

NAIST-IS-MT1651082

修士論文

コンタクトイメージングにおける
光線の屈折変位量の撮像と可視化

西川 雅清

2018 年 3 月 15 日

奈良先端科学技術大学院大学
情報科学研究科

本論文は奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科に
修士(工学) 授与の要件として提出した修士論文である。

西川 雅清

審査委員：

向川 康博 教授	(主指導教員)
佐藤 嘉伸 教授	(副指導教員)
舩富 卓哉 准教授	(副指導教員)
久保 尋之 助教	(副指導教員)
田中 賢一郎 助教	(副指導教員)

コンタクトイメージングにおける 光線の屈折変位量の撮像と可視化*

西川 雅清

内容梗概

レンズレス顕微鏡とは、イメージセンサ上に直接被写体を置き、上部の点光源により被写体を照らして撮影するコンタクトイメージングを用いた小型の撮像装置である。本研究では、コンタクトイメージングにおいて、観察対象である細胞の表面形状や内部構造の観察を容易にするため、細胞での光線の屈折による変位量を撮像する手法を提案する。屈折変位量とは細胞表面への入射角度に応じて生じる屈折現象を主要因とする光線の変位量であり、観察時にこの情報を提示することで細胞の立体構造の把握の新たな手助けになると考えられる。点光源と細胞の間に挿入したストライプマスクをシフトさせながら撮影した入力画像群を用いて、イメージセンサ上での光線が到達する位置の変動を求め、屈折変位量を算出する。コンタクトイメージングを模した環境での実験により屈折変位量が算出できることを確認し、屈折変位量を疑似色で可視化した。さらに、撮像方法を拡張することで2次元の屈折変位量の可視化を実現し、複数周波数を利用したアンラッピングによって可視化可能な屈折変位量の範囲を拡大することに成功した。加えて、実際のコンタクトイメージングの環境で撮影したウニの受精卵に対して実験を行い、提案手法の有効性を検証した。

キーワード

細胞観察, コンピュータショナルフォトグラフィ, コンタクトイメージング

*奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 修士論文, NAIST-IS-MT1651082, 2018年3月15日.

Visualizing Displacement of Rays caused by Refraction in Contact Imaging*

Masakiyo Nishikawa

Abstract

Lens-less microscope is novel imaging system, which is downsized microscope by using contact imaging. This system captures cells placed on the image sensor directly. Cells are illuminated by a point light source above the sensor. This study targets at measuring the displacement of rays caused by refraction through cells, for the purpose of facilitate observation of the cell structure in contact imaging. The displacement of rays is computed by variation of arrival position of the ray on the sensor using input images captured while shifting the stripe mask inserted between point light source and cells. It was confirmed that the displacement of rays can be calculated by experiment designed in imitation of the contact imaging and displacement value are visualized using pseudo color. In addition, computing a two-dimensional displacement value and unwrapping are realized by extension of the proposed method. Finally, an experiment using sea urchin fertilized egg cells images captured by the lens-less microscope was made to verify the effectiveness of the proposed method.

Keywords:

Cell observation, Computational photography, Contact imaging

*Master's Thesis, Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology, NAIST-IS-MT1651082, March 15, 2018.

目 次

1. はじめに	1
2. 関連研究	3
2.1 コンタクトイメージングにおける先行研究	3
2.2 通常の顕微鏡における取り組み	3
2.3 透明媒体の形状推定	4
3. 屈折変位量の撮像と可視化	6
3.1 コンタクトイメージング	6
3.2 屈折変位量取得のアイデア	8
3.3 屈折変位量の撮像	9
3.4 明るさ推定方法	12
3.5 屈折変位量の可視化と重畳表示	13
3.6 模擬環境での実験	13
3.6.1 撮影環境	13
3.6.2 屈折変位量の可視化	14
3.6.3 明るさ推定	16
4. 屈折変位量の撮像方法の拡張	19
4.1 2軸ストライプパターンによる2次元の屈折変位量の撮像	19
4.1.1 手法	19
4.1.2 実験方法	21
4.1.3 結果	22
4.2 斜めストライプパターンによる2次元の屈折変位量の撮像	28
4.2.1 手法	28
4.2.2 実験方法	30
4.2.3 結果	31
4.3 複数周波数を用いた屈折変位量のアンラッピング	37
4.3.1 手法	37

4.3.2	実験方法	40
4.3.3	結果	42
5.	実際のコンタクトイメージングを用いた細胞への適用	46
5.1	撮影環境	46
5.2	屈折変位量の可視化	46
5.3	明るさ推定	48
5.4	背景の色付きへの対応	50
6.	おわりに	55
	謝辞	57
	参考文献	58

図 目 次

1	従来の細胞観察. ¹	1
2	レンズレス顕微鏡を用いた細胞観察. ²	2
3	コンタクトイメージングの模式図.	6
4	コンタクトイメージングにより撮影されたウニの受精卵.	7
5	細胞表面の角度に応じる屈折変位量の違い.	8
6	ストライプマスクをイメージセンサと点光源の間に挿入したコン タクトイメージングの模式図.	10
7	光線を屈折させる物体が存在する場合に撮影されるマスクパター ン.	10
8	画素値のプロファイル.	11
9	コンタクトイメージングを模した撮影環境.	14
10	実際の撮影環境.	15
11	実験に使用したストライプマスク.	16
12	ガラスビーズとレジン細工の撮影対象物体.	17
13	入力画像群の左上画素のプロファイル.	17
14	模擬環境での実験の屈折変位量可視化結果.	18
15	明るさ画像と、屈折変位量の重畳表示結果.	18
16	通常のカメラで撮影した被写体.	21
17	2軸のストライプパターンそれぞれの撮影画像例.	22
18	X軸・Y軸方向の屈折変位量の可視化結果.	23
19	2次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.	23
20	2次元に拡張した屈折変位量と明るさ推定結果の重畳表示.	24
21	多面体に対する2次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.	24
22	通常のカメラで撮影した多面体.	25
23	円柱に対する2次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.	26
24	通常のカメラで撮影した円柱.	27
25	ストライプパターンの方向による撮像可能な屈折変位量の方向の 違い.	28

26	傾きを持ったストライプパターンを投影した場合のヒストグラム.	29
27	実験に使用した斜め方向のストライプマスク.	31
28	斜めストライプパターンそれぞれの撮影画像例.	31
29	+45 度方向の屈折変位量の可視化結果.	32
30	-45 度方向の屈折変位量の可視化結果.	32
31	斜めストライプパターンを用いて 2 次元に拡張した屈折変位量の 可視化結果.	33
32	斜めストライプパターンによる 2 次元の屈折変位量と明るさ推定 結果の重畳表示.	34
33	多面体に対する斜めストライプパターンを用いて 2 次元に拡張し た屈折変位量の可視化結果.	35
34	円柱に対する斜めストライプパターンを用いて 2 次元に拡張した 屈折変位量の可視化結果.	36
35	複数次周波数を埋め込んだストライプマスク.	39
36	印刷時のパラメータ決定のためのグラデーションマスク.	40
37	グラデーションマスクを投影したときのプロファイル.	41
38	実験に使用した複数次周波数を埋め込んだストライプマスク.	42
39	複数次周波数を埋め込んだストライプパターンを投影した撮影画像 例.	43
40	各周波数での屈折変位量の可視化結果.	43
41	3 つの周波数からアンラッピングした屈折変位量の可視化結果.	44
42	複数次周波数を埋め込んだストライプパターンによる屈折変位量と 明るさ推定結果の重畳表示.	45
43	推定された明るさを 1.5 倍した画像との重畳表示.	45
44	実験に使用したレンズレス顕微鏡の構成及びプロトタイプ.	47
45	レンズレス顕微鏡で撮影された細胞の画像の一例	48
46	入力画像群の左上画素のプロファイル.	49
47	屈折変位量の可視化結果.	49
48	明るさ画像と, 屈折変位量の重畳表示結果.	50

49	傾きの補正結果.	51
50	傾きの補正結果と明るさ画像の重畳表示.	52
51	傾きの補正結果（色付け変更1）.	53
52	傾きの補正結果（色付け変更2）.	53
53	屈折変位量と明るさ画像の重畳表示結果（色付け変更1）.	54
54	屈折変位量と明るさ画像の重畳表示結果（色付け変更2）.	54

表 目 次

1. はじめに

細胞の観察では，恒温器と呼ばれる温度を任意の設定に保つ装置の中に細胞を保管して培養し，観察する際に細胞を取り出して，顕微鏡などで観察する方法が一般的である．しかしながら，細胞の取り出しという過程を経ることにより，細胞自体を傷つけてしまう危険がある（図 1）．



図 1: 従来の細胞観察.¹

そこで，恒温器の内部に設置可能な小型の観察装置であるレンズレス顕微鏡が開発されている [12]（図 2）．この新たな観察装置は，被写体を直接イメージセンサの上に置いて撮影するコンタクトイメージングという手法を採用している．これによってレンズを省くことができるため，小型化を実現している．レンズレス顕微鏡の実用化に向けて，國吉らは特定の深度の細胞を観察するためのリフォーカシング技術，直接光と大域光を分離することにより観察時の視認性の向上を図った高周波照明法の適用 [14] を提案した．これより，イメージセンサの平面に投影される細胞の像を鮮明に観察することができる．

さらにレンズレス顕微鏡の実用化をすすめるためには，細胞の観察に広く使用されている通常の顕微鏡が備える観察方法を実現することが望まれる．細胞を観

¹図中の恒温器はタイテック株式会社製の CO2-BR-43FL-MT である．図の出典：TAITEC-OnLine (<https://taitec.net/product/co2-br-43fl-mt/>)

¹図中の顕微鏡はオリンパス株式会社製の培養顕微鏡 CKX53 である．図の出典：OLYMPUS (<https://www.olympus-lifescience.com/ja/microscopes/inverted/ckx53/>)

²図中の恒温器は株式会社池田理化製の恒温振とう培養機 BR-43FL・MR である．図の出典：池田理化研究機器カタログ (<https://www.ikedarika.co.jp/catalog/item/1899.html>)



図 2: レンズレス顕微鏡を用いた細胞観察.²

察する目的の一つである細胞の良否の判定では，細胞分裂の観察や細胞自体のハリを評価する過程が存在し，その段階では細胞の表面形状や内部の構成が非常に重要な判断要素となる．例えば，体外受精における受精卵の培養では，受精後の受精卵が順調に成長していることを確認するため，定期的に受精卵を顕微鏡により観察し，割球と呼ばれる細胞の塊の形状やハリをチェックする．通常の顕微鏡では，観察対象の表面形状を観察するための方法が実用化されている [13]．しかしながら，これらの方法は多くの光学装置を必要とするため，小型化を目指すレンズレス顕微鏡に適用できない．

そこで，本研究ではコンタクトイメージングによる観察における細胞の表面形状を把握するための新たな情報として屈折変位量を提案し，これを撮像，可視化するための手法を提案する．屈折変位量は，上部からの光線と細胞表面との角度に応じて生じる屈折現象を主要因とした光線の変位量であり，間接的に細胞の表面形状を表現しているといえる．細胞観察において重要な情報となる細胞の表面形状に関する情報を観察時に提示することができれば，観察の手助けとなると考えられる．

2. 関連研究

2.1 コンタクトイメージングにおける先行研究

國吉らはレンズレス顕微鏡の実用化に向けて、コンタクトイメージングの視認性を向上させるために、計算処理により特定の深度の焦点位置の画像を生成するリフォーカシング技術 [4, 5] とシーン中の直接光と散乱光を分離する高周波照明法 [6] を効率的に統合する手法を提案した [14]. この手法で用いられている高周波照明法では、明暗が繰り返されたパターンを投影し、位相を変えながら複数枚撮影した画像群から計算によって直接光と大域光に分離している. 従来、明暗のパターンの投影にはディスプレイやプロジェクタが使用されてきたが、コンタクトイメージングでは照明に点光源を用いているため明暗パターンを投影する機構を持たない. そこで、点光源とイメージセンサの間にストライプマスクを挿入し、点光源からの光線を部分的に遮ることによって明暗パターンの投影を実現している.

以上の取り組みでは、サイズに制限があるレンズレス顕微鏡の構成における細胞の外膜の鮮明な観察を目的としてきた. しかしながら、細胞の良否の判断時など、表面の形状が重要となる場面が存在する. そこで本研究では、視認性の向上とは異なるアプローチにより細胞の観察の手助けを目指す. これまでの通常の撮影方法では得られない細胞の表面形状を反映する情報を取得し、複数細胞による構造の把握の一助とする.

2.2 通常の顕微鏡における取り組み

通常の顕微鏡においても、被写体の輪郭や表面形状を捉えるために様々な工夫が施されてきた [13]. 顕微鏡で用いられる最も一般的な観察方法は明視野観察法と呼ばれ、被写体での光の吸収によりコントラストを生み出している. そのため、被写体が存在する部分が暗く観察される. 一方、暗視野観察法では被写体での散乱光を観察することから、被写体部分が明るく見える. これらの観察方法は被写体の輪郭を観察するのに適しているが、無色透明な対象は不得手としている.

無色透明な対象の形状の観察に適した手法として、位相差観察法や微分干渉観

察法，レリーフコントラスト観察法がある．位相差観察法は光線の波長方向の位相差を利用した方法である．直接光と被写体での回折によって位相がずれた回折光との干渉によってコントラストを生み出している．微分干渉観察法は被写体の屈折率と厚さによる光路差を利用している．被写体の微妙に異なる2点に光線を照射し，その2点に光路差があると干渉によって明暗が変わる．背景や被写体の厚みに差がなければ光路差は発生しない．一方，被写体に斜面のような部分があると，2点間に厚みの差が生まれ，光路差が生じる．

以上2つの手法はいずれも波長方向の位相のズレを利用している．一方，レリーフコントラスト観察法では光線の屈折現象を利用している．レリーフコントラスト観察法では，照明は角度がついた斜めの方向から被写体に照射される．このとき被写体によって光線の屈折現象が生じると，光線は屈折しない場合とは異なる経路を通って観測される．被写体を通過した光線を観測する前に，光線の経路により通常に比べて明るくしたり暗くするようなフィルタを通るように設計する．ここで，屈折の度合いによって光線が通る経路が決まるため，屈折の方向と角度の大きさによって明暗が生じる．

レリーフコントラスト観察法は屈折による光線の変位を利用するという点で，提案する屈折変位量の撮像手法に近い．しかしながら，ここまで述べてきた通常の顕微鏡における観察方法を含めたこれらの手法はレンズやフィルタ，ポラライザなど多くの光学装置を必要とするため，コンタクトイメージングには適用できない．コンタクトイメージングに透明物体の形状の観察を適用するためには，シンプルなセッティングで実現可能な手法を考案する必要がある．

2.3 透明媒体の形状推定

最も単純な細胞の形状の推定手法として，細胞が固定された平面に対して探針が走査し，その上下運動を記録する方法がある [1]．しかし，一般的にこのような装置は恒温器の中に設置できるほど小型ではない．

細胞のような透明媒体の分布を推定する方法として，空間中の密度の違いから起こる屈折による影を可視化するシャドウグラフ法やシュリーレン法 [8] といった光学的な手法が提案されてきた．しかし，これらの手法は一般に大型の光学機器

を必要とし、厳密な機器の較正が必要となる。ライトフィールドプローブを用いて、より簡易に透明物体の屈折量を計測する手法 [10] や形状を計測する手法 [11] も提案されているが、細胞の撮影に適用できるほどの小型化は困難である。

一方、透明物体の形状計測においては、グレイコード法 [3] や、位相シフト法 [7] を用いて屈折量を計測し、透明物体の形状を復元する手法が多く存在する [9]。これらの手法は特定のパターンを光源から投影することによって、カメラと光源における光線の対応を決定し、物体の形状を推定する。グレイコードのような複雑な組合せや位相シフトで用いられる $\sin$ 波を表現するためには、プロジェクタのように投影するパターンを自由に変更する機構が必要となる。しかしながら、小型化を目指すレンズレス顕微鏡には、プロジェクタやレンズといった光学的装置を複数設置することは困難であり、そのまま適用することはできない。

本研究では、これらの手法に用いられているコード化した投影パターンにより光源と撮影画像の対応関係を求めるというアイデアを参考に、コンタクトイメージングに適用可能なセッティングで実現できるストライプマスクのシフトのみを用いて、細胞の表面形状を反映する屈折変位量の撮像を行う。

3. 屈折変位量の撮像と可視化

本章では、まず、コンタクトイメージングの構成について述べ、その後、屈折変位量とその可視化手法について述べる。

3.1 コンタクトイメージング

コンタクトイメージングでは、マイクロレンズやカラーフィルタを取り除いたイメージセンサの上に観察対象である被写体を直接置き、点光源で上部から照らして撮影を行う。レンズを使用しないため小型化が容易である。コンタクトイメージングの初期プロトタイプの様式図を図 3、コンタクトイメージングにより撮影されたウニの受精卵の画像を図 4 に示す。

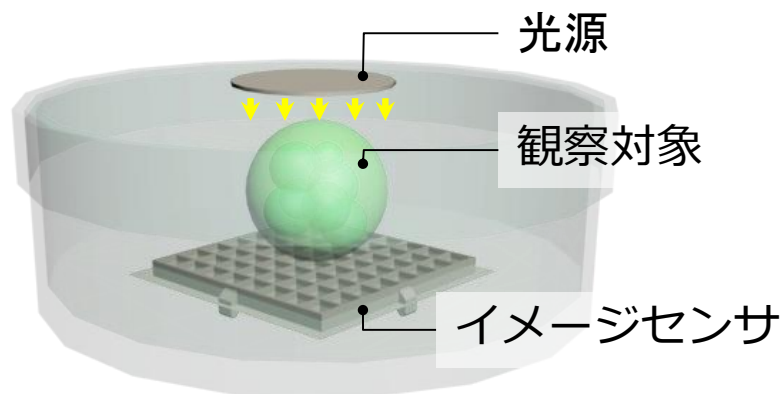


図 3: コンタクトイメージングの様式図。

コンタクトイメージングのプロトタイプでは、イメージセンサから点光源までの距離は 14.9mm であり、点光源の直径は $10\mu\text{m}$ 、イメージセンサの解像度は 4656×3480 、画素間隔は $1.335\mu\text{m}$ となっている。なお、観察対象であるウニの受精卵の直径は約 $100\mu\text{m}$ である。レンズが存在しないため、小型化に成功している。

レンズを持たないことから、コンタクトイメージングで撮影される画像は全焦点画像となる。よって浅い被写界深度に設定し、特定の深度に焦点面を調整して撮影することができない。通常の顕微鏡では、観察対象の注目したい要素が存在

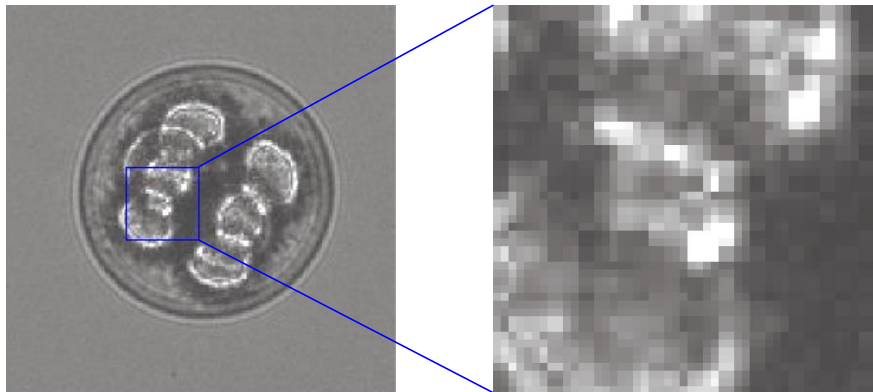


図 4: コンタクトイメージングにより撮影されたウニの受精卵.

する深度に焦点面を合わせて観察することができる．図 4 のウニの受精卵では，受精卵内部に割球と呼ばれる細胞の塊がいくつか存在している様子が伺える．しかし，全焦点で撮影されたことから像が重なり合っているため，割球の形状や配置を把握することが困難になっている．さらに，被写体による散乱や回折などの影響により，コンタクトイメージングで撮影される画像の視認性は低下する傾向にある．通常の顕微鏡では，被写体による散乱光を分離して観察し，細胞の微細構造を鮮明化する方法も存在する．これらのコンタクトイメージングの課題を解決するために，國吉らは計算処理により特定の深度の焦点位置の画像を生成するリフォーカシング技術を適用し，シーン中の直接光と散乱光を分離する高周波照明法を適用することによって視認性の向上に取り組んだ [14]．

特に，培養している受精卵などの細胞の良否を判断するために，成長過程である細胞分裂時の割球の輪郭や表面の形状が重要となる場面が存在する．受精卵の培養過程では細胞のハリを良否の判断材料としている．受精卵が正しく成長していれば理想的な球状に近くなるが，成長に不良があれば割球自体が潰れて楕円状やくぼんだ形状になることがある．また，細胞分裂によって割球の形状がどのように変化したか，割球の数がどの程度増えたかが重要となるため，その際の観察では割球の輪郭の情報が非常に重要な判断材料となる．このような背景から，コンタクトイメージングにおいても観察対象である細胞の表面形状や輪郭を捉えたいという需要が存在する．ところが，先程述べたようにコンタクトイメージングで撮影される画像は全焦点であることから，各割球の輪郭同士が重なり合っ

まう（図 4 右の拡大図）。これにより、明暗によって輪郭が存在することは観察できるものの、どの割球が有する輪郭であるかの判断が困難になり、形状の観察に不都合を及ぼすことがある。そこで、表面形状を反映する情報として、細胞での屈折現象に注目する。イメージセンサで観測される光線の変位から屈折現象の度合いを算出し、屈折変位量という新たな情報を取得する。この情報を観察することで、表面形状の推定を容易にする。また、割球の輪郭付近の屈折変位量からその箇所の傾き方向を観察することによって、どの割球の輪郭であるかの判断の手助けとする。

3.2 屈折変位量取得のアイデア

コンタクトイメージングでは光源からイメージセンサに向けて光線を照射する。細胞に光線を照射したときの模式図を図 5 に示す。

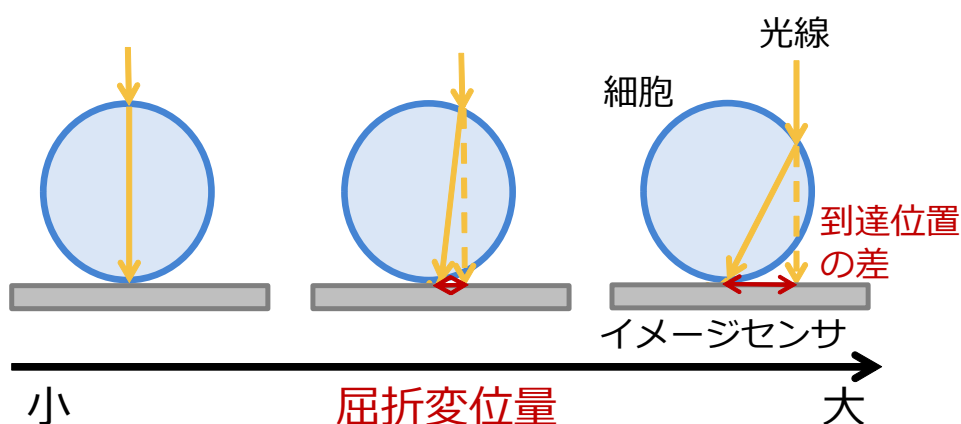


図 5: 細胞表面の角度に応じる屈折変位量の違い。

細胞に光線が入射すると、細胞と周囲の培養液との屈折率の違いにより屈折現象が生じ、細胞表面への入射角度に応じた方向に屈折光が進む。これにより、イメージセンサ上では、本来光線が到達すべき位置と実際に光線が観測される位置に差が生じる。この差を屈折変位量と定義する。細胞は直上から照らされているとすると、屈折変位量は細胞表面の角度を反映しているといえる。つまり、細

胞の中心近くに光線を照射した場合には、細胞表面に対してほぼ垂直に光線が入射するため、屈折した際の角度も小さくなり、屈折変位量も小さくなる。一方、細胞の輪郭付近に光線が入射した場合、屈折の角度は大きくなるため屈折変位量も大きくなる。

すべての画素について屈折変位量を算出し、屈折変位量を反映した画像を生成すれば、細胞の立体的な構造の情報を間接的に画像に付与することができる。

3.3 屈折変位量の撮像

まず、屈折変位量を算出するための撮像方法について述べる。屈折変位量を算出するためには、本来の光線の到達位置と実際の観測位置を知る必要がある。そのためには、画素1つ1つに対して光線を照射し、そのたびにイメージセンサで撮影された画像から光線の観測位置を求める方法が最も単純である。しかし、この方法ではイメージセンサの解像度に依存して撮影時間が長くなり、現実的ではない。

そこで、先行研究で用いたストライプマスクを利用する。ストライプマスクを挿入した撮影の模式図を図6に示す。点光源とイメージセンサの間にストライプマスクを挿入して撮影された画像には、明るい箇所と暗い箇所が交互に現れる画像が得られる。このパターンが投影された画像中に細胞のような屈折現象を生じる物体が存在する場合、図7のような画像が撮影される。屈折させる物体が存在しない背景部分では投影されたマスクパターンが観察できる。一方、光線を屈折させる物体が存在する部分では、背景のマスクパターンから屈折方向にずれたパターンが観測される。

さらに、マスクをストライプと直交する方向に移動させながら撮影を行うと、撮影のたびに投影されたパターンも移動していく。このとき、ある1点の画素の画素値を、縦軸を画素値、横軸を撮影した画像の番号としてプロットすると、図8のようなプロファイルが得られる。図8には屈折させる物体が存在する箇所の1つの画素値のプロファイルと、ストライプ方向に同じ軸の背景の1画素（画像中ではX軸の座標が同じ背景画素）のプロファイルを表示している。図8を見ると、プロファイルには投影されたマスクの明暗が現れており、2つのプロファイルの

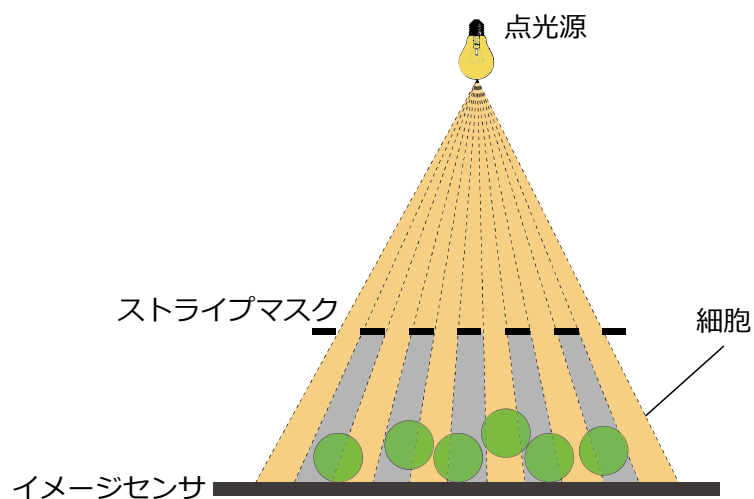


図 6: ストライプマスクをイメージセンサと点光源の間に挿入したコンタクトイメージングの模式図.

光線を屈折させる物体

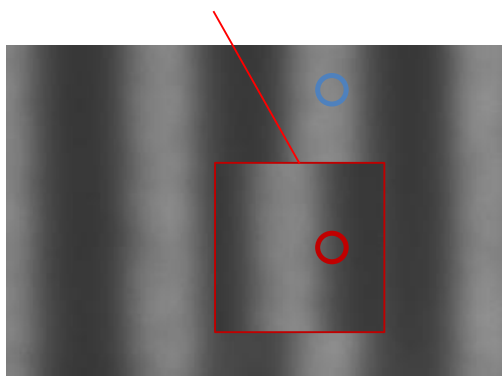


図 7: 光線を屈折させる物体が存在する場合に撮影されるマスクパターン.

形状に大きな違いはないが、横軸方向にシフトしている．背景画素のプロファイル（以下，基本プロファイルと呼ぶ）は本来の光線の到達位置（本来のパターンの明暗）とみることができるので，屈折を起こす物体が存在する位置のこの画素

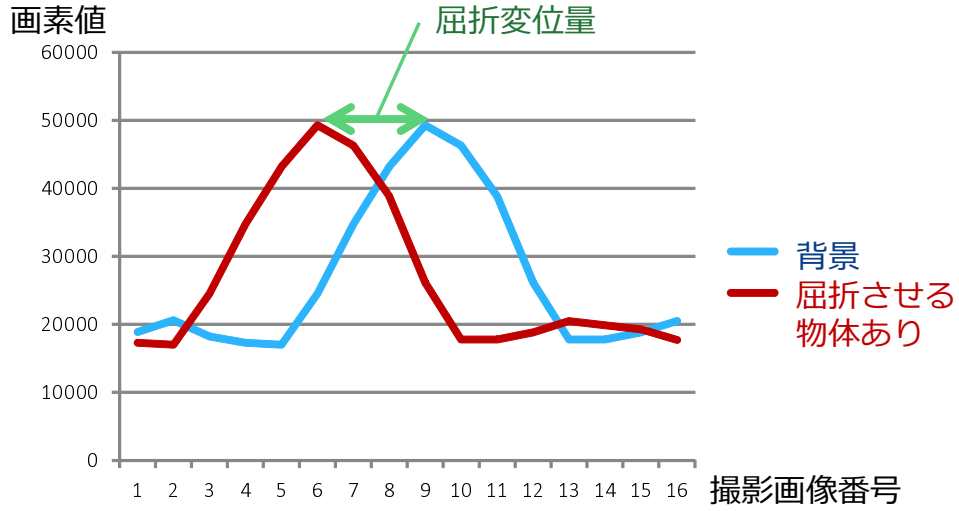


図 8: 画素値のプロファイル.

の屈折変位置量は、この2つのプロファイルの横軸の位置の差（シフト量）として算出される。

プロファイルのシフト量を求める方法には、相互相関を利用する。基本プロファイルを固定して、求めたい画素のプロファイルを横軸方向に移動させ、移動のたびに2つのプロファイルの相関係数を求める。2つのプロファイルの形状が大きく変化していないとすると、相関係数が最大となる横軸の位置では基本プロファイルと最も重なるため、本来の照射位置であると考えられる。よって、相関係数が最大となった横軸の位置と初期の横軸位置の差が、求めたい画素のプロファイルのシフト量となる。屈折変位置量を推定するための式を式 (1) に示す。

$$\Delta(x) = \operatorname{argmax}_d C(r_x(t), p_x(t+d)), \quad (1)$$

ただし、 $\Delta(x)$ はカメラピクセル x における推定された屈折変位置量、 t はマスクのシフト（プロファイルの横軸の変数）、 d はシフト量、 C は相関関数、 $r_x(t)$ は基本プロファイル、 $p_x(t+d)$ はピクセル x における d シフトした時のプロファイルである。

3.4 明るさ推定方法

以上の方法により，屈折変位量という新たな情報を得ることができる．この屈折変位量という情報は，これまで得られていた細胞の像と重ねて提示することにより，より効果的な観察を実現できると考えられる．しかし，屈折変位量の算出に用いられる画像にはストライプマスクが投影されており，この入力画像と重畳表示すると投影されたマスクパターンも同時に表示される．このマスクパターンは細胞観察に不必要である．また，別のタイミングでストライプマスクを取り外して撮影した画像と重ねて表示すると，移動や成長などで細胞の像が変動しており，同じ位置に重畳表示することはできない可能性が高い．

細胞の像は，ストライプマスクを挿入していない状態でのイメージセンサで観測される明るさを画像化したものであると考えることができる．そこで，屈折変位量の算出に用いた入力画像群から新たに各画素の明るさを推定する．

ストライプマスクを移動させながら撮影した入力画像群から，各画素のプロファイルが得られている．このプロファイルには投影されたマスクの明暗が表れている．明るい部分は，背景であれば光源の明るさがほぼそのまま観測されるが，細胞などが存在すると光線の減衰などにより強度が低下する．明るさとして推定したい値が光線の強度の低下の度合いであるとする，ある画素の明るさはその画素のプロファイルの明暗の差により表現できると考えられる．本稿では，明るさ推定に標準偏差を利用する．ある1画素の明るさの推定値を I としたときの，明るさ推定方法を式 (2) に示す．

$$I = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

ここで， n は撮影枚数， x_i は i 番目の撮影画像における画素値， $\bar{x}$ は画素値の平均値である．画素の明るさは，各画素独立に計算できる．

標準偏差を利用することでプロファイル全体のばらつきを考慮することができるため，プロファイルに不適切なピーク値が含まれる場合でも安定した明るさを推定することができる．

3.5 屈折変位量の可視化と重畳表示

細胞の観察時に算出した屈折変位量を新たな判断材料として導入するため、屈折変位量に疑似色を割り当て可視化する。屈折の度合いを表現するために、屈折変位量が大きくなるにつれて彩度が高い疑似色を割り当てる。また、屈折の方向を見分けるために、屈折変位量の正負によって異なる色相を割り当てる。ただし、明暗が繰り返されるストライプのパターンを投影しているため、この繰り返し幅以上の変位量となる場合は位相のラッピング問題が発生する。これに対応した可視化とするため、循環する色付けを採用する。

一方、推定した明るさには明度を割り当てる。つまり、推定した明るさが大きい画素については白く、小さい画素については黒い画像となる。

上記の2つの可視化方法は、HSVによる画像表現を用いることで、新たな計算の必要なく簡単に組合わせて画像化できる。HSV画像には色相、彩度、明度の3つの要素が存在し、色相と彩度に屈折変位量、明度に推定された明るさを割り当てることができる。

3.6 模擬環境での実験

提案手法により屈折変位量を撮像できることを確認するため、コンタクトイメージングを模した環境を構築し、実験を実施した。ここでは模擬環境での実験の方法と撮影環境、その結果について述べる。

3.6.1 撮影環境

コンタクトイメージングを模した実験環境として、図9に示す環境を構築した。実際に構築した撮影環境の写真は図10である。点光源とみなすために光源の前に穴の直径0.5mmのピンホールを設置する。光源で照らす先に細胞を模した被写体を入れた水槽を設置している。被写体を通常のカメラで撮影した写真を図12(a)に示す。被写体には屈折を起こす物体として直径約5mmのガラスビーズとレジン細工を採用した。水槽の後に設置されたスクリーンに投影された像をカメラで撮影することで、コンタクトイメージングでの撮影と条件を揃えている。

そして、ストライプパターンを投影するために光源と水槽の間にストライプマスクを挿入している。ストライプマスクには OHP シートにレーザプリンタで黒を印刷したものを使用し、スリット幅は 3.8mm とした。実際に使用したストライプマスクを図 11 に示す。カメラには Nikon D5500 を使用する。

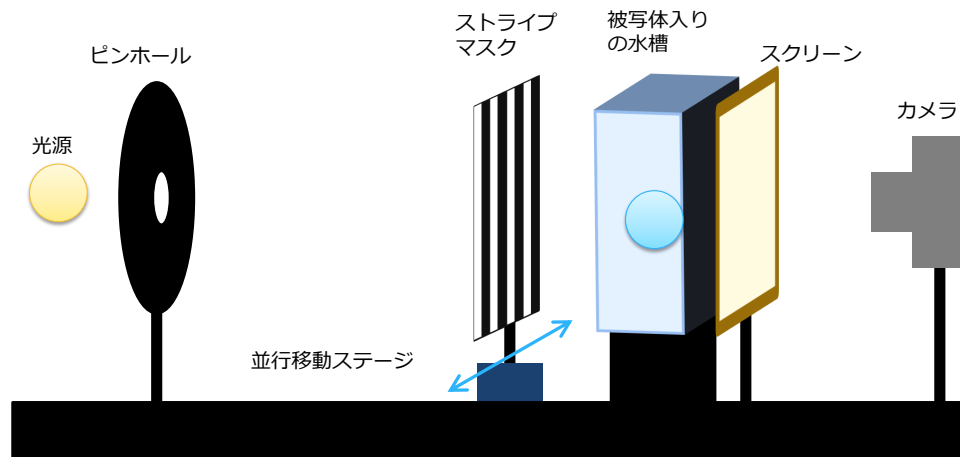


図 9: コンタクトイメージングを模した撮影環境。

実験では、投影するストライプマスクを横方向にシフトさせながら撮影を行う。撮影ごとのストライプマスクの移動量は 0.1mm とした。カメラのシャッタースピードを 4 秒、ISO 感度を 100、F 値を 1.4 に設定して 105 回撮影を行った。撮影された入力画像の一例を図 12 (b) に示す。

3.6.2 屈折変位量の可視化

屈折変位量を算出するにあたって、プロファイルの調査を実施した。図 12 (b) における左上の位置の画素のプロファイルを図 13 に示す。プロファイルではマスクの明暗が見て取れる。なおかつ明るい箇所と暗い箇所の画素値の差も十分に得られていることから、本手法を適用可能な入力画像群が得られていることを確認した。

入力画像群の各画素においてプロファイルを作成し、画像上部の背景画素を本来の光線到達位置である基本プロファイルとして、屈折変位量を算出した。算出

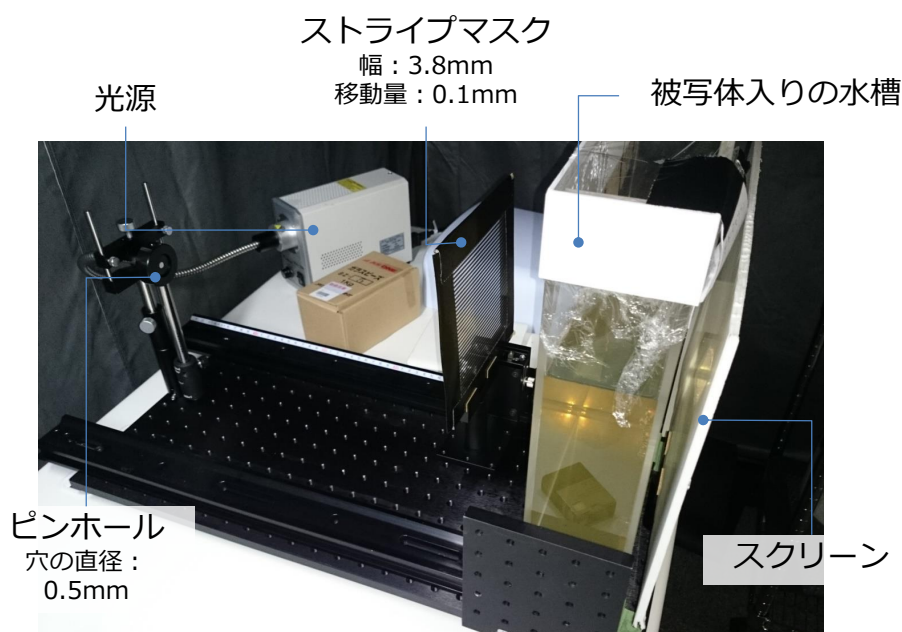


図 10: 実際の撮影環境.

した屈折変位量に疑似色に割当て、画像として可視化した。屈折変位量を可視化した結果の画像を図 14 に示す。

図 14 右に示すカラーバーが屈折変位量と疑似色の対応関係を表している。カラーバーの右に示す屈折変位量の値が大きいほど屈折の度合いが大きく、正負で屈折の方向を示している。ここでの可視化方法では、屈折変位量が高いほど彩度を大きく、屈折の方向それぞれに赤と青を割り当て、赤と青の間を紫とすることでカラーバーが循環するようにしている。

図 14 のガラスビーズに対する屈折変位量の可視化結果では、中央部は屈折が発生せず屈折変位量も小さいため白で描画されている。球の左右に行くに連れて入射する光線に対する表面の角度が大きくなるため、左側が赤く、右側が青く色付けされている。これにより画像の横方向に対して球面であることが見て取れる。また、画像中央のレジン細工では、内部に色付きのガラスビーズが内包されているため単純な光路ではないことから、色付けが乱れている。

この結果から、ガラスビーズの球面の角度に応じて色付けされており、屈折変位量が正しく算出されることを確認した。ただし本実験でのセッティングでは、

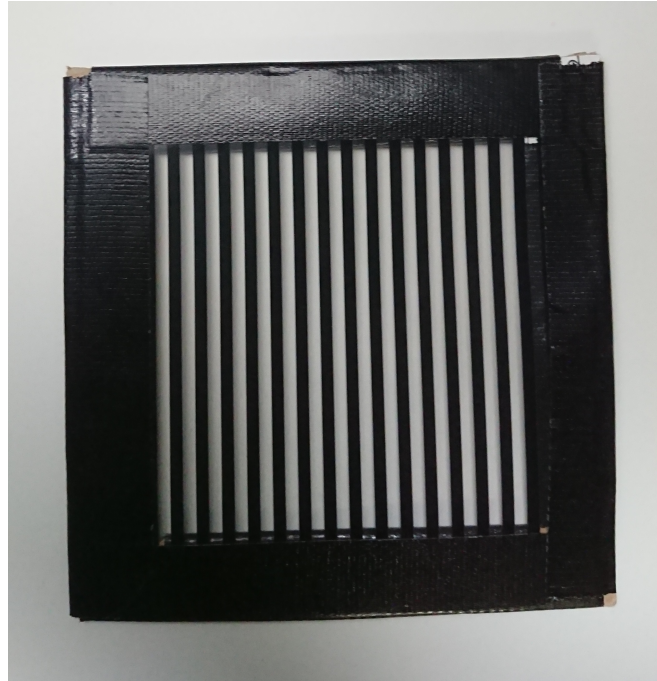


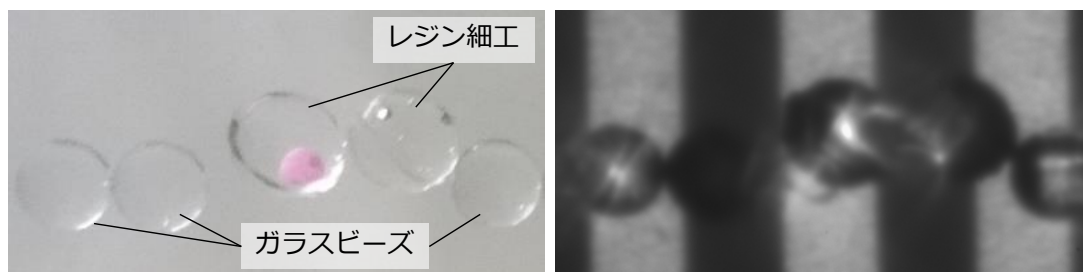
図 11: 実験に使用したストライプマスク.

ストライプマスクのスリット方向が縦方向であったため、画像での横方向の屈折変位量しか算出することができない。

3.6.3 明るさ推定

3.6.1 項で撮影した入力画像に対して、提案する明るさ推定手法を適用した結果を図 15 (a) に示す。ガラスビーズの像が画素値の強度として観測できることがわかる。続いて、明るさ推定結果の画像と屈折変位量可視化結果の擬似色画像との重畳表示した画像を図 15 (b) に示す。

ガラスビーズの像と疑似色が適切な位置で重畳表示されることが確認できた。



(a) ガラスビーズとレジン細工.

(b) 模擬環境での撮影画像例.

図 12: ガラスビーズとレジン細工の撮影対象物体.

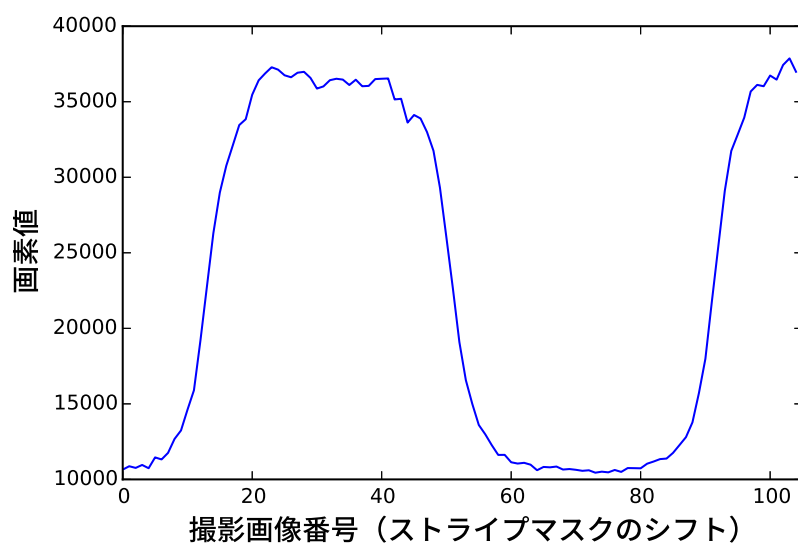


図 13: 入力画像群の左上画素のプロファイル.

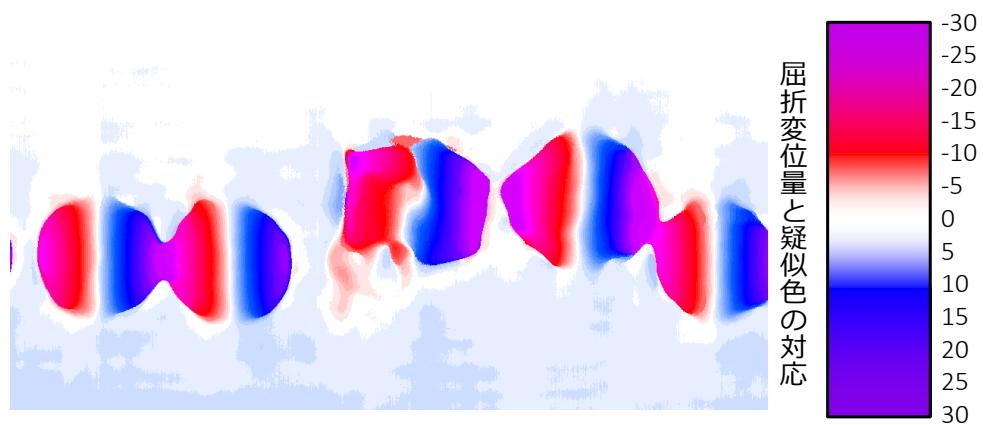
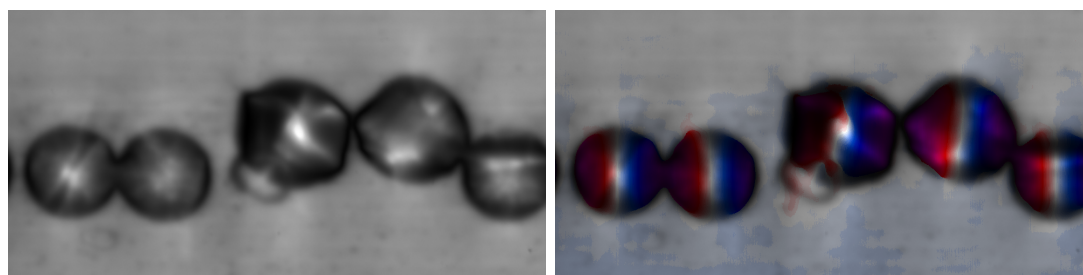


図 14: 模擬環境での実験の屈折変位量可視化結果.



(a) 提案手法による明るさ画像.

(b) 重畳画像.

図 15: 明るさ画像と, 屈折変位量の重畳表示結果.

4. 屈折変位量の撮像方法の拡張

3章で可視化した屈折変位量について，撮像方法を拡張して取得する情報量を増やす方法について述べる．より細胞観察に効果的な屈折変位量の撮像を実現するため，投影するストライプパターンを工夫することによって，2次元の屈折変位量の取得と可視化可能な屈折変位量の範囲の拡大を目指す．

4.1 2軸ストライプパターンによる2次元の屈折変位量の撮像

3章で可視化に成功した屈折変位量は画像でのX軸方向のみ（1次元）であった．これは，入力画像に投影されたストライプマスクをY軸方向の縞模様としたためである．同一被写体に対して，X軸方向とY軸方向の2種の撮影を実施し，得られた2つの情報を組合わせて可視化すれば，2次元の屈折変位量を反映した画像を生成することができると考えられる．

4.1.1 手法

2次元の屈折変位量を撮像するために，X軸方向とY軸方向の2つの屈折変位量を撮像する．X軸方向の屈折変位量の撮像方法は，3.3節の式(1)と同様である．2次元に拡張したときのX軸方向の屈折変位量を算出するための式を式(3)に示す．

$$\Delta x(x, y) = \operatorname{argmax}_d C(p_b(x), p_d(x, y)), \quad (3)$$

$\Delta x(x, y)$ はカメラピクセル (x, y) における推定されたX軸方向の屈折変位量， d はシフト量， C は相関関数， $p_b(x)$ は基本プロファイル， $p_d(x, y)$ はピクセル (x, y) における d シフトした時のプロファイルである．Y軸方向のストライプパターンを投影し，X軸方向にパターンをシフトさせながら撮影する．一方，Y軸方向の屈折変位量の撮像では，X軸方向のストライプパターンを投影し，Y軸方向にパ

ターンをシフトさせながら撮影する．Y 軸方向の屈折変位量算出の式を式 (4) に示す．

$$\Delta y(x, y) = \operatorname{argmax}_d C(p_b(y), p_d(x, y)), \quad (4)$$

$\Delta y(x, y)$ はカメラピクセル (x, y) における推定された Y 軸方向の屈折変位量である．その他の記号は X 軸方向の場合と同じであるが，基本プロフィール $p_b(y)$ として用いる画素は，屈折変位量を求めたい画素と Y 軸の座標が同じ背景画素である．以上 2 種の撮影を実施し，それぞれで屈折変位量を算出することで，1 つの画素に 2 つの屈折変位量の値が得られる．これが撮影された画像平面での 2 次元の屈折変位量である．

可視化の際には，2 つの屈折変位量の値を原点を x, y ともに 0 としたときのベクトルと考える．そして，このベクトルの長さを彩度，角度を色相とすることで，2 次元の屈折変位量に疑似色を割り当てる．このときのベクトルの長さを屈折変位量の大きさ，ベクトルの角度を屈折の方向とする 2 次元の屈折変位量と考えることもできる．屈折変位量の大きさを求める式を式 (5) 屈折の方向を求める式を式 (6) に示す．

$$\Delta(x, y) = \sqrt{\Delta x(x, y)^2 + \Delta y(x, y)^2}, \quad (5)$$

$$\theta(x, y) = \arctan \frac{\Delta y(x, y)}{\Delta x(x, y)}, \quad (6)$$

$\Delta(x, y)$ はカメラピクセル (x, y) における推定された 2 次元の屈折変位量の大きさ， $\theta(x, y)$ は屈折の向き（x 軸からの角度）である．

また，2 次元に拡張した場合に撮影された画像においても，各画素で明暗のプロファイルが得られるため，3.4 節の式 (2) を同じ様に用いることで明るさを推定することができる．重畳表示も同様に可能である．

4.1.2 実験方法

2軸のストライプパターンを用いることで2次元の屈折変位量を撮像できることを確認するため，コンタクトイメージングを模した環境で実験を実施した．撮影環境は3.6.1項と同様である．被写体には直径約5mmのガラスビーズとレジン細工を採用した．被写体を通常のカメラで撮影した写真を図16に示す．ストライプマスクのスリット幅は3.8mmとし，カメラにはNikon D5500を使用する．

実験では，Y軸方向のストライプマスクをX軸方向に，X軸方向のストライプマスクをY軸方向にそれぞれシフトさせながら撮影を行う．撮影ごとのストライプマスクの移動量は0.2mmとした．カメラのシャッタースピードを4秒，ISO感度を100，F値を1.4に設定して76回撮影を行った．ガラスビーズを撮影した入力画像の一例を図17に示す．

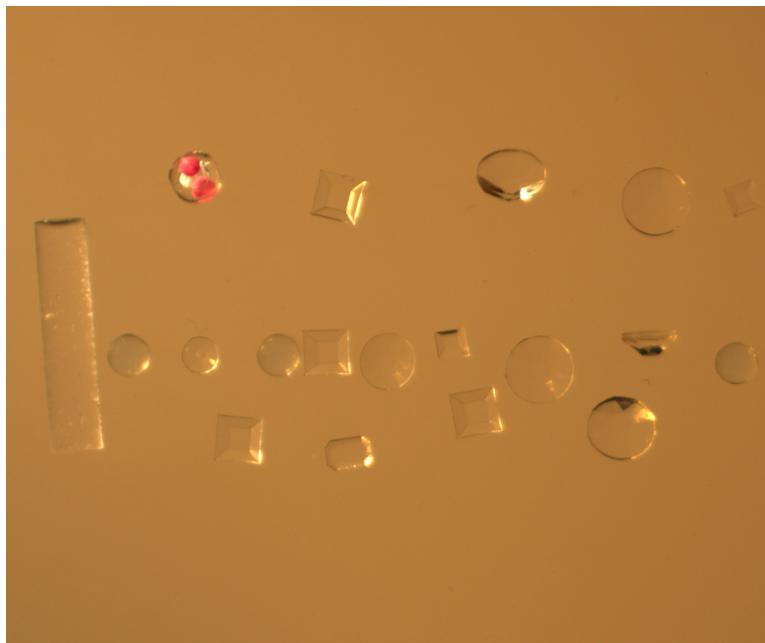


図 16: 通常のカメラで撮影した被写体.

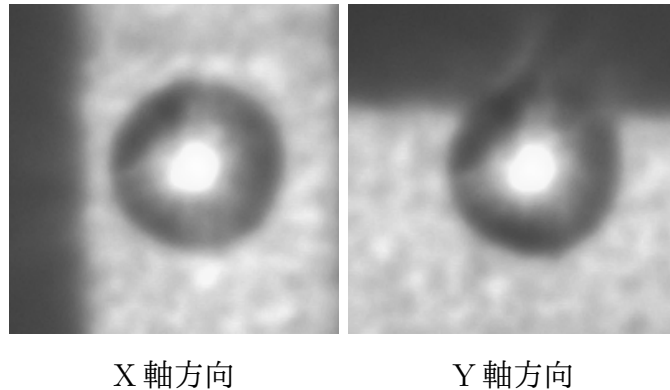


図 17: 2 軸のストライプパターンそれぞれの撮影画像例.

4.1.3 結果

入力画像群の各画素においてプロファイルを作成し，画像上端の背景画素を本来の光線到達位置である基本プロファイルとして，屈折変位量を算出した．まず X 軸方向と Y 軸方向それぞれで算出した屈折変位量に疑似色に割当て，画像として可視化した．図 17 のガラスビーズに対して，X 軸方向と Y 軸方向それぞれで屈折変位量を可視化した結果を図 18 に示す．右に示すカラーバーが屈折変位量と疑似色の対応関係を表している．カラーバーの右に示す屈折変位量の値が大きいほど屈折の度合いが大きく，正負で屈折の方向を示している．X 軸方向の結果ではガラスビーズの球面の左右方向の屈折の変化が見て取れる．一方，Y 軸方向の結果では上下方向の屈折の変化が表れている．

続いて，算出した 2 つの X 軸，Y 軸方向それぞれの 1 次元の屈折変位量を用いて，2 次元に拡張した屈折変位量を可視化した画像を図 19 に示す．図 19 右に示すカラーマップが屈折変位量と疑似色の対応関係を表している．屈折変位量の値が大きいほど彩度が大きく，色相で屈折の方向を示している．可視化結果ではグラデーションのように色相が変化しており，撮影されたガラスビーズは球状であることが観察できる．

次に，本実験で撮影した図 17 の X 軸方向の画像群から 3.4 節の式 (2) によって推定した明るさの画像を図 20 (a)，2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果と明るさ推定結果の重畳表示を図 20 (b) に示す．ガラスビーズの濃淡画像と正しく

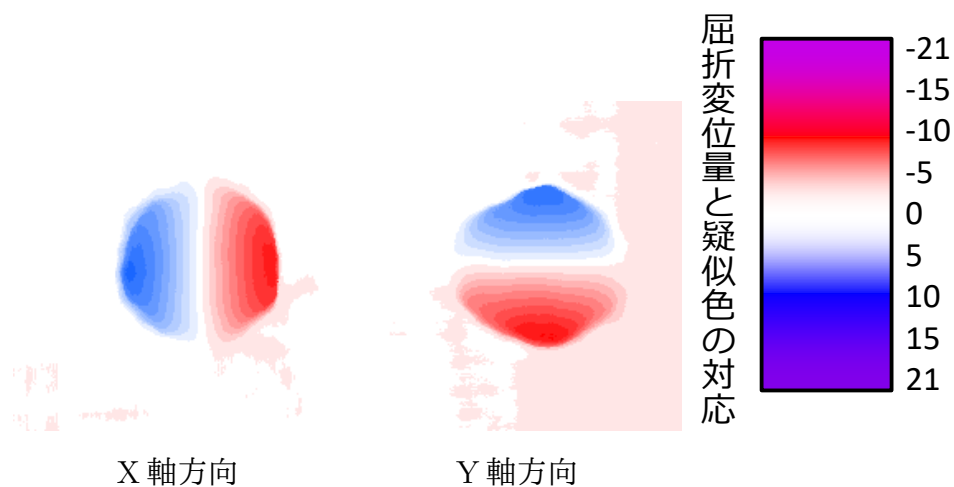


図 18: X 軸・Y 軸方向の屈折変位量の可視化結果.

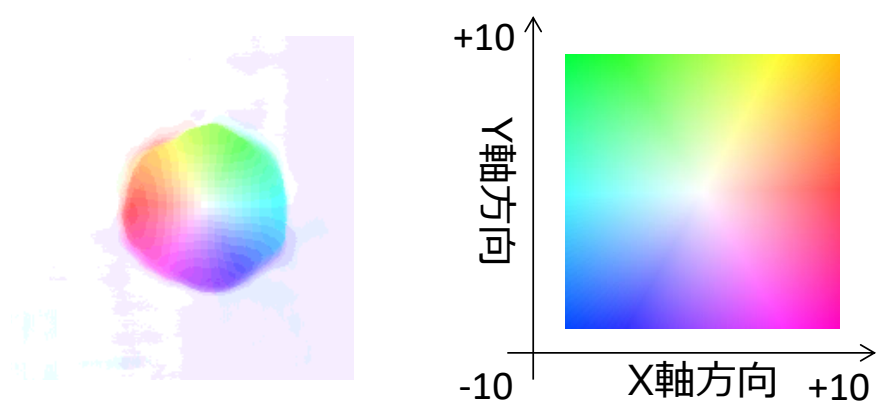
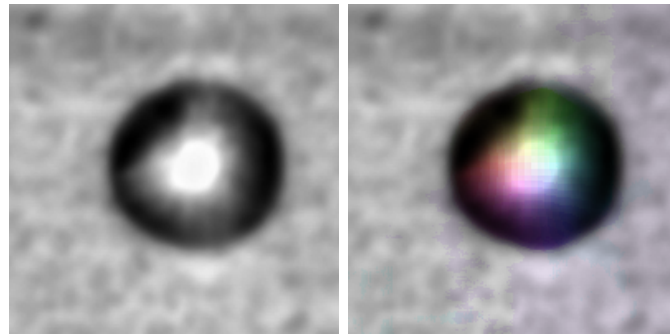


図 19: 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.

重ねて表示されている。ガラスビーズの外縁部はほとんど光が観測されないため非常に暗くなっており、重畳表示しても疑似色が観察しにくい結果となった。観察に適した明るさに調整する処理を施すことでより効果的になると考えられる。

続いて、その他の物体としてレジン細工に本手法を適用した結果を図 21，通常のカメラで撮影した画像を図 22 に示す。図 22 に示す被写体は、表面が宝石のようにカットされた多面体となっているが、通常の撮影ではガラスビーズと区別がつかない。

図 21 では、左の上下に X 軸と Y 軸それぞれのストライプパターンを投影した



(a) 明るさ画像.

(b) 重畳画像.

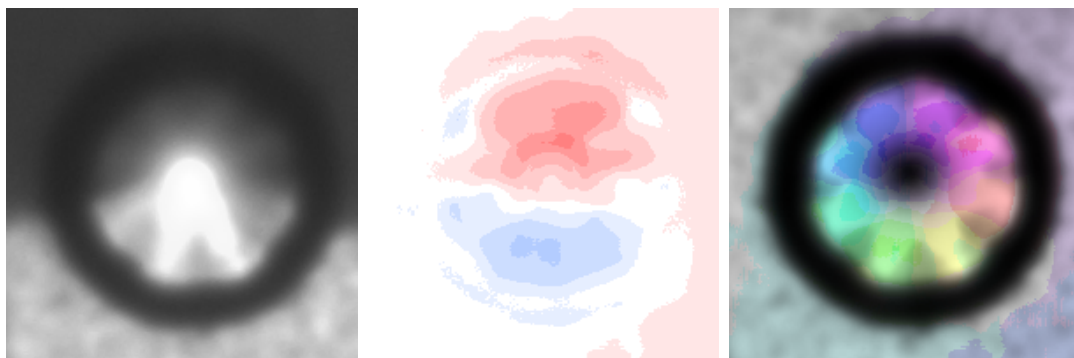
図 20: 2次元に拡張した屈折変位量と明るさ推定結果の重畳表示.



(a) X 軸の屈折変位量撮像のための撮影画像.

(b) X 軸の屈折変位量の可視化結果.

(c) 2次元の屈折変位量の可視化結果.



(d) Y 軸の屈折変位量撮像のための撮影画.

(e) Y 軸の屈折変位量の可視化結.

(f) 2次元の屈折変位量と明るさ画像の重畳結.

図 21: 多面体に対する 2次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.

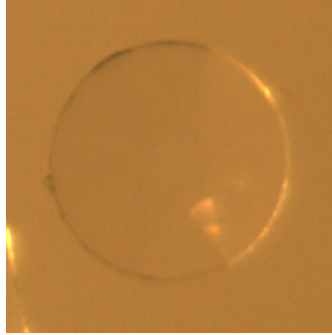
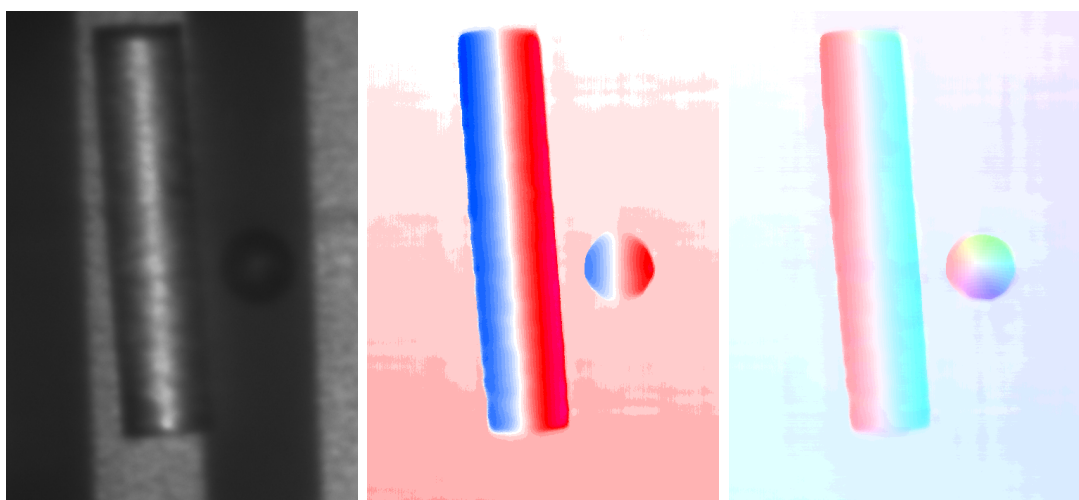


図 22: 通常のカメラで撮影した多面体.

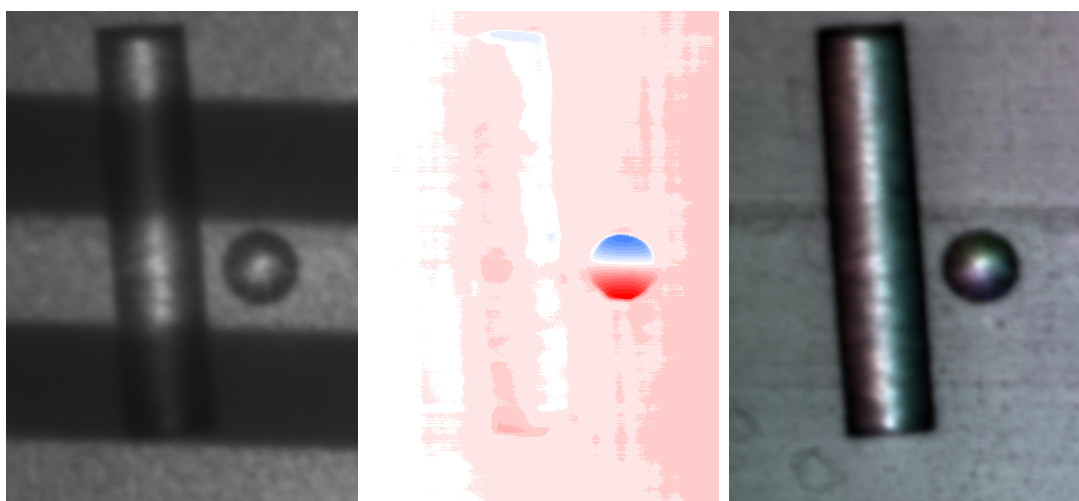
撮影画像，中央上下にそれぞれの屈折変位量の可視化結果，右上に 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果，右下に明るさ推定結果との重畳表示を示している．図 21 の結果において，X 軸・Y 軸それぞれでの屈折変位量可視化結果では多面体であることを観察するのは困難である．しかし，これらの結果を組み合わせ可視化した右上の 2 次元の屈折変位量では，各面に色付けされており，表面形状の観察を容易にしている．これは，右下の明るさ画像との重畳表示でより効果を示している．

次に，レジン細工の円柱に本手法を適用した結果を図 23，通常のカメラで撮影した画像を図 24 に示す．図 24 の左に写っている長方形に見える物体は，上部から見ると円の形をした円柱状の物体となっている．右に写っているものは比較用のガラスビーズである．

図 23 での円柱では，中央上に示す X 軸方向の可視化結果では色付けされており，中央下の Y 軸方向の結果では色付けされていない．これにより，横方向にのみ円状になった円柱であることが観察できる．比較用のガラスビーズにはいずれの結果でも色付けされている．そして，右上の 2 次元に拡張した結果においても正しく色付けされている．以上の結果から，本手法は球状の物体以外にも適用可能であることを示した．



(a) X 軸の屈折変位量撮像のための撮影画像. (b) X 軸の屈折変位量の可視化結果. (c) 2 次元の屈折変位量の可視化結果.



(d) Y 軸の屈折変位量撮像のための撮影画像. (e) Y 軸の屈折変位量の可視化結果. (f) 2 次元の屈折変位量と明るさ画像の重畳結果.

図 23: 円柱に対する 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.

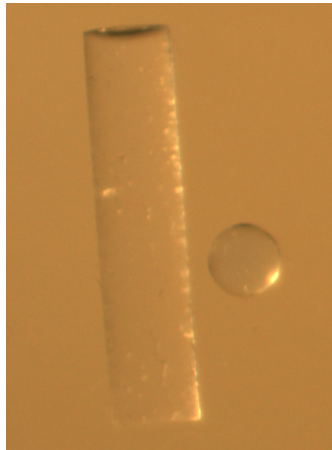


図 24: 通常のカメラで撮影した円柱.

4.2 斜めストライプパターンによる2次元の屈折変位量の撮像

X軸方向とY軸方向の2種のストライプパターンを投影した撮影によって、2次元の屈折変位量の取得を達成した。しかしながら、ストライプマスクをそれぞれ異なる方向に移動させる必要があることから、平行移動機構を2つ設置しなければならない。これは、小型化を目指すレンズレス顕微鏡には不都合である。そこで、1方向の平行移動機構のみで2次元の屈折変位量を取得する方法を考案する。

4.2.1 手法

提案する屈折変位量撮像手法では、投影するストライプパターンと直交する方向の屈折変位量を算出可能である。そのため、画像面に対して斜め方向のストライプパターンを投影すると、パターンと直交する斜め方向の屈折変位量が算出できる。投影するストライプパターンの方向による撮像可能な屈折変位量の方向の違いを図25に示す。白と黒の縞模様が投影されたストライプパターン、青い矢印が撮像可能な屈折変位量を示している。

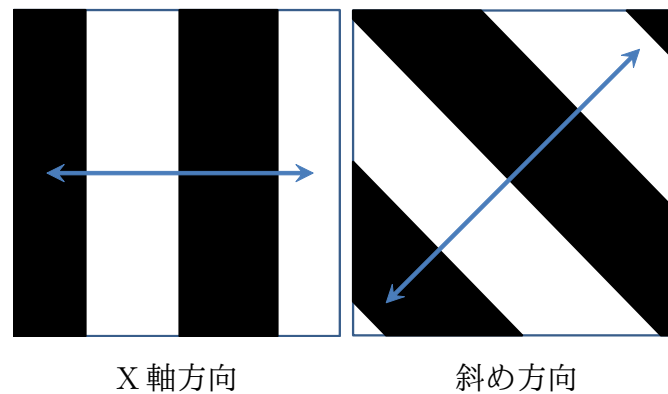


図 25: ストライプパターンの方向による撮像可能な屈折変位量の方向の違い。

図25左に示すように、Y軸方向のストライプパターンを投影した場合にはX軸方向の屈折変位量が撮像できる。一方、右に示した斜め方向のストライプパターンを投影すると、パターンと直交する方向の斜め方向の屈折変位量が撮像できる。ただし、画像の端のピクセルを基本プロファイルとして用いるため、背景画素に

においても画像の逆側の端に行くほど算出される屈折変位量がずれていく。そこで、撮影される画像の大部分が背景であることを利用して、一度算出された屈折変位量から本来の屈折変位量に補正する。

斜め方向のストライプパターンを用いることによって発生するずれの量は、画像の横軸方向には一定である。被写体が存在するピクセルでは様々な屈折変位量が算出されるが、背景画素はある1つの屈折変位量の値が算出されていると考えられる。そのため、画像の横軸方向に屈折変位量のヒストグラムを作成すると、背景画素の屈折変位量が最も多くなる。そこで、ヒストグラムにおいて最大となる背景画素の屈折変位量を0とするような補正をY軸座標が同じライン全体に施す。傾きを持ったストライプパターンを投影した場合のヒストグラムによる屈折変位量の補正の模式図を図26に示す。

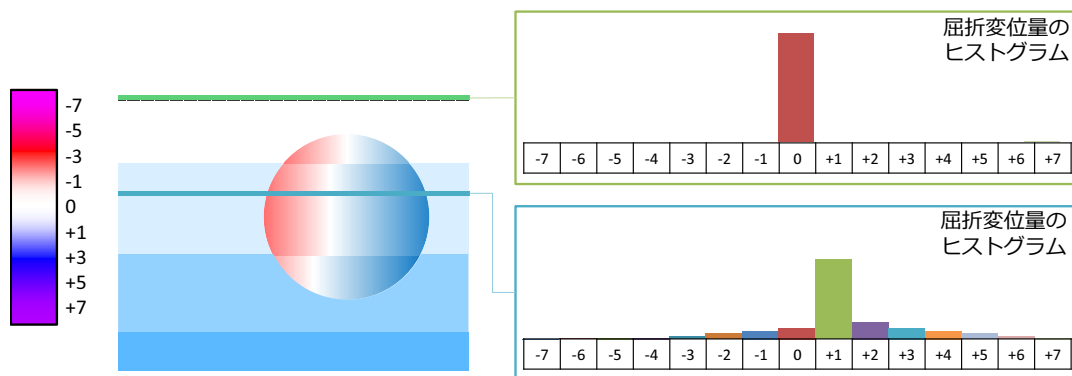


図 26: 傾きを持ったストライプパターンを投影した場合のヒストグラム。

図26のうち、緑色のラインで示した1つ目のヒストグラムは背景が白（屈折変位量0）で色付けされているY軸座標のものであるため、屈折変位量0の値が最も大きくなっている。一方、青色のラインで示した2つ目のヒストグラムは背景が薄い青（屈折変位量+1）で色付けされたY軸座標のものである。よって、ヒストグラムでは屈折変位量+1の値が最も大きくなる。このとき、背景画素が画像の大半を占めていることがわかっていれば、あるラインのヒストグラム中で最も大きい値を背景画素（屈折変位量0）に補正し、これを画像の全ラインに実行することでストライプパターンの傾きを補正した屈折変位量可視化結果が得られ

る。青色で示した2つ目のヒストグラムを例として説明すると、このヒストグラムが得られた場合、ヒストグラムにおいて最も大きい屈折変位量の値は+1であるため、そのラインの各ピクセルで算出された屈折変位量から-1することで補正結果の屈折変位量が得られる。この補正を画像全体に施すことで、適切な屈折変位量を算出できる。

以上の方法を利用し、画像面に対して斜め45度の角度でストライプパターンを投影し、パターンをX軸方向に移動させて屈折変位量を算出する。同様に、1つ目のストライプパターンと直交する角度（斜め-45度）でストライプパターンを投影し、パターンをX軸方向に移動させて屈折変位量を算出する。これにより、X軸方向の平行移動機構のみを用いて2次元の屈折変位量を撮像可能となる。

また、この拡張においても、3.4節の式(2)を用いることで明るさを推定することができる。

4.2.2 実験方法

斜め方向のストライプパターンの投影によって、2次元の屈折変位量を撮像する実験を実施した。撮影環境は3.6.1項と同様であり、使用するストライプマスクのみ斜め方向のものに交換する。被写体には図16と同じガラスビーズとレジン細工を用いた。ストライプマスクのスリット幅は3.8mmとし、斜め方向のストライプマスクをX軸方向にシフトさせながら撮影を行う。次にストライプマスクの方向を変え、同様にX軸方向にシフトさせながら撮影した。撮影ごとのストライプマスクの移動量は0.2mmとした。カメラのシャッタースピードを4秒、ISO感度を100、F値を1.4に設定して85回撮影を行った。実際に実験に使用した斜め方向のストライプマスクを図27に示す。

続いて、撮影された入力画像の一例を図28に示す。ここで、右上から左下に向かって投影されるストライプパターンを+45度方向、左上から右下に向かって投影されるストライプパターンを-45度方向と呼ぶ。

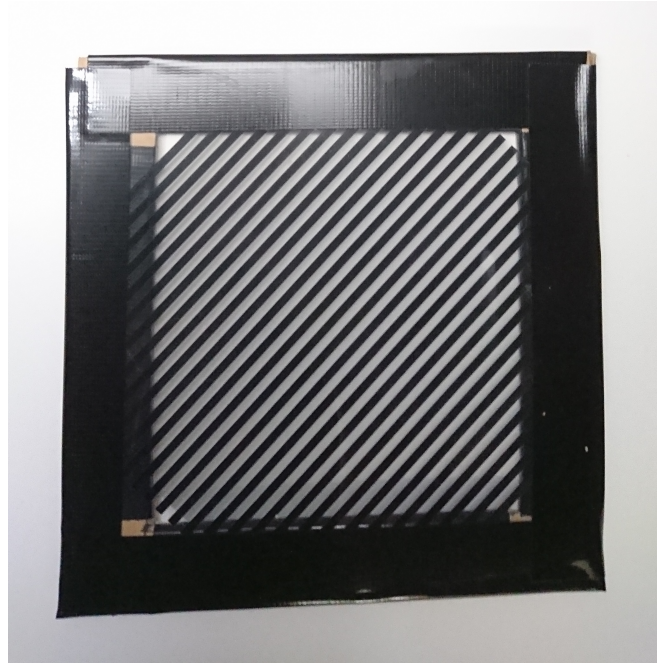
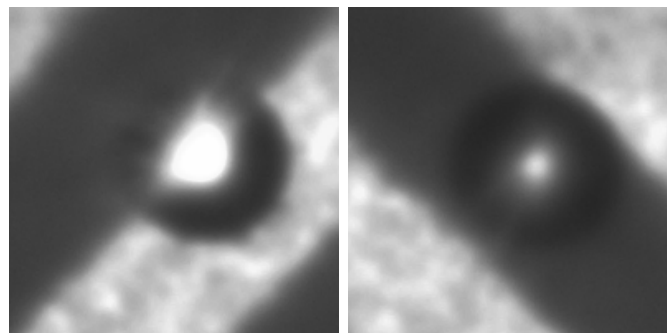


図 27: 実験に使用した斜め方向のストライプマスク.



+45 度方向

-45 度方向

図 28: 斜めストライプパターンそれぞれの撮影画像例.

4.2.3 結果

入力画像群の各画素においてプロファイルを作成し，画像上部の背景画素を本来の光線到達位置である基本プロファイルとして，屈折変位量を算出した．まずパターンの方向が+45 度と -45 度でそれぞれ算出した屈折変位量に疑似色に割当

て、画像として可視化した。屈折変位量を可視化した結果について、+45 度の可視化結果を図 29、-45 度の可視化結果を図 30 に示す。なお、本項では画像全体に対して屈折変位量を算出して補正を行い、その後切り出した結果を示している。

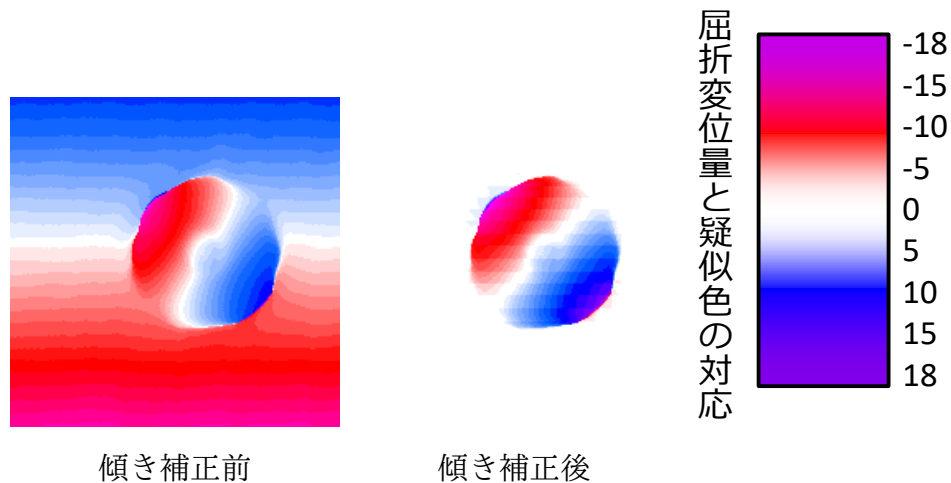


図 29: +45 度方向の屈折変位量の可視化結果.

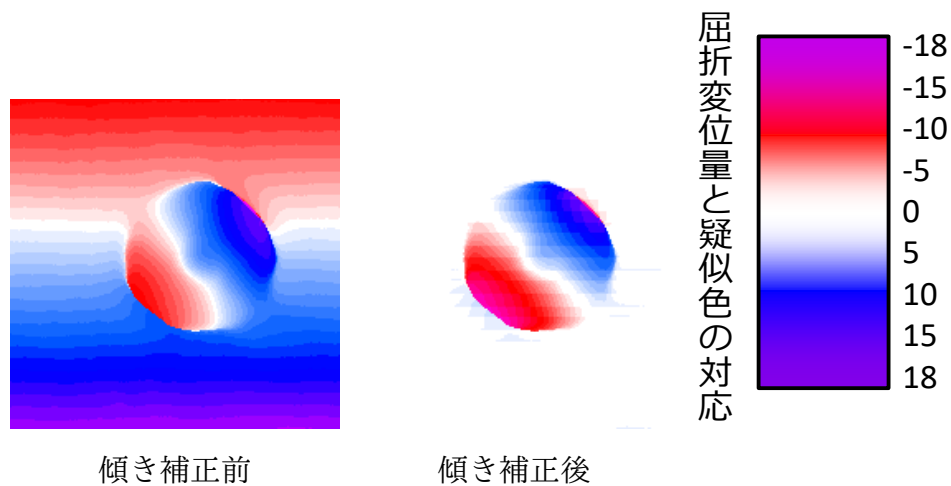


図 30: -45 度方向の屈折変位量の可視化結果.

右に示すカラーバーが屈折変位量と疑似色の対応関係を表している。カラーバーの右に示す屈折変位量の値が大きいほど屈折の度合いが大きく、正負で屈折

の方向を示している．図 29，図 30 のいずれの結果においても，投影されたストライプパターンと直交する方向の屈折変位量を可視化することができる．

続いて，算出した 2 つの 1 次元の屈折変位量を用いて，2 次元に拡張した屈折変位量を可視化した画像を図 31 に示す．

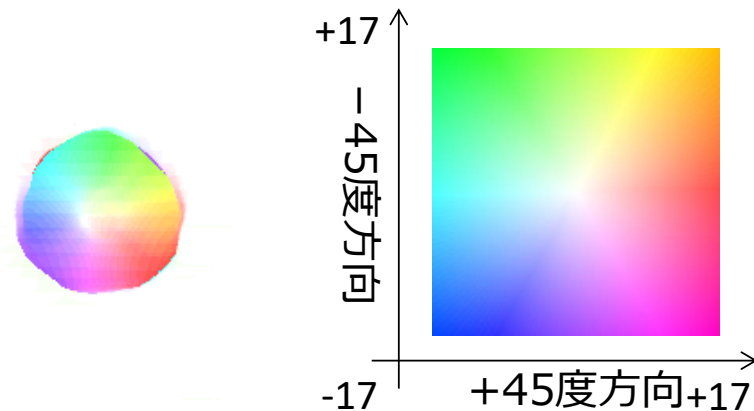


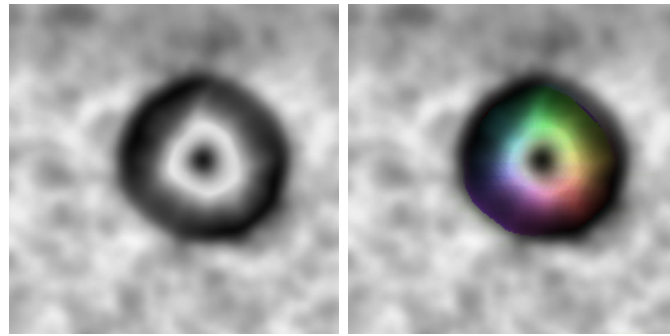
図 31: 斜めストライプパターンを用いて 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果．

図 31 右に示すカラーマップが屈折変位量と疑似色の対応関係を表している．屈折変位量の値が大きいほど彩度が大きく，色相で屈折の方向を示している．斜め方向のストライプパターンを用いた場合でも，2 軸ストライプパターンを用いる方法と同等の屈折変位量を求めることができることを示した．ただし，カラーマップでの色付けにおいて，屈折の方向と疑似色の対応が 2 軸ストライプパターンの結果と異なることに注意する必要がある．

次に，本実験で撮影した図 28 の +45 度方向の画像群から 3.4 節の式 (2) によって推定した明るさの画像を図 32 (a)，2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果と明るさ推定結果の重畳表示を図 32 (b) に示す．斜めストライプパターンを用いても正しく重畳表示できることがわかる．

続いて，その他のレジン細工に斜めストライプパターンを用いた手法を適用した結果を図 33，図 34 に示す．実験に使用した被写体は図 22，図 24 に示したものと同じである．

図 33 と図 34 では，左端の上下に +45 度と -45 度それぞれのストライプパター



(a) 明るさ画像.

(b) 重畳画像.

図 32: 斜めストライプパターンによる 2 次元の屈折変位量と明るさ推定結果の重畳表示.

ンを投影した撮影画像，左から 2 番目上下にそれぞれの屈折変位量の可視化結果，左から 3 番目上下にそれぞれの屈折変位量に補正を施した結果，右端上に 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果，右端下に明るさ推定結果との重畳表示を示している．図 33，図 34 いずれの結果でも屈折変位量が正しく算出され，補正されていることがわかる．また，補正後の結果を組み合わせることにより 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化に成功している．特に図 34 での円柱では，斜め方向のストライプパターンを用いても，X 軸方向の屈折変位量を正しく算出できることが確認できる．

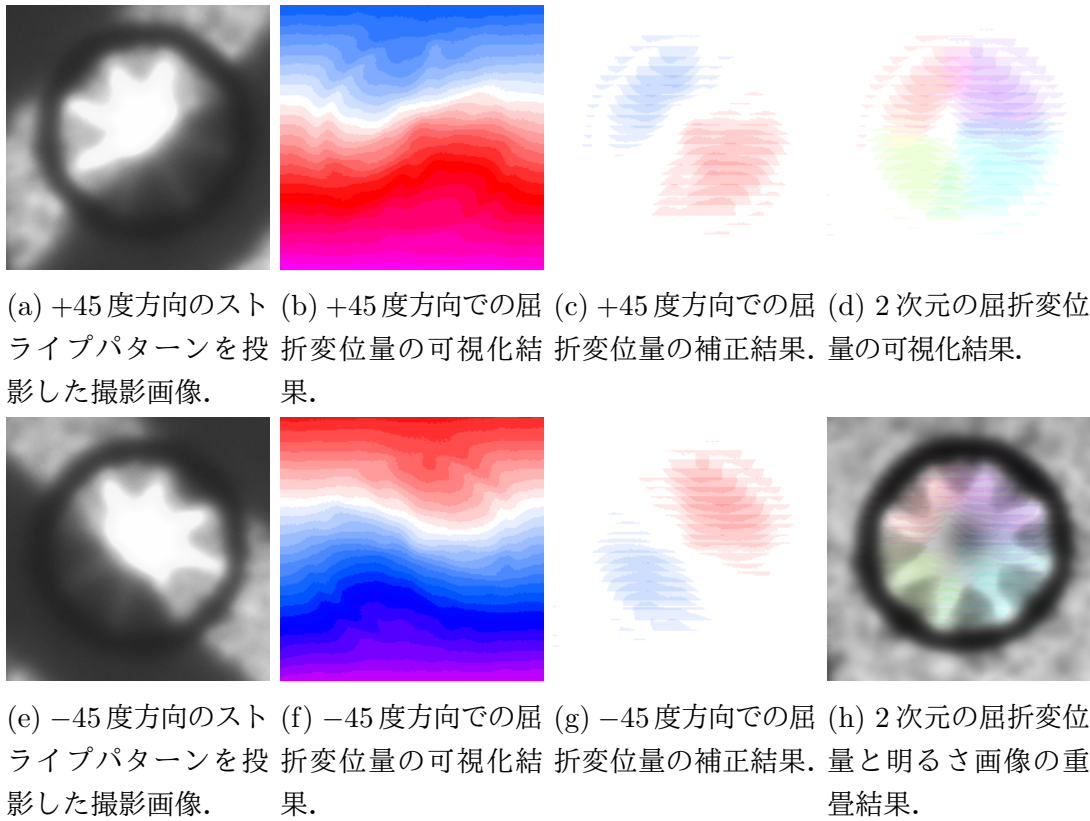
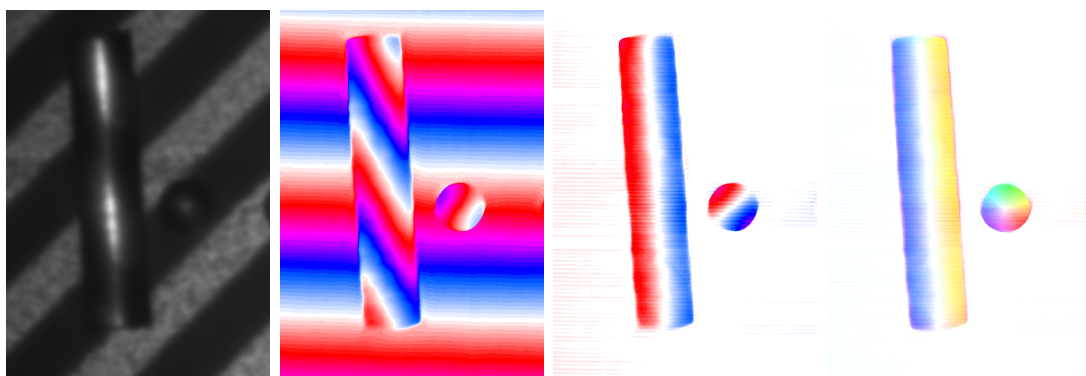
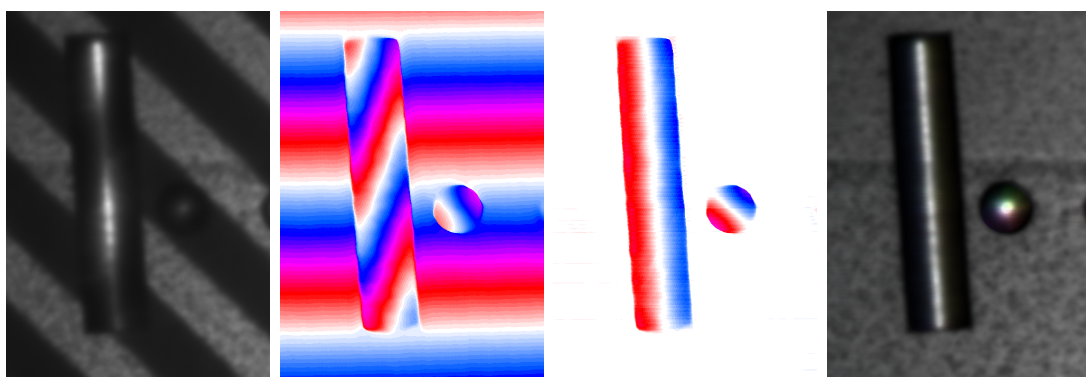


図 33: 多面体に対する斜めストライプパターンを用いて 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.



(a) +45 度方向のストライプパターンを撮影した撮影画像. (b) +45 度方向での屈折変位量の可視化結果. (c) +45 度方向での屈折変位量の補正結果. (d) 2 次元の屈折変位量の可視化結果.



(e) -45 度方向のストライプパターンを撮影した撮影画像. (f) -45 度方向での屈折変位量の可視化結果. (g) -45 度方向での屈折変位量の補正結果. (h) 2 次元の屈折変位量と明るさ画像の重ね結果.

図 34: 円柱に対する斜めストライプパターンを用いて 2 次元に拡張した屈折変位量の可視化結果.

4.3 複数周波数を用いた屈折変位量のアンラッピング

提案する屈折変位量可視化手法は、投影するストライプマスクのスリット幅によって算出可能な屈折変位量が決まっている。つまり、ストライプマスクの周期を超えるほどの屈折による光線到達位置の変化が起こると、正しく屈折変位量が求められない。これにより、ストライプマスクの繰り返し幅を超えた変位量では、ラッピング問題の発生は避けられない。このようなラッピング問題に対して、複数の周波数を用いることにより観測できる周期を伸ばす技術が知られている [2]。そこで、屈折変位量算出においても複数周波数を利用することにより、算出可能な屈折変位量の範囲の向上を目指す。

4.3.1 手法

複数周波数を利用する最も単純な方法は、スリット幅の異なる複数のストライプマスクを使用して複数回撮影を実施することである。異なるスリット幅のストライプパターンを用いることによって、対応する各周波数での屈折変位量が求まる。得られた複数の屈折変位量の組からのアンラッピングについて説明する。本研究では非常に単純な手法を採用する。

まず、 n 個の周波数を使用する場合の各周波数で求められた屈折変位量から、アンラッピング後の屈折変位量の候補を式 (7) によって求める。

$$F(n, j, x) = F(n, x) + jF_0(n) \quad (7)$$

$F(n, j, x)$ が n 個目の周波数のある画素 x での屈折変位量の j 番目の候補である。ただし、 n 個目の周波数のストライプパターンによって得られた画素 x の屈折変位量を $F(n, x)$ 、ストライプパターンの波長を $F_0(n)$ とする。 j は整数である。これまでに説明した方法で算出される屈折変位量は、波長の半分ごとに繰り返すため、 $F_0(n)$ の整数倍を $F(n, x)$ に足したものがアンラッピングの際の屈折変位量の候補となる。ただし $F(n, j, x)$ は求めたい屈折変位量の範囲内で使用する。この

候補 $F(n, j, x)$ を全ての周波数で求める．式 (8) によって n 個の周波数での屈折変位量の候補の分散 V が最も小さくなるときの $F(1, j, x), F(2, k, x), \dots, F(n, l, x)$ の組合せを求める．これにより，使用する n 個の周波数から求められた最適な屈折変位量を算出する．

$$\min_{j,k,l} V(F(1, j, x), F(2, k, x), \dots, F(n, l, x)) \quad (8)$$

求めた $F(1, j, x), F(2, k, x), \dots, F(n, l, x)$ から，式 (9) によって求めた平均値 $\Delta(x)$ が画素 x のアンラッピングされた屈折変位量である．

$$\Delta(x) = \frac{F(1, j, x) + F(2, k, x) + \dots + F(n, l, x)}{n} \quad (9)$$

ただし，可視化の際には屈折変位量を整数として扱う必要があるため，式 (9) によって得られた $\Delta(x)$ を四捨五入する．複数周波数によってアンラッピング可能な屈折変位量を最大化するためには，使用する周波数に対応するスリット幅の組合せの最小公倍数が最大になるものを選択することが望ましい．

使用する周波数ごとのストライプパターンを投影し，それぞれで個別に屈折変位量を撮像する方法は，3章の撮像方法をそのまま使用することができる．しかし，使用する周波数を増やすたびにさらなる撮影が必要となり，上に示した2次元への拡張となるとさらに2倍に撮影回数が増えてしまう．目標とするコンタクトイメージングで撮影する対象は生きた細胞であることから，細胞の成長による被写体の形状の変化による屈折変位量算出への影響を避けるため，撮影回数の増大による撮影時間の増加はできるだけ少なくすることが望ましい．そこで，1つのストライプパターンに複数の周波数を埋め込むことを考える．

すべての周波数のストライプパターンを重ねることにより複数の周波数を埋め込むことが可能である．投影されるストライプパターンを波と考えると，異なる周波数のストライプパターンを重ねることは，波を足し合わせることに同様である．重ね合わせる前の個別の周波数のストライプパターンによるプロファイル

を基本プロファイルとし，重ね合わされたストライプパターンのプロファイルとの相関を取ることで，元の周波数での屈折変位量を算出することができる．これを重ね合わされた全ての周波数で実行することにより，各周波数での屈折変位量をそれぞれ算出できる．3つの周波数のストライプパターンを重ね合わせた例を図 35 に示す．

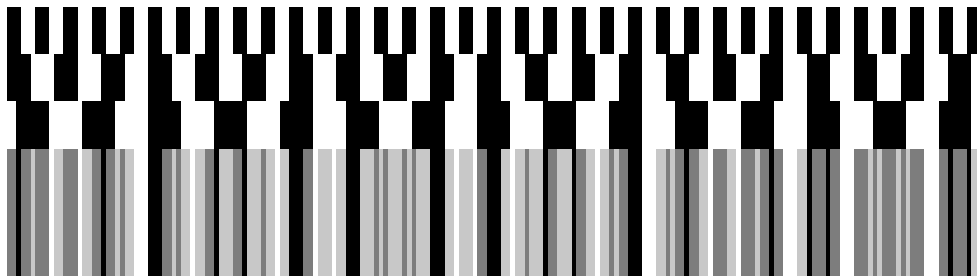


図 35: 複数周波数を埋め込んだストライプマスク．

画像上部に示した3つの周波数のストライプパターンを重ねたものが画像下部のパターンである．このパターンでは，3周波数とも黒である場合を黒，1周波数だけ白のものを暗いグレー，2周波数が白のものを明るいグレー，3周波数とも白の場合を白としてる．この3周波数を埋め込んだパターンに対して，埋め込まれたそれぞれの周波数のストライプパターンと相関をとることによって，各周波数での屈折変位量を求めることができる．

この複数周波数によるアンラッピングの方法は，4.1 節と 4.2 節と同じ様に 2次元に拡張することが可能である．作成した複数周波数を埋め込んだストライプマスクを X 軸方向と Y 軸方向に投影し，個別に屈折変位量を撮像して組み合わせることができる．同様に，複数周波数を埋め込んだストライプマスクを斜め方向に投影することで，1つの平行移動機構のみを用いて 2次元の屈折変位量を撮像可能となる．

また，複数周波数を埋め込んだストライプパターンを投影した場合に撮影された画像においても，各画素で明暗のプロファイルが得られるため，3.4 節の式 (2) を同じ様に用いることで明るさを推定することができる．重畳表示も同様に可能である．

4.3.2 実験方法

複数周波数を埋め込んだストライプマスクを使用して屈折変位量を可視化する実験を実施した．実験では3つの周波数を用いて，3章で示した1次元の屈折変位量を撮像する．まず，実験で使用するストライプマスクの作成について説明する．

上で示したように，3つの周波数を埋め込む場合は，4段階の明るさを用いる必要がある．しかし，OHPシートへの印刷時の濃淡パラメータと実際にカメラで観測される画素値は線形に対応しているとは保証できない．そこで，複数周波数を埋め込んだストライプマスク作成のための印刷時の濃淡パラメータ設定のために，印刷時の濃淡パラメータと観測される画素値の対応付について調査した．調査のために使用したグラデーションマスクを図 36 に示す．このグラデーションマスクでは左端が黒く，右に行くほど線形に印刷時の濃淡の値が明るくなっている．

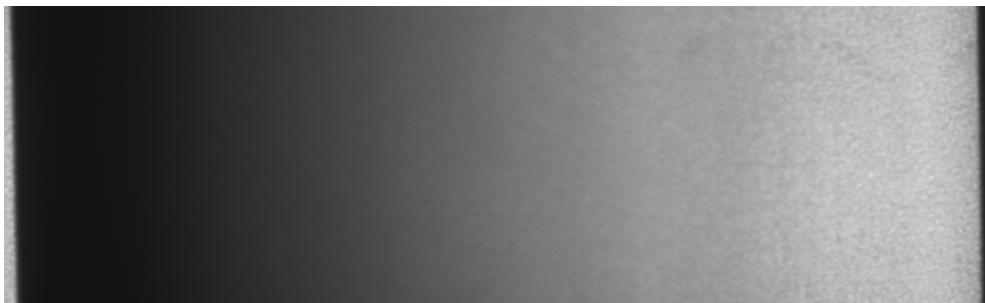


図 36: 印刷時のパラメータ決定のためのグラデーションマスク．

このグラデーションマスクをスクリーンに投影して撮影する．光源の明るさの違いによる影響を排除するため，グラデーションマスクを X 軸方向に移動させながら撮影し，画像のある 1 画素の画素値の変化（プロファイル）を観察する．グラデーションマスクを投影したときのプロファイルを図 37 に示す．図 37 では画像中の 7 画素についてのプロファイルを重ねて表示している．このプロファイルでは縦軸にカメラで観察された画素値，横軸には撮影された画像の番号，すなわち印刷時の濃淡パラメータとなっている．このプロファイルを観ると，全体が弓なりに下がっていることがわかる．つまり，印刷時の濃淡の値が明るい部分ほど，カメラで観測される画素値が敏感に変化している．

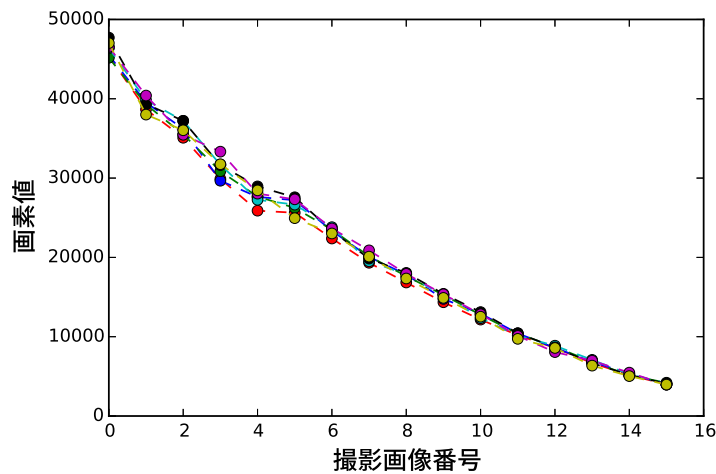


図 37: グラデーションマスクを投影したときのプロファイル.

そこで、このプロファイルを参考に印刷時の濃淡パラメータを設定した。方法は、プロファイルの各点の画素値の平均値を取り、この最大値と最小値の範囲をちょうど3等分するように4つの画素値を決める。このときにプロファイルで4つの画素値に対応する濃淡パラメータ（撮影画像番号から算出）を求めた。実際に設定したパラメータは255, 130, 55, 0（濃淡値を8ビットで表現、255が黒、0が白に対応）である。

続いて、実験の環境と被写体、実験方法について説明する。撮影環境は3.6.1項と同様であり、被写体には図16と同じガラスビーズとレジン細工を用いた。上で設定した濃淡パラメータを使用して、スリット幅が大きいものから約2.5mm, 1.8mm, 1.1mmの3つの周波数を埋め込んだストライプマスクを作成した。3つの周波数によって撮像できる屈折変位量を伸ばすため、スリット幅は印刷時に設定可能なピクセル単位で素数になる組み合わせ（3, 5, 7）としている。実際に実験に使用したストライプマスクを図38に示す。ストライプマスクを横方向にシフトさせながら撮影を行う。撮影ごとのストライプマスクの移動量は0.1mmとした。カメラのシャッタースピードを4秒、ISO感度を100、F値を1.4に設定して161回撮影を行った。

次に、撮影された入力画像の一例を図39に示す。図39に示すように、撮影画

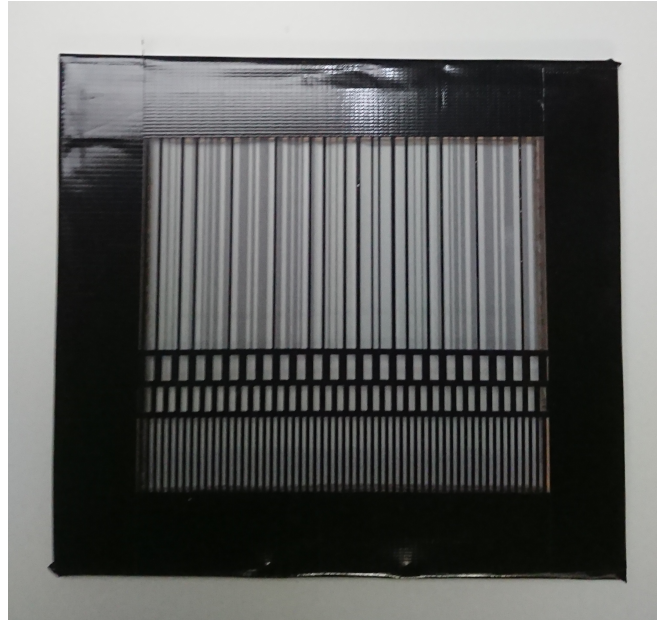


図 38: 実験に使用した複数周波数を埋め込んだストライプマスク。

像の下部に基本プロファイルとして参照するための個別の周波数パターン1~3を投影する。屈折変位量算出時には、求めたい各点のプロファイルと各周波数の同じX軸座標のプロファイルとの相関をとる。これにより、1つの画素につき3つの周波数ごとの屈折変位量が算出される。

4.3.3 結果

入力画像群の各画素においてプロファイルを作成し、画像下部の3つの周波数のパターンの画素を基本プロファイルとして、3つの屈折変位量を算出した。まず3つの周波数それぞれで算出した屈折変位量に疑似色に割当て、画像として可視化した。ガラスビーズに対して屈折変位量を可視化した結果を図40に示す。

図40の周波数1では、最もスリット幅が大きいものであるため屈折変位量のラッピングは起こっていない。周波数2の結果では、ガラスビーズの左に行くにつれて赤の彩度が増しているが、途中で紫に変わり、さらに青色に変化している。同様に右側でも青から紫、赤に変化している。屈折変位量の最大値である紫を超えて異なる色付けがされていることから、ラッピング問題が発生していることが

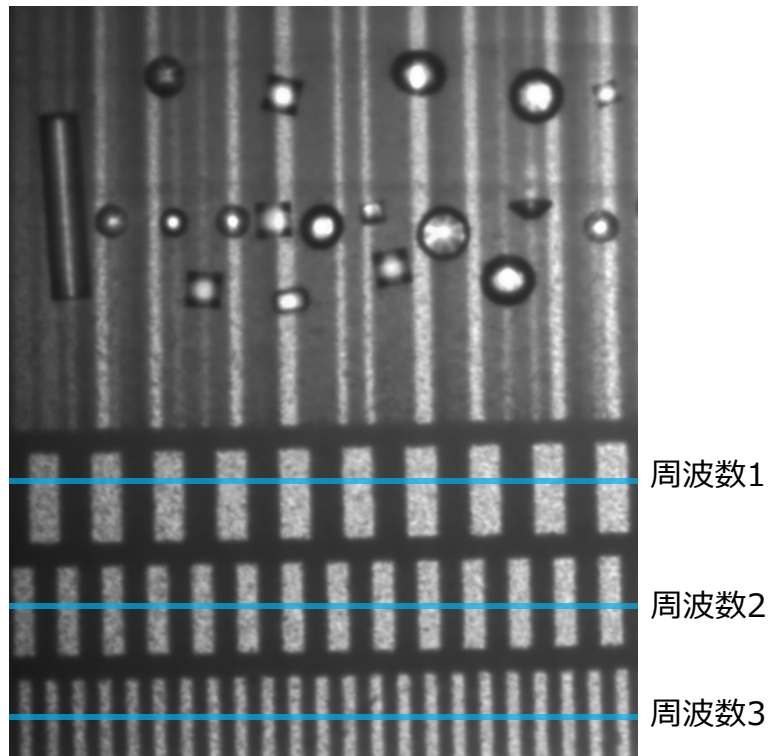


図 39: 複数周波数を埋め込んだストライプパターンを投影した撮影画像例.

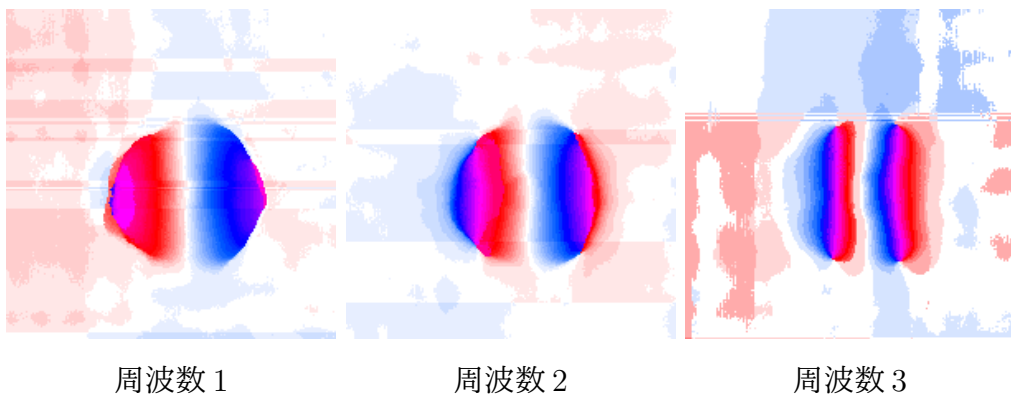


図 40: 各周波数での屈折変位量の可視化結果.

わかる．周波数3の結果では，赤から紫を超えて赤になり，さらに外縁部では白に近づいている．よって，この結果では周波数2よりも早くラッピング問題が発生しているといえる．

これらの結果は、スリット幅が小さいものから順にラッピングが発生しているため、各周波数での屈折変位量を正しく算出できていると考えられる。

次に、これら3つの屈折変位量を利用して、ラッピング問題の解決を図る。投影している3つの周波数のストライプパターンのスリット幅が既知なので、ラッピング問題が起こっている画素では屈折変位量の候補が複数あることになる。そこで、3つの周波数の屈折変位量の候補の分散が最も小さくなる値を探してアンラッピングする。この方法で求めた屈折変位量を可視化した結果を図 41 に示す。

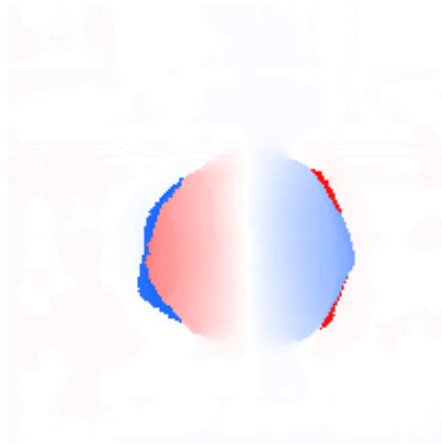
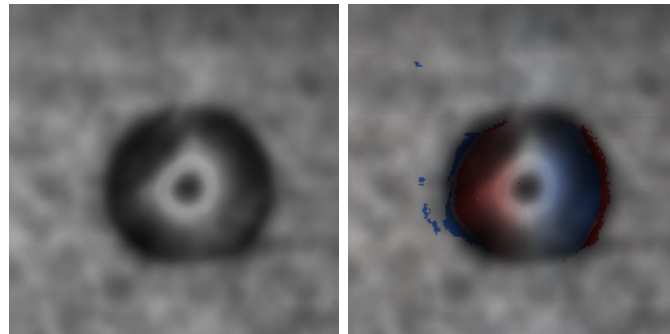


図 41: 3つの周波数からアンラッピングした屈折変位量の可視化結果。

図 41 では、ガラスビーズの中心部が白く、左右にいくにつれて赤と青の色付けされる結果となった。図 40 の周波数 2 や周波数 3 のような屈折変位量のラッピングの発生はみられない。一方で、ガラスビーズの外縁部や背景の一部に、本来の屈折変位量と考えられる色とは全く異なる色付けが行われている。この原因として、ガラスビーズの外縁部において観測される光量が他の箇所と比べて小さく、各周波数での屈折変位量の算出が不安定であることがあげられる。また、本実験で行ったアンラッピングの方法は非常に単純なものであるため、アンラッピングの手法を工夫することで解決できる可能性がある。

続いて、本実験で撮影した図 39 の画像群から 3.4 節の式 (2) によって推定した明るさの画像を図 42 (a)、アンラッピングした屈折変位量の可視化結果と明るさ推定結果の重畳表示を図 42 (b) に示す。

通常のスライプパターンと異なり、画像の大部分が黒あるいはグレーでマス



(a) 明るさ画像.

(b) 重畳画像.

図 42: 複数周波数を埋め込んだストライプパターンによる屈折変位量と明るさ推定結果の重畳表示.

クされることから，全体的に暗い結果となっている．そのため，屈折変位量の疑似色情報の観察が困難となっている．そこで，推定された明るさを 1.5 倍に明るくして重畳表示した結果を図 43 に示す．

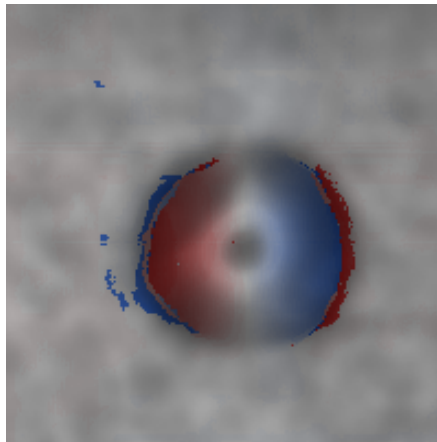


図 43: 推定された明るさを 1.5 倍した画像との重畳表示.

図 43 の結果を見ると，屈折変位量と推定された明るさの画像における輪郭が正しく重畳表示されていることがわかる．図 43 では人の手によって，明るさの度合いを調整した．本手法の実用化を考えると，観察に適した明るさに自動で調整する機能や，屈折変位量を含めた色相や彩度，明度の情報を観察者が望むように変更可能にすることなどが考えられる．

5. 実際のコンタクトイメージングを用いた細胞への適用

実際の細胞と開発中のレンズレス顕微鏡のプロトタイプを用いた実験について述べる.

5.1 撮影環境

実験に使用したレンズレス顕微鏡のプロトタイプの画像を図 44 (a) , 横から見た模式図を図 44 (b) に示す. 下部のイメージセンサの上に直接ウニの受精卵が乗っており, その周囲を蒸留水で満たしている. その上にストライプマスクを重ね, 上部から点光源で照らしている. イメージセンサの解像度は 4656×3480 , 画素間隔は $1.335 \mu\text{m}$ であり, 受精卵の直径は約 $100 \mu\text{m}$ である. ストライプマスクのスリット幅は $10 \mu\text{m}$, 点光源の直径は $10 \mu\text{m}$ となっている. このプロトタイプでは設計上ストライプマスクを移動させることが困難であるため, 点光源の移動により投影されるマスクパターンをシフトさせている.

点光源を $10 \mu\text{m}$ 間隔で移動させながら 90 回撮影を行った. 撮影された画像の一例を図 45 に示す.

5.2 屈折変位量の可視化

模擬環境での実験と同様にプロファイルの調査を実施した. 入力画像の左上の画素のプロファイルを図 46 に示す. プロファイル中にマスクパターンの明暗が表れ, 十分な画素値が得られていることを確認した. ただし, プロファイルの暗い部分が理想的な谷の状態になっていない. これは, ストライプマスクのスリット幅が非常に小さくなったことで, 回折の影響が現れたためであると考えられる. ただし, プロファイルの変形はパターンの明暗に比べて小さいので, 相互相関を用いることでプロファイルの変形の影響を吸収して屈折変位量を算出できると考えられる.

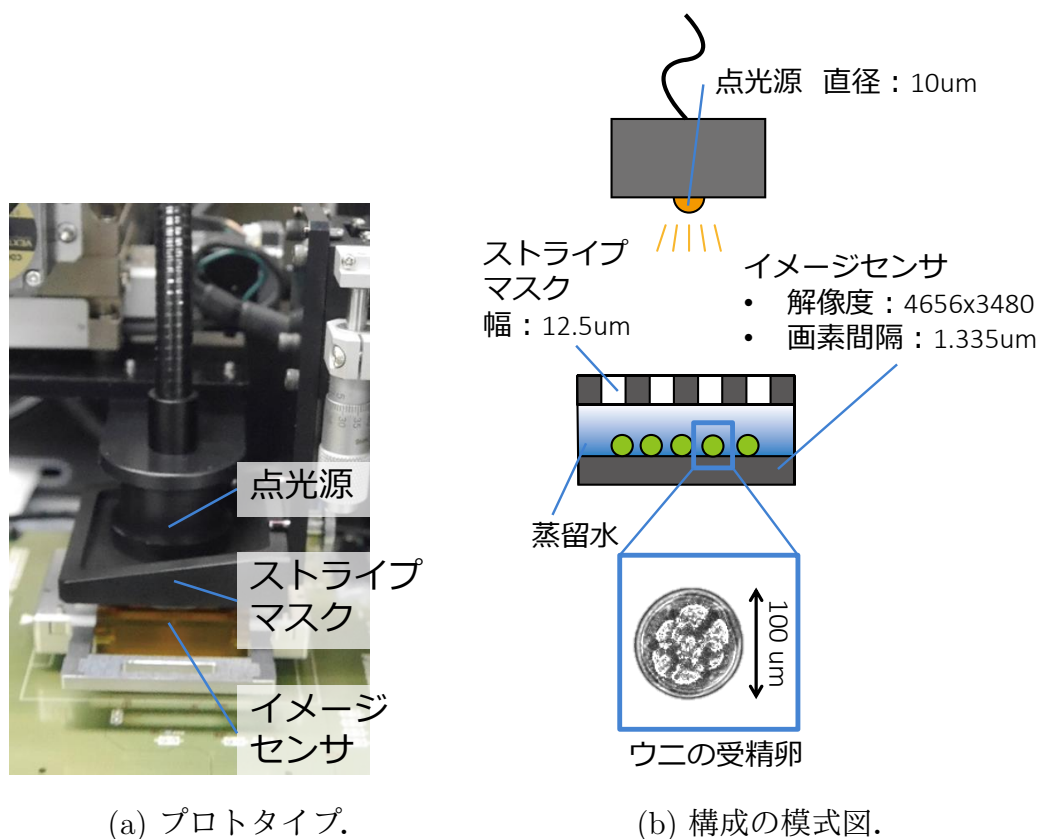


図 44: 実験に使用したレンズレス顕微鏡の構成及びプロトタイプ.

入力画像群の各画素においてプロファイルを作成し、画像上部の背景画素を本来の光線到達位置である基本プロファイルとして、3.3 節の式 (1) に基づいて屈折変位量を算出した。屈折変位量を疑似色で可視化した結果の画像を図 47 に示す。まず、細胞などが存在しない背景画素について、水色や青で色付けされている。この理由としては、投影されたストライプマスクのパターンが画像の Y 軸に対して傾きを持っていたためである。本実験での本来の光線到達位置である基本プロファイルは画像最上部 ($Y=0$) の画素を用いている。そのため、マスクパターンに傾きがあると、画像の下部に行けば行くほどそのずれが大きくなり、影響が強く表れている。しかしながら、この傾きは撮影時のセッティングによるものであり、提案手法は想定通りの出力を示していると考えられる。

続いて、受精卵では、受精卵内部の割球と呼ばれる細胞について、左側が青く、

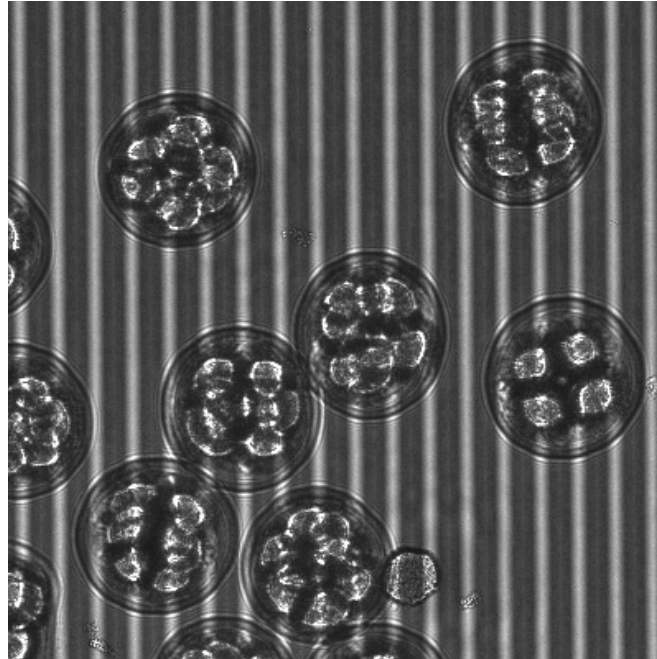


図 45: レンズレス顕微鏡で撮影された細胞の画像の一例

右側が赤く色付けされる結果となった．このことから，割球は球状であることが見て取れる．また，受精卵の受精膜について色付けされていない理由として，受精卵の屈折率と媒質である蒸留水の屈折率に大きな差がなく，受精膜と割球の屈折率の差の方が大きいため，後者の影響が支配的になっていると考えられる．

以上の結果から，本手法を用いることで実際の細胞に対しても屈折変位量を求められることが確認できた．

5.3 明るさ推定

5.1 節で撮影した入力画像に対して，3.4 節の式 (2) に示す明るさ推定手法を適用した結果を図 48 (a) に示す．割球周辺に割球の影が落ちていることなどから，細胞の像が画素値の強度として観測できていることがわかる．続いて，明るさ推定結果に屈折変位量の擬似色を重畳した画像を図 48 (b) に示す．細胞の像と疑似色が適切な位置に表示されることで，各割球の左側が青く，右側が赤く色付けされていることがわかる．ただし，ストライプマスクの傾きの影響によって色付

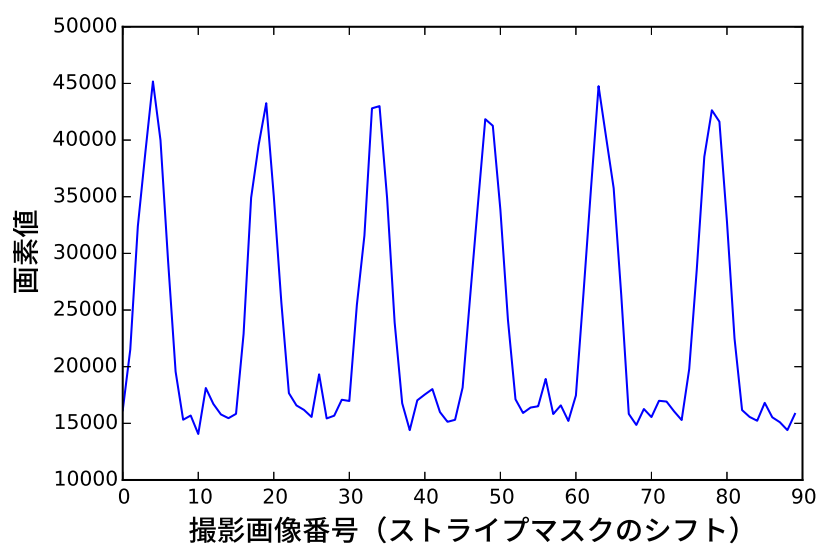


図 46: 入力画像群の左上画素のプロファイル.

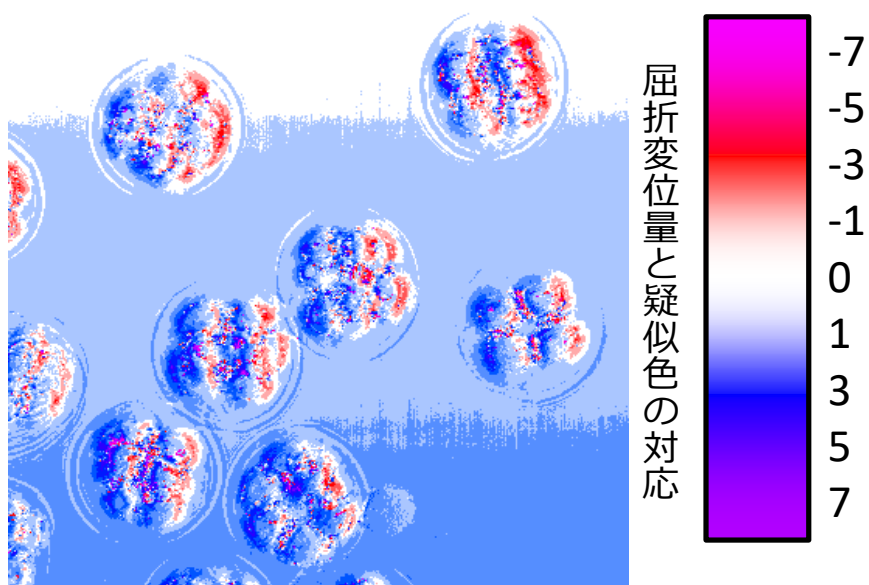
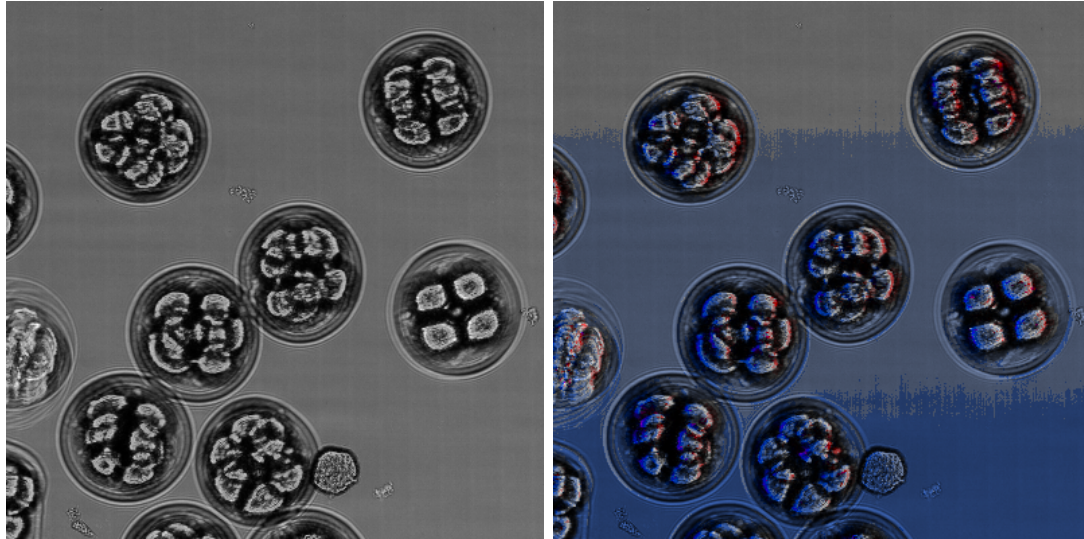


図 47: 屈折変位量の可視化結果.

けが青の方向にシフトしており，割球の右側の赤で色付けされるべき領域が減少している．明るさ画像と屈折変位量可視化画像それぞれ単体での観察に比べ，複

数細胞による構造を観察しやすくなっていると考えられる。



(a) 提案手法による明るさ画像.

(b) 重畳画像.

図 48: 明るさ画像と，屈折変位量の重畳表示結果.

5.4 背景の色付きへの対応

受精卵に対する屈折変位量の可視化結果における背景画素の色付きに関しては，画像最上部のみを基本プロファイルとしたことが原因である．しかし，ストライプマスクとイメージセンサの厳密な位置関係を必要とすると，本手法の簡便性が失われる．各画素での厳密な基本プロファイルは，細胞などが存在する場合には当該画素から求めることはできないため，何らかの方法によって基本プロファイルを設定する必要がある．

そこで，4.2 節で述べた，斜め方向のストライプパターンを用いる方法を利用する．背景の色付きは，ストライプマスクのわずかな傾きが原因であると捉えると，ヒストグラムを用いた屈折変位量の補正を同じように適用できる．

図 47 の結果に対して，傾きの補正処理を加えた画像を図 49，明るさ画像との重畳表示結果を図 50 に示す．明るさ画像は図 48 (a) と同じである．

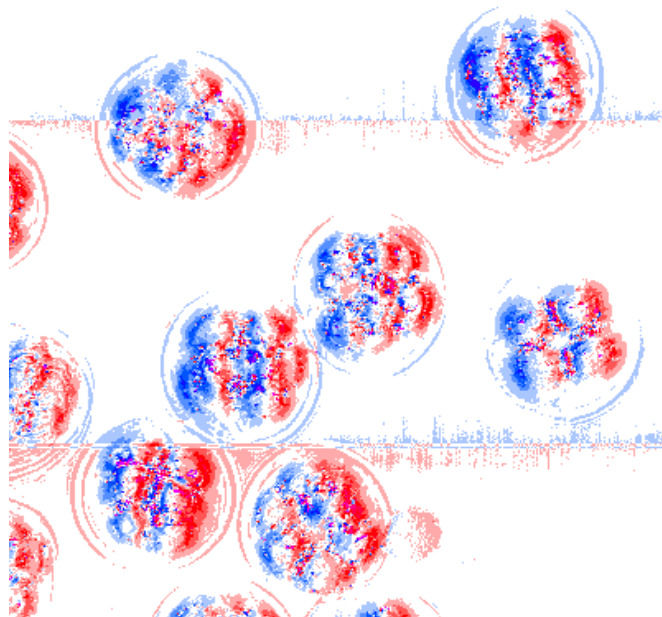


図 49: 傾きの補正結果.

図 49, 図 50 の結果では, 図 47 での色付きの境目付近において, 背景画素である白ではなく薄い赤や薄い青が残っている. この薄い赤と青に割り当てられた屈折変位量は比較的小さな値であるため, 色付けのルールを変更することによって解決を試みる. 具体的には, 屈折変位量と疑似色の対応を示すカラーバーにおける, 0 付近の小さな値も白で描画する. 色付けルールの例として, 図 51 と図 52 の 2 種類の結果を示す.

図 51 の色付けルールでは, 図 47 での屈折変位量 $+1$ と -1 に単純に白を割り当てたものである. 一方, 図 51 では屈折変位量 $+1$ と -1 を白とし, そこからグラデーションとなるように新たに色を設定し直したものである. いずれの結果においても背景部分の色付きは解消されており, 細胞部分のみ赤や青に色付けされている.

これらの結果と明るさ画像の重畳表示結果をそれぞれ図 53, 図 54 に示す.

図 48 (b) と比較して, 図 53, 図 54 の結果では受精卵部分のみに色付けされていることがわかる. これにより, 内部の割球の構造を観察しやすくなっていると

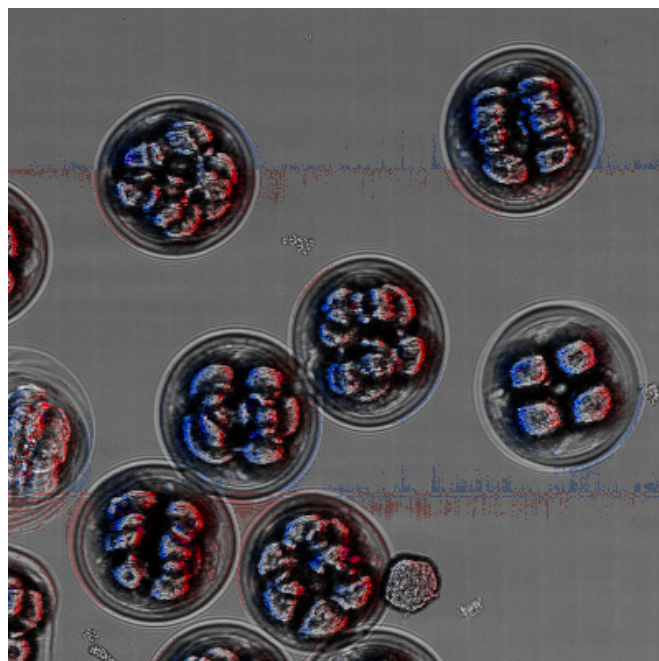


図 50: 傾きの補正結果と明るさ画像の重畳表示.

考えられる.

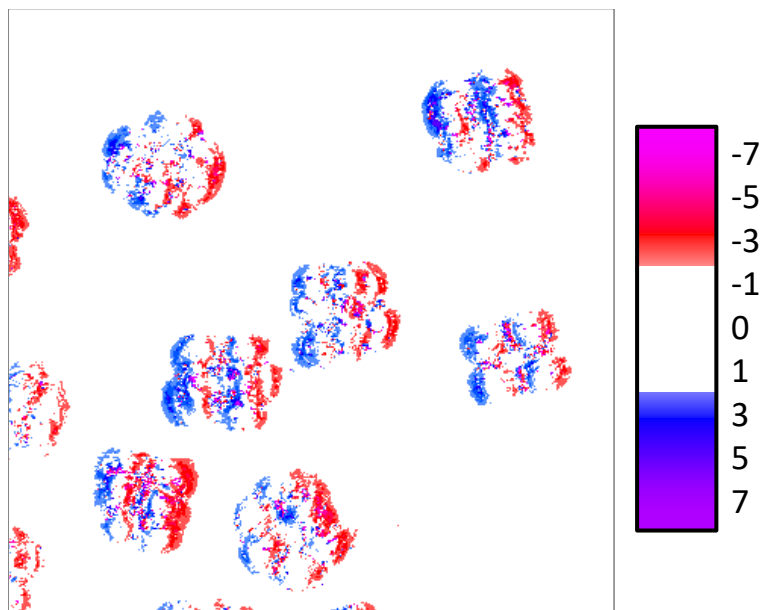


図 51: 傾きの補正結果（色付け変更 1）.

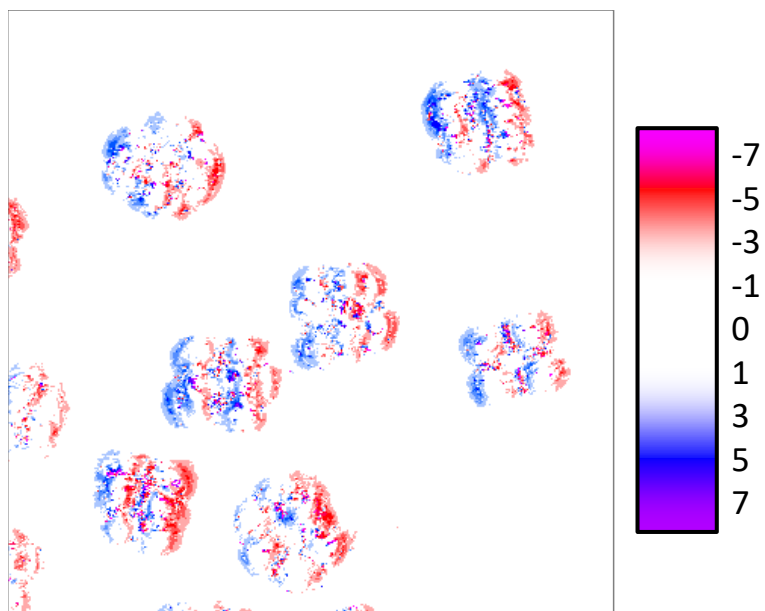


図 52: 傾きの補正結果（色付け変更 2）.

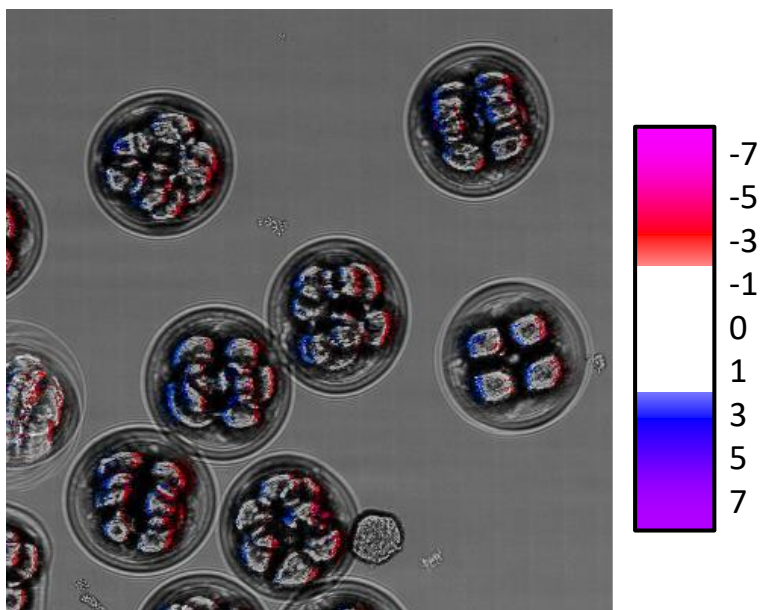


図 53: 屈折変位量と明るさ画像の重畳表示結果（色付け変更 1）.

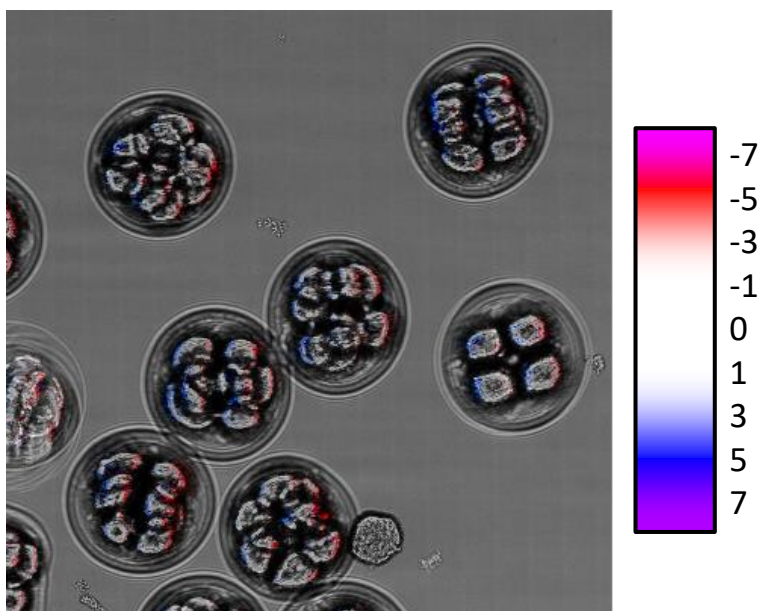


図 54: 屈折変位量と明るさ画像の重畳表示結果（色付け変更 2）.

6. おわりに

本稿では、細胞の構造を観察する際の手助けとなる新たな情報として屈折変位量を算出し、可視化する手法を提案した。加えて、明るさを推定する手法を提案し、通常の観測と同等の細胞の像を復元しつつ、新たな情報を付加することができた。

ガラスビーズを用いた模擬環境での実験によって屈折変位量を可視化し、被写体の表面の角度に応じて彩度が変化し、屈折の方向により色相を使い分けて色付けされることを確認した。さらに、屈折変位量の撮像方法の拡張により、2次元の屈折変位量の撮像とラッピング問題の解決を試みた。2次元への拡張により、円柱と球に異なる色付けがされ、区別を容易にすることができた。屈折変位量のアンラッピングによって、表現可能な屈折変位量の範囲を大幅に拡大することに成功した。また、レンズレス顕微鏡のプロトタイプと受精卵を用いた実験においても、受精卵内部の割球に色付けされることを示し、実際の細胞に対しても本手法が有効であることを確認した。加えて、模擬環境での実験と細胞に対する実験の双方で、明るさ推定手法により生成した画像との重畳表示を達成した。実際の細胞の観察において、本手法を用いて出力した屈折変位量可視化結果を提示することにより、細胞の形状やハリを評価する新たな指標の1つとすることができると考えられる。

また、本稿で実験の対象としたガラスビーズやレジン細工は比較的単純な形状の物体であった。そのため、屈折の回数や屈折以外の光学的な現象が少なく、理想的な実験環境を構築することができるものであった。実際の細胞を用いた実験においても、細胞同士の重なりのない単純な条件において、屈折変位量を撮像できることを確認した。一方で、内部に空洞がある、物体が重なっているなどの複雑な条件においては、屈折変位量の撮像が不安定になることがわかった。実際の細胞においても、細胞が複雑に重なり合う箇所では、不自然な屈折変位量がしばしば観察される。これについては本手法の制限となるが、一方でこのような屈折変位量の撮像が不安定な箇所は光線の経路が複雑であるという情報を得ることができるため、細胞観察においては形状が単純でないとして、さらなる観察が必要と判断する一助となるのではないかと考えられる。

今後の展望として、様々な被写体を用いた本手法の検証が挙げられる。本手法は物体の屈折率の差と光線の入射角度によるものであり、細胞以外の透明物体にも適用可能であると考えられる。他の透明物体の形状推定に比べて簡便であり、広い適用範囲を持つと考えられる。様々な形状の物体に本手法を適用することで、応用可能な分野を模索するとともに実用性を評価することが考えられる。また、模擬環境においては提案手法の拡張により、2次元の屈折変位量の撮像やラッピング問題の解決を示したが、これらの手法が実際のコンタクトイメージングでも効果的に働くかを実験により検証する必要がある。加えて、提案手法による屈折変位量の算出に相互相関を利用している効果として、ある程度のプロファイルの形状の変動があった場合でも適切にシフト量を求められることがあげられる。コンタクトイメージングでは屈折以外にも散乱や回折など様々な光学現象が発生し、その複合的な要因による最終的な光線の到達位置の変化が屈折変位量となる。これらの光学現象の影響によるプロファイルの変動に対して、相互相関が有効に働いていることを検証することが求められる。

謝辞

本修士論文は、筆者が奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科博士前期課程在学中に、光メディアインタフェース研究室において行った研究をまとめたものです。本研究は、指導教員を引き受けてくださった先生方をはじめとする、数多くの方々からのご支援によるものです。この場を借りて御礼申し上げます。光メディアインタフェース研究室教授向川康博先生には本研究を実施する機会を頂き、指導教員として様々なご指導を頂きました。ここに深謝の意を表します。本研究の副査を引き受けて頂いた生体医用画像研究室教授佐藤嘉伸先生に感謝致します。本研究を実施するにあたり、数多くのご助言を頂き、終始熱心なご指導を頂いた准教授舩富卓哉先生に感謝の意を表します。助教久保尋之先生には、議論を通じて多くの意見を頂き、研究に対する取り組み方など研究活動全般において助けて頂きました。心より感謝いたします。実験の実施や論文の記述に至るまで、非常に多くのご指導を頂いた助教田中賢一郎先生に感謝の意を表します。パナソニック株式会社先端研究本部加藤弓子様、澤田好秀様には、本研究の実験へのご協力と数多くの情報の提供を頂くとともに、非常に有益なご助言を頂きました。深く感謝申し上げます。最後に、活発な意見交換など研究生活全般において日頃からお世話になりました光メディアインタフェース研究室の皆様に感謝いたします。

参考文献

- [1] G. Binnig, C. F. Quate, and Ch. Gerber. Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, Vol. 56, pp. 930–933, 1986.
- [2] Mohit Gupta, Shree K. Nayar, Matthias B. Hullin, and Jaime Martin. Phasor imaging: A generalization of correlation-based time-of-flight imaging. *ACM Transactions on Graphics*, Vol. 34, No. 5, pp. 156:1–156:18, 2015.
- [3] Seiji Inokuchi, Kosuke Sato, and Fumio Matsuda. Range imaging system for 3-d object recognition. In *Proc. International Conference on Pattern Recognition*, Vol. 2, pp. 806–808, 1984.
- [4] Marc Levoy, Ren Ng, Andrew Adams, Matthew Footer, and Mark Horowitz. Light field microscopy. *ACM Transactions on Graphics (TOG)*, Vol. 25, No. 3, pp. 924–934, 2006.
- [5] Xing Lin, Jiamin Wu, Guoan Zheng, and Qionghai Dai. Camera array based light field microscopy. *Biomedical Optics Express*, Vol. 6, No. 9, pp. 3179–3189, 2015.
- [6] Shree K. Nayar, Gurunandan Krishnan, Michael D. Grossberg, and Ramesh Raskar. Fast separation of direct and global components of a scene using high frequency illumination. In *Proc. ACM SIGGRAPH 2006 Papers*, pp. 935–944, 2006.
- [7] J. Salvi, S. Fernandez, T. Pribanic, and X. Llado. A state of the art in structured light patterns for surface profilometry. *Pattern Recognition*, Vol. 43, No. 8, pp. 2666 – 2680, 2010.
- [8] G. S. Settles. *Schlieren and Shadowgraph Techniques: Visualizing Phenomena in Transparent Media*. Engineering online library. Springer Berlin Heidelberg, 2001.

- [9] Kenichiro Tanaka, Yasuhiro Mukaigawa, Hiroyuki Kubo, Yasuyuki Matsushita, and Yasushi Yagi. Recovering Transparent Shape from Time-of-Flight Distortion. In *Proc. 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pp. 4387–4395, 2016.
- [10] G. Wetzstein, R. Raskar, and W. Heidrich. Hand-Held Schlieren Photography with Light Field Probes. In *Proc. 2011 IEEE International Conference on Computational Photography (ICCP)*, 2011.
- [11] G. Wetzstein, D. Roodnick, R. Raskar, and W. Heidrich. Refractive Shape from Light Field Distortion. In *Proc. International Conference on Computer Vision (ICCV)*, 2011.
- [12] 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. 電子情報通信学会技術研究報告 (医用画像), 第 115 巻, pp. 135–139, 2016.
- [13] 長野主税. 光学顕微鏡の技術系統化調査. 国立科学博物館技術の系統化調査報告, 第 24 巻, pp. 308–402, 2017.
- [14] 國吉房貴, 船富卓哉, 久保尋之, 澤田好秀, 加藤弓子, 向川康博. コンタクトイメージングにおける視認性向上のためのリフォーカシングと高周波照明法の統合. 情報処理学会研究報告 (CVIM), 第 206 巻, pp. 1–8, 2017.