

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2012

課題番号：21500099

研究課題名（和文） 生物研究のための3次元可視化アルゴリズムの開発

研究課題名（英文） Developing three dimensional visualization algorithms for biological researches

研究代表者

和田 昌昭（WADA MASAOKI）

大阪大学・大学院情報科学研究科・教授

研究者番号：80192821

研究成果の概要（和文）：共焦点レーザー顕微鏡，CT，MRI などによって得られるラスタ画像中の生物組織の面積や体積を計算するためのアルゴリズムを開発した。アルゴリズムは、ノイズ耐性，合同不変性，線形不変性，トリム不変性などの好ましい性質を備えている。共焦点レーザー顕微鏡で光電子倍增管感度を5%，10%，20%，40%，60%，80%と変化させて撮影した蛍光ビーズ画像にアルゴリズムを適用したところ，得られた面積の標準偏差はたった0.26%であった。

研究成果の概要（英文）：We have developed an algorithm for computing the area and the volume of biological objects in raster images such as those obtained by confocal laser scanning microscopy, CT and MRI. The algorithm is robust to noise, and possesses desirable properties like congruence invariance, linear invariance and trimming invariance. We have applied the algorithm to confocal laser scanning microscopy images of a fluorescent bead with photomultiplier sensitivity of 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, and the standard deviation of the computed areas was only 0.26%.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
2011年度	400,000	120,000	520,000
2012年度	400,000	120,000	520,000
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学、メディア情報学・データベース

キーワード：可視化

## 1. 研究開始当初の背景

本研究の代表者は、2000年からDeltaViewerと称する生物研究向けの本格的な3次元画像処理ツールの開発を開始し、2003年ごろから生物・医学・生理学等の研究者コミュニティに無料で提供してきた。生物研究用3次元画像処理ツールに備わっているべき基本機能のほとんどをすでに実

装済みであり、カラー画像からのサーフェスレンダリングアルゴリズムや、連続切片画像の位置合せを高速で行う自動位置合せのためのアルゴリズムなどユニークな機能も持っている。

DeltaViewerは多数の研究者にダウンロードされ実際に研究に使用されており、それを用いた研究成果も発表されるようになって

きている。顕微鏡画像データ処理のための新しいアルゴリズムの開発という目的を考えると、研究と並行して **DeltaViewer** のような実用的プログラムを開発していることの意義は非常に大きい。

近年の科学全般に共通する問題点として、分野が細分化しすぎて、専門が違う者同士のコミュニケーションがとれなくなっていることが挙げられよう。生物研究に関して言えば、実験を行う研究者は年々複雑化するコンピュータプログラムがどういう原理で何を計算しているのか把握できなくなっている一方で、プログラム作成を顕微鏡メーカーから請け負って実際にプログラムを書いているプログラマは生物に興味を持っていないといったことが起きている。研究者が体積を計測するためにプログラムの機能を用いたとき、プログラムで何が実際に計算されているのか知らなければ、誤差の大きな数値を、コンピュータが計算したのだから正確なはずと誤解するような事態も発生する。このように分野が細分化しすぎていては、新たなブレイクスルーは見出せない。

研究代表者は、数学者として純粋数学の研究を行うかたわら、プログラミングや生物学にも興味を持ち、広い視野で多様な研究を行ってきた。1996年ごろには、分野横断的に脳研究を行ったことがあり、そのころ主催していた「脳セミナー」において複数の生物・生理学者から、生物研究用3次元画像処理ソフトウェアの必要性を聞いたことが **DeltaViewer** プロジェクトを始める直接のきっかけであった。以後、プロジェクトにおいては実験を行う生物研究者と共同研究を行うことで、対象となる生物現象への理解を深めてきた。また最近産業技術総合研究所で開催されたライブセルイメージング講習会に参加し、最新の生物観察機器の動向にも注目している。

またプログラミングに関しては、上述の **DeltaViewer** プロジェクトのみならず、**OPTi** というプログラムを開発した実績もある。**OPTi** は、数学における双曲幾何学およびクライン群論研究のための可視化ツールであるが、世界中で広く研究および教育目的で利用されている。

このように、研究代表者は、単にアルゴリズムの基礎である数学に対する深い理解があるだけでなく、生物学、とくに神経生理学に対して強い興味を持っており、共同研究の実績もある。また、プログラム開発に関しても、**OPTi** プロジェクト、**DeltaViewer** プロジェクトと、大きなプロジェクトを進めてきた実績を持つ。**DeltaViewer** は現在も生物研究者に実際に使用されており、新たなアルゴリズムをすぐに実地的な研究で試してみるための基盤が整っている。まさにアルゴリ

ズム開発には理想的な環境にある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、バイオイメージングのための革新的な3次元可視化アルゴリズムを開発することである。

生物学においては、いわゆるポストゲノムで研究者の興味が遺伝子情報そのものから次第にその発現機構に移りつつある。それに伴って、観察、すなわちバイオイメージングが再び注目されている。

近年のバイオイメージングにおける観察機材の技術の進展は目覚ましいものがある。**CT** や **MRI** は高速高性能になり、**PET**、**EEG**、**MEG** といった技術も実用化された。電子顕微鏡観察に関しては、電子線トモグラフィ技術によって、超高倍率の立体形状観察が可能になっている。光学顕微鏡観察においても、共焦点レーザー顕微鏡から発展した2光子励起顕微鏡が実用段階になっている。また、X線顕微鏡等の新しい観察機器の開発も進められており、生物観察機器は今後も大きく発展して行くと考えられる。

一方、それらの生物観察機器から得られるデータを処理するためのアルゴリズムの開発は遅れており、機器の進歩に見合った新しいアルゴリズムが必要とされている。高速フーリエ変換アルゴリズムが発明されたのは1965年のことである。そのおかげで、**CT** が実用化した。その後 **CT** は今日までに劇的に高解像度・高速になったが、それは撮像機器や計算処理を行うコンピュータハードウェアの進歩によりもたらされたものであり、大きなアルゴリズムの改良はなされていない。焦点レーザー顕微鏡が2光子励起顕微鏡に進化し、格段に鮮明な観察像が得られるようになってきているが、これもハードウェアの進歩によるものである。ここでも、画像の鮮明化や歪み除去のためのアルゴリズムの開発は遅れている。高速フーリエ変換アルゴリズムに匹敵するような革新的なアルゴリズムの開発が待ち望まれるところである。

中でも、とりわけ必要とされているのは、3次元画像処理のためのアルゴリズムである。**CT**、**MRI**、電子線トモグラフィ、共焦点レーザー顕微鏡。これらの観察技術に共通の特徴として、得られるのが対象物の3次元データであることが挙げられる。前世紀の生物観察においては、薄膜切片の顕微鏡観察をはじめとして、得られるデータは2次元であったため、観察データの処理は **Photoshop** のような一般的な2次元画像処理プログラムで行えた。しかし今日では生物試料から大量の3次元データを容易に取得できるようになっており、それを処理するための専用プログラムが必要なのである。

これらの大量の3次元データを処理する

ためのコンピュータのハードウェアはすでに整っている。現在市販されている一般的なパソコンに搭載されているグラフィックカードの処理能力は、10年前のグラフィック専用ワークステーションのそれをはるかに上回っており、観察機器によって得られたデータを3次元で可視化して、それをリアルタイムで動的に表示したりすることは、プログラムさえあれば簡単に行えるようになっている。従って、必要なのは、3次元画像処理および3次元可視化のためのプログラムであり、そのためのアルゴリズムである。

具体的には、たとえば、得られた3次元データから立体像を構築し、それを任意の断面で切断した像を、断面を連続的に変化させながらリアルタイムで観察することは、原理的には可能であるにもかかわらず、未だに実際的で使いやすいプログラムが存在しない。電子線トモグラフィのためのアルゴリズムは、CTのアルゴリズムが応用されているが、電子顕微鏡の解像度に見合った3次元画像を得るためには、ここでもアルゴリズムの革新が必要である。共焦点レーザー顕微鏡や2光子励起顕微鏡から得られる画像に対してデコンボリューションを行い像の鮮明化を行うプログラムは存在しているが、得られたデータを元に画像処理を行うのではなく、顕微鏡ハードウェアの歪みも考慮に入れたアルゴリズムを考えれば、さらに飛躍的な画像の鮮明化が行えるはずである。

本研究では、それらのアルゴリズムを開発し、実用化に向けて提案してゆきたいと考えている。

### 3. 研究の方法

実際に DeltaViewer を用いている研究者からの要望を聞くことにより、実際的なアルゴリズムの基礎研究を行い、可能であればそれを DeltaViewer に実装しユーザに還元することで更なるアルゴリズムの改良に結びつけてゆく。

### 4. 研究成果

(1)DeltaViewer に対しては、ビューワとしての機能だけでなく、解析機能を要望するユーザからの声も強いので、体積計測に向けての基礎的な研究を行った。生物研究において用いられる画像は物体境界の明度変化が緩やかで境界があいまいな場合が多い。そのため計測誤差をどのように考えるべきかという根本的な問題を避けて通ることはできない。そこで、一つの計測アルゴリズムを提案して実際の生物系画像データに適用した結果をもとに、計測誤差についての基本的な考察を行った。

提案した具体的なアルゴリズムは次のよ

うなものである。簡単のため面積計測のアルゴリズムとして述べるが、体積計測のアルゴリズムに簡単に拡張可能である。

まず、与えられたグレースケール・ラスタ一画像データを

$$f(i, j) \quad (0 \leq i < w, 0 \leq j < h)$$

とする。また1次元ガウス関数を

$$w_{\sigma}(x) = \exp\left(-\frac{x^2}{2\sigma^2}\right),$$

2次元ガウス関数を

$$w_{\sigma}(x, y) = w_{\sigma}(x)w_{\sigma}(y)$$

で表す。関数  $f$  の傾きを求めるために、 $f$  を  $(x, y)$  の近くで平面

$$Z = a(X - x) + b(Y - y) + c$$

により近似する。そのために、

$$\sum_{(i,j)} w_{\sigma}(i-x, j-y)(a(i-x) + b(j-y) + c - f(i, j))^2$$

を最小化するように  $a, b, c$  を定める。これは、上記誤差を  $E$  で表すとき、

$$\frac{\partial E}{\partial a} = \frac{\partial E}{\partial b} = \frac{\partial E}{\partial c} = 0$$

を解けば求まる。求めた傾きを

$$g(x, y) = \sqrt{a^2 + b^2}$$

で表し、また

$$\bar{f}(x, y) = c$$

と書くことにする。このとき閾値を

$$T = \frac{\sum g(x, y)^p f(x, y)}{\sum g(x, y)^p}$$

で定義し、面積を

$$A(f) = \#\{(x, y) \mid \bar{f}(x, y) \geq T\}$$

によって求める。 $\sigma$  と  $p$  はアルゴリズムのパラメータである。このアルゴリズムは、ノイズ耐性、合同不変性、線形不変性、トリム不変性などの好ましい性質を備えている。

実験的に、共焦点レーザー顕微鏡による蛍光ビーズの画像で光電子増倍管感度を 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% と変化させて撮影したものに適用したところ、 $(\sigma, p) = (3, 2)$  の組合せの場合に標準偏差 0.26%, 得られた面積の最大と最小の比が 1.007 という良好な結果が得られた。

この結果については、第18回日本バイオイメージング学会学術集会における、秋山寛子、和田昌昭「ラスタ一画像から面積を求め

るための閾値自動決定アルゴリズム」, および, 細胞内ロジスティクス班会議における和田昌昭, 秋山寛子「細胞内物質の体積計測のための閾値自動決定アルゴリズム」において発表し, 生物研究者達と活発な議論を行った.

(2)DeltaViewerの内部データをOBJ形式でファイル出力できるようにするための基礎研究を行った. OBJは, 頂点座標, 法線ベクトル, テクスチャ座標, ポリゴンデータ等を用いて3次元物体形状を記述するためのファイル形式であり, 3次元グラフィックス用ソフトで広く用いられている. DeltaViewerで立体構築された物体の3次元データをOBJファイルとして出力できれば, Lightwave, Maya, Shadeを始めとした既存の多くの3Dレンダリングソフトでも利用できるようになりDeltaViewerの応用範囲が格段に増すと考えられる. ただし, OBJ形式では, DeltaViewerで用いている3次元テクスチャがサポートされていないため, 2次元テクスチャを用いたものにデータを変換する必要があった.

この結果に関しては, 第18回日本バイオイメージング学会学術集会において, 牛尾奈々子, 和田昌昭「Windows用3次元立体構築アプリケーションにおけるobjファイル変換機能」として発表を行った.

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計5件)

①鬼束未希, 和田昌昭「3次元構築アプリケーションにおける3D表示(2)」, 第18回日本バイオイメージング学会学術集会, 2009年9月3~5日, 就実大学

②牛尾奈々子, 和田昌昭「Windows用3次元立体構築アプリケーションにおけるobjファイル変換機能」, 第18回日本バイオイメージング学会学術集会, 2009年9月3~5日, 就実大学

③秋山寛子, 和田昌昭「ラスター画像から面積を求めるための閾値自動決定アルゴリズム」, 第18回日本バイオイメージング学会学術集会, 2009年9月3~5日, 就実大学

④和田昌昭「三次元立体構成プログラム(Delta Viewer)の実際」神経科学セミナー, 2009年9月7日, 東京都神経科学総合研究所

⑤和田昌昭, 秋山寛子「細胞内物質の体積計測のための閾値自動決定アルゴリズム」, 細胞内ロジスティクス班会議, 2009年11月9~12日, 沖縄ANAインターコンチネンタル万座ビーチリゾート会議場

[その他]

ホームページ等

DeltaViewer Project

<http://delta.math.sci.osaka-u.ac.jp/DeltaViewer/index-j.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

和田 昌昭 (WADA MASA AKI)

大阪大学・大学院情報科学研究科・教授

研究者番号: 80192821