

# コンタクトイメージングへの高周波照明法の適用

國吉 房貴<sup>1,a)</sup> 船富 卓哉<sup>1</sup> 久保 尋之<sup>1</sup> 向川 康博<sup>1</sup> 澤田 好秀<sup>2</sup> 加藤 弓子<sup>2</sup>

## 1. はじめに

我々はインキュベータ内で細胞を培養しながら観察を行うことを目的として、レンズを省いた小型撮影システムを開発している。この方式は、コンタクトイメージングと呼ばれ、レンズを用いない代わりに、照明として小さな点光源を用いることで像を鮮明にすることができる。しかし、光源とイメージセンサの間にある全ての細胞の透過光が計測されるため、さまざまな像が重なった画像が取得される。そこで我々は、リフォーカスによって、観察したい深度にのみ焦点を合わせ、他の深度に存在する細胞の像をぼかし、明瞭化する手法を提案した [1]。

しかし、多数の細胞が重なり合った被写体を観察した場合には、光の直進性が乱されるため、明瞭化の効果が限定的であった。そこで本研究では、被写体を透過し直進する直接光と、屈折や散乱によって広がりをもった大域光を分離することができる高周波照明法の技術をコンタクトイメージングに適用し、その効果を検証する。

## 2. 高周波照明法を用いた細胞観察

### 2.1 高周波照明法の原理

高周波照明法は、白と黒が交互に繰り返される細かいチェッカーパターン (高周波パターン) をシーンに投影することで直接光  $L_d$  と大域光  $L_g$  に分離する手法である [2]。高周波パターンの位相を変化させて得られた画像における各画素の輝度の最大値  $L_{max}$  と最小値  $L_{min}$  を用いることで、直接光  $L_d$  と大域光  $L_g$  はそれぞれ次式のように表される。

$$L_d = L_{max} - L_{min} \quad (1)$$

$$L_g = 2L_{min} \quad (2)$$

### 2.2 予備実験

コンタクトイメージングに高周波照明法を直接適用することは容易ではないため、まずは簡易な装置で高周波照明法の有効性を確認する実験を行った。この装置は、照明と

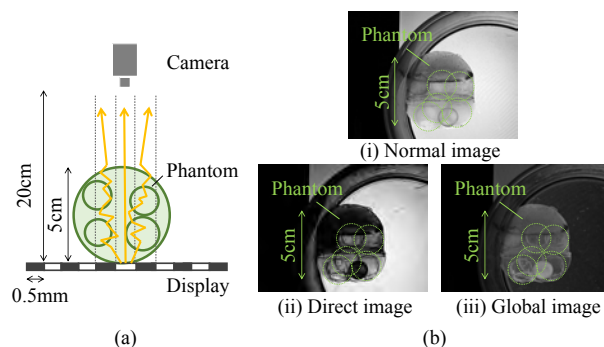


図 1: 予備実験環境と結果

カメラをコンタクトイメージングと双対な関係になっているが、原理的に同じ効果が得られる。本実験では、高周波パターンを投影するディスプレイとカメラを図 1(a) のように設置し、ディスプレイの上に直接、ゼラチンを用いて作製した直径 5cm の透明サンプルを配置して、幅 0.5mm のチェッカーパターンを投影した。

図 1(b) に結果を示す。(i) はディスプレイを全点灯させて撮影した通常照明画像で、(ii) 及び (iii) は高周波照明法によって分離された直接光と大域光の画像である。この結果より、通常照明画像でほとんど確認できなかった模型内部の輪郭が、直接光、大域光画像それぞれで明瞭に観察できるようになることがわかる。このように、光の成分分離によって透明な被写体の輪郭を明瞭化できることが期待され、細胞観察にも有効であると予想される。

## 3. コンタクトイメージングへの高周波照明法の適用

### 3.1 光源の微小移動による高周波パターンの投影

前章ではコンタクトイメージングと双対な撮像・照明配置で予備実験を行ったが、コンタクトイメージングで用いられる照明は点光源であり、ディスプレイのようにパターンを変えながら光を投影することができない。そこで本研究では、図 2 に示すように、点光源と被写体の間にスリットを設置し、点光源からの光をスリットでマスクすることによって高周波パターンを投影する。

高周波照明法を適用するためには投影パターンの位相を変化させながら撮影を行わなければならない。この実現には、スリットを微小に移動させる方法が考えられる。しか

<sup>1</sup> 奈良先端科学技術大学院大学 〒 630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

<sup>2</sup> パナソニック株式会社 〒 619-0237 京都府相楽郡精華町光台 3-4

<sup>a)</sup> kuniyoshi.fusataka.jv6@is.naist.jp

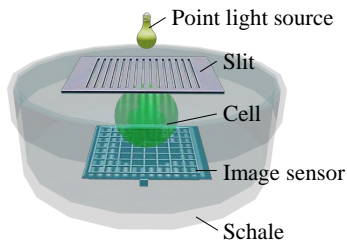


図 2: 提案システム

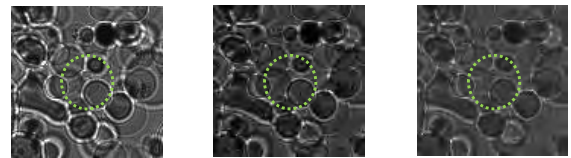
し、スリットを動かす機構の導入は装置の小型化の障壁なる。

そこで本研究では、スリットの微小移動によるパターン投影に代わる手法として、スリットを固定したままで点光源を微小移動させる手法を採用する。光源位置を微小に動かすことで、スリットは固定していたとしても、投影ターンの位相を変化させることができる。光源の微小移動はリフォーカス [1] でも必要な機構となるため、追加の装を導入せずに高周波照明法を実現できればメリットが大きい。ただし、図 3 に示すようにスリットの微小移動によって生成される投影パターンと光源の微小移動によって生じられる投影パターンは若干異なる。そのため、厳密には周波照明法とは異なった結果が得られることになるが、光源の微小移動による効果を実験によって検証した。

### 3.2 微小ガラスビーズを用いた実験

コンタクトイメージングにおける光源の微小移動による高周波照明法の有効性を検証するため、直径の平均が  $40\mu\text{m}$  程度のガラスビーズを用いて細胞を模し、実験を行った。使用した点光源のサイズは  $\phi=10\mu\text{m}$ 、スリットの幅は  $12.5\mu\text{m}$  である。また、スリットはできるだけ被写体に近づけるため、イメージセンサから高さが  $1\text{mm}$  のところに設置し、光源は  $11\text{mm}$  のところに設置した。この構成により、イメージセンサの画素サイズが  $1.335\mu\text{m}$  であるのに対し、 $12.5\mu\text{m}$  周期のパターンを構成することができた。上記の構成で投影する高周波パターンをできるだけ細かく変化させるため、点光源をステージで移動させながら撮影を行った。光源の移動間隔は点光源の大きさと同じ  $10\mu\text{m}$  に設定し、移動範囲は  $180\mu\text{m}$  として 19 枚の画像を撮影した。また、比較のために、スリットを配置しない通常照明下でも撮影を行った。

図 4 に実験結果を示す。通常照明下の画像 (i) と比べ、成分を分離して得られた直接光画像 (ii) において、ガラスビーズの輪郭が明瞭化されたことが確認された。しかし、2.2 節で示した予備実験の結果と比べると、明瞭化の効果はさほど大きくなかった。この原因としては以下のことが考えられる。予備実験環境では、観察画像から得られる直接光、大域光画像の和を取ることににより、通常照明下での観測画像と同等の画像を復元することができる。一方、点



(a) Normal image (b) Direct image (c) Global image

図 4: 提案手法によって得られた結果

光源を動かして観察を行った場合、図 3 に示すように、スリットにより遮られた光線が他の観測で補完されるわけではないため、厳密にはスリットがなかった場合の観測画像を復元することはできない。つまり、点光源を動かしてパターンを変化させることはできるものの、光線の欠損が生じており、厳密な成分分離はできていないと考えられる。これにより、明瞭化の効果が限定的であったと考えられる。

## 4. おわりに

本研究では、コンタクトイメージングにおける細胞観察の明瞭化を目的として、高周波照明法の適用を検証した。透明な細胞模型を用いた予備実験により、高周波照明法による明瞭化の効果を確認した。コンタクトイメージングへ高周波照明法を適用するため、スリットと点光源の微小移動を併用して高周波パターンを投影する装置の構成を提案し、ガラスビーズを用いた検証を行った。その結果、提案した装置設計では明瞭化の効果が限定的であったことが示唆された。

今後の課題として、高周波照明法とリフォーカス手法 [1] を組み合わせた場合の効果の検証と、明瞭化の効果を定量評価する方法の検討が挙げられる。また、細胞にも負担をかけず、光線の欠損がない高周波照明法を実現する手法の検討も引き続き行っていく。

### 参考文献

- [1] 加藤弓子, 澤田好秀, 國吉房貴, 久保尋之, 船富卓哉, 向川康博, “リフォーカシングによる初期胚の自由焦点画像生成”, 信学技報 医用画像研究会 (MI), No.30, Jan.2016.
- [2] S. K. Nayar, G. Krishnan, M. D. Grossberg, and R. Raskar, “Fast separation of direct and global components of a scene using high frequency illumination”, Proc. SIGGRAPH’ 06 ACM SIGGRAPH 2006 Papers, pages 935944, 2006.