

CNNによるTEM画像からのウイルス検出

佐藤貴亮* 伊藤 栄祐* 佐野大輔† 宇田川悦子‡ 加藤毅* § ¶
 Takaaki Sato Eisuke Ito Daisuke Sano Etsuko Utagawa Tsuyoshi Kato

1. まえがき

透過型電子顕微鏡 (Transmission electron microscope, TEM) を使ったウイルス解析は、標本の準備と画像化において、組織免疫学的な手法よりも高速であることから、網羅的ウイルス検出のための標準的なツールとして位置付けられている。しかし、画像の解析は今日でも専門家の視認に頼っており、多くの時間を要する。というも、取得された画像スライスは、典型的には高々数個のウイルス粒子しか含有しないが、それらの画像サイズと枚数は大規模になりがちである。そのような膨大な画像群から、ウイルス粒子を特定しようとすると、TEM画像に関する知識を持ち、かつウイルスの形態学に精通している必要がある。しかしながら、両者を兼ね備えた専門家の数は多くはない。自動画像解析が実現できれば、専門家の目視に頼らずに、高速かつ正確な診断が実現できる。

自動ウイルス検出の画像解析法はまだあまり多くの研究がないのが現状である。既存の方法には、相関係数によるテンプレートマッチング法 (CPM) [2], Radial Density Profile 法 (RDP) [1], Spectral Ring 法 (SR) [3] などがある。これらを含め、TEM画像からウイルス粒子を検出する既存の方法は、筆者らの知る限りすべて、手で記述子を設計しており、偽陽性が多かった。また、方法によっては、後処理として多くのフィルタや条件を重ねて偽陽性を減らそうとするものがあったが、そのために方法論に統一性を失い、複雑化してしまっていた。

本研究では、end-to-end に統一的な枠組みでウイルス検出ができる新たな手法を開発した。それは、全畳み込みネットワーク (fully convolutional network, FCN) に基づくもので、TEM画像からのウイルス粒子の検出タスクにおいて、既存の方法では記述子の設計と多くの後処理を行う必要であったのに対して検出能力を自動で獲得し、かつ、検出性能を劇的に向上させるものとなった。

2. FCN (Fully Convolutional Network)

本研究の開発した手法のタスクは、図1(a)のようなTEM画像から図1(b)のようにウイルスを抽出することである。本手法の特徴は、標本から学習することで記述子を自動設計する点が既存の方法と比較して大きく異なる点である。

予測フェーズ。図2に示すようなシンプルな構造を持つ畳み込みネットワークを介して記述子が計算される。

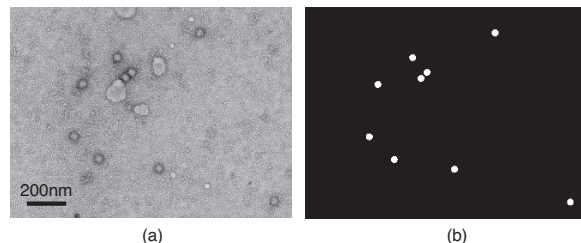


図1: The problem settings of our study. (a) Input image (grayscale), (b) Ground truth manually annotated by human-experts (binary).

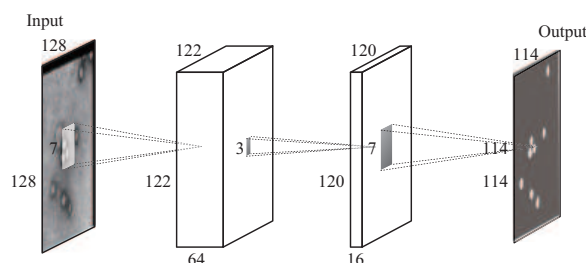


図2: Proposed fully convolutional network structure.

入力画像サイズは 128×128 画素、3層の畳み込み層をもつ。フィルタサイズは 7×7 , 3×3 , 7×7 であり、畳み込みネットワークの各層には出力関数としてシグモイド関数が与えられている。各画素の記述子は $16 \times 7 \times 7$ のテンソルで表現され、畳み込みネットワークにおける第2層の出力から得られる。この記述子を線形識別器にかけてえられる予測スコアの符号で、その画素がウイルス上の画素かどうかを予測する。

訓練フェーズ。特徴抽出器のパラメータと線形識別器の回帰係数の値は標本からの学習によって決定する。学習は、訓練用画像における各画素の事後クラス確率の対数の和から構成される尤度関数の値が最大になるように行われる。最終層の出力関数もシグモイド関数を用いているので目的関数の最大化はロジスティック回帰を行っていることになるが、特徴抽出器のパラメータも同時に最適化している点が、通常のロジスティック回帰とは異なる。線形識別器のみならず、特徴抽出器も判別的にチューニングされることになり、よって、これまでのウイルス検出では試行錯誤的に設計されてきた記述子では達成できなかった精度を獲得することができた。目的関数の最大化には確率的勾配上昇法を用いた。

昨今では、構造の深層化に伴ってデータ拡張 (data augmentation) の重要性に対する認識が深まっている。これは深層化によるモデルの自由度の増加が過学習の

*群馬大学大学院理工学府

†東北大学大学院工学研究科

‡北里生命科学研究所

§群馬大学次世代モビリティ社会実装センター (CRANTS)

¶早稲田大学規範科学総合研究所 (IIRS)

危険性を増大させたからに他ならない。本研究で用いる構造は比較的浅いが、回転不変性を獲得するため、またデータセットが小規模であることによる過学習を防ぐためにデータ拡張を使用した。本研究では、現画像に加えて、 $-\pi/2, \pi, \pi/2$ 回転させたもの、それらをそれぞれ鏡面変換したものを訓練用集合に加えた。

3. 実験

データセット. 本手法の性能評価のため 35 枚の TEM 画像を取得した。それらはネコカリシウイルスの 4 個の標本を陰性染色し、100kV の加速電圧を持つ Hitachi 7600 透過型電子顕微鏡を使って撮像したものである。各画像は $3,294 \times 2,461$ 画素の大きさとなるが、これを $1/10$ に縮小したものを使った。入力画像におけるネコカリシウイルスの大きさは、およそ直径 8.5 画素ほどになる。実験では、まず、35 枚のうち無作為に 18 枚を訓練用、残りの 17 枚をテスト用に分割した。次に、前述したデータ拡張を行い、それぞれ 8 倍に増やしたデータについて、提案モデルの訓練を行い、検出性能を評価した。この手順を 3 回繰り返し行った。

実装の詳細. 本手法の実装には Keras ライブラリを使用し、バックエンドには TensorFlow を選択した。確率的勾配上昇法におけるステップサイズは RMSprop 法で自動調整させた。訓練には、Intel Core i7 CPU, NVIDIA TITAN X GPU (12GB) および 32GB メモリを搭載した計算機を使用した。出力層から得られる確率マップにおいて、 $1/2$ 以上の確率を持つ画素をウイルス上の点として検出した。この方法を **FCN** とする。さらに、20 画素未満の面積をもつセグメント群を除いたもののみ検出結果とする方法を **FCN+** とする。これらを 3 種類の既存の方法 **CPM** [2], **RDP** [1], **SR** [3] と比較した。

性能評価の結果. 表 1 は 3 回の繰り返しにおける精度、再現率、F-Score の平均値および標準偏差を示す。これらの評価値は真陽性数、偽陽性数、偽陰性数に依存する。真陽性は正しく検出されたウイルス粒子、偽陽性は誤って検出されたウイルス粒子、偽陰性は検出漏れとなったウイルス粒子である。提案法は、既存のいずれの方法より顕著に高い検出性能を示した。ウイルス検出の文脈では偽陰性はなるべく少ないほうが好まれる。FCN は偽陰性ゼロを達成する一方、FCN+ は偽陽性をも減らし、F-score は 0.999 にも達した。このように、提案法は、既存の方法を遥かに凌駕する検出性能を達成した。

4. 考察

本研究では TEM 画像からウイルスを検出するタスクに畳み込みネットワークを導入した。ネコカリシウイルスを含む TEM 画像を使って、評価実験を行ったところ、既存の方法を遥かに凌ぐ検出性能を得ることができた。その所以の一つは、記述子設計の自動化に因るところが大きいと考えられる。記述子設計の自動化は、これまでの TEM 画像からのウイルス検出手法

表 1: Evaluation of detection performances in TEM images. The averages and standard deviations over 3 times hold-out validation.

Method	Detection Score		
	Precision	Recall	F-score
CPM [2]	0.979± 0.02	0.984± 0.01	0.982± 0.01
RDP [1]	0.908± 0.04	0.950± 0.01	0.928± 0.01
SR [3]	0.770± 0.03	0.775± 0.03	0.772± 0.03
FCN	0.879± 0.05	1.000± 0.00	0.935± 0.03
FCN+	1.000± 0.00	0.997± 0.01	0.999± 0.00

には無かったことで、ネコカリシウイルスに限らず、多種多様な形状を持つウイルスにも自動的に適応して特徴抽出器を形成できると期待できる。

一方で、ウイルス検出以外の一般の画像解析の分野では、畳み込みネットワーク自体は広く使われており、特徴の自動設計という点も目新しいものではない。一般の画像解析において深層畳み込み構造が世界中の研究者を魅了せしめたのは、やはりビッグデータの到来に起因するといえよう。深層畳み込みネットワークにおける自由度は膨大である。ゆえに、巨大な記憶容量を備えた高性能な GPU を要し、そのうえ、大量の訓練用画像を用いた学習に伴う計算量は膨大である。

これに対して、本研究における状況はやや異なる。データセットが小規模のため、比較的短時間の訓練が可能になり、安価の GPU でも十分学習できる。データセットの規模の小ささが引き起こす過学習はネットワークを浅くすることで回避した。

ネットワークの深層化に伴う技術的問題の一つが誤差関数の勾配の消失であった。構造が深い場合、活性化関数に ReLU を用いるなどして、勾配消失を回避する必要がある。しかし、本研究で用いたネットワーク構造は浅いため、勾配の消失が問題となることはなかった。

今回の報告では、ネコカリシウイルス画像のみを取得して評価実験を行ったが、今後は対象となるウイルスの種類を増やして、提案法の評価と改良を行う予定である。対象とするウイルスを多様化させると、特徴抽出器の表現力増強の必要性が予想される。現段階では構造が浅いため、昨今の深層学習の研究で開発された様々な技法は必要なかったが、深層化が必要となった際はそれら新技法の導入を検討する予定である。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 26249075, 40401236 の助成を受けたものである。

参考文献

- [1] Gustaf Kylberg, Mats Uppström, and Ida-Maria Sintorn. *Virus Texture Analysis Using Local Binary Patterns and Radial Density Profiles*, pages 573–580. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011.
- [2] Ioana M. Boier Martin, Dan C. Marinescu, Robert E. Lynch, and Timothy S. Baker. Identification of spherical virus particles in digitized images of entire electron micrographs. *Journal of Structural Biology*, 120(2):146 – 157, 1997.
- [3] B. J. Matuszewski and L. K. Shark. Hierarchical iterative bayesian approach to automatic recognition of biological viruses in electron microscope images. In *Proceedings 2001 International Conference on Image Processing*, pages 347–350, vol. 2. IEEE, 2001.