

オプティカルフローを用いた無染色標本の核位置抽出

高野 将[†] 米谷 夢花[†]
† 芝浦工業大学

中野 雅行^{††} 高橋 正信[†]
†† 湘南藤沢徳洲会病院

1. 背景・目的

病理組織診断の画像解析では、通常は HE 染色標本が利用される。しかし、施設や染色条件により染色度合いが異なったり、染色ムラや退色の問題がある。また、光の吸収が大きい厚い標本を解析できない。そこで、染色していない標本(無染色標本)の画像解析について検討している。

病理画像の解析においては核の抽出が重要である。無染色標本画像中の核の抽出に関しては、HE 染色標本向けの手法により輪郭の比較的是っきりした核が抽出可能であることを明らかにした[1]。しかし、切れ端の核や輪郭が途切れたような核(図 4 赤丸)の抽出が難しい問題があった。そうした抽出困難な核の抽出手法として、ピント位置を変えた際の画像の変化を利用する手法について新たに検討した。

2. 核抽出手法

2.1 手法の概要

無染色標本の暗視野観察時にピント位置を変えると、細胞核の像が円形に拡大あるいは縮小する現象(図 1)が観察された。この現象は核が球体であるために生じ、縮小するか拡大するかは核の切断位置(上部か下部か)に依存すると考えている。この現象を核抽出に利用できるのではと考えた。例えば、像が縮小する場合、オプティカルフロー(図 2)は中心方向に向かうため、フローの集中する位置を核位置として抽出する。具体的には、ピントをずらしながら標本を連続撮像した画像群を用い、①画像の組を用いてフローを算出、②複数の画像のフローを積算、③フロー集約位置を核位置として抽出、④核位置を合成、という手順で抽出する。

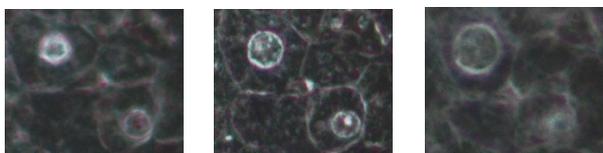


図 1 ピント位置による暗視野画像の変化



図 2 オプティカルフロー

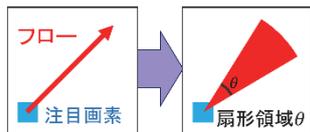


図 3 フロー加算領域

2.2 フロー積算強度算出

- ① n 番目の画像対し、前後 dn 番目の 2 枚の画像の差分から x, y 方向の輝度勾配(dl_x, dl_y)を算出。
- ② 輝度勾配からフローの向きと大きさを算出。細胞核は真円とは限らずフローが一点に集約しない場合もある。そこ

で大きさが一定値以上のフローについてフローの向きに応じた扇形領域内のフロー強度を加算(図 3)。

- ③ 各画像位置で算出したフロー強度を複数枚で積算したものをフロー積算強度とする。

2.3 核位置抽出

フロー積算強度から以下の手順でフローが集まる位置を抽出した後、誤抽出を削除して核位置とする。

- ① 2 次元ガウス分布をテンプレートとした正規化相互相関を求め、フローの集まる位置を強調。
- ② ①の結果に対し 2 次元ガウス分布の中心部をテンプレートとしたゼロ平均正規化相互相関を算出。この手順は、ピークを強調し、近接したピークを分離する効果がある。
- ③ ②の結果を 2 値化し、領域の重心を抽出。
- ④ 全フローを積算したフロー積算強度を求め、重心位置を中心とした小領域内のフロー積算強度の平均を算出。その値が一定値以下の重心を誤抽出として削除。
- ⑤ 明るい小物体も誤抽出されやすいため、ピントの合う位置の画像を 2 値化、膨張して小物体を抽出。その位置にある重心を削除。
- ⑥ 像は縮小だけではなく拡大する場合もあるため(図 1)、以上の処理を画像群の逆順でも行った結果を求めて合成。

3. 実験

実験には厚さ $3 \mu\text{m}$ の肝組織の無染色標本を $0.1 \mu\text{m}$ 間隔で撮影した 200 枚の画像群を用いた(画像サイズ 1600×1200 , レンズ $\times 40$, $0.18 \mu\text{m}/\text{画素}$)。フロー強度は $dn=5$, 積算枚数を 10 枚として算出した。抽出精度は、再現率と適合率のバランスが良い条件では、再現率 68.1%, 適合率 72.3% となった。切れ端の小さな核も抽出対象としたため精度は 7 割程度となったが、それでも輪郭が途切れた核や切れ端の核(図 4 赤丸)など、従来手法で抽出できなかった多くの核を抽出できた。また、パラメータを変えることで再現率を 97.1% にすることもでき、核の可能性の高いものを抽出するのに従来手法より適していることがわかった。

今後の課題としては、形状特徴などを利用した誤抽出の低減が挙げられる。また、核切断位置の判別など、フローを利用した新たな画像解析にも取り組みたい。

[参考文献]

- [1] 牛川卓弥, 他: “無染色肝病理組織標本の画像解析”, 第 13 回情報科学技術フォーラム, G-010, 2014.

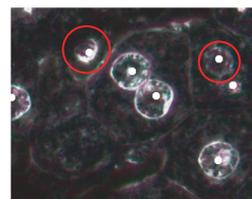


図 4 抽出結果例
(白点: 核位置)