

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 9 月 11 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K15327

研究課題名（和文）悪性中皮腫早期診断のための工学的解析手法を用いた細胞診検査新技術開発

研究課題名（英文）New technology development of cytological examination using computer analytical methods for early detection of malignant mesothelioma.

研究代表者

木村 文一（Kimura, Fumikazu）

信州大学・学術研究院保健学系・講師

研究者番号：10621849

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：今回の研究では、悪性中皮腫細胞核の核領域の信号値、形状特徴、GLCM、大津の閾値によるオイクロマチン面積比および各クロマチン領域の信号値、Local binary pattern、Tamura特徴量、ガウシアン・ガボールフィルタによる特徴量は核異型の特徴を表していることを明らかにした。さらに、これら特徴量を用いたサポートベクタマシン判別分析によるテクスチャ解析の判別率は80-100%であった。これらの中でガボールフィルタを用いた判別率は一番高い値を示し、日常の細胞診検査を行っていく上で、非常に有用な方法であると思われる。今回作成したソフトウェアを細胞診検査のルーチンワークに有効に活用したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞診検査は体の様々な部位から細胞を採取して、顕微鏡を用いて細胞の形から疾患を判断できる優れた検査法であるが、悪性中皮腫など一部の疾患は、ときに癌ではない炎症性の疾患などと判別が困難な場合がある。近年悪性中皮腫の罹患率が増加している中、早期発見・治療が重要になってくる。そこで人の目では判断が難しい悪性中皮腫をコンピュータの目で、早期発見、正確な診断を行うことで患者に寄与する。またこの方法が確立すれば、他の疾患の判別にも応用が可能になる。今回の研究成果によって、細胞診検査の補助診断ツールとして悪性中皮腫の早期にかつ正しい診断が行えるようになったと確信している。

研究成果の概要（英文）：In this research, we revealed that features were extracted using signal intensity in whole nuclear area, morphological features, GLCM, chromatin ratio and signal intensity in euchromatin and heterochromatin region using Ohtsu thresholding, Local binary pattern, Tamura features, gaussian and gabor filter indicated characteristic of nuclear atypism of mesothelioma. Moreover, in the LSVM discriminant analysis, the accuracies of these texture analysis calculated using these features were 80-100%. Accuracy was calculated using the gabor filter among these texture methods showed the highest value. These methods seem to be a very useful for carrying out routine cytological examinations. We would like to effectively use the software created in this time for the routine cytological examinations.

研究分野：細胞診断、細胞周期制御因子、DNA複製関連蛋白、テクスチャ解析、機械学習

キーワード：Malignant mesothelioma Cytology Effusion Image analysis Texture analysis Support vector machine Cross validation

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 1. 研究開始当初の背景

悪性中皮腫は胸腔、腹腔などの漿膜表面に発生する難治性の悪性腫瘍である。確定診断は病理組織・細胞診断学的方法により形態学的に行われているが、反応性中皮細胞やその他の腫瘍との鑑別が常に必要である。悪性中皮腫の発生はアスベストの暴露と密接な関係があり、アスベスト暴露から悪性中皮腫の発生までおよそ30~40年の潜伏期間があると言われており、早い段階で法的規制が取られたアメリカでは2004年ごろ、ヨーロッパでは2015年~2020年ごろにその発生ピークを迎えると考えられている。法的規制が遅れた日本は、約2025年ごろに発生ピークを迎え、悪性中皮腫による死亡者数は2000年~2040年の40年間で約10万人になると予想されている。「石綿による健康被害の救済に関する法律」により、悪性中皮腫の患者に対する医療費の救済給付が行われている。給付認定条件は、気管支肺胞洗浄液1ml中にアスベスト小体を5本以上認めることが必要である。アスベスト小体は5 $\mu$ m前後と小さいため、顕微鏡検査には多大な労力が必要となっている。申請者は、がん超早期診断・治療機器の総合研究開発のため、肝臓癌病理組織標本から得られた画像を使用して画像特徴量を用いた数量化技術の開発および色・スペクトル情報の高精度化技術の検討を行った経験がある。また、工学部系研究室では、工学的解析技術(テクスチャ解析など)による病理組織画像を用いた研究が行われ始めており、将来的な有用性が期待される。これらの技術を応用した悪性中皮腫に対する客観的指標の開発という着想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、工学的画像解析を用いて悪性中皮腫の客観的な診断支援新技術開発を行う。悪性中皮腫と鑑別を要す反応性中皮細胞やある種の癌では、熟練した細胞検査士や専門医の経験による形態学判断による診断を行っているが、鑑別が困難な症例に遭遇することも多い。悪性中皮腫の早期診断は細胞診検査で行われる事が多いが、細胞異型に頼る細胞診では、免疫組織化学的な方法を加味して判断をしているのが現状である。腫瘍細胞核のクロマチン分布状態を客観的に数値化(工学的テクスチャ解析)し、細胞異型を判断する方法を発見した。進行した悪性中皮腫の治療は困難であるが、MRIなどの医用画像上に現れる前の早期発見による早期治療が最も効果的である。工学的解析技術を用いて悪性中皮腫を早期に発見し、患者の利益に寄与したい。

## 3. 研究の方法

### (1) 症例選択

北里大学病院呼吸器外科にて切除され、北里大学病理検査室で反応性中皮細胞(24例)ならびに悪性中皮腫、(29例)と体腔液の細胞診検査および病理検査で診断された症例を使用した。悪性中皮腫は、病理検査で上皮型中皮腫 Epithelioid mesothelioma と診断された症例を使用した。

### (2) 特徴量算出

Photoshop で選択した画像の座標から、その原画像の核を数値解析ソフトウェア(MATLAB, ver.R2012a, MathWorks Inc., Natick, MA., USA)で切り出し、下記に記す方法で特徴量を算出した。

#### 核領域全体の信号値

反応性中皮細胞および悪性中皮腫細胞核の Red (以下、R), Green (以下、G), Blue (以下、B) 各チャンネルにおける合計信号値、1pixel に対する信号平均値、信号値の標準偏差および分散値を算出した。また同時に疑似カラー画像 pseudocolor image を作製した。

#### 形状特徴

長軸半径、短軸半径、周囲長、面積、複雑度、円形度、線形度および針状比を反応性中皮細胞および悪性中皮腫細胞の核から算出した。

#### 濃度共起行列(以下、GLCM)

コントラスト、相関、エネルギー、均一性に適応して特徴量を算出した。今回の研究では、GLCM 特徴量は距離 d=1, 2, 3, 4 および 5 と量子化 q=16, 32, 64, および 128 にて算出した。判別分析にて一番高い特徴量を示す距離=1、量子化=128 で算出した。

大津のしきい値による信号値(オイクロマチン面積比およびオイクロマチン、ヘテロクロマチンの信号値)

反応性中皮細胞と悪性中皮腫細胞核を、ヘマトキシリンで染まっている領域(a領域、ヘテロクロマチン)とヘマトキシリンで染まっていない領域(b領域、オイクロマチン)を大津のしきい値で分け、その核全体の面積におけるオイクロマチンの面積比(a面積/(a面積+b面積))およびそれぞれの領域における信号値平均(a領域における信号値平均: a領域の信号値合計 / a面積、b領域の信号値合計 / b面積)およびa領域とb領域における信号値の分散値を各RGB-チャンネルから算出した。

#### Local binary pattern (以下、LBP)

Target pixel を中心に、Target pixel から1ピクセル隣の8ピクセルおよびTarget pixel から2ピクセル隣の16ピクセルの信号値を比較する。信号値がTarget pixel よりも高ければ1、低ければ0と表し、R、G および B-チャンネルにおける計28パターンの出現頻度を算出し、LBP 特徴量とした。

## Tamura 特徴量

今回は、粗さを表す Tamura coarseness、ばらつきを表す Tamura contrast を算出した。

ガウシアンフィルタセット (ガウシアンフィルタ) を用いた特徴量抽出

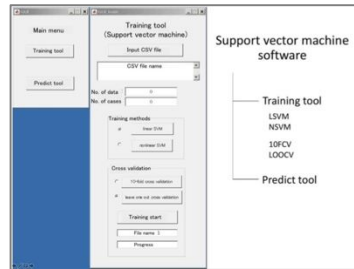
今回はガウシアンフィルタ固有の値をガウス関数により 1 回および 2 回微分した一次導関数ガウシアンフィルタおよび二次導関数ガウシアンフィルタと、それらの角度と標準偏差、すなわち空間周波数の違いにより、計 36 種類のフィルタを使用した。画像の R、G および B の各チャンネルにおける信号値の平均値、標準偏差、歪度、尖度の 4 つを特徴量として算出した。

ガボールフィルタセット (ガボールフィルタ) を用いた特徴量抽出

今回は角度と空間周波数の違いにより 24 種類のフィルタを使用し、R、G そして B-チャンネルの信号値の平均値、標準偏差、歪度、尖度を算出した。

### (3) 機械学習-判別分析 Machine learning-discriminant analysis

本研究では、得られた特徴量を用いて LSVM により反応性中皮細胞と悪性中皮腫細胞の識別を行い、判別精度を算出した。判別精度は、10 分割交差検証 10-fold cross validation (以下、10-FCV)、一個抜き交差検証 leave one case out cross validation (以下、LOCOCV) とベストコスト Cパラメータにて算出した [13,14]。なお、Matlab LibSVM toolbox をもとに、windows operating system 7 および 10 で使用できるソフトウェアを作製して判別率の算出を行った (下図)。



### (4) 統計学的解析

特徴量は、The Kolmogorov-Smirnov test および Shapiro-Wilks Normality test と Mann-Whitney U-test を用いた。統計学的解析は、IBM SPSS Statistics, version 25 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) を用いて行った。有意確率は < 0.05 の時に有意差ありとした。

### (5) アスベスト小体自動検出ソフトウェア

アスベスト小体が認められた肺癌症例 (5 例) の HE 染色標本をバーチャルスライドスキャナ (NanoZoomer, Hamamatsu photonics Corp., Shizuoka, Japan) を用いて対物レンズ 40 倍で whole slide image (WSI) の撮影を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 核領域全体の信号値

核の合計信号値、信号平均値、分散値および標準偏差値を算出した。信号平均値は G および B チャンネルにおいて反応性中皮細胞より悪性中皮腫の方が有意に低値を示した。分散値および標準偏差値は全てのチャンネルにおいて反応性中皮細胞より悪性中皮腫の方が有意に高値を示した。

### (2) 形状特徴量

円形度を除くすべての形状特徴で反応性中皮細胞より悪性中皮腫細胞の方が有意に高値を示した。円形度は反応性中皮細胞より悪性中皮腫細胞の方が有意に低値を示した。

Signal intensity	N	R		G		B	
		Average	SD	Average	SD	Average	SD
Total	RM 640	95400 ± 151210	863792 ± 438431	1272595 ± 531452			
	MM 557	265594 ± 359913	949159 ± 662731	1431900 ± 1038675			
Average	RM 640	17.14 ± 12.95	94.27 ± 21.49	141.4 ± 14.0			
	MM 557	31.81 ± 31.19	88.12 ± 23.24	132.7 ± 18.21			
Variance	RM 640	242.9 ± 250.1	595.6 ± 173.9	241.1 ± 80.55			
	MM 557	384.7 ± 387.1	624.8 ± 289.8	300.9 ± 181.8			
STD	RM 640	13.47 ± 7.85	22.16 ± 3.83	15.32 ± 2.52			
	MM 557	16.41 ± 10.76	24.36 ± 5.61	16.74 ± 4.56			

Abbreviations: \*p < 0.0001, †p < 0.05, significant (Mann-Whitney U-test); N.S., not significant; N, Number of nuclei; RM, Reactive mesothelial cells; MM, Malignant mesothelioma.

N	Radius of long axis		Radius of short axis		Perimeter		Area	
	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	
RM 640	55.77 ± 10.59	47.86 ± 8.97	349.58 ± 61.68	8887.10 ± 3330.71				
MM 557	63.27 ± 18.03	51.69 ± 14.84	381.82 ± 108.99	10978.90 ± 9126.80				
N	Complexity		Roundness		Linear factor		Acicular ratio	
	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	Average ± SD	
RM 640	14.16 ± 0.48	0.89 ± 0.03	1.22 ± 0.17	1.22 ± 0.17				
MM 557	14.30 ± 0.55	0.88 ± 0.03	1.24 ± 0.17	1.24 ± 0.17				

Abbreviations: \*p < 0.0001, †p < 0.05, significant (Mann-Whitney U-test).

### (3) GLCM 特徴量

G および B チャンネルにおいて GLCM contrast は反応性中皮細胞より悪性中皮腫細胞の方が有意に低値を示し、GLCM correlation, energy および homogeneity は反応性中皮細胞より悪性中皮腫細胞の方が有意に高値を示した。

### (4) 大津のしきい値によるオイクロマチン面積比およびオイクロマチン、ヘテロクロマチンの信号値

オイクロマチン領域の面積比では、G-チャンネルでは反応性中皮細胞のほうが、悪性中皮腫より優位に高値を示し、B-チャンネルでは優位に悪性中皮腫が高値を示した。またオイクロマチン領域およびヘテロクロマチン領域の信号値は共に反応性中皮細胞のほうが悪性中皮腫細胞より優位に高値を示した。形状特徴の特徴量を用いた場合が最も低い判別率 60.5%を示し、各領域全体の信号値および形状特徴より濃度共起行列の特徴量を用いた方が高い判別率 80.6%を示した。す

すべての特徴量を用いた判別結果では 86.2% という結果を示した。

GLCM features in RM cells and MM cells

CH	GLCM contrast		GLCM correlation		GLCM energy		GLCM homogeneity	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD	Average	SD
RM	34.796 ± 35.14	0.810 ± 0.18	0.513 ± 0.33	0.753 ± 0.19	187.1 ± 24.10	113.2 ± 22.41	187.1 ± 24.10	113.2 ± 22.41
R	183.222 ± 44.56	0.959 ± 0.02	0.052 ± 0.01	0.484 ± 0.03	201.3 ± 14.68	73.1 ± 24.04	201.3 ± 14.68	73.1 ± 24.04
G	199.828 ± 42.18	0.959 ± 0.01	0.054 ± 0.01	0.580 ± 0.02	156.8 ± 14.66	156.8 ± 14.66	156.8 ± 14.66	156.8 ± 14.66
B	44.963 ± 40.53	0.878 ± 0.13	0.399 ± 0.35	0.493 ± 0.20	96.4 ± 20.35	96.4 ± 20.35	96.4 ± 20.35	96.4 ± 20.35
MM	136.422 ± 46.09	0.941 ± 0.02	0.058 ± 0.02	0.505 ± 0.03	129.9 ± 27.05	57.8 ± 19.98	129.9 ± 27.05	57.8 ± 19.98
R	177.392 ± 50.17	0.945 ± 0.01	0.057 ± 0.02	0.620 ± 0.03	141.7 ± 14.29	141.7 ± 14.29	141.7 ± 14.29	141.7 ± 14.29

Abbreviations: \*p < 0.0001, †p < 0.05, significant (Mann-Whitney U-test); N.S., not significant; N, Number of nuclei; RM, Reactive mesothelial cells; MM, Malignant mesothelioma. The above data was obtained by averaging the value of each angle (0°, 45°, 90°, 135°).

Signal intensity of euchromatin area ratio and each chromatin region in RM cells and MM cells

N	CH	Euchromatin area ratio		Signal intensity of euchromatin region		Signal intensity of heterochromatin region	
		Average	SD	Average	SD	Average	SD
Signal intensity of chromatin area ratio and each chromatin region	RM	640	R: 0.47 ± 0.11 G: 0.39 ± 0.10 B: 0.47 ± 0.11	187.1 ± 24.10 161.1 ± 29.76 201.3 ± 14.68	113.2 ± 22.41 73.1 ± 24.04 156.8 ± 14.66	187.1 ± 24.10 161.1 ± 29.76 201.3 ± 14.68	113.2 ± 22.41 73.1 ± 24.04 156.8 ± 14.66
	MM	557	R: 0.45 ± 0.12 G: 0.37 ± 0.11 B: 0.48 ± 0.11	162.1 ± 23.57 129.9 ± 27.05 182.7 ± 14.53	96.4 ± 20.35 57.8 ± 19.98 141.7 ± 14.29	162.1 ± 23.57 129.9 ± 27.05 182.7 ± 14.53	96.4 ± 20.35 57.8 ± 19.98 141.7 ± 14.29

Abbreviations: \*p < 0.0001, †p < 0.01, significant (Mann-Whitney U-test); N, Number of nuclei; SD, Standard deviation; RM, Reactive mesothelial cells; MM, Malignant mesothelioma.

Results of LSVM analysis in RM cells and MM cells

Analysis	Signal intensity in whole nuclei				Chromatin Area ratio and signal intensity of each chromatin region				GLCM			
	R	G	B	R+G+B	R	G	B	R+G+B	R	G	B	R+G+B
CH	4	4	4	16	5	5	5	15	16	16	16	48
Accuracy rate (%)	64.3	63.8	68.5	80.6	65.2	63.4	66.5	78.3	76.8	70.9	69.1	80.6

Analysis	Morphological features				All features*			
	R	G	B	R+G+B	R	G	B	R+G+B
CH	-	-	-	-	-	-	-	-
MM	8	28	28	28	83	83	83	83
Accuracy rate (%)	60.5	77.6	76.9	75.7	86.2	86.2	86.2	86.2

Abbreviations: CH, Channel; DIM, Dimension.  
\*All features. This accuracy calculated by using features that have been integrated R, G and B-channels of all features ("Signal intensity in whole nuclei", "Chromatin Area ratio and signal intensity of each chromatin region", "GLCM", and "Morphological features").

### (5) LBP 特徴量

LBP の R-チャンネルでは 1、2、3、11、12、13 パターン以外では有意差がみられ、その中で 9、27 では悪性中皮腫の方が低値を示し、これら以外では悪性中皮腫の方が高値を示した。

### (6) Tamura 特徴量

Tamura coarseness のウィンドウサイズ 3×3、5×5、9×9 では R、G および B-チャンネル全てのチャンネルで反応性中皮細胞の方が悪性中皮腫より高値を示し、有意差を認めた。ウィンドウサイズ 33×33 では悪性中皮腫が有意に高値を示し、ウィンドウサイズ 17×17 では有意な差は見られなかった。Tamura contrast では、R-チャンネルにおいて反応性中皮細胞が優位に低値を示した。

### (7) LBP と Tamura 特徴量を用いた判別分析

R、G および B-チャンネルから得られた LBP を単独で用いた場合、81.3%、Tamura 特徴量では 77.2% と LBP の方が高い判別率を示した。また、核領域全体の信号値、形状特徴、GLCM および大津のしきい値によるオイクロマチン面積比およびオイクロマチン、ヘテロクロマチンの信号値などの先行研究で得られた特徴量に LBP と Tamura 特徴量を加えた場合、判別率は 85.9% となった。

### (8) ガウシアンフィルタ特徴量

ガウシアンフィルタ Spatial frequency、2 2; Angle ( ), 0° で得られた特徴量では、標準偏差と歪度は悪性中皮腫の方が反応性中皮細胞より有意に低値を示し、尖度は悪性中皮腫の方が反応性中皮細胞より有意に高値を示した。

### (9) ガウシアンフィルタを用いた判別分析

10-FCV および LOCOCV による LSVM の判別率、そして核の回転処理を行い、回転後の判別率 (10-FCV) を算出、回転処理前後の判別率を比較した。10-FCV による判別率は 80.1%、LOCOCV による判別率は 72.8% であった。カラーチャンネル別では R、G および B-チャンネルの信号値から得た特徴量を用いた判別率は、10-FCV、LOCOCV および核の回転後 Rotation では、それぞれ 79.3%、73.4% および 76.4% を示し、各チャンネルで B チャンネルが最も高い判別率を示した。核回転後の RGB 画像から得られた特徴量を使用した判別率は 79.0% であり、回転による有意な差は見られなかった。10-FCV による導関数判別率は一次導関数特徴量で 76.4%、二次導関数特徴量で 81.1% と後者の方が有意に高い判別率を示した。

### (10) ガボールフィルタ特徴量をもちいた判別分析

R、G および B-チャンネルの各特徴量を使用した場合、99% 台の判別率を示し、RGB 全てのチャンネルを用いた場合は、100% の判別率を示した。3 種類の空間周波数別のガボールフィルタの平均特徴量を用いた LSVM (10-FCV) による判別率は spatial frequency で 99.7%、2 で 100%、および 3 で 99.9% であった。そこで 3 種類の空間周波数別の特徴量うち、一番判別率の高い判別率を示す spatial frequency2 を使用して算出した判別率は、角度 90° が一番高く 100% を示した。このフィルタの R、G および B-チャンネルおよび RGB-チャンネル全てを用いて算出した特徴量を使用した LSVM による判別分析 (LOCOCV) はそれぞれ、81.9%、98.1%、100% および 100% であった。RGB-チャンネルの特徴量を全て使った場合は 100% であったが、B-チャンネル単独で 100% を示した。そして、更にこのフィルタの B-チャンネルにおける 4 つの特徴量について、LOCOCV により判別分析を行った結果、判別率は信号平均値 73.5%、標準偏差 95.0%、歪度 60.7%、尖度 69.4% であり、標準偏差が最も高値を示した。

SVM results using gabor filters

Filter No (Spatial frequency)	SVM result of each spatial frequency of gabor filters			SVM results using features of all gabor filters			
	1-8 (1)	9-16 (2)	17-24 (3)	1-24			
CH	RGB	RGB	RGB	R	G	B	RGB
DIM	96	96	96	96	96	96	288
Accuracy (%)	99.7	100	99.9	99.6	100	99.9	100



SVM results using features of gabor filter No.11 (spatial frequency,  $2\pi, 90^\circ$ )

	Gabor filter No.11 (Spatial frequency $2\pi, 90^\circ$ )				B channel of gabor filter No.11			
	R	G	B	RGB	Mean	SD	Skewness	Kurtosis
CH								
DIM	4	4	4	12	1	1	1	1
Accuracy (%)	81.9	98.1	100	100	73.5	95.0	60.7	69.4
LOCOCV								

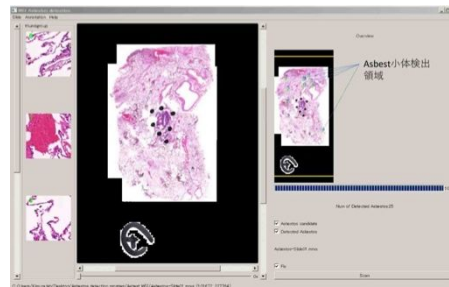
Abbreviations: CH, Channel; DIM, Dimension; LOCOCV, Leave one case out cross validation; Mean, signal intensity average; SD, standard deviation.

今回の研究で用いた各テクスチャ解析方法による特徴量 (RGB-チャンネル全て) を用いた判別分析および spatial frequency 2, 角度  $90^\circ$  のフィルタ (RGB-チャンネル全て) を使用した判別分析は、それぞれ 85.8% および 100% であり、ガボールフィルタを用いた場合のほうが判別率は高かった (下に示す)。

Comparison with previous research's texture analysis and gabor filter No.11

	All texture analysis (Signal intensity in whole nuclei, Morphological features, GLCM, Otsu, LBP, Tamura features, gaussian)				Gabor filter No. filter11 (Spatial frequency, $2\pi, 90^\circ$ )	
	R	G	B	RGB	CH	RGB
CH						
DIM	62	62	62	170	DIM	12
Accuracy (%)	81.7	76.7	80.1	85.8	Accuracy (%)	100
10 FCV					LOCOCV	

Abbreviations: CH, Channel; DIM, Dimension; GLCM, gray level co-occurrence matrix; LBP, local binary pattern; Tamura, Tamura features; 10-FCV, 10-fold cross validation; LOCOCV, leave one case out cross validation. Previous research's texture analysis were Signal intensity, Morphological features, features of the Otsu thresholding technique, GLCM features, LBP features and Tamura features.



(11) アスベスト小体自動検出ソフトウェア

Color Unmixing を用いたアスベスト小体候補領域の検出を行い、局所テクスチャ特徴量を用いた誤検出領域の削減を行い、アスベスト小体自動検出ソフトウェアを作製した。

体腔液細胞診で悪性中皮腫の確定診断の感度は 45.5% であるという報告がある [18]。我々の経験でも感覚的に同程度の診断率かと思われる。今回のガボールフィルタを用いた判別分析では少なくとも 90% 以上の判別率を示しているため、日常の細胞診検査で補助ツールとして使用することは有用であると思われる。

核異型は核の形状やクロマチン、すなわち DNA の量や分布が正常の細胞とどれだけかけ離れているか判断する基準である。細胞診検査では核異型の程度を見て悪性腫瘍の確定診断を行っている。核異型は核の大きさ、形、クロマチンの濃さ、クロマチンの粗さおよび分布の程度を基準としている。上記 4 種類の核異型の基準項目に対し、我々が行ってきたテクスチャ解析との関係を以下に示した。

Correlation between nuclear atypia and texture analysis				
	Mild	Nuclear atypia	Severe	Texture analysis-features
Size :	Small	↔	Large	Morphological features (Axis, Perimeter, Area)
Shape :	Regular, Round	↔	Irregular, Variable	Morphological features (Complexity, Roundness, Linear factor, Acicular ratio)
Hyperchromasia :	Pale	↔	Rich	Signal intensity (Average), Otsu, GLCM (Contrast), Filter (Signal intensity average)
Chromatin distribution :	Uniform	↔	Various, Inhomogeneity	Signal intensity (SD, Variance), GLCM (Contrast, Correlation, Energy, Homogeneity), Filter (SD, Skewness, Krutosis)
Chromatin coarseness :	Fine	↔	Coarse	GLCM (Contrast, Correlation, Energy, Homogeneity), Filter (Skewness, Krutosis)

結論

今回使用した特徴量算出方法、すなわち、核領域の信号値、形状特徴、GLCM、大津の閾値によるオイクロマチン面積比および各クロマチン領域の信号値、LBP、Tamura 特徴量、ガウシアンフィルタ、ガボールフィルタによる特徴量が核異型の特徴を表していることが確認できた。また、これら特徴量を用いた LSVM による機械学習-判別分析では、多くは 80~90% の判別率を示した。その中でもガボールフィルタを用いた判別率は 100% を示すことも有り、この方法は日常の細胞診検査を行っていく上で、非常に有用な方法であると思われる。今回作成したソフトウェアを有効に活用し、細胞診検査のルーチンワークに利用していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kimura F, Ishikawa M, Ahi ST, Atpelage C, Murakami Y, Watanabe J, Nagahashi H, Yamaguchi M.	4. 巻 40
2. 論文標題 Detection of Ki67 expression by analyzing texture of HE-stained Images: the effectiveness of signal intensity and co-occurrence matrix features	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical and Quantitative Cytology and Histology	6. 最初と最後の頁 9-19
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kimura F, Kobayashi T, Kanai R, Kobayashi Y, Ohtani Y, Ota H, Yamaguchi M, Yokokawa Y, Uehara T, Ishii K.	4. 巻 47
2. 論文標題 Image quantification technology of the heterochromatin and euchromatin region for differential diagnosis in the lobular endocervical glandular hyperplasia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagn Cytopathol	6. 最初と最後の頁 553-563
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/dc.24155	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 -

1. 著者名 Kanai R, Ohshima K, Sonohara M, Ishikawa M, Yamaguchi M, Kobayashi Y, Ota H, Ishii K, Kimura F	4. 巻 -
2. 論文標題 Discriminant analysis and interpretation of nuclear chromatin distribution and coarseness using gray-level co-occurrence matrix features for lobular endocervical glandular hyperplasia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagn Cytopathol.accepted	6. 最初と最後の頁 -
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4件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木村文一、溝口貴弘、山口雅浩、村雲芳樹、太田浩良、佐藤之後.
2. 発表標題 悪性中皮腫における客観的数量化技術開発および機械学習機による判別分析研究.
3. 学会等名 第56回日本臨床細胞学会秋期大会.
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村文一
2. 発表標題 画像解析の基本と数理病理学への応用.
3. 学会等名 第52回生体応答科学研究セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村文一、金井峻、大島健吾、小林幸弘、山口雅浩、石井恵子.
2. 発表標題 Lobular endocervical glandular hyperplasiaにおけるテクスチャ解析の有用性.
3. 学会等名 第60回日本臨床細胞学会総会 (春期大会) 60回記念演題 (長野県臨床細胞学会推薦演題) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村文一、永田 毅
2. 発表標題 情報工学的解析技術の基礎と病理組織・細胞診断へのアプローチ.
3. 学会等名 第60回日本組織細胞化学会総会・学術集会ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2019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
研究 分担者	太田 浩良  (Ota Hiroyosi)  (50273107)	信州大学・学術研究院保健学系・教授    (13601)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	佐藤 之俊  (Sato Yukitoshi)  (90321637)	北里大学・医学部・教授    (32607)	
研究 協力者	山口 雅浩  (Yamaguchi Masahiro)  (10220279)		