

# 人工智能驱动的一类器官图像分析的应用与挑战

杜轩<sup>1#</sup> 姚禹<sup>2#</sup> 李裕辰<sup>1</sup> 陈早早<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>东南大学, 生物科学与医学工程学院, 数字医学工程国家重点实验室, 南京 211189;

<sup>2</sup>中国医学科学院整形外科医院, 北京 211189)

**摘要** 类器官作为重构人类组织结构与再现生理功能的先进体外模型, 正加速取代传统动物实验的方法, 成为发育生物学、精准医疗及药物筛选领域的核心载体。图像数据凭借其无创、高时空分辨率的特性, 成为解析类器官复杂表型的关键手段, 而高效、精准的人工智能(AI)算法则是实现其从基础研究向临床应用跨越的技术保障。然而, 类器官图像分析面临形态异质性强、边界模糊、多模态噪声干扰及标注成本高昂等严峻挑战。该文综述了人工智能驱动下的类器官图像分析现状与发展趋势。首先, 文章总结了基于深度学习的二维(2D)分割方法在边界检测与生长追踪中的主流应用, 并指出了其在二维分析中的局限性。随后, 重点探讨了从二维表征向三维(3D)时空建模跨越的必要性, 指出了3D分割技术是实现类器官精准空间建模与深层功能预测的关键路径。该文旨在通过系统梳理当前算法挑战与技术演进, 为解析类器官复杂生物学机制及开发AI辅助决策工具提供理论参考。

**关键词** 类器官; 人工智能; 二维分割; 三维分割

## Applications and Challenges of AI-Driven Organoid Image Analysis

DU Xuan<sup>1#</sup>, YAO Yu<sup>2#</sup>, LI Yuchen<sup>1</sup>, CHEN Zaozao<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Digital Medical Engineering, School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 211189, China; <sup>2</sup>Plastic Surgery Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 211189, China)

**Abstract** As advanced *in vitro* models capable of recapitulating human tissue architecture and physiological functions, organoids are accelerating the replacement of traditional animal models and emerging as pivotal platforms in developmental biology, precision medicine, and drug screening. Leveraging characteristics such as non-invasiveness and high spatiotemporal resolution, imaging data has become a critical tool for deciphering complex organoid phenotypes. Meanwhile, efficient and precise AI (artificial intelligence) algorithms serve as the technical safeguard enabling the transition from basic research to clinical applications. However, organoid image analysis faces severe challenges, including significant morphological heterogeneity, indistinct boundaries, multi-modal noise interference, and prohibitive annotation costs. This article reviews the current status and developmental trends of AI-driven organoid image analysis. Firstly, it summarizes the mainstream applications and limitations of deep learning-based 2D (two-dimensional) segmentation methods in boundary detection and

收稿日期: 2026-01-05 接受日期: 2026-04-01

江苏省科技项目(批准号: BK20232023)、国家重点研发计划(批准号: 2022YFC2504403)、江苏省前沿技术研发计划(批准号: BF2024074)和广西壮族自治区重点研发计划(批准号: GuikeAB24010163)资助的课题

\*共同第一作者

\*通信作者。Tel: 025-83795632-802, E-mail: 101012282@seu.edu.cn

Received: January 5, 2026 Accepted: April 1, 2026

This work was supported by the Science and Technology Project of Jiangsu Province (Grant No.BK20232023), the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2022YFC2504403), the Frontier Technology Research and Development Program of Jiangsu Province (Grant No.BF2024074) and the Guangxi Zhuang Autonomous Region Key Research and Development Program (Grant No.GuikeAB24010163)

\*These authors contributed equally to this work

\*Corresponding author. Tel: +86-25-83795632-802, E-mail: 101012282@seu.edu.cn

growth tracking. Subsequently, the review highlights the necessity of transitioning from 2D representations to 3D (three-dimensional) spatiotemporal modeling, positing that 3D segmentation technology is the critical pathway for achieving precise spatial modeling and in-depth functional prediction of organoids. By systematically synthesizing current algorithmic challenges and technological evolutions, this work aims to provide a theoretical reference for elucidating the complex biological mechanisms of organoids and developing AI-aided decision support tools.

**Keywords** organoid; artificial intelligence; two-dimensional segmentation; three-dimensional segmentation

类器官作为重构人类组织结构与再现生理功能的三维(three-dimensional, 3D)体外模型,已在发育生物学、疾病建模、精准医疗及药物筛选等领域显现出深远的转化应用潜力<sup>[1-3]</sup>。随着干细胞生物学、生物材料工程及微环境控制技术的深度融合,类器官培养体系已由早期的简易模型向具有高度组织有序性的复杂体系演进,显著增强了其生理相关性与临床预测效力<sup>[4-5]</sup>。特别是随着FDA Modernization Act 3.0<sup>[6]</sup>等法案的推行,监管机构明确支持利用类器官、器官芯片及人工智能模型作为动物实验替代方法,标志着药物评估体系正加速迈向“以人体为中心”的新纪元<sup>[7]</sup>。在类器官的研究范式中,图像数据凭借其直观性、连续性及高通量的特征,成为表型分析的核心载体<sup>[8-10]</sup>。相比于破坏性的分子组学手段,成像技术具有无创、低成本且时空分辨率高的优势,能够动态捕捉类器官在多尺度上的形态演化与功能状态,包括细胞自组织行为、内部坏死演变、增殖动力学及微环境互作等关键表型<sup>[9]</sup>。因此,高效、精准的图像分析算法不仅是实现高通量筛选的技术保障,更是推动类器官从基础实验平台向临床决策支持工具跨越的核心驱动力<sup>[11]</sup>。然而,类器官图像分析目前仍面临严峻挑战。首先,明场图像下的类器官形态多变、边界模糊且结构复杂,伴随不同实验批次间显著的异质性;其次,多模态成像(如明场、荧光、微分干涉及组织切片等)引入了迥异的信号特征与噪声伪影,加之人工标注存在极高昂的时间成本与主观偏差,使得自动化、智能化的图像处理成为领域亟待突破的技术瓶颈<sup>[12-13]</sup>。尽管近年来基于深度学习的二维(two-dimensional, 2D)分割方法已成为主流,并在类器官边界检测、生长追踪及表型聚类中展现出卓越的性能<sup>[14-17]</sup>,但在复杂的生物学应用场景中,其系统性局限仍然显著。一方面,2D方法在处理高度堆叠或形态异构的实例分割时,模型的泛化性与鲁棒性仍待提升<sup>[18]</sup>;另一方面,

2D投影不可避免地导致了空间特征与拓扑信息的丢失<sup>[19]</sup>。综上所述,2D图像分析凭借其数据获取便捷、标注成本较低及计算效率高等优势,构建了当前研究的方法论基石<sup>[10,20]</sup>;然而,随着研究深入到结构重建、功能模拟及动态演化等高阶维度,3D分割技术已成为实现类器官精准空间建模、深层功能预测及AI辅助决策的核心路径<sup>[21]</sup>。从二维表征向三维时空建模的跨越,不仅是技术的升级,更是实现类器官复杂生物学机制解析的关键(图1)。

## 1 类器官二维形态学表型分析

二维形态学表型分析是类器官图像定量研究中应用最为广泛、技术最为成熟的方向之一<sup>[22-23]</sup>。其核心目标在于基于明场或荧光二维成像,对类器官的外部轮廓、内部结构及其随时间变化的形态特征进行自动化提取与量化表征,从而为类器官质量控制、成熟度评估、药物筛选以及精准治疗响应分析提供客观、可重复的定量依据。与三维分析相比,二维分析在成像成本、计算复杂度和高通量适配性方面具有显著优势,因此在实际实验与转化研究中占据主导地位<sup>[24]</sup>。

### 1.1 类器官质量控制与成熟度评估

类器官体外发育受细胞外基质组分、细胞迁移能力、组织流动特征及基质力学特性等生物物理因素与生物化学信号的协同调控,进而驱动其生长分化、模式建成与稳态维持等多尺度生物学进程<sup>[25]</sup>。在这一背景下,由于二维形态学表型分析的无损、低成本和可连续监测的优势,其逐渐成为评估类器官发育状态和培养质量的重要手段<sup>[26]</sup>。近年来,多项研究尝试将深度学习引入类器官二维图像分析,通过从明场或荧光图像中提取可量化的形态特征,建立类器官表型与发育成熟度之间的映射关系。例如LIU等<sup>[27]</sup>基于液滴工程化培养的肺类器官数据,构建了包含明场与活细胞荧光成像的配对数据

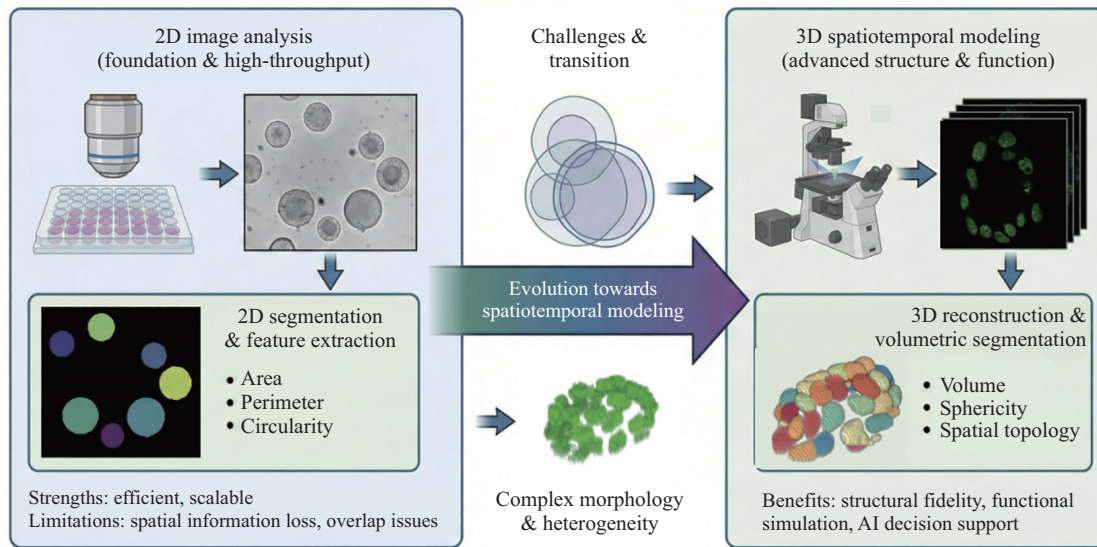


图1 AI驱动类器官从二维表征向三维空间的跨越

Fig.1 AI-driven organoids: from two-dimensional representation to three-dimensional space

集,并提出了基于SAM(segment anything model)<sup>[28]</sup>的分割方法,用于分别解析类器官的外部轮廓与内部结构特征,从而量化其生长状态。然而,该研究的数据集与模型设计仍局限于特定器官类型,未充分发挥基础模型在跨场景泛化方面的潜力。在应用导向的研究中,ABDUL等<sup>[14]</sup>提出的D-CryptO框架可从明场图像中自动评估结直肠类器官的隐窝形成情况与透明度,用以反映其结构成熟程度,并揭示出芽形态与Wnt信号通路激活之间的相关性。SCHRÖTER等<sup>[29]</sup>则针对脑类器官研究中人工评估耗时长、主观性强的问题,构建并发布了一个大规模、可追踪的脑类器官图像数据集,系统比较了不同自动化分析方法在发育阶段变化、实验室条件差异及成像伪影存在情况下的性能与泛化能力,为算法选择提供了客观基准。此外,KEGELES等<sup>[30]</sup>针对视网膜类器官分化过程高度随机、缺乏早期无损筛选指标的问题,利用卷积神经网络对类器官进行质量分类评估,实现了在不依赖转基因标记或破坏性染色条件下的早期质量控制。该模型在区分明显表型差异时表现良好,但对于处于临界发育状态的类器官,其判别能力仍然有限,反映出二维表型分析在捕捉连续发育谱系方面的固有不足<sup>[31]</sup>。尽管明场和二维成像仅反映类器官的投影形态,二维形态学表型分析结合深度学习方法,已确立了一种无损、量化且可扩展的类器官发育评估范式,实现了从主观定性观察到客观自动化监测的转变<sup>[32]</sup>,

但其对内部三维结构、生物物理过程及细胞尺度动力学的解析能力仍然有限。这也在方法学层面推动了类器官分析体系向三维空间延伸,助力高阶分析策略的迭代发展。

## 1.2 药物筛选与药物响应表型分析

随着类器官模型在药物研发中的应用日趋广泛,传统依赖终点检测的分析手段(如ATP发光法)存在采样具有破坏性、时空分辨率不足等缺陷,已难以满足大规模药物筛选对动态性和信息密度的要求<sup>[33]</sup>。相比之下,基于明场成像的二维形态学分析为类器官药物响应评估提供了一种无标记、可纵向监测的补充方案,其在一定条件下能够复现与ATP测活实验相当的定量准确性,同时可显著降低实验成本和操作复杂度<sup>[26]</sup>。然而,类器官在明场成像条件下面临形态复杂、尺度变化大以及培养体系中多种干扰因素(如类器官重叠、气泡、外来颗粒和细胞碎片)的影响,使得稳定、准确的实例分割成为二维形态学分析的关键技术瓶颈。针对这一问题,DU等<sup>[34]</sup>提出了精准类器官实例分割框架POST,其在复杂明场成像条件下的分割性能显著优于现有方法(如StarDist<sup>[35]</sup>、Cellpose<sup>[36]</sup>等),并能够可靠提取单个类器官的形态特征。该研究进一步验证了基于分割得到的类器官生长率变化与药物测活实验结果之间具有高度一致性,表明了二维形态学指标在药物响应评估中的潜在可行性,但其在更广泛药物和实验条件下的稳健性仍有待进一步验证。在特定疾病模

型中, LEFFERTS等<sup>[16]</sup>基于MaskR-CNN<sup>[37]</sup>开发了Or-gaSegment, 并提出了“药物诱导肿胀”检测策略, 用于量化CFTR调节剂处理后肠道类器官的形态响应。该方法能够区分不同CFTR基因型类器官对药物的反应差异, 并避免传统Forskolin诱导肿胀实验可能低估药物效应的问题, 展示了形态学读出在功能相关药物筛选中的应用价值。除静态表型分析外, 部分研究进一步引入时间维度以提高药物响应解析的颗粒度。MATTHEWS等<sup>[17]</sup>开发的OrganoID平台利用卷积神经网络实现了对单个类器官生长轨迹的纵向追踪, 能够区分药物诱导的生长停滞与细胞毒性崩解, 显著提高了筛选数据的颗粒度。然而仅使用简单U-Net<sup>[38]</sup>模型在复杂培养环境下追踪类器官存在一定的局限性。BORTEN等<sup>[39]</sup>开发的OrganoSeg算法对数千个乳腺癌球体和结直肠癌类器官进行了系统分析, 通过形态计量学特征与t-SNE降维<sup>[40]</sup>揭示了培养体系中存在的多种稳定形态。进一步将形态特征与转录组数据联合分析表明, 基于形态的聚类能够在一定程度上缩小患者间的分子差异, 并揭示仅依赖RNA测序可能被忽略的生物学过程, 如与p53信号通路和线粒体功能相关的表达模式。尽管在类器官培养体系中存在诸多影响光学成像分析的精度, 但近期涌现的深度学习算法已显著突破了这一瓶颈<sup>[41-42]</sup>。从精准实例分割到单体生长轨迹追踪, 再到形态表型与分子特征的关联分析, 这一范式正在将基于类器官的药物响应评估从粗粒度终点测量, 推进为可量化、可比较且具备一定机制指向性的动态分析框架。

### 1.3 类器官精准治疗与炎症评估

类器官的临床转化长期受限于异质性解析难与功能评价繁琐的双重瓶颈, 传统手段难以兼顾高通量筛选与精细化表征。人工智能通过计算机视觉深度挖掘海量影像中的隐性特征, 将非结构化形态数据转化为可量化的临床指标<sup>[43]</sup>。HUANG等<sup>[44]</sup>通过结合高通量图像分析与深度学习模型, 揭示了结直肠癌类器官的形态学异质性与功能参数之间的复杂关联: 利用31 360张明场图像识别出“囊性”与“实体型”两种亚型, 前者与更高存活率和干细胞特征相关, 后者则呈现显著凋亡差异; 基于17 000张图像数据构建的深度生成模型实现了凋亡强度预测( $R^2=0.91$ ), 并辅以单细胞RNA测序验证其细胞异质性, 进一步将“囊性”亚型定义为潜在的复发性表型,

为开发结直肠癌的新型生物标志物及精准诊疗策略提供了跨组学整合的范例。该研究虽建立了基于图像的评估体系, 但仍受限于类器官模型对免疫及间质微环境组分的缺失, 影响了其生理相关性。此外, 目前的形态分类颗粒度不足, 可能忽略了“实性”亚型内部的异质性。针对心血管疾病炎症模型评估难及能量代谢干预手段缺乏的挑战, LIN等<sup>[45]</sup>构建了具有复杂细胞谱系的人源心脏炎症类器官, 并开发了一种基于明场显微视频与XGBoost<sup>[46]</sup>算法的AI定量评估平台, 通过提取10个关键影像组学特征(如收缩频率、纹理等)实现了对炎症水平的快速无损诊断。然而, 体外类器官模型无法完全复现体内复杂的全身神经体液调节及免疫微环境, 且所开发的AI评估模型仅基于特定细胞因子诱导数据<sup>[20,47]</sup>。尽管体外模型尚存局限, 但人工智能结合类器官的跨组学整合策略, 建立了从宏观形态到微观分子的桥梁, 确立了高通量、非侵入性的精准评估范式, 是推动类器官技术从基础研究走向临床精准诊疗的关键驱动力。

### 1.4 小结与挑战

综合表1中所列研究可以看出, 二维形态学表型分析已在类器官质量控制、成熟度评估、药物筛选及精准治疗响应分析等方面形成较为成熟的方法体系。相关工作基于明场或荧光二维成像, 对类器官外部轮廓、出芽结构、亮度分布及其动态变化进行定量表征, 在多种类器官中实现了无损、高通量的自动化分析<sup>[48]</sup>。然而, 现有方法普遍针对特定器官类型或实验条件进行设计, 其跨生物模型、跨成像场景的泛化能力仍然有限<sup>[49]</sup>。在药物筛选与响应分析中, 二维形态学方法通过实例分割和纵向追踪量化生长率、肿胀及崩解等表型变化, 部分研究已验证其与传统药效测活实验之间的高度一致性<sup>[34]</sup>。但在复杂培养环境或形态差异不显著的情况下, 分割与追踪精度仍易受影响, 模型稳健性有待进一步提升<sup>[50]</sup>。面向精准治疗和炎症评估的研究则尝试利用二维形态与动力学特征区分类器官功能状态和疾病亚型, 显示出一定临床转化潜力, 但多集中于宏观形态描述, 难以刻画内部结构异质性, 且对免疫和间质微环境的考虑仍然不足<sup>[44,51]</sup>。总体而言, 二维形态学表型分析面临的核心挑战主要体现在三个方面: 其一, 二维投影难以充分反映类器官复杂的三维结构与空间异质性; 其二, 模型

表1 类器官图像二维分割应用与挑战

Table 1 Applications and challenges of 2D segmentation of organoid images

应用领域 Application	作者 Author	类器官类型 Organoid type	模型 Model	主要成果与功能 Main result and function	局限性与挑战 Limitation and challenge
Quality control and maturity evaluation	LIU et al <sup>[27]</sup>	Lung	SAM	Enables quantitative assessment of organoid growth status	Limited generalizability across organoid types
	ABDUL et al <sup>[14]</sup>	Colorectal	D-CryptO	Quantifies crypt formation and optical transparency	Susceptible to misclassification of dead or apoptotic organoids
	SCHRÖTER et al <sup>[29]</sup>	Brain	Segformer	Establishes a benchmark for algorithmic evaluation	Lacks comprehensive cross-dataset validation
Drug screening and response analysis	KEGELES et al <sup>[30]</sup>	Retinal	CNN	Performs differentiation screening and classification	Relies on relatively simple classification models
	DU et al <sup>[34]</sup>	Cancer-derived organoid	POST	Achieves robust instance segmentation under complex backgrounds	Requires further validation on large-scale datasets
	LEFFERTS et al <sup>[16]</sup>	Intestinal	OrgaSegment	Introduces a drug-induced swelling-based detection strategy	Limited sensitivity under subtle phenotypic changes
	MATTHEWS et al <sup>[17]</sup>	Pancreatic cancer	OrganoID	Enables longitudinal tracking of individual organoids	Performance degrades in complex culture conditions
Accurate treatment and inflammation evaluation	BORTEN et al <sup>[39]</sup>	Breast/colorectal cancer	OrganoSeg	Links morphological clustering with molecular heterogeneity	Limited segmentation accuracy
	HUANG et al <sup>[44]</sup>	Colorectal cancer	CNN+GAN	Differentiates subtypes and predicts apoptosis levels	Limited granularity; ignores intra-organoid heterogeneity
	LIN et al <sup>[45]</sup>	Cardiac	XGBoost	Enables rapid and non-invasive inflammation assessment	Does not account for systemic regulation or immune microenvironment

对特定类器官和实验体系依赖性较强,泛化能力受限;其三,形态表型与分子机制之间多停留在相关性层面,因果关联仍有待多模态数据整合与实验验证。上述局限表明,仅依赖二维形态特征已难以满足类器官研究向精细化与机制深层解析发展的需求,亟需发展能够在三维尺度上还原结构全貌、解析内部异质性并追踪动态演变的高通量分析方法。正因如此,三维时空表型分析应运而生,成为突破当前瓶颈的关键路径,并为后续章节的系统讨论奠定了逻辑基础。

## 2 类器官三维空间数字化

类器官三维空间数字化不仅仅是成像维度的物理延伸,更是生物表型解析范式的根本性变革。该技术旨在彻底突破传统二维平面投影所导致的 $z$ 轴的信息丢失、空间结构坍塌及各向异性伪影等局限<sup>[52]</sup>。通过利用高精度的体素重建手段,三维数字化能够全景式复现类器官的外部几何形态、内部复

杂的腔室拓扑以及细胞微环境的空间互作网络<sup>[53]</sup>。这一过程将非结构化的图像数据转化为包含丰富时空特征的可计算三维实体模型,从而能够定量解析传统切片难以捕捉的空间异质性与信号梯度,为高通量药物筛选、机制探索及患者特异性的精准医疗决策提供兼具深度与广度的数字化基准。

### 2.1 通用细胞分割模型与类器官三维分析的衔接

高通量、稳定的细胞实例分割是类器官三维形态和药物响应分析不可或缺的前提。近年来,基础模型范式被引入细胞分割任务,为复杂三维分析流程提供了通用的底层支撑<sup>[54]</sup>。近年来,基础模型范式与经典实例分割方法的结合,逐步为复杂三维类器官分析流程提供了通用且可复用的底层支撑。在传统方法中,SCHMIDT等<sup>[35]</sup>提出的StarDist及其三维扩展StarDist3D通过将细胞形态建模为星形多边形或多面体,在核或近似凸形细胞分割任务中表现出高精度,并被广泛应用于三维显微成像数据<sup>[55]</sup>。然而,此类方法对目标形态假设较强,在复杂组织环境

或细胞形态高度异质的场景下,其泛化能力仍受限制。STRINGER等<sup>[36]</sup>提出的Cellpose及其三维版本Cellpose3D将细胞分割任务从直接预测掩膜转变为预测一个能将每个像素引导至其所属细胞中心的向量场,提升了模型对不同细胞类型和成像模式的适应性,使其成为目前应用最为广泛的通用细胞分割工具之一<sup>[56]</sup>。但该类模型在跨实验条件和大规模异构数据上的稳定性仍依赖于训练数据分布和经验性参数调节。在此背景下,基础模型驱动的分割方法开始被引入生物图像分析领域<sup>[57]</sup>。ARCHIT等<sup>[58]</sup>提出的 $\mu$ SAM工具体系从工程与应用角度拓展了基础模型在生物显微成像中的实用性。该方法通过对SAM模型进行特定数据集微调,并引入改进的实例解码器,在光学显微镜与电子显微镜数据上构建通用基座模型,实现了在保持自动分割质量的同时,显著提升了交互式分割与快速标注的效率<sup>[59]</sup>。 $\mu$ SAM支持二维图像、体积数据和时间序列的统一处理,为复杂三维和高通量实验中分割模型的快速适配与人工校正提供了灵活手段。MARKS等<sup>[60]</sup>提出的CellSAM通过将通用视觉基础模型与自动化目标检测相结合,实现了无需人工提示的细胞实例分割,在多种成像模式和细胞类型上展现出了较强的零样本和少样本泛化能力。PACHITARIU等<sup>[61]</sup>提出的Cellpose-SAM等混合模型尝试将成熟的细胞分割先验与基础模型的泛化能力相融合,以兼顾分割精度与跨场景鲁棒性,进一步降低模型在高通量应用中的调参和迁移成本。需要指出的是,上述方法多以二维分割为核心,其在类器官三维分析中的应用往往依赖于跨切片整合策略<sup>[62]</sup>。ZHOU等<sup>[63]</sup>提出的u-Segment3D方法通过对二维分割结果进行三维一致性约束与后处理,实现了由二维分割结果到三维细胞结构的重建,为在缺乏原生三维分割模型的条件开展类器官三维形态和空间分析提供了可行路径。整体而言,这些通用或半通用的细胞分割模型构成了类器官三维分析技术的底层基础,其稳定性与泛化能力直接决定了后续三维形态量化、细胞邻域关系解析及药物响应评估的可靠性上限。

## 2.2 类器官空间结构与细胞邻域关系分析

传统的显微镜观察往往呈现出的是类器官的平面投影,缺乏复杂的空间拓扑信息,难以复现体内真实的微环境互动与信号梯度。相比之下,类器

官的三维空间数字化不仅仅是对其几何形态的重建,更核心的任务在于解析其内部复杂的空间结构与细胞邻域关系<sup>[64]</sup>。数字化分析的重点正从类器官内单一细胞的表型识别,转向对“细胞-细胞”空间互作网络的量化解析。WOLNY等<sup>[65]</sup>提出的PlantSeg提供了一种稳健的两阶段分析框架,通过三维U-Net预测细胞边界,并结合图分割算法实现高精度的三维细胞实例划分。该方法在多种植物组织、不同显微镜模态及分辨率条件下表现出良好的泛化能力,并被成功应用于细胞体积测量、分裂不对称性分析和组织生长动态研究。尽管其仍依赖清晰的细胞边界信号,且在边界模糊区域可能出现欠分割问题,但PlantSeg代表了当前三维细胞实例分割领域中较为成熟且可复用的基础设施,为后续空间结构与邻域关系分析提供了可靠输入。ONG等<sup>[21]</sup>开发并验证了一个名为3DCellScope的集成化分析流程,用于对类器官进行高速3D形态和拓扑结构分析。利用高渗应激验证了形态学描述符的准确性,观察到了细胞圆度增加、核内聚及染色质压缩;应用细胞到邻域3D描述符揭示了原发性胰腺导管腺癌类器官内部的空间异质性;在抛物线飞行实验中,通过无监督PCA(principal component analysis)分析发现飞行条件导致球体外部细胞体积显著减小,且效应可持久24 h。然而,该算法的细胞分割严重依赖于精确的细胞核分割,因此目前仍需进行细胞核染色(无论是固定后DNA标记还是活体成像用的基因编码荧光蛋白),这在一定程度上限制了其应用。SONG等<sup>[66]</sup>开发了名为VONet的深度学习系统,其核心创新在于构建一个包含超过39 000个合成虚拟结肠/气管类器官的数据集,以解决在深度学习模型训练中真实类器官图像数据稀缺的难题。基于此数据集,他们训练了一个全卷积神经网络VONet。VONet仅需输入9~11张随机选取的z轴堆叠图像,就能高精度地预测类器官的完整3D结构,它能有效补充传统共聚焦显微镜在深焦平面区域因信号丢失而无法捕捉的结构信息。然而当输入图像数量增加到13或15张时,VONet的预测性能反而下降;同时VONet对于类器官内部不常见的结构(如漂浮的细胞核)的预测能力有限。尽管一些算法存在一定的局限性,但通过整合高速3D成像与深度学习,可有效增强对类器官复杂空间结构和细胞邻域关系的量化解析能力,为深入理解类器官的生物学功能及微环境互作奠定了方法

学基础<sup>[67]</sup>。

### 2.3 基于三维形态的高通量分析与药物筛选

类器官三维形态的高通量分析与药物筛选,本质上是将类器官从“三维结构表征对象”转变为“可计算、可比较、可规模化分析的药理学系统”<sup>[21]</sup>。该方向的核心挑战并不在于成像本身,而在于如何在保持三维结构真实性的前提下,实现对大量类器官样本的精确分割、细胞层级定量以及药物响应的系统性表征,从而支撑高通量筛选与机制解析的并行开展。MUKASHYAKA等<sup>[19]</sup>提出的Cellos高通量计算流程,通过实现类器官及其内部细胞的真实三维体积分割,使得在细胞分辨率下系统量化药物诱导的形态变化、克隆组成及空间关系成为可能。该方法通过大规模验证表明,细胞三维体积的变化能够稳定复现顺铂IC<sub>50</sub>曲线。在工程化与自动化层面,DIOSDI等<sup>[68]</sup>开发的HCS-3DX系统将AI驱动的微操作、光片显微成像与三维图像分析深度集成,实现了从类器官到单细胞水平定量分析的全流程自动化与标准化,为三维高内涵筛选在通量和重复性上的规模化应用提供了关键支撑。然而,药物作用下的许多关键生物学过程并非静态表型变化,而是涉及细胞迁移、分裂、重排及功能状态变化等显著的时间依赖行为。针对高密度、长时程三维成像条件下的动态解析需求,ZHOU等<sup>[69]</sup>提出了基于对比嵌入学习的CELLECT方法,通过在潜在嵌入空间中学习细胞间的判别性关联,实现了在仅依赖稀疏标注条件下的高效三维细胞追踪与分割。该算法在多种成像模态和生物体系中展现出优异的泛化能力和数量级上的计算效率优势。BRAGANTINI等<sup>[70]</sup>提出的Ultrack框架从优化视角出发,将分割与追踪问题统一建模为满足生物学约束的整数线性规划问题,通过整合来自多种分割算法和参数配置的候选结果,并利用时间一致性进行全局优化,在分割存在不确定性、组织高度拥挤的条件下实现了鲁棒的三维细胞追踪。该方法在多种胚胎和细胞3D数据集上取得了接近理论上限的追踪精度,同时展现出了对多通道数据、大规模光片成像数据以及不同计算资源环境的良好适应性。未来,该领域的发展趋势将是三维形态、时间动态与功能表型的联合建模,并与多模态数据深度融合,使类器官模型能够从静态三维结构描述进一步迈向对药物响应全过程的系统性、量化表征,从而更真实地反映体内药物作用

机制,推动类器官模型在精准医学和药物研发中的实际应用。

### 2.4 小结与挑战

类器官三维分析已构建起层级分明的技术体系:底层依托StarDist、Cellpose及新兴的SAM系列( $\mu$ SAM、CellSAM)实现了从形态先验到通用大模型的分割能力跃升;中层通过PlantSeg、VONet等工具突破了三维拓扑重建与稀疏数据补全的瓶颈;应用层则由Cellos、HCS-3DX等流程实现了从单细胞量化到高通量药物筛选的转化。然而,结合现有技术局限性(表2),该领域仍面临两大核心挑战。“伪三维”的维度壁垒:当前主流基础模型(如 $\mu$ SAM、CellSAM)仍以二维切片分析为核心,依赖跨切片整合策略(如u-Segment3D),缺乏对原生的三维空间细胞形态的约束,限制了对复杂拓扑结构的解析精度<sup>[60]</sup>。泛化与精度的博弈:传统模型(StarDist)受限于形态假设,而通用模型(PlantSeg、VONet)在面对边界模糊、深层信号丢失或非典型结构(如漂浮核)时,仍存在欠分割或预测失真问题,且对特定组织数据的微调成本依然较高<sup>[60]</sup>。此外,随着分析维度从静态形态向动态追踪演进,海量四维数据的计算效率与存储压力也成为制约高通量标准化筛选普及的关键因素。

## 3 结论

类器官是药物研发的关键模型,其图像分析依赖于AI技术。基于二维成像的形态学的评估因无损、高通量优势,已大规模应用于类器官质量评估、药物筛选等领域,推动实验从主观定性走向自动化定量。然而,二维投影在刻画空间结构和内部异质性上存在局限。随着研究深入,三维空间数字化成为必然。以通用细胞分割模型、三维重建与高通量分析流程为基础的三维分析框架,正在实现从单细胞分割、空间邻域关系解析到大规模药物筛选的系统化量化表征。这一转变将深化对复杂生物学机制的理解,提升其临床价值。当前三维分析虽在建模能力与计算效率上面临挑战,但整体趋势已明确。未来,引入时间维度进行四维分析(3D+时间),将能实时追踪类器官的生长动力学、细胞迁移轨迹及药物作用的动态响应过程,从而在单细胞分辨率下构建“结构-功能-时间”的因果关联。这种时空建模能力,将推动类器官模型从静态表型描述转向动态机制解析,为发育生物学研究和精准药物评价提供前所未

表 2 类器官图像三维分割应用与挑战

Table 2 Applications and challenges of 3D segmentation of organoid images

应用领域 Application	作者 Author	细胞类型 Cell type	模型 Model	主要成果与功能 Main result and function	局限性与挑战 Limitation and challenge
General cell segmentation	SCHMIDT et al <sup>[35]</sup>	Nuclei	StarDist3D	Models cell shapes as star-convex polygons	Limited for non-convex and complex morphologies
	STRINGER et al <sup>[36]</sup>	General	Cellpose3D	Learns morphology-independent vector field representations	Sensitive to training data distribution and parameter tuning
	ARCHIT et al <sup>[58]</sup>	General	$\mu$ SAM	Supports unified 2D/3D and temporal segmentation (auto+interactive)	Primarily optimized for 2D; 3D requires slice integration
	MARKS et al <sup>[60]</sup>	General	CellSAM	Enables zero-/few-shot generalization	Performance drops on out-of-distribution cell types
Spatial structure and neighborhood analysis	ZHOU et al <sup>[63]</sup>	Cells/organoids	u-Segment3D	Training-free general 3D segmentation	Fragmentation occurs when 2D segmentation is imperfect
	WOLNY et al <sup>[65]</sup>	Plant tissues/nuclei	PlantSeg	Supports volumetric analysis and dynamic studies	Requires clear boundaries
	ONG et al <sup>[21]</sup>	Pancreatic cancer organoids	3DCellScope	Integrated pipeline for high-throughput 3D morphology and topology analysis	Strong dependence on accurate nuclear segmentation
High-throughput analysis and drug screening	SONG et al <sup>[66]</sup>	Colon/tracheal organoids	VONet	Recovers full 3D structures from sparse data	Signal loss in deeper regions with missing data
	MUKASHYA-KA et al <sup>[49]</sup>	General	Cellos	Quantifies morphology, clonality, and spatial structure	Exhibits counting bias
	DIOSDI et al <sup>[68]</sup>	Tumor spheroids	HCS-3DX	Enables single-cell level 3D analysis	Limited in modeling tumor microenvironment
	ZHOU et al <sup>[69]</sup>	General	CELLECT	Cell tracking under sparse annotations	Performance degrades in dense cell clusters

有的决策价值。

### 参考文献 (References)

- [1] ROSSI G, MANFRIN A, LUTOLF M P. Progress and potential in organoid research [J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(11): 671-87.
- [2] ZHAO Z X, CHEN X Y, DOWBAJ A M, et al. Organoids [J]. *Nat Rev Methods Primers*, 2022, 2(1): 94.
- [3] WANG F X, SONG P R, WANG J, et al. Organoid bioinks: construction and application [J]. *Biofabrication*, 2024, 16(3): 032006.
- [4] XU H X, LYU X D, YI M, et al. Organoid technology and applications in cancer research [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 116.
- [5] KRATOCHVIL M J, SEYMOUR A J, LI T L, et al. Engineered materials for organoid systems [J]. *Nat Rev Mater*, 2019, 4(9): 606-22.
- [6] CARRATT S A, ZUCH DE ZAFRA C L, OZIOLOR E, et al. An industry perspective on the FDA Modernization Act 2.0/3.0: potential next steps for sponsors to reduce animal use in drug development [J]. *Toxicol Sci*, 2025, 203(1): 28-34.
- [7] WILLIAMS J. FDA Modernization Act 2.0: the beginning of the end for animal testing in drug development [J]. *Anim Law*, 2024, 30: 139.
- [8] MAHARJAN S, MA C S, SINGH B, et al. Advanced 3D imaging and organoid bioprinting for biomedical research and therapeutic applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2024, 208: 115237.
- [9] DU X, CHEN Z Z, LI Q W, et al. Organoids revealed: morphological analysis of the profound next generation *in-vitro* model with artificial intelligence [J]. *Biodes Manuf*, 2023, 6(3): 319-39.
- [10] MARAMRAJU S, KOWALCZEWSKI A, KAZA A, et al. AI-organoid integrated systems for biomedical studies and applications [J]. *Bioeng Transl Med*, 2024, 9(2): e10641.
- [11] BAI L, WU Y, LI G F, et al. AI-enabled organoids: construction, analysis, and application [J]. *Bioact Mater*, 2024, 31: 525-48.
- [12] YU T T, YANG Q H, PENG B, et al. Vascularized organoid-on-a-chip: design, imaging, and analysis [J]. *Angiogenesis*, 2024, 27(2): 147-72.
- [13] KASSIS T, HERNANDEZ-GORDILLO V, LANGER R, et al. OrgaQuant: human intestinal organoid localization and quantification using deep convolutional neural networks [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12479.
- [14] ABDUL L, XU J, SOTRA A, et al. D-CryptO: deep learning-based analysis of colon organoid morphology from brightfield images [J]. *Lab Chip*, 2022, 22(21): 4118-28.
- [15] CHEN Z Z, MA N, SUN X W, et al. Automated evaluation of tumor spheroid behavior in 3D culture using deep learning-based recognition [J]. *Biomaterials*, 2021, 272: 120770.
- [16] LEFFERTS J W, KROES S, SMITH M B, et al. OrgaSegment:

- deep-learning based organoid segmentation to quantify CFTR dependent fluid secretion [J]. *Commun Biol*, 2024, 7(1): 319.
- [17] MATTHEWS J M, SCHUSTER B, KASHAF S S, et al. Organoid: a versatile deep learning platform for tracking and analysis of single-organoid dynamics [J]. *PLoS Comput Biol*, 2022, 18(11): e1010584.
- [18] WANG X W, WU C Y, ZHANG S D, et al. A novel deep learning segmentation model for organoid-based drug screening [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1080273.
- [19] MUKASHYAKA P, KUMAR P, MELLERT D J, et al. High-throughput deconvolution of 3D organoid dynamics at cellular resolution for cancer pharmacology with Cellos [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 8406.
- [20] YE R, ZHANG Y P, XU W, et al. AI and organoid platforms for brain-targeted theranostics [J]. *Theranostics*, 2026, 16(2): 876-97.
- [21] ONG H T, KARATAS E, POQUILLON T, et al. Digitalized organoids: integrated pipeline for high-speed 3D analysis of organoid structures using multilevel segmentation and cellular topology [J]. *Nat Methods*, 2025, 22(6): 1343-54.
- [22] CAI H W, AO Z, TIAN C H, et al. Brain organoid reservoir computing for artificial intelligence [J]. *Nat Electron*, 2023, 6(12): 1032-9.
- [23] BADAI J, BU Q, ZHANG L. Review of artificial intelligence applications and algorithms for brain organoid research [J]. *Interdiscip Sci Comput Life Sci*, 2020, 12(4): 383-94.
- [24] ZHOU L B, CHEN S S, LIU J, et al. When artificial intelligence (AI) meets organoids and organs-on-chips (OoCs): game-changer for drug discovery and development [J]. *Innovation*, 2025, 3(1): 100115.
- [25] WEICHSELBERGER V, MOORE G, TLILI S, et al. Biophysics of organoids [J]. *Dev Cell*, 2025, 61(1): 24-41.
- [26] BIAN X S, CHEN S T, LIU W Q. Ins-ATP: deep estimation of ATP for organoid based on high throughput microscope images [J]. *Methods*, 2025, 235: 34-44.
- [27] LIU H H, XU H H, ZHU Y, et al. A large model-derived algorithm for complex organoids with internal morphogenesis and digital marker derivation [J]. *Anal Chem*, 2024, 96(49): 19258-66.
- [28] KIRILLOV A, MINTUN E, RAVI N, et al. Segment anything [C]//Proceedings of the IEEE/CVF International Conference on Computer Vision (ICCV). Piscataway: IEEE, 2023, 4015-26.
- [29] SCHRÖTER J, DEININGER L, LUPSE B, et al. A large and diverse brain organoid dataset of 1,400 cross-laboratory images of 64 trackable brain organoids [J]. *Sci Data*, 2024, 11(1): 514.
- [30] KEGELES E, NAUMOV A, KARPULOVICH E A, et al. Convolutional neural networks can predict retinal differentiation in retinal organoids [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 537942.
- [31] BALKHAIR O, ALBALUSHI H. Artificial intelligence in organoid-based disease modeling: a new frontier in precision medicine [J]. *Biomimetics*, 2025, 10(12): 845.
- [32] SMIRNOVA L, MORALES PANTOJA I E, HARTUNG T. Organoid intelligence (OI): the ultimate functionality of a brain microphysiological system [J]. *ALTEX*, 2023, 40(2): 191-203.
- [33] MO Y L, WANG J, YANG H J, et al. Artificial intelligence for organoids multidimensional assessment [J]. *SmartMat*, 2025, 6(3): e70016.
- [34] DU X, LI Y C, SONG J P, et al. Precision organoid segmentation technique (POST): accurate organoid segmentation in challenging bright-field images [J]. *Biodes Manuf*, 2025, 9(1): 80-93.
- [35] SCHMIDT U, WEIGERT M, BROADDUS C, et al. Cell detection with star-convex polygons [C]//Proceedings of the International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI). Cham: Springer, 2018, 265-73.
- [36] STRINGER C, WANG T, MICHAELLOS M, et al. Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation [J]. *Nat Methods*, 2021, 18(1): 100-6.
- [37] HE K M, GKIOXARI G, DOLLÁR P, et al. Mask r-cnn [C]//Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV). Piscataway: IEEE, 2017, 2961-9.
- [38] RONNEBERGER O, FISCHER P, BROX T. U-net: convolutional networks for biomedical image segmentation [C]//Proceedings of the International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI). Cham: Springer, 2015, 234-41.
- [39] BORTEN M A, BAJIKAR S S, SASAKI N, et al. Automated brightfield morphometry of 3D organoid populations by OrganoSeg [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5319.
- [40] WATTENBERG M, VIÉGAS F, JOHNSON I. How to use t-SNE effectively [J]. *Distill*, 2016, 1(10): e2.
- [41] BIAN X S, LI G, WANG C, et al. A deep learning model for detection and tracking in high-throughput images of organoid [J]. *Comput Biol Med*, 2021, 134: 104490.
- [42] PARK T, KIM T K, HAN Y D, et al. Development of a deep learning based image processing tool for enhanced organoid analysis [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 19841.
- [43] LEE H K, QIU M, CHEN Y. Artificial intelligence and machine learning in organoid technology [M]. Singapore: World Scientific, 2026: 281-310.
- [44] HUANG K, LI M Y, LI Q W, et al. Image-based profiling and deep learning reveal morphological heterogeneity of colorectal cancer organoids [J]. *Comput Biol Med*, 2024, 173: 108322.
- [45] LIN H R, CHENG J J, ZHU C W, et al. Artificial intelligence-enabled quantitative assessment and intervention for heart inflammation model organoids [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64(25): e202503252.
- [46] CHEN T Q, GUESTRIN C. XGBoost: a scalable tree boosting system [C]//Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining (KDD). New York: ACM, 2016: 785-94.
- [47] RENNER H, SCHÖLER H R, BRUDER J M. Combining automated organoid workflows with artificial intelligence-based analyses: opportunities to build a new generation of interdisciplinary high-throughput screens for Parkinson's disease and beyond [J]. *Mov Disord*, 2021, 36(12): 2745-62.
- [48] DU X, CHEN Z Z, LI Q W, et al. Organoids revealed: morphological analysis of the profound next generation *in-vitro* model with artificial intelligence [J]. *Biodes Manuf*, 2023, 6(3): 319-39.
- [49] 吴洪基, 王海霞, 汪玲, 等. 人工智能在类器官研究中的应用进展与挑战[J]. *中国癌症杂志*(WU H J, WANG H X, WANG L, et al. Application progress and challenges of artificial intelligence in organoid research [J]. *China Oncology*), 2024, 34(2): 210-9.
- [50] LENG B, JIANG H, WANG B D, et al. Deep-Orga: an improved deep learning-based lightweight model for intestinal organoid

- detection [J]. *Comput Biol Med*, 2024, 169: 107847.
- [51] 杨珊珊, 马飞越, 郭经, 等. 基于光学相干层析成像与深度学习的肿瘤类器官无损动态分析及其药物作用评估新框架[J]. 中国激光(YANG S S, MA F Y, GUO J, et al. A novel framework for non-destructive dynamic analysis of tumor organoids and drug effect evaluation based on optical coherence tomography and deep learning [J]. *Chinese Journal of Lasers*), 2025, 52(15): 73-89.
- [52] PACHITARIU M, STRINGER C. Cellpose 2.0: how to train your own model [J]. *Nat Methods*, 2022, 19(12): 1634-41.
- [53] WANG A D, ZHANG Q, HAN Y, et al. A novel deep learning-based 3D cell segmentation framework for future image-based disease detection [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 342.
- [54] MA J, XIE R, AYYADHURY S, et al. The multimodality cell segmentation challenge: toward universal solutions [J]. *Nat Methods*, 2024, 21(6): 1103-13.
- [55] PEREZ-LOPEZ R, GHAFARI LALEH N, MAHMOOD F, et al. A guide to artificial intelligence for cancer researchers [J]. *Nat Rev Cancer*, 2024, 24(6): 427-41.
- [56] HEUMOS L, SCHAAR A C, LANCE C, et al. Best practices for single-cell analysis across modalities [J]. *Nat Rev Genet*, 2023, 24(8): 550-72.
- [57] HÖRST F, REMPE M, BECKER H, et al. Cellvit++: energy-efficient and adaptive cell segmentation and classification using foundation models [J]. *Comput Methods Programs Biomed*, 2025, 277: 109206.
- [58] ARCHIT A, FRECKMANN L, NAIR S, et al. Segment anything for microscopy [J]. *Nat Methods*, 2025, 22(3): 579-91.
- [59] HATAMIZADEH A, TANG Y, NATH V, et al. Unetr: transformers for 3d medical image segmentation [C]//Proceedings of the IEEE/CVF Winter Conference on Applications of Computer Vision (WACV). Piscataway: IEEE, 2022: 574-84.
- [60] MARKS M, ISRAEL U, DILIP R, et al. CellSAM: a foundation model for cell segmentation [J]. *Nat Methods*, 2025, 22(12): 2585-93.
- [61] PACHITARIU M, RARIDEN M, STRINGER C. Cellpose-SAM: superhuman generalization for cellular segmentation [J]. *BioRxiv*, 2025, doi: 10.1101/2025.04.28.651001.
- [62] ESCHWEILER D, SMITH R S, STEGMAIER J. Robust 3D cell segmentation: extending the view of cellpose [C]//Proceedings of the 2022 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP). Piscataway: IEEE, 2022: 191-5.
- [63] ZHOU F Y, MARIN Z, YAPP C, et al. Universal consensus 3D segmentation of cells from 2D segmented stacks [J]. *Nat Methods*, 2025, 22(11): 2386-99.
- [64] ACHARD C, KOUSI T, FREY M, et al. CellSeg3D, Self-supervised 3D cell segmentation for fluorescence microscopy [J]. *eLife*, 2025, 13: RP99848.
- [65] WOLNY A, CERRONE L, VIJAYAN A, et al. Accurate and versatile 3D segmentation of plant tissues at cellular resolution [J]. *eLife*, 2020, 9: e57613.
- [66] SONG E, KIM M, LEE S, et al. VONet: a deep learning network for 3D reconstruction of organoid structures with a minimal number of confocal images [J]. *Patterns*, 2024, 5(10): 101063.
- [67] BRUCH R, VITACOLONNA M, NÜRNBERG E, et al. Improving 3D deep learning segmentation with biophysically motivated cell synthesis [J]. *Commun Biol*, 2025, 8(1): 43.
- [68] DIOSDI A, TOTH T, HARMATI M, et al. HCS-3DX, a next-generation AI-driven automated 3D-oid high-content screening system [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 8897.
- [69] ZHOU H Y, KIM S, ZHAO Z F, et al. CELLECT: contrastive embedding learning for large-scale efficient cell tracking [J]. *Nat Methods*, 2025, 22(11): 2411-22.
- [70] BRAGANTINI J, THEODORO I, ZHAO X, et al. Ultrack: pushing the limits of cell tracking across biological scales [J]. *Nat Methods*, 2025, 22(11): 2423-36.