

令和 7 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2024

課題番号：21K08905

研究課題名（和文）自家蛍光顕微鏡画像を用いた肺腺癌浸潤AI予測モデル構築と術中診断への応用

研究課題名（英文）Development of an artificial intelligence model to predict the extent of invasion of lung adenocarcinoma using autofluorescence microscopy images

研究代表者

滝沢 宏光（TAKIZAWA, Hiromitsu）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・教授

研究者番号：90332816

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：肺腺癌手術検体の新鮮凍結切片をデジタルスライドスキャナーの自家蛍光モードにより画像取得し、AI解析することで肺腺癌の浸潤範囲を診断するシステム構築を目的とした。切除標本から切片を作成し、自家蛍光画像取得後、Elastica Van Gieson（EVG）染色を施して画像取得した。EVG染色画像に対して浸潤部分、非浸潤部分、正常肺などのアノテーションを付加し、自家蛍光とEVG染色画像を細分割してconvolutional neural networkにより肺腺癌浸潤範囲同定モデルを作成した。浸潤部をヒートマップとして表示するプログラムを構築中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺腺癌浸潤範囲同定モデルにより微小な肺癌の浸潤範囲を術中に診断できるようになれば、より個別化した治療方針として肺部分切除や肺区域切除といった、より肺を温存できる術式を適応できる肺癌患者が増える可能性がある。また、このモデルは病理医にとっても判断が難しいとされる肺腺癌の浸潤範囲の決定において、病理医の診断を補完するシステムとなる可能性もある。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a system for diagnosing the extent of lung adenocarcinoma invasion by capturing autofluorescence images of fresh-frozen surgical specimens using a digital slide scanner and analyzing them with artificial intelligence (AI). Sections were prepared from resected specimens, and autofluorescence images were captured using a digital slide scanner. Subsequently, the sections were stained with Elastica Van Gieson (EVG) and imaged. The EVG-stained images were analyzed using pathology image analysis software, where annotations were added to areas such as: (i) Invaded areas, (ii) Non-invaded areas, (iii) Normal lung. The autofluorescence and EVG-stained images were then subdivided, and a convolutional neural network model was trained using these annotated regions as supervised data to identify the extent of lung adenocarcinoma invasion. A program is currently under development to display the invaded areas as a heatmap.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：肺腺癌 浸潤診断 縮小手術 自家蛍光 人工知能

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺癌取り扱い規約第8版の改定において、lepidic patternを呈する肺腺癌の分類が細分化された。特に早期病変である上皮内腺癌 (adenocarcinoma in situ: AIS) および微小浸潤性腺癌 (minimally invasive adenocarcinoma: MIA) については、完全切除後の無再発生存率がほぼ100%であり、予後良好群と考えられている。しかし、これらの病理診断を術前または術中に正確に行うことは困難である。

小型肺癌に対する部分切除や区域切除の妥当性については、JCOG 日本肺がん外科グループによる種々の臨床試験の結果が示され、肺がん治療開発マップとしてまとめられた。このマップは現在、日本の呼吸器外科医の肺癌に対する術式決定の指針となっており、全国的に部分切除や区域切除の比率が増加している。ここ数年で急速に肺がん外科治療の個別化が進んだといえる。この術式を決定する重要な要素は、術前CTによる病変全体径と充実成分径であるが、CT所見における充実成分径 (c-stage) と病理学的浸潤径 (p-stage) が一致しないことが知られている (Travis WD, J Thorac Oncol 2016)。その理由として、腫瘍内リンパ球浸潤、腫瘍内線維化、肺胞虚脱などが、画像診断において浸潤を過大評価する(偽陽性)パターンとして挙げられる。また、症例によっては、評価者間でCTの充実成分径の評価にばらつきが生じやすいという問題もある。近年では、CT画像を人工知能 (artificial intelligence: AI) に深層学習させることにより、肺腺癌の浸潤範囲を診断する研究結果も発表されている (Zhao W, Cancer Res 2018; Yanagawa M, Medicine 2019) が、画像診断で前述のような偽陽性となる病理所見を読み取ることは困難であると考えられる。

一方で、肺腺癌の浸潤範囲を術中迅速病理診断で診断することも困難である。浸潤の診断には弾性線維染色 (Elastica Van Gieson (EVG) 染色等) が必要であるが、EVG染色の標本作成工程には3時間以上を要するため、迅速診断に用いることは現実的ではない。

我々は肺癌の診断に自家蛍光を応用する取り組みを行ってきた。胸膜浸潤診断に術中自家蛍光内視鏡による術中観察を行うことで、診断精度が向上することを明らかにした (Takizawa H, Eur J Cardiothorac Surg 2018)。その研究の過程において、自家蛍光顕微鏡で未染色の肺組織を観察すると、胸膜弾力膜や肺胞弾性線維網に一致した強い自家蛍光が観察されることを発見した。多数の肺腺癌症例の標本を自家蛍光顕微鏡で観察することにより、肺腺癌の浸潤部位においては自家蛍光を発する肺胞弾性線維網に肥厚や断裂などの構造変化が起こっていることも明らかとなった。肺腺癌の浸潤による肺胞弾性線維網の破壊等の変化を自家蛍光顕微鏡で捉えることにより、肺腺癌の浸潤範囲を同定することができれば、AIS、MIA、浸潤性腺癌の術中診断も可能となり、肺がんの術式決定の判断にも役立つ可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、肺腺癌手術検体から新鮮凍結切片を作成し、自家蛍光顕微鏡を搭載したデジタルスライドスキャナーにより取得された画像情報をAIで解析することにより、肺腺癌の浸潤範囲を術中に診断するシステムを構築することである。このシステムを用いることで、AISやMIAを術中に診断できるようになれば、そのような症例に対して部分切除や区域切除を行うことで、根治性を担保しつつ、より多くの肺を温存することが可能となる。術中病理診断に基づく、より個別化された術式選択につながる新たな診断方法となる。

また、このシステムはホルマリン固定パラフィン包埋標本でも利用可能であり、病理医にとって判断が難しいとされる肺腺癌の浸潤範囲の決定において、病理医の診断を補完するシステムとなる可能性がある。近年、病理診断件数が増加の一途をたどる一方で、病理診断医が不足していることが社会問題となっており、病理学会は2007年より病理診断にAIを活用する事業を開始している。本研究も病理医の負担軽減につながるシステム開発となる可能性がある。

3. 研究の方法

(1) 解析対象

徳島大学病院で切除された、CT画像ですりガラス陰影を伴う微小浸潤性腺癌 (MIA) 9例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を対象とし、4 μ mの切片を作成した。

(2) 自家蛍光顕微鏡画像取得

デジタルスライドスキャナーBZ-X800 (Keyence Corporation, Osaka, Japan)を用い、MIA症例の未染色標本に対して、標本全体の自家蛍光顕微鏡画像 (100倍) を取得した。

(3) EVG染色顕微鏡画像取得

自家蛍光顕微鏡画像取得後、同一スライドに対してElastica Van Gieson (EVG) 染色を施し、その後BZ-X800を用いて標本全体の画像 (100倍) を取得した。

(4) 自家蛍光顕微鏡画像とEVG染色顕微鏡画像のマッチング画像作成

BZ-X800イメージングソフトウェアを用いて、自家蛍光顕微鏡画像とEVG染色顕微鏡画像の

撮像範囲を一致させるように、横縦比 4:3 でトリミングを行った (図 1、 図 2)。

図 1 : 自家蛍光顕微鏡画像

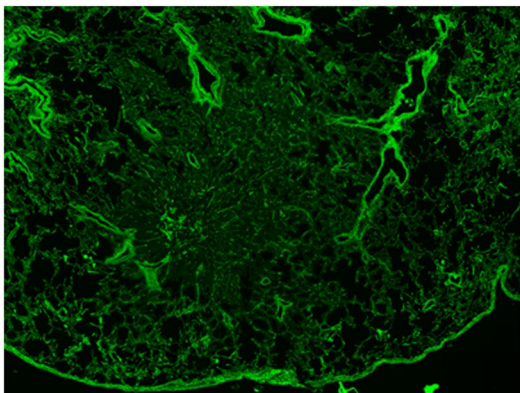
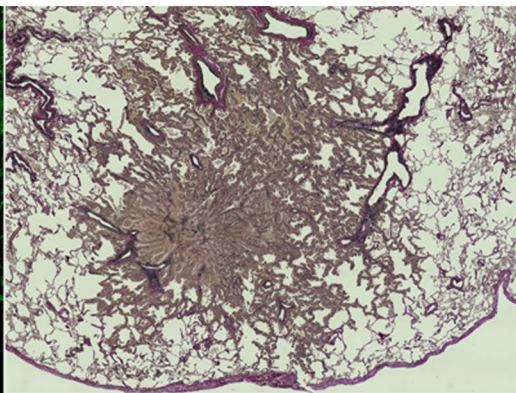


図 2 : EVG 染色顕微鏡画像



(5) EVG 染色顕微鏡画像による肺癌浸潤範囲等のアノテーション付加

EVG 染色標本顕微鏡画像を病理画像解析ソフト QuPath(Open Software)で展開し、病理医とともに 腺癌-浸潤部分、 腺癌-非浸潤部分、 正常肺、 血管気管支の範囲にアノテーションを付加した (図 3)。

(6) 自家蛍光顕微鏡画像と EVG 染色顕微鏡画像の分割保存

画像加工ツール Imagemagick を用いて取得した自家蛍光顕微鏡画像と EVG 染色顕微鏡画像をそれぞれ 40x30 (1 症例あたり 1,200 枚) に当分割して保存した (図 4)。

図 3 : Imagemagick で取得した顕微鏡画像

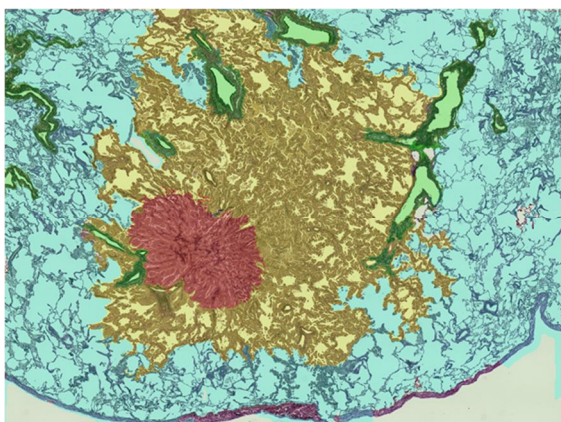
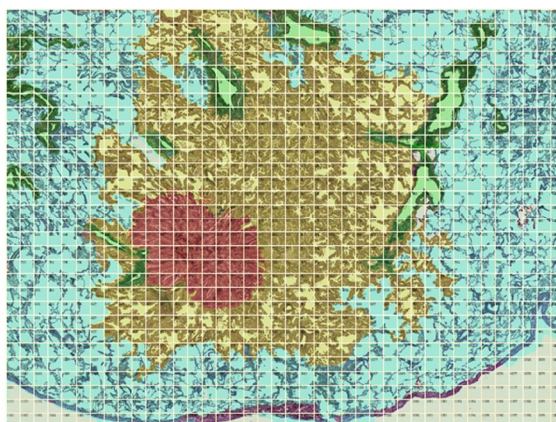


図 4 : 40x30 に当分割した取得画像



(7) 細分割画像の分類 (教師あり画像データの作成)

EVG 染色顕微鏡画像を基に付加したアノテーションと細分割した画像を対比させ、細分割画像を ~ に分類しデータセットとした (自家蛍光顕微鏡画像および EVG 染色顕微鏡画像, 図 5, 6)。

図 5 : 細分割した EVG 染色顕微鏡画像

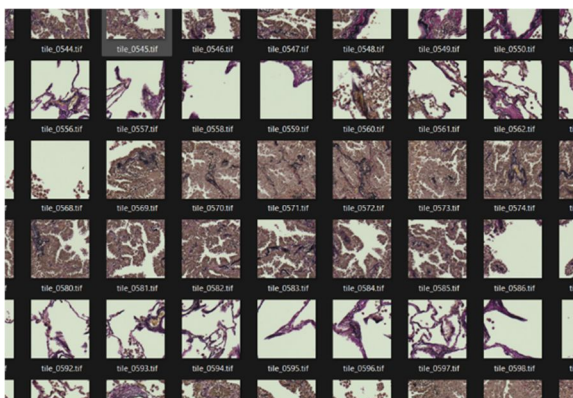
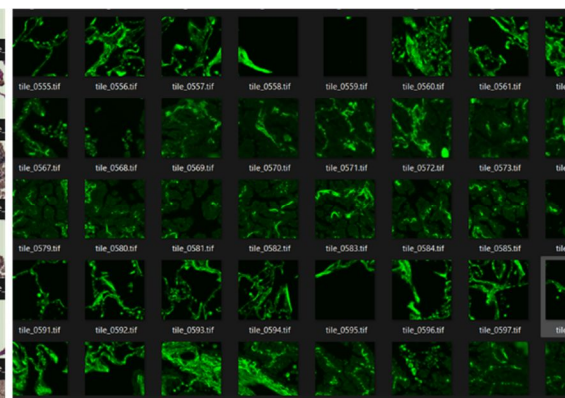


図 6 : 細分割した自家蛍光画像



(8) Convolutional Neural Network による肺腺癌浸潤範囲同定モデルの作成

自家蛍光顕微鏡画像と EVG 染色顕微鏡画像、それぞれ 1 症例あたり 1,200 枚 x 9 症例の 10,800 枚の教師あり画像データを用いて、Convolutional Neural Network による肺腺癌浸潤範囲同定モデルを作成している。

4．研究成果

現在、Convolutional Neural Network による肺腺癌浸潤範囲同定モデルの作成を行っており、学習データの画像サイズやアノテーションの種類を変更しながら最適なモデルを作成すべく調整を行っている。最終的には自家蛍光顕微鏡画像と EVG 染色顕微鏡画像それぞれを細分割した区域における、非浸潤性腺癌、浸潤性腺癌部分の予測値をヒートマップとして表示できるプログラムとする予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	近藤 和也 (KONDO Kazuya) (10263815)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授 (16101)	
研究分担者	宮本 直輝 (MIYAMOTO Naoki) (00865305)	徳島大学・病院・助教 (16101)	

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