

# バイオイメージ・インフォマティクス ワークショップ 2016

---

2016年6月22日(水)～23日(木)

於 大阪大学 吹田キャンパス 銀杏会館

## 開催趣旨

イメージング技術の発展に伴い、日々、多種・大量の生物・医学画像データが蓄積されています。これらの膨大な画像データを解析し、そこから有用な情報を抽出して、観察対象の定量的理解につながるような技術要素を開発し、汎用的な画像情報解析システムとして確立していくことは喫緊の課題となっています。このような背景のもと、生物・医学画像データに対し、情報科学の理論・技術を用いた体系的・網羅的なアプローチにより、生命現象に関する諸問題を解こうとする学問分野は、「バイオイメージ・インフォマティクス」と呼ばれ、世界的に急速に発展しつつあります。バイオイメージ・インフォマティクス研究の重要性は国内でも広く認識されはじめており、様々な分野や学会でこれに関連する研究者コミュニティが形成されはじめています。こうした動向を受け、2011年に国内のバイオイメージ・インフォマティクスに興味を持つ様々な分野の研究者が一堂に会する場として、「バイオイメージ・インフォマティクスワークショップ」が横浜にて開催されました。その後も、2012年は神戸、2014年は愛知県岡崎、2015年は福岡において開催されてきました。

2016年は、大阪の吹田にて、第5回目となる本ワークショップを開催します。これまでのワークショップに引き続き、多くのバイオイメージ・インフォマティクスに関連する研究者にご参加いただき、当該分野研究の最新情報の交換と、今後のコミュニティの発展についての議論を行いたいと考えています。関係者の皆様の積極的なご参加をお願い申し上げます。

## 発表形式

- 口頭発表 (20 分, 発表 : 18 分, 質疑応答 : 2 分を予定)
- ポスター発表 縦 210cm×横 90cm

## オーガナイザ

- 松田 秀雄 (大阪大学 大学院情報科学研究科)
- 大浪 修一 (理化学研究所 生命システム研究センター)
- 中村 春木 (大阪大学 蛋白質研究所)
- 難波 啓一 (大阪大学 大学院生命機能研究科)
- 横田 秀夫 (理化学研究所 光量子工学研究領域)
- 菊田 順一 (大阪大学 大学院医学系研究科)
- 間下 以大 (大阪大学 サイバーメディアセンター)
- 瀬尾 茂人 (大阪大学 大学院情報科学研究科)
- 遠里 由佳子 (理化学研究所 生命システム研究センター)
- 繁田 浩功 (大阪大学 大学院情報科学研究科)

## お問い合わせ

バイオイメージ・インフォマティクス ワークショップ 2016 組織委員会事務局  
565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-5  
大阪大学 大学院情報科学研究科 バイオ情報工学専攻 ゲノム情報工学講座  
e-mail: biiws2016@bio.ist.osaka-u.ac.jp

## 主催・共催・後援・協賛

主催 : バイオイメージ・インフォマティクス ワークショップ 2016 組織委員会  
共催 : 科学研究費補助金 新学術領域研究「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」  
後援 : 科学研究費助成事業・新学術領域研究・学術研究支援基盤形成  
「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」  
協賛 : 自然科学研究機構 新分野創成センター  
バイオグリッドセンター関西

## バイオイメージ・インフォマティクスワークショップ 2016 講演プログラム

6月22日(水)

10:00~10:20 受付

10:20~10:30 開会の挨拶

### 10:30~11:30 セッション 1

10:30~10:50 遠里由佳子

公共データベースの顕微鏡画像を用いた核分裂動態の定量計測とデータ駆動型解析

10:50~11:10 京田耕司

SSBD: 生命動態情報と細胞・発生画像情報の統合データベース

11:10~11:30 川瀬貴士

三次元画像データベースフレームワーク「Versatile Volume Data system (VVD)」

11:30~13:00 昼食休憩

### 13:00~14:35 オーガナイズドセッション

#### 新学術領域研究「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」

13:00~13:30 松田道行

細胞間情報伝達のイメージング

13:30~13:55 横田秀夫

科研費レゾナンスバイオにおける、バイオイメージング・インフォマティクス連携の仕組みの構築

13:55~14:15 上村真生

「第2の生体の窓」における近赤外蛍光 in vivo イメージング

14:15~14:35 竹本智子

人間の領域認識の模倣を目指す画像処理システムの開発

14:35~15:00 休憩

**15:00～15:55 企画セッション**

**学術研究支援基盤形成 「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」**

15:00～15:30 上野直人

先端バイオイメージング支援 –背景からキックオフ、そして将来–

15:30～15:55 内田誠一

支援と協働：画像解析技術支援班メンバーとしての期待

15:55～16:00 休憩

**16:00～18:00 ポスターセッション**

16:00～17:00 奇数番号演題

17:00～18:00 偶数番号演題

**18:00～ 懇親会**

**6月23日(木)**

**10:00～11:40 セッション2**

10:00～10:20 福永津嵩

The Analysis of Factors Underlying Atypical Movement Patterns of *C. elegans* Strains

10:20～10:40 大矢禎一

Single Cell Phenotyping of Sake Yeast

10:40～11:00 齊藤典子

siRNA ハイコンテンツスクリーニングによる細胞核構築の解析

11:00～11:20 大山慎太郎

近赤外線分光法を利用した微小组織の画像分離技術の確立

11:20～11:40 西村智

8K 技術を用いた広視野・高解像度でのマルチスケール生体解析

11:40～13:00 昼食休憩

**13:00～14:20          セッション 3**

13:00～13:20 堀田一弘

Convolutional Neural Network を用いた密集領域に頑健な細胞内の粒子  
計数

13:20～13:40 Wu Stephen

A Machine Learning Pipeline for Whole Brain Imaging of  
*Caenorhabditis elegans*: Cell Tracking, Quantification, Annotation  
and Visualization

13:40～14:00 藤井庸祐

すべての細胞は真ん丸に

14:00～14:20 寺口俊介

Estimation of Diffusion Constants from Single Molecular  
Measurement without Explicit Tracking

14:20～14:30 休憩

**14:30～15:50          総合討論**

15:50～16:00 閉会の挨拶

## ポスター発表リスト

番号	発表者	演題
P01	内田誠一	大局的最適解に基づくがん細胞 Bleb 挙動の定量解析
P02	鎌田星菜	オープンフィールド試験におけるマウス行動特性の定量化
P03	松原周平	オブティカルフローとウェーブレット解析を用いた白血球の動態の解析手法
P04(O)	寺口俊介	Estimation of Diffusion Constants from Single Molecular Measurement without Explicit Tracking
P05	杉本潤	深度情報を活用した中心体の検出および移動解析
P06	備瀬竜馬	細胞密度が高い状況下におけるトラッキング手法と血管モデリングへの応用
P07	塩井剛	ライブイメージングによるマウス胚の細胞挙動解析
P08(O)	遠里由佳子	公共データベースの顕微鏡画像を用いた核分裂動態の定量計測とデータ駆動型解析
P09(O)	京田耕司	SSBD: 生命動態情報と細胞・発生画像情報の統合データベース
P10(O)	福永津嵩	The analysis of factors underlying atypical movement patterns of <i>C.elegans</i> strains
P11	東裕介	線虫 <i>C. elegans</i> 胚の細胞膜セグメンテーション方法の開発
P12	深野淳	アメーバ状細胞の動態のモデル化とそのため画像処理
P13	繁田浩功	ウェーブレット特徴量を用いた生体骨組織の骨髓腔の領域分割手法
P14	豊島 有	全脳イメージングの自動解析に向けた要素技術について
P15	安田洋子	パターン認識プログラムと細胞核形態に着目した癌組織の定量化
P16	増子大輔	男性不妊の指標を探索するための、精子の頭の形の定量解析
P17(O)	藤井庸祐	すべての細胞は真ん丸に
P18	木森義隆	Mathematical morphology に基づく生物形態情報の抽出と数値化
P19	西田賢志郎	CNN を用いたスコアパッチの集積による粒子検出
P20	熊谷章平	Mixture of Regressions に基づく CNN の統合による細胞内画像中の粒子計数
P21	渡邊美月	ディープラーニングを用いた細胞内の粒子計数
P22	新岡宏彦	Convolutional Neural Network による C2C12 細胞の分化判別
P23	渡邊誓旅	画像処理とディープラーニングの手法を用いた病理診断支援

(O)は口頭発表もあります。

## 口頭発表 概要

---



## セッション 1

公共データベースの顕微鏡画像を用いた核分裂動態の定量計測とデータ駆動型解析

遠里 由佳子[1], 岡田 初美[1], 高山 順[1], 京田 耕司[1], 大浪 修一[1]

[1]理化学研究所生命システム研究センター

ライブイメージング技術の普及に伴い、さまざまな顕微鏡画像が公共データベースに公開されつつある。これら動画画像を画像処理することで得られる核や細胞の時空間定量データは、データ駆動型解析に利用できる。そこで、公共データベース Phenobank で公開されている線虫初期胚の 2 次元タイムラプス微分干渉顕微鏡画像に、開発した画像処理法を適用し、核分裂動態の定量データの作成を試みた。作成したリソースは、RNAi 胚の定量データ 1,579 セットからなり、胚発生に必要な 549 遺伝子の RNAi 胚を 3 セットずつ含む。各定量データは、核領域の輪郭座標とその時間変化からなる。すべての核領域は目視でエラー修正されている。リソースの有効性を検証するため、雌性前核の最大移動速度を算出し、RNAi 胚で著しい影響がある 12 遺伝子を選択した。これら遺伝子を対象にした独自の RNAi 実験で 63.6%の再現性を確認した。再現性が見られた遺伝子のうち sds-22 と F44B9.8 の RNAi 胚で Tubulin の発現様式に違いがあった。これらリソースを SSBD (<http://ssbd.qbic.riken.jp/>) で公開する予定である。

## セッション1

SSBD: 生命動態情報と細胞・発生画像情報の統合データベース

京田耕司[1], 遠里由佳子[1], ホー・ケネス[1], 大浪 修一[1]

[1]理化学研究所生命システム研究センター

我々は、生命現象の時空間動態を記録した画像データと画像解析で定量的に計測したデータを体系的に共有するデータベース SSBD (<http://ssbd.qbic.riken.jp>) を構築している。今までに、様々なモデル生物の分子、細胞、個体の動態に対する 300 を超える定量データと元になった一部の画像データを共有している。定量データは、我々が開発した統合形式 BDML (Kyoda et al. 2015) ファイルと、REST API で利用することができる。画像データは、OMERO で共有している。現在、SSBD では、定量データに関連する画像の他、大規模かつ体系的に撮影もしくは最先端の顕微鏡で撮影された細胞・発生生物学の画像データの共有を開始している。また、情報基盤の開発として、高速なデータアクセスを可能にする BDML の HDF5 バイナリ形式への拡張、さらには、定量データの公開を支援するオープンソースの定量データ管理プラットフォーム OpenSSBD (<https://github.com/openssbd>) の公開を行っている。SSBD および情報・解析基盤の充実により、データ駆動型研究の促進が期待される。

## セッション1

三次元画像データベースフレームワーク「Versatile Volume Data system (VVD)」

川瀬貴士[1],大綱英生[2],伊藤啓[2][3],石井信[1]

[1]京都大学大学院情報学研究科,[2]Janelia Research Campus,[3]東京大学分子細胞生物学研究所

近年、顕微鏡技術の発達により、生物学の各分野で三次元画像が大量に蓄積されている。さらに、一つの画像データのサイズの巨大化も顕著である。例えば、全脳コネクトミクスのために用いられる三次元画像のサイズはTBスケールである。このような巨大かつ大量の三次元画像は閲覧することすら難しい状態にあった。そこで我々はユタ大学で開発された三次元画像ビューワである Fluorender を元に、画像データのストリーミング機能を備えた三次元画像データベースフレームワーク「Versatile Volume Data system (VVD)」を開発した。VVD では画像ピラミッドを採用しており、拡大率に応じて転送する画像データの解像度を切り替える。この解像度切り替え機能とストリーミングにより、巨大な三次元画像の効率的な閲覧が可能になった。さらに、サーバー・クライアント間のストリーミングだけでなく、ローカルディスク・システムメモリ・グラフィックメモリすべてにおいて画像データのストリーミングを行うことで一般的なノートPCでもメモリ容量を超えるような巨大かつ大量の画像の閲覧が可能になった。

## セッション2

The analysis of factors underlying atypical movement patterns of C.elegans strains

福永津嵩[1,2], 岩崎渉[1,3]

[1]東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻,[2]早稲田大学理工学術院,[3]東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Bioimage-informatic analysis of animal behavior is expected to provide a key to promoting behavioral genetics by enabling direct evaluation of the phenotypes. The nematode *Caenorhabditis elegans* is a model organism in this field, where several video-tracking systems are available for automatically recording its time-series postural data; however, computational methods for analyzing those data are still under development. In this study, by applying the GMM-based binning method to time-series postural data of 322 *C. elegans* strains, we revealed that occurrence patterns of the postural states and transition patterns among these states have a strong relationship each other. Next, we discovered several strains that show atypical transition patterns but use wild-type N2-like postural states. Surprisingly, two simple factors, overall acceleration of postural movement and elimination of inactive conditions, were revealed to explain behavioral characteristics of even strains that have the most atypical transition patterns; therefore, computational analysis of animal behaviors must be accompanied by evaluation of effects of such simple factors. Our results constitute guidelines for effectively finding strains that show “truly” interesting behaviors.

## セッション2

### Single Cell Phenotyping of Sake Yeast

大矢禎一[1]

[1]東京大学大学院新領域創成科学研究科

Single cell phenomics of *Saccharomyces cerevisiae* is a powerful approach to investigate strain-to-strain and cell-to-cell diversity in an unbiased and statistical way. We applied this technique to sake yeast strains to investigate their diversification during the breeding process. Strain-to-strain comparison revealed that the sake yeast population was diverse compared with *S. cerevisiae* in general. We also observed an association between morphological profiles and genotypes. Comparison with the lineage map revealed that cross breeding had more profound effects on morphology than mutation breeding. Cell-to-cell diversity revealed that robustness was perturbed in some sake yeast strains, resulting in impairment of important intracellular systems. Thus, our high-dimensional, single-cell phenotyping provides valuable information on the breeding of sake yeast, which will be useful for future studies of breeding strategies in other microorganisms.

## セッション2

siRNA ハイコンテンツスクリーニングによる細胞核構築の解析

斉藤典子 [1] , 松森はるか [1] , 安田洋子 [1] , 坂本智代美 [1] , 檜枝美紀 [2], Ilya G Goldberg [3] , 中尾光善 [1]

[1] 熊本大学発生医学研究所, [2] 愛媛県立医療技術大学 [3] Laboratory of Genetics, NIA, NIH

真核生物の細胞核は遺伝情報の本体である DNA を包み、その制御と維持に関わる。核内は高度に組織化され、タンパク質と RNA から構成される様々な核内構造体が存在する。核小体は核内最大の構造体で、タンパク質翻訳に働くリボソームを合成する場である。核小体の形態は、細胞状態を評価しうるよい指標であり、実際に、臨床病理で疾患の確定診断に用いられてきた。

我々は、核小体構造の形成や維持の分子メカニズムを理解するために、745 のヒト遺伝子をターゲットとする siRNA ライブラリーを構築し、ハイコンテンツ画像解析と、機械学習を用いた wndchrm アルゴリズムにより各ノックダウン細胞が示す形態のプロファイリングを行った。その結果、15 の核小体に関わる因子を同定した。その中で、リボソーム構築の後期段階に関わる一群のリボソームタンパク質 (60S RPLs) のノックダウンでは、本来の核小体の球状性が失われ、それとともに核小体機能と細胞増殖が阻害された。これらの細胞表現型は、タンパク質の翻訳阻害では観察されなかった。

画像解析を中心としたこれらの実験結果をもとに、我々は、60S RPLs が核小体の構造形成・維持果たす新たな役割があることを提唱する。

## セッション2

近赤外線分光法を利用した微小組織の画像分離技術の確立

大山慎太郎[1,2],横田秀夫[1],平田仁[2]

[1]理化学研究所 画像情報処理研究チーム,[2]名古屋大学 手の外科

### 【目的】

顕微鏡手術で血管や神経等重要組織の認識を補助する技術はニーズがありながら導入が遅れてきた。蛍光色素で血管を観察する方法は、流量のある血管に限定され手間とコストがかかるのが難点である。近赤外線は有機物に特徴的な吸光帯域を持ち、透過しやすく非侵襲的という生体検査に有利な特性を持つ。近赤外線分光法による組成分析法を利用し、非標識での組織の画像的分離を行う手法を確立したので報告する。

### 【方法】

撮影には 1000nm~2350nm を観測帯域に持つ近赤外線ハイパースペクトルカメラ (Compovision、住友電気工業)を使用した。この帯域は水及びヘモグロビンに対する吸収率が低く、生体に深く浸透するため反射スペクトルは構造物由来の情報を多く持つ事が特長である。本機器は前述した領域における近赤外線光の反射率情報をピクセル毎、バンド幅 7nm 毎にマルチスペクトラムデータとして記録することが可能である。

撮影検体としてサル死体腕より採取した動脈・神経・静脈・腱・筋肉・組織間膜・脂肪の各組織、及び水と血液を撮影。これを教師データとし、また組織が複合的に存在する状態の検体を別にテストデータとして撮影し、独立成分分析を用いた手法でデータ内の組織分離を行った。手法の正確度判定は予めテストデータに手動で正解を与えたものに対する正答率で検証した。

### 【結果】

動脈・神経・静脈・腱・筋肉・組織間膜・脂肪の各組織について提案手法にて概ね高い正答率での分離が可能である事が示された。

### 【結論】

顕微鏡手術に利用できる近赤外イメージング技術について、これまで組織自体の分離手法は提案されていない。我々の手法は血液や水分の情報は利用しないため、血流や酸素飽和度、水分の状態に口バストである。また処理速度が高い手法を利用しているため動画データにも利用でき、臨機応変性が求められる顕微鏡手術への応用性が高いことが示された。

## セッション2

8K 技術を用いた広視野・高解像度でのマルチスケール生体解析

西村智[1,2,3]

[1]自治医科大学分子病態研究部 [2]東京大学循環器内科[3]JST さきがけ

階層性をもった生体があるがままにマルチスケールでとらえたい、網羅的・探索的に解析を行いたいというニーズが増えている。しかし、現在の顕微鏡の光路は、開口数・レンズ径・光路径により多くの制約を受けており、最大でも実質 2K 程度の空間分解能となっている。我々は、顕微鏡から離れて 8K CMOS カメラの応用と最適化した光路設計を行い、空間解像度 8K、秒 60 コマ、12bit 4 カラーでの生体撮影（一光子および二光子）を可能にした。広視野・高分解能での生体画像には、ロバスト性を担保しながら一細胞の形態や運動性を解析するソフトウェア・プラットフォームを開発した。また、高速スキミングで得られた画像には PIV 技術を用い定常流にあわせて乱流解析を行った。

8K 生体イメージングでは、広い視野のなかで組織構築（動静脈や神経支配）と、一細胞の運動解析を両立しながら、内皮損傷後の血栓形成と炎症のリンクをマルチスケールのなかでとらえられた。血栓中では一血小板の挙動と組織応答、あるいは、炎症細胞の浸潤について可視化した。形態情報の定量化と教師あり学習により、それぞれの細胞腫の弁別・追跡を行い、好中球浸潤が炎症に先行し、慢性化にも寄与することが示された」。また、層流から乱流に変化する境界領域で血栓形成や造血がしばしばみられ、乱雑さを加味した力学パラメーターの重要性が示唆された。

今後は、ライトシート技術、マクロ・プロジェクション・イメージャー、超長時間対応生体埋め込みデバイスを組み合わせ、包括的な評価を可能にするとともに、臨床を視野にいれてヒトへの親和性を高めていく。



## セッション3

Convolutional Neural Network を用いた密集領域に頑健な細胞内の粒子計数

堀田一弘[1], 熊谷章平[1], 西田賢志郎[1]

[1]名城大学理工学部

本発表では Convolutional Neural Network (CNN)を用いた密集領域に頑健な細胞内画像中の粒子計数法を提案する。画像認識の分野では CNN の有効性が多数報告されており、最近では細胞内画像処理でも積極的に CNN が利用されつつある。SVM を用いた従来の粒子検出法の代わりとして CNN を利用するだけでも精度が向上するが、粒子が密集する領域での精度はやはり低いという問題がある。密集領域では各粒子の境界があいまいになるので、粒子 1 個を検出する方法はその影響を受けやすい。そこで、粒子の一部の見えから粒子の中心を CNN により予測する。1 個の粒子に対して様々な方向から粒子の中心を予測できるので、予測結果を投票することにより粒子を検出する。実験により密集領域に頑健になることを確認した。

次に、CNN を用いて局所領域内の粒子数を推定する方法を提案する。こうした問題では、局所画像からその中に入っている粒子数を予測する CNN が利用される。しかし、粒子にも見えの変化があるので、1 つの CNN で個数を予測するよりも複数の CNN を状況により切り替えて使った方が良いと考えられる。それを自動的に学習、計数する方法を提案し、1 つの CNN を用いるよりも高い精度で計数できることを確認した。

## セッション3

A machine learning pipeline for whole brain imaging of *Caenorhabditis elegans*: cell tracking, quantification, annotation and visualization

Wu Stephen[5,6], 徳永旭将[2,6], 広瀬修[3,6], 豊島有[1,6], 寺本孝行[4,6], 石原健[4,6], 飯野雄一[1,6], 吉田亮[5,6]

[1]東京大学・院理・生物科学, [2]九州工業大学・情工, [3]金沢大学・理工・電子情報学系, [4]九州大学・院理・生物科学, [5]統計数理研究所, [6]CREST, JST

A five-year-long cross-disciplinary project on studying whole brain neuronal activity of *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) has taken part since 2013. The objective is to understand the underlying mechanisms of the complicated neural dynamics through recent advancements of 4D calcium imaging techniques. We tackle this great challenge with state-of-the-art machine learning techniques, which facilitates improved throughput of image processing. The machine learning pipeline begins with the detection and segmentation of imaged cells, followed by tracking of the crowded objects exhibiting great mobility in a time-lapse image sequence. For a given tracked cell, fluorescence intensities of the segmented voxels define temporal dynamics of its neural activities. Then, such information of all the brain cells is collectively analyzed to produce a network-based visualization, improving our understanding of the information processing mechanism of the neural system.

The primary difficulty in the above workflow lies in the cell annotation procedure: unlabeled cells in an image are assigned to the annotated cells in a reference sample. Because of the heterogeneity of individual worms (e.g., body posture and cell arrangement), the annotation step typically requires significant manual efforts from the experts. In this study, we present a novel cell annotation algorithm based on the idea of ensemble learning. First, a set of virtual atlases is computationally created, including nearly 170 annotated cells. The unlabeled image is repeatedly registered to the atlases using a point cloud matching approach. The heterogeneity problem is tackled by a weighted voting scheme for the finalized annotation of each cell. Our presentation will demonstrate the whole pipeline, i.e., tracking, quantification, annotation and visualization, with an emphasis on the new annotation algorithm.

## セッション3

すべての細胞は真ん丸に

藤井庸祐[1],鈴木康平[1],岡田卓也[1],岩崎絢子[1],三村和史[2],山田亮[1]

[1]京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター統計遺伝学,[2]広島市立大学大学院情報科学研究科知能工学

4D ライブイメージングにより生体内の細胞のダイナミックな変化のデータを得られるようになったが、解析方法は個々の細胞から得られる体積、体表面積、辺縁の不整具合など、主観的パラメータの取得と比較にとどまっている。物体の3次元的な形は通常、複雑であり、顕微鏡で観察できるイメージに存在する複数の細胞の相互比較や、体系的・網羅的な解析は困難である。

微分幾何学分野において、あらゆる3次元の球と同相な物体が球に変換できる、spin transformation という手法が存在する。我々は、通称 fairing と呼ばれるその手法を利用して、細胞を球に変換することを試みている。例えば、細胞が触手のように細胞表面から枝を伸ばしていても、変換後は真ん丸な球になる。すべての細胞が球として条件が揃えば、複雑な形とその時間変化は相互比較が容易となる。加えて、従来より測定されていたパラメータはさることながら、微分幾何学的に重要なパラメータである曲率の変化と、その球面上の分布に着目し、細胞の形の変化について客観的に、網羅的に迫ろうとしている。

本発表では次の内容を報告する。公開されている3D オブジェクトデータをサンプルとしてアルゴリズムの改変実装、予備実験を行った。プログラムはC++ で実装し、fairing の施行途中のオブジェクトの体積、表面積、平均曲率、ガウス曲率、回転を算出した。球となったオブジェクトはメルカトル図法(世界地図)に展開し、球面を平面で表現して比較する解析フローを構築した。

この方法論により、複雑な細胞の形を網羅的に、客観的に比較することが容易となる。今後はイメージングデータから細胞の3次元構造を適切に取り出すことと、細胞の動きを的確に追跡することを目標とし、4D ライブイメージングの体系的な解析パイプラインの構築を目指している。

## セッション3

### Estimation of Diffusion Constants from Single Molecular Measurement without Explicit Tracking

寺口俊介[1], 熊谷雄太郎[1]

[1]大阪大学免疫学フロンティア研究センター

Time course measurement of single molecules on a cell surface provides detailed information about the dynamics of the molecules that would otherwise be inaccessible. To extract the quantitative information, single particle tracking (SPT) is typically performed. However, trajectories extracted by SPT inevitably have linking errors when the diffusion speed of single molecules is high compared to the scale of the particle density. To circumvent this problem, we develop an algorithm to estimate diffusion constants without relying on SPT. We demonstrate that the proposed algorithm provides reasonable estimation of diffusion constants, even when other methods fail due to high particle density or inhomogeneous particle distribution. In addition, our algorithm can be used for visualization of time course data from single molecular measurements.

## ポスター発表 概要

---

P01

大局的最適解に基づくがん細胞 Bleb 挙動の定量解析

長迫智也[1], 青木佳南[1], 池ノ内順一[2], 内田誠一[3]

[1]九州大学大学院システム生命科学府, [2]九州大学大学院理学研究院, [3]九州大学大学院システム情報科学研究院

細胞ががん化すると、浸潤や転移を行うことで体内に広まっていく。近年の研究によって、この高い運動性を発揮する原因は、ブレブ（Bleb）と呼ばれる細胞膜の泡状突起であることが明らかになった。この発見に基づき、がん細胞の浸潤や転移を抑制する新たな治療法の開発が期待されていたが、ブレブの形成メカニズムについては明らかになっていなかった。そこで本研究では、ブレブの形成退縮に関わる遺伝子をノックアウトした細胞ではその運動機能が低下することを示すため、がん細胞の時系列画像を対象とし、細胞膜形状を定量的に解析することを目的とする。まずは細胞膜の形状を定量化するために、動的計画法に基づいた最適輪郭抽出を行った。輪郭形状抽出の代表的な方法として Snakes が存在するが、これは正則化のために平滑化項が導入されているため、凹凸の大きな輪郭線に追従できず、過度に平滑な輪郭線が検出されてしまう。そこで、本研究では、複雑な輪郭線に対応するための自由度を保ったまま、一方でそれによる不安定さを回避するために、輪郭形状抽出をある種の大局的最適化問題として定式化した。これによって得る結果に基づき、輪郭移動速度の定量化、さらにピーク検出に基づく凹凸数の自動定量化を実現した。

## P02

オープンフィールド試験におけるマウス行動特性の定量化

鎌田星菜[1],佐藤太亮[2],鈴木利治[2],本館利佳[2],内田誠一[1]

[1]九州大,[2]北海道大

遺伝子型の異なるマウスがどのような行動特性を持つのか調べる方法の一つとして、オープンフィールド試験がある。この試験の解析は目視によって行われることもあり、そういった場合、解析結果が主観的であるということや多量のデータの解析を行うことができないという問題が存在する。本研究では、画像処理手法を用いることで目視による解析での問題点を解決し、オープンフィールド試験におけるマウス行動の自動的な定量化を目指して、遺伝子型の異なるマウスに対してそれぞれ二つの実験を行った。具体的には、第一の実験としてマウスの重心をトラッキングし、移動距離と特定領域の滞在時間数を求めた。第二の実験として2台のカメラを用いて3次元測定を行い、立ち上がり行動の判定を行った。測定に伴い、高さが最も高くなるであろうマウスの鼻先を対応点として決定づけた。ここで、鼻先を直接求めるのは困難であるため、3次元測定における対応点として尾の付け根から最も遠い点を鼻先付近の点とし、この疑似対応点を用いて測定を行った。

## P03

### オプティカルフローとウェーブレット解析を用いた白血球の動態の解析手法

松原周平[1], 瀬尾茂人[1], 西澤 志乃[2], 菊田 順一[3], 竹中要一[1], 石井 優[2,3], 松田 秀雄[1]

[1] 大阪大学大学院情報科学研究科, [2] 大阪大学大学院生命機能研究科, [3] 大阪大学大学院医学系研究科

近年のイメージング技術の発展に伴う観察データ量の増加により、画像処理を用いて観察画像から遊走といった細胞の挙動を自動的に解析することの重要性が高まっている。本研究では、様々な細胞の中でも白血球に着目する。白血球は通常血流に乗って体内を循環するが、炎症などが生じている部位では血管内皮細胞と接触し、血管の表面を転がるように移動するローリングという現象を生じる。炎症などの血管の異常が長引くと、動脈硬化といった重大な疾患に繋がる危険性がある。そのため、白血球の挙動を解析することで異常が生じている部分を判別し薬剤投与前後の比較が出来れば、新薬開発への貢献が出来ると考えられる。

上記のような細胞の挙動を解析する代表的な手法として、細胞追跡手法が挙げられる。しかし細胞追跡手法には、セグメンテーションの失敗や対応付けのミスにより追跡を失敗するなどの問題点がある。また、本研究の目的は血管内の異常が生じている部分の判別、つまり“場”を解析することであるため、個々の細胞に注目して解析を行う細胞追跡手法は不向きである。

本研究では、ウェーブレット解析とオプティカルフローを用いた白血球の動態の解析手法を提案する。提案手法では、ウェーブレット解析を用いて各ピクセルにおける輝度変化の周波数を解析し、ローリングが生じている部分を判別する。その後、オプティカルフローによってその場を通過する細胞数を数える。この手法の特徴として、ピクセルに注目することによる“場”の解析が可能であること、及びオプティカルフローによって細胞数を数えることで、データ間で白血球の移動速度に差が生じても比較が可能となることが挙げられる。通常の状態、炎症状態それぞれの血管中を移動する白血球の観察画像に対して実験を行い、この手法が有効であることを確認した。



PO4

## Estimation of Diffusion Constants from Single Molecular Measurement without Explicit Tracking

寺口俊介[1], 熊谷雄太郎[1]

[1]大阪大学免疫学フロンティア研究センター

Time course measurement of single molecules on a cell surface provides detailed information about the dynamics of the molecules that would otherwise be inaccessible. To extract the quantitative information, single particle tracking (SPT) is typically performed. However, trajectories extracted by SPT inevitably have linking errors when the diffusion speed of single molecules is high compared to the scale of the particle density. To circumvent this problem, we develop an algorithm to estimate diffusion constants without relying on SPT. We demonstrate that the proposed algorithm provides reasonable estimation of diffusion constants, even when other methods fail due to high particle density or inhomogeneous particle distribution. In addition, our algorithm can be used for visualization of time course data from single molecular measurements.

P05

深度情報を活用した中心体の検出および移動解析

杉本潤[1],木村暁[2],近藤興[2],内田誠一[3]

[1]九州大学大学院システム生命科学府,[2]国立遺伝学研究所,[3]九州大学大学院システム情報科学研究科

線虫の胚を撮像した時系列画像から、画像処理によって中心体の検出および移動性の解析を行った。時系列画像は焦点を徐々に変えながら繰り返し高速に撮像することによって、同一時刻での各深度の情報を持つ三次元動画(すなわち 4D 画像)を疑似的に得ている。本研究の画像処理領域における困難性は、撮像される時系列画像が鮮明ではなく、また焦点の間隔が中心体の大きさに対して広すぎるために、中心体の信号の隠滅が頻繁に発生するという特性による。ただし、時刻によって大きさは変動し、複数の焦点に跨って同一中心体の信号が現れる場合もある。これらを踏まえ、中心体の検出処理では、事前処理によるノイズの除去、円形分離度フィルタを各時系列画像に適用することによる中心体候補点の抽出、および同一時刻の各焦点での重複検出を解消する結合を順に行った。結果として、画像中に存在する中心体と思わしき点をおおよそ網羅して検出することができた。さらに、中心体の移動性の解析を行うために安定結婚アルゴリズムを用いた候補点のトラッキングを求め、各時刻での移動量と、中心体の移動性に影響を与えていると考えられる他中心体および細胞膜との距離を計算し、相関の有無を調べた。

## P06

細胞密度が高い状況下におけるトラッキング手法と血管モデリングへの応用

備瀬竜馬[1], 佐藤洋一[2], 佐藤いまり[1]

[1]国立情報学研究所, [2]東京大学

細胞の自動トラッキングは、バイオ分野及び創薬分野において、細胞挙動指標を定量化する手段として、重要な技術の一つである。個々の細胞の形状・動き・分裂・死といった細胞挙動を認識することで、細胞数の時間推移・細胞遊走速度・細胞系譜図等の様々な細胞挙動の指標を算出し、可視化することができることから、再生医療における細胞生産・品質管理、創薬における毒性スクリーニングをはじめ、多様な応用が期待できる。細胞密度が高い状況下においては、細胞同士の境界が曖昧な部分が多くなり、1枚の画像からのみでは認識が難しいという問題がある。そこで、細胞検出とトラッキングを独立して行うのではなく、細胞検出と前フレームの検出結果との対応付けを同時に行うことで信頼性の高い軌跡断片を作成し、大局的な時間情報を用いてそれらの軌跡断片をつなげることを特徴とした細胞トラッキング手法について報告する。さらに、3次元血管モデリングにおいて、本手法を応用し、x-y平面による血管断面を追跡することで、血管領域抽出及び血管分岐点の認識が可能となった結果を報告する。

## P07

### ライブイメージングによるマウス胚の細胞挙動解析

塩井剛[1],星野秀治[2],阿部高也[1],清成寛[1],中尾和貴[1,3],古田泰秀[1],藤森俊彦[1,4],相澤慎一[1,2]

[1]理研 CLST, [2] 理研 CDB, [3]東京大学, [4]基礎生物学研究所

マウス胚では、胎生 5.5 日目に遠位先端部に DVE が形成され、一連の DVE/AVE 遺伝子の発現が見られるようになる。その後、DVE は一方向に移動し AVE を形成する。AVE の形成により胚の前後軸が初めて明確になる。AVE の形成に異常が起きると前後軸は正しく形成されない。以上のことから、この時期の DVE/AVE 遺伝子の発現制御、および、DVE を含む細胞の挙動制御が前後軸形成において重要な役割を持つことが予想される。しかし、DVE 以外の VE 細胞がどのような挙動を示すかは明らかにされていない。本研究では、前後軸形成期のマウス胚の細胞挙動を包括的に把握するため、全ての細胞核に蛍光蛋白質を発現するレポーターマウスを用い、ライブイメージング実験を行った。その結果、将来の前側の細胞群も DVE 同様に集団移動することが明らかになった。また、細胞境界のレポーターマウスを用いたライブイメージングから、DVE が移動を開始する前に、将来の前側の細胞群が DVE 同様に apical 面の収縮を示すことが明らかになった。これらの結果は、DVE の移動前に既に前後軸が存在することを示唆している。しかし、解析はマニュアルで行っており、サンプル数も少なく、定量性も乏しい状態である。解析の効率化、定量化の手法を模索している。

P08

公共データベースの顕微鏡画像を用いた核分裂動態の定量計測とデータ駆動型解析

遠里 由佳子[1], 岡田 初美[1], 高山 順[1], 京田 耕司[1], 大浪 修一[1]

[1]理化学研究所生命システム研究センター

ライブイメージング技術の普及に伴い、さまざまな顕微鏡画像が公共データベースに公開されつつある。これら動画像を画像処理することで得られる核や細胞の時空間定量データは、データ駆動型解析に利用できる。そこで、公共データベース Phenobank で公開されている線虫初期胚の 2 次元タイムラプス微分干渉顕微鏡画像に、開発した画像処理法を適用し、核分裂動態の定量データの作成を試みた。作成したリソースは、RNAi 胚の定量データ 1,579 セットからなり、胚発生に必要な 549 遺伝子の RNAi 胚を 3 セットずつ含む。各定量データは、核領域の輪郭座標とその時間変化からなる。すべての核領域は目視でエラー修正されている。リソースの有効性を検証するため、雌性前核の最大移動速度を算出し、RNAi 胚で著しい影響がある 12 遺伝子を選択した。これら遺伝子を対象にした独自の RNAi 実験で 63.6%の再現性を確認した。再現性が見られた遺伝子のうち sds-22 と F44B9.8 の RNAi 胚で Tubulin の発現様式に違いがあった。これらリソースを SSBD (<http://ssbd.qbic.riken.jp/>) で公開する予定である。

P09

SSBD: 生命動態情報と細胞・発生画像情報の統合データベース

京田耕司[1],遠里由佳子[1],ホー・ケネス[1],大浪 修一[1]

[1]理化学研究所生命システム研究センター

我々は、生命現象の時空間動態を記録した画像データと画像解析で定量的に計測したデータを体系的に共有するデータベース SSBD (<http://ssbd.qbic.riken.jp>) を構築している。今までに、様々なモデル生物の分子、細胞、個体の動態に対する 300 を超える定量データと元になった一部の画像データを共有している。定量データは、我々が開発した統合形式 BDML (Kyoda et al. 2015) ファイルと、REST API で利用することができる。画像データは、OMERO で共有している。現在、SSBD では、定量データに関連する画像の他、大規模かつ体系的に撮影もしくは最先端の顕微鏡で撮影された細胞・発生生物学の画像データの共有を開始している。また、情報基盤の開発として、高速なデータアクセスを可能にする BDML の HDF5 バイナリ形式への拡張、さらには、定量データの公開を支援するオープンソースの定量データ管理プラットフォーム OpenSSBD (<https://github.com/openssbd>) の公開を行っている。SSBD および情報・解析基盤の充実により、データ駆動型研究の促進が期待される。

## P10

The analysis of factors underlying atypical movement patterns of C.elegans strains

福永津嵩[1,2], 岩崎渉[1,3]

[1]東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻,[2]早稲田大学理工学術院,[3]東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Bioimage-informatic analysis of animal behavior is expected to provide a key to promoting behavioral genetics by enabling direct evaluation of the phenotypes. The nematode *Caenorhabditis elegans* is a model organism in this field, where several video-tracking systems are available for automatically recording its time-series postural data; however, computational methods for analyzing those data are still under development. In this study, by applying the GMM-based binning method to time-series postural data of 322 *C. elegans* strains, we revealed that occurrence patterns of the postural states and transition patterns among these states have a strong relationship each other. Next, we discovered several strains that show atypical transition patterns but use wild-type N2-like postural states. Surprisingly, two simple factors, overall acceleration of postural movement and elimination of inactive conditions, were revealed to explain behavioral characteristics of even strains that have the most atypical transition patterns; therefore, computational analysis of animal behaviors must be accompanied by evaluation of effects of such simple factors. Our results constitute guidelines for effectively finding strains that show “truly” interesting behaviors.

P11

線虫 *C. elegans* 胚の細胞膜セグメンテーション方法の開発

東裕介[1], 大浪修一[1]

[1]理化学研究所生命システム研究センター

線虫 *C. elegans* の胚発生はどの個体でも同じ細胞分裂パターンを辿って進行することが知られているが、各細胞の動態にどの程度の個体差があり、それが発生にどのような影響を与えるのかについては未解明である。この問題に取り組むため、本研究では、胚の各細胞動態をデジタル化して、複数の胚で比較することを目指している。そのため、細胞膜を蛍光標識して顕微鏡撮影した胚を、セグメンテーションする画像処理方法を開発した。この方法は level set 法による胚のエッジ検出と watershed による細胞間の境界検出から構成される。Watershed では細胞核をマーカーとして使用しているため、細胞核分裂と細胞質分裂のタイミング差により過剰分割が生じるが、機械学習を利用した細胞質分裂タイミングの判別により解決した。また、結果は与えるパラメータに依存して変化するが、元画像との一致を関数によって評価することで、自動的に最適な結果が得られるようにした。8 細胞期の各細胞領域をマニュアルでセグメンテーションして比較したところ、両者の平均体積オーバーラップ率は 82% だった。今後、個体数を増やし、体積や細胞間コンタクトにどの程度の個体差があるかを定量評価したい。



P12

アメーバ状細胞の動態のモデル化とそのための画像処理

深野淳[1],間下以大[1,2],白崎舞[3],菊田順一[3],石井優[3],竹村治雄[1][2]

[1]大阪大学情報科学研究科,[2]大阪大学サイバーメディアセンター,[3]大阪大学医学研究科

生体イメージング技術の向上により生体内の細胞の動態を動画像として観察が可能となったことで、疾病のメカニズムの解明や創薬などへの応用が期待されている。これらの応用のためには、細胞画像から特定領域を抽出したり、細胞の特定の動きを検出する必要がある。そのような細胞の一つにアメーバ状の細胞があり、その動きをモデル化・追跡することで細胞の動きを数値的に評価する技術が求められている。しかし、アメーバ状の細胞動画像の場合、実際には繋がっているはずの細胞同士が、ある時間の画面上では途切れている場合が多々存在する。それらは本当にちぎれて途切れた場合もあれば、撮影環境等の理由で画面に表示されていない場合もある。そこで、本研究では、細胞画像の領域を 1.細胞以外の「Background」、2.細胞の「Body」、3.Body 同士を繋ぐ「Arm」の 3 つに分類し、各画素ごとにそこに細胞が存在するかもしれない確率（尤度）を設定することで、動画像から細胞の位置を推測及び抽出する手法を提案する。尤度の設定のための各パーツの領域抽出は、閾値でのフィルタリングやパターンマッチングを用いて行った。

P13

ウェーブレット特徴量を用いた生体骨組織の骨髓腔の領域分割手法

繁田浩功[1], 間下以大[1][2], 菊田順一[3], 瀬尾茂人[1], 竹村治雄[1][2], 松田秀雄[1], 石井優[3][4]

[1]大阪大学大学院情報科学研究科, [2]大阪大学サイバーメディアセンター, [3]大阪大学大学院医学系研究科, [4]大阪大学大学院生命機能研究科

生体イメージング技術の向上により生体内の細胞の動態を動画像として観察が可能となり、疾病のメカニズム解明や創薬等への応用が期待されている。これらの応用のためには、細胞画像から特定領域を抽出したり、細胞の特定の動きを検出する必要がある。また、膨大な数の画像に対して一定の基準で領域分割や細胞の検出を行うためには計算機での処理が必要である。自動領域分割の問題の一つに、画像撮影環境が変化することが挙げられる。そのため、対象画像に合わせた手動入力や手動パラメータ調整が必要となる。本稿では、骨組織内部の動態を解明するため骨組織の生体画像を対象として、骨髓腔の領域分割に対して手動入力を不要とする手法を提案する。提案手法では、骨髓腔領域に特有のテクスチャパターンが見られることに着目し、ウェーブレット変換を用いて特徴量を求め、その結果を領域分割手法であるグラフカットに統合することで手動入力を必要としない領域分割を実現する。さらに、本手法は時系列画像を必要としないため、特定の時刻のフレームのみに対しても適用が可能である。評価実験において、9種類のウェーブレットと複数のスケールパラメータの評価を行い、その結果を用いて領域分割を行ったところ、ユーザからの入力が不要にも関わらず高い精度で領域分割できることを確認した。

## 全脳イメージングの自動解析に向けた要素技術について

豊島 有[1], 徳永 旭将[2], 広瀬 修[3], 寺本 孝行[4], 張 文瑄[1], 久下 小百合[4], 石原 健[4], 吉田 亮[5], 飯野 雄一[1][6]

[1]東大・院理・生物科学, [2]九工大・情工, [3]金沢大・理工・電子情報学系, [4]九大・院理・生物科学, [5]統計数理研究所, [6]CREST, JST

近年、線虫など微小な生物について、全神経活動を 1 細胞レベルで同時に観察する顕微鏡技術が活発に開発されている。この活動データを神経ネットワークと対応付けるためには、撮影した画像中にある全ての細胞を漏らさず認識して名前をつけ、経時的に追跡する必要がある。線虫の頭部には 180 個以上の神経細胞が存在するが、細胞同士が 3 次元的に密集しており、一般的な画像解析手法では近接した核をうまく分離できなかった。そこで本研究ではまず、画像解析による核自動認識の精度の向上を目指した。

細胞核の形状は楕円体に近く、等輝度曲面の曲率に基づく領域分割法と、高速な楕円体当てはめ法を開発して適用したところ、3 次元的に密集した細胞核を適切に分割して高精度に自動認識することができた。また自動認識の結果を手動で簡単に確認・修正できるよう、実験者が使いやすい GUI を実装した。さらに、開発した楕円体当てはめ法は、多物体を同時に追跡しつつ輝度を定量することができる。実際に線虫の機能的全脳イメージング動画へ提案手法を適用したところ、神経細胞を適切に検出・追跡して、神経活動を定量することができた。加えて、動画の各フレームの類似度から最小全域木を構成し、似た画像を辿って追跡することで、追跡エラーを抑制できた。

また線虫では特定の神経細胞でのみ遺伝子発現を誘導するプロモーターが多数知られている。これを用いた遺伝子組換え株を多数作成し、提案手法を適用して、神経細胞の位置情報のデータを蓄積した。このデータにもとづいて神経細胞に半自動的に名前をつける手法の開発を進めている。こうした画像解析技術を組み合わせて、機能的全脳イメージングの自動解析を実現したい。

参考文献: Toyoshima et al, PLOS Computational Biology, in printing.

P15

パターン認識プログラムと細胞核形態に着目した癌組織の定量化

安田洋子[1],徳永和明[1],坂本智代美[1],斉藤典子[1],中尾光善[1]

[1]熊本大学発生医学研究所細胞医学

臨床病理では、癌診断において組織構築や核形態などを指標としている。しかし、これらの判定は目視で行われており、観察者の経験に依存する側面があることから、客観的評価法を確立することは医療への貢献に繋がると考えられる。

我々は、ヒト由来の正常組織と癌組織画像において、多目的パターン認識プログラム wndchrm を使用して双方を判別し得る条件検討を行った。また、細胞核の形態を定量化し、両者の判別に有用な指標を検索した。wndchrm 解析では、異なる条件で取得した画像を解析し、判別に影響するか検討した。その結果、対物レンズ 40 倍で取得した画像を 60 枚用いた場合、癌組織では平均 90%以上の正解率を示した。さらに、画像の類似度を算出し、癌組織と正常組織との類似度は低いことが示された。このことから、wndchrm 解析は、癌組織画像を高精度に判別することが示唆された。細胞核の定量では、種々の項目を計測した後、正常組織および癌組織間で比較した。その結果、ヘマトキシリン染色強度、核の面積、細胞の重積性は、がん組織において優位に高値を示した。

今回の検討から、癌組織画像の客観的評価が可能であることが示唆された。

P16

男性不妊の指標を探索するための、精子の頭の形の定量解析

増子大輔

大阪大学大学院理学研究科

男性不妊は不妊の原因の半数を占める、大きな問題である。精液の質（精子の形、速度、数）の低下が男性不妊を引き起こす原因となる。したがってこの精子の質の低下を正確に評価することは、男性不妊の診断や、生殖補助医療の役に立つ。現行の精子の質の基準は、不妊である男性と子供がいる男性の精液の比較、並びに、射出精子と性行為後の女性の体内の精子の比較によって作られた。これらの基準によって、精子は正常精子と明らかに受精率の低い異常精子に大別されてきたが、近年、正常精子の形にばらつき(差異)が存在することが認識され始めている。しかし、正常精子の形の定量的な指標は存在しない。本研究の目的は、精子の受精能力を反映する、定量的な形の指標を探索することである。楕円フーリエ記述子を用いてマウス射出精子と透明帯通過精子の比較、受精率の高い雑種 BDF1 系統と近交系 B6N 系統の射出精子の比較をおこなったところ、透明帯通過精子と、受精率の高い精子に共通して、アスペクト比が低いことを見出した。この結果は、受精能力を反映する正常精子の形の指標がアスペクト比であることを示している。（因果と相関、変形の可能性についても議論する）

P17

すべての細胞は真ん丸に

藤井庸祐[1],鈴木康平[1],岡田卓也[1],岩崎絢子[1],三村和史[2],山田亮[1]

[1]京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター統計遺伝学,[2]広島市立大学大学院情報科学研究科知能工学

4D ライブイメージングにより生体内の細胞のダイナミックな変化のデータを得られるようになったが、解析方法は個々の細胞から得られる体積、体表面積、辺縁の不整具合など、主観的パラメータの取得と比較にとどまっている。物体の3次元的な形は通常、複雑であり、顕微鏡で観察できるイメージに存在する複数の細胞の相互比較や、体系的・網羅的な解析は困難である。

微分幾何学分野において、あらゆる3次元の球と同相な物体が球に変換できる、spin transformation という手法が存在する。我々は、通称 fairing と呼ばれるその手法を利用して、細胞を球に変換することを試みている。例えば、細胞が触手のように細胞表面から枝を伸ばしていても、変換後は真ん丸な球になる。すべての細胞が球として条件が揃えば、複雑な形とその時間変化は相互比較が容易となる。加えて、従来より測定されていたパラメータはさることながら、微分幾何学的に重要なパラメータである曲率の変化と、その球面上の分布に着目し、細胞の形の変化について客観的に、網羅的に迫ろうとしている。

本発表では次の内容を報告する。公開されている3D オブジェクトデータをサンプルとしてアルゴリズムの改変実装、予備実験を行った。プログラムはC++ で実装し、fairing の施行途中のオブジェクトの体積、表面積、平均曲率、ガウス曲率、回転を算出した。球となったオブジェクトはメルカトル図法(世界地図)に展開し、球面を平面で表現して比較する解析フローを構築した。

この方法論により、複雑な細胞の形を網羅的に、客観的に比較することが容易となる。今後はイメージングデータから細胞の3次元構造を適切に取り出すことと、細胞の動きを的確に追跡することを目標とし、4D ライブイメージングの体系的な解析パイプラインの構築を目指している。

P18

Mathematical morphology に基づく生物形態情報の抽出と数値化

木森義隆[1]

[1]自然科学研究機構新分野創成センター

生物の形態情報は、生命現象を理解するために重要なもののひとつである。現在、多種・多様なイメージング機器で取得された画像データから形態情報を抽出し、数理モデルの構築やコンピュータシミュレーションを通じて、生命現象をより理論的に捉えようとする多くの試みがある。その際、画像データから解析に有用な情報を抽出し、数量的に表現できるような画像処理・解析過程が重要になる。しかし、大容量のデータ処理や目視では識別できないような微細構造の記述、さらには、あいまいな表現型の定量化等は既存の解析フレームワークでは対応が困難であった。このような背景を踏まえ、本研究では、mathematical morphology を基礎とする画像処理理論を用い、画像中から生物形態情報を抽出し、定量的に記述する手法を開発した。本発表では、この手法を用いて、シロイヌナズナの根毛細胞における細胞骨格(アクチンフィラメント)の構造解析を実施した結果について報告する。これまで定性的にしか表現できなかった細胞骨格の形態情報を、フィラメントの太さや構造複雑性などの特徴量を用い定量的に表現することにより、野生型と変異体の表現型の差異や変異体の微妙な形態的差異を検出し、数量化することが可能になった。

P19

CNN を用いたスコアパッチの集積による粒子検出

西田賢志郎[1]、堀田一弘[2]

[1]名城大学大学院理工学研究科、[2]名城大学理工学部

近年、生きた細胞を観察することによりこれまで解明されなかった病原解明の手がかりが得られることが期待されている。細胞生物学分野では、未だに専門家が手動で粒子の検出・計数を行っている。手動の検出では大量のデータを扱うことは難しく、得られたデータは観測者の主観が介入してしまう。こうした背景から、細胞内画像中の粒子検出法を提案する。

通常の粒子検出法では、粒子と非粒子を識別する識別器を学習し、画像中に識別器を走査することにより粒子の存在する確率を示すスコアマップを作成する。その後、作成したスコアマップのスコアが高い箇所から順に検出を行う。しかし、このような識別器を用いた場合、重なりや隠れのある粒子の検出は困難である。

提案手法も識別器を走査するが、粒子と非粒子の識別ではなく、切り出した画像中の粒子の一部から粒子の中心までの距離を予測する。その結果を基に走査した各点から投票を行い、スコアマップを作成する。得られるスコアは、粒子の中心位置の予測を複数集めたものであるため、重なりや隠れにより全体が見えない粒子に対しても頑健性を得る。粒子を含む場合には中心までの距離を Positive クラス、粒子を含まない場合を Negative クラスとして学習した Convolutional Neural Network (CNN) を用いて検出を行う。

通常の CNN と比較を行い、Precision-Recall 曲線と Average Precision による評価で提案手法の有効性を確認した。



P20

Mixture of Regressions に基づく CNN の統合による細胞内画像中の粒子計数

熊谷章平[1],堀田一弘[1]

[1]名城大学理工学研究科

現在、顕微鏡画像中の粒子は手動で数えられている。このような手動による計数では、観測者の負担が大きく、大量の画像を扱うことができない。コンピュータによる自動計数を行うことが出来れば、大量かつ客観的な計数データを得ることができる。

そこで本研究では近年、画像認識分野で注目を集めている Convolutional Neural Network(以下, CNN)の統合による細胞内粒子の自動計数法を提案する。粒子計数の困難な点として、画像中の粒子の大きさの変化や粒子同士の密集などによる見えの変化や隠れがあげられる。そのため、画像認識分野で対象計数に用いられている線形回帰を応用した手法では、見えが大きく変化する対象に上手く対応することは困難である。

そこで本研究ではある特定の見えに特化した CNN(以下, Expert)を複数作成し、それらの統合を行う。統合にも CNN を利用し、入力画像の見えに適した Expert の選択を行う。この特定の見えに特化した Expert 同士の統合により、様々な見えの変化に頑健な計数手法となる。

評価実験では提案手法と他の CNN による計数を比較し、少ない計数誤差で計数ができることを確認した。

P21

ディープラーニングを用いた細胞内の粒子計数

渡邊美月[1], 堀田一弘[1]

[1]名城大学大学院理工学研究科

現在, 細胞内画像の粒子計数は観測者が手動で行っている. しかし, これは負担が大きく, 計数結果も観測者の主観的なものになってしまう. そこで, 本研究では, 画像認識の分野で成果を挙げているディープラーニングを用いて粒子の自動計数を行う.

ディープラーニングは脳の神経細胞をモデルにした機械学習法である. その中でも CNN(Convolutional Neural Network)は画像認識において高い性能を持つ. CNN は入力画像にフィルタをかけて特徴を強調する畳み込みと, それを低解像度化するプーリングを繰り返し, 最後にそれらを結合することで結果を出力する.

CNN は最後の結合部分の構造を変えることにより, 識別問題や回帰問題に適用することができる. 本研究では, 粒子計数に識別と回帰のどちらが適しているかを確認するために, 結合部分を粒子数のクラス識別問題にした場合と回帰問題にした場合について, ImageNet で学習済みの CNN である CaffeNet を再学習し, 各画像 1 枚あたりの平均計数誤差を比較した. 細胞内画像を用いた実験により, 粒子計数には回帰問題を学習した CNN が適していることを確認した.

P22

## Convolutional Neural Network による C2C12 細胞の分化判別

新岡宏彦、浅谷学嗣、大東寛典、田川聖一、三宅淳

大阪大学大学院基礎工学研究科

再生医療において、ヒト臓器の構築には大量の細胞が必要であり、個々の細胞を人の手で扱っては多大なコストが必要になる。近年、細胞の自動培養装置については様々なものが登場しているが、今後、細胞の質や状態を非侵襲、自動的かつ高速に判断する装置が必要になると考えられる。我々は、Deep Learning の一手法である CNN (Convolutional Neural Network) を構築し、位相差顕微鏡像から細胞の分化判別を行なった。実験では、試料としてマウス骨格筋芽細胞 (C2C12) を用い、高速演算処理のために自作の PC (GPU: NVIDIA GTX980Ti、CPU: Intel Core i7-4790K、メモリ: 8GB) と、独自に開発した Deep Learning ライブラリ Sigma を用いた。C2C12 は分化誘導を行なうと、徐々に細長い形状に変化し、最終的に細胞核が融合し多核の筋管細胞へと分化する。分化誘導を開始した日を Day 0 とし、Day 0 および分化後である Day 6 それぞれの細胞位相差像(各 1000 枚、1 枚の画像サイズは 200x200 pixels) を取得した。各画像を CNN によって学習し、テストデータ(各 100 枚) の分類を行なったところ 93 % の精度で識別が可能であった。

P23

画像処理とディープラーニングの手法を用いた病理診断支援

渡邊誓旅[1],瀬尾茂人[1],竹中要一[1],松田 秀雄[1]

[1]大阪大学大学院情報科学研究科

近年がん患者数が増大している一方、病理診断医の数は人口10万人当たり約1人と少なく、診断の高度化等に伴い見落としや誤診の可能性の高まりも懸念されている。本研究では画像処理とディープラーニングの手法を用いた診断支援を行う方法を検討する。本研究の一環として ISBI Challenge on Cancer Metastasis Detection in Lymph Nodes に参加し、手法の有用性を確認した。当コンペにおいては巨視的または微視的なリンパ節の転移の検出を目的としている。リンパ節転移はほとんどのがんで起こり、特に乳がんにおいては脇の下のリンパ節から拡散する可能性が高く、予後に影響を与える重要な指標となっている。学習、テストデータの各スライドデータに対しては前処理として色相によるセグメンテーションを行い不要なデータを除き、300×300ピクセルの画像に分割した。当初は Normal, Tumor, Single, Marginal と4種類に分け学習させたが Normal と Tumor のみの2種類での学習の方が精度が高い結果を示した。学習にはいくつかのネットワーク構造を試したところ Szegedy et al による 22 層構造の CNN である GoogLeNet が良い結果を示したためこれを用いた。学習データは量と時間のトレードオフの関係にあったが高性能 GPU を用いて約 100 万枚の画像を学習した。後処理として学習により得られた確率値を畳み込みにより平滑化させ、スライド内の各分割領域における腫瘍位置の判定、また全体の最大値に閾値を設けることによりそのスライドが腫瘍を含むかどうかの判定を行った。