Python を用いたニワトリ初期胚における体動量解析プログラムの開発

藤井 勇気^a 木元 雅也^a 千葉 裕弥^a 森谷 健二^a

^a函館工業高等専門学校

1. はじめに

ニワトリ初期胚は心臓をはじめとする重要な臓器が成長発達する期間であるが、初期胚における体動の頻度やパターン、そして成長に及ぼす影響についての報告はほとんどされていなかった。ヒト胎児において体動量が正常成長の目安になるという報告があることから、本研究では、ニワトリ胚を計測モデルとして CCD カメラによる直接録画により、初期胚における体動の発達パターンの解明に取り組んできており、正常成長における体動パターンについてある程度明らかになってきた⁽¹⁾。現在では、間歇性低酸素環境下における体動解析を行っており、そのためにフィルタ処理や体動量算出などのプログラムが開発された⁽²⁾。しかしながら、従来の解析システムではノイズ判定精度の甘さや複数プログラム処理による膨大な作業量など、いくつかの問題点・改善点(詳細については 2 章で述べる)が検討されたため、本研究ではさらに高速かつ高精度な体動解析プログラムの開発を目的とした。

2. 体動量解析システム

2.1 従来のシステムと解析上の問題

体動量は、あらかじめ用意しておいたニワトリ胚の頭部をテンプレート画像として、解析動画内でその画像と類似度の高い部分を追従するテンプレートマッチング法を用いて胚の位置を検出し、フレーム間の移動量を算出した⁽³⁾。Fig.1 に、従来の体動解析システムのブロック図を示す。動画データを所定の時間ごとに切り出す。切り出した動画データの 1 フレームを抜き出しテンプレートマッチング法により胚の位置を検出し、座標データとして取得する。これを繰り返し全フレームに対して行い座標データ列を取得する。しかし、実際にはテンプレートマッチングの誤検出のデータが含まれているため、フィルタリング処理を行い、最後にフレーム間の差分を体動量として算出し、体動量解析データとした。

Fig.1 に示した体動量解析システムの各項目は全て独立した解析プログラムとなっており、手順通りに各プログラムを実行しなければ体動量の解析ができないために

非常に手間と時間がかかってしまう。現在の研究では、ニワトリ初期胚の計測時間が 72[h]となっており、20 分の動画へ分割してから手動で一つ一つの解析システムを実行しなければならず、一回の計測実験で 1080 回もの解析処理を手動で行うため膨大な時間と作業量を必要とする。また、各システムにおいて指定したテキストファイルのパスが長いとプログラムが実行できない。さらに、フィルタにおける閾値設定にて、読み込んだデータ全体の平均を使用しているため、本来であればノイズではない体動までもが余分に除去されている可能性がある、という問題点があった。

Fig. 1 Procedure of body movement analysis system

2.2 改良後のシステム

開発したシステムのフローチャート(一部抜粋)を Fig.2 に示す。仕様としては、作業手順と時間の削減のために解析を行いたい測定データを格納しているフォルダ内の全ファイルに対してオートで解析を行えるようにした。また、胚は時間を追うごとに成長するので、従来のように計測時間全体の体動平均値±50%をノイズの閾値設定に使用すると成長前の小さな体動がノイズとして除去されてしまうため変更することとした。孵卵時間毎の 1 フレームでの体動量をいくつか調査した結果、1 フレーム(1/30 秒)で最も大きい体動量が 8[pixel]であったことから(Table 1), 10[pixel]以上の体動を誤検出によるノイズとして除去することとした。

これらのシステムは Python を用いて新たに構築した。Python は、これまで使用していた C 言語と比べて、読みやすく、書きやすいと評価されている点、少ないコードで簡潔に処理をかける点、豊富なライブラリが整備されている点、そして重要な点として、将来的に AI を利用したパターン認識も考えているが、AI 分野での使用率が非常に多いことなどの理由から使用することとした。

Recording data

Fig. 2 Analysis system flowchart

Table 1. Amount of body movement in one frame for each incubation time

		Incubation time[h]				
		72	84	100	108	120
The amount of Body movement [pixel]	Slow-moving	1.0	1.4	1.0	1.4	1.5
	Fast-moving	-	1.4	8.0	3.2	7.0

(N=2,respectively)

Fig. 3 Amount of relative body movement every 5 sec in the previous system and the new system

3. 結果と考察

従来の解析システムでは独立した解析プログラムに対し手作業で測定データを割当てていたため、1080回もの処理を手動で行っており、莫大な解析時間と作業量であった。しかし、今回開発したシステムでは一度に多くの測定データを解析することができ、1回の手動処理だけで、これまで何時間もかけてきた解析処理を数十秒で終了させることに成功した。また、従来のシステムでは、フィルタ処理の閾値設定において、読み込んだデータ全ての座標平均を使用し設定していたが、今回開発したシステムでは1[frame]間に10[pixel]以上の体動を誤検出データとして除去した。Fig.3に1時間の計測データにおいて、従来のフィルタリング方法を用いた解析システムと今回開発した新しいフィルタリング方法を用いた解析システムにおける解析結果を示す。Fig.3上では0~20分間に大きな体動が見られる(図中青丸)がこれは誤検出データであり、Fig.3下ではその誤検出データの除去に成功した。また、Fig.3上よりFig.3下の方が体動が大きいのことがわかる。これは、従来の解析アルゴリズムでは本来体動として正しいデータを誤検出データとして除去していたためだと考えられる。

4. おわりに

本研究では、Pythonを用いて従来に比較して短時間、高作業効率のニワトリ初期胚の体動解析システムを開発した。テンプレートのマッチング率向上などシステムの改良の余地は残されているものの、これまでより高精度で解析が可能となった。今後は実験例を増やし、本解析システムを用いて様々な孵卵環境下でのニワトリ初期胚の体動パターンを解明していきたい。

謝 辞

本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金(K.M.No.19K04433)を受けて行われました。ここに謝意を示します。

文 献

- (1) 工藤雅嗣, 木村友香, 秋山龍一, 森谷健二:「ニワトリ初期胚の体動解析システムの構築」, 函館工業高等専門学校紀要, 第45号, pp.29-34, 2011
- (2) Kenji Moriya, Yuya Chiba and Akito Shimouchi, Body movements during the early stages of chick embryo under intermittent hypoxic environment, Proceedings of IGNITE 2016, AMER INST PHYSICS; no. 1865, 2017. (DOI: 10.1063/1.4993387)
- (3) 木元雅也, 千葉裕弥, 森谷健二:「間歇性低酸素環境下におけるニワトリ初期胚の体動量への影響調査」, 第5回日本福祉工学会九州支部大会, pp.34-35, 2020