

## 原著

## 画像解析によるマウスの体毛成長の評価

中村博範\*<sup>1</sup> 三宅沙知\*<sup>1</sup>

## 要 約

本研究は、画像解析によるマウスの体毛成長の評価法を確立するために行った。はじめに、画像解析ソフトのImageJを用いた画像解析の手順とその性能を確認した。その結果、画像解析で測定した図形の面積は、計算した面積と一致し、また、平均画素値は図形の濃淡を反映した。次に、写真の画像解析によるマウスの体毛成長の評価法を検討した。マウスの背部の体毛を除毛して体毛の成長期を誘導し、体毛成長は体毛と皮膚の色（画素値）の違いを基に評価できた。除毛から14日目の体毛成長率は、コントロール群（非ストレス）は65.5%、1日2時間の拘束ストレスを与えた慢性ストレス群は22.9%であった。ImageJによる写真の画像解析は、マウスの体毛成長の客観的な評価に有用であることが分かった。

## 1. 緒言

毛は哺乳類の特徴の一つで、皮膚に埋まった毛包という組織で作られ<sup>1)</sup>、毛包は、成長期、退行期、休止期からなる毛周期を繰り返し、新しい毛周期が始まると前の毛は失われる<sup>2)</sup>。毛球というふくらんだ部分は成長期のみ見られ、毛母細胞が毛球の底部に局在する毛乳頭細胞からシグナルを受けて増殖、分化し、ケラチンたんぱく質が合成され毛が形成される<sup>3)</sup>。毛母細胞の分裂速度は極めて速く<sup>4)</sup>、また、毛包におけるエネルギー代謝やアミノ酸代謝<sup>5-7)</sup>は、一般的な細胞の代謝とは異なり、がん細胞の代謝に似ている。すなわち、グルコースやグルタミンを効率的に利用して、細胞分裂に必要な脂質やたんぱく質、核酸を活発に合成する<sup>8-10)</sup>。そのため、毛の成長を制御できれば、がん研究にも応用できる可能性がある。

ヒトの毛周期は毛包ごとに独立しているが、マウスなどの小型のげっ歯類では、毛周期が同調している<sup>11,12)</sup>。そのため、毛周期に対する効果を容易にみることができる。マウスの体毛成長の客観的な評価については、一般に除毛部に対する再発毛面積の比率や皮膚の色調変化によって行われる<sup>11)</sup>。しかし、これまで我々が行った研究<sup>13,14)</sup>では客観的な評価ができておらず、主観的な評価に留まっている。したがって、今後、毛母細胞の細胞増殖の制御について研究を進めていくためには、体毛成長の客観的な評

価法の確立が不可欠である。実験でよく使用されるC3Hマウスは毛色が野生色（アグーチ）で、生後45日から95日までの毛周期は細胞分裂が止まった休止期となっている<sup>13)</sup>。そのため、実験では、休止期から成長期に誘導するために、体毛の除毛が行われる<sup>11,15)</sup>。したがって、体毛成長は、マウスの体毛と皮膚の色の違いによって評価できる。そこで、本研究では、画像解析ソフトのImageJ<sup>16)</sup>を用いて検討を行い、さらに、その方法を用いて、ストレス条件下でのマウスの体毛成長について評価した。

## 2. 方法

## 2.1 ImageJによる図形の面積測定

ImageJによる解析手順とその精度を確認するため、Microsoft Power Pointの図形ツール（挿入→図形）を使用して図形を描き、その図形の面積の測定を行った。まず、除毛したマウスを想定して、一辺が3.5cmの正方形を背景とし、直径3.0cmの円を描き円の色を段階的に濃くしたものを準備した（図1-A, B, C, D）。次いで、図1-Aの円を、3/4, 1/2, 1/4, 1/8にしたものを準備した（図1-E, F, G, H）。スライドは画像ファイル形式（TIFF）で保存して、ImageJでの画像解析に用いた。

ImageJによる画像解析手順は、①基準となる長さの設定、②画像のグレースケール化、③閾値の設定（2値化処理）、④領域の選択、⑤面積の測定とい

\*1 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科  
（連絡先）中村博範 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学  
E-mail: [hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp](mailto:hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp)

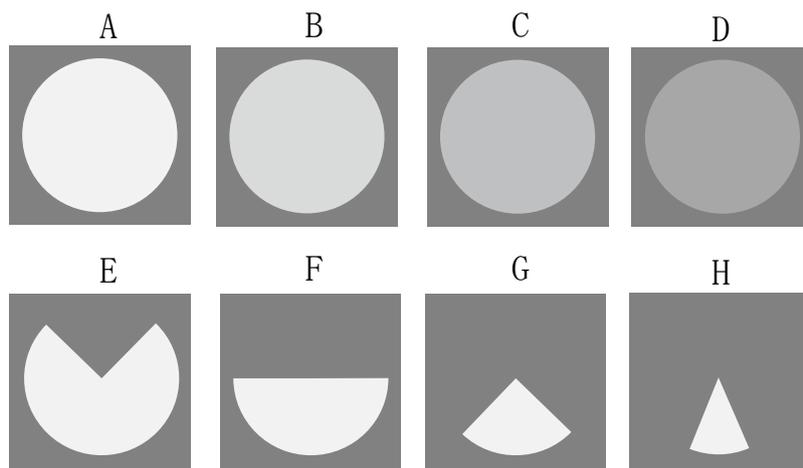


図1 画像解析に用いた図形

う手順で行った。

具体的には、画像データをImageJで開き、まず、ツールバーの直線 (Straight Line) を使って、正方形の一辺 (3.5cm) に合わせて線を引き、基準となる長さを設定した (Analyze → Set Scale → Known Distance → 3.50と入力)。次に、画像をグレースケール画像に変換 (グレースケール化) し、画像を構成するそれぞれの画素を0~255の256階調の画素値に変換した (Image → Type → 8-bit)。続いて、特定の領域を抽出するために基準となる閾値を設定して、その値以上の画素を1(白)、その値未満の画素値を0(黒)として2値化処理 (白と黒の2色の画像に変換) を行った (Image → Adjust → Threshold, 「Red」を「B & W」に変更→スライドバーの上段の数値を160, 下段の数値を255に設定)。そして、測定する領域を自動選択(ワンド)ツールで選択し、面積 (cm<sup>2</sup>) と平均画素値 (選択領域の画素値の平均値) を測定した (Analyze → Measure)。面積 (cm<sup>2</sup>) の計算値は、円の面積を $1.5 \times 1.5 \times 3.14$ で求め、その値を基準にしてそれぞれ求めた。

## 2.2 実験動物及び飼育環境

7週齢のオス C3H (C3H/HeJcl) を日本クレア (東京) から購入して使用した。飼育は、1ケージ1匹で行い、飼料にはオリエンタル酵母工業 (東京) のMF (固形) 飼料を用いた。飼育環境は、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、明暗サイクル12時間 (明期8:00-20:00) であった。

## 2.3 実験飼育

7週齢のマウスを1週間予備飼育した後、平均体重が同じになるように、通常群 (N群: 5匹)、コントロール群 (C群: 非ストレス: 5匹)、ストレス群 (S群: 5匹) の3群に分けた。C群とS群は体毛の成長期を誘導するため、はじめにイソフルラン麻酔下で、動物用バリカン (ポケットプロ, 日本ウォール) と

除毛クリーム (Veets, レキットベンキーザー・ジャパン, 主成分: チオグリコール酸) を使用して背部体毛を除毛した。除毛の翌日より、S群は、ストレスケージ (シナノ製作所) で1日2時間 (10~12時) の拘束ストレスを4週間与えた。体重と摂食量については毎日定時に測定した。

また、C群、S群については、体毛成長を記録するため、除毛翌日 (開始時)、7日目、14日目、21日目、28日目に、背部写真をデジタルカメラ (キャノン, kiss x3) で撮影した。撮影はイソフルラン麻酔下で行い、長さが分かるように方眼紙を敷いた上にマウスを横臥させた。また、1匹につき約10枚撮影した。

4週間の飼育終了後、一晚絶食させ、イソフルラン麻酔下にて下大静脈から採血した。血液はマイクロテストチューブに入れて、室温に30分放置したあと遠心分離 (3000回転, 5分) して血清を分離した。血清は、分析まで冷凍保存 ( $-50^\circ\text{C}$ ) した。その他、慢性ストレスの指標となる副腎と脾臓を採取して、湿重量を測定した。

本動物実験は、川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号14-004)。

## 2.4 マウスの背部写真の画像解析

マウスの背部写真の画像データの解析手順は、図形の解析手順と同様であるが、基準となる長さは、撮影時にマウスの下に敷いた方眼紙の目盛を使用し、マウスに近い目盛りに合わせて今回は5cmの線を引き、長さを設定した (Analyze → Set Scale → Known Distance → 5.00と入力)。また、閾値の設定については、グレースケール化した画像データを用いて、マウスの鼻先から尾部までを直線 (Straight Line) で結び、画素値 (グレー値) を測定 (Analyze → Plot Profile) して、体毛と皮膚の画素値の違いを見極めて設定した。皮膚領域の

選択においては、その領域が仕切られている必要があるが、仕切られていない場合は、描画ツール (Drawing Tools) で線を引いた。また、皮膚領域が複数ある場合は、それぞれ面積を測定して合計した。1匹につき写真3枚を測定し、その平均値を値とした。

体毛成長率 (%) は、開始時の皮膚面積から各段階での皮膚面積を差し引いて発毛面積を求め、それをさらに開始時の皮膚面積で割って計算した。

## 2.5 血清成分の測定

血清中のグルコース、アルブミン、トリグリセリド、総コレステロール、遊離脂肪酸を測定し、測定には、和光純薬工業 (大阪) の測定キット (グルコース C-テストワコー, アルブミン II-HA-テストワコー, トリグリセライド E-テストワコー, コレステロール E-テストワコー, NEFA テストワコー) を用いた。

## 2.6 統計処理

値は平均値 ± 標準誤差で示した。2群間での比較は、対応なしの t 検定を用いて行った。また、3群間の多重比較は、一元配置分散分析後、Tukey 法を用いて行った。p 値が 5% 未満 ( $p < 0.05$ ) を有意差ありとした。統計ソフトには、IBM SPSS

Statistics 22を用いた。

## 3. 結果

### 3.1 ImageJによる図形の面積と平均画素値の測定

図1の図形をImageJで測定した結果を表1に示す。面積の測定値の誤差は最大で2%であった。また、図1A - Dの平均画素値は、円の色が明るいと値が高く、逆に暗いと値が低かった。

### 3.2 体重及び摂食量

各群の体重変化を表2に示す。体重は、3群間に有意な差はなかったが、S群では、他の2群と比較して7日目、14日目は低い傾向にあった。一方、各群の摂食量は表3に示すように、7日間ごとの合計摂食量と28日間の総摂食量は、いずれもN群と比較して、C群、S群では有意に高値であった。また、S群とC群の間には有意差はなかった。

### 3.3 副腎及び脾臓重量

実験終了時における副腎と脾臓の湿重量を表4に示す。副腎は、3群間での有意な差はなかったが、S群が最も高く、次いでC群、N群の順であった。一方の、脾臓は、S群はN群と比較して有意に低値で、また、C群よりも低い傾向にあった。

表1 図形の面積及び平均画素値

図形	測定値 (a)	計算値 (b)	a/b	平均画素値
	cm <sup>2</sup>	cm <sup>2</sup>	%	
A	7.089	7.065	100.3	241.2
B	7.081	7.065	100.2	216.4
C	7.108	7.065	100.6	190.8
D	6.973	7.065	98.7	166.0
E	5.318	5.299	100.4	240.8
F	3.556	3.533	100.7	241.2
G	1.765	1.766	99.9	240.1
H	0.901	0.883	102.0	238.8

表2 実験期間中の体重変化

		N	C	S
開始時	(g)	24.5 ± 0.4	24.9 ± 0.3	24.9 ± 0.4
7日目	(g)	25.5 ± 0.3	25.3 ± 0.3	24.7 ± 0.3
14日目	(g)	26.9 ± 0.6	26.6 ± 0.4	25.9 ± 0.4
21日目	(g)	27.2 ± 0.3	27.5 ± 0.5	26.9 ± 0.5
28日目	(g)	27.6 ± 0.5	28.4 ± 0.6	27.5 ± 0.4
増加量 (g/28日)		3.1 ± 0.6	3.5 ± 0.4	2.7 ± 0.4

値は平均値 ± 標準誤差を示す。

表3 実験期間中の摂食量

	N	C	S
1-7日 (g/7日)	23.0 ± 0.6 <sup>a</sup>	25.9 ± 0.6 <sup>b</sup>	26.5 ± 0.6 <sup>b</sup>
8-14日 (g/7日)	23.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	26.9 ± 0.5 <sup>b</sup>	27.8 ± 0.7 <sup>b</sup>
15-21日 (g/7日)	22.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	25.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	25.1 ± 0.4 <sup>b</sup>
22-28日 (g/7日)	20.9 ± 0.5 <sup>a</sup>	24.7 ± 0.8 <sup>b</sup>	24.1 ± 0.6 <sup>b</sup>
総摂食量(g/28日)	90.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	103.1 ± 1.1 <sup>b</sup>	103.4 ± 2.0 <sup>b</sup>

値は平均値±標準誤差を示す。  
異なる文字を有する群間に有意差あり(p<0.05)

表4 実験飼育終了時の副腎及び脾臓重量

	N	C	S
副腎 (mg)	2.2 ± 0.3	2.6 ± 0.2	2.8 ± 0.2
脾臓 (mg)	74.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	68.0 ± 2.4 <sup>ab</sup>	63.1 ± 4.0 <sup>b</sup>

値は平均値±標準誤差を示す。  
異なる文字を有する群間に有意差あり(p<0.05)

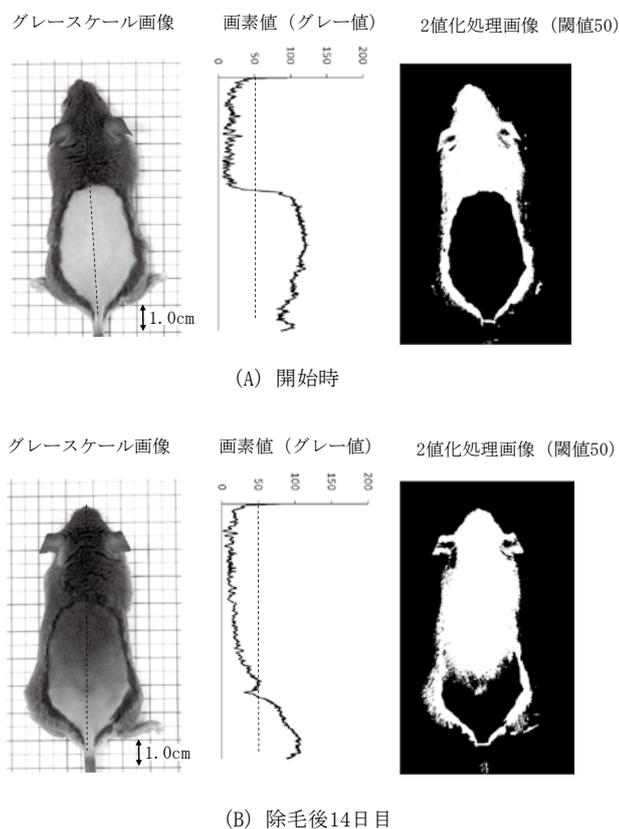


図2 グレースケール画像と2値化処理画像  
画像はC群の一例を示す。

### 3.4 体毛成長の観察と画像解析による評価

マウスの背部写真の画像データを用いて、体毛領域と皮膚領域の画素値を測定した。その一例を図2に示す。体毛領域と皮膚領域の画素値は異なり、体毛領域の値と比較して、皮膚領域の値は高かった。画像解析では、閾値を50に設定して、体毛領域と皮

膚領域を区分し、皮膚領域の面積と平均画素値を測定した。測定結果を表5、表6に示す。開始時の除毛部位の皮膚面積(cm<sup>2</sup>)と皮膚領域の平均画素値は、両群間に差はなかった。7日目は、C群とS群の皮膚面積に差はなかったが、平均画素値は、C群はS群と比較して有意に低値であった。14日目は、図3に

表5 皮膚面積(cm<sup>2</sup>)の変化

	C	S
開始時	8.73 ± 0.46	8.57 ± 0.15
7日目	8.53 ± 0.38	8.77 ± 0.24
14日目	3.06 ± 0.50	6.59 ± 0.39 *
21日目	0.08 ± 0.01	0.58 ± 0.07 *
28日目	0.00	0.10 ± 0.02 *

\* 2群間で有意差あり (p<0.05)

表6 皮膚領域の平均画素値

	C	S
開始時	112 ± 2	110 ± 1
7日目	97 ± 2	104 ± 1 *
14日目	68 ± 3	83 ± 2 *
21日目	68 ± 3	74 ± 2
28日目	-	74 ± 4 *

\* 2群間で有意差あり (p<0.05)

表7 体毛成長率(%)

	C	S
開始時	-	-
7日目	2.0 ± 1.9	-2.3 ± 1.4
14日目	65.6 ± 4.6	22.9 ± 4.8 *
21日目	99.1 ± 0.1	93.2 ± 0.9 *
28日目	100.0	98.9 ± 0.3 *

\* 2群間で有意差あり (p<0.05)

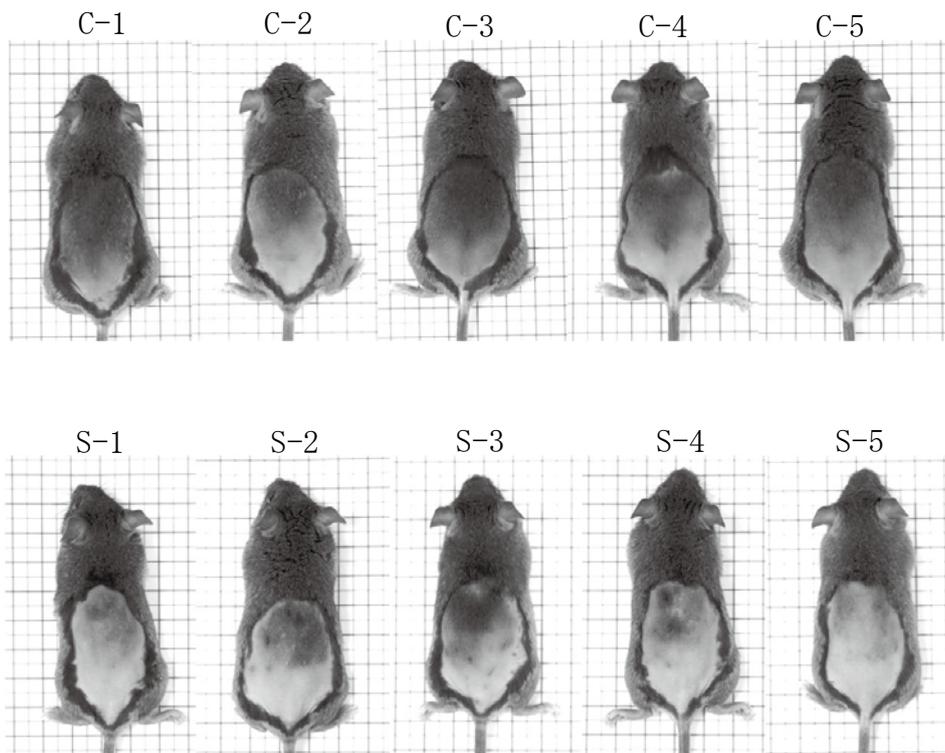


図3 除毛後14日目における背部写真

C-1~C-5はコントロール群, S-1~S-5はストレス群

示すようにC群と比較してS群では発毛の遅れが観察された。画像解析の結果、S群はC群と比較して皮膚面積が有意に高値であった。21日目、28日目

は、両群ともほぼ全領域で発毛が観察されたが、S群では尾部側が生えておらず有意に高値であった。皮膚面積より求めた体毛成長率(%)は、表7に示

表8 血液生化学データ

		N	C	S
グルコース	(mg/dL)	170 ± 19	155 ± 16	170 ± 9
アルブミン	(g/dL)	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.4 ± 0.1
トリグリセリド	(mg/dL)	125 ± 9	120 ± 11	110 ± 12
総コレステロール	(mg/dL)	130 ± 1	121 ± 4	129 ± 2
遊離脂肪酸	(mEq/L)	0.99 ± 0.13	0.87 ± 0.03	0.92 ± 0.06

すように、14日目に、C群が65.5%だったのに対し、S群では22.9%と有意に低値であった。

### 3.5 血液成分

各群の血液生化学データの結果を表8に示す。グルコース、アルブミン、トリグリセリド、総コレステロール、遊離脂肪酸を測定した結果、すべての項目において3群間に有意差はなかった。

## 4. 考察

### 4.1 図形及びマウスの背部写真の画像解析

本研究では、画像解析ソフトのImageJを使用し、マウスの体毛成長の評価法について検討した。

ImageJは、アメリカ国立衛生研究所 (National Institute of Health) で開発された画像解析ソフトで、ダウンロードして無償で使用することができる<sup>16)</sup>。ImageJは、組織・細胞画像や電気泳動のゲルの解析など幅広く使用でき<sup>17)</sup>、日本語訳や操作手順についてはインターネット上に公開されている。

実験では、ImageJの操作手順とその精度について図形を用いて確認した。除毛したマウスを想定して図形を描き、それぞれ面積と平均画素値を測定した。その結果、面積の測定値は計算値と一致し、正確に面積を測定できることが分かった。また、図形の濃淡については、平均画素値によって評価できることが分かった。

画像解析における面積の測定では、2値化処理によって特定の領域を抽出する必要がある。デジタル画像を構成する1つ1つのマスのことを画素というが、画像をグレースケールに変換 (グレースケール化) すると、それぞれの画素が0~255の256階調の画素値に変換され、暗い画素は低い画素値、明るい画素は高い画素値となる。2値化処理では、基準となる閾値 (Threshold) を設定し、その値以上の画素値を1 (白)、その値未満の画素値を0 (黒) として、白と黒の2色の画像にさらに変換される (測定に使用した「B&W」では、白と黒が逆になる)。この画像処理によって、特定の領域が選択でき面積の測定が可

能になる。

マウスの皮膚面積を測定する場合は、体毛領域と皮膚領域を区別するために閾値を設定する必要がある。図2の結果で示したように、体毛領域と皮膚領域では画素値が異なるため、閾値の設定によって両者を区別することができた。閾値の設定においては、除毛した皮膚領域と画像解析での選択領域が一致することを目視で確認し、閾値は50が妥当である判断した。したがって、すべての画像解析で、閾値を50として測定を行った。また、この前提条件として、写真の明るさが測定値に影響するため、マウスを撮影する際は、部屋の明るさやカメラの設定など同じ条件で行った。その他、背部の面積は、マウスの姿勢によって影響を受け、背が曲がり丸まっていると、背部面積が小さくなるため、撮影時は、マウスの姿勢についても注意し、麻酔下でマウスの体位を整えて撮影した。

### 4.2 ストレスと体毛成長

画像解析を用いて、慢性ストレスがマウスの体毛成長に及ぼす影響について評価した。実験では、C群とS群は体毛の成長期を誘導するため除毛を行い、また、S群は1日2時間の拘束ストレスを4週間与えた。

慢性ストレスでは、副腎の肥大や胸腺や脾臓の萎縮することが知られている<sup>18)</sup>。そこで、ストレスの有無を確認するため、4週間の実験飼育後に副腎と脾臓を採取して湿重量を測定した。その結果、副腎重量は、有意な差はなかったが、高い順にS群、C群、N群であった。一方、脾臓重量は、高い順に、N群、C群、S群で、S群はN群と比較して有意に低値であった。この結果から、除毛はマウスにとってストレスになっていたこと、そして、拘束ストレスはさらに大きなストレスであったと考えられた。

次に、体毛成長へのストレスの影響については、C群とS群を比較して7日目の皮膚面積に差はなかったが、平均画素値では2群間で有意な差がみられた。さらに、7日目には、C群では頭部側から皮

膚が黒くなりはじめているのが観察された。体毛の合成は毛包の成長期に進み、毛母細胞の細胞分裂と同時に毛球に存在するメラノサイトでメラニンが合成されるため皮膚の色が変化する。したがって、平均画素値の違いは、皮膚のメラニン含量の違いを反映すると考えられ、S群では毛包の成長期の開始が遅れていたと考えられた。14日目は、C群とS群では、体毛成長に大きな違いが観察され、画像解析した結果、C群での体毛成長率は65.5%で、S群は22.9%と有意に低かった。したがって、ストレスは、体毛成長に明らかに影響することが示された。

体毛成長は、エネルギーやたんぱく質などの栄養状態によって影響を受ける<sup>13,14)</sup>。また、ストレスは摂食量に影響することが知られている<sup>19)</sup>。そこで、実験では、摂食量や体重の変化、血液成分を調べた。C群とS群は、摂食量や体重には有意な差はなく、また、アルブミンなどの血液成分にも違いはなかった。したがって、ストレスによる体毛成長の遅れは、栄養因子以外の要因に起因すると考えられた。

本実験では、拘束ストレスによってマウスにストレスを与えたが、足への電気ショックストレス<sup>20)</sup>や予測できない軽度のストレスを組み合わせた実験<sup>21)</sup>においても、体毛の成長や毛周期に影響がでることが報告されている。

生体は多種多様なストレスに対して共通の応答を示すことが知られている。つまり、ストレス反応と

して、視床下部-下垂体前葉-副腎皮質系や視床下部-交感神経-副腎髄質系の活性化を生じる<sup>22)</sup>。そのため、異なるストレス条件でみられる体毛成長の変化は、これらのストレス反応に起因するものと考えられる。副腎皮質から分泌される糖質コルチコイドには、体毛の休止期から成長期への誘導を抑制する作用があることが報告されている<sup>18)</sup>。また、毛包周囲の神経線維から分泌される神経ペプチドのサブスタンスPは、マスト細胞を活性化してサイトカインを分泌させる。いくつかのサイトカインは、毛包細胞の増殖抑制やアポトーシスを引き起こすことが報告されている<sup>23)</sup>。したがって、本実験で観察されたS群での体毛成長の遅れは、ストレス反応にともなうホルモンや神経ペプチドなどの分泌の増加が、毛包における細胞増殖のシグナルの発現を低下させ、体毛合成に影響した可能性が考えられた。

## 5. 結論

ImageJを用いた画像解析によってマウスの体毛成長の評価法を検討した。除毛したマウスの背部写真を2値化処理し、皮膚面積を求めることで体毛成長を客観的に評価することができた。また、その評価法を用いて、ストレスがマウスの体毛成長を遅延させることを明らかにした。以上のことから、ImageJによる画像解析は、マウスの体毛成長の評価に有用である。

## 文 献

- 1) 松崎貴：毛髪を科学する—発毛と脱毛のしくみ—。岩波書店、東京、1998。
- 2) 大山学：より良い脱毛症診療を目指すための基礎知識。日本皮膚科学会雑誌、123(12)、2239-2246、2013。
- 3) 吉野輝彦：発毛促進とサイトカニン。植物の生長調節、40(1)、32-38、2005。
- 4) Weinstein GD and Mooney KM：Cell proliferation kinetics in the human hair root. *Journal of Investigative Dermatology*, 74(1)、43-46、1980。
- 5) Williams R, Philpott MP and Kealey T：Metabolism of freshly isolated human hair follicles capable of hair elongation: A glutaminolytic, aerobic glycolytic tissue. *The Journal of Investigative Dermatology*, 100(6)、1993。
- 6) Hynd PI：The nutritional biochemistry of wool and hair follicles. *Animal Science*, 70(2)、181-195、2000。
- 7) Goldsmith LA and O'Barr T：Serine biosynthesis in human hair follicles by the phosphorylated pathway: Follicular 3-phosphoglycerate dehydrogenase. *Journal of Investigative Dermatology*, 66(6)、360-366、1976。
- 8) 久保亜紀子：グルタミンオリシス。実験医学、35(10)増刊、39-45、2017。
- 9) Navdeep S. Chandel 著、大竹明、岡崎康司、村山圭監訳：代謝ナビゲーション—ミトコンドリアを中心とする代謝ネットワーク—。メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、2017。
- 10) 小田裕昭：がんとアミノ酸代謝。生化学、86(3)、332-337、2014。
- 11) 山田久陽、池田明子：男性型脱毛症治療薬の研究動態。日本薬理学雑誌、133(2)、73-77、2009。
- 12) Hamada K and Suzuki K：Evaluation of biochemical indices as a hair cycle marker in C3H mice. *Experimental Animals*, 45(3)、251-256、1996。
- 13) 中村博範、金澤健一郎、松枝秀二：マウスのタンパク質栄養状態と体毛タンパク質合成の関係について。川崎医療福祉学会誌、22(2)、200-207、2013。
- 14) 中村博範、金澤健一郎、松枝秀二：マウスの体毛タンパク質合成における食餌タンパク質とシステイン補給の影響

- 響について. 川崎医療福祉学会誌, **23**(2), 243-253, 2014.
- 15) 横山大三郎: 男性型脱毛症と育毛有効成分. 油化学, **44**(4), 266-273, 1995.
- 16) Rasband WS, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA : *ImageJ*. <http://imagej.nih.gov/ij/>, [2011]. (2018.3.4確認)
- 17) 小島清嗣, 岡本洋一編: 画像解析テキスト—NIH Image, Scion Image, ImageJ 実践講座—. 改訂第3版, 羊土社, 東京, 2006.
- 18) 斎藤徹編著: ストレスをめぐる生物学—ネズミから学ぶ—. 丸善出版, 東京, 2016.
- 19) Jeong JY, Lee DH and Kang SS : Effects of chronic restraint stress on body weight, food intake, and hypothalamic gene expressions in mice. *Endocrinology and Metabolism*, **28**, 288-296, 2013.
- 20) Aoki E, Shibasaki T and Kawana S : Intermittent foot shock stress prolongs the telogen stage in the hair cycle of mice. *Experimental Dermatology*, **12**, 371-377, 2003.
- 21) Liao S, Lv J, Zhou J, Kalavagunta PK and Shang J : Effects of two chronic stress on mental state and hair follicle melanogenesis in mice. *Experimental Dermatology*, **26**, 1083-1090, 2017.
- 22) 田中喜秀, 脇田慎一: ストレスと疲労のバイオマーカー. 日本薬理学雑誌, **137**(4), 185-188, 2011.
- 23) Peters MJ, Arck PC and Paus R : Hair growth inhibition by psychoemotional stress: A mouse model for neural mechanisms in hair growth control. *Experimental Dermatology*, **15**, 1-13, 2006.

(平成30年7月23日受理)

## Estimation of Hair Growth in Mice by Image Analysis

Hironori NAKAMURA and Sachi MIYAKE

(Accepted Jul. 23, 2018)

**Key words** : hair growth, image analysis, mice, stress

### Abstract

This study was conducted to establish a method to estimate hair growth in mice by image analysis. First, the procedure and the performance for image analysis using ImageJ software was confirmed. As a result, it was found that the area of figures area measured by image analysis corresponded to the calculated area, and the mean pixel value reflected the light and dark of the figures. Next, estimation method of hair growth in mice by image analysis of a photograph was examined. The hair on the back of mice was removed to induce hair growth (anagen stage) , so that the hair growth rate could be evaluated based on the difference in color (pixel value) between the hair and the skin. The hair growth rate on day 14 after hair removal was 65.5% in the control group (non-stress) and 22.9% in the chronic stress group, which was subjected to a restraint stress for 2 h a day. The image analysis of a photograph by ImageJ was found to be useful for objective estimation of hair growth in mice.

Correspondence to : Hironori NAKAMURA

Department of Clinical Nutrition  
Faculty of Health Science and Technology  
Kawasaki University of Medical Welfare  
Kurashiki, 701-0193, Japan

E-mail : [hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp](mailto:hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp)

(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.28, No.1, 2018 125 – 133)

