

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K20096

研究課題名（和文）計算機光学に基づくギガピクセル3D顕微鏡の創出とデジタル3D細胞診断の実現

研究課題名（英文）Computational gigapixel 3D microscopy and its application to digital 3D cytopathology

研究代表者

中村 友哉（Nakamura, Tomoya）

東京工業大学・工学院・助教

研究者番号：70756709

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：病理標本のデジタル化のための装置として、Whole slide imaging (WSI) スキャナが普及しているが、一般的な結像光学系と同様に三次元情報は取得できない。一方で、焦点ボケにより鑑別に必要な画像情報が欠落すること、三次元構造情報そのものが特に細胞診において有用であることから、WSIにおいて適切な三次元情報処理の確立は重要である。

本研究では、WSI装置における三次元情報制御技術を開発した。焦点走査と画像処理を組み合わせた手法について、手法設計とともに実標本を用いた原理実証を行った。また、符号化光学系の設計により走査を不要化する手法についても提案し、その効果を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Whole slide image (WSI) スキャナは病理診断に用いられる標本を画像化するために必要な装置であるが、三次元構造を持つ標本を正確に画像化できない点が課題であった。この問題を解決するために、WSIにおいて被写界深度を拡大する研究や、三次元画像再構成・解析・可視化の研究や、自由視点画像合成の研究を実施した。焦点距離の走査を必要とする手法、及び必要としない手法について提案し、数値及び光学実験により効果を実証した。本成果により、デジタル病理診断において三次元情報の取り扱いを簡便なハードウェアで実現でき、細胞診標本等三次元構造を持つ対象のWSI画像化や解析の普及の促進に貢献できる。

研究成果の概要（英文）：Whole slide imaging (WSI) is a device for digitizing pathology specimens. WSI scanners are widely used, but they cannot acquire three-dimensional information like general imaging optics. On the other hand, it is important to establish appropriate three-dimensional information processing in WSI because it is useful in cytology where there is a lack of image information due to blur, and the three-dimensional structural information itself is particularly important for diagnosis.

In this study, we developed a three-dimensional information control technology for WSI scanners. We designed a method that combines focal stack and image processing, and demonstrated the principle of the method using real pathological samples. We also proposed a focal-scan-free method by designing the coded optical system, and we confirmed the effectiveness of the method.

研究分野：情報光学

キーワード：三次元画像 病理診断

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Whole slide imaging (WSI) は、広範囲に渡る病理標本スライドの光学情報をギガ単位の画素数を用いて精密に記録する技術である。近年、デジタルイメージング技術及び計算機の進展を背景に、WSI を用いたデジタル病理学分野が急速に進展している[J. Liao: Opt. Lett. 42 (2017)]。特に近年、米国食品医薬品局 (FDA) により商用 WSI 装置を用いた一次病理診断が法的に認可されたことを契機に、当該技術への注目が急速に高まっている。社会の情報化の進展に伴い、WSI の臨床応用が今後も積極的に推進されることは明らかである。

一方で、現状の WSI の計測及び表示技術の課題の一つとして、3D 情報の欠落が挙げられる。WSI は一般的に顕微光学系による高倍率撮像と光学系の水平方向走査の繰り返しにより実装される。通常の結像光学系と同様に、フォーカスの合った距離の 2D 物体平面のみを精密に記録できる。一方で、病理標本には厚みがあり、光学系の被写界深度が浅いため、病理標本のデジタル化において 3D 情報欠落の影響は無視できない程度に大きい。具体的には、アウトフォーカスによる画像情報の欠落は、鑑別に必要な情報の損失に直結する。さらに、細胞診においては対象の 3D 構造情報そのものが鑑別に有用であることも知られており[水口: スタンダード細胞診テキスト, 医歯薬出版 (2015)], これらの観点から WSI の 3D 情報制御 (記録・解析・可視化) の実現は重要である。

2. 研究の目的

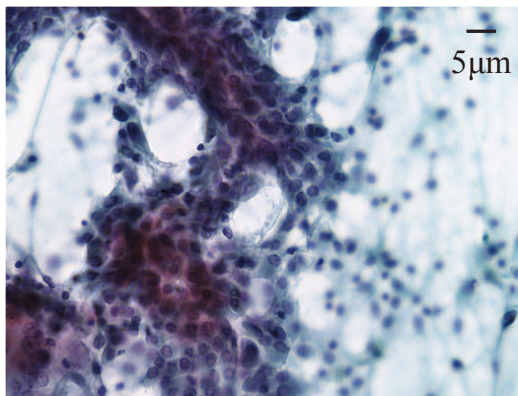


図 1. 細胞診標本の 2D 顕微画像化の例。

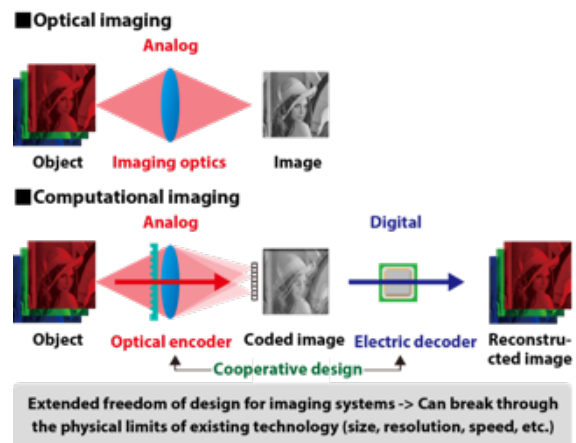


図 2. 計算機光学の概念図。

WSI の 2D 性による情報欠損は、病理標本のデジタル化及びそれを用いたデジタル病理診断において解決が望まれる課題の一つである。細胞診標本の一部を 2D 画像としてデジタル化した例を図 1 に示す。図では、ピントの合った物体距離平面のみ詳細に画像化され、その他の物体距離の情報はデフォーカスにより劣化している。これにより、対象全体の情報解析が困難となる。

本研究では、3D 病理標本をデジタル化するための WSI 技術を研究する。近年、光学的符号化と演算による復号を組み合わせた計算機光学技術が注目されている。計算機光学の概念図を図 2 に示す。本研究では、計算機光学を軸に WSI の 3D 情報制御技術の開拓を目指す。特に、3D 情報制御技術の例として被写界深度制御、三次元画像再構築・可視化、三次元情報解析、自由視点映像合成について WSI に適用可能な手法を設計し、その効果を実証することを目指す。

3. 研究の方法

WSI 装置では焦点を変えながら撮影を繰り返すことが可能であるため、同一対象の多焦点画像 (以下、Focal stack) を簡便に取得できる。この画像データの処理により 3D 情報を制御できれば、既存の WSI 装置を用いて 3D 画像解析が可能となり、実用性が高い。そのため、まず Focal stack を利用した WSI 画像のデジタル 3D 情報制御法を検討する。具体的には、被写界深度制御、三次元画像再構築・可視化、三次元情報解析、及びデジタル自由視点映像合成について手法を設計し、WSI 実機と細胞診実標本を用いて効果を実証する。一方で、Focal stack の取得は複数回の撮影を前提とするため、時間コストが大きい。そのため、符号化を駆使したシングルショットに基づく 3D 情報制御法を併せて検討する。

4. 研究成果

まず、Focal stack を用いた被写界深度拡大について検証した。顕微鏡において、露光中に焦点距離を走査することで焦点ボケを対象距離によらず均一にでき、このように取得した画像をデコンボリューションフィルタリングすることで被写界深度の深い画像を生成できる [G. Häusler: Opt. Commun. **6**, 38 (1972)]. また、当該技術と等価な効果をピントの異なる画像群の計算機上での平均化 (光軸方向の積分) によって実現できることを過去に実証している [T. Nakamura: Proc. COSI, CM2B.4 (2012)]. 同様の原理を WSI 装置による細胞診標本画像化に応用した。

実験結果を図 3 左に示す。対象として悪性中皮腫例の細胞診標本を用い、WSI 装置として Panoramic DESK (3DHISTECH) を使用した。対象の深さ範囲の二倍程度の焦点距離を 17 分割し、各距離に対して合焦した画像を取得し、これらを平均化して画像処理に使用した。デコンボリューションアルゴリズムとして、Richardson-Lucy 法を用いた。商用 WSI 装置を用いた実標本の撮影において、被写界深度拡大効果が良好に現れ、当該標本においては最も浅い位置に存在する細胞集塊の最上層から最も深い位置に存在する細胞質の構造まで鮮明に記録できることを確認した。

また、同じ Focal stack から三次元画像を再構築するための、コントラスト検出アルゴリズムを開発した。コントラスト検出法は一般的なカメラのオートフォーカスに用いられる画像処理であり、画像内の局所領域においてピント距離を走査してコントラスト値が最大となる距離を合焦距離として決定する手法である。細胞診標本は多くの一般物体とは異なり半透明であるため、細胞核等の物質が光軸方向に重畳している場合、複数回コントラストのピークが現れる。このことを考慮したコントラスト検出アルゴリズムを開発し、標本の三次元画像再構築を実装した。結果を図 3 中央上に示す。光学顕微鏡によるピント走査により知覚される三次元情報と概ね一致する三次元画像が得られた。さらに、再構築画像から細胞核の光軸方向の重畳数を計算し、これが光学顕微鏡観察と一致することを確認した。ヒートマップを用いた重畳数の可視化結果を図 3 中央下に示す。当該結果は提案技術のコンピュータ支援型細胞診断への有用性を示唆している。

さらに、Focal stack を電子的に積分する際の軸を仮想視点方向にずらすことで、撮影後に自由視点画像 (あるいはライトフィールド) を再構成できることを実証した。結果を図 3 右側に示す。入力データとして先の実験と同じ対象の Focal stack を用い、同様のデコンボリューションアルゴリズムを用いた。結果に示されるように、対象の深さに応じた視差を生じる画像の生成を確認でき、結果として自由視点画像の再構成を実証した。加えて、パララックスバリアを用いた 3D ディスプレイによる再構成画像の立体感知覚を確認した。視点変更範囲が開口幅に制限されるため、これを拡大する手法の確立が今後の課題である。

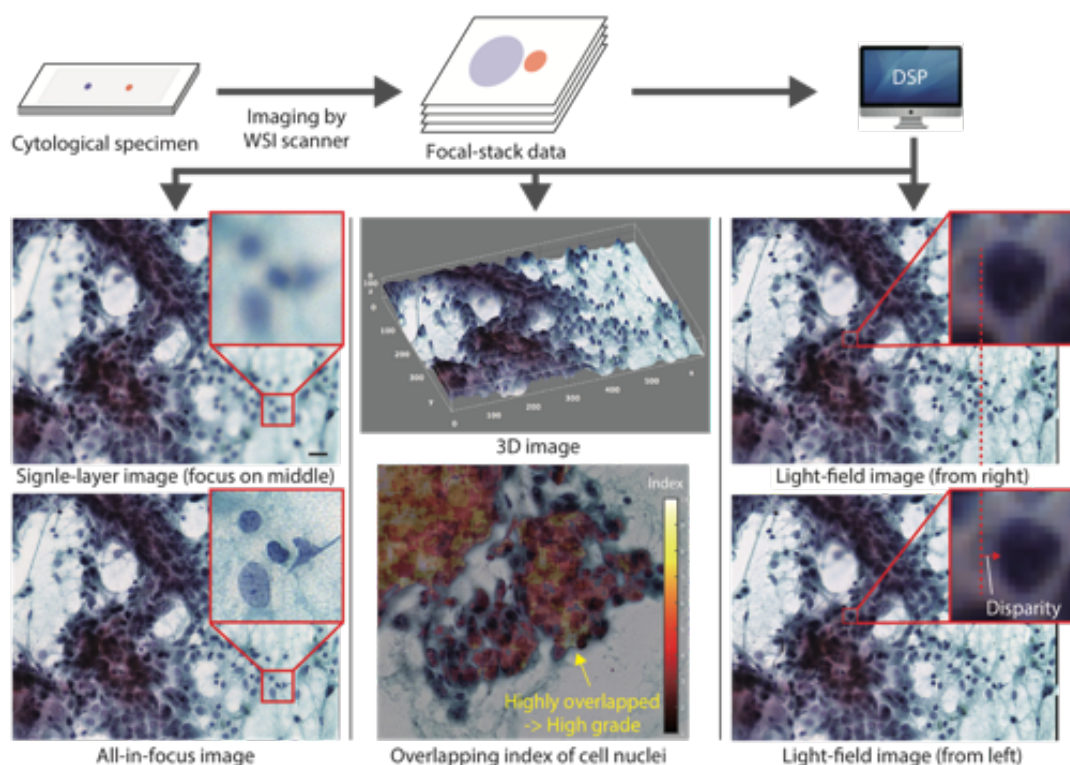
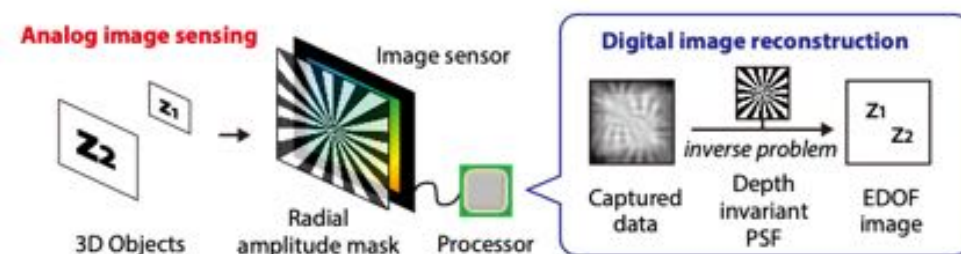


図 3. Focal stack を入力とした WSI3D 情報制御の概念図及び実験結果まとめ。

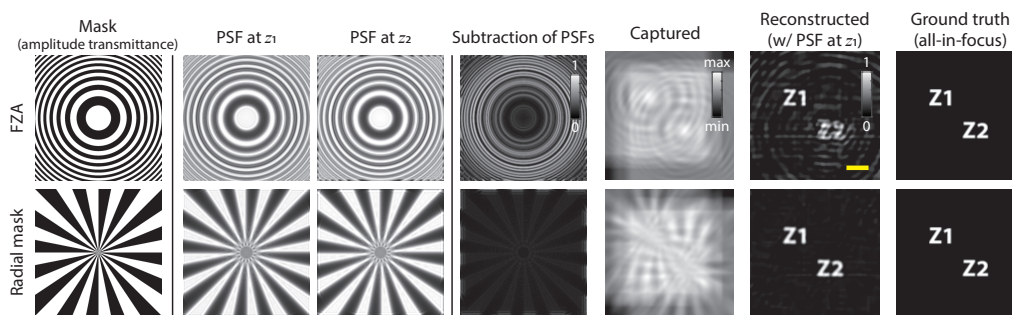
次に、高速化のため、Focal stack を必要としない被写界深度制御手法を設計した。撮像の被写界深度が制限されるのは、物体面と撮像素子面がレンズを介して結像関係になっていない場合に点像分布関数が放射方向に広がるためである。この問題を解決するため、図 4(a) のように、点像分布関数が放射方向に構造を持たないレンズレス符号化光学系を設計した。撮影画像は符号化画像であるが、事前に点像分布関数を計測しておくことで、撮像の逆問題を解き物体像を再構成できる。

既存のレンズレス光学系[T. Shimano: Appl. Opt. **57**, 2841 (2018)]に対する実効被写界深度の比較を数値実験にて実施した結果を図 4(b) に示す。撮影過程のシミュレーションは角スペクトル法に基づく回折計算と畳込み積分により実装し、画像再構成はスパース拘束を用いた反復的誤差最小化法である TwIST アルゴリズムを用いて実装した。その結果、既存手法に対して良好な被写界深度拡大効果が視覚的に確認され、再構成画像と真値の平均二乗誤差を 1.32×10^{-2} から 2.38×10^{-3} に削減できた。また、透過型 Siemens star chart とボードレベルカメラを用いて当該撮像系を物理実装し、数値実験と同様の条件下で実証光学実験を行った。その結果、数値実験と同様に被写界深度拡大効果を確認することができた。

当該手法を WSI に適用するためには WSI 光学系を変更する必要がある、このシステム物理実装と WSI への適用は今後の課題である。さらに、当該光学系を元にした三次元画像再構築について今後検討する予定である。



(a)



(b)

図 4. レンズレス符号化光学系を用いたシングルショット被写界深度拡大イメージング。

(a) 概念図、及び(b) 数値実験結果。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tomoya Nakamura, Fumikazu Kimura, Yukihiro Kobayashi, Shiho Asaka, Takeshi Uehara, and Masahiro Yamaguchi
2. 発表標題 Focal-stack Analysis for WSI-based Digital Cytopathology
3. 学会等名 The 24th Congress of the International Commission for Optics (ICO-24) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoya Nakamura, Shunsuke Igarashi, Shiho Torashima, and Masahiro Yamaguchi
2. 発表標題 Extended depth-of-field lensless camera using a radial amplitude mask
3. 学会等名 Computational Optical Sensing and Imaging (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 符号化撮像デバイス, 全焦点画像再構成処理装置及び全焦点画像撮像装置	発明者 中村友哉	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-181664	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----