

画像解析を用いた花粉の計測に関する基礎的研究

☞ 小田原和則 (大阪大学)
加賀 昭和 (大阪大学)

井上 義雄 (大阪大学)
山口 克人 (大阪大学)

1 はじめに

近年、スギ花粉症をはじめとするアレルギー性疾患にかかる人が増加傾向にあり、毎年春先になると花粉情報が報告されている。花粉症は人間の免疫機能が異常に作用することによって起こり、免疫には個人差があるので花粉症にかかる人とかからない人がいる。また、免疫は花粉の種類によっても違うので、花粉症の種類は主なものだけでも10種類以上ある^[1]。最近、特にスギ花粉症にかかる人が増えてきたので、いくつかの対策がとられている。花粉症は予防が特に必要であり、花粉の飛散量や時期を予測する花粉情報は、その対策上重要である。花粉情報は、地域ごとに花粉を採取して計数したものをもとにして出されている。花粉観測は医療関係者や全国の自治体を中心となって行っている。

花粉捕集には、自然落下する花粉を捕集する落下式花粉捕集器と、一定量の空気を吸引して捕集する吸引式花粉捕集器があり、現在は簡便な落下式がよく使われている。捕集した花粉の計数は、専ら顕微鏡による手作業に依っている。花粉症の原因物質であるアレルゲンは花粉により異なるので、花粉の数はもちろん種類も調べる必要がある。花粉の種類の同定は、花粉の特徴を熟知した上で調査の時期と観測地付近の植生を知らなければならず、相当の労力を要する。計測時に、花粉の数及び種類が少ない場合は、計数時間と負担が過大になるため、計数精度が低下すると考えられる。そのため最近では、花粉の自動計数化を目指したいくつかの研究が進められている。その一例として、光散乱を用いた粉じん測定を応用した自動計数装置が開発されており^[2]、リアルタイム計数が可能であるが、複数の花粉同定は未知数であると思われる。

そこで我々は、画像処理を用いて、花粉計数の自動化を試みた。今回用いる画像処理では、対象物を色と形によって判別し、従来から行われてきた花粉調査結果と直接比較できるように人間が花粉を判別する方法にできるだけ従った

そこで本報では画像解析による花粉計数の自動化を目指し、花粉のうち現在最も重要な調査対象に

なっているスギ、ヒノキをその他の花粉や非花粉と分離するための、定量的な基礎調査を行ったので、その結果を報告する。

2 花粉の特徴

花粉の同定までに人間のとる過程は、まず顕微鏡を覗いて花粉らしき対象物を発見するとピントを細かくずらして花粉の形態の特徴をつかむ。花粉を顕微鏡で観察するとスギ、ヒノキ、イネ科など多くの種類の花粉が丸く見えることが知られている。また、イチヨウ、コナラなどは楕円形であり、松が特徴的な形であるほかはすぐに判別することは出来ない。それぞれの細かい特徴を調べ、これと花粉の大きさで種類を同定していく。これと合わせて花粉を採取した時期と、付近の植生を考慮に入れて最終的に種類の判別をする。それぞれの花粉の細かい特徴としては、スギがパピラと呼ばれる小さな突起部を持つこと、イネ科は別の花粉より平均的に大きいこと、シラカバは3個所にくびれがあることが知られている。また花粉は同じ種類であってもいくつかの形態を持つことも、種類を見分けにくい理由の一つである。例えば、スギは突起部が見える場合と見えない場合、さらにV字状に裂けて丸く見えないものまである。

写真1：スギの光学顕微鏡写真

3 色情報の基準化^[3]

花粉と非花粉の分離を、色情報を用いて行っている。花粉と非花粉の色は顕微鏡のピントと明るさによって敏感に変化する。画像処理の計測値は、赤 R、緑 G、青 B、それぞれの輝度値によって表されるので顕微鏡の明るさの変化に影響を受けやすい。そのため R、G、B 値を明度 v によって基準化した色度 (r, g, b) を用いた。明度は色の明るさを表し、色度は R, G, B それぞれ輝度値を明度で除した値で明るさの違う対象物を色度で比較した。

明度 v、色度 (r, g, b) は次式で表される。

$$v = R + G + B \quad (1)$$

$$r = \frac{R}{v} \quad g = \frac{G}{v} \quad b = \frac{B}{v} \quad (2)$$

4 計測に用いた器具及び計測方法

4.1 器具

光学生物顕微鏡像をカラー CCD カメラにより R, G, B に色分解した電気信号に変換し、画像処理装置にデジタル画像として入力する。本報で用いた画像処理装置は画素数が 512*512pix²、輝度値が 0-255 の 256 階調である。次に計測に使った処理を記す。

カラー画像の色抽出処理

取り込んだカラー画像を RGB それぞれの要素について輝度値によってしきい値を定め、指定した色に近い部分を抽出し 2 値化する。このとき、対象物が輝度値 0 となる。画像計測は、輝度値 255 について計測するので反転処理する必要がある。

2 値画像計測

対象物の個数、面積、周囲長などを測定する。面積は物体の画素数を用い、周囲長 4 近傍画素に対しては 1、斜め方向の画素に対しては $\frac{1}{2}$ を用いた。この処理はモノクロ画像で輝度値 255 の部分を対象物と見なす。

4.2 計測方法

以下に、プレパラートの作製手順を記す。

1. 花粉の再飛散を防ぐためプレパラートに白色ワセリンを塗付する
2. プレパラートを落下式花粉採取機 (Durham 式) にセットする
3. 24 時間後にプレパラートを取り外す
4. フクシン液で染色する

今回用いた試料は上記の方法で、1997年3月7日に大阪大学医学部保健学科棟前で捕集したものをを用いた。観測定点の3月上旬は、スギ、ヒノキの花粉がほとんどで、イネ科などその他の花粉も飛んでいるが数は少ない。

次に画像処理の手順を記す。

1. 顕微鏡は対物レンズを 10 倍にして CCD カメラから画像処理装置につなぐ
2. プレパラートを顕微鏡で観察しカラー画像を取り込む
3. カラー画像の色抽出処理により 2 値化
4. 2 値化画像を反転させ、膨張縮退処理をして対象物の境界部分を滑らかにする
5. 2 値化画像計測により対象物の面積、周囲長、最大径を計測する

4.2.1 形態による比較

2 値画像計測により算出された対象物の面積、周囲長、最大径を用いて円形のスギ、ヒノキ、イネ科の花粉を他の花粉や非花粉と比較した。また以下の式により円形度 C を算出して処理に用いた。

$$C = \frac{4\pi A}{L^2} \quad (0 < C \leq 1) \quad (3)$$

ここで、A は面積、L は周囲長である。C は円らしさの指標であり、円形の場合は 1 となる。

4.2.2 色情報による比較

染色の時使うフクシン液は、花粉だけでなく、ゴミも赤く染色する。しかし、染色された対象物内の色は、花粉に濃淡があるものが多いのに対して、非花粉は一様であるものが多いのでその違いを調べた。画像処理装置から、1pix ごとに RGB それぞれの輝度値が表示され、その周りの縦 5*横 9 の 44 近傍の R;G;B ごとの平均値を求め、色度計算に用いた。

花粉は中央部が薄く、周辺部が濃いものが多いので各色で 1 点ずつ、非花粉は一様なので 1 点について平均値をとりだし、比較した。

図 3：花粉の輝度値

5 計測及び計算結果

処理画像の拡大率は $2.1\text{pix}/\text{r}\mu\text{m}$ であり、面積は pix^2 で表されている。

図 4：非花粉の輝度値

図 1：スギ、ヒノキ、イネ科の花粉の面積と円形度

図 5：花粉の色度分布

図 2：図 1 以外の対象物の面積と円形度

図 6：非花粉の色度分布

6 計測結果の比較

図1にスギ、ヒノキ、イネ科の花粉の面積と円形度の関係を示し、図2に図1以外の対象物の面積と円形度を示す。これらは花粉の中で比較的円形度が高く形はよく似ている。図1の黒丸はイネ科の花粉を、白丸はスギ、ヒノキの花粉を示す。スギ、ヒノキとイネ科は面積が約7500画素程度でグループ分けができる。これらの花粉の多くが、円形度は0.8前後で、0.6以上にほとんどのデータが含まれている。0.6以下のものは、後述する抽出の誤差によるものであることはほぼ確認されている。

従って円形度が0.6未満であればスギ、ヒノキ、イネ科の花粉である可能性は少ないといえる。スギはこのほかに突起がはっきりと写ったものや壊れて割れたもの、ヒノキには割れたものがあるのでこのような特徴的な形のは図1に含まれておらず別の方法で抽出する必要がある。

図1と図2を比較すると、スギ、ヒノキの面積は2000<A<7000に集中しており、A<2000の対象物は花粉とともに捕集された微細粉塵やノイズと思われる、全体の65色情報は見た目には色の濃淡により、花粉と非花粉を判別できそうであったが、図3,4よりR>240の部分が見られないので判別することができる。非花粉のデータが花粉に比べて少ないのは、非花粉の色が一様だからである。色度で表わすと、図5,6から分かるように花粉と非花粉とに大きな違いはない。したがってデータは少ないものの、輝度値をもとにすると花粉と非花粉が分離できるといえる。しかし、輝度値を用いる方法には、顕微鏡でサンプリングするときの明るさの誤差を無視できないという問題がある。このほかにも、花粉が非花粉と重なったり接触している場合と、顕微鏡からサンプリングするときのピントのあわせ方の違いによって生じる誤差とが考えられる。また、計測に用いたサンプルは捕集後約10ヶ月たってい

たので試料そのものの状態が悪かったことも計測値に誤差が生じた原因の一つである。

7 まとめ

染色された花粉には色の濃淡を持つものが多く、色の濃淡を持てば花粉であると考えられる。また、面積と円形度により、円形度0.6以上で、面積2000-7000pixであれば、その対象物はスギ、ヒノキの花粉であり、8000画素以上であればイネ科の花粉である。また、色度を使って色の濃淡を表わすことはできなかった。

今後は、更に計測サンプルを増やし花粉の種類の間定を明確にする必要がある。何通りもある花粉の形状に対応できるように、一種類の花粉だけを捕集して画像上の形状、色あるいはその他の特徴を研究する予定である。

8 謝辞

本報で用いた試料は、大阪大学医学部保健学科荻野敏教授から提供していただいた。記して感謝の意を表します。

参考文献

- [1] 斉藤洋三、井出武:"花粉症の科学", (株)化学同人,1994,pp.17-30
- [2] 大和製作所:"ここに技あり", 日本経済新聞,1997.7.23版,p.17
- [3] 尾崎弘、谷口慶治、小川秀夫:"画像処理 - その基礎から応用まで", 共立出版株式会社,p.31