

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03244

研究課題名（和文）深層学習を用いた細胞追跡アルゴリズムの開発

研究課題名（英文）Development of a cell tracking algorithm using deep learning

研究代表者

舟橋 啓 (Funahashi, Akira)

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・教授

研究者番号：70324548

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：深層学習(Deep Learning)を利用することで、今まで困難だったマウス胚発生の3次元時系列蛍光顕微鏡画像から細胞の移動・分裂の両者を高精度にトラッキングする画像処理アルゴリズムを開発した。既存のトラッキングアルゴリズムでは細胞の移動と分裂を同時に検出することが困難であり、細胞分裂トラッキングの精度は非常に低くなってしまったといった問題点があった。本研究課題では、深層学習と整数計画法を組み合わせたトラッキングアルゴリズムを開発し、40細胞期までの正確な細胞追跡を行うことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義として、当研究課題で開発したOHモデルおよびMHモデルは細胞分裂を含む細胞動態を90%近い精度で細胞追跡を行うことに成功し、初期マウス発生過程における胚の1細胞ごとの動態を定量的に比較することが可能であることが示された点が挙げられる。

社会的意義としては本研究課題で提案された細胞追跡アルゴリズムを用いることで、経験的に定められた指標に代わる、産仔作出能との関連性が高い「胚の質を評価し得る指標」の確立が期待される点が挙げられる。

研究成果の概要（英文）：Using deep learning, we have developed an image processing algorithm that can accurately track both cell migration and cell division in 3D time-series fluorescence microscopy images of mouse embryonic development, which was previously difficult. Existing tracking algorithms have difficulty detecting both cell migration and cell division simultaneously, and the accuracy of cell division tracking is very low. In this research project, we developed a tracking algorithm that combined deep learning and integer programming and accurately tracked cells up to the 40-cell stage.

研究分野：定量生物学

キーワード：画像解析 機械学習 深層学習 細胞系譜 細胞追跡 発生・分化

1. 研究開始当初の背景

・細胞系譜作成には高精度の画像解析アルゴリズムが必要となる

生命の発生は多数の細胞分裂により成り立ち、その現象の理解には細胞分裂の過程を記述できる細胞系譜の作成が有用である[1]。近年、イメージング技術の発展により細胞や細胞内のダイナミックな現象を時空間的に可視化することが可能になってきている。これらの新しい技術によって発生過程の時空間的・複数波長でのイメージングが可能となる一方で、それによって解析対象となるデータの急激な増大という問題も生じている。得られる画像データを手動で扱うには、労力、費用、正確性、再現性、解析できるデータ量などに限界があり、とくにこれらの手法の自動化が重要となってくる。したがって、近年のイメージング技術をハイスループットに利用する際のボトルネックは、実験やハードウェアから取得される画像を扱うための適切なソフトウェアツールの開発に移りつつあり、細胞系譜構築に関しても同様の課題が存在する。細胞系譜構築は、主に以下に挙げる処理で構成される(図 1)。

1. タイムラプス画像の取得
2. 各時刻での物体(細胞)の検出(セグメンテーション)
3. 各時刻間で細胞の対応付け(トラッキング)

正確な細胞系譜構築を行うためには、時系列で取得される顕微鏡画像から物体(細胞)を間違いなく捕らえ、追いつける必要がある。そのため、自動的かつ正確に物体同定を行うセグメンテーションアルゴリズムは細胞系譜構築において必須の技術である。申請者が開発した深層学習を用いたセグメンテーションアルゴリズムである QCANet は、既存の 3 次元セグメンテーションアルゴリズムの最高峰である 3D Mask R-CNN を凌駕する精度を達成することに成功し[2]、細胞追跡を行う上で要求されるセグメンテーション精度は達成されたと考えている。セグメンテーションにより同定された細胞は、異なる時刻での位置関係を対応付けること(トラッキング)で細胞が時間に応じてどのように移動、分裂したかを追うことが可能となり、これらの情報を統合することで細胞系譜の構築が達成される。

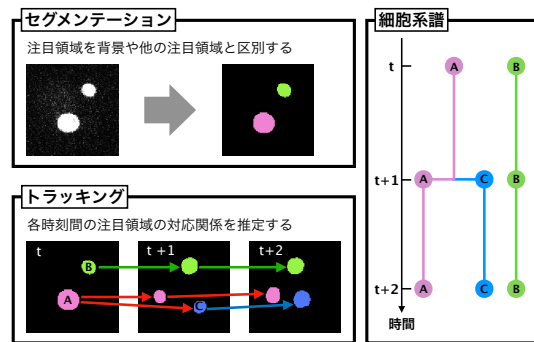


図 1: 細胞系譜の作成手順

・既存のトラッキングアルゴリズムはデータに依存したチューニングが必要である

既存のトラッキングアルゴリズムの最高峰として Viterbi アルゴリズムを用いた手法[3]が挙げられる。Viterbi アルゴリズムではセグメンテーションとトラッキングを同時に行い、両者のコストを最小化する最適化問題を解く実装となっている。Viterbi アルゴリズムは細胞のトラッキングアルゴリズムのコンペティションにて胚発生過程の細胞データに対して最も高い精度を示すことに成功している。しかし、Viterbi アルゴリズムでは解析者が設定しなければならないパラメータが膨大に存在するという問題点がある。これはすなわち、与えられたデータセット(生物種)毎にパラメータをチューニングする必要があることを意味している。セグメンテーションとトラッキングはどちらも非線形関数で表されることが予想され、これらの関数に含まれるパラメータを最適な値となるよう同時に調整することは解析者にとって非常に困難なタスクである。

2. 研究の目的

本研究課題では上記問題点を解決すべく、深層学習、特に畳み込みニューラルネットワーク(Convolutional Neural Network: CNN)を用いたトラッキングアルゴリズムを構築することで高精度な細胞系譜構築を目的とした。本研究課題で構築する細胞追跡(トラッキング)アルゴリズムは先行研究が必要としていた非線形関数の膨大なパラメータを CNN に内包することで多様な生物種において正確な細胞系譜構築を可能とすることを狙った。

3. 研究の方法

(1) 深層学習と整数計画法による細胞追跡アルゴリズムの構築

既存の高精度な細胞追跡アルゴリズムとして、整数計画法を利用したアルゴリズムが提案されている[4]。最も単純な整数計画法を用いた手法は細胞間の対応関係についてその細胞間距離をコストとして数値化し、コストが最小になる対応関係を採択することでトラッキング

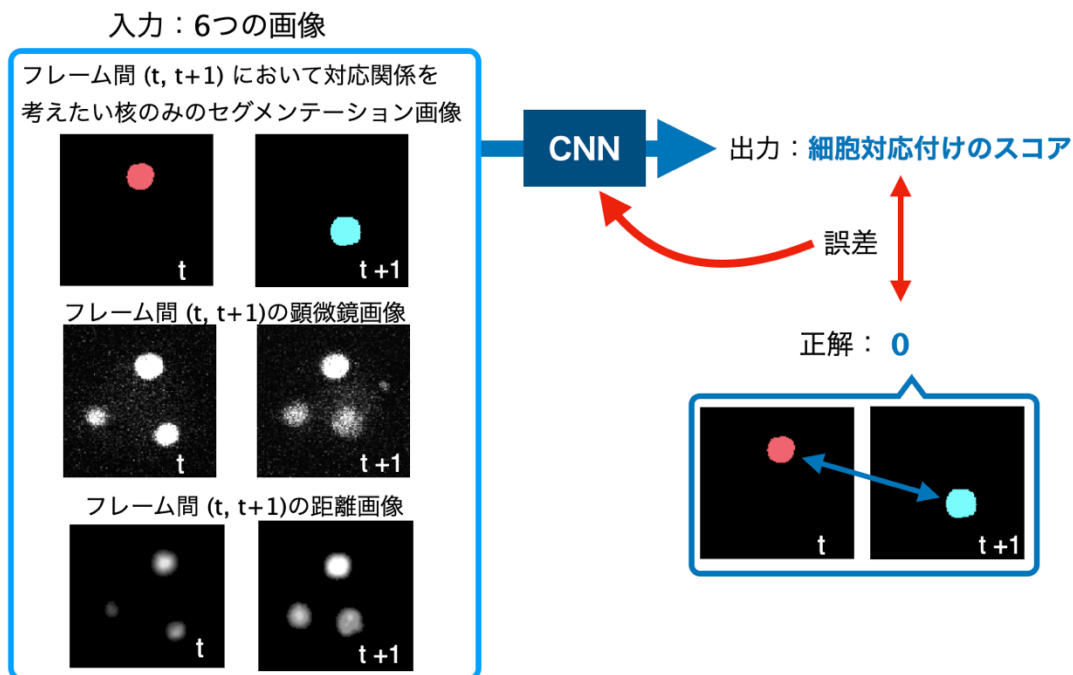


図2: 深層学習と整数計画法による細胞追跡アルゴリズム

を行うが、このような単純に細胞間距離のみを考慮する手法は細胞分裂によって大きく細胞の位置が変位する場合には正確なトラッキングを行えないことが報告されている[5]。そのため、高精度なトラッキングを行うには細胞形状といった画像特徴から適切にコストを算出する必要がある。本研究課題では整数計画法のコスト算出にCNN[6]を利用したトラッキングアルゴリズムの構築を行った。CNNは与えられた課題に対して有効な画像特徴を自動で抽出し適切な演算を行えるため、整数計画法のコスト算出にCNNを用いることで高精度なトラッキングアルゴリズムの構築が行えると考えた。なお、本研究課題では連続する2つの時刻間の細胞の対応関係1つずつに対してコストの算出を行うOne Hypothesis model(OHモデル)と連続する2つの時刻間の細胞の全対応関係に対するコストを算出するMulti Hypotheses model(MHモデル)の2種類のモデルを構築した。これらのモデルが算出するコストを整数計画法に用い、コストの和が最小となる対応関係を採択することでトラッキングを行った。

(2) データセット

共焦点顕微鏡で撮像したマウス初期胚の時系列データを学習および評価対象の画像データとした。このデータは、細胞核をH2B mRFP1により蛍光標識したマウス初期胚をライブセルイメージングにより取得した時系列3D蛍光顕微鏡画像であり、前核期より最大で53細胞期までの発生過程(10分間隔、全502 time point)を観察したものである。続いて当研究室にて開発されたセグメンテーションアルゴリズムであるQCANetによって3次元時系列画像の全時刻の全細胞核についてインスタンスセグメンテーションを行った(図3)。その後、2つの時刻間の細胞の全対応関係を手動で求め、対応関係のコスト行列を作成した。

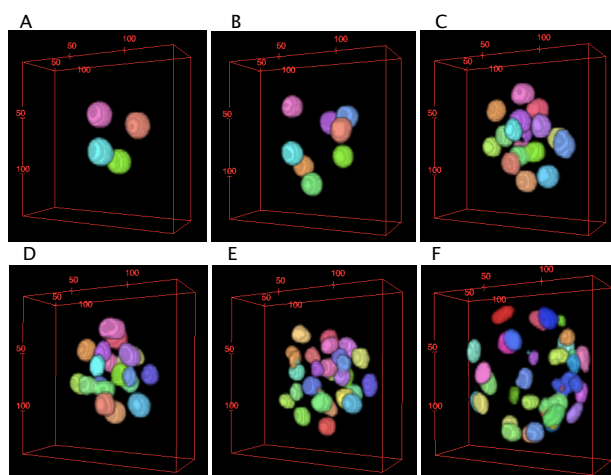


図3: QCANetによるセグメンテーション結果

4. 研究成果

着床可能な時期の直前である40細胞期までのマウス胚時系列3次元細胞核蛍光顕微鏡画像を対象に、OHモデルとMHモデルの学習および精度評価を行なった。トラッキング精度評価には、真の対応関係の総数に対する正解と一致した対応関係数の比であるassociation accuracy[7]を使用した。比較対象として、発生胚に対して高精度なトラッキングを行うことが知られている2つのアルゴリズム、ViterbiアルゴリズムとELEPHANT[8]を用いた。Viterbiアルゴリズムは深層学習を用いないアルゴリズムである一方、ELEPHANTは深層学習を用いるアルゴリズムである。

細胞追跡には細胞の移動と分裂という 2 種類のイベントが存在する。本評価では細胞の移動と分裂それぞれの精度を求めた。

表 1. トラッキング精度の比較:
各精度の値は association accuracy の平均と標準偏差を表す

アルゴリズム	移動精度	分裂精度
Viterbi アルゴリズム	0.9764 (0.0047)	0.3969 (0.1020)
ELEPHANT	0.9907 (0.0001)	0.6938 (0.0920)
OH モデル	0.9930 (0.0019)	0.8613 (0.0171)
MH モデル	0.9958 (0.0005)	0.8797 (0.0852)

40 細胞期までのマウス胚に対する本研究の手法によるトラッキング精度と比較対象によるトラッキング精度を Association accuracy を用いて比較した(表 1)。移動のトラッキング精度は、分裂のトラッキング精度共に本研究課題により構築した MH モデル、続いて OH モデルが高い精度を示した。特に既存のアルゴリズムでは困難だった細胞分裂のトラッキングにおいて大幅な精度向上を達成し、高精度なトラッキングアルゴリズムの構築に成功したと言える。

続いて OH モデルおよび MH モデルと既存手法の 40 細胞期までのトラッキングにかかった実行時間を比較し、本手法の有用性を検証した。

表 2. 40 細胞期までのトラッキング実行時間の比較

アルゴリズム	実行時間 [hours]
Viterbi アルゴリズム	0.0222
ELEPHANT	0.0375
OH モデル	127
MH モデル	0.371

MH モデルの実行時間は OH モデルより約 340 倍高速であり、MH モデルは高速かつ高精度なトラッキングアルゴリズムであると言える。一方、MH モデルの実行時間は Viterbi アルゴリズムの実行時間と比較して約 17 倍長く、ELEPHANT のそれより約 10 倍長いことがわかった。

本研究課題により実用的な処理時間(約 20 分)で高精度な細胞追跡が可能なトラッキングアルゴリズムの構築に成功した。特に MH モデルは既存のアルゴリズムでは困難であった細胞分裂のトラッキング精度を大幅に向上し、胚発生などの動態解析に大きく貢献する可能性がある。今後の課題としては、更なる高速化が考えられる。

参考文献

- [1] C. Chazaud, et al. *Development*. 143, 1063-1074 (2016).
- [2] Y. Tokuoka, et al. *Systems Biology and Applications*. 6, 32 (2020).
- [3] K. E. G. Magnusson, et al. *IEEE. Trans. Med. Imaging*. 34, 911-929 (2015).
- [4] K. Jaqaman, et al. *Nat. Methods*. 5, 695-702 (2008).
- [5] Z. Bao, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 2707-2712 (2006).
- [6] A. Krizhevsky, et al. *Adv. Neural Inf. Process. Syst.* 1097-1105 (2012).
- [7] J. Hayashida, et al. *CVPR* 3823-3832 (2020).
- [8] K. Sugawara, et al. *eLife*. 11, e69380(19 pages) (2022).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakatani Ryo J., Itabashi Masahiro, Yamada Takahiro G., Hiroi Noriko F., Funahashi Akira	4. 巻 12
2. 論文標題 Intercellular interaction mechanisms promote diversity in intracellular ATP concentration in Escherichia coli populations	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/s41598-022-22189-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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 12件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 深層学習が駆動するバイオ画像解析の新展開
3. 学会等名 山口大学 AIシステム医学医療研究教育センター セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 機械学習と定量生物学
3. 学会等名 定量生物学の会 夏の会2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 深層学習と医学研究
3. 学会等名 日本乳腺人工知能研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村田 基樹
2. 発表標題 ニューラルネットワークと整数計画法による複合型細胞トラッキングアルゴリズムの開発
3. 学会等名 第24回 画像の認識・理解シンポジウム(MIRU2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 ライブセルイメージングと深層学習を用いた胚発生過程定量システムの構築
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中谷諒
2. 発表標題 一細胞系譜解析による低グルコース培養下大腸菌集団のATP濃度多様性の解明
3. 学会等名 日本数理生物学会 2020年度 年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Funahashi, A.
2. 発表標題 CellDesigner: A modeling tool for biochemical networks
3. 学会等名 Computational Modeling in Biology Network 2020 (COMBINE 2020)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 深層学習が駆動する定量生物学の新展開
3. 学会等名 データ駆動生物学ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳岡 雄大
2. 発表標題 不妊治療に資する深層学習を用いた初期胚定量評価手法の開発
3. 学会等名 第7回 生殖若手の会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 深層学習が駆動するバイオ画像解析の新展開
3. 学会等名 山口大学 AIシステム医学医療研究教育センター セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 生物学者が機械学習を導入するための基礎知識
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 深層学習による定量的な体外受精胚評価手法の開発
3. 学会等名 情報計測オンラインセミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 舟橋 啓
2. 発表標題 深層学習を用いたマウス発生過程における定量的指標の獲得
3. 学会等名 第30回日本サイトメトリー学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 徳岡 雄大
2. 発表標題 深層学習が捉えた胚の動的形態変化を利用したマウス胚出生予測
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第78回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 小林 徹也、杉村 薫、舟橋 啓	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 240
3. 書名 機械学習を生命科学に使う！	

〔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
研究協力者	山縣 一夫 (Yamagata Kazuo)		
研究協力者	小林 徹也 (Kobayashi Tetsuya)		
研究協力者	木村 暁 (Kimura Akatsuki)		

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