



A validation study of whole slide imaging for primary diagnosis of lymphoma

Amin, Saiful

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2020-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7851号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007851>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

A validation study of whole slide imaging for primary diagnosis of lymphoma

リンパ腫における whole slide imaging 診断の妥当性の検証

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
Diagnostic Pathology 学
(指導教員 : Professor Tomoo Itoh, MD)
Saiful Amin

Introduction

Whole slide imaging, also known as virtual microscopy, is the transformation of glass slides of the tissue section to digital images by WSI scanners which are run with a computer workstations and specific software. WSI has various pragmatic uses such as for diagnosis, education, research, and telepathology consultation.

Recently several reports have indicated that WSI can be used for routine pathological diagnosis. The College of American Pathologists (CAP) proposed in May 2013 13 guidelines for conducting validation studies of WSI for clinical use as well as use with digital pathology devices for primary diagnosis. However, many of them used only a small number of specimens alone and cases requiring immunohistochemistry or special staining, such as lymphoma cases were excluded from the studies. WSI validation studies for lymphoma have not been yet published and more studies are required prove the clinical values of WSI for pathological diagnosis.

In this study, we assessed the usefulness of WSI in comparison with that of light microscopy (LM) for the diagnosis of lymphoma.

Materials and methods

For this study, 240 biopsies and resections of serial cases were retrieved from a study set of lymphoid lesions. All original diagnoses had been established by one of the authors who is a well-experienced pathologist based on the routine microscopic examinations, at least a half year before this study. More than half of the cases were nodal lesions (54.59%), while extra-nodal lesions consisted of those of the gastrointestinal tract (19.59%), skin (3.75%), and others.

All slides of H&E, immunohistochemical, and special staining were scanned using Nanozoomer 2.0 RS at 20x magnification properly according to CAP guidelines. The scanned images were stored in a mass storage environment.

The original- and the WSI-based diagnoses were compared for each case and the degree of agreement was determined by discussions with all evaluators. The results thus obtained were categorized into three classes: 1) concordance, defined as complete agreement between the two diagnoses; 2) minor discrepancy, slightly different without any clinical or prognostic significances; 3) major discrepancy, different interpretations with significant clinical implications.

Results and Discussion

Diagnostic agreement between WSI and microscopic diagnoses

The overall extent of agreement between WSI and microscopic diagnoses is calculated. Of 240 cases examined, the diagnosis was concordant for 223 cases (92.92%; 95% confidence interval, 88.90-95.82). Minor discrepancy was detected in fifteen cases, while major discrepancy was identified in the remaining two cases.

Similarly, the concordant rate was calculated for individual diagnostic categories and the most common diagnosis was diffuse large B cell lymphoma (96/240 cases, 40.0%), followed by follicular lymphoma (41 cases, 17.08%), non-specific reactive lymphadenopathy (13 cases, 5.41%) and others.

Review of the discrepant cases

One case with major discrepancy was an inguinal lymph node biopsy. The original light microscopic diagnosis was nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma, while evaluation with WSI, resulted in a diagnosis of peripheral T-cell lymphoma, NOS. On WSI, it was difficult to determine whether these T-cells were neoplastic, resulting in a final determination as neoplastic but without confidence. In addition, lymphocyte predominant (LP) cells were little less striking on WSI than on LM, so that the evaluator could not detect the cells. Histology review of this case confirmed that the original diagnosis was more appropriate than WSI diagnosis.

Another case with major discrepancy was a cervical lymph node biopsy from a right cervical lymphadenopathy. The original light microscopic diagnosis was tuberculosis with atypical B-cells infiltrate. In this case, large foci of caseous necrosis were found surrounded by epithelioid cells with Langerhans's giant cells. Background lymphocytes were small and uniform with bland-looking morphology, but showed diffuse positivity for CD20. The reason for the original microscopic diagnosis was the presence of a few acid-fast bacilli on Ziehl-Neelsen staining, but these were not detected by WSI at x20 scanning magnification. In contrast, WSI diagnosis was low grade B-cell lymphoma, NOS with granulomatous reaction with undetermined significance. After the histology review, a final diagnosis of tuberculosis with coexisting low-grade B-cell lymphoma, NOS was made.

Of the fifteen cases with minor discrepancies, eleven were related to grading of follicular lymphoma. Eight of these cases were diagnosed as grade 2 on WSI, while the original diagnosis was grade 1. Another two cases, originally rated as grade 3a, was diagnosed as grade 2 on WSI and the last one was diagnosed as diffuse large B-cell lymphoma on WSI, while the original LM diagnosis was follicular lymphoma grade 3b. However, grading of follicular lymphoma and differentiating between diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma, grade 3b are considered to be fairly subjective, and inter- and intra-observer variations are common even for microscopic examinations, not from image quality of WSI, and do not affect the selection of therapies and are therefore not a significant problem. These differences of the remaining four case with minor discrepancies were considered to be the result of human factors, and not of image quality. One of these cases with an original diagnosis of high-grade B-cell lymphoma, NOS was diagnosed as diffuse large B-cell lymphoma on WSI. The lymphoma was composed of medium to large B-cells with an unusual immunophenotype, partial cyclin D1-positive, CD23 strongly positive, CD5-positive (weak), and a very high MIB1 index. Although pleomorphic variant of mantle cell lymphoma or high-grade transformation of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma were suspected, no specific diagnostic name could not be assigned also due to the small size of the specimen and absence of previous history of lymphoma. Another of these four cases, originally diagnosed as "atypical lymphoid cell infiltration (indeterminate for malignancy)" was diagnosed on WSI as "probable T-cell rich B-cell lymphoma". The discrepancies in both diagnoses were in conclusive, rated as in the

area of "borderline", and categorized as minor. In one case of classical Hodgkin lymphoma, NOS was diagnosed as nodular sclerosis Hodgkin lymphoma on WSI; in the last case, nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma with a T-cell rich B-cell lymphoma-like area was diagnosed as simply T-cell rich B-cell lymphoma on WSI. Generally, the distinction between nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma and T-cell rich B-cell lymphoma is sometimes not very clear, so that this case was also classified as a minor discrepancy.

Conclusion

The findings of our study show high concordance and lower discordance rates for WSI and LM evaluations, and suggest that WSI can be used as an effective diagnostic tool for primary diagnosis of lymphoma cases. However, we found WSI image quality was still insufficient for evaluating detailed cellular morphology, especially in making a distinction on whether T-cell were neoplastic or not. We recommend to changing over to LM if there is a lack of confidence in reaching a diagnosis or if diagnosing a lymphoma proves to be difficult, and if necessary, that molecular testing should be used in conjunction with conventional LM lymphoma diagnosis.

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2981号	氏名	SAIFUL AMIN
論文題目 Title of Dissertation	A validation study of whole slide imaging for primary diagnosis of lymphoma リンパ腫における whole slide imaging 診断の妥当性の検証		
審査委員 Examiner	主査 横埜 名 Chief Examiner 副査 村上卓道 Vice-examiner 副査 松岡 広 Vice-examiner		

(要旨は1,000字~2,000字程度)

Whole slide imaging (WSI)はバーチャル顕微鏡とも呼ばれ、スライドガラス上の組織切片を特殊なソフトウェアで駆動する WSI スキャナーによりデジタル画像としてコンピュータに取り込む技術である。病理学の領域で WSI は診断、教育、遠隔病理診断コンサルテーションなど様々な実用的用途を持っている。近年 WSI の日常病理診断への利用に関する報告が集積しつづあり、米国病理医協会 (College of American Pathologists, CAP) も 2013 年5月に WSI の医療現場での利用やデジタル機器の一次的病理診断への利用についてのガイドラインを提示しているところである。しかしながら多くのこれまでの報告は少数例の検討が主体で、リンパ腫の診断の様に詳細な免疫組織化学や特殊染色の必要な病態での解析はほとんど行われていない。本研究で申請者らは光学顕微鏡診断と比較することにより、リンパ腫診断における WSI の有用性を評価した。

用いた病理検体はリンパ系病変学習用症例セットから収集した生検ならびに切除組織 240 標本である。すべての標本の一次的診断は本検討の半年以上前に、共著者の一人である病理診断指導医 (以後、評価者) により付されたものである。検討症例の 54.59%はリンパ節病変で、節外性病変は 19.59%が消化管、3.75%が皮膚のものであった。各検体のヘマトキシリン・エオジン染色、免疫組織化学、特殊染色標本から、Nanozoomer 2.0 RS (浜松ホトニクス株式会社) を用いて、CAP ガイドラインに準じてすべて 20 倍の拡大画像を取得した。申請者および評価者以外の共著者一名が準備者となり、一次的診断を隠し WSI 画像と症例毎に紐付いた臨床情報を提示し評価者が改めて診断することにより、通常診断と WSI 画像による診断の評価を行い以下に分類した。1) 「診断一致」、通常診断と WSI 画像による診断が完全に一致したもの; 2) 「小不一致」、臨床的あるいは患者の予後に影響を与えない微細な不一致; 3) 「大不一致」、臨床で大きな問題を含んだ診断不一致。

得られた結果は以下のごとくである。

1. 検討した 240 検体での通常診断と WSI 画像による診断で、「診断一致」となったものは 223 検体 (92.92%; 95% CI, 88.90-95.82)、「小不一致」は 15 検体、「大不一致」は 2 検体であった。検討症例の組織型の内訳は、diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) が 96 例 (40.0%)、follicular lymphoma (FL) 41 例 (17.08%)、non-specific reactive lymphadenopathy 13 例 (5.41%)、その他であった。
2. 「大不一致」となった 1 検体は鼠径リンパ節生検であった。光学顕微鏡診断は nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma であったが、WSI 診断では peripheral T-cell lymphoma, NOS であった。WSI 画像上 T 細胞の異形成の判断が困難であり、光学顕微鏡に比較して lymphocyte predominant cells が WSI 画像では不明確であったため評価者が検出できなかったものと見なされた。
3. 「大不一致」となった他の 1 検体は右頸部リンパ節生検であった。一次的光学顕微鏡診断は異型的 B リンパ球浸潤を伴う結核であった。本件体ではラングハンス巨細胞を伴う類上皮細胞に囲まれた比較的大型の乾酪壊死巣が見られた。背景の浸潤リンパ球は小型・均一な形態を示したが、びまん性に CD20 陽性であった。光学顕微鏡診断時にはチール・ネルゼン染色で壊死巣内に抗酸菌を見出したため結核の診断となった

が、20倍 WSI 画像ではその検出に至らず low grade B-cell lymphoma, NOS with granulomatous reaction with undetermined significance との診断となっていた。最終的な組織診断は結核に共存する low grade B-cell lymphoma, NOS であった。

4. 「小不一致」であった 15 検体の内、11 検体は FL のグレード分類に関連したものであった。その内 8 検体は WSI 画像診断で grade 2、一次的顕微鏡診断で grade 1 とされており、2 検体は WSI 画像診断で grade 2、顕微鏡診断で grade 3a、1 検体は WSI 画像からは DLBCL と診断されたが、顕微鏡では FL grade 3b であった。日常病理診断においても FL の grade の揺らぎや DLBCL との鑑別は診断者間あるいは診断者内でも起こることが知られている。残る 4 検体における「小不一致」については、WSI 画像の質よりも人的要因が大きいものと考えられた。一次的診断 high-grade B-cell lymphoma, NOS で WSI 画像では DLBCL と診断された検体では、検体量が不十分であったことと病歴情報が不十分であったことが不一致の理由と見なされた。一次的診断 atypical lymphoid cell infiltration (indeterminate for malignancy)、WSI で probable T-cell rich B-cell lymphoma と診断された検体では、いずれの診断も決定的なものではなかった。顕微鏡診断 nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma with a T-cell rich B-cell lymphoma、WSI 画像で T-cell rich B-cell lymphoma となった検体についても、nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma と T-cell rich B-cell lymphoma の判別は時に極めて不明確なことがあるため「小不一致」に分類した。

以上の研究結果は、リンパ腫において光学顕微鏡と WSI 画像の診断一致率は高くかつ不一致率は低いこと、WSI は一次的診断に有効に用いることが可能であることを示唆した。しかしながら、腫瘍性 T 細胞の鑑別など詳細な細胞形態の評価には現時点での WSI 画像は質的に不十分であることが明らかとなった。WSI 画像による病理診断で困難を感じた場合には適宜光学顕微鏡診断や、必要であれば分子診断を追加することが推奨すべきであることも示された。

本研究は従来行われていなかったリンパ腫の病理診断における WSI 画像の有用性をあらかじめ光学顕微鏡診断の付された検体を盲検法によって解析し、組織診断の高い一致率と低い不一致率が得られることを明らかにしたものであり、形態診断へのデジタル画像の応用における適応と限界を示した価値ある集積と認める。よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。