

点像分布関数の推定に基づく 3次元顕微鏡画像の回復

宮坂 聡*・小松 進一**

*早稲田大学理工学部応用物理学科 〒169-8555 東京都新宿区大久保 3-4-1

**早稲田大学バイオ・フォトンクス新素材研究施設 〒169-8555 東京都新宿区大久保 3-4-1

Restoration of Three-Dimensional Microscopic Images by Estimating the Point Spread Function with 3D Blind Deconvolution Algorithm

So MIYASAKA* and Shinichi KOMATSU**

*Department of Applied Physics, School of Science and Engineering, Waseda University, 3-4-1, Okubo, Shinjuku-ku, Tokyo 169-8555, Japan

**Material Research Laboratory for Bioscience and Photonics, Waseda University, 3-4-1, Okubo, Shinjuku-ku, Tokyo 169-8555, Japan

Microscopic images contain not only focused image of the corresponding layer of a three-dimensional object but also out-of-focus images of the neighbouring layers of the object. We expand the two-dimensional Fourier iterative blind-deconvolution algorithm into three-dimensional version and apply it to the reconstruction of three-dimensional microscopic images. The feasibility of the present method is verified in computer simulation.

1. はじめに

光学顕微鏡は、生物試料を生きたまま観察することができ、機能しうる状態での生体組織の構造や働きを調べるのに有効である。

焦点深度の浅い光学顕微鏡で3次元の生体組織を観察するために、顕微鏡の焦点を段階的に変えながら得た切片像を集め、それらを積み重ねて3次元像を再構成する手法が用いられている。このような方法において、焦点の合った面に隣接する領域からのデフォーカス像の影響を除くために、3次元点像分布関数によるデコンボリューションの研究が多くなされ、理論・実験にわたって有用な結果が得られている¹⁻⁵⁾。

この方法で正しく3次元像再生を行うためには、3次元点像分布関数を正確に知ることが重要である。3次元点像分布関数の測定は蛍光ビーズを用いて行われているが、実際に生体組織を観察するのと同じ条件で測定することは容易ではなく、測定のSN比もあまり高くとれないから、実測した3次元点像分布関数にはある程度の誤差が含まれている。

点像分布関数が不明の場合にデコンボリューションを行

うことはブラインド・デコンボリューションと呼ばれ、その原理的な可能性はLaneらによって示されている⁶⁾。また、位相回復のためのフーリエ反復型アルゴリズムを一般化したAyersとDaintyのアルゴリズム⁷⁾は、収束性について不明な点が残されてはいるものの、実用的アルゴリズムとして有効であることが知られている⁸⁻¹⁰⁾。

本研究では、AyersとDaintyのフーリエ反復型アルゴリズムを3次元に拡張し、顕微鏡画像からの3次元画像回復に適用することを計算機シミュレーションにより検討する。

2. フーリエ反復型3次元ブラインド・デコンボリューション・アルゴリズム

顕微鏡画像の輝度分布 $i(x, y, z)$ は、試料物体の真の輝度分布 $o(x, y, z)$ と顕微鏡の点像分布関数 $h(x, y, z)$ のコンボリューションによって与えられるものとする。

$$i(x, y, z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} o(\xi, \eta, \zeta) h(\xi-x, \eta-y, \zeta-z) d\xi d\eta d\zeta \quad (1)$$

式(1)は、それぞれのフーリエ変換を大文字で対応させると、

**E-mail: komatsu@mn.waseda.ac.jp

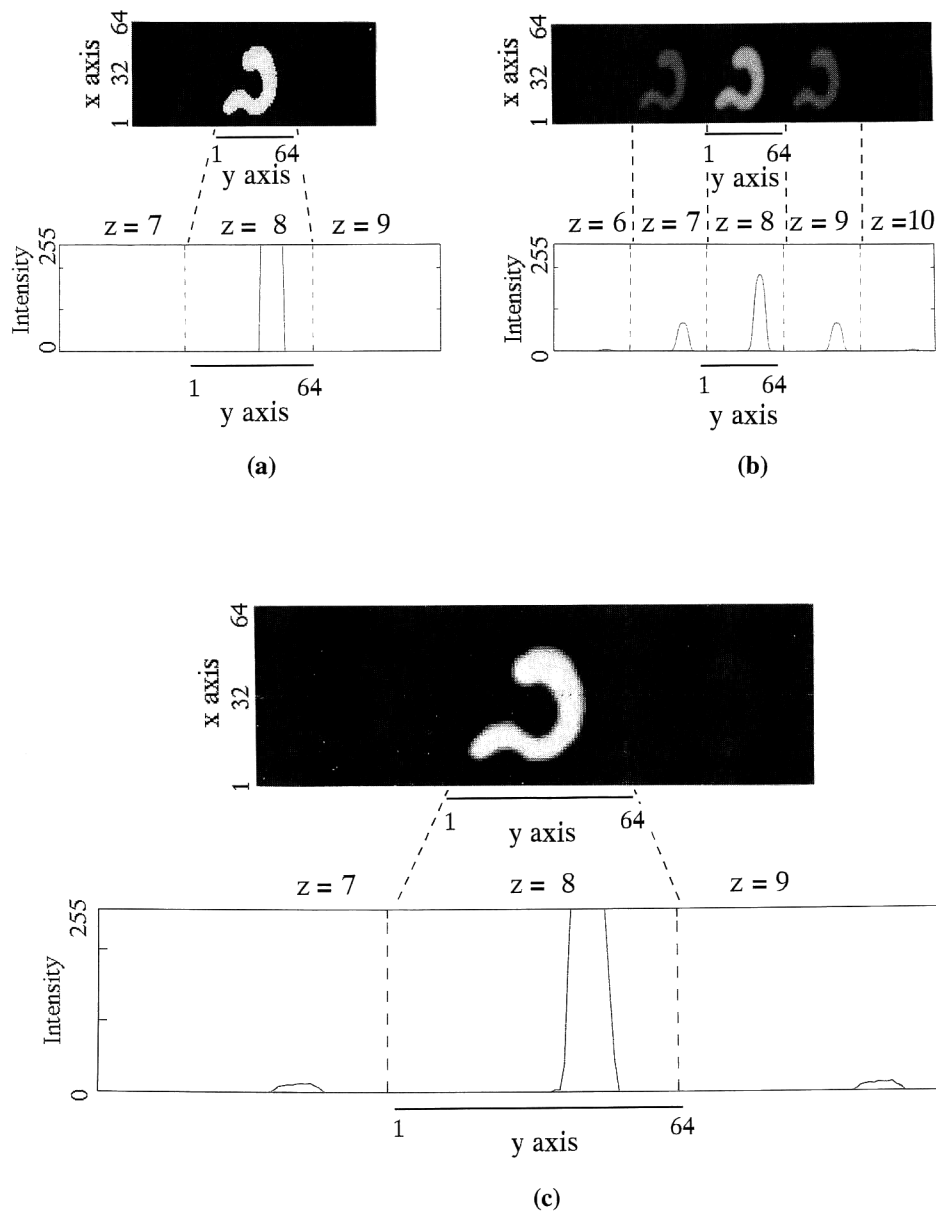


Fig. 2 Reconstruction of a thin object. (a) A model object which occupies only one layer perpendicular to z -axis, (b) a blurred image of the model object, and (c) a reconstructed image obtained by applying 3D blind deconvolution algorithm to the blurred image (8 iterations; $\beta=0.9$).

像面での拘束条件としては、非負拘束条件とサポート条件を用いている。このうち、物体 $o(x, y, z)$ と点像分布関数 $h(x, y, z)$ が非負であるという非負拘束条件については、逆フーリエ変換直後の推定画像に含まれる負値総和の絶対値 E を負値をもつ画素数 M で割り、負値をもつ画素のすべてを E/M で置き換えている¹¹⁾。また、劣化像がゼロ以外の値をもつ3次元領域をサポートとしている。この領域は z 軸に沿った長いビーム状の領域である。

3. 3次元画像回復のシミュレーション

前章のフーリエ反復型3次元ブラインド・デコンボリュ

ーション・アルゴリズムをモデル物体に適用するシミュレーションを行った。ここでは物体の初期予想として劣化像自身を、また点像分布関数の初期予想として小円（直径5画素）の劣化像を用いている。

光軸 (z 軸) 方向に薄い物体のシミュレーション結果を Fig. 2 に、少し厚みのある物体のシミュレーション結果を Fig. 3 に示した。

物体領域は x - y 平面の 64×64 の画素からなる平面が、 z 軸方向に16枚重なっているものとした。

Fig. 2(a) は、 z 軸方向の端から8枚目の平面だけに輝度分布のある薄い物体のモデルで、上段は z 軸方向に7, 8,

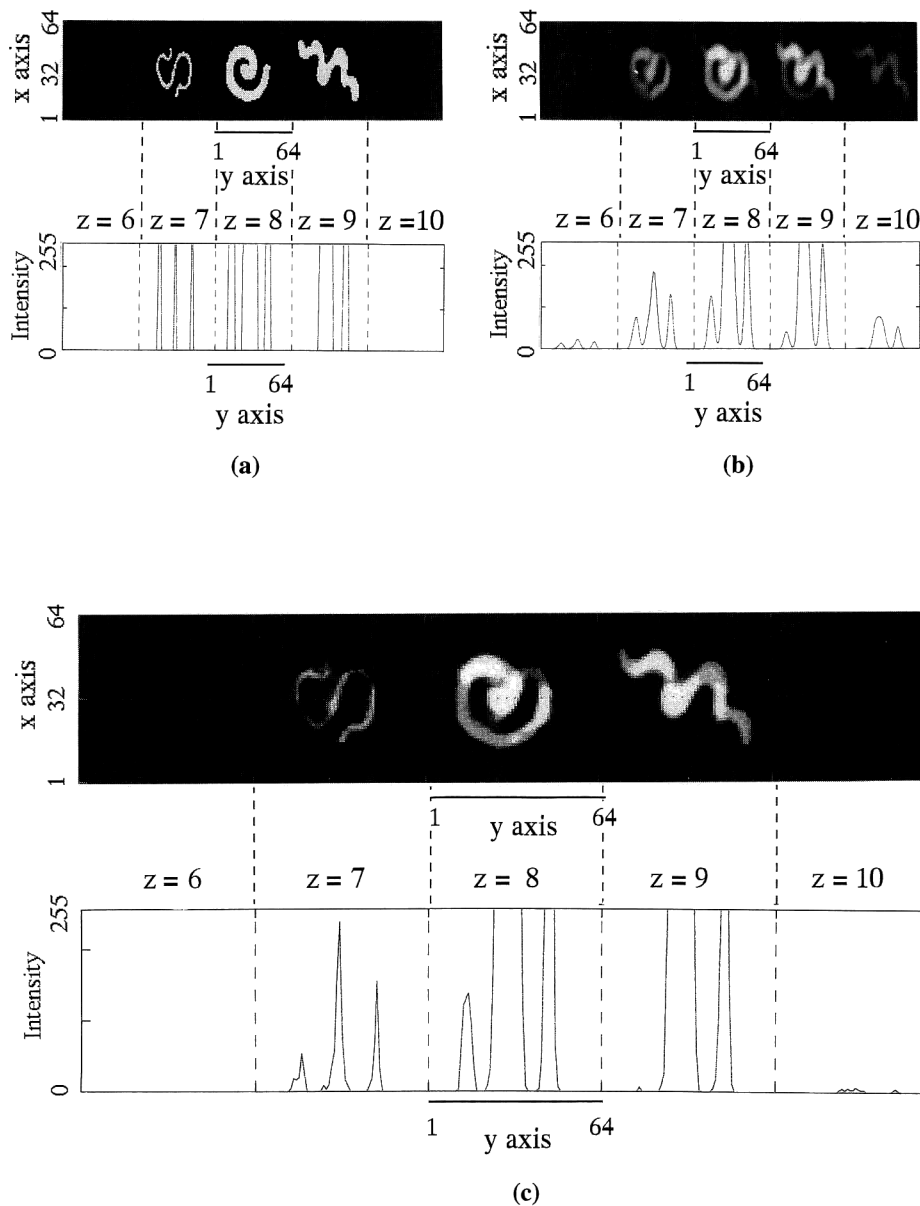


Fig. 3 Reconstruction of a thicker object. (a) A model object which occupies adjacent three layers perpendicular to z -axis, (b) its blurred image, and (c) a reconstructed image obtained by applying 3D blind deconvolution algorithm to this blurred image (6 iterations; $\beta=0.1$).

9番目の3枚の平面における輝度分布画像を表し、下段はそれらの画像の中心を通る水平な直線に沿った輝度分布の形を表している。

Fig. 2(b)は、Fig. 2(a)の物体の劣化像であり、輝度の大きな部分は6~10番目の5枚の平面にわたって分布している。

Fig. 2(c)は回復結果（反復回数8回； $\beta=0.9$ ）で、Fig. 2(a)と対応させて z 軸方向に7, 8, 9枚目の3枚の平面における輝度分布を表した。劣化像では物体の像が上下の面にもにじんでいるが、回復像では、にじみの影響が大幅に減っているのがわかる。回復像のrms誤差は初期予想の

rms誤差と比べて31.2%減少している。

Fig. 3(a)は、少し厚みのある物体のモデルで、 z 軸方向に7, 8, 9枚目の3枚の平面にわたって輝度分布をもっている。Fig. 3(b)がその劣化像、Fig. 3(c)が回復結果である（反復回数6回； $\beta=0.1$ ）。この場合にも、回復像では、にじみの影響が減っているのがわかる。回復像のrms誤差は初期予想のrms誤差と比べて3.4%減少している。

薄い物体のFig. 2のほうが回復の度合いが大きく、物体が複雑で3次元空間内に広く分布しているFig. 3のほうが回復の度合いが小さいようである。このことは、空間内に広く物体が分布していると、点像分布関数による他の領

域へのにじみの影響が重なりあって、より大きくなるためと思われる。Fig. 3(b)の劣化像のまんなかの面では両隣の面から影響を受けてにじみが最も大きくなるため、回復画像輝度のゆらぎが大きい。各断面の物体形状の変化率を変えてシミュレーションを行った結果、各断面の物体形状が大きく異なっていると、回復の度合いが小さくなる傾向があった。

このほか、点像分布関数の初期予想について、真の点像分布関数、小円の劣化像、円（直径 10 画素）の劣化像の 3 つの予想に対してシミュレーションを行った結果、真の点像分布関数に近いものほどよく回復することを確認している。このことから、実際の光学系によるデータから画像回復をする際にも、真の点像分布関数により近い初期予想を与えることができれば、よりよい回復結果が得られると考えられる。また、実測した点像分布関数を初期予想として用いるだけでなく、点像分布関数の拘束条件にも利用することも有効であろう。

本研究の一部は、早稲田大学特定課題研究 (98A-586) と早稲田大学ハイテク・リサーチ・センターの援助により行われた。

文 献

- 1) 平岡 泰：“計算でボケを除いて見る（光学切片顕微鏡）”，限界を超える生物顕微鏡 見えないものを見る（宝谷紘一，木下一彦編，学会出版センター，1991）第 5 章，pp. 71-90.
- 2) D. A. Agard and J. W. Sedat: “Three-dimensional architecture of a polytene nucleus,” *Nature*, **302** (1983) 676-681.
- 3) N. Streibl: “Three-dimensional imaging by a microscope,” *J. Opt. Soc. Am. A*, **2** (1985) 121-127.
- 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) I. Nemoto and A. Takahashi: “Methods of improving the images in phase-contrast microscopy: Theory and computer simulation,” *J. Opt. Soc. Am. A*, **8** (1991) 511-519.
- 6) R. G. Lane and R. H. T. Bates: “Automatic multidimensional deconvolution,” *J. Opt. Soc. Am. A*, **4** (1987) 180-188.
- 7) G. R. Ayers and J. C. Dainty: “Iterative blind deconvolution method and its application,” *Opt. Lett.*, **13** (1988) 547-549.
- 8) 小松進一：“ブラインド・デコンボリューションによる像回復”，第 22 回画像工学コンファレンス論文集 (1991) pp. 179-184.
- 9) M. Hattori and S. Komatsu: “Analysis of convergence property of the Fourier iterative blind deconvolution algorithms,” *Proc. SPIE* **2778** (Proc. ICO 17th), (1996) 551-552.
- 10) M. Hattori and S. Komatsu: “Theoretical analysis of the iterative blind deconvolution algorithms,” *Technical Report Advanced Research Institute For Science and Engineering*, No. 96-35 (Waseda Univ., Tokyo, 1996) pp. 1-27.
- 11) 竹田 元，小松進一：“ブラインド・デコンボリューションのためのフーリエ反復アルゴリズムにおける非負拘束条件の検討”，*光学*，**25** (1996) 274-281.