

原著

## 自家蛍光内視鏡による大腸腫瘍性病変の蛍光強度の定量分析とニューラルネットワークによる自動診断システムの試作

澤田 洋平<sup>1)</sup> 澤谷 学<sup>1)</sup> 三上 達也<sup>2)</sup>  
櫻庭 裕丈<sup>1)</sup> 福田 眞作<sup>1,2)</sup>

**抄録** 研究の目的は、自家蛍光内視鏡 (AFI) を用いた組織型推論ニューラルネットワークシステムの試作、並びに精度検証である。

AFI を用い、大腸病変と正常背景粘膜との自家蛍光強度を定量し、粘膜下層までの距離を反映する任意量 (Interval to submucosa 以下 iTS) を求めた。更に、iTS の基本統計量、局在部位、肉眼型から組織型を推論するニューラルネットワークシステムを試作し精度評価をおこなった。対象は AFI で病変を観察し内視鏡的粘膜切除を施行した126病変 (低異型度腺腫71, 高異型度腺腫20, 粘膜内癌25, 鋸歯状腺腫/ポリープ10) である。病変は周辺正常粘膜よりも iTS が有意に高いことが分かった。粘膜内癌が鋸歯状腺腫/ポリープより iTS が有意に高かったが、その他の組織型の間には有意差は認められなかった。一方、ニューラルネットワークシステムの層化2分割交差検証による精度は80.2%であった。今後、汎化による実装が期待された。

弘前医学 71 : 65—70, 2020

**キーワード** : 自家蛍光内視鏡 ; 大腸腫瘍 ; ニューラルネットワークによる自動診断システム。

ORIGINAL ARTICLE

## Quantitative study on autofluorescence intensity in colonic tumors by autofluorescence imaging and preliminary development of neural network system for automated tumor classification

Yohei Sawada<sup>1)</sup>, Manabu Sawaya<sup>1)</sup>, Tatsuya Mikami<sup>2)</sup>  
Hirotake Sakuraba<sup>1)</sup>, and Shinsaku Fukuda<sup>1,2)</sup>

**Abstract** The aims of study are to develop a trial neural network system for automated classification of colorectal neoplasms by using autofluorescence imaging (AFI), and to evaluate system performance.

By using autofluorescence imaging (AFI), comparative study on autofluorescence intensity that was quantified as interval to submucosa (iTS) among colonic tumors and its surrounding normal mucosa were conducted. In addition, neural network system for automated tumor classification was developed by attributes including the basic statistical amount of iTS, tumor location or morphological type. A total of 126 AFI images (low grade adenoma71, high grade adenoma20, mucosal cancer25, sessile serrated adenoma/polyp10) were studied. All the lesions had significantly higher iTS than its surrounding normal mucosa. Mucosal cancer presented with higher iTS when comparing with sessile serrated adenoma/polyp. No significant difference in iTS was demonstrated among other lesions. Accuracy of the trained neural network system evaluated by stratified 2-fold cross-validation was found to be 80.2%. For clinical use in automated tumor classification, further generalization of the system performance must be required.

Hirosaki Med. J. 71 : 65—70, 2020

**Key words**: autofluorescence imaging; colonic tumors; neural network system for automated tumor classification.

<sup>1)</sup> 弘前大学大学院医学研究科消化器血液内科学講座

<sup>2)</sup> 弘前大学医学部附属病院光学医療診療部

別刷請求先 : 三上達也

令和2年6月25日受付

令和2年8月25日受理

<sup>1)</sup> Hirosaki University, Graduate School of Medicine, Gastroenterology and Hematology.

<sup>2)</sup> Division of Endoscopy, Hirosaki University Hospital

Correspondence: T. Mikami

Received for publication, June 25, 2020

Accepted for publication, August 25, 2020

## 緒 言

大腸内視鏡検査は大腸腫瘍性病変の早期発見に最適化した検査法であり, 早期治療介入により大腸癌死亡率を抑制することが期待される. 治療方針の決定には切除前の適切な質的診断が不可欠である.

自家蛍光内視鏡 (Autofluorescence imaging 以下 AFI) は, 波長帯域390nm から470nm の励起光により誘発された蛍光を緑のチャンネルに割り付け, 緑(波長帯域540nm から560nm)の照射光による拡散反射を赤と青のチャンネルに割り付けて画像を構成する<sup>1)</sup>. したがって, 蛍光が強いとき被写体の色調は明るい緑色となるのに対し, 蛍光が弱いと赤と青の成分が相対的に強くなるので色調はマゼンダとなる.

消化管の自家蛍光の起源は粘膜下層のコラーゲン<sup>2)</sup>であり, 粘膜下層までの距離が長い病変では, 粘膜下層に届く励起光の減衰により, 自家蛍光が減弱してマゼンダとなる. 一方, 正常粘膜では励起光・自家蛍光の減衰が起こらないので緑色として視認される. 大腸は胃と異なり背景粘膜に炎症がないこと, 粘膜が薄いことから微小病変の検出率が上がることが期待される. しかしながら, その有用性に関する報告は少数にとどまる<sup>3,4)</sup>.

研究の目的は, ①AFI 観察下における大腸病変と正常背景粘膜との自家蛍光強度を定量し, 局所における粘膜下層までの距離を反映する任意量 (Interval to submucosa 以下 iTS) を求めること, ②病変組織の iTS を比較すること, ③iTS の基本統計量, 局在部位, 肉眼型から組織型を推論する Neural network system を試作し精度評価をすることである.

## 方 法

### 対 象

2016年3月から2017年9月までに弘前大学医学部附属病院で大腸内視鏡検査を受け, AFI で病変を観察し Endoscopic mucosal resection (EMR) を施行した126病変を, 後方視的に検討した. 光源は Olympus CLV-290SL, 内視鏡は Olympus CF-FH260AZI を使用した. 病変の局在は盲腸9

病変, 上行結腸28病変, 横行結腸36病変, 下行結腸14病変, S 状結腸25病変, 直腸14病変であった. 肉眼型は IIa 89病変, Is 27病変, Ip 10病変であった. 組織型は低異型度腺腫 (LGA) 71病変, 高異型度腺腫 (HGA) 20病変, 粘膜内癌 (Mca) 25病変, 鋸歯状腺腫 / ポリープ (SSA/P) 10病変であった.

### 画像解析

#### γ 補正の除去

内視鏡画像の反射強度には, 生来 γ 補正と呼ばれる非線形変換が加えられている. そのため, 同一色の被写体 (Fig 1-A) であってもその明るさによって色調 (R,G,B の比率) が変化する (Fig 1-B). γ 補正を除去<sup>5)</sup>すると被写体の色調は明るさによらずほぼ一定となる.

#### iTS の定義

$I_{g_0}$  を緑 (波長帯域540nm から560nm) 入射光の強度,  $I_g$  をその拡散反射光の強度とすると,

$$I_g = I_{g_0} \times \exp(-\mu_t(550) \times d) \times \exp(-\mu_t(550) \times d) \quad (1)$$

で与えられる. ここで  $\mu_t(550)$  は波長550nm の組織減衰係数,  $d$  は粘膜表面から粘膜下層までの距離である.

一方,  $I_{b_0}$  を励起光 (波長帯域390nm から470nm) の強度,  $I_f$  を戻ってくる蛍光強度とすると, 蛍光の波長帯域と緑の照射光帯域とはほぼ一致するので,

$$I_f = I_{b_0} \times \exp(-\mu_t(430) \times d) \times \exp(-\mu_t(550) \times d) \quad (2)$$

で与えられる. ここで  $\mu_t(430)$  は波長430nm の組織減衰係数である.

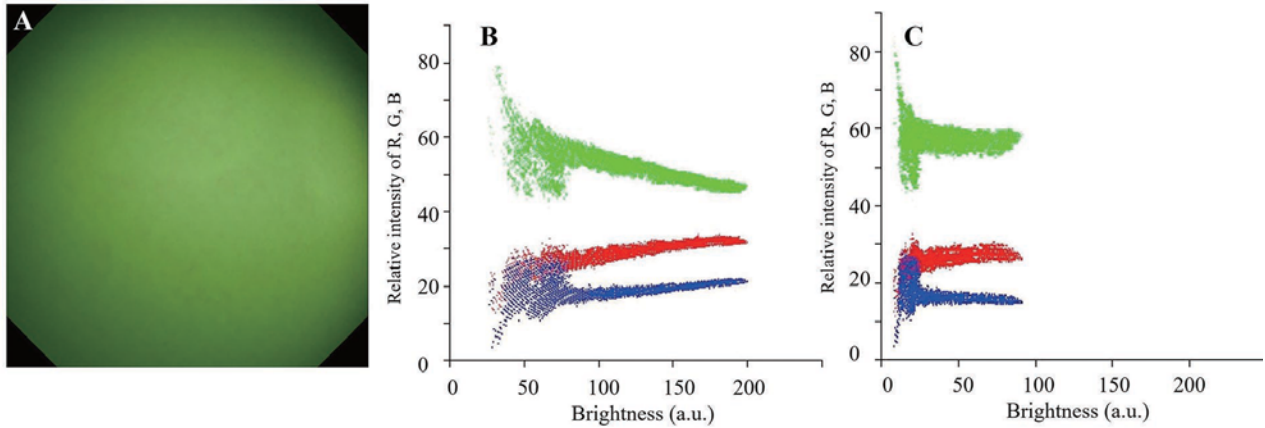
内視鏡写真撮影時の Lens-object distance を  $r$  とすると, γ 補正を除去した画像の任意点 (x, y) の赤チャンネル (緑の拡散反射) と緑チャンネル (蛍光) の強度は, それぞれ

$$R(x, y) = I_g / r^2$$

$$G(x, y) = I_f / r^2$$

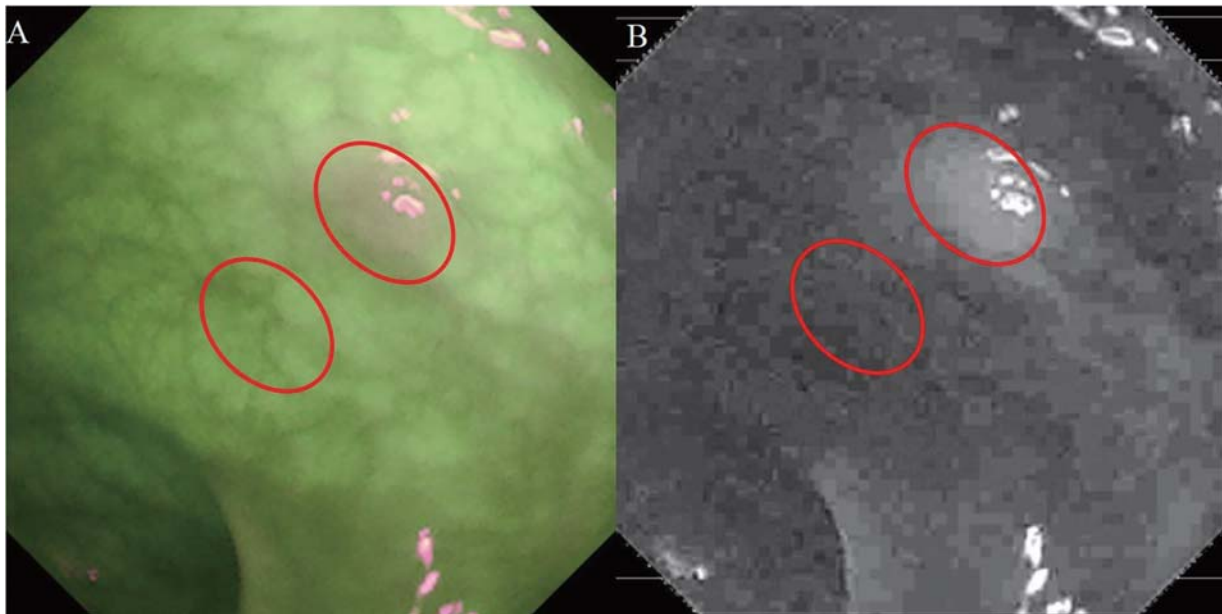
で与えられるので,  $I_{g_0} \doteq I_{b_0}$  と仮定すると, 1) 2) より

$$R(x, y) / G(x, y) = I_g / I_f = \exp[(\mu_t(430) - \mu_t(550)) \times d]$$



**Figure 1** AFI 画像と  $\gamma$  補正の除去

A, 白紙の AFI 画像; B, 原画像 A における輝度(Brightness)に対する赤(R), 緑(G), 青(B)の相対強度. Brightnessは  $\sqrt{R^2 + G^2 + B^2}$  で与えられる任意量である. R, G, Bの相対強度は  $R=R/Brightness \times 100$ ,  $G=G/Brightness \times 100$ ,  $B=B/Brightness \times 100$  で与えられる. 輝度により本来一定であるはずの R, G, Bの比率が変化する. ; C, 原画像 A より  $\gamma$  補正を除去した画像における輝度に対する R, G, B. 輝度によらず比率はほぼ一定である.



**Figure 2** 関心領域の設定と iTS の定量

A, 横行結腸の Is 病変(マゼンダ領域)の AFI 画像. 赤枠は iTS 測定に関心領域. 病変近傍の正常粘膜にも関心領域(赤枠)を設定し iTS を定量した. ; B, 原画像 A から  $\gamma$  補正を除去した画像から合成した iTS のグレースケール画像. 病変, 正常部位に設定した関心領域における iTS の平均値, 標準偏差値, 最小値, 最大値を計算した.  $\gamma$  補正を除去した画像の任意点(x, y)における iTS は  $iTS(x, y) = (\log[R(x, y)/G(x, y)] + 1) \times 150$  で与えられる任意量である.

従って

$$iTS \propto d = \log[R(x, y)/G(x, y)]$$

となるが, 計算の便宜上

$$iTS = (\log[R(x, y)/G(x, y)] + 1) \times 150 \text{ (a.u.)}$$

と定義した.

#### 関心領域の設定と iTS の定量

Fig 2-A は Is 病変の AFI 画像である. Fig 2-B はその iTS のグレースケール画像である. 病変と病変近傍の正常部位に関心領域(赤枠内)を設定

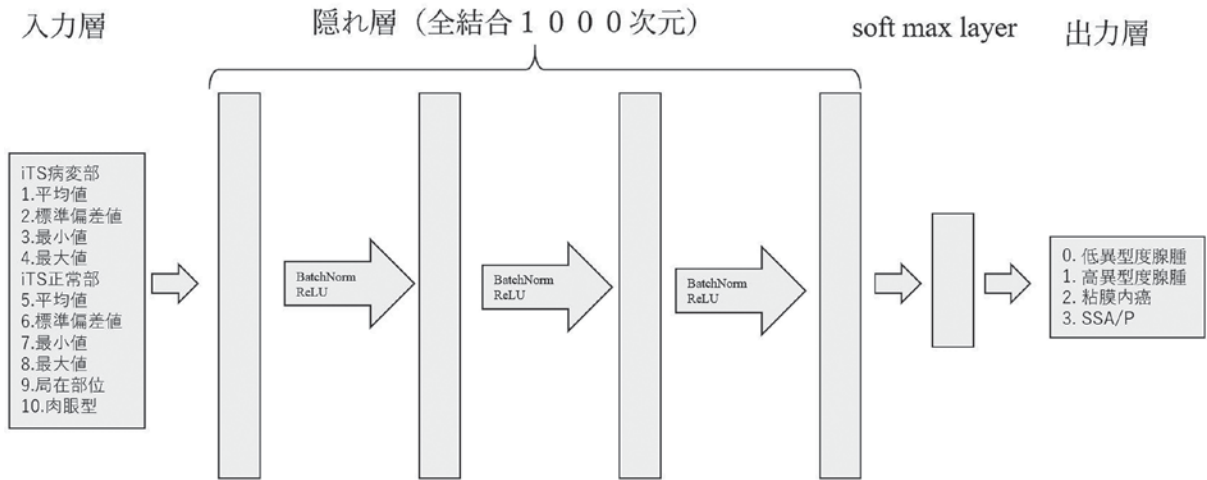


Figure 3 Neural network system の構成

ネットワークは入力次元10(病変部と正常部位の iTS の平均値, 標準偏差値, 最小値, 最大値, 局在部位, 肉眼型), 隠れ層4層(次元1000)から構成され, soft max layer を経て4病変のラベルが出力される. 隠れ層1, 2, 3層の活性化関数は Rectified linear unit を用い, Batch normalization による正規化を行った.

し, iTS の基本統計量(平均値, 標準偏差値, 最小値, 最大値)を求めた.

### 統計解析

iTS の平均値を比較変数, 有意水準を5%とし, 病変の組織型による違いと病変近接正常組織の違いの有無は, 一元配置分散分析の事後検定 (Tukey's test) を用いて行った. 病変組織と近接正常組織との違いは, 平均値の差の検定 (Student's t test) を用いて行った.

### Neural network system

組織型をラベルとし, 病変部と正常部位の iTS の基本統計量(平均値, 標準偏差値, 最小値, 最大値), 局在部位, 肉眼型を属性変数に設定した. ネットワークは入力次元10, 隠れ層4層(次元1000)から構成され, soft max layer を経て4病変のラベルが出力される (Figure 3). 隠れ層1, 2, 3層の活性化関数は Rectified linear unit を用い, Batch normalization による正規化を行った. loss 関数は cross entropy loss, 最適化は Adam を採用した.  $126 \times 11$  のラベル付きデータセットを病変の相対頻度が等しい A 群  $63 \times 11$  と B 群  $63 \times 11$  に分割した<sup>6)</sup>. A 群を教師データ, B 群を検証データとして学習を実施した後, A 群と B 群を入れ替えて再び実施した. 交差検証データの最終正

答率の平均値により, 推論システムの精度評価を行った.

## 結 果

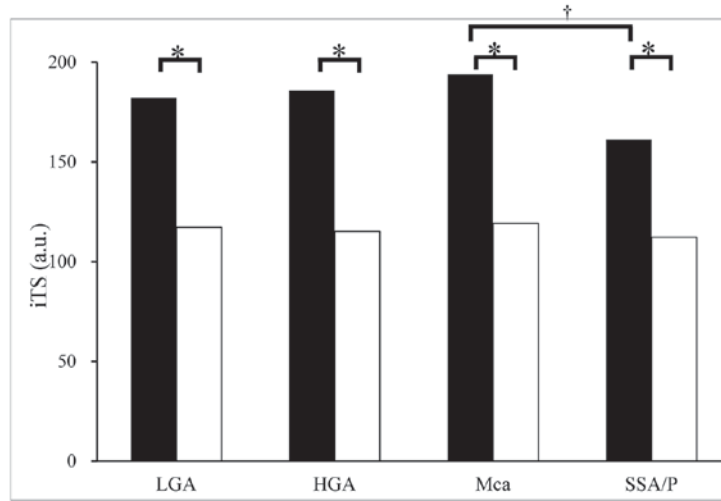
### iTS vs. 組織型

SSA/P ( $161.1 \pm 27.2$ ) と比較して Mca ( $193.9 \pm 24.8$ ,  $p=0.016$ ) は有意に高い iTS を有することが分かったが, LGA ( $182.1 \pm 30.4$ ,  $p=0.145$ ), HGA ( $185.7 \pm 28.9$ ,  $p=0.131$ ) とは有意差を認めなかった (Figure 4). LGA, HGA, Mca の3群間にも有意差が認められなかった. 一方, 周辺正常粘膜の iTS は, 病変によらず一定で互いに有意差を認めなかった (LGA,  $117.2 \pm 27.9$ ; HGA,  $115.2 \pm 26.9$ ; Mca,  $119.2 \pm 22.7$ ; SSA/P,  $112.2 \pm 19.6$ ). さらに, 病変は周辺正常粘膜よりも有意に高い (LGA,  $p=1.7 \times 10^{-26}$ ; HGA,  $p=1.2 \times 10^{-9}$ ; Mca,  $p=6.8 \times 10^{-15}$ ; SSA/P,  $p=2.0 \times 10^{-4}$ ) iTS を有することが分かった.

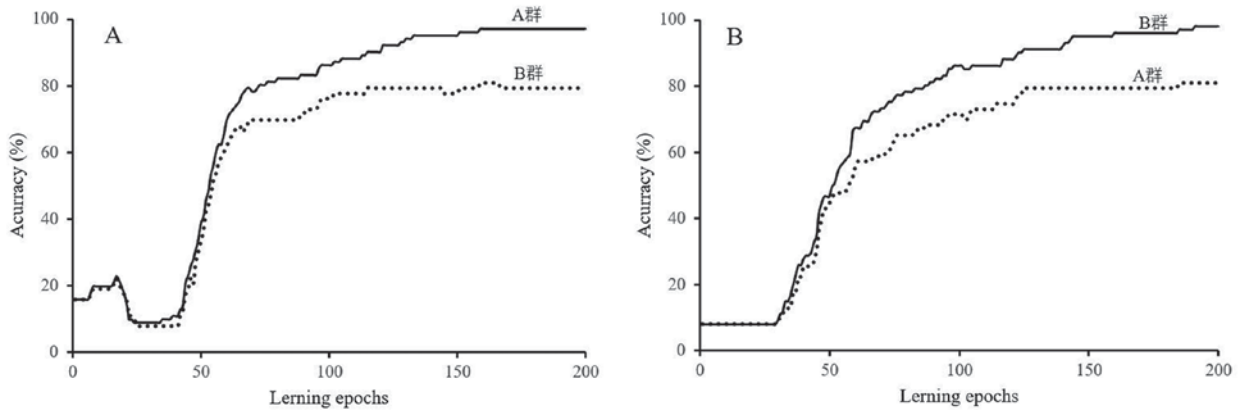
### Neural network system の精度評価

Figure 5A は A 群を教師データ, B 群を検証データとしたときの, 学習の進行に伴う正答率の推移である. 50 エポック以後, A 群 B 群の正答率に乖離が発生し, B 群の最終正答率は 79.4% であった. Figure 5B は B 群を教師データ, A 群を検証データとしたときの学習曲線である. 同様に





**Figure 4** 病変並びに隣接する正常部位における iTS の平均値  
 黒のバー, 病変部位の iTS の平均値; 中抜けバー, 隣接する正常部位における iTS の平均値; LGA, 低異型度腺腫; HGA, 高異型度腺腫; Mca, 粘膜内癌; SSA/P, 鋸歯状腺腫/ポリープ  
 \*, 病変部位 vs. 正常部位 (p<0.003); †, Mca vs. SSA/P(p=0.016)



**Figure 5** A群とB群, 交差検証のために分割した, 病変の相対頻度の等しいデータセット; A, A群を教師データ(実線), B群を検証データ(点線)としたときの, 学習の進行に伴う正答率の推移; B, B群を教師データ(実線), A群を検証データ(点線)としたときの, 学習の進行に伴う正答率の推移; Accuracy, 正答率(%)

50エポック以後, 正答率の乖離が発生し最終正答率は81.0%であった. 以上より推論システムの精度は80.2%であった.

### 考 察

我々は Olympus290 シリーズの光源ユニットにおいて AFI 画像の蛍光強度を初めて定量した. 定量を妨げてきた最大の要因は, 撮像装置の processing unit において行われる信号強度に対する非線形処理(γ補正)である. 我々は, γ補正

を除去する手法を独自に開発し<sup>5)</sup> 蛍光強度の組織による違いの有無を明らかにした.

病変では, 隣接する正常粘膜と比較して例外なく有意に高い iTS の値を示した. このことは, 病変と正常粘膜には明らかな対比が存在することを意味するので, AFI は IIa, Is の微小扁平病変を可視化する高感度な観察モードになり得ることが示された.

組織型に対する iTS は, SSA/P と比較して Mca は有意に高値を示す一方で, その他の群間には有意差が認められなかった. Moriichi<sup>7)</sup>らは,

Olympus260シリーズの光源装置と画像 processing unit で撮像した AFI 画像において, 蛍光強度(G) と緑の拡散反射強度(R)を定量し, Fluorescence index= G/R を定義した. この任意量は, 蛍光強度そのものの強度指標であり, 本研究において定義した iTS とは凡そ逆比例する. それによると, 本研究では HGA と LGA の iTS の差が見られなかったのに対し, HGA は LGA, 正常粘膜に比較して蛍光強度が有意に低かった. 彼らの研究においては, 個々の病変周囲の正常粘膜の評価がなされていない事より, 周辺の正常粘膜の違いが反映されている可能性が否定できない.

Tamai<sup>8)</sup>らは, SSA/P を細胞異形のある群と無い群に分けて Fluorescence index の平均値を比較検討した. その結果, 細胞異形のある群が無い群に比較して Fluorescence index が有意に低いことを報告している. したがって, 蛍光強度を解釈する場合, 粘膜下層までの距離(iTS)とともに, 血液, 粘液, 腫瘍細胞量等の組織組成や細胞異形度が及ぼす影響を組織学的に検討する必要がある.

今回, AFI 画像から iTS の関心領域における平均値を比較変数として病変間の比較を行った. そもそも, 腫瘍の属性変数(ここでは iTS の平均値)を比較する目的は, 属性変数から組織型を推論することである. そこで, 我々は病変部と正常部の iTS の基本統計量(平均値, 標準偏差値, 最小値, 最大値), 局在部位, 肉眼型から組織型(SSA/P, LGA, HGA, Mca)を推論する Neural network system を試作した. この推論システムの層化2分割交差検証による精度(正答率)は80.2%であった. 今後, 症例数追加による推論システムの汎化が必要であるが, 属性変数の入力により組織型の診断が行える可能性が示唆された.

なお, 本研究は弘前大学医学研究科倫理委員会の承認(2017-1088)を得て行われた.

## 利益相反

全ての著者に, 本研究内容に関する利益相反はありません.

## 文 献

- 1) Tajiri H. Autofluorescence endoscopy for the gastrointestinal tract. Proc Jpn Acad Ser B. Phys Biol Sci. 2007;83:248-55.
- 2) Izuishi K, Tajiri H, Fujii T, Boku N, Ohtsu A, Ohnishi T, Ryu M, et al. The histological basis of detection of adenoma and cancer in the colon by autofluorescence endoscopic imaging. Endoscopy. 1999;31:511-6.
- 3) 斎藤彰一, 相原弘之, 二上敏樹, 荒川廣志, 田尻久雄, 池上雅博. 大腸腫瘍性病変の診断における AFI, NBIの有用性を検討する. G. I. Research. 2009;17:241-8.
- 4) 益子貴博, 今津博雄, 斎藤彰一. 大腸腫瘍性病変に対する自家蛍光観察内視鏡システム Autofluorescence Imaging (AFI) Videoendoscopy System の有用性. 東京慈恵会医科大学雑誌. 2007;12:143-53.
- 5) Sasaki Y, Hada R, Munakata A. Computer- aided grading system for endoscopic severity in patients with ulcerative colitis. Dig Endosc. 5:206-9.
- 6) Scikit-Learn: Machine Learning in Python. Cross-validation\_ evaluating estimator performance — scikit-learn 0.23.1 documentation. [https://scikit-learn.org/stable/modules/cross\\_validation.html](https://scikit-learn.org/stable/modules/cross_validation.html) (参照: 2020年6月15日)
- 7) Moriichi K, Fujiya M, Sato R, Nata T, Nomura Y, Ueno N, Ishikawa C, et al. Autofluorescence imaging and the quantitative intensity of fluorescence for evaluating the dysplastic grade of colonic neoplasm. Int J Colorectal Dis. 2012;27:325-30.
- 8) Tamai N, Inomata H, Ide D, Dobashi A, Saito S, Sumiyama K. Effectiveness of color intensity analysis using updated autofluorescence imaging systems for serrated lesions. Dig Endosc. 2016;28 (Suppl. 1):49-52.