

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	喜多 祐介
論文題目	イメージングとインフォマティクスの融合による 樹木細胞の多元的形態情報解析		
(論文内容の要旨)			
<p>木材解剖学では従来、記載解剖学と分類体系の構築、それに基づいた樹種識別が主流であったものの、時代が下るにつれて樹木細胞の構造的・化学的な多様性やその機能に対する包括的理解を目的とした幅広い領域を取り扱う学問へと変遷してきた。特に樹木細胞の組織構造を対象とする場合、当該学問領域で古くから用いられる顕微鏡観察は樹木細胞に関する包括的理解を深化させる上で多大な貢献をしている。その一方で、顕微鏡観察結果の解釈は定性的であるため定量的な議論が不足していること、樹木細胞の機能発現を担う階層構造（年輪、細胞構造、多層構造とマイクロフィブリル傾角（MFA）、フィブリルマトリックス構造、等）間相互作用や関係性の評価が困難であることが課題として残り続けている。第1章では、導入として上述する既存の木材解剖学の抱えるスコープやそれに付随する方法論的な課題について記載した。本研究の第一の目的は、偏光イメージングをベースにした形態測定学、および画像解析を中心とした情報学を援用することで従来困難であった樹木細胞の階層構造を多元的に定量可能とする、形態情報解析手法の構築に設定している。ここで対象とする階層構造は年輪構造から樹木細胞壁の多層構造およびMFAであり、当該フレームワークでは、偏光イメージングによる木口断面切片からのMFA取得、画像解析による木口断面細胞構造の取得、ならびに得られた細胞形態情報を統合し多元的な解析を可能とすることを目指している。第二の目的は、確立した上記フレームワークを種々の応用先に適用することでその有用性を検証することとしている。</p> <p>第2章では、従来の解剖学的知見からその識別が困難であるヒノキ科2樹種のヒノキ属ヒノキとアスナロ属アスナロおよびその変種の樹種識別ならびに識別を通じた樹種固有細胞形態特性の抽出を目的としている。ここでは、偏光イメージングによる木口断面MFA画像の取得ならびに、画像解析手法の1つである畳み込みニューラルネットワーク（CNN）を用いた細胞構造とMFA情報をもとにした樹種識別を実施した。その結果、現生材および化学組成が変性した経年劣化古材ともにその識別率は9割を超える精度で両樹種の識別が可能となった。CNNモデルの予測結果を説明する技術（XAI）を適用した結果、両樹種間でS<sub>2</sub>層MFAの放射・接線方向における異方性が識別に寄与していることが示唆された。この異方性には仮道管細胞壁に出現する有縁壁孔や分野壁孔の形状や出現比率が影響している可能性が考えられる。ただし、XAIによるモデル説明は必ずしも人間に解釈可能ではないため、両樹種固有の樹種特性評価という観点では課題が残る結果となった。</p> <p>第3章はヒノキをモデルサンプルとして、針葉樹材で顕著に表れる仮道管の早晚材移行に伴う細胞形態変動を多元的計測することで、S<sub>2</sub>層MFAと仮道管断面構造の関係性や、仮道管機能の年間を通じた機能変遷を評価することを目的としている。偏光イメージングによる木口断面MFA画像取得に加えて、画像解析手法の1種であるセマンティックセグメンテーションを適用することで細胞毎の断面構造およびS<sub>2</sub>層MFAを計測すると同時に、仮道管発生履歴を反映した放射細胞列を利用し年間を通じた仮道管</p>			

断面構造およびS<sub>2</sub>層MFAの比較解析を実施した。また、偏光イメージングでMFAと同時に得られる方位角情報を利用することで、放射壁と接線壁のMFAを分離して評価した。放射壁、接線壁S<sub>2</sub>層MFAと仮道管断面構造の相関解析の結果、接線壁厚、内腔放射径、細胞壁率と中程度の相関 ( $|r| \approx 0.5$ ) が確認された。放射、接線壁S<sub>2</sub>層MFAとこれら3パラメーターの局所的な年輪内変動パターンを比較した結果、早材部放射、接線壁S<sub>2</sub>層MFAと接線壁厚がよく連動していたものの、移行材から晩材にかけてパラメーター毎に固有の変動を示すことが明らかとなった。これは外的な環境要因が細胞形態に影響を与えている可能性が考えられ、仮道管形態変動パターンが極めて複雑に変動していることを明らかとした。

第4章では、細胞種による機能分化と細胞配置の多様性に大きな特徴を有する広葉樹材において、組織構造の定量化を通してその多様性や機能について明らかとすることを目的としている。第3章と同様の手法を用いることで、国産広葉樹材16科18属20種における細胞毎の断面構造とMFAの取得を行い、樹種および細胞種毎の多層構造とMFA分布の評価、ならびに仮道管と木部繊維における細胞形態年輪内変動の定量追跡を実施した。細胞種毎のMFA評価の結果、木部繊維と晩材仮道管ではMFAが小さく、道管要素や軸方向柔細胞、その他仮道管ではMFAが大きい傾向にあった。前者は樹体支持機能、後者は物質輸送に伴う圧力に最適化された形態であることが予想される。加えて、軸方向柔細胞ではその配置に応じて多層構造やMFAが異なることが確認され、当該細胞種がその位置に応じて異なる機能を有していることがその形態より示唆された。木部繊維と仮道管の細胞形態年輪内変動は、無道管材を除くと、その道管配置によらずほぼ一定を示す樹種が最も多かった。ただし、環孔材の一部、例えばミカン科キハダ属キハダでは、孔圏内外かで木部繊維の細胞壁厚およびMFAに差異が確認されたことから、道管要素の存在により木部繊維形態に多様性が生じている可能性が示唆された。

第5章では、第2章から第4章の結果の総括、ならびに多元的形態情報解析に関連した方法論的な課題と今後の展望について議論している。総括の結果、特に偏光イメージングとセマンティックセグメンテーションによる細胞形態の多元的解析手法は、組織構造という観点から樹木細胞をとらえた時その機能や外的環境因子に対する応答を評価する上で有益な定量計測データを提供しうることが確認された。加えて、当該手法はその他イメージング手法や免疫蛍光標識法などと組み合わせることで組織構造と化学情報を統合可能とすること、樹木細胞を基本単位として関連する遺伝子発現やフェノロジーから知られる知見を横串的に繋ぎ合わせることで、細胞形態に対する遺伝的、外的環境因子の寄与の解明などが期待される。技術的な側面として、偏光イメージングや画像解析に供する高品質な断面切片の作製や画像データ蓄積の不足等、データ解析に至るまでの過程に課題が多いことを指摘している。また、多元的形態情報解析として木口断面における細胞形態だけでなく、将来的には細胞長や壁孔といった軸方向の組織構造計測情報とも統合可能としていく必要があることを強調している。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、顕微イメージングとインフォマティクスを融合し、マイクロフィブリル傾角から組織構造までのマルチスケール構造を解析する技術を開発し、樹木細胞の階層的構造と空間分布を調べたものである。樹木細胞の形態情報を高速かつ正確に計測することにより、従来の記述的な解剖学手法では未着手であった構造の多様性やそれに起因する機能や物性との関係探索への道を拓くもので、評価できる点は以下の通りである。

1) 従来の偏光顕微鏡の光学理論を見直し、4種類の異なる偏光条件から撮影した画像より測定されるレターデーションから、セルロースマイクロフィブリルの傾斜角(MFA)と方位角を理論計算により求めるアルゴリズムを実装し、顕微鏡画像全域のマイクロフィブリルの情報を2次元で生成して可視化するシステムを構築した。

2) 生成型ディープラーニングモデル(GDL)を活用して、針葉樹木口面切片上の細胞境界線通を正確に抽出するセグメンテーションモデルを構築した。さらに、通常光学顕微鏡画像と蛍光顕微鏡画像から得られる、形態指標や化学成分の違いに起因する差を利用して、セグメンテーション領域を道管、仮道管、木繊維、放射組織、軸方向柔細胞等に帰属する道筋を示した。

3) 上述したレターデーションによるMFAの測定と、GDLを活用した細胞毎の領域抽出技術を融合させることにより、細胞毎の多元的な微細構造情報の取得を可能とした。針葉樹を対象とした実験では、グラフ理論を併用して針葉樹に特有の放射方向の細胞列を抽出し、細胞情報の年輪内変動を高精度で明らかにした。また、広葉樹を対象とした実験では、細胞種によるMFAの変化や、細胞壁厚とMFAの相関などの新しい視点から樹種の構造特性を評価することに成功した。

以上のように、本研究は、顕微イメージングとインフォマティクスを融合し、細胞毎のマルチスケールの多元的な情報を取得することにより、木材組織の個性や多様性を定量し、樹種特性や物性との相関解析を可能とする、新しい観察・解析技術に関連した先駆的な研究であり、樹木における解剖学、細胞学、形成学、分類学等の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和6年2月8日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)