

研究報告書

「二光子顕微鏡で観察できる細胞の形と動きを一細胞単位でデータ主導型に解析するバイオイメージインフォマティクスの確立」

研究期間：平成 29 年 10 月～平成 30 年 8 月
研究者番号：50153
研究者：藤井 庸祐

1. 研究のねらい

イメージング技術の発展により、生体内で生きた細胞の有様を一細胞単位で観察できるようになった。しかしながら従来の形と動きの解析には定見がなく、実験者が仮説、実験条件依存で ad hoc に設定しているのが現状である。例えば形については、細胞の表面積、体積、2次元平面上で得られる細胞外周長など 3次元データを 2次元として扱って数百個の特徴量を抽出し、機械学習を用いて生物学的特徴との関係を解析している。動きについては従来より、細胞領域を質点とみなして細胞の軌跡を連結して推定し、速度や移動距離の特徴量を抽出している。さらに、ノイズや解析手法の制限により、実験者は眼で見て推定された細胞の形と動きを補正するという作業を行っている。本研究課題では数理・統計学、情報科学の観点から二光子顕微鏡で観察できる細胞の形と動きをデータ主導的に解析することで、客観的なデータ解析とオミックス実験との統合を可能にし、細胞の形と動きに関わる分子基盤の解明の足がかりとなることを目指す。

本研究課題で提案する手法は、実験者が *ad hoc* に設定していた従来までの主観的で経験依存な解析から脱却し、客観的で頑強性の高い解析を実現できる。データ主導的に解析し、網羅的に細胞の形と動きについてデータを取得するため、「眼で見えていなかった」「着目していなかった」ため捨てられていた特徴量も扱うことができる。そのため、いままで見過ごされていた細胞の形・動きとオミックスデータの関係、ひいては生命現象を見出す可能性がある。近年ではイメージング実験のデータベースの整備も進んでおり、データベース内の実験結果の再利用が可能で、これらのデータに対して本研究課題の成果を活用することで効率的な解析を実現できる。加えて、イメージング中に細胞を標識して拾い出す技術も発展しており、特徴的な形と動きを示す細胞をリアルタイムに解析、抽出することができれば、*in vivo* での次世代の網羅的解析の新たなモデルを提唱するものとなる。近年、進歩の著しいオミックス実験技術とイメージング技術を融合させ、さらに情報科学によるデータ主導型解析法を導入した画期的な新技術開発を目指す。

2. 研究成果

(1) 概要

二光子顕微鏡で観察される細胞は、蛍光物質で標識されたシグナルデータとして観測される。これらの観測値を計算機上で扱えるようコンピュータグラフィックスで一般的に利用される 3D ファイル形式に変換し、微分幾何学球面マッピングと球面調和関数を用いた級数展開により、細胞の包括的な形情報をパラメータ化することに成功した。球面調和関数により級数展開された特徴量スペクトルは細胞の形ひとつひとつに固有であり、特徴量スペクトルの

パターンをもとに、二光子顕微鏡で経時的に観察している細胞群のなかから分裂する細胞の検出に成功した。

(2) 詳細

(1) 細胞の形

(a) 細胞の 3 次元再構成

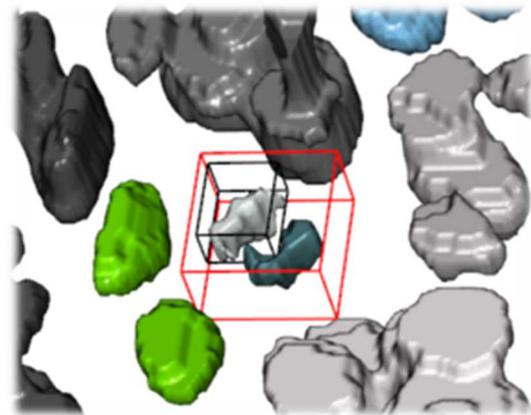
二光子顕微鏡のイメージ画像から細胞の 3 次元データを再構成する。共同研究者の協力を得て、二光子顕微鏡画像をグラフカット法を用いて細胞領域を二値化セグメンテーションするプログラムを組み込み、3 次元ボクセルデータを抽出した。

(b) 細胞の形の特徴量抽出

細胞の 3 次元構造から、データ主導的に形の特徴量を抽出する。上記(a)で細胞領域をボクセル化し、3D メッシュデータに対して微分幾何学的共形変換および球面調和関数による特徴量抽出するプログラムを実装した。形の包括的な情報を保持する特徴量スペクトルが取得でき、3 次元空間内での細胞位置位相を考慮した回転不変量を説明変数のひとつとして、分裂する細胞の検出に応用した(5-3 その他の成果)。

(c) 球面調和関数係数の比較による細胞の比較

細胞の形の定量的な比較は球面調和関数の係数の比較に帰着できる。ふたつの物体の距離は球面調和関数係数ベクトルのノルムとして表現できるが、最小距離解析的な推定は細胞の位置位相を考慮した回転同一視を行う必要がある。微分幾何学的な数学背景の整理と、プログラムの実装に苦慮した。主研究担当者の一身上の都合により研究継続中止となり、以降の研究開発は中止となった。



表面再構成した細胞と分裂の認識検出結果

(d) 実装と公開

実際に二光子顕微鏡に解析サーバーを取り付け、これら一連の解析工程をリアルタイムに実行できるアプリケーションの実装を行う。二光子顕微鏡に直接取り付けたサーバー以外にも、3 次元の物体データ一般に本研究の手法を応用できるように、コマンドライン型および実行ファイル型のアプリケーションを作成し、ひろく利用できるような体制を整える。

細胞のセグメンテーションと形の特徴量を抽出するプログラムは作成できたが、二光子顕微鏡に解析サーバーを連動させ、一連の解析工程をリアルタイムに自動化するアプリケーションの実装までは至らず、主研究担当者の一身上の都合により研究継続中止と

なった。

(2)細胞の動き

主研究担当者の一身上の都合により研究継続中止となり、以降の研究開発は中止となった。

3. 今後の展開

本研究課題で提案する手法は、実験者が *ad hoc* に設定していた従来までの主観的で経験依存な解析から脱却し、客観的で頑強性の高い解析を実現できる。データ主導的に解析し、網羅的に細胞の形と動きについてデータを取得するため、「眼で見えていなかった」「着目していなかった」ため捨てられていた特徴量も扱うことができる。そのため、いままで見過ごされていた細胞の形・動きとオミックスデータの関係、ひいては生命現象を見出す可能性がある。近年ではイメージング実験のデータベースの整備も進んでおり、データベース内の実験結果の再利用が可能で、これらのデータに対して本研究課題の成果を活用することで効率的な解析を実現できる。加えて、イメージング中に細胞を標識して拾い出す技術も発展しており、特徴的な形と動きを示す細胞をリアルタイムに解析、抽出することができれば、*in vivo* での次世代の網羅的解析の新たなモデルを提唱するものとなる予定だったが、主研究担当者の研究中断により開発中止となり、未達成となった。

4. 自己評価

・研究目的の達成状況

二光子顕微鏡で観察できる細胞の形と動きについて、データ主導的な解析手法の構築と実装を目指した。形については実際のデータを使った解析コンテストに共同研究者らと参加し、出力を得ることが出来たことでプログラム実装と公開について一定の見通しがあったが、形の特徴量スペクトルを抽出し細胞のオミックス解析と統合するという目的までは達成できなかった。動きの解析については主担当研究者の一身上の都合による研究中断により、ほとんど目的を達成できなかった。

・研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)

研究実施体制および研究費執行状況については、研究期間中においては過不足なく行うことができた。研究室内外において生物学および情報科学を専門とする共同研究からのデータ提供やプログラム開発支援を受けたり、議論を重ねたりすることで一定の成果を得た。また、ACT-I 内において、本研究課題に応用できる可能性のある研究開発を進めている研究者が存在し、定期的に議論を行った。

・研究成果の科学技術及び学術・産業・社会・文化への波及効果(今後の見込みも重視してください。)

生物学分野ではオミックス技術の発展により大規模なデータを取得できるが、それらのデータと統合できる形式で形と動きの網羅的特徴量が取得できていなかったため、オミックス実験と形・動きを関連付ける手法というものも存在していなかった。本研究課題は数理・統計学・情報科学

と生命科学の橋渡しとなり、両分野での相互応用の枠を広げるという可能性のある研究課題だったと評価している。

・研究課題の独創性・挑戦性

従来までの形と動きの解析は、そもそも特徴量を抽出することが困難で、体系的・汎用的な解析手法は存在しなかったことから、実験者が仮説・実験条件依存で ad hoc に解析する特徴量を決めていた。従来のように「眼で見て」決めていた特徴量を解析できることは当然として、「眼で見えてなかった」特徴量も扱うことができるため、客観的・網羅的なデータ解析が可能となり、いままで見過ごされていた生命現象の解明につながる独創性と挑戦性があった。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

なし

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)1 件

繁田浩功, 藤井庸祐, 瀬尾茂人, 山田亮, 松田秀雄. 細胞領域の抽出・追跡と形状変化による細胞分裂イベントの検出 ~ グラフカット法に基づく細胞領域の検出からのメッシュ化による三次元再構成 ~, 外観検査アルゴリズムコンテスト 2017(精密工学会 Vision Engineering Workshop, ViEW 2017), 2017 年 12 月, 横浜.

以上