



Title	超拡大内視鏡とAIを用いた口腔悪性腫瘍の新規診断法の開発
Author(s)	梶山, 凌
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101529
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (梶山凌)	
論文題名	超拡大内視鏡とAIを用いた口腔悪性腫瘍の新規診断法の開発
論文内容の要旨	
【背景】	
<p>口腔悪性腫瘍の診断には病理組織検査が必要不可欠である。しかし、病理組織検査は侵襲的検査であるため、疼痛や術後出血、腫瘍細胞の播種のリスクを伴う。また、検体の固定や標本作成、病理医による診断といった過程を経るため、検査実施から診断が得られるまでに数日を要する。スクリーニング検査で行われる擦過細胞診は簡便で非侵襲的である一方で、標本作成が必要な点は同様である。消化管用に開発された超拡大内視鏡 (Endocytoscopy : ECS) は、標本作成なしでリアルタイムに微視的観察が可能であり、ECSを用いた悪性腫瘍の診断方法が確立されている。口腔粘膜を観察した報告はあるが、診断基準は確立していない。病理組織検査では、切除検体の上皮に対して垂直的に観察を行うが、ECS観察では口腔粘膜上皮を水平的に観察する。そのため、病理組織検査の診断基準を適応できず、したがって、ECSを用いた口腔粘膜疾患の新たな診断基準の確立が必要である。また、病理組織検査には病理医の主観的評価が含まれており、診断にばらつきが生じることが報告されている。そこで、ディープラーニングを活用することで、診断の正確性と一貫性の向上が期待される。以上の背景を踏まえ、超拡大内視鏡を用いた口腔粘膜疾患の検査方法の確立および、自動診断方法の開発を目的とし、以下の項目について検討した。</p>	
<p>①ECSを用いた口腔粘膜病変の特徴抽出と新規診断基準の定義、②ECSを用いた口腔粘膜病変の新規診断基準の精度、 ③AIを用いた新規診断基準の定量的評価法、④自動診断モデルの作製</p>	
【方法】	
<p>ECSは、最大520倍拡大観察が可能なEndocyto (Olympus、東京) を使用した。2019年11月から2023年7月に大阪大学歯学部附属病院口腔外科1（制御系）を受診し、対象は、病理組織検査の結果、口腔扁平上皮癌（OSCC）または口腔白板症（OL）と確定診断された者、もしくは臨床診断で正常口腔粘膜（NOM）と判断された者とした。事前に観察領域に対して擦過細胞診を実施した。観察領域に1%メチレンブルー溶液を塗布し、ECSで観察後、同部位で病理組織検査を実施した。なお、本研究は、大阪大学歯学研究科・および歯学部附属病院倫理審査委員会の承認（承認番号R1-E21）ならびに研究参加者の同意を得て実施した。</p>	
<p>（実験1：ECSを用いた口腔粘膜病変の特徴抽出と新規診断基準の定義）</p> <p>得られた観察画像について上皮性異型性の病理学的特徴を識別可能であるかを確認した。さらにECS観察で識別可能な特徴をもとに、ECSを用いた口腔粘膜病変の新規診断基準を定義した。</p>	
<p>（実験2：ECSを用いた口腔粘膜病変の新規診断基準の精度）</p> <p>観察データには、病変にECSを接触する前の診察室の風景やマクロの観察像、染色していない部位に接触した画像、ブレやピントのずれなどにより評価できない画像が含まれているため、症例ごとに代表的な1枚を選択し、診断根拠画像とした。十分に染色され、精細に観察できており、目視で最も細胞核が多く認められるものを選択条件とした。各症例の診断根拠画像を新規診断基準に準じて診断し、擦過細胞診と病理組織検査の結果と比較した。悪性と非悪性の診断精度をMann-Whitney U検定で検証した。次に、新規診断基準における正常、上皮性異型性、悪性の診断精度を、擦過細胞診と病理組織検査の結果との一致度から評価し、Cohenのκ統計量を用いて検討した。</p>	
<p>（実験3：AIを用いた新規診断基準の定量的評価法）</p> <p>疾患ごとの細胞核の特徴を客観的に評価するため、細胞核のアノテーションを行い核の計測を行った。細胞核の手動でのアノテーションは、観察者バイアスが生じる。そこで、診断根拠となる画像以外の画像を手動でアノテーションしたデータを学習データとし、アーキテクチャはHoVer-Netを使用して細胞核自動セグメンテーションモデルを作成した。学習モデルを用いて診断根拠画像の細胞核のセグメンテーションを行った。計測項目は核面積の標準偏差、核の円形度の平均、核の密度とした。核の密度について、局所の細胞核の密度上昇を評価するため、画像をグリッドに分割し、グリッド内の細胞核数の最大値を画像の代表値とした。OSCCとOLおよびNOMの3群について、Steel-Dwass検定を</p>	

用いて各群間の比較を行った。

(実験4：自動診断モデルの作製)

核面積の標準偏差、核の円形度の平均、核密度の代表値を予測変数としてXGBoostを用いて、悪性・非悪性の診断モデルを作成した。診断根拠画像について診断モデルによる診断精度を評価した。ベイズ最適化を用いて求めたハイパーパラメーターを用いて、モデルを学習した。

【結果】

(実験1) 対象者はOSCC 28名、OL 13名、NOM 14名だった。ECSでは核の大小不同、核の形態不整、N/C比の増大、核分裂像、細胞形態の不整が評価可能だったが、構造異型は観察できなかった。核クロマチンや核小体は評価できない症例がほとんどだった。また、症例によっては核が観察できないものの細胞形態が観察できる場合があり、角化の所見であると考えられた。観察可能な病理学的特徴から、ECS観察像における口腔粘膜疾患の新規診断基準を定義した。Grade 1：細胞核の異型や細胞膜の不明瞭化、角化を認めない。Grade 2：細胞膜の不明瞭化や角化の亢進を認めるが、細胞核の異型を認めない。Grade 3：軽度の細胞核の腫大、密度の上昇を認める。Grade 4：著明な細胞核の腫大、密度の上昇を認める。

(実験2) 新規診断基準のもとづき診断根拠画像を診断したところ、悪性腫瘍の診断精度は感度0.71、特異度0.83だった。擦過細胞診や病理組織診断との一致度は、 κ 係数が新規診断基準と擦過細胞診は0.84、新規診断基準と病理組織診断は0.81と非常に高い一致度を認めた。

(実験3) 自動セグメンテーションモデルは、手動アノテーションと非常に高い相関 (Pearsonの相関係数：0.96) を認め、良好なモデルが得られた。核の大小不同について、核面積の標準偏差は3群間で有意な差を認めた ($p<0.01*$)。2群間の比較では、OSCC群 v. s. NOM群では有意にOSCC群が大きいことが示された。($p<0.01*$)。OSCC群 v. s. OL群 ($p = 0.63$)、OL群 v. s. NOM群 ($p = 0.09$) では、統計的有意差は認められなかった。核の形態不整について、核の円形度の中央値は3群間で有意な差を認めた ($p<0.01*$)。2群間の比較では、OSCC群 v. s. OL群 ($p = 0.028*$)、OSCC群 v. s. NOM群の間 ($p = 0.011*$) で、OSCC群は他2群と比較して核の円形度が有意に小さいことが示された。OL群 v. s. NOM群 ($p = 0.900$) では有意な差は認められなかった。核密度は3群間で有意な差を認めた ($p=0.000197*$)。2群間の比較では、OSCC群 v. s. OL群 ($p<0.01*$)、OSCC群 v. s. NOM群 ($p<0.01*$) でOSCC群は他2群と比較して有意に核密度が上昇していた。OL群とNOM群の間 ($p=0.62$) では統計的有意な差は認められなかった。

(実験4) ROC曲線の曲線下面積 (AUC) は0.99だった。対象者の診断精度は感度0.93、特異度0.96と非常に良好だった。

【考察】

ECSによる細胞観察の深度は染色液の浸透性の影響から、表層の細胞1、2層の数十 μm 程度に限られる。そのため、ECSを用いて口腔粘膜では上皮性異型性のうち細胞異型を観察できる一方で、構造異型の観察は不可能だった。また、病理スライドの顕微鏡像と比較してECS観察像の解像度は低いため、微小構造を十分に観察することができなかった。OLのWHO分類2017年では、上皮層の範囲に応じて分類した3分類法や、上皮性異形成の病理学的特徴うち、構造異型と細胞異型それぞれの所見の数によって分類する2分類法が示されているが、いずれもECSでは評価不可能だった。本研究では、新規診断基準を定義することで、表層のみの評価により高い診断精度が得られた。今後症例データを蓄積し、新たな所見を見出すことでより高度な診断基準への発展を目指す。新規診断基準では、OSCC症例28例のうち、8例がGrade 3以下の診断となった。そのうち6例は擦過細胞診でOHSIL以下の診断であり、どちらの手法も表層の細胞を評価する方法であるため、近似した結果になったものと考える。OSCC症例のうち2例は、擦過細胞診でSCCと評価されなかったものの新規診断基準でGrade 4と診断された。これはECSがリアルタイムで組織表面を網羅的に観察できるため、表層の一部にあった異型細胞を見落としなく評価できたと考えられる。また、消化管用に開発された機器であるため、臼歯部歯肉や口腔底など狭い領域では操作性に難点があったことから、口腔内に特化したデバイス開発を企業と共同で開発を進めている。本研究ではHoVer-NetとXGBoostの2種の機械学習モデルを使用することで、細胞核を定量的に評価し、高精度の診断が得られることが示された。

【結論】

本研究では、ECSを用いて口腔粘膜表層における細胞異型や角化の観察が可能であることを示し、新たに提案した診断基準が病理組織検査や擦過細胞診と高い関連性を持つことを明らかにした。また、AIを応用した細胞核計測により、これまで主観に依存していた診断プロセスを定量化し、再現性の高い診断モデルを構築することができた。

以上の結果から、ECSは非侵襲的で迅速な診断手法として口腔粘膜疾患の診断に有用であり、AIを活用することで正確性と効率性の高い診断手法となる可能性が示唆された。今後、より多くの症例データを蓄積し、診断基準のさらなる精緻化とAIモデルの改良を進めることで、口腔悪性腫瘍の新たな診断手法となることが期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (橋山凌)		
	(職)	氏名
論文審査担当者	主査 教授	田中晋
	副査 教授	村上秀明
	副査 准教授	山口哲
	副査 講師	宇佐美悠

論文審査の結果の要旨

本研究は、超拡大内視鏡を用いて口腔粘膜病変の形態学的特徴を抽出し、新たな診断基準、診断システムを確立することを目的に検討を行った。その結果、角化の有無、細胞膜や細胞核形態の特徴によって、正常粘膜と口腔白板症、口腔扁平上皮癌を鑑別する新たな診断基準が定義され、病理組織診断と高い一致度を認めた。また、AI技術を応用して細胞核を自動検出、計測することで、口腔扁平上皮癌を高い精度で診断できることが明らかとなった。

以上の結果は、超拡大内視鏡観察像とAI技術を活用した細胞核計測による新たな口腔悪性腫瘍診断システムの可能性を示唆するものであり、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。