

G-004

細胞診断のための細胞核画像の輪郭複雑度による定量的評価法の検討
 A study of a quantitative evaluation method by contour complexity of the nucleus image
 for cancer cell diagnosis

大貫 泰佳[†] 小林 直樹[†] 駒形 英樹[†] 市村 隆也[‡] 後藤 義也[‡] 清水 道生[‡]
 Yasuka Ohnuki Naoki Kobayashi Hideki Komagata Takaya Ichimura Yoshiya Gotoh Michio Shimizu

1. はじめに

病理診断において採取した細胞診検体を顕微鏡観察し異常細胞等を検出する細胞診断は、病変の有無などを確定するために重要な役割を担っている。現在、細胞診断は病理専門医が経験に基づく診断基準により行われているが、デジタル画像処理技術を使用した定量的な評価法により細胞診断の補助をすることが期待されている。本検討では細胞核の形態特性に加えて、細胞核のクロマチン構造に着目した新たな数値化指標を提案し、その有効性の検討を行った。

2. 定量的評価指標

2.1 細胞核の外形の形態特性解析による指標

細胞核の形態的指標として、従来から利用されている面積、周囲長、長径、短径、凸包面積、凸包周囲長、円弧度を求める^[1]。解析では、大津の方法により求めた閾値で 2 値化した細胞核画像を用い 2 値化画像から輪郭を抽出し、上記指標を求めた。ここで、凸包面積、凸包周囲長とは、2 次元の点群を包み込む多角形の面積および周囲長のことである。

2.2 細胞核のクロマチン分布の特性解析による指標

2.2.1 従来の輪郭複雑度 (contour complexity : CC 値)

従来法^[2]では、0~255 のすべての閾値における細胞核の輪郭の周囲長を求めている。横軸を 2 値化する閾値、縦軸を正規化した周囲長としたグラフを作成し、正規化した周囲長の値が 1 を超えたグラフの面積を CC 値として算出する。悪性細胞は、正常細胞と比べるとクロマチン分布が複雑となり、輪郭の周囲長が長くなるため、CC 値が大きくなる。

2.2.2 凸包比を用いた輪郭複雑度

CC 値に加え、輪郭複雑度として新たな指標：凸包複雑度を提案する。細胞核の輪郭の周囲長を P 、凸包周囲長を C_p とすると凸包比は P/C_p で求められる。この凸包比を、すべての閾値における細胞核の輪郭で求める。この凸包比が大きいほど輪郭が局所的に複雑になっているといえる。例として、図 1 に正常の細胞核画像の凸包比を用いた解析例、図 2 に扁平上皮癌の細胞核画像の凸包比を用いた解析例を示す。グラフの横軸は 2 値化するときの閾値、縦軸が凸包比である。凸包比が大きいほど細胞核内のクロマチン分布が複雑となる。そこで、凸包比が 1.2 以上となった閾値の頻度 (L_1) を算出する。さらにグラフをみると、正常細胞と扁平上皮癌での山の広がり方に差があることが分かる。そこで、凸包比の最大値を M 、細胞核外形の輪郭の凸

包比を m とすると、 $M-m$ がグラフの山の高さになり、山の下から 20% の高さのときの山の幅の長さ (L_2) を算出することで、山の広がり方の差を求めることができる。

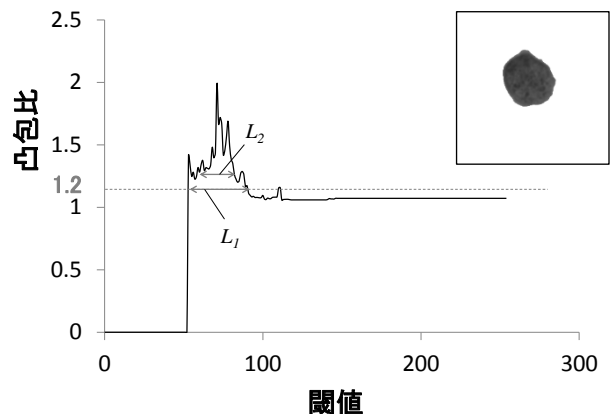


図 1 凸包比を用いた解析例 (正常細胞)

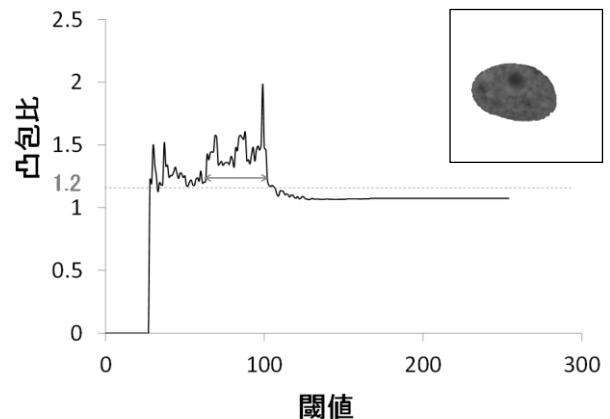


図 2 凸包比を用いた解析例 (扁平上皮癌)

3. 評価実験

細胞学的な診断基準が最も明確化されている、子宮頸部からの細胞診検体 (扁平上皮系細胞) を使用した。染色法はパバニコロウ染色である。そのデジタル画像を Cooled CCD カメラ (Carl Zeiss AXIO imagerA1) および画像取得プログラム (AXIO Cam MRm Rev.3) を用い、1000 倍の倍率で取得した。正常細胞 46 枚、化生細胞 27 枚、再生細胞 19 枚、上皮内癌 84 枚、扁平上皮癌 34 枚の病理医教育などで用いられている典型的な細胞核画像を使用した。

[†] 埼玉医科大学大学院医学研究科

Saitama Medical University Graduate School of Medicine

[‡] 埼玉医科大学国際医療センター

Saitama Medical University International Medical Center

4. 解析結果

4.1 細胞核の外形に関する形態特性解析結果

2章で述べた方法で、細胞核の外形に関する形態特性解析を行った。正常細胞、化生細胞、再生細胞、上皮内癌、扁平上皮癌それぞれにおいて、面積、周囲長、長径、短径、凸包面積、凸包周囲長、円形度を求めた。統計処理として、Student t-test を行ったが、長径、短径、円形度では各細胞間での有意な差は認められなかった。一方、面積の解析では図3に示す結果となり、特に正常細胞は他細胞との有意な差が認められ、区別することが可能であることが示唆された。また、周囲長、凸包面積、凸包周囲長においても同様の結果が得られた。

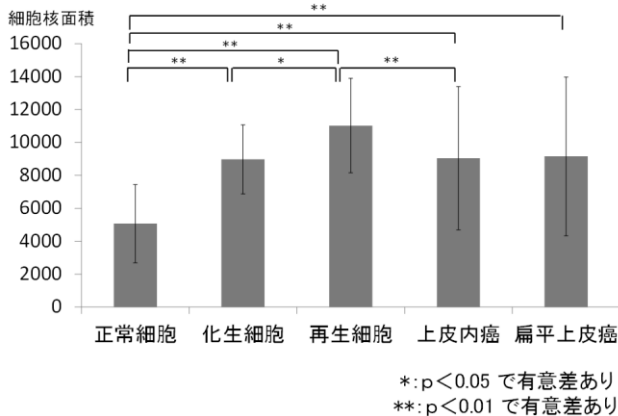


図3 各細胞の細胞核面積の平均と標準偏差

4.2 細胞核のクロマチン分布の特性解析結果

図4は従来のCC値の解析結果である。正常細胞、化生細胞が他細胞と優位な差が認められた、図5は凸包比の山の高さが20%のときの山の幅(L_2)を各細胞に対して算出したときの平均値と標準偏差である。こちらは扁平上皮癌の細胞のみ高値を示し、他の細胞間で有意差があった。図6は凸包比が1.2以上の頻度(L_1)を各細胞に対して算出したときの平均値と標準偏差である。ほとんどの細胞間で有意差が認められたが、正常細胞と化生細胞、上皮内癌と扁平上皮癌での有意な差は認められなかった。

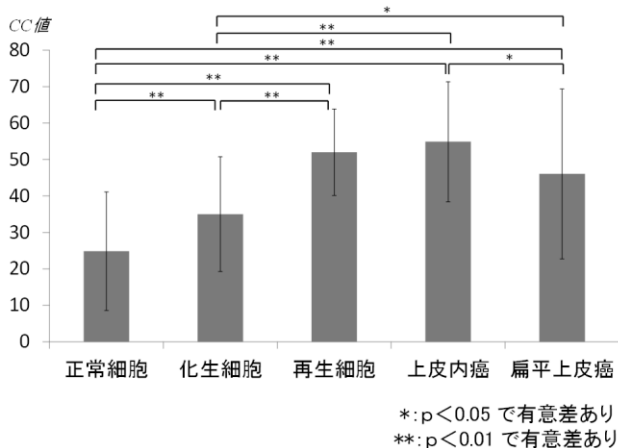


図4 各細胞のCC値の平均と標準偏差

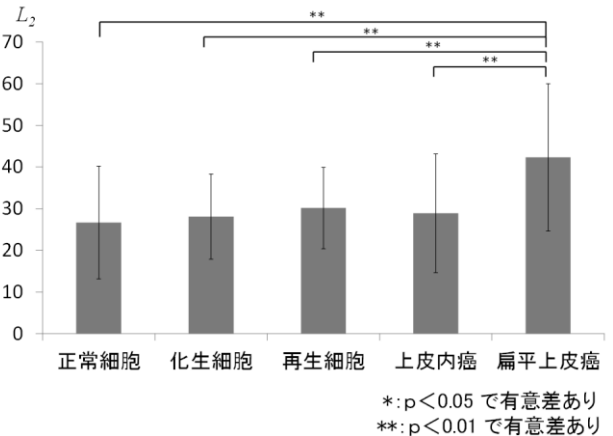


図5 山の高さ20%のときの幅(L_2)の平均と標準偏差

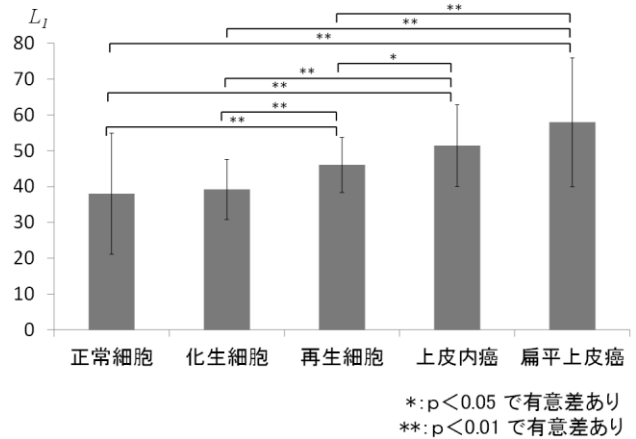


図6 凸包比1.2以上の頻度(L_1)の平均と標準偏差

5. 考察

細胞核の外形に関する形態特性解析だけでは細胞を区別することは難しく、細胞核のクロマチン分布の特性を解析し、CC値や提案した凸包複雑度などの評価法を用いることで細胞を分類できる可能性があることが示唆された。さらに、様々な評価法を組み合わせることで、より正確に細胞の区別ができるようになると思われる。

6. まとめ

細胞診断の定量的な補助を目指し、デジタル画像処理技術を使用して、細胞核画像を用いて評価法の検討を行った。クロマチン構造に着目し、従来法に加え、新しく凸包複雑度を用いた複雑度の評価法の提案をした。凸包比のみでの評価法では細胞の分類は困難であるが、様々な評価法を組み合わせることで細胞の分類ができるようになると思われる。

参考文献

- [1] 村田晋一, 久保速三, 糸井啓純, 小西英一, 浦田洋二, 芦原司, "定量的組織細胞化学のための画像解析の基本的技術", 組織細胞化学 1993, 東京, 学際企画, p 126-139, 1993.
- [2] Tomoharu Kiyuna, Akira Saito, Elizabeth Kerr, Wendy Bickmore, "Characterization of chromatin texture by contour complexity for cancer cell classification", BIBE, 2008, pp.1-6.