

iPS 細胞由来心筋細胞のオプティカルフロー 動態解析による細胞同調運動の評価

Evaluation of synchronous cell movement using dynamic analysis
based on optical flow for cardiomyocytes from human induced pluripotent stem cells

† 西田 百花 † 田邊 造 ‡ 青山 純也 ‡ 宮城 泰雄 †† 古川 利博
Momoka NISHIDA Nari TANABE Junya AOYAMA Yasuo MIYAGI Toshihiro FURUKAWA

公立諏訪東京理科大学 † Suwa University of Science 日本医科大学 ‡ Nippon Medical School
東京理科大学 †† Tokyo University of Science
E-mail: †{S317059@ed, nari@rs}.sus.ac.jp, ‡junya-a@nms.ac.jp, ††tofurukawa@rs.tus.ac.jp

1 はじめに

本論文は、オプティカルフロー動態解析を用いて分化日数毎の iPS 細胞由来心筋細胞の動態を可視化することにより、細胞の同調運動を評価する手法を提案する。提案手法は、動画の各フレーム画像を (i) RGB 空間から HSV 空間へ変換して明度 V を抽出する。(ii) 抽出した明度 V の画像を用いてオプティカルフロー動態解析を行い、(iii) 多数の注目画素の動きの角度と大きさの動態情報を瞬時・累計の極グラフに示すことで、細胞の詳細な動態を可視化することにより、細胞同調運動の評価を可能にしている。

2 提案手法

Step 1 RGB 空間を HSV 空間に変換

四分割した各 RGB 画像を、RGB 空間よりも輝度情報の多い HSV 空間に変換する。変換した後に、HSV 画像の明度 V のみを抽出する。抽出した明度 V の画像を用いてオプティカルフロー動態解析を Step 2 で行う。

Step 2 オプティカルフロー動態解析 [1]

n 番目のフレーム画像のフロー推定を行う画素の座標を P とすると、その近傍領域は次式で示される。

$$f_n(P) \sim P^T A_n P + \mathbf{b}_n^T P + c_n \quad (1)$$

移動後の画素値が変化しないと仮定したとき、式 (1) の $f_n(P)$ から変位ベクトル \mathbf{d} の移動は $n+1$ 時間における $f_{n+1}(P)$ であることから、次の式が成り立つ。

$$\begin{aligned} f_n(P + \mathbf{d}) &= (P + \mathbf{d})^T A_n (P + \mathbf{d}) + \mathbf{b}_n^T (P + \mathbf{d}) + c_n \\ &= P^T A_n P + (\mathbf{b}_n - 2A_n \mathbf{d})^T P + \mathbf{d}^T A_n \mathbf{d} - \mathbf{b}_n^T \mathbf{d} + c_n \\ &= P^T A_{n+1} P + \mathbf{b}_{n+1}^T P + c_{n+1} = f_{n+1}(P) \end{aligned} \quad (2)$$

従って、 $\mathbf{b}_{n+1} = \mathbf{b}_n - 2A_n \mathbf{d}$ 、さらには $\mathbf{d} = -\frac{1}{2} A_n^{-1} (\mathbf{b}_{n+1} - \mathbf{b}_n)$ が導かれる。実際の画像において、 $A(P) = \frac{A_n(P)}{2} + \frac{A_{n+1}(P)}{2}$ であるから、 $\Delta \mathbf{b}(P) = -\frac{1}{2} (\mathbf{b}_{n+1}(P) - \mathbf{b}_n(P))$ とすれば、 $A(P) \mathbf{d}(P) = \Delta \mathbf{b}(P)$ となる。これを満たす $\mathbf{d}(P)$ を P の近傍 I で求めるために、 $J(\mathbf{d}(P))$ を最小とする次の問題となる $J(\mathbf{d}(P))$

$$= \min_{\Delta P \in I} \sum w(\Delta P) \|A(P + \Delta P) \mathbf{d}(P) - \Delta \mathbf{b}(P + \Delta P)\|^2 \quad (3)$$

ここで、 $w(\Delta P)$ を P の近傍点の重み関数とする。式 (3) の最適値 $\mathbf{d}(P)$ は、次式となる。

$$\mathbf{d}(P) = (\sum w A^T A)^{-1} \sum w A^T \Delta \mathbf{b} \quad (4)$$

Step 3 算出データより瞬時・累計の極グラフを作成

Step 2 で算出された動態の角度と大きさに対して、 n 時刻の瞬時の動きを表す瞬時極グラフとすべての動態情報を加算した動きを表す累計極グラフを作成する。

Step 4 細胞同調運動の評価

オプティカルフロー動態解析で得た動態の角度と大きさの情報を、分化日数ごとに平均して棒グラフを作成する。ギャップジャンクション¹⁾が形成されている細胞が多いほど、同調して動く部分が多くなるため、動態情報の総和は大きくなることから予想される。この予想を用いて、細胞同調運動を評価する。

3 計算機シミュレーション

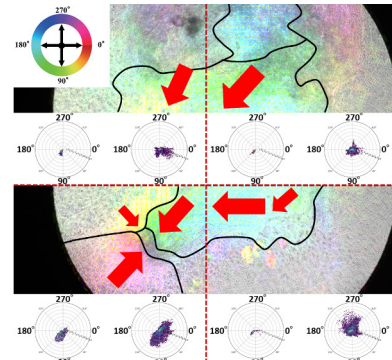


図 1 オプティカルフロー結果と極グラフ (瞬時・累計)

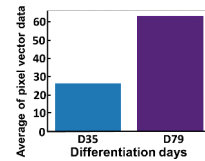


図 2 平均動態情報

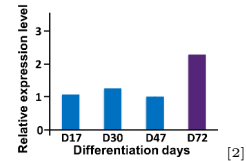


図 3 *GJA1* の相対発現

図 1 は、ある時刻のオプティカルフロー結果と極グラフ (瞬時・累計) を示す。ある時刻の画像を 4 分割したときの各画像に動態情報が描画されている。矢印は動態の大きさを示し、その矢印の背景色は HSV 空間より角度を示している。また、左の極グラフが 1 フレーム間に移動した瞬時の動態情報を示し、右の極グラフが全画像の総動態情報を示している。これより、提案手法は細胞の動態の大きさと角度を可視化することで、他細胞との同調の関連を評価することが可能となった。

図 2 と図 3 は、提案手法における分化日数毎の平均動態情報と医学的な *GJA1*²⁾ の相対発現を示している。図 2 の提案手法は、分化が進むにつれて、徐々に大きく拍動するだけでなく同調していることが確認できる。図 3 の医学的な見地からは、分化が進むにつれて、*GJA1* つまりギャップジャンクションが形成され同調して拍動する細胞が増加することを示している。このことより、提案手法の動態解析結果が医学的評価と同等であるといえる。

以上より、信号処理を用いた提案手法は、細胞の動態と瞬時・累計の動態情報の可視化が可能となった。また、動態情報を分化日数ごと平均して評価した結果、提案手法は医学的な評価と同等であり、細胞同調運動も評価可能となった。

4 まとめ

本論文は、オプティカルフロー動態解析を用いて、分化日数毎の iPS 細胞由来心筋細胞の動態を可視化して、細胞同調運動を評価する手法を提案した。提案手法の結果から、iPS 心筋細胞の分化日数毎の動態を可視化さらには、医学的な結果に基づいた細胞同調運動の評価が可能となった。今後は、ギャップジャンクションの関連についても評価していく予定である。

参考文献

- [1] Gunnar Farneback, "Two-Frame Motion Estimation Based on Polynomial Expansion," SCIA'03 Pro. of the 13th Scandinavian conference on Image analysis, July, 2003, pp.363-370.
- [2] J. Aoyama, K. Homma, N. Tanabe, S. Usui, Y. Miyagi, K. Matsuura, M. Kaneda, and T. Nitta, "Spatiotemporal imaging documented the maturation of the cardiomyocytes from human induced pluripotent stem cells", *The journal of thoracic and cardiovascular surgery*, July, 2019. [https://www.jtcvs.org/article/S0022-5223\(19\)31358-3/abstract](https://www.jtcvs.org/article/S0022-5223(19)31358-3/abstract)

¹⁾ 心筋細胞間を繋ぐトンネル状のタンパク質で、心筋細胞の同期性収縮に寄与している。

²⁾ ギャップジャンクションを発現する遺伝子である。