

定量的病理診断に向けた病理画像解析技術

山口 雅浩^{†a)} 長橋 宏^{††} 坂元 亨宇^{†††} 橋口 明典^{†††}
齋藤 彰^{††††} 小林 直樹^{†††††}

Image Analysis Technology for Quantitative Pathology

Masahiro YAMAGUCHI^{†a)}, Hiroshi NAGAHASHI^{††}, Michiie SAKAMOTO^{†††},
Akinori HASHIGUCHI^{††††}, Akira SAITO^{†††††}, and Naoki KOBAYASHI^{†††††}

あらまし デジタルスライド（バーチャルスライド，Whole Slide Imaging とも呼ばれる）技術の進歩に伴い，病理診断のデジタル化が期待されている．デジタル技術の導入により，従来の病理医の視覚に頼る定性的/半定量的な診断から，画像計測・認識技術に基づいた定量的病理診断が可能になる．本論文では，筆者らが研究・開発に取り組んでいる病理画像認識，高精度画像解析，色補正などの技術を例示し，定量的病理診断の確立に向けた課題などについて議論を行う．

キーワード 病理画像，デジタルスライド，画像認識，色補正，マルチスペクトル

1. まえがき

病理組織診断では，病変部から採取した組織を薄切片し，染色して顕微鏡下で観察することにより診断を行う．最終診断とも呼ばれ，診断の確定，治療法の選択に極めて重要な役割を果たす．ところが我が国では病理医の不足は深刻であり，一人の病理医が多様な分野に対応しなければならず，専門外の診断を行う必要も生じる．また本来はダブルチェックが望ましいが，現実には困難な場合も多い．病理診断では細胞の配列，形態，色等の視覚的情報を，病理医が経験に基づき判

断するため，定性的若しくは半定量的な診断といわれている．一方で，分子病理学の発展に伴い，遺伝子・分子レベルでの情報を用いた診断や治療も重要な位置づけを占めている．特に分子標的治療薬を含む個別化治療の実現は，病理診断に対して従来よりも詳細な診断を要求する．分子に基づく診断は従来にない情報を提供するが，一方で組織の形態は依然として病理診断の基本的な要素であり，分子レベルでの情報の定量化とともに，組織の形態に関する特徴についても，更に詳細に捉えることが望まれる．

病理診断では顕微鏡下での組織の観察により診断を行うことができるため，これまで，画像技術の利用は遠隔病理診断など一部の領域に限られていた．近年，スライドガラス上の病理標本全体をデジタル画像化することが可能なデジタルスライド（WSI: Whole Slide Imaging，バーチャルスライドとも呼ばれる）の技術が進展し，デジタル画像技術の導入に向けた環境が進展している [1], [2]．そしてワークフローのデジタル的な管理とともに，従来の顕微鏡下での目視観察を基本とした病理診断から，デジタル画像機器に基づく診断，いわばデジタル病理学への移行が期待されている．

病理診断のデジタル化への期待とあいまって，デジタル画像処理技術の応用に関する研究も活発化している [3]．特に，分子標的治療の適応判定などにおい

[†] 東京工業大学学術国際情報センター，東京都
Global Scientific Information and Computing Center,
Tokyo Institute of Technology, 2-12-1-17-6 Ookayama,
Meguro-ku, Tokyo, 152-8550 Japan

^{††} 東京工業大学画像情報工学研究所，横浜市
Imaging Science and Engineering Laboratory, Tokyo
Institute of Technology, 4259 Nagatsuta, Midori-ku,
Yokohama-shi, 226-8503 Japan

^{†††} 慶應義塾大学医学部病理学教室，東京都
Department of Pathology, School of Medicine, Keio Uni-
versity, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo, 160-8582
Japan

^{††††} 日本電気株式会社医療ソリューション事業部，東京都
Medical Solutions Division, NEC Corporation, 5-7-1
Shiba, Minato-ku, Tokyo, 108-8001 Japan

^{†††††} 埼玉医科大学保健医療学部，日高市
Faculty of Health and Medical Care, Saitama Medical Uni-
versity, 1397-1 Yamane, Hidaka-shi, 350-1241 Japan

a) E-mail: yamaguchi.m.aa@m.titech.ac.jp

て、免疫組織化学 (IHC: Immunohistochemistry) 染色標本に対して画像解析技術を適用し、発現量の評価を行うツールが開発されている [4]。また、古くから病理組織学の分野で研究されてきた形態学的な分類に関しても、デジタル画像解析により客観化、定量化を行うことが期待されている。一例として、胃がんを対象とした病理画像診断支援システムが実用化され、一般染色 (HE: Hematoxylin and Eosin 染色) の胃生検標本におけるがんの有無の診断において、病理医とのダブルチェックにより精度の向上が図られている [5]。

一方で、デジタルスライドスキャナははまだ高価であり、またスキャンに要する時間、操作性、画質、フォーカスの問題など、課題も残されている。このため、教育、症例検討、遠隔病理診断などへの応用は進んでいるものの、日常診療への応用についてはこれからという状況である。今後、デジタルスライドスキャナを活用した病理診断分野のデジタル化を推進するには、病理医にとってのメリットを明確にすることが重要と考えられる。

筆者らのグループでは、デジタルスライドスキャナによって得られる画像情報を基本として、病理診断の客観化、定量化に寄与する画像解析、画像認識技術の開発を進めている。これによって、従来、病理医が目視の中で定性的に捉えていた特徴をコンピュータの特質である定量性により扱うことが可能になる。更には病理医が日常の診断業務で見ても気がついていない特徴量を明確化し、臨床情報と総合的に解析することで新たな知見をもたらすことも期待される。このようなアプローチを進めることは病理学のみならず、医学全体への寄与が期待されるものであり、これまでにない分野としての定量的病理診断の確立を目指して、新たな挑戦として研究を実施している [6]。そして、病理部門へのデジタル技術の導入の有効性を明示することで、その普及の促進にもつながると考えられる。本論文では、この研究開発の背景となるデジタル病理学に関する動向、定量的病理診断の考え方について述べるとともに、現在実施している研究の概要を紹介する。

2. デジタル病理学の動向

デジタルスライドスキャナは、バーチャル顕微鏡とも呼ばれる技術に基づき、病理組織スライド全体を高倍率でスキャンしてデジタル画像化する。これまでに、従来の顕微鏡と移動ステージにより画像をタイ

リングする方式や、ラインスキャナによる方式、レンズアレーを用いる方式などが開発されている。撮影された画像は階層的に符号化して保存され、端末上であったかも顕微鏡を操作しているかのように倍率や視野を自由に変更しながら観察することができる。

これまでのところ、教育や遠隔病理診断への応用が主であるが、カンファレンスや症例記録への利用も拡大しており、今後は病理部門全体のデジタル化に寄与することが期待されている [1]。これによって PACS などの画像管理システムと病理部門の画像情報が統合化され、一元的な情報共有が可能となる。なお、病理部門のデジタル化推進のためには、検体の受け入れ、薄切切片の作製、染色、画像スキャン、データベース化などの各プロセスを総合的にデジタル化する必要がある。病理検査のオーダリングシステムとの連携・統合化を図ることも必要であるため、現在、そのためのワークフローの検討などが行われている [2]。これが実現すれば、病理診断プロセスの迅速化、標本の取り違いや紛失の防止といった安全性向上、遠隔地の専門医によるセカンドオピニオンの利用など、病理診断の質の向上に大きく寄与すると考えられる。これらに加えて、デジタル画像解析技術の応用への期待も大きい。本研究では、デジタルスライドの技術に基づき、画像解析技術の応用によって次章に述べるような定量的病理診断を可能とすることを目指している。これによって、病理医や臨床医がデジタル化の恩恵を享受できれば、病理部門のデジタル化の促進にもつながるものと考えられる。

3. 定量的病理診断の考え方

従来の病理診断は細胞、組織の形態を目視観察することにより良悪性の鑑別やグレード分類を行っており、定性的な方法が基本である。形態学的な数値、例えば N/C 比 (核と細胞質の構成比率)、細胞核のサイズ・密度、線維化組織の占有率や、形態的特徴をもとにしたスコアなども用いられているが、目視による計測が主流であり、半定量的といわれている。このため、再現性の高い方法による定量的な計測値に基づいて、客観的で高精度な診断基準を確立することが重要な課題といえる。

特に、近年の放射線画像技術の進歩などにより、ごく早期のがんの検出が可能となっている。早期がんの診断は、わずかな異型の評価を生検で得られた少量の組織標本で行う必要があり、高度の専門性が要求され

る。一方でがん治療法の選択は多様化しており、より低侵襲で必要最小限な治療の選択を行うために、客観的、定量的な病理診断の実現が期待される。

デジタル画像解析技術を病理診断に応用する試みは以前より行われているが、病理画像のパターン認識の結果と病理医の診断を比較検討するのみでは、病理診断の客観化、定量化がなされたい。真に病理診断に有用な画像解析技術を確立するには、画像解析による各種形態情報の抽出・定量化とともに、病理標本における分子発現情報の定量化、臨床病理データベースによる評価を総合して推進する必要がある。このような定量的病理診断を可能とする技術を確立し、デジタルスライドを基本としたシステムを実現することで、従来よりもわずかな変化の検出、高精度化、信頼性・客観性・再現性向上が可能となり、病理診断の高度化、均てん化に貢献するものと期待される。

4. デジタル病理学の動向

4.1 病理画像解析の特徴と課題

病理画像は放射線画像とは異なり、染色によって構造が色として表現されている。また、ミクロな組織構造が明瞭に観察される。一つひとつの細胞が、膠原線維などの細胞外基質とともに、血管、腺管などを形成している像が画像中に存在し、それらの組織の構造的な特徴は多彩である。このような病理組織の形態的な特徴を把握するには、高度な画像認識技術が必要とされる。これに対して、近年大きく進展が見られる高度な画像認識技術を応用することで、組織構造などの認識も可能になると考えられる。

デジタルスライド画像のもう一つの特徴として、画像解像度の問題が挙げられる。20倍撮影で1ピクセル当り0.5 μm 程度であり、手術標本の場合50,000 \times 50,000から100,000 \times 100,000画素となり、圧縮後のデータサイズも数百MByteから数GByteである。このため実用的なシステムを実現するには、異なる解像度の画像を階層的に処理することで効率化を図る必要がある。

これまで、画像解析技術を用いて組織の特徴を抽出し、他の臨床病理学的指標や予後・臨床経過と比較する研究は数多く報告されている。これらは多くの場合、手作業でフィルタやしきい値を経験的に選択し、核の抽出や形状の解析などを行っている。その結果は形態学的知見として診断に生かされているが、日常診断で画像解析を利用する環境は確立できていない。また、腫瘍の良悪性の判別やがんのグレード分類を自動

的に行うアルゴリズムの研究論文も数多く発表されており[3]、デジタルスライドの普及が進めば、これらの知見を画像診断支援システムに適用することが期待される。しかし、現時点では日常診療に応用可能なシステムはほとんど存在せず、病理医の経験に基づく評価に頼らざるを得ない。したがって、病理画像解析技術における重要な目標としては、一つは臨床的な意味をもつ組織の特徴を信頼性高くかつ自動的に数値化すること、また、がんの自動検出や自動分類を高精度に行うことで病理医による診断を支援する情報を提供することが挙げられる。更に、前述の定量的病理診断を可能とするためには、組織の特徴を高精度に定量化した結果に基づき、従来の目視による観察から定められた分類よりも更に詳細な類別化を確立することが望まれる。

病理診断では目的に応じて様々な染色法が選択され、また分子マーカーに対する蛍光抗体染色や免疫組織化学染色も広く用いられている。一方で、現行の病理診断では核を青色に、細胞質をピンク色に染めるHE染色が基本となっており、開発した技術を広く一般に適用するには、HE染色標本を対象とした技術の重要性は高い。そこで本研究では、目的に応じた特殊染色や免疫組織化学染色、蛍光抗体染色も対象としつつ、HE染色標本を主な対象としてがんの早期診断を高度化することを目的とした画像解析技術の開発を行っている。以下にその開発例を含めながら病理画像解析の要素技術について議論する。

4.2 画像認識技術を用いた形態的特徴の定量化

(1) 組織要素の抽出を基本とする特徴量

画像認識や定量化に用いられる特徴量を算出する代表的な方法としては、まず、細胞核やリンパ球、腺管などの構造を抽出し、その後にそれらの数のカウントや、形態の解析を行う。がん組織では核の腫大や濃染、多形性、核小体の明瞭化、異常核分裂像などの特徴があることが知られている。また細胞の配列も診断には重要な特徴である。例えば、腺がんは管腔構造を形成し、腺管の形態解析が必要となる。

本研究では、がん早期診断の対象としてまずは肝細胞がんを主な対象として研究を進めている。肝細胞がんの原因としては慢性肝炎が疫学的に最も重要であり、近年、ウイルスの持続感染による慢性肝炎・肝硬変を背景に、異型結節・早期がん・進行がんへ至る多段階的な進展過程が明らかになっている。このため、早期に的確な診断が可能となれば、進行性病変に対する適

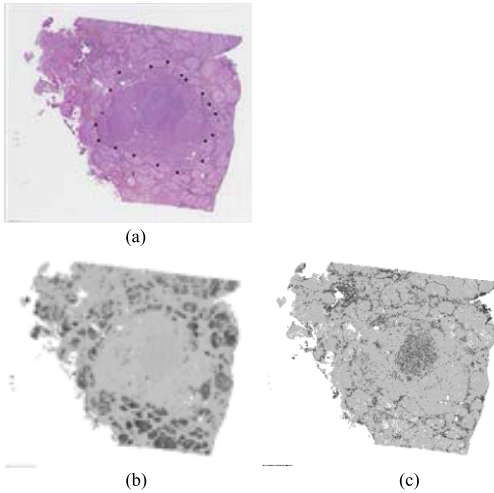


図 1 (a) 肝臓の組織標本の全スライド画像。原画像は $59,047 \times 48,117$ 画素、画素間隔 $0.46 \mu\text{m}$ 、画像全体の実サイズは約 $27.2 \text{mm} \times 22.1 \text{mm}$ 。黒点で囲まれた領域は肝細胞がんの結節を示す。(b) 核密度を画像化した結果。(c) 核間距離の分散を画像化した結果。(b) (c) では、 256×256 画素の小領域で計算した結果をグレイスケールで表示している。

Fig. 1 (a) Whole slide image of liver specimen. The original image size is $59,047 \times 48,117$ pixels, where the sampling interval is $0.46 \mu\text{m}$. The actual size of the image corresponds to about $27.2 \text{mm} \times 22.1 \text{mm}$. The region surrounded by black dots indicates the hepatocellular carcinoma (HCC). (b) The image of numerical density of nuclei, and (c) the image of variance of nuclei distance. In (b) and (c), the results calculated for small regions in 256×256 pixels are shown as grayscale images.

切な治療，不必要な治療の低減などが可能になる。

図 1 は細胞核の形態的特徴の数値化技術を肝細胞がん組織のデジタルスライドに適用した結果を示している [7]。(a) の黒点で囲まれた領域ががん組織であり，その周囲は背景となる肝炎の組織である。はじめに，デジタルスライドのカラー画像から細胞質と核に染色するエオジンとヘマトキシリンの色素の色を考慮して細胞核の抽出を行う。なお HE 染色における色情報については 4.3 に詳しく述べるが，細胞核はヘマトキシリンにより青色に染まることを利用する。しきい値処理によって明らかに核でない領域を除外し，また最も細胞核を強調する色成分を抽出することで単色化する。次に細胞核と同程度のサイズの円形テンプレートを用いた相関フィルタを用いて細胞核の候補位置を検出するとともに，機械学習等の手法を用いて誤

検出を除外する。図 1 (b) はこの方法によって抽出された核の密度を画像化したもので，がん組織において核密度が増大している様子を見ることができる。また，図 1 (c) は同様にして算出した核間距離の分散を画像としたものである。高分化がんの結節内に存在する分化度の低いがんの結節が可視化されている。現時点では細胞核の抽出精度などに課題が残されているが，このような方法を用いてデジタルスライドの画像からがん組織の検出，悪性度の定量化を行える可能性を示している。

HE 染色標本では核と細胞質を染め分け，核はある程度類似した円形に近い形状であるため抽出は比較的容易である（複数の核が重なりをもつ場合などは難しいが）。しかし，組織の構造的特徴を定量化するには細胞核の抽出に頼るのみでは不十分である。

肝細胞は，索構造といわれる一列の細胞配列をなしているため，構造異型の評価を行うには，索状配列の構造解析を行うことが望まれるが，HE 染色標本において細胞膜が不明瞭な場合も多く，索状配列を的確に抽出するには困難が伴う。一方，索構造の間には毛細血管の一種である類洞があり，細胞との間で栄養分・代謝産物などをやり取りしている。そこで本研究では，肝細胞索と表裏の関係にある類洞を抽出することで索構造の形態的特徴の定量化を試みている。

類洞は上記のごとく，毛細血管の一種であり，血球，血漿成分が含まれるが，HE 染色では全体として通常色が薄くなる。また，肝細胞と類洞の間には，内皮細胞などの類洞壁細胞とわずかな細胞外基質が存在し，境界を形成している。一般的なセグメンテーション手法で抽出可能と思われるが，実際には，非常に薄い類洞壁構造は光学顕微鏡レベルでの認識が困難であるため，正しく抽出できない場合が多い。そこで，途切れた境界を滑らかに接続する方向選択性フィルタを考案し，これを適用した後にセグメンテーションを行うことで，類洞の良好な抽出を可能とした。図 2 は方向選択性フィルタ適用有無によるセグメンテーション結果の違いを示している。類洞と肝細胞の境界部分が強調されることによって，類洞の誤検出が改善されている。また図 3 には背景肝と肝細胞がんのグレード (Edmondson's grade) ごとの抽出結果を示している [8]。グレードごとの組織構造の違いが反映されることが確認できる。今後，この構造を数値的に表現し，他の特徴量とともに肝細胞がんの特徴の定量化を行い，評価する予定である。

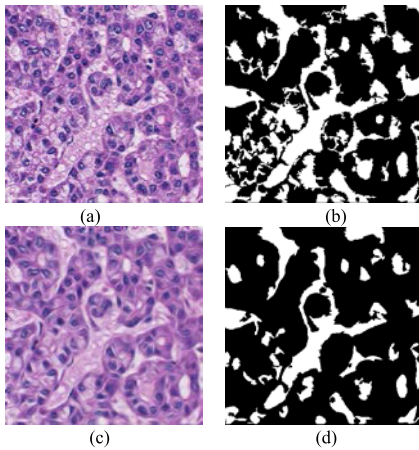


図 2 (a) 原画像 (512 × 512 画素: 約 240 μm × 240 μm の領域), (b) 原画像からの抽出結果, (c) 方向選択性フィルタ適用結果, (d) 方向選択性フィルタ適用後の抽出結果.

Fig. 2 (a) Original image (512 × 512 pixels, about 240 μm × 240 μm square region). (b) Segmentation result using the original image. (c) Result of orientation selective filtering. (d) Segmentation result using the image (c).

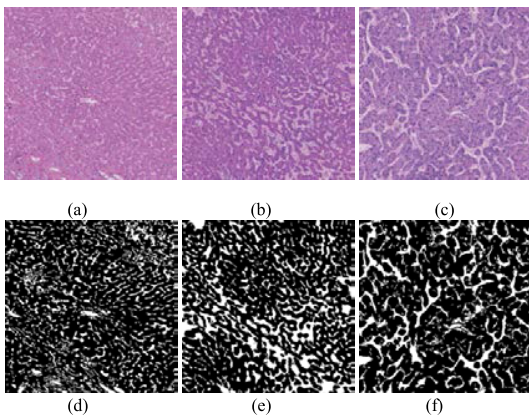


図 3 HE 染色の肝臓組織標本の画像からの類洞抽出結果. (a) 背景肝組織 (非がん), (b) Edmondson グレード I, (c) Edmondson グレード II, (d)-(f) はそれぞれ (a)-(c), の画像からの類洞抽出結果を示す. 各画像 (2,174 × 2,174 画素) の領域はおおむね 1 mm × 1 mm に対応する.

Fig. 3 The results of extracting sinusoid from HE-stained liver images. (a) Background tissue (non-cancer), (b) Edmondson grade I, and (c) Edmondson grade II. (d)-(f) extracted results from the images of (a)-(c), respectively. The size of each image (2,174 × 2,174 pixels) corresponds to approximately 1 mm × 1 mm.

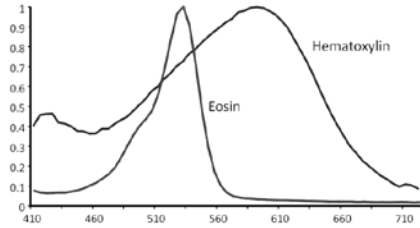


図 4 ヘマトキシリンとエオジン色素の分光吸光度 (実測値)

Fig. 4 Spectral absorption coefficients of hematoxylin and eosin.

(2) 色特徴量の利用

HE 染色では, 細胞質がエオジン色素によりピンク色に, 細胞核がヘマトキシリン色素により青色に染まり, 細胞の形態を良好に観察することができる. 図 4 はヘマトキシリンとエオジン色素の分光吸収係数である. ヘマトキシリンではおよそ 550~650 nm の波長帯域での吸収が強く, エオジンは 530 nm 付近で吸収のピークをもつ. このためカラー画像の RGB (Red, Green, Blue) チャンネルのうち, R チャンネルは主にヘマトキシリンの影響を受け, 核のコントラストが高い. エオジンの成分は主に G チャンネルに反映されており, 細胞質がよく可視化されている. このような性質を用いて細胞核や細胞質の抽出を行うが, 一方で 4.3 に述べるように病理画像の色情報にはばらつきが生じるため, 自動的な画像認識を行う上では色の補正技術確立する必要がある.

HE 染色以外の特殊染色でも色情報を用いた解析技術は有用である. 前述のように, 現在, 肝細胞がんの原因として疫学的に最も重要なものは, 肝炎ウイルスによる慢性肝炎である. 慢性肝炎の診断において用いられる新犬山分類では, 肝組織の線維化の程度をもとに F0 から F4 の各ステージに分類する. 線維化の進行に伴い, 肝細胞がんのリスクも増大することから, 線維化の程度は肝細胞がんのリスクを示す重要な指標である. しかし分類自体は, 従来, 病理医の主観的なオブジェクト認識により行われているため, 客観性・再現性を向上するために画像解析技術の応用を行った. エラスチカ・ワンギーソン染色によって膠原線維と弾性線維を染め分け, 色空間内でのクラスタリングにより抽出した膠原線維の占有率を用いて評価を行った結果, 複数の病理医のコンセンサスに基づいて判断されたスコア及び超音波検査であるファイブロスキャンによる結果との間で十分高い相関が得られることが確認

されている [9]. なお後述の色補正技術の応用により, 自動化システムを実現する目的も得られている.

(3) 数理的特徴量の検討

組織要素を抽出して形態学的特徴量を算出するのではなく, エントロピーやモーメントといった画像パターンとしての数理的特徴量を用いることも有効である. 従来, フラクタルを用いた特徴量の検討もあるが, 単一のフラクタル次元で画像の特徴を表現することは困難な場合が多い. これに対して本研究では, フラクタルを拡張してより複雑な画像の解析を可能としたマルチフラクタルに基づく手法を適用した [10]. マルチフラクタルを用いた手法では, 何らかの局所的特徴量から局所の特異性を表す係数 α を求め, 更にそこから大局的な均質性を表す値 $F(\alpha)$ を算出する. α と $F(\alpha)$ はそれぞれ画像として求まるので, それらの小領域での特徴をもとにヒストグラムを生成する. これによって得られた多次元の特徴量から, SVM (Support Vector Machine) などの機械学習の手法を用いてがんと非がん, 異なる悪性度などの識別を行う. 肝細胞がん及び前立腺がんの画像に対して適用した実験では, デジタルスライドの異なる倍率の画像において高い識別精度が得られており, マルチフラクタルによる特徴量が優れた精度及び汎用性を示すことが明らかになっている.

4.3 色・スペクトル情報の利用

(1) 病理画像における色情報

高精度な病理画像認識システムを実現するには, デジタルスライド等の画像入力機器の高精度化は大きな課題である. 前述のとおり病理組織診断では染色により組織構造を可視化するため, 病理画像における色は重要な意味をもつ. そこで本研究では特に色情報を中心に, より高精度な画像入力と, 色情報の補正について検討している. また, 画像圧縮による劣化も画像解析に影響する. 一般的には符号化の影響は視覚的な評価が行われるが, 画像認識精度などに与える影響の点から評価する必要もある.

まず, 画像入力上の問題点として, 同一の病理標本でも異なる機器で入力すると病理画像の色が変化してしまう点が挙げられる [11]. これはデジタル画像入力機器の特性がデバイスごとに異なるためである. カラーマネージメント技術の適用により, 機器ごとの特性の違いを補正することは可能と考えられるが, デジタルスライド機器におけるカラーマネージメント技術は未確立である. これに対して, ガラススライド上

に色票を配置し, これをスキャンした画像を用いることが提案されている [11]. これにより, 機器の違いを補正することが可能になると考えられる. 本研究では, 色票を用いた補正方法が画像認識技術の適用に対して十分に機能するか, 後述のマルチスペクトル技術を用いて検証を行っている.

機器間の色再現特性の違いとは別に, 染色工程による色のばらつきの問題も深刻である. 染色液や工程の違いによって同一の染色でも標本の色には違いが生じる. 特に異なる施設では染色工程の違いが大きいため, 遠隔病理診断や多施設連携においては大きな色のばらつきが問題となる.

筆者らは, 撮影画像から色素の吸収モデルに基づいて色素量を画像として求め, 標準的な色素量に補正することで色の標準化を行う手法を提案した [12]. 特に次項のマルチスペクトル技術を用いることで, 精度のよい色素量推定, 染色のばらつきの補正が可能となる. 図5に HE 染色標本をマルチスペクトル撮影し, 色素量画像推定を行った結果の例を示す. ヘマトキシリン成分画像では細胞核が, エオジン成分画像では細胞質が抽出されている. そして, この方法を用いて得られた色素量を調整し, 再度カラー画像を合成することで, 色の標準化を行うことができる. 現在, この色標準化技術を, より簡易なシステムで実現するための検討を進めている.

(2) マルチスペクトル技術とデジタル染色

マルチスペクトルイメージングは, 一般的な RGB 三原色で色情報を入力するのではなく, 光の波長帯域を多数に分割して取り込むことで, より多次元の画像情報を取得し, 解析などに用いる技術である. 可視光以外の特に近赤外光による画像取得を行うものと, 可視光帯域を RGB よりも細かく分割して多バンドで撮

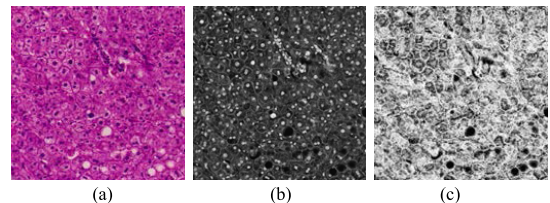


図5 HE 染色の色素量画像算出結果. (a) HE 染色標本, (b) ヘマトキシリン成分画像, (c) エオジン成分画像

Fig.5 Quantification of dye amount image of HE-stained tissue. (a) HE-stained tissue section, (b) Estimated image of hematoxylin amount, (c) Image of eosin amount.

影するものがある。筆者らはこれまでに16バンドの回転フィルタ型顕微鏡画像入力システム、31バンドの液晶チューナブルフィルタを用いたシステムによって、マルチスペクトル技術の有効性を検討してきた。他のグループにおいても、病理画像入力に対してマルチスペクトル技術の適用が検討されており、蛍光染色などにおいて、一つの標本に多種類の染色を同時に行い、画像解析によって色成分の分離を行う手法 (Color unmixing) などが報告されている [13]。また、マルチスペクトル技術によって色情報を高精度に入力できるので、色情報を用いた組織要素の識別などに有用といえる。

筆者らは、マルチスペクトル撮影を用いたデジタル染色の技術の開発を行ってきた。これは、ある染色法で作成された病理組織標本の画像に対してデジタル画像処理を適用し、別の染色法の画像と同等の色で表示するものである [14]。これまでに、HE染色からマッソントリクローム染色、H単染色からHE染色などの実現可能性を示している。例えばマッソントリクローム染色は線維組織を選択的に青く染めるものである。HE染色におけるエオジンのスペクトルを詳細に調べると、線維組織において吸収のスペクトルがわずかにシフトしていることが示された。そこでシフトした吸収スペクトルに対応する吸収成分を色素量画像として求め、これに対してマッソントリクローム染色におけるアニリンブルーの色を付与することでデジタル染色が実現される。

デジタル染色の基本技術は組織の識別と可視化である。組織標本の画像に対して直接目視では識別が困難な組織要素のセグメンテーションなどを適用した場合に、抽出された組織の領域を例えば白黒の二値画像で表示しても、病理医には見慣れない画像を提示することになる。例えば線維をマッソントリクローム染色の色で表示するというように、見慣れた他の染色法の色で表示することで、より容易に評価が可能になるという意義がある。

5. む す び

病理分野のデジタル化は放射線部門よりもはるかに遅れ、現在緒に就いたところであり、放射線分野のデジタル化での経験を参考にしながら進めている状況といえる。放射線部門と共通する点も多いが異なる点もあり、それなりの時間を要するとは思われるが、早期に実用化が可能な技術も多い。

病理でのCAD (Computer Aided Diagnosis, or Detection) を実現する方策としては、大きく二つの方向性があると考えられる。一つは、多数の症例を集め、機械学習などの技術に基づいてブラックボックスでの処理系を開発するものである。これは放射線画像でのCADに近いアプローチであり、高い性能を得るためには妥当な方法といえるが、いくつかの問題点がある。放射線画像領域におけるCADの開発では、認識システムの設計・評価において、トレーニングデータまたはGold Standardとして病理診断の結果を参照している場合も多い。病理CADでは病理医による診断結果を参照することになるが、基本的に定性的・半定量的な診断であり、ばらつきや再現性の問題もある。これを避けるには臨床経過などを含むデータベースを構築する必要がある。ブラックボックスの認識システムの場合、妥当性の判断は正答率やROC曲線などとなり、信頼性の高いCADシステム実現のためには膨大な量のデータを集積しなければならない。

病理CAD実現方策の他方のアプローチとしては、個別特徴量や複数の特徴量を組み合わせた新しい指標を順次病理医に提示していくものである。これを病理医による病変の分類や、臨床経過、分子マーカーにより得られるインデックスなどと比較評価することにより、まずは病理診断に有用な定量値を提供できるようにする。そしてそのような特徴量、定量値の積み重ねをベースとしてCADシステムを実現する。この方法のメリットとしては病理医による理解・信頼感を得やすい点が挙げられるが、病理医との一致度という点での性能のみを考えれば前者の方法が一般には優れた結果となる。このため、これらの二つのアプローチをバランスよく進めていくことが肝要といえる。

病理医は診断において画像内に存在する様々な組織要素を理解した上で判定を下す。病理画像認識システムが病理医の信頼を得て広く使われるようになるには、本来、病理組織標本に含まれるあらゆる組織要素 (細胞、線維、血管、腺管、リンパ球、赤血球、その他の組織) や構造を正しく認識できるようにすることが望まれる。その結果をもとにしてシステム化を行うことで、より汎用的なシステムを実現できる。この点も病理画像認識技術の開発における大きな目標の一つといえる。

謝辞 本研究は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) 委託研究「定量的病理診断を可能とする病理画像認識技術」の一環として実施

されているものである。同プロジェクトの共同研究者として協力頂いている関係諸氏、及び本研究に関連して多くのコメントを頂いたマサチューセッツ総合病院八木由香子博士に謝意を表す。

文 献

- [1] R.S. Weinstein, A.R. Graham, L.C. Richter, G.P. Barker, E.A. Krupinski, A.M. Lopez, K.A. Erps, A.K. Bhattacharyya, Y. Yagi, and J.R. Gilbertson, "Overview of telepathology, virtual microscopy, and whole slide imaging: Prospects for the future," *Human Pathology*, vol.40, no.8, pp.1057–1069, 2009.
- [2] T. Kalinski, S. Sel, H. Hofmann, R. Zwönitzer, J. Bernarding, and A. Roessner, "Digital workflow management for quality assessment in pathology," *Pathology – Research and Practice*, vol.204, no.1, pp.17–21, 2008.
- [3] M.N. Gurcan, L.E. Boucheron, A. Can, A. Madabhushi, N.M. Rajpoot, and B. Yener, "Histopathological image analysis: A review," *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, vol.2, pp.147–171, 2009.
- [4] H. Lange, "IHC goes digital," *Advance for Administrators of the Laboratory*, vol.18, no.3, p.38, 2009.
- [5] 小掠真貴, 友久彩香, 齋藤 彰, "IT 活用による次世代病理 病理医を IT で支える病理診断支援システム e-Pathologist—業務効率化に向けた運用方法の提案," *病理と臨床*, vol.29, no.12, pp.1326–1331, 2011.
- [6] がん超早期診断・治療機器の総合研究開発, 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構, http://www.nedo.go.jp/activities/EK_00033.html
- [7] 福井智也, 山口雅浩, 村上百合, 木村文一, 橋口明典, 坂本亨宇, 大山永昭, "病理組織標本のデジタルスライド画像における定量的特徴量の算出," 第 30 回日本医用画像工学会大会, OP1-1, 2011.
- [8] 石川雅浩, Sercan Taha Ahi, 木村文一, 山口雅浩, 長橋宏, 橋口明典, 坂本亨宇, "HE 染色肝病理組織標本における方位選択性フィルタを用いた類洞抽出法の提案," *メディカルイメージング連合フォーラム, 信学技報*, vol.111, no.389, pp.337–342, 2012.
- [9] T. Abe, K. Yamazaki, A. Hashiguchi, H. Saito, and M. Sakamoto, "Quantification of liver fibrosis by whole slide image analysis," *Abstracts of the 1st Congress of the International Academy of Digital Pathology, Analytical Cellular Pathology*, vol.34, p.189, 2011.
- [10] C. Atupelage, H. Nagahashi, M. Yamaguchi, M. Sakamoto, and A. Hashiguchi, "Multifractal feature descriptor for histopathology," *Analytical Cellular Pathology*, vol.34, pp.1–4, 2011.
- [11] Y. Yagi, "Color standardization and optimization in whole slide imaging," *Proc. 10th European Congress on Telepathology and 4th International Congress on Virtual Microscopy, Diagnostic Pathology*, vol.6, Suppl. 1, S15, 2011.
- [12] T. Abe, Y. Murakami, M. Yamaguchi, N. Ohyama, and Y. Yagi, "Color correction of pathological images based on dye amount quantification," *Opt. Rev.*, vol.12, no.4, pp.293–300, 2005.
- [13] R.M. Levenson, "Spectral imaging and pathology: Seeing more," *Laboratory Medicine*, vol.35, no.4, pp.244–251, 2004.
- [14] P.A. Bautista, T. Abe, M. Yamaguchi, Y. Yagi, and N. Ohyama, "Digital staining of pathological tissue specimens using spectral transmittance," *Proc. SPIE*, vol.5747, pp.1892–1903, 2005.
(平成 24 年 8 月 17 日受付, 11 月 5 日再受付)



山口 雅浩 (正員)

1987 東工大・理卒, 1989 同大大学院修士課程了, 同助手, 1996 同助教授, 2011 同学術国際情報センター教授. 1999~2006 通信・放送機構(現 NICT)赤坂ナチュラビジョンリサーチセンター・サブリーダー兼務. 光工学, 三次元・カラー画像工学, ホログラフィー, IC カード関連システム等の研究開発に従事. 博士(工学).



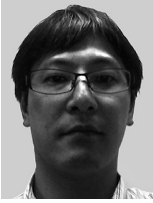
長橋 宏 (正員)

昭 50 東工大・工・電気卒. 昭 55 同大大学院博士課程了. 昭 56 山形大・工・電子工学科助手, 昭 62 同助教授. 平 2 東工大・大学院理工学研究科付属情報工学研究施設助教授, 同教授を経て, 現在, 東工大・像情報工学研究所教授. 画像処理, パターン認識, コンピュータグラフィックスなどの研究に従事. 工博. 映像情報メディア学会, 情報処理学会, 画像電子学会, IEEE 各会員.



坂元 亨宇

1989 慶應義塾大学大学院博士課程了. 同年国立がんセンター研究所病理部研究員, 1995 同主任研究官, 1996 同室長, 1999 同部長を経て, 2002 慶應義塾大学医学部病理学教室教授, 現在に至る. がんの分子病理学, 病理情報学に関する研究に従事. 医博.



橋口 明典

1995 慶大・医卒，同年，同大医学部病理学教室助手，現在（助教）に至る。デジタル病理学，病理情報学に関する研究に従事。博士（医学）。



齋藤 彰

1978 慶大・工卒。1980 同大大学院修士課程了。1980 NEC 入社，スーパーコンピュータ・システムエンジニアとして勤務。2000 年より病理画像解析システム構築に従事。博士（医学）。



小林 直樹（正員）

1979 東工大・理・応物卒。1981 同大大学院物情了。同年日本電信電話公社入社。2000 新潟大大学院博士課程了。NTT 研究所を経て，2008 埼玉医科大教授，博士（工学），2000～2008 ISO/IEC JTC1 SC29 国内専門委員長，画像通信，画像符号化，映像の生体影響解析，医用画像処理の研究に従事。