

## テレパソロジーにおける顕微鏡画像のデジタル化と 組織診の観察フローモデル化の検討\*

東福寺幾夫\*\*・土橋 康成\*\*\*・菊池 久和†

### 1. はじめに

厚生労働省の統計によると悪性新生物は死因第一位を占め、その手術は1月間に2,866の病院で31,262件も行われた<sup>1)</sup>。これらの手術に病理診断は重要な役割を果たしており、特に術中迅速病理診断は術式の適正選択の判断根拠となり、また術後の患者QOLに大きな影響を及ぼすことがある。このような病理診断を担う病理医は1,750人余で、その分布は大都市や大学に偏在しており<sup>2)</sup>、病理医不在の病院では術中迅速診断の機会すら得られなかった。

テレパソロジーとは病理標本の顕微鏡画像を伝送し、その画像を病理医の観察に供することで病理診断を実現することである<sup>3,4)</sup>。わが国のテレパソロジーは上述の如き状況を背景に、病理医不在病院での術中迅速診断実現のために導入が進んだ。2000年3月には遠隔術中迅速診断に保険適用も認められ、現在では140以上の施設で利用されている<sup>5-9)</sup>。

### 2. 目的

術中迅速診断には厳しい時間的制約がある。特に遠隔で実施する場合には、適切な画像を迅速に病理医に呈示することが求められる。「適切な画像の呈示」には「診断を結論付ける根拠を有する標本部位の指定拡大画像を病理医に呈示できること」及び「呈示された画像が診断根拠となる所見が見出せる十分な分解能を有すること」の2つの意味がある。

しかし従来、病理医がどのように標本を観察し診断しているのかその流れは解明されておらず、前者の課題を解決する普遍的方法是確立されていなかった。

一方テレパソロジーをした病理医から、診断の最終

段階で用いる強拡大画像の分解能に関する不満は少ないが、診断途中で多く利用される弱拡大画像の分解能不足はしばしば指摘されていた。

そこでテレパソロジーにおける適正画像要件に関する以下の課題解決を目的として本研究を実施した。

- 1) 組織診の観察フローの普遍的モデルを構築する。
- 2) 弱拡大画像の分解能不足の原因を解明する。

### 3. 方法

前者の課題は、依頼側（京都府立与謝の海病院、綾部市立病院、国立舞鶴病院、公立山城病院）と観察側（京都府立医大病院病理部）の間で実施された約200件のテレパソロジー記録をレビューし、診断したベテラン病理医の観察原理を抽出し、観察フローのモデル化を検討することで解決を図る。

また後者の課題解決のため、まず顕微鏡画像分解能の理論的検討を行い、次いで理論値と実機の分解能を比較する。

### 4. 検討対象テレパソロジーシステムの仕様

本システムは、病理標本のマクロ画像や顕微鏡画像を送信する依頼側端末と、画像を受信し表示する観察側端末と、両端末間を接続する通信回線から成る。

依頼側及び観察側端末にはパソコンを用い、端末間はISDNダイヤルアップルータを通しTCP/IPで接続する。ISDN回線の2つのBチャンネルは一方を画像や制御電文の伝送に、他方を音声通信に利用している。

依頼側端末にはパソコンに接続されたマクロ撮影装置及び自動化顕微鏡を装備しており、前者は標本全体像の撮影に用いる。自動化顕微鏡は電動ステージ、電動レボルバを備えており、パソコンからステージ移動や対物レンズ交換の操作ができ、焦点や照明の自動調節機能を有し、観察側端末からも遠隔操作できる。本顕微鏡には1.25倍、2倍、4倍、10倍、20倍、40倍の6本の対物レンズを装着した。各対物レンズ開口数及び分解能を第1表に示す。

本システムが取り扱うマクロ画像、顕微鏡画像とも

\* 生体医工学シンポジウム2003発表（2003年9月、札幌）

2003年8月1日受付、2003年10月8日改訂

\*\* オリンパス株式会社分析機開発部、新潟大学大学院自然科学研究科情報理工学専攻

\*\*\* 財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター臨床病理研究部

† 新潟大学工学部電気電子工学科

第1表 顕微鏡の対物レンズの仕様及び各レンズに適合する画素ピッチ  
 Table 1 Specifications of microscope objective lenses and fitting pixel pitch.

$m_o$ Magnification Ratio	Type Name of Objective Lens (Olympus)	$a$ : N. A. Numerical Aperture	$r$ [ $\mu\text{m}$ ] Resolution for $\lambda=0.55 \mu\text{m}$	$p_s$ [ $\mu\text{m}$ ] Fitting Pixel Pitch* of Imaging Device
1.25	PLAPO 1.25 $\times$	0.04	8.4	2.6
2	PLAPO 2 $\times$	0.08	4.2	2.1
4	UPLAPO 4 $\times$	0.16	2.1	2.1
10	UPLAPO 10 $\times$	0.40	0.84	2.1
20	UPLAPO 20 $\times$	0.70	0.48	2.4
40	UPLAPO 40 $\times$	0.85	0.39	3.9
60	UPLAPO 60 $\times$	0.90	0.37	5.6

\* In the case of  $m_c=0.5$ ;  $m_c$ : Magnification ratio of an imaging lens.

静止画である。顕微鏡画像撮像のために1~2倍のズーム変倍機能を有する中間鏡筒と0.5倍の撮像レンズを装着し、画素ピッチ9.9  $\mu\text{m}$ の3 CCDカメラを設置した。撮像素子表面に形成される標本像の拡大倍率は、対物レンズの倍率と中間鏡筒倍率及び撮像レンズの倍率の積である。通常、中間鏡筒は倍率1で使用する。単一 CCD カラーカメラは、モザイクカラーフィルタを掛けた撮像素子から得られるモザイク画像にデモウゼイシング処理をして3原色画像を生成する。単一 CCD カメラは安価であるが3 CCD カメラに比べ画質が劣るため本システムには採用しなかった。

顕微鏡の対物レンズ交換により撮像素子に届く光量が変動し、一般には高倍になるほど光量が減少する。本システムではコンデンサレンズや ND フィルタ交換等の顕微鏡の自動照明調節機能とカメラの自動利得調節機能を組み合わせることで、対物レンズを交換しても明るさ変動の少ない画像の撮像を実現した。

画像は640 $\times$ 480画素でRGBを各8bitで符号化し、伝送及び保存の効率化のためJPEG方式で非可逆圧縮した。圧縮率の設定にあたっては1/5, 1/10, 1/20, 1/40程度に一旦圧縮し、再生した画像を病理医が見比べ、診断に影響のない限界として1/20程度、常用として1/10程度を選択した。圧縮後の画像ファイルの大きさは45KB~90KB程度となり、64KbpsのISDN回線での伝送時間は1画像当たり6秒~12秒程度となった。

顕微鏡のステージ移動や対物レンズ交換に要する動作時間は2~5秒程度である。依頼側病理医が画像取得指示から表示完了までの所要時間は、顕微鏡動作時間と画像伝送時間合計の8秒~17秒程度であった。音声通信で顕微鏡の動作音が聞こえることもあり、病理医からは許容時間内との判定を得た。

1例の診断に要する時間は腫瘍の良悪判定では通常

10枚程度の画像を伝送し10~15分程度で済むが、断端診断では100枚以上の画像で40分以上を要する症例もあった。本システムによる遠隔診断の正診率成績は直接検鏡時と同等レベルと報告されている<sup>7)</sup>。

また本システムでは顕微鏡画像の付帯情報として画像番号、倍率、取得位置座標等を記録し、これら付帯情報を用いて表示画像上で拡大画像取得位置の指定や、観察画像の再生、画像親子関係のツリー図による観察経過表示などの機能を実現した。

## 5. 結 果

### 5.1 組織診観察フローの解明

5.1.1 観察事例の解析 第1図に本システムによる観察経過の一例を示す。本例は肺組織標本で診断は肺がん、接続時間は11分34秒であった。

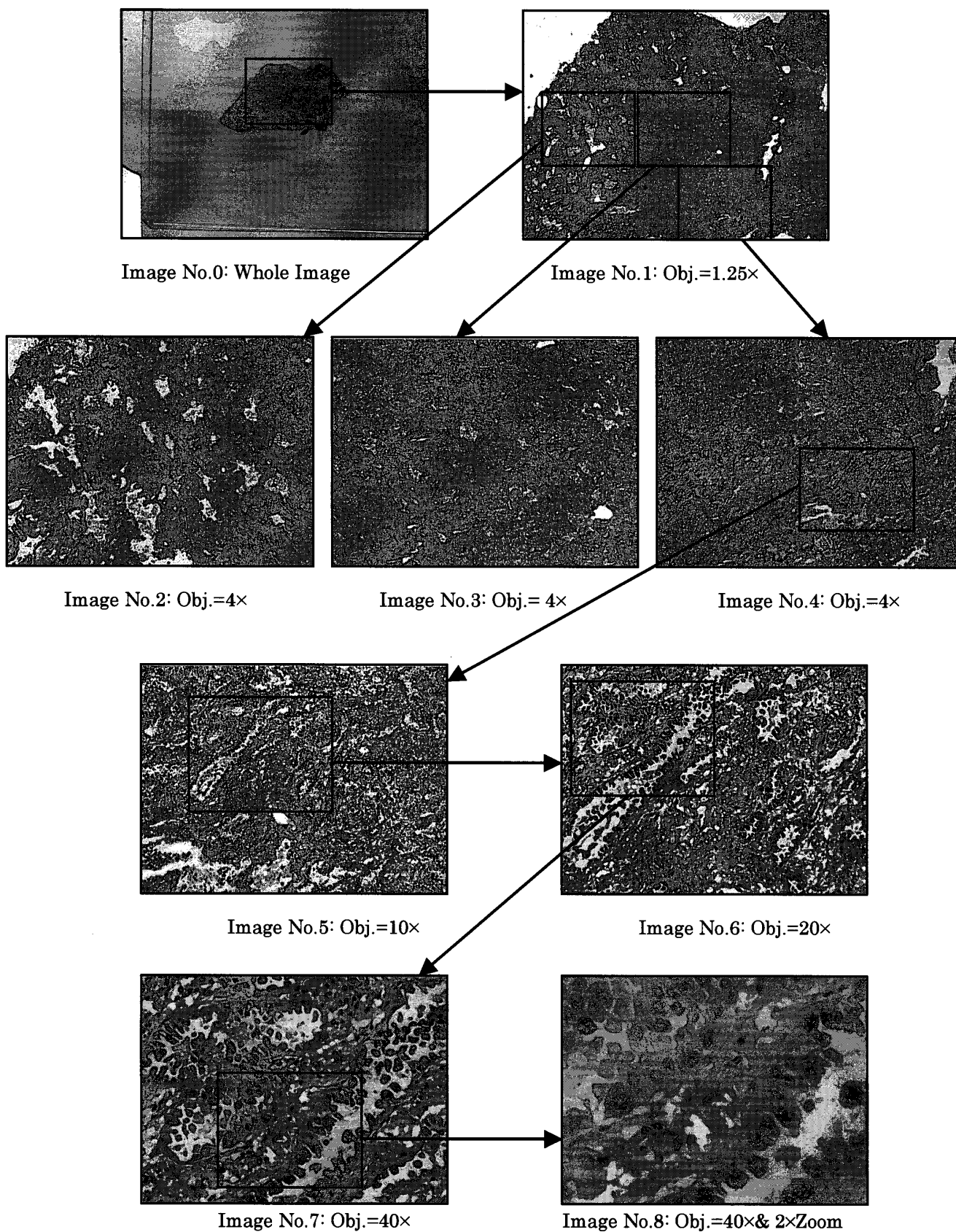
ステップ1: 最初に、依頼側ではマクロ撮影装置を用いて標本全体像 No.0 を撮影し、観察側に送信し、標本を顕微鏡ステージにセットする。標本全体像受信から観察側病理医の観察が始まり、画像 No.0 上で1.25倍対物レンズによる画像 No.1 の取得を依頼側顕微鏡に指示した。

ステップ2: 依頼側の顕微鏡は自動的に指示された対物レンズの設定及びステージの位置決めを行い、画像を撮影し観察側に伝送する。観察側では伝送された画像 No.1 を観察し、4倍対物レンズによる画像 No.2, 3, 4 の取得を指示した。

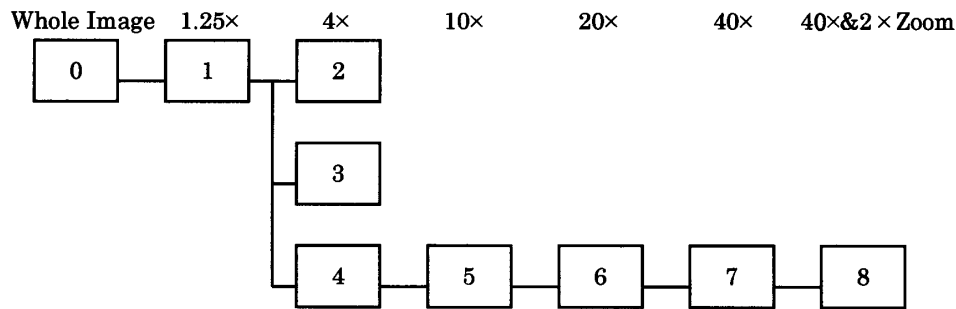
ステップ3: 弱拡大画像 No.2, 3, 4 を順に観察し、画像 No.4 上で10倍対物レンズの画像 No.5 を指示した。

ステップ4: 強拡大画像 No.5 を観察し、20倍対物レンズによる画像 No.6 の入力を指示した。

ステップ5: 画像 No.6 を観察し、40倍対物レンズを選択し、No.7 を指示した。



第1図 肺がん症例の観察経過 (2003年1月30日)  
 Fig.1 Observation procedures of lung cancer case (01/30/2003).



第2図 観察経過の樹枝状図 (第1図の症例)

Fig. 2 Tree diagram of observation procedures (case of Fig. 1).

ステップ6:画像 No.7を観察し,中間変倍2倍ズーム拡大し,80倍相当の画像 No.8取得を指示した。

ステップ7:画像 No.8を観察し,診断を確定した。

第2図は本症例の画像の親子関係,取得順序など観察経過をツリー図に表示したものである。

**5・1・2 病理観察フローのモデル化** こうした症例レビューによって,病理医の組織診観察は以下の手順で行われていることが判明した。

1) 診断目的の把握:依頼側臨床医から事前に提出された病理診断依頼書の患者情報,臨床情報,診断臓器を把握し,病理診断の目的を理解する。

2) 組織標本の観察:病理標本を肉眼的及び顕微鏡的に観察し,診断の手掛りを含むと考えられる有所見部を見出す。

2-1) 標本全体像の観察:依頼側端末から送信された標本全体像を観察し,切片の大きさ,形状,分布等を把握する。この段階で有所見部が見出せた場合には観察を終了するが,一般には弱拡大観察に移行する。いきなり強拡大観察をすることはない。

2-2) 顕微鏡弱拡大観察:弱拡大対物レンズ(1.25倍~4倍)を選択し,顕微鏡観察の領域を標本全体像上で示し画像の取得を依頼側に要求し,撮影し伝送された顕微鏡画像を観察する。この段階で診断所見が得られれば観察を終了し,得られなければ他領域の弱拡大観察あるいは強拡大観察に移行する。

2-3) 顕微鏡強拡大観察:強拡大観察は10倍~60倍の高倍対物レンズを用いた画像を対象とする。強拡大観察の対物レンズと観察領域を選択し,依頼側に画像撮影を要求し,取得した画像を観察する。この段階で所見が得られれば観察を終了し,所見が得られなければ別領域の強拡大観察や弱拡大観察に戻る。

これらの手順を繰り返すことで病理医は最終的に有所見画像に到達でき,組織標本の遠隔診断が実現する。

3) 結果の報告:以上の観察で得られた所見に基づき,かつ臨床情報を参考にしながら診断を確定し,病理診断報告書を作成し,依頼元に送付する。

これらの観察手順を依頼と観察側の動作に分けフローチャート化したものを第3図に示す。

以上のようにベテラン病理医の担当したテレパソロジー症例の検討により,従来その実態が明確でなかった組織診の観察の仕組みが明らかになった。

## 5・2 低倍画像の分解能不足の原因解明

### 5・2・1 顕微鏡画像撮像素系分解能の理論的検討

顕微鏡など光学系により形成される点像は,回折作用により近軸像点を中心に広がりを持つ。近接した2つの物点の像は部分的に重なり合い,それが2物点の像であることを認識できなくなる限界の2点間距離が想定される。そのような2点間の最小距離を光学系の分解能という<sup>10)</sup>。顕微鏡対物レンズの開口数を  $a$  とするとき,波長  $\lambda$  の光について,標本面における光学的分解能  $r$  は(1)式で示される。

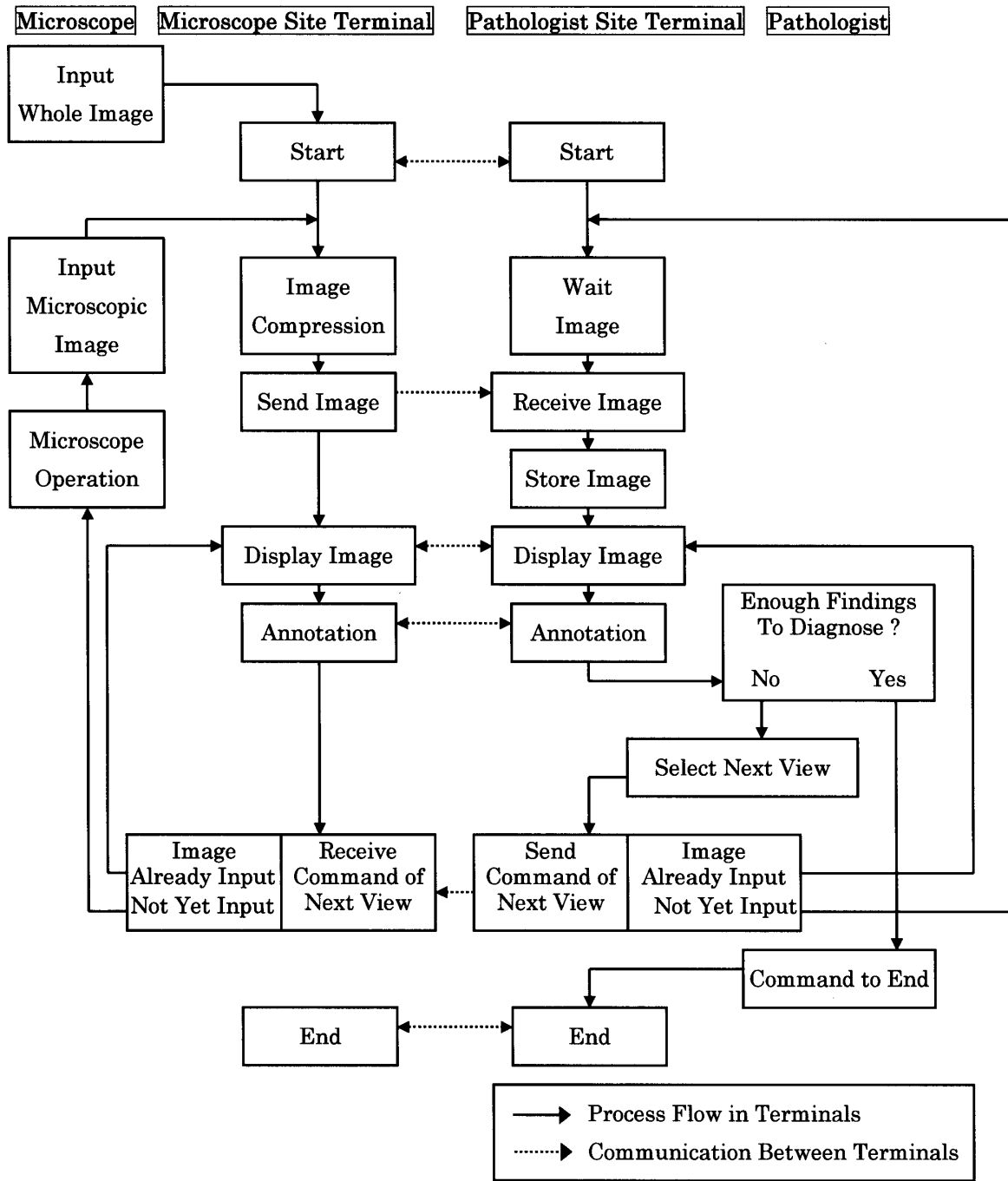
$$r = 0.61\lambda/a \quad (1)$$

可視光は約  $0.4 \mu\text{m}$  から  $0.8 \mu\text{m}$  の波長幅を持ち,短波長の光ほど分解能は小さな値となる。光学顕微鏡の分解能は慣例で波長  $\lambda = 0.55 \mu\text{m}$  を用いて計算する。

本システムで使用する顕微鏡対物レンズは第1表に示す開口数  $a$  と分解能  $r$  を有する。

標本上の2点の像を撮像素子画2点に分離するためにはその間に最低1画素必要である。すなわち,2点の点像が1画素挟んだ2つの画素に投影されるような画素ピッチを有する撮像素子が最適となる。このような関係が成立する対物レンズ,撮像レンズと撮像素子の組み合わせを以下理想的撮像条件といい,その画素ピッチを理想的画素ピッチという。

拡大倍率  $m_o$ , 分解能  $r$  の対物レンズに拡大倍率  $m_c$  の撮像レンズを組み合わせた場合の理想的画素ピッチ  $p_s$  以下のようにして求められる。



第3図 テレパソロジーの観察フローモデル  
Fig. 3 Observation flow model of telepathology.

$$p_s = r m_o m_c / 2 \quad (2)$$

(2)式に(1)式及び $\lambda=0.55$ を代入し、(3)式を得る。

$$p_s = 0.17 m_o m_c / a \quad (3)$$

(3)式が、直接検鏡並みの分解能を有する画像を得る顕微鏡画像撮像系の理想的撮像条件である。

撮像レンズの倍率が0.5のときの各対物レンズに対応した理想的画素ピッチを第1表  $p_s$  欄に示す。

この表から対物レンズ倍率によって理想的画素ピッ

チが異なること、低倍対物レンズに対応する理想的画素ピッチが小さいことが読み取れる。顕微鏡画像撮像系を構築する際に注意を要する事項である。

5.2.2 本システムの顕微鏡画像撮像系の評価  
本システムを理想的撮像条件と比較検討した。第1表の理想的画素ピッチは最小 $2.1 \mu\text{m}$  (2~10倍レンズ)から最大 $5.6 \mu\text{m}$  (60倍レンズ)である。

本顕微鏡に装備したTVカメラの画素ピッチの $9.9 \mu\text{m}$ という値は理想的画素ピッチと比較すると4.7倍

ないし1.8倍大きい。特に低倍対物レンズでの理想的画素ピッチに対してその比が大きいことから、低倍レンズの分解能を十分活かしておらず、これが低倍画像分解能不足の原因となっていると考えられる。

## 6. 考 察

### 6.1 組織診観察フローの効果

本システムに装備された画像付帯情報に基づく症例の事後レビューによって、組織標本の観察手順を解明し、フローモデルを構築した。

テレパソロジーシステムに本フローモデルを実装し、顕微鏡に自動ステージを装備し、画像上での位置指示情報をステージ座標に変換し標本の位置決めを行うことで、病理医の意図通りの遠隔観察が可能となる。

本観察フローをMEDIS-DC画像連携コマンドプロトコル規格に適用し、同規格を実装することでオリンパス、ニコン、NTTデータの製品間で異機種間テレパソロジーが実現した<sup>11-13)</sup>。本フローモデルの普遍性を示す事例である。最近開発が急速に進展しつつあるバーチャルスライドシステムに本フローを適用することで、効率よい観察が実現するものと考えられる。

また、本システムに装備された画像付帯情報に基づく症例の事後レビュー機能は診断経過の客観化に有用で、とりわけ観察画像の再生表示機能は診断ロジックの再検討や第三者による検証を可能とし、病理診断の質的向上にも有効であった。

観察経過のツリー図を見比べると臓器や診断目的によってツリーパターンの類型化の可能性があることが予測された。今後観察ツリーの研究を進めることで形態学的病理診断領域におけるコンピュータ診断支援システムを実現する手がかりになるものと考えている。

### 6.2 顕微鏡の分解能と撮像系の設計

低倍対物レンズの理想的画素ピッチは高倍のそれと比較して小さな値をとるが、実機の画素ピッチは理想的撮像条件と比べ4.7倍大きく、このことが低倍画像の分解能不足感の原因となっていると考える。

本システムによる遠隔診断では直接検鏡時並みの正診率を得ている。これは実機の画素ピッチと理想画素ピッチの比が2.5 (40倍)、1.8 (60倍)と比較的小さい高倍観察画像で、組織診における最終的な診断確定が行われていることによるものと考えられる。

本システムで低倍レンズの分解能を活かす方法は2つある。1つは同一撮像レンズで画素ピッチが2.1  $\mu\text{m}$ のカメラに変更する方法であり、もう1つは同一カメラで撮像レンズ倍率を2.3にする方法である。

前者の方法で現在と同等の観察視野の広さを保つには3,000×2,250画素が必要となり、1枚の画像情報量は現在の22倍の20MB、1/10圧縮で2MBになる。システムの実用性を維持するためには通信回線の高速化やハードディスク装置の容量拡大が必要であるが、現在では高速インターネットや大容量ハードディスクの入手は容易で、実現に困難はない。

後者の方法では1枚の画像で観察できる視野の面積は1/22に減少し、観察すべき画像枚数は22倍に増大する。この場合にも通信回線の高速化等の対策は同様に必要であるが、撮影回数すなわち顕微鏡動作回数が増えることからステージや焦点調節動作等の時間短縮が重要な課題となる。また観察画像枚数が増加すれば、当然病理医の観察時間も増えることが予想される。

これらの対策により画像分解能が高まるが、それが診断精度の向上等の結果に如何に貢献するのか検証することも実際のシステム構築には重要である。全ての対物レンズについて理想的撮像条件を満たすことは顕微鏡画像の分解能確保の十分条件であるが、必要条件ではないとも考えられる。実際の顕微鏡画像撮像系の設計に際しては、観察の目的、観察視野の広さと画像枚数、画像伝送時間や顕微鏡の動作時間などを多面的に考慮しなければならない。

従って、理想的画素ピッチと実際の画素ピッチを仕様書やカタログ等に表示することは、顕微鏡画像撮像系の性能を客観評価する指標として有用であろう。

## 7. 結 論

術中迅速テレパソロジーにおける適正画像システムに関する2つの課題を検討した。

テレパソロジーの症例のレビューにより、組織診における病理医の観察手順を解明し、モデルとしてフローチャート化を行った。本フローはその後の連携規格の基礎となり、異機種間テレパソロジーの実現に貢献した。

顕微鏡画像撮影系における撮像素子の理想的画素ピッチを理論的に導き、テレパソロジーシステムにおける低倍画像の分解能不足が、使用されている撮像素子の画素ピッチが理想的画素ピッチと比較的大きいことに起因することを明らかにした。今回検討対象としたテレパソロジーシステムは理想的撮像条件を満たしてはいなかったが、直接検鏡と同等レベルの診断精度実績を得たことから、全ての対物レンズについて理想的撮像条件を満たすことが顕微鏡画像撮像系の必要条件ではないことも判明した。顕微鏡画像システムの設計

に当っては分解能以外に用途、画像取得準備に要する顕微鏡の動作時間、1枚の画像で観察できる標本の広さや観察所要時間、画像情報量と画像伝送時間等を総合的に勘案することが重要である。

本研究にあたっては、株式会社オリンパスエンジニアリングの中里適、中川修二、森嶋正浩の各氏、京都府立医大病院病理部真崎武先生、オリンパス株式会社の奥野隆司、篠原大三両氏に大変お世話になりました。心より感謝いたします。

## 文 献

- 財団法人厚生統計協会：国民衛生の動向，厚生指標臨時増刊，49-9 (2002)
- 澤井高志，井藤久雄，土橋康成，白石泰三，開原成允：我が国における遠隔病理診断（テレパソロジー）の現状と今後の方向性，日本病理学会誌，92-1，199/199 (2003)
- 東福寺幾夫：テレパソロジーシステム・最新の動向，医療とコンピュータ，10-6，87/92 (1999)
- R. S. Weinstein, M. R. Descour, C. Liang, A. K. Bhattacharyya, A. R. Graham, J. R. Davis, K. M. Scott, L. Richter, E. A. Krupinski, J. Szymus, K. Kayser & B. E. Dunn: Telepathology overview: From concept to implementation, Hum. Pathol., 32-12 1283/1299 (2001)
- 財団法人医療情報システム開発センター：テレパソロジーの現状調査報告書 (2003)
- 厚生労働省遠隔医療研究班：MEDIS-DC：テレパソロジーに関する全国的なアンケート調査—結果，別冊医学のあゆみ テレパソロジー 2002，117/128 (2002)
- 土橋康成：画像診断支援システムの現状と今後の課題—テレパソロジーを中心として—，情報通信学会誌，13-1，22/27 (1995)
- 土橋康成，難波紘二：テレパソロジーの到達点と将来展望，医学のあゆみ，171-11，873/876 (1994)
- 月刊新医療増刊：IT 医療白書 03，240/243 (2003)
- 村田和美：光学，サイエンス社，東京 (1979)
- 東福寺幾夫，中川修二，鈴木昭俊，斎藤 誠，原臣司，土橋康成，山川光徳，白石泰三，大城真理子，澤井高志，開原成允：MEDIS-DC 画像連携規格に基づく異機種間テレパソロジー開発，医学物理，23-1，4/15 (2003)
- 東福寺幾夫：テレパソロジーシステムの異機種間互換性，別冊医学のあゆみ テレパソロジー 2002，51/56 (2002)
- I. Tofukuji, K. Nakasato, S. Nakagawa, H. Okamoto, T. Shiihashi, A. Suzuki, K. Kan-no, M. Saito, H. Tsuchikawa, S. Hara, T. Yamada, M. Kiuchi, K. Shiota, T. Yasunari, M. Ohshiro, M. Yamakawa, T. Sawai & S. Kaihara: Modeling of pathology examination and standards for image collaboration command protocol, Telemed. J. e-Health, 7-2, 124/124 (2001)

## A Study on Requirements of Proper Images for Telepathology\*

Ikuo TOFUKUJI,\*\* Yasunari TSUCHIHASHI,\*\*\* Hisakazu KIKUCHI†

The objective of telepathology is to realize a pathologist's diagnosis in observing microscopic images transmitted from remote sites. Telepathology systems require presentation of proper images to achieve correct diagnosis. Presentation of proper images requires two points. The first is that images have to reflect the intention of a remote pathologist in both positioning and magnification to capture images of a specimen. The other is that images should have enough resolution for diagnosis. The former problem was solved by a modeling method for the pathological observation flow. That is an observation methodology model starting at the observation of the entire image of a specimen followed by careful and successive magnifications of particular areas of the specimen. An observation history can be modeled as a tree of observation events, and its root is the entire image of the specimen. The model was useful to construct a telepathology system between different types of terminals. The latter problem, that is, poor resolution of lower magnification microscopic images was pointed out by several telepathologists. We discussed the relationships between the resolution of an objective lens of a microscope and pixel pitch of an imaging device to account for digital images to have the same level of resolution as the naked eye. The result indicates that the ideal pixel pitch of imaging devices should be equal to half the product of the resolution in an objective lens and the magnification ratio of a microscope. We found that the pixel pitch of the actual camera installed in our telepathology system is so big compared with the ideal pitch in lower magnifications that it causes the insufficient resolution. A precise matching between the optical lens system and imaging device can improve the situation.

\* Presented at the Symposium on Biomedical Engineering 2003, Sapporo, September 2003.

Received August 1, 2003; revised October 8, 2003.

\*\* Product Development Department, Diagnostic Equipment Division, Olympus Corporation & Doctoral Program in Information Science and Engineering, Graduate School of Science and Technology, Niigata University

\*\*\* Department of Clinical Pathology Research, Louis Pasteur Center for Medical Research

† Department of Electrical and Electronic Engineering, Niigata University