

修士論文

深層学習を用いた膵癌病理画像の染色変換と クラスタリングによる解析

浅野 幸之助

2019 年 3 月 12 日

奈良先端科学技術大学院大学
情報科学研究科 情報科学専攻

本論文は奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科に
修士（工学）授与の要件として提出した修士論文である。

浅野 幸之助

審査委員：

金谷 重彦 教授	（主指導教員）
松本 健一 教授	（副指導教員）
MD. ALTAF-UL-AMIN 准教授	（副指導教員）
小野 直亮 准教授	（副指導教員）
黄 銘 助教	（副指導教員）

深層学習を用いた膵臓病理画像の染色変換と クラスタリングによる解析*

浅野 幸之助

内容梗概

膵臓癌の確定診断を下す際に、生検による病理診断が行われる。組織病理診断は病理医の経験に基づいて、目視による診断が下されるため、半定量的という問題がある。そのため、判別が難しい組織に対して診断を下す際の、客観的な診断指標が必要とされている。今日までに深層学習を活用した臨床現場における診断支援に関する研究が盛んに行われており、単にがんの有無のみならず、人の目では識別困難な遺伝子発現タイプの識別も可能になりつつある。しかし、その多くは教師あり学習に基づいており、学習に必要な教師ラベルの作成コストは非常に高い。そのため、現段階での深層学習を活用した診断支援の適応疾患はまだ一部に限られているという問題がある。本研究では、教師なし学習に基づく組織属性のクラスタリングを行うことで組織属性の識別と定量化を試みた。その結果、がんの組織属性に基づくクラスとその所属確率として、将来的に診断支援や病理の理解に寄与する結果を得た。加えて、同データセットを用いた特殊染色の予測を行う染色変換器の構築を行い、その予測の再現性と運用可能性について検討を行った。

キーワード

深層学習, 組織病理, 膵臓癌, 教師なし学習

* 奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 情報科学専攻 修士論文,
2019 年 3 月 12 日.

Staining-Translation and Cluster Analysis of Pancreatic Pathological Image using Deep Learning^{*}

Konosuke Asano

Abstract

The computer aided diagnosis based on deep learning are not only helpful for classification, but also useful for feature extraction from given images, especially encoding image data into discrete representation helps us obtain new knowledge. Although most of the related studies are based on supervised learning that needs curated pathological knowledge, it is useful to extract characteristic features in the given images, using unsupervised machine learning in order to obtain new pathological findings. We applied cluster analysis using deep learning which is trained based on self-augmented training (SAT) and maximization of mutual information. It showed that it can classify those pathological images into discrete categories. Next, we applied our model for comparison of the two staining method in order to evaluate the degree of malignancy according to fibrosis and cell differentiation. The results showed that encoding of the histopathological image into discrete representations helps us to interpret tumor images. In addition, we propose the stain-translation model that predicts MT staining image from HE staining image using the same dataset. Our findings can be translated into practical use in clinical environments.

Keywords:

Deep learning, histopathology, pancreatic cancer, unsupervised learning

^{*}Master's Thesis, Department of Information Science, Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology, March 12, 2019.

目次

図目次	vi
第 1 章 序論	1
1.1 膵臓癌	1
1.2 生検	1
1.2.1 Hematoxylin - Eosin 染色 (HE 染色)	2
1.2.2 Masson - Trichrome 染色 (MT 染色)	3
1.3 深層学習	4
1.4 病理診断への深層学習の応用	5
1.5 目的	6
第 2 章 データセット	7
第 3 章 教師なしクラスタリング	10
3.1 手法	10
3.1.1 Autoencoder	10
3.1.1.1 概要	10
3.1.1.2 実験条件	12
3.1.2 Adversarial Autoencoder	12
3.1.2.1 深層生成モデル	12
3.1.2.2 Generative Adversarial Networks (GAN)	13
3.1.2.3 Adversarial Autoencoder (AAE)	14
3.1.2.4 実験条件	14
3.1.3 Information Maximizing Self-Augmented Training (IM-SAT)	15
3.1.4 Self-Augmented Training (SAT)	16
3.1.4.1 Virtual Adversarial Training (VAT)	17
3.1.4.2 Affine Distortion	22
3.1.4.3 実験条件	22

3.2	結果・考察	24
3.2.1	Convolutional Autoencoder + PCA	24
3.2.1.1	Convolutional Autoencoder + PCA まとめ	25
3.2.2	Adversarial Autoencoder (AAE)	26
3.2.2.1	AAE クラスタリング結果 ($k = 4$)	26
3.2.2.2	AAE クラスタリング結果 ($k = 8$)	28
3.2.2.3	AAE $k = 8$ 次元削減	29
3.2.2.4	Adversarial Autoencoder まとめ	31
3.2.3	IMSAT クラスタリング結果	34
3.2.3.1	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 4$)	34
3.2.3.2	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 8$)	35
3.2.3.3	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 16$)	36
3.2.3.4	IMSAT 次元削減 ($k = 8$)	38
3.2.3.5	IMSAT 次元削減 ($k = 16$)	39
3.2.3.6	所属確率ヒートマップ クラス 1, 6 ($k = 8$)	40
3.2.3.7	所属確率ヒートマップ クラス 13, 15 ($k = 16$)	44
3.2.3.8	評価方法の検討	46
3.2.3.9	病理医による判定	47
3.2.3.10	IMSAT まとめ	48
3.3	教師なしクラスタリング まとめ	48
第 4 章	染色変換	50
4.1	概要	50
4.2	手法	51
4.2.1	Conditional GAN	51
4.2.2	pix2pix	52
4.2.3	評価	54
4.3	結果	54
4.4	考察とまとめ	56
第 5 章	総括	58

謝辞	59
参考文献	60
発表リスト	65

図目次

1.1	膵癌組織 (HE)	2
1.2	その他組織 (HE)	3
1.3	膵癌組織 (MT)	4
1.4	その他組織 (MT)	4
2.1	全体の組織病理画像 (HE)	8
2.2	全体の組織病理画像 (MT)	8
2.3	256 × 256 データセット (左: HE 染色画像、右: MT 染色画像)	9
2.4	1024 × 1024 データセット (左: HE 染色画像、右: MT 染色画像)	9
3.1	Autoencoder の構造	11
3.2	AAE ネットワーク構造	14
3.3	VAT における摂動 r の更新の模式図	18
3.4	データの粗密に応じた摂動の調節. (左: ϵ 定数時, 右: ϵ 変数時)	20
3.5	左: 生データ, 右: Affine Distortion 処理後のデータ	22
3.6	組織病理画像の次元削減による可視化 (左: PCA、右: AE). 横軸: 第一主成分 (PC1), 縦軸: 第二主成分 (PC2)	24
3.7	AAE クラスタリング結果 ($k = 4$)	26
3.8	AAE クラスタリング結果 ($k = 8$)	28
3.9	AAE $k = 8$ Isomap による次元削減結果	30
3.10	正常腺房組織 (左) と低分化型高密度がん組織 (右)	31
3.11	AAE クラスタリング結果 ($k = 16$) (HE)	32
3.12	AAE クラスタリング結果 ($k = 16$) (MT)	33
3.13	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 4$)	34
3.14	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 8$)	35
3.15	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 16$) (HE)	37
3.16	IMSAT クラスタリング結果 ($k = 16$) (MT)	38
3.17	Isomap による次元削減結果 ($k = 8$)	39

3.18	Isomap による次元削減結果 ($k = 16$)	40
3.19	IMSAT ($k = 8$) クラスタのカラーマップ	41
3.20	IMSAT ($k = 8$) クラスタ 1 所属確率ヒートマップ	42
3.21	IMSAT ($k = 8$) クラスタ 6 所属確率ヒートマップ	43
3.22	IMSAT ($k = 8$) クラスタ 1 抽出された高分化型組織	43
3.23	IMSAT ($k = 8$) クラスタ 6 性質の異なる組織の混在 (左: 高密度 低分化型がん組織, 右: 間質性がん組織)	44
3.24	IMSAT ($k = 16$) クラスタのカラーマップ	45
3.25	IMSAT ($k = 16$) クラスタ 13 所属確率ヒートマップ	45
3.26	IMSAT ($k = 16$) クラスタ 15 所属確率ヒートマップ	46
4.1	pix2pix の構造	52
4.2	SSIM 模式図	54
4.3	pix2pix 染色変換 結果 (小領域)	55
4.4	pix2pix 染色変換 結果 (全体)	56

第 1 章 序論

1.1 膵臓癌

膵臓癌は早期発見が難しく、予後が非常に悪いがんの一つである。膵臓は、胃の後部に存在する長さ 20cm ほどの左右に細長い臓器であり、周囲は多くの臓器やリンパ管、血管等に覆われている。それゆえ、成熟した膵癌であれば非侵襲的な検査方法である CT や MRI での造影が可能であるが、未成熟な膵癌ではこれらの方法では造影できない場合が多い。また、膵臓癌の自覚症状として、腹痛や食欲不振、早期の腹満感、黄疸、睡眠障害、体重減少等があるが、これらは他の疾患においても見られる症状であり、膵癌特異性は低い。その上、膵臓が身体の深部に存在するために初期症状が現れにくく、症状が出た頃には癌が既に成熟段階にあるため、処置が遅れる場合が多い。

膵癌の診断ガイドライン [1] によれば、早期の膵臓癌を診断するには、血液診断による血中膵酵素の測定や腫瘍マーカーの測定等が行われる。血中膵酵素には、膵型アミラーゼ、リパーゼ、エラスターゼ、トリプシンなどがあり、いずれも膵臓疾患の診断には重要であるが、膵臓に特異的ではない。一方で、膵癌検出のための腫瘍マーカーもいくつか発見されており、実際に診断指標として用いられているが、感度が高い一方で特異度はそれほど高くはなく、偽陽性率が 20 ～ 30 % と高い。したがって確定診断を行う際には、成熟した膵癌であれば生化学的検査のみならず CT や MRI による造影検査、また可能な限り細胞診や組織診などの生検を行うことが望ましいとされている。

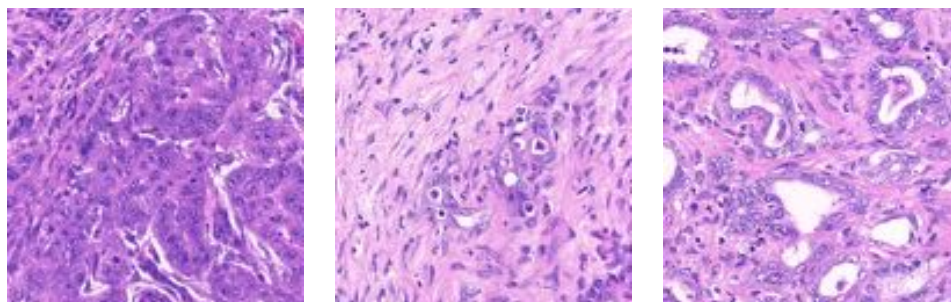
1.2 生検

患者から外科的に臓器片を採取して、病理医が顕微鏡を用いて検査することを生検組織診断と呼ばれる。生検は組織を直接観察することができるため、確定診断に用いられる。採取した組織は薄く切り出した後、光学顕微鏡を用いて観察するために組織染色処理が行われる。膵癌には発現したその場で増殖する非浸潤性膵癌や、他臓器への転移能を持つ浸潤性膵癌など性質の異なる様々なタイプが存在する。例

例えば、浸潤能が高く、血管やリンパ管からがん細胞が流出し、血液やリンパ液に乗って遠く離れた臓器に転移するタイプもあれば、分化度が低く、増殖能が高いタイプもある。各染色方法に応じて観察対象とするタンパクが異なり、複数染色方法を用いて総合的に診断する場合が多い。組織染色方法には大きく分けて、基本染色、特殊染色、免疫染色などがあるが、ここでは本研究でも用いている二種類の染色方法について取り上げる。

1.2.1 Hematoxylin - Eosin 染色 (HE 染色)

Hematoxylin - Eosin 染色 (HE 染色) は最も基本的な染色方法である。文字通り、Hematoxylin と Eosin の二種類の色素を用いて組織を染める方法である。Hematoxylin は細胞核やリボソームと結合することでこれらを濃青紫色～藍色に染色し、Eosin は細胞質や赤血球、各種繊維質を淡赤色～濃赤色に染色することで組織の構造を可視化することができる (図 1.1 - 1.2)。HE 染色は伝統的に組織染色の第一選択肢として用いられている。がんの診断においては、核異形や組織集団に着目した場合の構造異形、リンパ節転移、間質量、分化度などからがんの存在を判定する。無論、HE 染色のみでもがんの識別は可能であるが、より確実な診断を下すために後述する特殊染色を組み合わせる場合がある。



(a) 高密度低分化型

(b) 間質性低分化型

(c) 間質性中分化型

図 1.1 膵癌組織 (HE)

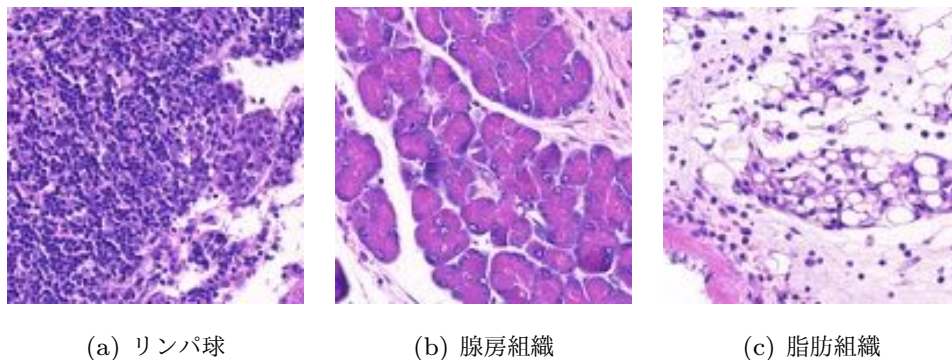


図 1.2 その他組織 (HE)

1.2.2 Masson - Trichrome 染色 (MT 染色)

Masson - Trichrome 染色 (MT 染色) は特殊染色の一種である。MT 染色は HE 染色では不鮮明な間質を青く可視化することができる。がんが浸潤する際には、結合組織を構成する線維芽細胞がコラーゲン等の間質成分を造成する。臨床研究では、間質造成が少ない患者群において生存期間が優位に長いことが報告されており、間質量は予後マーカーの 1 つとして考えることができる [2]。MT 染色では染色液に含まれる鉄 Hematoxylin により細胞核を黒紫色に染色し、Masson 液により細胞質を赤く、膠原繊維を青く染めることができる (図 1.3 - 1.4)。膠原繊維を特異的に染色できることから、HE 染色よりも明確に浸潤性領域の検出が可能であるため、進行度の識別に用いることができる。

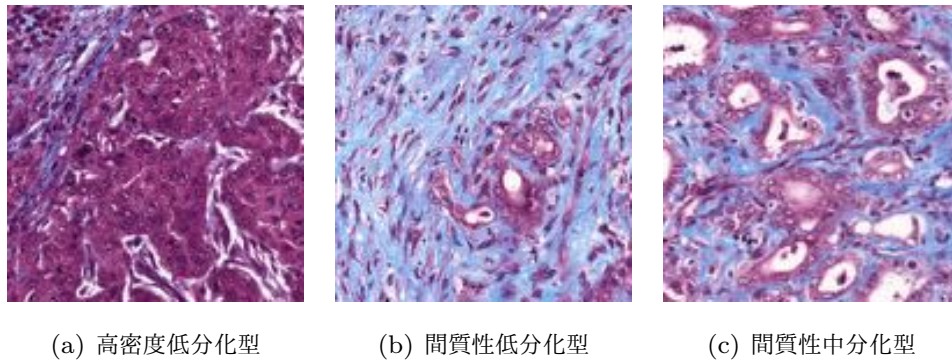


図 1.3 肺癌組織 (MT)

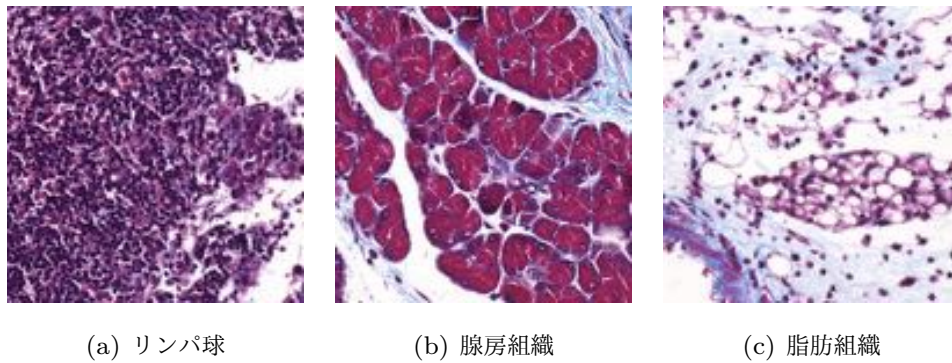


図 1.4 その他組織 (MT)

1.3 深層学習

近年、深層学習を応用した臨床診断応用研究が盛んに行なわれている．ここでは深層学習について簡単に取り上げる．深層学習は脳の神経回路網を模倣して提案された最も単純な神経発火モデルであるパーセプトロンに基づいている．弱学習器であるパーセプトロンは多層に重ねることで表現力が増すことが広く知られており、より深く接続された学習器はディープニューラルネットワークと呼ばれ、今日における深層学習の代表的なモデルである．その中でも、畳み込みニューラルネッ

トワーク [3] は畳み込みによる画素近傍での特徴抽出を行うことで、画像認識において高い性能を発揮できる手法である。

2012 年に開催された大規模画像認識のコンペティションである ILSVRC (ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge) において、深層学習の一手法である AlexNet [4] が圧倒的な成績で優勝した。この出来事はそれまでの主流であった SIFT や HOG を始めとする局所特徴量 [5, 6] と機械学習手法を用いた画像認識の根底を覆すきっかけとなった。それ以降の画像認識における研究では深層学習が軸になっているものが多い。単に画像単位の分類に留まらず、物体検出やセマンティックセグメンテーション、画像生成等、様々なタスクにおいて深層学習の応用研究 [7–9] が行なわれている。

1.4 病理診断への深層学習の応用

深層学習は画像データのタスクにおいて従来手法に高い精度での識別が可能であり、実社会で頻繁に見られるような風景画のみならず、医用画像に対しても高い精度での識別が可能である。既に医用画像に対して深層学習を応用した研究は数多く存在する。がんか否かを識別することは勿論可能であるが、がんの中でもどのような遺伝子サブタイプが発現しているのかを、組織病理画像から識別することにも既に成功しつつある [10, 11]。遺伝子サブタイプの識別が可能になると、がんの発現に関わるタンパク質に対して特異的に結合することで活性を阻害する分子標的治療薬の開発や、患者一人一人に適したオーダーメイド治療への応用が期待できる。

さらに実際にアプリケーションとして、標本内でクエリ画像と類似する病理画像検索とその遺伝子発現の予測を行い、その画像間の類似度を定量的に可視化することで診断補助を行うシステムも構築されている [12]。

現段階で既に、深層学習の診断応用の実現が成功しつつある一方で、対応できる疾患は教師ラベルの入手が難しいためにまだ限られている。先行研究の多くは教師あり学習に基づいており、専門医による念入りのアノテーションが必要とされる。機械学習に関連する研究に共通して起こり得る問題であるが、解くべきタスクによっては教師ラベルの入手が困難な場合が多い。医用画像にもこの傾向は当てはまり、アノテーションに高度な専門知識が必要とされるため、教師ラベルの入手は難し

い [13].

一方で、教師あり学習によるアプローチで、画像から遺伝子サブタイプが識別できたということは、少なくとも病理画像中に潜在的に識別に寄与する統計的特徴が存在すると言える。しかし、前述の問題に加え、将来的に診断支援のみならず、病理の解明と治療薬選択への寄与を考えると潜在的に組織病理画像中の統計的特徴を抽出できる教師なし学習で解析できることが望ましい。

以上の理由から、教師なしクラスタリングによるアプローチにより前述の教師ラベル不足問題を解消しつつ、教師あり学習と同様に細胞タイプを分類及びがん進行の定量的評価を試みる。

1.5 目的

本研究では組織病理画像に対する教師なしクラスタリングを用いて、病理学における新たな知見創出と診断補助を目的とする。教師なし畳み込みニューラルネットワークを用いて組織病理画像から統計的特徴の抽出とクラスタリングを行うことで悪性度予測に寄与するような成分の抽出し、病理の理解へ寄与するような画像解析フレームワークを提案する。そして、構築したクラスタリングモデルから得られる各クラスターの所属確率から、目視では識別が難しい間質の浸潤や細胞密度等の悪性度評価による診断支援、及び、病理学の観点で新たな知見が得られるのか否かについても検証を行う。また、それに加えて術中迅速診断等の場面を想定し、金銭的・時間的コスト削減に寄与するような組織染色画像の変換器も提案し、その実用可能性についても議論していく。

第 2 章 データセット

本研究では九州大学より提供の KPC マウスの膵癌病理画像を用いた。KPC マウスはがん原遺伝子である *Kras* と *p53* に変異を与えたマウスである。マウスは遺伝学的にヒトと相同性があり、生理学的にも共通点が非常に多いため、医学研究において最も代表的なモデル生物とされている。

今回用いた病理画像は HE 染色と MT 染色の 2 種類の染色画像間で互いにレジストレーションされたものを用いた。また、標本全体の病理画像はサイズが非常に大きく、メモリの制約上このままの状態での学習は難しい。そこで、 256×256 , 1024×1024 の 2 種類のサイズでランダムに切り出した画像をデータセットとして用いた (図 2.1 – 2.4)。ただし、過剰な特徴量と計算量の削減のため、 1024×1024 データセットは 256×256 にリサイズしている。両データセットのサイズは共に 256×256 であるが、ここではデータセットを区別するために、前者を 256×256 データセット、後者を 1024×1024 と呼ぶ。後述する教師なしクラスタリングにおける実験では、マクロな視点での組織の構造に重視し、 1024×1024 のデータセットを用いた。一方、染色変換の実験においては、組織全体での染色結果の整合性を保つためにより細かい 256×256 のデータセットを用いた。また、切り出す際には組織が存在しない空白領域を画素値の分散に基づいて除外した。

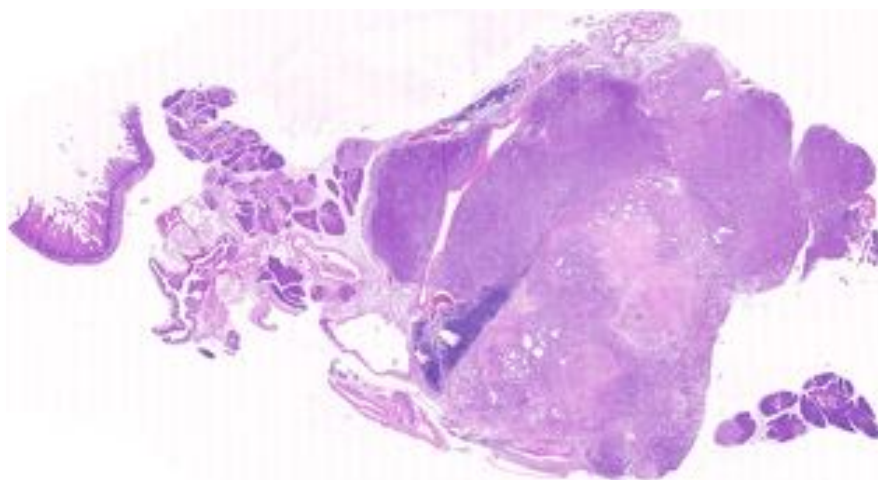


図 2.1 全体の組織病理画像 (HE)

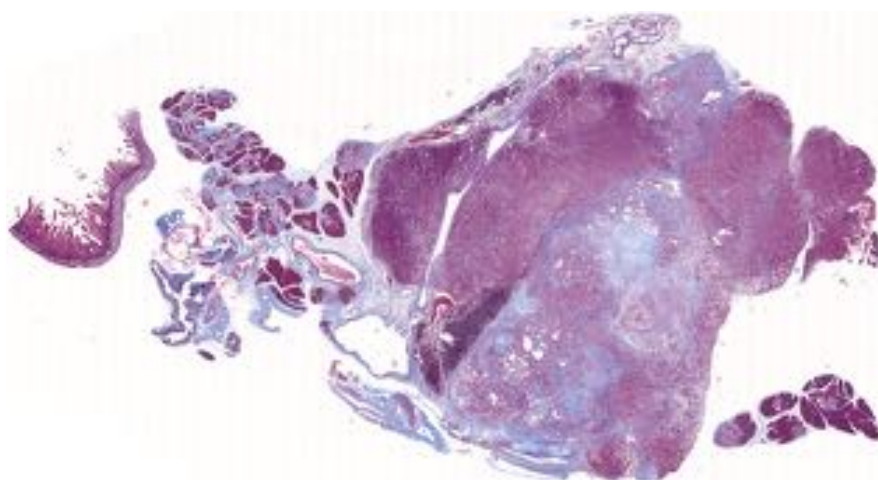


図 2.2 全体の組織病理画像 (MT)



図 2.3 256 × 256 データセット (左 : HE 染色画像、右 : MT 染色画像)



図 2.4 1024 × 1024 データセット (左 : HE 染色画像、右 : MT 染色画像)

第 3 章 教師なしクラスタリング

本章では教師なし畳み込みニューラルネットワークを用いた組織病理画像の特徴抽出とクラスタリングについて述べる.

3.1 手法

本研究では Autoencoder (AE) [14] をベースとした特徴抽出器と Deep Residual Networks (ResNet) [15] をベースとした特徴抽出器を用いて組織病理画像の解析を行った. これらのネットワーク構造は異なるが, 観察したい対象に合わせて異なる学習方法を採用した. 以下にその手法の詳細を述べる.

3.1.1 Autoencoder

3.1.1.1 概要

Autoencoder (AE) は順伝播型ニューラルネットワークに基づいた教師なし次元削減の一手法である. 高次元データを低次元空間上に写像することは我々がデータの性質を俯瞰し, 解釈する上で役立つ場合が多い. 代表的な線形な次元削減手法として主成分分析 (PCA : Principal Component Analysis) や独立成分分析 (ICA : Independent Component Analysis) などがあるが, 画像のような高次元データではうまく機能しない場合が多い. そこで, 画像データに対しても高い精度で識別できるニューラルネットワークを次元削減に応用した Autoencoder を用いることで, 組織病理画像中に存在する核, 細胞密度, 間質等の各要素に集約できると考えられる.

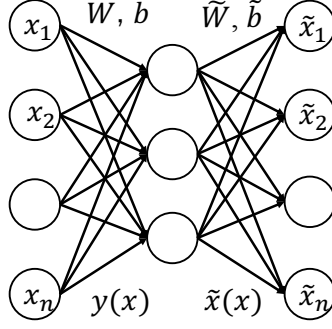


図 3.1 Autoencoder の構造

図 3.1 のような入力層と出力層で同数のユニットを持つ順伝播型のネットワークを考える．このとき，入力層より少数のユニットを持つ隠れ層の出力 y は，入力 x ，重み W ，バイアス項 b ，活性化関数 f を用いて，

$$y = f(Wx + b) \quad (3.1.1)$$

と表現できる．出力 y を隠れ層で折り返し，入力 x と同じ空間に戻す変換 (Encode) を行う．変換の結果を $\tilde{x}$ としたとき， y から $\tilde{x}$ への変換 (Decode) は，

$$\tilde{x} = \tilde{f}(\tilde{W}y + \tilde{b}) \quad (3.1.2)$$

と表現できる．これらの一連の計算は以下の式 (3.1.3) で示される入出力間の平均二乗誤差を最小化することで学習が行われる．

$$\mathcal{L}_{\text{AE}} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \|x_i - \tilde{x}(x_i)\|^2 \quad (3.1.3)$$

y から元の入力 $\tilde{x}$ を再構成できることから， y は入力 x の低次元特徴ベクトルとみなすことができる．

画像認識において，畳み込みニューラルネットワークが高い精度で識別できるのと同様に，畳み込みを適用した Convolutional Autoencoder (CAE) は認識する上でより重要な表現を獲得できる [16]．そこで，本研究ではまず初めに CAE を用いて特徴抽出を行ったのちに，ボトルネック部分で得られる低次元特徴ベクトル y に対して PCA を適用することで 2 次元空間へ集約を行う．

3.1.1.2 実験条件

本研究では, Encoder 8 層, Decoder 8 層の CAE を用いて表 3.1 の条件で訓練を行った. また, 訓練したモデルのボトルネック部分から得られる低次元特徴ベクトルに対して PCA を適用して 2 次元空間へ集約を行った.

訓練データ数	12000
テストデータ数	3000
Epoch	100 (37500 iterations)
Batch size	32
Dropout rate	20 %
Optimizer	Adam ($\lambda = 0.0002, \beta = 0.5$)

表 3.1 CAE 実験条件

3.1.2 Adversarial Autoencoder

3.1.2.1 深層生成モデル

Autoencoder のボトルネック部分における特徴ベクトル y は直接制約を与えず, 入出力間の誤差を最小化することで得られるものだった.

Adversarial Autoencoder (AAE) [17] は敵対的生成ネットワーク (GAN : Generative Adversarial Networks) [18] の学習機構を用いて y を任意の分布へ埋め込むように正則化を加えた深層生成モデルである. AAE の潜在変数の仮定によく用いられる分布として, 連続分布では多変量ガウス分布, 離散分布では一様カテゴリ分布などが挙げられる. 単に次元削減を行うのみならず, 潜在変数に対して連続分布と離散分布を仮定することで連続的な構造を持つ病理の理解に役立つと考えられる.

従来の深層生成モデルとして, MCMC を用いて尤度関数の最大化を行う制限ボルツマンマシン (RBM : Restricted Boltzmann Machines), Deep Belief Networks (DBNs), 深層ボルツマンマシン (DBMs : Deep Boltzmann Machines) [19, 20] などが提案されている. MCMC に基づいた学習を行うモデルは, 対数尤度の勾配計算

において、分配関数の組み合わせ爆発を起こす点と逐次推論が必要な点で計算量が大きい。そこで、近年提案されている手法では Back-propagation が用いられている。Variational Autoencoder (VAE) [21, 22] は、中間層の特徴ベクトルに対して正規分布を仮定した Autoencoder である。VAE は Back-propagation を用いて尤度関数の変分下限を最大化することで、データの事後分布を正規分布へ埋め込んだ潜在変数として表現することができる深層生成モデルである。しかし、VAE が埋め込める分布は正規分布等の素性の良い分布に限られており、煩雑な分布や多様体に埋め込むことは難しいことが知られている。

Adversarial Autoencoder (AAE) は GAN に基づいた強力な正則化を潜在変数に対して与えることで、正規分布以外の分布への埋め込みが可能なモデルである。AAE はデータの分布そのものを学習するため、サンプリングが可能であるが、今回はサンプリングそのものよりも、低次元空間に集約することによる病理の解釈を目的としている。よって本実験では、AAE を用いて潜在変数に対して離散分布を仮定し、クラスタリングを行うことで連続的な構造を持つ病理画像中の細胞密度や間質等の組織のタイプに関連する成分の抽出を試みる。

3.1.2.2 Generative Adversarial Networks (GAN)

GAN は深層生成モデルの一手法であるが、従来手法と比べて損失関数中で尤度を直接考慮せずともデータの生成ができるように最適化可能な点で異なる。GAN はノイズ z から真のデータを偽造したデータ $G(z)$ を生成する Generator (G) と、偽造データ $G(z)$ か真のデータ x かを識別する Discriminator (D) の 2 つのネットワークから構成される。Generator は Discriminator に $G(z)$ が偽造データと識別されないよう、真のデータの分布 $p(x)$ を模倣するように学習し、Discriminator は偽造データの分布 $p(G(z))$ と真のデータの分布 $p(x)$ を識別することで競合的に学習を行う。両者の関係は JS divergence を用いて、2 players mini-max ゲームとして式 (3.1.4) のように損失関数を定義することができる。

$$\mathcal{L}_{\text{adv}} = \min_G \left[\max_D \mathbb{E}_{x \sim p_{\text{data}}} [\log D(x)] + \mathbb{E}_{z \sim p(z)} [1 - \log D(G(z))] \right] \quad (3.1.4)$$

3.1.2.3 Adversarial Autoencoder (AAE)

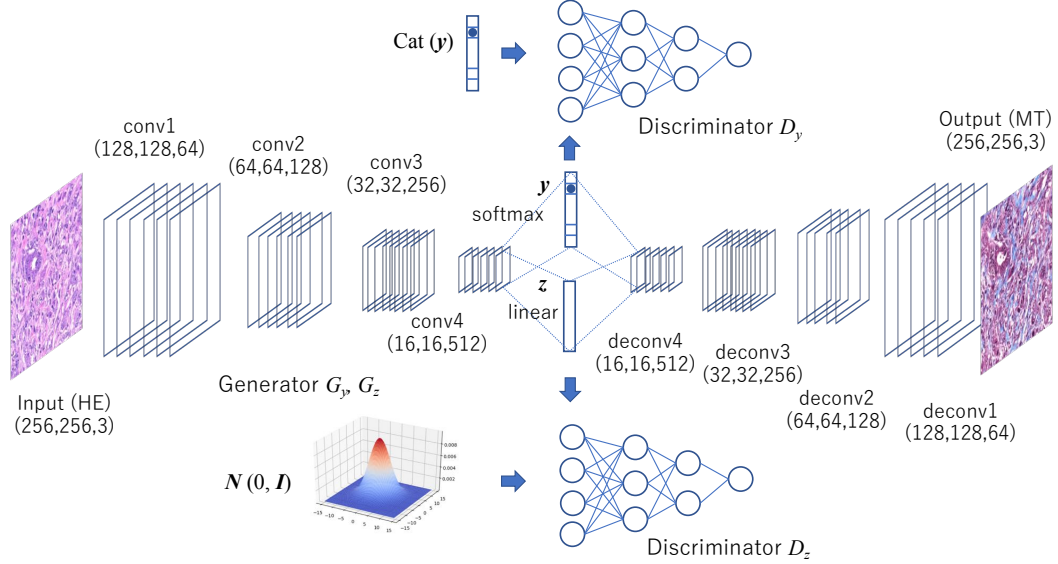


図 3.2 AAE ネットワーク構造

Adversarial Autoencoder では通常の Autoencoder と異なり、潜在変数に対して任意の分布を仮定する。クラスタリングによる病理画像の解析を行うため、図 3.2 のように潜在変数に対して離散分布である一様カテゴリ分布 $\text{Cat}(y)$ と連続分布である多変量ガウス分布 $N(0, I)$ への埋め込みを行う。

Encoder が離散潜在変数 y に対する Generator (G_y)、連続潜在変数 z に対する Generator (G_z) として機能する。Discriminator (D_y, D_z) は Encode された潜在変数 y, z がそれぞれ真の分布 $\text{Cat}(y), N(0, I)$ か否かを識別する問題を解く。最終的に AAE は、Autoencoder としての入出力間の平均二乗誤差 (式 3.1.3) と GAN の損失関数 (式 3.1.4) に基づいて最適化することで、目的とする潜在変数を得ることができる。

3.1.2.4 実験条件

出力層 y の活性化関数として式 (3.1.5) で示される softmax 関数を用いた。想定するクラスサイズを k としたとき、クラス $c \in Q$ に対するクラスタ所属確率 p_c

は,

$$p_c = \frac{\exp(y_c)}{\sum_{c=1}^k \exp(y_c)} \quad (3.1.5)$$

と表現できる. ゆえに, 入力 x に対する予測クラス C は,

$$C = \arg \max_{c \in \mathcal{Q}} p_c \quad (3.1.6)$$

として得ることができる. また, クラスタ分割のために p_c の各要素間ユークリッド距離を閾値 η 以下の範囲内で最大化するように最適化を行った. その他層での活性化関数は, Generator の中間層で leaky ReLU, 出力層で tanh を用いて, Discriminator の中間層で ReLU, 出力層で Sigmoid 関数を用いた. その他実験条件については表 3.2 の通りである.

クラスターサイズ	4, 8, 16
訓練データ数	12000
テストデータ数	3000
Epoch	500 (180000 iterations)
Batch size	32
Dropout rate	20 %
Optimizer	Adam [23]($\lambda = 0.0002, \beta = 0.5$)

表 3.2 AAE 実験条件

3.1.3 Information Maximizing Self-Augmented Training (IMSAT)

AAE は GAN を用いて潜在変数に対して直接的に強力な正則化を与える. 高次元データを任意の分布で表現することはデータ間の関係を理解するのに役立つが, 埋め込む分布の設定が必要であるほか, GAN に基づいたモデルでは勾配消失が起こりやすく, 学習が難しいことが経験的に知られている. そこで, Autoencoder

とは異なる枠組みで離散表現に Encode できる Information Maximizing Self-Augmented Training (IMSAT) [24] によるクラスタリングモデルの構築を検討した. IMSAT は教師なし学習であるにも関わらず, 手書き文字データセット MNIST で 98.4% の精度で分類に成功した手法である. IMSAT は Regularized Information Maximization (RIM) [25] と Self-Augmented Training (SAT) に基づいて学習を行う.

まず初めに RIM について述べる. RIM はデータ x と予測クラス y 間の相互情報量を最大化することでクラスタリングを行う手法である. 相互情報量は 2 つの確率分布間がどれほど依存しているかを表す情報量であり, エントロピー S, h を用いて式 (3.1.7) のように表せる.

$$\begin{aligned} I(X; Y) &= S(Y) - S(Y|X) \\ &= h\left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N p_{\theta}(y|x_i)\right) - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N h(p_{\theta}(y|x_i)) \end{aligned} \quad (3.1.7)$$

$S(Y)$ はデータ全体における y の予測分布のエントロピーである. データ全体ではクラスラベルは一様に分布していると考え, $S(Y)$ を最大化させる. 一方, $S(Y|X)$ はデータ x における y の予測分布のエントロピーである. データ x が既知のときモデルが得る情報量は大きくなり, 予測分布 $p_{\theta}(y|x)$ は尖った分布であることが望ましいため, $S(Y|X)$ は最小化する. RIM ではこれに加えて, 解く問題に応じた正則化項も加える. IMSAT は RIM における正則化項として後述する SAT を加えた手法であり, 式 (3.1.8) で示される損失関数を最小化することでクラスタリングを行う.

$$\mathcal{R}_{\text{IMSAT}} = \mathcal{R}_{\text{SAT}} - I(Y; X) \quad (3.1.8)$$

3.1.4 Self-Augmented Training (SAT)

SAT は data augmentation を利用してモデルのロバスト性を高める正則化方法である. CNN は訓練データが少ない場合に, 物体の位置や輝度等の僅かな変形に

対して脆弱であることが知られている．この問題に対処するために，従来の方法は pooling 層の導入や，入力データをランダムに回転，切り抜きなどをしてデータ数を水増しするというアプローチが取られる．教師あり学習に基づいた識別モデルの場合は，教師信号が事前分布となるため単に訓練データの水増しにより精度が向上するが，半教師あり学習や教師なし学習に基づいたモデルの場合は精度は向上が難しい．これは，入力 x に対する予測分布 $p(y|x)$ と， x によく似たデータ $\tilde{x}$ に対する予測分布 $p(y|\tilde{x})$ 間でエントロピーが大きいためであり，両者の予測分布に対して直接正則化を加えることで半教師あり・教師なし学習においても精度向上が可能である．

今，データ x ($x \in \mathcal{D}$) に回転や切り抜きなどの何らかの変形を与える関数を T と置き，全データの変形前後でのクラスドメイン y ($y \in \mathcal{Q}$) の予測分布間の近さは KL divergence (D_{KL}) を用いて，

$$D_{\text{KL}}[p(y|x, \theta), p(y|T(x), \theta)] = - \sum_{y \in \mathcal{Q}} p(y|x, \theta) \log \frac{p(y|x, \theta)}{p(y|T(x), \theta)} \quad (3.1.9)$$

として表現できる．このとき，確率的勾配降下法を用いて最小化すべき損失関数は，

$$\mathcal{R}_{\text{SAT}}(\theta; x, T(x)) = \frac{1}{N} \sum_{x \in \mathcal{D}} D_{\text{KL}}[p(y|x, \theta), p(y|T(x), \theta)] \quad (3.1.10)$$

と表現できる． $\mathcal{R}_{\text{SAT}}$ を最小化することで，各データの識別境界周辺における予測分布を平滑化することができ，汎化性能を向上できる．本研究では変形関数 T として，[24] で提案されている方法を用いた．その概要を以下に述べる．

3.1.4.1 Virtual Adversarial Training (VAT)

Virtual Adversarial Training (VAT) [26] は Virtual adversarial example を変形後のデータ $\tilde{x}$ として用いる SAT の一つである．損失関数の勾配に基づいて生成される，人間が知覚できない大きさの小さな摂動を入力データに加算すると，モデルの識別が大きく狂うことが知られている．このようなデータを Adversarial example [27] と呼び，Adversarial example をデータセットに混ぜることで汎化性能を上げる訓練方法を Adversarial training と呼ぶ [28]．Adversarial training はモデルの汎化性能の向上や，自動運転等の機械学習を活用したシステムに対する攻撃への対処等 [28–30]，幅広い応用範囲を秘めていることから近年注目されている．

Adversarial example における摂動 r_{adv} は、交差エントロピーなどの損失関数 D に対する勾配から生成することができる。教師ラベルに基づいた真の予測分布を $q(y|x)$ 、モデルから推定された予測分布を $p(y|x, \theta)$ としたとき、摂動 r_{adv} は、

$$r_{\text{adv}} = \epsilon \text{sign} (\nabla_x D[q(y|x), p(y|x, \theta)]) \quad (3.1.11)$$

として生成することができる。Adversarial training における損失関数 $\tilde{D}$ は、データ x と Adversarial example $x + r_{\text{adv}}$ に対する損失関数の割合 α を用いて、

$$\tilde{D} = \alpha D[q(y|x), p(y|x, \theta)] + (1 - \alpha) D[q(y|x), p(y|x + r_{\text{adv}}, \theta)] \quad (3.1.12)$$

のように表せる。Adversarial training が適用できるのは真の予測分布が既知の教師あり学習に限られていたが、既に教師なし学習・半教師あり学習にも適用可能な、Virtual Adversarial Training (VAT) が提案されている。

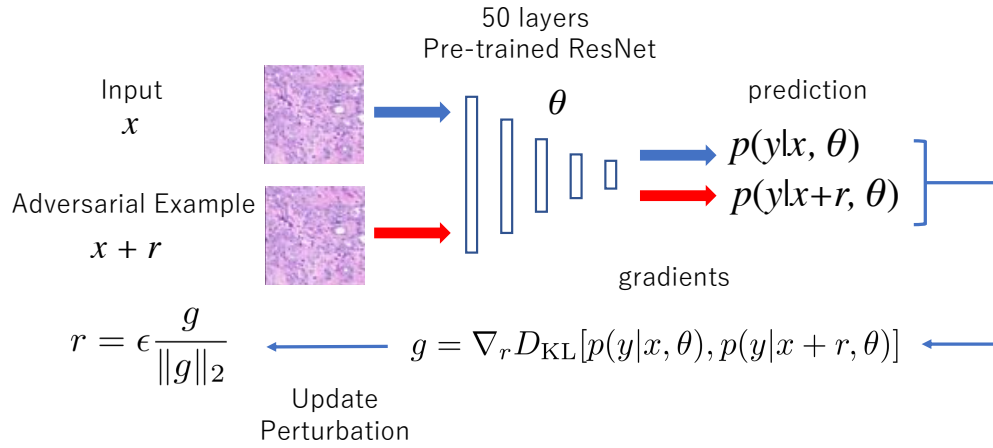


図 3.3 VAT における摂動 r の更新の模式図

VAT では、データ x 周辺における予測分布間の KL-divergence とその勾配から Virtual adversarial example を生成する。今、ガウス分布を用いて初期化した摂動を r と置いたとき、データ x 、 $x + r$ 周りの予測分布間の近さは式 (3.1.9) と同様に、

$$D_{\text{KL}}[p(y|x, \theta), p(y|x+r, \theta)] = - \sum_{y \in \mathcal{Q}} p(y|x, \theta) \log \frac{p(y|x, \theta)}{p(y|x+r, \theta)} \quad (3.1.13)$$

と表せる．このとき，モデルの識別を最も狂わせる摂動 r_{adv} は微小量 ϵ の下で最大となる D_{KL} を求めればいいので，

$$r_{\text{adv}} = \arg \max_{r; r \leq \epsilon} D_{\text{KL}}[p(y|x, \theta), p(y|x+r, \theta)] \quad (3.1.14)$$

と表すことができる．式 (3.1.14) を線形近似で求めることは難しいため， $r = 0$ 周りでテイラー展開を考える．表記を簡単にするため，

$D_{\text{KL}}[p(y|x, \theta), p(y|x+r, \theta)] = D_{\text{KL}}(r, x, \theta)$ と置き，二階導関数まで近似すると，

$$D_{\text{KL}}(r, x, \theta) \approx D_{\text{KL}}(0, x, \theta) + r^T \nabla D_{\text{KL}}(0, x, \theta) + \frac{1}{2} r^T H(x) r \quad (3.1.15)$$

のように展開できる． H はヘッシアンである．

$r = 0$ 付近では， $p(y|x, \theta) = p(y|x+r, \theta)$ なので， $D_{\text{KL}}(0, x, \theta) = 0$ となる．

また， $D_{\text{KL}}(0, x, \theta) \geq 0$ より， $r = 0$ 付近で最小値を取ると考えられるため， $\nabla D_{\text{KL}}(0, x, \theta) = 0$ である．ゆえに，式 (3.1.15) は，

$$D_{\text{KL}}(r, x, \theta) \approx \frac{1}{2} r^T H(x) r \quad (3.1.16)$$

として近似できる． $r^T H(x) r$ を最大化する r は $H(x)$ の最大固有値に対する固有ベクトルであるため，べき乗法 [31] を用いて求める．ランダムに初期化した単位ベクトル d を初期値とし，以下のようにして d を更新する．

$$d \leftarrow \overline{Hd} \quad (3.1.17)$$

$\overline{Hd}$ を用いて d を繰り返し更新していくことで $\overline{Hd}$ の最大固有値に対する固有ベクトルを得ることができる． $H(x)$ を直接計算することは困難であるため，差分法を用いて $H(x)d$ を以下のように近似する．

$$\begin{aligned} H(x) &\approx \frac{\nabla_r D(r, x, \theta)|_{r=\xi d} - \nabla_r D(r, x, \theta)|_{r=0}}{\xi} \\ &= \frac{\nabla_r D(r, x, \theta)|_{r=\xi d}}{\xi} \end{aligned} \quad (3.1.18)$$

ξ は非 0 の微小な値である．よって最終的な d の更新式は以下のように表せる．

$$d \leftarrow \overline{\nabla_r D(r, x, \theta)|_{r=\xi d}} \quad (3.1.19)$$

通常、べき乗法の反復回数は十分な回数必要であるが、[26]において反復回数は一回で十分な精度を達成したと報告されていたため、本研究でも同条件で実験を行う。反復回数が1回のとき、最終的に r_{vadv} は、

$$r_{\text{vadv}} \approx \epsilon \frac{g}{\|g\|_2} \quad (3.1.20)$$

$$\text{where } g = \nabla_r D[p(y|x, \theta), p(y|x + r, \theta)]|_{r=\xi d} \quad (3.1.21)$$

としてシンプルな形に近似することができる。ニューラルネットワーク内で VAT を訓練する場合は、確率的勾配降下法に基づいたミニバッチ学習を行う。学習が進むにつれて各データ周りでの予測分布が滑らかになり、汎化性能が向上するが、摂動の大きさによっては正則化が強く働きすぎるために勾配消失を引き起こす。そこで、勾配消失を防ぐために摂動の大きさを調節するパラメーター $\epsilon(x)$ を導入する。[24]では、全訓練データにおける密度に基づいて摂動の大きさを調節しているが、本研究では大きな画像データを扱う際のメモリの制約を考慮して、ミニバッチ毎のデータ点の密度を摂動に乗算することで調節した。ミニバッチ内での重心 μ に近いデータ点においては摂動の大きさが小さくなり、逆に重心 μ から離れた位置に存在するデータ点に対しては摂動が大きくなる (図 3.4)。Algorithm 1 にミニバッチ学習における VAT の擬似コードを示す。

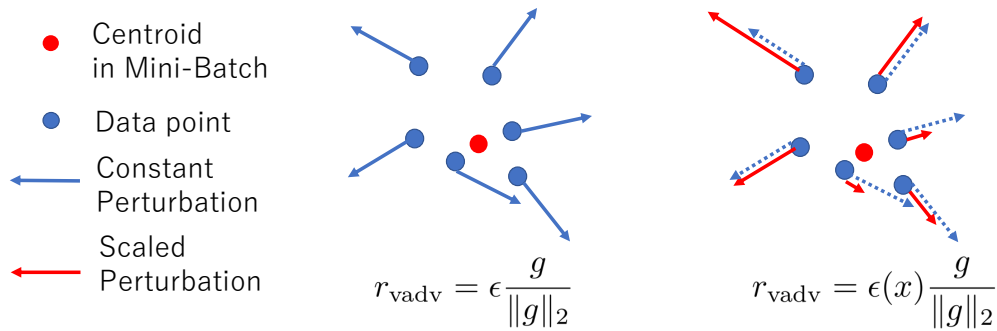


図 3.4 データの粗密に応じた摂動の調節. (左: ϵ 定数時, 右: ϵ 変数時)

Algorithm 1 反復回数 1 回のべき乗法を用いた VAT のミニバッチ学習

- 1: データセット $\mathcal{D}$ から M サンプルのミニバッチ $x^{(i)} (i = 1, \dots, M)$ をランダムに抽出.
- 2: ミニバッチ内のデータ点と重心 μ のユークリッド距離から $\epsilon^{(i)}$ を計算.
$$\epsilon^{(i)} \leftarrow \|x^{(i)} - \mu\|_2$$
- 3: I 次元ガウス分布を用いて単位ベクトル $d^{(i)} \in R^I$ を初期化.
- 4: $r = \xi d$ として, 入力データ点 $x^{(i)}$ における距離 D に対する勾配 $g^{(i)}$ を計算.
$$g^{(i)} \leftarrow \nabla_r D[p(y|x^{(i)}, \theta), p(y|x^{(i)} + r, \theta)]|_{r=\xi d}$$
- 5: $r_{\text{adv}}^{(i)}$ を勾配 $g^{(i)}$ で更新.
$$r_{\text{adv}}^{(i)} \leftarrow \epsilon^{(i)} g^{(i)} / \|g^{(i)}\|_2$$
- 6: **Return**

$$\nabla_{\theta} \left(\frac{1}{M} \sum_{i=1}^M D[p(y|x^{(i)}, \theta), p(y|x^{(i)} + r_{\text{adv}}^{(i)}, \theta)] \right)$$

3.1.4.2 Affine Distortion

もう一つの SAT の方法として, 典型的な data augmentation である Affine Distortion を導入した. VAT に加えて Affine Distortion による SAT を組み合わせることで, 更なる精度向上が可能である [26]. 本研究ではデータ毎のランダムな回転, スケーリング, 反転, コントラスト変更, 輝度変更を用いて data augmentation を行なった (図 3.5). Affine Distortion における SAT の損失関数は式 (3.1.10) と同様である. よって, VAT と Affine Distortion を考慮した SAT の損失関数 $\tilde{\mathcal{R}}_{\text{SAT}}$ は,

$$\tilde{\mathcal{R}}_{\text{SAT}} = \frac{1}{2}\mathcal{R}_{\text{SAT}}(\theta; x, T_{\text{VAT}}) + \frac{1}{2}\mathcal{R}_{\text{SAT}}(\theta; x, T_{\text{Affine}}) \quad (3.1.22)$$

として表すことができる. 確率的勾配降下法を用いて式 (3.1.22) を最小化し, パラメーターを更新することで, モデルはデータの変形に対するロバスト性を得ることができる.

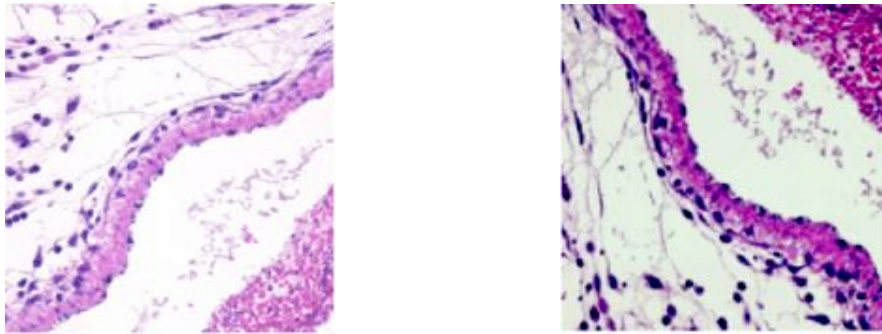


図 3.5 左: 生データ, 右: Affine Distortion 処理後のデータ

3.1.4.3 実験条件

IMSAT に基づいたクラスタリングモデルは表 3.3 の実験条件で訓練を行った. メインのネットワークとして, 大規模画像データセットである ImageNet で事前訓練された 50 層の ResNet を用いた. ImageNet は, 犬や自動車などの我々が生活するなかでよく目にするような画像の大規模データセットであるが, ImageNet を用

いて訓練されたモデルは一般の画像認識のみならず、組織病理画像認識においても高い精度での識別が可能である [32]. 事前学習した ResNet の下流に 512 ユニットの leaky ReLU で構成される中間層と、想定するクラスタ数のユニットを持つ softmax 関数による出力層を接続して fine-tuning を行った.

クラスターサイズ	4, 8, 16
訓練データ数	12000
テストデータ数	3000
Epoch	100 (37500 iterations)
Batch size	32
Dropout rate	20 %
Optimizer	Adam ($\lambda = 0.0002, \beta = 0.5$)

表 3.3 IMSAT 実験条件

3.2 結果・考察

3.2.1 Convolutional Autoencoder + PCA

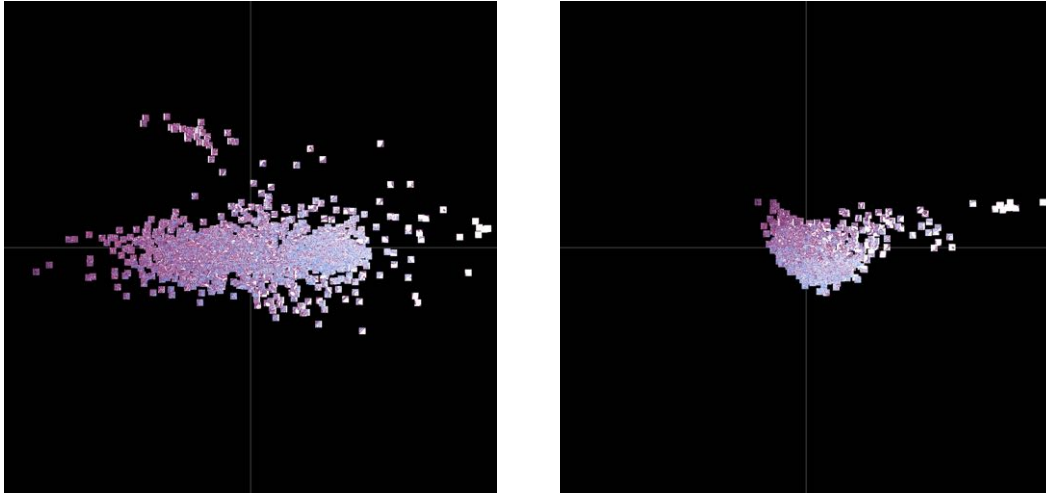


図 3.6 組織病理画像の次元削減による可視化 (左 : PCA、右 : AE). 横軸: 第一主成分 (PC1), 縦軸: 第二主成分 (PC2)

Convolutional Autoencoder (CAE) を用いて特徴抽出した結果について述べる. 図 (3.6 左) は CAE による特徴抽出を経ずに, 単に生画像をベクトル化して PCA を適用した結果である. 結果から, PC1 の大きい領域では組織の空白領域が多く存在しており, PC1 が小さくなるにつれて輝度の低い画像が存在していることから, 単に輝度値に応じて主成分軸が選択されたと考えられる. よって病理学的に意味のある特徴は抽出できたとは言い難い. 一方, PC2 の絶対値が大きい領域では, 組織と空白領域の境界部分の画像が多く存在したが, PC2 の大小で病理学的に大きな意味を持つような特徴は抽出できなかった. PCA は暗黙のうちにデータが正規分布に従うことを仮定するため, 組織病理画像のように多様な構造を持つ高次元データに対してはうまく機能しないと考えられる.

CAE を用いて抽出した特徴ベクトルに対して PCA により, 2 次元空間にプロットした結果を図 (3.6 右) に示す. CAE を特徴抽出器として用いた場合には, 単に PCA を適用した場合とは異なる結果を得ることができた. PC1 の大きい領域では, 依然として空白領域を含む画像が多く存在しており, 小さい領域においても輝

度値の小さい領域が多く存在しているため、PC1 はやはり輝度値によって主成分軸が決定されている。一方、PC2 の大きい領域では明らかに細胞核が多く、低分化型がん組織が存在していた。また、PC2 の小さい領域においては、膠原組織を主体とする間質性のがん組織が存在していた。このことから、PC2 は細胞密度と間質量に応じて主成分軸が選択されたと考えられる。単に PCA を適用した場合に比べて、convolution による特徴抽出が画素ごとの輝度値のみならず、組織の発現パターンや構造に基づいた特徴抽出に寄与したと考えられる。しかし、PC1 における寄与率が 0.308、PC2 までの寄与率が 0.0524 と低く、PC3 以降は微小な値となっており、CAE による特徴抽出を以ってしても PCA による病理の理解は難しいと考えられる。また、サンプル作成時に巨大な組織病理画像からランダムサンプリングしているため、低次元空間に写像しても連続的な構造を保持していることが分かる。しかし、単に間質性組織か非間質性組織か否かを抽出するのみならず、さらにこれらを細分化して人間の目では識別が難しい発現パターンを知ることの意味がある。よって、連続的な構造を持つデータに対する理解を容易にするために、離散表現に Encode 可能なモデルを用いたクラスタリングによる解析が必要であると考えられる。

3.2.1.1 Convolutional Autoencoder + PCA まとめ

本実験から、convolution による特徴抽出が輝度値のみならず細部の発現パターンを抽出に寄与している可能性が示唆された。また、元の組織病理は連続的であるため、単に入出力間の誤差を最小化して低次元空間に写像するのみでは細部の発現パターンの解釈することは難しい。よって、convolution による特徴抽出を行う際に、連続表現のみならず離散表現への Encode をすることで我々の病理への理解を助けると考えられる。節 3.1.2.3, 3.1.3 で述べた Adversarial Autoencoder と IMSAT は CNN で抽出した連続表現を離散表現へ Encode できるクラスタリング手法である。次節でその結果の詳細について述べる。

3.2.2 Adversarial Autoencoder (AAE)

Adversarial Autoencoder (AAE) は Convolutional Autoencoder (CAE) で抽出された潜在変数に対して、ガウス分布とカテゴリ分布を仮定したクラスタリングモデルである。本節では CAE との結果の違いについて述べながら、AAE による想定クラスタ数 k に応じたクラスタリング結果について述べる。なお、 $k = 8$ の条件で勾配消失により、想定するクラスタ数よりも小さいクラスタリング結果となった。本節では特に、 $k = 4, 8$ の条件における結果の詳細について述べる。

3.2.2.1 AAE クラスタリング結果 ($k = 4$)

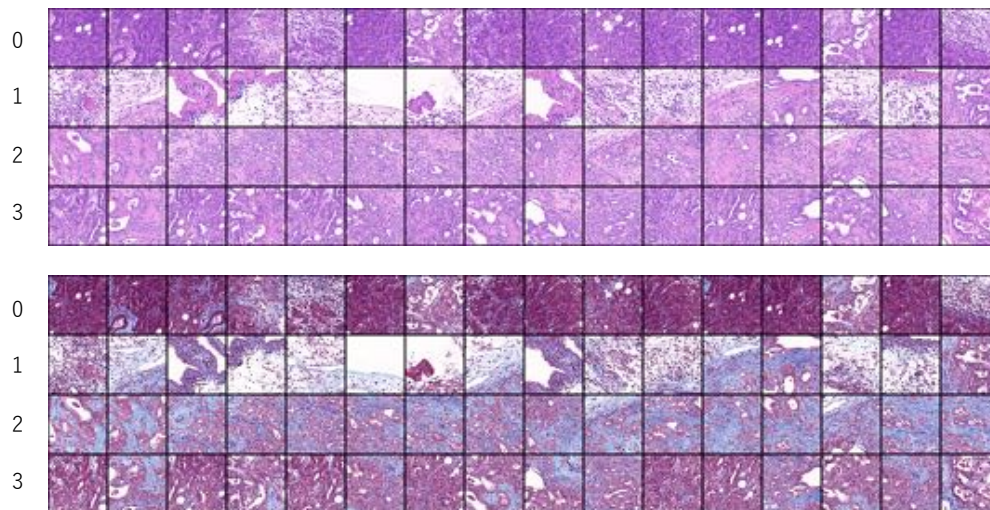


図 3.7 AAE クラスタリング結果 ($k = 4$)

クラスタサイズ $k = 4$ を想定したクラスタリング結果を図 3.7 に示す。図 3.7 の上段・下段はそれぞれ互いに同じ座標でランダムに切り出した HE 染色画像と MT 染色画像のクラスタリング結果である。図から、目視による識別が容易な低分化型組織、高分化型組織、空白領域のみならず、細胞密度等の組織の構造に基づいたクラスタが形成されていることが分かる。各クラスタで見られる画像の所見から、クラスタ 0 は高密度の低分化型がん組織、クラスタ 1 は脂肪組織・血管壁、クラスタ 2

は膠原組織を主体とする低分化型の浸潤性組織, クラスタ 3 はクラスタ 2 より低レベルの浸潤性組織の特徴を持つクラスタであると解釈ができる. CAE では, 単に低分化型か高分化型かを抽出しており, さらに細分化された組織のタイプごとに特徴抽出を行うことが難しかったが, 潜在変数に離散表現を仮定することで我々が病理を理解するのに役立つような表現を学習していると言える. しかし, これらの結果は目視でも識別可能な病理の特徴である. 将来的に病理学研究や治療法の示唆等への応用を考えると, より細分化された組織上に現れる遺伝子の表現型まで識別するのが望ましい. よって, $k = 4$ の条件では, 目視でクラスタの傾向は読み取れるものの, 将来的な応用性を考えれば設定するクラスタ数が小さすぎると考えられる.

3.2.2.2 AAE クラスタリング結果 ($k = 8$)

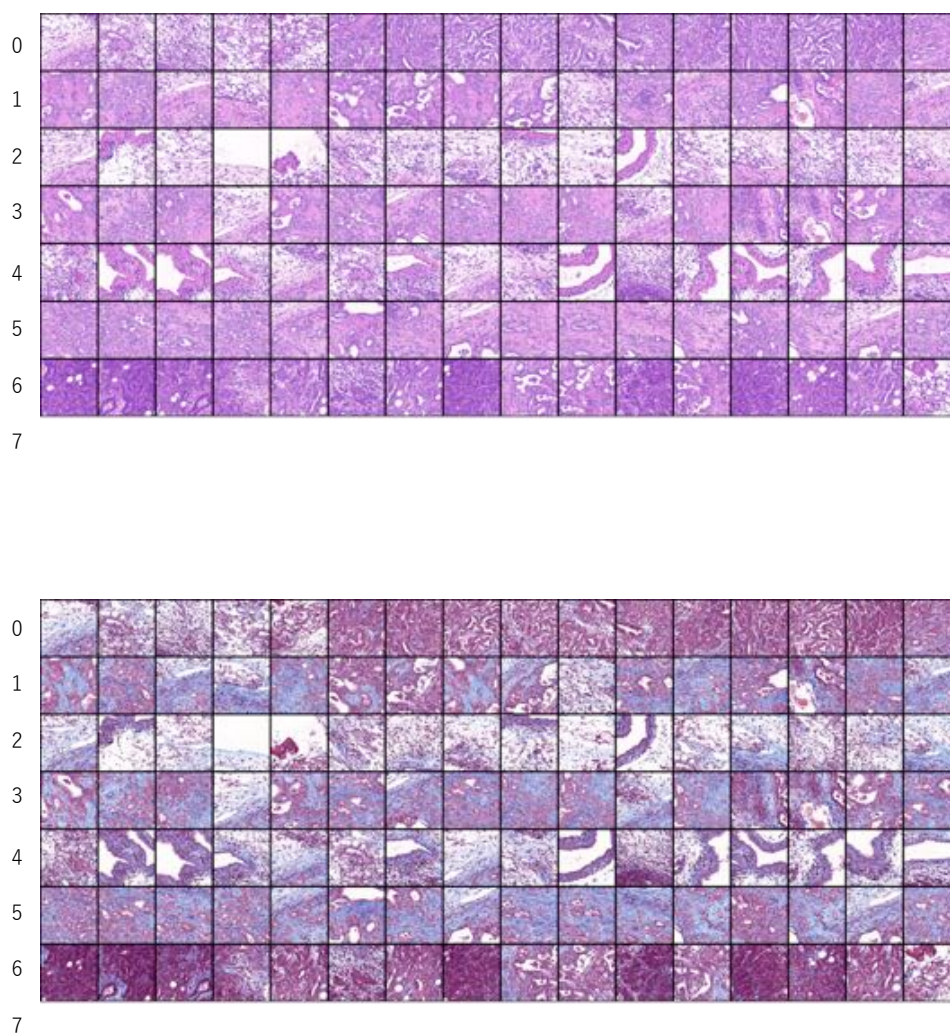


図 3.8 AAE クラスタリング結果 ($k = 8$)

クラスタサイズ $k = 8$ を想定したクラスタリング結果を図 (3.8) に示す. 本条件においては, クラスタ 7 のユニットが勾配消失を起こしてしまい, 想定するクラスタ数よりも 1 つ少ないクラスタリング結果となった. しかしながら, 各クラスタに

において目視による傾向を読み取ることができた。クラスタ 0 の左 5 つのサンプルにおいては、リンパ球浸潤が見られ、がんの浸潤と脂肪化が起きた領域であると考えられる。一方、右半分のサンプルにおいては、中分化型癌組織のやや密な部分が見られた。クラスタ 0 は全体として間質が少ない領域である。クラスタ 1 は、中分化型腺癌組織であり、そのうち半分ほどには特徴的に膠原繊維がヒアリン化した間質が見られた。クラスタ 2 は、他クラスタに比べて疎な特徴を持つサンプルが見られた。主に脂肪組織や組織の端から切り出されたサンプルだと考えられる。クラスタ 3 は、クラスタ 1 と同様にヒアリン化した間質を抽出したと考えられる。クラスタ 4 では、主に血管と主膵管などの壁を構成する膠原繊維を検出している。クラスタ 5 は、中程度の密度の中分化型腺癌と間質であり、最もオーソドックスな膵癌の特徴を有しているクラスタである。クラスタ 6 は癌が密に入っている組織であり、低分化主体か間質増生が少ない領域を検出していると考えられる。

これらをまとめると、クラスタ 1, 3, 5 が近い特徴を有しており、 $1 > 3 > 5$ の順に間質のヒアリン化が強い。また、クラスタ 3, 5 が近い特徴を有しているが、クラスタ 5 は明らかに壁構成繊維がメインのクラスタである。クラスタ 0, 6 でも近い特徴を有しており、間質が少ない組織である。勾配消失により、想定するクラスタ数よりも小さいクラスタサイズになったものの、本条件においても各クラスタの傾向を読み取ることができた。

3.2.2.3 AAE $k = 8$ 次元削減

AAE は離散表現が一様カテゴリ分布に従い、連続表現は多変量ガウス分布に従うように正則化しているが、低次元空間では各サンプルがどのように分布しているのかという疑問が生まれる。加えて、病理所見から目視で判定できるクラスター間の近さが、特徴空間内の近さと一致するのかを調べるため、次元削減手法の 1 つである Isomap [33] を用いて、AAE の潜在変数の可視化を行なった。その結果、病理所見に基づいたクラスター間の近さは、特徴空間内におけるクラスター間の近さと概ね一致した (図 3.9)。

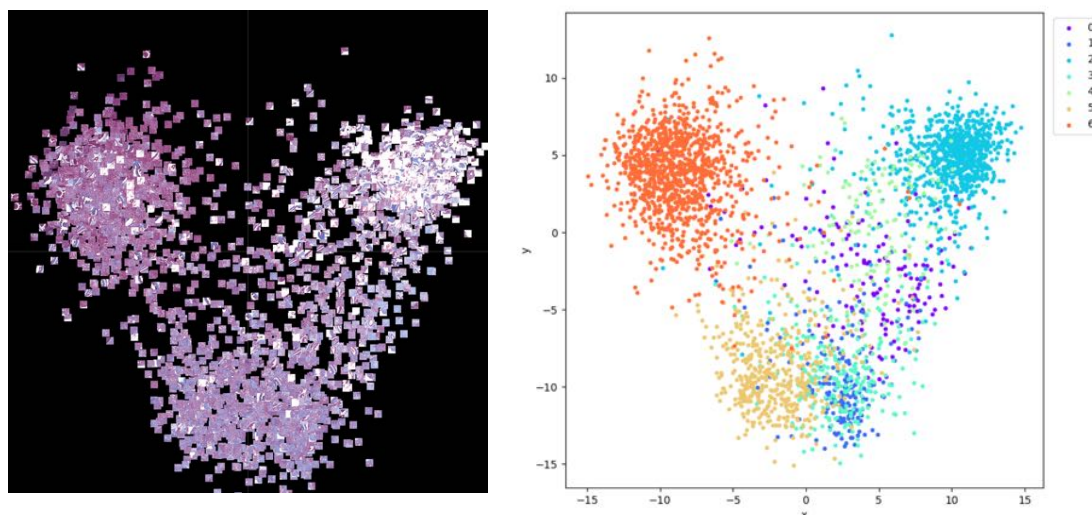


図 3.9 AAE $k = 8$ Isomap による次元削減結果

特徴空間内で見ると、クラスタ 0, 1, 3, 5 とクラスタ 2, クラスタ 4, クラスタ 6 の 4 つのクラスタに大別できる。クラスタ 0, 1, 3, 5 は主に浸潤性組織が入り混じった領域であり、組織の形態的特徴が連続的であることを反映している。これらは CAE の結果 (図 3.6 右) と同様、全体の組織標本をランダムサンプリングしたことにより起因する。また、クラスタ 2 は疎な特徴を持つ空白領域や脂肪組織を中心とするクラスタであり、目視でも明らかに組織とは異なる特徴を持っているため、特徴空間内でも他組織のクラスタから離れて存在している。クラスタ 4 は、空白領域と浸潤性組織が入り混じったような特徴を持っているため、クラスタ 0, 1, 3, 5 とクラスタ 2 の間に位置しており、これも目視により確認された視覚的な近さとほぼ一致している。一方で一際独立したクラスタを形成しているクラスタ 6 は、間質をほとんど含まない低分化型高密度のがん組織であるが、このクラスタには正常腺房組織も含まれている (図 3.10)。また、クラスタ 0, 6 は類似する形態的特徴を有していたが、特徴空間内では離れて存在している。これらの結果は、勾配消失が起きたことにより、病理の特徴を説明するために十分なクラスタ数に満たなかった可能性が示唆され、学習にさらなる工夫が必要であると考えられる。本条件において、細胞密度 (クラスタ

6) や間質 (クラスタ 1, 3, 5) などの膵癌の評価に用いられるようなクラスタを得ることができたと言えるが, マクロな組織構造の検出に留まっている. また, クラスタサイズの制約から, 将来的に目標とする遺伝子発現の表現型までの識別は困難であると考えられる.



図 3.10 正常腺房組織 (左) と低分化型高密度がん組織 (右)

3.2.2.4 Adversarial Autoencoder まとめ

本実験から CAE の潜在変数に対して離散表現を仮定する AAE を用いることで, 細胞密度や間質などの膵癌の評価に用いられるようなクラスタを得ることができた. 病理標本全体で連続的な構造を持つ病理画像に対して, 離散表現を仮定することは複雑な構造を呈する病理を我々が理解することに役立つと言える. しかし, AAE は GAN に基づいて潜在変数に分布を仮定するため, 学習が安定せずに勾配消失が起きる点が問題となる. $k = 8$ から勾配消失が起きてしまい, $k = 16$ 以降ではクラスタが断片化され過ぎたために病理学的な傾向を読み取ることが困難となった (図 3.11, 3.12). AAE において, 潜在変数にガウス分布とカテゴリ分布を模倣させる Generator と, その潜在変数が真の分布由来か Generator 由来かを識別する Discriminator の競合的な学習が行われる. Generator の勾配が大きくなりすぎた場合は, Discriminator が識別できないような意味のないデータを生成し続けてしまい意図した結果を得られず学習が失敗する. 一方で, Discriminator の勾配が大きくなりすぎると, Generator は真の分布を模倣することができず勾配消失を起こしてしまい学習に失敗する. GAN の学習を安定化させるテクニック [34] は経験的に

知られているが, 理論的な解析は未だ不明な点が多い.

本実験では解釈可能なクラスタサイズは $k = 8$ が最適であったが, 輝度値に近い正常腺房組織と低分化型がん組織が同じクラスタに属している点から, さらなるクラスタの分割が必要であると考えられる. 本研究では GAN とは異なる方法で画像の離散表現を得る IMSAT も用いた. 次節でその結果の詳細を述べる.

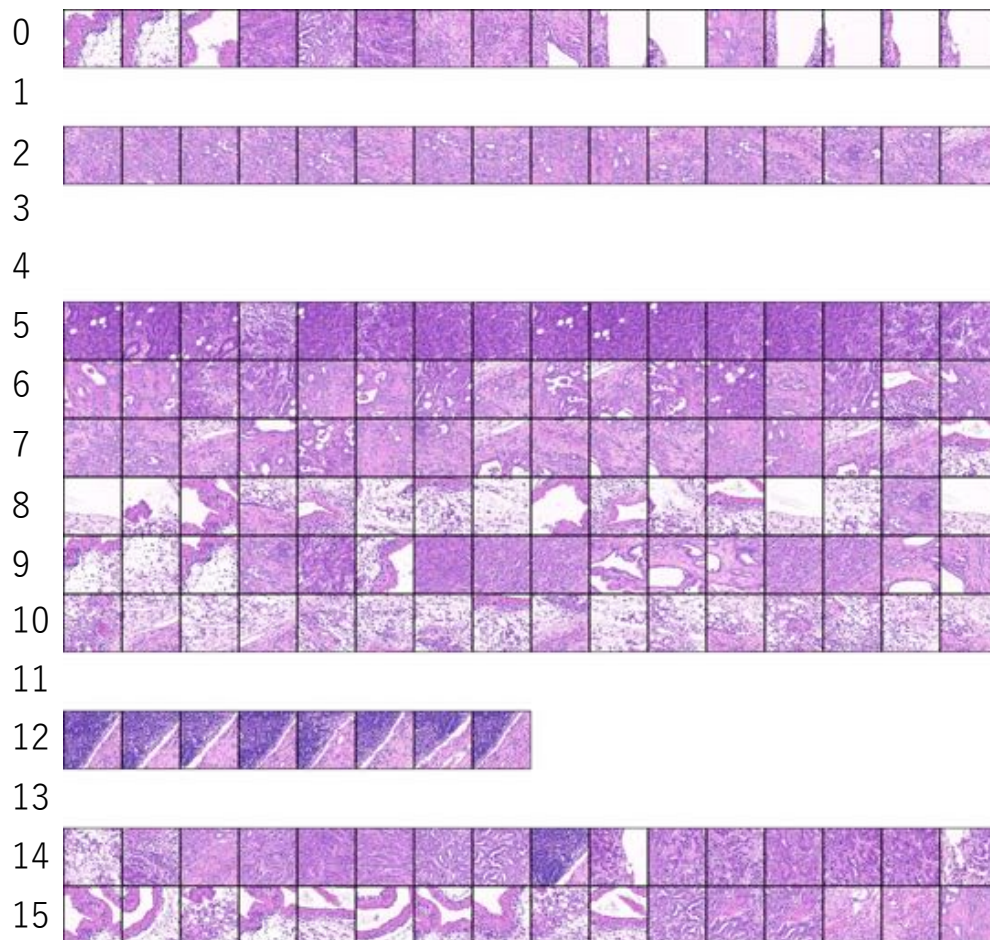


図 3.11 AAE クラスタリング結果 ($k = 16$) (HE)

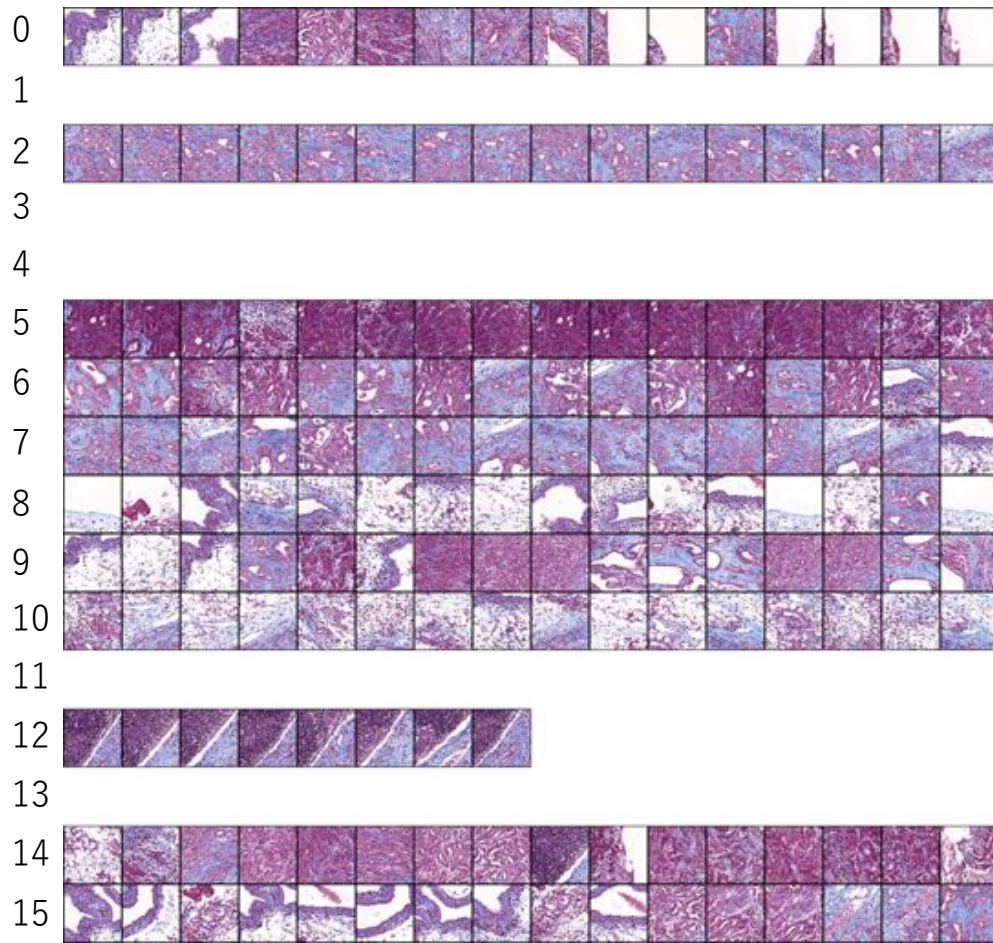


図 3.12 AAE クラスタリング結果 ($k = 16$) (MT)

3.2.3 IMSAT クラスタリング結果

IMSAT では ImageNet による訓練済みの ResNet を特徴抽出器として用いたため, 学習の収束が早く, AAE で問題になっていた勾配消失問題を回避することができた. 各クラスタ条件ごとに結果の詳細について述べる.

3.2.3.1 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 4$)

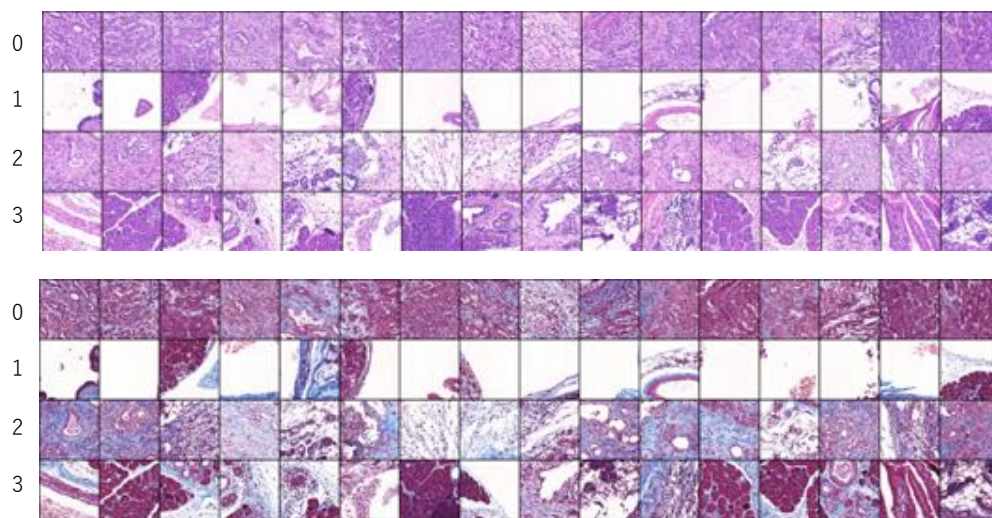


図 3.13 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 4$)

$k = 4$ における結果を図 3.13 に示した. クラスタ 0 では, 低分化型高密度がん組織が見られた. クラスタ 1 では, 空白領域が検出され, このクラスタは病理学的に大きな意味はない. クラスタ 2 では, 間質性がん組織に加え, 脂肪組織も見られた. クラスタ 3 では, 正常腺房組織や血管, リンパ球, 脂肪組織等の性質が異なる様々な組織が混在していた. よって本条件では, AAE における $k = 4$ と同様, 設定クラスタサイズが小さすぎると考えられる.

3.2.3.2 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 8$)

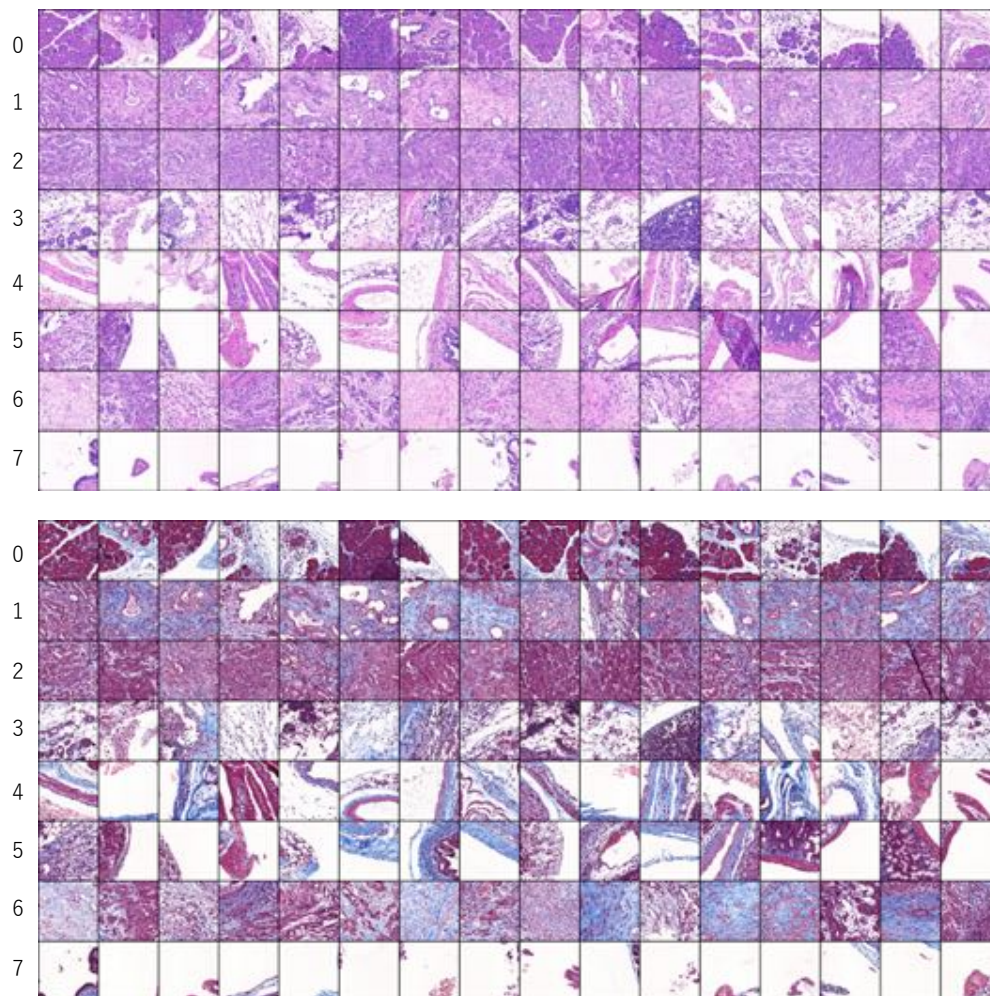


図 3.14 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 8$)

本条件において AAE の同条件と異なるクラスタリング結果を得た (図 3.14). まず突筆すべきは勾配消失を回避し, 想定するクラスタ数のクラスタリング結果を得ることができた点である. 各クラスタの傾向を順に述べる.

クラスタ 0 は, 癌組織ではなく正常な膵臓腺房組織がメインのクラスタである. クラスタ 1, 6 は, 膵癌特有の間質が混ざり合った低分化型膵癌組織である. クラスタ 1, 6 間で図 3.14 からは病理医による目視で明確な違いが確認できなかったが,

組織全体で俯瞰することでその別の違いを確認できたので後述する。クラスタ 2 は比較的密な膵癌組織で、膵癌に特徴的である間質化が乏しい部分である。クラスタ 3 は、組織の端に近い部分であり、脂肪組織や炎症細胞など、小さな細胞が散在している領域である。クラスタ 4 は、比較的大きな血管壁がメインである。クラスタ 5, 7 は、空白領域あるいは組織の端の領域であり、病理学的に大きな意味はない。AAE では 8 クラスタを想定して訓練を行ったとしても、勾配消失により 1 つ少ない 7 クラスタとなったが、IMSAT では想定するクラスタ数の結果を得ることができた。これは、データの粗密に応じた SAT 正則化による勾配消失の回避や ImageNet による事前学習モデルを特徴抽出器として用いたことが寄与したと考えられる。ゆえに大きいクラスタサイズに設定しても勾配消失を防ぐことができ、遺伝子発現の表現型まで分類できる可能性が示唆される。

3.2.3.3 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 16$)

$k = 16$ の IMSAT によるクラスタリング結果は図 3.16 の通りである。驚くべきことに、 $k = 16$ に設定しても勾配消失を起こさずにクラスタリングを行うことができた。各クラスタで概ね傾向が似た組織を検出できているが、クラスタ 1, 10 などでは間質性の組織や高密度がん組織の混在が見られた。また、クラスタ 13, 15 においてはほぼ同じ傾向を持つ組織が検出されており、 $k = 16$ ではクラスタが細分化されすぎてしまい、傾向がばらけてしまう。よって、クラスタサイズ k は 16 未満で決定すべきであると考えられる。

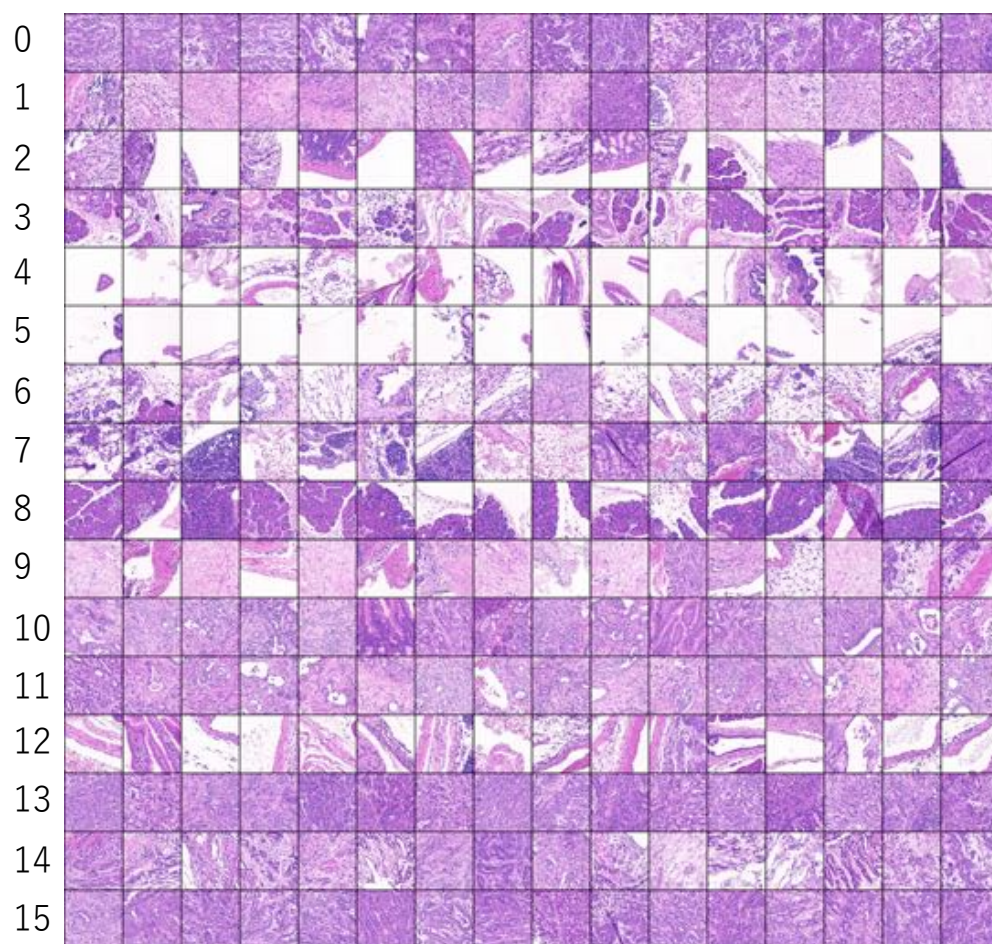


図 3.15 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 16$) (HE)

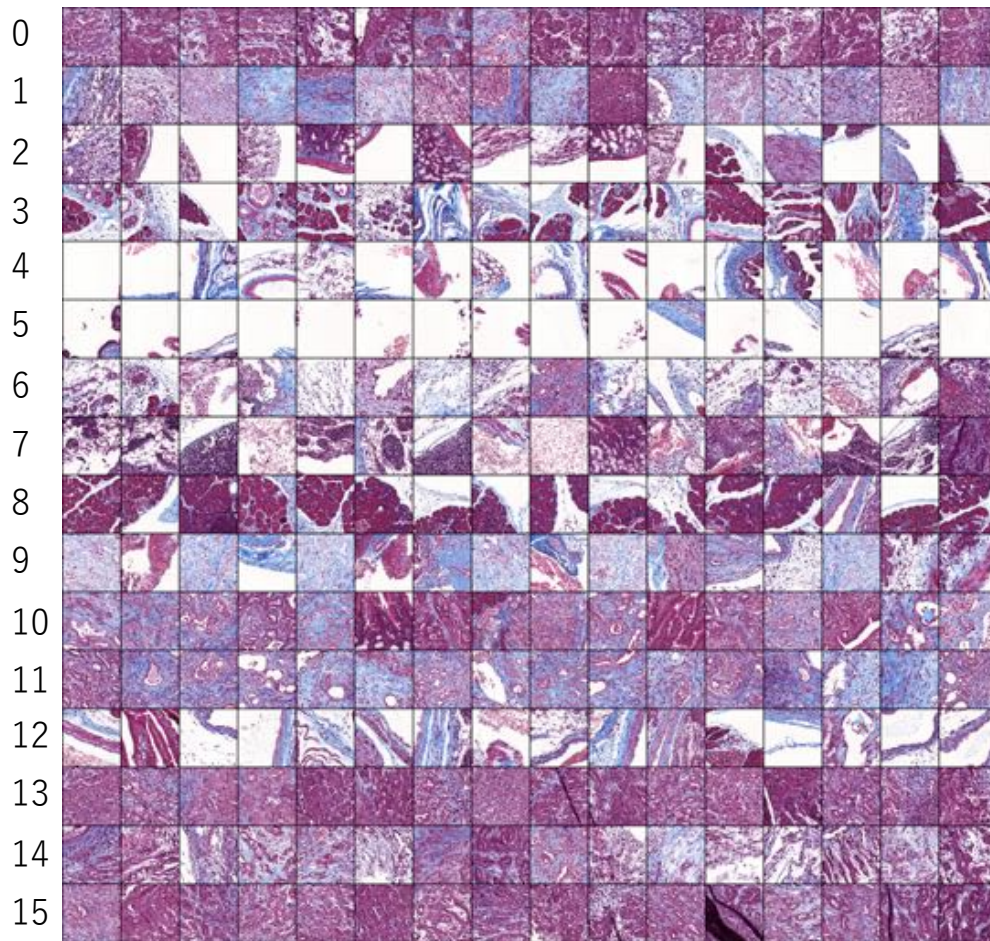


図 3.16 IMSAT クラスタリング結果 ($k = 16$) (MT)

3.2.3.4 IMSAT 次元削減 ($k = 8$)

本実験において突筆すべき結果は, AAE で識別困難だった密な癌組織と正常腺房組織のクラスターをそれぞれ得ることができた点である. そこで, 特徴空間内で各組織がどう分布しているのかを確認するために, Isomap による特徴空間の可視化を行った (図 3.17).

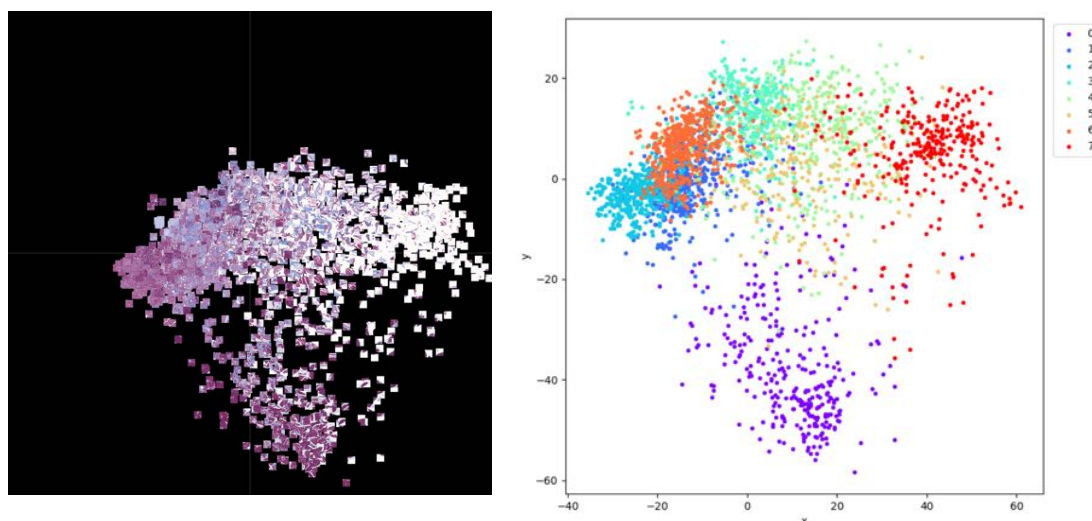


図 3.17 Isomap による次元削減結果 ($k = 8$)

全体として目視で確認できる病理所見の近さが特徴空間内でも一致しているが、正常腺房組織が一際独立したクラスタを形成していることが確認できる。色のみから識別されたとすれば、クラスタ 2 の高密度がんクラスタに属すると考えられる。しかし、連続的な構造を持つ膵臓組織のどのクラスタとも遠い位置に存在し、実際に全体の病理画像においても他組織と比べて独立している (図 2.2)。一般的に画像データは隣接する画素間で相関が強く、巨大な組織病理上においてもそれが反映しているためだと考えられる。

3.2.3.5 IMSAT 次元削減 ($k = 16$)

$k = 16$ の条件においても Isomap による特徴空間の可視化を行った (図 3.18)。 $k = 8$ の条件に比べると、各クラスタがより散在していることが分かる。クラスタ 13, 15 (高密度がん組織) やクラスタ 8 (正常腺房組織) など、間質をあまり含まない組織では他クラスタに比べて凝集性が高い。しかし、一枚の画像中に複数クラスタの組織の特徴が混在しているクラスタ 1, 10 等ではまばらに配置されており、識別

境界付近で識別が曖昧なサンプルであると考えられ, SAT による正則化が弱い可能性が示唆される. また, クラスタの凝集性が小さい点から見てクラスタサイズは 16 以下が望ましいと考えられる.

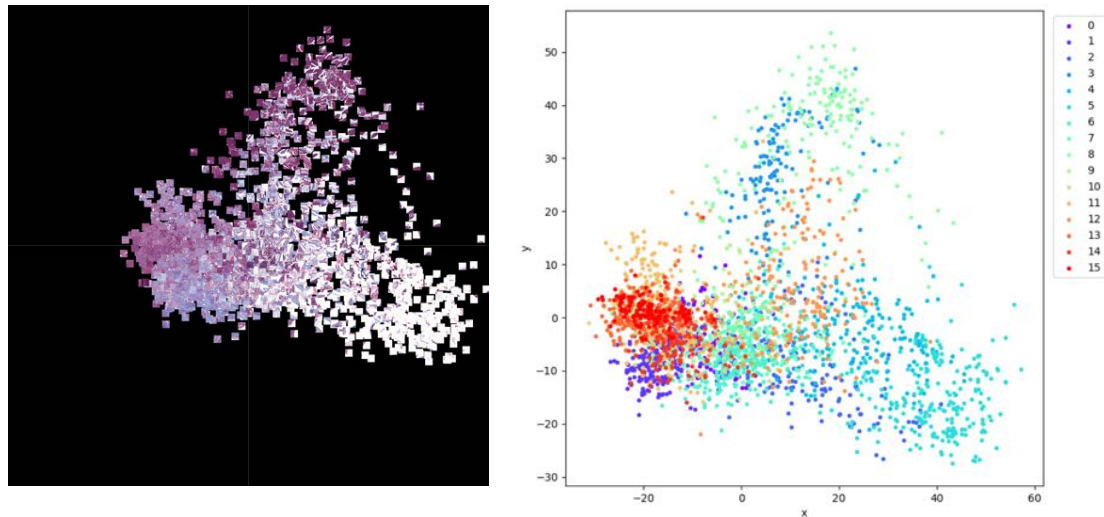


図 3.18 Isomap による次元削減結果 ($k = 16$)

3.2.3.6 所属確率ヒートマップ クラスタ 1, 6 ($k = 8$)

図 3.14 において, クラスター 1, 6 には明確な違いが見られなかった. IMSAT における出力層では softmax 関数を用いているため, 各クラスタの所属確率を得ることが可能である. そこで, 各注目クラスタごとの所属確率を組織全体で可視化することで, サンプル単体では不明だったクラスタの傾向の解釈を試みる.

各クラスタのカラーマップ, 傾向が似ていたクラスタ 1, 6 の所属確率のヒートマップをそれぞれ図 3.19 – 3.21 に示した. 図 3.19 から各クラスタが, 間質, 腺房組織, 脂肪組織など組織属性ごとにクラスタが凝集していることが分かる.

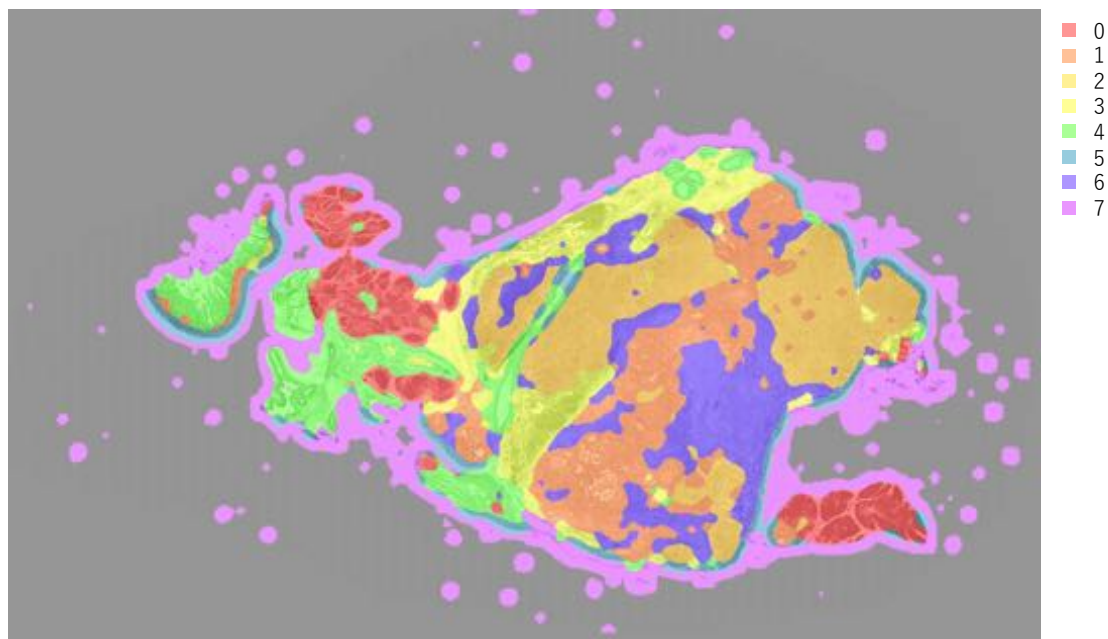


図 3.19 IMSAT ($k = 8$) クラスタのカラーマップ

特に傾向が似ていたクラスタ 1, 6 について考察を行う．クラスタ 1 (図 3.22) においては、全体的に間質を含む領域が検出されており、特に分化度が高い管状構造のがんを顕著に検出していた．分化度が高いがんは組織として成熟しており、増殖能が低く、悪性度は低い．クラスタ 6 においては、全体として間質性がん領域を検出していたが、一部領域で高密度がん組織が混在していた (図 3.23)．この結果から想定するクラスタ数 $k = 8$ では小さすぎる可能性が示唆される．適切なクラスタサイズを設定することで、間質量や分化度など、より細部の形態的特徴に基づくクラスタリングが可能であると考えられる．

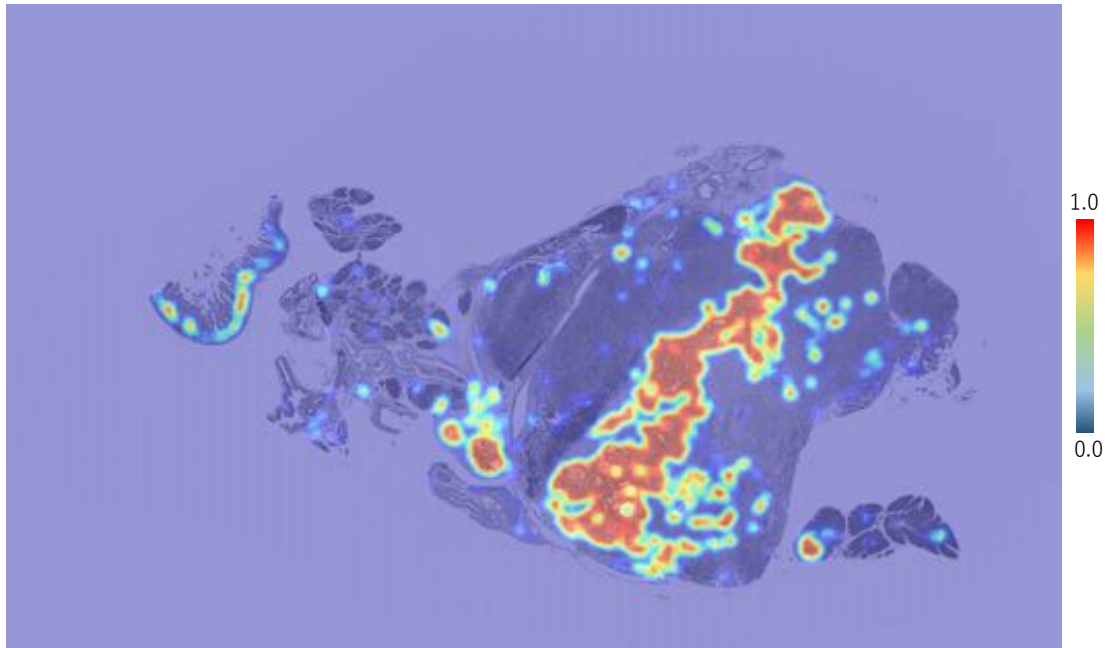


図 3.20 IMSAT ($k = 8$) クラスタ 1 所属確率ヒートマップ

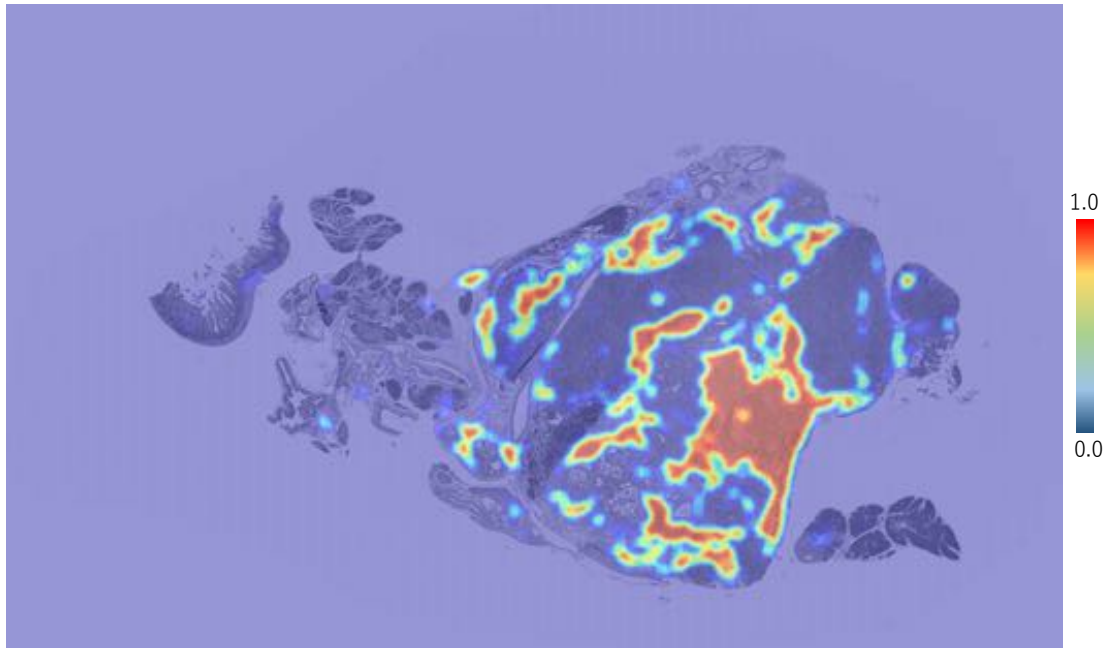


図 3.21 IMSAT ($k = 8$) クラスタ 6 所属確率ヒートマップ

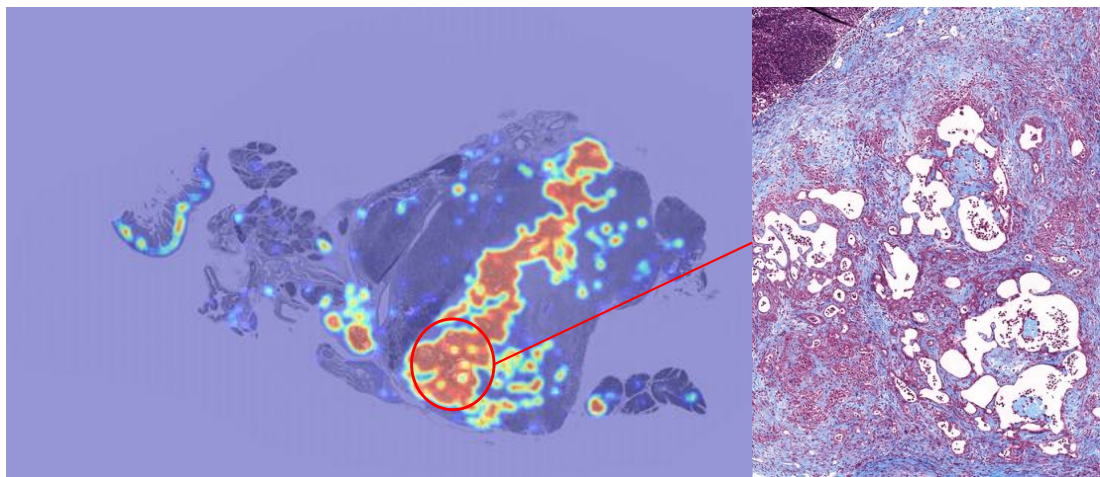


図 3.22 IMSAT ($k = 8$) クラスタ 1 抽出された高分化型組織

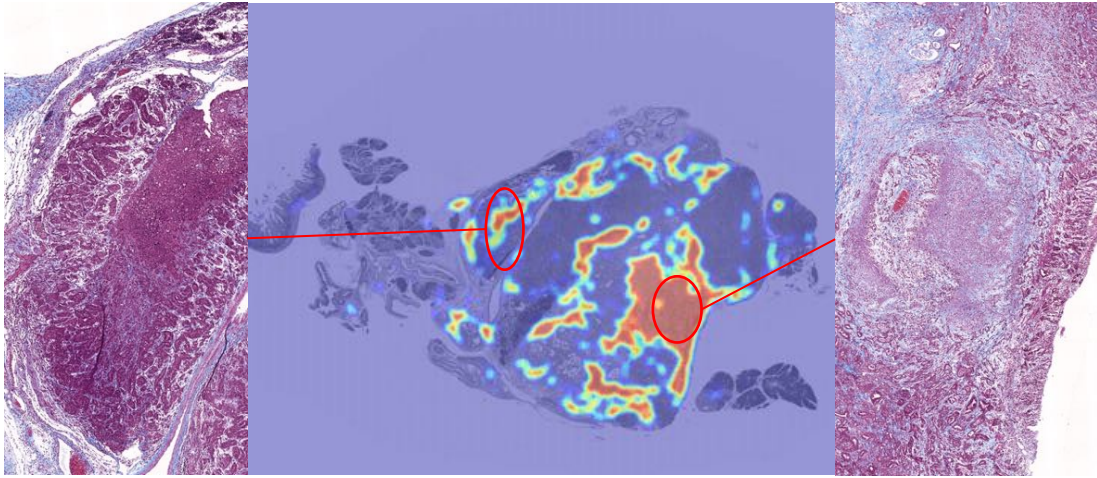


図 3.23 IMSAT ($k = 8$) クラスタ 6 性質の異なる組織の混在 (左: 高密度低分化型がん組織, 右: 間質性がん組織)

3.2.3.7 所属確率ヒートマップ クラスタ 13, 15 ($k = 16$)

節 3.2.3.6 と同様, $k = 16$ においても各クラスタのカラーマップと, 傾向がよく似ていたクラスタ 13, 15 のヒートマップを作成した (図 3.24 - 3.26). $k = 8$ の結果 (図 3.19) と比べて全体的にクラスタの細部の傾向を検出していた (図 3.24). しかし, クラスタ 13, 15 では, ほぼ同じ組織を検出しており, 細部の特徴を見てもクラスタ間で大きな違いは見られなかった (図 3.25, 3.26). このことから, クラスタ数を大きくすることでより細部の形態的特徴を検出することが示唆されるが, クラスタの無意味な分割を引き起こすため, $k = 16$ 未満での適切なクラスタサイズの設定が必要であると考えられる.

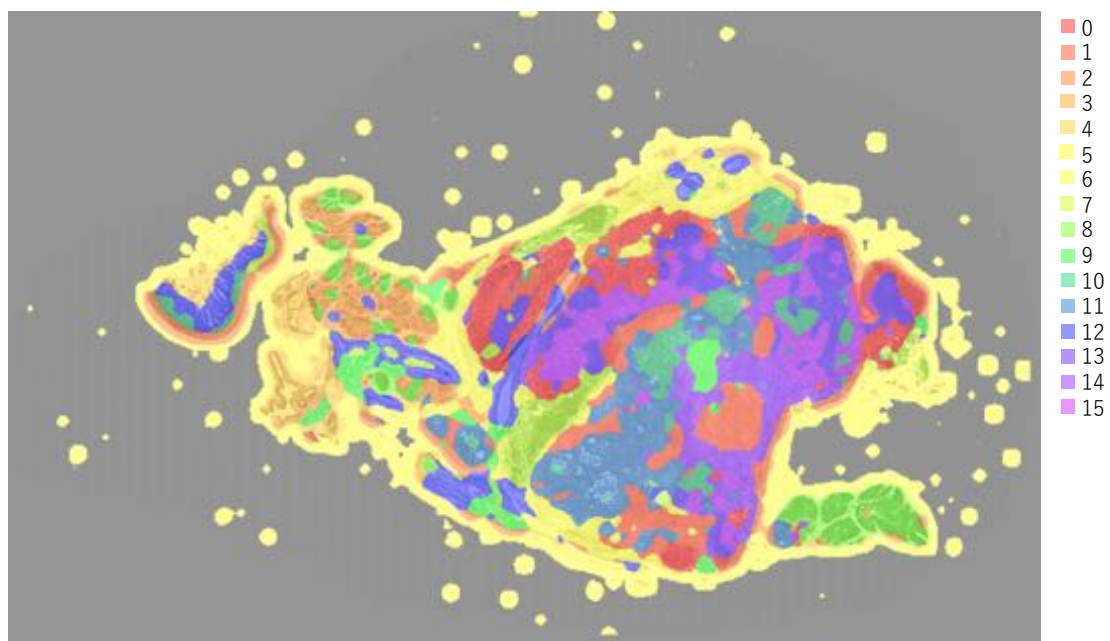


図 3.24 IMSAT ($k = 16$) クラスタのカラーマップ

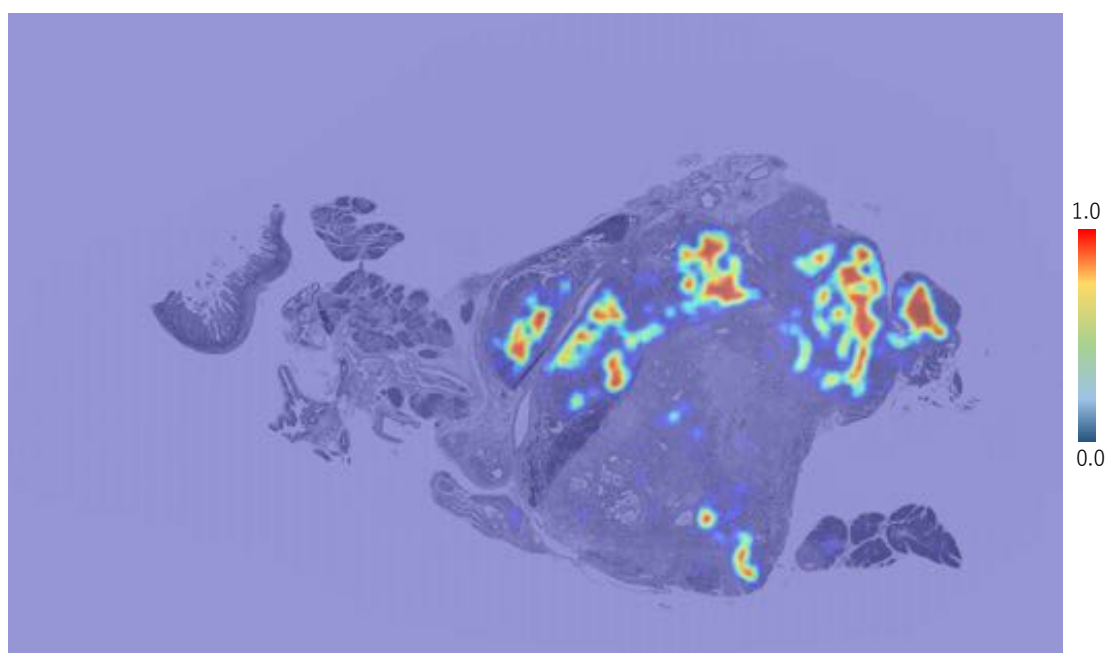


図 3.25 IMSAT ($k = 16$) クラスタ 13 所属確率ヒートマップ

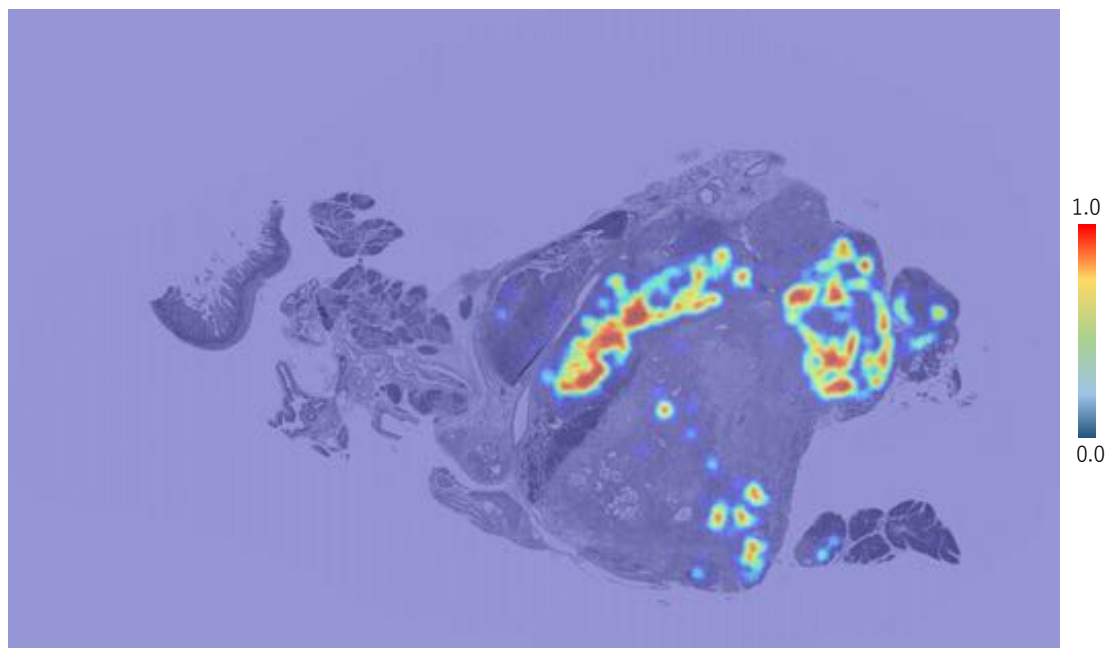


図 3.26 IMSAT ($k = 16$) クラスタ 15 所属確率ヒートマップ

3.2.3.8 評価方法の検討

病理画像の特徴抽出とクラスタリングにおいて重要な点の一つとして最適クラスタ数がいくつなのかということが挙げられる．現段階でニューラルネットワークに基づいたクラスタリング手法において，クラスタ数を自動で決定するための評価基準は現段階はまだ限られている．最も代表的なクラスタリング手法として k-means が挙げられるが，クラスタ数は使用するデータに関する何らかの知見に基づいて指定しなければならない．クラスタ数を指定せずともクラスタリングが可能な手法として x-means [35] が挙げられる．x-means は，ベイズ情報量基準 (BIC: Bayesian Information Criterion) をクラスタ分割の基準として用いて，再帰的に 2-means を繰り返すことで最適なクラスタ数を決定することができる．x-means ではユークリッド距離に基づいてクラスタリングを行うため，各クラスタが正規分布に従うと仮定することで尤度を計算することができる．ニューラルネットワークの中間層ユニット数の決定基準においても BIC を用いる方法が提案されている [36]．ニューラ

ルネットワークを用いた識別モデルにおいて、出力層で Sigmoid 関数や Softmax 関数を用いるのが一般的である。ニューラルネットワークに基づいた識別モデルの訓練時には交差エントロピーの最小化を行うが、確率的勾配効果法に基づいた負の対数尤度の最小化によりパラメータの推定を行うため、一種の最尤推定と見なすことができる。ゆえに出力層における Sigmoid 関数や Softmax 関数は確率として扱うことができ、最大尤度を計算することで BIC の計算が可能である。本研究で用いたモデルでは損失関数として交差エントロピーは用いてはいないが、病理学的に近い特徴を持つデータ間の近さは次元削減後の特徴空間内での近さと一致し、Softmax 関数の出力がクラスタの所属確率として振舞っていると考えられ、同様の方法で BIC の計算を試みた。しかし、想定クラスタ数が増大するにつれて BIC も単調増加し、目視で判定した最適クラスタ数と BIC に相関が見られなかったため、本研究で用いたモデルにおいては BIC による評価は不適であると考えられる。また、中間層特徴ベクトルに対してユークリッド距離に基づいた評価基準である Pseudo-F (Calinski index) [37] による評価を試みたが、BIC と同様に想定クラスタ数が増加するにつれて Pseudo-F も単調現象し、やはり目視による判定結果との相関は見られなかった。よって、現段階でのニューラルネットワークに基づいたクラスタリングモデルの最適なクラスタ数は、病理医による目視からの判定が最も信頼できると考えられ、評価指標の開発のために深層学習の更なる理論的な解析が必要である。

3.2.3.9 病理医による判定

追加で同訓練条件で $k = 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15$ のクラスタサイズで実験を行ない、病理医による目視での評価を行なった。病理医による目視の判定の結果、最適クラスタ数は $k = 8$ となった。クラスタサイズを大きく設定することで、より細部の形態的特徴を検出する傾向にあるが、本研究で用いたデータセットは、組織の構造異形に着目した低倍率のデータセットであり、クラスタサイズを大きく設定しても無意味な分割を引き起こす。臨床現場では構造異形のみならず、核の異形度（細胞異形）も考慮して診断が行われるため、今後高倍率のデータセットも用いた更なる検証が必要である。

3.2.3.10 IMSAT まとめ

IMSAT に基づくクラスタリングモデルでは、クラスタサイズ $k = 16$ に設定しても勾配消失を起こさずにクラスタリングが可能であった。本実験の結果から、病理学的視点でクラスタの傾向を読み取ることができ、かつクラスタ凝集性が高い最適なクラスタサイズの範囲は $8 \leq k < 16$ だった。病理医の目視による判定での最適クラスタ数は $k = 8$ であるが、1つのクラスタに性質の異なる組織が含まれているサンプルも存在した。一方で、 $k = 16$ では、同じ組織を抽出するクラスタが重複してしまい、データの無意味な分割を引き起こす。しかし、クラスタサイズを大きく設定することで、より細部の形態的特徴を検出する傾向が見られた。本研究では、組織の構造異形に着目して低倍率のデータセットを用いたが、細胞異形にも着目した高倍率のデータセットも用いた更なる検証が必要である。また、従来のクラスタリングの評価指標である、BIC と Pseudo-F を検討したが本手法においては評価が難しく、現段階では病理医の目視による判定が必要である。

3.3 教師なしクラスタリング まとめ

本研究では、CAE, AAE, IMSAT を用いて膵癌病理画像の解析を行なった。教師なし学習を用いて病理画像から新たな病理学的知見を得る研究はこれまで例が無い。CAE を用いて抽出した特徴に対して PCA を用いることで、輝度値に加えての組織の形態的特徴に基づく特徴抽出が可能であることを示した。間質と細胞密度に関する成分を抽出できたが、連続的な構造を持つ病理画像に対しては離散表現に Encode する方が解釈性が高い。そこで、AAE と IMSAT を用いたクラスタリングを行なった結果、両者共に間質、細胞密度、細胞分化等に関わるクラスタを得ることができたが、AAE では勾配消失が起きたのに対して、IMSAT では摂動 r_{adv} に対する係数 $\epsilon(x)$ の寄与により勾配消失を回避できた。本研究で用いた手法の中では IMSAT が最も病理画像解析に適したモデルであると考えられる。現段階では IMSAT 以上に高い精度を達成している教師なしクラスタリングモデル [38] が提案されている。これを用いて解析することで、より凝集性の高いクラスタリングが可能であると考えられる。一方で、ニューラルネットワークに基づくクラスタリングモデルに適用可能な、最適クラスタ数の評価指標はまだ開発されておらず、深層学

習の更なる理論的な解析が必要である。

また、今回用いたデータセットは HE 染色画像と MT 染色画像であったが、病理学研究では特定の遺伝子関連タンパクに対して特異的に結合し、可視化できる免疫染色も汎用されている。これは、悪性度や進行度に関わるバイオマーカーの多くが免疫染色により検出が可能なためであり、既に臨床研究において、特定のタンパクや転写因子の発現量が臨床病期の分類やリンパ節転移、組織分化度と優位に相関しており、予後の予測に関わることが明らかになっている [39]。今回用いたようなクラスタリング手法を免疫染色画像に対しても適用して解析することで、免疫染色の目的タンパクに対する遺伝子発現と組織の形態的特徴を紐づけることが可能であると考えられ、さらなる病理学の発展や診断補助への寄与が期待できる

また、今回用いたデータセットのもう一つの特性として、がん細胞集団が構成する環状構造等の構造異形に着目しており、細部の異形度は考慮していない点が挙げられる。しかし、実際の膵癌の診断では構造異形に加えて、核の細胞異形も評価することで評価が行われる。将来的に、病理医に近いレベルでの予測を行うのであれば、強倍率画像を用いて細胞異形に基づく学習を行う必要があると考えられる。既に、40~400 倍の倍率別の病理画像データセットに対して、教師あり CNN を用いることで高い精度でがんの分類に識別に成功した例も存在する [40]。様々な倍率で切り出したデータセットを用いて、本研究で用いたような病理画像中の潜在的な特徴に基づくクラスタリングを行うことで、アノテーションが難しい疾患に対しても構造異形と細胞異形を考慮した病理画像解析を行うことができ、将来的に診断支援に貢献するような、がんの悪性度や進行度等の予測モデルが構築できると考えられる。

第 4 章 染色変換

本章では、組織病理診断における基本染色である HE 染色から間質の評価に用いられる MT 染色を予測する染色変換モデルについて述べる。

4.1 概要

組織染色は病理学研究のみならず、手術中に病変部が悪性度の判定や、取り残しがないかなどを判定する術中迅速診断において重要な評価指標となる。通常、病理診断においては HE 染色が第一選択肢として用いられるが、特殊染色や免疫染色などの染色方法を組み合わせて多角的な視点で判定することで、より確実診断を下すことができる。しかし、複数の染色方法を用いるということは、染色の種類の数だけサンプルが必要になる。化学的に脱染色を行うことで、同じ標本に対して再度染色処理を施すことも可能であるが、組織に対して化学的な修飾・脱修飾を繰り返すことは標本の劣化を引き起こす。また、染色の際、技師の技量や実験環境のプロトコルの差異によって生じる染色結果のアーティファクトも確実な診断を下すに際に軽減したい課題である。そこで今日までに、計算機を用いて標本内の色や構造、分光スペクトルなどに基づいた統計的特徴からこれらの課題を解決する、デジタル染色と呼ばれる研究が行われてきた [41]。デジタル染色を活用した診断支援システムは、10 ～ 15 分で迅速かつ正確な判定が求められる術中迅速診断において大いに活躍する可能性が見込まれる。HE 染色に対するアーティファクト補正のための正規化手法として stain normalizaion が提案されている [42–44]。Stain normalizaion で正規化した標本は、単に病理医が目視による診断を容易にするのみならず、CNN 等の機械学習モデルにおいても識別性能が向上することが知られている [34]。また、染色処理を施していない半透明な標本に対し、CNN を用いて HE 染色結果の予測とその脱染色を行うことも可能になりつつある [40, 45]。計算機を活用した染色予測は HE 染色のみならず、MT 染色などの特殊染色への適用も可能である。分光スペクトル解析を用いて基本染色である HE 染色から特殊染色である MT 染色への変換が既に行われているが、スペクトル計測には分光器が必要であり、病理診断や教育現場において手軽に活用できるアプリケーションへの応用を考えれば、深層学習による

予測モデルが運用性が高いと考えられる．近年，分布の大きく異なる 1 対 1 対応した画像データに対して，画素単位で高精度の回帰が可能な GAN などの深層生成モデルが提案されている．そこで，本実験では GAN の中でも制約付きの GAN である Conditional GAN (cGAN) [46] を用いて HE 染色から MT 染色を予測するモデルの構築を試みる．

4.2 手法

本章では一対一対応したペア画像に対してスタイル変換を行う GAN の手法の一つである，Conditional GAN (cGAN) に基づいた pix2pix [47] を用いる．その手法の詳細について述べる．

4.2.1 Conditional GAN

Conditional GAN は各データに対してドメイン情報を与えることで任意のクラス的数据を生成する手法である．通常の GAN の場合は，JS-divergence に基づいた教師なし学習を行うことで，ノイズ z の分布 $p(z)$ とデータ x の分布 $p(x)$ に近づけることで，尤度関数を直接設計せずにデータの分布を推定する．また，手元にデータ x に紐づいた教師ラベル y がある場合には，教師ラベル y が既知の下でのデータ x の分布 $p(x|y)$ を推定することができる．教師ラベル y が与えられたとき，GAN における識別器 Discriminator は真のデータ x が真である確率 $D(x|y)$ と，ノイズ z から生成された偽造データ $G(z|y)$ が偽である確率 $1 - D(G(z|y))$ を最大化する問題を解く．一方，生成器である Generator は Discriminator の識別率を下げるように学習が行われるため，損失関数は式 (3.1.4) と同様，式 (4.2.1) のように表すことができる．

$$\mathcal{L}_{\text{cadv}} = \min_G \left[\max_D \mathbb{E}_{x \sim p_{\text{data}}} [\log D(x|y)] + \mathbb{E}_{z \sim p(z)} [1 - \log D(G(z|y))] \right] \quad (4.2.1)$$

4.2.2 pix2pix

cGAN の一つである pix2pix はデータ x に対するドメイン情報としてカテゴリカルな教師ラベルではなく、データ x に構造が 1 対 1 対応した目標画像 y を与えることでスタイル変換を行う手法である。式 (4.2.1) と同様、ノイズ z の分布 $p(z)$ からデータ x, y の分布 $p(x, y)$ を推定するので、この時の損失関数は式 (4.2.2) のように表せる。

$$\begin{aligned} \mathcal{L}_{cGAN} = & \mathbb{E}_{x, y \sim p_{\text{data}}(x, y)} [\log D(x, y)] \\ & + \mathbb{E}_{x \sim p_{\text{data}}(x), z \sim p_z(z)} [\log(1 - D(x, G(x, z)))] \end{aligned} \quad (4.2.2)$$

更に、L1 ノルムを用いて、入力データ x と目標画像 y 間の誤差を最小化を行う (式 (4.2.3))。

$$\mathcal{L}_{L_1}(G) = \mathbb{E}_{x, y \sim p_{\text{data}}(x, y)} [\|y - G(x, z)\|_1] \quad (4.2.3)$$

よって最終的な損失関数はハイパーパラメータ λ を用いて、式 (4.2.4) のように表せる。

$$G^* = \arg \min_G \left[\max_D (L_{cGAN}(G, D)) + \lambda L_{L_1}(G) \right] \quad (4.2.4)$$

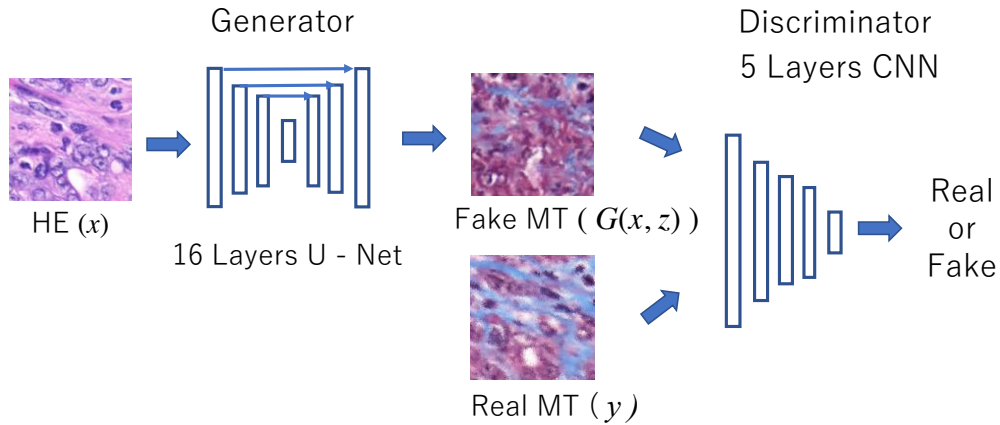


図 4.1 pix2pix の構造

全体のネットワーク構造の模式図を図 4.1 に示す. 基本染色である HE 染色を入力とし, 特殊染色である MT 染色の予測を行う. Generator のネットワークの構造として, セマンティックセグメンテーションにおけるデファクトスタンダードとなっている U-Net [48] を用いた. U-Net の発表以前はセマンティックセグメンテーションにおいて Encoder-Decoder モデルをベースとするモデルが用いられてきた. しかし, Encoder-Decoder モデルは中間層のボトルネック部分における低次元情報からの入力情報の再構築を行うため, 層が深くなるほど学習の進みが悪くなるという問題がある. U-Net は Encoder と Decoder 間で対応する中間層出力を skip connection により共有することで, セグメンテーションや画素単位での回帰問題において高い精度を発揮できる構造である. 本実験では, Encoder 8 層, Decoder 8 層の 16 層の U-Net を用いて訓練を行った. 一方 Discriminator は 5 層の convolution 層で構成される CNN を用いた. なお, 出力層を 2 次元の特徴ベクトルにして真偽の 2 値分類を行うと, 生成画像 $G(x, z)$ の高周波成分に対して L1 正則化が効かずにはぼやけた画像が生成されてしまう. そこで, 出力層では 2 次元のベクトルに全結合させるのではなく, 特徴マップのまま構造を保持し, 各要素ごとに識別を行う Patch GAN を採用した. 活性化関数は, Generator の中間層で leaky ReLU, 出力層で tanh を用いて, Discriminator の中間層で ReLU, 出力層で Sigmoid 関数を用いた. その他実験条件については表 4.1 の通りである.

訓練データ数	12000
テストデータ数	3000
Epoch	100 (37500 iterations)
Batch size	32
Dropout rate	50 %
Optimizer	Adam ($\lambda = 0.0002, \beta = 0.5$)

表 4.1 pix2pix 実験条件

4.2.3 評価

本実験では生成画像と目標画像間の画質評価指標である Stractural Similarity (SSIM) [49] を用いた. 画像 x, y における画素平均 μ_x, μ_y , 分散 σ_x, σ_y , 共分散 σ_{xy} を用いて SSIM は式 (4.2.5) で表せる.

$$SSIM(x, y) = \frac{(2\mu_x\mu_y + C_1)(2\sigma_{xy} + C_2)}{(\mu_x^2 + \mu_y^2 + C_1)(\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + C_2)} \quad (4.2.5)$$

C_1, C_2 は 0 除算を防ぐための定数であり, $C_1 = (0.01 \times 255)^2, C_2 = (0.03 \times 255)^2$ を用いた. SSIM 以外の画質評価指標として平均二乗誤差や PSNR などが汎用されるが, 人間が知覚できないほどの微小なノイズに対しても敏感に検出してしまう. また, これらを取り得る値の範囲は無限であるため, 直感的に理解がしにくいという問題がある. SSIM は画素単位で誤差を計算するのではなく, 小領域内で 2 つの画像間の相関を取るため人間の近くに近い評価が可能である (図 4.2). また, $0 \leq SSIM \leq 1$ で評価が可能であるため直感的にどれほど似ているのかを理解しやすいという利点がある.

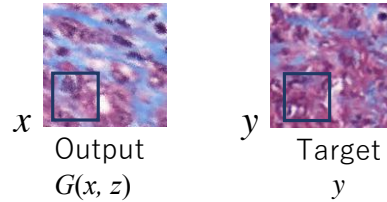


図 4.2 SSIM 模式図

4.3 結果

100 epoch 訓練したモデルに対してテスト用の HE 染色画像 3000 サンプルを入力し, MT 染色画像の予測を行った. 各サンプルにおける結果を図 4.3 に示す. 平均 SSIM は 0.260, 中央値は 0.234 となった. 高い SSIM で予測できたサンプルは空白

領域が多い,あるいは組織間での境界が明確といった傾向が見られ,低い SSIM のサンプルにおいては逆に組織間の境界が曖昧であったり,複雑な間質のパターンを有してるなどの傾向が見られた.

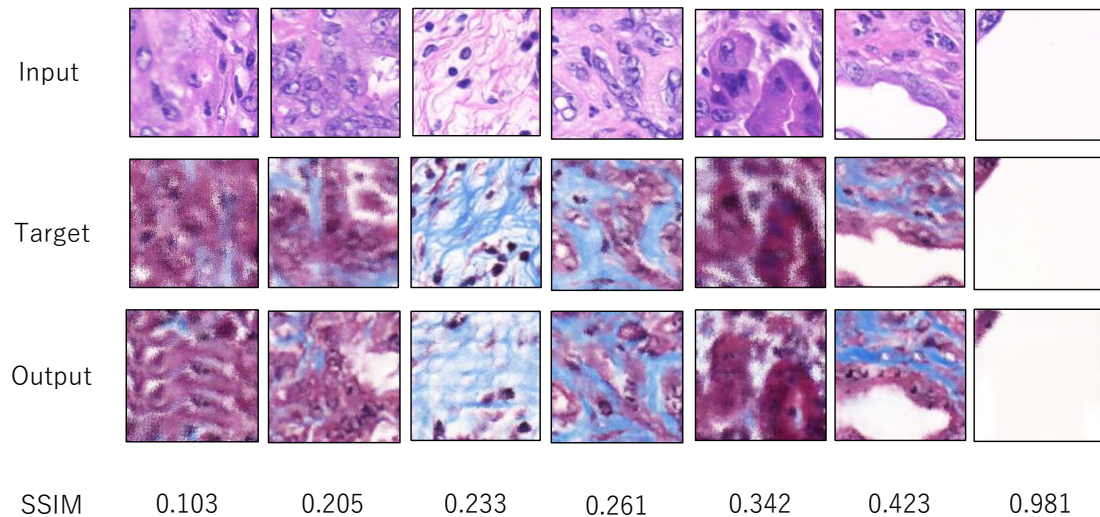


図 4.3 pix2pix 染色変換 結果 (小領域)

小領域レベルでは細部の変換がうまくいっていないサンプルが見られたが,細胞密度や間質など大域的な特徴は概ね再現ができた.そこで,これらのサンプルを繋ぎ合わせることで組織全体での染色変換画像を再構築した(図 4.4).組織全体でも概ね整合性は取れているが,間質の細部の再現性が低いため,間質が全体的に薄く変換されているように見える.診断支援としてのアプリケーション応用を考えれば,大域的な再現性のみならず細部の再現性も重要であるため,更なる改善が必要である.

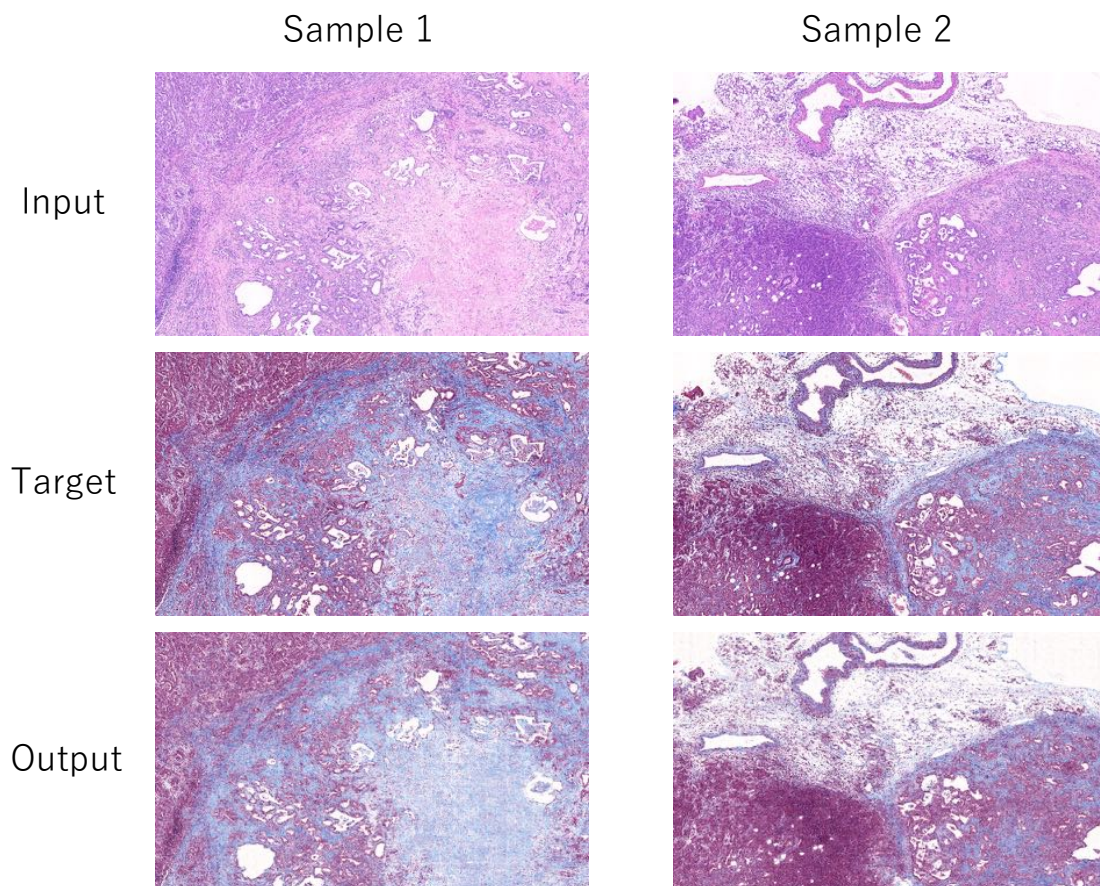


図 4.4 pix2pix 染色変換 結果 (全体)

4.4 考察とまとめ

大域的な再現性は達成したものの細部の再現性はまだ改善の余地がある．今回用いた pix2pix は、画像のスタイル変換の GAN としては最も基本的なモデルの 1 つである．GAN はデータの分布を学習するため、最頻の特徴に引き寄せられて似たような画像を生成し続ける mode collapse が起こり得る．今回の結果からはそのような問題が起きていることを裏付ける結果は得られなかったが、学習安定性の向上のために JS-divergence ではなく Wasserstein 距離を用いることで細部の再現性を向上させられると考えられる [50]．しかし、それでも損失関数中に細胞や組織に関する

るような正則化項は含まれていないため、本質的なアプローチとは言い難い。これまでに、細胞核や組織の領域検出手法が提案されているほか、画像内のオブジェクトに対して境界情報を与えることで、HD サイズであっても細部の再現性が高い画像変換が可能なモデルも既に提案されている [51, 52]。これらを組み合わせた染色変換モデルを用いることで、より細胞核や間質などの細部の再現性が一層高まると考えられる。

第 5 章 総括

本研究では、深層学習を活用した病理学分野への診断支援及び研究補助を目的としたフレームワークの提案を行った。従来の教師なし深層学習を用いた画像解析の方法としてオートエンコーダを用いるアプローチが提案されている。これを膵癌病理画像に対して適用することで、間質や細胞密度など進行度に関わる成分が抽出できたが、連続的な構造を持つことに起因し、細部の形態的特徴に基づいた成分は抽出できなかった。そこで、画像の離散表現を得られる手法である IMSAT によるクラスタリングモデルを用いることで、間質・細胞密度のみならず、分化度等のより細部の形態的特徴に関係する成分に分離することができた。これまでの病理学分野への深層学習の応用研究は教師あり学習によるものが多く、教師ラベルの入手の難しさから適用疾患が限られていたほか、病理医の目視による識別が難しい疾患に対する効果的な画像解析手法が確立していなかった。本研究では、事前知識を必要とせず、病理画像が持つ潜在的な特徴から組織のタイプに関係するクラスタを抽出したが、今後、倍率別の病理画像を用いた解析や、膵癌関連タンパクの産生量と画像特徴量との相関を取ることで、これまで目視による半定量的な診断が行われてきた画像診断における確信度を一層向上させることができると考えられる。

また、術中迅速診断等の素早い組織標本作成が求められる場面を想定した染色変換器の提案も行なった。染色処理は技師や環境によって標本にアーティファクトが入る場合があるが、深層学習を用いた染色予測を行うことでこの問題を解消できる。既に、染色処理をしていない半透明な標本に対する HE 染色結果を予測するモデルは提案されてきたが、特殊染色である MT 染色を予測した例はこれまで無かった。本研究で用いた最も基本的な GAN に基づいた染色変換モデルにおいて、おおまかな組織の色の高い再現性を達成した。一方で、細部の構造の再現性は低いという問題があるため、今後、従来から提案されている領域検出手法と今回用いた手法を組み合わせることで細部の構造の再現性が高まると考えられる。

謝辞

本研究は多くの方々からの御指導、御協力を頂き進めることができました。本研究を進めるにあたり、大変恵まれた研究環境を与えてくださりました、奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 金谷 重彦教授に深く感謝致します。研究面のみならず、その人生観や思考から多くのことを学ばせて頂きました。

研究発表及び修士論文作成を遂行するにあたり、副指導教員として大変有益な御助言を頂きました、奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 松本 健一教授に深く感謝致します。

また、研究室ゼミでは的確な御意見を頂きました奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 Md. Altaf-Ul-Amin 准教授、情報科学研究科 黄 銘 助教に深く感謝致します。

本研究を進めるにあたり、様々な面から御助言、熱心な御指導頂きました、奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 小野直亮准教授に深く感謝致します。生命科学出身だった私に対して、ベイズ統計や機械学習等この場では書き尽くせないほど多くの知見のご教授賜りました。

並びに、膵癌病理画像の提供や、病理学的視点から貴重な御助言を頂きました、九州大学 臨床・腫瘍外科 大内田 研宙講師、進藤 幸治助教、九州大学 先端医療イノベーションセンター 岩本 千佳特任助教に深く感謝致します。

また、研究面のみならず、日常生活等様々な面で支えて頂きました、奈良先端科学技術大学院大学 計算システムズ生物学研究室に在籍する皆様、ならびに修了生の方々に深く感謝致します。特に研究熱心な同期の皆様には日々多くの刺激を受けました。

研究外で日々励まし、支えて頂きました中高、大学時代の親友に感謝致します。

最後に、大学院修了まで多大なる支援を頂いた家族に深く感謝し、ここに謝辞とさせていただきます。

参考文献

- [1] 日本膵臓学会. 膵癌診療ガイドライン 2016 年版. 金原出版株式会社, 2016.
- [2] M. Erkan, C. W. Michalski, S. Rieder, C. R. Erkan, I. Abiatari, A. Kolb, N. A. Giese, I. Esposito, H. Friess, and J. Kleeff. “The Activated Stroma Index Is a Novel and Independent Prognostic Marker in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma”. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 6, pp. 1155–1161, 2008.
- [3] Y. LeCun, B. Boser, J. S. Denker, D. Henderson, R. E. Howard, W. Hubbard, and L. D. Jackel. “Backpropagation applied to handwritten zip code recognition”. *Neural Computation*, Vol. 1, pp. 541–551, 1989.
- [4] A. Krizhevsky, I. Sutskever, and G. Hinton. “Imagenet classification with deep convolutional neural networks”. *NIPS*, Vol. 25, pp. 1097–1105, 2012.
- [5] David G. Lowe. “Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints”. *International Journal of Computer Vision*, Vol. 60, pp. 91–110, 2004.
- [6] N. Dalal and B. Triggs. “Histograms of oriented gradients for human detection”. *CVPR*, 2005.
- [7] R. Girchick, J. Fonahue, T. Darrell, and J. Malik. “Rich Feature Hierarchies for Accurate Object Detection and Semantic Segmentation”. *CVPR*, pp. 580–587, 2014.
- [8] A. Radford, L. Metz, and S. Chintala. “Unsupervised representation learning with deep convolutional generative adversarial networks”. *arXiv preprint arXiv:1511.06434*, 2015.
- [9] J. Long, E. Shelhamer, and T. Darrell. “Fully Convolutional Networks for Semantic Segmentation”. *CVPR*, pp. 3431–3440, 2015.
- [10] D. Anand A. Golatkar and A. Sethi. “Classification of Breast Cancer Histology using Deep Learning”. *arXiv preprint arXiv:1802.0808*, 2018.
- [11] N. Coudray, A. L. Moreira, T. Sakellaropoulos, D. Fenyo, N. Razavian, and A. Tsirigos. “Classification and Mutation Prediction from Non-Small

- Cell Lung Cancer Histopathology Images using Deep Learning”. *Nature Medicine*, Vol. 24, pp. 1559–1567, 2018.
- [12] D. Komura, K. Fukuta, K. Tominaga, A. Kawabe, H. Koda, R. Suzuki, H. Konishi, T. Umezaki, T. Harada, and S. Ishikawa. Luigi: Large-scale histopathological image retrieval system using deep texture representations. *bioRxiv*, 2018.
 - [13] D. Komura and S. Ishikawa. “Machine Learning Methods for Histopathological Image Analysis”. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, Vol. 16, pp. 32–42, 2018.
 - [14] G. E. Hinton and R. R. Salakhutdinov. “Reducing the Dimensionality of Data with Neural Network”. *Science*, Vol. 313, pp. 504–507, 2006.
 - [15] K. He, X. Zhang, S. Ren, and J. Sun. “Deep residual learning for image recognition”. *CVPR*, pp. 770–778, 2016.
 - [16] G. Urban, K. J. Geras, S. E. Kahou, O. Aslan, S. Wang, A. Mohamed, M. Philipose, and M. Richardson.
 - [17] A. Makhzani, J. Shlens, N. Jaitly, I. Goodfellow, and B. Frey. “Adversarial Autoencoders”. *arXiv preprint arXiv:1511.05644*, 2015.
 - [18] I. J. Goodfellow, J. P. Abadie, M. Mirza, B. Xu, D. W. Farley, S. Ozair, A. Courville, and Y. Bengio. “Generative Adversarial Nets”. *arXiv preprint arXiv:1406.2661*, 2014.
 - [19] G. E. Hinton, S. Osindero, Y. Teh, and W. Yee. “A fast learning algorithm for deep belief nets”. *Neural Computation*, Vol. 18, pp. 1527–1554.
 - [20] R. Salakhutdinov and G. E. Hinton. “Deep boltzmann machines”. *International Conference on Artificial Intelligence and Statistics*, pp. 448–455.
 - [21] D. P. Kingma and M. Welling. “Auto-encoding variational bayes”. *International Conference on Learning Representations (ICLR)*, 2014.
 - [22] D. J. Rezende, S. Mohamed, and D. Wierstra. “Stochastic backpropagation and approximate inference in deep generative models”. *International Conference on Machine Learning (ICML)*, 2014.
 - [23] D. Kingma and J. Ba. “Adam: A method for stochastic optimization”.

- ICLR*, 2015.
- [24] W. Hu, T. Miyato, S. Tokui, E. Matsumoto, and M. Sugiyama. “Learning discrete representations via information maximizing self augmented training”. *arXiv preprint arXiv:1702.08720*, 2017.
 - [25] A. Krause, P. Perona, and R. G. Gomes. “Discriminative Clustering by Regularized Information Maximization”. *Advances in Neural Information Processing Systems*, Vol. 23, pp. 775—783, 2010.
 - [26] T. Miyato, S. Maeda, M. Koyama, and S. Ishii. “Virtual adversarial training: a regularization method for supervised and semi-supervised learning”. *arXiv preprint arXiv:1704.03976*, 2017.
 - [27] C. Szegedy, W. Zaremba, I. Sutskever, J. Bruna, D. Erhan, I. Goodfellow, and R. Fergus. “Intriguing properties of neural networks”. *arXiv preprint arXiv:1312.6199*, 2013.
 - [28] I. Goodfellow, J. Shlens, and C. Szegedy. “Explaining and harnessing adversarial examples”. *ICLR*, 2015.
 - [29] H. Sibai J. Lu, E. Fabry, and D. Forsyth. “NO Need to Worry about Adversarial Examples in Object Detection in Autonomous Vehicles”. *arXiv preprint arXiv:1707.03501*, 2017.
 - [30] K. Eykholt, I. Evtimov, E. Fernandes, B. Li, A. Rahmati, C. Xiao, A. Prakash, T. Kohno, and D. Song. “Robust Physical-World Attacks on Deep Learning Models”. *arXiv preprint arXiv:1707.08945*, 2017.
 - [31] G. H. Golub and H. A. Vorst. “Eigenvalue computation in the 20th century”. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, Vol. 123, pp. 35–65, 2000.
 - [32] Y. Xu, Z. Jia, L. B. Wang, Y. Ai, F. Zhang, M. Lai, and E. I. Chang. “Large scale tissue histopathology image classification, segmentation, and visualization via deep convolutional activation features”. *BMC Bioinformatics*, Vol. 18, p. 281, 2017.
 - [33] J. B. Tenenbaum, V. Silva, and J. C. Langford. “A Global Geometric Framework for Nonlinear Dimensionality Reduction”. *Science*, Vol. 290,

pp. 2319–2323, 2000.

- [34] A. Creswell, T. White, V. Dumoulin, K. Arulkumaran, B. Sengupta, and A. A. Bharath. “Generative Adversarial Networks: An Overview”. *arXiv preprint arXiv:1710.07035*, 2017.
- [35] D. Pelleg and A. Moore. “X-Means: Extending K-means with Efficient Estimation of the Number of Clusters”. *International Conference on Machine Learning*, 2000.
- [36] H. K. H. Lee. “Model selection for neural networks”. *Journal of Classification*, Vol. 18, pp. 223–243, 2001.
- [37] R.B. Calinski and J. Harabasz. “A dendrite method for cluster analysis”. *Communications in Statistics*, Vol. 3, pp. 1–27, 1974.
- [38] M. Caron, P. Bojanowski, A. Joulin, and M. Douze. “Deep Clustering for Unsupervised Learning of Visual Features”. *arXiv preprint arXiv:1807.05520*, 2018.
- [39] A. Bilici. “Prognostic factors related with survival in patients with pancreatic adenocarcinoma”. *World J Gastroenterol*, Vol. 20, pp. 10802–10812, 2014.
- [40] N. Bayramoglu, M. Kaakinen, L. Eklund, and J. Heikkilä. “Towards Virtual H&E staining of Hyperspectral Lung Histology Images Using Conditional Generative Adversarial Networks”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, Vol. 35, pp. 404–415, 2016.
- [41] T. Abe P.A. Bautista, M. Yamaguchi, Y. Yagi, and N. Ohyama. “Digital staining of pathological tissue specimens using spectral transmittance”. *Proc. SPIE*, pp. 1892–1903, 2005.
- [42] B. E. Bejnordi, G. Litjens, N. Timofeeva, I. Otte-Höller, A. Homeyer, and N. Karssemeijer J. A. Laak. “Stain Specific Standardization of Whole-Slide Histopathological Images”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, Vol. 35, pp. 404–415, 2016.
- [43] M. Macenko, M. Niethammer, J. S. Marron, D. Borland, J. T. Woosley, X. Guan, C. Schmitt, and N. E. Thomas. “A method for normalizing

- histology slides for quantitative analysis”. *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*, pp. 1107–1110, 2009.
- [44] A. M. Khan, N. Rajpoot, D. Treanor, and D. Magee. “A Nonlinear Mapping Approach to Stain Normalization in Digital Histopathology Images Using Image-Specific Color Deconvolution”. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, pp. 1729—1738, 2014.
 - [45] A. Rana, G. Yauney, A. Lowe, and P. Shah. “Computational Histological Staining and Destaining of Prostate Core Biopsy RGB Images with Generative Adversarial Neural Networks”. *arXiv preprint arXiv:1811.02642*, 2018.
 - [46] M. Mirza and S. Osindero. “Conditional Generative Adversarial Nets”. *arXiv preprint arXiv:1411.1784*, 2014.
 - [47] P. Isola, J.Y. Zhu, T. Zhou, and A. A. Efros. “Image-to-image translation with conditional adversarial networks”. *arXiv preprint arXiv:1611.07004*, 2016.
 - [48] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox. “U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation”. *MICCAI*, pp. 234–241, 2015.
 - [49] Z. Wang, A. C. Bovik, H. R. Sheikh, and E. P. Simoncelli. “Image quality assessment: from error visibility to structural similarity”. *IEEE TIP*, Vol. 13, pp. 600–612, 2004.
 - [50] M. Arjovsky, S. Chintala, and L. Bottou. “Wasserstein GAN”. *arXiv preprint arXiv:1701.07875*, 2017.
 - [51] T.C. Wang, M. Y. Liu, J. Y. Zhu, A. Tao, J. Kautz, and B. Catanzaro. “High-Resolution Image Synthesis and Semantic Manipulation with Conditional GANs”. *arXiv preprint arXiv:1711.11585*, 2017.
 - [52] F. Xing and L. Yang. “Robust Nucleus / Cell Detection and Segmentation in Digital Pathology and Microscopy Images: A Comprehensive Review”. *IEEE Rev Biomed Eng*, Vol. 9, pp. 234–263.

発表リスト

- [1] 浅野幸之助, 小野直亮, 黄銘, Md. Altaf-Ul-Amin, 江口遼平, 金谷重彦, “畳み込みニューラルネットワークと主成分分析に基づいた膵癌病理画像の特徴抽出”, SICE ライフエンジニアリング部門シンポジウム, 2018.
- [2] Konosuke Asano, Naoaki Ono, Chika Iwamoto, Kenoki Ohuchida, Koji Shindo, Shigehiko Kanaya, “Feature extraction and Cluster Analysis of Pancreatic Pathological Image using Unsupervised Convolutional Neural Network”, The IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine, poster presentation, 2018.