

1. はじめに

線虫 (*C. elegans*) は、人間と同じ器官を多く持つ生物であり、分子細胞レベルで解析することができるモデル生物とされている [1]。そのため、薬品や食物などの毒性検査に使用されている。この毒性判定を容易に行うために、遺伝子操作を行い毒素に反応すると緑色に蛍光する線虫が使われている。しかし、蛍光した線虫を用いた場合でも、観測は目視で行うため効率が悪く、観測者に負担のかかる作業となる。そこで本研究では、遺伝子操作により蛍光特性を持つ線虫を自動的に検出する手法を提案し、その有効性を示す。

2. 線虫の自動検出

本研究で計測する線虫は、解毒酵素であるグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) と蛍光タンパクの融合遺伝子を持っているため、時間が経過するほど蛍光する。また、薬品の投与量が多いほど蛍光強度が増す (図 1(a)(b))。

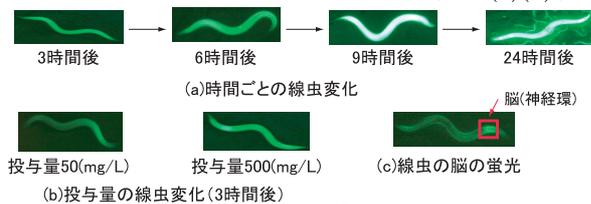


図 1：線虫の蛍光強度の変化

線虫は図 1(c) に示すように、脳の部位が活発に動いているため蛍光強度が最も高くなる特徴がある。そこで、この特徴を用いて個体ごとに線虫の位置を推定し、検出を行う。提案手法の流れを以下に示す。

1. 最高蛍光強度の位置を探索
2. 2 値化領域としきい値の決定
3. 線虫領域の検出

検出には判別分析法を用いて 2 値化を行い、線虫領域の推定を行う。しかし、画像全体からしきい値を求めて 2 値化を行うと、線虫ごとの輝度の差により検出が困難な場合がある。そのため、本手法では最高蛍光強度の位置を基準に適切なしきい値を求めて 2 値化を行い、線虫を検出する。また、次に高い輝度値を探索することにより、2 番目に高い蛍光強度を持つ線虫の検出ができる。この処理を繰り返すことにより複数の線虫を検出することが可能である。

2.1 最高蛍光強度位置の探索

線虫の位置を推定するために線虫の蛍光強度を用いる。線虫の脳の輝度値が最も高いと考えられるため、最高蛍光強度の位置を探索し、線虫の最高蛍光強度の位置を探索する。

2.2 2 値化領域としきい値の決定

探索した最高蛍光強度の位置からその線虫を検出するために 2 値化を行う。線虫に適した 2 値化のしきい値を求めるために最高蛍光強度の位置を中心とした矩形を考える。この矩形サイズは予め複数の線虫領域を図 2(a) のように切り出し、線虫ごとの最高蛍光強度の位置で整列し (図 2(b))、分布密度 (図 2(c)) を求めることにより図 2(d) のように設定する。このように設定した矩形サイズを 2.1 より探索した最高蛍光強度の位置を中心に当てはめ、その領域内で 2 値化のしきい値を求める (図 2(e))。

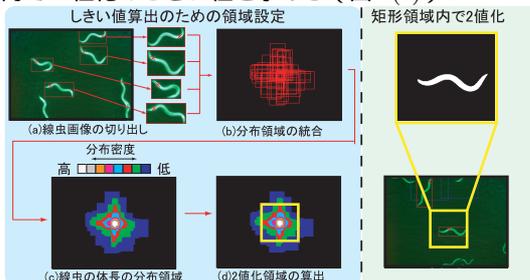


図 2：しきい値のための領域算出

2.3 2 値化領域としきい値の決定

2 値化画像より線虫領域の検出を行う。その際に誤検出を抑制するために体長を考慮する。誤検出を抑制するために細線化を行い、線虫の体長の画素をカウントして長さに制限をかける。さらに平均的な体長を満たした線虫の端点をカウントすることにより、端点数が 2 より多い線虫の誤検出を抑制する。

3. 比較実験

提案手法としきい値の算出を画像全体で行う方法の自動検出精度を求め、評価を行う。データベースは画像 270 枚、線虫合計は 588 頭である。表 1 に線虫の自動検出結果を示す。表 1 の結果から提案手法が比較手法に比べて 24 時間後を除いて検出率が約 2% ~ 11% 向上した。また、検出結果の例を図 3 に示す。

表 1：線虫の自動検出率 [%]

時間 (h)	3	6	9	24
提案手法	88	83	63	9
比較手法	77	80	61	32

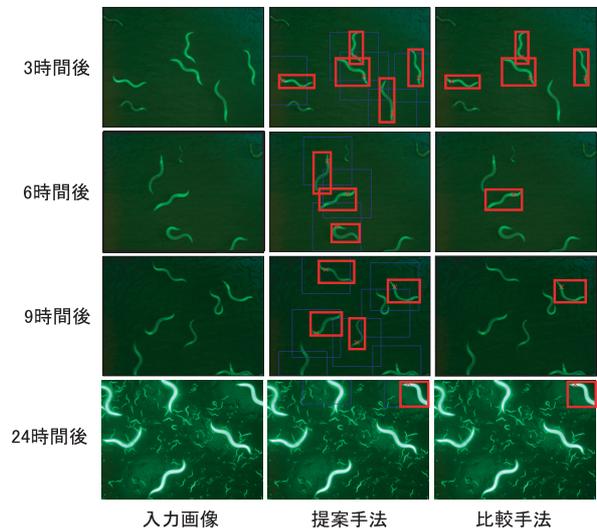


図 3：検出した線虫画像例

24 時間後の検出率が低くなる理由は、蛍光強度が背景に影響を及ぼし、線虫検出ができないためと考えられる。24 時間後では線虫の幼虫が生まれ、図 4 のように 2 値化のしきい値を推定する際、線虫の幼虫がノイズとなり、検出ができないと考えられる。このため、線虫の輝度値だけではなく、形状も考慮した検出を検討する必要がある。

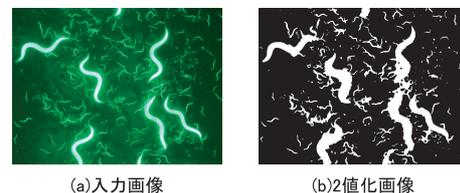


図 4：検出の失敗例

4. おわりに

本研究では蛍光する線虫を自動的に検出する手法を提案し、線虫計測の手間を減らして自動検出を行えるようにした。今後は線虫の輝度と形状を考慮した自動検出方法の検討を行う。

参考文献

[1] K. Hasegawa, S. Miwa, T. Tajima, K. Tsutsumiuchi, H. Taniguchi and J. Miwa: "A rapid and inexpensive method to screen for common foods that reduce the action of acrylamide, a harmful substance in food", *Toxicol Lett.*, **175** (1-3), pp. 82-88 (2007).