画像処理による細胞集団の形態と機能の定量解析

国立研究開発法人理化学研究所 光量子工学研究センター 画像情報処理研究チーム*

竹本智子*・吉澤 信*・山下典理男*・森田正彦*・西村将臣*・横田秀夫*

Morphology and function analyses of cell population using image processing

Advances in imaging technology have enabled observation of various biological phenomena at the nanoscale resolution, which was previously not possible. However, extracting useful information from such images to understand various phenomena is becoming increasingly difficult because of the complexity and large amount of data involved. Numerous computational techniques, such as classic signal processing filters using image processing software, and segmentation of region of interest using machine learning, have been proposed for image analysis. Thus, selecting an appropriate method according to research goals is critical. In this paper, we briefly review our image analysis methods and their related techniques applied for analysis of cell population and intracellular images acquired by the latest imaging technology. Our image analysis methods include noise reduction, dynamic analysis of cell population and microtubules, segmentation of cytoplasmic membrane, and cell division event detection.

近年のイメージング技術の発展によって、これまでは見ることはできなかったさまざまな生命現象を、ナノスケールの精度で観察できるようになってきた。だが同時に、観察画像は大規模で複雑なものとなり、現象の理解に有用な情報を取り出すための画像解析の専門性は年々高くなっている。画像解析には汎用画像処理ソフトウェアで利用できるような古典的な信号処理フィルタや、機械学習に基づく注目領域の抽出などの幅広い技術があり、さまざまな解析目的に応じて処理法を取捨選択する必要がある。本稿では最新のイメージング技術によって取得した細胞集団や細胞内現象の観察画像に対して、筆者らや共同研究者らがこれまでに行ったノイズ除去、細胞集団および細胞内骨格の動態解析、細胞膜周辺領域と細胞分裂の検出に関する画像解析法とその周辺技術を紹介する。

Satoko Takemoto*, Shin Yoshizawa*, Norio Yamashita*,

Masahiko Morita*, Masaomi Nishimura*, Hideo Yokota*

Keywords: Image-based analysis, Image processing, Machine learning, Cellular image

1. はじめに

ここ数十年の顕微鏡や蛍光プローブをはじめとしたイメージング技術の目覚ましい発展により、生命科学の多くの分野で画像解析への期待は高まる一方である。対象を生きたまま観察できるライブイメージングは、生体内物質の形態だけでなく、さまざまな挙動や機能を分子から組織に至るまで、幅広いスケールの空間や時間情報を撮像できる。例えば、

近年の超解像技術の1つである格子光シート顕微鏡は、二次元平面(横断面)の空間分解能が150nm四方程度と光学限界以下での観察が可能であり、高速かつ低侵襲に細胞内の挙動を撮像可能である¹⁾。獲得した画像情報を定量的に解析することで、これまで見ることはできなかった観察対象の微細構造や挙動、それらの時空間変化の予測が可能になってきた。一方で、イメージング技術の発展によって高分解能、多次元、高速、長時間観察が実現されてきたことは、獲得できる画像情報が膨大なデータ量となることを意味し、それらを取り扱う画像解析の専門性と労力

* Image Processing Research Team, RIKEN Center for Advanced Photonics, RIKEN

は飛躍的に高くなる。当然のことながら、これらの膨大な情報は手作業による処理や目視による判断ができる範疇を超えており、大規模データを取り扱える処理技術と、客観的な数値計算に裏付けされる自動的かつ高性能な画像処理技術が、より一層求められるようになった。本稿では細胞集団や細胞内現象の定量解析を例に、筆者らや共同研究者らが計算科学の立場からこれまでに実現した画像解析とその周辺技術の一例を紹介する。

2. ノイズ除去

細胞内小器官などの微小な対象を撮像した画像は、通常のデジタルカメラや医用装置からの画像と比較して極めてノイズが多く、SN (Signal-to-Noise) 比が低い傾向にある。そのため画像解析の前処理として、ノイズを除去することが多い。例えば ImageJ²⁾などの汎用画像処理ソフトウェアで実行できる中央値フィルタ (Median filter) やガウスぼかしフィルタ (Gaussian Blur filter) などにより、撮影時に生じたノイズを平滑化の効果によって滑らかにすることで、その後の解析が受けるノイズの影響を軽減できる。ただし、ノイズと同時に観察対象の画像特徴も滑らかにしてしまうことがあり、微細な構造変化や挙動を見逃してしまうことがある。そこでより高性能なフィルタとして、画像特徴を保存しながらノイズを除去するバイラテラルフィルタ (Bilateral filter)³⁾や非局所平均フィルタ (Non-Local Means filter)⁴⁾が提案されている。前者は、画像中で輝度変化が大きいエッジ領域に対する平滑化量を抑え、輝度変化が小さい領域に対する平滑化度合いを大きくするエッジ保存平滑化フィルタである。後者は、画像の局所領域パターンの相似度を考慮しながらノイズを除去するパターン保存平滑化フィルタである。どちらも画像のデータ量が増加すると計算コストが飛躍的に増加することから、計算の高速化や分散処理などの工夫が必要である。

そこでバイラテラルフィルタに関して、筆者らは誤差精度保証付きの高速近似演算法群を提案した^{5,6)}。高速化なしの場合は計算コストが $O(N^2)$ であるのに対し、理論的には計算コストが $O(N)$ とな

り、桁違いに処理時間を短縮できる。図1は、文献5)で提案した方法を使用し、HeLa細胞の細胞分裂を撮影した三次元画像に対してノイズ除去を行った例である。長時間のライブセルイメージングに対応するため励起用レーザーの光量を下げていることから、画像のSN比が低い。通常のノイズ除去フィルタは画像全体をぼかしてしまうため内部構造を理解しにくくなるが、この例では細胞内部のエッジ形状特徴を保存しながらノイズを除去できているため、核などの内部構造の理解が容易である。

ただし注意すべき点として、高性能フィルタはパラメータ数が増えるため、観察画像処理の目的に応じて適切なパラメータ調整が必要である。図2は人工的に加算性白色ガウスノイズを加えた画像に対し、バイラテラルフィルタのパラメータと適用回数を変化させた処理結果である。下段は入力画像と各々の処理結果との差分である。下段において建物境界などの特徴が強く表れている場合は、フィルタがノイズだけでなく特徴も平滑化したことを意味する。このように、使用するフィルタの種類だけでなく、パラメータや適用回数によって処理結果が変わることは、その後の画像解析に影響を与える。そのため観察者は、7項や8項で述べるような画像処理システムを利用して処理法やパラメータを評価し、目的とする処理に適した組み合わせを事前に検討することが望ましい。

近年は、機械学習の1つである深層学習 (Deep learning)⁷⁾を活用した画像のノイズ除去と高解像度化が多く報告されている⁸⁾。これは、ノイズが多い画像からノイズを除去した画像への変換を学習するものであり、学習が成功した場合には極めて高いノ

図1 高速バイラテラルフィルタによる三次元画像のノイズ除去
HeLa細胞の細胞分裂時を撮影した三次元画像
(文献5より抜粋。Wiley および CGF の許可を得て引用。)

図2 複数のパラメータの組み合わせによる高速バイラテラルフィルタのノイズ除去

上段右から4枚は、フィルタのパラメータ(空間半径 σ と輝度半径 ϕ)を変えたノイズ除去画像。下段は各ノイズ除去画像と入力ノイズ画像の差分画像。

イズ除去能力を有する。ただし、学習のための正解データが大量に必要であることや、ノイズ特性に応じて長時間の学習をやり直す必要があるなど、処理法確立までの煩雑さが問題になる。最近では正解データを多く必要としない方法⁹⁾も提案されているが、当該文献⁹⁾でも指摘されているように、ノイズ除去後の画像がぼやける傾向にあることから、細胞観察画像のノイズ除去には適さない可能性もある。そこで正解データが十分に準備できて、ノイズ特性が大きく変化しない対象には深層学習に基づく方法を採用し、それ以外では先に述べた特徴保存平滑化フィルタなどを適用するなど、対象に応じて使い分けることが重要である。

3. 細胞集団の動態解析

オプティカルフロー(Optical Flow: OF)¹⁰⁾は、動画などの時系列画像の隣接フレーム(時相)間で、ある画素がどの方向へどれだけ移動したかをベクトルとして定量化する計算法の総称であり、幅広い分野で対象物の動態解析に用いられている。OFは、フレーム間で対応する画素(または、サブピクセルなどの評価点)間の移動ベクトルを推定することで、それらの移動ベクトル群が形成するベクトル場を全フレームで出力する。古典的OFの計算法では、時空間が局所的な場合は輝度値やテクスチャに不変性

があることを仮定し、各評価点の移動方向と量を求めることができる。OFを細胞観察画像解析に応用する利点は、動きを定量化したい対象物の位置や形状、フレーム間での個々の対応関係をあらかじめ検出する必要がなく、集団としての動態を統計的に数値化できることにある。例えば、観察対象が画像内に大量に存在し、時間とともに位置や形状、さらにそれらのつながり具合(位相: Topology)などが変化する場合は、個々の細胞や標的タンパク質とその対応関係を検出することが容易ではない。一方で、OFは移動ベクトル場の時間変化として対象の動態を定量化できるため、迅速な定量解析につながる。つまり、生化学反応や力学的な移動により出現・消滅・融合・分裂を繰り返すような細胞集団や蛍光タンパク質像の動態解析に有用である。

坂根らと筆者ら^{11, 12)}は、この特性をRab13結合タンパク質JRABの構造変化が細胞集団運動の制御機構に与える影響を明らかにする研究に活用した。観察対象の細胞集団は、個々の細胞内での標的タンパク質の蛍光輝度および位相・形態の変化が大きく、細胞別のタンパク質集団を個別に認識することが困難であった。そこでOFで細胞集団の動きを大量の移動ベクトル群として表現し、それらを主成分分析により統計的に定量化することで、JRABの構造変化と細胞集団の動態変化との関係を明らかにした(図3)。なお、OF以外にも細胞集団の動態解析を

図3 オプティカルフローとPCAによるJ-RABの構造変化と細胞集団運動の定量化

J-RABの野生型と構造変異体J-RAB Δ CCおよびJ-RAB Δ CTについての解析例。3段目は観察画像(1段目)とOF(2段目)をマージして表示したもの。PCA解析(4段目)の各楕円は、速度ベクトルを4クラスに分け、移動方向と距離分布を示したもの。この解析により、野生型はJ-RAB Δ CTとJ-RAB Δ CCの中間の運動形態をとり、最も効率のよい動きであることがわかった。(文献11よりASCBの許可を得て引用。)

目的とした計算法は多く提案されている。最近の動向については、文献13、14)を参照されたい。

4. 細胞分裂時の微小管動態解析

近年開発された格子光シート顕微鏡¹⁾および蛍光プローブ¹⁵⁾は、従来の光学顕微鏡観察では時空間分解能不足で観察が難しかった細胞分裂における微小管の挙動観察を可能にした。取得画像は、微小管が細胞内の大域的な領域で伸長する様子を捉えた四次元画像(三次元空間とその時系列観察)であり、空間解像度が横断面方向約230nm、縦方向約370nmの高速モード撮影により、フレーム間隔が1秒以下の高時間分解能画像が得られている^{1,16)}。データ量の問題から手作業や目視での解析が困難であり、四次元画像内に生じる微小管挙動の新たな定量解析法が

求められていた。

そこで清末らと筆者ら¹⁶⁾は、従来から顕微鏡観察結果の解析に用いられている画像処理ソフトウェアImaris(Bitplane社)の粒子追跡機能と、独自開発した動態・形態定量化法を組み合わせることによって、微小管伸長挙動を定量化した¹⁶⁾。解析では前処理として、観察時間中に生じた細胞姿勢変化の影響を軽減させるドリフト補正、蛍光褪色補正、背景の輝度斑補正を行い、微小管の伸長速度や移動ベクトルを細胞分裂期別や中心体からの距離別に分類する。この解析法を用いて、細胞分裂の様子を四次元的に観察した膨大な時系列画像から、微小管先端の輝点群の軌跡を追跡し、軌跡から求めた伸長速度と移動ベクトル群を分裂期や中心体からの距離別に定量化することで、微小管伸長動態の定量解析を実現した(図4)。このような前処理から定量化まで一貫通貫の解析法は、今後さらに取得画像の大規模データ化が予想される生命科学研究においての必要不可欠な道具になると考える。

5. 細胞膜シグナル伝達機能の定量解析

細胞膜に存在する脂質ラフト(Lipid raft)¹⁷⁾は、シグナル伝達や細胞内小胞輸送などで重要な役割を果たす細胞内構造の1つである。多くの疾病との関わりが指摘されており¹⁸⁾、近年その機能解析に向け、脂質ラフト上に存在するシグナル受容体の1つであるインスリン受容体に関しての周辺膜環境を観察する系が提案されている¹⁹⁾。この観察系では、受容体周辺の膜極性に関する時系列観察画像が取得でき、インスリンシグナル前後で膜の極性変化を定量的に解析することが重要である。受容体周辺は撮影時の大量のノイズを含む輝点の集合として観察される。受容体は細胞膜上に存在するため、画像の概観は細胞膜付近で、ある幅をもった領域を形成しているように見える。そこで、解析の前処理としてはノイズ除去とともに、輝点の集合で構成される膜領域の抽出が求められていた。しかし、観察画像のSN比は極めて低く、通常のノイズ除去では対象の輝点も除去してしまうことや、時系列観察によるデータ量増加の問題から、計算時間が長くなる高性能のフィル

図4 細胞分裂時の微小管伸長動態の定量解析法

(文献16より引用。一部改変。)

タの適用は現実的ではなかった。

そこで梅林らと筆者ら²⁰⁾は、高性能フィルタと同等のノイズ除去と領域抽出結果が得られる方法として、組み合わせ最適化による学習的画像解析法を提案した。フィルタやパラメータには複数の選択肢があるが、筆者らは8項で述べる画像処理システムSommelierによって、1,000通り以上の組み合わせから観察者(この観察系を構築した専門家)の判断を模倣する組み合わせを決定し、時系列観察画像全体に対する観察対象の領域抽出を実現した。これにより、シグナル伝達前後でのインスリン受容体周辺の膜極性に関する時空間変化を解析した²⁰⁾。この研究では、目的とする領域抽出結果が観察者にとって明確であったため、それを模倣できる処理法をどう決めるかが解析法開発の鍵となった。一方で、撮像対象が複雑で、観察者にも目標となる処理結果が不明確な場合は、別の方法を検討する必要がある。例えば、時間変化する観察画像中で不変性がある画像特徴を見出し、その数理モデルを定式化することなどが有効である。

6. 細胞分裂の自動検出

畳み込みニューラルネットワーク(Convolutional Neural Network: CNN)²¹⁾は画像認識に有用な深層学習法の1つである。例えば、文字や行動の認識、生物・医用画像における蛍光タンパク質や病変の検出・領域抽出など、多くの分野で利用されている²²⁾。CNNは目的とする処理の正解情報をあらかじめ大量に準備し、ネットワークを十分に訓練する必要がある。それゆえ、データ収集や正解作成に膨大な労力がかかる生物・医用画像の解析では、誰しもが容易にCNNを活用できるわけではない。一方で、DeepImageJ²³⁾のように、さまざまなCNNに基づく学習済みモデルがImageJのプラグインとして公開され、機械学習の非専門家であっても、少しの再学習によって目的とする処理を実行できるようになってきた。ただし、二次元画像での細胞領域全体の抽出など比較的容易な目的であればよいが、三次元の時系列観察画像から細胞内現象を検出するなどの複雑な目的の場合は、CNN自体の構成から緻密に検討する必要がある。

これに対して陳らと筆者ら²⁴⁾の研究グループは、

既存の CNN を組み合わせて、三次元の時系列観察画像で生じている細胞分裂イベントを自動検出する方法を提案した。この研究では、物体検出で定評のある Faster R-CNN²⁵⁾ と、CNN を時空間データの予測モデル生成に活用した ConvLSTM²⁶⁾ とを組み合わせることで、細胞分裂が生じている位置を自動検出している。対象とした画像は、根本ら²⁷⁾ によって撮影された二光子励起顕微鏡によるマウス皮膚深部の基底細胞をライブ観察したもので、長時間撮影された高分解能の画像内に、不定期に細胞分裂イベントが発生する。提案法では、時系列の観察画像中で密集して存在する基底細胞群から、過検出や未検出などの誤検出が極めて少ない分裂イベントの自動検出を実現した²⁴⁾。

7. 画像処理システム：VCAT、ICT

生物・医用画像の解析に有用なソフトウェアは数多く存在する。有償では Imaris(Bitplane 社)、Amira(Thermo Fisher Scientific 社) や Dragonfly(Object Research Systems 社) など、無償では ImageJ や CellProfiler²⁸⁾ などがある。画像解析は一般的にノイズ除去などの前処理、特徴抽出、領域抽出・分類、幾何形状解析、統計処理などの各処理を

目的に応じて組み合わせる必要があるため、各ソフトウェアにはそれらの複数機能が実装されている。さらに最近では、高次元化や高解像度化による大規模データや深層学習などへの機能対応が求められているが、単一のソフトウェアがあらゆるニーズに応えることは難しい。また、イメージング技術の急速な進歩により、画像解析を行うユーザーが増えている。それゆえ、計算機資源の需要は増大し、ハード・ソフト両面の維持管理にコストと労力がかかることは軽視できない問題となっている。

これらの現状に対し、筆者らは計算科学者などが開発した画像処理・解析計算法をプラグインとして容易に追加・更新でき、直感的な操作が可能な GUI を搭載した多次元画像処理システム VCAT を独自に開発し、アカデミック向けに公開している^{29,30)}。また、VCAT と画像管理・処理サーバを統合したクラウドコンピューティングを実現する画像処理クラウドシステム ICP(Image Communication Platform)^{31,32)} を構築し、試験運用を行っている(図5)。例えば、ユーザーは PC やタブレットの Web ブラウザから、VCAT を通じて各種の画像処理・解析を行うことができる。また、処理履歴の保存や再利用、データのアクセス権限などのユーザー・グループ管理機能が搭載されている。これらによっ

図5 多次元画像処理システム VCAT と画像処理クラウドシステム ICP

て、ユーザーはPC環境に制約を受けることなく画像処理・解析を実施でき、ハード・ソフト両面でのコスト・労力を削減できるなど、研究の効率化・高度化を図ることができる。

8. 画像処理法の性能評価システム：Sommelier

画像の領域抽出は、画像内で注目する領域を背景などの他の領域と区別する処理であり、さまざまな画像解析で有用である。複数の画像処理フィルタ、特徴抽出やその識別・分類処理などを組み合わせて実現することが多く、解析対象に適した領域抽出法を構築することは容易ではない。簡単な画像処理フィルタの組み合わせなどで実現できるものから、複雑な機械学習を導入するものなど、目的に応じて難易度はさまざまである。また、処理法の組み合わせやパラメータの選択肢は多岐にわたり、それぞれ結果が大きく異なる。それゆえ、データによって方法を選び直すことは、その後の解析の客観性・再現性を損なう可能性がある。この問題を解決するため、

筆者らは画像処理法の性能評価システム Sommelierを開発した^{33,34)}。このシステムは、事前に用意した多くの画像処理法群とそれらのパラメータ範囲から、ユーザーが希望する領域抽出と近い結果が得られる処理法の組み合わせを自動的に最適化し提示する。システムではまず、ユーザーが処理をしたい入力画像と希望する領域抽出結果のペアを正解として与える。さらに、ユーザーはプラグイン化された多種多様な画像処理法を、ビジュアルプログラミング方式で選択・設計する。システムは選ばれたプラグインの全組み合わせを自動的に生成した後、指定したパラメータ範囲での各出力と正解とを比較・相対評価する(図6)。このシステムの利点は、画像処理法の理論的背景に精通していないユーザーであっても、さまざまな処理法の組み合わせを簡単に比較できることにある。また、例えば時系列観察の場合は、複数キーフレーム画像を正解に用いることで、時系列全体を通して有効な処理法が自動的に選ばれ、褪色などによって画像の様相が変化するたびに処理法を選び直す必要がない。システムには平滑化フィル

図6 性能評価システム Sommelier の概要と処理例

(a) システムの動作概要。(b) 5項の解析目的のため、評価対象とした画像処理法の組み合わせ例。(c) 共焦点レーザー顕微鏡で撮影した細胞膜上のインスリン受容体周辺の画像。下段は手作業で作成した領域抽出の正解画像と、システムが評価した組み合わせのうち最上位と最下位の方法による自動抽出結果。

タのような単純なものから機械学習に基づくもので、さまざまなプラグインが実装されており、それらの単体または組み合わせによる処理性能は、正解との比較で相対的・客観的に評価できる。評価したい組み合わせが多く計算時間が長くなる場合には、PC クラスターと呼ばれる汎用並列計算機群での並列処理も可能である。

5項で述べた膜領域の自動抽出では、このシステムを用いて最適化した組み合わせによる計算法を用いた。当該膜領域抽出法の評価では、ノイズ除去フィルタとして高速バイラテラルフィルタ、非局所平均フィルタ、中央値フィルタ、さらに画像特徴抽出としての DoG フィルタ³⁵⁾や高次局所自己相関特徴 (High-order Local Auto-Correlation : HLAC)³⁶⁾、抽出した特徴の判別 (2値化法) として K-means³⁷⁾ を用いて、図6に示す経路とパラメータの組み合わせから計1,072通りの処理組み合わせを生成し、評価の対象とした。相対評価で最も評価が高かった組み合わせを時系列観察画像全体に適用し、膜領域の領域抽出を実現した²⁰⁾。現在のシステムは領域抽出法の性能評価を対象としているが、プラグインや評価方法を追加することによって物体追跡、画像検索や超解像などさまざまな画像処理法の評価が可能である。さらに、学習済みのネットワークモデルをプラグイン化することで、さまざまなニューラルネットワークの相対評価も可能である。将来的にはシステ

ムをクラウドベースでアカデミック向けに公開し、解析法の比較検討が必要なユーザーが簡単に利用できることを目指している。

9. おわりに

本稿ではイメージング技術の進展により急速に大規模データ化が進んでいる細胞観察画像に対し、筆者らや共同研究者が提案・開発した画像解析法および処理システムを紹介した。ここ数年、生物・医学分野での画像解析でも、CNN をはじめとした深層学習の台頭は目を見張るものがある。一方、最新の機械学習法が必ずしも解析に有効であるとは限らず、古典的な方法と最新の方法の性能を常に比較し、互いの特性を理解したうえで適切に画像解析法の取捨選択をする必要がある。本稿で紹介した解析例はほんの一例に過ぎないが、観察画像を定量的に解析したい生命科学者にとって、解析法検討の一助となることを願う。

謝辞

本稿記載の研究の一部は、徳島大学 佐々木卓也教授、坂根亜由子准教授、理研BDR 清末優子チームリーダー、ジュネーブ大学 Howard Riezman教授、岐阜大学 梅林美和博士、立命館大学 陳延偉教授と関係者の皆様のご厚意によって紹介させていただいた。深く感謝申し上げます。

文献

- 1) Chen B.-C., *et al.*, *Science*, **346**, 1257998 (2014)
- 2) <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>(最終閲覧日：2021年7月11日)
- 3) Tomasi C., *et al.*, *In Proc. of ICCV*, 839-846 (1998)
- 4) Buades A., *et al.*, *In Proc. of CVPR*, **2**, 60-65 (2005)
- 5) Yoshizawa S., *et al.*, *Comput. Graph. Forum*, **29**, 60-74 (2010)
- 6) Bashkirova D., *et al.*, *Proc. ISP RAS*, **29**, 55-72 (2017)
- 7) LeCun Y., *et al.*, *Nature*, **521**, 436-444 (2015)
- 8) Tian C., *et al.*, *Neural Networks*, **131**, 251-275 (2020)
- 9) Li M., *et al.*, *IEEE TMI*, **39**, 2289-2301 (2020)
- 10) Beauchemin S., *et al.*, *ACM Comput. Surv.*, **27**, 433-466 (1995)
- 11) Sakane A., *et al.*, *Mol. Biol. Cell*, **27**, 3095-3108 (2016)
- 12) Sakane A., *et al.*, *Front. Cell Dev. Biol.*, **6**, 1-7 (2018)
- 13) Castaneda V., *et al.*, *Curr. Mol. Med.*, **14**, 291-307 (2014)
- 14) Masuzzo P., *et al.*, *Trends Cell Biol.*, **26**, 88-110 (2016)
- 15) Mimori-Kiyosue, Y., *et al.*, *Curr. Biol.*, **10**, 865-868 (2000)
- 16) Yamashita N., *et al.*, *J. Biomed. Opt.*, **20**, 101206 (2015)
- 17) Lingwood D., *et al.*, *Science*, **327**, 46-50 (2010)
- 18) Vetrivel K.S., *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1801**, 860-867 (2010)
- 19) Prifti E., *et al.*, *ACS Chem. Biol.*, **9**, 606-612 (2014)
- 20) Umebayashi M., *et al.*, *bioRxiv*, 2020.12.23.424145 (2020)
- 21) Lecun Y., *et al.*, *Proc of IEEE*, **86**, 2278-2324 (1998)
- 22) Shibuya, E., *et al.*, *Vis Comput* (2021)
- 23) Gómez-de-Mariscal E., *et al.*, *bioRxiv*, 799270 (2021)
- 24) Girshick R., *et al.*, *In Proc. of ICCV*, 1440-1448 (2015)
- 25) Shi X., *et al.*, *In Proc. of NIPS*, 802-810 (2015)
- 26) Kitrungrotsakul T., *et al.*, *IEEE/ACM TCBB*, **18**, 396-404 (2021)
- 27) Ipponjima S., *et al.*, *PLoS ONE*, **11**, e0163199 (2016)
- 28) <https://cellprofiler.org/>(最終閲覧日：2021年7月11日)
- 29) 森田正彦ほか, “バイオ画像解析 手とり足とりガイド”, 羊土社, 208-218 (2014)
- 30) <https://logistics.riken.jp/vcat/vcat/ja>(最終閲覧日：2021年7月11日)
- 31) Morita M., *et al.*, *Int. J. Comput. Netw. Commun.*, **4**, 369-391 (2014)
- 32) 森田正彦ほか, *Med. Imaging Technol.*, **33**, 112-117 (2015)
- 33) 竹本智子ほか, *In Proc. of SSII, S01-ISI-18*, 1-7 (2017)
- 34) Takemoto S., *et al.*, *In Proc. of Int. Symp. on Computing and Networking*, 294-299 (2013)
- 35) Itti L., *et al.*, *IEEE TPAMI*, 1254-1259 (1998)
- 36) Kurita T., *et al.*, *In Proc. of ICPR*, 213-216 (1992)
- 37) MacQueen J.B., *In Proc. of Berkeley Symp. on Math. Stat. and Prob.*, 281-297 (1967)