

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号  
特許第5984559号  
(P5984559)

(45) 発行日 平成28年9月6日 (2016.9.6)

(24) 登録日 平成28年8月12日 (2016.8.12)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 21/17 (2006.01)

GO 1 N 21/17 A

GO 1 N 33/48 (2006.01)

GO 1 N 33/48 M

請求項の数 15 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2012-169600 (P2012-169600)	(73) 特許権者	000000376
(22) 出願日	平成24年7月31日 (2012.7.31)		オリンパス株式会社
(65) 公開番号	特開2014-29287 (P2014-29287A)		東京都八王子市石川町2951番地
(43) 公開日	平成26年2月13日 (2014.2.13)	(74) 代理人	100108855
審査請求日	平成27年7月8日 (2015.7.8)		弁理士 蔵田 昌俊
		(74) 代理人	100159651
			弁理士 高倉 成男
		(74) 代理人	100088683
			弁理士 中村 誠
		(74) 代理人	100109830
			弁理士 福原 淑弘
		(74) 代理人	100075672
			弁理士 峰 隆司
		(74) 代理人	100095441
			弁理士 白根 俊郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 壊死細胞領域検出装置及びその方法、壊死細胞領域検出プログラム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得する画像取得手段と、

前記細胞画像群中における所定時点に取得した前記細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割する領域分割手段と、

前記所定時点で取得した前記細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解する帯域分割手段と、

前記複数の領域毎に、前記高域画像からテクスチャ特徴量を算出する特徴量算出手段と、

前記複数の領域毎に、前記低域画像から輝度平均値を算出する輝度算出手段と、

前記領域に対して、前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する判別手段と

を具備することを特徴とする壊死細胞領域検出装置。

【請求項 2】

前記領域分割手段により分割された前記領域毎に、前記所定時点に取得した前記細胞画像と、前記所定時点よりも以前又は以降の時点のうちいずれか一方又は両方に取得した前記細胞画像との間における局所的な輝度分布の類似度を算出する類似度算出手段を具備し、

前記判別手段は、前記領域に対して前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値と前記類似度からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において前記壊死細胞により形成されているか否かを判別する、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 3】

前記類似度算出手段は、前記領域毎に、当該領域の周辺を対象とした前記細胞画像間における平均二乗誤差を類似度として算出することを特徴とする請求項 2 に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 4】

前記帯域分割手段は、前記細胞画像に対して平滑化処理を行って前記低域画像を生成する低域画像生成手段と、

前記細胞画像から前記低域画像を減算して前記高域画像を生成する高域画像生成手段と、  
を有することを特徴とする請求項 1 乃至 3 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 5】

前記テクスチャ特徴量は、画素値分布のランダム性に基づく特徴量であることを特徴とする請求項 1 乃至 4 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 6】

前記テクスチャ特徴量は、画素値分布の複雑度に基づく特徴量であることを特徴とする請求項 1 乃至 4 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 7】

前記テクスチャ特徴量は、同時生起行列に基づく特徴量であることを特徴とする請求項 1 乃至 6 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 8】

前記テクスチャ特徴量は、画素値のヒストグラムに基づく特徴量であることを特徴とする請求項 1 乃至 6 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 9】

前記判別手段は、前記特徴空間における線形判別関数に基づく線形判別処理により前記領域が前記壊死細胞により形成されている領域か否かを判別することを特徴とする請求項 1 乃至 8 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 10】

前記判別手段は、前記特徴空間における非線形判別処理により前記領域が前記壊死細胞により形成されている領域か否かを判別することを特徴とする請求項 1 乃至 8 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 11】

前記細胞画像群は、明視野顕微鏡により取得されることを特徴とする請求項 1 乃至 10 のうちいずれか 1 項に記載の壊死細胞領域検出装置。

【請求項 12】

コンピュータの処理によって、  
経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像を行って取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得し、

前記細胞画像群中における所定時点に取得した前記細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割し、

前記所定時点で取得した前記細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解し、

前記領域毎に、前記高域画像からテクスチャ特徴量を算出し、

前記領域毎に、前記低域画像から輝度平均値を算出し、

前記領域に対して、前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する、

10

20

30

40

50

ことを特徴とする壊死細胞領域検出方法。

【請求項 1 3】

前記領域毎に、前記所定時点に取得した前記細胞画像と、前記所定時点よりも以前又は以降の時点のうちいずれか一方又は両方に取得した前記細胞画像との間における局所的な輝度分布の類似度を算出し、

前記領域に対して前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値と前記類似度からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において前記壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する、

ことを特徴とする請求項 1 2 に記載の壊死細胞領域検出方法。

【請求項 1 4】

コンピュータに、

経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得させる画像取得機能と、

前記細胞画像群中における所定時点に取得した前記細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割させる領域分割機能と、

前記所定時点で取得した前記細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解させる帯域分割機能と、

前記領域毎に、前記高域画像からテクスチャ特徴量を算出させる特徴量算出機能と、

前記領域毎に、前記低域画像から輝度平均値を算出させる輝度算出機能と、

前記領域に対して、前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において壊死細胞により形成されている領域か否かを判別させる判別機能と、

を実現させるための壊死細胞領域検出プログラム。

【請求項 1 5】

前記領域分割機能により分割された前記領域毎に、前記所定時点に取得した前記細胞画像と、前記所定時点よりも以前又は以降の時点のうちいずれか一方又は両方に取得した前記細胞画像との間における局所的な輝度分布の類似度を算出させる類似度算出機能を含み、

前記判別機能は、前記領域に対して前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値と前記類似度からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において前記壊死細胞により形成されている領域か否かを判別させる、

ことを実現させるための請求項 1 4 に記載の壊死細胞領域検出プログラム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、例えば明視野顕微鏡等を用いた撮像により取得された細胞画像から壊死細胞により形成される領域を検出する壊死細胞領域検出装置及びその方法、壊死細胞領域検出プログラムに関する。

【背景技術】

【0002】

従来から医療・ライフサイエンス分野では、顕微鏡を通して撮影された細胞画像を用いた様々な細胞解析が行われている。例えば、ES細胞、iPS細胞等、幹細胞の研究においては、細胞分化メカニズムの解明や、創薬開発等を目的として、時系列で撮影された複数の細胞画像から細胞の分化過程や形態的特徴変化を観察し、細胞毎の性質の違いを調べるといった作業が一般的に行われている。又、細胞画像の解析に関しては、従来目視で行われていた個々の細胞のスクリーニング等の煩雑な作業が画像認識等の画像処理技術を応用することで自動化することが可能になりつつある。かかる画像処理技術を応用すれば、細胞画像に含まれる個々の細胞輪郭線を算出し、細胞の形態情報や個体数等、或いは細胞の動きやその移動距離等を検出することで、細胞活性度合いを計測することが出来る。

細胞の活動は、細胞分裂による細胞の増殖のみならず、アポトーシス（自然死）及びネ

10

20

30

40

50

クローシス（壊死）と呼ばれる細胞死滅のメカニズムの働きによりバランスを保ちながら成り立っている。

アポトーシスは、初めに細胞核で変化が起こり、この細胞核と細胞とが縮小してアポトーシス小体を形成した後、免疫細胞に貪食され痕跡を残さず消化される。一方、ネクローシスは、細胞全体が次第に膨張し、細胞質が変化した後、最終的に細胞膜が破裂する。その際、細胞内容物が残留し、炎症などの原因となる（細胞溶解）。

#### 【 0 0 0 3 】

ネクローシスにより細胞内容物が残留した領域（以降、壊死領域と称する）は、細胞認識における個々の細胞の抽出において生細胞領域との区別を困難とし、正確な細胞数の計測、またそれによる細胞活性度合いの評価等に悪影響を与える可能性が高いため、壊死領域を正確に把握する必要がある。

10

特許文献 1 は、薬剤スクリーニングを目的とし、顕微鏡により取得した細胞画像中の各細胞の形態的な特徴を表す形態特徴量に基づき生細胞又は死細胞のいずれかに判定する方法を開示する。具体的に特許文献 1 は、細胞の形態を表現する形態特徴量として細胞の輪郭形状の円又は球からのずれ量を用いた判定を行い、この判定の結果、ずれ量の大きな細胞は、円形又は球形を標準としてかなりの歪みを生じているものとし、活発に活動を行っている生細胞と判定し、これに対してずれ量が小さく円形又は球形に近い細胞について活性を失い死滅に近づいたと判定する。

#### 【 先行技術文献 】

#### 【 特許文献 】

20

#### 【 0 0 0 4 】

【 特許文献 1 】 特開 2 0 0 7 - 2 0 4 4 9 号公報

#### 【 発明の概要 】

#### 【 発明が解決しようとする課題 】

#### 【 0 0 0 5 】

特許文献 1 は、死細胞を円形又は球形に近い形態を成すことを想定しているが、壊死により細胞膜が破壊され、細胞内容物が残留するケースでは、必ずしも円形状を成すとは限らない。

特に位相差顕微鏡による細胞画像に対する処理において顕著であるが、細胞画像中から個々の細胞を抽出する際に、細胞輪郭線と細胞内部の構造に基づくエッジ成分（例えば細胞内部に位置する細胞核周囲のエッジ等）とが混在して細胞の区別が付きにくい場合、或いは複数の細胞が密集し、細胞輪郭線の不明瞭な部分が多く見られる場合には、本来複数の細胞領域であるものを一つの領域として抽出する（未分割）、或いは 1 つの細胞領域を複数の領域として抽出してしまう（過分割）などの理由で、正確な細胞形態を検出することは難しい。

30

従って、ずれ量を算出するための前提となる円の当てはめも、必ずしも精度良く当てはめが行われるとは限らず、また一つ一つの細胞個別に当てはめられるとも限らない。

#### 【 0 0 0 6 】

本発明は、上記問題を鑑みてなされたものであり、壊死細胞領域を高精度に検出することが可能な壊死細胞領域検出装置及びその方法、壊死細胞領域検出プログラムを提供することにある。

40

#### 【 課題を解決するための手段 】

#### 【 0 0 0 7 】

本発明の主要な局面に係る壊死細胞領域検出装置は、経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得する画像取得手段と、前記細胞画像群中における所定時点に取得した前記細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割する領域分割手段と、前記所定時点に取得した前記細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解する帯域分割手段と、前記複数の領域毎に、前記高域画像からテクスチャ特徴量を算出する特徴量算出手段と、前記複数の領域毎に、前記低

50

域画像から輝度平均値を算出する輝度算出手段と、前記領域に対して、前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する判別手段とを具備する。

本発明の主要な局面に係る壊死細胞領域検出方法は、コンピュータの処理によって、経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像を行って取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得し、前記細胞画像群中における所定時点に取得した前記細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割し、前記所定時点で取得した前記細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解し、前記領域毎に、前記高域画像からテクスチャ特徴量を算出し、前記領域毎に、前記低域画像から輝度平均値を算出し、前記領域に対して、前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する。

10

本発明の主要な局面に係る壊死細胞領域検出プログラムは、コンピュータに、経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得させる画像取得機能と、前記細胞画像群中における所定時点に取得した前記細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割させる領域分割機能と、前記所定時点で取得した前記細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解させる帯域分割機能と、前記領域毎に、前記高域画像からテクスチャ特徴量を算出させる特徴量算出機能と、前記領域毎に、前記低域画像から輝度平均値を算出させる輝度算出機能と、前記領域に対して、前記テクスチャ特徴量と前記輝度平均値からなる特徴空間を形成し、前記特徴空間において壊死細胞により形成されている領域か否かを判別させる判別機能とを実現させる。

20

【発明の効果】

【0008】

本発明によれば、壊死細胞領域を高精度に検出することが可能な壊死細胞領域検出装置及びその方法、壊死細胞領域検出プログラムを提供できる。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】本発明に係る壊死細胞領域検出装置の第1の実施の形態を示す構成図。

【図2】同装置における帯域分割部を示す具体的な構成図。

30

【図3】同装置における撮像部により取得された細胞画像と帯域分割部により生成される低域画像及び高域画像の各輝度値分布を一次元的に表した一例とを示す図。

【図4】同装置における撮像部により取得された細胞画像を示す模式図。

【図5】同装置における領域分割部により領域分割するときの細胞の境界線部分を示す模式図。

【図6A】同装置に適用する注目領域内の画素値の一例を示す図。

【図6B】同装置により記録される隣接した画素対に関して出現頻度をカウントして算出される同時生起行列の一例を示す図。

【図7】同装置の判別部によるエントロピーと輝度平均値との空間で線形判別関数を用いての壊死領域・非壊死領域の判別を説明するための図を示す。

40

【図8】同装置の壊死細胞領域検出装置フローチャート。

【図9】本発明に係る壊死細胞領域検出装置の第2の実施の形態を示す構成図。

【図10】同装置の壊死細胞領域検出装置フローチャート。

【発明を実施するための形態】

【0010】

[第1の実施の形態]

以下、本発明の第1の実施の形態について図面を参照して説明する。

図1は壊死細胞領域検出装置の構成図を示す。本装置は、撮像部100と、帯域分割部110と、領域分割部120と、テクスチャ特徴量算出部130と、輝度平均算出部140と、判別部150と、記録部160とを有する。

50

撮像部 100 は、帯域分割部 110 と領域分割部 120 とに接続されている。帯域分割部 110 は、テクスチャ特徴量算出部 130 と、輝度平均算出部 140 とに接続されている。領域分割部 120 は、テクスチャ特徴量算出部 130 と、輝度平均算出部 140 と、判別部 150 とに接続されている。さらに、テクスチャ特徴量算出部 130 と輝度平均算出部 140 とは、それぞれ判別部 150 に接続されている。この判別部 150 は、記録部 160 に接続されている。これら各部 100、110、...、160 は、それぞれ例えばシステムコントローラに接続されて動作制御される。

#### 【0011】

これら各部 100、110、...、160 は、例えば CPU（中央演算処理装置）と演算プログラムを格納する RAM、ROM 等の記憶装置などから構成してもよい。この場合、ROM には、演算プログラムとしての壊死細胞検出プログラムが格納されている。

10

この壊死領域判別装置プログラムは、コンピュータとしての CPU に、経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得させる画像取得機能と、細胞画像群中における所定時点に取得した細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割させる領域分割機能と、所定時点で取得した細胞画像に対して低周波成分により成る低域画像と高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解させる帯域分割機能と、領域毎に、高域画像からテクスチャ特徴量を算出させる特徴量算出機能と、領域毎に、低域画像から輝度平均値を算出させる輝度算出機能と、領域に対して少なくともテクスチャ特徴量と輝度平均値とに基づいて壊死細胞により形成されている領域が否かを判別させる判別機能とを実現する。

20

#### 【0012】

撮像部 100 は、観察対象の細胞群を撮像して細胞画像を取得する。この撮像部 100 は、経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得する画像取得手段としての機能を有する。この撮像部 100 は、例えば CCD 等の撮像素子と、A/D 変換器とを有する。この撮像部 100 は、例えば位相差顕微鏡（Phase contrast microscope）にカメラを取り付けたもので、このカメラにより位相差顕微鏡で拡大された細胞群の位相差像を撮像する。撮像部 100 は、位相差顕微鏡にカメラを取り付けたものに限定されることはなく、例えば微分干渉顕微鏡（Differential interference contrast microscope：DIC）等、他の明視野顕微鏡に対して適用することも可能である。

30

撮像部 100 は、位相差顕微鏡により撮影された細胞群の位相差像を撮像素子と A/D 変換器等とを介してデジタル信号に変換し、例えば 8 ビット（256 階調）のモノクロ原画像信号 F として出力する。このモノクロ原画像信号 F は、帯域分割部 110 と領域分割部 120 に転送される。

#### 【0013】

ここで、位相差顕微鏡は、光の回折現象を利用したもので、異なる屈折率を持つ物質間を透過する光の位相差（光路差）をコントラストとして得ることができるので、透明な細胞や微生物等の対象物を観察するのに適している。この位相差顕微鏡を通して撮影した画像は、背景領域と試料との境界線、細胞内部構造の細部ディテール周辺、或いは死滅した細胞の残骸等のごみ領域周辺においてハロ（アーティファクト）と呼ばれる強いコントラストを発生するという特徴を有する。このハロは、位相差顕微鏡により取得される細胞画像において、背景と個々の細胞との境界部分にオーラ状の光として特に強く表れる。

40

なお、本実施の形態において位相差顕微鏡による位相差像は、見かけ上、背景領域が明るく、細胞領域が相対的に暗く撮影されるポジティブコントラスト像である。この位相差顕微鏡による位相差像は、ポジティブコントラスト像に限定されるものではなく、ネガティブコントラスト像の場合においても、階調を反転させポジティブコントラスト像のように扱うことで処理することが可能である。

#### 【0014】

帯域分割部 110 は、所定時点で取得した細胞画像から低周波成分により成る低域画像

50

と、高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解する帯域分割手段としての機能を有する。具体的に帯域分割部 110 は、所定の多重解像度分解処理を行うことによって、モノクロ原画像信号 F を異なる周波数帯域成分を含む複数の帯域画像に分解する。ここでは、帯域分割部 110 は、モノクロ原画像信号 F 中の低周波成分を含む低域画像 L と、モノクロ原画像信号 F 中の高周波成分を多く含む高域画像 H との 2 つの成分画像に分解する。

#### 【0015】

低域画像 L は、細胞画像の中の背景領域上や細胞領域内部に存在する微細構造・ディテール、及びノイズを取り除き、かつ背景領域と細胞領域との輝度変化に差が現れやすい周波数帯域を多く含むことが好ましい。

高域画像 H は、細胞画像の中で細胞を構成するエッジ・ハ口による高周波成分をできるだけ多く含むことが好ましい。

図 2 は帯域分割部 110 の具体的な構成図を示す。この帯域分割部 110 は、例えば低域画像生成手段としての低域生成部 200 と、高域画像生成手段としての高域生成部 210 とを有する。これら低域生成部 200 と高域生成部 210 との各入力側は、それぞれ撮像部 100 に接続されている。低域生成部 200 は、高域生成部 210 と輝度平均算出部 140 とに接続されている。高域生成部 210 は、テクスチャ特徴量算出部 130 に接続されている。

#### 【0016】

低域生成部 200 は、細胞画像に対して平滑化処理を行って低域画像 L を生成する。具体的に低域生成部は、撮像部 100 から転送されたモノクロ原画像信号 F に対して所定の平滑化フィルタ、例えばガウシアンフィルタを適用し、このフィルタ出力を低域画像 L として輝度平均算出部 140 と高域生成部 210 とに転送する。なお、本実施の形態において低域生成部 200 は、ガウシアンフィルタを用いて平滑化しているが、これに限らず、低周波成分を抽出する手段であれば如何なるものでも適用可能である。

#### 【0017】

図 3 (a) は撮像部 100 により取得された細胞画像の輝度値分布を一次元に簡略化して示した例である。低域生成部 200 は、同図 (a) に示す元の細胞画像に対して平滑化処理を行って同図 (b) に示すような低域画像 L を生成する。なお、図 3 (a) (b) (c) は細胞が壊死した領域の輝度値も含む。

又、図 4 は撮像部 100 により取得された細胞画像の模式図を示す。この細胞画像には、各生細胞 Q と、これら生細胞 Q 間に存在する壊死細胞やその残留物 G とを含む。

#### 【0018】

高域生成部 210 は、細胞画像から低域画像 L を減算して高域画像 H を生成する。具体的に高域生成部 210 は、撮像部 100 から転送されたモノクロ原画像信号 F と、低域生成部 200 から転送された低域画像 L との間の対応する画素値間で各差分値を求め、これら差分値を高域画像 H としてテクスチャ特徴量算出部 130 に転送する。図 3 (c) は細胞画像から低域画像 L を減算して生成された高域画像 H の輝度値の分布の一例を示す。

このように帯域分割部 110 は、モノクロ原画像信号 F から低域画像 L と高域画像 H とを生成する。

#### 【0019】

なお、本実施の形態では、モノクロ原画像信号 F を低域画像 L と高域画像 H との 2 つの帯域の画像に分けているが、これに限らず、モノクロ原画像信号 F に対して多重解像度分解を行うことにより帯域をより細かく分解することで、モノクロ原画像信号 F を 3 つ以上の帯域の画像にそれぞれ分割し、これら帯域画像の中から背景と細胞領域の輝度変化とが顕著に表れやすい帯域画像、及び細胞・死滅細胞等を構成するエッジ・ハ口を多く含む帯域画像を所定の条件、例えば画素値のコントラスト・分散に基づく閾値処理等により選択し、それぞれ低域画像 L と高域画像 H として適用することも可能である。

#### 【0020】

領域分割部 120 は、細胞画像群中における所定時点に取得した細胞画像に対してそれ

10

20

30

40

50

ぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割する領域分割手段としての機能を有する。この領域分割部 120 は、例えば、細胞画像に対して領域分割処理を行い、細胞画像中の細胞領域毎に個々の領域として切り分ける。この細胞画像に対する領域分割処理は、処理対象の細胞画像に対し、当該細胞画像内の特徴が類似し空間的に近接した 1 つ以上の画素集合により構成される領域に分割するための処理である。

一般に位相差顕微鏡を通して撮影した細胞画像は、細胞境界線上の輝度が高く、細胞内部の輝度が低い。本実施の形態では、かかる細胞画像の特徴を考慮し、領域分割手法の一つであるウォーターシェッド法（分水嶺領域分割法）を用いた領域分割を行い、個々の細胞領域に切り分ける。このウォーターシェッド法は、細胞画像の輝度値勾配に基づく分割を行い、同画像中の輝度値が高く輝度値勾配の高い部分、すなわち図 5 に示すように細胞の境界線部分を分割線にして分割を行う。分割された個々の領域には、ラベリング処理により領域番号が付与され、当該領域番号を画素値とした領域分割画像 K を生成する。なお、領域分割処理は、必ずしもウォーターシェッド法に限定されるものではなく、細胞領域を的確に分割できればどのような手法でも適用可能である。この生成された領域分割画像 K は、テクスチャ特徴量算出部 130 と、輝度平均算出部 140 と、判別部 150 とにそれぞれ転送される。

#### 【0021】

テクスチャ特徴量算出部 130 は、領域分割画像 K 中の個々の領域毎に、高域画像 H 上の画素値分布に基づくテクスチャ特徴量を算出する特徴量算出手段としての機能を有する。このテクスチャ特徴量算出部 130 は、高域画像 H 上の各画素値に基づき領域毎に、局所的なテクスチャ特徴量を算出する。このテクスチャ特徴量は、高域画像 H における画素値分布のランダム性に基づく特徴量であり、または上記高域画像 H における画素値分布の複雑度に基づく特徴量である。またはテクスチャ特徴量は、上記高域画像 H における画素の同時生起行列に基づく特徴量である。

#### 【0022】

本実施の形態では、テクスチャ特徴量として、テクスチャ解析手法として広く知られる同時生起行列に基づくテクスチャ特徴量の一つであるエントロピーを適用した。以下、高域画像 H 中の所定の注目領域に関して同時生起行列を作成し、テクスチャ特徴量としてエントロピーを算出する方法について説明する。

同時生起行列は、画像中のテクスチャの統計的特徴量算出手段として広く知られている方法の一つであり、画像内に含まれる一定の位置関係にある画素対の出現頻度・確率を行列（同時生起行列）の形で表す。この同時生起行列からは、様々なテクスチャ特徴量を算出することができる。

#### 【0023】

まず、同時生起行列のサイズを抑えて計算量を小さくするために、高域画像 H の階調数を所定の数に圧縮した階調圧縮画像を作成する。同時生起行列の大きさは、階調数 × 階調数の正方行列となる。本実施の形態では、例えば 4 階調（画素値 = 0 ~ 3）に圧縮する。

次に、注目画素を中心とした所定の大きさの注目領域を設定する。本実施の形態では、説明を簡略化するために、注目領域のサイズを例えば 5 × 5 画素領域とする。なお、領域の形状は、本実施の形態のように矩形である必要は無く、領域分割部 120 における領域分割結果に基づく任意の形状をしていてもかまわない。

#### 【0024】

次に、注目領域から抽出する画素対の位置関係を設定する。本実施の形態では、横方向に隣接する（画素間の距離  $d = 1$ 、角度  $= 0^\circ$ ）画素対を設定し、この画素対を成す左側の画素を  $i$ 、右側の画素を  $j$  とし、それぞれの画素値を  $L_i$ 、 $L_j$  とする。なお、 $i = 0, 1, 2, 3, \dots, n$  であり、 $j = 0, 1, 2, 3, \dots, m$  である。

#### 【0025】

次に、注目領域に含まれる全ての隣接した画素対に関して、その出現頻度をカウントし、同時生起行列  $P(L_i, L_j)$  に記録する。すなわち、注目領域内で、画素対  $L_i$ 、

10

20

30

40

50



$L_j$  が存在する頻度を同時生起行列  $P$  の  $L_i$  行  $L_j$  列要素に記録する。

図 6 A は具体的な注目領域内の画素値の一例を示し、図 6 B はその際に算出される同時生起行列の一例を示す。図 6 A に示す注目領域内では  $L_i = 3$ 、 $L_j = 2$  の画素対が 2 対存在しているので、図 6 B に示す同時生起行列の要素  $P(3, 2) = 2$  となっている。又、図 6 A に示す注目領域内では  $L_i = 0$ 、 $L_j = 0$  の画素対が 5 対存在しているので、図 6 B に示す同時生起行列の要素  $P(0, 0) = 5$  となっている。

【 0 0 2 6 】

画素対  $L_i$ 、 $L_j$  が存在する全ての頻度を記録した後、出現頻度の総数で  $P(L_i, L_j)$  を正規化する。そして、算出した同時生起行列  $C$  からテクスチャ特徴量を算出する。

本実施の形態では、テクスチャ特徴量として式 (1) により定義されるテクスチャ特徴量であるエントロピー (Entropy) を適用する。ここで、 $L$  は、行列の大きさ (階調数) を表す。このテクスチャ特徴量のエントロピーは、画素値分布のでたらめさ、ランダム性を計る指標であり、注目領域内に画素値がランダムに含まれるほど値が小さくなる。

【 0 0 2 7 】

【 数 1 】

$$\text{エントロピー} = - \sum_{L_i=0}^{L-1} \sum_{L_j=0}^{L-1} P_{\delta}(L_i, L_j) \log \{P_{\delta}(L_i, L_j)\} \quad \dots (1)$$

高域画像  $H$  の画素毎に算出したテクスチャ特徴量のエントロピーは、判別部 150 に転送される。

なお、同時生起行列  $C$  から算出できるテクスチャ特徴量は、様々に定義されており、例えば以下に示す角二次モーメント (Angular second moment) や、分散 (Variance) の逆数もテクスチャ特徴量として適用可能である。

角二次モーメントは、式 (2) に示すように定義される。この角二次モーメントは、特定の画素対が多く存在し、一様性が大きいほど値が大きくなる。

【 0 0 2 8 】

【 数 2 】

$$\text{角二次モーメント} = - \sum_{L_i=0}^{L-1} \sum_{L_j=0}^{L-1} P_{\delta}(L_i, L_j)^2 \quad \dots (2)$$

分散は、式 (3) に示すように定義される。この分散は、注目領域に含まれる画素値差が大きく、要素のばらつき・複雑さが大きいほど値が大きくなる。分散の逆数は、逆に小さくなる。

【 0 0 2 9 】

【 数 3 】

$$\text{分散} = \sum_{L_i=0}^{L-1} \sum_{L_j=0}^{L-1} |L_i - L_j|^2 P_{\delta}(L_i, L_j) \quad \dots (3)$$

輝度平均算出部 140 は、領域分割画像  $K$  内の領域ごとに、当該領域内に含まれる低域画像  $L$  上の画素値 (輝度値) の輝度平均値を算出する。この輝度平均算出部 140 は、低域画像  $L$  に基づいて輝度の平均値を算出することで、細胞画像中に含まれるノイズや、輝度の極端な変動に影響されない安定した領域分割画像  $K$  内の領域毎の輝度平均値を算出する。

【 0 0 3 0 】

判別部 150 は、領域のテクスチャ特徴量、及び平均輝度値に基づき壊死領域か否かの判別を行う。これは 2 変数（すなわちテクスチャ特徴量・輝度平均値）に基づき 2 クラス、すなわち壊死領域と非壊死領域とに分類する判別分析と等価であり、本実施形態では、線形判別関数を用いた判別分析に基づき壊死領域を特定する。

図 7 に判別部 150 によるエントロピーと輝度平均値で構成されるベクトル空間における線形判別関数 H を用いた壊死領域・非壊死領域判別を説明するための図を示す。判別部 150 は、エントロピーと輝度平均値との空間において線形判別関数 H を境に壊死領域と非壊死領域とを判別する。

#### 【0031】

この判別分析は、予め与えられた学習用サンプルデータに基づき、複数のクラス（＝グループ）に分類するための判別関数（判別の基準となる関数）を得るもので、新しくデータを得た際には、判別関数を用いてどのクラスに属するかを判別する。ここでは領域分割画像 K 内の領域毎にテクスチャ特徴量、平均輝度により構成される 2 変数ベクトルデータを予め求めた線形判別関数に入力することで、その領域が壊死領域か否かを判定する。又、判別分析手法として一般に広く知られるフィッシャーの線形判別関数を適用する。

#### 【0032】

以下処理の詳細について説明する。

先ず、予め目視確認により領域の属するクラス（以降、壊死領域をクラス C1 と称し、その他の非壊死領域をクラス C2 と称する）が確定している学習用サンプルデータを用意する。その領域に対するテクスチャ特徴量、平均輝度の 2 変数を要素とした特徴ベクトル X1、X2 を作成する。前記 2 変数に基づく特徴空間上で、特徴ベクトル X1、X2 のそれぞれが属するクラス C1、C2 を最も良く分離可能な線形判別関数を求める。線形判別関数は、式（4）により表され、判別対象の領域特徴ベクトル Xs が入力された際は、式（5）に示す通りその出力値の正負に基づき壊死領域の判別を行う。

$$f(x) = w \cdot x + b \quad \dots (4)$$

$$w \cdot Xs + b > 0 \quad C1$$

$$w \cdot Xs + b < 0 \quad C2 \quad \dots (5)$$

ここで、w は重みベクトル、b はバイアス項である。f(x) = 0 が線形判別関数となる。

フィッシャーの判別基準は、サンプルデータから、クラス内共分散 Sw（式（6））と、クラス間共分散 SB（式（7））の比に基づく目的関数（式（8））を定め、これを最大化、すなわちクラス内共分散を小さく、かつクラス間共分散を大きくする重みベクトル w を用いた判別関数が、サンプルデータの 2 クラスに属する各データを互いに最も精度良く分離できるものと仮定するものである。

#### 【0033】

#### 【数 4】

$$S_w = \sum P(w_i) E\{ (x - m_i) (x - m_i)^T | w_i \} \quad \dots (6)$$

$$S_B = \sum P(w_i) \{ (m_i - m_0) (m_i - m_0)^T \} \quad \dots (7)$$

$$J(w) = \text{tr}(\tilde{S}_B) / \text{tr}(\tilde{S}_W) \quad \dots (8)$$

ここで、式（8）の最大化は、式（9）に示す固有値問題に書き換えることができ、式（9）の固有値に対応する固有ベクトルに基づき重みベクトル w を定めた線形判別関数を用いて、壊死領域の判別を行う。判別結果は、記録部 160 に転送される。

#### 【0034】

【数 5】

$$(S_W^{-1}S_B - \lambda E) \cdot u = 0 \quad \dots (9)$$

記録部 160 は、領域分割画像 K 内の各領域と領域に対応した壊死領域か否かの判定結果を対としたデータを所定のメモリやファイル等の記録媒体に書き込む。

次に、上記の如く構成された装置の動作について図 8 に示す壊死細胞領域検出装置フローチャートに従って説明する。

撮像部 100 は、観察対象の細胞群を撮像し、細胞画像のモノクロ原画像信号 F を出力する。具体的に撮像部 100 は、経時的に変化する生細胞を複数の時点でそれぞれ撮像して取得した複数の細胞画像から成る細胞画像群を取得し、そのモノクロ原画像信号 F を出力する。

10

帯域分割部 110 は、ステップ S10 において、撮像部 100 から出力されるモノクロ原画像信号 F、すなわち細胞画像を入力する。

【0035】

帯域分割部 110 は、ステップ S20 において、細胞画像から低周波成分により成る低域画像と、高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解する。すなわち、低域生成部 200 は、撮像部 100 から転送されたモノクロ原画像信号 F に対して所定の平滑化フィルタ、例えばガウシアンフィルタを適用し、このフィルタ出力を図 3 (b) に示すような低域画像 L を生成して輝度平均算出部 140 と高域生成部 210 とに転送する。

20

これと共に高域生成部 210 は、撮像部 100 から転送されたモノクロ原画像信号 F と、低域生成部 200 から転送された低域画像 L との間の対応する画素値間で各差分値を求め、これら差分値を図 3 (c) に示すような高域画像 H としてテクスチャ特徴量算出部 130 に転送する。

【0036】

領域分割部 120 は、ステップ S30 において、細胞画像群中における所定時点に取得した細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割する。分割された個々の領域には、ラベリング処理により領域番号が付与され、当該領域番号を画素値とした領域分割画像 K を生成する。

30

【0037】

テクスチャ特徴量算出部 130 は、ステップ S50 において、領域分割画像 K 中の個々の領域毎に、高域画像 H 上の画素値分布に基づくテクスチャ特徴量を算出する。このテクスチャ特徴量の算出では、同時生起行列に基づくテクスチャ特徴量の一つであるエントロピーを適用する。このテクスチャ特徴量の算出に際し、テクスチャ特徴量算出部 102 は、ステップ S40 において、注目領域を設定し、この注目領域に対し、領域内に含まれる高域画像 H 上の画素値分布に基づくテクスチャ特徴量の一つであるエントロピーを算出する。

【0038】

40

輝度平均算出部 140 は、ステップ S60 において、領域分割画像 K 内の領域毎に、低域画像 L 上の画素値（輝度値）の輝度平均値を算出する。この輝度平均算出部 140 は、低域画像 L に基づいて平均輝度値を算出することで、細胞画像中に含まれるノイズや、輝度の極端な変動に影響されない安定した領域内平均輝度値を算出する。

【0039】

判別部 150 は、ステップ S70 において、テクスチャ特徴量としてのエントロピーと輝度平均値とを線形判別関数に基づいて領域毎に壊死細胞により形成されているか否かを判別する。この判別部 150 は、例えば図 7 に示すようにエントロピー - 平均輝度値の空間において線形判別関数 H を境に壊死領域と非壊死領域とを判別する。

【0040】

50

記録部 160 は、領域分割画像 K 内の各領域とその領域に対応した壊死領域か否かの判定結果を対としたデータを所定のメモリやファイル等の記録媒体に書き込む。

CPU は、ステップ S80 において、判別部 150 により細胞画像の全領域に対して判別処理を終了したか否かを判別する。細胞画像内の全領域に対して判別処理が終了すると、CPU は、処理を終了する。未処理の領域が存在する場合、CPU は、ステップ S40 に移行する。

#### 【0041】

このように上記第 1 の実施の形態によれば、撮像部 100 により取得された細胞画像群中における所定時点に取得した細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割し、かつ細胞画像に対して高域画像 H と低域画像 L とに分解し、領域分割画像 K 内の複数の領域毎に高域画像 H からテクスチャ特徴量を算出し、領域分割画像 K 内の複数の領域毎に低域画像 L から輝度平均値を算出し、領域分割画像 K 内の複数の領域に対してテクスチャ特徴量と輝度平均値に基づく線形判別により壊死細胞により形成されている領域か否かを判別するので、細胞検出の際に妨げとなる、細胞壊死による残留物等で構成された壊死領域を高精度に検出することができる。

#### 【0042】

高域画像 H に基づきテクスチャ特徴量を求めるので、細胞画像の全体に亘って明るさムラ等の影響を受けず、細胞画像の局所的な特徴をテクスチャ特徴量として求めることができる。又、低域画像 L に基づき領域分割画像 K 内の複数の領域毎に輝度平均値を算出するので、細かな輝度変動によらず安定して領域分割画像 K 内の領域毎に輝度平均値を算出できる。これらテクスチャ特徴量と輝度平均値とを用いることで壊死細胞により形成されている領域か否かを高精度に判別することができる。

#### 【0043】

テクスチャ特徴量は、画素値分布のランダム性に基づく特徴量であるので、壊死細胞領域をその領域内の画素値分布のランダム性に基づき精度良く区別することができる。このテクスチャ特徴量は、画素値分布の複雑度に基づく特徴量であるので、壊死細胞領域をその領域内の画素値分布の複雑度に基づき精度良く区別することができる。このテクスチャ特徴量は、同時生起行列に基づく特徴量であるので、壊死細胞領域の特徴を効率よく的確に表現することができる。

#### 【第 2 の実施の形態】

次に、本発明の第 2 の実施の形態について図面を参照して説明する。なお、図 1 と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。

図 9 は壊死細胞領域検出装置の構成図を示す。本装置は、上記第 1 の実施の形態と対比してバッファ 300 と、類似度算出部 310 とを付加し、かつテクスチャ特徴量算出部 320 と判別部 330 との各機能を変更している。

#### 【0044】

撮像部 100 は、バッファ 300 を介して帯域分割部 110 と、領域分割部 120 と、類似度算出部 310 とにそれぞれ接続されている。帯域分割部 110 と領域分割部 120 とは、テクスチャ特徴量算出部 320 に接続されている。領域分割部 120 は、類似度算出部 310 に接続されている。テクスチャ特徴量算出部 320 と類似度算出部 310 と輝度平均算出部 140 と領域分割部 120 とは、それぞれ判別部 330 に接続されている。この判別部 330 は、記録部 160 に接続されている。

これら各部 100、...、300、310、330 は、例えば CPU (中央演算処理装置) と演算プログラムを格納する RAM、ROM 等の記憶装置などから構成してもよい。この場合、ROM には、演算プログラムとしての上記壊死細胞検出プログラムが格納されている。この壊死領域判別装置プログラムは、コンピュータとしての CPU に、上記画像取得機能と、上記領域分割機能と、上記帯域分割機能と、上記特徴量算出機能と、上記輝度算出機能と、上記判別機能とを実現し、かつ上記領域分割機能により分割された複数の領域毎に、所定時点に取得した細胞画像と、所定時点よりも以前又は以降の時点のうちいずれか一方又は両方に取得した細胞画像との間における局所的な輝度分布の類似度を算出さ

せる類似度算出機能を含み、上記判別機能は、複数の領域に対してテクスチャ特徴量と輝度平均値と類似度とに基づいて壊死細胞により形成されている領域か否かを判別させる。

本第2の実施の形態は、細胞の経時的変化を観察するために複数の時点において撮像した細胞画像を対象としており、撮像部100により過去の時点から現時点に至るまでに撮影された複数の細胞画像は、バッファ300に記録される。このバッファ300に記録された複数の細胞画像は、帯域分割部110と、領域分割部120と、類似度算出部310とに転送される。

#### 【0045】

帯域分割部110は、現時点にて撮影された細胞画像に対し、上記第1の実施の形態と同様の手法により、高域画像Hと低域画像Lとに帯域を分割する。

10

領域分割部120は、現時点にて撮影された細胞画像に対し、上記第1の実施の形態と同様の手法により、領域分割画像Kを生成する。

#### 【0046】

類似度算出部310は、領域分割部120により分割された領域分割画像K内の領域毎に、現時点にて撮影された細胞画像（これ以降、現細胞画像と称する）と、過去の時点にて撮影された細胞画像（これ以降、過去細胞画像と称する）との間で類似度を算出し、この類似度を複数の領域分割画像Kに対応する類似度として判別部330に転送する。

生細胞は運動により位置を移動するが、壊死細胞により構成される領域は、運動することがないために時間が経過してもその位置を移動することがない。従って、領域毎に現細胞画像と過去細胞画像との間の類似度を算出すると、壊死細胞領域に対する類似度が高くなる。

20

#### 【0047】

以下、類似度算出部310の詳細について説明する。

まず、類似度算出部310は、複数の領域分割画像K中の領域を注目領域として設定する。次に現細胞画像中の注目領域に対応する（同座標上に位置する）領域をテンプレートとして設定し、過去細胞画像に対して、テンプレートマッチングを行い、過去細胞画像中の各座標に対してテンプレートとの類似度を算出する。類似度は、テンプレートと輝度分布が似ているほど値が高くなるように定義される。過去細胞画像中の全座標に対して算出した類似度の中で最大値を示す（最も類似性の高い）類似度は、注目領域の類似度として判定部へ転送される。

30

#### 【0048】

なお、類似度（輝度値の相関値）は、SSD（Sum of Squared Difference）、SAD（Sum of Absolute Difference）等の公知の相関値を用いればよい。本実施の形態では、SSDを用いている。過去細胞画像は、現細胞画像に対して過去の時点にて撮影した画像であれば如何なる画像でもよいが、ここでは現時点の1フレーム前に撮影した画像を過去細胞画像として用いている。

テンプレートマッチングを行う際に、過去細胞画像中の全座標（画素の存在する位置）に対して類似度を算出するが、注目領域が存在する位置を中心とした所定範囲内に含まれる座標（画素位置）に限定して類似度を算出することで、処理速度を速くすることができる。

40

テクスチャ特徴量算出部320は、領域分割画像K中の複数の領域毎に、帯域分割部110により生成された高域画像Hからテクスチャ特徴量を算出する。このテクスチャ特徴量は、領域内の高域画像Hにおける画素値（輝度）分布のヒストグラムに基づく特徴量である。すなわち、テクスチャ特徴量算出部320は、上記第1の実施の形態におけるテクスチャ特徴量と相違し、高域画像Hの輝度ヒストグラムに基づくテクスチャ特徴量を算出する。ここでテクスチャ特徴量算出部320は、テクスチャの複雑さを示す尺度として、輝度ヒストグラムの分散を算出する。

#### 【0049】

具体的にテクスチャ特徴量算出部320は、まず、領域分割画像K中の領域を注目領域として設定する、次に、テクスチャ特徴量算出部320は、注目領域に対して輝度ヒスト

50

グラム  $Hist[Lv]$  を算出する。Lv は、輝度値（高域画像の画素値）を表し、例えば「0 - 255」の範囲で値をとる。

次に、テクスチャ特徴量算出部 320 は、注目領域内の画素値平均 Ave を算出し、式（10）に従って輝度ヒストグラムの分散（Complexity）を算出する。

【0050】

【数6】

$$\text{分散} = \sum_{Lv=0}^{255} (Lv - Ave)^2 \times Hist[Lv] / PCall \quad \dots (10)$$

10

PCall は、注目領域内の画素数を表す。輝度ヒストグラムの分散（Complexity）が大きい程、注目領域内に含まれるテクスチャの複雑度が高いので、テクスチャ特徴量算出部 320 は、輝度ヒストグラムの分散（Complexity）の逆数（ $-1 / \text{輝度ヒストグラムの分散（Complexity）}$ ）を算出して判別部 330 へ転送する。

【0051】

判別部 330 は、領域分割画像 K 内の各領域に対してテクスチャ特徴量と輝度平均値と類似度との 3 次元空間内で壊死細胞により形成されている領域が否かを判別する。

上記第 1 の実施の形態の判別部 150 は、線形判別分析による判別を行ったが、本第 2 の実施の形態の判別部 330 は、線形サポートベクタマシン（以下 SVM と称する）及びカーネル関数を用いた非線形判別分析による判別を行う。線形 SVM は、線形判別分析手法であるが、カーネル関数を用いた高次元空間への非線形写像と組み合わせることで、非線形判別分析を行うことが出来る。

20

【0052】

線形 SVM について説明する。線形 SVM は、学習サンプルデータに基づき、特徴ベクトル（本実施の形態では 3 変数）を 2 クラスに分類するための超平面（式（11））を定め、判別対象の領域特徴ベクトル  $X_s$  が入力された際、この領域特徴ベクトル  $X_s$  を式（12）に示す通りその出力値の正負に基づき壊死領域の判別を行う。

【0053】

$$f(x) = w \cdot x + b \quad \dots (11)$$

30

$$w \cdot X_s + b > 0 \quad C_1$$

$$w \cdot X_s + b < 0 \quad C_2 \quad \dots (12)$$

ここで、 $w$  は重みベクトル、 $b$  はバイアス項である。 $f(x) = 0$  が識別境界となる超平面となる。この重みベクトル  $w$  とバイアス項  $b$  とを求めるためには、式（13）で示される目的関数を最小化すればよい。

【0054】

【数7】

$$\min \frac{1}{2} \|w\|^2 + C \sum \epsilon_i \quad \dots (13)$$

40

$$\text{但し、} y_i (w \cdot x_i + b) \geq 1 - \epsilon_i, \quad \epsilon_i \geq 0 \quad \dots (13)$$

ここで、 $y_i$  はラベルであり、1 又は -1 の値をとる。 $\epsilon_i$  はスラック変数であり、超平面で 2 群（群  $C_1$  又は  $C_2$ ）を分離することができないときに、ある程度の誤判別を認めるためのパラメータである。 $C$  はどの程度誤判別を認めるかを示すパラメータであり、SVM の使用時に実験的に設定する。

又、ラグランジェの乗数  $\lambda_i$  に対するラグランジェの未定乗数法を用いて、式（14）で示されるように目的関数を変形することもできる。

$$\max \quad - (1/2) \sum_i \sum_j y_i y_j x_i^T x_j$$

$$\text{但し、} 0 \leq \lambda_i \leq C, \quad \sum_i y_i = 0 \quad \dots (14)$$

ここで、カーネル関数  $K(x_i, x_j)$  により高次元特徴空間  $H$  へ写像を行うことにより、線形 SVM

50

を非線形 SVM へと拡張することができる。カーネル関数 により写像した高次元特徴空間 内での重み  $w$  は、係数 を用いて、式 (15) のように表される。

$$w = \sum_i y_i (x_i) \dots (15)$$

識別関数は、式 (16) のように表される。

$$\begin{aligned} f(x) &= \sum_i y_i (x)^T (x_i) + b \\ &= \sum_i y_i k(x, x_i) + b \dots (16) \end{aligned}$$

このとき、目的関数は、式 (17) のように表される。

$$\begin{aligned} \max - (1/2) \sum_i \sum_j y_i y_j k(x_i, x_j) \\ \text{但し、} 0 \leq C, \sum_i y_i = 0 \dots (17) \end{aligned}$$

ここではカーネル関数として、一般によく利用される Gaussian カーネルを用いている

10

#### 【0055】

次に、上記の如く構成された装置の動作について図 10 に示す壊死細胞領域検出装置フローチャートに従って説明する。なお、図 8 に示すステップと同一ステップには同一ステップの符号を付してその詳しい説明は省略する。

CPU は、ステップ S90 において、撮像部 100 により過去の時点から現時点に至るまでに撮影された複数の細胞画像をバッファ 300 に記録する。

帯域分割部 110 は、ステップ S20 において、細胞画像から低周波成分により成る低域画像と、高周波成分により成る高域画像とを含む複数の帯域画像に分解する。

領域分割部 120 は、ステップ S30 において、細胞画像群中における所定時点に取得した細胞画像に対してそれぞれ局所的画質特性が均一になるように複数の領域に分割する。

20

#### 【0056】

テクスチャ特徴量算出部 320 は、ステップ S100 において、複数の領域分割画像 K 中の領域毎に、帯域分割部 110 により生成された高域画像 H からテクスチャ特徴量を算出する。このテクスチャ特徴量算出部 320 は、上記第 1 の実施の形態におけるテクスチャ特徴量と相違し、高域画像 H の輝度ヒストグラムに基づくテクスチャ特徴量を算出する。ここでは、テクスチャ特徴量算出部 320 は、テクスチャの複雑さを示す尺度として、輝度ヒストグラムの分散を算出する。

#### 【0057】

30

輝度平均算出部 140 は、ステップ S60 において、領域分割画像 K 内の領域ごとに、当該領域に含まれる低域画像 L 上の画素値（輝度値）の輝度平均値（平均輝度値）を算出する。

バッファ 300 は、ステップ S110 において、撮像部 100 から入力した細胞画像が 1 枚目であるか否かを判定する。この判定の結果、1 枚目であれば、ステップ S130 に移り、領域の類似度は用いずテクスチャ特徴量と輝度平均値だけに基づいて壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する。

#### 【0058】

細胞画像が 2 枚目以降であれば、類似度算出部 310 は、ステップ S120 において、領域分割部 120 により分割された複数の領域分割画像 K 内の領域毎に、現時点にて撮影された現細胞画像と、過去の時点にて撮影された過去細胞画像との間で類似度を算出し、この類似度を領域分割画像 K 内の領域に対応する類似度として判別部 330 に転送する。

40

#### 【0059】

判別部 330 は、ステップ S130 において、領域分割画像 K 内の領域に対して図 10 に示すようにテクスチャ特徴量と輝度平均値と類似度との 3 次元空間内で壊死細胞により形成されている領域か否かを判別する。

このように上記第 2 の実施の形態によれば、複数の領域分割画像 K 内の領域毎に、現時点にて撮影された現細胞画像と、過去の時点にて撮影された過去細胞画像との間で類似度を算出し、領域分割画像 K 内の領域に対してテクスチャ特徴量と輝度平均値と類似度に基づき壊死細胞により形成されている領域か否かを判別するので、上記第 1 の実施の形態と

50

同様の効果を奏することができる。エントロピーと平均輝度値と類似度に基づく非線形判別を行うことで、壊死領域・非壊死領域を高精度に判別することができる。

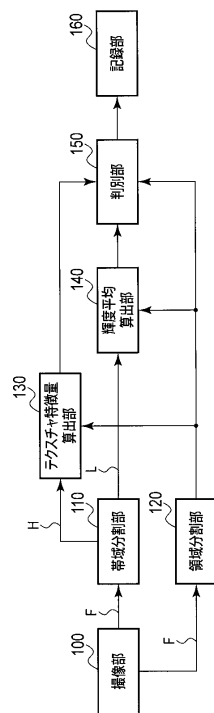
【符号の説明】

【 0 0 6 0 】

1 0 0 : 撮像部、1 1 0 : 帯域分割部、1 2 0 : 領域分割部、1 3 0 : テクスチャ特徴量算出部、1 4 0 : 輝度平均算出部、1 5 0 : 判別部、1 6 0 : 記録部、2 0 0 : 低域生成部、2 1 0 : 高域生成部、3 0 0 : バッファ、3 1 0 : 類似度算出部、3 2 0 : テクスチャ特徴量算出部、3 3 0 : 判別部。

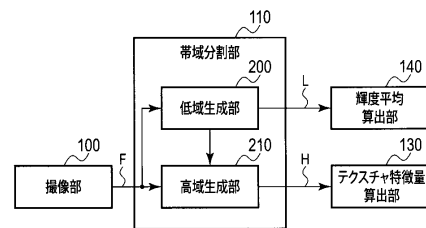
【図 1】

図 1



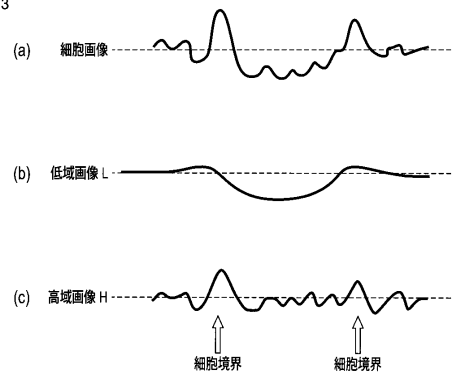
【図 2】

図 2



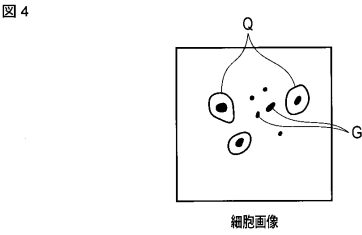
【図 3】

図 3

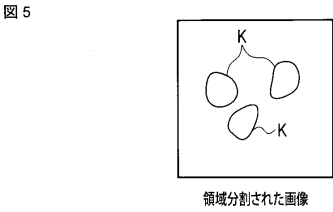




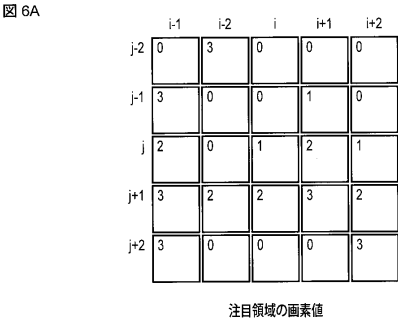
【図 4】



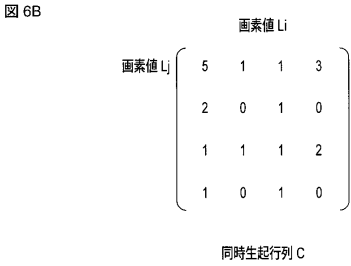
【図 5】



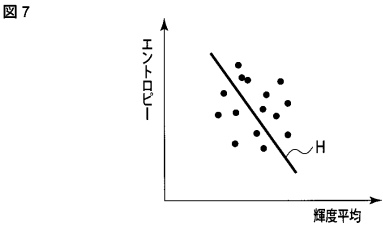
【図 6 A】



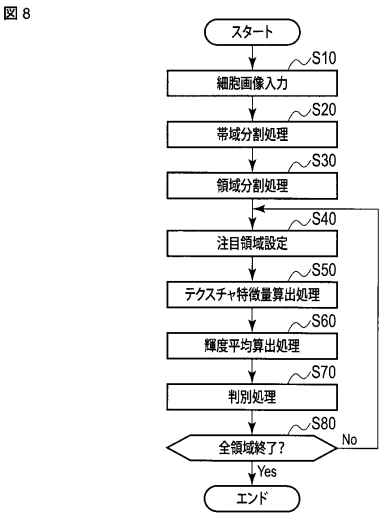
【図 6 B】



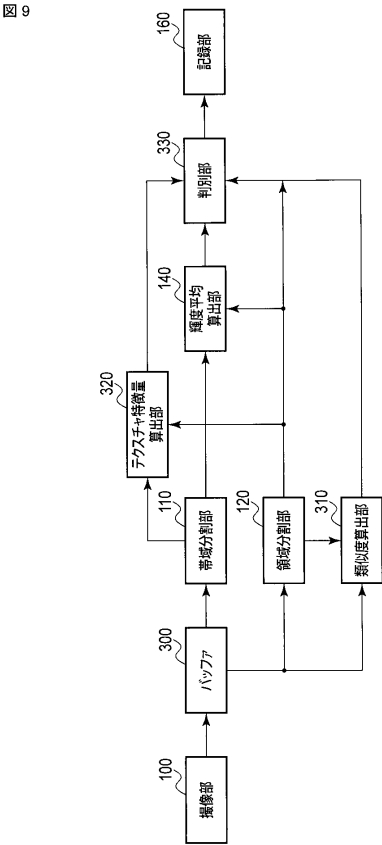
【図 7】



【図 8】

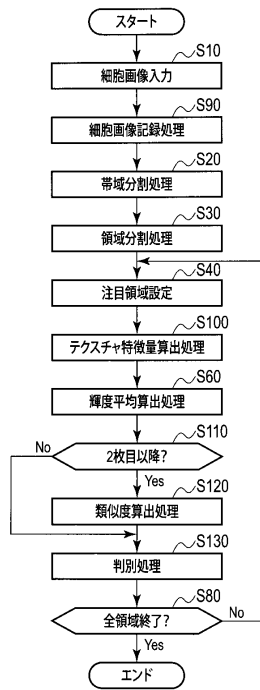


【図 9】



## 【図 10】

図 10



---

フロントページの続き

- (74)代理人 100103034  
弁理士 野河 信久
- (74)代理人 100119976  
弁理士 幸長 保次郎
- (74)代理人 100153051  
弁理士 河野 直樹
- (74)代理人 100140176  
弁理士 砂川 克
- (74)代理人 100158805  
弁理士 井関 守三
- (74)代理人 100124394  
弁理士 佐藤 立志
- (74)代理人 100112807  
弁理士 岡田 貴志
- (74)代理人 100111073  
弁理士 堀内 美保子
- (74)代理人 100134290  
弁理士 竹内 将訓
- (72)発明者 新垣 英哉  
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリnbas株式会社内

審査官 森口 正治

- (56)参考文献 特開2010 - 22318 ( J P , A )  
特開2004 - 53498 ( J P , A )  
特開2004 - 61403 ( J P , A )

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)  
G 0 1 N 2 1 / 0 0 - 2 1 / 9 5 8  
G 0 1 N 3 3 / 4 8