

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05362

研究課題名（和文）定量位相顕微鏡を用いた組織診断：人工知能によるスループットと識別精度の飛躍的改善

研究課題名（英文）Tissue diagnosis using quantitative phase imaging: drastic improvement in throughput and recognition accuracy by AI

研究代表者

高林 正典（Takabayashi, Masanori）

九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授

研究者番号：70636000

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：定量位相画像を用いた組織診断において、AI技術によってスループットや認識精度を向上させることができるかどうかを検証した。その結果、一般画像の解像度向上に用いられるディープニューラルネットワークモデルが定量位相画像の解像度向上にも有効であることを示唆する結果を得た。しかし、改善効果はわずかであり、ネットワークモデルやデータセットのさらなる改良が必要であるという見解を得た。また、サポートベクターマシンを用いた複数のマーカーによる識別を行い、単独のマーカーのみを用いた場合よりも高い認識率を達成できることを確認した。さらに主成分分析を用いて詳細な解析を行い、各マーカーの寄与を可視化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、定量位相イメージングを用いた組織診断技術とAI技術の融合についての基礎的な知見が得られたことに意義がある。定量位相イメージングを用いた病理診断は従来の病理診断の多くの手間や曖昧さを排除することに貢献するとされるが、AIとの融合によりさらに技術導入への障壁が下がり、発展途上国なども含め、世界中に当該技術が広く普及するきっかけとなることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We studied whether AI technologies improve throughput and recognition accuracy in tissue diagnosis using quantitative phase images. We obtained the result that deep neural network used for image resolution enhancement for general images is effective in improving the resolution of quantitative phase images. However, the improvement was marginal and further study is needed in terms of network models and data sets. We also tested breast tissue diagnosis using multiple markers extracted from quantitative phase images with a support vector machine. A higher recognition rate can be achieved than by using a single marker. In addition, a detailed analysis was performed using principal component analysis to visualize the contribution of each marker.

研究分野：光情報工学

キーワード：定量位相イメージング 組織診断 分類学習器 深層学習 AI

## 1. 研究開始当初の背景

がんなどの病気が疑われる患部から採取した組織を光学顕微鏡で観察して診断を下す組織診断は、診断を確定させ、その後の治療方針を決定するために極めて重要なプロセスである。従来の典型的な組織診断は、透明な組織を可視化するために目的に応じた色素で染色するプロセスと、病理診断士が観察・診断を行うプロセスからなるが、染色品質のばらつきや定性的な基準に基づく診断が原因で重大な病変が見逃されてしまうことが懸念される。

本研究のテーマである定量位相イメージングを用いた組織診断では、光学顕微鏡として定量位相顕微鏡を用いることで、染色プロセスの除去と定量マーカーの取得を可能にする[1]。定量位相イメージングは、標本を通過した光波の位相を定量的に計測する技術で、厚さが一定の組織スライスの場合、屈折率分布を計測することに相当する。この屈折率分布から質量変化などの組織の構造変化情報を抽出して診断に利用することができることが分かっている[2]。一方で、我々は当該診断プロセスに改善の余地があると考えている。具体的には以下の二点に着目する。

一つ目は、広視野かつ高解像な定量位相画像の取得に時間がかかるという点である。定量位相イメージングに限らないが、高解像な画像の取得には一般的に高 NA の対物レンズが用いられるが、この場合は視野が狭くなるため、大きな被写体(本研究の場合は組織スライス)の全体を含む高解像度画像は一般的に高解像/狭視野の画像を複数枚繋ぎ合わせることで取得する。この場合、取得に要する時間が長くなるだけでなく、画像接続時に位置ずれが生じると接続領域において不連続な画素が生じ、特徴量の適切な抽出が行えなくなる懸念がある。二つ目は、マーカーを単独で用いた場合の識別精度が十分ではないという点である。定量位相画像からマーカーを抽出して診断を行う際、単独のマーカーを用いるよりも複数のマーカーを用いる方が効果的であると考えられるが、その組み合わせ数が膨大であることなどから、最適な組み合わせ方法などの複数マーカーを診断に用いる知見が得られていない。本研究では、これら二点の改善による定量位相イメージングのスループットおよび診断精度の向上を目指す。

## 2. 研究の目的

本研究では、1章で述べた高解像/広視野定量位相画像取得に係るスループットの改善および定量位相画像から抽出した複数のマーカーを用いた組織診断手法の確立を目的として、AI 技術を利用したアプローチの有用性を明らかにする。具体的には、深層学習による顕微鏡画像の高解像化技術を定量位相画像イメージングに適用することで低解像/広視野定量位相画像を高解像/広視野定量位相画像に変換可能か、また、定量位相画像から抽出した複数のマーカーをどのように組み合わせれば識別精度の向上が可能かという点を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### 3.1 高解像化深層学習を用いた高解像/広視野定量位相画像の取得

本研究では、時間感度と空間感度が高く、高品質な定量位相画像を取得可能で、病理マーカーの取得・報告実績が豊富であることなどから、定量位相イメージング手法として Spatial Light Interference Microscopy (SLIM)を採用する[1,3]。当初は同視野の低解像定量位相画像と高解像定量位相画像を実際に取得して高解像化ニューラルネットワークの学習に利用する予定であったが、実験室で構築した SLIM では画像の位相値の正確性に関する懸念を解消できなかったことや解像度比を細かく柔軟に変更させられるようにするために、研究協力者である米・イリノイ大学

の Gabriel Popescu 教授から提供された定量位相画像を「高解像定量位相画像」、同画像にローパスフィルタを適用した画像を「低解像定量位相画像」としてネットワークの学習に利用した。ローパスフィルタが最大空間周波数の  $1/d$  まで通過させる場合のフィルタサイズ係数として  $d$  を定義した。高解像化深層学習には最も単純なモデルの一つである SR-CNN (Super-Resolution Convolutional Neural Network) を用いた[4]。SR-CNN に低解像定量位相画像を入力することで「高解像化定量位相画像」を獲得し、高解像定量位相画像と低解像定量位相画像、高解像定量位相画像と高解像化定量位相画像の類似度を PSNR (Peak Signal-to-Noise Ratio) および RMSE (Root Mean Squared Error) を用いて評価した。

### 3.2 複数マーカーを用いたがん組織診断の精度向上

これまで定量位相画像から抽出可能で組織診断に有用とされる特徴量マップとして、平均散乱自由行程マップ、異方性パラメータマップ、Disorder strength (DS) マップ、Local correlation length (LCL) マップなどが知られているが、本研究ではそれらに加え、局所エントロピーマップを利用する方法を提案する[5,6]。まずは、各特徴量マップから組織領域の平均値、分散値、歪度、尖度を抽出し、それぞれのマーカーが組織診断に適用可能であるかどうかを評価する。そのうえで、単独で有用なマーカーに絞り、単数または複数のマーカーを利用する場合について SVM (Support Vector Machine) に学習させ、未知のがん組織の識別精度を評価する。サンプル数が少ないので交差検証を用いる。単独マーカー使用時よりも複数マーカー使用時の方が高精度となる条件と、そのときの診断精度を評価する。また、主成分分析を行うことで複数のマーカーを併用した場合における各マーカーの寄与を可視化する。なお、本節の研究は、新型コロナウイルスの影響による実験中断を余儀なくされる事態に備え、3.1 節に示す項目よりも先に行った。

## 4. 研究成果

### 4.1 高解像化深層学習を用いた高解像/広視野定量位相画像の取得

図 1 は、その結果を示したグラフである。に付されている L, H はそれぞれ高解像定量位相画像と低解像定量位相画像の比較、高解像定量位相画像と高解像化定量位相画像の比較を、その後続く数字はフィルタ係数を示す。結果より、ごくわずかではあるものの、高解像化ニューラルネットワークによる PSNR の向上および RMSE の低下がみられることが分かる。つまり、高解像化ニューラルネットワークによって、わずかではあるが高解像定量位相画像に近い画像が得られていることを意味している。高解像ニューラルネットワークによる定量位相画像の高解像化が可能であることを示唆する結果が得られた点では意義深いものの、その品質は高くない。今後は実験データを用いた評価、別の高解像化ニューラルネットワークモデルの適用、定量位相画像から算出する特徴量マップやマーカーも含めた評価を継続して実施していく。

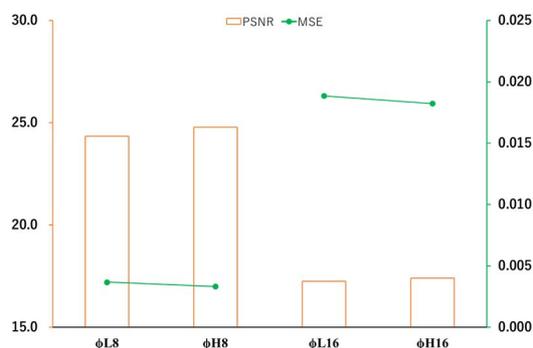


図 1 低解像/高解像化定量位相画像と高解像定量位相画像の類似度比較

## 4.2 ヒト胸部組織の定量位相画像から抽出した複数のマーカーを用いた乳がん診断

### 4.2.1 定量位相画像の局所エントロピー (LE) を用いた乳がん組織診断

ヒト胸部組織の定量位相画像から計算可能な特徴量マップである LE マップを乳がん組織の診断に適用可能かを調査した。新たな特徴量を提案することは、以降で述べる複数のマーカーを用いた診断における組み合わせ数が増加するという観点から有用である。LE は、量子化した画像の局所領域内に存在する画素値のばらつきを定量化する特徴量である。ある局所領域のエントロピーは次式で計算することができる。

$$H = - \sum_i \frac{N_i}{N} \log_2 \frac{N_i}{N}$$

ここで、 $N$  は局所領域に含まれる画素数、 $N_i$  はそのうちの画素値  $i$  を持つ画素数である。

本研究では局所領域サイズ  $35 \times 35$  ピクセルに対して LE マップを計算し、組織領域の平均値、分散、歪度、尖度をマーカーとして用いられるかどうかを検証した。使用した組織は良性 (B) 20 サンプル、悪性 (M) 46 サンプルで、悪性組織はさらに細かなグレード (M1, M2, M3) に分かれており、それぞれ 14, 16, 16 サンプルある。グレード間の識別可否は Wilcoxon の両側順位和検定により評価し、優位水準を 0.05 とした。その結果を表 1 に示す。LE の平均値と歪度を用いた場合に異なるグレード間で  $p < 0.05$  を示し、優位差が見られる傾向があった。このことから、ヒト胸部組織スライスの定量位相画像から抽出可能な組織領域の LE の平均値と歪度は、乳がんのグレード間識別 (一部のグレード間を除く) に有用であることが分かった。

表 1 局所エントロピー ( $35 \times 35$ ) による乳がん組織診断

	平均	分散	歪度	尖度
B-M	0.0096	0.0311	0.0030	0.8725
B,M1-M2,M3	0.0001	0.4828	0.0000	0.0246
B-M1	0.6217	0.0625	0.6674	0.1388
B-M2	0.0019	0.0772	0.0006	0.3813
B-M3	0.0124	0.1669	0.0015	0.2858
M1-M2	0.0110	0.5591	0.0019	0.0438
M1-M3	0.0168	0.3085	0.0022	0.0106
M2-M3	0.9503	0.6326	0.7870	0.9172

### 4.2.2 定量位相画像から抽出可能な複数のマーカーを用いた乳がん組織診断

ヒト胸部組織の定量位相画像から抽出した複数のマーカーを組み合わせることで良性悪性識別の識別率を求める。サンプル数を同じにするために、良性組織から 20 サンプル、悪性組織 (グレード 1, 2, 3) 46 サンプルから無作為に 20 サンプルを選択した。計 40 サンプルの定量位相画像のそれぞれに対して、散乱平均自由行程マップ、異方性パラメータマップ、DS マップ、LCL マップ、LE マップを算出し、さらにそれぞれのマップからマーカーを抽出した。具体的には、散乱平均自由行程、異方性パラメータ、DS、LCL の平均値および分散値、LE マップの平均値および歪度の計 10 種類のマーカーを用いた。なお、それぞれのマーカーは単独で用いても良性悪性識別ができることを確認している。これらのマーカーに標準化を施し、10 種類のマーカーからなるデータセットを作成した。最後に、このデータセットを用いて学習させた線形 SVM を用いて良性および悪性組織の識別率を求めた。

全てのマーカーの組み合わせを網羅的に評価した結果は膨大なうえ、8 種類や 9 種類のように多くのマーカーを特徴量として識別を行ったとしてもそこから各マーカーの特性やマーカーどうしの関係性を分析することは難しいことから、本研究では「最大 3 種類のマーカーの組み合わ

せ」に限定して調査した。その結果、それぞれのマーカーを単独で用いるよりも複数のマーカーを組み合わせる方が高い識別率を達成できるマーカーの組み合わせ法があることが分かった。例えば、局所エントロピーの歪度は、単独で用いた場合には識別率が 67.5%であったが、DS の平均値および分散値と組み合わせることによって 80.0%に向上することが確認された。

#### 4.2.3 主成分分析を用いたより詳細な解析

組み合わせるマーカーの数が増えすぎてしまうと、データがもつ情報は多くなってしまい、識別率が求められたとしても、その結果からマーカーどうしの関係性を分析することは困難である。そこで 10 種類のマーカーを含むデータセットに対して主成分分析を行った。その結果、第 1～第 5 主成分までの累積寄与率は約 98.0%にまで達したので、以下では第 1～第 5 主成分までの 5 つの変数を利用して線形 SVM による識別率を求めた。モデルの汎化性能の測定と学習器の偏り軽減のために 4 分割交差検証を行った。

第 1～第 5 主成分を単独で用いた場合の識別率は、それぞれ 80.0%、57.5%、45.0%、55.0%、40.0%であった。第 1 主成分を単独で用いた場合、それぞれのマーカーを単独で使用するよりも高い識別率を達成できることが分かったが、第 2～第 5 主成分の場合はそれを達成できないことが分かった。また、複数の主成分を組み合わせた場合についても検証したが、主成分同士を組み合わせることによる識別率の向上は確認できなかった。

次に、各主成分に対するそれぞれのマーカーの寄与を意味する主成分負荷量を表 2 に示す。主成分負荷量の絶対値が大きくなるほどそのマーカーが新変数である主成分に対して与えている影響が大きいことを示している。最も有用な主成分である第 1 主成分に対する主成分負荷量を見ると、LCL 以外のマーカーの負荷量が多く、また同程度であることが分かる。一方、第 2 主成分に対しては LCL の負荷量が大きいため LCL の情報をより多く保有していると解釈できる。先に示した結果より、第 1 主成分単独での識別率は 80.0%であるのに対し、第 2 主成分単独での識別率は 57.5%と低いことから、LCL は他のマーカーと組み合わせるよりも単独で用いた方が良いことが分かった。

表 2 主成分負荷量

	第1主成分	第2主成分	第3主成分	第4主成分	第5主成分
LE_A	-0.3699	0.0078	-0.4088	0.3616	0.0652
LE_S	0.3152	0.0897	0.5253	-0.3916	-0.1444
DS_A	-0.2821	-0.1889	0.5106	0.4675	-0.2259
DS_V	-0.3695	-0.0676	0.4324	0.1597	-0.1651
LCL_A	0.0972	0.6089	-0.0521	0.1205	-0.2196
LCL_V	0.1933	0.5218	-0.0339	0.3402	-0.3831
Is_A	0.4053	-0.2394	-0.0006	0.1932	0.0458
Is_V	0.314	0.1684	0.2687	0.4514	0.7216
g_A	-0.3158	0.3999	0.1505	-0.2549	0.2326
g_V	0.3719	-0.251	-0.102	0.1884	-0.3532

#### 参考文献

- [1] G. Popescu: Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues (McGraw Hill, New York, 2011).
- [2] H. Majeed *et al.*, J. Biophoton 10, 177-205 (2017).
- [3] Z. Wang *et al.*, Opt. Express 19, 1016-1026 (2011).
- [4] C. Dong *et al.*, IEEE PAMI 38, 295-307 (2015).
- [5] 高林正典, 光学 52, 98-103 (2023).
- [6] K. Ota and M. Takabayashi, Proc. ISOM '21, Tu-A-03, 59-60 (2021).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 高林正典	4. 巻 52
2. 論文標題 定量位相イメージングを用いた組織診断	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 光学	6. 最初と最後の頁 98-103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kensei Ota, Masanori Takabayashi
2. 発表標題 Breast tissue diagnosis using local entropy extracted from quantitative phase images
3. 学会等名 International Symposium on Imaging, Sensing and Optical Memory (ISOM '21) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高林正典
2. 発表標題 定量位相イメージングを用いたデジタル病理診断の高速・高精度化に向けた検討
3. 学会等名 一般社団法人レーザー学会学術講演会第42回年次大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高林正典, 森直人
2. 発表標題 定量位相画像から抽出可能な複数のマーカーを用いた組織診断
3. 学会等名 日本光学会年次学術講演会 (Optics and Photonics Japan) (招待講演)
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

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