

# Glo-DMU: 电子显微镜图像中肾小球超微结构表征的深度形态学框架

Zhentai Zhang<sup>a,b,c</sup>, Danyi Weng<sup>a,b,c</sup>, Guibin Zhang<sup>a,b,c</sup>, Xiang Chen<sup>a,b,c</sup>,  
Kaixing Long<sup>a,b,c</sup>, Jian Geng<sup>d,e</sup>, Yanmeng Lu<sup>f</sup>, Lei Zhang<sup>g</sup>, Zhitao Zhou<sup>f</sup> and  
Lei Cao<sup>a,b,c,<</sup>

<sup>a</sup>School of Biomedical Engineering, Southern Medical University Guangzhou, 510515, China

<sup>b</sup>Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Image Processing, Southern Medical University Guangzhou, 510515, China

<sup>c</sup>Guangdong Province Engineering Laboratory for Medical Imaging and Diagnostic Technology, Southern Medical University Guangzhou, 510515, China

<sup>d</sup>Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University Guangzhou, 510515, China

<sup>e</sup>Guangzhou Huayin Medical Laboratory Center, Guangzhou, 510663, China

<sup>f</sup>Central Laboratory, Southern Medical University Guangzhou, 510515, China

<sup>g</sup>Department of Nephrology, Nanfang Hospital, Southern Medical University Guangzhou, 510515, China

## ARTICLE INFO

### Keywords:

ultrastructural characterization  
computational pathology  
glomerular basement membrane  
podocyte foot process  
electron-dense deposits  
morphometry

## ABSTRACT

复杂和多样化的超微结构特征可以指示肾脏疾病的类型、进程和预后。近年来，结合深度学习方法的计算病理学在推进肾小球超微结构自动形态分析方面显示出巨大潜力。然而，目前的研究主要集中在对个体超微结构的识别，这使得难以满足实际诊断需求。在这项研究中，我们提出了超微结构特征的肾小球形态计量框架（Glo-DMU），该框架基于三个深度模型：超微结构分割模型、肾小球滤过屏障区域分类模型和电子密集沉积物检测模型。遵循肾活检诊断的常规流程，该框架同时量化三种最广泛使用的超微结构特征：肾小球基底膜的厚度、足突融合的程度以及电子密集沉积物的位置。我们在真实世界的诊断场景中对 115 名含有 9 种肾病理类型的患者进行了评估，显示出自动化结果与病理报告中的形态描述之间良好的一致性。Glo-DMU 具备全自动化、高精度和高通量的特点，能够同时量化多种超微结构特征，为辅助肾脏病理学家提供了一种高效工具。

## 1. 引言

复杂和多样的超微结构特征可以指示肾脏疾病的类型、进程和预后，使其成为病理学家诊断的焦点以及研究者感兴趣的课题。然而，基于透射电子显微镜（TEM）图像对这些特征的表征通常需要病理学家的人工标注和详细分析，这是一个既艰巨又复杂的任务。因此，研究人员努力通过计算病理学来解决超微结构特征定量和分析的挑战。自 20 世纪 90 年代以来，已经提出了一些半自动形态计量方法以提高特征定量的效率。然而，大多数方法仍然需要大量的人工干预，未能实现高通量定量。最近，深度学习方法在推动计算病理学发展方面显示出巨大潜力。然而，目前的研究主要集中在单个超微结构的识别上，缺乏对多种超微结构特征的分析 and 真实场景的测试，这使得满足复杂诊断需求变得具有挑战性。

肾脏超微结构病理的诊断需要对多种超微结构特征进行全面评估。其中，肾小球基底膜（GBM）的厚度、足突消失（FPE）的程度以及电子致密沉积物（EDD）的位置是肾脏病理学中最广泛使用的三个形态特征。[7] 首先，GBM 厚度的改变是糖尿病肾病（DN）、薄基底膜肾病（TBMN）和 Alport 综合征等疾病不可或缺的诊断证据。[9, 13, 14, 29] 目前，在病理诊断实践中，GBM 厚度主要通过正交截距法手动测量。[12] 这种无偏的体视学方法被认为是金标准，但对于大规模诊断应用来说过于耗时。[19, 20] 为解决这个问题，始终在推动自动化水平的提高。[3, 15, 20, 30] 自动化方法不仅应能够识别 GBM，还应在准确测量之前排除不适当的区域，如内皮层扩宽和 GBM 的皱缩。其次，足突位于足细胞的功能性裂隙隔膜之间。如果它们受到损伤、突变或丢失，其复杂的结构将会融合，这被称为足突融合（FPE）。FPE 的程度与蛋白尿等临床指标相关，在局灶节段性肾小球硬化症（FSGS）和微小病变病（MCD）之间的鉴别诊断中起着至关重要的作用。[2, 10, 11, 18, 28] 在病理报告中，FPE 的程度通常以半定量的分级形式描述，[6, 23] 然而在一些研究

<Corresponding author

✉ caolei@smu.edu.cn (L. Cao)

ORCID(s):

中，使用足突宽度和 FPE 的比例进行表征。[4, 18, 25, 28] 要自动估计整体 FPE，我们需要总结每个肾小球过滤屏障区域 (GFB) 的足突融合状态。再次，免疫复合物的沉积是各种免疫介导的肾小球肾炎的重要致病机制，在透射电子显微镜 (TEM) 图像中表现为电子致密物 (EDD)，其存在和位置提供了重要的诊断线索。[7] EDD 位置的量化需要识别 EDD 与周围超微结构之间的空间关系，而目前依赖于病理学家的判断。研究人员已经实现了 EDD 是否存在的自动分类，但尚未探索其沉积分布位置。[1, 33] 此外，一些相关研究已经开展了超微结构如 GBM、足突和 EDD 的识别，但尚未进行特征分析。[15–17, 30–32]

在这项回顾性研究中，遵循肾活检诊断的常规协议，我们构建了一个深度形态框架 (Glo-DMU) 来表征上述超微结构特征。首先，我们训练了三个专门的深度模型：(1) 分割各种超微结构；(2) 分类 GFB 区域以确定其是否适合厚度测量，并评估 FPE 状态为健康或融合；(3) 检测不同形态和大小的 EDD。然后，我们将这些深度模型与后处理计算机视觉模块集成，以获得与这三种特征相关的定量值。最后，我们在实际诊断场景中测试了这些定量特征。该框架使病理学家能够在不深度参与量化分析过程的情况下获取多种超微特征。此外，这些特征的可视化具有良好的可解释性，可作为辅助诊断的宝贵参考。

## 2. 方法

### 2.1. 数据收集和处理

这些数据，包括 TEM 图像和相应的报告，来自于 2019 年至 2023 年在南方医科大学中央实验室和广州华银医学实验室中心的实际诊断场景。肾活检样本的准备、成像和 ROI 选择均已提前按照实验室相关标准进行。更多详细信息请参阅补充方法 1。本研究中的数据收集和分析是依照《赫尔辛基宣言》进行的，并在移除个人信息以确保隐私后进行回顾性研究。

本研究包括 9 种肾活检样本，包括糖尿病肾病 (DN)、薄基底膜肾病 (TBMN)、Alport 综合征、局灶节段性肾小球硬化 (FSGS)、微小病变病 (MCD)、IgA 肾病 (IgAN)、膜性肾病 (MN)、狼疮性肾炎 (LN) 以及健康的肾移植供体 (正常)。其中，正常样本被视为对照组。我们的纳入协议如下：(1) 深度模型训练和评估数据集：包括无伪影的肾小球图像，不论是否包含性别、年龄和病理报告等信息。(2) 超微结构特征测试集：对于纳入的 8 种疾病样本，要求完整的性别、年龄和病理报告信息。由于更严格的隐私保护，缺乏性别和年龄信息的正常样本也被纳入。此外，每个样本应至少包含 3 张无伪影的肾小球图像，放大倍率范围为 1K 至 15K。

最终，本研究共收集了 487 例肾活检样本。其中 372 例被分类为深度模型训练和评估数据集，115 例被分类为超微结构特征测试集。关于患者的更多详细信息，请参阅补充表 S1。

如图 1 所示，深度模型训练和评估数据集的所有标注均采用 CVAT [24]，以半自动形式进行。该模型最初在初步标注基础上进行训练，并生成伪标签，这些伪标签随后由病理学家审核和完善，然后重新添加到数据集再进行模型再训练。经过几次迭代后，最终的数据集被获得。关于数据集处理的更多细节可在补充方法 2 中找到。

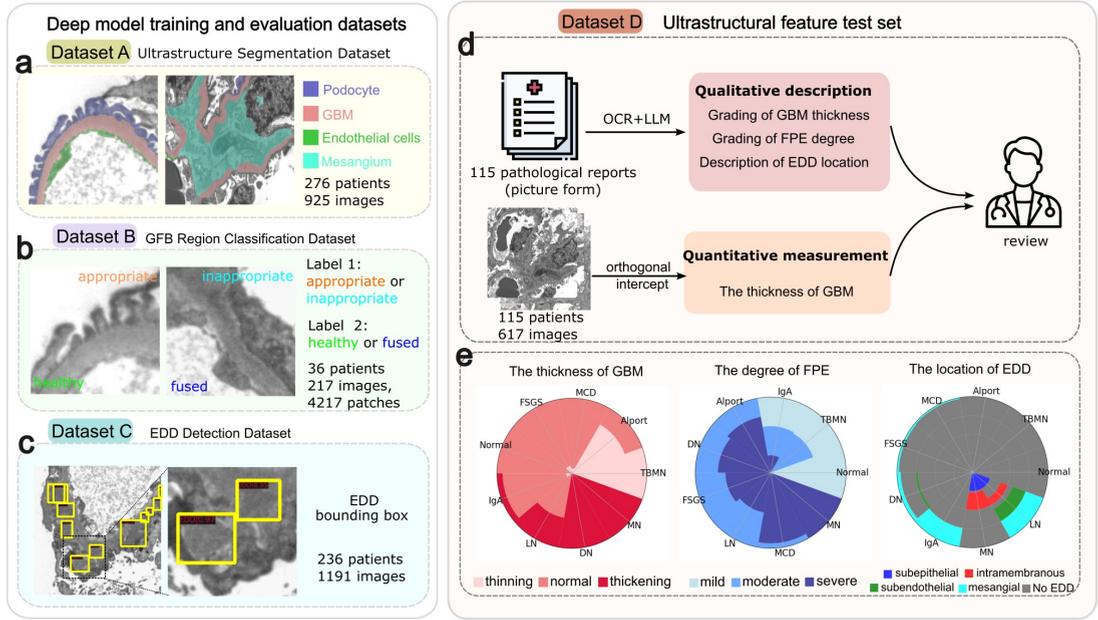
此外，为了比较自动定量特征与定性病理报告描述的一致性，我们根据病理学家 [6, 23] 的共识整理了超微结构特征的分级标准，如表 1 所总结的。关于超微结构特征和分级标准的详细信息可以在补充图 S1 和方法 3 中分别找到。

### 2.2. 深度模型的训练和评估

三种超微结构特征的自动量化是非常复杂的。测量 GBM 的厚度需要识别相应的超微结构并排除不适当的测量区域。估算 FPE 的程度需要总结每个 GFB 区域内足突的融合状态。确定 EDD 的位置不仅需要检测 EDD，还需要识别足细胞足突、GBM、内皮细胞和系膜等区域。因此，我们将这三种超微结构特征的量化过程分解，并构建了三个特定任务的深度模型：超微结构分割模型  $M_{\text{Seg}}$ ，GFB 区域分类模型  $M_{\text{Cls}}$ ，以及 EDD 检测模型  $M_{\text{Det}}$ ，如图 2 (a) 所示，并在下面的章节中详细说明。然后，我们使用三个指标来评估模型的性能，即用于分割的 Dice 相似系数 (DSC)、用于分类的 F1-score，以及用于检测的 50 平均精度 ( $AP_{50}$ )，更详细的信息请参见补充方法 4。

#### 2.2.1. 肾小球足细胞足突、GBM、内皮细胞和系膜的超微结构分割

基于超微结构分割数据集 (数据集 A)，我们训练了一个类似 UNet 的分割模型  $M_{\text{Seg}}$  来识别各种超微结构。对于  $M_{\text{Seg}}$  的训练，我们将 epoch 设置为 150，批量大小设置为 8，学习率通过 OneCycleLR 策略 [27] 调整，峰值为 0.01。该模型使用 SGD 优化器和 Dice 损失函数进行训练。应用了数据增强技术，例如随机旋转、随机翻转、随机平移、随机缩放、随机对比度变化、随机伽马变化、随机高斯模糊和高斯噪声。



**Figure 1:** 本研究中的数据集概述。(a) 超微结构分割数据集 (数据集 A)。(b) GFB 区域分类数据集 (数据集 B)。(c) EDD 检测数据集 (数据集 C)。(d) 超微结构特征测试集 (数据集 D): 数据类型和处理过程。(e) 超微结构描述的分布以圆形堆叠条形图表示。

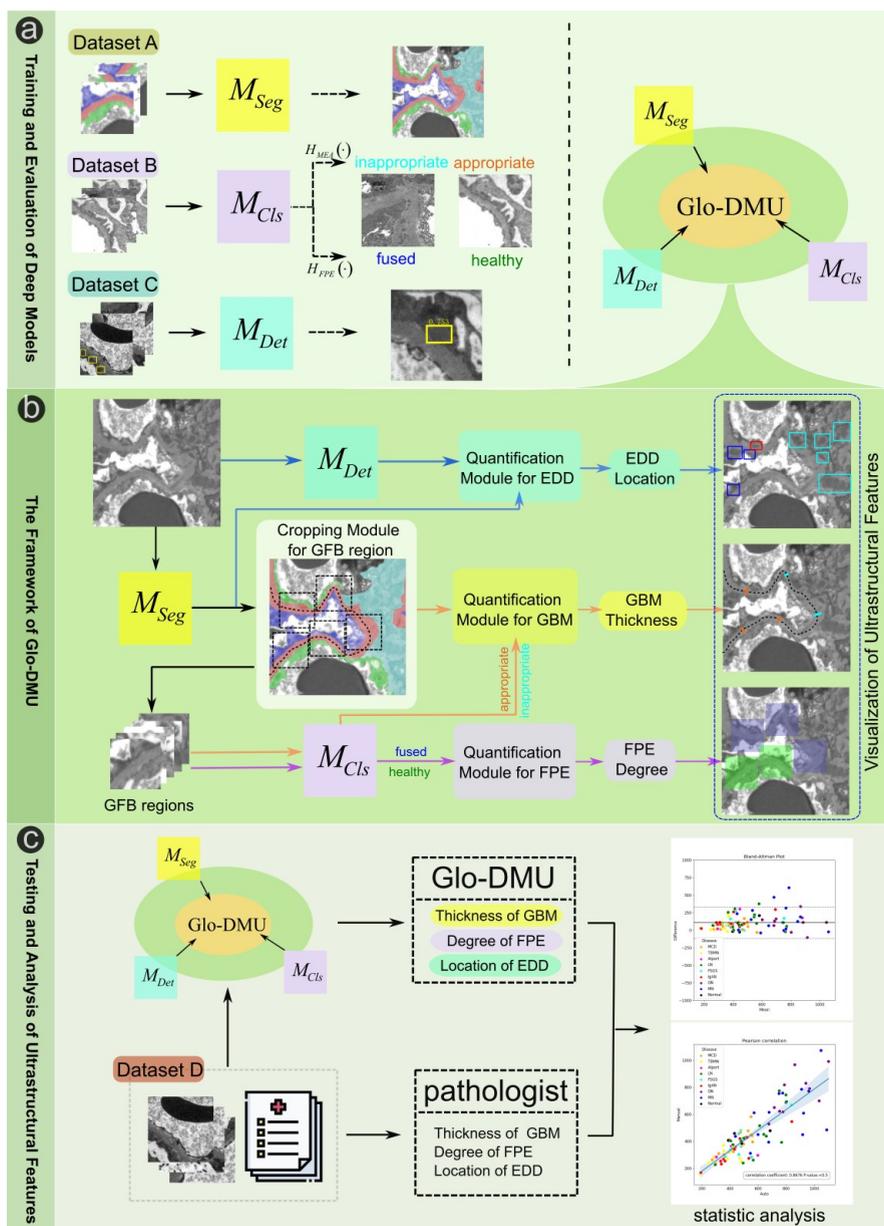
**Table 1**  
超微结构特征的定义和分级标准

Term	Definition	Grading Criteria	Value
The thickness of GBM	the length between the endothelial cells and podocyte membrane	thinning	$D_a < 250 \text{ nm}$
		normal	$250 \text{ nm} \leq D_a \leq 450 \text{ nm}$
		thickening	$D_a > 450 \text{ nm}$
The degree of FPE	the percentage of the capillary surface covered by fused podocyte foot processes	mild	$R_{FPE} < 0.4$
		moderate	$0.4 \leq R_{FPE} \leq 0.7$
		severe	$R_{FPE} > 0.7$
The location of EDD	regions of higher electron density with a uniform texture, appearing as clumps or bands	subepithelial	$T_p > T_{EDD}$
		intramembranous	$T_g > T_{EDD}$
		subendothelial	$T_e > T_{EDD}$
		mesangial	$T_m > T_{EDD}$

$D_a$ : thickness of GBM;  $R_{FPE}$ : the degree of FPE;  $T_{EDD}$ : the threshold for determining the “presence” or “absence” of EDD in the corresponding ultrastructure.

### 2.2.2. GFB 区域分类用于适当的 GBM 测量和足细胞足突融合状态估计

基于 GFB 区域分类数据集 (数据集 B), 我们训练了一个 GFB 区域分类模型  $M_{Cls}$ , 该模型使用 ResNet18 [8] 网络作为主干, 并使用两个线性层作为分类头——测量区域分类头  $H_{MEA}(\cdot)$  和 FPE 状态分类头  $H_{FPE}(\cdot)$  来区分适当的厚度测量区域并对足细胞足突的融合状态进行分类。在训练  $M_{Cls}$  时, 我们将训练周期设置为 200, 批处理大小设置为 32, 学习率采用逐步下降策略, 峰值为 0.1。交叉熵损失函数和 SGD 优化器用于优化训练过程。用于训练的数据增强技术与用于超微结构分割模型的  $M_{Seg}$  相同。



**Figure 2:** 所提出方法的概述。(a) 深度模型的训练和评估。(b) Glo-DMU 实现了三个超微结构特征的量化：GBM 的厚度、FPE 的程度和 EDD 的位置，并提供了相应的可视化。(c) 超微结构特征的测试和分析：将病理学家的描述与 Glo-DMU 的量化结果进行比较。

### 2.2.3. 肾小球透射电子显微镜图像中的 EDD 检测

基于 EDD 检测数据集（数据集 C），我们使用 ResNet50 作为主干的类似 Faster RCNN 的物体检测框架 [22] 训练了一个 EDD 检测模型  $M_{Det}$ ，以边界框的形式识别 EDD。对于训练  $M_{Det}$ ，我们将 epoch 设置为 36，批量大小设置为 2，学习率采用峰值为 0.0025 的分步下降策略。使用常规的物体检测多任务损失函数和 SGD 优化器来优化训练过程。有关数据增强和预处理的更多细节，请参阅我们之前发表的工作。[17]

如图 2 (b) 所示，在 Glo-DMU 框架内，这三个深度模型不是各自孤立地进行推理，而是与由后处理计算机视觉模块组成的模块集成在一起进行特征量化。除了这三个深度模型外，框架中还有四个重要模块。(1) GFB 区域裁剪模块（GFB 区域裁剪）：该模块利用由  $M_{Seg}$  分割的掩膜提取 GBM 的中心线，然后沿该中心线使用滑动窗口裁剪，以补丁的形式输出 GFB 区域。(2) GBM 量化模块（GBM 厚度测量和体积计算）：

该模块对每个 GFB 区域中的分割掩膜进行自动厚度测量，这些区域由  $M_{Cls}$  分类为适合测量。然后，将所有区域的测量厚度进行平均并体视修正，以获得患者的整体 GBM 厚度。(3) FPE 量化模块 (FPE 程度估计): 通过结合  $M_{Cls}$  在每个 GFB 区域输出的 FPE 概率，该模块可以估计患者的整体 FPE 程度。(4) EDD 量化模块 (计算四个超微结构区域中的 EDD 面积): 通过匹配由  $M_{Seg}$  分割的掩膜和由  $M_{Det}$  识别的 EDD，该模块识别每个超微结构中 EDD 的位置。此外，我们对三个特征进行了可视化并进行了统计分析。

每位患者收集了  $N$  个 TEM 图像  $\{X_1, X_2, \dots, X_i\}_{i=1}^N$ 。采用模型  $M_{Seg}$  为图像  $X_i$  生成分割掩膜。然后，在掩膜上执行操作  $f_{skeleton}(\cdot)$  以获得 GBM 的中心线  $L_i$ ，如方程 (1) 所示。沿中心线以步幅  $S$  进行操作  $f_{sample}(\cdot)$  以获得  $K$  个采样点。然后，操作  $f_{crop}(\cdot)$  以窗口宽度  $W$  在采样点输出  $K$  个补丁形式的 GFB 区域，如方程 (2) 所示。关于如何根据不同放大倍数图像调整  $S$  和  $W$  的进一步细节在补充图 S2 中讨论。

$$L_i = f_{skeleton}(M_{seg}(X_i)) \quad (1)$$

$$\{x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ij}\}_{j=1}^K = f_{crop}(f_{sample}(L_i, S), X_i, W) \quad (2)$$

### 2.2.4. GBM 厚度测量和体视学计算

如方程 (3) 所示，对于每个裁剪后的 GFB 区域  $x_{ij}$ ，模型  $M_{Cls}$  通过其测量区域分类头  $H_{MEA}(x_{ij})$  输出适合厚度测量的概率。执行操作  $f_{measure}(\cdot)$  以获得每个 GFB 区域的横截面距离  $d_{ij}$ ，其概率值大于 0.5。如补充图 S3(d) 所示，自动厚度测量步骤如下：确定沿着 GBM 中心线在适当的测量区域内采样点的切线，然后该切线的法线与 GBM 边界的两侧相交。两个交点之间的距离就是横截面距离  $d_{ij}$ 。

$$d_{ij} = f_{measure}(x_{ij}, H_{MEA}(x_{ij})) \quad (3)$$

根据立体学原理，GBM 的厚度  $D_a$  表示为每位患者测量距离  $\{d_{11}, d_{12}, \dots, d_{ij}\}$  的算术平均值，如方程 (4) 所示。

$$D_a = \frac{\pi}{4} \frac{1}{N} \frac{1}{K} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^K d_{ij} \quad (4)$$

其中， $\frac{\pi}{4}$  表示与测量对应的立体校正因子。

### 2.2.5. FPE 度的估计

该模块模拟了病理学家观察足突的方式。对于每一个裁剪过的 GFB 区域  $x_{ij}$ ，模型  $M_{Cls}$  通过 FPE 状态分类头  $H_{FPE}(x_{ij})$  输出 FPE 概率。正如方程 (5) 所示，我们计算所有 GFB 区域 FPE 的平均概率来近似患者的总体 FPE 程度  $R_{FPE}$ 。 $H_{FPE}(x_{ij})$  和  $R_{FPE}$  都是范围从 0 到 1 的归一化值，值越接近 1 表示 FPE 程度越严重。

$$R_{FPE} = \frac{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^K H_{FPE}(x_{ij})}{N K} \quad (5)$$

通过将  $M_{Det}$  的检测结果与  $M_{Seg}$  输出的分割掩膜进行匹配，该模块可以确定每个 EDD 边界框的坐标，然后将边界框面积缩放到实际物理尺寸来估计不同超结构中 EDD 的面积。此过程表示为操作  $f_{match}(\cdot)$ ，如方程 (6) 所示。

$$P_{EDD} = \sum_{i=1}^N f_{match}(M_{Det}(X_i), M_{Seg}(X_i)) \quad (6)$$

其中  $P_{EDD} = \{T_p, T_g, T_e, T_m\}$  分别代表在上皮下、膜内、内皮下和间质区的 EDD 相应区域。我们设定了一个有效的检测阈值  $T_{EDD}$ ，并且当  $T_{p/g/e/m} > T_{EDD}$  时，认为在相应位置存在 EDD，详细讨论见补充表

**Table 2**  
自动和手动 GBM 厚度测量结果

Disease	GBM Thickness Grading	Patient Number	Automated GBM thickness	Manual GBM thickness	P-value	Automated/Manual sampling number
TBMN	thinning	10	248, 79	226, 61	0.1393(NS)	169, 82/42, 27
Alport		13	297, 92	264, 80	0.1093(NS)	102, 80/33, 20
MCD	normal	15	328, 96	294, 83	0.0537(NS)	183, 86/34, 11
IgAN		13	318, 95	300, 143	0.1873(NS)	151, 121/33, 12
FSGS		10	348, 118	318, 102	0.1700(NS)	144, 55/32, 10
Normal		10	327, 82	338, 52	0.3650(NS)	148, 79/42, 12
LN	thickening	15	416, 142	375, 151	0.1604(NS)	108, 60/25, 11
MN		15	536, 180	505, 185	0.8211(NS)	139, 80/21, 7
DN		10	616, 140	595, 152	0.6534(NS)	156, 65/23, 9

The unit of GBM thickness is nm. NS, nonsignificant.

S2。注意，尽管边界框的面积略大于 EDD 的面积，但这不会显著影响是否在该超微结构中存在 EDD 的结论。

通过 Glo-DMU，我们量化了肾脏三种重要的超微结构特征：GBM 的厚度、FPE 的程度以及 EDD 的位置。此外，我们还可视化这些超微结构特征，其中包括描绘截线和相应的 GBM 厚度值，用不同颜色阴影块标记 FPE 的程度，并在不同的超微结构中用不同颜色的边框框出 EDD，如在第 2.2 至 2.4 节的图中所示。这些可视化结果为病理学家提供了直观且易于理解的参考。

对于定量的

### 2.2.6. 统计分析

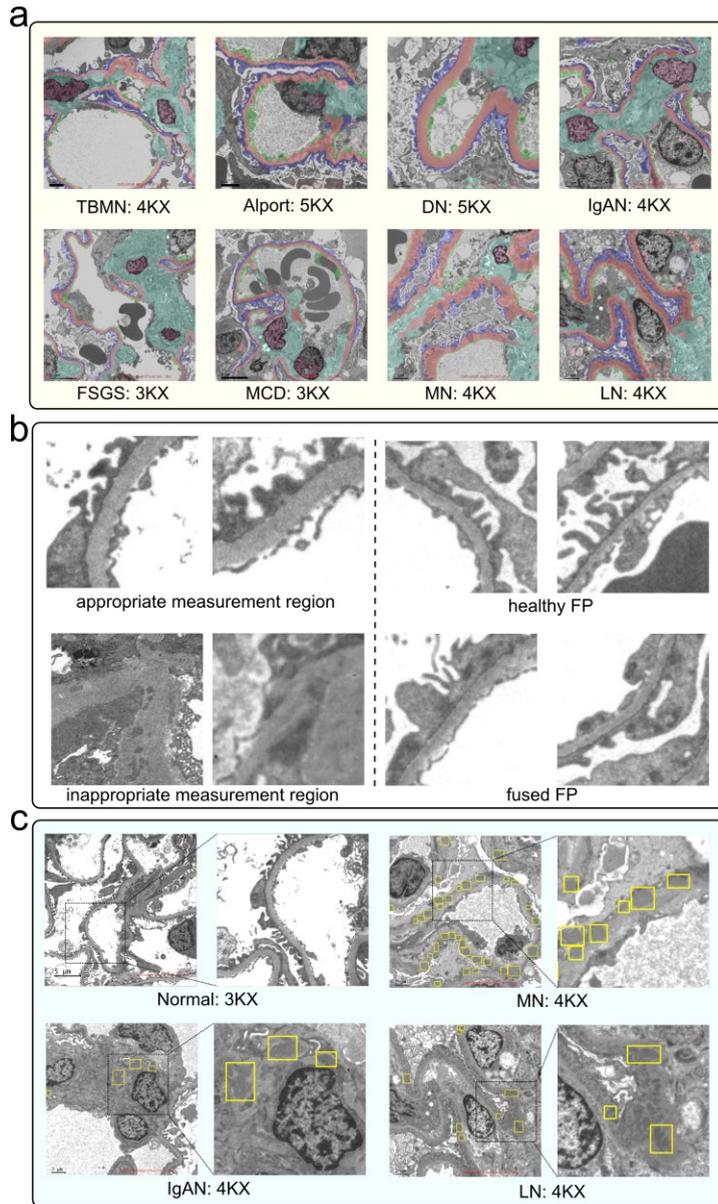
GBM 厚度值，我们采用了三种方法来评估自动测量和人工测量之间的差异：Kolmogorov-Smirnov 检验 (K-S 检验)、Pearson 相关系数和 Bland-Altman 图。当 K-S 检验中  $P > 0.05$  时，差异被认为没有统计学意义。对于只有定性描述的超微结构特征，例如 GBM 厚度的分级、FPE 的程度和 EDD 的位置，我们使用 ROC 曲线下面积 (AUC) 来评估 Glo-DMU 的定量化。

在超微结构特征测试集 (数据集 D) 的 TEM 图像中，我们可视化了三个深度学习模型的推理结果。如图 3 (a) 所示，对于由常见肾脏疾病引起的各种超微结构变化，如基底膜 (GBM) 增厚和电子致密物 (EDD) 沉积， $M_{Seg}$  在识别不同放大倍率下的超微结构时保持高精度。如图 3 (b) 所示， $M_{Cls}$  更专注于更局部的视野。 $M_{Cls}$  不仅能够基于 GBM 与其他超微结构 (如 GBM 的皱缩) 之间的关系来区分适当的厚度测量区域，还能通过捕捉肾小球过滤屏障 (GFB) 区域的详细变化来准确预测足突融合 (FPE) 的概率。如图 3 (c) 所示，对于各种常见免疫介导的肾小球疾病， $M_{Det}$  能够用精确的边界框识别肾小球中 EDD 的坐标。深度模型的更全面性能评估见补充表 S3 和图 S4。

在本节中，针对数据集 D 中的 9 种常见肾脏病理类型，我们比较了 GBM 厚度的自动测量结果与人工测量结果，并说明了它们之间的一致性。表 2 展示了 115 名患者的 GBM 厚度测量结果，这也在图 4 (a) 中的小提琴图中进行了说明。K-S 检验结果表明，9 种肾脏病理类型的自动测量与人工测量之间没有显著差异。自动取样可以比人工取样更密集，因为其不再受制于劳动力成本，这可以从表格 2 的最后两列中看出。

将所有肾活检病理组结合起来时，自动测量与人工测量之间的 Pearson 相关系数达到了 0.8676，表明两种测量方法之间存在很强的相关性，如图 4 (b) 所示。此外，约 96 % 的患者在 Bland-Altman 图中的一致性界限内，表明良好的互换性，如图 4 (c) 所示。此外，我们将自动 GBM 测量分级视为三个二元分类任务，相应的 ROC 曲线如图 4 (d) 所示。GBM 变薄、增厚和正常厚度的 AUC 分别为 0.85, 0.91 和 0.72，这表明自动测量结果大致类似于病理学家在报告中提供的分级描述结果。如图 4 (e) 所示，自动 GBM 厚度测量可以适应多种肾活检病理类型，并为病理学家提供准确的定量结果。

在本节中，基于数据集 D，我们评估了其在各种常见肾脏病理类型中反映 FPE 程度的表现，如图 5 (a) 中的箱线图所示。 $R_{FPE}$  逐渐接近 1，表明 FPE 程度更为严重。TBMN 未显示显著 FPE， $R_{FPE}$  低于 0.4。

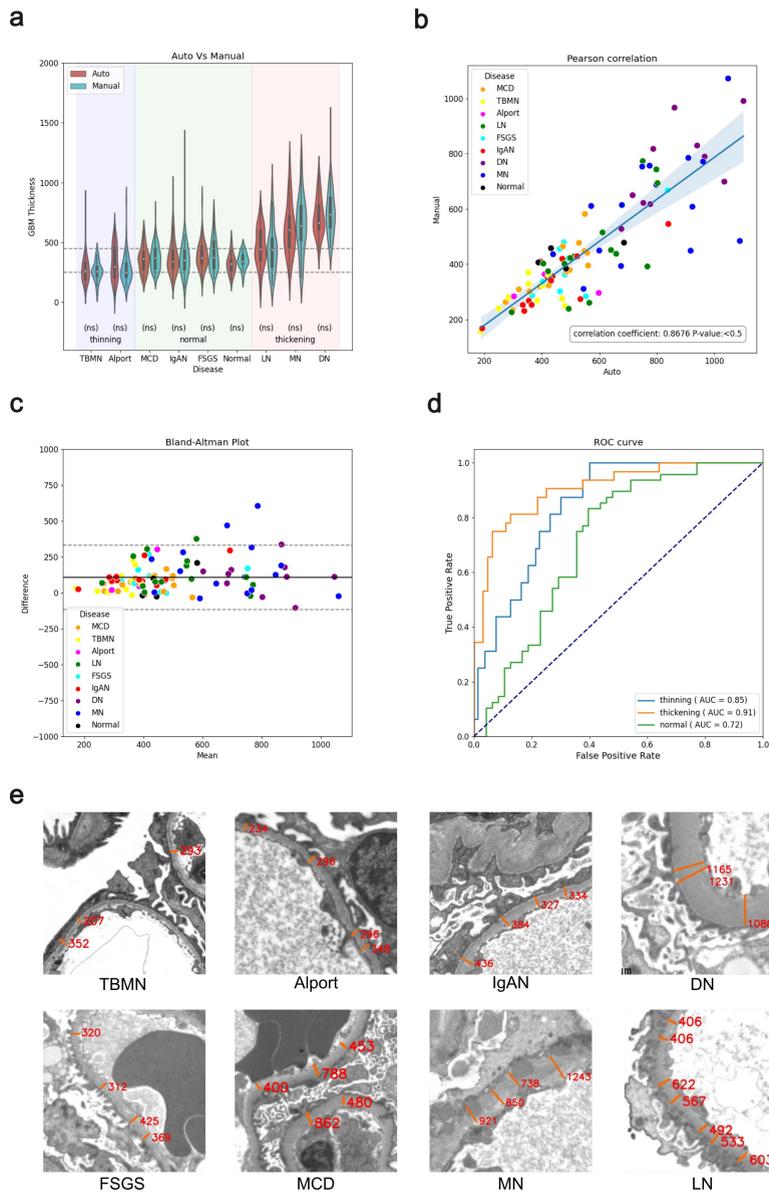


**Figure 3:** 深度模型在超微结构特征测试集上生成的可视化结果。(a) 超微结构分割结果，显示 GBM (红色)、足细胞足突 (蓝色)、内皮细胞 (绿色) 和系膜 (青色) 不同肾脏病理类型在不同放大倍数下的情况。(b) GFB 区域分类结果，左侧为测量区域分类结果，右侧为 FPE 状态分类结果。(c) EDD 检测结果由黄色边框标出。第二列中的图像是第一列图像中虚线框区域的放大图。

IgAN、FSGS 和 Alport 的 FPE 程度因疾病进展而异， $R_{FPE}$  在 0.4 到 0.7 之间。MCD、DN、LN 和 MN 表现出严重的 FPE， $R_{FPE}$  高于 0.7。自动估算的  $R_{FPE}$  与诊断经验的观察结果大致一致。

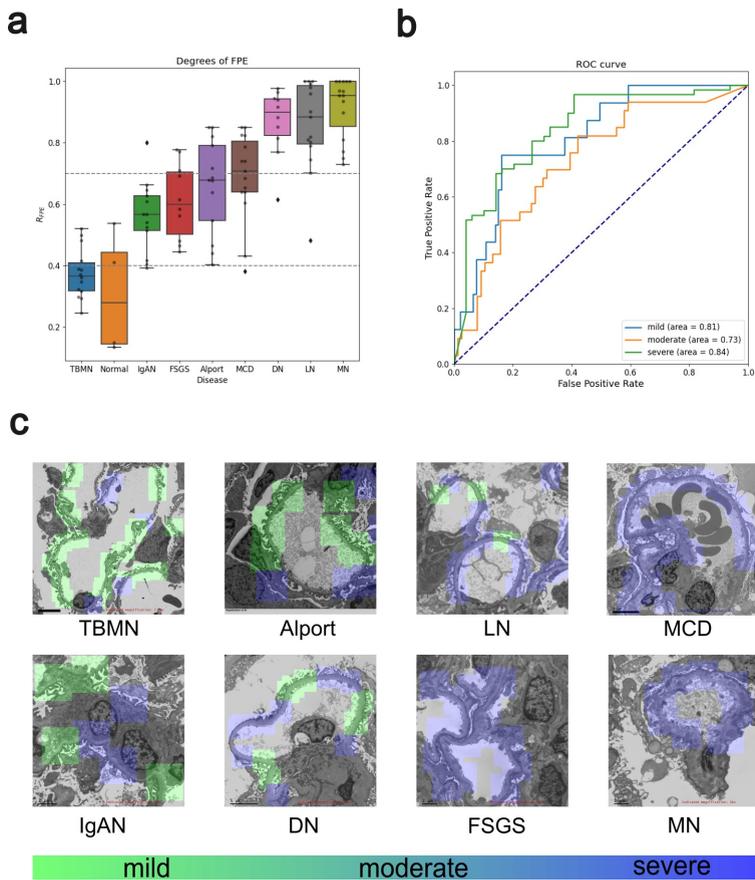
我们将 FPE 程度的分类视为三个独立的二元分类任务，其结果的 ROC 曲线如图 5 (b) 所示。分类的 AUC 为区分轻度 FPE 的 0.81，中度 FPE 的 0.73，和重度 FPE 的 0.84。因此，自动估计的  $R_{FPE}$  大致分类了 FPE 的不同状态。图 5 (c) 展示了 FPE 程度的可视化。对于轻度 FPE 的肾脏病理类型，沿着毛细血管周围识别出很多足突区 (绿色块)。对于重度 FPE，几乎仅识别出融合的足突区 (蓝色块)。中度 FPE 的病例介于两个极端之间。

在本节中，基于数据集 D，我们评估了量化的 EDD 位置与各种肾脏病理类型之间的关系。表 3 展示了表皮下 ( $T_p$ )、膜内 ( $T_g$ )、内皮下 ( $T_e$ ) 和系膜 ( $T_m$ ) 区域 EDD 的面积，以平均值  $\pm$  标准差的形式表



**Figure 4:** GBM 厚度测量的统计分析和可视化。(a) 自动测量和手动测量的比较显示在一个小提琴图中，水平虚线表示 250nm 和 450nm。肾脏病理类型分类为变薄、正常和增厚组，分别用紫色、绿色和红色背景色块表示。(b) 自动测量和手动测量的皮尔逊相关系数图。(c) 自动测量和手动测量的 Bland-Altman 图。(d) 聚类厚度的 ROC 曲线。(e) 自动化 GBM 测量示例图像的可视化。橙色线条表示测量的横截距离。所有图像的缩放比例调整为 10 nm/像素。

示，可用于确定每个位置上 EDD 的存在。根据诊断共识，每种超微结构内的 EDD 沉积分为两类：不存在和存在。对于缺乏 EDD 的肾脏病理类型，如 Alport、DN、MCD、TBMN 和 FSGS，任何区域内很少检测到 EDD， $T_{p/g/e/m}$  几乎总是小于  $T_{EDD} = 3\mu\text{m}^2$ 。相反，对于存在 EDD 的肾脏病理类型，通常显示出大于  $T_{EDD} = 3\mu\text{m}^2$  的值。图 6 (a) 说明了每种肾脏病理类型在四种超微结构中的 EDD 沉积分布，突出了 MN、IgAN 和 LN 中广泛的 EDD 存在。如图 6 (b) 所示，我们将四个位置的 EDD 存在或不存在视为四个独立的二元分类任务，表皮下、膜内、内皮下和系膜 EDD 的分类 AUC 分别为 0.91、0.98、0.75 和 0.80。EDD 位置的量化大致与报告中的观察结果一致。对于三种存在 EDD 的肾脏病理类型，即 MN、IgAN 和 LN，Glo-DMU 的视觉结果如图 6 (c) 所示。



**Figure 5:** FPE 程度的评估结果及其可视化。(a)  $R_{FPE}$  的箱形图，其中两条虚线表示 0.4 和 0.7 的阈值。(b) 用于 FPE 程度分类的 ROC 曲线。(c) 足突消失的可视化，其中绿色块表示足突仍然完整的区域，蓝色块表示足突融合的区域。

### 3. 讨论

这项研究首次自动且同时量化了三个关键的肾脏超微结构特征。研究中提出的 Glo-DMU 框架整合了专门针对超结构分割的深度模型、GFB 区域分类和通过后处理计算机视觉模块进行 EDD 检测，以量化肾脏超微结构病理学中最广泛使用的三个形态特征：GBM 的厚度、FPE 的程度和 EDD 的位置。我们在真实诊断场景中对 115 位有 9 种肾脏病理类型的患者进行了测试，自动量化结果与病理报告中的描述表现出良好的一致性。Glo-DMU 框架能够提供快速且客观的量化结果和易于解释的视觉信息，为辅助诊断肾脏超微结构病理学提供了一种新工具。

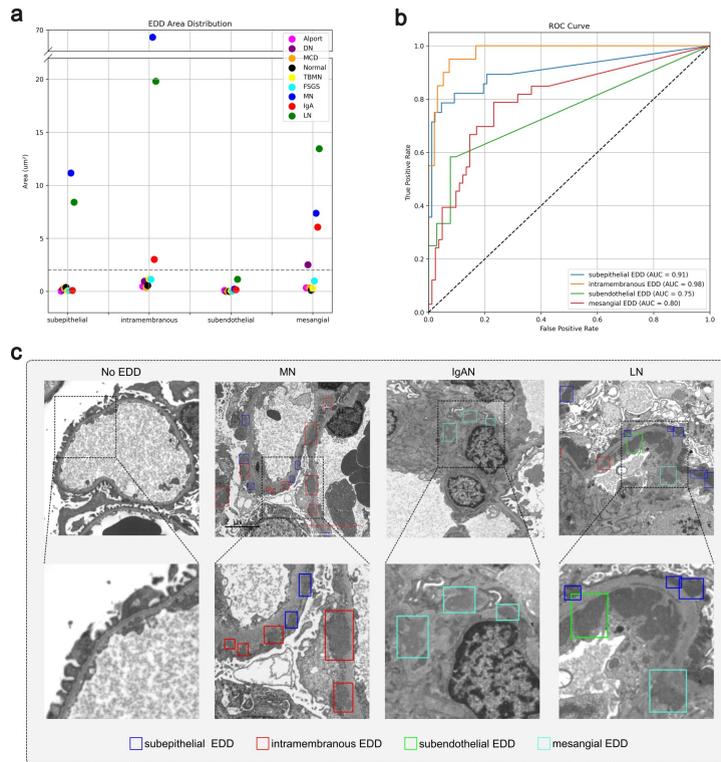
深度模型的性能是特征量化的基础。分割、分类和检测模型可以在不同放大倍率下准确识别常见肾小球疾病的超微结构，从而实现三个超微结构特征的量化。首先，在 9 种肾脏病理类型中，GBM 厚度的自动和手动测量结果没有显著差异，显示出良好的相关性。Glo-DMU 的 GBM 厚度分级受到阈值的影响。例如，如果建立 250nm 的 GBM 变薄阈值，某些 TBMN 病例（例如图 4 (b) 中的一些黄色点）可能会被错误分类为正常 GBM 厚度。实验室、种族、年龄和性别等因素都可能影响 GBM 厚度阈值。其次，自动量化的  $R_{FPE}$  可以准确反映每种肾脏病理类型中的 FPE 程度。然而，如图 5 (a) 所示，在四种严重的 FPE 疾病中，MCD 的  $R_{FPE}$  相对较低。此外，区分中度 FPE 是主观且困难的，这导致图 5 (b) 中的 AUC 相对较低，并且病理学家的判断可能存在不一致性 [26]。最后，Glo-DMU 对 EDD 位置的量化与病理报告中的描述一致。我们通过计算检测框的面积估计不同位置的 EDD 面积。虽然估计面积可能略高于实际面积，但这不影响我们对该特征的定性分析。与其他位置相比，Glo-DMU 在定位内皮下 EDD 方面能力较弱，如图 6 (c) 所示。这可能是由于内皮下 EDD 与其他位置之间存在显著的形态差异，导致检测模型性能较低。

我们还对可能影响量化的关键参数进行了消融实验。首先，如补充图 S5 所示，我们探讨了与 GBM 厚度测量相关的采样步幅。相关系数随着采样步幅的增加呈递减趋势。然后，如补充图 S6 所示，我们研究了采样步幅对 FPE 程度估计的影响，发现其影响可以忽略不计。最后，如补充表 S2 所示，我们展示了有效

**Table 3**  
不同位置的 EDD 面积

Disease	Patient Number	$T_p$	$T_g$	$T_e$	$T_m$
Alport	13	0.03, 0.10	0.47, 0.49	0.09, 0.31	0.34, 0.50
DN	10	0.17, 0.34	0.96, 1.65	0.00, 0.00	<b>2.51, 3.87</b>
MCD	15	0.30, 0.53	0.37, 0.50	0.00, 0.00	0.33, 0.47
Normal	10	0.37, 0.36	0.55, 0.59	0.00, 0.00	0.11, 0.16
TBMN	10	0.05, 0.14	1.15, 2.63	0.05, 0.17	0.29, 0.46
FSGS	10	0.07, 0.13	1.13, 1.69	0.05, 0.16	0.98, 1.28
MN	15	<b>11.16, 11.01</b>	<b>69.32, 55.45</b>	0.22, 0.52	<b>7.37, 11.97</b>
IgAN	13	0.09, 0.31	<b>3.02, 4.44</b>	0.16, 0.51	<b>6.06, 7.55</b>
LN	15	<b>8.41, 15.88</b>	<b>19.81, 25.12</b>	1.14, 1.96	<b>13.46, 21.47</b>

Bold denotes the area of EDD is greater than  $3\mu\text{m}^2$  in each ultrastructure.



**Figure 6:** EDD 位置的评估结果和可视化。(a) 不同肾脏病理类型中四种超微结构中 EDD 的面积。(b) 各位置 EDD 存在的分类 ROC 曲线。(c) 环上皮、膜内、内皮下和系膜区域的 EDD 可视化分别用蓝色、红色、绿色和青色方框标记。第一行显示患者的原始图像，第二行显示用虚线包围区域的放大视图。

检测阈值  $T_{EDD}$  对 EDD 位置分类的影响。过少的 EDD 在诊断过程中可以被视为孤立性干扰。通过优化上述参数，我们可以准确量化肾脏超微结构特征。此外，为了探讨多种超微结构特征在辅助诊断中的价值，我们结合了量化特征进行可视化分析，如补充图 S7 所示。

精确量化肾小球超微结构特征在肾脏超微结构计算病理学中一直是一个重要课题。为了为超微结构特征的量化提供基准，利用立体学方法进行量化的研究奠定了坚实的理论基础，并已成为该领域的金标准 [5, 19]。然而，由于人工量化成本高，难以在诊断实践中推广。为了进一步提高效率，研究人员使用了自适应窗口

[20] 和主动轮廓 [21] 等形态学图像处理方法, 提供了半自动量化方法。然而, 它们大多数仍然需要手动调整算法参数, 且未能实现高通量量化。计算病理学结合深度学习方法, 逐渐成为一种新范式。大多数研究人员专注于超微结构的识别, 这为后续特征的自动量化提供了基础。例如, 为实现精确的 GFB 分割, Lin 等人提出了针对肾小球 TEM 图像的自监督预训练任务 GCLR [15]。为实现 EDD 的精确分割, Liu 等人提出了基于区域和轮廓特征的 Co-Net 方法 [16]。为了进一步促进与诊断辅助的整合, 少数研究人员专注于特定结构的量化方法。例如, David 等人开发了 ForkNet, 用于分割基底膜和裂隙隔膜, 并量化和分析足细胞足突的宽度 [26]。与以往的方法不同, 本文提出的 Glo-DMU 框架识别各种超微结构, 并量化三个关键特征来描述肾小球的变化。通过分析这些特征在 9 种肾病类型中的分布, 该框架提供了额外的诊断见解, 提高了病理学家的效率。

然而, 我们也认识到当前方法存在一些局限性。虽然特定任务的深度模型可以通过后处理计算机视觉模块进行连接, 但模型之间的特征感知是孤立的。此外, 对多种超微结构特征的分析可以更加深入, 结合临床读数, 如蛋白尿和估计肾小球滤过率 (eGFR), 以揭示肾脏病理类型与形态学特征之间更本质的关联。未来的研究可以探索统一的多任务整合的深度模型, 收集更多的训练和测试数据, 涵盖更多的形态学特征, 以提供对病理机制的新见解。

总之, 我们基于深度学习模型开发了一种名为 Glo-DMU 的超微结构特征的肾小球形态测量框架, 用于测量和分析 GBM 厚度、FPE 程度和 EDD 位置。该框架在实际诊断环境中已被验证其有效性。它以全自动化、高精度和高通量为特点, 为肾脏病理学家提供了一种快速且准确的新视角工具。

## References

- [1] Alsadi, A., Majeed, N.K., Saeed, D.M., Dharmamer, Y., Singh, M.B., Patel, T.N., 2020. A deep-learning approach at automated detection of electron-dense immune deposits in medical renal biopsies. *Journal of Nephropathology* URL: <http://dx.doi.org/10.34172/jnp.2022.17123>, doi:10.34172/jnp.2022.17123.
- [2] Bohman, S.O., Jaremko, G., Bohlin, A.B., Berg, U., 1984. Foot process fusion and glomerular filtration rate in minimal change nephrotic syndrome. *Kidney International* 25, 696–700. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1984.76>, doi:10.1038/ki.1984.76.
- [3] Cao, L., Lu, Y., Li, C., Yang, W., 2019. Automatic segmentation of pathological glomerular basement membrane in transmission electron microscopy images with random forest stacks. *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 2019, 1–11. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/1684218>, doi:10.1155/2019/1684218.
- [4] Choi, S.Y., Suh, K.S., Choi, D.E., Lim, B.J., 2010. Morphometric analysis of podocyte foot process effacement in iga nephropathy and its association with proteinuria. *Ultrastructural Pathology* 34, 195–198. URL: <http://dx.doi.org/10.3109/01913121003648402>, doi:10.3109/01913121003648402.
- [5] Gundersen, H.J.G., Jensen, T.B., Østerby, R., 1978. Distribution of membrane thickness determined by lineal analysis. *Journal of Microscopy* 113, 27–43. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2818.1978.tb00091.x>, doi:10.1111/j.1365-2818.1978.tb00091.x.
- [6] Haas, M., Mirocha, J., Amann, K., Bajema, I.M., Barisoni, L., Becker, J.U., Jennette, J.C., Joh, K., Ljubanovic, D.G., Roberts, I.S., Roelofs, J.J., Sethi, S., Suarez, R., Zeng, C., Seshan, S.V., 2022. Impact of consensus definitions on identification of glomerular lesions by light and electron microscopy. *Kidney International Reports* 7, 78–86. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ekir.2021.10.014>, doi:10.1016/j.ekir.2021.10.014.
- [7] Haas, M., Seshan, S.V., Barisoni, L., Amann, K., Bajema, I.M., Becker, J.U., Joh, K., Ljubanovic, D., Roberts, I.S., Roelofs, J.J., Sethi, S., Zeng, C., Jennette, J.C., 2020. Consensus definitions for glomerular lesions by light and electron microscopy: recommendations from a working group of the renal pathology society. *Kidney International* 98, 1120–1134. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2020.08.006>, doi:10.1016/j.kint.2020.08.006.
- [8] He, K., Zhang, X., Ren, S., Sun, J., 2016. Deep residual learning for image recognition, in: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*, pp. 770–778.
- [9] Hirose, K., Østerby, R., Nozawa, M., Gundersen, H.J.G., 1982. Development of glomerular lesions in experimental long-term diabetes in the rat. *Kidney International* 21, 689–695. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1982.82>, doi:10.1038/ki.1982.82.
- [10] Hu, W., Chen, Y., Wang, S., Chen, H., Liu, Z., Zeng, C., Zhang, H., Liu, Z., 2016. Clinical-morphological features and outcomes of lupus podocytopathy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 11, 585–592. URL: <http://dx.doi.org/10.2215/cjn.06720615>, doi:10.2215/cjn.06720615.
- [11] Ishizuka, K., Miura, K., Hashimoto, T., Kaneko, N., Harita, Y., Yabuuchi, T., Hisano, M., Fujinaga, S., Omori, T., Yamaguchi, Y., Hattori, M., 2021. Degree of foot process effacement in patients with genetic focal segmental glomerulosclerosis: a single-center analysis and review of the literature. *Scientific Reports* 11. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-91520-9>, doi:10.1038/s41598-021-91520-9.
- [12] Jensen, E.B., Gundersen, H.J.G., Østerby, R., 1979. Determination of membrane thickness distribution from orthogonal intercepts. *Journal of Microscopy* 115, 19–33. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2818.1979.tb00149.x>, doi:10.1111/j.1365-2818.1979.tb00149.x.
- [13] Kashtan, C.E., 1998. Alport syndrome and thin glomerular basement membrane disease. *Journal of the American Society of Nephrology* 9, 1736–1750. URL: <http://dx.doi.org/10.1681/asn.v991736>, doi:10.1681/asn.v991736.

- [14] Kyriacou, K., Nearchou, M., Zouvani, I., Flouri, C., Loizidou, M., Hadjigavriel, M., Hadjisavvas, A., Ioannou, K., 2012. The Many Faces of Thin Basement Membrane Nephropathy; A Population Based Study. InTech. URL: <http://dx.doi.org/10.5772/26416>, doi:10.5772/26416.
- [15] Lin, G., Zhang, Z., Long, K., Zhang, Y., Lu, Y., Geng, J., Zhou, Z., Feng, Q., Lu, L., Cao, L., 2023. Gclr: A self-supervised representation learning pretext task for glomerular filtration barrier segmentation in tem images. *Artificial Intelligence in Medicine* 146, 102720. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.artmed.2023.102720>, doi:10.1016/j.artmed.2023.102720.
- [16] Liu, A., Huang, X., Li, T., Ma, P., 2022. Co-net: A collaborative region-contour-driven network for fine-to-finer medical image segmentation, in: 2022 IEEE/CVF Winter Conference on Applications of Computer Vision (WACV), IEEE. p. 1706–1715. URL: <http://dx.doi.org/10.1109/wacv51458.2022.00177>, doi:10.1109/wacv51458.2022.00177.
- [17] Liu, S., Tan, J., Lu, Y., Geng, J., Zhou, Z., Cao, L., 2024. Deformable r-cnn for detection of electron dense deposits in glomerular transmission electron microscopy images. *IEEE Access* 12, 25657–25667. URL: <http://dx.doi.org/10.1109/access.2024.3365507>, doi:10.1109/access.2024.3365507.
- [18] Liu, X., Zhang, Y., Wang, S., Liu, G., 2014. Ultrastructural changes of podocyte foot processes during the remission phase of minimal change disease of human kidney. *Nephrology* 19, 392–397. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/nep.12256>, doi:10.1111/nep.12256.
- [19] Marquez, B., Zouvani, I., Karagrigoriou, A., Anastasiades, E., Pierides, A., Kyriacou, K., 2003. A simplified method for measuring the thickness of glomerular basement membranes. *Ultrastructural Pathology* 27, 409–416. URL: <http://dx.doi.org/10.1080/01913120390248728>, doi:10.1080/01913120390248728.
- [20] Ong, S.H., Giam, S., Jayasooriah, X., Sinniah, R., 1991. Semiautomated detection and measurement of glomerular basement membrane from electron micrographs, in: *Medical Imaging V: Image Processing*, SPIE. pp. 564–573.
- [21] Rangayyan, R.M., Kamenetsky, I., Benediktsson, H., 2009. Segmentation and analysis of the glomerular basement membrane in renal biopsy samples using active contours: A pilot study. *Journal of Digital Imaging* 23, 323–331. URL: <http://dx.doi.org/10.1007/s10278-009-9188-6>, doi:10.1007/s10278-009-9188-6.
- [22] Ren, S., He, K., Girshick, R., Sun, J., 2017. Faster r-cnn: Towards real-time object detection with region proposal networks. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 39, 1137–1149. URL: <http://dx.doi.org/10.1109/tpami.2016.2577031>, doi:10.1109/tpami.2016.2577031.
- [23] Royal, V., Zee, J., Liu, Q., Avila-Casado, C., Smith, A.R., Liu, G., Mariani, L.H., Hewitt, S., Holzman, L.B., Gillespie, B.W., Hodgins, J.B., Barisoni, L., 2020. Ultrastructural characterization of proteinuric patients predicts clinical outcomes. *Journal of the American Society of Nephrology* 31, 841–854. URL: <http://dx.doi.org/10.1681/asn.2019080825>, doi:10.1681/asn.2019080825.
- [24] Sekachev, B., Manovich, N., Zhiltsov, M., Zhavoronkov, A., Kalinin, D., Hoff, B., Kruchinin, D., Zankevich, A., et al., 2020. *opencv/cvat: v1.1.0. Zenodo*.
- [25] Sharma, S.G., Spencer, T., Gokden, N., 2010. The significance of foot process effacement in immunoglobulin a nephropathy: Clinicopathologic study of 161 cases with light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *Ultrastructural Pathology* 34, 269–272. URL: <http://dx.doi.org/10.3109/01913123.2010.487971>, doi:10.3109/01913123.2010.487971.
- [26] Smerkous, D., Mauer, M., Tøndel, C., Svarstad, E., Gubler, M.C., Nelson, R.G., Oliveira, J.P., Sargolzaeiaval, F., Najafian, B., 2024. Development of an automated estimation of foot process width using deep learning in kidney biopsies from patients with fabry, minimal change, and diabetic kidney diseases. *Kidney International* 105, 165–176. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2023.09.011>, doi:10.1016/j.kint.2023.09.011.
- [27] Smith, L.N., Topin, N., 2019. Super-convergence: Very fast training of neural networks using large learning rates, in: *Artificial intelligence and machine learning for multi-domain operations applications*, SPIE. pp. 369–386.
- [28] Tewari, R., Nada, R., Rayat, C.S., Boruah, D., Dudeja, P., Joshi, K., Sakhuja, V., 2014. Correlation of proteinuria with podocyte foot process effacement in iga nephropathy: An ultrastructural study. *Ultrastructural Pathology* 39, 147–151. URL: <http://dx.doi.org/10.3109/01913123.2014.960543>, doi:10.3109/01913123.2014.960543.
- [29] Tiebosch, A.T., Frederik, P.M., van Breda Vriesman, P.J., Mooy, J.M., van Rie, H., van de Wiel, T.W., Wolters, J., Zeppenfeldt, E., 1989. Thin-basement-membrane nephropathy in adults with persistent hematuria. *New England Journal of Medicine* 320, 14–18.
- [30] Wang, Y., Liu, Y., Fu, Y., Chen, X., Zhao, S., Ye, J., He, Y., Wang, Z., Guan, T., Li, J., 2024. Segmentation and thickness calculation of glomerular basement membrane using rads-net in glomerular microscopic images. *Biomedical Signal Processing and Control* 88, 105557. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bspc.2023.105557>, doi:10.1016/j.bspc.2023.105557.
- [31] Yan, S., Huang, X., Lian, W., Song, C., 2023. Self reinforcing multi-class transformer for kidney glomerular basement membrane segmentation. *IEEE Access* 11, 105892–105901. URL: <http://dx.doi.org/10.1109/access.2023.3320064>, doi:10.1109/access.2023.3320064.
- [32] Yang, J., Hu, X., Pan, H., Chen, P., Xia, S., 2022. Multi-scale attention network for segmentation of electron dense deposits in glomerular microscopic images. *Microscopy Research and Technique* 85, 3256–3264.
- [33] Zhang, J., Zhang, A., 2023. Deep learning-based multi-model approach on electron microscopy image of renal biopsy classification. *BMC Nephrology* 24. URL: <http://dx.doi.org/10.1186/s12882-023-03182-6>, doi:10.1186/s12882-023-03182-6.