



生体散乱透視イメージングの高分解能化に関する研究

中谷, 徳幸

(Degree)

博士 (工学)

(Date of Degree)

2023-03-25

(Date of Publication)

2025-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8653号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100482401>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文

生体散乱透視イメージングの
高分解能化に関する研究

2023 年 1 月

神戸大学大学院システム情報学研究科

中谷 徳幸

目次

第1章 序論	1
1.1 研究背景	1
1.2 本研究の目的	2
1.3 本論文の構成	3
第2章 光散乱現象及び生体イメージング技術の基礎理論	5
2.1 生体内の光散乱現象	5
2.2 散乱特性	6
2.3 光コヒーレンストモグラフィーの原理	7
2.3.1 FD-OCT と SD-OCT の原理	8
2.4 フーリエ変換法による位相計測	11
2.5 ライトフィールドイメージング	12
第3章 生体模擬材料の開発に向けた高速人工散乱体作製技術	15
3.1 はじめに	15
3.2 ランダム配置空孔パターンの積層ずらし構造人工散乱体	15
3.3 散乱特性の評価方法	17
3.3.1 スカラー波の伝搬	17
3.3.2 モンテカルロシミュレーション	20
3.4 人工散乱媒体の等価散乱係数の評価結果	23
3.5 おわりに	27
第4章 波面補正による OCM の高分解能化	28
4.1 はじめに	28
4.2 デジタル位相共役鏡を用いた波面補正	29
4.2.1 位相共役鏡の原理	29
4.2.2 デジタル位相共役鏡を用いた散乱媒体を介した集光特性の向上	30
4.3 デジタル位相共役鏡を用いた OCM 実験系	32
4.4 実験結果	37
4.4.1 集光スポットの評価	37
4.4.2 周期構造の測定	42
4.5 おわりに	44
第5章 ライトフィールド顕微鏡と Deep Learning による高分解能化	46
5.1 はじめに	46
5.2 深層学習を用いたライトフィールド3次元イメージング	46
5.3 実験	50
5.4 おわりに	54

第 6 章 結論	55
参考文献	57
謝辞	62
発表リスト	63

第 1 章 序論

1.1 研究背景

イメージング技術はみえる化することで科学，技術，ものづくりを革新してきた。その代表例として，16 世紀と 17 世紀に発明された光学顕微鏡や望遠鏡，X 線 CT，MRI などがある。微細構造の可視化では 2014 年のノーベル化学賞を受賞した超解像顕微鏡によって光の回折限界を超える分解能が実現されている。これまでのイメージング技術は，理想的な媒体や環境において最大限の性能を発揮するように開発されてきた。しかしながら，最先端のイメージング技術をもってしても未だにみることのできない対象のひとつに散乱体や揺らぎ場がある。散乱体はすりガラスに代表されるように光の直進性を妨げ，多重散乱により内部の情報や向こう側の像を見えなくする。この散乱や揺らぎの現象は，小さいところでは分子の凝集体から生体の器官・組織，濃い霧や豪雨，トンネルなどの人工物，大気の揺らぎなど幅広いスケールで起きる現象である。ここでは散乱は波面情報を失うほどの直進光成分が欠落した状態を表し，揺らぎ場は波面情報を保持した状態で動的に変化する場を表すものとする。

この散乱場や揺らぎ場に対して，散乱光の状態及び伝搬を記述する方法に，光拡散方程式やモンテカルロシミュレーションなどがある。いずれも散乱光のもつ伝搬特性として，散乱係数，吸収係数，非等方散乱因子で統計的に記述するものである。光エネルギーの吸収を扱う場合には吸収係数も用いられる。散乱係数は，光子が散乱により伝搬方向を変えるまでに進む平均光路長の逆数で表される。生体組織では散乱により進行方向を変えることが少ないため，実効的な散乱係数（等価散乱係数）は小さくなる。マウスの脳など比較的透明性の高いものでも等価散乱係数は $25\text{--}60\text{ cm}^{-1}$ になる[1]。散乱係数が 60 cm^{-1} のとき， 0.17 mm 伝搬するごとに 1 回散乱するので， 0.1 mm 以下の構造を議論するのは本来適さない。一方，マウス脳の神経細胞の大きさは約 $10\text{ }\mu\text{m}$ であるため，散乱係数のような統計的な性質を扱う既存の方法では，高分解能なイメージングを実現するのは困難である。実際に，脳表層の血液中の酸素飽和度を調べる光トポグラフィーでの空間分解能は cm 程度に留まっている。近年，スペックル画像相関及び位相回復法や透過行列(Transmission Matrix)などのように光学系と情報処理を融合させたコンピュータシミュレーションによる散乱透視イメージングの研究が盛んになっている[2-9]。透過行列では散乱体を線形モデルとして，入出力の光波変換を行列で表す。これを用いて，散乱による劣化画像回復や散乱体を通過後の集光操作など新しい研究が生み出されている。

一方，散乱体内部の情報を可視化する散乱透視イメージング以外にも散乱体を用いた応用研究として物理的乱数発生[5]，画像暗号化[10]，超解像スポット形成[3]などが行われている。物理的乱数発生では，散乱体に光を照射して，発生するスペックル場を 2 値化して，

1次元信号として乱数を用いる。画像暗号化では、物体面及び空間周波数面でランダム位相変調することで元の画像情報をスクランブル化する。復号には暗号化時に用いたランダム位相変調分布を用いる必要がある。超解像スポット形成では、光学系のもつ開口数よりも広角な光を散乱により角度のない光に変換し、記録可能とするものである。また、散乱係数を自在に制御する人工散乱体作製技術も提案されている[11]。散乱を自在に制御し、それを様々な応用に用いる包括的な研究領域は散乱エンジニアリングと呼ばれている。

散乱エンジニアリングのように散乱現象を自在に制御し、それを工学応用するためには、散乱現象を理解し、制御する技術が必須である。また、散乱現象を理解するためには、散乱体及び揺らぎ場の内部及びその向こう側を可視化する散乱透視イメージングの進展が必須である。

1.2 本研究の目的

本研究の目的は、生体内部にある情報（蛍光タンパク質や分子情報）や構造を高分解能に観察するためのセンシング・イメージング技術の高度化及び高機能化に向けて、人工散乱体作製技術を改良し、層構造をもつ生体模擬材料を作製するための基盤技術を開発する。さらに、生体内部のイメージング技術として、散乱成分を除去し、内部に微小光スポットとして照明するデジタル位相共役を用いた散乱補正照明技術と、生体組織の高速3次元イメージング技術としてライトフィールド顕微鏡の画質向上に取り組む。これらの技術を統合することで、生体内部に所望の状態で光を届ける散乱体深部照明技術と、生体内部からの信号が散乱によって劣化したものを回復し、散乱体内部の情報を可視化する散乱透視イメージング技術の開発に繋がる。人工散乱体作製技術（3章）に基づく、散乱補正照明技術（4章）と散乱透視イメージング技術（5章）の関係と、それらを統合する散乱透視イメージングの研究構想を Fig. 1.1 に示す。

生体模擬材料の開発では、任意の構造をもつ散乱体作製技術の開発に取り組む。従来法での生体組織の模擬材料としては、イントラリピッドなどの微粒子が用いられてきた。散乱係数はミー散乱理論から粒径と濃度で決定される。生体組織のように複数層から成る構造を自在に作るのは困難である。近年、的場らにより、透明媒体中にフェムト秒レーザー加工により微小な空孔を開けて、微小空孔の密度により、散乱係数を制御する人工散乱体作製技術が提案されている[11]。この方法の課題として、微小空孔をレーザー走査により一つ一つ作製するために作製時間が長時間になることがある。そのため、本研究では微小空孔を一括に一平面分を作製するマスクパターンを用い、それを層構造にすることで高速に人工散乱体を作製する技術を提案する。このとき、各層ではランダムに位置がずれているものとし、これにより散乱特性を向上させる。シミュレーションにより散乱特性を評価し、生体模擬材料としての応用可能性を探る。

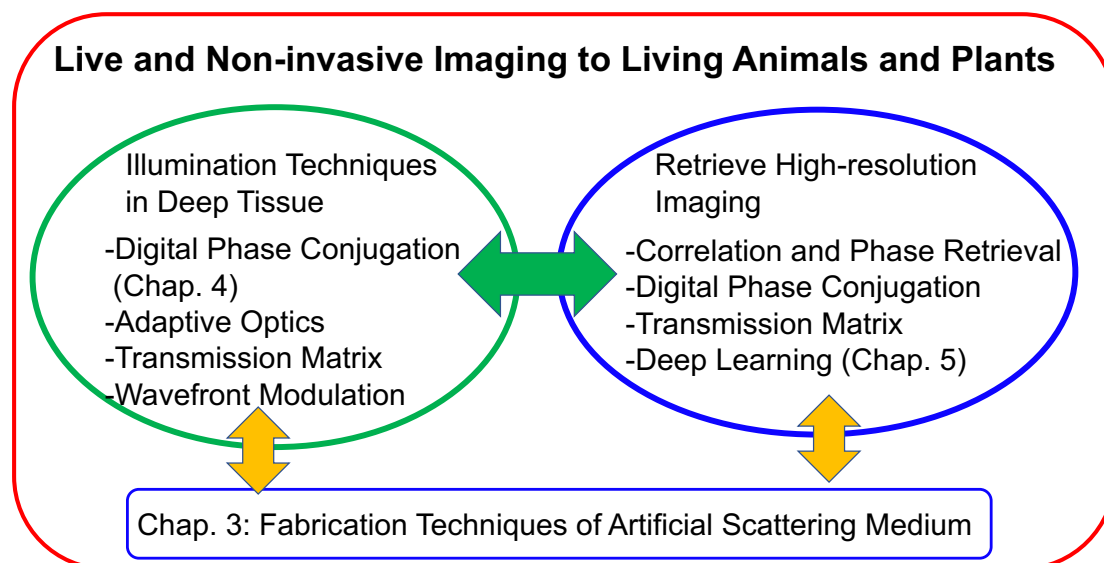


Fig. 1.1 Schematic of research overview of the thesis.

散乱体構造の計測及び散乱体及び揺らぎ場の内部及びその向こう側を可視化する散乱透視イメージング技術に関しては、2つの研究を実施する。それらは、光コヒーレンストモグラフィー（OCT）とライトフィールド顕微イメージングの2つである。OCTは眼底イメージングや内視鏡イメージングなどで臨床応用されている。しかし、生体組織は光にとって強い散乱体である。そのため、光が多重散乱によって深部まで到達することができず、光の集光特性が劣化し、OCTシステムによる高解像度イメージングが困難となる。散乱媒質における光の劣化情報を計測し、デジタル位相共役によりOCTイメージングの空間分解能をより向上させる。

ライトフィールド3次元蛍光顕微鏡はシングルショットで3次元蛍光画像を取得できるため、3次元空間で情報処理を行なっている脳機能解明に役立つものと期待される。基本的な構成であるレンズアレイと1台のイメージセンサを用いた光学系での課題として、奥行き情報の取得と再構成画像の解像度の間にトレードオフがある。3次元記録では奥行き情報が重要となるが、再構成画像の解像度が劣化する。本研究では、深層学習の一つであるU-netを用い、再構成画像の画質改善を行う。そのために、ライトフィールド顕微鏡と教師データとなる高解像度画像を取得するフルフィールド顕微鏡を一体化した光学システムを構築した。蛍光ビーズ及び植物細胞を用いた実験を実施し、提案システムの有効性を検証した結果を示す。

1.3 本論文の構成

本論文の構成を示す。第2章では、散乱体の特性と生体イメージング技術を説明する。第3章ではフェムト秒レーザー加工を用いた人工散乱体作製技術の高速化を実現する方法を提案し、その散乱特性をシミュレーションで評価した結果を述べる。第4章では、生体

組織の断層イメージング手法として有力な光コヒーレンストモグラフィ(OCT)で散乱体深部の集光スポットを狭くし、高分解能イメージングを実現するデジタル位相共役鏡付き OCT を提案する。実験系を構築し、実験結果から提案手法の有効性を実証する。第5章では、高速に3次元蛍光分布を取得するライトフィールド顕微鏡の画質向上を図るために、深層学習を導入する。実験系を構築し、学習用入出力データを取得する機能を導入している。第6章では結論として本論文の成果をまとめ、今後の課題を述べる。

第2章 光散乱現象及び生体イメージング技術の基礎理論

本章では、本論文で扱う物理的性質とイメージング技術を説明する。はじめに重要な物理現象である散乱現象について説明する。特に散乱光の伝搬特性を統計的に表す散乱係数及び等価散乱係数を紹介する。さらに、生体内部をイメージングする方法として断層イメージングを可能にする光コヒーレンストモグラフィーを紹介する。散乱によって乱れた波面を算出するフーリエ変換を用いた位相抽出法を示す。最後に、高速3次元イメージングの手法であるライトフィールドイメージングを説明する。

2.1 生体内の光散乱現象

光波は、屈折率分布が一様な均質媒体中を直進する。屈折率分布の厚さが薄い場合に、屈折率と厚さをかけた位相遅延が光波の波面を変調する。光線の進行方向は波面に垂直になるので、位相変調が空間的に変化する場合に、局所的に光線の進行方向が変わる。さらに、屈折率が奥行きに変化する場合には透過光と反射光に分かれる。屈折率分布が不均質な媒体中を光波が伝搬すると光波の進行方向がバラバラになる。これを散乱と呼んでいる。

生体内では、細胞核、脂質、液胞、葉緑体など屈折率が異なる媒質が分布しており、これが散乱の要因になる。これらの媒質の形状は一様なものではない。さらにそれらが構造を形成するが、その並びも均一でない。そのため、細胞内に光が入射すると様々な方向に光が曲がり、直進性が失われる。その Fig. 2.1 に模式図を示す[12]。

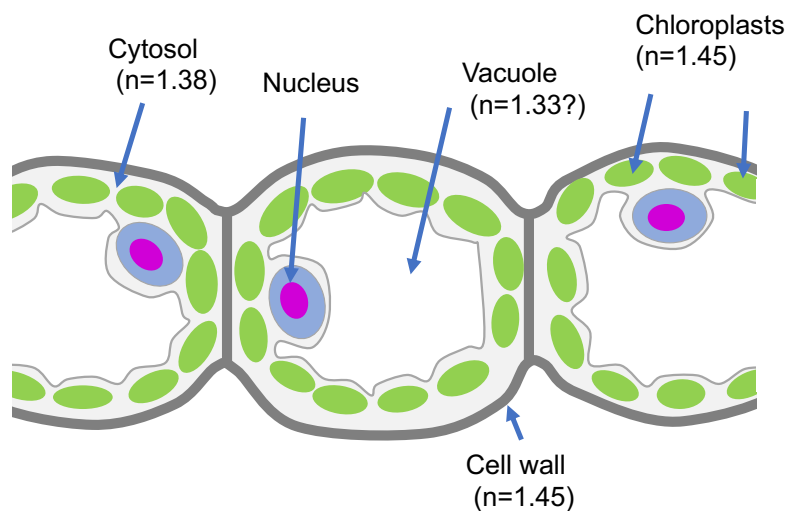


Fig. 2.1 Schematic of cell structure.

2.2 散乱特性

散乱体の散乱特性は等価散乱係数 μ'_s を指標として評価することができる。 μ'_s は光が多重散乱する際の等価散乱係数であり、散乱係数 μ_s と非等方散乱因子 g を用いて次式(2.1)で表される。また、散乱体に入射した光による散乱行程の様子を Fig. 2.2 に示す。

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (2.1)$$

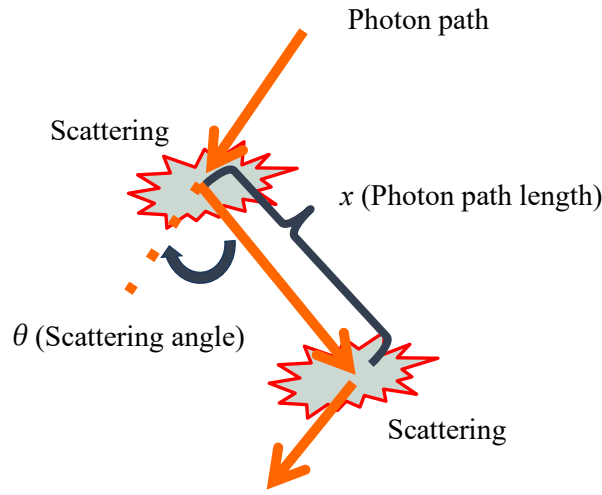


Fig. 2.2 Light propagation in scattering medium.

ここで、散乱係数 μ_s は式(2.2)のように、散乱体中で光が次に散乱するまでの光路長 x の平均値の逆数によって表される。つまり、散乱係数が 1 mm^{-1} のとき、平均的に 1 mm 進むごとに1回散乱により伝搬方向が変化する。また、非等方散乱因子 g は、光の進行方向と散乱後の方向がなす角の余弦の平均として式(2.3)で表される。

$$\mu_s = \frac{1}{\langle x \rangle} \quad (2.2)$$

$$g = \langle \cos \theta \rangle \quad (2.3)$$

g は散乱の異方性を表し、 -1 から 1 の間の値をとる。 $g = -1$ のとき、 $\theta = \pi$ となり、完全後方散乱、 $g = 1$ のとき $\theta = 0$ となり完全前方散乱、 $g = 0$ のときは等方散乱を表す。等価散乱係数 μ'_s だけでなく、散乱係数 μ_s と非等方散乱因子 g を独立して求めることで、散乱体の散乱特性をより詳細に評価することが可能となる。

2.3 光コヒーレンストモグラフィーの原理

OCT は時間領域 OCT (time-domain OCT; TD-OCT) とフーリエ領域 OCT (Fourier-domain OCT; FD-OCT) の 2 種類に大別することができる [13-19]。初めに、TD-OCT の原理を紹介する。TD-OCT の概要を Fig. 2.3 に示す。

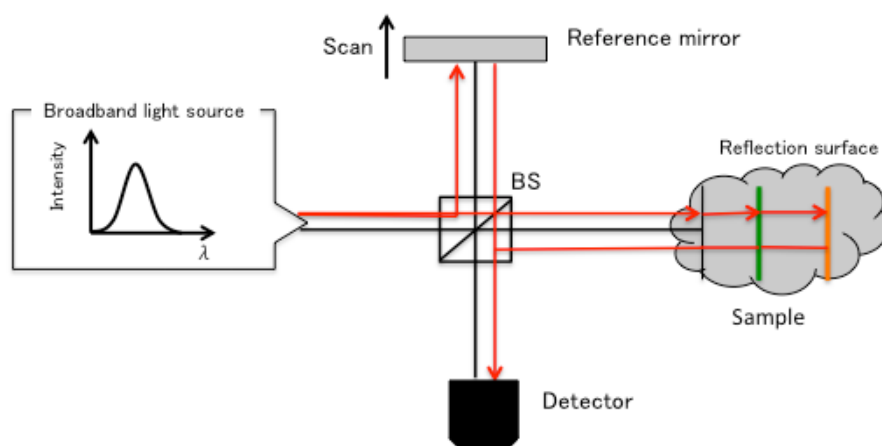


Fig. 2.3 Optical setup for TD-OCT.

光源として可干渉性の低い低コヒーレンス光源を用いる。低コヒーレンス光源から出た光はビームスプリッター (BS) によって 2 つの光路に分けられ、一つは物体の照明光となり、もう一つは参照鏡に入射させる。物体に入射した光は物体の表面や内部の構造など屈折率差がある境界面で反射される。物体及び参照鏡から反射した 2 つの光を BS で再び 1 つに合波し、検出器で干渉光強度を検出する。光の位相が揃っている場合に干渉により強め合うため、BS から物体及び参照鏡までの 2 つの光路長が同じ場合、最大強度の干渉信号が得られる。逆に 2 つの光路長が半波長異なる場合に最小強度の干渉信号となる。TD-OCT では参照鏡を動かして参照光側の光路長を変え、干渉信号が現れたとき、物体側で対応する深さに反射面があることになる。参照鏡の位置に対する干渉信号を取得していくことによって、物体内部の断面情報 (主として反射率分布) を取得することができる。

上述したように光源としては低コヒーレンス光源を用いる。低コヒーレンスとは、コヒーレンス長 (可干渉距離) が短い光を指し、コヒーレンス長の範囲内のみで干渉が観察される。コヒーレンスには時間的に離れた 2 点間の干渉性を表す時間コヒーレンスと空間的に離れた 2 点の干渉性を表す空間コヒーレンスがある。TD-OCT の場合、時間コヒーレンスを利用して、2 つの光路長差がコヒーレンス長以下であるときに干渉が生じる。コヒーレンス長は低コヒーレンス光源の波長幅に反比例するため、波長幅の広い光源を用いることで、奥行き分解能が向上する。

2.3.1 FD-OCT と SD-OCT の原理

TD-OCT は光波の干渉を時間領域で行うのに対して、FD-OCT は光波の干渉をスペクトル（色）領域で行う断層イメージング技術である。TD-OCT は1回の測定によりある断面干渉像のみが得られるため、奥行き方向の分布を計測するためには、深さ方向に一点一点機械的走査を行う必要がある。一方、FD-OCT は、後述するように1回の測定で深さ方向の情報を取得できるため、深さ方向の機械的走査が不要となり、測定をより高速に行うことが可能である[19]。ただし、面内方向には物体光を走査する必要がある。面内方向の走査は共鳴型ガルバノスキャナーなど 10 kHz で動作するものがあるため、高速計測には FD-OCT が用いられている。

FD-OCT の実施形態としては、低コヒーレンス光源、干渉計と分光器を用いるスペクトル領域 OCT (Spectral-domain OCT; SD-OCT) と光源の発振波長を高速に走査させる波長掃引型 OCT (Swept-source OCT; SS-OCT) の2種類に分けられる。本研究では SD-OCT を使用する。SD-OCT の原理図を Fig. 2.4 に示す。SD-OCT では参照鏡を固定している。機械的走査がないため、高速撮像が可能になる。この場合に、どのようにして奥行き情報を得るかについて概念を示す。BS から参照鏡までの距離と等価な位置に物体光側に参照鏡があると考えられる。そのため、物体側の反射面と参照鏡の光路長差を l とすると、一往復して強め合う条件は式(2.4)となる。ここで λ_m は m 番目の共振波長を表す。

$$2l = m\lambda_m \quad (2.4)$$

これから共振周波数 ν_m は真空中の光速を c として、

$$\nu_m = \frac{c}{\lambda_m} = m \frac{c}{2l} = m\Delta\nu \quad (2.5)$$

となる。つまり、スペクトル面で $\Delta\nu$ ごとに現れる周期を求めることで反射面の位置 l が分かる。

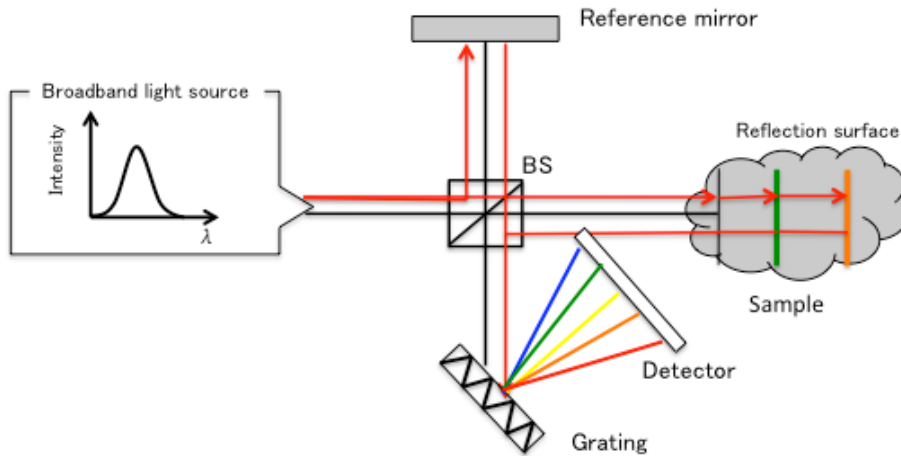


Fig. 2.4 Optical setup for SD-OCT.

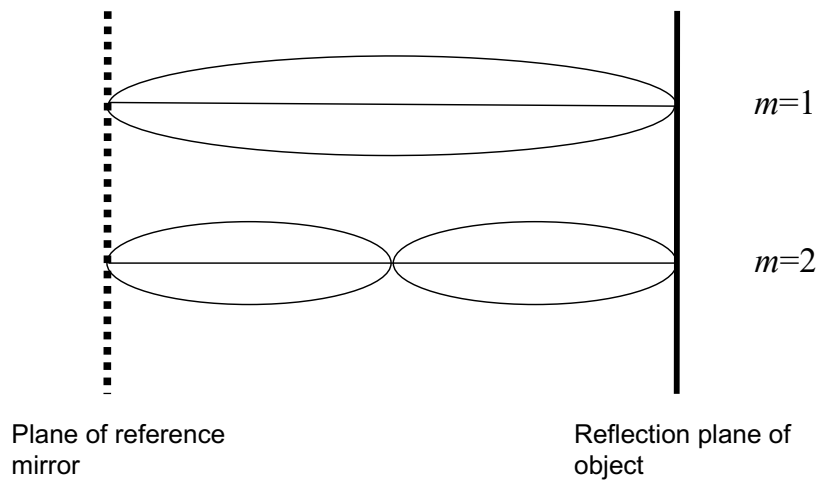


Fig. 2.5 Mechanism of SD-OCT. Resonance condition is appeared.

SD-OCT において干渉スペクトル強度分布から奥行き方向の反射率分布を得る手順を説明する。低コヒーレンス光源からの光は BS により分割され、それぞれ物体内部の反射層と参照鏡で反射し、物体光及び参照光として BS で合波され干渉する。干渉光は、分光器内の回折格子により波長ごとに分割され、多チャンネル検出器により干渉スペクトル強度分布として検出される。

式を用いて説明する。光が物体のある 1 つの面で反射すると仮定する。その位置を深さ Δz 、物体の屈折率を n_1 とすると、物体光と参照光の時間差 τ は真空中の光速を c とし、往復の光路長 $2 n_1 \Delta z$ を光速 c で割ることで得られる。

$$\tau = \frac{2n_1 \Delta z}{c} \quad (2.6)$$

また、 Δz での反射面での振幅反射率を a とし、参照光の電場を $E_0(t)$ とすると、物体光の電場は $aE_0(t - \tau)$ と表すことができる。干渉光の電場は重ね合わせの原理より、干渉光波は次式で表される。

$$E(t) = aE_0(t - \tau) + E_0(t) \quad (2.7)$$

分光器では式(2.7)をフーリエ変換した干渉スペクトル強度分布として式(2.8)が得られる。

$$\begin{aligned} I(\omega) &= |FT(E(t))|^2 = |FT(aE_0(t - \tau) + E_0(t))|^2 \\ &= |aFT(E_0(t - \tau)) + FT(E_0(t))|^2 = |aae^{-j\omega\tau}S(\omega) + S(\omega)|^2 \\ &= (ae^{-j\omega\tau}S(\omega) + S(\omega)) \cdot (ae^{-j\omega\tau}S(\omega) + S(\omega))^* \\ &= (1 + a^2 + 2a \cos \omega\tau)|S(\omega)|^2 \end{aligned} \quad (2.8)$$

ここで $S(\omega)$ は光電場のフーリエ変換であり、光源の振幅スペクトルである。

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} E_0(t) e^{-j\omega t} dt \quad (2.9)$$

干渉スペクトル強度分布をフーリエ変換すると

$$\begin{aligned} o(u) &= FT(I(\omega)) = FT(|S(\omega)|^2) \otimes FT(1 + a^2 + 2a \cos \omega\tau) \\ &= \Gamma(-u) \otimes ((1 + a^2)\delta(u) + a\delta(u - \tau) + a\delta(u + \tau)) \\ &= (1 + a^2)\Gamma(-u) + a\Gamma(-u - \tau) + a\Gamma(-u + \tau) \end{aligned} \quad (2.10)$$

を得る。式(2.10)で $\otimes$ はたたみ込みの演算子である。また Γ はコヒーレンス関数であり

$$\Gamma(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} E_0(t) E_0^*(t - \tau) dt \quad (2.11)$$

で表される。これをフーリエ変換すると、

$$\int_{-\infty}^{\infty} \Gamma(\tau) e^{-j\tau\omega} d\tau = |S(\omega)|^2 \quad (2.12)$$

となる。つまり、コヒーレンス関数をフーリエ変換すると光源のスペクトル強度分布となる。フーリエ変換の性質から光源のスペクトル幅が広がると、コヒーレンス関数の幅は狭くなる。波長幅が広い光源のコヒーレンス長は短くなる。また、レーザーのように波長幅が狭い光のコヒーレンス長は長くなる。

式(2.10)において u に $v/2$ を乗じると奥行き距離情報となる。ここで v は媒質中の光速であり、 $1/2$ は反射に要する往復分の距離を補正するためである。

2.4 フーリエ変換法による位相計測

本節では、干渉縞強度分布から位相を取り出す方法であるフーリエ変換法について説明する[20]。物体光と参照光の間に角度をつけて干渉させると、等傾角干渉と呼ばれる干渉縞が発生する。フーリエ変換法は、物体光の振幅分布と位相分布をフーリエ変換を用いた縞解析によって、自動的に抽出する手法である。

簡単のために1次元で説明する。等傾角干渉による干渉縞強度分布は次式で表される。

$$g(x) = a(x) + b(x) \cos(2\pi f_0 x + \phi(x)) \quad (2.13)$$

式(2.13)で物体の振幅反射率は $b(x)$ に含まれ、位相分布は $\phi(x)$ である。このため、 $b(x)$ と $\phi(x)$ を求めるのが主題である。ここで物体の空間的な変動周波数は f_0 に比べて十分小さいとする。式(2.13)を変形すると、

$$\begin{aligned} g(x) &= a(x) + \frac{b(x)}{2} \left(\exp(i(2\pi f_0 x + \phi(x))) + \exp(-i(2\pi f_0 x + \phi(x))) \right) \\ &= a(x) + \frac{b_1(x)}{2} \exp(i2\pi f_0 x) + \frac{b_1^*(x)}{2} \exp(-i2\pi f_0 x) \end{aligned} \quad (2.14)$$

となる。ここで $b_1(x) = \frac{1}{2} b(x) \exp(i\phi(x))$ である。

式(2.14)をフーリエ変換すると、

$$\begin{aligned} G(f_x) &= A(f_x) + B_1(f_x) \otimes \delta(f_x - f_0) + B_1^*(f_x) \otimes \delta(f_x + f_0) = \\ &= A(f_x) + B_1(f_x - f_0) + B_1^*(f_x + f_0) \end{aligned} \quad (2.15)$$

を得る。式(2.15)で得られる空間周波数分布は Fig. 2.6 のようになる。 f_0 の空間周波数により、 f_0 だけシフトしている。例えば、窓関数を用いて $B_1(f_x - f_0)$ のみを取り出し、それを f_0 シフトさせて、原点に移動させると、

$$G(f_x) = B_1(f_x) \quad (2.16)$$

となる。これをフーリエ逆変換すると、

$$g(x) = \frac{b(x)}{2} \exp(i\phi(x)) \quad (2.17)$$

を得る。式(2.17)に対して対数をとると最終結果として式(2.18)となる。

$$\log g(x) = \log \left(\frac{b(x)}{2} \exp(i\phi(x)) \right) = \log \frac{b(x)}{2} + i\phi(x) \quad (2.18)$$

式(2.18)から実部から $b(x)$ が求まり、虚部から $\phi(x)$ が求められる。

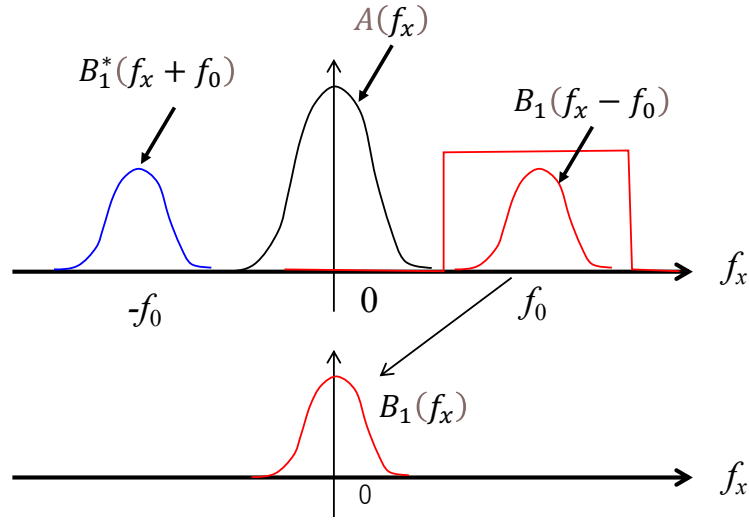


Fig. 2.6 Filtered operation in Fourier transform-based fringe analysis.

2.5 ライトフィールドイメージング

ライトフィールドとは、空間の位置と方向の関数として光線に沿った放射輝度を表す 4 次元関数である [10,21,22]。幾何光学において光の伝搬は光線を用いて考える。3 次元空間で光線の進行はプレノプティック関数で表される。Fig. 2.7 に示すように、3 次元空間の光線は (x, y, z) の 3 つの座標と 2 つの角度 (θ, ϕ) の 5 つのパラメータで表わせるため、プレノプティック関数は 5 次元関数である。

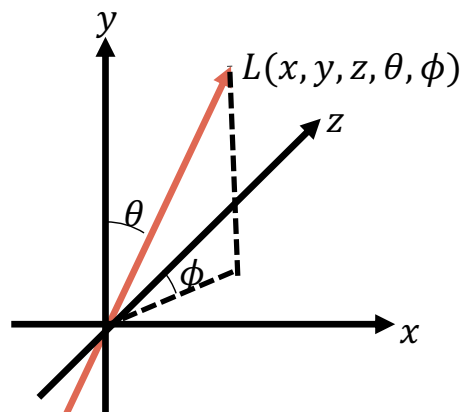


Fig. 2.7 5-dimensional plenoptic function.

ライトフィールドはプレノプティック関数から1次元情報を削減して4つの変数で光線の位置と伝搬方向を示す方法である。その概念図を Fig. 2.8 に示す。平行な2つの平面(u, v)と(s, t)を考える。光線は直進するため、この2平面の交点で光線を表すことができる。このため4つの変数で光線を表現でき、これを4次元ライトフィールドとして表される。

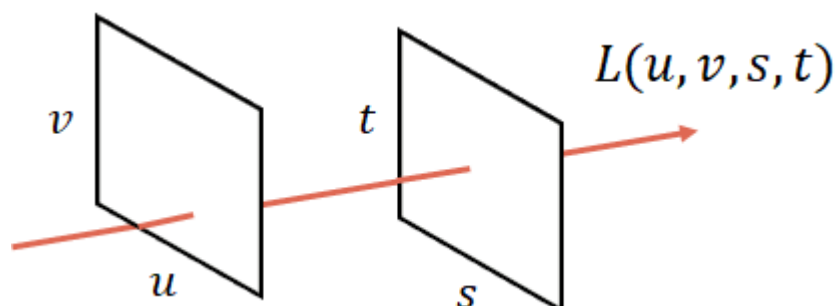


Fig. 2.8 4-dimensional light field.

ライトフィールド顕微鏡とは、従来のフルフィールド光学顕微鏡の結像面にマイクロレンズアレイ (MLA; Micro Lens Array) を置き、MLA の焦点面にイメージセンサを置いたものである。その光学系の概要を Fig. 2.9 に示す。Fig. 2.9 に示すように、物体面で青色の光線と赤色の光線の2つを考える。このとき、青色と赤色は物体上の2点の位置を表している。この2点から出た光は異なるマイクロレンズを通過し、イメージセンサに到達する。これにより、各マイクロレンズは物体の場所に相当し、その位置から出た角度情報がイメージセンサで記録される。イメージセンサで記録されるライトフィールドデータは、物体の位置情報と角度情報の両方を併せ持つ。イメージセンサの画素数は固定であるため、物体の位置情報と角度情報の積が一定となる。そのため、角度情報（奥行き情報）を多く取得する場合には、マイクロレンズの数を少なくする必要があるため、物体の位置情報が少なくなり、再構成された画像の画素数は減少する。一方、マイクロレンズの数を多くすると、再構成される物体の画素数は増加するが、光線の角度情報が少なくなるため、奥行き情報が失われる。ライトフィールド顕微鏡では、再生される画像の解像度と奥行き情報にトレードオフの関係がある。

光学系としては、マイクロレンズアレイを導入することで3次元情報を1回の画像記録で実現できるため、セットアップが容易であることやレーザー光源が不要などの優れた特徴を持つ。

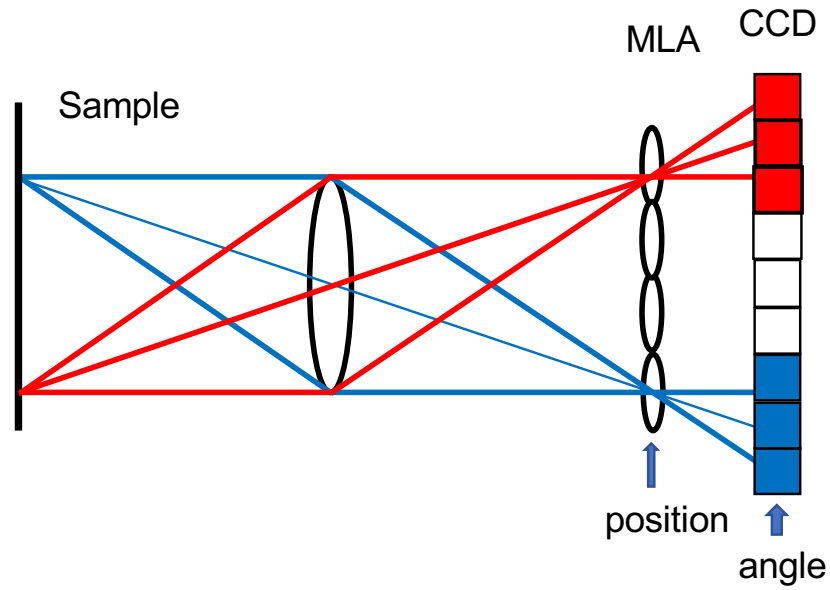


Fig. 2.9 Schematic of optical setup of light-field microscope.

次に再構成の計算過程を説明する。Fig. 2.10 は再生計算の一例を示す。Fig. 2.9 で述べたように、イメージセンサには、物体の位置情報と角度情報が含まれている。Fig. 2.10 では位置情報は赤色、青色、黄色の3色で分けている。各画素では物体の位置と角度情報の2つがある。再生計算は、光線行列を用いて光線追跡する方法や、レンズアレイでのレンズをピンホールに置き換えて、距離に応じて画像を縮小あるいは拡大して重ね合わせを計算する方法などがある。光線行列を用いると、イメージセンサから発した光線の位置と方向を計算できる。

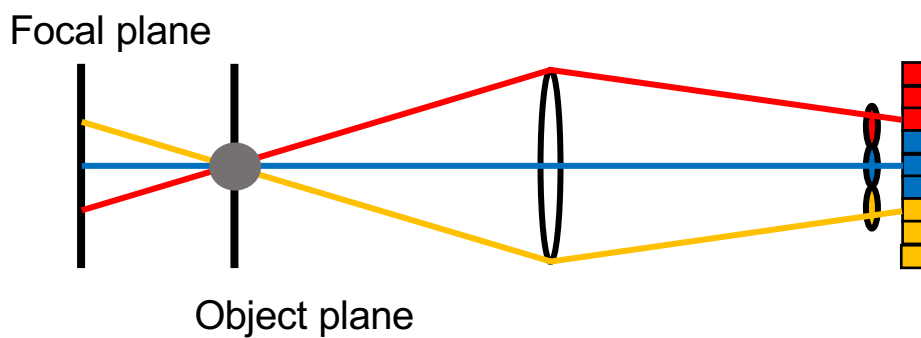


Fig. 2.10 Numerical reconstruction process of light-field microscope.

第3章 生体模擬材料の開発に向けた高速人工散乱体作製技術

3.1 はじめに

近年、レーザー技術は凄まじく進歩している。医療の分野において、近赤外光を用い、人体の骨、筋肉の状況を非接触、低侵襲に測定する技術は未来の予防医療の発展方向である。X線CTを利用する測定技術は非接触技術の代表とも言える。しかし、人体の脳、筋肉、骨などの成分は、赤外光に対して強い散乱体として働くため、直進光波は存在しない。散乱体の成分を測定することは、現在のX線CTでは不可能である。これを解決するために、散乱光を利用し、内部構造を数値的に求める逆問題法がある。散乱光を利用する計測手法を確立に向けて、生体組織に似ている構造または同じ散乱特性を持つ生体模擬材料の開発が必要である。

本章では、生体模擬材料の作製技術として、作製時間を大幅に短縮できる複雑な散乱係数分布が制御可能な3次元不均質媒体を用いた人工散乱体について述べる。提案手法である積層ずらし構造による人工散乱体の作製法はランダム空孔を配置したマスクパターンを用いて、一層ごとにマスクパターンによる露光を行うことで積層構造の3次元造形を行うことで散乱体を作製する。この方法はフェムト秒レーザー加工による散乱体作製手法と比べて作製時間を大幅に短縮できるため、大面積の散乱体作製が可能である。提案手法での人工散乱体構造が散乱体として機能することをシミュレーションで評価する。

3.2 ランダム配置空孔パターンの積層ずらし構造人工散乱体

的場らは、フェムト秒レーザー加工を用いて、透明媒体中にマイクロメートルサイズの微小な空孔（ボイド）をランダムな配置で形成することで、人工散乱体を作製し、散乱係数はボイド密度によって制御できることを示している[7,13]。光学系の概要をFig. 3.1に示す。この方法ではフェムト秒レーザー光を対物レンズで透明材料中に集光し、ボイドを作成する。一点一点ランダムに指定された座標へレーザー光を操作してボイドを作成するため、作製時間が膨大になる。本研究では、ランダムにボイドが配置された層状構造を積層する方法を用いて、大型の人工散乱媒体を作製する新しいアプローチを提案する。Fig. 3.2に層状構造をもつ人工散乱媒体を示す。各層のボイド分布は、単一のマスクパターンを用いた露光によって作製されるが、一層ごとに投影されるマスクパターンは面内方向にランダムにシフトしている。各層におけるシフト距離は、それぞれ Δx , Δy で示す。シフト距離は乱数に基づいて決定される。各層の厚みを t とする。Mie 散乱理論に基づく、散乱係数は空隙の数または空隙密度に比例すると考えられる。提案手法による人工散乱体作製では、3D プリンティング技術を使用した作製方法を想定している。層状構造やシフト構造を用いることで、フェムト秒レーザーを用いた従来の方法と比較して、人工散乱体の作製時間を大幅に短縮することが可能である。例えば、レーザー走査の場合に、共鳴型のガ

ガルバノミラーを用いると 10 kHz で走査できる。もう 1 次元は非共鳴型のガルバノミラーを用いると 10 Hz 程度になる。この場合に、 $4\text{ mm} \times 4\text{ mm} \times 1\text{ }\mu\text{m}$ を面内 $4\text{ }\mu\text{m}$ 間隔、奥行き $10\text{ }\mu\text{m}$ 間隔で集光による空孔を作製（1 層で 1000×1000 の空孔）するのに、100 秒かかる。100 層では 10,000 秒かかる。提案手法では、1 層あたり 0.1 秒としても 10 秒で作製できる。次節以下では、人工散乱体の散乱特性を数値的に評価する。人工散乱体を透過したガウシアンビームの出力強度分布からビーム径を数値計算で求め、ボイド密度を変化させることで生じる、散乱特性の変化を評価する。また、生体組織のファントムへの適用を想定し、制御可能な散乱係数の範囲を評価した。

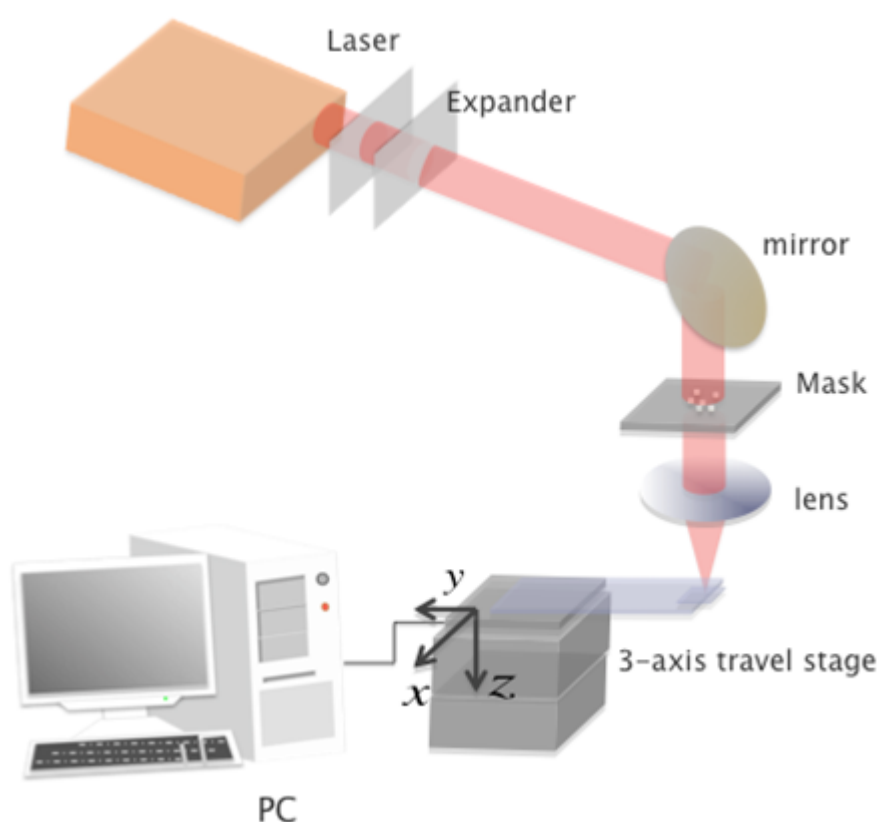


Fig. 3.1 A schematic of fabrication system of artificial scattering medium by making randomly distributed voids by a focused femtosecond laser beam.

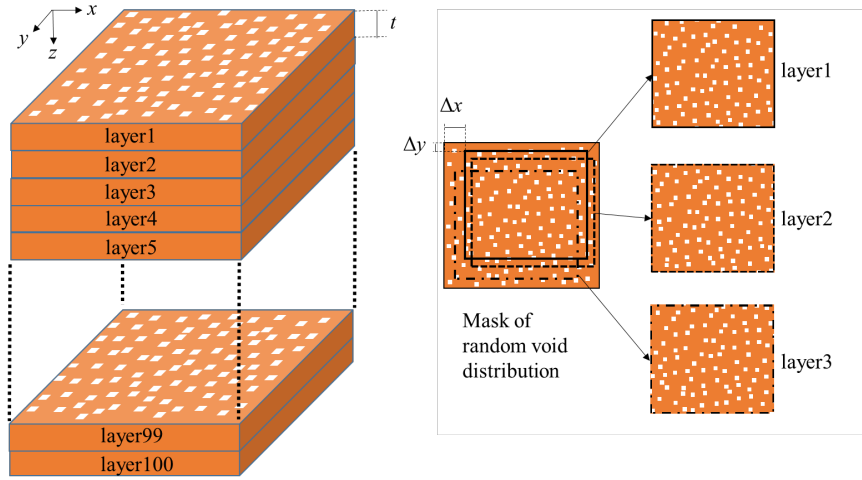


Fig. 3.2 Schematic of the proposed artificial scattering medium with layered structure. Each layer is fabricated by mask pattern with randomly distributed voids. In each layer, lateral and vertical positions are randomly shifted.

3.3 散乱特性の評価方法

3.3.1 スカラー波の伝搬

以下の数値評価により、積層ずらし構造が散乱体として機能することが確認し、散乱係数の制御の可能性について議論する。最初の数値実験では、スカラー波伝搬についてシミュレーションを実施した。Fig. 3.3 に計算の流れを示す。まず、ボイドの配置条件を決定する。入力光にはガウシアンビームを使用する。光がボイドを通過する場合、スカラー回折理論により位相変調を計算し、角スペクトル伝搬計算により光の伝搬を計算する。光が媒質を通過する場合は、次の層への光の伝搬を角スペクトル伝搬で計算する。ビーム伝搬法[23]と同様に、各層での位相変調と波動伝搬を分離し、光が媒質を通過するまで繰り返し実行する。第 i 層の複素振幅を $g_i(x,y)$ 、周囲の媒質の屈折率を n_0 、ボイドパターンの屈折率分布を $\Delta n(x,y)$ とすると、層間の計算式は以下のように記述される。

$$g_{i+1}(x,y) = \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta n(x,y) d\right) u_i(x,y) \quad (3.1)$$

$$u_{i+1}(x,y) = FT^{-1} \left[G_i(f_x, f_y) \exp\left(i 2\pi z \sqrt{\frac{1}{\lambda^2} - f_x^2 - f_y^2}\right) \right] \quad (3.2)$$

ここで、 $G_i(f_x, f_y)$ は $g_i(x,y)$ のフーリエ変換である。Table 3.1 に、人工散乱体媒質中を透過光がスカラー波で伝搬する場合の数値条件を示す。媒質の総厚さは 1 mm である。層の数は 100 である。したがって、層の厚さは 10 μm である。ボイドの形状は直方体として、ボイドと媒質の屈折率は、それぞれ 1.0 と 1.48 である。光の波長は 594 nm である。

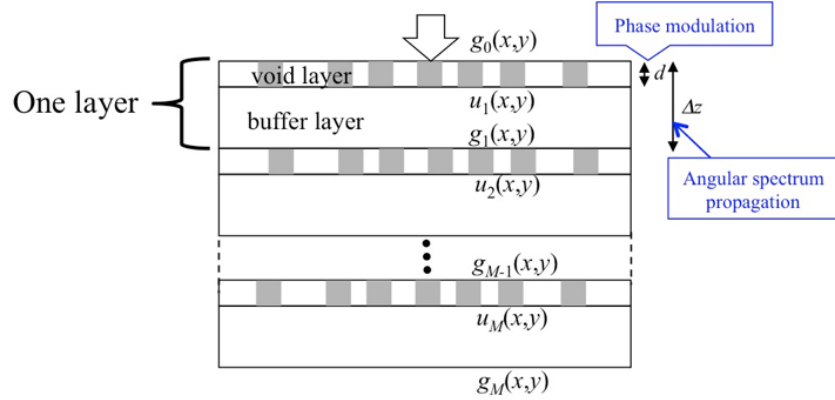


Fig. 3.3 A schematic of calculation model to analyze the scattering property of the proposed media shown in Fig. 3.1.

Fig. 3.4 は、各層のボイド密度が 4.7%, 14.0%, 23.3%, 37.3% のときの出力光強度分布である。ボイド密度は、ボイドサイズにボイド数を乗じ、媒体の総体積で割ったものである。各層のシフト量は $\pm 20 \mu\text{m}$ の範囲で一様乱数に基づいてランダムに決定される。層間の平均シフト量は $7.43 \mu\text{m}$ であった。Fig. 3.4 から、散乱効果は十分であることがわかる。提案した積層ずらし構造は散乱媒体として機能するといえる。

各層が完全にランダムなボイド分布とシフトしたボイド分布の散乱特性の違いを比較するために、出力ビーム径を比較した。出力ビーム径は、出力光強度分布のガウシアンフィッティング結果から得られる $1/e^2$ 全幅である。Fig. 3.5 に示すように完全ランダム構造と積層ずらし構造には出力ビーム径が同等であり、散乱特性が同等であることがわかる。Fig. 3.6 は、ボイド密度が 4.7%, ボイド径が $2 \mu\text{m}$ の場合の x 軸方向の強度分布の一例であり、ボイド密度が 4.7%, ボイド径が $2 \mu\text{m}$ の場合の x 軸方向の強度分布の一例を示している。

Table 3.1 Numerical conditions for scalar wave propagation.

Items	Parameters
Size of scattering medium [μm^3]	1024×1024×1000
Refractive index of scattering medium	1.48
Refractive index of void	1
Number of layers	100
Thickness of each layer [μm]	10
Shift distance for each layer [μm]	-20~20
Wavelength of input beam [nm]	594
$1/e^2$ full width of input beam [μm]	189.2

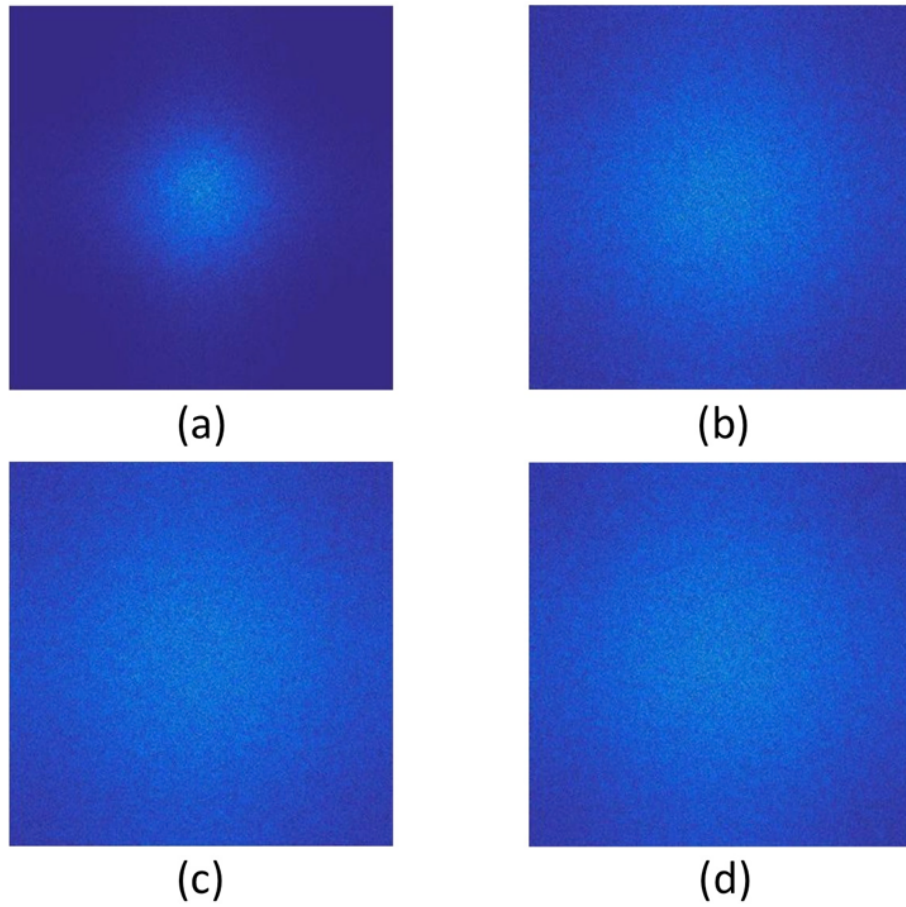


Fig. 3.4 Transmitted intensity distributions when the void densities are (a) 4.7%, (b) 14.0%, (c) 23.3%, and (d) 37.3% when the average shift amount is $7.43 \mu\text{m}$.

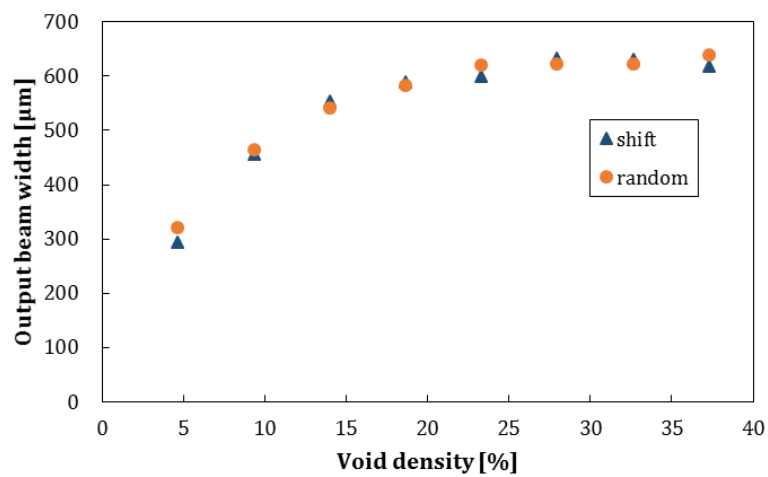


Fig. 3.5 Output beam widths as a function of void density when the void distribution in each layer is randomly shifted and is random when diameter of the void is $2 \mu\text{m}$.

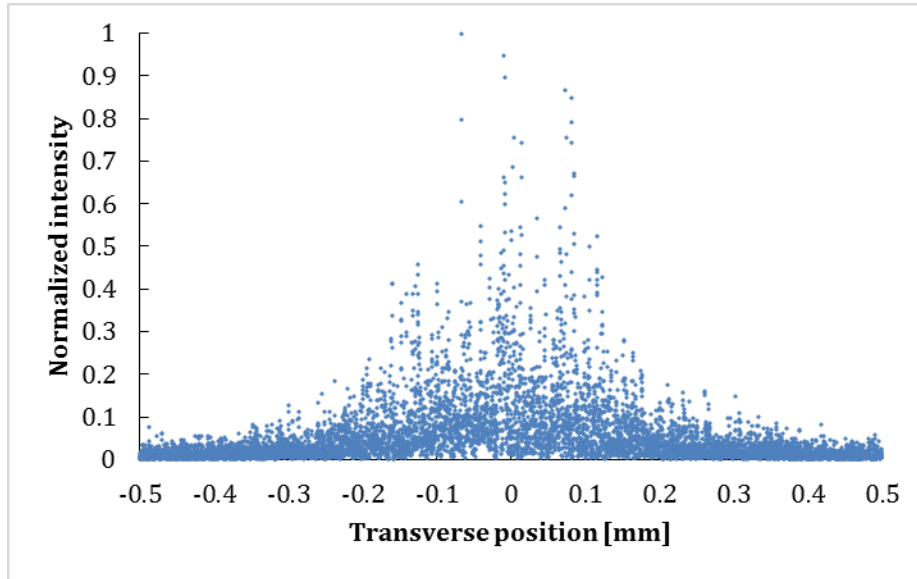


Fig. 3.6 Transmitted intensity distribution by scalar wave propagation when the void density is 4.7%.

3.3.2 モンテカルロシミュレーション

人工散乱体の等価散乱係数の評価は，式 (3-1)， (3-2) で表されるスカラー波伝搬による散乱光の出力ビーム径と，モンテカルロシミュレーションによる出力ビーム径を比較することで行う。人工散乱体に対するモンテカルロシミュレーションには，MCML（Monte Carlo simulation for light transport in multilayered tissue）と呼ばれる標準コード[24]を使用した。MCMLコードを用いて，人工散乱体を通過する透過強度分布を計算した。Fig 3.7 は，等価散乱係数を決定するプロセスを示している。まず，モンテカルロシミュレーションにより，等価散乱係数を変化させて，人工散乱体を透過するガウシアンビームの出力ビーム径のルックアップテーブルを作製する。ここで，異方性パラメータ g は，ボイドの大きさ，ボイドと媒質の屈折率によってMic理論から導出される。そして，Fig. 3.3 のスカラー波の伝搬を利用して，空孔密度に対する人工散乱体を透過するガウシアンビームの出力ビーム径を求める。スカラー波伝播によって得られた出力ビーム径をルックアップテーブルと比較することによって，空孔密度と等価散乱係数の関係を決定することができる。

モンテカルロシミュレーションは，光子の統計的挙動を解析するために確率分布を持つ乱数を与え，膨大な試行回数を繰り返すことで定量的な解を導く統計的数値計算である。パラメータとしては，散乱媒質の屈折率，散乱係数，吸収係数，異方性パラメータ，散乱媒質の厚さなどがあり，透過光の情報を求めることができる。Fig. 3.8 はモンテカルロシミュレーションの散乱媒質における散乱モデルである。

散乱特性の評価指標として，等価散乱係数が用いられる。等価散乱係数 μ'_s は次のように記述される。

$$\mu'_s = (1 - g)\mu_s \quad (3.3)$$

ここで、 g は異方性パラメータで、散乱の異方性を表す量であり、散乱方向の余弦の平均値で与えられる。散乱係数 μ_s は、光が散乱するまでの平均的な移動距離に反比例している。生体組織では、散乱角 θ は一般に Henrey-Greenstain 関数で次のように表される。

$$p(\theta) = \frac{1-g^2}{(1+g^2-2\cos\theta)^{\frac{3}{2}}}. \quad (3.4)$$

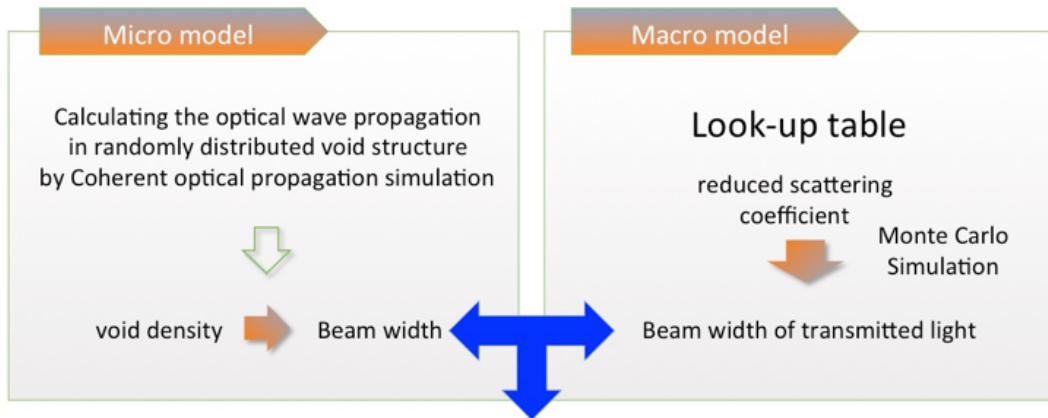
モンテカルロシミュレーションでは、散乱角 θ は位相関数 $p(\theta)$ に従っている。

$$f(\theta) = \frac{1}{2} \int_0^\theta p(\theta') \sin\theta' d\theta'. \quad (3.5)$$

散乱角 θ は、 $f(\theta)$ と一様乱数 $R_2 \in (0,1)$ により、以下のように表される。

$$\theta = f^{-1}(R_2) \quad (3.6)$$

Table 3.2 にモンテカルロシミュレーションの数値条件を示す。Fig. 3.9 は、散乱係数が 10.4 cm^{-1} 、異方性パラメータが 0.846 、等価散乱係数が 1.6 cm^{-1} の場合のモンテカルロシミュレーションによる出力ビームの透過強度分布の計算結果である。なお、異方性パラメータ g は、Mie 理論からボイドの直径によって決定される。空隙の直径は $1 \mu\text{m}$ である。 $1/e^2$ 全幅での透過光のビーム径は、透過強度分布のガウス関数をフィッティングしたものから得られる。



Relation between void density and reduced scattering coefficient

動

Fig. 3.7 A method to determine the scattering coefficient in the proposed medium.

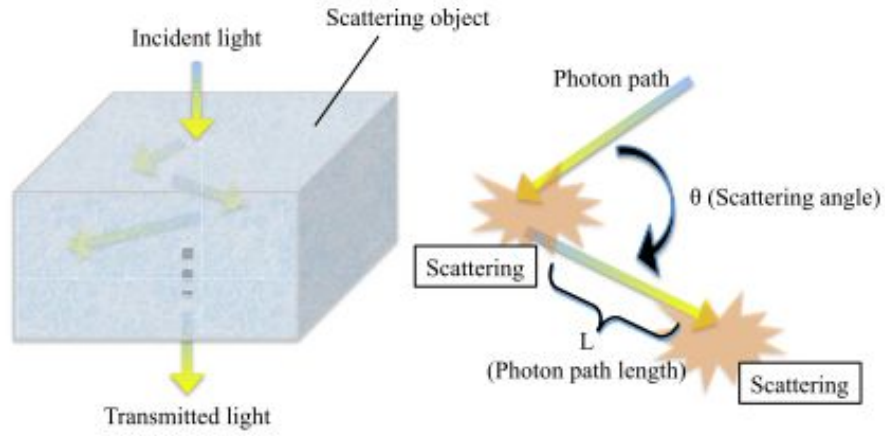


Fig. 3.8 Light propagation model in scattering medium

Table 3.2 Numerical conditions for Monte Carlo simulation.

Items	Parameters
Thickness of scattering medium [mm]	1
Refractive index of scattering medium	1.48
Absorption coefficient [cm^{-1}]	1
Number of photons	10^6
$1/e^2$ full width of input beam [μm]	189.2
Wavelength of input beam [nm]	594
Reduced scattering coefficient [cm^{-1}]	1.6~16
Anisotropy parameter g	0.846

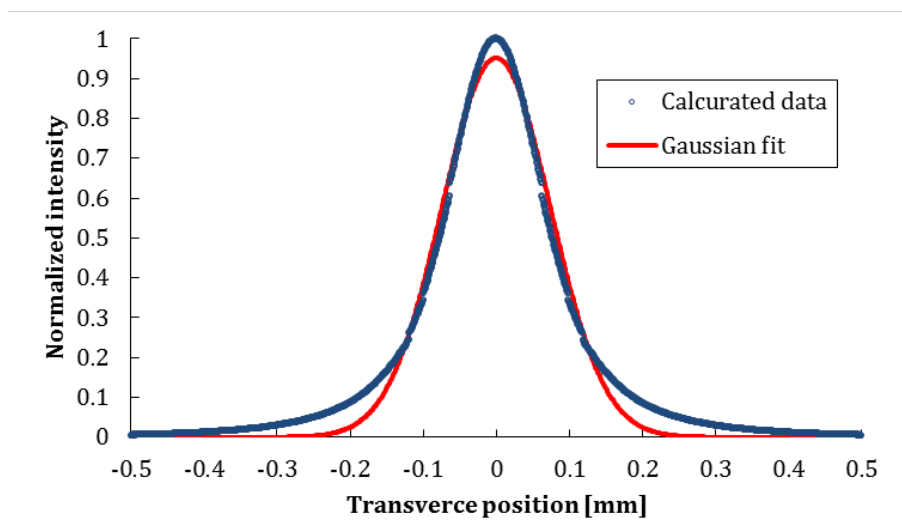


Fig. 3.9 Transmitted intensity distribution by Monte Carlo simulation when a scattering coefficient is 10.4 cm^{-1} , an anisotropy parameter is 0.846 and a reduced scattering coefficient is 1.6 cm^{-1} .

Fig. 3.10 は、モンテカルロ・シミュレーションにより求めた出力ビーム径と、等価散乱係数の関係を示している。計算結果から得られたボイド密度と等価散乱係数は、相関関係にあることがわかる。出力ビーム径と等価散乱係数の関係を推定するために、線形最小二乗近似を用いた。

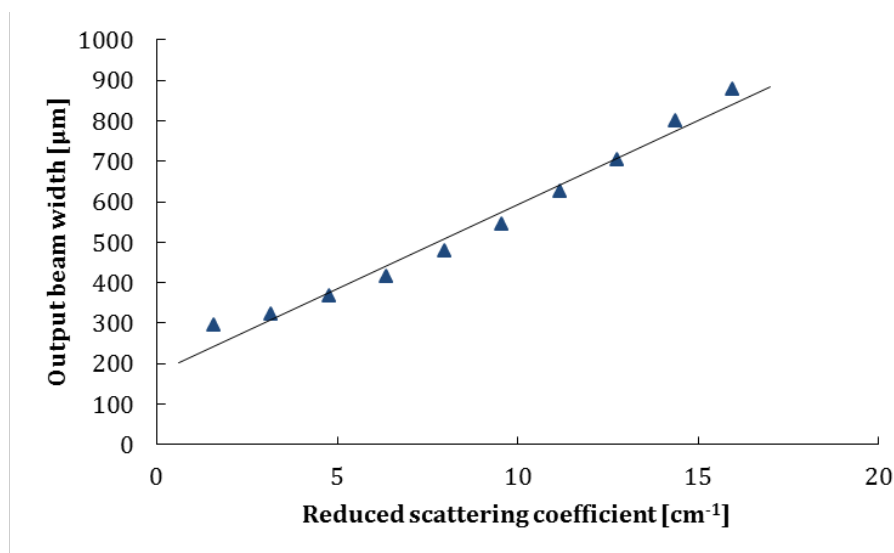


Fig. 3.10 Output beam width as a function of reduced scattering coefficient by Monte Carlo simulation when the anisotropy parameter is set to be 0.846.

3.4 人工散乱媒体の等価散乱係数の評価結果

人工散乱媒体の工学的応用のためには、広い範囲の散乱係数を実現することが望まれる。Mie 理論では、粒子径を小さくし、粒子数を増やすことで等価散乱係数を増加させることができる。Fig. 3.10 より、等価散乱係数の小さい領域では、等価散乱係数に比例して出力ビーム径が大きくなる。Fig. 3.11 は、ボイド径が $1 \mu\text{m}$ の場合のスカラー波伝搬による出力ビーム径とボイド密度の関係を示している。出力ビーム径とボイド密度の関係を推定するために、線形最小二乗近似を用いた。

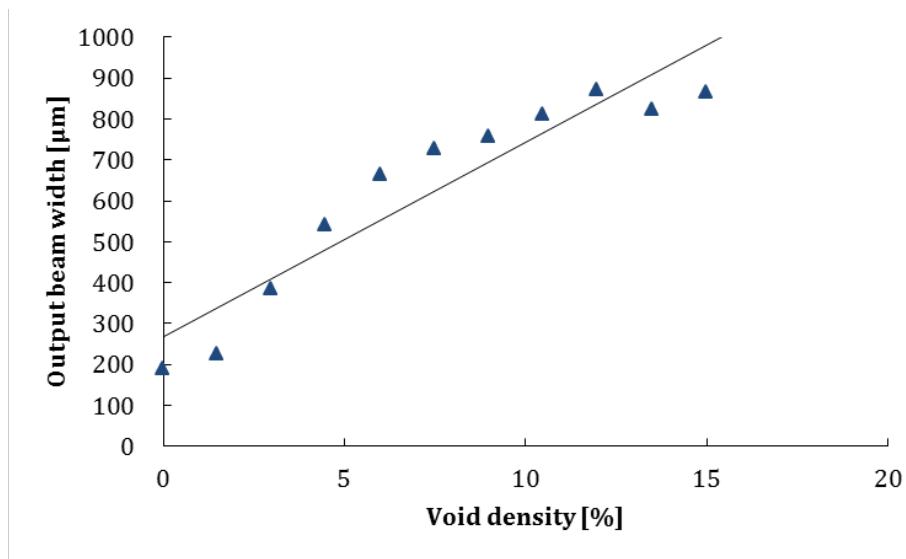


Fig. 3.11 Output beam width as a function of void density by scalar wave propagation when void diameter is $1\mu\text{m}$.

Fig. 3.10 と Fig. 3.11 を組み合わせることで、ボイド密度と散乱係数実効の関係を推定することができる。Fig. 3.12 は、ボイド密度の関数として、等価散乱係数を示したものである。この場合、層内のボイド密度が増加することにより、等価散乱係数が増加する。計算上の最大散乱係数は、ボイド密度が 12% のときの 14 cm^{-1} である。

人体組織の散乱係数は、 10 cm^{-1} から 50 cm^{-1} の範囲に分布している [25,26]。Fig. 3.12 の散乱係数の範囲は、人体組織のファントムを完全に作製するためのアプリケーションには不十分である。以下の数値実験では、ボイドの直径を $1.0\mu\text{m}$, $1.5\mu\text{m}$, $2.0\mu\text{m}$ の 3 種類の大きさを用いている。 $1.0\mu\text{m}$, $1.5\mu\text{m}$, $2.0\mu\text{m}$ の 3 つのボイドの直径の異方性パラメータは、それぞれ 0.846, 0.786, 0.84 である。Fig. 3.13 はスカラー波伝播の結果、Fig. 3.14 はモンテカルロシミュレーションの結果である。

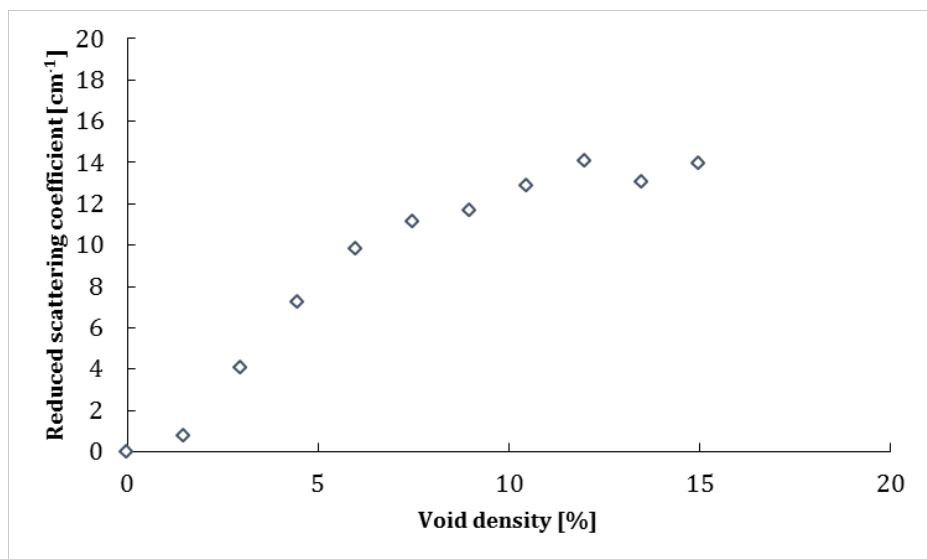


Fig. 3.12 Reduced scattering coefficient as a function of void density of the proposed method when void diameter is 1 μm and anisotropy parameter is 0.846.

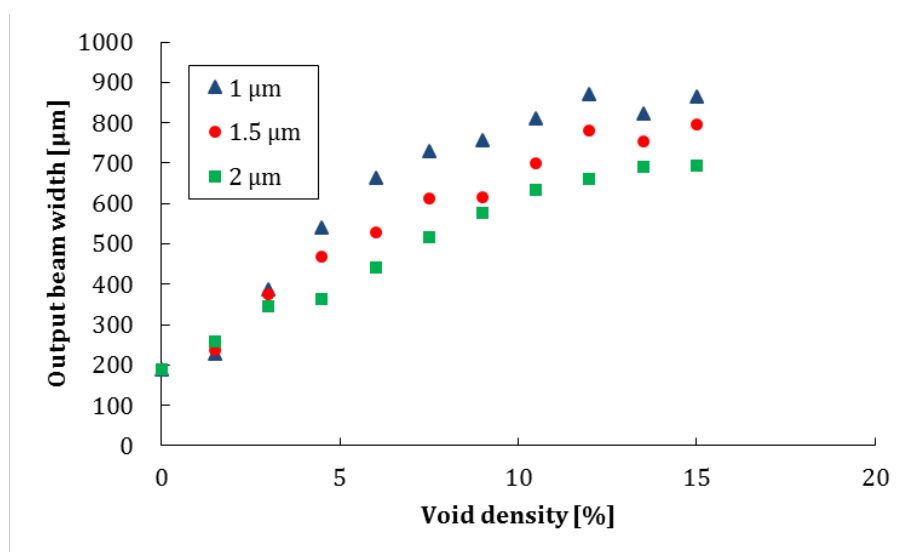


Fig. 3.13 Output beam width as a function of void density by scalar wave propagation when the void diameters are 1 μm , 1.5 μm , and 2.0 μm .

Fig. 3.15 は、ボイド直径が 1 μm , 1.5 μm , 2.0 μm のときの、ボイド密度の関数としての等価散乱係数を示したものである。直径が 1.5 μm になると、実効された散乱係数が大きくなっている。これは、Mie 理論での挙動とは異なる。Mie 理論では、直径が大きくなると散乱係数が小さくなる。Mie 理論との矛盾は、空洞の直径が Mie 理論で適用されるもの

より大きいこと、空洞の構造が球状ではなく円柱状であることが原因である。今後、より多くの散乱特性を解析する必要があるが、提案した構造体は、複雑な散乱係数分布を持つファントムの作製に有望である。

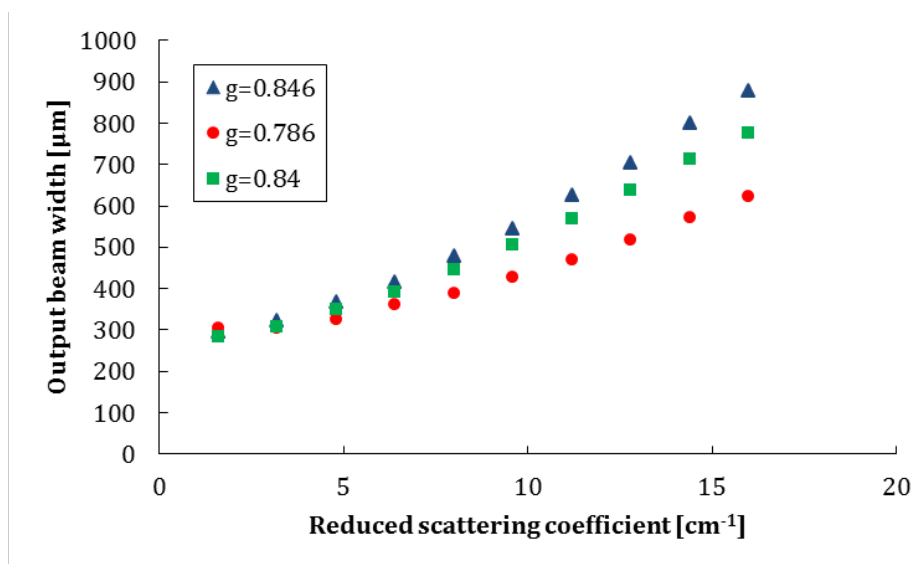


Fig. 3.14 Output beam width as a function of reduced scattering coefficient by Monte Carlo simulation when the anisotropy parameters are 0.846, 0.786, and 0.84.

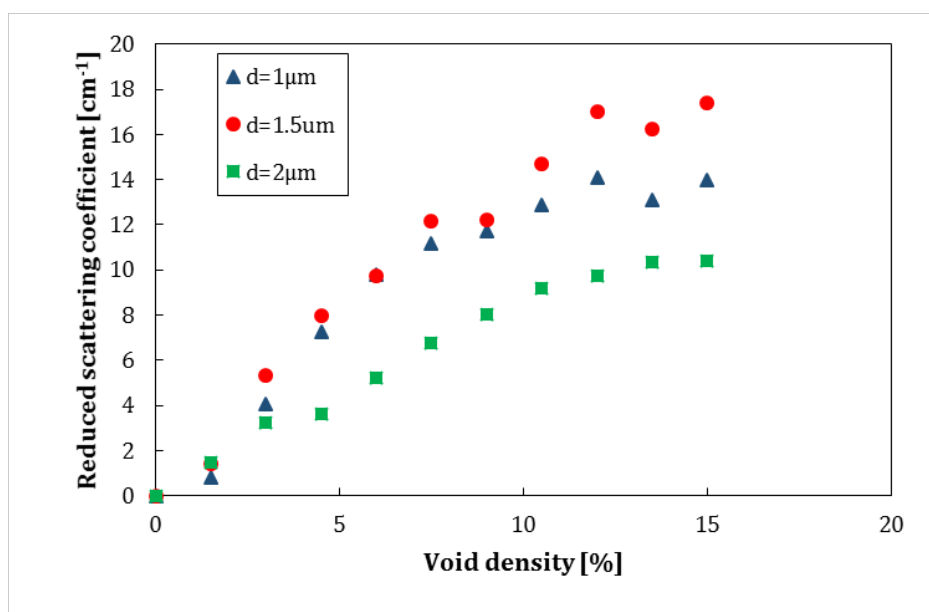


Fig. 3.15 Reduced scattering coefficients as a function of void density when the void diameters are 1 mm, 1.5 mm, and 2.0 mm.

3.5 おわりに

人工散乱媒体として、積層ずらし構造を用いた人工散乱体を提案した。提案した人工散乱体は、各層が固定されたランダムボイド分布を持ち、その位置が面内方向にランダムにシフトする層構造からなる。積層ずらし構造を用いた人工散乱体の等価散乱係数をスカラー波伝播とモンテカルロシミュレーションによって評価した。ボイド密度、等価散乱係数、ボイド径を変化させた場合の提案媒質の出力ビーム径の線形フィッティングから、ボイド密度と散乱係数の関係を検討した。数値計算の結果、提案手法はボイド密度によって散乱係数を制御できる人工散乱媒体を作製できることが示された。提案した構造で達成された等価散乱係数の範囲は、 1 cm^{-1} から 17 cm^{-1} であった。今後の課題として、人体組織の散乱係数は 10 cm^{-1} から 50 cm^{-1} であるので、人体組織のファントム材料として利用するには等価散乱係数の制御範囲の拡大が挙げられる。

第4章 波面補正による OCM 観察の高分解能化

4.1 はじめに

近年、散乱や揺らぎ媒体を介したイメージング分野は、大きな発展を遂げている。代表的なものに、線形時不変モデルを仮定し、散乱媒質を通して物体情報を抽出するために、スペックル相関演算と位相回復を組み合わせた方法 [27]、透過行列または非負行列因子分解法 [28,29]、機械学習 [30] などのいくつかの手法が報告されている。スペックルパターンは、散乱やランダムな位相変調によって発生する。散乱現象は、二重ランダム位相暗号化 [11] などの画像暗号化にも利用されている。二重ランダム位相暗号化での復号化には、ランダム位相マスクによって生じた位相変調を補償し、元の画像を復元することで行われる [11,31-33]。この他には、位相計測型空間光変調素子 (SLM) の開発により、マルチモード光ファイバや散乱媒体に起因する位相歪みをデジタル位相共役技術で補償することが可能である [34]。また、デジタルホログラフィーでは、光学素子で発生する収差を位相共役により補正することが可能である [35]。

散乱媒質中のイメージングは、生体組織中の吸収や蛍光分布を非侵襲的に観察するバイオメディカルイメージング分野に応用できる魅力的な技術である。二光子励起顕微鏡は、近赤外光を用いて、散乱係数及び吸収係数が可視光より小さい特性により深部の観察深さを広げる方法である。生体深部では屈折率差による球面収差等の影響により集光スポットが広がることや形状が変形するため、観察深度を広げるために位相補償による集光スポットの形状最適化が実施されている [36]。

光コヒーレンストモグラフィー (OCT) は、生体組織内部の 3 次元反射画像を得るための強力なツールの一つである。OCT を顕微鏡に応用したものは、光コヒーレンス顕微鏡 (Optical Coherence Microscopy: OCM) と呼ばれる [37-41]。OCM では、散乱現象を克服するために 2 つの大きな問題がある。一つは、散乱媒質内部での光の集光特性が劣化する問題である。集光スポットを広げると、OCM イメージングの空間分解能が低下し、反射信号が減少する。二つ目の問題は、散乱光を除去し、深度計測のための直進光と準直進光を抽出することである。一つ目の問題に対しては、散乱係数の小さい長波長を用いる方法が有効である [37]。二つ目の問題に対しては、コヒーレンスゲーティングや短パルス光を利用する方法がある。OCT の実応用として眼底イメージングがある。眼球の形状や内部構造により集光スポットが歪むため、それを補償するために適応光学系を用いた眼底イメージングが実施されている。これにより数マイクロメートルサイズの視細胞を高解像度に観察できる OCT 技術が発表されている。適応光学を用いた OCT 眼底イメージングシステムとしては、眼球による波面歪みを検出する Shack-Hartmann 波面センサと波面歪みを補正するデフォーミブルミラーからなるもの [38] と、ピラミッド波面センサとデフォー

マブルミラーを組み合わせたもの[39]がある。また、眼球による波面歪みに対して、波面センサと空間光変調素子を用いて、焦点位置を走査して網膜を高解像度で撮像する研究も行われている[40]。多くの研究が網膜イメージングに焦点を当て、主にゼルニケ多項式で展開される収差の補正を扱っている。ここで、散乱によるスペックルを扱う場合、波面計測にはより高い空間分解能が必要となる。また、スペックルを補正するためには、画素数の多い位相変調型空間光変調素子が必要である。

本章では、これら 2 つの問題を克服するために、デジタル位相共役を使用して散乱媒体を介して光を集光し、空間分解能と反射信号強度を改善するスペクトル領域 OCM (SD-OCM) システムを提案する[41]。散乱媒質による位相歪みをレーザー光を用いた干渉計で測定し、SD-OCM のプローブ光として用いるスーパーluminescentダイオード (SLD) 光をデジタル位相共役により変調し、散乱媒質を通過させた後に集光スポットを得ることができる。一般にレーザー光と SLD 光の波長が異なるため、波長比に応じた位相補正を実施する必要がある。弱散乱媒体を用いた実験では、集光スポットが改善される結果と OCM 信号が増強される結果を示す。また、デジタル位相共役鏡の動作は 1 Hz で動作する。

4.2 デジタル位相共役鏡を用いた波面補正

4.2.1 位相共役鏡の原理

はじめに位相共役光の原理を説明する[42,43]。位相共役光とは、ある入射光に対して、空間的に同一の波面を持つが逆向きに進行する波を指す。この位相共役光を発生させるための光学系を位相共役鏡 (Phase-conjugate mirror) という。位相共役光は、通常の鏡の作用と異なる。通常の鏡では光は反射の法則に従って、入射角と反射角が等しい方向に反射光が進むが、位相共役光は入射光が来た方向に戻っていく。この性質を利用して、位相歪みを生じさせる媒質に光を往復させると、位相共役がキャンセルされ、元のきれいな光波に戻る。

式を用いて位相共役光を説明する。角周波数 ω 、伝搬方向 $+z$ の単色平面波の伝搬を考えると、伝搬光は式(4.1)で与えられる。

$$E_1(z, t) = a \exp(i(kz - \omega t)) = U_1(z) \exp(-i\omega t) \quad (4.1)$$

$$U_1(z) = a \exp(ikz) \quad (4.2)$$

式(4.1)に対する位相共役波は

$$E_2(z, t) = a \exp(i(-kz - \omega t)) = U_2(z) \exp(-i\omega t) \quad (4.3)$$

で与えられる。伝搬方向は $-z$ となる。式(4.3)と式(4.1)を比較すると、

$$U_2(z) = U_1^*(z) \quad (4.4)$$

となり，複素共役の関係にあることが分かる。

デジタル位相共役による波面補正の原理を Fig. 4.1 を用いて説明する。

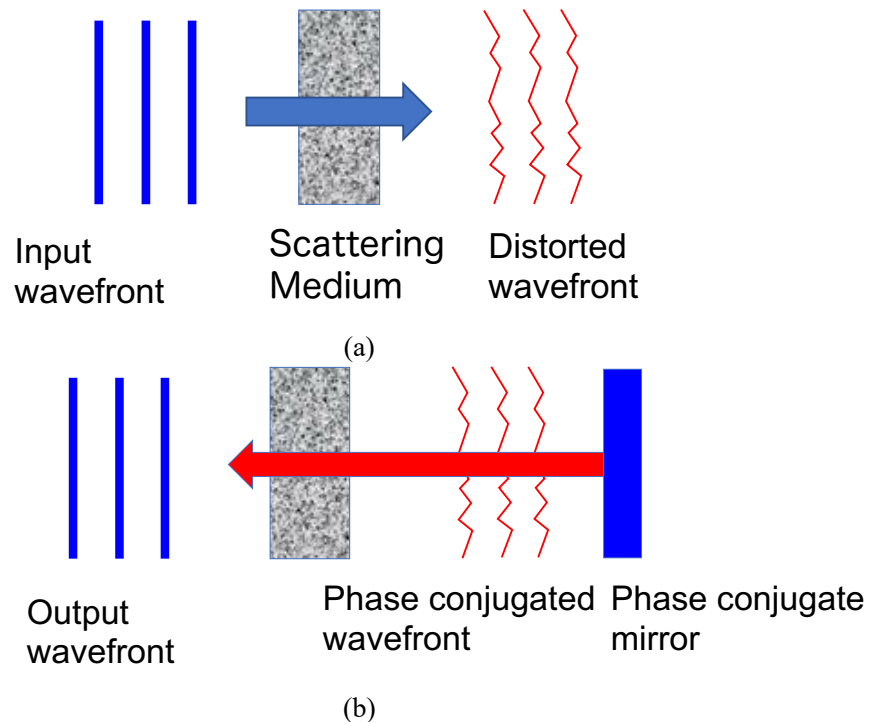


Fig. 4.1 Wavefront compensation by phase-conjugate mirror.

4.2.2 デジタル位相共役鏡を用いた散乱媒体を介した集光特性の向上

液晶を用いた空間光変調素子は，電圧により液晶分子の配向状態が変化し，位相遅延量を制御できる。特に，Liquid Crystal On Silicon – Spatial Light Modulator(LCOS-SLM)と呼ばれる反射型 SLM の性能が進展している。最近では数キロフレーム毎秒で光の位相を変調できる素子も市販されている。そのため，光波の位相変調やデジタル位相共役鏡による散乱体中の集光作用を向上させる実験が行われている。その原理を Fig. 4.2 に示す。均質な場合には平面波をレンズで集光すると，レンズの大きさで決まる回折限界まで集光されたスポットが生成される。物体が散乱体である場合は，Fig. 4.2(a)に示すように，散乱により光は様々な方向に伝搬する。これによりレンズにより集光する方向に進む光波は少なくなり，集光スポットは大きく広がる。これに対して，Fig. 4.2(b)に示すように，散乱体を通過した後も光を集光させるための手段に，波面変調技術がある。SLM に波面を変調する位相パターンを表示することで，散乱体を通過後に集光される。ただし，入射エネルギーの 100%が集光されるわけではなく，散乱により様々な方向に光波が別れる中で，位相

を揃えることで集光特性を向上させる。

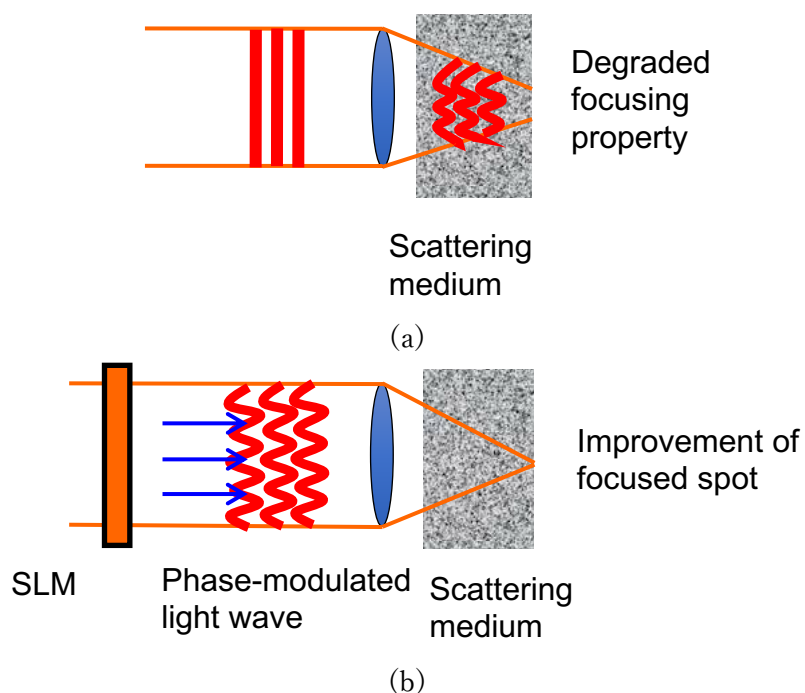


Fig. 4.2 Improvement of focusing property by wavefront modulation. (a) Degradation of focusing property in a scattering medium and (b) improvement of focused spot by wavefront modulation by SLM.

SLM に表示する位相変調パターンをどのように設計するかが問題となる。本研究では、干渉性の高いレーザー光を用いて散乱光の波面を計測し、デジタル位相共役により、光コヒーレンストモグラフィーにおける低コヒーレンス光源の波面を変調し、散乱体通過後の集光特性を向上させる。その概要を Fig. 4.3 に示す。散乱体によって変調された散乱光の波面を測定するために、Fig. 4.3(a)に示すように、Probe 光を散乱体上面に集光する。集光された光は散乱体で散乱され、射出面に到達する。この射出面に到達した光波の波面(位相分布)を干渉計で測定する。次に Fig. 4.3(b)に示すように、Fig. 4.3(a)で測定された位相分布の複素共役となる位相共役波を発生させて、下から散乱体に入射させる。Fig. 4.2(b)と同様に、位相共役波は、位相変調を補償する形で散乱体内部を伝搬するため、散乱体上面で集光スポットが形成される。

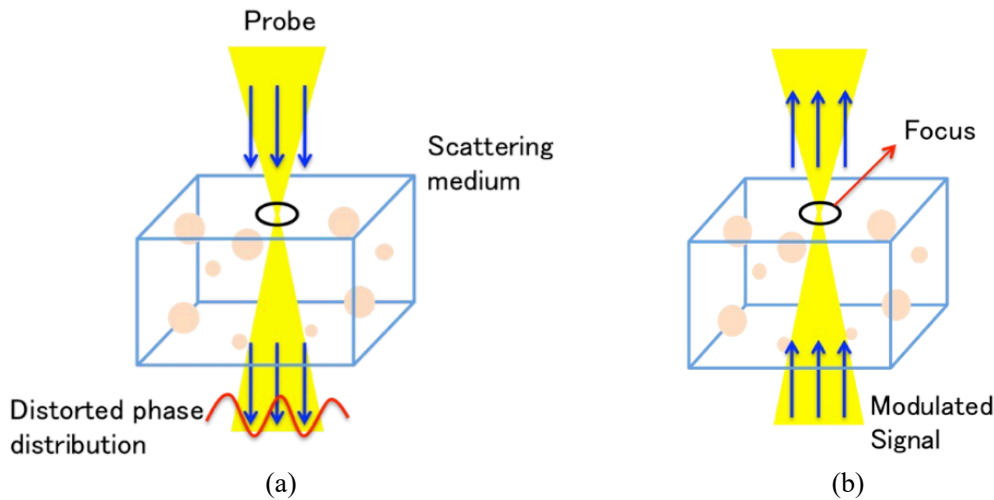


Fig. 4.3 A method to improve the focusing property in a scattering medium.

4.3 デジタル位相共役鏡を用いた OCM 実験系

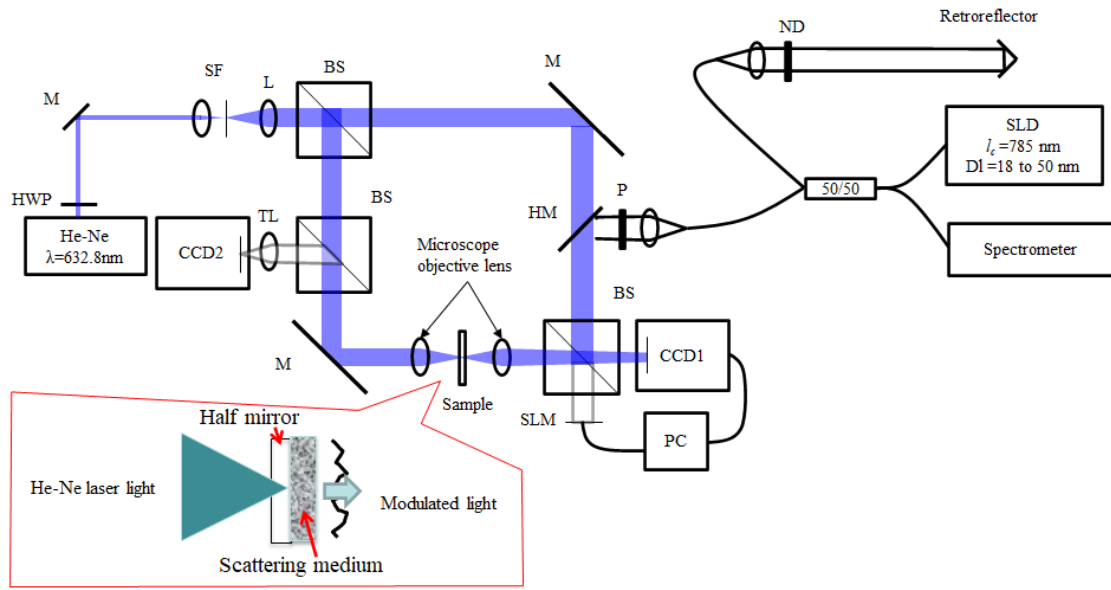
Fig. 4.4 にデジタル位相共役鏡を用いた SD-OCM システムを示す。このシステムは、レーザー光が散乱媒質を通過した後の散乱光の波面を測定する干渉計と、位相変調を行う空間光変調素子を用いたデジタル位相共役鏡を持つ SD-OCM システムから構成されている。SD-OCM システムは、奥行き方向に狭い分解能を実現するために、干渉性の低い低コヒーレンス光源を用いる。しかしながら、時間的・空間的コヒーレンスが低いため、波面計測用の光源として用いることができない。そのため、散乱媒質に起因する波面計測には干渉性の高いレーザー光が必要となる。低コヒーレンス光の中心波長と同じ波長をもつレーザー光が存在するとは限らないので、レーザー光による波面計測結果から低コヒーレンス光の波面変調を行うために波長変換を行う必要がある。

まず、Fig. 4.4(a)の散乱光の波面測定に使用する干渉計について説明する。Table 4.1 に光学素子のスペックを示す。コヒーレント光源である波長 632.8 nm の He-Ne レーザー (Melles griot 05-LHP-111) から出た光をビームスプリッターで 2 つに分割する。物体光は対物レンズ (Olympus ULWD MSPlan 20, NA0.4, 焦点距離 9 mm) で集光され、散乱媒質を通過する。変調された物体光は、散乱媒体を通らない参照光と干渉し、その干渉パターンがイメージセンサ (CCD1) に取り込まれる。物体光と参照光の間に角度を設けることで等傾角干渉縞が得られ、2.4 で示したフーリエ変換に基づく縞解析により、振幅分布と位相分布が求められる。ここで、位相分布は低コヒーレンス光の位相共役波の生成に利用される。

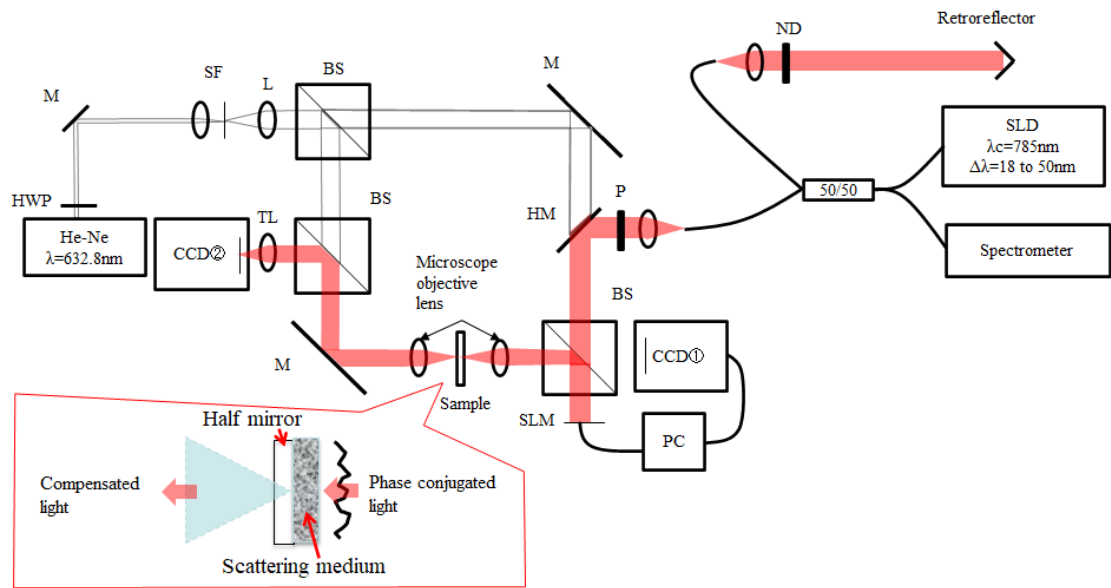
次に、中心波長 785 nm、波長幅 18 nm の低コヒーレンス光源 SLD (Superlum S785-B-I-15) を用いたデジタル位相共役鏡による SD-OCM システムを紹介する (Fig. 4.4(b) 参照)。SLD 光は位相変調型空間光変調素子 LCOS-SLM (Liquid Crystal on Silicon Spatial Light Modulator) で位相変調され、散乱媒質を通過することにより位相分布が補正される。

LCOS-SLM としては、浜松ホトニクス社製 X10468-01 を用いた。LCOS-SLM は画素ピッチ $20\text{ }\mu\text{m}$ 、画素数 600×800 、CCD 1 (FLIR BFLY-U3-23S6) は画素間隔 $5.86\text{ }\mu\text{m}$ 、画素数 1200×1920 である。したがって、CCD と LCOS-SLM では画素ピッチと画素数が異なる。そこで、CCD1 で得られた位相分布から LCOS-SLM で表示するための位相分布を変換する必要がある。位相補正が効果的に働いていることを確認するために、以下の 2 点を確認する。散乱媒体を通過した SLD 光に対する散乱補正の確認には、イメージセンサ (CCD2) で SLD 光の集光スポットを得る。CCD2 は Thorlabs DCU224 を用いた。 1280×1024 画素、画素ピッチ $4.65\text{ }\mu\text{m}$ である。SLD 光は、光ファイバを用いた干渉計で、散乱体を通過後に反射した光が再び散乱体を通過して広がった光と参照鏡から反射された 2 つの光が干渉する。この干渉光は分光器 (オーシャン光学社製 HR4000、波長範囲 $699\text{ nm} \sim 889\text{ nm}$) により、干渉スペクトル強度分布として得られる。2.3.1 で述べたように、この干渉スペクトル強度分布をフーリエ変換することにより、深さ方向に沿った反射率プロファイルを求める。Fig. 4.4(c) は構築した実験系の写真である。

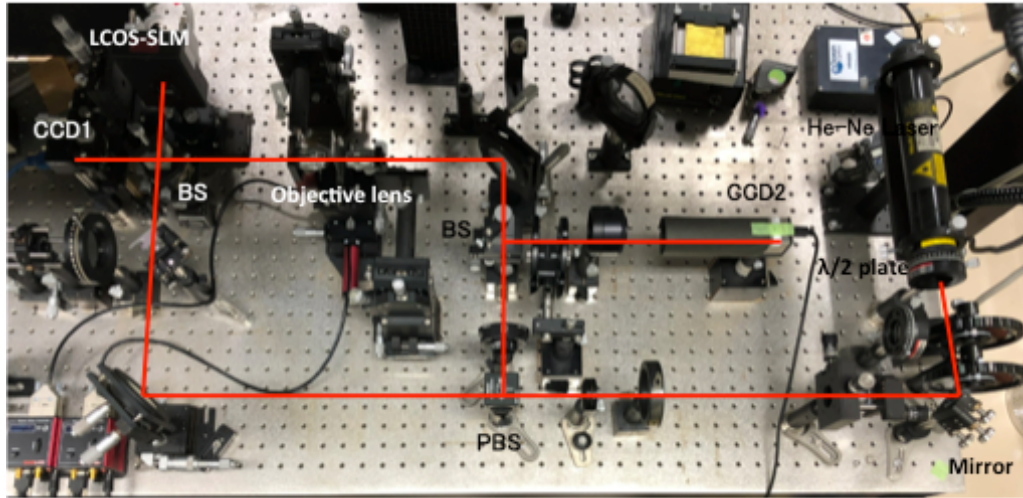
上述したように、He-Ne レーザー光の波長 632.8 nm と SLD の中心波長 785 nm は異なるため、波長比に合わせて位相量を調整した位相分布を作成する必要がある。Fig. 4.5 は、デジタル位相共役波の生成過程を示したものである。ここでは、簡単のために測定対象として散乱媒質ではなく、ハーフミラーを用いている。そのため、同心円状の干渉像が得られている。つまり、Fig. 4.3 に示すように、He-Ne レーザー光を対物レンズで集光し、散乱媒質で伝搬した後の出力光波を単レンズで CCD1 上に結像させたものである。散乱媒質がない場合は、試料の厚みを伝搬するため、わずかにデフォーカスした光波が観察される。そのため、Fig. 4.5 の左側の位相分布に示すような同心円状の位相分布が観測される。この同心円状の位相分布は、He-Ne レーザーを用いて測定した位相分布 $P_1(x,y)$ から位相アンラップされたものである。このとき、散乱媒質によって位相分布が歪んでいる場合には、Goldstein 法[44]を用いて位相不連続な箇所を除去した。位相アンラップ後、He-Ne レーザと SLD の波長比に応じて位相量を変化させ、 $P_2(x,y)$ を得る。その後、SLD の波長で位相をラップする。He-Ne レーザから SLD への波長変換後、LCOS-SLM に表示する位相分布は Fig. 4.5 右側の位相分布のようになる。ここでは、位相分布は物体試料ではなく、散乱媒体に起因すると仮定している。



(a)



(b)



(c)

Fig. 4.4 Optical setup of SD-OCT with digital phase conjugation for improving the image quality in a weakly scattered medium. (a) Measurement of scattered light by an interferometer using a He-Ne laser, (b) SD-OCT using an SLD, and (c) the photograph. HWP, half-wave plate; M, mirror; SF, spatial filter; L, lens; BS, beam splitter; HM, half mirror; P, polarizer; TL, tube lens; ND, neutral density filter; SLM, spatial light modulator.

Table. 4.1 Parameters of optical elements.

He-Ne laser	Wave length [nm]	632.8
CCD1	Pixel size[μm]	5.86 $\times$ 5.86
	Number of pixels	1200 $\times$ 1920
CCD2	Pixel size[μm]	5.86 $\times$ 5.86
	Number of pixels	1200 $\times$ 1920
LCOS-SLM	Pixel size[μm]	20 $\times$ 20
	Number of pixels	600 $\times$ 800
Microscope objective lens	Focal length[mm]	9.0
	Numerical aperture	0.4

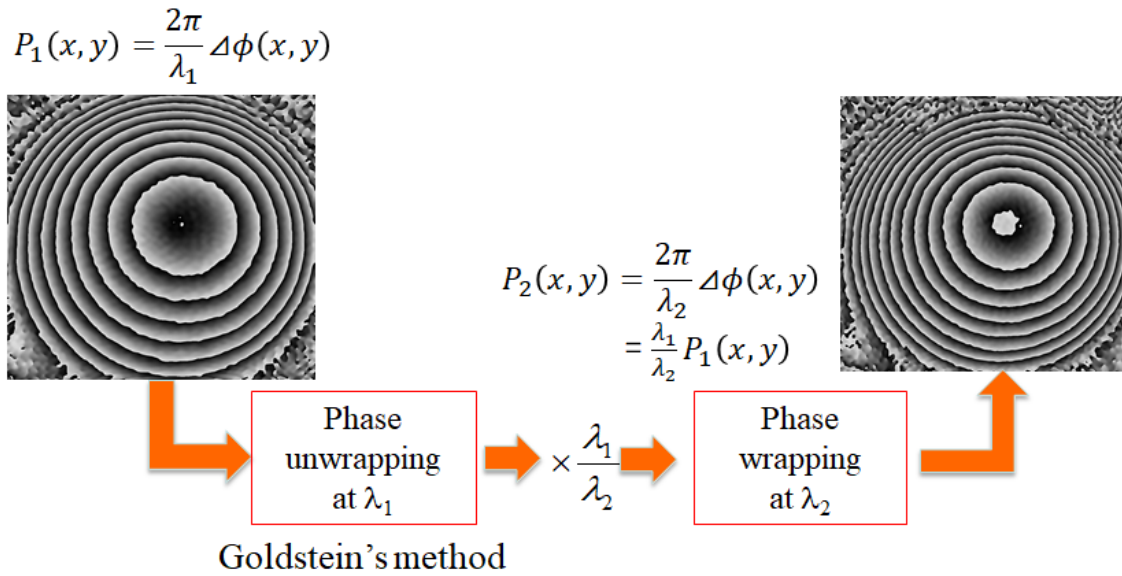
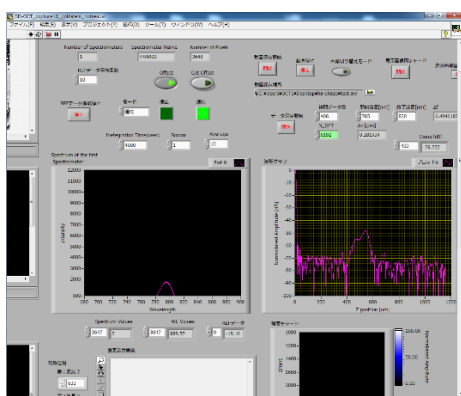


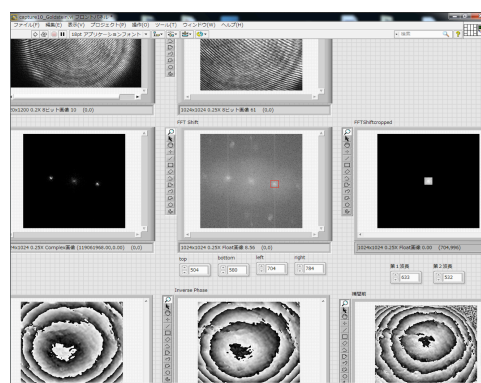
Fig. 4.5 Process of obtaining phase conjugate distribution from the measurement of optical interferometer.

Fig. 4.6 に、開発した LabVIEW をベースとしたユーザーインターフェースを示す。Fig. 4.6(a)は操作パネル、Fig. 4.6(b)は干渉縞データ、フーリエ変換法での空間周波数フィルタリング、位相分布を示している。本システムは、イメージセンサによる画像取得とフーリエ変換を用いた位相分布抽出、得られた位相分布からデジタル位相共役として空間光変調素子に表示するまでの処理を 1 Hz で更新することが可能である。

本システムでは、散乱体を通過した集光スポットの向上を行うものであり、その反射光に対して散乱体通過後に得られる光波形状を改善するものではない。デジタル位相共役により散乱体通過後の集光スポットは改善される。そのため、散乱体の向こう側にある物体を高分解能に照明することは可能になる。ただし、物体から反射した光は、再び散乱体を通過するため、反射光の波面は散乱により劣化する。このため、反射してきた SLD 光は劣化しているため、OCM の信号強度をさらに向上させるためには、反射 SLD 光に対して補償光学のように波面を整形する必要がある。本研究では、反射光の補償光学は含んでいない。



(a)



(b)

Fig. 4.6 Developed interface of our developed system. (a) operation system, (b) image data.

4.4 実験結果

本節では、実際に集光スポットと OCM による反射率分布を同時に計測する実験を行うことによって、集光性能向上と、OCT 信号強度が向上することを確認する。また観測物体越しに集光スポットを走査させることにより 3 次元イメージングを行う。最後に、本実験システムにおける識別可能な周期構造を検証する。

4.4.1 集光スポットの評価

観測物体としては、Fig. 4.7 に示すように周期構造を持つ解像度チャートの半分に散乱シートを貼り付けたものを用いる。この解像度チャートはスライドガラスの上に金属コーティングがされたハーフミラーとしての特性をもつ。

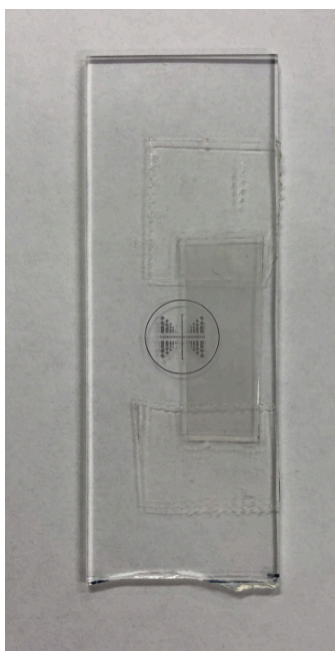


Fig. 4.7 Photograph of periodic chart with a scattering sheet.

散乱シートの性能を Table. 4.2 に示す。

Table. 4.2 Parameters of the scattering sheet.

Scattering angle	30°
Thickness	0.1 mm

本システムの動作を確認するために、2 つの実験を行った。まず、ハーフミラーに散乱シートに貼り付けた物体を用いて、デジタル位相共役による集光スポット形状の改善と OCM 信号の増加を確認する。次に、Fig. 4.7 の解像度チャートを用いて、集光スポットを走査することで3次元イメージングを実施した。

はじめに、デジタル位相共役波発生による集光スポット形状の改善と OCM 信号の増強効果があることを示す。Fig. 4.8 に示すように、ハーフミラーの半分に散乱角 30 度、厚さ 0.1 mm の散乱シートを添付した。Fig. 4.9 にデジタル位相共役を用いた場合と用いない場合の SLD の集光スポットの変化を示す。Fig. 4.9 (b), (d) は、それぞれ Fig. 4.9 (a), (c) の断面分布である。デジタル位相共役を行わない場合、Fig. 4.9 (a)から波面は散乱シートによって変調され、集光スポットを見ることができない。デジタル位相共役波では、散乱シートによる位相変調が補償され、Fig. 4.9 (c)のように集光スポットを見ることができた。Fig. 4.9(d)の断面強度分布からガウス分布でフィッティングすると、スポット径 ($1/e^2$ 全幅) は $3.18 \mu\text{m}$ である。回折限界のビーム径は $1.20 \mu\text{m}$ であり、回折限界の 2.79 倍の幅に集光できていることがわかる。Fig. 4.10 に OCM 反射強度測定の結果を示す。Fig. 4.10(b)には、散乱媒体の前面反射と背面反射による 2 つのピークが存在する。後面はハーフミラーに付着しており、その後、2 番目のピークが 1 番目のピークより比較的高くなる。Fig. 4.10(a)のピーク値は -75.0 dB, (b)のピーク値は -55.0 dB である。この結果から、2 つのグラフのピーク差は 20 dB であり、反射光強度が約 17.84 倍改善されたことがわかる。

そして、Fig.4.7 に示すような周期的な物体を提案システムで測定した。この周期的物体の測定では、 x 軸に沿って $10 \mu\text{m}$ ごとに反射率が異なる。この物体を水平方向に $3.3 \mu\text{m}$ ステップで走査して 19 点 (x 軸方向) で信号を得る。また垂直方向に $10 \mu\text{m}$ ステップで走査すると 11 点 (y 軸方向) 得られる。各点で 10 回測定し、平均反射強度の結果を Fig. 4.12(a), (b)に示す。Fig. 4.12(a), (b) はそれぞれ、デジタル位相共役を行わない場合と行った場合の反射率分布である。Fig. 4.12(a), (b)を比較すると、デジタル位相共役波の生成により、縦の 3 本線の構造をより鮮明に再生できることがわかる。3 本の周期的な反射率分布に対してデジタル位相共役を用いた場合の平均信号強度は -31.77 dB であり、位相共役を用いない場合は -40.16 dB であった。反射構造がない場所での信号強度はそれぞれ -43.55 dB と -47.38 dB であった。従って、デジタル位相共役を用いた場合と用いない場合の反射信号の差は 8.39 dB と 3.83 dB である。これらの結果から定量的にも反射信号が

増加していると言える。Fig. 4.12(b)では、一部反射率が低くなっているが、これは大気の時間的な揺らぎが原因であると考えられる。この対策として、光学系を密閉し、大気の乱れや擾乱の影響を低減することが考えられる。

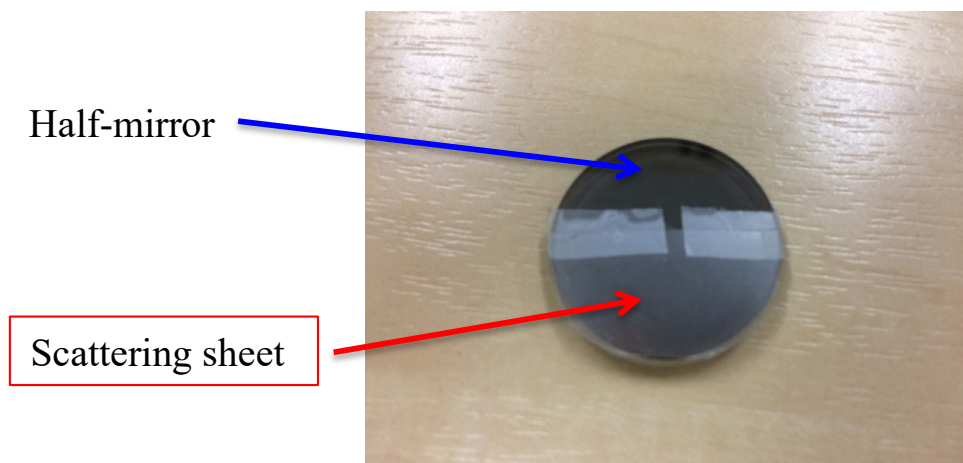
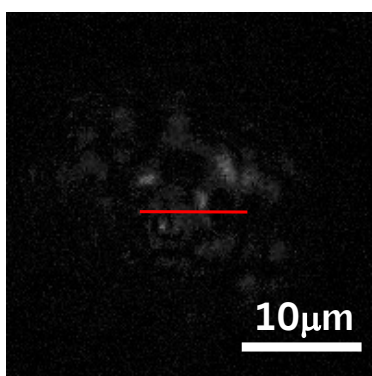
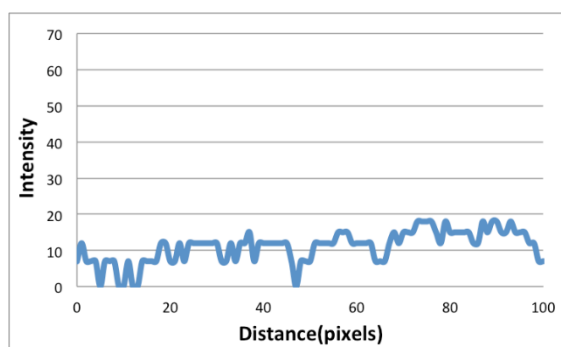


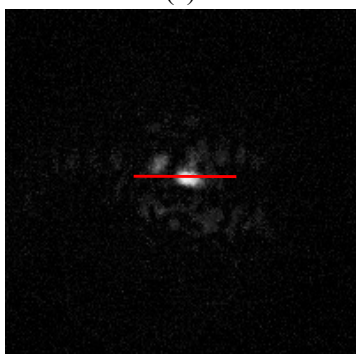
Fig. 4.8 Measured object.



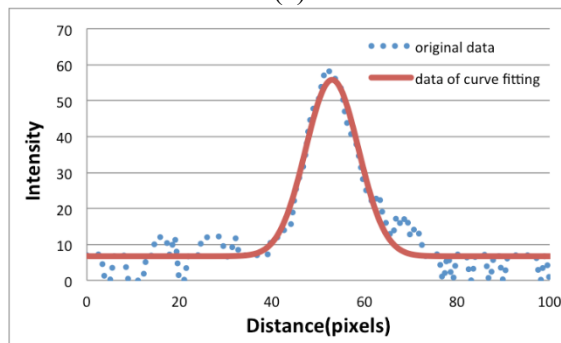
(a)



(b)

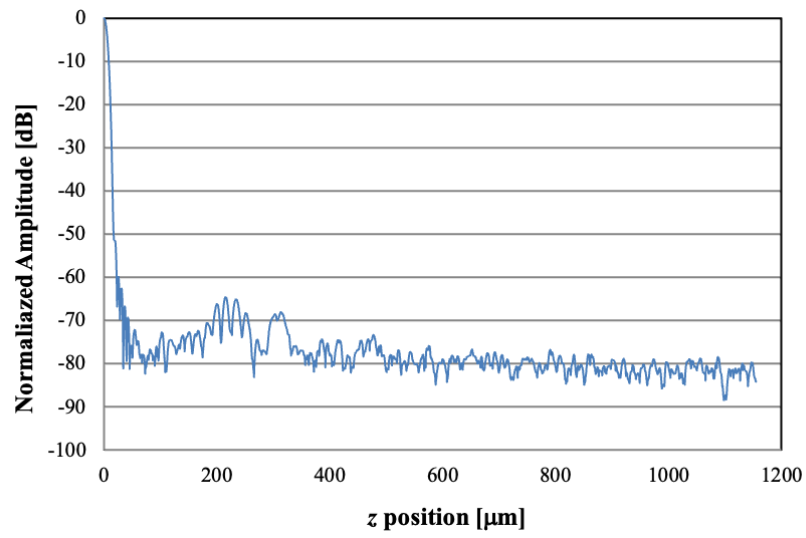


(c)

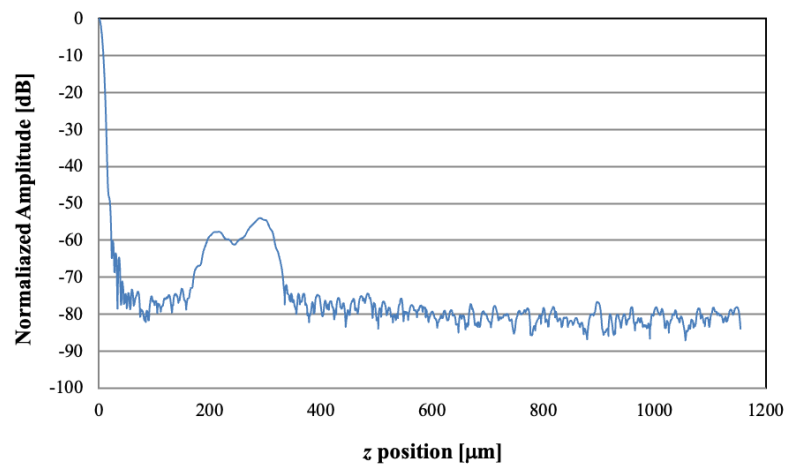


(d)

Fig. 4.9 Spot profiles of SLD light observed at CCD2. (a) and (b) intensity image and its profile of SLD light without digital phase conjugation, (c) and (d) intensity image and its profile of SLD light with digital phase conjugation.



(a)



(b)

Fig. 4.10 Improvement of OCM signal of the object of Fig. 4.8. Reflected signal along the depth position (a) without and (b) with digital phase conjugation.

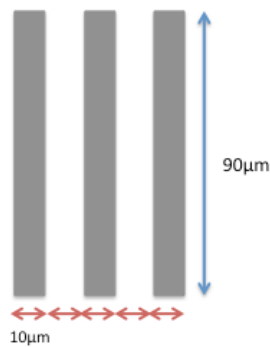
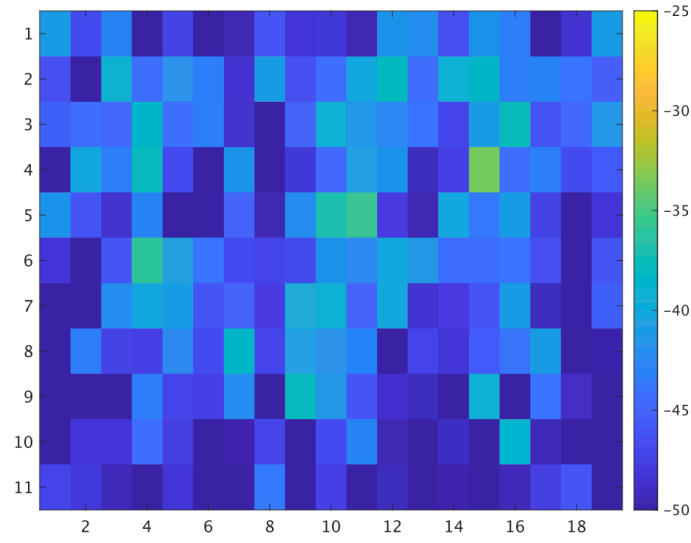
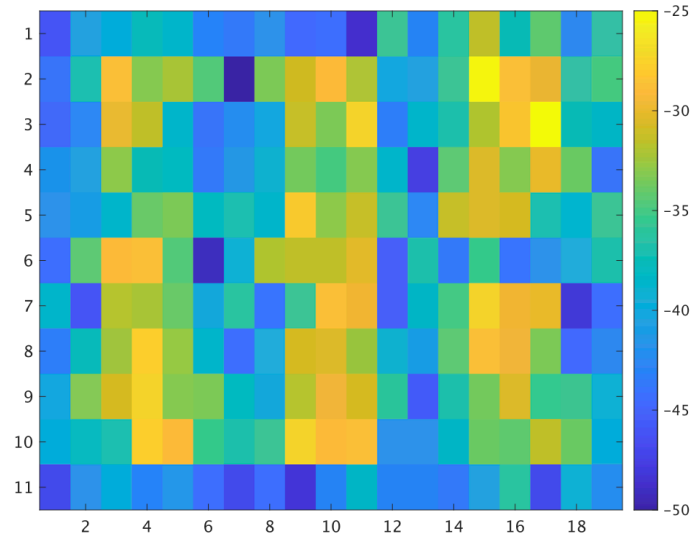


Fig. 4.11 Reflective measured object.



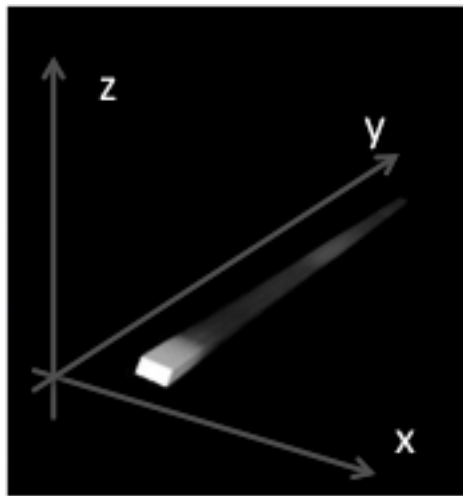
(a)



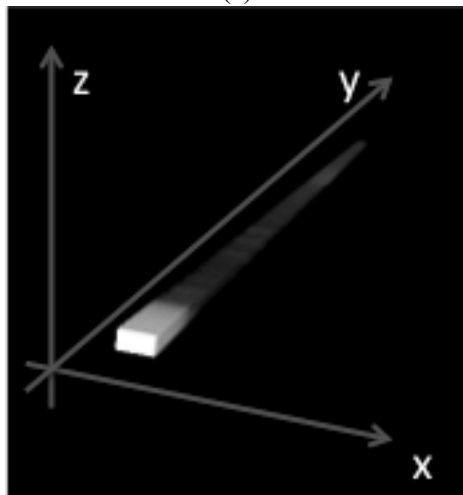
(b)

Fig. 4.12 Reflectance images by scanning the focused point (a) without and (b) with digital phase conjugation.

次に、3次元反射率分布を測定した結果を Fig. 4.13 に示す。Fig. 4.13(a), (b)はそれぞれデジタル位相共役を用いない場合と用いた場合の3次元反射率分布を示している。白色が反射率が高く、黒色が反射率が低いことを示している。図から OCT 及び OCM では光路長0の位置での反射率が最も大きいため、端面の反射率が高いことがわかる。このため、3次元構造をこの分布から認識することは難しい。



(a)



(b)

Fig. 4.13 3D imaging images (a) without a phase compensation (b) with a phase compensation.

4.4.2 周期構造の測定

ここでは周期構造の測定分解能を評価する。測定対象は、Fig. 4.7 に示した $20\text{ }\mu\text{m}$ 周期、に加えて $10\text{ }\mu\text{m}$ と $8\text{ }\mu\text{m}$ の周期構造を用いた。測定対象を横方向にそれぞれ $3.3\text{ }\mu\text{m}$, $1.6\text{ }\mu\text{m}$, $1.3\text{ }\mu\text{m}$ のステップで走査し、各 19 点測定した。測定結果はデジタル位相共役波を発生させた状態で行う。この測定を 3 回行い、反射率分布の平均をとる。 $20\text{ }\mu\text{m}$ 周期、 $10\text{ }\mu\text{m}$ 周期、 $8\text{ }\mu\text{m}$ 周期の測定結果をそれぞれ、Fig. 4.14, Fig. 4.15, Fig. 4.16 に示す。

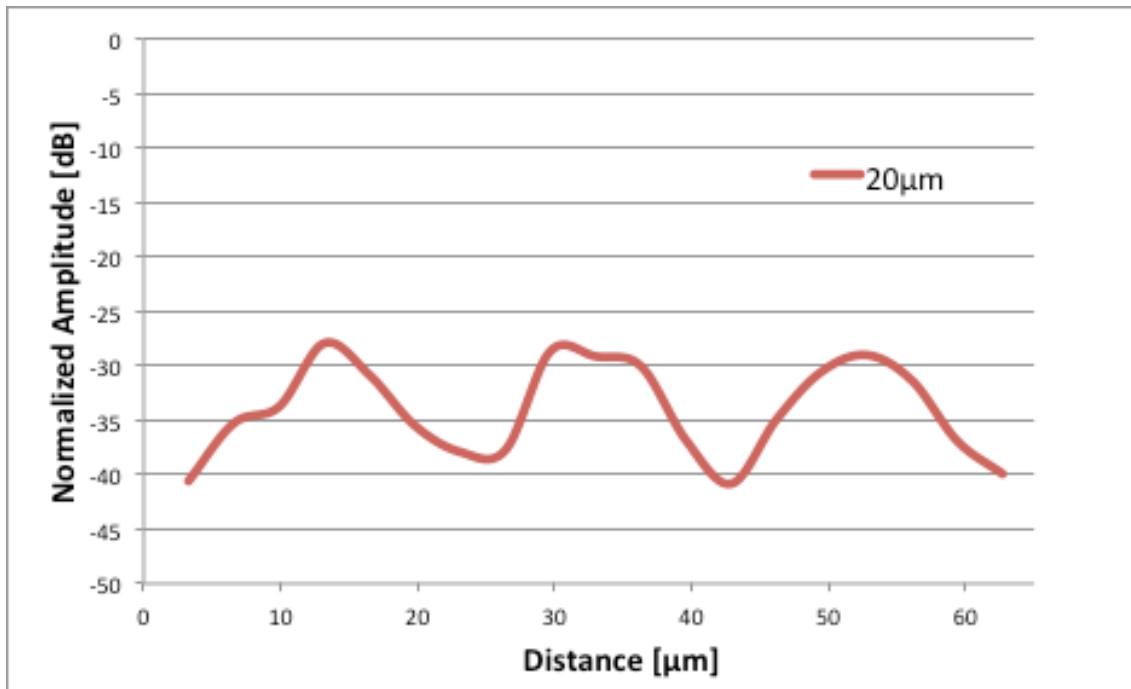


Fig. 4.14 Cross section of reflectance profile with a phase compensation with a period of 20 mm pitch.

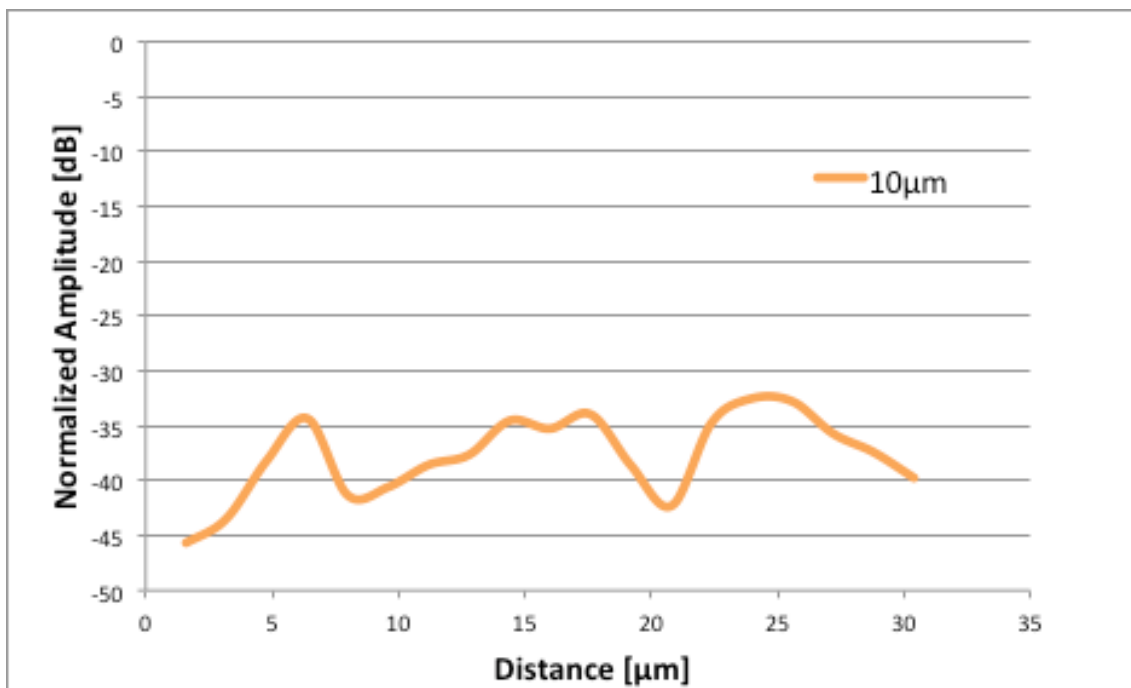


Fig. 4.15 Cross section of reflectance profile with a phase compensation with a period of 10 mm pitch.

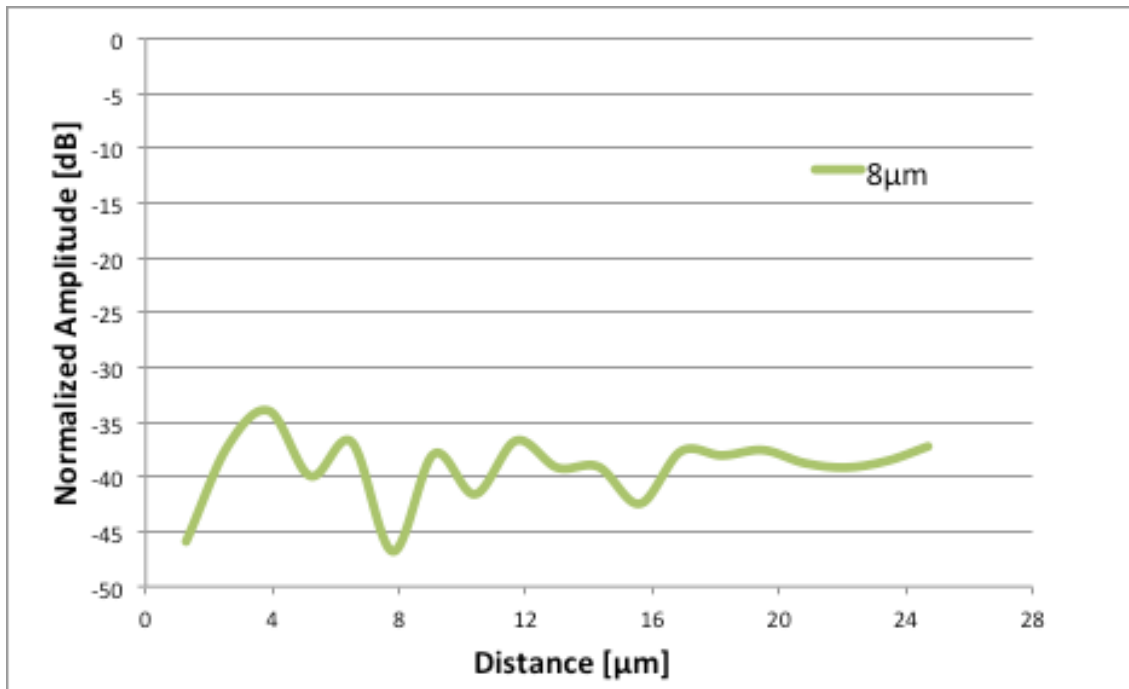


Fig. 4.16 Cross section of reflectance profile with a phase compensation with a period of 8 mm pitch.

Fig. 4.14 から、はっきりと 20 μm 周期で変化が生じていることがわかる。Fig. 4.15 を見ると、周期のようなものが見えるが、Fig. 4.14 と比べてコントラストが低下している。Fig. 4.16 では 8 μm の周期は観測できなかった。以上の結果から、本実験システムでは 10 μm の周期構造を認識できる能力があるといえる。集光スポット径は約 3.2 μm であることから更なる改良が必要である。

4.5 おわりに

本章では、散乱媒体における OCM イメージングの空間分解能をより向上させることを目的として、デジタル位相共役鏡を用いた結像特性の改善と観測物体の 3 次元イメージングを行った。位相変調型空間光変調素子として LCOS-SLM を用いて、散乱媒体中で変調された光波の位相変化を補償することにより、散乱シートによって散乱された光の集光特性を改善した。また、OCM における物体の反射率分布を観察することによって、OCM 信号強度が向上していることも確認した。さらに、観測物体を走査させることにより、10 μm 周期の 3 次元イメージングに成功した。

今後の課題としては、今回用いた散乱シートがやや弱い散乱であったため、散乱シートの厚さを厚くして 3 次元イメージングを行うことが挙げられる。また 10~20 μm の間の周期を持つ観測物体を用いて、より精密な面分解能の測定も課題として挙げられる。また、

反射した OCM 信号は散乱体を通過しているため、信号自体が劣化している。そのため、更なる OCM 信号を増加させるためには、天文学で用いられている波面補正を反射信号自体にも導入する必要がある。

第5章 ライトフィールド顕微鏡と Deep Learning による 高分解能化

5.1 はじめに

生命科学や生物学において、観察したい対象に蛍光標識をつけて様々な生命活動を非破壊かつライブで観察できるようになっている[45-47]。多数の神経細胞や複数の脳領域間などの3次元空間で発現する生命活動を解明するためには、高速な3次元蛍光イメージング技術の開発が必須である。近年、3次元イメージングの手法として、インコヒーレントデジタルホログラフィー[48-52]、強度輸送方程式[53,54]、ライトフィールド[55,56]、ライトシート[57,58]に関する研究が注目されている。高速3次元イメージングを実現するためには1回の記録で3次元情報を記録する必要がある。

ライトフィールドとは、空間の位置と方向の関数として光線に沿った放射輝度を示す4次元関数である。ライトフィールド顕微鏡の代表的な光学系では、従来の光学系の結像面にマイクロレンズアレイを挿入したものであり、各レンズから光線の位置情報と角度情報の両方を記録できるので、シングルショットによる3次元計測が可能な顕微鏡である。また、幾何光学による光線再生によって計算機上で任意に視点方向と観察面の決定が可能である。他の3次元蛍光イメージング手法に比べ、ライトフィールド顕微鏡は、非侵襲かつ高速な3次元計測が可能であるという利点があるが、奥行き情報と再構成像の解像度がトレードオフの関係にあるという問題点がある。つまり、高分解能の画像を得るには、奥行き方向の情報が欠損する。画質改善方法として、インテグラルイメージングにおいては、レンズアレイを平面内で移動させる方法が提案されている[59-61]。

本研究では、ライトフィールド顕微鏡によって取得した再構成像の解像度を、深層学習の一つのモデルである U-net を用いることで改善を試みた。ライトフィールド顕微鏡と蛍光顕微鏡を統合した光学系を構築し、ライトフィールド画像と蛍光顕微鏡による高解像度2次元画像を取得する。蛍光顕微鏡を用いた高解像度画像は、ディープラーニングの学習データセットの教師画像として用いる。まず蛍光ビーズのサンプルを用いて深層学習に用いるカーネルサイズの適切な値の決定を行った。その後蛍光ビーズの再構成像の解像度改善を行ない、再構成像の解像度の改善を確認した。さらにタバコ培養細胞を用いた動画撮影を行い、画質改善結果を示す。

5.2 深層学習を用いたライトフィールド3次元イメージング

ライトフィールド顕微鏡では、従来の落射型のフルフィールド蛍光顕微鏡に加えて Fig. 5.1 に示すように、イメージセンサの前にマイクロレンズアレイ（以下、MLA；MicroLens Array）を置くことで光線の位置情報と角度情報を記録できる。MLA は物体の結像面に置かれており、イメージセンサは MLA の焦点面、つまりフーリエ変換面に置かれる。レンズアレイの一つ一つのレンズで記録された画像を要素画像と呼ぶ。Fig. 5.1 に示

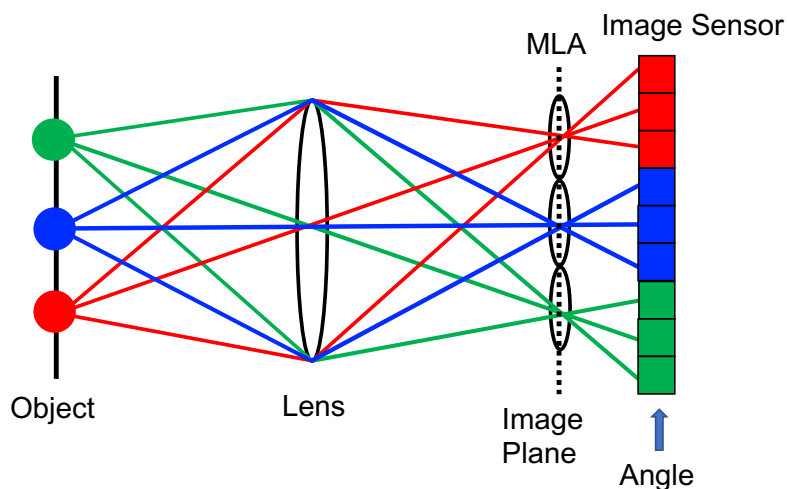


Fig. 5. 1 Typical optical setup of light-field microscope. In this figure, a single lens is used to make an imaging optics.

すように、この要素画像は物体からの光線情報を有する。また、要素画像のサイズは MLA の数と同じになる。3 次元物体の奥行き情報を取得するためには光線の角度情報が 必要になる。イメージセンサの画素数を $N \times N$, MLA の数を $M \times M$, 要素画像の画素数 を $L \times L$ とすると、

$$N = M \times L \quad (5.1)$$

となる。また、 $M \times M$ は再構成画像の画素数、 $L \times L$ は光線の角度の数となる。したがって、奥行き情報を多く取得すると、再生像の画素サイズが少なくなり、再生画像の解像度が劣化する。逆に、再生像の解像度を上げると、光線の角度情報がなくなり、奥行き情報が失われる。本研究では、劣化した再生像の画質向上に向けて、深層学習を用いる。

次に計算機における 3 次元再生の原理を説明する。Fig. 5.2 に示すように、青色の点を再生する場合を考える。青色の点から出た光線は対物レンズ、チューブレンズ、MLA を通過し、イメージセンサで検出される。幾何光学的にそれらの座標位置が求まるため、任意の平面で再生計算ができる。Fig. 5.3 に直径 $10 \mu\text{m}$ の蛍光ビーズの要素が画像と再生像の例を示す。図から再構成ができていないものの、蛍光ビーズがボケていることがわかる。そこで、本研究では深層学習を用いて再構成画像の画質改善を行う。

深層学習では学習用データとして入力画像と教師画像である出力画像の取得が必要である。そのため、本研究では対象となる物体のライトフィールド顕微鏡における要素画像と画質改善用の学習用教師画像を取得するフルフィールド蛍光顕微鏡の画像を同時に取得できる光学系を構築した。実験系を Fig. 5.4 に示す。中心波長 470 nm の LED (Thorlabs M470L4) から発せられた光はダイクロイックミラーで反射し、対物レンズ (Olympus ULWD MSPlan 20, NA 0.4) を通過して平行光で対象物に照射される。対象物は、蛍光を発する蛍光ビーズ、または蛍光タンパク質を導入した植物細胞である。蛍光体から発せら

れ顕微鏡対物レンズを通過した光は、平行光に近い形に変換され、ダイクロイックミラーを通過し、チューブレンズ (TL) で拡大される。そして、蛍光はハーフミラー (HM) で 2 つの光波に分けられる。左側の光学系がライトフィールド顕微鏡の光学系である (Fig. 5.4(b))。焦点距離 5.6 mm, レンズピッチ 150 mm の MLA, Thorlabs MLA150-7AR に $4f$ 光学系 (L1 - L2) により拡大像が結像される。そして, MLA の焦点面における像は, 別の $4f$ 光学系 (L3~L4) によりイメージセンサ上に結像される。画像の記録には, 画素数 1940×1460 , 画素ピッチ 4.54 mm の CoolSNAP KINO が使用される。TL, L1, L2, L3, L4 の焦点距離はそれぞれ 200 mm, 150 mm, 150 mm, 100 mm である。右上の光学系は落射蛍光顕微鏡で, 拡大された画像は $4f$ 光学系 (L5~L6) を通してイメージセンサで観察される。L5 と L6 の焦点距離は 150 mm である。イメージセンサは, 浜松ホトニクス製 ORCA-Flash4.0, 画素数は 2048×2048 , 画素ピッチは $6.5 \mu\text{m}$ である。この落射蛍光顕微鏡は, ディープラーニングの学習過程で理想的な画像として使用される高解像度画像の撮影に使用される。顕微鏡対物レンズ下の任意の観察深度面において, 画像サイズの倍率を変えずに高解像度画像を記録するために, L5 の焦点面にディオプター 20 m^{-1} の可変焦点距離レンズ (VFL), Optotune, EL-16-40-TC を使用する。2 つのイメージセンサのピクセルピッチの差と位置のずれは, アフィン変換を用いて補正した。U-net のデータセットでは, 画像サイズを 256×256 ピクセルに縮小している。

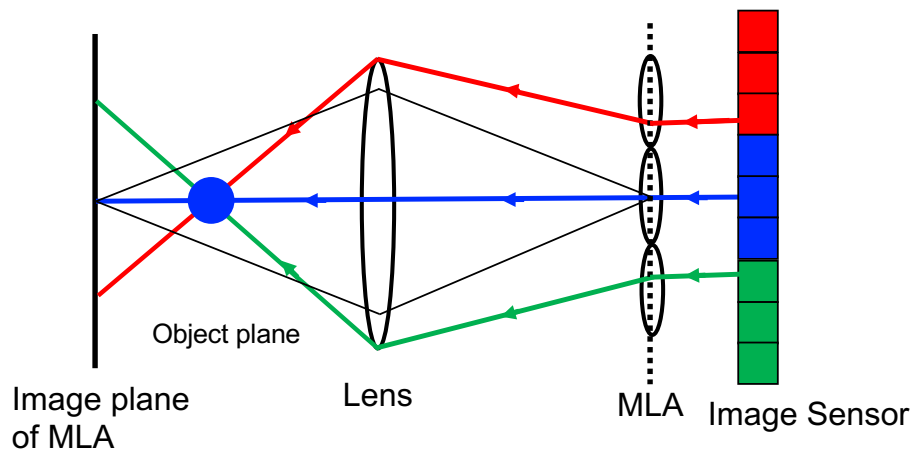
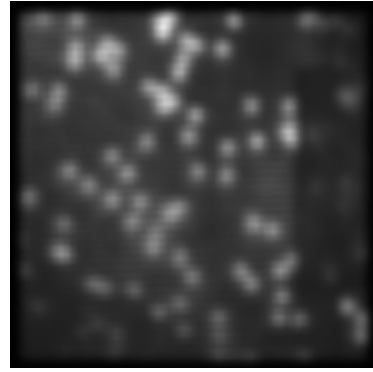


Fig. 5.2 Numerically retrieved process from elemental images.

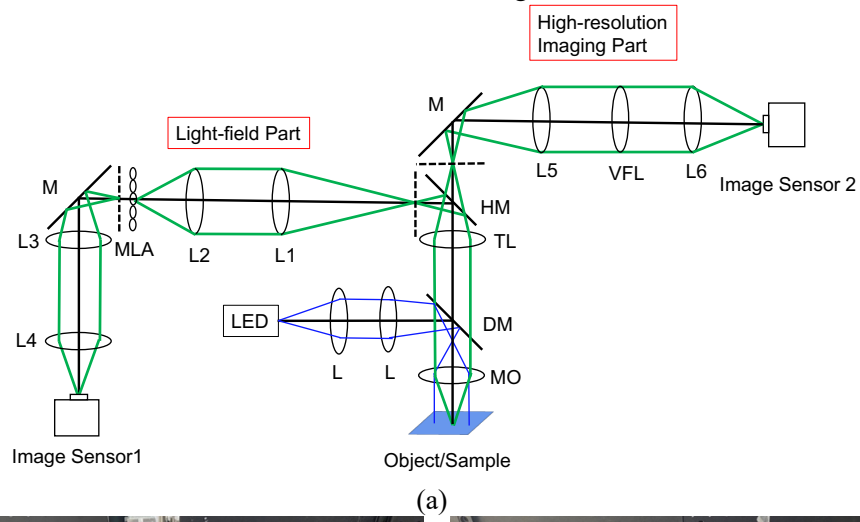


(a)

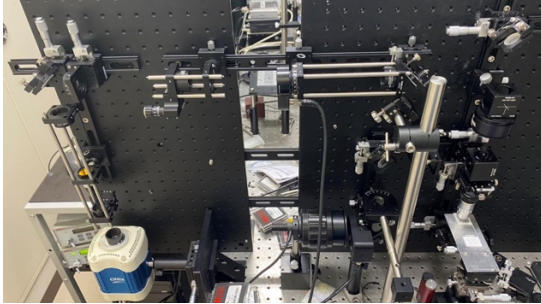


(b)

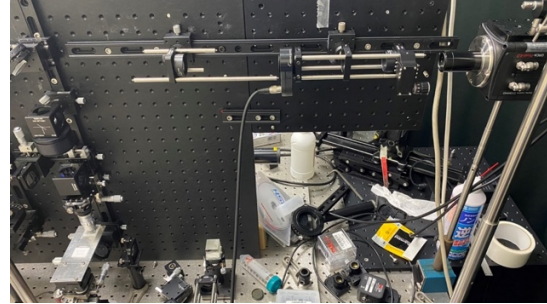
Fig. 5.3 (a) Examples of elemental images obtained by light-field microscope and (b) its reconstructed image.



(a)



(b)



(c)

Fig. 5.4 Schematic of the light-field microscope with an epi-fluorescence microscope for obtaining the training dataset for deep learning. (a) optical configuration, (b) a photo of light-field microscope, and (c) a photo of the epi-fluorescence microscope. L's, lenses; M, mirror; MLA, microlens array; DM, dichroic mirror; MO, microscope objective lens; HM, half mirror; VFL, variable focal length lens.

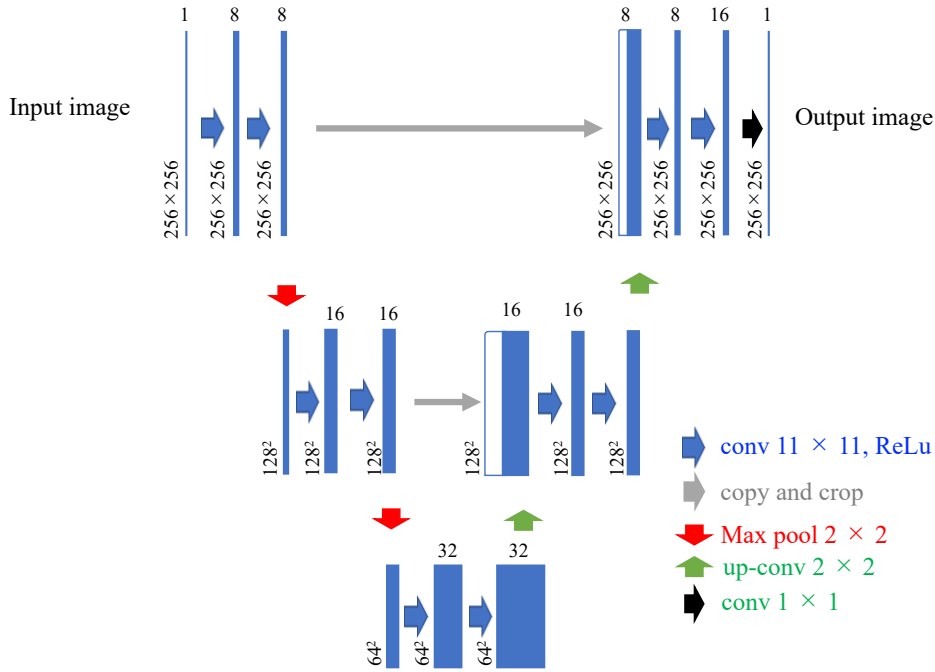


Fig. 5.5 Three-layer U-net model.

次に、深層学習による画質改善方法を説明する。低解像度画像から高解像度画像への変換に用いられている3層のU-Netを用いた[62,63]。Fig. 5.5に用いた構造を示す。今回対象とした蛍光ビーズ及び細胞サイズは約10 μm である。畳み込み用のカーネルサイズとして11 × 11を用いた。Table 1に用いたパラメータを示す。

Table 1 Parameters used in U-net

Optimizer	Adam (Learning rate = 1.0×10^{-4})
Activation function	ReLU
Number of iterations	10000
Batch size	6
Kernel size	11 × 11

5.3 実験

はじめに蛍光ビーズを用いた実験結果を示す。蛍光ビーズは平均直径10.4 μm の Nile red を用いた。学習用データとして45画像、テスト用データとして5画像を用いた。学習用及びテスト用データに対する学習の様子を Fig. 5.6 に示す。評価として SSIM (Structural Similarity Index Measure) Loss 関数を用いた。定義は以下の通りである。

$$SSIM_{loss} = 1 - \frac{(2\mu_x\mu_y + c_1)(2\sigma_{xy} + c_2)}{(\mu_x^2 + \mu_y^2 + c_1)(\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + c_2)} \quad (5.2)$$

式(5.2)で m_x , m_y は横方向(x axis)の蛍光強度の平均値, 縦方向(y axis)の蛍光強度の平均値, s_x , s_y , s_{xy} は横方向の標準偏差, 縦方向の標準偏差, 横・縦方向の共分散, C_1 , C_2 は評価値を安定化するための定数であり, $(0.01 \times L)^2$ となる。 L は対応する画像の最大画素値である。10,000 回の学習の結果, SSIM Loss は学習用データ及びテスト用データに対して, それぞれ 9.48×10^{-2} , 1.63×10^{-1} であった。

また, Fig. 5.7 にテスト用データに対する出力画像を示す。Fig. 5.7 (a) がフルフィールド蛍光顕微鏡での理想画像, (b) ライトフィールド顕微鏡で取得した要素画像, (c) U-net の出力像である。Fig. 5.7 より, ビーズの周辺部に弱いノイズが見られるものの, 画質が劇的に向上していることがわかる。これは, 学習データにはビーズが 1 つだったり, 2 つ以上つながっていたり, さまざまなパターンが存在するためである。そのため, 周辺部にはビーズのノイズのような残像が現れると考えられる。しかし, このノイズは十分に小さいため, 構築した U-net を使用してライトフィールド画像の画質を向上させることができる。

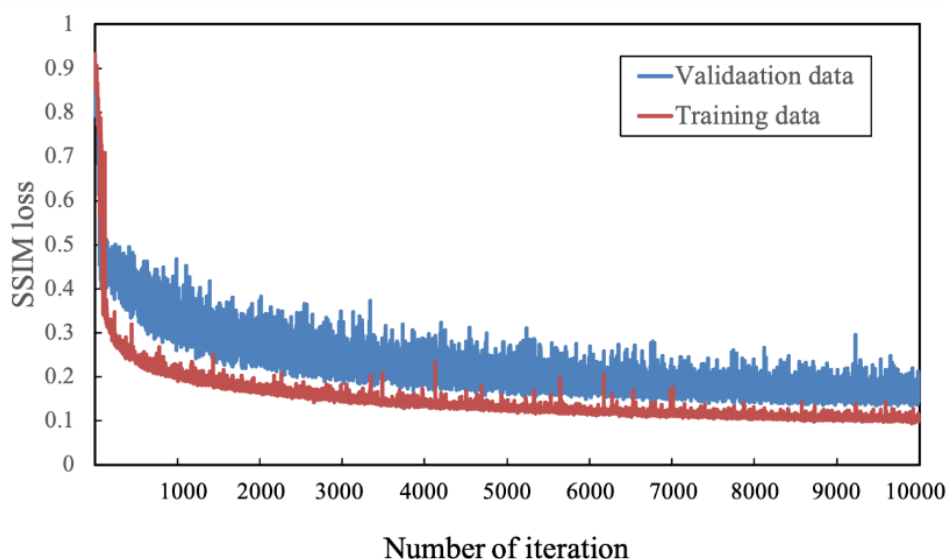


Fig. 5.6 SSIM loss as a function of iteration. Orange and blue curves indicate SSIM loss for learning data and validation data, respectively.

次に, 植物細胞を用いた結果を示す。緑色蛍光タンパク質で標識されたチューブリンをもつタバコ培養細胞を用いた。本実験で用いた学習用データセットの例を Fig. 5.8 に示す。データセットは 200 枚用意した。Fig. 5.9 に学習用データセットと評価用データセットに関する SSIM Loss の変化を示す。10,000 回の学習後に, 学習用データセットと評価用データセットに関する SSIM Loss はそれぞれ, 2.54×10^{-1} , 3.26×10^{-1} である。Fig. 5.10 に評価用データの再生像として, 細胞分裂の様子を 10 分間隔で撮影した画像を示す。評価用データの学習曲線と実際の出力画像を見ると, 全体的な解像度は改善されていると言え, 細胞分裂による核の変化は一部再生できている。しかし, 細胞の内部の細かい構造や細胞の形が上手く出力されていないことが分かる。今回の学習ではフォーカスのあった細胞核の画質

改善が見られる。これは直径 10 μm の蛍光ビーズで最適化したカーネルサイズ 11×11 を用いたことが要因の一つであると考えられる。植物細胞の観察では、観察したい対象に合わせて U-net の最適化が必要になると考えられる。

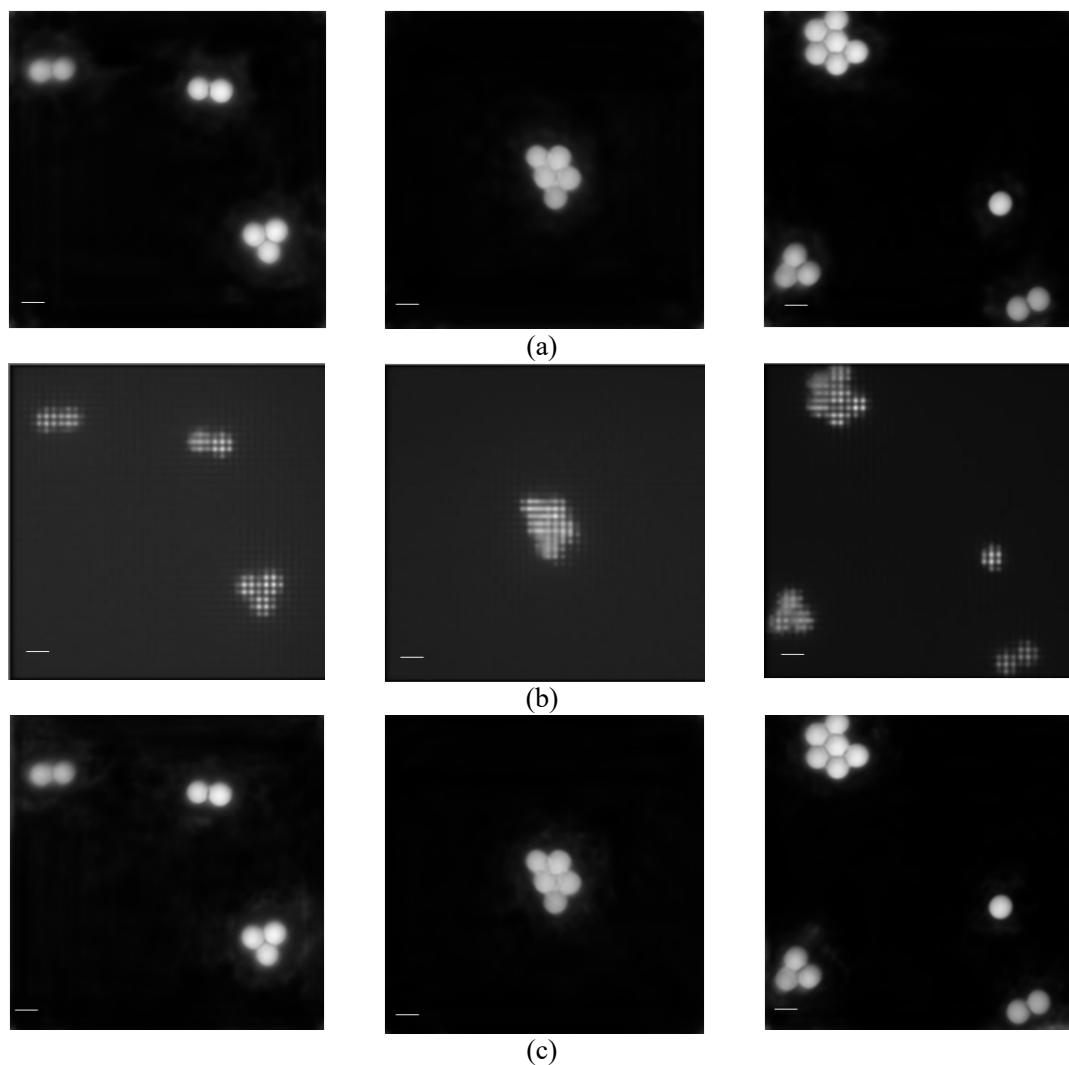


Fig. 5.7 Validation test by using fluorescent beads: (a) ideal output images obtained by the epifluorescence microscope, (b) reconstructed images obtained by the light-field microscope, and (c) output images of U-net. The scale bar is 10 μm .

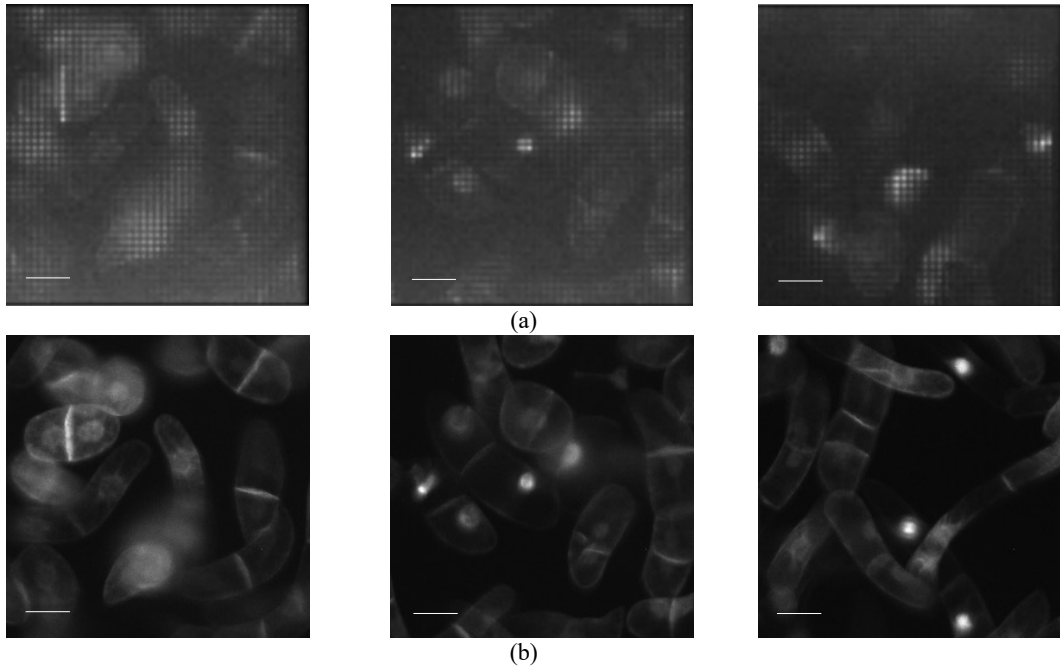


Fig. 5.8 Fluorescence images of plant cells for the training set. (a) reconstructed images as input images and (b) ideal output images as output images. The scale bar is 20 μm .

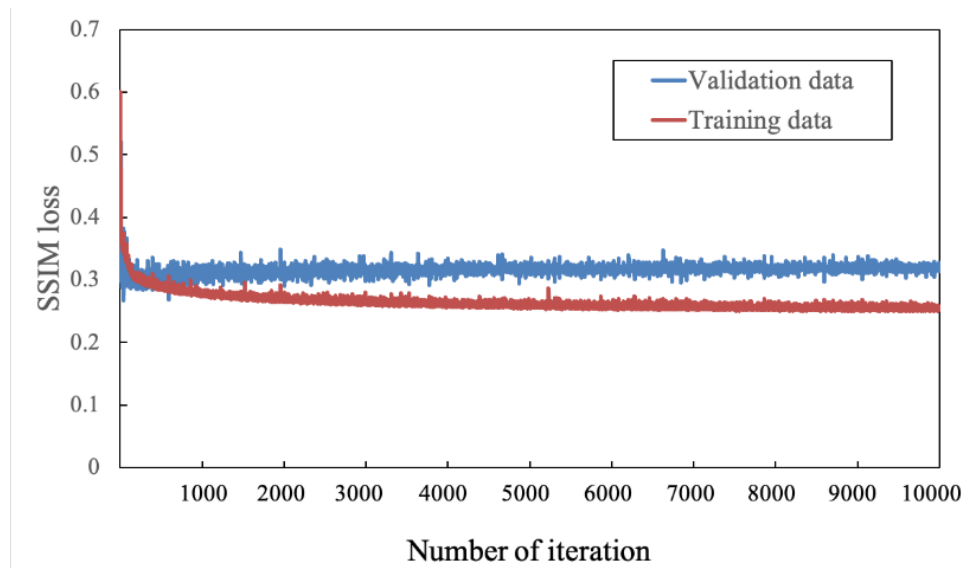


Fig. 5.9 SSIM loss as a function of number of iteration in tobacco culture cells. Orange and blue curves indicate SSIM loss for training data and validation data, respectively.

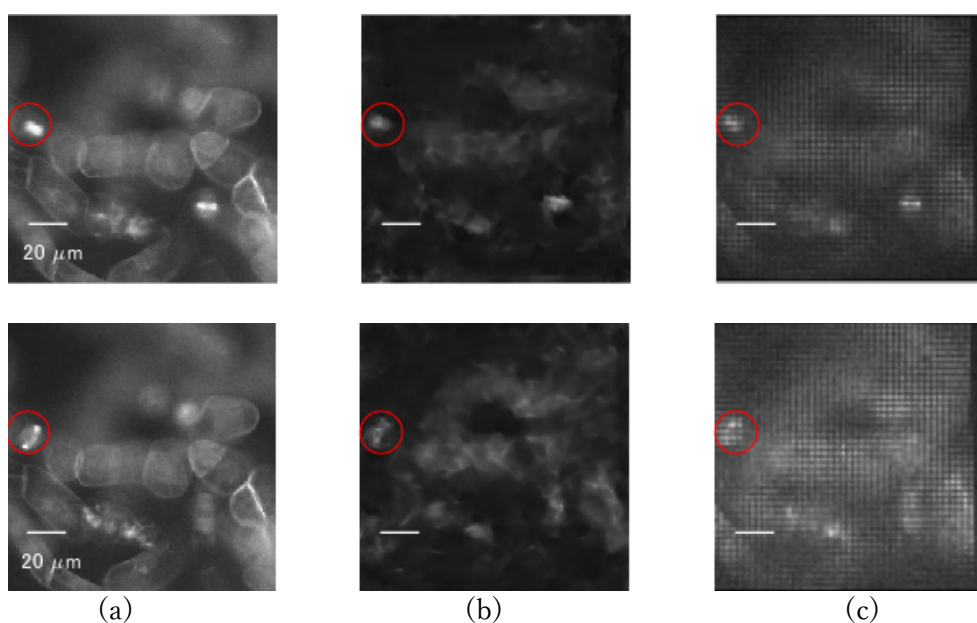


Fig. 5.10 Time-lapse imaging of tobacco suspension culture cells expressing mEGFP- β -tubulin; (a) ideal images by epi-fluorescence microscope, (b) reconstructed images by light-field microscope, and (c) output images of U-net. The scale bar is 20 μ m.

5.4 おわりに

ライトフィールド顕微鏡の課題として、奥行き情報と再生像の解像度にトレードオフの関係があり、奥行き情報を取得するためには再生像の解像度が劣化する問題がある。この問題を解決するために、深層学習を導入し、画質改善を試みた。深層学習として U-net を用いた。学習用の入力及び教師画像を同じ物体に対して実験的に取得する光学系として、ライトフィールド顕微鏡とフルフィールド蛍光顕微鏡を一体化した光学系を構築した。蛍光ビーズとタバコ培養細胞を用いた結果、直径 10 μ m の蛍光物体及び細胞核については大きな改善が見られた。タバコ培養細胞では細胞分裂の様子を改善して観察できるようになった。今後の課題としては、細胞では様々なスケールの構造があるため、細胞核以外の大きさにも対応できるように U-net の構造を最適化する必要がある。

第 6 章 結論

生体組織は数ミクロンから十数ミクロンの大きさの不均一な形状をもつ細胞が不規則に並んだ構造を有し、光の直進性を失う強い散乱体として作用する。そのため、生体深部を非破壊、非接触にするには、生体内部に十分な光エネルギーを送り、そこから得られる蛍光や位相（構造）情報を回復する技術が必要である。本論文の目的は、生体内部にある情報や構造を高分解能に観察するためのセンシング・イメージング技術を開発に向けて、人工散乱体作製技術を改良し、生体模擬材料を作製するための基盤技術を開発するものである。さらに、生体内部のイメージング技術として、散乱を除去し、内部に微小光スポットとして照明するデジタル位相共役を用いた散乱補正照明技術と、生体組織の高速 3 次元イメージング技術としてライトフィールド顕微鏡の画質向上に取り組んだ。これらの技術を統合することで、生体内部に所望の状態で光を届ける散乱体深部照明技術と、生体内部からの信号が散乱によって劣化したものを回復し、散乱体内部の情報を可視化する散乱透視イメージング技術の開発に繋がる。

本章では、本論文をまとめ、今後の課題を述べる。

第 1 章では、序論として、研究背景、研究目的、論文構成を述べた。

第 2 章では、本論文での物理的基礎となる、散乱特性の指標として、散乱係数及び等価散乱係数を紹介した。次に、生体内部を断層イメージング化する光コヒーレンストモグラフィの原理を述べた。さらに、高速 3 次元イメージングの手法としてライトフィールド顕微イメージングを紹介した。

第 3 章では、生体模擬材料の作製技術に向けて、作製時間を大幅に短縮できる複雑な散乱係数分布が制御可能な 3 次元不均質人工散乱体について述べた。提案した積層ずらし構造による人工散乱体の作製法はランダム空孔を配置したマスクパターンを用いて、一層ごとにマスクパターンによる露光を行うことで積層構造の 3 次元造形を行うことで散乱体を作製する。この方法は作製時間を大幅に短縮できるため、大面積な散乱体作製が可能である。また、散乱体の特性を評価するために、コヒーレント光シミュレータを構築し、積層ずらし構造による人工散乱体と空孔が完全にランダムである人工散乱体において、空孔密度と出力ビーム径の関係を求めた。その結果、積層ずらし構造による人工散乱体は完全ランダム散乱体と同等の散乱特性を持つことを示した。次に、モンテカルロシミュレーションにより、散乱係数と出力ビーム径の関係を導いた。これらの結果から、積層ずらし構造による人工散乱体の散乱特性を評価した。さらに、モンテカルロシミュレーションにより、散乱係数と出力ビーム径の関係を導き、コヒーレント光散乱シミュレーションの結果と合わせて、100 層、90 層と 75 層の積層ずらし構造による人工散乱体の散乱係数の制御について説明した。以上の結果から、空孔密度が 0 から 12%、空孔直径 $2\text{ }\mu\text{m}$ の積層ずらし構造による人工散乱体を用いて、 1 cm^{-1} から 17 cm^{-1} の範囲で等価散乱係数の制御に成功した。

第4章では、高解像度 OCT システムの構築に向けて、波面の歪みをデジタル位相共役鏡で補正することにより、集光特性や OCT 信号強度の向上を図った。デジタル位相共役鏡は、散乱媒質によって乱される波面を補正する技術のひとつである。OCT システムでは、低コヒーレンス光源を用いて観測物体の反射率分布を計測する。補正用の位相分布を得るためには、干渉性の高い光が必要なため、ガイドレーザーを用いる。デジタル位相共役鏡における位相分布は、ガイドレーザーから低コヒーレンス光源への波長変換によって作成される。本研究では、空間光変調器 (SLM) を用いてデジタル位相共役鏡を構成する。実験では、観測物体として、散乱角が 30° の弱散乱シートを貼付けた周期チャートを用いた。まず、補正をかけたとき光のスポット径が $3.178\text{ }\mu\text{m}$ であったことから、ウエストサイズの 2.79 倍まで集光特性が向上したことを確認した。また OCT 信号強度が向上していることも確認した。さらにステージ走査により 3 次元イメージングを行い、実験システムが $10\text{ }\mu\text{m}$ の周期構造を認識することができることが分かった。これらの実験により、構築した OCT システムの有用性を実証することができた。

第5章では、生体内部の高速 3 次元イメージング技術として、ライトフィールド顕微鏡によって取得した再構成像の画質向上を、深層学習の一つのモデルである U-net を用いることで改善を試みた。まず蛍光ビーズのサンプルを用いて深層学習に用いるカーネルサイズの適切な値の決定を行った。その後、蛍光ビーズの再構成像の解像度改善を行ない、再構成像の解像度の改善を確認した。さらにタバコ培養細胞を用いた動画撮影を行い、画質改善を行なった。実験系の特徴として、学習用の入力及び教師画像を同じ物体に対して実験的に取得する光学系として、ライトフィールド顕微鏡とフルフィールド蛍光顕微鏡を一体化した光学系を構築したことである。蛍光ビーズとタバコ培養細胞を用いた結果、直径 $10\text{ }\mu\text{m}$ の蛍光物体及び細胞核については大きな改善が見られた。タバコ培養細胞では細胞分裂の様子を改善して観察できるようになった。今後の課題としては、細胞では様々なスケールの構造があるため、細胞核以外の大きさにも対応できるように U-net の構造を最適化する必要がある。

今後の研究課題としては、人工散乱体作製技術を用いて層構造をもつ生体模擬材料を作製し、それを用いて散乱体内部に光を集光する技術の構築と、散乱により劣化した画像を回復する技術のさらなる向上が挙げられる。特に、深層学習を用いる画像回復はトレーニングセットを十分に用意し、フィルタサイズを適切に設定することで実現可能である。

参考文献

- [1] E.A. Genina, A.N. Bashkatov, D.K. Tuchina, P.A. Dyachenko, N. Navolokin, A. Shirokov, A. Khorovodov, A. Terskov, M. Klimova, A. Mamedova, I. Blokhina, I. Agranovich, E. Zinchenko, O.V. Semyachkina-Glushkovskaya, V.V. Tuchin, “Optical properties of brain tissues at the different stages of glioma development in rats: pilot study,” *Biomed. Opt. Express* 10, p. 5182-5197 (2019).
- [2] Y. Choi, T.D. Yang, C. Fang-Yen, P. Kang, K.-J. Lee, R. R. Dasari, M. S. Feld, and W. Choi, “Overcoming the Diffraction Limit Using Multiple Light Scattering in a Highly Disordered Medium,” *Phys. Rev. Lett.* 107, 023902 (2011).
- [3] I.M. Vellekoop, A. Lagendijk, and A.P. Mosk, “Exploiting disorder for perfect focusing,” *Nat. Photon.* 4, p. 320-322 (2010).
- [4] O. Katz , P. Heidmann , M. Fink, and S. Gigan, “Non-invasive single-shot imaging through scattering layers and around corners via speckle correlations,” *Nat. Photon.* 8, p. 784–790 (2014).
- [5] R. Pappu, B. Recht, J. Taylor, N. Gershenfeld, “Physical one-way functions,” *Science* 297, p. 2026-2030 (2002).
- [6] O. Matoba, S. Matsuki, and K. Nitta, “Secure data storage by three-dimensional absorbers in highly scattering volume medium,” *J. Phys. Conf. Ser.* 139, 012003 (2008).
- [7] O. Matoba, K. Fujimoto and K. Nitta, “Iterative data reconstruction in a thin photonic data storage medium using three-dimensional absorbers in a scattering volume medium,” *Opt. Lett.* 34, p. 998-1000 (2009).
- [8] S. M. Popoff, G. Lerosey, R. Carminati, M. Fink, A. C. Boccara, and S. Gigan, “Measuring the Transmission Matrix in Optics: An Approach to the Study and Control of Light Propagation in Disordered Media,” *Phys. Rev. Lett.* 104, 100601 (2010).
- [9] S. T. Flock, S. L. Jacques, B. C. Wilson, W. M. Star and M. J. C. van Gemert, “Optical properties of intralipid: A phantom medium for light propagation studies,” *Lasers Surg. Med.* 12, p. 510-519 (1992).
- [10] P. Refregier and B. Javidi, “Optical image encryption based on input plane encoding and Fourier plane random encoding,” *Opt. Lett.* 20, p. 767-769 (1995).
- [11] O. Matoba, Y. Kitamura, T. Manabe, K. Nitta, and W. Watanabe, “Fabrication of controlled volume scattering medium in poly(methyl methacrylate) by focused femtosecond laser pulses,” *Appl. Phys. Lett.* 95, 221114 (2009).
- [12] 玉田洋介, 服部雅之, “補償光学；生物の深部を生きたまま観察,” *アグリバイオ*, Vol. 3, p. 77-82 (2019).

- [13] D. Huang, E.A. Swanson, C.P. Lin, J.S. Schuman, W.G. Stinson, W. Chang, M.R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C.A. Puliafito, J.G. Fujimoto, "Optical coherence tomography," *Science* 254, p. 1178-1181 (1991).
- [14] 平尾芳樹, "医療用 X 線 CT 技術の系統化調査報告," <http://sts.kahaku.go.jp/diversity/document/system/pdf/045.pdf>
- [15] 桃澤礼, 櫻井淳希, 山本悦治, "MRI 静地場不均一の高分解能計算における局所法と分割法の比較," https://www.ieice.org/iss/jpn/Publications/issposter_2014/data/pdf/ISS-P-136.pdf
- [16] 加納有二, 角田浩幸, 平塚仁志, "低減衰カプラを装着した 10MHz 超音波断層法," *耳鼻咽喉科臨床*(1993), 86 巻 7 号, p. 1019-1024
- [17] Y. Mizuta and D. Kurihara, "In vivo deep imaging and optical manipulation by two-photon excitation microscopy", *Regulation of Plant Growth & Development*, Vol.49, No.2, p. 96-103 (2014)
- [18] W. Drexler, M. Liu, A. Kumar, T. Kamali, A. Unterhuber, and R. A. Leitgeb, "Optical coherence tomography today: speed, contrast, and multimodality," *J. Biomed. Opt.* 19(7), 071412 (2014).
- [19] 板谷正紀, "眼底用光干渉断層計の進歩"
http://www.medicalphotonics.jp/pdf/mp0007/0007_058.pdf
- [20] M. Takeda, H. Ina, S. Kobayashi, "Fourier-transform method of fringe-pattern analysis for computer-based topography and interferometry," *J. Opt. Soc. America* 72, p. 156 (1982).
- [21] M. Levoy, Z. Zhang, I. McDowell, "Recording and controlling the 4D light field in a microscope using microlens arrays," *J. Microsc.* 235, p. 144 (2009).
- [22] E. Sánchez-Ortiga, A. Llavador, G. Saavedra, J. García-Sucerquia, M. Martínez-Corral, "Optical sectioning with a Wiener-like filter in Fourier integral imaging microscopy," *Appl. Phys. Lett.* 113, 214101 (2018).
- [23] Y. Chung and N. Dagli, "An assessment of finite difference beam propagation method," *IEEE J. Quant. Electron.* 26, p. 1335-1339 (2002).
- [24] L.-H. Wang, S. L. Jacques, and L.-Q. Zheng, "MCML—Monte Carlo modeling of photon transport in multi-layered tissues," *Comput. Meth. Programs Biomed.* 47, p. 131-146 (1995).
- [25] J.L. Sandell and T.C. Zhu, "A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT," *J. Biophotonics* 4, p. 773-787 (2011).
- [26] S.L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: a review," *Phys. Med. Biol.* 58, R37-R61 (2013).

- [27] J. Bertolotti, E.G. van Putten, C. Blum, A. Lagendijk, W.L. Vos, A.P. Mosk, “Non-invasive imaging through opaque scattering layers,” *Nature* 491, p. 232-234 (2012).
- [28] S. M. Popoff, G. Lerosey, R. Carminati, M. Fink, A. C. Boccara, S. Gigan, “Measuring the transmission matrix in optics: an approach to the study and control of light propagation in disordered media,” *Phys. Rev. Lett.* 104, 100601 (2010).
- [29] A. Boniface, J. Dong, S. Gigan, “Non-invasive focusing and imaging in scattering media with a fluorescence-based transmission matrix,” *Nat. Commun.* 11, 6154 (2020).
- [30] R. Horisaki, R. Takagi, J. Tanida, “Learning-based imaging through scattering media,” *Opt. Express* 24, p. 13738-13743 (2016).
- [31] O. Matoba and B. Javidi, “Encrypted optical memory system using three-dimensional keys in the Fresnel domain,” *Opt. Lett.* 24, p. 762-764 (1999).
- [32] O. Matoba, T. Nomura, E. Perez-Cabre, M. Millan, and B. Javidi, “Optical techniques for information security,” *Proc. IEEE*, 97, p. 1128-1148 (2009).
- [33] B. Javidi and T. Nomura, “Securing information by use of digital holography,” *Opt. Lett.* 25, p. 28-30(2000).
- [34] I.N. Papadopoulos, S. Farahi, C. Moser, D. Psaltis, “Focusing and scanning light through a multimode optical fiber using digital phase conjugation,” *Optics Express* 20, p. 10583-10590 (2012).
- [35] L. Miao, K. Nitta, O. Matoba, and Y. Awatsuji, “Parallel phase-shifting digital holography with adaptive function using phase-mode spatial light modulator,” *Appl. Opt.*, 51, p. 2633-2637 (2012).
- [36] A. Tanabe, T. Hibi, S. Ipponjima, K. Matsumoto, M. Yokoyama, M. Kurihara, N. Hashimoto, T. Nemoto, “Correcting spherical aberrations in a biospecimen using a transmissive liquid crystal device in two-photon excitation laser scanning microscopy.” *J. Biomed. Opt.*, 20, 101204 (2015).
- [37] M. Yamanaka, T. Teranishi, H. Kawagoe, N. Nishizawa, “Optical coherence microscopy in 1700 nm spectral band for high-resolution label-free deep-tissue imaging,” *Sci. Rep.* 6, 31715 (2016).
- [38] B. Hermann, E.J.Fernandez, A. Unterhuber, H. Sattmann, A.F. Fercher, W. Drexler, P.M. Prieto, P. Artal, “Adaptive-optics ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* 29, p. 2142-2144 (2004).
- [39] E. Brunner, J. Shatokhina, M.F. Shirazi, W. Drexler, R. Leitgeb, A. Pollreisz, C.K. Hitzenberger, R. Ramlau, M. Pircher, “Retinal adaptive optics imaging with a pyramid wavefront sensor,” *Opt. Express* 12, p. 5969-5990 (2021).
- [40] K. Takayama, S. Ooto, M. Hangai, N. Arakawa, S. Oshima, N. Shibata, M. Hanebuchi, T. Inoue, N. Yoshimura, “High-resolution imaging of the retinal nerve fiber layer in normal

- eyes using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy,” *PloS ONE* 7, e33158 (2012).
- [41] N. Nakatani, S. Takeuchi, K. Harukaze, X. Quan, and O. Matoba, “Imaging through a weakly scattering medium by spectral-domain optical coherence microscopy with a digital phase conjugation,” *Optics Continuum* 2, p.155-163 (2023).
- [42] 黒田和男, “位相共役光学の基礎と現状,” *精密工学会誌*(1994), 60 巻 8 号, pp-065-1069
- [43] 左貝潤一, “はじめての人への位相共役光学 -基礎から最前線まで-,” *応用物理* 62 巻 6 号, p. 567-574 (1993).
- [44] R. Goldstein, H. Zebker, C. Werner, “Satellite radar interferometry: Two-dimensional phase unwrapping,” *Radio Sci.* 23, p. 713-720 (1988).
- [45] D.J. Stephens and V.J. Allan, “Light microscopy techniques for live cell imaging,” *Science*, 300, 82 (2003).
- [46] K. Ohki, S. Chung, Y.H. Ch’ng, P. Kara, R.C. Reid, “Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex,” *Nature*, 433, 597 (2005).
- [47] K. Ota, Y. Oisi, T. Suzuki, M. Ikeda, Y. Ito, T. Ito, H. Uwamori, K. Kobayashi, M. Kobayashi, M. Odagawa, C. Matsubara, Y. Kuroiwa, M. Horikoshi, Matsushita, H. Hioki, M. Ohkura, Junichi Nakai, M. Oizumi, A. Miyawaki, T. Aonishi, T. Ode, M. Murayama, “Fast, cell-resolution, contiguous-wide two-photon imaging to reveal functional network architectures across multi-modal cortical areas,” *Neuron* 109, 1810–1824.e1–e9 (2021).
- [48] J. Rosen and G. Brooker, “Non-scanning motionless fluorescence three-dimensional holographic microscopy,” *Nat. Photon.* 2, 190 (2008).
- [49] X. Quan, O. Matoba, Y. Awatsuji, “Single-shot incoherent digital holography using a dual-focusing lens with diffraction gratings,” *Opt. Lett.* 42, 383 (2017).
- [50] T. Tahara, X. Quan, R. Otani, Y. Takaki, O. Matoba, “Digital holography and its multidimensional imaging applications: a review,” *Microscopy* 67, 55 (2018).
- [51] M. Kumar, X. Quan, Y. Awatsuji, C. Cheng, M. Hasebe, Y. Tamada, O. Matobaa, “Common-path multimodal three-dimensional fluorescence and phase imaging system,” *Journal of Biomedical Optics*, Vol. 25, No. 3, 032010 (2020).
- [52] X. Quan M. Kumar, S. K. Rajput, Y. Awatsuji, Y. Tamada, O. Matoba, “Multimodal microscopy: fast 3D acquisition of quantitative phase imaging and cross-sectional fluorescence imaging,” *IEEE J. Sel. Topics Quantum Electron.* 27, 6800911 (2021).
- [53] S.K. Rajput, M. Kumar, X. Quan, M. Morita, T. Furuyashiki, Y. Awatsuji, E. Tajahuerce, O. Matoba, “Three-dimensional fluorescence imaging using the transport of intensity equation,” *J. Biomed. Opt.* 25, 032004 (2020).
- [54] S. K. Rajput, O. Matoba, M. Kumar, X. Quan, Y. Awatsuji, Y. Tamada, and E. Tajahuerce, “Multi-physical parameter cross-sectional imaging of quantitative phase and fluorescence by integrated multimodal microscopy,” *IEEE J. Sel. Topics Quantum*

- Electron. 27, 6801809 (2021).
- [55] M. Levoy, R. Ng, A. Adams, M. Footer, M. Horowitz, "Light field microscopy," in Proceedings of ACM SIGGRAPH, 924 (2006).
 - [56] M. Levoy, Z. Zhang, I. McDowell, "Recording and controlling the 4D light field in a microscope using microlens arrays," J. Microsc. 235, 144 (2009).
 - [57] B.-C. Chen, W.R. Legant, K. Wang, L. Shao, D.E. Milkie, M.W. Davidson, C. Janetopoulos, X.S. Wu, J.A. Hammer, III, Z. Liu, B.P. English, Y. Mimori-Kiyosue, D.P. Romero, A.T. Ritter, J. Lippincott-Schwartz, L. Fritz-Laylin, R. D. Mullins, D.M. Mitchell, J.N. Bembenek, A.-C. Reymann, R. Böhme, S.W. Grill, J.T. Wang, G. Seydoux, U. Serdar, T. Daniel, P. Kiehart, and Eric Betzig, "Lattice light-sheet microscopy: Imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution," Science 346, 1257998 (2014).
 - [58] P.J. Keller, A.D. Schmidt, A. Santella, K. Khairy, Z. Bao, J. Wittbrodt, "Fast, high-contrast imaging of animal development with scanned light sheet-based structured-illumination microscopy," Nat. Methods 7, 637 (2010).
 - [59] E. Sánchez-Ortiga, A. Llavador, G. Saavedra, J. García-Sucerquia, M. Martínez-Corral, "Optical sectioning with a Wiener-like filter in Fourier integral imaging microscopy," Appl. Phys. Lett. 113, 214101 (2018).
 - [60] J.-S. Jang and B. Javidi, "Improved viewing resolution of three-dimensional integral imaging by use of nonstationary micro-optics," Opt. Lett. 27, 324 (2002).
 - [61] J.-S. Jang and B. Javidi, "Three-dimensional synthetic aperture integral imaging," Opt. Lett. 27, 1144 (2002).
 - [62] O. Ronneberger, P. Fischer, T. Brox, "U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation," in Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015. 234, 2015.
 - [63] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, "U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation," arXiv:1505.04597 (2015).

謝辞

本研究は神戸大学大学院システム情報学研究科システム科学専攻システム計測研究分野 CS13 にて行いました。本研究の進行において、終始熱心かつ的確で丁寧なご指導を賜りました的場修教授には形容しがたいほどお世話になりました。心より御礼申し上げます。

本論文の作成にあたり、数々の有益なご助言、ご協力をいただきました羅志偉教授、太田能教授、仁田功一准教授に感謝申し上げます。

貴重な時間を割いて研究について議論させていただいた、全香玉助教に厚く感謝いたします。植物細胞を提供していただいた、神奈川工科大学 村田隆教授に感謝いたします。

お忙しい中実験を手伝ってくださり、多くのご助言、ご指導をいただきました春風圭佑氏、竹内翔太氏、新家涼氏に心より御礼申し上げます。

本研究の機会を与えて頂き、多くのご助言を賜りました、株式会社 SCREEN ホールディングス シニアフェロー 灘原壮一博士、元大日本スクリーン製造株式会社 オプト技術部長 小林正嘉博士、株式会社 SCREEN ホールディングス 第二技術開発室 室長 小久保正彦氏、株式会社 SCREEN ホールディングス第一技術開発室 室長 上山憲司氏に深く感謝申し上げます。

発表リスト

第3章

Journal Paper

1. N. Nakatani and O. Matoba, "An artificial scattering medium with layered structure of randomly distributed voids," Optics Communications, to be submitted.

International Conference

1. N. Nakatani, W. Yan, O. Matoba, "Evaluation of output beam width of transmitted light through the artificial scattering medium with lamination and shifted structure," International Workshop on Holography and Related Technologies 2015 (IWH2015), We5-P17 (Dec. 2, 2015, Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan) in IWH2015 Digest, We5-P17.
2. N. Nakatani, W. Yan, O. Matoba, "Estimation of scattering characteristics of artificial scattering medium by lamination technique with shifted structure," 2nd Biomedical Imaging and Sensing Conference (BISC'16), BISCp6-33, May 20, 2016, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.

国内会議

1. 中谷徳幸, 仁田功一, 的場修, "ランダム空孔パターンの積層ずらし構造を用いた人工散乱体," 第41回光学シンポジウム, 講演番号 27, 6/24, 東京大学生産技術研究所, 講演予稿集, pp.81-82, 2016.
2. N. Nakatani, O. Matoba, M. Hyodo, "Evaluation of Reduced Scattering Coefficient of Artificial Scattering Medium with Shifted and Layered Random Void Distributions," OSA-OSJ Joint Symposia in Optics & Photonics Japan 2016 (OPJ2016), 31pODP3, Oct. 31, 2016, Tokyo Bunkyo School Building, University of Tsukuba, Tokyo, Japan.

第4章

Journal Paper

1. N. Nakatani, S. Takeuchi, K. Harukaze, X. Quan, O. Matoba, "Imaging through a weakly scattering medium by spectral-domain optical coherence microscopy with a digital phase conjugation," Optics Continuum **2**, pp.155-163 (2023). Editor's Pick

International Conference

1. K. Harukaze, N. Nakatani, K. Nitta, O. Matoba, "Improvement of OCT Signal using Digital Phase Conjugation in Weakly Phase Distorted Medium," The 24th Congress of the International Commission for Optics (ICO-24), Tu1F-06, Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan, Aug. 22, 2017
2. K. Harukaze, N. Nakatani, X. Quan, K. Nitta, O. Matoba, "Digital phase conjugation for

improving the focused spot in weakly scattering medium for OCT,” OSA Imaging and Applied Optics Congress 2018, 3D Image Acquisition and Display Technology, Perception and Applications Technical Digest, 3W5G.3, Orlando, 27 June 2018.

第 5 章

Journal Paper

1. N. Nakatani, R. Shinke, X. Quan, T. Murata, O. Matoba, “Deep learning based image quality improvement of light-field microscope integrated with epi-fluorescence microscope,” *Optics Continuum* **2**, pp. 727-737 (2023)

International Conference

1. R. Shinke, N. Nakatani, X. Quan, S. K. Rajput, O. Matoba, “Improvement of Reconstructed Images in Light-field Microscopy with Deep Learning Data Acquisition,” SI-Thru 2022, SI-Thru6-05, April 21, 2022.

神戸大学博士論文「生体散乱透視イメージングの高分解能化に関する研究」全 64 頁

提出日 2023 年 1 月 19 日

本博士論文が神戸大学機関リポジトリ Kernel にて掲載される場合、掲載登録日（公開日）はリポジトリの該当ページ上に掲載されます。

© 中谷 徳幸

本論文の内容の一部あるいは全部を無断で複製・転載・翻訳することを禁じます。