

画像処理による微小粒子のリアルタイム解析手法

Image processing method for real-time identification of small particles

檜山 大輔[†] 老川 稔[†] 牧 正矩[‡] 岡田 弦樹[‡] 津村 徳道[‡] 遠藤 優[†] 長浜 佑樹[†]岡田 直久[†] 佐野 麻理恵[†] 杉江 崇繁[†] 下馬場 朋禄[†] 角江 崇[†] 伊藤 智義[†]

Daisuke Hiyama Minoru Oikawa Masanori Maki Genki Okada Norimichi Tsumura Yutaka Endo Yuki Nagahama Naohisa Okada Marie Sano Takashige Sugie Tomoyoshi Shimobaba Takashi Kakue Tomoyoshi Ito

1. はじめに

多数の粒子の中から個々の粒子について取り上げ、その物理的・化学的な特性を解析する技術としてフローサイトメトリーがある。フローサイトメトリーは主に細胞の解析手法として用いられるが、従来の技術では解析精度の低さから、優れた能力や未知の現象を有する希少な細胞が統計データの中に埋もれてしまうという問題がある。そこで内閣府革新的研究推進プログラム (ImPACT) "セレンディピティの計画的創出による新価値創造"[1]において、希少な有用な能力を持つ細胞を高速かつ高精度・低コストに発見・解析する装置の開発を行っている。装置の概略図を図 1 に示す。

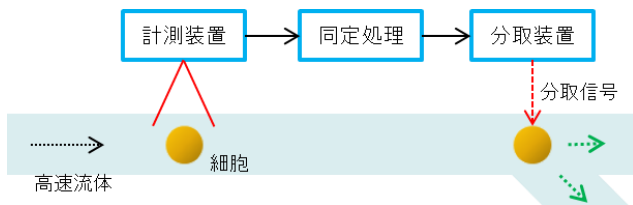


図 1 装置の概略図

微小な流路を高速で流れる細胞は、まず、計測装置および高速 AD コンバータにより 1 次元の信号データとして取得される。計測装置には高速カメラである Serial Time-Encoded Amplified Microscopy (STEAM) [2]を用いる。STEAM カメラは従来のシステムに搭載されている CCD や CMOS カメラと比較して圧倒的に早いフレームレートで撮影可能となっている。例えば 50G サンプリングのオシロスコープを使った場合、約 100×50 画素の画像を 10Mfps で取得できる[3]。次に、取得した 1 次元信号を Field Programmable Gate Array (FPGA) によって 2 次元の画像として再構成し、再構成された細胞画像は Host PC の CPU, Graphics Processing Unit (GPU) において同定処理が施される[4]。最後に、同定処理の結果から希少細胞か否かを判定し、分取装置によってそれぞれ異なる流路へ分けられる。先行研究[4]においては STEAM から得られた細胞画像に関するリアルタイム処理が行われているが、同定に関する処理について開発や検討が行われていなかった。

そこで本研究では、STEAM により取得された細胞画像について高速な同定処理手法の開発および検討を行った。なお、本研究は基礎研究であるため流路を流れる細胞の代替としてマイクロビーズを使用した。

2. 研究概要

STEAM カメラによって取得されたビーズ画像データは、同定処理の際には図 2 に示すようなグレースケールの画像となっており、様々な画像処理手法を適用可能である。また、画像のサイズは 100×100 pixel となっている。

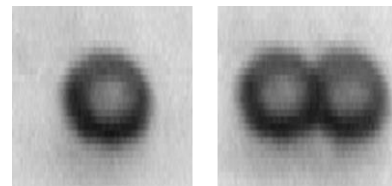


図 2 STEAM により取得されたビーズ画像

本研究では同定処理において、ビーズの大きさや形状に関する情報を利用する。まず複数の基本的な画像処理手法を組み合わせることにより、画像中のビーズ部分の輪郭を抽出し、その特徴量を抽出する。STEAM によって得られる細胞画像は様々であり、画像毎に異なる値の特徴量が取得される。次に、得られた特徴量をもとに Support Vector Machine (SVM) を利用することで、所望のビーズ画像か否かの分類を行う。SVM はパターン認識に用いられる手法の 1 つであり、正解・非正解データの学習を行うことでデータが存在する空間に識別境界を設定し、それを基に未知のデータに対し分類を行う。最後に、上記の処理に要した計算時間の計測を行い、SVM による分類結果の精度について検証を行う。

また、本研究における同定処理では Open-source Computer Vision Library (OpenCV) [5]を利用した。OpenCV は画像処理・画像解析・機械学習等に関する様々な機能を提供するライブラリである。

3. 研究結果

3.1 画像処理による特徴量の抽出

ビーズ画像から特徴量の検出を行う場合の流れを図 3 に示す。図 3 (a) のビーズ画像を元画像とし、2 値化処理を行うと図 3 (b) のようになる。2 値化処理によってビーズ部分は白色、背景部分は黒色となる。続いてモルフォロジー処理を施すと図 3 (c) のようになり、画像中のビーズ部分と背景部分の境界が明確になる。図 3 (c) に対して輪郭抽出を行うと図 3 (d) のようになり、赤線に示されるようなビーズ部分の輪郭が取得できる。

[†] 千葉大学大学院工学研究科, Graduate School of Engineering, Chiba University

[‡] 千葉大学大学院融合科学研究科, Graduate School of Advanced Integration Science, Chiba University

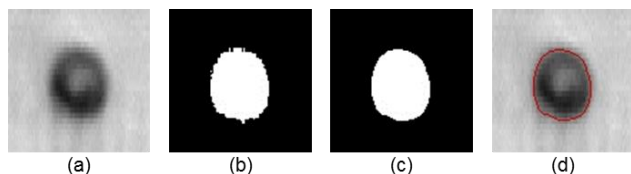


図 3 画像処理の流れ

上記の画像処理を行った後、抽出された輪郭から SVM に用いる特徴量の抽出を行う。本研究ではビーズの大きさや形状による分類を行うため、面積、円形度、画素値の平均、標準偏差を抽出した。

3.2 SVM による画像の分類

流路には細胞が 1 つずつ整列されて流れるが、図 2 の右図に見られるような細胞が連結されたダブレットと呼ばれるものが流れてしまう場合がある。個々の細胞を計測・同定し希少細胞を見つけることが最終目標であるため、本研究では、1 つのビーズのみが画像中に収まっているものを SVM における正解データ、それ以外を非正解データとした。まず、正解・非正解が既知であるビーズ画像を 10 枚選択し、特徴量の抽出し SVM の学習を行う。その後、未知のデータとしてビーズ画像 5000 枚に対して特徴量を抽出し SVM による正解・非正解の分類を行った。学習に使用した画像および分類結果の例を図 4 に示す。

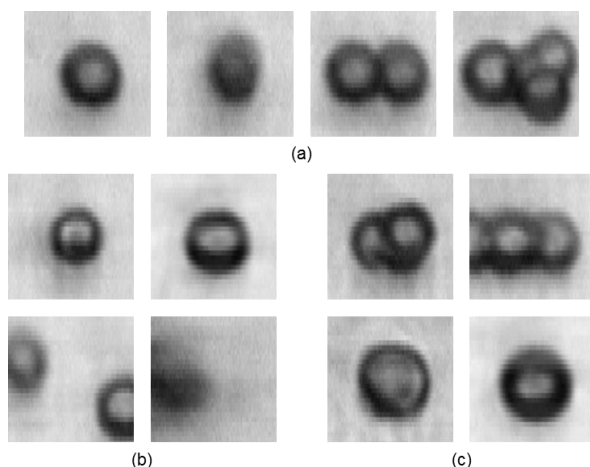


図 4 SVM による分類結果

図 4 (a) は学習に使用した画像の例であり、実験の際には正解・非正解が明確である画像をそれぞれ 5 枚ずつ選択した。図 4 (b) は正解データとして分類されたビーズ画像、図 4 (c) は非正解データとして分類されたビーズ画像の例である。画像中のビーズの映り方、学習用画像からの識別境界の取り方によって分類に誤りが起こると考えられる。

3.3 計算時間および分類精度の検討

特徴量抽出および SVM による学習・分類を行う際に要する計算時間を求める。同定処理の実験環境を表 1 に示す。

表 1 実験環境

OS	Windows 7 Professional
CPU	Intel Core i5 4670(3.40GHz)
メモリ	8.0GB

測定の結果、10 枚の学習用画像から特徴量を抽出し SVM に学習させるのに要した時間は 3.5 msec、同様に 5000 枚の画像について特徴量抽出と分類を行うのに要した時間は 1462.5 msec であった。実際のシステムに適用する場合、SVM における学習は 1 度のみでよいため、処理時間については分類の場合について考える。分類では画像 1 枚あたり 0.3 msec で処理していることとなり、これは 1 秒間で約 3300 個のビーズ画像の分類を行うことになる。本研究では CPU のみで処理を行っているため、GPU を用いることにより更なる高速処理が見込める。

次に SVM の分類精度に関して検討する。5000 枚のビーズ画像の SVM による分類結果について、その内訳を表 2 に示す。

表 2 SVM による分類結果の内訳

		分類結果	
		正解	非正解
予測	正解:4762(枚)	4747	15
	非正解:238(枚)	54	184

正解データの画像 4762 枚のうち、正しく正解と分類されたものは 4747 枚、誤って非正解と分類されたものが 15 枚であった。同様に非正解データの画像 238 枚のうち、正しく非正解と分類されたものは 184 枚、誤って正解と分類されたものは 54 枚であった。この結果から正解率 (Accuracy) を求めると 98.6% となり、精度よく分類されていることが確認できる。

4. まとめ

画像処理を用いた細胞の解析手法として、特徴量検出と SVM を組み合わせた処理を行い、その計算時間と分類精度に関して検討を行った。本研究では、10 枚の正解・非正解が既知であるビーズ画像の特徴量から SVM の学習を行い、5000 枚の正解・非正解が未知であるビーズ画像に対して分類を行った。その結果、処理速度について秒間約 3300 枚の処理が可能であり、分類精度について正解率 98.6% で分類可能であるという結果が得られた。

今後の展望としては、実際の細胞や微生物へ同定処理を行った場合の有効性を検討すること、GPU を利用した更なる高速処理を実現することが挙げられる。

謝辞

本研究は革新的研究開発推進プログラム (ImPACT) "セレンディピティの計画的創出による新価値創造" の助成を受けたものである。

参考文献

- [1] <http://www.jst.go.jp/impact/serendipity/index.html>
- [2] K. Goda, K.K. Tsia, B. Jalali, "Serial time-encoded amplified imaging for real-time observation of fast dynamic phenomena", *Nature* **458**, 1145-1149 (2009).
- [3] 中川圭一, 合田圭介, "超高速光学撮影法が拓くフロンティア", *応用物理*, **84**, 409-4014(2015).
- [4] M. Oikawa, D. Hiyama, R. Hirayama, S. Hasegawa, Y. Endo, T. Sugie, N. Tsumura, M. Kuroshima, M. Maki, G. Okada, C. Lei, Y. Ozeki, K. Goda, T. Shimobaba, "A computational approach to real-time image processing for serial time-encoded amplified microscopy". *Proc. SPIE 9720, High-Speed Biomedical Imaging and Spectroscopy: Toward Big Data Instrumentation and Management*, **97200E** (2016).
- [5] OpenCV Developers Team (itseez), "OpenCV." <http://opencv.org/>.