

## 解 説

## 局所統計量による顕微鏡 3 次元画像処理

伊東 一良・一岡 芳樹

大阪大学工学部応用物理学科 〒565 吹田市山田丘 2-1

(1989年1月9日受理)

## Image Processing for 3-D Microscopy Using Local Statistics

Kazuyoshi ITOH and Yoshiki ISHIOKA

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

## 1. はじめに

顕微鏡をのぞき込むと誰しもが経験することであるが、焦点の合っている部分と合っていない部分とが同じ視野内に存在することがよくある。顕微鏡が高倍率になるほどこのことは顕著になる<sup>1)</sup>が、試料ステージを上下させると、これらの領域が順に入れ替わり、最終的には視野全体にわたる試料の心像を得ることができる。また、ステージの位置と、そこで得られる画像とを関連させながらステージを上下させると、試料の3次元的な広がりに対する心像を得ることもできる。人が自然に行なっているこの一種の画像情報処理を、試料の微動機構とデジタル画像処理装置を用いて行なえば、客観的、かつ高精度な処理結果を得ることができる。計算機の発達とともに、最近この種の試みが数多くみられるようになった<sup>2-9)</sup>。このような顕微鏡画像処理は、重要な構成要素が3次元的に散在するような生体の3次元情報を1枚または数枚の画像にまとめあげる役目をもっているとも考えられる。適当な二つの角度から捉えられた被写界深度伸長像はステレオペアとしての意味ももっている。

ここでは、3次元的な広がりをもつ試料を上下に移動させながら得られる一連の顕微鏡画像の集合(焦点系列像)から、1) さきに述べた被野全体にわたって焦点の合った像、被写界深度伸長像(もしくは、焦点深度伸長像)の合成法と、2) 多層物体からの単一層画像の合成法、3) 非点収差光学系を用いた3次元表面形状計測法について解説する。なお、計算機の普及していなかった頃を中心に、光学的な方法のみで被写界深度伸長像を得ようとする方法<sup>10-13)</sup>や、機械的な運動と画像強度分布

の時間積分を用いる方法<sup>14,15)</sup>などがいくつか提案されている。興味のある方は、文献を参照されたい。

## 2. 合焦検出と被写界深度伸長像の合成

局所統計量フィルタによる合焦検出の方法を説明する前に、その元となる焦点系列像の性格について簡単に触れておこう。

当然のことながら、焦点系列像の中の各画像は3次元物体の2次元画像である。3次元物体の結像系については古くから論議されているが<sup>16-19)</sup>、基本的には非線形性を含む系であることに注意する必要がある。2次元物体の結像がその面内のおおの要素からの寄与の和となっているのに対して、3次元物体の結像においては、その奥行き方向に広がる要素からの寄与は、和よりはむしろ積の形をとる。端的に言う、光軸に垂直な不透明膜が3次元物体中に存在すれば、照明光や散乱光がこの膜によって遮られる構成要素は見えなくなってしまう。ここでは、物体が疎で各要素同士が重なり合わない場合や、各要素の光の吸収が比較的に少ないとき、また、3次元物体の表面のみを観測するような場合に話を限定する。

次に留意すべき点は、焦点系列像から直接得られる奥行き方向の分解能は、それに垂直な面内の分解能に比べてかなり低いという点である。これらのことは、顕微鏡が開口数で限られた角度の範囲内から対象をのぞいていることに由来している<sup>17-19)</sup>。これらの限界を越えた焦点系列像を得るには、光CTなどに使われている信号回復手法<sup>20)</sup>やコンフォーカル顕微鏡<sup>21,22)</sup>等を用いる必要がある。

## 2.1 被写界深度伸長像の合成

議論を簡単にするために、対象を3次元物体の表面に限り、その焦点系列像が得られたものとしよう。焦点系列像が光軸方向に十分細かくサンプルされていれば、明らかにこの物体の特定の部位は、必ず一度は焦点が合った状態で撮影されているはずである。もし、すべての画素に対してこの合焦位置の情報が得られれば、これを元に全ての画素上で焦点のあった合成像、被写界深度伸長像が得られる。原理的には、得られる被写界深度に制限はない。

いま、 $K$ 枚ある焦点系列像のうちの $k$ 枚目の画像の $(m, n)$ 番目の画素の明るさを $I_k(m, n)$ で表わすものとしよう。ここで、 $k$ は画像 $I_k(m, n)$  ( $m=1, 2, \dots, M, n=1, 2, \dots, N$ )がサンプルされた位置が $z=k\Delta z$ であることを意味する。各画素 $(m, n)$ において最も焦点の良くあった位置がわかっているものとし、その位置 $k$  (正しくは、 $k\Delta z$ )でのみ1となるような関数 $S_k(m, n)$ が与えられたものとする、被写界深度伸長像は次式のように表わすことができる。

$$I(m, n) = \sum_{k=1}^K I_k(m, n) S_k(m, n) \quad (1)$$

ここでは、 $S_k(m, n)$ をサンプリング関数と呼ぶことにしよう。もちろん、 $S_k(m, n)$ はある $k$ についてのみ1である必要はなく、 $k$ に関して広がりをもつことも考えられる。合焦位置検出とは、焦点系列像からこの $S_k(m, n)$ を決定する作業である。アカイエカの頭部の被写界深度伸長像の合成例を図1に示す<sup>6,7)</sup>。(a)は $S_k(m, n)$ が1の値をもつ $k$ を位置 $(m, n)$ の関数として濃淡表示したもの、(b)は合成結果である。図2の左側には焦点系列像が、右側にサンプリング関数が示されている。

## 2.2 局所的合焦検出

焦点系列像 $I_k(m, n)$  ( $k=1, 2, \dots, K$ )からサンプリング関数 $S_k(m, n)$ を決定する方法はいくつか提案されている<sup>3,6-9,23)</sup>。これらは二つのグループに分けることができる。

一つのグループは $I_k(m, n)$ が合焦位置で $k$ に関して極値を取るとする考え方に基づいている<sup>3,23)</sup>。注目する物が合焦位置からずれるとその像はボケるので、対応する画素の明るさは周囲の画素の明るさと混ざり合い平均化される。したがって、合焦位置では像の明るさは極値をとるであろうというわけである。もちろん、周囲の明るさの分布によっては極値をとらないこともある。極端な場合、一様な明るさをもつ物体では、 $I_k(m, n)$ は $k$ に対して変化しない。しかし、このように合焦検出自体

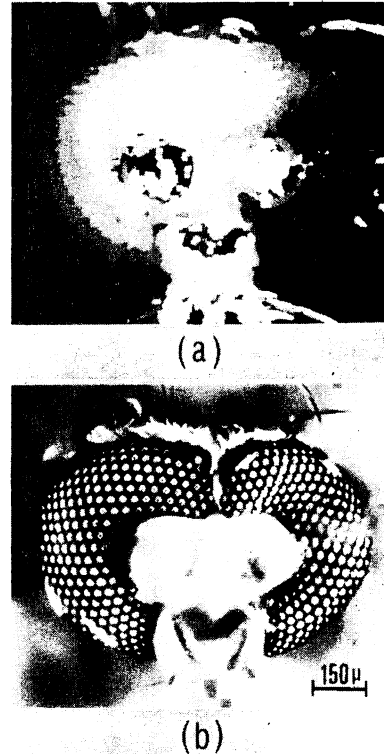


図1 被写界深度伸長像の合成例 (アカイエカの頭部)。サンプリング関数 (濃淡表示) (a)と合成結果 (b)が示されている。

が原理的に不可能な状況はここでは考えない。この極値の位置から合焦位置を求める方法は基本的に画素単位の処理であるので、高速でかつ空間分解能が高い。しかし、ノイズに弱く安定性の上で問題がある。

もう一方のグループは、注目する画素周辺の特定の領域 (ウィンドウ) 内の統計量に基づくものである<sup>3,6-9)</sup>。最も基本的な Pieper と Korpel の方法は、注目する画素を中心とする3画素×3画素のウィンドウ内の空間的差分の絶対値の和を合焦の目安としている。彼らのいう nondirectional difference は次のように定義される。

$$\begin{aligned} ND_k(m, n) = & |I_k(m-1, n+1) - I_k(m+1, n-1)| \\ & + |I_k(m+1, n+1) - I_k(m-1, n-1)| \\ & + |I_k(m, n+1) - I_k(m, n-1)| \\ & + |I_k(m-1, n) - I_k(m+1, n)| \quad (2) \end{aligned}$$

このフィルタは文字どおりウィンドウ内の空間的な明るさの変化の大きさを抽出しているが、別の見方をすれば、比較的高い空間周波数成分の量を表わしているということもできる<sup>3)</sup>。明らかに、この量は合焦位置で極大となることが予想される。この考え方をより広いウィンドウ内の処理に一般化させたのが次の局所差分平均

(averaged nondirectional difference) である<sup>6,9)</sup>.

$$AD_k(m, n) = (1/W) \sum_{p=-W_x}^{W_x} \sum_{q=-W_y}^{W_y}$$

$$\begin{aligned} & \{ |I_k(m+p+1, n+q+1) - I_k(m+p, n+q)| \\ & + |I_k(m+p, n+q+1) - I_k(m+p, n+q)| \\ & + |I_k(m+p+1, n+q) - I_k(m+p, n+q)| \\ & + |I_k(m+p+1, n+q) - I_k(m+p, n+q+1)| \} \end{aligned} \quad (3)$$

少し注意して(2)式と(3)式とを比べると、(3)式のほうがより高い空間周波数成分に注目していることがわかる。これら二つの方法の特徴は積演算を含まない点である。

合焦位置で高周波数成分が極大値をとることに注目しながらも、隣合う画素間の差分でなくウインドウ内の分散値を合焦の目安とする方法がある<sup>6,7)</sup>。この方法に使われるフィルタは局所分散フィルタと呼ばれ、以下のように与えられている。

$$LV_k(m, n) = (1/W) \sum_{p=-W_x}^{W_x} \sum_{q=-W_y}^{W_y} \{ I_k(m+p, n+q) - \bar{I}_k(m, n) \}^2$$

$$\bar{I}_k(m, n) = (1/W) \sum_{p=-W_x}^{W_x} \sum_{q=-W_y}^{W_y} I_k(m+p, n+q)$$

$$W = (2W_x + 1)(2W_y + 1)$$

$$(m=1, 2, \dots, M, n=1, 2, \dots, N) \quad (4)$$

このフィルタの特徴は、最高周波数付近の成分のみでなく、比較的低い周波数成分にまで感度が伸びていることである。この点、高周波数成分が多い部分を抽出するというよりは、高コントラストな部分を抜き出すときに役立つと思われる。また、互いに相関のない白色ノイズに対して安定であることが期待される。

### 2.3 単一層画像の合成

対象が3次元物体の表面であったり、単一の層で成り立っている場合には先に述べた局所統計量フィルタから  $S_k(m, n)$  を決定し、被写界深度伸長像の合成を行なうことができる。しかし、物体が複数の層で構成されている



図2 焦点系列像とサンプリング関数 (アカイエカの頭部)

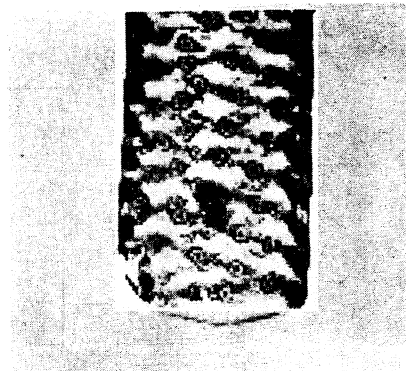


図3 多層物体の被写界深度伸長像 (アオミドロ)

ことが明らかな場合、この方法では満足いく結果は得られない。このような例を図3に示す。対象はアオミドロである。図において細い紐状に見えるクロロプラストは通常2本のらせん形になっており、細胞膜付近に位置している。前後の細胞膜付近の構造が重なってしまっているこの図ではそのことがよくわからない(図11, 図12には、別の方法を用いて後側と前側の細胞膜付近の構造のみを抽出し、被写界深度伸長像を合成した結果が示されている)。この合成像では、おおよその画素の位置において、前後の層のうちで構造がより明瞭に現われている層が場所に応じて選ばれ、結果的に重なったように見えているのである。

この問題の解決策の一つは、被写界深度伸長像を、たとえば最も手前に見えるもののみ合成する方法である。すなわち、局所統計量フィルタの出力が最初に極大をもつ位置でのみサンプリング関数  $S_x(m, n)$  を1とする。もちろん、極大位置を第1番目に限定する必要はない。一般に、多層の物体の任意の層の投影像を得ることも可能である。この種のデータ処理は計算機の得意とするところである。得られる像は、注目する層の中に存在する構造のみで構成されるので、図3などの通常の投影像と比べて、見やすさは格段に向上する。

### 3. 非点収差光学系と方向性局所統計量フィルタによる3次元形状計測

反射率が高く形状が複雑な物体を落射照明で観察すると、試料ステージの位置により物体各部の明るさが変化することがある。いままでに述べてきた局所統計量フィルタには、このような平均的な明るさの変化と、合焦の目安である高周波成分の増減との区別ができない。このような欠点を克服するには、一般に、明るさに関する規格化、または差動検出が行なわれる。ここでは、結像系

に非点収差を導入し、方向性局所統計量フィルタを差動型で用いる方法<sup>8,9)</sup>について述べる。

光学系の様子を図4に示す。結像系にわずかの非点収差を導入するために弱い円筒レンズを顕微鏡レンズの直後に挿入する。これにより、像面は子午(meridional)像面と球欠(sagittal)像面とに分かれる。これらの像面では、非点収差により特定方向の空間周波数成分のみが極大値をもつことになる。もし、直交するこれら二つの方向に関する1次元の高周波数成分を別個のフィルタで検出し、それらの出力の差を求めると、非点格差のちよ

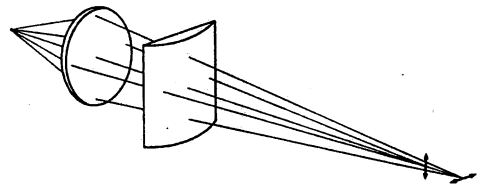


図4 非点収差の導入方法

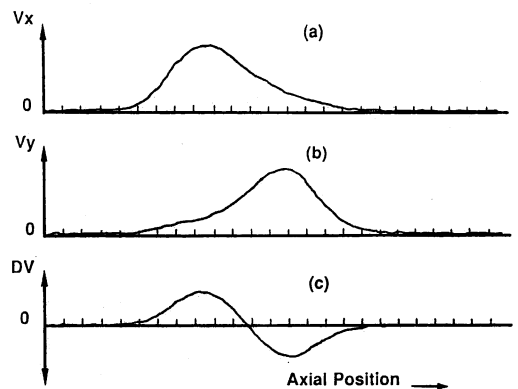


図5 差動型局所分散フィルタ。(a)(b)二つの方向性局所分散の差として、(c)の差動型局所分散が得られる。

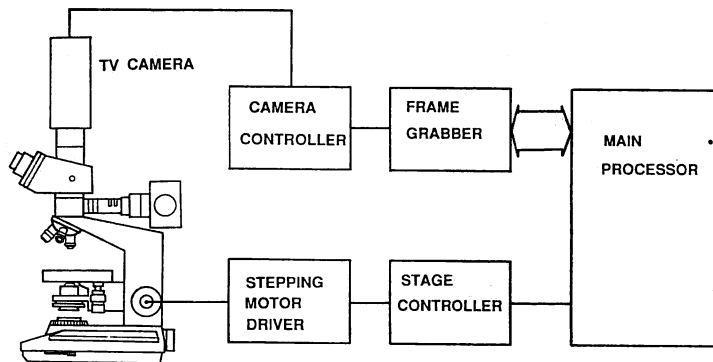


図6 実験装置の概略

うど半分の位置で差出力は0になると考えられる。この種の差動型フィルタは、照明条件など同相のノイズには強い。提案されたフィルタは次のようなものである。

$$DV_k(m, n) = Vx_k(m, n) - Vy_k(m, n) \quad (5)$$

ここで、 $Vx_k(m, n)$ と $Vy_k(m, n)$ は方向性の1次元局所統計量で、合焦検出用のものであればどのようなフィルタでもよい。もし、局所分散を採用するとすれば、これは、

$$\begin{aligned} Vx_k(m, n) &= (1/W) \sum_{p=-W_x}^{W_x} \sum_{q=-W_y}^{W_y} \{I_k(m+p, n+q) \\ &\quad - \bar{I}x_k(m, n, q)\}^2 \\ Vy_k(m, n) &= (1/W) \sum_{p=-W_x}^{W_x} \sum_{q=-W_y}^{W_y} \{I_k(m+p, n+q) \\ &\quad - \bar{I}y_k(m, n, p)\}^2 \\ \bar{I}x_k(m, n, q) &= \{1/(2W_x+1)\} \sum_{p=-W_x}^{W_x} I_k(m+p, n+q) \\ \bar{I}y_k(m, n, p) &= \{1/(2W_y+1)\} \sum_{q=-W_y}^{W_y} I_k(m+p, n+q) \end{aligned} \quad (6)$$

と定義される。この場合、(5)式で示されたフィルタは差動型局所分散フィルタと呼ばれる。予備的な実験結果を図5に示す。直交する二つの方向に関する方向性の局所分散( $Vx, Vy$ )が位置の関数としてプロットされており、その下にそれらの差が示されている。通常、サンプリング関数は中央のゼロ・クロッシングの位置で1にセットされる。

## 4. 実験結果

### 4.1 装置

筆者らが実験に用いた装置の模式図を図6に示す。顕微鏡の試料ステージは駆動用のパルスモーターと減速装置を介して計算機によってコントロールされている。減速装置にはハーモニックギア(オリエンタルモーター社)と呼ばれる基本的にバックラッシュのないものを利用し、試料ステージ駆動用のハンドルを直接回転させている。これにより、公称 $0.1\mu\text{m}$ の位置決めが可能となっている。画像は、計算機により試料ステージの動きと同期して入力され、ハードディスクにため込まれる。ただし、処理法を限定すれば、局所統計量フィルタの出力を計算しながら実時間で像を合成していくことも可能である。

### 4.2 IC ボンディングワイヤの被写界深度伸長像の合成

ここでは、ICのボンディングワイヤを対象に並び、合焦検出フィルタとしての局所分散フィルタと局所差分

平均フィルタの性能を比較する。ボンディングワイヤのような金属性の物体は、その角度により明るさが大きく変化し、ときに非常に明るく見えたり暗く見えたりする。このような物体は、合焦位置以外の面においても強いコントラストをもつデフォーカス像を作り出す。この強いデフォーカス像は合焦検出フィルタの出力を乱し、



図7 焦点系列像の一部(ICボンディングワイヤ)。上から順に、52, 130, 208, 286, 364 $\mu\text{m}$ の位置での顕微鏡像が示されている。

合成像は物体の存在しない面をサンプルする可能性が高くなる。

実験には、開口数 (NA) 0.25, 倍率が10倍の対物レン

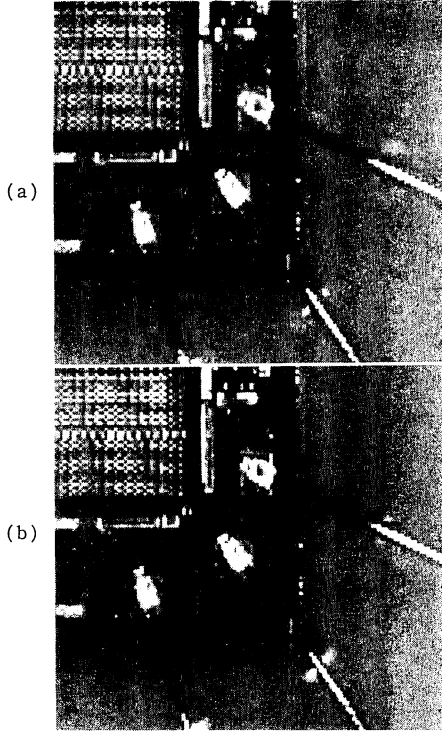


図 8 被写界深度伸長像 (IC ボンディングワイヤ). (a)は局所分散フィルタ, (b)は局所差分平均フィルタによる合成像である.

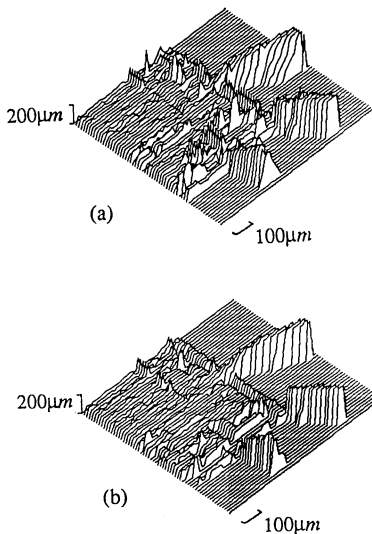


図 9 サンプリング関数の3次元表示 (IC ボンディングワイヤ). (a)は局所分散フィルタ, (b)は局所差分平均フィルタによる合成像である.

ズを用いて、 $13\mu\text{m}$  ごとにサンプルされた 30 枚の焦点系列像を用いて行なわれた。焦点系列像の一部を図 7 に示す。ウインドウのサイズ ( $W$ ) は  $5 \times 5$  画素である。局所分散フィルタを用いた結果を図 8 (a) に示す。IC チップの周辺とワイヤの周囲にアーティファクトが目立つ。局所差分平均フィルタを用いた結果を図 8 (b) に示

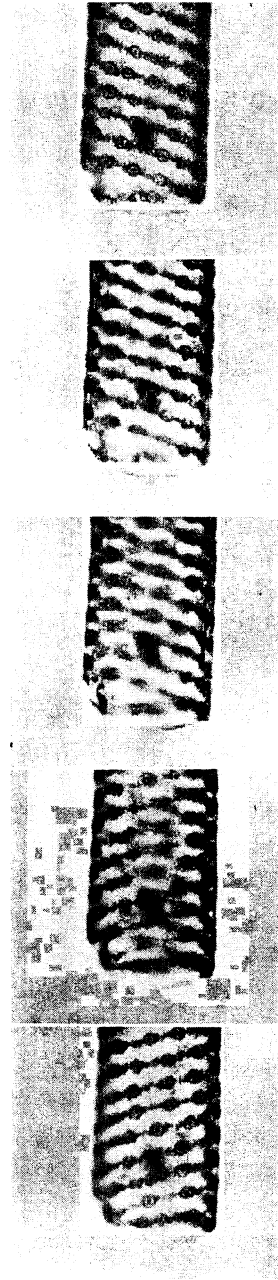


図 10 多層物体の焦点系列像の一部 (アオミドロ). 上から順に  $18, 26, 36, 46, 54\mu\text{m}$  の位置での顕微鏡像が示されている.

す。比較を容易にするために、図8(a), (b)の合成に用いたサンプリング関数を、おのおの図9(a), (b)に示す。図では、 $S_i(m, n)$ が1となる $k$ の値が画素の位置 $(m, n)$ の関数として3次元表示されている。局所差分平均フィルタにより、アーティファクトが減少しているのがわかる。このことから、コントラストの非常に強い部分をもつ物体に対しては、局所差分平均フィルタのほうが優れていることがわかる。

#### 4.3 単一層画像の合成

すでに一部を紹介したが、生物試料の単一層画像合成の実験結果を紹介する。試料にはアオミドロを用いた。開口数0.75、倍率50倍の対物レンズを通して、試料を $2\mu\text{m}$ ずつ $80\mu\text{m}$ にわたって移動させながら焦点系列像を入力した。その一部を図10に示す。すでに紹介した図1の結果はこれらの焦点系列像から再生された被写界深度伸長像である。合成処理では、ウィンドウサイズが7画素 $\times$ 7画素の局所分散フィルタの出力が最も大きな極大値をもつ位置でのみサンプル関数が1の値をもつこととした。このため、手前と後方の両方の細胞膜付近の構造が重なってしまい、人の目には見づらい画像になっ

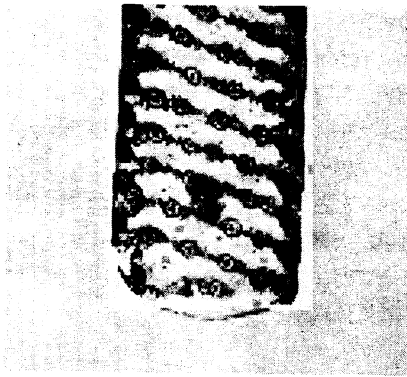


図11 単一層像の合成例 (アオミドロ, 後側の層)

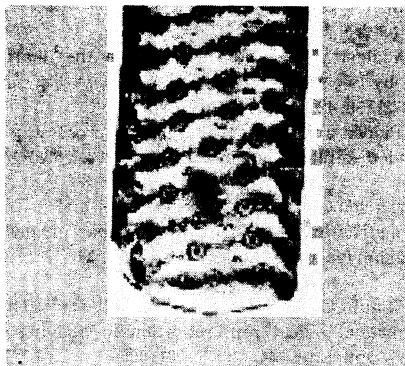


図12 単一層像の合成例 (アオミドロ, 前側の層)

ている。図11に示したものが、局所分散の極大値を与える最小の $k$ の値を合焦位置とする処理を行なった結果である。試料は対物レンズから離れる方向に移動するので、合成されているのは、後方側の細胞膜付近の様子

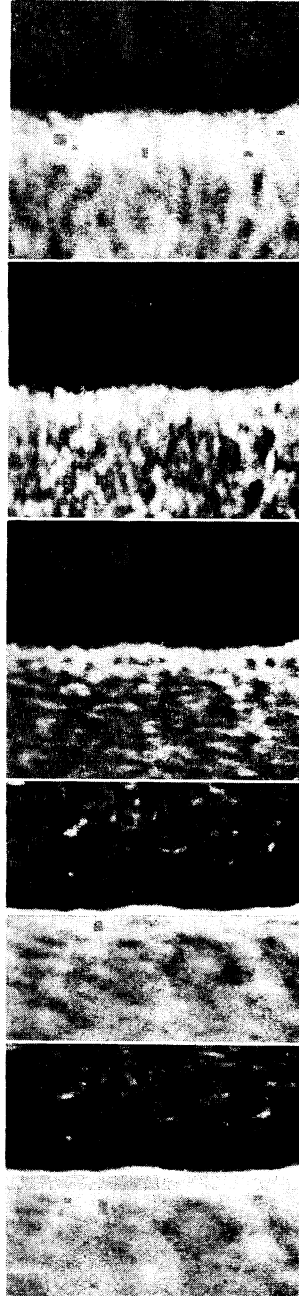


図13 焦点系列像の一部 (IC セラミックパッケージ上の金属配線部)。下半分の明るい部分が金属配線部である。上から順に、8, 16, 24, 32,  $40\mu\text{m}$ の位置での顕微鏡像が示されている。

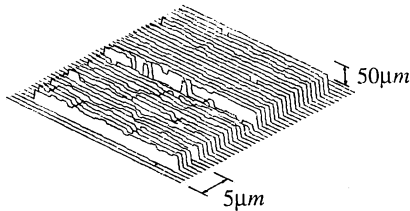


図 14 サンプル関数の 3次元表示 (IC セラミックパッケージ上の金属配線部). 後方の高い部分が金属配線部である.

である. 前方の細胞膜付近の構造の合成像を図 12 に示す. 図 11 と図 12 の二つの画像を見比べると, 細い紐状に見えるクロロプラストが 2本のらせん形になっているのがよくわかる.

#### 4.4 非点収差光学系による 3次元形状計測

非点収差光学系と方向性局所統計量フィルタを用いた 3次元物体の表面形状計測法を, IC セラミックパッケージの形状計測に応用した結果を紹介する. 精度, 信頼性等の評価は十分ではないが原理の確認を行なうことができた. 測定対象はセラミック上の金メッキされたアルミニウム配線部分と下地のセラミックとの間の段差の部分である. 開口数 0.4, 倍率 20 倍の対物レンズの直後に 0.25 ジョアタのシリンダーレンズ (弱い乱視用眼鏡レンズを直径約 15 mm に削ったもの) を挿入し, 試料ステージを  $2\mu\text{m}$  ずつ移動させながら焦点系列像を入力した. 局所サイズは  $32 \times 32$  画素である. 焦点系列像の一部を図 13 に示す. 画面の下半分が金メッキされたアルミニウム配線の部分である. 配線部分とセラミックの部分では, 反射率が大きく異なっているのがわかる. 処理結果  $(S_i(m, n))$  を図 14 に示す. 後方の高い部分が配線部である. 約  $15\mu\text{m}$  と見られる段差が明瞭に計測されている.

## 5. おわりに

顕微鏡試料台の微動機構とデジタル画像処理装置を用いて得られる一連の顕微鏡画像の集合 (焦点系列像) のおのおのの画像を局所統計量フィルタで処理することにより,

- 1) 3次元物体表面や疎らに広がった 3次元物体について, 視野全体にわたって焦点の合った像 (被写界深度伸長像) を合成する方法
- 2) 多層物体中の単一層を選びだし, その被写界深度伸長像を合成する方法
- 3) 非点収差光学系で得られる焦点系列像から方向性の局所統計量フィルタを用いて 3次元物体の表面形

### 状を計測する方法

について説明し, 実験結果を紹介した. また, 合焦検出を行なうための局所統計量フィルタについては, 数種類のものについてその概略を説明した.

多層物体中から単一層の画像を合成する方法は実に簡単で, 任意の曲面上の細かい構造の分布を, 自然で見やすい形にしてわれわれに提供してくれる. 興味深い点は, この合成像が非常に焦点深度の深い光学系を用いても, また, 逆に非常に焦点深度の浅い光学系を用いても決して自然には得られない, ある意味で不自然な像であるということである. このいわば曲面上の断面を表示する方法は, 見たいところだけを見るという, 人の視覚の特性に合っている表示方法なのかもしれない. この 3次元画像処理法は計算機の特長ともよくマッチしているので, 双方の特長を生かした処理法といえる. このような光学機器と計算機とが相互に結びついたようなシステムは, 今後多くの分野で盛んに利用されることと思われる. 重要な点は, ただ便利だから結びつけるというのではなく, 結びつけることにより新しい利用法を創り出すことであろう.

本解説で取り上げた方法はどれも比較的容易に実行することができる. 顕微鏡以外に必要なものは, 1) ハードディスク付きのパーソナルコンピュータと, 2) 画像取込み装置, 3) 顕微鏡ステージの微動装置である. このようなシステムが, 多くの方々に利用され, 改良されていくことを願う次第である.

本稿の執筆にあたり, 本学工学部超高温研究施設の杉本敏司助手, 東燃システムプラザ (株) の林篤司氏には, いろいろとご助言をいただき, 資料を提供していただきました. ここに感謝します.

## 文 献

- 1) 久保田広, 浮田祐吉, 会田軍丈夫 (編): 光技術ハンドブック (朝倉書店, 東京, 1968) p. 837.
- 2) G. Hausler: "A method to increase the depth of focus by two step image processing," *Opt. Commun.*, **6** (1972) 38-42.
- 3) R. J. Pieper and A. Korpel: "Image processing for extended depth of field," *Appl. Opt.*, **22** (1983) 1449-1453.
- 4) A. Erhardt, G. Zinser, D. Komitowski and J. Bille: "Reconstructing 3-D light microscopic images by digital image processing," *Appl. Opt.*, **24** (1985) 194-200.
- 5) G. A. Laub, G. Lenz and E. R. Reinhardt: "Three-dimensional object representation in imaging systems," *Opt. Eng.*, **24** (1985) 901-905.
- 6) 杉本敏司: 高速画像処理システム-MFIP-の開発とその応用に関する研究, 大阪大学学位論文, 1985, 第 5 章.



- 7) T. Sugimoto and Y. Ichioka: "Digital composition of images with increased depth of focus considering depth information," *Appl. Opt.*, **24** (1985) 2076-2080.
- 8) 林 篤司, 伊東一良, 一岡芳樹: "非点収差系を用いた局所分散法による微小物体の3次元形状計測", 第2回産業における画像センシングシンポジウム予稿集 (1987) pp. 27-30.
- 9) K. Itoh, A. Hayashi and Y. Ichioka: "Digitized optical microscopy with extended depth of field," *Appl. Opt.*, to be published.
- 10) M. Mino and Y. Okano: "Improvement in the OTF of a defocused optical system through the use of shaded apertures," *Appl. Opt.*, **10** (1971) 2219-2225.
- 11) J.S. Coutney-Pratt and R.L. Gregory: "Microscopy with enhanced depth of field and 3-D capability," *Appl. Opt.*, **12** (1973) 2509-2519.
- 12) G. Indebetouw and H. Bai: "Imaging with Fresnel zone pupil mask: Extended depth of field," *Appl. Opt.*, **23** (1984) 4299-4302.
- 13) T. Poon and M. Motamedi: "Optical/digital image processing for extended depth of field," *Appl. Opt.*, **26** (1987) 4612-4615.
- 14) D. McLachlan, Jr.: "Extreme focal depth in microscopy," *Appl. Opt.*, **3** (1964) 1009-1014.
- 15) M.C. King and D.H. Berry: "A depth scanning microscope," *Appl. Opt.*, **10** (1971) 208-210.
- 16) L. Mertz: *Transformations in Optics* (Wiley, New York, 1965) p. 101.
- 17) B.R. Frieden: "Longitudinal image formation," *J. Opt. Soc. Am.*, **56** (1966) 1495-1501.
- 18) Y. Hu and B.R. Frieden: "Restoration of longitudinal images," *Appl. Opt.*, **27** (1988) 414-418.
- 19) N. Streible: "Three-dimensional imaging by a microscope," *J. Opt. Soc. Am. A*, **2** (1985) 121-127.
- 20) S. Kawata, O. Nakamura and S. Minami: "Optical microscope tomography I. Support constraint," *J. Opt. Soc. Am. A*, **4** (1987) 292-297.
- 21) C. J. R. Sheppard and A. Choudhury: "Image formation in the scanning microscope," *Opt. Acta*, **24** (1977) 1051-1073.
- 22) C. J. R. Sheppard, D.K. Hamilton and I.J. Cox: "Optical microscopy with extended depth of field," *Proc. R. Soc. Lond. A*, **387** (1983) 171-186.
- 23) G. Häusler and E. Körner: "Simple focus criterion," *Appl. Opt.*, **23** (1984) 2468-2469.