

氏名 あかし たかひさ
明石 堯久

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第 404 号

学位授与年月日 令和 5 年 3 月 23 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院医学薬学教育部 博士課程
生命・臨床医学専攻

学位論文題目 人工知能アルゴリズムを用いた食道癌患者における血中循環腫瘍細胞の検出
(The use of artificial intelligence algorithm in detection of
circulating tumor cells in esophageal cancer patients)

論文審査委員

(主査) 教授 安田 一朗
(副査) 教授 平林 健一
(副査) 教授 野口 誠
(副査) 教授 高岡 裕
(指導教員) 教授 藤井 努

様式2

論 文 要 旨

論 文 題 目

人工知能アルゴリズムを用いた
食道癌患者における血中循環腫瘍細胞の検出

氏 名 明石 堯久

備考 ① 論文要旨は、2,000字程度とする。

② A4判とする。

〔目的〕

近年、食道扁平上皮癌 (ESCC) に対する集学的治療の進歩にも関わらず、治療後に再発や遠隔転移をきたし、その治療成績は不良である。様々な癌腫において、血中循環腫瘍細胞 (CTC) は原発巣の細胞生物学的特徴を反映しており遠隔転移と密接に関連していることが明らかになってきている。食道癌において、CTCは遠隔転移だけでなく治療効果や予後の予測因子としても考えられている。しかし、CTCは複数のマーカーを発現していることから、細胞病理学的な不均一性を持ち、その検出は複雑で時間を要するものとなっている。

本研究では、畳み込みニューラルネットワーク (CNN) を用いた人工知能 (AI) アルゴリズムを構築し、ESCC細胞株および臨床検体を用いて短時間で施行可能なCTC検出法を確立する。

〔方法並びに成績〕

AIによるESCC細胞と健常人血液細胞の画像識別精度を比較するために、ヒト食道扁平上皮癌細胞株 (KYSE30、KYSE140、KYSE520、KYSE1440) と健常人ボランティアの末梢血単核細胞を用いて、細胞核をDAPIで染色を行い、細胞接着分子であり上皮特異的細胞表面マーカーとなるEpCAM (epithelial cell adhesion molecule) 染色を行った画像を用いて評価を行った。1種類のKYSEと健常人血液細胞の画像でAIに事前学習を行った後に、KYSE株4種類および健常人血液細胞の画像を評価させた。事前学習と同種の細胞を用いた場合ではKYSE30 : 99.9%、KYSE140 : 99.8%、KYSE520 : 99.8%、KYSE1440 : 100%の精度で細胞画像を識別した。事前学習に用いた細胞株と別種の細胞株の画像を用いた評価でも、いずれの組み合わせにおいても細胞株と健常人血液細胞を識別する特異度は99.6%以上であった。一方で、感度は20.4%~100%と幅があり、事前学習で用いた細胞株と評価する細胞株の組み合わせに依存する結果となった。KYSE30とKYSE520ではEpCAMの発現に著しい違いがあるにもかかわらず、KYSE30は99.8%の精度で健常人血液細胞と識別され、逆にKYSE520は99.8%の精度で健常人血液細胞と識別された。これはEpCAMとDAPI以外の未知の要素で細胞の識別を行っていることが示唆された。

次にAIと人間の細胞検出力を比較するため、KYSE140と健常人血液細胞のDAPI染色画像3枚をAIおよび3人に外科医に提供して、細胞株として認識するDAPI陽性領域の数とその解析に要する時間の比較を行った。KYSE140の画像の場合、AIが平均 1335.3 ± 168.6 個、外科医が平均 1246.1 ± 113.0 個の細胞を検出したが、統計学的有意差は認めなかった ($p=0.71$)。健常人血液細胞の画像を用いた場合、AIは平均 425.6 ± 29.1 個、外科医は平均 387.7 ± 45.6 個の細胞を検出したが、こちらも統計学的有意差は

認められなかった ($p=0.58$)。一方で解析時間は、KYSE140の場合、AIは 4.9 ± 0.3 秒、外科医は 591.4 ± 62.4 秒であり、統計学的有意差を認めた ($p=0.016$)。健常人血液細胞の場合、AIは 4.9 ± 0.3 秒、外科医は 243.3 ± 18.8 秒であり、こちらも統計学的有意差を認めた ($p=0.016$)。これらの結果より、AIと人間の細胞検出精度が同等かつAIは短時間で解析が可能であることが示された。

さらに、AIと外科医の画像識別精度を比較するため、DAPIおよびEpCAMで染色を行ったKYSE140と健常人血液細胞で事前学習を行ったAIと4人の外科医が、計100枚 (KYSE140 50枚、健常人血液細胞 50枚) の画像セットを3セット用いて画像評価を行った。AIの平均精度は100%、外科医の平均精度は91.8%であり統計学的有意差を認めた ($p=0.011$)。画像解析に要した時間はAIが平均0.7秒、外科医が平均630.4秒であり、こちらも統計学的有意差を認めた ($p=0.012$)。

当院で2022年1月から10月の間に治療を行った食道扁平上皮癌患者10名とヘルシーボランティア5名の血液検体を用いて、アルゴリズムで処理を行った画像から検出されたCTC候補細胞の平均数は患者群で平均 44.5 ± 20.9 個、健常人ボランティア群で 2.4 ± 0.8 個と患者群で有意に多かった ($p=0.019$)。これは過去に報告されている数と同等であった。

〔総括〕

今回、新たに構築した CNN ベースの AI アルゴリズムが、人間と比較して短時間で解析を行い、高い精度で食道癌細胞と健常人末梢血細胞の識別に有用であった。

様式 8

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

報 告 番 号	富医薬博甲第 号 富医薬博乙第 号	氏 名	明石 堯久
論文審査委員	職 名 (主査) 教 授 (副査) 教 授 (副査) 教 授 (副査) 教 授	氏 名 安田 一朗 平林 健一 野口 誠 高岡 裕	
指導（紹介）教員	教 授	藤井 努	
(論文題目) 人工知能アルゴリズムを用いた食道癌患者における血中循環腫瘍細胞の検出 (The use of artificial intelligence algorithm in detection of circulating tumor cells in esophageal cancer patients)			(判定) 合格
(論文審査の要旨) 【目的】 食道扁平上皮癌(ESCC)は、近年集学的治療の進歩がみられるものの、治療後の再発や遠隔転移によってその治療成績は依然として不良である。一方、血中循環腫瘍細胞(CTC)は、様々な癌腫において原発巣の細胞生物学的特徴を反映しており、遠隔転移と密接に関連していることが明らかとなっている。また、食道癌においては遠隔転移だけでなく治療効果や予後の予測因子としても考えられている。ただし、CTCは複数のマーカーを発現しているため細胞病理学的な不均一性を持ち、その検出は複雑で時間を要する。 本研究において明石堯久氏は、畳み込みニューラルネットワーク(CNN)を用いた人工知能(AI)アルゴリズムを構築し、ESCC細胞株および臨床検体において短時間でCTCを検出できる方法について検討した。 【方法および結果】 明石氏は、AIによるESCC細胞と健常人血液細胞の画像識別精度を比較するため、ヒト食道扁平上皮癌細胞株(KYSE30、KYSE140、KYSE520、KYSE1440)と健常人ボランティアの末梢血単核細胞を膜蛋白については上皮特異的細胞表面マーカーとなる細胞接着分子EpCAM(epithelial cell adhesion molecule)染色を、細胞核についてはDAPI染色を行い、その画像を評価した。4種のうち1種のKYSEと健常人血液細胞の画像でAIに事前学習を行った後に、KYSE株4種および健常人血液細胞の画像を評価させたところ、事前学習と同種の細胞を用いた場合ではKYSE30:99.9%、KYSE140:99.8%、KYSE520:99.8%、KYSE1440:100%の精度で細胞画像を識別した。また、事前学習に用いた細胞株と別種の細胞株の画像を用いた評価においても、いずれの組み合わせも細胞株と健常人血液細胞を識別する特異度は99.6%以上であった。一方で、感度は20.4%~100%と幅があり、事前学習で用いた細胞株と評価する細胞株の組み合わせに依存する結果となった。KYSE30と			

EpCAMの発現に著しい違いがあるにもかかわらず、KYSE30は99.8%の精度で健常人血液細胞と識別され、逆にKYSE520は99.8%の精度で健常人血液細胞と識別された。これはEpCAMとDAPI以外の未知の要素で細胞の識別が行われていることを示唆した。

明石氏は、次にAIと人間の細胞検出力を比較するため、KYSE140と健常人血液細胞のDAPI染色画像3枚をAIおよび3人の外科医に提供し、細胞株として認識するDAPI陽性領域の数とその解析に要する時間の比較を行ったところ、KYSE140の場合、AIが平均1335.3±168.6個、外科医が平均1246.1±113.0個の細胞を検出したが、統計学的有意差は認めなかった (p=0.71)。健常人血液細胞の画像を用いた場合、AIは平均425.6±29.1個、外科医は平均387.7±45.6個の細胞を検出したが、こちらも統計学的有意差は認められなかった (p=0.58)。一方、解析時間は、KYSE140の場合、AIは4.9±0.3秒、外科医は591.4±62.4秒であり、統計学的に有意な差を認めた (p=0.016)。健常人血液細胞の場合、AIは4.9±0.3秒、研究者は243.3±18.8秒であり、こちらも統計学的に有意な差を認めた (p=0.016)。これらの結果より、AIと人間の細胞検出精度は同等であるが、AIの方が格段に短時間で解析可能であることが示された。

明石氏は、さらにAIと外科医の画像識別精度を比較するため、DAPI染色およびEpCAM染色を行ったKYSE140と健常人血液細胞で事前学習を行ったAIと4人の外科医が、計100枚 (KYSE140 50枚、健常人血液細胞 50枚) の画像セットを3セット用いて画像評価を行った。AIの平均精度は100%、外科医の平均精度は91.8% (p=0.011)、画像解析に要した時間はAIが平均0.7秒、研究者が平均630.4秒であり (p=0.012)、いずれも統計学的有意差を認めた。

また、富山大学附属病院で2022年1月から10月の間に治療を行った食道扁平上皮癌患者10名とヘルシーボランティア5名の血液検体を用いて、アルゴリズムで処理を行った画像から検出されたCTC候補細胞をカウントすると、その平均数は患者群で平均44.5±20.9個、健常人ボランティア群で2.4±0.8個と患者群で有意に多く (p=0.019)、過去に報告されている数と同等であった。

【総括】

今回、新たに構築したCNNベースのAIアルゴリズムは、高精度かつ極めて短時間での食道扁平上皮癌のCTC検出を可能とした。

以上のことから、明石氏が行った本研究は、新たに構築したCNNベースのAIアルゴリズムによって、高精度かつ短時間での食道扁平上皮癌におけるCTC検出を可能とした点において新規性があり、医学における学術的重要性も高く、今後さらに精度を高めていくことによって食道扁平上皮癌症例の遠隔転移や予後の予測、治療効果の予測など実臨床で利用できる可能性があり、臨床的発展性が期待できる。

以上より本審査会は本論文を博士 (医学) の学位に十分値すると判断した。