

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5058962号
(P5058962)

(45) 発行日 平成24年10月24日(2012.10.24)

(24) 登録日 平成24年8月10日(2012.8.10)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 33/48 (2006.01) GO 1 N 33/48 M
GO 1 N 21/64 (2006.01) GO 1 N 21/64 F

請求項の数 9 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2008-326108 (P2008-326108)	(73) 特許権者	000000376
(22) 出願日	平成20年12月22日(2008.12.22)		オリンパス株式会社
(65) 公開番号	特開2010-145366 (P2010-145366A)		東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号
(43) 公開日	平成22年7月1日(2010.7.1)	(74) 代理人	100106909
審査請求日	平成23年10月6日(2011.10.6)		弁理士 棚井 澄雄
		(74) 代理人	100064908
			弁理士 志賀 正武
		(74) 代理人	100094400
			弁理士 鈴木 三義
		(74) 代理人	100086379
			弁理士 高柴 忠夫
		(74) 代理人	100129403
			弁理士 増井 裕士

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞画像解析装置、細胞画像解析方法、及びプログラム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞核用閾値、断片化細胞核用閾値、及び細胞核用面積閾値を予め記憶する閾値記憶部と、

蛍光物質で染色された細胞が撮像された細胞画像を入力する画像入力部と、

入力された細胞画像から、前記細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域のうち細胞核用面積閾値以上の面積を有する領域を細胞核領域として抽出する細胞核領域抽出部と、

前記細胞核領域から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出する断片化細胞核領域抽出部と、

を備える細胞画像解析装置。

【請求項2】

前記断片化細胞核領域抽出部は、

前記細胞核領域から断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を候補領域として抽出する候補領域抽出部と、

前記候補領域において、各画素の輝度値の傾きに基づいた境界線検出処理を行うことにより境界線を検出し、検出された境界線によって囲まれる領域を断片化細胞核領域として抽出する領域決定部と、

を備えることを特徴とする請求項1に記載の細胞画像解析装置。

【請求項3】

前記断片化細胞核領域抽出部は、前記候補領域から輝度値のピークとなる画素を検出す

るピーク検出部をさらに備え、

前記領域決定部は、ピークとなる画素を内包し境界線上の各画素の輝度値の傾きの平均値が最大となる境界線を検出することを特徴とする請求項 2 に記載の細胞画像解析装置。

【請求項 4】

前記閾値記憶部は、断片化細胞核用面積閾値をさらに記憶し、

前記領域決定部は、検出された前記境界線のうち、当該境界線の内側の領域の面積が前記断片化細胞核用面積閾値以下となる境界線によって囲まれる領域を断片化細胞核領域として抽出することを特徴とする請求項 2 又は 3 に記載の細胞画像解析装置。

【請求項 5】

断片化細胞核領域抽出部は、前記細胞核領域以外の領域からも、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出することを特徴とする請求項 1 ~ 4 に記載の細胞画像解析装置。

10

【請求項 6】

前記断片化細胞核領域抽出部によって抽出された各断片化細胞核領域について、当該領域に含まれる画素の輝度値の統計値、当該領域に含まれる画素の輝度値の統計値と当該領域に含まれない周囲の画素の輝度値の統計値との比較結果、当該領域の大きさ、当該領域の大きさと当該領域を内包する細胞核領域の大きさととの比較結果、当該領域の形状、のいずれか一つ又は複数の条件を満たすか否か判定し、条件を満たす前記断片化細胞核領域のみを選択する断片化細胞核領域選択部をさらに備えることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の細胞画像解析装置。

20

【請求項 7】

細胞核用閾値、断片化細胞核用閾値、及び細胞核用面積閾値を予め記憶する閾値記憶部を備える細胞画像解析装置が、蛍光物質で染色された細胞が撮像された細胞画像を入力する画像入力ステップと、

前記細胞画像解析装置が、入力された細胞画像から、前記細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域のうち細胞核用面積閾値以上の面積を有する領域を細胞核領域として抽出する細胞核領域抽出ステップと、

前記細胞画像解析装置が、前記細胞核領域から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出する断片化細胞核領域抽出ステップと、
を有する細胞画像解析方法。

30

【請求項 8】

細胞核用閾値、断片化細胞核用閾値、及び細胞核用面積閾値を予め記憶する閾値記憶部を備えるコンピュータに対し、

蛍光物質で染色された細胞が撮像された細胞画像を入力する画像入力ステップと、

入力された細胞画像から、前記細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域のうち細胞核用面積閾値以上の面積を有する領域を細胞核領域として抽出する細胞核領域抽出ステップと、

前記細胞核領域から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出する断片化細胞核領域抽出ステップと、
を実行させるためのプログラム。

40

【請求項 9】

蛍光物質で染色された細胞が撮像された細胞画像を入力する画像入力ステップと、

入力された細胞画像から、細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域のうち細胞核用面積閾値以上の面積を有する領域を細胞核領域として抽出する細胞核領域抽出ステップと、

前記細胞核領域から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出する断片化細胞核領域抽出ステップと、
を有する細胞画像解析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

細胞核が蛍光物質で染色された細胞画像を解析する細胞画像解析装置、細胞画像解析方法、及びプログラムに関する。

【背景技術】

【0002】

従来から、細胞核を蛍光物質で染色し、顕微鏡にて撮像し、撮像された細胞画像を解析する技術が提案されている（例えば特許文献1参照）。細胞核を蛍光物質で染色した場合、細胞核のみが染色され、細胞の他の部分（細胞質）はほとんど染色されない。そのため、撮像された細胞画像では、細胞核のみが高輝度をもっている。したがって、従来の技術では、細胞画像中の輝度の高い部分を細胞核として認識している。

【特許文献1】特許3576491号公報

10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

アポトーシスによってDNA（Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸）断片化が発生し、DNAが短い単位に切断されてしまうと、細胞核の内側に複数の断片化細胞核が発生する。従来の技術では、一つの細胞核を検出することは実現されているが、このように断片化した細胞核を検出することは実現されていない。

【0004】

上記事情に鑑み、本発明は、細胞画像から断片化された細胞核を検出することを可能とする細胞画像解析装置、細胞画像解析方法、及びプログラムを提供することを目的としている。

20

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明の一態様は、細胞画像解析装置であって、細胞核用閾値、断片化細胞核用閾値、及び細胞核用面積閾値を予め記憶する閾値記憶部と、蛍光物質で染色された細胞が撮像された細胞画像を入力する画像入力部と、入力された細胞画像から、前記細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域のうち細胞核用面積閾値以上の面積を有する領域を細胞核領域として抽出する細胞核領域抽出部と、前記細胞核領域から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出する断片化細胞核領域抽出部と、を備える。

【0006】

30

上記の前記断片化細胞核領域抽出部は、前記細胞核領域から断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を候補領域として抽出する候補領域抽出部と、前記候補領域において、各画素の輝度値の傾きに基づいた境界線検出処理を行うことによって境界線を検出し、検出された境界線によって囲まれる領域を断片化細胞核領域として抽出する領域決定部と、を備えるように構成されても良い。

【0007】

上記の前記断片化細胞核領域抽出部は、前記候補領域から輝度値のピークとなる画素を検出するピーク検出部をさらに備え、前記領域決定部は、ピークとなる画素を内包し境界線上の各画素の輝度値の傾きの平均値が最大となる境界線を検出するように構成されても良い。

40

【0008】

上記の前記閾値記憶部は、断片化細胞核用面積閾値をさらに記憶し、前記領域決定部は、検出された前記境界線のうち、当該境界線の内側の領域の面積が前記断片化細胞核用面積閾値以下となる境界線によって囲まれる領域を断片化細胞核領域として抽出するように構成されても良い。

【0009】

上記の断片化細胞核領域抽出部は、前記細胞核領域以外の領域からも、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出するように構成されても良い。

【0010】

50

上記の細胞画像解析装置は、前記断片化細胞核領域抽出部によって抽出された各断片化細胞核領域について、当該領域に含まれる画素の輝度値の統計値、当該領域に含まれる画素の輝度値の統計値と当該領域に含まれない周囲の画素の輝度値の統計値との比較結果、当該領域の大きさ、当該領域の大きさと当該領域を内包する細胞核領域の大きさとの比較結果、当該領域の形状、のいずれか一つ又は複数の条件を満たすか否か判定し、条件を満たす前記断片化細胞核領域のみを選択する断片化細胞核領域選択部をさらに備えるように構成されても良い。

【0011】

本発明の一態様は、細胞画像解析方法であって、蛍光物質で染色された細胞が撮像された細胞画像を入力する画像入力ステップと、入力された細胞画像から、細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域のうち細胞核用面積閾値以上の面積を有する領域を細胞核領域として抽出する細胞核領域抽出ステップと、前記細胞核領域から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出する断片化細胞核領域抽出ステップと、を有する。

10

【0012】

また、本発明の一態様は、上述した閾値記憶部を備える細胞画像解析装置が行う細胞画像解析方法として特定されても良い。また、本発明の一態様は、上述した閾値記憶部を備えるコンピュータに対し、上記細胞画像解析方法を実行させるためのコンピュータプログラムとして特定されても良い。

【発明の効果】

20

【0013】

本発明により、輝度値に関する二つの閾値を用いることによって、細胞画像から細胞核領域と断片化細胞核領域とをそれぞれ抽出することが可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

[第一実施形態]

図1は、細胞画像解析装置の第一実施形態である細胞画像解析装置1の機能構成を表す概略ブロック図である。細胞画像解析装置1は、画像入力部101、閾値記憶部102、細胞核領域抽出部103、断片化細胞核領域抽出部104a、解析結果出力部107を備える。細胞画像解析装置1aは、パーソナルコンピューターやワークステーション等の情報処理装置を用いて構成されても良いし、顕微鏡などに組み込まれた専用装置として構成されても良い。

30

【0015】

画像入力部101は、蛍光物質で染色された細胞が顕微鏡にて撮像された細胞画像のデジタルデータを細胞画像解析装置1aに入力する。

【0016】

閾値記憶部102は、細胞核領域抽出部103及び断片化細胞核領域抽出部104aの処理で用いられる細胞核用閾値、断片化細胞核用閾値、及び細胞核用面積閾値を予め記憶する。

【0017】

40

細胞核領域抽出部103は、入力された細胞画像から、細胞核用閾値及び細胞核用面積閾値に基づいて細胞核の領域(以下、「細胞核領域」という)を抽出し、細胞核領域の位置と範囲を表す情報を取得する。なお、ここでいう面積とは、領域の正確な面積の数値のみならず、領域に含まれる画素の数を意味しても良い。

【0018】

断片化細胞核領域抽出部104aは、入力された細胞画像の細胞核領域から断片化細胞核用閾値に基づいて断片化細胞核の領域(以下、「断片化細胞核領域」という)を抽出し、断片化細胞核領域の位置と範囲を表す情報を取得する。なお、断片化細胞核とは、アポトーシスによってDNA断片化したアポトーシス細胞の核を指す。

【0019】

50

具体的には、断片化細胞核領域抽出部 104a は、候補領域抽出部 105a、領域決定部 106a を備える。候補領域抽出部 105a は、細胞核領域の内側から、断片化細胞核用閾値以上の輝度の値（以下、「輝度の値」を「輝度値」という）を持つ領域を候補領域として抽出する。領域決定部 106a は、候補領域の各画素の輝度値の傾きに基づいた境界線検出処理を行うことによって境界線を検出し、検出された境界線によって囲まれる領域を断片化細胞核領域として抽出する。なお、ここでいう輝度とは、例えば濃淡画像においては濃淡を表す値であり、画像中の各ピクセル（画素）の明るさを表す値である。

【0020】

解析結果出力部 107 は、細胞核領域及び断片化細胞核領域それぞれの位置と範囲を表す情報に基づいて、解析結果を生成し出力する。解析結果出力部 107 は、解析結果を画像出力装置に文字又はグラフなどの図形として表示させることによって出力しても良いし、プリンターに印字させることによって出力しても良い。解析結果出力部 107 が出力する解析結果は、例えば以下の項目である。

- ・細胞核領域の数
- ・断片化細胞核領域の数
- ・内部から断片化細胞核領域が抽出されなかった細胞核領域の数
- ・内部から断片化細胞核領域が抽出された細胞核領域の数
- ・細胞核領域の面積の総和
- ・断片化細胞核領域の面積の総和
- ・細胞核領域の面積の総和と断片化細胞核領域の面積の総和との比
- ・細胞核領域の輝度値の平均値と断片化細胞核領域の輝度値の平均値との比

【0021】

図 2 は、閾値記憶部 102 が記憶する細胞核用閾値と断片化細胞核用閾値との概略を表す概略図である。図 2 のグラフは、予め実験によって得られた細胞画像において y 軸の値を所定値に固定したときの x 軸方向の輝度値の変化を表す。図 2 において、A1 ~ A3 の各領域の境界となる x 座標の値は、設計者や実験者によって設定される値である。A1 の領域は、細胞核領域及び断片化細胞核領域のいずれにも該当しない領域である。細胞画像では、細胞核を選択的に染色する蛍光物質を用いて細胞核の染色が行われるため、A1 のように細胞核及び断片化細胞核が存在していない領域は輝度値が低い画素によって占められる。A2 の領域は、断片化細胞核が存在していない細胞核領域である。A3 の領域は、断片化細胞核が存在している領域である。細胞画像では、細胞核の密度が高い領域ほど輝度値が高くなるため、断片化細胞核が存在する領域は、断片化細胞核が存在していない細胞核領域よりも輝度値が高い。

【0022】

このような実験結果に基づいて、細胞核用閾値及び断片化細胞核用閾値の値が設定される。則ち、領域 A1 と領域 A2 との境界となる画素における輝度値が細胞核用閾値として設定され、領域 A2 と領域 A3 との境界となる画素における輝度値が断片化細胞核用閾値として設定される。このとき、断片化細胞核用閾値の値は細胞核用閾値よりも大きい値として設定される。実際には、細胞核用閾値及び断片化細胞核用閾値の二つの値は、予め複数の実験を行い細胞核領域と断片化細胞核が存在する領域の輝度値の統計をとることによって、実験環境に応じて最適に決定される。

【0023】

図 3 は、アポトーシスを発現していない細胞核の画像の例を表す図である。なお、図 3 を含む本願図面では、図面作成の都合により輝度値が低いほど白く表し、輝度値が高いほど黒く表す。

【0024】

図 3 (a) は、アポトーシスを発現していない細胞核の画像の例を表す図である。図 3 (b) は、細胞核領域抽出部 103 によって抽出された細胞核領域の例を表す図である。図 3 (b) において、符号 X で表される破線で囲まれた領域が、細胞核領域抽出部 103 によって抽出された細胞核領域を表す。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 5 】

図 4 (a) は、アポトーシスを発現した細胞核の画像の例を表す図である。図 4 (a) に表されるように、アポトーシスを発現した細胞核の画像には、細胞核の内側に複数の断片化細胞核が存在する。図 4 (b) は、細胞核領域抽出部 1 0 3 によって抽出された細胞核領域及び断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a によって抽出された断片化細胞核領域の例を表す図である。図 4 (b) において、符号 X で表される破線で囲まれた領域が、細胞核領域抽出部 1 0 3 によって抽出された細胞核領域を表す。また、図 4 (b) において、符号 Y で表される実線で囲まれた領域が、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a によって抽出された断片化細胞核領域を表す。

【 0 0 2 6 】

図 5 は、細胞画像解析装置 1 a の動作例を表すフローチャートである。以下、図 5 を用いて細胞画像解析装置 1 a の動作例について説明する。まず、画像入力部 1 0 1 が細胞画像のデジタルデータを細胞画像解析装置 1 a に入力する (ステップ S 1 0 1)。次に、細胞核領域抽出部 1 0 3 が、閾値記憶部 1 0 2 に記憶される細胞核用閾値を読み出し、細胞画像から細胞核用閾値以上の輝度値を持つ領域を全て抽出する (ステップ S 1 0 2)。次に、細胞核領域抽出部 1 0 3 が、閾値記憶部 1 0 2 に記憶される細胞核用面積閾値を読み出し、ステップ S 1 0 2 において抽出された領域のうち、その面積が細胞核用面積閾値以上の領域を、細胞核領域として全て抽出する (ステップ S 1 0 3)。

【 0 0 2 7 】

次に、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a が断片化細胞核領域抽出処理を実行する (ステップ S 1 0 4)。図 6 は、断片化細胞核領域抽出処理における断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a の動作例を表すフローチャートである。まず、候補領域抽出部 1 0 5 が、閾値記憶部 1 0 2 に記憶される断片化細胞核用閾値を読み出し、ステップ S 1 0 3 において抽出された各細胞核領域の内側から、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を持つ領域を候補領域として全て抽出する (ステップ S 2 0 1)。

【 0 0 2 8 】

次に、領域決定部 1 0 6 a が、各候補領域の各画素の輝度値の傾きに基づいた境界線抽出処理を行うことによって全ての境界線を抽出する (ステップ S 2 0 2)。ステップ S 2 0 2 における境界線抽出処理は、従来の画像処理技術における境界線抽出処理 (境界線検出処理) を適用して実現される。例えば、領域決定部 1 0 6 a は、候補領域の各画素において輝度値に関する微分値を算出し、微分値が局所的に極大となる画素を連続的に繋ぎ合わせることによって境界線を抽出する。

【 0 0 2 9 】

次に、領域決定部 1 0 6 a が、抽出された各境界線によって囲まれる各領域をそれぞれ断片化細胞核領域として抽出し (ステップ S 2 0 3)、断片化細胞核領域抽出処理を終了する。

【 0 0 3 0 】

図 5 に戻って説明を続ける。断片化細胞核領域抽出処理が終了すると、解析結果出力部 1 0 7 が、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a の抽出結果に基づいて解析結果を生成し出力し (ステップ S 1 0 5)、図 5 に表される処理を終える。

【 0 0 3 1 】

図 7 は、細胞画像解析装置 1 a の解析結果の例を表す図である。細胞画像解析装置 1 a に入力された細胞画像に複数の細胞核や断片化細胞核が撮像されている場合、細胞核領域抽出部 1 0 3 は、撮像されている全ての細胞核領域 (図 7 においては符号 X によって表される 3 つの破線内部の領域) を抽出し、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a は、撮像されている全ての断片化細胞核領域 (図 7 においては符号 Y によって表される 8 つの実線内部の領域) を抽出する。

【 0 0 3 2 】

このように構成された細胞画像解析装置 1 a では、細胞核用閾値と、細胞核用閾値よりも値が大きい断片化細胞核用閾値とを用いることによって、則ち輝度値に関する二つの閾

10

20

30

40

50

値を用いることによって、細胞核領域と断片化細胞核領域とをそれぞれ抽出することが可能となる。

【 0 0 3 3 】

また、図 2 に表されるように、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域を断片化細胞核領域として抽出してしまうと、複数の断片化細胞核領域が一つの断片化細胞核領域として誤って検出されてしまう場合がある。このような問題に対し、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a は、断片化細胞核用閾値を用いた処理に加えて、各画素の輝度値の傾きに基づいた境界線抽出処理を行うことによって境界線を抽出し、抽出された境界線によって囲まれる領域を断片化細胞核領域として抽出するため、より正確に断片化細胞核領域を抽出することが可能となる。

10

【 0 0 3 4 】

< 変形例 >

断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a は、ステップ S 2 0 1 の処理において抽出された候補領域の全てを、ステップ S 2 0 2 及びステップ S 2 0 3 の処理を行うことなく、断片化細胞核領域としてそのまま抽出しても良い。言い換えれば、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 a は、細胞核領域から断片化細胞核用閾値以上の輝度値を持つ領域を断片化細胞核領域として抽出するように構成されても良い。

【 0 0 3 5 】

[第二実施形態]

図 8 は、細胞画像解析装置の第二実施形態である細胞画像解析装置 1 b の機能構成を表す概略ブロック図である。第一実施形態の細胞画像解析装置 1 a と同じ機能部には図 8 において図 1 と同じ符号を付して表し、その説明を省く。

20

【 0 0 3 6 】

細胞画像解析装置 1 b は、候補領域抽出部 1 0 5 a に代えて候補領域抽出部 1 0 5 b を備える点で細胞画像解析装置 1 a と異なり、他の構成については細胞画像解析装置 1 a と同様である。

【 0 0 3 7 】

候補領域抽出部 1 0 5 b は、細胞核領域からのみならず、入力された細胞画像の細胞核領域以外の領域からも、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を持つ領域を候補領域として全て抽出する。

30

【 0 0 3 8 】

図 9 は、第二実施形態の断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 b が行う断片化細胞核領域抽出処理を表すフローチャートである。以下、図 9 を用いて、第二実施形態における断片化細胞核領域抽出処理について説明する。なお、図 6 と同じ処理については、図 9 において図 6 と同じ符号を付して表し、その説明を省く。

【 0 0 3 9 】

ステップ S 2 0 1 の処理後、ステップ S 1 0 2 の処理において細胞核用閾値以上の輝度値を有すると判定され且つステップ S 1 0 3 の処理において細胞核用面積閾値未満の面積を有すると判定された領域において、候補領域抽出部 1 0 5 b は、断片化細胞核用閾値以上の輝度値を有する領域をさらに候補領域として抽出する (ステップ S 3 0 1)。その後、領域決定部 1 0 6 a が、ステップ S 2 0 2 及びステップ S 2 0 3 の処理を行い、断片化細胞核領域抽出処理を終了する。

40

【 0 0 4 0 】

図 1 0 (a) は、アポトーシスを発現しステージが進行したことによって細胞核の核膜が破れた状態の画像の例を表す図である。図 1 0 (a) に表されるように、アポトーシスを発現しステージが進行したことによって核膜が破れると、図 4 (a) のように核膜の内側に密集していた複数の断片化細胞核は、図 1 0 (a) のように散らばってしまう。図 1 0 (b) は、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 b によって抽出された断片化細胞核領域の例を表す図である。図 1 0 (b) において、符号 Y で表される実線で囲まれた領域が、断片化細胞核領域抽出部 1 0 4 b によって抽出された断片化細胞核領域を表す。断片化細胞核

50

領域抽出部 104b は、細胞核領域ではない領域についても断片化細胞核領域を抽出するため、図 10(a) のようにステージが進行して核膜が破れた状態の断片化細胞核領域までも抽出することが可能となる。

【0041】

[第三実施形態]

図 11 は、細胞画像解析装置の第三実施形態である細胞画像解析装置 1c の機能構成を表す概略ブロック図である。第二実施形態の細胞画像解析装置 1b と同じ機能部には図 11 において図 8 と同じ符号を付して表し、その説明を省く。

【0042】

細胞画像解析装置 1c は、閾値記憶部 102 が断片化細胞核用面積閾値をさらに記憶する点、領域決定部 106a に代えて領域決定部 106c を備える点、ピーク検出部 108 をさらに備える点、で細胞画像解析装置 1b と異なり、他の構成については細胞画像解析装置 1b と同様である。

【0043】

ピーク検出部 108 は、候補領域抽出部 105b によって抽出された各候補領域内において、輝度値がピーク（極大値）となる画素（以下、「ピーク画素」という）を全て検出する。

【0044】

領域決定部 106c は、ピーク検出部 108 による検出結果に基づいて、断片化細胞核領域の境界線を抽出する。領域決定部 106c の処理の詳細については後述する。

【0045】

図 12 は、第三実施形態の断片化細胞核領域抽出部 104c が行う断片化細胞核領域抽出処理を表すフローチャートである。以下、図 12 を用いて、第三実施形態における断片化細胞核領域抽出処理について説明する。なお、図 9 と同じ処理については、図 12 において図 9 と同じ符号を付して表し、その説明を省く。

【0046】

ステップ S301 の処理の後、ピーク検出部 108 が、候補領域抽出部 105b によって抽出された各候補領域内で、ピーク画素を検出する（ステップ S401）。ピーク画素は、候補領域内における輝度値の最大値を有する画素のみを指すのではなく、輝度値が周囲の画素よりも高く且つ輝度値の傾きがゼロ又はゼロに近い値（所定の閾値以下の値）を有する全ての画素を指す。

【0047】

次に、領域決定部 106c が、ピーク検出部 108 による検出結果に基づいて境界線を抽出する（ステップ S402）。具体的には、領域決定部 106c は、以下の条件を満たす境界線を探索し抽出する。

- ・ピーク画素を内包する
- ・境界線の内側の面積が断片化細胞核用面積閾値より小さい
- ・境界線上の各画素の輝度値の傾きの平均値が、上記二つの条件を満たす他の境界線と比べて最大である

【0048】

上記三つの条件を満たす境界線の探索方法の具体例を示す。領域決定部 106c は、まずピーク画素に隣接する 9 つの画素を初期の境界線として設定する。次に、境界線の内側の面積を算出し、断片化細胞核用面積閾値よりも小さいか否か判定する。内側の面積の方が小さい場合、境界線上の各画素の輝度値と、一回り外側の境界線上の各画素の輝度値とを、画素毎に比較する。一回り外側の境界線上の画素の方が小さい場合、現在の境界線上の各画素について輝度値の傾きを算出し、一回り外側の境界線を新たな境界線として設定し、断片化細胞核用面積閾値との比較以降の処理を繰り返す。この処理を繰り返した後、境界線の内側の面積が断片化細胞核用面積閾値を超えた場合、又は境界線上の全ての画素において一回り外側の境界線上の画素の輝度値の方が大きい場合、それまでに算出された各画素の輝度値の傾きを用いて、境界線上の各画素の輝度値の傾きの平均値が最大となる

10

20

30

40

50

境界線を選択する。

【0049】

なお、上記三つの条件を満たす境界線の探索方法は、従来技術を用いることによって他の方法により実現されても良い。

【0050】

ステップS402の処理の後、領域決定部106cが、ステップS402の処理において抽出された各境界線によって囲まれた領域を断片化細胞核領域として抽出し（ステップS403）、断片化細胞核領域抽出処理を終了する。

【0051】

このように構成された細胞画像解析装置1cでは、ピーク検出部108が候補領域内からピーク画素を検出し、領域決定部106cによってこのピーク画素を内包する領域が断片化細胞核領域として抽出される。一般的に、断片化細胞核領域の中心周辺は断片化細胞核領域の中でも最も輝度値が高い。そのため、上記のようにピーク画素を内包する領域を断片化細胞核領域として抽出することにより、断片化細胞核領域の抽出精度を向上させることが可能となる。

10

【0052】

[第四実施形態]

図13は、細胞画像解析装置の第四実施形態である細胞画像解析装置1dの機能構成を表す概略ブロック図である。第三実施形態の細胞画像解析装置1cと同じ機能部には図13において図11と同じ符号を付して表し、その説明を省く。

20

【0053】

細胞画像解析装置1dは、断片化細胞核領域選択部109をさらに備える点で細胞画像解析装置1cと異なり、他の構成については細胞画像解析装置1cと同様である。

【0054】

断片化細胞核領域選択部109は、断片化細胞核領域抽出部104cによって抽出された1以上の断片化細胞核領域から、所定の条件を満たした断片化細胞核領域のみを選択して解析結果出力部107に出力する。

【0055】

所定の条件とは、例えば以下のような条件である。

- ・断片化細胞核領域に含まれる画素の輝度値の統計値に関する条件
- ・断片化細胞核領域に含まれる画素の輝度値の統計値と、この断片化細胞核領域に含まれない周囲の画素の輝度値の統計値との比較結果に関する条件
- ・断片化細胞核領域の大きさに関する条件
- ・断片化細胞核領域の大きさと、この断片化細胞核領域を内包する細胞核領域の大きさととの比較結果に関する条件
- ・断片化細胞核領域の形状に関する条件

30

【0056】

より具体的には、例えば、断片化細胞核領域に含まれる画素の輝度値の平均値が所定の閾値以上であることや、断片化細胞核領域に含まれる画素の輝度値の平均値と、この断片化細胞核領域に外接する一定の幅の画素の輝度値の平均値との比が所定の閾値以上であることや、断片化細胞核領域の大きさが所定の閾値以上であることや、断片化細胞核領域の大きさと、同じ細胞画像内に存在する細胞核領域の大きさととの比が所定の閾値以上であることや、断片化細胞核領域の真円度（サーキュラリティー）が所定の閾値未満であること（所定の閾値の場合よりも真円に近いこと）等を条件として断片化細胞核領域選択部109が選択を行う。断片化細胞核領域選択部109は、上記の条件のうち一つの条件のみについて判定を行うように設計されても良いし、複数の条件について判定し全ての条件を満たすものを選択するように設計されても良いし、複数の条件について判定しいずれか一つの条件を満たすものを選択するように設計されても良い。

40

【0057】

図14は、第四実施形態の細胞画像解析装置1dが行う処理を表すフローチャートであ

50

る。以下、図14を用いて、第四実施形態の細胞画像解析装置1dの処理について説明する。なお、図5と同じ処理については、図14において図5と同じ符号を付して表し、その説明を省く。

【0058】

ステップS104の断片化細胞核領域抽出処理の後、断片化細胞核領域選択部109が、断片化細胞核領域抽出処理において抽出された各断片化細胞核領域について所定の条件を満たすか否か判定する。そして、断片化細胞核領域選択部109は、条件を満たした断片化細胞核領域のみを選択し、解析結果出力部107に出力する(ステップS501)。その後、解析結果出力部107が、断片化細胞核領域選択部109によって選択された断片化細胞核領域のみに基づいて解析結果を生成し出力する(ステップS105)。

10

【0059】

このように構成された細胞画像解析装置1dでは、断片化細胞核領域選択部109が、所定の条件を満たす断片化細胞核領域のみを選択し解析結果出力部107に出力する。そのため、断片化細胞核領域の抽出精度をさらに向上させることが可能となる。

【0060】

上述した実施形態における細胞画像解析装置1a～細胞画像解析装置1dの機能をコンピュータで実現するようにしても良い。その場合、各機能を実現するためのプログラムをコンピュータ読み取り可能な記録媒体に記録して、この記録媒体に記録されたプログラムをコンピュータシステムに読み込ませ、実行することによって実現しても良い。なお、ここでいう「コンピュータシステム」とは、OSや周辺機器等のハードウェアを含むものとする。また、「コンピュータ読み取り可能な記録媒体」とは、フレキシブルディスク、光磁気ディスク、ROM、CD-ROM等の可搬媒体、コンピュータシステムに内蔵されるハードディスク等の記憶装置のことをいう。さらに「コンピュータ読み取り可能な記録媒体」とは、インターネット等のネットワークや電話回線等の通信回線を介してプログラムを送信する場合の通信線のように、短時間の間、動的にプログラムを保持するもの、その場合のサーバやクライアントとなるコンピュータシステム内部の揮発性メモリのように、一定時間プログラムを保持しているものも含んでも良い。また上記プログラムは、前述した機能の一部を実現するためのものであっても良く、さらに前述した機能をコンピュータシステムにすでに記録されているプログラムとの組み合わせで実現できるものであっても良い。

20

30

【0061】

以上、この発明の実施形態について図面を参照して詳述してきたが、具体的な構成はこの実施形態に限られるものではなく、この発明の要旨を逸脱しない範囲の設計等も含まれる。

【図面の簡単な説明】

【0062】

【図1】細胞画像解析装置の第一実施形態である細胞画像解析装置の機能構成を表す概略ブロック図である。

【図2】閾値記憶部が記憶する細胞核用閾値と断片化細胞核用閾値との概略を表す概略図である。

40

【図3】アポトーシスを発現していない細胞核の画像の例を表す図である。

【図4】アポトーシスを発現した細胞核の画像の例を表す図である。

【図5】細胞画像解析装置の動作例を表すフローチャートである。

【図6】断片化細胞核領域抽出処理における断片化細胞核領域抽出部の動作例を表すフローチャートである。

【図7】細胞画像解析装置の解析結果の例を表す図である。

【図8】細胞画像解析装置の第二実施形態である細胞画像解析装置の機能構成を表す概略ブロック図である。

【図9】第二実施形態の断片化細胞核領域抽出部が行う断片化細胞核領域抽出処理を表すフローチャートである。

50

【図10】アポトーシスを発現しステージが進行した複数の断片化細胞核の画像の例を表す図である。

【図11】細胞画像解析装置の第三実施形態である細胞画像解析装置の機能構成を表す概略ブロック図である。

【図12】第三実施形態の断片化細胞核領域抽出部が行う断片化細胞核領域抽出処理を表すフローチャートである。

【図13】細胞画像解析装置の第四実施形態である細胞画像解析装置の機能構成を表す概略ブロック図である。

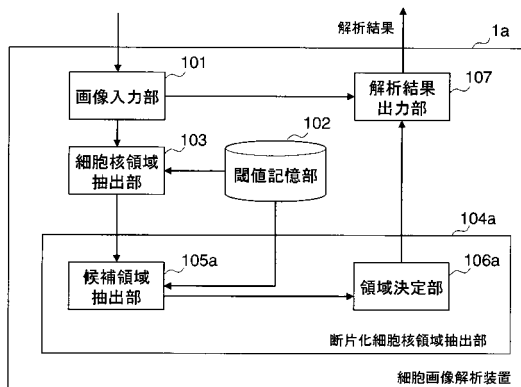
【図14】第四実施形態の細胞画像解析装置が行う処理を表すフローチャートである。

【符号の説明】

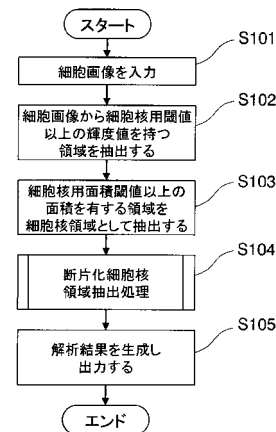
【0063】

1...細胞画像解析装置, 101...画像入力部, 102...閾値記憶部, 103...細胞核領域抽出部, 104...断片化細胞核領域抽出部, 105...候補領域抽出部, 106...領域決定部, 107...解析結果出力部, 108...ピーク検出部, 109...断片化細胞核領域選択部

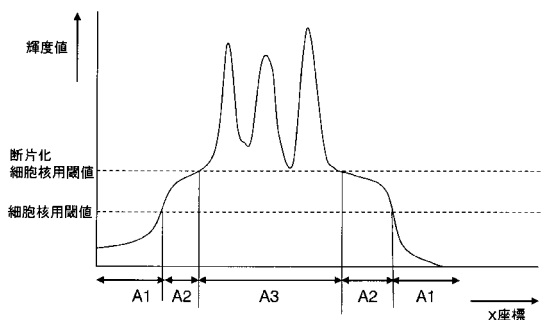
【図1】



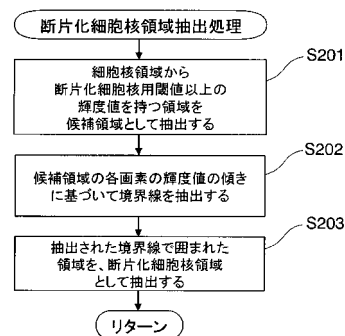
【図5】



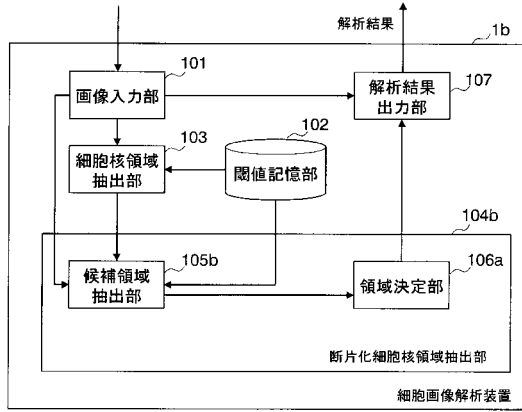
【図2】



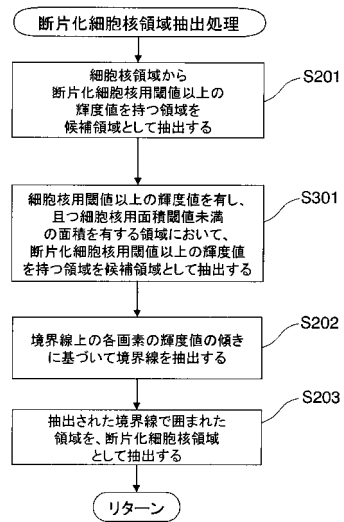
【図6】



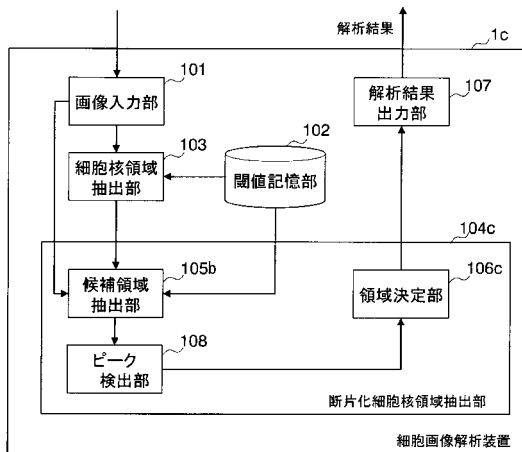
【図 8】



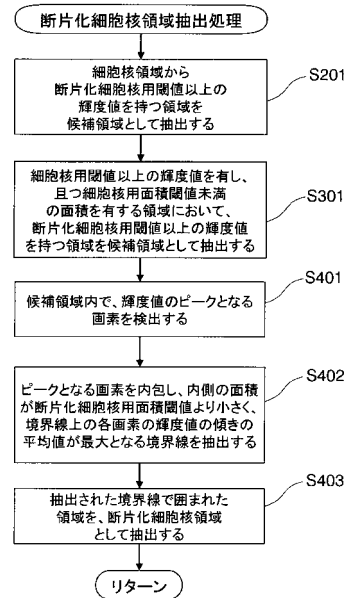
【図 9】



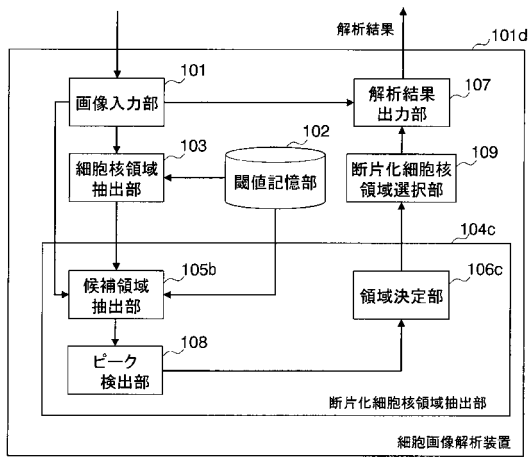
【図 11】



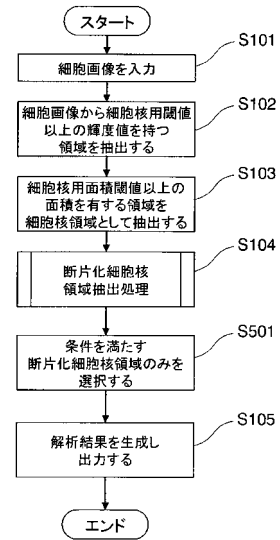
【図 12】



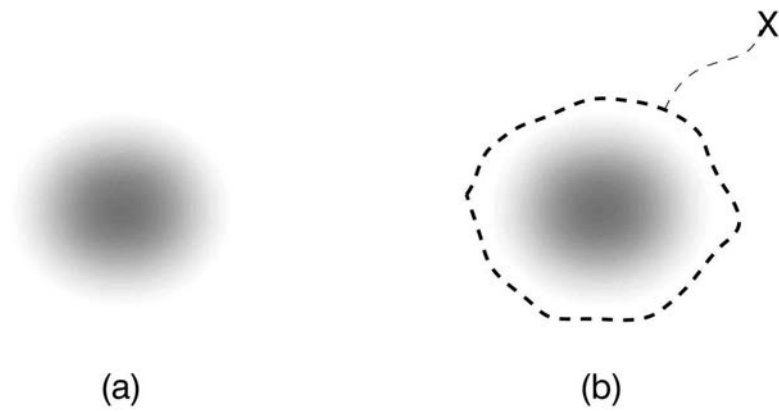
【図13】



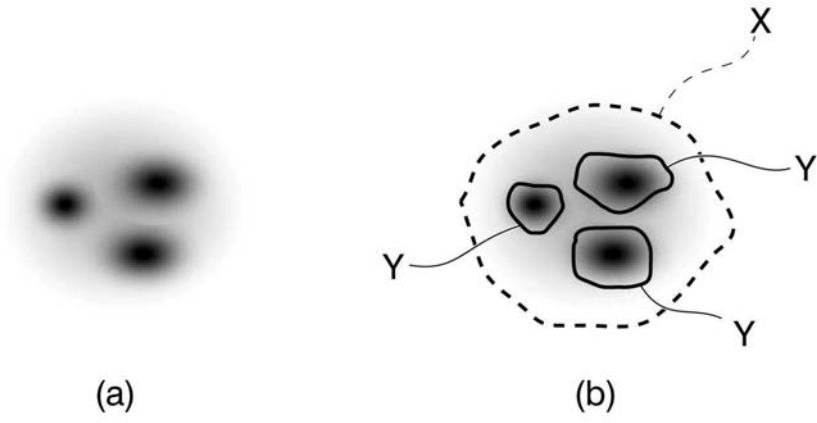
【図14】



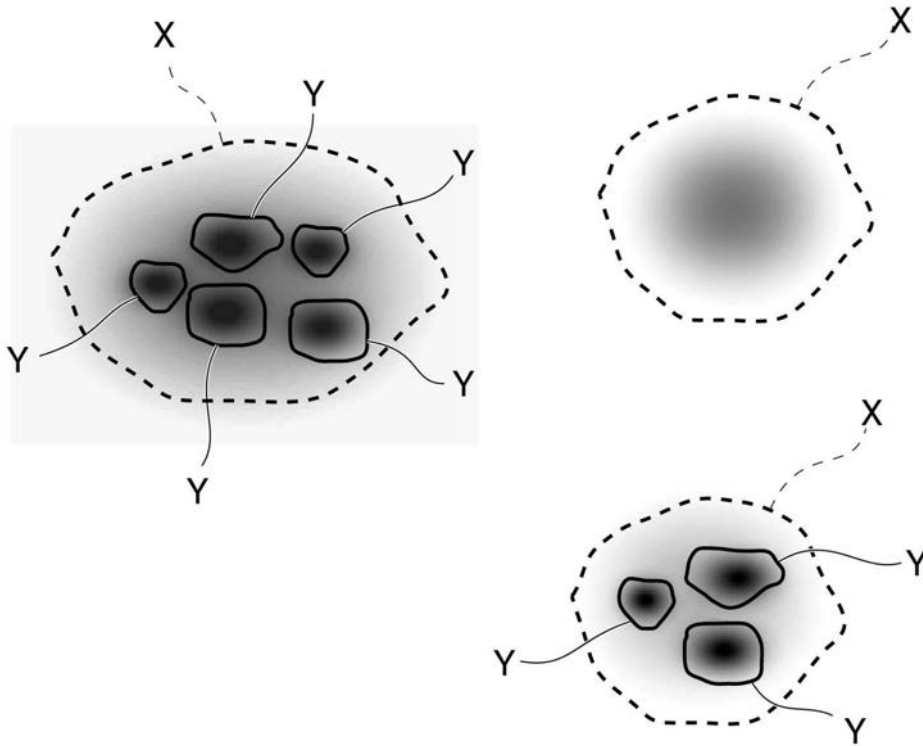
【図3】



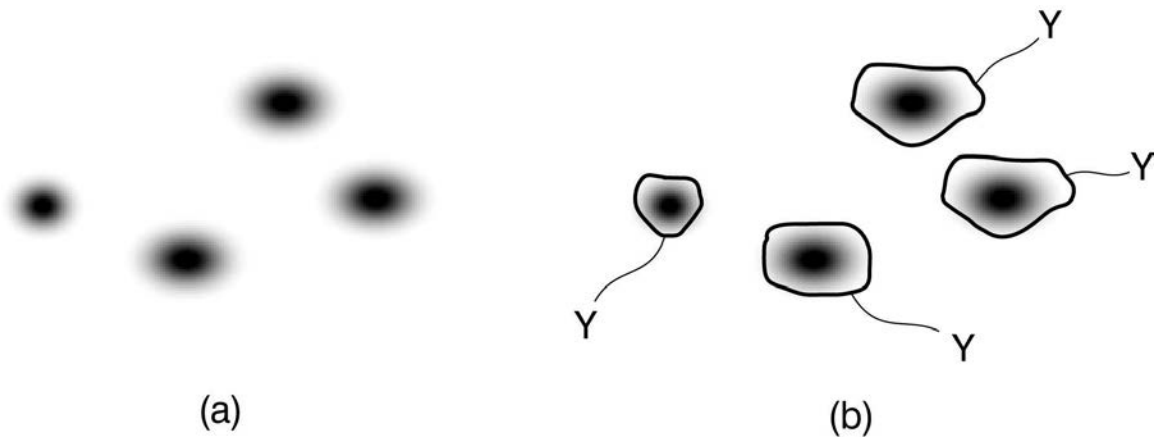
【 図 4 】



【 図 7 】



【 図 10 】



フロントページの続き

- (72)発明者 高木 浩輔
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリンパス株式会社内
- (72)発明者 小林 民代
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリンパス株式会社内

審査官 三木 隆

- (56)参考文献 特開2001-211896(JP,A)
特開2001-269195(JP,A)
特開2002-142800(JP,A)
特開2006-314214(JP,A)
特開2006-285310(JP,A)
特許第3576491(JP,B2)
国際公開第2007/114230(WO,A1)
特開2003-18447(JP,A)
特開2003-107081(JP,A)
特開2004-54347(JP,A)
特開2009-168725(JP,A)
特開2009-180539(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|------|-------|
| G01N | 33/48 |
| G01N | 21/64 |