

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03333

研究課題名（和文）ホモロジーの概念を用いた細胞診画像解析

研究課題名（英文）Cytological image analysis via the concept of the homology

研究代表者

中根 和昭（Nakane, Kazuaki）

大阪大学・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） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：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。判断の基準となる「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。自動診断支援技術の開発は喫緊の課題となっている。細胞核内にあるクロマチンは3次元的にランダムに分布しており、AIを用いた画像処理法では実用化は非常に難しい。我々は、新たに「ホモロジー・プロファイル法」を開発し、クロマチンパターンの客観的な指標による定量化を行った。ホモロジーとは図形の接触の程度を定量化する数学的な概念であるが、我々の手法で細胞核内に3次元的に分布するクロマチンの状態を定量化することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したホモロジー・プロファイル法は、画像を輝度を変化させながら二値化を行うことで画像を図形に変換し、図形のホモロジー量の変化のグラフ（プロファイル）から画像を数値化するというものである。この方法は医療施設間の染色の異なりにも影響されないうえに、計算システムが非常に軽く設計されている。このため、ネットを通じた遠隔診断にも応用可能である。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。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。

研究成果の概要（英文）：Cytopathology is an indispensable test when establishing a treatment policy for lung cancer. The "chromatin pattern" that is the basis of diagnosis is so complicated that long-term training is required for cytotechnologists who make clinical diagnoses. The development of automatic diagnosis support technology is an urgent issue. Chromatin in the cell nucleus is randomly distributed in three-dimensional space, and it is very difficult to put it to practical use by the image processing method using AI. We have developed a new "homology profile method" and quantified the chromatin pattern by an objective index. Homology is a mathematical concept that quantifies the degree of contact of figures, but our method has made it possible to quantitatively evaluate the state of chromatin that is three-dimensionally distributed in the cell nucleus.

研究分野：応用数学

キーワード：ホモロジー 細胞診断 クロマチンパターン 遠隔診断

1. 研究開始当初の背景

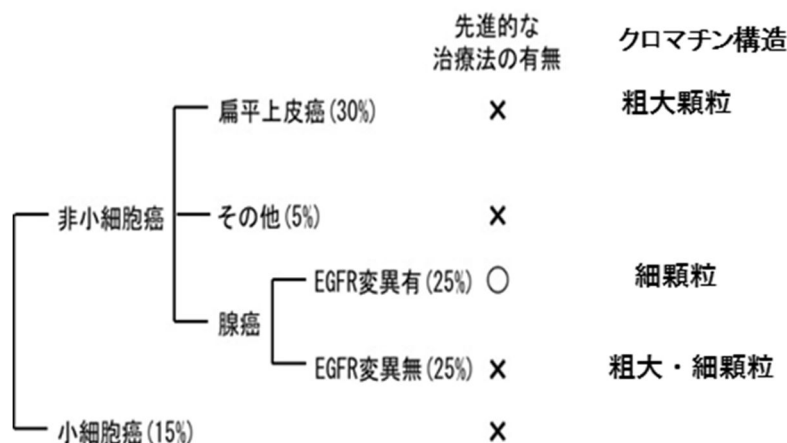
背景

肺がんは世界のがん死亡原因の一位である。肺がんの罹患者数、死亡者数は2013年末のWHO資料によるとそれぞれ年間180万人(全がんの13%)、160万人(全がんの19.4%)で共にトップである。本邦でも最新の報告で罹患率が計3位、死亡率が計1位であり、いずれも増加傾向にある。特筆すべきは死亡率の高さで、5年生存率は30%程度にとどまり、罹患率の多い他のがん(大腸、胃、乳腺)と比べても極めて予後不良であることである(全国がん罹患モニタリング集計2006-2008年生存率報告,がん対策情報センター,2016)。その要因としては診断の遅れと(III期、IV期の合計が47.5%にのぼる)と進行癌に対する化学療法が不十分であることが挙げられる。

2. 研究の目的

細胞診断システム開発

細胞診とは、病理組織診断の前に行われるスクリーニング、補助診断を目的とした検査法で、侵襲性が低く安価であるなどの利点から現在の医療で広く用いられている。呼吸器領域は肺がん患者数の増加に伴い、喀痰・擦過細胞診、生検の件数も増加している。一方で、判定を行う病理医、細胞検査士の人材不足の問題は深刻である。肺がんには様々な組織型があり、組織型によって治療法やクロマチン構造も変わってくる(図1, 2)。病理学的な組織型判定には豊富な知識と経験が必要であり、人材の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。



上の問題点より、病理医・細胞検査士の業務の一端を担う人工知能(AI)を備えたシステム開発が現時点で求められている。申請者はこれまで組織画像データを数理的な客観的手法(ホモロジー法)によって定量的に評価する技術を開発してきた。中でも大腸癌の組織診断支援システムは、英国、中国など病理医が不足する海外での需要が高く、現在JSTの支援を得て世界展開を進めている。肺癌の細胞診断システム開発に際しては、細胞核の形状認識、核細胞質比(N/C比)、細胞・核サイズ(小細胞癌、大細胞癌の診断に有用)といった癌と正常細胞との識別に必要な基本機能を装備するだけでなく癌細胞において、顆粒状にクロマチンが増量するという形態学的変化を客観的に判定することが肺癌の細胞診では重要である。そのため、クロマチンパターンの評価能力も備えたシステム開発を目指す。

細胞診断所見からのブレイクスルー

EGFR 遺伝子に変異のある腺癌(全体の25%)にはゲフィニチブ(イレッサ)が効果を示すが(Takano T et al. 2008 J Clin Oncol)、EGFR 変異を持たない残り75%の肺腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌に対してはプラチナ製剤を中心とした従来の化学療法をするほかなく、生存率の向上は未だ達成されていない。興味深いことに、阪大がんプロ講座の南雲サチ子特任教授や阪大病理森井英一教授らのチームは、EGFR 遺伝子変異を有する腺癌の9割は細顆粒状のクロマチンパターンを呈すが、EGFR 変異の無い扁平上皮癌や、腺癌の半数は粗大顆粒状のクロマチンパターンを呈すことを観察している。

肺癌の遺伝子異常を廻っては世界中で次世代シーケンサーによる激しい競争が繰り広げられたが、EGFR や ALK 融合遺伝子以外のドライバー遺伝子がみつからないことから(Tan WL et al. 2016 Lancet Oncol)、遺伝子変異以外の核内異常として粗大顆粒状変化をもたらすようなクロマチンの三次元構造変化(ヌクレオソームのtight folding, chromatin loop など)をベースとする遺伝子発現異常が癌化を引き起こしている可能性が考えられる。癌におけるゲノム異常の相互補完性は、大腸癌ではよく解明されており、遺伝子変異(80%)とマイクロサテライト異常(20%) (あるいはKRAS 変異と BRAF 変異なども)はいずれかひとつの異常だけで癌化に至ることを考えれば(Carethers JM et al. 2015 Gastroenterology)、肺癌においても表2に示すような補完的異常説は十分あり得る。EGFR の変異があればクロマチン異常を起こす必要はないが、DNA の塩基配列に異常がなければ癌はその他の部分で異常を起こしているはずである。そこで本研究の第2の柱として、EGFR 変異のない肺癌がクロマチン変化(凝集)を起こして

いる点に着目し、クロマチン構造異常について分子病理学的手法によって分析し、その構造を画像から分析して、未だ有効な分子標的治療が開発されていない EGFR 変異(-)肺癌に対する治療剤開発の糸口とする。

### 3. 研究の方法

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。熟練した細胞検査士が不足している中、画像解析技術のニーズは高いが、従来の手法では画像が少し複雑になるだけで有効に機能しなくなることが実用化を阻んでいる。これに対して、我々はホモロジーを用いた手法（後述）で大腸癌の組織画像定量・診断法の開発に成功し（Nakane K et al. 2015 Diagn Pathol）、その成果は現在、海外（中国、英国）でのビジネスへと展開している。大阪大学では肺癌のクロマチンパターンと組織型、EGFR 変異、予後との関係についての知見を有し、数学研究者と医学研究者の協働作業によって、数理アルゴリズムにより「細胞のクロマチンパターンの解析法」を確立し、肺癌細胞診断への利用をはかる。

### 4. 研究成果

クロマチンは細胞核内に3次元的にランダムに存在している。このため、観察者は場合によっては焦点面を変化させながら観察している。一連の手順を考えると判断には「3次元」な情報が必要であることがわかる。これを計算機で解析しようとする、重層的に複数枚とった画像データなど、3次元的な情報が必須となる。それを、1サンプル内に数100個存在する細胞に対して行うには、計算機のリソースが不足してしまう。

実は1枚の画像内には、奥行き情報が内在している。これを取り出すことを考える。カメラの焦点を自動的に合わせる手法の一つとして、コントラストAFというものがある。これは、明暗差が最も高くなる部分に焦点が合っていることを意味している。すなわち二値化パラメータを徐々に大きくしていくと、焦点の合った深さにあるクロマチンが最初に現れ、その後徐々に上下にずれた部分に存在するクロマチンが現れてくる。しかし、焦点が合っていない部分は分幾何学的な情報は正確ではなくなっている。このため、ホモロジーという位相不変性を用いることで、保持されている位相情報から分類を試みる。

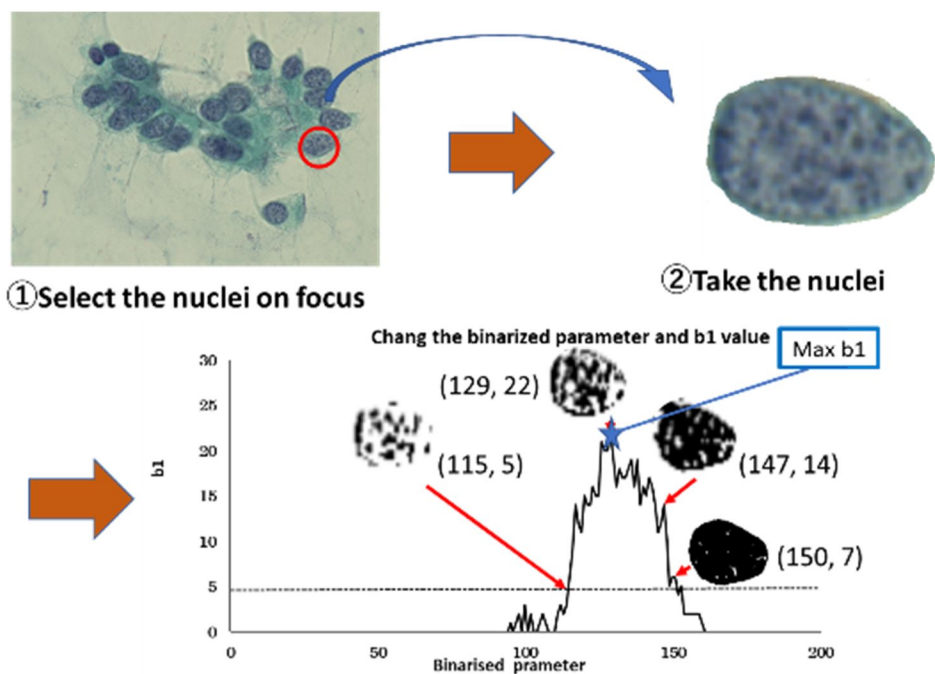


図1 ホモロジープロファイル法の原理

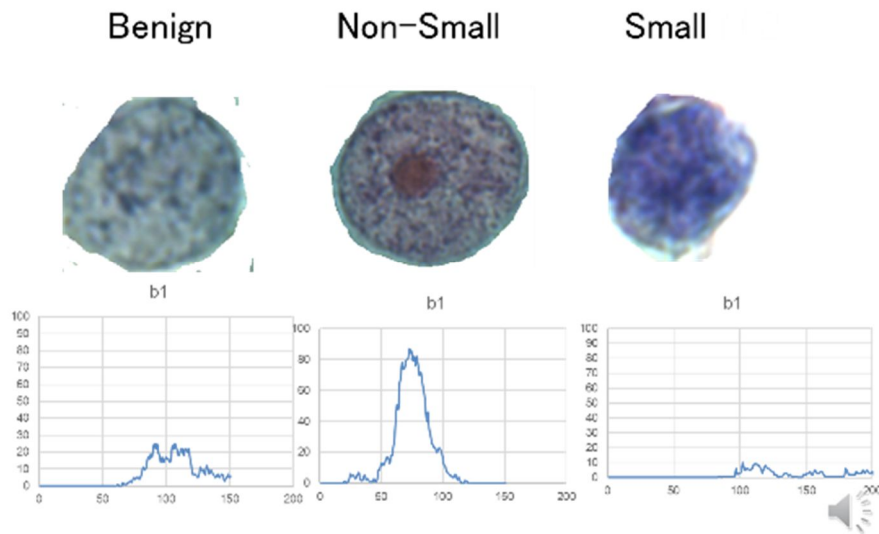


図2 実際の処理例、最大値が異なる

	Small	Non-Small
Small	8/8	2/27
Non-Small	0/8	25/27

表1 Matching rate is 94%

図1は本手法の手順を紹介したものである（細胞核を切り出し 二値化を行い それぞれのホモロジーを計算してグラフ化する）。図2は実際の細胞核に対して適用したものである。また、表1は専門家の判断との一致率である。いまだ処理数は少ないものの、非常に高精度の結果を出している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松田 美和、中根 和昭、横山 雄起、南雲 サチ子、森井 英一、山本 浩文
2. 発表標題 ホモロジー概念を用いた大腸癌発生過程の数理学的病理診断
3. 学会等名 第30回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤 康嘉、中根 和昭
2. 発表標題 位相幾何学的手法を利用した射影像からの3次元情報の取得
3. 学会等名 日本数学会（秋季）応用数学分科会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤 康嘉、中根 和昭
2. 発表標題 位相幾何学的手法を利用した射影像からの3次元情報の取得
3. 学会等名 MIMS共同研究集会「AIを用いた医療画像解析の現状と課題」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根 和昭
2. 発表標題 ホモロジー・プロファイル法による組織画像解析
3. 学会等名 MIMS共同研究集会「生命振動現象の理解を深めるモデリングとネットワーク解析」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田 美和、中根 和昭、横山 雄起、南雲 サチ子、森井 英一、山本 浩文
2. 発表標題 ホモロジー概念を用いた大腸癌発生過程の数理学的病理診断
3. 学会等名 第30回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤 康嘉、中根 和昭
2. 発表標題 位相幾何学的手法を利用した射影像からの3次元情報の取得
3. 学会等名 日本数学会（秋季）応用数学科分会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤 康嘉、中根 和昭
2. 発表標題 位相幾何学的手法を利用した射影像からの3次元情報の取得
3. 学会等名 MIMS共同研究集会「AIを用いた医療画像解析の現状と課題」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根 和昭
2. 発表標題 ホモロジー・プロファイル法による組織画像解析
3. 学会等名 MIMS共同研究集会「生命振動現象の理解を深めるモデリングとネットワーク解析」
4. 発表年 2019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・医学系研究科・教授  (14401)	
研究分担者	堤 康嘉 (Tutsumi Yasuyoshi)  (30450141)	大島商船高等専門学校・一般科目・教授  (55502)	
研究分担者	横山 雄起 (Yokoyama Yuki)  (60615714)	大阪大学・医学系研究科・助教  (14401)	

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