

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6692049号
(P6692049)

(45) 発行日 令和2年5月13日(2020.5.13)

(24) 登録日 令和2年4月16日(2020.4.16)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 21/17 (2006.01)	GO 1 N 21/17 A
GO 1 N 15/14 (2006.01)	GO 1 N 15/14 D
GO 1 N 21/41 (2006.01)	GO 1 N 15/14 C
	GO 1 N 21/41 Z

請求項の数 8 (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2016-538314 (P2016-538314)	(73) 特許権者 504300181 国立大学法人浜松医科大学 静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号
(86) (22) 出願日 平成27年7月23日(2015.7.23)	
(86) 国際出願番号 PCT/JP2015/071023	(73) 特許権者 000236436 浜松ホトニクス株式会社 静岡県浜松市東区市野町1126番地の1
(87) 国際公開番号 W02016/017533	(74) 代理人 100088155 弁理士 長谷川 芳樹
(87) 国際公開日 平成28年2月4日(2016.2.4)	(74) 代理人 100113435 弁理士 黒木 義樹
審査請求日 平成30年5月17日(2018.5.17)	(74) 代理人 100140442 弁理士 柴山 健一
(31) 優先権主張番号 特願2014-153651 (P2014-153651)	(74) 代理人 100124291 弁理士 石田 悟
(32) 優先日 平成26年7月29日(2014.7.29)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国(JP)	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 識別装置および識別方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する特徴量抽出部と、
種別が既知である既知細胞の光学的厚み分布の画像について前記特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行った学習結果を記憶する記憶部と、
前記記憶部により記憶されている学習結果を用いて、種別が未知である未知細胞の光学的厚み分布の画像について前記特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて未知細胞の種別を判定する識別部と、
を備え、

未知細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する際、または、未知細胞の種別を判定する際に、前記記憶部により記憶されている学習結果を用いるとともに、

前記特徴量抽出部が、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出し、前記光学的厚みの空間的变化量に関する情報は、前記光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの傾き情報を表すベクトルの勾配強度および勾配方向の双方または何れか一方である、
識別装置。

【請求項2】

既知細胞の光学的厚み分布の画像について前記特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行う学習部を更に備え、

前記記憶部が、前記学習部による機械学習の学習結果を記憶する、

請求項 1 に記載の識別装置。

【請求項 3】

前記特徴量抽出部は、前記記憶部により記憶されている学習結果を用いて、前記未知細胞の光学的厚み分布の画像内において前記特徴量を抽出する領域を少なくとも 1 つ設定する、請求項 1 または 2 に記載の識別装置。

【請求項 4】

種別が未知である未知細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を特徴量抽出部により抽出する第 1 特徴量抽出ステップと、

種別が既知である既知細胞の光学的厚み分布の画像について前記特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行って記憶部により記憶された当該学習結果を用いて、前記第 1 特徴量抽出ステップにおいて抽出された特徴量に基づいて未知細胞の種別を判定する識別ステップと、

を備え、

未知細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する際、または、未知細胞の種別を判定する際に、前記記憶部により記憶されている学習結果を用いるとともに、

前記特徴量抽出部により、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出し、前記光学的厚みの空間的变化量に関する情報は、前記光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの傾き情報を表すベクトルの勾配強度および勾配方向の双方または何れか一方である、

識別方法。

【請求項 5】

既知細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を前記特徴量抽出部により抽出する第 2 特徴量抽出ステップと、

前記第 2 特徴量抽出ステップにおいて抽出された特徴量に基づいて機械学習を行い、その学習結果を前記記憶部に記憶させる学習ステップと、

を更に備える、請求項 4 に記載の識別方法。

【請求項 6】

前記第 1 特徴量抽出ステップは、前記記憶部により記憶された学習結果を用いて、前記未知細胞の光学的厚み分布の画像内において前記特徴量を抽出する領域を少なくとも 1 つを設定する、請求項 4 または 5 に記載の識別方法。

【請求項 7】

前記細胞として白血球およびがん細胞を含む、請求項 4 ~ 6 の何れか一項に記載の識別方法。

【請求項 8】

前記特徴量抽出部により、溶血剤を添加した細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する、請求項 7 に記載の識別方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の一側面は、対象物の光学的厚み分布の画像を用いて対象物を識別する識別装置および識別方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

対象物の識別は、一般に、その大きさ、形状または色に基づいて行われ得る。しかし、例えば白血球およびがん細胞のように、3 次元的形状を有し、それらの大きさ及び形状について大きな違いがなく何れも無色透明である場合には、明視野顕微鏡により得られた画像では対象物を識別することができない。また、位相差顕微鏡や微分干渉顕微鏡は、無色透明な細胞を可視化するために用いられるが、光学的厚みに対する定量性が欠落している。また、これらの顕微鏡は、使用する対物レンズによっては、その焦点深度が細胞の厚み以下であるので、細胞が 3 次元的な構造をもつにも関わらず、2 次元的な情報しか得られ

10

20

30

40

50

ず、前記対象物を識別することができない。

【0003】

原発腫瘍組織または転移腫瘍組織から遊離し血液中に浸潤した細胞は、血中循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cells) と呼ばれる。このCTCは固形がん患者の抹消血液中に極微量に存在し転移に関わるとされ、近年研究が盛んに行われている。一方で、抹消血液中の有核細胞はその殆どが白血球であるため、白血球とがん細胞とを識別することが重要となる。

【0004】

血中循環腫瘍細胞の臨床応用では、乳がん患者において全血7.5mL中に血中循環腫瘍細胞が5個未満であれば1年後の死亡率が19%であり、血中循環腫瘍細胞が5個以上であれば1年後の死亡率が53%であった、と報告されている。このように、血中循環腫瘍細胞を識別し検査することは、予後の予測に役立つ等、臨床応用価値が高いと考えられる。

10

【0005】

特許文献1に開示された発明は、明視野像を得る光学系により細胞の画像を取得し、その画像の特徴パラメータ (大きさ、色情報、円形度など) を抽出し、その特徴パラメータに基づいて細胞を識別するものである。また、この発明は、細胞の識別に際して、ニューラルネットワークを用いてパターン認識処理を行う。

【先行技術文献】

【特許文献】

20

【0006】

【特許文献1】特許第5470625号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

特許文献1に開示された発明は、明視野像を得る光学系により取得した対象物の画像に対してパターン認識処理を行うことにより該対象物を識別するものであることから、例えば白血球およびがん細胞のように3次元形状を有し、それらの大きさ、形状および色の何れについても大きな差異がない対象物 (位相物体) を識別することができない。

【0008】

30

本発明の一側面は、上記問題点を解消する為になされたものであり、3次元形状を有し、大きさ及び形状について大きな特徴がなく無色透明である対象物であっても該対象物を識別することができる装置および方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明の一側面による識別装置は、(1)細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する特徴量抽出部と、(2)種別が既知である細胞 (以下「既知細胞」という) の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行った結果を記憶する記憶部と、(3)記憶部により記憶されている学習結果を用いて、種別が未知である細胞 (以下「未知細胞」という) の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて未知細胞の種別を判定する識別部と、を備え、未知細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する際、または、未知細胞の種別を判定する際に、記憶部により記憶されている学習結果を用いるとともに、特徴量抽出部が、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出し、光学的厚みの空間的变化量に関する情報は、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの傾き情報を表すベクトルの勾配強度および勾配方向の双方または何れか一方である。

40

【0010】

本発明の一側面による識別方法は、(1)種別が未知である細胞 (以下「未知細胞」という) の光学的厚み分布の画像の特徴量を特徴量抽出部により抽出する第1特徴量抽出

50

トップと、(2)種別が既知である細胞(以下「既知細胞」という)の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行って記憶部により記憶された当該学習結果を用いて、第1特徴量抽出ステップにおいて抽出された特徴量に基づいて未知細胞の種別を判定する識別ステップと、を備え、未知細胞の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する際、または、未知細胞の種別を判定する際に、記憶部により記憶されている学習結果を用いるとともに、特徴量抽出部により、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出し、光学的厚みの空間的变化量に関する情報は、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの傾き情報を表すベクトルの勾配強度および勾配方向の双方または何れか一方である。

10

【発明の効果】

【0011】

本発明の一側面によれば、3次元形状を有し、大きさ及び形状について大きな特徴がなく無色透明である対象物であっても該対象物を識別することができる。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、本実施形態の識別装置1の構成を示す図である。

【図2】図2は、本実施形態の識別方法を説明するフローチャートである。

【図3】図3は、(a)、(b)細胞の構造を模式的に示す図である。

【図4】図4は、(a)、(b)がん細胞の定量位相画像の一例を示す図である。

20

【図5】図5は、(a)、(b)白血球の定量位相画像の一例を示す図である。

【図6】図6は、定量位相画像における $f_x(x,y)$ 、 $f_y(x,y)$ 、 $m(x,y)$ および (x,y) を説明する図である。

【図7】図7は、勾配強度 $m(x,y)$ で重み付けをして求められた勾配方向 (x,y) のヒストグラムの一例を示す図である。

【図8】図8は、溶血剤を添加しなかった白血球を用いて機械学習を行った場合のROC曲線を示す図である。

【図9】図9は、溶血剤を添加した白血球を用いて機械学習を行った場合のROC曲線を示す図である。

【図10】図10は、本実施形態の識別方法の他の例を説明するフローチャートである。

30

【図11】図11は、(a)白血球の構造、及び(b)光学的厚みの傾き情報について模式的に示す図である。

【図12】図12は、(a)がん細胞の構造、及び(b)光学的厚みの傾き情報について模式的に示す図である。

【図13】図13は、白血球とがん細胞とを判別する際、白血球の偽陽性率と真陽性率との関係を示すROC曲線である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

以下、添付図面を参照して、本発明の一側面による識別装置及び識別方法を実施するための形態を詳細に説明する。なお、図面の説明において同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。以下では、対象物として細胞(主に白血球およびがん細胞)について説明するが、他の対象物についても同様である。

40

【0014】

図1は、本実施形態の識別装置1の構成を示す図である。識別装置1は、定量位相画像取得部11、特徴量抽出部12、学習部13、記憶部14および識別部15を備える。

【0015】

定量位相画像取得部11は、対象物(細胞)の定量位相画像を取得する。定量位相画像は、細胞の光学的厚み分布の画像である。光学的厚みは、光の進行方向に沿った物理的長さ(屈折率との積)である。したがって、細胞の物理的長さが空間的に一様であれば、細胞の光学的厚み分布は屈折率分布と等価である。細胞の屈折率が空間的に一様であれば、細

50

胞の光学的厚み分布は物理的長さ分布と等価である。定量位相画像は、1次元画像であってもよいし、2次元画像、3次元画像であってもよい。なお、3次元の定量位相画像は、1次元、2次元の定量位相画像の特別な場合であり、細胞の3次元的な屈折率の空間的分布を表す。すなわち、光学的厚みを特徴づける屈折率と物理的長さとを分離した情報を表す。

【0016】

特徴量抽出部12は、定量位相画像取得部11により取得された細胞の定量位相画像の特徴量を抽出する。特徴量抽出部12は、一定の $m \times n$ 画素からなる定量位相画像により個々の細胞を表し、必要に応じて平滑化处理をした後、該画像の特徴量を抽出する。特徴量は、例えば、光学的厚みの最大値であってもよいし、位置に対する光学的厚みの変化の大きさ（光学的厚みの傾き）に関する情報であってもよい。また、特徴量抽出部12は、後述する記憶部14により記憶されている学習結果を用いて、定量位相画像取得部11により取得された定量位相画像の特徴量を抽出する。

10

【0017】

学習部13は、種別が既知である細胞（既知細胞）の定量位相画像について特徴量抽出部12により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行う。なお、機械学習（Machine Learning）とは、例えば、統計的機械学習であり、教師あり学習（Supervised Learning）、教師なし学習（Unsupervised Learning）、半教師あり学習（Semi-supervised Learning）、強化学習（Reinforcement Learning）、トランスダクション（Transduction）、マルチタスク学習（Multi-task learning）、あるいは深層学習（Deep Learning）などである。例えば、教師あり学習では、既知細胞のデータを訓練データ（training data）、未知細胞のデータをテストデータ（test data）とし、コンピュータに予め訓練データを複数与え、入力されたテストデータに対する正しい出力をするような関数を作る。記憶部14は、その学習部13による機械学習の結果（例えば、機械学習により得られた関数）を記憶する。識別部15は、記憶部14により記憶されている学習結果を用いて、種別が未知である細胞（未知細胞）の定量位相画像について特徴量抽出部12により抽出された特徴量に基づいて未知細胞の種別を判定する。

20

【0018】

定量位相画像取得部11として例えば定量位相顕微鏡が用いられる。特徴量抽出部12、学習部13、記憶部14および識別部15として、例えばプロセッサ及びメモリを含むコンピュータが用いられる。この場合、コンピュータは、プロセッサにより、特徴量抽出部12、学習部13、識別部15としての機能を実行する。また、コンピュータは、メモリや外部記憶装置により、記憶部14の機能を実行する。従って、コンピュータは、特徴量抽出部12、学習部13、記憶部14および識別部15を有する。特徴量抽出アルゴリズムとして、例えばHOG（Histograms of Oriented Gradients）、LBP（Local Binary Pattern）、GLAC（Gradient Local Auto-Correlation）、HLAC（Higher-order Local Auto-Correlation）、Haar-like等が用いられる。また、機械学習アルゴリズムとして、例えばAdaBoost（Adaptive Boosting）、マハラノビス（Mahalanobis）K-means、単純Bayes分類器、決定木、ブースティング、ランダムツリー、期待値最大化（Expectation Maximization）、K近傍、ニューラルネットワーク、多層パーセプトロン（MPL）、サポートベクターマシン（Support vector machine）、深層学習（Deep Learning）等が用いられる。

30

40

【0019】

次に、本実施形態の識別装置1の動作について説明するとともに、本実施形態の識別方法について説明する。図2は、本実施形態の識別方法を説明するフローチャートである。本実施形態の識別方法は、第1画像取得ステップS11、第1特徴量抽出ステップS12、識別ステップS13、第2画像取得ステップS21、第2特徴量抽出ステップS22および学習ステップS23を有する。

【0020】

第2画像取得ステップS21では、多数の既知細胞の定量位相画像を定量位相画像取得

50

部 1 1 により取得する。続く第 2 特徴量抽出ステップ S 2 2 では、これらの既知細胞の定量位相画像の特徴量を特徴量抽出部 1 2 により抽出する。そして、学習ステップ S 2 3 では、学習部 1 3 において、第 2 特徴量抽出ステップ S 2 2 で抽出された特徴量に基づいて機械学習を行い、その学習結果を記憶部 1 4 に記憶させる。なお、識別ステップ S 1 3 において、白血球を識別する場合には、多数の既知細胞は、白血球と白血球以外の細胞の定量位相画像を定量位相画像取得部 1 1 により取得するのが好適である。また、識別ステップ S 1 3 において、がん細胞を識別する場合には、多数の既知細胞は、がん細胞とがん細胞以外の細胞の定量位相画像を定量位相画像取得部 1 1 により取得するのが好適である。

【 0 0 2 1 】

ここで、白血球は、がん患者から採取したものであってもよいし、健常者から採取したものであってもよい。白血球は、溶血剤を添加されたものであってもよい。がん細胞は、採取した血中循環腫瘍細胞であってもよいし、培養したがん細胞であってもよい。

【 0 0 2 2 】

第 1 画像取得ステップ S 1 1 では、未知細胞の定量位相画像を定量位相画像取得部 1 1 により取得する。続く第 1 特徴量抽出ステップ S 1 2 では、この未知細胞の定量位相画像の特徴量を特徴量抽出部 1 2 により抽出する。そして、識別ステップ S 1 3 では、識別部 1 5 において、記憶部 1 4 により記憶されている学習結果を用いて、第 1 特徴量抽出ステップ S 1 2 で抽出された特徴量に基づいて未知細胞の種別を判定する。

【 0 0 2 3 】

次に、細胞の構造について説明するとともに、細胞の定量位相画像および特徴量について説明する。図 3 は、細胞の構造を模式的に示す図である。図 3 には説明の便宜の為に $x y z$ 直交座標系が示されている。細胞 3 0 は、 $x y$ 平面に平行に配置されているプレパラート 4 0 上に載置されている。図 3 (a) は、 $x z$ 平面に平行な細胞 3 0 の断面図を示す。図 3 (b) は、 z 軸に平行な光軸の方向に細胞 3 0 を見た平面図を示す。細胞 3 0 は、中央領域に存在する細胞核 3 1 を細胞質 3 2 が覆っており、その細胞質 3 2 を細胞膜 3 3 が包んだ構造を有している。

【 0 0 2 4 】

図 3 に示されるように、一般的な細胞は、細胞核、細胞質および細胞膜を含む構造を有する。これら細胞核、細胞質および細胞膜の形状や屈折率は、白血球やがん細胞といった細胞の種類によって異なる。また、一般に、正常な細胞ががん細胞へと変化する際、細胞核の大きさや形状が変化していくことが知られている。ただし、血中がん細胞の明確な形状はわかっていないので、以下の説明では、血中がん細胞ではなく、一般的ながん細胞について説明する。

【 0 0 2 5 】

定量位相画像取得部 1 1 を用いたときに光軸方向 (z 方向) に光が細胞内を通過する際、細胞核、細胞質および細胞膜それぞれの屈折率や形状に応じて、光の位相遅れが $x y$ 平面上の各位置によって異なる。定量位相画像取得部 1 1 により取得される定量位相画像は、この位相遅れ分布を表すものであり、細胞の光学的な厚み分布を表すものである。定量位相画像の各画素値は、その画素に対応する $x y$ 位置での光学的な厚みに相当する。このように、定量位相画像は、細胞核、細胞質および細胞膜それぞれの屈折率や形状に応じたものとなる。したがって、細胞の定量位相画像に基づいて、その細胞の種別を判定することができる。

【 0 0 2 6 】

図 4 は、がん細胞 (H e p G 2) の定量位相画像の一例を示す図である。図 5 は、白血球の定量位相画像の一例を示す図である。図 4 (a) 及び図 5 (a) は、定量位相画像を示す。図 4 (b) 及び図 5 (b) は、対応する図の (a) 中に示される破線に沿った細胞の光学的厚みの分布を示す。がん細胞および白血球それぞれの定量位相画像を対比して判るように、両者は、光学的厚みの最大値の点で相違しており、また、光学的厚みの傾きの点でも相違している。そこで、これらを定量位相画像の特徴量として特徴量抽出部 1 2 により抽出すればよい。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 7 】

次に、光学的厚みの傾きについて更に説明する。本実施形態では、定量位相画像の特徴量として光学的厚みの傾き情報を特徴量抽出部 1 2 により抽出して、この傾き情報に基づく画像認識を行うことで、白血球とがん細胞とを識別するのが好適である。傾き情報とは、図 4 (b) および図 5 (b) に示されるように横軸を位置として縦軸を光学的厚みとしたときのグラフの傾きや、 $x y$ 平面におけるベクトルなどの情報を表す。この傾き情報は、細胞表面の傾斜を表すものではなく、細胞を構成する細胞核などの形状や屈折率などの細胞内部の構造を反映したものである。

【 0 0 2 8 】

特徴量抽出部 1 2 において特徴量抽出アルゴリズムとして H O G を用いて細胞の定量位相画像の特徴量として傾き情報を抽出する場合、例えば以下のような特徴量抽出の処理を行う。定量位相画像において位置 (x, y) にある画素の画素値 $I(x, y)$ は光学的な厚みに相当する。定量位相画像において位置 (x, y) にある画素について、 x 方向に近接する 2 つの画素の画素値 $I(x+1, y)$, $I(x-1, y)$ の差 $f_x(x, y)$ を下記 (1) 式により求めるとともに、 y 方向に近接する 2 つの画素の画素値 $I(x, y+1)$, $I(x, y-1)$ の差 $f_y(x, y)$ を下記 (2) 式により求める。

【数 1】

$$f_x(x, y) = I(x+1, y) - I(x-1, y) \quad (1)$$

【数 2】

$$f_y(x, y) = I(x, y+1) - I(x, y-1) \quad (2)$$

【 0 0 2 9 】

$x y$ 平面におけるベクトル $(f_x(x, y), f_y(x, y))$ の大きさ (勾配強度) を、下記 (3) 式により求められる $m(x, y)$ で表す。また、 $x y$ 平面におけるベクトル $(f_x(x, y), f_y(x, y))$ の傾き (勾配方向) を、下記 (4) 式により求められる $\theta(x, y)$ で表す。

【数 3】

$$m(x, y) = \sqrt{f_x^2 + f_y^2} \quad (3)$$

【数 4】

$$\theta(x, y) = \arctan \frac{f_y}{f_x} \quad (4)$$

【 0 0 3 0 】

図 6 は、定量位相画像における $f_x(x, y)$, $f_y(x, y)$, $m(x, y)$ および $\theta(x, y)$ を説明する図である。図 6 は、定量位相画像における細胞の領域を略円形で表し、その領域内の或る点における $f_x(x, y)$, $f_y(x, y)$, $m(x, y)$ および $\theta(x, y)$ の間の関係を説明するものである。

【 0 0 3 1 】

定量位相画像において全画素について勾配強度 $m(x, y)$ および勾配方向 $\theta(x, y)$ を求め、勾配方向 $\theta(x, y)$ のヒストグラムを求める。このとき、勾配強度 $m(x, y)$ で重み付けをする。図 7 は、勾配強度 $m(x, y)$ で重み付けをして求められた勾配方向 $\theta(x, y)$ のヒストグラムの一例を示す図である。細胞の種類によって、このヒストグラムの形状は異なる。したがって、このヒストグラムの形状に基づいて、がん細胞と白血球とを識別することが可能となる。

【 0 0 3 2 】

なお、図 1 0 に示されるように、既知細胞での機械学習の結果を用いて、第 1 特徴量抽出ステップ S 1 2 において、特徴量抽出部 1 2 による未知細胞の特徴量の抽出が可能である。未知細胞の定量位相画像の全画素について特徴量を抽出すると時間がかかるので、既知細胞の機械学習の結果に基づいて、定量位相画像の全画素の中から特徴量を抽出する領

10

20

30

40

50

域（位置や画素）を1つ以上設定することで、細胞の判定にかかる時間を大幅に低減することができる。なお、設定される領域は、定量位相画像を構成する画素を少なくとも1つ含む範囲であればよい。

【0033】

次に、上記のような特徴量を抽出することでがん細胞と白血球とが混在した細胞集団から白血球の識別を行った実施例について説明する。この実施例では、健常者から採取した240個の白血球を既知細胞（ポジティブ細胞）として用いるとともに、71個の培養がん細胞を既知細胞（ネガティブ細胞）として用いて、第2画像取得ステップS21、第2特徴量抽出ステップS22および学習ステップS23を行った。71個の培養がん細胞の内訳は、細胞株名HCT116が18個であり、細胞株名DLD1が21個であり、細胞株名HePG2が7個であり、細胞株名Panc1が25個であった。白血球としては、溶血剤を添加したものと、溶血剤を添加しなかったものを用いた。

10

【0034】

元々150×150画素程度であった各細胞の定量位相画像を、8ビットの白黒画像に変換するとともに、24×24画素、48×48画素または72×72画素のサイズの画像に縮小して、その縮小後の画像を用いて特徴量抽出及び機械学習を行った。用いたアルゴリズムは、OpenCV (Version 2.4.8) に含まれるHOGおよびAdaBoostであった。誤診率0.4で各ステージにおける機械学習を停止した。

【0035】

図8は、溶血剤を添加しなかった白血球を用いて機械学習を行った場合のROC曲線を示す図である。図8中の「WBC1」は、溶血剤を添加しなかった白血球を用いて機械学習を行ったことを示す。図8中の3つのROC曲線のうち、「WBC1 24x24」のROC曲線は、白血球画像サイズを24×24画素に縮小した場合に得られた曲線である。また、「WBC1 48x48」のROC曲線は、白血球画像サイズを48×48画素に縮小した場合に得られた曲線である。

20

【0036】

図9は、溶血剤を添加した白血球を用いて機械学習を行った場合のROC曲線を示す図である。図9中の「WBC2」は、溶血剤を添加した白血球を用いて機械学習を行ったことを示す。図9中の3つのROC曲線のうち、「WBC2 24x24」のROC曲線は、白血球画像サイズを24×24画素に縮小した場合に得られた曲線である。また、「WBC2 48x48」のROC曲線は、白血球画像サイズを48×48画素に縮小した場合に得られた曲線である。また、「WBC2 72x72」のROC曲線は、白血球画像サイズを72×72画素に縮小した場合に得られた曲線である。

30

【0037】

ROC (Receiver Operating Characteristic) 曲線は、学習部13による機械学習の結果を用いた識別部15による識別の性能を表す。横軸は、実際には白血球でない対象物を間違えて白血球であると判定する確率を表す偽陽性率 (False Positive Fraction) である。縦軸は、実際に白血球である対象物を正しく白血球であると判定する確率を表す真陽性率 (True Positive Fraction) である。ROC曲線が左上に存在するほど識別精度は高い。AUC (Area under the curve) は、ROC曲線より下の領域の面積を表す。AUCが大きいこと（すなわち、AUCが値1に近いこと）は、ROC曲線が左上に近いことを意味しており、識別精度が高いことを表す。

40

【0038】

図8および図9から判るように、細胞画像の画素数が多いほど、AUCが大きい。また、溶血剤を添加した白血球を用いて機械学習を行った方が、AUCが大きい。機械学習に用いるがん細胞を上記とは異なる株の組み合わせとした場合にも、同様のROC曲線が得られた。したがって、がん細胞と白血球とを高精度に識別するには、細胞画像の画素数が多い（例えば48×48以上である）のが好ましく、また、溶血剤を添加した白血球を用いて機械学習を行うのが好ましい。

【0039】

50

このような機械学習を行って、その学習結果を記憶部14に記憶しておく。これ以降の未知細胞の識別や特徴量の抽出を行うに際しては、記憶部14に記憶されている学習結果を用いて識別や特徴量の抽出を行えばよいので、学習部13を用いる必要はなく、第2画像取得ステップS21、第2特徴量抽出ステップS22および学習ステップS23を行う必要はない。

【0040】

また、特徴量抽出部12によって、細胞の定量位相画像（光学的厚み分布の画像）の特徴量として傾き情報を抽出し、白血球及びがん細胞の判別を行った例について示す。ここで、図11は、（a）白血球の構造、及び（b）光学的厚みの傾き情報について模式的に示す図である。図11（a）において、矢印51は、白血球50における光学的厚みの方向を示している。また、図11（b）において、矢印52は、光学的厚み分布での傾き情報を示している。また、図12は、（a）がん細胞の構造、及び（b）光学的厚みの傾き情報について模式的に示す図である。図12（a）において、矢印56は、がん細胞55における光学的厚みの方向を示している。また、図12（b）において、矢印57は、光学的厚み分布での傾き情報を示している。

10

【0041】

図13は、定量位相画像の特徴量として抽出された傾き情報を用いて、白血球とがん細胞とを判別する際、白血球の偽陽性率と真陽性率との関係を示すROC曲線である。ここでは、特徴量抽出アルゴリズムとして、HOGを用いている。図13からわかるように、この例では、AUCが約0.98と非常に高い値を示し、がん細胞と白血球を高精度で判定できていることがわかる。

20

【0042】

本発明の一側面による識別装置、及び識別方法は、上記した実施形態及び構成例に限られるものではなく、様々な変形が可能である。

【0043】

上記実施形態による識別装置では、（1）対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する特徴量抽出部と、（2）種別が既知である対象物（既知対象物）の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行った学習結果を記憶する記憶部と、（3）記憶部により記憶されている学習結果を用いて、種別が未知である対象物（未知対象物）の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて未知対象物の種別を判定する識別部と、を備え、未知対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する際、または、未知対象物の種別を判定する際に、記憶部により記憶されている学習結果を用いる構成としている。

30

【0044】

上記構成の識別装置は、（4）既知対象物の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行う学習部を更に備え、（5）記憶部が、学習部による機械学習の学習結果を記憶するのが好適である。

【0045】

上記実施形態による識別方法では、（1）種別が未知である対象物（未知対象物）の光学的厚み分布の画像の特徴量を特徴量抽出部により抽出する第1特徴量抽出ステップと、（2）種別が既知である対象物（既知対象物）の光学的厚み分布の画像について特徴量抽出部により抽出された特徴量に基づいて機械学習を行って記憶部により記憶された当該学習結果を用いて、第1特徴量抽出ステップにおいて抽出された特徴量に基づいて未知対象物の種別を判定する識別ステップと、を備え、未知対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する際、または、未知対象物の種別を判定する際に、記憶部により記憶されている学習結果を用いる構成としている。

40

【0046】

上記構成の識別方法は、（3）既知対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を特徴量抽出部により抽出する第2特徴量抽出ステップと、（4）第2特徴量抽出ステップにおいて抽出された特徴量に基づいて機械学習を行い、その学習結果を記憶部に記憶させる学習ス

50

トップと、を更に備えるのが好適である。

【0047】

上記構成では、特徴量抽出部により、記憶部により記憶された学習結果を用いて、未知対象物の光学的厚み分布の画像内において特徴量を抽出する領域を少なくとも1つを設定する構成としても良い。具体的には、識別装置は、特徴量抽出部が、記憶部により記憶されている学習結果を用いて、未知対象物の光学的厚み分布の画像内において特徴量を抽出する領域を少なくとも1つ設定する構成としても良い。また、識別方法は、第1特徴量抽出ステップが、記憶部により記憶された学習結果を用いて、未知対象物の光学的厚み分布の画像内において特徴量を抽出する領域を少なくとも1つを設定する構成としても良い。

【0048】

また、上記構成では、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出する構成としても良い。具体的には、識別装置は、特徴量抽出部が、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出する構成としても良い。また、識別方法は、特徴量抽出部により、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出する構成としても良い。

【0049】

特に、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報は、光学的厚み分布の画像内の位置（画素）におけるベクトルの勾配強度および勾配方向の双方または何れか一方である構成としても良い。

【0050】

また、対象物として白血球およびがん細胞を含む構成としても良い。また、特徴量抽出部により、溶血剤を添加した対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する構成としても良い。

【0051】

また、本発明の一側面による識別装置は、対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する特徴量抽出部と、抽出された特徴量に基づいて対象物の種別を判定する識別部とを備え、特徴量抽出部が、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出する。

【0052】

また、本発明の一側面による識別方法は、対象物の光学的厚み分布の画像の特徴量を抽出する抽出ステップと、抽出された特徴量に基づいて対象物の種別を判定する識別ステップとを備え、抽出ステップでは、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出する。

【0053】

図13からわかるように、対象物の光学的厚み分布の画像に対して、光学的厚み分布の画像内の位置における光学的厚みの空間的变化量に関する情報を該画像の特徴量として抽出することにより、高精度で対象物の種別を判定することができる。

【産業上の利用可能性】

【0054】

本発明の一側面は、3次元形状を有し、大きさ及び形状について大きな特徴がなく無色透明である対象物であっても該対象物を識別することができる識別装置および識別方法として利用可能である。

【符号の説明】

【0055】

1 ... 識別装置、 11 ... 定量位相画像取得部、 12 ... 特徴量抽出部、 13 ... 学習部、 14 ... 記憶部、 15 ... 識別部。

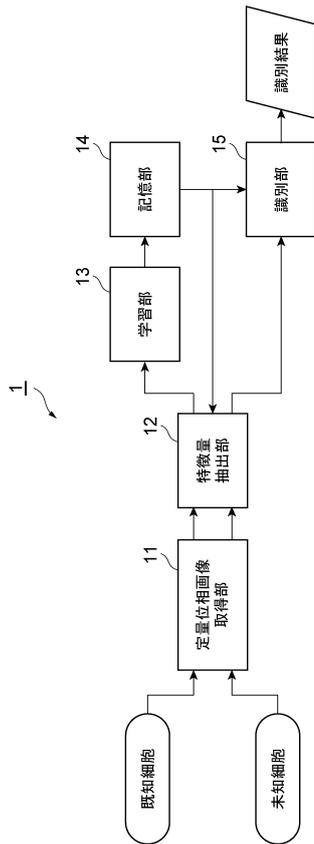
10

20

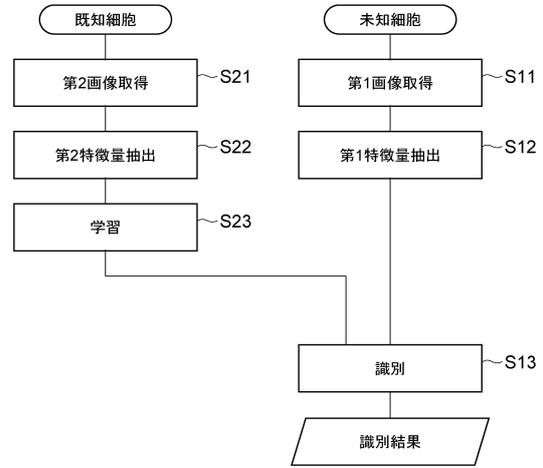
30

40

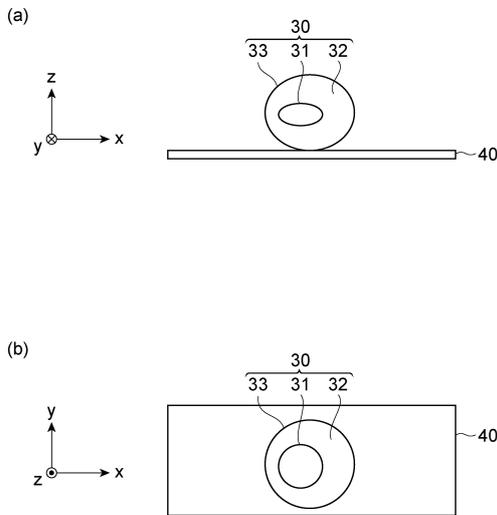
【 図 1 】



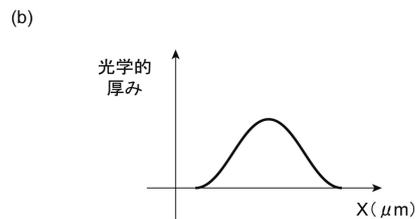
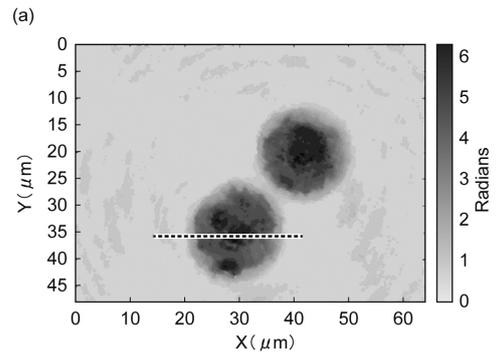
【 図 2 】



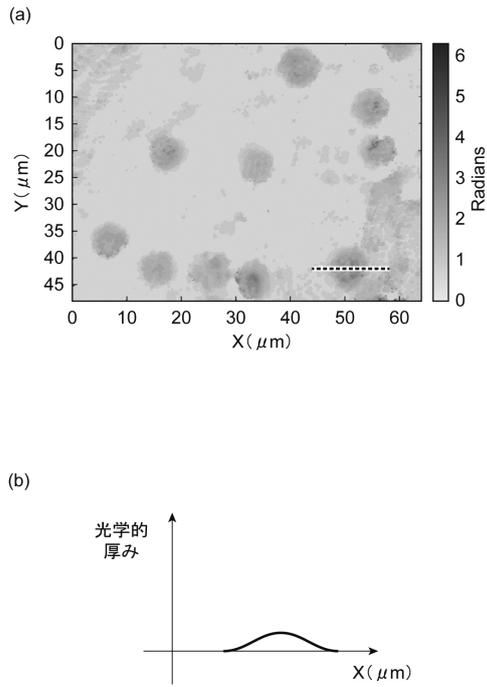
【 図 3 】



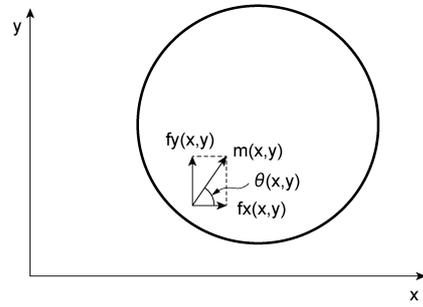
【 図 4 】



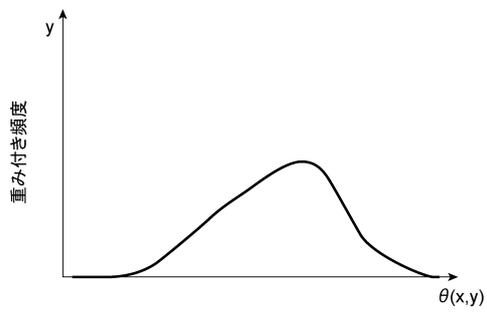
【 図 5 】



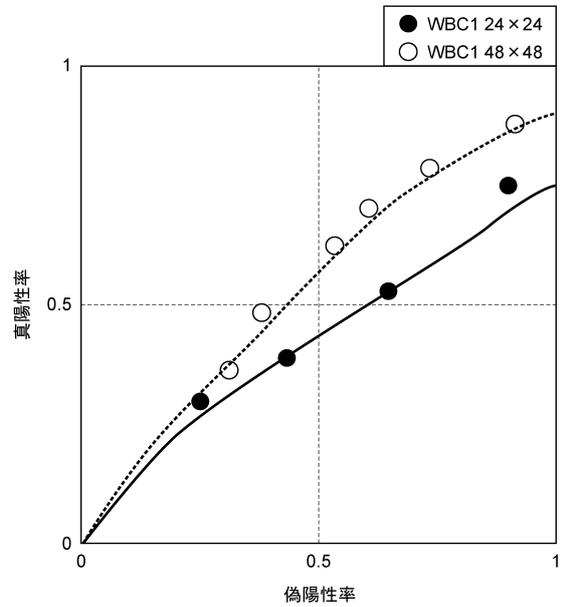
【 図 6 】



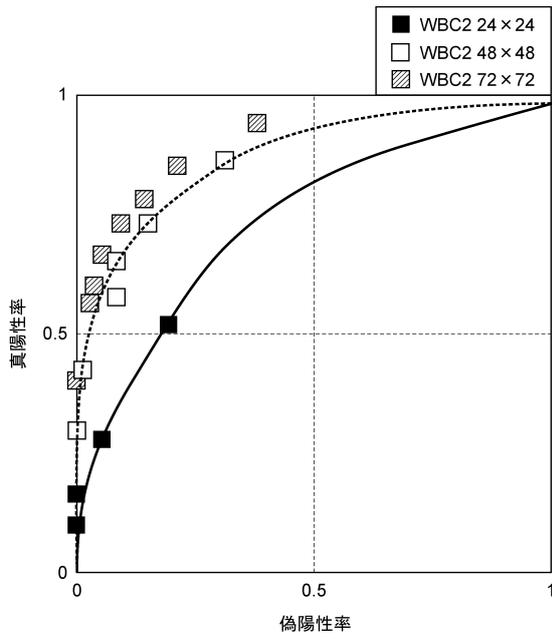
【 図 7 】



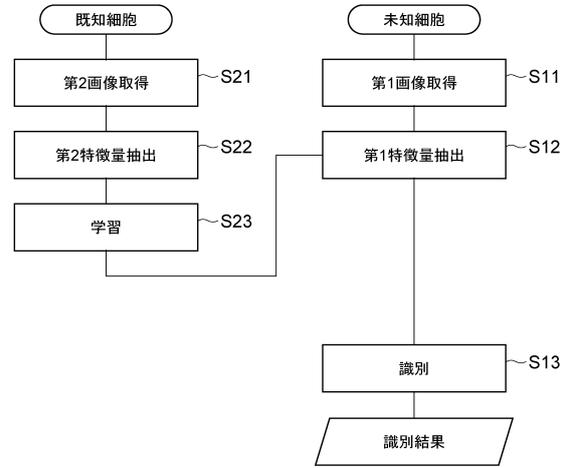
【 図 8 】



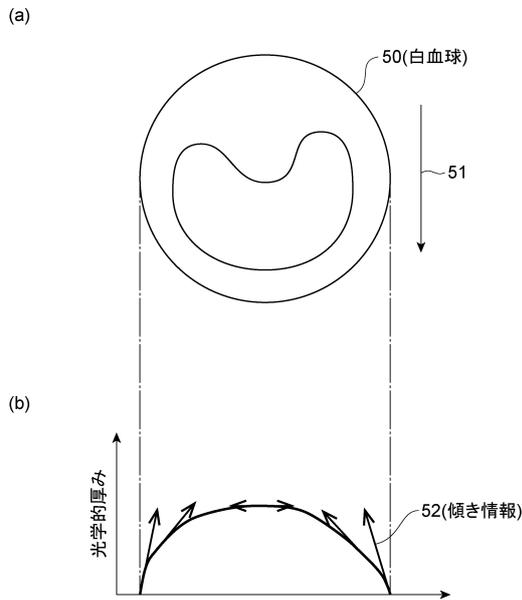
【 図 9 】



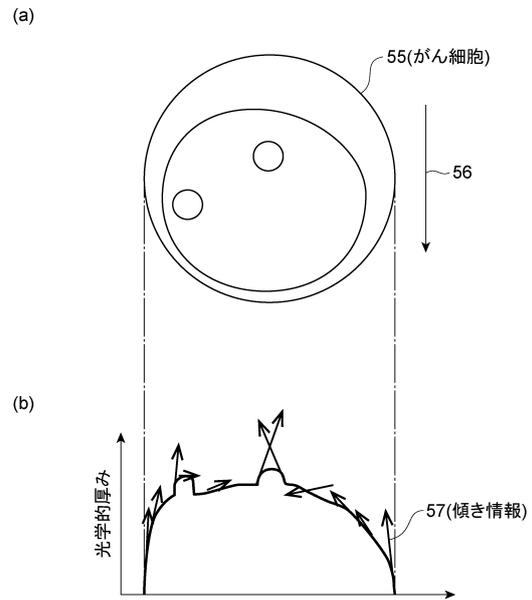
【 図 10 】



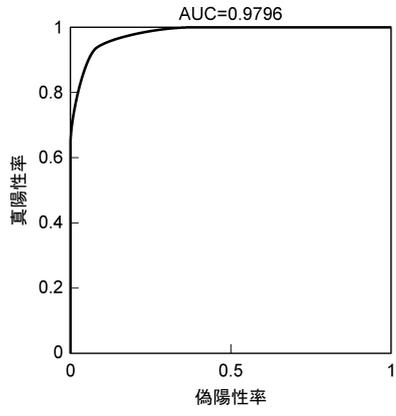
【 図 11 】



【 図 12 】



【 図 13 】



フロントページの続き

- (72)発明者 尾崎 裕介
静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号 国立大学法人浜松医科大学内
- (72)発明者 岩井 秀直
静岡県浜松市東区市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内
- (72)発明者 今野 弘之
静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号 国立大学法人浜松医科大学内
- (72)発明者 菊池 寛利
静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号 国立大学法人浜松医科大学内
- (72)発明者 山内 豊彦
静岡県浜松市東区市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内

審査官 多田 達也

- (56)参考文献 国際公開第2011/132586(WO, A1)
特開2010-203949(JP, A)
特開2009-210542(JP, A)
特開2014-039535(JP, A)
米国特許出願公開第2010/0284016(US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 15/00 - 15/14
G01N 33/48 - 33/98