

解 説

光学顕微鏡トモグラフィ*

中 村 収

計量研究所力学部 〒305 つくば市梅園 1-1-4

(1991年7月18日受理)

Optical Microscope Tomography

Osamu NAKAMURA

National Research Laboratory of Metrology,
1-1-4, Umezono, Tsukuba 305

1. はじめに

結像機器の目的は、元来、2次元（平面）情報を物体面から観測面へと伝えることである。これまで、物体を表す2次元情報を、像面にいかに忠実に再生するかに注意が払われ、結像機器の設計・開発がなされてきた。しかし、物体が厚いとき（透過吸収物体）あるいは物体が奥行きを持っているとき（反射、散乱物体）には、興味のある焦平面以外からの焦点外れ像が雑音として重畠してくる。

この雑音を避けるため、バイオ分野では細胞などの厚い物体を観察するとき、細胞を光学系の焦点深度程度に薄くスライスし観察する方法がとられている。これでは、細胞を破壊してしまい、生きたまま、水分を含んだままの観察はできない。厚い試料を物理的に壊さず、その立体構造を観察できる手段が待望されている。

このような背景から、最近、光学・レーザー顕微鏡や結像光学系の3次元情報伝達特性およびそれを把握したうえでの3次元計測法についての研究が盛んになってきた¹⁻¹⁰⁾。これらは、現在の光学機器が、どれだけの3次元情報伝達特性を有し、また伝達特性が何によって決まるのかを課題としている。そして、これらの研究の次の段階は、どうすれば3次元結像特性を改良でき、3次元構造を完全に計測できるのかを追及することにある。

光学系の3次元空間周波数帯域の幅は、基本的には、その系の開口角の大きさで決まる。平面波はその進行方

向に対して垂直な2次元平面内においてのみ空間情報を伝搬し、収斂光、発散光その他の平面波以外の光波は、Rayleigh-Sommerfeld の理論でよく知られるように、伝搬方向が異なる多くの平面波で展開でき、それぞれの平面波は2次元情報を伝搬しつつ、全体としては3次元情報を伝えている。したがって、いかに広い角度範囲の平面波が結像に関与しているかが鍵となる。

しかし、180度の角度範囲に発散する光を収集できる光学系はない。そこで、何らかの角度走査・合成処理により、この不完全さを補うことが必要となる。この考えを何年も前にX線計測の分野において実践したのがX線CT(computed tomography)装置である。X線CT装置では、X線の照射方向が異なる多くのデータを合成することにより、各X線の伝搬方向に垂直な断面画像をも再生している。このようなCTの原理はX線のみならず、超音波や光を用いた3次元計測にも応用されるようになってきている。特に光学計測では、大気汚染のレーザーレーダー計測や、燃焼・プラズマ計測における化学種の3次元密度分布測定、生体の近赤外光による内部計測など、CT法の応用研究は多い¹¹⁾。

本稿では、X線CTに類似の計測法を、光学顕微鏡下で実現するための一つの手法について述べる。この手法およびその実現機は、それぞれ、光学顕微鏡トモグラフィ、光CT顕微鏡と呼ばれている^{12,13)}。始めに、光CT顕微鏡の原理（特殊な投影光学系、拘束つきデジタル再構成法）およびその特長、装置化法について報告する。あわせて、光CT顕微鏡の性能向上と機能拡張のためのいくつかの試み—奥行き分解能向上法、物質分析のた

* 本稿は平成2年度光学論文賞受賞記念講演（1991年3月29日、東海大学）を骨子として、まとめたものである。

めのマルチスペクトル CT 法など一の実行例を示す。

2. 光 CT 顕微鏡：投影光学系

CT 計測を実現するには、物体のいろいろな方向への投影が得られねばならない。光学顕微鏡トモグラフィでは、顕微鏡による観察下という厳しい条件の下で、いかにして投影系を実現するかが大きな課題であった。試料は微小であり、溶液中に存在することが多く、試料とレンズ間の空間はきわめて狭い。したがって、X線 CT のように、測定系を試料の周りに自由に配置したりあるいは回転走査することはできない。

これらの問題点を克服した、レーザーを光源とする光 CT 顕微鏡の投影光学系を図1に示す¹⁴⁾。He-Ne レーザー（発振波長は、四つの波長から選択できる）から発したレーザービームはレーザースペックル抑圧のための回転拡散板上に一度集光され、リレーレンズ系を経て回転ペチャンプリズムの後ろ（コンデンサレンズの前側焦点平面内）に再び集光される。プリズム射出後のビームはコンデンサレンズによりコリメートされ、試料を斜め方向から照明する。斜め照明光のみを用いてカメラ面に結像された像は、物体を斜め方向から観察した透過・吸収像となっている。物体が存在しないときの光強度分布をあらかじめ測定しておき、この参照画像と物体像との対

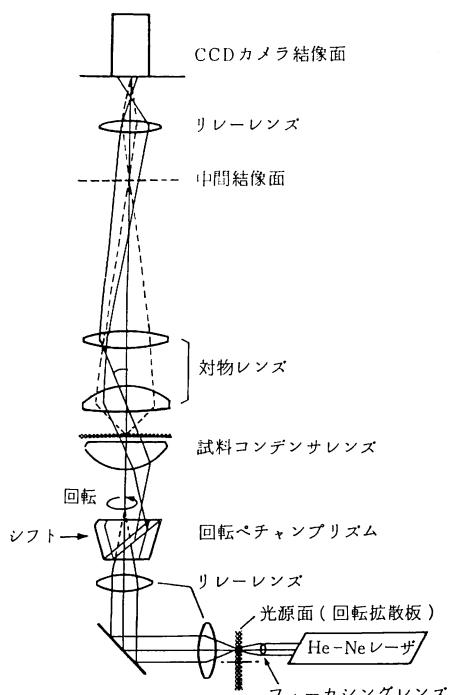


図1 光 CT 顕微鏡の投影光学系¹⁴⁾

応する各画素で強度の割り算を行い、さらにその結果を対数変換すると、物体内部の3次元吸収係数分布のある方向への2次元投影像を得る。

図2に、ペチャンプリズム（像反転プリズム）によるビームシフトの原理を表す。ペチャンプリズムからのレーザー光の射出位置と光軸との距離は、図のように、ペチャンプリズムを水平方向にシフトすることにより変えられる。シフト量は、コンデンサレンズでビームがコリメートされたときのビームの進行方向と光軸がなす角度に比例する。ビームがB-bの径路を通っているとき、A(=B)軸を中心にプリズムを回転させると、光軸を中心とするある半径の円周上でレーザービームを回転走査できる。レーザービームを回転走査しながら何枚かの像を収集してゆくと、物体のいろいろな方向への投影像を得ることができる。

このようにして得た複数枚の投影像に対して、投影の逆変換をコンピュータ内で行うと、元の物体の内部3次元吸収係数分布を再生できる。元の物体と得られる投影像の幾何的な関係を図3に示す。

ここに示した投影光学系の構成では、1) 駆動部はペチャンプリズムのみでありその駆動の精度も mm 程度で

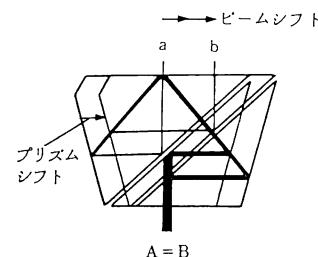


図2 ペチャンプリズム（像反転プリズム）によるビームシフトの原理

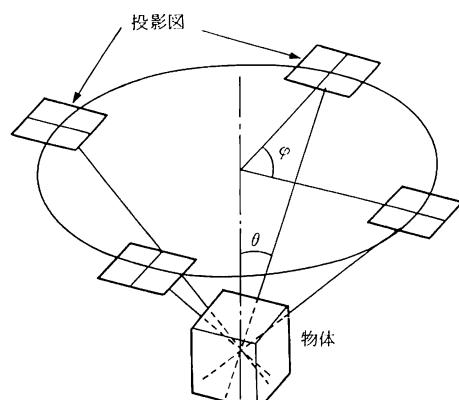


図3 物体と投影像の幾何的関係

よい、2)焦点深度が深くなるので逆変換処理は線積分を解くだけで済む（他の方法^{1,2,3)}では体積積分を解かねばならない）、3)単一のビームを回転させるので照明方向間で光強度が一定である、等の特長が生まれる。

3. 3次元再構成法

図3の系で、観察角度 θ は顕微鏡の対物レンズの開口数 (numerical aperture : NA) で決まり、 θ は大きくても 60 度 (2θ で 120 度) 程度である。観察角度範囲の制限により、3次元再生に必要な情報量が不足する。そこで、再構成の際に何らかの付加的な情報を盛り込み、解を拘束することが必要になる。

解の拘束手法について説明する前に、ここでの投影光学系の正確な伝達特性を示す。図4(a), (b)はレーザー CT 顕微鏡で用いられている偏斜照明結像光学系の、1次の Born 近似のもとで求めた3次元光学的伝達関数 (optical transfer function : OTF) の一断面である¹²⁾。ここで、(a)は吸収の OTF、(b)は位相の OTF である。 μ_x 軸は光軸に垂直な面内の空間周波数軸、 η 軸は光軸方向の空間周波数軸である。 μ_x 軸に垂直なもう一つの軸は省略されている。図中 B は、通常の観察面内の分解能を表し、 l の逆数は焦点深度を表す。偏斜照明結像光学系では、 B は同じ対物レンズを用いたインコヒーレント光学系に等しく、 $1/l$ はコヒーレント系に近いので、横分解能が高くかつ焦点深度が深いといえる。

1枚の投影像には、物体の3次元空間周波数スペクトルのうち、伝達関数がゼロでない領域のみの情報が含まれている。ビームを回転走査し、照明方向を変えてやる

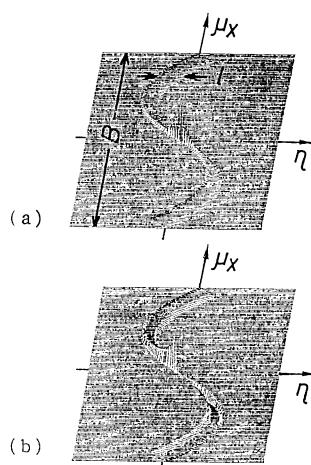


図 4 偏斜照明結像系の3次元 OTF
(a) 吸収部、(b) 位相部

と、OTF が η 軸の周りを回る。それらを合成すると、3次元的にみればドーナツ型の伝達関数が合成される。このとき、原点の周りの欠落した帯域は円錐状の形をしている。観察角度を制限される X 線 CT でも同様の帯域が生じ、この欠落した帯域はミッシングコーン (missing cone) と呼ばれている。

観測系が帯域制限系であるときには、元の信号に関する先駆情報を利用することによって、失われた帯域を回復（外挿）することができる。このような手法は、これまでに超解像問題¹⁵⁾や観察角度を制限される CT 問題¹⁶⁾としてよく研究されている。

最もポピュラーに利用される先駆情報として、信号拡がりおよび信号のダイナミックレンジ（最小値、最大値など）に関する情報が掲げられる。

信号の拡がりが有限であるとき、その周波数スペクトルは解析的 (analytic) になり、帯域内スペクトルから帯域外スペクトルを滑らかに外挿できる¹⁷⁾。顕微鏡 CTにおいては試料の厚さが有限であるのでこれを拘束条件として用いることができる。

この拘束付き 3 次元再生問題を定式化する。投影データ、物体の3次元吸収係数分布、および投影の操作をすべて離散系で次式のように表す。

$$\mathbf{p} = [H]\mathbf{o} \quad (1)$$

ここで、 \mathbf{p} , \mathbf{o} はそれぞれ、複数枚の2次元投影像（直接測定される強度画像の対数をとり、吸収係数画像に変換されている）、物体の3次元吸収分布を表すベクトルであり、それぞれの画素（あるいは体積素）が一列に並べられている。 $[H]$ は物体ベクトル \mathbf{o} を投影像ベクトル \mathbf{p} に変換する行列である。ただし、この系は部分コヒーレントな系であるので、(1)式の線形システムが成立するには、物体内での屈折率の変化量は、吸収値に比べて十分小さくなければならない^{3)*1}。

通常、ベクトル \mathbf{p} と \mathbf{o} のサイズは同一ではないので、最小二乗の意味で物体ベクトルを推定する。つまり、

$$\text{Minimize } |\mathbf{p} - [H]\mathbf{o}|^2 \quad (2)$$

のもとに \mathbf{o} の推定値 $\hat{\mathbf{o}}$ が求められる。正規方程式から $\hat{\mathbf{o}}$ は、

$$\hat{\mathbf{o}} = ([H]^\dagger [H])^{-1} [H]^\dagger \mathbf{p} \quad (3)$$

と求まる。ここで、 $[H]^\dagger$ は $[H]$ の転置行列であり、 $([H]^\dagger [H])^{-1}$ は $[H]^\dagger [H]$ の逆行列を表す。

観察角度範囲が制限されるとき、 $[H]^\dagger [H]$ の逆行列は存在しない。そこで、次のようにして、拡がり拘束を

*1 逆に、位相分布（屈折率分布）を計測するときには、吸収値が十分小さいことが必要である。

導入してやる。

$$\hat{\boldsymbol{\theta}} = [\mathbf{T}]^* \hat{\boldsymbol{\theta}} \quad (4)$$

ここで、 $\hat{\boldsymbol{\theta}}$ は拡がり拘束下の物体分布の推定ベクトルであり、 $[\mathbf{T}]$ は縦長な拘束行列である。 $[\mathbf{T}]$ の要素は物体が存在するところで、各コラムにおいて一箇所のみその要素は 1 となっている。ベクトル $\hat{\boldsymbol{\theta}}$ の大きさは $\hat{\boldsymbol{\theta}}$ に比べれば小さい。(4)式を(1)式に代入して最小二乗解を求めると、

$$\hat{\boldsymbol{\theta}} = ([\mathbf{T}]^* [\mathbf{H}]^* [\mathbf{H}] [\mathbf{T}])^{-1} [\mathbf{T}]^* [\mathbf{H}]^* \mathbf{p} \quad (5)$$

を得る。行列 $[\mathbf{H}]^* [\mathbf{H}]$ は正則ではなかったが、拘束行列 $[\mathbf{T}]$ を導入した $[\mathbf{T}]^* [\mathbf{H}]^* [\mathbf{H}] [\mathbf{T}]$ はランクが足りて正則になり、その逆行列が存在するようになる。いかかえると、行列 $[\mathbf{T}]$ を導入することによって未知要素の数を減らすことができ、式が解けるようになったと解釈できる。

理論的には(5)式により完全に物体分布が求まるはずであるが、現実には雑音が存在するために、回復可能な帯域の上限が SN 比で決まる。

4. 分解能向上法¹³⁾

拡がり拘束のみを用いて再生した結果は、奥行き方向の分解能が十分ではない。また、SN 比で決まる帯域制限により発生した多くの負値がみられる。再生している量は吸収値であるので、これらの負値は物理的に入りえない。そこで、これらの負値をなくすことで奥行き分解能が向上するのではと予想できる。

非負拘束を導入した規範は次式のように表せる。

$$\text{Minimize } |\mathbf{p} - [\mathbf{H}] [\mathbf{T}] \hat{\boldsymbol{\theta}}|^2 \quad (6a)$$

$$\text{Subject to } \hat{\theta}_j > 0 \text{ for all } j \quad (6b)$$

ここで、 $\hat{\theta}_j$ はベクトル $\hat{\boldsymbol{\theta}}$ の第 j 要素を表す。

(6)式は数学的には非常にシンプルな問題であるが、実際の計算においては、行列が非常に大次元（例えば、 \mathbf{o} のサイズが $100 \times 100 \times 100$ のとき、 $[\mathbf{H}]$ の要素は 10^{12} 個となる）であることを踏まえ、高速かつ小記憶容量の解アルゴリズム（共役勾配法、勾配投影法などの反復法）を選択することが必要である。また、雑音による解の発散を防ぐため、SN 比を考慮した平滑化を行わねばならない¹³⁾。

3 次元再生の実例を示す¹³⁾。図 5 は、緑藻の 1 種であるアオミドロを、光 CT 顕微鏡で測定した投影像である。アオミドロは 2 重螺旋の立体構造を持っているので、投影方向が異なる像で少しずつ見え方が異なっているのがわかる。このような像を $\theta = 18^\circ$, $\phi = 30^\circ$ (図 3 参照) で計 12 枚収集し、厚み拘束 (実際の 2 倍の厚さ

に) と非負拘束の下に物体の 3 次元構造を再生した。

図 6 に再生された 12 断層を示す。12 層全体から葉緑体の螺旋構造を認識することができる。螺旋構造があるがゆえに、上層部と下層部では、核心 (pyrenoid) の列が逆向きになっているのが観察できる。中層部では核が再生されている。同図(b)は、奥行き方向の断層であり、(a)図の第 6 断層とよく似た構造を呈している。

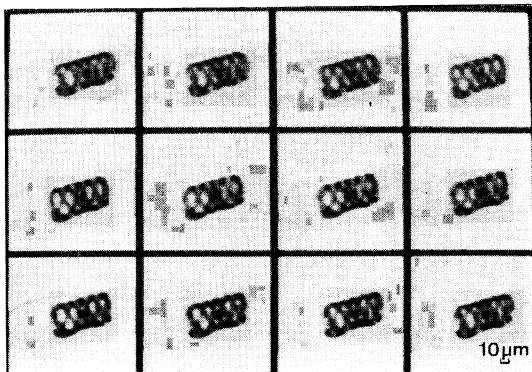
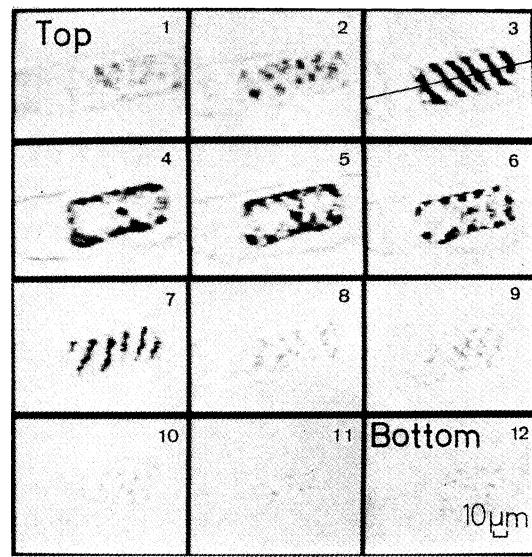
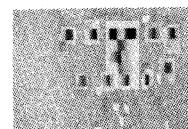


図 5 アオミドロの投影像



(a)



(b)

図 6 再構成結果
(a)光軸に垂直な断面,
(b)光軸に平行な断面

5. 分光情報を利用した物質分離 CT 法 —マルチスペクトル CT¹⁸⁾

顕微鏡 CT と分光分析技術を結合した物質分離 CT の手法について記す。ここでの目的は物体内に複数の物質が含まれているときに、物体内の各空間位置においてそれらの物質を定量し、各物質の分布を別々に分離して画像化することにある。ディジタル・ラジオグラフィにおいては、このような手法は、エネルギー・サブトラクション法と呼ばれ、それによって人体内部の骨と軟部組織などの分布が分離された像が提供され、医療診断や研究に貢献している^{19), 20)}。

マルチスペクトル CT とは、このような物質分離計測と CT 計測を同時に実行するものである。マルチスペクトル CT で得られる物質別の断層像は、物質が重なったままの断層像に比べ、細胞の病理診断や細胞内物質の解析・研究などに、はるかに多くの情報を提供してくれるはずである。

マルチスペクトル CT は、一種類の光源による CT に比べ、3 次元再構成問題の数学的振舞いをよくする効果も持っている。すなわち、密度が非負であるという拘束条件をすべての物質に対して利用できるので、解に対する制約がより厳しくなり、推定解に残るあいまいさが少なくなる²¹⁾。

先に述べた光 CT 法で再生される量である吸収係数は、より厳密には物質の吸光度と密度の積で表される。この関係を式で表すと、

$$o(\lambda) = s(\lambda) \cdot c \quad (7)$$

となる。ここで、 $o(\lambda)$ 、 $s(\lambda)$ 、 c はそれぞれ、吸収係数スペクトル、吸光度スペクトル、および物質の密度である。

物体内に複数の物質が混ざり合って分布している場合、観測される吸収係数スペクトルは、

$$o(\lambda) = \sum_{i=1}^N s_i(\lambda) \cdot c_i \quad (8)$$

と表される。ここで、 $s_i(\lambda)$ 、 N 、 c_i は、それぞれ、第 i 物質の吸光度スペクトル、物質の個数、および第 i 物質の密度である。

N 個以上の波長で吸収係数スペクトルを測定するとして、(8)式を行列化・ベクトル化して表すと次式を得る。

$$\mathbf{o} = [\mathbf{S}] \mathbf{c} \quad (9)$$

ここで、

$$S_{ij} = s_i(\lambda_j) \quad (10\text{ a})$$

$$c_i = c_i \quad (10\text{ b})$$

であり、ベクトル \mathbf{o} 、 λ_j は、それぞれ、吸収係数スペクトルおよび第 j 番目の測定波長である。結局、 \mathbf{o} から \mathbf{c} を求めるには、最小二乗法によって、

$$\mathbf{c} = ([\mathbf{S}^T][\mathbf{S}])^{-1}[\mathbf{S}^T]\mathbf{o} \quad (11)$$

なる処理を行えばよいことがわかる。 $[\mathbf{S}]$ は大きくても数十行 × 数十列程度の大きさの行列であるので、その逆行列式を求めるのは容易である。

マルチスペクトル CT を行う手順を図 7 に示す。まず、 N 個以上の波長で試料内吸収係数分布の投影像を測定する。これにより、各投影像内の各画素における吸収係数スペクトルが得られる。次に、(11)式に基づき各画素へ投影された各物質の密度の線積分を求める。これにより、物質ごとの密度投影像が得られる。最後に物質ごとに拘束つき 3 次元再生処理を行う。

この方法の大前提として、物体内に含まれている物質の個数および各物質の吸光度スペクトルがあらかじめ知れていることを仮定した。しかし、多くの場合、物体内に含まれている物質は未知である。このようなとき、測定した混合物のスペクトルから、各物質のスペクトルをいかにして求めるかが重要な問題となるが、それについては、文献^{22), 23)}に詳しい。

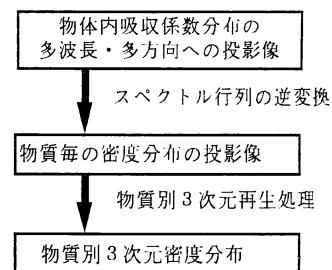


図 7 マルチスペクトル CT の計算手順

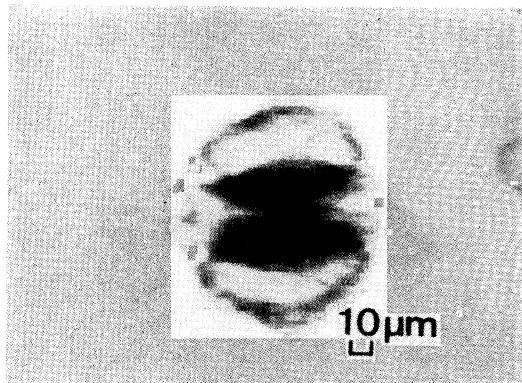


図 8 松風媒花粉の白色光による観察像

図8は、松の風媒花粉を、白色光照明の顕微鏡で観察した画像である。この試料はサフラニンOとファストグリーンBの2色の色素で、中央の花粉部は赤く、両側の袋のような形をした気質部が緑色に染められている。サフラニンOとファストグリーンBの吸収スペクトルは、それぞれ、 $\lambda=525\text{ nm}$, $\lambda=650\text{ nm}$ に吸収ピークを持っている。この試料の、波長525 nmでのプロジェクションのうちの4枚を図9(a)に、波長650 nmでのそれを図9(b)に示す。(a), (b)を比較すると、花粉部と気室部のコントラスト比が異なっており、この二つの組織間の分光特性の差が認められる。

各波長でそれぞれ、12枚の投影像を収集し、それらに対して、図7の手順にしたがって物質別の3次元構造を再生した。その結果を図10に示す。(a)が花粉部、(b)が気室部の構造である。物質分離、3次元分離がともに実現されているのがわかる。

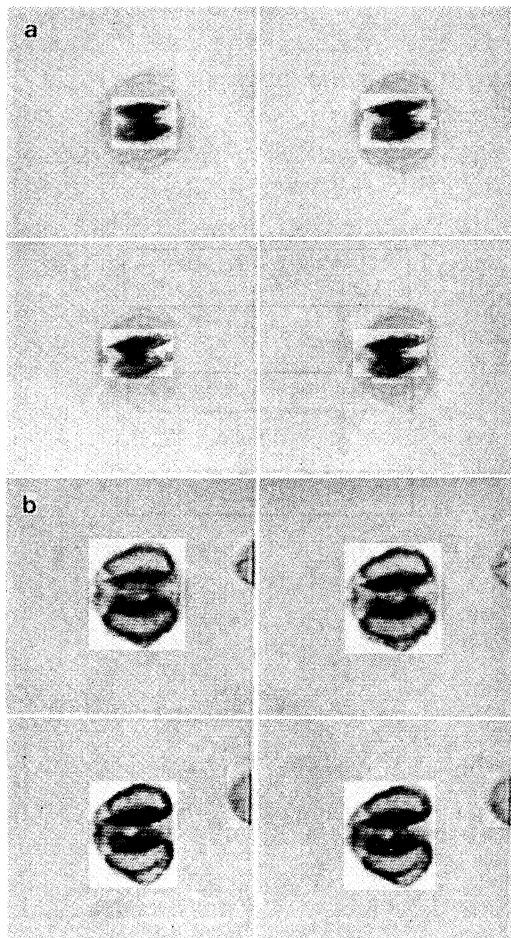


図9 図8の試料の分光投影像
(a) $\lambda=525\text{ nm}$, (b) $\lambda=650\text{ nm}$

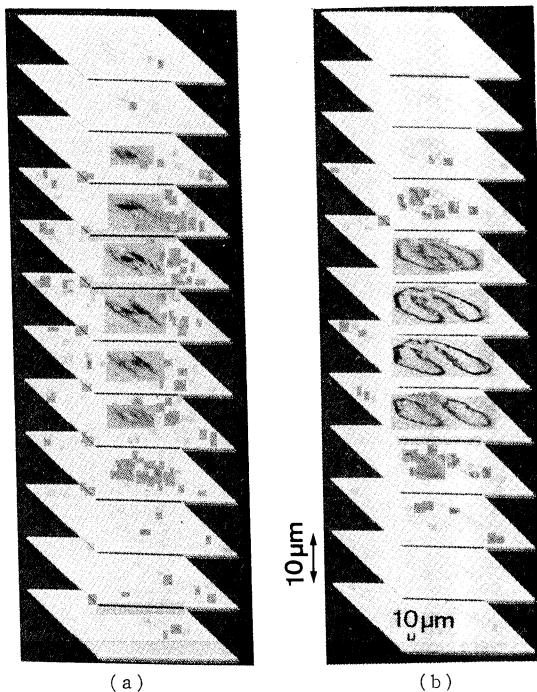


図10 物質別3次元再生結果
(a) 花粉部, (b) 気室部

6. 3次元表示

図11は、コンピュータ内に再構成されたアオミドロの3次元構造をもとにして、螺旋の中心軸に垂直な断層を計算・表示したものである¹³⁾。これらの像は、顕微鏡における通常の観察方向に対して垂直な方向から観察した像に対応している。上の像から下の像へと順に螺旋の中心軸に対する位置をずらしている。2重螺旋構造を螺旋の中心軸に垂直に切ったことにより二つのスポットが現れ、それらが反時計方向に回転してゆくのがわかる。

このように、いったん3次元構造がコンピュータ内に再生されると、自由自在にいろいろな断面を表示することができる。しかしながら、今後、測定結果をもとにして細胞の操作や加工などの何らかの作業を行う際には、断面だけではなく立体構造を容易に把握できる3次元表示および作業のシミュレータ・ソフトウェアなどが必要となるだろう。半透明の3次元ポリューム・データの表示法はまだ一般的ではなく、今後計測法の確立とともに考えてゆかねばならない課題である。

7. おわりに

生物試料の3次元構造を測る手法である光学顕微鏡トモグラフィ法とその実行例を紹介した。

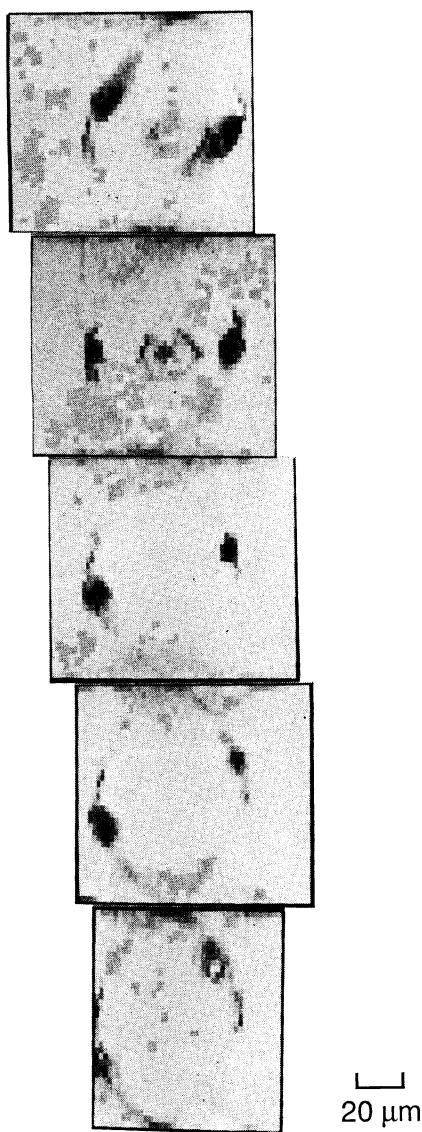


図 11 再生されたアオミドロの3次元表示

本稿で紹介した機能拡張の例のほかにも、位相(屈折率)CT²⁴、時間分解型 CT 顕微鏡²⁵等の試みがなされ、有用な結果が得られている。このように、われわれが研究を進めてきた光 CT 顕微鏡に、その測定対象や適用分野として多くの展開が望めることには間違いない。

しかしながら、データ収集および3次元再生に要す時間、奥行き分解能等の性能面で、いまだ不満足な点が課題として残されている。測定時間の改善のためには、撮像系・駆動系・データ転送などの高速化、計算時間についてではアルゴリズムの改良や専用演算プロセッサの導入などが必要だろう。分解能の向上については、最近、董

光試料に対して、試料の Z 軸に沿った走査と観察方向の走査の両方を行う方法が提案されている²⁶。この考え方を光 CT 顕微鏡に導入すれば、X-Y-Z のすべてに回折限界に近い分解能を達成できるかもしれない。

今後、CT 顕微鏡の進展につれて、細胞のレーザートラップなどの新しいマニピュレーション技術や既存の細胞加工技術との有機的な結合も期待されてきている。これらを踏まえ、光学顕微鏡トモグラフィを実用技術へと育ててゆきたい。

本研究を進めるにあたり、ご指導、ご助言をいただいた大阪大学工学部南茂夫教授、河田聰講師に感謝します。

文 献

- D. A. Agard and J. W. Sedat: "Three-dimensional architecture of a polytene nucleus," *Nature*, **302** (1983) 676-681.
- A. Erhardt, G. Zinzer, D. Komitowski and J. Bille: "Reconstructing 3-D light-microscopic images by digital image processing," *Appl. Opt.*, **24** (1985) 194-200.
- N. Streibl: "Three-dimensional imaging by a microscope," *J. Opt. Soc. Am. A*, **2**, 121-128 (1984); "Fundamental restrictions for 3-D light distributions," *Optik*, **66** (1984) 341-354.
- C. J. R. Sheppard and X. Q. Mao: "Three-dimensional imaging in a microscope," *J. Opt. Soc. Am. A*, **6** (1989) 1260-1269.
- I. Nemoto: "Three-dimensional imaging in microscopy as an extension of the theory of two-dimensional imaging," *J. Opt. Soc. Am. A*, **5** (1988) 1848-1851.
- O. Nakamura and S. Kawata: "Three-dimensional transfer-function analysis of the tomographic capability of a confocal fluorescence microscope," *J. Opt. Soc. Am. A*, **7** (1990) 522-526.
- R. Arimoto and S. Kawata: "Laser-scan fluorescence microscope with annular excitation," *Optik*, **86** (1990) 7-10.
- T. Noda, S. Kawata and S. Minami: "Three-dimensional phase contrast imaging by an annular illumination microscope," *Appl. Opt.*, **29** (1990) 3810-3815.
- B. R. Frieden: "Optical transfer of the three-dimensional object," *J. Opt. Soc. Am.*, **57** (1967) 56-66.
- A. W. Lohmann: "Three-dimensional properties of wavefield," *Optik*, **51** (1978) 105-117.
- 河田 聰: "トモグラフィック光学顕微鏡イメージング", *光学*, **14** (1985) 333-341.
- S. Kawata, O. Nakamura and S. Minami: "Optical microscope tomography. I. Support constraint," *J. Opt. Soc. Am. A*, **4** (1987) 292-297.
- O. Nakamura, S. Kawata and S. Minami: "Optical microscope tomography. II. Nonnegative constraint by a gradient-projection method," *J. Opt. Soc. Am. A*, **5** (1988) 554-561.
- S. Kawata, O. Nakamura, H. Ooki, K. Ogino, Y. Kuroiwa, T. Noda and S. Minami: "Laser computed-tomography microscope," *Appl. Opt.*, **29** (1990) 3805-3809.

- 15) Special Issue on Signal Recovery, J. Opt. Soc. Am., **73** (1983) No. 11.
- 16) T. Inouye: "Image reconstruction with limited angle projection data," IEEE Trans. Nucl. Sci., **NS-23** (1979) 2666-2669.
- 17) J. L. Harris: "Diffraction and resolving power," J. Opt. Soc. Am., **54** (1964) 931-936.
- 18) O. Nakamura, S. Kawata and S. Minami: "Multispectral computed-tomography microscope for 3-D material analysis," Appl. Opt., **29** (1990) 1671-1674.
- 19) L. A. Lehmann, R. E. Alvarez, A. Macovski, W. R. Brody, N. J. Pelc, S. J. Riederer and A. L. Hall: "Generalized image combination in dual KVP digital radiography," Med. Phys., **8** (1981) 659-667.
- 20) 東芝 Computed Radiography System TCR-3030 A.
- 21) K.C. Tam: "Multispectral limited-angle image reconstruction," IEEE Trans. Nucl. Sci., **NS-30** (1983) 697-700.
- 22) S. Kawata, K. Sasaki and S. Minami: "Component analysis of spatial and spectral patterns in multispectral images. I. Basis," J. Opt. Soc. Am. A, **4** (1987) 2101-2106.
- 23) K. Sasaki, S. Kawata and S. Minami: "Component analysis of spatial and spectral patterns in multispectral images. II. Entropy minimization," J. Opt. Soc. Am. A, **6** (1989) 73-79.
- 24) T. Noda, S. Kawata and S. Minami: "Three-dimensional phase contrast imaging by a computed-tomography microscope," submitted to Applied Optics.: 塙田友也, 河田聰, 南茂夫: "レーザ光を用いた高解像度光 CT 顕微鏡", 第11回画像工学コンファレンス論文集 (1990).
- 25) 河田聰, 中村収: "光 CT 顕微鏡と3次元観察", 光技術コンタクト, **28** (1990) 21-29.
- 26) P. J. Shaw: "3-dimensional microscopy using tilted views," Proc. SPIE, **1161** (1989) 2-11.