果,且图像强度分布不仅与样品透射振幅相关,还包含了透射相位信息^[30]。

将螺旋相位片集成到显微镜中,可在成像前进行径向希尔伯特变换处理,直接得到边缘增强的图像,而无需通过计算机进行后续的图像处理过程。且该过程可同时利用透射振幅及相位信息,这是利用计算机算法进行图像后处理无法实现的,因为sCMOS相机在拍摄图像时仅记录振幅信息。

2.2 实验光路

相较于额外引入透镜组在显微镜外创建额外傅里叶面^[31]的方法,本文利用倒置显微镜光路中存在第二傅里叶面的特点,对国产倒置生物显微镜明美MIX60进行简易改装,在不影响原有功能的基础上实现了螺旋相差滤波功能的集成,构建了多功能的螺旋相差滤波显微镜。其光路示意图如图1所示,显微镜光源为LED白光光源(中心波长约为550 nm),光束经过透镜、小孔光阑及聚光镜后以近似平行光的形式照射到样品上。由于入射光源的空间相干性对螺旋相差滤波图像的对比度影响尤为重要^[32],该显微镜原有光阑最小半径为4 mm,在原光阑处加入一个半径为1 mm的小孔光阑,成像对比度得到明显提升,而继续缩小光阑则会由于通光量过低而降低图像信噪比。图中光束为背景照明光,虚线为样品散射光。经过物镜后,在物镜后焦面处形成第一傅里叶面,通过物镜改造,在该处放置螺旋相位片构建螺旋相差物镜也可以实现螺旋相差滤波效果^[33]。但该方法需要对每个物镜单独进行改造,成本较高,且改造后的物镜无法兼容其他显微镜模式。光线从物镜出

射,经过一对中继透镜和反光镜后到达第二傅里叶面。通过三维手动位移台加载螺旋相位片的方式,可在 x, y, z 三个方向对其位置进行任意调节,将螺旋相位片中心调节至第二傅里叶面中心位置时,即可实现螺旋相差滤波功能。所用螺旋相位片为石英材质,拓扑荷数为1,半径为3 mm,具体型号为:海纳光学, SPP-532-1-S6-C。滤波后的图像经过反射镜和透镜后成像,并被 sCMOS 相机 (KDR-500-40U3C, PLCTS) 记录,图像像素为 $2\,448\text{ pixel} \times 2\,048\text{ pixel}$,像素大小为 $3.45\text{ }\mu\text{m} \times 3.45\text{ }\mu\text{m}$,然后使用 Cellpose-SAM 细胞识别算法^[10]对图像进行 AI 识别,得到细胞轮廓分割以及细胞形态预测图像,该模型可以通过网页 <https://www.cellpose.org/> 直接调用。通过取下螺旋相位片或者将其位置调至偏离光路即可转换到普通明场模式。值得注意的是,该显微镜改造过程十分简便且成本低廉,显微镜原有光学器件均无需改动,仅需在原光阑处放置一半径为1 mm的小孔光阑并在第二傅里叶面处置入螺旋相位片。得益于原有结构光路的保持,该显微镜还可以通过环形光阑加相差物镜的组合实现相衬成像功能^[22]。

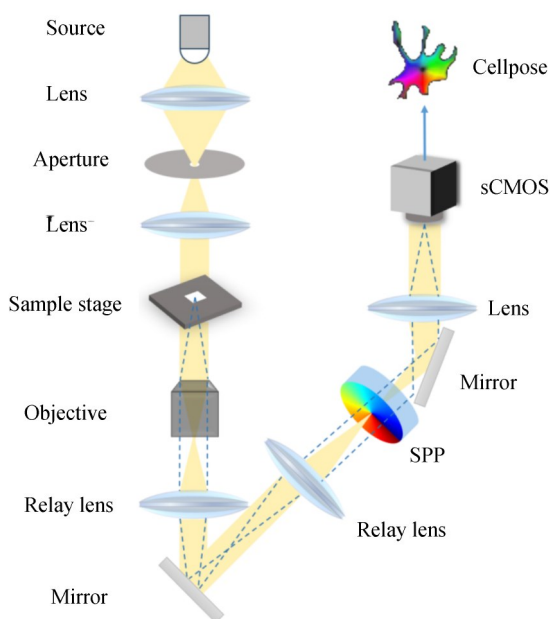


图1 螺旋相差显微镜示意图

Fig. 1 Schematic diagram of spiral-phase-contrast microscopy

3 实验结果与分析

3.1 螺旋相差辅助AI识别效果验证实验

口腔上皮细胞在明场显微镜下具有适中的光学对比度,适用于验证螺旋相差滤波图像提升AI识别率的能力。实验采用 $10\times$ 物镜 ($NA=0.32$) 对口腔上皮细胞进行成像,分别在螺旋相差模式和普通明场模式下使用 sCMOS 拍摄图像,然后使用 Cellpose-SAM 细胞识别算法进行识别,并比较识别效果。该算法基于 U-Net 架构,通过预测像素级矢量场实现细胞分割,属于通用型预训练模型,适用于各种细胞类型。

口腔上皮细胞螺旋相差滤波图像的AI识别结果如图2(a)和2(b)所示,图2(a)为AI识别得到的细胞轮廓分割图像,红色线框为AI识别的细胞轮廓,可见图中存在28个完整细胞,其中27个被成功识别。图2(b)为AI预测的细胞形态图,Cellpose-SAM 细胞识别算法不直接预测分割边界,而是预测一个人为定义的矢量场,其中颜色代表梯度方向,均指向细胞中心点,亮度代表梯度的大小^[10]。神经网络通过预测每个像素的矢量方向(而非判断每个像素是否为边界)来进行细胞轮廓识别和形态分布预测。普通明场图像AI识别结果如图2(c)和2(d)所示,仅有15个细胞被成功识别。对比图2(a)和图2(c)可见,螺旋相差滤波图像相对于普通明场图像不仅实现了边缘增强效果,还可以呈现更丰富的形态细节(如细胞表面的凹凸形状),这些信息更多地来自细胞的透射相位分布^[30]。为比较使用计算机算法进行图像后处理与使用螺旋相位片进行图像前处理对AI识别效果的影响,本文使用径向希尔伯特变换(Radial Hilbert transform, RHT)算法对明场图像进行处理,得到相应边缘增强图像,然后进行AI识别。结果如图2(e)和2(f)所示,成功识别的完整细胞数目为13个,与普通明场图像相比,AI识别率并未得到提升。主要原因如下:其一,图像后处理只能对图像所记录的振幅信息进行处理^[34],缺失了样品的相位信息,而相位信息对生物细胞样品尤为重要;其二,算法后处理会同时放大背景光中的噪声信号,而螺旋相差滤波图像前处理过程则主要对蕴含样品信息的衍射光高频信号进行边缘增强。

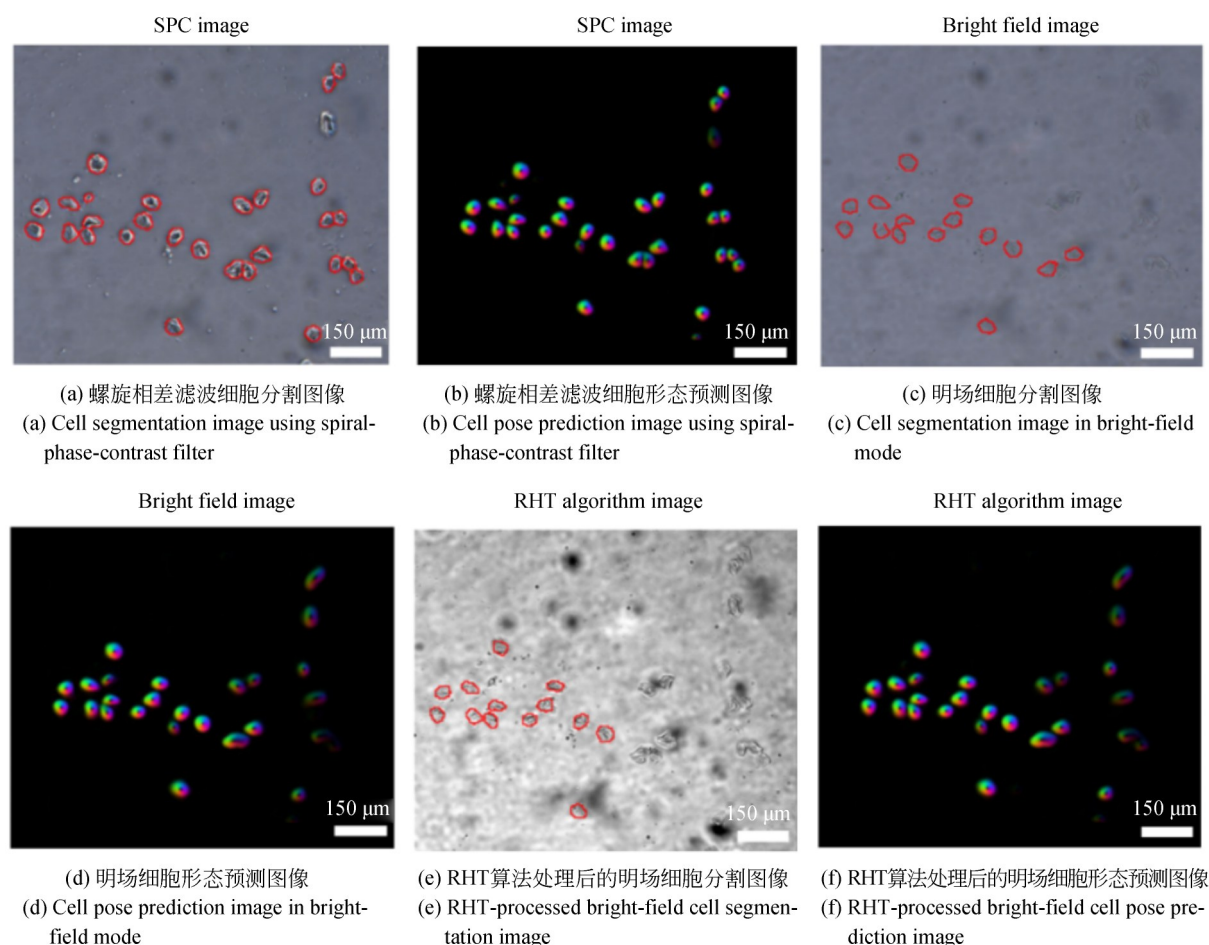


图2 口腔上皮细胞AI识别效果

Fig. 2 AI recognition effect diagram of oral epithelial cells

3.2 红细胞、Hepa1-6 肝癌细胞与 HUVEC 人脐静脉内皮细胞泛用性验证实验

为验证螺旋相差显微镜所得图像能够提高AI识别效果的泛用性,本文选取另外3种具有代表性的细胞样品进行实验,分别为红细胞、Hepa1-6 肝癌细胞和 HUVEC 人脐静脉内皮细胞。红细胞为中间凹陷的圆盘形状^[35],在显微镜下呈圆形,与背景衍射环噪声形状类似,同时自身透明度较高,进行AI识别时易受背景噪声干扰。Hepa1-6 肝癌细胞形态多样,且细胞间距较小,AI识别难度高于口腔上皮细胞。HUVEC 人脐静脉内皮细胞形状不规则且透明度较高,难以对其完整细胞轮廓进行识别。

红细胞尺寸相对口腔上皮细胞较小,采用40×物镜($NA=0.58$)进行拍摄,另外两种细胞样品采用10×物镜($NA=0.32$)进行拍摄,获得明场图像及螺旋相差滤波图像后,分别使用 Cell-

pose-SAM 细胞识别算法进行AI识别。红细胞明场和螺旋相差滤波的细胞轮廓分割图像如图3(a)和3(b)所示,形态预测结果如图3(c)和3(d)所示。由图3(a)可见,明场图像中,背景衍射环噪声的边缘对比度高于红细胞,导致Cellpose-SAM 细胞识别算法误将衍射环噪声识别为细胞,而真实细胞未被成功识别。在图3(b)所示的螺旋相差滤波图像中,红细胞边缘得到增强,且背景噪声未被增强,有72个红细胞被正确识别。预测的细胞形态分布(图3(d))也与图3(b)中的细胞分布较为接近,这不仅表明该方法可以提升AI识别的准确性,还说明其可以通过增强信号光的方式抑制衍射噪声的影响。

Hepa1-6 肝癌细胞和 HUVEC 人脐静脉内皮细胞AI识别效果分别如图3(e)~(h)和(i)~(l)所示。这两种细胞形状不规则,Cellpose-SAM 细胞识别算法仅能识别部分完整细胞。为进一

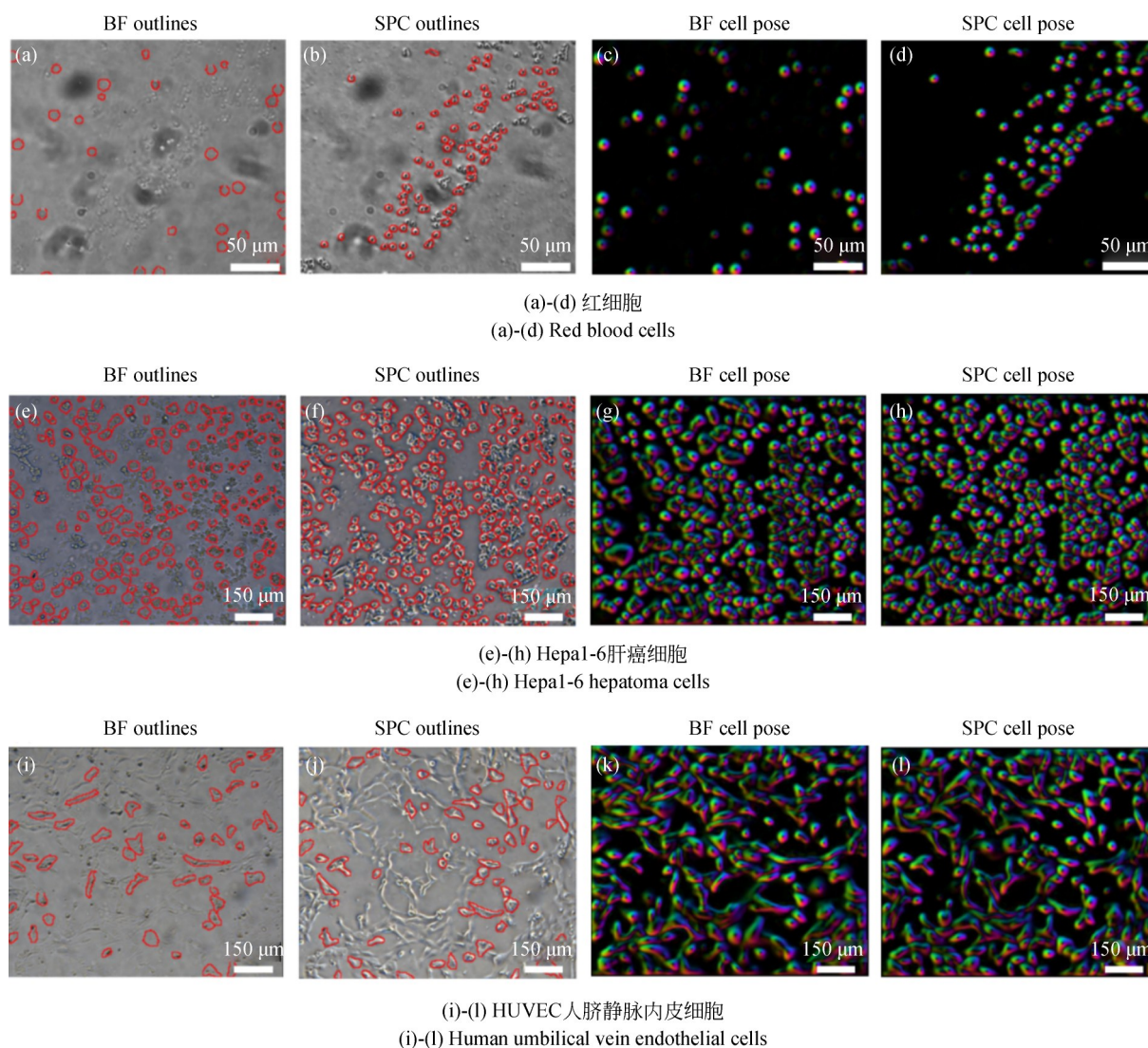


图3 红细胞、Hepa1-6肝癌细胞和HUVEC人脐静脉内皮细胞AI识别结果

Fig. 3 AI recognition images of red blood cells, Hepa1-6 hepatoma cells and human umbilical vein endothelial cells

步量化该螺旋相差显微镜对AI识别效果的提升,本文对口腔上皮细胞、红细胞、Hepa1-6肝癌细胞和HUVEC人脐静脉内皮细胞4种细胞样品图像,采用交并比 (Intersection over Union, IoU)^[36]来量化AI预测的细胞形态的准确度。

IoU的定义为 $\frac{|A \cap B|}{|A \cup B|}$,这里A,B分别为AI预测

的细胞形态掩模图与原始拍摄图像对应的细胞掩模图。以红细胞螺旋相差滤波图像为例,AI预测的细胞形态图为图3(d),原始图像为图3(b)。为获得细胞掩模图,首先将AI预测的细胞形态图像与原图像均转化为灰度图,再选择合适阈值转化为细胞掩模图像,然后在像素级别上计算交

并比。相关结果如表1所示,其中BF image表示明场图像,SPC image表示螺旋相差滤波图像,ALG image表示RHT算法处理后的明场细胞图像。对于口腔上皮细胞和红细胞两种形状规则、细胞边界清晰的细胞样品,从螺旋相差滤波图像中可以较为准确地判断其中完整的细胞个数,本文采用人工标注的形式,由两名研究人员独立标注图像中完整细胞的总个数 N ,对存在分歧的样本进行复核讨论,最终达成一致。以Cellpose-SAM细胞识别算法成功识别的完整细胞个数 n (图中红色线框对应的细胞数量)除以 N 得到细胞识别率。口腔上皮细胞人工标注的完整细胞个数为28个,红细胞为156个。

对于口腔上皮细胞样品,螺旋相差滤波图像 AI 识别率为 96%,交并比为 32%,普通明场图像分别为 54% 和 28%,而经 RHT 算法后处理的图像,两项指标仅为 46% 和 28%,相较明场图像未见提升。该结果反映了在常规条件下,对于形状规则,分散度较高的生物细胞样品,由于其透明度较高,在普通明场图像中的边界不明显,Cellpose-SAM 细胞识别算法只能识别出约一半的细胞,使用 RHT 算法对普通明场图像进行图像后处理虽然提升了整个图像的对比度,使得亮暗部分区别更加明显,但细胞边缘信息并无法被凸显。螺旋相差滤波图像由于将相位突变信息转化为强度信息,所以可以实现细胞边缘位置的凸显,较大幅度提升细胞 AI 识别率。对于红细胞,明场图像没有被 Cellpose-SAM 细胞识别算法正确识别,而螺旋相差滤波图像具有 46% 的识别率以及 17% 的交并比。这反映了螺旋相差滤波图像能够针对性地对样品信息进行增强,提高图像信噪比,解决了形状特殊且透明度较高的细胞在进行细胞识别时,容易受

背景衍射环噪声的影响进而导致细胞识别错误的问题。对于 Hepa1-6 肝癌细胞和 HUVEC 人脐静脉内皮细胞,形状不规则且细胞堆叠严重,难以划分细胞个数,所以未计算细胞识别率,但通过交并比数据可以看到,Hepa1-6 肝癌细胞螺旋相差滤波图像交并比为 30%,比明场图像高 3%,HUVEC 人脐静脉内皮细胞螺旋相差滤波图像交并比为 29%,比明场图像高 6%。这说明针对此类细胞,螺旋相差滤波仍能提升 AI 识别的准确性。综合以上样品数据,螺旋相差滤波图像相较于普通明场图像,AI 识别率及交并比均有明显提升,表明螺旋相差滤波能通过增强细胞边缘信息,提升图像对比度及信噪比,有效提升生物细胞样品 AI 识别效果且该效果并非个例,而是一种具有一定普适性的方法,对多种生物细胞样品均适用。表 1 中 IoU 值普遍较低的原因是:将拍摄图像转化为灰度图时,细胞边缘区域亮度较高,导致掩模图像的细胞中心区域会部分缺失。尽管如此,该指标仍能有效反映细胞的形态分布。

表 1 不同细胞样品图像 AI 识别效果比较
Tab. 1 Comparison of AI recognition results on different cell sample images

Types of cell sample images	Recognize correctly	Recognition rate/%	IoU/%
BF image of Oral Epithelial Cells	Yes	54	28
ALG image of Oral Epithelial Cells	Yes	46	28
SPC image of Oral Epithelial Cells	Yes	96	32
BF image of Red Blood Cells	No	—	—
SPC image of Red Blood Cells	Yes	46	17
BF image of Hepa1-6 Cells	Yes	—	27
SPC image of Hepa1-6 Cells	Yes	—	30
BF image of HUVEC	Yes	—	23
SPC image of HUVEC	Yes	—	29

注:“—”表示该条件下 Cellpose-SAM 算法未能正确识别完整细胞或难以准确计算识别率

4 结 论

本文将螺旋相位片集成到显微镜内部,并结合 Cellpose-SAM 细胞识别算法,提出了一种低成本、易实现的多功能一体螺旋相差显微镜系统集成方案,基于径向希尔伯特变换图像前处理过程,直接得到了边缘增强的显微图像。通过该显微镜拍摄了口腔上皮细胞明场及螺

旋相差滤波图像,螺旋相差滤波图像的细胞形态预测相似度高于明场图像及 RHT 算法处理后的明场图像,细胞 AI 识别率从明场图像的 54% 提升至螺旋相差滤波图像的 96%,而 RHT 算法后处理图像仅有 46% 的识别率。表明该螺旋相差显微镜能够提升 AI 识别率,且该增益效果来自对透射相位信息的处理,因此是算法后处理过程无法替代的。进一步通过

红细胞、Hepal-6 肝癌细胞和 HUVEC 人脐静脉内皮细胞验证了该方法的泛用性。在存在衍射光噪声、细胞高度透明且形状不规则的情况下,该方法仍然有效。本文还对 AI 识别效果进行了量化分析,为 AI 图像识别研究提供了一种硬件与算法相结合的新思路。基于螺旋相差显微镜对 AI 识别的显著增益效应,将其进一步与医学图像识别算法相结合,在 AI 医疗诊断领域具有重要意义。此外,该方法还可替代明场图像,用于构建包含更多细胞结构信

息的 AI 训练数据集,以训练可预测细胞精细结构的 AI 模型^[37]。

作者贡献声明:

朱昌浩:论文构思与撰写,实验设计和拍摄;

付佳鑫:部分显微镜光路改造,图像处理;

雷 满:数据整理与分析;

孙旭辉:论文构思与实验设计;

张 超、秦亦强:论文审核与写作指导;

洪煦昊:研究方法和实验指导。

参考文献:

- [1] SARTINGEN N, STÜRMER V, KALTENBÖCK M, *et al.* Multiplex microscopy assay for assessment of therapeutic and serum antibodies against emerging pathogens [J]. *Viruses*, 2024, 16 (9): 1473.
- [2] WANG X Y, ZHAO J H, MAROSTICA E, *et al.* A pathology foundation model for cancer diagnosis and prognosis prediction[J]. *Nature*, 2024, 634 (8035): 970-978.
- [3] VORONTSOV E, BOZKURT A, CASSON A, *et al.* A foundation model for clinical-grade computational pathology and rare cancers detection[J]. *Nature Medicine*, 2024, 30(10): 2924-2935.
- [4] 王旭, 王晓燕, 郭英慧, 等. 深度学习在细胞图像自动分割中的应用与进展[J]. *计算机工程与应用*, 2026, 62(2): 73-91.
WANG X, WANG X Y, GUO Y H, *et al.* Advances in deep learning for automated cell image segmentation[J]. *Computer Engineering and Applications*, 2026, 62(2): 73-91. (in Chinese)
- [5] GHETE T, KOCK F, PONTONES M, *et al.* Models for the marrow: a comprehensive review of AI-based cell classification methods and malignancy detection in bone marrow aspirate smears[J]. *Hema-Sphere*, 2024, 8(12): e70048.
- [6] HECKENBACH I, POWELL M, FULLER S, *et al.* Deep learning assessment of senescence-associated nuclear morphologies in mammary tissue from healthy female donors to predict future risk of breast cancer: a retrospective cohort study[J]. *The Lancet Digital Health*, 2024, 6(10): e681-e690.
- [7] 承鸢, 赵国强, 张若冰, 等. 基于自然图像模型微调的小鼠脑部电镜图像实例分割[J]. *光学精密工程*, 2024, 32(18): 2836-2845.
- CHENG A, ZHAO G Q, ZHANG R B, *et al.* Instance segmentation of mouse brain scanning electron microscopy images based on fine-tuning nature image model [J]. *Optics and Precision Engineering*, 2024, 32(18): 2836-2845. (in Chinese)
- [8] 杨松, 夏振平, 李笠, 等. 基于 CNN 和 Transformer 的脸板腺图像多粒度分割[J]. *光学精密工程*, 2025, 33(20): 3299-3314.
YANG S, XIA ZH P, LI L, *et al.* Multi-granularity segmentation of meibomian gland images based on CNN and Transformer[J]. *Optics and Precision Engineering*, 2025, 33(20): 3299-3314. (in Chinese)
- [9] STRINGER C, PACHITARIU M. Cellpose3: one-click image restoration for improved cellular segmentation [J]. *Nature Methods*, 2025, 22 (3): 592-599.
- [10] STRINGER C, WANG T, MICHAELLOS M, *et al.* Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation [J]. *Nature Methods*, 2021, 18 (1): 100-106.
- [11] PACHITARIU M, STRINGER C. Cellpose 2.0: how to train your own model [J]. *Nature Methods*, 2022, 19(12): 1634-1641.
- [12] DING F, ZHU G P, YANG J Q, *et al.* Edge perpendicular binary coding for USM sharpening detection[J]. *IEEE Signal Processing Letters*, 2015, 22 (3): 327-331.
- [13] JOBSON D J, RAHMAN Z, WOODDELL G A. A multiscale retinex for bridging the gap between color images and the human observation of scenes [J]. *IEEE Transactions on Image Processing*, 1997, 6(7): 965-976.

- [14] 王浩,张叶,沈宏海,等. 图像增强算法综述[J]. 中国光学, 2017, 10(4): 438-448.
WANG H, ZHANG Y, SHEN H H, *et al.* Review of image enhancement algorithms [J]. *Chinese Optics*, 2017, 10(4): 438-448. (in Chinese)
- [15] WANG Y, MUSTAZA S M, AB-RAHMAN M S, *et al.* HEE-SegGAN: a holistically-nested edge enhanced GAN for pulmonary nodule segmentation[J]. *PLoS One*, 2025, 20(8): e0328629.
- [16] DING W L, LIAO W Y, ZHU X J, *et al.* A novel automatic annotation method for whole slide pathological images combined clustering and edge detection technique [J]. *IET Image Processing*, 2024, 18(6): 1516-1529.
- [17] LV C J, LI B Y, WANG X W, *et al.* CMS-net: Edge-aware multimodal MRI feature fusion for brain tumor segmentation [J]. *Image and Vision Computing*, 2025, 156: 105481.
- [18] STENDER A S, MARCHUK K, LIU C, *et al.* Single cell optical imaging and spectroscopy [J]. *Chemical Reviews*, 2013, 113(4): 2469-2527.
- [19] MEHTA N, SHAIK S, DEVIREDDY R, *et al.* Single-cell analysis using hyperspectral imaging modalities [J]. *Journal of Biomechanical Engineering*, 2018, 140(2): 020802.
- [20] LI Q L, WANG Y T, LIU H Y, *et al.* Leukocyte cells identification and quantitative morphometry based on molecular hyperspectral imaging technology [J]. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 2014, 38(3): 171-178.
- [21] SUN L, ZHOU M, LI Q L, *et al.* Diagnosis of cholangiocarcinoma from microscopic hyperspectral pathological dataset by deep convolution neural networks[J]. *Methods*, 2022, 202: 22-30.
- [22] ZERNIKE F. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects [J]. *Physica*, 1942, 9(7): 686-698.
- [23] ALLEN R D, DAVID G B, NOMARSKI G. The zeiss-Nomarski differential interference equipment for transmitted-light microscopy [J]. *Zeitschrift Fur Wissenschaftliche Mikroskopie und Mikroskopische Technik*, 1969, 69(4): 193-221.
- [24] DENG R H, YANG H W, FENG S Q, *et al.* White-light spiral phase contrast imaging [J]. *Optics Express*, 2025, 33(15): 31244-31257.
- [25] GUO C S, HAN Y J, XU J B, *et al.* Radial Hilbert transform with Laguerre-Gaussian spatial filters [J]. *Optics Letters*, 2006, 31(10): 1394-1396.
- [26] 陈君,崔祥霞,肖静,等. 基于径向希尔伯特变换的图像边缘增强特性研究[J]. 光子学报, 2011, 40(3): 483-486.
CHEN J, CUI X X, XIAO J, *et al.* Properties of image edge enhancement using radial Hilbert transform [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2011, 40(3): 483-486. (in Chinese)
- [27] DAVIS J A, MCNAMARA D E, COTTRELL D M, *et al.* Image processing with the radial Hilbert transform: theory and experiments [J]. *Optics Letters*, 2000, 25(2): 99-101.
- [28] 王炯,张雨东,李国俊,等. 螺旋相位板参数对螺旋相衬成像系统性能影响研究[J]. 光学学报, 2012, 32(4): 0411002.
WANG J, ZHANG Y D, LI G J, *et al.* Influences of spiral phase plate's parameters on spiral phase contrast microscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, 32(4): 0411002. (in Chinese)
- [29] JESACHER A, FÜRHAPTER S, BERNET S, *et al.* Spiral interferogram analysis [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2006, 23(6): 1400-1409.
- [30] 吴迪,蒋子珍,喻欢欢,等. 基于分数阶螺旋相位片的定量相位显微成像[J]. 物理学报, 2021, 70(15): 158702.
WU D, JIANG Z ZH, YU H H, *et al.* Quantitative phase microscopy imaging based on fractional spiral phase plate [J]. *Acta Physica Sinica*, 2021, 70(15): 158702. (in Chinese)
- [31] JESACHER A, FÜRHAPTER S, BERNET S, *et al.* Shadow effects in spiral phase contrast microscopy [J]. *Physical Review Letters*, 2005, 94(23): 233902.
- [32] MAURER C, JESACHER A, FÜRHAPTER S, *et al.* Upgrading a microscope with a spiral phase plate [J]. *Journal of Microscopy*, 2008, 230(1): 134-142.
- [33] LEE D H, LEE S, BAE J Y, *et al.* Spiral-phase-objective for a compact spiral-phase-contrast microscopy [J]. *Optics Express*, 2023, 31(21): 34391.
- [34] LIANG H W, YE W Y, GAO M Q, *et al.* An optical meta-image-processor for enhanced imaging through strongly scattering media [J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 9732.
- [35] DEULING H J, HELFRICH W. Red blood cell

- shapes as explained on the basis of curvature elasticity [J]. *Biophysical Journal*, 1976, 16 (8) : 861-868.
- [36] JIAO L C, ZHANG F, LIU F, *et al.* A survey of deep learning-based object detection[J]. *IEEE Access*, 2019, 7: 128837-128868.
- [37] CHRISTIANSEN E M, YANG S J, ANDO D M, *et al.* In silico labeling: predicting fluorescent labels in unlabeled images [J]. *Cell*, 2018, 173 (3): 792-803. e19.

作者简介:



朱昌浩(2002—),男,山东临沂人,硕士研究生,2024年于南京大学获得学士学位,主要从事超构表面光场调控及空间滤波等方面的研究。E-mail: 502024220134@smail.nju.edu.cn

通讯作者:



秦亦强(1962—),男,江苏南通人,博士,教授,博士生导师,1982年、1998年于南京大学分别获得学士和博士学位,主要从事非线性光子学及非线性光学成像等方面的研究。E-mail: yqqin@nju.edu.cn

通讯作者:



洪煦昊(1986—),男,江苏南京人,博士,高级工程师,2008年、2014年于南京大学分别获得学士和博士学位,主要从事非线性光学、全息成像和空间滤波等方面的研究。E-mail: xh-hong@nju.edu.cn