

3次元内部構造顕微鏡とスーパーコンピュータを用いた マウス全身の3次元高精細観察

横田秀夫^{*#}、本多英晴^{%%}、覚正信徳^{*}、重谷隆之[&]、大竹政光[%]、姫野龍太郎^{*&}

^{*}理化学研究所 生体力学シミュレーション特別研究ユニット

[#]理化学研究所 ものづくり情報技術統合化研究プログラム V C A T 開発チーム

[%]明治大学大学院 理工学研究科

[&]理化学研究所 情報基盤センター

1. 背景

ヒトゲノム計画の終了により、分子生物学の主眼はゲノム機能の解明に移行している。その中で、遺伝子発現の下流にある表現形を対象としたフェノーム研究が注目され、生物の形状は重要な研究対象となっている。我々は生物の内部の構造を詳細に観察することを目的に、新しい観察法として3次元内部構造顕微鏡を提案し、システムの開発をしてきた。この方法は、対象試料を切断 - 断面撮影 試料移動を自動的に行うことにより、実際の連続切断面画像を自動的に撮影する方法である¹⁾。本システムは、対象試料の内部の臓器の情報を得ることが可能であり、表現形の解析に応用可能である。これまでに開発したシステムによりマウス全身を撮影し、パーソナルコンピュータを用いて100 μm 分解能の立体画像を構築してマウスの内部構造を観察することに成功している。しかしながら、上記表現形の観察では試料の微小な変化をとらえる必要があり、これまでのシステムでは不十分である。そこで、スーパーコンピュータを用いて、超大規模なボリュームデータの可視化を試みた。さらに、撮影手段である3次元内部構造顕微鏡を高解像度化することを組み合わせて、マウス全身を20 μm の分解能で忠実に立体画像を構築して可視化することに成功したので報告する。

2. 可視化システム

既存の3次元内部構造顕微鏡システムでの3次元可視化にはパーソナルコンピュータを用いており、メモリ空間の制限から可視化できるデータ量が1GB以下に限られていた。今回、目標としたマウス全身の分解能は断面内13 μm 、断面間20 μm の分解能であり、データ容量は100GBもの容量となる。このために、通常のパーソナルコンピュータを用いた方法では、搭載できるメモリに制限があること、計算時間がかかることからこれだけの容量のデータの可視化は困難である。そこで、大容量のメモリを持ち、高速演算が可能なスーパーコンピュータを用いて可視化を試みることにした。使用したシステムはRSCC (Riken Super Combind Cluster) 内

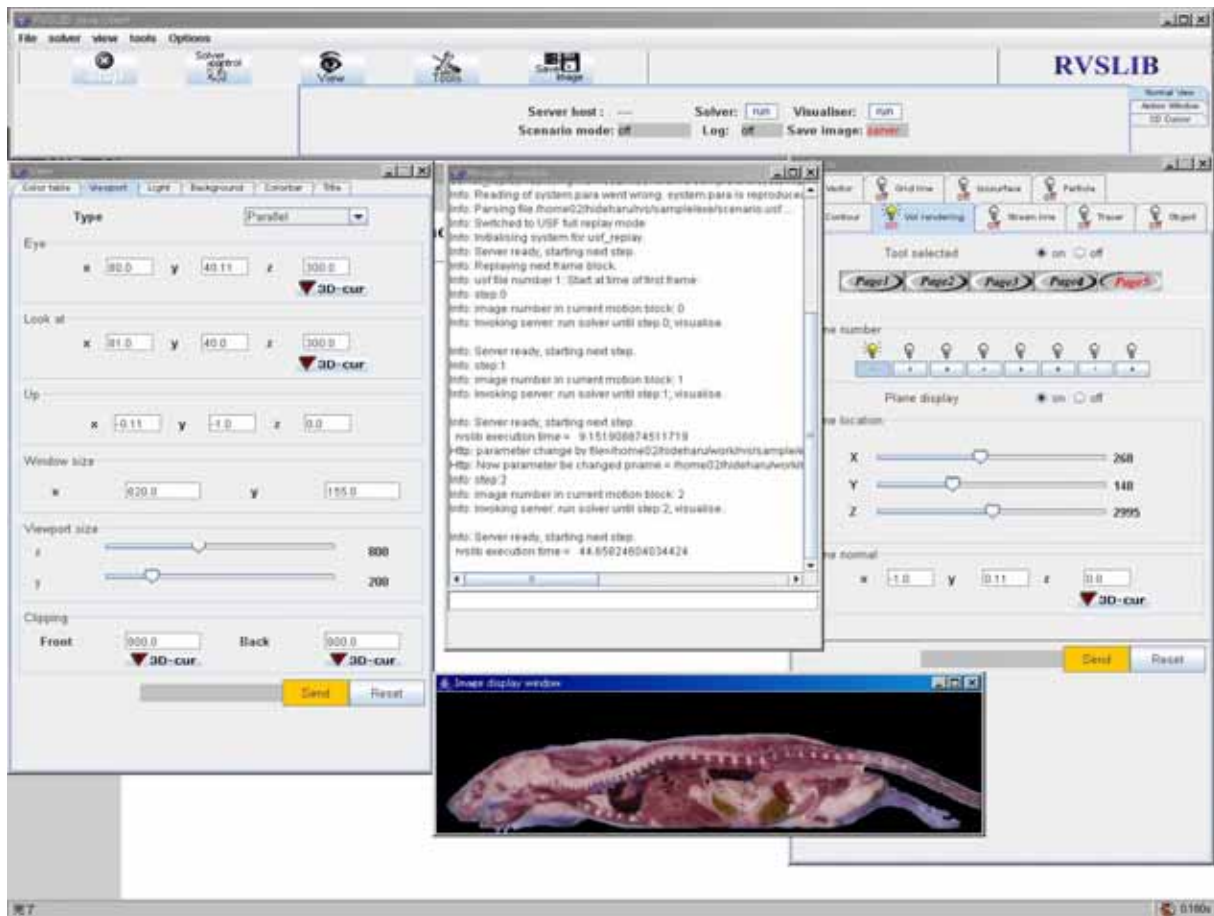


図1 可視化システム(RVSLIB)の操作画面

のベクトル型パラレルコンピューター S X - 7 (32cpu,RAM256GB:NEC)を用い、共有メモリ内にレンダリングするデータを格納できるようにした。立体画像構築には並列可視化処理が可能な可視化ライブラリである RVSLIB (NEC) を基に、フルカラーのボリュームレンダリングを実現するために、各ボクセルに R G B 色情報と透明度の情報を個別に設定する機能、透明度の操作機能を追加したソフトウェア(図1)を開発した(情報基盤センター 可視化支援サービスにて開発)。

3 . 観察システムの開発

超高精細のマウスアトラスを作製するために観察装置に改良を加えた。マクロ観察型3次元内部構造顕微鏡を基に、撮影カメラには高い解像度を持ちながら高速にデータを記録可能なデジタルカメラ (D70S:Nikon) を選定すると共に制御系、光学系を変更して高解像度観察対応とした。1断面あたり 3000x2000pixel、5MB の RAW データを 1秒間に 1枚の速度で毎秒 CFメモリに記録した。また、ナイフ交換を行う 500 段面毎に C Fメモリを交換して撮影を継続した。

4. 実験

供試試料には近交系として遺伝情報が固定化しており、分子生物学のモデル動物として用いられているマウス C57BL/6J のオスを用い、全身の観察を行った。麻酔下にて体毛除毛、屠殺後、青色に着色した包埋剤により全身の凍結包埋を行い、切削・撮影した。試料切削にはマイクローム用ディスポーザブルナイフ C35(Fether)を用

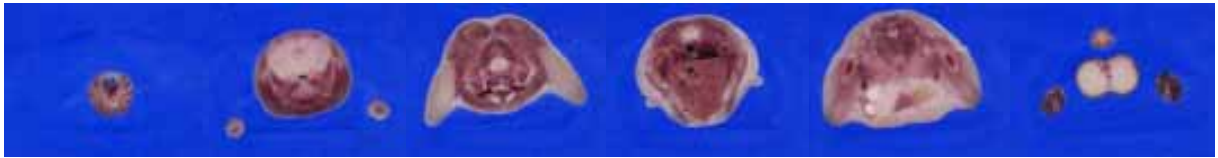


図2 マウスの切断面画像



図3 マウスの立体構築画像

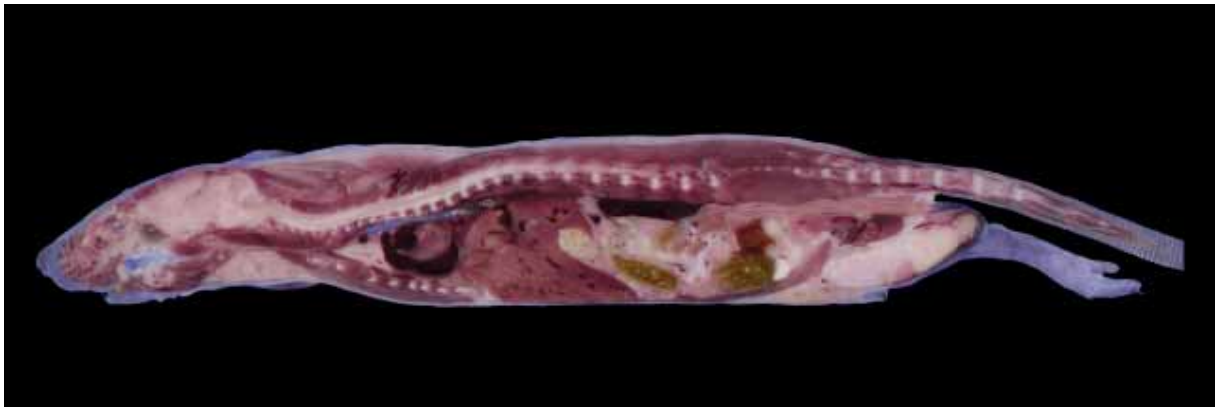


図4 マウスの任意断面画像(矢状断面)

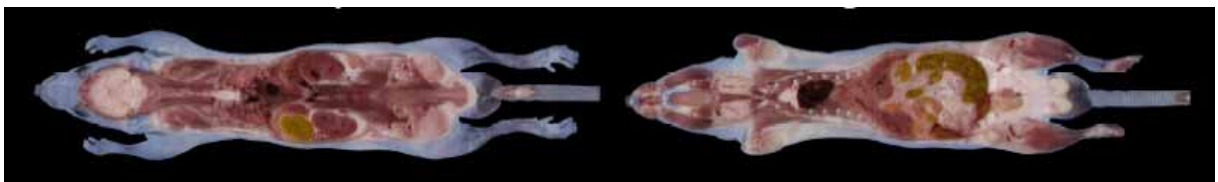


図5 マウスの任意断面画像(背部)

い、撮影は全自動で断面分解能 13 μm 、切削厚さ 20 μm 、ナイフの回転 60rpm、で行い。撮影断面数 6000 枚、総データ容量 100GB、撮影時間 3 時間であった。

5 . 結果

マウス C57BL/6 を切削し撮影した断面画像 6000 枚、総データ容量 100GB を対象に可視化を行った。撮影した断面画像のうちの 6 つの断面を図 2 に示す。撮影断面画像の X Y 方向の原点は固定されている。また、試料内部の色情報も鮮明に観察することができる。これらの 6000 断面の画像情報を基に、可視化したいマウスの体部のみを画像処理により抽出した。抽出には、ロバストカラーヒストグラム³⁾を用いて、凍結包埋剤の部位に透明度 0 を設定した。図 3 にフルカラーのボリュームレンダリングにより可視化した立体像を示す。図 4 に同じ視点から脊椎に添って切断した矢状断面画像を示す。マウス体内での臓器の位置関係が臓器の持つ色情報により詳細に判別することができる。特に、脳から延髄、脊髄につながる神経の接続をはっきりと見ることができる。図 5 にマウスの背側からの視点で立体画像を構築し、背部を順次切断した任意断面画像を示す。胸腔、腹腔内の臓器の配置を詳細に見ることができる。また、構築した画像は、撮影した全ての情報を余すことなく利用しており、100 倍に拡大しても画素を認めることはできない。

6 . 考察

超高解像度で撮影し、膨大なデータを基に可視化していることから、拡大しても詳細な画像を構築することが可能であった。観察分解能の 20 μm はほぼ細胞の大きさであり、細胞を最小単位とした 1 個体全身の解析への道を切り開いた。これらの情報は X 線 CT や MRI 等の方法で得る事ができない情報であり、生物学に貢献できると考える。現在、本報告のシステムを用いて、マウスの代表的な系統の 3 次元アトラスを構築している。また、肝臓、腎臓等の臓器を抽出した臓器モデルの構築を行い、マウスの 3 次元モデルの構築を進めると共に、臓器の自動抽出、臓器形状の数値化の手法について検討を進めている。これらの研究を統合して、臓器形状(表現形)と遺伝情報とを結びつけた研究を目指している 2)。

7 . 研究の現状と今後の予定

本 RSCC の利用により大規模ボリュームデータの可視化を実現することができたが、可視化に要する時間は非常に長く 1 シーンあたり 5 分を要している。PC クラスターをベースにした並列処理により、この時間を低減することが可能ではないかと考える。上記改善により、様々な生物の構造を明らかにしていきたいと考えている。

参考文献：

1)横田ら ,低温生物工学会誌 ,44,1(1998)1

2)横田 ,姫野 ,バイオメカニズム学会誌 ,29,2(2005)69

3)本多ら ,理研シンポジウム生体形状情報の数値化及びデータベース構築研究講演要旨集 , PP.64-78(2006)