

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：82675

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06272

研究課題名(和文)生物画像の定量的解析のためのソフトウェアの開発

研究課題名(英文)An application software development for quantitative biological image analysis

研究代表者

加藤 輝(Kato, Kagayaki)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(新分野創成センター、アストロバイオロジーセンター、生命創成探究・生命創成探究センター・特任助教)

研究者番号：30391915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年、多次元画像化・大容量化した生物研究における観察画像から、生物学的に重要な特徴を効率よく抽出し測定する必要に迫られている。また、生物学領域全般では、観察対象の広さゆえに、多様な画像データが産生される。この現状に対処すべく生物画像データ解析に特化したソフトウェア開発を実施した。本ソフトウェア系は、画像中の生物学的特徴を幾何的な表現として簡潔に表現・記述を可能とする基盤であり、比較的小規模なプログラミングによって解析システムを構築することができる。この系を使用し、培養細胞系における細胞内小器官から魚類の自由泳動様式の解析に至るまで、広範な生物実験における定量的画像解析を実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、生物学研究において産生される画像データについて、その観察技法の発展に伴う多次元化・高精細化と近年のデータ科学的方法論に基づく大量データの解析法の開発という要望に対応すべく、生物画像データ解析に特化したソフトウェア基盤であり、特殊な顕微鏡からビデオ撮影した動画に至るまでの多岐に渡る画像データを透過的に処理、定量的な解析までを行うことを可能とするものである。今後、本システムを適用することによって、広範な生物学実験における観察画像の定量的な解析を効率よく行う系を構築することが可能となる。

研究成果の概要(英文)：There is an urgent need to efficiently extract and measure biologically important features from observational images in multidimensional imaging and large-capacity biological research in recent years. Moreover, various image data are produced in the whole biological field due to the wide range of observation objects. To deal with this situation, we have developed software specializing in biological image data analysis. This software system is a foundation that enables simple expression and description of biological features in images as geometric expressions, and an application can be constructed by relatively small-scale programming. Using this system, we performed quantitative image analysis in a wide range of biological experiments, from intracellular organelles in cultured cell lines to analysis of free migration patterns in fish.

研究分野：発生生物学

キーワード：生物画像データ解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の生体イメージング技術の発展に伴い、時空間分解能に優れた光学機器の一般化が進む昨今、時空間並びに他チャンネルを同時に観測可能な多次元画像データを簡便かつ大量に得られるようになってきている。その一方で、これら画像データの大容量化に起因し、画像から表現型を定量的に解析し、統計的に記述する過程において著しい困難を伴うようになった。特に、立体的に複雑な形態をとる組織の形態を精緻に計測するためには計算機による支援が必須である。ただ、計測対象となる生物に特有の画像特徴はその性状が非常に不安定であり、不定形かつ出没や交差、分裂、融合などの現象が頻出する。さらに、生物学研究はその対象と観察技法が多岐に渡るため汎用的な解析系を単純に適用するだけでは解析に供することは難しく、得られた画像データを高い効率で解析する技法の開発が待たれていた。

2. 研究の目的

代表者はこれまでに、観察者目視による半自動的な生物学的特徴の抽出と定量的解析を行うためのソフトウェアを開発し、共焦点レーザー顕微鏡により撮影した上皮細胞群の空間配置の時間遷移や、この細胞の変形の過程を可視化、計測する系について確立した。この系では、生物学的な特徴として局所的な輝度の極大を示す座標の探索や、その組み合わせによって距離などの単純な特徴を求める機能を擁している (Kondo and Hayashi., 2013, Kato et al., 2016)。このように、画像データから任意の生物学的特徴を抽出し、さらに単純な幾何学的特徴として表現型を記述する作業のプログラムについて、再利用を目的としたソフトウェア基盤を整備することによって生物学領域における画像解析全般に広く適用可能な汎化が可能となると考えられる。

3. 研究の方法

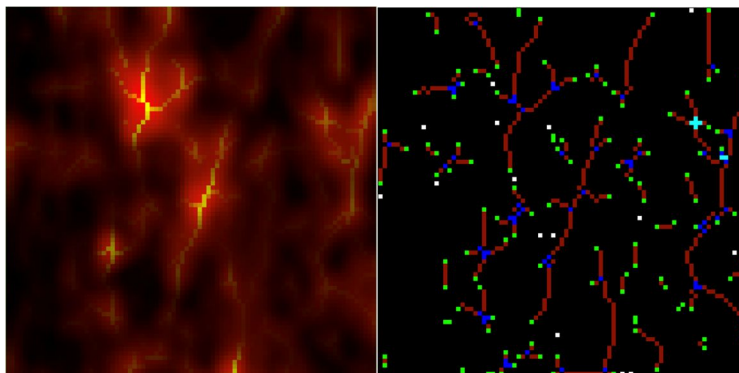
大量の生物画像データを対象として定量的な解析を行う際は、その処理効率や、多様な撮像環境に由来するデータであることを勘案し、都度実験系に即した専用アプリケーションソフトウェアとして実装している。その一方、生物画像データから生物学的に有用である画像上の特徴は幾何情報として一般化し記述可能なことが多い。従って、これらの技法については生物学研究に特化した定量的画像解析法として汎化することが可能であると考えられる。そのため、技法の共通部分を括り出して共用可能とすることで個別の実験系に即したアプリケーションソフトウェアをより迅速かつ効率的に開発することが可能となるものと考えられる。これまでの事例から、計測にかかる手法の共通部分を集約し、ソフトウェアライブラリとして実装、個別のアプリケーションソフトウェアから都度それらの機能呼び出すことによって様々な実験系に簡便に対応することを可能とする基盤とする。そして、複数の生物画像データ解析事例において本研究における方法論を適用することにより、その有用性を検証する。

4. 研究成果

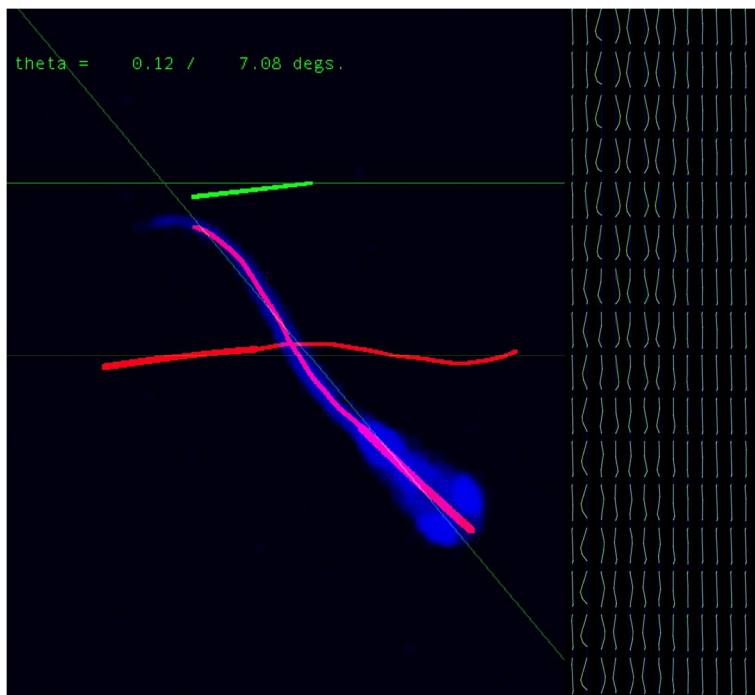
本研究では、広範な生物学分野において様々な生物種を対象とした多様な観察系を対象とし、整備したソフトウェアライブラリを基盤とする専用アプリケーションソフトウェアの開発・運用を行い、その有用性を検証した。

胚性幹細胞における核内構造を構成する球状の構造体の配置について、網羅的かつ自動的に解析を行う系をこの基盤上に実装した。その際、本ライブラリ上に組み込みの SQL データベースの機能を利用することにより画像処理ライブラリから画像特徴量を直接データベース化することにより、比較的大規模な画像解析並びに統計処理を行う系の実装、運用を可能とした (Kurihara et al., 2020)。

画像中の線状の構造は、細胞のアピカル面の標識による細胞集団の集合様式のみならず、血管のネットワークや細胞骨格の様態など様々な対象、スケールにおいて見出される。生物画像データからこの種の線状の構造物を抽出し、空間中の自由曲線モデルとして記述する系について、本ライブラリへの統合を実施した。この機能を用いることで、培養細胞系における細胞内のアクチンネットワークを構成するアクチン束の直径並びにその配置密度の推定を実施するためのアプリケーションを開発、計測を行なった (下図, Kondrychyn et al., 2020)。

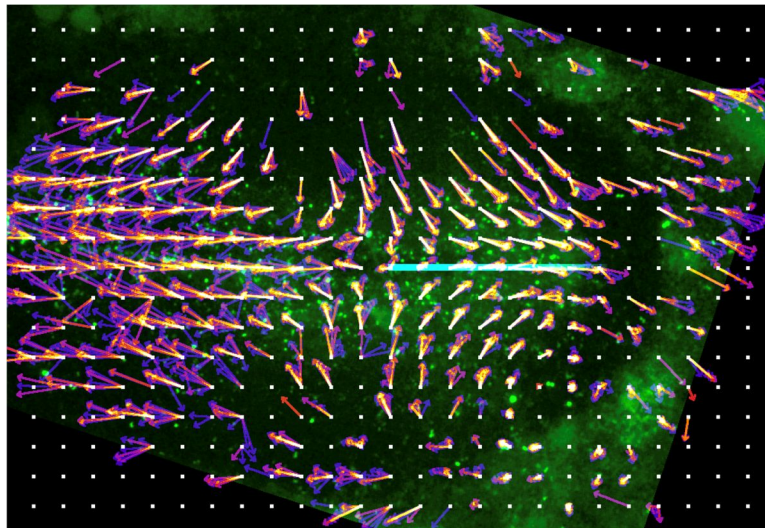


本基盤上の自由曲線のフレームワークを用いて、よりマクロな事例である魚体について、高速度カメラを用いてその自由泳動を撮影した動画を構成する全てのフレームから魚体の外型を抽出し、その泳動時の形態を自由曲線モデルとして記述する系を開発した。このモデルをもとに、観察対象の泳動速度をはじめ、泳動にかかる頭部の振幅、各部位の局所曲率などの特徴を定量的に解析するソフトウェア並びに多数の動画を一括処理する系を開発し、様々な実験条件並びに数値化条件下での測定を行なった（下図、Uemura et al., 2020, Kawano et al., 2022）。

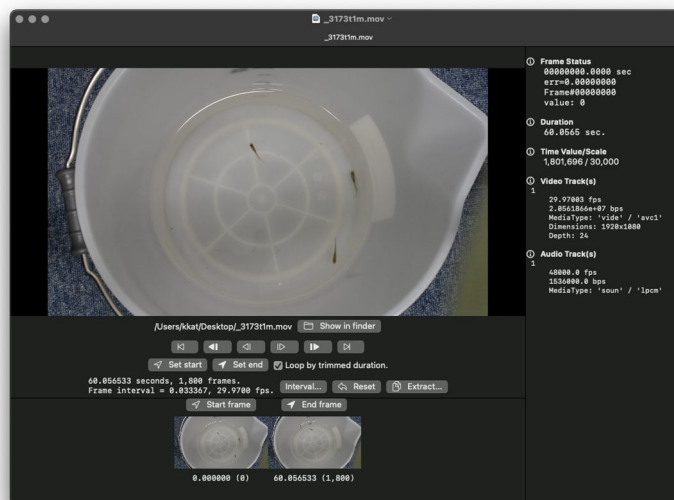


生物画像データは撮像環境の発展に伴い大容量化、多次元化が著しい。この種のデータを解析するために、これまで開発したライブラリの中でも計算負荷の高いものについて並列実行を可能とする実装を施した。この並列化したライブラリをメモリ共有型のマルチプロセッサ大型計算機に配備し、実験毎に実装したアプリケーションソフトウェアを手元の開発機から大型計算機に半自動的に配備する系を構築することによって、ソフトウェア開発ならびに処理・解析の過程について高い効率で実行可能とした。

GUI (Graphical User Interface) 環境下における生物画像データ操作系の実装を目的として、インターフェイスを ImageJ のプラグインとして実装、実験者に作業の実施を依頼することで、実験系生物研究者にとって使い勝手の高い系についての検討を行なった（下図、Yoshihi et al., 2022）。この知見をもとに、GUI (Graphical User Interface) 環境下における生物画像データ操作系の実装を目的として、インターフェイスを ImageJ のプラグインとして実装、実験者が作業を実施することで、実験系生物研究者の作業効率の最適化について検討を行なった（下図、Yoshihi et al., 2022）。



また、上記により得られた知見を基盤として、サンゴ幼生の泳動を民生用カメラによって撮影した動画から、その挙動を追跡するに最低限必要となる時間間隔で静止画を切り出し、後の解析に供するため保存を行う GUI アプリケーションの開発を行なった（下図、Sakai et al., 2020）。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 加藤 輝、林 茂生	4. 巻 89
2. 論文標題 ヒトと機械で画像を観る 生物画像を定量的に解析する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 蚕糸・昆虫バイオテック	6. 最初と最後の頁 1_007 ~ 1_013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11416/konchubiotec.89.1_007	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshihi Koya, Kato Kagayaki, Iida Hideaki, Teramoto Machiko, Kawamura Akihito, Watanabe Yusaku, Nunome Mitsuo, Nakano Mikiharu, Matsuda Yoichi, Sato Yuki, Mizuno Hidenobu, Iwasato Takuji, Ishii Yasuo, Kondoh Hisato	4. 巻 149
2. 論文標題 Live imaging of avian epiblast and anterior mesendoderm grafting reveals the complexity of cell dynamics during early brain development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.199999	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kawano Kohei, Kato Kagayaki, Sugioka Takumi, Kimura Yukiko, Tanimoto Masashi, Higashijima Shin-ichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Long descending commissural V0v neurons ensure coordinated swimming movements along the body axis in larval zebrafish	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-08283-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sakai Yusuke, Kato Kagayaki, Koyama Hiroshi, Kuba Alyson, Takahashi Hiroki, Fujimori Toshihiko, Hatta Masayuki, Negri Andrew P., Baird Andrew H., Ueno Naoto	4. 巻 10
2. 論文標題 A step-down photophobic response in coral larvae: implications for the light-dependent distribution of the common reef coral, <i>Acropora tenuis</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-74649-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurihara Misuzu, Kato Kagayaki, Sanbo Chiaki, Shigenobu Shuji, Ohkawa Yasuyuki, Fuchigami Takeshi, Miyanari Yusuke	4. 巻 78
2. 論文標題 Genomic Profiling by ALaP-Seq Reveals Transcriptional Regulation by PML Bodies through DNMT3A Exclusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 493 ~ 505.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2020.04.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihi Koya, Kato Kagayaki, Iida Hideaki, Teramoto Machiko, Kawamura Akihito, Watanabe Yusaku, Nunome Mitsuo, Nakano Mikiharu, Matsuda Yoichi, Sato Yuki, Mizuno Hidenobu, Iwasato Takuji, Ishii Yasuo, Kondoh Hisato	4. 巻 149
2. 論文標題 Live imaging of avian epiblast and anterior mesendoderm grafting reveals the complexity of cell dynamics during early brain development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.199999	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uemura Yuto, Kato Kagayaki, Kawakami Koichi, Kimura Yukiko, Oda Yoichi, Higashijima Shin-ichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Neuronal Circuits That Control Rhythmic Pectoral Fin Movements in Zebrafish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6678 ~ 6690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/jneurosci.1484-20.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondrychyn Igor, Kelly Douglas J., Carretero Nuria Taberner, Nomori Akane, Kato Kagayaki, Chong Jeronica, Nakajima Hiroyuki, Okuda Satoru, Mochizuki Naoki, Phng Li-Kun	4. 巻 11
2. 論文標題 Marcks11 modulates endothelial cell mechanoreponse to haemodynamic forces to control blood vessel shape and size	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19308-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujita Ikumi, Shitamukai Atsunori, Kusumoto Fumiya, Mase Shun, Suetsugu Taeko, Omori Ayaka, Kato Kagayaki, Abe Takaya, Shioi Go, Konno Daijiro, Matsuzaki Fumio	4. 巻 22
2. 論文標題 Endfoot regeneration restricts radial glial state and prevents translocation into the outer subventricular zone in early mammalian brain development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Cell Biology	6. 最初と最後の頁 26 ~ 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41556-019-0436-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Furutani Masahiko, Hirano Yoshinori, Nishimura Takeshi, Nakamura Moritaka, Taniguchi Masatoshi, Suzuki Kanako, Oshida Ryuichiro, Kondo Chiemi, Sun Song, Kato Kagayaki, Fukao Yoichiro, Hakoshima Toshio, Morita Miyo Terao	4. 巻 11
2. 論文標題 Polar recruitment of RLD by LAZY1-like protein during gravity signaling in root branch angle control	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13729-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 加藤輝	4. 巻 37
2. 論文標題 イメージングデータ解析よろず相談所・大量画像解析のための自動化手法・応用編	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2346-2353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小山宏史, 加藤輝	4. 巻 37
2. 論文標題 イメージングデータ解析よろず相談所・顕微観察画像の定量的情報解析とその落とし穴	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2772-2777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoyasu Shinoda, Arata Nagasaka, Yasuhiro Inoue, Ryo Higuchi, Yoshiaki Minami, Kagayaki Kato, Makoto Suzuki, Takefumi Kondo, Takumi Kawaue, Kanako Saito, Naoto Ueno, Yugo Fukazawa, Masaharu Nagayama, Takashi Miura, Taiji Adachi, Takaki Miyata	4. 巻 123
2. 論文標題 Elasticity-based boosting of neuroepithelial nucleokinesis via indirect energy transfer from mother to daughter	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS Biology	6. 最初と最後の頁 100-109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.2004426	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryosuke Nishimura, Kagayaki Kato, Sachiko Fujiwara, Kazumasa Ohashi, Kensaku Mizuno	4. 巻 43
2. 論文標題 Solo and Keratin Filaments Regulate Epithelial Tubule Morphology	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 95-105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.18010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 加藤輝	4. 巻 36
2. 論文標題 生物画像処理・解析を加速するImageJマクロプログラミング	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1513-1520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Hisato Kondoh, Koya Yoshihi, Hideaki Iida, Machiko Teramoto, Kagayaki Kato
2. 発表標題 鳥類胚のライブイメージングが明らかにした、各脳領域の新しい前駆体マップと、脳形成を開始させる前部中内胚葉の作用
3. 学会等名 第52回日本発生生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤 寿人, 吉水 康矢, 寺元 万智子, 飯田 英明, 加藤 輝
2. 発表標題 ニワトリ初期胚細胞の新しい標識法とライブイメージングによって明らかになった脳の発生の新しい機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀江 恭二, 渡邊 仁美, 西村 陽介, 渡邊 日佳流, 関 真秀, 清田 晃央, 加藤 輝, 若本 祐一, 瀬々 潤, 鈴木 穰, 山田 拓司, 近藤 玄, 吉田 純子
2. 発表標題 Ground stateにおけるマウスES細胞の不均一性の同定とその制御機構の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原 美寿々, 三宝 千秋, 加藤 輝, 重信 秀治, 宮成 悠介
2. 発表標題 PML bodyによる遺伝子転写制御メカニズムの解析 ~ AP-CLaP法を用いて ~
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀江 恭二, 渡邊 仁美, 西村 陽介, 渡邊 日佳流, 関 真秀, 清田 晃央, 加藤 輝, 若本 祐一, 鈴木 穰, 山田 拓司, 近藤 玄, 吉田 純子
2. 発表標題 Ground stateにおけるマウスES細胞の不均一性の同定
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koya Yoshihi, Kagayaki Kato, Hisato Kondoh
2. 発表標題 Live imaging of node graft and host cells to establish its role in head development
3. 学会等名 Joint Annual Meeting of 51st JSDB and 70th JSCB
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fumiko Usami, Dongbo Shi, Kagayaki Kato, Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 PCP factors are differentially involved in polarity establishment of ciliary orientation and cell elongation in the mouse oviduct.
3. 学会等名 Joint Annual Meeting of 51st JSDB and 70th JSCB
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoyasu Shinoda, Arata Nagasaka, Yasuhiro Inoue, Ryo Higuchi, Yoshiaki Minami, Kagayaki Kato, Makoto Suzuki, Takefumi kondo, Takumi Kawaue, Kanako Saito, Naoto Ueno, Yugo Fukazawa, Masaharu Nagayama, Takashi Miura, Taiji Adachi, Takaki Miyata
2. 発表標題 Elasticity-based boosting of neuroepithelial nucleokinesis via indirect energy transfer from mother to daughter
3. 学会等名 Joint Annual Meeting of 51st JSDB and 70th JSCB
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 加藤 輝、小山 宏史	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 220
3. 書名 達人に訊くバイオ画像取得と定量解析Q&A	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------