

粒子画像流速測定法による細胞集団の解析における粗視化の影響

日大生産工(学部) ○山崎信忠 日大生産工 野々村真規子 千葉大・工(院) 菰田貴文
日大生産工(院) 深山達也 千葉大・工 菅原路子 物材機構 中西淳

1. まえがき

多細胞生物の体を構成している細胞には、単独で移動する細胞だけでなく、上皮細胞などのように細胞間の接着を維持した状態で移動する細胞も存在する。このような細胞の運動形態を集団移動という。細胞の集団移動は、初期胚や血管形成などの発生、創傷治癒だけでなく、ガン細胞の浸潤・転移などにも関与すると言われている¹⁾。

中西らは、光照射によって細胞との接着を制御できる光応答性基板を開発した^{2,3)}。この基板を利用することで、細胞集団をある場所に閉じ込めたり、細胞の接着領域を広げて集団移動を誘導させたりすることが可能となる。

また、近年、粒子画像流速測定法(Particle Image Velocimetry : PIV法)が、細胞の集団移動の解析で使われるようになってきている。PIV法では、実験の動画から細胞の移動ベクトルをピクセルごとに求めることができる⁴⁾。求められた移動ベクトルはバラツキがあるため、ベクトルの平均をとって粗視化するという手法も使われることがある⁵⁾。

本研究では、光応答基板を用いて細胞の集団移動を制御した実験結果に対して、PIV法による細胞の集団性の定量化を試みた。とくに、移動ベクトルの粗視化が、定量化にどのような影響をあたえるのかに焦点を当てる。

2. PIV解析

PIV法とは、連続する時相の画像から、物体の流れの情報、すなわち速度や移動量等を取り出す手法である⁴⁾。簡単にいうと、図1のように1時相目の検査領域と最も似ている場所を、2時相目の解析領域から見つけ、1時相目の検査領域の中心を始点、2時相目の解析領域で見つけた最も似ている場所の中心を終点とするベクトルを求めるというものである。検査領域の大きさや解析領域の大きさは、用いる画像によって決めることになる。移動ベクトルは任意のピクセル間隔で求めることができるが、細胞

という一つの塊の移動をとらえる場合には、1ピクセル間隔ではなく数ピクセル間隔で移動ベクトルを求めることが多い。文献5では、PIV法で求める移動ベクトルのピクセル間隔をあけるのではなく、移動ベクトルの空間平均をとることでピクセル間隔をあけている。

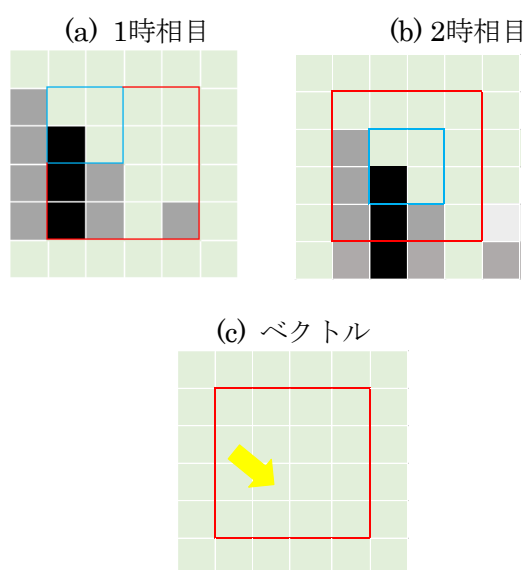


図1 PIVの原理

3. 解析で用いた実験結果

先に述べたように、光応答基板を用いると、細胞の接着領域をコントロールすることができる。細胞が接着できない領域に再度光を照射すると、接着領域をひろげることができ、新たに接着できるようになった領域に、細胞が集団で移動するようになる。図2と図3の背景の写真はどれも同じものである。始めに細胞が接着している領域と接着していない領域の境界が直線になるような状況を作っておき、光を照射し全ての領域に接着できるようにした結果、細胞が集団で空いているスペースに移動している様子をとらえている。ここで用いている細胞は、実験でよく使われている犬腎臓尿細管上皮

The coarse-grained analysis of the cell population dynamics obtained by the particle image velocimetry

Nobutada YAMAZAKI, Makiko NONOMURA, Takafumi KOMODA,
Tatsuya MIYAMA, Michiko SUGAWARA and Jun NAKANISHI

細胞 (Madin-Darby canine kidney cell : MDCK細胞)である。

4. 解析結果

図2の黄色の矢印はPIV法により10ピクセル間隔で求めた移動ベクトルを示す。本来同じ向きに動くはずの一つの細胞領域内のベクトルであっても全く別々の向きを向いてしまっていることがわかる。

図3は1ピクセル間隔で移動ベクトルを求め、その移動ベクトルの空間平均をとったものである。上から順に 5×5 、 10×10 、 15×15 、 20×20 の移動ベクトルを平均している。図2と図3の 10×10 の結果を比べると、平均化することでバラツキが抑えられ、エラーベクトルを拾いにくくなっていることがわかる(図4)。ただし、 20×20 のように、平均するベクトル数を増やしすぎると、本来見えるべき細胞移動も平均化によって打ち消されてしまうので、平均するベクトル数の選択には注意が必要となる。今回使用した画像の場合、細胞1個のサイズに近い 10×10 での平均が最もよい結果となった。

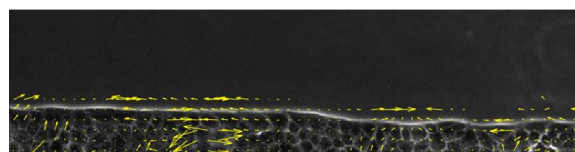


図2 10ピクセル間隔の移動ベクトル

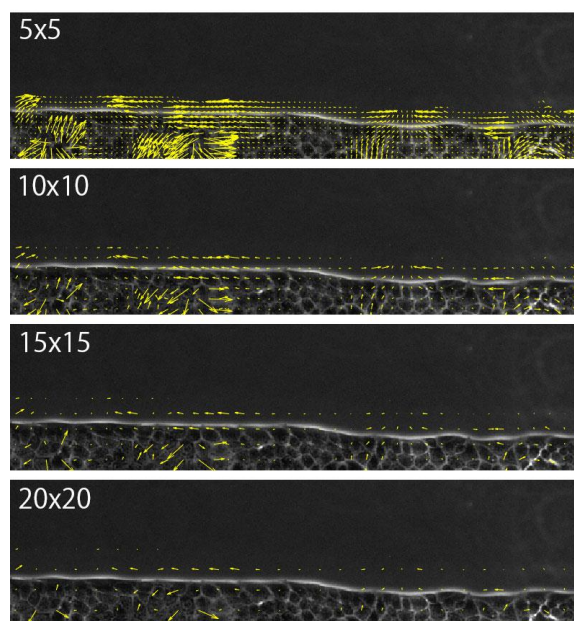


図3 空間平均した移動ベクトル

図2

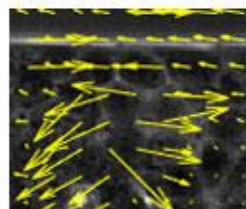


図3 10x10

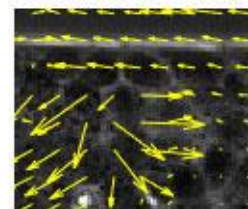


図4 拡大図

5. まとめ

本研究では、光応答基板によって細胞の集団移動が制御された実験結果に対し、PIV法で移動ベクトルを求め、さらにそのベクトルを空間平均して粗視化を行った。単に移動ベクトルを間引くよりも、空間平均をとる方が、バラツキが抑えられ、PIV法のエラーベクトルも拾い難くなることがわかった。学術講演会のポスターでは、様々な形状に閉じ込められた細胞集団が広がる様子を捉えた画像を用いて、同様の解析を行った結果も合わせて紹介する予定である。

参考文献

- 1) 中西 淳, 細胞微小空間の動的制御を実現する光応答材料, 光アライアンス, 26, p42-47, 2015.
- 2) Yoshihisa Shimizu, Masao Kamimura, Shota Yamamoto, Shima A. Abdellatif, Kazuo Yamaguchi and Jun Nanishi, Facile Preparation of Photoactivatable Surface with Tuned Substrate Adhesiveness, Analytical Sciences, 印刷中.
- 3) Yoshihisa Shimizu, Heike Boehm, Kazuo Yamauchi, Joachim P. Spatz, Jun Nakanishi, A Photoactivatable Nanopatterned Substrate for Analyzing Collective Cell Migration with Precisely Tuned Cell-Extracellular Matrix Ligand Interactions, PlosONE, 9, p1-10, 2014.
- 4) 菅原路子, 狩野達也, 劉浩, 武居昌宏, テンプレート・マッチング法による異なる基質上の集団細胞遊走解析, ライフサポート, 27, p97-104, 2015.
- 5) A. K. Marel, M. Zorn, C. Klingner, R. Wedlich-Soldner, E. Frey, J. O. Radler, Flow and Diffusion in Channel-Guided Cell Migration, Biophysical Journal, 107, p1054-1064, 2014.