

特集：最先端医療を支える病理学

AI と分子病理学の新展開

常山 幸一^{1,2)}, 森本 友樹¹⁾, 加地 将真³⁾, 尾矢 剛志²⁾¹⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部疾患病理学分野²⁾同 分子病理学分野³⁾徳島大学医学部医学科

(令和2年3月9日受付) (令和2年3月17日受理)

形態学を基本とした従来の病理診断に、分子生物学的手法を取り入れた病理診断を分子病理診断という。がん遺伝子やがん抑制遺伝子に由来する蛋白質を特異的な抗体で検出する免疫染色法や、蛍光標識した核酸プローブを用いて標的とする遺伝子の増幅を調べる FISH 法などはすでに臨床の現場で広く使用されており、患者のがん細胞に特有の分子の異常を調べて、それに応じて適切な分子標的薬を使用するためのコンパニオン診断等に活かされている。近年では次世代シーケンサーを用いたゲノム解析の病理診断への応用も可能となり、遺伝子パネル検査の導入が進むなど、がんゲノム医療は急速に拡大・進化している。また、血液など採取の際の侵襲の少ないサンプルから蛋白質や DNA, microRNA やメチル化 DNAなどを検出するリキッドバイオプシーの技術など新しい技術も病理診断に取り入れられつつあり、これら大量の情報を適切に病理診断に反映させるために、人工知能 (AI) の応用も世界中で研究が進められている。

このような医療を取り巻く状況の変化に対応するため、日本病理学会では分子病理専門医の認定制度が新たに設けられた。徳島大学でも、本年1月より病態病理学分野を分子病理学分野と改め、若き分子病理医の育成に注力している。本稿では疾患病理学分野・分子病理学分野が現在取り組んでいる迅速質量分析 (PESI-MS) や AI を用いた細胞診の診断補助法の開発について紹介する。

病理を取り巻く状況と徳島大学の対応

病理医は臨床医からの依頼を受けて患者検体 (組織や細胞) を顕微鏡等で詳細に観察し、形態学的な視点から病理診断を行っている。画像検査や生化学検査等の発達により臨床診断の精度は飛躍的に向上しているが、病理診断は依然として最終診断と位置づけられており、病理に提出される検体数も増加の一途にある。しかしながら、日本の病理医数はアメリカの約1/5 (人口10万人当たりの病理医数: 米国7.9人, 日本1.4人) であり、病理医は絶対的に不足している (2019年8月7日現在の病理専門医数は2539名, 徳島には18名)¹⁾。アメリカでは病理診断医の多くが臓器別に専門特化することが多いが、日本では一人の病理医が全臓器の診断を担当する状況であり、少ない病理医が難解例や希少例、新しい診断に対応せざるを得ない状況が続いている。さらに近年ではゲノム診療の急速な拡大と技術の進歩に併せて病理診断もより高度化、多角化が求められている。日本病理学会ではがんゲノム医療の推進に適切に対応できる病理医の養成を目指し、2020年より分子病理専門医制度を開始することとなった。この制度は、ゲノム診療の適切な推進には豊富な知識を有する病理医の関与が必要不可欠であるとの考えに基づくものであり、検体を適切に取り扱い、結果を正確に診断し、体細胞遺伝子変異の検索法に習熟し、次世代シーケンサーなどの遺伝子検査技術を理解できる医師の養成が求められている。このような病理を取り巻く

状況の変化と社会の要請に応えるため、徳島大学では2020年1月に従来の病態病理学分野を分子病理学分野と改称し、分子病理医の重点的な育成に取り組む体制を構築した。また、少ない病理医が効率的に業務を行えるように病院間でネットワークを介して病理画像を共有するなどの試みも開始し、大学に所属する病理医が県内の病院の病理医と協力・連携して若手病理医のリクルートや育成に取り組んでいる。

AI 病理診断の現状と課題

病理医の業務の軽減に、人工知能（AI）の応用が世界中で試みられており、乳がんや肺がん等の病理診断への有用性が報告されている²⁻⁴）。リンパ節転移を迅速に見出す技術ではAIの正確さと迅速さは病理医を超えたとの報告もある⁵）。日本病理学会ではヴァーチャルスライド画像を大量に集積して、がんの診断支援AIの開発に取り組んでおり、東京大学では類似した病理画像を簡便に抽出し、遺伝子変異情報を紐付けて解析するAIプラットフォームであるLuigiを開発して公開している（<https://luigi-pathology.com>）。今後、病理診断支援技術の1つとして、AIの活用は確実に広がっていくと期待されるが、現状では「AIが使える症例」はかなり限定的である。病理組織像は非常に多くの細胞の複雑な集合体で構成されており、個々の細胞の形状は正常でも生理的に変化しうる。さらに、炎症や変性といった変化が加わると組織像はより複雑になることから、現状のAI病理診断は比較的認識が容易な「がん」を標的としたものが多く、炎症や再生といった病態の認識や評価を目的としたAI診断技術の報告はほとんどない。さらに、がん細胞の形状も一定ではなく、正常細胞と形態的に殆ど差がないような異型に乏しいがんも存在する。AIにがんを教える際には、誰もが「がん」と認識できるものが選択され、境界的な形態で「がん」か「再生による異型」かの判断に迷うものは教師データとしては用いられないことから、このような方法で作られたAIでは、「誰もがわかるがんを早く確実に見つける」ことができて、

われわれ病理医が日常の病理診断でしばしば遭遇するような、「がんとするか、正常のバリエーションの範疇とするか迷う症例」の判断には無力であり、症例を多数積み重ねてもこの課題は解決できないと考えられる。今後AIが病理診断支援技術として活用されていくことは疑いないが、病理医にはAIの限界を認識した上で、適切に使いこなすことが求められる。

われわれの取り組みの紹介

組織診断は細胞個々の異型である「細胞異型」と、個々の細胞が織りなす形態の異型である「構造異型」を総合して判定を行っているが、細胞診では主に細胞異型が悪性の判断の指標になる。われわれはよりシンプルな評価系が可能である細胞診に注目し、AIを用いた形態診断と、迅速質量分析のデータを用いたがん診断法の開発に取り組んでいる。

1 尿細胞診のAI診断

尿細胞診は尿中に出現する細胞の形態を観察し、不適正、陰性、異型細胞、がん疑い、がん、に分類する形態診断である⁶）（表1）。異型細胞の定義は①核クロマチン増量（核濃染）、②核形不整、③N/C比大、④核偏在、⑤核種大、であり、これらを総合して形態に準じた診断が行われる。われわれはクラス3以上の109症例をtraining setとしてAIに深層学習させ、次いで48症例をtest setとしてAIに自動診断させて細胞検査士、トレーニングをした医学生、細胞診専門医の結果と比較した。AIによる機械判定の一部（図1）と、Test setにおける診断結果を示す（表2）。AIではがん疑い、とがんを同じグループとして診断しているが、異型細胞の拾い上げには一定の効果を発揮していることがわかった。その一方でAIでは異型細胞の見落としも生じており、見落とし例では単体で出現している異型細胞が認識されていなかった。今回使用したtraining setには単体で出現する異型細胞が殆ど含まれていなかったことが原因の1つと考えられ、今後は単体で出現する異型細胞の学習を増やすことで、

より診断精度の向上が期待される。

2 迅速質量分析を用いた肺がん診断

探針エレクトロスプレーイオン化質量分析計 (Probe Electro Spray Ionization-Mass Spectrometry : PESI-MS) はサンプルに針を刺すことでイオン化した物質の質量スペクトルを迅速に獲得することができる新しい迅速質量分析装置である^{7,8)}。われわれは肺の扁平上皮がん、腺

がん、小細胞がん、正常気道上皮細胞、悪性中皮腫、正常胸膜細胞の培養細胞株をそれぞれ3-4種類入手し、PESI-MS解析によって得られたスペクトルをPLS-DA (partial least squares regression) 解析で二次元化した。その結果、正常細胞と悪性細胞は離れた部位にプロットされ、両者の鑑別が可能となる可能性が示された(図3)。また、がんの組織型も同様のものは近接し、異なる組織型のものそれぞれが比較的離れた部位に位置する傾向が見られた。PESI-MS解析により標本の形態を見ることなく良悪性の判定や、組織型の推定が可能となると期待されるが、培養細胞とは異なり、実際の細胞診検体では多くの良性細胞の中に少数のがん細胞が存在するケースが殆どである。このような場合、PESI-MS解析では良性のシグナルに悪性のシグナルが埋没することから、実際の運用では細胞診標本で悪性細胞を確認し、その細胞を狙い撃ちする解析手法の確立が必要である(図3)。

表1 尿細胞診の分類とがんの発見率の参考値

旧分類	新分類	がんのリスク*
クラス1, 2	不適正 陰性	~5%
クラス3	異型細胞	15%程度
クラス4	がん疑い	70~95%程度
クラス5	がん	95%~

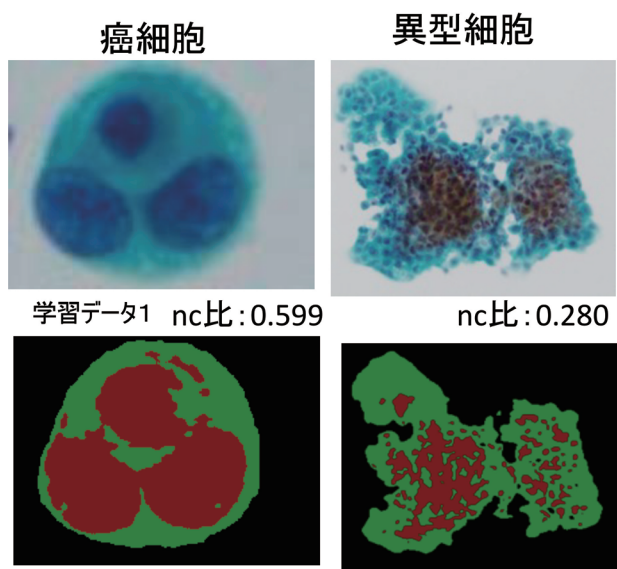


図1 AIによる尿細胞診のN/C比判定

おわりに

病理医は医療の質の番人であり、後進の育成指導と並行して、自身の知識の継続的なアップデートも必要である。全国的に不足している病理医が効率的に業務を行うためには、ネットワークの構築による相互協力体制の構築に加えて、AIに代表される新技術の積極的な導入が重要である。

文 献

- 1) 日本病理学会 HP : <http://pathology.or.jp/senmoni/>

表2 Test-Setにおける診断結果と12ヵ月以内のがん発見率

分類	医学生	細胞検査士	細胞診専門医	AI
陰性 (Good)	0% (0/1)	0% (0/0)	9% (1/11)	30% (3/10)
異型細胞 (Doubt)	50% (12/24)	60% (21/35)	73% (8/11)	76% (25/33)
がん疑い (Bad)	93% (13/14)	100% (6/6)	91% (10/11)	80% (4/5)
がん (Bad)	100% (9/9)	100% (7/7)	100% (15/15)	

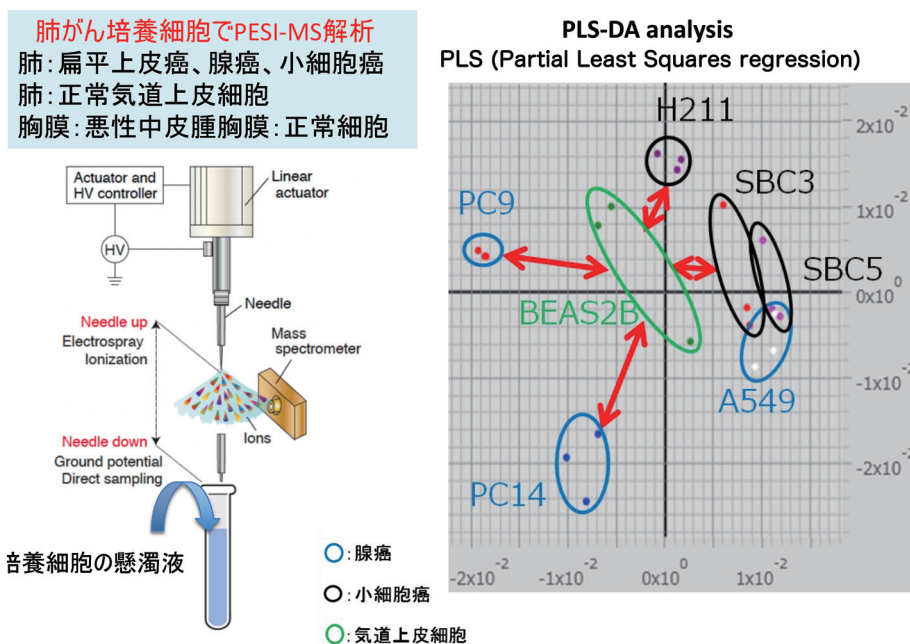


図2 PESI-MS 解析の概要, および代表的な培養細胞の解析スペクトルのPLS-DA 解析

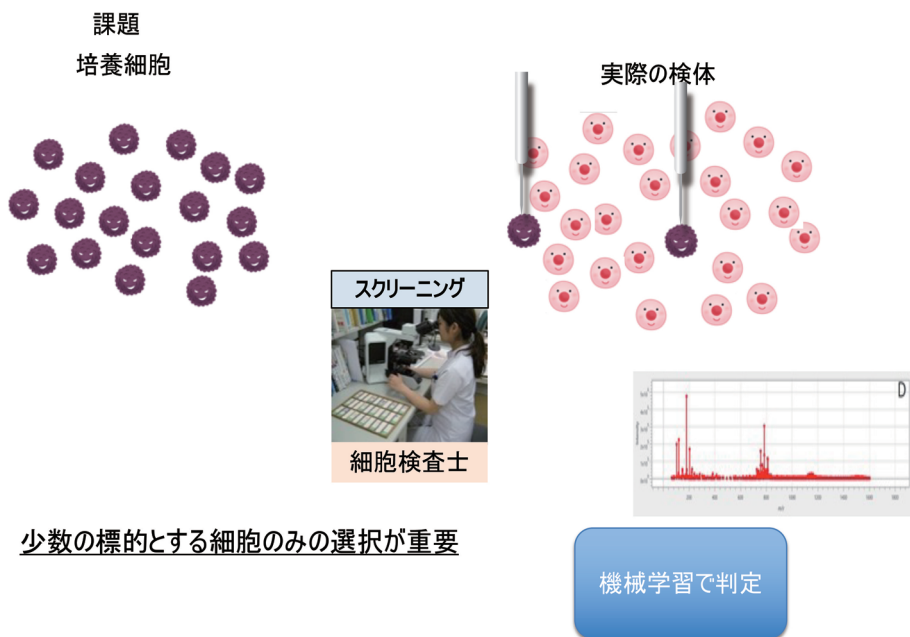


図3 実際の細胞診に PESI-MS 解析を行う工夫

board-certified.html

2) Ibrahim, A., Gamble, P., Jaroensri, R., Abdelsamea, M. M., *et al.* : Artificial intelligence in digital breast pathology: Techniques and applications. Breast,

Feb : 49 : 267-273, 2020

3) Wang, S., Yang, D. M., Rong, R., Zhan, X., *et al.* : Artificial Intelligence in Lung Cancer Pathology Image Analysis. Cancers (Basel), Oct 28 ; 11(11).

- pii : E1673, 2019
- 4) Serag, A., Ion-Margineanu, A., Qureshi, H., McMillan, R., *et al.*: Translational AI and Deep Learning in Diagnostic Pathology. *Front Med (Lausanne)*., Oct 1 ; 6 : 185, 2019
 - 5) Steiner, D. F., MacDonald, R., Liu, Y., Truszkowski, P., *et al.*: Impact of Deep Learning Assistance on the Histopathologic Review of Lymph Nodes for Metastatic Breast Cancer. *Am J Surg Pathol.*, Dec : 42(12) : 1636-1646, 2018
 - 6) Mikou, P., Lenos, M., Papaioannou, D., Vrettou, K., *et al.*: Evaluation of the Paris System in atypical urinary cytology. *Cytopathology.*, Dec ; 29(6) : 545-549, 2018
 - 7) Johno, H., Yoshimura, K., Mori, Y., Kimura, T., *et al.*: Detection of potential new biomarkers of atherosclerosis by probe electrospray ionization mass spectrometry. *Metabolomics.*, Feb 27 ; 14(4) : 38, 2018
 - 8) Yoshimura, K., Chen, L. C., Johno, H., Nakajima, M., *et al.*: Development of Non-proximate Probe Electrospray Ionization for Real-Time Analysis of Living Animal. *Mass Spectrom (Tokyo)*. 3(Spec Iss 3) : S0048, 2014

Progress of Artificial Intelligence and Molecular Pathology

Koichi Tsuneyama^{1,2)}, Yuki Morimoto²⁾, Shoma Kaji³⁾, and Takeshi Oya²⁾

¹⁾*Department of Pathology and Laboratory Medicine Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University, Tokushima, Japan*

²⁾*Department of Pathology and Molecular Pathology Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University, Tokushima, Japan*

³⁾*Faculty of Medicine, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima, Japan*

SUMMARY

A pathological diagnosis that incorporates a molecular biology technique into a conventional pathological diagnosis based on morphology is called a molecular pathological diagnosis. Immunostaining, which detects proteins derived from oncogenes and tumor suppressor genes with specific antibodies, and FISH, which uses a fluorescently labeled nucleic acid probe to examine the amplification of a target gene, are already in clinical practice. In recent years, the application of genome analysis using a next-generation sequencer to pathological diagnosis has become available, and cancer genomic medicine has been rapidly expanding and evolving. In addition, new technologies such as liquid biopsy technology that detects proteins, DNA, microRNA, methylated DNA, etc. from samples that are less invasive at the time of collection, such as blood, are being incorporated into pathological diagnosis. The application of artificial intelligence (AI) is being studied around the world to reflect the diagnosis. This article introduces the application of rapid mass spectrometry (PESI-MS) to liquid biopsy and the development of diagnostic aids for urine cytology using AI.

Key words : artificial intelligence, molecular pathology, mass spectrometry, cytology, liquid biopsy