

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.1008

文章编号 1671-8852(2026)01-0115-07

基于 QuPath 的非小细胞肺癌数字病理研究

张宇格¹ 李建雨¹ 罗琦² 朱振坤^{1,3}

武汉科技大学¹ 医学部医学院感染免疫与肿瘤微环境研究所,² 信息科学与工程学院

湖北 武汉 430065;

³湖北文理学院附属医院/襄阳市中心医院病理科 湖北 襄阳 441021

摘要 目的:探究非小细胞肺癌(NSCLC)中肺腺癌应用 QuPath 识别和量化肿瘤细胞与病理医生手动评估的一致性,以提高准确度和工作效率。方法:收集 2021 年 2 月至 2022 年 4 月襄阳市中心医院诊断 NSCLC 病例样本 100 例,样本 HE 染色玻片扫描为数字图像(WSI)。应用开源图像分析软件 QuPath 构建随机森林模型;自动计数感兴趣区域(ROI)内的各类细胞获得肿瘤细胞含量(TCC),计算类内相关系数(ICC)以衡量人工识别和自动识别 TCC 的区别;应用 QuPath 对人工标记和随机森林模型识别的肿瘤和非肿瘤细胞核相分析,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析肿瘤细胞核相特征分类肿瘤细胞的贡献度。结果:应用 QuPath 构建肿瘤细胞识别模型,与人工评估 TCC 之间的一致性 ICC=0.958;肿瘤细胞核相特征 ROC 曲线下面积(AUC)为 99.5%,核苏木精平均光密度(NHMOD)是区分肿瘤细胞最佳的核相特征。结论:QuPath 构建的随机森林模型能较准确地评估数字病理图像的 TCC,降低手动评估差异性,为肿瘤预后评估提供依据。

关键词 非小细胞肺癌;肿瘤细胞含量;数字病理;机器学习

中图分类号 R730.21

文献标志码 A

Digital pathology study of non-small cell lung cancer based on QuPath

ZHANG Yuge¹, LI Jianyu¹, LUO Qi², ZHU Zhenkun^{1,3}

¹Institute of Infectious Immunity and Tumor Micro Environmental Research Institute, School of Medicine,

²School of Information Science and Engineering, Wuhan University of Science and Technology,

Wuhan 430065, Hubei, China;

³Department of Pathology, Xiangyang Central Hospital & Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441021, Hubei, China

Abstract

Objective: To explore the consistency of QuPath-based identification and quantification of tumor cells in non-small cell lung cancer (NSCLC) with manual assessment by pathologists, in order to improve the accuracy and efficiency of tumor cell quantification. **Methods:** A total of 100 NSCLC cases diagnosed in Xiangyang Central Hospital from February 2021 to April 2022 were collected. The samples were scanned as whole slide imaging (WSI) with HE staining slides. The open source image analysis software QuPath was used to construct the random forest model. All kinds of cells in the region of interest (ROI) were automatically counted to obtain tumor cell content (TCC), and intraclass correlation coefficient (ICC) was calculated to measure the difference between manual and automatic recog-

课题来源:国家自然科学基金资助项目(编号:82274370);襄阳市中心医院院级立项项目(编号:2022YB07)。

作者简介:张宇格,女,2000—,医学硕士生,主要从事肿瘤疾病研究,E-mail:202209703042@wust.edu.cn。

通信作者:朱振坤,E-mail:zhuzhenkun@hbuas.edu.cn。

nition of TCC. QuPath was used to analyze tumor and non-tumor nuclear phase identified by artificial labeling and random forest model, and the contribution of tumor nuclear phase characteristics to tumor cell classification was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results:** QuPath was used to build a tumor-cell recognition model; the ICC between automated and manual TCC was 0.958. The ROC AUC for tumor vs non-tumor classification was 99.5%. Among nuclear features, nuclear hematoxylin mean optical density (NHMOD) achieved the highest AUC (99.5%) and is the best discriminator for tumor cells. **Conclusion:** The random forest model constructed by QuPath can accurately quantify TCC in digital pathological images, reduce inter-observer variability in manual evaluation, and provide reliable data for tumor prognostic assessment.

Key Words Non-Small Cell Lung Cancer; Tumor Cell Content; Digital Pathology; Machine Learn

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)作为肺癌的主要类型,约占肺癌发病率的85%^[1]。其中,肺腺癌是最常见的肺癌类型,其病理诊断对于确诊和治疗策略的制定至关重要^[2]。组织病理学是肺癌病理学诊断中最重要的任务,一个关键的分析前步骤是准确计算肿瘤细胞含量(tumor cell content, TCC)^[3-4]。研究^[3-4]表明,确定TCC对于获得准确的分子基因检测结果至关重要。如果不存在分子基因检测所需的最低TCC,检测可能会产生错误的结果。因此,病理学家精确评估样本中的TCC,有助于确定肿瘤类型、预后评估和制定个体化治疗方案^[5-6]。

传统诊断中病理医生通过苏木精-伊红染色(hematoxylin and eosin staining, HE染色)切片评估TCC。然而,这种传统方法个体主观性差异大,存在再现性问题^[7]。随着计算机技术的发展,数字病理学应运而生,本研究应用一种开源数字病理学软件QuPath作为工作平台及其集成算法,并构建随机森林模型,半自动化识别计数NSCLC患者组织中的肿瘤细胞和非肿瘤细胞评估TCC,比较人工评估和QuPath识别TCC的区别,分析两种方法的准确度以减少主观差异性,提升工作效率。此外,核形态可以作为肿瘤行为或预后的替代指标^[8],应用QuPath的机器学习(machine learning, ML)算法提取分析区分肿瘤细胞和非肿瘤细胞的选定核相特征,旨为未来进一步提高肿瘤细胞判别模型的精准度和效率提供有力支持。

1 资料与方法

1.1 临床队列 本研究队列包括襄阳市中心医院2021年2月至2022年4月间100例患有非小细胞肺

癌的患者,包含60例肺癌组织样本以及20例胸水细胞蜡块样本,20例穿刺活检组织样本(伦理号:2022-098)。

1.2 HE染色 收集样本均为石蜡组织,切片厚度为4 μm ,在病理学实验室中进行处理和HE染色。使用KF-PRO-040-HI全玻片扫描仪(江丰生物,中国;放大倍数:80 $\times$)将HE染色玻片扫描为数字图像。

1.3 数字图像(whole slide imaging, WSI)分析 所有WSI的图像分析均使用QuPath v0.5.1(<https://qupath.github.io/>,于2024年4月11日访问)进行,这是一个开源数字图像分析软件平台,具有内置的可训练ML算法。所有WSI在导入QuPath之前都经过质量检查并将kfb格式转化为svs格式。利用QuPath中的“估计染色向量”功能用于优化每个WSI的HE染色估计。本研究使用细胞检测来识别和分割肿瘤区域内的所有细胞,除细胞边界外(组织切片样本细胞边界为2 μm ,胸水细胞蜡块样本细胞边界为1 μm ,穿刺活检组织样本细胞边界为2 μm),其余均使用默认参数。

细胞分割的质量由病理学家控制。然后选择有代表性的特定区域对肿瘤细胞(红色)和非肿瘤细胞(黄色)进行分类,为每张图像确定了对应于组织学代表性区域的感兴趣区域(region of interest, ROI),并由8位病理专家确认。为了保持一致性,每个整个幻灯片图像选择4个ROI;并具有紧密匹配的区域[(300 000 $\pm$ 400) μm^2],两种类型HE切片均标注了(1 500 $\pm$ 100)个细胞。之后我们利用QuPath内置的随机森林分类器来训练以产生最佳的细胞分类。分类器的训练需要多轮优化才能达到最佳分类效果,并由病理学家进行质量控制。借助自动化脚本,将经过训练的分类器应用于所有

WSI,并对每种类型的细胞数量进行计数。

1.4 测量细胞检测精度 为了评估 QuPath 肿瘤细胞检测算法的可靠性,我们基于 12 个 ROI 进行了准确性测量。通过 8 位不同的病理学家对 ROI 区域的肿瘤细胞与非肿瘤细胞进行计数,与利用随机森林(random forest, RF)模型区分的肿瘤细胞与非肿瘤细胞数目进行比较,确定随机森林模型在两种样本 WSI 图像中对肿瘤细胞与非肿瘤细胞识别的准确度。

1.5 核相特征筛选 我们利用 QuPath 对人工标记以及 RF 模型识别的肿瘤细胞以及非肿瘤细胞总计 13 000 个细胞进行核相分析,包含了 Nucleus: Area、Nucleus: Perimeter、Nucleus: Circularity、Nucleus: Max caliper、Nucleus: Min caliper、Nucleus: Eccentricity、Nucleus: Hematoxylin OD mean、Nucleus: Hematoxylin OD sum、Nucleus: Hematoxylin OD min 等重要特征,通过 R 软件(vesion:4.2.1)的 RF 模型进行特征筛选。

1.6 统计学分析 所有统计分析均使用 R 软件(v.4.2.1)。“stats”包(v.3.3.0)的以下函数用于所述的统计检验:“fisher.test”执行 Fisher 的精确检验;“shapiro.test”执行正态性的 Shapiro-Wilk 检验;“wilcox.test”执行 Mann-Whitney *U* 检验;“cor.test”使用 Pearson 的乘积矩相关系数检验相关性。类内相关系数(intraclass correlation coefficient, ICC)是使用“irr”包(v.0.84.1)的“icc”函数计算的。用于比较一组 ICC 类型 2,1(双向随机,单一测量)内估计器的一致性。

2 结果

2.1 构建肿瘤细胞识别模型及评价 利用 QuPath 的 RF 算法对人工标注的 ROI 区域进行分类学习,得到肺癌患者病理图像的肺癌细胞自动识别模型(图 1)。将该模型应用于所有 WSI,对每种类型细胞计数。对于训练集,我们对整个病理图像进行模型测试,并随机选取 10 个 ROI,由 8 名病理医生与 RF 分类模型评估 TCC(图 2)。结果发现,人工估计 TCC 存在差异性,并使用 ICC 来衡量病理学家评估 TCC 的平均值(average, AVE)和 QuPath 结果的一致性,结果显示 ICC 为 0.958(95%CI: 0.822~0.991),表明人工评估和 QuPath 识别之间的一致性良好。

2.2 TCC 的计算评估 由病理医生目视评估胸水细胞蜡块和肺癌组织 TCC(pTCCF),病理医生进行逐个细胞视觉计数分类为肿瘤细胞和非肿瘤细胞,并视为参考/真实值(RT),应用 QuPath 的肿瘤识别模型评估 TCC(cTCC)(图 3)。结果表明,与 RT 相比,cTCC 表现出优异的性能。

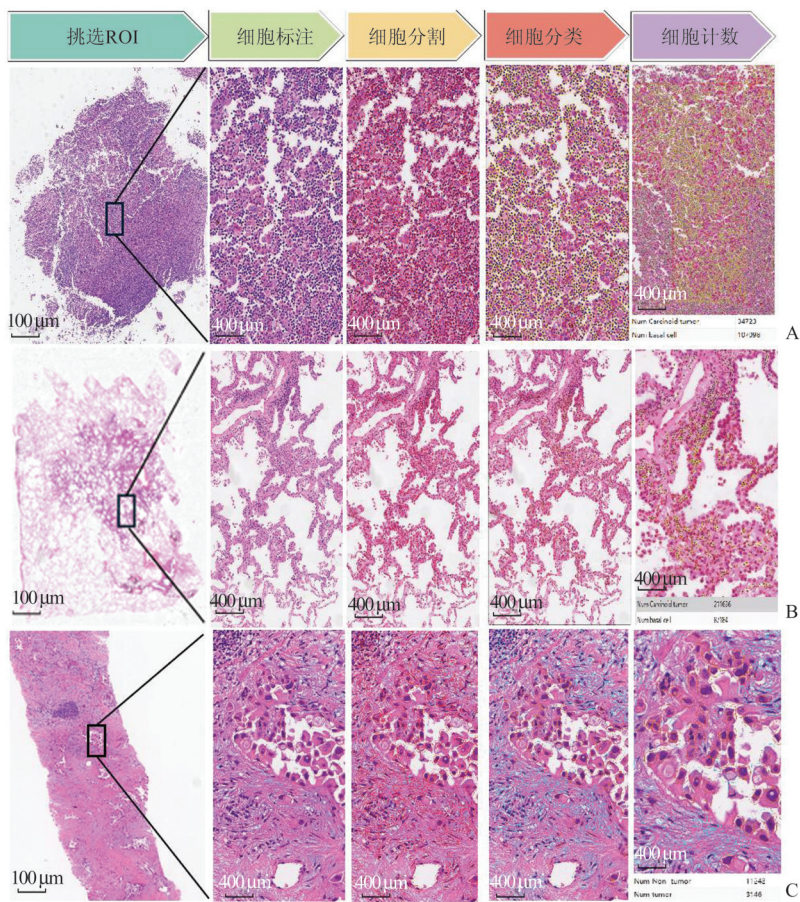
2.3 核相特征筛选 应用 QuPath 提取人工标记和 RF 模型识别的肿瘤细胞以及非肿瘤细胞总计 13 000 个细胞的核相特征,并评估每个核相特征对肿瘤细胞 RF 模型分类决策的贡献程度(图 4),表明 Nucleus: Hematoxylin OD mean、Nucleus: Eosin OD sum、Nucleus: Eosin OD min 对于分类肿瘤细胞有重要意义。QuPath 提取的核相特征通过 R 软件的 RF 算法构建分类模型,得到 ROC 曲线(图 5)。结果显示,该分类模型的 ROC 曲线下面积(area under the curve, AUC)为 0.995,表明该模型分类性能较好,核苏木精平均光密度(nuclear hematoxylin mean optical density, NHMOD)是区分肿瘤细胞最佳的核相特征。

2.4 TCC 和患者预后的关系 应用 QuPath 肿瘤细胞识别模型对 NSCLC 患者病理切片进行自动肿瘤细胞计数获得 TCC,所有 80 名 NSCLC 患者均被纳入 OS 分析。在分析时,共有 26 名患者(33%)死亡。当按照 TCC 进行分层($TCC > 70 = \text{high}$, $TCC < 70 = \text{low}$)时,TCC 更高的 NCSLS 患者 1 年生存率更小($P < 0.05$)(图 6)。

3 讨论

肺腺癌是非小细胞肺癌中最常见的病理类型,其病理诊断在肺癌的诊断、治疗和预后评估中扮演着重要角色。TCC 是病理分析和诊断的重要参数^[9],其估计值一般通过病理学家对玻片的目视评估获得,因此会受到观察者间差异的影响。正确的 TCC 评分可以增进对肿瘤内异质性和亚克隆群体的分析,进而能更好地指导制定个性化治疗策略^[10]。在本研究中,我们应用了 QuPath 内置随机森林模型自动化识别肿瘤细胞并计数,评估 TCC 和分析肿瘤细胞的核相特征,比较人工计数和自动计数 TCC 的区别,研究 TCC 在预测肺癌患者预后中的价值,判定各肿瘤细胞核相特征筛选分类肿瘤细胞的能力。这些结果增加肿瘤细胞判别模型的精准度和效率提供有力支持。

与其他研究相比不同的是,本文使用肺癌组



A. 胸水细胞蜡块;B. 肺癌组织;C. 肺癌穿刺活检组织。

图1 QuPath自动识别肿瘤细胞的标注流程

注:图片均为HE染色(×400)。

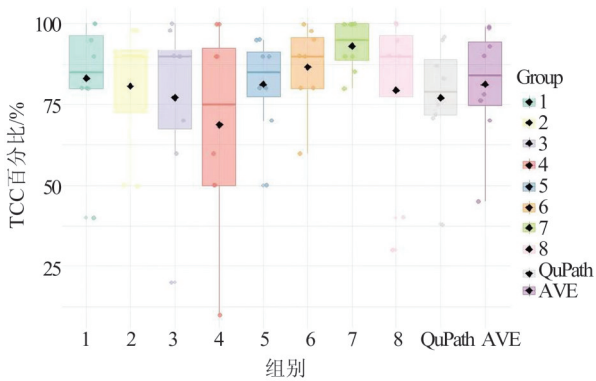


图2 八位病理学家和计算工具QuPath的TCC评估

注:AVE. 8位病理学家评估TCC的平均值。

组织、胸水细胞蜡块和穿刺活体组织三种不同的病理检查样本类型。通常手术切除或活检取材制片,用于组织病理学诊断和评估病变程度。肺癌组织经过固定、脱水、浸蜡、切割和染色等处理后制备成玻片^[11],组织学标本对于病理诊断非常重要,是通过检查组织和细胞结构来判断疾病的性质和病变程

度的重要手段。胸水细胞蜡块则是将胸膜腔、腹膜腔、心包膜腔积液、脑脊液等样本进行采集,制成固体细胞蜡块,细胞学标本提供各种辅助性的检测,及时准确地为临床提供充分有力的诊断依据。胸水细胞蜡块存在更大识别困难,其制备过程可能会导致细胞变形、聚集或变性^[12-13],影响诊断的准确性和可靠性。但胸水细胞蜡块提供直接信息,更具有实时性和动态性,有助于监测病情变化和指导治疗效果评估^[14-15]。肺癌穿刺可穿刺到肺部病变部位获取组织样本,穿刺活检样本通过病理学、免疫组化等多种检测方法,能精准诊断肺癌类型和分期,在早期发现和个体化治疗中发挥关键作用^[16]。相对于使用单一肺癌病理样本类型的研究^[17],本研究将组织学和细胞学结合分析,应用QuPath对这三种样本类型标注分割细胞,训练RF肿瘤细胞分类器达到最佳分类效果,均借助相同的自动化脚本,将经过训练的分类器应用所有WSI评估TCC。因此,基于组织学和细胞学QuPath评估更全面更准确。

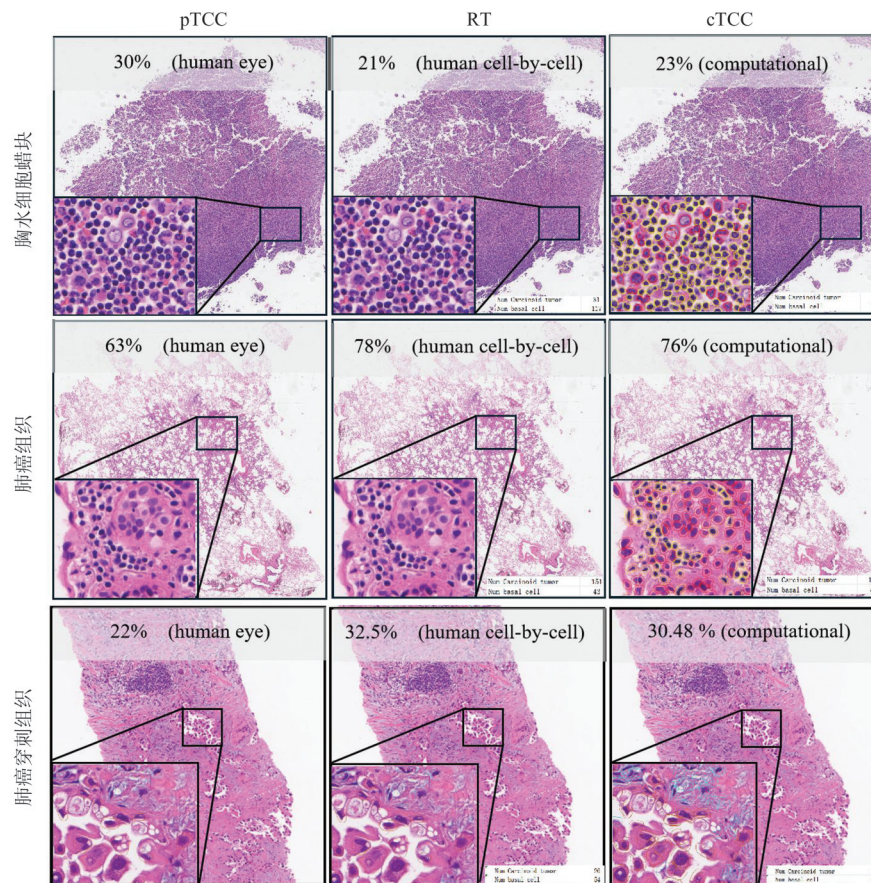


图3 不同样本类型(胸水细胞蜡块、肺癌组织和肺癌穿刺活检)上 pTCC,RT 和 cTCC 的比较示例

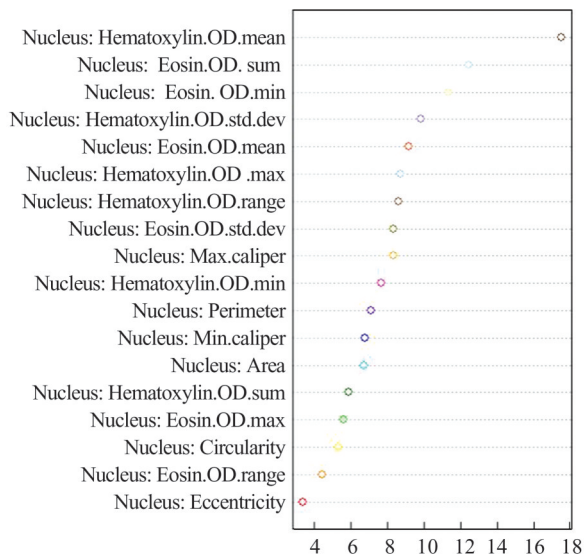
注:图片均为 HE 染色($\times 400$)。

图4 核相特征的重要性

准确评估 TCC 是预测分子病理学中的关键步骤,也是下一代测序(next generation sequencing, NGS)时代的入门充分性标准^[18]。由于评估 TCC 的病理医生培训背景和评估的投入程度不同,病理

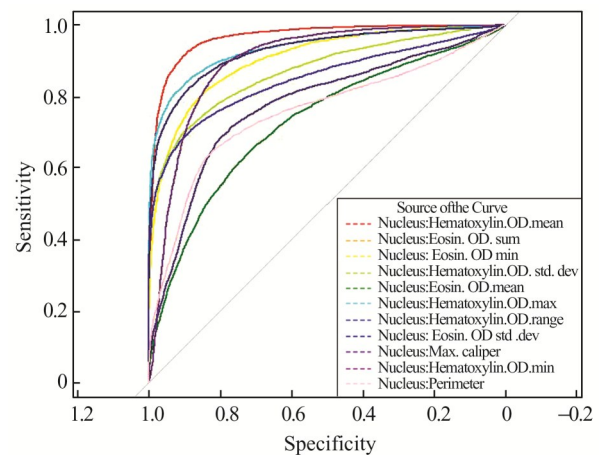


图5 核相特征 ROC 曲线图

医生间的评估存在差异,进一步强调对 TCC 进行可靠评估的必要性。据报道^[19],数字病理学工具采用计算机辅助诊断(CAD)能减少病理学家的主观差异。DUFRAING 等人^[20]已经预见到了计算机辅助 TCC 估计的潜力,他们假设经过验证和训练以识别肿瘤细胞的数字工具,可能是减少观察者间差异的解决方案。据报道^[20],来自多个观察者的平均估计

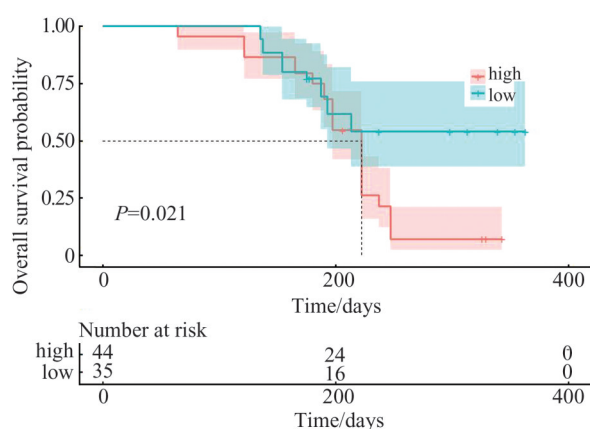


图 6 不同 TCC 水平患者生存率的 Kaplan-Meier 曲线

值相当准确。本研究中,我们选取 8 位病理学家计数平均值,比较 QuPath 识别和人工识别 TCC 的一致性,其结果 ICC 为 $0.958 > 0.9$,表明自动识别和人工识别 TCC 之间一致性良好;应用 QuPath 构建的随机森林模型,能够较准确的获取 HE 数字图像的 TCC,并减少人工识别 TCC 的差异性。

核形态是人类实体瘤常规组织病理学诊断中的主要形态学焦点。细胞核的形状、空间排列和纹理等形态特征有助于确定不同肿瘤的组织学分类和分级亚型^[21]。研究^[22-24]表明,HE 染色图像中的核形态特征对于各种恶性肿瘤的预后具有重要意义。在新兴的数字病理学领域下,核形态测量研究利用机器学习算法可有效地描绘包括细胞核大小、圆度、核染色质增生和染色质聚类程度等参数^[25]。WANG 等人^[26]利用计算机组织形态学图像分类器从数字 HE 图像中提取的核相特征预测早期非小细胞肺癌的复发组织形态学分析。MARTINO 等人^[27]利用 QuPath 提取的核相特征来预测癌症组织上细胞增殖标志物 Ki67/MIB1 的免疫组织化学标记指数。表明 NHMOD 是区分 Ki67/MIB1 阳性细胞和阴性细胞的最佳特征,因为它可能反映了核染色质对 DNA 复制的倾向。本研究中应用 QuPath 分析肿瘤细胞核相特征,通过 R 软件的随机森林算法,得出各组核相特征的 ROC 曲线。该分类模型的 AUC 为 0.995,表明该模型分类性能较好,对数据的潜在模式和特征作出准确预测。如图 4、5 所示,核苏木精平均光密度 NHMOD 是性能最佳的核相特征,对于识别肿瘤细胞和非肿瘤细胞做出重要贡献^[27]。这为我们后续构建机器学习算法和增加准确度提供了证据,但 NHMOD 受染色质量影响过大,基于细胞核多参数预测会更为准确。

肿瘤的分期和分级都是病理诊断的重要方面,

分期影响着肺癌患者的治疗^[28]。在肺癌中,T 分期很大程度上是由肿瘤的大小决定的,这可能是肿瘤 TCC 的替代指标。肿瘤密度的范围可受肿瘤细胞的纤维化、坏死和生长模式等特征的影响。利用半自动肿瘤检测方法能够捕捉到这种可变性,从而提供一种更具体的肿瘤细胞结构测量方法,可以解释肿瘤组成中的这些差异。研究^[29]表明,TCC 能够提供非小细胞肺癌的预后信息,高细胞性肿瘤患者的总生存期低于低细胞性肿瘤患者,支持肿瘤细胞作为一种新的非小细胞肺癌预后工具。本研究中,采用 QuPath 自动计数 NSCLC 患者病理切片图像,通过 R 软件分析肿瘤细胞占比对预后的影响;Kaplan-Meier 曲线表明低肿瘤细胞占比患者 1 年生存率高于高肿瘤细胞占比,结果表明 TCC 对肺癌患者预后预测有重要价值。

本研究中 QuPath 构建的随机森林模型能够较准确评估 TCC,减少人工识别的误差,改善医生工作效率。此外,还研究了 TCC 在预测肺癌患者预后中的价值,并分析肿瘤细胞核相特征来提升分类肿瘤细胞和非肿瘤细胞精准度,为我们进一步开发机器学习算法和提高准确性奠定基础。



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

参考文献

- [1] WANG X, JANOWCZYK A, ZHOU Y, et al. Prediction of recurrence in early stage non-small cell lung cancer using computer extracted nuclear features from digital H&E images[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 13543.
- [2] HERBST R S, MORGENZTEM D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. Nature, 2018, 553(7689):446-454.
- [3] KAZDAL D, REMPEL E, OLIVEIRA C, et al. Conventional and semi-automatic histopathological analysis of tumor cell content for multigene sequencing of lung adenocarcinoma[J]. Transl Lung Cancer Res, 2021, 10(4):1666-1678.
- [4] FREI A L, OBERSON R, BAUMANN E, et al. Pathologist computer-aided diagnostic scoring of tumor cell fraction: A Swiss national study[J]. Modern Pathology, 2023, 36(12):100335.
- [5] ARAN D, SIROTA M, BUTTE A J. Systematic pan-cancer analysis of tumour purity[J]. Nat Commun, 2015, 6:8971.
- [6] L'IMPERIO V, CAZZANIGA G, MANNINO M, et al. Digital counting of tissue cells for molecular analy-

- sis: The QuANTUM pipeline[J]. *Virchows Archiv*, 2024. DOI: 10.1007/s00428-024-03794-9.
- [7] YU G, YU C, XIE F, et al. Automated tumor count for mitosis-karyorrhexis index determination in neuroblastoma using whole slide image and qupath, an image analytic software[J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2022, 25(5):526-537.
- [8] LIN S, SAMSOONDAR J P, BANDARI E, et al. Digital quantification of tumor cellularity as a novel prognostic feature of non-small cell lung carcinoma[J]. *Modern Pathology*, 2023, 36(3):100055.
- [9] DEVEREAUX K A, SOUERS R J, GRAHAM R P, et al. Neoplastic cellularity assessment in molecular testing [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2022, 146(9):1062-1071.
- [10] HWANG J K, PAGE B J, FLYNN D, et al. Validation of the eighth edition TNM lung cancer staging system[J]. *Thorac Oncol*, 2020, 15(4):649-654.
- [11] 乔欣,李梦,焦昆,等. 实验动物病理组织切片质量评价体系与回顾性分析[J]. *实验动物科学*, 2021, 38(6):63-65.
- QIAO X, LI M, JIAO K, et al. Quality evaluation system and retrospective analysis of pathological tissue sections of experimental animals [J]. *Journal of Experimental Animal Science*, 2019, 38(6):63-65.
- [12] 邓雪琴,陈新妹,郭寿铭,等. 一种小牛血去蛋白凝胶制备细胞蜡块的方法[J]. *诊断病理学杂志*, 2021, 28(12):1079-1080.
- DENG X Q, CHEN X M, GUO S M, et al. A method for preparation of cell wax block by deproteinizing gel of calf blood [J]. *Chinese Journal of Diagnostic Pathology*, 2021, 28(12):1079-1080.
- [13] 毛永光,匡忠生. 蚕丝蛋白在胸、腹水脱落细胞液基制片以及细胞蜡块制备中的应用[J]. *诊断病理学杂志*, 2024, 31(05):471-472.
- MAO Y G, KUANG Z S. Application of silk protein in the preparation of liquid-based tablets and cell wax blocks of thoracic and ascites fluid shedding cells[J]. *Diagnostic Pathology Miscellaneous*, 2024, 31(5):471-472.
- [14] 郭娟,徐显辉. 胸水细胞蜡块与免疫组化对肺癌的诊断敏感性分析[J]. *中国医药指南*, 2024, 22(13):100-102.
- GUO J, XU X H. Sensitivity analysis of pleural fluid cell wax block and immunohistochemistry in diagnosis of lung cancer [J]. *Chinese Medical Guide*, 2019, 22(13):100-102.
- [15] 虞福龙,王琳,仇玮. 制作胸水细胞蜡块检测肺腺癌 EGFR 突变[J]. *病理诊断学杂志*, 2017, 24(9):716-717.
- YU F L, WANG L, QIU W. Detection of EGFR mutation in lung adenocarcinoma by making wax blocks of pleura cells [J]. *Journal of Pathologic Diagnostics*, 2017, 24(9):716-717(Ch).
- [16] 李纳. CT引导下肺穿刺活检技术的临床应用价值[D]. 长沙:湖南师范大学, 2020.
- LI N. Clinical application value of CT-guided lung puncture biopsy technique [D]. Changsha: Hunan Normal University, 2020.
- [17] XIE X, FU C, LV L, et al. Deep convolutional neural network-based classification of cancer cells on cytological pleural effusion images[J]. *Mod Pathol*, 2022, 35(5):609-614.
- [18] COMPTON C C, ROBB J A, ANDERSON M W, et al. Preanalytics and precision pathology: Pathology practices to ensure molecular integrity of cancer patient biospecimens for precision medicine[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2019, 143(11):1346-1363.
- [19] SAKAMOTO T, FURUKAWA T, PHAM H H N, et al. A collaborative workflow between pathologists and deep learning for the evaluation of tumour cellularity in lung adenocarcinoma[J]. *Histopathology*, 2022, 81(6):758-769.
- [20] DUFRAING K, DE HERTOOGH G, TACK V, et al. External quality assessment identifies training needs to determine the neoplastic cell content for biomarker testing [J]. *J Mol Diagn*, 2018, 20(4):455-464.
- [21] BARSOUM I, TAWEDROUS E, FARAGALLA H, et al. Histo-genomics: Digital pathology at the forefront of precision medicine[J]. *Diagnosis*, 2019, 6(3):203-212.
- [22] LUO X, ZANG X, YANG L, et al. Comprehensive computational pathological image analysis predicts lung cancer prognosis[J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(3):501-509.
- [23] YU K H, ZHANG C, BERRY G J, et al. Predicting non-small cell lung cancer prognosis by fully automated microscopic pathology image features[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:12474.
- [24] LEE G, ALI S, VELTRI R, et al. Cell orientation entropy (CoRE): Predicting biochemical recurrence from prostate cancer tissue microarrays[J]. *Med Image Comput Comput Assist Interv*, 2013, 16(Pt 3):396-403.
- [25] KONG J, COOPER L A, WANG F, et al. Machine-based morphologic analysis of glioblastoma using whole-slide pathology images uncovers clinically relevant molecular correlates[J]. *PloS one*, 2013, 8(11):e81049.
- [26] WANG X, JANOWCZYK A, ZHOU Y, et al. Prediction of recurrence in early stage non-small cell lung cancer using computer extracted nuclear features from digital H&E images[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):13543.
- [27] MARTINO F, VARRICCHIO S, RUSSO D, et al. A machine-learning approach for the assessment of the proliferative compartment of solid tumors on hematoxylin-eosin-stained sections: Cancers[Z]. 2020: 12.
- [28] HWANG J K, PAGE B J, FLYNN D, et al. Validation of the eighth edition TNM lung cancer staging system[J]. *J Thorac Oncol*, 2020, 15(4):649-654.
- [29] LIN S, SAMSOONDAR J P, BANDARI E, et al. Digital quantification of tumor cellularity as a novel prognostic feature of non-small cell lung carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2023, 36(3):100055.