

「生物画像解析を知って・学んで・使う」

生物画像解析の実践 ～タスクに応じた適切な手法の選択～

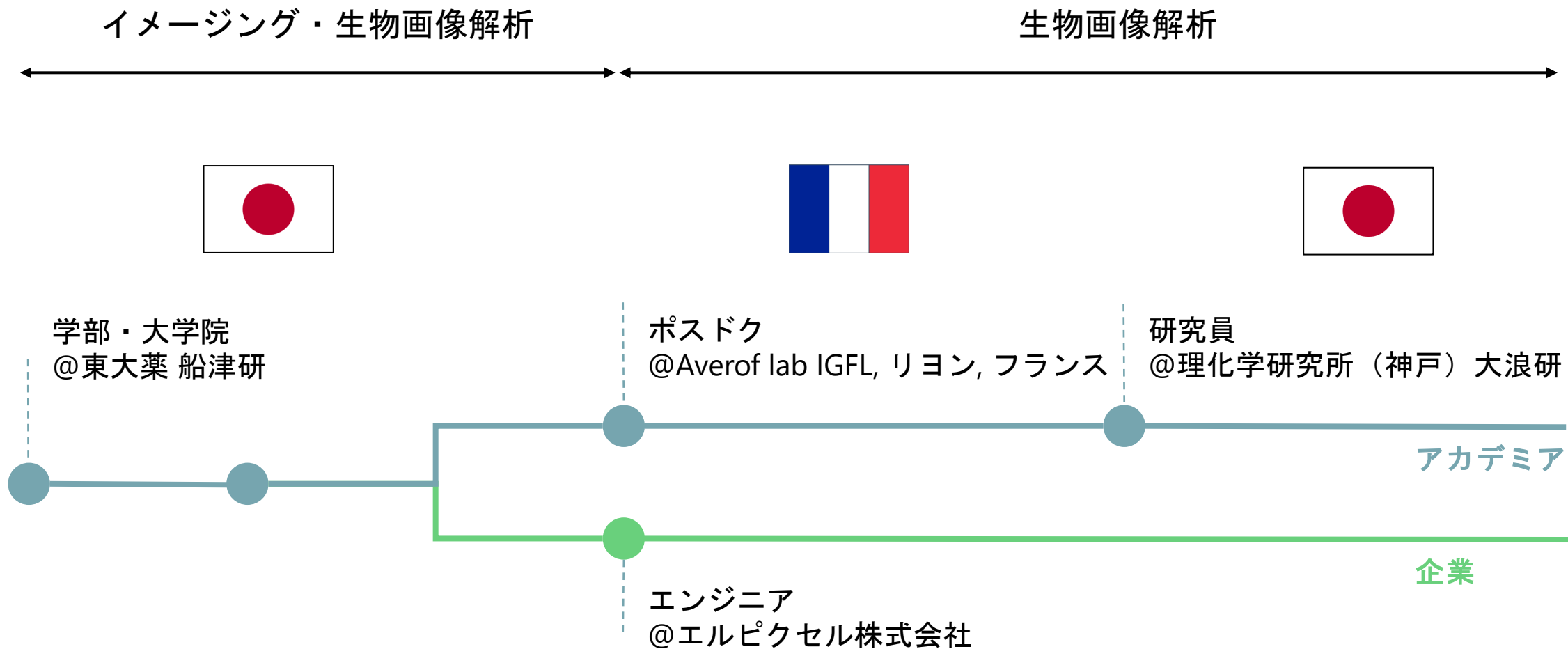
菅原 皓

理化学研究所 生命動態研究センター 研究員

エルピクセル株式会社 研究開発本部 エンジニア

2024年8月15日（木）JST-NBDCデータ解析講習会：AJACS（オンライン）

自己紹介



受講の目的・動機等（事前アンケートに基づくまとめ）

生物画像解析についての知識を深めたい

画像解析研究者の視点を知りたい

自身の研究・業務に役立てたい

QuPath、napariを用いた解析を学びたい

画像解析のコツを知りたい

最新の画像解析手法について情報収集

ImageJを用いた生物画像解析を学びたい

AIを用いた生物画像解析について知りたい

講義の概要

- 講義内容
 - この講義では、生物画像解析における主要なタスクに焦点を当て、実践的な戦略と具体的なアプローチをImageJ/Fiji、QuPath、napariといった画像解析ツールを用いて解説します。
- 目標
 - 生物画像解析の実践的な考え方を理解し、適切な手法を選択できる能力を養うことを目指します。

本講義で扱う内容と扱わない内容

- 本講義で扱う内容
 - 生物画像解析の実践に必要な考え方
 - オープンソース生物画像解析ソフトウェアを用いた生物画像解析の実例
 - 生物画像解析を行なっていくために必要な情報の調べ方
- 本講義で扱わない内容
 - 個々のソフトウェアの使い方の詳細
 - 画像解析により得られた結果の統計処理
 - プログラミング

生物画像解析の一般的な流れ

課題設定



解析方針決定
ツール選択



解析実行



結果の解釈



生物画像解析の一般的な流れ

課題設定



解析方針決定
ツール選択



ここがまず重要！

解析実行



結果の解釈



課題設定の例

- 細胞の画像解析をしたい

課題設定の例

- 細胞の画像解析をしたい



課題設定を明確にする

- 蛍光顕微鏡で撮像した核染色画像を用いて、画像内全領域における個々の細胞核の面積を定量したい
- 病理スライド画像を用いて、正常細胞領域とがん細胞領域の比率を定量したい

課題設定によって適切な解析方針や選択するツールが異なる

解析方針の検討

- 課題の目的
- 入力画像の性質
- 利用可能なツール
- 利用可能な計算機環境

などを踏まえて解析方法の検討を行う

主な画像解析タスク

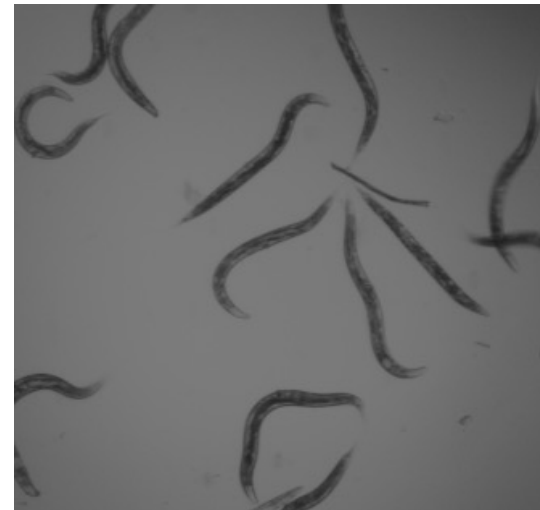
- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- トラッキング
- その他（共局在解析、デノイズなど）

キーワードを知っておくと便利

主な画像解析タスク

- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- トラッキング
- その他（共局在解析、デノイズなど）

Positive: mostly alive



Negative: mostly dead



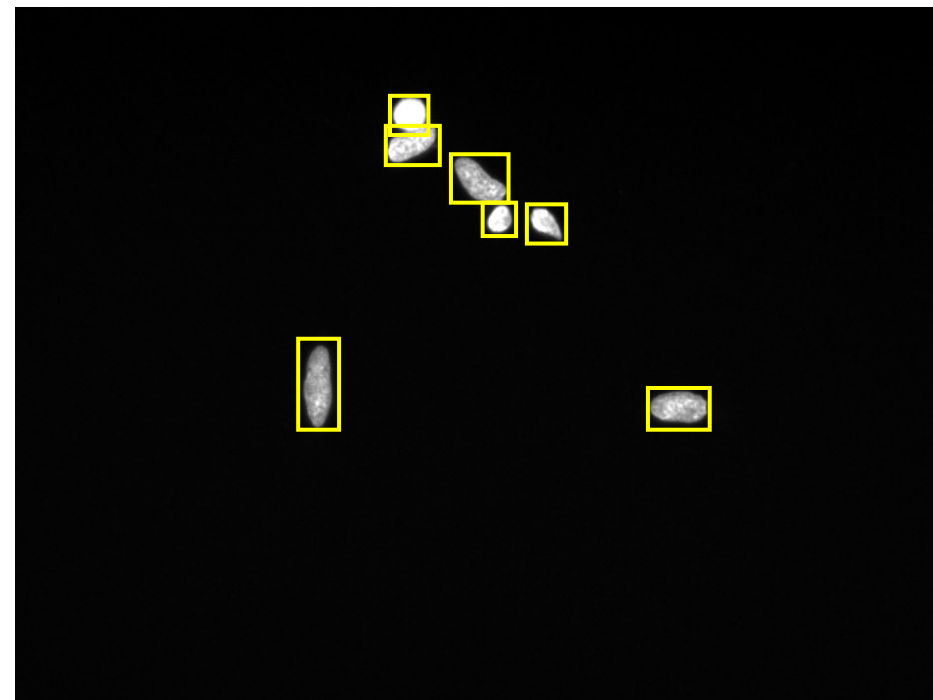
二種類以上のクラスに画像进行分类するタスク

画像データ: the *C.elegans* infection live/dead image set version 1 provided by Fred Ausubel and available from the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](https://doi.org/10.1038/nmeth.1984)].

Moy *et al.* *ACS Chem. Biol.* **4**(7), 527-533 (2009). <https://doi.org/10.1021/cb900084v>
 Wahlby, C. *et al.* *Nat Methods* **9**, 714-716 (2012). <https://doi.org/10.1038/nmeth.1984>

主な画像解析タスク

- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- トラッキング
- その他（共局在解析、デノイズなど）



画像内の対象オブジェクトを検出するタスク

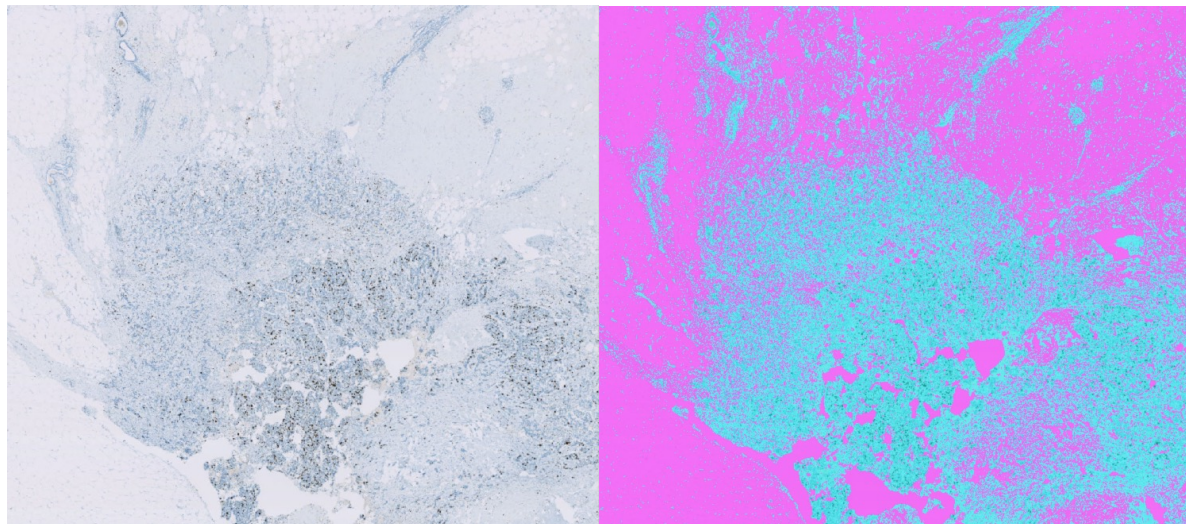
画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)] CC0

主な画像解析タスク

- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- トラッキング
- その他（共局在解析、デノイズなど）

元画像

セグメンテーション結果



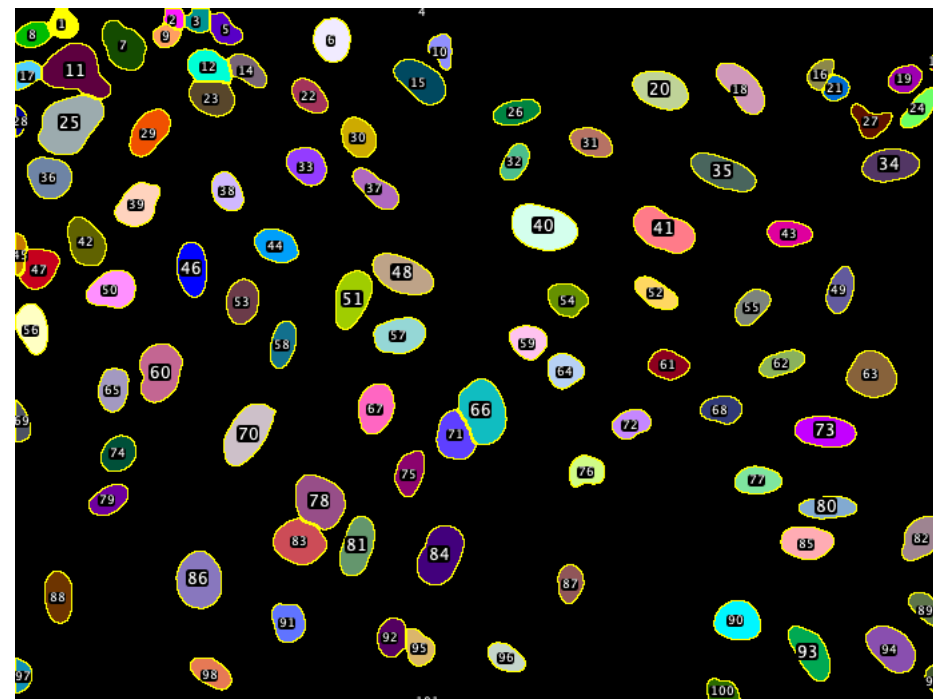
画像内の領域を対象クラスごとに分割

画像データ: OpenSlide Test data OS-2.ndpi

<https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Hamamatsu/>

主な画像解析タスク

- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- トラッキング
- その他（共局在解析、デノイズなど）

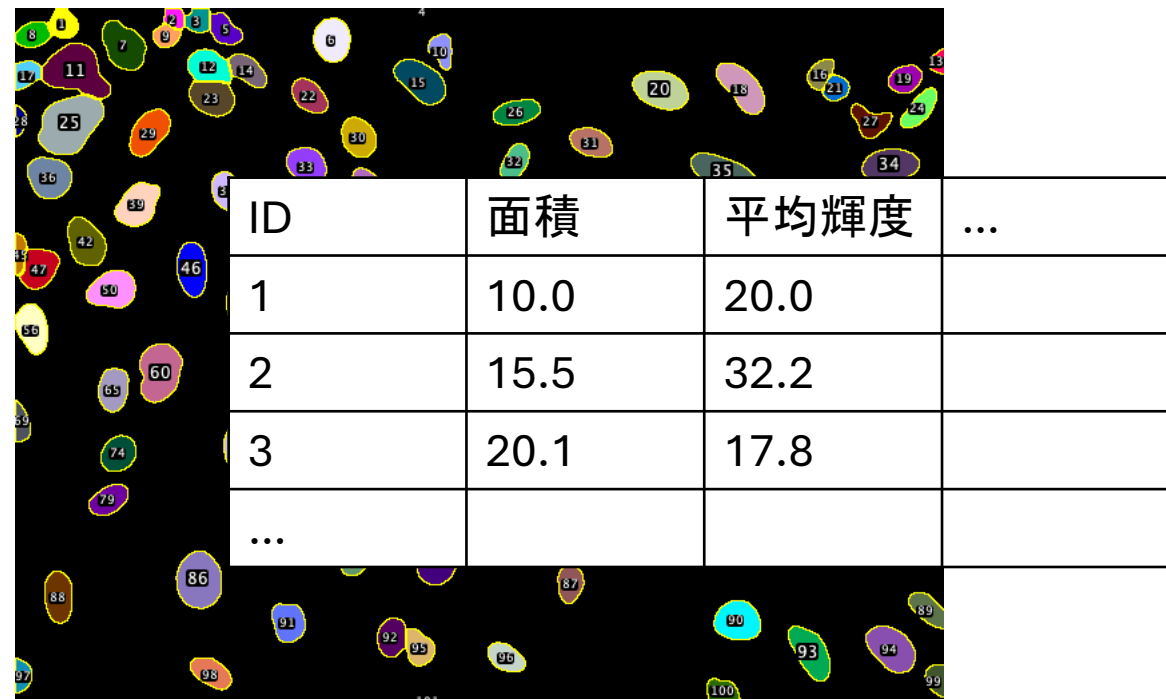


個々の対象オブジェクトの輪郭を検出するタスク

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)] CC0

主な画像解析タスク

- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- トラッキング
- その他（共局在解析、デノイズなど）

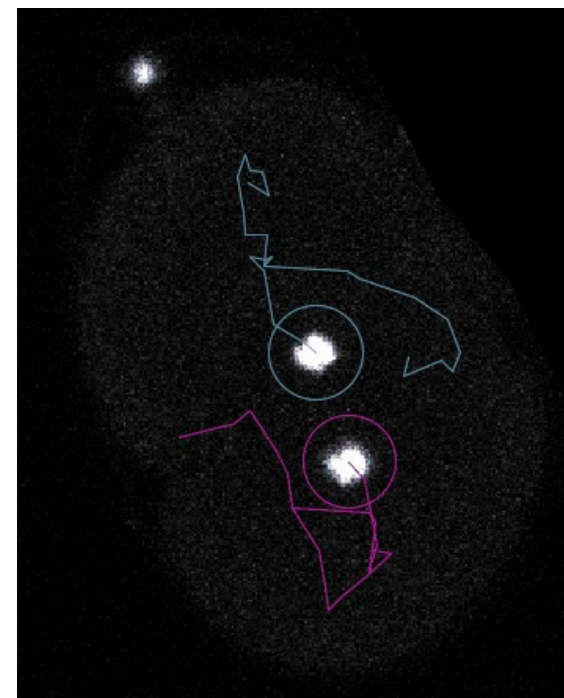


検出オブジェクトの形態情報を解析するタスク

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)] CC0

主な画像解析タスク

- 分類
- 物体検出
- セマンティックセグメンテーション
- インスタンスセグメンテーション
- 形態解析
- **トラッキング**
- その他（共局在解析、デノイズなど）



対象オブジェクトを追跡し解析するタスク

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing).
Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史

1. Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012).
Nature Methods, 9(7), 671–675. [doi:10.1038/nmeth.2089](https://doi.org/10.1038/nmeth.2089)

1987

NIH Image¹



アメリカ国立衛生研究所の
Wayne RasbandがMac向けに開発
した汎用画像解析ソフトウェア
ImageJの元となった

生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史

Javaによりクロスプラットフォーム
で利用できるようになりユーザー
と開発者の数が大幅に増加

1997
ImageJ¹

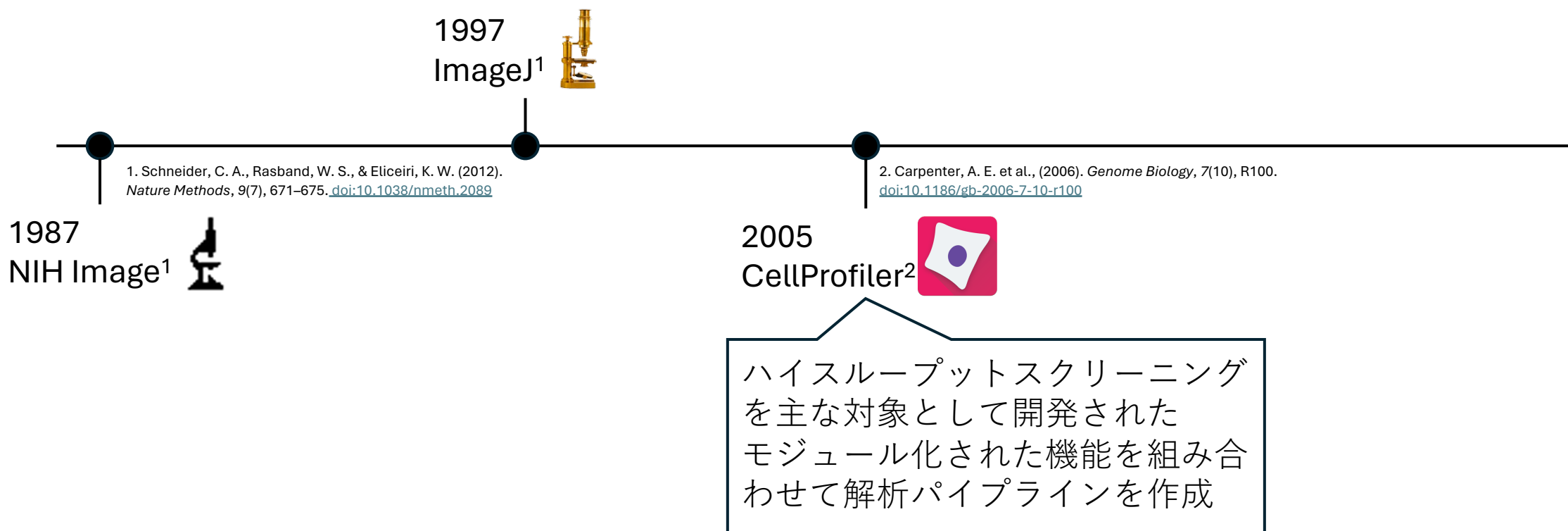


1. Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012).
Nature Methods, 9(7), 671–675. [doi:10.1038/nmeth.2089](https://doi.org/10.1038/nmeth.2089)

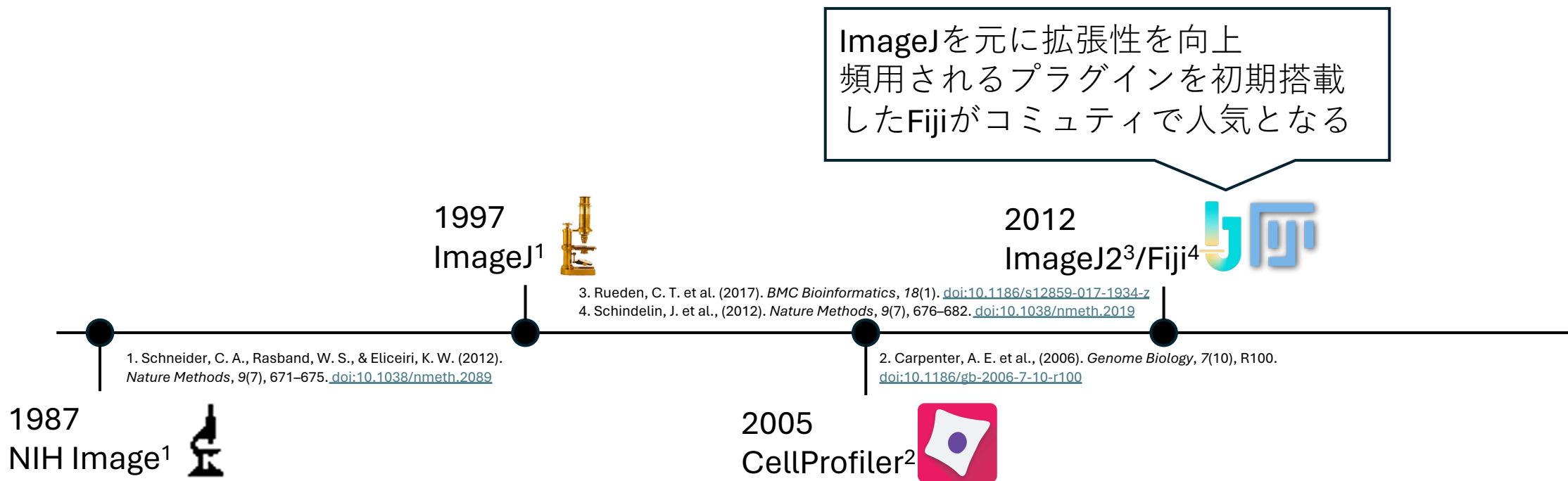
1987
NIH Image¹



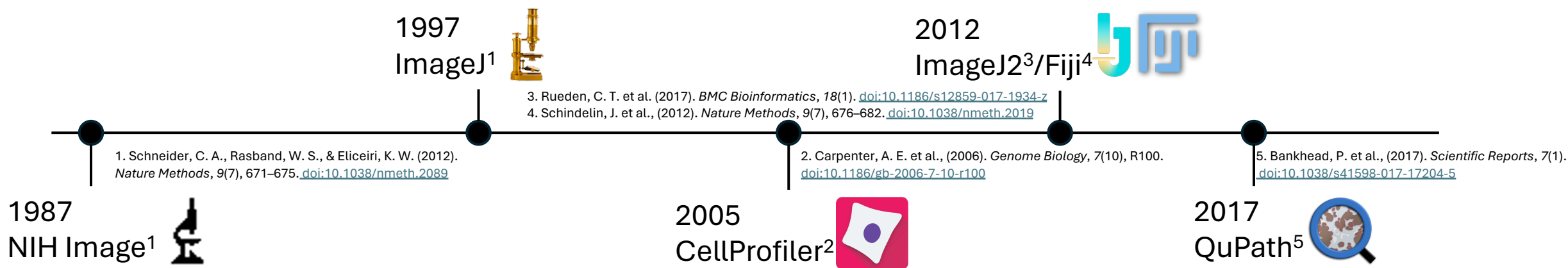
生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史



生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史

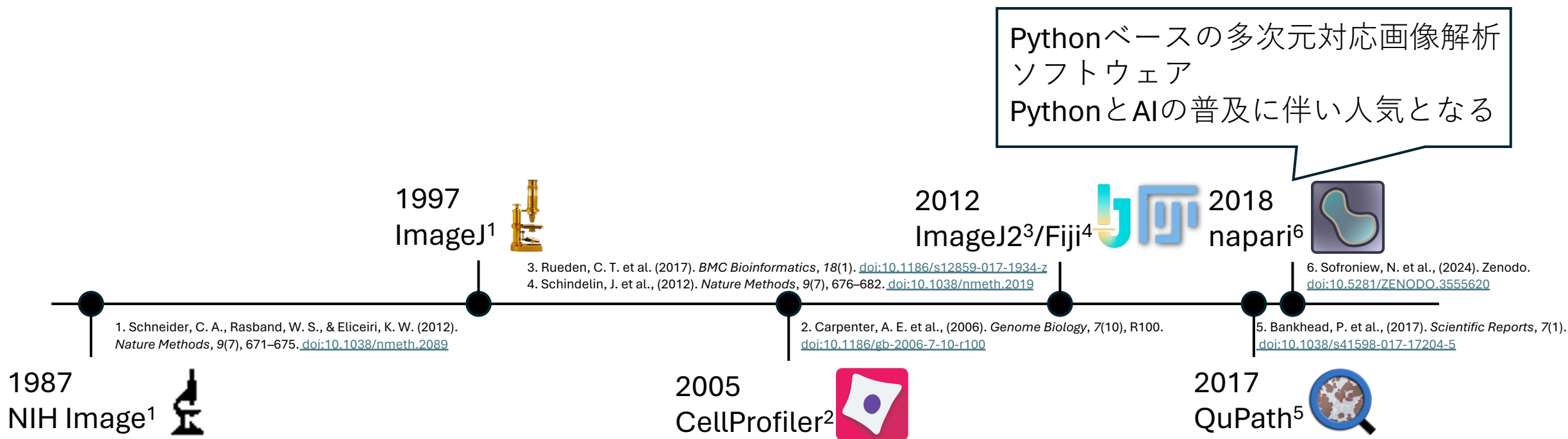


生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史



病理画像(ホールスライド画像)を
主な対象として開発された
病理画像解析向け機能を多数搭載

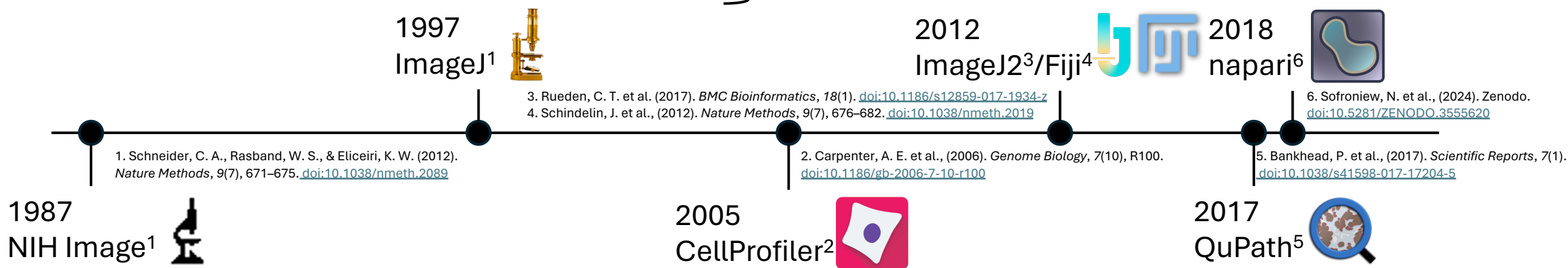
生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史



生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史

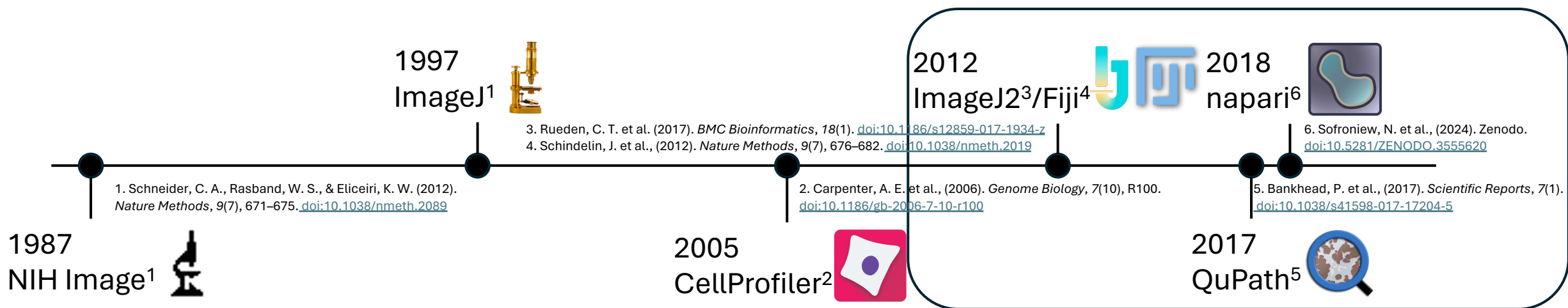
- オープンソース
- マクロ・プラグインによる拡張
- マルチプラットフォーム

という特徴を持つソフトウェアが人気



生物画像解析オープンソースソフトウェアの歴史

本講義では、Fiji, QuPath, napariを用いた実用例を紹介する



ソフトウェアのインストール



Fiji

<https://imagej.net/software/fiji/downloads>



napari

https://napari.org/stable/tutorials/fundamentals/quick_start.html#installation



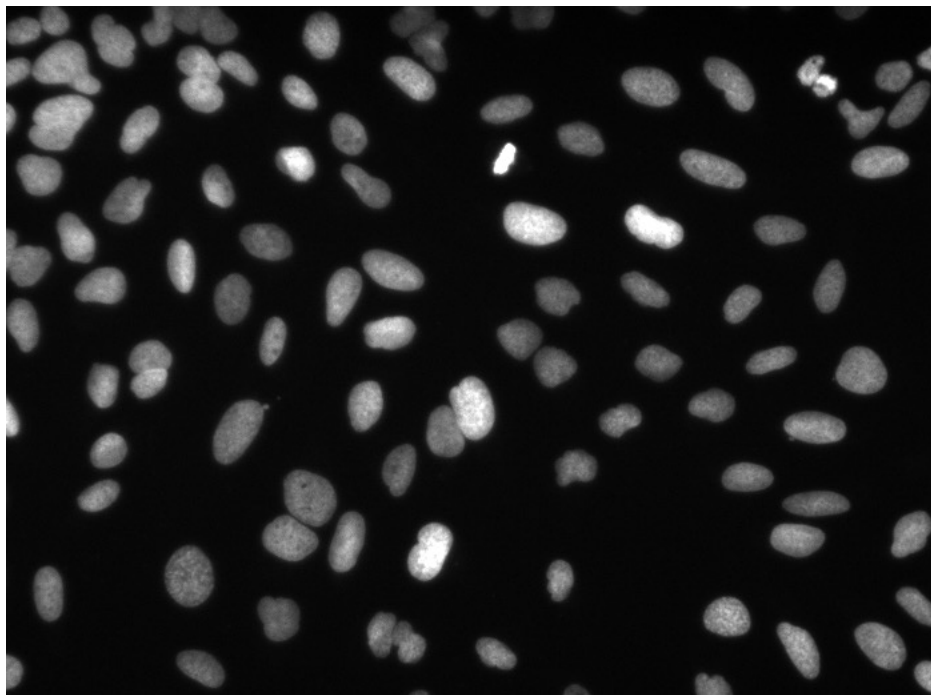
QuPath

<https://qupath.readthedocs.io/en/stable/docs/intro/installation.html>

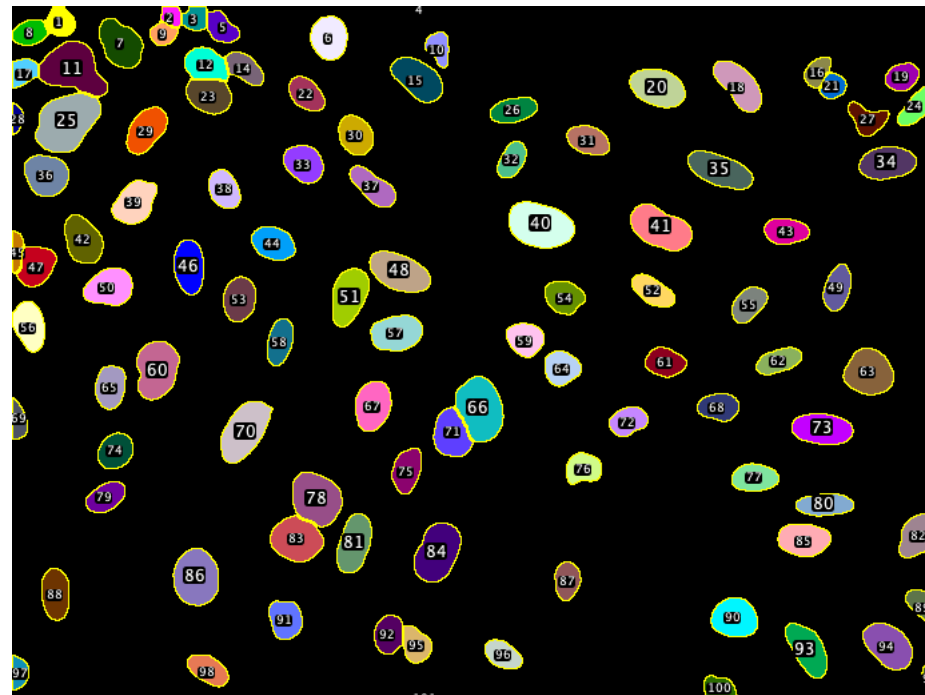
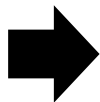
最新の公式ドキュメントの手順に従いソフトウェアのインストールを行う
(本講義ではインストール方法の詳細は紹介しない)

課題1: 蛍光染色した核の面積定量

元画像



解析結果

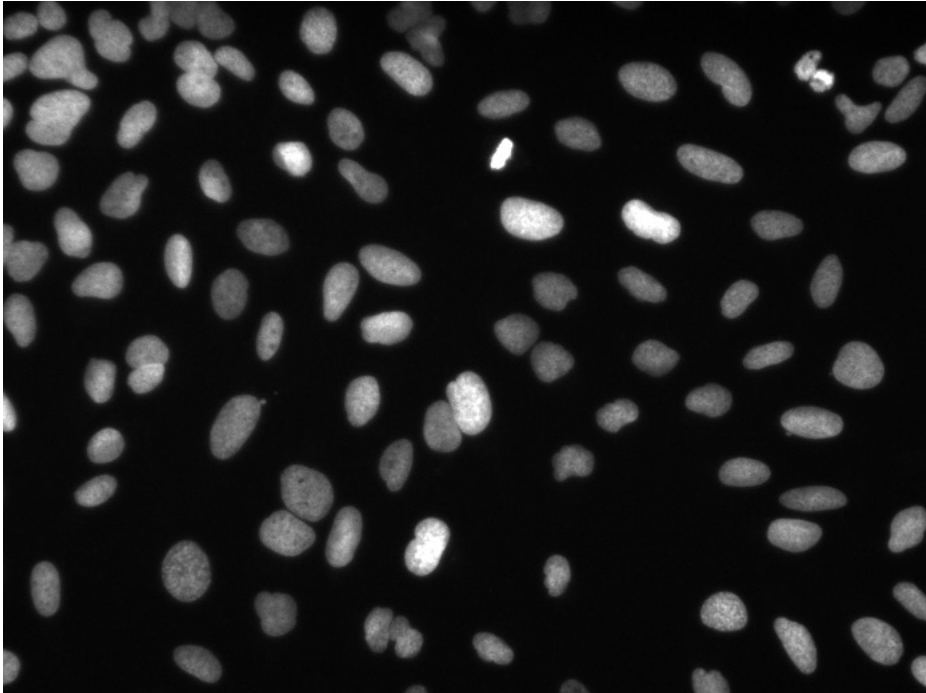


Results		
	Area	
1	367	
2	186	
3	280	
4	7	
5	402	
6	709	
7	864	
8	389	
9	261	

個々の核をセグメンテーションし、面積の定量を行う

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

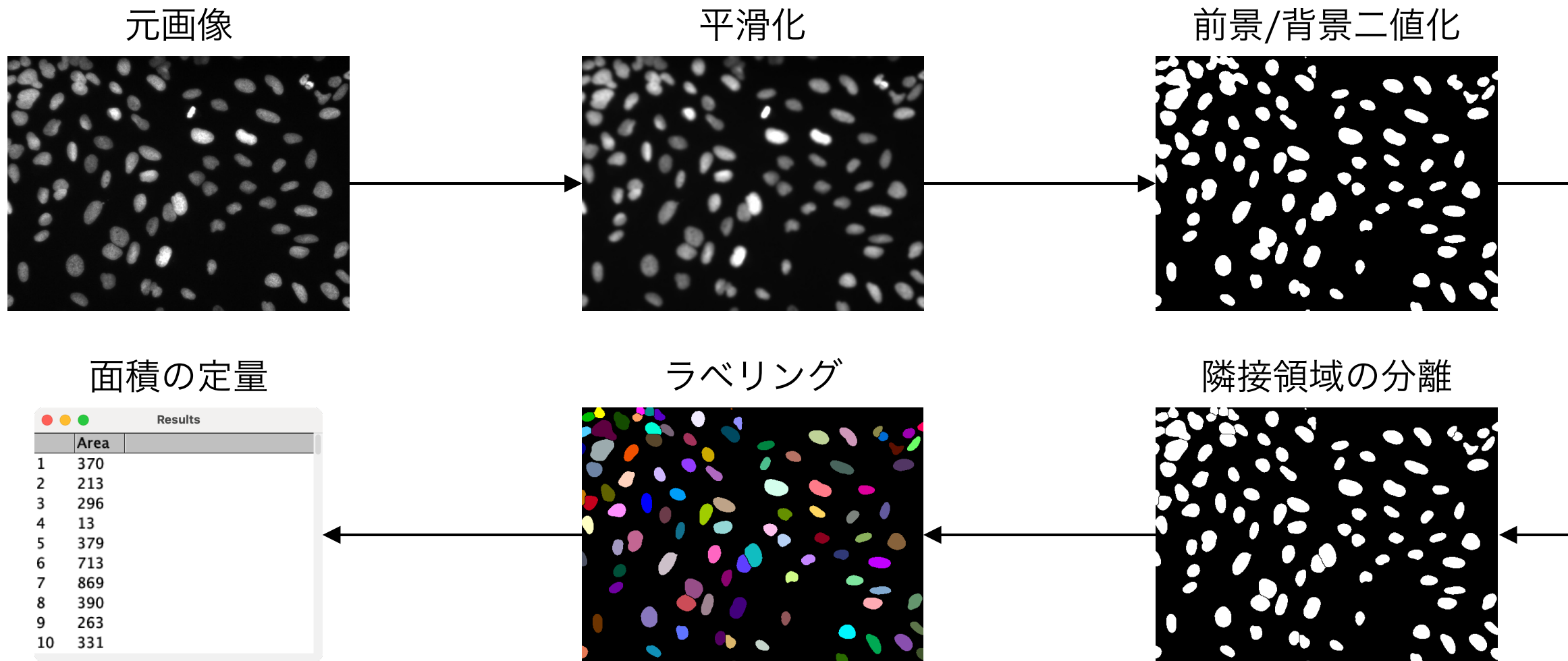
課題1: 解析方針の検討



- 画像サイズは？
 - 696 x 520 (XY)と小さい
 - Fiji¹で対応可能
- 核の領域は蛍光シグナルが大きい
 - 検出対象（核）と背景を区別することが必要
 - 二値化とラベリングの組み合わせが使える
- ノイズ除去が必要か？
 - 必要であればフィルタリングを二値化前に追加
- 隣接している核がある
 - 隣接領域を分離ための処理を追加

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

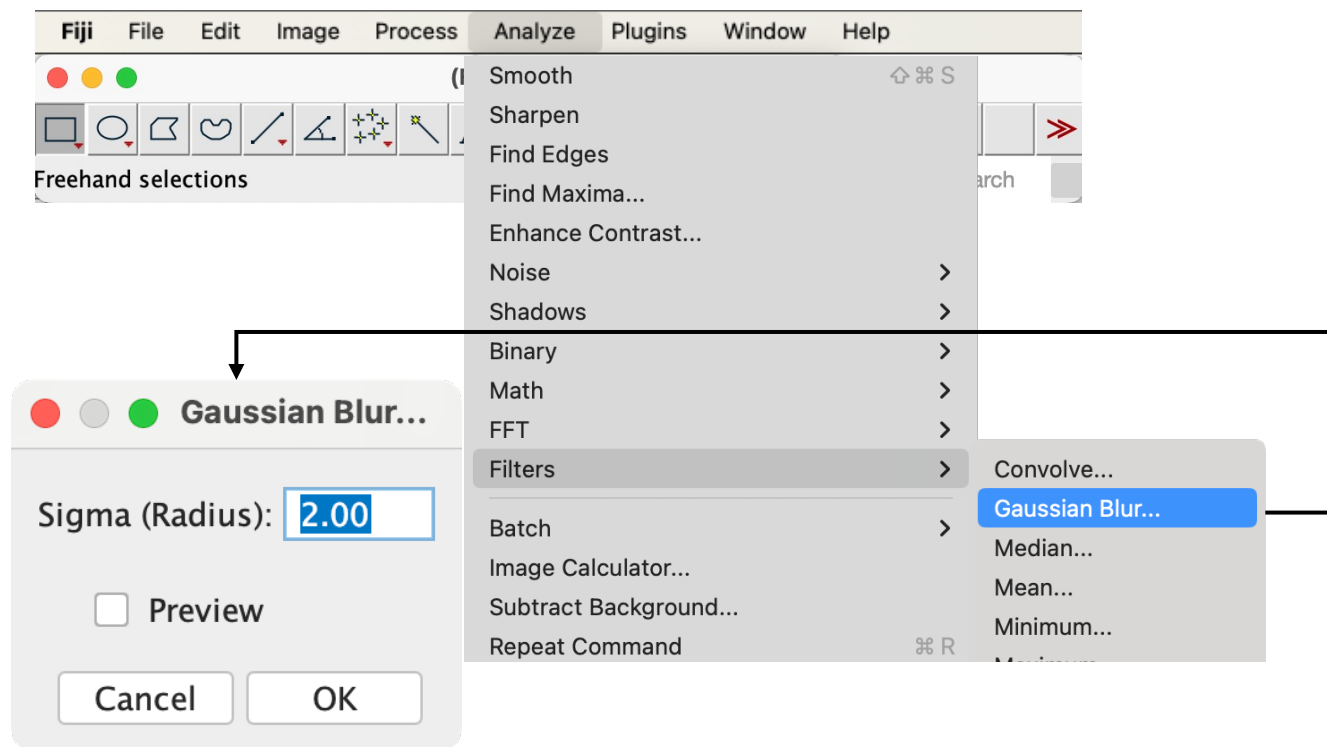
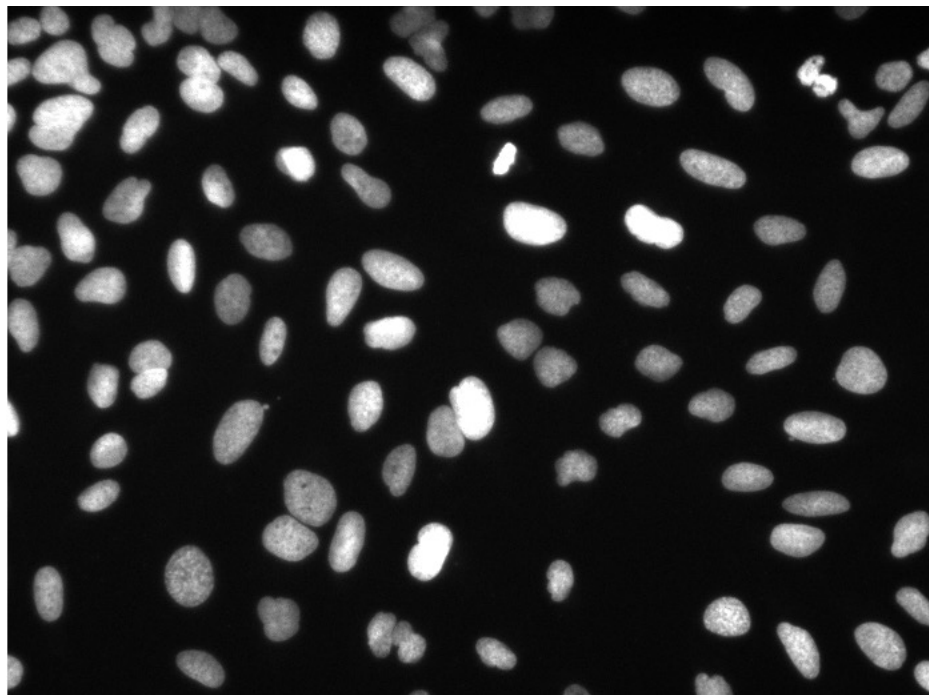
課題1: 解析方針の決定



画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

ガウシアン平滑化

ガウシアン平滑化 | 元画像



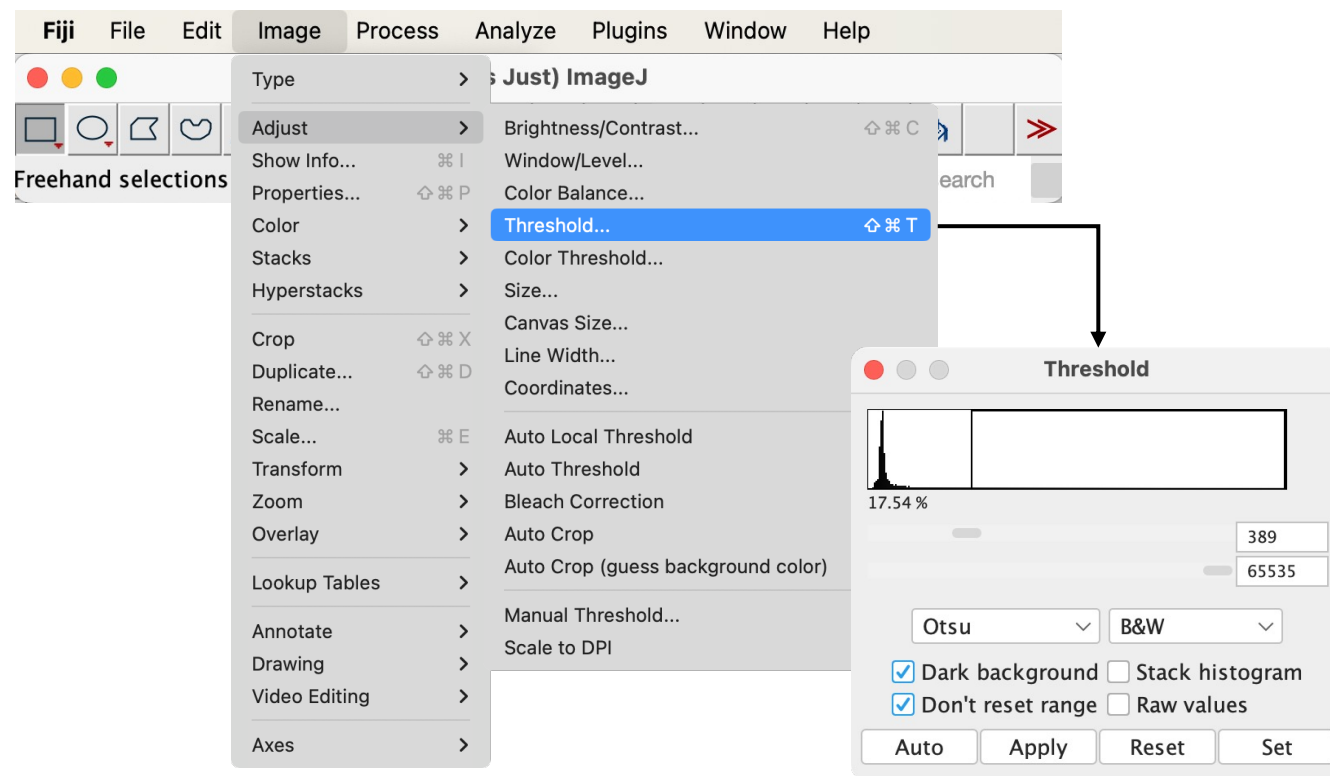
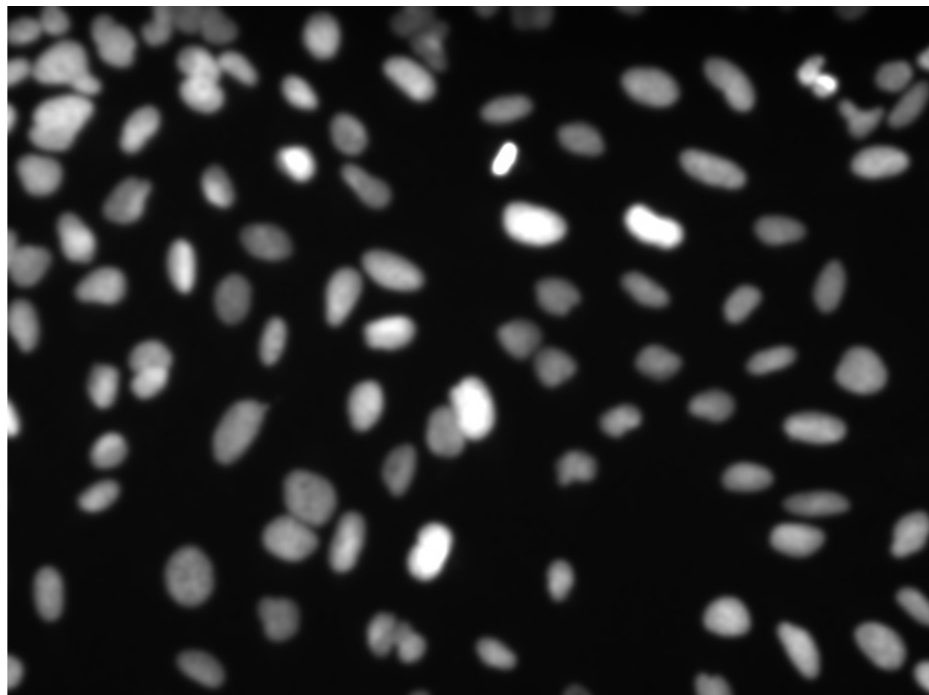
ガウシアン平滑化の他、平均化 (Mean) やメディアン (Median) が良く使われる

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

前景/背景二値化 (Otsu¹法)

1. Otsu, N. (1978). *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9(1), 62–66. [doi:10.1109/TSMC.1979.4310076](https://doi.org/10.1109/TSMC.1979.4310076)

二値化 | ガウシアン平滑化



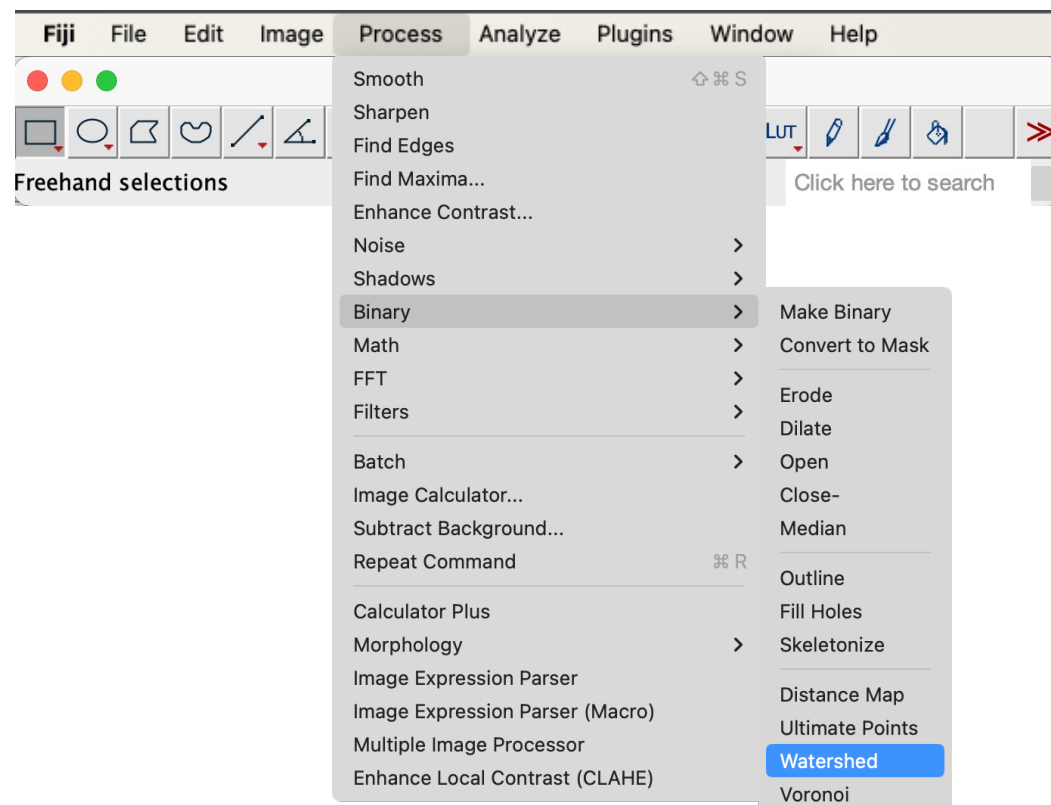
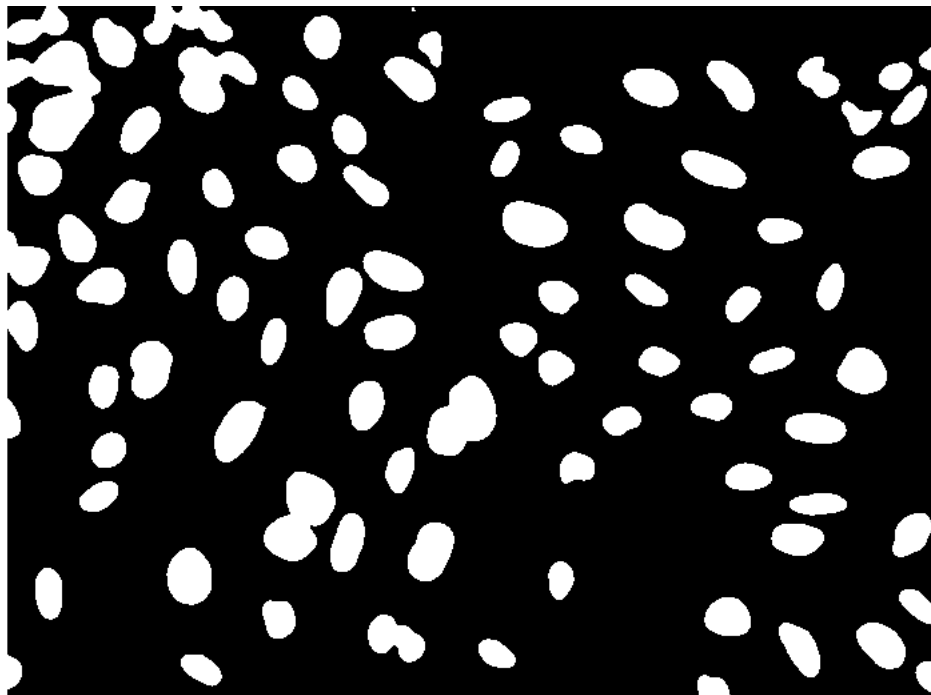
Otsu法その他、様々な自動二値化手法がある (Image > Adjust > Auto Threshold参照)

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

隣接領域の分離 (Watershed¹法)

1. Vincent, L., & Soille, P. (1991). *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 13(6), 583–598. [doi:10.1109/34.87344](https://doi.org/10.1109/34.87344)

Watershed | 二値化

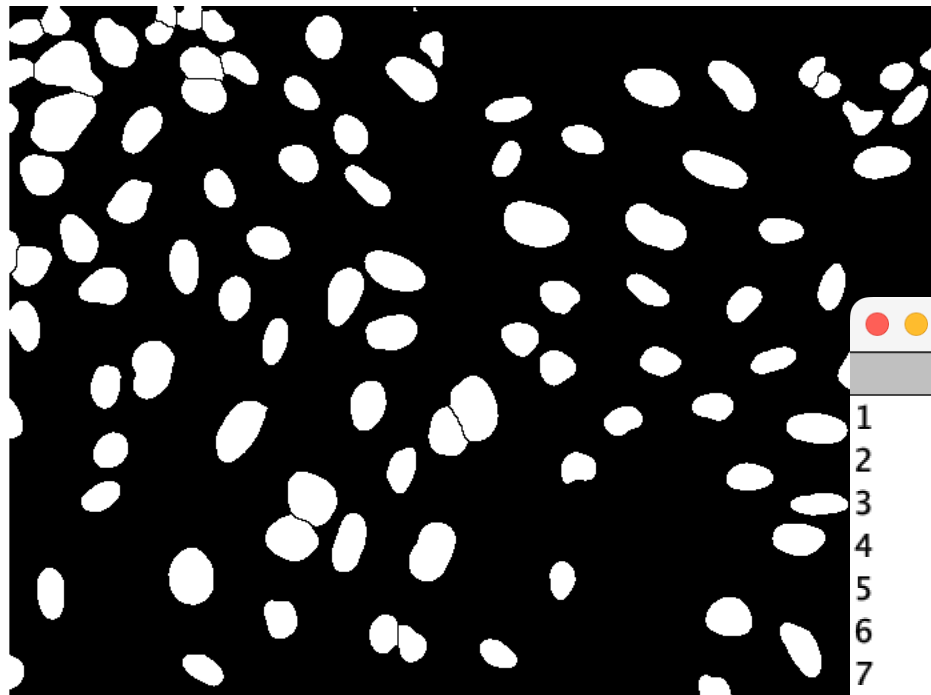


二値化画像に距離変換*を適用しWatershed法による分離を実施
 * 各前景ピクセルについて最近傍背景ピクセルまでの距離を算出

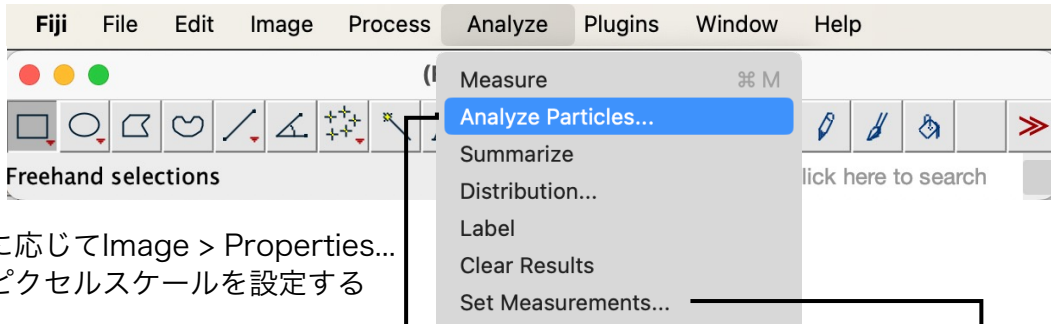
画像データ: [BBBC039v1](https://bbbc039v1) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](https://doi.org/10.1038/nmeth.2019)]

ラベリングと面積の定量

ラベル | Watershed



必要に応じてImage > Properties...
からピクセルスケールを設定する



Analyze Particles

Size (pixel²): 0-Infinity
Circularity: 0.00-1.00
Show: Count Masks

☒ Display results ☐ Exclude on edges
☒ Clear results ☐ Include holes
☐ Summarize ☐ Overlay
☒ Add to Manager ☐ Composite ROIs

Buttons: Help, Cancel, OK

Set Measurements

☒ Area ☐ Mean gray value
☐ Standard deviation ☐ Modal gray value
☐ Min & max gray value ☐ Centroid
☐ Center of mass ☐ Perimeter
☐ Bounding rectangle ☐ Fit ellipse
☐ Shape descriptors ☐ Feret's diameter
☐ Integrated density ☐ Median
☐ Skewness ☐ Kurtosis
☐ Area fraction ☐ Stack position

☐ Limit to threshold ☐ Display label
☐ Invert Y coordinates ☐ Scientific notation
☐ Add to overlay ☐ NaN empty cells

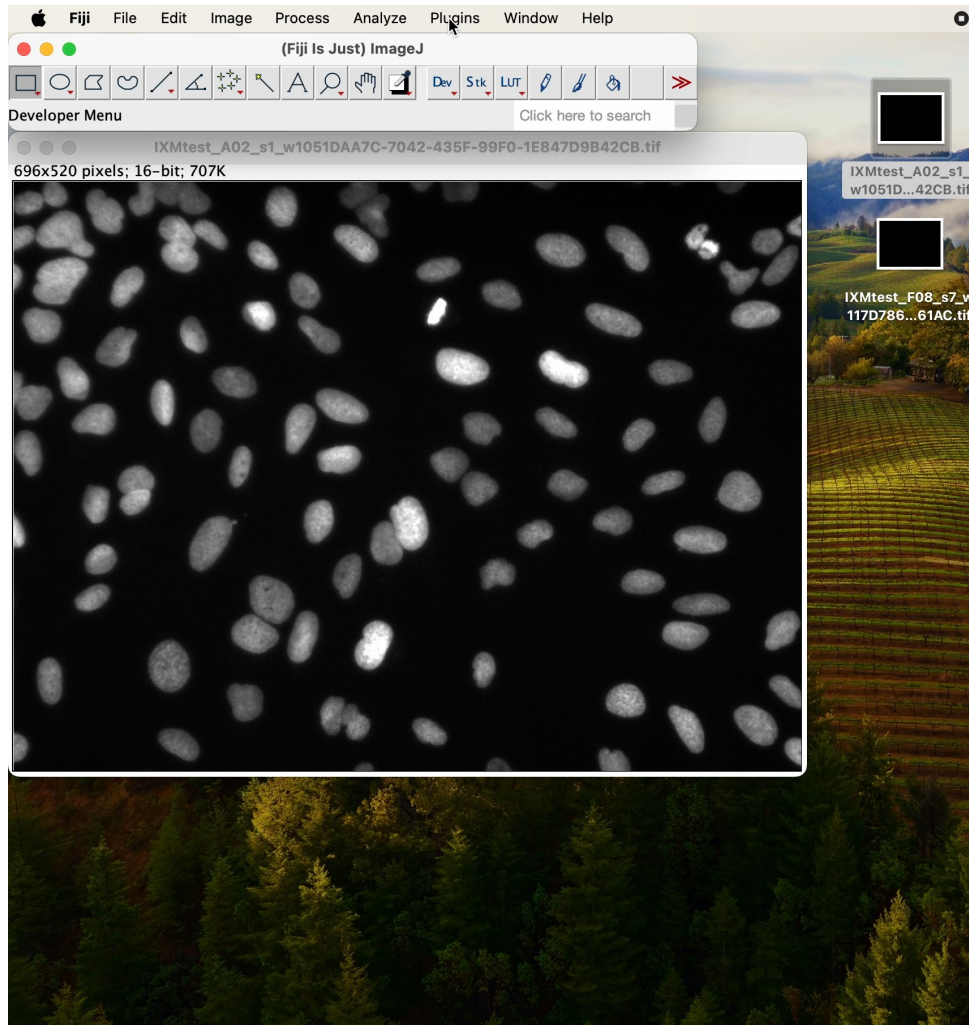
Redirect to: None
Decimal places (0-9): 3

Buttons: Help, Cancel, OK

面積の他、輝度や形態の定量値を解析することが可能

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

Macro recorderによる自動化（動画）



1. Plugins > Macros > Record... を実行
2. 一連の解析を実施
3. recorder画面にてCreateボタンを押し、Script editorを起動
4. 不要な行を削除
5. 新しい画像を開く
6. Script editorからRunボタンを押し解析実行

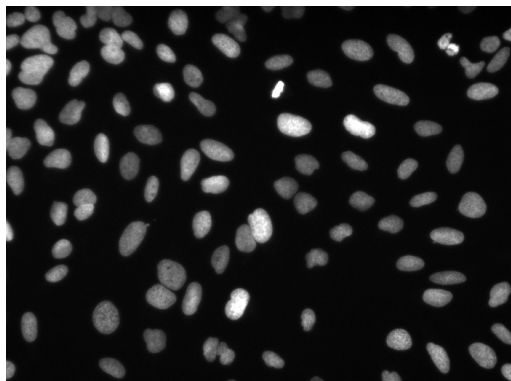
自動化により同じ条件で大量の画像を解析可能となる

画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

課題1への異なるアプローチ ~AIアルゴリズムの利用~

インスタンスセグメンテーション (ラベリング)

元画像



(ラベリング)



面積の定量

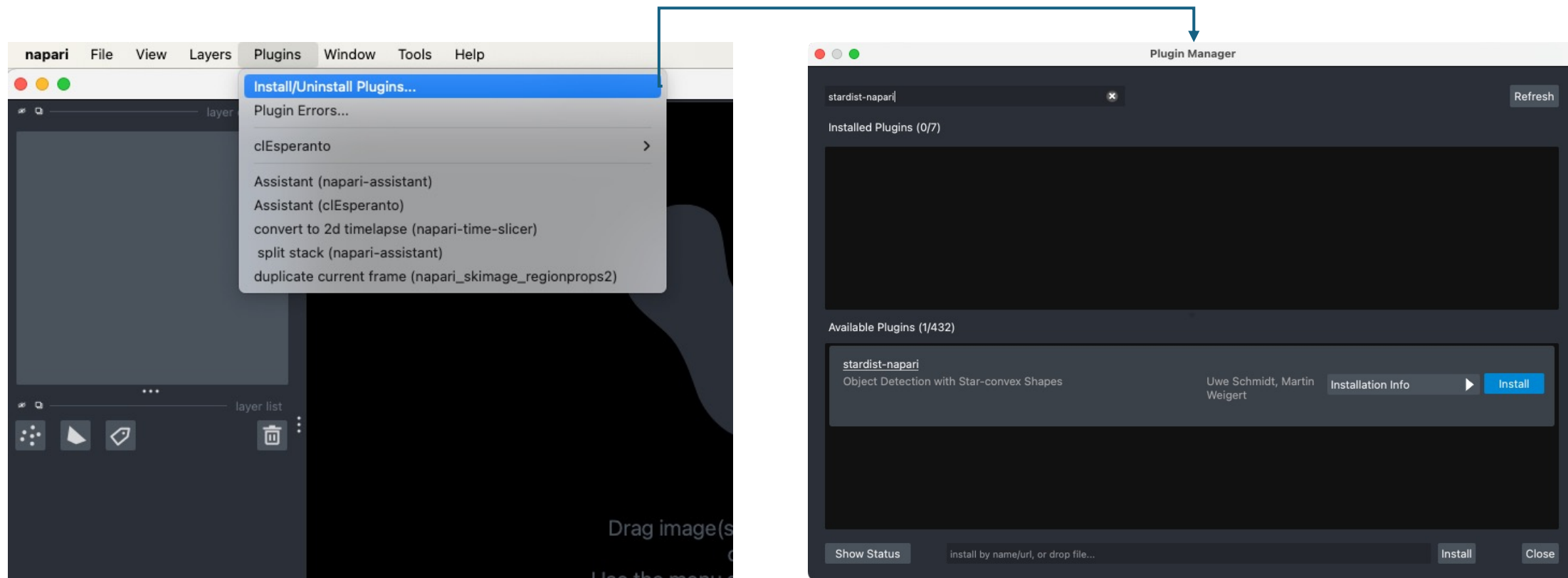
Results	
	Area
1	370
2	213
3	296
4	13
5	379
6	713
7	869
8	390
9	263
10	331

StarDist¹やCellpose²が生物画像解析で多く実績を残している人気のAIアルゴリズム

1. Schmidt, U., Weigert, M., Broaddus, C. and Gene Myers. (2018) [Cell Detection with Star-convex Polygons](#). MICCAI
2. Stringer, C., Wang, T., Michaelos, M., & Pachitariu, M. (2021). [Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation](#). *Nature methods*, 18(1), 100-106.

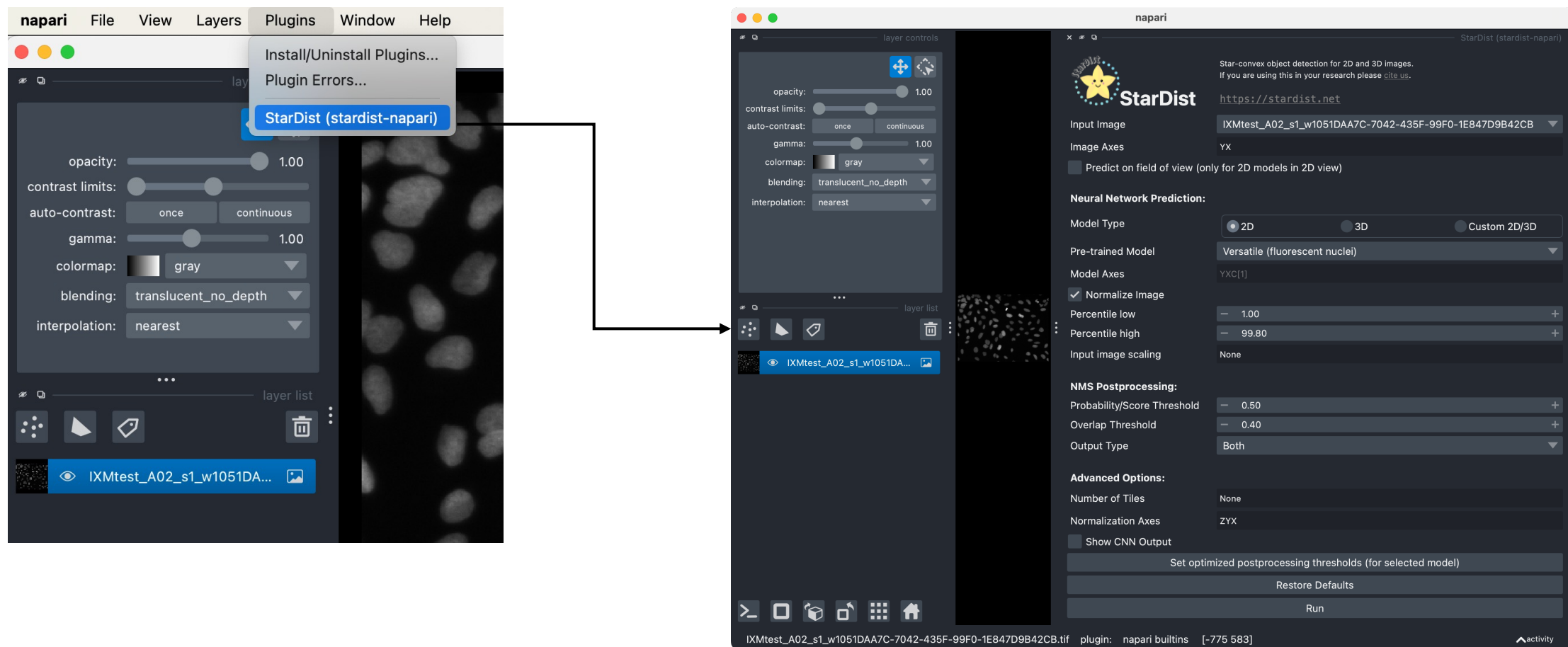
画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

stardist-napariのインストール



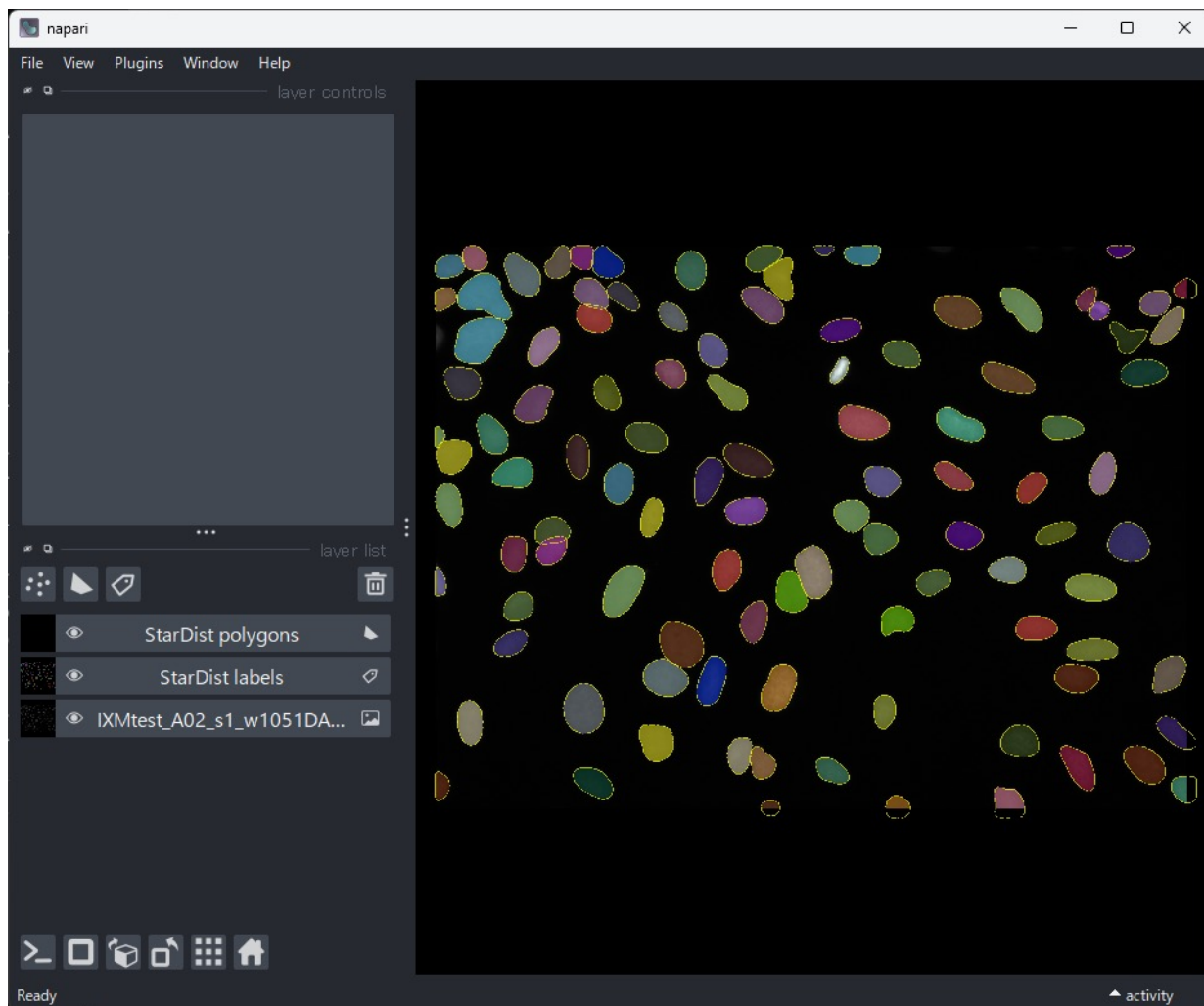
1. Plugins > Install/Uninstall Plugins...を実行
2. stardist-napariを検索しInstall
3. napariを再起動

stardist-napariの実行



1. Plugins > StarDist (stardist-napari)を起動
2. 必要に応じてパラメータを変更し（今回はデフォルト）Runボタンを押して実行

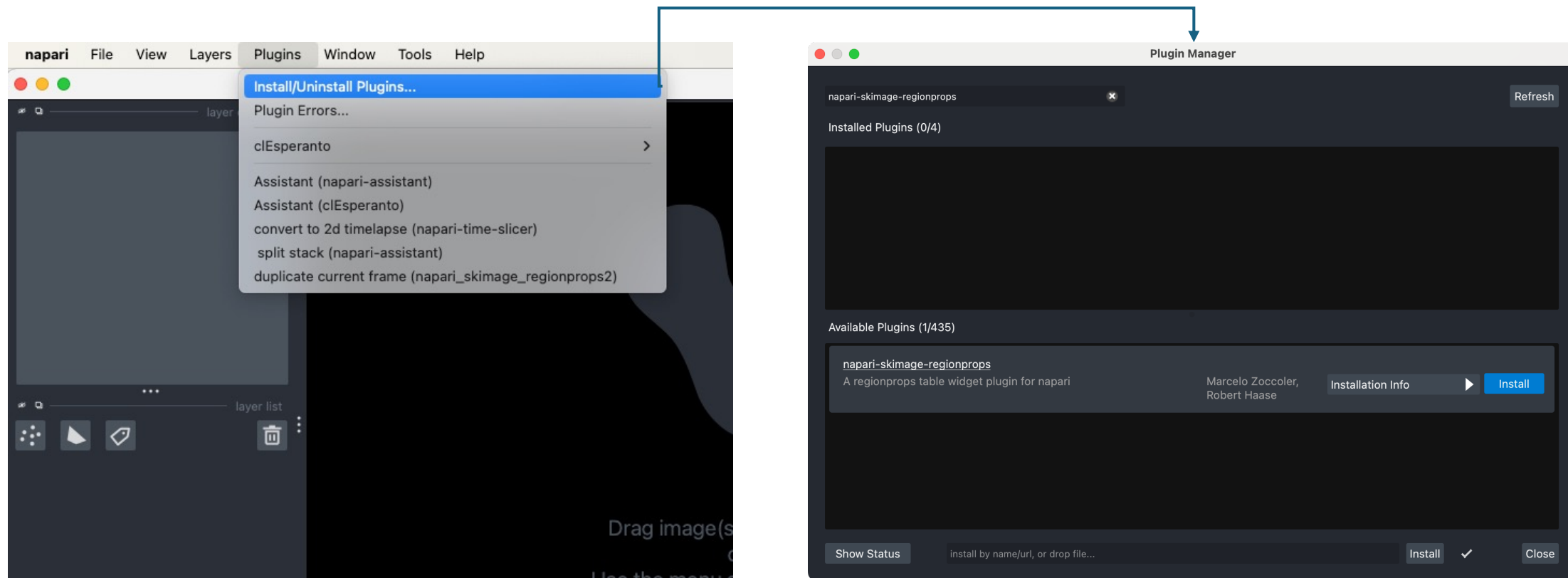
stardist-napariの実行結果



StarDist AIモデルによるインスタンスセグメンテーション結果が出力される

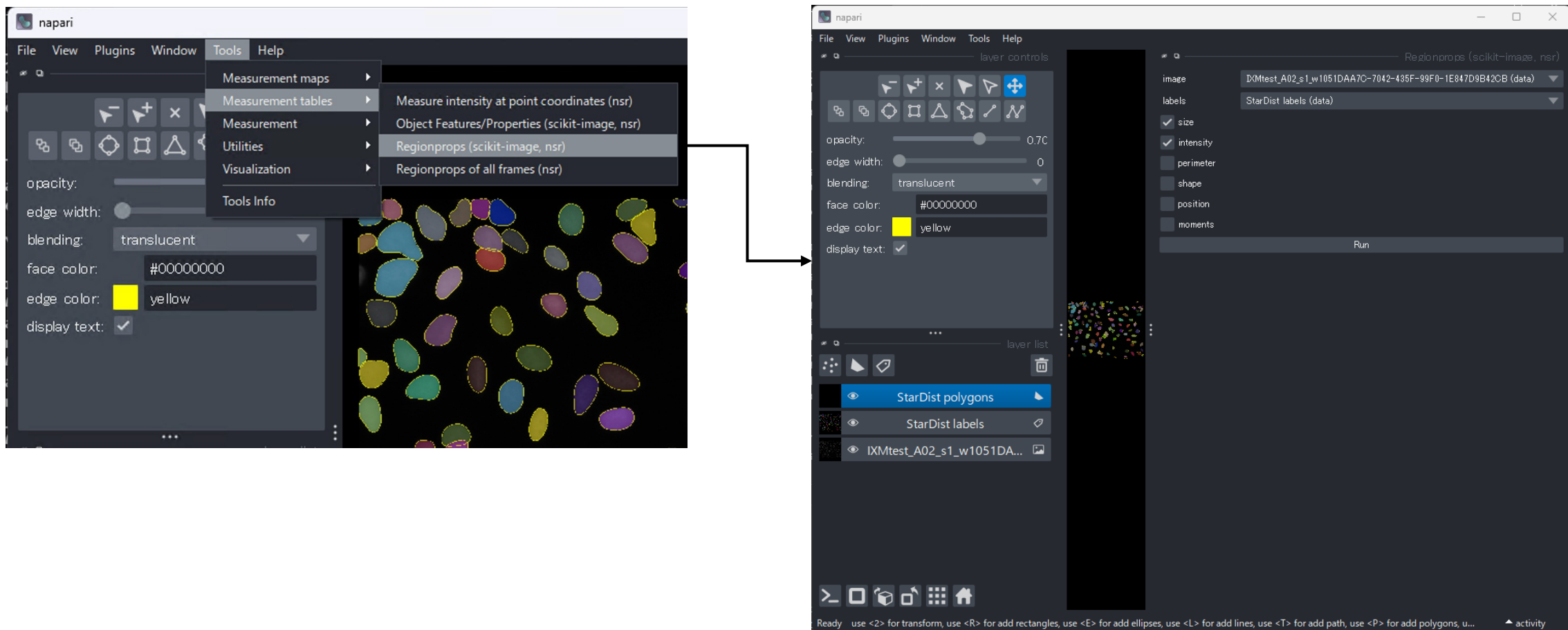
画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

napari-skimage-regionpropsのインストール



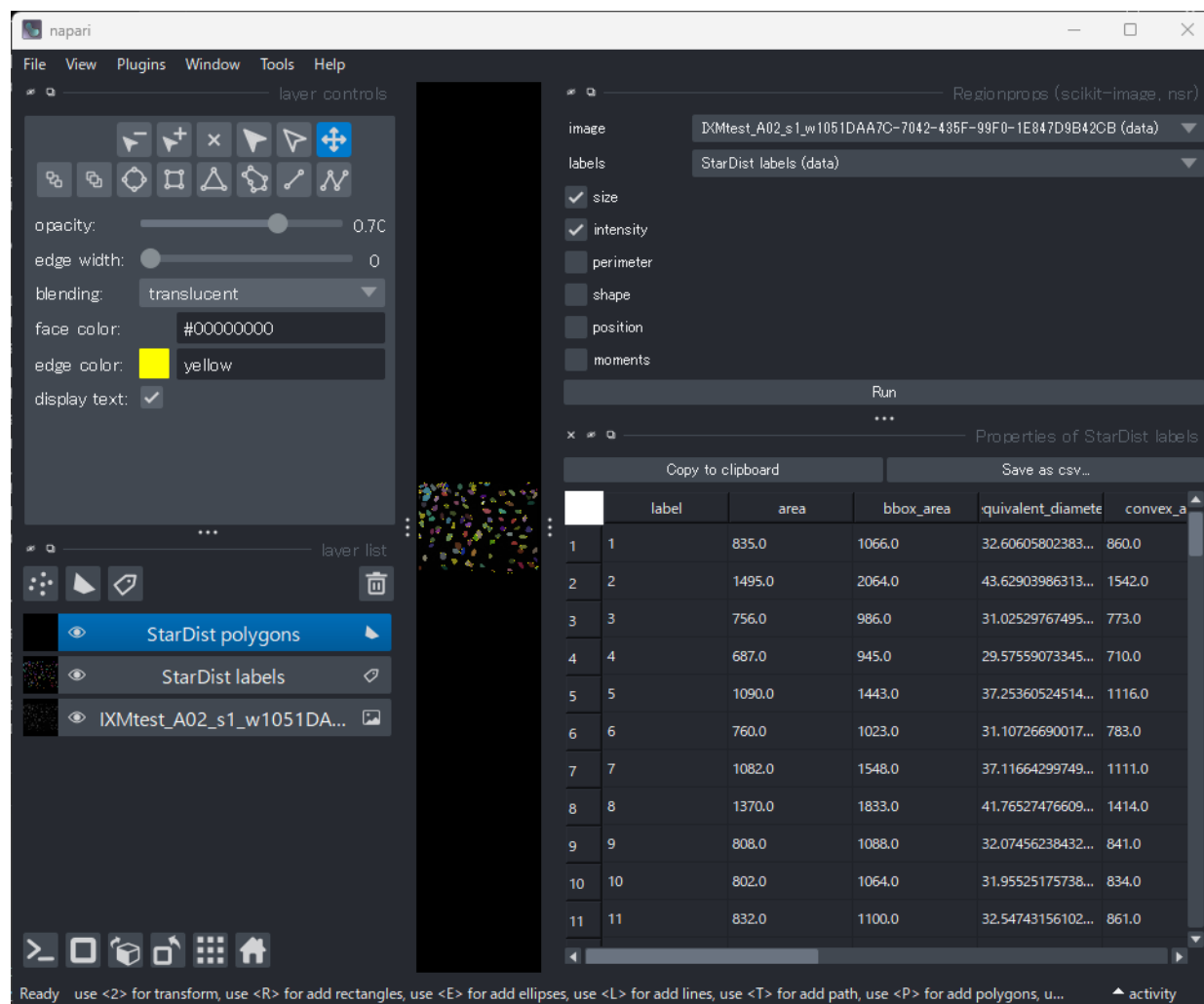
1. Plugins > Install/Uninstall Plugins...を実行
2. napari-skimage-regionpropsを検索しInstall
3. napariを再起動

napari-skimage-regionpropsの実行



1. Tools > Measurement tables > Regionprops (scikit-image, nsr) を起動
2. 算出したいパラメータを指定し、Runボタンを押して実行

napari: napari-skimage-regionpropsの実行結果

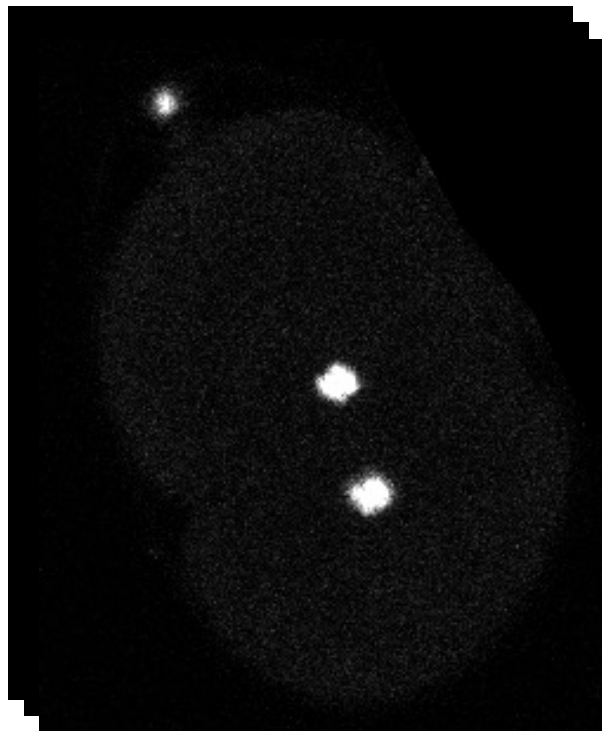


インスタンスセグメンテーション結果
に対応した解析結果のテーブルが出力
される

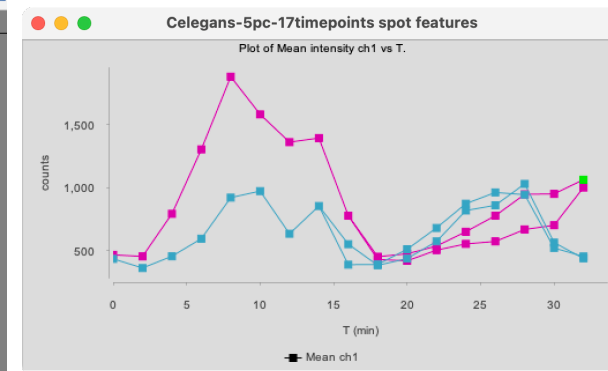
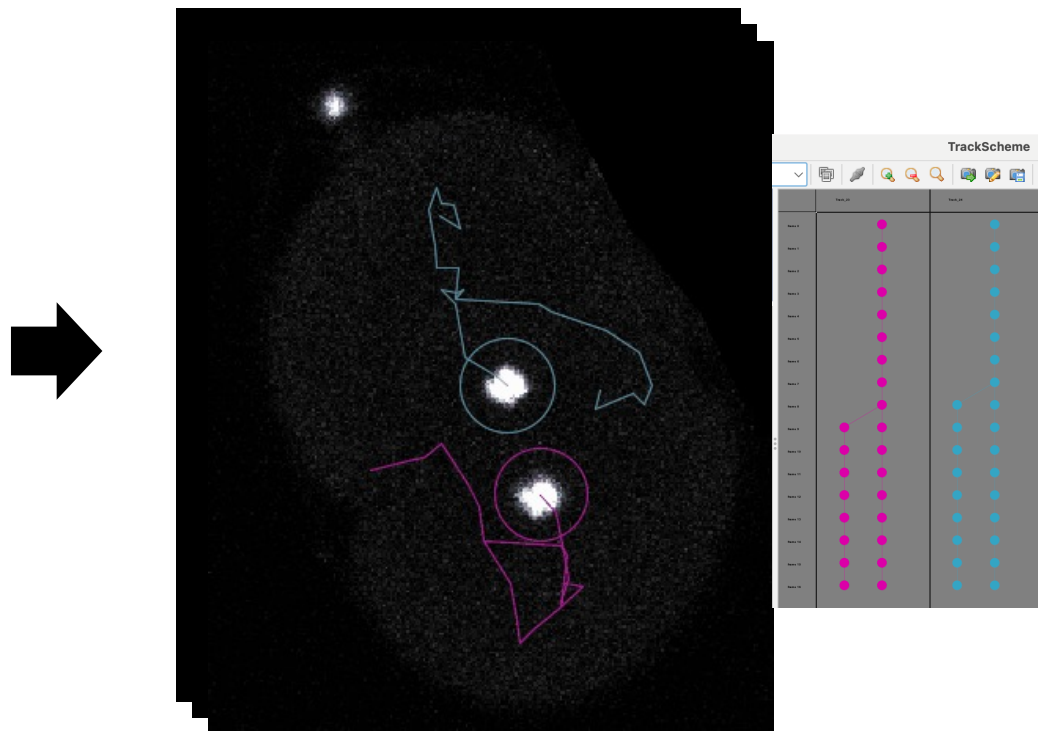
画像データ: [BBBC039v1](#) Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [[Ljosa et al., Nature Methods, 2012](#)]

課題2: 蛍光タイムラプス三次元画像を用いた細胞トラッキング解析

元画像(3D+t)



解析結果

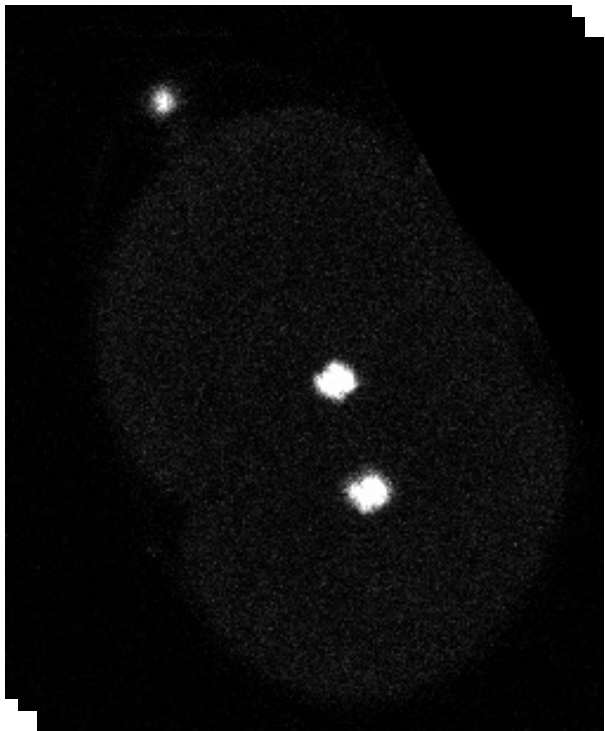


蛍光タイムラプス三次元画像において核のトラッキングにより、細胞系統樹を作成し解析する

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

課題2: 解析方針の検討

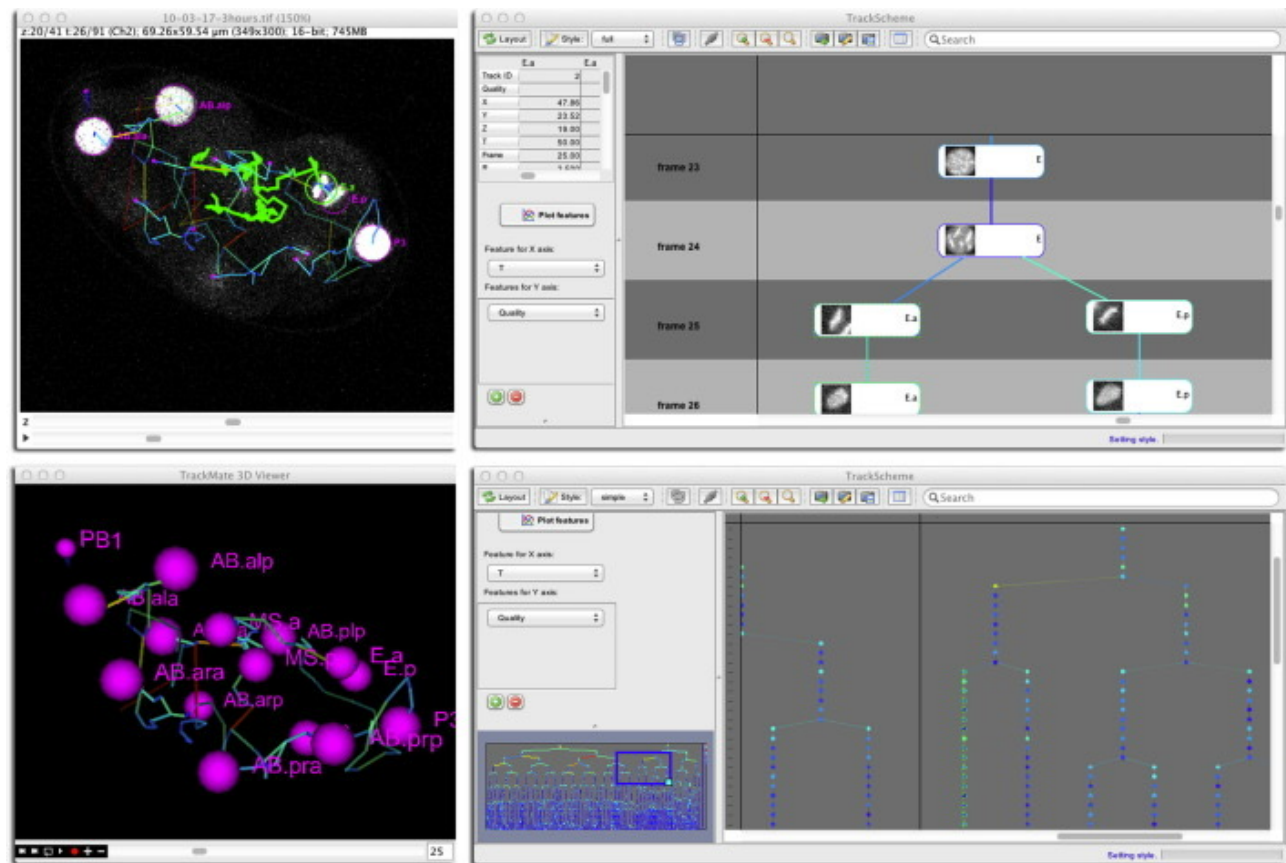


- データサイズは？
 - 291 x 354 x 41 x 17 (XYZT)と比較的小さい
 - FijiのTrackMateで対応可能
- TrackMateの検出器は？（わかりやすくできると良い）
 - シンプルな蛍光像なので、DoG or LoG検出器でOK
- 隣接している核がある
 - 隣接領域を分離ための処理を追加

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).
 Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

課題2: 解析方針の決定

TrackMate¹を利用し、細胞トラッキング・細胞系統樹解析を行う



多機能な細胞追跡用Fijiプラグイン

以下の機能を組み合わせて利用

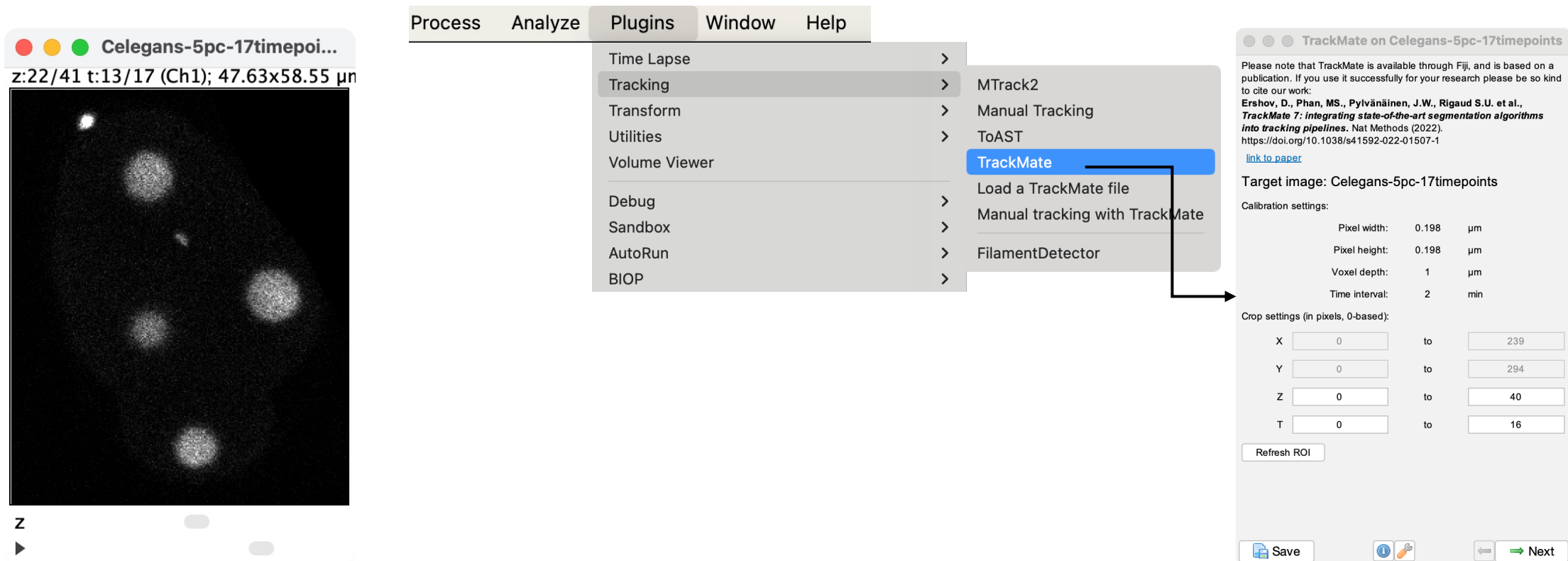
- スポット検出(Detection)
- 追跡(Linking)
- 細胞系統樹(Track scheme)
- 特徴量のプロット
- 各種出力機能（動画形式など）

多機能かつユーザーフレンドリーなソフトウェアであり人気

以下の論文Fig. 2より画像引用

Tinevez, J.-Y. et al. (2017) *Methods*, 115, 80–90. [doi:10.1016/j.ymeth.2016.09.016](https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2016.09.016)

TrackMateの起動

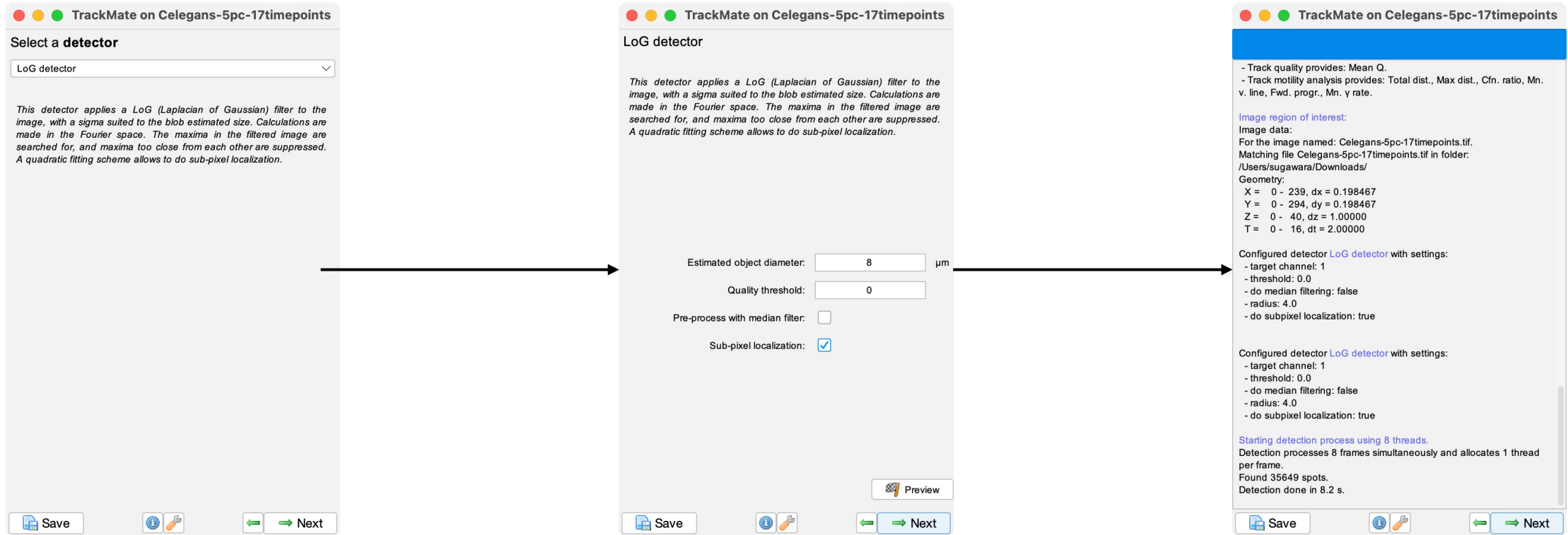


解析対象の画像を開き、Plugins > Tracking > TrackMateからTrackMateを起動する

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing).

Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

TrackMate: LoG detectorの実行

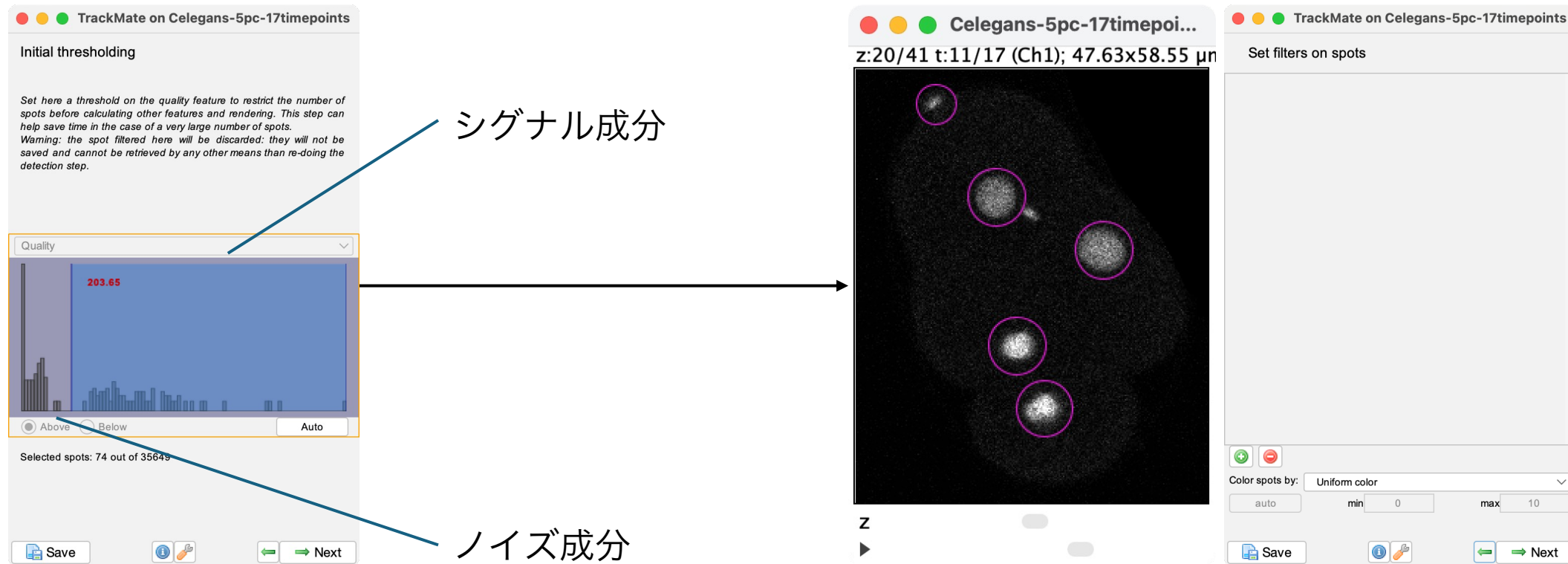


LoG detectorを選択しEstimated object diameteを8に設定（データにより調整）し解析を実行

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

TrackMate: LoG detector結果のフィルタリング

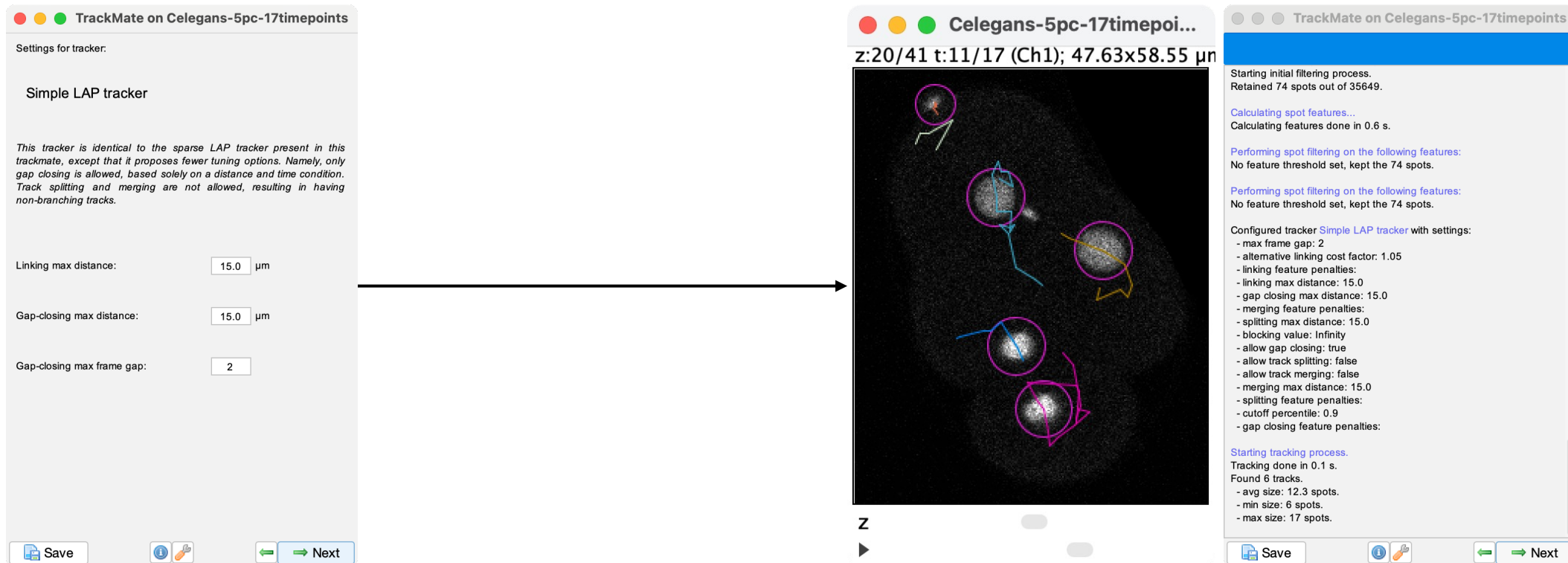


Qualityのヒストグラムからノイズ成分とシグナル成分の境目にThresholdを設定

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

TrackMate: Simple LAP trackerの実行

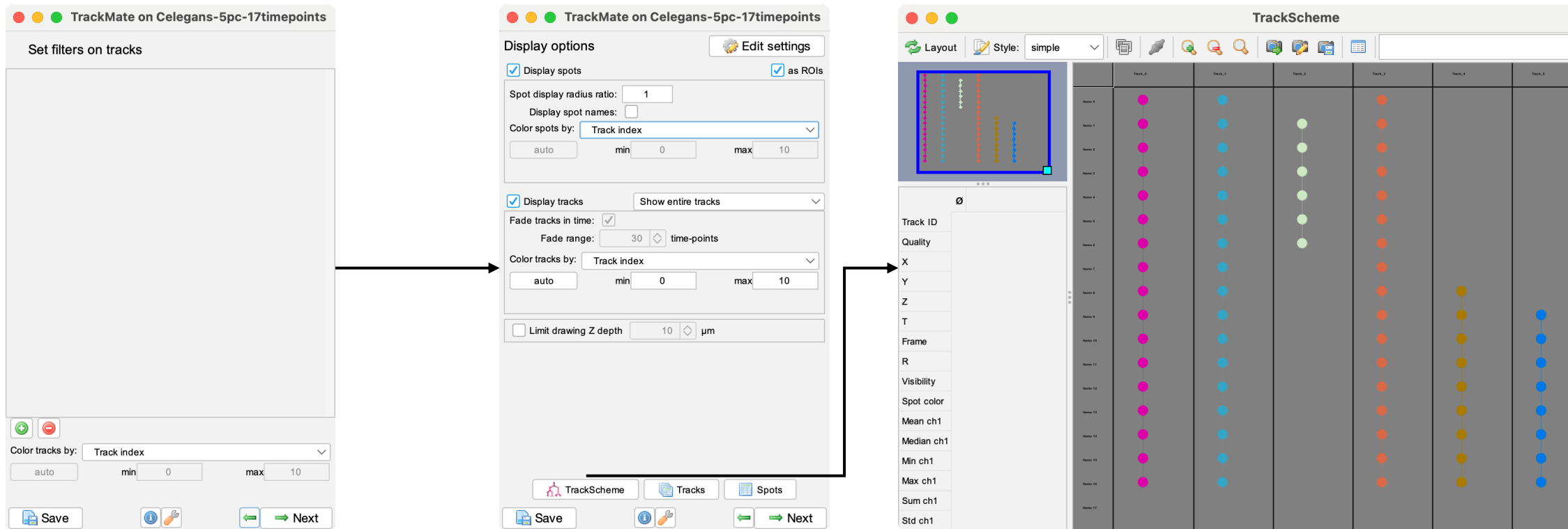


Simple LAP trackerを選択し、デフォルトのパラメータで解析を実行

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

TrackMate: TrackSchemeの表示

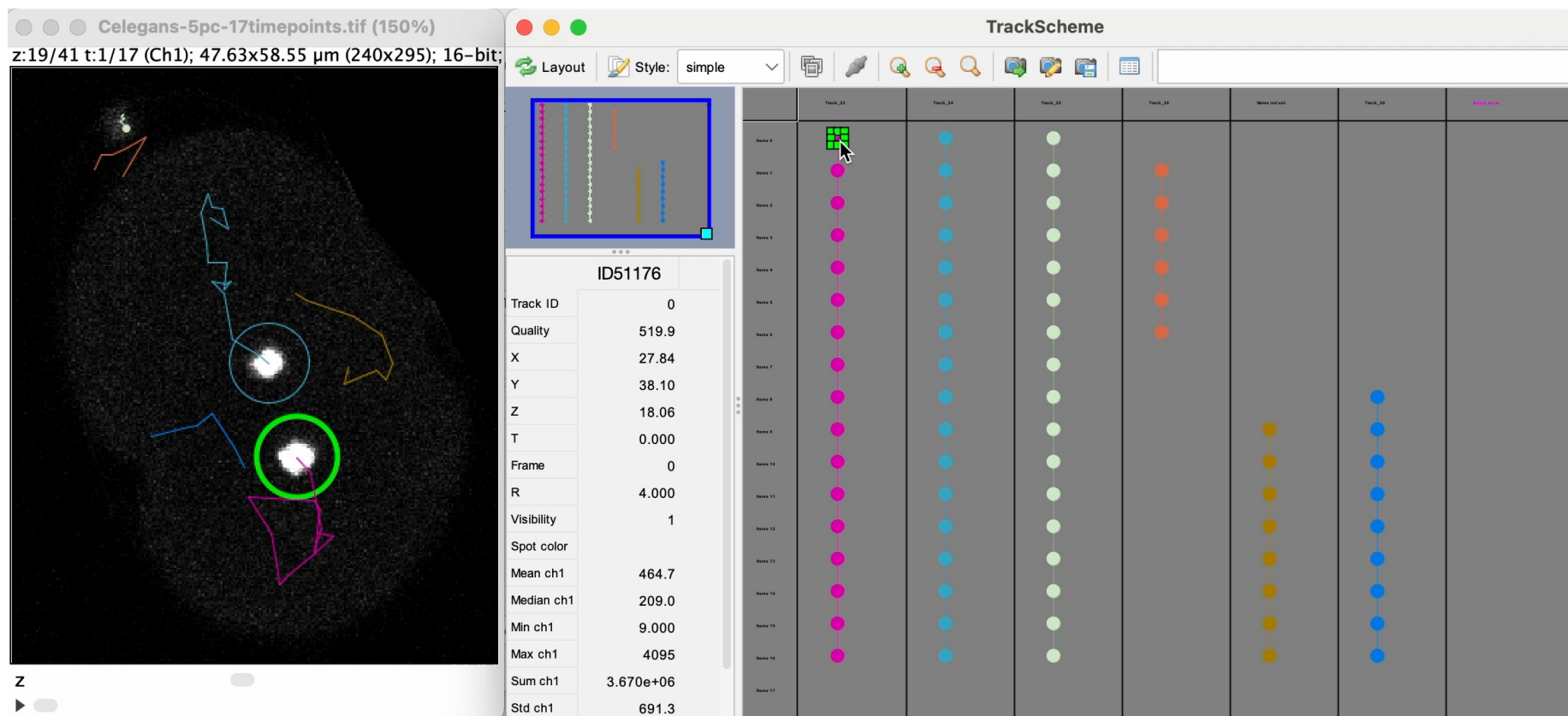


Color spots byとColor tracks byをTrack indexに設定し、TrackSchemeを表示

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

TrackMate: トラッキング結果の手動修正 (動画)

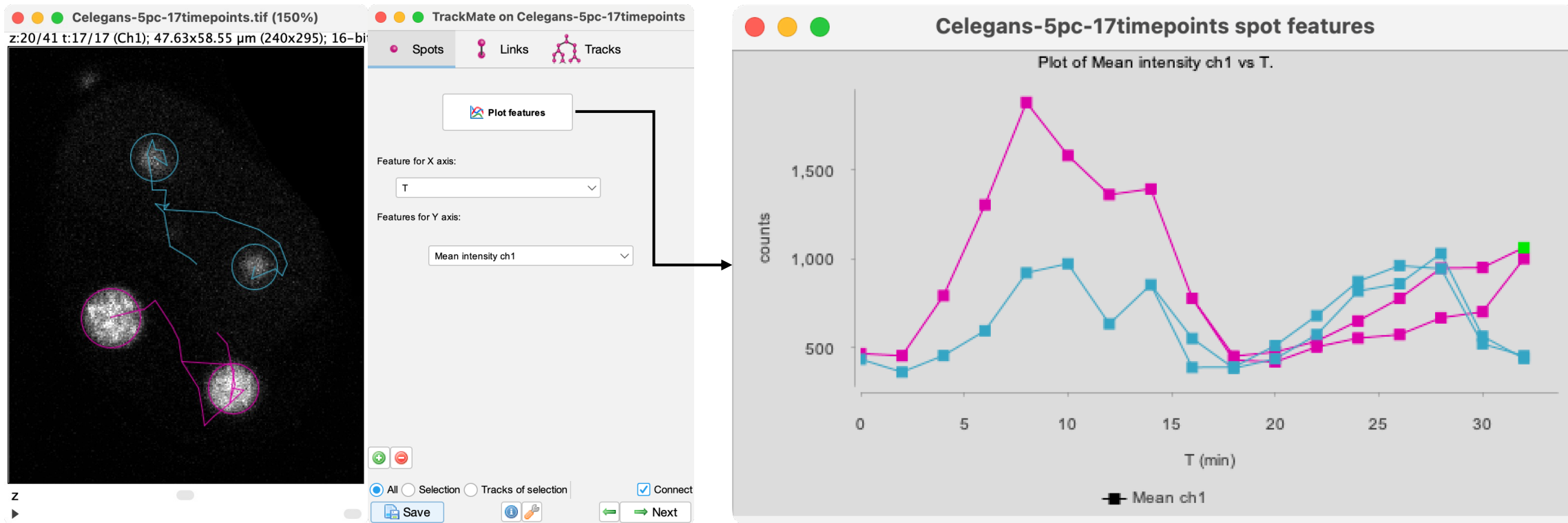


不足しているLinkを追加し、不要なSpotとLinkを削除

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

TrackMate: 特徴量プロット機能の利用



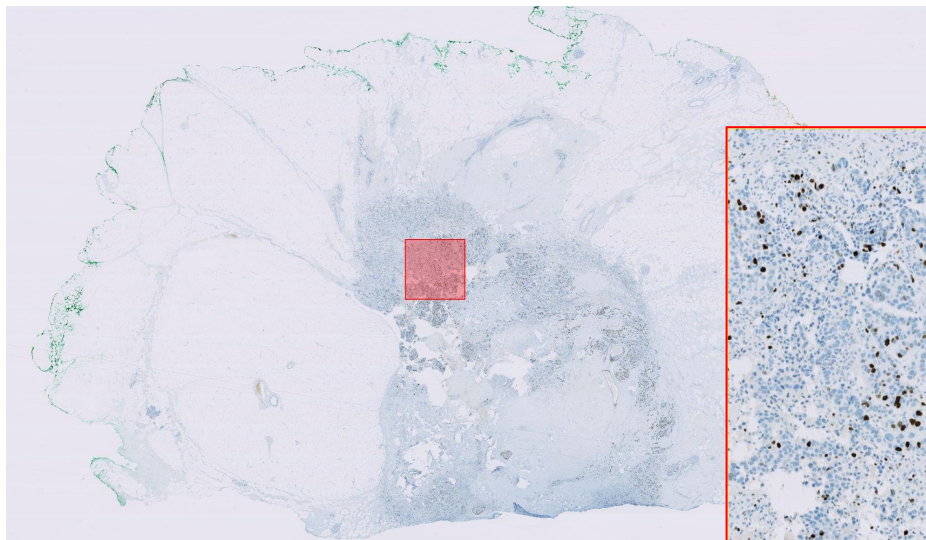
Spot, Link, Trackの特徴量（例: Spotの平均輝度）の時間変化をプロット

画像データ: *C.elegans* AZ212 H2B-eGFP 胚発生データ [Celegans-5pc-17timepoints.tif \(94 MB\)](#).

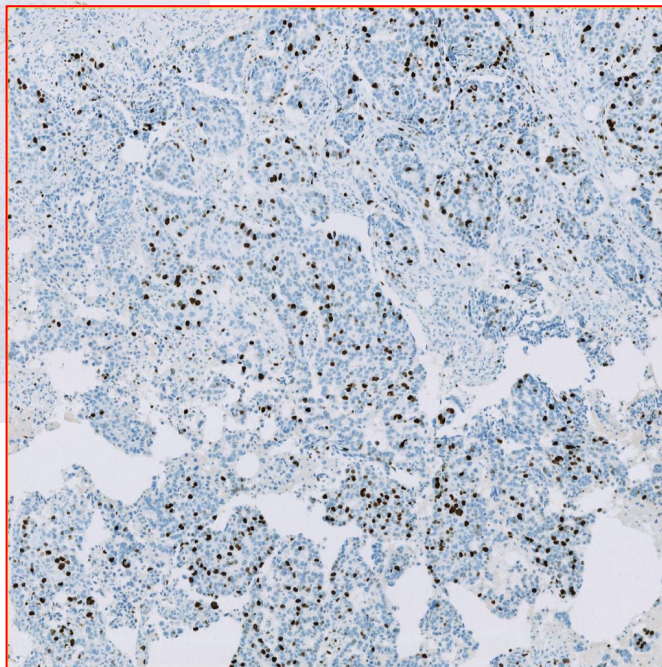
Tinevez, J.-Y., TrackMate tutorial (<https://imagej.net/plugins/trackmate/tutorials/manual-track-editing>)

課題3: 病理スライド画像における細胞増殖領域定量解析

全体図



拡大図



細胞増殖マーカーKi-67を用いた
組織化学染色画像

細胞増殖マーカーであるKi-67陽性
細胞の割合を定量評価したい

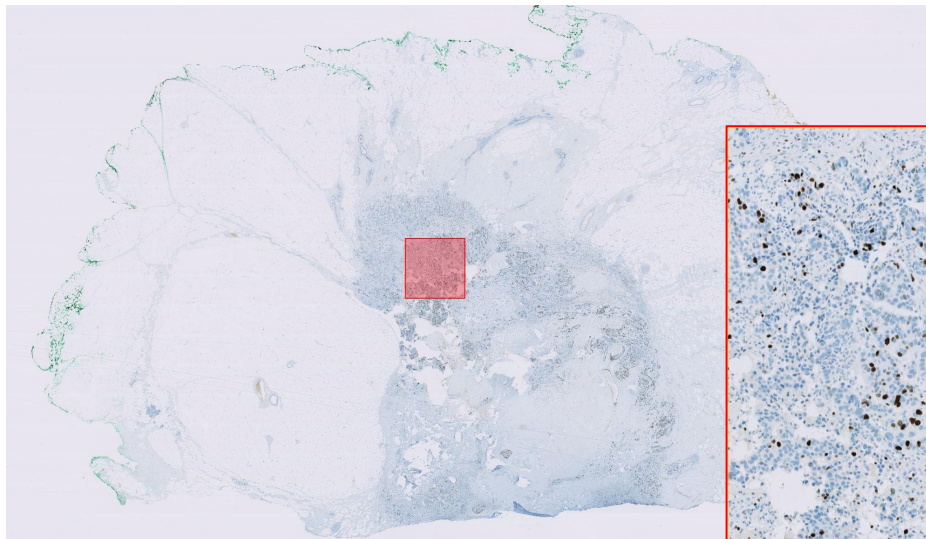
Ki-67 proliferation index*: XX%

* <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/ki-67-proliferation-index>

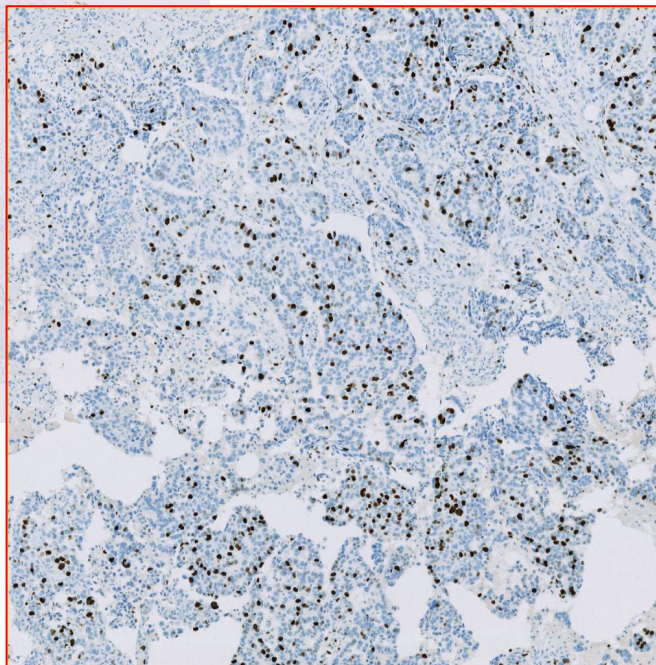
画像データ: OpenSlide Test data OS-2.ndpi
<https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Hamamatsu/>

課題3: 解析方針の検討

全体図



拡大図



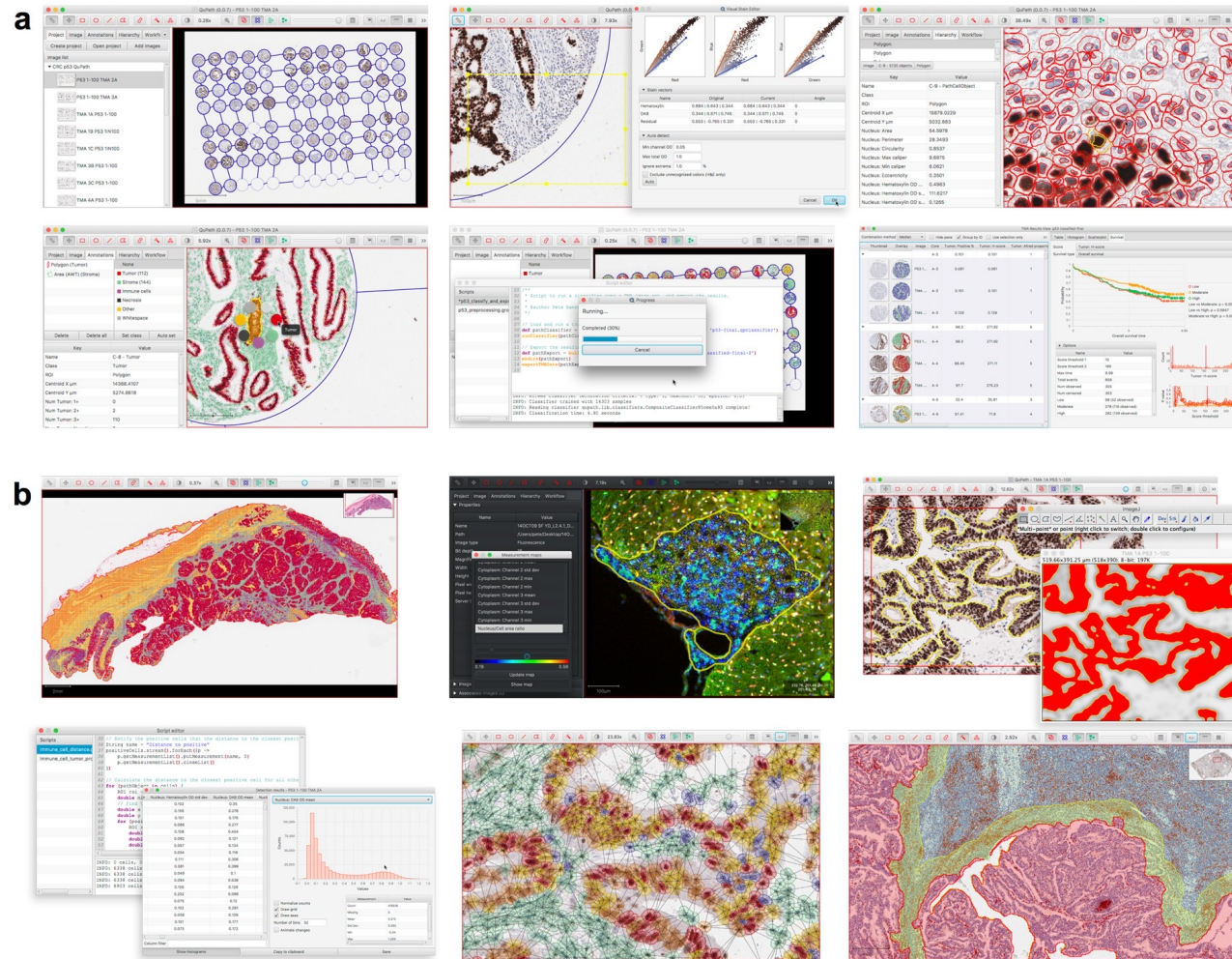
細胞増殖マーカーKi-67を用いた
組織化学染色画像

画像データ: OpenSlide Test data OS-2.ndpi

<https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Hamamatsu/>

- 画像サイズは？
 - 126,976 x 73,728と大きい
 - クロップ画像を用いて解析
 - or
 - 病理ホールスライド画像に適したソフトウェアで解析
 - QuPath¹で対応可能
- Ki-67陽性細胞割合をどのように評価するか？
 - 全細胞のうち、Ki-67が濃く染まっている細胞の割合を算出

QuPathによる病理画像解析



病理ホールスライド画像向けに設計された画像解析ソフトウェア

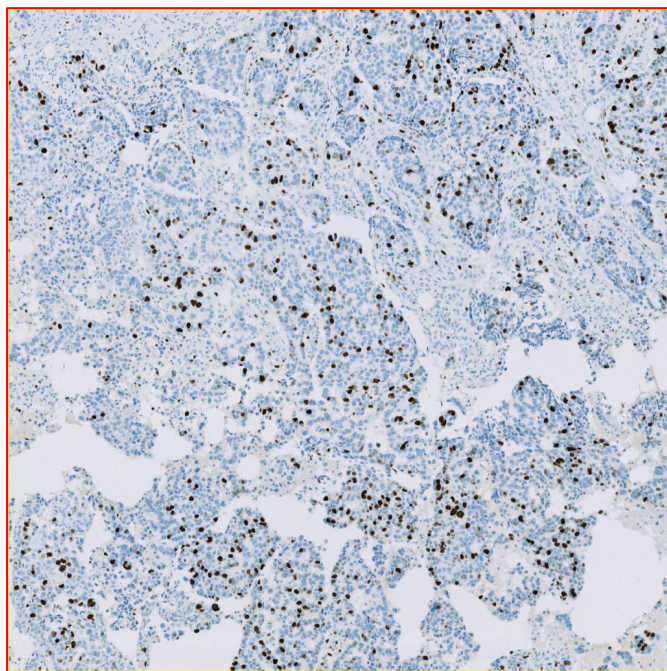
- 病理画像解析に特化した機能
 - 腫瘍の識別
 - バイオマーカーの定量評価
- ユーザーフレンドリー
 - 使いやすさを重視した設計
 - スムーズなホールスライド画像表示
- バッチ処理およびスクリプト機能
 - 大量の画像データを効率的に処理

多機能かつユーザーフレンドリーなソフトウェアであり病理画像解析にとどまらず広く使われている

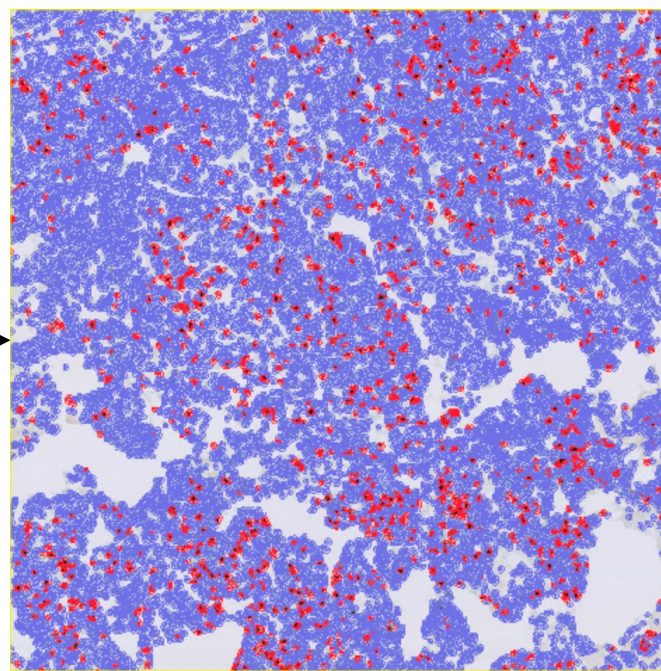
以下の論文Fig. 1より画像引用
Bankhead, P. et al. (2017) *Sci Rep*, 7, 16878. [doi:10.1038/s41598-017-17204-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5)

課題3: 解析方針の決定

拡大図



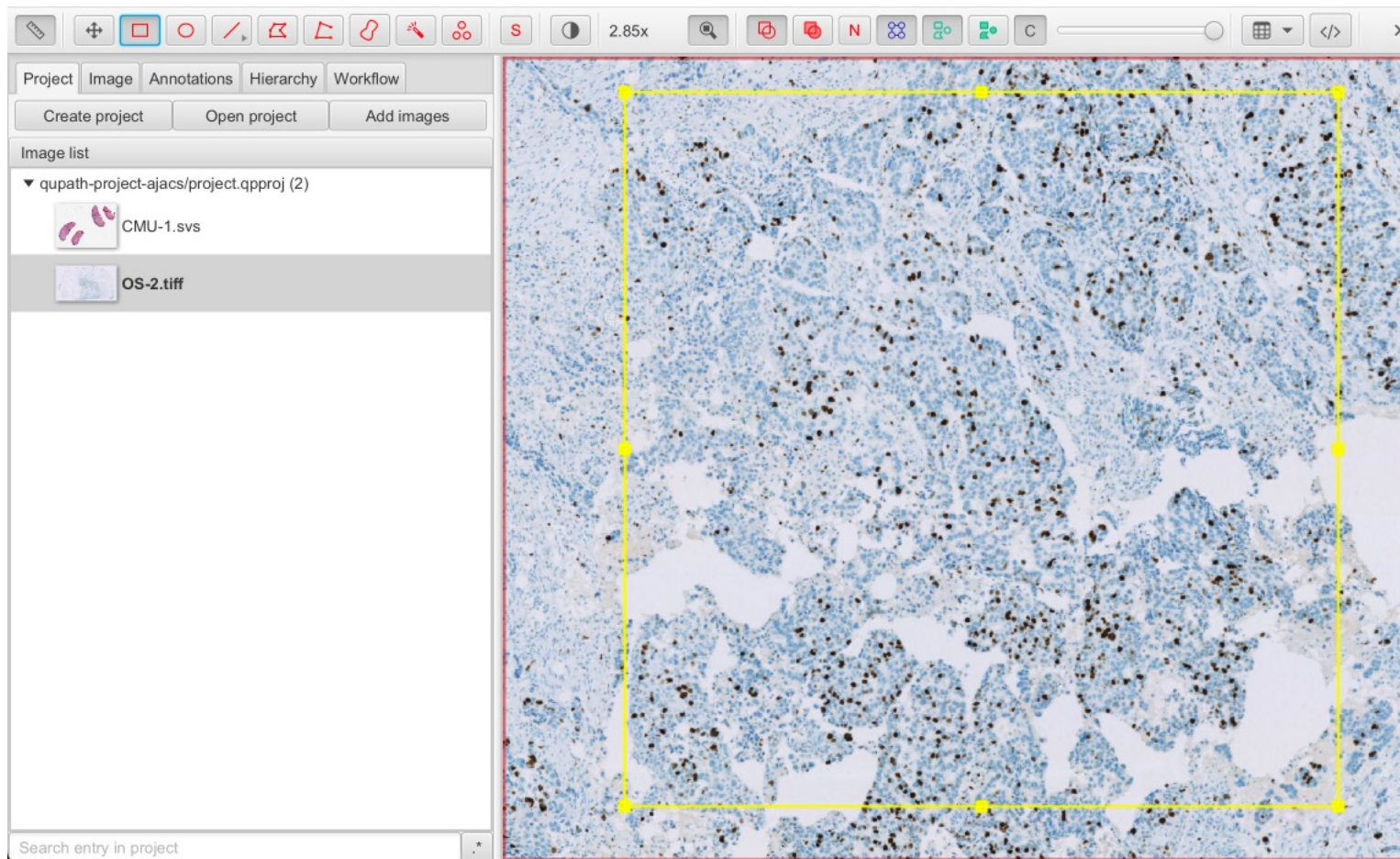
陽性細胞検出



$$\frac{\text{Ki-67陽性細胞 (赤)}}{\text{全検出細胞(青+赤)}}$$

QuPathの Positive cell detection 機能で解析を実行する

QuPath: 解析対象領域の指定



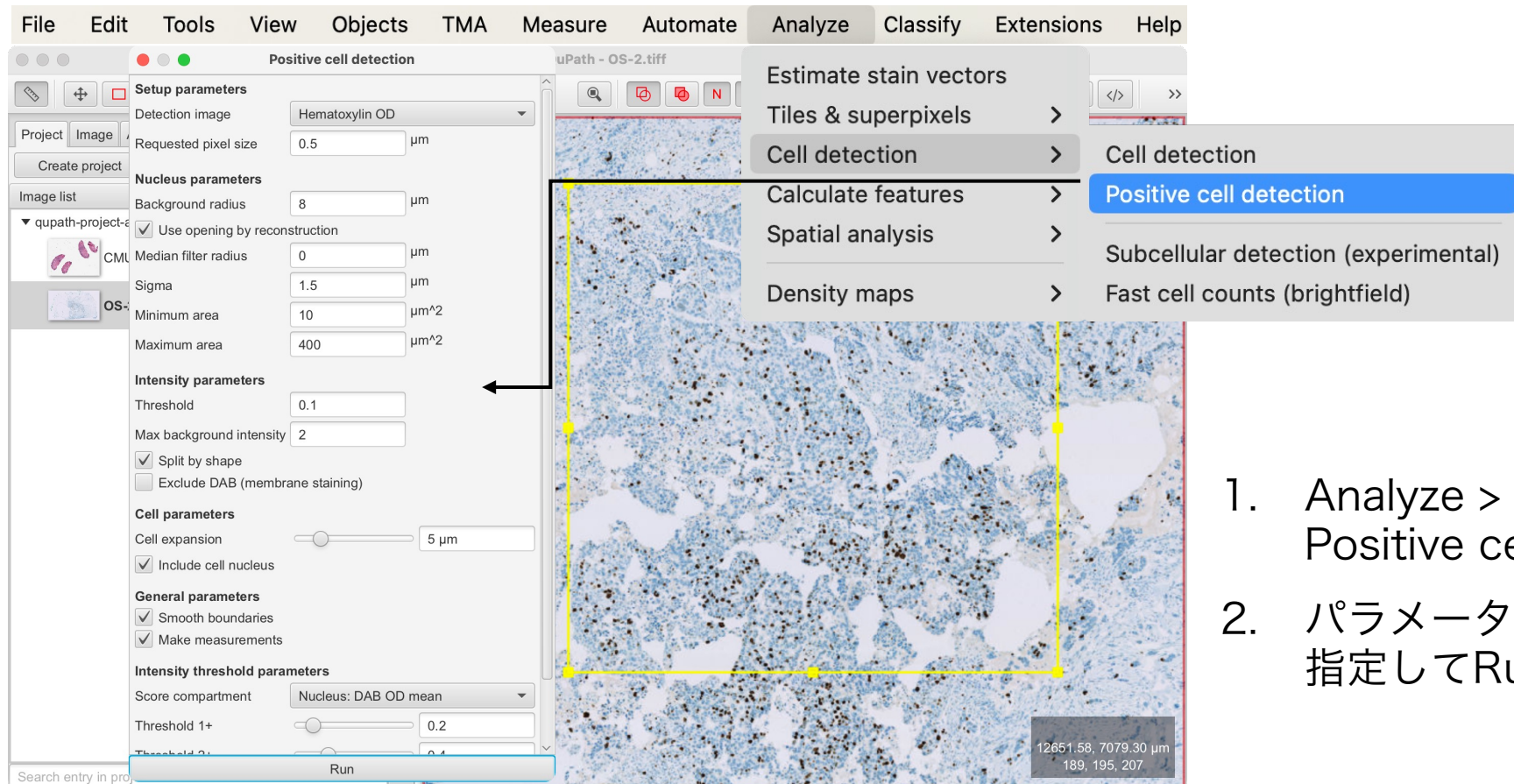
以下のツールを使って解析対象領域を指定する。

- 矩形ツール 
- 楕円ツール 
- ポリゴンツール 
- ブラシツール 
- Wandツール 

画像データ: OpenSlide Test data OS-2.ndpi

<https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Hamamatsu/>

QuPath: Positive cell detectionの実行

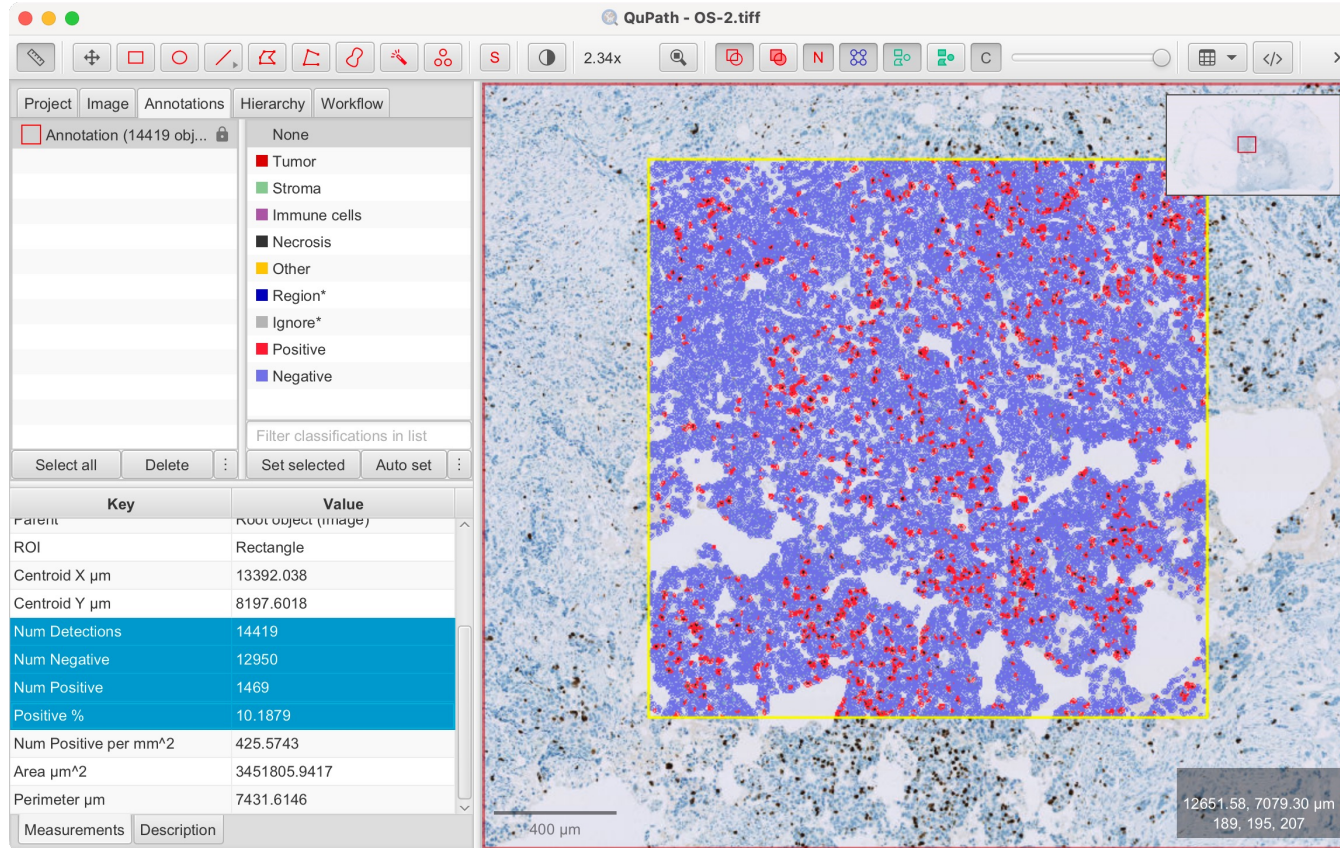


1. Analyze > Cell detection > Positive cell detectionを起動
2. パラメータ（今回はデフォルト）を指定してRunボタンを押して実行

画像データ: OpenSlide Test data OS-2.ndpi

<https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Hamamatsu/>

QuPath: Positive cell detectionの実行



1. Annotationsタブに移動
2. Measurements テーブルから計測値を確認
 - Num Detections: 全検出細胞数
 - Num Negative: 陰性細胞数
 - Num Positive: 陽性細胞数
 - Positive %: 陽性細胞割合

画像データ: OpenSlide Test data OS-2.ndpi

<https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Hamamatsu/>

2024年8月15日（木）JST-NBDCデータ解析講習会：AJACS（オンライン）

QuPath: <https://qupath.readthedocs.io/> による解析

Bankhead, P. et al., (2017). *Scientific Reports*, 7(1). [doi:10.1038/s41598-017-17204-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5)

紹介したソフトウェアの公式ドキュメント



Fiji

<https://imagej.net/>



napari

<https://napari.org/>



TrackMate

<https://imagej.net/plugins/trackmate/>



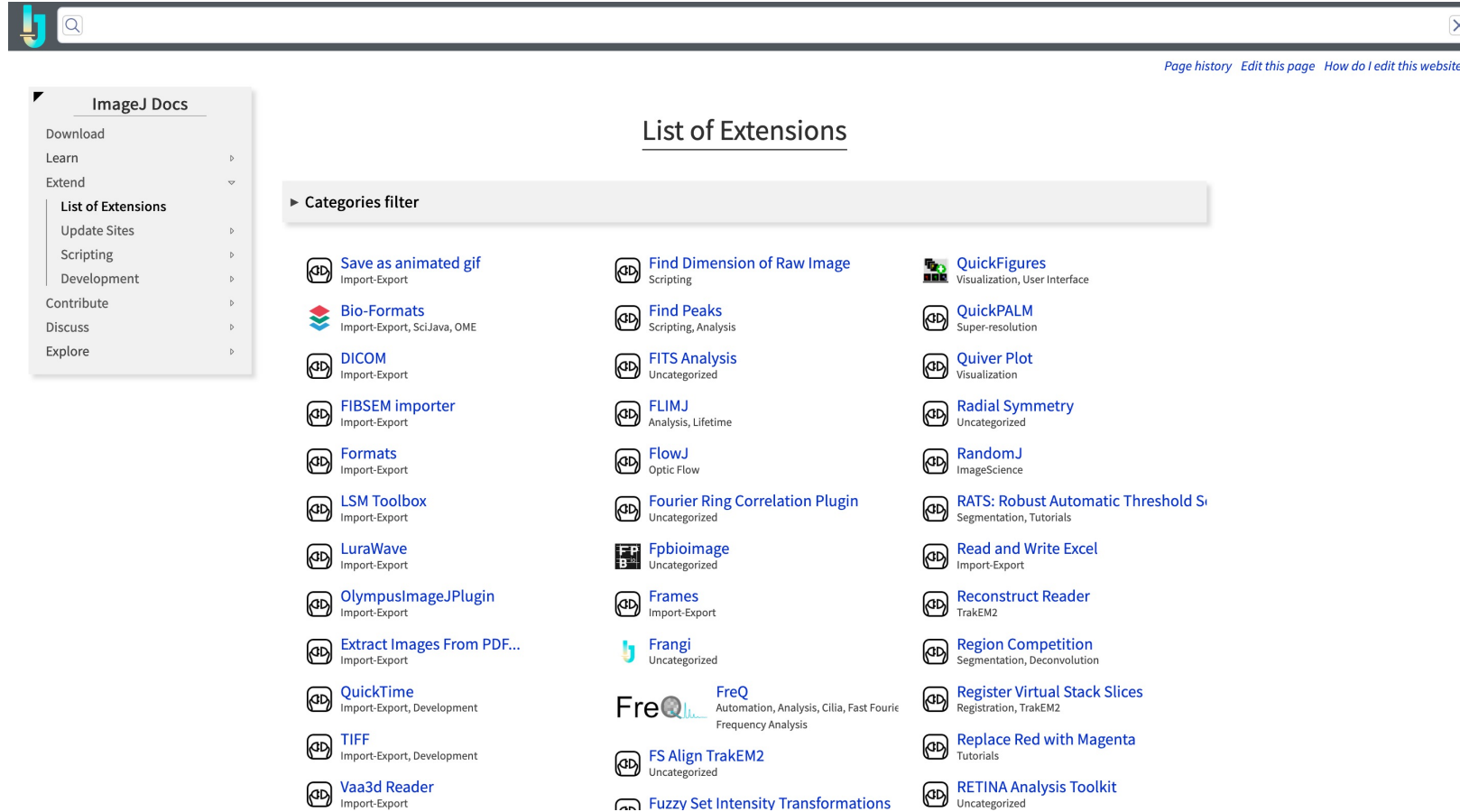
QuPath

<https://qupath.readthedocs.io/>

最新の公式ドキュメントを確認

ImageJ プラグインまとめ

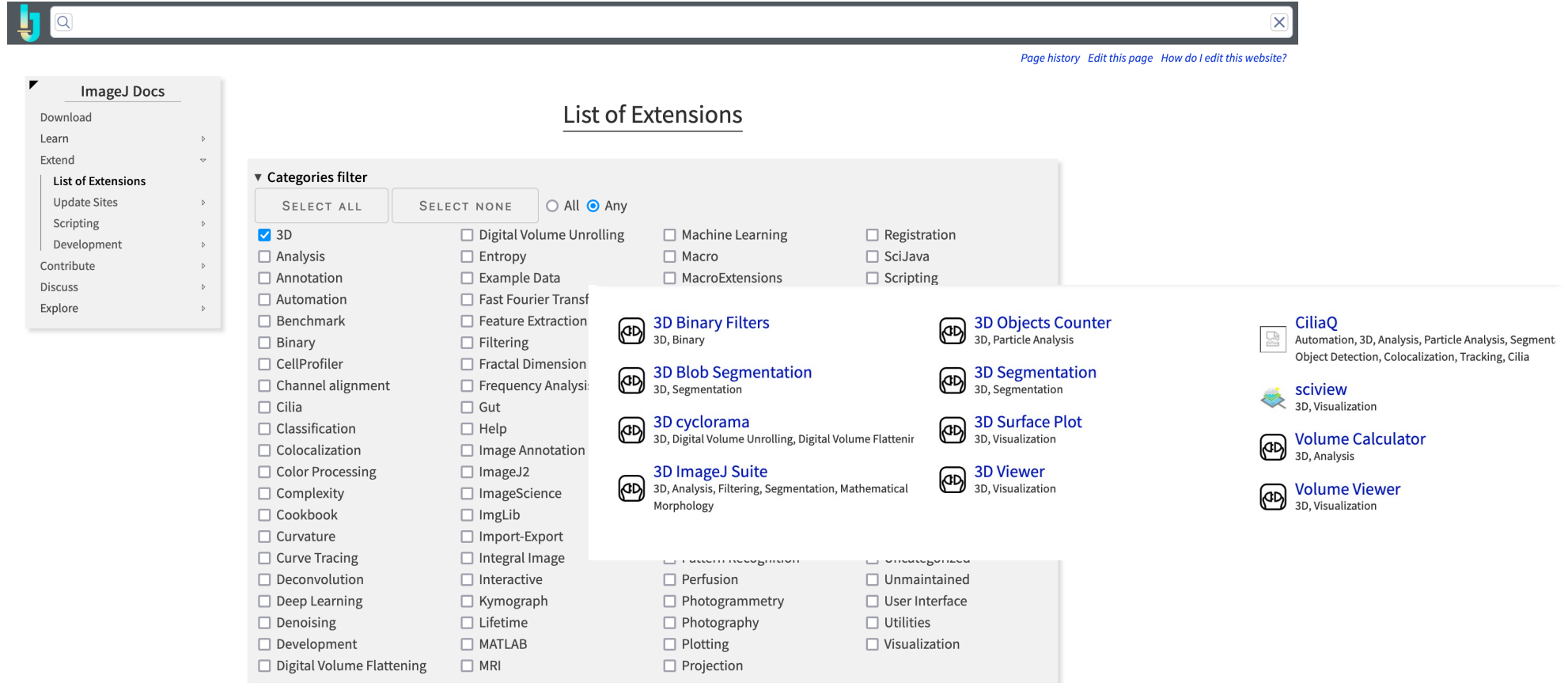
- ImageJ List of Extensions: <https://imagej.net/list-of-extensions>



ImageJ List of Extensions: <https://imagej.net/list-of-extensions> Webサイトのスクリーンショット

ImageJ プラグインまとめ

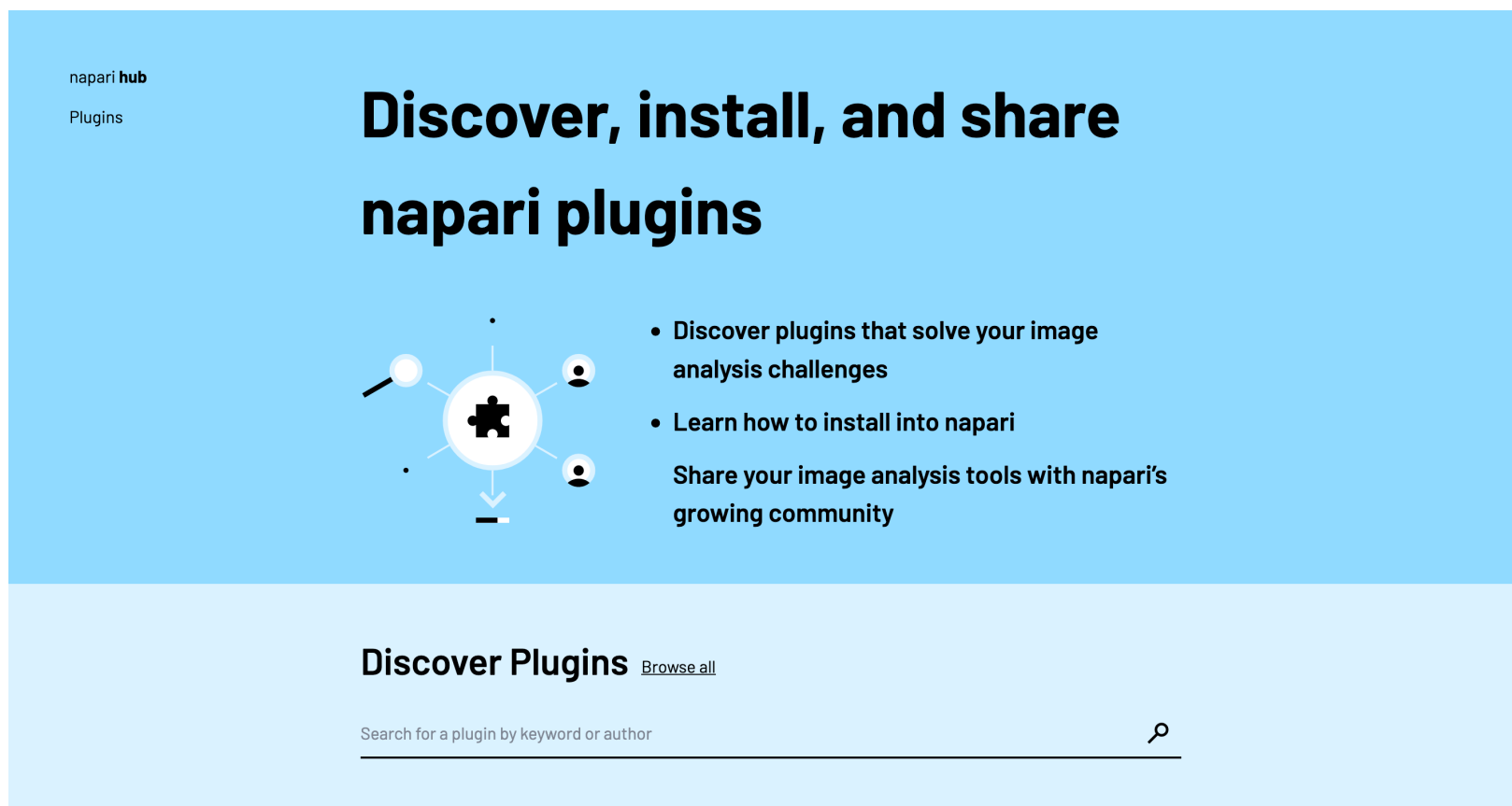
- Categories filterからフィルタリングが可能



ImageJ List of Extensions: <https://imagej.net/list-of-extensions> Webサイトのスクリーンショット

napari プラグインまとめ

- napari hub: <https://www.napari-hub.org/>



napari hub: <https://www.napari-hub.org/> Webサイトのスクリーンショット

QuPath プラグインまとめ

- QuPath Docs extensions:

<https://qupath.readthedocs.io/en/latest/docs/intro/extensions.html>

Finding extensions

We don't yet have a central list for extensions. The main places to find out about them are:

- These docs — some examples include:

- [StarDist](#)
- [WSInfer](#)
- [OMERO](#)
- [Deep Java Library](#)
- [Bioimage Model Zoo](#)

- The [user forum](#)

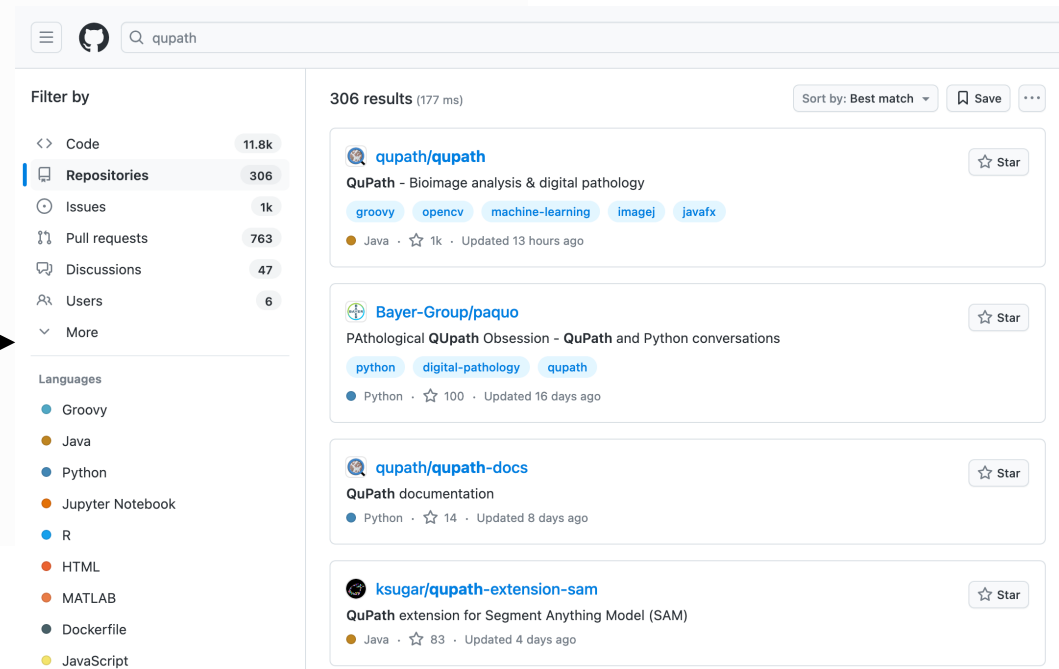
- Searching for QuPath on GitHub

QuPath Docs extensions:

<https://qupath.readthedocs.io/en/latest/docs/intro/extensions.html>

Webサイトのスクリーンショット

2024年8月15日（木）JST-NBDCデータ解析講習会：AJACS（オンライン）



Filter by

- <> Code 11.8k
- Repositories 306
- Issues 1k
- Pull requests 763
- Discussions 47
- Users 6
- More

Languages

- Groovy
- Java
- Python
- Jupyter Notebook
- R
- HTML
- MATLAB
- Dockerfile
- JavaScript

306 results (177 ms) Sort by: Best match Save ...

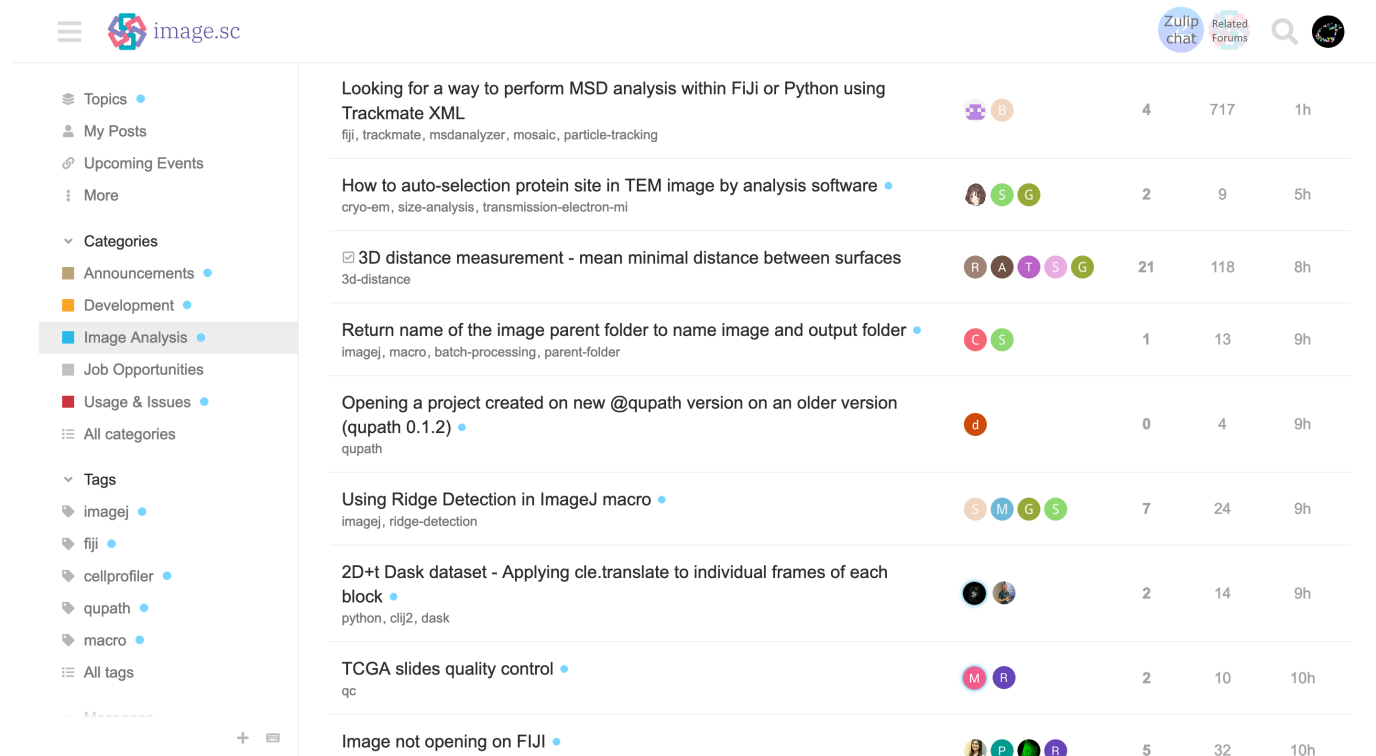
- qupath/qupath** Star
QuPath - Bioimage analysis & digital pathology
groovy opencv machine-learning imagej javafx
Java · ☆ 1k · Updated 13 hours ago
- Bayer-Group/paquo** Star
PAtiological QUPath Obsession - QuPath and Python conversations
python digital-pathology qupath
Python · ☆ 100 · Updated 16 days ago
- qupath/qupath-docs** Star
QuPath documentation
Python · ☆ 14 · Updated 8 days ago
- ksugar/qupath-extension-sam** Star
QuPath extension for Segment Anything Model (SAM)
Java · ☆ 83 · Updated 4 days ago

GitHub <https://github.com/>

Webサイトのスクリーンショット

image.scの利用

image.sc: <https://forum.image.sc/>



The screenshot shows the image.sc forum interface. On the left is a sidebar with navigation links: Topics, My Posts, Upcoming Events, More, Categories (Announcements, Development, Image Analysis, Job Opportunities, Usage & Issues), All categories, Tags (imagej, fiji, cellprofiler, qupath, macro), and All tags. The main content area displays a list of forum topics. Each topic includes a title, a brief description, user avatars, and statistics (number of replies, views, and time since posted).

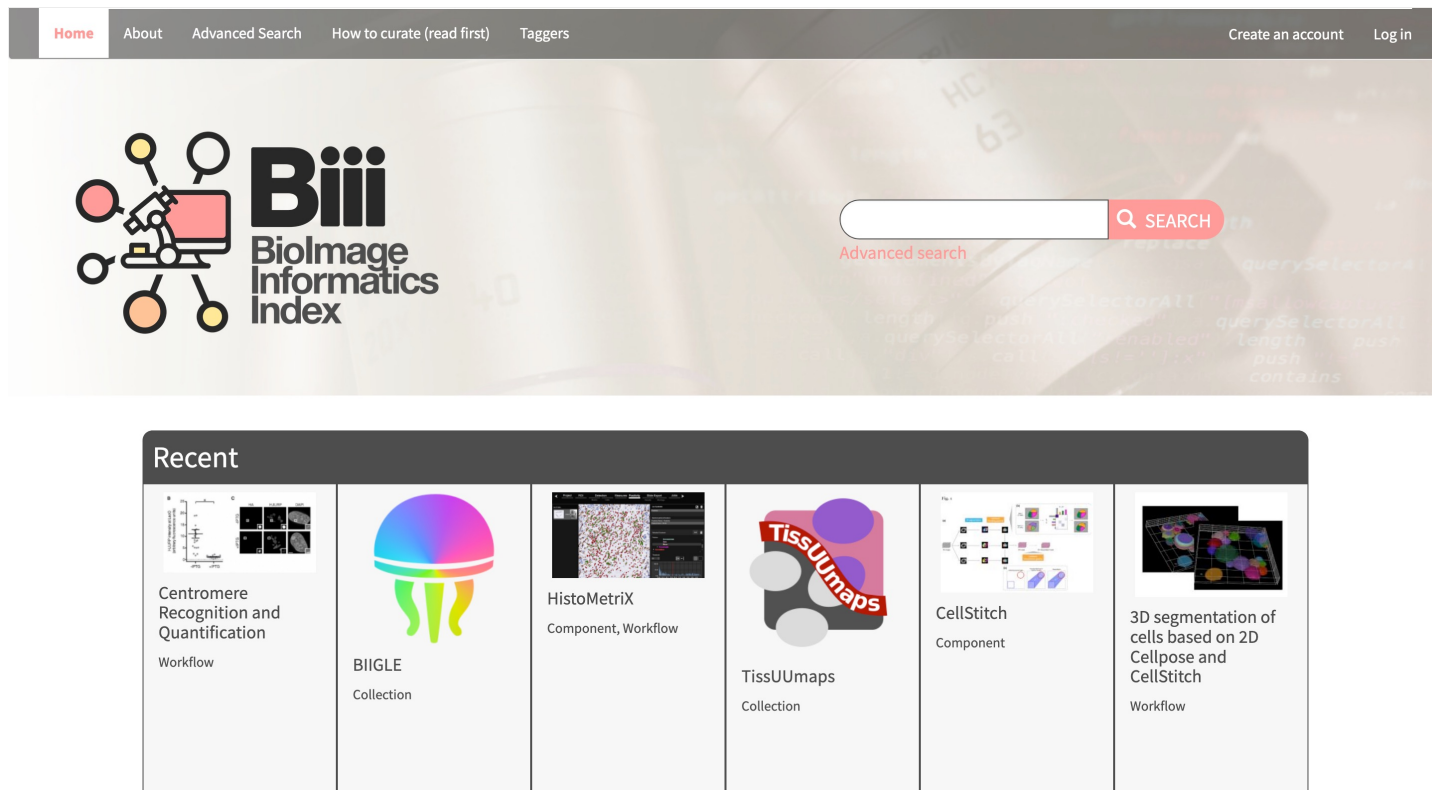
Topic Title	Replies	Views	Time
Looking for a way to perform MSD analysis within Fiji or Python using Trackmate XML	4	717	1h
How to auto-selection protein site in TEM image by analysis software	2	9	5h
3D distance measurement - mean minimal distance between surfaces	21	118	8h
Return name of the image parent folder to name image and output folder	1	13	9h
Opening a project created on new @qupath version on an older version (qupath 0.1.2)	0	4	9h
Using Ridge Detection in ImageJ macro	7	24	9h
2D+t Dask dataset - Applying cle.translate to individual frames of each block	2	14	9h
TCGA slides quality control	2	10	10h
Image not opening on FIJI	5	32	10h

image.scには生物画像解析に関する質問やアナウンスメントが日々投稿され、活発に議論が行われている。

image.sc: <https://forum.image.sc/> Webサイトのスクリーンショット

Biii (Biolmage Informatics Index)の利用

Biii (Biolmage Informatics Index): <https://biii.eu/>



Biiiには生物画像解析に関する以下のコンテンツがまとめられている。

- Training Material
- Dataset
- Software

Biii <https://biii.eu/> Webサイトのスクリーンショット

解析方法の検討におけるChatGPTの活用

蛍光顕微鏡で撮像した核染色画像を用いて、画像内全領域における個々の細胞核の面積を定量したいです。どのようにすればいいですか？

⑧ 蛍光顕微鏡で撮像した核染色画像を用いて、個々の細胞核の面積を定量する手順を以下に示します。使用するツールとしては、ImageJ/Fijiが適しています。

手順

1. 画像の読み込み

- ImageJ/Fijiを起動し、核染色画像を読み込みます（`File > Open`）。

2. 画像の前処理

- 画像がノイズを含む場合、平滑化フィルタを適用してノイズを除去します（`Process > Filters > Gaussian Blur` など）。
- 画像がぼやけている場合、シャープ化フィルタを適用してコントラストを向上させます（`Process > Filters > Unsharp Mask` など）。

3. 閾値設定

- `Image > Adjust > Threshold` を選択し、閾値を設定して細胞核を白（前景）と黒（背景）に二値化します。
- 自動閾値設定（`Auto` ボタン）を試した後、手動で微調整します。

4. 分離とラベリング

- 細胞核が接触している場合、`Process > Binary > Watershed` を使用して個々の細胞核を分離します。
- 細胞核がしっかり分離されていることを確認します。

5. 領域の計測

- `Analyze > Analyze Particles` を選択し、以下のオプションを設定します：
 - `Size`：目的とする細胞核の大きさに応じて範囲を設定（例えば、`0-Infinity`）。
 - `Show` オプションを `Outlines` に設定。
 - `Display results` をチェックして、結果を表示。
- `OK` をクリックすると、各細胞核の面積が計測され、結果が表示されます。

6. 結果の保存

- 計測結果が表示されたウィンドウから `File > Save As` を選択し、結果を保存します。

ChatGPT4oは今回の解析ワークフローとほぼ同一の回答を返した

解析方法の検討におけるChatGPTの活用

三次元細胞のトラッキング解析をしたいです。

 三次元細胞のトラッキング解析を行うためには、適切なソフトウェアやツールを使用し、以下の手順に従うことが重要です。ここでは、Fiji/ImageJ、Imaris、TrackMate、NAPARIなどのツールを使用する一般的な方法について説明します。

使用ツールの選定

- **Fiji/ImageJ:** オープンソースで多機能な画像解析ツール。
- **Imaris:** 商用ソフトウェアであり、三次元画像解析に強力な機能を提供。
- **TrackMate:** Fijiのプラグインであり、2Dおよび3Dトラッキングに対応 ●

講義のまとめ

- 生物画像解析の実践に必要な考え方
- オープンソース生物画像解析ソフトウェアを用いた生物画像解析の実例
 - 課題1: 蛍光染色した核の面積定量 (Fiji, napari)
 - 課題2: 蛍光タイムラプス三次元画像を用いた細胞トラッキング解析 (TrackMate in Fiji)
 - 課題3: 病理スライド画像における細胞増殖領域定量解析 (QuPath)
- 生物画像解析を行なっていくために必要な情報の調べ方
 - 各ソフトウェアの公式ドキュメント
 - 各ソフトウェアプラグインのまとめ
 - image.scフォーラムやBiiiの利用
 - ChatGPTなどの活用

本日扱わなかった発表者に関連するトピック

- ビッグデータに対応した画像解析ツール
 - BigDataViewer: <https://imagej.net/plugins/bdv/>
 - Mastodon: <https://mastodon.readthedocs.io/>
 - ELEPHANT: <https://elephant-track.github.io/>
- 最新の画像解析AIツール
 - Segment Anything Model (SAM): <https://segment-anything.com/>
 - QuPath extension SAM: <https://github.com/ksugar/qupath-extension-sam>
- バイオイメージングデータのデータベース
 - SSBD: <https://ssbd.riken.jp/database/>



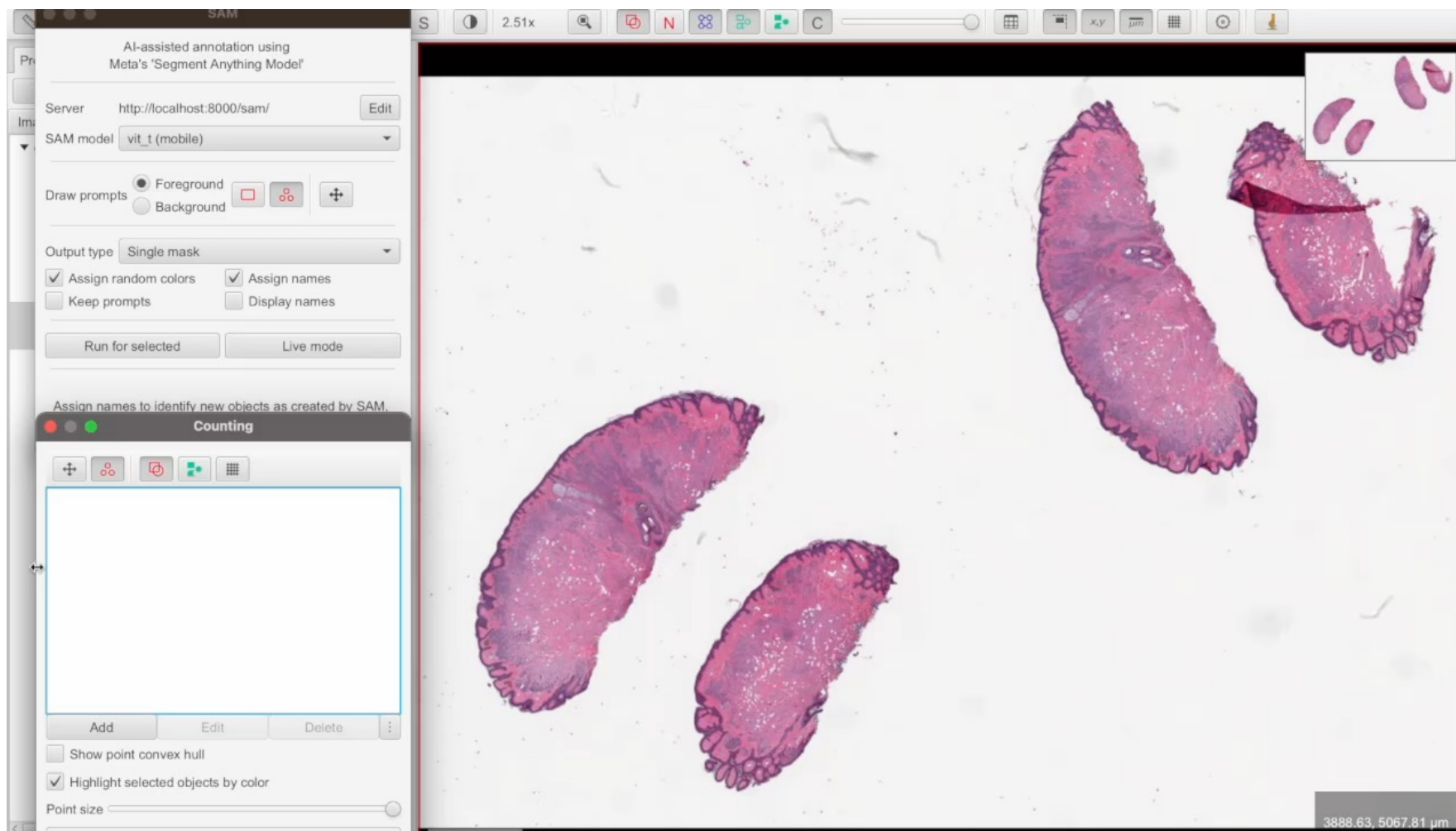
ELEPHANTによる三次元画像解析（動画）



Sugawara et al., (2022) *eLife* 11:e69380 <https://doi.org/10.7554/eLife.69380>

画像データ: *Parhyale hawaiensis* regenerating leg (demo dataset) <https://zenodo.org/records/4549193>

QuPath extension SAM (動画)



画像データ: OpenSlide Test data CMU-1.svs <https://openslide.cs.cmu.edu/download/openslide-testdata/Aperio/BBBC039v1> Caicedo et al. 2018, the Broad Bioimage Benchmark Collection [Ljosa et al., *Nature Methods*, 2012]

謝辞

- 資料内で使用した画像データ提供元
 - Broad Institute [Broad Bioimage Benchmark Collection \(BBBC\)](#)
 - [Open Slide Test Data](#)
 - Jean-Yves Tinevez (Institut Pasteur)
- 資料内で使用したソフトウェア
 - Fiji: <https://imagej.net/>
 - TrackMate: <https://imagej.net/plugins/trackmate/>
 - napari: <https://napari.org/>
 - stardist-napari: <https://github.com/stardist/stardist-napari>
 - napari-skimage-regionprops: <https://github.com/haesleinhuepf/napari-skimage-regionprops>
 - QuPath: <https://qupath.readthedocs.io/>

Q&A

事前アンケート内リクエストへの回答

「生物画像」と言っても、ミクロからマクロスケールまで様々ですので、それぞれの目的別にお勧めの解析ソフトや解析方法をご紹介します。

本講義で紹介したImageJ/Fiji, napari, QuPathのほか、タスクに特化したソフトウェアやプラグインがあります。

各ソフトウェアのプラグインページやBiii (<https://biii.eu/>) を活用することで効率よくソフトウェアや解析方法を調べることが可能です。

事前アンケート内リクエストへの回答

普段、3次元組織を扱っているので3次元的な解析を行うための手法を学べたらと考えています。

QuPathは三次元画像を表示できますが、解析は二次元画像向けに特化して設計されています。
napariの三次元画像解析用プラグインやBigDataViewerと連携して動作するFijiプラグインの方が適している場合もあるので、併せて検討するのが良いかと思います。

事前アンケート内リクエストへの回答

cellposeなどで選択した多数の細胞のROI部を自動で解析するマクロの組み方などご教授いただけますとありがたいです。

ROI情報から形態解析を行う手順は本講義の内容が参考になるかと思います。

CellposeをFiji上でmacroから実行する方法としては以下が参考になりそうです。

Cellpose-Fiji: <https://github.com/Biolmaging-NKI/Cellpose-Fiji>

事前アンケート内リクエストへの回答

Fiji (ImageJ) の使い方、スクリプトの基本的な書き方について勉強していく際に必要となる基礎的知識についても取り上げていただければと思っております。

ImageJのマクロの使い方についても、初心者向けに教えてほしい。

ImageJマクロの書き方については以下が参考になります。

- Introduction into Macro Programming: <https://imagej.net/scripting/macro>
- ImageJ Macro Language: <https://imagej.net/ij/developer/macro/macros.html>

事前アンケート内リクエストへの回答

TrackMate について、SN比がそれほど良くない動画を用いるとSpotsが同じStackに複数現れたり、spotsが途切れたりするので、改善方法を教えて欲しい。

本講義で扱ったフィルタリング機能の利用をご検討ください。

また、TrackMate-StarDistなど検出にAIモデルを用いる手法を活用することも併せてご検討ください。

TrackMate-StariDist: <https://imagej.net/plugins/trackmate/detectors/trackmate-stardist>

事前アンケート内リクエストへの回答

以前、動画において発現したGFPのマルチトラッキングに挑戦しましたがID管理などが難しく断念しました。皆様どの様にされているのでしょうか？

本講義で紹介したTrackMateの利用をご検討ください。

大規模データのトラッキングにおいてはMastodon/ELEPHANTも併せてご検討ください。

事前アンケート内リクエストへの回答

胃や腸の断面全層から粘膜の層だけを認識させて厚みを図ったり、核を認識させて上皮の下層と上層で大きさのばらつきの違いを調べたりなどというタスクを行いたいと思っています。そのようなタスクに応用できる、自動で画像内の特定のものを認識させて計測するタスクを扱っていただきたいです。

組織画像かと思いますので、QuPathと相性が良い解析となります。

粘膜層の認識にはPixel Classification¹、核の認識にはCell Detection²およびStarDistのQuPath extension³が適している機能となります。

1. https://qupath.readthedocs.io/en/stable/docs/tutorials/pixel_classification.html
2. https://qupath.readthedocs.io/en/stable/docs/tutorials/cell_detection.html
3. <https://qupath.readthedocs.io/en/stable/docs/deep/stardist.html>

事前アンケート内リクエストへの回答

画像解析での標準化・質の担保のやり方を知りたいと思います。

解析のパラメータを固定しマクロ等で自動化することで解析の標準化が実現可能です。

質の担保については、あらかじめ別の方法（手動解析など）で参照となる結果を得ているテストデータを準備しておき、自動解析の出力結果との違いが許容範囲かどうかを確認するという手順が一般的となります。この際、正解率などの指標を用いることで定量的な解析の質の評価が可能となります。

事前アンケート内リクエストへの回答

生物画像解析の内容にて発表された論文の紹介が可能ならお願いします。これは読んでおくべき、という論文があればご教示いただきたいです。

私が最近発表した生物画像解析関連の論文、プレプリントとしては以下がございます。

1. Sugawara, K., Çevrim, Ç., Averof, M. (2022) Tracking cell lineages in 3D by incremental deep learning *eLife* 11:e69380 <https://doi.org/10.7554/eLife.69380>
2. Sugawara, K. (2023) Training deep learning models for cell image segmentation with sparse annotations *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2023.06.13.544786>

事前アンケート内リクエストへの回答

病理組織を解析するにあたって、炎症反応や組織状態（特に結腸、腎臓）の評価を行う際どのような点に着目すればよいのかを知りたい。
病理組織切片の適切な染色度合い（HE染色やマッソントリクローム染色などの、色素の濃すぎ薄すぎなど）を教えてください。

解析したい条件に応じて細胞や組織の状態が変化し画像上に現れる場合は、その変化を検出できるように画像解析の方法を検討することが基本的な方針になります。

適切な染色度合いを一律に議論することは難しいですが、染色度合いにより画像解析の結果が大きく変化する場合がありますので、なるべく同じ染色度合いで撮像することが望ましいです。

画像処理により染色度合いを標準化する手法もあります。

事前アンケート内リクエストへの回答

輪郭が不明瞭なサンプルの効率的な認識を知りたい。

隣接するオブジェクトを分離できないという部分が課題になるようであれば、本講義で扱った Watershed法が効果的な可能性があります。

また、輪郭が不明瞭でそもそも認識が難しい場合は、CellposeやStarDistなどAIモデルを学習させることで高い認識性能が期待できます。

事前アンケート内リクエストへの回答

論文化するときに指摘される点を教えてほしい。

画像解析の結果を再現するためのコードが求められるケースが増えています。

画像解析の手法開発においては、先行研究結果と比較した結果を求められるケースが多いです。

事前アンケート内リクエストへの回答

組織染色切片の画像を用いた、各要素の分離のコツなどご教示いただければ幸いです。

QuPath上での染色の分離については以下をご参照ください。

https://qupath.readthedocs.io/en/stable/docs/tutorials/separating_stains.html

事前アンケート内リクエストへの回答

講義を聞いた後の自己学習のための参考資料（本やホームページなど）を教えてください。

日本語のリソース:

- 「ImageJではじめる生物画像解析」三浦耕太先生, 塚田祐基先生編著 学研メディカル秀潤社
- 千々松良太先生によるQuPath解説: <https://zenn.dev/rchiji/books/0025385037d794>

英語のリソース:

- QuPath開発者のPete Bankheadによる生物画像解析の入門: <https://bioimagebook.github.io/>
- NEUBIASのYouTubeチャンネル: <https://www.youtube.com/neubias>
- Robert Hasseによる生物画像解析講座 Lecture Biolmage Analysis 2020: <https://youtube.com/playlist?list=PL5ESQNfM5lc7SAMstEu082ivW4BDMvd0U&si=9M5zub3QF4b-6QoS>



学研メディカル秀潤社
Webサイトより引用