



Title	Automatic Image Analysis for Biomedical Research: Rapid Drug Susceptibility Testing and Investigation of Cell Specialization in Early Embryo
Author(s)	Grushnikov, Andrey
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/69713">https://doi.org/10.18910/69713</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## Abstract of Thesis

Name (GRUSHNIKOV ANDREY)	
Title	Automatic Image Analysis for Biomedical Research: Rapid Drug Susceptibility Testing and Investigation of Cell Specialization in Early Embryo  (生物医学のための自動画像解析：迅速な薬物感受性試験ならびに初期胚の細胞分化研究)
<p>Cell analysis is one of the core procedures done frequently during the course of research in a number of fields, including bacteriology and embryology. The information about cell morphology, lineages, and growth characteristics is gathered with microscopes, providing visual data in the form of images for investigation. Human-based study of these images is labor-intensive, error-prone due to subjective biases, lacks reproducibility and gives the qualitative assessment of the subject, rather than the quantitative. These negative aspects emphasize the importance of an automatic solution for the cell analysis problem. Although a number of software applications, capable of performing cell detection and tracking, are available, they have to be heavily altered and tailored to solve each particular task, complicating the processing pipeline. This thesis presents image processing based solutions for two cell analysis problems: drug susceptibility testing and early stage embryo segmentation.</p> <p>Drug susceptibility testing is a process where a bacteria strain resistance to multiple drugs with different concentration levels is investigated. Existing approaches for testing rely on processing with specialized equipment that provides results not earlier than 24 hours. Recently a new device, drug susceptibility testing microfluidic device, that performs analysis of cell images after 3 hours, has been introduced. Development of an algorithm for processing these images to extract cell features and determine, whether a strain is susceptible to a drug in presented concentration or not, was the focus of the research. The designed method showed more than 97% accuracy of estimating minimum inhibitory concentration on a dataset that contained 101 bacteria strains, tested in presence of 5 different drugs. The implementation of the algorithm was created as a stand-alone software application that is currently used frequently to perform drug susceptibility tests by biology experts.</p> <p>Analysis of cell morphology at early stages of embryo development present interest for the medical community, for information about cell characteristics such as position, volume, size, and others facilitates designing comprehensive models of internal processes, occurring in the embryo during its growth, thus, leading to new treatments of genetic disorders and artificial tissue growth. To extract cell features cell segmentation must be carried out in advance. Previously introduced methods processed single or multiple phase contrast microscopy images and showed efficiency in segmenting embryos with 4 or fewer cells, yet were not able to achieve high accuracy for embryos with more blastomeres. Advances in fluorescence imaging allowed to target particular cell parts providing visual cues that simplify segmentation. The aim of the studies presented in this thesis was to design a method for automatic segmentation of early-stage embryos from multiple cross sections fluorescence images. This task was solved by constructing energy functions to describe desired segmentation and applying a 3D level set. The method achieved 93% accuracy for 4-cell embryos, yet it was lower for the higher number of blastomeres, reaching 75% for 32-cell embryo.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( Andrey Grushnikov )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	八木 康史
	副 査	ワイタカー記念全学教授	金出 武雄 (カーネギメロン大学)
	副 査	教授	井上 克郎
	副 査	准教授	槇原 靖

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、生物医学研究における効率化や新たな知見の発見を目指した自動画像解析について取り組んだものであり、特に、細菌に対する迅速な薬剤耐性判定のための自動画像解析や、初期胚の細胞分裂過程における3次元細胞領域分割に関する手法を提案したものである。

第1章では、社会背景として、生物医学研究分野において自動画像処理に対する需要が高まっており、特に、細胞画像処理に関する研究が活発に取り組まれていることを述べている。さらに、細胞画像処理の主要な従来研究を取り上げ、それらの研究が抱える課題について述べた上で、本研究で取り組む細胞画像処理技術の意義と目的を示している。

第2章では、細菌に対する迅速な薬剤耐性判定のための自動画像解析について論じている。薬剤耐性判定の従来手法である勾配法やディスク拡散法は、判定に一日近くの時間を要するのに対して、微小流路を用いた手法は、3時間程度で判定可能であることから、有望視されている。しかし、薬剤判定には、人手による細胞の形状判定や計数を伴うことから、画像処理による自動化が望まれている。そこで、本章では、画像の照明正規化や微小流路の検出など前処理、細菌細胞の互いの重なりに頑健な検出手法、細胞の長さや面積といった特徴の抽出方法、サポートベクトルマシンを用いた薬剤耐性の有無についての判定、といった一連の処理を含む自動画像解析手法を提案している。実験では、経過時刻毎の薬剤耐性の有無に関する識別精度を評価し、いずれの薬剤に対しても、9割以上の精度を達成している。

第3章では、初期胚の細胞分裂過程における3次元細胞領域分割手法について論じている。対象としては、細胞核領域、及び、細胞壁を蛍光標的とした蛍光顕微鏡画像を扱い、3次元形状の断層画像セットを入力として、各細胞領域への分割結果を出力とする。細胞領域分割には、3次元レベルセット法を用い、そのエネルギー関数を、エッジ・細胞核の包含・細胞同士の間隔を考慮して定義される細胞内領域に対するエネルギー関数と、体積・細胞同士の間隔・細胞核の包含を考慮して定義される細胞壁領域に対するエネルギー関数の和として定義している。その上で、エネルギー最小化に関する更新ステップと、境界領域の平滑化ステップを交互に適用することで、最終的な領域分割結果を得ている。実験では、1個の初期胚から32個の細胞に分裂する過程の3次元細胞画像を対象として、提案手法による領域分割結果を、真値の領域分割結果と比較して、精度を評価している。

第4章では、上記の研究結果をまとめ、提案手法が、薬剤耐性判定、及び、初期胚の細胞分裂過程の理解といった目的に有用であると結論づけた上で、更なる精度向上や適用範囲の拡大に向けた技術的課題について論じている。

以上の通り、一連の研究は、細胞画像処理による薬剤耐性判定、及び、3次元細胞領域分割による初期胚の細胞分裂過程の理解における自動画像処理の有効性を示し、生物医学の研究領域における自動画像処理の発展に大きく寄与するものである。

よって、博士（情報科学）の学位論文として価値のあるものと認める。