

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2013～2014  
 課題番号：25660206  
 研究課題名(和文) 顕微鏡画像から3次元再構築した細胞組織形状でのマルチフィジックスシミュレーション  
  
 研究課題名(英文) Three-dimensional multi-physics simulation based on actual geometry of bio-materials  
  
 研究代表者  
 田中 史彦 (TANAKA, FUMIHIKO)  
  
 九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授  
  
 研究者番号：30284912  
  
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、青果物の3次元立体構造をX線CTや共焦点レーザー顕微鏡によって観察し、マルチスライス画像を取得すること、2次元スライス画像から3次元立体形状を再構築し、青果物内で起きる熱・物質拡散や力学的変形などの諸現象をコンピュータによって解析することを目的とするものである。X線CTと共焦点レーザー顕微鏡により青果物細胞・組織の連続スライス画像を取得、CT値または色調に閾値を設定することにより構成物を区分けした。これを基に3次元立体構造をコンピュータ上に再構築、数値解析のために計算格子を自動作成し、青果物内部における諸現象をシミュレーションした。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study were to obtain a series of two-dimensional images of plant tissues, to reconstruct three-dimensional geometry of plant tissue based on data obtained by using X-ray CT or confocal laser scanning microscopy systems, and to model heat and mass transfer in three-dimensional reconstructed geometries. The values of thermal diffusivity were found to be  $1.46 \times 10^{-7}$ ,  $2.05 \times 10^{-7}$ ,  $2.11 \times 10^{-7}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> for flesh, seed and calyx, respectively. The gas diffusivities for ethane were  $6.0 \times 10^{-8}$ ,  $8.0 \times 10^{-8}$ ,  $1.0 \times 10^{-7}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> for 5, 15 and 25 °C, respectively. The combined effect of heat and mass transfer was programmed in the software and the internal changes of temperature and CO<sub>2</sub> concentrations were simulated with the model. We also found out that the CT value was related to the density of persimmon flesh. As for a cell structure reconstruction based on CLSM images, the prediction of heat transfer in cell tissue was carried out and the temperature distribution was visualized.

研究分野：農学

キーワード：シミュレーション工学 生体材料 農業工学 X線CT 共焦点レーザー顕微鏡

## 1. 研究開始当初の背景

“青果物を均質な材料と仮定して、これを基に青果物内部で起きる諸現象をコンピュータ・シミュレーションしても品質に関する正しい情報は得られない！均質モデルの限界を超えたい”というのが本研究の出発点である。この限界を超えるために、X線CTや共焦点レーザー顕微鏡等の先端的観察技術と高度のコンピュータ解析技術を融合し、細胞組織レベルでの3次元諸現象解析を行う手法を確立することとした。本研究を遂行するためには、顕微鏡観察に関する豊富な経験と画像処理やコンピュータ・シミュレーションに関する卓越した知識、高度な技術が要求されるため、ポストハーベスト工学分野において、この難題にチャレンジした例は認められない現状にあった。

そこで本研究では、先端的画像観察技術を駆使することで青果物の適切なマルチスライス画像の取得と画像処理による3次元再構築、健全な計算格子作成と諸現象を記述するプログラム開発を行うこととした。

## 2. 研究の目的

本研究は、青果物の3次元立体構造をX線CTや共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)によって観察し、マルチスライス画像を取得すること、2次元スライス画像から3次元立体形状を再構築し、青果物内で起きる熱・物質拡散(生化学反応を含む)や力学的変形などの諸現象をコンピュータによって解析することを目的とする。“青果物の内部で何が起きているのか?”をコンピュータ・シミュレーションによって組織レベルで解析・可視化し、品質保持に生かす。その基礎として、(1)X線CTと共焦点レーザー顕微鏡等による青果物組織の観察とスライス画像の取得、(2)マルチスライス画像からの3次元立体形状の再構築、(3)細胞組織レベルでの熱・物質移動と力学解析を行う。将来的には、ポストハーベストにおける青果物の品質評価・保持に生かすことを最終目的としている。

## 3. 研究の方法

(1)X線CTと共焦点レーザー顕微鏡等による青果物細胞組織の観察とスライス画像の

## 取得

共焦点レーザー顕微鏡(FV-300,オリンパス)とX線CT(Latheta LCT-100、アカロ)により、青果物の細胞ならびに組織のマルチスライス画像を得た。共焦点レーザー顕微鏡による観察では、試料に543nmのHeNeレーザーを照射、励起させ、0.25~1 $\mu$ m毎に画像化した。X線CTによる画像取得ではスライス幅2mmで連続スライス画像を取得した。

## (2)マルチスライス画像からの3次元立体形状の再構築

3次元立体構造を再構築するためには、マルチスライス画像をスライス厚さ方向に積み重ねてつなぎ合わせ、スムーズな物理表面を形成する必要がある。重ね合わせた3次元画像からノイズを除去して適切な閾値でセグメント化した。これにより細胞および組織構造を抽出し、表面のスムージングを行った。一連の操作はamira5(VSG)で行い、STL形式のジオメトリファイルを作成後、ICEM CFD(ANSYS)にエクスポートし、メッシュの最適化を行った。形状が単純な青果物個体レベルの3次元立体画像のメッシングはCOMSOL Multiphysics 4.3a

(COMSOL AB)の自動メッシュ機能によって行った。

## (3)細胞・組織レベルでの熱物質移動と力学解析

諸現象をシミュレーションするプログラムは汎用ソフトCOMSOL Multiphysics 4.3a (COMSOL AB)およびANSYS 13.0 (ANSYS Inc.)をベースとして開発した。

## 4. 研究成果

(1)X線CTと共焦点レーザー顕微鏡等による青果物細胞組織の観察とスライス画像の取得

まず、X線CT装置によりカキ(富有)のスライス画像を取得し、CT値を基に果肉(粗・密部)、タネ、ヘタを抽出した(図1A)。図から明らかなように、果肉内にCT値の濃淡が確認された。濃淡が薄くなるほど密な構造になりCT値は上昇するとされるが、CT値-150で粗と密を分けたとき、それぞれの密度の測定値は0.97 $\text{gcm}^{-3}$ と1.07 $\text{gcm}^{-3}$ となり10%程度の差が認められ、両者間に相関があることが示唆された。

つぎに、CLSM による青果物の細胞組織の観察では、図 2 A に示すようにステージを高さ方向に  $0.25 \sim 1\mu\text{m}$  間隔で移動させ、マルチスライス画像を取得した(ダイコンの例)。amira5 によりノイズを消去した後、二値化処理で細胞壁のみを抽出し、3次元再構築に供した。

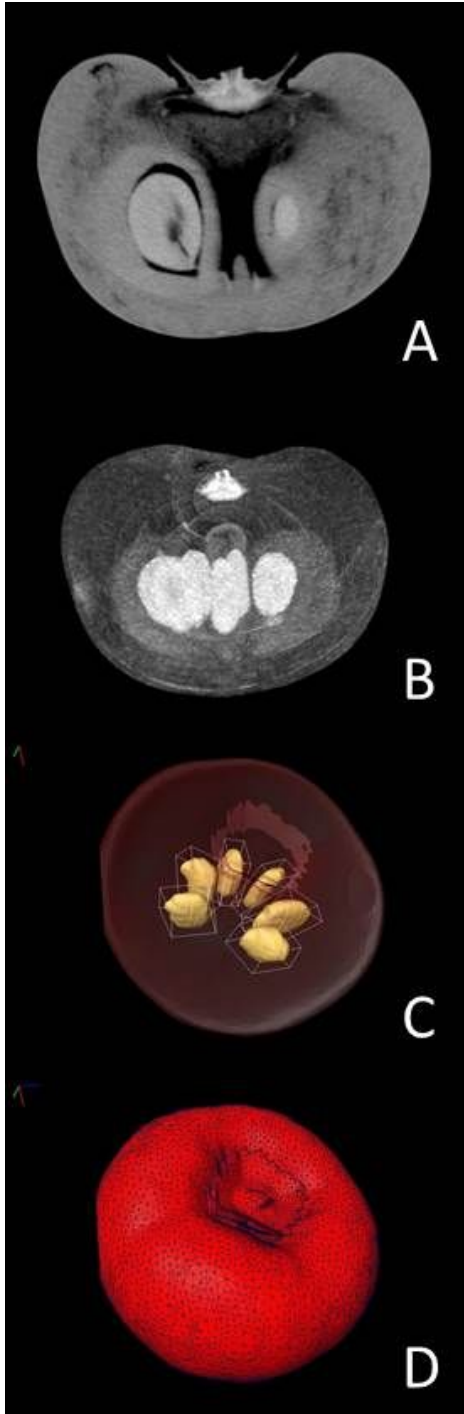


図 1 X線 CT 画像に基づく 3次元形状の再構築 (A: 断面画像、B: 3次元再構築、C: セグメント化、D: メッシング処理)

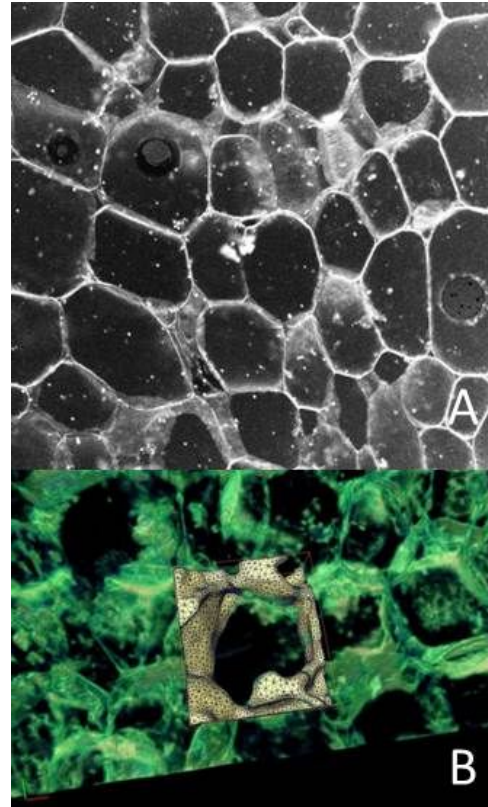


図 2 CLSM 画像に基づく細胞組織の 3次元形状の再構築 (A: 断面画像, B: 3次元再構築モデルとメッシング処理)

### (2) マルチスライス画像からの 3次元立体形状の再構築

まず、X線 CT 装置によるカキの 3次元立体構造再構築では、CT 値を基に閾値を設定することによって果肉、タネ、ヘタに部位を区分、図 1 B~D に示す 3次元形状を amira5 によって再構築し、ICEM CFD を用いてメッシュ分割を行った。このとき、表面のスムージング処理を施し、メッシュの作成に供した。メッシングはインターフェース部分にインフレーション処理を施し、計算の安定化に努めた。

つぎに、CLSM による青果物の細胞組織の再構築では、X線 CT による 3次元形状作成手順と同様に、図 2 A に示した断面図を順次読み込み、図 2 B の立体構造をコンピュータ上に再構築した。

### (3) 細胞組織レベルでの熱・物質移動と力学解析

図 3 に X線 CT 画像を基に再構築したカキの 3次元形状モデルによる熱移動予測の計算例を示す。熱電対を果実内に挿入し得た実験値と計算結果を比較し、部位毎の最適な熱拡散係数を算出した。その結果、熱拡散係数

は果肉、タネ、ヘタでそれぞれ  $1.46 \times 10^{-7}$ 、 $2.05 \times 10^{-7}$ 、 $2.11 \times 10^{-7} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$  となった。内部を不均質材料と仮定することによって、タネ付近に不連続な等温線が生じることが確認された(図4)。また、エタンの果実組織内平均拡散係数は5、15、25 でそれぞれ  $6.0 \times 10^{-8}$ 、 $8.0 \times 10^{-8}$ 、 $1.0 \times 10^{-7} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$  となった。本結果は、カキにエタンを平衡状態になるまで吸収させ、閉鎖空間内に放出させたときの容器内エタン濃度変化を測定した実験結果と、Rezagah *et al.* (主な発表論文、 )の方法により解析した結果との比較から導き出した係数である。

その他、ナシでは呼吸反応を伴う熱物質移動モデルを構築し、内部温度分布ならびに酸素・二酸化炭素ガスの時空間分布の予測を可能とした。

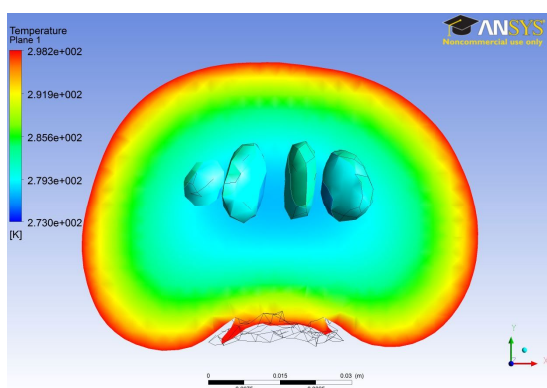


図3 X線CT画像を基に再構築した不均質構造モデルによる熱移動予測結果



図4 カキ果実を不均質材料と仮定したことによる温度むらの発生(計算例)

図5に CLSM 画像を基に再構築した細胞モデルに基づく熱移動シミュレーション結果を示す。左側境界面に境界温度を与え、細胞壁を熱が通過する過程をマイクロスケールで可視化した。図では細胞壁のみの温度分布を表示しているが、細胞膜内部の温度分布

もプロット可能である。現在、青果物スケールで得た熱拡散係数を参考に整合性の取れる部位毎の物性値の算出方法を検討中であり、この成果が期待される。

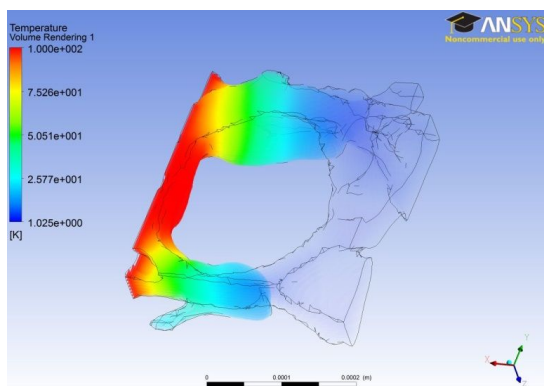


図5 CLSM 画像を基に再構築した細胞モデルによる熱移動予測結果

## 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)

〔雑誌論文〕(計3件)

M.E. Rezagah, S. Ishida, F. Tanaka, T. Uchino, D. Hamanaka, Y. Hikida, Determination of gas diffusivity and skin resistance for three cultivars of Japanese pear using their actual 3D geometry, *Environment Control in Biology*, 査読有, 51(4), 193-200 (2013)

DOI:10.2525/ecb.51.193

M.E. Rezagah, S. Ishida, F. Tanaka, D. Hamanaka, T. Uchino, Three-dimensional heat transfer modeling of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) during tempering, *Food Science and Technology Research*, 査読有, 19(5), 765-771(2013)

DOI:10.3136/fstr.19.765

M.E. Rezagah, S. Ishida, F. Tanaka, T. Uchino, D. Hamanaka, Y. Hikida, Temperature dependency of gas diffusivity and skin resistance of Japanese pear (*Oushuu*) based on the fruit's true 3D geometry. *Food Science and Technology Research*, 査読有, 20(2), 247-253 (2014).

DOI:10.3136/fstr.20.247

〔学会発表〕(計3件)

梅野裕太、原和伸、田中史彦、内野敏剛、濱中 大介、CT 画像に基づくカキ果実形状の構築と熱物質移動シミュレーション、農業食料工学会第 72 回年次大会、帯広畜産

大学、2013年9月

原和伸、梅野裕太、田中史彦、内野敏剛、濱中大介、X線CT画像に基づくカキ果実の3次元ガス・熱拡散モデルの構築、第67回農業機械学会九州支部例会、立命館アジア太平洋大学、2013年9月

原和伸、梅野裕太、田中史彦、赤坂泰輝、内野敏剛、濱中大介、X線CT画像に基づくカキ果実の3次元ガス・熱拡散モデルの構築、農業食料工学会第73回年次大会、琉球大学、2014年5月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田中 史彦 (TANAKA FUMIHIKO)  
九州大学・大学院農学研究院・准教授  
研究者番号：30284912

### (2) 研究分担者

濱中 大介 (HAMANAKA DAISUKE)  
鹿児島大学・農学部・准教授  
研究者番号：60399095  
内野 敏剛 (UCHINO TOSHITAKA)  
九州大学・大学院農学研究院・教授  
研究者番号：60399095  
田川 彰男 (TAGAWA AKIO)  
千葉大学・園芸学研究科・名誉教授  
研究者番号：90216804