

細胞断面の重心連結による 木材細胞軸の三次元的再構築

鈴木 健二・藤田 稔・佐伯 浩

Three-dimensional Reconstruction of Wood Cell Axes by Connecting
the Centers of Gravity of Cell Sections

Kenji SUZUKI, Minoru FUJITA and Hiroshi SAIKI

要 旨

画像処理装置とパーソナルコンピュータを用いて、ポプラの連続木口切片における細胞断面の重心を三次元的に連結することにより、木部分化帯の軸方向細胞について細胞の長軸を線で表した画像として表現することを試みた。隣接する切片での対応する細胞断面の重心の位置合わせでは、重心のずれを切片全体で小さくする切片の再構築方法を考案した。これらの方法により、一定のアルゴリズムで再構築することが可能となり、このためコンピュータを用いて連続的かつ高速に再構築することが可能になった。また細胞を曲線として表示することにより、多くの細胞の立体形状を視覚的に同時につかむことが可能となった。また細胞長軸の曲率など細胞の形状の三次元的解析への可能性が示された。

供試した領域では同一ラジアルファイル内の細胞は中央部では全体的な形状が類似しており、放射方向よりも接線方向に湾曲しているが、先端部では個々の細胞ごとに様々な方向に伸長することが示された。道管に発達する細胞はその細胞が属するラジアルファイルの他の細胞と大きく異なり、接線方向、放射方向に大きく湾曲していた。また周囲の細胞やラジアルファイルに大きな影響を及ぼし、細胞の形状や位置およびラジアルファイルの配列を乱していた。

また画像処理により細胞の断面形態について多くの情報が得られるが、これらを細胞全長にわたって集積し演算することにより、三次元的な計量が可能になった。

1. は じ め に

木材を構成する細胞は形成層始原細胞を起源とし、そこで生産された細胞は周囲の細胞群と調和・競合しながら発達し、木部を形成していく。特に広葉樹では成熟した木部細胞は比較的単純な形態をもつ形成層細胞とは異なり三次元的な形状や細胞配列が大きく変化している。これには道管へと分化していく細胞の著しい拡大や木繊維へと分化していく細胞の伸長による影響が顕著である。道管は接線径・放射径ともに大きく増大させて¹⁾(始原細胞と比べて5倍～20倍)細胞配列を大きく乱す。また木繊維は軸方向に大きく伸長し(始原細胞と比べて1.2倍～4倍)、配列

を大きく乱すことはないが、上下に細胞の間へと割り込み成長を行いその形態を大きく変化させる。

このような細胞・組織の三次元的な形態を明らかにすることは木材組織の構造や材質を理解するためだけでなく、木材の加工性や強度を判断する上でも重要なことであろう。その形態解析のためには、各細胞の対応が行いやすいという利点から連続木口切片法が有用である。特に軸方向要素の細胞では、連続切片を忠実に積み上げていくことが可能であればその形態を立体的に正確に表現することができる。遠山²⁾はハリエンジュの形成層帯と木部分化過程における繊維の細胞拡大を、また久野³⁾はポプラとトチノキの形成層帯における木部繊維や放射柔細胞の細胞分裂と伸長過程を、それぞれ連続木口切片法で三次元的に追跡した。しかしこの方法は多くの切片を必要とし、作業は非常に煩雑なものになり、情報は大量なものとなるので、情報の整理と処理が必要となる。

近年、細胞や組織の連続切片から画像処理装置を活用し、コンピュータグラフィックスによって三次元的に表現する方法が開発されてきた⁴⁾。しかし、これらの方法は特定の細胞や組織の外形を俯瞰することを目的としており、木材組織のような多数の集合した細胞を解析するためには適していない。木材を構成する細胞の三次元的表現に関する初期の試みとしては深川⁵⁾のオニグルミに関する研究があるが、このときに解析に供された細胞は6個程度と少なかった。本研究では連続木口切片から細胞内腔断面の重心を計測し、対応する各細胞の隣接する切片での重心のずれが小さくなるように、切片間の平行移動・回転移動を施した上で連続切片の再構築を行った。そして、それぞれの切片における各細胞断面の重心を連結させて、細胞を一本の曲線で表現した。特に本研究では木部分化帯の軸方向要素の細胞を三次元的な曲線として表現を行い、分化との関連について考察した。

2. 試料と方法

2-1 再構築に用いた試料

今回の研究には1989年度課題研究において久野³⁾が作製したポプラの連続木口切片とその拡大写真を用いた。この試料作製の概略を以下に記す。1989年5月29日京都大学演習林本部試験地にて樹高約14m、胸高直径約17.0cmのポプラ (*Populus koreana* Rehd.) の胸高部位 (130cm高, 8年輪) より形成層と木部・師部分化帯を含む試料を採取した。これを3%グルタルアルデヒドで前固定, 1%四酸化オスミウムで後固定した。これを常法によりエポキシ包埋し, 超ミクロトームにより厚さ2.5 μ mの木口切片を作製した。これをPAS法により染色し, 一次壁に強いコントラストを付与し, これらから500倍の拡大写真を得た。

これらの連続切片写真から切片間距離が40 μ mおきになるようにして, 27枚の連続切片写真を抜き出した。そしてそれらの形成層帯と木部分化帯の初期の領域で, 約10列のラジアルファイルを含む部分を選び, それぞれにつき10個程度の細胞の計測を行った。三次元表示に用いた細胞の切片写真の一部をFig. 1に示す。

2-2 測定に用いたコンピュータシステム

細胞の測定装置としてピアス社製画像解析装置 PIAS II を用いた。この装置は512 $\times$ 512pixels・256階調のフレームメモリを4面持ち, ビデオカメラからの映像信号をリアルタイムにA/D変換し, フレームメモリに展開してディスプレイに画像を出力する。

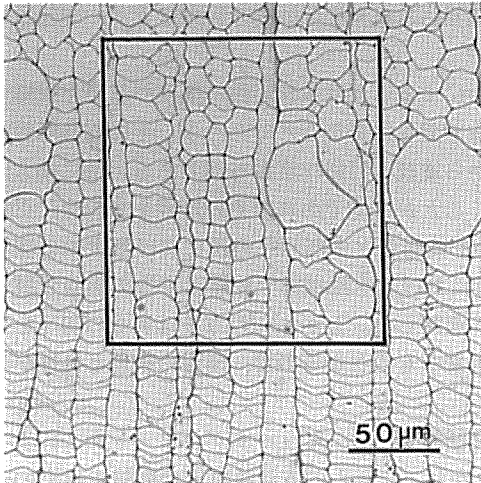


Fig. 1. Differentiating xylem of poplar. The cells in the area enclosed by black line are used for representation.

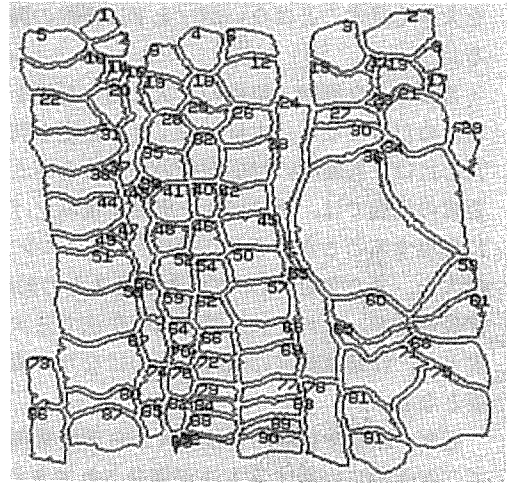


Fig. 2. Printed image of cells. Numerals refer to ID number for each cell. This image is obtained from the enclosed area in Fig. 1.

この画像解析装置は NEC パーソナルコンピュータ PC-9801VX により制御され、様々な画像処理や解析はこのパーソナルコンピュータ上に展開されたプログラムにより PIAS II とデータをやりとりして行う。種々のデータはプリンタ、ディスクドライブ、およびディスプレイに出力することができる。またディスクに保存したデータを再び PIAS II に展開することも可能である。

この画像処理システムに個々の連続切片写真を読み込ませて、種々の画像処理の後に各切片におけるそれぞれの細胞断面の重心・面積を計測した。

得られたデータは各切片ごとに細胞一つ一つに ID 番号をつけて保存されている。しかし全切片を通じて同じ細胞が同じ ID 番号というわけではないので、各細胞に ID 番号のついた画像をプリントアウトし（一例を Fig. 2 に示す）、それをもとに人為的に ID 番号を読みとり細胞ごとにデータを再配列した。

2-3 連続切片重心座標の位置あわせ

連続切片のデータから三次元的な再構築を行う場合、隣接する切片間での位置合わせをどのように行うかが問題になる。この場合、全切片にわたる基準線があれば問題はないが、ここで得られているデータにはそのような基準線はない。そこで本研究では隣接する切片で共通して識別される細胞の重心座標のずれの和が小さくなるように、隣接切片の重心座標群をその切片のある平面内で合同変換する方法で位置合わせを行った。すなわち、各切片を平面とみなして、各平面について同一平面内で適当な平行移動・回転移動を施し、各細胞についての隣接切片間での重心のずれの和が小さくなるようにすれば、適当な切片の位置合わせができると考えた。

2-3-1 平行移動

平行移動については以下の考え方に基づいて行った。

隣接する A, B 二つの切片における対応する細胞断面の重心を G_{Ai} , G_{Bi} ($i = 1, 2, \dots, n$) とし切片 A に固定した座標系でのそれぞれの座標を (x_{Ai}, y_{Ai}) , (x_{Bi}, y_{Bi}) とする。いま、切片

Bを各座標軸方向に x_T , y_T だけ移動すると, G_{Bi} の座標は $(x_{Bi} + x_T, y_{Bi} + y_T)$ なので, G_{Ai} と G_{Bi} の距離 l_i は次式で表せる。

$$l_i^2 = |x_{Ai} - (x_{Bi} + x_T)|^2 + |y_{Ai} - (y_{Bi} + y_T)|^2$$

また, すべての細胞についての距離の総和は

$$\sum l_i^2 = \sum |x_{Ai} - (x_{Bi} + x_T)|^2 + \sum |y_{Ai} - (y_{Bi} + y_T)|^2$$

となる。従って $\sum l_i^2$ を最小にする x_T , y_T は

$$\frac{\partial \sum l_i^2}{\partial x_T} = 0 \quad \frac{\partial \sum l_i^2}{\partial y_T} = 0$$

の関係から

$$x_T = \frac{1}{n} (\sum x_{Bi} - \sum x_{Ai}) = \bar{x}_B - \bar{x}_A$$

$$y_T = \frac{1}{n} (\sum y_{Bi} - \sum y_{Ai}) = \bar{y}_B - \bar{y}_A$$

として求められる。このことから, 中心座標 $(\bar{x}_A, \bar{y}_A)$, $(\bar{x}_B, \bar{y}_B)$ が重なるように平行移動すればよいことになる。この考え方をもとに平行移動の手順を次のように定めた。

1. 隣接する切片平面A, Bの両方に含まれる細胞を識別する。
2. それらの細胞断面の重心座標の平均値(中心座標)をA, Bについて求める。
3. A, Bの中心座標が重なるようにBの平面を平行移動する。

この手順の概念図をFig. 3に示す。

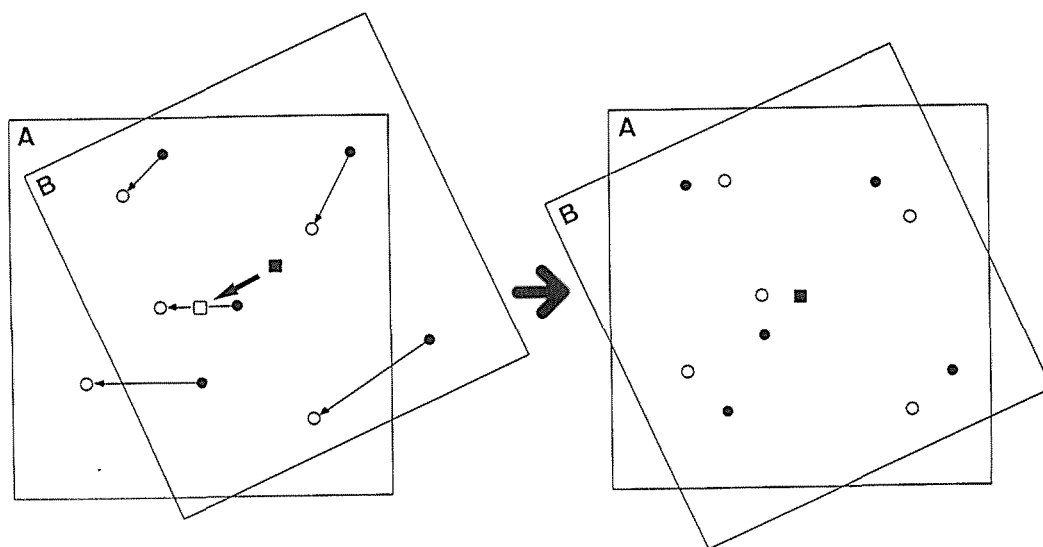


Fig. 3. Scheme of translation for section superposing. In left scheme, A and B correspond to two sections adjacent to each other. Points ○ are the centers of gravity of cells on section A, and points ● are those on B. Pairs of points connected by arrows belong to same cells. Point □ is mean co-ordinate value of all the centers of gravity on A, and point ■ is that on B. When these two sections are superposed, thick arrow is referred as direction of the translation of B. Right scheme shows the two sections superposed after the translation.

2-3-2 回転移動

上記で求めた中心を原点Oとすると、平行移動のあとで対応する細胞の重心 G_{Ai} と G_{Bi} のなす角は $\angle G_{Ai}OG_{Bi} = \theta_i$ となる。ただし、角度は OG_{Ai} を基準とし反時計方向を正とする。回転移動による重心位置のずれの修正はこの総和が0となればよい。いまBを ϕ だけ回転して総和が0になったとすると

$$\sum (\theta_i + \phi) = 0 \quad \phi = -\frac{1}{n} \sum \theta_i$$

すなわち θ_i の平均値だけBを時計方向に回転すればよい。

この考え方をもとに回転移動の手順を次のように定めた。

1. 平行移動の場合と同じように隣接する平面の両方に含まれる細胞を識別する。
2. それらの細胞のA, B平面における重心を G_A , G_B , 回転中心を O_A , O_B とし, $O_A G_A$ と $O_B G_B$ のなす角を求める。ただし平行移動の後であるので O_A , O_B は一致する。
3. それらの角の平均を求め, これをもとにBを回転する。

この手順の概念図を Fig. 4 に示す。

さらにそのようにして得られた各切片の細胞重心を直線で結び軸測投影でディスプレイに表示した。重心の位置合わせ及びディスプレイへの表示は BASIC プログラムを作成して実行した。

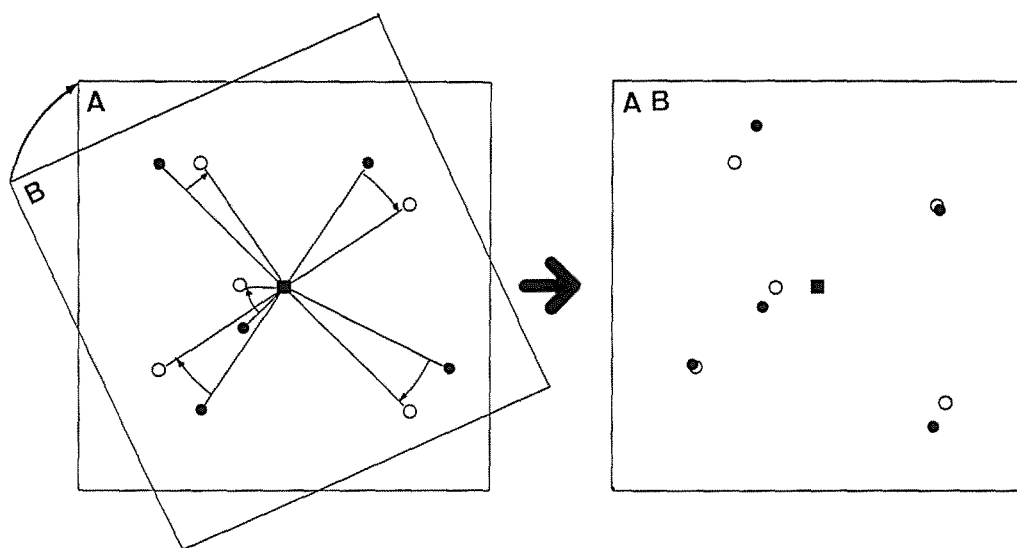


Fig. 4. Scheme of rotation for superposing. In left scheme, section A and B are same to the right scheme of Fig. 3. Corresponding points are connected by curved arrows. Those angles between pairs of points are calculated, and B is rotated by mean angle.

2-4 細胞軸の局部的曲率および細胞の体積と重心の測定

細胞を表す曲線と各切片の細胞内腔の面積値のデータをもとに、細胞の曲率・体積・重心を計測した。

(1) 細胞軸の曲率 (curvature)

これらの重心座標をもとに曲率を計算する方法は以下のように行った。

まず隣接する二つの重心から切片*i*における接線ベクトル t_i を次のように求めた。

$$t_i = \frac{g_i - g_{i+1}}{\Delta s_i}$$

ここで Δs_i はこの2点間の距離であり、 g_i 、 g_{i+1} はこのふたつの重心の位置ベクトルである。さらに t_i 、 t_{i+1} の差をとり、これを Δt_i ($\Delta t_i = t_{i+1} - t_i$)とした。そして接線ベクトル t_i 、 t_{i+1} に対応する Δs_i 、 Δs_{i+1} の平均を Δs として曲率 κ_i を

$$\kappa_i = \frac{\Delta t_i}{\Delta s}$$

と計算した。この値を両端を除いた曲線上の各点について算出した。

(2) 細胞の体積

ある細胞について切片*i*での面積値を S_i とすれば、その切片の上下の距離*d*だけの体積は dS_i と近似できる。これをその細胞が含まれる切片のすべてについて合計すれば

$$\sum dS_i = d \sum S_i$$

となる。これより細胞の各断面の面積値の総和をとり、切片間距離*d*をかけることにより体積を算出した。

(3) 細胞の重心

細胞の三次元的な重心は、各断面の重心点に面積の分だけ重みがあるから、重心の総和をとるときに面積をかけて算出した。各切片の重心の座標にその断面での面積をかけてその総和をとり、面積の総和で割って重心を算出した。すなわちある細胞の断面*i*での重心の位置ベクトルを $g_i = (x_i, y_i, z_i)$ とすれば全体の重心の位置ベクトル $g = (x, y, z)$ は

$$g = \frac{\sum S_i g_i}{\sum S_i}$$

したがって

$$x = \frac{\sum S_i x_i}{\sum S_i} \quad y = \frac{\sum S_i y_i}{\sum S_i} \quad z = \frac{\sum S_i z_i}{\sum S_i}$$

となる。

4. 結果と考察

3-1 コンピュータによる三次元表現と各種表示の例

Fig. 5にコンピュータディスプレイによる細胞軸の表示を示す。白丸は5枚ごとの切片の位置であり、その間は200 μ mである。同じラジアルファイルに属する細胞は同じ色で示す。白い線は断面積の大きな細胞で、道管要素に発達していく細胞と考えられるものである。この細胞は二つあり、それぞれ青と緑で示したラジアルファイルに属している。Fig. 5Aは全体の見取り図であり、手前が形成層側である。ラジアルファイルごとに細胞は似たような形態をしているように見える。

Fig. 5Bは放射方向からみたものである。赤で示したラジアルファイルでは細胞の中央部では位置はずれているものの、形態は大きく異なることはないように見える。細胞の上部では同じ位置にあるようにみえる。また下部ではあまり位置がそろっていない。そして、最も木部側の細胞

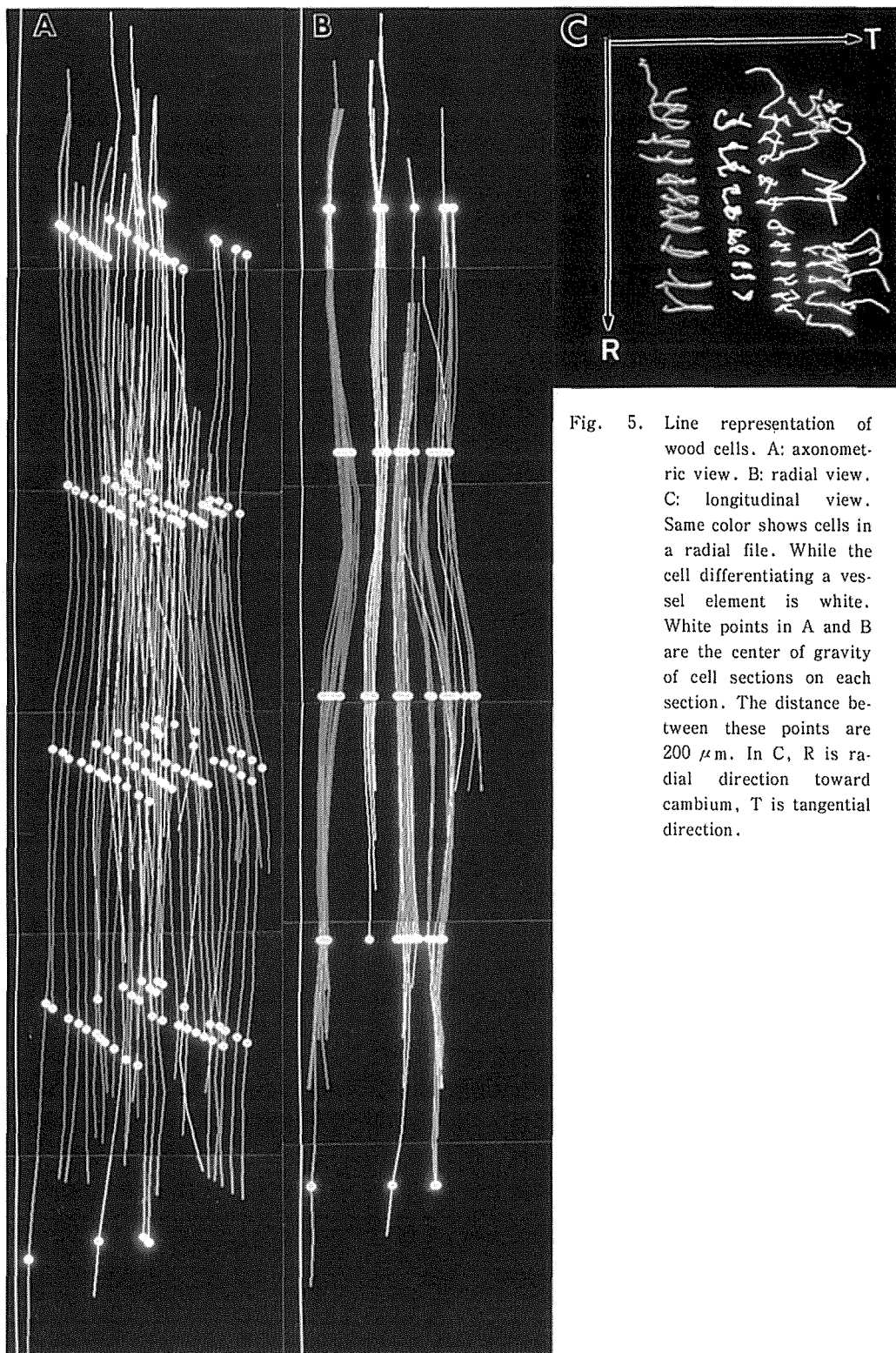


Fig. 5. Line representation of wood cells. A: axonometric view. B: radial view. C: longitudinal view. Same color shows cells in a radial file. While the cell differentiating a vessel element is white. White points in A and B are the center of gravity of cell sections on each section. The distance between these points are $200\ \mu\text{m}$. In C, R is radial direction toward cambium, T is tangential direction.

が大きく伸長していることがわかる。黄色で示したラジアルファイルでは上部で二つに分離していることがわかる。このあいだには放射組織があり、伸長していく場合に同じラジアルファイルであっても必ずしも同じ方向に伸長して行くわけではないようである。青で示したラジアルファイルでは中央部で細胞の位置が大きくずれていることがわかる。これは道管要素の影響と考えられる。しかし下部では中央部ほど位置がずれていない。Fig. 5C は軸方向からみたものである。図中の R 方向は幹の髄から形成層に向かう方向である。道管要素の周囲ではラジアルファイルの配列がやや乱れていることがわかる。細胞の湾曲している方向が観察され、また全体的に接線方向に湾曲していることがわかる。また、形成層側では接線方向の単純な湾曲であるが、成熟するに従い放射方向にも湾曲することがわかる。接線方向の湾曲はおもに放射組織によるものであるが、放射方向の湾曲は軸方向への伸長成長に伴うものであると考えられる。

ただし波状木理のように細胞そのものが全体的に湾曲しているとすれば本報で用いた切片の位置合わせの方法は適当でないので、相対的な形状しかとらえることができないことは注意すべきである。

3-2 各種の計測結果

曲率についての計測結果を Fig. 6 に示す。これは桃色で示したラジアルファイルの細胞のう

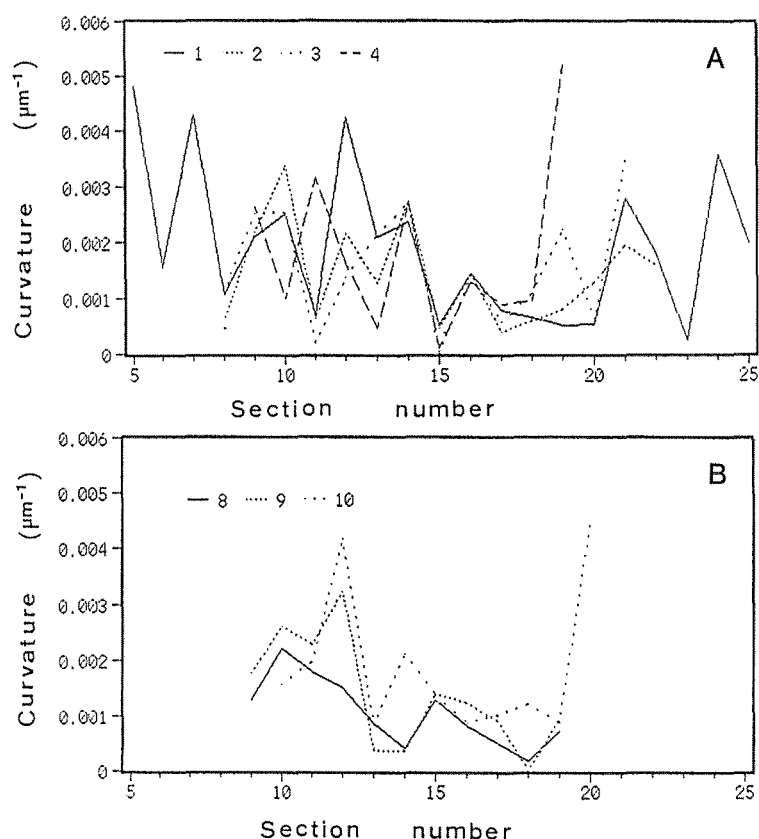


Fig. 6. Curvature of cell axis along the cell length. All cells are in a radial file. In A, cells of number 1, 2, 3, 4 are rather mature. In B, 8, 9, 10 cells are close to cambium.

ち、特徴的な細胞を取り出したものである。番号1は木部側の細胞、10は形成層側の細胞である。切片番号の13から18では、このラジアルファイルは放射組織に接していた。この部分では1, 2, 3, 4の細胞ではだいたい一致している。また切片番号15のあたりでは全体的に曲率が低い値を示しており、細胞が通直であることを示している。しかしそのほかの領域では同じラジアルファイルでもまったく異なった曲率の分布であることがわかる。また先端部では大きく変動しているようである。このことはまだ伸長が進んでいない8, 9, 10の細胞でも示されている。

体積の計測についていくつかのラジアルファイルごとの結果を Table 1 に示す。道管要素へと分化していく細胞では大きな値を示している（ラジアルファイル番号3—細胞番号3の細胞と5—4の細胞）。そのほかの細胞では大きく変動しており、全体的な傾向は読み取れない。しかし計測する領域を広げれば、たとえば分化にともない体積が増加する現象をとらえることができるかも知れない。

細胞の重心の計測結果の一例を Table 2 に示す。この領域では同一ラジアルファイル内では軸方向については道管要素に分化する細胞で重心位置がずれて見えるが、そのほかではほぼ一定のようであり、分化にともなう移動についてはここではよくわからない。

Table 1. Variation in cell volume in radial files. Cells are numbered from mature side (No. 1) to cambium side (No. 10)

Cell number	Cell volume ($\times 10^3 \mu\text{m}^3$)				
	Radial file number				
	1 red	2 yellow	3 pink	4 blue	5 green
1	154	92	140	63	100
2	111	72	69	112	67
3	141	75	83	611	71
4	132	64	55	47	894
5	123	77	64	62	97
6	107	61	76	104	38
7	61	53	76	163	140
8	104	33	60		100
9	206	21	67		91
10	240	63	55		
11	83		43		

Table 2. Coordinate value the center of gravity of cells (three-dimensional) in a radial file. Origin is the center of gravity of 9th cell. L is longitudinal coordinate value, R is radial toward pith, T is tangential.

Cell number	Coordinate value (μm)		
	L	R	T
1	3	121	-11
2	6	116	-12
3	3	107	-12
4	33	75	-2
5	-19	43	-5
6	-65	35	-2
7	-1	26	-1
8	4	12	-1
9	0	0	0

No.4 is Vessel element

いずれの結果にせよ、今回の研究は木部分化帯のせまい領域内での計測であるので、細胞の成熟過程を詳しく論ずることはできない。しかし今後この方法により広い領域を調べると興味ある結果が得られるかも知れない。

引用文献

- 1) 原田 浩・佐伯 浩 他：木材の構造。文永堂出版。東京，pp116—120，1985
- 2) 遠山 旨仁：連続切片法によるハリエンジュ形成層活動の立体的把握。京都大学農学部林産工学教室課題研究論文，1983
- 3) 久野 進：トチノキとボプラの形成層活動の立体的解析。京都大学農学部林産工学教室課題研究論文，

1990

- 4) BABA, N., BABA, M., IMAMURA, M., KOGA, M., OHSUMI, Y., OSUMI, M. and KANAYA, K.: Serial section reconstruction using a computer graphics system: Applications to intracellular structures in yeast cells and to the periodontal structure of dogs' teeth. J. Electron Microscopy Tec., 11, 16-26, 1989
- 5) 深川智恵: コンピューターによる木材組織の三次元的表現法の試み. 京都大学農学部林産工学教室課題研究論文, 1984

Résumé

Using an image processing system and a personal computer, we tried to represent the form of wood cells as a curve by connecting the centers of gravity of the cells through serial transverse sections. Photographs taken from poplar differentiating xylem were recorded to the image processing system and the centers of gravity of 50 to 90 cells on each section were calculated. In the reconstruction of serial sections, two adjacent sections were relatively moved with translation and rotation to minimize the distance between the centers of gravity of corresponding cells.

Using these methods, we could grasp visually the three-dimensional form of cells and three-dimensional analysis of cells e.g. curvature of wood fiber was possible.

In the differentiating zone examined, the form of cells in a radial file were similar to each other at the center of cells, and curved to tangential direction rather than radial direction, whereas at the tip, the forms were not similar to each other and show peculiar elongation. The cell differentiating to a vessel element was much different to other cells and affects the form and arrangement of other cells.

The curvature of cell axis was possible to be calculated along the cell length. The relation between curvature and cell differentiation was not clear in this small zone examined. Curvature much varied even in cells belonging to the same radial file. But in the area adjacent to ray, the curvatures of cell axes in the same radial file were resemble to each other. In the tip, curvature tended to fluctuate somewhat. Cell volume and the center of gravity of cell were also possible to be calculated. The examined zone was so small that volumes of cells did not relate to the differentiation.