HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Raman Microscopic Histology Using Machine Learning Techniques for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Helal, Khalifa Mohammad
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第13824号
Issue Date	2019-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/76600
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Khalifa_Mohammad_Helal_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　氏　名　　HELAL KHALIFA MOHAMMAD

審査担当者	主査	教　授　小　松　崎　　民　樹　（電子科学研究所）
	副査	教　授　芳　賀　　永
	副査	教　授　出　村　　誠
	副査	准教授　原　田　　義　規（京都府立医科大学大学院医学研究科）

学 位 論 文 題 名

Raman Microscopic Histology Using Machine Learning Techniques for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease（非アルコール性脂肪肝疾患における機械学習技術を用いたRaman組織学）

博士学位論文審査等の結果について（報告）

近年、機械学習に代表される情報科学と医療の融合に関する研究が盛んに行われている。病理組織診断を行うには、細胞や組織の形態学的特徴を捉えるためのトレーニングを積んだ専門家の知識が必要となり、恣意性を完全に排除できない。一方、ラマン分光イメージングは、生体組織内の化学的情報を非破壊、非標識で捉えることができ、かつ通常標識できないような小分子の情報も包含するため、細胞や組織の病理診断に役立つミクロ情報を提供できる可能性が指摘されている。特に、マーカータンパク質が特定されていないような病理において重要となりうる。しかしながら、ラマン計測は信号が微弱であるため、低いシグナルノイズ比であることを加味した情報解析手法の開拓が待たれている状況であった。

本論文は、このような現況にあるシグナルノイズ比の低いラマン分光計測について、機械学習のひとつであるアンサンブル学習、画像解析に用いられるスーパーピクセル法、情報科学における速度歪み理論を用いて、ラマン分光画像の空間解像度をある程度担保した上で、シグナルノイズ比を向上させ、ラマン分光イメージングを解析する手法を開発した。ついで、４大肝疾患のひとつである非アルコール性脂肪肝疾患のラットモデルを用いて、通常のヘマトキシリン・エオジン染色による組織の形態異常に依拠する病理診断を補完するラマン組織学を創出することを目指した。

本論文は大別して二部構成になっている。

一部では、画像解析に用いられるスーパーピクセル法、情報科学における速度歪み理論を用いて、ラマン分光画像の空間解像度をある程度担保した上で、シグナルノイズ比を向

上させてラマン分光イメージングを解析する手法を開発した。速度歪み理論により、スパーピクセル法でシグナルノイズ比を向上させ、残る誤差存在下与えられたラマンスペクトルを完全に0ないし1の確率（帰属率）で各病態に分類するのではなく、帰属率として0から1の間の実数値を与えるファジークラスタリングを行うものである。データを説明する最適なクラスター数は実験誤差を参照して決定する。共同研究者から入手した、非アルコール性脂肪肝疾患のラットモデル（標準食、高脂肪食、高脂肪高コレステロール食を各々2，4，8，16週投与し続けたラットの肝臓を取り出して、組織病理学の診断に加えて、対応するラマン分光画像を測定した）を解析した。その結果、ラマン画像は7つの「類似の分子情報をもつ」クラスタに分類できること、画像内の空間分布なども得られるが、その7つのクラスタの密度分布のみから非アルコール性脂肪肝疾患の組織学的な病態や食事の投与の差違を判定できることを示すことに成功した(FEBS Lett.の当該号のEditor's Choice、表紙カバーに選出)。

二部では、高次元情報を担うスペクトルに対する（遥かに少ない数次元で高次元データに内在する構造を探る）非線形次元削減や、分類に基づくアンサンブル学習(ランダムフォレスト)を適用し、ラマン画像データによる予測能を考察した。繊維化が確認できず「組織学的には」非アルコール性単純脂肪肝（NAFL）であるが、ラマン画像情報としては非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）と近い集合（NAFL-β）と組織学的にはNAFLであるが、ラマン画像情報としては正常肝に近い集合（NAFL-α）に大別されることを新規に見いだした。すなわち、まだ組織学的症状が観察されていない初期段階でも病態、予後がラマン計測を通して診断できる可能性を示した。NAFL は多様な挙動を見せ、いくつかの画像では（高い脂質含量の）NASH に類似している一方で、NASH からほど遠い画像もあった。ランダムフォレストはラマンスペクトルを学習することにより、病態が異なる、安定的なNAFL-αとNASHへの早期の移行が予想されるNAFL-βのスペクトル群の特徴から、識別に重要なラマンシフト（主に脂質領域）も同定した。

以上は本論文の要旨である。これを要するに、著者は、ラマン画像情報に対して、その低いシグナルノイズ比に適した情報解析手法を新規に開発し、非アルコール性脂肪肝疾患の肝組織のラマン情報を用いて、類似の組成を持つ組織をグループ化し、組織の状態を推測できる記述子を導出し、組織学的検査に貴重な情報を提供できることを示したものであり、病理組織診断のラマン分光計測に基づく情報科学的な支援に貢献するところ大なるものがある。適切なデータ分析技術と組み合わせたラマン顕微鏡法は、複雑なラマンスペクトルを詳細に分析するための強力な診断ツールとなり得る。この診断方法が、ラットモデルの NAFL の線維症の予測に対して新たなツールとなりえ、ひいてはヒトの脂肪肝疾患の分析に非常に有効となり得ると考えられる。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。