

平成31年度放射線対策委託費
(放射線安全規制研究戦略的推進事業費)
放射線安全規制研究推進事業

染色体線量評価手法の標準化に向けた 画像解析技術に関する調査研究

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構
数藤由美子（主任研究者）

研究概要(1)

課題名 「染色体線量評価手法の標準化に向けた画像解析技術に関する調査研究」
研究期間:平成30年度～平成31年度(2年間)

背景・目的

- 染色体解析、特に末梢血リンパ球培養による**二動原体分析法**は、鋭敏で最も信頼性の高い生物学的線量評価法として国際的に標準化されている。細胞培養から染色体画像撮影までは自動化が成し遂げられた。しかしながら、画像判定は依然として人の目視によるため、**染色体判定基準の機関間および判定者間の変動が顕著**であること、また、**結果を得るまでの時間と労力が大きい**ことなどから、大規模放射線事故時に際し複数の機関が分析を行う場合に問題を生じることが予測される。
- 本研究(フィージビリティ・スタディ)では、染色体判定者の主観や習熟度の差に影響されない効率の良い自動画像分析技術として、**人工知能(AI)技術導入**の有用性や実現可能性を試験・評価し、**大規模放射線事故(特に初期のトリアージ段階)の被ばく医療診断支援**への適用を検討する。

期待される成果

- 染色体のAI自動解析技術の導入により、**生物学的線量評価の標準化・迅速化**(1検体3日以上要していた目視検査が僅か10分程度で可能)が達成される。これにより、**大規模放射線事故時における被ばく医療診断支援に大きく貢献**できる。

研究概要(2)

実施状況(当初の計画以上に進捗)

今年度(最終年度)は以下を実施

① 関連情報の収集・更新(随時)

- ✓ 国際会議3件、国内学会3件、国際学会1件、英国PHE研究会合(統計解析手法の情報収集を含む)
- ✓ 企業展示会(AI・人工知能EXPO)、AI関連企業ヒアリング7社、染色体検査会社ヒアリング1社→ AI技術導入試験の外部委託先候補を選定(入札により5月に1社決定)

② テスト用画像データ(0~5 Gy照射血由来)準備(前年度分を含め計14,699枚)

③ AI技術導入試験Phase 1の実施(プレテスト 5~6月、本試験 9~12月)

④ 検討委員会の開催(画像検討会 8回、各分野専門の検討委員による研究会合 3回)

⑤ 今後の研究課題の明確化(12月)

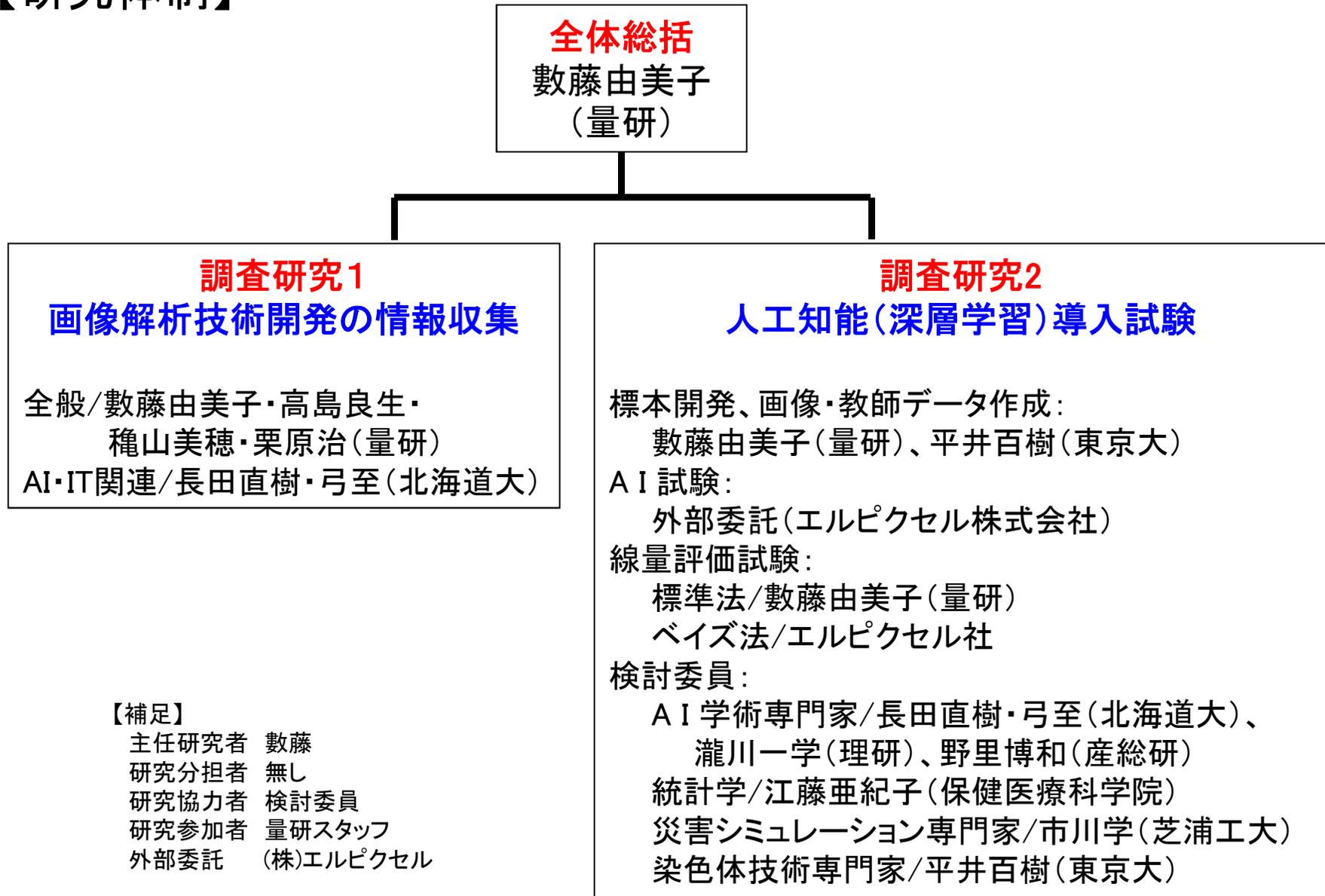
- ✓ **基盤技術の構築**: 深層学習手法を導入した**学習モデルの試作**、**AIに適した標本・画像作成法の確立**[実際の運用で必要となる多検体対応の細胞培養法の確立(論文受理)を含む]、線量推定法の検討(最尤法・ベイズ法)
- ✓ **AI導入の評価**: **試作モデル**で約50細胞の画像データ(**トリアージ・レベル**の線量評価対応の標準観察数)から、2 Gy未満と2 Gy以上の被ばくを判別できた(95%信頼区間の上限値をもとに線量推定)。
- ✓ **線量推定作業の高度の効率化**: 1検体当たりの画像判定(1000細胞として)が**3日以上(目視)から10分(AI)へ**。

⑥ 本格開発研究準備開始、線量推定試験画像数を増やして論文投稿へ(1月~3月)

【ロードマップ】

実施項目	平成30年度	平成31年度
調査研究1: 染色体線量評価における画像解析技術開発の情報収集	 <p>情報収集</p>	
調査研究2: 人工知能学習技術をはじめとする画像判別手法に関する調査 (サブテーマ: 数理統計処理に関する調査)	 <p>AI技術を用いた画像判別に関する調査(有識者検討会・試験)</p> <p>▲ 情報収集開始</p> <p>▲ 試験の準備・実施</p>	 <p>統計処理法の調査 (有識者検討会)</p>
総括		 <p>とりまとめ (課題抽出・提言)</p>

【研究体制】



【今年度実施概要1 背景と目的】

■ 染色体解析、特に末梢血リンパ球培養による**二動原体分析法**は、鋭敏で最も信頼性の高い生物線量評価法として国際的に標準化されている。細胞培養から染色体画像撮影までは自動化が成し遂げられた。ポアソン分布する染色体異常の画像判定は観察細胞数が多いが、分析の自動化は未だ完成されず、人力を頼っている。**染色体判定基準のラボ間・判定者間の変動は大きく(図1)、結果を得るまでの時間と労力が大きい(1検体当たり1000細胞観察で、高度熟練検査者でも総目視時間30時間以上、労働期間にして3日以上かかる)ことから、実際の事故対応に際しては大きな問題をはらむことが予測される。**これは実際に我々が2011年3~6月、福島原発事故緊急作業員12名の検査を実施した経験から得た教訓でもある[Y. Suto et al., Health Physics, 2013]。**画像判定の標準化・迅速化は長年の大きな課題**である。定性的な一般染色体検査(核型分析)と異なり膨大な観察細胞数が必要な二動原体分析でのAI技術導入の効果は絶大である。

■ 本フィージビリティ・スタディでは、染色体検査者の主観や習熟度の差に影響されない効率の良い自動画像分析技術として、**AI技術の導入の有用性・実現可能性を試験・評価する。**大規模放射線事故、特に初期のトリアージ段階での、被ばく医療診断支援への適用が期待される。

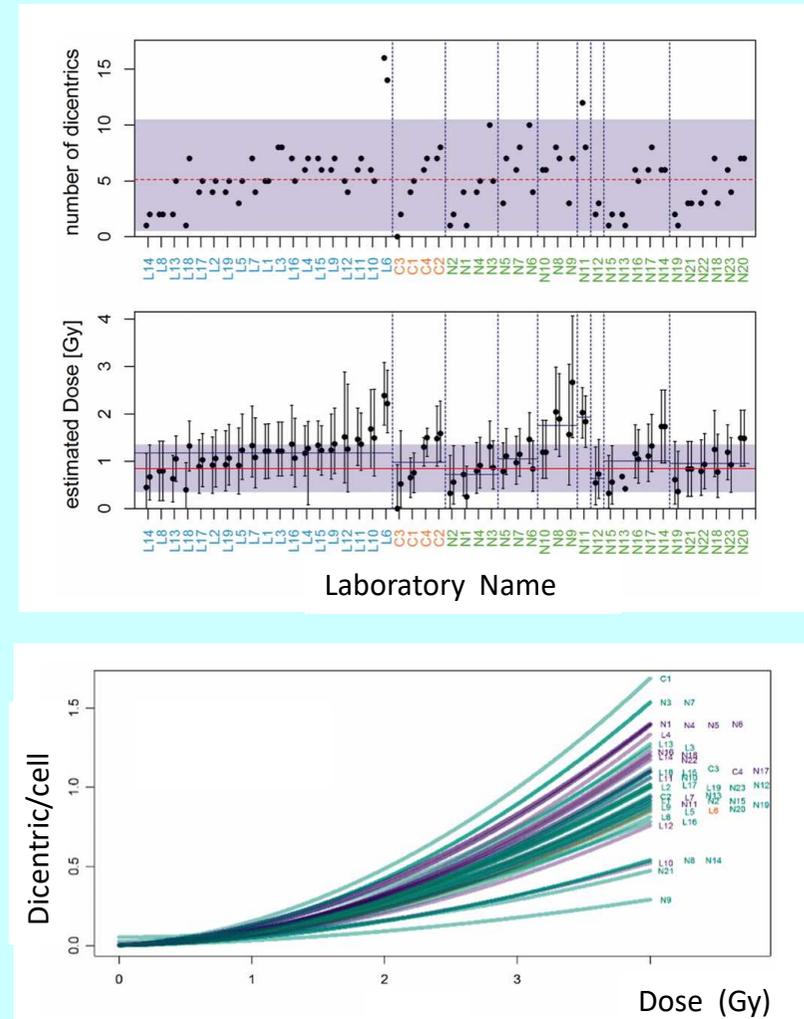


図1. 二動原体分析のラボ間比較 [U. Oestreicher ら(2017)より]。長年の訓練でもギムザ染色法による目視判定分析では、判定基準の統一化が難しい。ラボや人によって検量線は異なり(下図)、また同じ標本や画像を用いても、検出する染色体異常数や推定線量に違いが生じる(上図)。

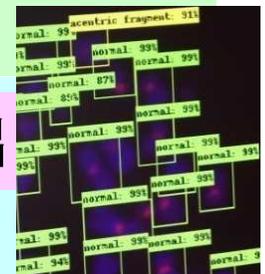
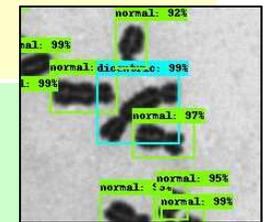
【今年度実施概要2 研究の流れ】

4~6月

AI導入試験
Phase 1 プレテスト

Faster R-CNN (畳み込みニューラルネットワークを利用した深層学習手法)

- ▶ 「COCOデータセット」(20万枚以上の一般的な画像)で形態を学習させる = 転移学習(少数データ対策)
- ▶ 少数のメタフェーズ画像で学習させる (66枚)
 - ・ 熟練者による教師データ作製(目視アノテーション)
 - ・ 教師データで深層学習→ 性能評価試験(染色体の「検出」と「分類」の性能)
- ▶ 教師データを増やして効果を確認 (95枚)



7月~

教師データの最適作成法
を確立・データ増加

教師データ増加 (0~5 Gy照射標本画像のアノテーション)

- ▶ AIによる自動アノテーション → 熟練者による修正
 - ・ 準備画像(12月末現在) 14,699枚

9月~

AI導入試験
Phase 1 本試験

AI画像判定モデルの向上・評価・課題抽出

- ▶ 再学習による染色体の「検出&分類」能力の向上
- ▶ 線量効果曲線(検量線)の試作・性能評価

1月~

とりまとめ/論文投稿/本格研究への準備

(注)一連の図は画像判別の進化をイメージしたもの

【今年度実施概要3 教師データ作成法】

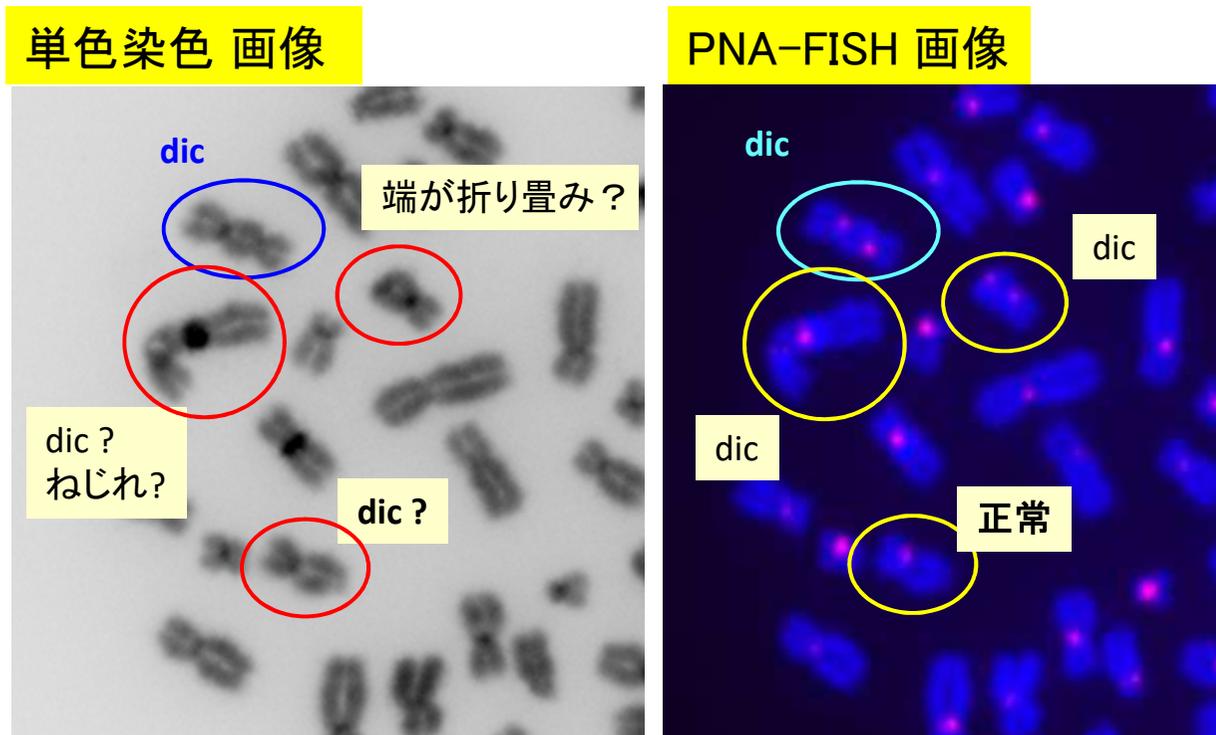


図2. メタフェーズ像(一部)。dic: 二動原体 (dicentric)

教師データ作成方法

- **ギムザ染色**では、画像判定に時間を要し、染色体のねじれなどを正確に判定することはできない(図2)。アジアネットワークの調査経験もあり(右解説参照)、本研究では、PNA-FISHの併用(単色染色による染色体形態検出と蛍光標識による動原体検出)により、**正確な教師データ**を作製することとした。Phase 1 プレテストにおいて、AI 利用に最適な標本・画像作製条件を決定した。
- 教師データ作成ではアノテーション・ソフトウェア Labellmg を用いた(図3)。各画像上の染色体に分類名をラベルすると、位置情報を伴うXML形式で保存される。

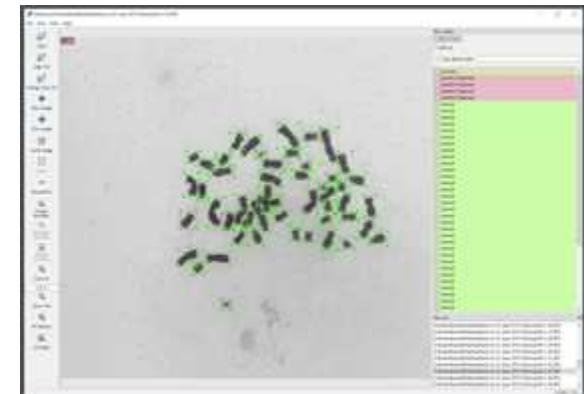


図3. Labellmg を用いたアノテーション実行イメージ。熟練者が染色体1個1個を矩形で囲み、分類名を与えることで教師データができる。

アジアネットワーク 二動原体分析比較調査 2019

* 量研機構が実施 (参加4カ国、11ラボ、32名、経験年数は2年~22年と多様)。本研究で作成した**単色染色**画像(3.0 Gy、200枚)で判定実施後、同一細胞の**PNA-FISH**画像を提供し判定、比較。

[結果]

PNA-FISH像では**全ラボ**で採択細胞も判定も一致(推定線量3.0 Gy)。
→ **PNA-FISH**解析の**精度の高さ**が証明された。

【今年度実施概要4 Phase 1・本試験の実施】

材料： 0～5 Gy照射の末梢血由来染色体画像 約15,000枚(内訳は表参照)

方法： AI導入本試験を実施し、AIによる画像判定支援の有効性を検証する。

1) 機械学習アルゴリズムを学習させるための正確なタグ(異常染色体・正常染色体など)を付したアノテーション済みのデータセットである画像1190枚(モデル学習の訓練用セット832枚、繰り返し検証用セット180枚、テスト用セット178枚)を用い、モデルの学習を行い、染色体の検出と分類の性能を調べる。

2) 1)のテスト用セットにより、線量効果関係を確認する。

3) アノテーションを行っていない残りの全画像のうち、染色体数42～50個の画像を用い、線量推定を試みる(最尤法とベイズ法)。

① 各線量からトリアージ・レベルの線量推定用のサンプルをとり(70枚×3セット)、残りのデータセットで線量効果関係式(検量線)を試作する。

② ①の検量線に対して、2Gy判別を試験する。(注)

表1. 画像の準備状況(上)および含まれる染色体の分類別個数(下)

線量 (Gy)	全画像枚数	アノテーション済み
0	1868	209
0.5	2260	0(追加予定)
1	2603	199
2	3630	217
3	2783	326
4	1432	127(追加予定)
5	112	112
合計	14688	1190

(注)急性放射線症候群の前駆症状に対し医学的な介入が必要となる基準である2 Gy以上の放射線照射血液サンプルについて検証する。

クラス分類	Total	⁶⁰ Co-ガンマ線照射における吸収線量					
		0 Gy	1 Gy	2 Gy	3 Gy	4 Gy	5 Gy
Normal	52717	9460	9080	9717	14337	5341	4782
Dicentric	598	2	15	68	197	145	171
Fragment	998	2	26	103	353	236	278
Others	137	16	5	14	51	17	34

【進捗1 染色体の検出・分類と線量効果関係】

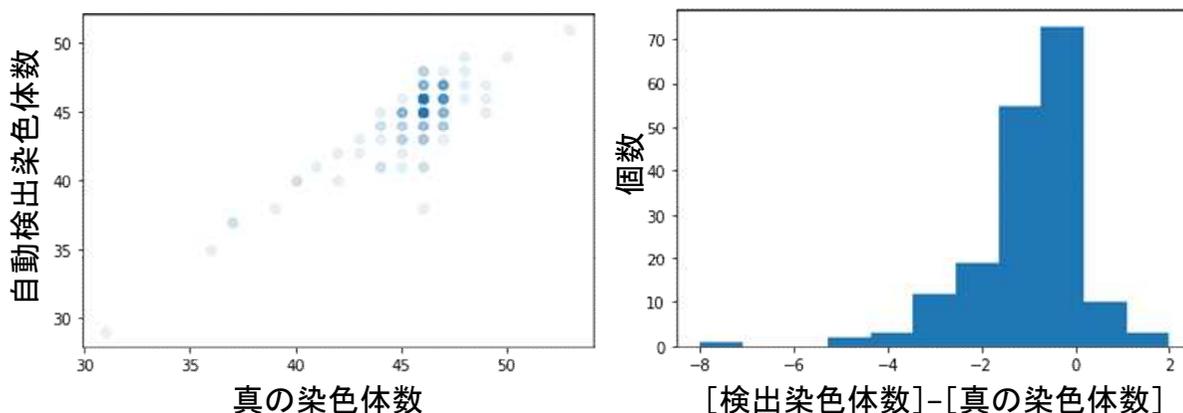


図4. 実際の染色体数とAI自動検出された染色体数(左)および自動検出された染色体数と実際の染色体数の差の分布(右)

- 染色体検出力98%(人がパラメータ設定をする機械学習法では検出力40~50%)
- 線量推定の検証では42~50染色体を含む画像を用いることとした。

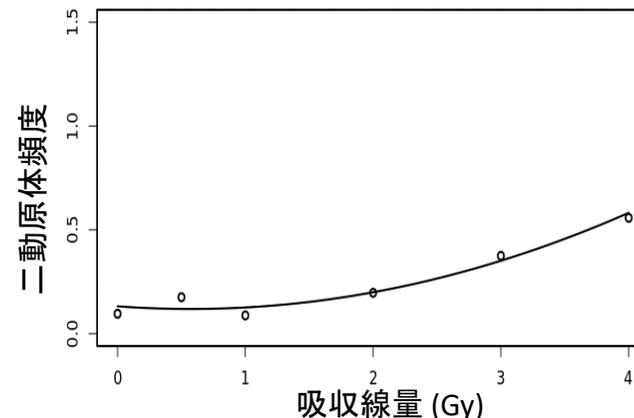


図5. 線量とAI自動検出による二動原体頻度

→ 線量効果関係が認められた。

参考:

感度 $Recall = \frac{True\ positives}{True\ positives + False\ negatives}$

精度 $Precision = \frac{True\ positives}{True\ positives + False\ positives}$

特異度 $Specificity = \frac{True\ negatives}{False\ positives + True\ negatives}$

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	
① normal	7754	17	5	0	0	0	0	0	0	132	normal Recall: 0.981
② dicentric	36	36	0	0	0	0	0	0	0	5	Precision: 0.989
③ fragment	6	0	94	0	0	0	0	0	0	37	Specificity: 0.789
④ centric ring	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	<u>Dicentric chromosome</u>
⑤ broken chromosome	2	0	1	0	0	0	0	0	0	6	Recall: 0.468
⑥ tricentric	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Precision: 0.667
⑦ iso-chromatid break	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Specificity: 0.998
⑧ other abnormalities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	<u>Acentric fragment</u>
⑨ normal (partially broken)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	Recall: 0.686
⑩ not detected	35	0	3	1	0	0	0	0	0	0	Precision: 0.904 Specificity: 0.999

図6. テスト用データセットを用いたモデルの精度検証結果

→ 1月以降の開発でいっそうの精度向上を試みる。
 具体策としては、現解析で用いた標本では染色体正常細胞が多く含まれているという偏りがあるので、AI画像分析で使われている諸法などで染色体異常の画像数を増やす。

【進捗2 検量線試作試験】

二動原体 (標準法) (注1)

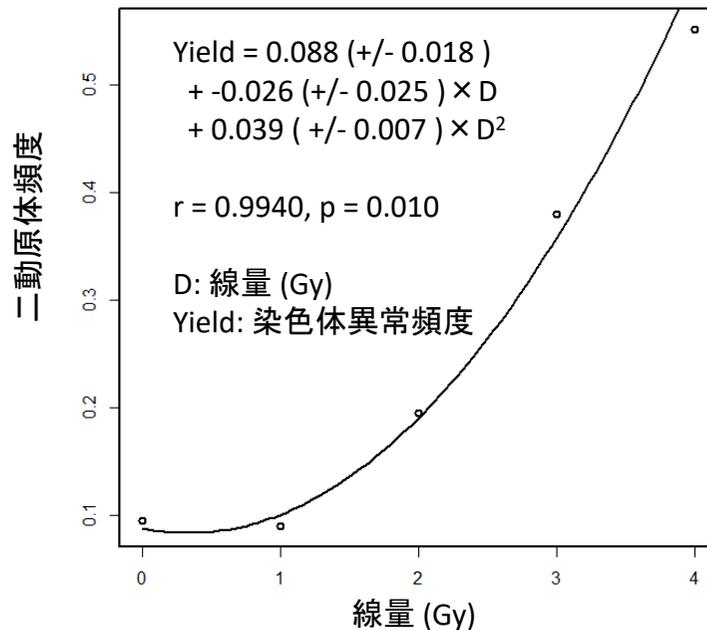


図7. AI自動画像判定により作成された検量線

→ 臨床判断で用いられる95%信頼限界上限値で、**2 Gyのトリアージ判定** (注2, 3) が可能であることがわかった。

* ベイズ法でも同様の結果を得た(データ省略)。

→ **十分な細胞数をとれば精度の高い線量推定も可能であると期待できる。**また、解析速度からいって、トリアージ用でも細胞数は100個以上としても良いといえる。

表2. AI画像判定によるテスト用画像のトリアージ線量評価試験結果

Dose (Gy)	Set	Dicentrics	Cells	Estimated Dose (Gy)	95% LCL	95% UCL
0	1	6	61	0.95	0.34	2.17
0	2	1	57	0.00	0.34	0.94
0	3	10	57	1.88	0.43	2.83
0	total (1-3)	17	175	0.92	0.34	1.70
0	4	126	1319	0.89	0.34	1.22
1	1	3	57	0.00	0.34	1.68
1	2	3	59	0.00	0.34	1.63
1	3	5	62	0.08	0.34	1.98
1	total (1-3)	11	178	0.00	0.34	1.17
1	4	183	2088	0.65	0.34	1.01
2	1	10	57	1.88	0.43	2.82
2	2	12	60	2.07	1.05	2.96
2	3	15	54	2.58	1.70	3.45
2	total (1-3)	37	171	2.19	1.67	2.69
2	4	553	2815	2.05	1.92	2.17
3	1	43	57	4.51	3.80	5.25
3	2	18	63	2.62	1.83	3.42
3	3	24	59	3.23	2.48	4.01
3	total (1-3)	85	179	3.52	3.10	3.95
3	4	770	2055	3.08	2.96	3.21
4	1	29	54	3.76	3.01	4.56
4	2	34	61	3.84	3.14	4.58
4	3	41	63	4.17	3.49	4.89
4	total (1-3)	104	178	3.94	3.53	4.36
4	4	576	1033	3.84	3.67	4.01

(注1) 国際標準法では染色体異常の出現がポアソン分布をとるものとして、最尤法を用いる。

(注2) 通常の被ばく事故時トリアージ・レベルの線量推定では、ISO推奨プロトコールに基づき、**目視で50メタフェーズの観察を行う。**

(注3) 深層学習を用いず人がパラメータ設定をする機械学習法では3 Gy以上しか分離できなかった。

【進捗2 検量線試作試験】

染色体断片（標準法）

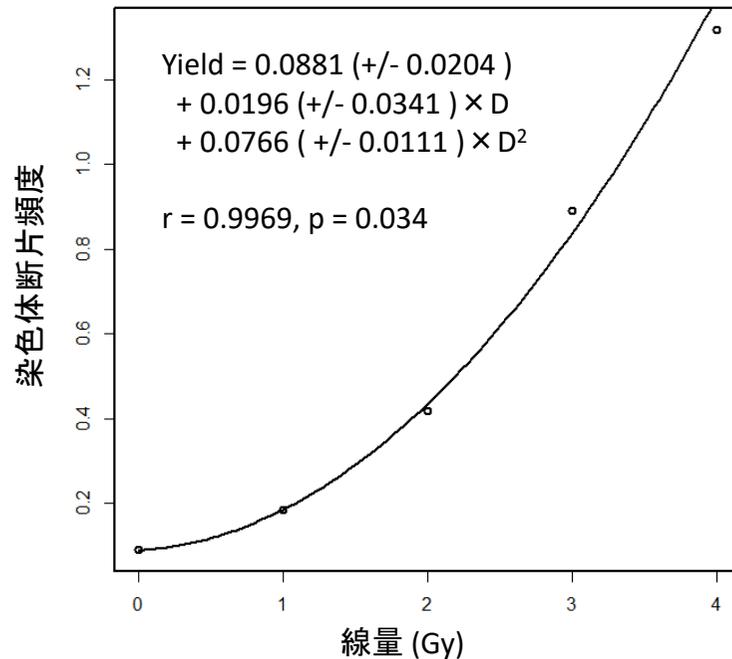


図8. AI自動画像判定により作成された検量線

表3. 染色体断片を指標としたAI画像判定によるテスト用画像のトリージ線量評価試験結果

Dose (Gy)	Set	Frg	Cells	Estimated Dose (Gy)	95% LCL	95% UCL
0	1	7	61	0.48	0.00	1.27
0	2	3	57	0.00	0.00	0.81
0	3	4	57	0.00	0.00	0.97
0	total	14	175	0.00	0.00	0.66
1	1	15	57	1.39	0.76	2.00
1	2	6	59	0.31	0.00	1.20
1	3	6	62	0.23	0.00	1.14
1	total	27	178	0.79	0.29	1.19
2	1	20	57	1.73	1.16	2.31
2	2	30	60	2.19	1.68	2.73
2	3	24	54	2.03	1.48	2.61
2	total	74	171	2.00	1.69	2.31
3	1	43	57	2.82	2.32	3.36
3	2	71	63	3.56	3.09	4.05
3	3	50	59	3.02	2.53	3.54
3	total	164	179	3.16	2.88	3.45
4	1	77	54	4.05	3.55	4.58
4	2	78	61	3.82	3.35	4.31
4	3	93	63	4.13	3.67	4.61
4	total	248	178	4.00	3.73	4.28

→ 本研究で染色体断片が線量評価の指標になることが見出された。

→ 2 Gyのトリージ判定が可能であることが示された。

* ベイズ法でも同様の結果を得た(データ省略)。

→ 二動原体と染色体断片の情報を併用するのほひとつの方法となる。

【進捗3 考察・その他の情報】

■ AIによる画像分析で、トリアージ・レベルの線量推定が試作段階でも実現した。今後の本格開発により、0.5 Gyと1 Gy、1.5 Gyと2 Gy、といったより細かな判別を高度に効率よく実施することが期待できる。

■ 年度末まで試験セット数を増やすなどしてAIによる二動原体自動分析検証を重ね、この分野での先鞭をつけた成果の論文投稿を予定。今後、細胞数を増し、本フィージビリティ・スタディで得られた従来注目されていなかった情報(染色体断片生成頻度)も加えることにより、更に効率よく線量推定が可能となることもわかった。

■ 動原体が特定できるPNA-FISH画像を用いた教師データを増加することで、単色染色画像からの情報[形態、染色の濃淡、二動原体生成に伴う付加情報(染色体断片など)]により、二動原体判別がより効率化した。将来は単色染色画像の学習モデルのプロトタイプも改善されることが期待できる。

■ 通常のラボの画像解析用PCスペックでも、1検体(1000細胞)につき10分程度で可能。

■ PNA-FISHを利用することは容易であることがわかった。

* コスト:プローブ代1検体につき約4~8円、染色時間30分~1時間(ギムザ染色は15分)。国内の多くの染色体解析ラボ・検査会社で技術は確立されている。

AI を利用した染色体画像判別の性能向上(見込み)

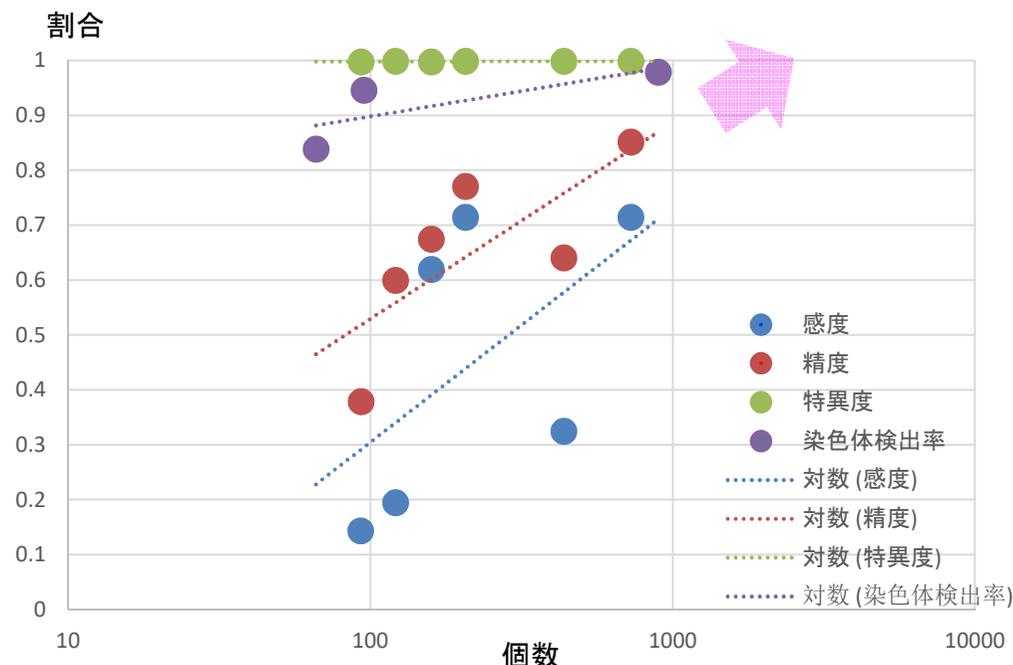


図9. テストごとの染色体検出率および検出された各種染色体異常の個数と正確さとの関係

染色体検査会社のAIによる核型分析正答率~100%(既に実用化)

医用画像研究実例
~2000画像

→ 多検体対応で
大きな力となる

【進捗4 今後の課題】

今年度抽出した以下の課題について、1月以降、研究を進める。

- ① 現段階では、正確な教師データが得られ、かつ、実際の運用上(コスト、技術をもつラボ数など)支障が無いことがわかったPNA-FISH画像を用いたAI自動画像判定技術開発を進めていくこととする。[AIの特性から、将来、教師データや訓練回数の増加によって単色染色(PNA-FISH画像のもつ対比染色像)のみでも判定が可能となることは期待できる。]
- ② 教師データの分類種間バランスを良くし、判別精度をさらに上げ、1 Gy判定やより細かな線量の区別を可能にする。
- ② テストセット数を増やし、検証をより強く行う。
- ③ 画像品質差対策として、現段階では1000～3000枚の画像をAIにより自動選別(分析候補画像提示)する手法を提案するが、将来的には、AI自動分析ベーシック・モデルを開発し、ラボごとに一定枚数の画像を借り受けて調整する機能を持たせる方向で進める。モデルの向上・配布については量研機構で一括管理する方向で進める。
- ④ 現段階では線量推定で試用した標準法(最尤法)もベイズ法も差違が無いが、今後学習モデルの教師データ量ビッグ・データ化するとベイズ法の有用性が見えてくる可能性があるがあるので、両方法に注視していく。
- ⑤ 以上の方向性を原案に、また平成31年度に確立した多検体全血培養法・長期保存細胞培養法等を交えて、運用ストラテジーを作成する。(検体受け入れから線量評価までのシステム案・標準化・管理方法の提案を年度末報告書に記載する予定である。)

【平成31年度 成果公表】

■ 原著論文

1. Y. Suto, et al., Cytogenetic Examination of Human Peripheral Blood Lymphocytes Cryopreserved after Gamma Irradiation: A Pilot Study. *Cytologia*, 85(1), 2020, in press.

■ 学会発表

1. Y. Suto, Radiation cytogenetics in Japan: current state and perspectives. ICRR 2019, シンポジウム(マンチェスター、8月25日)
2. 弓至, et al., Chromosome dose evaluation by image recognition AI using deep learning. 日本進化学会第21回大会(札幌、8月7日～10日)
3. 弓至, et al., Abnormal chromosome detection by image recognition AI using deep learning. 日本バイオインフォマティクス学会2019年年会・第8回生命医薬情報学連合大会(東京、9月9日～11日)

■ 取材(記事)

1. 共同通信社 臨界事故20年特集「被ばく線量 AIが推定」(9月6日、西日本新聞ほかで掲載)

■ 国際標準化機構 プロトコール (Y. Suto、作成メンバー)

1. International Organization for Standardization (ISO): ISO 20046: Radiological protection – Performance criteria for laboratories using fluorescence in situ hybridization (FISH) translocation assay for assessment of overexposure to ionizing radiation (ISO/TC85/SC2, 2019).

■ 教科書 図説提供 (染色体画像等、Oxford社英語版1件、Springer社ドイツ語版1件)

【平成31年度 その他の研究会合・学会参加・情報収集】

- 1) 研究会合 3回 (なお、第1回会合を欠席された検討委員1名については個別会合をもった)
- 2) 画像検討会(教師データ作成) 8回
- 3) 染色体線量評価・人工知能研究に関連した学会・会議
 - * 国際会議: ISO, Working Group 18(生物線量評価)(マンチェスター、8月)
ISO, 本会議およびWorking Group 25(放射線事故時の住民・作業員線量モニタリング)(岡山、11月)
 - * 国際会議: ARADOS 2019(北京、11月)(アジア線量評価ネットワーク会議。本研究のテストセットを用いて目視判定による Intercomparison Studyを主催。レビュー論文投稿予定)
 - * PHE訪問・講演実施(ジドコット、8月)
 - * 国内学会: 日本メディカルAI学会(東京、1月31日～2月1日参加)
 - * 第3回AI・人工知能EXPO(東京、4月)、AI関連企業ヒアリング7社、染色体検査会社ヒアリング1回

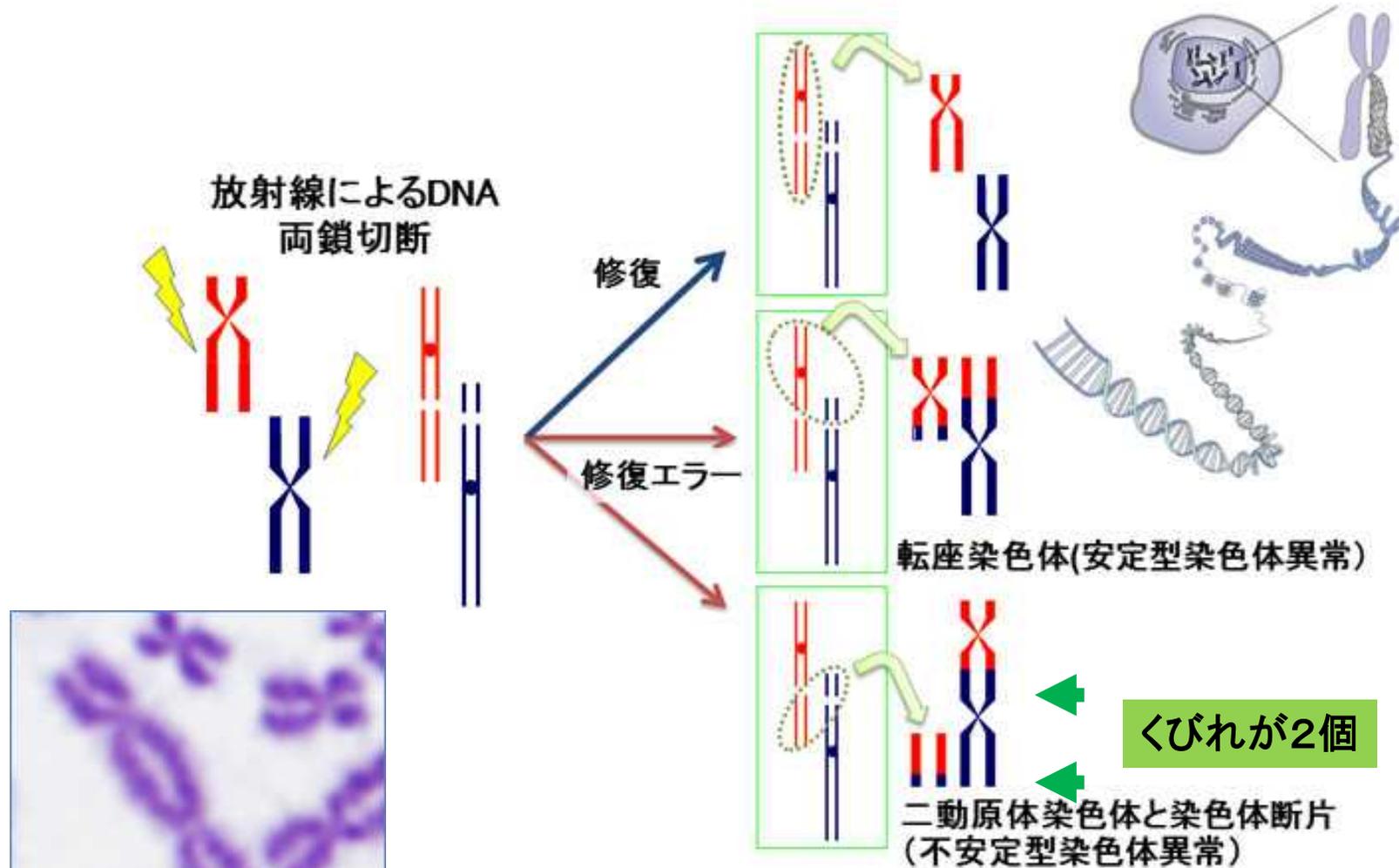
【自己評価】

1. 研究代表者(主任研究者)による自己評価

評価の視点	自己評価	コメント
評価時点までの研究の実施が研究計画に沿って行われているか	計画を上回る	AIによる画像判定支援の有効性を明らかにするために、0～5 Gyに相当する放射線照射血液から作成した染色体画像(約15,000枚)を用い、AI導入試験を実施した。深層学習により、現試作段階の学習モデルでも、これまで検査者の目視観察により、1検体(1,000細胞)当たり3日以上要していた画像判定が、AI自動画像判定10分間で良好な精度での評価が可能となった。さらに、急性放射線症候群の前駆症状に対し医学的な介入が必要となる基準である2 Gy以上の放射線照射血液サンプルについて、患者の見逃しなく判別が可能となった。本成果は原子力災害をはじめとする多数の被ばく者を生じる放射線事故に対し、トリアージに必要な判断材料として適用できる可能性を示唆するものである。AIにより画像判定の標準化が達成されることで、ラボや国の別なく協働で線量評価を行うことができるようになる。今後、本格開発研究で教師データの染色体画像を増やす等により、1 Gy以下の放射線照射血液の判別についても精度向上が期待される。
今年度の進捗や達成度を踏まえて、次年度の研究計画に変更が必要か	今年度で終了	平成31年度末に本研究(フィージビリティ・スタディ)は終了する。 本研究ではAIによる画像判定支援の有効性を示す重要な結果が得られており、今後、画像判定の標準化に向け発展させる。

2. 分担研究者による自己評価 (分担研究者 無し)

放射線被ばくによる染色体異常の形成



二動原体染色体像

[QST e-learning 教材を改変]

