

細胞培養画像のアカシックレコードの構築

佐波 晶

私が細胞画像の解析技術に出会ったのは入社して間もない2007年頃で、米カーネギーメロン大学、金出武雄教授との共同研究の課題候補として細胞トラッキング技術がリストアップされていた。大日本印刷が細胞を用いる研究開発に取り組む中で、非染色の細胞画像解析¹⁾は細胞品質の管理に有用なため、研究開発に着手することになった。

細胞トラッキング技術は、細胞の経時観察画像（タイムラプス）から細胞遊走と細胞分裂を追跡し、細胞の系譜図を構築する技術である。系譜図には、各時刻における細胞の位置と形状が記録され、細胞のサイズ変化や遊走速度などを取得できる。各時刻の画像（フレーム）に照らし合わせれば、細胞の模様変化など、画像から得られるすべての特徴量の変化が解析できることになり、これは細胞画像のアカシックレコードと言ってもよいだろう。細胞トラッキング処理は、細胞領域の検出と、細胞領域の追跡という技術要素で構成される。細胞領域の検出は、侵襲性が低い可視光の顕微鏡観察画像が対象になるため、明瞭でない細胞領域を識別するアルゴリズムが必要になる。細胞領域の追跡は、あるフレームでの細胞が次のフレームのどの細胞かを対応づける作業であり、個体を識別する情報が乏しいため、距離関数、エネルギー関数の最小化問題として解決していくことになる。比較的難易度が低い—といっても難しい—課題として、接着細胞の遊走解析を用途として、技術を紹介したい。

細胞領域の検出の研究は歴史が長い。二値化やエッジ検出、フーリエ変換、特徴量フィルタなどの手法で細胞領域と背景領域を分離する手法は初期から研究されており、前処理でフレーム内の照度分布ムラを除去することによって安定的な検出が可能になる。次の世代では、前段で抽出された領域をリファインし、細胞として不適切な形状を修正するステップが追加された。これらの手法は位相差顕微鏡の画像への適用が難しかったが、顕微鏡の光学系による画像強調機能を数学の行列で表現し、その逆行列で細胞画像を変換することで細胞領域を精度よく検出する技術が現れた。近年では、Deep Learningによって学習されるニューラルネットワークでの細胞検出が主流になりつつあり、CNNやU-NETを用いた高性能な手法が報告されている²⁾。細胞密度が低い細胞画像であれば、細

胞検出は難しい課題ではなくなったと言ってよいだろう。

細胞領域の追跡は、あるフレームでの細胞領域 $P(A)$ と、次のフレームの対応候補となる細胞領域 $P(B)$ を用い、重なり率 $(P(A) \cap P(B)) / (P(A) \cup P(B))$ を距離とした整数計画問題を解く手法が比較的良い結果を得られる。この場合の距離に、細胞同士の形状・模様の類似度や、予測される移動方向、全体としての動きなどを反映し、より精度を向上させる取組みが多い。細胞の分裂時は重なり率が低下するため、トラッキング結果を全体最適に結合する手法と組み合わせることでよい性能が得られる³⁾。細胞培養では、時間が進むと細胞分裂で細胞密度が高くなり、細胞遊走の速度が低下するため、同一のパラメータで動作させることが困難である。このような課題に適応できる手法が期待される。

細胞トラッキングとは、細胞の挙動すべてを画像から情報化し、さまざまな指標—たとえば、細胞数や被覆面積など—はすべてそこから抽出するという発想から生まれた技術である。突拍子もない夢物語と思いきや、近年の技術進歩で実現へのハードルが低くなりつつある。一つ目の進歩はカメラの高解像度化で、8K画像（7,680 × 4,320ピクセル）なら、大面積を詳細に観察できるようになった。二つ目の進歩はディープラーニング技術で、高精度な細胞領域の検出が実現できている。三つ目の進歩はコンピュータ性能の向上で、高解像度・大面積の画像に対するトラッキング処理も現実的な時間で完了できるようになった。細胞の形態観察作業は未来永劫なくならないことを考えれば、将来はすべての培養容器に撮像装置が付き、細胞培養画像のアカシックレコードが自動的に構築され、ユーザが必要な指標は自由に取り出せる世界が想像される。細胞数？それならアカシックレコードに書いてあるね、となることを楽しみにしたい。

- 1) Li, K. *et al.*: *Med. Image Anal.*, **12**, 546 (2008).
- 2) Ronneberger, O. *et al.*: *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015*, p. 234 (2015).
- 3) Bise, R. *et al.*: *Proceedings of IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*, p. 1004 (2011).