



トモグラフィック光学顕微鏡イメージング

河 田 聡

大阪大学工学部応用物理学教室 〒565 吹田市山田丘 2-1

(1985年6月28日受理)

Tomographic Optical Microscope Imaging

Satoshi KAWATA

Department of Applied Physics, Faculty of Engineering, Osaka University,
2-1, Yamadaoka, Suita 565

1. はじめに

医学・生物学の分野において、光学顕微鏡下で試料の内部立体構造を観察したいという要求はきわめて高い。厚みのある試料組織を物理的・化学的に、あるいは生物学的にも破壊することなくその内部構造分布が定量的に観察できれば、試料の分析・研究に大いに役立つことであろうし、光学顕微鏡の応用範囲を広げることできるかもしれない。本稿では光波を用いたトモグラフィーの原理と応用について概観し、そのうち光学顕微鏡下でのトモグラフィー実現の方法について紹介する。これらの研究はまだ実績も多くなく議論も尽くされているとはいえないが、それだけに可能性も秘めており、とくに2次元画像処理と光学における逆問題において研究開発・体系化された技術・理論はこの3次元逆問題の実現に大きく寄与するものと思われる。また、生物・医学分野にとどまることなく、工業（表面分析、IC検査、フェイバ測定等）、燃焼・プラズマ計測、大気汚染計測等、広範な分野での応用が期待できる。

トモグラフィー (Tomography) という術語は1935年にドイツ人 Grossman によって命名された造語である¹⁾。Tomo- はギリシャ語で cut, slice を意味し²⁾、graphy は描くことであることより、3次元物体を物理的に slice することなくその断面分布を可視化する方法ということになる。最近ではトモグラフィーといえどもっぱら Radon 逆変換である CT (computed または computerized tomography) を指すようになったが、以前(最初の CT スキャナが発表されたのは1971年³⁾)は

X線源をフィルムを同期して露光中に逆方向に動かし軸となる断面のみを静止画像とし、他面は流れ写真として記録するレントゲン写真法のことを意味した^{1,4,5)}。適当なレンズ材料をもたないX線による、3次元物体の焦点深度の浅い結像法であったわけである。

さて、X線を光波(赤外～可視域)に置き換えてみるとさまざまな問題点が生じてくる。まずX線トモグラフィーではX線波長が十分短いことより幾何光学で説明できるが、線源をそのままレーザー等の光源に置き換えると、厳密には回折や散乱の影響を無視することはできない。また空間的にインコヒーレントな照明光学系を用いると焦点深度が浅くなり、投影系が投影方向の線積分で表わせなくなり、体積積分を解く必要が生ずる。一方、X線に対しては透明で見えなかった物質が、光の波長を用いればその電磁波を吸収し、選択波長での光学密度分布を観察することができるようになる。測光法にしてもX線やγ線では吸光と発光に限られていたが、光波を用いれば反射、散乱、蛍光の他、ホログラフィックに位相情報を利用して屈折、偏光情報を利用して複屈折等、種々な方法が考えられる。

2. 光学トモグラフィー: Survey

潜在的需要は高かったにしろ実際に光学トモグラフィーが文献に現われ出したのはきわめて最近のことである。ほとんどが1980年前後以降のことである。表1に光を用いたトモグラフィーの文献のおもなものをまとめた。本稿では3次元物体の投影データから逆変換することにより断面分布が再生されるものをトモグラフィーと

表1 光学トモグラフィ分類

方法	X線トモグラフィ	数学: 投影/再生	光学トモグラフィ応用例
ビーム走査, 投影, 放射	X線 CT, ECT	線積分(Radon 変換)/Radon 逆変換, 線積分(Abel 変換)/Abel 逆変換	大気汚染測定 (CO ₂ レーザー, YAG:LiNbO ₃ 4 μm) ^{18,19)} プラズマ放射計測(H _β 486nm, He II 469nm) ⁹⁾ 化学炎吸収計測(He-Ne 3.39 μm) ¹¹⁾ 原子蒸気測定(Ar 514.5 nm) ^{20,21)} 熱対流等屈折率測定 ^{22,23)} ファイバ残留応力測定(He-Ne 632.8 nm) ²⁴⁾
3次元結像法, フォーカシング	モーショントモグラフィ, CAI	3次元結像/3次元逆変換(ディコンボリューション)	蛍光顕微鏡(ショウジョウバエ DNA) ³²⁾ 透過顕微鏡(昆虫羽毛, 大腸粘膜細胞核核 ³³⁾ Urothel 核) ²⁹⁾
偏斜照明法	トモシンセシス, マルチピンホールカメラ	線積分/逆変換	透過顕微鏡(アオミドロ ⁵³⁾ , ラット脳神経) ⁵¹⁾
回折	X線回折	回折/逆回折(Born 近似, Rytov 近似) ^{47,48)}	実験例なし

定義し、光学的に直接断面部のみを照射・観察する光散乱法⁶⁻⁸⁾等は除外した。

第1番目のカテゴリーはX線CT, あるいはγ線のemission CT (ECT) 技術の光波領域への直接的な応用である。このカテゴリーで比較的早くから研究が試みられたのが、燃焼・プラズマ計測における化学種(radicals, pollutants)の密度分布測定である⁹⁻¹²⁾。これらの分野では従来、気化原子あるいはプラズマが軸対称で円筒状をしており半径方向にのみ分布しているとの仮定の下に、発光あるいは吸光カラムの断面分布がAbel逆変換¹³⁾を用いて求められていた¹⁴⁻¹⁶⁾。しかし軸対称でない場合はトモグラフィ的手法に頼らざるをえない。MyersらはH-Heのバイカスプ型トロイダルプラズマのH_β線486.1 nmとHe II 468.6 nm線の発光を外側で測光し、emission CTの原理でその密度分布を再構成した⁹⁾。GoulardらはX線CTの原理をレーザービーム走査による化学炎の化学種の吸収測定に直接応用することを提案し¹⁰⁾、Santoroらは実際にメタン-空気炎フロージェット噴流をHe-Neレーザー3.39 μm線を用いて12方向から吸収測定し、流れの断面分布をCT法により再構成した¹¹⁾。センサーを炎内に直接挿入することなく非接触で炎内化学種分布が求まることのメリットは大きい。一方、Stuck¹⁷⁾、続いてWolfe, Byerら^{18,19)}は大気汚染のリモートモニタリング法としてのCT応用を提案し、コンピュータシミュレーションを行なっている。これはlaser raderによる吸収測定を発展させたもので、Stuckは最大20台のレーザーと検知器のア

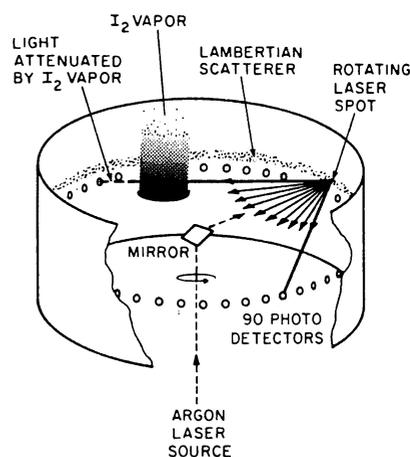


図1 ファン・ビーム光学トモグラフィ概観図
回転ミラーはLambertian散乱スクリーンにレーザービームのスポットを走査する。スクリーンと検出器は半径28 cmの円周上に位置する²¹⁾。

レイを想定して画質を検討し¹⁷⁾、またByerらは1本のレーザー(10.6 μm CO₂ レーザーあるいはNd:YAG励起LiNbO₃ 4 μmパラメトリック発振器)とミラー群を用いて10 km直径程度の領域の汚染雲を200 m分解で再構成できる(汚染濃度にもよるが実際的なものを想定)ことを確認した¹⁹⁾。Bennettらはヨウ素結晶から昇華上昇するヨウ素蒸気の濃度をAr⁺レーザー514.5 nmを用いて吸収測定し、観測データからCTの原理に基づきその断面分布を再構成した^{20,21)}。実験装置がよく工夫されているので図1に紹介する。

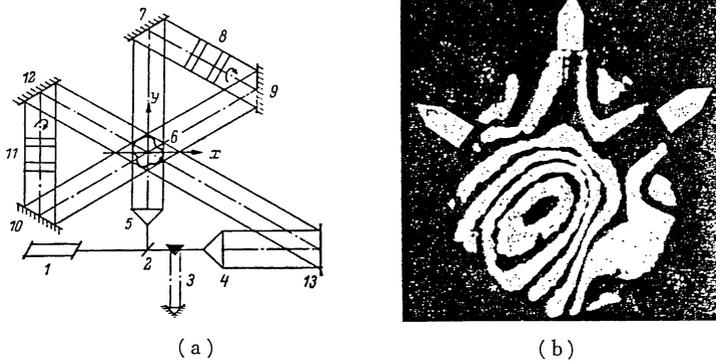


図 2 (a) トモグラフィック干渉計²³⁾
 1: LG 38 レーザー, 2: ビームスプリッター, 3: 光路長補償器,
 4, 5: ビームエクスペンダ, 6: 物体, 7, 9, 10, 12: 平面鏡,
 8, 11: Dove プリズム, 13: カメラ.
 (b) 0.2 mmφ ニクロム線を熱することにより生じた熱対流の断面
 を示す干渉縞パターン

屈折率分布測定においても光の直進近似を仮定すれば CT 法が直接利用でき、干渉法を用いて 3 次元屈折率分布断面を非破壊的に求めることができる^{22, 23)}. Vishnyakov らは 1 本のコリメートビームを繰り返し異なる方向から試料通過させて、 z 軸方向には試料の屈折率分布は変わらないとの仮定の下に逆投影操作 (1 次元データをその直交方向に沿って 2 次的に展開すること) を z 軸方向に自動的に行ない、Dove プリズムで回転 (ただし 60°) させ、透過による投影の操作と組み合わせ、機械・電子走査なしに実時間で断面分布を再生する方法を提案した²³⁾. 図 2 にその光学系と、この系によって観察したニクロム熱線上の熱対流の断面分布を示す. 光弾性においても同様にして CT 法が使え、各方向での透過光の偏光状態より試料内部の応力分布が測定できる. この場合も光の直進近似成立が必要である. 阿部らは偏波面保存光ファイバの軸方向残留応力分布を測定している²⁴⁾.

光学トモグラフィーの 2 番目のカテゴリーは奥行のある物体のレンズによる結像データからの 3 次元再構成法であり、この場合トモグラフィーという術語は通常用いられていない (表 1 第 2 カラム). 3 次的に広がっているインコヒーレント発光物体の発光強度分布をレンズを介した結像データセット (結像位置も 3 次元に分布するので複数枚の強度分布画像セット) から推定する問題は、結像系の 3 次元 PSF (点像分布関数) または OTF (伝達関数) を知ること²⁵⁻²⁸⁾ により観測データからの光源分布の逆問題に帰着する. 吸収物体の 3 次元結像になると OTF は照明系 (光源) を考慮しなければならない. 部分コヒーレント照明下における 3 次元物体の OTF

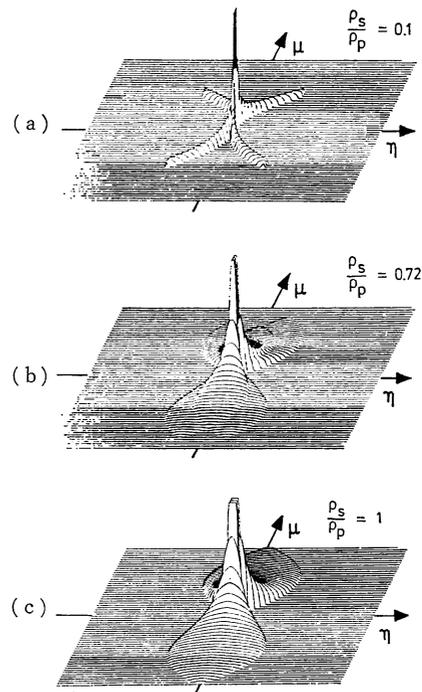


図 3 部分的コヒーレント照明下における透過型光学顕微鏡の 3 次元 OTF²⁹⁾
 ρ_s および ρ_p はそれぞれ照明系と結像系の開口を表わし、 η は光軸方向、 μ は光軸に直交する平面の空間周波数を表わす.

は、Streibl が Born 近似を用いて求めている²⁹⁾. 図 3 に OTF のプロットを示す. この原理の実用例はまだわずかしかなく、またそれらはいずれもインコヒーレント照明系に限られている. Agard らはショウジョウバエ

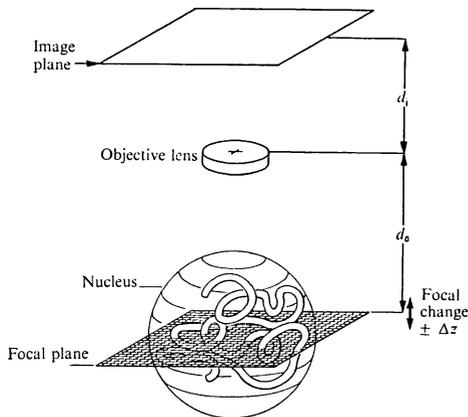


図4 顕微鏡像からの3次元再構成法における光学系³²⁾

対物レンズから像面までの距離 d_i とレンズの焦点距離 f は固定される。観測像は焦平面からのインフォーカス像と、試料の残りの面からの焦点はずれ像の合成として得られる。

の蛍光染色された DNA 染色体の3次元分布を蛍光顕微鏡で観察し、試料内フォーカス位置を少しずつ変えて観測したデータから、Jacobi の反復法でディコンボリューションすること^{30,31)}により各断面分布再生を試みた³²⁾。原理図を図4に転載する。Erhardtらは昆虫羽毛、大腸細胞核等を透過光学顕微鏡で観察し、3次元 OTF の逆フィルタを3次元フーリエ空間において施した³³⁾。吸収は十分小さいと仮定して、強度は吸収係数に線形比例すると近似した。Streibl は実験例としてはインコヒーレント照明下での Urothel 核の3次元吸収分布をやはり観測データに空間フィルタリングを施すことにより推定した²⁹⁾。用いたフィルタはより簡単に、3次元ラプラスアンと断面内平滑フィルタの積である。これらの方法では対物レンズの開口数 (NA) により通過周波数帯域は光軸方向に厳しく制限を受けているため、再構成は特異系の逆問題となり一般には不可能である。そこで上述の実験では通過帯域内の最適解を求めているにとどまっている。もし物体の拡がり有限なら、超解像問題の場合と同様に、理論的には解析的に唯一解が存在するが³⁴⁻³⁶⁾、系の条件はきわめて悪いから強い拘束と最適化理論の導入が必要である。X線トモグラフィーの分野では古典的なモーショントモグラフィーがその結像系においてこのカテゴリーに当てはまる。モーショントモグラフィーにおける再生法、すなわち絶対濃度分布計算法も最近研究されている³⁷⁾。またエネルギー収集効率の高いX線や γ 線の放射源分布の結像法である CAI (coded aperture imaging)³⁸⁾におけるトモグラフィー能

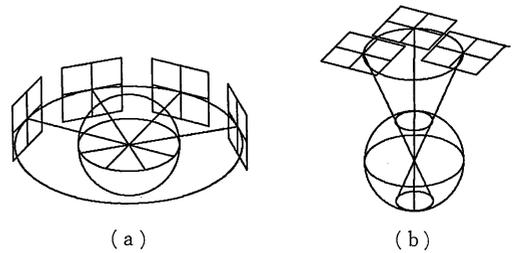


図5 (a) X線 CT における投影系と (b) トモシンセシスおよび著者らの提案した光学顕微鏡トモグラフィーにおける投影系の原理図³³⁾

力の原理^{39,40)}もこのカテゴリーに含まれる。

3番目のカテゴリーはX線ではトモシンセシスと呼ばれる手法^{41,42)}と類似しており、 γ 線のマルチピンホールカメラ⁴³⁾とも対応づけられる(表1第3カラム)。この手法ではスライスする平面上に検出器あるいは線源を並べるのではなく、試料から離れた平面上にそれがある(図5参照)。著者らはこの光学的にこの手法を実現している。詳細は次節以降に述べる。

先に触れたように光学トモグラフィーの場合厳密には光の直進近似は成立せず、回折や散乱の影響を考慮しなければならない。回折・散乱像からの物体分布の推定となると逆回折問題⁴⁴⁾、逆散乱問題⁴⁵⁾となる。とくに3次的に分布する散乱・回折物体の再生には CT と同じくその周囲での回折波位相分布の観測データが必要である⁴⁶⁾。回折波の振幅が入射波のそれと比べて十分小さいとき(全光路での屈折率変化が十分小さいとき)1次の Born 近似あるいは Rytov 近似を用いて屈折率分布を再構成する手法が Wolf⁴⁷⁾、岩田ら⁴⁸⁾によって提案されており、最近超音波の分野において注目されている^{49,50)}。

3. 光学顕微鏡トモグラフィー：投影光学系

光学顕微鏡下でトモグラフィックイメージングを実現するためには投影系の装置化に工夫が必要である。オーソドックスなやり方としては、X線 CT と同様に、試料をステージに固定してそれを中心に光学系(鏡筒、カメラ、照明系)を回転させ(あるいは現実的には、光学系を固定し試料ステージを回転させる)、多方向からの投影像を観測する装置が考えられる。しかし光学顕微鏡下では、試料が面内に拡がりをもっている場合、対物レンズと試料ステージの間に 360° 回転させるだけのスペースはなく、観察方向の制限を受ける。また傾いた試料像を観察することになるため、光軸からはずれた位置での

焦点はずれ像における収差, 結像特性等の考慮が再構成において必要となる. 以上の理由にも依るのであろうか, この原理に基づく光学顕微鏡トモグラフィーの文献は見当たらない.

光学顕微鏡下で3次元構造を観察する方法の提案はこれまで前節2番目のカテゴリー(表1第2カラム)に含まれるのに限られていた. この方法の原理はすでに図4に示した. 通常の光学顕微鏡下で焦点深度を浅くして厚みのある試料を観察すると試料中で像面と結像関係を満足する断面のみフォーカスし, 他面はそれぞれボケ量の異なるディフォーカス像としてフォーカス像に重畳する. 試料を光軸方向に移動させ, このような重畳像を複数枚収集し, 3次元 PSF をディコンボリューションしてやることにより各断面分布を回復する. ここで問題となるのは, i) OTF プロット(図3)より明らかなように対物レンズの NA で決まる系の角度制限があり, 逆フィルタは存在せず解はユニークに求まらないこと, ii) NA を大きくするにつれ角度制限は緩和されるが逆にスライス方向に OTF 高域が急速に値を下げ帯域内における条件が悪くなること (NA を大きくすれば分解能が高くなるという直感に反するかもしれないが, これはフォーカス面のみに関してであり, 厚みのある試料全体に対しては高周波情報の透過率は下がる), iii) 焦点位置においてのみ収差を小さくする注意が払われているレンズ系を用いて3次元 PSF を実測すると, 理想レンズを仮定して数学的に求められた3次元 PSF とは異なる可能性が高いこと, iv) PSF が3次元的拡りをもつため, 再構成のための計算時間は膨大なものとなること, 等である. これら四つの問題に対し十分な議論はなされていない.

著者らの提案している方法は, 基本的に通常の光学顕微鏡を用い光軸をずらすことによって試料を斜め方向から観察し, 観察方向を変えることによって多数枚の投影像を得るものである⁵¹⁻⁵³⁾. この方法の原理は実体顕微鏡と同じである. 実体顕微鏡(図6)において試料は左右の目で人工的に作られた視差角 θ をもって観察されるが, いずれかの像面上1点で得られる強度は, 図中網点領域内の発光, 散乱の積分値であり, 試料中ではそれは $\theta/2$ 方向の投影を表わす. この原理を普通の光学顕微鏡で実現すると図7のようなになる. この図は図6の片側の目での観察系に対応しており, 異なる2点から像面への光束を示している. 対物レンズ後ろ焦平面(あるいは接眼または投影レンズ後ろ焦平面でもよい)に off-axis に小さな開口を設けることにより, 結像面には試料の斜め

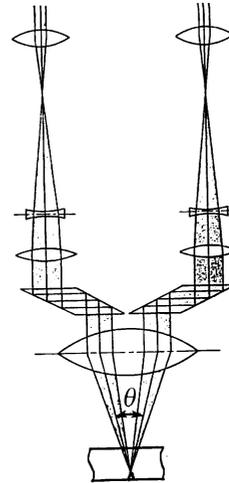


図6 実体顕微鏡光学系

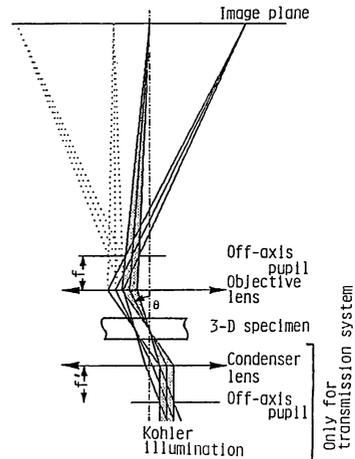


図7 トモグラフィック光学顕微鏡イメージングの光学系^{52, 53)}

方向の投影像が得られる. この絞りにより対物レンズの NA が小さくなるため焦点深度は深くなり多層断面再生に効果的であるが, 逆に面内分解能は低下する. 透過光学系の場合は off-axis な開口はコンデンサ絞りの位置に設けてもよい. この場合, 対物レンズ後ろの絞りは必ずしも必要でなく, 焦点深度はコンデンサの NA より深くなりながらも面内分解能は Hopkins の理論⁵⁴⁾より対物レンズの NA ではほぼ決まりさほど低下しないということになる. レーザー光照明の場合を考えれば納得できると思われる. 要するにこの場合は部分的コヒーレント照明になっているわけであり, かつ偏斜照明光学系である. ここで off-axis 絞りを顕微鏡軸中心に回転させると照射方向, あるいは観察方向が変わり, 顕微鏡本体(鏡筒, レンズ群, ランプ等)および試料自身をい

っさい動かすことなく同一像面内(普通 TV カメラ光電面)に異なる方向からの投影像が得られる. この方法の問題点としては, 照明系がある場合, 部分的コヒーレント照明となり(結像系にも絞りを設け同期して回転させればインコヒーレント照明になるが装置化が面倒で, 分解能も低下する), また他の方法と同様に角度制限の問題が残る. 一方, 投影光学系においては装置としては通常の光学顕微鏡を改造せずそのまま使用でき, 顕微鏡本体, TV カメラ, 試料のいずれも動かさなくてもよいという決定的長所をもっている. また再生するにあっても利点があるが, それについては後述する.

4. 光学顕微鏡トモグラフィー: 再構成法

トモグラフィーは一般に投影 (projection) 系と再生 (reconstruction) 系が必要である. 投影データから元の 3次元物体の分布を回復する再生系の役割は普通コンピュータが受け持つ(かつては光学的に実現しようという試み⁵⁵⁻⁵⁷⁾もあったが最近ではコンピュータの著しい発達の際に新たな提案は見られないようである). その内容は線形システムの逆問題で結局線形方程式を解くことである. いま投影データと 3次元物体をそれぞれベクトル表記して p , および o で表わすと, トモグラフィックイメージングは一般に次式に帰着する^{58,59)}. すなわち,

$$p = Ho \quad (1)$$

ここで p および o はそれぞれ投影像の画素および 3次元物体の体積素を要素として構成されたベクトル, H は投影の操作を表わす行列であり, その要素は物体を通過あるいは物体から発光して結像面に届く光束, すなわち PSF を表わす. 再生系の仕事は投影系で得られた p から o を回復することである. (1)式の最小二乗解 \hat{o} は

$$\epsilon = \|p - H\hat{o}\|^2 \rightarrow \min. \quad (2)$$

により求め $H^t H$ が正則ならば解は

$$\hat{o} = (H^t H)^{-1} H^t p \quad (3)$$

となる. H^t はいわゆる逆投影 (back projection) を表わし, $(H^t H)^{-1}$ は CT においては 2次元の Rho-フィルタである. この式は, 投影データからまず逆投影した後, 2次元 Rho-フィルタをコンボリューションすることを表わす^{58,59)}. (3)式を書き改めると

$$\hat{o} = H^t (HH^t)^{-1} p \quad (4)$$

となり, ここで $(HH^t)^{-1}$ は CT においては 1次元の Rho-フィルタを表わす. すなわち, この式は現在 X線 CT で実際に用いられている Filtered Back Projection 法を表わしている^{58,59)}. ところがここで問題なのは, 光学顕微鏡トモグラフィーではいずれの手法においても

察角度制限から H は特異系となり, その逆関数は一般には存在しないのである. 図5は3次元 X線 CT の投影系と著者らの提案する光学顕微鏡トモグラフィーの投影系の原理を比較したものである. 角度制限の問題は X線トモグラフィー (モーショントモグラフィー³⁷⁾, CT^{60,61)}, ECT⁶²⁾, CAI^{63,64)} 等) においても解決すべき重要課題として研究が進められており, より一般的な不完全情報からの信号回復論で開発された理論・アルゴリズム^{34,65,66)}の応用が提案されている^{37,58-64)}.

もっとも簡単に導入できる方法は物体の拡がり寸法を先験情報として用いそれにより解を拘束する手法である. 式で表現すると

$$T\hat{o} = \hat{o} \quad (5)$$

となる. T は物体・試料の外形寸法, 形状を表わす行列 (対角行列で, その要素は 0 または 1 である) であり, (4)式により o の推定解 \hat{o} は, T によって拘束された範囲外に値をもたない. これを (2)式に代入すると

$$\epsilon = \|p - HT\hat{o}\|^2 \rightarrow \min \quad (6)$$

より,

$$TH^t p = TH^t H T \hat{o} \quad (7)$$

が得られる^{58,59)}. この (7)式を Jacobi の反復法で解くことは, X線 CT の反復法の一つとしてよく知られる SIRT 法⁶⁷⁾において各反復ごとに先験情報より試料領域外をゼロにすることと同じであり, また Gerchberg-Papoulis の反復法^{68,69)} (それを CT にそのまま応用したのが Tam-Perez-Mendez 法^{61,62)}を各反復回でフーリエ変換せず, すべて実面で実行 (Truncation はフーリエ面ではコンボリューションなのでこれは可能) することともまったく同じことである^{70,71)}. Jacobi 法は周知のように, 系の条件が悪い場合, 収束はきわめて遅いため, 今回のような場合は使用するメリットはあまりない. 収束性を高めるためには最急降下法⁷²⁾を用いることができるが (CT における ILST 法⁷³⁾と呼ばれるものはこれと同等), 決定的に早めるためには, 有限回収束が保証される共役勾配法を用いるべきであろう. Kawata らは角度制限に限らず flash tomography など投影データが不備な場合に対して共役勾配法を用いることを提案したが⁵⁹⁾, とくに条件が悪い場合を考慮して, 最小二乗法 ((6)式) の代りに最小二乗平均誤差 (MMSE) 規範を導入した^{58,59)}. すなわち観測投影データは (1)式に雑音 n を加えて,

$$p = Ho + n \quad (8)$$

で与えられ,

$$\epsilon = E \|\hat{o} - o\|^2 \rightarrow \min. \quad (9)$$

を解く. ここで $E\{\cdot\}$ は期待値を表わし, \mathbf{o}, \mathbf{n} は確率過程と見做される. それぞれが無相関確率過程であると仮定すると(9)式より次式が導かれる.

$$TH^*p = T(H^*H + \gamma I)T\hat{o} \quad (10)$$

ここで $\gamma = \sigma_n^2 / \sigma_o^2$, ただし σ_n^2 および σ_o^2 はそれぞれ物体と雑音の分散であり I は単位行列を表わす. これを解くことは信号対雑音比を帯域内一定と仮定することによって簡化した Wiener filtering であり, regularized inverse filtering とも解釈できる.

(10)式を共役勾配法で解くことは, 先に述べたように他の反復法を用いるのと比較して計算時間の点で圧倒的に有利であり, 直接逆行列を求めるのと比べメモリ容量も十分小さく済む (ただし, H が非常に疎である場合). 実際には行列 H あるいは H^*H の配列をメモリにもつ必要はなく, 線積分を関数でもって実行してやればよい. とくに著者らの提案する顕微鏡トモグラフィックイメージングにおいては, i) PSF が3次元的に拡がら

ず直線で近似できるため H の要素はよりいっそう疎であり, 計算量が大幅に圧縮できること, ii) もし PSF が, 焦点位置からはずれるに従い拡がる場合も, それを無視してまず再生してから各断面ごとにディコンボリューションできること (回転系が光軸中心であるため, PSF が各面ごとに独立 shift invariant になるため), iii) 投影像観察面が同一平面内に含まれ, かつその XY 軸が回転しないため, 3次元試料再構成の Cartesian 座標系との間に平行移動のみで座標回転する必要がないこと, 等の利点がある.

5. 実験例

透過光学顕微鏡を用い, Köhler 照明系コンデンサ絞りの位置にパルス回転ステージを設け off-axis な開口をコンピュータ制御で回転させることにより, 多方向からの投影像を CCD カメラで撮像し, コンピュータに転送するシステムを試作した. 実際には(1)式の線形方程式

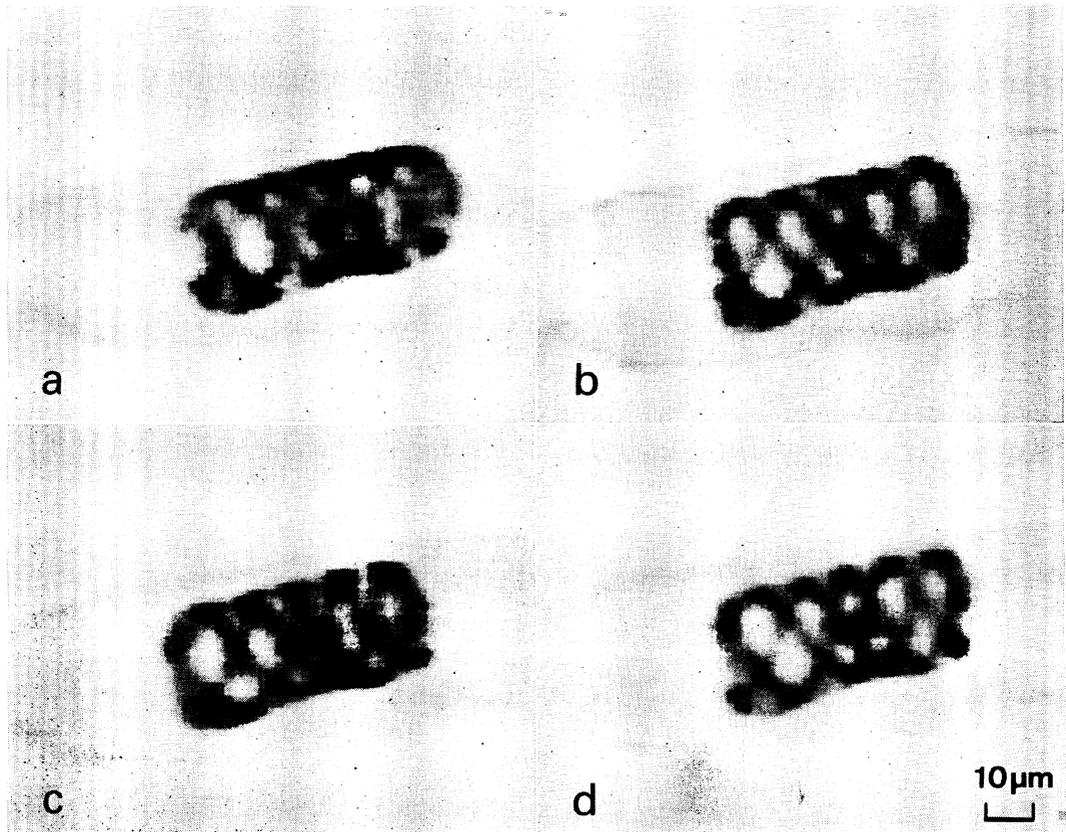


図8 顕微鏡軸と 18° の角度をなして照明して得られたアオミドロの透過顕微鏡写真のうち4枚絞りの位置を 20° ごとに回転させ12方向から観測したが, これらはそのうち直交する4方向からの照明による像⁵³⁾

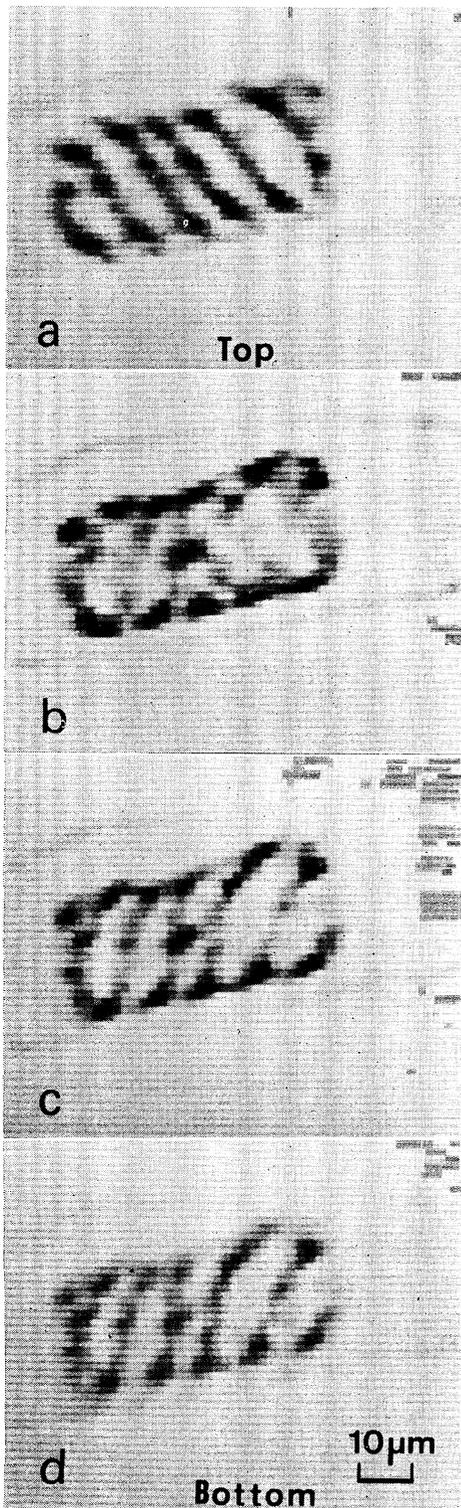


図9 図8に示した4枚を含む12枚のアオミドロの顕微鏡像から、再構成した断面分布各層間は $5.4 \mu\text{m}^{53)}$

を満足するように、試料のない状態での透過強度分布をあらかじめ取り込み、これで試料透過強度を割算し、さらに対数変換している。すなわち投影データは光学密度(あるいは吸収係数)の線積分の形で得られる。図8はこのシステムを用いて直交する4方向から観察したアオミドロの顕微鏡写真である⁵³⁾。用いた対物レンズは、 $20\times(NA=0.4)$ 、コンデンサの $NA=0.17$ 、顕微鏡軸と照明系光軸とのなす角は 18° である。コンピュータに取り込まれた状態では 64×64 画素、1画素 $1.8\times 2.3 \mu\text{m}^2$ で構成されている。この4枚の画像においては、それぞれ物体の奥行情報は失われているが、この4枚を含む同一円周上の12方向からの投影像12枚から物体の厚み寸法を実際の2倍で拘束し共役勾配法で反復再構成を行なうと図9が得られる⁵³⁾。1体積素は $1.8\times 2.3\times 5.4 \mu\text{m}^3$ である。すなわち図における各層間の距離は $5.4 \mu\text{m}$ である。アオミドロのコイル構造の断面として上層、下層ではそれぞれ異なる方向の縞が、中層では両側の点列が再生されているのが観察できる。面内分解能は対物レンズとコンデンサレンズの NA 比で決まりHopkinsの式によれば $1.1 \mu\text{m}$ 、奥行分解能は雑音が小さいか系の状態(condition)がよければ、拘束した厚み寸法を観察像枚枚で割ることにより求まり、 $5.4 \mu\text{m}$ となる。ただし実験ではCCDのブルーミングおよび電気系の帯域により面内分解能は低下し、サンプリング間隔 $1.8\times 3.2 \mu\text{m}^2$ 以下になっていると思われる。

6. おわりに

光学トモグラフィーの研究の動向について概観し、とくに光学顕微鏡を用いた3次元物体吸収密度分布の記録と再生法についておよびその関連について最近の研究を紹介した。ものをそのまま見える状態で観察するのではなくデータ処理、変換の後にはじめてその分布が明らかになるというのは、光学トモグラフィーに限らず多くの計測法において、とくに最近経験することである。そこにおいては高 SN 比、良条件系、高精度高速計算能力等が不可欠で、最近の検出素子、コンピュータの発達、あるいは高度信号処理法の開発の寄与に依るところが大きいと思われる。

紹介した光学顕微鏡トモグラフィーの今後の課題としては、部分的コヒーレント照明下での結像特性の取扱い(ひいては分解能と焦点深度の関係)、回折や散乱の問題、新たな拘束条件の導入(非負条件や自己回帰モデル適合等)等、議論すべき点も多く、また微分干渉、蛍光、反射等各種顕微鏡への応用も期待されると思われる。

最後に日頃ご指導いただいている阪大工学部南茂夫教授, ならびに本稿を執筆するに当たりご助言をいただきました内田照雄助教授に感謝いたします。

文 献

- 1) D. Westra: "History of tomography," *Modern Thin-Section Tomography*, ed. A. Berrett, S. Brunner and G.E. Valvassori (Charles Thomas Publ., Springfield, 1965).
- 2) N. Lewis: *Word Power Made Easy* (Pocket Books, New York, 1949).
- 3) G.N. Hounsfield: Br. J. Radiol., **46** (1973) 1016.
- 4) A. Macovski: *Medical Imaging Systems*, Chap. IV, Lecture Note (Stanford University, Stanford, 1976).
- 5) W. Swindell and H.H. Barrett: Phys. Today, **30**, 4 (1977) 32.
- 6) 辻 二郎, 西田正孝, 河田幸三: 光弾性実験法, 7.4 散乱光法 (日刊工業新聞社, 東京, 1965).
- 7) H. Kubo, T. Hirose and R. Nagata: *ICO-13 Conf. Digest*, Sapporo (1985) p. 172.
- 8) 守矢一男: 光学, **14** (1985) 97.
- 9) B.R. Myers and M.A. Levine: Rev. Sci. Instrum., **49** (1978) 610.
- 10) R. Goulard and P.J. Emmerman: "Combustion diagnostics by multiangular absorption," *Inverse Scattering Problems*, ed. H.P. Baltes (Springer-Verlag, Berlin, 1980).
- 11) R.J. Santoro, H.G. Semerjian, P.J. Emmerman and R. Goulard: Int. J. Heat Mass Transfer, **24** (1981) 1139.
- 12) M.K. Salakhov, I.D. Grachev, R.Z. Latipov and I.S. Fishman: Comput. Enhanc. Spectrosc., **2** (1984) 117.
- 13) R.N. Bracewell: *Fourier Transform and Its Applications* (McGraw-Hill, New York, 1978) pp. 262-266.
- 14) 南 茂夫: ぶんせき, **8** (1982) 40.
- 15) H.R. Griem: *Plasma Spectroscopy* (McGraw-Hill, New York, 1964) pp. 176-178, and 234.
- 16) M.W. Blades and G. Horlick: Appl. Spectrosc., **34** (1980) 696.
- 17) B.W. Stuck: J. Opt. Soc. Am., **67** (1977) 668.
- 18) R.L. Byer and L.A. Shepp: Opt. Lett., **4** (1979) 75.
- 19) D.C. Wolfe and R.L. Byer: Appl. Opt., **21** (1982) 1165.
- 20) K. Bennett and R.L. Byer: Opt. Lett., **9** (1984) 270.
- 21) K.E. Bennett, G.W. Faris and R.L. Byer: Appl. Opt., **23** (1984) 2678.
- 22) Y. Murayama, K. Iwata and R. Nagata: Jpn. J. Appl. Phys., **16** (1977) 1171.
- 23) G.N. Vishnyakov and G.G. Levin: Opt. Spectrosc. (USSR), **53** (1982) 434.
- 24) 阿部徹治, 満永 豊, 古賀広昭: 第45回応物学会予稿集 (1984) p. 88; 第32回応物連合講演会予稿集 (1985) p. 46.
- 25) L. Mertz: *Transformations in Optics* (John Wiley, New York, 1965) p. 101.
- 26) B.R. Frieden: J. Opt. Soc. Am., **56** (1966) 1495.
- 27) B.R. Frieden: J. Opt. Soc. Am., **57** (1967) 56.
- 28) N. Streibl: Optik, **66** (1984) 341.
- 29) N. Streibl: J. Opt. Soc. Am., **A 2** (1984) 121.
- 30) B. Wendroff: *Theoretical Numerical Analysis* (Academic, New York, 1966).
- 31) S. Kawata and Y. Ichioka: J. Opt. Soc. Am., **70** (1980) 762.
- 32) D.A. Agard and J.W. Sedat: Nature, **302** (1983) 676.
- 33) A. Erhardt, G. Zinser, D. Komitowski and J. Bille: Appl. Opt., **24** (1985) 194.
- 34) A. Papoulis: *Signal Analysis* (McGraw-Hill, New York, 1977) Chap. 6.
- 35) D. Slepian and H.O. Pollak: Bell Syst. Tech. J., **40** (1961) 43.
- 36) J.L. Harris: J. Opt. Soc. Am., **54** (1964) 931.
- 37) S. Kawata and J. Sklansky: IEEE Trans. Med. Imag., **MI-4**, No. 3 (1985); S. Kawata and J. Sklansky: OSA Topical Meeting on Signal Recovery, Lake Tahoe (Jan. 1983) Conf. Digest FA 10.
- 38) N.O. Young: Sky Telesc., **25**, 1 (1963) 8.
- 39) T.M. Cannon and E.E. Fenimore: Appl. Opt., **18** (1979) 1052.
- 40) S. Kawata and J. Sklansky: Appl. Opt., **23** (1984) 1632.
- 41) G. Groh: Appl. Opt., **10** (1971) 2549.
- 42) D. Grant: IEEE Trans. Biomed. Eng., **BME-19** (1972) 20.
- 43) T.F. Budinger and G.T. Gullberg: "Emission Computed Tomography," *Image Reconstruction from Projections*, ed. G.T. Herman (Springer-Verlag, Berlin, 1979).
- 44) J.R. Shewell and E. Wolf: J. Opt. Soc. Am., **58** (1968) 1596.
- 45) H.P. Baltes ed.: *Inverse Scattering Problems* (Springer-Verlag, Berlin, 1980).
- 46) 岩田耕一: 応用物理, **49** (1980) 487.
- 47) E. Wolf: Opt. Commun., **1** (1969) 153.
- 48) K. Iwata and R. Nagata: Jpn. J. Appl. Phys., **14** Suppl. **1** (1974) 379.
- 49) A.V. Devaney: Ultrasonic Imaging, **4** (1982) 336.
- 50) A.V. Devaney: IEEE Trans. Geosci. Remote Sensing, **GE-22** (1984) 3.
- 51) 東木裕介, 河田 聡, 南 茂夫: 第15回画像工学コンファレンス論文集 (1984) pp. 43-46.
- 52) 河田 聡, 東木裕介, 南 茂夫: 第32回応物連合講演会予稿集 (1985) pp. 46-47.
- 53) S. Kawata and S. Minami: Proc. SPIE, **558**, *Inverse Optics II* (1985) 3.
- 54) H.H. Hopkins and P.M. Barham: Proc. Phys. Soc., **63** (1950) 72.
- 55) H.H. Barrett and W. Swindell: Proc. IEEE, **65** (1977) 85.
- 56) D.B. Kay and B.J. Tompson: Opt. Eng., **16** (1977) 45.
- 57) J.E. Greivenkamp, W. Swindell, A.F. Gmitro and H.H. Barrett: Appl. Opt., **20** (1981) 264.
- 58) 河田 聡, 南 茂夫: 信学技報, **ED 84-24** (1984) 19.
- 59) S. Kawata and O. Nalcioglu: IEEE Trans. Med. Imag., **MI-4** (1985) 65.
- 60) T. Inouye: IEEE Trans. Nucl. Sci., **NS-26** (1979) 2666.
- 61) K.C. Tam and V. Perez-Mendez: J. Opt. Soc. Am., **71** (1982) 582.
- 62) K.C. Tam, B. MacDonald and V. Perez-Mendez: IEEE Trans. Nucl. Sci., **NS-26** (1979) 2797.
- 63) M.Y. Chiu, H.H. Barrett, R.G. Simpson, C. Chou, J.W. Arendt and G. R. Gindi: J. Opt. Soc. Am., **69** (1979) 1323.
- 64) G.R. Gindi, R.G. Paxman and H.H. Barrett: Appl. Opt., **23** (1984) 851.

- 65) OSA Topical Meeting on Signal Recovery and Synthesis with Incomplete Information and Partial Constraints, Lake Tahoe (Jan. 1983) Conf. Digest.
- 66) Special Issue on Signal Recovery, J. Opt. Soc. Am., **73**, 11 (1983).
- 67) P.F.C. Gilbert: J. Theor. Biol., **36** (1972) 105.
- 68) R.W. Gerchberg: Opt. Acta, **21** (1974) 709.
- 9) A Papoulis: IEEE Trans. Circuits Syst., **CAS-22** (1975) 735.
- 70) J.B. Abbiss, M. Defrise, C. De Mol and H.S. Dhadwal: J. Opt. Soc. Am., **73** (1983) 1470.
- 71) S. Kawata, O. Nakamura and S. Minami: J. Opt. Soc. Am., **A 1** (1984) 1319.
- 72) B.S. Gottfried and J. Weisman: *Introduction to Optimization Theory* (Prentice-Hall, Englewood, 1973).
- 73) M. Goitein: Nucl. Instrum. Methods, **101** (1972) 509.