

令和元年6月14日現在

機関番号：13302

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K20025

研究課題名(和文) 視覚的特徴の乏しい物体の検出を可能にする特徴量の探索と原虫類種同定への応用

研究課題名(英文) Exploring image representation that enables to detect objects with little visible features and its application for protozoa identification

研究代表者

吉高 淳夫 (Yoshitaka, Atsuo)

北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授

研究者番号：60263729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,500,000円

研究成果の概要(和文)：顕微鏡により観察される原虫類などの寄生虫は遺伝子解析による方法だけでなく、特徴的な形態により種を同定することが可能である。本研究では対象虫体の局所的な特徴を複数のスケールごとに多次元ベクトルとして表現し、その類似性により種の識別をより精度高く実現する。また、虫体の検出に対してはネットワーク構造を改良した深層学習による虫体検出を実現した。また、分類が明確でなかった種に対する分子疫学調査により、寄生虫情報データベースの拡充を図った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寄生虫は顕微鏡のみで確定診断が可能な感染症の病原体である。寄生虫感染症は国内症例が極めて少なく、顕微鏡検査で寄生虫を検出した経験のある検査技師が少ないため、習熟度の低下が問題となっている。本研究では、種ごとに固有な視覚的特徴の差が大きい原虫などの寄生虫をより精度高く識別する特徴量表現により虫体を識別する手法を提案し、また、寄生虫情報データベースの拡充により上記課題に対する情報提供システムの基盤を提供する意義がある。

研究成果の概要(英文)：Protozoa that is classified into parasite causing diseases can be identified not only by DNA analysis but also by its morphological features that is observed with microscope. In order to improve the accuracy of identifying species of parasite, we proposed to represent visible feature of a parasite with local features of different scale divisions. Detection of the region of parasite in micrograph is carried out by applying original deep neural network. Moreover, parasite database is enriched by epidemiological study for clarifying differences of related species.

研究分野：画像処理

キーワード：寄生虫 原虫 物体検出 種の識別 局所特徴 分子疫学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ウイルスや細菌とは異なり、寄生虫は唯一顕微鏡画像のみで確定診断が可能な感染症の病原体である。寄生虫感染症は国内症例が極めて少いため顕微鏡検査で寄生虫を検出した経験のある検査技師は限られており、習熟度の低下が問題となっている。その一方で、交通、輸送環境のグローバル化の進展等の原因によりウイルスや寄生虫による新興・再興感染症の脅威は近年高まっている。寄生虫の種の同定法としてはPCR法を用いた遺伝子解析によるものが普及しているが、コストや時間を要する上、過去に同定された症例データには顕微鏡写真しかない場合も多い。そのため、遺伝子解析手法よりも画像による種の同定を行うことはコストや網羅性の点で依然として優位だと言える。このような背景から、本研究では顕微鏡画像による寄生虫の種同定問題に着目する。

人間、人工物、動植物などの一般物体に対する検出、識別手法に関しては研究例が多いが、原虫などの寄生虫は上記物体と比較して種ごとに固有な視覚的な特徴量の差が大きくないため、その識別問題に対して十分な精度が得られないことが事前調査により判明している。

2. 研究の目的

寄生虫に対する種の分類・同定の手法としてDNAバーコーディング構想が注目されているが、現状のDNAリファレンスは一部の主要な病原性寄生虫のみに限られ、極めて限定的である。その一方で、寄生虫感染症診断における種の同定は様々な染色・固定技術による顕微鏡画像解析が基本であり、多くの場合、専門家による確実な同定が必要である。また、DNAバーコーディング構想以前の症例における寄生虫の識別は画像情報に依っており、情報の蓄積という点からも画像情報が積極的に活用されるべきである。

過去に同定された事例のデータには顕微鏡写真しかない場合がほとんどであるため、遺伝子解析手法と比較して画像による種の同定を行うことは、網羅性の点でも意義がある。したがって、寄生虫に関するデータベース整備に加え画像認識技術による寄生虫種の同定技術の確立が望まれている。

本研究では上記問題を解決する手法として、柔軟で大域的な特徴表現と、局所の特徴の記述性を兼ね備えた画像特徴表現を検討し、それを原虫類を始めとした寄生虫の同定に適用し、従来手法を上回る虫体検出、識別手法を目指す。さらに当該技術を寄生虫診断支援システムへ適用し、臨床検査技師や医師の習熟度向上を支援する基盤技術の構築を目指す。

3. 研究の方法

原虫類のような他の一般物体と比して視覚的特徴の乏しい物体を対象とした局所特徴と大域的特徴の表現法を検討し、それら特徴量記述に基づく特徴点検出並びに類似した特徴量をクラスタリングする処理を行った上で、類似性判定、可視化法も検討する。虫体を含む顕微鏡画像は、虫体だけでなく人体の細胞などの他の物体を含む場合も多いため、検出、識別精度の向上のために、虫体以外の物体を負例として検出、除外する処理も設計・実装する。

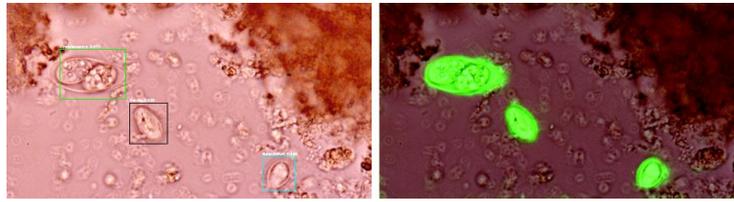
寄生虫情報データベースの整備に関しては、遺伝情報と画像情報との相互参照性を向上させることも意図し、寄生虫画像情報に加え、DNA情報、虫体名や染色条件などの試料情報の蓄積も考慮する。

検出、識別結果はその根拠となる領域分割結果と種識別の確度などの情報を入力画像上に重畳表示する可視化を行い、想定ユーザである検査技師、医師の可読性を高め、質の高いフィードバックが得られるよう配慮する。

4. 研究成果

まず、寄生虫情報データベースの拡充に関しては、各腸管寄生原虫の形態的評価のベースとなる分類を確立するため、分子疫学的調査・研究を実施した。その分類調査の過程で、インドネシアおよび日本の野鼠に分布するプラストシスチスを遺伝子レベルで評価し、その種内多型における位置づけを明らかにした。また、インドネシアに分布するレトルタモナスをヒトおよびヒトと密接に関係するイヌ、豚、牛などのほ乳類から検出し、脊椎動物由来のレトルタモナスに存在する遺伝子型からその分類を明らかにした。さらには、非病原性と考えられてきたハルトマンアメーバが病原性を保持する可能性などが明らかとなった。

顕微鏡画像を入力とした虫体領域の認識、種の識別に関しては、これまで構築した寄生虫情報データから虫体領域を教師データとして切り出し、それをResNetを改良したネットワークに学習させることにより、スケール、形状、染色法の違いによる影響を受けにくい領域分割を実現した。領域分割処理の後には局所特徴量をスケールごとにクラスタリングし、スケールごとに局所特徴表現を得て、それに基づき種の識別を行うことにより従来法と比較してより高い種の識別精度を達成した。



左図 入力画像中に検出された寄生虫体（矩形で囲まれたもの）
 右図 虫体領域の検出結果（緑色の領域）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

1. Matsumura T, Hendarto J, Mizuno T, Syafruddin D, Yoshikawa H, Matsubayashi M, Nishimura T, Tokoro M., "Possible pathogenicity of commensal *Entamoeba hartmanni* revealed by molecular screening of healthy school children in Indonesia", *Trop Med Health*, Vol. 47, DOI:10.1186/s41182-018-0132-7, 2019. (査読あり)
2. Hendarto J, Mizuno T, Hidayati APN, Rozi IE, Asih PBS, Syafruddin D, Yoshikawa H, Matsubayashi M, Tokoro M., "Three monophyletic clusters in *Retortamonas* species isolated from vertebrates", *Parasitol Int.*, Vol. 69., pp. 93-98, 2019. (査読あり)
3. Katsumata M, Yoshikawa H, Tokoro M., Mizuno T, Nagamoto T, Hendarto J, Asih PBS, Rozi IE, Kimata I, Takami K, Syafruddin D., "Molecular phylogeny of *Blastocystis* isolates from wild rodents captured in Indonesia and Japan", *Parasitol Res.*, Vol. 117, pp. 2841-2846, 2018. (査読あり)

〔学会発表〕(計14件)

1. Tetsushi Mizuno, Hiroshi Ichimura, Din Syafruddin, Elijah Maritim Songok, Masaharu Tokoro
 隠された haplotype により明らかになった *Giardia intestinalis* 分子分類の新たな発見
 第 88 回日本寄生虫学会大会
 2019 年
2. 吉川尚男, 岩政綾菜, 所 正治, ディンシャフルディン
 プラストシスチス属の人獣共通感染性: インドネシア・スンバ島の 10 家族の住民とその家畜動物から分離された株について
 第 88 回日本寄生虫学会大会
 2019 年
3. Khoa Pho, Muhamad Kamal Mohammed Aminy, Atsuo Yoshitaka
 Segmentation-driven RetinaNet for Protozoa Detection
 IEEE International Conference on Multimedia
 2018 年
4. Atsuo Yoshitaka
 Detection and Identification of Parasite from Micrograph
 India-Japan Bilateral Conference
 2018 年
5. Khoa Pho, Takafumi Hirase, Muhamad Kamal Mohammed Amin, Atsuo Yoshitaka
 Protozoa Identification using 3D Geometric Multiple Color Channel Local Feature
 International Conference on Knowledge and System Engineering
 2018 年
6. Khoa Pho・Takafumi Hirase・Muhamad Kamal Mohammed Amin・Atsuo Yoshitaka
 Protozoa Identification using 3D Geometric Multiple Color Channel Local Feature
 平成 30 年度電気関係学会北陸支部連合大会
 2018 年

7. 所 正治

臨床寄生虫検査依頼の動向
第 36 回北陸病害動物研究会
2018 年

8. 瀬沼祥輝, 所正治

ジアルジアの遺伝子型 A/B 特異的 PCR 法による分子スクリーニング
第 36 回北陸病害動物研究会
2018 年

9. 長田佳奈, 所正治

腸管寄生アメーバ類の網羅的分子スクリーニング
第 36 回北陸病害動物研究会
2018 年

10. 所正治, 原田憲一, 水野哲志, 前田泰之

胃癌切除標本中に認められた *Anisakis pegreffii* の 1 例
第 29 回日本臨床寄生虫学会大会
2018 年

11. Masaharu Tokoro, Joko Hendarto, Din Syafruddin, Hisao Yoshikawa, Tetsushi Mizuno, Takehiro Nagamoto

Are commensal protozoans truly non-pathogenic even in non-immune population?
the 14th International Congress of Parasitology (国際学会)
2018 年

12. 所正治

寄生虫蔓延地域におけるジアルジアの病原性について
第 74 回日本寄生虫学会西日本支部大会
2018 年

13. Hari Wardhana, Eny Martindah, Dyah Haryuningtyas Sawitri, Fitri Ekawasti, Dias Aprita Dewi, Tomoyuki Shibahara, Masahiro Kusumoto, Masaharu Tokoro, Kazumi Sasai, Makoto Matsubayashi

First molecular surveillance of porcine *Entamoeba suis* and *E. polecki* in Central Java, Indonesia, April
第 74 回日本寄生虫学会西日本支部大会
2018 年

14. Tetsushi Mizuno, Elizabeth Matey, Joko Hendarto, Takehiro Nagamoto, Din Syafruddin, Hiroshi Ichimura, Elijah M Songok, Masaharu Tokoro

Giardia intestinalis assemblage B の sub-genotype と地域性について
第 74 回日本寄生虫学会西日本支部大会
2018 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：所 正治

ローマ字氏名：Tokoro, Masaharu

所属研究機関名：金沢大学

部局名：先進予防医学研究センター

職名：准教授

研究者番号（8桁）：30338024

(2)研究協力者

研究協力者氏名：ムハマド カマル モハメド アミン

ローマ字氏名：Muhamad Kamal Mohammed Amin

研究協力者氏名：フォー ゴック ダン コア

ローマ字氏名：Pho Ngoc Dang Khoa

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。