

IAS 画像解析レポート

蛍光顕微鏡 RGB合成画像：細胞・核・蛍光強度・形態特徴の自動抽出

解析対象：1000 × 1000 px、8-bit RGB合成画像。スケールバー、ピクセルサイズ、露光条件、元チャンネル画像は未提供のため、すべての定量値は pixel 単位・相対強度として扱った。

1. Executive Summary / 総括

本画像では、青色チャンネル由来の核候補を 402 個検出し、核をシードにした推定細胞オブジェクトを 376 個抽出した。画像端接触候補は 43 個、内側オブジェクトは 333 個である。細胞/蛍光陽性領域の面積率は約 46.1%、緑色陽性領域は 65.6%、赤色陽性領域は 25.6%、青色核領域は 6.1% であった。

形態学的には、強い緑色フィラメント状シグナルを伴う接着性・伸展性の細胞集団で、細胞サイズと蛍光強度には明瞭なばらつきがある。核は概ね楕円形で、広範な核消失や強い核断片化を示す像は目立たない。ただし、RGB合成画像からの解析であり、元チャンネル画像や顕微鏡メタデータがないため、厳密な定量・細胞種判定・生死判定には追加データが必要である。

2. Sample Recognition And Analysis Scope / サンプル自動認識

入力画像は、RGB合成の蛍光細胞画像として自動認識した。解析アプリケーションは Sample QC とし、2D単一視野の核候補、推定細胞領域、チャンネル別陽性領域、蛍光強度ばらつきを評価対象に限定した。

測定要約：画像サイズは 1000 x 1000 px、核候補は 402 個、核をシードにした推定細胞オブジェクトは 376 個であった。画像端接触候補は 43 個、内側オブジェクトは 333 個である。

陽性領域の要約：細胞/蛍光陽性領域は 46.1%、緑色陽性領域は 65.6%、赤色陽性領域は 25.6%、青色核領域は 6.1% であった。推定細胞面積の中央値[IQR]は 1013 px² [635-1607]、核面積の中央値[IQR]は 132 px² [109-164]である。

3. Measurement Items And Parameters / 測定項目と測定パラメータ

本レポートでは、解析対象から自動抽出できる測定項目と、各測定の前処理・しきい値・細胞別分離条件を以下の通り固定した。

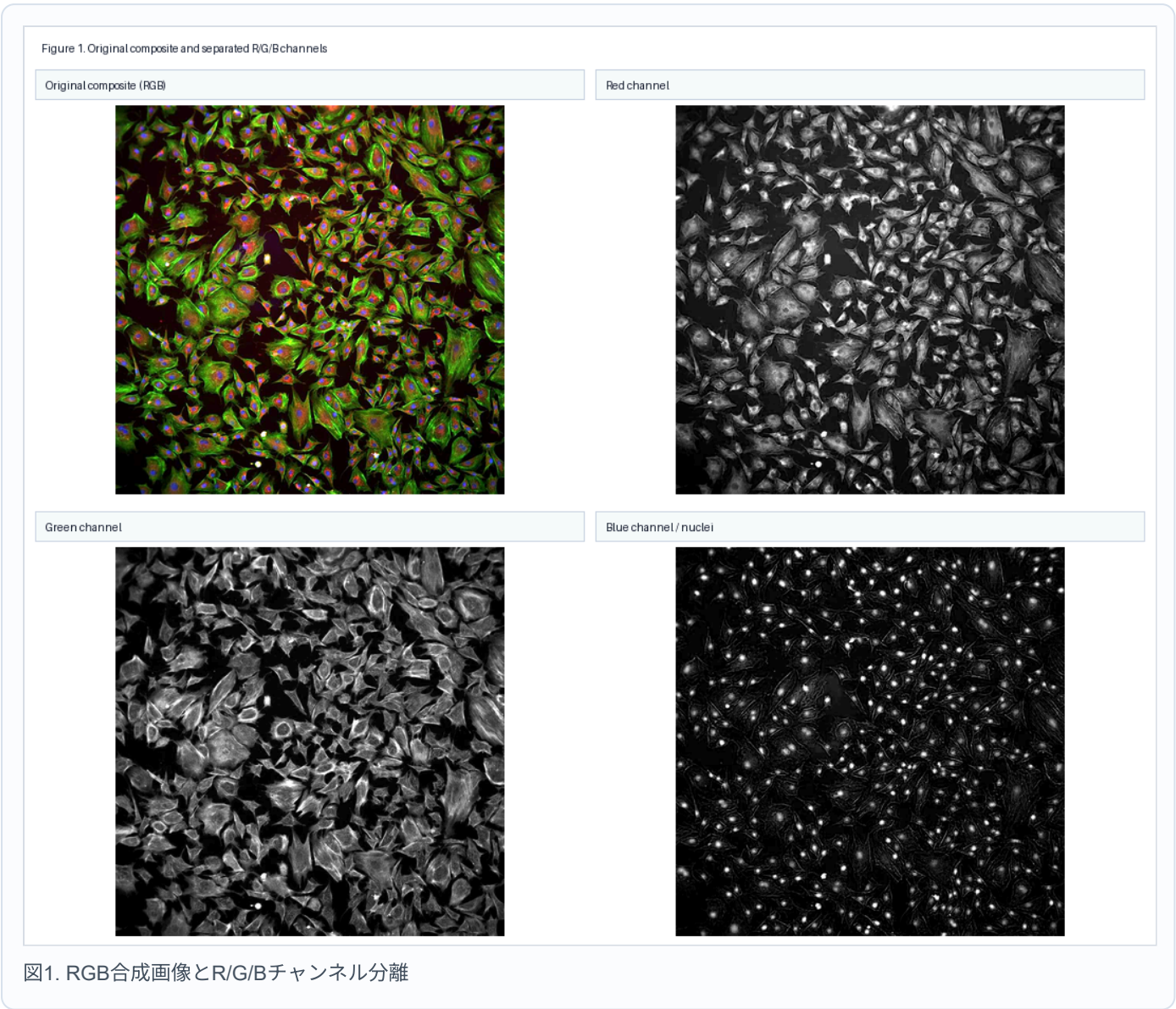
測定項目	値	単位	出典
核候補数	402	objects	Blue/DAPI-like channel

測定項目	値	単位	出典
画像端接触候補	43	objects	境界QC
内側オブジェクト	333	objects	境界QC
細胞/蛍光陽性領域率	46.1%	% area	foreground mask
緑色陽性領域率	65.6%	% area	green channel mask
赤色陽性領域率	25.6%	% area	red channel mask
核領域率	6.1%	% area	blue channel mask
推定細胞面積中央値[IQR]	1013 px^2 [635-1607]	px^2	object measurement table
核面積中央値[IQR]	132 px^2 [109-164]	px^2	nuclear label map
核/推定細胞面積比中央値[IQR]	0.127 [0.089-0.208]	ratio	paired nuclear/cell labels
緑平均強度中央値[IQR]	90.9 a.u. [80.2-105.9]	relative intensity	green channel
赤平均強度中央値[IQR]	93.6 a.u. [77.0-109.2]	relative intensity	red channel
緑/赤平均強度比中央値[IQR]	0.995 [0.858-1.174]	ratio	green/red object means
Red-Green Pearson	0.5308	r	cell foreground pixels
PCA PC1/PC2寄与率	PC1=47.98%, PC2=14.42%, PC3=12.48%	%	object-level numeric features

測定パラメータ	設定値	用途
解析リサイズ	analysis=1000 x 1000 px; resize_scale=1.0; max_side_px=1000	測定座標系の定義
チャンネル正規化	method=per-channel percentile normalization to uint8; low_percentile=0.5; high_percentile=99.5	RGB合成画像からのチャンネル別定量
核候補抽出	method=raw_blue_channel_otsu; threshold_uint8=45.0; blur_sigma=1.0 px; open_kernel=3 px; close_kernel=5 px; min_area=20 px^2; max_area=12000 px^2	Blue/DAPI-like核領域の抽出
細胞/前景領域抽出	method=raw_rgb_max_triangle_minus_background_margin; threshold_uint8=29.0; open_kernel=3 px; close_kernel=7 px	細胞質/細胞体候補の前景マスク
赤色マーカー抽出	method=raw_red_channel_otsu; threshold_uint8=51.0; open_kernel=3 px	赤色陽性領域の定量
細胞別オブジェクト分離	method=nuclear_seeded_ai_ready_marker_controlled_watershed; watershed_compactness=0.01; max_radius=31 px; min_cell_area=85.8 px^2; max_cell_area=3696.0 px^2	細胞ごとの輪郭認識と単一オブジェクト化

4. Figure Evidence / 図版証拠

以下に、チャンネル分離、核/推定細胞セグメンテーション、細胞単位クロップ、陽性面積、強度・面積分布、線形/非線形潜在構造、クラスタ妥当性、特徴寄与、外れ値QC、空間表現型対応を示す。



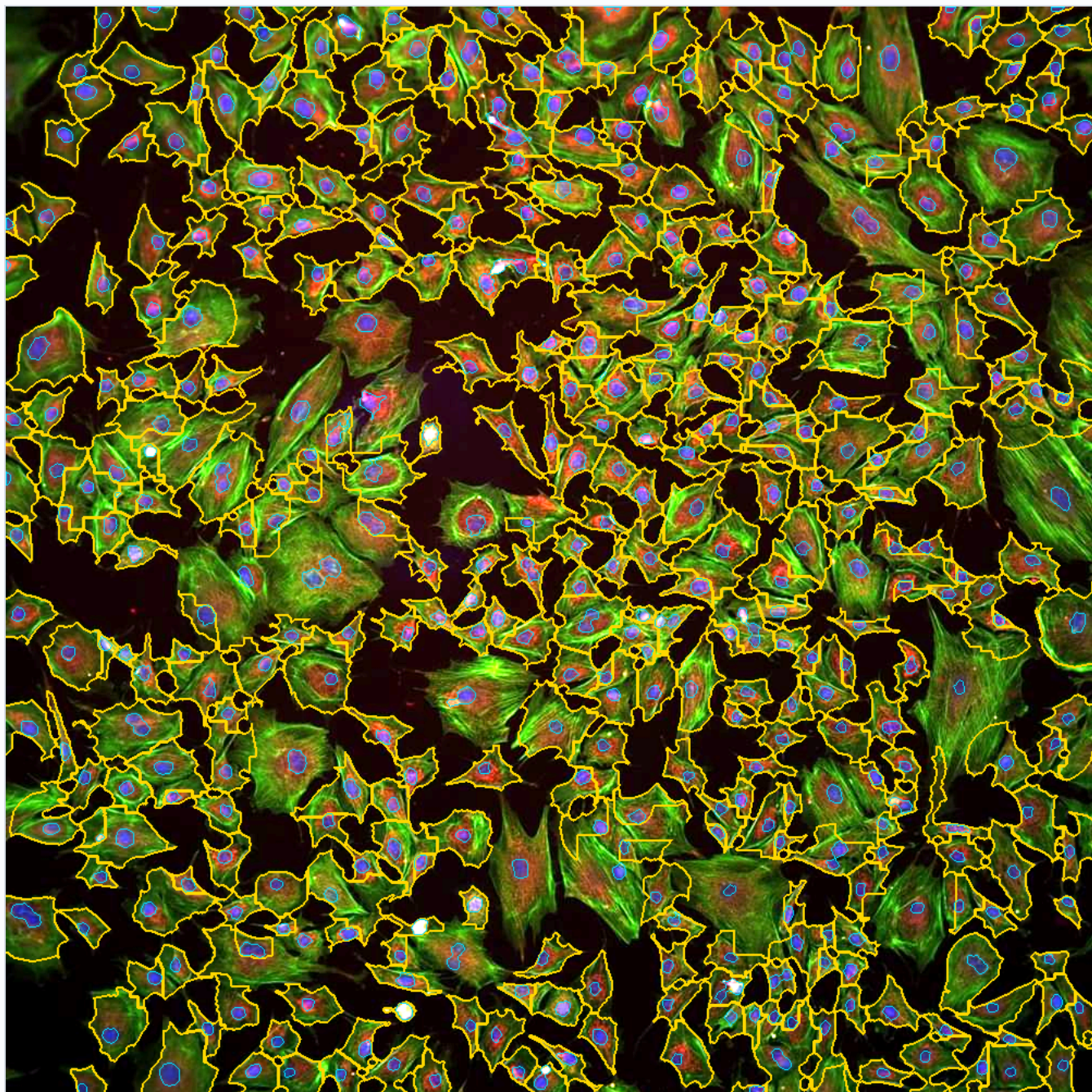


図2. 推定細胞境界（黄色）と核境界（水色）のオーバーレイ

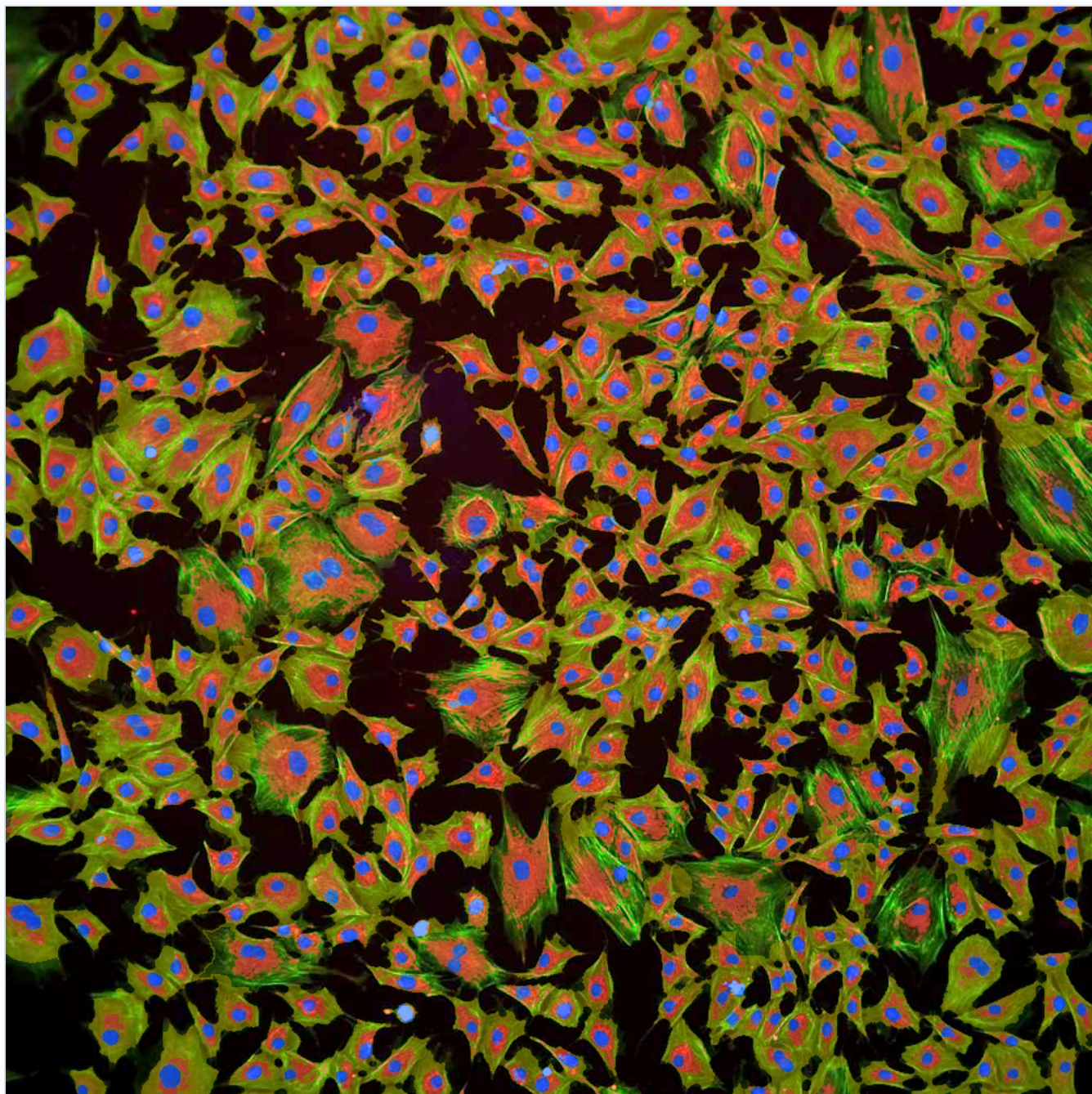


図3. 細胞/蛍光陽性領域マスク

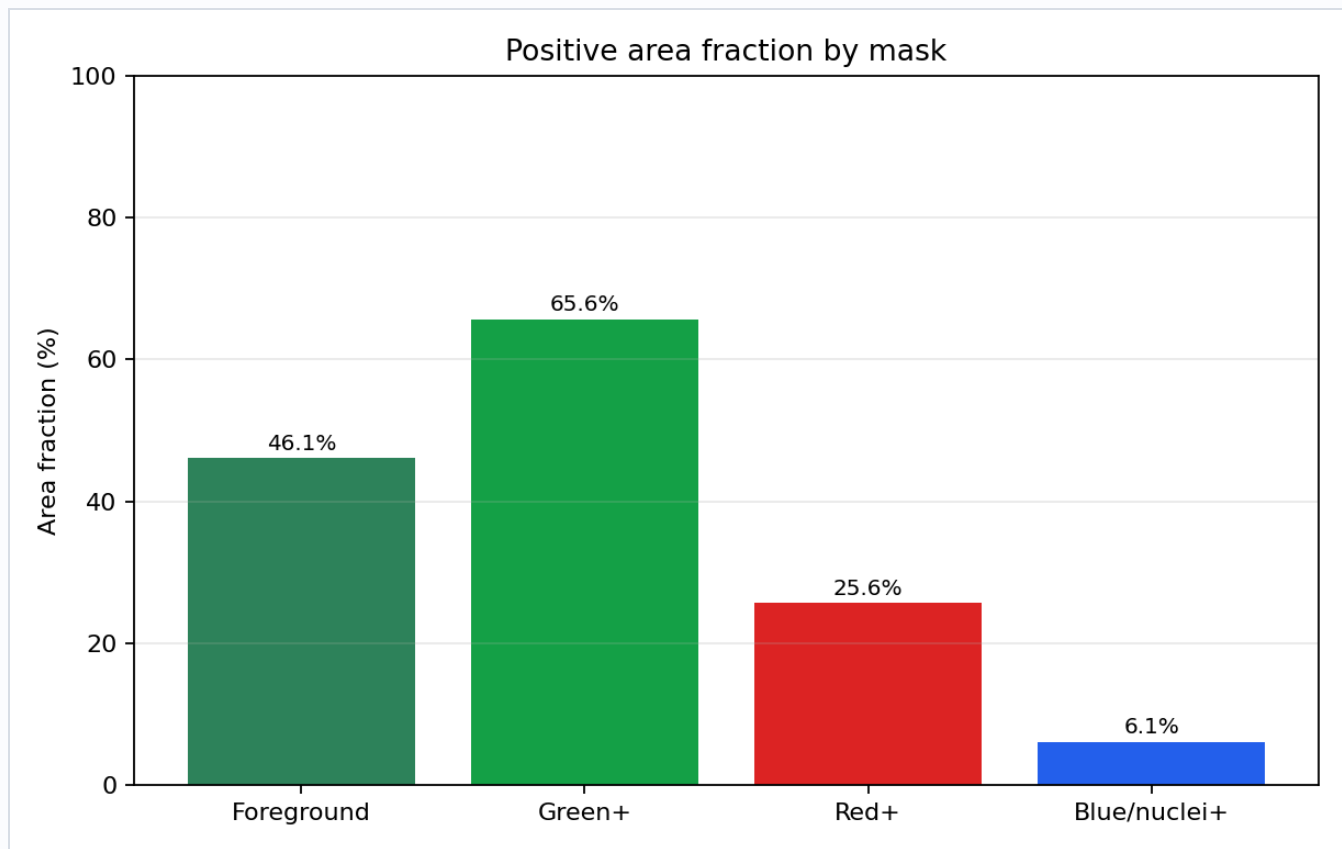


図4. チャンネル別陽性面積率

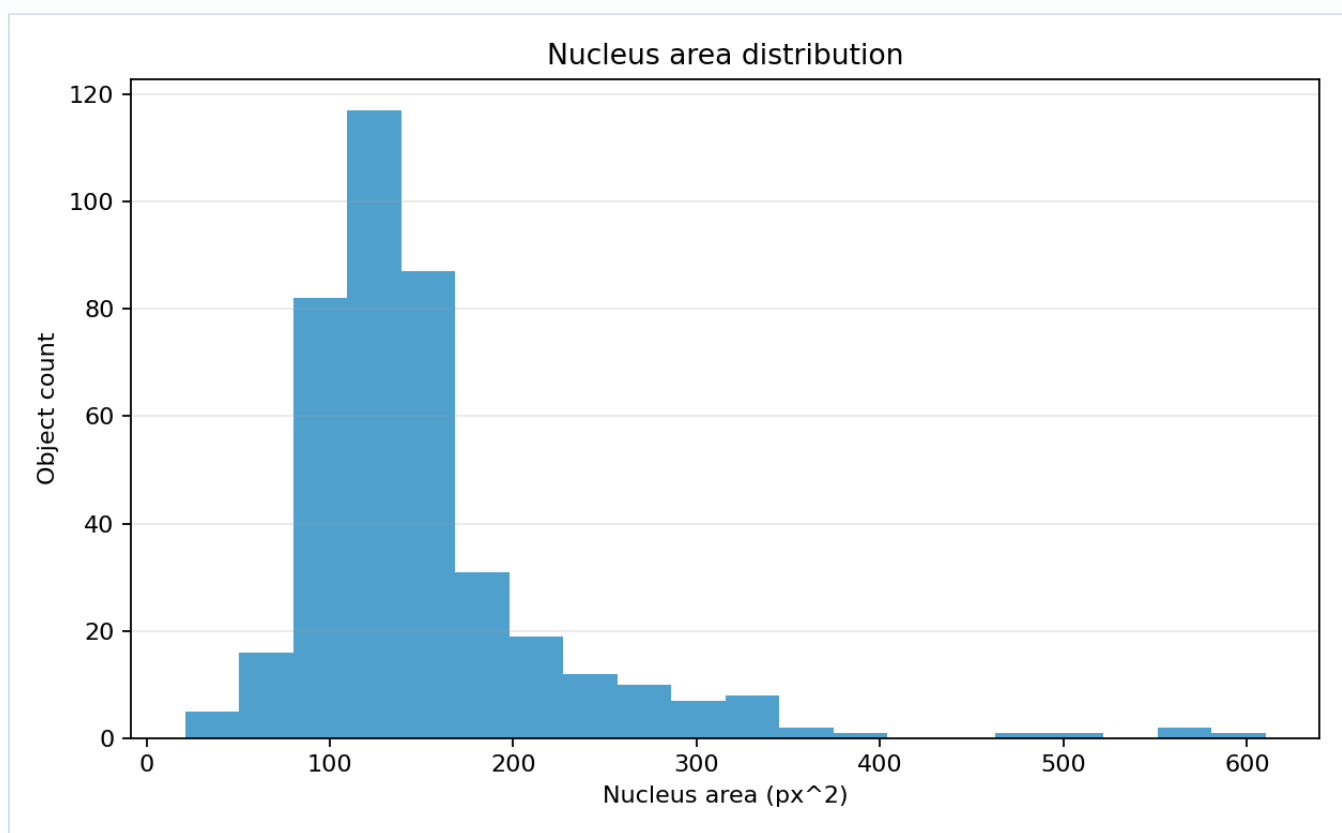


図5. 核面積分布

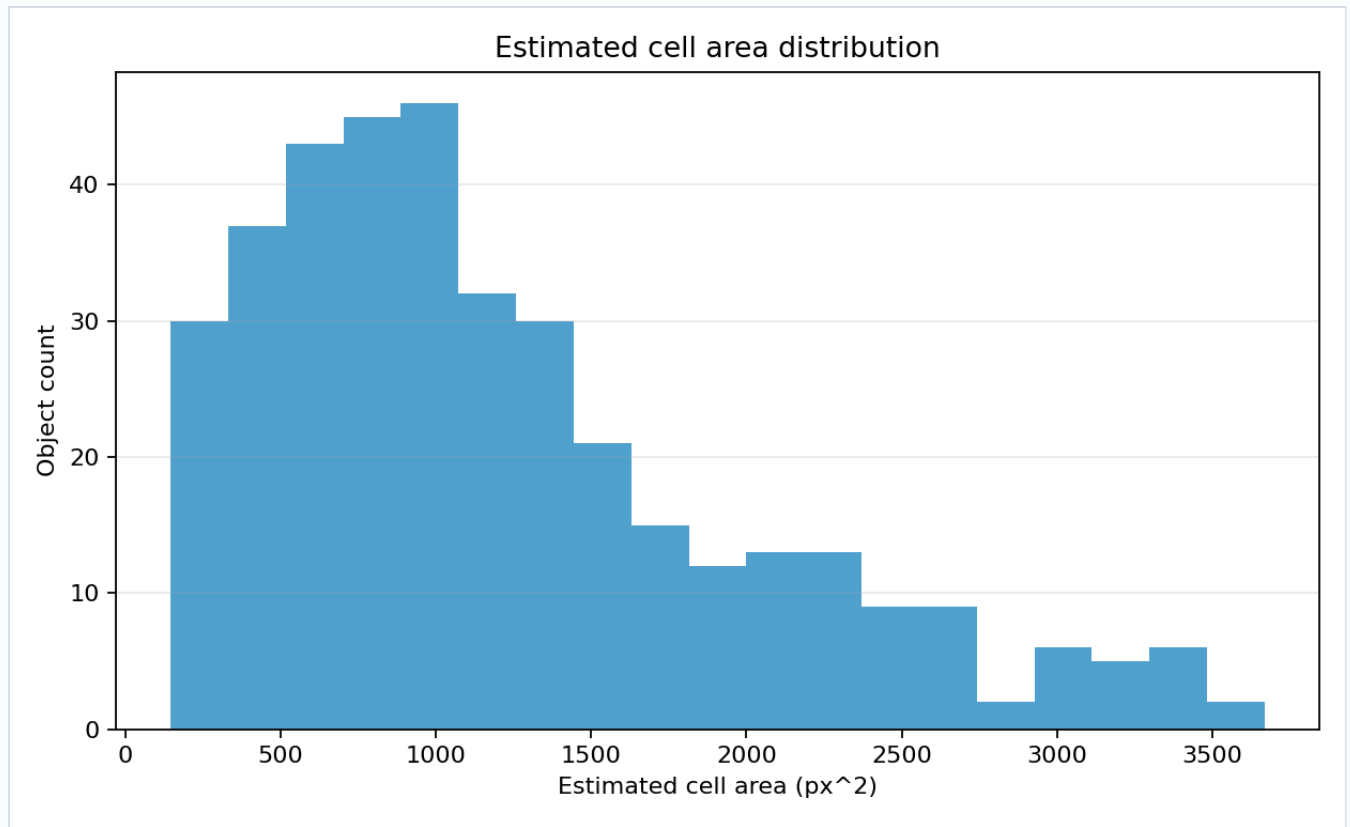


図6. 推定細胞面積分布

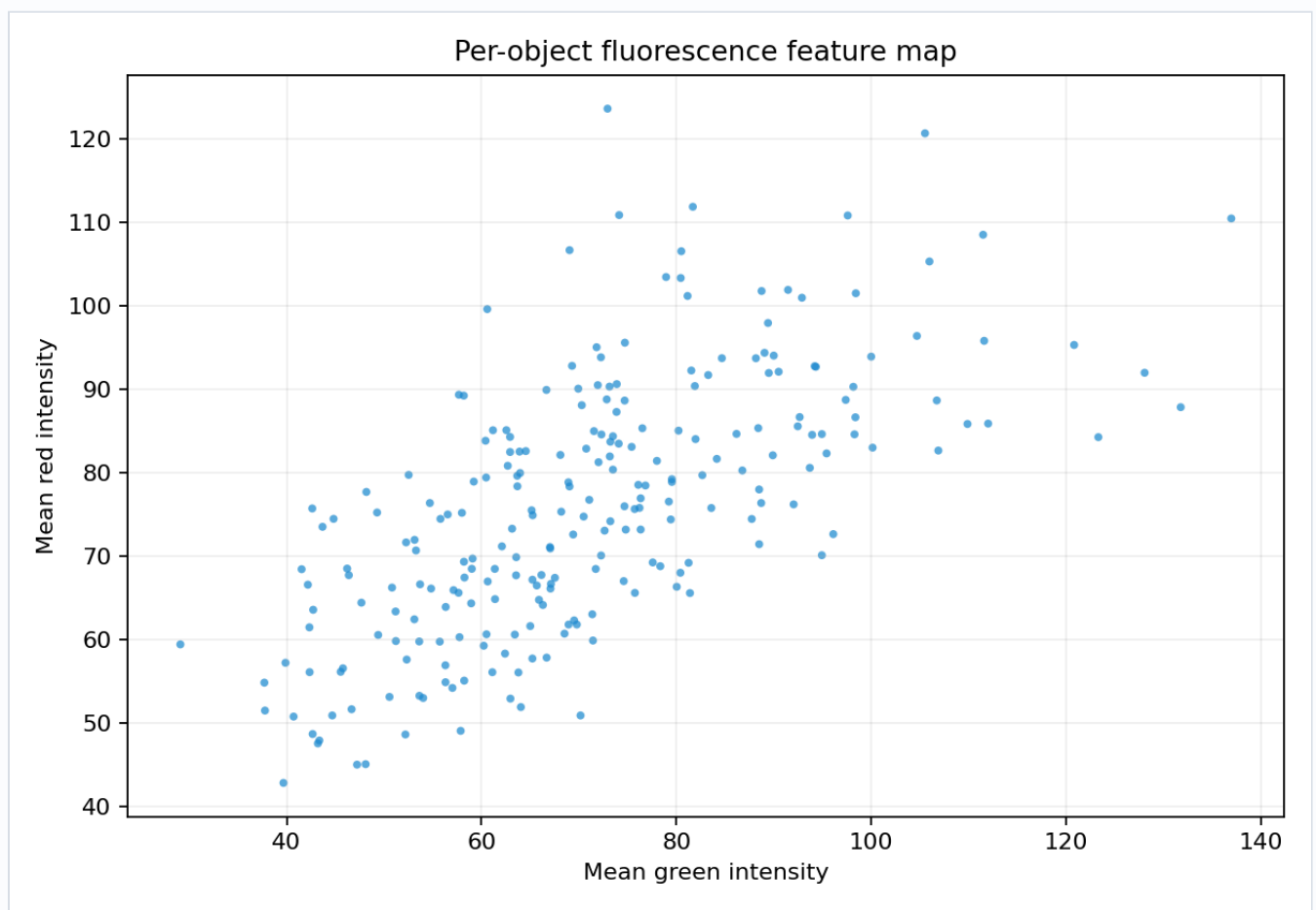


図7. オブジェクト別 Red-Green 蛍光特徴量マップ

Latent structure, nonlinear topology, and cluster validation

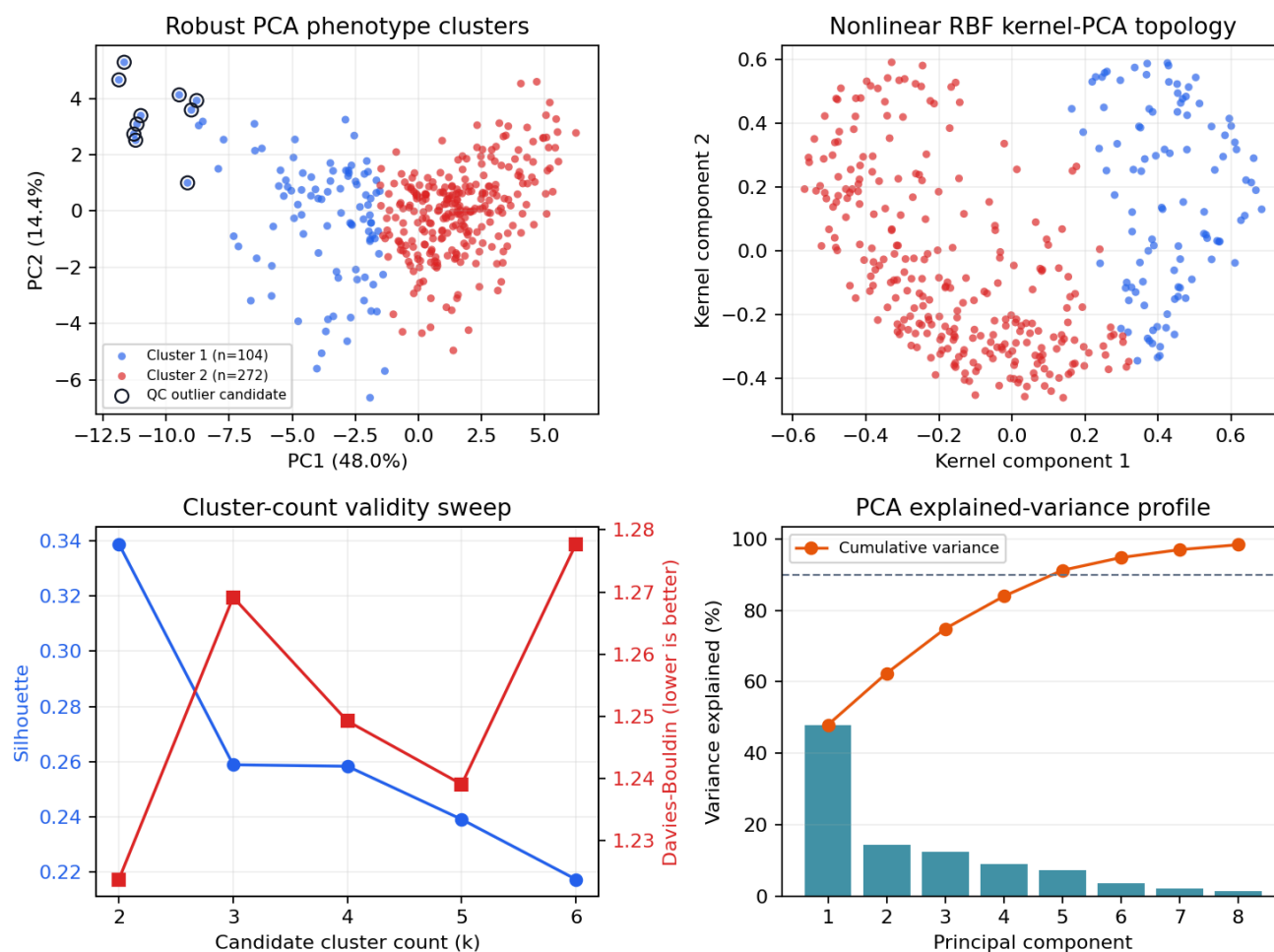


図8. 潜在構造・非線形埋め込み・クラスタ妥当性

Figure 9. Cell-by-cell isolated watershed-contour crops

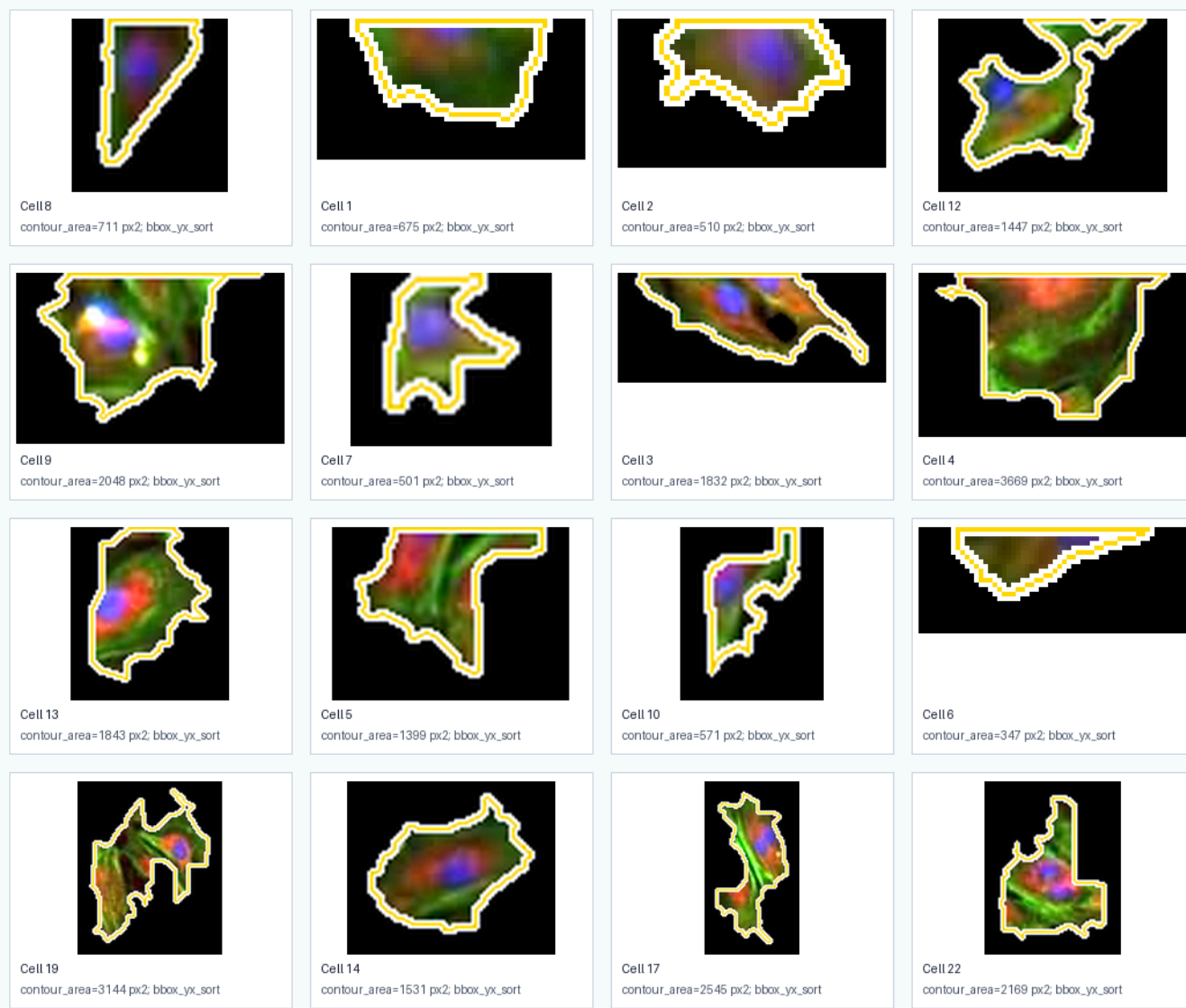


図9. 細胞単位の推定境界クロップ

Clustered multidimensional phenotype review

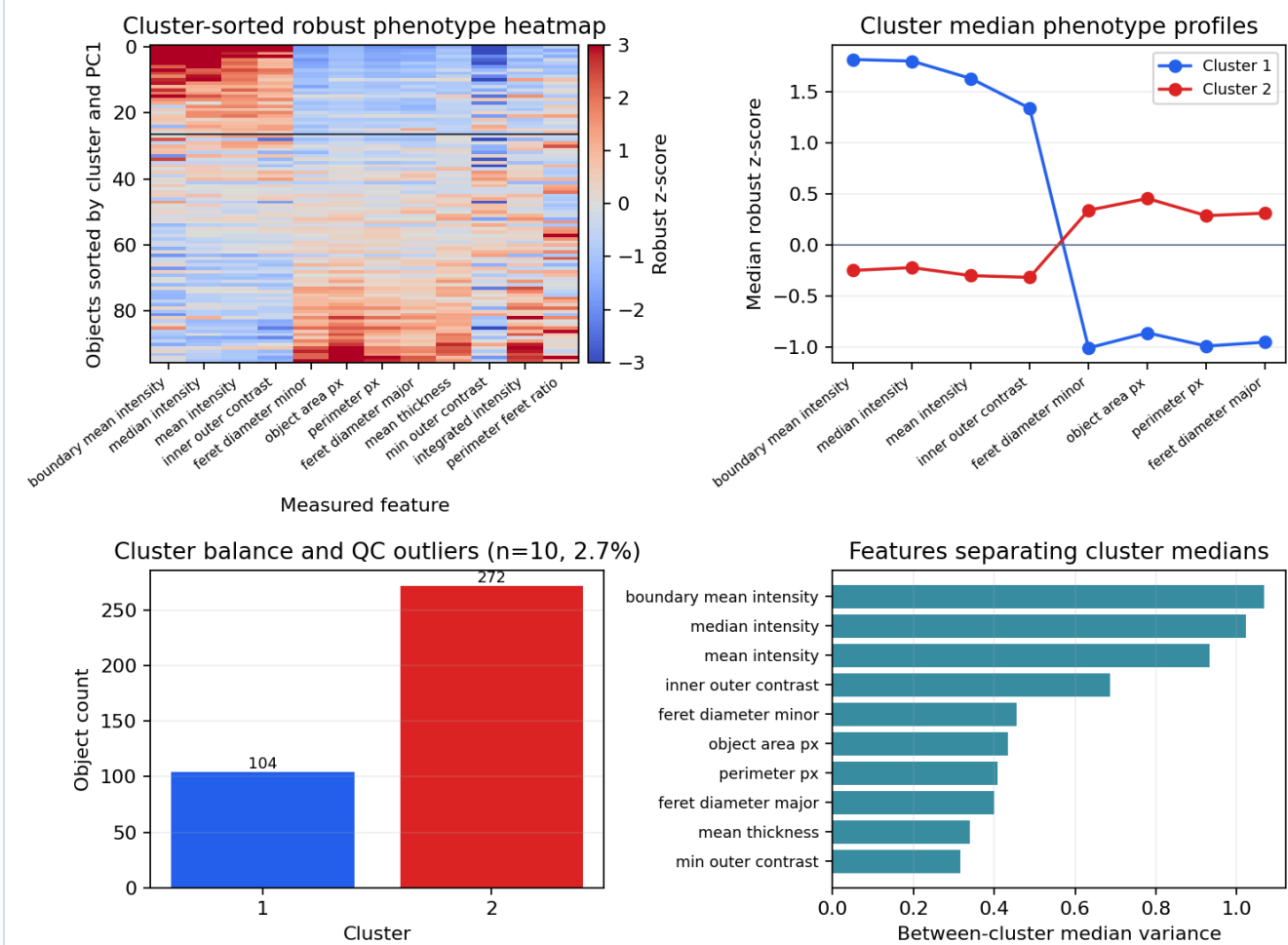


図10. クラスター別多次元表現型レビュー

Feature correlation and principal-component contribution

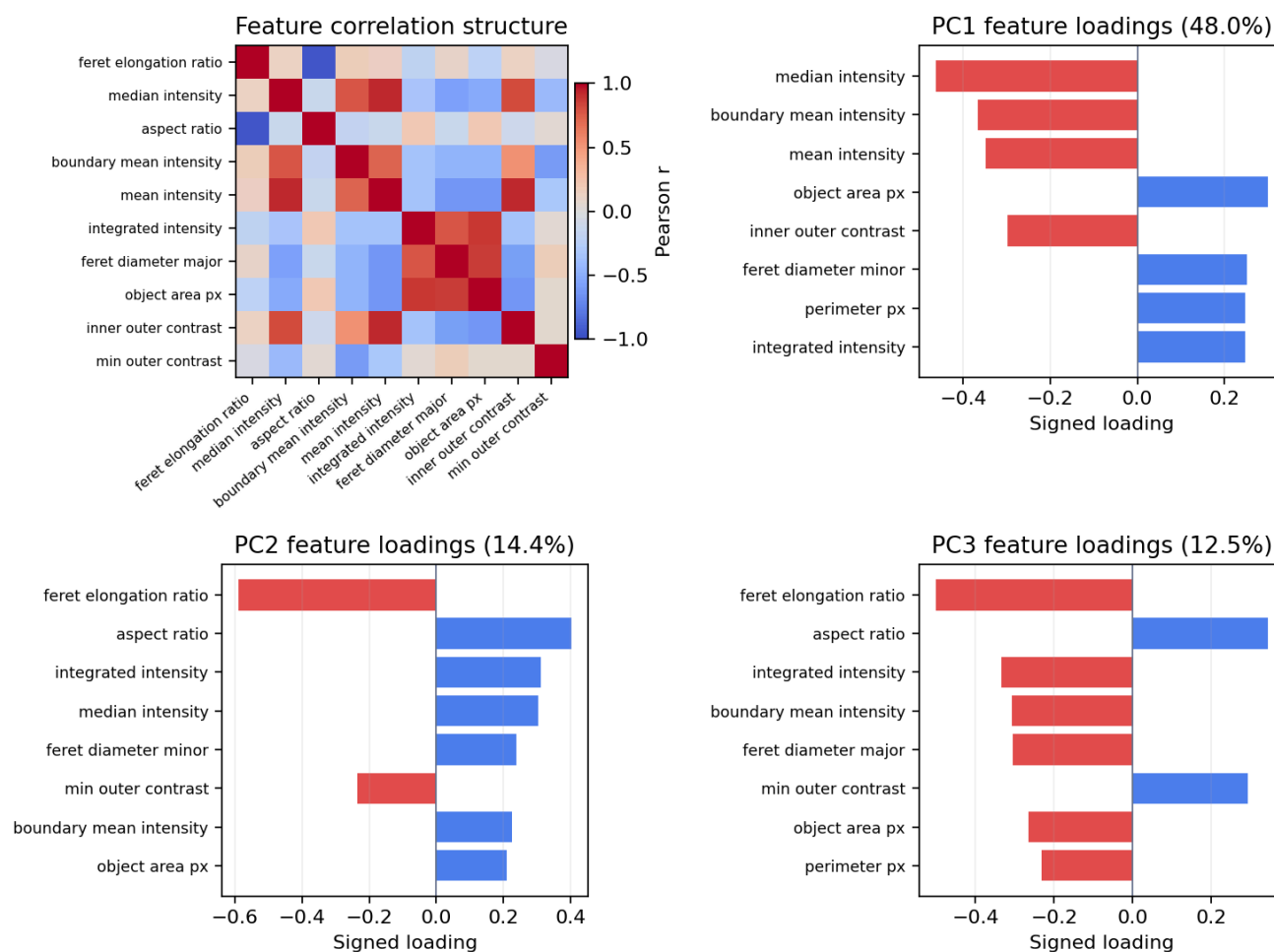


図11. 特徴量相関・主成分寄与

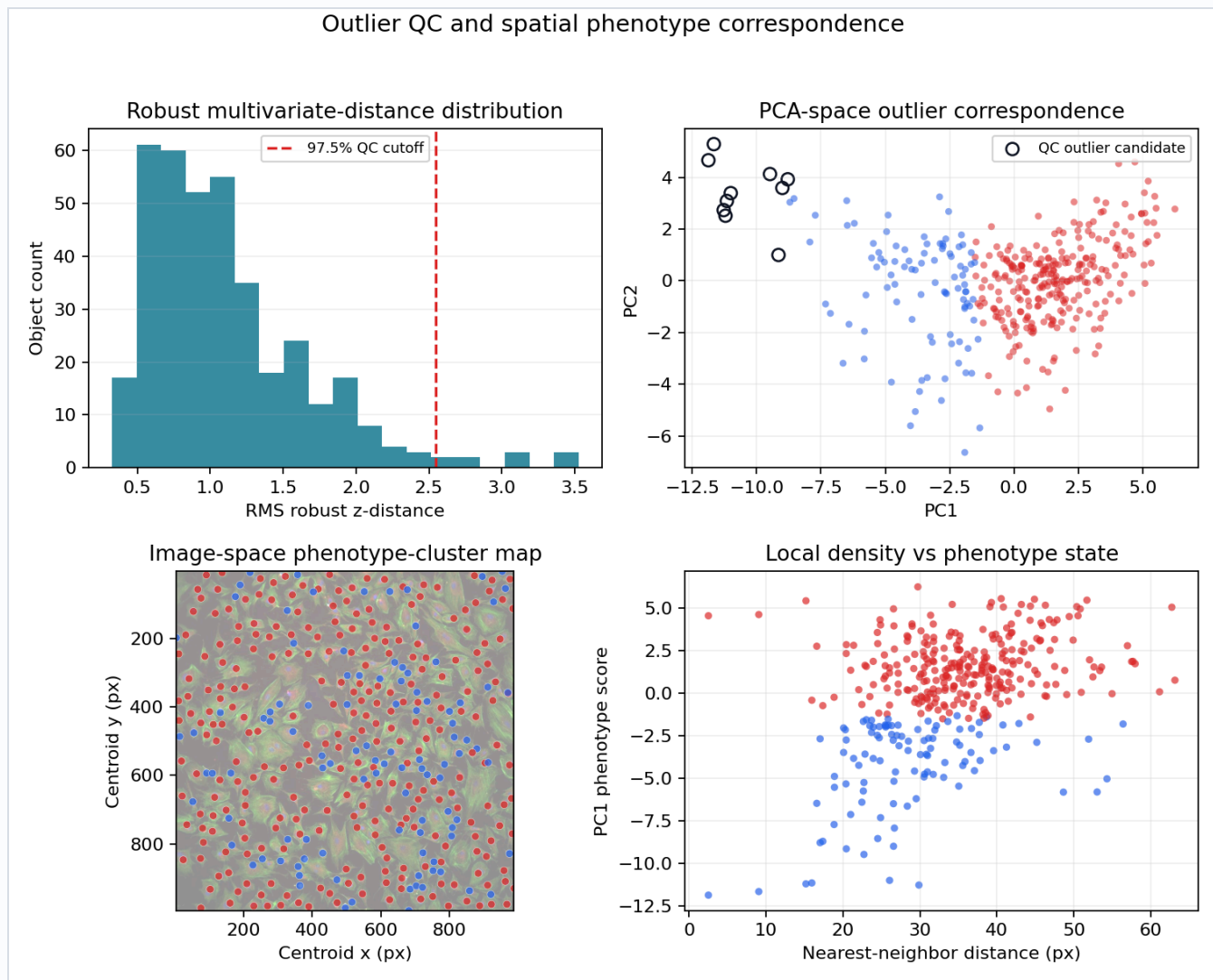


図12. 外れ値QC・空間表現型対応

5. Scientific Draft / 論文ドラフト

緑色チャンネルは広範囲に陽性で、細胞質全体から細胞辺縁にかけてフィラメント状・線維状構造が強く観察される。これは接着性細胞における細胞骨格/線維構造の発達を示唆する像である。ただし、染色名が未提供のため、特定マーカー名としては断定しない。

赤色チャンネルは細胞質および核周囲に比較的強い集積を示すオブジェクトがあり、緑色シグナルとは完全には一致しない。Red-Green散布図では、緑優位・赤優位の細胞が混在し、細胞状態または染色強度にヘテロジェネイティがある。

青色チャンネルからの核検出により、視野内の細胞密度は高めと推定される。一方で、細胞同士の接触、端部で切れた細胞、明るい小粒子/デブリ候補が存在するため、完全自動の核数・細胞数には数%から十数%程度の補正余地がある。

多次元表現型解析では、PC1=47.98%, PC2=14.42%, PC3=12.48% であり、16 特徴を堅牢スケールリングし、k=2 を選択した。silhouette=0.339、Davies-Bouldin=1.224、Calinski-Harabasz=187.4、特徴部分集合安定性ARI=0.695、外れ値QC候補=10 件であった。クラスタは生物学的細胞型ではなく、画像由来表現型の探索的QC層として解釈する。

6. Quality Control / 品質管理

- 画像解析パラメータ：Blue Otsu threshold=45; foreground triangle threshold=29; green threshold=15; red threshold=51。
- 多次元特徴量：Red-Green scatter、area histograms、robust PCA (PC1=47.98%, PC2=14.42%, PC3=12.48%)、RBF kernel-PCA、cluster validity sweep、clustered phenotype heatmap、PC1-PC3 loadings、robust-distance outlier QC、image-space cluster map。
- 多次元QC結果：16 特徴を堅牢スケーリングし、k=2 を選択した。silhouette=0.339、Davies-Bouldin=1.224、Calinski-Harabasz=187.4、特徴部分集合安定性ARI=0.695、外れ値QC候補=10 件であった。
- クラス番号と外れ値フラグは探索的な画像QC候補であり、細胞種、病態、診断、薬効を直接示さない。対照群・反復・取得条件・マーカー情報と照合して解釈する。
- 本解析はRGB合成PNGから実施したため、元の16-bit/12-bitの単一チャンネル画像、露光時間、ゲイン、フラットフィールド補正、スケール情報は反映できない。
- 厳密な細胞境界は、核をシードにした watershed による推定であり、接触細胞・重なり・細い突起は過分割または過小分割されうる。
- 定量を契約測定レベルにするには、元チャンネル画像、スケールバー/pxサイズ、陰性/陽性コントロール、同一露光条件、複数視野、手動レビュー済み教師データを用いることを推奨する。
- HCA用途では、well/field/replicate階層、視野ごとのQC、Z-stack/タイムラプス情報、well単位の統計集約、外れ値フラグを追加する。

7. Output Files / 出力ファイル

本レポートに加え、オブジェクト単位測定CSV、多次元座標・クラスター・外れ値トレースCSV、多次元解析概要JSON、各種図版PNGを出力した。