

修士論文

2値化と成長型ニューラルガスを用いた
画像セグメンテーションによる
培養角膜内皮細胞の
培養指標抽出システムの提案

同志社大学大学院 生命医科学研究科
医工学・医情報学専攻 医情報学コース
博士前期課程 2013年度 1032番

関谷 駿介

指導教授 廣安 知之教授

2015年1月23日

Abstract

In corneal endothelium tissue engineering, automatic judgment is vital to determine whether cultured cells are suitable for transplantation, which can be achieved by measuring indicators from cell images. Indicator measurement requires an accurate image processing method for cell segmentation. The existing software needs to construct the combination of image-processing filters manually. For this problem, the system that combines image-processing filters automatically using genetic programming was proposed. However, determination of suitable learning region is difficult and making the ideal segmentation result is the labor for users. Therefore, achieving segmentation by an unsupervised learning method is an essential requirement for applying segmentation to several types of images. In this paper, we propose a system using binarization and growing neural gas. This system segments the cells by performing robust edge detection for binarization and connecting units that are created by vector quantization of cell borders. In the experiment, we confirm the effectiveness of proposed system by using 10 cultured corneal endothelial cell images. The proposed system is compared with ImageJ that is general medical image analysis software and genetic programming system. The results show that the proposed method has superior segmentation accuracy and performs accurate measurement of indicators.

目次

1	序論	1
2	角膜内皮再生医療	2
3	ImageJ	3
4	遺伝的プログラミングを用いた画像処理フィルタの組み合わせ最適化による細胞領域分割手法	5
4.1	Automatic Construction of Tree-structure Image Transformation	5
4.2	遺伝的プログラミング	5
4.3	細胞画像領域分割問題への定式化	8
4.4	画像処理フィルタの組み合わせ最適化手法の問題点	9
5	提案培養指標抽出システム	11
5.1	システム概要	11
5.2	領域分割アルゴリズム	11
5.3	画像処理による培養指標の抽出	16
6	提案システムの有効性の検証	17
6.1	実験概要	17
6.2	分割精度の比較結果	19
6.3	培養指標の抽出結果	24
7	結論	28

1 序論

近年、コンタクトレンズや眼内手術の普及、社会全体の高齢化により角膜障害が増加している¹⁾²⁾。特に増殖能が低く、加齢とともに減少する角膜内皮細胞に起因する障害は問題とされており、これを解決するための治療法として角膜内皮再生医療が注目されている³⁾。角膜内皮再生医療では、角膜内皮細胞が損傷した患者に体外で培養した角膜内皮細胞を移植することによって治療が行われる。角膜内皮細胞を培養する際、培養された細胞が良好な状態かを判断するための品質評価が重要となる。品質評価の方法として、光学顕微鏡を用いて撮像した角膜内皮細胞画像から細胞数や面積のばらつき、形状といった培養指標を計測する方法がある。現状の角膜内皮再生医療では、研究者がこれらの指標を目視で判断するが、その精度は研究者の知識や経験によるものが大きい。さらに、長時間に渡る細胞培養では大量の画像が蓄積されるため、それらを人間の手で解析することは現実的ではない⁴⁾。そのため、画像処理技術を用いて定量的に培養指標を計測することにより、品質評価支援を行うソフトウェアの開発が行われている。

画像から培養指標を計測するためには、個々の細胞領域を正確に分割する画像処理が必要となる。画像解析のための一般的なソフトウェアである ImageJ⁵⁾ や Cell Profiler⁶⁾ は、予めソフトに用意されている複数の画像処理フィルタを複雑に組み合わせることによって領域分割を行う仕様となっている。そのため、精度の高い領域分割を行うためにはコンピュータ画像処理の知識が必要となり、分野の異なる角膜内皮再生医療の研究者にとって大きな負担となる。このような背景から、本論文では培養角膜内皮細胞の品質評価の支援を目的とし、画像処理の知識を必要としない培養指標抽出システムを提案する。

既存ソフトの問題を解決する方法として、進化的計算の一つである遺伝的プログラミング (Genetic Programming : GP)⁷⁾ を用いて、フィルタの組み合わせを自動で最適化する手法が提案されており⁸⁾、PET(Position Emission Tomography) 画像⁹⁾ や口腔癌病理画像¹⁰⁾¹¹⁾、角膜内皮細胞画像¹²⁾¹³⁾ などの医用画像に対しての応用が過去に研究されている。この GP によるフィルタの組み合わせ最適化手法では、対象画像の一部分を学習領域とし、その学習領域における細胞領域分割が適切に行えるように複数の画像処理フィルタを GP を用いて組み合わせした後、その組み合わせを未学習の領域に適用する。しかしながら、学習に用いる理想の分割結果をユーザがペイントソフトなどを用いて作成する必要があるのに加え、適切な学習領域の位置決定が困難であるため、過学習による未学習領域の分割精度の低下が問題となる。そこで、本論文ではロバスト性が高い 2 値化手法と教師なし学習の一つである成長型ニューラルガス (Growing Neural Gas : GNG)¹⁴⁾ を用いた領域分割アルゴリズムを提案し、それを用いた培養指標抽出システムについて述べる。

本論文の構成を以下に示す。第 2 章で角膜内皮再生医療について述べ、第 3 章で既存の医用画像解析ソフトである ImageJ について述べる。第 4 章では、GP によるフィルタの組み合わせ最適化手法について述べ、第 5 章では提案システムの領域分割アルゴリズムと培養指標の抽出手法について述べる。第 6 章で提案システムの有効性を検証し、第 7 章で結論を述べる。

2 角膜内皮再生医療

角膜は、外側から順に、上皮、実質、内皮の3種類の細胞層から構成される。角膜の最も内側に存在する角膜内皮細胞は、バリア機能とポンプ機能を有しており、角膜実質内の水分含有量を一定に保って角膜の透明性を維持する重要な役割を果たしている。正常の角膜内皮細胞は、およそ2000~2500個/mm²の密度の六角形を主とする多角形細胞からなるが、ヒトやサルなどの霊長類の角膜内皮細胞は再生能力に乏しく、生体内ではほとんど増殖しない。そのため、外傷やジストロフィ¹、眼内手術などの障害によって角膜内皮細胞が脱落すると、残存する細胞が拡大、進展して障害部分を修復しようとする。その結果、これらの障害の後には角膜内皮細胞の密度の低下が生じる¹⁵⁾。角膜内皮細胞密度が数百個/mm²以下になると角膜内皮機能不全となる³⁾。この角膜内皮機能不全に対する治療法として、上皮、実質、内皮の3層構造全てをドナー角膜と置換する全総角膜移植術や内皮層のみをドナー組織と置換する角膜内皮移植術が行われてきた。しかしながら、これらの治療法は1人の患者の治療に1眼のドナー角膜が必要であるため、慢性的なドナー不足が問題とされている。また、角膜移植後の拒絶反応や移植された内皮細胞が手術後減少し、再移植、再々移植を余儀なくされる症例もあり、多くの問題を抱えている。このような背景のもと、再生医療的アプローチを用いた新しい角膜疾患治療法の開発が行われている¹⁶⁾。

再生医療とは、疾病や外傷などによって失われた生体の機能を幹細胞や前駆細胞などの増殖能をもった細胞や、それらを培養した組織を用いて治療する医療である¹⁶⁾。角膜における再生医療に関しては、1990年代には既に生体外での培養が困難であったヒト角膜内皮細胞の培養が可能になり、2000年代に入ってから、培養した角膜内皮細胞を移植する試みがウサギを用いた動物実験で報告されている¹⁷⁾。さらに近年では、小泉らがヒトへの臨床応用を目指し、ヒトと同様に生体内における角膜内皮細胞の増殖能が乏しいカニクイザルを対象とした培養角膜内皮シート移植を行っており、その有用性を示唆している³⁾。また西田らは、損傷を与えたウサギ角膜を完全に回復し、ヒトへの応用の成功を報告している¹⁸⁾。

一方、再生医療は医療として安全性基準を満たさなくてはならない。そのため、細胞という不安定な対象に対する品質管理のニーズは、細胞を用いた産業の発展とともに急増しつつある¹⁹⁾。細胞の品質を非破壊的に推察する情報として培養中の細胞の形態的特徴が重要であることが経験的によく知られており、角膜内皮細胞においては先述の通り、細胞数や面積のばらつき、形状(六角形)である。これら形態的特徴の定量解析のために、コンピュータによる培養中の細胞画像の解析に関する研究が行われているが、観察対象の定量解析の前処理として重要な領域分割は成功例が極めて少なく、定量解析の妨げとなっている²⁰⁾。その原因の一つに領域分割アルゴリズムの汎用性欠如が挙げられ、高精度での領域分割が求められる場合、対象に特化したアルゴリズムが必要である。そのため対象ごとにアルゴリズムの決定やパラメータ調整が求められ、前処理であるにも関わらず領域分割が形態的特徴の定量解析における大きな問題とされている。

¹形質異常

3 ImageJ

前章で述べた画像の定量解析を行うためのソフトウェアの一つに、ImageJがある。ImageJは、アメリカ国立衛生研究所で開発された医療画像解析用のフリーソフトウェア⁵⁾で画像処理及び、解析機能が豊富である。以下にImageJの主な特徴を述べる²⁾。

- 全てのコンピュータで動作可能：Javaで記述されており、Linux, Mac OS, WindowsのOS上で32bitでも64bitでも動作する。
- オープンソース：ImageJのプログラムと、そのJavaソースコードは無料で入手可能であり、パブリックドメイン¹⁾である。
- マクロ機能：マクロを利用して、一連の作業を自動化し独自のツールを作成できる。
- プラグイン：ImageJ内蔵のテキストエディタとJavaコンパイラを使ってプラグインを作成すると機能を拡張させることができる。
- 画像データ形式：8bit グレースケールまたはインデックスカラー画像、16bit 非符号化整数または32bit 浮動小数点画像及びRGBカラー画像を編集、解析、画像処理、保存、印刷することができる。
- ファイル形式：サポートしている全ての形式は、TIFF(Tagged Image File Format)とrawデータ形式で保存できる。開いて保存可能なファイル形式は、GIF(Graphic Interchange Format), JPEG(Joint Photographic Experts Group), BMP(Bit MaP), PNG(Portable Network Graphics), PGM(Protatable Gray Map), FITS(Flexible Image Transport System), ASCIIで、開くことのみ可能な形式はDICOM(Digital Imaging and COmmunication in Medicine)である。
- 動作速度：Javaのみで構成されている画像処理プログラムとしては世界最速であり、2048 × 2048 pixelの画像であれば0.1秒でフィルタ処理を実行できる²⁾。
- 解析：選択範囲または画像全体の面積、画素値の平均、標準偏差、最小・最大などを計測可能である。

ImageJはFig. 3.1のようなインタフェースからユーザが目的の画像処理フィルタや解析機能を選択して画像処理を行う。画像処理を行うためのProcessメニューの中には約80種類の基本的な画像処理フィルタが用意されており、ユーザはそれらのフィルタを一つずつ選択して目的の画像処理を行う。しかしながら、精度の良い画像処理を行うためには、複雑なフィルタの組み合わせを考案する必要がある、適切な組み合わせは対象画像毎に異なる。そのため、画像処理の知識が乏しいユーザにとっては大きな負担となることが考えられる。

¹⁾知的財産権が発生しておらず、自由に利用、改善、再配布などができる状態

²⁾クロック周波数3.0GHzのWindows OS, Microsoft Java1.1.4の環境で8bit画像に対してProcess/Smoothコマンド適用時。

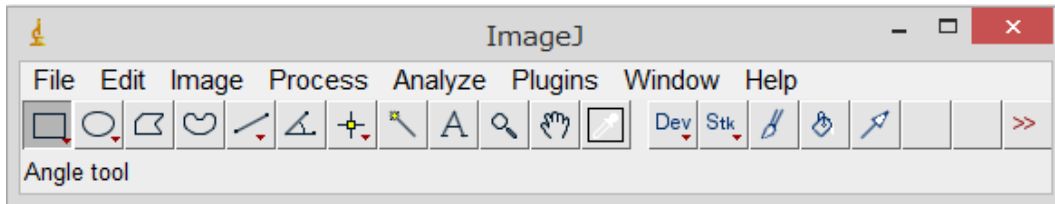


Fig. 3.1 ImageJ のインタフェース

4 遺伝的プログラミングを用いた画像処理フィルタの組み合わせ最適化による細胞領域分割手法

4.1 Automatic Construction of Tree-structure Image Transformation

画像処理フィルタの組み合わせ自動探索のために青木らは Automatic Construction of Tree-structure Image Transformation (ACTIT) を提案している⁸⁾。ACTIT は、進化計算の一つである遺伝的プログラミングを用いて最適な画像処理フィルタの組み合わせを導く手法である。一般的に複雑な画像処理は、既知の単純な画像処理フィルタを組み合わせることで表現できると考えられる。そこで、画像処理はフィルタの組み合わせ最適化問題と捉え、その最適解を求める。

Fig. 4.1 にこの手法を細胞領域分割処理に応用する場合の概要を示す。まず、学習領域 I を全体画像の任意の領域から切り取る。また、その画像の理想的な分割結果である目標画像 T をユーザがペイントソフトなどを用いて作成する。終端ノードから画像 I を入力し、各ノードに格納された画像処理フィルタ F の処理を順に行うことで、画像を出力する。そして、出力画像 O が画像 T へ近似するような画像処理フィルタの組み合わせを木構造の組み合わせ最適化手法である遺伝的プログラミングを用いて探索する。

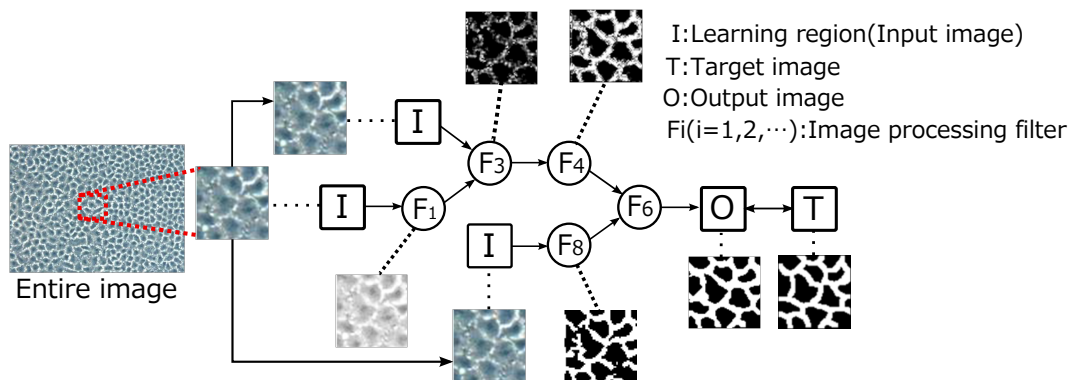


Fig. 4.1 フィルタの組み合わせ最適化の原理

4.2 遺伝的プログラミング

遺伝的プログラミング (Genetic Programming : GP) は、生物の進化を模倣した遺伝的アルゴリズム (Genetic Algorithms:GA)²²⁾ の遺伝子型 (Fig. 4.2(a)) を構造的な表現 (木構造, グラフ構造) で扱えるように拡張したものである (Fig. 4.2(b))⁷⁾。遺伝子型を構造的に表現することにより、知識表現の獲得や関数・プログラムの自動生成などの階層的な表現能力を要する問題を直接的に扱うことができるといった特徴を持つ。GP では、Fig. 4.2(b) のような個体が集まった母集団に対して遺伝的操作 (選択, 交叉, 突然変異など) を繰り返すことで、問題に適した良好な個体 (解) を生成する。GP のアルゴリズムを以下に示す。

Step.1 初期集団の生成

解候補 (木構造) を個体とよび, 候補群を母集団とよぶ. 決められた数の個体をランダムに生成し, 初期母集団とする.

Step.2 評価

対象問題の評価関数によって各個体の評価値を求める. 対象とする問題の解として適する個体ほど評価値が高くなるよう, 問題に応じた評価関数が用いられる.

Step.3 選択

母集団から決められた数だけ, 評価値を考慮して選択する.

Step.4 交叉

母集団の中からランダムに選択した2個体を対象として、Fig. 4.3(a)のように、木構造の中で交叉点をランダムに選択し、交叉点に応じた部分木同士を交換する。これにより、新たな個体が生成される。最初に選択された2個体を親個体、生成された個体を子個体と呼ぶ。

Step.5 突然変異

対象となる個体から、Fig. 4.3(b)のように、ランダムに突然変異点を選択し、その点に応じた部分木とランダムに生成した突然変異木を入れ替える。これにより新たな子個体が生成される。

Step.6 終了条件

Step.2～Step.5の操作を世代と呼ぶ。あらかじめ決定しておいた終了条件を満たすまで、世代を繰り返す。主な終了条件として、最大の世代数などがあげられる。

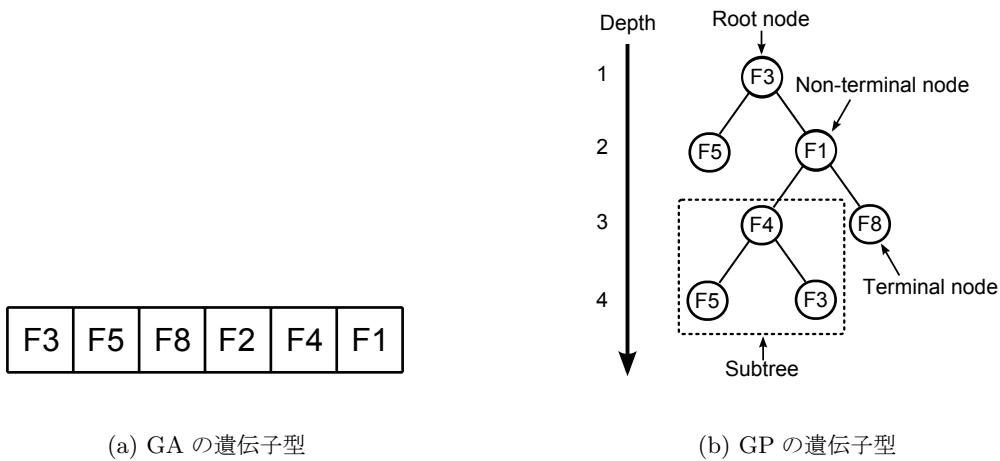


Fig. 4.2 遺伝子型

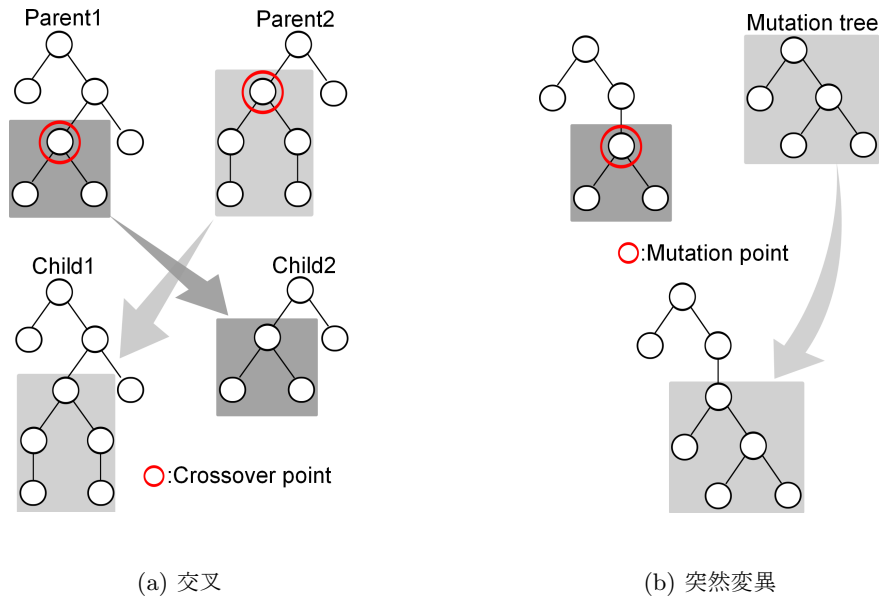


Fig. 4.3 遺伝的操作

4.3 細胞画像領域分割問題への定式化

本節では、細胞領域分割のための画像処理問題を遺伝的プログラミングを用いて解決するために、問題の定式化の方法として設計変数となる画像処理フィルタ及び領域分割の指標を用いた評価関数について述べる。

4.3.1 設計変数

これまで画像の領域分割に関する研究は数多く行われており、エッジ検出法やK平均クラスタリング、Watershed アルゴリズムなど様々な領域分割の手法が考案されている。その中でも細胞領域分割には Watershed アルゴリズム²³⁾ が用いられており、画像解析ソフトウェアである ImageJ や Cell Profiler においても実装されている。そのため、設計変数として青木ら⁸⁾ が用いた一般的な画像処理フィルタと Watershed を用いる。Watershed アルゴリズムはマーカと呼ばれる領域を複数設定し、マーカを隣接画素へと広げていくことによって領域分割を行う手法である。グレースケール画像における Watershed アルゴリズムの概略を Fig. 4.4 に示す。

- (1) 画素値の勾配の極小値にマーカを設定する。
- (2) 勾配に沿ってマーカを広げる。
- (3) マーカがぶつかったところに境界を生成する。

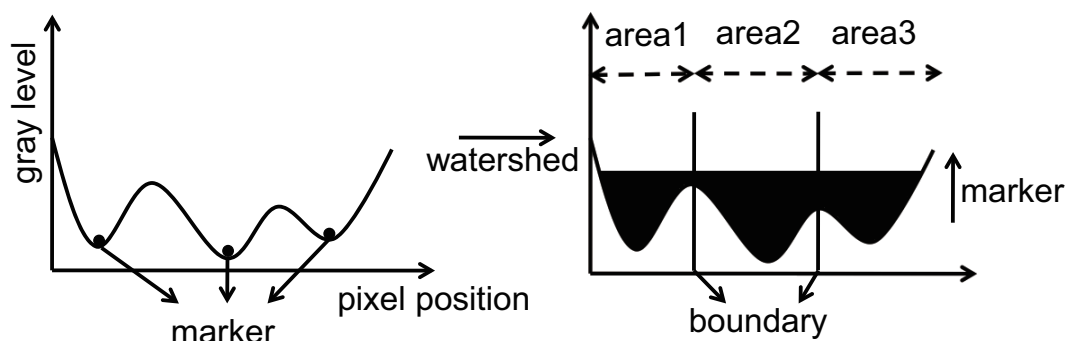


Fig. 4.4 Watershed アルゴリズム

4.3.2 評価関数

評価値は、その個体が表現する画像フィルタの組み合わせがどれだけ正確に領域分割を行うことができるかの指標である。ACTIT では出力画像と理想の分割結果の各画素値の一致度を評価しているが、細胞画像の領域分割の精度評価には、細胞の数や形状を正確に分割出来ているかが重要な指標である。そのため、細胞領域分割の定量的な評価で用いられる GCE(Global Consistency Error)^{24) 25)} を使用する。GCE は理想の分割結果 T と構築された木構造状フィルタによる出力画像 O 上のピクセル p_i が属する細胞領域に注目し、その細胞領域を構成するピクセル数 ($R(T, p_i), R(O, p_i)$) の誤差 (局所的詳細誤差) E で表すことができる。局所的詳細誤差を式 (4.1) に示す。この局所的詳細誤差 E を画像内の全てのピクセルごとに調べることで、画像全体の分割精度である GCE を評価することができる。GCE は N を全画素数とすると式 (4.2) で定義される。

$$E(T, O, p_i) = \frac{|R(T, p_i) - R(O, p_i)|}{|R(T, p_i)|} \quad (4.1)$$

$$GCE(T, O) = \frac{1}{N} \min \left\{ \sum_i E(T, O, p_i), \sum_i E(O, T, p_i) \right\} \quad (4.2)$$

4.4 画像処理フィルタの組み合わせ最適化手法の問題点

本手法は、学習領域に対して正確な領域分割を行えることが既に示されている¹³⁾。しかしながら、対象となる画像毎に学習に用いる理想の分割結果をユーザがペイントソフトなどを用いて作成する必要がある。また、適切な学習領域の位置決定が困難であるため、過学習による未学習領域の分割精度の低下が Fig. 4.5 のように起こる。そこで、次章ではこれらの問題を解決するためにロバスト性が高い 2 値化手法と教師なし学習の一つである成長型ニューラルガス (Growing Neural Gas : GNG)¹⁴⁾ を用いた領域分割アルゴリズムを提案する。また、それを用いた培養指標抽出システムについて述べる。

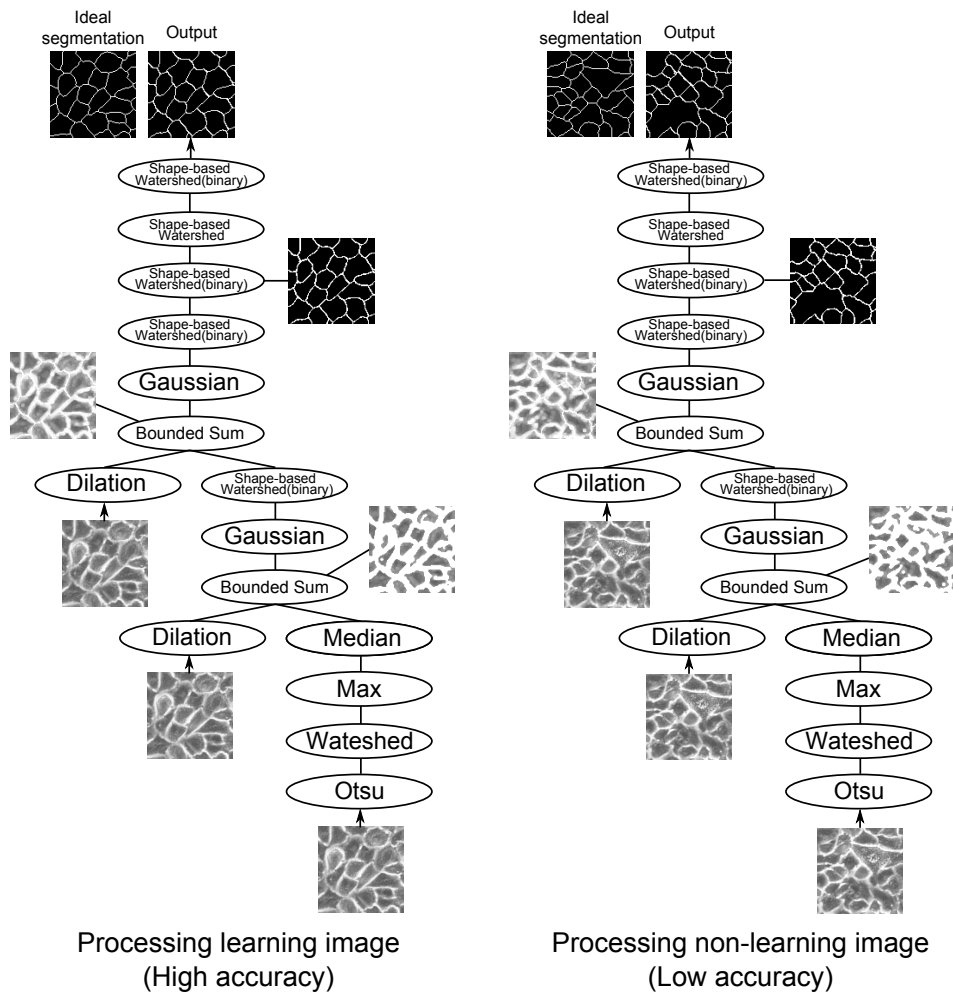


Fig. 4.5 GP のフィルタの組み合わせ最適化による問題点

5 提案培養指標抽出システム

本章では、前章の問題を解決するための細胞領域分割アルゴリズムと、それをを用いることで細胞の品質評価に必要な指標を抽出できるシステムの提案を行う。5.1節では提案するシステムの概要、5.2節ではシステムで用いる領域分割アルゴリズムについて述べる。また、5.3節では提案アルゴリズムによって得られた領域分割結果から培養指標を抽出する方法について述べる。

5.1 システム概要

本システムは、画像処理の知識や学習画像を必要とせず角膜炎細胞画像から指標を抽出・提示することで、培養細胞の品質評価の支援を行うことを目的とする。細胞画像から培養指標の抽出を行うシステムの概要を Fig. 5.1 に示す。

Step.1 ユーザは、培養指標を抽出する対象画像をシステムに入力する。

Step.2 入力された画像に対して、システムの領域分割処理が行われる。

Step.3 システムは、領域分割結果から培養指標の抽出を行う。

Step.4 システムが対象画像の分割結果画像と培養指標の抽出結果をユーザへ提示する。

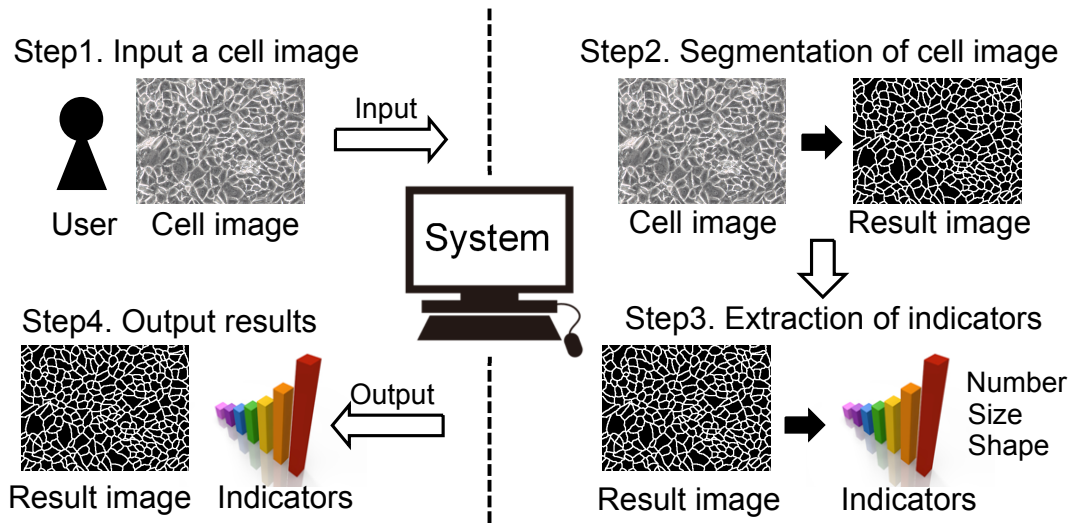


Fig. 5.1 提案システムの概要

5.2 領域分割アルゴリズム

5.2.1 概要

以前の章で述べた ImageJ や GP の設計変数に実装されている Watershed アルゴリズムは、画素値の極小値から勾配に沿って領域を広げるため、本論文で扱うような勾配が多く

現れる細胞画像に対しては過分割が起こりやすい。また、過分割を防ぐための前処理や後処理は一意に決まらず、前章のような教師あり学習による画像処理手法では正確な分割が困難である。そこで、本論文で提案するアルゴリズムは、エッジ検出ベースの2値化を用いて大局的な細胞境界を高精度に検出した後、未分割である領域を分割するアプローチをとる。

提案アルゴリズムの概要を Fig. 5.2 に示す。まず、原画像に対してヒストグラム変換を行い、画像のコントラストを強調する。その後、細胞領域を黒、細胞境界を白の2値画像に変換する。そして、2値画像を入力ベクトルとし、GNG を用いて細胞境界のベクトル量子化を行い、ユニット同士を結合する。最後に2値画像とユニット結合画像の論理和をとり、最終的な分割結果を得る。これにより、2値画像変換時に未分割である細胞領域がユニットの結合により分割できることが期待できる。次項にこれらの詳細について述べる。

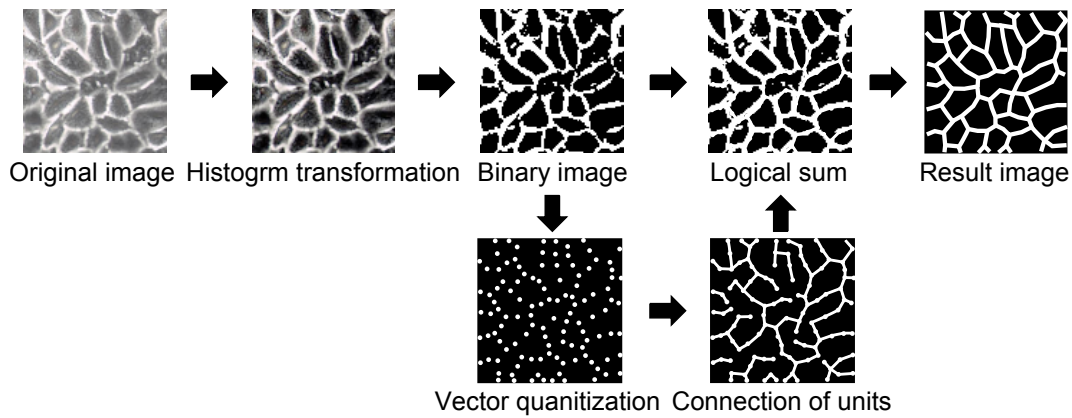


Fig. 5.2 領域分割アルゴリズムの概要

5.2.2 ヒストグラム平坦化を用いたコントラスト強調

本アルゴリズムでは、細胞領域と境界とのコントラストを強調するためにヒストグラム平坦化処理を2値化の前処理として行う。ヒストグラム平坦化は、Fig. 5.3 に示すようにヒストグラムの分布が一様になるように画素値を変換する手法であり、顕著なコントラスト強調効果が得られる場合が多い²⁶⁾。変換前の画素値を z 、画素値 z における度数を $h(z)$ 、*Height* と *Width* を画像の縦横のサイズとすると、変換後の画素値 z' は式 (5.1) で表される。ただし、全画素数に対する画素値 z までの累積頻度の割合 $P(z)$ を式 (5.2) とする。

$$z' = 255 \cdot P(z) \quad (5.1)$$

$$P(z) = \frac{1}{\text{Height} \cdot \text{Width}} \sum_{i=0}^z h(i) \quad (5.2)$$

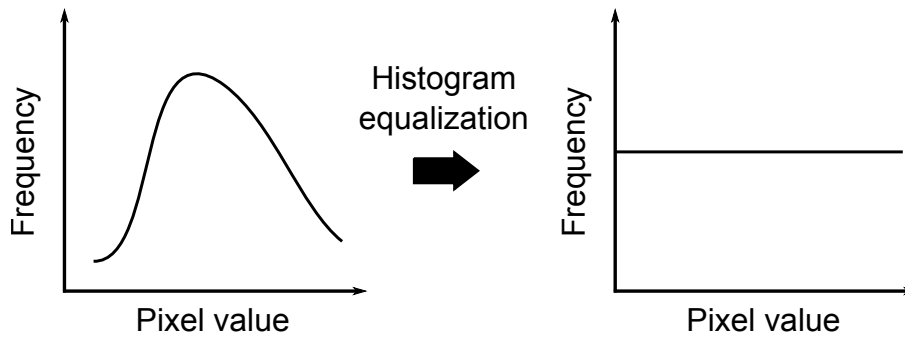


Fig. 5.3 ヒストグラム平坦化

5.2.3 2値化手法

本手法では、2値画像への変換手法として Piero らによるエッジ抽出ベースの手法を用いる。Piero らは角膜内皮細胞のモザイク構造と類似している網膜色素上皮細胞画像において、精度の高い分割アルゴリズムを提案しており²⁷⁾、このアルゴリズムは Fig. 5.4 に示すカーネルを用いた平滑化、収縮、エッジ抽出、エッジ補正、2値化から成る。

平滑化として本アルゴリズムでは circular mean フィルタ²⁸⁾を用い、画像のノイズを低減する。また、前項のコントラスト強調による過分割を防ぐため、平滑化を2回行う。収縮²⁹⁾は、カーネルの1が示すピクセルの画素値の内、最小値を注目画素に与えることで画素値が高い細胞境界領域を細くする。エッジ抽出には、Mexican-hat カーネルが用いられており、境界の強調を行う。その他の代表的なエッジ抽出手法には、Sobel, Laplacian フィルタなどがあるが、Mexican-hat カーネルが細胞画像において最も効果があると報告されている²⁷⁾。エッジ補正には、膨張を行った画像に収縮を施すクロージング処理でノイズを削減し、Fig. 5.4 のカーネルを用いることで垂直水平方向のエッジの補正を行う。最後に、各ピクセルの画素値を $f(x, y)$ とすると、2値画像の画素値 $g(x, y)$ を式 (5.3) とする。また、本研究での細胞画像に対しては2値化後も細かな細胞境界の誤検出があったため、細胞境界の面積が平均値よりも小さい部分は削除する。

$$g(x, y) = \begin{cases} 1 & \forall f(x, y) \geq 1 \\ 0 & \forall f(x, y) < 1 \end{cases} \quad (5.3)$$

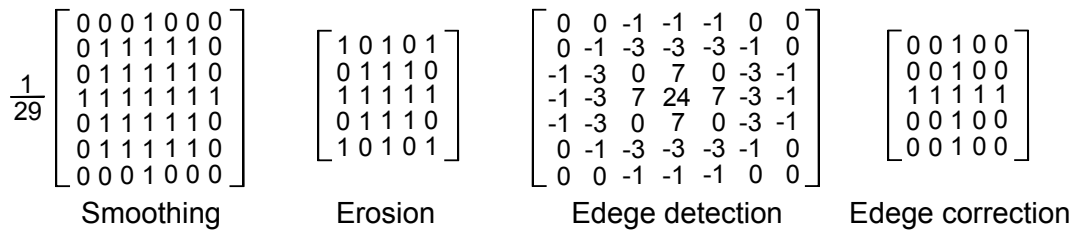


Fig. 5.4 2値化アルゴリズムのカーネル

5.2.4 GNGによる細胞境界のベクトル量子化

本手法では、細胞境界のベクトル量子化に成長型ニューラルガス (GNG) を用いる。ニューラルガス (Neural Gas : NG)³⁰⁾ は、教師なしニューラルネットワークの一種であり、多数の入力ベクトルの集合を少ないユニットで近似するベクトル量子化などに用いられる。NG は入力ベクトルに対するベクトル空間上での距離の順位に基づいて全てのユニットが更新される。しかし、NG の精度はパラメータの初期値に依存することが多いため、成長構造を持ち、効率よく学習を行う GNG が提案されている。砂川らは GNG のユニット同士を結合することによって、文字データの画像骨格抽出手法を提案している³¹⁾。

本アルゴリズムでは、前項の手法で生成した 2 値画像を入力ベクトルとし、GNG を用いて細胞境界のベクトル量子化を行う。白の細胞境界を示す各画素を入力ベクトル v とし、画像上の各ユニット i は参照ベクトルを ω_i を持つ。各入力ベクトルと参照ベクトルは 2 次元の画像の座標ベクトルである。また、ユニット i はカウンタ C_i を持つ。以下に GNG の学習アルゴリズムを示す。

Step.1 初期化

繰り返し回数を $t = 0$ とし、初期ユニット数 $N(t)$ と各ユニットの参照ベクトル $\omega_i(t)$ を設定する。また、各ユニットのカウンタを $C_i(t)$ とし、繰り返し回数 t における入力ベクトルを $v(t)$ とする。

Step.2 入力ベクトルの提示

細胞境界画素の入力ベクトル $v(t)$ を一様分布に与える。

Step.3 入力ベクトルとの距離計算

提示された入力ベクトルと各ユニットの参照ベクトルとの距離 D_i を式 (5.4) で計算する。

$$D_i = \|v(t) - \omega_i(t)\| \quad (5.4)$$

Step.4 ユニットの更新

全ユニットの D_i を比較し、 D_i が小さいものから順に並べる。順番を k とすると、 $D_k : D_0 < D_1 \dots < D_{N-2} < D_{N-1}$ となる。全ユニットの参照ベクトルを式 (5.5) と式 (5.6) によって更新する。この時、 α は学習係数である。

$$\omega_i(t+1) = \omega_i(t) + h_k(v(t) - \omega_i(t)) \quad (5.5)$$

$$h_k = \alpha \exp(-k_i) \quad (5.6)$$

$k = 0$ のユニットを a 、 a に最も近いユニットを b とすると、式 (5.7) を満たす場合にカウンタを式 (5.8) で更新する。なお、最大の繰り返し回数を T_{max} とする。

$$\|v(t) - \omega_a(t)\| > (\|\omega_a(t) - \omega_b(t)\|)^{\frac{t}{T_{max}}} \quad (5.7)$$

$$C_a(t+1) = C_a(t) + 1 \quad (5.8)$$

Step.5 ユニットの追加

繰り返し回数 t が T_{int} 回毎に各ユニットのカウンタを比較し、最大のカウンタを持つユニットを c とする。式 (5.9) を満たす場合はユニットを追加する。

$$C_c(t) > (t/N) \quad (5.9)$$

新規ユニットを r とし、ユニット c に最も近いユニットを d として式 (5.10)~式 (5.13) により、ユニットを追加する。

$$\omega_r(t+1) = \frac{\omega_c(t) + \omega_d(t)}{2} \quad (5.10)$$

$$N(t+1) = N(t) + 1 \quad (5.11)$$

$$C_r(t+1) = \frac{C_c(t)}{3} \quad (5.12)$$

$$C_c(t+1) = \frac{C_c(t)}{3} \quad (5.13)$$

Step.6 終了判定

$t < T_{max}$ を満たすまで、繰り返し回数 t に 1 を加え、Step.2 に戻る。

5.2.5 ユニットの結合と分割結果の作成

前項で説明した GNG で成長させたユニット同士を結合させる。砂川らの画像骨格抽出の研究では、最小全域木を求める Prim 法³²⁾ を適用している。Prim 法のアルゴリズムを以下に示す。

Step.1

空集合 S ，ユニットの集合を U とする。

Step.2

集合 U の任意のユニットを 1 つ選択し、集合 S に移す。

Step.3

集合 U のユニットから集合 S に含まれるユニットまでの距離を求め、距離が最小の点同士を結合する。

Step.4

結合したユニットを集合 S に移し、全てのユニットが集合 S に移るまで Step.3 と Step.4 を繰り返す。

本手法では Prim 法によって作成した最小全域木の画像と、入力ベクトルに用いた 2 値画像の論理和をとる。その後、クロージングと細線化処理³³⁾ によって最終的な分割結果を得る。

5.3 画像処理による培養指標の抽出

提案するシステムでは、前節に説明した手法によって得られた領域分割結果から細胞数、面積のばらつき、六角形細胞率の計測を行う。細胞数と面積のばらつきの抽出の方法としては、ラベリング処理を用いる³⁴⁾。ラベリング処理によって各細胞領域に異なるラベルを付与することで、細胞の数と各細胞の面積を算出することができる。したがって、ラベルの数を細胞数、各ラベルの面積の標準偏差を面積のばらつきとする。また、角膜内皮細胞においては、六角形に近い細胞ほど正常な細胞と判断される。そこで、各細胞が六角形かを判別し、全体の細胞数に対して六角形の細胞がどの程度存在するか(六角形細胞率)を形状の指標として抽出する。六角形の判別では Fig. 5.5 に示すように、各細胞内で最も距離が離れている画素の組を探索し、その2画素を頂点とする正六角形を描画する。描画した正六角形との被覆率を六角形率とし、*F-measure* を用いて表す。*F-measure* は適合率 (*Precision*) と再現率 (*Recall*) の調和平均によって求められる。被覆している領域を *TP*(True Positive)、誤って細胞領域としている領域を *FP*(False Positive)、誤って細胞領域としていない領域を *FN*(False Negative) とすると、*Precision*, *Recall*, *F-measure* は式 (5.14)~式 (5.16) となる。本システムでは六角形率が 0.8 以上の細胞を六角形細胞とし、その細胞数が全体の細胞数に占める割合を六角形細胞率とする。

$$Precision = \frac{TP}{TP + FP} \quad (5.14)$$

$$Recall = \frac{TP}{TP + FN} \quad (5.15)$$

$$F\text{-measure} = \frac{2 \cdot Precision \cdot Recall}{Precision + Recall} \quad (5.16)$$

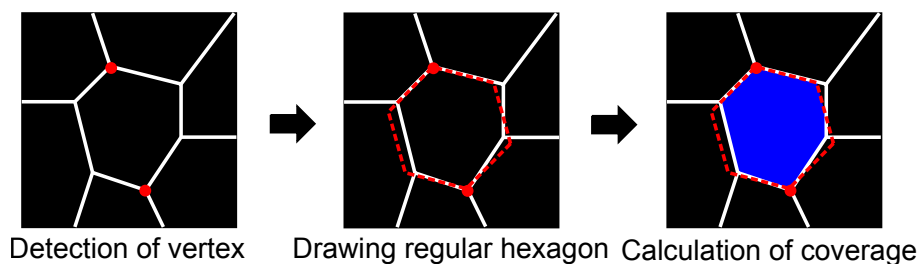


Fig. 5.5 六角形細胞率の算出

6 提案システムの有効性の検証

6.1 実験概要

本章では、細胞画像領域分割問題に対して前章で述べた提案システムと GP による画像処理フィルタの組み合わせ最適化手法、ImageJ の比較を行い、提案システムの有効性を検証する。実験画像は、カニクイザルから採取した角膜内皮細胞に 10%FBS (Fetal Bovine Serum)(ウシ胎児血清)と 2ng/ml bFGF (basic Fibroblast Growth Factor)(ヒト塩基性線維芽細胞増殖因子)を用いて培養した細胞を PBS (Phosphate buffered saline)(リン酸緩衝材生理食塩水)で洗浄し余分な培地を取り除き拡大したものであり³⁵⁾、それぞれ検体が異なる。これらの画像は同志社大学生命医科学部医工学科ティッシュエンジニアリング研究室から提供された画像である。全ての画像は位相差顕微鏡によって 200 倍で撮影した Fig. 6.1 のような 400×300 pixel の細胞画像であり、Image1~5 は培養状態が不良、Image6~10 は良好であると角膜再生医療研究者によって判断されたものである。GP による手法では、これらの画像を 100×100 pixel の計 12 個の領域に分け、学習領域とする。そして、各学習領域を用いて構築したフィルタの組み合わせを全体画像に適用した際の分割精度を比較する。また、ImageJ では、User Guide²¹⁾ で推奨されている細胞領域分割の処理手順を用いる。この処理では、入力画像に対して、順にグレースケール化、平滑化 (Gaussian)、二値化、距離画像変換、Watershed²³⁾ 処理を行う。比較方法として、角膜内皮再生医療の専門家がペイントソフトを用いて作成した正しい分割結果 (Ground truth) に対する誤差を計算する。誤差には 4.3 節で説明した GCE を利用し、1.0 から GCE を引いた値を分割精度として扱う。提案システムでは 10 試行の中央値、GP による手法では各学習領域毎に 10 試行適用し、中央値が 6 番目に高い学習領域の結果を用いる。実験に用いた GP の画像処理フィルタを Table 6.1, Table 6.2 に、GP と GNG のパラメータを Table 6.3, Table 6.4 に示す。最後に、各手法によって得られた分割結果から培養指標を抽出し、比較する。

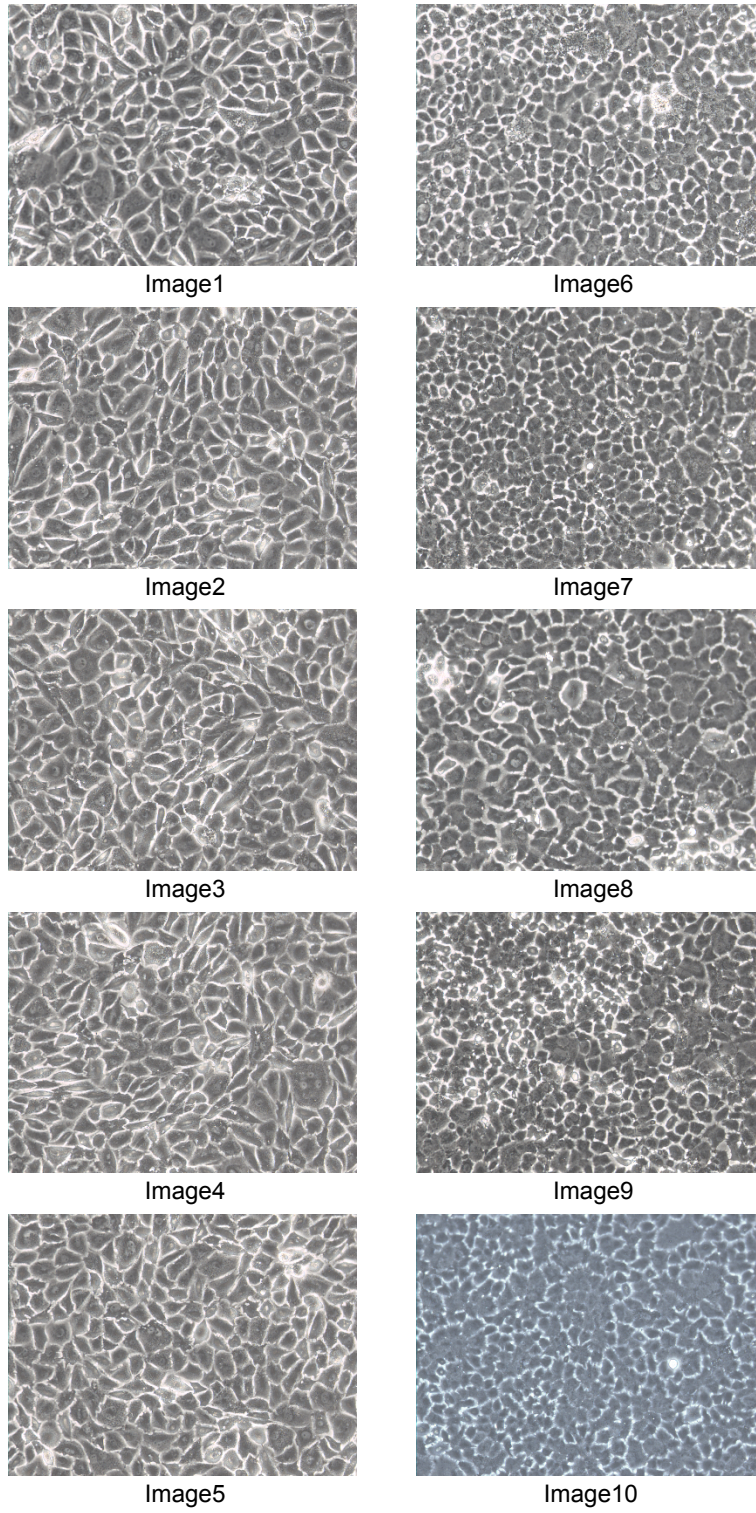


Fig. 6.1 実験画像

Table 6.1 1 入力フィルタ

number	フィルタ名
f1	最小値
f2	最大値
f3	収縮
f4	膨張
f5	平均値
f6	中央値
f7	Gaussian
f8	2 値化 (大津)
f9	反転
f10	孤立領域 (小)
f11	孤立領域 (大)
f12	Watershed
f13	Watershed(距離変換)
f14	Watershed(2 値)
f15	Watershed(距離変換・2 値)

Table 6.2 2 入力フィルタ

number	フィルタ名
F1	論理和
F2	論理積
F3	代数和
F4	代数積
F5	限界和
F6	限界積

Table 6.3 GP のパラメータ

パラメータ	値
個体数	300
世代数	200
交叉率	1.0
突然変異率	0.1
選択方法	トーナメント
トーナメントサイズ	2
深さ制限	20
ペナルティ	1.0×1.0^{-3}

Table 6.4 GNG のパラメータ

パラメータ	値
最大繰り返し回数	100000
初期ユニット数	5
ユニット追加区間	25
学習係数	0.6

6.2 分割精度の比較結果

提案システムの分割結果を Fig. 6.2, GP の分割結果を Fig. 6.3, ImageJ の分割結果を Fig. 6.4 に示す. また, 分割精度の比較結果を Fig. 6.5 に示す. Fig. 6.2~Fig. 6.4 の結果から, 目視による判断において提案システムは適切な分割ができているが, GP では不良な細胞における未分割, ImageJ では良好な細胞における未分割が目立つ. また, Fig. 6.5 が示すように, 全ての実験画像において提案システムの分割精度が上回っていることから, 提案システムは各既存手法よりも優れた性能を有することが示唆される.

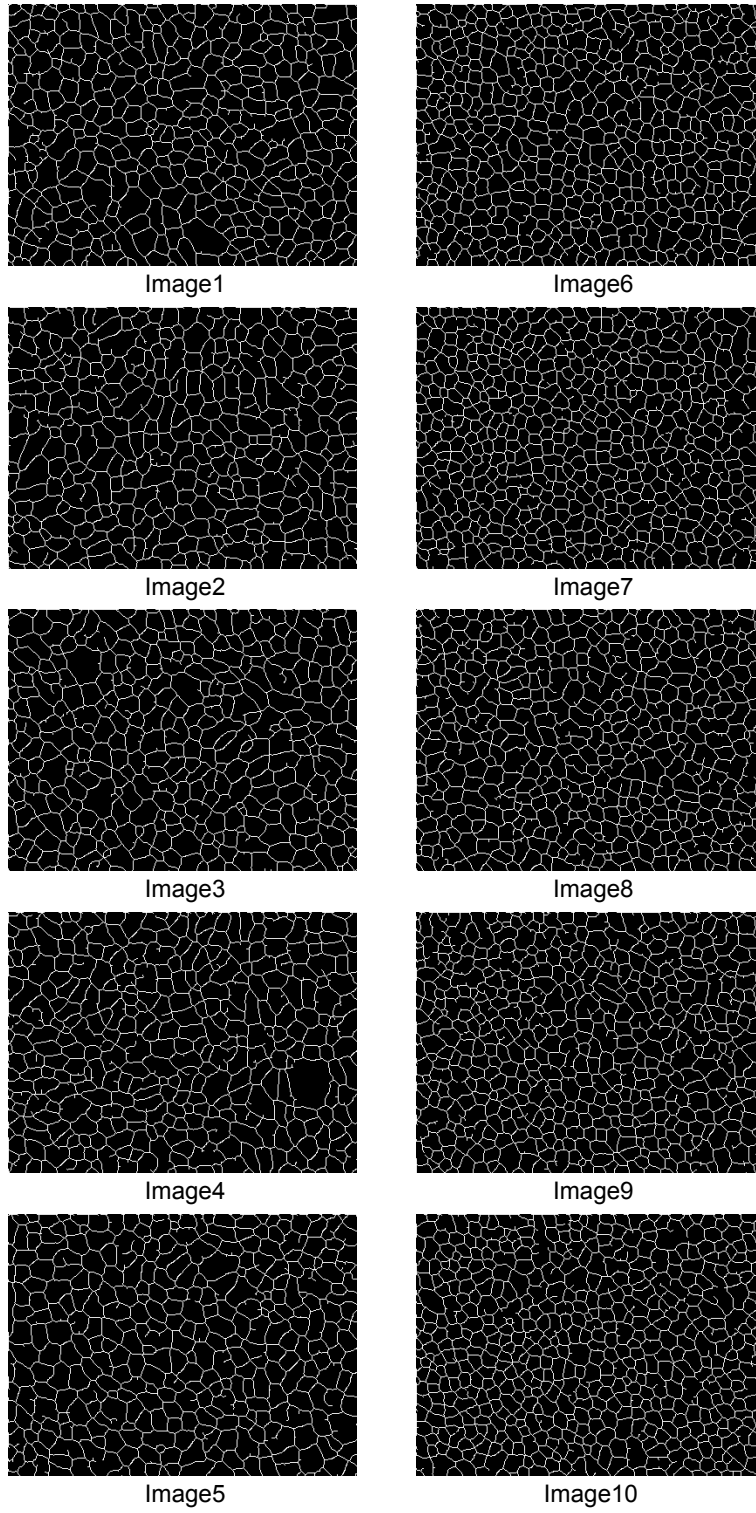


Fig. 6.2 提案システムの結果画像

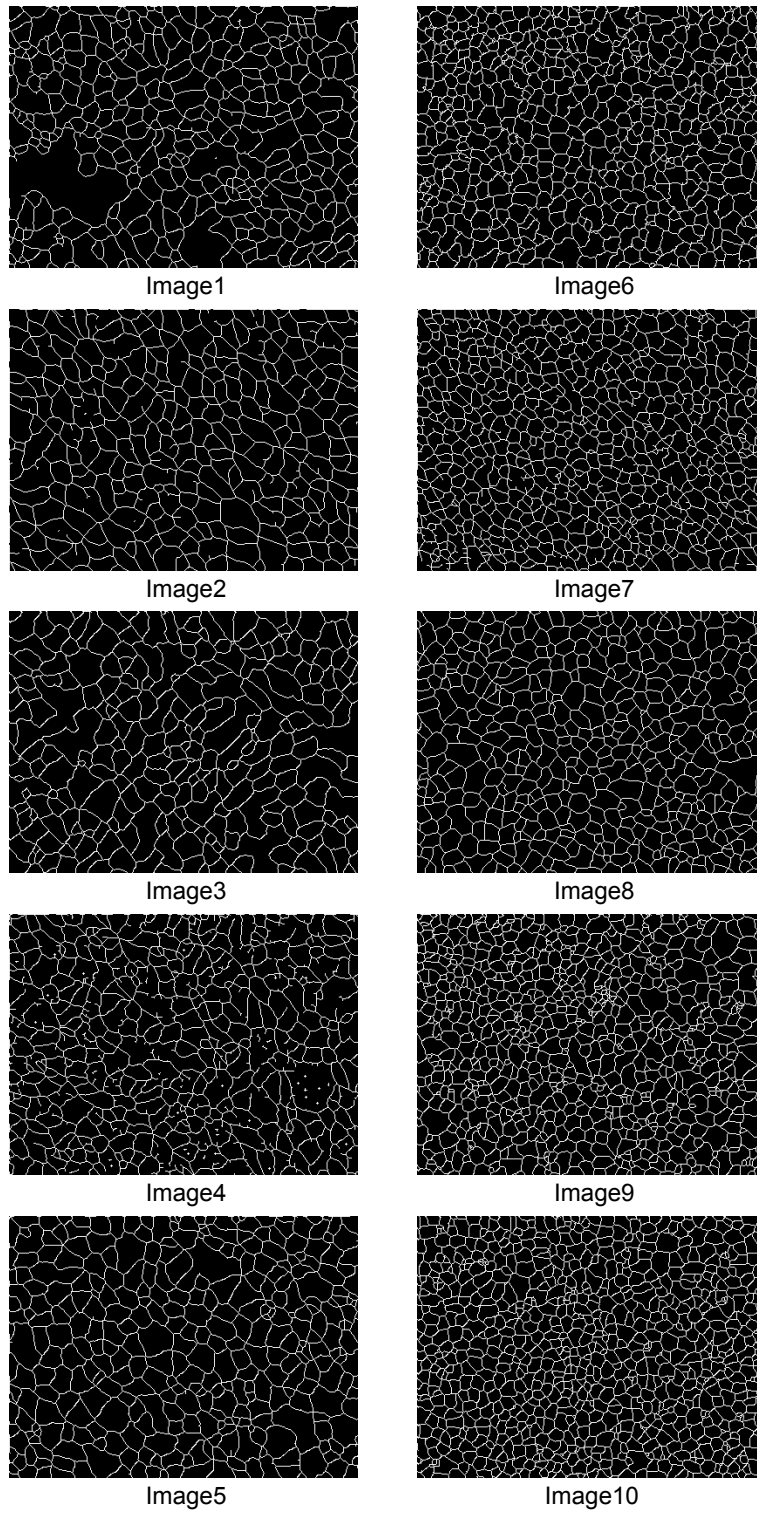


Fig. 6.3 GP の結果画像

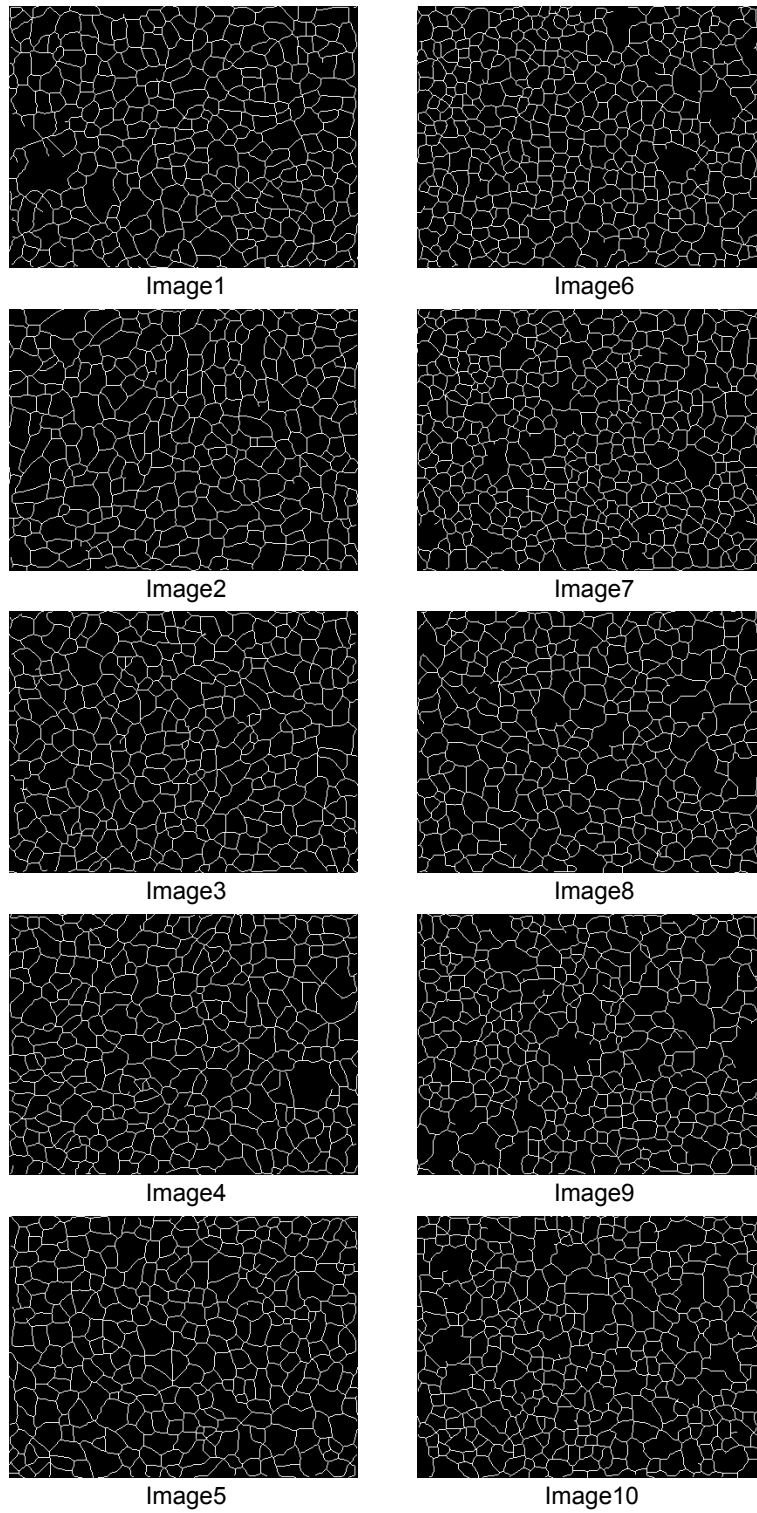


Fig. 6.4 ImageJ の結果画像

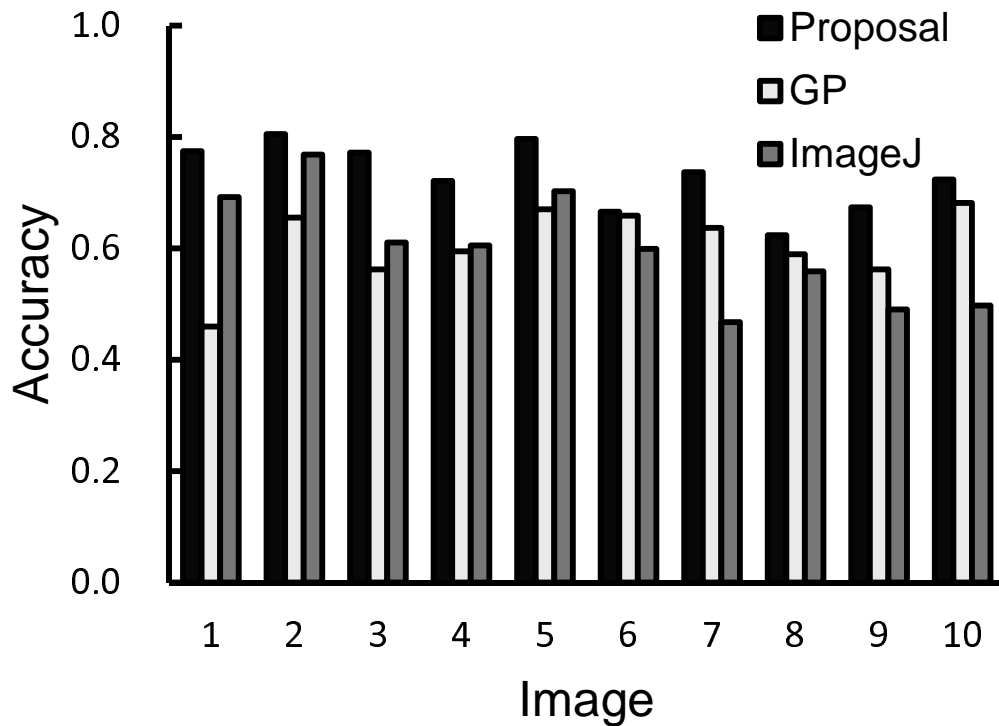


Fig. 6.5 分割精度の比較結果

次に、提案領域分割アルゴリズムにおける2値化手法との分割精度の差を Fig. 6.6 に示す。Image2, 5, 6 以外の画像において、GNG のユニット結合画像を加えることによって分割精度が向上したことが分かる。例として、Image8 における2値化手法と提案アルゴリズムの結果の一部を Fig. 6.7 に示す。Fig. 6.7 より、2値化手法の時点で未分割だった領域が提案アルゴリズムによって分割されたことが確認できる。また、Image2, 5, 6 に関しては、過分割により分割精度が低下したと考えられるが、0.01 未満程度であるため培養指標の抽出に大きな影響を及ぼさないと考えられる。

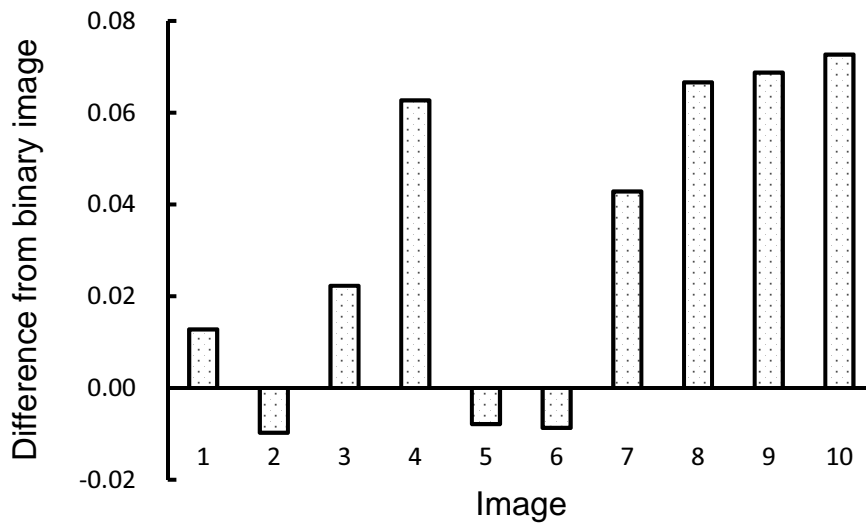


Fig. 6.6 2値化手法との分割精度の差

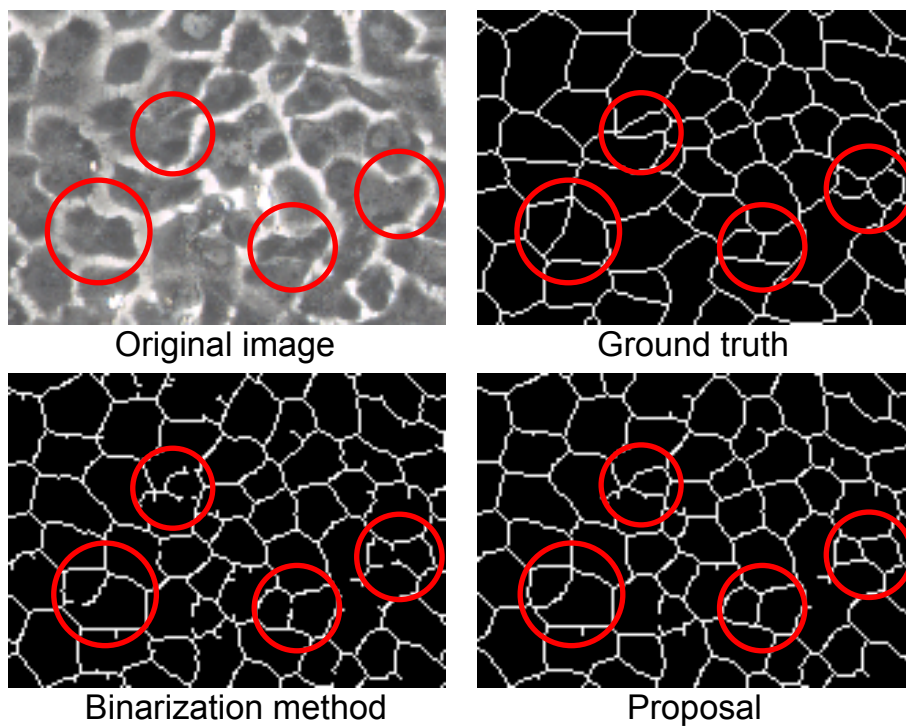


Fig. 6.7 ユニット結合による未分割領域の分割 (Image8)

6.3 培養指標の抽出結果

Ground truth から培養指標を抽出した結果を Table 6.5, 提案システムの抽出結果を Table 6.6, GP の抽出結果を Table 6.7, ImageJ の抽出結果を Table 6.8 に示す. また, 専門家によって不良と判断された Image1~Image5 の培養指標と, 良好と判断された Image6~Image10 の培養指標を平均した結果を Table 6.9~Table 6.12 に示す. 一般的に良好な

細胞ほど細胞数が多く、面積のばらつきが小さく、六角形の細胞が多いとされているが、Table 6.12 より、ImageJ は良好な細胞の方が面積のばらつきが大きい傾向となっている。また、提案システムは全ての培養指標において t 検定により不良と良好細胞間に有意差が認められた ($p < .01$)。

Table 6.5 Ground truth における培養指標抽出結果

指標	Image1	Image2	Image3	Image4	Image5
細胞数 [個]	283	258	262	279	270
面積のばらつき [pixel]	951	828	867	946	808
六角形細胞率 [%]	29.7	34.5	34.7	31.2	35.6
指標	Image6	Image7	Image8	Image9	Image10
細胞数 [個]	456	492	359	521	525
面積のばらつき [pixel]	520	490	651	457	441
六角形細胞率 [%]	54.4	55.3	44.6	53.6	53.5

Table 6.6 提案システムの結果画像における培養指標抽出結果

指標	Image1	Image2	Image3	Image4	Image5
細胞数 [個]	316	295	307	293	291
面積のばらつき [pixel]	861	876	945	1006	886
六角形細胞率 [%]	44.3	51.9	49.2	44.4	47.8
指標	Image6	Image7	Image8	Image9	Image10
細胞数 [個]	441	460	379	419	480
面積のばらつき [pixel]	562	594	702	642	619
六角形細胞率 [%]	60.1	61.3	52.2	53.2	60.2

Table 6.7 GP の結果画像における培養指標抽出結果

指標	Image1	Image2	Image3	Image4	Image5
細胞数 [個]	306	250	232	295	303
面積のばらつき [pixel]	1256	1053	1874	1498	1216
六角形細胞率 [%]	38.9	29.6	32.8	26.4	37.0
指標	Image6	Image7	Image8	Image9	Image10
細胞数 [個]	630	578	415	773	839
面積のばらつき [pixel]	609	501	751	544	369
六角形細胞率 [%]	44.1	38.6	49.4	38.4	42.9

Table 6.8 ImageJ の結果画像における培養指標抽出結果

指標	Image1	Image2	Image3	Image4	Image5
細胞数 [個]	254	239	258	248	258
面積のばらつき [pixel]	1279	1171	1018	1184	1071
六角形細胞率 [%]	46.1	39.3	45.7	39.5	42.6
指標	Image6	Image7	Image8	Image9	Image10
細胞数 [個]	344	354	254	274	290
面積のばらつき [pixel]	1112	1149	1416	1861	1343
六角形細胞率 [%]	58.1	56.5	47.6	50	45.2

Table 6.9 状態毎の指標の比較 (Ground truth)

指標	不良	良好
細胞数 [個]	270	470
面積のばらつき [pixel]	880	512
六角形細胞率 [%]	33.1	52.3

Table 6.10 状態毎の指標の比較 (提案システム)

指標	不良	良好
細胞数 [個]	300	436
面積のばらつき [pixel]	915	624
六角形細胞率 [%]	47.5	57.4

Table 6.11 状態毎の指標の比較 (GP)

指標	不良	良好
細胞数 [個]	277	647
面積のばらつき [pixel]	1380	555
六角形細胞率 [%]	32.9	42.7

Table 6.12 状態毎の指標の比較 (ImageJ)

指標	不良	良好
細胞数 [個]	270	303
面積のばらつき [pixel]	1145	1376
六角形細胞率 [%]	42.7	51.5

次に, Fig. 6.8 に抽出結果の散布図を示す. Fig. 6.8 のグラフは, プロットの半径が細胞数, 横軸が面積のばらつき (面積の標準偏差), 縦軸が六角形細胞率を表している. Fig. 6.8 の結果より, 提案システムにおける培養指標の分布の傾向は他の手法よりも Ground truth に類似していることが目視により確認できる. 以上の事から, 本システムが角膜内皮細胞を培養する際の培養状態の判断に適したシステムであると考えられる.

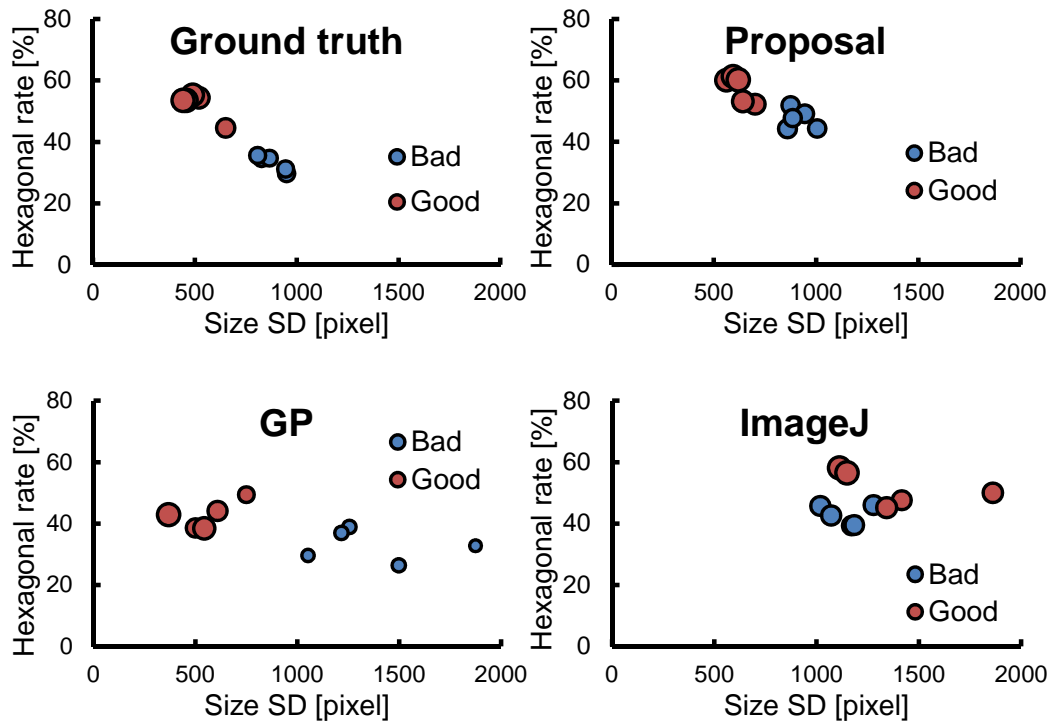


Fig. 6.8 培養指標の抽出結果

7 結論

本論文では、培養角膜内皮細胞の品質評価の支援を目的とし、ロバスト性が高い2値化手法と成長型ニューラルガス (GNG) を用いた領域分割アルゴリズムの提案及び、細胞画像から培養状態の判断に用いる指標を抽出するシステムの提案とその有効性の検証を行った。提案システムではエッジ検出ベースの2値化手法を用いて大局的な細胞境界を高精度に検出した後、未分割である領域を分割するために、GNGによるベクトル量子化で生成したユニットを結合し、論理和画像を生成する。

提案システムの有効性を検証するため、10枚の培養角膜内皮細胞に対して2つの実験を行った。1つ目の実験では、GPを用いた既存の画像処理フィルタの組み合わせ最適化手法と、画像解析ソフトウェアのImageJとの分割精度の比較を行った。実験の結果、提案アルゴリズムは10枚中全ての画像で既存手法よりも高い汎用性を示した。2つ目の実験では、得られた領域分割結果から培養指標の抽出を行った。抽出した培養指標は、細胞数、面積のばらつき(面積の標準偏差)、六角形細胞率である。実験で用いた10枚の画像を専門家が不良と良好に判断した画像に分け、培養指標を比較したところ、良好な細胞では細胞数が多く、面積のばらつきが小さく、六角形細胞率が高い値を示した。また、提案システムの抽出結果の傾向は、専門家によって作成されたGround truthと類似しており、全ての培養指標において有意水準1%のt検定において不良と良好間の有意差が確認された。

以上の検証結果より、提案アルゴリズムが既存手法及び、既存の画像解析ソフトウェアよりも高精度な細胞領域分割を行うことができ、提案システムによって得られた培養指標が培養状態の判断に有用であることが示された。

謝辞

私が本研究室に配属されてからのこの3年間、同志社大学生命医学部の廣安知之教授には多大なる御指導，そして御協力を頂き，心より御礼を申し上げます。また，様々な御指摘，御助言を頂きました同志社大学生命医科学部の山本詩子助教，同志社大学工学部田中美里特別任用助教に深謝致します。本研究を遂行するにあたり，研究ミーティングにおいて多くの議論をして頂いた医用画像班の皆様には特にお世話になりました。さらに，本論文を校正して下さいました林沼勝利氏，早川温子氏にはお忙しい中，丁寧な校正をして頂き感謝しております。最後に，医療情報システム研究室の皆様のおかげで私はこの3年間充実した研究生生活を送ることができました。この場を借りて厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) M. Inaba, “Contact lens wear and corneal endothelial cell loss,” *Journal of the eye*, Vol.26, No.2, pp.187–192, 2009.
- 2) K. Tsubota and S. Hato, “Corneal disease and regenerative medicine,” *TRENDS IN THE SCIENCES*, Vol.15, No.7, pp.7–13, 2010.
- 3) N. Koizumi, “Cultivated corneal endothelial cell sheet transplantation in a primate model,” *Journal of Japanese Ophthalmological Society*, Vol.113, No.11, pp.1050–1059, 2009.
- 4) 紀ノ岡正博, 酒井康行, 細胞治療・再生医療のための培養システム, 株式会社シーエムシー出版, 2010.
- 5) M.D. Abrámoff, P.J. Magalhães and S.J. Ram, “Image processing with imagej,” *Biophotonics international*, Vol.11, No.7, pp.36–42, 2004.
- 6) A.E. Carpenter, T.R. Jones, M.R. Lamprecht, C. Clarke, I.H. Kang, O. Friman, D.A. Guertin, C.H. Joo, L.A. Robert, J. Moffat, P. Golland and D.M. Sabatini, “Cell-profiler: image analysis software for identifying and quantifying cell phenotypes,” *Genome Biology*, Vol.7, No.10, pp.R100.1–R100.11, 2006.
- 7) J.R. Koza, *Genetic Programming On the Programming of Computers by Means of Natural Selection*, MIT Press, 1992.
- 8) S. Aoki and T. Nagao, “Automatic construction of tree-structural image transformations using genetic programming,” in *International Conference on Image Analysis and Processing, 1999. Proceedings*, pp.136–141, 1999.
- 9) Y. Nakano and T. Nagao, “3d medical image processing using 3d-actit : Automatic construction of tree-structural image transformation (computer vision, medical applications and networked mm)(international workshop on advanced image technology (iwait2004)),” *IEICE technical report. Image engineering*, Vol.103, No.540, pp.49–53, 2004.
- 10) T. Hiroyasu, S. Fujita, A. Watanabe, M. Miki, M. Ogura and M. Fukumoto, “Comparison of gp and sap in the image-processing filter construction using pathology images,” in *2010 3rd International Congress on Image and Signal Processing (CISP)*, Vol.2, pp.904–908, 2010.
- 11) T. Hiroyasu, H. Yamaguchi, S. Fujita, M. Miki, M. Yoshimi, M. Ogura and M. Fukumoto, “An algorithm for cancer nest feature extraction from pathological images,”

in *Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC, 2011 Annual International Conference of the IEEE*, pp.3423–3426, 2011.

- 12) H. Yamaguchi, T. Hiroyasu, S. Nunokawa, N. Koizumi, N. Okumura, H. Yokouchi, M. Miki and M. Yoshimi, “Comparison study of controlling bloat model of gp in constructing filter for cell image segmentation problems,” in *2012 IEEE Congress on Evolutionary Computation (CEC)*, pp.1–8, 2012.
- 13) T. Hiroyasu, S. Nunokawa, H. Yamaguchi, N. Koizumi, N. Okumura and H. Yokouchi, “Algorithms for automatic extraction of feature values of corneal endothelial cells using genetic programming,” in *2012 Joint 6th International Conference on Soft Computing and Intelligent Systems (SCIS) and 13th International Symposium on Advanced Intelligent Systems (ISIS)*, pp.1388–1392, 2012.
- 14) F. Bernd, “A growing neural gas network learns topologies,” in *Advances in Neural Information Processing Systems 7*, pp.625–632, 1995.
- 15) 小泉範子, 奥村直毅, 木下 茂, “臨床応用を目指した角膜内皮再生医療の開発,” 同志社大学理工学研究報告, Vol.52, No.4, pp.261–266, 2012.
- 16) N. Koizumi, K. Nishida, S. Amano and S. Kinoshita, “Progress in the development of tissue engineering of the cornea in japan,” *Journal of Japanese Ophthalmological Society*, Vol.111, No.7, pp.493–503, 2007.
- 17) T. Ide, K. Nishida, M. Yamato, T. Sumide, M. Utsumi, T. Nozaki, A. Kikuchi, T. Okano and Y. Tano, “Structural characterization of bioengineered human corneal endothelial cell sheets fabricated on temperature-responsive culture dishes,” *Biomaterials*, Vol.27, No.4, pp.607–614, 2006.
- 18) 西田幸二, “角膜の再生医療,” 東北医学雑誌, Vol.118, No.2, pp.117–122, 2006.
- 19) 加藤竜二, 本多裕之, “細胞インフォマティクスによる細胞品質評価法,” 生物工学学会誌 : seibutsu-kogaku kaishi, Vol.88, No.12, pp.646–648, 2010.
- 20) 竹本智子, 横田秀夫, “細胞内観察画像における領域分割性能の評価,” 理研シンポジウム「VCAD システム研究 2010」講演要旨集, Vol.2, No.3, pp.228–231, 2010.
- 21) T. Ferreira and W. Rasband, “Imagej user guide ij 1.45m,” 2011.
- 22) D.E. Goldberg, *Genetic Algorithms in Search, Optimization, and Machine Learning*, Addison-Wesley, 1989.
- 23) L. Vincent and P. Soille, “Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations,” *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, Vol.13, No.6, pp.583–598, 1991.

- 24) D. Martin, C. Fowlkes, D. Tal and J. Malik, “A database of human segmented natural images and its application to evaluating segmentation algorithms and measuring ecological statistics,” *IEEE International Conference on Computer Vision*, Vol.2, pp.416–423, 2001.
- 25) W. Xuqing and S.K. Shah, “A bottom-up and top-down model for cell segmentation using multispectral data,” in *2010 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, pp.592–595, 2010.
- 26) 下田陽久高木幹雄, 新編画像解析ハンドブック, 東京大学出版社, 2004.
- 27) P. Rangel-Fonseca, A. Gómez-Vieyra, D. Malacara-Hernández, M.C. Wilson, W.D. R. and E.A. Rossi, “Automated segmentation of retinal pigment epithelium cells in fluorescence adaptive optics images,” *J. Opt. Soc. Am. A*, Vol.30, No.12, pp.2595–2604, 2013.
- 28) R.C. Gonzalez and R.E. Woods, *Digital Image Processing*, Addison-Wesley, 1993.
- 29) J.P. Serra, *Image Analysis and Mathematical Morphology*, Academic, 1982.
- 30) T.M. Martinetz, S.G. Berkovich and K.J. Schulten, “‘neural-gas’ network for vector quantization and its application to time-series prediction,” *IEEE Transactions on Neural Networks*, Vol.4, No.4, pp.558–569, 1993.
- 31) K. Sunakawa and T. Saito, “A-2-29 growing neural gas and skeletonization,” *Proceedings of the Society Conference of IEICE*, Vol.2010, p.60, 2010.
- 32) R.L. Graham and P. Hell, “On the history of the minimum spanning tree problem,” *Annals of the History of Computing*, Vol.7, No.1, pp.43–57, 1985.
- 33) H. Tamura, “A comparison of line thinning algorithms from digital geometry viewpoint,” in *Proc. 4th Int. Conf. Pattern Recognition*, pp.715–719, 1978.
- 34) 田村秀行, コンピュータ画像処理, オーム社, 2002.
- 35) N. Okumura, M. Ueno, Y. Sakamoto, K. Hirata, J. Hamuro and S. Kinoshita, “Enhancement on primate corneal endothelial cell survival in vitro by a rock inhibitor,” *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Vol.50, No.8, pp.3680–3687, 2009.

付 図

3.1	ImageJ のインタフェース	4
4.1	フィルタの組み合わせ最適化の原理	5
4.2	遺伝子型	7
4.3	遺伝的操作	8
4.4	Watershed アルゴリズム	9
4.5	GP のフィルタの組み合わせ最適化による問題点	10
5.1	提案システムの概要	11
5.2	領域分割アルゴリズムの概要	12
5.3	ヒストグラム平坦化	13
5.4	2 値化アルゴリズムのカーネル	13
5.5	六角形細胞率の算出	16
6.1	実験画像	18
6.2	提案システムの結果画像	20
6.3	GP の結果画像	21
6.4	ImageJ の結果画像	22
6.5	分割精度の比較結果	23
6.6	2 値化手法との分割精度の差	24
6.7	ユニット結合による未分割領域の分割 (Image8)	24
6.8	培養指標の抽出結果	27

付 表

6.1	1 入力フィルタ	19
6.2	2 入力フィルタ	19
6.3	GP のパラメータ	19
6.4	GNG のパラメータ	19
6.5	Ground truth における培養指標抽出結果	25
6.6	提案システムの結果画像における培養指標抽出結果	25
6.7	GP の結果画像における培養指標抽出結果	25
6.8	ImageJ の結果画像における培養指標抽出結果	26
6.9	状態毎の指標の比較 (Ground truth)	26
6.10	状態毎の指標の比較 (提案システム)	26
6.11	状態毎の指標の比較 (GP)	26
6.12	状態毎の指標の比較 (ImageJ)	27