

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：32613

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510156

研究課題名(和文) 情報欠落に影響されない新たな非線形離散濃度譜調再構成法の実用化

研究課題名(英文) Practical development of a novel non-linear discrete image reconstruction method for electron tomography unaffected by the missing data range

研究代表者

馬場 則男 (Baba, Norio)

工学院大学・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) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：透過型電子顕微鏡を使って電子線CT(医療用X線CTと同じ原理)が行えるが、観察する試料を左右回りに連続回転できる角度に制限(60～70°)があるため、断層像はナノ(nm)の細かさではあっても、歪んだり、偽像(本来はない像)が現れたりしてきた。これを解決するために、これまで、断層像を演算する方法を、独自の離散数学を駆使した方法に変える提案をしてきた。その結果、前回の提案よりも更に改良され、より複雑な形や構造の試料にも対応する汎用的な方法が新たに開発できた。加えて撮影する試料回転のステップ数をかなり減らせることを検証した。

研究成果の概要(英文)：Electron tomography is realized with a transmission electron microscope, however, in general, a tomogram is distorted and affected with some artificial image due to the limited specimen tilt angle. This research work is aimed to resolve the problem by using a furthermore devised image reconstruction method as compared with the previously proposed one, namely, a unique discrete numerical method. As a result, a newly proposed method has become a powerful one to be able to reconstruct a desirable cross-section image even though the specimen object has some complex inner structures unaffected by the above mentioned problem. In principle, this characteristic can be demonstrated for a case of the small number of the projection images.

研究分野：画像工学

キーワード：電子線トモグラフィー 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

電子線トモグラフィ(電子線 CT)法は、約 20 年前に現在とほぼ同じ方式が確立した。従来の 2 次元解析だけでは解明することが不可能であった 3 次元情報をナノスケールの高い分解能で得ることが可能となり、燃料電池触媒研究をはじめ様々な材料研究、新素材開発において重要性が高まっている。

再構成法には、医療用 X 線 CT と同様に、フィルター逆投影法 (FBP) が主に用いられてきたが、試料傾斜角度制限 ( $\pm 60 \sim 70^\circ$ ) による情報欠落 ("missing-wedge") が大きな問題点である。加えて、フォーカス、視野追跡、像の位置合わせなど、X 線 CT よりはるかに煩雑で長時間の処理を経て投影データが取得されるため、自動化や高スループット化が困難な点も大きな課題とされてきた。ゆえに、電子線 CT を一般汎用手法にするためには、大きな改良が必要である。応募者は、その鍵を握る重要なイノベーションが、再構成法にあると考えてきた。再構成法自体が大きく変われば、情報欠落問題の解決のみならず、投影像枚数の大幅な削減など大きな進展が期待できると考えるからである。特に、電子線損傷の観点からは撮影枚数の削減が急務である。

### 2. 研究の目的

応募者は、これまで一貫して従来法の逆投影法に代わる非線形再構成法について研究し、前回の科学研究費補助金(21310075)で、新たに考案した、「非線形離散濃度階調再構成法」を汎用化させることが本研究の目的である。

この方法は、それまでに発見していた、「微小点収束原理」、すなわち微小な画像上の無数の点の集合演算を利用して断層像を作製する方法(米国特許 Patent No. 7,853,069)を発展させたもので、これを汎用化できれば、情報欠落問題をほぼ完全に払拭し、さらに、少ない投影枚数(約 1/5 の撮影枚数)からでもほぼ解像度を落とさずに再構成することができる。

### 3. 研究の方法

今回提案の非線形再構成法は、これまでにない新奇な再構成方法である。すなわち、デジタル画像は行列に配置された画素の濃度分布によって出来上がっているが、その濃度値をデジタル量子化単位である 1 デジタル値を単位として(量子単位と呼ぶ)これが積み上がっていると考え、無数の量子単位の発生、消滅、画素間の移動演算によって断層像を生成する方法である。

このような演算方法は、断層像を再構成するにあたって、それまでには難しかった拘束条件の導入を可能にすることができる。その拘束条件とは、濃度階調ごと(等濃度断面ごと)に連続領域を形成させながら断層像を生成するとの条件である。この条件によって、

電子線 CT で問題であった、試料傾斜角度制限による情報欠落の難点を克服することができる。

具体的な開発方法は以下である。

(1) 上記の量子単位を使った演算方式が最適に制御されて、その拘束条件を満たしながら、投影データとの誤差最小の唯一解(真の断層像)に安定に収束する動的制御方法を確立する。

(2) 生物系の応用では、ほとんどが切片試料なので、透過型電子顕微鏡による連続試料傾斜投影像では、傾斜角度が大きくなるほど視野の外側の投影像が入り込む。この投影理論からの逸脱が事実上影響しないように改良する。

(3) クラスタマシンによる並列処理化アルゴリズムを完成させ高速化を図る。

(4) 様々なナノ材料、ナノバイオ試料に応用する。特に、本再構成法の特徴である、少ない方位の投影像(例えば、通常の約 5 分の 1 の方位数)でも情報欠落なく再構成されるが実験する。

### 4. 研究成果

本研究では、電子線トモグラフィ(CT)で必ず発生する情報欠落問題を解決することが最終目的である。この問題は、電子線 CT では全方位に試料傾斜回転できないことに起因する ( $\pm 60^\circ \sim 70^\circ$  に制限)。これを解決するために、全く新たな再構成法として、本研究題目の「非線形離散濃度階調再構成法」を提案している。

実用開発の観点からは、主に 2 つの課題が挙げられたが、それぞれに大きな進展があった。すなわち、一つ目の課題としては、先に述べた特殊な量子単位に関する演算に必要なパラメータの最適化についてである。当初、反復演算毎に動的にパラメータの値を変化させることで達成されるとした。しかし、この最適化に、更に確実性の高い方法が考案できた。二つ目の課題としては、本手法の実験応用に関してである。研究目的に、撮影枚数を従来より約 5 分の 1 と大幅に削減しても情報欠落なく再構成できるとした。ここで、実験的に投影枚数をそのように大幅に減らした場合、連続試料傾斜回転による投影像シリーズの位置合わせが困難となることである。傾斜角度ステップが大きくなると従来法の位置合わせ法ではもはや似た像同士でないため合わせられなくなる問題である。しかし、これについても、新たな手法によって、自動でかつ精度が高い方法が考案できた。

これらの成果は以下のようなものである。一つ目については、基本の手法は変えないものの、最適化演算法をこれまでから大きく変え、所謂総当たり方式にしたことである。原則パラメータフリーな方式である。具体的には、有限個ながら非常に多くの量子単位の、像平面とそれに直交する濃度方向(積み上げ方向)の 3 次元配置の組み合わせによって断層像が

作られるとし、その配置組み合わせ問題に最適化を帰着させたことである。つまり、真の断層像は、その配置組み合わせの有限個の解の中にあるとしたことである。しかし、そのままでは、解の個数が膨大となるため、工夫を凝らし、低細精・低解像度(量子単位のサイズの大きい)から、徐々に、高精細・高解像度(量子単位のサイズを下げ微細に明瞭な像)に上げていく方法を考案した。実用実験による検証はさらに続けなければならないが、ある程度複雑な構造のモデル検証では、見事に正しい断層像にほぼパラメータ無しで収束した。従って、情報欠落を解決する汎用で確実な方法と考えている。

二つ目の点については、それまで主流であった、試料傾斜回転シリーズの隣接投影像同士の位置合わせ法に代わって、隣接投影像の‘逆投影線像’同士の相関法に変えたことで、大きく位置合わせ精度が向上した。この逆投影線像とは、1枚の投影像だけによる逆投影像(断層像)のことである。2次元投影像の逆投影像は3次元データとなり、その3次元空間の中で、真の物体は唯一なので、そこにどの逆投影線も交差するので、大きく離れた(20°~30°)投影角度同士であっても投影像を非常に正確に位置合わせできる。しかもほぼ完全自動化が達成され、論文発表した(最初に示した雑誌論文)。本方法は、位置合わせに留まらず、更なる応用の効用を示した。それは、投影像の僅かな倍率変動(電子顕微鏡による試料傾斜回転ごとの撮影で生ずる変動)の補正にも自動で対応できることが分かったことである。

以上述べてきたように、これらの成果は、従来のオフライン電子線CTをオンライン化できることを示すもので、波及効果は大きいと考えている。すなわち、動的‘その場観察’トモグラフィによる解析が今後可能であることを示すからである。しかも、最終的には、情報欠落なく、また、従来の約5分の1程度の投影像枚数からでも電子線損傷を抑えて解像度を落とさずに断層像が得られるからである。これは実験的にも、複合ナノ粒子で検証された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

K. Arasaki, H. Shimizu, 他 20 名、筆者 9 番目、A Role for the Ancient SNARE Syntaxin 17 in Regulating Mitochondrial Division、Developmental Cell, 32: 304-317(2015)査読有 doi:10.1016/j.devcel.2014.12.011

S. Tomonaga, M. Baba, S. Yamazaki and N. Baba, A new field-of-view auto tracking method for online tomography reconstruction based on back-projected ray image cross-correlation, Microscopy, 63 (5):

357-369 (2014) (査読有)

doi:10.1093/jmicro/dfu021

S. Tomonaga, M. Baba and N. Baba, Alternative automatic alignment method for specimen tilt-series images based on back-projected volume data cross-correlations, Microscopy, 63 (4): 279-294 (2014) (査読有)

doi:10.1093/jmicro/dfu014

S. Isakozawa, S. Tomonaga, T. Hashimoto and N. Baba, High-precision image-drift-correction method for EM images with a low signal-to-noise ratio, Microscopy, 63 (4): 301-312 (2014) (査読有)

doi:10.1093/jmicro/dfu016

Y. Kimori, N. Baba and E. Katayama, Novel configuration of a myosin II transient intermediate analogue revealed by quick-freeze replica electron microscopy, Biochem. J. 450 (23-35) (2013) (査読有),

doi:10.1042/BJ20120412

〔学会発表〕(計18件)

杉本健太、友永祥彦、馬場美鈴、馬場則男、逆投影線像3次元相互相関法による投影像シリーズの倍率補正、日本顕微鏡学会関東支部第39回講演会、工学院大学、2/28(2015)

Sachihiko Tomonaga, Misuzu Baba and Norio Baba, A new field-of-view autotracking method based on back-projected ray image cross-correlation for online tomography reconstruction, 日本顕微鏡学会第58回シンポジウム(九州大学医学部百年講堂)11/16-17(2014)

馬場則男、電子線トモグラフィ法に必要な様々な画像処理、日本顕微鏡学会・電子顕微鏡解析技術分科会、静岡県御殿場市時之栖、8/22-23(2014)

友永祥彦、馬場美鈴、馬場則男、従来法に代わる3次元断層データ相関法に基づく投影像の位置合わせ法、日本顕微鏡学会第70回記念学術講演会、幕張国際会議場、5/11-13(2014)

杉本健太、友永祥彦、馬場美鈴、馬場則男、高精細位相シフトPCMによる倍率等の投影像シリーズ画像補正の自動化応用、日本顕微鏡学会第70回記念学術講演会、幕張国際会議場、5/11-13(2014)

馬場則男、量子化単位に基づく非線形離散濃度諧調再構成法の改良、第69回日本顕微鏡学会学術講演会、ホテル阪急エキスポパーク、5/20-22(2013)

馬場美鈴、友永祥彦、鈴木雅斗、加藤大貴、馬場則男、酵母細胞のphagophore膜形成に關与する新規膜構造体の検出、第69回日本顕微鏡学会学術講演会、ホテル阪急エキスポパーク、5/20-22(2013)

友永祥彦、加藤大貴、馬場美鈴、馬場

則男、従来法に代わる断層像相関法に基づく投影像の位置合わせ法、第 69 回日本顕微鏡学会学術講演会、ホテル阪急エキスポパーク、5/20-22(2013)

鈴木 雅斗、馬場 美鈴、馬場 則男、テクスチャ解析とスネーク法の改良による電子線 CT セグメンテーション法、第 69 回日本顕微鏡学会学術講演会、ホテル阪急エキスポパーク、5/20-22(2013)

岡田 拓也、佐藤 晴彦、友永 祥彦、馬場 則男、牛木 辰男、連続試料傾斜による高精度 SEM ステレオ視差立体計測法、第 69 回日本顕微鏡学会学術講演会、ホテル阪急エキスポパーク、5/20-22(2013)

布施 太嗣、友永 祥彦、久保 貴、砂子沢 成人、馬場 則男、電顕像高精細自己相関関数によるオートチューニング、第 69 回日本顕微鏡学会学術講演会、ホテル阪急エキスポパーク、5/20-22(2013)

加藤大貴、友永祥彦、布施太嗣、馬場則男、3 次元断層データ相関法による連続投影像の位置合わせ法、日本顕微鏡学会関東支部第 37 回講演会、東京大学山上会館、3/6(2013)

布施太嗣、友永 祥彦、馬場 則男、高精細自己相関関数による電子顕微鏡のオートチューニング、日本顕微鏡学会関東支部第 37 回講演会、東京大学山上会館、3/6(2013)

S. Tomonaga, D. Kato, M. Baba and N. Baba, An Alternative Image Alignment Method Based on Reconstructed Cross-section Image Correlations, Microscopy and Microanalysis 2013 Meeting (Indiana convention center) PD-3, 5th Aug 2013

M. Baba, M. Suzuki, S. Tomonaga, M. Ogasawara, Y. Kamada and N. Baba, Morphological Analysis of the Intracellular Structures in atg Mutants, The 6th International symposium on Autophagy (Okinawa, Bankoku Shinryokan), p.77, (29-30, Oct. 2012)

馬場則男、新たに考案した非線形離散濃度諧調再構成法の改良、第 68 回日本顕微鏡学会学術講演会、つくば国際会議場、5/14-16(2012)

鈴木雅斗、馬場 美鈴、馬場 則男、動的閾値処理による電子線 CT セグメンテーション法、第 68 回日本顕微鏡学会学術講演会、つくば国際会議場、5/14-16(2012)

友永祥彦、加藤大貴、馬場 美鈴、馬場 則男、従来法に代わる断層像画質評価に基づく投影像の位置合わせ法、第 68 回日本顕微鏡学会学術講演会、つくば国際会議場、5/14-16(2012)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：荷電粒子線装置、三次元画像の再構成画像処理システム、方法

発明者：馬場則男、友永祥彦、馬場美鈴、橋本隆仁、四辻貴文

権利者：(株)日立ハイテクノロジーズ

種類：特許

番号：JP2014 - 119250

出願年月日：2014/06/10

国内外の別：国内

取得状況 (計 1 件)

名称：画像処理方法、画像処理記憶媒体、画像処理システム、および電子線またはエックス線コンピュータトモグラフィシステム

発明者：久保貴、橋本隆仁、矢口紀恵、馬場則男

権利者：(株)日立ハイテクノロジーズ

種類：特許

番号：5427133 号、および、US8588499

取得年月日：2013/12/06(国内)、2013/11/19(国外)

国内外の別：国内および国外

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

馬場 則男 (BABA NORIO)

工学院大学・情報学部・教授

研究者番号：8 0 1 6 4 8 9 6

### (3) 連携研究者

金子 賢治 (KANEKO KENJI)

九州大学大学院・工学研究院・教授

研究者番号：3 0 3 3 6 0 0 2

馬場 美鈴 (BABA MISUZU)

工学院大学・総合研究所・研究員

研究者番号：8 0 4 3 5 5 2 8