

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：32613

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K04891

研究課題名(和文) 少数方位投影像による電子線トモグラフィのための非線形離散階調再構成法の開発と応用

研究課題名(英文) Development and applications of a non-linear discrete grey-level reconstruction method for electron tomography with a limited small number of images

研究代表者

馬場 則男 (Baba, Norio)

工学院大学・情報学部(情報工学部)・教授

研究者番号：80164896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：医療用X線CTと同様な原理で電子顕微鏡を使ってナノの分解能を持つ電子線CTが広く応用され、生物、材料科学分野の3次元構造解析に役立っている。しかし、装置の仕組みなどから一般に全方向の投影像が得られないため、特に奥行方向の分解能が低く、また、撮影枚数が100枚近く必要なため、何時間も要し実用性に大きな問題があった。本研究の結果、これらを解決する新たな断層像演算方法が考案され、そのソフトウェアも作製された。これまでの撮影時間を1/4から1/5にまで短縮しても奥行方向の分解能が下がらない鮮明な断層像が得られる。医療用X線CT、MRI、中性子線CT、など、その他のCTにも役立てられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コンピュータ断層法(CT)では、全ての方向(0° ～ 180°)の投影データが必要ですが、この研究で取り上げた電子線(CT)のように、限られた角度範囲(ここでの例で換算して、 0° ～ 140°)しかデータが得られないCTもあります。このようなとき、断層像は歪みぼやけた像となります。この問題を解決しました。与えられた情報だけから欠陥を補う新たな理論を構築しました。さらに、通常 1° 間隔で細かく投影データを取得する必要がありますが、放射線量を減らす必要から、この間隔を 8° ～ 10° と広げても鮮明な断層像が得られます。この演算方法を広く多くのCT装置に組み込めば大きく貢献できると考えています。

研究成果の概要(英文)：Electron tomography based on the same principle as the medical X-ray CT is widely applied to various fields of biological and material science for 3D structural analysis with nano-order resolution. However, because in general the projection images of all directions are not acquired from the reason of instrumental specialty and electron physics, the depth resolution of a tomogram is considerably low. In addition, because it needs nearly 100 electron micrographs, it takes hours and there is a serious problem in practicality.

As a result of this research, we devised a new tomographic image reconstruction method to solve these problems and created the practical software. Even if the image acquisition time is shortened from 1/4 to 1/5, a clear tomographic image can be obtained without degrading the resolution along the depth direction. It is also useful for other CT such as medical X-ray CT, MRI, neutron CT, etc.

研究分野：電子光学

キーワード：電子線トモグラフィ 電子顕微鏡 逆問題 画像再構成 情報欠落問題

1. 研究開始当初の背景

(1) 電子線トモグラフィ(電子線 CT)はナノの分解能で3次元構造を直視できることから今世紀に入り飛躍的に応用が進み、いまや全物質材料研究の基盤ツールとなっている(文献、)。更に、透過型電子顕微鏡(TEM/STEM)および分析機器(EDS などの分解能、性能が大きく向上し(球面収差補正、電子直接検出カメラ、高感度 EDS、クライオ電子顕微鏡法の発展、各種試料ホルダーの向上、TEM 高速傾斜像取込(最速全取込 1 分以内)、低加速 TEM 分解能向上、HAADF/ADF の進展など) 様々なモードで画質の向上した投影像シリーズが撮影できるようになってきた。しかし、一方の断層像を得る再構成法は、進展しつつも当初からの課題解決には至らず、革新的な改善が急務となっている。その課題は、情報欠落の解消と撮影枚数の大幅な削減である。前者は、試料の傾斜角度が一般に制限($\pm 60 \sim 70^\circ$)され、入射電子線に直交する界面・境界が解像できない問題である。後者は、通常撮影枚数が 100 枚近くにもなるため、電子線損傷の障害が大きく、加えて、撮影時間が 1 時間以上にもおよび極めて効率が悪いことである。(用語、TEM:透過型電子顕微鏡、STEM:走査透過型電子顕微鏡、EDS:エネルギー分散型 X 線分光、HAADF:高角度環状暗視野法、ADF:暗視野法)

(2) これらの課題を解決するため、以前から世界的にも新たな再構成法が研究されてきた(文献、)。しかし、これまでの手法は、総じて後処理による画像回復の方法のため、自ずと情報欠落の改善の程度は限られてきた。これに対して、筆者らは、元となる再構成そのものを改善するため、そのブレイクスルーに成りうる新奇な再構成法をこれまで着実に進展させ、幾つかの試料で情報欠落を解消、または改善して来た(文献)。しかし、ここにきて、先に述べた二つ目の課題、即ち撮影枚数の大幅な削減こそが利用効率、ひいては電子線 CT の今後の発展を左右する重要課題であることを改めて認識し、今期間のテーマとした。理由は、[1]STEM 像など撮影時間を要する場合、少ない撮影枚数でなければ電子線 CT そのものの解析法が実用にならないこと、[2]撮影枚数の削減は、データ取得に時間を要する EDS トモグラフィにも大きく道を開くことになる。さらには、[3]時間変化を捉える 4 D トモグラフィにも道を開く大きな要因となるからである。

2. 研究の目的

これまでの科学研究費補助金の期間を通じて提案して来た、非線形離散階調再構成法、を新たに改良して、少数方位の投影像(少ない撮影枚数)からでも情報欠落なくかつ解像度を落とさない再構成法を開発する。これまでの成果から本質的にはそのような優れた特性を持つことは分かっていたが、画質の低下や最終解の断層像への収束性が不安定で、これらを改良する。これにより TEM/STEM/EDS トモグラフィにおいて、 $1/4 \sim 1/5$ に撮影枚数を削減しても情報欠落のない鮮明な断層像を得ることが目的である。

3. 研究の方法

(1) まず、本手法である非線形離散階調再構成法の基本について概要を述べる。デジタル断層画像において、各画素の濃度階調 ' n ' は濃度の量子化された 1 単位(以下、量子 q とする)を n 個積み上げたと考える。すると、デジタル断層画像の濃度分布は、その濃度分布を量子 q を単位に積分した積分値を M (整数値)として、 M 個の q をどのようにその断層画像空間に配置するかの問題に置き換えられる。 M は投影データの積分から求まるので、断層像再構成は、全方位の投影データを満足するように M 個の q の配置問題を解くことに他ならない。この画像を生成するための要素数ともいえる q の個数が有限個であることがここで問題の missing wedge の解決や少ない投影像でも再構成が可能などの根本理由となる。

(2) 上記の手法を改良して、少ない投影像枚数からでも劣化のない鮮明な断層像が得られるようにするため、上述の q の配置問題を解く方法を再検討する。逆行列のような数学を用いる、数値解放の導入、コンピュータアルゴリズムによる解決、などを再検討する。

(3) 試作手法のソフトウェアが出来た段階で応用実験を行って検証する。連携研究者の所属機関におけるナノテクノロジープラットホーム施設を利用し、また、分担者に、生物試料のサンプルを提供してもらう。さらには、大手企業からの材料提供も受けて、全体として、金属、複合ナノ粒子、触媒材料、燃料電池関連材料、半導体デバイス、ソフトマテリアル、細胞生物試料、などに応用し再構成実験を行う。さらに、連携研究者の協力を得て EDS トモグラフィにも応用する。

4. 研究成果

(1) 最終年度において、ようやく目的とした全く新しいトモグラフィ再構成手法と実用に耐えうるソフトウェア自体も完成した。新たな再構成を QURT と命名した(Quantisation Units Reconstruction Technique)。この成果はインパクトファクターの高い学術雑誌に投稿受理された(文献)。シミュレーションと複合ナノ粒子による応用実験結果は missing wedge 問題(傾斜角度 $\pm 70^\circ$ より高傾斜部分の投影データ欠落)を大きく改善した。また、一般的な撮影枚数から $1/4 \sim 1/5$ に削減してもほぼこの改善が維持されることも分かった。これまでの従来法の再構

成法 (FBP や SIRT) では断層像のフーリエ変換パターンに投影切断面定理による放射状に広がる線状のスペクトルが現れるが、本再構成法 (QURT 法) では自然な連続のスペクトル分布が現れ、もはや Shannon の標本化定理とは異なっている。競合他手法 (圧縮センシング法 (CS) (文献) や TVR-DART (文献) など) では、何らかの sparse モデリングが導入されるが、QURT ではモデリング等の事前情報は一切いらない。FBP や SIRT と同様、位置合わせされた傾斜シリーズ像と傾斜角度データをコンピュータに入力するのみである。これまでに、TiN-Ag 複合ナノ粒子、触媒材料、ソフトマテリアル、などの材料の再構成に応用し、威力を発揮している。(用語、FBP: フィルター補正逆投影法、SIRT: 代数的同時反復再構成法)

(2) 具体的な完成に辿りついた改良点について述べる。上述の q の配置問題を解く方法を再検討し、独自の誤差分布 $E_{map}(\cdot)$ なる関数を算出し、それが全体にゼロとなるように q を配置するようにした。断層像の再構成は、反復によって達成するが、この誤差分布は、反復ごとに途中の再構成された断層像と実験で与えられた投影データとの間の差の単純逆投影によって求まる。反復ごとに誤差が最も減少する位置に q を配置するようにすることで正確な断層像が安定して求まる。ただし、この処理は、次のさらに大きな反復処理の中で行わないと実効性がない。それは、断層像の細度(解像度)を意図的に粗い段階から徐々に高くして最終的に撮影像と同じ高精細にしていく段階的な反復処理である。これを実行した結果、missing wedge 問題がこれまでになく改善した。

次に、上記を基本処理とここでは呼ぶが、この処理はある方位 () を固定して行われる。これは、本手法の理論から q の配置すべき個数が断層像全体で決まるだけでなく、 に直交する x 軸の各 x 座標上の列 (y 座標) ごとにも個数が決まり、 q の配置の拘束条件となるからである。さらに改良して、この を複数にして ($\pm 70^\circ$ と 0° の 3 方位) 行ったところ、断層像の収束性と画質が格段に向上し、さらに、少ない撮影枚数に対しても画質の劣化がなかった。

(3) シミュレーションと実験結果について述べる。図 1 に、計算モデルによる本再構成法 (QURT) の処理過程と結果を示した。

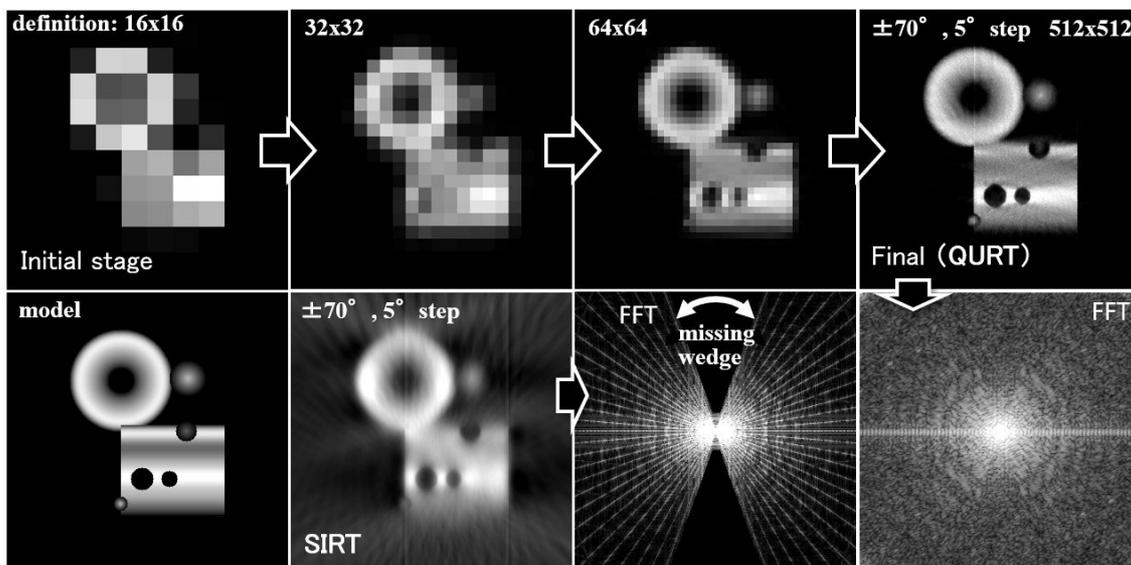


図1 本手法 QURT の処理過程と従来法 (SIRT) との比較、上段の左から右に向かって、下段左端のモデルに対する QURT の処理経過を示した。下段 SIRT の結果に比べ上段の右端の QURT の結果は明らかに偽像や歪みがほぼ消えモデルに近い結果となっている。両者のフーリエ変換 (FFT) の比較では、QURT で missing wedge が消えていることが分かる。

図 1 の結果と、その他のシミュレーション結果から、QURT を使えばほぼ $\pm 70^\circ$ 、 5° ステップの撮影で概ね正しい断層像が得られることが分かった。この結果を踏まえ、図 2 の実験を行ったところ、実験的にもこのことが実証された。さらに、図 2 の撮影枚数の削減実験から約 1/4 に減らしても偽像や歪みがほぼ同様に抑えられることが分かった。

以上述べてきたように、本提案の QURT 再構成法は電子線トモグラフィに大きく寄与できると確信できる。現在、様々な材料に応用し、良い結果を得ている。さらに強調したいことは、本手法は、その他の CT 法 (医療用及び産業用 X 線 CT, MRI, 超音波 CT, 中性子線 CT, など) にも応用できるので今後貢献したいと考えている。

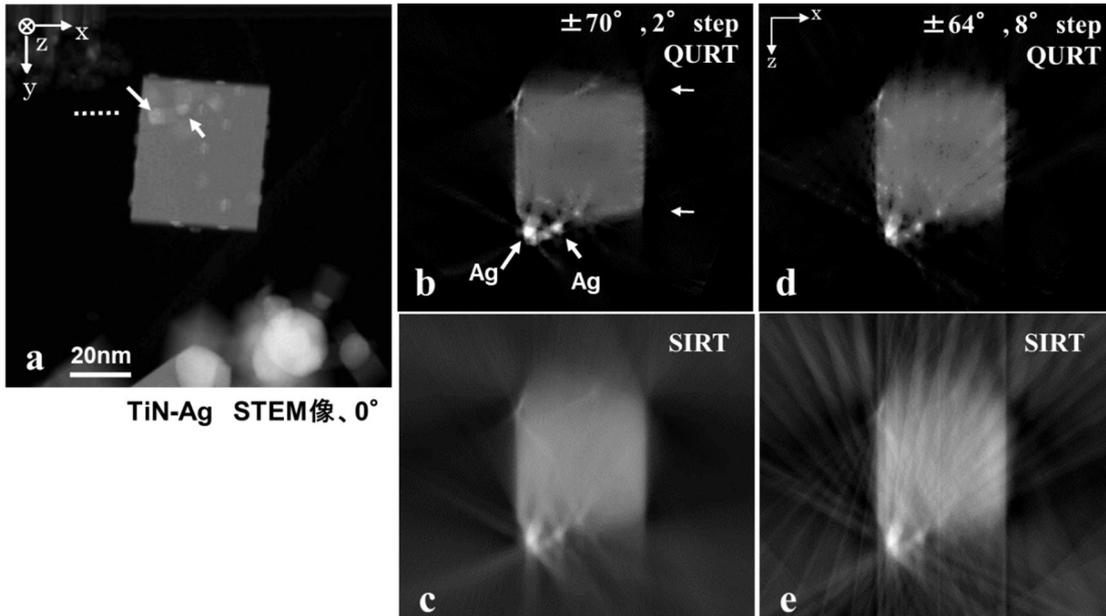


図2 本手法 QURT の複合ナノ粒子 (TiN-Ag) への応用実験結果、 (a): 0° 方向 (傾斜無し) の STEM 像、 (b): $\pm 70^\circ$ 、 2° ステップ (一般的条件) の撮影像から本 QURT で再構成した断層像、 (c): 同条件で従来法の SIRT で再構成した断層像、矢印のエッジのコントラストや銀 (Ag) の鮮明さにおいて QURT は明らかに良い差異を示している、 (d): 意図的に撮影枚数を約 $1/4$ に削減して QURT で再構成した断層像、 $1/4$ に削減しても少しコントラストの高い銀微粒子の影響による乱れはあるがそれ以外は良く構造を回復している、 (e): 同条件の SIRT の比較断層像、 $1/4$ にまで削減すると従来法では構造がほとんど読み取れないほどに劣化する。(画像データ提供: 九州大学、金子賢治教授)

< 引用文献 >

Midgley, P.A. and Weyland, M., 3D electron microscopy in the physical sciences: the development of Z-contrast and EFTEM tomography, *Ultramicroscopy* 96 (2003) 413-431
 Frank, J. *Electron Tomography* (Plenum Press, New York, 1992)
 Guay, M. D., Czaja, W., Aronova, M. A. & Leapman, R. D. Compressed sensing electron tomography for determining biological structure. *Sci. Rep.* 6, (2016) 27614-27627
 Zhuge, X. et al., Automated discrete electron tomography—towards routine high-fidelity reconstruction of nanomaterials. *Ultramicroscopy* 175, (2017) 87-96
 馬場則男、金子賢治、濃度量子を用いた非線形再構成法、*顕微鏡*, 53, (2018) 103-107
 Baba, N., Kaneko, K. and Baba, M., Novel nonlinear reconstruction method with grey-level quantisation units for electron tomography. *Sci Rep* 10, (2020) 20146-20161

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Isakozawa Shigeto, Baba Misuzu, Amano Junpei, Sakamoto Shohei, Baba Norio | 4. 巻 68 |
| 2. 論文標題 Generalized spot auto-focusing method with a high-definition auto-correlation function in transmission electron microscopy | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Microscopy | 6. 最初と最後の頁 395 ~ 412 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfz028 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Baba Misuzu, Tomonaga Sachihiko, Suzuki Masato, Gen Maeda, Takeda Eigo, Matsuura Akira, Kamada Yoshiaki, Baba Norio | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 A nuclear membrane-derived structure associated with Atg8 is involved in the sequestration of selective cargo, the Cvt complex, during autophagosome formation in yeast | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Autophagy | 6. 最初と最後の頁 423 ~ 437 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15548627.2018.1525475 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 馬場則男、金子賢治 | 4. 巻 53 |
| 2. 論文標題 濃度量子を用いた非線形再構成法 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 顕微鏡 | 6. 最初と最後の頁 103 ~ 107 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Baba Norio, Kaneko Kenji, Baba Misuzu | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Novel nonlinear reconstruction method with grey-level quantisation units for electron tomography | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 20146 ~ 20161 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-77156-1 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

| |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名 馬場 則男, 前田 元, 馬場 美鈴 |
| 2. 発表標題 濃度量子を用いた非線形再構成法の応用と課題 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤田 直弘, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 SEM連続試料傾斜像の逆結像方式による表面形態の3次元復元 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 照屋 海登, 山崎 順, 加藤 丈晴, 藤田 直弘, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 電子線トモグラフィーの非線型透過率補正におけるノイズ問題の解決法 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 前田 元, 馬場 美鈴, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 機械学習による電子顕微鏡像の物体輪郭線抽出を支援するソフトの開発 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 前納 優斗, 前田 元, 馬場 美鈴, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 機械学習とガボールウェーブレットによる輪郭抽出法の電子線トモグラフィへの応用 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 馬場則男, 藤田直弘 |
| 2. 発表標題 連続試料傾斜SEM像の逆投影による表面形態の3次元復元 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第61回シンポジウム(招待講演) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 前田 元, 馬場美鈴, 馬場則男 |
| 2. 発表標題 機械学習とガボールウェーブレットによる電子顕微鏡像の輪郭抽出を支援するソフトの開発 |
| 3. 学会等名 ナノテスティング学会 第6回生物計測応用研究会(招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 馬場 則男, 前田 元, 馬場 美鈴 |
| 2. 発表標題 濃度量子単位に基づく非線形離散再構成法の改善 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 天野 純平, 坂本 祥平, 砂子沢 成人, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 高精細自己相関関数による倍率および試料に依存しないスポットオートフォーカス |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤田 直弘, 馬場 則男, 牛木 辰男 |
| 2. 発表標題 SEM連続試料傾斜像の逆投影による表面形態の3次元復元 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 前田 元, 手塚 聖貴, 坂本 祥平, 馬場 美鈴, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 機械学習による電子顕微鏡像の特定物体のセグメンテーション及び輪郭線抽出手法 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 馬場 美鈴, 前田 元, 武田 英吾, 松浦 彰, 鎌田 芳彰, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 選択的積荷をオートファゴソームに隔離する仕組みの形態解析 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 石川 裕之, 長尾 諭, 森川 彰, 須田 明彦, 藤田 直弘, 馬場 則男 |
| 2. 発表標題 電子線トモグラフィによる排ガス浄化触媒内部の3D観察 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 馬場則男、前田 元、馬場美鈴 |
| 2. 発表標題 濃度量子を用いた非線形再構成法の実用化と応用 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第76回学術講演会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 馬場則男、藤田直弘 |
| 2. 発表標題 ステレオ像の新しい解釈による表面形状の3次元復元 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第76回学術講演会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 前田元、馬場美鈴、馬場則男 |
| 2. 発表標題 機械学習を用いた連続断層像上の輪郭線及び輪郭面抽出支援ソフトの開発 |
| 3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第76回学術講演会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------------|--------------|----------------------|
| 産業財産権の名称 画像処理装置、画像処理方法、及び画像処理プログラム | 発明者 馬場則男 | 権利者 学校法人工学院 大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-206124 | 出願年 2020年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|---|----|
| 研究 分 担 者 | 馬場 美鈴 (Baba Misuzu) (80435528) | 工学院大学・総合研究所(付置研究所)・研究員 (32613) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|