

2019年度 博士論文

医療検査を効率化するための画像処理・認識技術の研究

Studies on image processing and recognition
to improve efficiency of clinical examination

高崎健康福祉大学大学院健康福祉学研究科
光山 訓

目次

1. 背景と目的	4
1.1. 医療検査における画像処理技術の応用	4
1.2. 画像処理技術の医療検査への応用における課題	6
1.3. 本研究の目的	7
1.3.1. 尿沈渣検査を効率化する画像認識技術の開発	7
1.3.2. OIS を定量化する画像処理技術の開発	9
1.4. 本論文の構成	10
2. 尿中固形成分の画像認識技術の開発	11
2.1. 尿沈渣検査の概要	11
2.2. 検体前処理および撮像系の概要	13
2.3. 画像パターン認識処理の概要	15
2.4. 尿中粒子を高精度に抽出する領域分割方法	16
2.4.1. 領域分割の課題	16
2.4.2. 有色・無色の粒子を高精度に抽出可能な領域分割方法の提案	17
2.4.3. 提案手法による領域分割精度向上評価	26
2.4.4. 考察	28
2.5. 尿中粒子の高精度画像パターン認識	33
2.5.1. 画像パターン認識の課題	33
2.5.2. 階層モジュール型ニューラルネットワークの提案[35][36]	36
2.5.3. 階層モジュール型ニューラルネットワークによる分類精度評価	41
2.5.4. 考察	42
2.6. 臨床現場での実用化	43
2.6.1. 自動分類装置導入時の運用方法の検討	43
2.6.2. 検査ワークフローの提案	46
2.6.3. 自動分類項目の検討	48
2.6.4. 臨床現場での有用性評価	48
2.6.5. 考察	52
2.7. まとめ	54
3. 尿沈渣検査の効率性向上に向けた改良	57
3.1. 効率性向上の課題	57
3.1.1. 自動分類の細分類項目化	57
3.1.2. 血球偽陽性検体の検出	57
3.1.3. 変形赤血球検体の検出	58

3.2.	自動分類項目の追加の検討.....	59
3.3.	血球偽陽性検体検出方式の検討.....	60
3.4.	変形赤血球検体自動検出方式の提案.....	61
3.4.1.	変形赤血球検体の判定基準.....	61
3.4.2.	変形赤血球検体自動検出における課題.....	63
3.4.3.	ニューラルネットワーク出力値による重み付き個数の導入.....	66
3.4.4.	重み付き個数の導入効果.....	69
3.4.5.	変形赤血球率とリング状赤血球率による変形赤血球検体の検出.....	71
3.5.	評価.....	73
3.5.1.	ニューラルネットワークの構築.....	73
3.5.2.	追加項目分類精度評価.....	74
3.5.3.	血球偽陽性検体検出効果の評価.....	76
3.5.4.	変形赤血球検体検出精度評価.....	78
3.5.5.	臨床現場での有用性評価.....	79
3.6.	考察.....	81
3.6.1.	分類項目の追加.....	81
3.6.2.	血球偽陽性フラグ.....	81
3.6.3.	変形赤血球検体の検出.....	82
3.6.4.	臨床現場での有用性.....	83
3.7.	まとめ.....	85
4.	自動分類の高精度化に向けた改良.....	88
4.1.	赤血球用領域分割方法の改良.....	88
4.1.1.	領域分割方法の課題.....	88
4.1.2.	赤血球用領域分割方法の提案.....	94
4.1.3.	評価.....	104
4.1.4.	考察.....	107
4.2.	非典型的形状粒子の分類精度向上.....	109
4.2.1.	分類精度向上に向けた残課題.....	109
4.2.2.	フィードバック学習型ニューラルネットワークの提案.....	110
4.2.3.	シミュレーションによる検証.....	116
4.2.4.	評価.....	119
4.2.5.	考察.....	121
4.3.	まとめ.....	122
5.	OIS (Optical Imaging of Intrinsic Signals) 用画像処理技術の開発.....	124
5.1.	OIS の測定原理.....	124
5.2.	撮像装置.....	126

5.3.	OIS における画像処理の課題	128
5.4.	OIS 画像用レジストレーション技術の開発	129
5.4.1.	レジストレーション手法の選択.....	129
5.4.2.	レジストレーション失敗例の分析.....	131
5.4.3.	OIS 画像用レジストレーション方法の提案	134
5.5.	評価	139
5.5.1.	評価方法.....	139
5.5.2.	従来法による評価結果.....	139
5.5.3.	ヒストグラム平準化適用時の評価結果.....	140
5.5.4.	大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外時の評価結果	141
5.6.	考察	141
5.7.	まとめ	142
6.	結言	144
6.1.	結論	144
6.1.1.	尿沈渣検査を効率化する画像認識技術の開発	144
6.1.2.	OIS を定量化する画像処理技術の開発	147
6.2.	今後の展望	148
7.	謝辞	150
8.	参考文献	151
9.	本研究に関する業績.....	157

1. 背景と目的

1.1. 医療検査における画像処理技術の応用

医療において検査は診断や経過観察に欠かせない情報である。診療の現場では日々様々な検査が実施されている。血液や尿など患者の体外に取得した試料を対象とした検体検査、超音波、心電図など患者の体を直接計測する生理検査、MRI や CT などから取得した画像を検査する画像検査（診断）など、その種類は多岐にわたる。

医療検査の自動化は、1950 年代より生化学検査、血球計測検査の分野で始まった。その後スループット、検査項目数など目覚ましい進歩を遂げており、検体検査の自動化装置は近年の医療には欠かせないものとなっている。検査技師の用手法による検査は、技師の経験や、他の要因によりばらつきが生じる。検査の自動化はこのようなばらつきを少なくするため、検査の低コスト化に加え、質の向上にも寄与する。

現在、自動化が大きく進展しているのは試薬との反応を利用した検査である。しかし、医療分野では多くの検査が画像に基づいて実施されている。目視による画像検査は定量化が困難で経験に基づく判断に依存する場合が多いため、熟練者しか検査ができない、経験の差に起因する精度のばらつきが生じやすい、などの課題が依然として残されている。

近年、撮像機器のデジタル化が進み、多くの画像がデジタルデータとし保存されるようになってきた。また、計算機技術の発達、画像処理・認識技術の発達により画像検査の自動化や、診断支援への期待が高まっている。画像処理・認識技術の医療分野への応用に関しては様々な研究が行われており、一部の分野では実用化が進みつつある。

X 線、MRI、CT といった画像診断の分野では、特定の臓器や血管などを強調し、読影を容易にするための画像処理技術は、すでに画像ワークステーションや PACS といった画像診断の IT 機器に搭載され、広く使われるようになってきている。また、癌など病変部位を自動抽出し、大きさや形状を定量化する画像診断支援（CAD: Computer Aided Diagnosis）は、1967 年頃から現在に至るまで、画像診断・認識の主要な研究分野の一つとなっており、研究が活発に行われている。1998 年には、マンモグラフィー（乳房 X 線画像）による乳がん診断分野において、米国食品医薬品局（FDA: Food and Drug Administration）の認可を受けた初の商用機が登場した。この商用機は医師による病変の見落としを防ぐことを目的とし、医師が読影を行った後、“Second Read”という位置づけで使用する機器として FDA の認可を受けた。米国においては CAD の“Second Read”としての位置づけが定着し、乳がん以外にも大腸がん、肺がんなどの分野において実用化が進んでいる[1][2]。

生理検査の分野では、眼底検査において画像処理・認識技術適用の研究が進んでいる。画像処理の適用により眼底写真から血管や視神経乳頭領域を抽出し、それらの形状に基づき高血圧性網膜症、糖尿病網膜症、緑内障といった疾患を診断する試みが行われている[3][4]。2019 年には、視神経乳頭陥凹領域を抽出し、その体積を計測するソフトウェアが日本にお

いて医療機器プログラムとして認証され、実用化されている。

検体検査の分野では、従来、顕微鏡観察で実施されてきた血球検査、細胞診、病理検査、尿沈渣検査を、画像処理・認識技術により自動化する取り組みが行われてきた。血球検査に関しては1960年代後半よりスライドガラス上に塗抹された血液検体の顕微鏡拡大画像を撮影し、画像処理により画像上の血球を分類する研究が行われてきた[5][6]。1970年代には製品として実用化されたが、現在では、フローセルと呼ばれる特殊形状のノズルを流れる血液サンプルにレーザー光を照射し、散乱光強度と蛍光強度により血球を分類するフローサイトメトリー方式が主流となっている[7][8]。

細胞診の分野では、子宮頸がん検査を対象とした研究が1967年より行われており、1977年には日本で自動化装置が発売された[9]。用手法による子宮頸がん検査は、スライドガラス上の塗抹標本を用いて実施されているが、自動化装置では画像処理を容易にするために、塊状の細胞を1個1個の細胞に機械的に分離する前処理を行っている。しかし、この自動化装置はミニコンを使用した非常に大掛かりな装置であったため、一般に普及することはなかった。その後、長らく実用化された子宮頸がん検査の自動化装置は無かったが、1998年に海外で新たな製品が発売され、実用化されている。

顕微鏡観察により尿中固形成分の分類を行う尿沈渣検査の分野では、1982年に米国において画像認識による自動化装置が実用化された[10]。その後、1990年代には国内でも、フローサイトメトリー方式による自動化装置、画像認識による自動化装置が相次いで実用化された。尿沈渣検査は、未だ検査技師の顕微鏡観察により実施している施設が多いものの、その後数社から画像認識による自動化装置が実用化されている。

病理検査の分野では、病理画像を全てデジタル化して記録し、ディスプレイ上に表示させて診断するというデジタルパソロジーのシステムが2017年に実用化された。病理検査を自動化する装置はまだ実用化されていないが、デジタルパソロジーの流れと、近年の画像処理やAI技術の急速な進展により、病理画像に画像処理やAI (Artificial Intelligence) を適用する研究が盛んになってきている[11][12]。日本においてはAMED (日本医療研究開発機構) の「臨床研究等ICT基盤構築・人工知能実装研究事業」の一環としてAIによる病理診断支援システムの実現を目指す「JP-AID (Japan Pathology AI Diagnostic Project)」が推進されている。

上述の通り、医療の現場では、画像処理技術の活用による検査の質の向上、効率化が期待されており、医療検査の様々な分野で画像処理技術の応用に関する研究は進められている。しかし、画像診断、尿沈渣検査、病理検査等の一部の領域で実用化されているに過ぎない。近年の情報のデジタル化、計算機能力の飛躍的向上、AI技術の進展に伴い、今後画像処理・認識技術の応用、実用化が急速に進展すると考えられる。

1.2. 画像処理技術の医療検査への応用における課題

被験者、検体、機器、撮影環境などの様々な要因が時々刻々変化する医療の現場においては、撮像条件を一定に保つことは困難であり、画質変動や撮影対象物の変化・多様性が実用化の障壁となっている。様々な医療検査の分野で、画像処理・認識技術を実用化するためには、多様な画像を安定的に処理することが可能な画像処理方式を実現する必要がある。

医用画像を計算機で処理する場合には、通常、領域分割処理と、パターン認識処理を適用する。領域分割は、画像上で周囲とは異なる特徴を有する領域を、他の領域（背景）から分離し抽出する技術である。医療検査においては、マンモグラフィー用 CAD における石灰化領域の抽出、眼底検査における血管領域の抽出、血球画像、病理画像、尿沈渣画像における細胞や血球領域の抽出、等へ応用されている。通常、注目した領域を抽出した後、その領域の大きさ、形状、色調等の特徴を定量化する処理を行うため、領域抽出の精度がその後の処理に大きく影響する重要な処理である。抽出したい領域と、他の領域との色調の違いに基づき分離する方法や、抽出したい領域の輪郭（エッジ）を閉曲線として抽出する方法、等がある。前者の方法は高速であるが、抽出したい領域と背景の色濃度が同等である場合には抽出精度が低下する。また、抽出する対象の色調や大きさがほぼ一定である場合には、色濃度空間中での閾値設定が容易であるが、様々な大きさや色調の対象が混在する場合には、最適な閾値の設定方法が課題となる。輪郭を抽出する後者の方法は前者の方法の欠点を補うことが可能であるが、最適な輪郭を繰り返し演算により求めるため、計算時間が長くなる、収束するまでの計算回数が予測できない、などの課題がある。

パターン認識は、画像上の特定の領域を、あらかじめ定めたカテゴリに分類する処理である。医療検査においては、医学的な観点により分類することを意味し、例えば CAD においてはある領域が癌であるかどうかを判定する処理、血球画像では血球の種類を判定する処理、病理画像では悪性細胞か否かを判定する処理、尿沈渣画像では沈渣成分の種類を判定する処理がパターン認識に相当する。通常、領域分割処理で抽出された領域に関して、形状や色調等の特徴を定量化し、定量化された特徴（特徴量）に基づき、領域の種類を判定する。近年は AI 技術の進展により、機械学習が多く用いられるようになってきている。特に大きさ、形状、色調等が多様な対象を分類する複雑なパターン認識においてはニューラルネットワークの有用性が示されている。ニューラルネットワークを使用する場合、分類項目が多い場合には、ネットワークが大規模になり、学習や認識の演算時間が長くなる。また、ある特定の項目の分類精度を上げるために学習データを増やす、あるいは学習パラメータを変更する、等の条件を変えて再学習すると、他の項目の分類精度が影響を受けることがあり、全体的に精度を向上させることが難しいといった課題がある。

また、現在、画像処理・認識技術の適用が進んでいる検査は、静止画像を対象とした検査である。しかし、今後は分子イメージングにおける薬物の代謝のように、時系列画像を対象とした検査も増加すると考えられる。時系列画像から非常に小さな変化を正確に検出する

ためには、撮像条件や対象物の経時的な変化に対し、安定的な画像処理技術の開発が課題となる。

1.3. 本研究の目的

前節で述べたように、①様々な形状、色調の対象を正確に抽出する高速かつ装置への実装が容易な領域分割方法、②小規模ニューラルネットワークによる多様な対象の高精度パターン認識、③時系列検査画像の安定的な処理方式、を課題として捉えた。本研究では、これらの課題の解決による医療検査の効率化を目的とした。

上記①、②の課題に関しては、大きさ、形状、色調が様々な対象を高速、高精度に分類する必要のある尿沈渣を研究対象とした。また、③の課題に関しては、大量の時系列画像から脳の活動部位を特定し、活動の変化を定量化する必要のある OIS (Optical Imaging of Intrinsic Signals) を研究対象とした。

1.3.1. 尿沈渣検査を効率化する画像認識技術の開発

尿沈渣検査は尿中の固形成分を分類し、各成分の濃度を計測する検査であり、腎尿路系疾患の診断に利用されている。従来、この検査は検査技師の手技により実施されてきた。検査技師はまずハルンカップから一定量の尿検体をスピッツに分注し、遠心分離機にかける。遠心分離された検体から、一定量の沈渣成分を採取し、プレパラート標本作製し顕微鏡観察により固形成分を分類、計数する。このように非常に手間のかかる作業であり、効率化が求められている。医療現場の効率化への要望に対し、自動化装置の開発も行われており、表 1-1 に示す 3 種類の方法が提案されている[13]。

①の方式は画像を撮影せずに、レーザー光を照射した時の散乱光の強度と蛍光の強度に基づき尿沈渣成分を分類する。カメラによる撮像機構を持たないため装置を小型化できるというメリットがある。しかし、沈渣成分の画像を残すことができないため、一度測定した検体の尿沈渣成分の確認が必要となった場合には、検査技師が遠心分離、鏡検を行う必要がある。

②、③は沈渣成分を撮影し、画像処理技術により分類、計数を行う方式である。撮像機構が必要であるため、①に比較し装置が大型になるという点が短所となる。しかし、沈渣成分の画像を残せるため、遠心分離、鏡検を実施することなく、沈渣成分の目視確認を行うことができる。②は連続して流れる尿検体を撮像するのに対し、③はスライド標本作製することが大きな違いである。②は流れている対象物、③は静止している対象物を撮影するため、静止状態を撮影する③の方が高画質の画像を得られる。しかしながら、②の方がスループットを高くでき、また、一回の検査で測定する尿検体のボリューム(体積)も大きくできる。測定ボリュームが大きいと、希少な沈渣成分の見逃しが少なくなり、検査精度も向上する。

尿沈渣成分の種類は非常に多岐にわたり、中には非常に稀にしか出現しない成分もある。

全ての種類の尿沈渣成分の全自動分類を目指すと、装置が複雑化し高価となり、医療現場での実用化が難しくなると想定される。日常検査で頻繁に出現する沈渣成分は自動で分類し、希少な種類の成分や、細分類が必要な成分に関しては検査技師が目視で確認するという運用が現実的と考えた。その場合には、遠心分離、鏡検を実施せずに画像を確認することのできる②、③の方式が、検査業務全体の効率化には有効である。検査の効率化の観点では高スループットが求められ、また、検査の質の観点では測定ボリュームが大きい方が有利である。本研究においては、検査の効率化、質の両立という観点から、スループットが高く、測定ボリュームの大きい②の方式を採用した。

尿沈渣成分は種類により大きさ、形状が多様であり、また、無色、有色を含め様々な色調を呈する。同じ種類に分類されるべき成分でも、個人や検体の状態等に起因する多様性がある。尿沈渣成分を自動分類する場合、検査の質を落とさないためには、誤分類を生じた検体は技師が見直す必要がある。誤分類が多いと技師が見直しを行う検体が増えるため、検査の効率化には高い分類精度が必要となる。また、技師が見直すべき検体を高精度に検出する必要がある。

本研究では、上記で述べたフロー方式により静止画像として撮影された、多様な尿中固形成分の形状を正確に抽出する画像処理技術、高速かつ高精度に分類する画像認識技術の開発に取り組んだ。

表 1-1 尿沈渣検査自動化方式の比較

測定方式	①赤色半導体レーザーによるフローサイトメトリー方式	②フロー方式による画像パターン認識方式	③スライド標本とカメラによる画像パターン認識方式
測定原理の詳細	フローセル内を連続して流れる尿検体にレーザー光を照射し、前方散乱光、側方散乱光、側方蛍光の各強度に基づいたスキヤッタグラムを作成。スキヤッタグラムの出現位置から尿中有形成分を分類、計数する。	扁平な形状をしたフローセル中を連続して流れる尿検体に、ストロボ光を瞬間的に照射し、有形成分の静止画を撮影する。画像パターン認識技術により有形成分を分類、計数する。	専用のカバーガラス一体型スライドの反応槽に専用染色試薬と尿検体を分注、染色後、反応液をスライドの観察部に展開する。撮像部で画像を撮影し、画像処理により分類、計数する。
長所	装置が小型 高スループット 測定ボリューム大	高スループット 分類結果の画像確認が可能 測定ボリューム大	画像が高画質 分類結果の画像確認が可能
短所	分類結果の画像による確認ができない	装置が大型	装置が大型 低スループット 測定ボリューム小

1.3.2. OIS を定量化する画像処理技術の開発

OIS は外科的に露出させた脳に光を照射し、複数の波長の時系列画像を撮影する。酸化ヘモグロビン、還元ヘモグロビンの吸光特性の違いを利用し、脳内のヘモグロビンの変化を時系列信号として計測し、刺激を与えた時の脳の活動範囲、活動強度を定量化する。現在はマウスやラット等の小動物を使った実験に用いられている手法であるが、将来的には、脳外科手術時に、脳機能への影響を最小限にするための切除範囲の決定に利用できる可能性がある。

従来の研究では、1回につき1波長のみを使用し撮像を行っていたが、我々の研究グループでは、1回に4波長の時系列画像を同時撮影可能な Quad View という装置を開発した。しかし、この装置は複雑な光学系を使用しているため、撮影される4波長のそれぞれの画像の視野には位置ずれが生じる。また、一回の測定中に、マウスやラットの呼吸運動等により撮像対象物が微小にずれることがある。OIS では信号の微小な変化を捉えなければならないため、複数回の撮像を実施して、その結果を平均化することによりノイズの影響を低減する。複数回の撮像の間にもマウス、ラット等の動きにより撮影対象物が微小に移動することが

ある。

脳の活動範囲、活動強度の正確な測定のためには、上記のような波長間の、時系列のフレーム間、異なる時系列間、での画像のずれを正確に補正する必要がある。画像のずれの補正としてはレジストレーション技術を使用することができるが、複数の波長間での画質の違いや、実験中に生じるアーティファクト等が、正確なレジストレーションを困難にしている。本研究では、Quad View で撮影された画像を対象とし、正確な位置ずれの補正を実現するレジストレーション技術の開発に取り組んだ。

1.4. 本論文の構成

第2、第3、第4章で尿沈渣検査を効率化する画像認識技術の開発、第5章で OIS (Optical Imaging of Intrinsic Signals) を定量化する画像処理技術の開発について述べる。

第2章では尿沈渣検査の概要と、本研究で利用した検体の前処理、撮像系の概要、画像処理の概要を説明した後、検査の自動化を可能とした新たな領域分割方法とパターン認識方法を提案し、提案手法を評価する。更に提案手法の臨床現場での有用性について検証する。

第3章では、第2章で提案した方式をもとに、尿沈渣検査の更なる効率化に向け、自動分類項目の追加、血球偽陽性検体検出方式の検討、変形赤血球検体検出方式の提案、を行う。更にこれらの検討結果を適用した評価を行い、結果について考察する。

第4章では尿沈渣成分の更なる分類精度向上に向け、赤血球の分類精度を向上させる領域分割方法の改良方法を提案し、提案手法の評価を行い、結果を考察する。更に非典型的形状粒子の分類精度を向上させるフィードバック学習型ニューラルネットワークを提案し、提案手法の評価を行い、結果を考察する。

第5章では OIS の測定原理と、本研究で対象とした撮像装置について説明し、撮影された画像の正確な位置合わせを実現するレジストレーション方法を提案する。提案手法の評価を行い、結果を考察する。

第6章では本研究について総括する。

2. 尿中固形成分の画像認識技術の開発

2.1. 尿沈渣検査の概要

病院等の臨床現場では、尿検体に対し一般的に尿定性検査と尿沈渣検査という 2 種類の検査が実施されている。定性検査では、主として尿中に溶けている溶質の種類、濃度を、試験紙を用いて検査する。一方、尿沈渣検査では、尿中の固形成分を分類し、各成分の濃度を計測して臨床に報告する。尿沈渣検査では、肉眼では確認できない低濃度かつ微小な固形成分を計測対象としている。通常、健常者の尿中には、新陳代謝に起因するごく少数の血球、上皮細胞のみが固形成分として現れる。腎尿路系に疾患があると、多数の血球、上皮細胞、あるいは結晶、細菌、蛋白に由来する固形成分等が尿と共に排出されるようになる。尿沈渣検査では、これらの成分を計測し、その結果は腎尿路系疾患の診断の判断材料として利用される。

尿沈渣の一般的な検査方法を図 2-1 に示す。ハルンカップに採取した被験者の原尿をスピッツ管に 10mL 分注する。これを 500G で 5 分間遠心分離し、上澄みを除去し、残った沈渣成分から 15 μ L を分取して顕微鏡標本を作製する[14][15][16]。検査技師が顕微鏡により標本を観察し、固形成分を種類ごとにカウントし、その結果を臨床に報告する。顕微鏡観察の際、判別が難しい場合には染色を行う。

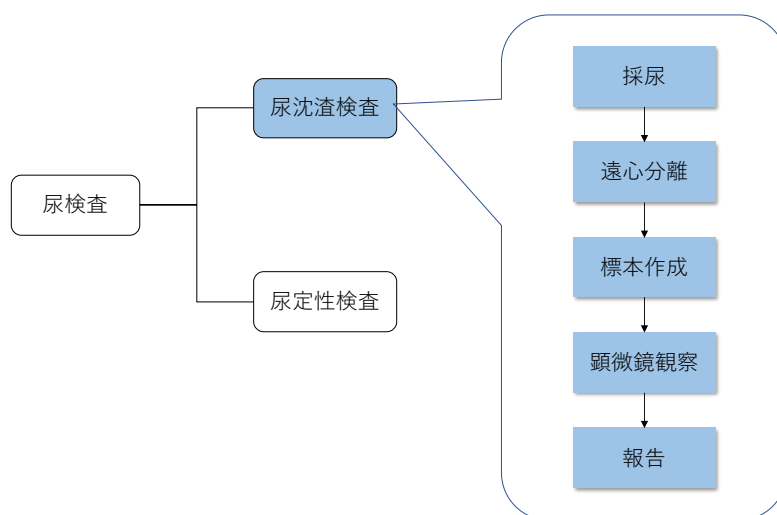


図 2-1 尿沈渣の検査方法

尿沈渣検査では、主として下記のような成分が観察される。

(1) 赤血球

健常者の尿中にも少数現れる。肉眼で血尿と判断されない場合でも、尿沈渣中に赤血球が多数出現した場合には、腎尿路系での出血が疑われる。

(2) 白血球

健常者の尿中にも少数現れる。多数出現した場合には、感染症が疑われる。

(3) 上皮細胞

細胞の新陳代謝により、健常者の尿中にもごく少数出現するが、多数出現する場合には疾患が疑われる。腎尿路系のどの場所に由来する細胞かにより、扁平上皮細胞、移行上皮細胞、尿細管上皮細胞に分類される。

(4) 円柱

尿細管を鋳型として円柱状に固まった蛋白が排出されたものである。内容物を含まない透明なものは硝子円柱と呼ばれる。内容物を含む円柱は、内容物の種類により赤血球円柱、白血球円柱、上皮円柱、などと呼ばれる。硝子円柱は健常者の尿中にも出現することはあるが、多数の硝子円柱、あるいは内容物を含む円柱が出現する場合には腎疾患が疑われる。

(5) 結晶

尿の PH の影響等により、尿中の特定成分が結晶化して排出されることがある。代表的な結晶としては、シュウ酸カルシウム、尿酸、リン酸アンモニウムマグネシウム、コレステロール等がある。

(6) 細菌

細菌は採尿時、採尿後に混入することもあるが、白血球と同時に細菌が出現した場合には、感染症が疑われる。

これらの成分の代表的な画像例を図 2-2 に示す。細菌、赤血球の大きさは数 μm 程度である一方、円柱は数十 μm に及ぶ場合もあり、大きさや形は非常に多様である。また、色調も透明なものから赤、青、黄色など様々である。

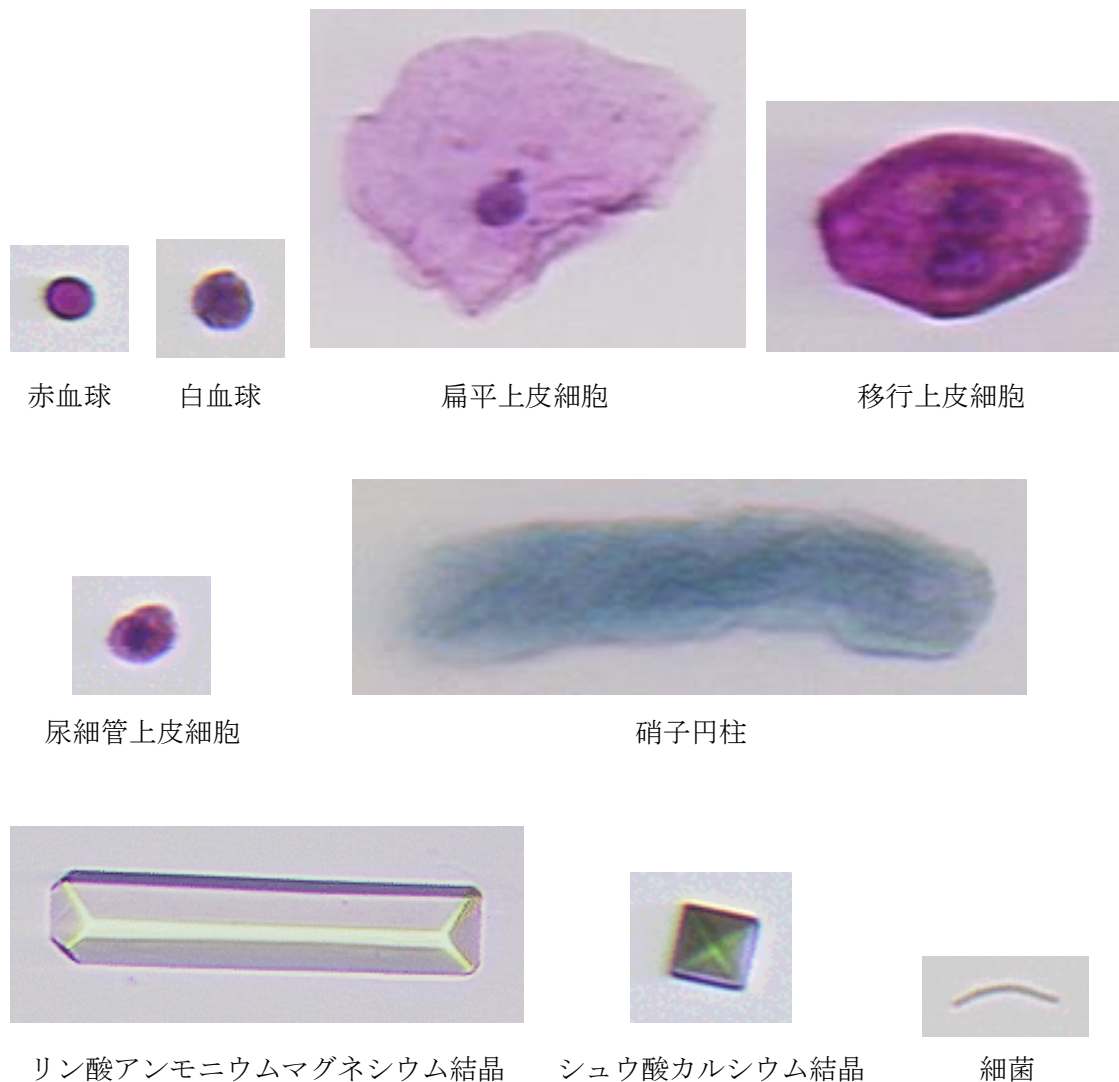


図 2-2 尿沈渣中に含まれる固形成分の例

2.2. 検体前処理および撮像系の概要

前述のように、通常、尿沈渣検査は遠心分離した尿を顕微鏡で観察することにより実施している。本研究においては、尿沈渣検査の省力化をめざし、フロー方式により撮像した尿中固形成分の拡大画像を対象とした。フロー方式を利用した撮像系、および検体前処理系の概要を図 2-3 に示す[17][18]。

尿サンプルはスピッツに採取し、装置にセットする。攪拌サンプリング機構部により、スピッツ中の尿が攪拌され、一定量の尿が染色槽に分注される。染色槽中の尿試料に染色液が加えられ、一定時間経過後、ダイレクト・サンプリング機構部により一定量の尿がフローセルに供給される。

フローセルは、中央にサンプル、その前後にシース液と呼ばれる透明な液体を流す特殊な構造をしたノズルを有する。フローセルの中で、原尿サンプルはシース液にサンドイッチ状に挟み込まれ、非常に薄い扁平な流れを形成する。この流れにフラッシュランプを瞬間的に照射することにより、対物レンズ前面の流れの中に含まれる固形成分を、CCD カラーカメラにより拡大静止画像として撮影する。フロー方式には、以下のようなメリットがあり、今回の研究で採用した。

- ① 沈渣成分をプレパラート上に標本として作成した場合には、多くの尿中粒子が接触したり、重なり合ったりする。これに対し原尿をそのまま用いるフロー方式では、粒子の多くは他の粒子と接触、あるいは重なることが無いため、一個一個の粒子の画像認識処理が行いやすい。
- ② 原尿の流れは非常に薄く、対物レンズから常に一定距離の位置を通過するため、固定焦点の光学系で撮影できる。
- ③ 尿サンプルとシース液の流速を制御することにより、サンプル流の厚みと流量を制御することができる。血球のような小型の成分は遅い流速、かつ薄いサンプル流の厚みで鮮明に撮影し、円柱のように大型かつ濃度の非常に低い成分は高速かつ厚いサンプル流で高精度に検出する、といった制御が可能になる。
- ④ 遠心分離、プレパラート標本作成が不要となるため、検査の省力化効果が大きい。

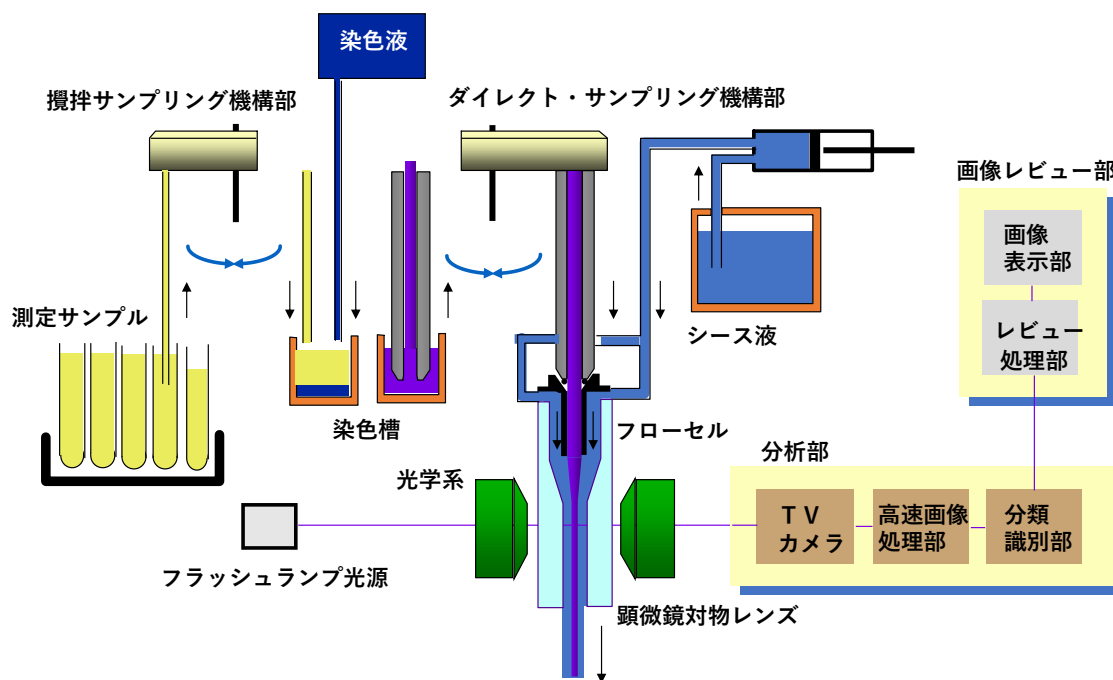


図 2-3 装置の概要

2.3. 画像パターン認識処理の概要

本研究では、臨床検査現場で実用的に使える画像処理、パターン認識技術の開発をめざし、処理方式を決定した。臨床現場で実用化するためには、分類精度に加え、処理速度を考慮する必要がある。尿検査用の自動化装置には 60 検体／分以上、特に検体数の多い病院では 100 検体／分以上の処理性能が求められる。この処理性能を達成するため、画像処理とパターン認識は、撮像間隔と同じ 30 枚／秒の処理性能をめざした。今回の研究で採用した画像処理、パターン認識の概要を図 2-4 に示す。シェーディング補正、領域分割、ラベリング、特徴量算出、パターン認識、の各処理から構成される。高速化のため、これらをパイプライン処理で実行する。

フロー方式で撮影した画像には、光学系に起因する濃度（明るさ）のムラがあるため、まずシェーディング補正を行い、濃度ムラを取り除く。測定開始時に全面が白色の画像と黒色の画像を撮影しておき、この 2 枚の画像濃度から濃度ムラを補正する式を算出し、シェーディング補正に用いる。

シェーディング補正により濃度ムラが補正された画像に領域分割処理を行い、画像上で固形の粒子成分が存在する領域を背景領域から分離、抽出する。一枚の画像中に複数の粒子が存在する場合、連結していない独立した複数の領域が抽出される。これら複数の独立した領域を、別々の粒子として認識するために、ラベリング処理によりそれぞれの独立した粒子領域に個別の番号を付与する。

次に、それぞれの個別の粒子領域に対し、形状や色調を定量的に表す特徴量を算出する。形状を表す特徴量としては面積、周囲長など、色調を表す特徴量としては R、G、B 各濃度の平均値や分散値など、合計 18 種類の特徴量を算出する。

後段のパターン認識では、これら 18 種類の特徴量に基づき、画像上のそれぞれの粒子の種類を分類する。パターン認識方式には、形状、色調ともに非常に多様な成分を高精度に分類できること、また、臨床現場の運用に合わせ、分類項目の追加や変更等にも短時間で柔軟に対応可能であることが求められる。本研究では、上記の要件を満たす方式として、学習によって高精度な認識論理を構築可能なニューラルネットワークを採用した。

本研究では、これらの画像パターン認識処理のうち、認識精度に大きく影響する領域分割、ニューラルネットワークの構成について新たな方式を提案した。次節以降ではこれらの提案方式について説明する。

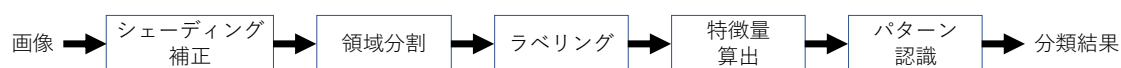


図 2-4 画像パターン認識処理の概要

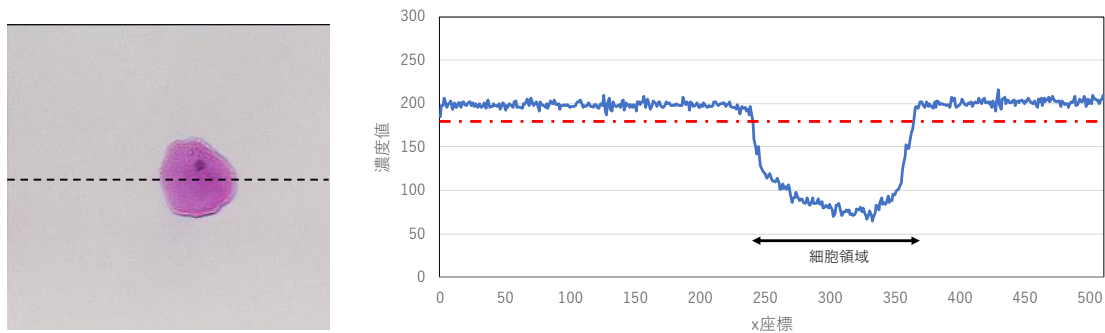
2.4. 尿中粒子を高精度に抽出する領域分割方法

2.4.1. 領域分割の課題

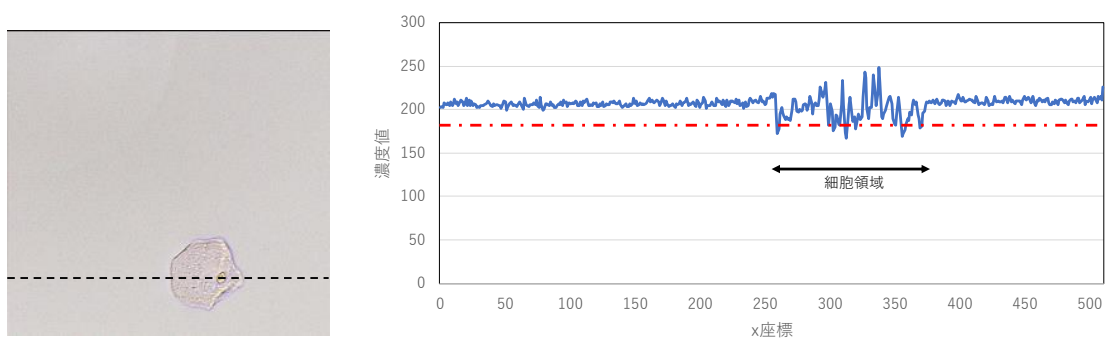
2.1 節で述べたように分類対象とする尿中粒子は、様々な色調を呈する。1 枚の画像上には、これら様々な色調の複数の粒子が現れ、全ての粒子の領域を正確に抽出する必要がある。有色の粒子に関しては、背景と粒子領域の濃度差に着目し、濃度に閾値を設け領域を分割することにより、粒子領域を抽出することができる。2.2 節で説明したように、本研究では、全ての尿検体に染色液を添加する前処理方式を採用した。しかし、生きている細胞は染色液を吸収しにくいという性質があり、大量の画像を収集したところ、尿中に出現する細胞の中には染色されないものが多数存在することが明らかとなった。

図 2-5 (a)、(b)に、染色された細胞と、染色されない細胞の濃度プロファイルを示す。それぞれ右側のプロファイルは、左側の画像の破線部分の x 方向の濃度プロファイルをプロットしたものである。(a)のプロファイルを見ると明らかに分かる通り、例えば一点鎖線で示す濃度値 180 近辺に閾値を設定すると、染色細胞は背景と分離できる。一方、(b)のプロファイルを見ると、一点鎖線で示す濃度値 180 近辺に閾値を設定しても、細胞領域は正確に抽出できない。また、閾値を更に上げたとしても、細胞領域中に背景と同程度の濃度のピクセルを多数含んでいるため、細胞領域を背景領域から正確に分離することは困難であることがわかる。

前述のように染色された細胞は濃度に閾値を設定すると正確に抽出できる。しかし粒子の種類により色調や濃度が異なり、また、尿サンプルや、フラッシュランプの状態により背景の濃度も変化するため、画像一枚ごとに閾値を適応的に決定する必要がある。このように、有色の画像に対しては適応的に濃度閾値を決定するとともに、無色透明の細胞も抽出できる領域分割方式を実現する必要がある。



(a) 染色細胞の濃度プロファイル



(b) 無染色細胞の濃度プロファイル

図 2-5 細胞画像の濃度プロファイル

2.4.2. 有色・無色の粒子を高精度に抽出可能な領域分割方法の提案

画像上で閉領域を抽出する方式としては、濃度に閾値を設ける方式の他、閉領域の初期状態を与えた後、対象領域の輪郭に合致するように徐々に変形する Snakes アルゴリズム、Level Set アルゴリズムなどの動的輪郭法 (Active Contour Model) [19]、最初に背景と対象のそれぞれに含まれる小領域を指定した後、エネルギー関数が最小になるように残りの領域を背景と対象とに分割するグラフカット法[20]、対象内の小領域を徐々に拡大し、対象領域の形状に合致させる Watershed アルゴリズムなどの領域拡大法[21]、等が知られている。これらの方式は、抽出する領域を囲む閉曲線や、背景と対象領域に含まれる小領域を予め定めた後、繰り返し演算により徐々に対象物の領域を正確に特定する。そのため、初期状態を正確に決める必要があり、更に繰り返し演算のため収束までの演算時間が予測できない。また、領域分割用途に特化した Deep Learning である U-net[22]をプレパレート標本上の尿沈渣画像の領域分割に適用した研究も報告されている[23]。しかし、この方法は多層の大規模なニューラルネットワークを使用するため、計算時間の点で不利である。

前述のように、今回は画像 1 枚あたり確実に 1/30 秒で処理する必要がある。そこで、本研究では、細胞内部の濃度と、濃度変動の大きさの両方に着目し、様々な大きさ、色調の

尿中粒子の領域を繰り返し演算に依らない簡便な計算で高精度に抽出する方法を提案する。提案手法の概要を図 2-6 に示す。

提案手法では、入力された尿中粒子画像に対し、①濃度値に基づく領域分割、②濃度変動に基づく領域分割、を実施する。①、②の両方から、対象領域を 1、背景を 0 とする領域分割結果を得た後、これら 2 枚の 2 値画像の論理和を計算し、新たな 2 値画像を作成する。最後に、この 2 値画像に対し修正処理を施し、最終的な領域抽出結果とする。

濃度値に基づく領域分割では、染色細胞などの有色の粒子の領域を抽出する他、無染色細胞の領域中の、背景より暗い部分、明るい部分を抽出する。濃度のヒストグラムに基づき、適応的に閾値を決定することにより、1 枚の画像上に、様々な大きさ、様々な色調の粒子が複数個存在する場合にも、安定した粒子領域の抽出を可能とする。濃度変動に基づく領域分割は無染色細胞を対象とした処理である。細胞内の濃度変動が大きいことに着目し、濃度変動の大きさを数値化して変動の大きい領域を細胞領域として抽出する。

これら 2 種類の領域分割結果を論理和演算で重ね合わせることにより、多様な色調の粒子全てに対する領域分割結果を得る。領域修正処理としては領域の穴埋め、背景のノイズ除去を行う。

以下の節では、濃度値に基づく領域分割、濃度変動に基づく領域分割、領域修正処理について詳細に説明する。

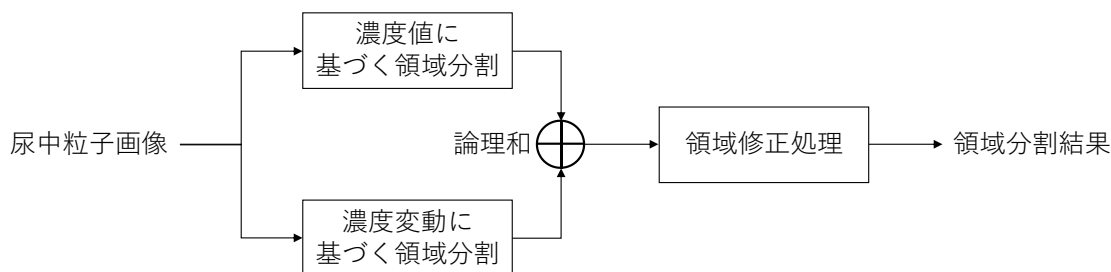


図 2-6 提案する領域分割方法の概要

2.4.2.1. 濃度値に基づく領域分割[24]

濃度値に基づく領域分割では、濃度のヒストグラムに基づき、適応的に閾値を決定する。画像上で異なる色調の 2 種類の領域が存在する場合、濃度のヒストグラムは双峰性となる。この場合、2 つのピーク間に存在する谷 (ディップ) の部分に閾値を設定することにより、2 種類の領域を分割することができる。双峰性のヒストグラムに対し閾値を設定する方法としては、クラス間分散とクラス内分散の差が最大になるように閾値を定める大津の方法[25]が知られている。しかし、本研究で対象とする尿中粒子画像では、対象物の面積が背景に比べて小さく、かつ濃度の分布の広がりが多い画像が多く、このような画像では対象物の濃度分布のピークが正確に検出できない。染色細胞画像の濃度ヒストグラムの例を図 2-7 に

示す。血球などは細胞よりも更に面積が小さいため、ピークも更に小さくなる。また、様々な色調の複数の粒子が 1 枚の画像上に存在する場合には、粒子領域の濃度分布はさらに広がる。また、場合によっては複数のピークを持つようになる。

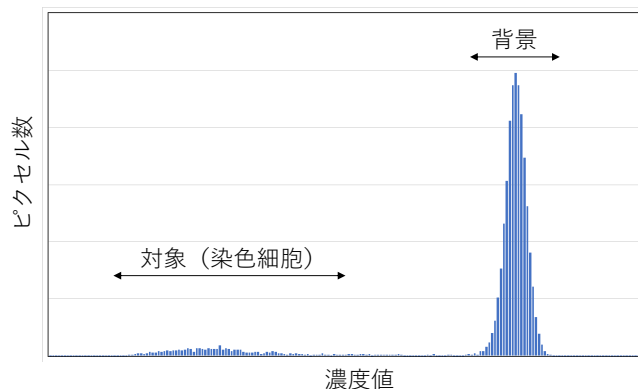


図 2-7 染色細胞画像の G 画像の濃度ヒストグラムの例

血球画像の領域分割においては、分類対象物の大きさ、色調に関する事前知識を用いることにより、検体ごとに適応的に適切な閾値を設定する方法が提案されている[26][27]。しかし、大きさ、色調のバリエーションが比較的少ない血球に比べ、尿沈渣は同一種類の成分でも大きさや色調が多様であり、かつ同一画像中に様々な種類の成分が含まれる。また検体ごとに出現する成分や、その濃度も異なるため、尿沈渣成分の形状、色調に関する事前知識を用いて閾値を設定することは困難である。

図 2-7 に示すように、尿中粒子画像では、通常、背景領域の面積が最も大きいため、ヒストグラム上で背景領域を表す濃度のピークが最も高く、このピークは容易に検出できる。そこで、本研究ではヒストグラム上で背景領域を表すピークと、その両側でピークの半値となる濃度値とを基準に、閾値を算出し領域を分割する方式を開発した。具体的には、以下の処理により領域分割処理を行う。

- ① R 画像と G 画像それぞれの、濃度値のヒストグラムを作成する。
- ② R 画像、G 画像のそれぞれのヒストグラムのピーク値を探索し、ピーク値となる濃度値 r_p 、 g_p を特定する。
- ③ R 画像、G 画像それぞれのヒストグラム上で、ピーク値から濃度値が低い方向の頻度（ピクセル数）を調べ、ピーク値の半値となる濃度値 r_{a_1} 、 g_{a_1} を特定する。
- ④ R 画像、G 画像それぞれのヒストグラム上で、ピーク値から濃度値が高い方向の頻度（ピクセル数）を調べ、ピーク値の半値となる濃度値 r_{a_2} 、 g_{a_2} を特定する。
- ⑤ 次式に従い、領域分割用の濃度閾値を決定する。

$$\begin{aligned}
r_{th_1} &= r_p - k_1(r_p - r_{a_1}) \\
r_{th_2} &= r_p + k_2(r_{a_2} - r_p) \\
g_{th_1} &= g_p - k_1(g_p - g_{a_1}) \\
g_{th_2} &= g_p + k_2(g_{a_2} - g_p)
\end{aligned}
\tag{1}$$

- ⑥ 画像上の位置(i, j)における画素の R 画像の濃度値 $r_{i,j}$ 、G 画像の濃度値 $g_{i,j}$ が次式の条件を満たす画素を背景、それ以外の画素を対象領域として抽出する。ただし i は画像上の水平 (x) 方向の位置、 j は垂直 (y) 方向の位置を表す座標値とする。

$$\begin{aligned}
r_{th_1} &< r_{i,j} < r_{th_2} \\
g_{th_1} &< g_{i,j} < g_{th_2}
\end{aligned}
\tag{2}$$

画像は R、G、B のそれぞれについて濃度値が得られているが、今回使用した CCD カラーカメラのフィルタ特性及び、各種尿沈渣成分の RGB 成分を調べた結果、R、G の 2 色のみで有色の尿沈渣成分の領域分割が可能であることが分かったため、R、G の 2 色の濃度を用いることとした。用いる色濃度を 2 色のみとしたことは、処理の高速化にも寄与する。

ヒストグラム上での g_{th_1} 、 g_{th_2} 、 g_{a_1} 、 g_{a_2} 、 g_p の関係を図 2-8 に示す。また、染色細胞画像の、R 画像、G 画像の濃度ヒストグラムと、R-G 濃度分布との関係を図 2-9 に示す。図 2-9 より明らかなように、 g 濃度のヒストグラムは、背景の濃度分布と、細胞領域の濃度分布は分離しているものの、細胞領域の濃度分布は平坦で広がっている。また、 r 濃度のヒストグラムでは、背景の濃度分布の裾と、細胞領域の濃度分布の裾が重なっており、双峰性にはなっていない。いずれも背景と対象領域の 2 つのピークを正確に検出することは困難であるが、背景領域のピークは急峻で容易に検出可能である。本手法により、 r_{th_1} 、 r_{th_2} 、 g_{th_1} 、 g_{th_2} の 4 個の閾値に囲まれた矩形領域内の画素が背景、それ以外の画素が対象領域として領域分割される。本手法により、R-G 空間で広範な範囲に広がる対象領域の画素を、背景と分離して抽出できることが分かる。

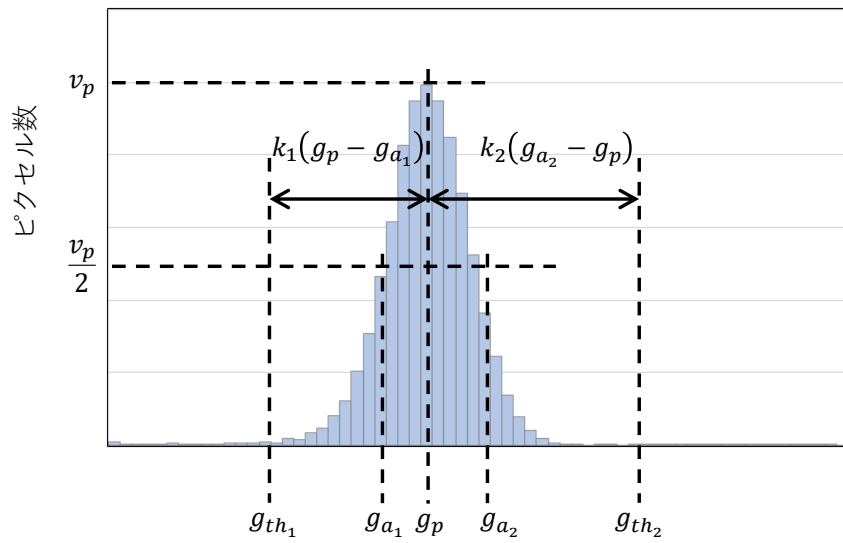


図 2-8 背景濃度のヒストグラムに基づく閾値決定方法

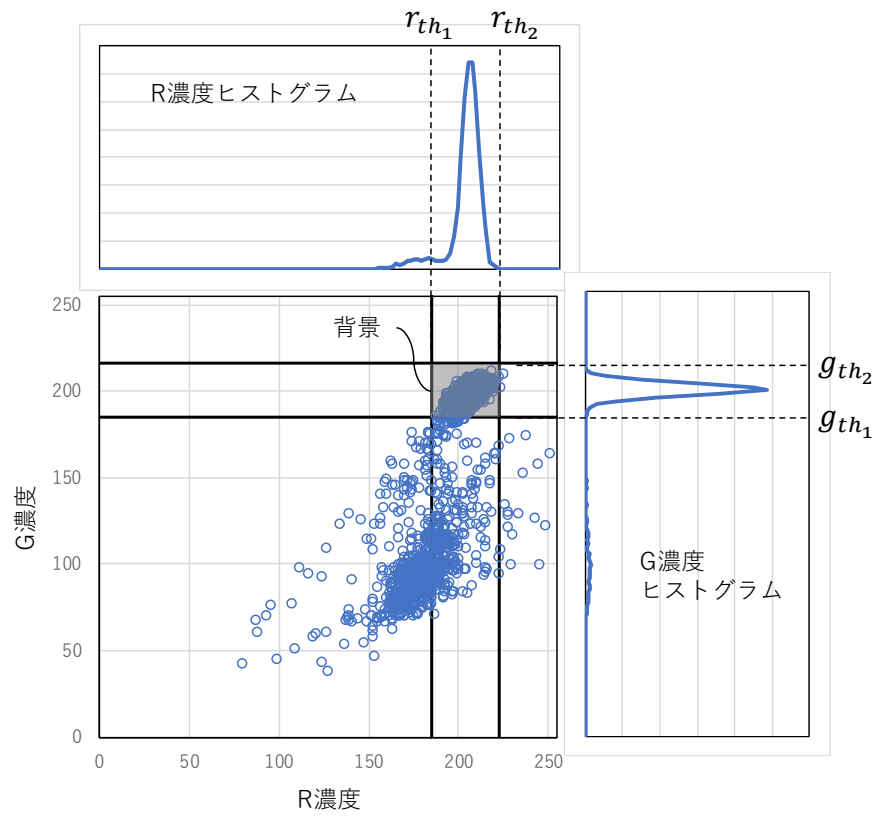


図 2-9 染色細胞画像の R・G 濃度ヒストグラムと R-G 濃度分布

2.4.2.2. 濃度変動に基づく領域分割[28]

有色の対象物は前節で述べた、濃度に閾値を設定する方法で領域を抽出することができるが、無染色細胞のような無色透明の対象物は、濃度のみでは正確に領域を抽出することは困難である。図 2-5 の(a)染色細胞と、(b)無染色細胞のそれぞれに、濃度閾値による領域分割処理を行った結果を図 2-10 に示す。(a)染色細胞は、細胞領域全体を1つの領域として抽出できているが、(b)無染色細胞は、細胞内部の領域がほとんど抽出できていない。この無染色細胞画像の、R画像、G画像の濃度ヒストグラムと、R-G濃度分布を図 2-11 に示す。無染色細胞は透明で、背景と同じ色調であるため、濃度分布は単峰性となる。R-G空間中でも、濃度分布は1つのクラスターとなっており、濃度のみで背景と対象を分離するのは困難であることがわかる。

図 2-5 (b)の濃度プロファイルで示したように、無染色細胞領域は、背景に比べ濃度の変動が大きい。透明な細胞の領域分割を可能とするため、この特徴に着目し、局所領域内の濃度変動を定量化し濃度変動の大きい領域を対象領域とする領域分割方法を新たに開発した。

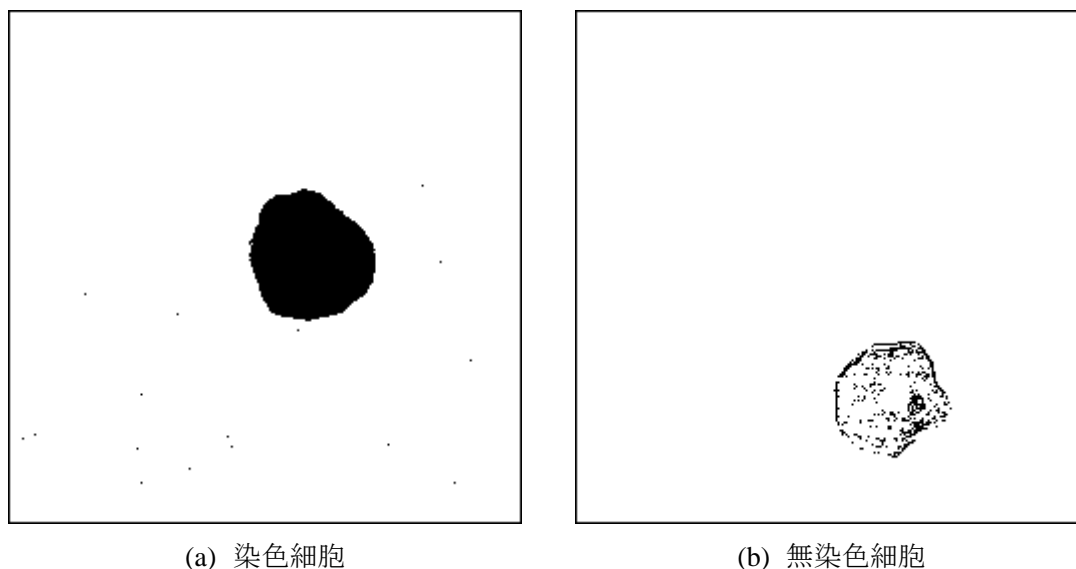


図 2-10 濃度閾値処理による領域分割結果

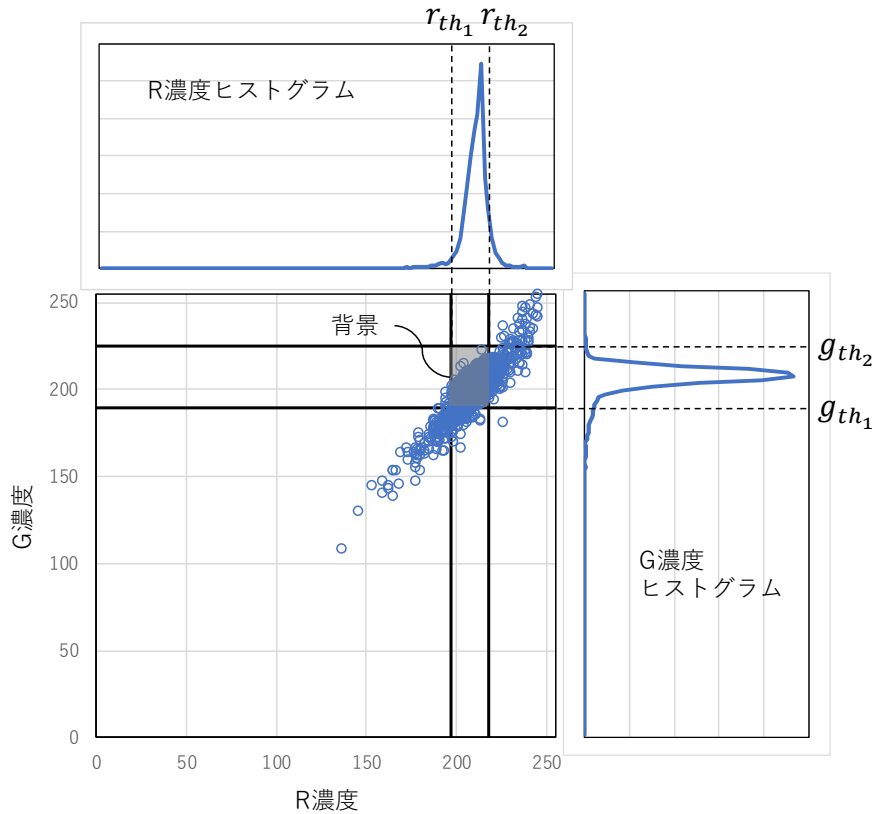


図 2-11 無染色細胞画像の R・G 濃度ヒストグラムと R-G 濃度分布

領域分割のために局所的な濃度変動を定量化する方法としては、局所領域内での濃度の分散を用いる方法が提案されている[29]。本研究においては、前述のように画像 1 枚の処理を 1/30 秒以内で行うことを目標とし、次式により局所的な濃度変動を定量化した。

$$d_{i,j} = \sum_{k=1}^n g_{i-k,j} - \sum_{k=1}^n g_{i+k,j} \quad (3)$$

$g_{i,j}$ は G 画像上の座標 (i, j) における画素の濃度値を表す。無染色細胞の R、G、B 三色の画像の濃度変動を調べた結果、G 画像の細胞領域の濃度変動が、背景に比べ最も大きかったため G 画像の濃度を用いることとした。式(3)は注目画素 (i, j) に対し、x 方向の前後 n 画素の差分を計算することに相当する。 $d_{i,j}$ は加算と減算のみで計算できるため、分散よりも計算量が少ない。また、x 方向のみの隣接画素の値を使っているため、画像 1 ラインごとにデータを転送しながら計算を行うことが可能であり、論理回路によるハードウェア実装も容易に行うことができる。

式(3)は 1 次元のデジタルフィルタとみなすと、伝達関数は z 変換を用いて

$$H(z) = \sum_{k=1}^n (z^k - z^{-k}) \quad (4)$$

と表すことができる。周波数応答は次式で表され、 n の値により周波数特性は変化する。

$$H(z) = \frac{2 \left(\sin \frac{n+1}{2} \Omega \right) \left(\sin \frac{n}{2} \Omega \right)}{\sin \frac{\Omega}{2}} j \quad (5)$$

$n=1, 2, 3$ の場合の周波数振幅特性 $|H(z)|$ を図 2-12 (上図) に示す。

無染色細胞と背景を高精度に分割するため、この周波数特性に基づき、無染色細胞に多く含まれる周波数成分が効率的に強調されるよう n の値を定めた。背景の x 方向 1 ライン、無染色細胞を含む x 方向 1 ラインのそれぞれの濃度プロファイルの周波数成分を調べた結果を図 2-12 (下図) に示す。また、同図の上部に、 n の値を 1~3 とした場合の、式 (3) の周波数特性を示す。背景は低周波から高周波までほぼ一定の成分であることがわかる。背景に対し、細胞領域は中~低周波成分を多く含んでいる。一方、式(3)の周波数特性は、 n の値を大きくすると、より低周波の成分が強調される特性となっている。無染色細胞に特徴的に含まれる周波数成分を強調するために、 $n=2$ と設定した。

計算された濃度差分値 $d_{i,j}$ を用い、次式を満たす画素 (i,j) を背景、それ以外の画素を対象領域として領域分割を行う。 d_{th} の値は、安定して無染色細胞の領域を抽出できる値を実験により定めた。

$$|d_{i,j}| < d_{th}$$

本節で述べた濃度差分値を用いた領域分割方法による、無染色細胞の領域分割結果の例と、前節で述べた濃度値による領域分割結果の例を、図 2-13 に示す。濃度差分値による領域分割結果の方が、無染色細胞内部の画素をより多く対象領域として抽出できていることがわかる。

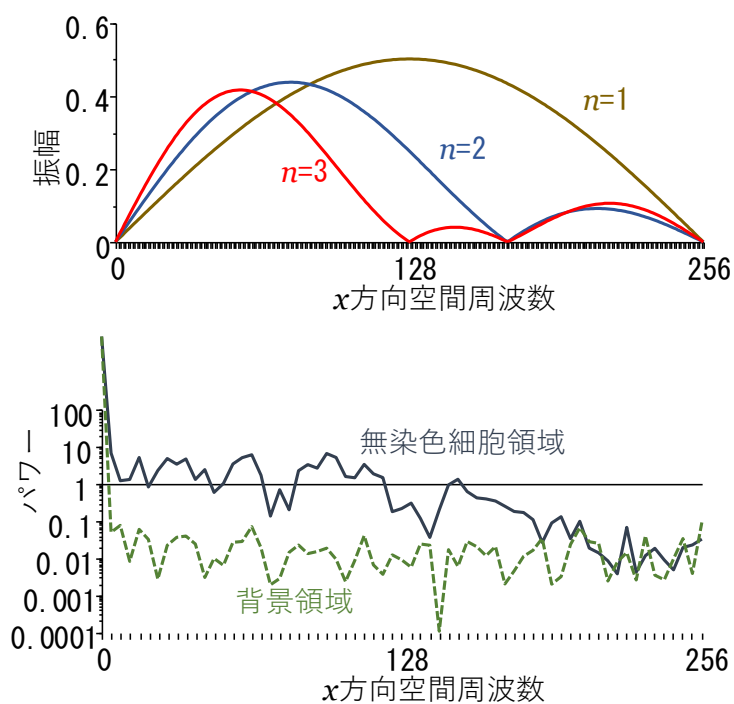
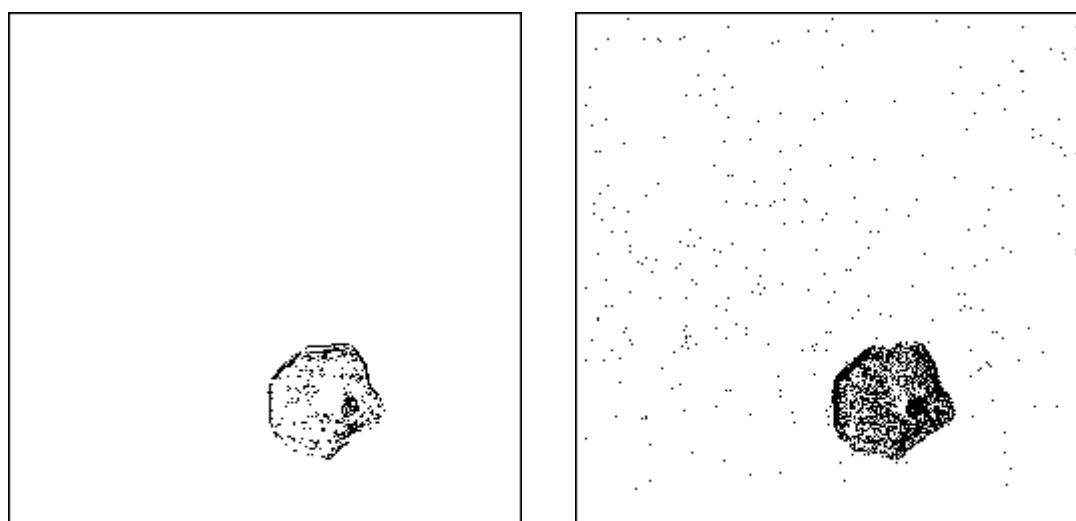


図 2-12 背景、無染色細胞の周波数成分と、式(3)の周波数特性



(a) 濃度値による領域分割結果

(b) 濃度差分値による領域分割結果

図 2-13 濃度値による領域分割結果と濃度差分値による領域分割結果の比較

2.4.2.3. 領域修正処理

図 2-6 に示したように、2.4.2.1 節で述べた濃度値に基づく領域分割の結果と、2.4.2.2 節で述べた濃度変動に基づく領域結果は、論理和で 1 枚の 2 値画像に合成した後、領域修正

処理を行う。図 2-5 (b)に示した無染色細胞画像に対し、濃度値に基づく領域分割と濃度変動に基づく領域分割を行い、両方の領域分割結果を論理和で合成した 2 値画像を図 2-14 (a)に示す。この状態では、背景領域のノイズを対象領域として抽出している。また、細胞を 1 つの連結領域として抽出できていないため、パターン認識の際に 1 個の細胞を複数の粒子として誤認識してしまう。

そのため、領域修正処理として背景のノイズ除去と、対象領域の穴埋め処理を行う。高速に処理を行うため、領域修正処理としてはモルフォロジー変換を使用し、最初に領域穴埋めのためのクロージング処理を行い、次にノイズ除去のためのオープニング処理を行う。具体的には、領域の穴埋めのため、 3×3 の矩形カーネルを用いた膨張 (Dilation) 処理を行った後、領域の大きさ (面積) を元に戻すための収縮 (Erosion) 処理を行う。次に、ノイズ除去のために収縮 (Erosion) 処理を行った後、領域の大きさ (面積) を戻すための膨張 (Dilation) 処理を行う。領域の穴埋めは、注目画素に近接する 8 ピクセルの中に 1 ピクセルでも対象領域のピクセルがあれば、注目画素を領域とし、ノイズ除去は近傍 8 ピクセルの中に 1 ピクセルでも背景があれば、注目画素を背景とする処理に相当する。

図 2-14 (a)の 2 値画像に対し、領域修正を行った結果を同図(b)に示す。細胞領域は連結した 1 領域として抽出され、背景のノイズが除去されていることがわかる。

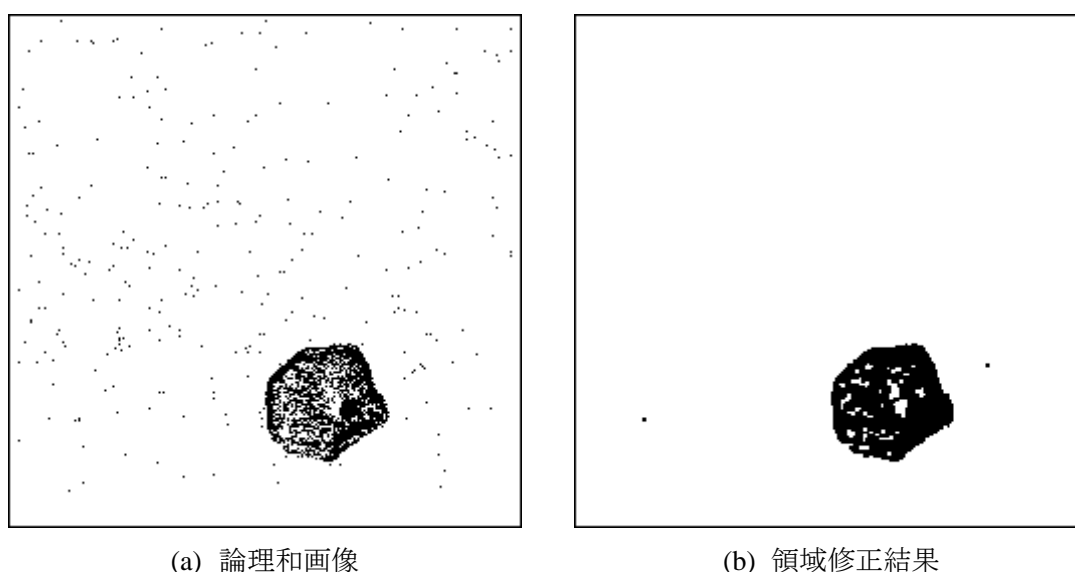


図 2-14 論理和画像と領域修正結果

2.4.3. 提案手法による領域分割精度向上評価

2.4 節で提案した領域分割法の有効性を検証するため、濃度値のみを使用して領域分割を行った場合と、提案手法により領域分割を行った結果を比較した。濃度値のみを使用した領域分割では、図 2-6 に示す処理の概要から、濃度変動に基づく領域分割を除いた処理を行った。提案手法は無染色の細胞に対する領域分割精度向上を目指したものであるため、図

2-5 (b)に示した無染色細胞画像に対し領域分割を行い、①領域抽出率、②連結領域数、を算出した。①領域抽出率は、細胞領域全体のピクセル数に対し、領域分割の結果、対象領域として抽出できたピクセル数の割合を表す。また、②連結領域数は、細胞領域が、いくつの連結領域として抽出されたかを表す。なお、連結領域とは、相互に連結（接触した）ピクセル群を指し、背景で囲まれた1つの領域に相当する。結果を表 2-1 に示す[28]。

濃度値のみを使用した場合では細胞全体の 21%しか対象領域として抽出できなかったが、提案手法により抽出率は 70%向上し、細胞領域全体の 91%を対象領域として抽出することができた。また、濃度値のみを使用した手法では、1 個の細胞が 26 個の小さな領域として分割されていたが、提案手法により 1 個の連結した領域として抽出することができるようになった。

表 2-1 無染色細胞の領域分割精度評価結果

	①領域抽出率	②連結領域数
濃度値のみ使用	21%	26
提案手法	91%	1

次に、①濃度値のみを使用した手法、②提案手法、の両方で無染色細胞画像 61 枚を領域分割し、1 個の細胞がいくつの連結領域として抽出されるかを評価した。結果を表 2-2 に示す。なお、抽出した領域中、50 ピクセル以下の微小な領域はノイズとして除去した。連結領域数は 1 であることが望ましく、2 以上の場合には、1 個の細胞が複数の領域に分断されて抽出されたことを意味する。1 個の連結領域として抽出された細胞は、①濃度値のみを用いた手法では全細胞の 28%に相当する 17 個であったが、②提案手法では 57%に相当する 35 個に改善された。また、提案手法では約 80%の細胞が、2 個以下の連結領域として抽出できたが、濃度値のみを用いた手法では、2 個以下として抽出できた細胞は 43%であった。細胞として抽出された領域数の平均を表 2-3 に示す。濃度値のみを用いた手法では、1 個の細胞が平均的に 3.61 個の領域に分割されたが、提案手法では領域数が 2 個以下に抑えられており、無染色細胞画像に対する領域分割精度が向上することを確認した。

表 2-2 抽出される連結領域数の比較

連結領域数	①濃度値のみ	②提案手法
1	17	35
2	9	14
3	11	2
4	4	4
5	9	2
6	2	3
7	3	0
8	2	1
9	2	0
10	1	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	1	0
15	0	0
合計	61	61

表 2-3 抽出される平均領域数の比較

	①濃度値のみ	②提案手法
平均連結領域数	3.61	1.98

2.4.4. 考察

2.4.4.1. 領域分割の精度向上に関する考察

2.4.2.2 節で述べたように、提案手法は、無染色細胞画像に多く含まれる周波数成分を強調するように隣接ピクセル数を最適化した濃度差分値を算出し、領域分割に用いることを特徴としている。濃度差分値により、背景に対し細胞領域の信号成分がどの程度強調され、領域分割の精度向上に寄与したかを調べるため、濃度値と濃度差分値の双方に関し、背景と細胞領域との統計量を比較した。結果を表 2-4 に示す。また、背景と細胞領域のそれぞれにおける G 濃度値、G 濃度差分値の分布（ヒストグラム）と、G 濃度値と G 濃度差分値を軸とする座標平面上での、背景と細胞領域の分布を図 2-15 に示す。

表 2-4 濃度値と濃度差分値の統計量の比較

	G 濃度値		G 濃度差分値	
	背景	細胞領域	背景	細胞領域
平均	202	198	-0.0938	-0.287
最頻値	203	198	0	0
標準偏差	3.90	18.6	6.17	41.7
最小値	188	83	-22	-268
最大値	215	255	21	277

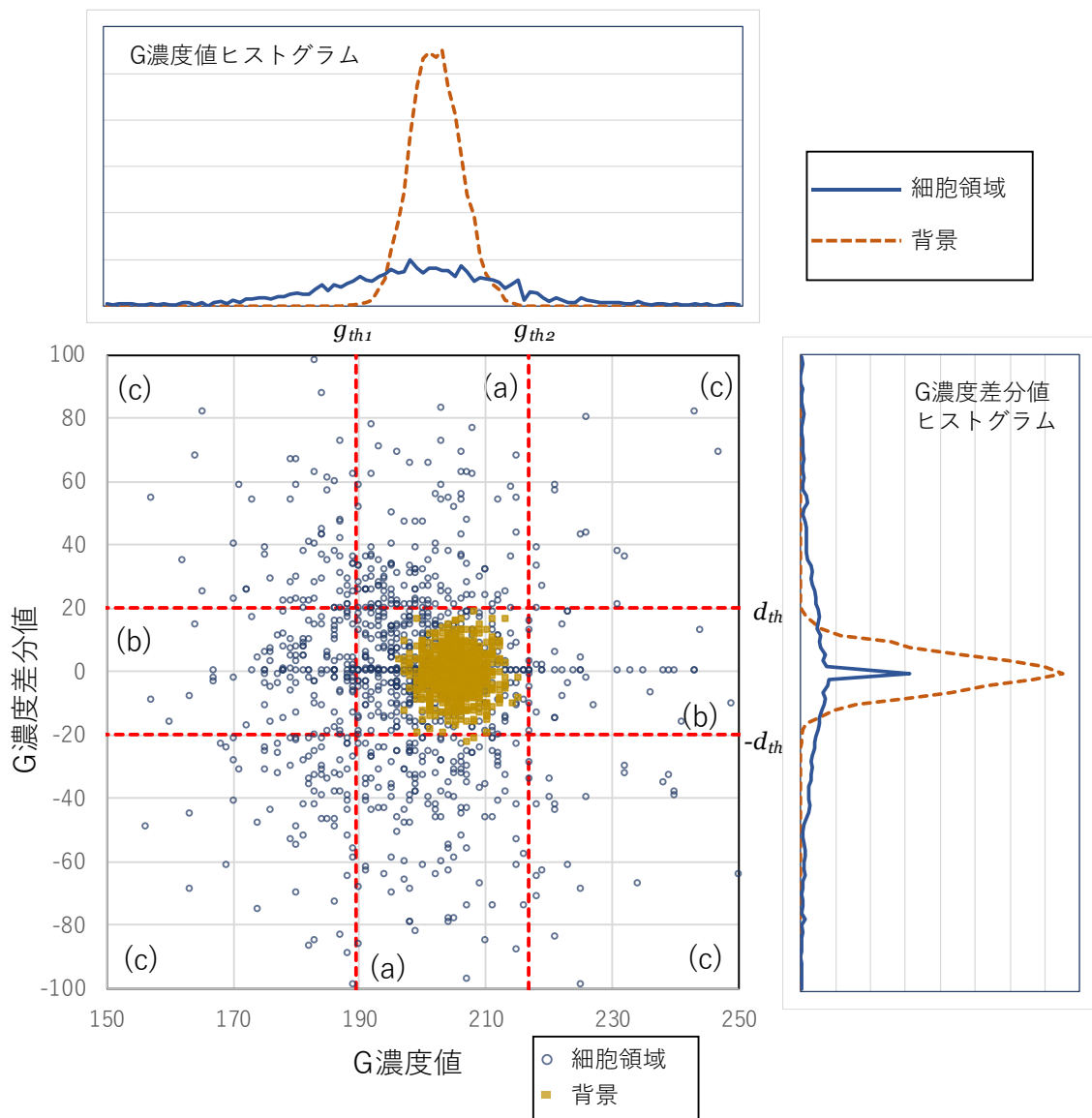


図 2-15 背景と細胞領域の G 濃度値と G 濃度差分値の分布

表 2-4、図 2-15 より明らかなように、濃度値、濃度差分値ともに背景と対象領域の平均値、最頻値はほぼ同じ値で、重なり合っている。背景の分布の両側に閾値を設け、閾値の内側を背景、外側を対象領域として領域分割を行うため、背景の分布は平均値で大きなピークを有する急峻な分布であることが望ましく、また、細胞領域の分布はピークが低くブロードな分布であることが望ましい。すなわち、背景の濃度値または濃度差分値の標準偏差を σ_{bg} 、細胞領域の標準偏差を σ_{cell} とすると、 $r_\sigma = \sigma_{cell}/\sigma_{bg}$ が大きいほど、より多くの細胞領域のピクセルを背景と分離できる。

2.4.2.1 節で述べた通り、提案手法では背景濃度ヒストグラムの半値幅を基準に閾値を設定する。背景の濃度分布を平均値 μ 、標準偏差 σ_{bg} の正規分布を仮定すると、ヒストグラムのピークに対し半値となる濃度は次式で表される。

$$\mu \pm \sqrt{2 \ln 2} \sigma_{bg} \quad (6)$$

提案手法は、 $\sqrt{2 \ln 2} \sigma_{bg}$ の部分に定数を乗じて閾値とするため、次式のように単純化することができる。

$$\mu \pm k \sigma_{bg} \quad (7)$$

上記の値を上限、下限とする濃度値を背景として領域を分割する。この値の範囲を、対象領域の標準偏差 σ_{cell} を基準とした範囲に換算してみる。背景と細胞領域の平均値が等しいとすると、対象領域の標準偏差 σ_{cell} を基準とした閾値は

$$\mu \pm k' \sigma_{cell} \quad (8)$$

となる。式(7)と式(8)が等しいと置くと、 k' は次式で表される。

$$k' = \frac{\sigma_{bg}}{\sigma_{cell}} k = \frac{k}{r_\sigma} \quad (9)$$

背景と細胞領域との標準偏差の比 r_σ が大きいほど k' は小さくなる。 $\mu \pm k' \sigma_{cell}$ の範囲に入る濃度・濃度差分値は、細胞領域であるにも関わらず背景として分割される濃度値・濃度差分値であるので、 k' が小さいほど誤って背景として分割されるピクセルが少なくなる。表 2-4 に示した標準偏差の値に基づき、G 濃度値、G 濃度差分値の双方に関し、標準偏差の比 r_σ と、背景の分布範囲 $3\sigma_{bg}$ に対する細胞領域の分布範囲 (式(9)で $k = 3$ とした時の k' の値) を算出した。また、正規分布を仮定した時、求めた k' に関して全細胞領域中、正しく細胞領域として抽出される画素の割合 ($\mu \pm k' \sigma_{cell}$ の外側に分布する画素の割合) を領域抽出率として求

めた。領域抽出率の算出には正規分布表[42]を用いた。結果を表 2-5 に示す。

表 2-5 G 濃度値、G 濃度差分値による領域分割の領域抽出率比較

	標準偏差の比 ($r_{\sigma} = \sigma_{cell}/\sigma_{bg}$)	背景 3σ に相当する 細胞領域の分布範囲	領域抽出率
G 濃度値	4.77	0.63σ	52.9%
G 濃度差分値	6.76	0.44σ	66.0%

標準偏差の比 r_{σ} は濃度値が 4.77 に対し濃度差分値は 6.76 と約 1.42 倍の値となった。背景の 3σ 範囲に対応する細胞領域の範囲は、濃度値、濃度差分値それぞれ 0.63σ 、 0.44σ となった。領域抽出率に換算するとそれぞれ 52.9%、66.0% であり、分布が正規分布であると仮定すると、濃度差分値を用いて領域分割を行った場合には、濃度値のみを用いた場合に比べ、全細胞領域の 13.1% 程度多くの領域を正しく抽出できるようになることを示している。

提案手法では、濃度差分値による領域分割結果と、濃度値による領域分割結果の論理和を取ることににより、更に抽出精度が向上している。図 2-15 の G 濃度値—G 濃度差分値の座標平面上に、濃度値による領域分割の閾値 g_{th1} 、 g_{th2} と、濃度差分値による領域分割の閾値 $-d_{th}$ 、 d_{th} の例を破線で示した。これら 4 本の破線で分割された 9 個の矩形領域の中で、中央の矩形領域に分布する画素が背景、それ以外の画素が細胞領域として分割される。細胞領域に分割される画素の中で、(a)の矩形領域中の画素は、濃度値では細胞領域として抽出されないが、濃度差分値を用いることにより細胞領域として抽出される。逆に(b)の矩形領域中の画素は、濃度差分値では細胞領域として抽出されないが、濃度値による領域分割で細胞領域として抽出される画素である。(c)の矩形領域の画素は、濃度値、濃度差分値いずれを用いた領域分割においても、細胞領域として抽出される。

このように濃度差分値を用いても細胞領域として抽出できない(b)に含まれる画素が存在するのは、濃度差分値の計算をデジタルフィルタと見做した場合、入力（濃度値）と出力（濃度差分値）の間に位相のずれが生じるためと考えられる。細胞領域を含む、画像中の水平方向 1 ライン分の G 濃度値と G 濃度差分値のプロファイルを図 2-16 に示す。図中、赤の矢印で示している部分に着目すると、フィルタの位相特性の影響により、G 濃度値と G 濃度差分値のピーク位置がずれていることがわかる。そのため、濃度値で細胞領域として抽出される画素と、濃度差分値で抽出される画素とが異なる。本提案手法では、濃度値による領域分割結果と、濃度差分値による領域分割結果の論理和を最終結果としているため、(b)の領域の画素も細胞として抽出され、領域分割の精度が向上している。

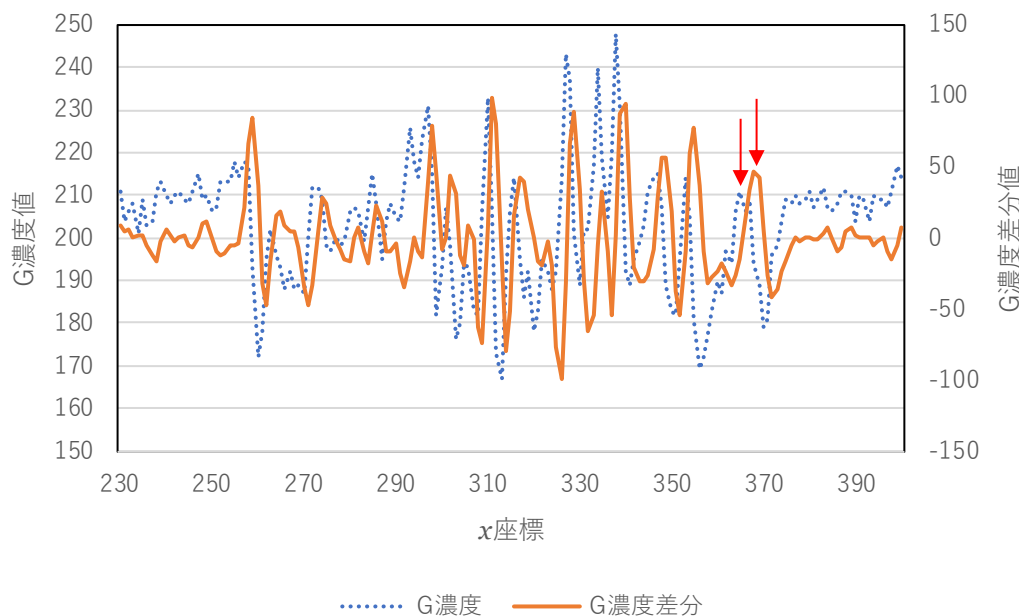


図 2-16 細胞領域水平方向 1 ライン分の G 濃度値と G 濃度差分値のプロファイル

2.4.4.2. 臨床現場での実用化に関する考察

臨床現場で実施される尿沈渣検査では、尿中に出現した固形成分（粒子）の種類に加え、各種の粒子の濃度が報告される。顕微鏡観察による従来の検査方法では、検査技師が一視野あたりの粒子数をカウントし、粒子数に応じたランクを検査結果として報告する。

濃度値のみを用いた領域分割では、1 個の細胞が 26 個もの個別の領域に分割された。もし、後段のニューラルネットワークにより、これら個別の領域 1 個 1 個を扁平上皮細胞として学習させ自動分類した場合、分類が正しく行われたとしても出現した細胞の個数を正しくカウントすることができないため、尿沈渣の検査結果として正しい結果を得ることは難しい。

尿中粒子の濃度を報告する際のランク分け（検査結果の表記）の方法は病院により異なるが、上皮細胞の濃度を報告する際のランク分け（表記方法）の例を表 2-6 に示す[14]。左側が日本臨床検査標準協議会（JCCLS: Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards）が定めるランク分けおよび報告の表記方法、右側が JCCLS のランクに対応する、大阪大学での報告表記方法である。尿沈渣検査を顕微鏡観察で実施する場合には、2 種類の拡大倍率を切り替えながら観察する。低い拡大倍率は 100 倍で、弱拡大（LPF: Low Power Field）と呼ばれ、高い拡大倍率は 400 倍で、強拡大（HPF: High Power Field）と呼ばれる[15]。JCCLS の表記方法における”HPF”は、強拡大（400 倍）の 1 視野あたりの個数を表す。

この表より明らかなように、例えば HPF1 視野あたりの扁平上皮細胞の濃度が 1~4 個程度だったとしても、これらの細胞が無染色で、1 個の細胞が 26 個の細胞としてカウントされると、本来はランク 2 として報告されるべき検査結果がランク 4~6 として報告される。

結果として本来は正常である検体を異常として報告する偽陽性を生じることになる。

このように、臨床現場での実用化を目指す場合には、1個の細胞は1個としてカウントする必要がある。提案手法は、1個の細胞が分断される数（連結領域数）の大幅な減少を実現するため、正確な検査結果を得ることが可能となり、臨床現場での実用化に大きく貢献すると考えられる。

表 2-6 上皮細胞濃度の表記方法の例

ランク	JCCLS の報告表記方法	大阪大学における報告表記方法
1	1 未満/HPF	—
2	1~4/HPF	1+
3	5~9/HPF	2+
4	10~19/HPF	3+
5	20~29/HPF	3+
6	30~49/HPF	多数
7	50~99/HPF	無数
8	100 以上/HPF	無数

2.5. 尿中粒子の高精度画像パターン認識

2.5.1. 画像パターン認識の課題

図 2-2 に示したように、分類対象となる尿中の粒子は大きさ、形状、色調が多様である。さらに、図 2-17 に示すような、同種の粒子でも形状や色調が異なる粒子や、図 2-18、図 2-19 に示すような、異なる種類であるにもかかわらず、非常に似た大きさ、形状、色調の粒子も存在する。尿中粒子の画像パターン認識においては、これらの多様な対象粒子を、いかに高精度に分類するかが課題となる。

2.3 節で述べたように、本研究では 18 種類の画像特徴量により分類を行うこととしたが、特徴量空間中における、各種粒子を分類するための識別境界は非常に複雑になることが予想される。尿沈渣の画像認識においては、k 近傍法、ニューラルネットワーク、ベイジ推定、決定木、ルール導出を適用した報告がある[30]。しかしながら、分類対象は赤血球、白血球、シュウ酸カルシウム、リン酸塩に限定されており、出現頻度の高い上皮細胞や、疾病の有無を判断する上で重要な円柱等の分類は検討されていない。

本研究では、画像認識の検査業務への導入による検査の効率化実現のため、尿沈渣の全成分を対象とした高精度画像パターン認識技術の開発を目的とした。複雑な識別境界を効率的かつ高精度に構成するため、本研究においては、パターン認識の分野で有効性が示されているニューラルネットワークを用い、学習によりパターン認識論理を構築する方針とした。

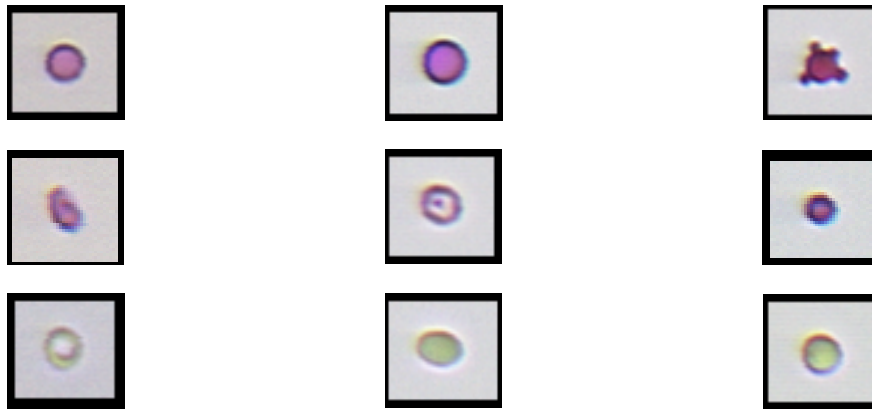
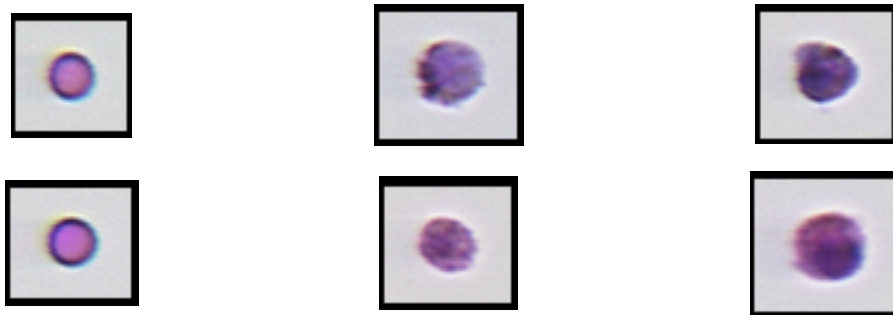


図 2-17 赤血球の画像例



(a) 赤血球 (b) 白血球 (c) 尿細管上皮細胞

図 2-18 大きさ、形状、色調が類似する粒子の例 (1)



(a) 硝子円柱 (b) 扁平上皮細胞

図 2-19 大きさ、形状、色調が類似する粒子の例 (2)

ニューラルネットワークは、計算機上で、生物の神経回路網を模した演算を行うアルゴリズムである。複数のノード（ニューロン）をネットワーク状に結合した構造を有する。一つのニューロンは複数の数値を入力とし、非線形演算を行い1個の数値を出力する。複数のノードをどのように結合させるかにより、様々な構造のニューラルネットワークが提案されている[31][32]。本研究においては、パターン認識の分野において広く用いられている3層フィードフォワード型のニューラルネットワークを用いた。3層フィードフォワード型ニューラルネットワークの構造を図 2-20 に示す。

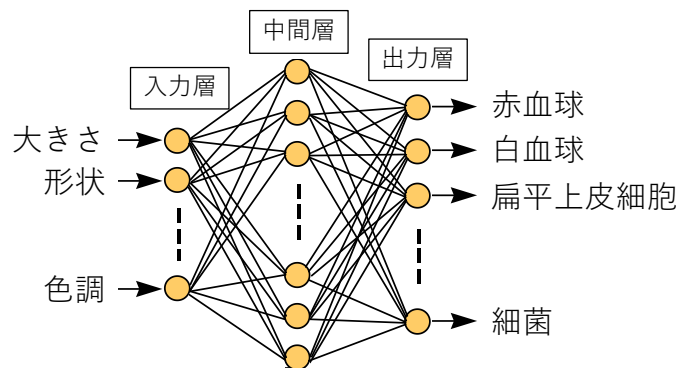


図 2-20 ニューラルネットワークによる尿中粒子画像のパターン認識

3層フィードフォワード型のニューラルネットワークは、入力層、中間層、出力層の3層から構成される。入力層は、画像パターン認識に用いる画像特徴量と同数のノードから構成され、それぞれのノードに画像特徴量が入力される。出力層は画像を分類するクラス（赤血球、白血球、扁平上皮など）と同数の素子から構成され、各素子はそれぞれ分類クラスと関係付けられる。中間層のノード数は、少ないと分類精度が悪くなるが、多すぎると過学習や、計算時間の増大などの問題を起こすことがあり、実験的に適切な数を選択する必要がある。

入力層と中間層のノード、及び中間層と出力層のノードが結合しており、各層内でのノード同士は結合していない。信号（各ノードの出力値）は入力層、中間層、出力層という一方向に伝搬する。入力層のノードは、入力値を中間層の各ノードにそのまま出力する役割を担い、計算は行わない。中間層、出力層の各ノードは次式に従い、シグモイド関数を使用して入力値から出力値を計算する。

$$y = \frac{1}{1 + e^{-u}} \quad (10)$$

$$u = \sum_{i=1}^n w_i x_i - \theta$$

ただし x_i は前層の i 番目のノードからの入力値、 y は出力値を表す。ニューラルネットワークは、入力値と、その時の理想的な出力値（教師データ）の組を与え、学習という計算を行うことにより、入力値に対し望ましい値を出力する関数を自動的に構築する。学習では式(10)で w_i と θ により表されるパラメータの修正を行う。本研究においては、学習アルゴリズムとして、フィードフォワード側のニューラルネットワークで一般的に用いられている、バックプロパゲーション（誤差逆伝搬）法[31][32][33]を使用した。バックプロパゲーション法は、最急降下法により、出力値と教師データとの誤差が小さくなるようにパラメータを微小に変更する処理を繰り返す。

3層フィードフォワード型ニューラルネットワークは、数学的には任意の関数を近似可能であることが知られている[34]。しかしバックプロパゲーション法は、再急降下法を利用した方法のため、教師データと出力値との誤差の勾配の極小点（ローカルミニマム）で学習が進まなくなり、必ずしもグローバルの最適解が得られない、という課題がある。中間層のノード数を増やしても、パラメータ数が増え、ローカルミニマムの数も増えるため必ずしも良い学習結果が得られない。

近年では、層数を3層よりも多層化した Deep Learning（深層学習）と呼ばれるニューラルネットワークにより、複雑な関数を学習により獲得する研究が進展している。フィードフォワード型のニューラルネットワークを多層化した場合、従来のバックプロパゲーションでは学習が進みにくいという欠点があった。Deep Learning では各層に対し事前学習を行った後、全体のネットワークの学習を行うことにより、この欠点を克服している。

また、通常のフィードフォワード型ネットワークの前段に、コンボリューション（畳み込み）演算を行う層を設ける構成のニューラルネットワークも提案されている[32]。この方法は画像の画素値そのものを入力とするパターン認識には適した手法であり、今回のように特徴量を入力とする画像認識を対象とした手法ではない。

本研究には前述のようにフロー方式で撮像した画像を対象とし、撮像間隔の時間内（1/30秒）で1画像中の全対象物の分類を行うことを目指し、3層フィードフォワード型という最もシンプルかつ、小規模のニューラルネットワークを採用した。ニューラルネットワークには分類クラス数と同数のノードを出力層に設け、各素子を各クラスに対応づける。学習時には、正解となる分類クラスに対応するノードの出力値が1、それ以外のノードの出力値が0となるように学習を行い、分類時には、出力層のノードのうち、最大の値を出力するノードに対応づけられた分類クラスを分類結果とする。

2.5.2. 階層モジュール型ニューラルネットワークの提案[35][36]

2.5.2.1. 特徴量空間の分割によるニューラルネットワーク学習の効率化

多クラスの複雑なパターン認識を、1つの大規模なフィードフォワード型ニューラルネットワークで行う場合、ローカルミニマム等の要因によりバックプロパゲーション法では学習がうまく進まないことがある。この問題に対し、多クラスのパターン認識を複数の2クラスのパターン認識問題に分解し、それぞれのパターン認識を別のニューラルネットワークで行うモジュール型のニューラルネットワークが提案されている[37]。

ニューラルネットワークにより、特徴パラメータ空間中での識別境界が学習されると捉えた場合、識別境界がより単純な形状をしている方が、学習が進行しやすいと考えられる。図 2-21 に示すように特徴量空間全体では複雑な形状をしている識別境界も、複数の空間に分割することにより、各部分空間内での識別境界は単純な形となる。そのため、特徴量空間全体でニューラルネットワークを学習するより、部分空間ごとに学習する方がより精度の高いパターン認識を実現できる可能性がある。特徴量空間全体を適切に複数の部

分空間に分解すれば、必ずしも多クラスパターン認識問題を、2クラスのパターン認識問題の組み合わせとしなくとも、分類精度の向上は可能であると考えられる。2クラスのパターン認識問題の組み合わせとする場合には、分類クラスと同数のニューラルネットワークを必要とするが、適切に部分空間を選ぶことにより、より少数のニューラルネットワークで高精度の分類を実現できる可能性がある。また、学習する範囲を部分空間に限定することにより、小規模のニューラルネットワークで効率的に学習できると考えられる。

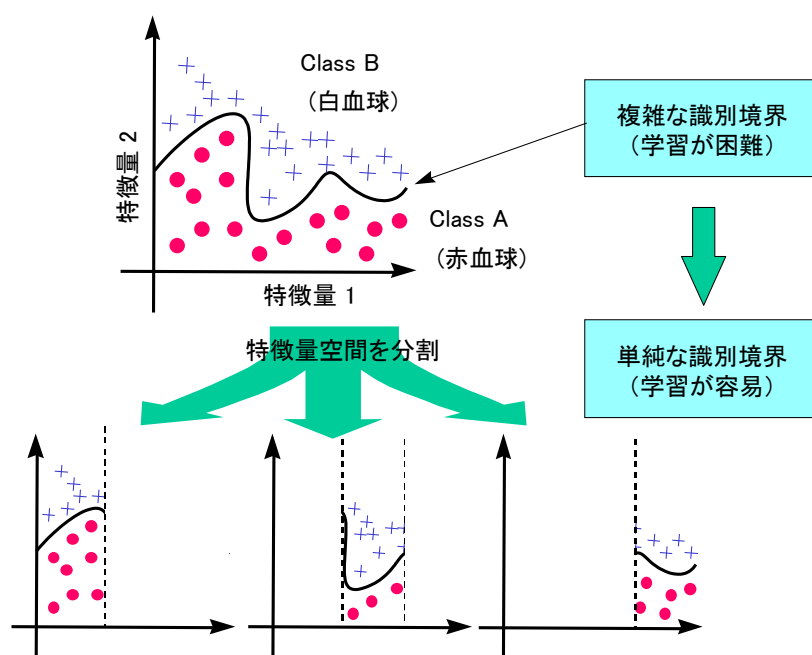


図 2-21 特徴量空間の分割によるニューラルネットワークの学習効率化

特徴量空間の分割による精度向上を確認するため、疑似データを用いて特徴量空間全体を1つのニューラルネットワークで学習した場合と、部分空間に分割して学習した場合の認識精度を比較する実験を行った。平均値、分散の異なる4種類の2変数正規分布に従う値の組み合わせを計算機上で生成し、疑似データとして使用した。4種類それぞれについて300個の2変数の組み合わせを生成した。実験に使用した疑似データの分布を図 2-22に示す。この実験では、2次元平面での複雑な識別曲線の学習精度の比較を目的としたため、故意に相互に重なりが多い分布とした。また、学習データと評価データを分割せず、同一データで学習、評価を行った。

図 2-22 に示す全データを用い、1個のニューラルネットワークを学習した場合と、全空間を4分割し (Subspace1~4)、それぞれの部分空間中のデータのみを用いて4個のニューラルネットワークを学習した場合の分類精度を比較した。前者のニューラルネットワークは中間層を40ノードとし、後者は4個のニューラルネットワークの中間層はそれぞれ10ノードとした。結果を表 2-7 に示す。

全空間を1つのニューラルネットワークで学習した場合の分類精度は82.7%であった。これに対し、空間を4分割した場合は、個々のネットワークの中間層ノード数が少ないにも関わらず84.1%となり、部分空間に分割する方が高い分類精度が得られることがわかった。

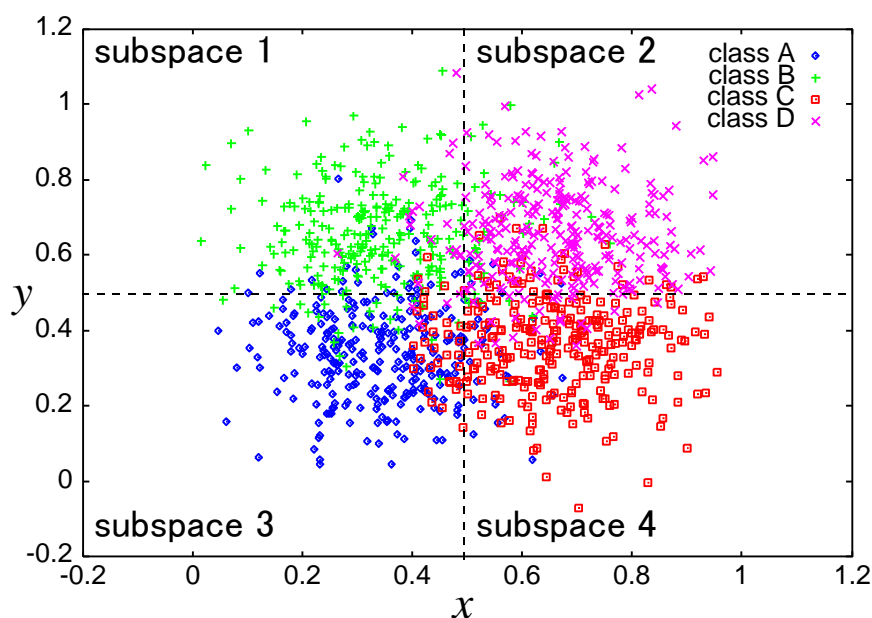


図 2-22 2 特徴量 4 クラスの疑似データ

表 2-7 疑似データによるニューラルネットワーク学習結果

学習方法	学習条件	学習結果(分類精度)
全特徴量空間を単一のニューラルネットワークで学習	中間層：40 ノード 学習回数 20 万回	82.7%
特徴量空間を 4 分割し、各部分空間ごとに別のニューラルネットワークで学習	中間層：10 ノード 学習回数 20 万回	84.1%

2.5.2.2. 階層モジュール型ニューラルネットワークの構築方法

モジュール構造のニューラルネットワークを構築する方法として、パターン形状に関する事前知識を利用し予め類似形状のパターンをグループ化し、モジュール数を決定する方法 [38][39]、事前に統計的分析を行い、モジュール数を決定する方法 [40][41] が提案されている。しかし、分類対象の形状、色調が多様な尿沈渣においては、分類パターンの事前知識により階層構造を決定する、あるいはパターンの類似性を事前に分析することは困難である

そこで、前節での検討結果を踏まえ、本研究では以下に示す手順にて階層モジュール型ニューラルネットワークを構築する方法を提案した。本手法によるニューラルネットワーク構築方法の模式図を図 2-23 に示す。

- ① 1 段目のニューラルネットワークを、全データを使い学習
- ② 1 段目のニューラルネットワークの分類精度を評価
- ③ 分類精度の悪い項目に関して、その項目に分類された粒子のみを再分類する 2 段目のニューラルネットワークを学習

また、対象画像を分類する際には、以下に示す手順で分類する。分類方法の模式図を図 2-24 に示す。

- ① 1 段目のニューラルネットワークで分類
- ② 1 段目の分類結果に対し、2 段目のニューラルネットワークがある場合には、2 段目で再分類し、無い場合には 1 段目の分類結果を出力

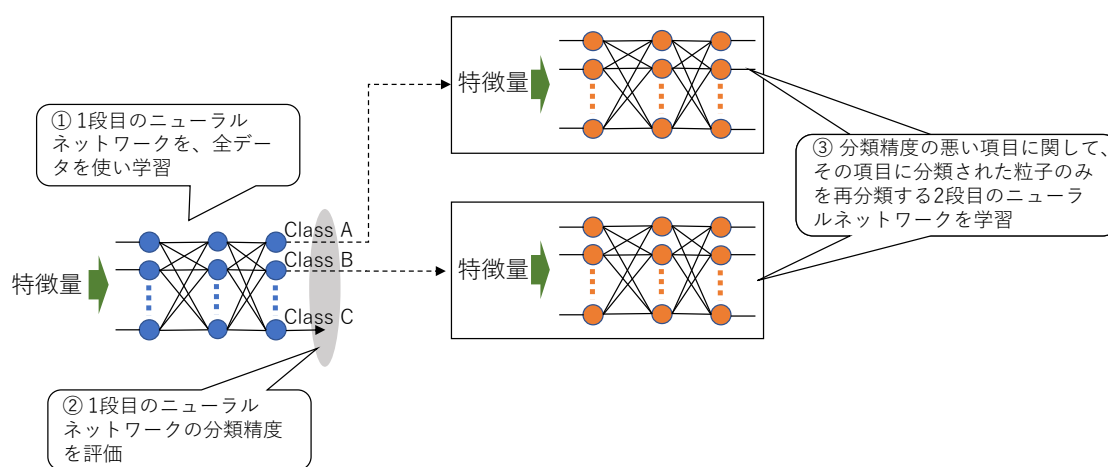


図 2-23 提案する階層モジュール型ニューラルネットワーク構築方法

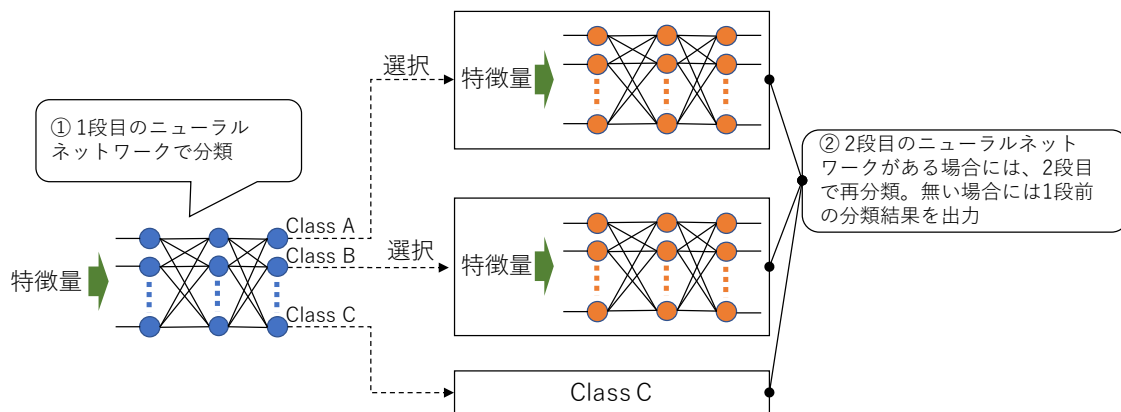


図 2-24 階層モジュール型ニューラルネットワークによる分類方法

本手法による特徴量空間分割の考え方を図 2-25 に示す。1 段目のニューラルネットワークの出力層の各ノードは、分類するクラスに対応させ全データを用いて学習する。そのため、各出力ノードは、それぞれ対応づけられたクラスが分布する部分空間に対応づいていると考えることができる。クラス A に関連付けられた出力ノードが出力層の中で最大値を出力する入力ベクトルの集合は、クラス A の分布する部分空間を構成する。図 2-25 のクラス C のように、分類精度の良い分類クラスは、対応づけられた出力ノードにより、そのクラスの分布範囲のみを正確に部分空間として切り出せている。これに対し、クラス A やクラス B のように分類精度の悪い分類クラスは、対応づけられた出力ノードにより切り出される部分空間中に、他のクラスの粒子も含んでいる。

1 段目のニューラルネットワークにおいて、分類精度の悪いそれぞれのクラスに分類された粒子のみを用い、2 段目のニューラルネットワークを学習する。これにより、学習すべき識別境界は、1 段目のニューラルネットワークで切り出された部分空間に局限され、より単純な形状となる。そのため、特徴量空間全体の複雑な識別境界に比べ学習が容易になり、識別精度も向上すると考えられる。

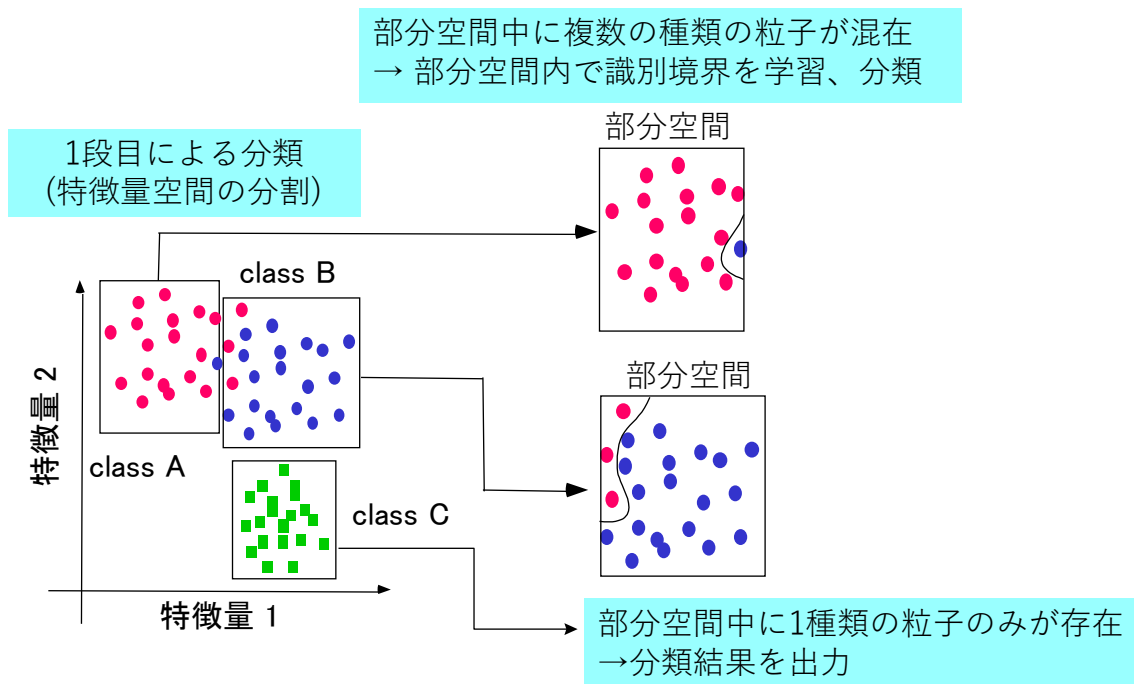


図 2-25 提案手法による特徴量空間の分割

2.5.3. 階層モジュール型ニューラルネットワークによる分類精度評価

2.5.2 節で提案した、階層モジュール型ニューラルネットワークによる分類精度向上の効果を検証するため、①単一のニューラルネットワーク、②階層モジュール型ニューラルネットワーク、のそれぞれを同じ学習データを用いて学習し、赤血球、白血球、扁平上皮細胞、移行上皮細胞、その他の細胞、硝子円柱、その他の円柱、の7項目の分類精度を比較した。学習データには予め人間が分類した結果を付与した、約 70,000 枚の尿中粒子画像データを使用した。評価データは、学習データとは異なる 23,393 枚の画像データを用いた。また、領域分割には、2.4 節で述べた提案手法を適用した。

まず単一のニューラルネットワークを学習し分類精度を評価した結果、下記の(1)、(2)のグループ内での誤分類が多かったため、2 段目はこれらを再度分類するニューラルネットワークを構成し、学習を行った。

- (1) 白血球、移行上皮細胞、その他の細胞
- (2) 硝子円柱、その他の円柱

分類精度評価結果を表 2-8 に示す[35][36]。分類精度は、人間が各分類項目に分類した画像のうち、ニューラルネットワークがその項目に分類した（正解した）画像の割合（再現率）とした。

赤血球、白血球、扁平上皮細胞、その他の円柱の4項目に関してはほぼ分類精度は変わらず、移行上皮細胞、その他の細胞、硝子円柱の3項目に関して、それぞれ 26.6%、43.2%、

25.5%と大幅に分類精度が向上した。

表 2-8 単一の NN と階層モジュール型 NN の分類精度比較

分類項目	単一の NN	階層モジュール型 NN
赤血球	94.0%	94.0%
白血球	88.5%	88.3%
扁平上皮細胞	91.3%	91.3%
移行上皮細胞	50.0%	76.6%
その他の細胞	34.3%	77.5%
硝子円柱	74.5%	100.0%
その他の円柱	83.3%	82.1%

2.5.4. 考察

2.5.4.1. 階層モジュール型ニューラルネットワークの優位性

移行上皮細胞は形態が多彩であるのが特徴[14]で、小円形状のものは大きめの白血球と非常に似た形態を示す。また、その他の細胞に分類される細胞のうち、特に尿細管上皮も大きめの白血球と似た形態を示すため、白血球、移行上皮細胞、尿細管上皮細胞は人間でも目視分類が難しいことがある。単一のニューラルネットワークでこれらの成分の間で誤分類が多かったことは、人間の感覚とも一致する。

また、その他の円柱に分類される円柱は主に細胞を内容物とする円柱であるが、円柱に含まれる細胞の大きさや数は様々であり、例えば内容物が赤血球 1 個のみの場合には、硝子円柱と特徴量に差異が生じにくい。そのために単一のニューラルネットワークでは、これらの成分の間の誤分類が多かったと考えられる。

2.5.2.1 節では 2 個の特徴量空間における階層モジュール型ニューラルネットワークの効果をシミュレーションにより検証したが、2.5.3 節の実データを用いた評価により、特徴量の数が多い実データにおいても効果があることを確認できた。実用化という観点においては、階層モジュール型ニューラルネットワークは以下の特長を有する。

- (1) 初段のニューラルネットワークの、分類精度の悪い項目に対してのみ 2 段目以降のニューラルネットワークを追加するため、初段で高精度に分類される対象は影響を受けない。
- (2) 新たに分類項目（例えば分類項目 A）を追加する場合には、初段のニューラルネットワークで、A が分類される項目に対し、A とそれ以外の項目を分類する 2 段目のニューラルネットワークを追加すれば良く、分類項目の追加を容易に行うことができる。

全ての分類を単一のニューラルネットワークで行う場合、ある項目の分類精度が悪い場合には、その項目のデータを追加収集し、学習データに加えニューラルネットワークを再学

習する、というアプローチを取る場合が多い。この場合には、全ての項目を再学習するため、分類精度の良かった項目が影響を受け、精度が低下する可能性もある。上記(1)に示した通り、本手法は初段で分類精度の良かった項目は影響を受けないため、このような問題を回避することができる。2.5.3 節の実データを用いた評価においても、単一ニューラルネットワークで分類精度の高かった赤血球は、階層モジュール型にした場合にも影響を受けていないことが確認できる。

また、臨床現場での実用化を考えた場合、病院ごとに分類項目をカスタマイズしたい、という要望が生じることもあり得る。単一ニューラルネットワークの場合には、全学習データを用い、全項目を再度学習する必要があるが、上記(2)に示した通り、本手法では細分類が必要となる項目に2段目のニューラルネットワークを追加すれば良い。2段目のニューラルネットワークの学習は一部の学習データを用いて実施すれば良く、また、分類項目も少ないため小規模なネットワークとなり、全項目を再学習する場合に比べ学習時間を短縮することが可能である。

以上述べたように、本手法は分類精度向上に加え、臨床での実用化という観点においても大きなメリットがある手法と考えられる。

2.5.4.2. 臨床現場での実用性

尿沈査成分のうち、微量の赤血球、白血球、扁平上皮細胞は健常者の尿中にも出現することがある。そのため、これら3種類の成分と他の成分とを正確に分類することができれば、健常者と腎・尿路系疾患罹患患者とを識別するスクリーニングを自動化することが可能になる。

提案手法の評価結果では、これら3項目についてはそれぞれ94.0%、88.3%、91.3%という高い分類精度を達成することができた。この結果は実用化への可能性を示すものとするが、臨床現場での実用化に向けてはさらに下記について詳細に検討を行う必要がある。

(1) 今回の実験では評価しなかった他の成分（結晶、細菌など）など、尿中に出現する成分を網羅的に含めた分類精度評価

(2) 検査技師が実施している用手法（目視鏡検）による検査結果との相関
上記については次節にて詳細に検討を行う。

2.6. 臨床現場での実用化

2.6.1. 自動分類装置導入時の運用方法の検討

腎・尿路系疾患の検査では、一般的には最初に試験紙を用いた尿定性検査が実施され、尿蛋白の有無と潜血の有無が調べられる。尿蛋白、潜血が陽性であった場合には、蛋白や血尿がどの部位からどのような機序で発生したかを知る目的で尿沈渣検査が実施される。主要な尿沈渣成分の種類を表 2-9 に示す[14]。

尿沈渣検査で検出される尿中粒子のうち、微量の①赤血球、②白血球、③扁平上皮細胞、④硝子円柱、⑤非病的結晶、は健常者の尿にも出現することがある。尿沈渣成分の種類と量を調べることにより、最初に健常者の尿と病的な尿が区別される。病的な尿とは、前述の①～⑤の5種類の成分が多量に含まれる尿、または、この5種類以外の成分が含まれる尿である。5種類以外の代表的な成分としては⑥扁平上皮細胞以外の上皮細胞、⑦内容物を含む円柱、⑧病的結晶、⑨微生物が挙げられる。⑥～⑨に関しては、表 2-9 の備考欄に記載した例のように、更に詳細に分類が行われ、疾患部位、機序の特定のための情報として診断に活用される。

表 2-9 尿沈渣成分の種類

	尿沈渣成分の種類	備考
健常者尿にも含まれる成分	①赤血球	5/HPF 以下の場合正常
	②白血球	5/HPF 以下の場合正常
	③扁平上皮細胞	—
	④硝子円柱	少量の場合正常
	⑤非病的結晶	少量のリン酸塩、シュウ酸塩、尿酸塩は正常
腎・尿路系疾患由来の成分	⑥扁平上皮細胞以外の上皮細胞	移行上皮細胞、尿細管上皮細胞、卵円形脂肪体、マクロファージ、異型細胞など
	⑦内容物を含む円柱	赤血球円柱、白血球円柱、上皮円柱、顆粒円柱、ロウ様円柱、脂肪円柱など
	⑧病的結晶	コレステロール結晶、ビリルビン結晶、シスチン結晶など
	⑨微生物	細菌、真菌、酵母、トリコモナスなど

本研究において開発した尿中固形成分画像認識技術を臨床現場で適用する場合、腎・尿路系の重篤な疾患の診断に直結する成分に関しては、最終的には検査技師が目視により確認するべきであると考えた。具体的には扁平上皮細胞以外の上皮細胞、円柱、結晶、微生物の細分類が、検査技師が目視で確認すべき成分になる。

そこで、下記方針を前提とし、運用方法を検討した。

- (1) 画像認識技術による自動分類を行い、赤血球、白血球、扁平上皮細胞は自動分類による測定結果を臨床へ報告する検査結果とする。
- (2) 上記 3 項目以外の対象については、陽性であった場合に検査技師が成分の種類を目視により細分類し、臨床へ報告する検査結果とする。

上記(2)の目視による細分類作業を効率化するため、装置で撮影した尿中固形成分の画像を画面上で確認し、細分類するためのソフトウェアをインストールした PC を尿沈渣画像用レビュー装置として用いる構成とした。レビュー装置と測定装置の動作を図 2-26 に示す。

測定装置では尿中粒子の拡大静止画像を撮影し、2.4節で提案した領域分割方法、2.5節で提案したパターン認識方法を活用した画像認識により、撮影された粒子を自動分類する。撮影された画像と自動分類結果はレビュー装置内部のハードディスクに保存されると共に、一検体ごと、分類された種類ごとに検出された粒子数が、顕微鏡1視野あたりの粒子数に換算され、検査結果として出力される。

1視野あたりの粒子数に換算するのは、臨床への報告が1視野あたりの個数に基づいたランクにより行われるためである。各成分の、臨床への報告方法の例を表2-10に示す[15]。報告の様式は施設によって異なる。ここでは日本臨床検査標準協議会（Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards; JCCLS）の定めた報告方法を例として示した。なお、表中HPFは強拡大（400倍）の1視野、LPFは弱拡大（100倍）の1視野を表し、WFは全視野を表す。装置では1検体あたり100 μ Lの尿が測定される。100 μ Lの尿は遠心分離した尿の鏡検ではHPFで約221視野、LPFで約14視野に相当する[18]。

レビュー装置では、ハードディスク内に保存された尿中粒子画像と、その画像に対する自動分類結果を確認することができる。更に必要に応じて自動分類項目よりも詳細な分類項目への細分類や、誤った分類結果の修正を行うことができる。目視による細分類や、誤分類の修正を行った場合には、修正後の分類結果により、再度種類ごとの粒子数が視野あたりの個数に換算され、検査結果として出力される。このように、赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外の粒子を目視により細分類する際に、レビュー装置を用いることにより、遠心分離、標本作成といった手間を省き、大幅な省力化が可能になると考えられる。

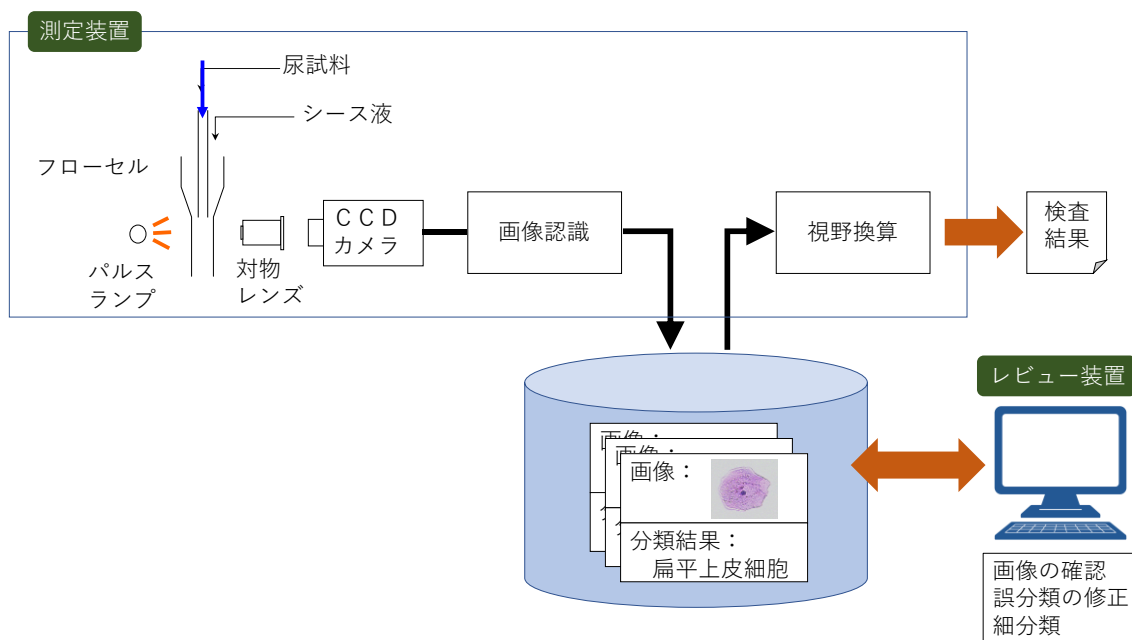


図 2-26 レビュー装置と測定装置の動作

表 2-10 尿沈渣結果の報告方法

(1) 血球・細胞類

1 個未満/HPF
1～4 個/HPF
5～9 個/HPF
10～19 個/HPF
20～29 個/HPF
30～49 個/HPF
50～99 個/HPF
100 個以上/HPF

(2) 微生物類

-	0 から HPF 数視野に散在
1+	HPF 各視野にみられる
2+	多数あるいは集塊状に散在/HPF
3+	無数/HPF

(3) 結晶・塩類

	結晶	塩類
-	0	0
1+	1～4 個/HPF	少量
2+	5～9 個/HPF	中等量
3+	10 個以上/HPF	多量

(4) 円柱類

-	0/WF	0/100LPF	0/100LPF
1+	1～4 個/WF	1～4 個/100LPF	1 個/WF～1 個未満/10LPF
	5～9 個/WF	5～9 個/100LPF	
2+	10～19 個/WF	10～19 個/100LPF	1～2 個/10LPF
	20～29 個/WF	20～29 個/100LPF	
3+	30～49 個/WF	30～49 個/100LPF	3～9 個/10LPF
	50～99 個/WF	50～99 個/100LPF	
4+	100～999 個/WF	100～999 個/100LPF	1～9 個/LPF
5+	1000 個以上/WF	1000 個以上/100LPF	10 個以上/LPF

2.6.2. 検査ワークフローの提案

前節で定めた運用方法の検討方針のもと、検査技師の意見も伺い、下記の検査ワークフローを定めた。検査のフローチャートを図 2-27 に示す。

- (1) 自動化装置で全検体を測定する。
- (2) 高濃度検体は、レビューを行わずに鏡検を実施する。
- (3) 高濃度検体除去後、赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外が陰性であった検体は、装置の測定結果を臨床へ報告する検査結果とする。
- (4) 上記(3)以外の検体については、レビュー装置によりレビューを実施する。
- (5) レビューを実施した結果、鏡検が必要と判断された検体に関しては鏡検を実

施、それ以外の検体に関してはレビュー後の測定結果を臨床へ報告する検査結果とする。

上記において、“高濃度検体”とは、尿中に含まれる粒子数が非常に多い検体を指す。粒子数が非常に多いと、尿中粒子画像を撮影する際に、複数の粒子が接触して塊をなしたり、重なり合ったりするため、自動分類の精度が低下する。このような画像はレビューの際にも正確に分類することは困難である。そのため、高濃度検体はレビュー対象からも除外し、鏡検を実施するフローとした。

図 2-27 で①が装置のみで報告可能な検体、②がレビュー装置によるレビューのみで報告可能な検体、③が従来同様、遠心分離、標本作成、鏡検が必要な検体となる。検査の質の観点では、

- ①と②、③の検体を正確に分類できること
- ①で報告する検体について、従来の鏡検と同等の検査結果が得られることが重要となる。効率化・省力化の観点からは③の検体数を減らせること、②においてレビュー作業を効率的に行えること、が重要となる。

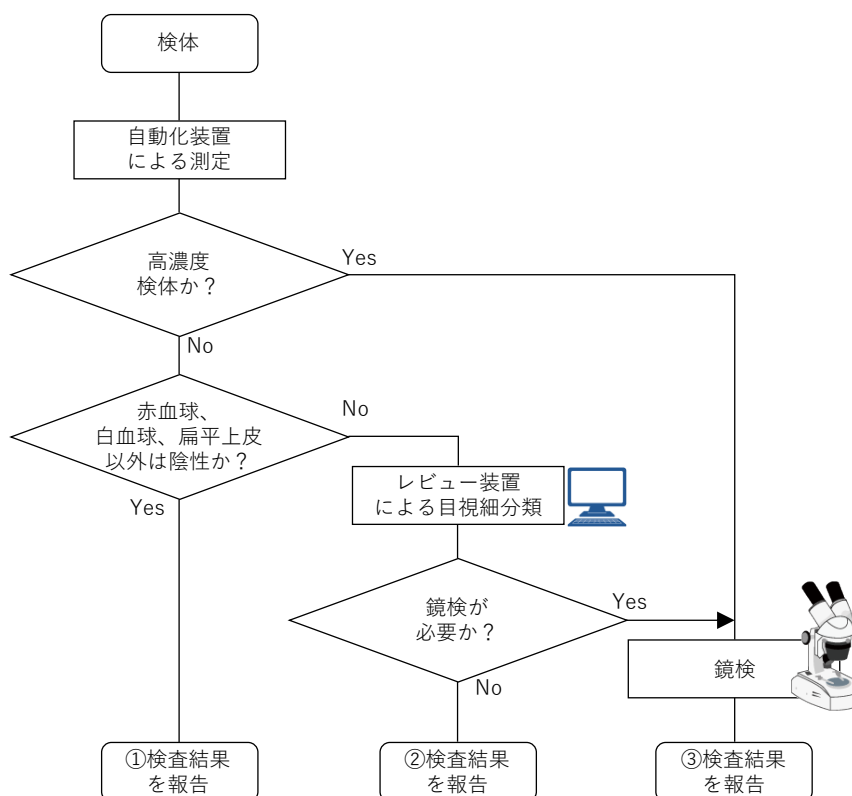


図 2-27 尿沈渣検査自動化装置を用いた検査ワークフロー

2.6.3. 自動分類項目の検討

本研究においては、赤血球、白血球、扁平上皮細胞の3項目以外が陰性であった検体は装置による測定結果を検査結果として報告し、それ以外の種類の粒子が出現した場合には、レビュー装置によりレビューを行う検査フローを定めた。このフローにより検査を実施するためには、最低限、赤血球、白血球、扁平上皮細胞、その他、の4種類を分類できれば良い。しかし、レビュー作業を行う際には、レビュー装置の画面上で、同じ種類の粒子はなるべくまとめて表示された方が、作業効率が向上すると考えられる。

例えば様々な種類の結晶は「結晶」、様々な細胞は「その他の細胞」という分類項目に分類する。レビューする際には、「結晶」や「その他の細胞」といった自動分類項目ごとに画像を表示する。このような運用を行うと、細分類を行う際に、同じ細分類項目に属する画像が、同一画面上に多数表示されるため、検査技師は複数の画像を選択し一括処理により細分類IDを入力することができる。例えば一画面中に様々な種類の細胞、結晶、円柱画像が混在する場合に比べ、レビュー作業の効率化が期待できる。

本研究においては、レビュー作業の効率化を目的とし、赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外に関しても、細分類項目の上位の大項目レベルで自動分類を行う方針とし、表 2-11 に示す全 10 種類の自動分類項目を定め、2.5.2 節で提案した階層モジュール型ニューラルネットワークを構築した。

表 2-11 自動分類項目一覧

No.	項目名	備考
1	赤血球	全ての赤血球
2	白血球	全ての白血球
3	扁平上皮細胞	表層、中層、深層の全ての扁平上皮細胞
4	移行上皮細胞	表層、中層、深層の全ての移行上皮細胞
5	その他の細胞	尿細管上皮細胞、卵円形脂肪体など、扁平/移行以外の上皮細胞
6	硝子円柱	内容物を全く含まない円柱
7	その他の円柱	内容物を含む円柱
8	結晶	全ての結晶、無晶性塩類
9	細菌	球菌、桿菌、酵母
10	その他	粘液糸、酵母、精子など、上記以外の全ての粒子

2.6.4. 臨床現場での有用性評価

2.6.4.1. 測定精度評価

臨床現場での有用性を測定精度の面から検証するため、装置による測定結果と、検査技師による手法（遠心分離、標本作成、鏡検による方法）の結果との相関を評価した。

表 2-10 に示したように、尿沈渣検査の結果は、顕微鏡一視野あたりの個数に基づいたラ

ランクで報告されるが、用手法で実施される尿沈渣検査は、ばらつきが大きいと言われている。30 検体を 3 名の検査技師が鏡検し赤血球の検査結果を比較したところ、ランクが一致した検体は全体の 50%、±1 ランクが 43%、±2 ランクが 7%であったとの実験結果が報告されている[43]。このような用手法のばらつきを考慮し、装置による測定結果が、検査技師による検査結果の±1 ランク以内に入るか否かで装置と用手法との検査結果の相関を評価した。順天堂大学病院臨床検査部の協力を得て、277 検体を用い、表 2-11 に示した 10 項目に対し、装置測定結果と用手法測定結果の一致率を評価した結果を表 2-12 に示す[16][44]。また、赤血球、白血球、扁平上皮の 3 項目について、装置の測定結果と検査技師の用手法による検査結果との相関の詳細な評価結果を表 2-13 に示す。

さらに、装置による画像の自動分類の精度についても評価を行った。上記の評価に用いた 277 検体について、レビュー装置に保存された 27,252 枚の画像を検査技師が確認し、自動分類結果が誤っていた画像については、正しい分類を入力し装置の分類結果と技師の分類結果が一致する割合を評価した[45]。結果を表 2-14 に示す。

表 2-12 検査技師の用手法による検査結果との一致率 (277 検体)

分類項目	一致率 (%)
赤血球	88.8
白血球	91.7
扁平上皮細胞	100.0
移行上皮細胞	100.0
その他の細胞	90.3
硝子円柱	92.1
その他の円柱	93.1
細菌	93.1
結晶	96.4
その他	98.6

表 2-13 装置測定結果と用手法検査結果との相関

(a) 赤血球

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
用手法測定結果	0	43	69	10	2	1	0	0	0	125	89.6
	1	5	60	17	6	2	0	0	0	90	91.1
	2	2	4	8	2	0	0	1	0	17	82.4
	3	0	1	3	6	4	1	0	0	15	86.7
	4	0	0	0	0	0	4	1	0	5	80.0
	5	0	1	0	3	1	3	17	0	25	84.0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計		50	135	38	19	8	8	19	0	277	88.8

(b) 白血球

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
用手法測定結果	0	34	75	4	2	0	0	0	0	115	94.8
	1	6	82	13	1	2	1	0	0	105	96.2
	2	1	3	9	6	3	1	0	0	23	78.3
	3	0	3	6	6	1	0	1	0	17	76.5
	4	0	0	1	0	1	1	0	0	3	66.7
	5	0	0	0	2	1	5	5	0	13	84.6
	6	0	1	0	0	0	0	0	0	1	—
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計		41	164	33	17	8	8	6	0	277	91.7

(c) 扁平上皮細胞

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
的手法測定結果	0	172	23	0	0	0	0	0	0	195	100.0
	1	20	35	8	2	0	0	0	0	65	96.9
	2	1	4	1	7	0	0	0	0	13	92.3
	3	0	0	1	3	0	0	0	0	4	100.0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計		193	62	10	12	0	0	0	0	277	98.9

表 2-14 画像分類精度

		装置自動分類結果									合計	再現率	
		赤血球	白血球	扁平上皮	移行上皮	他細胞	硝子円柱	他円柱	細菌	結晶			その他
検査技師目視分類結果	赤血球	7833	56	0	0	8	0	0	5	22	27	7951	98.5%
	白血球	170	3707	8	0	121	1	0	1	25	11	4044	91.7%
	扁平上皮	0	2	6959	5	149	89	28	0	11	3	7246	96.0%
	移行上皮	1	13	22	9	129	0	3	0	0	10	187	4.8%
	他細胞	5	298	6	1	767	2	1	0	1	14	1095	70.0%
	硝子円柱	0	0	54	0	8	479	12	0	7	8	568	84.3%
	他円柱	0	0	48	1	3	12	148	0	1	80	293	50.5%
	細菌	0	0	0	0	0	0	0	718	0	4	722	99.4%
	結晶	104	65	85	0	10	2	0	84	1290	420	2060	62.6%
	その他	352	161	70	2	82	109	24	299	268	1719	3086	55.7%
	合計	8465	4302	7252	18	1277	694	216	1107	1625	2296	27252	86.7%
	適合率	92.5%	86.2%	96.0%	50.0%	60.1%	69.0%	68.5%	64.9%	79.4%	74.9%		

2.6.4.2. 検査の効率化の評価

次に、装置の導入による検査業務の効率性向上効果について評価した。日本大学板橋病院臨床検査部の協力を得て、一日の平均的な検体数である400検体を図2-27に示したワークフローで処理した場合の、①装置による測定結果を報告可能な検体数、②レビュー装置によるレビュー作業を実施後、臨床への報告が可能な検体数、③鏡検が必要な検体数、について

試算した。結果を図 2-28 に示す[16][46]。図 2-28 では、図 2-27 に示した検査ワークフローにおいて、それぞれのフローを通過する検体の割合を記載した。

全検体を装置で測定した後、高濃度検体として鏡検対象となる検体は全体の 5%であった。残り 95%のうち、50%は赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外が陰性の検体で、これらは装置の測定結果を検査結果として報告が可能である。更に残りの 45%に対してはレビュー作業を実施、そのうち 10%は鏡検が必要と試算された。最終的に①50%は装置による測定結果を報告可能、②35%はレビュー装置によるレビュー作業を実施後、臨床への報告が可能、③15%は鏡検が必要、という結果が得られた。

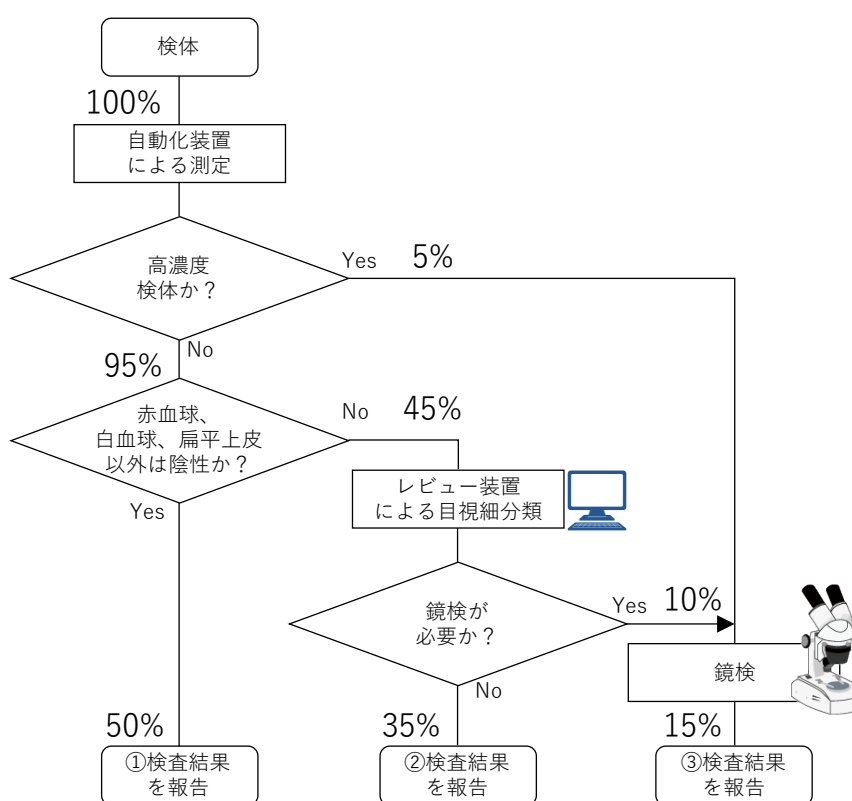


図 2-28 検査の効率化評価結果

2.6.5. 考察

2.6.5.1. 測定精度

本研究で提案した尿中固形成成分画像認識技術を適用した測定装置の臨床現場での運用として、図 2-27 に示す検査フローを提案した。この検査フローを実現する上で、下記 2 点が重要な要件となる。

【検査ワークフローを実現するための要件】

- (1) 赤血球、白血球、扁平上皮細胞の3種類以外の尿沈渣成分を含む検体は、確実にレビュー、鏡検対象の検体として検出されること。
- (2) 赤血球、白血球、扁平上皮細胞に関しては、検査技師による用手法と同等の測定結果が得られること。

本研究にて提案した検査ワークフローでは赤血球、白血球、扁平上皮細胞の3種類の尿沈渣成分のみが含まれる検体に関しては、検査技師が粒子を目視確認しないことを前提としている。この3種類のみを含む検体をA、3種類以外の粒子を含む検体をBとする時、誤ってAをBとする測定結果を出した場合には、Aに対して技師がレビューを実施することにより、正しい結果を得ることができる。しかし、逆に誤ってBをAとする測定結果を出してしまうと、レビューは実施されず、Bに含まれる円柱、結晶、様々な細胞といった疾患の有無や部位の特定に有用な成分を見落とし、偽陰性を生じる可能性がある。

表 2-14 に示した分類精度評価結果から、“その他の細胞”から“白血球”への誤分類、“移行上皮細胞”から“扁平上皮細胞”への誤分類、“結晶”から“赤血球”への誤分類、“円柱”から“扁平上皮細胞”への誤分類、が偽陰性を生じさせる可能性があることがわかった。しかし、検体単位で調べてみるとその他の細胞、移行上皮細胞、結晶、円柱といった成分が出現した場合には、出現した全ての粒子が赤血球、白血球、扁平上皮に誤分類されるわけではなく、一部は正確に分類されるため、結果としてレビュー対象検体となり、偽陰性検体とはならないことがわかった。

上記【検査ワークフローを実現するための要件】の(2)に関しては、表 2-13 に示した通り、赤血球、白血球、扁平上皮細胞ともに用手法と良い相関を示した。特に扁平上皮細胞に関しては全検体の98.9%が、用手法の結果の±1 ランク以内という高い相関を示した。赤血球、白血球に関しては、用手法の結果に対し3 ランク以上乖離する検体があったが、尿沈渣検査が実施される検体には、通常尿定性検査も実施されているため、定性検査結果とのクロスチェックにより大きな乖離は検出可能と考えられる。

評価実施後に更に複数の病院で本装置を使用していただいた結果も含め、測定精度の観点からは、定性検査との併用により日常検査への導入は可能であるとの結論を得た[44][47][48]。

2.6.5.2. 検査の効率化

日本大学板橋病院臨床検査部の協力を得て、図 2-28 に示した装置測定結果を報告する検体数、レビューを実施する検体数、鏡検を実施する検体数の割合を前提として検査業務を実施した場合の効率化を試算した。試算の際に仮定した条件を表 2-15 に示す。表中の値は日本大学板橋病院での実際の業務、および装置性能を踏まえて仮定した値である。

これら条件のもと試算を行ったところ、全検体を1人の技師が約7時間で処理すること

が可能となり、現状3人で行われている尿沈渣の検査業務を、自動化装置1台と検査技師1名で行うことができるという結果が得られた[16]。再検検体の鏡検処理を考慮しても、作業の効率化が期待でき、人件費を含めた1検体当たりのランニングコストは、現行の230円から95円と大幅な削減が可能になるとの試算結果が得られた[46]。

表 2-15 検査の効率化試算の条件

1	一日の検体数	400 検体
2	自動化装置の処理速度	60 検体/分
3	検査技師のレビュー作業時間	1 分/検体
4	検体到着時間	9 時、11 時 30 分、13 時

2.7. まとめ

検査技師の目視による顕微鏡観察で実施されている尿沈渣検査の効率化を実現するため、フロー方式で撮像された尿中粒子の拡大静止画像を対象とし、尿中の粒子成分を自動分類する画像処理技術を開発した。撮像された画像には、以下に示す5ステップの処理を実施し、画像上の粒子の種類を決定する。

【尿中固形成分画像認識の処理ステップ】

- ステップ1：画像の濃度ムラを補正するシェーディング補正処理
- ステップ2：画像上で粒子が存在する対象領域と背景領域とを分離する領域分割処理
- ステップ3：独立した対象領域に個別の番号を付与するラベリング処理
- ステップ4：対象領域の大きさ、形状、色調を定量化する特徴量算出処理
- ステップ5：特徴量に基づき、粒子の種類を判定するパターン認識処理

尿中粒子成分はサイズ、形状、色調が様々であり、多様な粒子が1枚の画像上に同時に撮像されることもある。また、同じ種類の粒子でも、検体の状況により多様な形状、色調を呈することがあり、上記の処理による正確な分類を困難にしている。尿沈渣の自動分類における主要な課題を以下に示す。本研究ではこれらの課題に取り組み、新たな手法を提案した。

【画像処理の課題】

- ① 無色透明を含む様々な色調の粒子領域を正確に抽出する高精度な領域分割
- ② 多様な粒子を正確に分類する高精度画像パターン認識

上記①の課題は【尿中固形成分画像認識の処理ステップ】のステップ2の処理に対応する。有色の細胞は色濃度に閾値を設けることにより、背景と対象を分離することが可能であ

るが、様々な色調の粒子に対し、どのように最適な閾値を設定するか、という課題がある。各粒子の種類を判別を容易にするため、尿試料には染色液を添加するが、生きている細胞は染色液を吸収しにくいという性質があるため、活性度の高い細胞は染色されずに無色透明のまま画像として撮像される。このような無色透明な細胞は濃度による閾値処理だけでは正確な領域分割が困難であるため、別のアプローチによる領域分割が必要である。更に、臨床現場で検査業務を効率化する装置の実現を前提とした場合、高速な処理が必要となる。これらの課題の解決に向け、下記を特徴とする新たな領域分割方法を提案した。

- 背景濃度分布を基準として閾値を決定し、背景と対象領域を分割する
- 各画素の局所領域で濃度差分値を算出し、差分値の大きい領域を対象領域として分割する
- 上記の領域分割結果を論理和で合成する

濃度のみによる領域分割では、無染色細胞領域中対象領域として抽出できた領域は 21%であったが、今回新たに導入した濃度差分値による領域分割処理の効果により 91%の領域を対象領域として抽出できることを確認した。また、61 枚の無染色細胞画像を用いた評価では、濃度値のみを用いた手法では、1 個の細胞が平均して 3.61 個の領域に分割されたが、提案手法では 2 個以下に抑えられており、無染色細胞画像に対する領域分割精度が向上することを確認した。

【画像処理の課題】に示した②の課題は【尿中固形成分画像認識の処理ステップ】のステップ 5 の処理に対応する。前述のように尿沈渣成分はサイズ、形状、色調が多様、かつ同じ種類の粒子でも多様な形状、色調を呈する。そのためパターン認識処理では、特徴量空間中で非常に複雑な識別境界を決定する必要がある。本研究では AI および機械学習の 1 つであるニューラルネットワークを採用した。ニューラルネットワークは人間による分類結果が分かっているデータを学習させることにより、識別境界を自動的に決定する。しかしながら 1 個の大規模なニューラルネットワークでは、複雑な識別境界の学習が効率的に行われず、複数の小規模なネットワークで特徴量空間の部分空間を学習させることにより精度が向上することをシミュレーションにより確認した。シミュレーション結果に基づき、階層モジュール型ニューラルネットワークを提案し、尿中粒子画像データに適用し、分類精度向上に効果があることを確認した。誤分類の多い項目に対してニューラルネットワークを階層モジュール型とすることにより、分類精度を約 25%向上することができた。

更に、提案した領域分割方法と階層モジュール型ニューラルネットワークによる尿中固形成分画像認識技術を適用した自動化装置の臨床現場での実用化について検討した。10 項目（赤血球、白血球、扁平上皮細胞、移行上皮細胞、その他の細胞、硝子円柱、その他の円柱、結晶、細菌、その他）の自動分類項目を定め、下記の検査フローを提案した。

【自動化装置を用いた検査フロー】

- (1) 自動化装置で全検体を測定する。

- (2) 高濃度検体は、レビューを行わずに鏡検を実施する。
- (3) 高濃度検体除去後、赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外が陰性であった検体は、装置の測定結果を臨床へ報告する検査結果とする。
- (4) 上記(3)以外の検体については、レビュー装置によりレビューを実施する。
- (5) レビューを実施した結果、鏡検が必要と判断された検体に関しては鏡検を実施、それ以外の検体に関してはレビュー後の測定結果を臨床へ報告する検査結果とする。

277 検体を装置で測定して得られた測定結果と、27,252 枚の実データとを用いて、①技師の検査結果との相関、②画像 1 枚ごとの分類精度、を評価した。①に関しては各項目について検査技師による検査結果と、装置の測定結果との一致率を、±1 ランクを許容範囲として評価した結果、88.8%~100%という良好な結果が得られた。また②に関してはレビュー装置を用いた技師の目視による画像分類結果と、装置の自動分類結果との一致率を評価し、赤血球、白血球、扁平上皮の再現率はそれぞれ 98.5%、91.7%、96.0%、適合率は 92.5%、86.2%、96.0%という高い分類精度を確認した。以上の評価結果より、定性検査との併用により日常検査への導入は可能であるとの結論を得た。

また、自動化装置導入による検査の効率化についても試算により評価を行った。試算の結果、50%の検体は装置の測定結果を検査結果として臨床へ報告可能であり、レビュー装置を用いて画像の細分類を行うことにより、鏡検を行う検体を 15%にまで削減できるとの結果を得た。また、現状 3 人で行われている尿沈渣の検査業務を、自動化装置 1 台と検査技師 1 名で実施することが可能となり、人件費を含めた 1 検体当たりのランニングコストは、現行の 230 円から 95 円と大幅な削減が可能になるとの試算結果を得た。

3. 尿沈渣検査の効率性向上に向けた改良

3.1. 効率性向上の課題

2章では、領域分割法、階層モジュール型ニューラルネットワークを特徴とする尿中固形成分画像認識技術を提案し、本技術を適用した尿沈渣検査自動化装置により病院の検査業務を効率化できることを明らかにした。本技術を提供した装置は、自動分類に加え、レビュー装置による尿中粒子画像の細分類機能を提供することにより、遠心分離、標本作成、鏡検といった用手法の負担を軽減する。しかしながら、実際に病院で導入して日常の検査業務に使っていただいたところ、検査業務の更なる効率性向上に向け、下記の課題の解決が必要であることがわかった。

- (1) 自動分類の細分類項目化
- (2) 血球偽陽性検体の検出
- (3) 変形赤血球検体の検出

以下ではこの3項目の課題が検査業務の効率に与える影響と、解決の必要性について説明する。

3.1.1. 自動分類の細分類項目化

2.6.2節で述べた通り、本研究では赤血球、白血球、扁平上皮細胞の3項目以外が陰性であった検体は、装置による測定結果を検査結果として報告し、それ以外の種類の粒子が出現した場合には、レビュー装置によりレビューを行う検査フローを定めた。この運用を行うためには、最低限、赤血球、白血球、扁平上皮細胞、その他、の4種類を分類できれば良い。しかし、2.6.3節で述べたように、レビュー作業を行う際には、レビュー装置の画面上で、同じ種類の粒子はなるべくまとめて表示された方が、作業効率が向上すると考え、赤血球、白血球、扁平上皮細胞に加え、移行上皮細胞、その他の上皮細胞、硝子円柱、その他の円柱、結晶、細菌、その他、の10種類の自動分類項目を定めた。

上記のように自動分類することにより、検査業務の効率化を実現したが、その他の上皮細胞、その他の円柱、結晶、その他、には種々の対象が分類されてくるため、レビュー作業の効率を低下させる一因となっている。そこで、これらの項目に分類されている種々の対象についても、自動分類が可能な対象については、独立した分類項目として自動分類することにより、レビュー作業の効率化が期待できる。

3.1.2. 血球偽陽性検体の検出

表 2-13 (c)に示したように、扁平上皮細胞に関しては、検査技師による検査結果との一致率は98.9%という非常に高い結果が得られている。技師検査結果と一致しなかった3検体についても、結果の乖離は±2ランクに収まっている。

扁平上皮細胞に比べ、赤血球と白血球は技師検査結果との一致率は低く、表 2-13 (a)、(b) に示したように一致率はそれぞれ 88.8%、91.7%であった。更に詳細に見ると、一致しなかった検体の中には、技師の検査結果との乖離が非常に大きな検体も含まれ、赤血球に関しては 6 検体（全検体の 2.2%）、白血球に関しては 7 検体（全検体の 2.5%）が±3 ランク以上乖離している。これらの検体は全て、技師の検査結果よりも装置による測定結果の方が高い値となっており、他の成分が血球に誤分類され偽陽性となっている。

2.6.2 節で、赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外の項目が陽性であった検体に対し、レビューを実施する検査フローを提案した。上記の分類精度を考慮した場合、レビュー対象検体であったとしても、扁平上皮細胞に分類された画像に関しては技師による目視確認と細分類を行わず、そのまま報告できることがわかる。しかし、赤血球、白血球に関しては技師の検査結果と大きく乖離し偽陽性となっている可能性があるため、技師が画像を確認し、細分類を行う必要がある。

図 3-1 の左側が上述の現在の運用となる。そこで、もし赤血球、白血球の分類項目に、他の成分が誤分類され偽陽性となっている検体を予め検出することができれば、これらの検出された検体のみについて赤血球、白血球画像をレビューすれば良い。図 3-1 の右側が血球偽陽性検体を検出できた場合の運用となる。血球偽陽性検体については全画像のレビューが必要であるが、偽陽性でない検体は血球画像のレビューは不要となる。レビューする画像の枚数を減らすことが可能となり、検査業務を更に効率化することが可能となる。

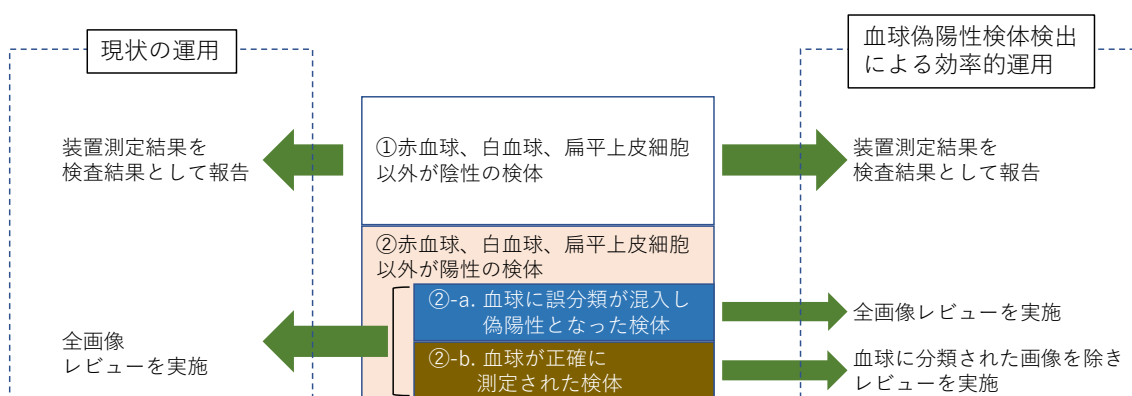


図 3-1 血球偽陽性検体検出による運用効率向上

3.1.3. 変形赤血球検体の検出

通常、尿沈渣中に出現する赤血球は球形をしているが、検体によっては様々に変形した赤血球が観察されることがある。尿中赤血球の形態を位相差顕微鏡により分析したところ非糸球体由来(泌尿器科疾患由来)の出血の検体では大きさ、形状が均一な赤血球が観察され、糸球体由来(腎疾患由来)の出血の検体では様々な大きさや、形状が変形した赤血球が観察されたという研究結果が 1979 年に報告された[49]。この報告では、尿中赤血球を形態分類することにより、出血部位を特定し、診断に大きく役立てることが出来る可能性が示された。

その後、電子顕微鏡等、様々な方法を用いて尿中の赤血球の形態を分類し出血部位を特定する試みが数多くなされている[50][51] [52][53][54]。

どのような装置（光学顕微鏡，位相差顕微鏡，電子顕微鏡，等）を用いて尿中赤血球の観察を行うか，赤血球をどのような種類に分類するか，糸球体由来出血か否かの判断基準をどのように定めるか，という点で様々な方法が提案されており，検査方法は確立されていない。尿沈渣検査における変形赤血球の分類基準に関しては、2010年に日本臨床検査標準協議会から「尿沈渣検査法指針提案 GP1-P4」が出されたが、判定基準の運用は各施設で臨床医と協議して進めると明記されている[15][55][56]。

尿沈渣検査において、変形赤血球の報告は未だ各施設の判断に任されている状況ではあるが、臨床での有用性が認められるに従い、今後は多くの施設において実施されるようになる可能性がある。その場合、2.6.2節で示した検査フローは成り立たなくなる。赤血球に関してもある一定濃度（例えば5個/HPF）以上であれば、変形赤血球の有無を確認するために赤血球画像のレビューが必要となり、検査の効率性が大きく損なわれることになる。検査の効率性を損なわないためには、変形赤血球が出現した検体を検出し、その検体のみ赤血球画像をレビューするという運用を実現する必要がある。

3.2. 自動分類項目の追加の検討

3.1.1節で述べた課題解決に向け、自動分類項目の追加を検討した。具体的には学習用データと評価用データを、10分類より詳細に分類して教師データを作成し、2.5.2節で提案した階層モジュール型ニューラルネットワークを構築した。構築したニューラルネットワークで評価用データを分類し、分類精度の高い分類項目を、追加分類項目候補として抽出した。抽出した分類項目候補を表 3-1 に示す。

シュウ酸カルシウム結晶は、これまで”結晶”として分類していた。シュウ酸カルシウム結晶は結晶の中でも比較的出現頻度が高い。結晶には様々な種類が存在する上に、一検体中に多数出現することも多いため、独立した分類項目とすることによる、レビュー作業効率化の効果は大きいと考えられる。

酵母、精子はこれまで”その他”として分類していた。これらの対象もシュウ酸カルシウム結晶と同様に、一検体中に多数出現することが多いため、独立した分類項目とすることによるレビュー作業効率化効果は大きいと考えられる。また、酵母は赤血球の偽陽性を生じる一因ともなっているため、自動分類項目とすることは次節で述べる血球偽陽性検体の検出にも有効である。

ビリルビンを含む尿中に出現する血球、細胞類は、全て黄色を呈する。ビリルビン尿に固有のこれらの黄色の粒子成分を全てビリルビン粒子として学習、分類した。尿沈渣検査では通常、このような分類は行わずに、ビリルビン結晶の有無のみを報告し、血球や細胞は通常のカテゴリを行う。今回、黄染した粒子成分を全てビリルビン粒子という一つの分類項目とした

のは、次節で述べる血球偽陽性検体の検出に有用であると考えたためである。詳細は次節で説明する。

表 3-1 追加分類項目候補

追加分類項目候補	画像枚数(枚)	再現率(%)	適合率(%)
シュウ酸カルシウム結晶	2686	87.6	88.9
酵母	1682	88.5	89.7
精子	540	87.6	87.1
ビリルビン粒子	390	97.7	97.7

3.3. 血球偽陽性検体検出方式の検討

3.1.2 節で述べた課題解決に向け、血球の偽陽性を生じる要因について分析した。2.6.4.1 節で評価に用いた 277 検体のうち、装置による赤血球と白血球の測定結果が、検査技師の的手法による検査結果に比較して高値となった検体について、目視で画像を確認し原因を分析した結果を表 3-2 に示す。

表 3-2 に示した偽陽性要因のうち、無晶性塩類、結晶、酵母は一検体中に大量に出現することがあり、装置測定結果と検査技師の手法による検査結果が 3 ランク以上の大きな乖離を生じる原因となりやすく、対策が必要な偽陽性要因である。この分析結果と、3.2 節で述べた追加分類項目候補とを勘案し、下記いずれかの条件を満たす検体を、血球偽陽性検体として検出することとした。

【血球偽陽性検出条件】

- (1) 結晶が一定濃度以上
- (2) 酵母が一定濃度以上
- (3) ビリルビンが一定濃度以上

“結晶”の分類項目には、結晶に加え無晶性塩類も分類される。そのため上記(1)の条件により、表 3-2 に示す偽陽性要因のうち結晶と無晶性塩類に起因する①-2、②-2、の検体を検出することができる。(2)、(3)には 3.2 節で新規追加項目とした酵母、ビリルビンに分類される粒子の濃度を用いる。(2)、(3)により偽陽性要因の①-4、①-5 の検体を検出することができる。上記の検出条件により、偽陽性の中でも、特に技師との検査結果に比べ 3 ランク以上の大きな乖離を生じる検体の検出が可能になると期待される。

表 3-2 血球の偽陽性を生じる要因

分類項目	偽陽性要因
①赤血球	①-1. 壊れた細胞の破片と思われる不明物
	①-2. 不定形の塊をなす無晶性塩類
	①-3. サイズの小さい白血球
	①-4. 不定形の塊をなす酵母
	①-5. ビリルビンで黄染された壊れた細胞の破片
②白血球	②-1. 白血球と同等サイズの、その他の細胞
	②-2. 不定形の塊をなす無晶性塩類
	②-3. 壊れた細胞の破片と思われる不明物

3.4. 変形赤血球検体自動検出方式の提案

3.4.1. 変形赤血球検体の判定基準

変形赤血球を検出する目的は、出血が糸球体由来か、非糸球体由来であることを特定することである。尿中に出現する変形赤血球は糸球体由来の出血によるものであり、通常の球形の赤血球に比べ、様々な形状を呈する[49][53][57]。日本臨床検査標準協議会の定める糸球体由来の赤血球形状の種類を図 3-2 に示す。

しかし、前述のように、変形赤血球検体の判定基準の運用は各施設の判断に任されている状況である。そこで、本研究では日本大学板橋病院での変形赤血球検体判断基準[57]を参考にした。日本大学板橋病院では、通常の尿沈渣検査において、赤血球が 6 個/HPF 以上観察された検体について、その赤血球をさらに形態により表 3-3 の 6 種類に分類している。()内は、図 3-2 に示した日本臨床検査標準協議会の定めた呼称である。これら各種類の赤血球の個数をカウントし、全赤血球数に占める各種類の赤血球の割合を求め、以下のいずれかの条件が成立した場合、その検体を変形赤血球検体(糸球体由来の出血が疑われる検体)としている。

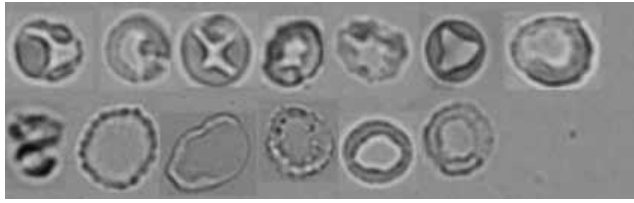
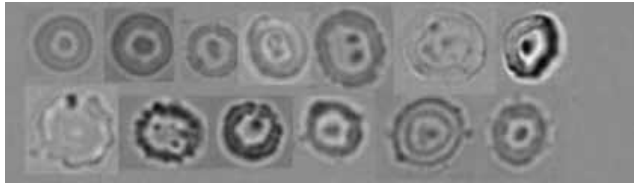



種類	形状
ドーナツ状 不均一	
標的・ ドーナツ状 不均一	
コブ・ ドーナツ状 不均一	
有棘状不均一	
ドーナツ・ 有棘状 不均一混合型	

図 3-2 日本臨床検査標準協議会の定める糸球体由来赤血球の種類

(出典：JCCLS 尿沈渣検査法 GP1-P4)

表 3-3 日本大学板橋病院における赤血球の分類方法

No.	形態
1	リング状（ドーナツ状）
2	コブ状（コブ状、有棘状）
3	アイランド状（標的状）
4	小型
5	その他
6	正常

【日本大学板橋病院における変形赤血球検体判断基準】

- (1) 全赤血球数に占める全変形赤血球数(上記 6 種類の正常以外の赤血球数) の割合が 40%以上
- (2) 全赤血球数に占めるリング状赤血球とコブ状赤血球の合計個数の割合が 10%以上

日本大学板橋病院では上記基準により変形赤血球検体の判定を行い、一日の平均的な検体数 400 検体に対し、2~3 検体を変形赤血球検体として検出している。本研究ではこの方法を参考にして赤血球形態の自動分類、及び変形赤血球検体自動検出方式を開発した。

上記の変形赤血球判断基準を厳密に自動化方式に反映するためには、赤血球画像を 6 種類に分類するのが理想的である。しかし、図 3-2 に示したように、変形赤血球のコブやアイランドなどの形状特徴は非常に微細であり、フロー方式で撮影される画像は拡大倍率、解像度、撮影時のフォーカスのずれ、等の制約により、6 種類分類を行うには必ずしも十分な画質が得られない。また、顕微鏡観察においては、検査技師は常にフォーカスを微調整しながら、奥行き方向の情報も得ているため、フロー方式で撮影した 2 次元画像 1 枚では、目視でも変形赤血球を詳細に分類することは難しい可能性がある。

そこで、実際に日常業務で赤血球分類を行っている検査技師に画像を見て頂いたところ、きれいな球形をした赤血球は正常赤血球として分類できるが、やや形のいびつなものは、正確な形状の判断が困難であり、顕微鏡観察と同様の 6 種類分類は難しいとの意見を頂いた。検査技師の目視による分類が困難な画像は、分類に必要な微細な特徴が画像上に得られていないため、パターン認識により自動分類を行うことは難しいと考えられる。特にニューラルネットワークを用いる場合、予め技師が分類を行った結果を教師データとしてネットワークを学習するため、技師が分類を行えないと教師データが作成できず、ネットワークを学習することができない。検査技師からは、フロー方式により撮影された赤血球画像の分類として、表 3-4 に示す 3 種類に分類するのが現実的であるとの意見を頂いた。そこで、本研究では、赤血球を表 3-4 に示す 3 種類に分類し、日本大学板橋病院で実施している変形赤血球検体の判定と同等の判定結果の得られる変形赤血球検体自動検出方式の開発をめざした。

表 3-4 赤血球の細分類項目

No.	細分類項目	形態
1	正常赤血球	円形をした赤血球
2	リング状赤血球	中心部が抜けてリング状になった赤血球
3	その他の変形赤血球	リング状以外の変形赤血球

3.4.2. 変形赤血球検体自動検出における課題

表 3-4 に示した 3 種類の赤血球の画像例を図 3-3 に示す。これらは典型的な正常赤血球、リング状赤血球、コブ状赤血球（その他の変形赤血球）である。しかし、実際にはこれらのように明確に分類できる赤血球ばかりではない。図 3-4 に示すように正常赤血球と変形赤血球の中間的な形状の赤血球も多数出現する。そのため、正常赤血球画像と変形赤血球画像の、特徴量空間中での分布は大きく重なり、一個一個の赤血球を正確に分類することは困難であると考えられる。

確に定量化することは困難であることがわかる。このように、正常赤血球と変形赤血球を、画像特徴量により 1 個単位で正確に分類することはできないという状況のもと、いかに変形赤血球検体を検体単位で検出するかが課題となる。

表 3-5 正常赤血球と変形赤血球の円形度の比較

	正常赤血球	変形赤血球
画像数	927	1248
平均値	0.937	0.913
標準偏差	0.045	0.055

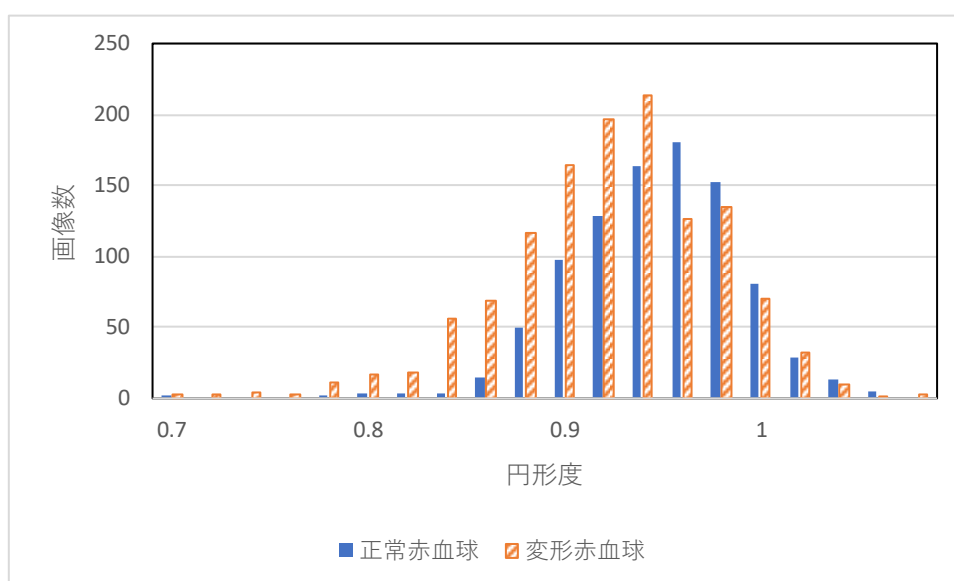


図 3-5 正常赤血球と変形赤血球の円形度の分布

表 3-6 正常赤血球と変形赤血球の面積の比較

	正常赤血球	変形赤血球
画像数	927	1248
平均値	240.7	234.1
標準偏差	61.5	69.9

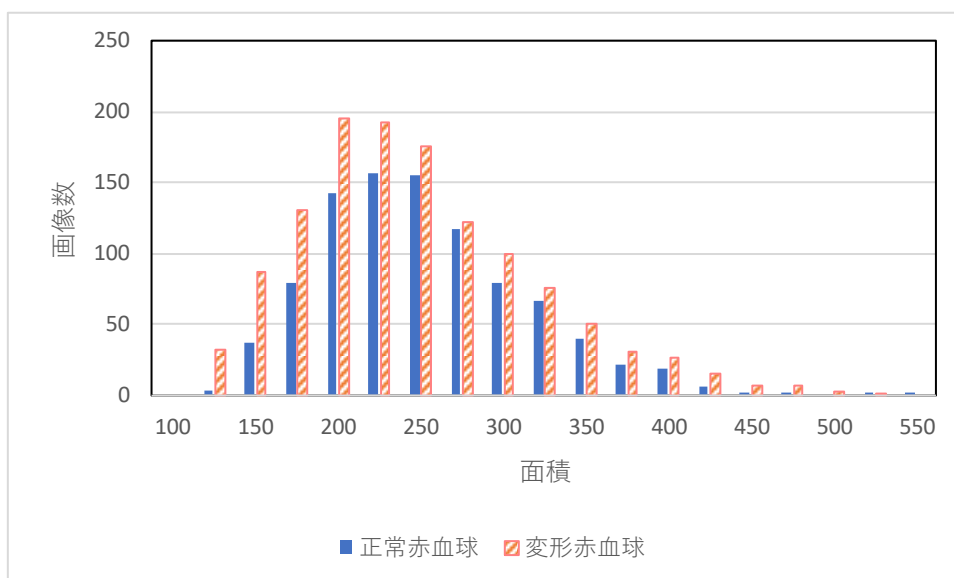


図 3-6 正常赤血球と変形赤血球の面積の分布

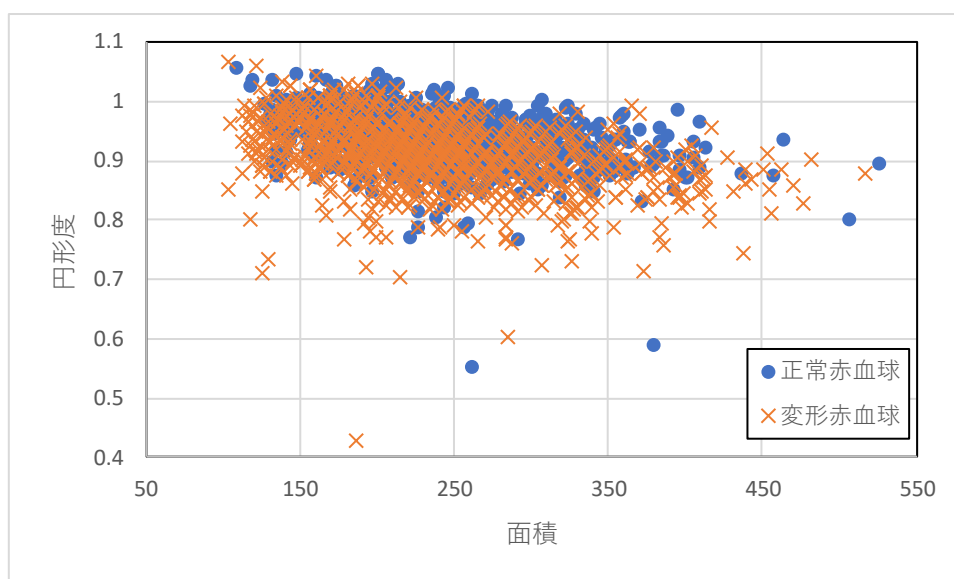


図 3-7 正常赤血球と変形赤血球の円形度と面積の分布

3.4.3. ニューラルネットワーク出力値による重み付き個数の導入

最初に、ニューラルネットワークを用い、正常赤血球、リング状赤血球、その他の変形赤血球の3種類の分類精度を評価した。結果を表 3-7 に示す。正常赤血球の再現率は 87.5% と高いものの、リング状赤血球、その他の変形赤血球は正常赤血球への誤分類が多く、再現率はそれぞれ 10.7%、66.7% と低い値となっている。分類精度が低い原因は、前節で述べたように正常赤血球と変形赤血球の特徴量の分布が大きく重なっているためと考えられる。

表 3-7 ニューラルネットワークによる赤血球の分類精度評価結果

		NN 分類結果			合計	再現率(%)
		正常	リング	その他変形		
目視 分類	正常	3109	2	444	3555	87.5
	リング	127	24	74	225	10.7
	その他変形	730	2	1469	2201	66.7
合計		3966	28	1987	5981	—
適合率(%)		78.4	85.7	73.9	—	76.9

2.5.1 節で述べた通り、ニューラルネットワークを用いてパターン認識を行う場合、一般に分類クラスと同数の出力素子を設定し、各出力素子と分類クラスを対応させる。ネットワーク学習時には特徴量が入力された時に、全出力素子のうち、正解となる分類クラスに対応する出力素子が 1、それ以外の出力素子が 0 を出力するように教師データを与え、学習により重み値を変更する。未知データの認識を行う際には、特徴量を入力した後、各出力素子の出力値を計算し、最大値を出力する出力素子に対応した分類クラスを分類結果として出力する。

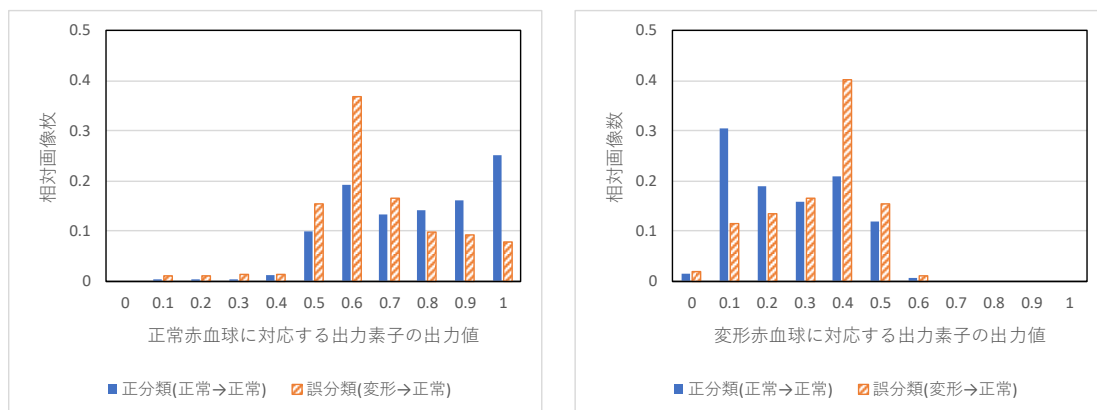
前節で述べたように、正常赤血球と変形赤血球の特徴量の分布は大きく重なっていると考えられるが、分布の重なり部分に存在するパターンの特徴量がニューラルネットワークに入力された場合、ニューラルネットワークの正常赤血球に対応する出力素子と変形赤血球に対応する出力素子は同程度の大きさの出力値を出力すると考えられる。実際に正常赤血球を正常赤血球として正しく分類した時のニューラルネットワークの出力素子の出力値の分布と、変形赤血球を正常赤血球と誤分類した時の出力値の分布を比較した結果を図 3-8 に示す。正常赤血球の画像 927 枚と、その他の変形赤血球の画像 1,248 枚を使用し、出力値ごとの相対画像枚数を比較した。

正常赤血球を正しく分類した画像においては、正常赤血球に対応する出力素子の出力値分布のピークは 1.0 近辺、変形赤血球に対応する出力素子の出力値分布のピークは 0.1 近辺にある。これは正常赤血球の出力値を 1.0、変形赤血球の出力値を 0.0 とした教師信号に近い出力値のパターンとなっている。一方、変形赤血球を正常赤血球として誤分類した画像に関しては、正常赤血球に対応する出力素子の出力値分布のピークは 0.6 近辺にあり、教師信号 1.0 に比較してかなり低い値を出力している。また、変形赤血球に対応する出力素子の出力値分布のピークは 0.4 近辺にあり、教師信号 0.0 に比較して高い値となっている。

同様に変形赤血球を変形赤血球として正しく分類した時のニューラルネットワークの出力素子の出力値の分布と、正常赤血球を変形赤血球と誤分類した時の出力値の分布を比較した結果を図 3-9 に示す。変形赤血球を変形赤血球として正確に分類した画像における正常赤血球に対応する出力素子の出力値分布のピークは 0.1 近辺にある。また、変形赤血球に対応する出力素子の出力値分布のピークは 1.0 近辺にあり、教師データに近い値を出力して

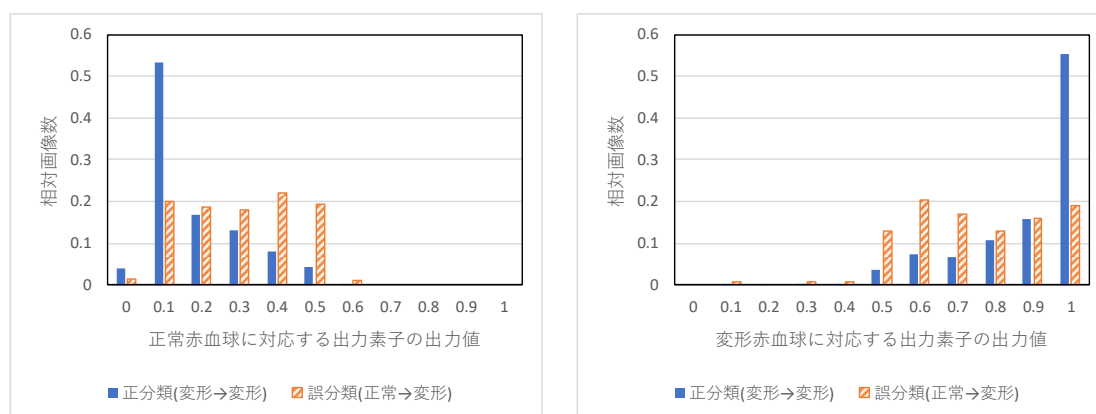
いることがわかる。一方、正常赤血球を変形赤血球として誤分類した画像では、正常赤血球に対応する出力素子の出力値分布、変形赤血球に対応する出力素子の出力値分布の双方とも明確なピークを示していない。

このように、正確に分類が行われた画像に対しては、一方の出力素子の出力値が 1 に近く、他方の出力値が 0 に近い値となるが、誤分類された画像に対しては、双方の出力値とも 0.0 から 1.0 の間の中間的な値を出力することがわかった。



(a) 正常赤血球出力素子の出力値分布 (b) 変形赤血球出力素子の出力値分布

図 3-8 正常赤血球に分類された画像に対する、NN 出力素子の出力値分布



(a) 正常赤血球出力素子の出力値分布 (b) 変形赤血球出力素子の出力値分布

図 3-9 変形赤血球に分類された画像に対する、NN 出力素子の出力値分布

例えば、一検体中に 100 個の赤血球が存在し、これらすべての赤血球に対し、ニューラルネットワークの正常赤血球に対応する出力素子が 0.6 程度、変形赤血球に対応する出力素子が 0.4 程度の値を出力したとする。このような検体中に含まれる赤血球は、正常赤血球か、変形赤血球かの判断が曖昧であると考えられ、正常赤血球検体(非糸球体由来出血) か、変形赤血球検体(糸球体由来出血) かの最終判断は検査技師の手に委ねられるのが望ましい。

しかし。上記のような通常のニューラルネットワークによる分類方法を用いた場合、全ての赤血球に対し、正常赤血球に対応する出力素子が最大値を出力するため、100 個全ての赤血球が正常赤血球と分類される。従って変形赤血球の個数は 0 となり、変形赤血球検体(糸球体由来出血検体)を検出することは困難となる。

そこで、変形赤血球検体を正常赤血球検体とする誤検出を低減するため、本研究では次式で定義するニューラルネットワーク出力値による重み付き個数を導入した[58]。

$$q_k^i = \frac{a_k^i}{\sum_{j=1}^n a_j^i} \quad (12)$$

$$r_k = \sum_{i=1}^m q_k^i \quad (13)$$

ただし、 n は分類クラス数 (ニューラルネットワークの出力素子の数)、 m は一検体中の赤血球数、 a_j^i は i 番目の赤血球に対するニューラルネットワークの第 j 出力素子 (クラス j に対応する出力素子) の出力値である。式(12)により計算される q_k^i は、 i 番目の赤血球のクラス k についての重み付き個数で、一検体中のクラス k に分類される赤血球の重み付き個数 r_k は、式(13)に示すように q_k^i の総和として計算する。

この式では、1 個の赤血球を、各出力素子の出力値の大きさに比例配分し個数として換算する。例えばある赤血球に対して正常赤血球に対応する出力素子の出力値が 0.6、変形赤血球に対応する出力素子の出力値が 0.4 であった場合には、正常赤血球が 0.6 個、変形赤血球が 0.4 個として換算する。前述のように一検体中に 100 個の赤血球が存在し、これらすべての赤血球に対し、ニューラルネットワークの正常赤血球に対応する出力素子が 0.6 程度、変形赤血球に対応する出力素子が 0.4 程度の値を出力したとする。この場合、式(13)により計算される重み付き個数を求めると、正常赤血球が 60 個、変形赤血球が 40 個という結果が得られる。従来の方法では変形赤血球は 0 個としてカウントされるのに対し、この方式では 40 個とカウントされるため、糸球体由来の出血が疑われる検体の見落としを防ぐ効果が期待される。

3.4.4. 重み付き個数の導入効果

前節で述べた重み付き個数による精度向上の効果を確認するため、日本大学板橋病院の協力を得て評価実験を行った。実験には、技師の鏡検による検査が実施され、各種の変形赤血球率が特定されている検体を用いた。これらの検体中の尿中粒子画像をフロー方式で撮影し、2.6.3 節で述べた尿中粒子を 10 分類する階層モジュール型ニューラルネットワークで分類した。赤血球として分類された画像について、さらに前述ニューラルネットワークで、正常赤血球、リング状赤血球、その他の変形赤血球、の 3 種類に分類した。ニューラルネットワークによる分類の結果得られた各種赤血球個数を用い、次式に従い変形赤血球率 p_d を

算出した。ただし、 r_a は検査対象の一検体中に含まれる全赤血球個数、 r_r はリング状赤血球の個数、 r_d はその他の変形赤血球の個数とする。なお、技師鏡検の結果は表 3-3 に示す 6 種類の赤血球の比率として報告されるが、ここでは正常赤血球以外の比率を全て加えた値を変形赤血球率とした。

$$p_d = \frac{r_d + r_r}{r_a} \quad (14)$$

技師鏡検による変形赤血球率と、ニューラルネットワークの最大出力値を出力する出力素子に対応する分類クラスを分類結果とする従来の方法を用いて分類を行った場合の変形赤血球率とを比較した結果を図 3-10 に示す。鏡検により変形赤血球が含まれていると判断された 23 検体の画像を用いた。同様に、前節で導入した重み付き個数を使用した場合の、技師鏡検との変形赤血球率の比較を図 3-11 に示す。図中には散布図に重ね回帰直線も描いた。

重み付き個数を用いた場合の方が全体的に対角線の近辺に分布し、回帰直線の傾きは 1 に近く、また切片は 0 に近い値となり、技師鏡検に近い値が得られるようになったことがわかる。技師鏡検では変形赤血球率が 40~50%であったにも関わらず、ニューラルネットワークによる分類結果では 0%となってしまいう検体が従来方法では 2 検体存在したが、重み付き個数の導入でこれらの検体についても 10~20%程度の変形赤血球率が得られるようになった。重み付き個数導入の目的である、変形赤血球検体の見落とし低減に効果があることが実証された。また、従来法では 90~100%という非常に高い変形赤血球率となった検体についても、重み付き個数の導入により技師鏡検に近い値となっている。変形赤血球率の高い検体についても技師鏡検との乖離が小さくなることが確認できた[58]。

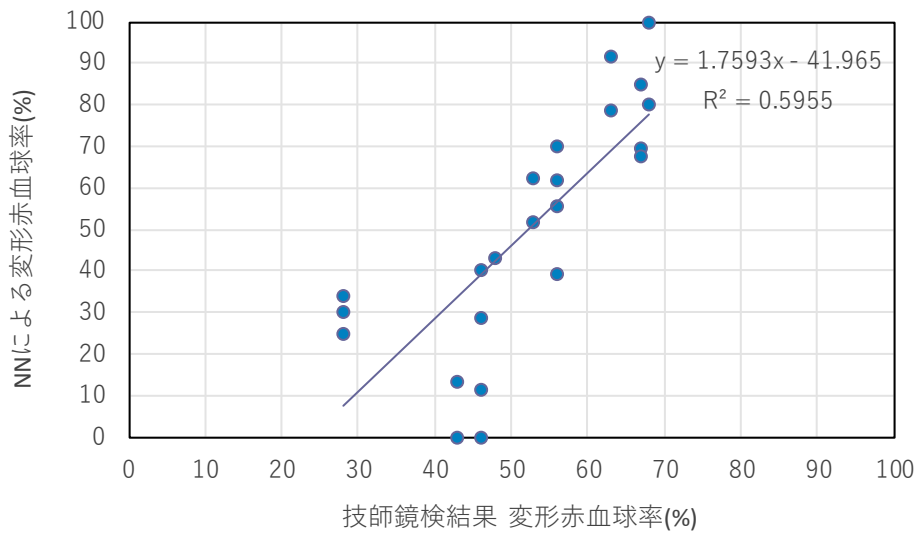


図 3-10 技師鏡検と NN（従来法）による変形赤血球率の比較

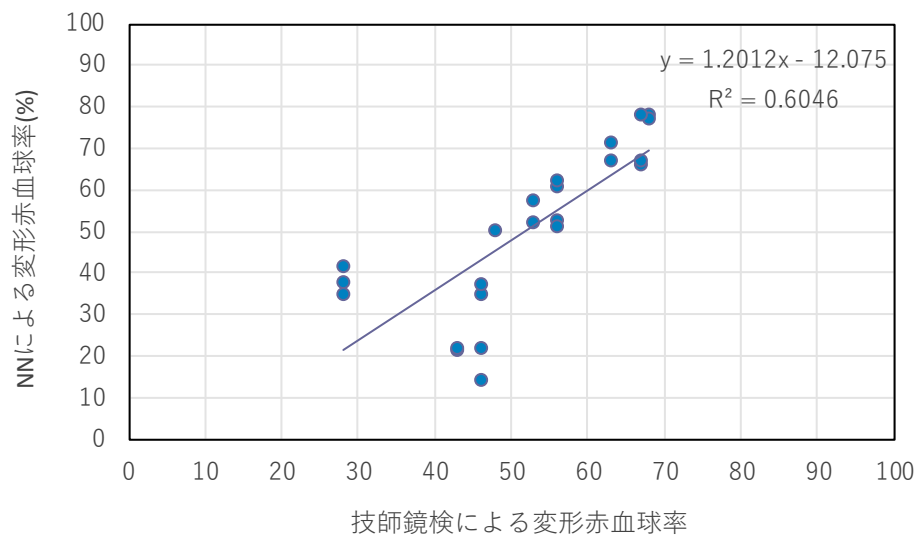


図 3-11 技師鏡検と NN（重み付き個数）による変形赤血球率の比較

3.4.5. 変形赤血球率とリング状赤血球率による変形赤血球検体の検出

3.4.1 節で述べたように、本研究において変形赤血球検体検出基準の参考とした日本大学板橋病院では、全赤血球数に占める変形赤血球の割合と、全赤血球に占めるリング状赤血球とコブ状赤血球の割合という 2 種類の指標を、糸球体由来出血（変形赤血球検体）の特定に用いている。一方、本研究では表 3-4 に示した通り、赤血球を正常赤血球、リング状赤血球、その他の変形赤血球、の 3 種類に分類する方針としたため、日本大学板橋病院で採用している 2 つの指標のうち、「リング状赤血球とコブ状赤血球の割合」と同じ指標を算出する

ことはできない。そこで、式(14)で定義した変形赤血球率と、次式により定義したリング状赤血球率（全赤血球数に占めるリング状赤血球数の割合）を指標とし、変形赤血球検体の検出を試みた[58][59][60]。ただし r_r はリング状赤血球の個数、 r_a は全赤血球個数である。

$$p_r = \frac{r_r}{r_a} \quad (15)$$

変形赤血球率とリング状赤血球率による、変形赤血球検体の検出可能性を調べるため、検査技師の鏡検により非糸球体由来出血と判定された検体（正常赤血球検体）と糸球体由来出血と判定された検体（変形赤血球検体）について、式(14)により計算される変形赤血球率 p_d と、式(15)により計算されるリング状赤血球率 p_r の分布を比較した。結果を図 3-12 に示す[58][59][60]。日本大学板橋病院にて技師鏡検の結果、非糸球体由来出血（正常赤血球検体）と判定された検体 52 検体と、糸球体由来出血（変形赤血球検体）と判定された検体 34 検体のデータを使用した。

この図からわかるように、糸球体由来出血の検体（変形赤血球検体）は、主に座標平面上の右上の破線の楕円で囲んだ領域に多く分布し、非糸球体由来出血の検体（正常赤血球検体）は主に左下に分布する。図中の一点鎖線で示したような右下がりの直線で平面を 2 領域に分割し、右上の領域に存在する検体を糸球体由来出血検体（変形赤血球検体）、左下の領域に存在する検体を非糸球体由来出血検体（正常赤血球検体）と判定すれば良いことがわかる。この結果は、以下に示す判別関数を用いることにより、糸球体由来出血検体（変形赤血球検体）と非糸球体由来出血検体（正常赤血球検体）を分類可能であることを示している。

$$\begin{aligned} p_d > ap_r + b &\rightarrow \text{糸球体由来出血（変形赤血球）検体} \\ p_d \leq ap_r + b &\rightarrow \text{非糸球体由来出血（正常赤血球）検体} \end{aligned} \quad (16)$$

ただし a 、 b は定数であり、図 3-12 中の一点鎖線の線分は $a = -10.8$ 、 $b = 54$ とした時の識別境界（ $p_d = ap_r + b$ ）を表している。この識別境界を用いて変形赤血球検体を検出した場合の、技師鏡検による結果との相関を表 3-8 に示す[58][59][60]。この結果では技師が変形赤血球検体とした 45 検体のうち、5 検体を正常赤血球検体として誤分類している。式(16)に示す識別境界を調整することにより、変形赤血球検体の見落としを減らすことができる。

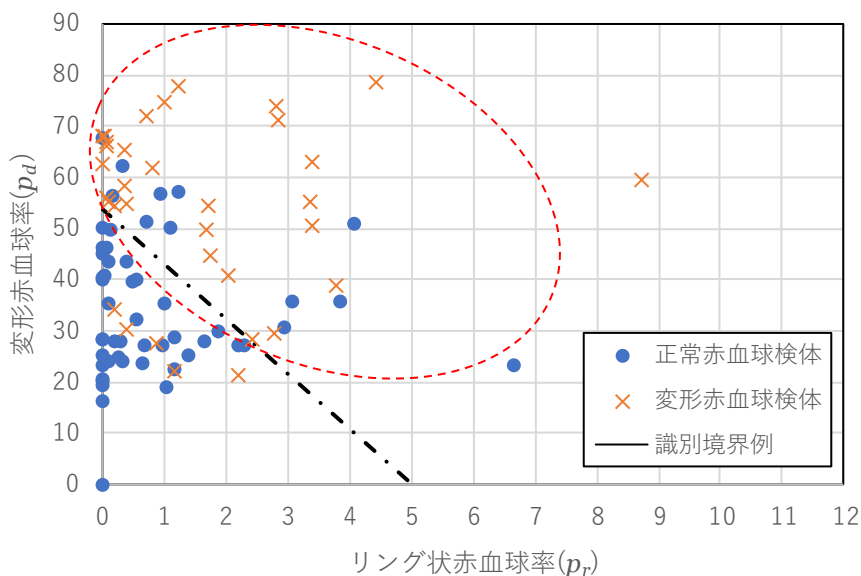


図 3-12 リング状赤血球率と変形赤血球率の分布

表 3-8 技師鏡検結果と提案手法の相関

		提案手法による自動検出結果		合計	再現率(%)
		正常赤血球検体	変形赤血球検体		
技師 鏡検	正常赤血球検体	40	12	52	76.9
	変形赤血球検体	5	29	34	85.3
合計		45	41	86	—
適合率(%)		88.9	70.7	—	80.2

3.5. 評価

3.5.1. ニューラルネットワークの構築

3.2 節、3.3 節の検討結果に基づき、表 3-9 の分類を行うニューラルネットワークを構築し、評価に使用した。表中、No.1~13 は検体中に含まれる濃度（顕微鏡の視野あたり個数の換算値）を報告する項目である。これらの項目に分類された画像は、画像に対し分類結果を付与し、ハードディスクに保存する。一方、No.14~16 は濃度の報告は行わず、3.3 節で述べた血球偽陽性検体の検出、3.4 節で提案した変形赤血球検体の検出に用いる項目である。

No.14 のビリルビン結晶は、血球偽陽性検体の検出に用いる。この項目にはビリルビンにより黄染された様々な粒子が分類される。通常の検査ではこのようにビリルビンに黄染さ

れた全ての粒子の合計の濃度を報告することはないので、この項目は血球偽陽性検体の検出のみに用い、濃度報告項目には含めないこととした。また、No.15～17の各項目は、No.1の赤血球として分類された画像に対する細分類の項目である。3.3節で述べた通り、これらの項目は粒子一個一個を正確に分類することが難しく、重み付き個数で補正する。その結果、例えば一個の粒子が正常赤血球 0.4 個、変形赤血球 0.6 個等、複数種類にカウントされ、赤血球 1 個に対し 1 種類の分類結果を付与することができない。そのため測定結果報告項目には含めず、画像に対しては赤血球という分類結果を付与し、ハードディスクに保存することとした。

表 3-9 ニューラルネットワークの分類項目

No.	分類項目	備考
1	赤血球	全ての赤血球。
2	白血球	全ての白血球。
3	扁平上皮細胞	表層、中層、深層の全ての扁平上皮細胞。
4	移行上皮細胞	表層、中層、深層の全ての移行上皮細胞。
5	その他の細胞	尿管上皮細胞など、扁平/移行以外の上皮細胞。
6	硝子円柱	内容物を含まない円柱。
7	その他の円柱	内容物を含む円柱。
8	細菌	球菌、桿菌など。
9	シュウ酸カルシウム結晶	新規追加項目。血球偽陽性検体検出にも使用。
10	その他の結晶	無晶性塩類、シュウ酸カルシウム以外の結晶。
11	酵母	新規追加項目。血球偽陽性検体検出にも使用。
12	精子	新規追加項目。
13	その他	上記に分類されない対象すべて。
14	ビリルビン粒子	新規追加項目。ビリルビンにより黄染された粒子。
15	正常赤血球	新規追加項目。正常な形状の赤血球。
16	リング状赤血球	新規追加項目。リング(ドーナツ)状の赤血球。
17	その他の変形赤血球	新規追加項目。リング状以外の変形赤血球。

3.5.2. 追加項目分類精度評価

表 3-9 に示した分類項目のうち、新たに追加したシュウ酸カルシウム結晶、酵母、精子の 3 項目について技師の鏡検による検査結果と自動化装置による測定結果の相関を評価した。順天堂大学病院の協力を得て、520 検体に対し、技師による鏡検と、装置による測定を実施した。2.6.4.1 節と同様に、技師の検査結果に対し装置の測定結果が±1 ランク以内に入るか否かで一致を判断した。結果を表 3-10 に示す[61]。3 項目とも 99%以上の高い一致率が得られた。

さらに、装置による画像の自動分類精度も評価した。上記の評価に用いた 520 検体について、レビュー装置に保存された 36,834 枚の画像を検査技師が確認し、自動分類結果が誤っていた画像については、正しい分類を入力し装置の分類結果と技師の分類結果が一致する割合を評価した。結果を

表 3-11 に示す[61][62]。3 項目ともに、再現率、適合率の双方が 90%以上という高い分類精度を達成した。

表 3-10 装置測定結果と用手法検査結果との相関

(a) シュウ酸カルシウム結晶

		技師鏡検結果				合計	一致率(%)
		-	1+	2+	3+		
装置測定結果	-	479	16	0	1	496	99.8
	1+	3	8	5	3	19	84.2
	2+	0	0	2	3	5	100.0
	3+	0	0	0	0	0	—
合計		482	24	7	7	520	99.2

(b) 酵母

		技師鏡検結果				合計	一致率(%)
		-	1+	2+	3+		
装置測定結果	-	483	28	0	0	511	100.0
	1+	1	3	0	0	4	100.0
	2+	0	1	2	1	4	100.0
	3+	0	0	0	1	1	100.0
合計		484	32	2	2	520	100.0

(c) 精子

		技師鏡検結果				合計	一致率(%)
		-	1+	2+	3+		
装置測定結果	-	505	7	0	0	512	100.0
	1+	1	7	0	0	8	100.0
	2+	0	0	0	0	0	—
	3+	0	0	0	0	0	—
合計		506	14	0	0	520	100.0

表 3-11 画像分類精度

		装置自動分類結果				合計	再現率
		酵母	シュウ酸 Ca	精子	3 項目以外		
目視分類結果	酵母	805	6	0	65	876	91.9%
	シュウ酸 Ca	1	1164	0	91	1256	92.7%
	精子	0	1	314	23	338	92.9%
	3 項目以外	81	82	24			
	合計	887	1253	338			
	適合率	90.8%	92.9%	92.9%			

3.5.3. 血球偽陽性検体検出効果の評価

検査技師の鏡検による検査結果が得られている 195 検体を使用し、3.3 節で述べた血球偽陽性検体検出方式の有効性を評価した。195 検体のうち、装置で高濃度検体として検出された 14 検体を除去した 181 検体を評価対象検体とした。①全検体、②血球偽陽性検体を除去した残りの検体、について装置と検査技師との検査結果の一致率を比較し、②の一致率が①に比較しどの程度向上するかを評価した。3.3 節で述べた通り、結晶、酵母、ビリルビン粒子が一定濃度以上の検体を血球偽陽性検体とした。血球偽陽性検体を除去することによる一致率向上結果を表 3-12 に示す。また、血球偽陽性検体除去前後での、赤血球と白血球に関する装置測定結果と、検査技師検査結果と相関を表 3-13、表 3-14 に示す。2.6.4.1 節と同様に、技師の検査結果に対し装置の測定結果が±1 ランク以内に入るか否かで一致を評価した。

181 検体中、10 検体は血球偽陽性検体として検出された。この 10 検体を除去することにより、赤血球に関する装置と検査技師との検査結果の一致率は 89.5%から 91.2%へ 1.7%向上、白血球に関しては 90.6%から 92.4%へ 1.8%向上した。血球偽陽性検体検出の効果が確認できた。

表 3-12 血球偽陽性検体除去による装置／技師検査結果一致率向上結果

No.	除外検体	除外 検体数	測定対象 検体数	赤血球 一致率(%)	白血球 一致率(%)
1	無し (全検体)	0	181	89.5	90.6
2	血球偽陽性検体	10	171	91.2	92.4

表 3-13 血球偽陽性検体除去前後での装置/技師検査結果相関（赤血球）

(a) 血球偽陽性検体除去前（全検体）

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
手 法 測 定 結 果	0	37	40	2	1	0	0	0	0	80	96.3
	1	8	23	7	2	1	0	0	0	41	92.7
	2	0	9	7	1	4	0	0	0	21	81.0
	3	0	4	8	5	0	0	0	0	17	76.5
	4	0	0	1	2	6	1	0	0	10	90.0
	5	0	1	1	1	1	1	0	0	5	40.0
	6	0	0	0	0	1	0	6	0	7	85.7
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計	45	77	26	12	13	2	6	0	181	89.5	

(b) 血球偽陽性検体除去後

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
手 法 測 定 結 果	0	37	37	1	1	0	0	0	0	76	97.4
	1	8	23	7	2	0	0	0	0	40	95.0
	2	0	9	7	1	2	0	0	0	19	89.5
	3	0	4	8	4	0	0	0	0	16	75.0
	4	0	0	1	2	6	1	0	0	10	90.0
	5	0	1	1	1	1	1	0	0	5	40.0
	6	0	0	0	0	1	0	4	0	5	80.0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計	45	74	25	11	10	2	4	0	171	91.2	

表 3-14 血球偽陽性検体除去前後での装置/技師検査結果相関（白血球）

(a) 血球偽陽性検体除去前（全検体）

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
手法測定結果	0	18	12	2	0	1	0	0	0	33	90.9
	1	31	59	9	4	1	0	0	0	104	95.2
	2	0	6	7	2	6	0	0	0	21	71.4
	3	0	1	5	7	1	1	0	0	15	86.7
	4	0	0	0	0	4	0	1	0	5	80.0
	5	0	0	0	0	1	0	0	0	1	100.0
	6	0	0	0	0	0	0	2	0	2	100.0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計	49	78	23	13	14	1	3	0	181	90.6	

(b) 血球偽陽性検体除去後

		装置測定結果								合計	一致率(%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
手法測定結果	0	18	12	2	0	1	0	0	0	33	90.9
	1	30	58	9	3	1	0	0	0	101	96.0
	2	0	5	6	2	4	0	0	0	17	76.5
	3	0	1	5	7	1	0	0	0	14	92.9
	4	0	0	0	0	3	0	1	0	4	75.0
	5	0	0	0	0	1	0	0	0	1	100.0
	6	0	0	0	0	0	0	1	0	1	100.0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
合計	48	76	22	12	11	0	2	0	171	92.4	

3.5.4. 変形赤血球検体検出精度評価

3.4 節で提案した変形赤血球検体検出方式の、日常の検査業務での有用性評価を目的とし、日本大学板橋病院の協力を得て一日分の検体に提案方式を適用し、技師が変形赤血球検体と判定した検体を検出可能か評価した。評価には、検査技師の鏡検による検査が実施された 231 検体を使用した。日本大学板橋病院では、赤血球の濃度が 6 個/HPF 以上であることを変形赤血球検体の判断基準の一つとしているため、装置による赤血球の測定結果

が6個/HPF以上であった検体に対し変形赤血球検体検出の提案手法を適用し、検査技師による検出結果と比較した。結果を表3-15に示す[59][60]。

231検体のうち、提案手法により33検体の変形赤血球検体として検出された。検査技師が変形赤血球検体と判断した検体は2検体あり、これらの検体は提案手法により検出された33検体に含まれていた。31検体の正常赤血球検体の変形赤血球検体として誤検出されたが、変形赤血球検体を正常赤血球検体とする誤分類は無かった。

表 3-15 技師鏡検結果と提案手法の相関

		提案手法による自動検出結果		合計	再現率(%)
		正常赤血球検体	変形赤血球検体		
技師 鏡検	正常赤血球検体	198	31	229	86.5
	変形赤血球検体	0	2	2	100.0
合計		198	33	231	—
適合率(%)		100.0	6.1	—	86.6

3.5.5. 臨床現場での有用性評価

血球偽陽性検体検出機能と、変形赤血球検体検出機能を実装した装置の導入による、検査業務の効率性向上効果について評価を行った。評価には3.5.3節で用いた195検体を使用し、下記の基準での運用を前提として①装置の測定結果を検査結果として報告する検体、②レビュー装置を用いたレビュー後に検査結果を報告する検体、③鏡検を行う検体、の割合を試算した。試算の結果を図3-13に示す[64]。下記(2)の判断に用いる陽性基準値として表3-16に示す基準値を設定した。

- (1) 高濃度検体はレビューを実施せず、鏡検対象とする
- (2) 各項目に対して予め陽性基準値を設定し、1項目でも基準値を超えた検体はレビュー対象とする
- (3) 血球偽陽性検体はレビュー対象とする
- (4) レビュー装置での目視分類が困難な検体は鏡検対象とする。

全検体を装置で測定した後、高濃度検体として鏡検対象となる検体は全体の8%であった。残り92%のうち、40%は陽性基準値を超えるか、または血球偽陽性検体としてレビュー対象検体となり、52%は装置の測定結果を検査結果として報告する検体となった。レビュー対象となった40%のうち10%は鏡検対象、30%はレビュー後の測定結果を検査結果として報告する検体となった。最終的に鏡検が必要な検体は18%となった。

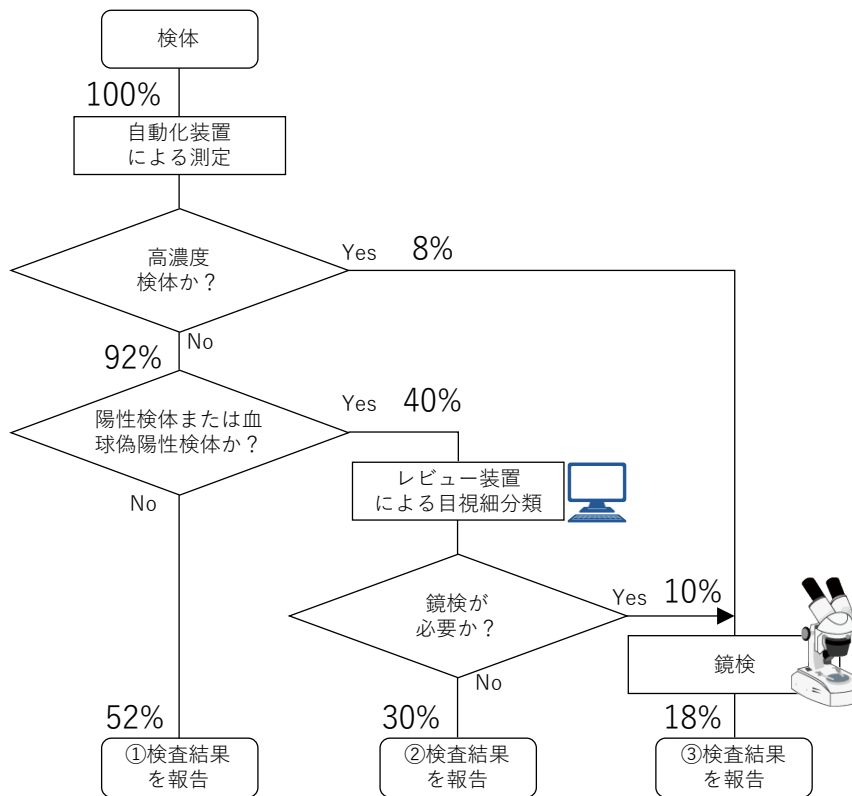


図 3-13 臨床現場での有用性評価

表 3-16 陽性基準値

項目	陽性基準値 (個/μL)
赤血球	1000
白血球	1000
扁平上皮細胞	1000
移行上皮細胞	2.2
その他の細胞	6.6
硝子円柱	0.44
その他の円柱	0.044
細菌	11
結晶	11
その他	11
シュウ酸カルシウム結晶	11
酵母	100
精子	11

3.6. 考察

3.6.1. 分類項目の追加

3.5.2 節で述べた評価結果の通り、本章で新たに分類項目に追加したシュウ酸カルシウム結晶、酵母、精子の3項目は、検査技師による検査結果との相関、画像の自動分類精度共に非常に高い結果となった。前章では赤血球、白血球、扁平上皮細胞に関しては装置の測定結果を検査結果として報告する検査フローを提案し、評価により検査業務への適用可能性を検証した。追加3項目も赤血球、白血球、扁平上皮細胞とほぼ同等の画像分類精度、技師検査結果との相関が得られ、共同で評価を実施した検査技師からは、追加3項目に関しても、装置の測定結果を検査結果として報告可能との意見を得た[61][62]。

3.5.2 節での評価には、520 検体 36,834 枚の画像を使用した。このうちシュウ酸カルシウム結晶、酵母、精子の3項目の画像枚数は合計 2,478 枚であり、これらは全画像枚数の 6.7%であった[61]。今回、これらの3項目の高精度な自動分類が可能になったことにより、全画像の約 6.7%の画像に対してレビューが不要になる可能性を示せた。また、レビュー対象とした場合にも、これら3項目に分類された画像に対しては、分類結果の細分類、修正といった作業が殆ど不要になることから、レビュー時間は大幅に短縮可能になると考えられる。

また、3.5.2 節で述べた評価実施後に福島県立医科大学において装置を使用させていただいたところ、シュウ酸カルシウム結晶、酵母、精子の装置測定結果と技師検査結果との一致率は100%であった[63]。追加3項目は施設によらず高い測定精度が得られることを確認した。

3.6.2. 血球偽陽性フラグ

3.5.3 節で述べた評価結果の通り、提案した方法により血球偽陽性検体を検出し、検出された検体を除去することにより、赤血球、白血球に関する装置と検査技師との検結果の一致率はそれぞれ 1.7%、1.8%向上し、91.2%、92.4%となり、高い一致率を達成することができた。この機能により、血球偽陽性として検出された検体以外の検体に関しては赤血球、白血球はレビューを実施することなく、装置の測定結果を検査結果として報告可能になったと考える。

3.5.3 節の評価では、181 検体中 10 検体が血球偽陽性検体として検出された。これは全検体の約 5.5%に相当する。従来はレビュー対象となった約 50%の検体に関しては赤血球、白血球に分類された画像についてもレビューが必要であったが、レビューが必要な検体数を 5.5%にまで低減することが可能となる。3.5.2 節での評価で用いた 520 検体 36,834 枚の画像中、赤血球と白血球の画像は 24,766 枚であった。画像枚数が検体数に比例すると仮定すると、改良前は 50%の 12,383 の画像のレビューが必要であったが、血球偽陽性検体の検出により 5.5%の 1,362 枚にまで削減され、レビュー時間が大幅に短縮されると考えられる。

3.6.3. 変形赤血球検体の検出

3.4 節で提案した変形赤血球検体検出方式を日常の検査業務へ導入する場合、糸球体由来の出血か否かは技師が決定することを前提とし、下記の運用を想定する。

- (1) 提案手法により変形赤血球検体を検出する。
- (2) (1)で検出された検体の赤血球画像をレビュー装置により確認し、糸球体由来出血検体の候補を抽出する。
- (3) 糸球体由来出血候補検体の尿を顕微鏡観察により検査し、糸球体由来か否かを決定し、検査結果とする。

上記運用を行う上では、

- (1)において糸球体由来出血の検体の見落としを生じないこと
- (2)でレビューを行う検体数が少ないこと

の2点が重要となる。1点目は検査の質を低下させないための要件であり、2点目は効率を損なわないための要件である。

3.5.4 節で述べた評価では、検査技師が糸球体由来出血とした2検体を見落とすことなく検出することができた。一方で3.4.5 節において提案方式の検討に用いたデータでは、糸球体由来出血検体の見落としを生じているため、より多くのデータで評価した場合に見落としが生じる可能性を否定できない。しかし、糸球体由来の出血がある検体は、変形赤血球以外にも腎疾患の可能性を示す様々な尿沈渣成分が多数出現する。検査技師からは、他の種類の成分の出現状況から糸球体由来出血を疑い、赤血球画像のレビューあるいは顕微鏡観察を実施するという運用を行うことにより、糸球体由来出血の見落としは防ぐことが可能との意見を頂いた。

また、上記2点目のレビューを行う検体数に関しては、3.5.4 節で述べた評価では231検体のうち14%に相当する33検体がレビューを実施する対象となった。しかし、3.6.2 節で述べた通り血球偽陽性検体の検出方式を導入することにより改良前には50%の検体に関して実施していた赤血球、白血球画像のレビューが不要となった。変形赤血球検体検出方式の導入により、14%の検体については赤血球画像のレビューが必要となったとしても改良前に比較すると、レビュー時間を大幅に短縮できると考えられる。

以上の考察より、提案した変形赤血球検体検出方式は、血球偽陽性検体の検出と併用することにより、検査の質と効率性向上を両立し得る方式であると結論づけた。

3.6.4. 臨床現場での有用性

本章で述べた改良を実施する前後での、①装置測定結果を検査結果として報告する検体数、②レビュー実施後の測定結果を検査結果として報告する検体数、③顕微鏡観察による検査を実施する検体数、の比率を表 3-17 に示す。改良前の比率は 2.6.4 節で述べた評価結果、改良後の比率は 3.5.5 節で述べた評価結果の数値である。改良前後で、異なる検体を用いて評価を行っている。

本章で述べた改良のうち、血球偽陽性検体検出機能と、変形赤血球検体検出機能は、検査技師がレビューまたは顕微鏡観察を行うべき検体を検出するため、レビュー、顕微鏡観察の実施比率を高くする要因となる。しかし、表 3-17 に示した通り、装置の測定結果を報告できる検体の割合は殆ど変化せず、検査の効率性を低下させることは無かった。

3.5.3 節で述べた血球偽陽性検体検出の評価では、181 検体のうち、6%に相当する 10 検体が血球偽陽性検体として検出された。また、3.5.4 節で述べた変形赤血球検体検出の評価では、231 検体のうち、14%に相当する 33 検体が変形赤血球検体として検出された。これだけの数の検体がレビュー対象検体となったのにも関わらず、装置測定結果を報告する検体の比率が大きく低下することはなかった。この理由は、血球偽陽性として検出される検体、変形赤血球検体として検出される検体の尿中には、血球以外の様々な尿沈渣成分が含まれており、本章で述べた改良を実施する前でもレビュー対象となる検体が多いためと考えられる。

また、3.5.5 節で述べた評価の実施後に厚生連広島総合病院において装置を使用していたところ、検査フローの各ステップでの検体数は、図 3-14 に示す割合となった[65]。①装置測定結果を検査結果として報告する検体数、②レビュー実施後の測定結果を検査結果として報告する検体数、③顕微鏡観察による検査を実施する検体数、の比率は施設によらずほぼ同じ傾向を示すことを確認した。

表 3-17 改良前後でのレビュー、鏡検検体数の比較

	改良前	改良後
①装置測定結果を報告	50%	52%
②レビュー実施結果を報告	35%	30%
③顕微鏡観察結果を報告	15%	18%

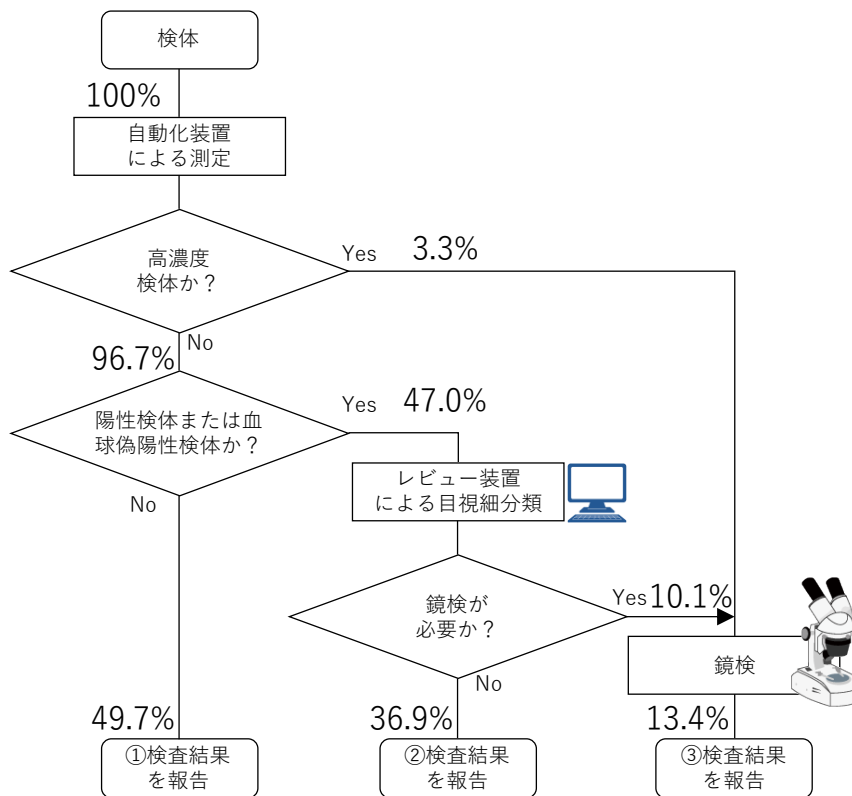


図 3-14 厚生連広島総合病院における運用事例

次に、本章で述べた改良による、レビューの効率性向上について考察する。評価の結果得られた下記の数値に基づき、本章で述べた改良実施前後での、全画像に占めるレビュー対象画像の比率を試算した。

- 3.5.2 節で評価に用いた 36,834 枚の尿中粒子画像の種類別の枚数
- 3.5.3 節の評価で得られた血球偽陽性検体として検出される検体の割合 (5.5%)
- 3.5.4 節の評価で得られた変形赤血球として検出される検体の割合 (14%)

高濃度検体を除去した後の画像を対象とし、血球と扁平上皮細胞のみを含む検体と、それ以外の対象を含む検体の比率は、50:45 とした。この比率は 2.6.4 節で述べた改良実施前の評価で得られた結果に基づく数値である。また、改良により追加した 3 項目 (シュウ酸カルシウム結晶、精子、酵母) についてはレビュー不要とした。試算結果を図 3-15 に示す。

分類項目の 3 項目追加、及び血球偽陽性検体の検出により、それぞれ全画像中 6.7%、28.2%の画像をレビュー不要とすることができる。変形赤血球検体として検出される検体に関しては赤血球画像のレビューが必要となるが、レビュー対象となる画像は全画像数の 3.0%程度である。改良前は全画像中 61.7%の画像に対し、レビューが必要であったが、本

章で述べた改良により、レビューすべき画像を全画像の29.8%にまで減らせる見通しを得た。本章で述べた改良により、レビュー作業時間の大幅な短縮が可能となり、尿沈渣検査業務を更に効率化可能であることを確認した。

本章で述べた改良実施後の装置による、日常の検査業務の効率化の具体例として、受付から25分以内での検査結果報告率が、技師鏡検法では53.8%であったのに対し、装置導入により98.1%に向上したと北里大学病院より報告されている[66]。

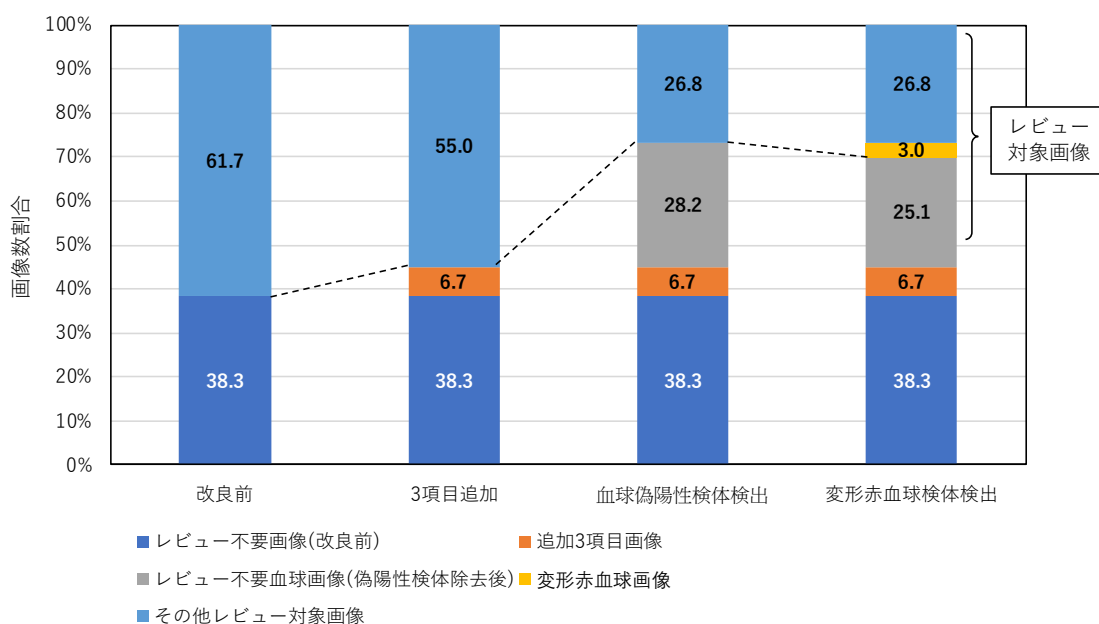


図 3-15 レビュー作業効率化試算結果

3.7. まとめ

尿沈渣検査業務の更なる効率性向上に向け、下記(1)~(3)の課題解決に取り組んだ。

(1) 自動分類の細分類項目化

レビュー装置の画面上で、同じ種類の粒子はなるべくまとめて表示された方が、作業効率が向上する。その他の上皮細胞、その他の円柱、結晶、その他、には種々の対象が分類されてくるため、レビュー作業の効率を低下させる一因となっている。これらの項目に分類されている種々の対象についても、自動分類が可能な対象については、独立した分類項目として自動分類することにより、レビュー作業の効率化が期待できる。

(2) 血球偽陽性検体の検出

扁平上皮細胞に比べ、赤血球と白血球は技師検査結果との一致率は低く、一致しな

った検体の中には、技師の検査結果との乖離が非常に大きな偽陽性検体も含まれる。2.6.2 節で、赤血球、白血球、扁平上皮細胞以外の項目が陽性であった検体に対しレビューを実施する検査フローを提案したが、赤血球、白血球に関しても偽陽性となっている可能性があるため、技師が画像を確認し、再分類を行う必要がある。もし赤血球、白血球の分類項目に、他の成分が誤分類され偽陽性となっている検体を予め検出することができれば、これらの検出された検体のみについて赤血球、白血球画像をレビューすれば良く、偽陽性でない検体は血球画像のレビューは不要となる。レビューする画像の枚数を減らすことが可能となり、検査業務を更に効率化することができる。

(3) 変形赤血球検体の検出

通常、尿沈渣中に出現する赤血球は球形をしているが、検体によっては様々に変形した赤血球が観察されることがある。尿中赤血球を形態分類することにより、出血部位を特定し、診断に大きく役立てることが出来る可能性が示されている。日常の尿沈渣検査において出血部位の診断を行う場合、赤血球に関してもある一定濃度(例えば5個/HPF)以上であれば、変形赤血球の有無を確認するために赤血球画像のレビューが必要となり、検査の効率性が大きく損なわれる。検査の効率性を損なわないためには、変形赤血球が出現した検体を検出し、その検体のみ赤血球画像をレビューするという運用を実現する必要がある。

上記の課題に対応し、以下の改良を行い、評価によりその有効性を確認した。

(1) 自動分類3項目の追加

10分類より詳細に分類した教師データを作成し、2.5.2 節で提案した階層モジュール型ニューラルネットワークを構築、評価し、分類精度の高いシュウ酸カルシウム結晶、精子、酵母の3項目を自動分類項目に追加した。

実検体 520 検体を用いて装置測定結果と技師検査結果との一致率を評価し、3項目とも99%以上の高い一致率が得られることを確認した。また、これらの検体から得られた36,834枚の尿沈渣画像について技師の目視分類結果との一致率を評価したところ、再現率、適合率の双方が90%以上という高い分類精度を達成し、レビュー作業の効率化に効果があることを確認した。

(2) 血球偽陽性検体検出方式の検討

2.6.4.1 節で評価に用いた277検体を用いて血球の偽陽性を生じる要因を分析した。偽陽性要因のうち、無晶性塩類、結晶、酵母は一検体中に大量に出現することがあり、装置測定結果と検査技師の用手法よる検査結果に大きな乖離を生じる原因となりやすい。そこで、①結晶が一定濃度以上、②酵母が一定濃度以上、③ビリルビン粒子

が一定濃度以上、のいずれかの条件を満たす検体を血球偽陽性検体とする検出方式を提案した。

実検体を用いて評価を実施した結果、181 検体中、10 検体が血球偽陽性検体として検出された。この 10 検体を除去することにより、赤血球に関する装置と検査技師との検査結果の一致率は 89.5%から 91.2%へ 1.7%向上、白血球に関しては 90.6%から 92.4%へ 1.8%向上した。この機能により血球偽陽性検体以外に関しては血球画像のレビューが不要となり、レビュー時間が大幅に短縮されることを確認した。

(3) 変形赤血球検体自動検出方式の提案

正常赤血球の形状は真円に近く、変形赤血球の中には、正常赤血球に比べサイズが小さいものが多く含まれる。しかし、正常赤血球と変形赤血球の間隔的な形状の赤血球も多く存在し、形状特徴量の分布は大きく重なっており、赤血球一個一個の形状を正確に自動分類することは困難である。そこで、糸球体由来出血の疑われる変形赤血球検体を検体単位で検出する新たな方式を提案した。本方式は①ニューラルネットワーク出力値により重み付き個数を計算すること、②変形赤血球率とリング状赤血球率に基づき変形赤血球検体を検出すること、を特徴とする。

本方式はニューラルネットワークにより赤血球を正常赤血球、リング状赤血球、その他の変形赤血球、の 3 種類に分類する。未知画像を分類する際、通常はニューラルネットワークの最大出力値を出力する素子に対応する分類項目に分類し、出現個数をカウントする。本方式では赤血球 1 個に対し、正常赤血球 0.7 個、リング状赤血球 0.3 個というように、各出力素子の出力値に比例配分した個数を算出し、一検体ごとにその個数を合計する。その後、検体ごとに全赤血球に占めるリング状赤血球の割合と変形赤血球の割合を計算し、線形判別式により糸球体由来出血の疑われる変形赤血球検体を検出する。

一日分 231 検体を用いた評価では、検査技師が糸球体由来出血と判定した 2 検体を本方式により検出可能であることを確認した。

以上の(1)~(3)の改良を実施した装置を用い、日常の検査業務の効率化を評価した結果、約 50%の検体は装置の測定結果を検査結果として報告可能であった。また、40%の検体については、レビュー装置を用いて、検査技師が分類結果の確認、修正を行う必要があった。レビューが必要な画像枚数を試算したところ、改良前は全画像中 61.7%の画像に対し、レビューが必要であったが、本章で述べた改良により、レビューすべき画像を全画像の 29.8%にまで減らせることを確認した。本章で述べた改良により、レビュー時間の大幅な短縮が可能となり、尿沈渣検査業務を更に効率化することができるとの結論を得た。

4. 自動分類の高精度化に向けた改良

4.1. 赤血球用領域分割方法の改良

4.1.1. 領域分割方法の課題

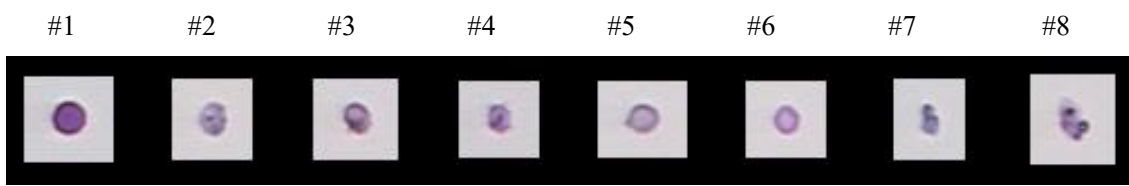
3.4.2 節で述べた通り、検査技師により分類された正常赤血球画像と変形赤血球画像の円形度 C_r と面積の分布を調べたところ、分布は大きく重なっており、これらの特徴量により正常赤血球と変形赤血球を分類することは困難であることが分かった。正常赤血球と変形赤血球の中間的な形状をした赤血球が多数存在し、これらの中には正常赤血球、変形赤血球が混在していることが特徴量分布に重なりを生じる一因と考えられる。しかし、一方で画像処理の精度面でも、領域分割において対象領域の形状が正確に抽出できていない可能性も考えられる。そこで、最初に赤血球画像の領域抽出結果を分析し、①差分値を用いた処理の影響、②明るい辺縁部分の影響、③B濃度画像除外の影響、④暗い辺縁部分の影響、により領域分割の精度が劣化していることを明らかにした。以下ではこの4要因の影響について述べる。

4.1.1.1. 差分値を用いた処理の影響

2.4.2 節で提案した領域分割法は、無染色細胞の領域を確実に抽出するために画像の走査線方向 (x 方向) の濃度差分値を用いている。走査線に垂直な方向 (y 方向) の差分値も用いるのが理想的であるが、高速な処理を実現するために x 方向のみの差分値を採用した。

差分値を用いた領域分割では、 x 方向 5 画素を用いて濃度変動を数値化し、変動が大きい画素を対象領域とする。このため、対象物のエッジ部分から数画素分外側までが対象領域として分割されることがある。従って抽出された対象領域が x 方向にやや伸長した形状になることがあると考えられる。大きな対象の分類に関してはこのような変形の影響は殆ど無い。しかし、小さな対象は領域分割時の変形により特徴量が大きく影響を受ける。特に変形赤血球のように、小さな対象を形状により分類する場合には、 x 方向への伸長により円形度のような特徴量を正確に得ることができず、分類精度低下の一因になると考えられる。

図 4-1 (a)に染色赤血球の画像例を、同図(b) にこれらの画像に対する現手法での領域分割結果を示す。また、同図(c)に、差分値を用いないで領域分割を行った結果を示す。これらの図を比較してみると、差分処理により対象領域が x (水平) 方向に伸長され抽出されていることがわかる。この影響により、特に#7、#8 の2枚の画像に対する現手法の領域分割結果では、形状の正確な特徴が失われていることがわかる。図 4-2 は無染色の赤血球画像に対して同様の処理を行った結果である。無染色赤血球についても同じような傾向が現れている。



(a) 現画像



(b) 現方式による領域分割結果

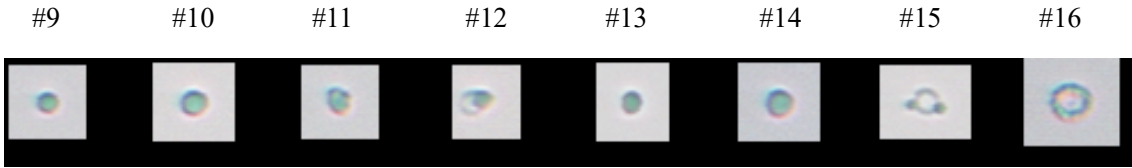


(c) 濃度(R, G) のみを用いた領域分割結果



(d) 背景より暗い部分のみを対象とする領域分割結果

図 4-1 差分値・背景より明るい領域の影響(染色赤血球)



(a) 現画像



(b) 現方式による領域分割結果



(c) 濃度(R, G) のみを用いた領域分割結果



(d) 背景より暗い部分のみを対象とする領域分割結果

図 4-2 差分値・背景より明るい領域の影響(無染色赤血球)

4.1.1.2. 明るい辺縁部分の影響

前節で述べたように、差分処理を行わずに R, G 濃度のみを用いて領域分割を行うことにより、領域分割結果は改善され、図 4-1 (c)、図 4-2 (c)に示すような結果が得られる。ただし、これらの結果を検討してみると、まだ正確な領域抽出が行われていない例が目立つ。例えば図 4-2 (c)の#9、#14 の領域分割結果を同図(a)の原画像と比較してみると、原画像は真円に近い形状であるにもかかわらず領域分割結果は大きく変形している。

これらの画像を詳細に調べたところ、原画像の背景中、エッジに近接する部分において背景の平均濃度より明るい部分が対象領域として抽出されていることが分かった。2.4.2 節で提案した領域分割方法では、R 濃度ヒストグラム、G 濃度ヒストグラムのピークを背景の平均濃度として背景濃度分布を推定し、この分布より暗い部分と明るい部分の両方を対象領域として抽出している。無染色細胞、及び結晶では、対象内部での光の屈折・反射により、対象領域中に背景より明るい濃度値を持つ画素が存在する。そのため、これらの対象の領域分割精度を向上させるため、背景より明るい部分も対象として抽出している。しかし、撮影

された画像を詳細に調べてみると、対象の輪郭に近い辺縁部分に、背景の平均濃度よりもかなり明るい部分が生じる画像のあることがわかった。この明るい部分は、光学系（撮像系）の特性に起因するものと思われる。そのため、辺縁部分の背景を対象として分割するケースがあり、領域分割の精度低下の一因になっていることが分かった。

図 4-1 (d)、図 4-2 (d) はそれぞれ図 4-1 (a)、図 4-2 (a) の画像を、背景の R、G 濃度分布より暗い部分のみを対象として領域分割を行った結果である。図 4-1 (c)、図 4-2 (c) において正確に領域分割されなかった上記の画像と比較すると、改善されていることがわかる。

4.1.1.3. B 濃度画像除外の影響

図 4-2 (d)では、(b)、(c) に比べ改善された結果が得られている。しかし、無染色の赤血球に関しては、#15 の画像のように赤血球の一部が背景として分割されてしまうことがある。例えば図 4-3 (a) に示す無染色赤血球画像について、濃度差分値は用いずに背景の R、G 濃度分布より暗い部分のみを対象として領域分割を行うと同図(b) に示す結果が得られる。このように特定の無染色赤血球では領域が複数に分断されてしまうことや、あるいは中心部分が正確に抽出されないことが分かった。この原因を明らかにするために無染色赤血球画像の濃度値の分布を詳細に調べた結果を図 4-4 に示す。図 4-4 (a)は RG 平面上の分布、(b) は GB 平面上の分布である。

無染色の赤血球は、完全な透明では無く、ややクリーム色がかかった色調を示す。そのため色濃度のみを用いた領域分割は可能であると考えられる。従来の処理方式では R、G 濃度のみを用いて対象領域の抽出を行っているため、図 4-4 (a)に示す平面上で背景画素の濃度分布と対象領域画素の濃度分布とを分割している。例えば図中の斜線部分に存在する画素が背景画素として領域分割が行われる。しかし、この図から明らかのように、RG 平面上では、背景の濃度分布と対象領域の濃度分布が明確には分かれておらず、2 個の分布が重なりをもって同じ方向に存在していることがわかる。このため、R、G 濃度のみにより領域分割を正確に行うことができない。

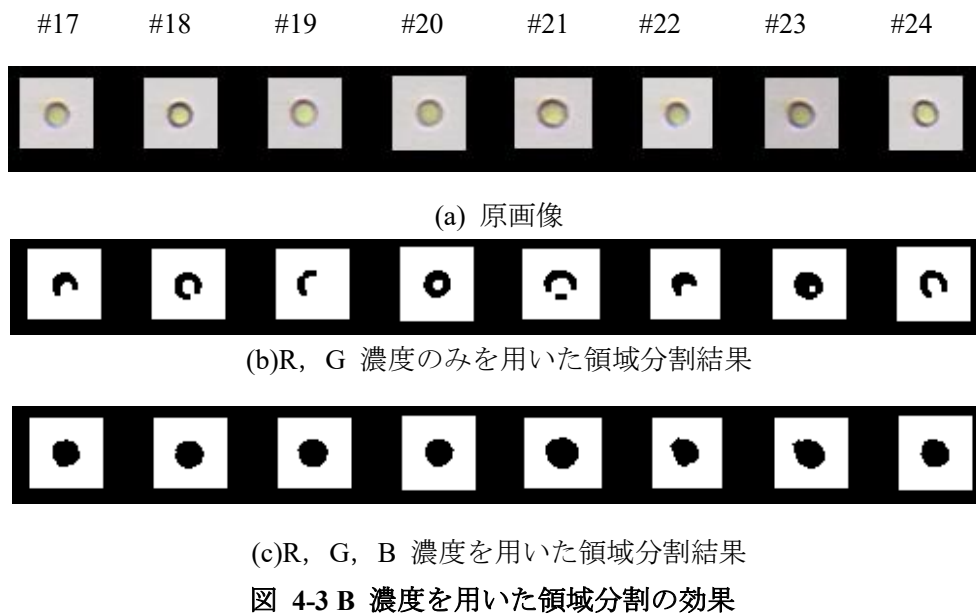
一方、図 4-4 (b)に示す通り、GB 平面上では、RG 平面上に比べ、対象領域と背景の濃度分布が明確に離れていることがわかる。R、G 濃度値のみを用いた領域分割では正確に抽出することが困難であった赤血球領域の画素の濃度値が背景濃度とは異なった方向に分布していることが分かる。分布の方向が異なることは、色調が異なることを表し、これまで用いていなかった B 濃度を用いることにより、無染色赤血球と背景との微妙な色調差の検出が可能となる。R、G 濃度のみを用いた領域分割方法では、図 4-4 (b)の格子で示した範囲と、斜線で示した範囲の濃度値を持つ画素全てが背景として分割されていた。この図からわかるように、この斜線部には赤血球の画素も含まれるため、R、G 濃度のみを用いた領域分割方法では赤血球の一部が背景として分割されることがあった。

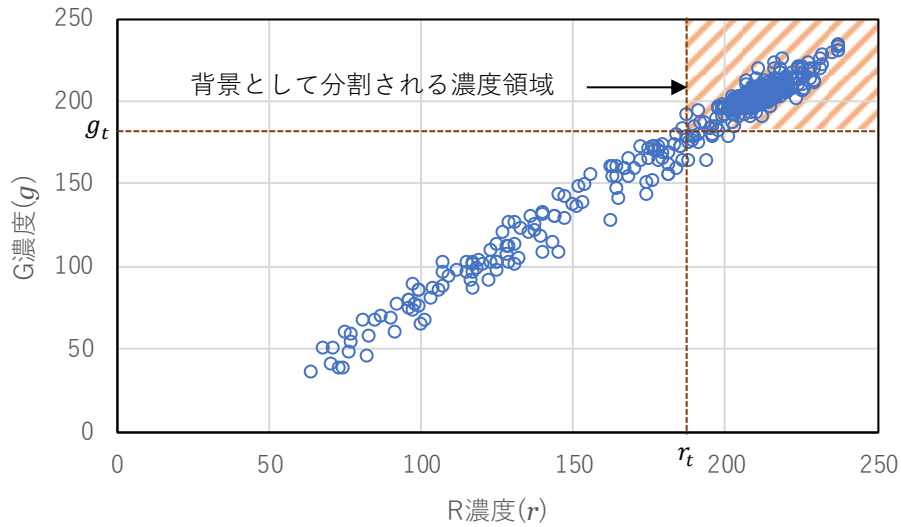
そこで、実際に図 4-3 (a) の画像に対し、R、G 濃度に加え B 濃度も用いて領域分割を行い、R、G 濃度のみを用いた場合と比較した。具体的には、R、G、B 濃度にそれぞれ閾値

r_t 、 g_t 、 b_t を設定し、下記の3条件を満たす画素を背景、それ以外の画素を対象領域とした。

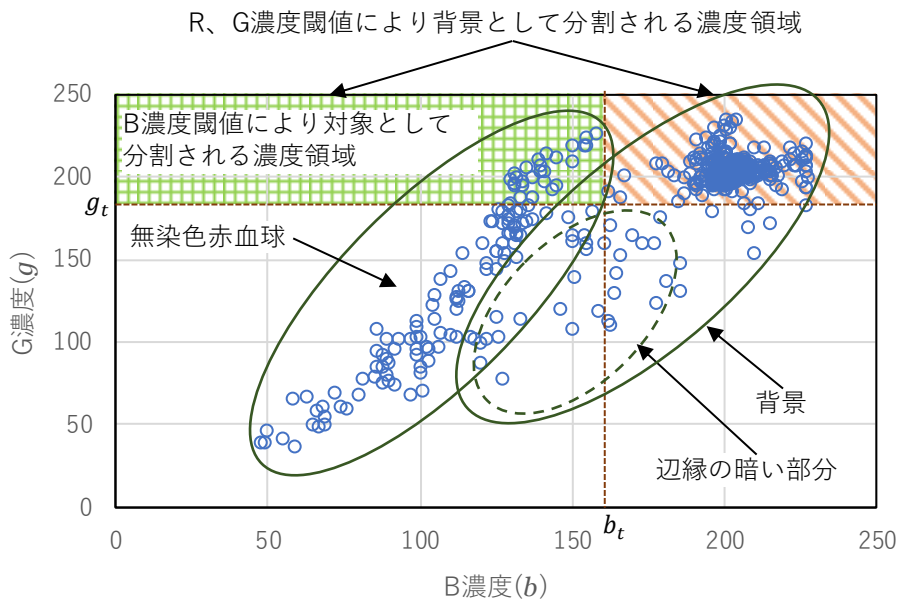
$$\begin{aligned} r_{i,j} &> r_t \\ g_{i,j} &> g_t \\ b_{i,j} &> b_t \end{aligned} \quad (17)$$

ただし $r_{i,j}$ 、 $g_{i,j}$ 、 $b_{i,j}$ はそれぞれ画像上 (i,j) におけるR濃度値、G濃度値、B濃度値である。また、濃度値は明るい程大きな値をとるものとする。この方法により、領域分割を行った結果を図4-3(c)に示す。同図(b)に示すR、G濃度のみによる結果と比較し、領域分割結果が大きく改善されていることがわかる。





(a) RG 平面上の分布



(b) GB 平面上の分布

図 4-4 無染色赤血球画像の濃度分布

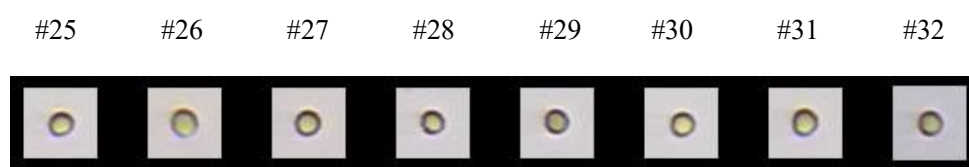
4.1.1.4. 暗い辺縁部分の影響

前節で述べたように、R、G 濃度に加え B 濃度を用いて領域分割を行うことにより、領域分割結果が改善されることが分かった。しかし、更に詳細に多数の画像を調べたところ、赤血球の辺縁部分の暗い部分が対象領域として分割されることがわかった。このような暗い部分は画像中、対象領域に接する特定方向の領域において発生しているため、光学系（撮像

系) の特性によるものと考えられる。

前節で述べた式(17)を満たす画素を背景とする領域分割方法では、B 濃度が閾値 b_t より小さい画素は対象として分割されるため、図 4-4 (b)において垂直な破線で示されている $b = b_t$ より左側にある画素は全て対象領域となる。しかし、図から分かるようにこの中に辺縁の暗い部分の画素が含まれるため、背景の一部が対象領域として抽出されることがある。また、辺縁の暗い画素が対象領域として抽出されないように閾値 b_t を小さめに設定すると、無染色赤血球内部の画素が背景として分割されるようになる。

このように辺縁の暗い部分が対象領域として分割された画像例を図 4-5 に示す。#29, #31の画像において赤血球の左側の暗い背景領域が対象として分割されている。



(a) 原画像



(b) R、G、B 濃度値を用いた領域分割結果

図 4-5 背景の暗い部分が対象領域として分割される例

4.1.2. 赤血球用領域分割方法の提案

4.1.1 節では、赤血球領域分割精度の劣化要因として、差分値を用いた処理の影響、②明るい辺縁部分の影響、③B 濃度画像除外の影響、④暗い辺縁部分の影響、の 4 種類の課題を特定した。これらの課題に対する解決策を表 4-1 に示す。この表より、RGB の色濃度空間中において、辺縁部分の明るい部分、暗い部分を背景として分割可能な、識別境界の設定が必要であることがわかる。本節では、表 4-1 の課題を解決する、赤血球用領域分割方法を提案する。

表 4-1 赤血球領域分割の課題と解決策

課題	解決策
差分値を用いた処理の影響	(1) 濃度値のみを用いる
B 濃度画像除外の影響	(2) B 濃度を用いる
辺縁の明るい部分の影響	(3) 辺縁の暗い部分、明るい部分を背景として抽出可能な識別境界を、色濃度空間中で設定する
辺縁の暗い部分の影響	

4.1.2.1. 濃度座標の変換

4.1.1.3 節で、B 濃度を用いることにより無染色赤血球の領域分割精度が改善されることを示した。しかしながら、単純に濃度値に閾値を設けるだけでは、正確な領域抽出はできない。GB 空間における無染色赤血球画像の濃度分布と、濃度閾値により背景として分割される画素の関係を図 4-6 に示す。

濃度閾値により GB 空間中に設定される、赤血球と背景を分割するための識別境界は GB 軸に平行な直線となる。そのため、背景として分割される画素は、図 4-6 中の斜線の矩形領域に存在する画素となり、この図の例では赤血球辺縁の暗い部分は背景として分割されない。また、赤血球辺縁の暗い部分を背景として抽出するように濃度閾値を設定すると、斜線で囲まれる矩形領域が非常に大きくなり、赤血球の一部が背景として分割されてしまう。赤血球と背景とを正確に分割するためには、例えば図中 A の矩形領域のように識別境界を設定する必要がある。以下では RGB の 3 次元空間中で、このように望ましい識別境界を設定する方法について検討する[67]。

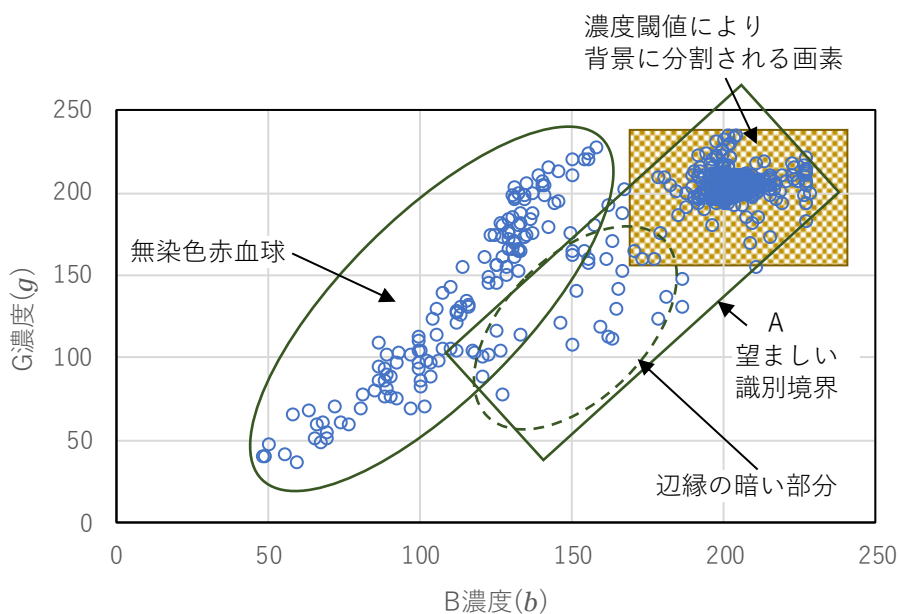


図 4-6 GB 空間における濃度分布と濃度閾値の関係

フロー方式により撮影される画像の背景はほぼ白色をしている。そのため、背景画素の R 濃度値、G 濃度値、B 濃度値はほぼ同程度の値を示す。背景には明るい部分、暗い部分が存在するため背景領域の濃度値は RGB 空間中、直線 $r = g = b$ に沿って分布する。ただし r 、 g 、 b はそれぞれ R、G、B の濃度値とする。図 4-7 に RGB 空間中での背景画素の分布を模式的に示す。

RGB 濃度値に閾値を設け領域分割を行う場合には、図 4-7 中の直方体で示す濃度範囲に入

る濃度値を持つ画素が背景として分割される。この直方体が背景濃度の分布を過不足無く覆うことができれば正確な領域分割が可能である。しかし、背景の分布は直方体の対角方向を向いているため、背景の分布を十分覆うように直方体の大きさを調節すると、背景濃度の周辺部分に存在する濃度領域も背景として分割することになる。これは、例えば無染色赤血球の内部の画素を背景と分割してしまう現象に対応する。また、逆に背景濃度に近い濃度値を持つ対象画素を対象領域として抽出するために直方体を小さく設定すると、背景濃度分布を十分に覆うことができなくなり、背景の一部が対象領域として抽出されることになる。これは、背景の暗い部分を対象領域として抽出してしまう現象に対応する。

背景濃度の分布を正規分布と仮定すると、画像全体の濃度分布から背景の濃度分布の方向（主軸）、位置（平均値）、大きさ（分散）を推定することにより、背景が分布する楕円領域を推定することができる。この場合、この楕円範囲入る画素を背景とすることにより、正確な領域分割を行うことができる。しかし、対象と背景とが混在する画像の濃度値から背景の濃度値の分布のみを正確に推定するためには計算が複雑になり、処理時間が長くなると予想される。

そこで、図 4-8 に示すように RGB 座標を座標変換により回転させ、一軸を背景濃度の分布方向である $r = g = b$ に一致させ、領域分割を行う方式を開発した。図中 u, v, w は変換後の座標を示し、 u 座標軸が背景濃度の分布方向 $r = g = b$ に一致するように座標を回転している。 u, v, w の座標値に閾値を設定し領域分割を行うと、各軸に平行な直線で形成される直方体により背景濃度分布を覆うことになる。図より明らかなように軸を背景濃度の分布方向に一致させることにより、図 4-7 に示す直方体よりもより高精度に（周辺の濃度領域を含むことなく）背景の濃度分布を抽出することができる。

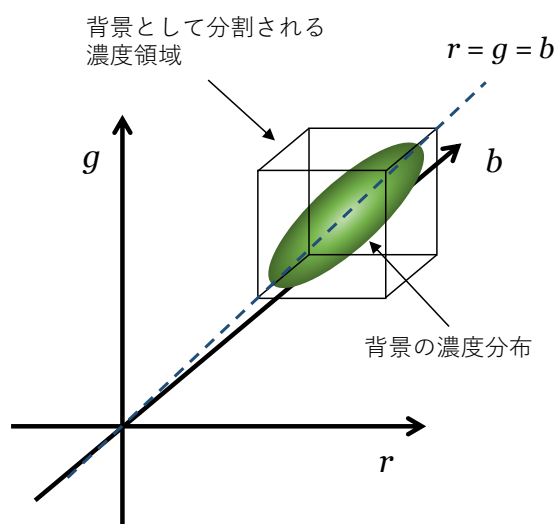


図 4-7 背景濃度分布と領域分割処理により背景と分割される濃度領域

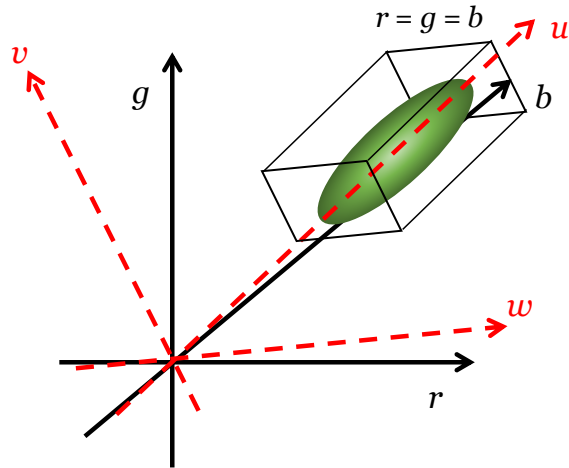


図 4-8 座標変換により背景と分割される濃度領域

r 軸周りの回転角を φ 、 g 軸周りの回転角を θ 、 b 軸周りの回転角を ω とすると、 rgb 座標軸の回転を行うための行列 T は次式により表わされる。

$$\begin{aligned}
 T &= \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \varphi & \sin \varphi \\ 0 & -\sin \varphi & \cos \varphi \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \cos \theta & 0 & \sin \theta \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin \theta & 0 & \cos \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \cos \omega & \sin \omega & 0 \\ -\sin \omega & \cos \omega & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \\
 &= \begin{pmatrix} \cos \theta \cos \omega & \cos \theta \sin \omega & \sin \theta \\ -\cos \varphi \sin \omega - \sin \varphi \sin \theta \cos \omega & \cos \varphi \cos \omega - \sin \varphi \sin \theta \sin \omega & \sin \varphi \cos \theta \\ \sin \varphi \sin \omega - \cos \varphi \sin \theta \cos \omega & -\sin \varphi \cos \omega - \cos \varphi \sin \theta \sin \omega & \cos \varphi \cos \theta \end{pmatrix} \quad (18)
 \end{aligned}$$

回転後の座標軸の一つを直線 $r = g = b$ に重ねるためには、例えば θ 、 ω を図 4-9 に示すように定めれば良い。この例では $\omega = \frac{\pi}{2}$ 、 $\varphi = 0$ であり、 θ は次式を満たす。

$$\sin \theta = \frac{1}{\sqrt{3}}$$

$$\cos \theta = \frac{\sqrt{2}}{\sqrt{3}}$$

これらを式(18)に代入すると、 rgb 座標を uvw 座標に変換する下記の式が得られる。

$$\begin{pmatrix} u \\ v \\ w \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{1}{\sqrt{3}} & \frac{1}{\sqrt{3}} & \frac{1}{\sqrt{3}} \\ -\frac{1}{\sqrt{2}} & \frac{1}{\sqrt{2}} & 0 \\ -\frac{1}{\sqrt{6}} & -\frac{1}{\sqrt{6}} & \frac{2}{\sqrt{6}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} r \\ g \\ b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{1}{\sqrt{3}}r + \frac{1}{\sqrt{3}}g + \frac{1}{\sqrt{3}}b \\ -\frac{1}{\sqrt{2}}r + \frac{1}{\sqrt{2}}g \\ -\frac{1}{\sqrt{6}}r - \frac{1}{\sqrt{6}}g + \frac{2}{\sqrt{6}}b \end{pmatrix} \quad (19)$$

本研究では、計算を更に簡単にするため、 u を $\sqrt{3}$ 倍、 v を $\sqrt{2}$ 倍、 w を $\sqrt{6}$ 倍した以下の座標変換を用いた[67]。

$$\begin{pmatrix} u' \\ v' \\ w' \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sqrt{3} & 0 & 0 \\ 0 & \sqrt{2} & 0 \\ 0 & 0 & \sqrt{6} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} u \\ v \\ w \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} r + g + b \\ -r + g \\ -r + g + 2b \end{pmatrix} \quad (20)$$

この変換は加減算のみにより計算できるため、高速に処理を行うことができる。

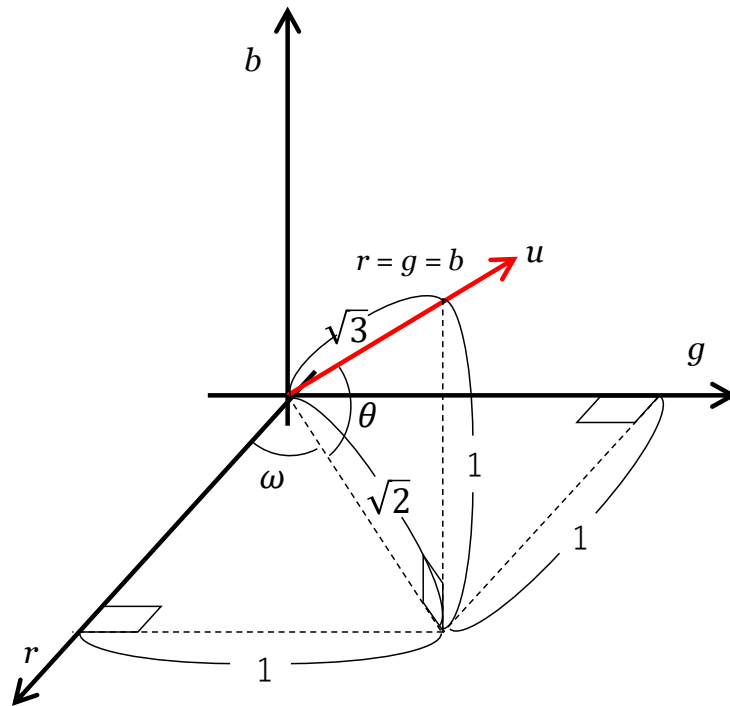


図 4-9 座標の回転角

4.1.2.2. 3 値化を用いた修正処理

前節で述べた座標変換を用いることにより、背景の濃度領域を精度良く囲む識別境界の設定が可能となる。しかし、実際には図 4-10 に示すように背景の濃度分布と無染色赤血球領域の濃度分布には重なりがあり、単純な識別境界により、正確に領域分割を行うことは難し

い。

そこで、分布の重なった部分の画素に関しては、画像上の位置により背景か対象領域かを判定する領域分割方式を開発した[67]。本方式はまず色濃度空間を、①背景濃度のみが分布する領域、②背景と対象の分布が重なっている可能性のある中間領域、③対象のみが分布する領域、の3領域に分割する。本方式により色濃度空間を3領域に分割する模式図を図 4-11 に示す。

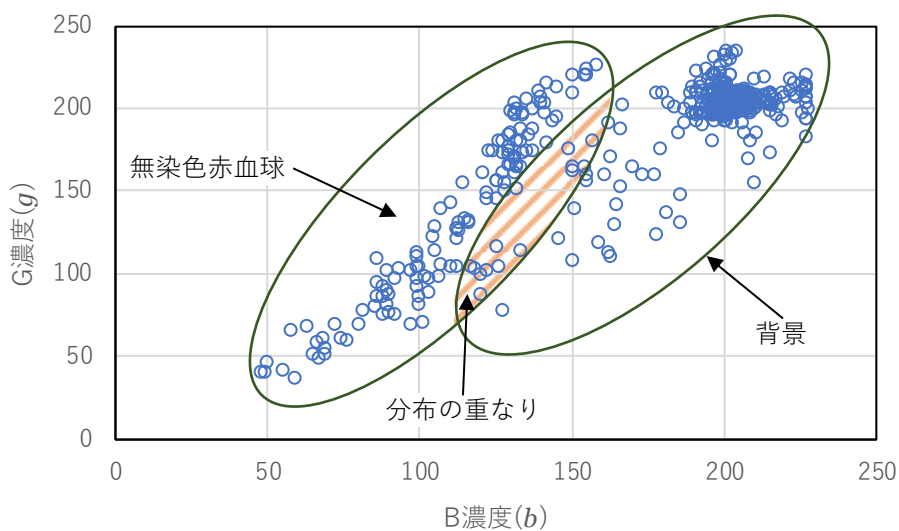


図 4-10 背景と赤血球の濃度分布の重なり

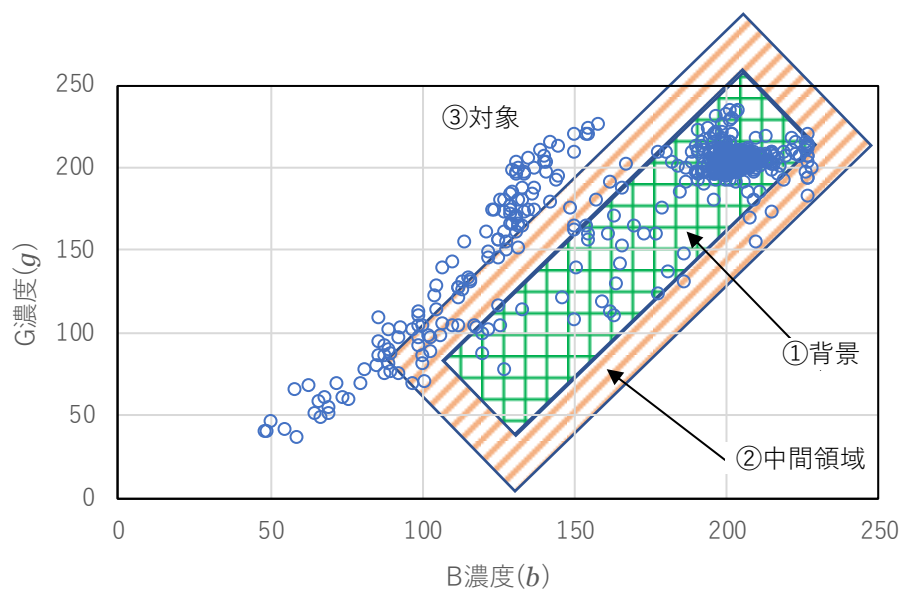


図 4-11 色濃度空間の3分割方法

まず背景の濃度分布を囲むように2重の矩形領域を設定する。内側の矩形の内部(図中の格子の範囲)を①背景濃度のみが分布する領域、2個の矩形に挟まれた領域(図中の斜線の範囲)を②背景と対象の分布が重なっている可能性のある中間領域、矩形の外側を③対象のみが分布する領域、とする。この分類に従い、①～③のそれぞれの領域に含まれる画素を(1)背景、(2)中間領域、(3)対象領域、とする3値化処理を行い、3値画像を作成する。3値画像における(1)～(3)の領域の位置関係を図4-12に模式的に示す[67]。

赤血球のエッジ部分は色が濃く、背景と明確な濃度差がある。一方、赤血球の中央付近は色が薄く、特に無染色赤血球では背景と同程度の濃度となることがある。そのため、赤血球の中央付近の領域が(2)の中間領域となることがある。そこで、(2)の中間領域のうち、背景と接する中間領域を背景、接していない中間領域は赤血球内部の対象領域とする修正処理を行う。この修正処理により、図4-3(b)のように赤血球領域の中心部がドーナツ状に抜けてしまうことを防止しつつ、図4-5(b)のように背景の暗い部分が赤血球領域として誤分割されることを防止できる。

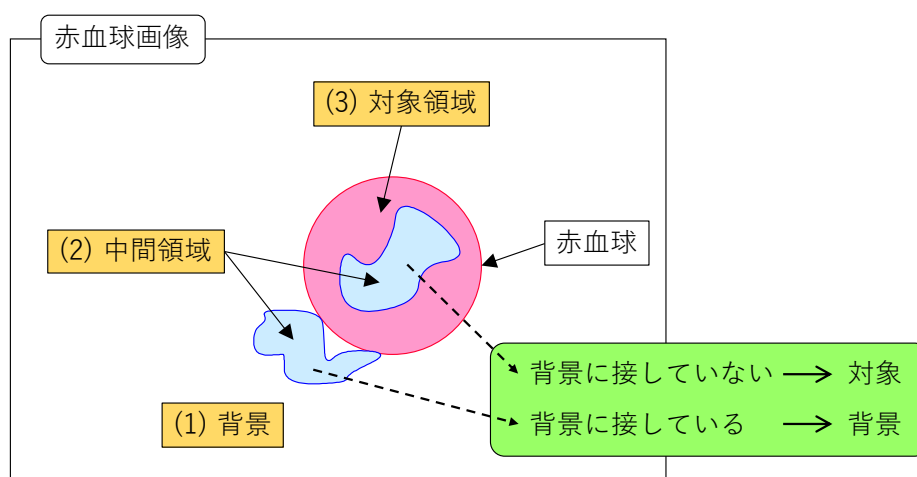


図 4-12 3 値化による修正処理方法

本手法を尿沈渣画像に適用する具体的な方法を述べる。まず、式(20)により求められる濃度の変換値 u' 、 v' 、 w' のそれぞれについて、ヒストグラムを作成する。 u' のヒストグラムの模式図を図4-13に示す。このヒストグラムの最大値 f_p と、その時の u' の値(最頻値) u'_p を求める。次に最大値 f_p の両側で、最大値 f_p の半値 $\frac{f_p}{2}$ となる u' の値 u'_{h-} 、 u'_{h+} を求めた後、閾値 u'_{t0-} 、 u'_{t0+} 、 u'_{t1-} 、 u'_{t1+} を次式により計算する。ただし k_{0-} 、 k_{1-} 、 k_{0+} 、 k_{1+} は実験的に定める定数であり、 $k_{0-} < k_{1-}$ 、 $k_{0+} < k_{1+}$ とする。4.1.1.2節で述べたように、赤血球画像の領域分割においては、背景の濃度分布に比較し明るい画素は、背景として分割した方が望ましい結果が得られる。そのため、画素の明るさを反映する u' に関しては、明るい画素が対象領域として分割されないよう、 k_{0+} 、 k_{1+} に十分大きな値を設定する。

$$\begin{aligned}
u_{t0-} &= u_p - k_{0-} \cdot u_{h-} \\
u_{t1-} &= u_p - k_{1-} \cdot u_{h-} \\
u_{t0+} &= u_p + k_{0+} \cdot u_{h+} \\
u_{t1+} &= u_p + k_{1+} \cdot u_{h+}
\end{aligned}
\tag{21}$$

これらの閾値の大小関係を図 4-13 に示す。また、これらの閾値により背景、対象、中間領域として分割される濃度範囲の関係を図 4-14 に示す。ここでは u' を例として閾値 u'_{t0-} 、 u'_{t0+} 、 u'_{t1-} 、 u'_{t1+} を決定する方法を説明したが、 v' 、 w' に関しても同様に閾値 v'_{t0-} 、 v'_{t0+} 、 v'_{t1-} 、 v'_{t1+} 、 w'_{t0-} 、 w'_{t0+} 、 w'_{t1-} 、 w'_{t1+} を計算する。実際の無染色赤血球画像に本手法を適用し、 u' 、 v' 、 w' に閾値を設定した例を図 4-15 に示す。

このようにして算出した閾値により $u'v'w'$ 空間中に設定される識別境界の模式図を図 4-16 に示す。図中の 2 重の直方体のうち、内側の直方体は u'_{t0-} 、 u'_{t0+} 、 v'_{t0-} 、 v'_{t0+} 、 w'_{t0-} 、 w'_{t0+} によって定まる識別境界である。この内側に分布する画素は 3 値化処理において背景として分割する。外側の直方体は u'_{t1-} 、 u'_{t1+} 、 v'_{t1-} 、 v'_{t1+} 、 w'_{t1-} 、 w'_{t1+} によって定まる識別境界である。この外側に分布する画素は、3 値化処理において対象領域として分割する。2 つの直方体の間に分布する画素は中間領域として分割する。具体的には表 4-2 に示すルールに従い、画像を背景、対象領域、中間領域とする 3 値化処理を行う。

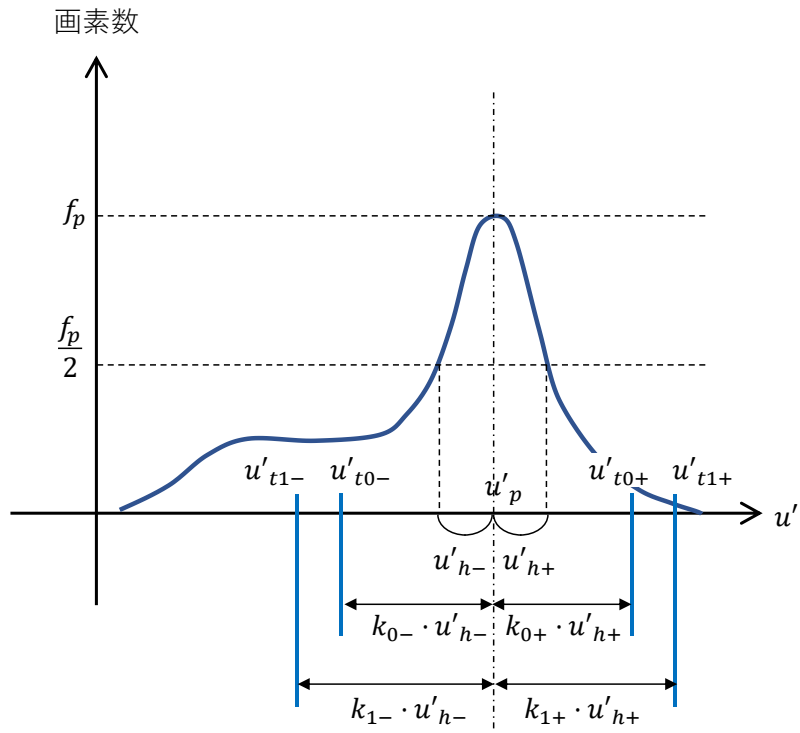


図 4-13 u' を例とした閾値の設定方法

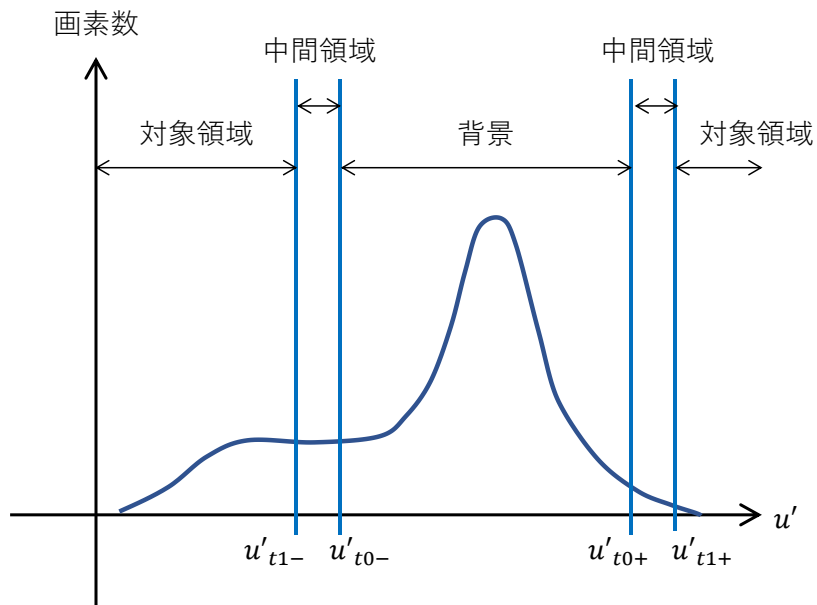
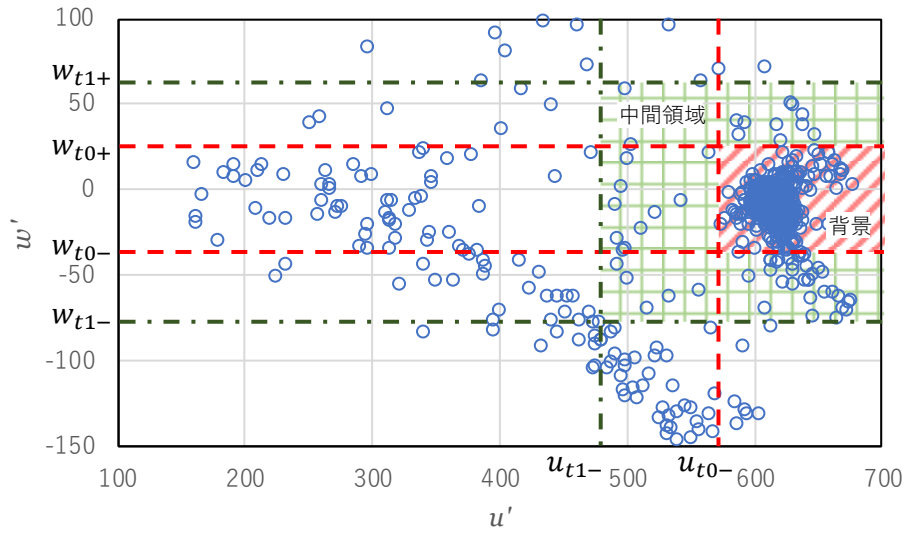
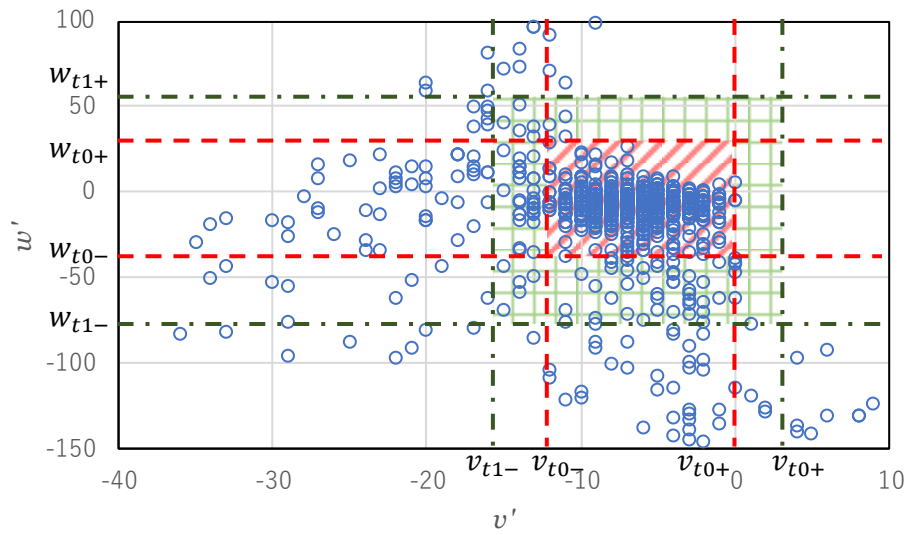


図 4-14 閾値と背景、対象、中間領域の関係



(a) $u'w'$ 平面上の分布



(b) $v'w'$ 平面上の分布

図 4-15 無染色赤血球画像の $u'v'w'$ 空間中の分布と閾値

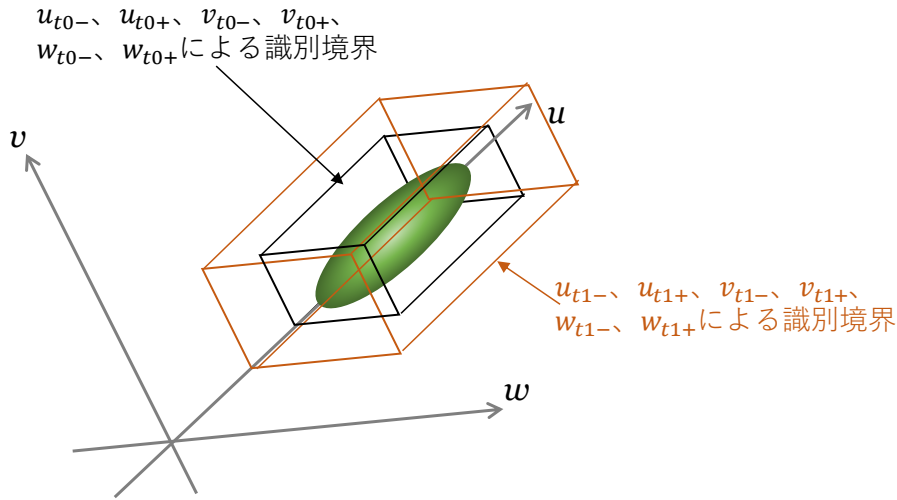


図 4-16 $u'v'w'$ 空間中に設定される識別境界

表 4-23 値化処理のルール

領域	条件
背景	$u'_{t0-} \leq u' \leq u'_{t0+}$ かつ $v'_{t0-} \leq v' \leq v'_{t0+}$ かつ $w'_{t0-} \leq w' \leq w'_{t0+}$
対象	$u' < u'_{t1-}$ または $u' > u'_{t1+}$ または $v' < v'_{t1-}$ または $v' > v'_{t1+}$ または $w' < w'_{t1-}$ または $w' > w'_{t1+}$
中間領域	上記以外

4.1.3. 評価

4.1.2 節で提案した赤血球用領域分割方法の有効性を、変形赤血球の分類精度により評価した。変形赤血球として分類される赤血球は、通常より小型の赤血球か、または形状が円形ではない赤血球である。ここでは小型の赤血球进行分类するための特徴量として面積 S を、円形ではない赤血球进行分类するための特徴量として次式で定義される変形度 D_r を用いた。

$$D_r = \frac{L^2}{S} \quad (22)$$

ただし L は周囲長である。 D_r は対象領域が真円の時に最小値 4π となり、複雑な形状になるほど大きな値となる。これらの特徴量を用いると、小型の変形赤血球は面積 S の小さい赤血球として検出することができ、形状が円形でない赤血球は変形度 D_r の大きい赤血球として検出することが可能である。

ここでは改良前の領域分割方法を用いた場合と、4.1.2 節で提案した領域分割方法を用いた場合について、上記 2 種類の特徴量 S 、 D_r による赤血球分類を行い、その精度を比較した。280 枚の正常赤血球画像と、402 枚の変形赤血球画像を使用した。正常赤血球と変形赤

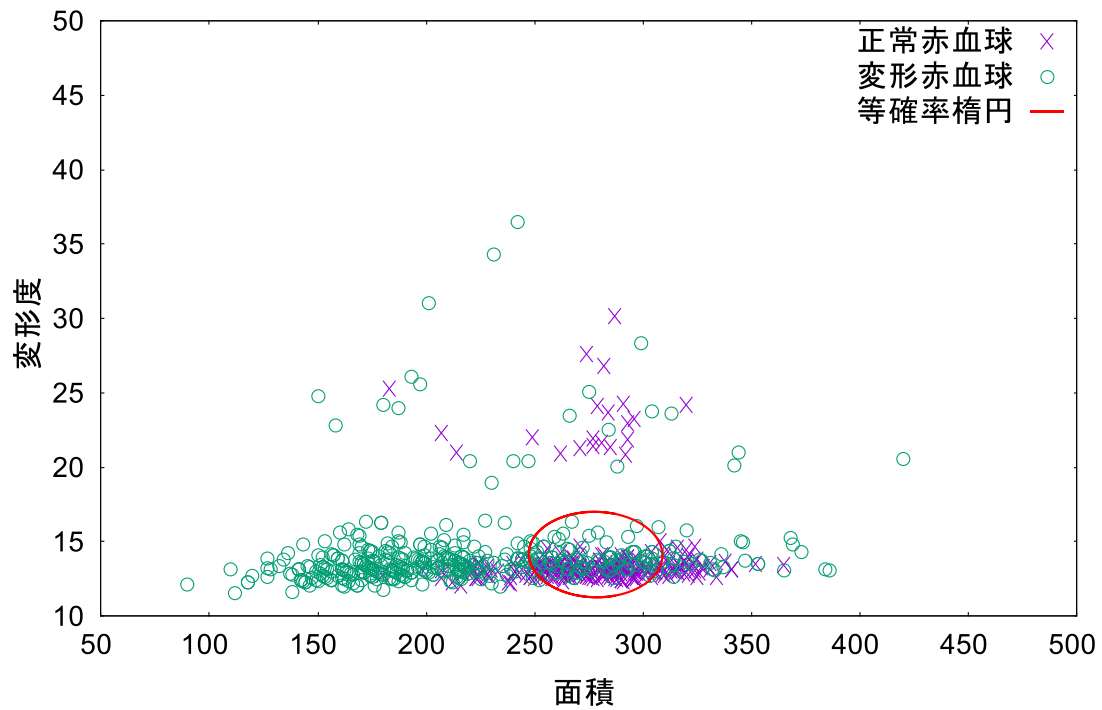
血球の面積 S 、変形度 D_r の分布を図 4-17 に示す。(a)は改良前の領域分割方法を用いて得られた結果であり、(b)は 4.1.2 節で述べた新しい領域分割方法を用いて得られた結果である。

(a)に示す改良前の手法による結果では、正常赤血球は全体的に面積の大きい方に分布しているが、変形赤血球の分布と大きく重なっている。また、変形赤血球と正常赤血球の変形度の分布には、大きな差異が無い。一方、(b)に示す提案法による結果では、(a)に比べ分布の重なりが小さい。特に変形赤血球の変形度は、正常赤血球に比べかなり大きな値にまで分布している。

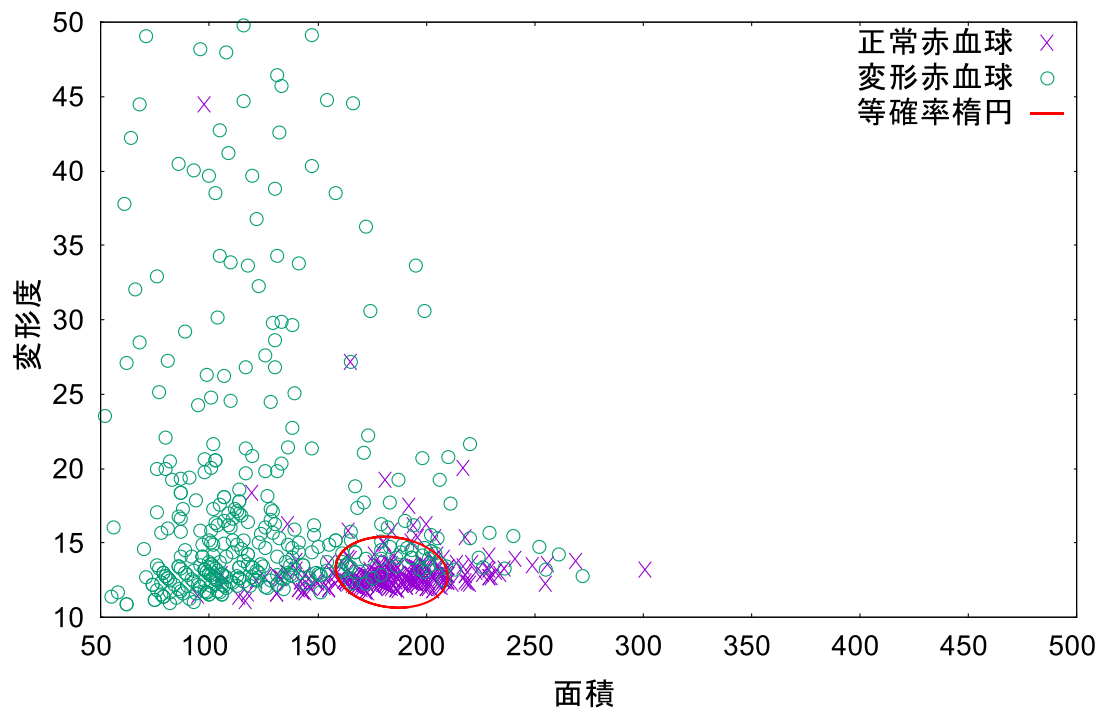
次に、正常赤血球の面積・変形度分布を 2 次元正規分布と仮定し、等確率楕円の内側に分布する対象を正常赤血球、外側に分布する対象を変形赤血球とする分類を行い、その分類精度を比較した。図 4-17 の散布図中の楕円は、等確率楕円の一例である。ここでは、確率をパラメータとして等確率楕円の大きさを変化させ、正常赤血球が等確率楕円内に入る割合（適合率）と等確率楕円中の対象が正常赤血球である割合（再現率）をプロットし、分類精度を比較した。これらの数値は、等確率楕円内の対象を正常赤血球、楕円外の対象を変形赤血球とする分類を行った時の、正常赤血球を正常赤血球として分類する割合（再現率）と正常赤血球として分類された対象中、実際に正常赤血球が含まれている割合（適合率）に相当する。改良前の領域分割方法と提案する赤血球領域分割方法を用いた場合について、上記の再現率と適合率の変化を比較した結果を図 4-18 に示す。

もし、正常赤血球と変形赤血球を完全に分類できる場合には、再現率、適合率ともに 100% となるため、図 4-18 において、曲線がなるべく右上の点を通る程良い分類結果が得られる。また、同じ再現率の場合には、適合率が高い方が、分類精度が良いと言えるので、垂直方向に対しては曲線が上の方に存在する程分類精度は良い。同様に同じ適合率の場合にはより高い再現率であることが望ましいため、水平方向に対しては曲線がより右側に存在するほど分類精度は高い。改良前の手法による結果と、提案する赤血球領域分割方法による結果を比較してみると、提案法の方が同じ再現率に対し、より高い適合率を達成できると同時に、同じ適合率に対し、より高い再現率を達成できることがわかる。また、提案手法による曲線の方が、より右上の点を通過している。

再現率と適合率が同じ値を取る点（図 4-18 において破線と曲線との交点）における精度を比較してみると、改良前の再現率、適合率 73% に対し、提案法は 84% となり、11% の向上が確認できた。但し、この分類結果は特徴量 2 個のみを用い、正常赤血球の特徴量分布を正規分布と仮定しているため、最適な分類結果では無い。更に多くの特徴量を用い、分類アルゴリズムにニューラルネットワークを用いる、等の最適化を行えば分類精度はさらに向上すると考えられる。



(a) 改良前



(b) 提案法

図 4-17 正常赤血球、変形赤血球の面積と変形度の分布

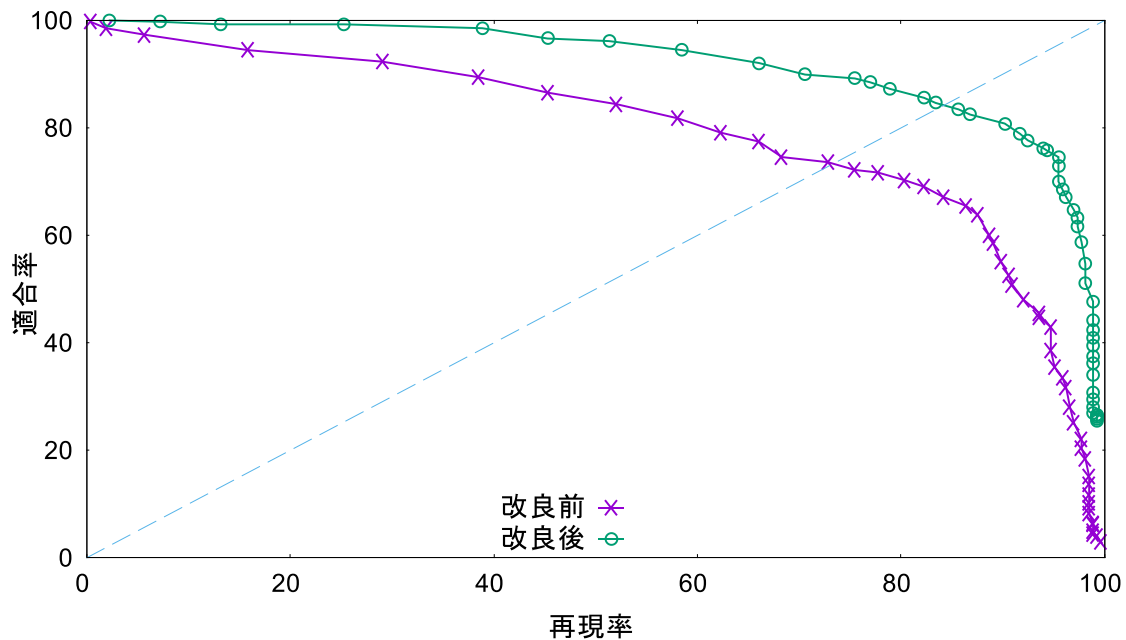


図 4-18 等確率楕円による分類における再現率と適合率

4.1.4. 考察

改良前の領域分割方法は、無色透明を含む様々な色調の、広範な種類の粒子の領域分割に適した手法である。しかしながら、赤血球のような小さな粒子に関しては微細な形状を正確に抽出できていなかった。これに対し、本節で提案した改良手法は赤血球の領域分割に特化した手法であり、他の粒子に関しては正確に領域分割を行うことができない可能性がある。提案法では、濃度差分値を用いていないため、例えば無染色の細胞の正確な領域分割は困難である。そのため、例えば図 4-19 に示すように改良前の従来手法と提案手法は組み合わせて使用する必要がある。この例では、まず 2.4 節で提案した領域分割法と、2.5 節で提案した階層モジュール型ニューラルネットワークにより尿中粒子を自動分類する。その後、赤血球として分類された対象に関しては、4.1.2 節で提案した赤血球用領域分割法を適用し、抽出された対象領域の特徴量を用いて、赤血球を細分類する。このような構成とすることにより、赤血球以外の粒子の分類精度を落とさずに赤血球の細分類を行うことが可能となる。ただし、赤血球に関しては領域分割、特徴量算出、分類を 2 回実施するため、処理速度は低下する。赤血球以外の成分の濃度から、糸球体由来出血の疑われる検体を絞り込んだ上で、赤血球の細分類を行うようにすると、処理速度の低下を最小限に抑えられる。

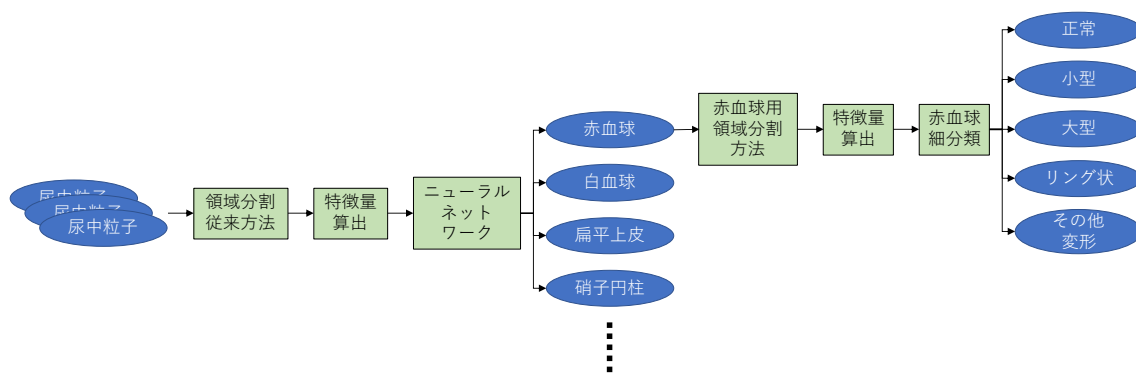


図 4-19 従来手法と赤血球用領域分割法の組み合わせ例

また、前節では提案改良手法により、面積、変形度という2種類の特徴量による赤血球分類の精度が向上することを確認した。これは、改良前の手法と比較し、赤血球の微細な形状を正確に領域分割することが可能となり、面積、変形度という人間にも直感的に理解しやすい形状特徴量により赤血球を細分類できる可能性を示している。リング状の赤血球はリングの内側の境界、外側の境界の両方が周囲長となるため、変形度が非常に大きくなる。この点に着目すると、例えば面積 S に閾値 S_{t0} 、 S_{t1} 、変形度 D_r に閾値 D_{t0} 、 D_{t1} を設定することにより、下記のような赤血球の細分類が可能となる。ただし $S_{t0} < S_{t1}$ 、 $D_{t0} < D_{t1}$ とする。また、これらの閾値により面積 - 変形度平面に設定される識別境界と、この識別境界により分類される赤血球の画像例を図 4-20 に示す。単純な閾値により識別境界を設定する方法は、より人間の感覚に合うように識別精度を調整しやすいというメリットがある。

表 4-3 赤血球細分類方法

赤血球の形状	条件
正常赤血球	$S_{t0} < S < S_{t1}$ かつ $D_r < D_{t0}$
小型赤血球	$S < S_{t0}$ かつ $D_r < D_{t1}$
大型赤血球	$S > S_{t1}$
リング状赤血球	$S < S_{t1}$ かつ $D_r > D_{t1}$
その他の変形赤血球	$S_{t0} < S < S_{t1}$ かつ $D_{t0} < D_r < D_{t1}$

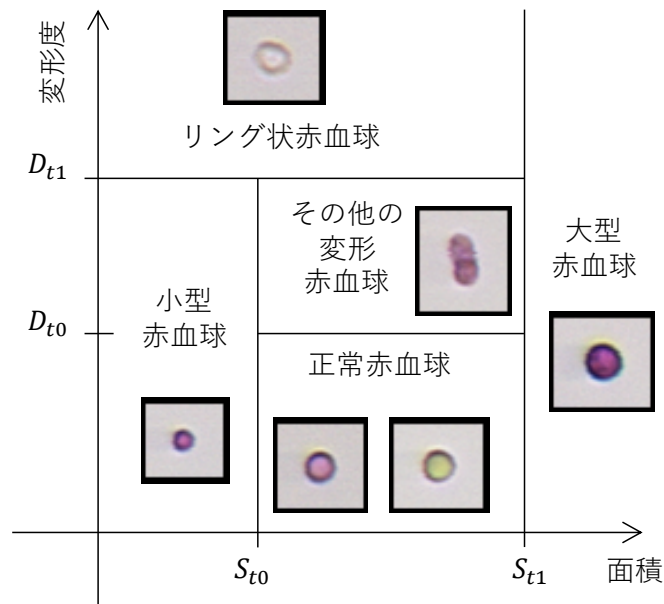


図 4-20 面積 - 変形度平面上での識別境界と画像例

4.2. 非典型的形状粒子の分類精度向上

4.2.1. 分類精度向上に向けた残課題

前章までの検討で、2.4 節で提案した領域分割方法と 2.5 節で提案した階層モジュール型ニューラルネットワークを適用して尿中粒子画像を分類し、更に 3.3 節で提案した血球偽陽性検体検出方式を適用して血球偽陽性が疑われる検体を鏡検対象とする運用方法を確立した。また、実検体を用いた評価により、この運用方法による装置の測定結果は、検査技師の鏡検による検査結果と高い相関を示した。鏡検対象となった検体以外に関しては血球画像をレビューせずに、測定結果を検査結果として報告可能であり、検査の効率化に大きく貢献することを確認した。

3.2 節で追加した酵母、精子、シュウ酸カルシウムの 3 項目も、血球と同程度に検査技師の検査結果と高い相関を示し、レビューを不要にできる可能性を示せたが、誤分類される画像も存在する。分類精度の低下要因を調べた結果、非典型的な形状の粒子が一因となることが分かった。画像単位で詳細に誤分類の要因を分析したところ、非典型的な形状の粒子に起因する分類精度の低下は、赤血球と白血球の間の誤分類でも確認された。以下では非典型的な大きさの赤血球、白血球を例として説明する。典型的な大きさの赤血球、白血球と、非典型的な大きさの赤血球、白血球の画像例を図 4-21 に示す。

図 4-21 (a)、(b)はそれぞれ典型的な赤血球と白血球の画像例である。この画像から明らかのように、通常、赤血球は白血球よりも小さいため、大きさに着目することにより、赤血球と白血球は容易に分類することができる。しかし、ごく稀に図 4-21 (c)に示すような通常より大きな膨化した赤血球や、(d)に示すような通常より小さな萎縮した白血球が出現するこ

とがある。膨化した大きな赤血球と、萎縮した小さな白血球は、人間でも1枚の画像を見ただけで正確に分類することは難しい。

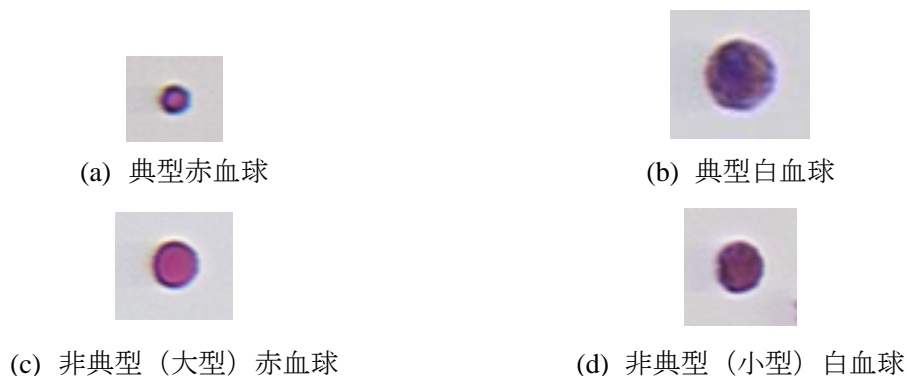


図 4-21 典型的な血球と非典型的な血球画像の例

検査技師がこのような非典型的な粒子を分類する場合、まず、鏡検を行っている検体中の典型的な形状の粒子を探して分類を行う。さらに、典型的な粒子の形態の傾向を考慮したうえで、非典型的な粒子を分類する。例えば、膨化した赤血球か萎縮した白血球か分類することが困難な非典型的な形状の粒子が存在した場合、そのような粒子の分類は保留し、まず、その検体中の典型的な血球を分類する。その後、例えばその検体中に典型的な赤血球が多数存在し、かつ、それらが全体的にやや大きめであれば、分類を保留した粒子は膨化した赤血球であると判断する。また、その検体中に典型的な赤血球が無い場合や、その検体中の典型的な白血球が全体的に小さな場合には、分類を保留した粒子は萎縮した白血球であると判断する。このように、検査技師は検体中に含まれる粒子全体の大きさ、形状等の傾向を考慮しながら、判断基準を適応的に調節することにより、非典型的な粒子の分類を行っている。

本研究では、検査技師の実施している分類と同様に、検体中の典型的な赤血球、白血球の形状の傾向に基づき、分類論理を検体ごとに最適化することにより、赤血球と白血球の誤分類を低減する手法の開発に取り組んだ。

4.2.2. フィードバック学習型ニューラルネットワークの提案

4.2.1 節で述べた課題と同様の課題は、末梢血液中に含まれる白血球の自動分類についても報告されており、標本作成時の条件や患者の生理状態により変化する血球の特徴量に対し、検体毎に自動分類論理の識別境界を最適化するアルゴリズムが提案されている[68][69]。しかし、これらはいずれも統計処理と枝分かれ論理を組み合わせたものである。尿沈渣画像のように多様な対象を含み、統計的処理や枝分かれ論理による自動分類が困難な問題に対して適用する事は難しい。

本節では、2章、3章における検討で尿沈渣の自動分類に有効であることが確認されているフィードフォワード型ニューラルネットワークを用い、検体毎に適応的な分類を実現す

るフィードバック学習法を提案する[70][71]。入力パターンに対し、適応的に構造を変化させるニューラルネットワークとしては ART モデルが提案されている[72][73][74]。ART モデルは自己組織化に基づく学習方法を用いているのに対し、提案手法はパターン認識の分野において最も一般的に使われている教師有り学習に基づくフィードフォワード型ネットワークを用いることを特徴としており、2 章、3 章の検討で用いたニューラルネットワークをそのまま活用可能である。

以下では、赤血球と白血球を、面積という 1 個の画像特徴量を用いて分類する例を用い、本論文で提案するフィードバック学習型ニューラルネットワークの原理を模式的に説明する。通常、赤血球は白血球より小さいが、膨化した赤血球と萎縮した白血球はほぼ同じ大きさを示す。そのため、複数の検体から大量の画像データを収集し、特徴量の分布を調べると図 4-22 に示すように赤血球と白血球の面積の分布には重なりが生じる。膨化した赤血球と萎縮した白血球は、2 つの分布が重なっている部分に存在する。このような場合、各分布を正規分布とみなすと、分布の交点 $x = p$ を境界として 2 種類の対象を分類すると、誤分類を最も少なくすることができるが[75]、分布が重なっている部分では誤分類を避けることはできない。

しかし、検体毎に分布を考えた場合、すべての検体でこのような分布の重なりが存在するわけではない。検体によっては赤血球のみが出現し、白血球の存在しない検体や、逆に白血球のみが出現する検体もある。また、赤血球と白血球の両方が出現する検体でも、図 4-23 に示すように 2 つの分布が重ならない場合もある。図 4-23 は萎縮した白血球は存在するが、膨化した赤血球は存在しない検体の例である。この検体中の血球を図 4-23 に示す分布を基に定めた識別境界 $x = p$ を用いて分類すると、図中 $a < x < p$ の白血球が赤血球と誤分類されることがわかる。しかし、この検体中の赤血球と白血球の分布は重なりを持たないため、適切な識別境界を設けると誤り無く全血球を分類することができる。

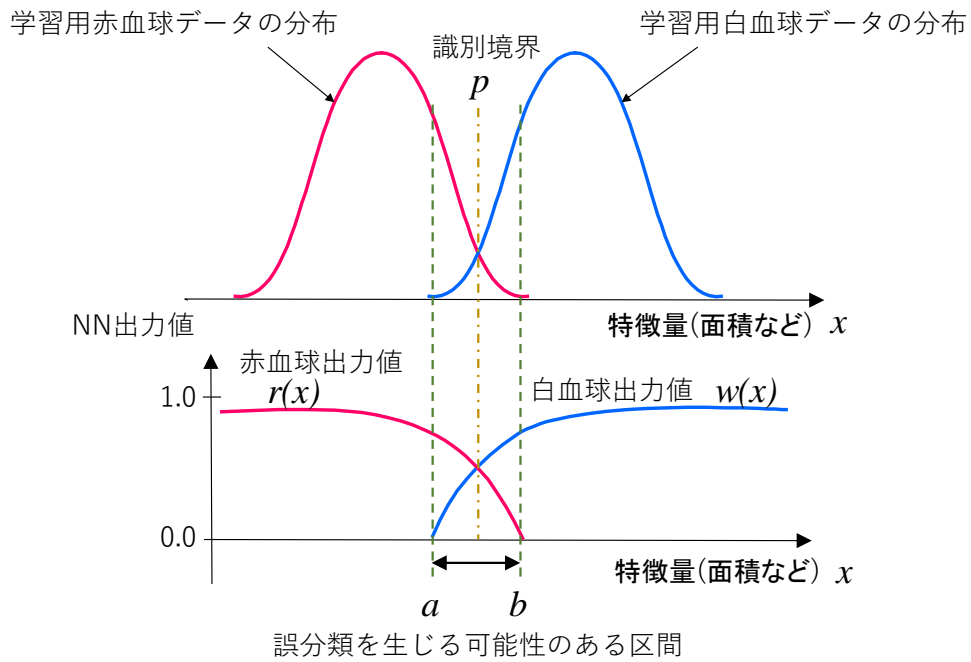


図 4-22 学習サンプルの分布と初期ネットワークの出力値

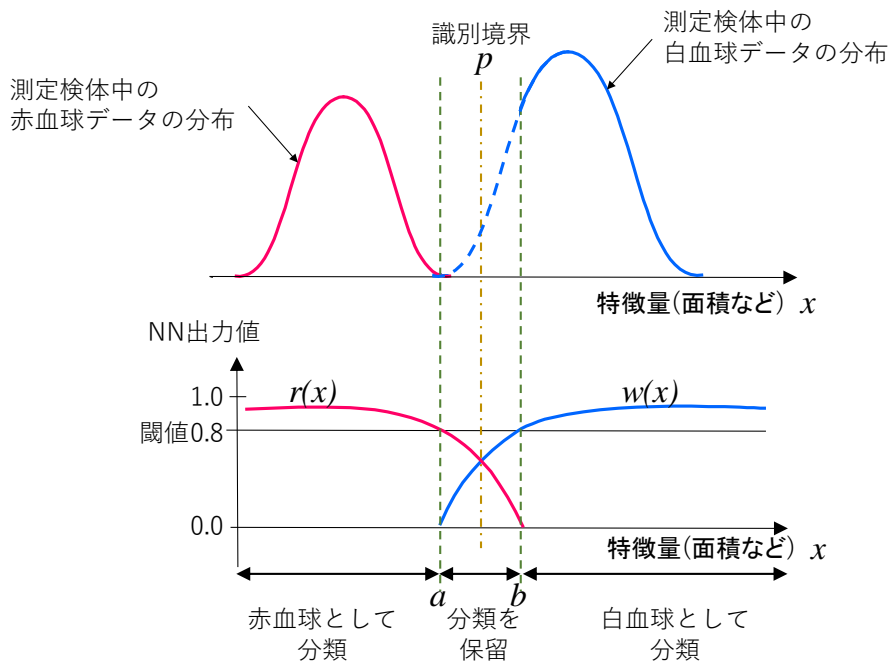


図 4-23 膨化赤血球が存在しない場合の特徴量分布

本節で提案するフィードバック学習型ニューラルネットワークの処理の概要を図 4-24 に示す。この図に示す通り、フィードバック学習型ニューラルネットワークは下記 4 段階の処理ステップから構成される。

- ① 初期ニューラルネットワークを設定する
- ② 典型的な対象を分類し、非典型的な対象の分類を保留する
- ③ 分類された典型的な対象を学習データとしてニューラルネットワークを再学習する
- ④ 再学習後のネットワークを用いて、非典型的な対象を分類する

上記①のニューラルネットワークは、従来の方法で学習したネットワークである。これに対し②で検体ごとに非典型的な対象を除去した上で、③で典型的対象を用いて、検体の全体的な傾向（大きめの赤血球が多い、小さめの白血球が多い、等）をニューラルネットワークに再学習し、検体毎に最適な識別境界を再設定する。以下ではこれらの処理ステップの詳細について説明する。

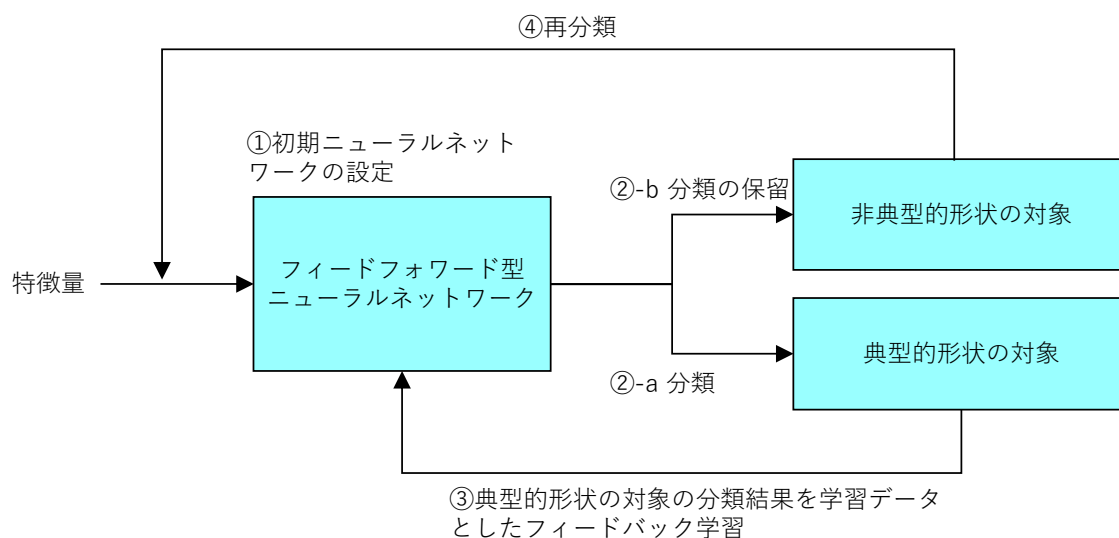


図 4-24 フィードバック学習の概要

4.2.2.1. 初期ニューラルネットワークの設定

初期ニューラルネットワークは、各検体に対し共通に用いるフィードフォワード型ニューラルネットワークであり、大量の学習用データを用いて構築する。初期ニューラルネットワークに用いるフィードフォワード型ニューラルネットワークは、特徴量と同数の入力素子を設定し、各入力素子にそれぞれの特徴量を対応付ける。また、分類を行うクラスと同数の出力素子を設定し、各クラスと出力素子とを対応付け、適当な中間層の層数、及び

素子数を設定する。その後、あるクラスに属するパターンの特徴量をそれぞれ対応する入力素子に入力した時、そのパターンの属するクラスに対応する出力素子の出力値が最大値（通常は 1）になり、その他の出力素子の出力値が最小値（通常は 0）になるように学習用のパターンを用いてネットワークを学習する。

4.2.2.2. 典型的対象の分類と非典型的対象の分類保留

ニューラルネットワークを用いて、パターンの分類を行う際には、通常、そのパターンの特徴量をそれぞれ対応する入力素子に入力して各出力素子の出力値を計算し、最も大きい値を出力する出力素子に対応する分類クラスを認識結果とする。

4.2.2.1 節で述べた通り、初期ニューラルネットワーク学習時には一個の出力素子は 1、他の出力素子は 0 になるように教師データを与えて学習を行うが、未知パターンの認識の際には最大出力値が 1 よりもかなり小さな値である場合や、最大出力値以外の出力値が大きな値である場合がある。例えば図 4-22 に示すように赤血球と白血球の特徴量（面積 x ）空間中で各クラスの分布に重なりがある場合、重なりが存在する $a < x < b$ の領域では、学習時に赤血球のデータが入って来た時には赤血球に対応する出力素子が 1、白血球に対応する出力素子が 0 を出力するように学習が行われるが、白血球のデータが入って来る事もあり、この時には逆に赤血球に対応する出力素子が 0、白血球に対応する出力素子が 1 を出力するように学習が行われる。このように、複数のクラスの対象が混在する領域ではそれぞれのクラスのデータが互いに出力値を抑制するように学習が行われるため、学習終了後も最大出力値が比較的小さな値となる。

このことを利用すると、逆に出力値が小さい場合には、赤血球と白血球の混在領域に分布する対象粒子と考えることができる。赤血球と白血球の混在領域には、大型の赤血球、小型の白血球といった非典型的な形状の血球が分布する。そこで、図 4-23 に示すように出力値に閾値（この例では 0.8）を設け、最大出力値が閾値以下である領域を分類保留領域と定義することにより、非典型的形状の血球の分類を保留することができる。

例えば図 4-23 のように、赤血球と白血球の特徴量（面積）が学習用サンプルとは異なる分布を持つ検体の特徴量が入力された場合、最大出力値が閾値以下であるようなパターンの分類を保留することにより、赤血球と白血球との混在領域に存在する非典型的な白血球の分類を保留し、他の典型的な赤血球、白血球を正確に分類することができる。

4.2.2.3. 典型的対象を学習データとするニューラルネットワークの再学習

前節で述べた方法により、図 4-23 における赤血球と白血球の混在領域 $a < x < b$ に存在する非典型的対象の分類が保留されるため、典型的白血球として分類された対象の分布形状は分類保留領域の境界で不連続となり、境界の近傍には多数の白血球が存在する。一方、この例では赤血球は保留領域に存在しないため、赤血球として分類された対象の分布は保留領域近傍でも不連続とならず、保留領域の境界近傍には赤血球は存在しない。

ここで、1回目の分類で分類された（分類が保留されなかった）典型的対象を学習データとして再びニューラルネットワークを学習することを考える。この時、保留領域近辺で赤血球と分類された対象は、分類時の出力素子の最大出力値は1より小さい値であるが、再学習を行う際には赤血球に対応する出力素子が1、その他の出力素子が0となる教師データを与えて学習を行う。白血球についても同様の教師データを与える。このような学習を行うと、分類保留領域との境界には多数の白血球の再学習データが存在する一方、赤血球の再学習データが存在しないため、再学習前には分類保留領域近傍における白血球に対応する出力素子の出力値 $w(x)$ が小さな値であっても、学習の進行とともに徐々に1に近い値を出力するようになる。逆に分類保留領域近傍における赤血球に対応する出力素子の出力値 $r(x)$ は、学習が進むに従い徐々に小さな値となる。再学習が進んだ後のニューラルネットワークの出力値の変化を図4-25に示す。 $r(x)$ 、 $w(x)$ の変化をそれぞれ $r_m(x)$ 、 $w_m(x)$ で示している。

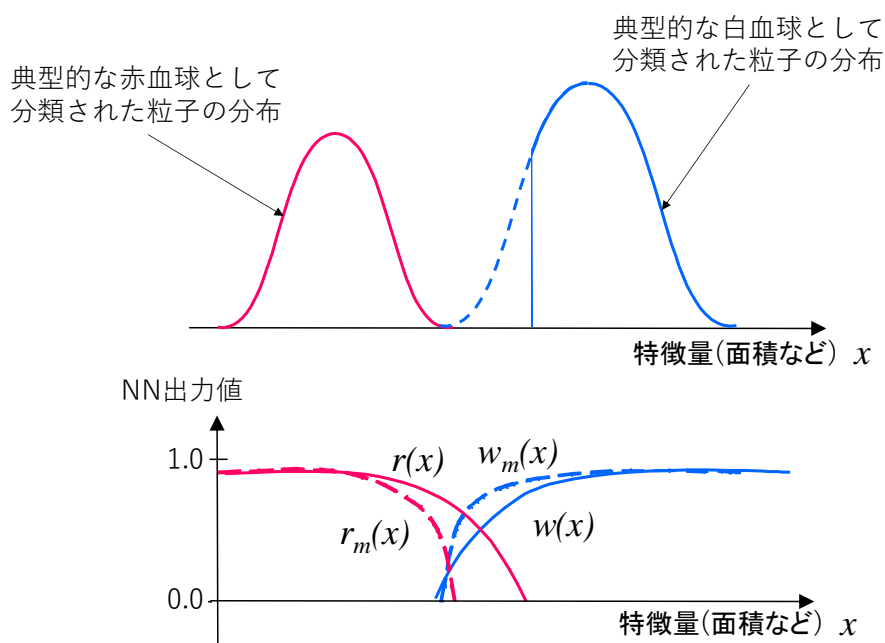


図 4-25 フィードバック学習によるニューラルネットワークの最適化

4.2.2.4. 再学習後のネットワークを用いた非典型的対象の分類

前節で述べた方法により、ニューラルネットワークの再学習が理想的に進めば図4-26に示すように通常のニューラルネットワークのパターン認識における識別境界 ($r(x) = w(x)$ となる点) が徐々に最適な位置 $x = p'$ に近づいて行く。そこで、再学習がある程度進んだ時点で再びニューラルネットワークにより非典型的な対象の分類を行うと、分類保留領域近傍における $w(x)$ の値の上昇により、1回目の分類よりも分類保留となる白血球が減り、より多くの白血球が正しく分類されるようになる。

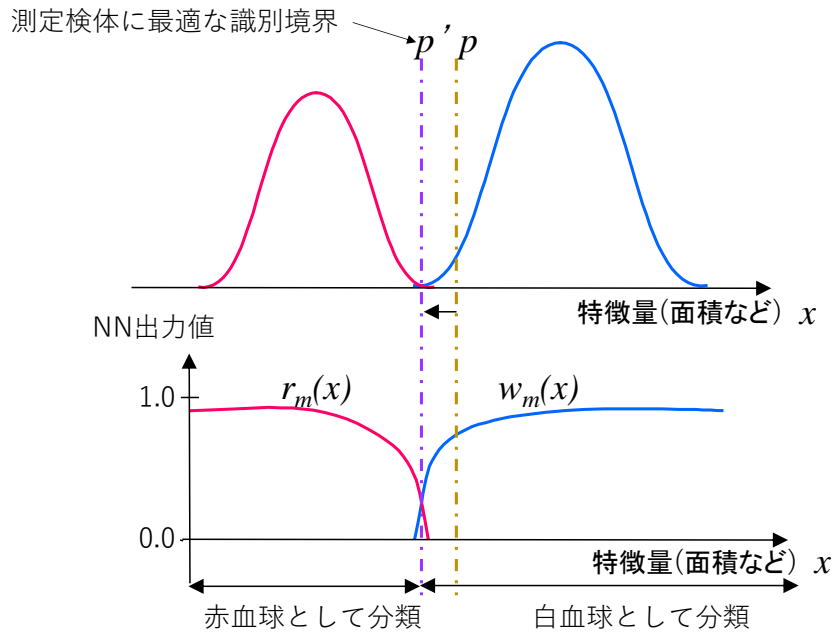


図 4-26 フィードバック学習後の分類

4.2.3. シミュレーションによる検証

4.2.3.1. 実験方法

簡単な計算機シミュレーションにより 4.2.2 節で提案したアルゴリズムの有効性を検証した。シミュレーションには計算機上で発生させた擬似乱数をもとに作成した、2 個の特微量 p_1 、 p_2 を有する 2 クラス (A、B) のパターンを用いた。作成した学習データとテストデータをそれぞれ図 4-27、図 4-28 に示す。テストデータは学習データに比べクラス B の分布が p_1 、 p_2 共に小さい方へシフトするように作成した。例えばクラス B を白血球、 p_1 、 p_2 を大きさを表す特微量と考えると、テストデータは通常より小さめの白血球が出現する検体を模している。学習データを用いてニューラルネットワークを学習した後、テストデータを分類するというシミュレーション実験を行い、従来のニューラルネットワークによる分類結果と本節で提案するフィードバック学習を用いた場合の分類結果を比較した。

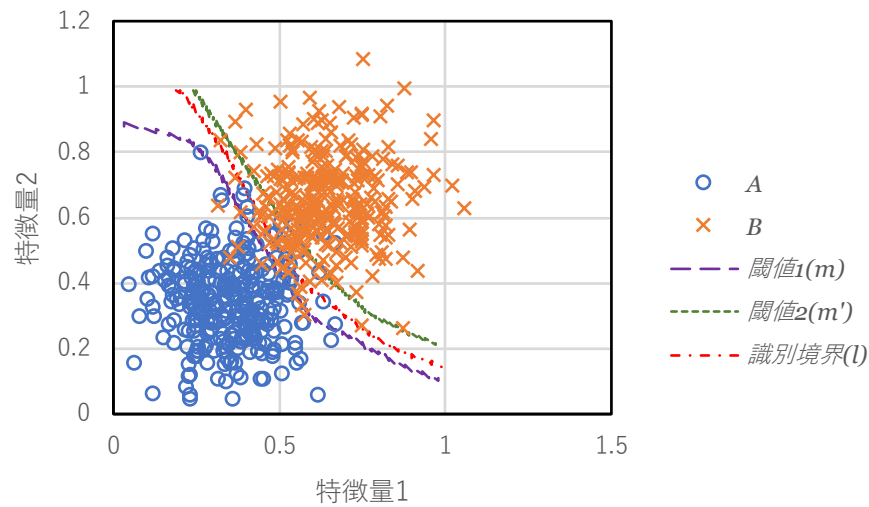


図 4-27 学習データの分布と保留領域、識別境界

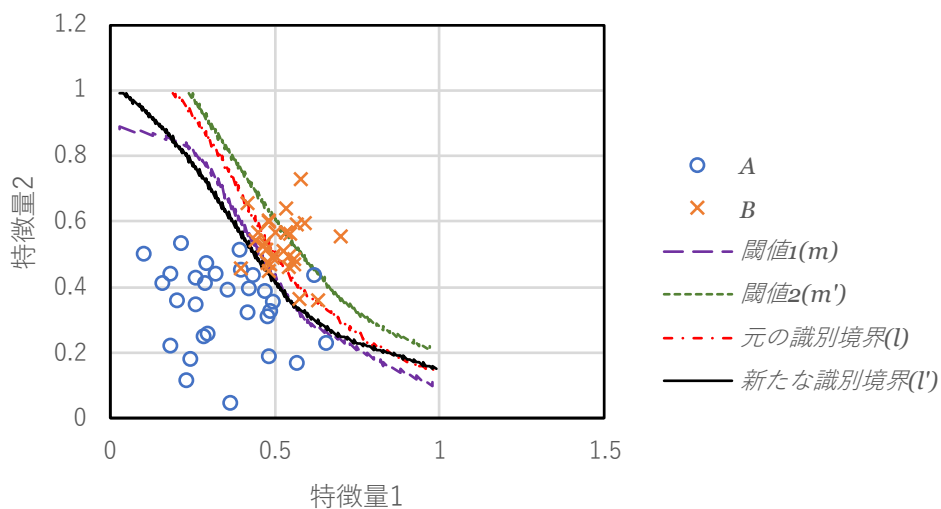


図 4-28 テストデータの分布と保留領域、識別境界

4.2.3.2. 従来型ニューラルネットワークによる分類結果

実験には特徴量 p_1 、 p_2 を入力する 2 個の入力素子と、クラス A、B の各クラスに対応する 2 個の出力素子、及び 5 個の素子から成る 1 層の中間層を有するニューラルネットワークを用いた。図 4-27 に示す各点の p_1 、 p_2 の値をそれぞれ対応する入力素子に入力した時に、その点の属する分類クラスに対応する出力素子に 1、もう一方の出力素子には 0、という教師データを与え、バックプロパゲーション法により 10000 回の学習を行った。

ニューラルネットワークによりパターンの分類を行う場合、通常、特徴量をそれぞれ対

応する入力素子に入力して出力値を計算し、最も大きな値を出力する出力素子に対応するクラスを分類結果とする。この方法を用いて学習後のニューラルネットワークで学習データを分類した結果を表 4-4 に示す。クラス A、B とともに再現率、適合率は約 95%であり、全学習データのうち 95%のパターンが正確に分類されている。このような方法でパターンの分類を行う時には、2 個の出力素子の出力値をそれぞれ $y_1(p_1, p_2)$ 、 $y_2(p_1, p_2)$ とおくと、 $y_1(p_1, p_2) = y_2(p_1, p_2)$ を満たす点 (p_1, p_2) の集合が特徴量空間中の識別境界となる。このニューラルネットワークの識別境界を図 4-27 中の曲線 l で示す。

次に、このニューラルネットワークを用いて図 4-28 に示す分布をもつテストデータを分類した。分類結果を表 4-5 に示す。テストデータの分布は学習データの分布に比べ、クラス B の分布が p_1 、 p_2 共に小さい方へシフトしている。そのため、従来のニューラルネットワークによる分類では、B から A への誤分類を多数生じ、B の再現率、A の適合率が大きく低下し、それぞれ 63.3%、72.5%となった。全パターン中、正確に分類できたパターンの割合も 80%であり、学習データに比較し 15%程度低下した。

表 4-4 学習データ分類結果

		分類結果		合計	再現率 (%)
		A	B		
正解ラベル	A	287	13	300	95.7
	B	15	285	300	95.0
合計		302	298	600	—
適合率		95.0	95.6	—	95.3

表 4-5 テストデータ分類結果

		分類結果		合計	再現率 (%)
		A	B		
正解ラベル	A	29	1	30	96.7
	B	11	19	30	63.3
合計		40	20	60	—
適合率		72.5	95.0	—	80.0

4.2.3.3. フィードバック学習型ニューラルネットワークによる分類結果

次に 4.2.2 節で提案したフィードバック学習型ニューラルネットワークを用いて同じテストデータを分類し、従来方法との分類精度を比較した。分類保留のための閾値を 0.5～1.0 の間で変化させ、得られる分類精度を比較したところ、閾値を 0.7～0.8 程度に設定した時に最も分類精度が高くなることが分かった。以下の結果は閾値を 0.8 に設定した時の結果である。

閾値を 0.8 に設定した場合、図 4-27 中の 2 本の曲線 m 、 m' で囲まれた領域に存在するパターンの分類が保留される。図 4-28 に示すように、この領域に存在するパターンの認識を保留する事により、従来の方法ではクラス A へと誤分類された、クラス B に属するテストパターンの分類を保留することができる。

ネットワークの再学習には、保留されずに分類結果が得られたパターンを学習データとし、バックプロパゲーション法により学習を行った。典型パターンの分類、典型パターンを学習データとする学習、という処理を 20 回繰り返す、得られたニューラルネットワークを用いて図 4-28 に示すテストデータを分類した。分類結果を表 4-6 に示す。表 4-5 に示す従来のニューラルネットワークによる分類結果では、B から A への誤分類が多く、B の再現率、A の適合率はそれぞれ 63.3%、72.5%であったが、フィードバック学習の適用により、再現率、適合率ともに大幅に向上し 96.7%となった。従来法で正しく分類できたパターンは全パターンの 80.0%であったが、フィードバック学習の適用により 96.7%のパターンが正しく分類できるようになった。

フィードバック学習を適用後のニューラルネットワークによる特徴量空間中の識別境界を図 4-28 中の曲線 l' により示す。再学習前の識別境界 l に比較し、それぞれの分布の境界領域近辺に識別境界が移動しており、フィードバック学習が有効に働いていることが確認できた。

表 4-6 フィードバック学習後のテストデータ分類結果

		分類結果		合計	再現率 (%)
		A	B		
正解ラベル	A	29	1	30	96.7
	B	1	29	30	96.7
合計		30	30	60	—
適合率		96.7	96.7	—	96.7

4.2.4. 評価

4.2.2 節で提案したフィードバック学習型ニューラルネットワークを尿沈渣画像の分類に適用し、分類精度を評価した。10 項目の分類結果を出力とする分類用ニューラルネットワークを、約 70,000 枚の尿沈渣画像を学習データとして構築し実験に使用した。ニューラルネットワークは 2.5.2 節で提案した階層モジュール構造のネットワークを用いた。また、未知データに対する分類結果を調べるため、学習データとは別に 300 検体から収集した 31,298 枚の画像をテスト用データとした。

上述の分類用ニューラルネットワークは、赤血球、白血球、扁平上皮細胞等の主要な沈渣成分は 95%以上の高い精度で分類することができるが、ごく希に出現する非典型的な対象の分類を誤ることがある。このニューラルネットワークを用い、フィードバック学習を行

ずに分類を行った場合と、フィードバック学習を適用した場合の分類結果を比較した。フィードバック学習の適用に際しては、1 検体中の全画像の分類が終了する毎にニューラルネットワークの重み値を初期状態（フィードバック学習実施前の状態）に戻し、検体毎にフィードバック学習を実施した。分類保留の閾値は、数回の試行の後、分類精度がなるべく高くなるように出力素子毎に 0.6~1.0 の適切な値を実験的に求め設定した。

300 検体中、10 検体においてフィードバック学習の実行前後で分類精度が変化した。この 10 検体における、フィードバック学習実行前のネットワーク（INN: Initial Neural Network）による分類精度と、フィードバック学習を実行したネットワーク（FBNN: Feedback Neural Network）による分類精度の比較を表 4-7 に示す。ここで、分類精度とは全画像中、ニューラルネットワークにより正しく分類が行われた画像の割合を表している。

10 検体中、9 検体について分類精度が向上した。フィードバック学習実行前は 90%以上の精度で分類が行われた検体は 2 検体に過ぎなかったが、フィードバック学習実行後には 6 検体において 90%以上の分類精度を達成した。また、残り 4 検体についても 85%以上の分類精度を達成した。

表 4-7 において分類精度向上が確認できた 9 検体中、検体 A と検体 J について分類項目毎に分類精度の変化を比較した。結果を表 4-8 に示す。検体 A では結晶の分類結果が大幅に改善され、検体 J では白血球と細菌の分類精度が改善された。なお、表中、” — ”は分類対象が存在しなかったことを示している。

表 4-7 フィードバック学習の適用により分類精度が変化した検体

検体	INN	FBNN	改善効果
A	46.7%	96.7%	+50.0%
B	60.9%	89.2%	+27.3%
C	73.5%	89.7%	+16.2%
D	74.1%	94.6%	+20.5%
E	77.0%	91.3%	+14.3%
F	79.8%	85.8%	+6.0%
G	87.6%	97.7%	+10.1%
H	89.8%	98.8%	+9.0%
I	90.1%	89.3%	-0.8%
J	90.7%	96.6%	+5.9%

表 4-8 フィードバック学習により改善された分類結果の例

分類項目	検体 A		検体 J	
	INN	FBNN	INN	FBNN
赤血球	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
白血球	100.0%	100.0%	88.4%	97.1%
扁平上皮細胞	88.2%	88.2%	100.0%	100.0%
移行上皮細胞	—	—	100.0%	100.0%
その他の細胞	0.0%	0.0%	85.7%	85.7%
硝子円柱	—	—	—	—
その他の円柱	—	—	—	—
結晶	—	—	96.2%	100.0%
細菌	32.4%	100.0%	—	—
その他	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
合計	46.7%	96.7%	90.7%	96.6%

4.2.5. 考察

4.2.2 節では 1 種類の特徴量で分類を行う場合を例として動作原理について説明したが、4.2.3 節でのシミュレーション結果、4.2.4 節で示した尿沈渣画像の分類結果は、複数の特徴量を用いたパターン認識にも有効であることを示している。また、シミュレーションでは分類精度の比較以外にも、特徴量空間中に設定される分類保留域、フィードバック学習実行後の識別境界の変化についても調べたが、得られた結果は 4.2.2 節で述べた動作原理を裏付けるものとなっている。

複雑なパターン認識を行う場合には、特徴量の数が多くなり統計的な解析に基づく分類論理を構築することが難しい。近年、計算機の性能が飛躍的に向上し、複雑なパターン認識にはニューラルネットワークが使用されることが多い。本論文で提案したフィードバック学習法はパターン分類に最も一般的に用いられているフィードフォワード型ネットワークを用いることができるため、複雑なパターン分類問題に対し、非常に容易に適用可能な方法であると考えられる。尿沈渣画像を用いた分類実験結果は、このような複雑なパターン認識問題に対する本手法の有効性を示している。

但し、本手法はフィードバック学習を実施する前のネットワーク（初期ネットワーク）で分類された典型的な対象を学習データとするため、典型的な対象に対する初期ネットワークの分類精度が十分高くなければ、意図した精度向上が実現しない可能性がある。本手法の適用に際しては、典型的な対象に対しては高精度の分類が可能であることが検証されている初期ネットワークを用いることが重要である。

4.3. まとめ

尿沈渣画像自動分類の高精度化に向け、下記の改良に取り組んだ。

(1) 赤血球用領域分割方法の改良

赤血球画像の領域抽出結果を分析し、①差分値を用いた処理の影響、②明るい辺縁部分の影響、③B濃度画像除外の影響、④暗い辺縁部分の影響、により領域分割の精度が劣化していることを明らかにした。これらの課題に対し、下記の解決策を定めた。

- A) 差分値は使用せず、濃度値のみを用いる
- B) R濃度、G濃度に加え、B濃度を用いる
- C) 辺縁の暗い部分、明るい部分を背景として抽出可能な識別境界を、色濃度空間中で設定する

C)に関し、下記を特徴とする赤血球用領域分割法を提案した。

- 濃度空間中で、背景画素の分布と対象領域画素の分布との境界となる閾値をより正確に設定できるよう濃度座標を変換する。
- 2重の閾値を設定し、背景濃度分布と対象領域濃度分布が重なる領域に存在する画素により構成される画像領域を抽出する。抽出した領域が背景に接している場合は、背景とし、接していない場合は対象領域とする。

提案した赤血球用領域分割方法の有効性を、変形赤血球の分類精度により評価した。面積と変形度という2種類の特徴量平面上で正常赤血球の分布の等確率楕円を計算し、楕円の内側に分布する赤血球を正常赤血球、外側に分布する赤血球を変形赤血球として分類し、精度を比較した。改良前の手法では再現率、適合率は73%であったが、提案手法では11%向上して84%となり、提案手法の有効性を確認した。

(2) 非典型的形状粒子の分類精度向上

尿沈渣成分の形状や色調等の検体ごとの特性を反映し、識別境界を調整することにより、非典型的対象の分類を可能にするフィードバック学習型ニューラルネットワークを提案した。提案手法は下記の特徴を有する。

- ニューラルネットワークの出力値に閾値を設定し、閾値以下であった対象は非典型的な対象として分類を保留する。閾値以上であった場合は典型的な対象として分類する。

- 典型的な対象を用いてニューラルネットワークを再学習した後、非典型的な対象を分類する。

計算機上で発生させた擬似乱数をもとに作成した、2個の特徴量を有する2クラスのパターンを分類するシミュレーション実験を行った。尿沈渣において非典型的な対象が出現する検体を模し、学習データに対し特徴量分布がシフトしたテストデータを作成し、従来のニューラルネットワークによる分類結果と本節で提案するフィードバック学習を用いた場合の分類結果を比較した。従来法では80.0%であった一致率が、本手法を用いる事により96.7%まで向上し、本手法の有効性を確認した。

次に、本手法を尿沈渣画像の分類に適用し分類精度を評価した。約70,000枚の尿沈渣画像を学習データとして使用し、10項目の分類を行うニューラルネットワークを構築した。学習データとは別に300検体から収集した31,298枚の画像をテスト用データとした。300検体中、10検体でフィードバック学習前後の分類精度が変化し、そのうち9検体で分類精度が向上した。10検体中、フィードバック学習実行前は90%以上の精度で分類が行われた検体は2検体に過ぎなかったが、フィードバック学習実行後には6検体において90%以上の分類精度を達成した。また、残り4検体についても85%以上の分類精度を達成した。

5. OIS (Optical Imaging of Intrinsic Signals) 用画像処理技術の開発

5.1. OIS の測定原理

OIS (Optical imaging of Intrinsic Signals) はヘモグロビンの変化を画像化することにより、脳の活動部位を特定し、活動の程度を定量化する測定方法である。外科的に露出させた脳に光を照射し、時系列画像を撮影する。

ヘモグロビンには酸素と結合した酸化ヘモグロビン、脱酸素化した還元ヘモグロビンの2種類のヘモグロビンが存在する。脳が活動すると、酸素が消費されるため還元ヘモグロビンの量が増大するが、その後酸素を補うために酸化ヘモグロビンが増加する。脳の活動部位を特定し、活動量を定量化するためには、還元ヘモグロビンと酸化ヘモグロビンの双方の時系列変化を捉える必要がある。2種類のヘモグロビンの時系列変化を記録するために、酸化ヘモグロビン、還元ヘモグロビンの吸光特性の差異を利用する。2種類のヘモグロビンの吸光特性を図 5-1 に模式的に示す。

測定には酸化ヘモグロビン、還元ヘモグロビンの双方に対する吸光度が既知の波長の光を2種類以上使用する。それぞれの波長で時系列画像を撮影した後、光の減衰に関する Beer-Lambert の法則の修正形に基づき、最小2乗法により酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの濃度を推定する[76]。

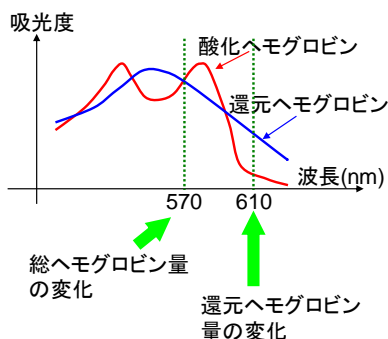


図 5-1 酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの吸光特性

ヘモグロビンの変化による画像信号の変化は非常に微弱であるため、得られる信号の S/N 比は小さい。そのため、同じ撮像を複数回行い、得られた複数の時系列画像を加算することによりランダムノイズの影響を低減する。具体的には1回のトライアルにおいて図 5-2 に示すように異なる波長で複数の時系列画像を撮影する。

1回の測定は複数のトライアルから成る。一回のトライアルでは、前述のように2種類以上の複数の波長の画像を撮影する。撮影開始後に被検体に刺激を与え、刺激による脳活動を記録するのに十分な時間だけ撮影を行う。撮像光学系の調整、刺激を与えるタイミング、撮像時間などの条件を同じにして、トライアルを複数回行う。最後に複数回のトライ

アルで得られた時系列画像を、波長ごと、1フレームごとに加算平均する。

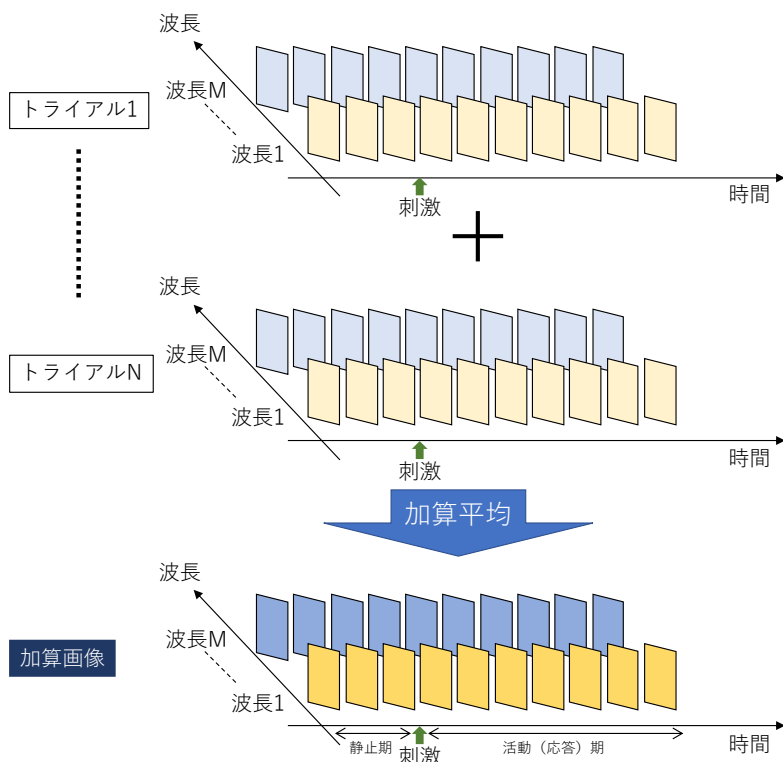


図 5-2 1回の測定における撮像方法

撮像の結果得られた画像信号は、次式に従い脳活動に起因する変化成分に換算する。ただし $s(t)$ は画像中の注目領域 (ROI: Region of Interest) の時系列信号、 r_b は刺激を与える前の静止期における信号の強度とする。

$$r(t) = \frac{s(t) - r_b}{r_b} \quad (23)$$

実験の結果得られる、脳活動に起因する画像信号の変化成分の例を図 5-3 に示す。この例では 569nm と 610nm の 2 種類の波長を用いている。図 5-1 の吸光特性より、569nm では、酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの吸光度がほぼ同じであるため、この波長光は総ヘモグロビンの変化を表していることがわかる。また、610nm では酸化ヘモグロビンに対し還元ヘモグロビンの吸光度が大きいため、主に還元ヘモグロビンの変化を表している。

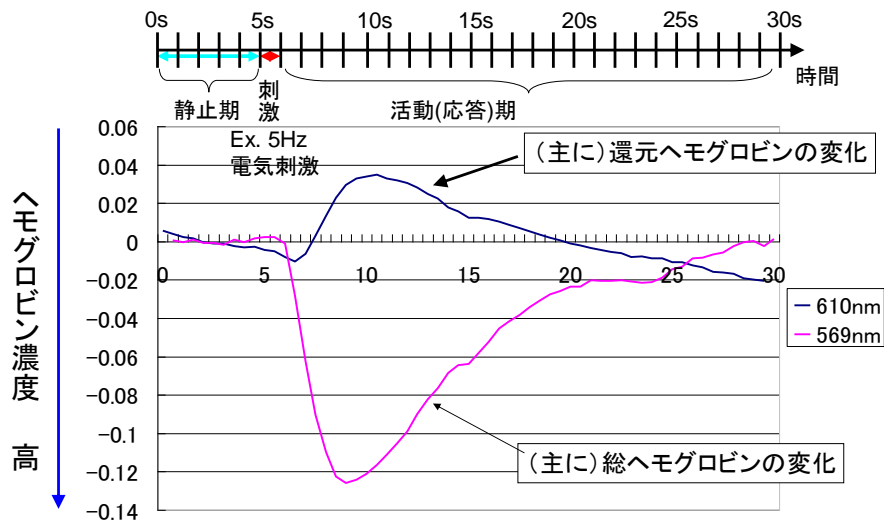


図 5-3 脳活動に起因する画像信号の変化の例

5.2. 撮像装置

現在、OIS はマウス、ラット等の小動物を被検体とした実験が行われている。前節で述べた通り、OIS では 2 種類以上の異なる波長の光で時系列画像を撮影する必要がある。しかし、複数の波長で同一の視野の時系列画像を同時に撮像することは難しく、従来は 1 回の撮像で 1 波長の時系列画像のみを撮影する実験が行われていた[76][77][78][79]。

しかし、撮影ごとに全ての条件を完全に同一にすることは困難であるため、より正確な測定を行うためには、複数の波長の画像を同時に撮影することが望ましい。複数の波長の光学信号を同時に計測する方法としては **Optical Spectroscopy** が知られているが、この方法は一度に平面中の一点の光学信号のみしか計測することができない。そのため、広がりを持った脳の活動領域を特定する方法としては適していない。複数のカメラを用意し、各カメラで異なる波長光の画像を撮影する方法があるが、装置が大掛かり、かつ高価となる。

そこで、我々のグループでは 1 台のカメラの視野を 4 分割し、分割した 4 個の視野でそれぞれ別の波長の光の画像を撮影する“Quad View”という撮像装置を開発し、実験に使用した。装置の外観を図 5-4 に、撮影の原理を図 5-5 に示す。



図 5-4 撮像装置 (Quad View) の外観

マウスやラット等の被検体の、外科的に露出した脳にハロゲンランプから発せられる白色光を、光ファイバーにより導出し照射する。脳の観察視野で反射した光は顕微鏡を通過した後、ハーフミラーと光学フィルタを経て、4種類の波長に分光される。4種類の波長光は、それぞれ冷却型 CCD カメラに入射し、カメラの撮像面を4分割した異なる分割面に結像する。撮像に用いる波長はフィルタの通過帯域により決定され、本実験装置では 560nm、569nm、586nm、610nm を用いた。カメラの解像度は 512×512 ピクセルであり、4分割された画像の解像度はそれぞれ 256×256 ピクセルである。4分割された撮像面に結像した、4種類の波長光による画像例を図 5-5 の右側に示す。

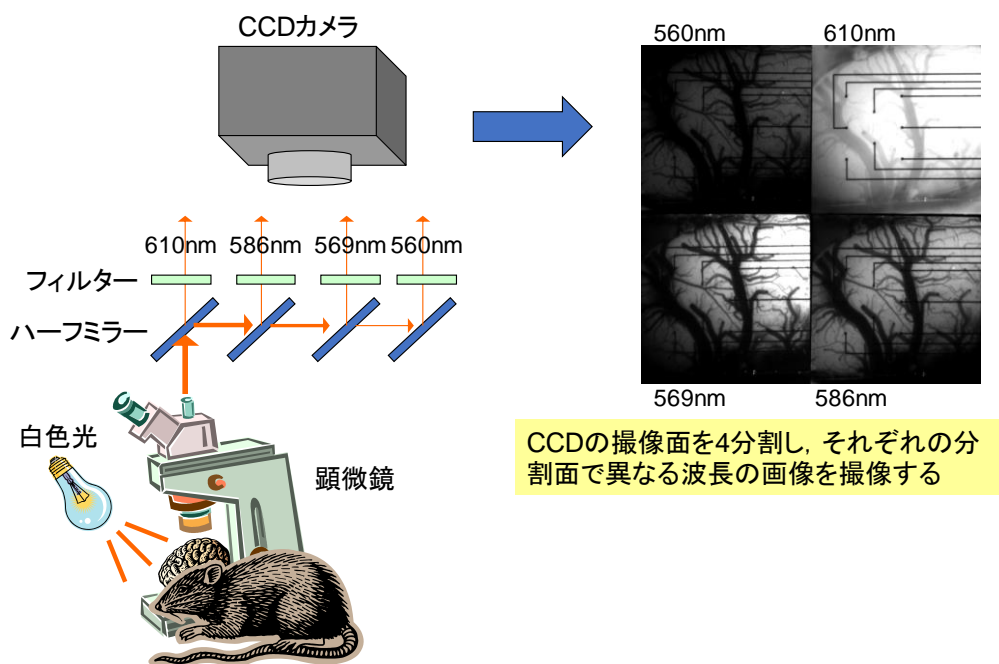


図 5-5 Quad View の撮影原理

5.3. OIS における画像処理の課題

OIS において、画像上で脳のある 1 点の活動を正確に測定するためには、計測に使用する全画像、全フレームにおいて脳の同じ位置を対応づける必要がある。しかし、実際には画像、フレームにおいて下表のような位置ずれが生じる。そのため、これら 3 種類の位置ずれに対する補正処理が必要となる。必要となる補正処理を図 5-6 に示す。

OIS は開頭した小動物を被検体とするため、実験中にトライアルの成否を確認し、実験を継続するか、あるいは条件を変えるべきかを確認する必要がある。そのため、位置ずれの補正処理も実験中に確認できる程度の時間で実行する必要がある。本研究では、高速かつ高精度な OIS 用の画像位置ずれ補正処理の開発に取り組んだ。

表 5-1 OIS における画像の位置ずれ発生要因

位置ずれの種類	原因
(1) 異なる波長の画像間における位置ずれ	撮像系における画像を波長ごとに 4 分割する機構 (ハーフミラー) の位置ずれ
(2) 1 回のトライアル中におけるフレーム間の位置ずれ	被検体動物の呼吸運動等に起因する動き
(3) トライアル間での位置ずれ	

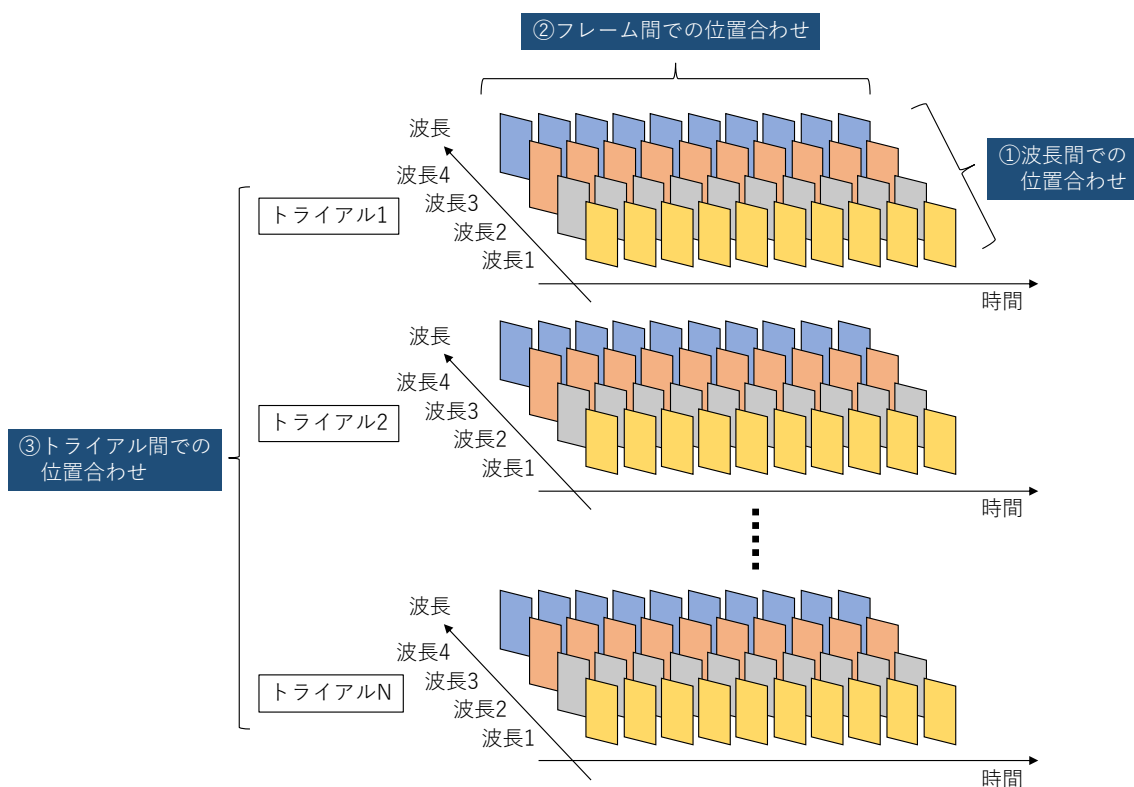


図 5-6 OIS において必要な位置ずれの補正

5.4. OIS 画像用レジストレーション技術の開発

5.4.1. レジストレーション手法の選択

画像の位置ずれを補正する技術としては、2枚の画像の位置を合わせて重ね合わせるレジストレーション技術を使用することができる。レジストレーションはこれまでに様々な手法が提案されている。種々の手法を比較し、OISに適した手法を選択した。

まず、大きくは表 5-2 に示すように、画像そのものは変形させずに移動のみを行うリニア (Rigid Body) レジストレーションと、画像そのものを非線形に変形させるノンリニアレジストレーションに大別される。表 5-1 に示したように、OIS において位置ずれを生じる主な原因は①撮像系のハーフミラーの位置ずれ、②小動物の呼吸運動、の2種類である。このうち①は明らかに平行、回転移動であるため、リニアレジストレーションが適している。マウス、ラット等の小動物の脳を撮影する場合、呼吸運動時には脳全体が同じ方向に動き、脳の内部自体が複雑に動くことは無い。そのため、②に関してもノンリニアレジストレーションを用いる必要はないと考えられる。そこで、本研究においてはリニアレジストレーションを採用した。リニアレジストレーションはノンリニアに比較し、計算が単純で計算時間が短いという利点がある。

表 5-2 画像の変形、移動方法によるレジストレーション手法の分類

変形・移動方法	概要
(1) リニア (Rigid Body)	回転、平行移動のみ (場合によっては拡大・縮小) 画素同士の相対的位置関係は不変
(2) ノンリニア	画像自体を複雑に変形(多項式、流体方程式などを利用) 画素同士の相対的位置が変化

リニアレジストレーションは更に表 5-3 に示すように位置ずれの検出手法により画像特徴に基づく方法と、色濃度に基づく方法の 2 種類に分類される[80]。画像特徴に基づく方法は、各画像で同じ位置として対応づく特徴的な点 (ランドマーク) を定める。各画像間でのランドマークのずれに基づき、平行移動、回転移動の移動量と向きを算出する。しかし、ランドマークをどのように指定するか、という課題がある。

一方、濃度に基づく方法は 2 枚の画像の一致度を表す指標を定義し、その指標が最小あるいは最大となるように画像を平行、回転移動させる。濃度に基づく方法は、画像全体の画素を利用して指標を算出すること、また、指標が最大、最小となるように繰り返し演算により最適な移動量、移動方向を求める必要があることから、画像特徴に基づく方法に比べ計算量が多くなる。

画像特徴に基づく方法は、前述のようにランドマークを設定する必要がある。ランドマークの設定方法としては、人間が対応点を指定する方法、画像処理により、エッジなどの画像上で特徴的な点を自動で探索する方法がある。位置合わせを行う画像数は、波長の種類、フレーム数、トライアル数の積となり膨大な数となる。そのため、人間によるランドマークの設定は現実的ではない。また、ランドマークを自動探索する場合、OIS 画像では脳の血管の分岐点などが候補として考えられる。しかし、波長によって血管が鮮明に映る場合と映らない場合があるため、血管をランドマークとして探索することは困難と考えられる。そのため、本研究では色濃度に基づく方法を選択した。

表 5-3 位置ずれの検出方法による分類

位置ずれ算出方法	概要
(1) 画像特徴	複数の画像上で対応する点 (ランドマーク) を定め、ランドマークの一致度合で位置ずれを検出する
(2) 色濃度に基づく指標	画像全体の一致度を示す指標を計算 指標が最大 (または最小) になるように位置をあわせる

色濃度に基づく方法を活用する場合、位置ずれの指標に関しても複数の算出方法が提案されている。代表的な指標として下記の指標が挙げられる。

- (1) 相互情報量
- (2) 相互相関
- (3) その他

上記の指標のうち、(1)に挙げた相互情報量と、(2)の改良法である正規化相互相関が多くの研究で使用されている[81]。(3)としては例えば RIU (Ratio Image Uniformity) などが提案されている[82]。本研究では、UCLA から公開されている医療画像用レジストレーションのオープンソースソフトウェアである AIR (Automated Image Registration) でも採用されており、様々な画像に応用されている正規化相互相関を用いた[83][84]。正規化相互相関は計算方法も単純であるため、高速な処理が要求される本研究に適した方法と考えられる。また、正規化相互相関を最大化する平行移動、回転移動の移動量を求める繰り返し演算には、AIR でも採用されている Newton 法を用いた。

5.4.2. レジストレーション失敗例の分析

前節で述べた本研究で採用したレジストレーション手法は、位置を合わせる 2 枚の画像のうち 1 枚を参照画像として固定し、参照画像と重なるように他方の画像を移動させる。平行移動、回転移動の移動量、移動方向は、2 枚の画像の正規化相互相関が最大となるよう、Newton 法による繰り返し演算により求める。この手法を OIS に適用し、画像の位置ずれ補正を実施したところ、画像によって補正の精度が悪くなる場合のあることが分かった。失敗事例を分析し、下記(1)~(4)の原因を特定した。

- (1) 異なる波長の画像間での濃度 (コントラスト) の差異

Quad View により撮像される画像の例を図 5-7 に示す。この図より、4 種類の波長では、それぞれ画像の明るさ、コントラストに大きな差が生じていることがわかる。これはハーフミラーとフィルタの吸光特性に起因すると考えられる。実験の結果、コントラストの小さい画像ではレジストレーションに失敗するケースのあることが分かった。相互相関は、2 枚の画像をずらしながら重ねた際、画像上での濃度の 2 次元的变化パターンが、2 枚の画像で一致するときに最大となる。2 枚の画像のコントラストに極端な差がある場合、コントラストの低い画像におけるある部分の濃度変化が、他方の画像の別の部分の微細な濃度変化と類似する可能性がある。このような場合、全体的には信号の形状が一致していなくても局所的に相互相関が高くなる。

Newton 法で正規化相互相関を最大化するように移動方向を求める場合、2 次元平面上において正規化相互相関を移動方向 (x 方向、 y 方向、回転方向) で偏微分し、勾配ベクトルを求め移動方向とする。上記のように大局的には信号形状が一致していなくても局所的に一致するような場所があると、この影響により勾配の方

向に誤差が加わる。そのため正確な移動の方向が求められなくなり、レジストレーションの精度が低下する。

(2) 画像辺縁部分が暗くなるシェーディング

図 5-7 の 569nm、586nm の画像で顕著に観察されるように、画像にはシェーディングが存在し、画像は中央付近が最も明るく、辺縁に近づくに従い暗くなる。これは照射光と被検体との物理的な位置関係に起因すると考えられる。特に 560nm、569nm、586nm の画像の辺縁部分は黒くつぶれてしまっている。相互相関は、2 枚の画像において、濃度変化のパターンが一致すると最大となるため、信号に変化が無い部分は相関に寄与しない。黒くつぶれた部分の面積が大きくなると、相関に寄与しない部分の影響で、相関が最大となる方向が必ずしも位置ずれが最小化する方向と一致しなくなり、レジストレーションの精度が低下する。

(3) 異なる波長の画像間での結像対象物の差異

図 5-7 の 569nm、610nm の画像上の、赤の破線の矩形領域を拡大した画像を図 5-8 に示す。569nm の画像上には、610nm の画像上には見られない細かい血管が写っていることがわかる。図 5-7 の画像上の 8 本の人工的な黒い線は、電気信号を計測するために留置した電極であるが、610nm の画像では電極が明確に認識できるが、569nm では血管と重なった部分の電極を認識することはできない。このように、波長により画像として結像する対象が異なるのは、コントラストの影響に加え、対象物の吸光特性も影響していると考えられる。図 5-1 に示した通り、569nm では酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンはほぼ同じ吸光度であるのに対し、610nm では酸化ヘモグロビンに比べ還元ヘモグロビンの吸光度が大きな値となっている。そのため、569nm の画像では、全ての血管が写るが、610nm の画像は酸化ヘモグロビンが多い血管は写りにくいと考えられる。

相関は 2 枚の画像上で、同じ構造が重なったときに最大となる。そのため、一方の画像のみに存在する構造は、相関演算に対し寄与せずノイズとなる。この影響により、相関が最大となる方向が必ずしも位置ずれが最小化する方向と一致しなくなり、レジストレーションの精度が低下する。

(4) ランダムに生じるアーティファクト

時系列画像の撮像中に突然現れ、しばらくすると消えるようなアーティファクトが生じることがある。このようなアーティファクトの例を図 5-9 に示す。図中、白い点がアーティファクトである。おそらく実験中のある時点で気泡が発生し、しばらくすると消滅していると考えられる。時系列のフレーム間でレジストレーションを行う場合、一方の画像にはアーティファクトが写っており、他方には映って

いない場合、上記の(3)と同様、このアーティファクトは、相関を計算する際にはノイズとなる。そのため、相関が最大となる方向が必ずしも位置ずれが最小化する方向と一致しなくなり、レジストレーションの精度が低下する。

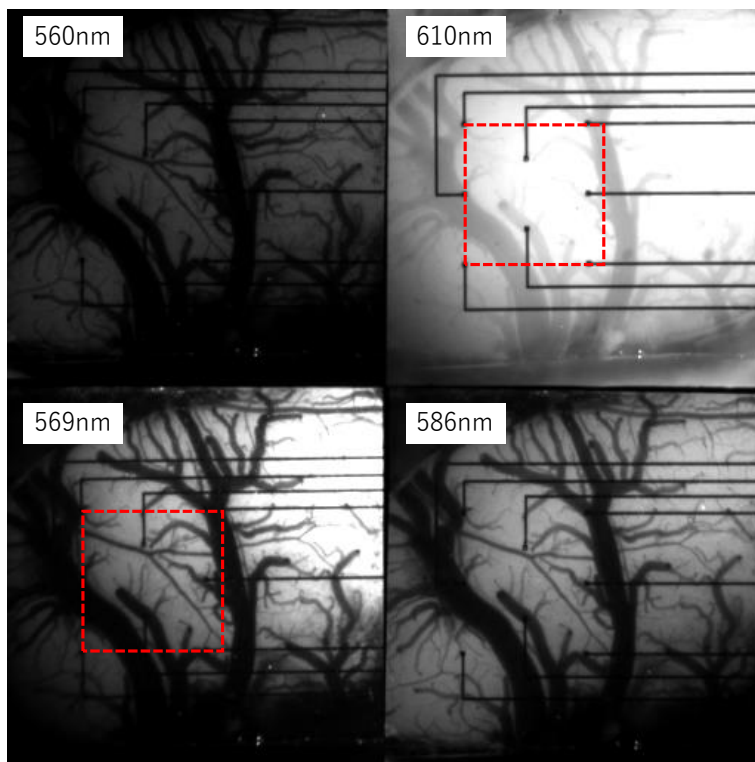


図 5-7 Quad View により撮像される 4 波長の画像例

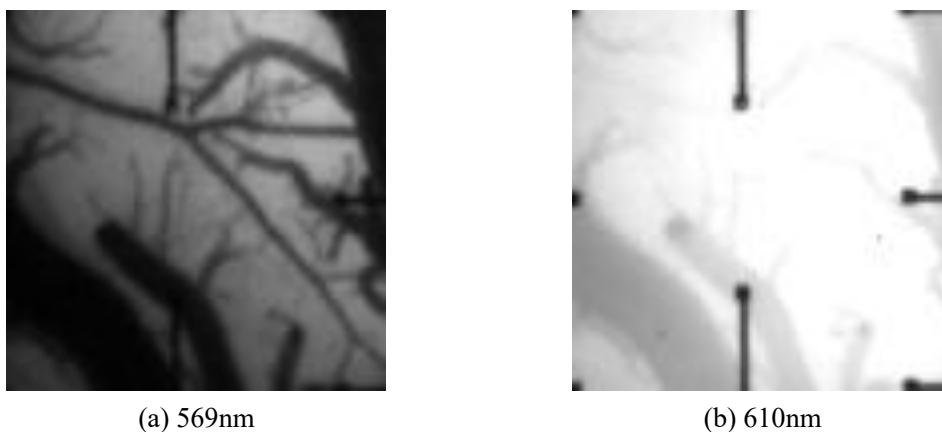


図 5-8 波長により異なる結像対象物の例



図 5-9 ランダムに生じるアーティファクトの例

5.4.3. OIS 画像用レジストレーション方法の提案

前節では OIS 画像のレジストレーション精度低下の要因として 4 種類の要因を特定した。特定した低下要因と、必要な対策を表 5-4 に示す。要因(1)に対しては画像間のコントラスト差異の解消が必要である。(2)に関しては、暗い部分が精度低下に影響するので、相関計算の際に暗い部分を除外する必要がある。(3)に関しては画像により異なる結像対象物が相関演算のノイズとなるので、これらを相関演算の際に除外する必要がある。(4)に関しては一部の画像に生じるアーティファクトが、相関演算のノイズとなるので、相関演算の際にこれらを除外する必要がある。

これらの対策を実現する具体的手段として、本研究では下記 2 種類の手法を特徴とする OIS 画像用レジストレーション方法を提案した。

A) ヒストグラム平準化

全ての画像に対し、ヒストグラムが平準になるように濃度変換を施す。コントラストが均質化されることにより、要因(1)による精度低下を防ぐ。

B) 大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外

移動方向探索の際、相関最大化に対して寄与しない領域を特定し、相関演算から除外する。相関最大化に寄与しない領域には、要因(2)、(3)、(4)で対策が必要な領域が含まれ、精度向上に寄与する。

以下では上記 2 種類の処理について説明する。

表 5-4 レジストレーション精度低下要因と対策

精度低下要因	必要な対策	提案方法
(1) 異なる波長の画像間での濃度（コントラスト）の差異	全画像が同等のコントラストとなるように濃度を調節	ヒストグラム平準化
(2) 画像辺縁部分が暗くなるシェーディング	相関に寄与しない暗い部分の排除	大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外
(3) 異なる波長の画像間での結像対象物の差異	相関演算のノイズとなる、一方の画像にのみ結像している対象物の除去	
(4) ランダムに生じるアーティファクト	相関演算のノイズとなる、アーティファクトの除去	

5.4.3.1. ヒストグラム平準化

各波長の画像ごとに異なる濃度、コントラストを一致させることを目的とし、ヒストグラムの平準化を行った。ヒストグラム平準化は、原画像のヒストグラム形状に関する前提知識を必要としないため、様々な条件の実験に対しパラメータ等の調整を行うことなく適用できるという利点がある。

具体的には、原画像の濃度分解能は 16 ビット（0～65536）であるが、濃度分解能を 8 ビット（0～256）に低減する処理を行った。濃度分解能を低減する際に、0～256 のそれぞれの諧調にほぼ同数のピクセルが含まれるように濃度を非線形に変換した。各波長の画像に対する、原画像のヒストグラム、平準化後のヒストグラムをそれぞれ図 5-10、図 5-11 に示す。各波長で大きく異なっていたヒストグラム形状が、平準化処理によりほぼ同一の形状に変換されていることがわかる。また、ヒストグラム平準化処理前後の画像をそれぞれ図 5-12、図 5-13 に示す。波長ごとのコントラスト差異が低減していることがわかる。

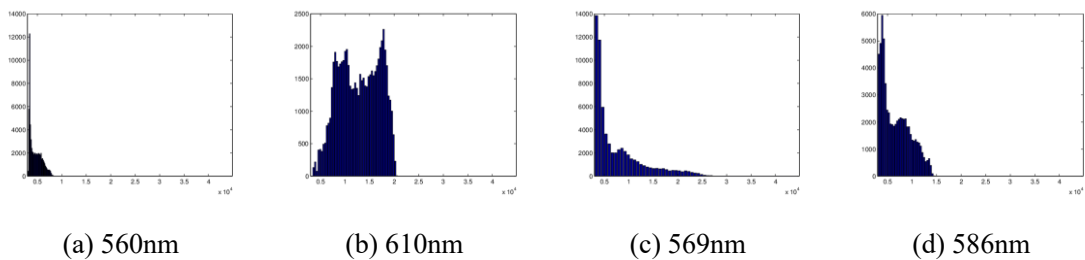


図 5-10 原画像のヒストグラム

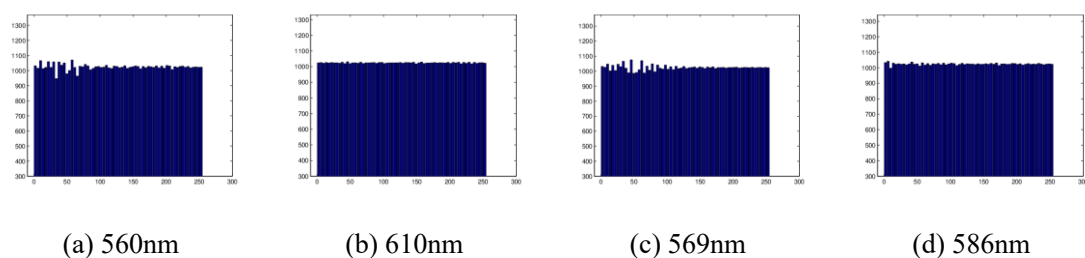


図 5-11 平準化後のヒストグラム

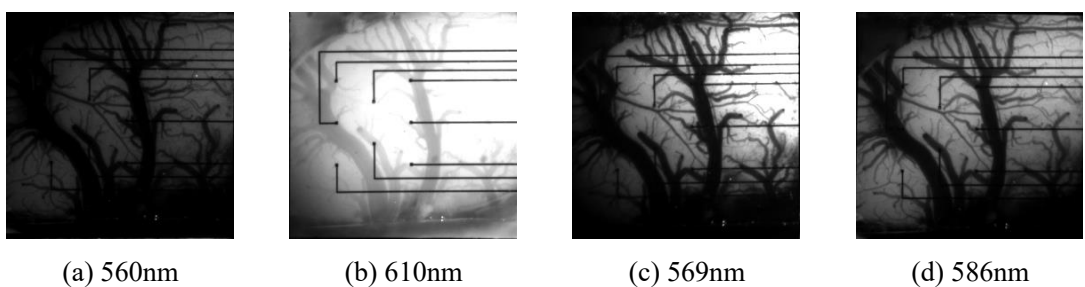


図 5-12 原画像

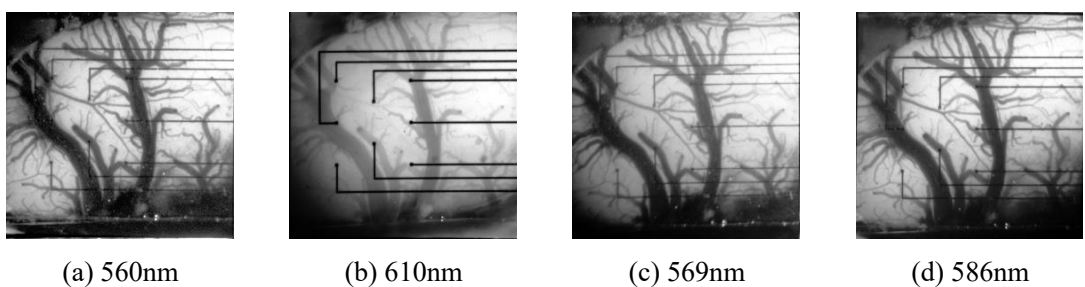


図 5-13 ヒストグラム平準化後の画像

5.4.3.2. 大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外

大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域を除外する方式として、下記の処理よりなる方式を開発した。

- ① 画像を複数の矩形の領域に分割する
- ② 矩形の局所領域ごとに、正規化相互相関の勾配ベクトルを求める
- ③ 各局所領域の勾配ベクトルを比較し、他の領域と大きくベクトルの方向が異なる領域を特定する
- ④ ③で特定した領域を除外し、残った局所領域の勾配ベクトルの平均を画像の移動方向とする。

本方式の原理を図 5-14 に示す。上記の処理①で、図 5-14 に示すように格子状に画像を分割し、処理②において各矩形領域内で正規化相互相関を計算し、その勾配ベクトルを求める。勾配ベクトルは模式的に矢印で示している。処理③において、各矩形領域の勾配ベクトルを比較し、他と大きく異なった方向を向いている勾配ベクトルを特定する。図 5-14 では勾配ベクトルを表す殆どの矢印が右上を向いているが、赤で示した 2 本の矢印はこれらとは異なる方向を向いている。このように他とは異なった方向を向いた矢印は、大局的な相互相関の勾配とは異なっていることを表しており、その矩形領域は相互相関の計算においてノイズとして作用することを意味する。そこで、処理④では、これらのノイズとして作用する矩形領域を除去し、残った矩形領域の相互相関の勾配の平均値を求め、画像の移動方向とする。

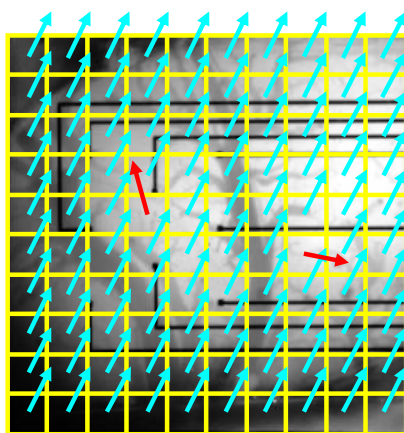


図 5-14 提案方式の原理

処理③において、各矩形領域のベクトルの分布から外れるベクトルを、他とは異なった方向を向いているベクトルとして特定した。リニアレジストレーションでは平行移動と回転移動により画像の位置を合わせるため、 x 方向、 y 方向、回転角 θ について相互相関の勾配を求める。各矩形領域の相互相関の勾配を $\mathbf{g}_{i,j} = (\Delta x_{i,j}, \Delta y_{i,j}, \Delta \theta_{i,j})$ とする時、 $\mathbf{g}_{i,j}$ の分布の例を図 5-15 に示す。ただし i, j は矩形領域の x 方向、 y 方向の位置を表す添え字である。

x, y の真の移動方向を $(\Delta X, \Delta Y, \Delta \theta)$ とする時、 $(\Delta x_{i,j}, \Delta y_{i,j})$ の多くは $(\Delta X, \Delta Y)$ と平行なベクトルとなる。そのため、多くの $\mathbf{g}_{i,j}$ は直線 $\Delta y = \frac{\Delta Y}{\Delta X} \Delta x, \Delta \theta = \Delta \theta$ の周辺に分布し、この直線か

ら離れた $g_{i,j}$ は他とは異なる方向を向いた勾配と考えることができる。そこで、本研究では、分布の主軸方向が直線 $\Delta y = \frac{\Delta Y}{\Delta X} \Delta x$ 、 $\Delta \theta = \Delta \theta$ に一致すると考え、主成分分析で主軸を求め、主軸からからの距離が一定値以上である $g_{i,j}$ を検出し、大域的な相関の最大化に寄与しない領域を特定した。この方式により、例えば図 5-15 中の赤色の点線で囲んだ点が他とは異なる方向を向いた勾配として検出される $g_{i,j}$ を表す。

本方式により、大域的な相関の最大化に寄与しないとして特定された局所領域の例を図 5-16 に示す。図中、青色の矩形領域が特定された局所領域である。

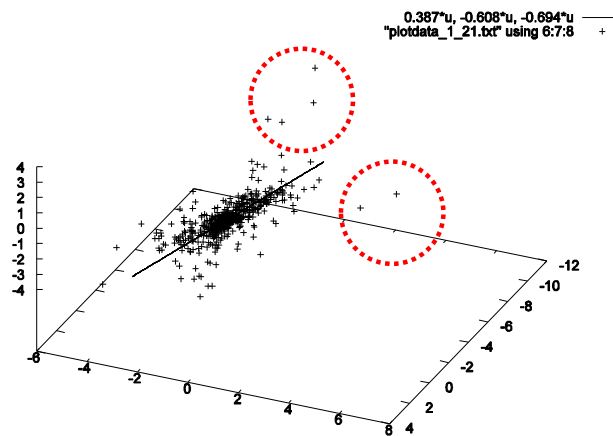


図 5-15 大域的相関に寄与しない局所領域の特定

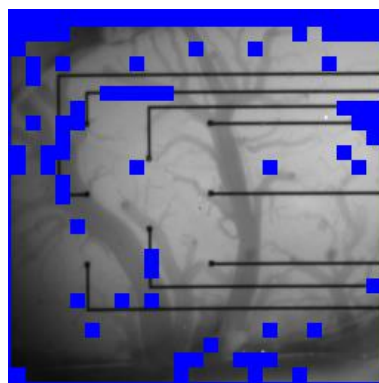


図 5-16 大域的相関に寄与しない局所領域の検出例

5.5. 評価

5.5.1. 評価方法

提案手法の有効性を確認するため、従来法と提案手法のレジストレーションの精度を比較した。マニュアルで各画像にランドマークを設定し、画像間でランドマークの位置の差が最小となるように移動量を計算し、位置合わせを行った画像を正解データとし、正解データと、レジストレーション結果の誤差を評価した。画像上に写った8本の電極のうち、5本の電極の屈曲部分あるいは最も左上の位置をランドマークとして使用した。

評価には5回分の実験データを使用した。1回の実験データは36回のトライアルより構成され、各トライアルの時系列画像は60フレームの画像から成る。各フレームは4波長分の画像データを含むため、1トライアル分のデータは $4 \times 60 = 240$ 枚の画像から構成される。1回分の実験データは $240 \times 36 = 8640$ 枚のデータから構成され、全5回分の実験データを用いたため、全画像数は43200枚である。

1回の実験において、最初のトライアルの586nmの画像を参照画像とし、他の全ての画像は参照画像と位置が合うように移動方向、移動量を求めた。レジストレーションの結果得られた x 方向、 y 方向、回転方向の移動量をもとに、ピクセルごとに正解データとの対応ピクセルとの距離を求め、誤差とした。以下では、画像ごとに誤差の平均値を算出し、誤差の平均値の分布を評価に用いた。

5.5.2. 従来法による評価結果

提案手法では、A)ヒストグラム平準化、B)大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外、という2種類の処理を導入した。この2つの処理のいずれも行わずに、Newton法により正規化相互相関を最大化するレジストレーションを従来法とした。従来法によりレジストレーションを行った結果の誤差の分布を図5-17に示す。全43,200枚の画像のうち、11.8%に相当する5,101枚の画像において2ピクセル以上の誤差が生じた。誤差の平均値、分散はそれぞれ1.75と5.47であった。

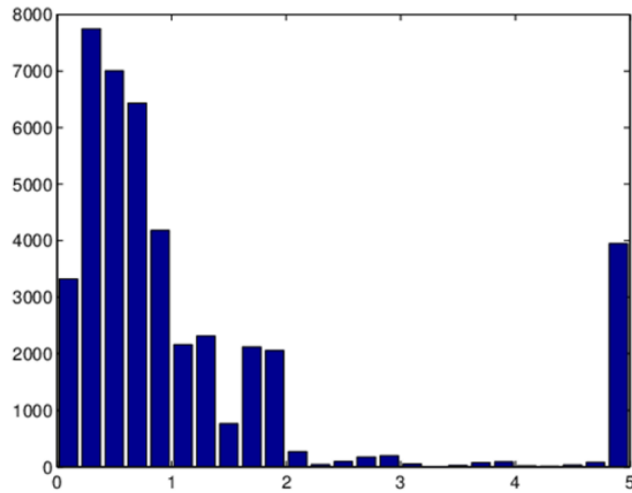


図 5-17 従来法によるレジストレーションの誤差

5.5.3. ヒストグラム平準化適用時の評価結果

提案手法で導入した A)ヒストグラム平準化、B)大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外、という 2 種類の処理のうち、A)のみを適用し、レジストレーションの誤差を評価した。誤差の分布を図 5-18 に示す。

従来法に比較し、誤差は大幅に減少した。従来法では 2 ピクセル以上の誤差が生じた画像は全画像の 11.8%、5,101 枚であったが、ヒストグラム平準化の適用により 2 ピクセル以上の誤差が生じる画像は全体の 0.04%、17 枚まで減少した。誤差の平均値、分散はそれぞれ 0.722、0.451 であった。

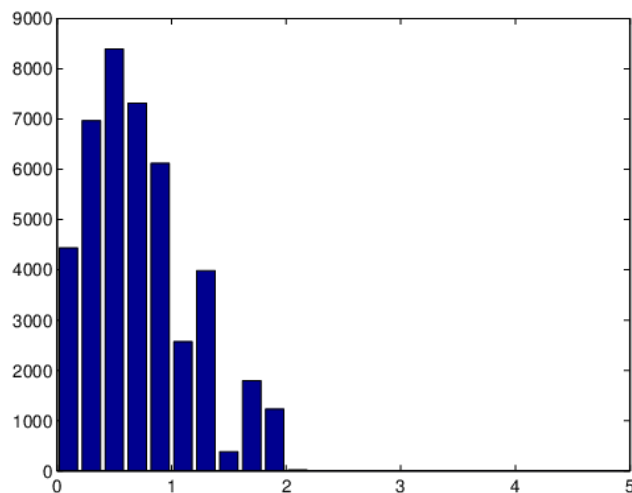


図 5-18 ヒストグラム平準化適用時のレジストレーションの誤差

5.5.4. 大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外時の評価結果

次に A)ヒストグラム平準化、B)大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の排除、の両方を適用し、レジストレーションの誤差を評価した。局所領域は 10×10 ピクセルの大きさとした。誤差の分布を図 5-19 に示す。B)の処理の導入により、2 ピクセル以上誤差の生じる画像は 0 枚となった。誤差の平均値、分散はそれぞれ 0.689、0.496 であり、全体的に誤差が減少することを確認した。

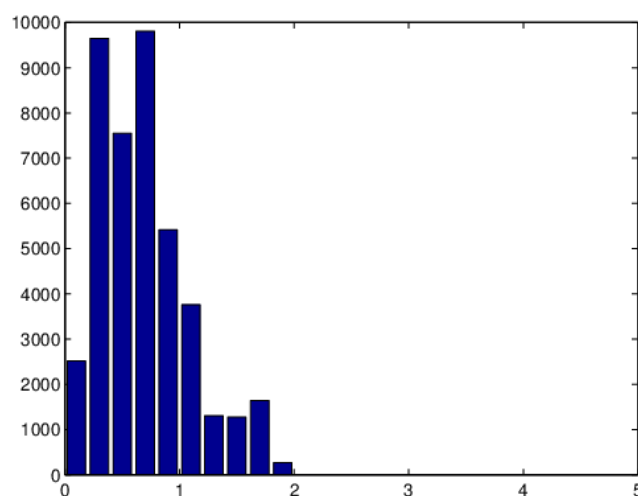


図 5-19 大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外時の誤差

5.6. 考察

前節での評価結果を表 5-5 にまとめた。評価により提案手法で導入した A)ヒストグラム平準化、B)大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外、の両方の効果を確認した。従来法では全画像の 11.8%が 2 ピクセル以上の誤差を生じていたが、提案手法の適用により 0%にまで削減することができた。誤差の平均も 1 ピクセル以内に収まっている。画像単位では 1 ピクセル以上の誤差を生じている画像もあるが、正解データとしたランドマークのマニュアル設定により作成した正解データも誤差を含んでいること、実際の実験では複数のピクセルを含む ROI (Region of Interest) を設定しその内部での信号の平均値を観測することを考慮すると、提案手法により十分な精度が達成されたと判断する。

マウスの前足、後ろ足に電気刺激を与え、脳の体性感覚野の活動を OIS と電極の双方で測定する実験に本手法を適用して、下記の結果を得ることができた[85]。

- (1) Quad View により撮像した時系列画像に提案手法を適用することにより、マウスの体性感覚野の活動を測定可能である。
- (2) 前足、後ろ足への刺激により誘発される体性感覚野の酸化ヘモグロビン、還元ヘモ

- グロビン、総ヘモグロビンの時系列変化は単相であり、かつ刺激停止後も継続する。
- (3) 誘発される酸化ヘモグロビン、還元ヘモグロビン、総ヘモグロビンが変化する領域の面積、形状、強さは、刺激部位が前足である場合と後ろ足である場合とで優位な差は無い。

また、マウスとラットを被検体とした実験に提案法を適用し、下記の結果を得ることができた[86]。

- (1) Quad View により撮像した時系列画像に提案手法を適用することにより、種に依存せずに、ヘモグロビン量が増加する脳内の領域を特定し、変化を定量化することができる。
- (2) 物理的刺激によって誘発されるヘモグロビン量が増加する領域、時系列変化のパターン等は種によって異なる。

今後は様々な動物を活用した脳機能のマッピング、複合刺激と単一刺激での脳の活動の違いの解明、脳疾患の脳活動への影響の解明、薬物投与の脳への影響の解明、等の実験に応用可能であると考えます。また、将来的には、人間の開頭手術時に、OIS によって脳の重要機能（言語など）の領域を正確に特定し傷つけないように切除領域を決定する、など腫瘍切除（外科手術）時の切除領域決定に活用できる可能性がある。

表 5-5 レジストレーション精度の比較

	誤差 2 ピクセル以上の画像		誤差の平均	誤差の分散
	画像数	全画像に占める割合		
従来法	5,101 枚	11.8%	1.75	5.47
A)適用時	17 枚	0.04%	0.722	0.451
A)、B)適用時	0 枚	0.0%	0.689	0.496

5.7. まとめ

OIS では 1 回の実験において複数波長の時系列画像を、複数回のトライアルで撮影し、全画像を重ね合わせ脳内でヘモグロビンが増加する領域を特定し、ヘモグロビンの時系列変化を定量化する。撮像に用いる全画像、全フレームにおいて脳と同じ位置を対応づける必要があるが、撮像系の特性、動物の呼吸運動等により、異なる波長の画像間、時系列画像のフレーム間、トライアル間で、画像の位置ずれが生じる。本研究では、高速かつ高精度な OIS 用の画像位置ずれ補正処理の開発に取り組んだ。

様々なレジストレーション技術を比較し、OIS 画像の位置ずれの補正に適切な方法として正規化相互相関を指標とし、Newton 法により逐次的に画像の移動方向、移動量を決定するリニアレジストレーションを選択した。選択した方法を OIS に適用したところ、レジストレーションの精度が低下する事例のあることがわかり、以下の原因を特定した。

- (1) 異なる波長の画像間での濃度（コントラスト）の差異
- (2) 画像辺縁部分が暗くなるシェーディング
- (3) 異なる波長の画像間での結像対象物の差異
- (4) ランダムに生じるアーティファクト

上記の原因に対し、精度向上を実現する新たな OIS 用レジストレーション方法を提案した。提案手法は下記を特徴とする。

A) ヒストグラム平準化

全ての画像に対し、ヒストグラムが平準になるように濃度変換を施し、コントラストを均質化する。

B) 大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外

移動方向探索の際に、相関最大化に対して寄与しない領域を特定し、相関演算から除外する。

提案手法を、43,200 枚の画像から成る全 5 回分の実験データに適用し、有効性を評価した。従来法では全画像の 11.8%が 2 ピクセル以上の誤差を生じていたが、提案手法の適用により 0%にまで削減することができた。また、誤差の平均値は従来法では 1.75 ピクセルであったが、提案手法の適用により半分以下の 0.689 ピクセルまで低減することができ、提案手法の有効性を確認した。

6. 結言

6.1. 結論

医療の現場では、画像を用いた様々な検査が実施されており、画像処理技術の活用による検査の質の向上、効率化が期待されている。しかしながら被験者、検体、機器、撮影環境など様々な要因が時々刻々変化する医療の現場においては、得られる画像の条件を常に一定に保つことは困難であり、実用化の障壁となっている。本研究では、前述の課題に対し、医療検査の効率化をめざし、尿沈渣検査を効率化する画像認識技術の開発と OIS を定量化する画像処理技術の開発に取り組み、以下の結論を得た。

6.1.1. 尿沈渣検査を効率化する画像認識技術の開発

尿中粒子成分はサイズ、形状、色調が様々であり、多様な粒子が1枚の画像上に同時に撮像されることもある。また、同じ種類の粒子でも、検体の状況により異なる形状、色調を呈することがあり、尿沈渣の自動分類に向けての大きな課題であった、様々な色調の粒子に対する正確な領域抽出を可能とする、新たな領域分割方法を提案した。提案手法は下記を特徴とする。

- 背景濃度分布を基準として閾値を決定し、背景と対象領域を分割
- 各画素の局所領域で濃度差分値を算出し、差分値の大きい領域を対象領域として分割
- 上記の領域分割結果を論理和で合成

濃度のみによる領域分割では、無染色細胞領域中対象領域として抽出できた領域は21%であったが、今回新たに導入した濃度差分値による領域分割処理の効果により91%の領域を対象領域として抽出できることを確認した。また、61枚の無染色細胞画像を用いた評価では、濃度値のみを用いた手法では、1個の細胞が平均して3.61個の領域に分割されたが、提案手法では2個以下に抑えられており、無染色細胞画像に対する領域分割精度が向上することを確認した。

また、サイズ、形状、色調が多様、かつ同じ種類の粒子でも多様な形状、色調を呈する尿沈渣成分を高精度に分類可能な階層モジュール型ニューラルネットワークを提案した。提案手法は全パターンを1個のニューラルネットワークで分類する代わりに、複数の小規模なネットワークを階層的に組み合わせることにより、高精度化を実現する。本手法を誤分類の多い項目に対して適用することにより、分類精度が約25%向上することを確認した。

提案した領域分割方法と階層モジュール型ニューラルネットワークによる尿中固形成成分画像認識技術を適用した自動化装置の臨床現場での実用化について検討した。10項目（赤血球、白血球、扁平上皮細胞、移行上皮細胞、その他の細胞、硝子円柱、その他の円柱、結晶、細菌、その他）の自動分類項目を定め、装置による自動分類、レビュー装置による画像

確認、用手法による鏡検を組み合わせた検査フローを提案した。

277 検体を装置で測定して得られた測定結果と、27,252 枚の画像データを用いて評価を実施した。技師の検査結果との相関は 88.8%~100%であり、画像 1 枚ごとの分類精度に関しては赤血球、白血球、扁平上皮の再現率はそれぞれ 98.5%、91.7%、96.0%、適合率は 92.5%、86.2%、96.0%という高い分類精度であった。以上の評価結果より、定性検査との併用により日常検査への導入は可能であるとの結論を得た。

次に尿沈渣検査業務の更なる効率性向上に向け、下記(1)~(3)を実施した。

(1) 自動分類 3 項目の追加

レビュー作業の効率化を目的とし、詳細に分類精度を評価し、分類精度の高いシュウ酸カルシウム結晶、精子、酵母の 3 項目を自動分類項目に追加した。実検体 520 検体を用いて装置測定結果と技師検査結果との一致率を評価し、3 項目とも 99%以上の高い一致率が得られることを確認した。また、これらの検体から得られた 36,834 枚の尿沈渣画像について技師の目視分類結果との一致率を評価したところ、再現率、適合率の双方が 90%以上という高い分類精度を達成し、レビュー作業の効率化に効果があることを確認した。

(2) 血球偽陽性検体検出方式の検討

レビューが必要となる画像数の低減を目的とし、血球の測定結果が偽陽性となる検体の検出方式を検討した。277 検体を用いて血球の偽陽性を生じる要因について分析し、①結晶が一定濃度以上、②酵母が一定濃度以上、③ビリルビン粒子が一定濃度以上、のいずれかの条件を満たす検体を血球偽陽性検体とする検出方式を提案した。

181 検体を用いて評価を実施し、本方式により偽陽性として検出された 10 検体を除去することにより、赤血球に関する装置と検査技師との検査結果の一致率は 89.5%から 91.2%へ 1.7%向上、白血球に関しては 90.6%から 92.4%へ 1.8%向上することを確認した。この機能により血球偽陽性検体以外に関しては血球画像のレビューが不要となり、レビュー時間が大幅に短縮されることを確認した。

(3) 変形赤血球検体自動検出方式の提案

尿中赤血球を形態分類することにより、出血部位を特定し、診断に大きく役立てることが出来る可能性が示されている。効率性を損なわない検査フローの実現を目的とし、糸球体由来出血の疑われる変形赤血球検体の自動検出方式を提案した。本方式は①ニューラルネットワーク出力値により重み付き個数を計算すること、②変形赤血球率とリング状赤血球率に基づき変形赤血球検体を検出すること、を特徴とする。

本方式はニューラルネットワークにより赤血球を正常赤血球、リング状赤血球、その他の変形赤血球、の3種類に分類し、ニューラルネットワークの出力値に比例した重みをつけ、検体ごとに個数をカウントする。その後、検体ごとに全赤血球に占めるリング状赤血球の割合と変形赤血球の割合を計算し、線形判別式により糸球体由来出血の疑われる変形赤血球検体を検出する。一日分 231 検体を用いた評価では、検査技師が糸球体由来出血と判定した 2 検体を提案方式により検出可能であることを確認した。

上記(1)~(3)の改良を実施した装置を用い、日常の検査業務の効率化を評価した。改良前は全画像中 61.7%の画像に対し、レビューが必要であったが、上記の改良により、レビューすべき画像を全画像の 29.8%にまで減らせることを確認した。改良により、レビュー時間の大幅な短縮が可能となり、尿沈渣検査業務を更に効率化することができるとの結論を得た。

更に尿沈渣画像自動分類の高精度化に向け、下記の改良に取り組んだ。

(1) 赤血球領域分割方法の改良

赤血球画像の領域抽出結果を分析、精度低下要因を特定し、下記の解決策を定めた。

- A) 差分値は使用せず、濃度値のみを用いる
- B) R 濃度、G 濃度に加え、B 濃度を用いる
- C) 辺縁の暗い部分、明るい部分を背景として抽出可能な識別境界を、色濃度空間中で設定する

C)に関し、下記を特徴とする赤血球用領域分割法を提案した。

- 濃度空間中で、背景画素の分布と対象領域画素の分布との境界となる閾値をより正確に設定できるよう濃度座標を変換する。
- 2重の閾値を設定し、背景濃度分布と対象領域濃度分布が重なる領域に存在する画素により構成される画像領域を抽出する。抽出した領域が背景に接している場合は、背景とし、接していない場合は対象領域とする。

提案した赤血球用領域分割方法の有効性を、変形赤血球の分類精度により評価した。面積と変形度という2種類の特徴量平面上で正常赤血球の分布の等確率楕円を計算し、楕円の内側に分布する赤血球を正常赤血球、外側に分布する赤血球を変形赤血球として分類し、精度を比較した。改良前の手法では再現率、適合率は73%であったが、提案

手法では 11%向上し 84%となり、提案手法の有効性を確認した。

(2) 非典型的形状粒子の分類精度向上

尿沈渣成分の形状や色調等の検体ごとの特性を反映し、識別境界を調整することにより、非典型的対象の分類を可能にするフィードバック学習型ニューラルネットワークを提案した。提案手法は下記の特徴を有する。

- ニューラルネットワークの出力値に閾値を設定し、閾値以下であった対象は非典型的な対象として分類を保留する。閾値以上であった場合は典型的な対象として分類する。
- 典型的な対象を用いてニューラルネットワークを再学習した後、非典型的な対象を分類する。

本手法を尿沈渣画像の分類に適用し分類精度を評価した。約 70,000 枚の尿沈渣画像を学習データとして使用し、10 項目の分類を行うニューラルネットワークを構築した。学習データとは別に 300 検体から収集した 31,298 枚の画像をテスト用データとした。300 検体中、10 検体でフィードバック学習前後の分類精度が変化し、そのうち 9 検体で分類精度が向上した。10 検体中、フィードバック学習実行前は 90%以上の精度で分類が行われた検体は 2 検体に過ぎなかったが、フィードバック学習実行後には 6 検体において 90%以上の分類精度を達成した。また、残り 4 検体についても 85%以上の分類精度を達成した。

6.1.2. OIS を定量化する画像処理技術の開発

OIS では 1 回の実験において複数波長の時系列画像を、複数回のトライアルで撮影し、全画像を重ね合わせ脳内でヘモグロビンが変化する領域を特定し、ヘモグロビンの時系列変化を定量化する。撮像に用いる全画像、全フレームにおいて脳の同じ位置を対応づける必要があるが、撮像系の特性、動物の呼吸運動等により、異なる波長の画像間、時系列画像のフレーム間、トライアル間で、画像の位置ずれが生じる。本研究では、高速かつ高精度な OIS 用の画像位置ずれ補正処理の開発に取り組んだ。

様々なレジストレーション技術を比較し、OIS 画像の位置ずれの補正に適切な方法として正規化相互相関を指標とし、Newton 法により逐次的に画像の移動方向、移動量を決定するリニアレジストレーションを選択した。しかしながら、選択した方法ではレジストレーションの精度が低下する事例があり、その原因を特定し、精度向上を実現する新たな OIS 用レジストレーション方法を提案した。提案手法は下記を特徴とする。

A) ヒストグラム平準化

全ての画像に対し、ヒストグラムが平準になるように濃度変換を施し、コントラストを均質化する。

B) 大域的な相関の最大化に寄与しない局所領域の除外

移動方向探索の際に、相関最大化に対して寄与しない領域を特定し、相関演算から除外する。

提案手法を、43,200枚の画像から成る全5回分の実験データに適用し、有効性を評価した。従来法では全画像の11.8%が2ピクセル以上の誤差を生じていたが、提案手法の適用により0%にまで削減することができた。また、誤差の平均値は従来法では1.75ピクセルであったが、提案手法の適用により半分以下の0.689ピクセルまで低減することができ、提案手法の有効性を確認した。

6.2. 今後の展望

本研究では、尿沈渣検査の効率化を実現する画像処理、認識技術を提案した。尿沈渣の自動分類を実用化するキーとなった技術の1つの階層モジュール型ニューラルネットワークは、尿沈渣画像の自動分類に特化した技術ではない。多数の特徴量により複雑な識別面を構成する必要があるパターン認識には汎用的に使用できる技術である。医療分野においても画像診断支援など様々な分野へ応用可能であり、医療の効率化、質の向上に寄与できるものとする。

通常のパターン認識技術では困難な、非典型的な形状の粒子の分類に対してはフィードバック学習型ニューラルネットワークを提案し、分類精度向上を達成した。臓器、検体などには必ず個体差があり、また、同一の人であっても体調、病状、年齢などによって変化する。そのため、今回尿沈渣で課題となった検体に依存する形態の差異は、医療現場では様々な場面で生じると考えられる。本研究において提案したフィードバック学習型ニューラルネットワークは、医療における個体差の課題に対して広く活用できる可能性があると考えられる。

本研究では、実用化可能な尿沈渣画像の分類技術を開発したが、全項目の自動分類を実現するものではなく、自動分類と画像レビュー、用手法による鏡頭を組み合わせた運用方法により、実用化と効率化を実現した。近年、AI技術の進展に伴い、診断支援など様々な形でAIを医療に応用する取り組みが行われている。しかし、AIに期待されている機能は、多くの場合、経験を積んだ専門家が行うような難しい判断である。このような判断には経験に基づく個人差もあるため、AIを構築するための学習データや評価用データそのものにも曖昧性が含まれる。解くべき課題の難しさと、データそのものに内在する曖昧性の点から、すべての課題を100%の精度で解くことを目指すのは現実的ではない。本研究ではAI（ニューラルネットワーク）による判断結果が確実である場合と、曖昧性の残る場合に切り分け、後者は熟練した人間に判断を委ねる方針により、医療現場での実用化を実現

した。このように AI に全てを任せるのではなく、AI の開発と並行して AI と人間による判断とを組み合わせた運用を検討するアプローチは、今後 AI を様々な分野で実用化する上で重要と考える。

また、OIS 画像を定量化する技術として、画質の差異やアーティファクトの影響を排除し、正確な位置合わせが可能なレジストレーション方式を提案した。提案方式を適用した動物実験により、Quad View を使用した OIS が脳活動の計測に利用可能であることが明らかになった。今後は脳外科手術時の切除範囲の決定など、臨床への応用が期待される。

また、提案したレジストレーション方式は時系列の低画質の画像から微小な変化を正確に定量化することを可能とした。医療の他の分野としては、例えば分子イメージングの分野でも同様の課題が生じる可能性がある。従来の CT、MRI といった高精細な静止画に加え、今後は低画質の複数種類の時系列画像を診断に活用する可能性があり、本技術の適用範囲も広がると考える。

7. 謝辞

本論文は多くの方々のご支援、ご協力により完成させることができた。

元(株)日立製作所中央研究所の橋詰明英氏には本論文 2~4 章の尿沈渣の画像処理に関する研究の機会を与えて頂き、研究を指導していただいた。元(株)日立製作所中央研究所の本池順氏には、尿沈渣の画像処理の研究をご指導していただくと共に、ソフトウェアの開発に多大なご協力をいただいた。

高崎健康福祉大学健康福祉学部医療情報学科の松尾仁司教授には、(株)日立製作所在籍時から、本論文の執筆に至るまで研究を指導していただいた。また、本論文 5 章の OIS の研究の機会を与えて頂くと共に、本論文の執筆のきっかけを与えて頂いた。

元(株)日立製作所計測器事業部の矢部良平氏、浅井英規氏、横林敏昭氏、堀内秀之氏、大和田伯男氏、小島康明氏、滝美樹氏には、尿沈渣の画像処理方式の装置への実装、評価で大変お世話になった。矢部良平氏、浅井英規氏、横林敏昭氏には、尿沈渣検査の自動化装置の開発を取りまとめ、先導して頂いた。堀内秀之氏には、画像認識や測定精度に関し、様々な重要な示唆を頂いた。大和田伯男氏には提案方式の装置への実装を進めていただいた。小島康明氏、滝美樹氏にはニューラルネットワークの学習用データの作成、及び臨床現場での評価に関し多大なご協力をいただいた。

元(株)日立製作所機械研究所の三宅亮氏、山崎功氏には、フロー方式による尿沈渣画像の撮像機構を開発していただいた。

順天堂医院臨床検査部の久野豊氏、日本大学医学部附属板橋病院臨床検査部の高橋勝幸氏には、評価用データをご提供いただくと共に、検査技師の観点から尿沈渣検査の自動化装置の実用化に関し様々な重要なご意見、アドバイスをいただいた。

University of Southern California の Arthur Toga 教授、City of Hope National Medical Center の Neal Prakash 教授には、UCLA 在籍時に OIS の研究をご指導いただいた。Prabhjit Sachdeva 氏、Jeremy Theriot 氏、Xue Hua 氏、Chaithanya Ramachandra 氏には、OIS の画像処理方法に関し議論していただき、有用なご意見を頂いた。

また、家族には仕事と平行しての家庭での論文執筆を理解してもらい、様々な面から支えてもらった。

親身になってご指導いただくと共に、多大なるご支援をいただいた皆様に、深い感謝の意を表す。

8. 参考文献

- [1] 藤田広志. 医用画像のためのコンピュータ支援診断システムの開発の現状と将来. 日本写真学会誌 66 巻 5 号: 484-490, 2003.
- [2] 土井邦雄. 医用画像とコンピュータ支援診断～現状と将来の可能性～. 映像情報メディア学会誌 65 巻 4 号: 427-431, 2011.
- [3] 中川俊明, 畑中裕司, 村松千左子, 藤田広志. 眼底画像のコンピュータ支援診断の現状と課題. 医用画像情報学会雑誌 25 巻 4 号: 70-77, 2008.
- [4] 畑中裕司. 検診眼底画像研究の現在・未来. 医用画像情報学会雑誌 31 巻 2 号: xxviii-xxx, 2014.
- [5] 山本真司. 第3章 血球自動分類. 電気學會雑誌 98 巻 11 号: 1044-1048, 1978.
- [6] 山本真司. 9-2 血球像自動識別装置. テレビジョン学会誌 35 巻 11 号: 966-970, 1981.
- [7] 永井豊. フローサイトメトリーによる血球分類の動向. Cytometry Research 21 (2): 13-22, 2011.
- [8] 日本検査血液学会 標準化委員会 血球計数標準化小委員会. フローサイトメトリーによる白血球5分類算定法 (JSLH-Diff 法). 日本検査血液学会, 2018.
- [9] 野口義夫. 細胞診の自動化機器. 臨床検査 28 巻 3 号: 292-297, 1984.
- [10] 狩野宏晃. 尿中有形成分測定装置の役割と利用について. 国立病院臨床検査技師協会会報 73 号: 75-81, 2012.
- [11] 齋藤彰. デジタル・パソロジー : 現状とその将来. 東京医科大学雑誌 74 (4): 396-408, 2016.
- [12] 喜友名朝春. e-Pathologist : 人工知能による病理画像解析システム. 医用画像情報学会雑誌 34 巻 2 号: 105-108, 2017.
- [13] アークレイマーケティング株式会社 学術センター. アークレイテキスト尿検査シリーズ 尿中有形成分分析装置.
- [14] 上田尚彦, 今井宣子. 尿沈渣 標本の作製から診断まで 改訂第2版. 診断と治療社, 1999.
- [15] 油野友二. 日本臨床検査標準協議会 尿沈渣検査法指針提案の目指すもの. 医学検査, Vol.66. No.J-STAGE-1 尿沈渣特集 2017: 1-5, 2017.
- [16] 小島康明, 山崎功夫, 松尾仁司, 横林敏昭. 尿検査のシステム化に適した尿沈渣の分析装置. 日立評論, VOL. 79, No. 10: 15-18, 1997.
- [17] 滝美樹, 小島康明, 堀内秀之, 浅井英規, 三宅亮, 山崎功夫, 光山訓, 本池順. 6700 形日立尿自動分析装置の開発. 日本臨床検査自動化学会会誌 21 (4): 386-386, 1996.
- [18] 滝美樹, 大和田伯男, 小島康明. 6800 形日立尿自動分析装置の開発. 臨床病理レビュー (125): 235-242, 2003.
- [19] 倉爪亮. レベルセット法とその実装法について. 情報処理学会研究報告 CVIM [コンピ

- ュータビジョンとイメージメディア] 156: 133-145, 2006.
- [20] F. Yi, I. Moon. Image segmentation: A survey of graph-cut methods. 2012 International Conference on Systems and Informatics (ICSAI2012): 1936-1941, 2012.
- [21] A. Hanbury. Image Segmentation by Region Based and Watershed Algorithms. In: Wiley Encyclopedia of Computer Science and Engineering (B. W. Wah, ed): Wiley & Sons, Inc., 2009.
- [22] O. Ronneberger, P. Fischer, T. Brox. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. In: Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention -- MICCAI 2015: 18th International Conference Proceedings Part III (N. Navab, J. Hornegger, W. Wells, A. Frangi, eds), pp234-241, Cham: Springer International Publishing, 2015.
- [23] A. Aziz, H. Pande, B. Cheluvraju, T. R. Dastidar. Improved Extraction of Objects from Urine Microscopy Images with Unsupervised Thresholding and Supervised U-net Techniques. 2018 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition Workshops (CVPRW): 2311-23118, 2018.
- [24] 本池順, 光山訓, 橋詰明英, 大和田伯男. 色彩情報を用いた尿沈渣画像領域分割法. 電子情報通信学会総合大会講演論文集 1996 年 情報・システム(2): 130, 1996.
- [25] N. Otsu. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, vol. 9, no. 1: 62-66, 1979.
- [26] D. Wermser, G. Haussmann, C. E. Liedtke. Segmentation of Blood Smears by Hierarchical Thresholding. Computer Vision, Graphics and Image Processing 25: 151-168, 1984.
- [27] G. Haussmann, C. E. Liedtke. A Region Extraction Approach to Blood Smear Segmentation. Computer Vision, Graphics and Image Processing 25: 133-150, 1984.
- [28] 光山訓, 本池順, 橋詰明英, 大和田伯男. 尿沈渣画像における無染色細胞の領域分割法. 電子情報通信学会総合大会講演論文集 1996 年 情報・システム(2): 131, 1996.
- [29] K. Wu, D. Gauthier, M. D. Levine. Live Cell Image Segmentation. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 42, No. 1: 1-12, 1995.
- [30] M. D. Almadhoun, A. M. El-Halees. Automated recognition of urinary microscopic solid particles. Journal of Medical Engineering & Technology 38 (2): 104-110, 2013.
- [31] 中野馨. ニューロコンピュータの基礎. コロナ社, 1990.
- [32] 岡谷貴之. 深層学習 (機械学習プロフェッショナルシリーズ) . 講談社, 2015.
- [33] D. E. Rumelhart, G. E. Hinton, R. J. Williams. Learning Representations by Back-propagation Errors. Nature, 323: 533-536, 1986.
- [34] K. Hornik. Multilayer Feedforward Networks are Universal Approximators. Neural Networks, Vol. 2: 359-366, 1989.
- [35] 光山訓, 本池順, 橋詰明英, 松尾仁司. 階層型ニューラルネットワークを用いた尿沈渣画像の自動分類. 1997 年電子情報通信学会システムソサエティ大会 D-7-25: 63, 1997.
- [36] S. Mitsuyama, J. Motoike, H. Matsuo. Automatic classification of urinary sediment images by

- using a hierarchical modular neural network. SPIE's International Symposium on Medical Imaging 1999, Vol. 3661: 680-688, 1999.
- [37] R. Anand, K. Mehrotra, C. K. Mohan, S. Ranka. Efficient Classification for Multiclass Problems Using Modular Neural Networks. IEEE Transactions on Neural Networks, Vol. 6, No. 1: 117-124, 1995.
- [38] T. Paulpandian, V. Ganapathy. Translation and scale invariant recognition of handwritten Tamil characters using a hierarchical neural network. 1993 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS), vol.4: 2439-2441, 1993.
- [39] S. J. Nowlan, G. E. Hinton. Evaluation of Adaptive Mixtures of Competing Experts. In: Advances in Neural Information Processing Systems 3 (Richard P. Lippmann, John E. Moody and David S. Touretzky, Eds), pp774-780, San Mateo, CA: Morgan Kaufmann, 1991.
- [40] S. Abe, M. Lan, J. Motoike. Optimizing Composite Neural Networks for Very Hard Classification Problems. 情報処理学会論文誌 35 (9): 1807-1814, 1994.
- [41] Y. Bennani. A Modular and Hybrid Connectionist System for Speaker Identification. Neural Computation 7: 791-798, 1995.
- [42] 東京大学教養学部統計学教室 編. 基礎統計学 I 統計学入門. 東京大学出版会, 1991.
- [43] 石崎大輝, 伊瀬恵子, 内本高之, 澤部祐司, 野村文夫. 尿沈渣鏡検法の内部精度管理の有用性に関する検討. 医学検査, Vol. 63, No. 1: 48-52, 2014.
- [44] 久野豊, 猪狩淳. 6700 形日立尿自動分析装置の評価. 日本臨床検査自動化学会会誌 21(4): 385-385, 1996.
- [45] 元吉聡, 大橋久美子, 小山佐知子, 久野豊. 6700 形尿自動分析装置の自動分類の正確性の評価. 医学検査 46 (3): 611-611, 1997.
- [46] 市川恵子, 佐藤晃, 青木和美, 松本和江, 橋都隆子, 斉藤トモ子, 高橋勝幸, 岩田進, 河野均也. 尿中有形成成分分析装置「6700 形日立尿自動分析装置」の日常検査導入への適応評価. 日本臨床検査自動化学会会誌 21 (4): 384-384, 1996.
- [47] 島田俊一, 小澤洋子, 亀井理江, 村木亜妃, 内田俊也, 宮澤幸久. 「日立 6700 形尿自動分析装置」の日常検査での運用経験. 日本臨床検査自動化学会会誌 23 (4): 442-442, 1998.
- [48] 岡野理恵, 土肥香津子, 松本まり子, 大用義裕, 宇津木道弘. 6700 形日立尿自動分析装置の基礎的検討. 医学検査 46 (3): 610-610, 1997.
- [49] D. F. Birch, K. F. Fairley. Haematuria: Glomerular or Non-Glomerular? Lancet 2: 845-846, 1979.
- [50] N. G. De Santo, F. Nuzzi, G. Capodicasa, G. Lama, G. Caputo, P. Rosati, C. Giordano. Phase Contrast Microscopy of the Urine Sediment for the Diagnosis of Glomerular and Nonglomerular Bleeding-Data in Children and Adults with Normal Creatinine Clearance. Nephron 45:35-39, 1987.
- [51] R. S. Costa, R. M. B. e Souza, P. B. Franco, M. Dantas, U. A. Gomes, M. A. D. Reis. Evaluation of erythrocyte morphology in the urinary sediment for the differential diagnosis of haematurias

- using standard light microscopy. *Nephrology* 2 (3): 181-185, 1996.
- [52] 谷澤隆邦. 尿中赤血球形態. 腎と透析, Vol. 34, No.3: 25-30, 1993.
- [53] 伊藤機一. 尿中赤血球の形態—形態異常, サイズの変化—. 腎と透析 1994 年臨時増刊号: 498-504, 1994.
- [54] 兵藤透, 熊野和雄, 芳賀誠, 酒井糾. Automated urinary sediment analyzer (全自動尿沈渣測定装置) を用いた腎糸球体由来と非腎糸球体由来尿中赤血球の鑑別法の作成. 日本腎臓学会誌, 37 (1): 35-43, 1995.
- [55] 血尿診断ガイドライン編集委員会. 血尿診断ガイドライン 2013. ライフサイエンス出版株式会社, 2013.
- [56] 日本臨床検査標準協議会. 尿沈渣検査法指針提案 GP1-P4. 2010.
- [57] 斉藤トモ子, 松本和江, 高橋勝幸, 矢内充, 大井洋之, 石田肇, 岩田進, 河野均也. 光学顕微鏡による顕微鏡的尿尿の出血部位診断. 臨床病理, Vol.44 補冊: 298-298, 1996.
- [58] 光山訓, 小島康明, 高橋勝幸, 松尾仁司. ニューラルネットワークを用いた尿中赤血球の形態分類. 1998 年電子情報通信学会総合大会 D-7-39:125, 1997.
- [59] 滝美樹, 光山訓, 松尾仁司, 斉藤トモ子, 高橋勝幸. 6800 形日立尿自動分析装置の変形赤血球フラグ機能. 医学検査 47 (3): 611, 1998.
- [60] 光山訓, 小島康明, 高橋勝幸, 松尾仁司. 尿中赤血球の形態分類による腎疾患検体の自動検出. 第 37 回日本エム・イー学会大会: 415, 1998.
- [61] 久野豊, 元吉聡, 立花勇一, 猪狩淳. 6800 形日立尿自動分析装置の評価. 医学検査 48 (7): 1116-1120, 1999.
- [62] 久野豊, 大橋久美子, 元吉聡, 小山佐知子. 6800 形尿自動分析装置の評価. 医学検査 47 (3): 611, 1998.
- [63] 堀越裕子, 宍戸恵美, 石田由美, 羽根正子, 岡村弘子, 長井俊彦, 三浦裕, 吉田浩. 日立 6800 形尿自動分析装置の日常検査での運用経験. 日本臨床検査自動化学会会誌 24 (4): 505, 1999.
- [64] 小島康明, 滝美樹, 横林敏昭. 6800 形日立尿自動分析装置の機能紹介と導入効果の考察. 日本臨床検査自動化学会会誌 23 (4): 304, 1998.
- [65] 小島康明, 滝美樹, 横林敏昭. 6800 形日立尿自動分析装置の機能紹介と導入効果の考察. 日本臨床検査自動化学会会誌 24 (3): 244-246, 1999.
- [66] 内田一弘, 福井香織, 平本裕美, 中川麻弓, 岡田聡, 宮窪好昭, 平田泰良, 大谷英樹. 6800 形日立尿自動分析装置の検討. 医学検査 49 (7): 1041-1044, 2000.
- [67] 光山訓, 小島康明, 松尾仁司. 尿中赤血球画像の領域分割. 1999 年電子情報通信学会総合大会 D-7-34:141, 1999.
- [68] 橋詰明英, 本池順, 鈴木隆一, 山本真司. 標本内情報を用いた適応的好中球分類アルゴリズム. 医用電子と生体工学 27 巻 3 号: 149-154, 1989.
- [69] 谷村保明. 白血球分類の自動化. *Medical Imaging Technology*, Vol. 14, No. 1: 14-22, 1996.

- [70] S. Mitsuyama, J. Motoike, H. Matsuo. Adaptive Classification of Untypical Urinary Sediment Images Using Feedback Learning. The Fifth International Conference on Neural Information Processing 1998: 1069-1072, 1998.
- [71] 光山訓, 本池順, 松尾仁司. フィードバック学習を用いた尿沈渣画像の適応的自動分類. 電子情報通信学会論文誌, VOL. J83-D-II, No. 1: 237-244, 2000.
- [72] D. Wang. Pattern Recognition: Neural Networks in Perspective. IEEE Expert: 52-60, 1993.
- [73] G. A. Carpenter, S. Grossberg. A Massively Parallel Architecture for a Self-Organizing Neural Pattern Recognition Machine. Computer Vision, Graphics, and Image Processing. No. 37: 54-115, 1987.
- [74] G. A. Carpenter, S. Grossberg. ART 2: self-organization of Stable Category Recognition Codes for Analog Input Patterns. Applied Optics, Vol. 26, No. 3: 4919-4930, 1987.
- [75] 鳥脇純一郎. 認識工学. コロナ社, 1993.
- [76] S. A. Sheth, M. Nemoto, M. Guiou, M. Walker, N. Pouratian, N. Hageman, A. W. Toga. Columnar Specificity of Microvascular Oxygenation and Volume Responses: Implications for Functional Brain Mapping. The Journal of Neuroscience, 24 (3): 634-641, 2004.
- [77] S. Sheth, M. Nemoto, M. Guiou, M. Walker, N. Pouratian, A. W. Toga. Evaluation of coupling between optical intrinsic signals and neuronal activity in rat somatosensory cortex. NeuroImage 19: 884-894, 2003.
- [78] M. Nemoto, S. Sheth, M. Guiou, N. Pouratian, J. W. Y. Chen, A. W. Toga. Functional Signal- and Paradigm-Dependent Linear Relationships between Synaptic Activity and Hemodynamic Responses in Rat Somatosensory Cortex. The Journal of Neuroscience, 24 (15): 3850-386, 2004.
- [79] S. A. Sheth, M. Nemoto, M. Guiou, M. Walker, N. Pouratian, A. W. Toga. Linear and Nonlinear Relationships between Neuronal Activity, Oxygen Metabolism, and Hemodynamic Responses. Neuron, Vol. 42: 347-355, 2004.
- [80] S. Periaswamy, H. Farid. Medical Image Registration with Partial Data. Medical Image Analysis 10 (3): 452-464, 2006.
- [81] D. Skerl, B. Likar, F. Pernus. Evaluation of similarity measure for 2D/3D image registration. Proceedings of SPIE Medical Imaging 2006, Vol. 6144 61442F: 1-11, 2006.
- [82] D. L. G. Hill, P. G. Batchelor, M. Holden, D. J. Hawkes. Medical image registration. Physics in Medicine & Biology, Volume 46, Number 3: R1-45, 2001.
- [83] R. P. Woods, S. T. Grafton, C. J. Holmes, S. R. Cherry, J. C. Mazziotta. Automated Image Registration: I. General Methods and Intrasubject, Intramodality Validation. Journal of Computer Assisted Tomography 22 (1): 139-152, 1998.
- [84] R. P. Woods, S. T. Grafton, J. D. G. Watson, N. L. Sicotte, J. C. Mazziotta. Automated Image Registration: II. Intersubject Validation of Linear and Nonlinear Models. Journal of Computer Assisted Tomography 22 (1): 153-165, 1998.

- [85] N. Prakash, J. Theriot, S. Mitsuyama, S. A. Sheth, P. Sachdeva, C. Ramachandra, A. W. Toga. Spatiotemporal changes in oxy- and deoxy-hemoglobin evoked by forepaw and hindpaw stimulation in mouse somatosensory cortex visualized using full-field optical spectroscopy. Society for Neuroscience, Atlanta, Georgia, USA, October 2006.
- [86] N. Prakash, J. D. Biag, S. A. Sheth, S. Mitsuyama, J. Theriot, C. Ramachandra, A. W. Toga. Temporal profiles and 2-dimensional oxy-, deoxy-, and total-hemoglobin somatosensory maps in rat versus mouse cortex. *Neuroimage* 37 (Suppl 1): 27-36, 2007.

9. 本研究に関する業績

【原著論文】

- (1) N. Prakash, J. D. Biag, S. A. Sheth, S. Mitsuyama, J. Theriot, C. Ramachandra, A. W. Toga. Temporal profiles and 2-dimensional oxy-, deoxy-, and total-hemoglobin somatosensory maps in rat versus mouse cortex. *Neuroimage* 37 (Suppl): 27-36, 2007.
- (2) 光山訓, 本池順, 松尾仁司. フィードバック学習を用いた尿沈渣画像の適応的自動分類. 電子情報通信学会論文誌, VOL. J83-D-II, No. 1: 237-244, 2000.
- (2') S. Mitsuyama, J. Motoike, H. Matsuo. Adaptive Classification of Urinary Sediment Images using Feedback Training. *Systems and Computers in Japan*, Vol. 32, No. 2: 11-18, 2001. ※論文(2)の英文版

【総説】

- (1) 光山訓. 画像認識技術の医療への応用. *未来医学*, No. 16: 60-63, 2000.
- (2) Y. Kojima, I. Yamazaki, S. Mitsuyama. Model 6800 Automated Urinary Sediment Analyzer. *Hitachi Review*, Vol. 47, No. 1: 27-30, 1998.

【国際会議発表】

- (1) N. Prakash, J. Theriot, S. Mitsuyama, S. A. Sheth, P. Sachdeva, C. Ramachandra, A. W. Toga. Spatiotemporal changes in oxy- and deoxy-hemoglobin evoked by forepaw and hindpaw stimulation in mouse somatosensory cortex visualized using full-field optical spectroscopy. Society for Neuroscience, Atlanta, Georgia, USA, October 2006.
- (2) S. Mitsuyama, J. Motoike, H. Matsuo. An automated System for using Sediment Examination. 12th International Symposium on Technological Innovations in Laboratory Hematology, Kobe, Japan, September 1999.
- (3) S. Mitsuyama, J. Motoike, H. Matsuo. Automatic classification of Urinary sediment images by using a hierarchical modular neural network. SPIE's International Symposium on Medical Imaging, San Diego, USA, February 1999.
- (4) S. Mitsuyama, J. Motoike, H. Matsuo. Adaptive Classification of Untypical Urinary Sediment Images Using Feedback Learning. The Fifth International Conference on Neural Information Processing 1998, Kitakyushu, Japan, October 1998.

【国内学会発表】

- (1) 光山訓, 小島康明, 松尾仁司. 尿中赤血球画像の領域分割. 1999年電子情報通信学会総合大会, 横浜, 1999年3月.
- (2) 光山訓, 小島康明, 高橋勝幸, 松尾仁司. 尿中赤血球の形態分類による腎疾患検体の

自動検出. 第 37 回日本エム・イー学会大会, 倉敷, 1998 年 5 月.

- (3) 滝美樹, 光山訓, 松尾仁司, 斉藤トモ子, 高橋勝幸. 6800 形日立尿自動分析装置の変形赤血球フラグ機能. 第 47 回日本臨床衛生検査学会, 大阪, 1998 年 5 月.
- (4) 光山訓, 小島康明, 高橋勝幸, 松尾仁司. ニューラルネットワークを用いた尿中赤血球の形態分類. 1998 年電子情報通信学会総合大会, 平塚, 1998 年 03 月.
- (5) 光山訓, 本池順, 橋詰明英. 松尾仁司. 階層型ニューラルネットワークを用いた尿沈渣画像の自動分類. 1997 年電子情報通信学会システムソサエティ大会, 東京, 1997 年 9 月.
- (6) 滝美樹, 小島康明, 堀内秀之, 浅井英規, 三宅亮, 山崎功夫, 光山訓, 本池順. 6700 形日立尿自動分析装置の開発. 日本臨床検査自動化学会第 28 回大会, 幕張, 1996 年 8 月.
- (7) 光山訓, 本池順, 橋詰明英, 大和田伯男. 尿沈渣画像における無染色細胞の領域分割法. 1996 年電子情報通信学会総合大会, 東京, 1996 年 3 月.
- (8) 本池順, 光山訓, 橋詰明英, 大和田伯男. 色彩情報を用いた尿沈渣画像領域分割法. 1996 年電子情報通信学会総合大会, 東京, 1996 年 3 月.

【特許】

- (1) 光山訓, 松尾仁司. 粒子画像領域分割方法. 日本, P04061760, 1999 年 1 月 14 日.
- (2) 光山訓, 本池順, 松尾仁司, 小島康明. パターン認識装置及びパターン認識方法. 日本, P03445799, 1996 年 12 月 25 日.
- (3) 光山訓, 本池順, 松尾仁司, 小島康明. パターン認識装置及びパターン認識方法. アメリカ, P06549661, 1996 年 12 月 25 日.
- (4) 光山訓, 本池順, 大和田伯男, 小島康明. パターン認識装置. ドイツ, P19639884, 1996 年 9 月 27 日.
- (5) 光山訓, 本池順, 大和田伯男, 小島康明. パターン認識装置. アメリカ, P05911002, 1996 年 9 月 18 日.
- (6) 光山訓, 本池順, 橋詰明英. 粒子画像領域分割方法. アメリカ, P05768412, 1995 年 9 月 1 日.
- (7) 光山訓, 本池順, 橋詰明英. 粒子画像の領域分割方法及び装置. 日本, P03653804, 1995 年 7 月 7 日.