

細胞内画像からの輝点計数

- 回帰による計数と識別器による直接的計数の比較 -

Light Spot Counting in Intracellular Images
- Comparison Counting by Regression with Counting by Classifier -熊谷 章平†
Shohei Kumagai伊藤 友洋†
Tomohiro Ito堀田 一弘†
Kazuhiro Hotta

1. はじめに

生きている細胞の中身を観察するライブセルイメージングは近年急速に発達してきており、大量に細胞画像データを取得できるようになってきた。しかし、細胞画像内処理の研究分野はまだ始まったばかりであり、他の医療用画像処理分野に比べて最適なアルゴリズムや技術が提案されていない。そのため、現在では細胞内画像の輝点計数は観測者によって手動で行われている。しかし、手動での計数は時間がかかり、一度に大量のデータが扱えない。さらに観測者の主観的なデータになってしまうなどの問題があり、コンピュータによる効率的かつ細胞内画像に適した画像処理技術が求められている。

そこで、本論文では細胞内画像からの 2 つの輝点計数法を提案する。1 つ目は栗田らによる対象計数法[1]を拡張した高次局所自己相関特徴[2]とサポートベクター回帰を用いて、画像全体から対象の数を推定する方法である。この方法では画像内に含まれる対象の個数は推定できるが、位置は分からない。そこで、輝点と輝点以外を識別する識別器を用いて画像内から直接的に対象を検出し、計数を行う方法も提案する。

専門家による教師付き脂肪滴画像を用いて実験を行った。専門家による計数に合致するかどうかを評価したところ、回帰分析による計数では 75.74%、識別器による計数では 89.20%という高い精度が得られた。この結果から提案手法が細胞内の輝点計数にある程度有効である事が分かる。

本論文は以下のように構成される。まず、2 節では提案手法の詳細を述べる。次に 3 節で実験結果を示す。最後に 4 節で結論と今後の課題を述べる。

2. 提案手法

本節では提案する 2 つの計数法について述べる。2.1 節では回帰分析に基づく計数法について述べ、2.2 節では識別器による計数法について述べる。

2.1. 回帰分析に基づく対象計数法

この方法では、画像から抽出した高次局所自己相関特徴とその画像に含まれる輝点数の組をコンピュータに与えて回帰式を推定させ、得られた回帰式を用いて未知の画像の特徴量から輝点数を推定する[3]。また、単純な線形回帰ではなく非線形回帰が可能であるサポートベクター回帰を用いる。

2.1.1 高次局所自己相関特徴

高次局所自己相関は図 1 に示す 25 個のマスクパターンを用い、黒色に対応する画素の輝度値の積を画像全体に対して足し合わせることで抽出される。このように、特徴量は画像全体の積和により得られるため、画像中の対象の位置に関して不変となる。また画像中に同一の対象が 2 つあった場合、得られる特徴量は 1 個の対象から得られる特徴量の 2 倍となる。これは加法性と呼ばれる性質である。画像内で輝点の位置や個数は一定ではないため、位置不変性や加法性は画像内の対象計数に都合がよい。しかし、細胞内画像では背景が一定でなく、各輝点も同一では無いため厳密には加法性を満たさない。

実験では、特徴量抽出に用いる輝度値は 0~1 の値であり、高次局所自己相関特徴特徴はその積を求めるため、 $N=0$ 、 $N=1$ では、 $N=2$ の特徴量と比べて大きな値になってしまう。そのため、本研究では $N=2$ のマスクパターンより得られる 20 次元の特徴ベクトルのみを用いる。

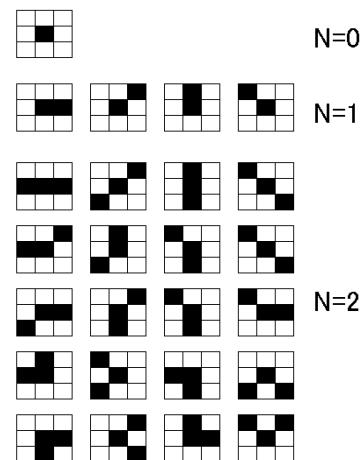


図 1. 高次局所自己相関特徴マスクパターン(25 個)

2.1.2 サポートベクター回帰

サポートベクター回帰とは、サポートベクターマシンを回帰分析用に拡張したものである[4]。サポートベクターマシンについては 2.2 節で述べる。サポートベクター回帰はカーネルトリックを用いることにより線形分離不可能な場合にも適用することができる。本論文ではガウシアンカーネルを用いた。

図 2 に回帰による計数法の概念図を示す。縦軸が輝点数、横軸が高次局所自己相関特徴を示しており、各点が

† 名城大学 理工学部
Faculty of Science and Technology, Meijo University,

学習データである。サポートベクター回帰では多くの学習データがマージン内に収まるようにマージンを最大にしつつ、マージン内に含まれない学習データの回帰誤差が最小になるように回帰超平面を引く。従って、データの特性を最もよく示すような回帰超平面を求める事が出来る。学習の段階でこの回帰式が求めれば、未知の画像の高次局所自己相関特徴から輝点数を推定できる。

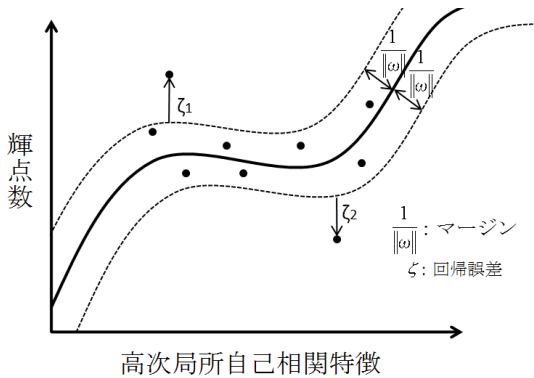


図2. 回帰による計数の概念図

2.1.3 画像の分割, 結合処理

本論文で用いるデータは全て同じサイズの画像であり、学習データから抽出した特徴量は値の大きさに変化が少なく、特徴量が一定の値に集中してしまう。従って、輝点数の少ない画像や特徴量の値が大きいデータに対する回帰モデルが不十分になる可能性がある。これを改善するためには、特徴量の大小や輝点数の多い少ないなど様々なパターンを含んだ学習データが必要となる。様々なパターンを学習させるために、各学習用画像に対して1枚の画像を4分割する分割処理と4枚の画像を1枚にする結合処理を行い、出力された画像を新たな学習画像として扱った。

2.2. サポートベクターマシンによる直接計数法

この方法では輝点と輝点以外を識別するために、サポートベクターマシンという2クラス識別器を用いる。検出のように学習した検出器をテスト画像内で1画素ずつ顔検出のように捜査すれば、画像内に含まれる輝点数を計数できる。

また、本手法では特徴量抽出としてフィルタ処理を用いる。細胞内画像はノイズが多く、また輝点の明るさが一定でないので、メディアンフィルタとラプラシアンフィルタを用いた[5]。これらのフィルタ出力を特徴量としてサポートベクターマシンで学習する。

2.2.1 サポートベクターマシン

サポートベクターマシンは最も汎化能力の高い2クラスの識別器[6]であり、マージンを最大化するように超平面を学習する。識別の際には、テストデータが識別面のどちらにあるかによりクラスを決定する。カーネルトリックを用いることにより線形分離不可能な問題にも対応することができる。ここではサポートベクター回帰同様、ガウシアンカーネルを用いた。

2.2.2 サポートベクターマシンによる計数

図3にサポートベクターマシンによる直接計数法の概念図を示す。本研究は脂肪滴とそれ以外の部分の2クラスの識別問題となるため、正解学習データとして様々な脂肪滴画像、不正解データとして脂肪滴以外の画像を用意し、サポートベクターマシンに学習させる。そして、作成した識別器をテスト画像内の全ての場所に適用すれば、画像内で脂肪滴である確率の高い所を検出できる。検出した個数を計数することにより、画像中に含まれる脂肪滴の個数を推定することができる。

上述のように脂肪滴と脂肪滴以外の画像にメディアンフィルタとラプラシアンフィルタを適用したものを特徴量とした。

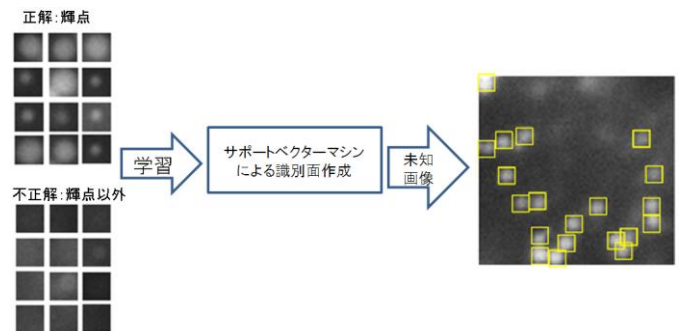


図3. 直接計数法の概念図

3. 実験結果

本論文では、名古屋大学 藤本研究室より頂いた99枚の教師付き画像を用いた。これを学習用画像90枚、パラメータ推定用画像5枚、テスト用画像4枚に分割して用いた。

脂肪滴画像の例を図4に示す。この画像は細胞内の画像であり、画像中の白く丸い輝点が脂肪滴である。脂肪滴の計数や密集度を自動で定量化したい要求はあるが、現状ではやはり専門家が手動で行っている。

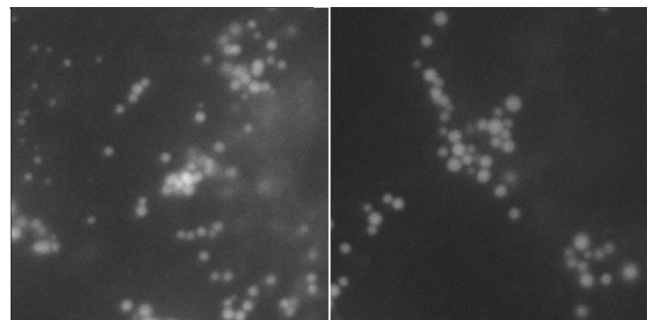


図4. 脂肪滴を有する細胞画像例

提案手法が専門家の計数結果と合致するかどうかを評価した。その結果を表1に示す。細胞内画像処理の研究では確立された手法がないため、従来法との比較を行うことが出来ない。しかし、結果から細胞画像からの輝点計数にある程度有効であることが分かる。

表1. 計数結果比較表

	テスト結果[%]
回帰による計数法	75.74
識別器による計数法	89.20

次にサポートベクターマシンによる脂肪滴検出の例を図5に示す。左が元の画像であり、右が出力結果である。白い四角で囲った所がサポートベクターマシンが脂肪滴と判断した座標である。大きさの異なる脂肪滴や見にくい脂肪滴に対応できていることが分かる。上の図は輝点数70個に対して67個が検出され、そのうち誤検出が5個、62個が正しく検出された。下の図では輝点数92個に対して88個が検出され、そのうち誤検出は3個、85個の輝点が正しく検出された。

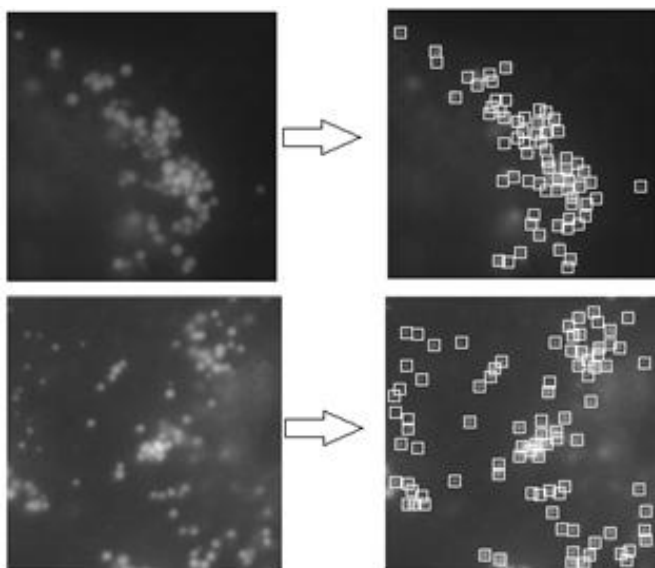


図5. サポートベクターマシンによる計数結果

4. おわりに

本論文ではコンピュータによる細胞内画像の輝点計数手法として回帰分析による計数法と識別器による計数法を提案した。

脂肪滴画像を用いた実験では、回帰による計数法で75.74%、識別器による計数法では89.20%という精度が得られ、今回提案した両手法とも細胞内の輝点計数に対して、ある程度有効であることが分かった。

今後は、同じ輝点を2回計数してしまう場合や誤検出する可能性があるため、そういった誤りを減らしていきたい。また、回帰と識別器による方法の結合も検討していきたい。

謝辞

本研究では、名古屋大学大学院医学系研究科 藤本研究室の藤本豊土教授、鈴木助教、篠原さんにより作成して頂いた、教師付の脂肪滴画像を使用致しました。心より感謝を申し上げます。

また、本研究は科研費(23113727)の助成を受けて行ったものである。

参考文献

- [1] N.Otsu, and T.Kurita, "A new scheme for practical, flexible and intelligent vision systems," Proc. IAPR Workshop on Computer Vision, pp.431-435, 1988.
- [2]大津 展之, "パターン認識における特徴抽出に関する数理的な研究", 電子技術総合研究所研究報告, Vol.818,1981.
- [3]伊藤 友洋,堀田 一弘, "高次局所自己相関特徴と回帰分析を用いたオートファゴソーム輝点の計数", MIRU 2010 サテライトワークショップ 細胞内画像処理, pp12, 2010.
- [4]小野田 崇, 知の科学 サポートベクターマシン, オーム社, 2007.
- [5]高木幹雄, 下田陽久, 新編画像解析ハンドブック, 東京大学出版会, 2004.
- [6]Nello Cristianini, John Shawe-Taylor, 訳 大北 剛, サポートベクターマシン入門, 共立出版, 2005.