

生体の自己組織化過程における動的過程の画像解析

安 藤 浩 司*

Image Analysis about Dynamic Process in Self-organization Process of Organism

Hiroshi ANDO*

Abstract

The freshwater coelenterate Hydra has strong regeneration capacity. Hydra also regenerates from aggregation of dissociated cells. In this regeneration process, the dynamic process of cell selection, hole generation and form generation are visible. In order to analyze this dynamic process, image analysis about dynamic process in regeneration of aggregate of cells was performed.

1. はじめに

生物において最も生物らしいと思われる特徴の一つに、初期発生においてみられる、形態や構造の自己組織化過程があげられる。

再生力の強い生物として有名な腔腸動物ヒドラは、生体の自己組織化過程の研究においてモデル系になっており、自己組織化過程が初期発生においてだけではなく再生過程においてもみられ、また頭部や足部の再生を行うだけでなく、1個1個の細胞に解離してから再集合させた解離細胞集合体からも再生することができる。この解離細胞集合体からの自己組織化過程においては、様々な変化がみられる。形態形成過程では細胞選別、空洞形成、構造形成の3つの動的過程がみられ、更に神経網形成過程では神経細胞の幹細胞から神経細胞の分化、神経細胞の移動、神経網の形成等の動的過程がみられる。このどちらの過程においても細胞の移動や集合体全体としての動きの変化等の目で見える動的な過程が重要な役割を果たしている。そこで本研究ではこの動的な過程を定量的に捉えることを目的とし、解離細胞集合体からの自己組織化過程の動的過程の解析を行った。

2. 使用した解離細胞集合体データ

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)であり、通常ヒドラはこの出芽によって自己のクローンを複製して増殖する。

このヒドラを高浸透圧溶液中で機械的に解離させ、ナイロンメッシュを通して細胞懸濁液を作り、遠心機により細胞の無秩序な濃縮集合体を作り、再生(自己組織化)させる。次にこの集合体からの自己組織化過程における動き、形態の時間的変化を、実体顕微鏡に装着した CCD ビデオカメラと可変間欠撮影ができるタイムラプスビデオを用いて記録する。ヒドラは動きの変化が遅いため、また自己組織化過程の長時間にわたる変化を記録するため、タイムラプスビデオを用いている。

3. 画像解析システム

前節の解離細胞集合体の自己組織化過程の時間変化の映像を、A/D コンバータにより一定の時間間隔で画像解析装置にデジタル動画像として入力する。使用した画像解析装置は Power Macintosh 8100/100AV で、画像の取り込みは内蔵のビデオ回路を用い、画像処理ソフトウェアとして NIH Image を元に改良された Scion Corporation の Scion Image 1.62 を用い、直接入力・画像処理・画像解析の総合処理を行った。

4. 解離細胞集合体の動的過程の画像解析

細胞選別が終わり空洞化して、形態が再生し始めている過程にある解離細胞集合体の動きの変化を取り込んだ画像を、全体的な動きの変化を見るために、各コマに番号を付けて背景と分離して、細胞集合体のみを抽出した。この画像を図 2 に示す。

これは 90 秒おきの変化を示しており、再生するために集合体が形を変え、動いているのが分かる。この集合体の動きを解析するために、各画像における集合体の変化量の抽出を行った結果、時間とともに輪郭の形が変化しているのが分かった。更に細胞集合体自身の移動を調べるために、重心の空間的位置の時間変化を測定した結果



図1 日本産チクビヒドラ (105)

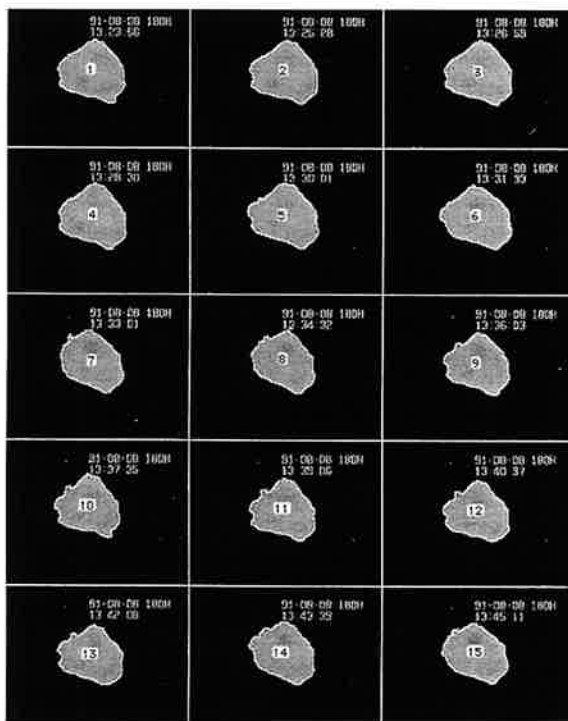


図2 解離細胞集合体の抽出 (90秒間隔)

を図3に示す。細胞集合体は輪郭の形だけではなく、位置も変えて動いていることが分かった。

これらはある再生過程における局所的な時間変化であるが、集合体の各再生過程における時間変化が重要であると思われるため、各過程における動的特徴量を定義する試みを行ってみた。

具体的には、図4に示すように、集合体の重心を中心として、角度方向における形の変化を表す量として、輪郭線の重心からの距離の変化の測定を行った。

各々の時間における動的特徴量の角度方向の分布の計測結果を図5に示す。

また角度方向と時間方向の変化を同時に表す、3次元グラフを図6に示す。時間的には若干の揺らぎがあるが、角度方向にある特定の周波数で周期的に変化している様

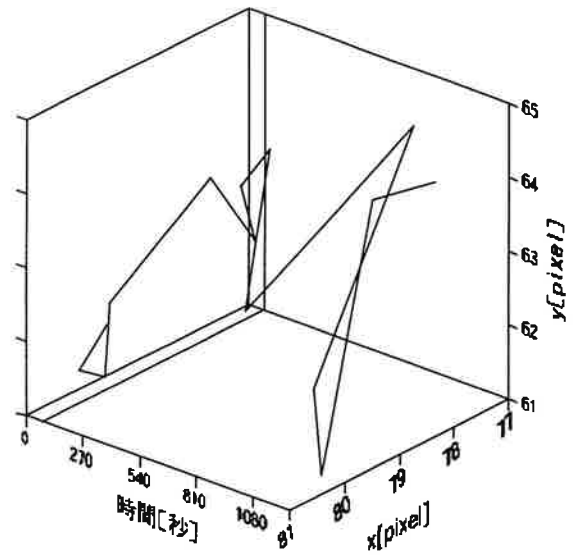


図3 重心の位置の時間変化 (0.06 mm/pixel)

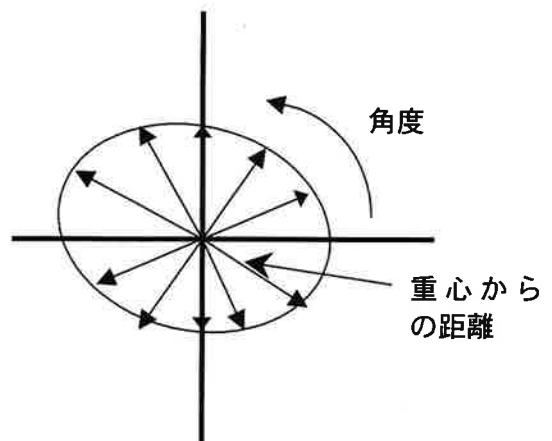


図4 動的特徴量の測定方法

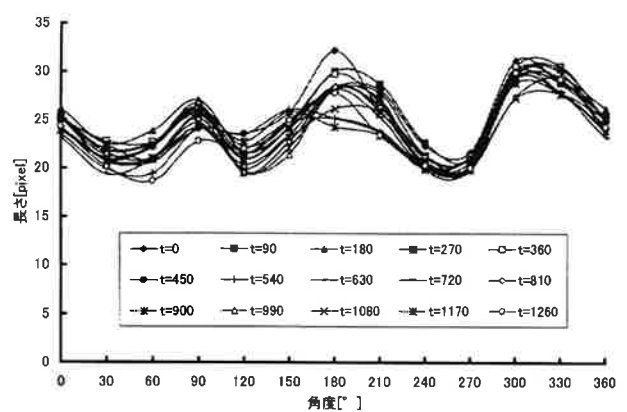


図5 各時間における動的特徴量の角度方向分布

子をはっきりと見られる。ヒドラの自己組織化過程では周期的な信号が重要な役割を果たしているという報告があるため、更に詳しい空間周波数解析を行い、特徴的な周波数の抽出と各過程における違いの解析を行うことにより、自己組織化過程における動的特徴量として扱うこ

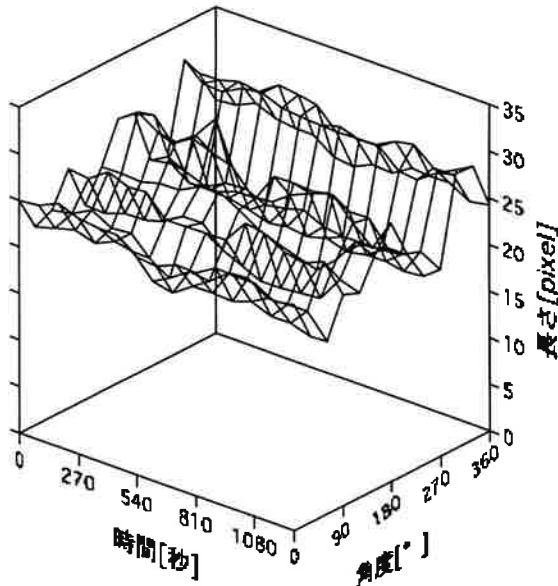


図6 動的特徴量の角度方向と時間方向の変化

とができることが予想される。

5. 考 察

今回用いた解離細胞集合体の画像は、自己組織化過程における一部の過程のものである。そこで、細胞選別過程、空洞形成過程、構造形成過程等の異なる各過程における動きの変化を調べる必要がある。そこで今回提案した、形の変化の空間周波数を、動的特徴量として一般的に扱うことにより、より詳しい解析をおこなうことが可能となる。

また、今回の動的特徴量の測定は、手作業で行っているため、時間と手間と手間がかかるため、現在プログラミングによる自動測定を行うことを進めている。更に形

態形成や神経網形成などの生体における自己組織化過程は、動的な過程であるため、その動的過程における変化量の1つとしてのこの動的特徴量を当てはめて解析することにより、生体における動的過程を総合的に定量化して扱うことが可能になると考えられる。

現在、他の自己組織化過程の解析として、ハイドロアクティニア（ウミヒドラ）に対する形態形成物質（活性ペプチド）の影響を調べるために、内胚葉と外胚葉の動きの解析を行っており、内胚葉と外胚葉の比率が周期的に変化していることが確認されている。

更に現在 NIH Image を元に Widows95 用に移植された Scion Image beta3 を用いて、処理速度の向上と画像解析動作の確認を行っている。

参 考 文 献

- 1) H. Ando, Y. Sawada, H. Shimizu and T. Sugiyama: Pattern Formation in Hydra Tissue without Developmental Gradients, Dev. Biol. 133, 405/414, (1989)
- 2) M. Sato and Y. Sawada: Regulation in the numbers of hypostomes and tentacles of aggregated Hydra cells, Dev. Biol. 133, 119, (1989)
- 3) 沢田康次: 自律分散系としての生体システム, 計測と制御, 32-10, 811/815 (1993)
- 4) 沢田康次: 非平衡系の秩序と乱れ, 136/159, 朝倉書店 (1993)
- 5) Y. Sawada: A scaling theory of living state, Physica A, 204, 543/554, (1994)
- 6) T. Itayama and Y. Sawada: Development of Electrical Activity in Regenerating Aggregates of Hydra Cells, J. Exp. Zool., 273, 519/526 (1995)
- 7) 沢田康次: 非線形と自己組織, 電子情報通信学会誌, 88-11, 1204/1208 (1997)
- 8) J.P. Rieu, N. Kataoka and Y. Sawada: Quantitative analysis of cell motion during sorting in two-dimensional aggregates of dissociated hydra cells, PHYSICAL REVIEW E, 57-1, 924/931 (1998)