

散在神経系における神経細胞の画像解析

安 藤 浩 司*

Image Analysis of the Neurons in Diffuse Nervous System

Hiroshi ANDO

Abstract

The freshwater coelenterate Hydra has strong regeneration capacity and has diffuse nervous system which is one of the most simple nervous system in the animal. The nervous system of Hydra is maintained by the dynamic process of production, movement and loss of neurons. In order to analysis of the diffuse nervous system, image analysis of the RF-amide⁺ neurons of Hydra was performed.

1. はじめに

最近、学習・自己組織化機能を持つコンピュータとして人間や生物の脳における情報処理と神経回路網の特徴を取り入れたニューラルネットワーク・ニューロコンピュータの研究が盛んに行われており、またそれと平行して人間を含めた様々な生物の脳や神経回路網及び神経細胞の研究が行われている。通常の動物の神経細胞は一度分化してしまえば他の機能をもつ細胞にはならず、またある時期を過ぎると新たには生成されずに徐々に消滅していくが、再生力の強い生物として有名で形態形成研究におけるモデル系になっている腔腸動物ヒドラでは、通常の状態では未分化の幹細胞から神経細胞が分化・生成されていて、神経細胞の生成・分化・移動・消滅という動的過程により神経網の定常状態が保たれており、更に神経細胞は移動により存在する場所が変化すると別の種類の神経細胞に分化転換する。また頭部などの再生時には神経網も同時に再生し、神経網の自己組織化が行われる。

このヒドラの神経系は脳などの中枢神経系をもたない「散在神経系」であり、動物の中では最も単純な神経系である。しかし個々の神経細胞は形態・機能共他の動物のものと同じの性質を持っている。またヒドラから神経細胞を特異的に取り除くことができ、この状態でも人工的に飼育することが可能であり、この神経の無いヒドラに別の種類のヒドラの神経細胞を導入して神経網を形成させることもできる。このようにヒドラは形態形成研究と共に神経系特に神経網の自己組織化の研究にとっても非常に興味深い実験系であるといえる。最近このヒドラの神経系をモノクローナル抗体や神経ペプチドの抗血清を用いて可視化し観察できるようになり、より詳しい神経網の解析が可能になった。そこで本研究では可視化されたヒドラの散在神経系の解析を目的として、画像処理手法を用いて神経細胞の特徴抽出を試みた。

2. 使用した神経細胞画像データ

材料に用いたヒドラは、日本産チクビヒドラ (*Hydra magnipapillata*) の標準野生系統である 105 である。105 の写真を図 1 に示す。主として

平成 4 年 12 月 15 日受理

* 情報システム工学研究所講師

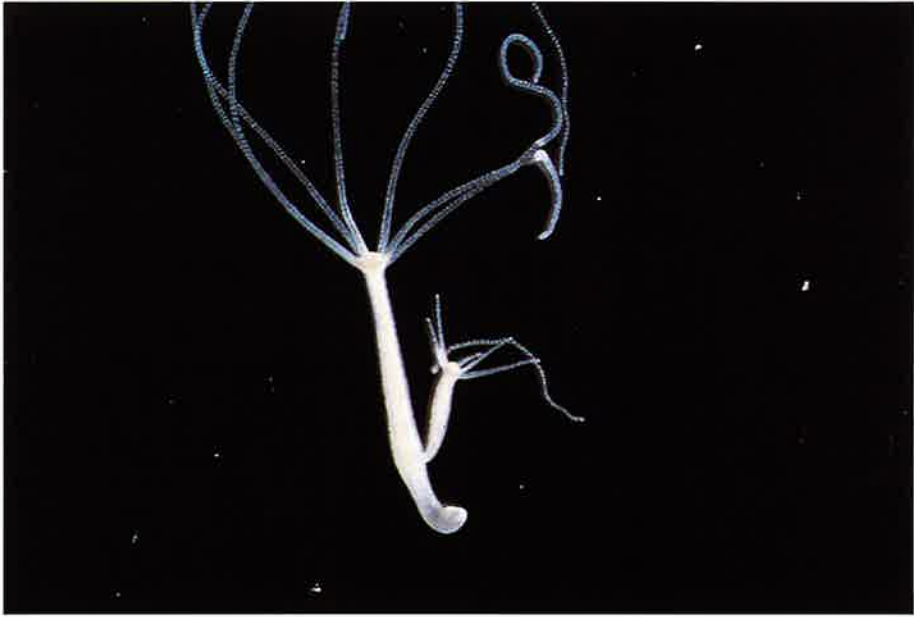


図1 日本産チクビヒドラ (105)

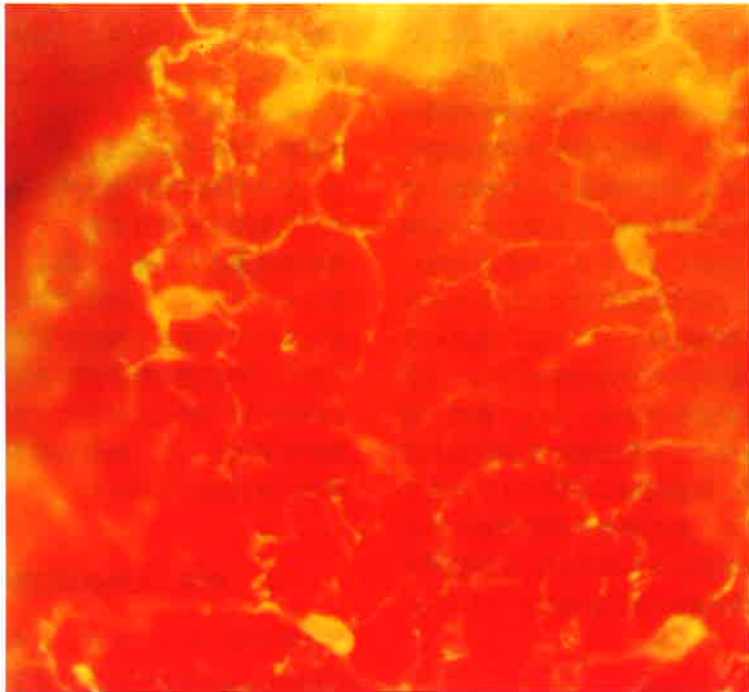
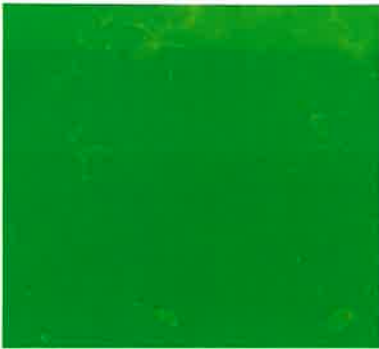


図2 ヒドラの RF-amide 陽性神経節細胞 (触手部)



(A) R成分



(B) G成分

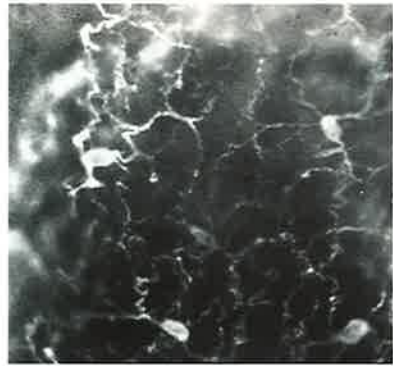


(C) B成分

図3 神経細胞のRGB成分(カラー)



(A) R成分



(B) G成分



(C) B成分

図4 神経細胞のRGB成分(モノクロ)

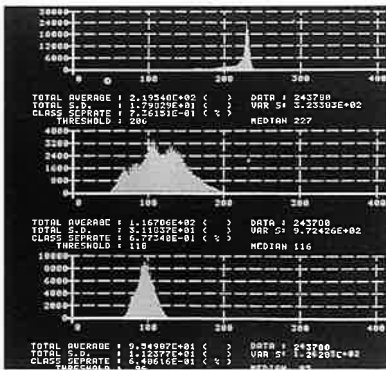


図5 ヒストグラム (上から順にRGB成分)

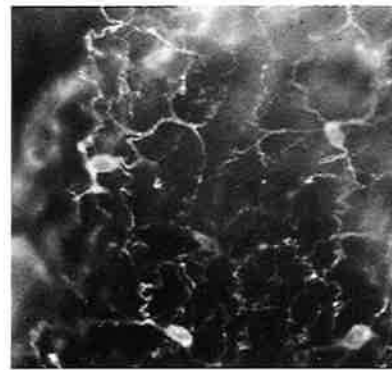


図8 鮮明化画像

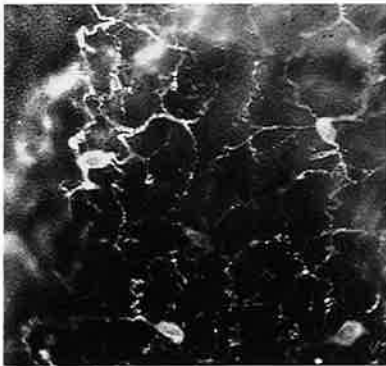


図6 G/R画像

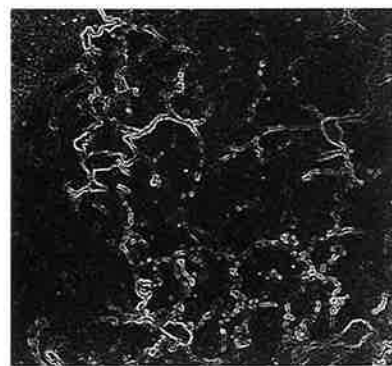


図9 エッジ抽出画像

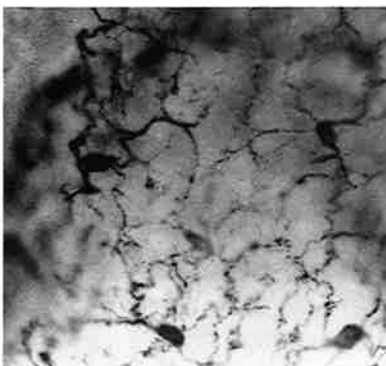


図7 ネガ画像

頭部（触手及び口丘）・腔腸部・足部からなる比較的簡単な構造を持つ。体の脇に見えるのは、出芽と呼ばれる自己増殖過程により形成された芽体（子供）である。

このヒドラ RF-amide 陽性の神経細胞を本研究の対象とした。RF-amide 陽性の神経細胞は、次に述べる間接蛍光抗体染色法により可視化される。間接蛍光抗体染色法とは免疫組織化学的手法の一つであり、神経細胞に対して一次抗体として神経ペプチドの一つである RF-amide の抗血清を用いて免疫反応を起こさせ、更に二次抗体として蛍光抗体を用いて免疫反応させ、紫外線照射によってより可視化する染色方法である。RF-amide 陽性の神経細胞は、主に触手・口丘・足部に分布しており、腔腸部には余りみられない。更に RF-amide 陽性の神経細胞のうち、刺激を受け取る感覚細胞は主として口丘部に集中しており、他の部分では主として刺激を伝達する神経節細胞がみられる。

以上の方法により染色した RF-amide 陽性の神経細胞を、蛍光顕微鏡を用いて 400 倍の倍率に拡大して撮影した写真を入力画像として使用した。

以上のヒドラとその神経細胞の写真は国立遺伝学研究所の杉山教授より提供していただいたものである。

画像入力にはドラムスキャナを用いてサンプリングピッチ 100 μm で行った。入力した画像は 512×512 画素からなり（表示領域は 512×480 画素）、RGB 各 8 ビット（256 階調）の 1,600 万色フルカラー画像である。

各処理は東芝製の画像処理装置 TOSPIX-U1 上で、メニュー形式の粒子解析ソフトウェアを用いて行った。

3. 神経細胞の画像処理

画像処理装置に入力した神経細胞の画像を図 2 に示す。この中で黄色に見えているのが触手部の RF-amide 陽性の神経節細胞である。この

画像の RGB 各成分を図 3（カラー）と図 4（モノクロ）に示す。またこの RGB 各成分のヒストグラムを図 5 に示す。RGB 成分とヒストグラムを見てわかるのは、R 成分が背景で、G と B 成分が神経細胞を表しているということである。特に G 成分がより広い階調で神経細胞の特徴を表している。これは蛍光抗体で染色した結果であると考えられる。

そこでこの画像から神経細胞の部分をより鮮明に抽出するために、RGB 各成分の画像を用いて各種の画素間演算を行ってみた（結果はモノクロ画像になる）。その結果 G 成分を R 成分で除算（除算した浮動小数点データを正規化したもの）した画像が一番よく神経細胞の特徴を表していた。この画像（以後 G/R 画像と呼ぶ）を図 6 に示す。

次に神経細胞の様々な特徴を捉えるために、この G/R 画像に対して各種の処理を行った。

明るさを反転したネガ画像を図 7 に示す。ポジ画像では分かりにくかった神経細胞の内部の構造がはっきりしていることがわかる。

コントラスト強調をした後、ハイパスフィルタをかけたものを図 8 に示す。神経細胞がより鮮明に見えてくる。

ソーベルオペレータによって微分をしたものを図 9 に示す。神経細胞のエッジが抽出され、樹状突起と軸索による神経網の様子がよくわかるようになっている。

4. 考 察

本研究ではヒドラの触手部 RF-amide 陽性の神経節細胞の特徴をより鮮明に抽出した。ヒドラの散在神経系では、神経網が体全体に一樣に分布しているのではなく、部位によって神経細胞の種類・密度や神経網の分布が異なっている。そこで更に他の部位の神経細胞についても特徴を抽出し、神経細胞の分布や結合の状態、更に神経網の特徴を定量的に促え、散在神経系より詳細な解析を行っていきたいと考えてい

る。

またヒドラでは様々な再生異常（形態形成異常）を起こす突然変異体が分離されているが、それらの突然変異体では神経網形成においても通常の個体とは様々な相違点が見られ、形態形成と神経網形成という2つの自己組織化過程は密接な関係にあることが最近の研究により明らかになっている。そこで突然変異体の神経網についても画像解析を行い、通常の個体とどのような違いがみられるかについて解析を行っていきたいと考えている。

5. む す び

散在神経系をもつ腔腸動物ヒドラの神経細胞の蛍光抗体写真から、画像処理手法を用いて神経細胞の特徴をより鮮明に抽出した。

謝 辞

本研究に使用したヒドラの神経細胞写真を提供して下さいました国立遺伝学研究所の杉山教授に深く感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) 小泉 修: サイエンス, 第19巻, 第1号(1989)
- 2) O. Koizumi, S. Heimfeld, H.R. Bode: Dev. Biol. 129, pp. 358-371 (1988)
- 3) H.R. Bode, S. Heimfeld, O. Koizumi, C.L. Littlefield, M.S. Yaross: Amer. Zool. 28, pp. 1053-1063 (1988)
- 4) 山川 潔: 昭和60年度東邦大学卒業研究論文, (1986)