

カイコガの脳における神経細胞形状の自動抽出

○中島 佳奈子¹, 森下 壮一郎², 加沢 知毅³, 関 洋一³,
大武 美保子², 神崎 亮平³, 浅間 一², 三島 健稔¹

¹ 埼玉大学大学院 理工学研究科, ² 東京大学 人工物工学研究センター,
³ 東京大学 先端科学技術研究センター

Automatic extraction of the neurons form in the brain of silkworm moth

○Kanakano NAKAJIMA¹, Soichiro MORISHITA², Tomoki KAZAWA², Yoichi SEKI²,
Mihoko OTAKE², Ryohei KANZAKI², Hajime ASAMA², Taketoshi MISHIMA¹

¹ Graduate School of Science & Engineering, Saitama University,
²RACE, The University of Tokyo, ³RCAST, The University of Tokyo

Abstract: This paper proposes a method for automatic extraction of the neurons form from confocal laser scanning microscopic images. We consider a missing parts in the image through binarization process and noises. This enables to achieve an automatic processing and reduce a manual procedure of extraction processes.

1. 緒言

昆虫の脳における神経細胞は $10^4 \sim 10^5$ 個と考えられており, 人間が 10^8 個程度であるのに比べてはるかに少ない. それにも関わらず昆虫は, 十分複雑な行動や記憶・学習を行う能力をもち, 高度な感覚受容, 行動制御を実現している¹⁾. また, 昆虫の神経細胞の構造やそこに存在する個々の素子の特性には 哺乳類と多くの共通性が存在することも分かっている¹⁾. 昆虫の中でもカイコガの脳は, 計測, 解析が比較的容易であり, かつ, フェロモン刺激により明確な定形的行動を起こすことが分かっている. そのため, カイコガは刺激から行動に至る一連の情報処理を理解するためのモデル動物としての役割が期待されており, 既に 1000 個程度の単一神経細胞の三次元形状画像が集積されている. これらの研究は 人間の脳の解明に繋がる研究としても極めて重要である.

昆虫においては 単一神経細胞が非常に大きな役割を果たす場合が多く, 脳内の神経回路のメカニズムを解明するには 個々の神経細胞の三次元形状を決定することが重要である. そのためには, 蛍光染色した神経細胞を共焦点レーザー顕微鏡により観察して得られた画像から, 染色した神経細胞の形状のみを抽出することが必要になる. しかし多くの場合この抽出処理は, 人の手作業に

頼っているため, 抽出者の負担が大きく大量の対象への適用が困難である. 抽出者の主観によって異なった抽出結果になるなどの問題がある. そこで本稿では, この処理の自動化を目的とする.

2. 神経細胞の三次元形状モデル

2.1 神経細胞の断面画像取得

単一神経細胞の断面画像は, 次の手順で取得する³⁾.

任意の単一神経細胞に蛍光色素を含んだガラス管電極を刺入し, 微弱電流を流すことで蛍光染色する.

脳の固定, 脱水, 透徹を行い, 共焦点レーザー顕微鏡により三次元スタック画像として取得する. 共焦点レーザー顕微鏡を用いることで, 中心軸のずれがない高精度な断面画像が取得可能である.

Fig1. にカイコガの脳を, Fig2. に取得した神経細胞の三次元画像を二次元で表したものを示す.

2.2 三次元モデルの構築

共焦点レーザー顕微鏡より取得した断面画像を用いて, 蛍光色素で染色した神経細胞の領域を抽出し 神経細胞



Fig. 1 the brain of silkworm moth



Fig. 2 the neurons form

の三次元形状モデルを構築する。

2.2.1 先行研究による形状の抽出

先行研究²⁾では、取得した各断面画像に対して、まず二値化処理を施し、主要な樹状突起の三次元画像を生成する。そして、これを単一点距離変換画像に変換して形状抽出を行う。単一点距離変換(SSDT)とは、Fig.3のように距離値 d を持つ単一のボクセル v を開始点とし、26 近傍のボクセルに $d+1$ の距離値を与え、隣接しているボクセルがなくなるまで距離値を伝播させていく方法である。Fig.4 に開始点から距離値の伝播の様子を示す。同じ距離値を持ち、かつ隣接するボクセルの集合をクラスタとした場合、このクラスタを距離値の順序どおりに並べることによって、形状を抽出することができる。

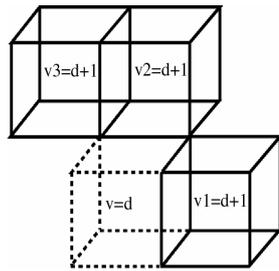


Fig. 3 propagation of distance value by SSDT

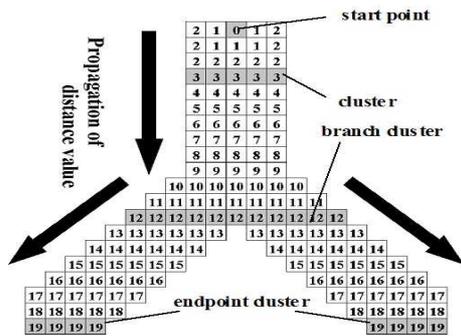


Fig. 4 Distance propagation and cluster

しかし、共焦点レーザー顕微鏡で蛍光染色した細胞を観察して得られた画像は、断面の深さの違いによる明度の差、光学的なノイズ、組織の自家蛍光の影響などを大きく受けており、二値化処理の結果、必要な部分の欠損が生じることが多い。このとき、二値化による欠損部分と末端との判別は難しく、距離伝播による形状抽出は困難であるので、分断が起きる毎に開始点をその都度設定する必要がある。そのため、染色状態のよい画像にしか適用できない。既に集積されているデータのうち、これを充たす画像は一割程度であり、未だ手作業に頼らざるを得ない場合が多い。

そこで本稿では、二値化による欠損部分を考慮した抽出方法を提案する。

3. 提案手法

先行研究は、画素が連結していることを前提としているために、二値化による欠損部分には対応できず、さらにノイズの影響を受けやすい。本稿では、画像中の神経

細胞が存在する画素から代表する離散的な点の集合を抽出し、この点を連結させることで形状を得る。

まず、二値化処理の前処理としてエッジ検出を行い、二値化による欠損を軽減させる。次に、二値画像を背景からの距離画像に変換し、中心線を得る。この中心線上の点を適当に選択して離散的な点の集合を得る。そ

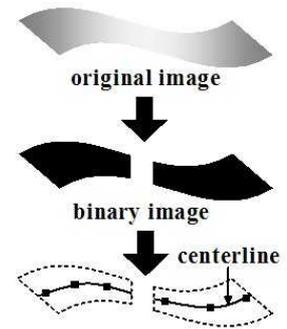


Fig. 5 data extraction

して、これらの点を滑らかな曲線で繋げて形状を抽出する。この処理の概念図を Fig.5 に示す。このとき、どの点同士を連結すべきかは、組み合わせ問題に帰着し、GA などの局所最適化手法により最適化できる。

以上の手続きにより、二値化による欠損部分が存在した場合でも、適切に形状を抽出することができる。また、代表点の選択方法を工夫することで、ノイズの影響を軽減させることができると考えられる。

4. 結言

本稿では、カイコガの脳における神経細胞の三次元形状モデルを構築するために、共焦点レーザー顕微鏡で得られた断面画像から、蛍光染色された神経細胞の形状をノイズの影響を受けることなく自動的に抽出するための手法を提案した。これにより、これまでは手作業に頼っていた処理が自動化し、抽出者の負担軽減及び、モデル構築までの時間短縮が実現できると考えられる。形状モデルが構築されれば、神経細胞のメカニズムの解明は飛躍的に前進すると期待できる。今後は、提案手法の実装実験を行う。

参考文献

- 1) 外池光雄, 渋谷達明, “にょいと脳・行動”, フレグランスジャーナル社, 2003.
- 2) T.Yamazaki, T.Isokawa, N.Matsui, H.Ikeno and R.Kanzaki, “Reconstruction and simulation for three-dimensional morphological structure of insect neurons”, Neurocomputing, 69, pp.1043-1047, 2006.
- 3) Y.Seki, H.Aonuma and R.Kanzaki, “Pheromone processing center in the protocerebrum of Bombyx mori revealed by nitric oxide-induced anti-cGMP immunocytochemistry”, J Comp Neurol, 481, pp340-351, 2005.