

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2014～2016

課題番号：26310209

研究課題名(和文) ホモロジーを核とした手法による組織画像解析技術の開発

研究課題名(英文) The image analyzing method based on the homology concept

研究代表者

中根 和昭 (Nakane, Kazuaki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：10298804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ホモロジーのアイデアを基礎とする画像解析法の提案を行い、その具体的な応用例の探索を行った。ホモロジーとは接触を定量化する数学的概念として考えられる。組織とはそもそも組織構成要素間の接触により構成されるため、一見して数学的な構造を持たないような複雑な組織画像の解析に効果的であった。

期間内に、大腸がんなどの癌の組織画像・CT像による肺気腫の状態の評価・ミクログリアの活性化の状態評価などに応用できることが分かった。また、金属組織の評価にも有効であることが示されたため、将来さらなる応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this research, we have proposed an image analysis method based on the idea of the homology and searched for specific application examples. The homology is a mathematical concept to quantify the contact degree. Because structures are constituted by contact between organization components, this method is effective for analyzing for the structure images which have no mathematical structure at first glance.

Within the period, we can show this method is effective for analyze the tissue images of colorectal cancer, the evaluation of emphysema status by CT images and the evaluation of activation status of microglia. In addition, this is effective for the evaluation of metallic structure, so we can expect that there could be many more applications.

研究分野：数学

キーワード：ホモロジー 組織画像 画像解析

1. 研究開始当初の背景

1 - (1) 研究の背景

近年のデバイスの開発で、組織画像がデータとして多く保存されるようになった。組織画像の観測から得られた情報は、全体の性質を類推する上で非常に重要であるため、その画像解析技術のニーズは高い。画像解析の手法には、フーリエ解析やパターン認識技術をはじめ多くの手法が発展し、実績を残してきた。しかし、生体組織画像や金属組織画像などの様に、少し画像が複雑になるだけで従来の手法は有効に機能しない。このため、これらの組織画像の分析は技術者による直接の観察などによる人間の作業に依存しているのが現状である。この手法では処理する量には限界があるうえ、処理結果が観察者の技量・主観により左右される場合があるため、組織の状態の客観的指標による定量化は必要不可欠である。もし組織画像データを数理的な客観的手法で定量的に評価し、これらをインデックス化できれば、分野を越えてデータを連結することが可能となる。組織画像情報が多種類の情報と連結されれば、一見無関係に見える現象の関連性を浮かびあがらせ、分野を超えた共通の数学構造の発見の契機になりうる。

1 - (2) 研究のアイデア

病理組織画像や金属組織画像に対して、ホモロジーの概念を核としたアルゴリズムによる画像処理を行う。このアルゴリズムは、以下の考え方に基づいて設計されている。

『組織とは構成要素間の接触によって形成される。ホモロジーは「つながりの程度を表す概念」でもあるが、単位面積当たりのベッチ数の分布を調べることで組織の分類を行う。』

実際に、医学や工学分野で実際に現れる組織画像は、組織構成要因が複雑なため、数学でよく研究されている反応拡散方程式などによる自己組織化の方法では、再現が難しいものが多い。組織とはそもそも『組織構成要素の接触』で形成されるため、本手法は有効に機能した。

2. 研究の目的

2 - (1) 研究の目的

本研究では、上記のアイデアを用い、現実の問題に適用して、実際に問題を解決するアプローチを進めることを目的とする。本研究を通じて、本手法の有効性が確認できれば、組織形成の数学的共通構造の発見のための基盤技術になりうる。

2 - (2) 波及効果(インデックス化の効果)

組織画像は専門性が高いため、ほとんど外部には出る事はない。たとえば、病理画像は、あれだけ多様な形態を持ちながらせいぜい5つの分類しか持ち合わせていない。これら画像をインデックス化(数値化)ができれば、組織形態の継時的な変化を追う事で、薬効などの治療の効果を確認する事が可能になる。また、患者の予後の情報とのフィードバック

が得られ、治療に与える効果を高めることができる。

一方、事故に関する破断のデータは、その多くが蓄積されているにもかかわらず、専門の管理者であってさえ、共通資産として閲覧・参照することはできない。破断面組織のインデックス化で、他の事例と比較・参照する事で、最終的な破断時期などの未来の予想が可能になる。これは、事故防止やメンテナンス計画に効果的な情報となり得る。

3. 研究の方法

本手法は、組織の本質を数理的に表現しているので、非常に一般性が高いと考えられるものの、現在では我々のグループしか行っていない。これは、アイデアが先行して実証研究が不足しているためと考えられる。そこで、課題を3つ設定しそれぞれの部門でインパクトのある結果を得て、それを基礎に本手法の適用範囲を広げる。そのためには、数学者と工学・医学研究者の協働が不可欠である。

3 - (1) 病理組織に対するホモロジー法の応用と評価

本課題は、それぞれの年度内に適切なサンプル数を抽出し、病理医の瀧山(分担者)の診断の元、中根(代表者)・末松(分担者)・真原(分担者)がシステムの改良を進めながら研究を行う。

大腸組織に対して医学的指標に関する評価の確立

日本をはじめ、世界では病理医は不足している。病理医育成には長時間の訓練を必要とするため、早急にその数を増やすのは不可能である。日本でも、今後高齢社会を迎え癌罹患者が増加すると考えられるため計算機を用いた病理診断支援技術の開発は緊急の課題である。しかし、癌組織の形態が非常に多様であるため、これまでのアルゴリズムを用いたシステムでは有効な結果が得られていない。本手法による、大腸癌組織に対する研究はこれまでに非常に良い結果を生み出してきた。しかし、以下の二つの課題が存在する。

・偽陽性の原因特定とその弁別

本手法では癌組織特有の性質である『接触阻害の喪失』をホモロジーで表現している。癌の部分は接触の程度が高くなるのはもちろんであるが、癌でなくても接触が高くなる部分も存在するため、この判定法では偽陽性が多い。これまでの研究により偽陽性は、リンパ濾胞・好中球の集中部・線維化部分に多い様に考えられる。これらの組織のホモロジー量(または他の数学的に手法を用いて)により特徴を把握することで、偽陽性を抑制する。

・判定基準の国際化

各国の保健制度の違いもあり、実は癌の病理診断の基準は、それぞれの国により異なる。今回の結果を、ヨーロッパの病理医たちとも情報を共有し、計算処理結果に基づく病理診断の基準を国際的なものにする。このため、研究代表者がフライブルグ大学の研究者と、

相互に訪問し研究連絡を行う（平成 25 年、平成 26 年、平成 27 年各年度 2 回程度）。

他の組織（肺・胃）に対する画像診断支援技術の開発

胃がんと肺がんを合わせると、癌罹患者の過半数を占めるため、本システムは胃がん・肺がんに対しての適用が強く望まれている。胃や肺の組織は、大腸の組織と同じく腺管構造を持つため、基本的に同一の手法が有効であることは間違いない。しかし、これらの組織は大腸に比べ緻密であるため、組織のサイズの選定や、特殊例についてはどうするかなど、課題は多い。そこで、本研究期間内に適用不可能な症例を洗い出し課題を整理し、解決手法を開発する。

3 - (2) 金属組織に対するホモロジー法の応用と評価

破断面組織に対する実証実験

破断面は外力のかかり方によりその様相が変わってくる。一般に破断は弾性変形と塑性変形を繰り返しながら進んでいくため、ゆっくりの破断（疲労破断）の場合は組織が細かく、急速な破断だと組織は粗くなる。

組織の細かい・粗いは単位面積当たりの 1 次元ベッチ数の比較により定量評価が可能である。このため、単位面積当たりのホモロジーを計測することで破断の状況を類推することが可能となる。本研究では、この考え方を明確に確認するための実証実験を行う。

3 - (3) その他の組織への応用

本原理の一般性を示すためには、以上の例とは全く異なる組織に対しても適用をかんがえるべきである。このため、以下の二つの例を考える。

CT 像による肺気腫の分類

肺気腫とは、何らかの原因により肺胞がつぶれることで起きる病気で喫煙者によくみられる。基本的に完治させることは難しいため、その兆候を早めに見つけて、病気の進行を遅らせることが重要になる。これまでは、CT 像の目視による分類、あるいは LAA%（Low Attention Area）と呼ばれるトーンが他と異なる部分の面積を計測することで診断が行われてきた。これをホモロジーの方法により評価できないかを確認する。

ミクログリアの活性化の定量化

白血球は脳内に侵入することはない。白血球の代わりに脳内で免疫機能を担っているのがミクログリアと呼ばれる細胞である。グリア細胞は何もない状態であると、多くのアンテナを伸ばした状態にあり、Iba1 というタンパクが細胞の中心部に集中している状態である。これが、以上の探知した場合、患部に向かい移動を始める。移動に伴い Iba1 タンパクが細胞表面に集まることが確認されている。このため、蛍光染色された組織画像では多くの「穴の開いた」細胞が確認される。これをホモロジーの方法を用いた定量化を行い、活性化 = 患部であることを確認する。

4 . 研究成果

4 - (1) 病理組織に対する応用

病理組織画像に対する解析技術の開発は現在非常に活発に行われている。これらのほとんどすべてが、ディープラーニングシステムに基づくものである。しかし、癌組織の形態は非常に多様であり、計算機や判定時間に高コストをかけたとしても 90% 程度の確度に留まっている。これに対して、ホモロジー法の応用として二値化閾値を順次変えることで、ベッチ数の変化を読み取ることで、より精度の高い解析に成功した（精度は 95% 以上である）。これは、発表論文 3 として出版されているが、イギリスにおいての国際会議で The Best Paper Award を頂いている。同時に JST による大学発新産業創出プログラム（START）に採択されて、実用化を見据えた研究にまで発展している。

また、研究が国際的になったため、日本とそれ以外の国とでの判断の基準が異なることもわかってきたため、さらに連絡を取ることで、国際的な基準の作成に注力したい。

これらの手法により、現在胃がん組織・肺がん組織に対して適用を始めている。胃がんについては、Tub2 に対する確度が低く、印鑑細胞癌などの特殊な組織に対する確度が低いため課題は多いが、解決に向けて進み始めている。

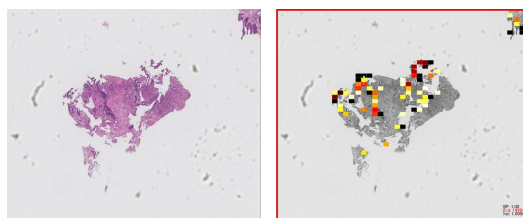


図 1 右は大腸がん組織、左は処理結果。癌病変部が彩色されていることがわかる。

	ROI	Benign
ROI	1604	91
Benign	1	118
Sensitivity	99.9	
Specificity	56.5	
False positive	43.5	
False negative	0.1	

表 1 処理結果を統計的に示したもの。十分に実用化が狙える段階である。

4 - (2) 金属組織に対する応用

構造材として広く使われている Fe-C 鋼は、加熱・冷却を行うことで内部に特徴的な組織が形成される。この組織の性質により鋼全体の物理的な性質が決まる。組織の状態は熟練者が顕微鏡画像により判断を行うため、観察者への依存が大きい。そこで、観察組織にホモロジー法を適用した場合のベッチ数を調べ、組織評価を一般化するための解析を行った。具体的には、焼入れ回数を 1 回、2 回、3 回と増やしたさいに進行する微細化の定量化を行った。その結果を図 2 に示す。

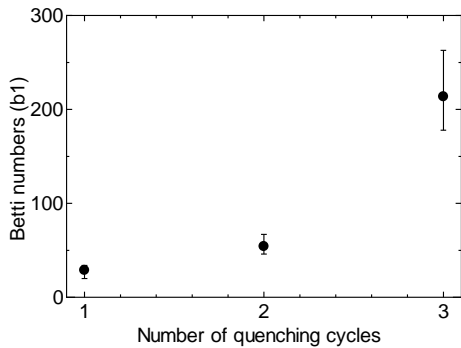


図2 焼入れによる微細化によってベッチ数が増加する様子。

図2から、微細化が進むと誤差も大きくなるが、その分を差し引かなくても、組織が微細化する過程を明確に定量化できていることがわかる。

4 - (3) その他の組織に対する応用 肺気腫

肺気腫の状態の評価については LAA%が主に使われるが、これは単に“色の薄い部分の面積”を計測しているだけである。このため症状に大きく寄与する『大きな穴』少数と、影響の少ない『小さな穴』が多数とでは、同じ値が出る。このため、さらに細かい解析が必要であるが、ホモロジーの指標を用いることでより、細密な分析ができることが分かった。特に、初期症状と正常な状態の区別が可能となった。現在、さらに詳細な分析ができるように改良中である。

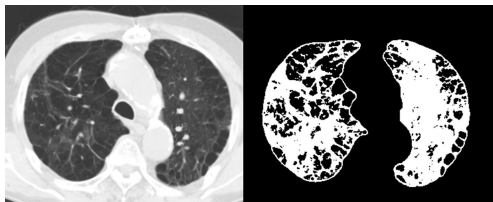


図3 左のCT画像右ある閾値での二値化画像。この黒い部分の面積をLAA%と呼ぶ。面積と診断との相関はあるが、黒い面積が細かい場合は、診断が困難な場合もある。

ミクログリアの活性化

ミクログリアが患部に向かい移動するために細胞膜に Iba1 が集中する。これを顕微鏡像で見た場合、中央部は Iba1 が薄くなる。

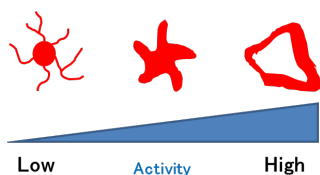


Fig. morphological changes with activation

図4 ミクログリア活性化の模式図

この状態の変化を定量評価することに成

功した。一般に使用されているバイオマーカーとの結果を比較したが、非常に高い相関があった(0.8程度)。

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 16件)

A.Takiyama, K.Nakane K. Kida : An image analyzing method for fracture surface by homology, *Advanced Materials Research* 1102, pp. 135-138.

K.Nakane, H. Mahara and K. Kida : An Image Analyzing Method for the Vaguely Grain Boundary Detection by a Reaction Diffusion System, *Procedia Materials Science* Volume 12, 2016, Pages 72-76.

T. Qaisera, K. Sirinukunwattanaa, K. Nakane, Y. Tsangc, D. Epstein, N. Rajpoota: Persistent Homology for Fast Tumour Segmentation in Whole Slide Histology Images, *Procedia Computer Science* 90:119-124.

M. Nishio, K. Nakane, Tanaka Y: Application of the homology method for quantification of low-attenuation lung region in patients with and without COPD, *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*: 2016 Volume 2016:11(1), 2125-2137.

T.Sawano, R.Tsuchihashi, E.Morii, F.Watanabe, K. Nakane, S. Inagaki: A new method for evaluation of microglial activation based on homology theory, *Neuroscience* volume 346, 2017, pp. 43 - 51.

K. Kida, M. Ishida, K. Mizobe, I. Yoshida, A. Tamura and K. Nakane: Fatigue of Low Carbon Alloy Steel (JIS S45C) and a New Method of Fracture Surface Analysis, *Materials Science Forum* (ISSN: 1662-9752), Vol. 893, pp 181-185.

中根和昭:位相幾何学的指標による癌(病変部抽出技術)組織解析法,『病理と臨床』2016年12月号。

西尾瑞穂, 中根和昭: COPD・非 COPD 患者の CT 画像における低濃度域の評価 - LAA%, D、ホモロジー法の3手法の対比 -, 『臨床放射線』特集 胸部の最新画像情報 2017 179-187.

中根和昭, 小野英理, 鈴木樹理, 澤野俊憲, 稲垣 忍:ホモロジーの概念を用いた組織画像解析法,『実験医学』2017年3月号。

中根 和昭: Automated prediction of emphysema visual score using homology-based quantification of low-attenuation lung region, *Plos One*, to appear.

〔学会発表〕(計 19 件)

中根 和昭 A Simple Mathematical Model Utilizing Topological Invariants for Automatic Detection of Tumor Areas in Digital Tissue Images, Digital Pathology 2014, 18-21, June, 2014.

中根 和昭 : 位相幾何学的手法を用いた画像解析技術について II, 日本数学会秋季分科会 2014 年 9 月.

中根 和昭 : Image analysis via reaction diffusion system for edge detection, 6th New Methods of Damage and Failure Analysis of Structural Parts, 9, Sept. 2014.

Hitoshi Mahara, Kazuaki Nakane and Katsuyuki Kida: Adjusting initial parameter condition with topological variable for appropriate Vaguely Grain boundary detection with a Reaction-Diffusion system having a local average threshold, The 4th International Conference on Mechatronics and Applied Mechanics, 18, Dec, 2014.

中根 和昭 : Applying a homology concept to detect regions of interest from colonic digital images, Pathology-2015, July 13-15, 2015.

中根 和昭 : 新手法による癌病理診断支援技術の開発, 第 12 回日本病理学会カンファレンス, 24-25, July, 2015.

中根 和昭 : Classification of degree of differentiation of colorectal neoplasm by the concept of the homology, Pathology 2016, 11-12, May, 2016.

中根和昭 : Classification of degree of differentiation of colorectal neoplasm by changes in the Betti number, the European Conference on Digital Pathology 2016, May, 1 2016.

中根和昭 : An analyzing method of structural images by the homology concept, The 7th ATMCS conference, 25-29, July 2016.

中根 和昭 : 画像ビッグデータの数理的解析法と産業への応用, 日本機械学会関西支部地域技術活動活性化懇話会, Oct. 24, 2016.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称 : 画像解析装置、画像解析方法、画像解析システム、画像解析プログラム、および記録媒体

発明者 : 中根和昭、河口直正、瀧山晃弘

権利者 : 大阪大学

種類 : 特許

番号 : 特願 2015-141673

出願年月日 : 2015-07-17

国内外の別 : JST 申請番号 : S2015-1787-N0、

PCT 出願準備中

名称 : 毛細血管の画像処理方法及び画像処理プログラム、並びに毛細血管分析診断装置
発明者 : 武野 團, 中根和昭, 真原仁, 河口直正

権利者 : あっと株式会社

種類 : 特許

番号 : 特願 2015-85879

取得年月日 : 2015-04-20

国内外の別 : 国内

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

中根 和昭 (Nakane Kazuaki)

大阪大学・医学部・招へい教授

研究者番号 : 10298804

(2) 研究分担者

木田 勝之 (Kida Katsuyuki)

富山大学・工学部・教授

研究者番号 : 00271031

(3) 研究分担者

瀧山 晃弘 (Takiyama Akihiro)

北海道文教大学・人間科学部・教授

研究者番号 : 00374520

(4) 研究分担者

真原 仁 (Mahara Hitoshi)

千葉大学・医学部・助教

研究者番号 : 00589830

(5) 研究分担者

稲垣 忍 (Inagaki Shinobu)

大阪大学・医学部・教授

研究者番号 : 90151571

(6) 研究分担者

堤 康嘉 (Tsutsumi Yasuyoshi)

大島商船高等学校・准教授

研究者番号 : 30450141

(7) 研究分担者

末松 J 信彦 (Suematsu Nobuhiko)

明治大学・大学院先端数理科学研究科・特任講師

研究者番号 : 30450141