

病理画像の自動染色変換

藤谷 真之¹ 望月 義彦¹ 飯塚 里志¹ シモセラ エドガー¹ 石川 博¹

概要: 動物から採取した検体をスライスし、顕微鏡で観察する際に、細胞組織の構造を見やすくするための処理として HE (Hematoxylin & Eosin) 染色が一般に用いられる。HE 染色では確認が難しい組織を観察するために、スライスに別の染色方法が用いられるが、同一のスライスに対し、複数の方法による染色結果を同時に示すことはできない。本研究では、このような病理画像に対し、別の染色方法を施した場合の画像を出力する手法を提案する。この変換には、画素情報の他、形状やテクスチャの特徴を利用した変換を行う CNN (Convolutional Neural Network) を用いる。この CNN の入出力には、顕微鏡画像の色特徴を表現するのに適した HSD 色空間で表された画像を用いる。CNN の学習には、本来同一のスライスの異なる染色対のデータセットが必要だが、これを作成することは不可能であるため、入力画像と細胞組織の構造が類似している画像を教師データとして学習を行う。実験は、HE 染色画像から MT (Masson & Trichrome) 染色画像への変換を行い、隣接スライスと比較した。本手法により、HE 染色画像から、MT 染色結果に近い画像を出力することができた。

Stain conversion of pathological image

MASAYUKI FUJITANI¹ YOSHIHIKO MOCHIZUKI¹ SATOSHI IZUKA¹ EDGAR SIMO-SERRA¹
HIROSHI ISHIKAWA¹

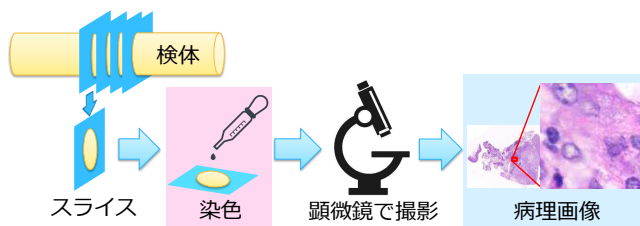


図 1: 病理画像作成の流れ

1. はじめに

病理診断では、患者の病状を把握するために、患者から採取した検体から標本作製し、顕微鏡等を用いて細胞レベルでの診断が行われる。図 1 に示すように、検体のスライスを顕微鏡で撮影して病理画像を作成することを病理染色という。病理染色は、検体から標本作製する際に、特定の組織を目立たせるため、あるいは患部を明確にするために行われる。

病理染色には、細胞組織の形態情報の獲得を目的とするヘマトキシリン・エオシン染色 (HE 染色) や、膠原繊維の強調を目的とするマッソン・トリクローム染色 (MT 染色) など、目的に応じた様々な方法がある。図 2 に、両染色を施したスライスの顕微鏡画像例を示す。HE 染色は主に細胞核を青紫色に染色し、細胞質などの部分をピンク色に染色する。MT 染色は主に細胞核を黒紫色に、細胞質を赤紫色に、膠原繊維を青色に染色する。

検体から作製したスライスへ病理染色を施すと、染色液の色素がスライス内の細胞組織に反応して色を示す。そのため、同じスライスを用いて他の病理染色方法での染色を施して、目的に沿った染色を行うことは不可能である。医療現場では、一度染色した組織について、施した病理染色によって得られない特徴は病理学者の経験から推定される。

従来研究では、物体のさまざまなスペクトル特性を記録したマルチスペクトル画像から、HE 染色から MT 染色への変換を行っている。橋本の手法 [3] では、ヘマトキシリン単色染色 (H 単色染色) を施した顕微鏡画像から、各染色方法について、細胞組織ごとに吸光スペクトル特徴をとり、最

¹ 早稲田大学
Waseda University, Shinjuku, Tokyo 169-8555, Japan

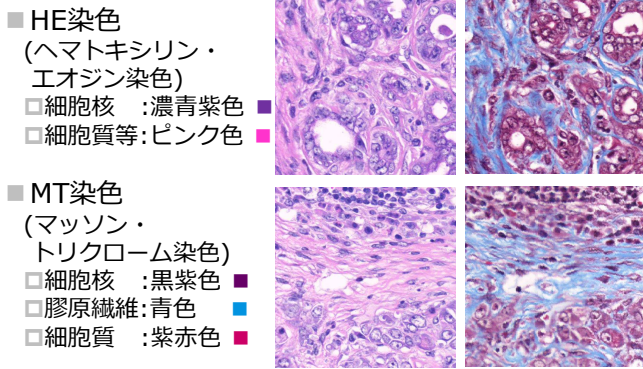


図 2: HE 染色および MT 染色の例. 上図が HE 染色, 下図が MT 染色である.

適な色情成分を求めた上で, HE 染色や MT 染色への画像変換を行う. この手法は, マルチスペクトル画像のほか, 染色液から事前に吸光係数を求める必要がある.

また, Bejnordiらの研究 [1]では, 染色されたスライスの顕微鏡画像の色変換を, RGB 画像を入力として行っている. この研究は HE 染色の試料の調整方法により異なる色のムラを正規化することが目的である. 詳細は 2 章にて述べる.

病理画像について, 同じスライスに別の染色を用いた場合の病理画像の推測を実現すれば, 1 回の染色から複数の組織の情報を得ることができるため, 臨床上大きな意味を持つ.

本研究の目的は, 図 3 のように, 1 枚の染色済みスライスの顕微鏡画像を入力とし, スライスに別の染色方法で染色した場合の予測画像を自動的に出力することである. 入力スライスを HE 染色したものを顕微鏡で撮影した画像であり, 出力は同一のスライスに MT 染色を施した場合の顕微鏡画像である. このシステムでは, 顕微鏡画像処理に適した色空間である HSD 色空間 [8], および深層学習の一種である CNN (Convolutional Neural Network) を用いる.

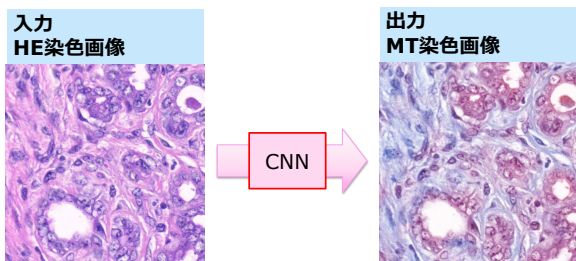


図 3: 本研究の目的. 入出力はいずれも RGB 画像である.

2. HSD 色空間

HSD (Hue-Saturation-Density) 色空間 [8] は, 顕微鏡画像において, 染色液の色素の分類を目的として提案された色空間であり, RGB 色空間の各チャンネルの吸光度から, 染色液の色素を表す染色成分 (c_x, c_y), 染色液の濃度を表す濃度成分 D を求め, 3 次元空間 (c_x, c_y, D) として表される.

RGB 色空間から HSD 色空間への変換は以下の式で表される. I_{ch} は RGB 各チャンネル ch における強度, D_{ch} はチャンネル ch における吸光度を, $I_{o,ch}$ は染色をしていない場合のチャンネル強度, つまり実験時に空のセルを写した場合の画像におけるチャンネル強度を表す.

$$D = \frac{D_r + D_g + D_b}{3}$$

$$c_x = \frac{D_r}{D} - 1$$

$$c_y = \frac{D_g - D_b}{\sqrt{3}D}$$

$$D_{ch} = -\ln\left(\frac{I_{ch}}{I_{o,ch}}\right) \quad (1)$$

HE 染色画像および MT 染色画像における, それぞれの染色液の色素が反応しているピクセルを抽出して得た染色成分平面上の分布を図 4 に示す. HE 染色, MT 染色ともに, 染色液の色素がそれぞれ局所的な領域に概ね分布している. 同様に, 濃度成分の分布を図 5 に示す. 以上のことから, こ

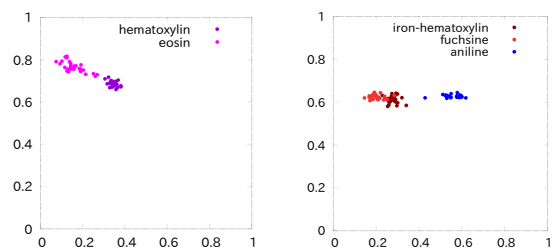


図 4: HE 染色, MT 染色における各染色液の色素の染色成分における分布.

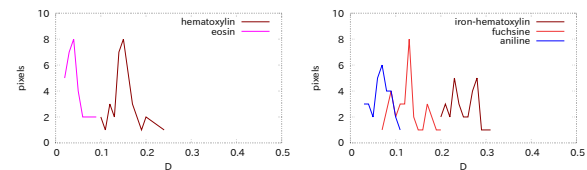


図 5: HE 染色, MT 染色における各染色液の色素の濃度成分における分布.

の色空間では, 染色成分の二次元平面上において染色液の成分の分類が容易であり, 染色液の濃度の違いにかかわらず局所的な領域内で分布し, 染色液の濃度に依存しない染色液の成分の分類が可能である. このことについては 3.3 章にて述べる.

3. 提案手法

3.1 手法概要

HE 染色が施された顕微鏡画像から, MT 染色を施した場合の顕微鏡画像を出力する手法を提案する. 入力 HE 染色画像に対して CNN を用いて色変換を行い, MT 染色

を行った場合の画像を出力する。入力画像を第2章で述べた HSD 色空間に変換してから色変換を行う。HSD 色空間は色相と彩度の成分のみで染色液の成分を分離できるため、染色液の濃度に影響されない染色の色変換が可能であると考えられる。濃度成分は染色液の濃度に依存するとされていることから、図6で示すように HSD 色空間の成分のうち、濃度成分以外の2つの成分(染色成分)のみを CNN の出力とし、出力画像の濃度成分には入力画像と同じ成分を用いる。HSD 色空間で色変換を行う場合、入力画像に対して CNN に入力する前に RGB 色空間から HSD 色空間に変換し、CNN からの出力画像に対して HSD 色空間から RGB 色空間に変換する。

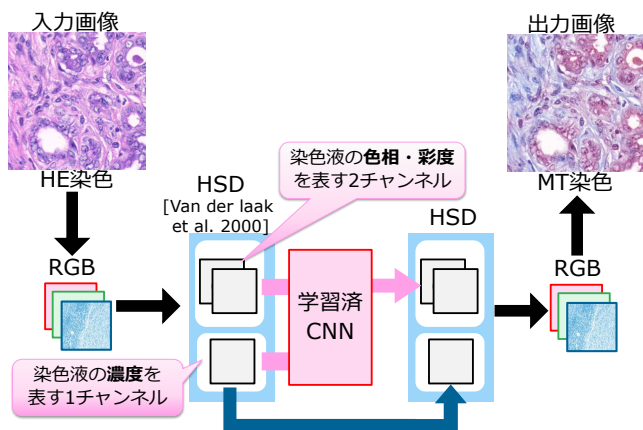


図 6: 色変換処理の流れ

図7で示す色変換を行う CNN の学習では、HE 染色画像を入力とし、MT 染色で染色された場合の画像を出力とする CNN モデルで色の変換を学習させる。提案する CNN モデルは、全ての中間層が畳み込み層で構成されたモデルである。この CNN の学習には、HE 染色画像 I_f 、MT 染色画像 I_m 、HE 染色画像 I_b のスライス画像3枚一組のデータ $D = \{I_f, I_m, I_b\}$ を用いる。データセット内に含まれるデータ D を無作為に選択し、 D に含まれる I_f と I_m からそれぞれパッチ F, M を抽出し、2つのパッチの類似性を評価し、類似性の高い場合のみ、パッチ F を入力画像とし、パッチ M を教師画像として学習用データセットを作成する。パッチの類似性を測る際に、 D に含まれる I_b から抽出したパッチ B を用いる。(ii), (iii)の方法では、採用された両パッチを RGB 色空間から HSD 色空間に変換した画像を用いて CNN を学習させる。

3.2 CNN を用いた色変換

色変換には CNN を用いる。本研究では、HE 染色画像から抽出した入力画像 I_f から MT 染色を施した場合の画像 I_y を出力する CNN モデルを提案する。入力と出力で画像の解像度は同じであり、この CNN モデルでは、任意の解像度の画像を扱うことができる。提案する CNN 構造を表1

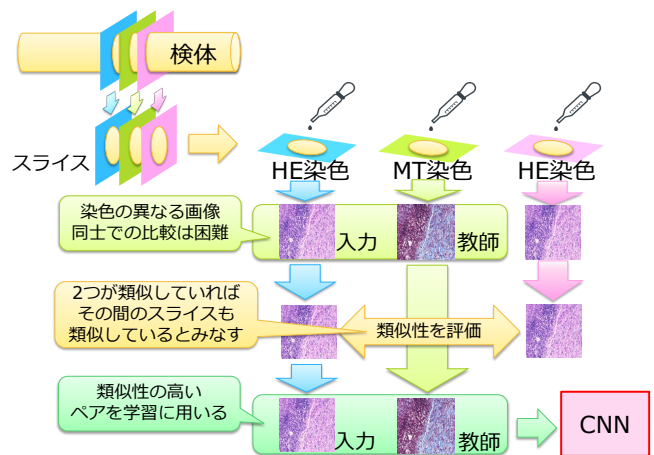


図 7: 色変換を行う CNN の学習方法の流れ

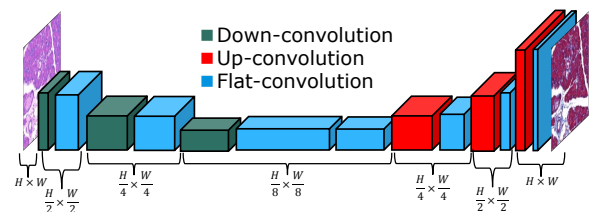


図 8: 色変換 CNN の構造

に、CNN 構造の概要図を図8に表す。

当 CNN モデルは、中間層が全て畳み込み層で構成されている。畳み込み層には、以下の三種類の層を用いた。

- down-convolution
ストライド幅 $s = 2$ の畳み込み層。出力サイズは元のサイズの $1/4$ となる。
- flat-convolution
ストライド幅 $s = 1$ の畳み込み層。出力サイズは元のサイズと同じである。
- up-convolution
ストライド幅 $s = 1/2$ の畳み込み層。出力サイズは元のサイズの 4 倍となる。

各層の入出力サイズを合わせるため、入力の各チャネルのデータに対して周りに 0 の値を埋めるゼロパディングを行う。ここでは畳み込みを行うフィルタカーネルのサイズが 5×5 の場合 2 pixels 分、 4×4 および 3×3 の場合 1 pixel 分のゼロパディングを行う。また、図9のように、最後の層を除き、各層に Batch Normalization[5]を施した後、活性化関数として ReLU を用いる。最後の層のみ、活性化関数に Sigmoid を用いている。

活性化関数 ReLU は以下のように表される。

$$\sigma(x) = \max(0, x) \quad (2)$$

また、活性化関数 Sigmoid は以下のように表される。

$$\sigma(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}} \quad (3)$$

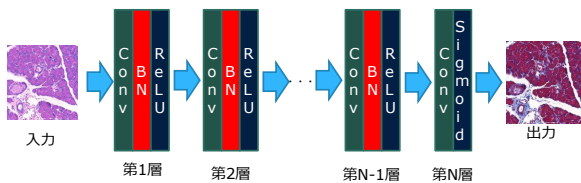


図 9: CNN 各中間層における処理, 図中の Conv はいずれかの畳み込みの処理, BN は Batch Normalization を表す.

表 1: 色変換 CNN のネットワーク構造

type	kernel	stride	size
input			$3 \times W \times H$
down-convolution	5×5	2×2	$48 \times W/2 \times H/2$
flat-convolution	3×3	1×1	$128 \times W/2 \times H/2$
down-convolution	3×3	2×2	$256 \times W/4 \times H/4$
flat-convolution	3×3	1×1	$256 \times W/4 \times H/4$
down-convolution	3×3	2×2	$256 \times W/8 \times H/8$
flat-convolution	3×3	1×1	$512 \times W/8 \times H/8$
flat-convolution	3×3	1×1	$256 \times W/8 \times H/8$
up-convolution	4×4	2×2	$256 \times W/4 \times H/4$
flat-convolution	3×3	1×1	$128 \times W/4 \times H/4$
up-convolution	4×4	2×2	$128 \times W/2 \times H/2$
flat-convolution	3×3	1×1	$48 \times W/2 \times H/2$
up-convolution	4×4	2×2	$48 \times W \times H$
flat-convolution	3×3	1×1	$24 \times W \times H$
flat-convolution	3×3	1×1	$2 \times W \times H$

3.3 色変換 CNN の学習

3.3.1 学習用データセットの作成

CNN の学習に用いる学習用データセットの作成方法について述べる. 第 1 章で述べたように, 同一の検体に対して複数の染色方法を適用することはできないため, 細胞組織の位置関係が完全に合っている顕微鏡画像の正解データの作成は不可能である. そこで, 検体からそのスライスを取り出した場所から近い部位からスライスを作成し, 別の染色方法で染色して顕微鏡画像を作成する, このスライスを隣接スライスと呼ぶ. 図 10 のように, 隣接スライスは入力スライスと組織構造が類似している部分があれば, 類似していない部分もある. 色変換 CNN の学習の際に入力画像と組織構造の類似していない隣接スライスの画像を教師として学習すると, 精度の悪化につながる.

そこで, CNN 学習用データの作成の際に, 入力画像と隣接スライス画像のパッチ間の類似性を評価し, 類似性の高いデータを学習に用いる. ここで, 染色の異なるスライス同士での類似性の比較は困難であるため, 隣接スライスに対しさらに隣接したスライスを採取し, 入力画像と同じ染色を施した上で画像を生成し, この画像と入力画像のパッチ間で類似度を評価する.

図 11 に示すように, 学習用データセットの作成に用いるデータは, HE 染色画像 I_f , MT 染色画像 I_m , HE 染色画像 I_b の 3 枚一組であり, これを $D = \{I_f, I_m, I_b\}$ と表す.

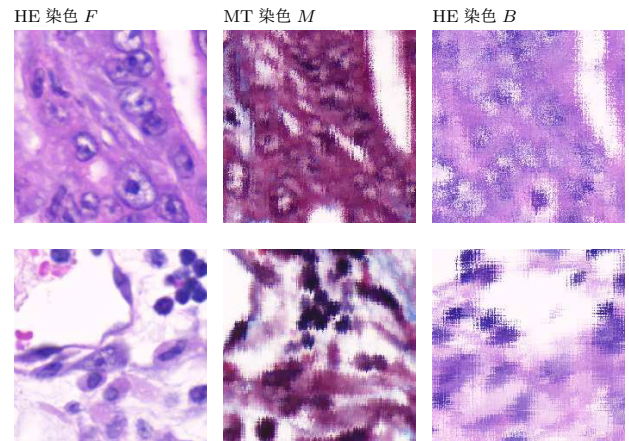


図 10: 隣接スライスのパッチの例. 上段は隣接スライスで位置が合っている例, 下段は位置が合っていない例である. 類似度評価によって, 下段のようなパッチを学習用データセットに含まないようにする.

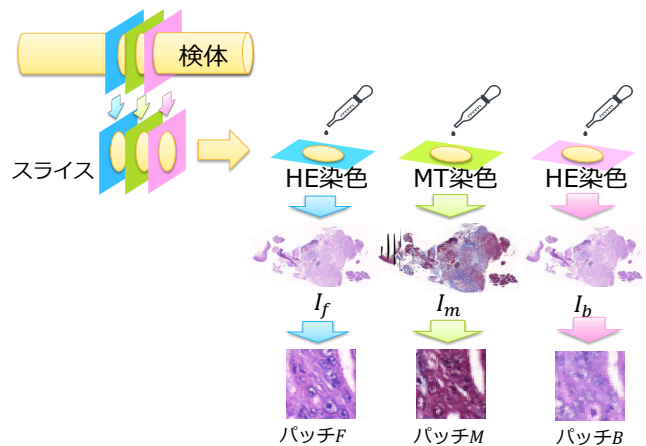


図 11: データセット内に含まれているデータの組

データセット内にはこの組が複数含まれている. I_m, I_b は I_f を教師画像とした非剛体位置合わせが施されている. レジストレーション手法の概略を以下に記す. ここでは, 浮動画像を I_f , 参照画像を I_R とする.

- (1) 低解像度画像で求めたランドマーク点座標を高解像度画像の座標に変換し, プロクラステス解析により並進, 回転を求め, I_R を I_f の空間に変形, 変形後の画像を I'_R とする.
- (2) I_f 上の各ランドマーク点について, I'_R 上で対応する点を探査.
- (3) I'_R 上の対応点を (1) で求めた変換の逆変換を用いて I_R の空間に写像.
- (4) 対応点を用いて RBF 変形.

3.3.2 パッチの作成

入力画像および教師画像をそのまま学習に用いると, 学習に用いるデータの多様性に欠ける上に, 学習にかかる時間が増大する. そのため, 入力画像と教師画像から, 同一座標でパッチをそれぞれ抽出した上で学習を行う. 使用する

データ D と座標 (r_x, r_y) をランダムに選択し, I_f と I_m から, (r_x, r_y) 頂点としてサイズ $s \times s$ の正方領域のパッチをそれぞれ抽出する. 画像の解像度が大きいので, 予め画像ファイルを等間隔に分割し, 指定された座標 (r_x, r_y) を頂点とするサイズ $s \times s$ の正方領域のパッチの作成に必要な画像データのみを読み込む.

その後, 背景を多く含むパッチを除去するため, 画像の白い部分のピクセルが画像の 50%以上のパッチを除外し, 後述のパッチ類似度評価を行い, 学習用データセットに含むパッチの組を選別する.

3.3.3 パッチ類似度評価

異なる染色間の類似度評価は困難であるため, I_f と I_b から取り出したパッチの類似度評価を行う, それぞれのパッチを F と B とする. この 2 つの類似度が高ければ, その間のスライス画像から取り出したパッチである M とも類似度が高いとみなす. 類似度評価方法として以下のように平均二乗誤差を用い, 閾値以下のデータのみを学習用データセットとして用いる. p はパッチ F 内のピクセル, N はパッチ内のピクセル数, $F(p)$, $B(p)$ はそれぞれ F , B 内のピクセル p におけるピクセル値を表す. E が閾値未満となる F を学習用データとして採用し, I_m から, F と同一の座標から取り出したパッチを M とし, F と M を学習用データセットとして使用する.

$$E = \frac{1}{N} \sum_{p \in F} |F(p) - B(p)|^2 \quad (4)$$

3.3.4 CNN の学習

パッチ F を入力, パッチ M を教師データとして CNN の学習を行う, ミニバッチとして 16 組のパッチの組を用いて学習を行う. 出力画像と教師画像の誤差として損失 L を定義する. 損失 L は以下のように求められる. p は画像 I 内のピクセル, N は画像 I 内のピクセル数, $Y_{ch}(p)$ は出力画像におけるピクセル p のピクセル値, $M_{ch}(p)$ は教師画像として用いた MT 染色画像のパッチのピクセル p のピクセル値であり勾配降下法を用いて, この損失を小さくするように CNN のパラメタの最適化を行う. 勾配降下法の最適化手法には AdaDelta[10] を用いる.

$$L = \frac{1}{N} \sum_{p \in I} |Y(p) - M(p)|^2 \quad (5)$$

4. 実験

出力画像について, 以下の 2 つの評価を行った.

- 出力画像と隣接スライス画像の見た目の比較
- 出力画像と隣接スライス画像の定量的な比較
- HE 染色から MT 染色への染色変換における HSD 色空間上の分布の変化

4.1 実験環境

- CPU: Core i7-6700K, 8 cores
- GPU: NVIDIA GeForce GTX1080
- メモリ :32GB
- OS: Ubuntu 16.10 LTS 64bits
- 実装フレームワーク: Torch7
- 実装言語: Lua

4.2 データセット

マウスの膵臓をおおよそ 4 [μm] ごとにスライスし, あるスライスに HE 染色を施し, その隣接スライスに MT 染色を, さらにその隣接スライスに HE 染色を施す, それらを順に HE 染色画像 I_f , MT 染色画像 I_m , HE 染色画像 I_b とし, 3 枚一組のデータを $D_i = \{I_f, I_m, I_b\}$ とする, データセット内にはこの組が 66 組含まれており, i 番目のデータの組を D_i とする. I_m, I_b は I_f を教師画像とした非剛体位置合わせが施されている. 各組のスライス位置は連続していない, つまり, D_i の I_b と D_{i+1} の I_f は連続したスライスでなく, その間にあるスライス数枚はデータセットに含まれていない. 画像 1 枚の解像度は約 98000 \times 60000 pixels であり, 画像は tiff 形式で保存されている.

4.3 実験

データセット 66 組のうち, 60 組を色変換を行う CNN の学習用データに用い, 残り 6 組をテスト用データに用いた. 学習をさせた CNN に画像を入力し, 出力された画像について評価を行う. 学習に用いたパッチのサイズは 224 \times 224 pixels であり, 1 回の反復につき 16 組のパッチ組を学習させる. 色変換を行う CNN の学習で 200,000 回のイテレーションに要した期間はおよそ 3 週間であった.

4.3.1 出力画像の評価

入出力の色変換方法について, 以下の 3 通りの方法を比較した. 3 章で述べた手法は (iii) にあたる. (i), (ii) の手法では, CNN 構造の最終層のサイズが 3 \times $W \times H$ となる.

- RGB 色空間の画像を入力とし, RGB 色空間の画像を出力とする変換. CNN の教師データとして RGB 色空間の画像を用いる. この場合, RGB 色空間から HSD 色空間への変換処理および, HSD 色空間から RGB 色空間への変換処理を行わない.
- HSD 色空間の画像を入力とし, HSD 色空間の画像を出力とする変換. CNN の教師データとして HSD 色空間の画像を用いる.
- HSD 色空間の画像を入力とし, HSD 色空間の画像を出力とする変換. ただし, HSD 色空間の染色成分 (c_x, c_y) のみを CNN の出力とし, 入力画像と同じ濃度成分 D を用いる. CNN の教師データとして HSD 色空間の画像の染色成分 (c_x, c_y) のみを用いる.

以上の 3 つの色変換方法による染色変換の出力画像について

て評価する. 図 12 において, それぞれの入力画像, 出力画像, 隣接スライス画像を示す. また, (iii) の手法における出力との比較を図 13 に示す. 解像度は全て $600 \times 600 \text{ pixels}$ である.

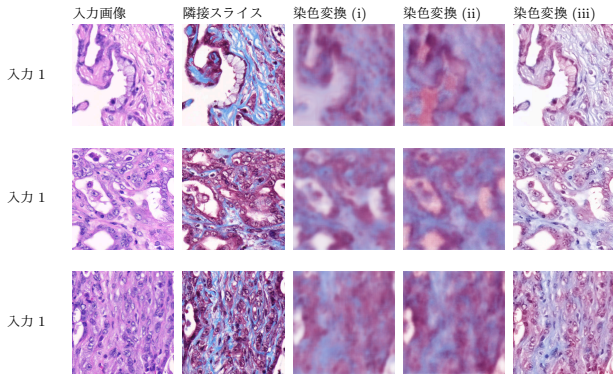


図 12: 3つの色変換方法を用いた出力結果の比較. 色変換 CNN は 3つの色変換方法ともに反復回数 25,000 時のものを用いている.

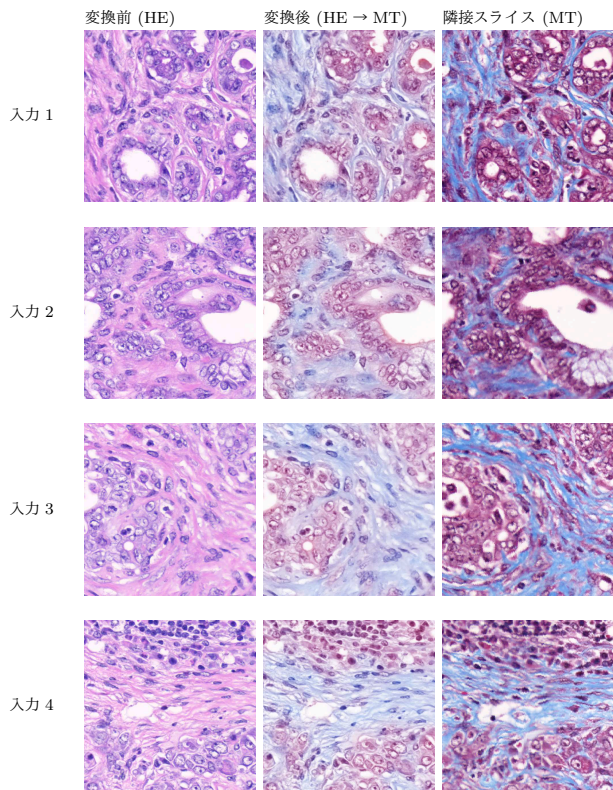


図 13: 色変換方法 (iii) の出力結果の比較. 色変換 CNN は反復回数 200,000 時のものを用いている.

4.3.2 定量的評価

定量的評価の方法として, 出力画像と隣接スライス画像の平均二乗誤差を用いる. テストデータ $D_i = \{I_f, I_m, I_b\}$ について, I_f と I_m , I_m と I_b の間で, 染色成分 (c_x, c_y) の 2チャンネルの平均二乗誤差 C_f, C_b を求め, 出力画像と隣接

スライスの類似性の評価として用い, 反復回数を増やすことで精度が向上するかどうかを観察する.

I_f, I_m, I_b のうち, 染色成分 c_x, c_y の 2チャンネルをそれぞれ I_{fc}, I_{mc}, I_{bc} , 濃度成分 D の 1チャンネルをそれぞれ I_{fd}, I_{md}, I_{bd} とする. と C_f, C_b は以下のように求められる. p は I_m 内のピクセル, N は画像内のピクセル数, $I(p)$ は画像内のピクセル p におけるピクセル値を表す.

$$C_f = \frac{1}{N} \sum_{p \in I_m} |I_{fc}(p) - I_{mc}(p)|^2$$

$$C_b = \frac{1}{N} \sum_{p \in I_m} |I_{bc}(p) - I_{mc}(p)|^2 \quad (6)$$

表 2 で, 解像度が $600 \times 600 \text{ pixels}$ である 274 枚の画像テストデータを用いて, それぞれ色変換を行った出力画像から求めた, 色変換 CNN の各反復回数ごとの C_f, C_b の平均値を示す.

表 2: 色変換 CNN の学習の反復回数と C_f, C_b 平均二乗誤差の平均値の関係

反復回数	S_f の平均値	S_b の平均値
0	3.36×10^{-2}	3.38×10^{-2}
1,000	1.35×10^{-2}	1.46×10^{-2}
5,000	1.28×10^{-2}	1.44×10^{-2}
10,000	1.29×10^{-2}	1.48×10^{-2}
20,000	1.28×10^{-2}	1.46×10^{-2}
30,000	1.28×10^{-2}	1.43×10^{-2}
40,000	1.22×10^{-2}	1.41×10^{-2}
50,000	1.24×10^{-2}	1.42×10^{-2}
60,000	1.20×10^{-2}	1.40×10^{-2}
70,000	1.18×10^{-2}	1.39×10^{-2}
80,000	1.18×10^{-2}	1.40×10^{-2}
90,000	1.18×10^{-2}	1.41×10^{-2}
100,000	1.20×10^{-2}	1.42×10^{-2}
120,000	1.13×10^{-2}	1.38×10^{-2}
140,000	1.12×10^{-2}	1.37×10^{-2}
160,000	1.14×10^{-2}	1.39×10^{-2}
180,000	1.12×10^{-2}	1.37×10^{-2}
200,000	1.14×10^{-2}	1.39×10^{-2}

4.3.3 画像の HSD 色空間上の分布

600×600 入力画像に対して, 学習済み CNN を用いて染色変換を行った. CNN による染色変換が正しく行われているかを確認するため, 図 15 にて示される実験に使用した変換前画像, 変換後画像, 隣接スライスの 3つの画像について HSD 色空間における色相と彩度の成分の分布を示した. また, 異なる染色間での濃度成分を比較するため, 染色変換前画像と隣接スライス画像について HSD 色空間における濃度の成分の分布を示した.

図 16a にて, 染色変換前画像, 染色変換後画像, 隣接スライス画像の HSD 色空間における色相と彩度の成分の分布を示す. この結果より, CNN により染色成分が目的とな

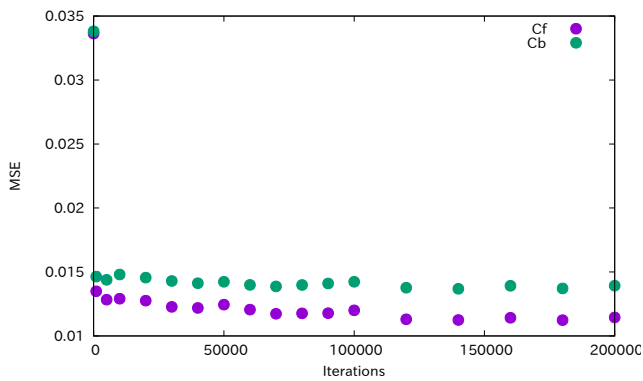
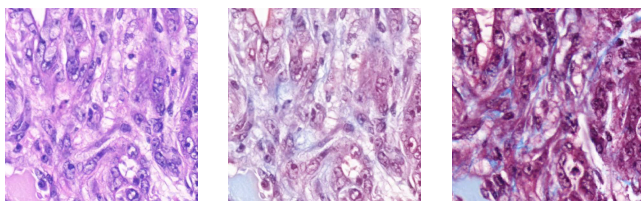


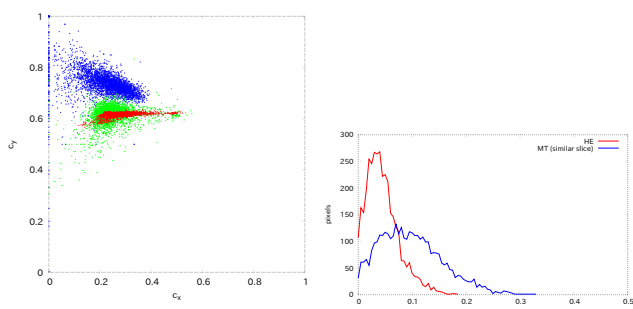
図 14: 色変換 CNN の学習の反復回数と平均二乗誤差の関係



(a) 入力画像 (HE 染色) (b) 出力画像 (MT 染色) (c) 隣接スライス画像 (MT 染色)

図 15: 実験に用いた画像, (a) は変換前の画像, (b) は変換後の画像, (c) は隣接スライス画像である。

る染色に近いように変換されることが確認できた。染色変換前画像と染色変換後画像は異なる分布を示し、染色変換後画像と隣接スライス画像では類似した分布を示した。図 16b にて、染色変換前画像と隣接スライス画について HSD 色空間における濃度の成分の分布を示す。この結果から入力となる染色画像の濃度分布と、変換の目的となる染色画像の濃度分布が異なることがわかった。



(a) 色相-彩度分布

(b) 濃度分布

図 16: (a) は染色変換前後および隣接スライスの HSD 色空間における分布。左は全画素の色相-彩度分布 青は染色変換前画像, 赤は染色変換後画像, 緑は隣接スライス画像である。(b) は濃度分布を示し, 赤は染色変換前画像, 青は隣接スライス画像である。

4.4 考察

実験 4.1 において、出力画像の見た目の評価を行った。全体的な見た目は類似しているように見えるが、図 17 に示すように、細胞核のような、微細な組織の色変換が上手く行っていない。これは色変換 CNN の学習において入力画像と教師画像を隣接したスライスからとっているため、図 18 に示すように、隣接スライス同士で単一の細胞核が存在しているとは限らないためである。これを改善するために、パッチの類似性評価を厳しくすること、あるいは微細な組織の変換を別の方法で行うことを検討している。しかし、パッチ類似性の評価を厳しくすることと、学習にかかる時間はトレードオフの関係にあるため、両者の兼ね合いも考慮する必要がある。



(a) 入力画像 (HE 染色)

(b) 出力画像 (MT 染色)

図 17: 変換が上手くいっていない部分の例。赤の矩形内のように本来黒紫色に染まる細胞核が、黄色の矩形内では青色に染められている。

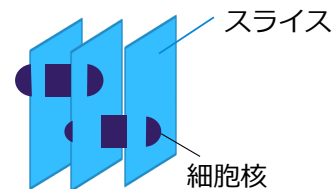


図 18: スライス間における細胞核のイメージ図。中央のスライスと左のスライスを比べたとき、上にある細胞核は両方のスライスに存在しているが、下の細胞核は中央のスライスにのみ存在している。

実験 4.2 において、CNN 学習の反復回数ごとの、隣接スライスと出力画像の平均二乗誤差を求めた。これは、CNN の学習により、色変換の精度が向上するかどうかを調べたものである。結果として、学習を重ねていくにつれて概ね平均二乗誤差は小さくなっていくため、CNN の学習を重ねることで精度が向上していくことが確認できる。ただし、使えるデータセットには限りがあるため、より多くの情報を得ることが出来るよう、学習時のパッチの作成方法を工夫する必要がある。

また、今回の実験では学習を進めるにつれて出力画像の精度が向上していくことを確認したが、出力画像そのもの

が良い精度であるかどうかは定量的に評価することができなかった。出力画像そのものの精度を測る評価方法の検討が今後の課題となる。

実験 4.3.3 にて CNN による染色変換が正しく行われていることを示した。目的となる染色の分布により近づけるには学習の回数を増やすことが考えられる。また、異なる染色間での染色濃度の違いを示した。ここで、図 19 より、入力画像の濃度成分を定数倍することで、隣接スライスの濃度成分に近い分布となった。このことから、染色変換前の濃度成分を定数倍することで濃度成分の変換を行うことで目的となる染色の濃度成分を得ることができるとわかった。

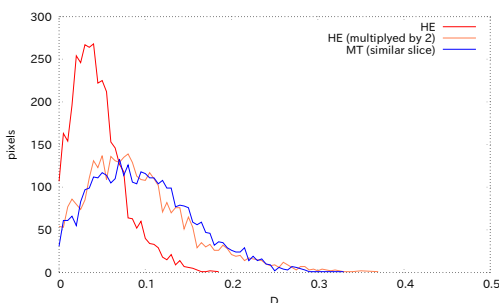


図 19: HSD 色空間における濃度分布, 赤は染色変換前画像, 青は隣接スライス画像であり, 橙色は染色変換前画像の濃度成分を 2 倍したものである。

図 20 では染色変換前画像の濃度成分を隣接スライスの濃度成分で割って得た分布を示している。この分布のピークとなっている値から、濃度成分の変換を行う定数倍の値を決定する。

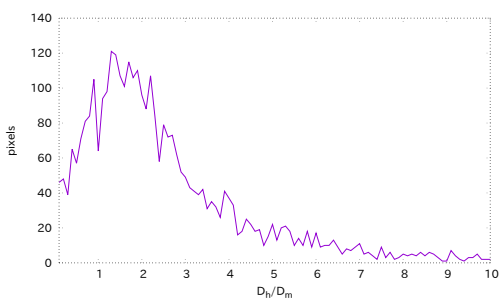


図 20: 染色変換前画像の濃度成分を隣接スライスの濃度成分で割って得た分布

5. おわりに

本研究では、染色が施された検体のスライスの顕微鏡画像 1 枚から、同じスライスに対して別の染色を施した場合の顕微鏡画像を出力するシステムを作成した。データセットから学習に用いるデータセットを選別した上で、顕微鏡画像処理に適した色空間に変換した上で、画像を入力とし画像を出力する CNN モデルを用いて学習を行った。この

CNN モデルを用いて、RGB 画像のピクセル値の情報のみで別の染色結果の画像を出力することができた。

現状、細胞核などの微細な組織の色変換が上手く行われていない。データセットの選別方法の改良、また他の色変換方法を駆使した染色変換方法について検討し、精度を向上させることが今後の課題である。また、定量的評価の方法の検討が必要である。

謝辞 本研究は部分的に JST CREST (No. JP-MJCR14D1), および JSPS 科研費 (No. 26108003) の援助を受けた。

参考文献

- [1] B. E. Bejnordi, G. Litjens, N. Timofeeva, I. Ottehöller, A. Homeyer, N. Karssemeijer, and J. A. W. M. V. D. Laak. Stain Specific Standardization of Whole-Slide Histopathological Images. *35(2):404–415*, 2016.
- [2] H. Chen, X. Qi, L. Yu, and P.-A. Heng. DCAN: Deep Contour-Aware Networks for Accurate Gland Segmentation. *2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pages 2487–2496, 2016.
- [3] N. Hashimoto. PhD thesis.
- [4] L. Hou, D. Samaras, T. Kurc, and Y. Gao. Patch-based Convolutional Neural Network for Whole Slide Tissue Image Classification. *2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pages 2424–2433, 2015.
- [5] S. Ioffe and C. Szegedy. Batch Normalization : Accelerating Deep Network Training by Reducing Internal Covariate Shift. 2015.
- [6] A. Khan, N. Rajpoot, D. Treanor, and D. Magee. A Non-Linear Mapping Approach to Stain Normalisation in Digital Histopathology Images using Image-Specific Colour Deconvolution. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, pages 1729–1738, 2014.
- [7] E. Simo-Serra, S. Iizuka, K. Sasaki, and H. Ishikawa. Learning to Simplify : Fully Convolutional Networks for Rough Sketch Cleanup. *ACM Transactions on Graphics (SIGGRAPH)*, 2016, 2016.
- [8] P. C. M. D. Wilde. Hue-Saturation-Density (HSD) Model for Stain Transmitted Light Microscopy. *Cytometry 2000*, 284:275–284, 2000.
- [9] Y. Xu, Z. Jia, Y. Ai, F. Zhang, M. Lai, and E. I.-c. Chang. Deep Convolutional Activation Features for Large Scale Brain Tumor Histopathology Image Classification and Segmentation. *2015 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP)*, pages 947–951, 2015.
- [10] M. D. Zeiler. ADADELTA: AN ADAPTIVE LEARNING RATE METHOD. 2012.
- [11] 岡谷貴之. 機械学習プロフェッショナルシリーズ, 深層学習, 講談社. 2015.
- [12] 神尾敏弘, 麻生英樹, 安田宗樹, 前田新一, 岡野原大輔, 岡谷貴之, 久保陽太郎, and ボレガラ・ダヌシカ. 深層学習, 近代学習者. 2015.