

• 智慧医疗 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.24.031

基于 DenseNet 算法对膜性肾病组织病理图像 肾小球钉突分类研究*

张兴娜^{1,2}, 杨 会^{1,2}, 刘雪宇³, 姜秋竹^{1,2}, 李荣山², 周晓霜^{2△}, 王 晨⁴

(1. 山西医科大学, 太原 030051; 2. 山西医科大学附属人民医院肾内科, 太原 030012; 3. 太原理工大学大数据学院, 山西 030024; 4. 山西医科大学附属第二医院病理科, 太原 030001)

[摘要] **目的** 开发基于 DenseNet 算法对膜性肾病(MN)肾小球钉突病理图像进行分类的人工智能模型, 研究人工智能模型是否能辅助病理科医师在 MN 病理检测中发现钉突这一细微结构, 提高病理科医师对 MN 的病理诊断水平。**方法** 选取 2014—2019 年山西医科大学附属第二医院收治的 MN 患者肾组织针刺活检病理切片 1 250 张, 经筛选符合要求的六胺银(PASM)染色病理切片 1 150 张, 选择诊断为 MN 病理分期 II 期的 PASM 染色病理图像 127 张。前期实验通过 Cascade R-CNN 网络识别并检测肾小球。由高年资病理科医师对切割后的肾小球进行分类, 将含有钉突样改变的肾小球视为钉突阳性, 共 492 张图像; 将不含有钉突样改变的肾小球视为钉突阴性, 共 523 张图像。使用基于深度学习的 DenseNet 分类网络构建对肾小球钉突进行分类的人工智能模型。将数据集以 8:2 分为训练集和测试集, 模型性能通过测试数据集进行评估。使用经训练的 DenseNet 模型对图像进行测试。通过灵敏度、特异度和受试者工作特征曲线的曲线下面积(AUC)对训练后的模型进行评估。**结果** 基于 DenseNet 模型是正确检测到的是否有钉突的肾小球并对其进行分类。根据测试结果得到召回率为 98.00%, 精确度为 92.45%, 准确率为 95.00%, F1 为 95.15%。DenseNet 模型表现出高性能, AUC 为 0.97。**结论** DenseNet 对肾小球钉突的二分类获得了较高的召回率、准确率和灵敏度, 但精确度和特异度尚需进一步提高才能更好地辅助病理科医师诊断 MN。

[关键词] 膜性肾病; 钉突; DenseNet; 深度学习; 人工智能

[中图分类号] R5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)24-4308-05

Classification of glomerular spikes in pathological image of membranous nephropathy based on DenseNet algorithm*

ZHANG Xingna^{1,2}, YANG Hui^{1,2}, LIU Xueyu³, JIANG Qiuzhu^{1,2},
LI Rongshan², ZHOU Xiaoshuang^{2△}, WANG Chen⁴

(1. Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030051, China; 2. Department of Nephrology, Affiliated People's Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030012, China; 3. College of Big Data, Taiyuan University of Technology, Taiyuan, Shanxi 030024, China; 4. Department of Pathology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[Abstract] **Objective** To develop an artificial intelligence model based on DenseNet algorithm to classify the pathological images of glomerular spikes in membranous nephropathy(MN), and to study whether the artificial intelligence model can assist the pathologists to find the fine structure of spikes in the pathological detection of MN, so as to improve the diagnosis level of pathological physicians on MN. **Methods** A total of 1 250 pathological sections of renal tissue needle biopsy from the patients with MN in the Second Affiliated Hospital of Shanxi Medical University during 2014—2019 were selected, 1 150 periodic acid-silver methenamine (PASM) staining pathological sections after screening met the requirement and 127 PASM staining pathological sections diagnosed as the stage II MN were selected. The earlier stage experiment identified and detected the glomerulus by the Cascade R-CNN network. The cut glomeruli were classified by a senior pathologist, and the glomerulus containing the spike-like change was considered as spikes positive, with a total of 492 images. The glomerulus without the spike-like change were considered as spikes negative, with a total of 523 images. The DenseNet classification network based on deep learning was used to construct an artificial intelligence model to classify the glomerular spikes. The data set was divided into the training dataset and testing dataset

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82170708); 中国博士后科学基金项目(2019M661054)。 作者简介: 张兴娜(1995—), 住院医师, 在读硕士研究生, 主要从事慢性肾脏病的基础与临床的研究。 △ 通信作者, E-mail: xiaoshuangzhou66@163.com。

with a ratio of 8 : 2, and the model performance was evaluated through the testing the dataset. The trained DenseNet model was used to test the image. The post-training model was evaluated by the sensitivity, specificity and area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Based on the DenseNet model, the glomeruli with and without spikes were correctly detected and dichotomized. According to the test results, the obtained recall rate was 98.00%, the precision was 92.45%, the accuracy was 95.00% and F1-score was 95.15%. The DenseNet model showed the high performance with AUC of 0.97. **Conclusion** The dichotomization of glomerular spikes by DenseNet has achieved the high recall rate, accuracy and sensitivity, but the precision and specificity need to be further improved in order to better assist the pathological doctors in the diagnosis of MN.

[Key words] membranous nephropathy; spikes; DenseNet; deep learning; artificial intelligence

膜性肾病(MN)是成年人肾病综合征最常见原因之一。近年来, MN 在我国发病率不断上升, 可能成为发病率最高的原发性肾小球疾病^[1]。MN 是一种肾小球疾病, 其病理特征为肾小球基底膜增厚和免疫复合物在上皮下沉积, 肾脏活检被认为是诊断的“金标准”^[2]。MN 病理分期 II 期表现为光镜下肾小球毛细血管不均匀增厚形成钉突, 电镜下发现上皮细胞下存在电子致密物沉积。钉突是指肾小球基底膜出现微小隆起, 因其结构微小常不易辨别, 常为病理科医师做出诊断带来困难^[3]。

近年来, 大数据处理和深度学习已成为医学进步的先锋, 病理学也不例外。随着数字病理技术、精准医疗和人工智能的发展卷积神经网络(CNNs)在影像、病理等的图像识别上不断成熟^[4]。深度学习算法通过对数据库中的病理图像进行学习, 可对可疑病灶作标记, 辅助医师进行初步诊断, 但目前利用人工智能对肾小球进行准确分类的相关研究很少见^[5]。本研究利用 DenseNet 网络对 MN 肾组织病理切片中肾小球根据有无钉突进行检测并分类, 希望基于 DenseNet 的人工智能软件可在 MN 病理切片中发现钉突这一结构, 辅助病理科医师作出病理诊断, 从而最大限度地减轻病理科医师工作量, 并提高诊断的客观性和准确率。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014—2019 年山西医科大学附属第二医院收治的 MN 患者肾组织针刺活检病理切片 1 250 张, 包括六胺银(PASM)染色、苏木精-伊红染色、马松(MASSON)染色和过碘酸雪夫染色 4 种染色的病理切片, 通过使用 KF-PRO-005-E×数字幻灯片扫描仪(KFbio, 中国宁波)扫描获取, 分辨率为 0.25 毫米/像素, 文件格式为 KFB, 由于图像太大不适合网络训练则转换为 SVS 格式。纳入标准: (1) 肾活检病理诊断为 MN II 期; (2) 临床数据完整; (3) 病理切片清晰完整、染色均匀。排除标准: (1) 可疑病例; (2) 入院后临床资料不齐全; (3) 病理切片损坏、染色不均匀、肾小球未聚焦等。经筛选符合要求的 PASM 染色病理切

片 1 150 张, 选择诊断为 MN 病理分期 II 期的 PASM 染色病理图像 127 张。

1.2 方法

1.2.1 图片注释

前期实验通过级联区域 CNNs 识别并对肾小球进行分割^[6]。由高年资病理科医师对切割后的肾小球进行分类, 将有钉突的肾小球放入一个文件夹, 命名为钉突阳性(+), 共 492 个; 将没有钉突的肾小球放入另一个文件夹, 命名为钉突阴性(-), 共 523 个, 格式均为 JPG。因仅根据图像判断结果, 故要求注释者对患者信息、临床信息和诊断视而不见。

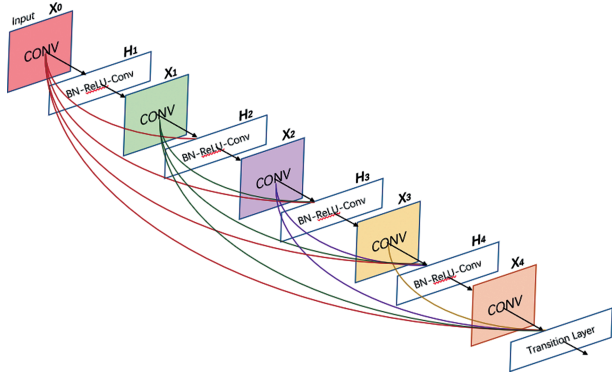
1.2.2 训练/验证数据集

按 8 : 2 分为训练集与测试集。训练集用于人工智能模型的训练, 为对模型进行参数的调整, 从训练集里再次分出验证集, 训练集共 611 张图像, 验证集共 204 张图像。训练模型使用 TensorFlow 2.0 框架和 Python 环境。选择 NVIDIA Tesla k80 GPU, 将学习率设置为 0.001, 将训练迭代次数设置为 100, 将批量大小设置为 16。训练模型使用 TensorFlow2.0 框架和 Python 环境。选择 NVIDIA Tesla k80 GPU, 将学习率设置为 0.001, 将训练迭代次数设置为 100, 将批量大小设置为 16。训练/验证数据集由 5 名病理科医师注释, 每个病例随机分配 2 名病理科医师并独立进行注释。

1.2.3 测试数据集

测试集包含 200 张图像, 用来对经过训练的 DenseNet 模型的泛化与识别能力进行测试, 然后得出二种分类标签(+和-)。DenseNet 模型: 传统的 L 层卷积网络有 L 个连接——每一层只与其前一层和后一层相连, 而 DenseNet 在前馈时将每一层与其他的任一层均进行了连接, 有 $L(L+1)/2$ 个连接。每一层均将之前的所有层的特征图作为输入, 而其自己的特征图是之后所有层的输入。就是每一层的输入来自前面所有层的输出, 即 X_0 是输入(input), H_1 的输入是 X_0 , H_2 的输入是 X_0 和 X_1 。见图 1。与传统网络模型比较, DenseNet 有助于解决梯度消失问题, 增强特征传播, 促进特征的重复利用, 明显减少了

参数的数量, DenseNet 还改善了网络中信息和梯度的传递, 让网络更容易训练。



一个 5 层的密集块, 每一层以前面所有层的特征作为输入。

图 1 DenseNet 网络结构

1.2.4 模型性能评估

模型性能通过测试数据集进行评估。对测试数据集中的每个图像随机选择 1 名病理科医师的注释标签被用作真实标签, 其他病理科医师注释标签用于评估其表现。通过受试者工作特征曲线的曲线下面积(AUC)、灵敏度和特异度对训练后模型进行评估。测试数据集性能通过灵敏度(召回率、真阳性率)和特异度(真阴性率)进行评估。精确度 = 真阳性 / (真阳性 + 假阳性)。召回率 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性)。准确率 = (真阳性 + 真阴性) / (真阳性 + 假阴性 + 假阳性 + 真阴性)。F1 = 2 × (召回率 × 精确度) / (召回率 + 精确度)。真阳性为钉突(+)肾小球被正确识别, 假阳性为钉突(-)肾小球被错误识别为钉突(+)肾小球, 真阴性为钉突(-)肾小球被正确识别, 假阴性为钉突(+)肾小球被错误识别为钉突(-)肾小球。

1.2.5 研究流程

裁剪 127 张 MN 病理分期 II 期患者 PASM 染色病理图像得到 1 015 张肾小球图像。训练集和验证集分别包含 611、204 张图像, 测试集包含 200 张图像, 研究流程见图 2。

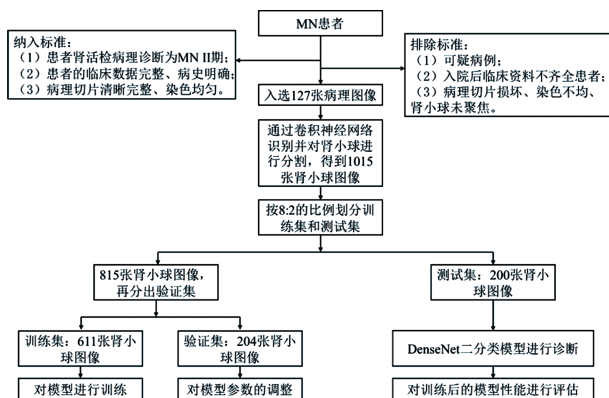


图 2 研究流程

2 结 果

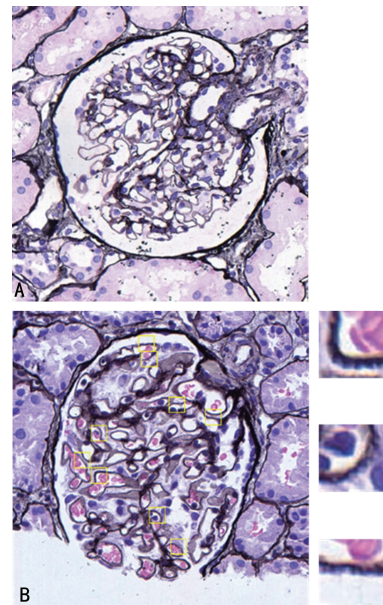
2.1 病理图像注释训练与验证

各数据集中注释标签数量见表 1。钉突(-)肾小

球和钉突(+)肾小球见图 3。

表 1 数据集的注释标签

项目	阴性标签	阳性标签	合计
训练集	317	294	611
验证集	106	98	204
测试集	100	100	200
合计	523	492	1 015



A: 钉突(-)肾小球; B: 钉突(+)肾小球及部分钉突。

图 3 肾小球病理图像 (PASM 染色, ×400)

2.2 DenseNet 训练模型肾小球钉突二分类

基于 DenseNet 的人工智能模型可检测到肾小球是否有钉突并且对其进行二分类。测试结果见表 2。通过计算得到召回率为 98.00%, 精确度为 92.45%, 准确率为 95.00%, F1 为 95.15%。对于钉突这一结构的识别, 病理科医师的特异度较高, 但灵敏度差异较大。根据最接近病理科医师特异度的临界值评估 DenseNet 模型输出灵敏度。DenseNet 模型灵敏度低于肾病学家灵敏度平均值, 但超过部分病理科医师灵敏度。

表 2 在测试集上 DenseNet 模型对肾小球钉突的二分类结果

项目	测试结果		合计
	肾小球钉突(-)	肾小球钉突(+)	
肾小球钉突(-)	92	8	100
肾小球钉突(+)	2	98	100
合计	94	106	200

2.3 用于钉突分类的 DenseNet 训练模型性能评估

在 MN 肾活检组织 PASM 染色的病理结果中肾小球钉突二分类模型的性能见图 4。DenseNet 模型表现出高性能, AUC 为 0.97。训练过程中模型总损

失曲线见图 5。基于 DenseNet 模型对肾小球钉突分类获得的召回率和准确率较高,表现出较高的灵敏度,但精确度和特异度尚需进一步提高。

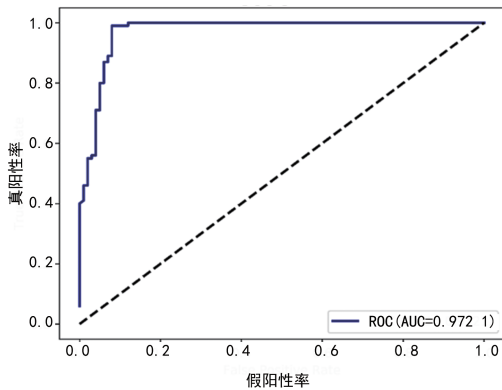


图 4 肾小球钉突二分类模型的性能

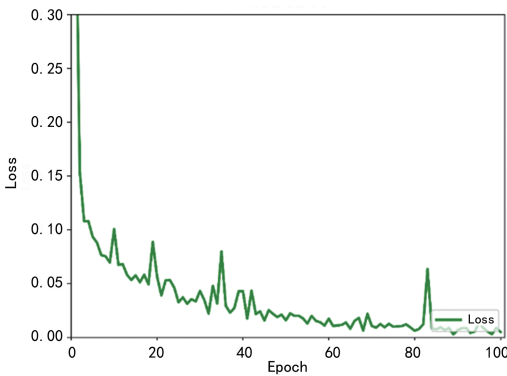


图 5 DenseNet 模型训练总损失

3 讨 论

在我国 MN 病理分期大多为 I、II 期,随着病情进展,病理分期也会进一步发生改变。而肾活检也被认为是诊断 MN 的“金标准”,故早期病理诊断对 MN 的治疗及预后均至关重要。MN 是近年来发病率增长最快的原发性肾小球疾病,2016 年一项全国多中心流行病学研究结果显示,MN 以每年 13% 的比例增长,占肾活检患者的比例高达 23.4%^[7]。肾小球病变和结构的识别是肾脏疾病的病理诊断、治疗指导和预后评估的关键,如 MN 病理分期 II 期患者可得到控制,对患者治疗和预后均具有很大帮助^[8]。MN 病理分期 II 期在 PASM 染色中表现为基底膜弥漫性增厚,钉突结构形成,与其他染色方法比较,PASM 染色对钉突的成像特点尤为显著。由于肾脏病理的复杂性和多样性,以及钉突的结构微小,资历较浅的病理科医师容易出现漏诊情况,所以,肾脏病理的计算机辅助诊断可通过识别各种肾小球及其病理特征提高病理科医师的工作效率,并且可帮助病理科医师作出更为客观的病理诊断。

由于强大的学习能力和处理复杂模式的优势,深度学习算法非常适合图像分析挑战,尤其是在数字病理学领域,包括分类、检测和分割等^[9]。有研究通过

训练 CNNs 分割肾脏主要结构,包括肾小球、肾小管、肾动脉、肾静脉等对来自不同物种和肾脏疾病模型的高碘酸希夫染色肾脏的数字全幻灯片图像进行了准确的多类分割^[10-11]。有研究表明,根据肾小球不同区域细胞核数量增加的卷积特征对细胞进行分类也可辅助临床诊断^[12]。

DenseNet 建立的是前面所有层与后面层的密集连接,可有效利用高层信息重新发现底层新特征,增强跨网络特征传输并实现增强的特征重用,有效减少参数数量^[13]。DenseNet 将两个相同特征图尺寸的任意层进行连接,工程师能很轻松地设计出上百层网络,也不会出现优化困难的问题,随着参数量的增加,DenseNet 准确率也随之提高,而且未出现较差表现或过拟合现象^[14-15]。

本研究结果显示,肾小球钉突的二分类在 DenseNet 模型上获得的召回率较高,但精度值与准确度尚需进一步提高,相信二分类模型在经过不断地提高准确度后可更好地为临床医疗提供帮助。因此,今后将使用更大的数据集对神经网络进行不断改进以提高准确度。

参考文献

- [1] XU X, WANG G, CHEN N, et al. Long-term exposure to air pollution and increased risk of membranous nephropathy in China[J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27(12): 3739-3746.
- [2] COUSER W G. Primary membranous nephropathy[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017, 12(6): 983-997.
- [3] LAN P, KANG D, MII A, et al. Evaluation of ultrastructural alterations of glomerular basement membrane and podocytes in glomeruli by low-vacuum scanning electron microscopy[J]. Clin Exp Nephrol, 2022, 26(3): 216-225.
- [4] RAKHA E A, TOSS M. Current and future applications of artificial intelligence in pathology: a clinical perspective[J]. J Clin Pathol, 2021, 74(7): 409-414.
- [5] BERA K, SCHALPER K A, RIMM D L. Artificial intelligence in digital pathology-new tools for diagnosis and precision oncology[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(11): 703-715.
- [6] 杨会, 刘雪宇, 张兴娜, 等. 基于级联区域卷积神经网络算法在肾组织病理切片中对肾小球的识别与定位[J]. 第二军医大学学报, 2021, 42(4): 445-450.

- [7] 谢志勇,李志莲,董伟,等.慢性肾小球疾病谱演变和膜性肾病流行病学特点[J].临床肾脏病杂志,2019,19(7):471-476.
- [8] ZENG C,NAN Y,XU F,et al. Identification of glomerular lesions and intrinsic glomerular cell types in kidney diseases via deep learning[J]. J Pathol,2020,252(1):53-64.
- [9] SALVI M,ACHARYA U R,MOLINARI F,et al. The impact of pre-and post-image processing techniques on deep learning frameworks:a comprehensive review for digital pathology image analysis [J]. Comput Biol Med, 2021, 128: 104129.
- [10] BOUTELDJA N, KLINKHAMMER B M, BÜLOW R D,et al. Deep learning-based segmentation and quantification in experimental kidney histopathology[J]. J Am Soc Nephrol, 2021,32(1):52-68.
- [11] JAYAPANDIAN C P,CHEN Y,JANOWCZYK A R, et al. Development and evaluation of deep learning-based segmentation of histologic structures in the kidney cortex with multiple histologic stains[J]. Kidney Int,2021,99(1):86-101.
- [12] CHAGAS P,SOUZA L,Araújo I,et al. Classification of glomerular hypercellularity using convolutional features and support vector machine[J]. Artif Intell Med,2020,103:101808.
- [13] TAO Z,BINGQIANG H,HUILING L, et al. NSCR-based densenet for lung tumor recognition using chest CT image[J]. Biomed Res In, 2020,2020:6636321.
- [14] HUANG G, LIU Z, PLEISS G, et al. Convolutional networks with dense connectivity [J]. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell,2022,44(12):8704-8716.
- [15] NORMAN B,PEDIOIA V,NOWOROLSKI A, et al. Applying densely connected convolutional neural networks for staging osteoarthritis severity from plain radiographs[J]. J Digit Imaging,2019,32(3):471-477.

(收稿日期:2022-04-23 修回日期:2022-09-11)

(上接第 4307 页)

- kidney injury in patients with acute myocardial infarction[J]. Front Med (Lausanne),2020,7:592007.
- [5] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J].中华心血管病杂志,2010,38(8):675-690.
- [6] LEVEY A S,JAMES M T. Acute kidney injury [J]. Ann Intern Med,2017,167(9):66-80.
- [7] MODY P,WANG T,MCNAMARA R, et al. Association of acute kidney injury and chronic kidney disease with processes of care and long-term outcomes in patients with acute myocardial infarction [J]. Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes,2018,4(1):43-50.
- [8] WANG C,PEI Y Y,MA Y H, et al. Risk factors for acute kidney injury in patients with acute myocardial infarction[J]. Chin Med J (Engl),2019,132(14):1660-1665.
- [9] 肖辉,郝元涛,徐晓,等.基于随机森林算法和 Logistic 回归模型的糖尿病风险因素研究[J].中国数字医学,2018,13(1):33-35.
- [10] XU F B,CHENG H,YUE T, et al. Derivation and validation of a prediction score for acute kidney injury secondary to acute myocardial infarction in Chinese patients[J]. BMC Nephrol, 2019,20(1):195.
- [11] GUPTA S,KO D T,AZIZI P, et al. Evaluation of machine learning algorithms for predicting readmission after acute myocardial infarction using routinely collected clinical data[J]. Can J Cardiol,2020,36(6):878-885.
- [12] 蓝潞杭,蒋炫东,王茂峰,等.随机森林模型预测急性心肌梗死后急性肾损伤[J].中华急诊医学杂志,2021,30(4):491-495.
- [13] 蒋远霞,唐艳,易扬,等.高尿酸血症是脓毒症患者发生急性肾损伤的独立危险因素[J].中华急诊医学杂志,2020,29(9):1178-1183.
- [14] VIGNOLI A,TENORI L,GIUSTI B, et al. NMR-based metabolomics identifies patients at high risk of death within two years after acute myocardial infarction in the AMI-Florence II cohort[J]. BMC Med,2019,17(1):3.
- [15] 赵梦蝶,孙九爱.机器学习在心血管疾病诊断中的研究进展[J].北京生物医学工程,2020,39(2):208-214.

(收稿日期:2022-02-18 修回日期:2022-06-23)