

# AI與數位病理影像分析

數位病理分析與Vibe  
Coding技術的結合

張皓凱 (Hao-Kai Chang)

主任病理獸醫師 Chief Veterinary Pathologist,

BioTnA<sup>®</sup>Li-Tzung Patho. Lab.

March. 04. 2026

**BioTnA**  
molecular pathology



**Li-Tzung**  
BIOTECHNOLOGY, INC.

**Motic**<sup>®</sup>  
More Than Microscopy



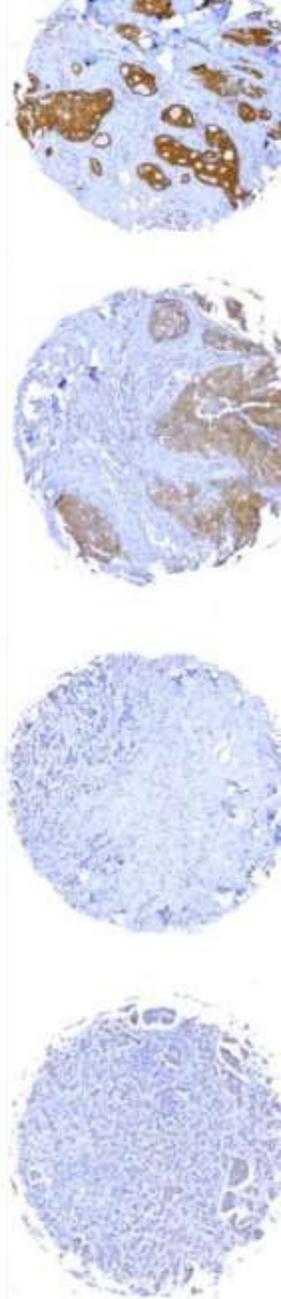
ISO / IEC 17025  
Testing Laboratory  
4322





# Curriculum Vitae

- 中華民國獸醫病理學會(CSVP) 獸醫病理專科認證
- CSVP監事
- 中華民國比較病理學會(CSCP)理事
- 同人科技(BioTnA) 立眾病理實驗室病理獸醫師主任(2019 ~)
- 立眾病理實驗室ISO17025報告簽署人暨品質主管 (2025 ~)



HKC\_VETPATH

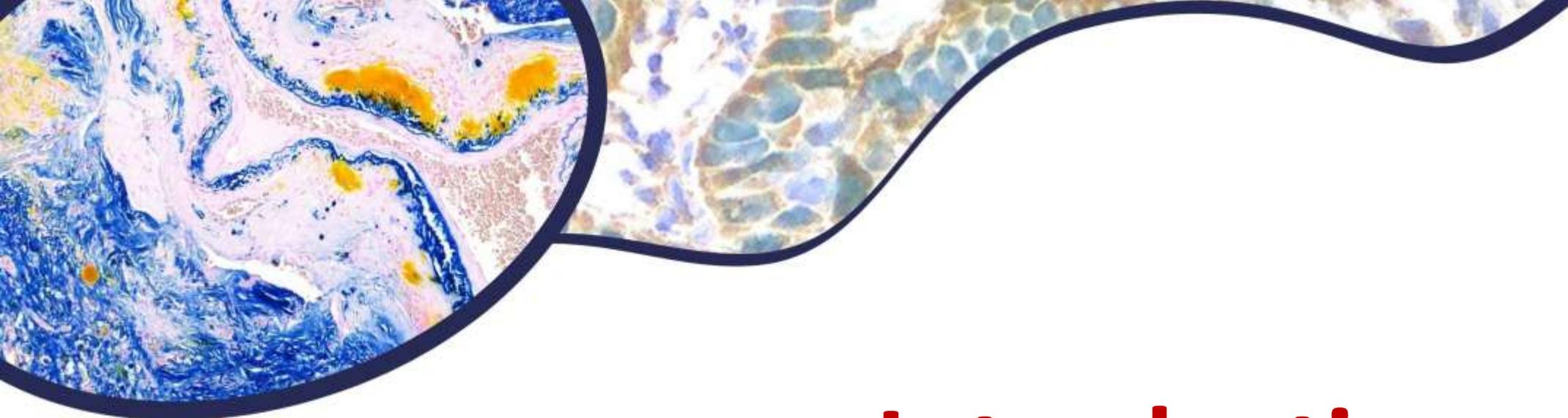


ISO / IEC 17025  
Testing Laboratory  
4322



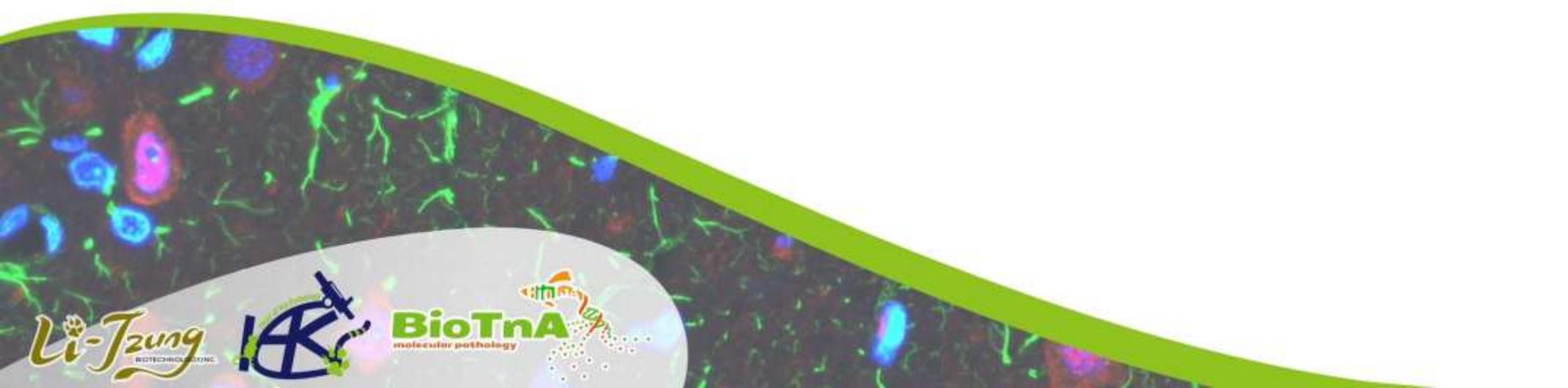
# Outline

- **前言** – 傳統病理與數位病理
- **組織切片數位化原理介紹** – 顯微攝影及切片掃描
- **數位影像分析基礎** – 色彩學基礎介紹
- **影像分析軟體運用實例** – ImageJ, QuPath
- **以ImageJ/Fiji為例** – Macro巨集程式碼運用
- **AI LLM模型與Vibe Coding** – 以Gemini為例



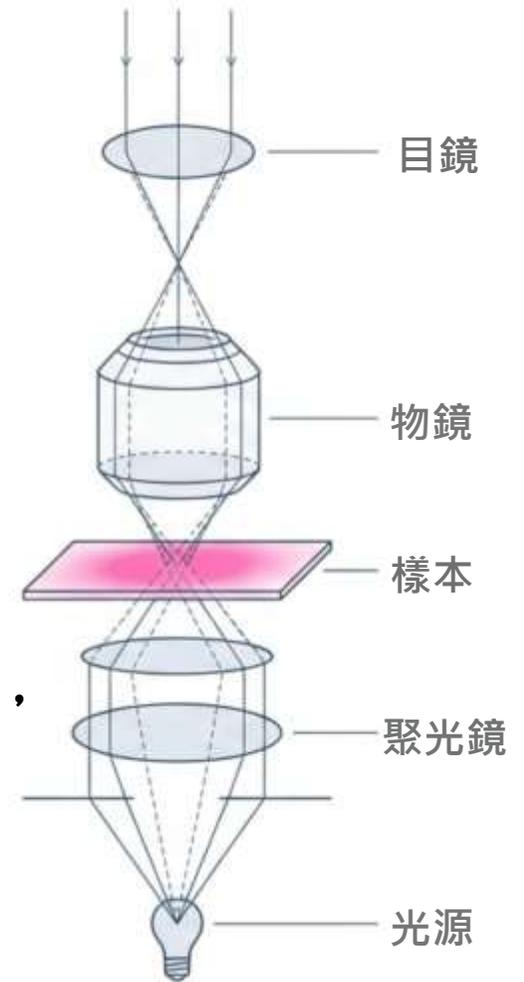
# Introduction

傳統組織病理與數位病理



# 傳統光學顯微鏡與病理醫師人工判讀

- 成像原理：依賴明視野(Brightfield)與柯勒照明(Köhler Illumination)，確保光場均勻，減少雜散光(Glare)。
- 判讀分析(Interpretation)：病理醫師依據專業知識及經驗，依個人 主觀 進行病灶定性判讀，及嚴重度的半定量評分



# H&E in experimental animals

*Toxicologic Pathology*, 40: 7S-13S, 2012  
Copyright © 2012 by The Author(s)  
ISSN: 0192-6233 print / 1533-1601 online  
DOI: 10.1177/0192623312438738

## International Harmonization of Toxicologic Pathology Nomenclature: An Overview and Review of Basic Principles

PETER C. MANN<sup>1</sup>, JOHN VAHLE<sup>2</sup>, CHARLOTTE M. KEENAN<sup>3</sup>, JULIA F. BAKER<sup>4</sup>, ALYS E. BRADLEY<sup>5</sup>, DAWN G. GOODMAN<sup>6</sup>,  
TAKANORI HARADA<sup>7</sup>, RONALD HERBERT<sup>8</sup>, WOLFGANG KAUFMANN<sup>9</sup>, RUPERT KELLNER<sup>10</sup>, THOMAS NOLTE<sup>11</sup>,  
SUSANNE RITTINGHAUSEN<sup>10</sup>, AND TAKUJI TANAKA<sup>12</sup>

<sup>1</sup> *EPL Northwest, Seattle, Washington, USA*

<sup>2</sup> *Eli Lilly & Company, Indianapolis, Indiana, USA*

<sup>3</sup> *C. M. Keenan ToxPath Consulting, Doylestown, Pennsylvania, USA*

<sup>4</sup> *Charles River Pathology Associates, Frederick, Maryland, USA*

<sup>5</sup> *Charles River Laboratories, Tranent, Scotland, UK*

<sup>6</sup> *Private Consultant, Potomac, Maryland, USA*

<sup>7</sup> *The Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan*

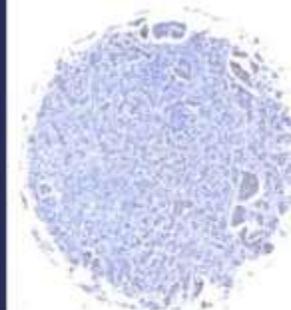
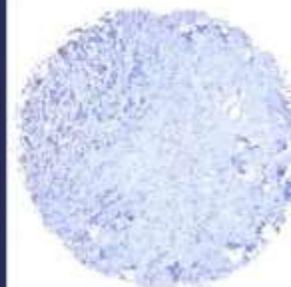
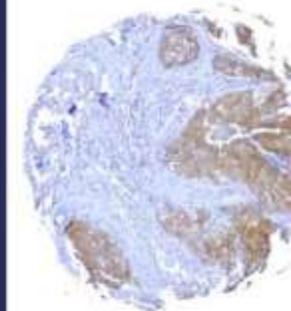
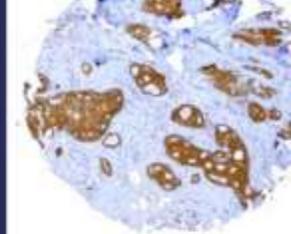
<sup>8</sup> *NIEHS, Research Triangle Park, NC, USA*

<sup>9</sup> *Merck Serono R&D, Darmstadt, Germany*

<sup>10</sup> *Fraunhofer ITEM, Hannover, Germany*

<sup>11</sup> *Boehringer Ingelheim Pharma, Biberach an der Riss, Germany*

<sup>12</sup> *Kanazawa Medical University, Ishikawa, Japan*



# H&E in experimental animals

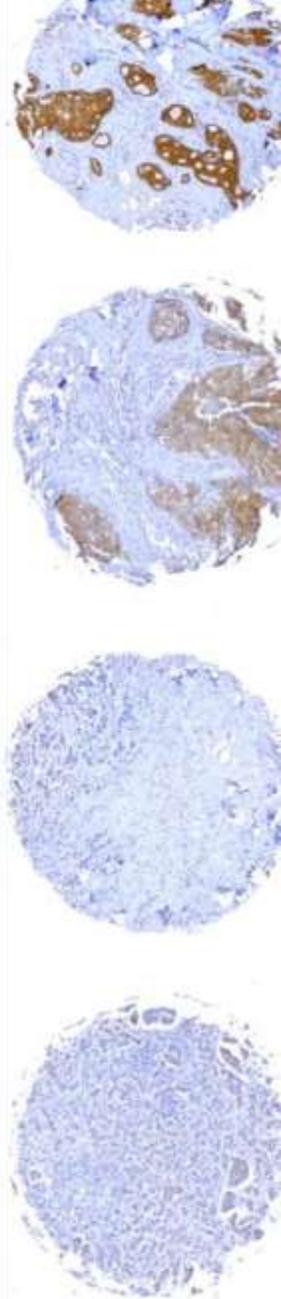
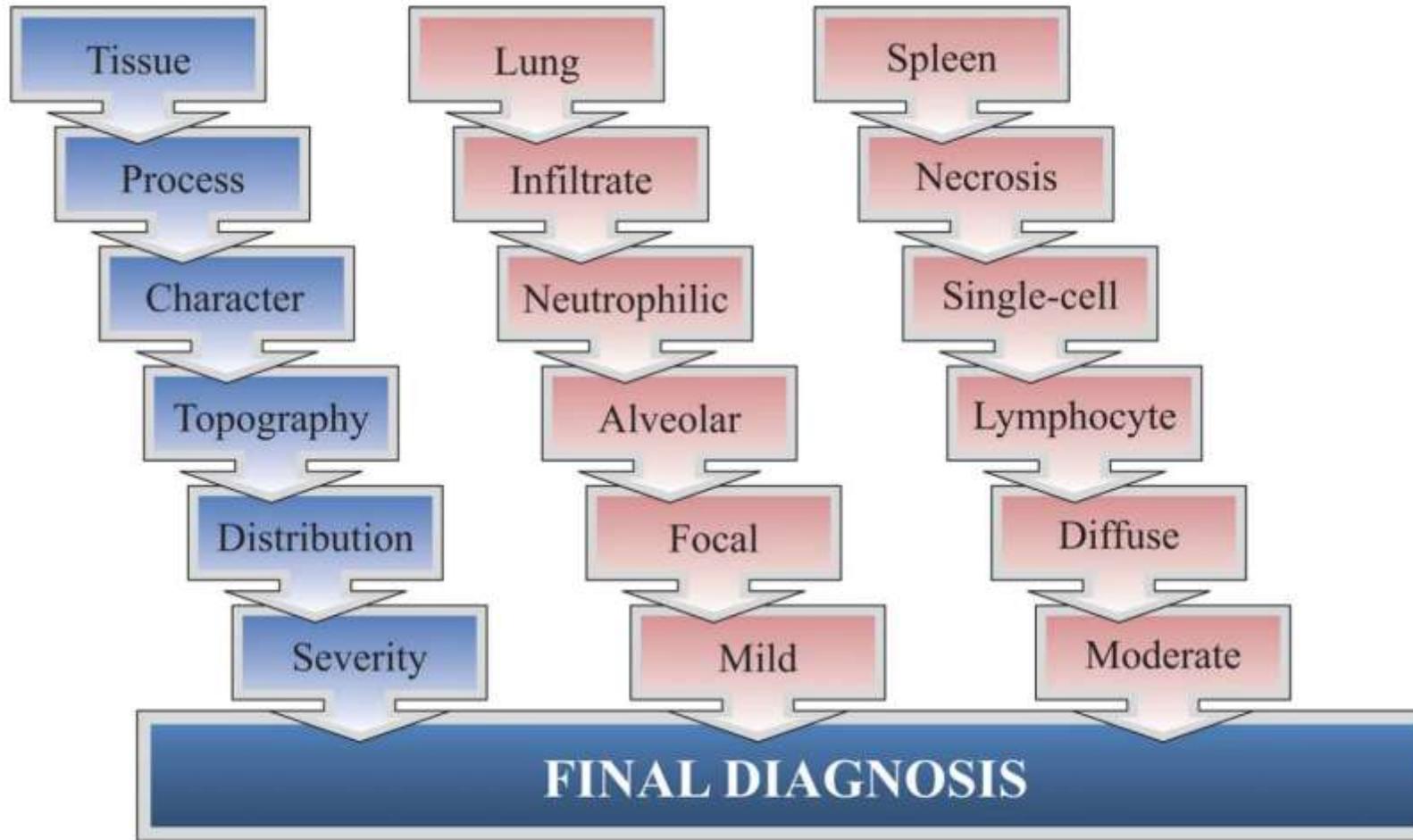


FIGURE 2.—Organization of a final diagnosis. Various modifiers and severity grades can be added to a basic key term or diagnosis to describe and categorize microscopic observations. In blue is an example of the fields possible in a diagnostic term, and examples are in red.

# H&E in experimental animals

TABLE 1.—Some commonly used severity grading schemes.

## Grading scheme I

- 0 = Not present
- 1 = Minimal (< 1%)
- 2 = Slight (1-25%)
- 3 = Moderate (26-50%)
- 4 = Moderately Severe/high (51-75%)
- 5 = Severe/high (76-100%)

## Grading scheme II

	A	B
Grade 1 = Minimal	(< 10%)	(0-25%)
Grade 2 = Mild	(10-39%)	(26-50%)
Grade 3 = Moderate	(40-79%)	(51-75%)
Grade 4 = Marked	(80-100%)	(76-100%)

## Grading scheme III

- Grade 1 = Minimal
- Grade 2 = Slight (same as mild)
- Grade 3 = Moderate
- Grade 4 = Marked (same as severe)
- Grade 5 = Massive (same as very severe)

Different experiments may have their specific grading criteria

SHACKELFORD et al., TOXICOLOGIC PATHOLOGY, vol 30, no 1, pp 93-96, 2002

# Following the guidelines

- Different experiments may have relevant guidelines, such as:
  - **ISO 10993-6:** Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation
  - **ISO 10993-23:** Skin Irritation Study in White Rabbits
  - **OECD 408:** Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents
- Etc.

Cell type/response	Score				
	0	1	2	3	4
Polymorphonuclear cells	0	1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Lymphocytes	0	1-5/phf	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Plasma cells	0	1-5/phf	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Macrophages	0	1-5/phf	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Giant cells	0	1-2/phf	3-5/phf	Heavy infiltrate	Sheets
Necrosis	0	Minimal	Mild	Moderate	Severe

<sup>a</sup> : phf = per high powered (400X) field

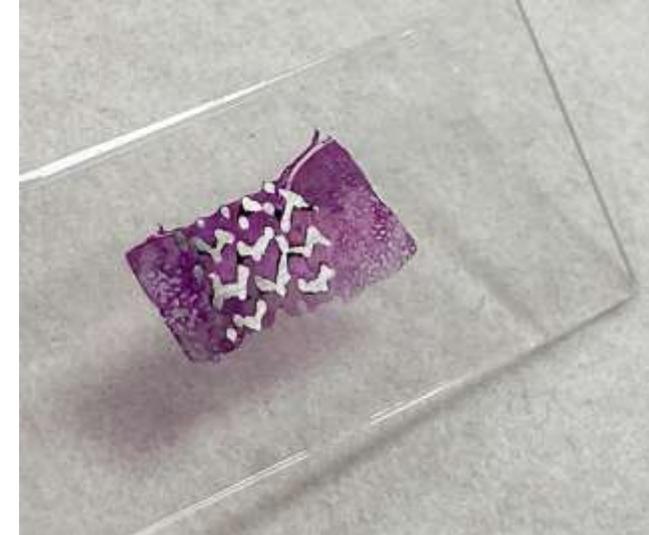
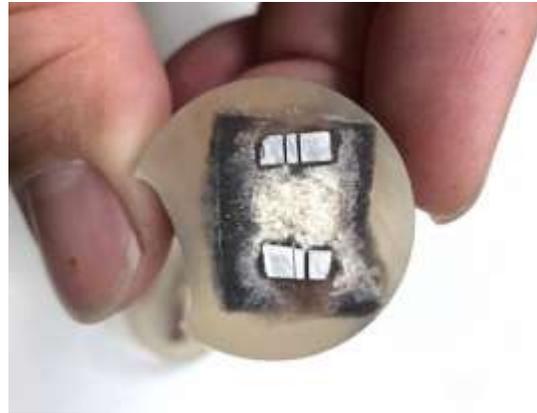
## ISO 10993-6

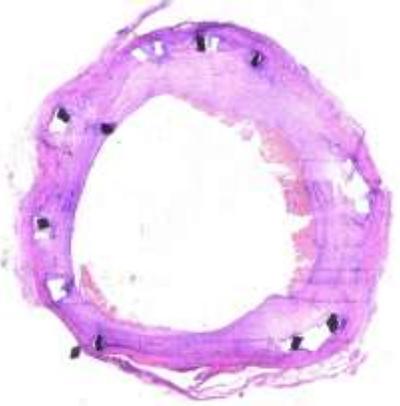
Response	Score				
	0	1	2	3	4
Neovascularisation	0	Minimal capillary proliferation, focal, 1-3 buds	Groups of 4-7 capillaries with supporting fibroblastic structures	Broad band of capillaries with supporting structures	Extensive band of capillaries with supporting fibroblastic structures
Fibrosis	0	Narrow band	Moderately thick band	Thick band	Extensive band
Fatty infiltrate	0	Minimal amount of fat associated with fibrosis	Several layers of fat and fibrosis	Elongated and broad accumulation of fat cells about the implant site	Extensive fat completely surrounding the implant



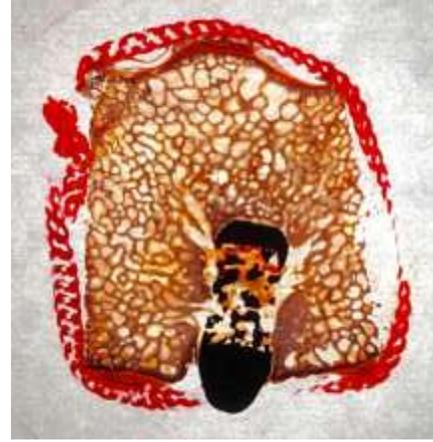
# MMA plastic embedded

- MMA - Methyl methacrylate = 壓克力
- Suitable for
  - **Hard tissue**: bone tissue without decalcification, tissue with implantation
  - **Super small tissue** or structures





Aorta (mice) with **stainless steel** vascular stent



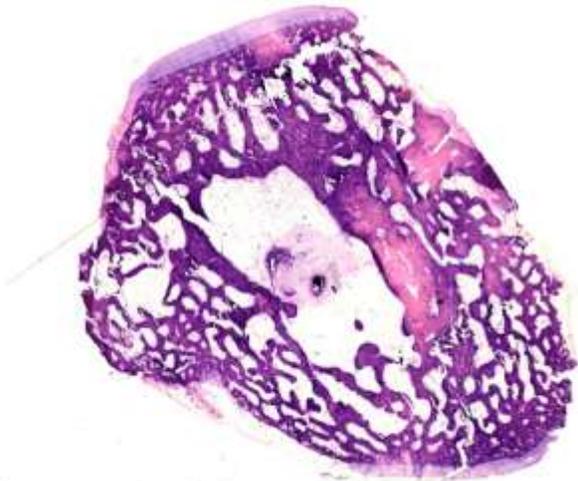
Bone with **steel nail**



Skin with tubular implantation



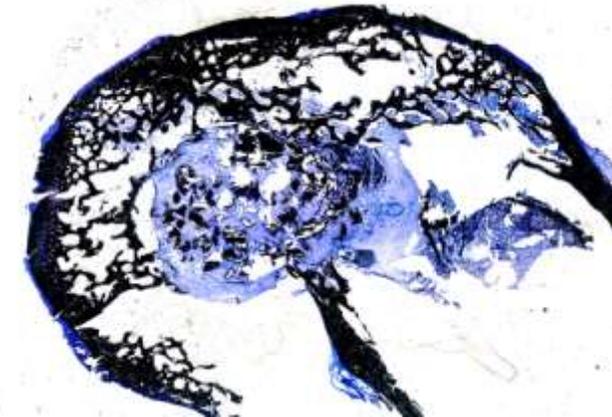
**Stainless implants of the bone**

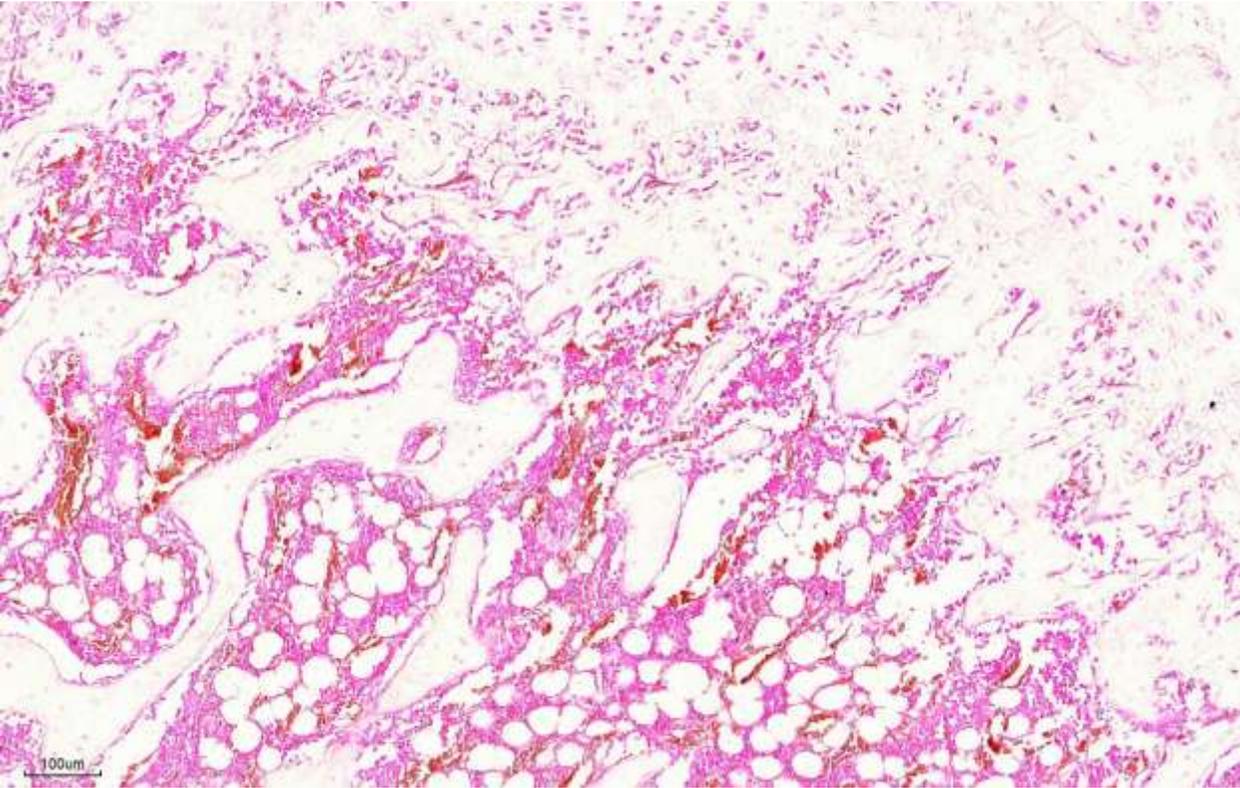


Metatarsal bone of a pig

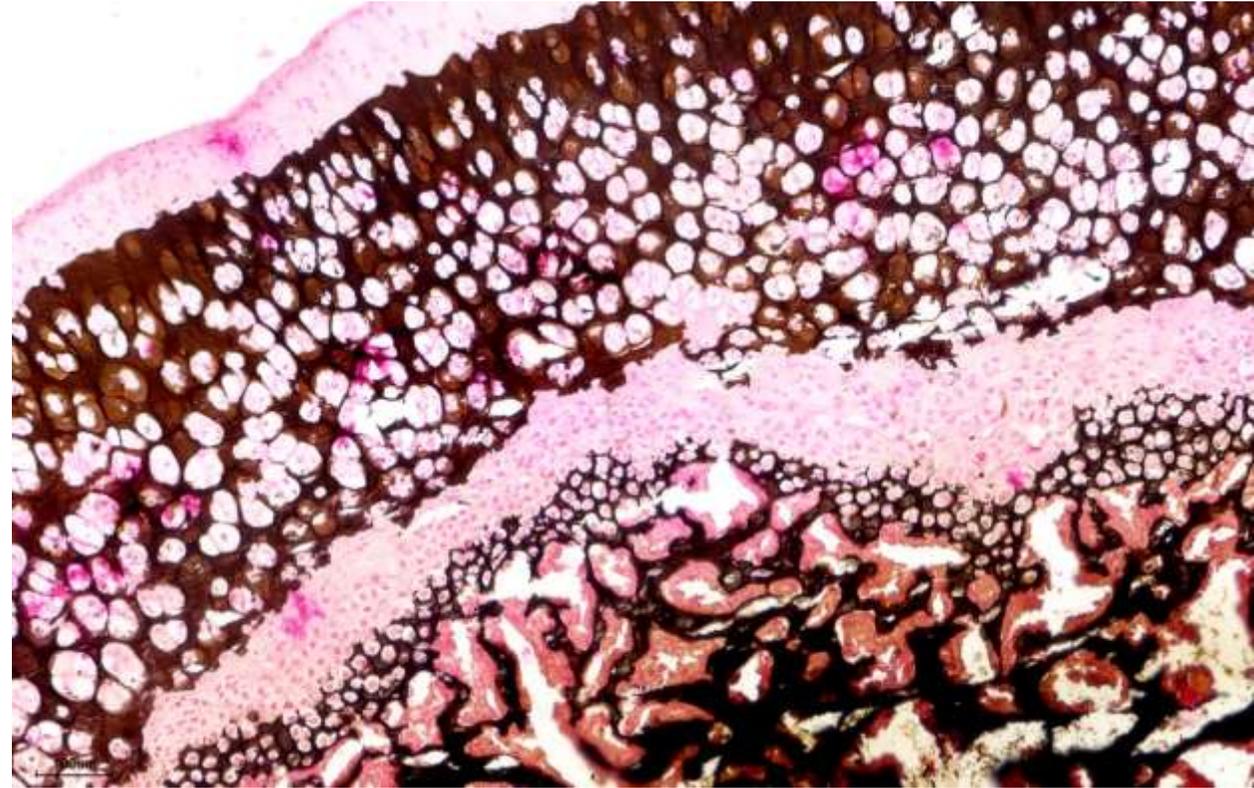


**Implants of the bone**





**Von Kossa, paraffin section**



**Von Kossa, MMA section**



# The Analytical Methods for Animal Models of Pulmonary Fibrosis

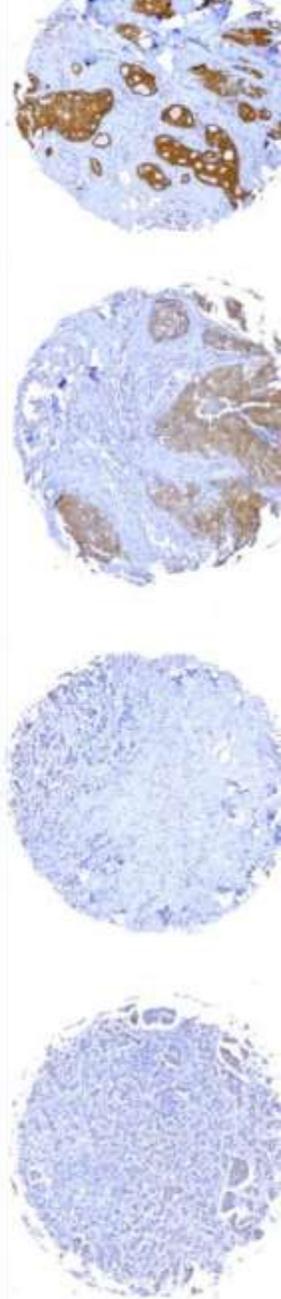
- **Ashcroft Score**

Research Reports

## Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples

Ralf-Harto Hübner<sup>1</sup>, Wolfram Gitter<sup>1</sup>, Nour Eddine El Mokhtari<sup>1</sup>, Micaela Mathiak<sup>1</sup>, Marcus Both<sup>1</sup>, Hendrik Bolte<sup>1</sup>, Sandra Freitag-Wolf<sup>2</sup>, and Burkhard Bewig<sup>1</sup>

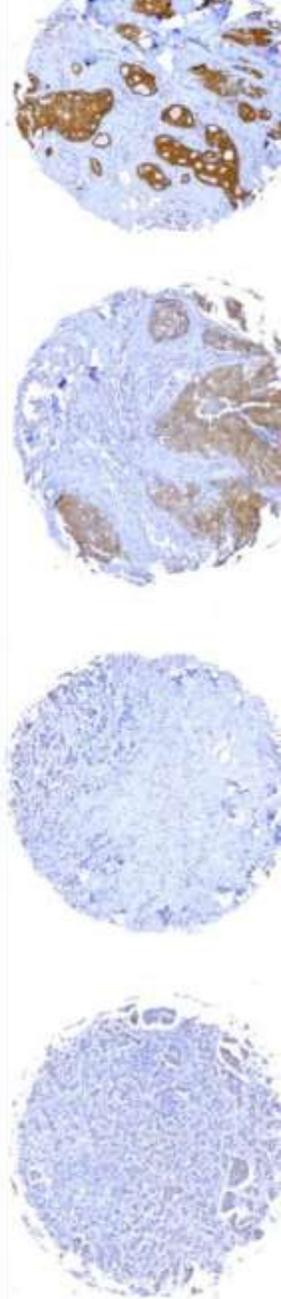
*BioTechniques* 44:507-517 (April 2008)  
doi 10.2144/000112729



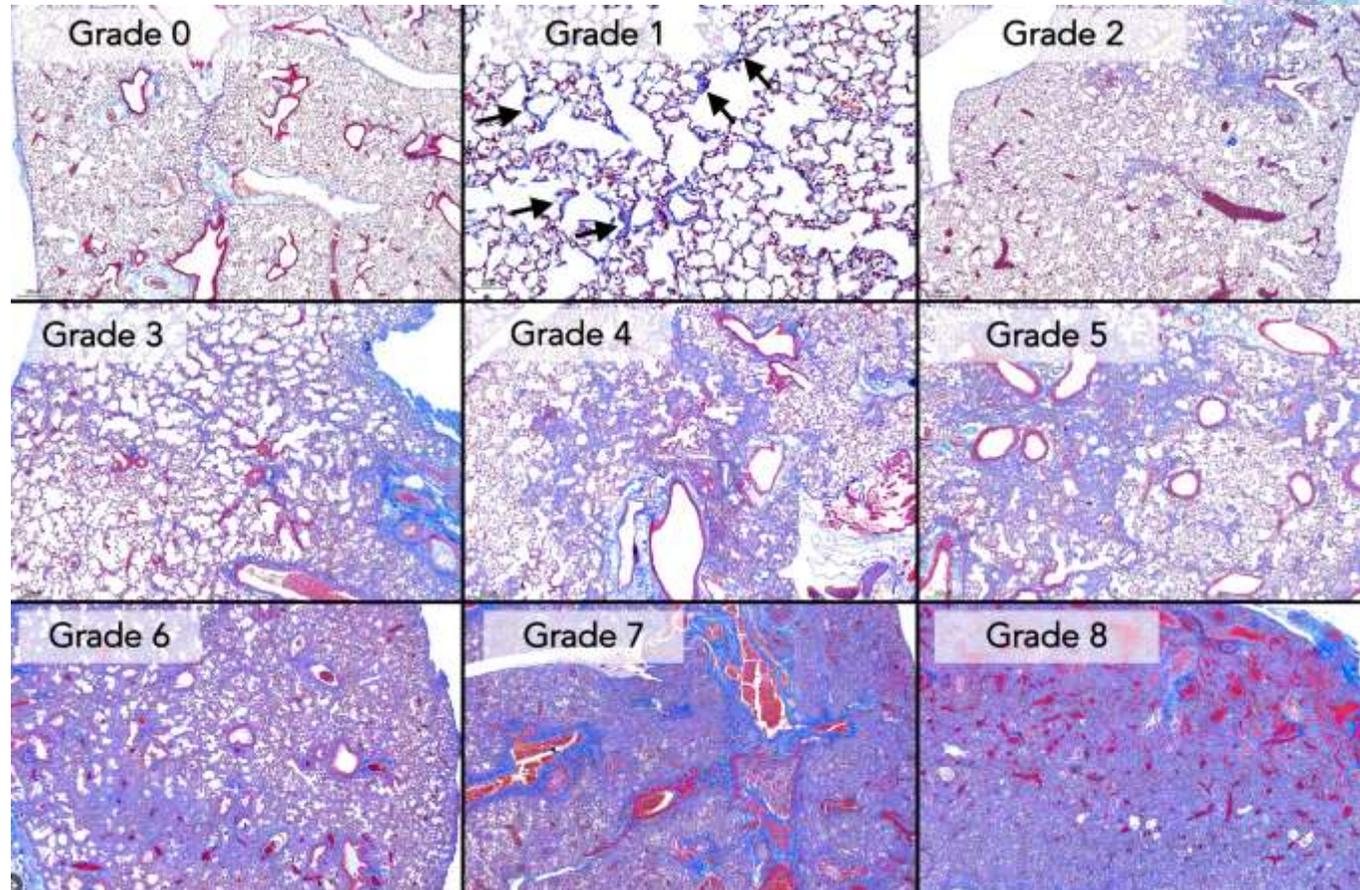
# The Analytical Methods for Animal Models of Pulmonary Fibrosis

Lever	Morphological analysis under the microscope	Score
0	Normal	0
1	Partially enlarged alveoli, alveolar septum thickened slightly ( $\leq 3$ times the normal)	1
2	Alveolar septum thickened moderately ( $>3$ times the normal), without damage to the lung architecture	2
3	Alveolar septum thickened moderately ( $>3$ times the normal), and increased fibrotic tissue increased	3
4	The area of fibrous tissue mass is less than 10% of the lung, with mild lung structural damage	4
5	The area of fibrous tissue mass is 10–50% of the lung, and with pulmonary structural damage	5
6	The area of fibrous tissue mass is more than 50% of the lung, and with obvious pulmonary structural damage	6
7	Severe lung damage, large areas of fibrosis, honeycomb lung	7
8	Full field fibrous tissue	8

## Modified Ashcroft Score



# The Analytical Methods for Animal Models of Pulmonary Fibrosis



# Grading criteria for **special stain**

Fedchenko and Reifenrath *Diagnostic Pathology* 2014, **9**:221  
<http://www.diagnosticpathology.org/content/9/1/221>



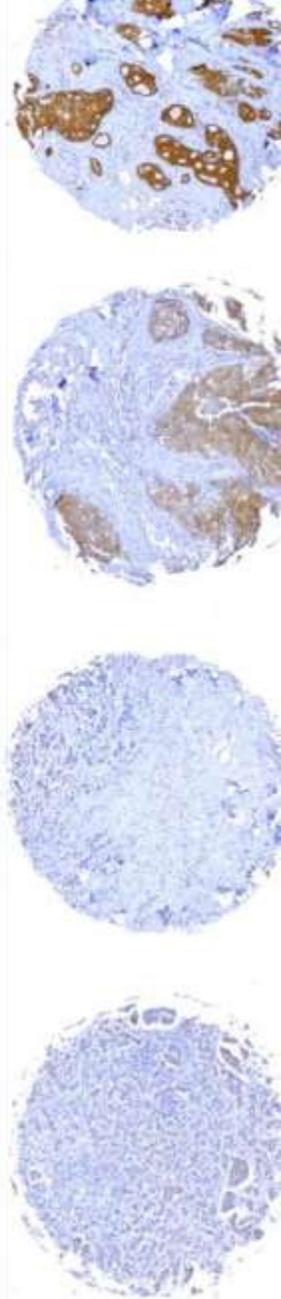
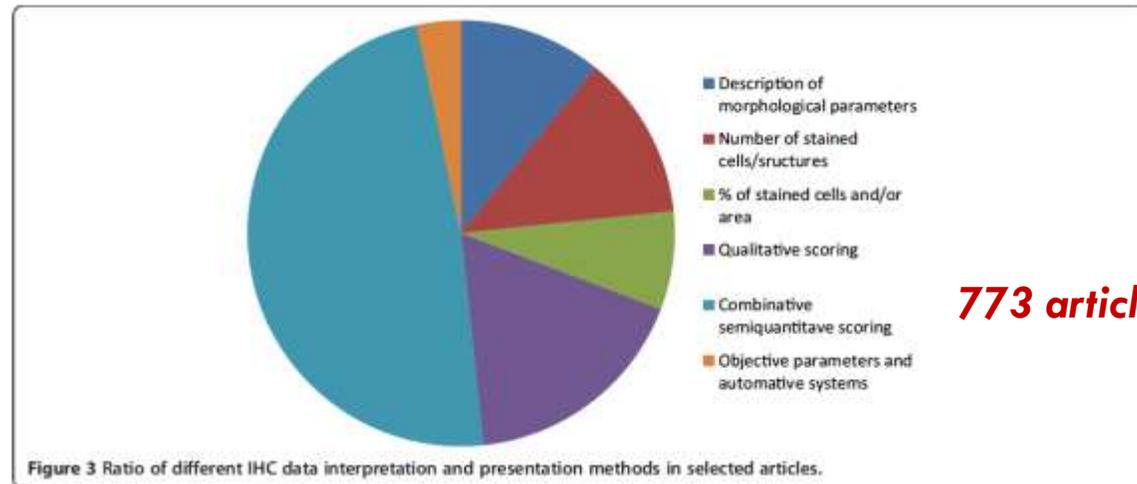
DIAGNOSTIC PATHOLOGY

REVIEW

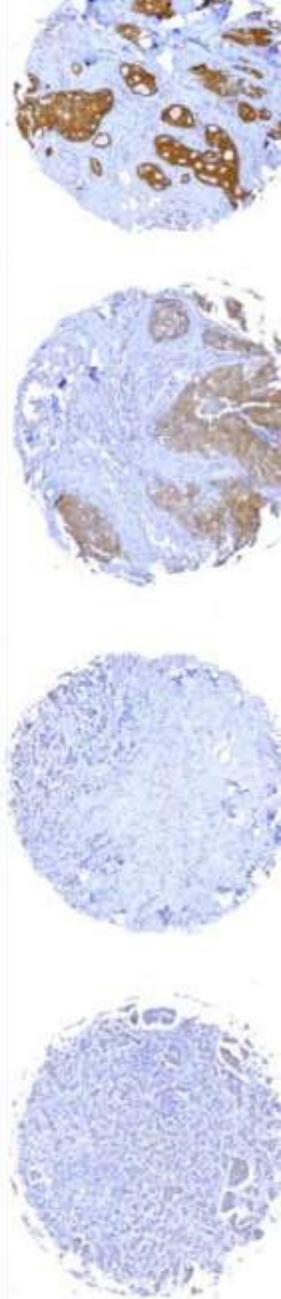
Open Access

## Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue – a review

Nickolay Fedchenko<sup>1,2\*</sup> and Janin Reifenrath<sup>1</sup>



# Grading criteria for **special stain**



**Table 1 Examples of combinative scoring system for histomorphometry**

Score	Bondarenko et al. for OCN* [68]	Bondarenko et al. for OPN [68]	Torre et al. for VEGF-A, VEGF-C and FGF-2 [102]
0	-	-	Negative
1	<25%	Expression in cells only	<5% of the cells with positive staining
2	25-50%	Expression in cells and osteoid	Between 5 and 50% of the cells with positive staining
3	50-75%	Focal expression in mature bone	>50% of the cells with weak staining
4	>75%	Diffuse expression in mature bone	> 50% of the cells with strong staining

\*OCN expression was evaluated as a percentage rate of immunopositive peri-implant bone tissue to all peri-implant bone area.

**Table 2 Scoring system used by Klein et al**

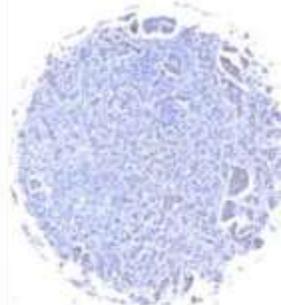
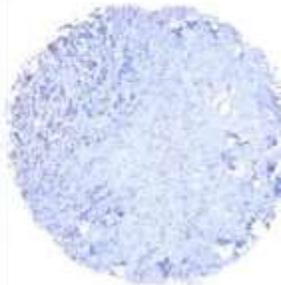
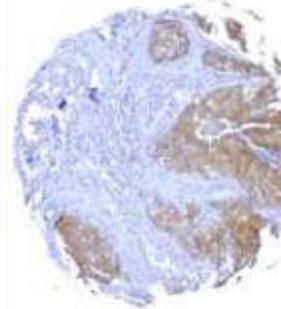
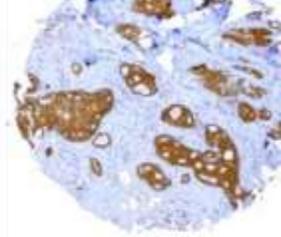
A % of IHC + labeled cells	B intensity of IHC reaction	Final score
0 = 0%	0 = no reaction	A + B = range from 0 to 6 [108]
1 = <30%	1 = weak	
2 = 30-60%	2 = mild	A × B = range from 0 to 9 [109]
3 = >60%	3 = strong	

# Grading criteria for **special stain**

- **IRS scoring system**

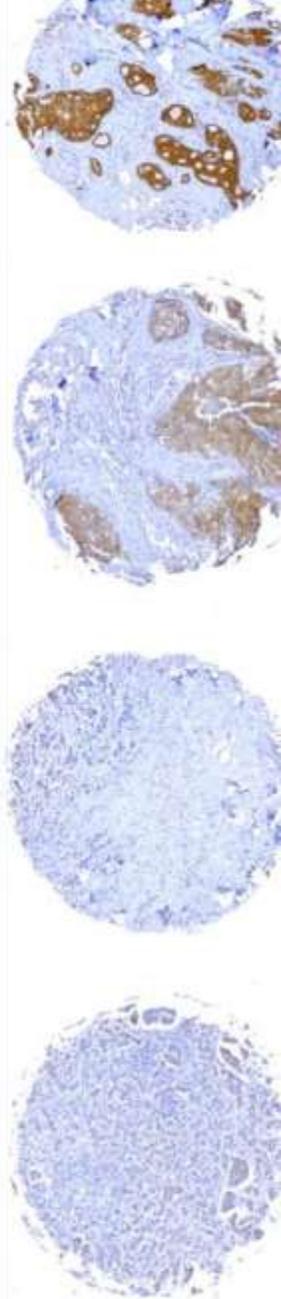
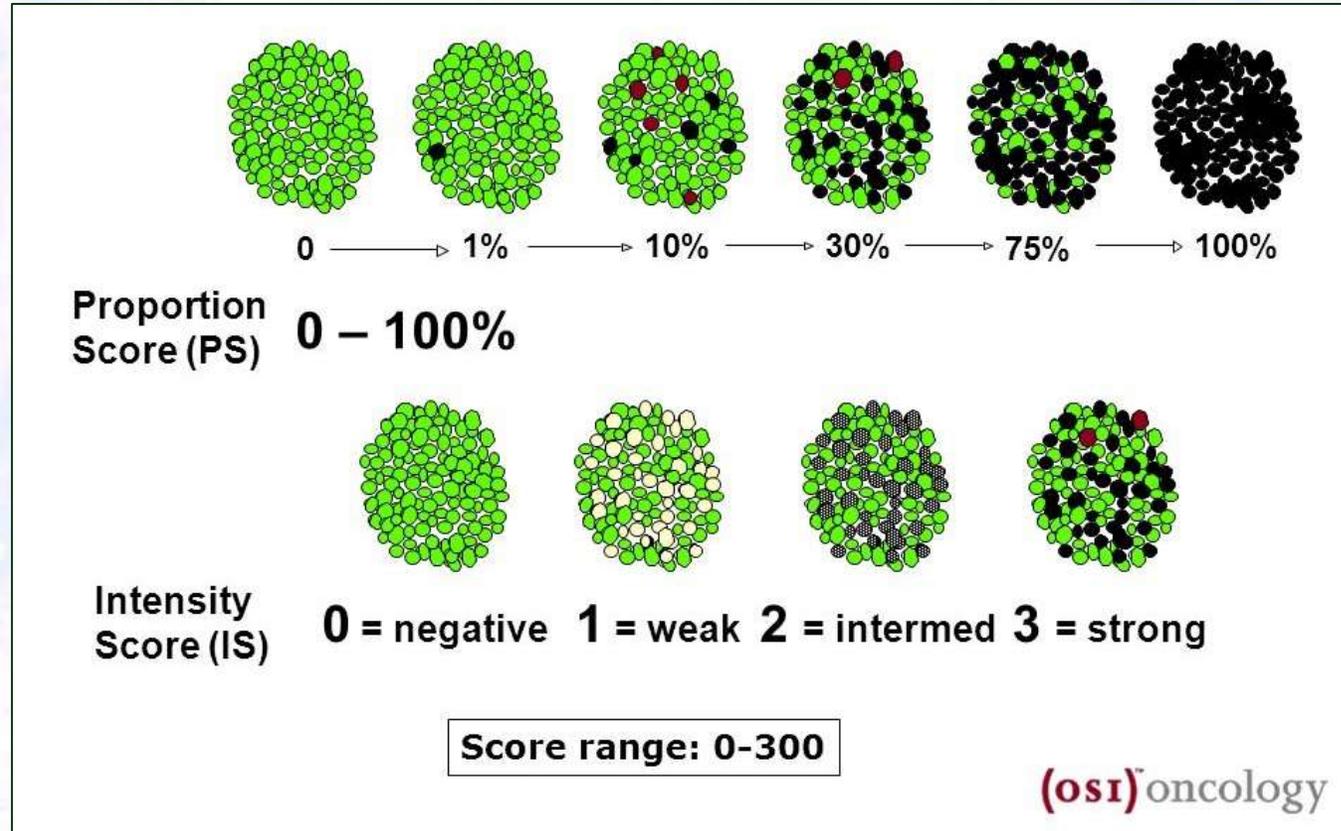
**Table 4 The immunoreactive score (IRS)**

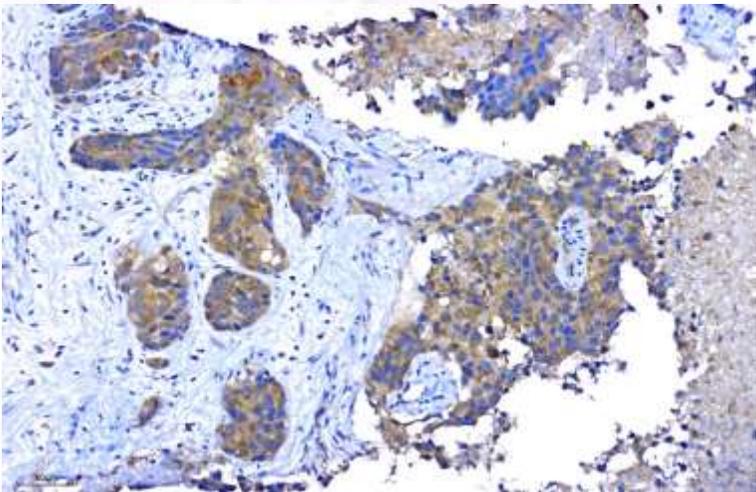
A (percentage of positive cells)	B (intensity of staining)	IRS score (multiplication of A and B)
0 = no positive cells	0 = no color reaction	0-1 = negative
1 = <10% of positive cells	1 = mild reaction	2-3 = mild
2 = 10-50% positive cells	2 = moderate reaction	4-8 = moderate
3 = 51-80% positive cells	3 = intense reaction	9-12 = strongly positive
4 = >80% positive cells	<b>Final IRS score (A × B): 0-12</b>	



# Grading criteria for IHC stain

- H-score system





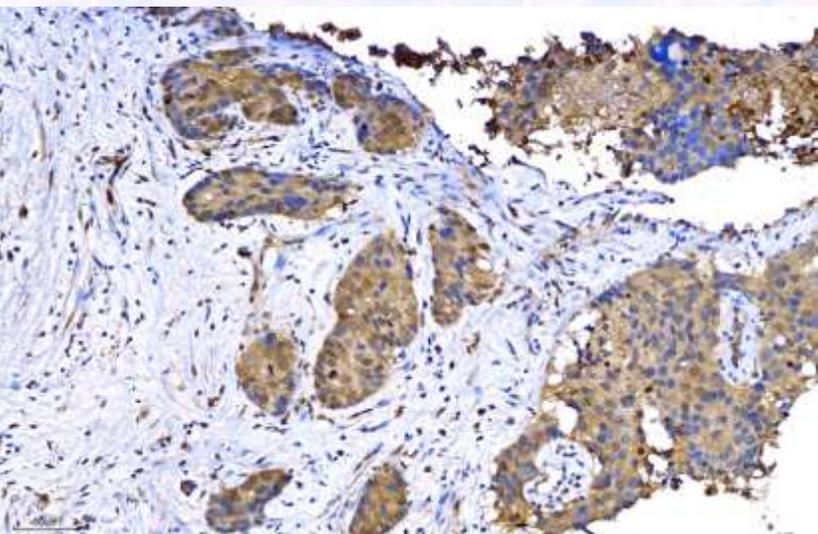
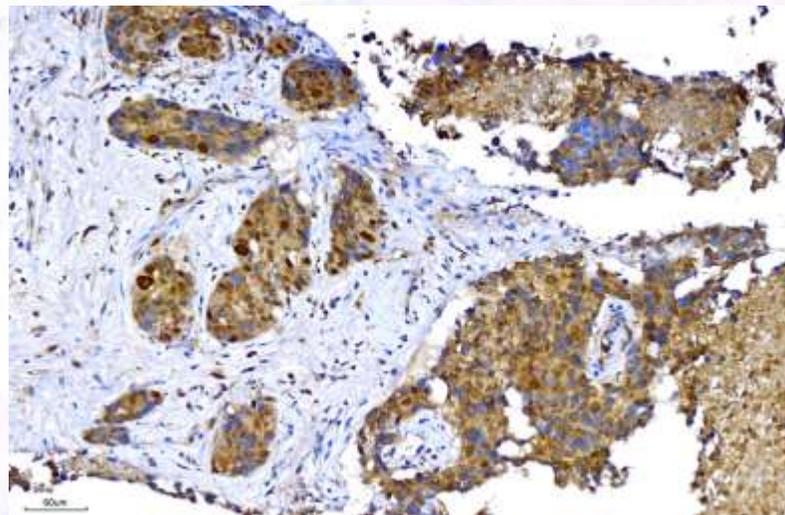
- Grade 0 = 55%
- Grade 1 = 20%
- Grade 2 = 10%
- Grade 3 = 5%

**H-Score** =  $55*0 + 20*1 + 20*2 + 5*3 = 75$

## H-score system

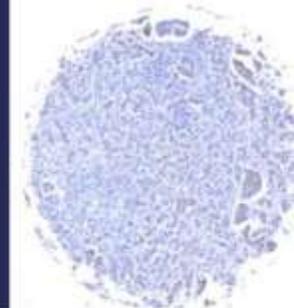
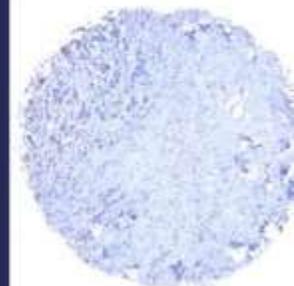
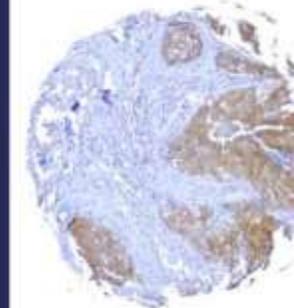
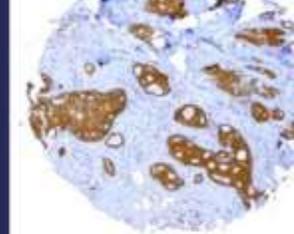
- Grade 0 = 40%
- Grade 1 = 5%
- Grade 2 = 25%
- Grade 3 = 30%

**H-Score** =  $40*0 + 5*1 + 25*2 + 30*3 = 145$



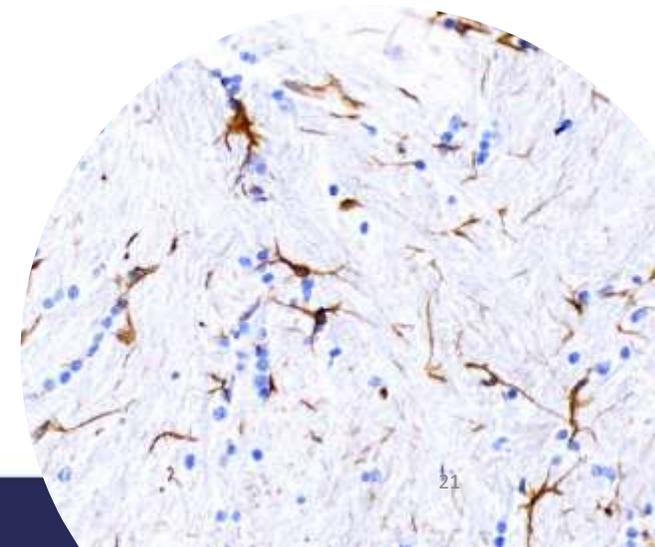
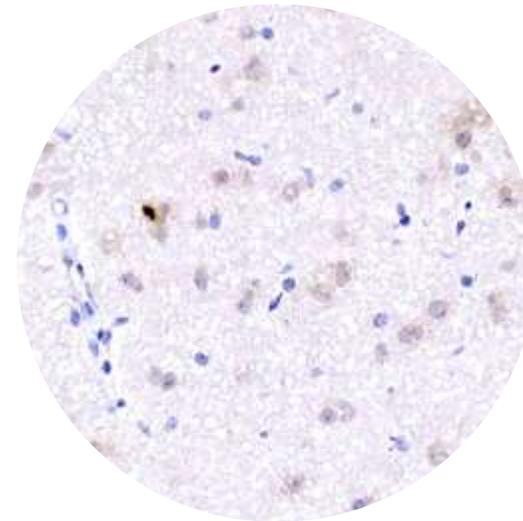
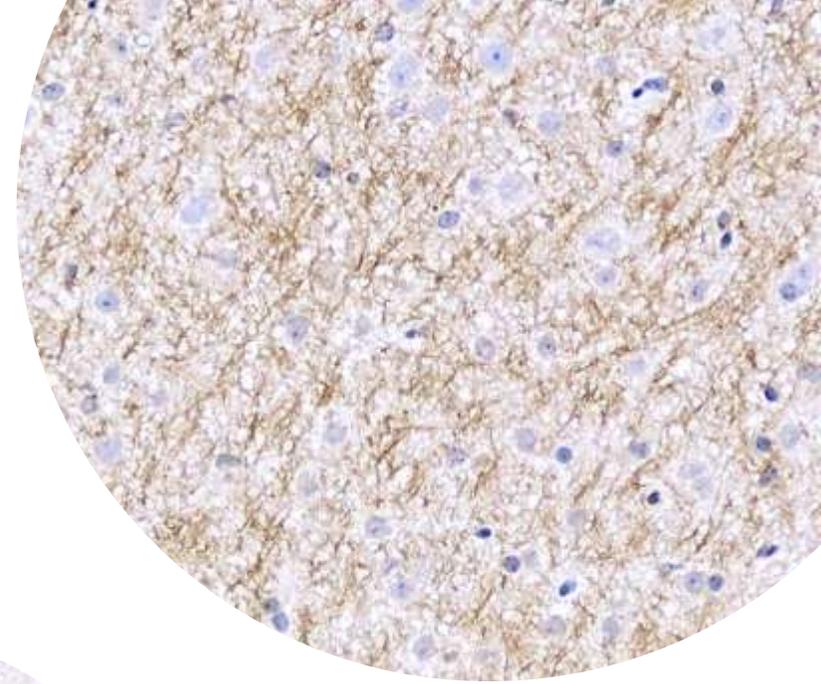
- Grade 0 = 40%
- Grade 1 = 20%
- Grade 2 = 30%
- Grade 3 = 10%

**H-Score** =  $40*0 + 20*1 + 30*2 + 10*3 = 110$



Different markers represent **different meanings** and have **different staining patterns**.

The same criteria should not be used for all determinations.



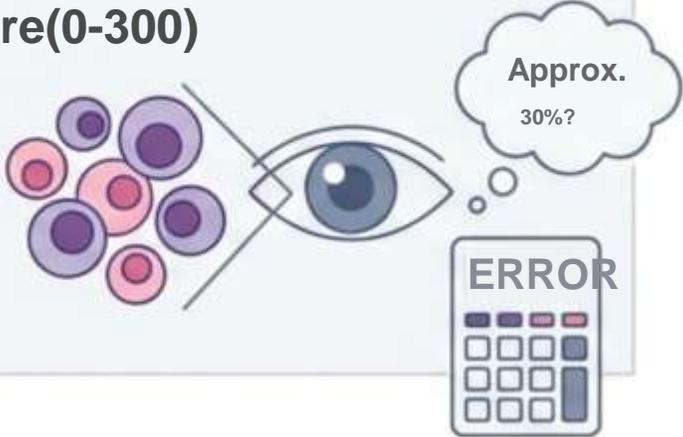
# 人工判讀的優勢與劣勢：主觀性與半定量

## 優勢(Pros)

直覺、速度快 (針對定性、少量切片而言)、定性正確性高(?)、無需數位基礎建設成本

## 劣勢(Cons) – 再現性存疑

- 觀察者間變異(Inter-observer Variability): 不同醫師對同一玻片的評分常有歧異 (Kappascores 僅落在0.4-0.6區間)。
- 半定量限制(Semi-quantitative): IRS (immune reactive score), H-score(0-300) 依賴人眼估計染色強度與比例，非連續性數據。
- 物理限制: 視野(FOV)受限導致「熱點(Hotspot)」偏差，且長時間判讀易產生疲勞。



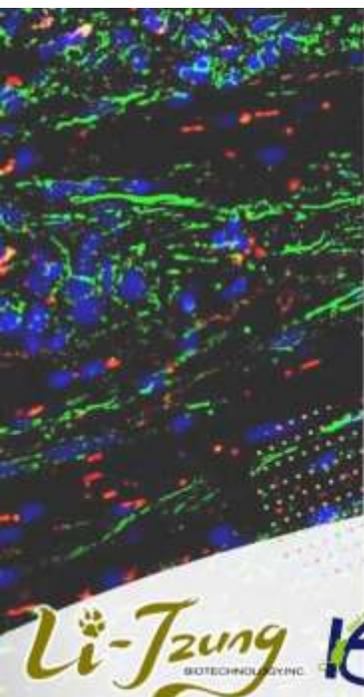
「人眼擅長診斷，但拙於精確計數」

## Comparative Analysis of Immunohistochemical Staining Intensity Determined by Light Microscopy, ImageJ and QuPath in Placental Hofbauer Cells

Katerina Cizkova<sup>1</sup>, Tereza Foltynkova<sup>1</sup>, Mariam Gachechiladze<sup>2</sup> and Zdenek Tauber<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, 779 00, Olomouc, Czech Republic and <sup>2</sup>Department of Clinical and Molecular Pathology & Laboratory of Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, 779 00, Olomouc, Czech Republic

Received November 19, 2020; accepted January 24, 2021; published online February 20, 2021



### Agreement of scores between used methods

Comparison	Weighted Kappa & Interpretation
QuPath vs ImageJ	0.945 (almost perfect agreement)
Light microscope vs ImageJ	0.446 (moderate agreement)
Light microscope vs QuPath	0.527 (moderate agreement)

ImageJ vs QuPath (軟體間):

**Kappa = 0.945**  
**(Almost Perfect)**

Light Microscopy vs Software  
(人工與軟體):

**Kappa = 0.446 – 0.527**  
**(Moderate)**

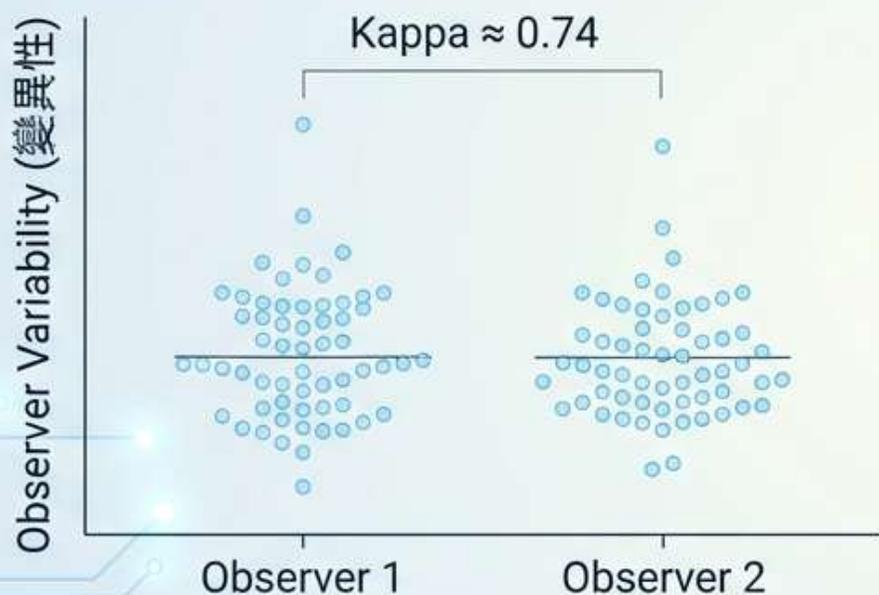
Source: Cizkova et al. (2021)

結論: 人工判讀傾向高估染色強度 (Overestimation), 且觀察者變異顯著高於數位演算法。

# 人眼判讀 vs. 演算法分析：一致性的挑戰

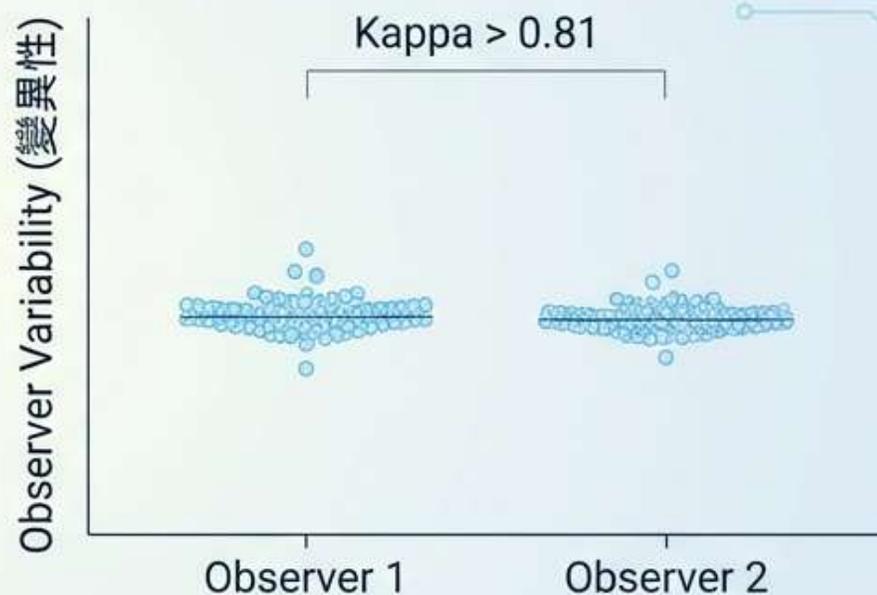
Data Consistency Comparison: Manual vs. Digital

## Manual Scoring (人工評分)



人眼受疲勞、環境光及視錯覺影響，難以維持一致性。

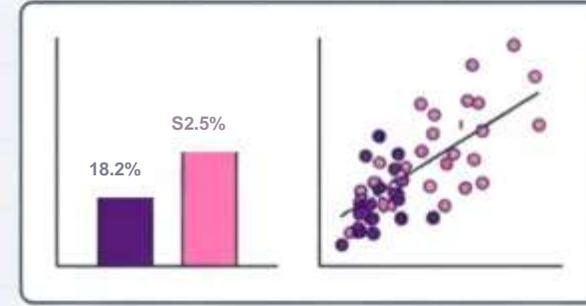
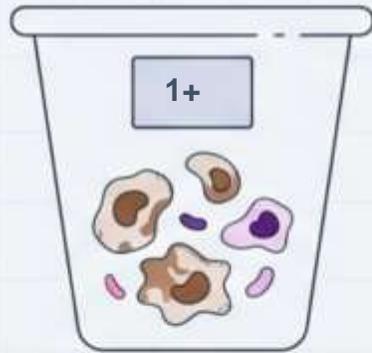
## Digital Analysis (數位分析)



數位演算法提供客觀、可重複的定量數據，特別是在弱染色判讀上更具優勢。

# 科學期刊為逐漸何偏好數位數據？

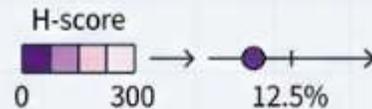
從「描述性病理」轉向「分析性病理」



分析性病理(Analytic Pathology)：精確數位數據

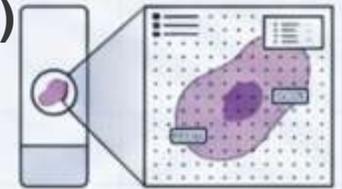
## 精確量化(Quantification)

將 H-score 的離散區間轉為連續變數  
(Continuous Variables，如12.5%陽性率)  
提升整體統計檢定力。



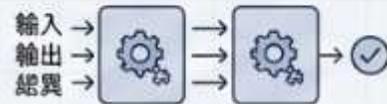
## 全域分析(Whole Slide Analysis)

演算法掃描全玻片數萬個細胞，消除人眼選擇 Hot spot 的取樣偏差。



## 可再現性(Reproducibility)

演算法在相同參數下輸出完全一致的結果，消除觀察者變異。



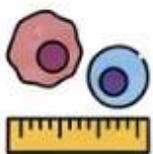
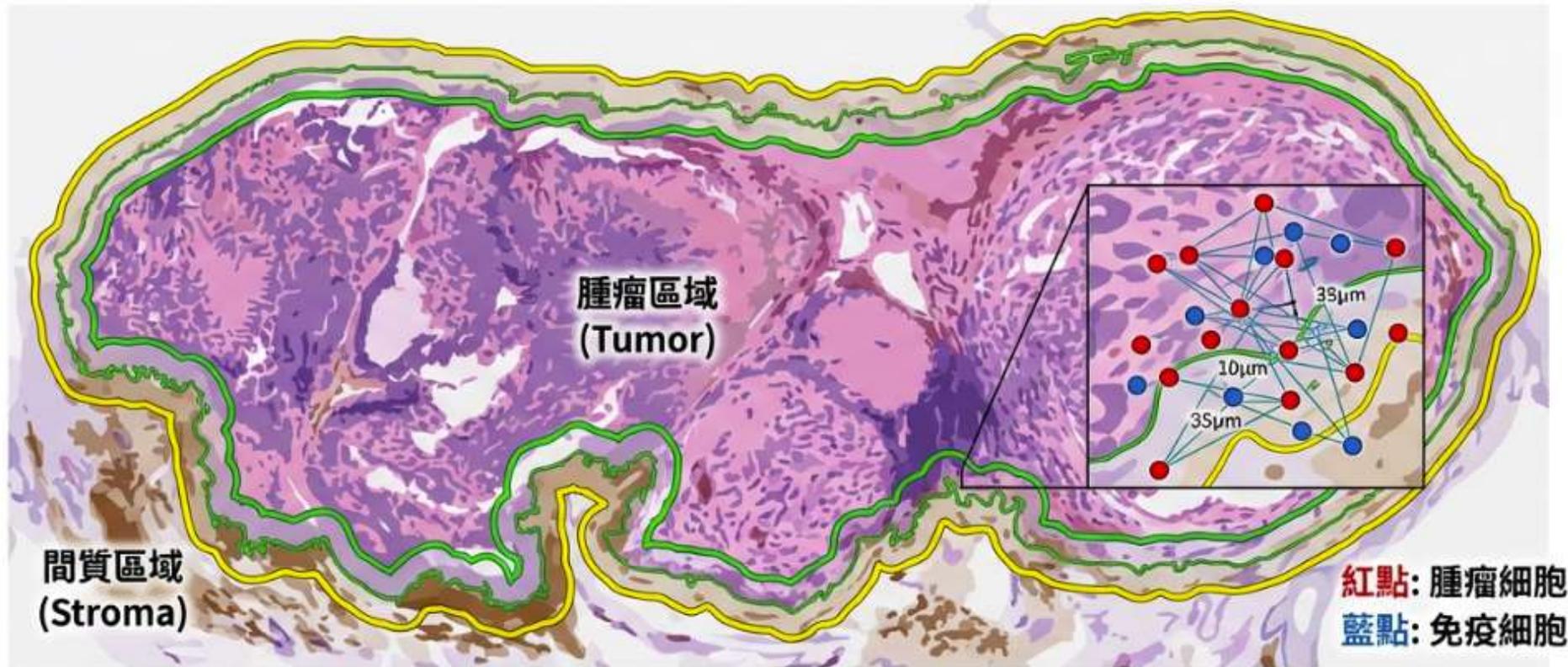
## 多維度特徵

可提取人眼無法辨識的「亞視覺特徵」  
如紋理特徵與空間分佈。

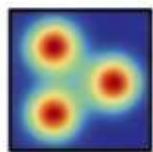


A NotebookLM

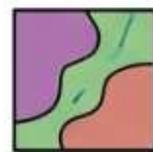
# 超越計數：空間生物學與微環境分析



- 空間鄰近分析 (Proximity Analysis) : 測量免疫細胞與腫瘤距離



- 密度熱圖 (Density Heatmaps) : 可視化 Ki67 等熱點分佈

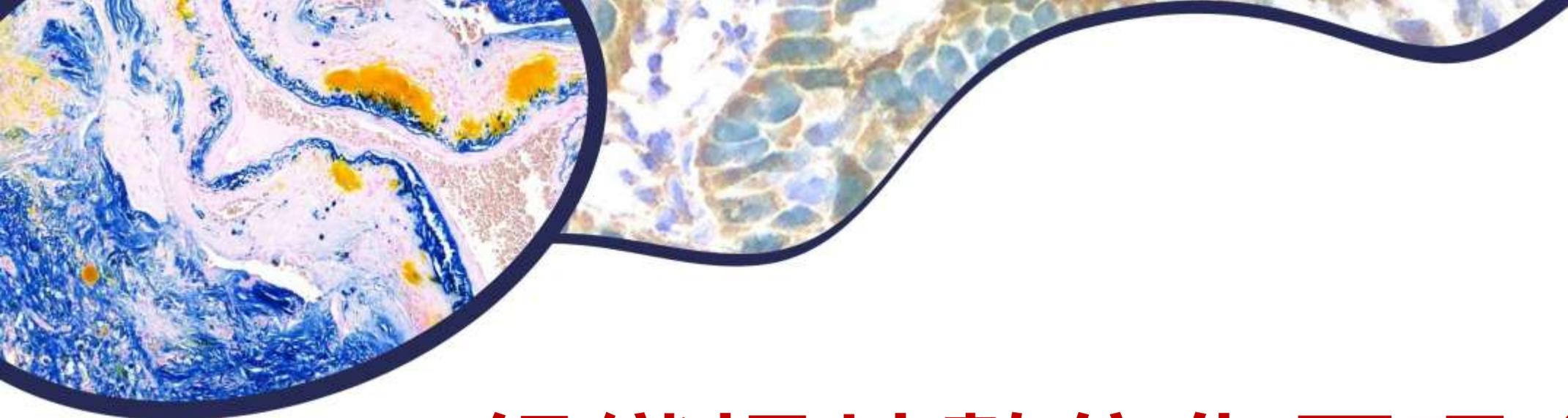


- 微環境 (TME) : 定義腫瘤 vs. 間質 (Tumor vs. Stroma)

NotebookLM

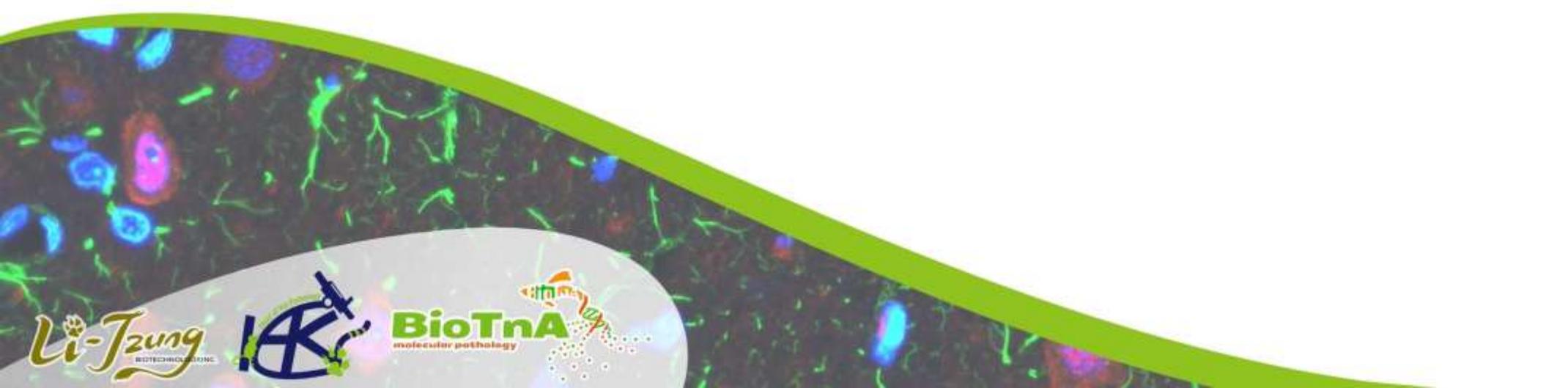
# 總結比較：傳統光學 vs 數位運算

特性 (Feature)	傳統光學顯微鏡 (Traditional)	數位病理與 AI (Digital & AI)
觀察方式	人眼透鏡觀察 (Analog)	螢幕像素觀察 (Digital/Pixel)
判讀性質	定性/半定量 (Qualitative)	精確定量 (Quantitative)
客觀性	主觀，受疲勞影響	客觀，高度一致 (Objective)
分析範圍	視野受限 (Hotspots)	全玻片分析 (Whole Slide)
數據維度	僅形態學	亞視覺特徵/空間分析
協作能力	物理傳遞，受限	遠距即時會診 (Telepathology)
主要優勢	快速診斷、成本低	適合大數據研究、發表數據強



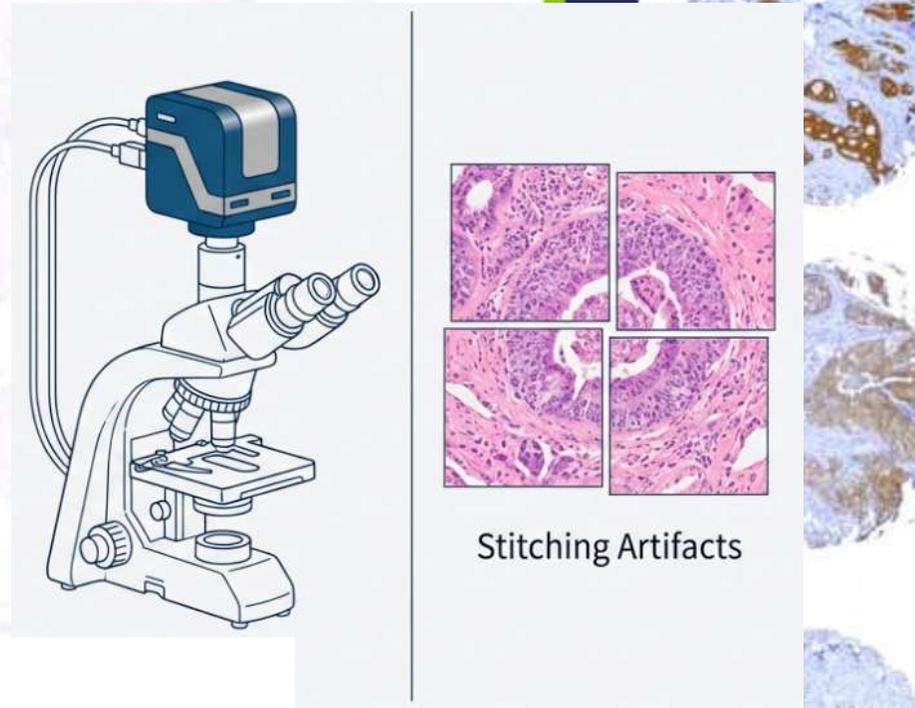
# 組織切片數位化原理介紹

顯微攝影與切片掃描



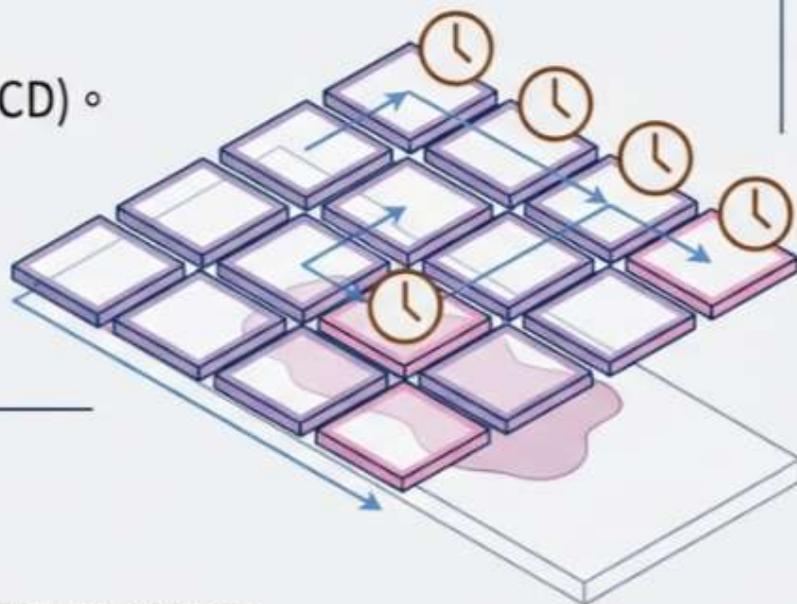
# 數位化開端 – 外接式照相機

- 使用CCD (Charge-Coupled Device)系統
- 以轉接環(C-mount)外接單眼相機
  - **缺點：**
    - 常有邊緣對齊誤差(stitching artifacts)
    - 無法實現大通量(high-throughput)作業
    - 無法進行大數據分析及AI訓練



# 第一代全玻片掃描：CCD 感光元件技術

技術核心：電荷耦合元件  
(Charge-Coupled Device, CCD)。



## 優勢：

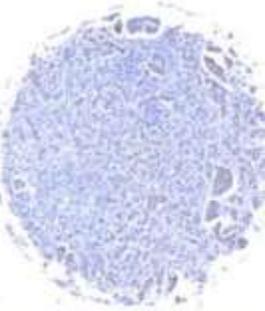
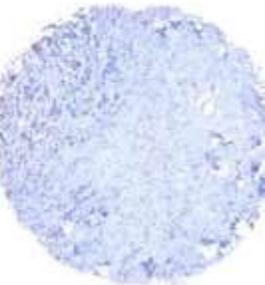
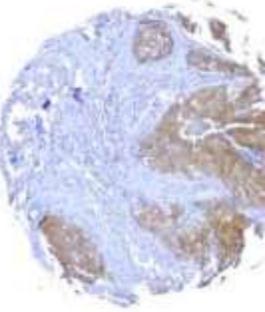
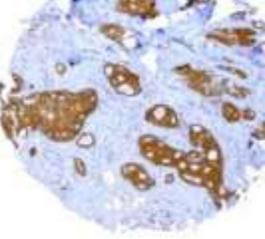
- 高色彩保真度 (Color Fidelity)：在低噪點和色彩還原上表現優異，特別適合需要高動態範圍的螢光影像。
- 高靈敏度：對微弱光線（如螢光）的捕捉能力強。

工作流程限制  
(Stop-and-Stare)：

- CCD 的讀出速度 (Readout speed) 較慢。
- 早期掃描器多採用「停-拍-動」(Stop-and-Stare) 的矩陣掃描方式。每次移動視野後需暫停以進行曝光，導致掃描一片玻片耗時較長，無法滿足大型實驗室的臨床通量需求。

# 第二代數位攝影系統 – CMOS

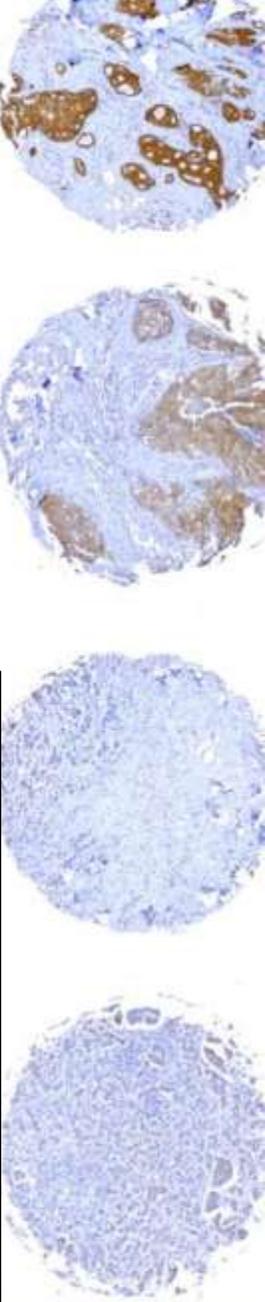
- **互補式金屬氧化物半導體 (CMOS)**：隨著半導體製程進步，每個像素點都內建獨立的放大器，可以直接將電荷轉換為電壓並平行讀出
- 優點：**讀取速度極快**，功耗低，製程成本較低。
- 早期缺點：因每個像素放大器差異，**導致雜訊較高 (FPN)**
- 突破：現代製程與降噪演算法已大幅改善畫質，成為**數位單眼與手機的主流**



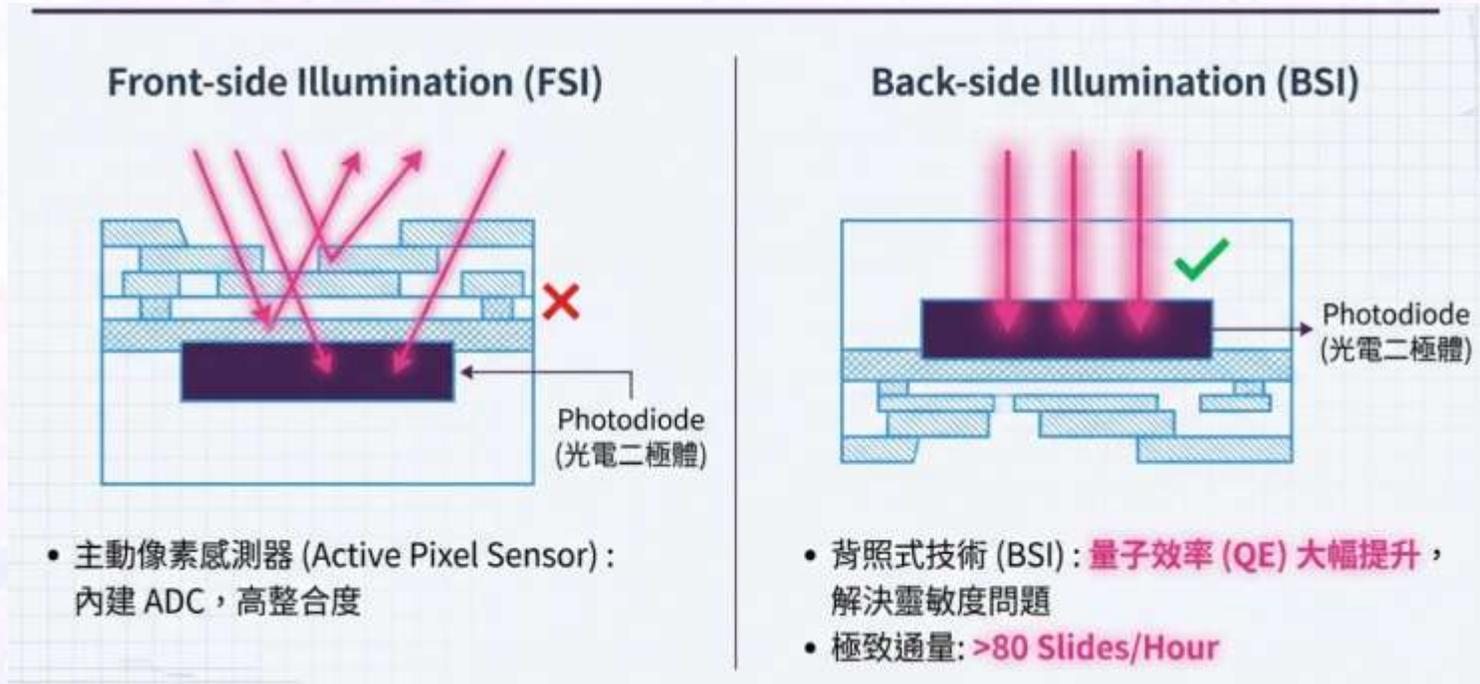
# 第二代數位攝影系統 – CMOS到sCMOS

- **Scientific CMOS (sCMOS)** 結合了 CCD 的低雜訊特性與 CMOS 的高速讀取優勢。
- 這是目前高階病理掃描儀與螢光顯微鏡的**標準配備**

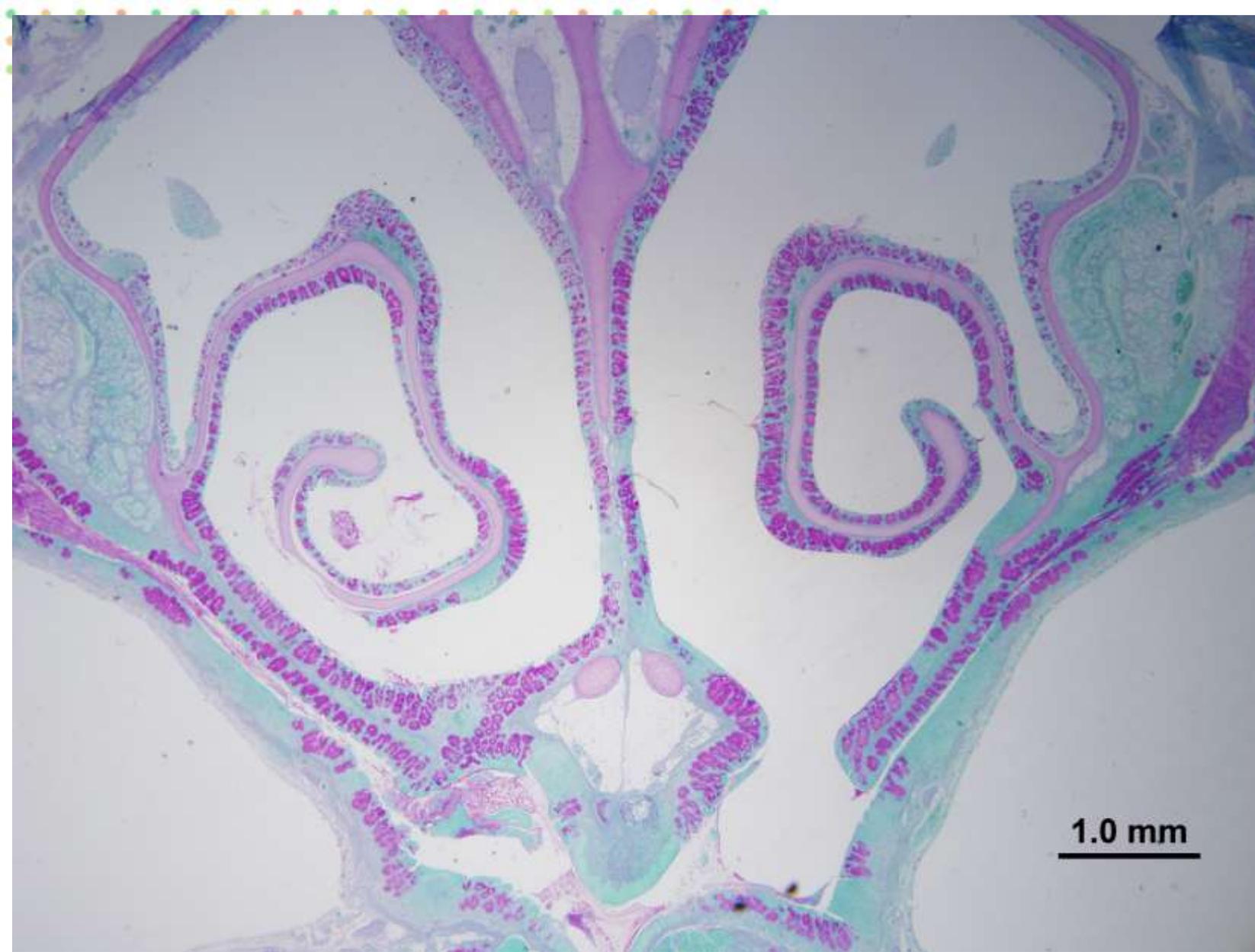
特性指標	CCD	CMOS	sCMOS
讀取機制	序列讀取 (慢)	平行讀取 (快)	<b>平行讀取 (極快)</b>
讀取雜訊	低 (5-10 e-)	中高	<b>極低 (1-2 e-)</b>
幀率 (FPS)	低 (< 10 fps)	高	<b>極高 (&gt; 100 fps)</b>
動態範圍	高	中	<b>極高 (16-bit)</b>
主要應用	天文、舊式顯微鏡	消費電子、監控	<b>高階科研、病理掃描</b>



# 第二代數位攝影系統 – FSI vs. BSI架構



- FSI架構：金屬配線層 (Metal Wiring) 位於光電二極體(Photodiode)的上方，量子效率 (QE) 通常限制在 50-60% 左右，且斜射容易被阻擋。
- **BSI架構**：將矽晶圓翻轉並磨薄，使光線從背面直接照射到光電二極體，量子效率可輕易突破 95%，對微弱訊號極其敏感。**較無暗角的問題**。



- FSI架構的攝影系統，  
圖像容易有暗角產生

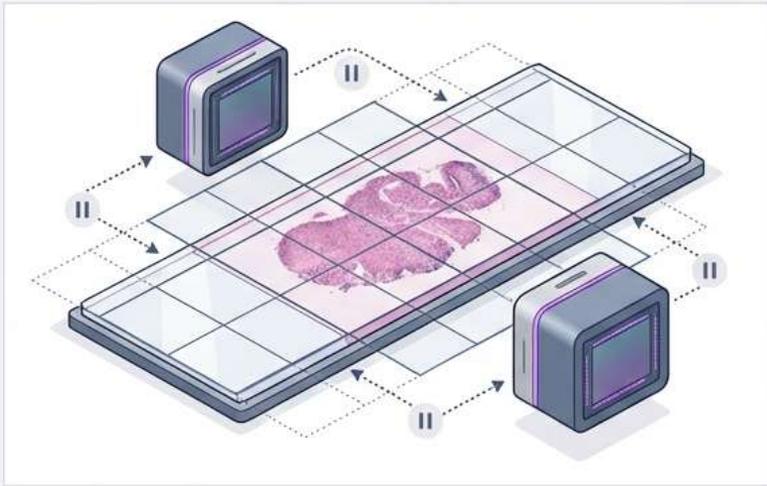
- BSI架構，可做到無縫拼接成大圖，使全玻片清晰影像成為可能



# 數位切片掃描儀

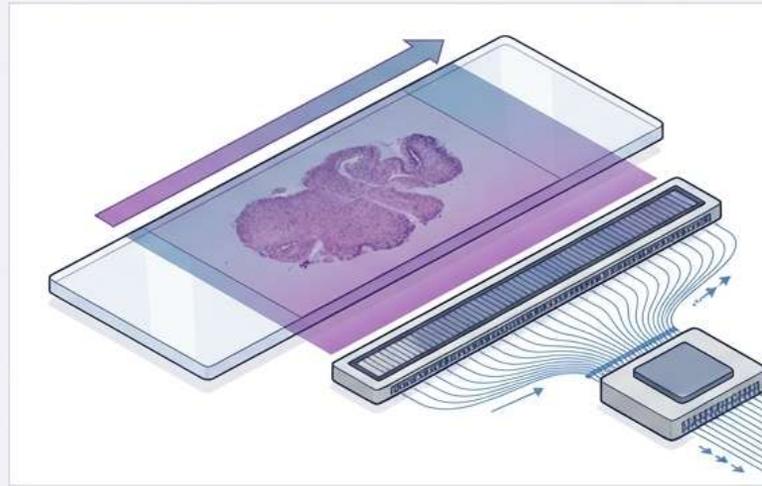
## 掃描模式：圖磚拼接 vs. 線性掃描

### 圖磚掃描 (Tile Scanning)



傳統模式 (Legacy) - 適用於多焦平面 (Z-stack)，但速度較慢。

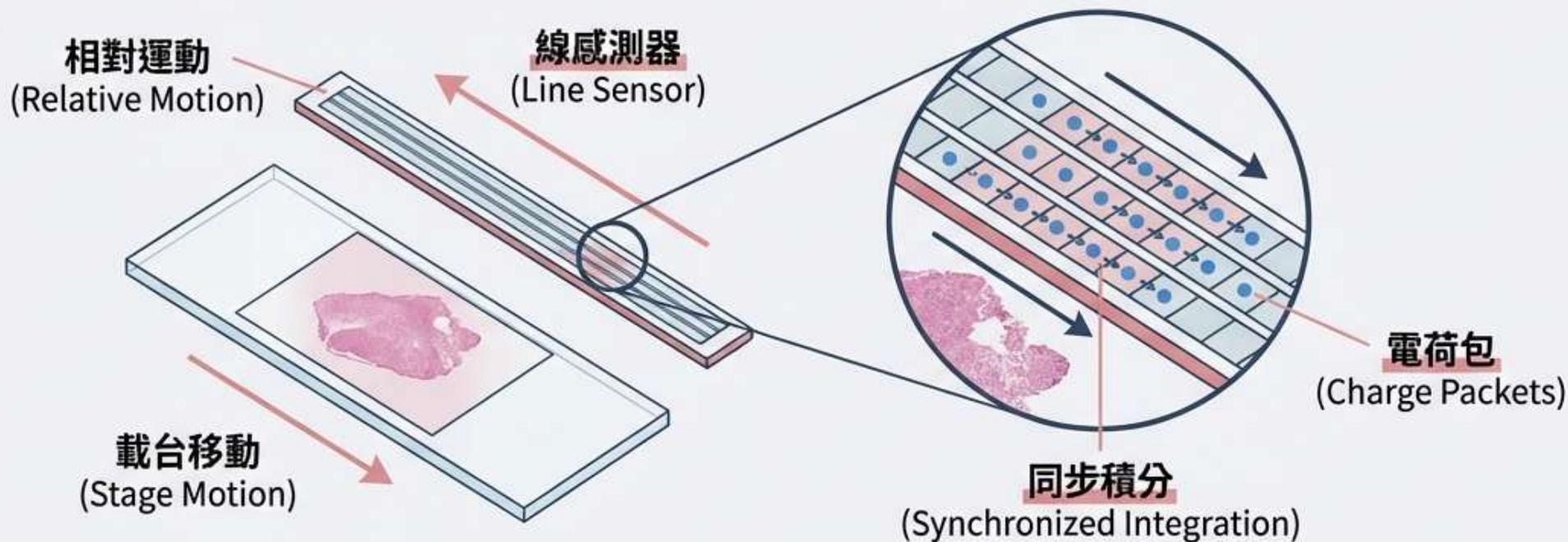
### 線性掃描 (Line Scanning)



現代高通量標準 - 配合 CMOS 與即時對焦，實現每分鐘 1-2 張玻片高速數位化。

NotebookLM

# 高通量掃描機制：線掃描與 TDI 技術



**線掃描 (Line Scanning):** 不同於傳統相機的「矩形拍照」，掃描儀使用線性陣列連續掃描玻片。

**TDI (時間延遲積分):**

- 原理：隨著載台移動，感測器內的電荷同步轉移，對同一組織點進行多次曝光積分。
- 效益：在不停止載台的情況下大幅增加訊號強度，實現高速且無動態模糊 (Motion Blur) 的成像，將掃描時間縮短至 60 秒內。

# 目前常見類型



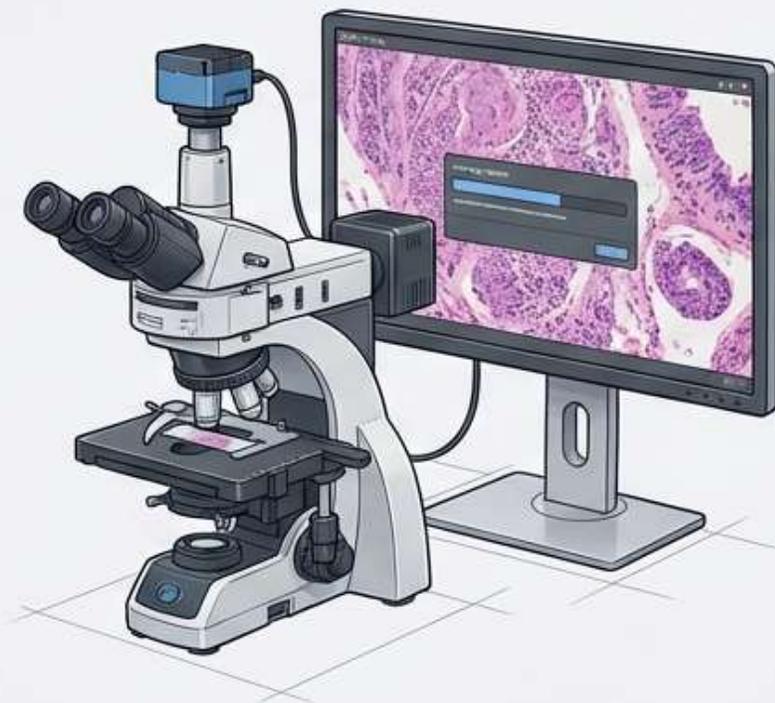
## 高通量機型 (High-Throughput)

- 容量：400+ 玻片
- 場景：醫學中心、中央實驗室
- 全自動化 (Walk-away)



## 桌上型/輕量型 (Compact)

- 容量：1-6 玻片
- 場景：冰凍切片、科研、遠距站點
- 代表：Motic 等靈活方案



## 混合型 (Hybrid)

- 結合即時顯微鏡操作與掃描功能

# 目前常見類型



桌上型個人化掃片機



300片倉式高通量掃片機

# 全球市場版圖與主要廠商

## 臨床高通量巨頭 (The Clinical Giants)

主導臨床診斷與大型工作流。

Noto Sans TC



BIOSYSTEMS

Leica Biosystems



Hamamatsu



Philips



Roche

## 技術創新者 (The Innovators)

Noto Serif TC



3DHistech

3DHistech



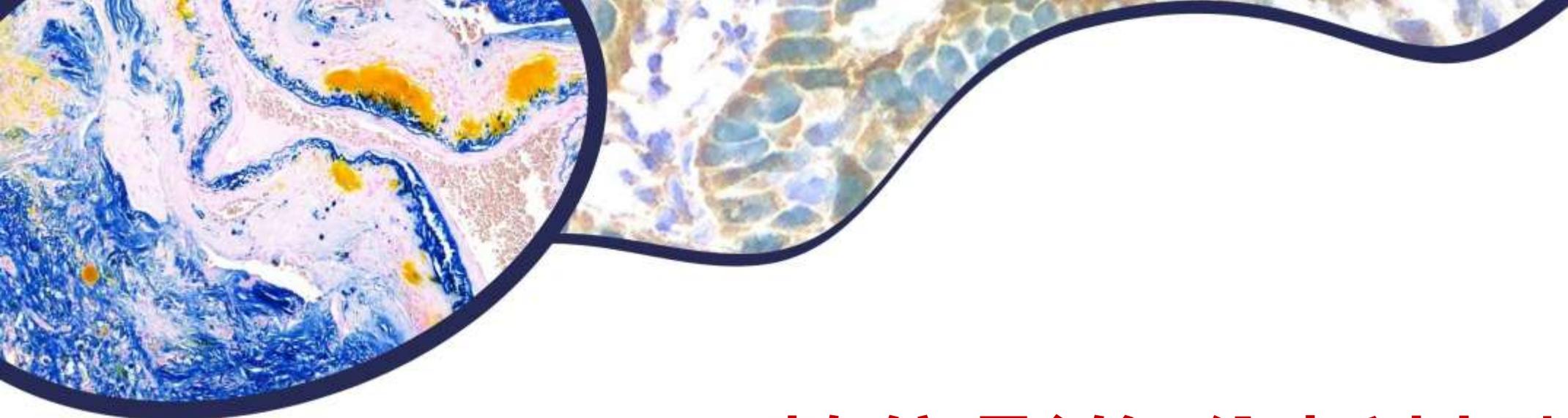
Evident (Olympus)

## 靈活與普及化 (Accessible & Versatile) - Spotlight

Noto Serif TC



- 定位：高性價比、中階至科研應用、冰凍切片首選
- 旗艦：MoticEasyScan 系列
- 價值：填補高階臨床機與顯微鏡間的空缺，推動數位普及



# 數位影像分析基礎

## 色彩學基礎介紹



# 影像數位化單位 – 像素Pixel

- 感光元件的基本單位
  - 每個像素都有獨立的色彩與強度資訊
  - 單位面積中的**像素點數量(密度) = 影像解析度 (resolution)**

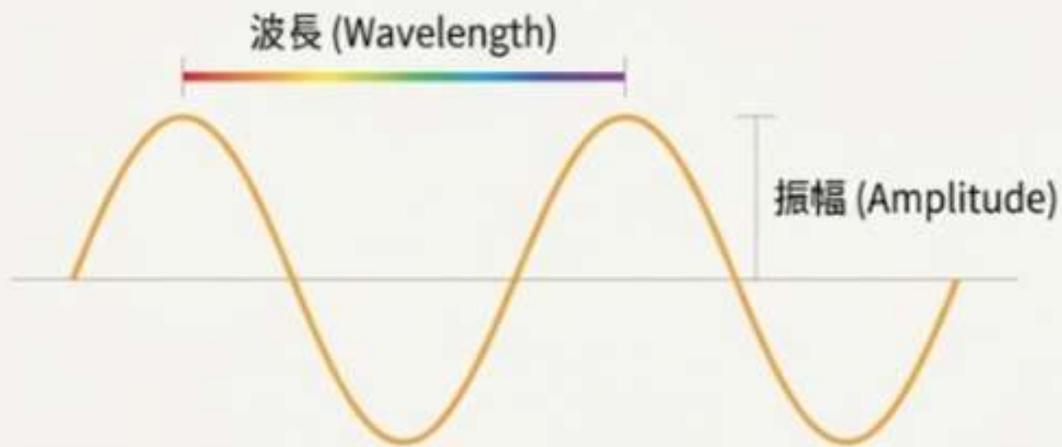
**高解析度 ≠ 高圖像清晰度**

# 解析度Resolution VS. 圖像實際清晰度



- 感知影像品質 (Perceived Image Quality)
  - 綜合考量了光學品質(lens quality)
  - 動態模糊(motion blur)
  - 感光雜訊(sensor noise)
  - 壓縮失真(compression artifacts) – JPG, PNF, TIFF

# 解析度Resolution VS. 圖像實際清晰度

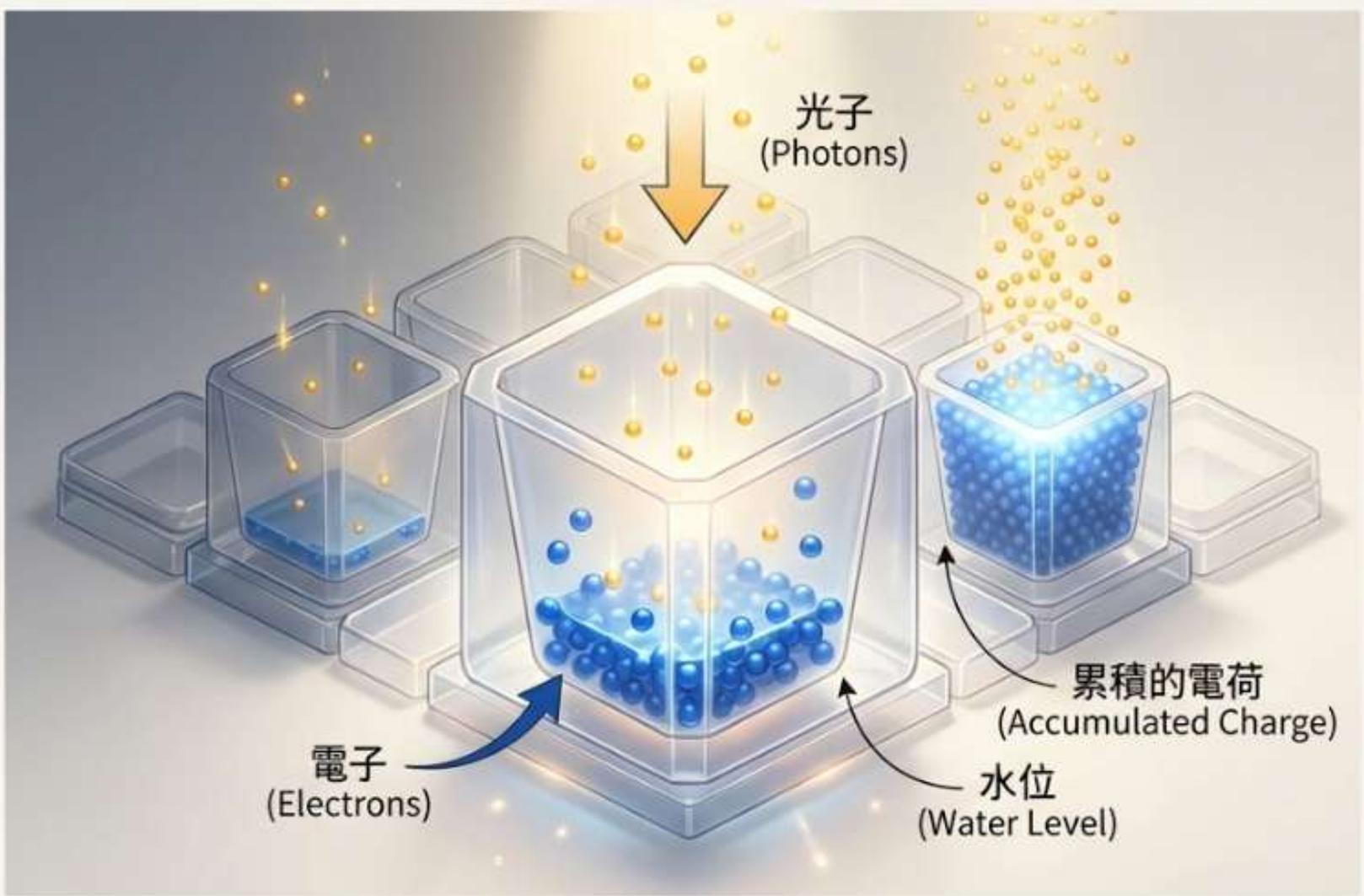


- 光的波動性：

- 波長(wavelength)決定顏色(Hue)
- 振幅(amplitude)決定亮度(Brightness)

- 光的粒子性：

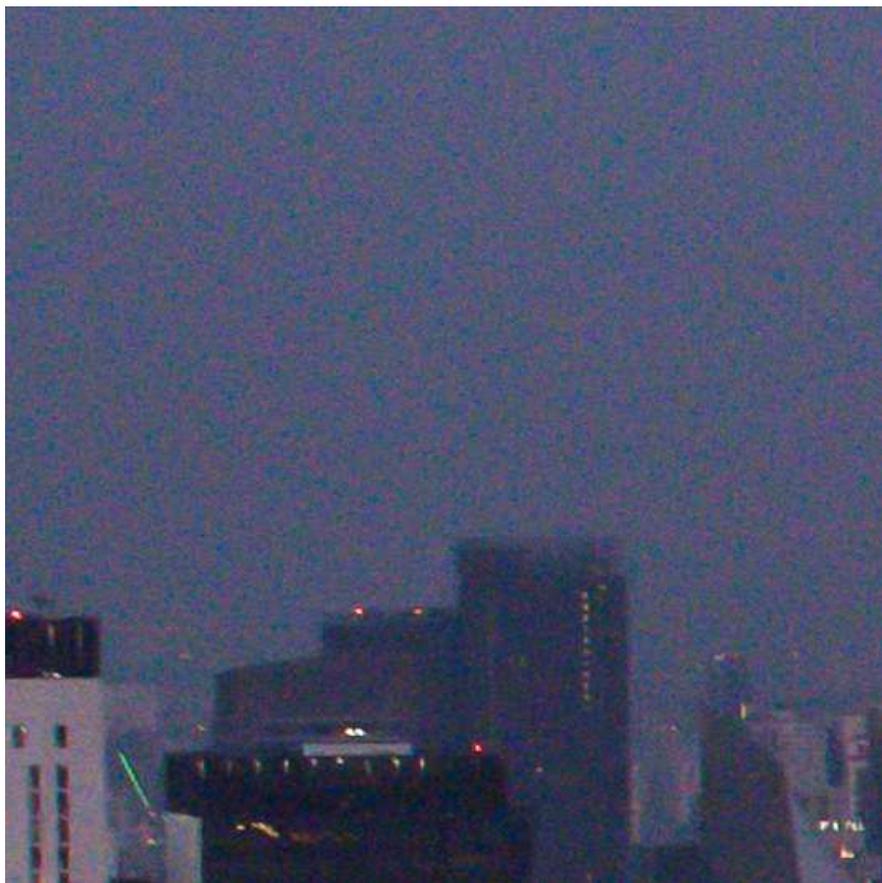
- 數位感光元件僅能對光子有反應
- 每個光子因其波長及振幅不同，帶有**不同的能量**



- 感光元件原理：利用光電效應，將光子的能量轉換成電流
- 像素：即收集光子的微小井狀結構(位能井potential well)
  - 光子量越多=電子量越多
  - 電子量多=越亮

### 顏色種類？

## 彩色濾光片陣列 ( Color Filter Array, CFA )



- 過暗：電子量過少
- 熱雜訊與電子訊號混淆 = 高噪點

- 過高：電子量超過位能井容量
- 過曝

# 數位影像取樣

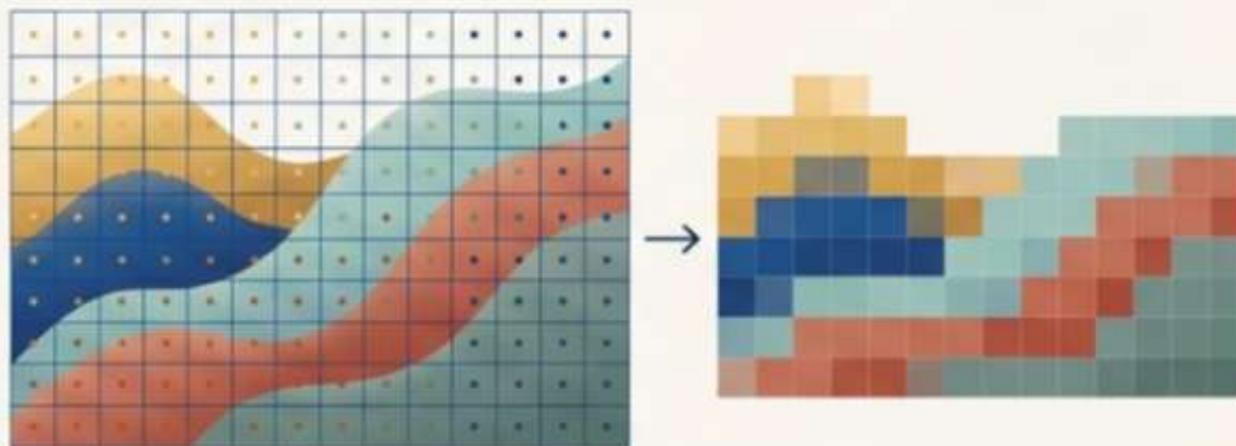
- 人眼所見是連續的光訊號(類比訊號)
- 數位攝影即以感光元件對現實景色空間進行取樣，取樣的密度即像素密度 = **解析度 (Resolution)**

連續的空間場景 (Continuous Spatial Scene)



類比世界中的連續訊號  
(Continuous signal in the analog world)

空間取樣 (Spatial Sampling)



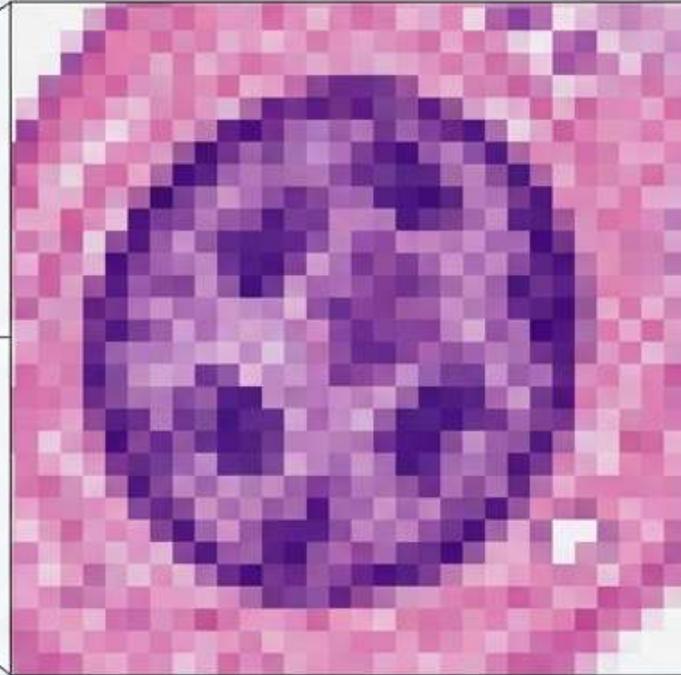
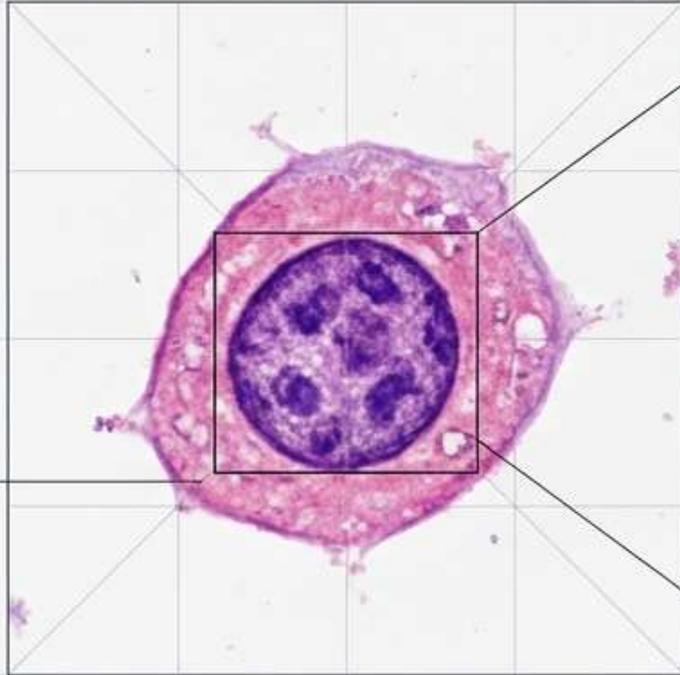
離散的像素網格  
(Discrete pixel grid)

# 像素量化(Quantization) – 位元深度(Bit Depth)



- 位元深度：決定像素可以紀錄的「顏色種類」及「灰階層次」
- 8-bit = 每個顏色有  $2^8 = 256$  個深淺層次，即數值 **0-255**
- 16-bit =  $2^{16} = 65536$  個深淺層次

# 數位畫布：像素與位元深度



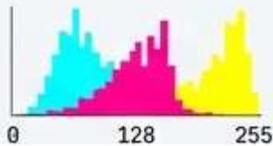
255	255	255	120	45	22	0	180
255	255	255	120	45	22	0	120
255	255	255	120	125	120	60	128
255	255	255	120	135	120	200	200
255	255	255	125	180	200	210	230
255	255	255	125	180	200	230	255
180	200	200	210	230	230	255	240
180	200	210	230	250	255	255	240
180	200	210	230	230	250	255	240
180	200	210	230	230	250	255	240

## • 像素 (Pixel)

影像的最小單位，實際上是一個數據陣列。

## • 位元深度 (Bit Depth)

決定色彩的細膩度。以 8-bit 影像為例，包含從 0 (純黑) 到 255 (純白) 的 256 個色階。

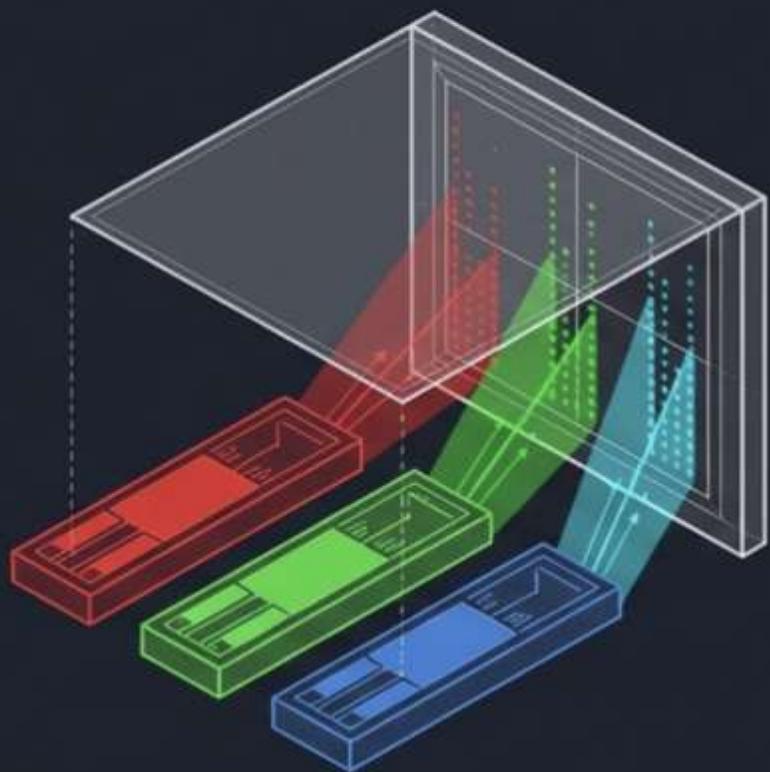


## • 數據本質

電腦不「看」圖片，它只讀取這些數值矩陣。統計數據 (如平均值、中位數) 皆源於此。

255	255	120	45	22	0
180	200	210	230	255	240
180	200	210	230	255	240
MEAN: 182.4					

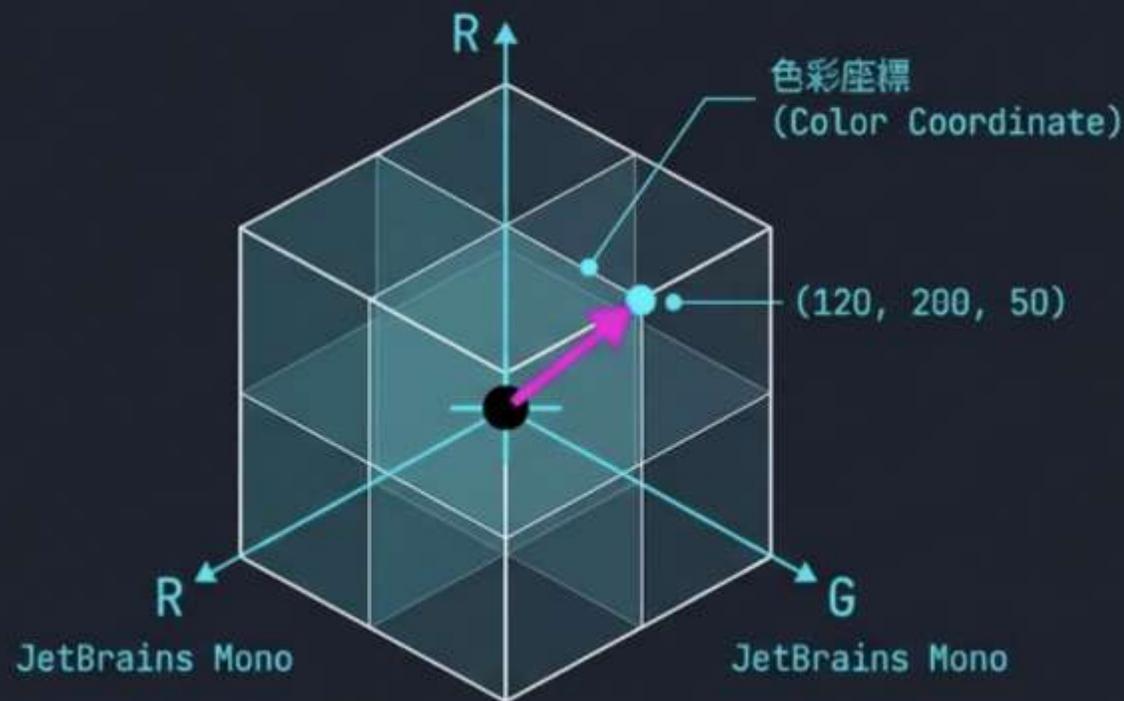
# RGB 模型：硬體的語言



## 加色法 (Additive Mixing)

基於視網膜與顯示器原理，透過紅 (R)、綠 (G)、藍 (B) 三原色疊加產生色彩。

→  $R+G+B = \text{Color}$



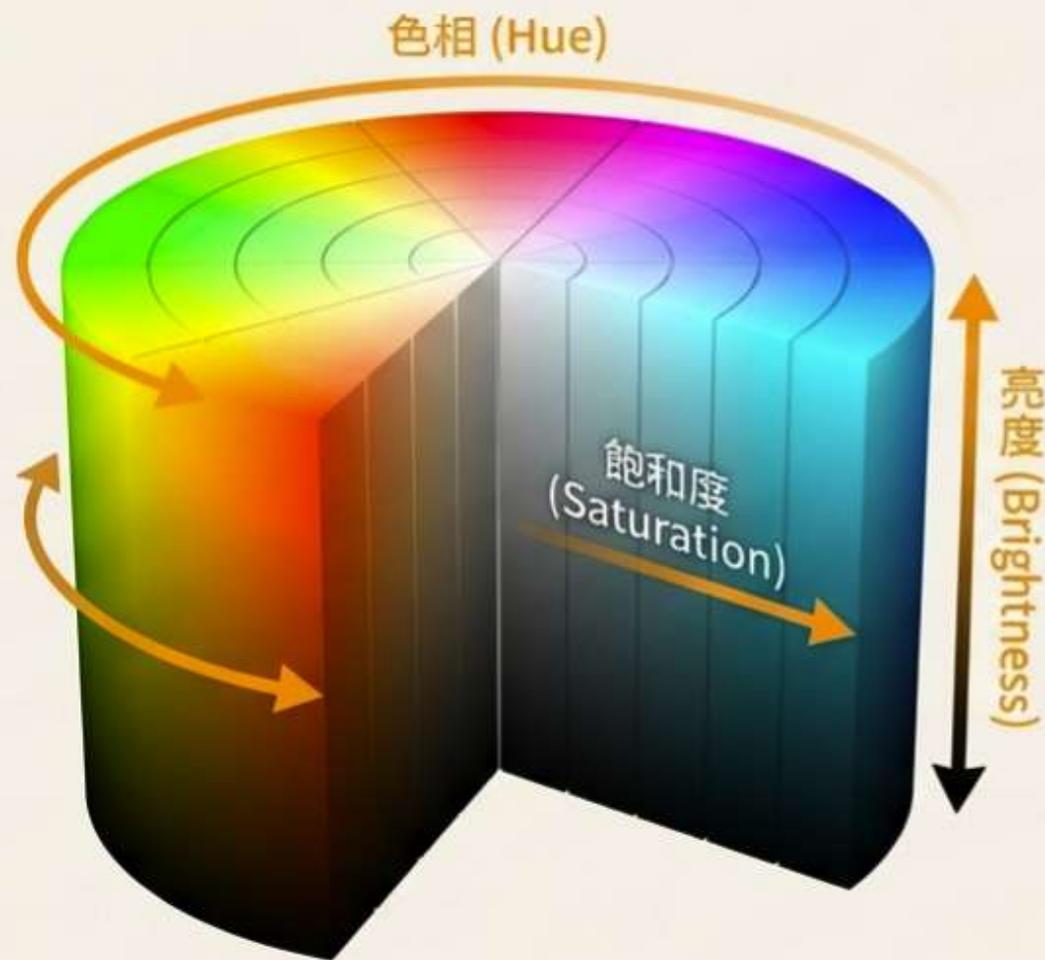
## 分析困境 (Analysis Pitfall)

在 RGB 模型中，「亮度」與「顏色」是糾纏 (Coupled) 的。

**實例：**若光線變暗，紅細胞核的 R、G、B 數值同時下降。電腦難以單純依靠 RGB 數值區分「暗紅色的核」與「黑色的背景」。

● 暗紅色 (Dark Red): (80, 10, 10)  ● 黑色 (Black): (10, 10, 10)

# 數位色彩描述



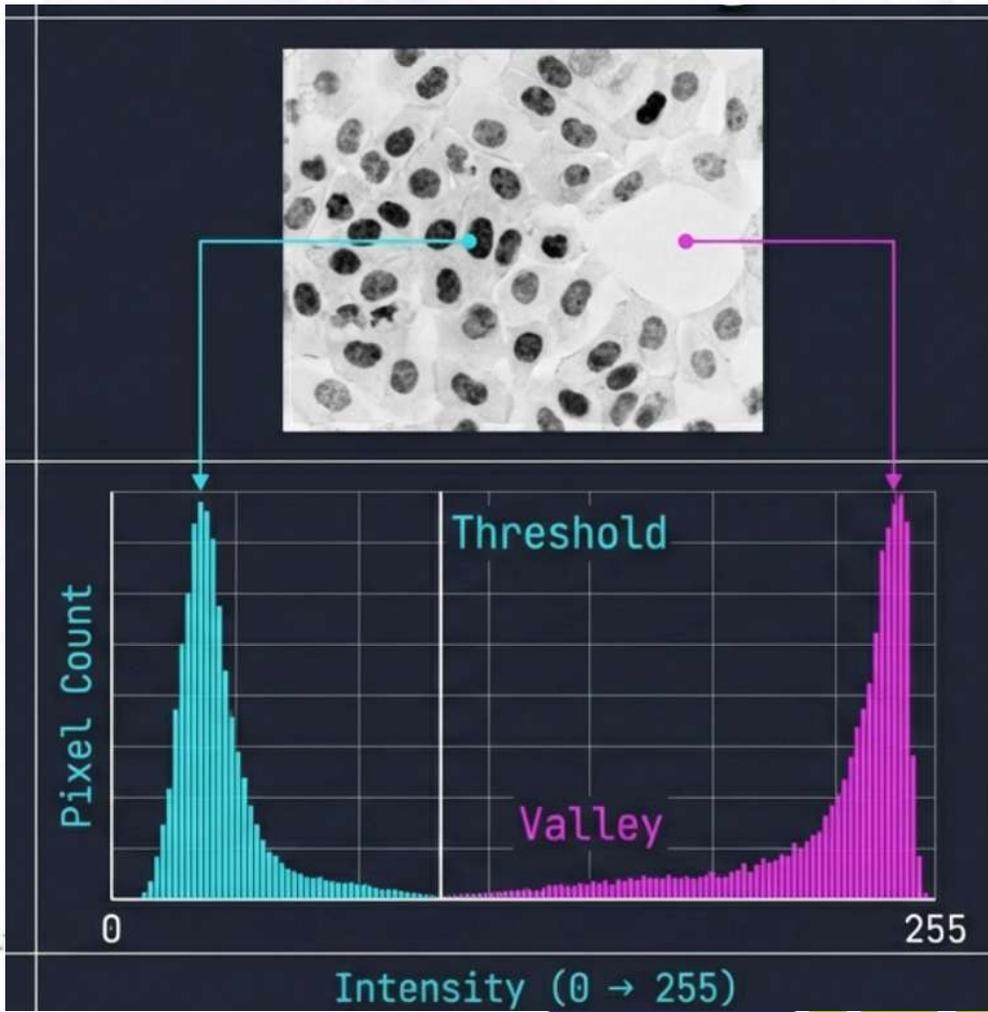
## 解構色彩 (Decoupling)

將影像資訊拆解為人類直覺的三要素，有利於演算法分割。

- **Hue (色相)**：鎖定顏色種類（如區分 DAB 棕色與蘇木紫藍色）。
- **Saturation (飽和度)**：色彩的純度。排除背景雜訊或淡染區域的關鍵指標。
- **Brightness (亮度)**：獨立的強度資訊，不受顏色影響。

# 色相圖(色彩直方圖Histogram)

- 亮度(brightness)



**頻率分佈**：直方圖統計了有多少像素落在特定的強度值上。

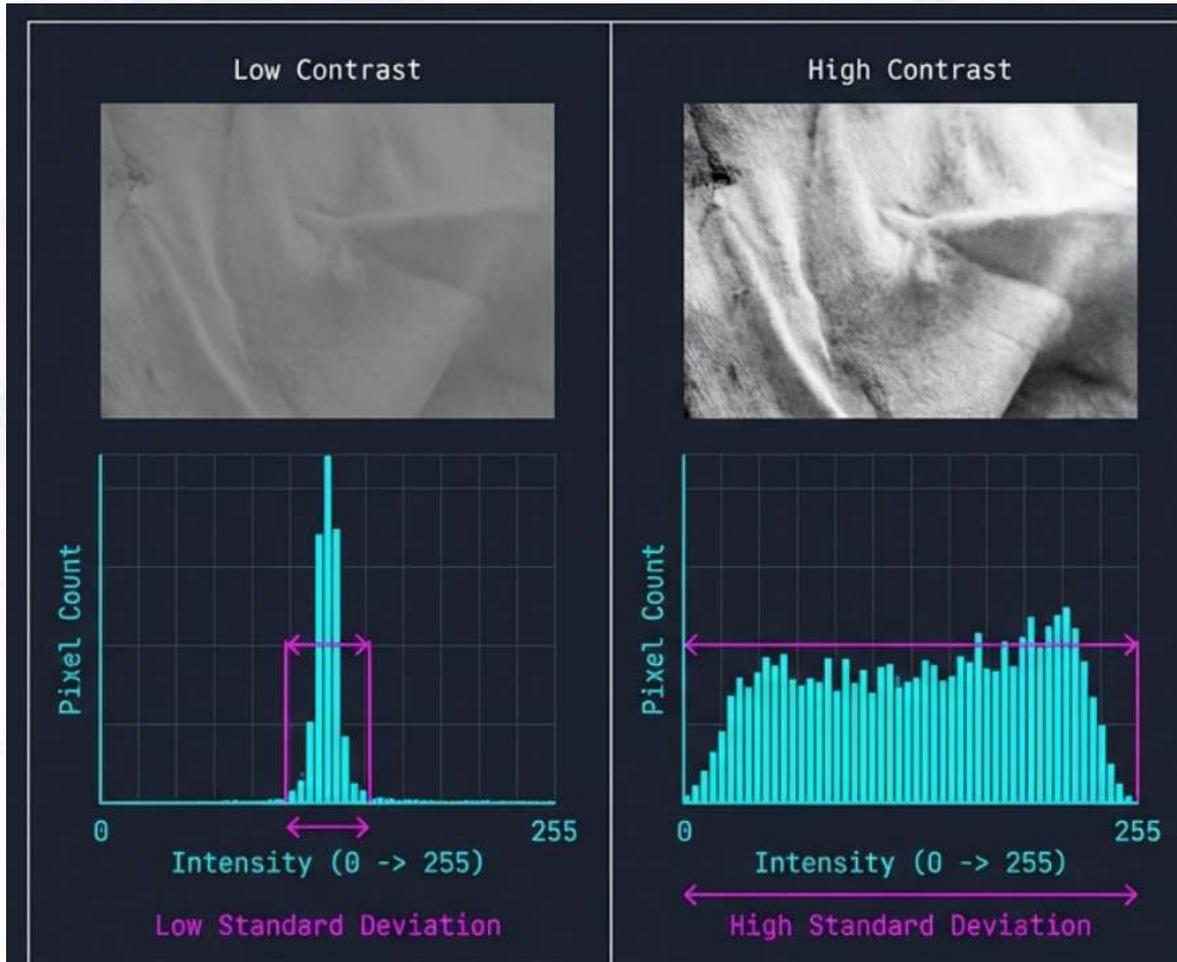
**曝光判讀**：

- **過曝 (Clipping)**：峰值堆積在**最右側 (255)**，資訊遺失。
- **欠曝**：峰值堆積在**最左側 (0)**，細節淹沒在雜訊中。

**應用**：利用直方圖的「**波谷**」來設定**閾值 (Threshold)**，是自動計數的基礎。

# 色相圖(色彩直方圖Histogram)

- 對比對(Contrast)



## 對比度 (Contrast)

在統計學上對應於直方圖的標準差 (Standard Deviation) 或分佈寬度。高對比代表像素強度跨越了從黑到白的廣闊範圍。

## 飽和度 (Saturation)

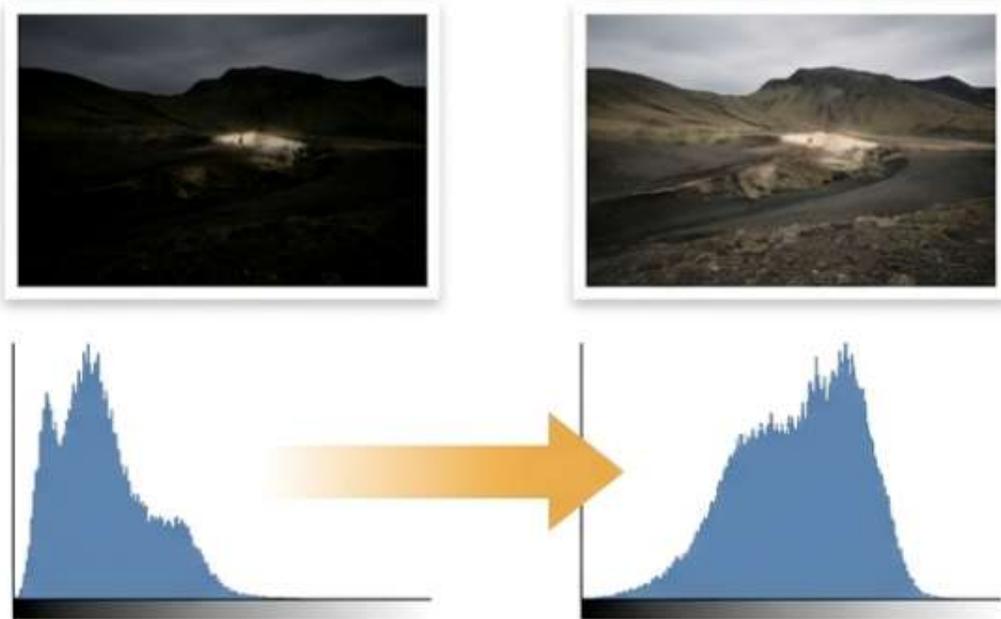
在 HSB 空間中，代表特定色相的強度相對於總亮度的比例 (Signal Purity)。

## 科學意義

高對比度通常意味著訊號 (Signal) 與背景 (Background) 的分離度較佳。

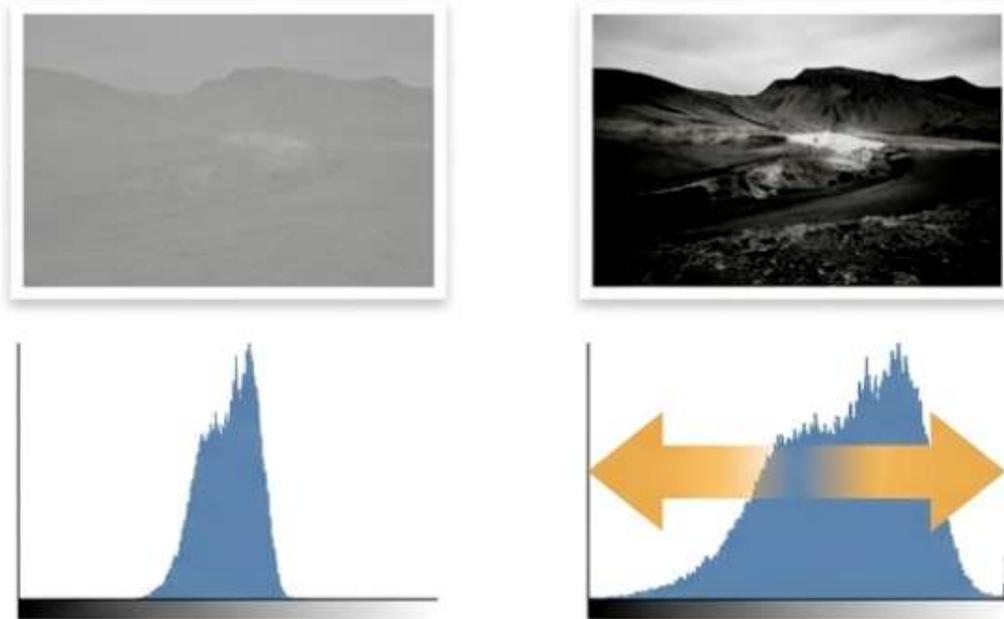
調整曝光與對比度，本質上是在對影像的亮度直方圖（Histogram）進行數學運算。

### 曝光補償 (Exposure Compensation)



平移整個直方圖。增加曝光會將直方圖向右移動（整體變亮），反之亦然。

### 對比度 (Contrast)



拉伸直方圖。增加對比度會使暗部更暗、亮部更亮，從而擴大色調範圍。

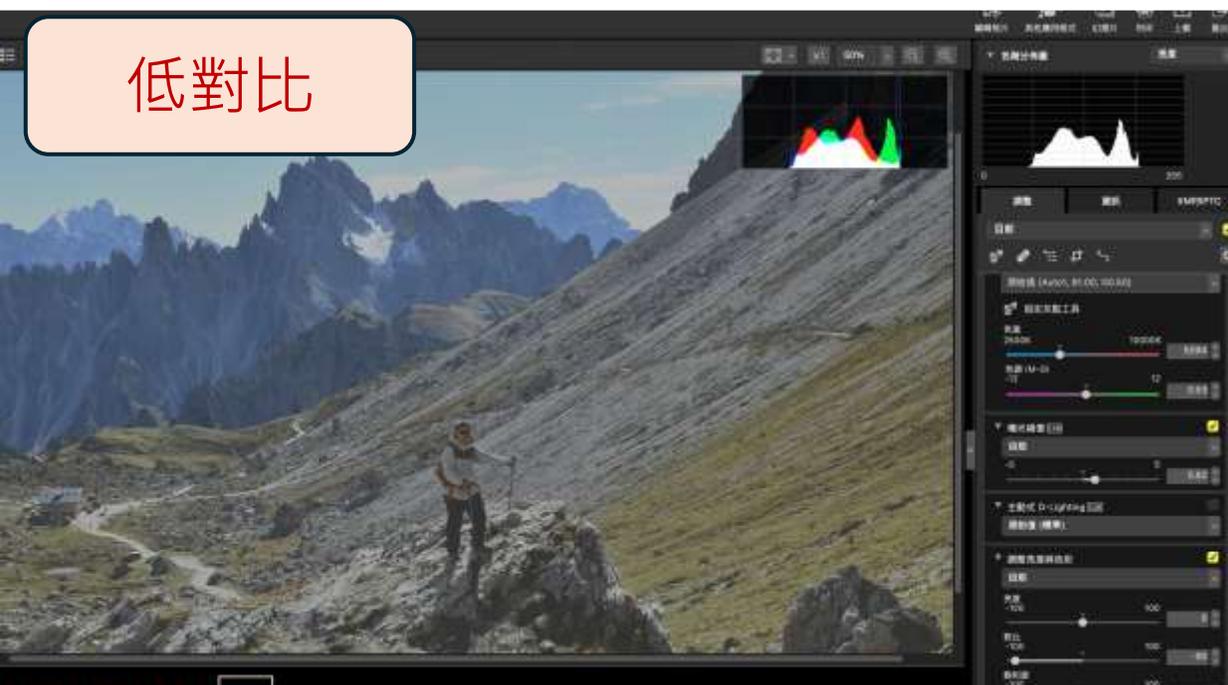
低亮度



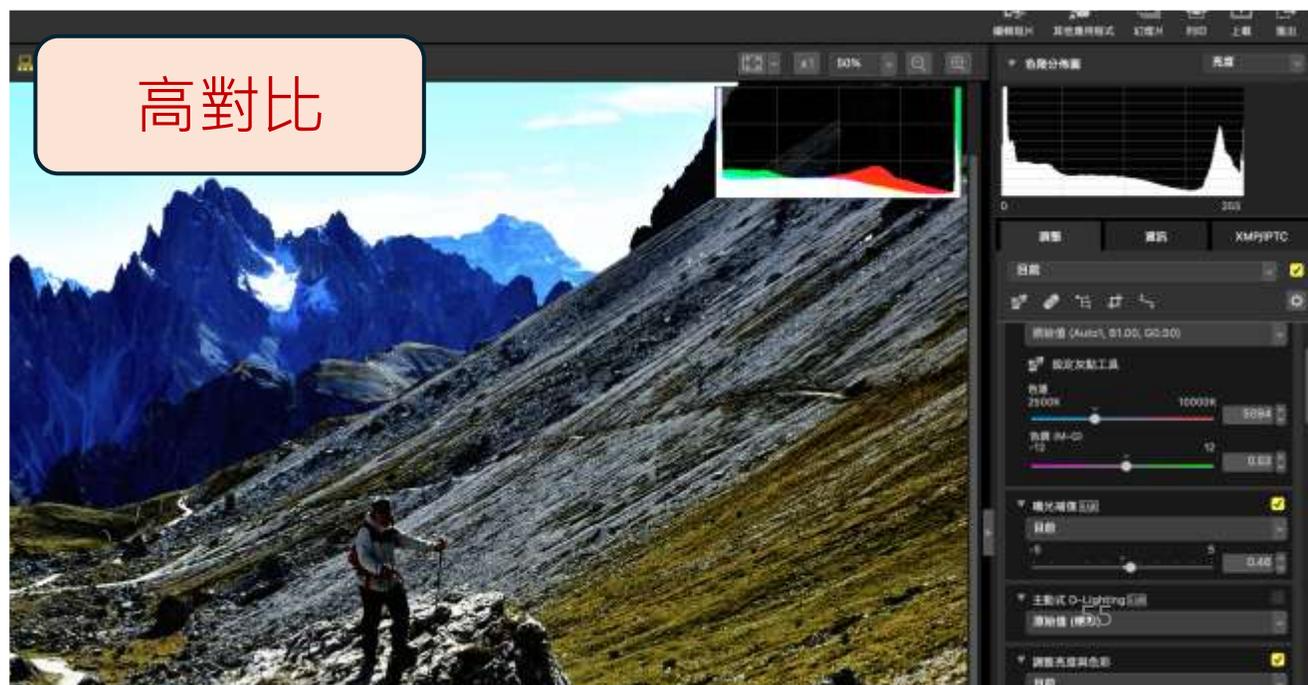
高亮度



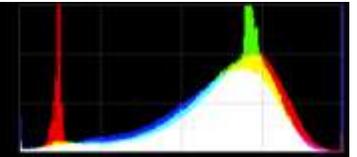
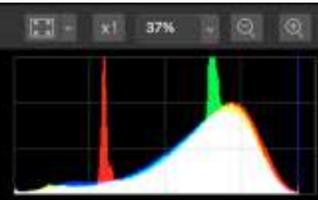
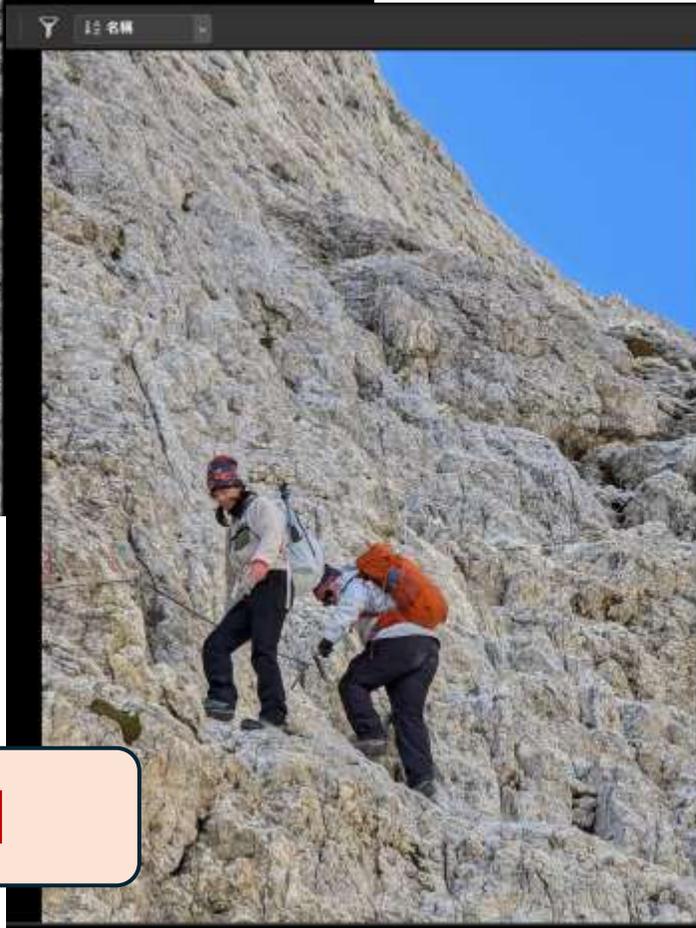
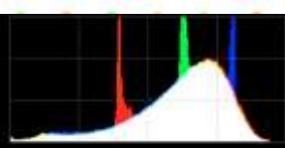
低對比



高對比



低飽合

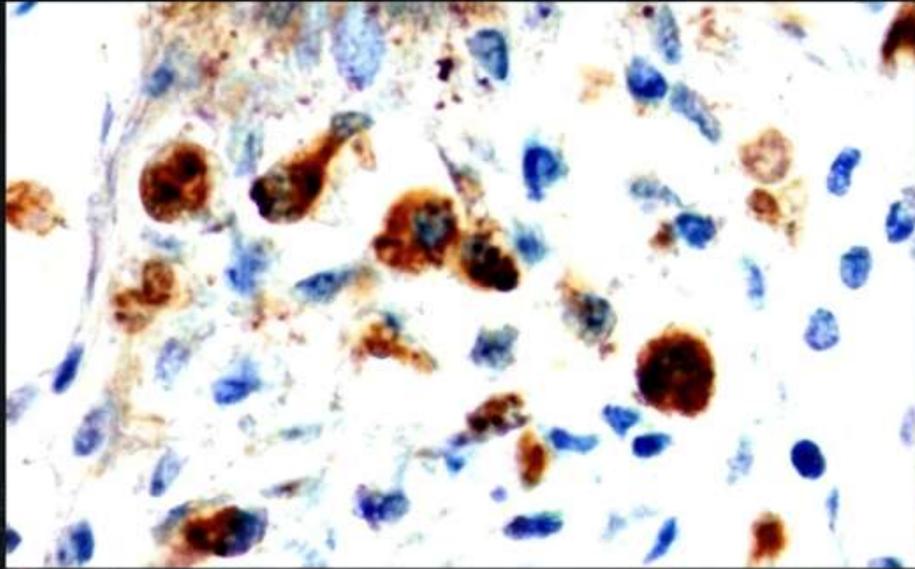


原圖

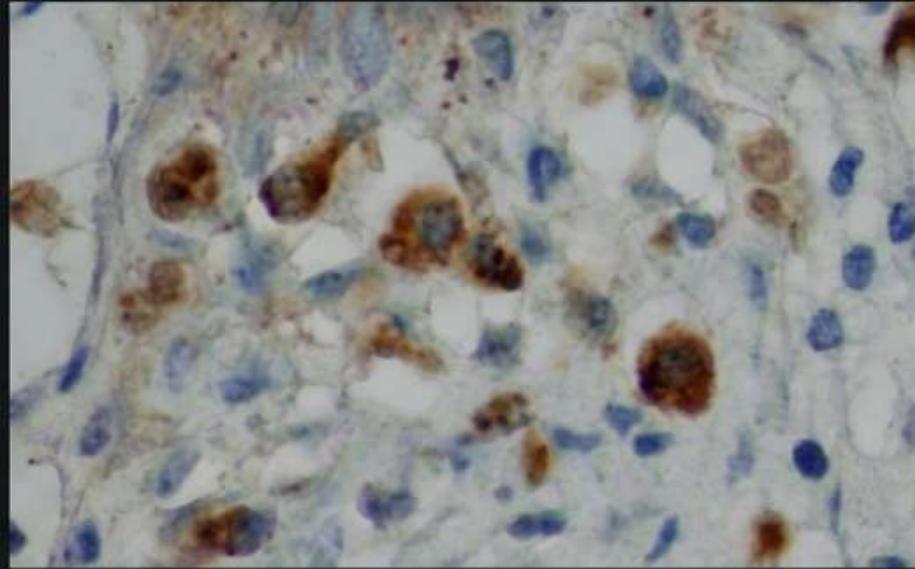
高飽合

# 調整圖片對分析的影響

(A) 高對比/飽和 (適合人眼)



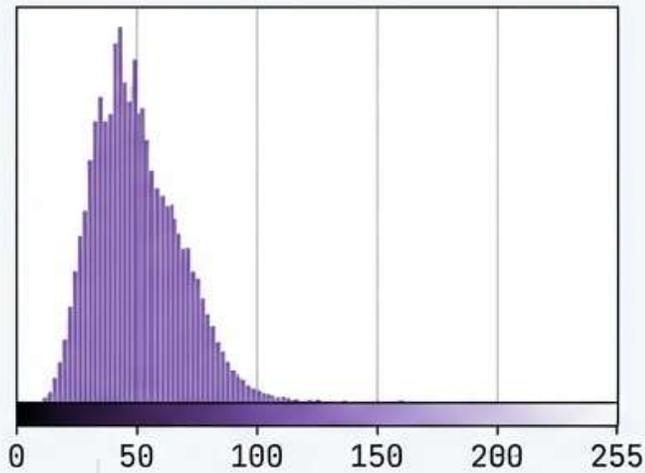
(B) 原始線性數據 (適合 AI/分析)



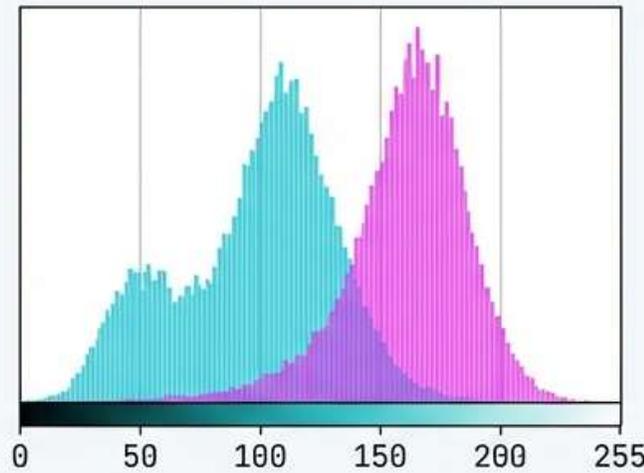
- 非線性風險：Gamma 校正會破壞抗原密度與染色強度之間的線性關係。
- 數據截斷 (Clipping)：過度提亮背景會導致 255 (純白) 處的數據丟失，抹殺微弱的陽性訊號。

NotebookLM

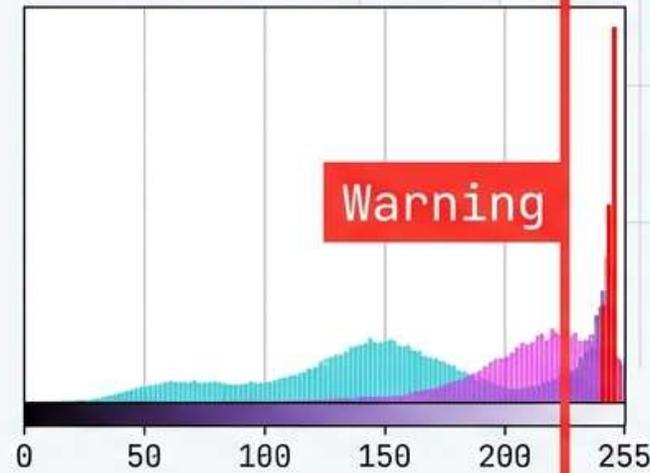
# 調整圖片對分析的影響



曝光不足



理想對比



數據截斷 (Clipping)

對比度 (Contrast)：拉伸直方圖的寬度，讓暗更暗、亮更亮。

截斷 (Clipping)：當曝光過度，數值超過 255 的像素一律被紀錄為 255。

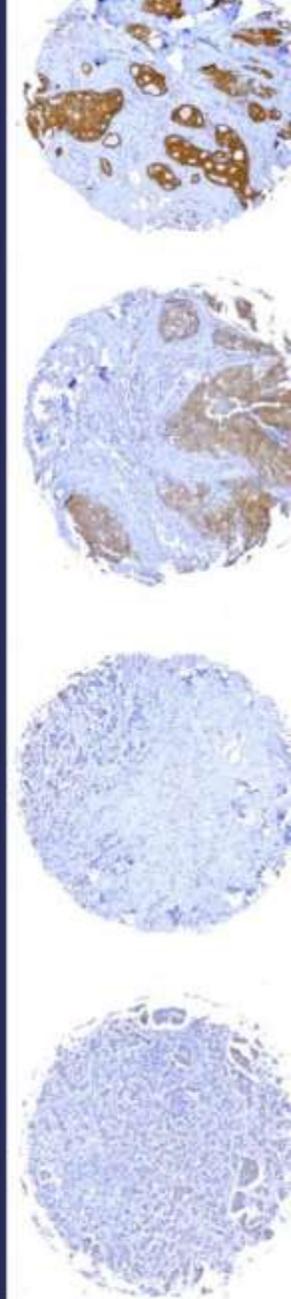
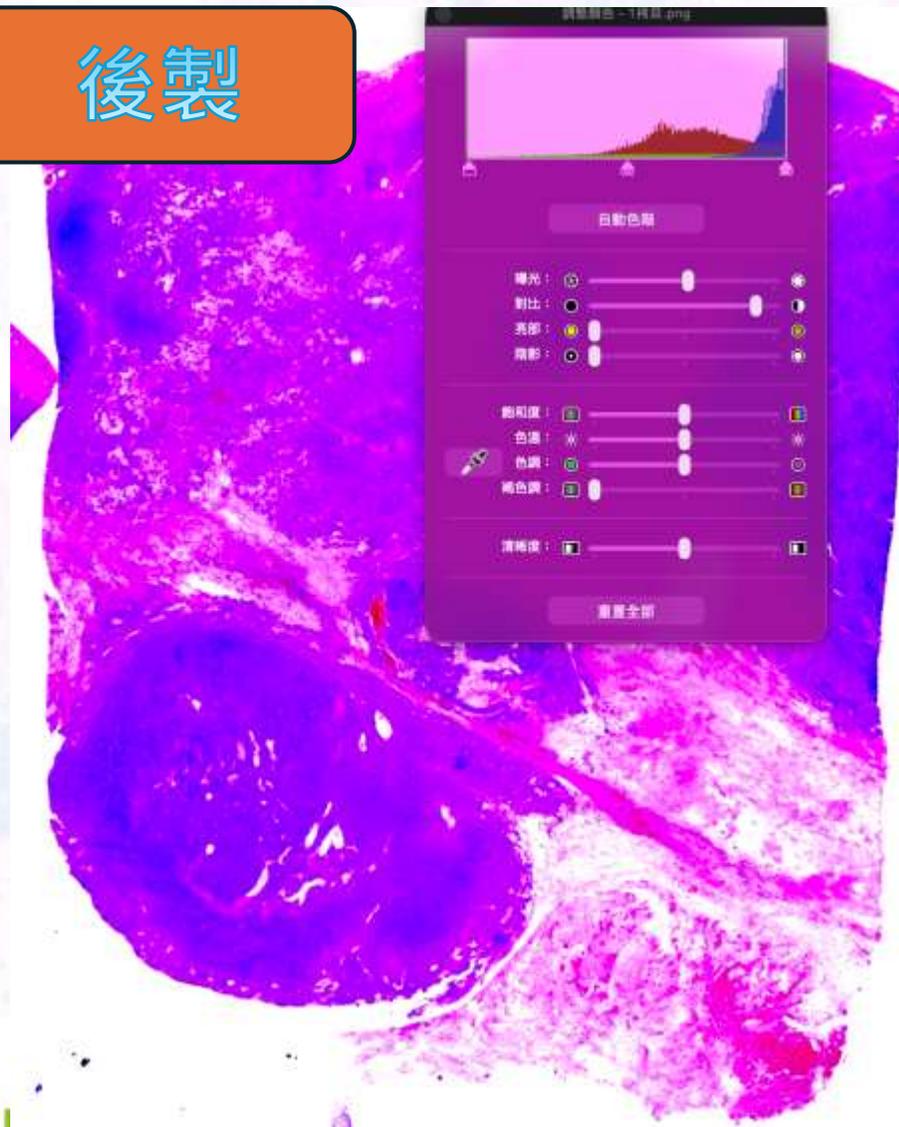
警示：截斷等於「數據遺失」(Data Loss)，無法復原組織細節，導致定性分析失敗。

# 調整圖片對分析的影響-對比度

原圖

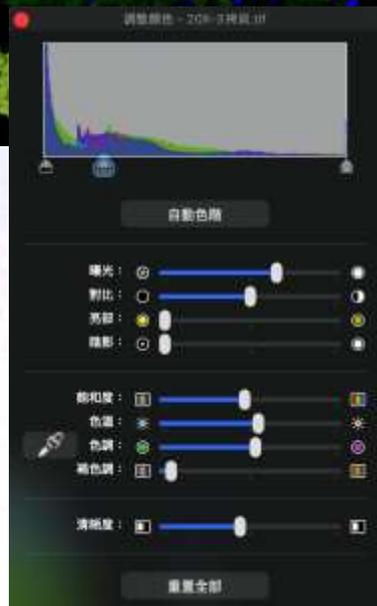
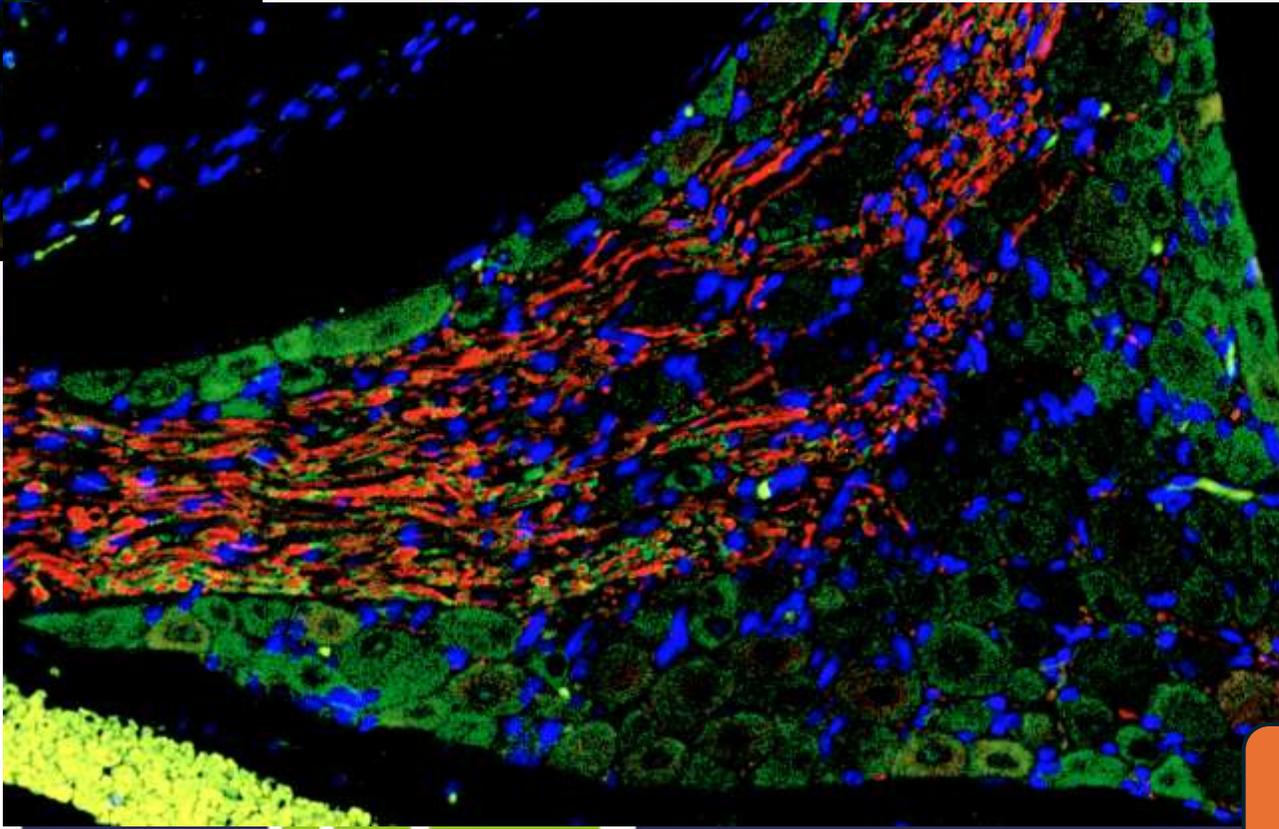
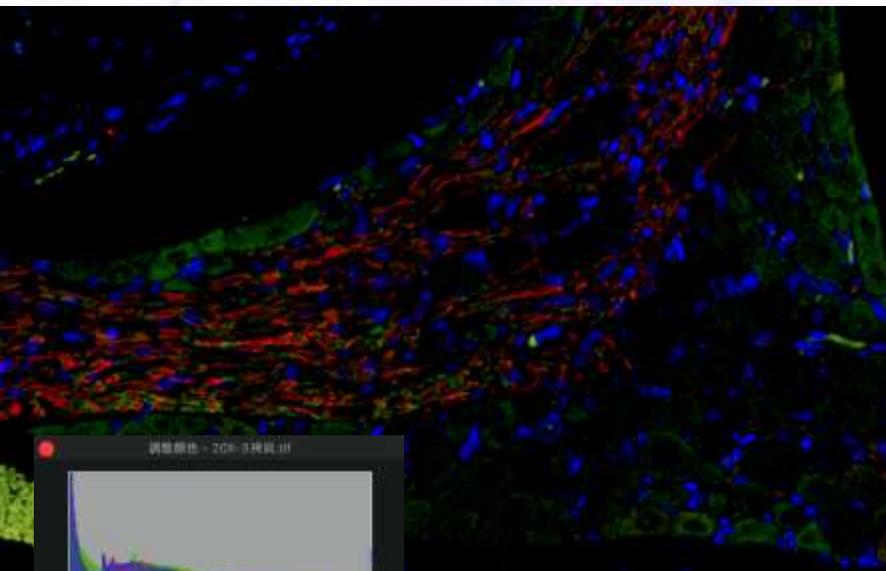
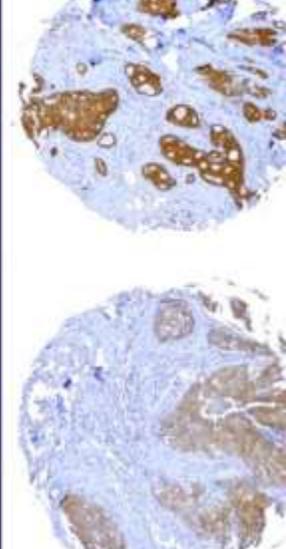


後製



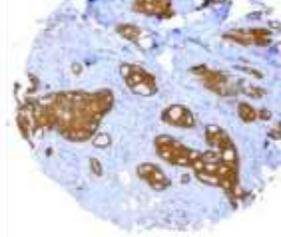
# 調整圖片對分析的影響-範例

原圖



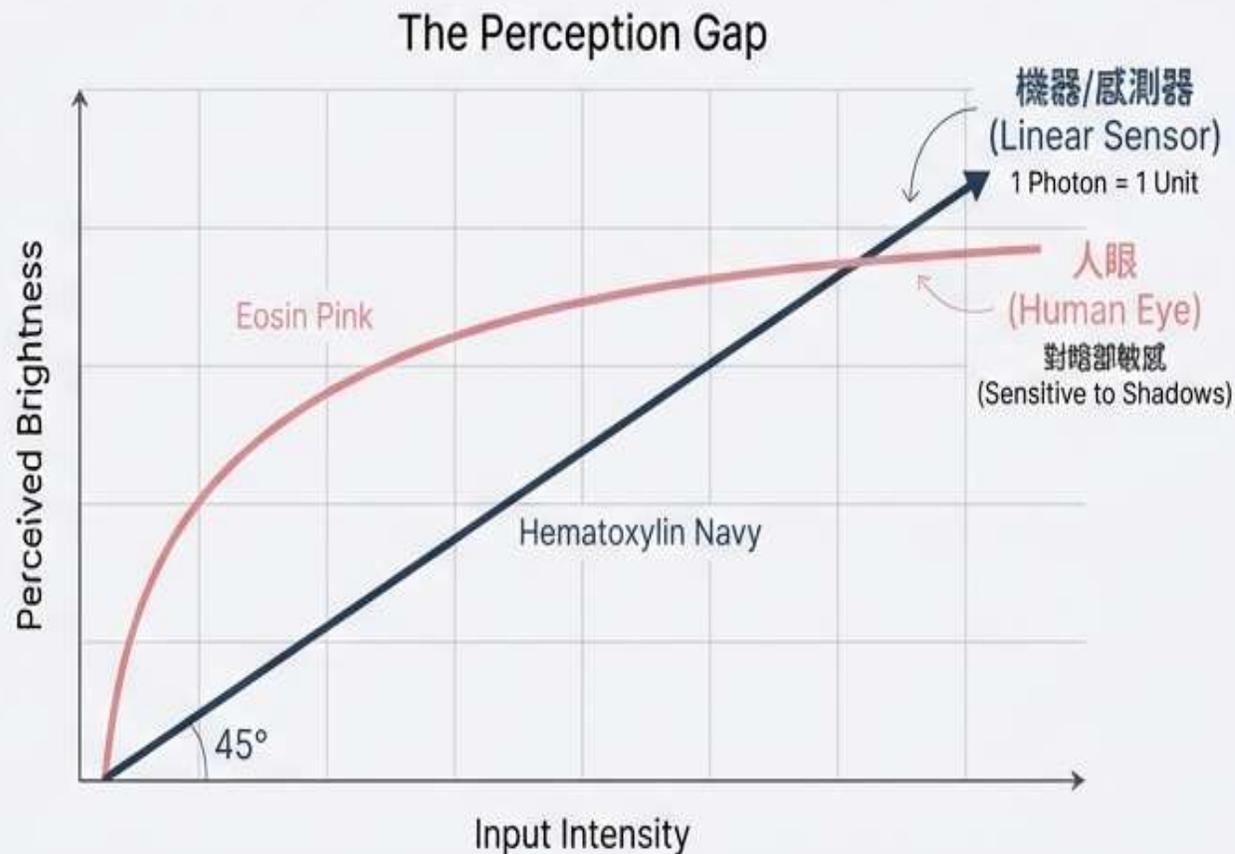
後製

# Gamma校正



問題：若直接將感測器的線性數據顯示在螢幕上，人眼會覺得影像過暗且反差怪異，暗部細節 (如細胞核紋理) 將無法辨識。

人眼對暗部的影像細節較為敏感



## 調整的差異：Gamma 校正 vs. HSB 亮度調整

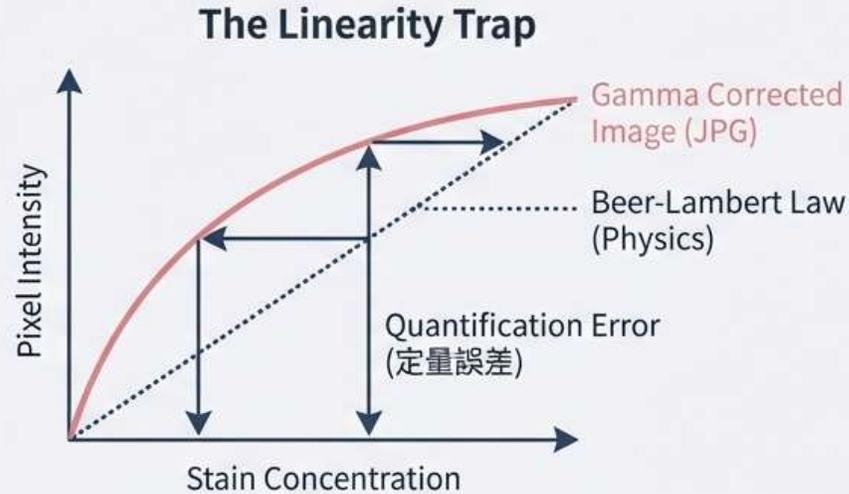


HSB 亮度 (Linear)：均勻提升所有像素數值。容易導致背景過曝 (Washed out) 並讓黑色變灰。

Gamma (Non-linear)：專注於提升中間灰階。能有效「打開」暗部細節 (如細胞核結構)，同時保留背景的對比度。

結論：在後製處理中，Gamma 是比單純亮度調整更細緻的工具。

# Gamma校正對數位影像分析的影響

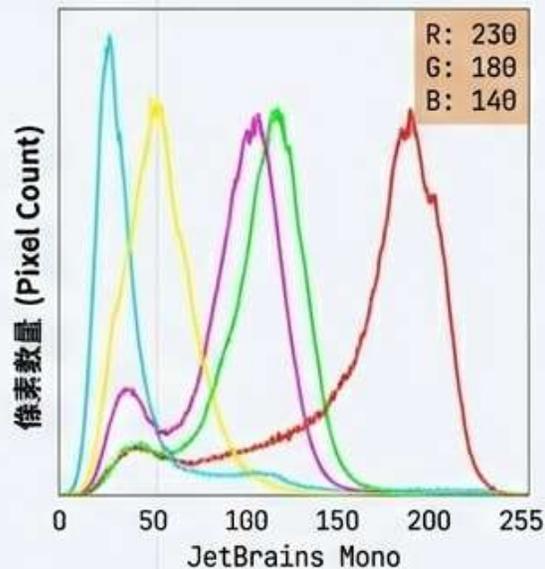


- **定量分析基礎**：**比爾-朗伯定律** (Beer-Lambert Law) 假設光密度與染色濃度成線性關係。
- **Gamma 的干擾**：Gamma 校正是一種非線性扭曲。若直接對校正後的 JPG 影像進行 DAB 強度定量，會導致高估或低估染色濃度。
- **正確流程**：進行 AI 或光密度分析前，演算法通常需將影像「**反向 Gamma 校正**」回線性空間，才能得到真實的物理數據。

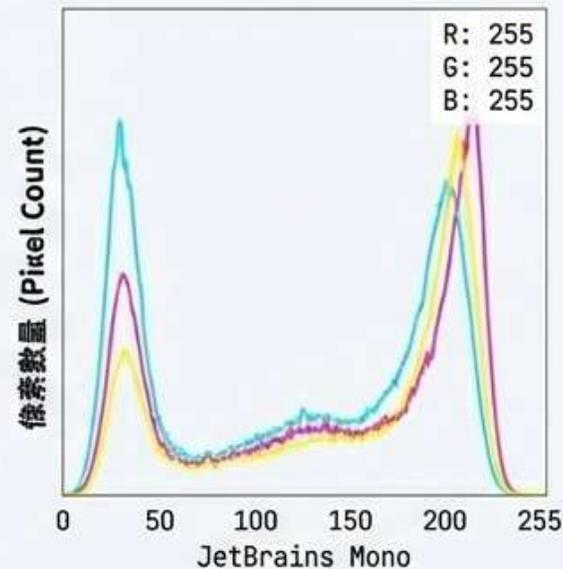
NotebookLM

# 白平衡(white balance)

校正前 (Uncalibrated)



校正後 (Calibrated)



機制：人眼會自動適應光源，但在數位分析中，若背景非純白 (255, 255, 255)，所有後續的顏色反摺積 (Color Deconvolution) 運算皆會產生偏差。

目的：校正光源色偏，定義什麼是「白色」 (R=G=B)。

# 光的色相軸：色溫與色調

## 蘇木紫 (Hematoxylin)

Hematoxylin Purple  
#4B0082



色調 (Tint)

色溫 (Temperature)  
黑體輻射光譜。低色溫偏紅黃，高色溫偏藍。

JetBrains Mono

色溫 (Temperature)

2000K

色調 (Tint)

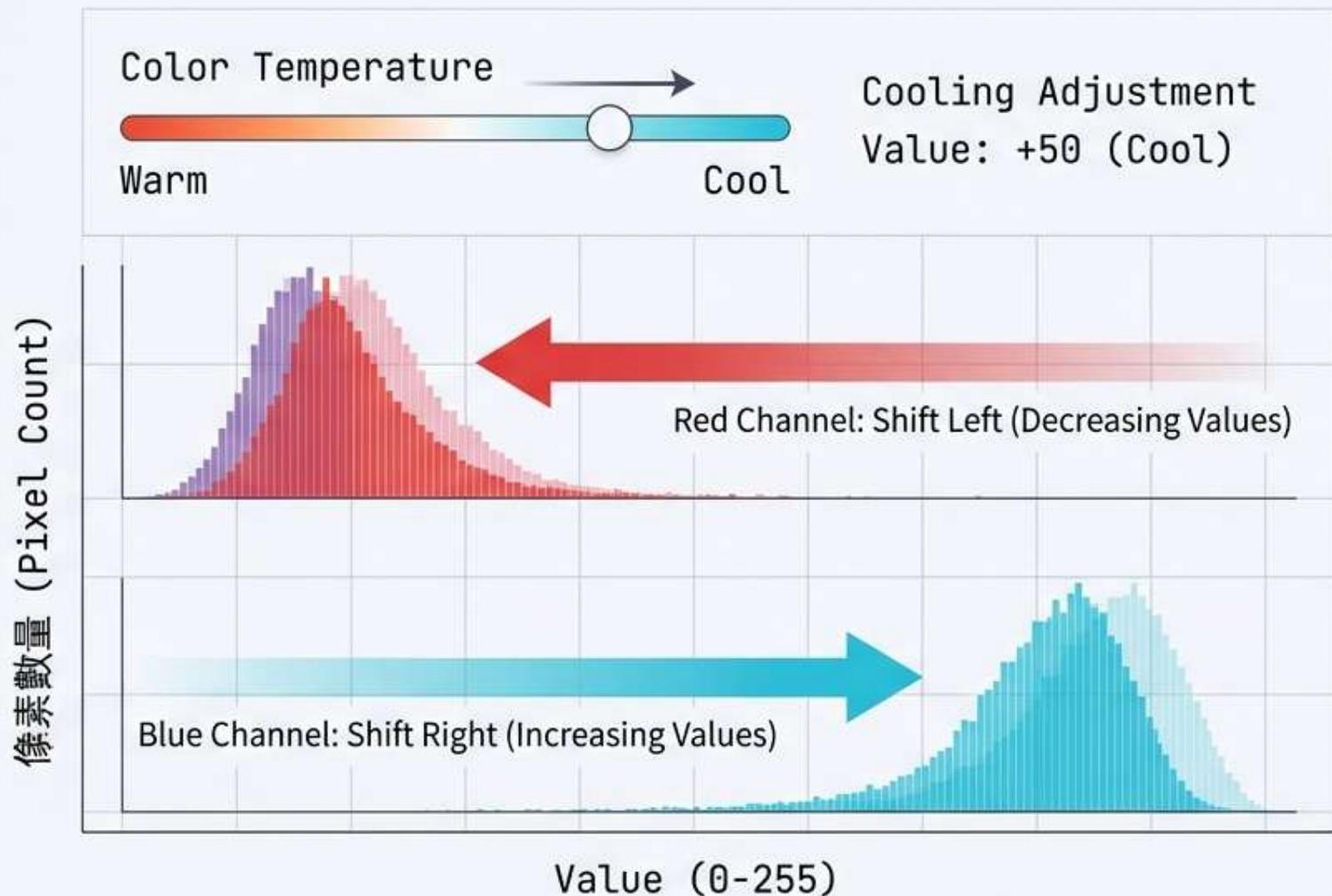
Noto Sans TC Regular  
正交於色溫軸。

用於校正光學系統引入的  
綠色或洋紅色偏。

## 伊紅 (Eosin)

Temp: 3000K  
Tint: +40

# 參數調校的物理意義：色溫

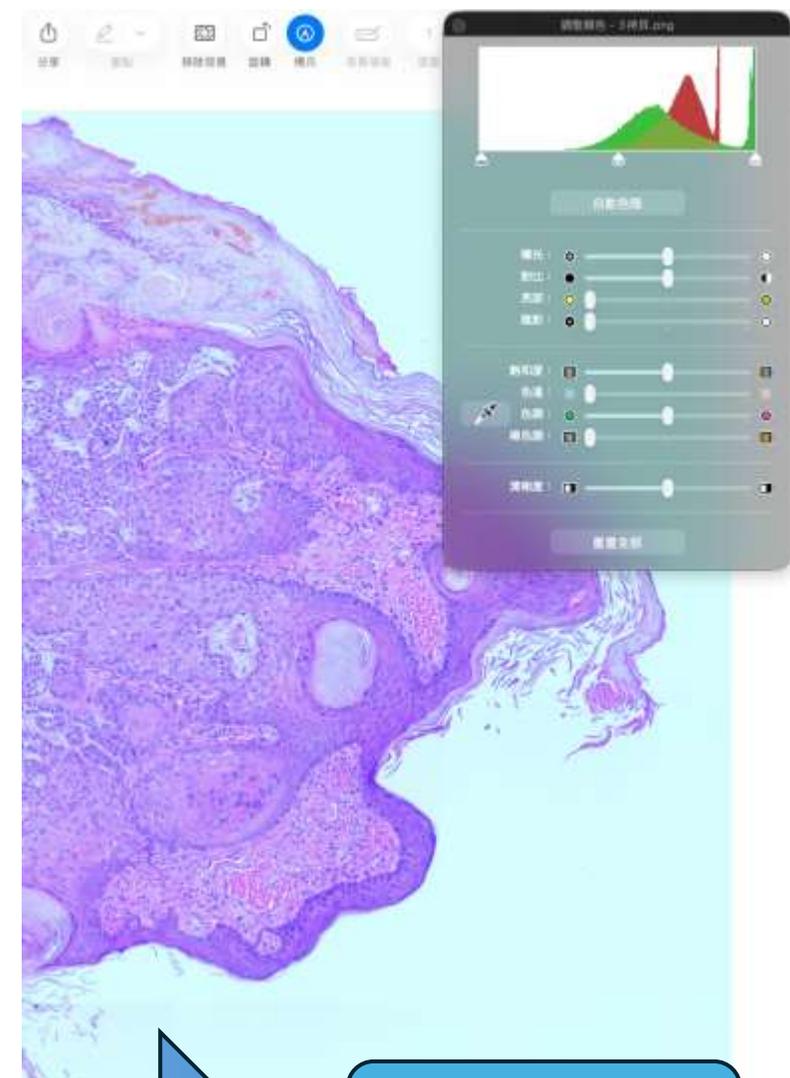
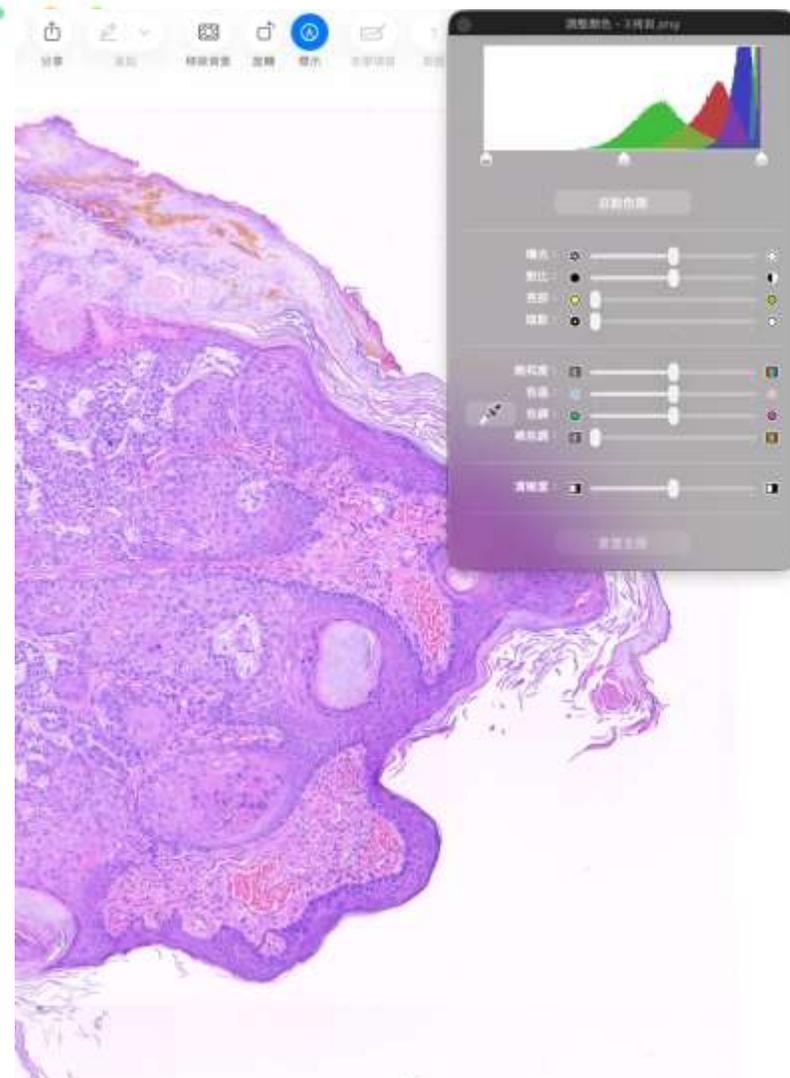
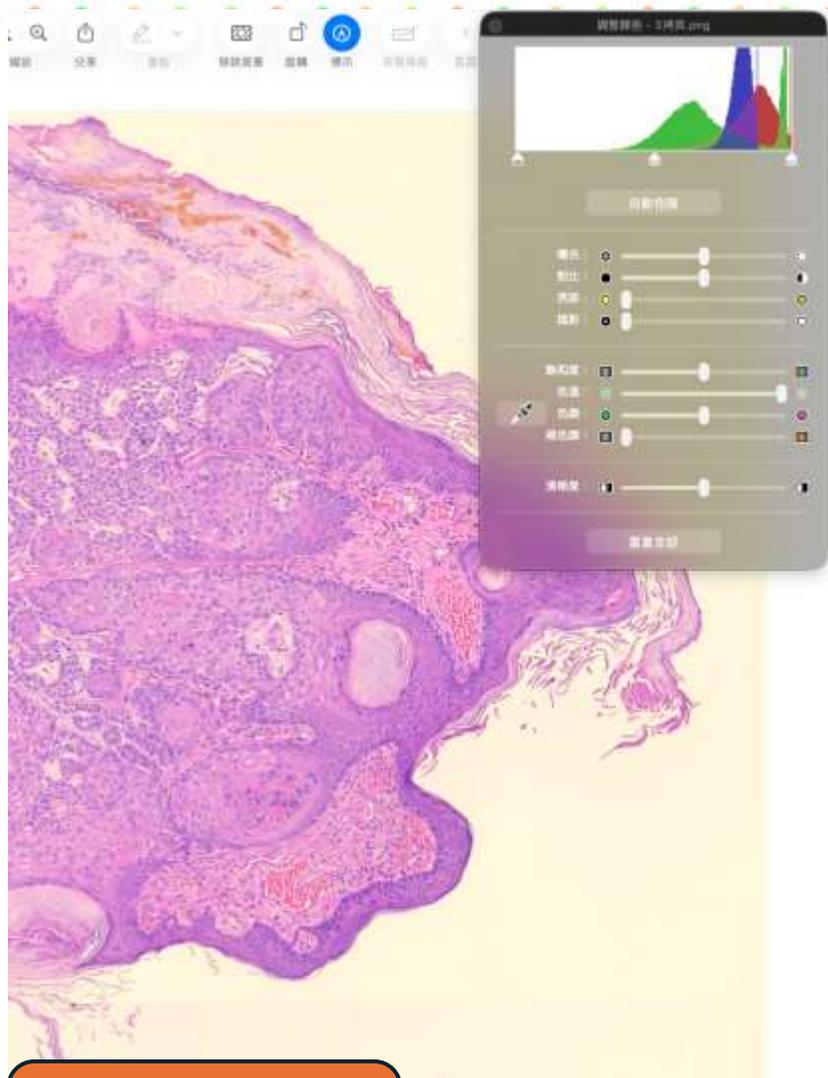


## 調校即運算

調整色溫並非「增加顏色」，而是對 R 與 B 通道的像素數值進行加減運算。

## 直方圖變化

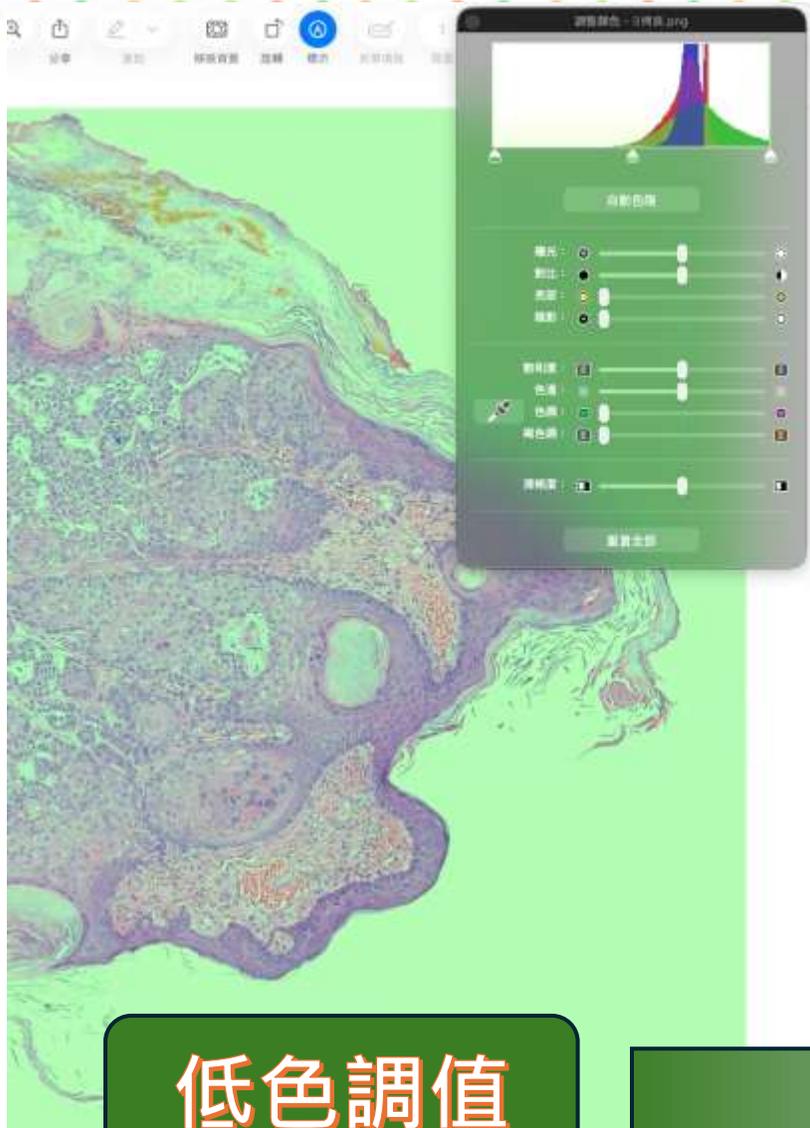
冷色調調整會分離 R 與 B 的波峰，直接改變像素的 RGB 比例。



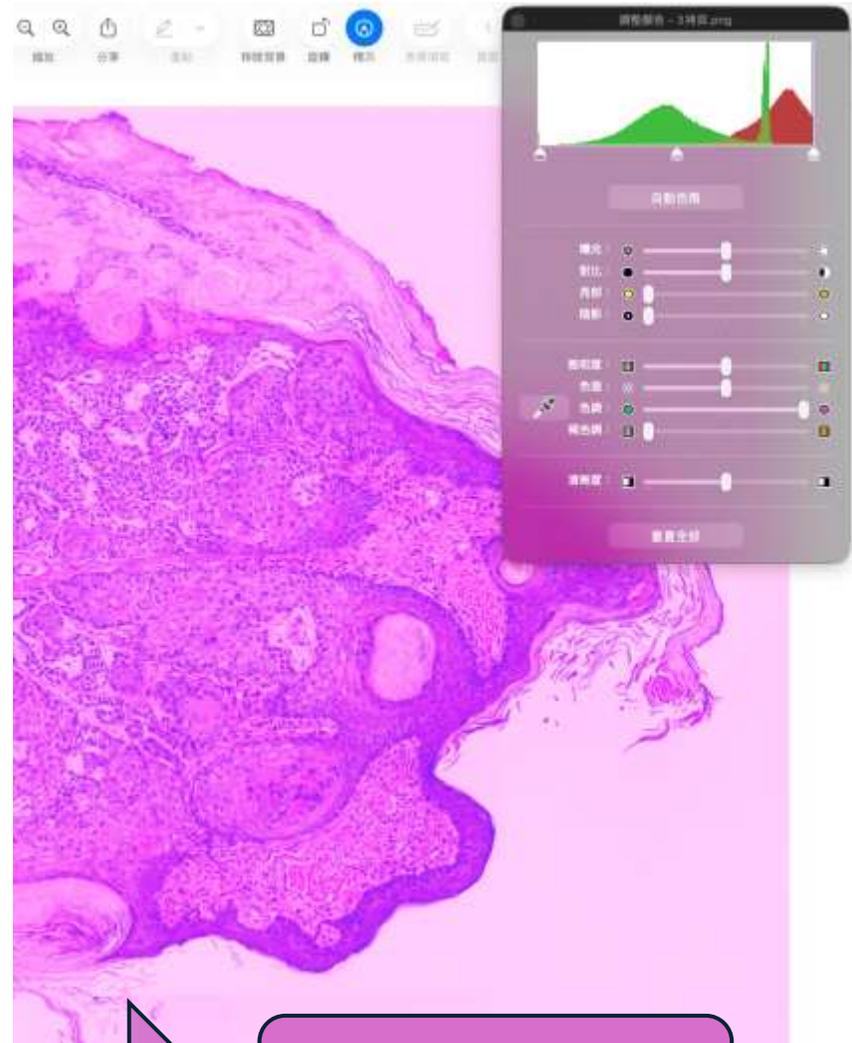
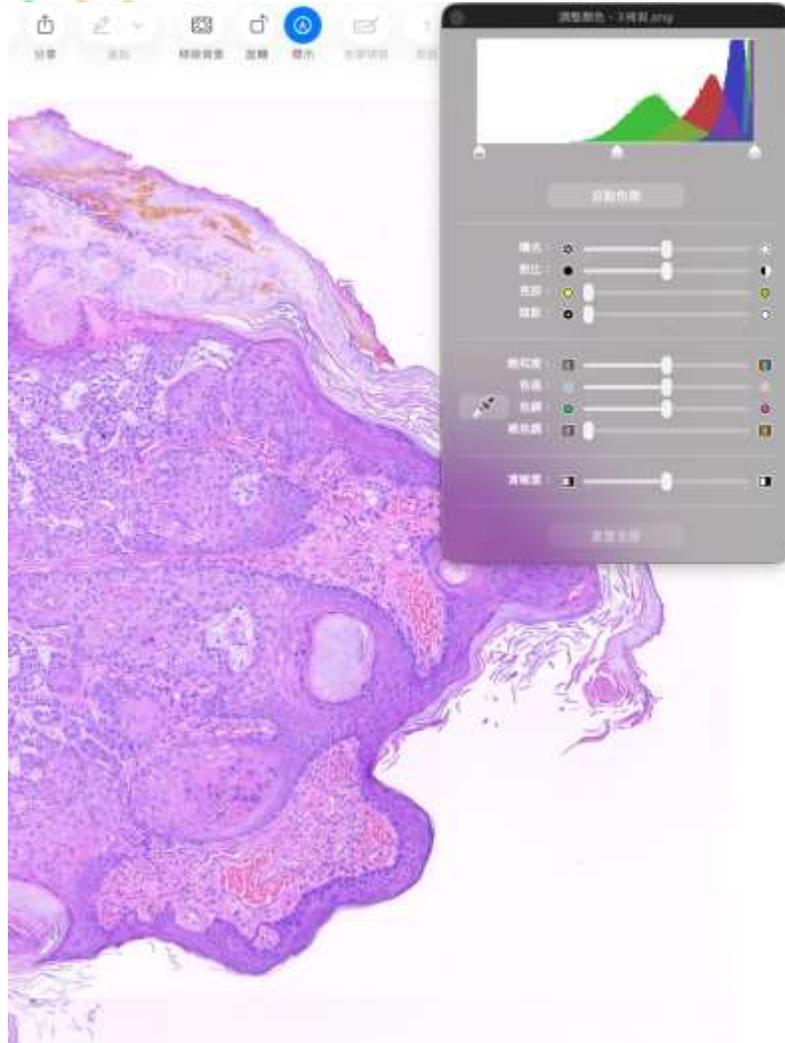
低色溫



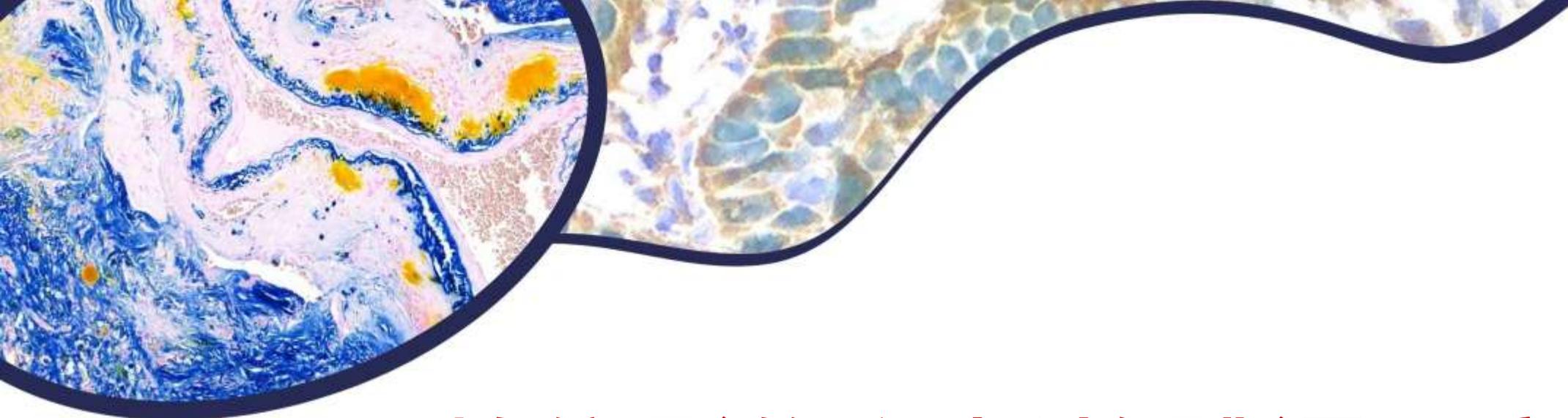
高色溫



低色調值

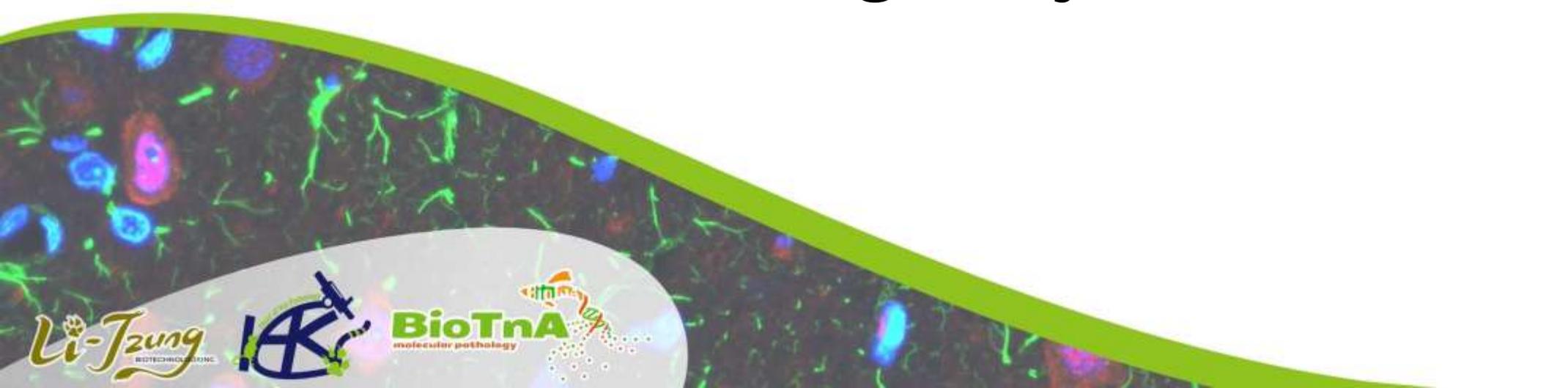


高色調值



# 數位影像分析軟體運用實例

ImageJ/Fiji, QuPath



# 分析軟體版圖：商業軟體 vs. 開源社群



## HALO (Indica Labs)

定位:

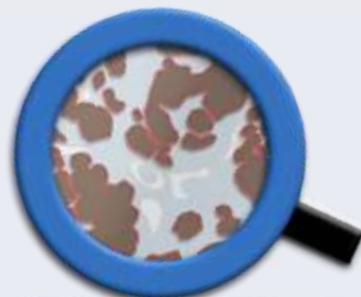
The Pre-assembled Toolbox

優點:

- 介面直觀 (GUI)
- 模組化 (Highplex)
- 適合臨床流程。

缺點:

- 昂貴
- 封閉系統。



## QuPath (Open Source)

定位:

The LEGO System

優點:

- 免費開源
- 極高靈活性
- 腳本支援 (Groovy)
- 可整合 ImageJ/Python。

缺點:

- 需學習曲線。



## ImageJ / Fiji

定位:

The Pixel Processor

優點:

- 影像處理功能強大。

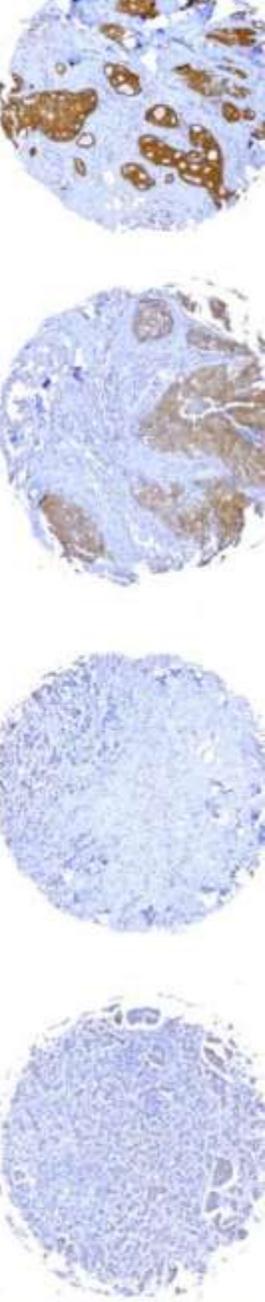
缺點:

- WSI 大圖處理效能不如 QuPath 優化。

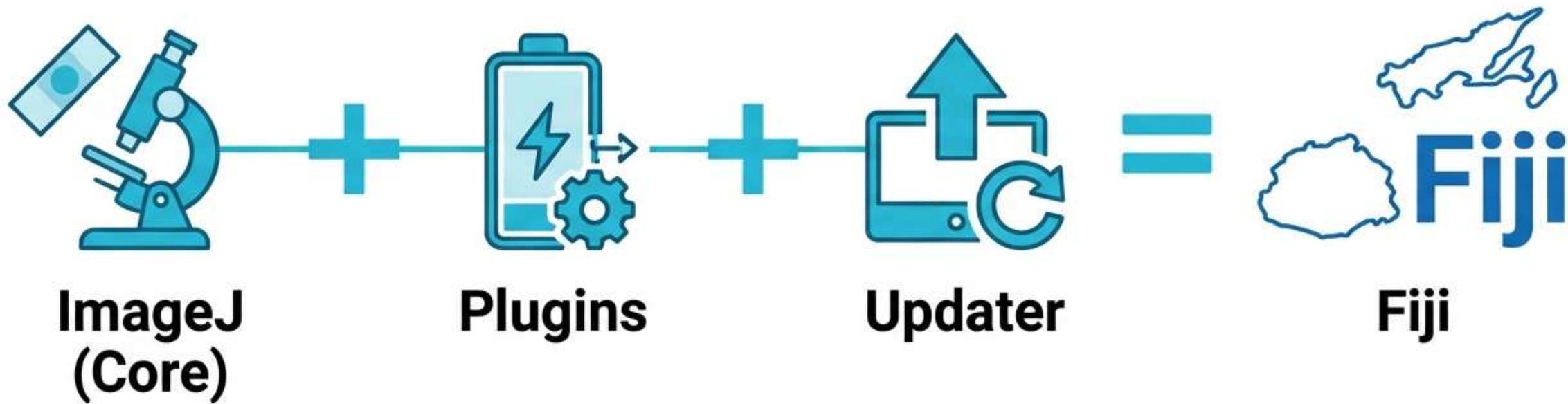
# ImageJ/ Fiji



- **NIH Image** (1987-1997) ，由由美國國家衛生院 (National Institutes of Health, NIH) 的程式設計師 Wayne Rasband 所開發的 **NIH Image** 。以 **Pascal 語言** 撰寫，專門為早期 Macintosh 電腦設計
- **ImageJ** (1997 ~) : **Java 語言** 重新撰寫，能在 Windows、Mac OS 及 Linux 等不同作業系統上無縫運行
- **Fiji** (2007 ~) : 全名是“Fiji Is Just ImageJ”，本質上就是 ImageJ，但它預先打包了大量生物醫學影像分析所需的常用擴充套件，並內建了強大的自動更新器 (Updater)
- **Image2** : 引入了 ImgLib2 函式庫，專門用於處理多維度且龐大的影像數據。然而目前在Fiji基礎的運算邏輯已整合大部份ImageJ 2的內容。



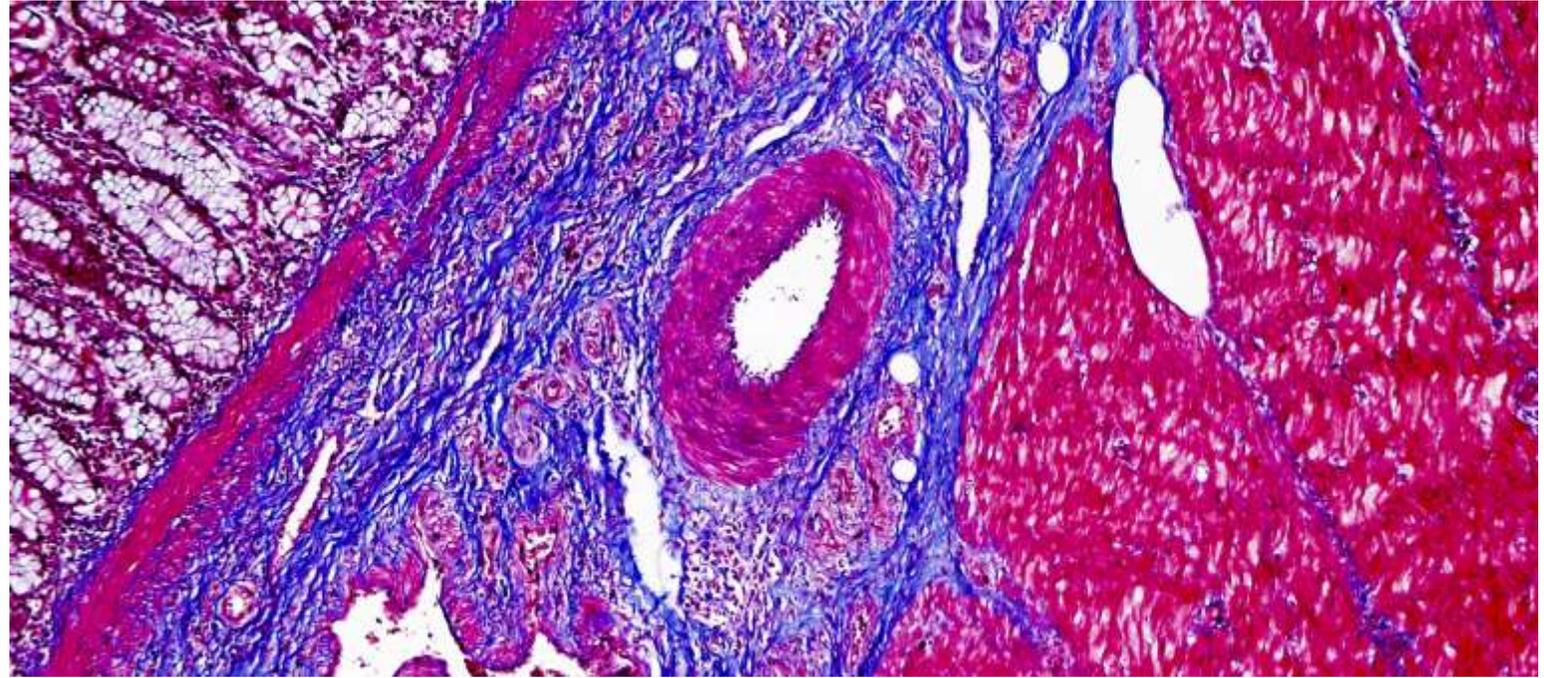
# Fiji Is Just ImageJ



-  1. Batteries Included: 預裝科學研究最常用的插件 
-  2. Bio-Formats: 支援超過 150 種顯微鏡圖像格式 
-  3. Macro Recorder: 內建巨集錄製器，將點擊動作轉化為程式碼 

# ImageJ圖相分析 – 顏色比例-色彩分析 (color threshold)

- 反向選取法
- 正向選取法



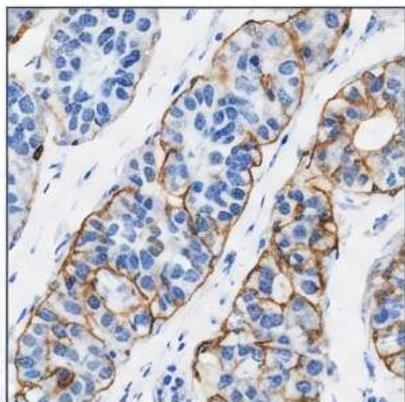
看操作影片 1

# 色彩分析優劣勢

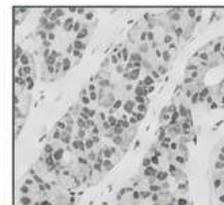
- 優勢：
  - 直覺，與人工判讀僅評估陽性面積時的感覺相近
  - 適用於評估纖維化程度(Masson Trichrome)、脂肪堆積(Oil Red)等，相對快速
  - 易於理解
- 劣勢：
  - **過於依賴人工操作**，無法完全達到機械運算排除人為因素的目標
  - 無法評估細胞膜及細胞核訊號
  - 無法處理多重染色(染色性重疊的情形)

# 色彩去卷積 (Color Deconvolution)

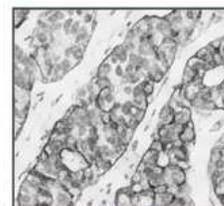
何謂色彩去卷積 (Color Deconvolution) ?



原始影像 (Raw Image)



通道 1：蘇木素 (Hematoxylin)



通道 2：標記物 (DAB)



通道 3：殘差 (Residual)

定義：將混合的 RGB 訊號數學分離為代表特定染色濃度的獨立通道。

目標：恢復被光學重疊隱藏的真實訊號，從「定性觀察」轉向「定量分析」。

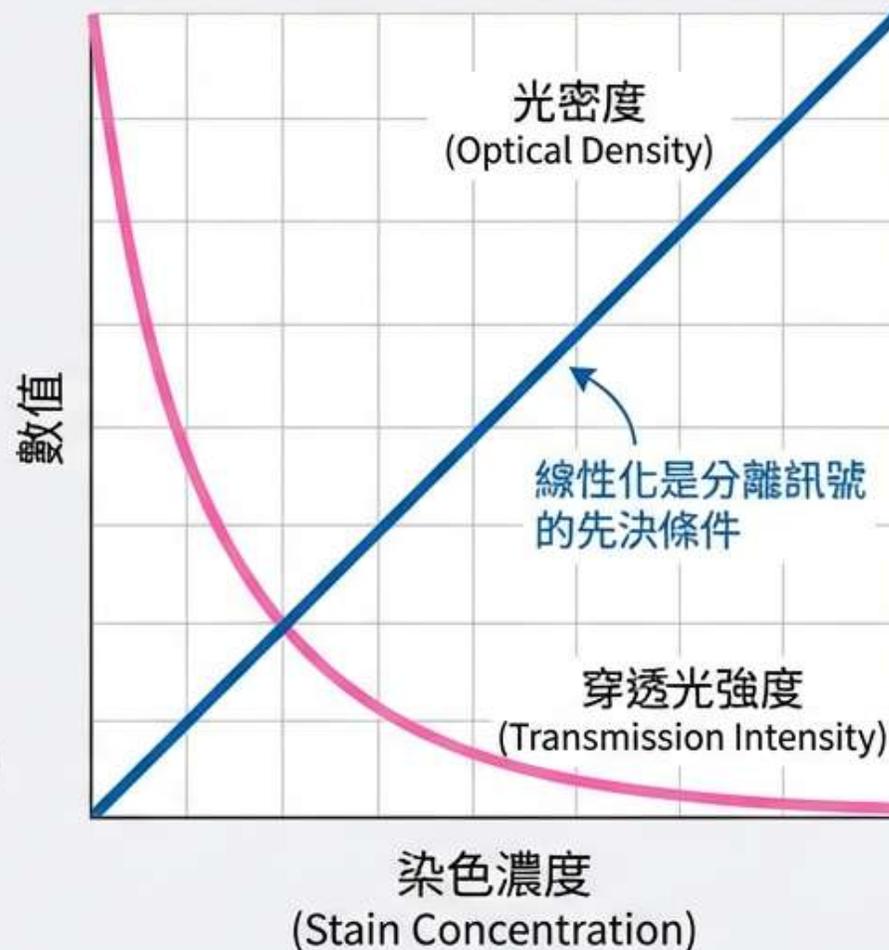
# 數學基礎：比爾-朗伯定律 (The Mathematical Foundation: Beer-Lambert Law)

$$OD = -\log_{10}\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

OD: 光密度  
(Optical Density)

I: 像素強度  
(Pixel Intensity)

$I_0$ : 背景光強度  
(Background Intensity)



## 數學引擎步驟二：染色向量 (Stain Vectors)



- 每個像素的顏色 = 染色向量 × 濃度
- 每種純化學染劑都有其獨特的 RGB 吸光指紋。

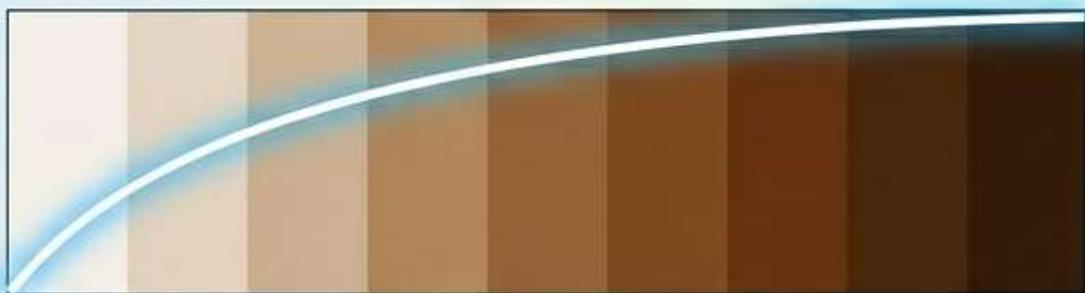
## 數學引擎步驟三：矩陣反轉與訊號分離



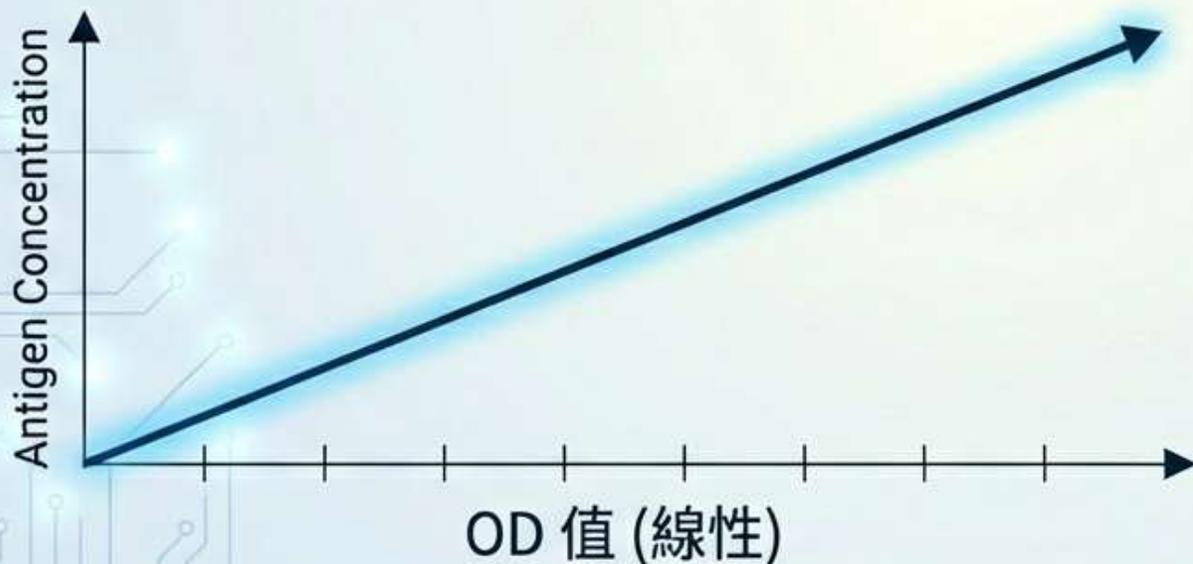
透過計算染色矩陣的「反矩陣」，電腦可回推重疊區域中每種染色的精確濃度。這使得數學上的完美分離成為可能，即使視覺上兩者完全重疊。

# 線性優勢：從「顏色深淺」到「抗原濃度」

視覺感知 (非線性)



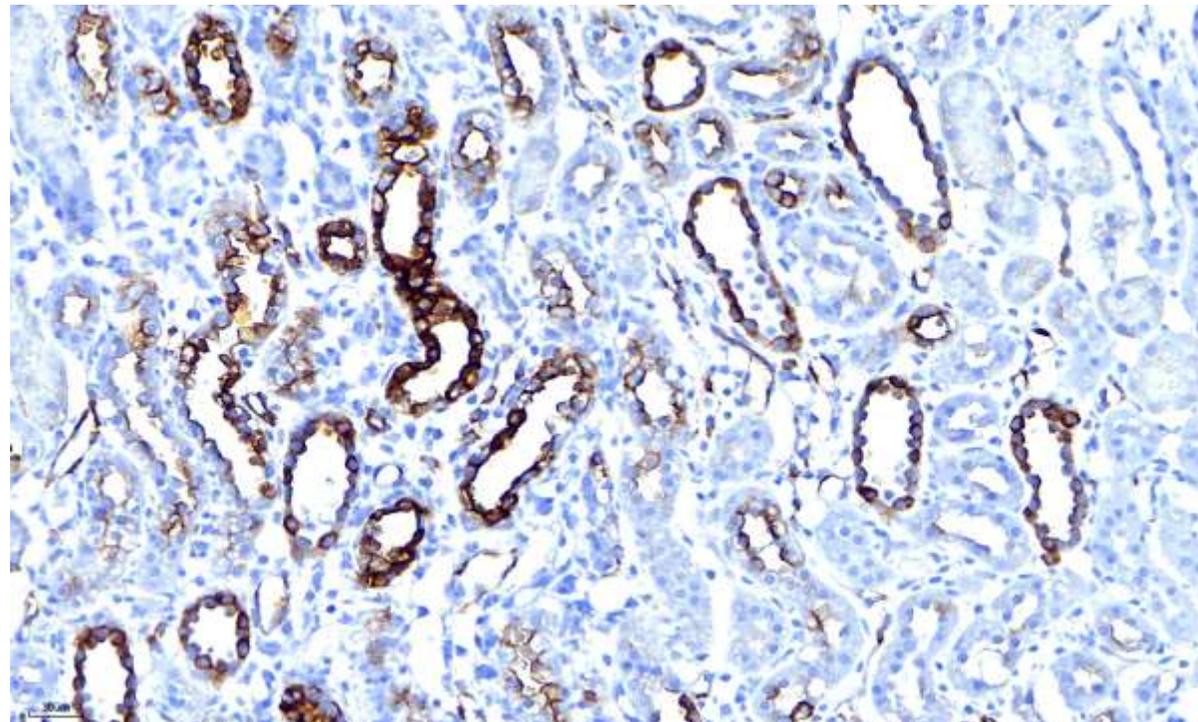
人類視覺遵循韋伯定律 (非線性)，容易高估深色區域。



色彩去卷積後的 OD 值與抗原濃度呈線性正比，是精確 H-Score 的基礎。

# 實際操作示範

- 以去卷積法進行H-Score分析

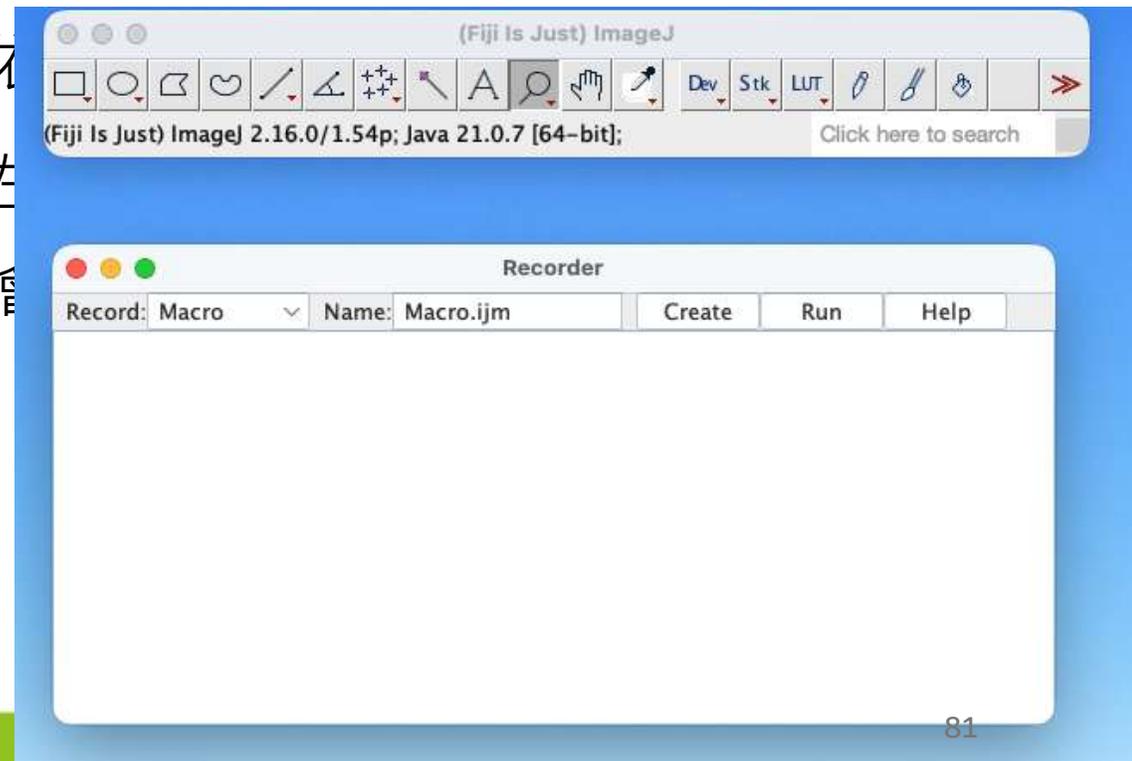


看操作影片2

# 錄制Macro-自動執行

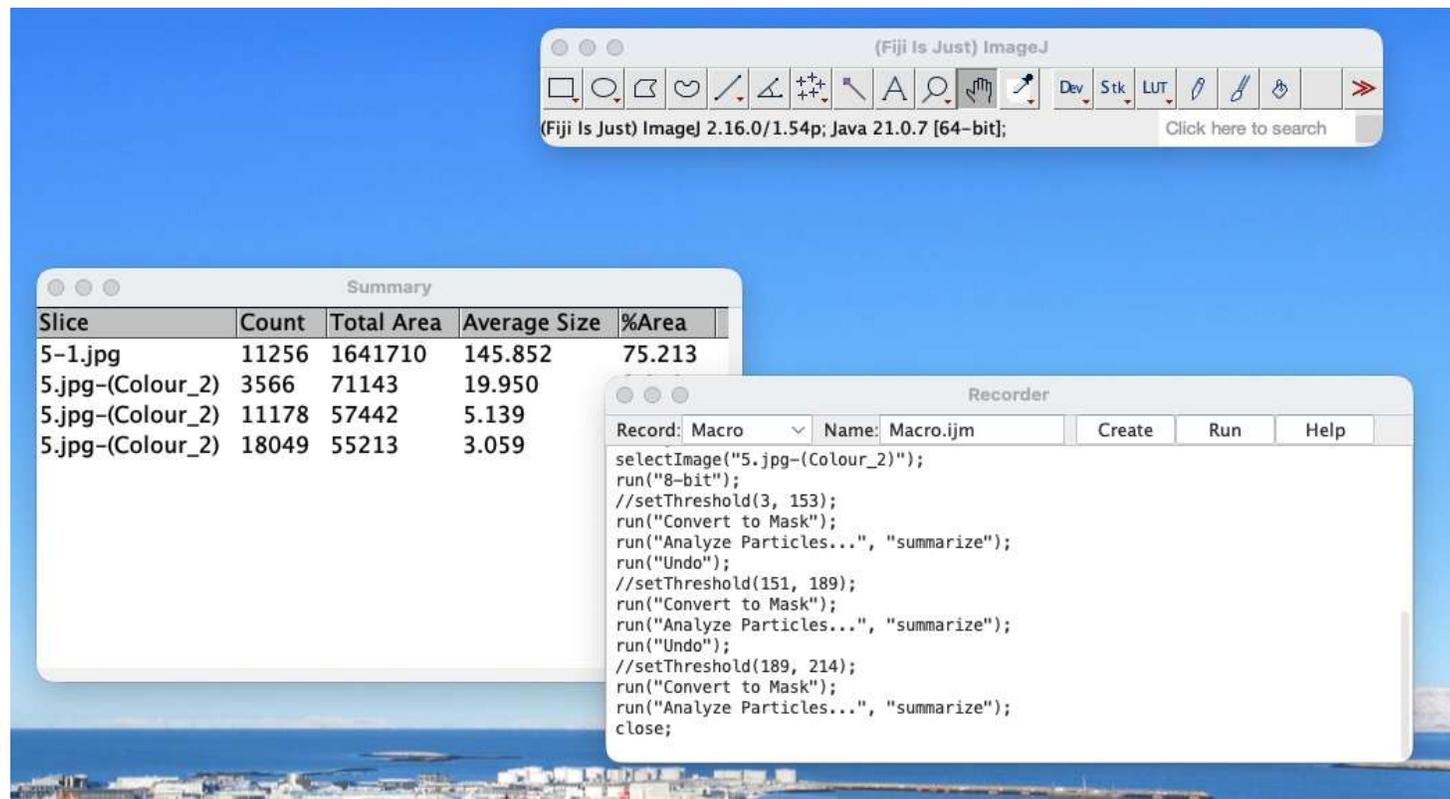
- 階段一：啟動巨集錄製器 (Starting the Macro Recorder)

- 開啟影像：在Fiji中載入一張具代表性的DAB染色明視野測試影像。
  - 啟動錄製器：於上方選單列依
  - 設定語言：確保錄製器視窗左
- 時，您在Fiji上的所有動作都會



# 錄制Macro-自動執行

- 階段二：依前述程序執行圖片的顏色去卷積
- 執行後，即可見到紀錄器中有操作流程的程式碼



The screenshot displays the ImageJ interface with three windows open:

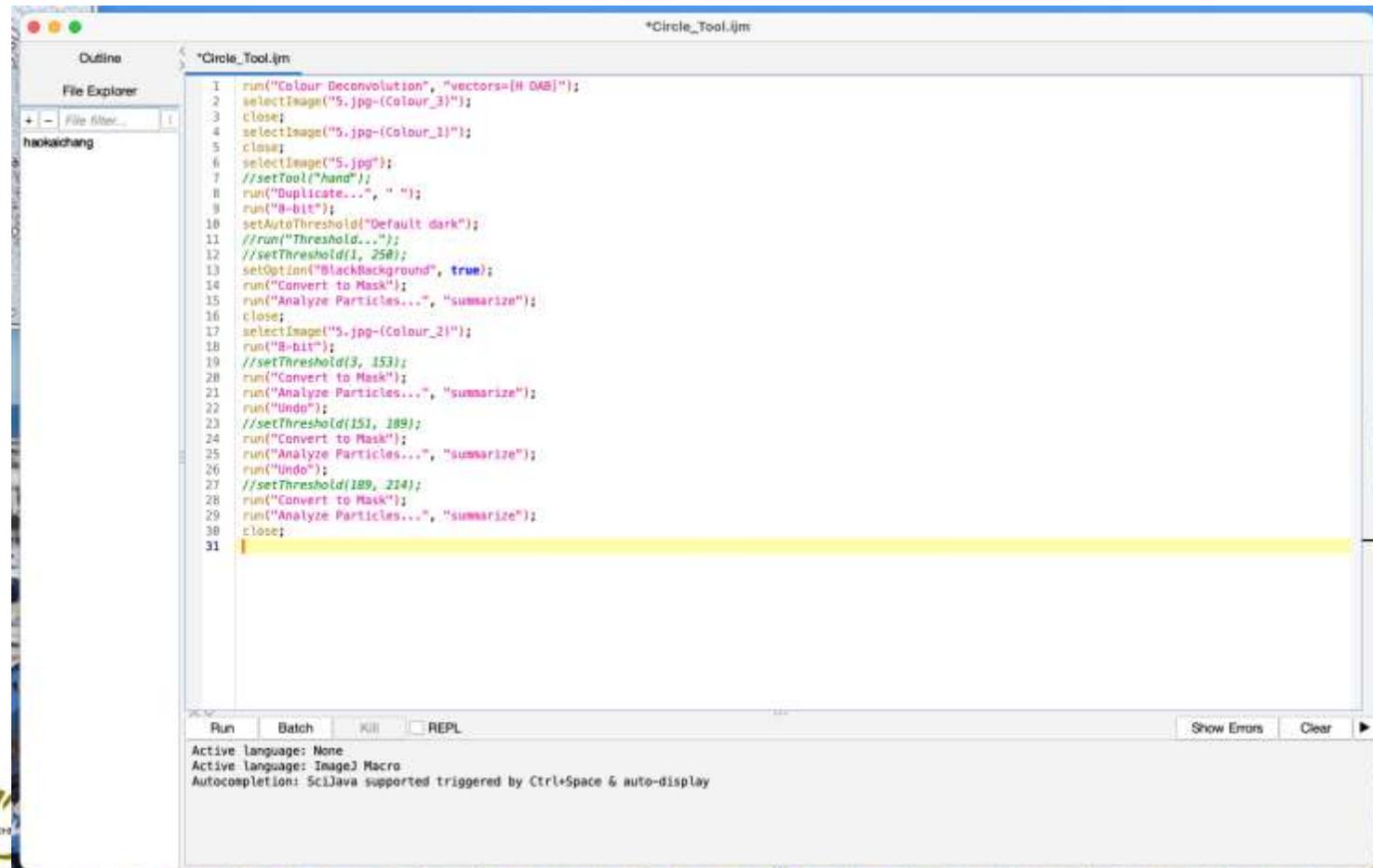
- Summary**: A table showing analysis results for four slices.
- Recorder**: A window showing the recorded macro code.
- ImageJ**: The main application window with a toolbar and status bar.

Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area
5-1.jpg	11256	1641710	145.852	75.213
5.jpg-(Colour_2)	3566	71143	19.950	
5.jpg-(Colour_2)	11178	57442	5.139	
5.jpg-(Colour_2)	18049	55213	3.059	

```
Record: Macro Name: Macro.ijm Create Run Help
selectImage("5.jpg-(Colour_2)");
run("8-bit");
//setThreshold(3, 153);
run("Convert to Mask");
run("Analyze Particles...", "summarize");
run("Undo");
//setThreshold(151, 189);
run("Convert to Mask");
run("Analyze Particles...", "summarize");
run("Undo");
//setThreshold(189, 214);
run("Convert to Mask");
run("Analyze Particles...", "summarize");
close;
```

# 錄制Macro-自動執行

- 階段三：將程式碼複製到Macro Tools中
- Plugin > New > Macro Tools



```
*Circle_Tool.ijm
1  run("Colour Deconvolution", "vectors=[H DAB]");
2  selectImage("5.jpg-(Colour_3)");
3  close;
4  selectImage("5.jpg-(Colour_1)");
5  close;
6  selectImage("5.jpg");
7  //setTool("hand");
8  run("Duplicate...", " ");
9  run("8-bit");
10 setAutoThreshold("Default dark");
11 //run("Threshold...");
12 //setThreshold(1, 250);
13 setOption("BlackBackground", true);
14 run("Convert to Mask");
15 run("Analyze Particles...", "summarize");
16 close;
17 selectImage("5.jpg-(Colour_2)");
18 run("8-bit");
19 //setThreshold(3, 153);
20 run("Convert to Mask");
21 run("Analyze Particles...", "summarize");
22 run("Undo");
23 //setThreshold(151, 189);
24 run("Convert to Mask");
25 run("Analyze Particles...", "summarize");
26 run("Undo");
27 //setThreshold(189, 214);
28 run("Convert to Mask");
29 run("Analyze Particles...", "summarize");
30 close;
31
```

Run Batch Kill REPL Show Errors Clear

Active language: None  
Active language: ImageJ Macro  
Autocompletion: SciJava supported triggered by Ctrl+Space & auto-display

- Topics
- Upcoming Events
- More
- CATEGORIES
  - Announcements
  - Development
  - Image Analysis
  - Job Opportunities
  - Usage & Issues
  - All categories
- TAGS
  - imagej
  - fiji
  - cellprofiler
  - qupath
  - macro

Announcements microscopy, bioimage, bioimaging, euro-bioimaging, funding, uk	G	0	2	5m
<b>Problem with SQLite in headless mode in a computer cluster</b> Usage & Issues cellprofiler	P	3	35	1h
<b>Using InstanSeg for Nuclei Detection</b> Image Analysis qupath, instanse		3	32	1h
<b>Linux version of QPath only saves snapshots as .svg files, not .Tiff or .png</b> Usage & Issues qupath	T R	15	33	1h
<input checked="" type="checkbox"/> <b>BIOMERO 2.0 issues with successful workflows but no data being pulled back</b> Development biomero		4	33	2h
<b>Lee Laser 100 watt yag</b> Usage & Issues plugin	F	1	10	2h
<b>Help for ABBA in Fiji: Can't get export Atlas Coordinates of Original Slices to ImageJ to work!</b> Usage & Issues fiji, abba		2	24	3h
<b>Call for help testing QuPath v0.7.0!</b> Announcements qupath		14	345	3h
<b>Object Classification value error in ilastik while uploading segmentation file</b>				



# Welcome to the ImageJ wiki

ImageJ is **open source** software for processing and analyzing scientific images.

This wiki is a community knowledge base for ImageJ and friends



ImageJ



ImageJ2



Fiji

And many other flavors, their extensions, and related software projects.

GET STARTED



# The future of building happens together

Tools and trends evolve, but collaboration endures. With GitHub, developers, agents, and code come together on one platform.

Enter your email



Sign up for GitHub

Try GitHub Copilot free



# 技術限制與品質控管



**Beer-Lambert 失效：**  
染色過深或組織過厚  
導致光散射大於吸收。

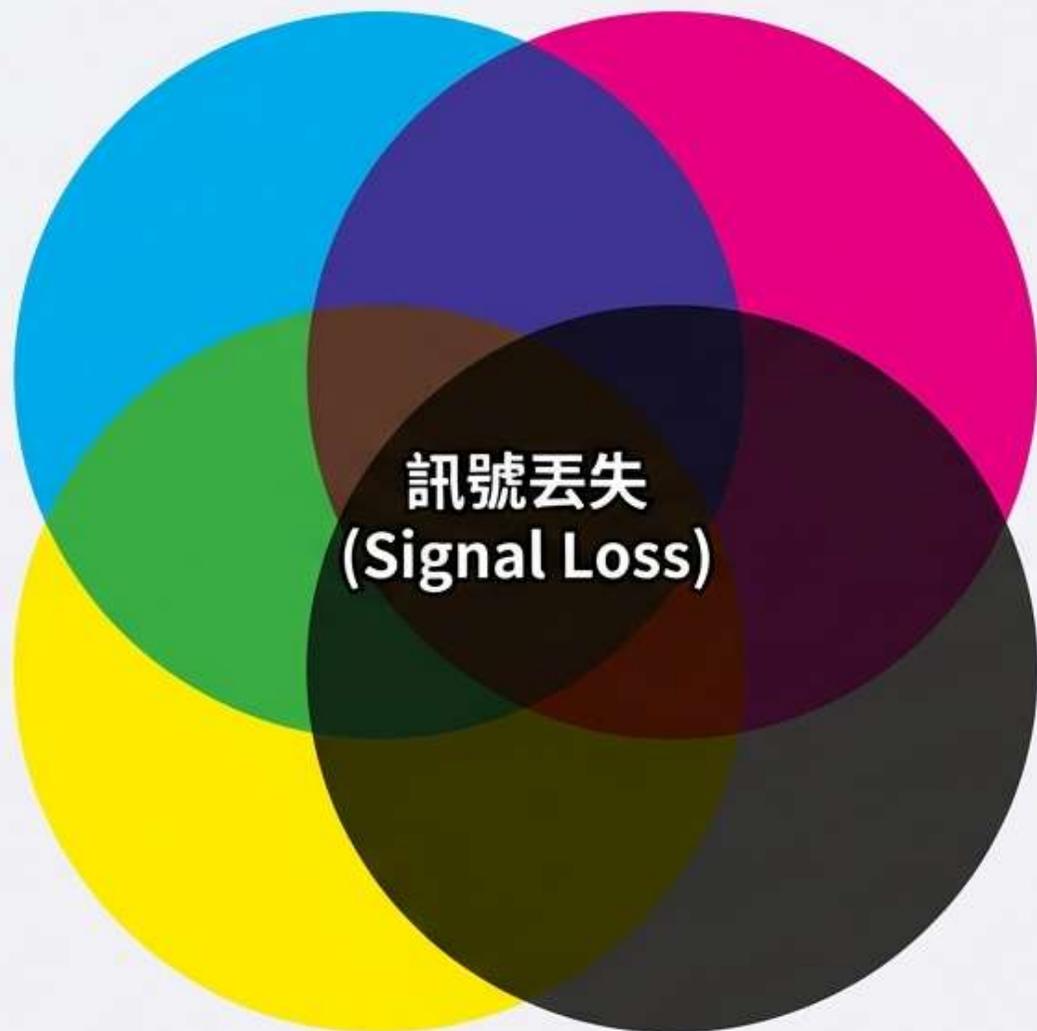


**像素深度限制：**8-bit  
影像 (0-255) 可能導致  
高訊號區數據斷層。



**通道限制：**標準去卷積  
僅適用於 3 種以內染色  
，超過需使用**光譜分離**  
(Spectral Unmixing)。

# 複雜度的壁壘：欠定系統 (The Complexity Barrier)



$$\begin{array}{ccc} 3 & & 4 \\ \text{Equations} & < & \text{Unknowns} \\ (R, G, B) & & (\text{Markers}) \end{array}$$

**數學極限 (Mathematical Limit) :**

傳統相機僅提供 3 個數據點，無法解析 4 種以上標記

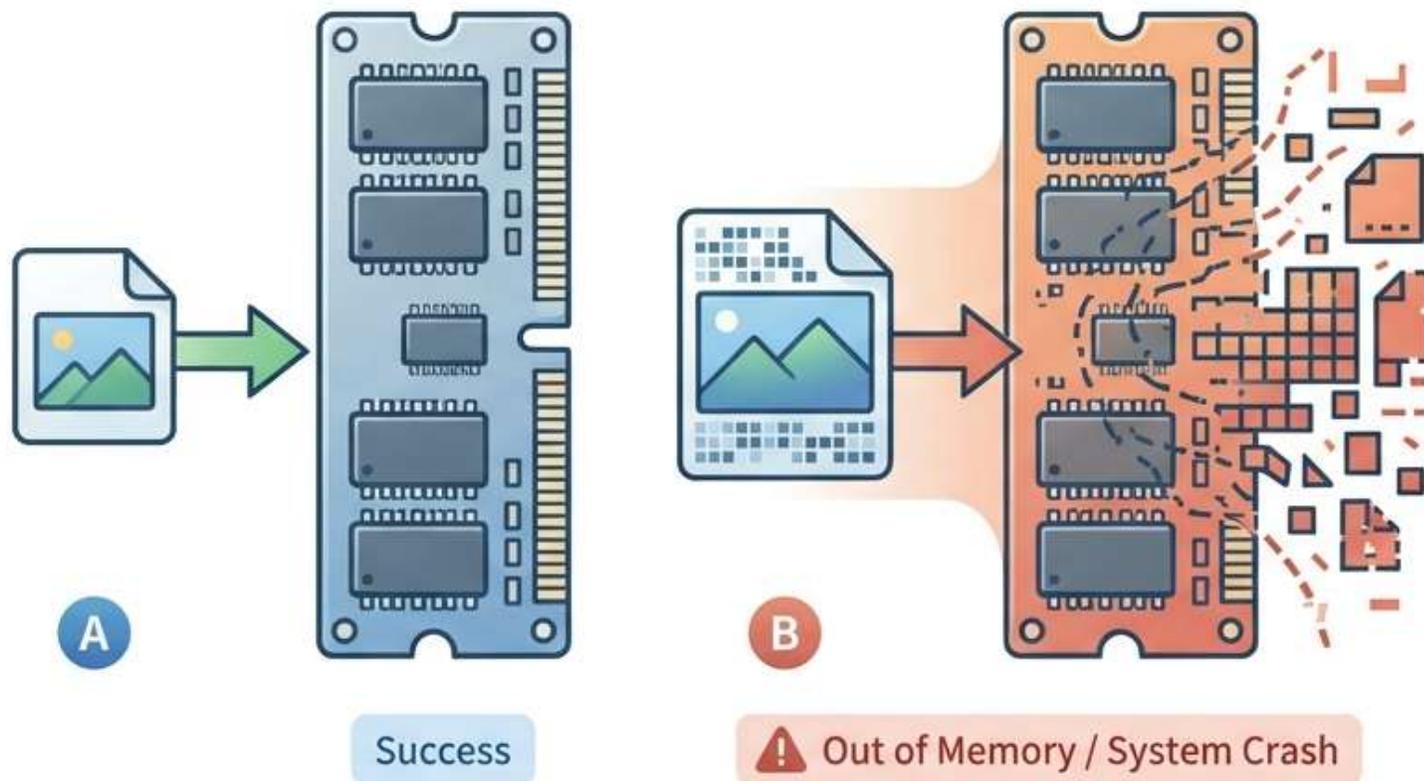
**物理極限 (Physical Limit) :**

深色染劑遮蔽淺色染劑 (空間位阻)

**結論 (Conclusion) :**

多重染色 (Multiplexing) 需要超越 RGB 的新維度

# 像素導向的架構與記憶體瓶頸



- 記憶體瓶頸 (RAM Bottleneck)：必須將圖像完全載入記憶體
- 破壞性編輯 (Destructive Editing)：處理過程通常會改變原始圖像數據
- 結論：傳統架構難以應對 GB 級別的超大影像

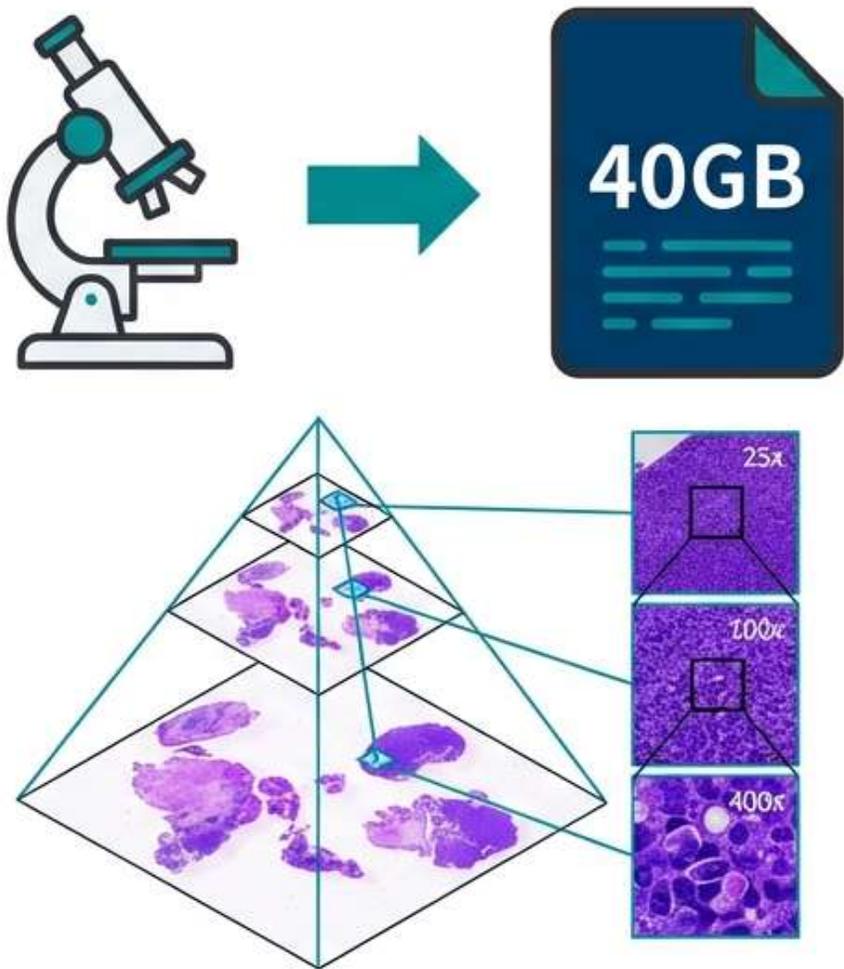
# QuPath



- **起源**：2016年 Pete Bankhead 於貝爾法斯特女王大學開發
- **核心使命**：專為數位病理學 (Digital Pathology) 與全玻片影像設計
- **解決方案**：解決了 ImageJ 無法開啟超大影像 (WSI) 的痛點
- **性質**：完全開源 (Open Source)

NotebookLM

# 迎接計算病理學的新世代



**檔案巨獸：**單一 WSI 影像高達 40GB，傳統軟體無法負荷。

**主觀性挑戰：**傳統人工計數耗時且存在觀察者間變異。

**影響力數據：**自 2016 年發布以來，QuPath 已在超過 624 篇學術文獻中被引用。

從「顯微鏡下人工計數」到「全玻片影像結合 AI 分析」，數位化徹底解決了主觀性與重現性問題，而 QuPath 正是為了解決海量影像運算而生的開源利器。

# QuPath 的核心定位與開源優勢



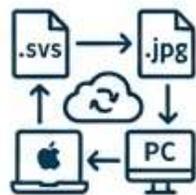
## 開源免費

以 Java 開發，完全免費且具備極高透明度。



## WSI 專屬架構

專為處理金字塔型超大影像設計，效能卓越。



## 無縫跨平台整合

內建 Bio-Formats 與 OpenSlide，支援各大主流格式。

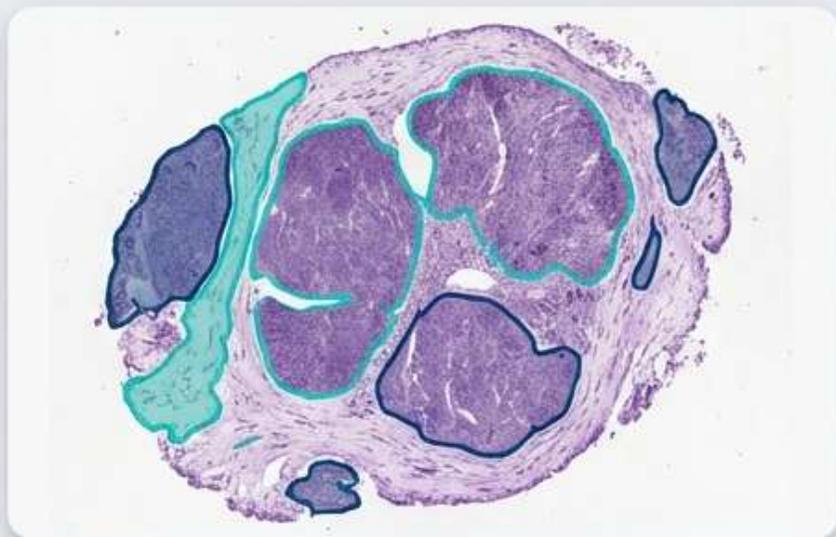


## 高階擴充性

支援 Groovy 腳本自動化與多種深度學習外掛套件。

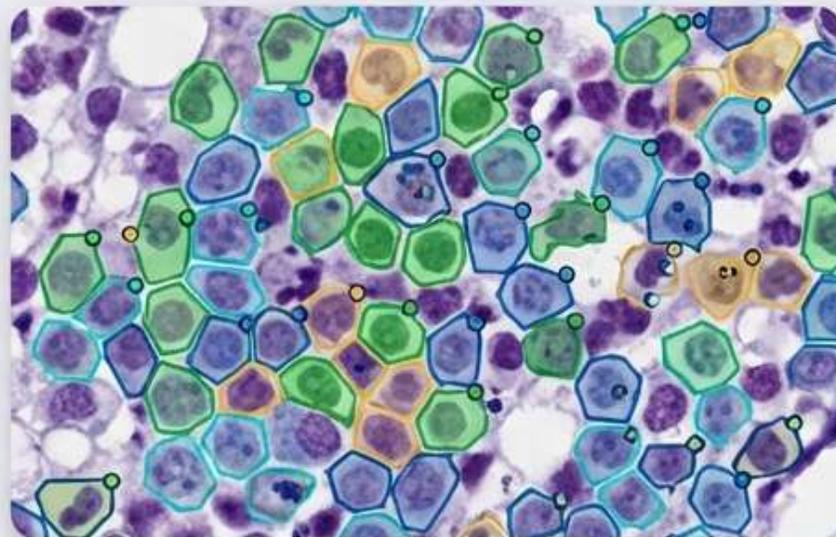
# 雙引擎驅動：無縫整合的機器學習架構

## 像素分類 (Pixel Classification)



- 目標：區分組織、背景或特定結構（如腫瘤與基質）。
- 機制：透過標註少量範例，利用 Random Forest (隨機森林) 等演算法自動推論全圖。

## 物件分類 (Object Classification)

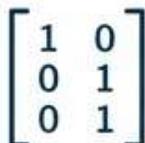


- 目標：單細胞精準分型（如區分陽性/陰性細胞）。
- 機制：基於已偵測的細胞物件特徵（面積、強度等 40+ 維度數據）進行高階機器學習訓練。

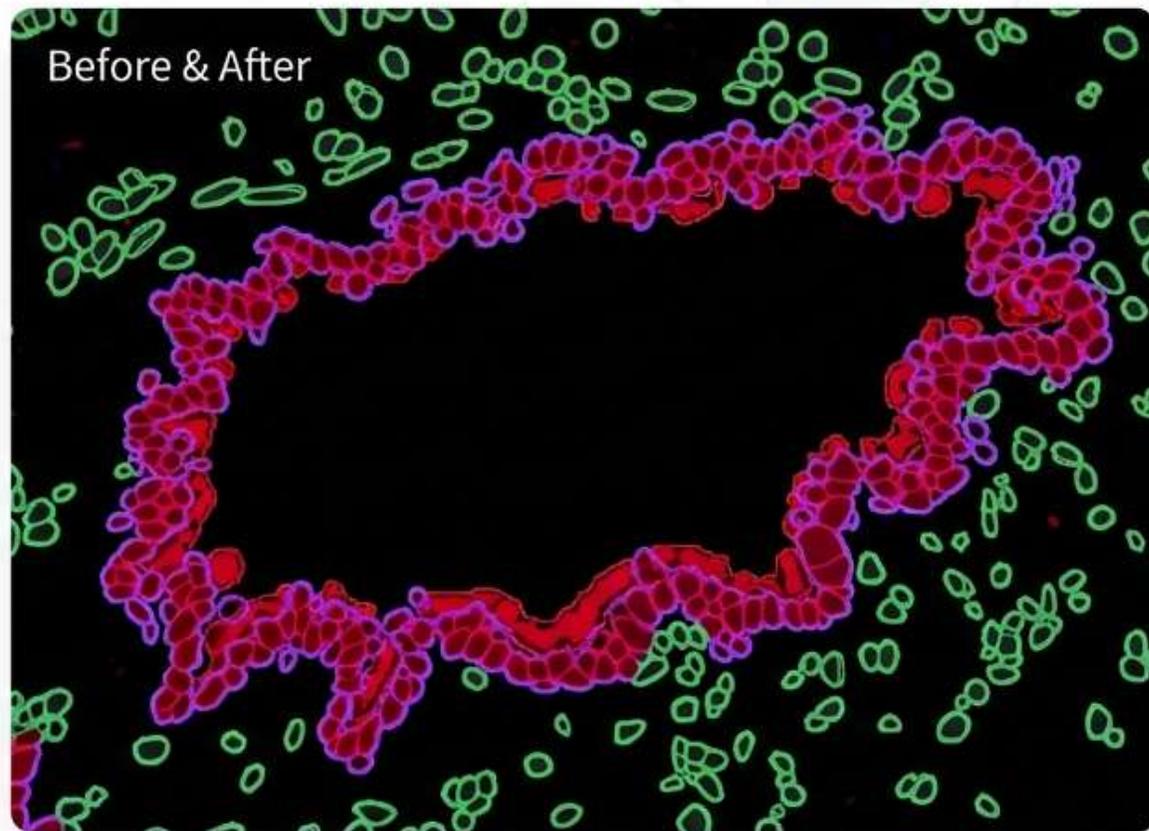
訓練過程只需「提供範例」與「即時更新 (Live Update)」，無需艱澀的程式編碼。

# 像素分類：精準定義組織邊界

 **基礎閾值設定 (Thresholder) :**  
快速建立單一或多重閾值，處理基礎組織分割。

 **進階特徵提取：**  
利用 Hessian 矩陣 (行列式與最大特徵值) 強化邊緣與結構偵測。

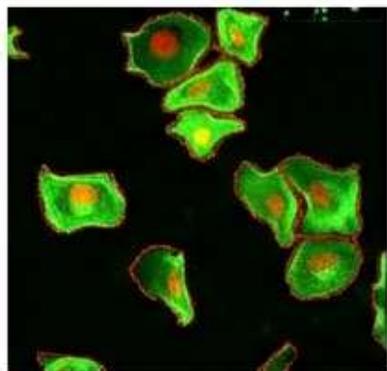
 **動態解析度適應：**  
可針對不同解析度訓練多個分類器，以適應不同尺度的形態學特徵。



結合傳統特徵提取與機器學習，QuPath 能有效克服染色不均的問題，精確切割出表皮、真皮或腫瘤微環境，並即時計算面積佔比。

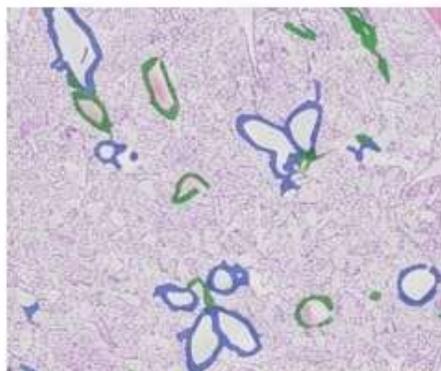
# QuPath 經典模組 (Classic Modules)

## 1. 細胞偵測 (Cell Detection)



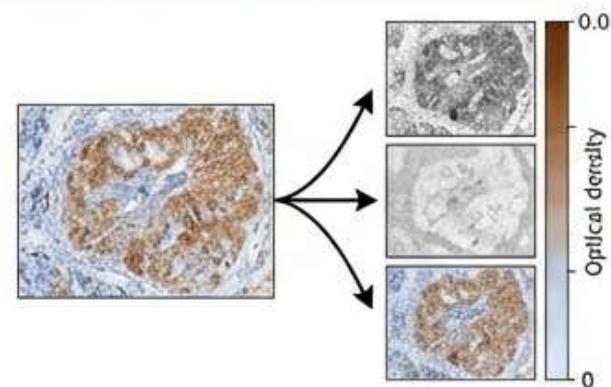
細胞偵測 (Cell Detection) :  
結合 Watershed 或 StarDist  
深度學習進行高精度細胞核  
分割。

## 2. 像素分類器 (Pixel Classifier)



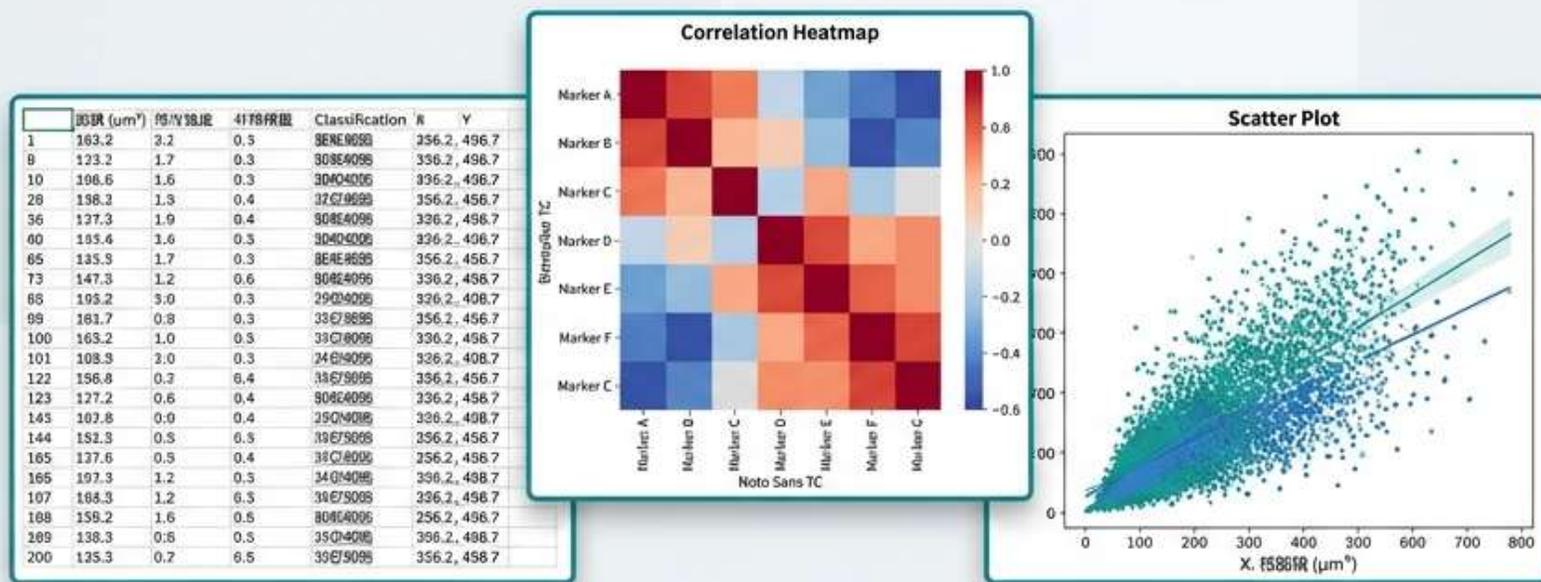
像素分類器 (Pixel Classifier) :  
利用機器學習 (Random  
Trees) 自動區分腫瘤 (Tumor)  
與基質 (Stroma)。

## 3. 染色分離 (Stain Separation)



染色分離 (Stain Separation) :  
數位化分離 H&E 或 IHC 的顏  
色通道，量化光學密度。

# 從數據到洞見：整合與視覺化輸出



## 豐富的測量匯出

自動產生包含細胞特徵、分類標籤與座標位置的標準化文本檔案。

## Python 自動化後處理

透過自訂指令碼，自動整合掃描數據與中繼資料 (Metadata)。

## 發表級圖表生成

一鍵產生高價值的標記關係熱力圖與散佈圖，加速從實驗到論文發表的進程。

QuPath 不僅是分析工具，更是連接原始影像與終端科學洞見的橋樑，補足了大規模數據後處理的自動化需求。

# 巔峰對決：QuPath vs. 商業軟體 (HALO)

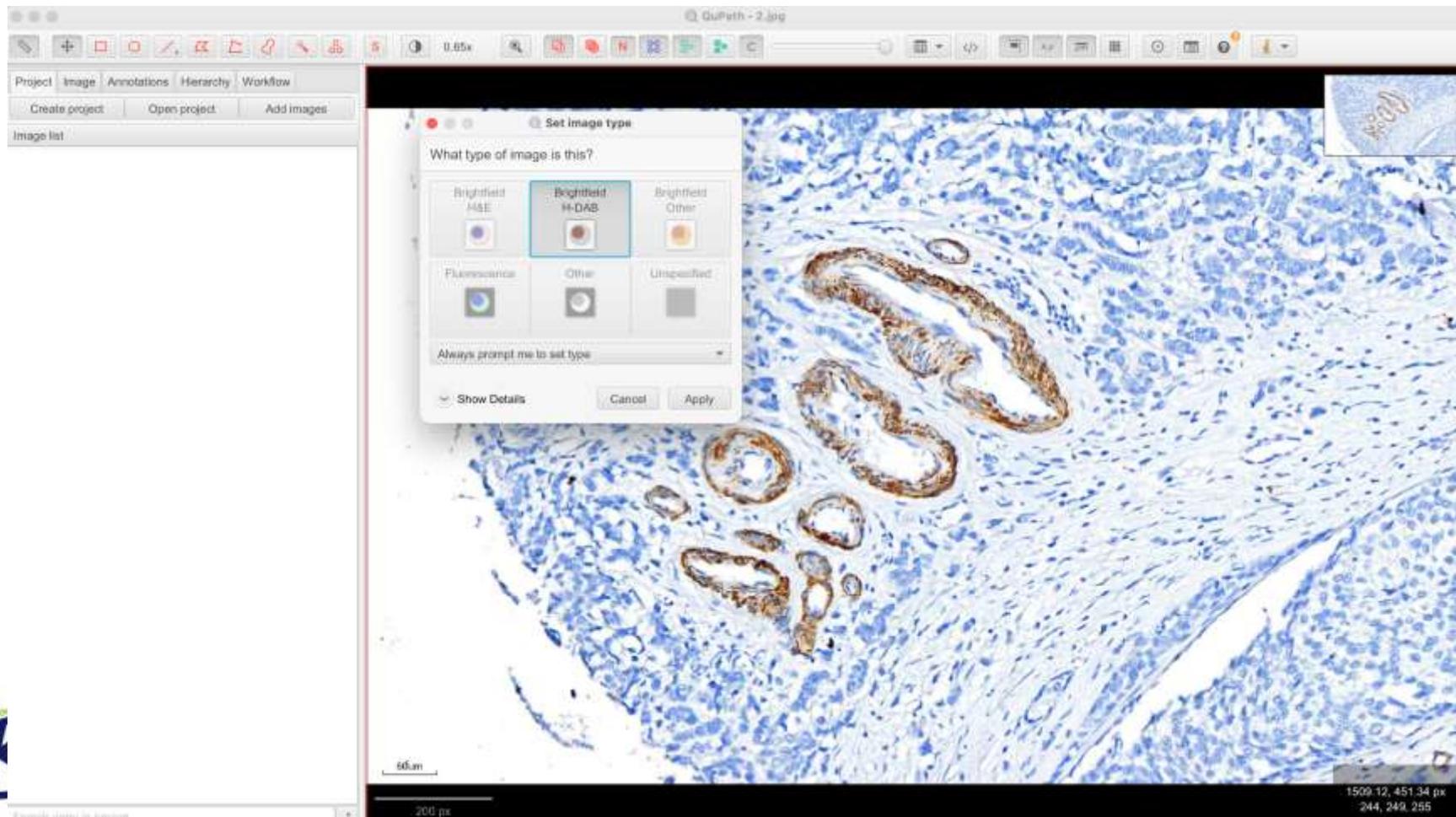
共同優勢：免疫表型分析準確度極高、細胞分割與分類結果具備高度一致性（相關係數>0.89）。

HALO 特性	QuPath 絕對優勢
<ul style="list-style-type: none"><li>• 專有許可證（價格高昂）</li><li>• 開箱即用、專為高通量優化</li><li>• 免寫程式的黑盒子演算法</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ 零授權成本（開源免費）</li><li>✓ 演算法 100% 透明（非黑盒子，符合嚴格科研驗證需求）</li><li>✓ 極高的自訂化彈性（支援 Java/Groovy 腳本）</li></ul>

針對學術研究與高度客製化需求，QuPath 不僅提供與頂級商業軟體匹敵的精準度，更賦予研究者**不受限的演算法控制權**。

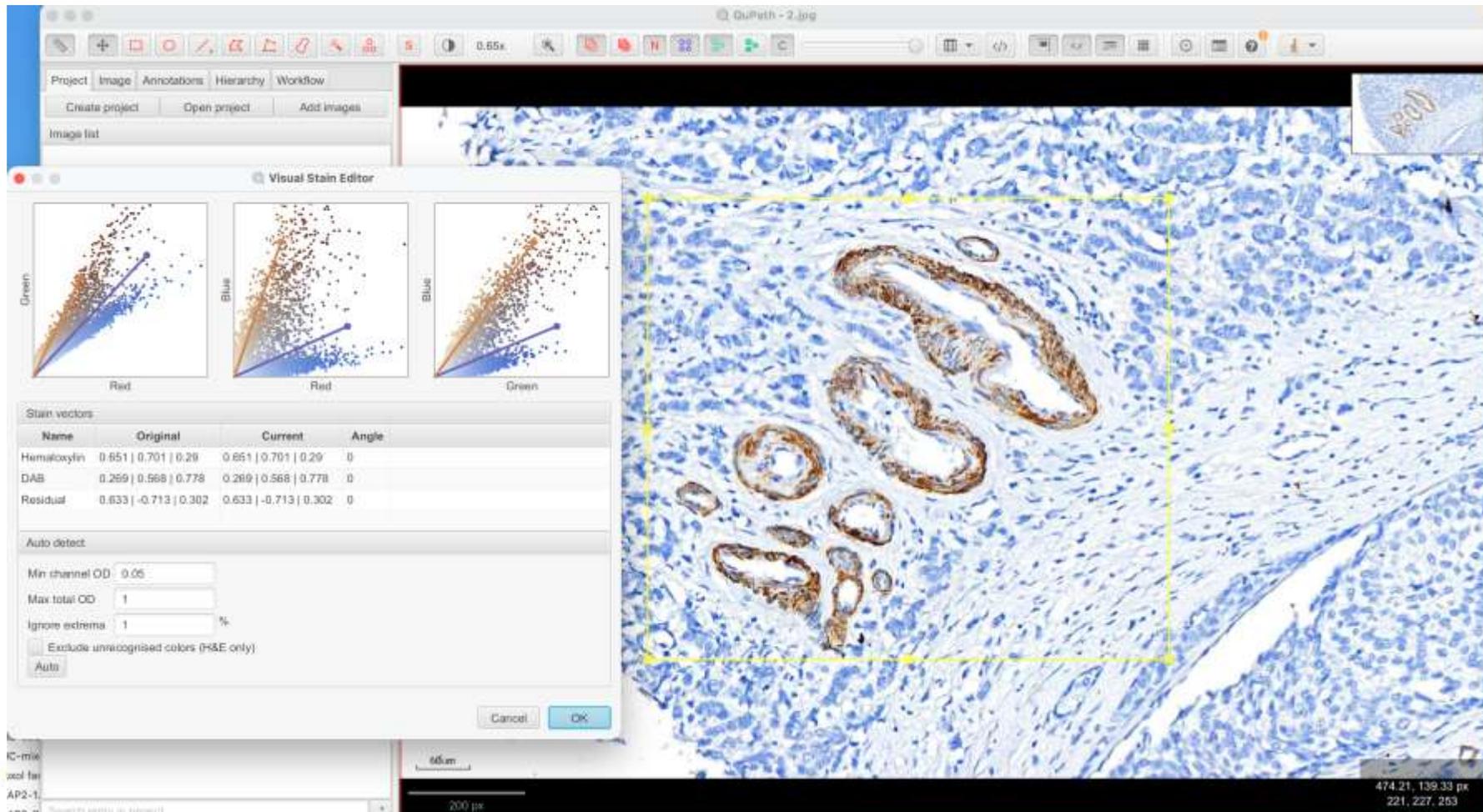
# 實際操作案例-IHC染色機器學習

- 輸入圖片後，首先選擇染色類型



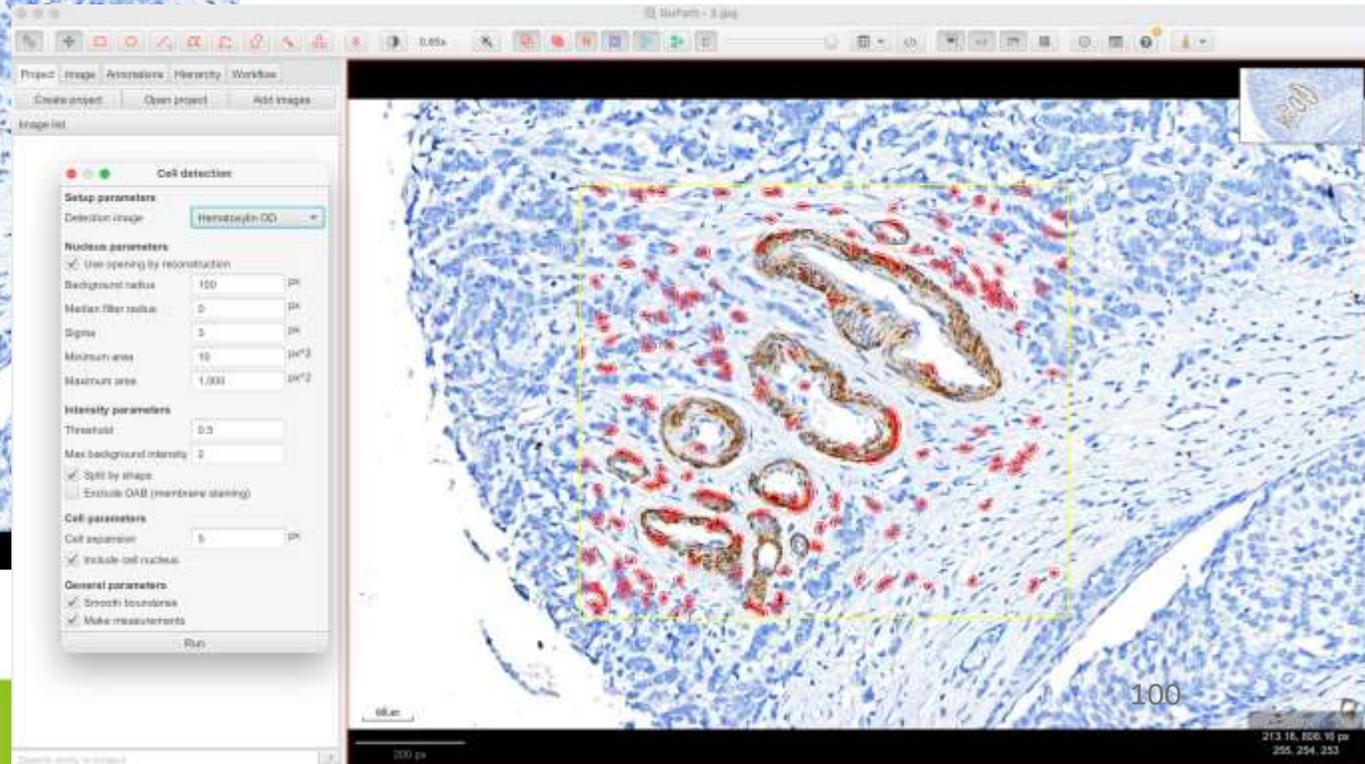
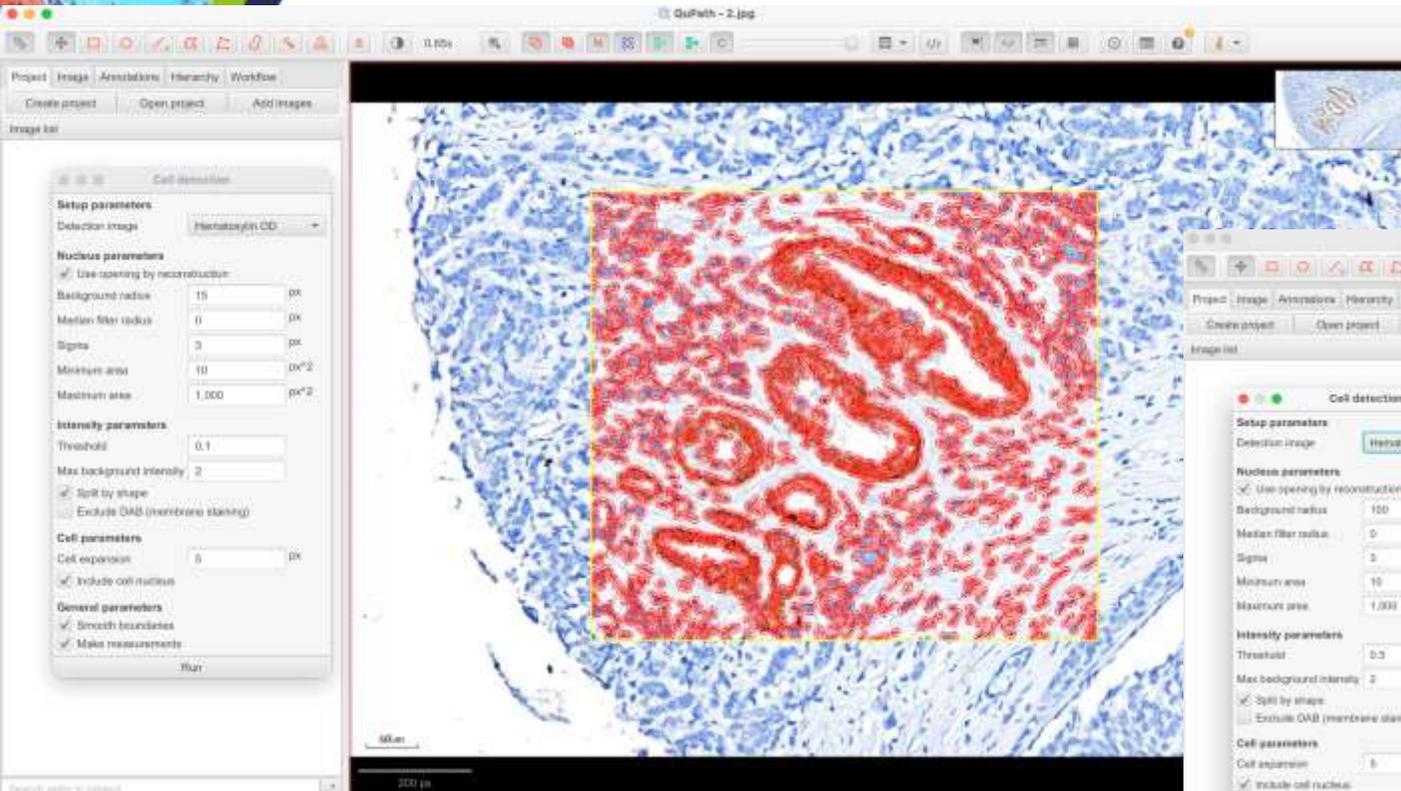
# 實際操作案例-IHC染色機器學習

- Analyze > 使用Visual stain editor > 校正顏色向量 > 儲存



# 實際操作案例-IHC染色機器學習

- 點選 Analyze ▶ Cell detection ▶ Cell detection



# 實際操作案例-IHC染色機器學習

- Annotation > 標記細胞種類 > 輸入Object classifier

The screenshot displays the QuPath software interface for IHC image analysis. The main window shows a histological image with various regions highlighted in yellow and red. A 'Train object classifier' dialog box is open, showing the following settings:

- Object filter: Detections (all)
- Classifier: Random trees (RTrees)
- Features: All measurements
- Classes: All classes
- Training: All annotations

The dialog also includes a 'Live update' section and a 'Training data' pie chart showing the distribution of training data:

- Negative: 247
- Positive: 1
- Stroma: 247

The classifier name is set to 'Negative: Negative'. The interface also shows a sidebar with a list of annotations and a table of object properties.

Key	Value
Image	2.jpg
Object ID	19941c97-cc87-4c91-997e-9d...
Object type	Annotation
Name	
Classification	Negative
Parent	Root object (Image)
ROI	Geometry
Centroid X px	528.69
Centroid Y px	952.76
Num Detections	248
Num Negative (base)	247
Num Positive (base)	1
Num Negative: Negative	247
Num Positive: Positive	1
Num Stroma	0
Measurements	Description

# HALO : 高通量分析的工業標準

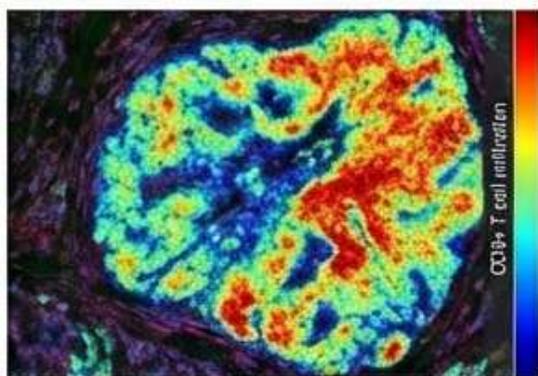


## 核心哲學 (Core Philosophy) : 模組化與易用性 (Click-and-Go)

- **Proprietary Engines** : 經過驗證的專有演算法，無需編寫程式碼，確保結果的一致性。
- **Scalability** : 專為藥廠與大型臨床試驗設計，支援極高通量的批次處理 (Batch Processing)。
- **Support** : 提供完整的供應商技術支援與驗證文檔 (Validation Documentation)。

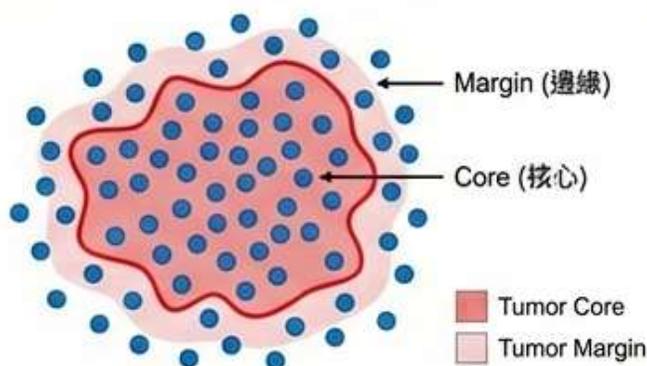
# HALO 經典模組 (Classic Modules)

## 1. Highplex FL (多重螢光分析)



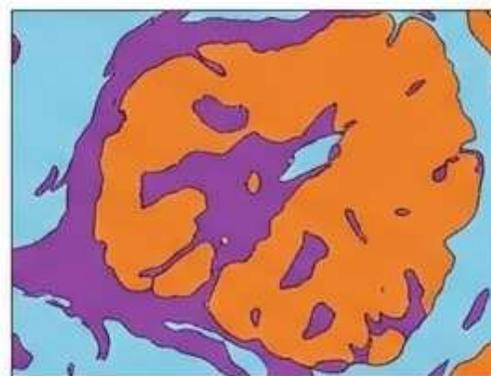
專為多重免疫螢光 (mIF) 設計，自動進行複雜的細胞表型分型 (Phenotyping)。

## 2. 腫瘤浸潤分析 (Infiltration Analysis)



自動計算免疫細胞在腫瘤核心 (Core) 與邊緣 (Margin) 的密度與分佈。

## 3. 組織分類 (Tissue Classifier)



基於紋理與顏色的智慧組織分割，快速識別感興趣區域 (ROI)。

# 比較維度 I：架構與透明度

## Open Source (QuPath / ImageJ)

- **White Box (白箱)**：原始碼可見，演算法透明，利於科學重現性。
- **Cost**: 免費 (Free)，但需投入學習時間。

## Commercial (HALO)

- **Black Box (黑箱)**：演算法專有，細節不可見，但經商業驗證。
- **Cost**: 昂貴授權費，換取速度與易用性。



### A) Agreement of scores between used methods

		ImageJ				
		negative	weak	moderate	strong	total
QuPath	positivity					
	negative	1	0	0	0	1
	weak	1	23	0	0	16
	moderate	0	2	8	0	6
	strong	0	0	0	1	1
total		2	23	8	1	34

weighted kappa = 0.945 (almost perfect agreement)

## Key Finding

研究顯示 QuPath 與 HALO 在細胞計數上的相關性  $> 0.90$ ，證明開源軟體具有具有商業級的準確度。

# 技術限制與品質控管



**Beer-Lambert 失效：**  
染色過深或組織過厚  
導致光散射大於吸收。

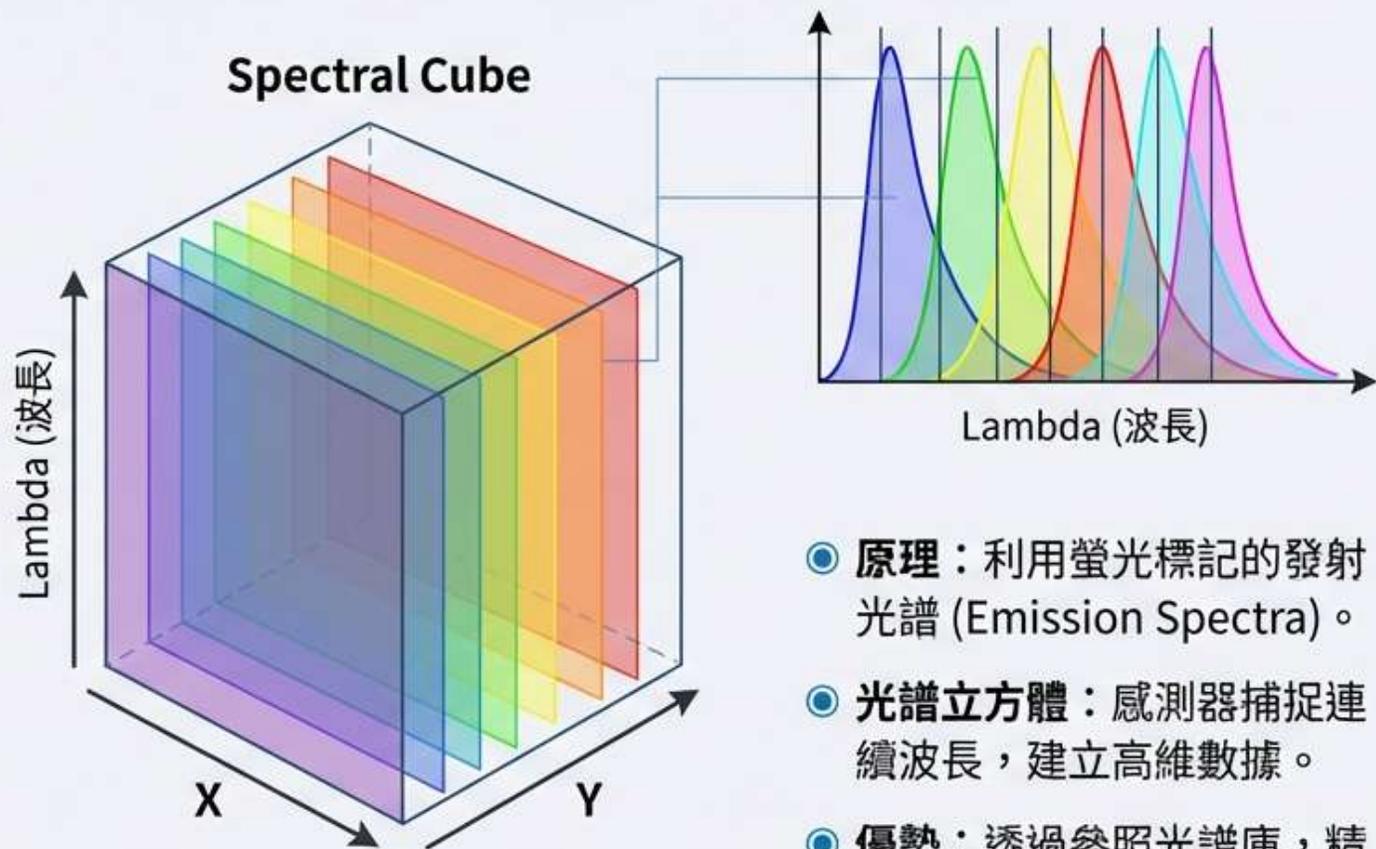
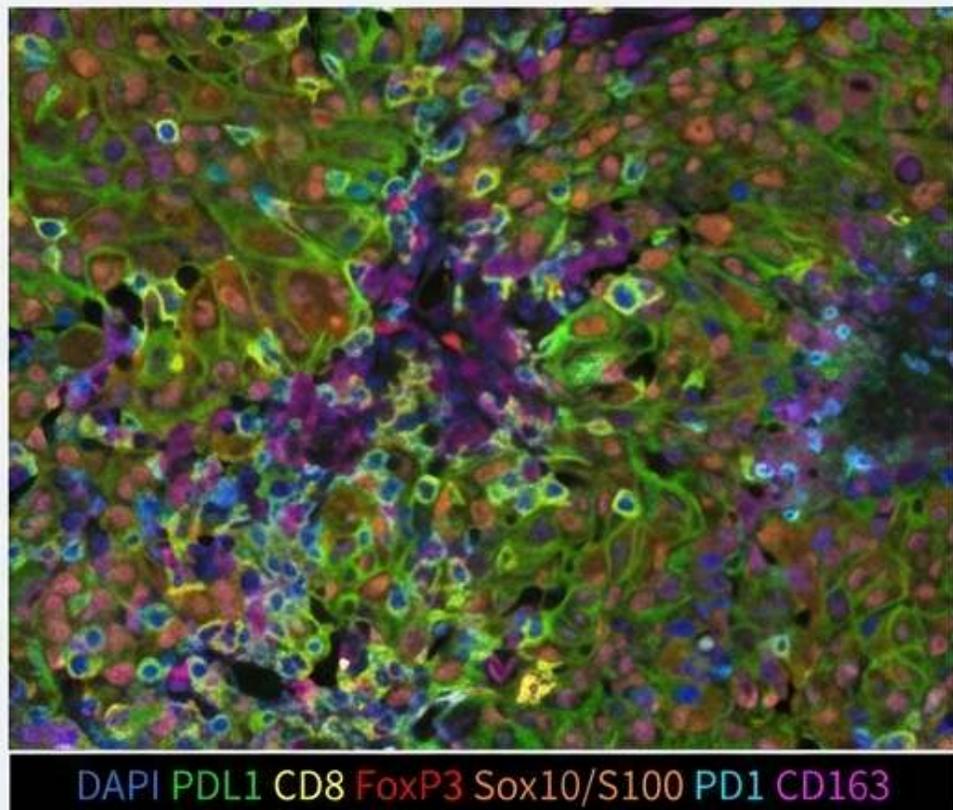


**像素深度限制：**8-bit  
影像 (0-255) 可能導致  
高訊號區數據斷層。

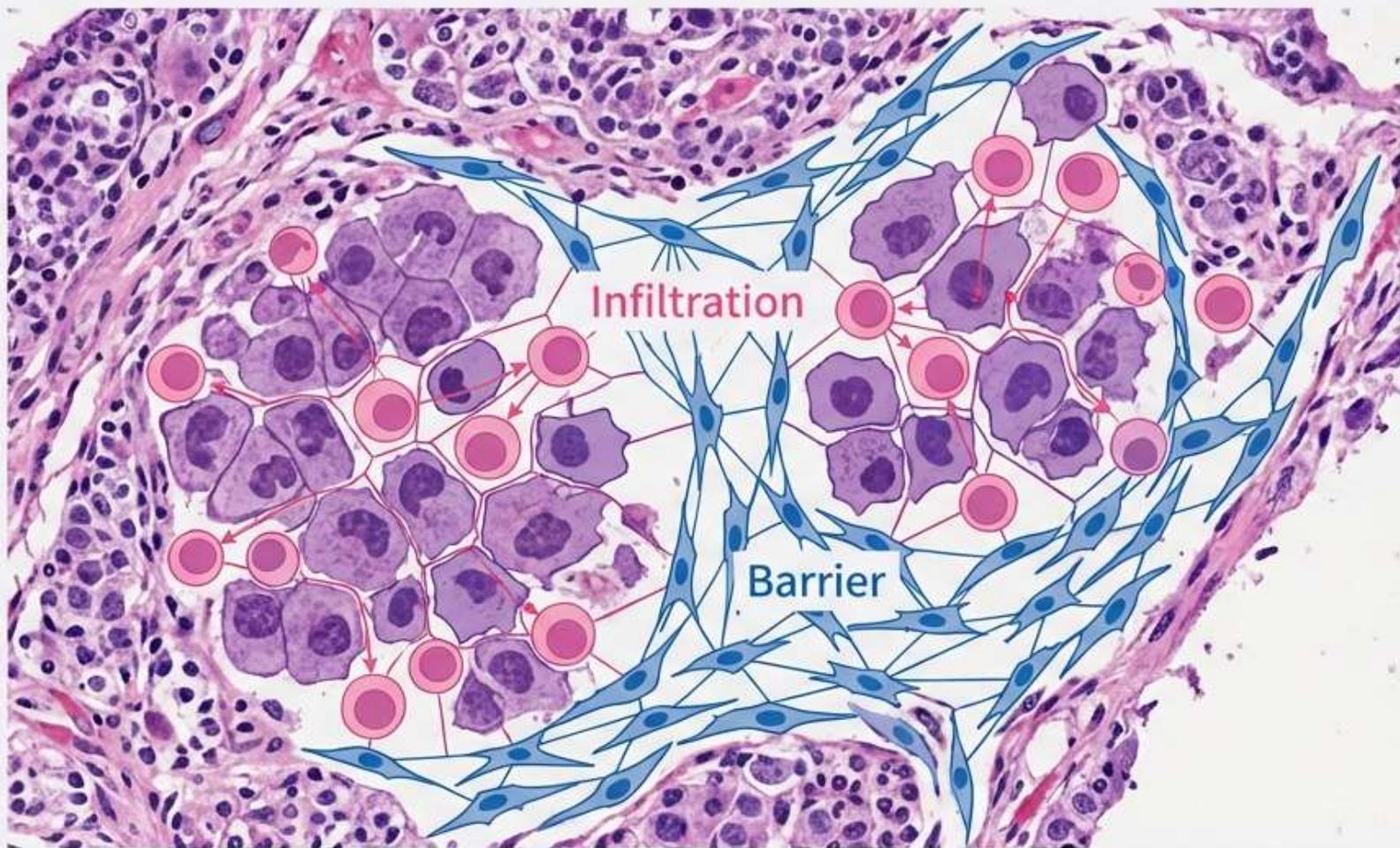


**通道限制：**標準去卷積  
僅適用於 3 種以內染色  
，超過需使用**光譜分離**  
(Spectral Unmixing)。

# 解決方案 I：多重免疫螢光與光譜解混合 (mIF & Spectral Unmixing)

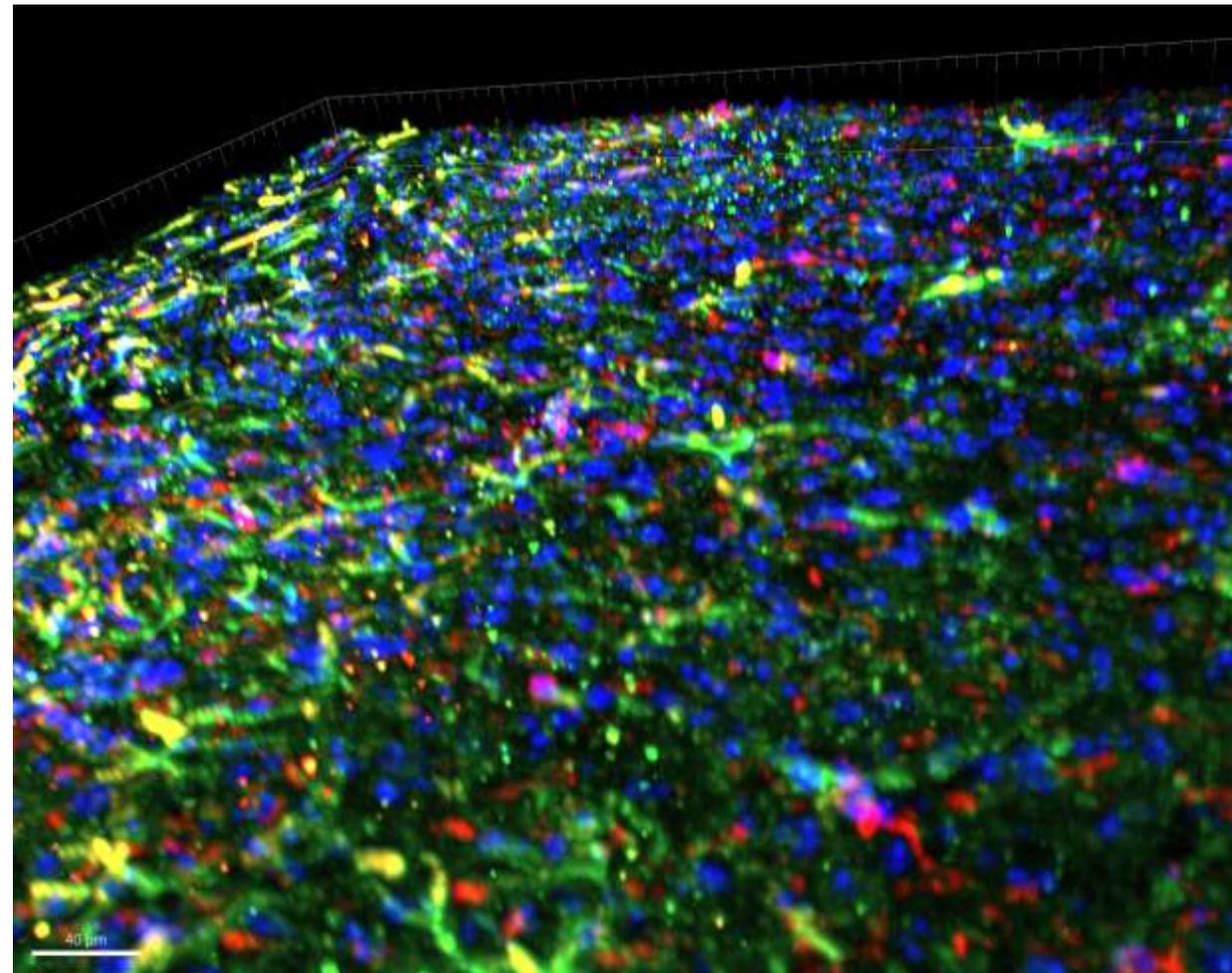
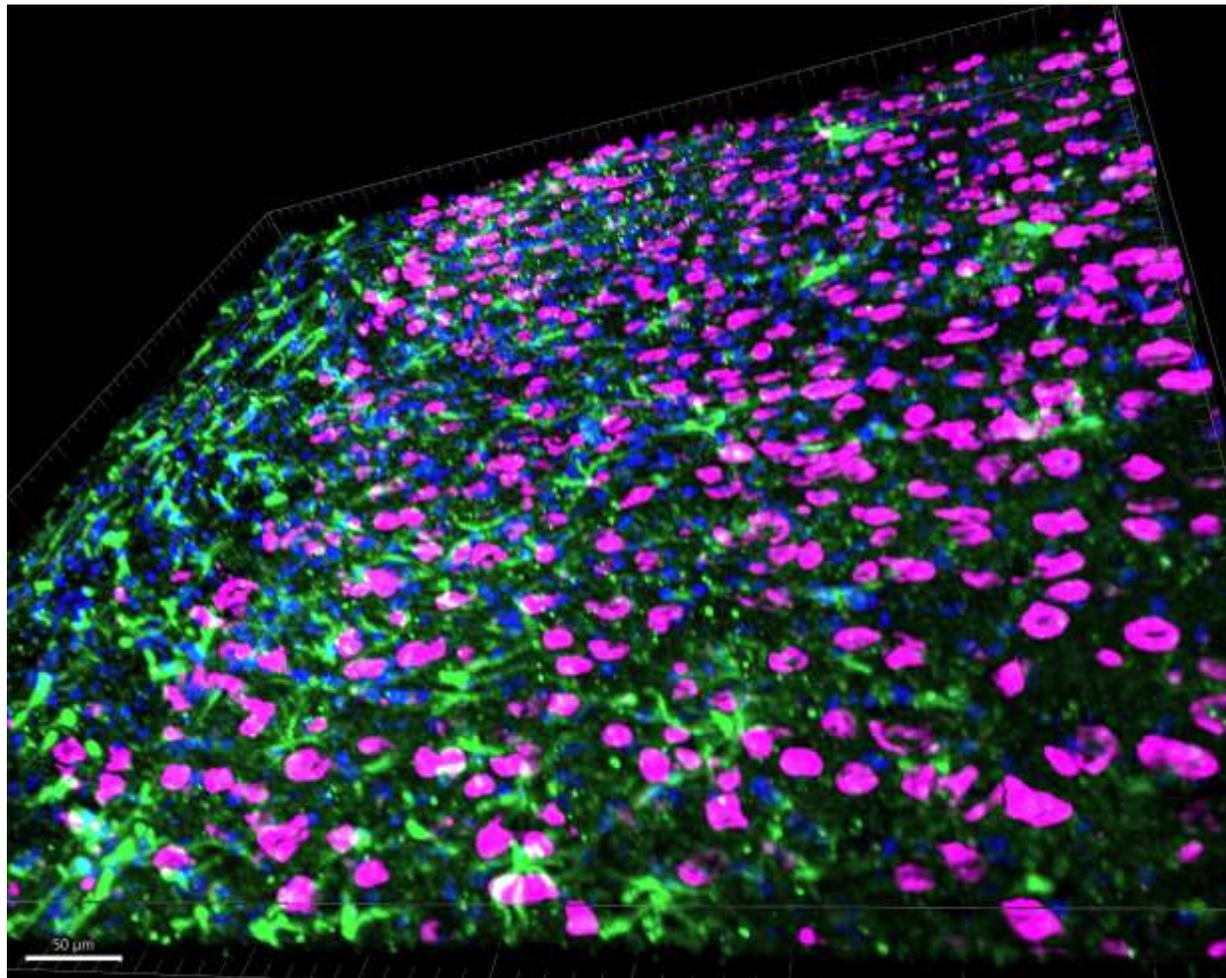


# 空間體學與腫瘤微環境 (Spatial Omics & TME)



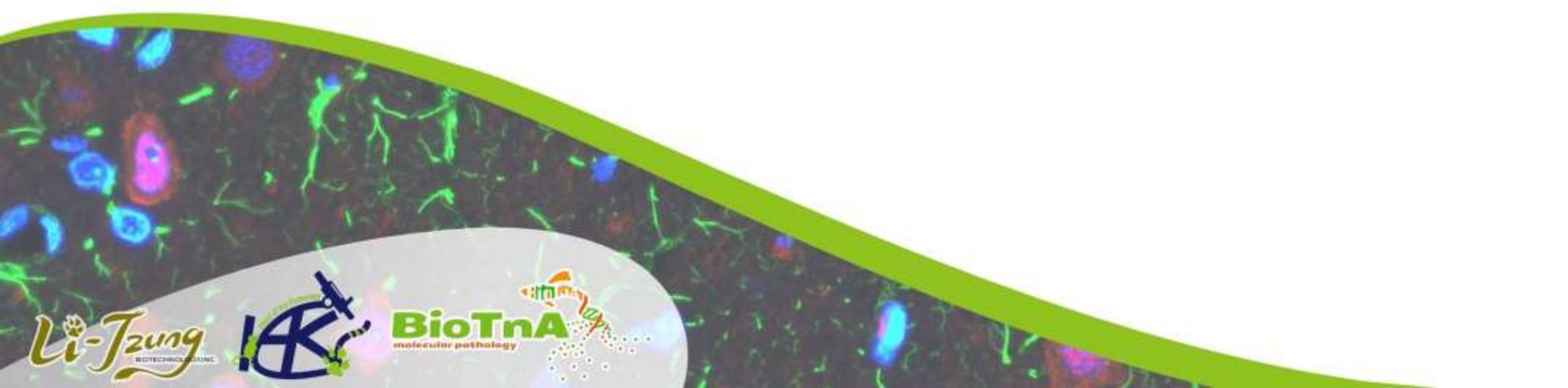
- **空間情境**：分析細胞間的鄰近關係 (Nearest Neighbor Analysis)。
- **應用**：判斷免疫細胞是浸潤腫瘤 (Infiltration) 還是被阻隔 (Exclusion)。
- **意義**：揭示腫瘤微環境 (TME) 的空間異質性。

# 空間體學(Spatial Omics): 厚組織3D影像





# AI LLM模型與Vibe Coding



# 生成式AI

- 生成式AI主要源於深度學習模型，特別是著重於兩種技術架構
  - 生成對抗網路 (Generative Adversarial Networks, GANs)
    - 由兩個互相競爭的「生成器」與「判別器」神經網路所組成。
  - 轉換器模型 (Transformer-based Models)
    - 以大型語言模型 (LLM) 為代表，例如廣為人知的ChatGPT，便是基於轉換器架構。原理是透過海量資料和先進演算法訓練出來的、專精於「語言」的人工智慧。

# 現行主流LLM



**ChatGPT**  
**(OpenAI)**



**Gemini**  
**(Google)**

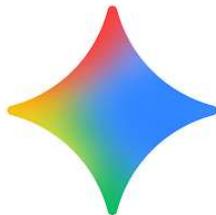


**Claude**

**Claude**  
**Anthropics**

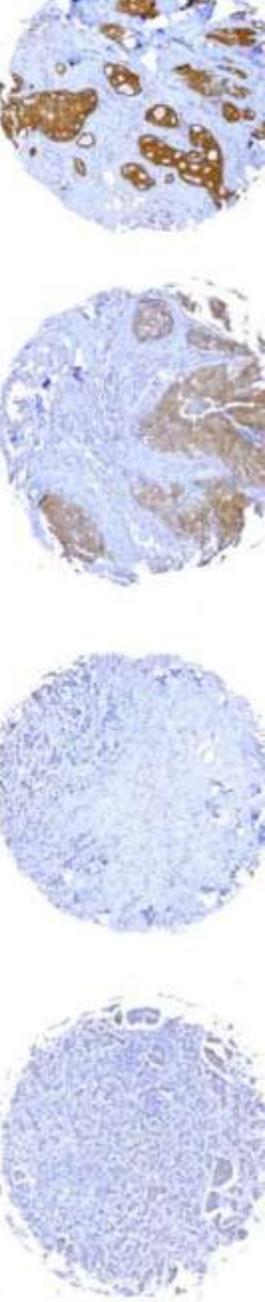


**Grok**  
**(xAI, Tesla)**

模型	目前最擅長	依據 ( 官方/榜單 )
	<p>長鏈條的 <b>agentic coding</b>、大型程式庫重構、<b>code review / debugging</b>；以及超長文件/程式碼基底 ( 1M beta context ) 下的穩定規劃能力</p>	<p>Anthropic 官方介紹強調 coding、代理任務、較長時間跨度與 1M context ( beta )；榜單 Coding Elo 也顯示其優勢</p>
<p>Gemini 3.1 Pro</p> 	<p>多模態推理 ( <b>text+audio+image+video+repo</b> )、複雜問題整合、多來源資料的 <b>agentic workflows</b>；處理速度最快</p>	<p>DeepMind model card 與 Vertex 描述其為最進階複雜任務、多模態；OpenLM 快照下 Arena/AAll/MMLU-Pro/ARC-AGI 也領先</p>
<p>ChatGPT</p> 	<p>日常專業工作型任務的「全能型」表現 ( 寫作/分析/工具調用/專案型任務 )、以及 OpenAI 生態 ( ChatGPT 產品體驗、API、周邊模型 ) 整合優勢；coding 仍屬第一梯隊</p>	<p>OpenAI 官方將 GPT-5.2 定位為專業工作、長上下文、工具調用與 coding/vision 強化；且 ChatGPT 有對應的 GPT-5.2 Chat 版本</p>

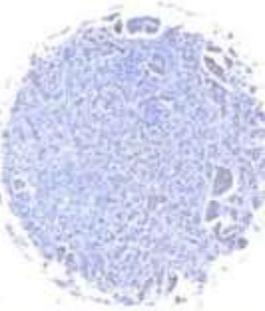
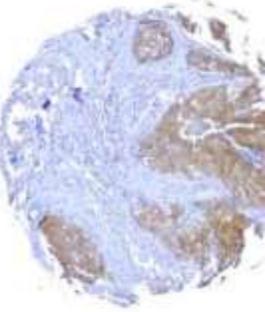
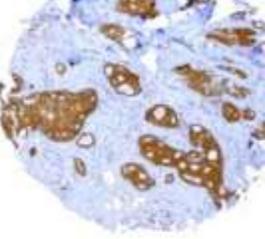
# AI於工作實務上運用

- **翻譯**：應該最多人用的功能
- **校稿**：把完成的報告稿件丟給AI，要求其進行校稿
- **提供靈感**：ex.幫我想一下演講的標題，演講內容主要是.....
- **提供專業內容**：
  - 先建立好專案資料庫，提供其專業文獻做為參考資料。
  - 再提出專業問題：ex. 組織切片染色容易出現染色不均的情形，請問可能的原因及改善方法
- **撰寫程式(Vibe coding)**：以自然語言撰寫程式，使不會程式語言者也能初步建制需要的軟體



# AI使用上的限制

- **幻覺現象(Hallucination)**：指模型在輸出結果時，產生看似合理卻事實上錯誤或捏造的資訊
  - 不同Ai間交互查核驗證
  - 無法完全避免，就像專家也可能會在自己的領域回答錯誤
- 上下文遺失或**錯誤理解(Context Misinterpretation)**：見於長文、多輪對話
- **數值與邏輯錯誤 (Numerical / Logical Errors)**：AI不是統計分析軟體，是語言模型
  - 需要再人工檢驗
- **缺乏可解釋性 (Lack of Explainability)**：又稱 *Black-box problem*。LLM模型是依靠大數據中的機率去生成結果，非線性決策邏輯，無法直觀解釋其解答由來
- **討好使用者**：Ai會根據使用者的使用模式調整生成內容，最終會傾向生成符合使用者喜好的內容
- **免費的限制很多!! 回覆品質大幅受限於提示詞!**



# 好用資料庫模型 - NotebookLM



- 可將錄音檔轉成逐字稿，並輸出成會議紀錄
- 可收錄YouTube, PDF, 錄音, word等多種類型資料達300件
- 依資料庫內容進行回答，無幻覺問題
- 依資料庫生成PPT, 影片, 聲音摘要, 資料圖表等
- 可做為Gemini的回答資料庫，補足Gemini Gem只能上傳10個檔案的限制

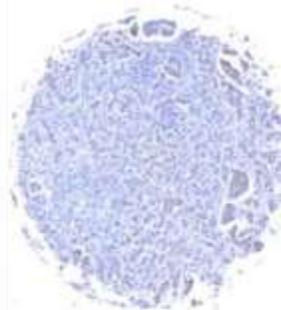
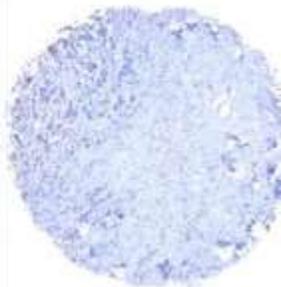
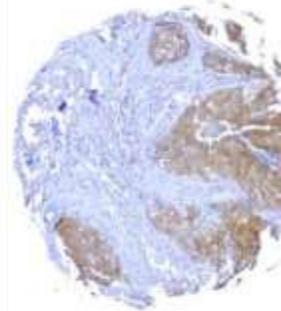
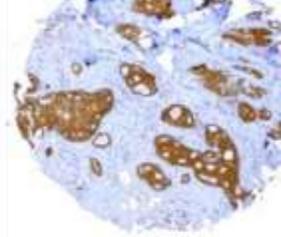


# 直覺編碼 Vibe Coding

- Vibe Coding並非正式的術語
- OpenAI 共同創辦人 Andrej Karpathy 在 2025 年提出的全新開發模式，透過大型語言模型（LLM）協助，讓開發者能以**自然語言 prompt 描述任務**，由**AI 自動生成程式碼**，減少對傳統程式技能的依賴
- **只檢驗成果，不鑽研細節**

# 直覺編碼 Vibe Coding

比較面向	Vibe Coding	LLM 輔助開發	傳統寫程式
開發方式	用自然語言指令讓 AI 寫程式碼	人工撰寫為主，AI 提供片段建議	手動撰寫所有程式語法與邏輯
技術門檻	不需精通語法，懂概念即可上手	需懂語法，AI 用來加速開發	需具備完整程式技能與經驗
開發速度	快速完成重複性工作與樣板程式	加快速度但仍需人工審查	寫程式、除錯需花較多時間
錯誤處理	錯誤由 AI 協助即時修正	人類找出問題，AI 協助修補片段	需手動除錯與測試
創意發揮	靠直覺與想像力引導 AI 開發	協助落實既有設計與細節	受限於語法與技術框架
使用門檻	非工程師也可嘗試	適合已有基礎的開發者	初學者學習曲線高
程式碼品質	可能較雜亂，需人工審查	取決於開發者習慣	結構穩定，品質較一致

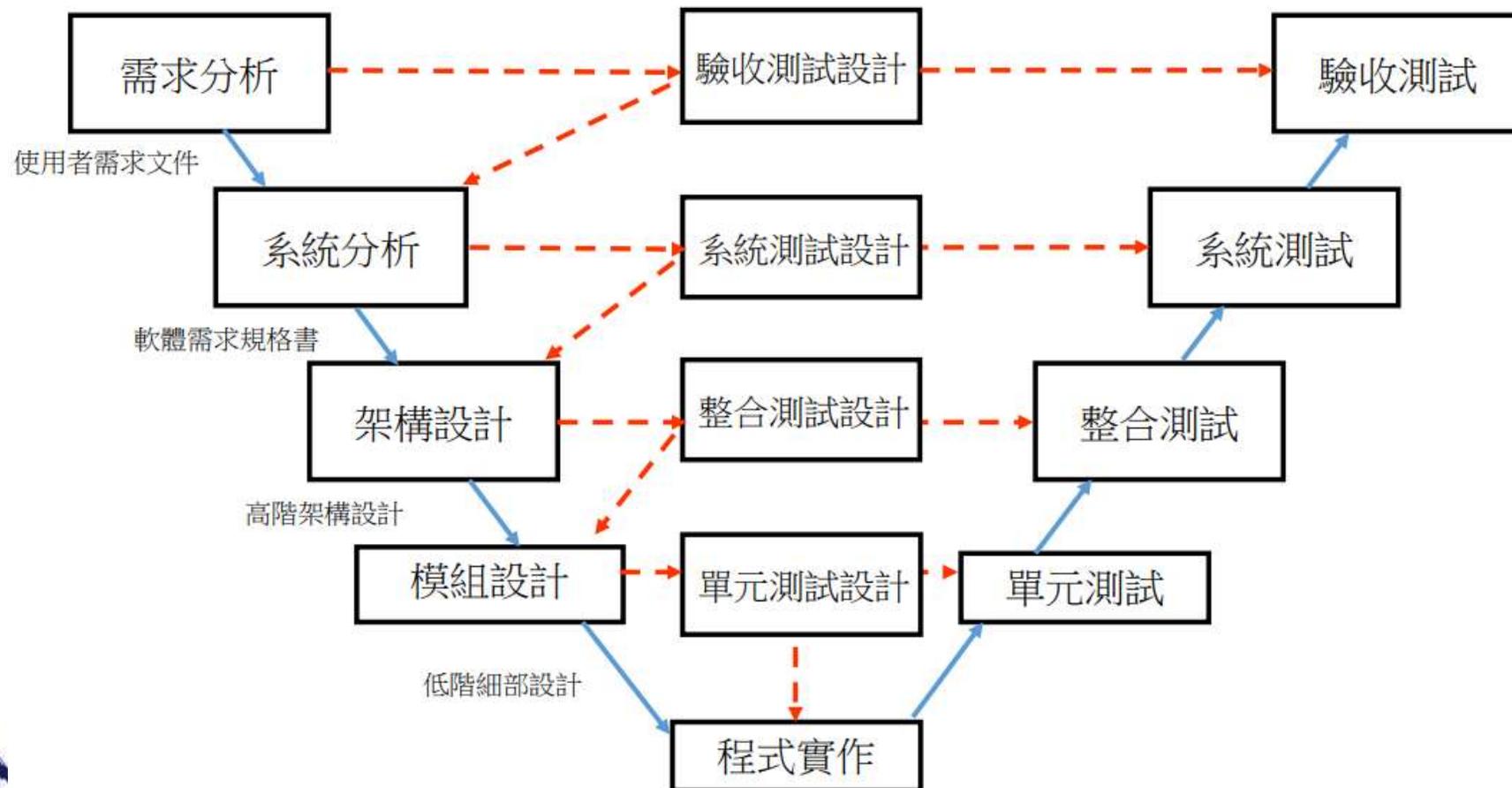


# Vibe Coding

- 運用於 **Color Deconvolution** 批次分析來進行 **H-score**
  - 將錄製的H-score操作Macro複製到Gemini or ChatGPT
  - 文字描述目的、需求
  - 將AI輸出的程式碼放入Macro tools中嘗試執行
  - 有Bug時，將Bug資訊輸回AI，讓AI修正
  - 反覆除錯數次直到可執行
  - 可搭配不同AI加速除錯

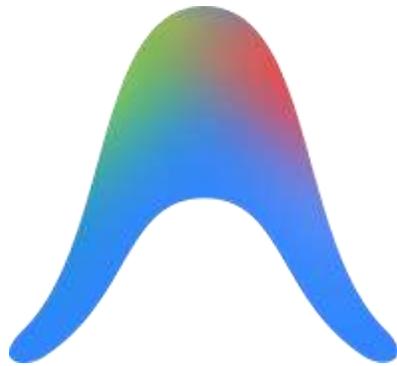
看操作影片

# 程式設計開發工作流



# AI Gents + Vibe Coding + 分析軟體

- Ai Agents



**Google  
Antigravity  
2025**



**Anthropic  
Claude Cowork  
2025**



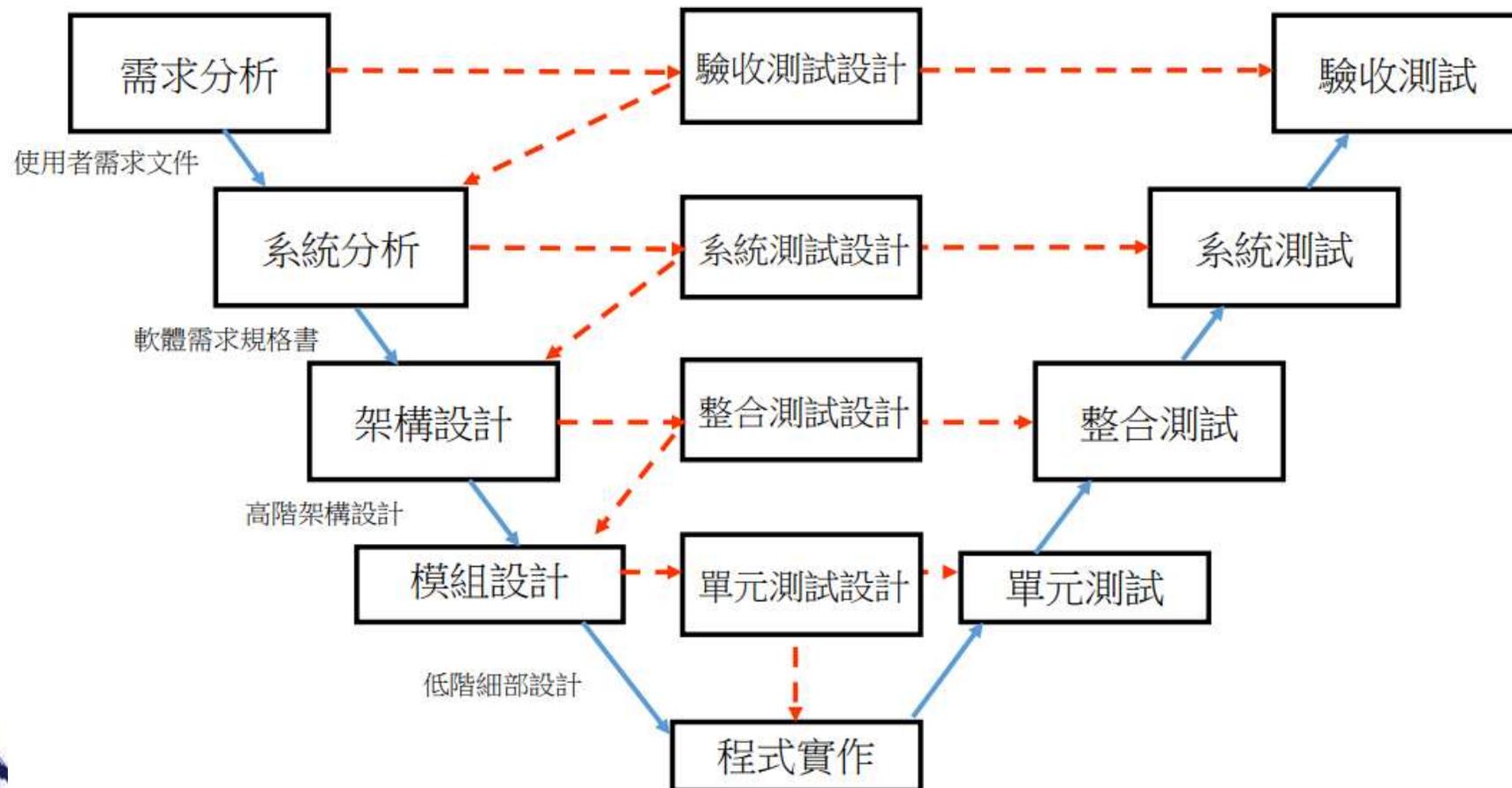
**OpenClaw**  
**Peter Steinberger  
2026**

# AI Gents + Vibe Coding + 分析軟體

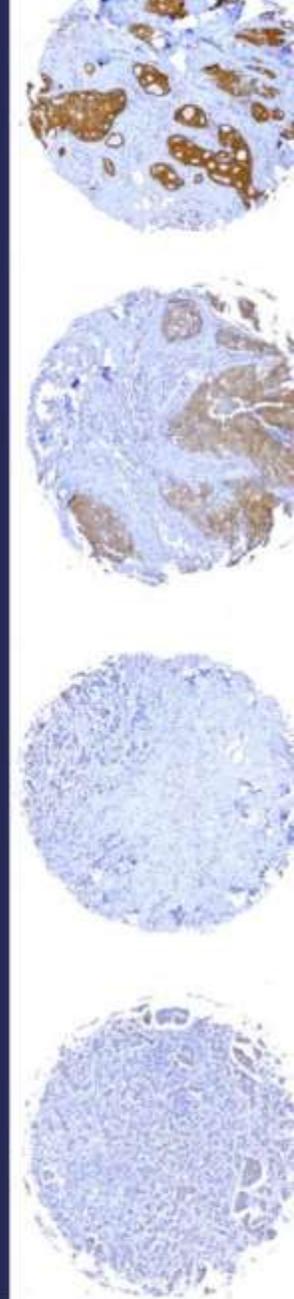
- Ai Agents

- 具備**自主性(Autonomy)**的實體，能夠感知所處的環境，自主制定計畫，並透過呼叫外部工具來執行實體或數位空間中的行動，以達成預先設定的目標
- **依使用者的目標，代理實用者執行**

# 程式設計開發工作流



# 範例1：以Antigravity操作ImageJ/Fiji進行H-Score分析



# 範例2：撰寫符合目標的需求的程式

- 自製UI介面符合喜好的分析用網頁程式html
- 以Masson Trichrome批次分析為例

**病理分析模組 (Pathobiology Modules)**  
請選擇分析邏輯以開始量化流程

**STANDARD**



**快速分析 (Quick)**

HSV 空間閾值分割  
適用於常規形態量化

[進入介面 →](#)

**PROFESSIONAL**



Beer-Lambert OD 空間分離  
支援向量校準與物理定量

[進入介面 →](#)

看操作影片

# Comments

- 數位影像分析為必然的未來趨勢
- 在熟悉色彩學基本知識的情形下，相對易於操作分析軟體及調校AI
- AI浪潮下，AI的進步必然改變工作流程及分析模式
- AI是否取代病理獸醫師的工作？

**Thanks for your attention !!**

