

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560189

研究課題名(和文)脳腫瘍のマルチモーダル画像解析のための3次元病理画像構築およびMR画像との融合

研究課題名(英文)Construction of 3D pathological images and registration to MR image for multimodal analysis of brain tumor

研究代表者

羽石 秀昭(Haneishi, Hideaki)

千葉大学・フロンティア医工学センター・教授

研究者番号：20228521

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：医用画像におけるマルチスケール解析のために、高精度な画像位置合わせ手法が必要となるが、解像度が100倍以上異なる場合、相互情報量などの従来の評価指標では高精度化が難しい。本研究では病理画像に対してテクスチャ解析を行うことにより、ダウンスケール後の病理画像において組織間の違いが明瞭に描出できるかを検討した。ブタ脳を対象に撮影実験を行い、提案手法を適用した。その結果、灰白質と白質の違いが強調可能であることを確認した。また、MR画像との位置合わせを実行し、良好な位置合わせ結果が得られた。さらに、本研究では切り出した組織表面の光学像を仲介とした位置合わせ手法を考案した良好な結果を得た。

研究成果の概要(英文)：Recently, expectations for multi scale analysis in medical imaging are growing. Prior to such analysis, high quality alignment between images are needed. We propose registration methods. Conventional metrics such as mutual information cannot evaluate similarity between images appropriately when image resolutions are extremely different. In this study, a texture analysis technique was introduced to image registration. Image acquisition experiment using a pig brain was conducted. We confirmed that difference between gray and white matters in pathological image was clearly enhanced and image registration between pathological images and MR image was successfully conducted. We also propose a registration method that mediates optical image of tissue surface. Tissue optical image and pathological image is taken from pig's brain and alignment between optical image and pathological image by affine transformation is carry out.

研究分野：医用画像工学

キーワード：マルチモダリティ マルチスケール 病理画像 MR像 画像レジストレーション テクスチャ解析 光学像

1. 研究開始当初の背景

脳腫瘍の中でも膠芽腫(こうがしゅ)は治療の難易度が高い疾患である。磁気共鳴画像(Magnetic Resonance Imaging: MRI)で腫瘍を観察しても浸潤領域が不明瞭であり、手術時の腫瘍摘出率が低い。本研究の当初の動機は、Whole Slide Imaging(WSI)により撮影された膠芽腫の病理画像とMR画像とを比較することで、膠芽腫の細胞や特定たんぱく質の有無・分布状態とMR信号や脳の構造との関係性の解明を目指すことであった。このためには2種類の画像間での位置合わせを行わなければならない。ハーバード大学で実際に収集したMR画像や病理画像のセットを対象として研究を開始した。しかし、画像収集に直接関わっていないため、画像のパラメータに不明な部分があったり、精度評価の方法が制限されたりといった問題があった。そこで、科研費の実施期間では、研究代表者が所属する機関にて自ら基礎的なデータを収集して、手法の確立を目指すこととした。

2. 研究の目的

MR画像と病理画像とを対応付ける研究として、2つのサブテーマを設定した。ひとつは、テクスチャ解析を用いた病理画像とMR画像の位置合わせである。病理画像とMR画像の空間分解能が大きく異なる状況で、どのような方法で位置合わせを行うかと言う点である。一般に画像間のスケールが異なる場合には一方のスケールに合わせて評価しなければならず、病理画像は解像度がMR画像等と同程度になるようダウンスケールされることが多い。ダウンスケールの際には対応する領域の画素値の平均値などを採用する。しかしながら、このような手続きを経ると、組織の違いが画素値に現れにくくなってしまふ。高精度に位置合わせを行うためには病理画像に含まれる組織ごとの特徴を明瞭に保存しつつ、ダウンスケールするための処理が必要となる。本研究では病理画像に対してテクスチャ解析を適用することで問題解決を図った。

2つめの課題は、上記課題が解決されたとして、MR画像と病理画像とで対応を探すための実際の工夫である。具体的には光学像撮影機構の高機能化による病理画像と組織光学像の位置合わせ、とした。ここでは、切り出した組織表面の光学像を仲介とした位置合わせ手法を適用することとした。以下、2つの課題について方法や成果を示す。

3. 研究の方法

(1) 画像データの準備

ブタ脳を対象にMR撮影と病理画像の取得を行った。MR撮影では、Bruker Biospin社製7T MRスキャナ(BioSpec AVANCE-III)と直径86mmボリウムコイルを使用し、高速スピネコー法による撮影を行った。MR撮影終了後、寒天で固定された状態から5mm厚で切

り出しを行った。複数枚切り出した内からもっとも均一な厚さで切り出せた一枚を選択し、病理標本を作製した。選択された組織は寒天を除去後、さらに面内で8分割した。パラフィン包埋の後、各ブロック片を5 μ m厚で薄切した。ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後、NanoZoomer 2.0-HT(浜松ホトニクス)を用いてスキャンした。対物レンズの倍率を40倍とし、ピクセルサイズ228x228[nm²/pixel]にてデジタル病理画像を取得した。撮影された各画像のサイズは約750000x60000[pixel]であった。

(2) テクスチャ解析を用いた病理画像とMR画像の位置合わせ

① テクスチャ解析に基づくダウンスケール

任意サイズの領域の画素値情報から、1つの画素値に情報を圧縮させる。本研究では脳の灰白質と白質の違いを明瞭化させることを目的とする。病理画像はRGBカラー画像であるが、G成分のコントラストが最も高いことから、これに対して手法を適用する。

白質は神経線維が集積しているため、当該部位は白く描出される。一方、灰白質は神経線維が少なく、白質ほど顕著に描出されない。そこで、エッジ強調処理を施すことで、神経線維の輪郭情報を抽出する。この輪郭情報を評価し、灰白質と白質の差を強調させる。図1にダウンスケールの手順を示す。まず病理画像から小領域を抽出し、Sobelフィルタによりエッジ強調処理を行う。抽出されたエッジの平均強度を算出し、ダウンスケール後の画素値とする。

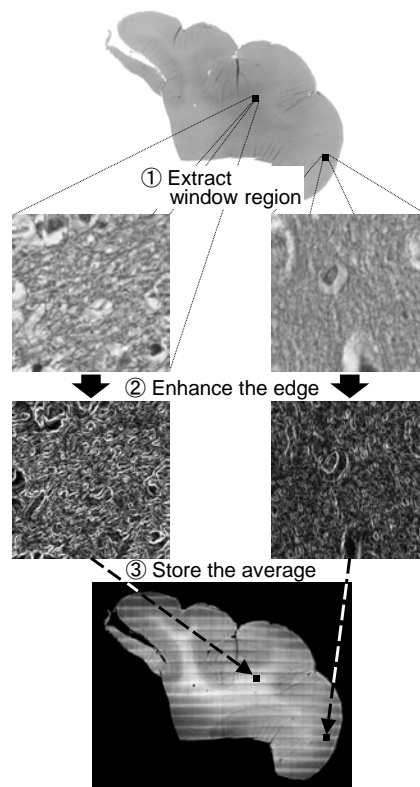


図1 ダウンスケール手順

②病理画像に対応するMR断面像の抽出

ダウンスケール後の病理画像をリファレンス像とし、3D-MR 像にアフィン変換および非剛体変換を段階的に施すことで、病理画像に対応するMR断面像を取得する。アフィン変換では各軸に対する平行移動量、回転移動量、拡大縮小量をパラメータとする。非剛体変換時は thin-plate spline (TPS)モデルに基づいて変形処理を行う。TPS に用いる制御点は格子状に配置するものとする。画像の一致度評価には条件付き相互情報量 (conditional mutual information: CMI)を用い、パラメータの最適化には Powell Brent 法を使用する。CMI は画像を複数領域に分割し、領域ごとの相互情報量を算出することで一致度を評価する。各領域で相互情報量が算出されるため、画像全体に空間依存のムラが発生していても、それを抑制した評価が行われる。

(3) 光学像を仲介とした位置合わせ法

本研究では、組織表面全体を撮影した光学像を仲介とした病理画像とMR画像の位置合わせ手法を構築する。本研究で想定する位置合わせの流れを図2に示す。摘出された臓器をホルマリン固定した後、一定の厚さでスライスし、1スライスをさらに複数のブロックに分割する。その後、各ブロックから病理標本を作製し、光学顕微鏡により病理画像を取得する。ここで、病理組織は画像化されるまでに薬剤や脱水により組織が収縮することが知られている。このため、病理画像の位置情報や形状変化に対しては標本を作成する前の組織を撮影したマクロ画像を参照することで整列、補正処理を施す。また、マクロ画像に対応するMR断面を3D-MR画像から探索しておくことで、マクロ画像を仲介とした病理画像とMR画像の位置対応付けを行う。

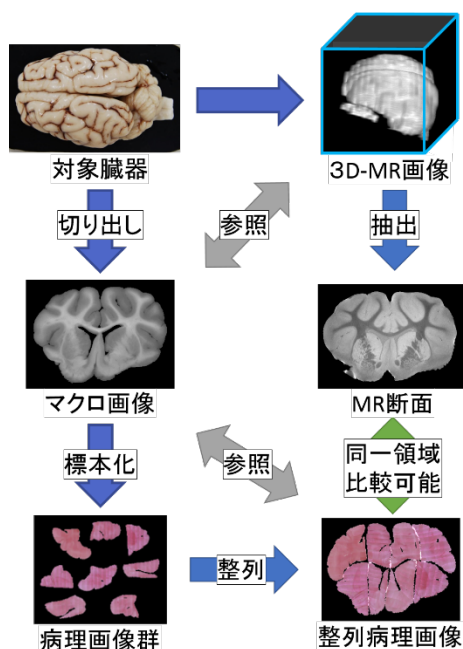


図2 光学像を仲介した位置合わせ法の流れ

4. 研究成果

(1) テクスチャ解析を用いた病理画像とMR画像の位置合わせ

① テクスチャ解析に基づくダウンスケール
テクスチャ解析時のウィンドウサイズを256 x 256 [pixel]に設定し、取得した全8例の病理画像に対して提案手法を適用した。ダウンスケール後の画像サイズは約300 x 230 [pixel]、ピクセルサイズ58.4 x 58.4 [$\mu\text{m}^2/\text{pixel}$]となった。

単純平均処理によりダウンスケールした際との比較結果を図3に示す。特徴は全画像で共通しているため、ここでは1例のみを示す。いずれの画像も画素値が[0, 255]となるようにウィンドウレベル補正を行っている。左半分は単純平均処理においても白質と灰白質の境界が確認できるが、右半分は明確に識別することができない。一方、提案手法を用いた場合は全体的に白質と灰白質の境界を明瞭に描出できている。

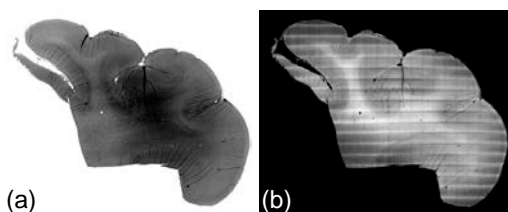


図3 ダウンスケール後の病理画像。
(a):単純平均処理, (b):テクスチャ解析

②病理画像に対応するMR断面像の抽出

テクスチャ解析によりダウンスケールを行った病理画像をリファレンス画像として、3D-MR画像中から対応する断面の抽出を行った。CMIにおける領域分割数は3 x 3 x 1とし、非剛体レジストレーション時の格子点は、病理標本の領域を包括するように、5 x 5 x 3点配置した。

マニュアルにて大まかな初期姿勢を調整した上で処理を実行した。病理画像と抽出したMR画像を図4に示す。ここでは3例の結果を示す。輪郭部の形状は補正しきれていないものの、テクスチャ解析で強調された白質のパターンと類似したパターンがMR画像上でも確認できる。

(2) 光学像撮影機構の高機能化による病理画像と組織光学像の位置合わせ

①マクロ画像のマスク作成

マクロ画像、ブロックマクロ画像に対して作成したマスク画像を図5に示す。2方向から行った厚さ推定の推定値から作成したマスク結果を組み合わせることにより、マクロ画像のマスク画像とした。また、同様にしてブロックマクロ画像のマスク画像を作成した。どちらも矢印部に示す様に、マスク処理により壁面の除去が行えていることを確認した。

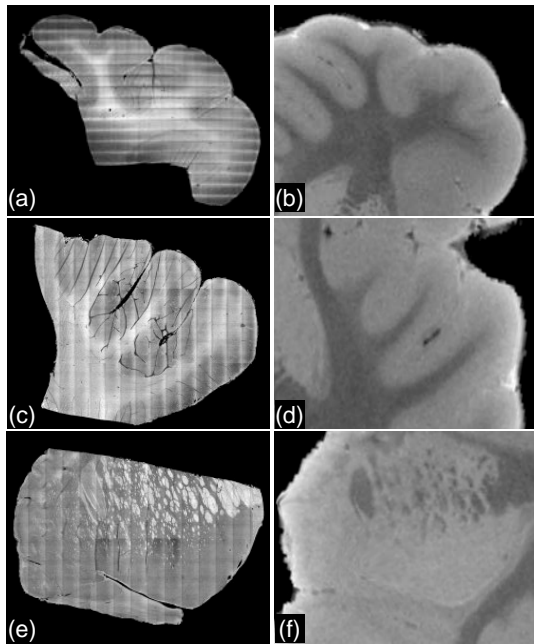


図4 MR断面の抽出結果.

(a), (c), (e):ダウンスケール後病理画像
(b), (d), (f):抽出されたMR断面

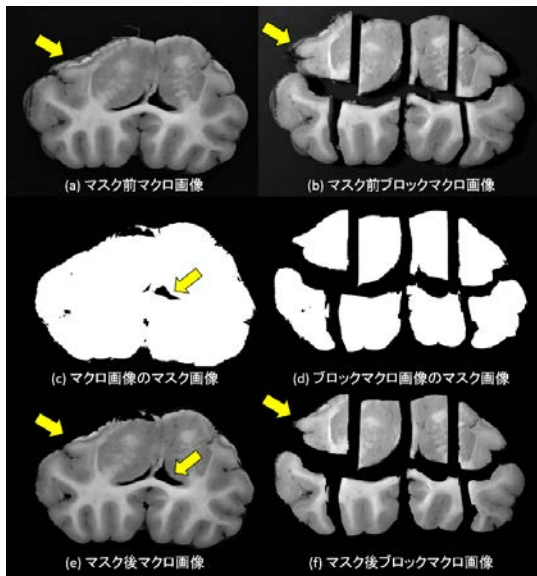


図5 マスク作成結果

②病理画像の収縮補正

病理画像とブロックマクロ画像において、アフィン変換による位置合わせを実施した。この結果、アフィン変換によりブロックマクロ画像の形状に類似した変換できたことを確認した。また、図6に位置合わせ前後の各ブロックにおける Jaccard Index 値と収縮率を示す。位置合わせ前の Jaccard Index 値はブロック平均 0.66 であったのに対し、位置合わせにより平均 0.88 に向上した。また、すべてのブロックにおいて位置合わせ前と比較して Jaccard Index 値が向上していることから、拡大縮小により病理画像の収縮補正が行えたことを確認した。

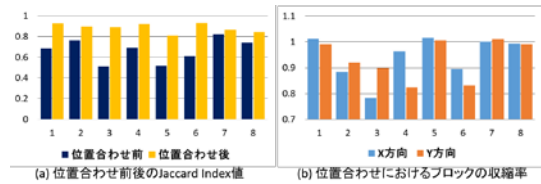


図6 Jaccard Index 値と収縮率

③分割前後の組織に対する位置の対応付け
ブロックマクロ画像とマクロ画像において、剛体変換における位置合わせを実施した結果を図7に示す。図7(b)より、剛体変換によりマクロ画像の位置と対応したブロックマクロ画像の移動が行えていることを確認した。また、(c)はマスク処理を行っていないブロックマクロ画像に対し、(b)と同じ移動量を適用した結果である。(b)ではブロック組織間の間隔が目立っていたが、(c)ではほぼ完全にマクロ画像と同じ形状を示しており、ブロックマクロ画像の移動が正確にマクロ画像の位置に移動できていることが示唆される。同様にして縮小補正後病理画像に対して (b)と同じ移動量を適用した結果を(d)に示す。病理画像に重なりがなく、マクロ画像の形状と概ね対応していることから、本手法により病理画像とマクロ画像の位置の対応付けが行えることが示唆された。

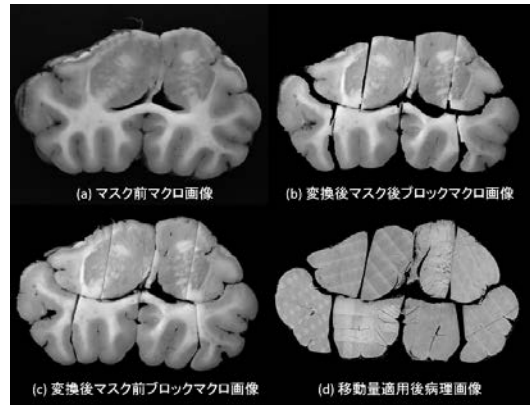


図7 位置合わせ後ブロックマクロ画像と病理画像

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Noriaki Hashimoto, Pinky A. Bautista, Hideaki Haneishi, Matija Snuderl, Yukako Yagi: Development of a 2D Image Reconstruction and Viewing System for Histological Images from Multiple Tissue Blocks: Towards High-Resolution Whole-Organ 3D Histological Images, Pathobiology, Vol. 83, pp. 127-139 (2016.4) (DOI:10.1159/000443278)

[学会発表] (計 9 件)

- ① 大西峻, 中村友香, 田中拓也, 羽石秀昭: 光学撮影機構の高機能化による病理画像と組織光学像の位置合わせ法の高精度化に向けた検討, 電子情報通信学会技術報告, Vol. 115, No. 401, pp. 337-340, メディカルイメージング連合フォーラム 2016, ぶんかテンプス館(沖縄県那覇市) (2016. 1. 19-20)
- ② 大西峻, 田中拓也, 中村友香, 新田展大, 青木伊知男, 羽石秀昭: テクスチャ解析を用いた病理画像と MR 画像の位置合わせ, 電子情報通信学会技術報告, Vol. 115, No. 401, pp. 341-344, メディカルイメージング連合フォーラム 2016, ぶんかテンプス館(沖縄県那覇市) (2016. 1. 19-20)
- ③ Takuya Tanaka, Yuka Nakamura, Takashi Ohnishi, Hideaki Haneishi: Image registration between pathological images and an optical image for comparing different modality images, International Symposium on InfoComm and Media Technology in Bio-Medical and Healthcare Application (2015 IS-3T-in-3A), P33, Chiba, Japan (2015. 11. 15-18)
- ④ 中村友香, 大西峻, 田中拓也, 新田展大, 青木伊知男, 八木由香子, 羽石秀昭: 大型標本のマルチモーダル疾患解析のための光学画像群と 3 次元 MR 画像の位置合わせ法, 第 34 回 日本医用画像工学会大会, OP3-4, 金沢歌劇座(石川県金沢市) (2015. 7. 30-8. 1)
- ⑤ Y. Nakamura, T. Tanaka, T. Ohnishi, N. Hashimoto, H. Haneishi, J. Taylor, M. Snuderl, Y. Yagi: Registration Between Pathological Image and MR Image for Comparing Different Modality Images of Brain Tumor, 2nd Congress of International Academy of Digital Pathology(IADP), Joseph B. Martin Conference Center at Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA(2014. 11. 3-7)Analytical Cellular Pathology, Volume 2014, Article ID 430762 (Meeting Abstract), 3 pages
- ⑥ T. Ohnishi, T. Tanaka, Y. Nakamura, N. Hashimoto, H. Haneishi, J. Taylor, M. Snuderl, Y. Yagi: Connection and Deformation of Pathological Images via a Macro Image for Comparing Different Modality Images of Brain Tumor, 2nd Congress of International Academy of Digital Pathology(IADP), Joseph B. Martin Conference Center at Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA(2014. 11. 3-7) Analytical Cellular Pathology, Volume 2014, Article ID 368951 (Meeting Abstract), 3 pages
- ⑦ 中村友香, 田中亨, 大西峻, 羽石秀昭, 橋本典明, Jennie Taylor, Matija Snuderl, 八木由香子: 脳腫瘍のマルチモーダリティ間比較のための光学像と MR 画像の位置合わせ法, 第 33 回 日本医用画像工学会大会, PP30, 東京慈恵会医科大学(東京都港区) (2014. 7. 24-26)
- ⑧ 中村友香, 田中亨, 大西峻, 八木由香子, 橋本典明, Jennie Taylor, Matija Snuderl, 羽石秀昭: 脳腫瘍のマルチモーダル画像解析のための光学像と MR 像の非剛体レジストレーション, 0-12, 日本医工学治療学会第 30 回学術大会, ウィンクあいち(愛知県名古屋市) (2014. 3. 22)
- ⑨ 中村友香, 田中亨, 大西峻, 八木由香子, 橋本典明, Jennie Taylor, Matija Snuderl, 羽石秀昭: 脳腫瘍解析のための光学像と MR 画像の位置合わせ法, P2-4, 情報フォトニクス研究会, 電気通信大学(東京都調布市) (2014. 3. 4)

[その他]

ホームページ等

<http://www.cfme.chiba-u.jp/~haneishi/research/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

羽石 秀昭 (HANEISHI, Hideaki)
千葉大学・フロンティア医工学センター・教授
研究者番号: 20228521

(2) 連携研究者

中口 俊哉 (NAKAGUCHI, Toshiya)
千葉大学・フロンティア医工学センター・准教授
研究者番号: 20361412