

(1) 企画の背景と動機

この企画の背景として、蛍光顕微鏡における細胞の計上は、研究者が実験の結果を評価するために必要な作業であるが、同時に時間搾取であることが知られている。さらに、その作業を手作業で行う工程は、疲れやすく、境界線が曖昧な場合に、研究者が無意識のうちに恣意的な解釈をしてしまうことが少なくない。

よって、蛍光顕微鏡画像における細胞の計上を自動化することで、研究者がより多くの時間を研究に費やすことが可能となり、その結果、その分野および、関連する分野の研究を促進させることができると感じたことが動機として挙げられる。

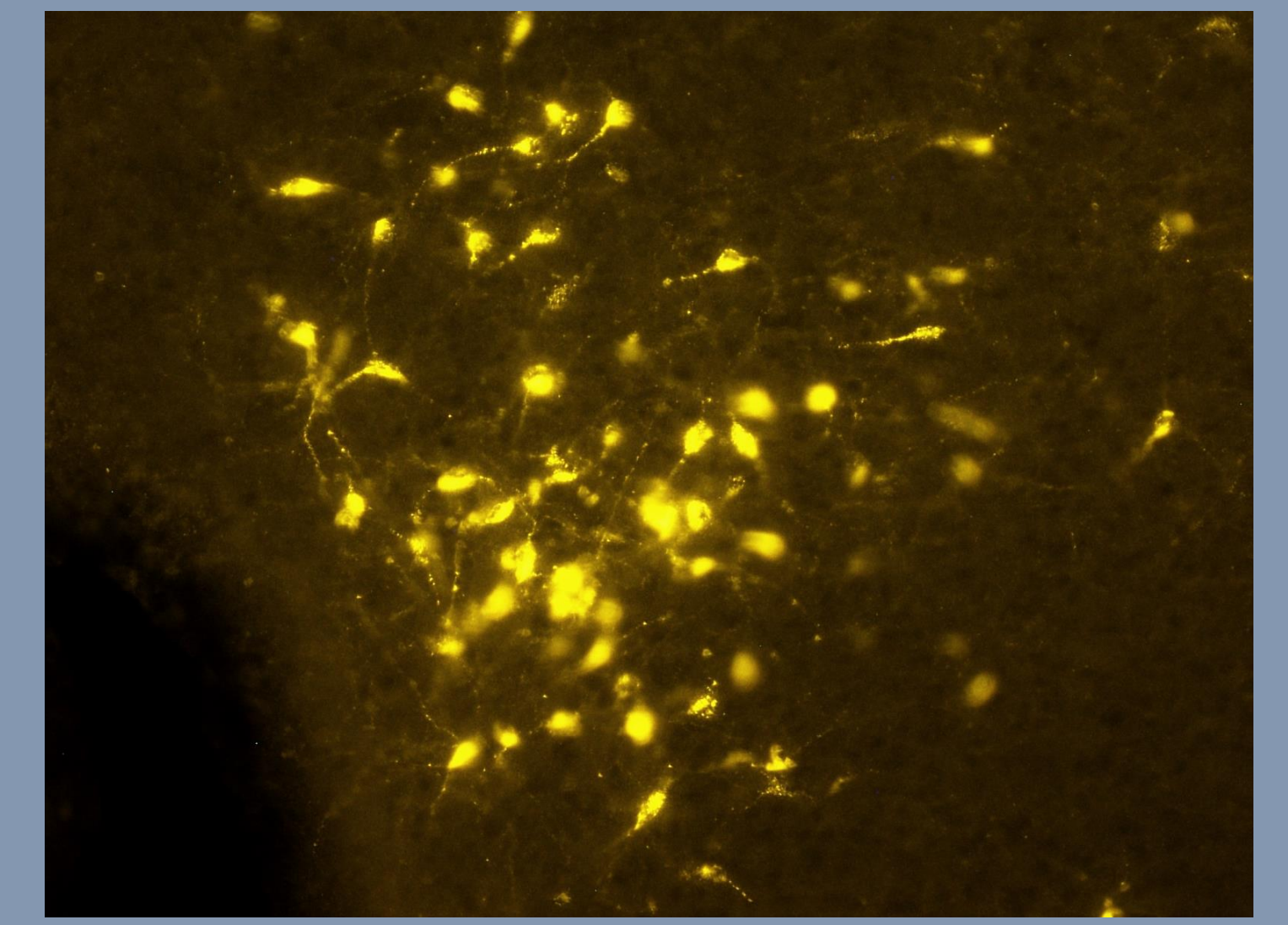


図1. マウスの脳細胞の蛍光顕微鏡画像のうち黄色マーカーだけを出したもの

(2) 扱うデータ

今回、私が一回生の頃にお世話になった京都大学ウイルス再生医科学研究所増殖制御分野の方からいただいたデータを使用する予定だったが、データが破損してしまったため、以下の(3)で紹介する先行研究が使用したデータセットを使用することに変更した。

Fluorescent Neuronal Cells Dataset 40は、マウスの脳切片の283枚の高解像度画像(1600×1200ピクセル)とそれに対応する正解ラベルから構成されている。(図2) マウスは決められた実験条件下で、短シナプス逆行性トレーサーが外科的に目的の脳構造に注入され、注入部位に接続するニューロンだけを強調表示するようにされている。また、図1のように、データセットの画像は脳切片の標本をトレーサーに関連する蛍光体(今回は黄色またはオレンジ色)が発する波長の光だけを選択している。

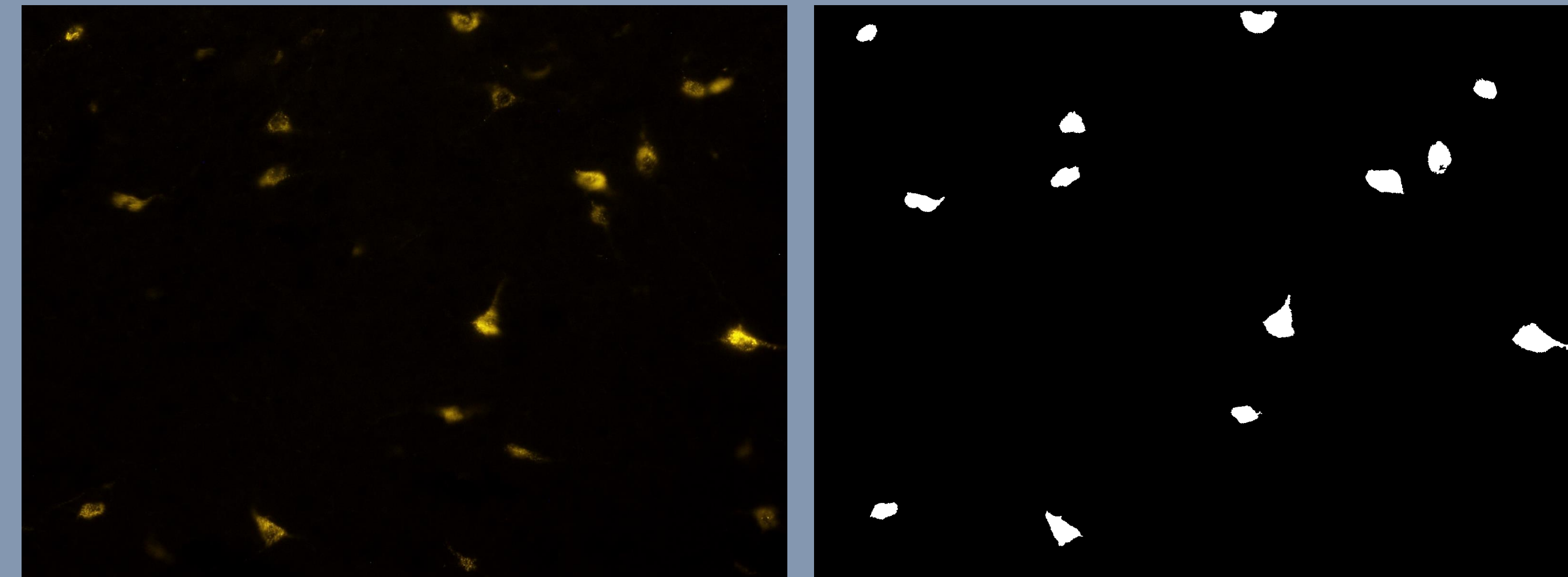


図2. Fluorescent Neuronal Cells Dataset 40のデータの一例。元画像(右)とその正解ラベル(左)

(3) 先行研究の手法

Morelli, R.氏らのAutomating cell counting in fluorescent microscopy through deep learning with c-ResUnetでは、Unetに似た構造を持つc-ResUnet(構造は図3)を導入することで、対象物を検出し、検出された物体の数を計上している。また、その論文内では、他のResUnet, Unet, Small Unetとの比較を行い、検出と計上の両方の評価に関して、他のモデルを凌駕したと述べられている。

まず、Unetの構造を持つことで、入力画像の持つ位置情報を保持しながら、特徴を抽出することができ、元々の画像の位置情報を加味することで精度の高いセマンティックセグメンテーションを可能にしている。

Unetとの違いは、RGBのグレースケール変換を模した1×1畳み込みが最初に追加されているほか、エンコーディングパスの最後に5×5の残差ブロックを追加挿入されている(Unetでは3×3)。これらの違いにより、モデルがより周りの特徴を考慮できるようになった。

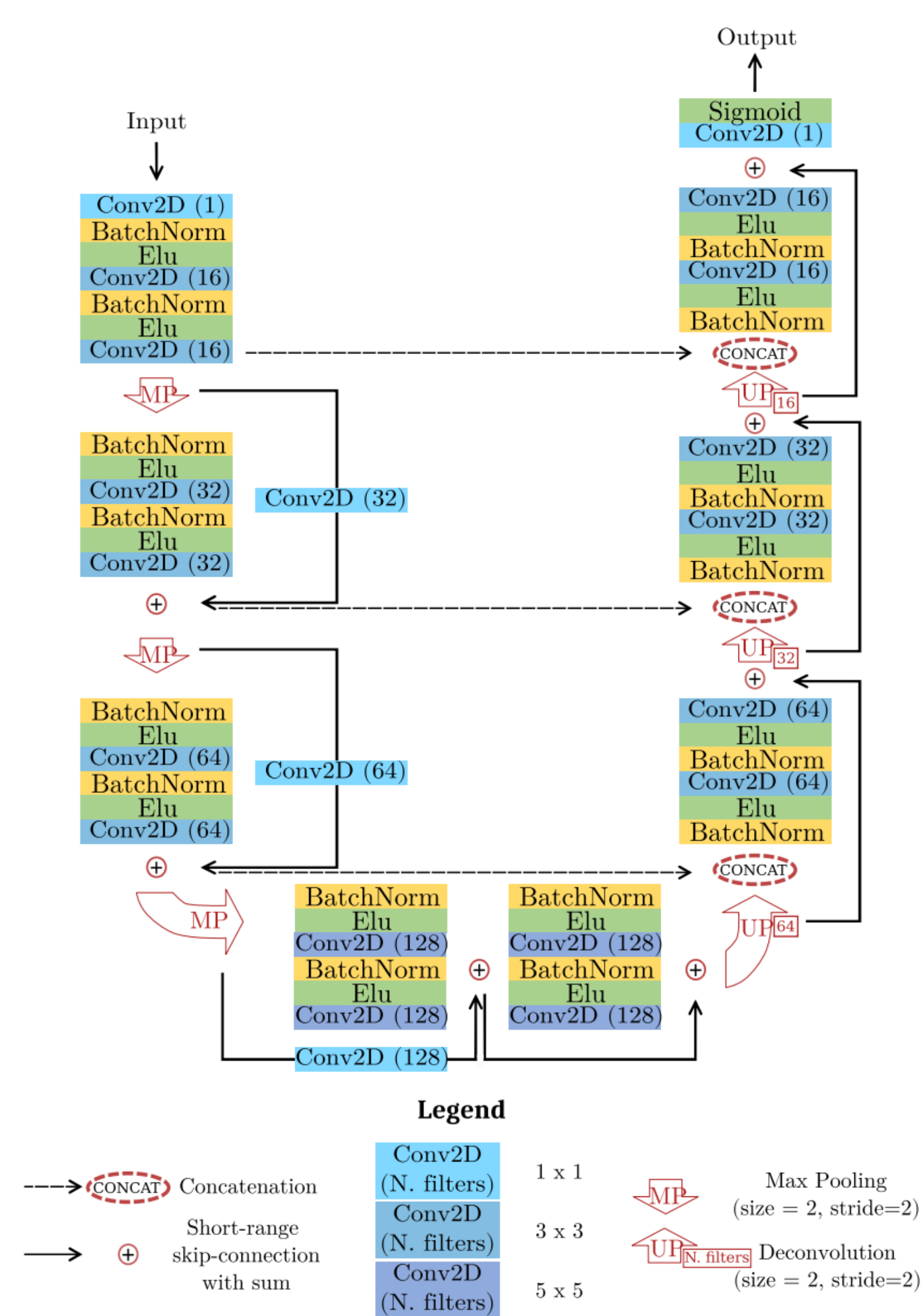


図3. c-ResUnetの構造

(5) 考察とまとめ

先行研究から、画像の対象物を数え上げるためには、Unetの構造をもったモデルを用いて、ピクセル単位でのセグメンテーションを行うのが主流であることが分かった。

先行研究では、入力画像に対して具体的な特徴量の分析を行ってなかった、入力画像の持つ特徴量を分析し、注目したい成分を強調することにより、モデルをより効率よく学習させることが可能なのではないかと考えた。

今後は先行研究のモデルと、ラズパイなどを用いて、実用化する予定である。

(4) 主成分分析

使用する画像データが1600×1200ピクセルと大きいことから、主成分分析をする際に画像サイズを1024×1024ピクセルにリサイズした上に、50枚無作為抽出したものを使用した。その結果が図4である。表1は上位1~4までの主成分の寄与率を示したものである。

表1. 第1~4主成分の寄与率

	第1主成分	第2主成分	第3主成分	第4主成分
寄与率	0.133	0.111	0.062	0.055

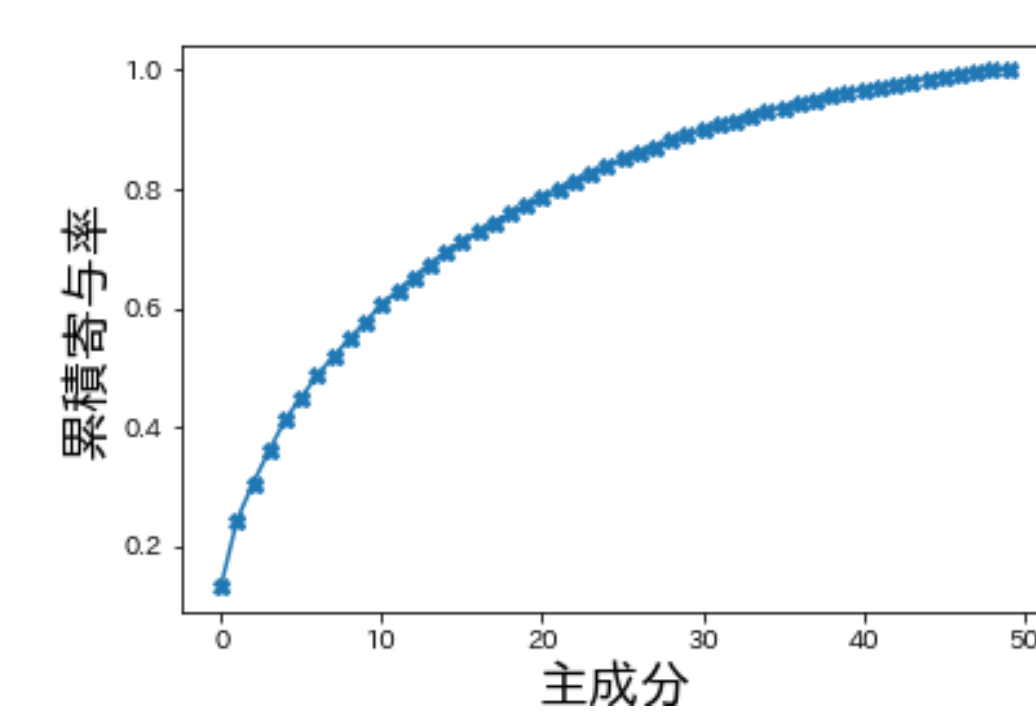


図4. 各主成分の累積寄与率

図4のグラフからもわかるように、第20主成分までで累積寄与率が約8割となっている。これにより、第21主成分からの主成分がデータに与える影響は小さいということがわかる。

(6) 感想

先行研究のモデルを動かしてみるためだけにかなりの時間を要してしまっ。結果的にdocker等の環境構築の経験は身についたため、良い修行になったと感じている。ただし、その時間をもっと色々な分析手法を試すために使ったほうがよかったのかもしれないと後悔している。

(7) 参考文献

- [1] Morelli, R. et al. "Automating cell counting in fluorescent microscopy through deep learning with c-ResUnet", scientific reports, (Nov. 2021).
- [2] 藤田広志, 上杉正人, 平原大助, 齋藤静司: "Pythonによる医用画像処理入門", オーム社, (2011-6)
- [3] Aurélien Géron(著), 下田倫大(監修), 長尾高弘(翻訳): "scikit-learn, Keras, TensorFlowによる実践機械学習 第2版", オライリー・ジャパン, (2020-11)
- [4] Francois Chollet(著), 株式会社クイープ(訳), 巢籠悠輔(監訳): "Pythonによるディープラーニング", マイナビ出版, (2022-3)