

神経細胞内の顆粒物体の運動解析 Motion Analysis of Granular Objects in Neural Cells

森江 健吾† 小野寺 徹† 長尾 智晴†
Kengo MORIE Toru ONODERA Tomoharu NAGAO

1. 背景と目的

一般に医学・医療の分野においては、医師の知識や経験から診断がなされることが多い。しかし、大量の画像の蓄積や検索といったコンピュータによる診断支援が必要な分野も医療では存在する。近年、画像処理の発展と普及はめざましく、さまざまな画像処理アルゴリズムが提案されてきた。その中でも医用画像処理の必要性が注目されている。また医学研究においては、画像中の特徴量を研究者それぞれの目分量や感覚で表わしていることもしばしば見受けられる。このような特徴量をコンピュータによって、定量的に抽出することは、実験の正確さや他の実験との比較といった研究支援に役立ち、また実際に人間が正常状態であるかどうかを測定するといったことが可能となる。

私たちの体を作っている細胞内では生命活動を正常に維持するために不可欠なタンパク質が、細胞内にある器官を通り、細胞膜や細胞外部の目的地へ輸送されている。このとき積荷として運ばれるタンパク質には、目的地へ正確に輸送されるよう輸送シグナルとなる物質が取り付けられる。このような輸送を調節するタンパク質が正常な構造や機能を持たないために起こる遺伝病も少なくない。体の中で必要な場所へタンパク質が正確に分配されることが生命活動には不可欠である。そのため輸送タンパク質の機能を知ることが基礎生物学と医学の両面から、重要な研究テーマである[1]。

そこで、本研究ではこの輸送タンパク質の輸送に関わる神経細胞内の顆粒物体の運動解析を行なうことを目指す。

2. 提案手法

2.1 顆粒物体の抽出

本研究では、マウスの胎児の脳を数個集めて培養した神経細胞を、コンフォーカル蛍光顕微鏡で2秒に1枚、計2分間60枚を一定の断層面で撮影した画像(1344×1024画素)を用いた。顆粒物体は、大きさが一定ではなく、撮影面との距離で形状、階調値なども変化する。そこで木構造状画像変換自動構築システムACTIT^[2]を適用した。ACTITとは、進化的画像処理の方法論である。今回用いる画像は、部分的にコントラストの差が大きい箇所が存在するため、局所二値化のフィルタをACTITのフィルタセットに追加した。そこに局所二値化のフィルタを加え、顆粒物体の部分抽出し、マスク画像とする。これを原画像と重ね、5×5の24近傍処理による階調値の差から顆粒物体の中心点を求める。局所二値化とは、ある注目画素に対して、近傍画素の階調値の平均値を求めてしきい値を設定し、二値化するものである。

次にこのACTITで獲得された木構造状画像変換フィルタを他の未知画像に適用する。他の未知画像は教師画像と類似しているため、同様に顆粒物体の抽出を行なうことができる。しかし、ここで出力された画像は顆粒物体同士の重複箇所が多く存在し、個々の顆粒物体を区別することができない。そこでこの画像をマスク画像とし、原画像と重ね合わせ、その階調値の差から顆粒物体の中心点を求める。

2.2 顆粒物体の移動追跡

顆粒物体は移動方向が一定ではなく、重なり、分裂、急な消滅、出現を考慮に入れなければならない。中心点を移動開始点とし、次の2秒後の画像において、顆粒物体の中心点の移動先を求める。この際、顆粒物体はあまり大きく動かないので移動範囲を周囲11×11画素と限定し、移動先の候補点が複数存在した場合は、原画像の顆粒物体の中心点において3×3画素の範囲の階調値の差を比較して、移動先を決定する。また、他の中心点の移動先と一致した場合は顆粒物体が重なったと考え、後に分裂する可能性があることを示す目印をつけておく。移動先に突然、中心点が現れた場合は、大きく分けて3つの場合に分けられると考えられる。まず近くの重なっていた顆粒物体が離れて分裂したと考え、先ほどの目印を頼りに直前の画像で重なっていた顆粒物体から分裂したものを探す。また、直前の画像で顆粒物体が抽出できなかった場合を考え、2枚前の画像を調べて、間を補間する。最後に新しく撮影断面上に現れた場合もあるのでそこから移動追跡を行なう。

2.3 顆粒物体の運動解析

顆粒物体それぞれの軌跡を座標で求め、移動量の抽出などを行ない、定量的な知見が得られないかどうかを考察する。

3. 実験結果と考察

3.1 顆粒物体の抽出

ACTITによる顆粒物体の抽出結果と中心点画像を図1に示す。原画像は非常に大きいので一部拡大した。

顆粒物体の中心点の追跡結果は、顆粒物体それぞれ1枚目から60枚目までのx, y座標と階調値をz座標とした移動軌跡をテキスト形式で出力されるようにした。

すべての顆粒物体の移動量を1枚目と2枚目の間、・・・59枚目と60枚目の間(t=1~59)においてx, y座標から求め、その総和の変化を図2に示す。

まず試行錯誤で求めた15×15画素の範囲で局所二値化した場合と、ACTITで木構造状画像変換フィルタを求めて抽



原画像 目標画像 出力画像 中心点画像
図1: ACTITによる顆粒物体の抽出結果と中心画像

† 横浜国立大学大学院環境情報学府
Graduate School of Environment and Information
Sciences, Yokohama National University

出した場合では、ACTIT を用いた方が、多くの顆粒物体を良い精度で抽出することができた。また局所二値化のフィルタを ACTIT に加えた場合は同じ 5000 世代においてさらに良い適応度 (0.995...) となった。局所二値化のフィルタを ACTIT に追加したことは有効であったと考えられる。

顆粒物体の中心点の抽出に関しては、5×5 の 24 近傍を調べることで、ほとんどの単独で存在する顆粒物体の中心点を抽出することができた。また重なっている顆粒物体でも階調値に差があるものは抽出できたが、均一の階調値 (特に階調値: 255) で重なっている顆粒物体は、分離することができず、1 点で表してしまう部分もあった。後に分裂をしたときは考慮に入れることができるが、移動量の誤差が生じていることが考えられる。

3.2 顆粒物体の移動解析

実際の顆粒物体の動きと、求められた座標を照らし合わせると追跡はある程度できていると考えられるが、顆粒物体の追跡が途中でできなくなったものもかなり見られる。また中心点の移動範囲を±5 画素 (11×11 画素) に設定したが、しばらくはその範囲内で動いている顆粒物体でも一瞬、5 画素以上移動するものもあり、それに関しては追跡できていない。ただし、一時的に大きく移動する前後ではそれぞれ別の顆粒物体として移動を追跡しているので、移動量の総和においては誤差を減少させている。

3.3 顆粒物体の運動解析

全顆粒物体の移動量の総和を図 2 に示した。移動量が頻繁に増減しているのはこの顆粒物体の特徴をよく表わしていて、今後イオン物質の刺激によってこの増減に変化を与える場合、定量的に評価ができるようになる。また全顆粒物体の移動量の総和を 1 枚目から 60 枚目まで合計し、定量的に表すことで、この神経細胞に対してある種の薬剤を加えて、全体の移動量にどのような変化が現れるのかということを定量的に評価できるようになる。

次に階調値の変化をグラフに表す。ここでは撮影断面から距離が離れることで一定に階調値が減少するので 3 次元の動きを抽出することができると考えた。現時点では階調値の変化を移動量に追加することは困難と考えられる。しかし、新たに顆粒物体を薬剤で固定し、撮影断面を変化させて撮影することで、階調値の変化と実際の距離の関係を明らかにすれば、階調値の変化を実際の距離で表わすことができ、z 座標として 3 次元の移動量が求められると考えられる。顆粒物体単体の移動軌跡の例を 2 次元のおよび 3 次元に表したグラフを図 3 に示す。

移動軌跡に関しては、その場で動いている顆粒物体が多く、それほど特徴的な知見は得られなかったが、これも薬剤などによる外部からの刺激で特徴的な動きになるように

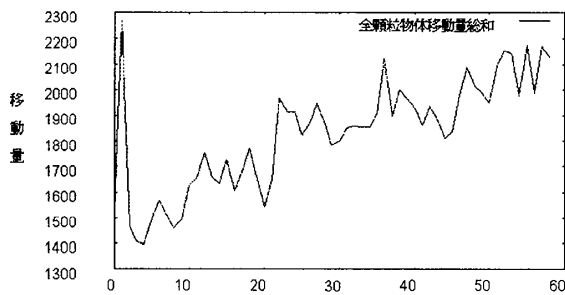


図 2: 顆粒物体の移動量総和の変化

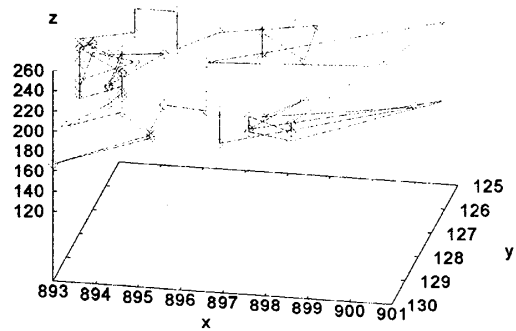
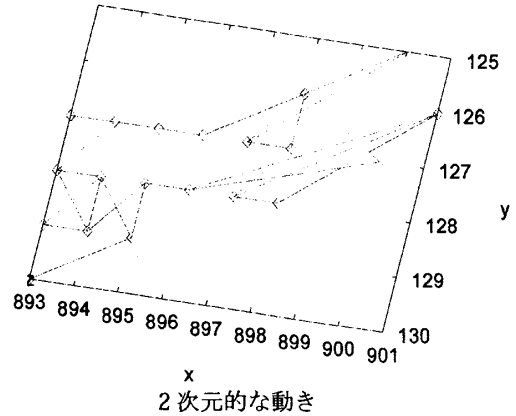


図 3: 顆粒物体単体の移動軌跡例

した場合に軌跡を表すとともにどこに向かっているのかといった方向性を評価することができると考えられる。例えば、先ほどの 3 次元の動きも考慮に加えれば、個々の顆粒物体や複数の軌跡を次のように示すこともできる。今後このような 3 次元の移動軌跡から顆粒物体の運動の特徴が得られると考えられる。

4. まとめ

全顆粒物体の移動量の総和を定量的に表すことができた。この神経細胞に対してある薬剤を加えて、全体の移動量にどのような変化が現れるのかを定量的に評価できるようになり、有益な結果である。また、よく動いた顆粒物体群とあまり動かなかった顆粒物体群をそれぞれ画像中に表すと、神経細胞内のタンパク質の輸送に関わる特徴的な動きを表わす傾向が見られた。今後、階調値の特徴量を活かして、3 次元の移動量の抽出を行いたいと考えている。

謝辞

本研究の元データをご提供下さり、解析結果の評価をして下さった横浜市立大学大学院医学研究科分子細胞生物学・平井秀一先生に深謝致します。

参考文献

- [1] 中野明彦, 今本尚子, 藤木幸夫: 細胞内輸送研究の最前線, 羊土社, 2003.
- [2] 青木紳也, 長尾智晴: 木構造状画像変換の自動構築法 ACTIT, 映像情報メディア学会誌, Vol.53 No.6 pp.888-894, 1999.