

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：82408

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16180

研究課題名（和文）Filigree pattern - 新しい構造概念から考える肺癌の病理学的意義

研究課題名（英文）Filigree pattern - A new concept for lung carcinoma pathology

研究代表者

江本 桂 (Emoto, Katsura)

独立行政法人国立病院機構埼玉病院（臨床研究部）・診療部・病理診断医師

研究者番号：40570859

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、Filigree patternの概念を組み込んだ腺癌亜型7パターンを分類するAIを作成し、その過程で色補正や画像サイズ選定の重要性を示した。Filigree patternを取り入れたWHOグレード分類は第4版および第5版とも既報と同様の傾向を示したが、今回のコホートではわずかに第4版のグレード分類の方が検出力が強かった。高グレードの組織亜型が腫瘍全体の5-20%の時には、腫瘍中心領域に高グレード成分比率の多い症例が予後不良であり、Filigree patternを含む組織亜型は割合だけでなくその分布も重要である可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Filigree patternは肺癌WHO分類第5版から採用された新しい概念であるが、その概念を含む肺腺癌組織亜型を分類可能なAIを設計した。肺腺癌組織亜型分類は複雑で、本研究でも7種類を対象としたが、病理医に近い分類が可能であった。組織亜型はその割合のみが予後予測に用いられているが、本研究ではAIを補助的に使用することでヒトが作業・分類するのが難しい組織亜型の分布を可視化することに成功し、組織亜型の分布も予後に影響し得ることを示した。本研究により、filigree patternを含む組織亜型の臨床的・研究的意義が広がったと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we have established artificial intelligence (AI) for seven subtypes of lung adenocarcinoma (LUAD), including the concept of filigree pattern. In the procedure, we have revealed the importance of color standardization and picture size for AI. LUAD histological grades by WHO 4th and 5th editions indicated the similar tendency to the previous studies, however, the power of WHO 4th grading system was a little higher than WHO 5th in the present study. Focusing on tumor with 5-20% of high-grade component, tumors with centrally located high-grade components had a higher malignant potential. Our result suggests that histological subtype including the concept of filigree pattern is important, of not only its proportion but also its distribution.

研究分野：Thoracic pathology

キーワード：Adenocarcinoma Lung cancer Filigree pattern Histological subtype

1. 研究開始当初の背景

申請者は、Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC)の Stage I 肺腺癌 1468 例を再検討し、既往の形態学的分類で定義されない構造的特徴を発見し、Filigree pattern と定義した。Filigree pattern を主とする腺癌は非常に高い悪性度を有すること、Filigree pattern を少量でも有する症例は術後の腫瘍再発リスクが高いことを単変量・多変量解析を用いて報告した¹。Filigree pattern は当時どの腺癌亜型に分類するか決まっていなかったが、申請者は Filigree pattern を、線維血管軸のない、細い紐状に細胞が積み重なった構造で、既定の細胞層よりも最低でも 3 つ以上核が重なっている構造、と定義し、micropapillary pattern に含めることを提唱した。この提唱は WHO 分類第 5 版に採用され、また同分類では組織亜型によるグレードがアップデートされた。

2. 研究の目的

この研究の目的は Filigree pattern の臨床的・病理学的意義を解明することにある。また、Filigree pattern も取り入れた WHO 分類第 5 版の新組織亜型分類・新グレードシステムの意義を検討することも目的である。慶應義塾大学病院の肺腺癌切除例を用いて、Filigree pattern の再分類を行い、臨床的・病理学的意義を検討する。

3. 研究の方法

研究当初、4 種類の方法での検討を準備した。4 種類とは A) Filigree pattern の本邦のコホートでの臨床的意義解明、B) 肉眼的・組織学的な特徴の整理、C) 特定の分子の検討による機序解明、D) 人工知能 (AI) による Filigree pattern の識別能向上である。これらを複合的に組み合わせ、Filigree pattern の意義を解明することを目指した。アジアコホートでの解析結果は研究申請時にはなかったが、研究開始後すぐにアジアコホートで我々の研究結果を再現し、Filigree pattern の意義を証明した報告が続いたため^{2,3}、本研究はその先を目指すよう方向修正することとした。上記のうち D) を優先的に進めるべく研究を開始した。

異なるデジタルスキャナで撮像した画像に対する AI の精度の検討

AI 作成にあたり、単施設で検討することの是非を検討した。デジタルスライドを取り込む際にはスライドスキャナを用いるが、複数の会社から販売されており、施設ごとに有するスライドスキャナが異なるため、これがどの程度 AI に影響するか検証した。慶應義塾大学病院はフィリップス社の Ultra Fast Scanner (以下、UFS) と浜松ホトニクス社の NanoZoomer (以下、NZ) を有している。同一標本 (Ziehl Neelsen 染色) をそれぞれのデジタルスキャナでデジタル標本化し (UFS-RGB, NZ-RGB)、それぞれに対して抗酸菌を検出する AI を作成したのち、もう一方のデジタルスキャナで撮像したデジタル標本に対してその AI を適用させた。また、撮像時に色補正で色を標準化させたもの (UFS-LAB, NZ-LAB) で同じ実験を繰り返した。

Filigree pattern の概念を含む肺腺癌亜型分類 AI の作成

肺腺癌には複数の組織亜型があるが、基本パターンである lepidic、acinar、papillary、micropapillary、solid patterns に加え、頻度の高い特殊型である invasive mucinous adenocarcinoma (mucinous と表記)、acinar に包括されるものの WHO 分類第 5 版で高グレード扱いとなる cribriform pattern は独立した組織亜型として AI に認識させることが可能と考え、計 7 種の亜型分類を行う AI の作成に着手した。Micropapillary の組織亜型は Filigree pattern を含むように設計した。病理医 2 人で典型画像を教師データとして集め、そのデータを training set と validation set に分け AI を作成し、その精度を評価した。

肺腺癌亜型分類 AI の組織標本への適用と臨床病理学的検討

で作成した AI を 2009-2012 年に慶應義塾大学病院で手術された肺腺癌 147 症例に適用し、臨床病理学的な意義を検討した。単に優勢亜型を比較するだけではなく、WHO 第 4 版と第 5 版のグレード分類の違いに着目して検討した。また、それぞれの腫瘍 1 割面に対する組織亜型の視覚化を行い、単に組織亜型の比率だけではなく、その分布がどう臨床病理学的に影響するのかに着目して解析を行った。

4. 研究成果

異なるデジタルスキャナで撮像した画像に対する AI の精度の検討

Deep-learning を用いた AI は識別の過程がブラックボックスで考察しにくいいため、色情報のみで抗酸菌を識別する AI を作成した。抗酸菌の検出は背景が青、抗酸菌が赤とシンプルであり、この検出法に適したモデルであった。スライドスキャナが同一な場合、training set と validation

set どちらも 99%程度の正診率が出せる AI を作成した。結果概要は図 1 の通りである。UFS-RGB で作成した AI は NZ-RGB 標本でも 98.6%の精度で検出できたが、NZ-RGB で作成した AI は UFS-RGB 標本に対しては 92.8%に精度低下した。一方、撮像時に色の標準化を行った標本(UFS-LAB、NZ-LAB)を用いると、UFS-LAB で作成した AI は NZ-LAB 標本に 99.3%、NZ-LAB で作成した AI は UFS-LAB 標本で 98.0%の精度を保つことができた。このことから、AI は色情報の影響を非常に受けやすく、異なる撮像機を用いた場合は先に色補正を行うべき、そうでなければ精度を担保し難いと判断した。以上を国内学会で発表した⁴。

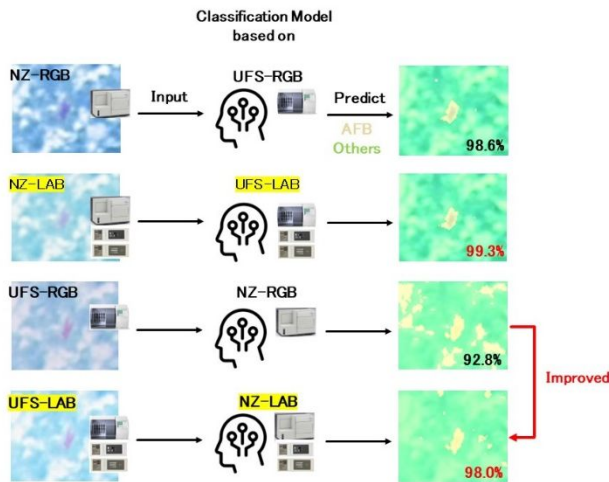


図 1. 異なる撮像機を用いた AI 精度
撮像したままのデジタル標本から AI を作成すると、精度が下がる組み合わせがある。一方、取り込み時に色調を標準化してから AI 作成および AI 適応した場合、撮像機の色調に依存した精度減少の影響を小さくすることができる。(参考文献 4 より)

Filigree pattern の概念を含む肺腺癌亜型分類 AI の作成

の結果を受け、スライドスキャナは NanoZoomer に限定し、肺腺癌亜型 AI の作成を開始した。病理医 3 人で肺腺癌亜型分別のために適した正方形画像サイズを検討したところ、一辺 400 μ m であれば構造所見と核所見の評価可能ということで意見が一致した。Inception v3 に training set 7280 枚、validation set 956 枚の典型的な組織亜型写真を用意し、training set に対して 99.7%、validation set に対して 90.4%の正確性を有する AI を作成した。これらを 147 例の腫瘍最大断面に適応して、病理医の診断と比較したところ、優勢組織亜型の一致率は 75.5%であった。病理医間での診断一致率と比較しても遜色ないと考えられた。上記の training・validation sets に比べて、優勢亜型に関して正確性が下がった原因としては、最大断面には分類の難しい画像が多く含まれることの影響が主に考えられた。

肺腺癌亜型分類 AI の組織標本への適用と臨床病理学的検討

でのデータをもとに、臨床病理学的な解析を行った。設定したコホートについて病理医が Filigree pattern の有無を検討したところ、5%以上の Filigree pattern を有する症例は 147 例中 43 例(29%)、5%以上の micropapillary pattern(Filigree pattern を含む)を有する症例は 74 例(50%)であり、MSKCC の 35%、56%よりやや少なかったものの概ね類似した結果であった。これらを組み込んだ優勢亜型ごとの recurrence free survival(RFS)を検討したところ、病理医・AI で多少の差はみられたものの、どちらも既報に矛盾しない結果であった。

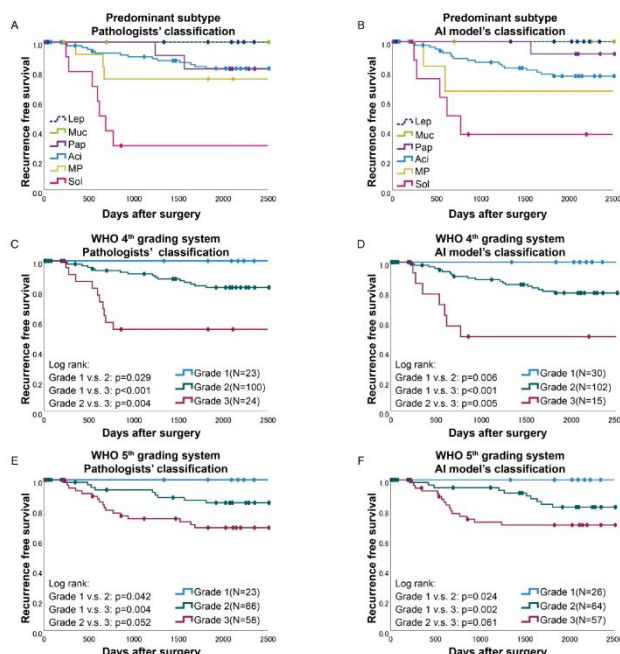


図 2 病理医と AI で判定した再発予後
A・B:優勢亜型、C・D:WHO4th のグレードシステム、E・F:WHO5th のグレードシステム。
A・C・E:病理医診断、B・D・F:AI 診断。
病理医、AI の診断で大きな結果の違いはない。WHO 分類第 4 版と第 5 版のグレード分類を比較すると、今回のコホートではやや第 4 版の分類が検出力が高い。(参考文献 6 より)

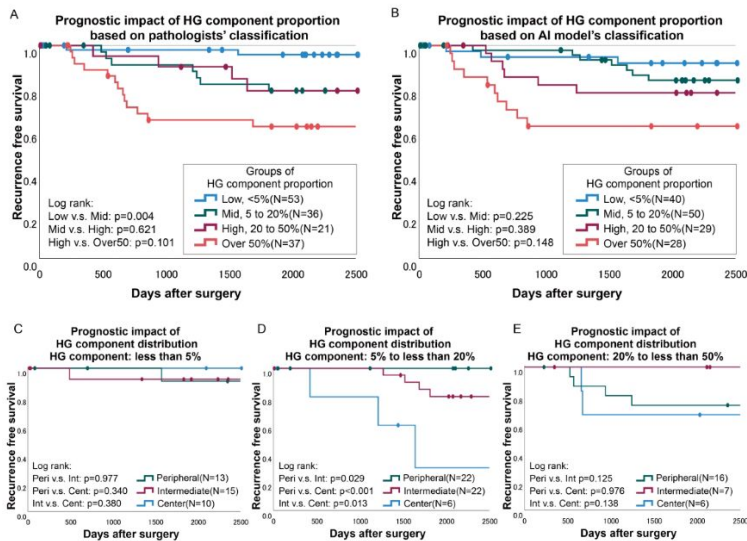


図3 高グレード(HG)成分の量と分布による再発予後
 AB:HG割合による再発予後。A 病理医、B AIによる検討。
 CDE:AI診断でのHG成分の分布による予後の違い。D HG成分5%以上20%未満の群では腫瘍中心にHG成分が多い症例の予後が不良である。E 20%以上50%未満の群ではHG成分分布で予後に有意な差はない。(参考文献6より)

すなわち、高グレードのsolid、micropapillary優勢群の予後は不良であり、lepidic優勢群の予後は良好であった。病理医、AIいずれの診断においてもこの傾向は保たれていた。この組織亜型を元にしたWHOグレード分類を第4版および第5版と比較したところ、今回のコホートにおいては第4版の分類がやや検出力が高かった(図2)。但し、コホートごとのバイアスによる可能性も否定できない程度の差であり、診断時に組織亜型の割合を詳細に記載し、今後のためのデータを収集することが重要と考えられた。

また、AI診断による高グレード成分の割合を層別化した場合に、高グレード成分が腫瘍のどこに分布しているかで予後に影響するかを検討した(図3)。まず全体でみると高グレード成分が多くなるほど予後が悪くなる傾向が見られた。そこで、高グレード成分が5%未満、5%以上20%未満、20%以上50%未満の群を抽出し、それぞれ高グレード成分が腫瘍中心に多い、辺縁に多い、そのどちらでもないの3群に分けて予後を解析した。その結果、高グレード成分5%以上20%未満の群では、腫瘍中心に高グレード成分が多い症例の予後が不良であった。高グレード成分5%以上20%未満とはすなわちWHO分類第5版での高グレードより下のグレード(主にグレード2)を意味するものであり、組織亜型の割合のみならず組織亜型の分布パターンも悪性度につながる可能性があることが示唆された。の結果を国際学会で発表し⁵、論文化した(in press)⁶。

以上、本研究では、Filigree patternの概念を組み込んだ腺癌亜型7パターンを分類するAIを作成し、その過程で色補正が重要なことや適切な教師画像サイズを用いることが重要であることを示した。Filigree patternを取り入れた上で、WHO分類のグレード分類は第4版および第5版とも既報に類似するものであった一方、今回のコホートではわずかに第4版のグレード分類の方が検出力が強かった。また、Filigree patternの概念を含んだ組織亜型を鑑みた場合、高グレードの組織亜型の量が比較的少ないとき(腫瘍全体の5-20%)の時には、腫瘍辺縁に高グレード成分が存在する症例よりも腫瘍中心付近の高グレード成分比率が高い症例の方が予後不良であることを見出した。単施設での検討であることや、症例選択や診断医にバイアスがかかっていることは否めないため、より拡張したコホートでの検討をすべきではあるが、Filigree patternを含む組織亜型の新たな可能性を見出した。

参考文献

1. Emoto K., et al. Expansion of the Concept of Micropapillary Adenocarcinoma to Include a Newly Recognized Filigree Pattern as Well as the Classical Pattern Based on 1468 Stage I Lung Adenocarcinomas. *J Thorac Oncol* 2019, 14: 1948-1961.
2. Zhu E., et al. Recognition of filigree pattern expands the concept of micropapillary subtype in patients with surgically resected lung adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2021, 34: 883-894.
3. Zhao S., et al. Identification of filigree pattern increases the diagnostic accuracy of micropapillary pattern on frozen section for lung adenocarcinoma. *Histopathology* 2022, 81: 119-127.
4. 江本桂ら.異なる撮像機のデジタルスライドに対して抗酸菌検出AIの再現性を得るための検討(会議録). *日本病理学会会誌* 111 巻1号 (2022): 240.
5. Miura E., Emoto K., et al. Spatial Analysis of Lung Adenocarcinoma Histological Subtyping; Establishment of Artificial Intelligence Model and Its Application to Whole Slide Image. *USCAP 113h annual meeting 2024* (Baltimore, MD, USA).
6. Miura E., Emoto K., et al. Establishment of Artificial Intelligence Model for Precise Histological Subtyping of Lung Adenocarcinoma and Its Application to Quantitative and Spatial Analysis. *Jpn J Clin Oncol* (in press)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Eisuke Miura, Katsura Emoto, Tokiya Abe, Akinori Hashiguchi, Tomoyuki Hishida, Keisuke Asakura, and Michiie Sakamoto	4. 巻 -
2. 論文標題 Establishment of Artificial Intelligence Model for Precise Histological Subtyping of Lung Adenocarcinoma and Its Application to Quantitative and Spatial Analysis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jjco/hyae066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Eisuke Miura, Katsura Emoto, Tokiya Abe, Akinori Hashiguchi, Tomoyuki Hishida, Keisuke Asakura, Michiie Sakamoto
2. 発表標題 Spatial Analysis of Lung Adenocarcinoma Histological Subtyping; Establishment of Artificial Intelligence Model and Its Application to Whole Slide Image
3. 学会等名 USCAP 113th annual meeting（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 江本 桂, 松田 紘典, 阿部 時也, 橋口 明典, 坂元 亨宇
2. 発表標題 異なる撮像機のデジタルスライドに対して抗酸菌検出AIの再現性を得るための検討
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------