

はじめに

近年、光学顕微鏡技術の発展はめざましい。その発展は古典的な広視野蛍光顕微鏡からはじまり、共焦点顕微鏡や二光子・多光子励起顕微鏡、ライトシート顕微鏡など光学断層像を観察できるもの、さらに超解像顕微鏡、発光イメージングなど多岐にわたる。これらの顕微鏡技術の発展によって、得られる画像データが質・量とも急激に向上・増加した結果、膨大な画像データからいかに生物学的な知識を抽出するかというデータサイエンスへの広がりを見せている。さらには、深層学習 AI による画像処理・解析の発展も相まって、関連分野を巻き込んだ領域の膨張は留まるところを知らない。

一昔前は、顕微鏡で取得した画像について、「典型例」と称して論文に掲載することが一般的であった。あるいは、野生型と遺伝子変異型では「組織の様子が異なる」といった定性的、悪く言えば著者の感覚に依存した漠然とした評価をもとに実験結果が記述されることも少なくなかった。しかし最近では、「典型例」ではなく「数値としてどれくらいの相違があるかを示すべし」という定量的な計測を求められることが普通になりつつある。さらに、「組織の様子がどう異なるのか」を、見た目ではなく、数値としてあらわせる評価指標を考案する必要性も増している。

一口に「定量・数値的な評価」と言っても、それは画像処理・解析だけで完結する問題ではない。例えば細胞などの物体の輝度の計測に関しては、顕微鏡法や検出器（カメラなど）によっては輝度の定量性が担保されていないものもあり、輝度を評価するうえで誤った結論に至る危険性がある。一般に普及している一眼レフ等のカメラには画像処理アルゴリズムが内蔵されており、暗いところでも鮮明な非常に美しい画像を出力してくれるが、見た目のよさとは裏腹に輝度の定量性は失われている。つまり、画像の美しさ・芸術性とサイエンティフィックな定量性・信頼性とはしばしば相反している。また他にも、超解像顕微鏡法のなかには画像処理を介在したものがあるが、画像処理によって輝度の定量性が失われているのかという疑問もある。こうした状況にあって、いったいどの顕微鏡法やどの検出器を使うのが自分の研究目的に合致しているのか、どこに落とし穴があるのかを一人の研究者がすべて把握するのが困難な状況になりつつあると言えるだろう。

われわれはイメージング・画像解析支援活動を行っているが、しばしば「この蛍光顕微鏡画像から発現量の定量解析をしてほしい」との依頼がある。撮影条件等を聞くと、前述のような定量性が担保されない検出器を使っているなど適切な方法で撮影されておらず、そういった場合は「これらの画像から定量解析はできない」と答えざるを得ない。つまり、「画像を解析する場合には、解析目的とその方法を想定した適切な画像を取得する必要がある」のである。このように、今の時代はもはや「画像取得（顕微鏡法）」と「画像解析」は不可分と言えよう。しかし顕微鏡法の解説書や画像解析の解説書はすでに多く出版されている一方で、両者を有機的につなげて解説したものは編者が知る限りない。

本書では、このような考え方に則り、最低限の光学機器の特徴や原理と、画像解析の基本原理を概説している。具体的には、第Ⅰ部で顕微鏡を代表とする光学機器を扱ううえで最低限必要な光学の基本原理や、検出器のしくみと注意点を概説するとともに、各種の顕微鏡法の特徴を解説している。第Ⅱ部では生物画像解析の基本となるデジタル画像、画像処理の考え方から、輝度の定量や形態の評価法など代表的な画像解析法を解説している。第Ⅰ部と第Ⅱ部を互いに連携させることで、最終ゴールに至るまでにどの顕微鏡法を選択し、どういった画像処理・解析を実施すればよいかを可視化することをめざした。個別の事柄についてより深い理解が必要となる場合には、手がかりとなるキーワードを提示しているので、それぞれの分野の専門的な部分は各専門書を調べていただきたい。

正しい画像取得（顕微鏡法）、あるいは画像解析ができていないか自信がない研究者や、顕微鏡には詳しいけど画像解析はちょっと、という研究者、あるいはその逆、はたまた、研究をはじめたばかりでどちらも、といった大学院生まで、イメージング&画像解析で悩めるさまざまな研究者の指針になるものと思っている。本書をあなたの研究の目的に沿った画像取得と画像解析の遂行にお役立ていただければ幸いである。

謝辞

本書をまとめるにあたってご協力くださった以下の方々に感謝いたします。

本書「第Ⅰ部 画像取得」の内容は、基礎から学ぶ顕微鏡光学系実習（OPT）をもとに執筆しました。本コースの世話人・講師として、亀井、および、甲本真也、谷口篤史、坂本 丞、堤 元佐、大友康平、野中茂紀、顕微鏡組み立てチューターとして、斎田美佐子、高木知世、浅尾桃子、渡我部ゆき、依藤絵里、小林健太郎、奥川友紀、佐藤文則、Carolina Fiallos Oliveros 各氏をはじめ複数大学の施設職員の方々や顕微鏡関連企業の方々にもご支援をいただきました。また、上野直人、根本知己、三上秀治 各氏から講義やアドバイスをいただきました。さらに、コース運営等にかかわっていただいた方々に、改めて深く感謝申し上げます。

本書「第Ⅱ部 画像解析」の内容は、生物画像データ解析トレーニングコース（BIATC）をもとに執筆しました。本コースは世話人・講師として、加藤、小山、亀井、および、野中茂紀、村田 隆 各氏、チューターとして坂本 丞、谷口篤史、西出浩世、餘家 博 各氏、および内田誠一研究室の大学院生諸氏が参画しました。歴代の世話人・講師として木森義隆氏は多大な貢献をしてくださいました。外部講師として朽名夏磨、塚田祐基、安永卓生 各氏が本コースの発展にご協力くださいました。また、上野直人、藤森俊彦、高田慎治 各氏からアドバイスをいただきました。運営に際しては加藤 愛、中村貴宣 各氏に多大なご協力をいただきました。その他にもチューター、運営にかかわった方々が多くおります。ここで全員をあげることはできませんが、改めて深く感謝申し上げます。

2024年4月

小山宏史、加藤 輝、亀井保博