

生体媒質のモンテカルロシミュレーションに基づく分化型早期胃癌の反射スペクトル解析

五十嵐 誠^{*1}・後野 和弘^{*1,*3}・小尾 高史^{*1}・山口 雅浩^{*1}・大山 永昭^{*2}・小林 正彦^{*4}
佐野 寧^{*5}・吉田 茂昭^{*5}

^{*1} 東京工業大学像情報工学研究施設 〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259

^{*2} 東京工業大学フロンティア 〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259

^{*3} オリパス株式会社 〒192-8507 八王子市石川町 2951

^{*4} 自衛隊中央病院内科 〒154-0001 東京都世田谷区池尻 1-2-24

^{*5} 国立がんセンター東病院内視鏡部 〒277-8577 柏市柏の葉 6-5-1

Analysis of Reflected Spectra from Differentiated Type Early Gastric Adenocarcinoma Based on Monte Carlo Simulations for a Biological Medium

Makoto IGARASHI^{*1}, Kazuhiro GONO^{*1,*3}, Takashi OBI^{*1}, Masahiro YAMAGUCHI^{*1}, Nagaaki OHYAMA^{*2}, Masahiko KOBAYASHI^{*4}, Yasushi SANO^{*5} and Shigeaki YOSHIDA^{*5}

^{*1} Imaging Science and Engineering Laboratory, Tokyo Institute of Technology, 4259 Nagatsuta, Midori-ku, Yokohama 226-8503

^{*2} Frontier Collaborative Research Center, Tokyo Institute of Technology, 4259 Nagatsuta, Midori-ku, Yokohama 226-8503

^{*3} Product Development Department, Endoscope Division, Olympus Co., 2951 Ishikawa-cho, Hachioji 192-8507

^{*4} Department of Internal Medicine, Self-Defense Force Central Hospital, 1-2-24 Ikejiri, Setagaya-ku, Tokyo 154-0001

^{*5} Digestive Endoscopy Division National Cancer Hospital East 6-5-1, Kashiwanoha, Kashiwa, 277-8577

In this paper, we demonstrate the relationship between the measured spectra and histopathological features for different differentiated type adenocarcinoma. First, the linear discriminant function, based on Foley-Sammon transform, by measured spectra from gastric mucosa can discriminate between well differentiated type adenocarcinoma and moderately differentiated type adenocarcinoma. Next digital tissue phantom by the light propagation model which incorporates Mie phase function with Monte Carlo (MC) method indicate that the feature differences between well and moderately differentiated type adenocarcinoma may be derived from the variation for nemoglobin molar concentration and average values of nuclear size distribution.

Key words: Monte Carlo method, Mie theory, Foley-Sammon transform, principal component analysis, differentiated type adenocarcinoma, reflected spectra

1. はじめに

内視鏡診断は、モニター上に映し出される粘膜像の色調変化やテクスチャーパターンを内視鏡医が観察することにより行われる。一方、腫瘍の早期発見や診断の精度向上のためには、生体粘膜の色と腫瘍部の病態との詳細な関係を知ることが必要である。しかしながら、現時点では、これ

らの定量的な関連性は十分に明らかにされていない。近年、組織性状を非侵襲かつ迅速に診断することが可能な光学的生検技術 (optical biopsy) が注目されており、生体粘膜の物理構造をモデル化することにより、腫瘍の病理組織学的特徴 (細胞核腫大, 血管新生の度合い等) とそれから得られるスペクトルを関連づける研究が多数行

われている。Backman ら¹⁾は、大腸粘膜の表層付近の偏光依存の後方散乱光を計測し、これを用いて大腸の上皮組織内部の細胞核の粒径分布推定を行った。しかし、偏光光学系はその構成が複雑であることや、偏光スペクトル自体の強度が非常に微弱であるため高感度な検出素子が必要となる等、臨床応用を考えた場合には実装面での課題がある。本研究では、偏光を使用せず、臨床応用が比較的容易で、内視鏡画像への適用が可能な経内視鏡的分光測光システム^{2,3)} (ESS: endoscopic spectroscopy system) を用いて検討を行う。これまでに、ESS を用いて取得した胃粘膜や大腸粘膜のスペクトル解析が行われており、正常部と病変部の分離は良好に行えることが示されている²⁻⁴⁾。さらに、表面陥凹型の早期胃癌の分化度^{5,6)} (病変部の悪性度を表す指標) と反射スペクトルとの関係を Foley-Sammon (FS) 変換⁷⁾ により計算される識別関数を用いて調査した結果、分化度の違いをスペクトルから鑑別できる可能性が示唆されている⁸⁾。しかし、従来研究では、生体粘膜の反射スペクトルと測定対象の病理組織学的特徴 (細胞核腫大、細胞構造の乱れ、血管新生等) との対応がとれていないため、識別関数の物理的な意味づけが困難であった。

本論文では、早期胃癌の分化度に関する病理組織学的特徴を、ESS により測定された胃粘膜の反射スペクトルから抽出することを目的として、分化型早期胃癌から得られるスペクトル、および、胃粘膜を模擬したデジタルファントムに対してモンテカルロ (MC) シミュレーションを行って得られるスペクトルを用いた分光解析を行った。まず、実測のスペクトルに対する統計解析により、分化度の違いがスペクトル形状の違いとして得られていることを確認した。次に、分化度の違いを表す病理組織学的特徴と実測のスペクトルとの関係を明らかにするために、分化度による組織構造の特徴としてヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径に注目し、これらの物理量を変化させた MC シミュレーションによりスペクトルを計算した。シミュレーションデータと実測データを直接比較してヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径を求めることは困難であったため、統計解析により、これらの組織構造と関係する特徴空間を

求める。特徴空間は、ヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径を変化させて MC シミュレーションを行い、得られたスペクトルに対して FS 変換手法を適用して求めた線形識別関数から算出する。そして、求めた特徴空間にシミュレーションデータと実測データを投影することによって、分化度の違いによるスペクトルの変化を、ヘモグロビン濃度や細胞核の平均粒径の変化と関係づけることの可能性を示した。

2. 消化管粘膜の反射スペクトル測定

胃粘膜および大腸粘膜の反射スペクトルは、ESS により内視鏡検査中に測定することが可能である。ESS は電子内視鏡システムと分光測定システムにより構成されており、内視鏡観察用の光源はキセノン光、分光測定用の光源には、出力の安定性やその分光特性を考慮してハロゲン光が使用されている。実際の反射スペクトル測定は、電子内視鏡の鉗子チャネルに分光測定用のオプティカルファイバー (直径約 2 mm, NA=0.22) を挿通し、粘膜とファイバー先端部を接触させずに数 mm 程度離して行われる。分光測定用のオプティカルファイバーの断面構造は、中心に直径約 1 mm の照明用ファイバーバンドル、そのまわりに内径 0.5 mm, 外径 1.0 mm のドーナツ状の受光用ファイバーバンドルで構成されている^{2,3)}。

ESS により取得される生体粘膜の反射スペクトル $f(\lambda)$ は式 (1) で計算される。

$$f(\lambda) = \frac{S_{\text{issue}}(\lambda) - D(\lambda)}{S_{\text{ref}}(\lambda) - D(\lambda)} \quad (1)$$

$S_{\text{issue}}(\lambda)$, $S_{\text{ref}}(\lambda)$ はそれぞれ生体粘膜、白色リファレンスのスペクトル強度、 $D(\lambda)$ は分光器のフォトダイオードに流れる暗電流、 λ は波長を表す。本論文では、面積が 1 に正規化された反射スペクトルを、450~700 nm の波長帯域において 10 nm 間隔で離散化された 26 次元列ベクトルとして扱い、 $\mathbf{f}_{\text{norm.}} = [f(\lambda_1), f(\lambda_2), \dots, f(\lambda_{26})]^t$ と記述する ($[\]^t$ は転置を表す)。

現在まで ESS により 719 データの胃粘膜の反射スペクトルが測定されており、おもな測定対象は正常粘膜、潰瘍、早期癌、進行癌等である。今回対象とする分化型早期胃癌の反射スペクトルデータは上記 719 データ中に含まれており、高分化型腺癌 (well differentiated type adenocarcinoma), 中分化型腺癌 (moderately differentiated type adenocarcinoma), 低分化型腺癌 (poorly differentiated type adenocarcinoma) の 3 種類である。ただし、低分化型腺癌は患者数が 1 名ときわめて少ないため解析に使用しないことにし、本論文では、高分化型腺癌と中分化型腺癌

Table 1 Number of spectral data and patients for each differentiated type adenocarcinoma.

	Number of spectral data	Number of patients
Well differentiated type adenocarcinoma	18	5
Moderately differentiated type adenocarcinoma	6	3
Poorly differentiated type adenocarcinoma	5	1

を対象とする。Table 1に、各分化型に対するスペクトルデータ数と患者数をまとめた。一般に、高分化型腺癌から低分化型腺癌への組織学的変化は、癌の悪性度が増す方向を表している。全719個の胃粘膜の反射スペクトルは、4章における主成分分析のみに使用する。

3. 光伝播モデルに基づく早期胃癌の反射スペクトルシミュレーション

3.1 MMCシミュレーション

胃粘膜内部の光伝播計算にはMC法を採用する。MC計算には、Wangら⁹⁾により開発されたプログラムを改造して使用した。まず、媒質内部に存在する微小散乱球体(以下、散乱体)の粒径と屈折率から、媒質内の散乱係数や位相関数をミー理論により計算する。位相関数としては、従来からHenyey-Greenstein位相関数¹⁰⁾が使われることが多いが、生体内の光散乱においてはミー理論から求めた位相関数が実測値との適合性がよいことが報告されている¹¹⁻¹³⁾ことから、本研究ではミー位相関数を用いることとする。次に、これら光散乱特性とヘモグロビン濃度や媒質の厚み等のパラメーターを用いてMC計算を行うことで、媒質からの反射スペクトルを計算する。Fig. 1にスペクトルの計算フローを示す(以下、MMC(MC method using Mie phase function)モデルと呼ぶ)。MMCモデルは、散乱体の粒径やヘモグロビン濃度等の腫瘍の悪性度に関連する物理パラメーターと反射スペクトルを対応づけることが可能である。なお、本モデルは、ポリスチレン微小粒子を含む水溶液中の光伝播モデルとして成立することがMourantらにより示されている^{11,12)}。

MMCモデル計算で使用した物理パラメーターのリストをTable 2に示す。生体粘膜内には細胞核(一般に、正常核3~7 μm 、癌化した核はそれ以上に腫大)とミトコンドリア(大きさはおよそ0.5~1.5 μm)が存在すると考

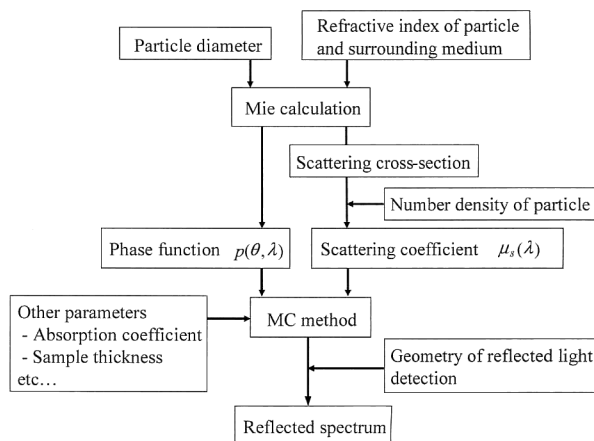


Fig. 1 Flow of MMC calculation.

え、散乱体の粒径分布を二峰性としてモデル化した¹³⁾。シミュレーションにおいて変化させるパラメーターは、細胞核サイズをもつ散乱体の粒径分布の平均粒径、標準偏差、数密度、ヘモグロビン色素のモル濃度とした。本論文では、腫瘍の悪性度の違いを細胞核の平均粒径とヘモグロビン濃度により表現する。

次に、MMCモデルのシミュレーション条件について説明する。生体内におけるスペクトル測定の幾何学的条件は測定ごとにさまざまであるため、これらを計算機上で正確に再現することは不可能であるが、本論文ではシミュレーション条件を下記のように仮定してスペクトル計算を行った。まず、媒質へ入射される光はガウス形状、その半径(光のエネルギーが $1/e^2$ になる位置をビーム中心から測ったときの距離)を0.5 mmと設定し、鉛直方向から入射するものとした。さらに、実際のオプティカルファイバーの断面構造を考慮して、光子入射点から内径0.5 mm、外径1.0 mmの円環状の領域より、媒質の法線方向に対して角度0~2度で媒質から射出する光子を検出するものとした(Fig. 2)。これは、計算機シミュレーションではオ

Table 2 Parameters list in MMC calculations.

Fixed parameters in each MMC calculations	
Thickness of medium (cm)	0.1
Number of layers	1
Refractive index of scatterer/surrounding medium	1.4/1.37
Oxygen saturation	0.6
Number density of organelles size particles (cm^{-3})	20×10^9
Average and standard deviation of organelles' particle size distribution (μm)	1.0/0.1
Photon number in each MMC calculation	10000000
Variable parameters in each MMC calculations	
Average of nuclear particle size distribution (μm)	3.5-11.0 (0.5 μm step)
Standard deviation of nuclear particle size distribution (μm)	1.0, 1.3, 1.6
Number density of nuclear size particles (cm^{-3})	0.25, 0.5, 1.0, 2.0 ($\times 10^9$)
Hemoglobin concentration (mol/L)	5.70×10^{-6} - 1.14×10^{-4} (11 varieties)

Upper table shows the fixed parameter list and variable parameters are shown in lower side.

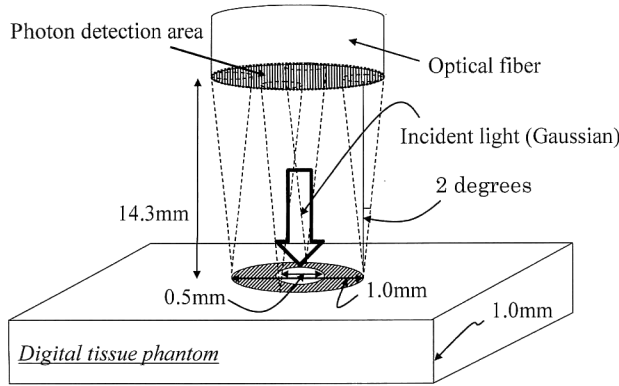


Fig. 2 Simulation geometry in MMC calculations.

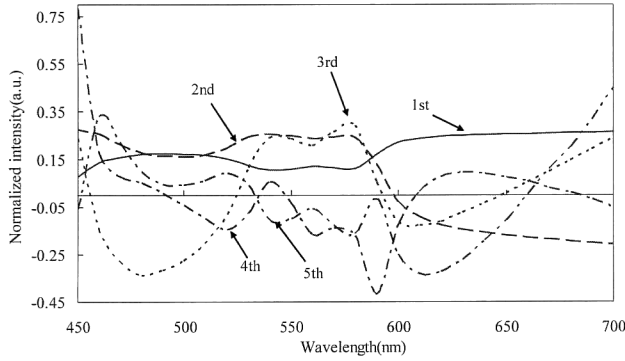


Fig. 3 Principal components calculated using MMC model.

プティカルファイバーの検出面と媒質表面が水平で、その間の距離はおよそ 14.3 mm を想定することに相当する。以上のように、2,112 個の反射スペクトル (波長帯域 450~700 nm, 10 nm サンプリング) を MMC モデルから計算した。

3.2 シミュレーションデータの妥当性

本節では、MMC モデルによるデジタルファントムが胃粘膜の実測データを表現可能であることを示す。具体的には、MMC モデルにより計算される 2,112 個の反射スペクトルに対して主成分分析¹⁴⁾を行い、その結果得られる主成分ベクトル \mathbf{e}_{MMC} (26 次元ベクトル, Fig. 3) を基底として実測の反射スペクトルを展開し、その精度を検証する。

まず、 M 次元の展開係数ベクトル $\mathbf{a}_{\text{est.}} = (\hat{a}_1, \hat{a}_2, \dots, \hat{a}_M)^t$ を式 (2) のように推定する。

$$\mathbf{a}_{\text{est.}} = (\mathbf{C}^t \mathbf{C})^{-1} \mathbf{C}^t \mathbf{f}_{\text{norm.}} \quad (2)$$

ここで、 \mathbf{C} はシミュレーションデータから計算される主成分ベクトル \mathbf{e}_{MMC} M 本を列ベクトルにもつ $26 \times M$ 行列である。次に、推定された展開係数ベクトル $\mathbf{a}_{\text{est.}}$ と主成分ベクトル \mathbf{e}_{MMC} との重みづけ線形和として、スペクト

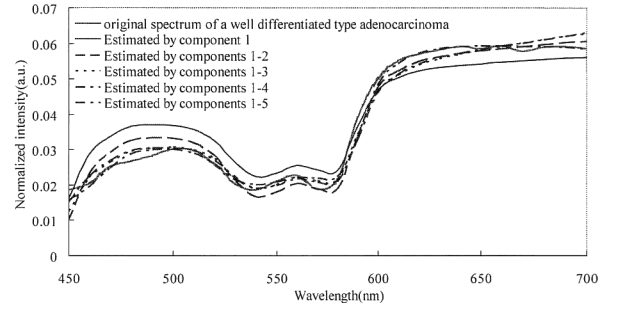


Fig. 4 Example of comparison between the original reflected spectrum for well differentiated type adenocarcinoma and the spectrum estimated by principal components derived from MMC spectra. As can be seen, when three or further components are used, the estimated spectrum are in good agreement with the measured spectrum.

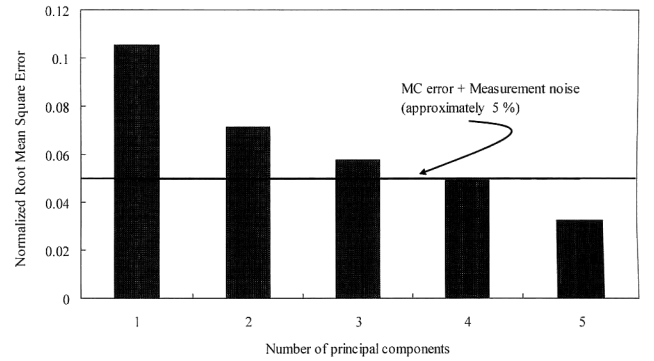


Fig. 5 Normalized root mean square error for stomach 29 spectra is shown against the number of principal components derived from MMC spectra.

ル $\mathbf{f}_{\text{est.}}$ を式 (3) のように計算する。

$$\mathbf{f}_{\text{est.}} = \mathbf{C} \mathbf{a}_{\text{est.}} = \mathbf{C} (\mathbf{C}^t \mathbf{C})^{-1} \mathbf{C}^t \mathbf{f}_{\text{norm.}} \quad (3)$$

\mathbf{e}_{MMC} による胃粘膜の実測データの推定精度評価は、式 (4) の normalized root mean square error (NRMSE) を基準として行った。

$$\text{NRMSE} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \sqrt{\frac{(\mathbf{f}_{\text{norm., } j} - \mathbf{f}_{\text{est., } j})^t (\mathbf{f}_{\text{norm., } j} - \mathbf{f}_{\text{est., } j})}{\mathbf{f}_{\text{norm., } j}^t \mathbf{f}_{\text{norm., } j}}} \quad (4)$$

ここで、 N は実測データの数、 j は実測データのサンプルの番号を表す。Fig. 4 は、ある高分化型腺癌の実測スペクトルを $M=1, 2, \dots, 5$ として推定した結果である。また、Fig. 5 は、推定に使用した主成分ベクトル \mathbf{e}_{MMC} の数 M に対する NRMSE をおのおの計算した結果である ($N=29$)。これから、 M を四次元とすれば、平均的な推定誤差を 5% 以下に抑えることが可能である。この数値は、照明光のゆらぎとモンテカルロシミュレーションによる誤差とほぼ等しい。したがって、シミュレーションデータから求められる 4 個の主成分ベクトルで張られるスペク

トル空間において、実際の胃粘膜の反射スペクトルを測定誤差範囲内で表現できることが示された。以後、この四次元空間内において、実測されたスペクトルの解析を行うことにする。

4. 分化度と早期胃癌のスペクトルの関係調査

本論文では、早期胃癌の分化度の違いが実測のスペクトルに対する変化として表れているかどうかを調査するため、高分化型腺癌と中分化型腺癌を識別する線形識別関数を、FS変換を用いて算出する。算出に使用する実測データは、Table 1に示す高分化型18個、中分化型6個である。このように、統計解析に用いるデータ数が次元数に比べてあまり多くないときには、多次元空間内の分布が疎になっているため、統計的に信頼できる識別関数を求めることが難しくなる。このような場合には、主成分分析によりデータの次元数の圧縮がよく行われる。本章では、主成分基底を用いて次元圧縮した実測データから、線形識別関数の計算を行う方法について説明する。

2章で説明した719個の胃粘膜の実測スペクトルデータに対して主成分分析を行うことで得られる主成分基底 e_i を K 本用いて、各実測データの主成分展開係数 $\mathbf{a} = (a_1, a_2, \dots, a_K)^t$ を算出する。このとき、 e_i の累積寄与率は6軸までで99.99%であった。

そして、この K 次元の主成分展開係数の空間で、次式を用いてFS変換第1ベクトル \mathbf{d}_1 、第2ベクトル \mathbf{d}_2 を計算する。

$$\mathbf{d}_1 = \alpha_1 \mathbf{A}^{-1} \Delta \mathbf{x} \quad (5)$$

$$\mathbf{d}_2 = \alpha_2 \{ \mathbf{A}^{-1} - \beta_1 [\mathbf{A}^{-1}]^2 \} \Delta \mathbf{x} \quad (6)$$

$\beta_1 = \Delta \mathbf{x}^t [\mathbf{A}^{-1}]^2 \Delta \mathbf{x} / \Delta \mathbf{x}^t [\mathbf{A}^{-1}]^3 \Delta \mathbf{x}$ 、 α_1 、 α_2 は正規化因子を表す。 $\Delta \mathbf{x}$ は、2クラスの平均ベクトルの差分ベクトルであり、式(7)で記述される。

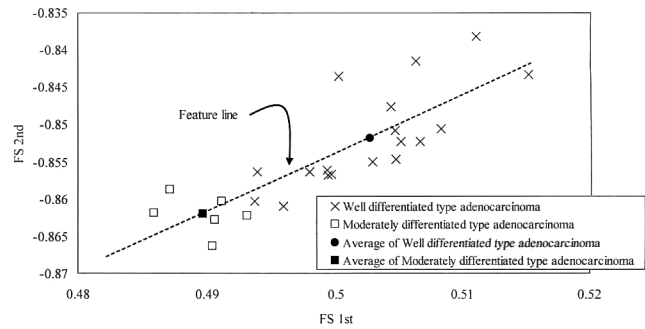
$$\Delta \mathbf{x} = \langle \mathbf{a}_1 \rangle - \langle \mathbf{a}_2 \rangle \quad (7)$$

$\langle \rangle$ は集合平均を表す。また、行列 \mathbf{A} は各クラスの共分散行列の足し合わせとして定義され、

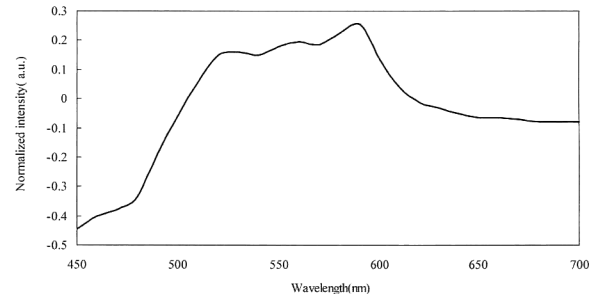
$$\mathbf{A} = \omega_1 \mathbf{R}_1 + \omega_2 \mathbf{R}_2 \quad (8)$$

と表される。 \mathbf{R}_i 、 ω_i は、 i 番目のクラスの共分散行列、データ数に比例した重みであり、 $\mathbf{R}_i = \langle (\mathbf{a}_i - \langle \mathbf{a}_i \rangle) (\mathbf{a}_i - \langle \mathbf{a}_i \rangle)^t \rangle$ である。

次に、FS変換ベクトルで張られる空間 $\{\mathbf{d}_1, \mathbf{d}_2\}$ へ実測データの主成分展開係数集合 $\{\mathbf{a}\}$ を投影し、この空間内において、2クラスの平均ベクトルの差分ベクトルとし



(a)



(b)

Fig. 6 (a) Scatter plot of the reflected spectra of well and moderately differentiated type adenocarcinoma on the Foley-Sammon 1st and 2nd vector calculated by measured spectra. (b) Feature line calculated by measured spectra.

て線形識別関数（以降、feature lineと呼ぶ）を求める。ここでは、feature lineによって分化度の違いを識別できるかどうかを調べるため、 $\{\mathbf{d}_1, \mathbf{d}_2\}$ の張る空間上に実測のスペクトルを投影した。Fig. 6 (a)は、主成分の数 K を4とした場合の結果、Fig. 6 (b)は、 $\{\mathbf{d}_1, \mathbf{d}_2\}$ から計算されるfeature lineを示す。Fig. 6 (a)をみると、 $\{\mathbf{d}_1, \mathbf{d}_2\}$ 方向に実測データの分布が強い相関をもつことから、これ以降は、分化度の違いを識別する関数としてFS変換第1、第2ベクトルの張る平面内における、2クラスの平均ベクトルの差分ベクトル (feature line) を採用する。

次に、feature lineを用いた識別の精度を調べるために、高分化型腺癌と中分化型腺癌の実測データから leaving-one-out method¹⁵⁾ に基づいてfeature lineを計算し、この軸上においてベイズ判定方式による閾値処理を行い、高分化型腺癌と中分化型腺癌の識別を行った。Fig. 7は、主成分ベクトルの打ち切り数 (K) に対する2クラスの正判別率 (true rate) を示した結果である。この結果、主成分基底により実測データを四次元データに圧縮したときに最も識別精度は高く、91.7%のtrue rateを示した。以上の結果から、高分化型腺癌と中分化型腺癌から得られる実測スペクトルは高い精度で分離することが可能であ

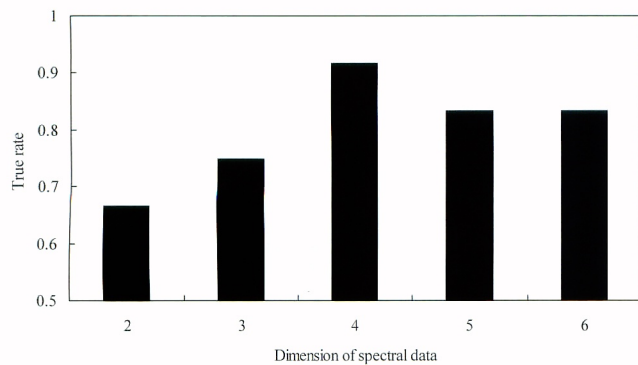


Fig. 7 True rate for well and moderately differentiated type adenocarcinoma is plotted against the dimension of spectral data.

り、分化度の違いが実測の胃粘膜スペクトルに表れていると考えられる。なお、leaving-one-out methodにより実測データの識別を行ったため、feature line や d_1 , d_2 は、実測データの数 (24) だけ算出される。このため、Fig. 6 (b) の feature line とは幾分異なる関数で識別されているが、Fig. 6, および Fig. 7 の結果から、分化度の違いが実測のスペクトルに反映していることが示されたといえる。

5. 光伝播モデルに基づくスペクトル解析

本章では、実測データとシミュレーションデータを比較することにより、分化度の違いに関係する病理組織学的な構造を表す細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度との関係を調査する。

5.1 分化度に関する病理組織学的特徴

通常、正常組織が癌化すると、細胞核の大小不同・配列不整といった細胞レベルの異型が生じる¹⁶⁾。高分化型腺癌においては、病理スライドとして観察したとき、 N/C 比 (細胞内における核と細胞質の面積比率) は正常組織と類

似して比較的低いが、分化度が低下した癌では傷ついた DNA が核の内部にたまるため核は大きく肥大し、 N/C 比は高くなるケースが多い。したがって、分化度が低くなるに従い、細胞核腫大の傾向が生起されると予想される。

次に、腫瘍の悪性変化による粘膜内部の血液量変化について述べる。坂口¹⁷⁾ は、高分化型腺癌の血管密度は高く、逆に低分化型腺癌は血管密度が疎であると報告している。また、藤原¹⁸⁾ は、小陥凹型胃癌の粘膜色調について詳細に調査し、褪色を示すものは分化度の低い癌が多く、発赤または正常粘膜色調のものは分化度の高い癌が多いとしている。以上から、高分化型腺癌は中分化型腺癌に比べて、細胞核の平均粒径が小さく、かつヘモグロビン濃度が高いと考えられる。

MMC モデルのシミュレーションに用いるパラメーターの参考とするため、高分化型腺癌組織の HE 染色病理画像から、細胞核の平均粒径、および粒径の標準偏差を実際に測定した。病理画像データとしては、国立がんセンター東病院において光学顕微鏡を用いて倍率 40 倍で撮影されたデジタル画像とし、50 個の細胞核を 2 名の患者の病理画像内からマニュアル操作で切り出した。Fig. 8 (a), Fig. 8 (b) に、実際に使用した高分化型腺癌の病理画像を示す。病理画像 40 倍観察時の画像解像度は、1 画素あたり $0.156 \mu\text{m}$ である。粒径計測の結果、高分化型腺癌組織は、平均粒径 $7.47 \mu\text{m}$ 、標準偏差 $1.59 \mu\text{m}$ であった。なお、同一患者の正常組織の病理画像から計測した細胞核の平均粒径と標準偏差は、それぞれ $6.17 \mu\text{m}$ 、 $0.693 \mu\text{m}$ となった。平均粒径と標準偏差とも、正常組織に比べて大きな数値を示すことがわかる。一方、中分化型腺癌や低分化型腺癌に対する細胞核の粒径測定は、実験の都合上行えなかったが、分化度が低下するに従い N/C 比が高くなることから、中分化型では高分化型よりも細胞核の平均粒径が

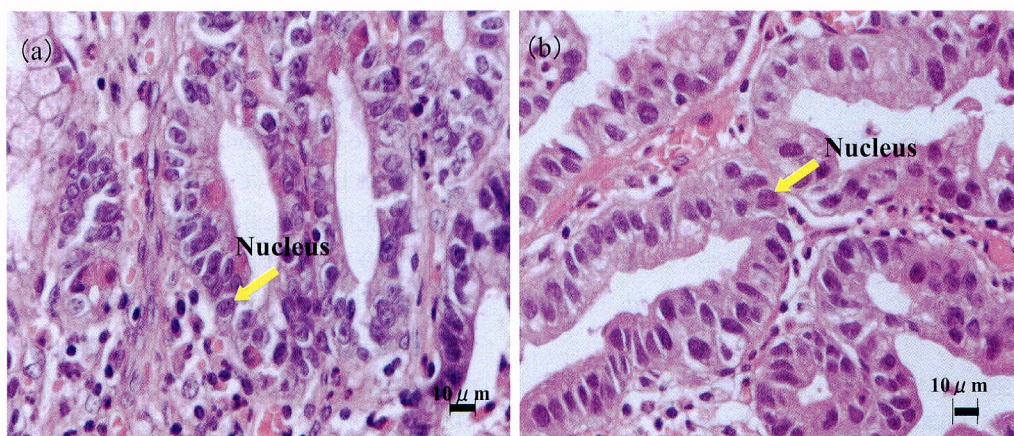


Fig. 8 (a), (b) Histological images of well differentiated type adenocarcinoma for two patients.

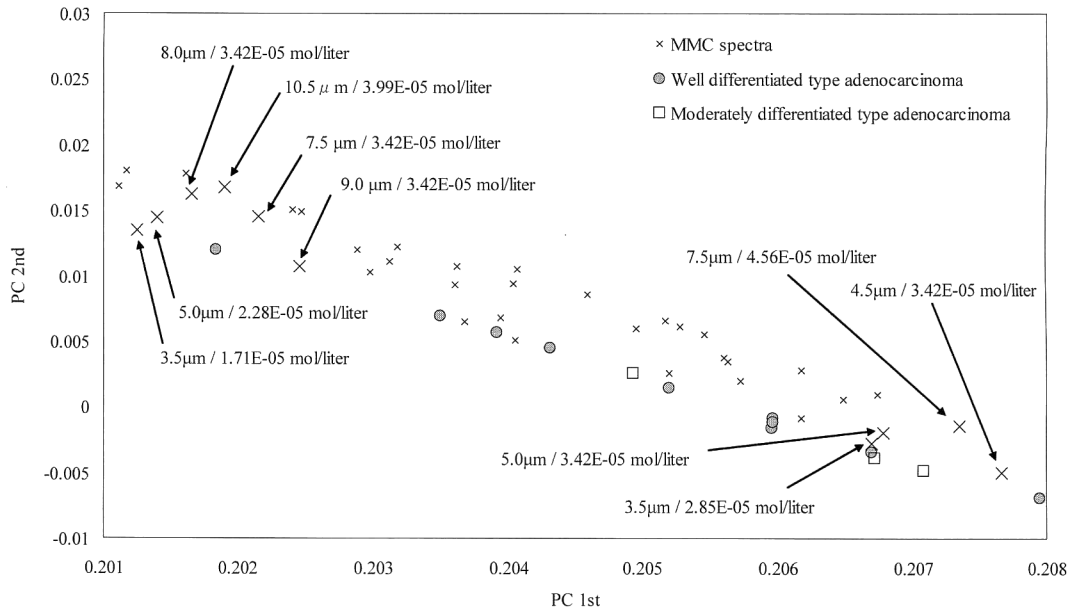


Fig. 9 Part of scatter plot of the measured spectra of well and moderately differentiated type adenocarcinoma and MMC spectra on the principal component 1st and 2nd vector calculated by MMC spectra.

大きくなるものと予想される。

5.2 実測データとシミュレーションデータの比較

本節では、シミュレーションデータから計算される主成分ベクトル e_{MMC} を基底とする四次元のスペクトル空間内において、実測データとシミュレーションデータを直接的に比較することを考える。Fig. 9 に、主成分 1-2 軸における、シミュレーションデータ (2,112 個) と Table 1 の高分化型腺癌と中分化型腺癌の実測データ (全 24 個) を投影したグラフ (一部を拡大したもの) を示す。これを見ると、主成分 1-2 軸空間 (第 2 主成分までの累積寄与率は 99.8%) において、おのおの実測データに対して複数のシミュレーションデータが重複、もしくは近傍に分布していることが確認できる。したがって、実測データとシミュレーションデータを直接比較して、実測データから一意的に細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度を推定することは困難である。この理由のひとつとして、MMC モデルのシミュレーションにおいて、実際の胃粘膜の多層性、散乱体や吸収体の不均質性、さらには粘膜自体の厚みの変化等を考慮していないことが考えられる。これについては 6 章で考察する。

5.3 シミュレーションデータの FS 変換を用いた解析

本節では、早期胃癌の分化度の違いが、細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度を变化させたときのスペクトル形状の変化に着目して、分化度の異なる病変の実測スペクトルデータを細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度と関連づけることを試みる。具体的には、細胞核の平均粒径とヘモグ

ロビン濃度の値をそれぞれ、もしくは同時に变化させて計算したシミュレーションデータから、これらの物理的な变化をスペクトルをもとに識別するための FS 変換を行う。そして、得られた feature line から、細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度の変化に対応する特徴空間を求め、その特徴空間に高分化型腺癌と中分化型腺癌の実測データを投影する。

まず、高分化型腺癌と中分化型腺癌の実測スペクトルを分離するための feature line の設計の際、シミュレーションにおいては、5 章 1 節で述べた数値を参考として、高分化型腺癌の細胞核平均粒径を $6.5 \sim 8.5 \mu\text{m}$ ($0.5 \mu\text{m}$ 間隔)、標準偏差 $1.6 \mu\text{m}$ 、中分化型腺癌は $9.0 \sim 11.0 \mu\text{m}$ 、標準偏差 $1.6 \mu\text{m}$ と設定する。なお、分化度の違いとヘモグロビン濃度との定量的な対応関係をつけることは現時点では不可能であるが、feature line 計算で使用するヘモグロビン濃度値は、Marchesini ら¹⁹⁾ により報告されている大腸粘膜の吸収係数を実現するヘモグロビン濃度値を採用した (ただし、文献 19 の吸収係数は *in vitro* での文献値である)。

Table 3 に示すように、細胞核が比較的小さくヘモグロビン濃度が高いときのパラメーターセット (Set 1) を固定し (高分化型腺癌を想定)、細胞核の平均粒径のみ变化させたとき (Set 2)、ヘモグロビン濃度のみ变化させたとき (Set 3)、さらに両方を変化させたとき (Set 4) の 3 種類について、それぞれ FS 変換を行い、feature line を計算する。以下では、求めた feature line をそれぞれ f_m ,

Table 3 Parameters to calculate the linear discriminant functions.

	Set 1	Set 2	Set 3	Set 4
Average of nuclear particle size distribution (μm)	6.5-8.5	9.0-11.0	6.5-8.5	9.0-11.0
Hemoglobin concentration (mol/L)	5.70×10^{-5} - 1.14×10^{-4}	5.70×10^{-5} - 1.14×10^{-4}	2.85×10^{-5} - 3.99×10^{-5}	2.85×10^{-5} - 3.99×10^{-5}
Standard deviation of nuclear particle size distribution (μm)	1.6	1.6	1.6	1.6
Number density of nuclear size particles (cm^{-3})	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8	1.0×10^8
Number of calculated spectra	15	15	15	15

Parameter set of Set 1 is used for simulating the spectra of well differentiated type adenocarcinoma, and those of Set 2-Set 4 are used as simulating the spectra of moderately differentiated type adenocarcinoma.

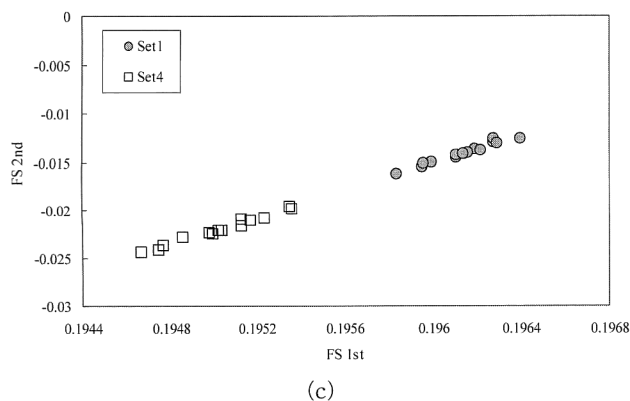
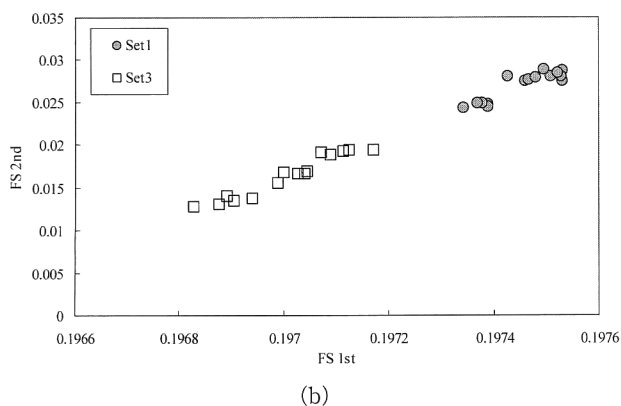
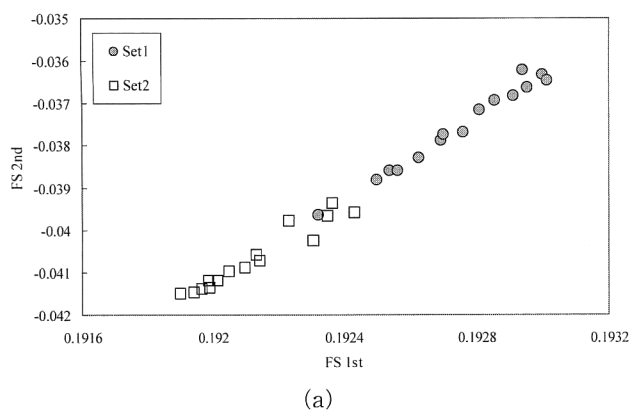


Fig. 10 Scatter plot of simulated spectra of MMC spectra on Foley-Sammon 1st and 2nd vector calculated by MMC spectra. (a) Set 1-Set 2, (b) Set 1-Set 3, (c) Set 1-Set 4.

Table 4 True rate for each parameter set shown in Table 3.

	Set 2	Set 3	Set 4
True rate (%)	83.3	66.7	83.3

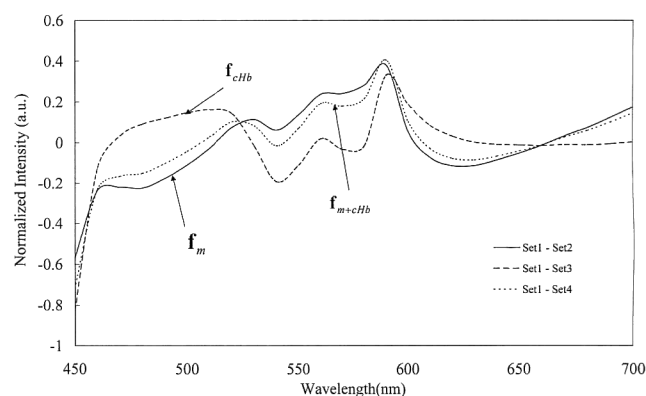


Fig. 11 Feature lines simulated by MMC spectral data in Table 3.

f_{CHb} , $f_{\text{m+cHb}}$ と記述する. 本検討では, 細胞核の粒径分布の標準偏差, 数密度はそれぞれ $1.6 \mu\text{m}$, $1.0 \times 10^8 \text{ cm}^{-3}$ と仮定した. Fig. 10 (a)~(c) に, 各シミュレーションセットから計算した FS 変換軸 $\{d_1, d_2\}$ 上へトレーニングデータを投影した結果を示す. どの場合においても, 2クラスはよく分離できていることから, 各 feature line は細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度の変化を識別する軸として有効であると考えられる.

次に, 上記で計算した feature line に, 分化型早期胃癌の実測データを適用することにより, おおのこの実測データの識別能力を評価する. 各 feature line, f_{m} , f_{CHb} , $f_{\text{m+cHb}}$ に対して, 高分化型腺癌 14 データと中分化型腺癌 6 データを分類した結果, true rate は, f_{m} : 83.3%, f_{CHb} : 66.7%, $f_{\text{m+cHb}}$: 83.3% となり, 細胞核の平均粒径のみ変化させたとき (f_{m}) と平均粒径とヘモグロビン濃度の両方を変化させたとき ($f_{\text{m+cHb}}$) に高い識別精度を示した (Table 4). Set 2 から Set 4 に対する feature line を Fig. 11 に示す.

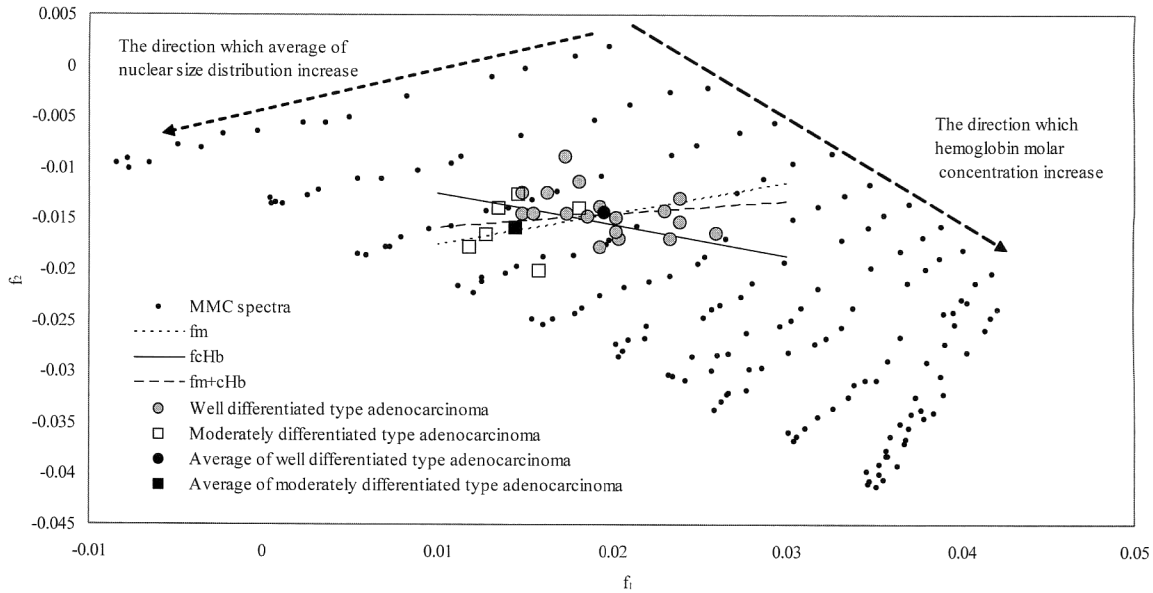


Fig. 12 Plotted result of MMC spectra and measured spectra on f_1 and f_2 .

f_m と f_{m+cHb} は、実測データから求めた feature line (Fig. 6 (b)) と類似していることから、これら識別関数の妥当性はある程度確認することができる。また、 f_{m+cHb} はほぼ f_m , f_{cHb} の間の値をとっているため、ヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径のそれぞれの変化を考えれば、両方が同時に変化した場合も含めた特徴を表すことができると考えられる。

5.4 ヘモグロビン濃度・細胞核の平均粒径との対応調査

以上の解析の結果から、分化度の異なるスペクトルとヘモグロビン濃度や細胞核の平均粒径を関連づける特徴空間としては、5章2節で扱った主成分空間よりも、5章3節でのFS変換軸で張られる空間のほうがよいことがわかる。このことから、後者の空間においては、実際の胃粘膜と粘膜モデル間で考慮されていないパラメータの影響を抑制し、細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度の変化が特徴づけられているといえる。そこで、平均粒径の変化を識別するための feature line: f_m 、ヘモグロビン濃度変化を識別するために計算した feature line: f_{cHb} の2つの識別関数から特徴空間を求め、この特徴空間に実測データとシミュレーションデータを投影することにより、実測スペクトルと分化度に起因する組織構造との対応関係を調査する。

f_m と f_{cHb} は互いに相関が強いので、以下のように、互いの特徴ベクトルが直交するように f_1 , f_2 を構成する。

$$f_1 = f_m + f_{cHb} \quad (9)$$

$$f_2 = f_m - f_{cHb} \quad (10)$$

ここで、 $\|f_m\| = \|f_{cHb}\| = 1$ である。

Fig. 12 に、実測データとシミュレーションデータ (Table 2 において、標準偏差 $1.6 \mu\text{m}$ 、細胞核の数密度 $1.0 \times 10^8 \text{ cm}^{-3}$ でのシミュレーションデータ、データ数 176) を投影した結果を示す。また、このグラフには、 f_m , f_{cHb} 、および f_{m+cHb} を特徴空間に投影した様子も同様に示している。点線の矢印は、シミュレーションデータの投影結果からみてとれる、ヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径の増加方向を概念的に示している。これらに対応する feature line の方向と完全に一致してはいないが、これはFS変換においては Fig. 12 にプロットされたシミュレーションデータの一部のみを用いているためである。このグラフから、求めた特徴空間内の各点は、ヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径に1対1で対応していることがわかる。また、高分化型腺癌から中分化型腺癌への分布の平均値の推移は、細胞核の平均粒径が大きく、ヘモグロビン濃度が低くなる方向であることがわかる。

さらに、それぞれの実測データについて、この特徴空間内で176個のシミュレーションデータとの距離をすべて計算し、実測データに距離が最も近いシミュレーションデータの計算に使用した細胞核の平均粒径とヘモグロビン濃度を求める。これは、それぞれの実測データに対する最適な推定値と考えることができる。高分化型腺癌18スペクトル、中分化型腺癌6スペクトルについてパラメータ推定を行った結果を Table 5 に示す。高分化型腺癌に関する平均粒径とヘモグロビン濃度それぞれの平均値は、 $6.08 \mu\text{m}$, $2.09 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 、中分化型腺癌の場合は $7.33 \mu\text{m}$,

Table 5 Estimated result for average of nuclear size distribution and hemoglobin molar concentration from measured spectra.

		Differentiated type	Average of nuclear size distribution (μm)								
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0
Hemoglobin molar concentration ($\times 10^{-5}$ mol/L)	1.71	Well	0	2	2	2	1	0	0	0	0
		Moderately	0	0	1	1	1	0	2	0	0
	2.28	Well	0	3	3	3	1	0	0	0	0
		Moderately	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	2.85	Well	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		Moderately	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Numbers in each grid show the number of spectral data.

1.81×10^{-5} mol/Lと求められた。現時点ではデジタルファントムの精度が不十分であるため、これらの値の定量性について議論することはできないが、定性的には分化度の違いと組織構造変化に関する医学的な知識と一致しており、意味のある結果であると考えられる。

6. 考 察

シミュレーションデータから計算した feature line による高分化型腺癌と中分化型腺癌の正判別率は、最大で 83.3% であった。この結果は、実測データから計算した識別関数を使用した場合の 91.7% に劣る結果であった。この要因のひとつとしては、作成したデジタルファントムと実際の生体粘膜との構造に乖離がある点があげられる。デジタルファントムを多層構造として扱うことや、媒質内部に存在する散乱体や吸収体の不均質性、さらに内視鏡観察時に視野確保を容易にするために行われる送気による粘膜自体の伸展や、加齢による粘膜萎縮から生じる粘膜厚の変化等、シミュレーションモデルの改良が不可欠である。また、使用中分化型腺癌のスペクトルデータ数は 6 データと少ない。今後、デジタルファントムの改良を行うとともに、より多くの実測スペクトルデータに対して評価を行うことが必要である。

今回は、実測データ数の制限から、高分化型腺癌と中分化型腺癌に着目した。一方、低分化型腺癌に関する検討を行う場合には、低分化型腺癌は高分化型腺癌や中分化型腺癌と比較して腺管構築を示さなくなるため、腺管構造の形態が異なる。したがって、高分化型腺癌・中分化型腺癌と低分化型腺癌との識別を扱う際には、細胞核の平均粒径やヘモグロビン濃度以外に、腺管構築パターンの違いを考慮する必要がある。腺管構造の違いによって、どのようにスペクトルが変化するかを明らかにすることは、今後の課題である。

7. ま と め

筆者らは、MMC モデルから計算されるシミュレーション

ンデータを胃粘膜から実測したスペクトルデータと比較することで、早期胃癌の悪性度鑑別への可能性を検討した。高分化型腺癌と中分化型腺癌の実測スペクトル集合を、FS 変換により解析した結果、高い精度で分離可能であった。さらに、上記で算出した線形識別関数を含む特徴空間内において、実測データとシミュレーションデータを比較することにより、高分化型腺癌と中分化型腺癌の病理組織学的特徴の違いが、ヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径に関連していることが示唆された。今回の結果のみでは、ヘモグロビン濃度と細胞核の平均粒径をスペクトルから求めることができた結論づけるには至っていないが、今後さらに分析し、評価を行うことにより、非侵襲的に腫瘍の悪性度の違いを判断可能な内視鏡システム等への適用が可能になるものと期待される。

文 献

- 1) V. Backman, R. Gurjar, K. Badizadegan, I. Itzkan, R. R. Dasari, L. T. Perelman and M. S. Feld: "Polarized light scattering spectroscopy for quantitative measurement of epithelial cellular structures *in situ*," IEEE. J. Sel. Top. Quantum Electron., **5** (1999) 1019-1026.
- 2) M. Sambongi, M. Igarashi, T. Obi, M. Yamaguchi, N. Ohyama, M. Kobayashi, Y. Sano, S. Yoshida and K. Gono: "Analysis of spectral reflectance using normalization method from endoscopic spectroscopy system," Opt. Rev., **9** (2002) 238-243.
- 3) 三本木将夫, 五十嵐誠, 小尾高史, 山口雅浩, 大山永昭, 小林正彦, 佐野 寧, 吉田茂昭, 後野和弘: "電子内視鏡における病変部の分類に適した分光感度の検討", 光学, **32** (2003) 320-327.
- 4) S. Kikuchi and N. Ohyama: "Statistical spectrum discrimination for endoscopic imaging," Bioimaging, **3** (1995) 25-34.
- 5) 遠藤泰志, 渡辺英伸, 本山悌一, 落合淳志: "胃型・腸型腺癌の特性", 胃と腸, **38** (2003) 57-65.
- 6) 石黒信吾, 辻 直子, 寺尾壽幸, 吉里勝彦, 建石龍平: "胃型分化型腺癌の組織学的特徴", 病理と臨床, **13** (1995) 10-17.
- 7) D. H. Foley and J. W. Sammon, Jr.: "An optimal set of discriminant vectors," IEEE Trans. Comput., **C-24** (1975) 281-289.

- 8) 五十嵐誠, 三本木将夫, 小尾高史, 山口雅浩, 大山永昭, 小林正彦, 佐野 寧, 吉田茂昭, 後野和弘: “胃粘膜の分光反射率を用いた早期胃癌の悪性度鑑別”, 第49回応用物理学関係連合講演会講演予稿集 (2002) p.1006.
- 9) L. H. Wang, S. L. Jacques and L. Q. Zheng: “MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues,” *Comput. Methods Programs Biomed.*, **47** (1995) 131-146.
- 10) L. G. Henyey and J. L. Greenstein: “Diffuse radiation in the galaxy,” *Astrophys. J.*, **93** (1941) 70-83.
- 11) J. R. Mourant, A. H. Hielscher and I. J. Bigio: “Monte Carlo simulation incorporating Mie calculations of light transport in tissue phantoms: Examination of photon sampling volumes for endoscopically compatible fiber optics probes,” *Proc. SPIE*, **2679** (1996) 124-130.
- 12) B. Gelebart, E. Tinet, J. Michael Tualle and S. Avriillier: “Phase function simulation in tissue phantoms: A fractal approach,” *Pure Appl. Opt.*, **5** (1996) 377-388.
- 13) M. Igarashi, K. Gono, T. Obi, M. Yamaguchi and N. Ohyama: “Simulation of spectral reflectance of multiple scattering medium using the method combined Mie theory with Monte Carlo method,” *Proc. SPIE*, **4955** (2003) 305-313.
- 14) 大津展之: “パターン認識における特徴抽出に関する数理的な研究”, 電子技術総合研究所研究報告 (1981) p. 57.
- 15) 塩谷 實: 多変量解析概論 (朝倉書店, 1990).
- 16) 井藤久雄, 堤 寛, 谷山清己, 佐々木なおみ: 消化管病理組織診断のポイント (日本メディカルセンター, 2001).
- 17) 坂口邦彦: “早期胃癌の微細血管像—粘膜内病巣の内視鏡的色調および組織学的所見との関連”, *福岡医誌*, **72** (1981) 609-632.
- 18) 藤原 侃, 広門一孝, 八尾恒良, 古賀安彦, 堀之内幸士, 増田信生, 三井久三, 上月武志, 為近義夫, 岡田安浩, 新関寛, 富岡 武, 岡部治弥: “陥凹型早期胃癌の診断学的問題点—X線微細診断と内眼標本所見の関連, 内眼標本所見と内視鏡上の色調および癌の組織型との関連性について—”, *胃と腸*, **6** (1971) 725-738.
- 19) R. Marchesini, E. Pignoli, S. Tomatis, S. Fumagalli, A. E. Sichirollo, S. D. Palma, M. D. Fante, P. Spinelli, A. C. Croce and G. Bottiroli: “Ex vivo optical properties of human colon tissue,” *Laser Surg. Med.*, **15** (1994) 351-357.