

放射線安全規制研究戦略的推進事業費
(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) 事業

平成 31 年度 (令和元年度) 事業成果報告書

令和 2 年 3 月

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

本報告書は、国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構が実施した「平成31年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費（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）事業」の成果を取りまとめたものです。

目 次

研究の概要	6
1. 研究の背景と目的	8
1.1. 染色体線量評価法	8
1.2. 染色体線量評価の現状	9
1.3. 本研究事業の目的	10
2. 研究計画・実施体制・執行状況	12
3. 研究成果（1）情報収集・検討会	16
3.1. 情報収集	17
3.2. 検討会	18
4. 研究成果（2）Phase 1 プレ試験	19
4.1. 目的	19
4.2. 材料と方法	19
4.2.1. 画像データ	19
4.2.2. アノテーション（染色体へのタグ付け）	22
4.2.3. AIによる染色体画像判別	24
4.3. 結果	25
4.3.1. 染色体の検出	26
4.3.2. クラス分類性能	26
4.3.3. 教師データ増加の効果	27
4.4. 考察	27
4.5. 二動原体染色体分析への各種染色法の適用を検討するための その他の情報	29
4.6. 結論	30
5. 研究成果（3）AI利用に適した画像データの開発	31

6. 研究成果（４）Phase 1 本試験	31
6.1. 目的	31
6.2. 材料と方法	32
6.2.1. 画像データ	32
6.2.2. データセット作成	34
6.2.3. AIによる染色体画像判別	34
6.2.4. 線量推定試験	35
6.3. 結果	36
6.3.1. 染色体の検出	36
6.3.2. クラス分類性能	38
6.3.3. 線量効果曲線の試作	42
6.3.4. 線量推定試験	44
6.4. 考察	48
6.4.1. 染色体異常の分類の性能向上	46
6.4.2. トリアージに必要なメタフェーズ数	50
6.4.3. 線量推定式の検討	54
7. まとめ	54
8. 今後の展望	55
8.1. AI自動染色体画像判定手法の本格開発	55
8.2. 原子力災害等被ばく事故における緊急時対応のストラテジー	56
8.3. AI自動染色体判定の応用	57
9. 研究成果の発表	59
9.1. 学会発表	59
9.2. 取材	63
9.3. 査読付き原著論文	63
9.4. 修士論文	64

10. 参考文献	66
11. 資料	70
資料 1 : 第 3 回 AI・人工知能 EXPO	71
資料 2 : エルピクセル社	75
資料 3 : SRL 社 遺伝子・染色体解析部	76
資料 4 : 低線量被ばく国際シンポジウム	78
資料 5 : ISO TC85 SC2 会議 WG-18 (国際標準化機構・生物線量評価分科会)	79
資料 6 : ICRR 2019 (国際放射線影響学会 2019 年年会)	80
資料 7 : 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	81
資料 8 : 第 5 回 ARADOS 年会 (アジア線量評価ネットワーク会議)	82
資料 9 : 第 2 回日本メディカル AI 学会学術集会	83
資料 10 : ラボ訪問	84
資料 11 : 文献調査	85
資料 12～14 : 研究会合議事録	87
資料 15～22 : 画像検討会議事録	102
12. 別添	
12-1. 平成 30 年度研究成果の概要	102
12-2. 研究計画の実施結果対応表	106

研究の概要

染色体解析、特に末梢血リンパ球培養による二動原体染色体異常の分析法（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。しかしながら、染色体異常の判定基準のラボ間・検査者間の変動が大きいこと、結果を得るまでに要する時間と労力が大きいことなどから、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。本研究事業では、主観や習熟度の差に影響されない、しかも効率の良い、染色体画像解析法の開発を目指し、人工知能（Artificial Intelligence；以下、AI）技術導入の実現可能性を調査・検討した。

具体的には、本研究事業では、ゲノムの塩基配列の相同性に基づいて動原体領域を短時間で染め分けることのできる、蛍光標識ペプチド核酸（peptide nucleic acid, PNA）プローブを用いた蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（fluorescence *in situ* hybridization, FISH）法（以下、PNA-FISH）を併用することで、正確な教師画像データを作成することに成功した。実験的に 0～5 Gy のガンマ線を照射した末梢血から作成した分裂中期リンパ球（以下、メタフェーズとする）の染色体画像約 15,000 枚を用いた AI 導入試験により、以下のことを達成した。

1) 基盤技術の構築

- ・ AI の一種である深層学習（ディープ・ラーニング）を導入した学習モデルの試作。
- ・ AI に適した標本作製法、画像作成法の確立。
- ・ 実際の AI 技術の運用で必要となる多検体対応の細胞培養法の確立。

2) AI 導入の評価

- ・ 二動原体染色体を指標とした線量推定試験により、試作モデルで約 50 個のメタフェーズ画像データから、2 Gy 未満と 2 Gy 以上の被ばくが判別できた。
- ・ 従来かえりみられなかった染色体断片も線量評価の良好な指標となることを見出した。二動原体染色体と併用することで、1 Gy 判別を含むより正確な判定が可能になることが期待できる。

3) 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 メタフェーズ) に要する時間が実質 30 時間以上 (目視) から 10 分 (AI) へと短縮化できた。

本研究の成果は、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 AI 技術が染色体画像判定に適用できる可能性を強く示唆するものである。AI 導入により画像判定の標準化・効率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迅速に行うことができるようになる。

1. 研究の背景と目的

1.1 染色体線量評価法

放射線（電離放射線）は生体にとって有害である。その一つの理由として、遺伝物質の本体である DNA 損傷を与える作用があるからである。細胞が放射線被ばくし、細胞核の DNA の損傷が正常に修復されないと、DNA が折りたたまれた染色体の形態に異常を生じさせる（図1）。これらの異常は、細胞分裂中期の細胞（以下、メタフェーズ）に顕現する染色体で観察できる。被ばく線量と生成された染色体異常の頻度との間に一定の線量効果関係があることを利用して、実際に生体が被ばくした線量の推定を行う。本研究報告では、この線量評価法を「染色体線量評価」法と称することとする。

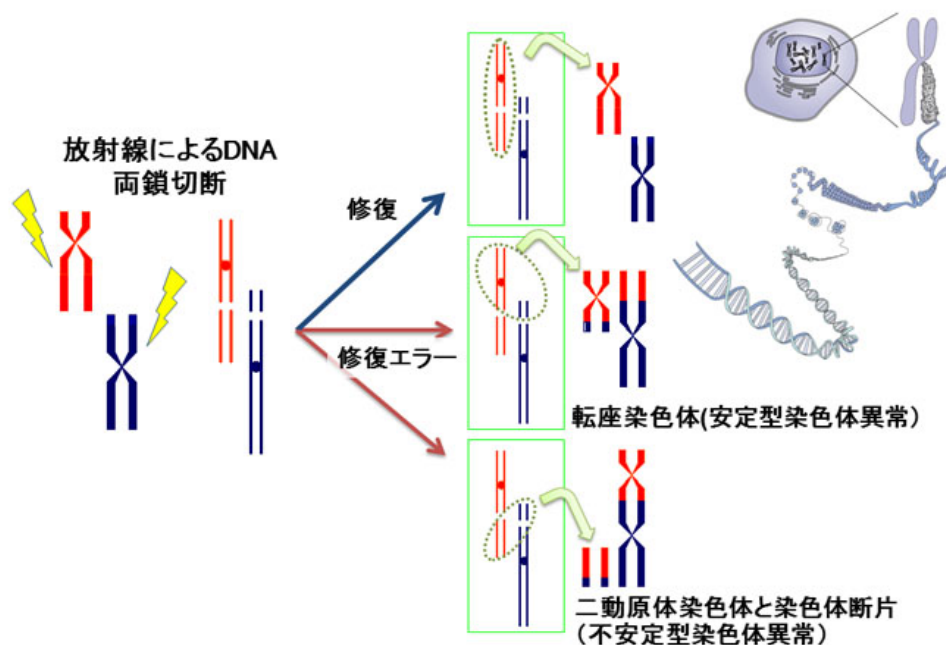


図1. 放射線被ばくによる染色体異常の生成

(QST e-learning を改変)

染色体線量評価では、具体的には、あらかじめ健常人末梢血リンパ球の *in vitro* 照射実験によって線量と染色体異常生成頻度(1細胞当たりの染色体異常数)の関係曲線(以下、線量効果曲線)を作成し、患者の染色体異常頻度から被ばく線量推定する[参考文献1]。放射線により切断され誤って2個の染色体が融合した二動原体染色体(図1)の生成頻度を指標とした推定法、「二動原体染色体分析」が、国際標準化された最も信頼されている代表的な方法である[参考文献2, 3]。実際に旧・放射線医学総合研究所、現・量子科学技術研究開発機構(以下、量研機構)では東京電力福島第一原子力発電所事故(2011年)で緊急時作業員の線量評価を実施し、被ばく医療に貢献した[参考文献4]。

1.2. 染色体線量評価の現状

二動原体染色体異常の生成頻度は個人差が小さく、かつ、バックグラウンド値が非常に低い(1000メタフェーズ当たり0~1個)[参考文献1]。このため、直近の放射線被ばくの影響を反映するといえる。メタフェーズ1個当たりの二動原体頻度はポアソン分布にしたがうため、観察すべきメタフェーズ数は線量が低いほど大きくなる。解析は人間の目視観察によるため、患者1人につき、1000メタフェーズまたは二動原体染色体100個以上を観察することが国際的に推奨されている[参考文献1, 2]。

近年、技術革新により、細胞培養や染色体標本作製の装置の自動化、顕微鏡画像撮影の自動化がなされ、血液検体受け入れから染色体画像作成までは高速化が成し遂げられた。

しかしながら、染色体異常の正確な画像判定の部分は人間の目視判断に頼っており、患者1人当たり1000メタフェーズの判定に、熟練者で実質30時間以上を要する。国際標準プロトコールでは、患者1人につき、2名以上の染色体検査担当者によるブライントテスト形式で染色体異常検出をすることが推奨されている[参考文献2]。国内には高度被ばく医療の指定機関が5機関あるが、1機関につき熟練者は最大2名しかいないのが現況である。東京電力福島第一原子力発電所事故での経験からいって、1つの担当機関が1週間に検査可能な患者数は最大3名程度と見込まれる。

染色体画像の解析自動化の開発は、この10年で、画像解析条件のパラメータを人間が設定する従来型の機械学習法によって行われてきているが、今なお実用段階には無い。

具体的には、顕微鏡画像解析の自動化 [参考文献 5, 6, 7] や、フローサイトメトリーに CCD カメラによるフロー撮影を結びつけた検出と解析の迅速化 [参考文献 8] が試みられており、自動判定結果を人間の目視により確認・修正する作業が必要であることが知られている。

このように、依然として原子力災害をはじめとする多数の被災者が発生する被ばく事故では多くの熟練者の協力が必要である。そのため、国内外で染色体線量評価のネットワーク化が進められている。しかしながら、プロトコルの国際標準化と 20 年以上続けられた努力にも関わらず、ラボ間や染色体検査担当者間の染色体画像判定の差をなくすことはできていない [参考文献 9]。染色体分析の熟練者の確保や養成は困難であり、染色体線量評価において、染色体異常の画像判定の標準化・迅速化が最大で喫緊の課題である。

1.3. 本研究事業の目的

近年、分子細胞遺伝学の発展により染色体異常の判別のための染色方法の選択肢が増えた [参考文献 1]。並行してコンピュータによる画像認識技術の発達も著しく、特に、AI 技術による機械学習を採り入れた画像判別手法の開発には目覚ましいものがある。従来の画像解析技術では、前述のように人間が指定したパラメータ（特徴）に基づき染色体の検出を行うという機械学習であったため、多様な染色体像に対応できず、取りこぼしが多かった。また、画像品質のバラつきに柔軟に対応することが難しく、研究室ごとに熟練者によるパラメータの調整などが必須であった。AI 技術のひとつである深層学習は、脳のニューラルネットワークを模した機械学習モデルであり、多量のデータを用いて膨大なパラメータを調整することで柔軟な学習が可能な情報処理の手法である。パーセプトロンという、複数の信号を受け取り、0-1 を出力するアルゴリズムを脳神経に模し、並列化と多層化によって非線形で複雑な表現を可能にしている。大量な組み合わせに起因する膨大な計算量から、実現が難しかった技術であったが、単純な並列計算に特化した GPU (graphics processing unit) の進化に伴い、ここ数年の間に現実的に利用可能な技術となった。これにより深層学習の手法は自然言語処理や画像解析など、様々な分野で高い成果をあげている。特に画像解析の分野では、医療や製造業などの領域で高い性能を発揮し [参考文献 10]、時には専門家による判断よりも高い精度を出

すこともあるという。

そこで本研究事業では、平成 30 年度、31 年度の 2 カ年で、AI 技術を含む最先端の画像判別手法を調査・試行し、線量評価における導入の実現可能性を検討した。調査・検討においては、染色体線量評価・染色体研究、コンピュータ画像解析技術、AI 知能技術の研究者、数理統計学の研究者など、諸分野の専門家の協力を得た。本研究の成果は、染色体異常の判定の標準化および高速化に向けた、本格的な解析プログラムの開発の礎となる。

2. 研究計画・実施体制・執行状況

■ 研究計画

1) 【情報収集】 染色体解線量評価（数理統計解析を含む）および人工知能技術を導入した画像判別手法に関する情報収集

1-1) 関連の国内学会、国際学会、AI 関連企業展示会等への参加

* 各国の被ばく医療における線量評価責任機関の研究者との情報交換を含む。

1-2) 先進的な研究機関への訪問による情報収集

* 染色体線量評価と数理統計解析のラボ

1-3) 文献調査

2) 【画像作成】 テスト用の画像ファイルの準備（継続）（各種画像データと目視判定結果の紐付け）

3) 【AI 導入試験】 人工知能技術を導入した機械学習(ディープラーニング)による画像判別プログラムテスト

3-1) 染色体および染色体異常の判別精度や実行速度などを評価軸として有効性や適用範囲（線量）の検討を行う。

3-2) 3-1. を参考に染色体異常認識モデルの試作および検証を行う (Phase 1)。

4) 【検討委員会】 検討委員会の開催

* 1～3 で得られる情報を共有し、コンピュータによる画像判別手法の技術の検討・評価（人工知能を含む）、画像判別結果の数理統計学的なデータ処理法・線量推定法の検討、染色体線量評価のための画像判別技術開発案の検討等を行う。

5) 【総括】 総括

* 染色体線量評価のための画像判別技術開発案の提示

[補足]

※ 本報告書においては、染色体画像の「判別」と「判定」を以下のように使い分ける。

・判別： AI により、染色体を認識（検出）しクラス分類する（染色体異常の分類

名を付する) こと。

- ・判定： 染色体検査専門家により、染色体異常の種類を決定（同定）すること。

※2 AI 導入では、一般的に、以下のプロセスにより開発が進められているため、本研究でも Phase 1 という表現を用いる。

- ・Phase 0：AI 利用に対する利用者・開発者間の正しい共通理解（目的の明確化、データの情報など）
- ・Phase 1：AI 導入効果の検証（パイロット・スタディ）；終了段階で開発の実現可能性を判断する。
- ・Phase 2：本格開発および実証実験；終了段階で実際の導入を判断する。
- ・Phase 3：運用と改善

■ 実施体制

研究実施体制は下記の通りである（図2参照）。

○ 主任研究者

数藤 由美子（量子科学技術研究開発機構 量子医学・医療部門 高度被ばく医療センター 計測・線量評価部 生物線量評価グループ、グループリーダー）

* 研究総括、情報収集、画像作成、線量評価

○ 研究協力者および専門・協力内容

長田 直樹（北海道大学大学院 情報科学研究院、准教授）

* 検討委員（画像判別手法および数理統計学の調査・検討）

弓 至（北海道大学大学院 情報科学研究院、修士課程2年）

* 検討委員（画像判別手法の調査・検討）

平井 百樹（東京大学名誉教授）

* 検討委員（染色体技術、染色体画像データ作成）

瀧川 一学（理化学研究所／北海道大学大学院 情報科学研究院、准教授）

* 検討委員（AI 技術全般、特に画像判別）

野里 博和（産業技術総合研究所 人工知能研究センター、主任研究員）

*検討委員 (AI 技術応用全般、特に医用画像)

市川 学 (芝浦工業大学工学部、教授)

*検討委員 (CBRNE 対策、シミュレーション、IT 技術全般)

江藤 亜紀子 (保健医療科学院 健康危機管理部、上席主任研究員)

*検討委員 (健康危機管理、疫学)

○ 研究参加者

高島 良生 (量子科学技術研究開発機構 生物線量評価グループ、主任研究員)

*情報収集 (9 月まで)

穂山 美穂 (量子科学技術研究開発機構 生物線量評価グループ、技術員)

*画像ファイルの準備

栗原 治 (量子科学技術研究開発機構 計測線量評価部、部長)

*物理線量評価に関する助言

○ 外注

エルピクセル株式会社

[企業情報]

住所： 東京都千代田区大手町 1 - 6 - 1 大手町ビル 6 階

ホームページ： <https://lpixel.net/>

事業概要および実績： 東京大学発、ライフサイエンスと画像解析を背景に独自の技術を研究・開発。オリンパス、富士フイルム、キャノンメディカル等から出資を受け複数の医療、医薬用システムを開発。医用画像解析ソフトウェア (脳動脈瘤を診断支援する医療機器) が国内初の薬事承認を取得 (2019 年 10 月)。

[契約期間]

1) Phase 1 プレ試験： 2019 年 4 月 25 日～2019 年 6 月 28 日

2) Phase 1 本試験： 2019 年 9 月 11 日～2020 年 2 月 28 日

[委託内容]

1) Phase 1 プレ試験

*予備試験として、AI 技術（深層学習法）が染色体画像分析に適用可能かどうかを確認する。

①複数の染色法による少数のメタフェーズ画像サンプルを用い、深層学習により染色体の検出や分類の性能を調べ、比較する。

②教師画像データ数の増加により、染色体の検出や分類の性能の向上を確認する。

2) Phase 1 本試験

*アルゴリズム（プロトタイプ）を試作し、多数のメタフェーズ画像サンプルを用い、染色体異常の検出性能を評価する。

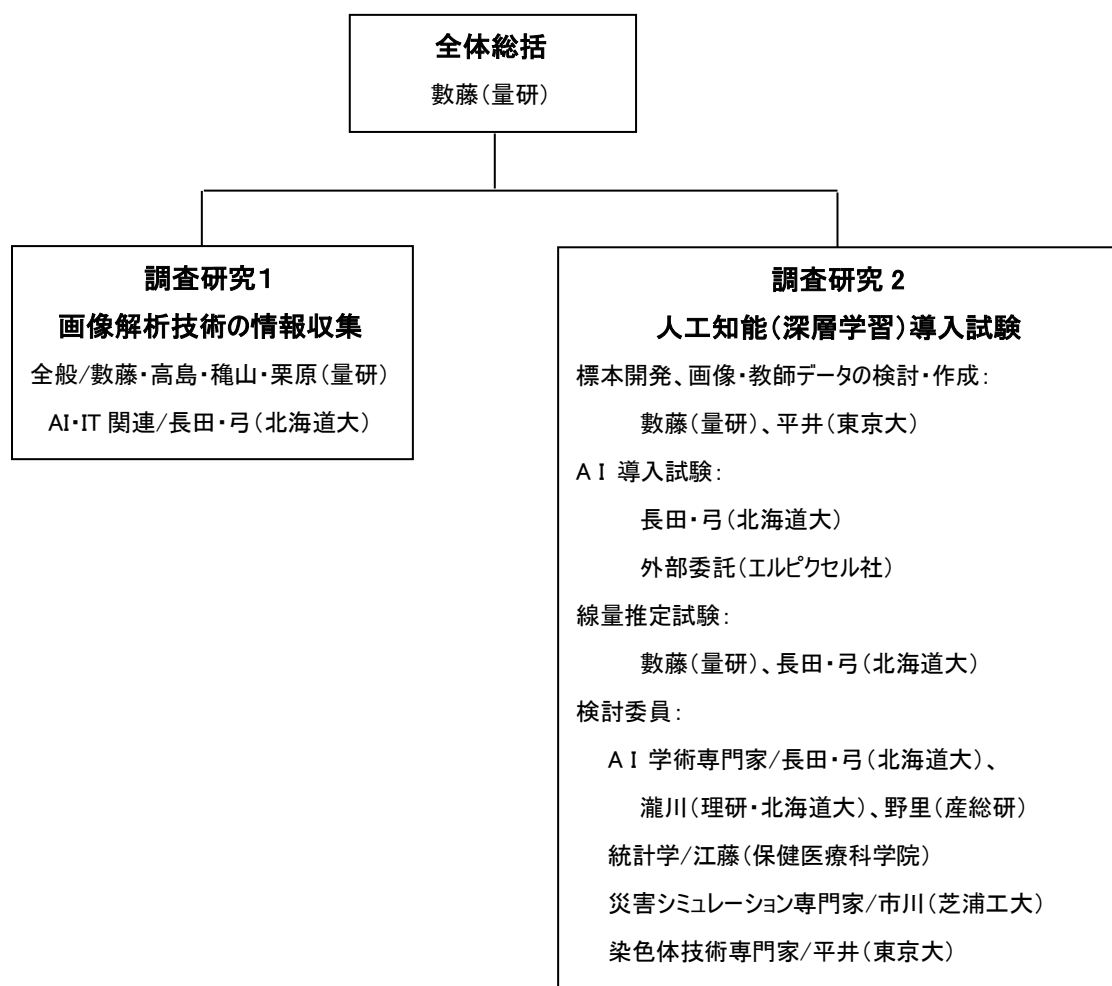


図2. 研究実施体制

■ 執行状況

図3に示す。

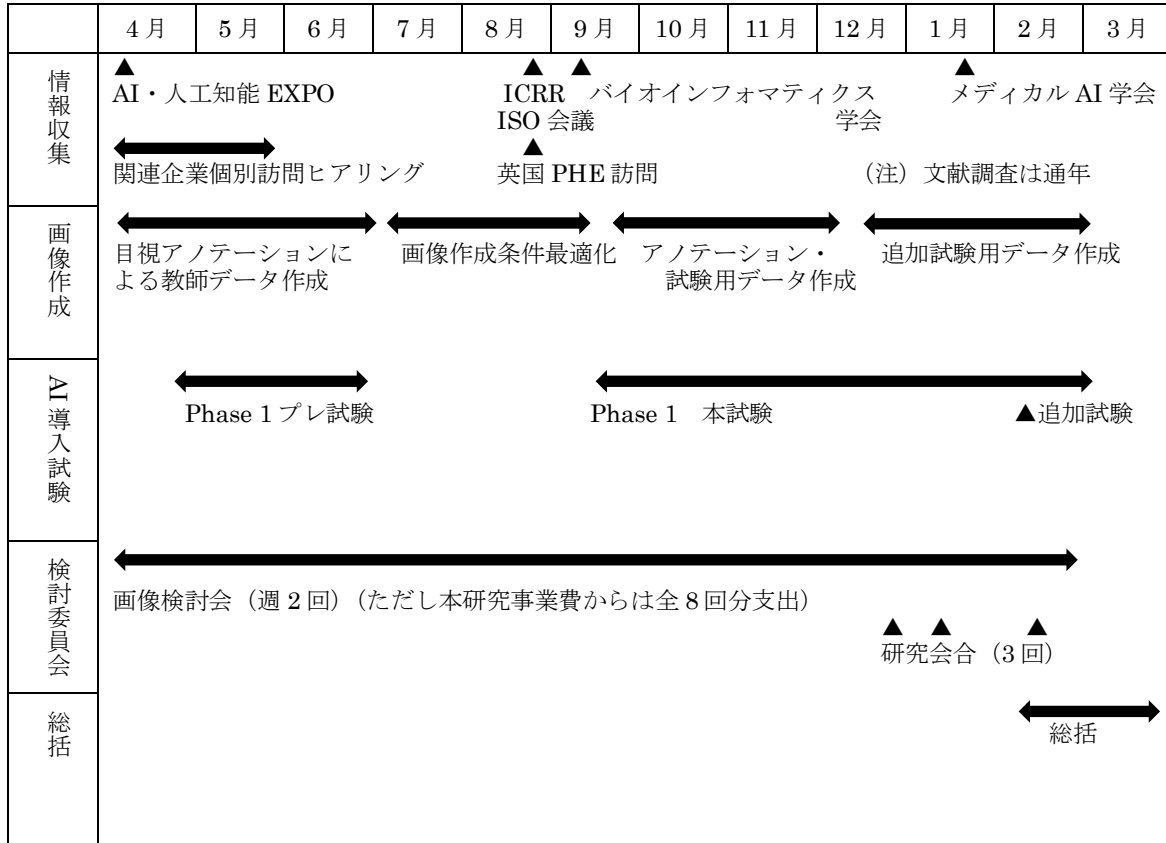


図3. 研究計画の執行状況

3. 研究成果（1）情報収集・検討会

本研究を推進する上で、随時必要に応じて研究開発の動向調査および情報収集を行った。得られた知見は研究協力者（検討委員）、研究参加者の間で共有し、研究の検討に活用した。特に、学術的な情報は AI 導入試験における手法決定や結果の考察、今後の方針決定に役立った。また、関連企業の情報は、AI 導入試験の外部委託先候補決定や、緊急被ばく医療における協力関係作りの検討において参考にした。

以下、実施項目を記載し、内容の詳細は [資料 1～2 2] で示す。

3.1. 情報収集

■ AI 関連企業ヒアリング

- 1) 第 3 回 AI・人工知能 EXPO（2019 年 4 月、東京）[資料 1]
- 2) エルピクセル社（2019 年 4～5 月、東京）[資料 2]
- 3) SRL 社 遺伝子・染色体解析部（2019 年 4 月、東京）[資料 3]

■ 学会・国際会議参加

- 1) 低線量被ばく国際シンポジウム（2019 年 5 月、ソウル）[資料 4]
- 2) ISO TC85 SC2 会議 WG-18（国際標準化機構・生物線量評価分科会）
（2019 年 8 月、マンチェスター）[資料 5]
- 3) ICRR 2019（国際放射線影響学会 2019 年年会）
（2019 年 8 月、マンチェスター）[資料 6]
- 4) 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
（2019 年 9 月、東京）[資料 7]
- 5) 第 5 回 ARADOS 年会（アジア線量評価ネットワーク会議）
（2019 年 11 月、北京）[資料 8]
- 6) 第 2 回日本メディカル AI 学会学術集会（2020 年 1～2 月、東京）[資料 9]

■ ラボ訪問

- 1) Public Health of England (PHE)（ジドコット英国、2019 年 8 月）[資料 1 0]

■ 文献調査

資料 1 1 参照。

3.2. 検討会

■ 研究会合

- 1) 第1回 (2019年12月23日、東京) [資料12]
- 2) 第2回 (2020年1月10日、東京) [資料13]
- 3) 第3回 (2020年2月17日、東京) [資料14]

■ 画像検討会

- 1) 第1回 (2019年4月23日、千葉) [資料15]
- 2) 第2回 (2019年4月24日、千葉) [資料16]
- 3) 第3回 (2019年10月9日、千葉) [資料17]
- 4) 第4回 (2019年10月23日、千葉) [資料18]
- 5) 第5回 (2019年11月18日、千葉) [資料19]
- 6) 第6回 (2019年11月25日、千葉) [資料20]
- 7) 第7回 (2020年2月12日、千葉) [資料21]
- 8) 第8回 (2020年2月13日、千葉) [資料22]

4. 研究成果（2）Phase 1 プレ試験

4.1. 目的

本研究事業において、染色体画像解析への AI 技術導入を試験するため、予備試験を行い、以下の項目について確認し、本試験の準備を可能にした。

- ① AI により 染色体が検出可能 であること。
- ② AI により 染色体異常が分類可能 であること。
- ③ AI に適した染色法を検討 するための比較を行うこと。

4.2. 材料と方法

4.2.1. 画像データ

量研機構において、⁶⁰Co ガンマ線照射（2.0, 3.0, 4.0, 5.0 Gy、線量率 0.4 Gy/min）して得た末梢血由来リンパ球染色体標本の各種染色顕微鏡画像コレクションから、以下のものを選択して試験に用いた。本研究での使用に当たっては、臨床研究審査委員会で承認および血液提供者からの同意を得た [量研機構 課題番号 18-023、18-033]。

- ① ギムザ染色画像、1028 枚
- ② DAPI^(注1) 染色画像、1613 枚
- ③ PNA-FISH^(注2) 画像（動原体領域 PNA プローブ）、140 枚（図 4 参照）
- ④ 3-color FISH^(注3) 画像（#1, 2, 4 番染色体ペインティングプローブ）、121 枚

顕微鏡画像は、モノクロ CCD カメラ Axio Imager Z2 とソフトウェア Metafer 4（Zeiss / MetaSystems 社、ドイツ）を用い、自動キャプチャによって撮影した（詳細は表 1 に示す）。

(注1)

DAPI (4', 6-diaminido-2-phenylindole) は DNA に結合する蛍光物質である。核ゲノム (染色体) を青色に染色することができる。

(注2)

本研究における PNA-FISH では、Cy3-標識 (赤色) の動原体領域特異的な PNA プローブを用いた。対比染色には DAPI (青色) を用い、動原体領域が赤色で検出される。なお、PNA は人工的に合成された DNA 類似体で、DNA と異なり電氣的に中性の骨格をもつため高い結合親和性、特異性、感受性をもつ。このためハイブリダイゼーションに要する時間は短く (約 30 分。DNA プローブを用いる通常の FISH では約 17 時間)、迅速な染色体異常検出が可能となった [参考文献 1 1]。

(注3)

3-color FISH はヒト 1 番染色体特異的 DNA プローブ (TexasRed 標識、赤色)、2 番染色体特異的 DNA プローブ (FITC 標識、緑色)、4 番染色体特異的 DNA プローブ (TexasRed + FITC 標識、黄色) を用いた FISH で、交換型染色体異常 (二動原体、転座など) を検出する [参考文献 1 2]。それぞれ、対比染色として DAPI (青色) を使用する。このように各染色体全体にハイブリダイズして検出する FISH を特に染色体ペインティング (Chromosome Painting) と呼ぶ。

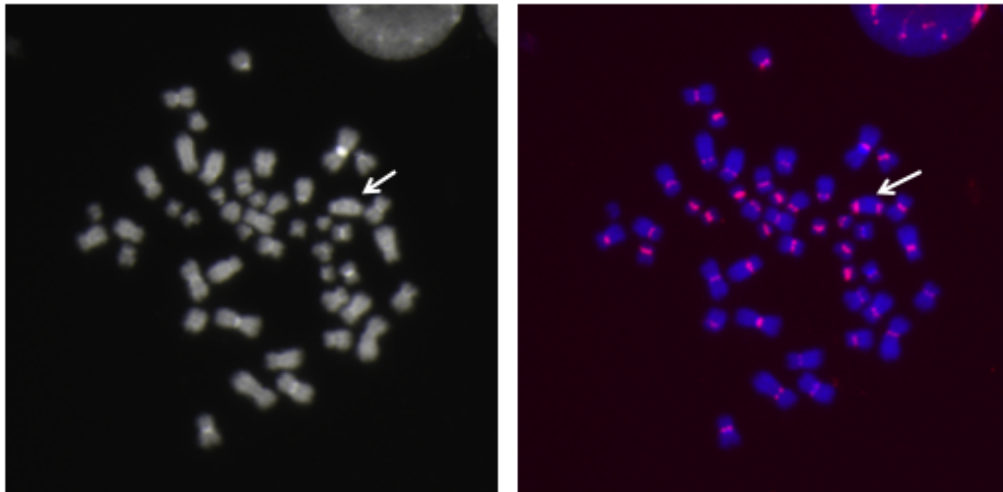


図 4. PNA-FISH を行ったメタフェーズの例

ヒト染色体の動原体領域特異的にハイブリダイズする Cy3 標識ペプチド核酸 (PNA) プローブ (赤色) を用いて蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) を行い、DAPI による対比染色 (青色) を行った。モノクロ CCD カメラとバンドパスフィルターにより蛍光色素ごとに撮影した。(左) DAPI 対比染色像 (U フィルター使用)、(右) PNA-FISH 像 (U フィルターおよび Cy3 フィルターで撮影したモノクロ画像をマージし、対比染色 DAPI : 青色、Cy3 : 赤色で表示した)。矢印は二動原体染色体を指している。各図右上に見られる半円形の物体は、細胞分裂の間期にある核 (間期核) の一部で、核ゲノム全体は青色、動原体の存在箇所は赤色で検出されている。

表 1. 顕微鏡画像の情報

	ギムザ染色	PNA-FISH		3-color FISH	
		バンドパス フィルター毎 の撮影画像	マージ画像	バンドパスフ ィルター毎の 撮影画像	マージ画像
ファイル形式	JPEG	TIF	TIF	TIF	TIF
サイズ (幅)	1280 ピクセル	1280 ピクセル	1280 ピクセル	1280 ピクセル	1280 ピクセル
サイズ (高さ)	1024 ピクセル	1024 ピクセル	1024 ピクセル	1024 ピクセル	1024 ピクセル
解像度 (水平)	96 dpi	96 dpi	96 dpi	96 dpi	96 dpi
解像度 (垂直)	96 dpi	96 dpi	96 dpi	96 dpi	96 dpi
ビット深度	24 bit	8 bit	24 bit	8 bit	24 bit

(注) Axio Imager Z2 (Zeiss/Metasystems 社) を使用した場合の数値。

4.2.2. 方法

■ アノテーション（染色体へのタグ付け）

画像の一部について、アノテーション・ソフトウェア「LabelImg」(<https://github.com/tzutalin/labelImg>)を使用して熟練検査者によって目視・手動によるアノテーション（染色体異常の分類名のタグを付すこと）を行った。具体的には、染色体異常の分類名称ごとに色を指定し、表示したメタフェーズの中の染色体1個1個について染色体異常を目視判定し、対応する色の矩形で囲む（図5）。画像ごとにXML形式で保存される。XML形式のデータファイルには、染色体の画像上の位置情報と分類名情報が含まれている。対応する詳細な目視判定情報を併せて作成した（Excelファイル）。

アノテーションを実施した画像枚数は以下の通りである。

- ① ギムザ染色画像、144枚
- ② PNA-FISH 画像（DAPI 染色、動原体領域プローブ使用）、140枚
- ③ 3-color FISH 画像（DAPI 染色、#1, 2, 4 番染色体ペインティングプローブ使用）、121枚

プレ試験では、画像中の染色体の検出および染色体異常の分類（クラス分類）の性能を調べることで、AIによって判別しやすい染色標本を明らかにすることを目的としたため、前述のアノテーションデータから、以下のセットを用意した。

- ・第1セット： 各種染色画像につき、教師データとして同数を揃えた。

訓練データ 66枚

検証データ 9枚

テストデータ 10枚

- ・第2セット： 各種染色画像につき、訓練データを追加した。

訓練データ 95枚

検証データ 9枚

テストデータ 10枚

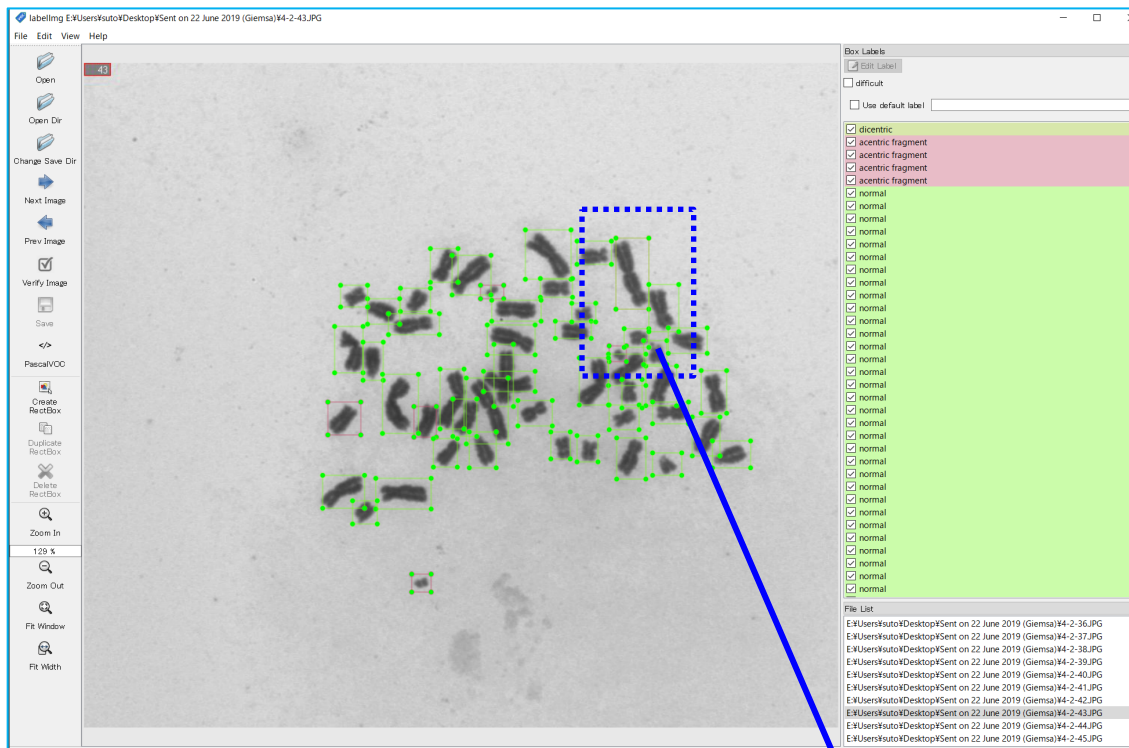
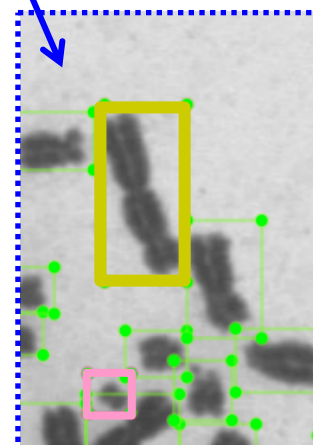


図5. LabelImg を用いたギムザ染色画像のアノテーション
実行イメージ

(上) あらかじめ染色体異常の種類名毎にラベルの色を指定しておく、画像内の染色体1個1個について熟練者が染色体判定をし、指定の色の矩形(ラベル)で囲む。ここでは緑色のラベルが正常(normal)、桃色が染色体断片(acentric fragment)、黄緑色が二動原体染色体(dicentric)を表す。ラベルの色は染色体異常の種類を、ラベルの位置は画像上の位置情報として保存される。

(右) 上図の一部を拡大し、染色体断片と二動原体染色体のラベルを強調した。



4.2.3. AI による染色体画像判別

解析方法：

染色体の検出および染色体異常の分類（クラス分類）のため、Faster R-CNN [参考文献 1 3] を用いた。これは畳み込みニューラルネットワーク（Convolutional Neural Network, CNN）を利用した深層学習手法の一種である。なお、少ない数の教師データに対処するため、事前に転移学習の手法を用いた。具体的には、20 万枚以上の一般画像を含む COCO データセット [参考文献 1 4] で学習済みのモデルを使用して、メタフェーズ画像で再学習させた。

最初に、各種染色画像につき、第一セットの教師データ（訓練データ 66 枚）を用いて染色体の検出およびクラス分類を行った。具体的には、訓練データと検証データを用いて Faster R-CNN による学習を行い、テストデータ 10 枚に対して推論を実行した。その結果を熟練検査者が目視で判定した正解データと比較した。

次に、各種染色画像につき、第二セットの教師データ（訓練データ 95 枚）を用いて同様に学習と比較試験を行った。

評価方法：

アルゴリズムで予測した染色体数や染色体分類の結果と、熟練検査者が目視で計数した染色体数や、クラス分類結果を比較した。

染色体の検出性能を評価するために、熟練検査者が目視で計数した染色体数と、自動検出できた染色体数の平均絶対誤差（Mean Absolute Error）を計算した。染色体の検出性能が高いほど、平均絶対誤差は小さな値をとる。

$$\text{平均絶対誤差} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n |\text{自動検出できた染色体数} - \text{実際の染色体数}|$$

(n はサンプル数)

染色体異常の分類性能を評価するために、Recall（感度）と Precision（精度）を計算した。

$$\text{Recall} = \frac{\text{True Positives}}{\text{True Positives} + \text{False Negatives}}$$

$$\text{Precision} = \frac{\text{True Positives}}{\text{True Positives} + \text{False Positives}}$$

Recall の値は真陽性の数が多いほど高い値をとり、偽陰性が増えると値は下がる。例えば、dicentric 染色体が normal 染色体として判断されるケース（偽陰性）が少ないと、Recall の値は高くなる。

Precision の値は真陽性の数が多いほど高い値をとり、偽陽性が増えると値は下がる。例えば、normal 染色体が dicentric 染色体として判断されるケース（偽陽性）が少ないと、Precision の値は高くなる。

4.3. 結果

図6および図7に、AIによる染色体画像判定の実行例を示す。

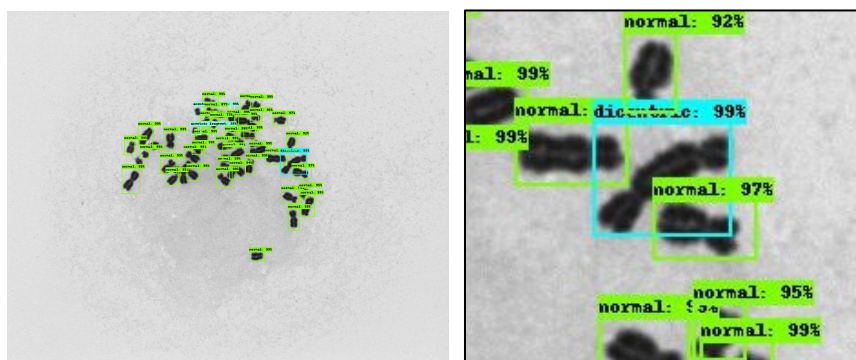


図6. AIによる染色体画像判定の実行イメージ（ギムザ染色）

メタフェーズが1個入った画像（左）およびその部分拡大図（右）。分類名の「正常」（normal, 緑色）、「二動原体染色体」（dicentric, 水色）が確度(%)とともに示される。

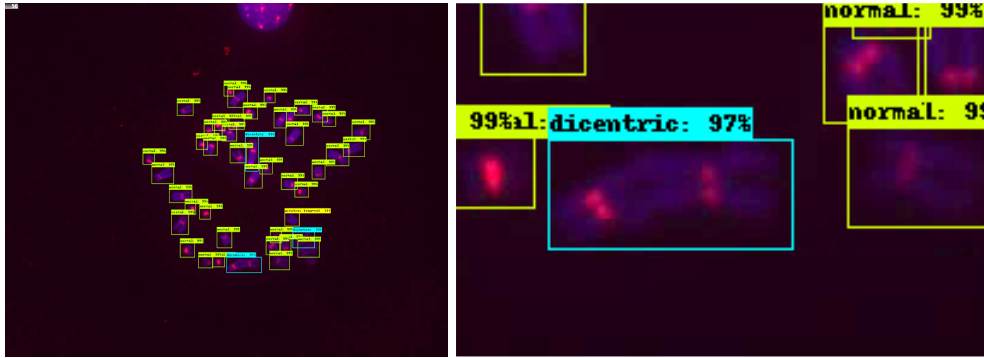


図7. AIによる染色体画像判定の実行イメージ (PNA-FISH)

メタフェーズが1個入った画像 (左) およびその部分拡大 (右) を示す。PNA-FISHにより、染色体はDNAに結合するDAPIによって青色で検出され、動原体領域は蛍光標識プローブによって赤色で検出される。分類名の「正常」(normal, 黄緑色)、「二動原体染色体」(dicentric, 水色)が確度(%)とともに示される。

4.3.1. 染色体の検出

ギムザ染色画像の場合、平均絶対誤差は8.3であったのに対し、PNA-FISH画像では7.4と、より小さい値をとった。

4.3.2. クラス分類性能

染色体異常の種類判別の性能を表2 (教師データ66枚) に示す。

二動原体染色体異常の検出において、ギムザ染色画像では感度が9.1%と低く、9割以上の二動原体が検出されなかった。PNA-FISH画像では二動原体の検出の感度は16.7%で、ギムザ染色画像より高い感度を示した。

同様に、「染色体断片」(二動原体の生成に伴って生じる染色体異常)の検出の感度においても、ギムザ染色画像(8.3%)よりPNA-FISH画像(36.4%)の方が高い分類能を示した。

4.3.3. 教師データ増加の効果

教師データを増加させることで、染色体検出やクラス分類の性能が向上するかどうかを調査した。教師データを **66 枚から 95 枚に増加**させた [表 2 (教師データ 95 枚)]。

その結果、ギムザ染色画像の場合、染色体検出の性能は平均絶対誤差として 8.3 から 4.1 へと向上した。クラス分類については、二動原体の検出の感度には変化が見られず、染色体断片の感度は 8.3%から 16.7%に向上した。また、検出の精度については二動原体、染色体断片ともに偽陽性が増え、数値は低下した。

PNA-FISH 画像では、染色体検出の性能は平均絶対誤差として 7.4 から 2.5 へと向上した。クラス分類については二動原体、染色体断片ともに感度が向上した。また、精度については二動原体で向上した。

表 2. AI による染色体異常のクラス分類性能の比較

染色法 (教師データ数)	ギムザ染色 (66 枚)	ギムザ染色 (95 枚)	PNA-FISH (66 枚)	PNA-FISH (95 枚)
Dic 検出 感度(%)	9.1	9.1	16.7	33.3
Dic 検出 精度(%)	50.0	12.5	22.2	57.1
Frg 検出 感度(%)	8.3	16.7	36.4	50.0
Frg 検出 精度(%)	50.0	33.3	80.0	73.0

(注) Dic: 二動原体染色体、Frg: 染色体断片。

4.4. 考察

1) ギムザ染色と PNA-FISH で同数の教師データ学習を行った結果、PNA-FISH 画像の方が染色体検出およびクラス分類において高い性能を示した。

2) ギムザ染色では、教師データの増加により、染色体の検出性能は向上したが、クラス分類に関しては改善がみられなかった。ギムザ染色による染色体の形態情報のみで染色体異常を判断するのは、PNA-FISH に比べて困難であると考えられる。

3) PNA-FISH では、染色体検出、染色体異常検出ともに、性能は未だ低いが、教師データを 29 枚増やすだけで二動原体の予測性能が感度 16.7%から 33.3%へ、精度 22.2%から 57.1%へと向上した。今後、教師データを増加させ、さらなる性能向上の余地は十分にありと予想される。

4) 今後、教師データを増加させる際には、今回学習させたモデルを使って新たな画像にアノテーションを付け (AI による自動アノテーション)、それを専門家が修正することで、アノテーション作業の効率化・高速化を図る。

5) プレ試験では、3-color FISH 画像を教師データとする場合も確認した (データは省略)。3-color FISH では染色体異常の検出性能は高かった (感度 98.8%、精度 85.7%)。ハイブリダイゼーションに約 17 時間を要するためトリアージ診断の支援には向かないが、必要に応じて利用することは可能である (57 ページ、8.3.参照)。

6) プレ試験では、DAPI 染色画像の代用として、PNA-FISH および 3-color FISH それぞれの DAPI 像を教師データとする場合についても性能を確認した。染色体検出の性能は PNA-FISH 画像と同等であった (PNA-FISH 画像においても対比染色の DAPI 像が使用されるため)。二動原体の検出 (クラス分類の性能) については、DAPI 染色により動原体領域のヘテロクロマチンが濃染されることから、ギムザ染色より高い分類性能が期待されたが、実際には、染色体によってヘテロクロマチン量が異なるため動原体領域の濃染の度合いが異なり、未加工 (明るさやコントラストの調整無し) では見逃される動原体があり、ギムザ染色画像の検出性能と同等であった。

7) ギムザ染色画像に対してエルピクセル社とは異なる計算ツールや物体検出モデルを用いた AI 導入試験を行った (実施者: 北大・長田、弓)。量研機構提供の同じギムザ染色画像コレクションのうち 900 枚を用いた。UNet [参考文献 1 5]、Tensorflow-gpu_1.11.0 [参考文献 1 6] の Keras_2.1.6_tf を用いたセマンテック・セグメンテーション、画像トリミング、畳み込みニューラルネットワークによるディープラーニングに、物体検出モデル YOLOv3 [参考文献 1 7] を併用して、染色体の検出および染色体異常の識別を試みた。その結果、ギムザ染色による染色体の検出は可能であることが示されたが、染色体異常の分類の判別性能はエルピクセル社における検討結果と同様に低いこと

を確認した。

4.5. 二動原体染色体分析への各種染色法の適用を検討するためのその他の情報

1) 染色にかかる費用と時間 (概算)

広く使用されている調整済み試薬を用いた場合の、標本 1 枚当たりにかかるおおよその染色費用と、染色体標本作製後に染色に要する時間は、以下の通りである。

*ギムザ染色液：30 円、15 分

*DAPI 染色液：350 円、15 分

*PNA-FISH：プローブ 6 円 + 対比染色 (DAPI 染色液) 350 円、1 時間

2) データ取得の効率 (目視判定の場合)

*ギムザ染色：染色効率 100%、データ採択率 40~60%

*DAPI 染色・PNA-FISH 染色：染色効率 100%、データ採択率 90~95%

(注： 画像撮影スピードはいずれの染色でもほぼ同じ)

3) 二動原体判定の再現性 (目視判定の場合)

*ギムザ染色：ラボ間、検査者の熟練度によって差が生じる。

*DAPI 染色：動原体へテロクロマチン領域が濃染するため、ギムザ染色よりやや良好。

*PNA-FISH：ラボ間差、検査者の熟練度による差がなく、一致する [資料 8：アジア線量評価ネットワーク 2019 年ラボ間比較調査 (量研機構主催による) の結果より]。

4) 教師画像データ作成の効率 (熟練者による 1 メタフェーズ当たりの目視判定時間)

*ギムザ染色：既存の判定結果記録ありで、10 分 (既存記録の修正を要する)

*PNA-FISH：既存の判定結果記録なしで、1 分

5) 各種染色法の普及度

ギムザ染色法、DAPI 染色法、FISH 法は、量研機構のほか、国内の細胞遺伝学主要ラボ (日本人類遺伝学会臨床細胞遺伝学認定士約 190 名および高度被ばく医療支援 4 センター) では普及している。

大手染色体検査会社（3社）では日々使用されており、全自動機器導入済み。例えば SRL 社では、血液検体受け入れから画像取得までのすべての工程に対応できる。SRL 社の東京ラボでは、現在 1 日 2000 検体の染色体検査を実施しており（全国受け入れ総数の 70%）、これら通常の受け入れ検査業務を維持したままの場合、被ばく者検体は 1 日 50 検体の受け入れが可能（追加受け入れは応相談）とのこと（資料 3 参照）。

4.6. 結論

AI により、染色体の検出と染色体異常の分類が可能であることが確認できた。

ギムザ染色画像と PNA-FISH 画像について同じ量の教師データで学習させた結果、66 枚および 95 枚の訓練データという少数の画像 AI の判断根拠はブラックボックスにあって不明だが、PNA-FISH 画像を用いた教師データを増加することで、

* 単一染色の情報： 形態、濃淡、染色体断片数（二動原体に伴うことが多い）など

* FISH の情報： 動原体領域など

により、クラス分類（二動原体染色体の判別）の性能を高める可能性が示された。

PNA-FISH 法の普及度や必要経費、PNA-FISH 法を二動原体染色体分析に導入することに問題は無く、また、教師画像データ作成の正確さや効率からみて適しているといえる。

5. 研究成果（3）AI 利用に適した画像データの開発

図8に示すように、PNA-FISH により、正確な教師データが作成できる [資料8および参考文献11参照]。本試験で使用するため、AI による画像判別に適した画像データ作成法を開発し、確立した。具体的には、細胞培養条件を最適化し（染色体の凝縮度を調整）、標本作製法を改良した（染色体の重なりが少ないメタフェーズの頻度を上げた）。

（注： 方法の詳細については投稿論文準備中につき記載しない。）

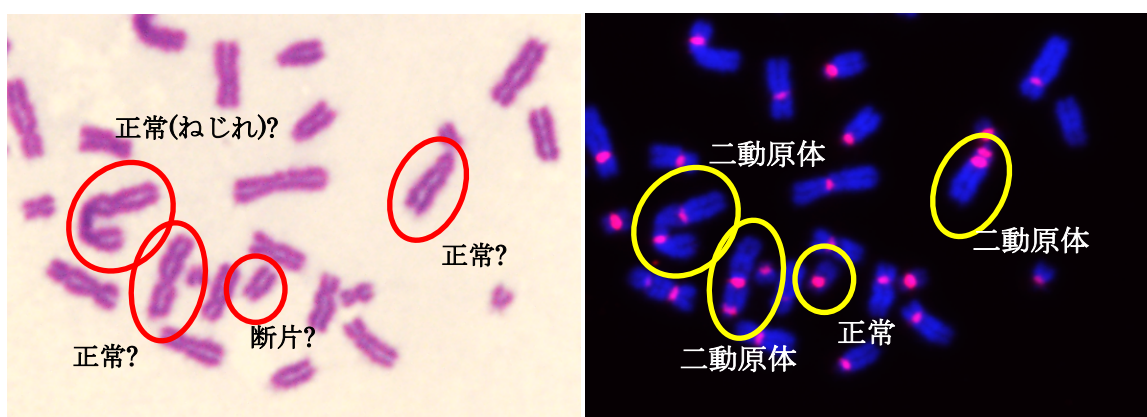


図8. 同一メタフェーズにおける染色法の比較

（左） ギムザ染色像（メタフェーズの一部）

（右） PNA-FISH 像（メタフェーズの一部）。ギムザ染色では目視による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困難であることを示している。

6. 研究成果（4）Phase 1 本試験

6.1. 目的

プレ試験結果に基づいて作成した PNA-FISH 標本の画像を追加して、AI による自動画像判別の実現可能性を検証する。

6.2. 材料と方法

6.2.1. 画像データ

^{60}Co ガンマ線照射 (0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 Gy、線量率 0.4 Gy/min) をして得られたヒト末梢血リンパ球由来メタフェーズの PNA-FISH 顕微鏡画像として、14688 枚を作成した。本研究に当たっては、人研究倫理委員会で承認を得て血液提供者から同意を得た [量研 承認研究計画書番号 18-023]。

それぞれの画像に含まれる細胞は、Cy3 標識の動原体領域特異的 PNA プローブを用いた PNA-FISH により、動原体領域の蛍光標識 (赤色) と DNA 結合性の染色試薬 DAPI による対比染色 (青色) が行われている。そのうち、1190 枚の画像に対して、プレ試験で作成した AI 学習モデルによって自動アノテーションを行い、その結果を熟練した専門家が目視で修正することでアノテーションを完成させ、教師データとした (表 3)。線量毎のラベルの種類と数 (染色体異常の種類と各本数) は表 4 に示す。

表 3. 線量毎の取得画像枚総数およびアノテーション済み画像枚数

線量 (Gy)	画像総数	アノテーション枚数
0	1868	209
0.50	2260	0
1.0	2603	199
2.0	3630	217
3.0	2783	326
4.0	1432	127
5.0	112	112
合計	14688	1190

表 4. アノテーション済み画像におけるラベルの内訳

ラベル名	0 Gy	1.0 Gy	2.0 Gy	3.0 Gy	4.0 Gy	5.0 Gy	合計
normal	9460	9080	9717	14337	5341	4782	52717
dicentric	2	15	68	197	145	171	598
acentric fragment	2	26	103	353	236	278	998
centric ring	0	1	5	18	12	8	44
broken chromosome	14	1	1	23	1	0	40
acentric ring	0	0	2	1	1	6	10
tricentric	0	0	0	3	2	3	8
broken	0	0	2	0	0	4	6
noise	0	0	0	0	0	5	5
normal (chromatid break)	0	2	1	1	0	1	5
normal (ictb)	0	0	0	3	0	0	3
other abnormalities	2	0	0	0	0	0	2
normal (gap)	0	0	1	0	1	0	2
normal (chromatid gap)	0	0	0	0	0	2	2
acentric fragment with gap	0	0	1	0	0	0	1
high-background	0	0	0	1	0	0	1
broken (possible dicentric)	0	0	0	0	0	1	1
normal (possible translocation or inversion)	0	0	0	0	0	1	1
marker chromosome	0	1	0	0	0	0	1
normal (possible inversion)	0	0	0	0	0	1	1
normal (partially broken)	0	0	0	1	0	0	1
normal (possible translocation)	0	0	0	0	0	1	1
broken fragment	0	0	0	0	0	1	1
unknown (normal or fragment)	0	0	1	0	0	0	1

(注) ラベル : 染色体異常の分類。

ラベル名で、normal : 正常、acentric fragment : 染色体断片、dicentric : 二動原体染色体。

その他の染色体異常についてもすべて専門家の目視により同定し、アノテーションした。

6.2.2. データセット作成

アノテーション付きの画像（教師データ）1190 枚を、895 枚の訓練セット、105 枚の検証セット、177 枚のテストセットに分割した。含まれる染色体の内訳、「正常染色体」、「二動原体染色体」、「染色体断片」の数を表5に示す。その他のラベル（染色体異常）の発生頻度は極めて低いので、表5では「その他」として一つにまとめて示した。

表5. 訓練セット、検証セット、テストセット内のラベルの内訳

ラベル名	訓練セット	検証セット	テストセット
正常	39660	4609	7863
二動原体染色体	436	75	77
染色体断片	727	120	137
その他	93	20	19

（注）ラベル：染色体異常の分類

6.2.3. AI による染色体画像判別

画像中の染色体の検出および分類のために、Faster R-CNN [参考文献13] を用いた。モデルパラメータの初期値として COCO データセット [参考文献14] で事前学習後のパラメータを用い、それをもとに、前項 6.2.2. のデータセットで学習とテストを行った。

■ 評価指標

染色体の検出性能を評価するために、専門家が目視で計数した染色体数と自動検出できた染色体数の平均絶対誤差（Mean Absolute Error）を、染色体の分類性能を評価するために、Recall（感度）と Precision（精度）を指標とした（プレ試験 25 ページ参照）。

6.2.4. 線量推定試験

前項 6.2.3. で学習済みのモデルを用いて、画像 14688 枚中、アノテーションを実施した 1190 枚の画像を除いた、照射線量が既知の画像 13498 枚（表 3）に対して、染色体の検出および分類を行い、各画像に含まれる全染色体、二動原体染色体、染色体断片を判別させ、計数した。

なお、稀に画像の中には、メタフェーズが壊れたり削れたりして染色体の本数（正確には、動原体の総数）が足りないケースや、複数のメタフェーズの全部または一部が 1 枚の画像中にあるケースがあった。それらを線量推定用のサンプルから除くため、 46 ± 4 個の染色体（42～50 個の染色体）が含まれる画像のみを以降の解析で採択した。また、PNA-FISH の R チャンネル（Cy3 標識プローブ）のシグナルが染色体を広く覆っているような画像が稀に存在したので、それらも除いた。

線量推定試験を行うために、採択画像を線量効果曲線作成用と線量推定用に分割した。緊急時のトリアージにおいて、50 個のメタフェーズの染色体異常頻度から線量評価が行われる [参考文献 1, 2, 3]。そこで、確実に 50 個のメタフェーズ・データが得られるよう、1 セットの画像枚数を 70 枚に設定し、0、1.0、2.0、3.0、4.0 Gy の各線量から 3 セット（線量あたり合計 210 枚）を取り置いた。残りのサンプルを用いて、国際原子力機関の生物学的線量評価に関するマニュアル [参考文献 1] に従い、線量効果曲線を作成した。その曲線式を用いて、線量推定用画像の線量と染色体異常頻度のデータから、線量推定を行った。

線量効果曲線作成および線量推定では、従来法である最尤推定法に基づく DoseEstimate v.5 [参考文献 18] を用いた。新たな試みとして、ベイズ推定法を採り入れた線量評価ツール radir [参考文献 19, 20] も試用した。

6.3. 結果

6.3.1. 染色体の検出

訓練データセットと検証データセットを用いてモデルを学習させ、177枚のテストセットに対して、染色体の検出および分類を行い、専門家の目視による正しい（真の）判定（Ground truth）と比較してモデルの性能を評価した。

まず、染色体検出について、専門家の目視判定との平均絶対誤差は0.98であった。1個のメタフェーズにつきおよそ1個の染色体を見逃すことから、染色体検出率としてはおよそ98%で、人間による特徴（パラメータ）設定に基づく従来型の機械学習による市販の自動二動原体解析ソフトウェアで40~60%であることに比して、試験段階のモデルでも好成績が得られているといえる。検出された染色体数と実際の染色体数の差の分布を見ると、目視カウントによる染色体数より少ない数の染色体が検出される傾向があった（図9）。

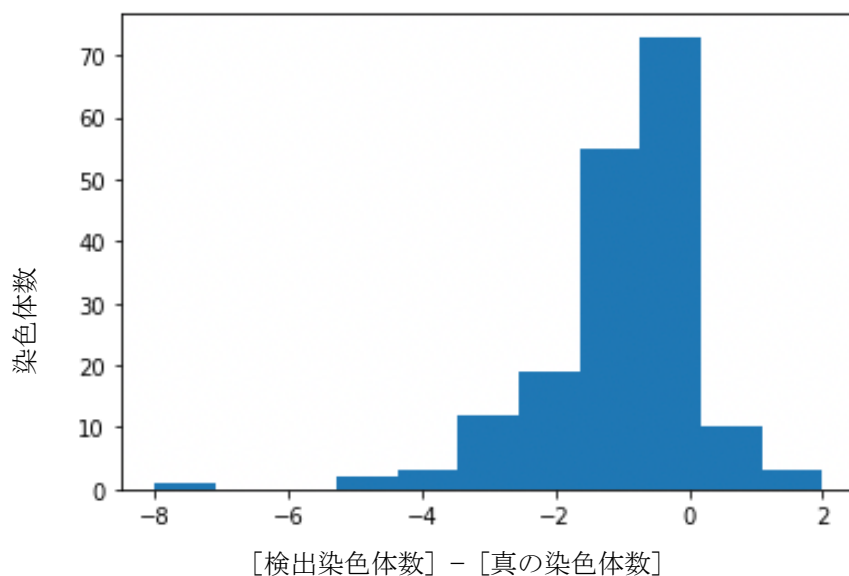


図9. 検出された染色体数と真の染色体数の差の分布を示すヒストグラム（自動検出された染色体数 - 専門家の目視カウントによる染色体数）。

染色体見落としの例として、染色体が重なっている場合や、接触している場合に複数の染色体が一つとして認識されているケースが見られた（図10 A-D）。また、染色体断片が検出されていないケースもあった（図10 E, F）。

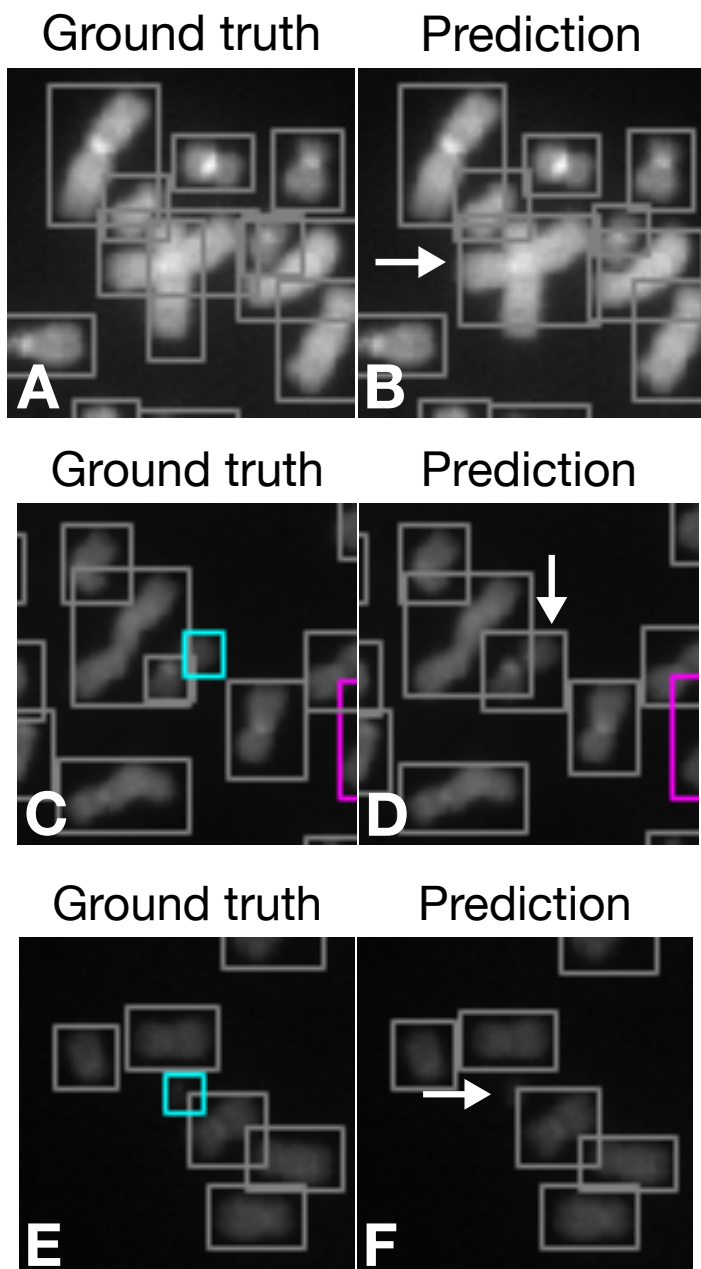


図10. 染色体を見逃した例

Ground truth : 専門家による正しい (真の) 判定、Prediction : AI による推論結果 (自動判別)。灰色の矩形は正常、マゼンタは二動原体染色体、水色は染色体断片。検出された染色体が矩形で囲まれている。(A-D) 重なっている複数の染色体 (A, B) や近接している染色体 (C, D) が一つの染色体として誤検出されている例。(E, F) 染色体断片の見落とし例。

実際の染色体数より多い数の染色体が検出されたケースでは、染色体とみなされない物体を検出していた（図1 1）。

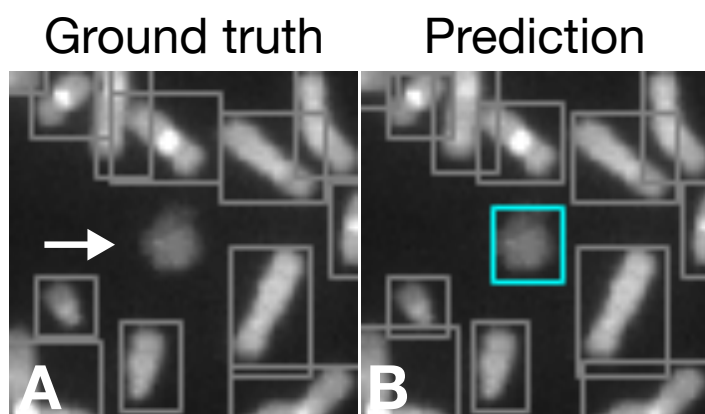


図 1 1. 染色体ではないものが自動検出されている例

Ground truth : 専門家による正しい（真の）判定、Prediction : AI による推論結果（自動判別）。灰色のボックスは正常、水色は染色体断片。(A) Ground truth で矩形の付いていない物体（矢印）が、(B) AI により染色体として検出されている。

6.3.2. クラス分類性能

続いて、染色体の自動分類結果の評価を行った。テストセットに含まれる 77 個の二動原体染色体のうち 36 個を正確に判定し（図 1 2）、感度（Recall）は 46.8%、精度（Precision）は 66.7%であった（表 6）。また、染色体断片については、テストセットに含まれる 137 個の染色体断片のうち、94 個を正確に判定し（図 1 2）、感度 68.6% 精度 90.4%と、比較的高い性能で判別できた（表 6）。

AIによる判別（推論結果）

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
① normal	7754	17	5	0	0	0	0	0	0	132
② dicentric	36	36	0	0	0	0	0	0	0	5
③ acentric fragment	6	0	94	0	0	0	0	0	0	37
④ centric ring	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0
⑤ broken chromosome	2	0	1	0	0	0	0	0	0	6
⑥ trivalent	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
⑦ iso-chromatid break	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
⑧ other abnormalities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
⑨ normal (partially broken)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
⑩ nothing	35	0	3	1	0	0	0	0	0	0

図 1 2. 専門家による正しい（真の）判定と AI による判別（推論結果）を示す混同行列

（注）①normal：正常、②dicentric：二動原体染色体、③acentric fragment：染色体断片。その他の染色体異常は④～⑨に含まれる。ラベルが割り当てられなかった際には、⑩無し（nothing）に分類した。マゼンタの部分は推論結果が正しかった数を示す。

表 6. AI のモデルによる染色体分類性能

ラベル	Recall	Precision
normal	0.981	0.989
dicentric	0.468	0.667
acentric fragment	0.686	0.904

（注）Recall（感度）、Precision（精度）。算出法は 25 ページ参照。

normal：正常、dicentric：二動原体染色体、acentric fragment：染色体断片。

二動原体染色体の偽陽性：

二動原体染色体の偽陽性の原因としては、ノイズ・シグナル（図 1 3 A）や、重なり合ったり隣接したりする二つの染色体が一つの染色体として誤って検出されるケース（図 1 3 B）が確認された。

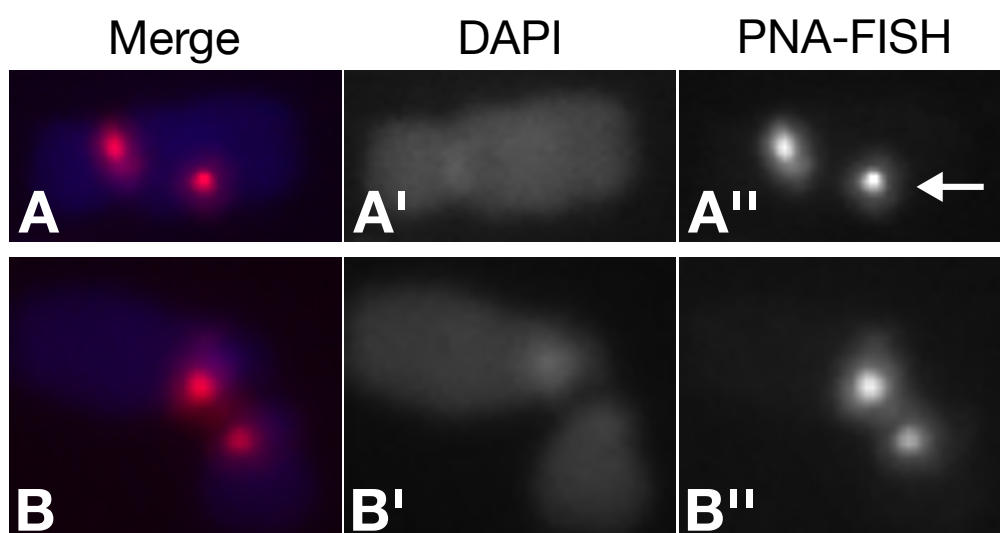


図 1 3. 二動原体染色体の偽陽性例

(A–A”) 専門家に正常と判定されたが、AI で二動原体染色体と判別された染色体。

(A) マージ画像、(A') DAPI を検出する B チャンネル、(A”) PNA プロブを検出する R チャンネル。染色体上には専門家がノイズと判断したシグナル（矢印）が存在している。

(B–B”) 二つの染色体が一つの染色体として誤認識されて、二動原体染色体と判別された例。

(B) マージ画像、(B') B チャンネル、(B”) R チャンネル。

染色体断片の偽陰性：

染色体断片の偽陰性例として、染色体断片を囲う矩形の中に他の染色体由来の動原体や（図 1 4 A”、矢印）、染色体断片上にかかったノイズ・シグナルが原因となっていると考えられるケースがあった。

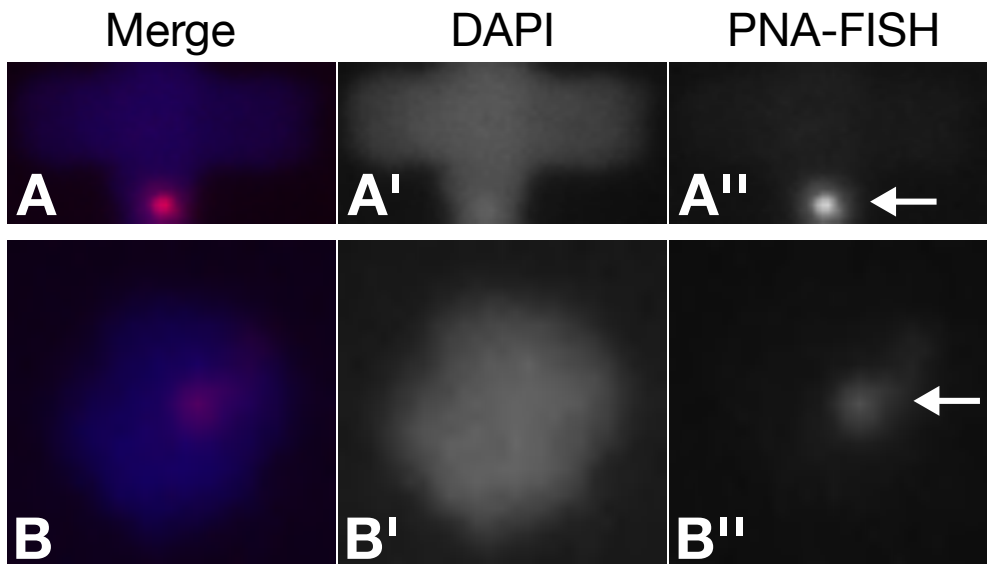


図 1 4. 染色体断片の偽陰性例

(A-A”) 染色体の重なりにより誤判定されたと考えられる例。

(A) マージ画像、(A’) DAPI を検出する B チャンネル、(A”) PNA プローブを検出する R チャンネル。染色体断片とそれに重なった染色体を一つの染色体として検出したため、動原体（矢印）が認識され、染色体断片として判別されなかった。

(B-B”) PNA-FISH のノイズ・シグナルによって誤判定したと考えられる例。

(B) マージ画像、(B’) B チャンネル、(B”) R チャンネル。

6.3.3. 線量効果曲線の試作

アノテーション付き画像データから作成した学習モデルを用いて、アノテーションの付いていない0～4.0 Gy 照射サンプルに対して、染色体異常の検出を行った。

画像内の染色体数が42～50個の範囲に入っているサンプルを線量効果曲線作成及び線量推定に使用した。各線量から70枚の画像を1セットとして、3セット（各線量毎に210枚）を線量推定用のサンプルとして取り置いて、残りの画像を用いて線量効果曲線を作成した。

その結果、染色体異常の頻度から線量効果曲線を得ることができた。二動原体染色体を指標とした場合を表7、図15に、染色体断片の場合を表8、図16に示す。

表7. 線量効果曲線作成用画像における線量毎の二動原体数とメタフェーズ数

線量 (Gy)	二動原体染色体 (個)	メタフェーズ (個)
0	109	1144
1.0	172	1910
2.0	516	2644
3.0	713	1876
4.0	472	855

表8. 線量効果曲線作成用画像における線量毎の染色体断片数とメタフェーズ数

線量 (Gy)	染色体断片 (個)	メタフェーズ (個)
0	102	1144
1.0	353	1910
2.0	1106	2644
3.0	1671	1876
4.0	1128	855

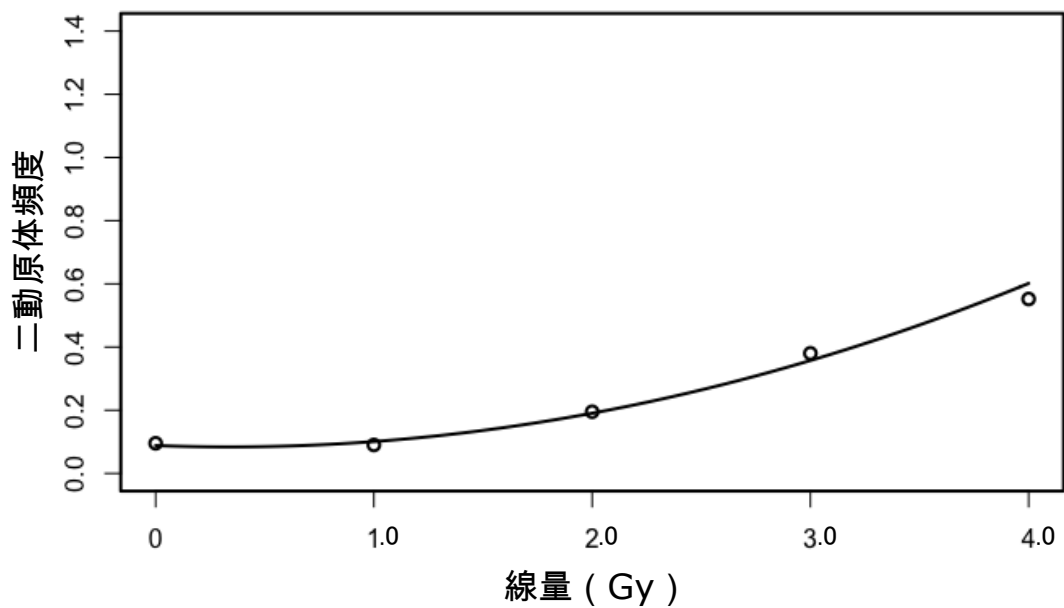


図 15. 線量と二動原体染色体頻度に関する線量効果曲線

$$\text{Yield} = (0.088 \pm 0.018) - (0.026 \pm 0.025) \times D + (0.039 \pm 0.007) \times D^2, p = 0.010$$

Yield : 染色体異常生成頻度、D : 線量 (Gy)

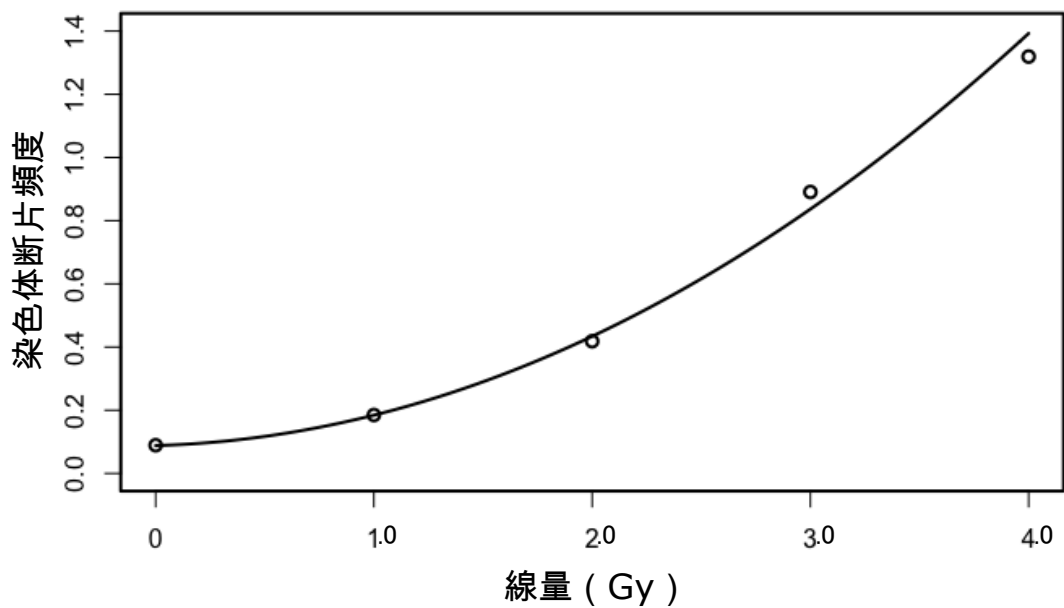


図 16. 線量と染色体断片頻度に関する線量効果曲線

$$\text{Yield} = (0.088 \pm 0.020) + (0.020 \pm 0.034) \times D + (0.077 \pm 0.011) \times D^2, p = 0.034$$

Yield : 染色体異常生成頻度、D : 線量 (Gy)

6.3.4. 線量推定試験

各線量から 70 枚の画像を 1 セットとして、3 セット（線量毎に 210 枚）取り置いて用意した線量推定用のサンプルを用いて、AI 自動判別を行った結果を、6.3.3. でアノテーションの無い画像から試作した線量効果曲線に当てはめて線量推定を行った。線量計算に主として用いた DoseEstimste v.5 は、最尤推定法に基づいている [参考文献 1, 18]。

以下、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 の判定に注目して結果を検討することとする。

1) 二動原体染色体

2.0 Gy 以上のサンプルセットでは、推定線量の 95% 信頼区間の上限値が 2.0 Gy を超え、患者の見逃しは無いことを示唆する (表 9)。現時点での学習モデル性能では二動原体染色体頻度をもとに、2.0 Gy 未満の線量を正確に推定するレベルには達していないが、今後データ数を増やすなどの工夫により、精度が上がることを期待できる。

2) 染色体断片

従来、二動原体分析による線量評価で、線量評価計算には使用されなかった染色体断片が、本研究において良好な指標となることが示された。0 Gy から 1.0 Gy の放射線照射サンプルの推定線量の 95% 信頼区間上限値は 0 Gy のセット 1 を除いたすべてで 2.0 Gy 未満の値をとり、2.0 Gy 以上の放射線照射サンプルについては、推定線量の 95% 信頼区間の上限値 (95% UCL) が 2.0 Gy を超え、2 Gy 以上と推定された (表 10)。現段階のモデルのレベル、学習数では、二動原体染色体より良好な指標であるといえる。

試みに二動原体および染色体断片それぞれについて、3 セットを合算し (セット 1 + 2 + 3)、線量推定した結果、 ± 0.5 Gy 程度の信頼区間での推定が可能となる傾向にあった。これは、50 個のメタフェーズを用いた熟練した専門家の目視によるトリアージと同等の精度である [参考文献 1, 21]。

3) ベイズ推定法

以上は従来法(最尤推定法)に基づく線量推定を行った結果である[参考文献1, 2]。

近年、ベイズ推定法を採り入れた線量評価ツールがイギリス Public Health of England の E. A. Ainsbury 博士らのグループによって開発され、R (<https://cran.r-project.org/index.html>) のパッケージとして「radir」が公開・提供されている [参考文献19, 20]。線量-効果曲線の関数、線量-効果曲線の各係数と定数項の分散-共分散行列、細胞数、無動原体断片数を取って入力するものである。

本研究のデータを入力したところ、2.0 Gy 以上では最尤推定法と同様な結果が得られたが、2.0 Gy 未満の低線量域の二動原体データでは、サンプルの染色体異常発生頻度が線量効果曲線の値と比較して低い場合に、radir では線量推定ができないケースがみられた。推定線量が解なしとなり、値を持たない場合が含まれる。

ベイズ推定法では、事前分布を前提に、新たに得られたデータを加えて更新するので、本研究対象のような、データが累積し大きくなっていくケースでは適している可能性がある [参考文献22]。

表 9. 二動原体染色体頻度による線量推定結果

線量 (Gy)	セット 番号	二動原体染色体 (個)	メタフェーズ (個)	推定線量 (Gy)	95% LCL (Gy)	95% UCL (Gy)
0	1	6	61	0.95	0.34	2.17
0	2	1	57	0	0.34	0.94
0	3	10	57	1.88	0.43	2.83
0	セット 1 ～3 合算	17	175	0.92	0.34	1.70
1.0	1	3	57	0	0.34	1.68
1.0	2	3	59	0	0.34	1.63
1.0	3	5	62	0.08	0.34	1.98
1.0	セット 1 ～3 合算	11	178	0	0.34	1.17
2.0	1	10	57	1.88	0.43	2.82
2.0	2	12	60	2.07	1.05	2.96
2.0	3	15	54	2.58	1.70	3.45
2.0	セット 1 ～3 合算	37	171	2.19	1.67	2.69
3.0	1	43	57	4.51	3.80	5.25
3.0	2	18	63	2.62	1.83	3.42
3.0	3	24	59	3.23	2.48	4.01
3.0	セット 1 ～3 合算	85	179	3.52	3.10	3.95
4.0	1	29	54	3.76	3.01	4.56
4.0	2	34	61	3.84	3.14	4.58
4.0	3	41	63	4.17	3.49	4.89
4.0	セット 1 ～3 合算	104	178	3.94	3.53	4.36

(注：UCL, 信頼限界上限値、LCL, 信頼限界下限値)

表 10. 染色体断片頻度による線量推定結果

線量 (Gy)	セット 番号	染色体断片 (個)	メタフェーズ (個)	推定線量 (Gy)	95% LCL (Gy)	95% UCL (Gy)
0	1	7	61	0.48	0	1.27
0	2	3	57	0	0	0.81
0	3	4	57	0	0	0.97
0	セット1~3 合算	14	175	0	0	0.66
1.0	1	15	57	1.39	0.76	2.00
1.0	2	6	59	0.31	0	1.20
1.0	3	6	62	0.23	0	1.14
1.0	セット1~3 合算	27	178	0.79	0.29	1.19
2.0	1	20	57	1.73	1.16	2.31
2.0	2	30	60	2.19	1.68	2.73
2.0	3	24	54	2.03	1.48	2.61
2.0	セット1~3 合算	74	171	2.00	1.69	2.31
3.0	1	43	57	2.82	2.32	3.36
3.0	2	71	63	3.56	3.09	4.05
3.0	3	50	59	3.02	2.53	3.54
3.0	セット1~3 合算	164	179	3.16	2.88	3.45
4.0	1	77	54	4.05	3.55	4.58
4.0	2	78	61	3.82	3.35	4.31
4.0	3	93	63	4.13	3.67	4.61
4.0	セット1~3 合算	248	178	4.00	3.73	4.28

6.4. 考察

6.4.1. 染色体異常の分類の性能向上

本研究では、AI による線量評価支援について、トリアージの場合において実現可能性が示唆された。染色体異常の分類性能をいっそう上げるために、例えば以下のような方法が考えられ、本格的な開発研究で活用できる。

1) 学習量の増加

図 17 は本研究においてプレ試験および本試験で検出した染色体異常数と検出の性能の関係を示している。教師データ数の増加によって精度の向上が期待できる。

2) 学習データの質的調整

本研究で使用した画像データは、正常染色体と各染色体異常の数に大きな差があった。AI の各種技術を駆使したデータの質的調整によっても、染色体異常の分類や線量推定の精度向上が期待される。

3) 染色体の検出モデルと分類モデルの分離

研究では染色体の検出と分類の両方を **Faster R-CNN** という 1 つのニューラルネットワークで行った。線量推定の精度の向上において、二動原体染色体の偽陽性や偽陰性を減らすその他の方法として、検出と分類で異なるネットワークを用いてみるのが考えられる。現在、他のネットワークを組み込んで試みており、2 つのネットワークを使用するため解析時間がその分増えるものの、精度が向上する傾向がみられている（データ省略）。

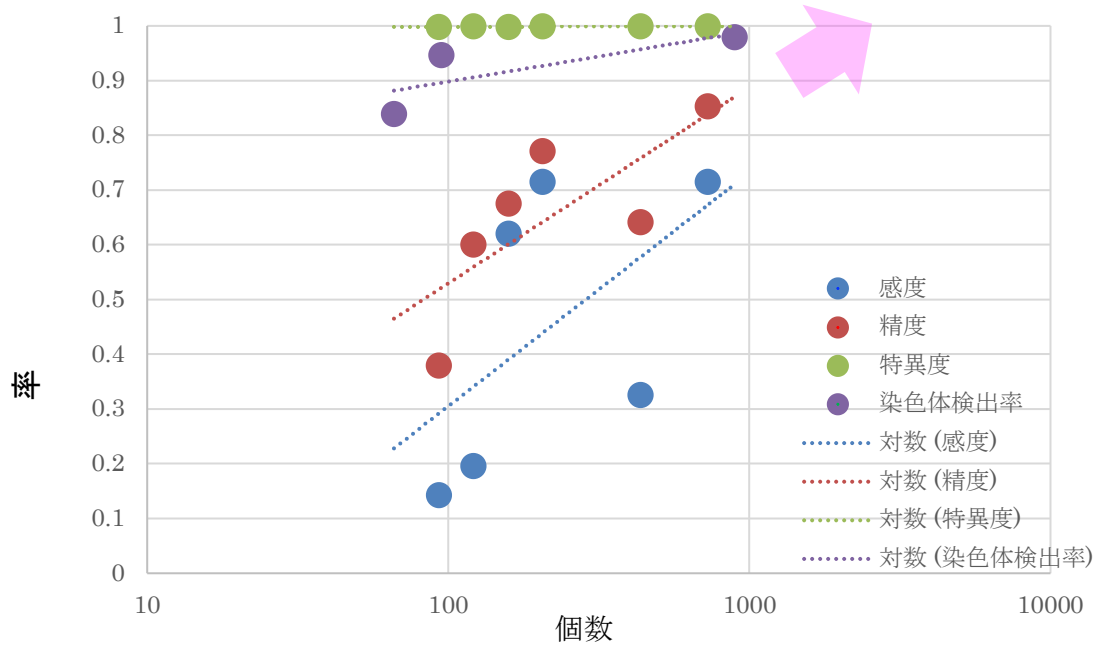


図 17. テスト毎の染色体検出率および検出された染色体異常の個数と正確さの関係

縦軸は評価指標となる感度、精度、特異度、染色体検出率を示す（最大値 1 は 100% を意味する）。感度、精度については 25 ページ参照。特異度（Specificity）は、

$$\text{Specificity} = \frac{\text{True Negatives}}{\text{False Positives} + \text{True Negatives}}$$

により算出した。矢印は今後データ数を増やすなどの工夫により見込まれる評価指標の方向性を表す。

6.4.2. トリアージに必要なメタフェーズ数

セット数をさらに増やして線量推定試験を進めている。2.0 Gy、13 セット（各セット約 50 細胞）の追加試験において、二動原体染色体、染色体断片ともに、95%信頼限界上限値はすべてで 2.0 Gy を超え、見逃しは起こらなかった（表 1 1, 1 2；セット 4～1 6 を参照）。試みに、3 セット毎の合算データ（細胞数 150 以上）、およびセット 1～1 6 すべての合算データ（細胞数 1000 弱）での線量推定を行ったところ、精度が上がり、信頼限界の幅が減少する傾向がみられた（表 1 1, 1 2）。

深層学習による解析は非常に高速であり、150 枚の画像を用いた線量推定で、画像判定に約 10 秒程度を要する。解析する画像の増加は問題にならないと言えるので、解析枚数を増やすことによる推定精度の向上が見込まれる。熟練者目視観察では 1 検体当たり 500 から 1000 個程度のメタフェーズを観察することで 95%信頼限界上限値が ± 0.15 Gy までの線量計測が可能であることが知られている [参考文献 1, 1 9]。AI の場合、1000 細胞で 10 分程度を要するので、1 検体当たり染色体標本 1 枚を検査するという目安で画像取得する方法もあり得る。さらに、今後の研究では、細胞数をあらかじめ限定するのでは無く、熟練者目視判定によるトリアージの目標細胞数 50 個の場合 [参考文献 1, 2 1] と同等の、95%信頼限界上限値が ± 0.5 Gy となるレベルの細胞数まで AI で判定させるといったような方法も考慮に入れる必要がある。

人間があらかじめパラメータ設定する機械学習に基づく市販の自動解析ソフトウェアでは、検査すべきメタフェーズ数が検討され [参考文献 5, 6]、ISO WG-18 会議（国際標準化機構 生物線量評価分科会。数藤が日本代表の委員を務める）において、1 検体につき 5000 個以上の解析を推奨する方向で話し合われているところである。これに比べ、深層学習による AI 自動分析でははるかに少ないメタフェーズ数、すなわち少ない血液検体量・標本枚数を用いて短時間で解析することができるようになる。

表 1 1. 二動原体頻度による線量推定結果 (2.0 Gy サンプル追加試験)

線量 (Gy)	セット 番号	二動原体染色体 (個)	メタフェーズ (個)	推定線量 (Gy)	95% LCL (Gy)	95% UCL (Gy)
2.0	4	13	58	2.24	1.30	3.12
2.0	5	13	55	2.33	1.38	3.22
2.0	6	8	48	1.80	0.34	2.85
2.0	7	10	64	1.71	0.34	2.63
2.0	8	16	58	2.57	1.72	3.41
2.0	9	15	57	2.49	1.62	3.35
2.0	10	18	55	2.85	2.03	3.69
2.0	11	14	57	2.38	1.48	3.25
2.0	12	10	59	1.83	0.34	2.77
2.0	13	9	54	1.80	0.34	2.79
2.0	14	9	61	1.62	0.34	2.59
2.0	15	12	60	2.07	1.05	2.96
2.0	16	9	59	1.67	0.34	2.65
2.0	セット 4～6 合算	34	161	2.15	1.61	2.68
2.0	セット 7～9 合算	41	179	2.28	1.78	2.76
2.0	セット 10～ 12 合算	42	171	2.38	1.89	2.87
2.0	セット 13～ 15 合算	30	175	1.84	1.25	2.34
2.0	セット 1～ 16 合算	193	916	2.15	1.93	2.37

(注: セット 1～3 のデータについては表 9 を参照)

表 1 2. 染色体断片頻度による線量推定結果 (2.0 Gy サンプル追加試験)

線量 (Gy)	セット 番号	染色体断片 (個)	メタフェーズ (個)	推定線量 (Gy)	95% LCL (Gy)	95% UCL (Gy)
2.0	4	22	58	1.83	1.28	2.40
2.0	5	31	55	2.37	1.84	2.92
2.0	6	21	48	2.01	1.42	2.63
2.0	7	30	64	2.11	1.60	2.63
2.0	8	26	58	2.04	1.51	2.60
2.0	9	30	57	2.27	1.74	2.82
2.0	10	37	55	2.64	2.12	3.18
2.0	11	21	57	1.79	1.23	2.37
2.0	12	29	59	2.17	1.65	2.72
2.0	13	32	54	2.44	1.91	3.00
2.0	14	25	61	1.93	1.40	2.47
2.0	15	30	60	2.19	1.68	2.73
2.0	16	34	59	2.4	1.89	2.94
2.0	セット 4~6 合算	74	161	2.08	1.76	2.40
2.0	セット 7~9 合算	86	179	2.14	1.84	2.44
2.0	セット 10~ 12 合算	87	171	2.22	1.92	2.53
2.0	セット 13~ 15 合算	87	175	2.19	1.89	2.49
2.0	セット 1~ 16 合算	451	916	2.17	2.04	2.30

(注: セット 1~3 のデータについては表 1 0 を参照)

6.4.3. 線量推定式の検討

本研究では、二動原体染色体だけでなく染色体断片も線量評価の強力な指標となることが見出された。

染色体断片を指標とした線量効果曲線の線量推定式については、過去に報告がみられない。R (<https://cran.r-project.org/index.html>) を利用し、関数 `nls()` を用いて、定数項を持たない二次曲線、定数項を持つ二次曲線、一次項を持たない二次曲線の3通りについて最小二乗法 [参考文献1] でフィッティングし、解析を試みた (画像データセットは本研究と同一であるが、用いたアルゴリズムは YOLOv3 spp [参考文献17] である)。1.0 Gy から 4.0 Gy において、定数項ありの線量効果曲線の方が定数項無しの線量効果曲線よりも、推定線量の誤差が小さく、信頼区間幅も狭いことが示された [参考文献23 ; 64 ページ参照]。

2015 年の報告で、細胞融合による未成熟染色体凝縮法において、PNA-FISH 法を組み合わせることにより二動原体分析が可能になった [参考文献24]。この場合、線量効果曲線式として以下が得られている。

[過剰な染色体断片]

$$\text{Yield} = (0.0467 \pm 0.0134) + (1.0410 \pm 0.0315) \times D, p = 0.45$$

[二動原体染色体]

$$\text{Yield} = (0.0000 \pm 0.0000) + (0.0709 \pm 0.0359) \times D + (0.0444 \pm 0.0121) \times D^2, p = 0.95$$

(注) Yield: 染色体異常生成頻度, D: 線量 (Gy)。

このように、二動原体頻度は従来の報告通り、ポアソン分布に基づく線形-二次曲線式に良く適合し、「過剰な」染色体断片は一次式とよく適合した。本研究では、「全染色体断片数」から「二動原体より派生する染色体断片」を差し引いておらず、二次曲線に適合した結果を得るにとどめた。

今後、ベイズ推定法の導入 [参考文献22] や、二動原体染色体、染色体断片といった複数の染色体異常の指標の併用も考慮に入れつつ、AI 画像判定により適した線量推定式を研究する余地があると言える。

また、本研究では、0～4 Gy の間の 5 つの線量ポイントを用いて線量効果曲線を作成したが、例えば、0.75 Gy や 1.25 Gy といった、より細かな刻みで異なる線量のサンプルを含めることによって、線量推定の精度向上が期待される。

7. まとめ

本研究ではゲノム配列に基づいて動原体を染め分ける PNA-FISH 法を併用することで正確な教師画像データを作成することに成功し、AI（深層学習）による染色体画像の自動判定の有効性が示された。具体的には、末梢血に 0 Gy から 5.0 Gy のガンマ線を実験的に照射して得られたリンパ球由来の染色体画像（約 15,000 枚）を用いた試験により、以下のことを達成した。

1) 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、線量推定法の検討

2) 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）。従来使用されなかった染色体断片も線量推定の良好な指標となることを見出した。二動原体染色体と併用することで、より正確な判定が可能になると期待できる。

3) 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）に要する時間が、30 時間以上（目視）から 10 分（AI）へ。

8. 今後の展望

本研究における試験と考察および収集した情報に基づき、今後の展望として以下の課題を掲げ、開発提案とする。

8.1. AI 自動染色体画像判定手法の本格開発

本研究により、染色体線量評価のための画像判定に AI（深層学習）の導入が有効であり、実現可能性が高いことが示された。

今後、本格開発を進めることができた場合、量研機構での実装化に向けて、**6.4. 考察**に示した内容を含む、以下の課題を検討する。

- 1) 質・量ともに充実した教師画像データを作成する。
- 2) 1) を利用して、染色体の検出と分類の複数のネットワークを試用し、最適の基本アルゴリズムを完成させる。
- 3) 得られた画像判定結果からの線量推定方法を検討し決定する（最尤推定法やベイズ推定法を用いた線量推定法、トリアージ用に ± 0.5 Gy 程度の信頼区間を目指した設定作成、など）。

さらに将来は、他の検査対応機関でも使用可能にするために、汎用化のための以下の開発・検討が必要である。

- 4) ラボ間の技術差や患者の状態・溶血などによって生じる多様な画質に対応できるように、調整機能を開発し基本モデルに付加する。
- 5) アプリケーションの開発を行う [ユーザーに使いやすい GUI (グラフィカル・インターフェース) 等の検討、インストール版・クラウド版の選択、セキュリティの取り方等の検討を含む]。(注：本研究における試作モデルは、Python をはじめとするコマンドラインでの入力となっている。)

6) データ蓄積と技術革新に伴うアルゴリズムの更新は量研機構が行い一括管理することで、染色体線量評価の国内標準化を保つ。

実際的な標準化のためには、信頼を得ることで利用者を確保・拡大することが重要となる。そのために、

7) 国内外の染色体線量評価の専門家の協力を得て、画像データの貸借、AI 自動染色体判定モデルの評価・検証を行い、信頼性を高める。

8) 国際標準化機構において標準プロトコール提案を目指す。

8.2. 原子力災害等被ばく事故における緊急時対応のストラテジー

実際の放射線被ばく事故における運用には、AI 自動判定だけ多検体対応ができて迅速化しても十分とは言えない。事故の様々な場合を想定し、染色体線量評価のための血液検体処理から画像判定・線量評価までのストラテジーを準備しておく必要がある。

1) 血液検体の保存・培養

本研究では、染色体画像を作成するにあたり、並行して血液検体の保存や培養方法についても検討した。

本報告書 **9. 研究成果の発表、9.3. 査読付き原著論文 1)** に示すように、長期凍結した末梢血リンパ球の培養法を確立した。これにより、例えば、職業上被ばくが想定される緊急作業員やファースト・レスポnder、宇宙飛行士などについて事前に採血し分離したリンパ球を凍結保存しておけば、被ばく事故が起こった時に、この凍結保存細胞を用いてバックグラウンド値（被ばく事故前の染色体異常頻度）の調査を行えるので、より精度の高い線量評価を行うことができる。

また、長期凍結保存の完全培地が利用可能であることを示す研究を行った（論文作成中）。毎年1年分の量の完全培地を分注して凍結保存し備えることで、大規模放射線被ばく事故が起こったとき、検体間のクロスコンタミネーションを起こさず迅速に多検体の培養を行うことが可能である。

2) 細胞培養からから染色体画像取得まで

万一の大規模放射線事故・災害に備えて、染色体分析が行える専門要員の拡充は不可欠である。

本研究事業における情報収集から、高度被ばく医療の基幹 5 センターだけでなく、国内の臨床染色体検査会社(主要 3 社)も細胞培養から染色体標本作製、各種染色・FISH、顕微鏡画像取得まで担当可能になっていることが明らかになった(29~30 ページ参照)。日本人類遺伝学会臨床細胞遺伝学認定士制度 (<http://cytogen.jp>) のもと、染色体検査が可能または常時実施している病院や研究機関もある。これらのラボと協力関係を築き、放射線被ばく事故の状況・規模によっては検査支援要請ができるようにしておくことも重要である。

3) 染色体画像データの取り扱いについて

現在、染色体画像は医用画像の扱いとなっており、個人情報の保護は必須である。このため、染色体画像データの電子的授受には制約が大きい。今後、画像データの安全管理・安全共有のためのシステム作りも必要である。

8.3. AI 自動染色体判定の応用

本研究事業は原子力災害における緊急時線量評価に関する事業であったため、二動原体染色体分析について AI 導入を試験した。プレ試験で示したように、3 color FISH による交換型染色体異常(二動原体染色体および転座染色体)の検出[参考文献 1 2]においても、AI(深層学習)による画像判定は威力を発揮する。この方法は二動原体分析に利用可能ではあるが、1 検体(1 標本)あたり約 4000 円のプローブ費と約 17 時間のハイブリダイゼーション時間がかかるため、緊急時対応では PNA-FISH に劣るといわざるを得ない。しかしながら、染色体異常の検出効率は非常に高く[29 ページ参照; 参考文献 1 2]、国際標準化機構において 2019 年 3 月にプロトコールが標準化された[参考文献 2 5]。本研究や染色体線量評価研究では 3 色(1 番・2 番・4 番染色体)が使用されているが、染色体番号も標識する蛍光色素も多様な組み合わせが可能であり、一般に染色体ペインティングと呼ぶ。いずれの場合でも、異なる 2 色が隣接する染色体を検出するため、AI による画像判定には適している。

安定型染色体異常である転座染色体を指標とすれば、30年以上にわたる過去の被ばく事故の線量評価が、現在になってから採取する血液試料からも、長期凍結保存した染色体標本からも可能である [参考文献1, 25]。実際に、現在、東電福島原発事故の緊急時作業員の線量評価調査に用いられているところである [参考文献26]。

特徴的な染色体異常が観察される先天性疾患、がんなどの診断では核型分析が行われる。臨床染色体検査室では、安価なギムザ染色によるGバンド核型分析だけでなく、各染色体を異なる色で検出する多色FISH (M-FISH) [参考文献27] も用いられている。M-FISHはDNA配列に基づいて検出するため精度が高いが、1検体(1標本)あたりのプローブ費が約30000円と高価である。特徴的な染色体異常をもつ特定の疾患をスクリーニングするには、関わる1個以上の染色体のペインティング・プローブを使用したFISHを行う。これらの検出にもAI自動画像判定技術は適用可能である。一般的な臨床染色体検査だけでなく、放射線被ばくが原因で将来起こり得る疾患でも、染色体異常を伴うものがあれば、早期発見等スクリーニングに役立てることができる。

9. 研究成果の発表

9.1. 学会発表

1) 日本進化学会第 21 回大会

(注：研究計画外のため、本研究事業費からの支出は無い)

会期： 2019 年 8 月 7 日～10 日

会場： 北海道大学キャンパス（札幌市）

発表者： 弓至（北海道大）

[成果発表]

タイトル： Chromosome dose evaluation by image recognition AI using deep learning. (深層学習を用いた画像認識 AI による、染色体線量評価)

著者・共著者名： 弓至¹、数藤由美子²、遠藤俊徳¹、長田直樹¹

著者所属： ¹北海道大学大学院 情報科学研究科、²量研機構

概要： 染色体異常（二動原体など）の頻度は被ばく線量と相関があり、事前に検量線を作成することで被ばく患者の線量評価が可能である（染色体線量評価）。染色体線量評価のための染色体分析は熟練技術者の目視で行われ、非常に労働集約的であり、評価基準の統一も難しい。本研究では、画像認識 AI を用いて染色体線量評価を自動化することで、作業の高速化や評価基準の統一を試みた。まず、画像分類において高い性能を示す畳み込みニューラルネットワーク（CNN）を用い、ギムザ染色を施した細胞中期画像の染色体異常有り／無し分類を試みたが、十分な分類性能が得られなかった。次に、UNet を用いたセマンティックセグメンテーションとトリミングを行い、画像データの最適化を行なった。セグメンテーションは Dice 係数で 0.99 以上の高い精度で行われ、AI による染色体の形状認識が可能であることが示された。

2) ICRR 2019 (国際放射線影響学会 2019 年年会)

「ISCA 染色体異常に関する国際シンポジウム」

会期： 8月25日(日)～8月29日(木)

会場： マンチェスターセントラル (マンチェスター)

発表者： 数藤由美子 (量研機構)

[成果発表] (依頼講演)

タイトル： Radiation cytogenetics in QST Japan – current state and perspective.

著者： 数藤由美子

著者所属： 量研機構

概要: Cytogenetic dose assessment is based on the fact that the exposure dose correlates with the chromosome aberration yield. A dose–response curve can be prepared beforehand by *in vitro* irradiation of peripheral blood samples and subsequent chromosome analysis. By applying the chromosome aberration yield of a patient to the curve, one can estimate the exposure dose. Because more than 1000 metaphases have to be scored in cases of lower doses exposure, collaboration among laboratories and automation of analysis are necessary to support medical triage in radiation accidents with mass casualties. Metaphase image detection has been dramatically accelerated by technological innovations such as development of automated sample preparation devices and automated microscopy image acquisition devices. However, chromosome aberration scoring by manual observation is labor-intensive and time-consuming. With automatic dicentric chromosome analysis software currently commercially available, analysis now takes only a few minutes, although false-positive and false-negative results should be further reduced. Such software was developed on the basis of conventional machine learning methods. Artificial intelligence (AI) has recently had an outstanding series of breakthroughs in vision applications, driven by convolutional neural networks and deep learning. AI is being introduced in medical diagnosis including clinical cytogenetics in Japan. In this study, we assessed the power of AI and the current

state of clinical cytogenetics in Japan. In this presentation, our attempts to develop an AI-based metaphase image analysis system, AI-friendly cytogenetic protocols, and a collaboration network in Japan to support medical triage in radiation accidents will also be discussed.

3) 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

会期： 2019 年 9 月 9 日～9 月 11 日

会場： 東京工業大学 大岡山キャンパス

発表者： 弓至（北海道大）

[成果発表]

染色体画像全体に対する染色体異常の有無の判定、UNET による染色体領域のセグメンテーション、染色単体画像の異常判定、Yolo による染色体の検出などの結果を発表した。受けた質問として、「線量予測までを一気通貫で行うネットワークは作成可能か」「各解析に用いたネットワークの詳細について」「虫の種類の判別への、深層学習の応用可能性について」などがあつた。

タイトル: Abnormal chromosome detection by image recognition AI using deep learning.

著者・共著者: 弓至（北海道大学大学院情報科学研究科生命人間情報科学専攻）、數藤由美子（国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構）、遠藤俊徳（北海道大学大学院情報科学研究科）、長田直樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

概要: 染色体異常（二動原体など）の頻度は被ばく線量と相関があり、事前に検量線を作成することで被ばく患者の線量評価が可能である（染色体線量評価）。染色体線量評価のための染色体分析は熟練技術者の目視で行われ、非常に労働集約的であり、評価基準の統一も難しい。本研究では、画像認識 AI を用いて染色体線量評価を自動化することで、作業の高速化や評価基準の統一を試みた。まず、画像分類において高い性能を示す畳み込みニューラルネットワーク（CNN）を用い、ギムザ染色を施した細胞中期

画像^{*1}全体を用いた染色体異常有り／無し分類を試みたが、十分な分類性能が得られなかった。次に、UNetを用いたセマンティックセグメンテーションとトリミングを行い、画像データの最適化を行なった。セグメンテーションは Dice 係数で 0.99 以上の高い精度で行われ、AI による染色体の形状認識が可能であることが示された^{*2}。また、画像内での染色体が存在する座標を記したアノテーションデータを用い、染色体単体画像の切り出しを行った。切り出された染色体単体画像を用い、CNN による異常染色体の分類を行ったところ、ある程度の分類性能が確認された^{*3}。この結果から、画像認識 AI による異常染色体の検出可能性が示された。分類やセグメンテーションなどの性能向上や、物体検出 AI による染色体単体の検出などが当面の課題である。

(注)

*1) ギムザ染色画像 900 枚（うち、セグメンテーション済み画像 900 枚。その中から抽出した教師画像は、二動原体あり画像 170 枚、正常核型画像 248 枚、アノテーション済み画像 294 枚）。

*2) ギムザ染色画像において、セマンティック・セグメンテーションにより、染色体とそうでない物体との区別はうまくいっている（Dice 係数 0.99）が、染色体異常の分類には成功していない（染色体 46 本前後から成る集合画像における異常染色体の区別ができていない）。

*3) 1 個 1 個の区別がうまくいった染色体（単体）について、異常染色体の区別の精度は、過学習を抑えることで上げることができた。

[補足]

以上の結果は、エルピクセル社の 6 月 28 日付の Phase 1 プレ試験報告と同じ画像データ・セットを用いたところ、同様の結果が得られたことを示唆する（エルピクセル社の結果を支持する）。すなわち、異なる計算ツールや物体検出モデルを用いても、ギムザ染色画像について、染色体の検出および染色体異常の検出について実現可能性は示された、ただし染色体単体の区別や異常染色体単体の区別に課題が残った、ということを示す。エルピクセル社の解析では、さらに、判定精度向上の可能性（度合）の予測について調査し、蛍光 FISH 画像の方がより効果的に向上できることを示唆したものになっている。

9.2. 取材

6月より共同通信社の「東海村臨界事故特集」の配信が始まった。9月（臨界事故は1999年9月30日に発生）に《今後の対策・備え》ということで、本研究が大きく関連するAI導入についての取材を受けた（取材：令和元年7月10日終了）。共同通信社配信「臨界事故20年特集「被ばく線量 AIが推定」として、西日本新聞（9月6日）ほかに掲載された。

9.3. 査読付原著論文

1) Yumiko Suto, Takako Tominaga, Miho Akiyama, Momoki Hirai: Cytogenetic Examination of Human Peripheral Blood Lymphocytes Cryopreserved after Gamma Irradiation: A Pilot Study. *Cytologia* 85: 71-77, 2020.

【Abstract】 For the assessment of radiation-induced damage in human cells, the frequency of chromosomal aberrations, especially that of dicentric chromosomes in peripheral blood lymphocytes, has been used as the measure in biodosimetry. Considering mass-casualty radiological incidents, it is hoped to preserve part of the blood specimens to be examined at an appropriate time after the medical triage process. In this study, the potential usefulness of lymphocytes cryopreserved for longer than one year was assessed as a pilot study. Seven blood specimens from three healthy donors were experimentally irradiated and cryopreserved for approximately one to five years. All cryopreserved specimens examined were successfully cultured to obtain a sufficient number of mitotic cells for dosimetric analyses. Blood specimens from one donor were intensively examined for the precise comparative analysis of chromosomal aberrations between cultures of cryopreserved specimens and those of freshly prepared specimens. The frequencies of cells with chromosomal aberrations in 1.5-year-cryopreserved specimens after 2-Gy gamma irradiation were not significantly different from those examined using a fresh blood specimen. In this study, we showed the practical

significance of the cryopreservation method of peripheral blood lymphocytes that can offer a new strategy of preparedness for triage in mass-casualty radiation incidents/accidents.

[補足]

長期凍結保存の末梢血リンパ球細胞（5年保存について確認済み）も培養可能で線量評価に使用できることを示した論文である。この論文では健常人末梢血を用いた実験的照射の結果を示した。本研究成果は将来の大規模事故対応や、被ばくが予定された職業の方々の備え（個々人のバックグラウンド値を事故後に調査可能）として、生物線量評価法を運用する際に有用な知見である。本研究に関連して ICRR 2019（8月、マンチェスター）で講演し、注目を浴びた（プロトコールの公開要望が多かった）ため、3月刊行後に ISO 委員や WHO BioDoseNet 委員、ドイツ BfS、英国 PHE、フランス IRSN 等に別刷を配付する予定である。

9.4. 修士論文

北海道大学大学院 情報科学研究院 生命人間情報科学専攻 バイオインフォマティクス講座 情報生物学研究室

弓 至 （2020年3月修士号取得予定）

タイトル： 深層学習を用いた画像認識 AI による生物学的線量推定

概要：

生物学的線量測定法とは、被ばくした生体の材料を用いて被ばく線量を計測する方法である。染色体異常（二動原体染色体や無動原体断片）は優れたマーカーであり、それらの発生頻度と、細胞の被ばくした放射線量の相関を利用し、染色体を用いた生物学的線量推定が行われている。しかし、染色体異常の頻度測定は少数の技術者によってのみ行われ、非常に労働集約的であり、基準の統一も難しいなどの問題がある。これらの問題に対し、深層学習を用いた画像認識 AI の応用可能性を調査した。

本研究では、判別モデルを用いた手法、判別モデルと検出モデルを用いた手法、検出

モデルを用いた手法と、大きく 3 つのアプローチの有効性の検討を行った。

まず、画像認識における有力なモデルタイプである CNN の判別モデルを用いて、画像ごとの二動原体染色体の有無の判別を試みた。結果、複数の染色体から、二動原体染色体の微細な特徴を抽出することは難しく、学習が起きなかった。しかし、過程で行った撮影失敗画像の排除や、UNet による画像品質の向上などは成功し、染色体画像解析の効率化に寄与する可能性を示した。

次に、YOLOv3 spp という物体検出モデルと CNN の判別モデルを用いた手法を検討した。結果、染色体は正確に検出されるものの、その後の判別モデルの False Positive が結果に大きく影響を及ぼした。

次に、YOLOv3 spp を用いて染色体異常の検出を試みたところ、PNA-FISH 染色画像に対する無動原体断片の検出において、mAP83%という結果が得られた。二動原体染色体よりも無動原体断片、少数画像において PNA-FISH 染色画像よりもギムザ染色画像において、より良い結果が得られた。

最後に、PNA-FISH 染色画像を用いて線量推定を行ったところ、一度に 100 枚以上の染色体画像を使用することで、2Gy と 4Gy の判定に成功し、150 枚を用いた推定では人が行うトリアージ程度の推定精度が得られた。また、解析に要する時間は約 10 秒程度と、人によるトリアージの 360 倍の高速化が実現された。

以上の結果から、AI の生物学的線量推定への応用可能性が十分に示された。今後は画像データの増加に伴う線量-効果曲線の信頼性の上昇や、それに伴う線量推定精度の向上が期待される。

10. 参考文献

- [1] International Atomic Energy Agency (IAEA). Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA Publications. 2011.
- [2] ISO 19238: Radiological Protection - Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics. Geneva: International Organization for Standardization (ISO) TC 85/SC 2; 2004.
- [3] ISO 21243: Radiation Protection - Performance criteria for service laboratories performing cytogenetic triage for assessment of mass casualties in radiological or nuclear emergencies – general principles and application to Dicentric Assay. Geneva: ISO TC 85/SC 2; 2008.
- [4] Suto Y, Hirai M, Akiyama M, Kobashi G, Itokawa M, Akashi M, Sugiura N. Biodosimetry of restoration workers for Tokyo Electric Power Company (TEPCO) Fukushima Daiichi Nuclear Power Station accident. *Health Physics* 105: 366-373, 2013.
- [5] Gruel G et al. Biological dosimetry by automated dicentric scoring in a simulated emergency. *Radiation Research* 179(5): 557-569, 2013. doi: 10.1667/RR3196.1.
- [6] Romm H et al. Automatic scoring of dicentric chromosomes as a tool in large scale radiation accidents. *Mutation Research* 756: 174-183, 2013. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.05.013.
- [7] Rogan PK et al. Radiation Dose Estimation by Automated Cytogenetic Biodosimetry. *Radiation Protection Dosimetry* 172: 207-217, 2016. doi: 10.1093/rpd/ncw161.
- [8] Beaton LA et al. Analysis of chromosome damage for biodosimetry using imaging flow cytometry. *Mutation Research* 756: 192-195, 2013. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.04.002.

- [9] Oestreicher U et al. RENEb Intercomparisons applying the conventional Dicentric Chromosome Assay (DCA). *International Journal of Radiation Biology* 93: 20-29, 2017.
- [10] Wang D, Khosla A, Gargeya R, Irshad H, Beck AG. Deep Learning for Identifying Metastatic Breast Cancer. 2016. Available at <https://arxiv.org/abs/1606.05718>.
- [11] Suto Y, Hirai M, Akiyama M, Suzuki T, Sugiura N. Sensitive and Rapid Detection of Centromeric Alphoid DNA in Human Metaphase Chromosomes by PNA Fluorescence In Situ Hybridization and Its Application to Biological Radiation Dosimetry. *Cytologia* 77: 261-267, 2012.
- [12] Suto Y, Akiyama M, Noda T, Hirai M: Construction of a cytogenetic dose-response curve for low-dose range gamma-irradiation in human peripheral blood lymphocytes using three-color FISH. *Mutation Research - Genetic and Toxicology and Environmental Mutagenesis* 794: 32-38, 2015.
- [13] Ren S, He K, Girshick R, Sun J. Faster R-CNN: Towards Real-Time Object Detection with Region Proposal Networks. *IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 39: 1137-1149, 2017. doi:10.1109/TPAMI.2016.2577031.
- [14] Lin T-Y, Maire M, Belongie S, Bourdev L, Girshick R, Hays J, Perona P, Ramanan D, Zitnick CL, Dollár P. Microsoft COCO: Common Objects in Context. 2015. Available at <https://arxiv.org/abs/1405.0312>.
- [15] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation. *Lecture Notes in Computer Science*. (including subseries, *Lecture Notes in Artificial Intelligence* and *Lecture Notes in Bioinformatics*), vol. 9351, pp. 234–241. Berlin. Springer. 2015
- [16] Rucci M, Casile A. Fixational instability and natural image statistics: Implications for early visual representations. *Network and Computation in Neural Systems* 16: 121–138, 2005.

[17] RedmJ, Farhadi A, YOLOv3: An Incremental Improvement. 2018. Available at <https://arxiv.org/abs/1804.02767>.

[18] Ainsbury EA, Lloyd DC. Dose estimation software for radiation biodosimetry. *Health Physics* 98: 290-295, 2010. doi: 10.1097/01.HP.0000346305.84577.b4.

[19] Moriña D, Higuera M, Puig P, Ainsbury EA, Rothkamm K. Radir package: An R implementation for cytogenetic biodosimetry dose estimation. *Journal of Radiological Protection* 35: 557–569, 2015.

[20] Higuera M, Puig P, Ainsbury EA, Rothkamm K. A new inverse regression model applied to radiation biodosimetry. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 471, no. 2174, 2015. Available at <https://doi.org/10.1098/rspa.2014.0588>.

[21] Lloyd DC, Edwards AA, Moquet JE, Guerrero-Carbajal YC. The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties. *Applied Radiation and Isotopes* 52: 1107-1112, 2000.

[22] Mano S, Suto Y. A Bayesian method to account for random effects in cytogenetic dosimetry based on calibration curves. *Radiation and Environmental Biophysics* 53: 775-780, 2014.

[23] 弓至. 深層学習を用いた画像認識 AI による生物学的線量推定. 北海道大学 (修士論文、2020 年 3 月) (要旨は本報告書 7. 研究成果の発表、ページ参照)

[24] Suto Y, Gotoh T, Noda T, Akiyama M, Owaki M, Darroudi F, Hirai M. Assessing the applicability of FISH-based prematurely condensed dicentric chromosome assay in triage biodosimetry. *Health Physics* 108: 371-376, 2015.

[25] ISO 20046: Radiological protection – performance criteria for laboratories using fluorescence in situ hybridization (FISH) translocation assay for assessment of ionizing radiation. Geneva: ISO TC 85/SC 2; 2019.

[26] Suto Y. Review of cytogenetic analysis of restoration workers for Fukushima Daiichi nuclear power station accident. *Radiation Protection Dosimetry* 171: 61-63, 2016.

[27] Suto Y, Hirai M, Akiyama M, Yuki M, Nakagawa T, Tominaga T, Nakayama F, Suzuki T, Sugiura N. Induction and Persistence of Multicentric Chromosomes in Cultured Peripheral Blood Lymphocytes Following High-Dose Gamma Irradiation. *Cytologia* 77: 347-358, 2012.

11. 資料

情報収集

■ AI 関連企業ヒアリング [資料 1～3]

[総括] 主として平成 30 年度に収集した情報（検討委員へのヒアリングおよび学会参加で得られた AI 利用の診断研究協力企業を含む）と平成 31 年 4 月に開催された第 3 回 AI・人工知能 EXPO で得られた約 10 社の情報に基づき、個別訪問によるヒアリングを行った。本研究における AI 導入試験の外部委託先決定のため、医用画像への適用経験のある企業を中心に 4 社以上から見積をとり、入札を行うこととした。染色体検査の受託企業およびその顕微鏡画像解析の共同研究開発担当企業から、秘密保持契約の関係で本研究の AI 導入試験・開発には協力できないものの、被ばく医療に有用な染色体検査情報を得ることができ、AI 導入にとって有用な検査システム全体の考察に役立てることとした。

■ 学会・国際会議参加 [資料 4～9]

[総括] 生物線量評価ネットワークにおける二動原体分析の自動化の導入は、細胞培養から画像取得までについて進歩していた。画像解析の自動化は、人間がパラメータ設定する従来型機械学習によっていることに変わり無く、使用コンピュータの性能向上により解析速度がアップしていた。他の疾病に関する医用画像診断における AI 導入については、メディカル AI 学会で多くの経験報告や情報を得ることができた。これらの知見は本研究での開発に生かした。

■ ラボ訪問 [資料 10]

■ 文献調査 [資料 11]

検討会

■ 研究会合 [資料 12～14]

■ 画像検討会 [資料 15～22]

資料 1 : 第 3 回 AI・人工知能 EXPO

会期 : 2019 年 4 月 3 日～5 日、10:00～18:00

会場 : 東京ビッグサイト 青海展示棟 (東京)

主催 : リード エグジビション ジャパン

後援 : 人工知能学会、日本ディープラーニング学会

出展対象 : ディープラーニング、機械学習、ニューラルネットワーク、自然言語処理、ハードウェア、ビッグデータ、AI アプリケーション、画像認識、音声・音響認識、予知・予測保全、人工知能ロボット、コンテンツ・アート制作、チャットボット、マーケティングツール等

参加 : 数藤由美子 (量研)、高島良生 (量研)

近年その活用方法に注目の高まる AI・人工知能に関する日本最大の専門展である。今回は出展 250 社 (内訳 : 要素技術・ハードウェア関連 100 社、アプリケーション・サービス関連 105 社、ディープラーニング関連 30 社、チャットボット関連 15 社)、来場者数約 5 万人。商談、技術相談、ビジネスパートナー獲得の場であり、マッチングシステム導入により、来場者は参加登録時に自分の興味と関連する出展企業との結び付けができた。特別講演会 (15 題) 出展社公開セミナー (6 題) のほか、多数の出展社によるショートプレゼンテーション (時刻ごとに反復) やデモ機の公開 (来場者が試用可能) があった。

セミナーについては表 1 3 に示す。出展の各企業については、AI 導入対象データとしてはテキスト、音声、画像、動画などがあり、特に画像認識関連の出展社を見て回った。PoC (Proof of Concept、概念実証) に重点を置いた支援サービスも多数みられた。画像認識開発を展示している多数の企業に技術的特徴、染色体画像認識 AI モデル開発の可能性についてヒアリングを行った。有力と思われる企業について表 1 4 にまとめた。一部の企業についてはさらに訪問等行い詳細なヒアリングを行った。それら複数の企業を AI 導入試験の外部委託候補とした。

表 13. 第 3 回 AI・人工知能 EXPO : セミナーの概要

演題	演者	概要
ゆたかな世界を、実装する～Use case から見るAI活用の最先端～	ABEJA代表取締役社長 岡田陽介	AI 技術に大きな進展のあった2018 年の動向について解説。世界が産業構造をAI前提にシフトしている現状で日本が取り残されている状況を説明。アマゾンにはAI人材費に年2.5兆円投入しているとのこと。
AI 開発プラットフォームを活用した次世代の予測・最適化技術について	グリッド代表取締役 曾我部完	シンプルなAI 認知技術は既にツールとなっていて専門的な数学知識やプログラミング技術を必要としない状況に達している。GUI により実装可能なReNom を紹介。量子コンピュータによる量子機械学習環境についての紹介。
最新の人工知能技術とその応用～自動車、産業用機器、バイオヘルスケア、パーソナルロボット～	Preferred Network代表取締役副社長 岡野原大輔	自動運転における環境認知、あらゆるものを適切に掴むロボット開発など、Preferred Networks が開発する最先端の高度なAI 技術の紹介。Chainer について最新バージョンの紹介と、日本語チュートリアルサイト開設の紹介など。
「ディープラーニング」の最前線と今後の展望	東京大学大学院工学系研究科教授 松尾豊	2018 年にあった主要な技術的進化について紹介 (ELMo・BERT による自然言語認知、GQN による3 次元空間認識、ODENetによるニューラルネットワーク層の新概念)、汎用技術であるAIの将来性、日本でのAI発展のための提案など。
AI/ディープラーニングを支えるエヌビディアのプラットフォーム最前線	エヌビディアエンタープライズ事業部事業部長 井崎武士	パートナー企業によるAI開発事例の紹介、NVIDIAが開発しているGPUハードウェアの紹介、ソフトウェアプラットフォーム環境 (フレームワークのGPU対応) の紹介など。

表 1 4. 第 3 回 AI・人工知能 EXPO : 収集した企業情報

企業名	特徴	別途詳細ヒアリング実施
ALBERT	データソリューション（ビッグデータ分析、分析コンサルティング、AI アルゴリズム開発・システム導入、AI を用いた顧客ごとの独自プロダクト開発）を提供。AI・画像認識サービス「タクミノメ 異常検知」、「タクミノメ アノテーション」。	○（4月18日）→ 需要・供給実績は工場での不良品検出のための開発がほとんど。
CTC	総代理店。アノテーションについては ReNom 社を担当。ReNom のアノテーションソフトを試用した。単独販売はしていないが、ソースコードはウェブで無料公開。マイクロソフト社製（無料版）と異なり、タグは無限に作ることができる。→ グリッド社参照。	×（不要）
FPT	ベトナムの企業、東京支社あり。開発の委託やアノテーションの委託が可能。実績として、医用画像については網膜検査画像。	×（海外へのヒト試料提供は困難と判断）
NTT 東日本	AI・IoT の実証環境「スマートイノベーションラボ」を展開。NTT 東日本自体が開発を行うのではなく、コンサルティングして最適なAI 開発会社を紹介、さらに開発・技術検証環境（ネットワーク・計測機等）を提供する。すべて無料。	×（不要）
Rist	AI 画像認識により網膜剥離判定システムを単一の眼科単科病院と開発・実装経験あり。医用画像診断などでヒトに近い判定を行えるアルゴリズムを保有。	×（不要）
インキュビット	AI 画像認識システム開発の専門会社。マーケットの小さなカスタムメイドプロジェクトの開発実績が多数ある（農産物画像識別など）。アノテーションについて独自技術を有している。	×（平成 30 年度に実施）

表 1 4. 第 3 回 AI・人工知能 EXPO : 収集した企業情報 (つづき)

企業名	特徴	別途詳細ヒアリング実施
グリッド	クラウドベース、GUI のAI 画像認識モデル作成環境ReNom TAB およびReNom IMG を展開。プログラミングせずにアノテーションから複数の代表的アルゴリズムを検証可能。選抜したモデルはNVIDIA JETSON などのハードウェアにシームレスに実装可能。	× (不要)
クロスコンパス	外観異常検知等に多数の開発実績。電子基板など複雑な外観の異常検知でも数千枚の教師画像から実装可能。主として工場製造関係の画像解析で実績あり。	× (不要)
モルフォ	<p>独自の画像処理技術およびハードへの組み込み技術と経験を有する。</p> <p>①SRLと業務提携しており、染色体分析画像認識モデルの開発経験あり。ただし開発済み認識モデルはSRLとの秘密保持契約が障害。</p> <p>②アノテーションについては、セマンティックセグメンテーションのアプリケーションを開発。実際には、良いアプリケーションが未だ存在せず開発も遅れており、アドビの Photoshop を用いることが多いとのこと。デモンストレーションは路上撮影動画の物体検出・分類 (人、自動車、など)。大容量の元データのアノテーションは他社 (ベトナム、インドなど) を利用。個人情報やセキュリティの観点から、医用画像の場合はそのようなことは簡単にはできない。一般的な物体検出は委託が容易。</p>	<p>○ (4 月 11 日) → 秘密保持契約により、研究開発協力は不可能。同契約に基づき、委託元である SRL 社に対してヒアリング*を行った。</p>

資料 2 : エルピクセル社

・ 4 月 9 日 (火) 訪問 (担当 : 数藤)

平成 31 年 3 月に研究責任者の関係者 (東京大学) から紹介を受けた。東京大学発の企業で、ライフサイエンスと画像解析を背景に独自の技術を研究・開発。オリンパス、富士フイルム、キャノンメディカル等から出資を受け複数の医療、医薬用システムを開発。「EIRL」(エイル、脳 MRI 画像から脳動脈瘤を自動検出し診断支援する医用がオズ解析ソフトウェア) は国内初の薬事・薬機法承認を受け、2019 年 10 月 15 日に発売した。

* 研究事例 (一部抜粋。括弧内は共同研究先)

- ・ Deep Learning を用いた脳動脈瘤検出アルゴリズム (大阪市立大学)
- ・ 生物画像自動分類ソフトウェア CARTA (東京理科大学、国立がん研究センター)

* 国家プロジェクトへの参加

- ・ 経済産業省 / 戦略的基盤技術高度化支援事業 : 生体組織の立体構造情報と人工知能を活用する病理診断支援システム
- ・ 科学技術推進機構 / 戦略的創造研究推進事業(CREST) : 栽培植物倍数体のマルチオミクス技術開発プロジェクト
- ・ 厚生労働省 / 革新的がん医療実用化研究事業 : 人工知能技術を用いた大腸内視鏡検査における病変検出・診断支援技術の開発

* 特許

- ・ 第 4688954 号 能動学習型の生物医学画像自動分類ソフトウェア CARTA
- ・ 第 4696278 号 領域分割画像生成方法、領域分割画像生成装置及びコンピュータプログラム
- ・ 第 6329651 号 画像処理装置及び画像処理方法

* 論文 (2017~13 年分省略)

・ 2019 年 IMACEL: A cloud-based bioimage analysis platform for morphological analysis and image classification. PLOS ONE DOI:10.1371/journal.pone.0212619

ほか

・ 2018 年 Deep Learning for MR Angiography: Automated Detection of Cerebral Aneurysms. Radiology DOI: 10.1148/radiol.2018180901 ほか

資料 3 : SRL 社 遺伝子・染色体解析部

- ・ 4 月 11 日 (木) 電話による情報収集 (遺伝子・染色体解析部) (担当 : 数藤)
- ・ 5 月 31 日 (金) 遺伝子・染色体解析部訪問 (八王子ラボ) (担当 : 数藤・穂山)

医療検査会社の最大手である。検査室を見学し、血液検体受付から染色体分析・遺伝子検査報告までを詳細に紹介された。自社開発の自動機器・解析ソフトウェアとリムズ (LIMS、 Laboratory Information Management System) の導入により、約 100 名のスタッフで 1 日約 10 万検体を処理するとのこと (うち、染色体検査は約 2000 検体)。人材育成や検体保管についてもうかがった。核型分析 (ギムザ染色による G-バンド分析) への AI 導入の実際について具体的な説明を受けた。

AI 導入は G-バンド核型分析 (ギムザ染色法) のみで、解析ソフトの販売予定は無い。使用画像枚数は多数 (情報提供あり、ただし非公開のため明記しない) で、染色体の切り離し (セグメンテーション) と並べ替えの 2 種類のプログラムを開発。染色体に重なりがある物を加えると正解率が下がる。最終診断では人による目視確認を行っている。SRL では G-バンド核型分析の他に、SKY や市販の特定ゲノム領域特異的 FISH プローブを用いた染色体検査も行っており、これらはすべて保険適用である。

数藤が染色体線量評価についての講義を 1 時間程度行い、大規模な原子力災害の際の協力についても話し合った。SRL は多くの臨床細胞遺伝学認定士 (染色体検を担う) を抱える。今年度より開催する染色体分析研修 (規制庁研究・富永班) に参加いただくこととなった (認定士制度の認定を受けた数藤ラボが協力するため資格継続の単位が授与できる)。

実際の事故では必要な範囲の業務委託が可能になっていくものとおもわれる。方法としては、他の一般的な染色体検査のオーダーと同様にオーダーするのが今のところ最も現実的であろうということになった (ただし実施内容は特注。手法は本研究や今後の本格研究で定めるプロトコールを指示・教授できる)。他の主要な染色体検査会社 2 社の協力も同様な可能性がある。

1) AI を導入した G-バンド核型分析は、2018 年 7 月より実際の検査に導入し使用している。医師が診断予測をした疾病に特徴的な染色体異常に絞って迅速検出すること。

2) 自動機器（培養、標本作製、画像撮り込み、画像自動分析等）を使用。緊急被ばく医療の検体受入は、現在受託している臨床検査の合間で本件の検査を実施する場合、50件/日までは現行の機器で対応可能。

3) 大規模原子力災害時に量研機構または原子力規制庁が染色体検査をオーダーする場合、一部が特注の作業になる。培養時間48時間、ギムザ染色またはセントロメア検出PNAプローブを用いたFISHについて、培養から画像撮り込みまでの工程の全ての作業を実施可能。このような特殊作業になる場合でも、通常臨床検査の合間に機器を使って検査工程を行うことができる。二動原体分析は特殊検査として別料金となる。

資料4： 低線量被ばく国際シンポジウム

会期：2019年5月13日～15日、9:00～17:00

会場：Radiation Health Institute、Korea Hydro & Nuclear Power Co. LTD（ソウル）

主催：Korea Hydro & Nuclear Power Co. LTD

参加：数藤由美子（量研機構）、穂山美穂（量研機構）[招待のため旅費は不要]

情報：染色体画像分析に関する新たな知見はみられなかった。数藤が講演「放射線被ばくをした作業者の染色体線量評価」を行い、本研究について簡潔に紹介した。染色体線量評価ラボで1時間ディスカッションを行った。ギムザ二動原体分析でも FISH 分析でも、染色体異常判定基準の標準化が困難であるとのことで、数藤ラボの判定基準マニュアル（英語版）を提供した。

資料5： ISO TC85 SC2 会議 WG-18 (国際標準化機構・生物線量評価分科会)

会期： 8月25日(日) 9:00～15:00

会場： マンチェスターセントラル (マンチェスター)

参加： 数藤由美子 (量研機構)

情報： 委員として出席 [他に Health Canada、PHE、BfS、Instute of Nuclear Chemistry & Technology (ポーランド) から出席、計6名]。二動原体分析手法の改訂 (同意取得のあり方、データの位置づけと責任の所在、品質保証、自動化に関する項目、など)。将来、AI 自動画像解析法を新規提案するための提案書およびプロトコールを作成するに当たって有用。

資料 6 : ICRR 2019 (国際放射線影響学会 2019 年年会)

会期 : 8月25日(日)~8月29日(木)

会場 : マンチェスターセントラル (マンチェスター)

参加 : 数藤由美子 (量研機構)

情報 :

① AI 導入による画像解析技術の開発

- ・ プレゼンは数藤のほかに1題。量研機構の別グループの試みで、メタフェーズと間期核の細胞を区別することに成功していた。これにより、特製のメタフェーズ自動検出顕微鏡システムでメタフェーズを撮影する作業の省力化、あるいは、撮影された画像の目視判定における省力化が可能であることが期待される(事前のメタフェーズ選別により、メタフェーズの分析が速急に開始できるようになる)、とのこと。
- ・ フロアでの会話からは1件。広島大学原爆放射線医科学研究所が同大学工学部と組んでギムザ染色による二動原体分析の画像解析について AI 導入を試みたが、全くうまくいかなかったとのこと。
- ・ 企業を含む画像解析ソフトウェアの研究開発としては、カナダのサイトグノミクス者 (Cytognomix) と組んだ国際ラボ間比較テストについての発表があった。従来型機会学習であることには変わりはなく、コンピュータの CPU を最大化することで速度を上げた点が進歩したところであった。

② 研究の動向

- ・ 研究の重点がガンマ線被ばくから高 LET の放射線被ばくにシフトしていた。主に中性子線、アルファ線。M-FISH 法などにより、転座分析が進められ、ISO のプロトコールや従来の論文で解析から除外された複雑な転座や逆位が重要な指標となること複数の研究者から示唆された (REACT/S、IRSN、英国ブルーネル大学など、11 題)。
- ・ 被ばく者長期追跡調査の報告がみられた (数藤のほかに3題)。染色体異常の保持・消失についての追跡や、原子力関連施設の長期労働従事者の調査(ごく低線量の被ばく)であった。

資料7： 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

会期： 2019年9月9日～9月11日

会場： 東京工業大学 大岡山キャンパス

参加者： 長田直樹（北海道大）、弓至（北海道大）

情報：

AI 関連の研究として、“Deep learning application in quantitative image analysis of bacterial behavior.”と題したポスター発表が見られた。一枚の画像に数百から数千のバクテリアが映っている画像から、バクテリア数を計数する作業を、深層学習による画像解析を用いて自動化を試みていた。ImageJなどを用いた前処理後、細胞一つ一つを検出するのではなく、畳み込みによる特徴量抽出と逆畳み込みによる各ピクセルにおける細胞の有無予測によって、細胞数を計数していた。撮影環境が安定しており画像自体にノイズが少なく、また細胞の形状の特徴が単純であるという性質から、上記の手法で高い精度での計数を実現していた。画像を用いた特定オブジェクトの計数作業の自動化を深層学習で実現している点で、本研究課題との共通点が多い成功事例であった。

資料8： 第5回 ARADOS 年会（アジア線量評価ネットワーク会議）

〔研究計画外の参加のため支出無し〕

会期： 2019年11月6日～11月8日

会場： ガーデンホテル（北京）

主催： NIRP, China CDC, NIM（中国）

参加者： 数藤由美子・栗原治（量研機構）

情報： AI 導入については、遺伝子発現変動を指標とした生物学的線量評価においてゲノム情報（テキストデータ）の解析で今後導入したく、検討中とのことであった（中国）。

WG-3（生物線量評価分科会）では、量研機構（数藤ら）が主催し第3回ラボ間比較エクササイズを実施し、ディスカッションを行った。

*実施内容：3.0 Gy 照射標本から、単色染色画像 200 枚を配付し、3 日後に同じ細胞の PNA-FISH 画像（解答画像）200 枚を配付。それぞれで二動原体分析を行い、線量評価を行った。

*実施期間：10月16日～11月7日

*参加者：分析実施は4カ国（中国、韓国、日本、ベトナム）計11ラボ（32名）が参加。分析経験年数は2年～22年。ディスカッションにはインドネシア2名も参加。

ディスカッション・ミーティング：第5回 ARADOS 年会（11月7日）

*成果：単色染色での細胞画像採択率は平均82%（推定線量2.5～3.6 Gy）。FISH 画像では採択細胞、判定結果とも全ラボで一致。推定線量は全ラボで3.0 Gy（正解と一致）。

長年、ギムザ単色染色画像にてラボ間比較を繰り返すも向上しなかった画像診断のハーモナイゼーションだったが、今回量研機構が行った FISH 導入およびエクササイズにより分析精度がラボ間の差無くほぼ100%に達した。ディスカッション・ミーティングでは重要問題の解消、すなわち、メタフェーズの選択基準と二動原体判定基準を統一することができた。「染色体分析 判定基準プロトコール」第1版（案）を作成した。

（注）本エクササイズで使用した画像は、本研究事業で作成し、AI 自動判定を行ったものである。本研究の成果の一部として論文作成中であり、AI による判定精度を、熟練度の異なる検査者による目視判定と比較し考察する予定である。

資料 9 : 第 2 回日本メディカル AI 学会学術集会

会期 : 2020 年 1 月 31 日～2 月 1 日

会場 : 東京ビッグサイト TFT ホール (東京)

参加者 : 数藤由美子 (量研機構)、野里博和 (産総研)

情報 :

第 3 次 AI ブームの中で、医療を分野においても AI の研究開発が進み、医療機器プログラムなど承認を得るなど、社会実装へ向けた動きが加速している。第 2 回のテーマは「AI を医師にも患者にも」が掲げられた。基調講演が 5 題、シンポジウムが 9 セッション、一般演題が 5 セッション用意されたほか、自然言語処理チュートリアル、次世代医療基盤法説明会、ポスター閲覧・発表、ランチョンセミナー (共催 : アマゾンウェブサービス、マイクロソフト、キヤノンメディカルシステムズ)、企業展示が設けられた。

特別講演 2 では、「AI・ディープラーニング時代における医用画像支援診断の新潮流」をテーマに、岐阜大学特任教授の藤田広志氏が登壇した。藤田氏は、computer-aided diagnosis / detection (CAD) について 1960 年代からの歩みを概観した上で、ディープラーニングにより、ヒトが特徴量を抽出していた従来の手法から、AI が自動的に特徴量を抽出するようになり、研究開発が劇的に変化したと解説。医師自身が AI をつくり、育てる時代になったと述べた。さらに、藤田氏は、ディープラーニングによって、CAD が多様化していると説明した (CADe : 検出型、CADx : 診断型、CADt : トリアージ型)。藤田氏は、医用画像支援診断における今後の AI について、医師のパーソナルアシスタントのような存在になると指摘したほか、AI を用いたワークフローがシームレスに統合されるようになると言及した。

シンポジウムや一般演題では、特に深層学習の医用画像診断への適用について、個々の疾病に関する開発の実際と、問題点、それを解決するための AI の各種手法を学ぶことができた。本研究に近い状況として、ビッグデータが集められない疾病への対処、組織や細胞の標本の画像診断のための開発におけるラボ間差への対処、教師データへの信頼性の確保について、参考になった。

資料 10 : ラボ訪問

訪問先 : Public Health of England (PHE)、ジドコット (英国)

期間 : 8月30日 (金) 9:30~16:00

参加者 : 数藤由美子 (量研機構)

概要 : Radiation Effects Department からの要請を受けて、Centre for Radiation、Chemical & Environmental Hazards にて依頼講演「Cytogenetic analysis of radiation accidents in Japan – past and present studies in QST/NIRS」(1時間。内容は ISCA と同じ) および情報収集 (ラボ見学、染色体線量評価に関する討議) を行った。

講演は数藤のほかにフランス人研究者 (Dr. Guillaume Vares、沖縄科学技術員大学大学院) のプレゼンテーション (がんの重粒子線治療の研究) があつた (各 1 時間)。

夏休みでありながら、階段講義室 (小) がほぼ満席となった (約 30 名)。

[PHE での情報収集]

- ・ 推定線量の不確実性計算など、統計処理について支援が得られることとなった。最新版の線量評価ソフトウェアを 2 種入手できた (最尤推定法およびベイズ推定法)。
- ・ 長年のイギリスにおける被ばく事故について、対応経験者である Simon Bouffler 副所長から直接経験を聞くことができた。また、逆位を指標とした線量評価法について紹介された。
- ・ ヨーロッパの線量評価ネットワーク (RENEB) について、実情を聞いた。参加ラボは 17~20 程度ある (大学の場合、担当者が退官すると撤退するため、しばしば変動する)。その中で、実際の事故対応に確実に貢献できるのは PHE、IRSN、BfS の 3 ラボのみであり (他のラボの多くは国立機関・それに準じる公共機関ではなく、かつ、ほとんどのスタッフが任期制で人材が安定的に確保されない)。加えて、線量評価の品質が保証できるのは、PHE、IRSN、BfS の 3 ラボのみであるとのこと。
- ・ 前述のような事情もふまえ、英国内の被ばく対応に対しては、PHE でカバーできるようにしているとのこと。ジドコットのスタッフは、訓練により、血液検体受け入れから画像判定までの様々なステップのいずれかを担当できるようにしてあり、特にバイオドシメトリのチームについては前ステップを誰もができるようにしてある (通常は研究を行っていて、患者受け入れの時は全所的に対応可能)。

資料 1 1 : 文献調査

主として学会等で得た情報を中心に文献収集を行った。特に本研究で参考にしたものを挙げる。

① AI による医用画像診断

- 1) Yamamoto Y, et al.: Automated acquisition of explainable knowledge from unannotated histopathology images. *Nat Commun.* 2019 Dec 18;10(1):5642. doi: 10.1038/s41467-019-13647-8.
- 2) Poplin R, et al.: Prediction of cardiovascular risk factors from retinal fundus photographs via deep learning. *Nat Biomed Eng.* 2018 Mar;2(3):158-164. doi: 10.1038/s41551-018-0195-0.
- 3) Xie N, et al.: Statistical Karyotype Analysis using CNN and Geometric Optimization. *IEEE Access PP(99):* 1-1, Nov. 2019.

(補足) いずれの論文も医用画像への AI 利用に関する代表的例で、染色体線量評価に関するものではない [3) の論文は核型分析に関するものである]。1) の論文では、医師の診断情報が付いていない病理画像から、がんに関わる知識を AI が自力で獲得する技術の開発に成功した。AI は、前立腺がんのステージ診断に 50 年以上にわたり用いられてきた「グリソンスコア」に含まれていない、がん領域でない間質にも着目していることがわかり、がんの再発予測精度を上げる新たな特徴を見出すことができた。

② 染色体線量評価の自動化

- 4) Royba E, et al. RABiT-II-DCA: A Fully-automated Dicentric Chromosome Assay in Multiwell Plates. *Radiat Res.* 2019 Sep;192(3):311-323. doi: 10.1667/RR15266.1.
- 5) Li Y, et al.: Radiation Dose Estimation by Completely Automated Interpretation of the Dicentric Chromosome Assay. *Radiat Prot Dosimetry.* 2019 Dec 31;186(1):42-47. doi: 10.1093/rpd/ncy282.
- 6) Li Y, et al.: Automated discrimination of dicentric and monocentric chromosomes by machine learning-based image processing. *Microsc Res Tech.* 2016 May;79(5):393-402. doi: 10.1002/jemt.22642.

7) Shen X, et al.: A dicentric chromosome identification method based on clustering and watershed algorithm. *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–11, 2019.

8) Ryan TL, et al.: Optimization and validation of automated dicentric chromosome analysis for radiological/nuclear triage applications. *Mutat Res.* 2019

Nov;847:503087. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.503087. Epub 2019 Sep 23.

[補足] いずれの論文でも、深層学習ではなく、人間によるパラメータ設定に基づく機械学習法が用いられている。米国の RABiT-II（細胞培養から顕微鏡画像取得までを全自動で行う線量評価用システム）については、これまで、RABiT-II で取得したメタフェーズ画像（ギムザ染色）に対して、サイトグノミクス社のソフトウェア ADCI によって自動二動原体分析が試みられてきたが、4) の文献ではじめて PNA-FISH 法による二動原体検出が試みられている。本研究で既に PNA-FISH 法の二動原体検出の正確さは裏付けられている。

資料12： 第1回研究会合

令和元年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費
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

令和元年度第1回研究会合

議事録

1. 日時 令和元年12月23日(月) 16:00～17:30
2. 場所 東京都千代田区大手町1-6-1 大手町ビル6階 (株)エルピクセル
会議室
(TEL. 03-6259-1713)
3. 議題
 - (1) 議事次第説明
 - (2) AI画像解析についての進捗報告・討議
(量研・数藤、エルピクセル・竹村)
 - (3) AI画像解析についての進捗報告・討議(北大・弓、長田)
 - (4) 今後の予定
4. 出席者
数藤由美子(量研機構)
竹村昌彦、袴田和巳、松田祐希、瀧野望
(AI導入試験委託先、(株)エルピクセル)
長田直樹、弓至(北海道大学)
江藤亜紀子(国立保健医療科学院)
オブザーバー 原子力規制庁PO(中村吉秀)、PO補佐(新井知大)
5. 議事概要

- 1) 現段階のプロトタイプ AI による自動染色体画像分析では 2 Gy の判断をつけることができたので、トリアージに資する可能性が非常に高いことが示された。
- 2) 検討委員から、検出性能の評価指標として感度、特異度などを計算し、ROC カーブを描出することを提案された。また、曝露線量のリスク評価の基準として選んだ 2 Gy について、この数値の意義を、線量レベルによる臨床症状や必要となる医学的処置と合わせて説明するとより説得力があるとの指摘があった。
- 3) 年度末報告準備に関する日程確認を行った。

以上。

資料13： 第2回研究会合

令和元年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費
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

令和元年度第2回研究会合

議事録

1. 日時 令和2年1月10日（金） 14：00～17：00
2. 場所 東京都千代田区千代田区内幸町2-2-2 富国生命ビル22階
量研機構 東京事務所 19号室
(TEL. 070-3943-3364)
3. 議題
 - (1) 議事次第説明
 - (2) 進捗報告（北大・弓）
 - (3) 質疑・討議
 - (4) 進捗説明（量研・数藤）
 - (5) 質疑・討議
 - (6) 年度末報告会 報告資料（案）・評価票（案）（量研・数藤）
 - (7) 討議
4. 出席者
数藤由美子、亀山美穂、栗原治（量研機構）
平井百樹（東京大学名誉教授）
長田直樹、弓至（北海道大学）
瀧川一学（理研）
オブザーバー 原子力規制庁 PO（中村吉秀）、PO 補佐（新井知大、大町康）

5. 議事概要

- 1) 弓検討委員から、外注とは別のアルゴリズムを用いた検討結果が報告された。
- 2) 数藤から年度末報告会の報告資料（案）・評価票（案）を用いての進捗説明があった。プレゼンテーションの仕方について、検討委員および PO、PO 補佐より協調すべき点についてアドバイスがなされた。検討委員から染色体異常のデータ増加方法について助言があった。栗原氏より、染色体技術をもつ後継者維持の重要性について意見があった。
- 3) 1月～3月までの年度末報告会日時・年度末報告書提出期限、第3回研究会合日程について確認した。

資料13 [補足資料]

[注： 野里博和先生（産総研）につき別途ヒアリング兼打合せを行った。]

令和元年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費 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

令和元年度 研究打合せ

議事録

1. 日時 令和2年1月9日（木） 10:00～12:00

2. 場所 東京都千代田区千代田区内幸町2-2-2 富国生命ビル22階
量研機構 東京事務所 19号室
(TEL. 070-3943-3364)

3. 議題
 - (1) 議事次第説明
 - (2) 進捗報告・年度末報告案（量研・数藤）
 - (3) 質疑
 - (4) 令和2年度以降の計画案（量研・数藤）
 - (5) 討議

4. 出席者
数藤由美子
野里博和（産総研）
オブザーバー 原子力規制庁 PO 補佐（新井知大）

5. 議事概要
 - 1) 数藤より年度末報告資料（案）に基づく進捗報告があった。

2) 野里委員より染色体異常の分類種間インバランス対策、画像のロバストネス（品質差）対策、ブラックボックスの解明手法について助言があった。

以上

資料14： 第3回研究会合

令和元年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費
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

令和元年度第3回研究会合

議事録

1. 日時 令和2年2月17日（月） 10:00～12:00
2. 場所 東京都千代田区千代田区内幸町2-2-2 富国生命ビル22階
量研機構 東京事務所 19号室
(TEL. 070-3943-3364)
3. 議題
 - (1) 議事次第説明
 - (2) 年度末報告会についての報告（量研・数藤）
 - (3) 質疑
 - (2) 進捗説明（量研・数藤）
 - (5) 質疑・討議
 - (6) 令和2年度以降の計画案（量研・数藤）
 - (7) 討議
4. 出席者
数藤由美子、亀山美穂（量研機構）
平井百樹（東京大学）
長田直樹（北海道大学）
瀧川一学（理化学研究所）
江藤亜紀子（国立保健医療科学院）
オブザーバー 原子力規制庁 中村吉秀 PO、新井知宏 PO 補佐

5. 配付試料

- (1) 議事次第
- (2) 年度末報告会関係資料
- (3) 2月以降のスケジュール

6. 議事概要

1) 数藤から年度末報告会のプレゼンテーションの紹介と評価結果(A評価および評価委員からのコメント)について説明および追加の成果報告があった。検討委員から、今後のAI画像判定性能向上に関するアイデアが出された。

2) 数藤から年度末成果報告書や新規研究費申請に関する内容およびスケジュールについて説明があった。3月5日までにドラフト版の共有をし、3月12日正午を修正意見の締切とすることが合意された。また、検討委員から、新規研究費申請において量研機構の役割や目標設定の明確化についてアドバイスがあった。

3) 数藤から第2回研究会合以降の研究進捗(画像の開発)および第2回メディカルAI学会大会における情報収集成果について報告があった。

4) 長田委員から進捗報告および関連した修士論文(弓委員)の回覧がなされた。PO、PO補佐により謝辞の記載方法について確認があった。

4) 検討委員から、今後の共同研究上の契約等で必要な考慮事項についてアドバイスがあった。

以上

資料 15 : 第 1 回画像検討会

平成 31 年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度第 1 回画像検討会議事概要

開催日時

平成 31 年 4 月 23 日 (火) 10 : 00 ~ 16 : 00

開催場所

量子科学技術研究開発機構 (千葉) 第 3 研究棟 L315 室

参加者

数藤由美子(量研)、穂山美穂(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

議題

1. 実験解析手順の確認
2. PNA-FISH 画像の作製

議事概要

1. PNA-FISH 法の AI 解析用最適化プロトコールを試みた。
2. AI 導入試験用 PNA-FISH 画像を作製した。

以上

資料 16 : 第 2 回画像検討会

平成 31 年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度第 2 回検討会議事概要

開催日時

平成 31 年 4 月 24 日（水） 10 : 00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

数藤由美子(量研)、穂山美穂(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

議題

1. 実験解析手順の確認
2. PNA-FISH 画像の作製

議事概要

1. 第 1 回検討会により修正した PNA-FISH 法の AI 解析用最適化プロトコールを試みた。
2. AI 導入試験用 PNA-FISH 画像を作製した（継続中）。

以上

資料 17： 第3回画像検討会

平成 31 年度（令和元年度）放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度（令和元年度）第 3 回検討会議事概要

開催日時

令和元年 10 月 9 日（水） 10：00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

数藤由美子(量研)、穂山美穂(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

議題

1. PNA-FISH 画像の作製およびアノテーション作業

議事概要

1. AI 導入試験用 PNA-FISH 画像を作製した（継続中）。

以上

資料 18 : 第 4 回画像検討会

平成 31 年度（令和元年度）放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度（令和元年度）第 4 回検討会議事概要

開催日時

令和元年 10 月 23 日（水）10 : 00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

数藤由美子(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

議題

1. PNA-FISH 画像の作製およびアノテーション作業

議事概要

1. AI 導入試験用 PNA-FISH 画像を作製した（継続中）。
2. 10 月の検討会で、画像 8479 セット（うちアノテーション 6938 セット）が完成した。

以上

資料 19 : 第 5 回画像検討会

平成 31 年度（令和元年度）放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度（令和元年度）第 5 回検討会議事概要

開催日時

令和元年 11 月 18 日（月）10:00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

数藤由美子(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

議題

1. PNA-FISH 画像の作製およびアノテーション作業

議事概要

1. AI 導入試験用 PNA-FISH 画像を作製した（継続中）。

以上

資料 20 : 第 6 回画像検討会

平成 31 年度（令和元年度）放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度（令和元年度）第 6 回検討会議事概要

開催日時

令和元年 11 月 25 日（月）10:00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

数藤由美子(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

議題

1. PNA-FISH 画像の作製およびアノテーション作業

議事概要

1. AI 導入試験用 PNA-FISH 画像を作製した（継続中）。
2. 11 月の検討会で、画像 1432 枚が追加できた。

以上

資料 21 : 第 7 回画像検討会

平成 31 年度（令和元年度）放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度（令和元年度）第 7 回検討会議事概要

開催日時

令和 2 年 2 月 12 日（水）10 : 00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

穂山美穂(量研)、平井百樹(東大名誉教授)

数藤由美子(量研)（講義担当があったため 15:00 以降参加）

議題

1. 染色体画像の作製

議事概要

1. 同一細胞からの AI 導入試験用 PNA-FISH 画像およびギムザ染色画像技術を開発した。

以上

資料 2 2 : 第 8 回画像検討会

平成 31 年度（令和元年度）放射線安全規制研究戦略的推進事業費
「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」
平成 31 年度（令和元年度）第 8 回検討会議事概要

開催日時

令和 2 年 2 月 13 日（木）10 : 00～16:00

開催場所

量子科学技術研究開発機構（千葉）第 3 研究棟 L315 室

参加者

穂山美穂(量研)、平井百樹(東大名誉教授)、敷藤由美子(量研)

議題

1. 染色体画像の作製

議事概要

1. 同一細胞からの AI 導入試験用 PNA-FISH 画像およびギムザ染色画像技術を開発した（前回からの継続）。

以上

12. 別添

12.1. 平成 30 年度研究成果の概要

■ 平成 30 年度研究成果の概要

本研究 1 年目（平成 30 年度）は染色体線量評価における染色体異常の判定の標準化を実現するために、アカデミアおよび企業における画像解析技術開発の状況および人材・人件費についての調査・情報収集、研究会合（検討委員間での収集情報の共有および検討）、研究環境準備（倫理審査完了：[量研 承認研究計画書番号 18-023]、高セキュリティの共有サーバ設置、他）を行った。

[情報収集・検討の成果]

1) AI 技術の染色体線量評価への応用例はみられなかった。

現在、染色体画像自動分析ソフトウェアの主力は 2 種類あり、市販されている [ツァイス/メタシステムズ社「DCScore」(ドイツ) 及びサイトゲノミクス社「ADCI」(カナダ)] である。ただし、他のマイナーな開発例を含め、誤判定・必要細胞数など課題は多く、少数のラボで実用化に向け長期調整中であるものの開発途上である。DCScore の場合、メタフェーズごとの染色体検出率は 40~60% である。ADCI の場合、全染色体が検出されるメタフェーズをデータとして採択するが、メタフェーズごとの染色体検出率は低く、通常の 100 倍の検体量を要する。いずれの場合も、バックグラウンド値が高く、現状では画像を人間が目視によって見直し修正する作業を要している。また、現存ソフトウェアでも染色体異常の判別は人間が任意に決定したパラメータを用いた機械学習に依存しており、その条件設定に適合した染色体のみを分析する。このため判別の関係するパラメータや機械学習のための学習用画像は、各ラボの判断で用意・設定することになり、ラボ特有のものとなる。

一方、染色体線量評価分野でのさらに進んだ画像解析ソフトウェア開発は、他の疾病の医用画像診断や顔認証システムといった、市場規模の大きい分野で優先されている現状が判明した。また、AI 画像解析開発者の人材は供給不足しており、かつ人件費も高額であることが判明した。本研究 2 年間で最適な経験・資質をもつ研究開発者を見出して雇用し成果を上げることは困難なので、外部委託先の検討を継続することとした。

2) AI 技術を用いた臨床染色体分析の研究報告はみられなかった。

医用画像診断支援をはじめとする他分野における導入については多数進行中で本研究に参考になった。本格開発において適合するソフトウェア開発を受注可能とおもわれる企業が数社あり、プロトタイプ開発および本開発にかかる費用・期間のおおよそが判明した。

3) 手書きの染色体異常判定データのデジタル化を調査／試験し、検討した。

AI-OCR (AI を導入した光学的文字認識) は現状では不十分であることが分かった。そのほかに入力代行業者の利用とアノテーション手法の利用が可能であることがわかった。

4) 畳み込みニューラルネットワーク (CNN) による画像解析テストに着手した。

一部の画像ファイルを用いて CNN 画像解析テストを行い、適した画像ファイル条件 (サイズ、解像度、クリッピング方法、アノテーション方法など) について検討した。教師データの準備を進め、200 枚程度という少数からテストを開始した。

5) ギムザ染色法、蛍光染色法、FISH 法の染色体異常検出力を比較調査した。

蛍光染色法や FISH 法は、染色体検査室では一般的な手法であり、検出力や検出効率はギムザ染色法より高いことが明らかとなった。このことはより少ない血液量で十分ということにもつながる)。

以上、情報収集・検討により、染色体線量評価における AI 技術の導入および研究開発は、本研究において率先して進めていかなければならないことが明らかになった。また、従来使用されてきたギムザ染色法だけでなく、蛍光染色法や FISH 法も検討すべきであることが明らかになった。

■ 平成 31 年度の展開

平成 31 年度は、同年 4 月 3 日～5 日に開催される第 3 回 AI・人工知能 EXPO を目途に本研究の AI 導入試験に協力可能な専門性の高い AI 関連企業の探索とヒアリングを継続し、AI 技術に関する最新情報を入手し、また AI 導入試験の外部委託先の入札の

参考にすることとした。国内外の学術的会合や文献も情報源とする。

AI 導入試験に先立ち実施するプレ試験では、各種染色法について、AI による染色体の検出力、染色体異常の判別力、画像数を増やした場合の効果を確認する（この段階で AI 導入が不適合と判明すれば、本研究は終了となる）。併せて本研究の画像検討会を行い、AI に最適な標本・画像作成条件を検討する。AI 導入の有効性が高いことが確認された場合、本試験に進む。

本試験では、プレ試験に基づいて得られた AI に最適な標本・画像作成条件により画像を作成する。プレ試験で作成した学習モデルを用いて一部については AI 自動アノテーションを行い、さらに熟練者目視による修正を行ったものを用いる。

全期間を通じて、並行して一部の検討委員（北海道大学）および量研機構により学術的立場で AI 導入試験を行うこととした。諸分野の専門家をまじえた研究会合で情報共有、検討・評価、線量評価式の検討を行う。

12.2. 研究計画と実施状況の対応

研究計画		実施状況	
大項目	小項目	実施概要	記載ページ
1. 染色体線量評価（数理統計解析を含む）および人工知能技術を導入した画像判別手法に関する情報収集	1-1. 関連の国内学会、国際学会、AI 関連企業展示会等への参加	国際学会 1 件、国内学会 2 件、国際会合 3 件	17
	1-2. 先進的な研究機関への訪問による情報収集	Public Health of England 訪問	17
	1-3. 文献調査	文献調査	17
2. テスト用の画像ファイルの準備	（画像データ作製と目視判定結果の紐付け）	プレ試験用	19 - 23
		本試験用	31 - 34
		追加試験用	50 - 52
3. 人工知能技術を導入した機械学習（ディープラーニング）による画像判定プログラムテスト	3-1. 染色体および染色体異常の認識精度や実行速度などを評価軸とした有効性や適用範囲（線量）の検討	プレ試験 本試験・追加試験	19 - 30 31 - 54
	3-2. 染色体異常認識モデルの試作および検証（Phase1）		
4. 検討委員会の開催	情報共有、コンピュータによる画像判定手法技術の検討・評価、画像判定結果の数理統計学的なデータ処理法・線量推定法の検討、染色体線量評価のための画像判定技術開発案の検討等	研究会合（3回） ヒアリング（1回） 画像検討会（8回）	18
5. 総括	（染色体線量評価のための画像判定技術開発案の提示）	総括、今後の展望	55 - 58

