

令和 6 年 9 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03839

研究課題名（和文）ホモロジープロファイル法を用いた肺細胞診断支援技術の開発

研究課題名（英文）Development of lung cytodiagnosis support system using homology profile method

研究代表者

中根 和昭（Nakane, Kazuaki）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教授

研究者番号：10298804

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：ホモロジーとは図形の接触を定量化する数理的な概念であるが、近年では病理画像など複雑な画像に対する解析法として有効な考え方であることが分かってきた。今回、その考え方を深化した手法（ホモロジー・プロファイル法）を用い、肺細胞の核クロマチンパターンを定量化し、その数値に基づき肺癌組織型分類を試みた。本期間では、癌種の区別（小細胞癌・腺癌・扁平上皮癌）を行ったところ、良好な結果が得られた。これは治療薬の選択に客観性が生まれ、癌治療の均てん化に大きな貢献をするであろう。特に40倍での画像でも解析が可能であることが示されたので、油浸を行う必要性がなくなり、臨床場面での応用が期待できるようになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌の細胞診には、気管支鏡下の擦過・気管支肺胞洗浄・CTガイド下穿刺吸引・EBUS-TBNAならびに喀痰などの細胞採取法があるが、外科切除不能な進行期肺癌では、多くの場合細胞診が確定診断になることが多い。このため小細胞癌・非小細胞癌、腺癌・扁平上皮癌の細胞学的鑑別を精度良く行うことが重要である。細胞診断の標準化についてはサンプルの多様性から、標準的クライテリアの設定は難しい。しかし、の核クロマチンパターンが診断において大きなウエイトを占めていることは間違いなく、もしこれを客観的な数理的指標を用いて表現できれば、自動診断支援技術開発の手がかりだけでなく、病理現象への理解が進むと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Homology is a mathematical concept that quantifies the contact of shapes. Recently, it has been recognized as an effective approach for analyzing complex images, such as pathological images. In this study, we further developed this concept through a technique called the Homology Profile Method. Using this method, we quantified the chromatin patterns of lung cell nuclei and attempted to classify lung cancer tissue types based on these measurements. During this period, we were able to distinguish between different types of cancer--small cell carcinoma, adenocarcinoma, and squamous cell carcinoma-- with favorable results. This approach is expected to bring objectivity to the selection of therapeutic drugs and contribute significantly to the standardization of cancer treatment. Notably, it has been demonstrated that analysis is feasible even with 40x magnification images, thereby eliminating the need for oil immersion and enabling potential clinical applications.

研究分野：医学

キーワード：ホモロジー クロマチンパターン 細胞診断 遠隔診断

1. 研究開始当初の背景

肺癌の治療方針などを定める際には、細胞診断は必須の検査である。細胞診断は、細胞検査士などの専門家による主観的な判断による部分が大きく、客観的な指標による均てん化は喫緊の課題である。診断の主な基準となる「クロマチンパターン」は非常に複雑であるため、診断を行う細胞検査士には長期間の訓練が必要である。これに対して、自動診断支援技術の開発も進められているが、クロマチンは細胞核内に 3 次元的にランダムに分布しているため、深度情報も解析には必須であり、AI 的なアルゴリズムを用いた画像処理法では実用化は非常に難しい。

ホモロジーとは図形の接触の程度を定量化する数学的概念である。画像は「白と黒の二値化」することで「図形」に変換できるが、本手法は【二値化するパラメータを連続的に変化させて「図形」のホモロジー量の変化(プロファイル)から画像の特徴量を得る】というものである。ここでは輝度により二値化が行われるが、光学的に考えると、現れた二値化画像は焦点面から上下にずれた対象物の射影像の重ね合わせとみなすことができる。このため、プロファイルは 3 次元情報を含んでいる。また、ホモロジーの位相不変性から、微分幾何学的な情報を失った焦点面からずれた対象物に対してもロバストである。しかも、この手法は一旦二値化するため、医療施設間の染色の異なりに対して、簡単に調整ができるうえ、計算負荷が非常に低い。このため、通常のパソコンでも機能する。このことは画像そのものを外部に送信する事は必須でないため、個人情報の保護した上でのネットを通じた遠隔診断にも応用可能である。本手法の研究をさらに進めることで、日本のみならず、病理医の少ない地域に対しても、医療サービスを展開することが可能となる。

2. 研究の目的

病変部分は通常の組織構成システムから逸脱しているため、組織の接触の状態が正常とは異なっている。骨格などの全体像がはっきりしていて、そこからの「ズレ」を計測することで、意味がある結果が出るような対象であれば、AI 的な解析方法は有効であるが、病理画像の様な場合は、画像にランダムネスが含まれるため、教育ベースのアルゴリズムの解析では困難である。また、数学的に二次元(画像)のランダムネスの定義はないため、数理的にアルゴリズムとして実装することは困難である。

ここで用いたホモロジーという数理的な概念は接触の程度を数値化するものだが、通常の組織は大体均一な接触の状態を保っている。このため、単位領域内の接触の程度は等しいと考えられる。また、ホモロジーの位相不変性を上手く用いることで、教師データの数を最小限にすることも可能にした。本手法は二値化パラメータを変化させて、ホモロジーの変化を読み取っているが(ホモロジープロファイル法)そのプロファイルは画像の組織構造の情報が多く含まれている。ただし、どの特徴量が現象の本質を表現しているかはアприオリにはわからないため、医療従事者とのコミュニケーションが必須である。さらに、処理可能例を増やし本手法の本質を理解していきたい。

3. 研究の方法

クロマチンとは一般に DNA のケースと言われているが、細胞検査の場合では細胞核内に存在する「何か」であって、明確になんであるか理解されているわけではない。しかし、癌化によりクロマチンは大きく変化し、そのおおくクロマチンパターンの変化により、癌・非癌や癌種の分類が行われる。このため、クロマチンの解析は肺がんのみならず、原理的には他の癌種に対しても適用可能である。

本予算によりホモロジー・プロファイル法を実装したシステムの作成を行った。本システムは医療従事者との深いコミュニケーションの上で設計されているため、彼らの「感覚的なもの」が、そのまま数値化されている。すなわち計算結果が彼らの診断と整合性が高いため、非常に好評である。さらに、共同研究者の医学的な知見からのアドバイスにより GUI は、計算機に慣れない一般の医療従事者でも、簡単に使いこなせるシステムになっている。

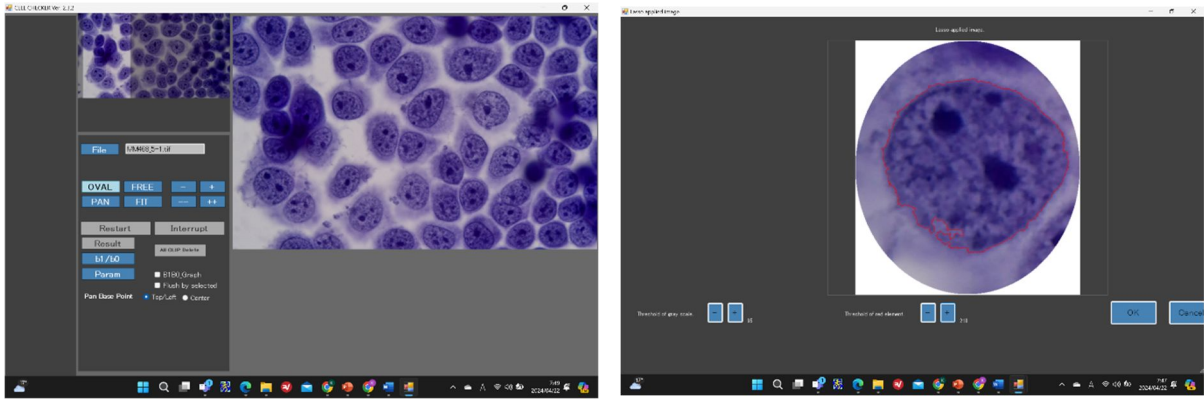
このため、当初目的としていた肺癌以外にも、甲状腺・リンパ腫にも応用していく。また、前立腺や肺の組織にも応用することが可能であり、モダリティの異なる CT 画像の解析にも応用が可能とするエビデンスが得られた。協力者を募りながら本手法の可能性を広げていく。

また、現在では、薬効によるクロマチンパターンの変化の定量化について、抗がん剤とクロマチンの変化についての対応の解析を開始した。

4. 研究成果

4-1 アプリケーションについて

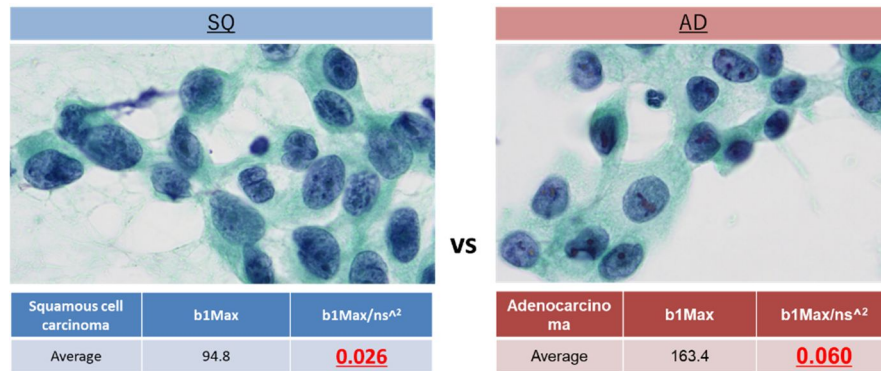
図 1 に示すのは、本補助金により作成されたアプリケーションである(通称: CellChecker)。これは、撮影された画像(tif または jpg 形式)を読み込んで、対象とする細胞核を選択して、ホモロジー計算を行うシステムである。



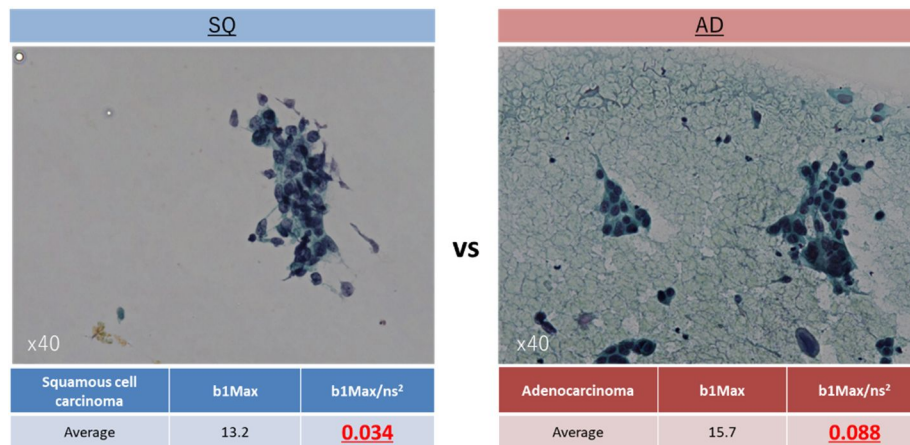
(a) (b)
 図1 本研究費で開発を行ったアプリケーションソフト“CellChecker”
 (a)全体図 (b) 細胞核を取り出した図 半自動で細胞核を抽出できる

4 - 2 計算結果

次に CellChecker による計算結果を示す。これは、腺癌と扁平上皮癌の図であるが、一見して双方非常に酷似している。しかし、ホモロジー計算によると、平均量として差が出ていることがわかる。



(a) (b)
 図2 “CellChecker” による結果の比較。(a) SQ(扁平上皮癌) (b) AD (腺癌)
 明らかに数値が異なっている。



(a) (b)
 図3 40x 画像での処理結果。(a) SQ(扁平上皮癌) (b) AD (腺癌) 100x と
 数値において同様の傾向が認められる。

4 - 3 本手法についての原理的考察 本手法は、次の手順により解析される。

画像の撮影

画像をグレースケール0 255 段階で二値化

ベッチ数を計算して、グラフ (ホモロジー・プロファイル) を作成する

グラフの特徴量から画像を特徴づける (構造化)

図5、6を見れば、核内に分布するクロマチンの状態を、病理的な原理に基づく量で定量化できることになる。

4 - 4 応用例

本手法の原理的な考察が深まったため、更なる応用として抗がん剤の効果を客観的に評価することを考える。

JQ1とは、特定のがん細胞の成長を阻害するために開発された実験段階の小分子化合物であり、BET (Bromodomain and Extra-Terminal domain) プロテインファミリーのメンバーを標的としている。BET プロテインは、遺伝子の発現を調節する役割を果たしており、特にがん細胞の増殖や生存に関与している遺伝子の発現に重要と考えられている。JQ1は、BET プロテインの中でも特にBRD4というタンパク質と強く結合し、その機能を阻害する。BRD4は、がん細胞の成長や生存に必要な遺伝子の転写を促進することで知られているが、JQ1によるBRD4の活性阻害は、これらの遺伝子の活動を抑制し、結果としてがん細胞の成長を抑える効果が期待できる。しかし、JQ1はまだ臨床試験の段階にあり、特に多発性骨髄腫や急性骨髄性白血病などの血液がん、一部の固形がんに対する治療薬としての可能性が研究されており、JQ1は抗がん剤としての有望な候補と見なされており、今後の臨床試験の結果が待たれている。

一般にクロマチンが凝集した状態(クロマチンが塊となる)であれば阻害が起きており、そうでなければ起きていないと考えられる。これは、視覚的には「顆粒状」になっていると考えられるが、明確に確認されているわけではない。

これをホモロジー・プロファイルをb0について取ると、原理的にはプロファイルはピント面から上下にずれた部分に分布するクロマチンが重ね合わせて出てくる。これは数学的には分布関数と見做することができるため、その微分(傾き)は密度関数となる。このため、凝集が起これば、細かいクロマチンが集まり密度が低くなるものと考えられる。今回はそれを数値的に表現できたものと考えられる(p値 = 7.24E-11)。

ここまでの実験で原理やPOCは確認できた。今後

- ・処理数を増やす
- ・異なる施設のサンプルでの確認
- ・リンパ腫・甲状腺など他の部位への確認
- ・低倍率の場合(よりコンベンショナルな機器)で同様な分解能を持つかの確認
- ・細胞核の自動抽出
- ・薬によるクロマチン変化の数値的な確認

などが今後の学問的な課題である。

同時に、本システムを用いて協力してくれる研究者を探して、更なる解析可能部位の拡大などを旨す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Yokoyama Yuhki, Kanayama Kazuki, Iida Kento, Onishi Masako, Nagatomo Tadasuke, Ito Mayu, Nagumo Sachiko, Kawahara Kunimitsu, Morii Eiichi, Nakane Kazuaki, Yamamoto Hirofumi	4. 巻 13
2. 論文標題 A quantitative evaluation method utilizing the homology concept to assess the state of chromatin within the nucleus of lung cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 0 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-46213-w	査読の有無 無
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8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kazuaki Nakane
2. 発表標題 Development of cytopathology support system using the homology concept
3. 学会等名 18th European Congress on Digital Pathology (ECDP) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuaki Nakane
2. 発表標題 Homology-based approach for pathological diagnosis of prostatic cancer
3. 学会等名 The European Society of Pathology (ESP) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中根 和昭
2. 発表標題 数理的手法を用いた組織画像解析技術
3. 学会等名 日本機械学会特別講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 飯田 健斗
2. 発表標題 ホモロジープロファイル法を用いた肺小細胞癌と肺非小細胞癌の鑑別
3. 学会等名 第60回日本臨床細胞学会秋期大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯田 健斗
2. 発表標題 ホモロジー特徴量を用いた画像解析法について (仮)
3. 学会等名 第63回日本臨床細胞学会総会(春期大会) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuaki Nakane
2. 発表標題 Development of cytopathology support system using the homology concept
3. 学会等名 ECP2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuaki Nakane
2. 発表標題 A novel pathological image evaluation method for prostatectomy specimens using the homology profile method
3. 学会等名 35th European Congress of Pathology (ECP) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kazuaki Nakane
2. 発表標題 Respiratory cytology support system using homology profile for clinical application
3. 学会等名 19th European Congress on Digital Pathology (ECDP) (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	山本 浩文 (Yamamoto Hirofumi) (30322184)	大阪大学・大学院医学系研究科・教授 (14401)	
研究分担者	横山 雄起 (Yokoyama Yuki) (60615714)	大阪大学・大学院医学系研究科・助教 (14401)	
研究分担者	橘 理恵 (Tachibana Rie) (90435462)	大島商船高等専門学校・情報工学科・准教授 (55502)	

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
---------	---------