

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医療分野研究成果展開事業  
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfers

研究開発課題名： (日本語) 人工知能による超高速3次元画像解析システム  
(英語) Artificial Intelligence (AI)-driven Ultra-high-speed three-dimensional (3D) image analysis

研究開発担当者 所属 役職 氏名：  
(日本語) エーザイ株式会社 hhc データクリエーションセンター  
テクノロジークロスポイントラボ 部長 伊藤 昌史  
(英語) Masashi Ito, Executive Director, Technology Cross Point Laboratory,  
hhc Data Creation Center, Eisai Co., Ltd.

実施期間： 平成 28年 11月 2日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究開発課題名：  
(日本語) 非臨床試験への透明化技術の導入、画像ビッグデータ管理およびディープラーニングによる画像診断プログラムの開発  
(英語) Application of tissue clearing technology for preclinical study, development of image data management system, and diagnostic system by deep learning.

研究開発分担者 所属 役職 氏名：  
(日本語) エーザイ株式会社 hhc データクリエーションセンター  
テクノロジークロスポイントラボ 部長 伊藤 昌史  
(英語) Masashi Ito, Executive Director, Technology Cross Point Laboratory,  
hhc Data Creation Center, Eisai Co., Ltd.

分担研究開発課題名：  
(日本語) 臨床病理への透明化技術の導入  
(英語) Application of tissue clearing technology for histopathological

assessment of clinical gastrointestinal specimen.

研究開発分担者 所属 役職 氏名：

(日本語) 東京大学医学部附属病院 消化器内科 助教 小野敏嗣

(英語) Satoshi Ono, Assistant Professor, Department of Gastroenterology,  
Graduate School of Medicine, The University of Tokyo Hospital

分担研究開発課題名：

(日本語) 自動組織透明化装置の開発、多検体自動観察装置の開発、および透明化技術の改良と製造

(英語) Development of automatic tissue clearing system and improvement and production of tissue clearing agents

研究開発分担者 所属 役職 氏名：

(日本語) 東京大学大学院理学研究科 特任研究員 長沼和則

(英語) Kazunori Naganuma, Project Researcher, Graduate School of Science,  
The University of Tokyo

分担研究開発課題名：

(日本語) 組織透明化技術の応用開発および画像解析の技術開発

(英語) Application development of tissue clearing technology and technical development of imaging analysis

研究開発分担者 所属 役職 氏名：

(日本語) 株式会社カン研究所 次世代標的研究部 主幹研究員 池田わたる

(英語) Wataru Ikeda, Principal Scientist, Department of Advanced  
Biomedicine, KAN Research Institute, Inc.

## II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究開発では、臨床の病理診断や医薬品開発における画期的な画像診断を実現するため、組織透明化技術 LUCID を活用して組織の3次元（3D）画像を取得し、得られる画像の解析に人工知能を導入することで、超高速・高精度に画像診断ができるシステムを開発する。開発期間終了までに、自動組織透明化装置・多検体自動観察装置プロトタイプを開発し、画像診断プログラムのプロトタイプを完成させる。

平成28年度は、自動画像解析装置プロトタイプ開発に用いる共焦点顕微鏡を東京大学に配備し、これと同一機種をエーザイ・カン研究所に配備することにより、同一レベルの画像を複数拠点で効率的に取得し人工知能アルゴリズムの教育に供する体制を整えた。

組織透明化技術の応用開発として、実験動物組織サンプルを用いて良好な脱脂条件を見出した。脱脂処理・抗原賦活化処理の併用により、2光子レーザー顕微鏡にて観察深度の著しい改善が得られたため、現時点の最適な染色条件とした。また、エーザイとカン研究所の協働で、大腸がんモデルマウスにおける大腸サンプルの透明化を実施した。正常部位と変異巣部位について、それぞれ20視野以上のZ軸連続画像

(500 ミクロン厚) を取得し、人工知能の学習用データを得た。

上記の学習用データを用いて人工知能による画像診断プログラムの開発を開始した。大腸がんモデルマウスの 2 次元画像を 2 つのアルゴリズムを用いて評価した。両アルゴリズムとも 98~99% の正解率が得られ、人工知能が病理組織画像の判別に有効であることを示唆する結果を得た。さらに、3D 画像データ解析の初期検討を開始した。

また、画像ビックデータを管理するため、構築するデータ管理システムのスペックを決定した。今後、実際のシステム導入を進めていき、サンプル番号と検体画像を管理できるストレージシステムを構築する。

臨床病理への透明化技術の導入については、パラフィン包埋状態で保存されている消化管腫瘍性病変の内視鏡治療検体を用いて、食道腫瘍/胃腫瘍/大腸腫瘍・正常組織の撮像を開始し、各臓器一種類ずつ 3D 画像を取得した。また、LUCID 透明化技術の検体に対する非侵襲性について、透明化での評価を終えた検体の HE 染色・免疫染色による病理評価では染色性・形態共に影響を与えないことを確認した。これにより、既存の貴重な検体を活用し効率的に画像を取得できる可能性が高まった。

自動組織透明化装置の開発、多検体自動観察装置の開発、および透明化技術の改良と製造については、複数の標本の組織透明化と自動撮像を可能とするサンプルカセットを試作した。また、多検体自動観察用の顕微鏡システムプロトタイプを迅速かつ効率的に開発するため、多光子顕微鏡を移設し、本開発において試作する共焦点顕微鏡と常時比較できる環境を整備した。解像度と深部観察能力を向上させるため、LUCID 用にチューニングした対物レンズを作製した。画像取得時間短縮と標本深部観察能力の向上には、レーザー光源のチューニングも重要であるため、実験光学系によるレーザーの検討に着手した。

それぞれの研究開項目について、計画通り或いは計画以上に進行しており、開発初年度として良いスタートが切れたと考えている。

Our project aims to develop Ultra-high-speed three-dimensional (3D) image analysis system by Artificial Intelligence (AI) using 3D image of optical cleared tissue for advanced diagnostic imaging in clinical histopathological assessment and drug discovery. We develop a prototype device of automatic tissue clearing and imaging system, and complete prototype program of 3D image analyzing system.

In this fiscal year, we established our research framework for efficient acquisition of high quality imaging data by setting up the same confocal laser microscopy in 3 sites, The University of Tokyo, Eisai Co., Ltd. and KAN Research Institute, Inc. This microscopy is going to be developed as a prototype of imaging system in The University of Tokyo.

In order to improve tissue clearing technology "LUCID", we found optimal delipidation condition using animal tissue. Since combination of delipidation and antigen retrieval method improved imaging depth by using two-photon microscopy, we tentatively defined this condition as optimal staining method. Eisai and KAN made transparent samples of mouse colon cancer model and acquired more than 20 fields of z-stack images in the tumor and normal tissue. These images were analyzed by AI.

Development of a AI-based diagnostic system has been started by using image data taken in this project. More than 6000 of 2D images from mouse colon cancer model were used to evaluate performances of two deep learning algorithms. Both algorithms demonstrated 98~99% accuracy.

This results suggest that these algorithms are useful for analysis of tissue/pathological images. Furthermore, we have started evaluation of 3D image analysis.

For efficient image data management system, we defined requirements of the system that can manage and store image data and sample information.

We also started to apply tissue clearing technology for histopathological assessment of clinical gastrointestinal specimen. By applying of LUCID to stored paraffin-embedded samples, we successfully acquired 3D images of tumor or normal tissue of esophagus, stomach and colon endoscopic treatment specimens. We also confirmed LUCID do not to affect HE staining and immunostaining. It enables to acquire 3D images of clinical samples efficiently by using of stored precious clinical specimens.

In the development of automated tissue clearing system, we made prototypes of sample cassette which can be used for tissue clearing as well as the imaging of multiple samples. In order to develop the multi-sample automatic imaging system, multi-photon microscope was moved next to the confocal microscope that is being used for the development of prototype system. It enabled us to compare images acquired by different optical system and to render the development quicker and more efficient. We acquired an objective lens optimized for "LUCID" from a manufacturer, which resulted in improved resolution and depth of field. We also started optimization and cost-lowering of the laser light source aiming at quicker image acquisition and better depth of field.

We made better progress in each research item than planned and thought we've gotten off to a good start in first year.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Transparentization technology enables us to reconstruct three-dimensional histopathological structure of gastrointestinal mucosa non-destructively: a porcine model study. Poster presentation, Mizutani H, Ono S, Ushiku T et al., UEGW 2016, Vienna, 17 th/Oct/2016.
2. Transparentization technology enables us to reconstruct three-dimensional histopathological structure of gastrointestinal mucosa non-destructively: a porcine model study. Oral presentation, Ono S, Mizutani H, Ushiku T et al., APDW 2016, Kobe, 5<sup>th</sup>/Nov/2016.
3. 消化管粘膜病理評価における組織透明化技術の応用に関する動物モデルを用いた検討. 口演, 小野敏嗣, 小野寺宏, 水谷浩哉, 他, 第 93 回日本消化器内視鏡学会総会, 大阪, 12<sup>th</sup>/May/2017.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願  
該当なし