

<特集「医学系研究における画像解析と臨床への応用」>

医学研究における画像解析

萩 寛 志*^{1,2}

¹株式会社 SCREEN ホールディングス 第三技術開発室

²京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態病理学

Image Analysis in Medical Research

Hiroshi Ogi^{1,2}

¹SCREEN Holdings Co., Ltd. R&D Department 3.

²Department of Pathology and Applied Neurobiology,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

抄 録

今日、画像処理は産業界や学術など専門領域のみならず、我々の日常生活に浸透している。本稿では古典的なものからAI技術を用いたものまで、医学研究における画像解析について解説した。最初に神経科学研究に関連して三次元データ取得とその解析、および大規模な神経線維解析について、次に病理組織画像とAI画像処理に着目した病理診断支援技術について、最後に説明可能なAI (eXplainable AI, XAI) と人間との相互協力の可能性について、実験事例とともに考察した。

キーワード：画像解析，説明可能なAI，病理組織画像，病理診断支援AI，WSI.

Abstract

These days image processing plays important roles not only in industries and research fields, but also in our daily life. Here in this paper, image analyses in medical research, from conventional techniques to recent AI-based analyses, are explained along with some study experiments. First, 3D data acquisition and its analysis, and wide area analysis on nerve fibers especially for neuroscience are covered. Then AI image analysis for pathological diagnosis is explained. Finally, cooperative relationship between explainable AI (XAI) and human is mentioned.

Key Words: Image analysis, Explainable AI (XAI), Histopathological image, AI system for pathological diagnosis, WSI.

令和4年10月25日受付 令和4年10月27日受理

*連絡先 萩 寛志 〒612-8486 京都市伏見区羽東師古川町322

hi.ogi@screen.co.jp h-ogi@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.131.12.941

はじめに

画像処理は産業界や学術など専門的な領域のみならず、今や日常的に我々の生活に利用されるようになってきている。自動車の特定条件下での自動運転や、ロボット掃除機の物体認識、COVID-19（新型コロナウイルス感染症）対策のための顔認識型検温システムなど、画像処理により生活が豊かになるという実感を持てる段階まで浸透していると言えるのではないだろうか。医学研究や臨床現場での画像処理の一形態は画像解析であり、高度化が進むと同時に多くの研究者・医療従事者が利用可能な状態となりつつある。言い換えれば、研究を進める上であるいは医療行為を成す上で、否が応でも画像解析に触れなければならない状況であり、活用するためにはその理解を欠くことができない。本稿では医学研究における画像解析に焦点を当て、古典的なものからAI技術を用いたものまで筆者らの事例を交えて解説を行う。

神経科学研究と画像解析

神経科学研究においては、神経細胞の突起・髄鞘・シナプスなどの独特の形態学的側面と、神経ネットワーク形成に基づく領域単位の機能差異や相互連携といった機能的側面から、画像による視覚的な解析は重要な役割を担ってきた。

例えば、筆者らは環境化学物質への曝露や遺伝子異常がどのように脳神経系の発生・発達に影響を与えるかを明らかにする研究において、胎生期の環境化学物質曝露が神経伝達物質やその代謝物の量に変化をもたらすという実験結果を得た¹⁾²⁾。これらの詳細なメカニズムを解明するために神経伝達物質セロトニン系神経回路の中心である背側縫線核についての解析実験を実施した³⁾が、その際、背側縫線核はサブ領域ごとに入力元・投射先が異なる複雑な構造をとるため、画像解析を用いた方法論として神経核全体の三次元再構成とその形状計測を採用した。三次元データの取得方法としては、一度各種の処理や計測が容易な二次元の状態に分解し、再度三次元に再構成するものである。標本は、モ

デル動物から採取した、Tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) に対する免疫組織化学を施した厚さ40 μm の連続凍結切片40枚で、共焦点顕微鏡にて対物レンズ10倍4 μm 間隔のZスタック画像を撮影した。三次元再構成は画像処理ソフトウェアを用いて以下のステップを実施している：切片間・スライス間の輝度標準化、切片間のアライメント（位置合わせ）、閾値による二値化、等値面の算出。最終的には再構成された三次元オブジェクト（TPH2陽性細胞の集塊を示す）の体積や形状計測を行なっている。図1に三次元再構成結果を示す。図1A-Cがそれぞれ上面、側面、前面視点の像であり、図1D-Eの赤色線分は形状計測を実施した箇所を示している。このように非常に複雑で、二次元画像のみでは直感的に把握しにくい形状についても三次元化することで人間にも理解しやすくなり、また二次元画像では検体の姿勢に起因するアーチファクトもあり正確な定量化が困難であるが、三次元再構成することで定量的な比較解析も可能となる。

三次元データ取得に関連した動きとしては、この15年の組織透明化技術の著しい発展は注目に値するものであろう。Hamaらの手法⁴⁾は尿素をベースとし組織中の光学的な散乱を低減させるものであるが、その他様々なアプローチが開発され、Costantiniらの総説⁵⁾などにメリットやトレードオフがまとめられている。可視化の方法としては遺伝子改変動物やウイルスベクターなどによる蛍光標識を用いることが想定されていたが、免疫組織化学の適用についても報告されており⁶⁾、利用の幅が拡大している。本神経核解析実験においては、40 μm の連続切片のデジタル画像から三次元データを再構成したため、切片作製の手間や画像解析時のアライメント処理などが発生したが、透明化技術の発展により正確な三次元データが手軽に入手可能となることが期待される。

三次元的な配置や形態の解析とともに、神経ネットワークやその基盤となる神経突起の解析も画像解析が力を発揮する場面である。古典的な手法としては、Tonosakiらが水頭症責任遺伝

子と発生期の神経細胞移動の関係性を明らかにした報告⁷⁾に示されているように、特定の二次元平面に投影された形状を手動あるいは半自動で計測する方法がある。より正確な計測方法としては複数の切片画像（あるいはZスタック画像）から立体解析学的推定を行う方法など⁸⁾が提案されており、単一神経細胞レベルの形態解析技術の向上がなされてきた。一方、筆者らがすでに報告しているように、臨床現場や教育を中心に導入された病理組織標本全体のデジタル化技術（Whole Slide Imaging, WSI）は、病理組織標本の大規模解析を身近なものとするものであり、研究ツールとしても急速に普及が進んでいる⁹⁾。筆者らは早くから大規模解析の可能性に着目し、小頭症責任遺伝子の研究においてWSIデータを用いた大規模解析への展開が可能な神経線維解析手法を開発し、MRIの拡散テン

ソル画像による神経線維解析手法との関連性などを報告している¹⁰⁾。当該研究にて解析対象とした病理組織標本は、マウス大脳皮質の前額断切片（厚さ8 μm ）でBodian染色（神経細胞の突起や核・細胞体を染色する鍍銀染色）を施されており、スライドスキャナーにて対物レンズ40倍相当の標本全体のデジタル画像を取得した（図2）。図2は生後5週齢のマウスのものであるが、図2AおよびBの各挿入図で見て取れるように、神経線維は縦横に複雑に走行しているため比較評価することが難しい。そこで筆者らは、MRI拡散テンソル画像解析の結果を念頭に、図3に示す画像処理にて神経線維を縦方向（法線方向）と横方向（接線方向）の断片に分解の上、それらの比率で定量比較する手法を考案した。まず、核や細胞体の染色性と突起部分の染色性が異なることを利用し、二段階の濃度閾値で二

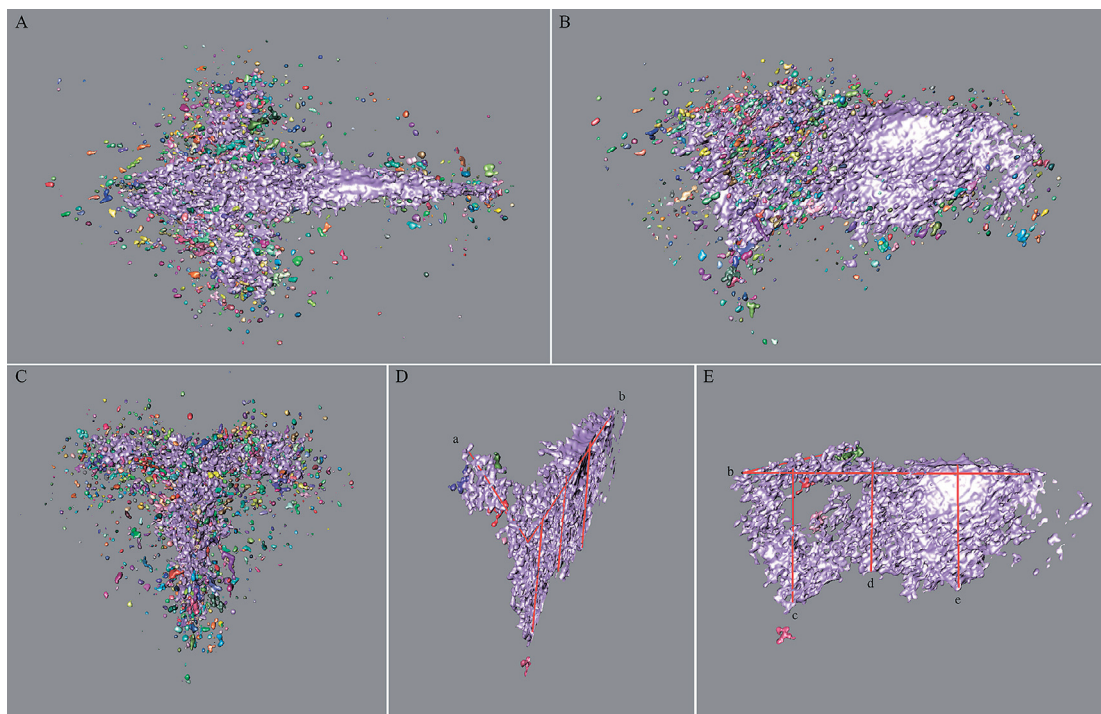


図1 三次元再構成したマウスの背側縫線核³⁾。免疫組織化学を施した40枚の切片、各切片10スライス、合計400スライスの画像データから再構成したもの。A) 上面、B) 側面、C) 前面視点の像。D) 左側面前方斜め上視点の像。E) 左側面視点の像。a: 外側翼区分長, b: 前後軸長, c-e: 背腹軸長。オブジェクトの色分けは視認性向上を意図したものである。

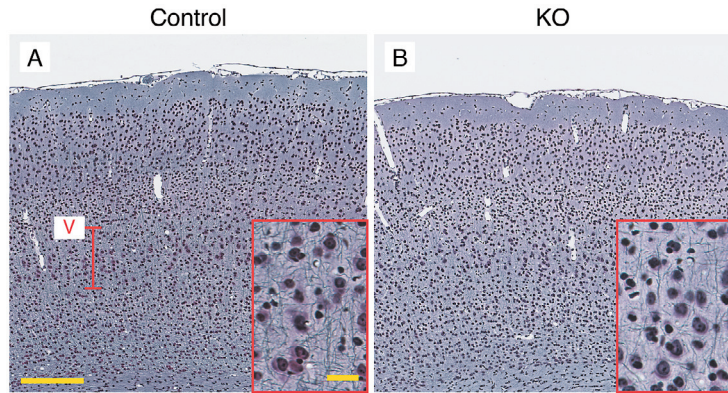


図2 マウス大脳皮質のBodian染色画像¹⁰⁾より抜粋). A) 対照群マウス, B) 小頭症モデルマウス. 縦線(V)は大脳皮質V層を示す. 挿入図はV層の拡大図. 小頭症モデルマウスの大脳皮質は対照群と比して菲薄なことが判断できるが, Bodian染色で濃く染色される神経線維については比較評価が難しい. スケールバー 200 μm (挿入図内は25 μm).

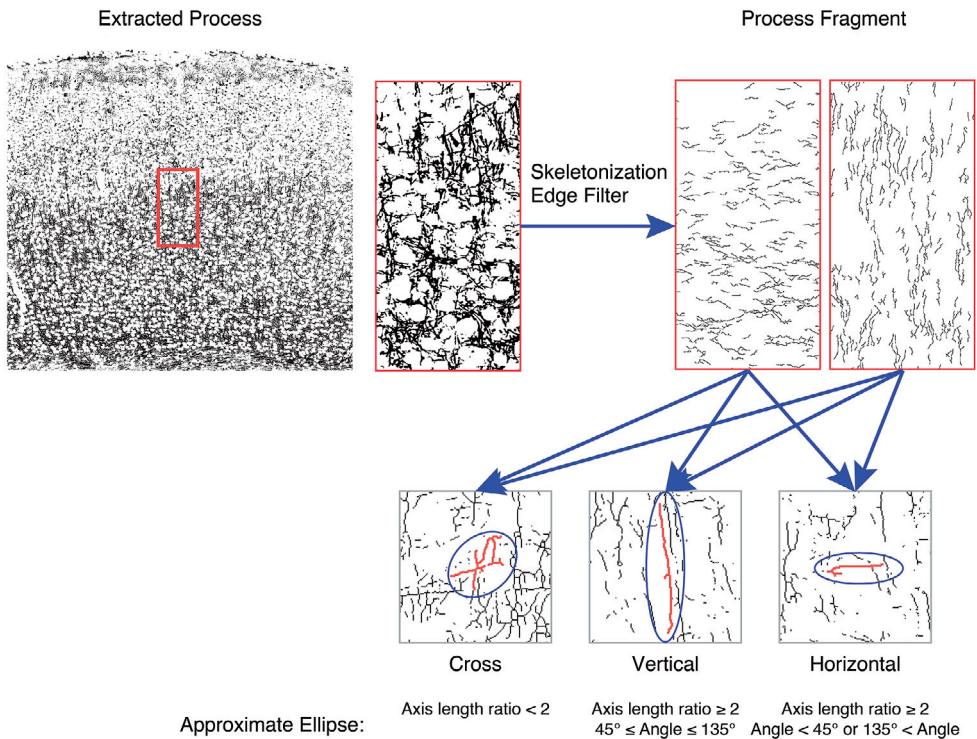


図3 神経線維解析手法¹⁰⁾. まず, Bodian染色画像から異なる濃度閾値による二段の二値化により突起領域のみを抽出する. その後, 細線化とエッジフィルターを適用することで縦横方向の断片を得る (方向性の判断は近似楕円の長軸角度で行う). 各方向の断片長合計値の比率を指標とし解析を実施する.

値化することで突起部分のみを抽出する。その上で、細線化とエッジフィルターを適用することで縦横方向の断片を得る。各方向の断片長合計値の比率を指標とすることで、神経線維の法線方向接線方向の発達度合い、MRI解析における異方性 (Fractional Anisotropy, FA) との関連が想定される、を評価した。本神経線維解析手法は先に述べたような単一神経細胞レベルの解析を行うものではなく、一方でMRI解析よりも直接的で解像度が高く、病理組織標本を対象に巨視的な情報を得ることが可能なものとなっている。単一細胞の高解像度解析と非侵襲的に実施可能なMRI解析の橋渡しをする解析手法としての役割が期待できるのではないだろうか。

病理組織画像とAI画像処理

2019年の特集記事¹¹⁾にて、筆者はその歴史を含めて解説したが、AI技術は画像解析とも相性が良く、医療・医学への応用ではデジタル化の動きが早かった放射線科領域で先行した。病理組織標本は生物個体が持つ多様性と標本作製における各種のバラツキ、加えて情報量の多さから定量化やコンピュータ処理が難しく、病理診断の定量化・自動化を妨げる要因となっていたが、AI技術の発展、WSIの浸透、コンピュータ処理能力の向上などにより状況は大きく変化している。病理組織画像を対象としたAI画像処理の応用先の一つが病理診断支援であり、一般社団法人日本病理学会は2017年より日本医療研究開発機構 (AMED) の支援のもと研究開発事業「Japan Pathology AI Diagnostics Project [JP-AID]」を進め、胃生検の病理診断支援AIを開発した¹²⁾¹³⁾。

上述の胃生検病理診断支援AIもそうであるが、腫瘍を対象とした病理診断支援では多くが「標本レベルでの鑑別」「悪性度推定」「標本内の腫瘍領域提示」を目的としている¹³⁾。理由の一つとして、AI構築に必要なアノテーション作業にかかる労力の問題が挙げられる。ある標本に腫瘍が含まれているかいないかというアノテーション付与は、後ろ向き臨床試験では既に診断

がついているため容易である (つまり、通常の臨床行為によりほぼアノテーション作業が完了している)。一方「標本内のどの部分が腫瘍か」となると、病理医が改めて研究開発用データにアノテーションを付す必要が生じる。さらに、組織型や悪性度の判断に必要な「組織学的・形態学的病理所見」のアノテーションは、さらに詳細な病理学的知識が必要となることから、かかる労力や難易度の高さは想像に難くない。しかしながら、筆者らは、病理診断支援には診断基準となる病理所見の提示が重要であると考え、脳腫瘍を題材に病理所見に着目した病理診断支援AIの研究に取り組んでいる¹⁴⁾。図4は、神経膠腫の組織型判断に関する病理所見提示AIについて示している。病理所見としては図4Aのように「細胞密度 (高中低)」「核異型 (高低)」「血管」「壊死」「核分裂像」の5つとし、異なるタイプの Convolutional Neural Network (CNN) の組み合わせで実装した (図4B)。各病理所見は検出に適した解像度が異なるため、以下の解像度 (対物レンズ倍率) の画像を入力としている: 細胞密度10倍、核異型20倍、血管10倍、壊死5倍、核分裂40倍。AIの構築には、膠芽腫・退形成性星細胞腫・びまん性星細胞腫・乏突起膠腫の4種41症例のHE染色画像を用い、アノテーション作業は医学知識を保有するエンジニアを主体とし、病理医のレビューと組み合わせる形で実施した。抽出した病理所見はHE染色画像に重畳する形で提示される (図5)。高低の度合いが結果となる細胞密度と核異型はAI処理単位である小領域ごとに色分けされ、それ以外の病理所見については抽出箇所が特定の色でマーキングされる。このように抽出された病理所見は視覚的に提示する以外にも定量化することが可能であり、定量数値による支援も可能である。病理医不足が深刻な本邦において、病理診断支援技術の開発は急務である。AIによる病理診断支援が社会実装されるには臨床医、研究者、エンジニア、社会全体の協力と理解が必要であるが、今後も各関係者の取り組みと進展に期待するところである。

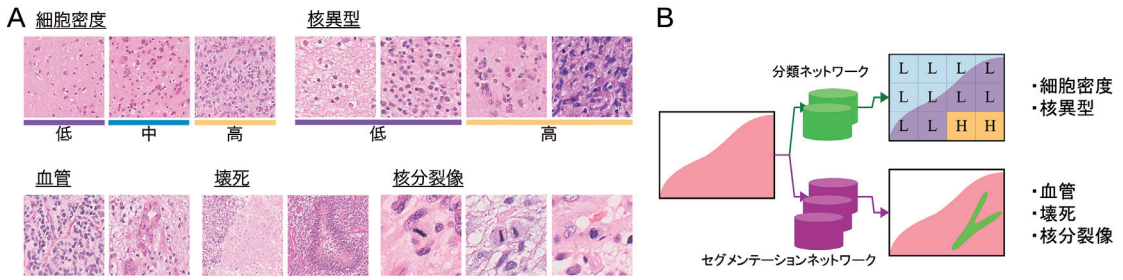


図4 脳腫瘍病理診断支援AIの構成¹⁴⁾。組織型判断支援のための病理所見提示を特徴とする。A) 提示可能な病理所見。いずれも神経膠腫の組織型判断に用いられる、細胞密度(高中低)、核異型(高低)、血管、壊死、核分裂像の5つが提示可能となっている。B) AIの構造。細胞密度と核異型については分類ネットワークの深層学習を用いて、血管、壊死、核分裂像についてはセグメンテーションネットワークの深層学習を用いて実装されている。

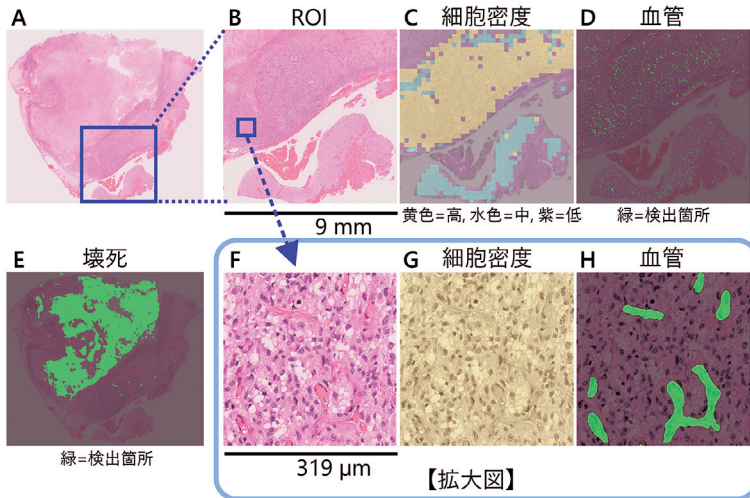


図5 脳腫瘍病理診断支援AIにおける視覚的病理所見提示¹⁴⁾。A) 入力となるHE染色画像。B) 入力画像Aにて青枠で示した領域の拡大像(ROI, 一辺9 mm)。C) ROIの細胞密度判定結果提示。AI処理が行われる小領域ごとに色分けされ重畳表示される(黄色:密度高, 水色:密度中, 紫:密度低)。D) ROIの血管抽出結果提示。抽出箇所が緑色で重畳表示される。E) 壊死の抽出結果表示。F) ROIにて青枠で示した領域の強拡大像(一辺319 μm)。細胞密度と血管の所見抽出時はこの領域サイズがAI処理の単位となる。G) Fの細胞密度判定結果提示。H) Fの血管抽出結果提示。

説明可能なAIと人間の相互協力

前述したAI画像処理の利用は、人間が「判断の基準」については理解しており、画像処理に

落とし込む作業にAI技術を活用したものであった。Fayyadらの報告¹⁵⁾にもあるように、データベースとして蓄積された膨大なデータから未知の有益な情報を得るとい研究は1990年代から

存在するが、ここ数年の著しいAI技術の進化により、同様にAIから未知の有益な知見を得ることや、AIと人間の相互協力関係の構築という観点での研究が盛んに行われている。例えば、Yamamotoらにより病理組織画像を対象とした予後予測に有効な特徴の自動抽出について報告されている¹⁶⁾。

図6に、筆者らが実施した、アルコールや環境化学物質の胎生期曝露影響に関する研究を紹介する。本研究はヒト胎児脳由来の神経幹・前駆細胞による胎生期曝露モデルを用い、アルコールや環境化学物質（本研究においてはbisphenol A, BPAを使用した）の胎生期曝露影響を形態学的・分子遺伝学的に解析することで、*in vitro*スクリーニングシステムの確立を企図したものである。本研究においては、人間にとっては判断が容易な犬・猫画像のクラス分類などは異なり、システム構築時点では各種の曝露でどのような差がみられるか定かではなかった。Nakamuraらによる齧歯類を用いた胎生期BPA曝露実験¹⁷⁾や*in vitro*モデルでの胎生期アルコール曝露実験¹⁸⁻²⁰⁾などから、神経細胞の分化状態を示すマーカー遺伝子発現状態で差異がみられるのではないかといった仮説は立てられるものの、本胎生期曝露モデルでの状況は不明であり、また差が出る場合においても頻度や強弱は予想できず、培養細胞の大部分において全く差異が無いという可能性もあり得る中で、システム構築と現象解明を同時並行で進めることになる点が、このような形のAI技術利用の特徴となる。細胞は、神経前駆細胞の状態からアルコール(3.41 nM)あるいは環境化学物質(BPA: 0.1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM)に曝露させた状態で培養し、曝露後7日目に分化状況を調べるために抗Nestin抗体および抗Doublecortin (DCX)抗体で蛍光免疫細胞化学を実施後、イメージングサイトメーター(IN Cell Analyzer 2000, Cytiva)にて画像取得を行った。図6Aに示すように、画像取得は培養領域全体を覆うように137箇所フィールドに分けて行い、さらに各フィールドからAI処理用にパッチ画像がランダムに切り出される。AIは、このパッチ画像

を入力とし「曝露なし(略記: E)」「アルコール曝露(略記: V)」「環境化学物質曝露(略記: X)」のクラス分類を行う。AIの出力としてパッチ画像ごとに各クラスの所属についての確信度が得られるが、パッチ画像結果をまとめたフィールド単位判定と、その後の統合解釈により、培養全体の推定を行う構成としている。新たな化学物質を評価する際には、このAIを用いることで、アルコールやBPA曝露のどの影響に近いかという情報が得られることが期待される。各種の曝露での影響度合いが不明であるためAIのネットワークとしては図6Bのように3層構造の単純なCNNを採用し、フィールド単位の判定は確信度が高い(不確実性が低い)パッチが一定割合得られる場合(判定クライテリア)のみ有効とし、最終的な総合解釈はフィールド単位の判定クライテリアを満たすフィールド結果の多数決とすることで、差異が無い領域や分類できない状態を許容する構成をとっている。

フィールド画像は図6Cに示すような、RチャンネルにNestin、GチャンネルにDCXの免疫細胞化学画像、Bチャンネルに核染色画像を割り当てた24bitカラー画像である。曝露なし・アルコール曝露・環境化学物質曝露の各クラスそれぞれ6つ、5つ、8つの培養サンプルから採取した約2万5千枚、合計約7万5千枚のパッチ画像を学習データ(内20%をバリデーションデータに割り当て)としてAIを学習した結果、学習データおよびバリデーションデータそれぞれの正解率(Accuracy)は共に0.68であった。人間による分類が容易な3クラス分類であれば正解率は0.9を超えることもありうるが、今回の場合差異が無いパッチ画像も含まれている可能性を考えると十分に学習が行われていると判断できる。AIの学習が十分に完了したとして、「AIから有益な知見を得る」という観点で考えた場合、「画像のどの部分がAI出力に寄与しているか」を知ることは重要であろう。本研究においては、構築したAIで学習データそのものを評価し、フィールド単位判定クライテリアを満たすものを検証することで、学習済みAIがどのような要素を判断に使用しているか情報を得ることが可

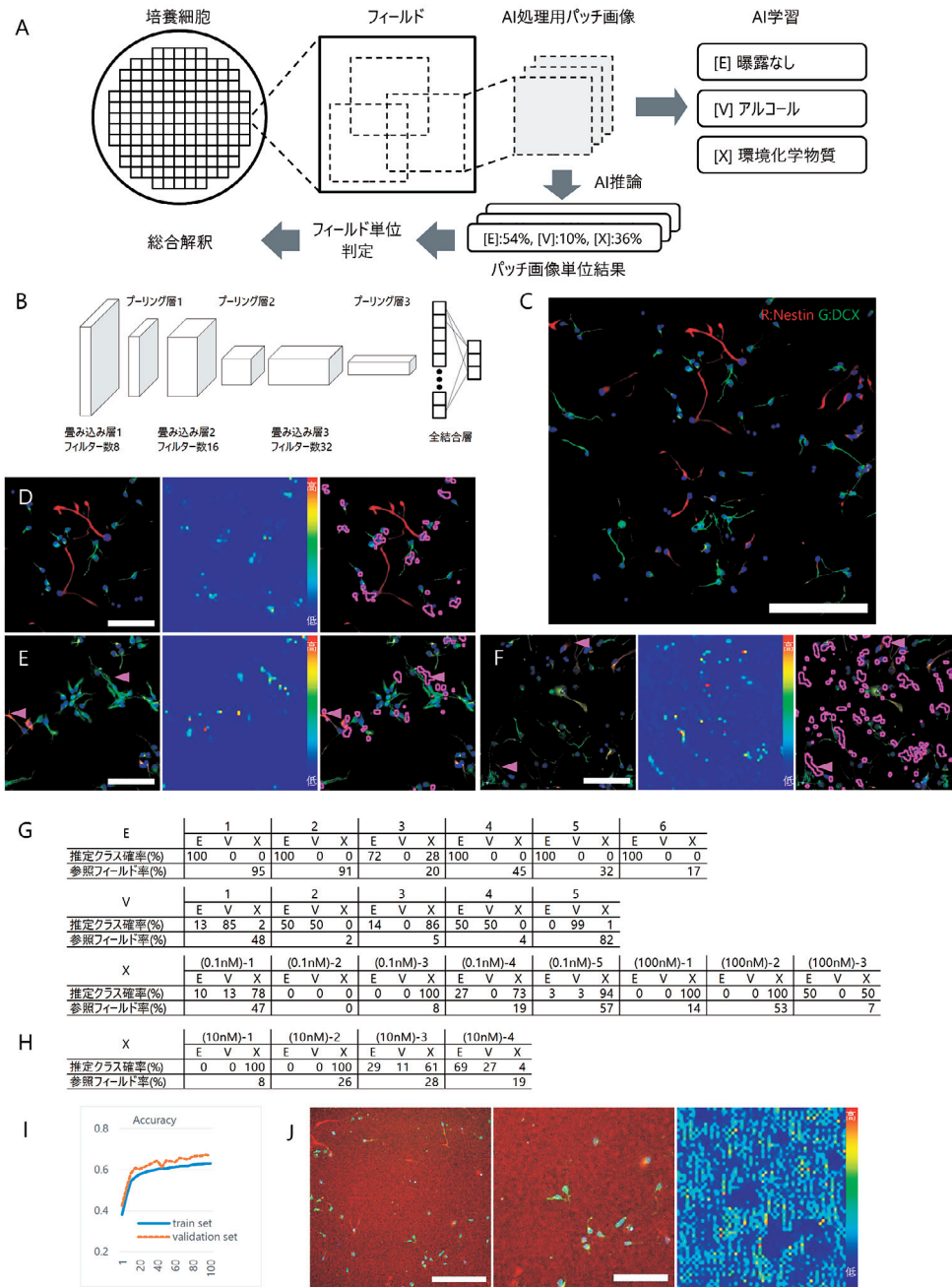


図6 化学物質胎生期曝露 *in vitro* スクリーニングシステム構築実験。A) 化学物質に曝露された状態で培養された神経前駆細胞は、免疫細胞化学を施された後、フィールド単位に撮影されAI処理用のパッチ画像が生成される。AIはパッチ画像を曝露なし・アルコール曝露・環境化学物質曝露群(クラス)に分類するよう構成されている。パッチ画像単位の結果から、確信度が高いもののみでフィールド単位の判定を行い、それらを集約して総合解釈が行われる。B) 使用しているAIの構造。C) フィールド画像例。Rチャンネルに抗Nestin抗体、Gチャンネルに抗Doublecortin抗体の免疫細胞化学画像、Bチャンネルに核染色画像を割り当てたカラー画像である。スケールバー200 μm。D-F) 各クラスの代表的

なパッチ画像。左側はオリジナルの入力画像（スケールバー 100 μm ），中央はAI判断への寄与度合いをヒートマップ表現したもの（赤色は寄与高，青色は寄与低），右側は寄与度が高い領域を重畳表示したもの（マゼンタ色等高線）。曝露なし群は突起部分の寄与が低く（D），アルコール曝露群では突起部分の寄与が見られ（E，矢頭），環境化学物質曝露群では多数の細胞と突起部分をはじめとする細胞の構造や形状が寄与していることが示唆される（F，矢頭や等高線）。G）学習に使用した培養サンプルの総合解釈結果（曝露なし群 $n=6$ ，アルコール曝露群 $n=5$ ，環境化学物質曝露群 $n=8$ ）。フィールドの判定クライテリアは「確信度が高いパッチ画像が所定割合含まれているかどうか」としており，参照フィールド率は全フィールド数に対して判定クライテリアを満たすフィールドの割合を示す。推定クラス確率がシステム出力結果に相当し，判定クライテリアを満たすフィールド結果における各クラスへの推定結果割合を示す。正解は14/19（74%）。E:曝露なし，V:アルコール曝露，X:環境化学物質曝露。H）学習に使用していない培養サンプルの総合解釈結果（環境化学物質群 $n=4$ ）。学習用の培養サンプルとは異なる曝露濃度のもので，正解は3/4（75%）。I）好ましくない学習が行われた際の学習時精度グラフ。横軸は学習ステップ数。縦軸はパッチ画像単位のAI推論結果の正解率。学習データはその8割を実際の学習に用い（train set），残り2割を精度評価用（validation set）に当てた。精度評価用データの正解率も低くなく，好ましくない状況であることは分からない。J）好ましくない学習が行われた際の高確信度結果データの例。左側はフィールド画像（スケールバー 200 μm ），中央は抽出されたパッチ画像（スケールバー 100 μm ），右側はAI判断への寄与度画像。細胞とは無関係の領域の寄与度が高く，意図とは異なる学習状態であることが示唆される。

能である。図6D, E, Fに，それぞれ曝露なし・アルコール曝露・環境化学物質曝露クラスのフィールド単位判定クライテリアを満たすパッチ画像を示している。各パネルは左側がオリジナル画像，中央がGrad-CAM（Gradient-weighted Class Activation Mapping）画像，右側がGrad-CAM結果をオリジナル画像に重畳表示したものである。Grad-CAMはCNNの畳み込み層の勾配情報を用いてクラス分類に寄与する画像内領域の可視化を実現する技術であり²¹⁾，本研究ではヒートマップ表示で寄与の高低を示した（赤色が寄与高，青色が寄与低）。重畳表示においては，寄与が高い領域を示すマゼンタ色の等高線を付した。なお，プリーング層の空間情報圧縮等の影響のため，本研究の実装においてはGrad-CAM結果とオリジナル画像の位置関係に若干のずれが生じることを注記しておく。曝露なし群（図6D）では，神経細胞突起は分類判断には寄与しておらず，アルコール曝露群や環境化学物質曝露群では神経細胞突起の寄与度が高いことがわかる（図6E, Fのマゼンタ色矢頭）。また，環境化学物質曝露群では大多数の細胞が

分類に寄与していることが伺える。当然ながら本情報のみで，直接生物学的な意義までたどり着くことはできないが，メカニズム解明の方向性を与えられる可能性はあり，またスクリーニングシステムとして単一細胞レベルの情報を統合する改良や，改良時に取り込むべき情報の示唆を得ることは可能であろう。

図6GおよびHに，本スクリーニングシステム全体の性能を示す。図6Gは学習データ自体の培養サンプルごとの結果である。環境化学物質曝露群のみ化学物質濃度が異なるものを2種類含めており，「0.1 nM」「100 nM」で濃度を示している。「参照フィールド率」は，評価に含まれた全フィールドの内，判定クライテリアを満たしたものの割合，「推定クラス確率」は，クライテリアを満たすフィールド全数に対する当該クラスへの推定結果を出力したフィールドの割合を示す。参照フィールド率が低いものは，培養細胞全体でみると判定が難しい不確かな領域が多く，推定クラス確率が複数クラスに分散しているものは，複数のクラスの特徴を有している状態であることを示している。総合解釈を「推定

クラス確率が最も高いクラス」と定め、推定クラス確率が同値のものが複数存在する場合を「不定」、参照フィールド率がゼロのものを「判定不能」と表現することになると、学習データ自体の正解は14/19 (74%)、不正解1/19 (5%)、不定3/19 (16%)、判定不能1/19 (5%)であった。アルコール曝露群も環境化学物質曝露群も一定量のフィールドは曝露なしの推定がされており、場所による細胞状態の差が示唆される。一方、学習に含まれない未知のデータである環境化学物質（濃度10 nM）の培養サンプル4つの評価結果は、正解3/4 (75%)、不正解1/4 (25%)であった（図6H）。不正解の1サンプルは、曝露なし群への推定確率が最も高く、学習データ自身の評価でもみられた「場所による細胞状態のばらつき」影響が他のサンプルより大きかった可能性が読み取れる。

AI技術を含んだシステムから正しく有益な情報を得るためには、あるいは前述のように、得られた情報をシステムにフィードバックすることで更にシステムを進化させるといったAIと人間との相互協力の関係性を実現するためには、AI自体が意図通りに構築されていることが把握できることが大切である。人間が判断基準を明確に示せない状況においては、何をもって「意図通り」とするかは難しさがあるが、画像解析においては「注目オブジェクト以外の領域で判断がなされていない」ということは「意図通り」を一定の範囲に定義することはできるであろう。例えば、今回のスクリーニングシステム構築実験の途中段階において、図6Iに示すようなAI学習結果を示すことがみられた。図6Iは横軸に学習ステップ、縦軸に正解率をとったグラフであり、学習ステップが進むにつれ学習データ・バリデーションデータ双方の正解率が乖離なく0.6を超え、一見すると良好な状態と感じる。しかしながら未知のデータに対する正解率は高くなく、Grad-CAMにて分類への寄与が高い領域を調べると図6Jのように細胞とは無関係の領域で判断されている学習データの存在が明らかになった。細胞以外の領域で曝露状況の推定が行われている状態は「意図通り」とは言えず、適切な改善

策を施すことで最終的には細胞領域で判断が行われるシステムを構築することができた。このように、深層学習の発展に伴いブラックボックス化が進んでいたAI技術であるが、その透明性を高め説明可能な状態とする（eXplainable AI, XAI）研究が急激に進んでいる。背景にはAI技術が交通機関の自動運転や臨床現場での利用が現実となりつつある状況があり、説明可能性は開発効率の向上、導入判断の明確化、利用者の納得感醸成などにつながる。AIの主要フレームワークの一つTensorFlowの開発元であるGoogle社はゲーム理論で確立されたShapley値²²⁾や、XRAIと呼ばれる勾配情報から領域単位での寄与度を算出する手法²³⁾を採用し、説明可能なAIの社会実装に取り組んでいる²⁴⁾。

結 語

高度化と日常利用が進む医学研究の画像解析について事例を交えて解説した。過去、医学において画像は目視観察の対象であったが、その後、記録として利用され、さらにデジタル化とコンピュータ技術の発展に伴い画像解析を用いた定量評価が可能となった。今や網羅的なデータ化と高度な解析により、人間の知的活動を支える段階に突入している。また研究方法論の視点で捉えると、MRIや超音波などの低侵襲な計測技術、WSIによる病理組織標本全体の解析、組織透明化、三次元細胞培養などにより、臨床と*in vivo*、*in vitro*研究の距離の縮まりとデータそのものの高度化がみられる。これらの意味するところは、サイエンスとエンジニアリングの融合であり、今後のサイエンスの発展には、相互の理解と歩み寄りが重要となるだろう。大量のデータを処理するためには、処理に適した構造でデータが保存されていなければならず、データの取得条件が不適切だとコンピュータ処理により思わぬアーチファクトが生み出されてしまうこともある。これまでの医学研究の現場ではあまり意識されてこなかった小さな事柄への意識が、歩み寄りの第一歩となる。画像解析の理解と、サイエンスとエンジニアリングの相互理解につながることを願い、本稿を閉じる。

謝 辞

本稿執筆にあたり、京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態病理学のファルネかおり氏の協力に感謝を申し上げる。

本稿で紹介した研究の一部は、JSPS 科研費

JP18K17973 の助成を受け実施された。

本稿に記載の病理診断支援に関する研究は、株式会社 SCREEN ホールディングス (SCREEN) が研究費を出資した、京都府立医科大学と SCREEN との間の共同研究で実施された。

文 献

- 1) Ogi H, Itoh K, Ikegaya H, Fushiki S. Alterations of neurotransmitter norepinephrine and gamma-aminobutyric acid correlate with murine behavioral perturbations related to bisphenol A exposure. *Brain Dev*, 37: 739-746, 2015.
- 2) Nakamura K, Itoh K, Yoshimoto K, Sugimoto T, Fushiki S. Prenatal and lactational exposure to low-doses of bisphenol A alters brain monoamine concentration in adult mice. *Neurosci Lett*, 484: 66-70, 2010.
- 3) Goto S, Ogi H, Fushiki S, Itoh K. Prenatal and lactational bisphenol A exposure does not alter serotonergic neurons morphologically in the murine dorsal raphe nucleus. *Brain Dev*, 39: 475-482, 2017.
- 4) Hama H, Kurokawa H, Kawano H, Ando R, Shimogori T, Noda H, et al. Scale: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain. *Nat Neurosci*, 14: 1481-1488, 2011.
- 5) Costantini I, Cicchi R, Silvestri L, Vanzi F, Pavone FS. In-vivo and ex-vivo optical clearing methods for biological tissues: review. *Biomed Opt Express*, 10: 5251-5267, 2019.
- 6) Hama H, Hioki H, Namiki K, Hoshida T, Kurokawa H, Ishidate F, et al. ScaleS: an optical clearing palette for biological imaging. *Nat Neurosci*, 18: 1518-1529, 2015.
- 7) Tonosaki M, Itoh K, Umekage M, Kishimoto T, Yaoi T, Lemmon VP, et al. L1cam is crucial for cell locomotion and terminal translocation of the Soma in radial migration during murine corticogenesis. *PLoS One*, 9: e86186, 2014.
- 8) Mouton PR, Gokhale AM, Ward NL, West MJ. Stereological length estimation using spherical probes. *J Microsc*, 206: 54-64, 2002.
- 9) Itoh K, Ogi H. Virtual microscopy system in global applications and challenges. *J Kyoto Pref Univ Med*, 126: 829-836, 2017.
- 10) Ogi H, Nitta N, Tando S, Fujimori A, Aoki I, Fushiki S, et al. Longitudinal diffusion tensor imaging revealed nerve fiber alterations in Aspm mutated microcephaly model mice. *Neuroscience*, 371: 325-336, 2018.
- 11) Ogi H. Basics of artificial intelligence (AI) in biomedical research. *J Kyoto Pref Univ Med*, 128: 385-396, 2019.
- 12) 胃生検の病理診断支援AIを開発 - 不足する病理医を支援, がん医療を確実なものに -. 一般社団法人日本病理学会, 2022 [cited 2022. Available from: https://www.pathology.or.jp/jp-aid/JPAID_pressrelease_20220812.pdf].
- 13) Abe H, Kurose Y, Takahama S, Kume A, Nishida S, Fukasawa M, et al. Development and multi-institutional validation of an artificial intelligence-based diagnostic system for gastric biopsy. *Cancer Sci*, 113: 3608-3617, 2022.
- 14) 柴田沙耶, 平井真紀, 仲村武瑠, 古田智靖, 森脇三造, 萩寛志. 脳腫瘍病理組織画像を使用した病理診断支援の可能性の検討. *SCREEN テクニカルレビュー*, 5: 27-31, 2021.
- 15) Fayyad U, Piatetsky-Shapiro G, Smyth P. Knowledge discovery and data mining: towards a unifying framework. *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*; Portland, Oregon: AAAI Press, p. 82-88, 1996.
- 16) Yamamoto Y, Tsuzuki T, Akatsuka J, Ueki M, Morikawa H, Numata Y, et al. Automated acquisition of explainable knowledge from unannotated histopathology images. *Nat Commun*, 10: 5642, 2019.
- 17) Nakamura K, Itoh K, Yaoi T, Fujiwara Y, Sugimoto T, Fushiki S. Murine neocortical histogenesis is perturbed by prenatal exposure to low doses of Bisphenol A. *J Neurosci Res*, 84: 1197-1205, 2006.
- 18) Talens-Visconti R, Sanchez-Vera I, Kostic J, Perez-Arago MA, Erceg S, Stojkovic M, et al. Neural differentiation from human embryonic stem cells as a tool to study early brain development and the neuroteratogenic effects of ethanol. *Stem Cells Dev*, 20: 327-339, 2011.

- 19) Lindsley TA, Comstock LL, Rising LJ. Morphologic and neurotoxic effects of ethanol vary with timing of exposure in vitro. *Alcohol*, 28: 197-203, 2002.
- 20) Clamp PA, Lindsley TA. Early events in the development of neuronal polarity in vitro are altered by ethanol. *Alcohol Clin Exp Res*, 22: 1277-1284, 1998.
- 21) Selvaraju RR, Cogswell M, Das A, Vedantam R, Parikh D, Batra D. Grad-CAM: visual explanations from deep networks via gradient-based localization. arXiv:1610.02391, 2016. Available from: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2016arXiv161002391S>.
- 22) Shapley LS. A value for n-person games. In: Harold William K, Albert William T, editors. *Contributions to the theory of games (AM-28)*, volume II. Princeton: Princeton University Press, p. 307-318, 1953.
- 23) Kapishnikov A, Bolukbasi T, Viegas F, Terry M. XRAI: better attributions through regions. arXiv: 1906.02825, 2019. Available from: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2019arXiv190602825K>.
- 24) AI explanations whitepaper. Google LLC [cited 2022. Available from: <https://storage.googleapis.com/cloud-ai-whitepapers/AI%20Explainability%20Whitepaper.pdf>.

著者プロフィール



荻 寛志 Hiroshi Ogi

所属・職：株式会社SCREENホールディングス 第三技術開発室
京都府立医科大学大学院医学研究科 分子病態病理学 客員講師

略 歴：1998年3月 大阪大学基礎工学部情報工学科 卒業
1998年4月～2011年9月

大日本スクリーン製造株式会社
(現・株式会社SCREENホールディングス)

2015年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科博士課程 修了

2015年4月～2018年3月

京都府立医科大学大学院医学研究科 先端技術・医学融合展開
講座 助教

2018年5月～現職

専門分野：神経科学, 画像処理, 機械学習

- 主な業績：1. Mori M, Tando S, Ogi H, Tonosaki M, Yaoi T, Fujimori A, Itoh K. Loss of abnormal spindle-like, microcephaly-associated (Aspm) disrupts female folliculogenesis in mice during maturation and aging. *Reprod Biol.* 2022 Sep; **22**(3): 100673. doi: 10.1016/j.repbio.2022.100673. Epub 2022 Jul 25. PMID: 35901620.
2. Saburi S, Tsujikawa T, Miyagawa-Hayashino A, Mitsuda J, Yoshimura K, Kimura A, Morimoto H, Ohmura G, Arai A, Ogi H, Konishi E, Itoh K, Sugino K, Hirano S. Spatially resolved immune microenvironmental profiling for follicular thyroid carcinoma with minimal capsular invasion. *Mod Pathol.* 2022 Jun; **35**(6): 721-727. doi: 10.1038/s41379-021-00993-6. Epub 2021 Dec 24. PMID: 34952946.
3. Yoshimura K, Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Saburi S, Ohmura G, Arai A, Shibata S, Thibault G, Chang YH, Clayburgh DR, Yasukawa S, Miyagawa-Hayashino A, Konishi E, Itoh K, Coussens LM, Hirano S. Spatial Profiles of Intratumoral PD-1+ Helper T Cells Predict Prognosis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Front Immunol.* 2021 Oct 28; **12**: 769534. doi: 10.3389/fimmu.2021.769534. eCollection 2021.
4. Mitsuda J, Tsujikawa T, Yoshimura K, Saburi S, Suetsugu M, Kitamoto K, Takenaka M, Ohmura G, Arai A, Ogi H, Itoh K, Hirano S. A 14-Marker Multiplexed Imaging Panel for Prognostic Biomarkers and Tumor Heterogeneity in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Front Oncol.* 2021 Aug 19; **11**: 713561. doi: 10.3389/fonc.2021.713561. eCollection 2021.
5. Khan KN, Fujishita A, Koshiha A, Ogawa K, Mori T, Ogi H, Itoh K, Teramukai S, Kitawaki J. Expression profiles of E/P receptors and fibrosis in GnRHa-treated and -untreated women with different uterine leiomyomas. *PLoS One.* 2020 Nov 13; **15**(11): e0242246. doi: 10.1371/journal.pone.0242246. eCollection 2020.
6. Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Miyagawa-Hayashino A, Konishi E, Itoh K, Hirano S. Prognostic significance of spatial immune profiles in human solid cancers. *Cancer Sci.* 2020 Oct; **111**(10): 3426-3434. doi: 10.1111/cas.14591. Epub 2020 Aug 12.
7. Ishihara S, Okada S, Ogi H, Kodama Y, Shimomura M, Tsunozuka H, Itoh K, Marx A, Inoue M. Programmed death-ligand 1 expression profiling in thymic epithelial cell tumors: Clinicopathological features and quantitative digital image analyses. *Lung Cancer.* 2020 Jul; **145**: 40-47. doi: 10.1016/j.lungcan.2020.04.038. Epub 2020 May 6.
8. 荻 寛志. バイオに応用するAIの基礎知識. *京府医大誌*. 2019; **128**(6): 385-396.
9. 迂川 敬裕, 吉村 佳奈子, 光田 順一, 佐分利 純代, 竹中 まり, 大村 学, 新井 啓仁, 荻 寛志, 宮川 文, 小西 英一, 伊東 恭子, 平野 滋. トランスレーショナルリサーチはどう進んでいるか 免疫的癌微小環境解析を通じた頭頸部癌薬物療法の治療効果予測. *頭頸部癌* 2019; **45**(4): 362-365.
10. Ogi H, Moriwaki S, Kokubo M, Hikida Y, Itoh K. Label-free classification of neurons and glia in neural stem cell cultures using a hyperspectral imaging microscopy combined with machine learning. *Sci Rep.* 2019 Jan 24; **9**(1): 633. doi: 10.1038/s41598-018-37241-y.
11. Ogi H, Nitta N, Tando S, Fujimori A, Aoki I, Fushiki S, Itoh K. Longitudinal diffusion tensor imaging revealed nerve fiber alterations in Aspm mutated microcephaly model mice. *Neuroscience* 2018; **371**: 325-36.
12. 伊東 恭子, 荻 寛志. バーチャルミクロスコピーシステムの応用と論文. *京府医大誌* 2017; **126**(12): 1-8.
13. Ogi H, Itoh K, Ikegaya H, Fushiki S. Alterations of neurotransmitter norepinephrine and gamma-aminobutyric acid correlate with murine behavioral perturbations related to bisphenol A exposure. *Brain Dev* 2015; **37**: 739-8.
14. Ogi H, Itoh K, Fushiki S. Social behavior is perturbed in mice after exposure to bisphenol A: a novel assessment employing an IntelliCage. *Brain Behav* 2013; **3**: 223-8.
15. Fujimori A, Yaoi T, Ogi H, Wang B, Suetomi K, Sekine E, Yu D, Kato T, Takahashi S, Okayasu R, Itoh K, Fushiki S. Ionizing radiation downregulates ASPM, a gene responsible for microcephaly in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; **369**: 953-7.

