

パーソナルコンピューターを利用した電顕用 連続切片組織像からの立体再構築について

奈良県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

片岡隆嗣, 秋岡勝哉, 兵行和
宮原裕, 松永喬

奈良県立医科大学大学院中央研究室

紙西龍治

奈良県立医科大学第2解剖学教室

山本浩司

コーユービジネス株式会社

若山恒

PERSONAL COMPUTER-AIDED 3-DIMENSIONAL RECONSTRUCTION FROM SERIAL SECTIONS FOR ELECTRON MICROSCOPY

RYUJI KATAOKA, KATUYA AKIOKA, YUKIKAZU HYO,
HIROSHI MIYAHARA and TAKASHI MATSUNAGA

Department of Oto-Rhino-Laryngology, Nara Medical University

TATSUHARU KAMINISHI

Central Laboratory, Graduate School, Nara Medical University

HIROSHI YAMAMOTO

The 2nd Department of Anatomy, Nara Medical University

HISASHI WAKAYAMA

KOYU BUSINESS CO., LTD.

Received May 17, 1989

Summary: A software has been devised for the personal computer (FM 16 β HD Fujitsu Co. and PC-9801Vm of NEC Co.) to prepare 3-dimensional models from electron microscopic photographs of serial sections for the purpose of investigation of the 3-dimensional structure of the mitochondria in oncocytes of Warthin's tumors. Some 3-dimensional models are described. This method utilizes only a personal computer. Therefore this method has utility value by reason of lower cost than the methods using other computer systems.

Index Terms

computer, 3-dimensional reconstruction, electron microscopy

はじめに

組織を立体的に観察する方法の1つとして、著しい発達をしているコンピューター・グラフィックシステムを用いたものが1970年代より今日まで多数報告されている¹⁻¹⁵⁾。

著者らはワルチン腫瘍(耳下腺原発性腫瘍)のオンコサイト(糸粒体が充満する細胞)に認められる特異な糸粒体形態の立体構造の究明のため立体模型図を作製する事にした。その際、今では広く普及しているパーソナルコンピューター本体のみでの立体模型図作製の可能性を検討するため、すでに開発した自家考案の立体模型図作成用の専用ソフトを用いて電顕用連続切片像からパーソナルコンピューターで立体模型図を作製したのでその有用性について報告する。

材料と方法

1. 使用機種と Operating System

今回使用したパーソナルコンピューターはFM16βHD(富士通社製)で Operating System は CP/M86V1, 1 L4+FSX と PC-9801Vm(NEC社製)で Operating System は MS-DOS の2機種である。

2. 材料と入力用図形

ワルチン腫瘍のオンコサイトの電顕用連続切片(厚さは80~90 nm)より得た特定の糸粒体写真像を適当な均一拡大率で印画紙に焼きつけた(最大径12 cm:使用するブラウン管の大きさにより最大径は異なる)。そしてこれを透明フィルム(PPC用クリアシート)にコピーしたものを入力用図形として使用した。

3. 各図形の位置合わせとその入力

この透明フィルムをテレビ画面上に表わされた便宜上のX軸、Y軸、基準点に合わせてテープで固定し、対象構造物(糸粒体)の最初の連続切片の図形をマウスを用いてX軸を始点として反時計回りに入力した。次の図形を入力する際には、テレビ画面上に表示される直前に入力した図形を見比べながら位置合わせをし、入力した。

4. 立体再構築

入力された、隣接する図形を linkage させる方法としては(1)基準点から90分割した直線と入力した図形の交点を記憶させる方法と、(2)X軸上の始点から入力した図形上の距離を記憶させる2つの方法を用いた。前者の方法では複雑な図形の場合、複数の基準点を設定しなければならない。後者の方法ではこの手順を省略できる利点があった。

次に連続切片の厚さ情報(Z座標)を入力した。入力

された図形データはX、Y、Z軸にそって回転させ基準化するコンピューター処理を行った。一旦立体再構築が出来ると、どの軸も回転させる事が出来るため任意の視点からの立体模型の観察図を作製したり表面積、体積の三次元計測も容易であった。

モニターテレビ画面上では立体模型が構築成分別に区別できる場合はカラー別に観察できた。

結 果

ワイヤーフレーム型模型図: 各種の立体模型図のなかで最も一般的なもので、コンピューターの演算処理時間も短かった。しかし切片の数が増えると構成線も非常に増加し、見づらい模型図となった。そこで、より良質な像を視覚化するため隠線処理を行った(Fig. 1)。このモデルは内部構造の様子を観察するには適しているが、複雑な入力図形の場合は縦の構成線の大きなねじれが生じやすかった。

円柱型模型図: これは上記の隠線処理したワイヤーフレーム型模型図から縦の構成線を除去したものである。この模型図は断面に比べてスライス間隔の狭い構造の表現に有効だとされており、構造表面の立体感の表現にすぐれていた。しかし対象構造物が小さいため、あるいは他の理由により得られる連続切片数が少ない場合は立体感にとぼしくなった(Fig. 2のAとB)。そこで、この立体感を出すため入力された各図形間を均等に幾つかに分割して得られる理論上の図形を挿入するという手法を用いた(Fig. 2のCとD: 4分割の理論上の図形を挿入)。

考 案

顕微鏡を用いて組織の立体的な形態を把握しようとする場合、従来は連続切片の輪郭を透明シートに写しとりそれを基にプラスチック板やパルサ材を切り抜き、それを順番に積み重ねて立体模型を作製する方法が用いられてきた¹⁷⁻¹⁹⁾。しかし、この方法には(1)再構築に時間がかかる、(2)内部構造の透視による観察は不可能、(3)表面積や体積の測定が困難である、などの不満点があった。一方1970年代よりコンピューターシステムを用いて立体再構築を行う手法が導入され、これらの不満が解消された。

立体再構築用のコンピューターシステムはハード、ソフト共に著しく発達し最近ではその目的に適した様々な立体模型図が報告されている。費用はかかるが大型またはミニコンピューターや高速画像処理専用装置を利用した教育用にも利用出来る高品位の立体模型図²⁻⁹⁾からミニコンピューターやパーソナルコンピューターを利用し

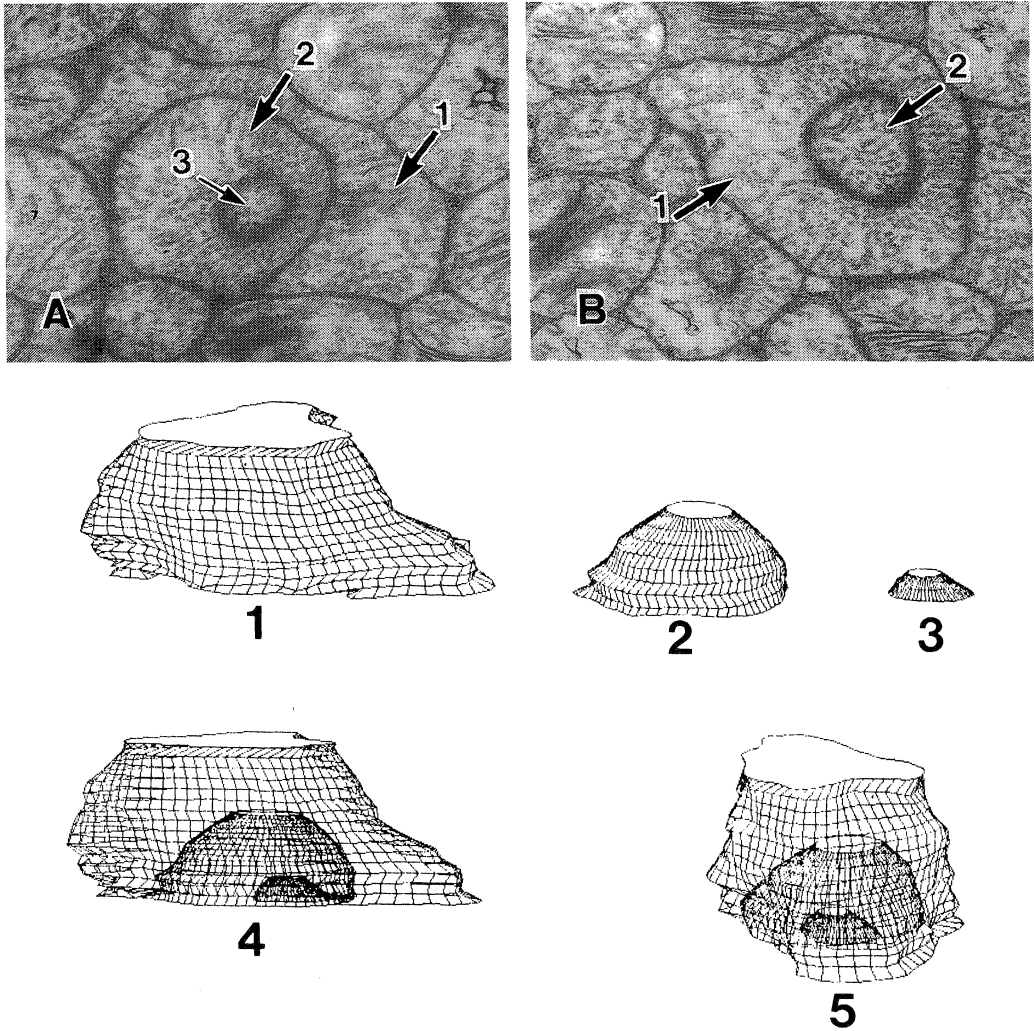


Fig. 1. Electron microphotographies of mitochondria and its three-dimensional models.

A, B: The serial sections of mitochondria in oncocyte of Warthin's tumors. microphoto. A is 1st section. microphoto. B is 8th section.

The magnification of A and B is $\times 20,000$. Each mitochondria which has a arrow and a number (1, 2, 3) is reconstructed to three-dimensional model (1, 2, 3).

1~5: Three-dimensional wire frame models with hidden line removal. 4-model is constructed from three models (1,2,3).

5-model is rotated 90° of 4-model. The angle of models (1, 2, 3, 5) is 15° and 4-model is 5° .

た、主に研究用として利用価値がある立体模型図^{1,7~11)}までである。しかし研究用、高品位の立体模型図作製法を問わず物体を連続切片にしてしまうこと自体による問題点も共通して存在する。なかでも各切片(図形)間の位置

合わせが特に重要である。従来、この問題を解決するため、各切片に共通で一定の基準点の設定、つまり包埋ブロックに切痕を切り込んだり²⁰⁾、穴を開ける方法が試みられている¹⁰⁾。だが、これら基準点の信頼性を疑問視する

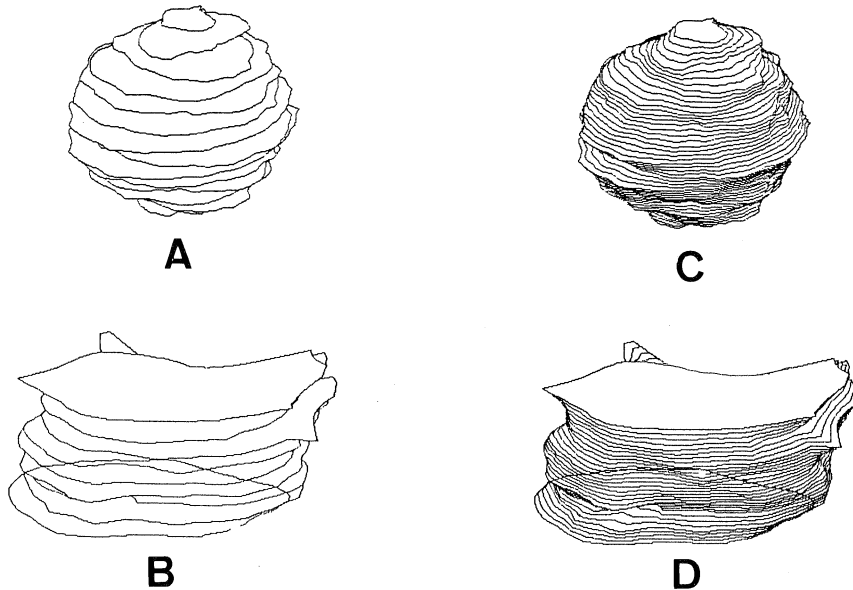


Fig. 2. Three-dimensional models of mitochondria.
 A~D: A and B-model are removed vertical line from wire frame model with hidden line removal as shown in Fig. 1(1~5). C-model is inserted four theoretical lines between each component-line of A-model and D-model is same of C-model. The angle of A~D-model is 30°.

意見もある^{5,12,21}。しかも、各図形間の位置合わせを画像処理による自動入力にまかせるには現在のところ限界があり、位置合わせは人間の判断によって行うことが最も信頼のおける方法であるとの意見が述べられ⁴⁻⁶、著者らも同意見である。現時点ではこの問題点を根本的に解決出来る方法はないが、将来的には電子顕微鏡的コンピューター・トモグラフィと呼ばれる方法¹⁶の改良が進めば、この問題点を根本的に解決出来ると思われる。

次の問題点は切片作製時の切片自体の歪み、図形を入力する際の位置合わせのずれにより立体模型図には凹凸がどうしてもできる事である。高品位の立体模型図ではこの対策として輪郭点座標スムージング処理法が馬場、金谷⁹により報告されているが、このスムージング処理は解像度劣化につながるので必要以上に使用しないように注意を呼びかけている。

著者らが円柱型立体模型図を作製する際に用いた、入力された各図形間を均等に幾つかに分割して得られる理論上の図形を挿入するという手法はこの解像度劣化を考慮する必要はない。そのためこの手法は切片の歪みや位置合わせのずれなどによる凹凸を目立たなくする一方法として研究用立体模型図に適していると思われる。

著者らは立体模型図作製の専用ソフトを1986年に独自に開発し、電顕用連続切片像から現在市販されている普及型パーソナルコンピューター本体のみを利用した立体模型図を以前に報告¹³⁻¹⁵したものを整理して今回発表した。この自家考案の専用ソフトを用いて作成したこれらの図は他の研究用立体模型図と比較しても遜色ないと思われる。

しかも市販の立体模型図作製専用コンピューターシステムの購入費用を考えると、本作製方法は必要な費用が安いので立体模型図を必要とする研究者にとっては利用価値が高いと思われる。

結 語

ワルチン腫瘍(耳下腺原発性腫瘍)のオンコサイト(糸粒体が充満する細胞)に認められる特異な糸粒体形態を連続切片で観察し、その構造を自家考案の立体模型図作製専用ソフトを用いて現在市販されている普及型パーソナルコンピューターに取り込ませ、良好な立体模型図を得ることができた。さらにこの作製方法での費用の低廉性を考慮すると利用価値が高いと思われる。

謝 辞

この立体模型図作製に使用したソフトの開発はコーポレーション株式会社社長の森内康雄氏の好意によるものである。

VI 文 献

- 1) 南郷脩史：三次元モデル構築システム「TRI」。細胞 20：314, 1988.
- 2) Fuchs, H., Kedem, Z. M. and Uselton, S. P.: Optimal surface reconstruction from planar contours. Commun. ACM 20(10): 693, 1977.
- 3) Latamore, G. B.: Creating 3-models for medical research. Computer graphics world 5: 31, 1983.
- 4) 馬場則男, 金谷光一：コンピュータグラフィックスによる連続切片像からの立体再構築。細胞 20：302, 1988.
- 5) 今村雅郎：人為的歯牙移動時の組織変化に関する研究—コンピュータ・グラフィックスを応用した連続切片像3次元再構築法による検討。歯科学報 86：1319, 1986.
- 6) 佐藤明直：顕微鏡用連続切片からの着色半透明ステレオ像の再構築。細胞 19：22, 1987.
- 7) Braverman, M. S. and Braverman, I. M.: Three-dimensional reconstruction of objects from serial sections using a microcomputer graphics system. J. Invest. Dermatol. 86：290, 1986.
- 8) 田山二郎, 原田勇彦, 菅澤 正, 仙波哲雄：側頭骨組織切片の三次元再構成。耳鼻臨床 81(1): 131, 1988.
- 9) 森 一功, 児嶋久剛, 本庄 巖, 山本悦生：喉頭の3次元コンピュータ・グラフィックス。耳鼻臨床 82(1): 93, 1989.
- 10) Wong, Y. M. M., Tompson, R. P., Cobb, L. and Fitzharris, T. P.: Computer reconstruction of serial sections. Computers & Biomed. Res. 16：580, 1983.
- 11) Yamamoto, H., Izuhara, E. and Imai, S.: Computer-assisted three dimensional reconstruction of serially sectioned nuclear structures. J. Clin. Electron Microscopy 12：5, 1979.
- 12) Fuller S. D.: Three-dimensional reconstruction of membrane protein crystals. Method Cell Biology 22：251, 1981.
- 13) Kataoka, R. and Hyo, Y.: Ultrastructural observation of mitochondria of the Warthin's tumors. J. Clin. Electron Microscopy 19：649, 1986.
- 14) 片岡隆嗣, 兵 行和, 星谷 勤, 酒井俊一：オンコサイト細胞の電子顕微鏡的観察—第2報。日耳鼻. 89：1592, 1986.
- 15) 片岡隆嗣：オンコサイトの糸粒体の電子顕微鏡的観察。耳鼻臨床 投稿中.
- 16) 若林健之：三次元立体再構築。細胞 20：286, 1988.
- 17) Hoffmann, H. P. and Avers, C. J.: Mitochondrion of Yeast: Ultrastructural evidence for one giant, branched organelle per cel. Science 181：749, 1973.
- 18) Pellegrini, M.: Three-dimensional reconstruction of organelles in *euglena gracilis* z. J. Cell Sci. 46：137, 1980.
- 19) McFadden, G. I. and Wetherbee, R.: Serial reconstruction of the mitochondrial reticulum in the antarctic flagellate, *Pyramimonas gelidicola*. Protoplasma 111：79, 1982.
- 20) Cohen, J. and Haris, W. H.: The three dimensional anatomy of Haversian systems. J. Bone Jt. Surg. 40：419, 1958.
- 21) Bang, B. G. and Bang, F. B.: Graphic reconstruction of the third dimension from serial electron microphotographs. J. Ultrastruct. Res. 1：138, 1957.