

生体試料を対象とした電子顕微鏡断層像の 3 次元可視化

山下 主税 西尾 孝治 小堀 研一

大阪工業大学

1. はじめに

近年、計算機の発達に伴い画像処理技術が向上し各分野において広く用いられるようになっていく。最近では電子顕微鏡技術の発達に伴い、約 0.1 ~ 20 μm 程度の厚い試料を撮影することができるようになった。また、電子線トモグラフィーを行うことで、微小な試料のボリュームデータを得ることができる。しかし、位置合わせのためのマーカを画像中に付加させる必要があり、マーカがノイズとなって現われてしまう。また、試料の傾斜角に制限があるため、ボリュームデータ内に不鮮明な箇所が出てしまう。そのため、これらのボリュームデータの 3 次元可視化を行う場合、ボリュームデータのスライス像(以下断層像とする)を人が手作業でトレースすることにより行っているが、画像の枚数が多くなると多くの作業時間を要する。また、トレースの精度は作業を行う人の技量に依存するという問題もある。そのため、これらの作業の自動化が必要とされている。

そこで本稿では生体試料を対象とした電子顕微鏡断層像の 3 次元可視化手法を提案する。提案手法では動的輪郭モデルの 1 つである Level Set Method を用いて対象の輪郭を抽出する。また、断層像間の位相を考慮して輪郭を抽出するために 3 次元の Level Set Method を適用する。

2. Level Set Method

Level Set Method は、抽出する境界を 1 次元高い補助関数の評価値がゼロとなる箇所とみなして、境界の更新条件である偏微分方程式を数値的に解き、補助関数を変更することで境界を動的に制御している。このとき曲線の曲率をもとに境界が滑らかな形になるように移動方向を、画像の輝度勾配が大きい場所で境界の移動が止まるよう更新条件を与えることで、対象の輪郭を抽出することが可能である。

Level Set Method の手順を以下に示す。まず、抽出対象付近に初期輪郭とよばれる初期形状を配置する。次に偏微分方程式を解くことで補助関数の値を変更する。この処理を、補助関数の変化量が閾値以下になるか、十分な試行回数に達するまで繰り返す。最後に補助関数の値から評価値がゼロとなる箇所を求めることで対象の輪郭を抽出する。

Level Set Method は空間全体に対して処理を行うため計算コストが大きくなるが、本研究では Li らの手法^[2]を用いてこれを改善した。

3. 提案手法

提案手法では、画像中の大きな領域を占める外部組織を認識した後に、細胞内部の細かい内部組織を抽出する。このとき階層的に輪郭を抽出することで計算範囲を限定することができる。これにより計算コストを削減し抽出精度を向上させる。提案手法による 3 次元可視化の手順を以下に示す。

- (1) 断層像をボリュームデータに変換する。
- (2) 対象の外側に初期輪郭を設定し、3 次元の Level Set Method を適用して初期輪郭を収縮させることで細胞の外部組織を抽出する。
- (3) 内部組織の内側に初期輪郭を設定し、3 次元の Level Set Method を適用して初期輪郭を膨張させることで細胞の内部組織を抽出する。
- (4) 抽出した組織から Marching Cubes 法を用いて等値面を求める。

輪郭抽出処理の結果は初期輪郭を設定する場所と、Level Set Method を行うためのパラメータに依存する。そのため、提案手法ではこの 2 つを自動設定する。

3.1 初期輪郭の自動設定

本研究で対象とする細胞画像には、対象の内部に大きさや輝度値の異なる複数の組織が存在する。空間全体に対してこれらの初期輪郭を一様な閾値で設定するのは難しい。そこで断層像の中からコントラストの高い画像を 1 枚選び、ユーザに抽出したい箇所を選択してもらう。選択箇所内部の色情報から分布の大きい範囲を求め、ボリュームデータ全体からその領域を抽出し初期輪郭とする。これにより、ユーザが注目した組織の抽出が可能となる。初期輪郭の設定手順を以下に示す。

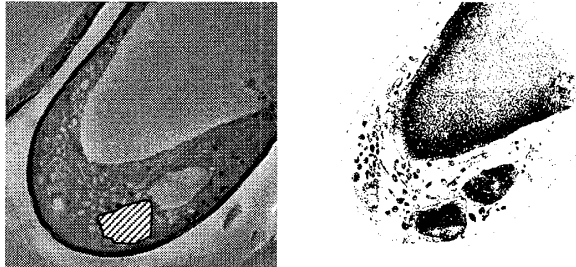
- (1) 断層像の中から 1 枚画像を選び抽出したい組織を 1 つだけ囲む。(図 1(a))
- (2) 囲んだ領域内での輝度値の最頻値を求め、最頻値の輝度値を基準として上下それぞれ 25% の範囲内にある輝度値を抽出範囲とする。
- (3) ボリュームデータ全体に対し、得られた範囲内の輝度値をもつボクセルを抽出する。ただし、この計算は、あらかじめ抽出しておいた

"Three-dimensional Visualization for Electron Tomogram"

Chikara Yamashita, Koji Nishio and Ken-ichi Kobori
Osaka Institute of Technology

- 外部組織の内側に限定する。(図 1(b))
 (4) 収縮処理を施して細かいノイズを除去する。

以上の処理で得られた結果を初期輪郭とする。抽出したい領域の種類だけこの処理を繰り返すことで細胞組織全体の初期輪郭を設定する。



(a) 選択領域 (b) 抽出結果

図 1 初期輪郭の自動設定

3.2 パラメータの自動設定

前項で述べたユーザが選択した領域の情報を利用してパラメータの自動設定を行う。まず、ユーザが選択した領域を外包する 3 次元のバウンディングボックスを作成する。図 2 の黒丸に選択領域を、網掛け部分にバウンディングボックスを示す。次に、バウンディングボックス内で Level Set Method を実行する。さらに、Level Set Method で得られた輪郭が選択領域付近にあるかを調べ、領域付近にあればそのときのパラメータを用いて全体に Level Set Method を実行する。もし選択領域の内側や外側に輪郭があれば、パラメータの重みを変更して再度 Level Set Method を実行する。この処理を最適なパラメータが得られるか、十分な試行回数に達するまで繰り返す。

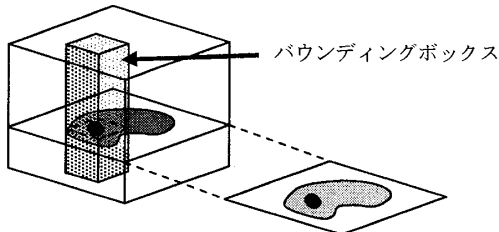
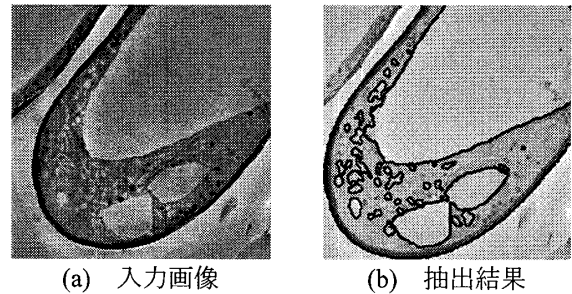


図 2 選択領域を外包するバウンディングボックス

5. 実験

本研究の有効性を検証するために実験を行った。提案手法を用いて電子顕微鏡断層像の細胞領域に対し、Level Set Method のための初期輪郭とパラメータを自動設定し、3次元の Level Set Method を用いて輪郭を抽出した。また、得られた輪郭を用いて3次元可視化を行い、細胞の3次元形状を評価した。実験にはアブラナの細胞断層像を用いた。輪郭の抽出結果を図 3 に、3次元可視化結果を図 4 に示す。ただし、図 3(b)では抽出した輪郭を強調するために画像の明度を高くしている。



(a) 入力画像 (b) 抽出結果

図 3 輪郭抽出結果

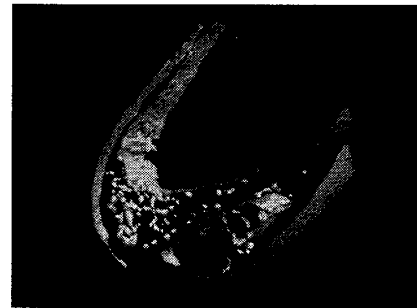


図 4 3次元可視化結果

図 3 から、輝度値の大きくかつ領域の面積が一定以上の領域が抽出できている。また、図 4 から細胞領域の 3 次元的な位置関係を容易に把握できることが確認できる。しかし、領域の面積が小さい線状の組織については粒状になり正しく抽出できていないことがわかる。Level Set Method は画像の輝度勾配をもとに輪郭を抽出しているため、輝度勾配の小さい境界をもつ領域がうまく抽出できなかったことが原因として考えられる。そのため、入力画像のコントラスト補正を行う必要がある。

6. おわりに

本研究では、3次元の Level Set Method を用いた電子顕微鏡断層像の 3次元可視化に関する手法を提案した。提案手法では、初期輪郭を画像の輝度値から自動設定することで、輪郭の抽出精度を向上させた。また、Level Set Method のパラメータを自動設定することでユーザの手間を低減した。そして実験により、断層像の 3次元的な位置関係を容易に把握できることを確認した。

今後の課題として、入力画像のコントラスト補正があげられる。

<参考文献>

- [1] J.A. Sethian, "Level Set Methods and Fast Marching Methods: Evolving Interfaces in Computational Geometry, Fluid Mechanics, Computer Vision, and Materials Science", Cambridge University Press (1999).
- [2] Chunming Li, Chenyang Xu, Changfeng Gui, and Martin D. Fox, "Level Set Evolution Without Reinitialization: A New Variational Formulation", CVPR 2005 (2005).