

移動領域の予測を用いたメラノソーム追跡率の向上

Accuracy Improvement in Melanosome Tracking
by Estimation of Moving Region岡部 敏明†
Toshiaki Okabe堀田 一弘†
Kazuhiro Hotta

1. 序論

顕微鏡技術の発展により、生きている細胞の中身を観察するライブセルイメージングは近年急速に進められている[11]-[13]。特に、細胞内の物質輸送経路の解明は、病態の理解に向けて非常に重要な分野の一つである。しかし、現状では細胞内画像処理のための認識法はほとんどなく、人間が手で計数したり、追跡したりしている。これは肉体的にも精神的にもつらい作業であり、自動化が望まれている。もし自動化ができれば大量のデータを処理することができる上、人の主観が入らない客観的な結果が得られるため、病態の解明につながると期待される。そこで本論文ではこれまで培われてきたパターン認識技術を用いてメラノソーム[1][2]とよばれるメラニン細胞内の細胞内小器官の追跡を行う。ここでメラニン細胞はメラニン色素を合成し、合成したメラニン色素をメラノソームと呼ばれる細胞膜に貯蔵し、細胞内に輸送される。この輸送される際に障害が発生し、適切に輸送されない場合、ヒトやマウスの色素異常を引き起こすことが知られている。従って、病態発症の理解という観点からメラノソームの解析は重要である。

このメラノソームは図1, 2に示すような黒色の粒子であり、濃淡画像内に存在する周囲と違いの少ない粒子を追跡する方法が必要になる。したがって、このメラノソームの追跡法を完成することができれば、様々な種類の細胞にも応用できる可能性があり、医療分野における発展につながるができる。また、人では扱うことができないほどの大量のデータを瞬時

に処理できると期待されている。

従来研究が存在しないため、本論文では試験的に物体認識において有効性が報告されている Scale-Invariant Feature Transform(SIFT)[3]を利用してメラノソームの候補点を検出する。しかし、明視野顕微鏡画像に SIFT を適用した場合、メラノソームが小さいため、メラノソームの中心に記述子を検出できないことがある。これを解消するため、メラノソームの候補点を検出する際に Lanczos リサンプリング[4][5]を用いて明視野顕微鏡画像を拡大してから SIFT による特徴点検出を行った。また、メラノソームの黒色である特性を利用し、顕微鏡画像を輝度値の2値化処理を行い、メラノソーム上にある記述子のみを利用する削減処理を行った。また、メラノソームは図1, 2に示すように非常に密集しているため、次の時刻における移動領域をある程度予測可能である。予測範囲内の候補から Bayes の事後確率を計算し、事後確率が最大となる位置を追跡する。しかし、SIFTによるメラノソーム候補の検出では同じ場所に複数の特徴点検出されることがある。そこで、同じ場所に存在する複数の特徴点の各々において Bayes の事後確率を計算し、その確率を和や積により結合した。

正常なメラノサイト及び Griscelli 症候群メラノサイトにおけるメラノソームの追跡実験を行ったところ、時刻 $t+1$ に正解を与えて時刻 t で正しく追跡できた場合の平均追跡率が最も高い方法は移動領域の予測と確率の和を用いた方法であり、平均追跡率は 94.9%であった。また、最初の1枚だけ正解を与えて追跡させた場合の平均追跡率が最も高い方法は移動

† (学) 名城大学 理工学部 電気電子工学科

領域の予測と確率の和か積を用いた方法であり、平均追跡率は72.4%であった。

本論文では、2節で提案手法の詳細について説明し、3節で評価実験の結果を示す。最後に結論と今後の課題を4節で述べる。

2.提案手法

本章では提案手法の詳細について説明する。まず、提案手法の流れを図を用いて説明する。提案手法の流れは図3のようになる。メラノソームを追跡するためにはメラノソームの候補となる候補点とその特徴量が必要である。そこで、今回は物体認識等で有効性が報告されているSIFTを利用する。SIFTを用いて候補点を検出し、SIFT記述子により特徴量を抽出する。そしてSIFTにより検出されたメラノソーム候補点とSIFT特徴を利用し、SIFT特徴点の時相間でのマッチングを計算し、Bayesの定理を用いて時刻 t で最も確率が高い位置 x_t を推定する。

しかし、元の画像ではメラノソームの中心にSIFTによる候補点を検出されないことがあるため、Lanczosリサンプリングにより拡大した後にSIFTを用いて候補点を検出し、SIFT記述子により特徴量を抽出する。しかし、画像拡大後に、SIFTにより候補点を検出した場合、メラノソーム以外の領域で候補点を検出されることがある。そこで、メラノソームが黒色であることを利用して画像を輝度値で2値化し、メラノソーム以外のSIFT候補点の削減処理を行っている。実験ではこれらの処理を行うことにより追跡率が向上した。さらに追跡率を向上させるために、本論文で提案する移動領域の予測を取り入れた追跡率を評価する。

以下に手法の概略を説明する。まず、2.1節でSIFT、2.2節ではLanczos法を用いた画像の拡大法について説明する。また、2.3節では輝度値の2値化画像によるSIFT記述子の削減、2.4節ではBayesの定理を用いた追跡、2.5節では追跡対象の移動領域の予測について説明する。

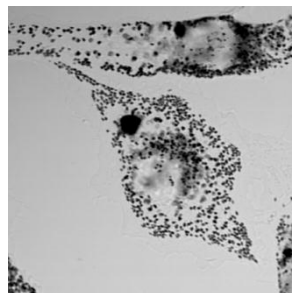


図1 正常

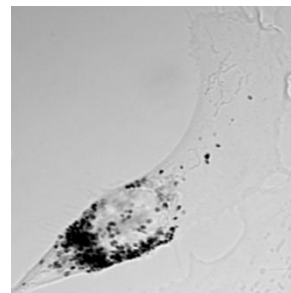


図2 Griscelli 症候群



図3 提案手法の流れ

2.1 Scale-Invariant Feature Transform

SIFT[3]は特徴点の検出と特徴量の記述を行うアルゴリズムである。検出した特徴点から、画像の回転、スケール変化、照明変化等に頑健な特徴量を抽出する。物体認識において有効性が報告されているため、これを用いてメラノソームの候補を検出し、SIFT記述子の特徴量として利用した。

2.2 Lanczos リサンプリングを用いた画像の拡大法

Lanczos リサンプリングは画像の拡大縮小に有効な方法である。Lanczos カーネルは2つの sinc 関数で構成され、以下の式が与えられる。

$$L(x) = \begin{cases} \text{sinc}(x)\text{sinc}\left(\frac{x}{a}\right) & -a < x < a, x \neq 0 \\ 1 & x = 0 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (1)$$

ここでsinc関数は $\frac{\sin(\pi x)}{\pi x}$ である。また、 a はカーネルの大きさを決めるため、一般には2または3の値をとる。 a より大きい所は0とし、 $x=0$ の時は1とする[15]。今回はより鮮明な拡大画像が得られる $a=3$ の時のLanczosカーネルを利用する。上式(1)を整理することにより以下の式を得ることができる。

$$\text{sinc}(x)\text{sinc}\left(\frac{x}{a}\right) = \frac{a\sin(\pi x)\sin\left(\frac{\pi x}{a}\right)}{\pi^2 x^2} \quad (2)$$

また、画像用の2次元のLanczosカーネルは単純に1次元カーネルの積で表せるので、ある任意の点 (x_0, y_0) における拡大縮小の際の補間値は、Lanczosカーネルを用いて以下の式のように計算できる。

$$\hat{I}(x_0, y_0) = \sum_{i=x_0-a}^{x_0+a} \sum_{j=y_0-a}^{y_0+a} I(i, j)L(x_0-i)L(y_0-j) \quad (3)$$

2.3 2値化画像を用いたSIFT記述子の削減

今回追跡対象とするメラノソームは黒色である。そのため、2値化画像を用いることにより真のメラノソーム候補点以外の点を削除することができる。不要な候補を削除することにより、さらなる追跡精度の向上が期待できる。

閾値を θ としたとき、濃淡画像 $f(x, y)$ の閾値による2値化は以下の式で表される。

$$g(x, y) = \begin{cases} 1 & f(x, y) \geq \theta \\ 0 & f(x, y) \leq \theta \end{cases} \quad (4)$$

この閾値選択は精度に影響を与える。そこで今回は、以下のように閾値を選択し、その値を全ての実験で用いた。

学習及びテスト画像とは別のパラメータ推定用メラノソーム12種類に対して閾値を変化させながら追跡を行い、その精度を評価した。閾値はそれぞれ128, 150, 170の3種類を選択したところ、閾値150の時の正解率が最も高いことが分かった。そこで今回の実験では閾値を150に固定して行った。この閾値を用いて2値化した画像を図4に示す。この画像を用いてSIFT特徴の削減を行う前と後の画像を図5, 6に示す。削減前に比べ、削減後はメラノソーム以外のSIFT記述子が削減されていることがわかる。

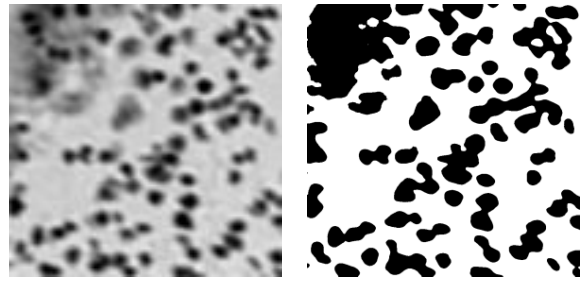


図4 2値化画像の例

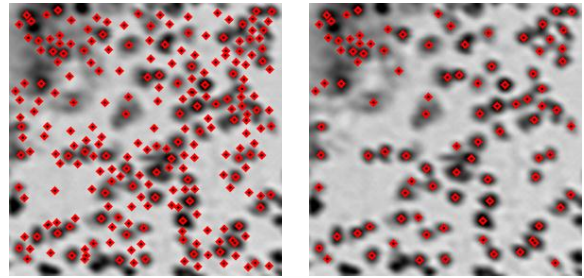


図5 特徴点削除前

図6 特徴点削除後

2.4 Bayesの定理を用いた追跡

SIFTにより検出される記述子の位置とその位置における128次元のSIFT特徴量が得られる。従って、SIFT特徴 \mathbf{y}_t を入力した時の位置 \mathbf{x}_t における事後確率を計算すれば良い。本論文では時刻1から t までの観測値 $\mathbf{Y}_t = \mathbf{y}_1, \dots, \mathbf{y}_t$ が得られた時の事後確率 $P(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_t)$ を推定する。この式は以下ようになる。

$$P(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_t) = \frac{p(\mathbf{y}_t | \mathbf{x}_t, \mathbf{Y}_{t-1})p(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_{t-1})}{p(\mathbf{y}_t | \mathbf{Y}_{t-1})} \quad (5)$$

ここで、 $p(\mathbf{y}_t | \mathbf{x}_t, \mathbf{Y}_{t-1})$ は $\mathbf{y}_1, \dots, \mathbf{y}_{t-2}$ に依存しないと仮定すると、 $p(\mathbf{y}_t | \mathbf{x}_t, \mathbf{Y}_{t-1})$ と書ける。また、 $p(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_{t-1})$ は前の時刻の事後確率と遷移確率を用いて次のように書くことができる。

$$p(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_{t-1}) = \int p(\mathbf{x}_t | \mathbf{x}_{t-1}) p(\mathbf{x}_{t-1} | \mathbf{Y}_{t-1}) d\mathbf{x}_{t-1} \quad (6)$$

従って事後確率は以下のように書くことができる [10][11]。

$$P(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_t) = \frac{p(\mathbf{y}_t | \mathbf{x}_t, \mathbf{Y}_{t-1}) \int p(\mathbf{x}_t | \mathbf{x}_{t-1}) p(\mathbf{x}_{t-1} | \mathbf{Y}_{t-1}) d\mathbf{x}_{t-1}}{p(\mathbf{y}_t | \mathbf{Y}_{t-1})} \quad (7)$$

式(7)において、 \mathbf{x}_t を推定位置、 \mathbf{y}_t を観測値、 \mathbf{y}_{t-1} を時刻 $t-1$ における追跡メラノソームの観測値とする。これが最大となる位置を追跡すればよい。また、

$p(\mathbf{y}_t | \mathbf{Y}_{t-1})$ は事後確率 $P(\mathbf{x}_t | \mathbf{Y}_t)$ の合計が1となることを保証するための単なる正規化係数であり,これを省略しても事後確率の最大値は変わらないので実際には計算しなくても良い.次節以降で条件付確率と遷移確率について詳しく説明する.

2.4.1 条件付確率

本論文では,推定位置 \mathbf{x}_t における条件付確率を正規分布で表す.

$$p(\mathbf{y}_t | \mathbf{x}_t, \mathbf{y}_{t-1}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left\{-\frac{\|\mathbf{y}_t - \mathbf{y}_{t-1}\|^2}{2\sigma^2}\right\} \quad (8)$$

式(8)の \mathbf{y}_t は時刻 t の位置 \mathbf{x}_t における128次元のSIFT記述子である.また, \mathbf{y}_{t-1} は時刻 $t-1$ における128次元のSIFT記述子である.

2.4.2 遷移確率

時間 t における追跡対象の座標を $\mathbf{x}_t = (w_t, h_t)^T$ とする.時刻 $t-1$ における追跡対象の座標を $\mathbf{x}_{t-1} = (w_{t-1}, h_{t-1})$ とした時,遷移確率を以下のように座標間の移動量の正規分布としてモデル化できる.

$$p(\mathbf{x}_t | \mathbf{x}_{t-1}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left\{-\frac{\sqrt{(w_t - w_{t-1})^2 + (h_t - h_{t-1})^2}}{2\sigma^2}\right\} \quad (9)$$

ここで σ は分散である.この式を用いることにより,遠く離れた所への遷移確率は小さくなるので,移動範囲の制限を行うことができる.

2.5 移動領域の予測

図7は明視野顕微鏡画像を2値化した画像である.この画像においてメラノソームは黒色で表現され,メラノソームが存在しない領域は白色で表現される.図7の丸で囲まれたメラノソームを追跡対象とした場合,他のメラノソームが移動せず,衝突を行わないと仮定すると,追跡対象のメラノソームが次の時刻に移動できる領域が図8のように限定できる.図8では移動可能領域を白色で表現し,移動不可能領域は灰色で表している.これにより,誤追跡を軽減させ,かつ処理数を減らすことができる.

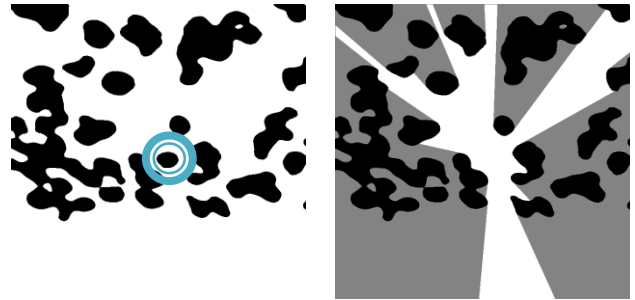


図7 2値化画像

図8 移動領域予測モデル

3. 評価実験

今回,パラメータ推定用テスト画像として精密工学会画像応用技術専門委員会[14]御提供のGriscelli症候群メラノサイトにおける13個のメラノソームと,正常なメラノサイトにおける31個のメラノソームの計44個の追跡率の平均を評価した.それぞれのメラノソームには専門家による正解座標が付与されており,この正解座標を評価に用いる.

追跡率の評価は時刻 $t-1$ で正解を与えた時に時刻 t で正しく追跡できるかを評価した場合(これを各時刻に正解を与えた場合と称する)及び,時刻0のみに正解を与え,時刻 t で正しく追跡できるかを評価した場合(これを最初だけ正解を与えた場合と称する)で行った.ただし,今回の実験では提案手法の最も単純な場合である前の時刻 $t-1$ において最大の事後確率を持つ追跡位置の確率だけを1とし,それ以外の場所の確率を0として追跡を行った.つまり時刻毎の追跡を連続で行うことに等しい.各時刻に正解を与えた場合の追跡率の結果を表3,最初のみ正解を与えた場合の追跡率の結果を表4に示す.

表3の平均追跡率から移動領域の予測を用いることにより追跡率が向上することがわかる.この結果から本論文で提案した移動領域予測モデル内でメラノソームが移動していると考えられる.

表4の平均追跡率からやはり移動領域の予測を取り入れた手法の制度が高いことがわかる.これは,時刻 $t-1$ で正解を与えた場合と同様に,メラノソームの運動範囲は本論文で提案した移動領域の予測モデル内であることを表している.

しかし、時刻 $t-1$ で正解を与えた時に時刻 t で正しく追跡できるかを評価した場合に比べて時刻 0 のみに正解を与え、時刻 t で正しく追跡できるかを評価した場合には追跡率が低下することが結果で示されている。これは、最初のみ正解を与えているため、追跡対象を1度間違えてしまった場合、間違えた対象を追跡してしまい、追跡率が低下してしまうからである。追跡失敗の原因となっているのが、SIFTによる特徴点検出と、SIFT記述子削減処理を行った際に発生する問題であると考えられる。まず、SIFTの特徴点検出における問題点だが、Lanczosリサンプリングを用いて画像を拡大することにより、SIFT特徴点をより正確に検出させることが可能となった。しかし、追跡対象のメラノソームがSIFTにより検出されなかったものがあった。これが原因で追跡率が低下しているものがある。

もうひとつの問題であるSIFT記述子の削減処理だが、今回は2値化処理を行う際に閾値選択として128, 150, 170の3つの閾値からパラメータ推定用のメラノソームの追跡率を評価し、最も追跡率の高い150を選択した。しかし、この閾値が評価用のメラノソームには不適切であった。閾値を下回ってしまった追跡対象のメラノソームのSIFT記述子を削減してしまったことが、追跡失敗の原因である。これらの問題を解決するために、別の特徴点検出法を利用することも検討しなければならない。また、閾値の問題に関しては、各画像毎に閾値を自動で選択することにより追跡対象上に存在する記述子の誤削減処理を行わないようにする必要がある。

4. 結論

SIFT特徴とBayesの事後確率を用いたメラノソームを追跡する手法を提案した。画像拡大処理後にSIFTを適用してメラノソームの候補点と特徴量を抽出し、輝度値の2値化処理を用いてメラノソーム以外の候補点の削減処理を行った。また、メラノソームの移動領域の予測を用いることにより追跡率の向上が見られた。1枚毎の追跡では94.9%と高い精度を得る

表3 各時刻で正解を与えた場合

	移動領域予測なし		移動領域予測あり	
	積	和	積	和
Griscelli	93.2%	93.6%	95.2%	95.6%
正常	93.9%	93.9%	94.6%	94.6%
全体平均	93.7%	93.8%	94.8%	94.9%

表4 最初のみ正解を与えた場合

	移動領域予測なし		移動領域予測あり	
	積	和	積	和
Griscelli	67.6%	67.6%	68.0%	68.0%
正常	69.5%	69.5%	74.2%	74.2%
全体平均	69.0%	69.0%	72.4%	72.4%

ことができたが、最初の1枚だけに正解を与えた場合には途中の追跡失敗から復帰できずに精度が低下してしまった。

本論文では現在→未来への追跡を行っているが、さらに追跡率を向上させるためには、現在→過去への再度追跡処理を行うことにより、現在→未来への追跡対象が正しいかどうかを検証すれば、誤追跡の可能性を低減できるのではないかと考えられる。

参考文献

- [1] T. S. Kuroda, et al., "The actin-binding domain of Slac2-a/melanophilin is required for melanosome distribution in melanocytes", *Mol. Cell. Biol.* 23, pp.5245-5255, (2003).
- [2] T. S. Kuroda, et al., "Rab27A-binding protein Slp2-a is required for peripheral melanosome distribution and elongated cell shape in melanocytes", *Nature Cell Biol.* 6, pp.1195-1203, (2004).
- [3] D. G. Lowe, "Distinctive image features from scale-invariant keypoints", *International Journal of Computer Vision*, 60, 2, pp.91-110, (2004).

- [4] C. E. Duchon , "Lanczos Filtering in One and Two Dimensions " , Journal of Applied Meteorology 18 , 8 , pp.1016–1022 , (1979).
- [5] K. Turkowski and S. Gabriel , "Filters for Common Resampling Tasks " , In Andrew S. Glassner. Graphics Gems I. Academic Press , pp.147–165 , (1990).
- [6] R. O. Duda , et al . , Pattern Classification , WILKY-INTERSCIENCE , (2001).
- [7] A. I. Dale , "Most Honourable Remembrance : The Life and Work of Thomas Bayes " , (1991).
- [8] S. M. Stigler , "Thomas Bayes' Bayesian Inference " , Journal of the Royal Statistical Society , Series A , 145 , pp.250-258 , (1982).
- [9] 岡部 敏明 , 堀田 一弘 , "SIFT 特徴と Bayes の事後確率を用いたメラノソームの追跡" , 画像の認識・理解シンポジウム サテライトワークショップ 細胞内画像処理 , pp.12 , (2010).
- [10] 岡部 敏明 , 堀田 一弘 , " 画像拡大によるメラノソーム追跡の精度向上" , 電子情報通信学会総合大会 , 学生ポスターセッション , (2011).
- [11] S. Sakaushi , et al . , "Dynamic behavior of FCHO1 revealed by live-cell imaging microscopy : it's possible involvement in clathrin-coated vesicleformation " , Biosci Biotechnol Biochem , 71 , 7 , pp.1764-8 , (2007).
- [12] K. Sugimoto and S. Tone , " Imaging of mitotic cell division and apoptotic intra-nuclear processes in multicolor " , Methods Mol. Biol. 591 , pp.135-46 , (2010).
- [13] S. Sakaushi, et al . , " Visualization of aberrant perinuclear microtubule asterorganization by microtubule-destabilizing agents " , Cell Cycle. 7 , 4 , pp.477-83 , (2008).
- [14] <http://www.tc-iaip.org/algorithm.html>
- [15] J. Lund and K. L. Bowers , Sinc Methods for Quadrature and Differential Equations , SIAM , (1992).