

G-013

## 肝病理組織標本画像の N/C 比算出システムの開発 Development of N/C Ratio Calculation System for Microscopic Images of Hepatic Histological Specimen

松下 伸光<sup>†</sup>  
Nobumitsu Matsushita

高橋 正信<sup>†</sup>  
Masanobu Takahashi

中野 雅行<sup>‡</sup>  
Masayuki Nakano

### 1. 背景

病理組織診断とは、生体組織をスライス、染色し、顕微鏡で観察する診断手法であり、癌の診断等に用いられている。診断は専門医（病理医）により行われるが、技量や経験によって診断結果が左右されるため、誤診の恐れが指摘されている。そこで、病理医が観察している画像から診断に有用な特徴量を定量的に抽出し、病理医を支援する研究が行われている。

### 2. 目的

初期肝癌であるかどうかを判断する重要な指標のひとつに、N/C比と呼ばれる、核と細胞（細胞領域から核を引いた領域）の面積比がある。肝細胞の場合、非癌部のN/C比は平均7.7%であるのに対し、初期癌では平均12.3%にも及ぶ[1]。

N/C比を算出するためには核と細胞膜の抽出が必要となる。このうち、核の抽出については通常の病理診断で使用される明視野画像を用いた抽出法を実現している[2]。一方、細胞膜の抽出は明視野画像だけでは困難であったが、明視野、暗視野、位相差の3種類の画像を用いること（マルチイメージングと呼ぶ）で抽出精度を改善できることを示した[3]。しかし、細胞膜が細胞を囲む閉領域として抽出できないため、細胞面積を求めるには閉領域化する必要があることや、抽出に必要な教師データの作成に非常に手間がかかることなど、N/C比の算出を行うには課題があった。本研究では、それらの課題を解決し、肝病理組織標本画像のN/C比を算出するシステムを実現したので報告する。

### 3. N/C 比算出処理

#### 3.1 処理手順

N/C比を算出するまでの処理は全てGUI上で行う。標本画像から核を抽出して核面積を算出する処理は従来研究[2]で実現しているGUIを用いて行い、細胞膜抽出からN/C比算出までを本研究で実現したGUIにて行う。

- ① 標本画像から核を抽出し、核の面積を算出。
- ② 細胞膜抽出のための教師データ作成。
- ③ 教師データ学習。
- ④ 細胞膜抽出。
- ⑤ ②～④を細胞膜が十分に抽出されるまで繰り返す。
- ⑥ 細胞膜の閉領域化。
- ⑦ 細胞膜の細線化。（細線化の前に小領域を穴埋め）
- ⑧ 細胞面積算出。
- ⑨ 核面積と細胞面積を用いてN/C比を算出。

#### 3.2 教師データ作成・学習・細胞膜抽出

従来研究では、標本画像全体を細胞膜と非細胞膜の2つの領域に手で分けることで教師データを作成していた。これは非常に手間のかかる作業であるため、GUI上で画像の一部分を指定して教師データを作成する機能を実現した。

図1はGUIで教師データを作成している画面である。マウスなどを用いて細胞膜部分に線を引くことで線上を教師データとする。非細胞膜部分は領域が大きいため、四角形を描きその範囲内を非細胞膜の教師データとすることで簡単に指定できるようにした。また、画像の一部を指定して、図2のように拡大表示することもできる。この場合、拡大画像中の細胞膜を指定すると、指定しなかった領域が非細胞膜として扱われる。

作成した教師データを学習し、細胞膜の抽出を行うと、抽出結果は原画像上に重ねて表示される。実際の細胞膜と抽出結果を比較し、結果をさらに改善したい場合は、抽出結果を修正し、教師データを改善する。こうした教師データの改善処理を繰り返すことで、抽出精度を改善できる。

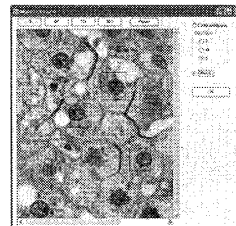


図1 教師データ作成画面

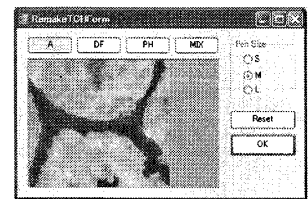


図2 拡大画像からの教師データ作成画面

#### 3.3 細胞膜の閉領域化

細胞面積を算出するには、細胞膜が細胞質を囲って閉領域になっている必要がある。しかし、図3のように、抽出した細胞膜が必ずしも閉領域になっているとは限らない。そこで、マウスを用いて細胞膜を修正して閉領域化する。

修正は手動で行うため、閉領域になっているかどうか目で見ても判断しなくてはならず、視覚的にわかりにくいという問題がある。そこで、リアルタイムでラベリングを行い、閉領域を図4のように自動的に赤色にする機能を実装した。これにより、閉領域かどうかが即座に判断可能となった。

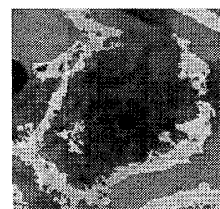


図3 修正前

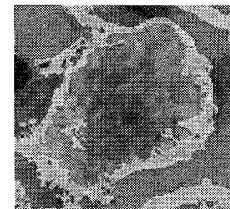


図4 修正後

<sup>†</sup> 芝浦工業大学 Shibaura Institute of Technology

<sup>‡</sup> 大船中央病院 Ofuna Chuo Hospital

4. 実験

実験に使用した標本画像は600×500画素で、CPUはIntel Core2 Duo E8500 3.16GHzを用いた。

4.1 識別手法

従来研究[3]では識別手法に階層型ニューラルネットワークを利用したが、一般的によく用いられるSVM (Support Vector Machine) についても検討し、両者を比較した。

特徴量として、画素ごとの色と色度を用い、教師データは、あらかじめ標本画像の細胞膜を手動で抽出した正解画像を用いて作成した。教師データは細胞膜と非細胞膜の合計で3000とし、正解率の評価は正解画像を用いて行った。

10標本を用いて実験を行い、3種類の画像の色情報の様々な組み合わせについて細胞膜と非細胞膜の抽出正解率の平均を求めた。なお、パラメータは最適化し、全標本で同じ値を用いた。平均正解率が高い順番に並べた結果を表1と表2に示す。最も高い正解率はニューラルネットワークで明視野の色と色度、暗視野と位相差の色を用いた場合に得られた。また、処理時間を表3に示す。SVMでは識別に約2分かかり、より大きな画像ではさらに時間がかかることを考えると実用上問題となる。識別正解率も優れていることから、識別器としてニューラルネットワークを採用した。

表1 抽出正解率 (ニューラルネットワーク)

正解率			明視野		暗視野		位相差	
細胞膜	非細胞膜	平均	色	色度	色	色度	色	色度
0.9311	0.8225	0.8768	○	○	○	×	○	×
0.9011	0.7959	0.8485	○	○	○	○	×	×
0.9057	0.7803	0.8430	×	×	○	○	○	○
0.8611	0.8189	0.8400	○	○	×	×	○	○
0.8472	0.7709	0.8091	○	○	×	×	×	×
0.8128	0.7774	0.7951	×	×	×	×	○	○
0.8163	0.7125	0.7644	×	×	○	○	×	×

表2 抽出正解率 (SVM)

正解率			明視野		暗視野		位相差	
細胞膜	非細胞膜	平均	色	色度	色	色度	色	色度
0.8704	0.8140	0.8422	○	○	○	○	○	○
0.8606	0.7765	0.8186	×	×	○	○	○	○
0.8646	0.7506	0.8076	○	○	×	×	○	○
0.8208	0.7748	0.7978	○	○	○	○	×	×
0.8633	0.7019	0.7826	×	×	×	×	○	○
0.8678	0.6563	0.7620	○	○	×	×	×	×
0.7054	0.7683	0.7368	×	×	○	○	×	×

表3 処理時間

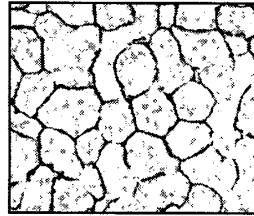
識別器	学習時間 (sec)	識別時間 (sec)
SVM	1.5	118.5
Neural Network	24.8	0.6

4.2 細胞膜抽出結果の改善

細胞膜抽出結果には、図5のように誤抽出された小領域が多く存在する。そこで、小領域削除で誤抽出領域を削減

した。削除する面積の閾値を350画素とした場合に平均正解率は87.68%から88.22%へ0.54%改善された。

また、細胞膜の抽出の際には核の抽出結果が利用できるため、核領域を膨張し、周辺部分も含めて除去することで誤抽出領域の低減を図った。その結果、平均正解率が88.22%から88.61%へさらに0.39%改善され、小領域削除との合計で0.93%改善された。図5の抽出結果に小領域削除と核領域の除去を行った結果を図6に示す。



黒：正解，赤：誤抽出，青：抽出されなかった細胞膜

図5 抽出結果例

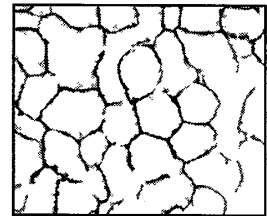


図6 改善処理後

4.3 N/C 比算出実験

実現したGUIを用いて、標本画像からN/C比を算出する実験を行った。なお、GUIはC#で作成した。実験には図7の標本画像を用いた。図8は細胞膜抽出を行い、N/C比を算出できる状態にした画像である。

今回用いた標本画像では、7細胞がN/C比の算出対象となった。その他の細胞は核が無い、画像端で細胞が切れているなどの理由で算出対象にはならなかった。結果として、7細胞それぞれのN/C比を算出することができ、平均N/C比12.1%、標準偏差2.5%という結果が得られた。

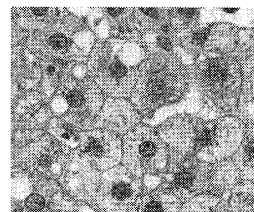


図7 標本画像

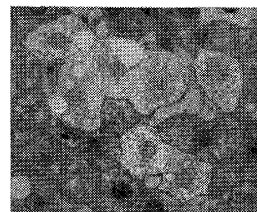


図8 N/C比算出処理後

5. まとめ

N/C比算出システムを実現した。GUI上で教師データを作成し、改善する手法を実現したことで、従来よりも手間をかけずに細胞膜抽出が行えるようになった。実験用に用意した標本画像で試行したところ、およそ5分でN/C比を算出できた。また、細胞膜の抽出に用いる識別法としては、SVMよりもニューラルネットワークが有用であることがわかった。

今後の課題としては、現在手動で行っている細胞膜の開領域化を自動化することなどで、N/C比算出に要する時間をさらに短縮することが挙げられる。

参考文献

- [1]中野雅行, "高分化型肝細胞癌の画像解析による組織診断-核の円形度の有用性について-", 肝臓, 31(3), pp.318-323, 1990.
- [2]M. Takahashi, et al. "Accuracy Improvement of Nuclear Position Extraction from Hepatic Histopathologic Images", EMBC2008, Antwerp, P142, 2008.
- [3]鳥澤, 他: "肝病理組織標本画像中の細胞膜抽出におけるマルチイメージング利用の検討", 信学会総合大会, D-16-9, 2009.