

厚い無染色病理組織標本の 3 次元的核位置抽出

Three-dimensional extraction of nuclei in thick unstained pathological specimens

D-16

石井 一貴[†]

高野 将[†]

高橋 正信[†]

中野 雅行[†]

Kazuki Ishii

Masashi Takano

Masanobu Takahashi

Masayuki Nakano

[†]芝浦工業大学

[†]湘南藤沢徳洲会病院

[†]Shibaura Institute of Technology

[†]Shonan Fujisawa Tokushukai Hospital

1. 背景・目的

組織をスライスした標本を観察する病理組織診断は病理医により主観的に行われる。そこで、画像解析によって定量的な指標を示し、診断を支援する研究を進めている。肝細胞癌の病理組織診断においては、核密度(単位面積当たりの核の個数)が初期の肝細胞癌の鑑別に有用な特徴量とされている。しかし、標本の厚さが異なると、観察される核密度が変化してしまう問題がある[1]。こうした問題は厚い標本の 3 次元画像を取得し、解析することで解決できる。光学顕微鏡で厚い標本の画像を取得するためには透明度の高い標本を利用する必要があり、通常利用される HE 染色標本の利用は困難である。そこで、無染色標本を利用する。無染色標本は最も透明度が高く、光の吸収が少ないため厚い標本の撮像に適している。さらに、染色の手間も省くことができる。本研究では厚みのある無染色標本の核位置抽出を実現する。

2. 撮像

厚い無染色病理組織標本を、対物レンズのピント位置を一定間隔で変えながら明視野で連続撮影して画像群(スタックデータ)を作成する。ピント位置をずらすことで撮像画像は図 1 のように変化する。

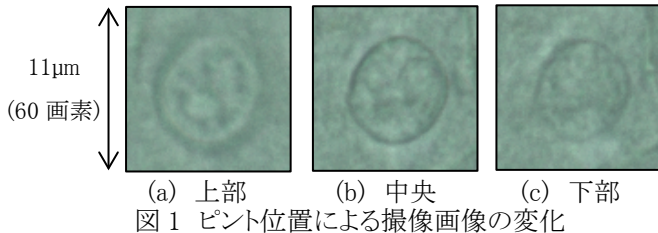


図 1 ピント位置による撮像画像の変化

3. 核位置抽出手法

3.1 手法の概要

連続撮影したスタックデータの中で核の赤道部分が Z 軸方向の核位置となる。核の赤道部分ではエッジ強度が大きくなるためエッジ強度の Z 軸方向のピーク位置を求め、核位置候補を抽出する。

3.2 エッジ強度のピーク位置算出

スタックデータの全画像についてエッジ強度を算出し、XY 座標ごとに Z 軸方向のエッジ強度のピーク位置を検出して、ピーク位置に点を打ったピーク画像を作成する(図 4)。図 2 は、図 1 の核の部分のピーク画像を、横方向からボリュームレンダリングしたものであり、核の赤道部分にエッジピークがあることがわかる。

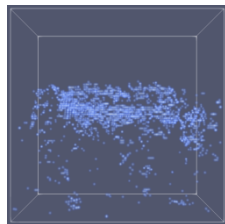


図 2 ピークの分布 (XZ 平面)

3.3 フロー強度算出

核は円形に近い特徴がある。抽出したピーク位置の勾配方向の扇形領域に図 5 のように値を加算する、円形に近い部分では値が中心に集約する(図 6)。

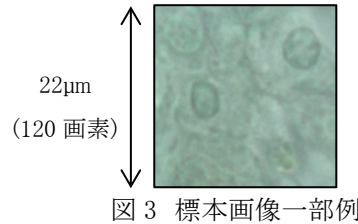


図 3 標本画像一部例

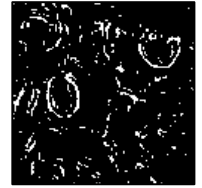


図 4 ピーク画像

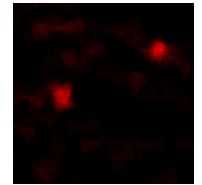
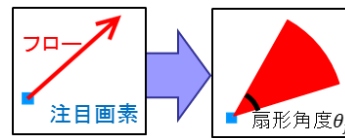


図 5 扇形領域加算イメージ 図 6 フロー強度画像

3.4 テンプレートマッチング

フロー強度画像は核部分では中心に向かうほど値が大きくなるため、2 次元ガウス分布をテンプレートとしたテンプレートマッチングを行い、フローの集約点を強調する。強調した結果を 2 値化し、各領域の重心位置を核位置候補とする。

3.5 ピーク密度算出

抽出された核位置候補は同じ核に対して Z 軸方向で複数個抽出されているため、グルーピングを行いそのうちのひとつを選択する。選択する基準としては、各重心位置を中心とした円形領域内のピーク数(ピーク密度)を用い、ピーク密度が最大となる候補位置を選択する。

4. 実験

実験には厚さ 30 μm の無染色標本を 0.25 μm 間隔で撮影した画像群を用いた(画像サイズ 400 × 400, 0.18 μm/画素)。再現率と適合率のバランスが良い条件では、正解の核(41 個)の内、35 個が抽出でき(再現率 85.4%)、誤抽出は 30 個(適合率 49.3%)であった。誤抽出も多いが、多くの核を抽出できた。また、パラメータを変えることで再現率を 95.1%にすることもでき、本手法により核の可能性の高いものを抽出することができる。無染色標本は画像全体のコントラストが低く、核に類似した物体が多い。また、エッジの弱い核も抽出するようパラメータを設定すると、核以外のエッジが強い部分を誤抽出してしまうと考えられる。今後の課題としては、核に類似した物体を識別し、誤抽出を減らすことが挙げられる。

[参考文献]

[1] M. Takahashi, et. al.: "Observed nuclear density is effected by the thickness of a specimen and the diameter of nuclei", 4th Asia-Pacific IAP Congress, PT155, 2005.