

Lens Free Imagerの画像キャプチャシステムの設計と実装

竹本 正志^{1,2,a)} 鈴木 涼太¹ 梅野 克彦² 矢代 昌之² 龍池 哲也² リチャード スタール³
ヒアート バンミエールベック³ 三好 健文⁴ 中條 拓伯^{1,b)}

受付日 2016年11月18日, 採録日 2017年2月9日

概要: 本論文では実用的かつ可搬性を持つ Lens Free Imager (LFI) の実現に必要な検討事項をあげ、これらを解決するための LFI 画像キャプチャシステムのプロトタイプを設計・実装し、評価を行った。特に、光源とカメラセンサに着目し、既存のリコンストラクショナルゴリズムにより LFI システムを設計し、様々な要求に柔軟に対応できるコンポーネントの実現に向け、汎用機器としての LFI 画像キャプチャシステムを提案する。さらに、装置の機械的精度、画像取得方式、リコンストラクション時のパラメータとの相関関係を明らかにし、多岐にわたるシステムの構成やパラメータに対し、汎用的に利用できるコンポーネントとして提案することで、LFI 機器の今後の可能性を示す。

キーワード: デジタルホログラフィ, 顕微鏡, 組込みシステム, 画像処理

Design and Implementation of Image Capturing System of a Lens Free Imager

MASASHI TAKEMOTO^{1,2,a)} RYOTA SUZUKI¹ KATSUHIKO UMEMO² MASAYUKI YASHIRO²
TETSUYA RYUCHI² RICHARD STAHL³ GEERT VANMEERBEECK³ TAKEFUMI MIYOSHI⁴
HIRONORI NAKAJO^{1,b)}

Received: November 18, 2016, Accepted: February 9, 2017

Abstract: In this paper, we have introduced matters to be investigated in order to implement a practical and portable lens free imager (LFI). For the purpose of overcoming the matters, we have designed, implemented and evaluated a prototype of an LFI image capturing system. We focus on a laser diode as a light source and a camera sensor with an existing reconstruction algorithm to design the capturing system as a general purpose device in order to correspond to various kinds of requirements. We have evaluated parameters related among mechanical accuracy, capturing mechanisms as well as parameters in reconstructing for the future LFI system.

Keywords: digital holography, microscopy, embedded system, image processing

1. はじめに

今後の再生医療の発展の鍵を握る人工多能性幹細胞の研究が急速に進んでいるなか、2006年にiPS細胞(人工多能

性幹細胞: induced Pluripotent Stem cells)が開発されて以来、培養細胞の成長度やその健康度を短時間で効率的に評価するための技術への期待は高まり続けている。また、血中を循環するがん細胞を検出する検査技術が進歩し、がんの再発予測や治療効果の評価に利用され、検査機器の性能向上に対する研究開発が進められている。このような細胞生物学や、細胞医療分野における細胞レベルの研究や治療においては、透明な細胞などのサンプルを観察するための手段として、これまで位相差顕微鏡をはじめとした各種光学式顕微鏡を用いた形態学的な解析が行われてきた。

従来、光学式顕微鏡は、細胞を壊さず、生きたままの状態といった非侵襲の観察方法として広く活用されてきた。しかしながら、これまでの顕微鏡にはレンズやミラーなど

¹ 東京農工大学
Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei,
Tokyo 184-8588, Japan

² 株式会社ビート・クラフト
BeatCraft, Inc., Sumida, Tokyo 130-0013, Japan

³ IMEC vzw, Belgium
IMEC (Interuniversity Microelectronics Centre), Heverlee
3001, Belgium

⁴ わさらば合同会社
Wasalabo, LLC, Japan, Machida, Tokyo 194-0054, Japan

a) lesser@beatcraft.jp

b) nakajo@tuat.ac.jp

多数の光学部品が高精度に組み上げられ、その構造が複雑なため製造コストが高くなり、さらに小型化が困難であるといった問題点がある。そのため細胞解析においては、長時間連続稼働を可能とし、さらに、一度に大量の細胞の高精度画像を取得し、細胞の成長度・健康度を判断できる画像検査手法が求められている。

そこで現在、レンズを用いずに、対象サンプルに照射したレーザ光を撮影し、その干渉波から得られる画像データに対する計算処理により対象サンプル画像を生成（リコンストラクション）する Lens Free Imager (LFI) が、上記問題を克服する次世代の顕微鏡技術として期待されている。

この LFI 技術の登場以来、LFI を活用した人工幹細胞の研究 [1] やがん治療のための血液検査で必要になるマイクロ流路の研究 [2]、さらには、製薬会社でのドラッグスクリーニングで必要となる心筋細胞に関する研究 [3] など、様々な応用が検討されている。

文献 [1] と文献 [2] の画像キャプチャ機構のうち、レーザダイオードコントローラ (LDC) 以外の部分については、我々が設計・開発を担当した。ここでは、汎用の組み込み評価ボードとカメラセンサを用い、画像のキャプチャと市販の光学実験用レーザ機器の制御を試みた。この開発過程において、異なる目的サンプルに対応するために試行を繰り返した中で、機器の制御精度に問題が生じた。今後 LFI の応用が進み、高度化する要求に応えるためには、安価な部品で構成され、他の機器との接続が容易な汎用性の高いコンポーネントとして利用可能な LFI キャプチャシステムが必要であることを認識し、原理検証を試みた結果 [4]、本研究へと発展することとなった。

LFI 技術は、現在のところ、研究レベルにおいて原理検証が試みられている段階であり、実用的かつ可搬性を持つシステムの実現に向けては、考慮すべき種々のトレードオフを検討する必要がある。これまでその点については議論されていなかった。ここでいう実用的とは、LFI による画像が、光学式顕微鏡を利用してきた細胞生物学者や、細胞医療分野の研究者らによる検査上の判断や診断に足る十分な画質を有することを意味する。また、可搬性とは、人工幹細胞やがん細胞観察以外にも、室内の花粉量の測定、畜産における種付け、生乳の成分分析などのための計測器に容易に組み込めるといった小型化と接続・設置の適応性を意味する。このための検討事項を以下に示す。

- (1) 光源とカメラセンサのポータビリティ (可搬性)
- (2) 光源、カメラおよびサンプルの位置決め求められる機械的精度
- (3) リコンストラクションされた画像の分解能 (観察可能な最小サイズ)
- (4) リコンストラクションにおけるパラメータの画質への影響
- (5) 画像取得速度とリアルタイム性

以上に対し、システムの構成やパラメータは多岐にわたり、それぞれの目的に合わせて専用機を個々に設計するよりも、汎用的に利用できるコンポーネントを特定し提案できれば、LFI 機器の可能性はさらに広がっていくものと考えられる。

LFI において、画像取得に重要なソフトウェア要素として、リコンストラクションのためのアルゴリズムがある。アルゴリズム自体はハードウェアとは独立して考案・開発されているが、上記検討事項が複雑に絡み合い、生成される画像の質を大きく左右する。

そこで本研究では、光源とカメラセンサに着目し、既存のリコンストラクションアルゴリズムにより LFI システムを設計し、異なる要求に柔軟に対応できるコンポーネントの実現に向け、汎用コンポーネントとしての LFI 画像キャプチャシステムを提案する。さらに、装置の機械的精度、画像取得方式、リコンストラクション時のパラメータとの相関関係を明らかにし、今後の応用の指針とすることを目的とする。

以下、2 章では LFI の基本原理について述べた後、3 章において関連研究について説明する。4 章で LFI 画像キャプチャシステムについて説明し、5 章でリコンストラクションのパラメータが、生成画像の画質に与える影響についての評価結果と考察を示す。最後に 6 章で本論文のまとめを行う。

2. LFI の基本原理

2.1 LFI の仕組み

図 1 に LFI の基本的な仕組みを示す。透明なサンプルを光が通過するとき、屈折率の異なる物質どうしの界面で位相が変化する。サンプルを通過した透過光と、その周囲を迂回した回折光に位相差が生じるため干渉を起こし、その波が周囲に拡散する。この干渉波を CMOS カメラセンサで捕えたキャプチャ画像データから、計算処理によってレーザ光が通過したサンプル自体のターゲット画像を生成する。この画像生成をリコンストラクションと呼ぶ。LFI の主要なコンポーネントは、キャプチャ画像データを処理するための計算機部を除けば、光源とカメラセンサのみであり、観察対象サンプルをその間に配置する。

2.2 リコンストラクションのアルゴリズム

リコンストラクションのためのアルゴリズムには、フレネル変換法、角スペクトル法、畳み込み法があり、これらはすべて FFT (Fast Fourier Transform) をベースとしたものである [5]。本論文では、そのなかで最も計算量が少ない角スペクトル法に着目する。

図 2 にあるように、カメラセンサからキャプチャした 8 ビットグレースケールの Raw 画像 (図 3) に対して FFT による変換を施す。得られた複素数の 2 次元配列に式 (1)

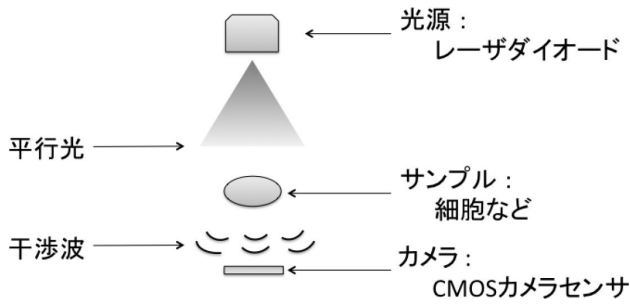


図 1 LFI の仕組み

Fig. 1 A mechanism of an LFI.

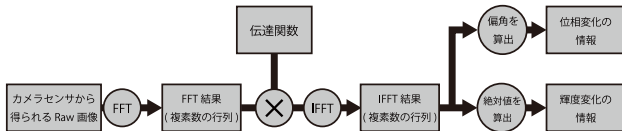


図 2 リコンストラクションの流れ

Fig. 2 Flow of reconstructing an image.

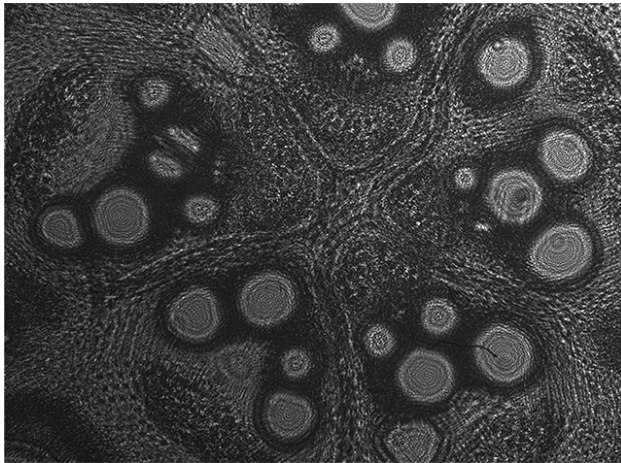


図 3 Raw：キャプチャした画像データ

Fig. 3 RAW: captured image data.

によって得られる伝達関数を乗算し、IFFT (Inverse FFT) により逆変換を行う。

演算結果の複素数 2 次元配列は、複素数の絶対値が振幅、偏角が位相を表す。これらのデータは浮動小数点数値の配列であり、可視化のため 8 ビットグレースケールに変換した輝度変化 (図 4) と位相の変化 (図 5) を表す 2 種類の画像が生成される。

$$G_{AS}(f_x, f_y) = \exp\left(jkz\sqrt{1 - (\lambda f_x)^2 - (\lambda f_y)^2}\right) \quad (1)$$

j：虚数単位

k：波数 (= $2\pi \div \lambda$)

z：サンプルと CMOS カメラセンサの距離

λ ：レーザーの波長

$$f_x : f_x = \frac{n}{N \cdot px}$$

N：CMOS カメラセンサの水平方向の画素数

px：CMOS カメラセンサの水平方向の画素ピッチ

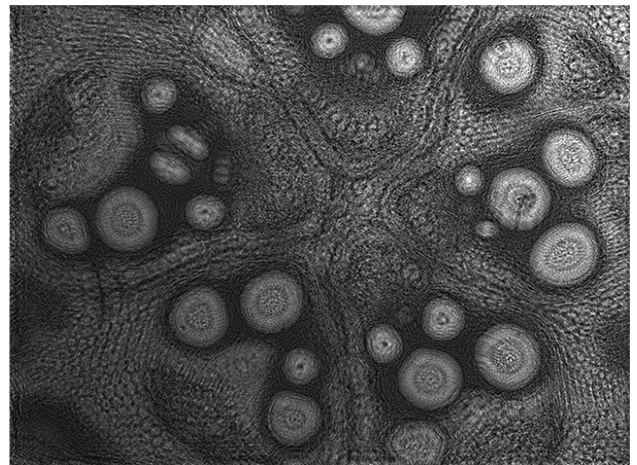


図 4 Intensity：振幅情報

Fig. 4 Intensity of light.

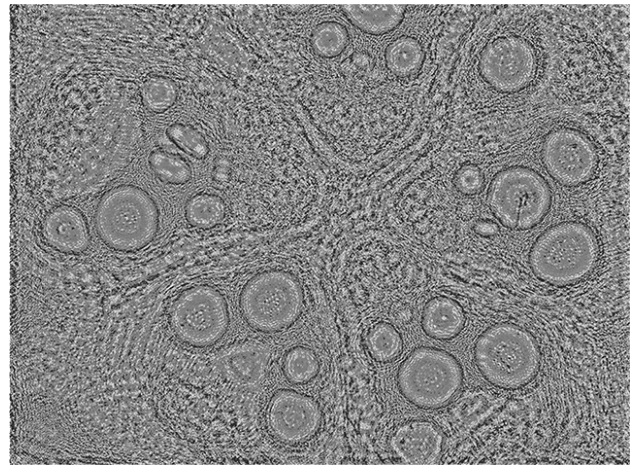


図 5 Phase：位相情報

Fig. 5 Phase of light.

$$n : n = -\frac{N}{2} + 0.5, -\frac{N}{2} + 1.5, \dots, \\ -1.5, -0.5, 0.5, 1.5, \dots, \\ \frac{N}{2} + 1.5, \frac{N}{2} + 0.5$$

$$f_y : f_y = \frac{m}{M \cdot py}$$

M：CMOS カメラセンサの垂直方向の画素数

py：CMOS カメラセンサの垂直方向の画素ピッチ

$$m : m = -\frac{M}{2} + 0.5, -\frac{M}{2} + 1.5, \dots, \\ -1.5, -0.5, 0.5, 1.5, \dots,$$

$$\frac{M}{2} + 1.5, \frac{M}{2} + 0.5$$

3. 関連研究

デジタルホログラフィは、物体に光を当てたその反射光に、同じ光源の光を別の角度から干渉させてできる干渉縞をカメラセンサで記録し、計算処理によって画像を得る

技術であり、これまで、これを応用した顕微鏡開発事例が報告されている。それに対し LFI は、物体に当たった透過光と回折光によって生じる干渉縞から、同様に計算処理によって画像を得るものである。

京都工芸繊維大学では、デジタルホログラフィ技術を利用した顕微鏡の研究開発 [6] を行っているが、ビームスプリッターやミラーなどの光学部品を用いているため高コストで、小型化も難しい。十分な高画質画像が取得可能ではあるものの、位相差顕微鏡に置き換わるほどまでには期待できない。その後、小型化には成功したが [7]、多数の光学部品を使っているため低コスト化が困難であり、多数の光学部品の設計や調整が煩雑である。

千葉大学におけるデジタルホログラフィック顕微鏡では、GPU を利用して実時間処理への応用を試みたが [8]、使用しているカメラセンサの解像度が $1,360 \times 1,024$ と小さく、ピクセルピッチが縦横ともに $4.65 \mu\text{m}$ と粗いため、リコンストラクションにおいて十分な画質が得られていない。後に、市販されている汎用の機材を用いて、単純な構造を持ったコストパフォーマンスの高い LFI を実現し [11], [12] たが、機械シャッターがないことから、センサが受光状態にある間は随時露光しているため、被写体が動いているとぶれが生じ、マイクロ流路内の細胞などといった、静止状態にないサンプルの観察には不向きであると考えられる。

米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校の研究チームは、液体に浮遊する微小な物体の誘導実験を観察するために LFI を応用している [9]。しかしながら、LFI とはいっても、光学部品を用いており、限定された環境下での使用を前提としているため、リコンストラクションを行わず、レーザー照射から得られる Raw 画像をそのまま採用したものであり、実用性の観点からは十分とはいえない。

ベルギーの研究機関 IMEC に所属する共著者である Stahl らは、LFI が細胞観察に十分な性能を持っていることを明らかにした [1]。実験機は、複数の細胞で構成する細胞コロニーを観察するために、波長の異なる 4 つのレーザーを光ファイバとフォトカップラで束ねて、交互に発光させて撮影を行うものである。4 枚のキャプチャ画像データを用い、波長の違いによって生じる差分を利用した繰返し処理をリコンストラクションに加えることで、生成される画像の質を向上させている。後の検討において、4 つのレーザーを 1 つに集約することで部品点数を減らす構成が可能であることを見出した。

さらに文献 [2] では、直径 1mm 以下のマイクロ流路に血液細胞を流して LFI で撮影する手法が紹介されている。マイクロ流路に浮遊する細胞を撮影するには、短い露光時間に対する同期精度が求められる。これらの要求に対しては、汎用品を用いた試作機では機能が足りず、本論文で提案するキャプチャシステムはその点を解決するものである。

シンガポールのニースン工科大学では、湾曲したミラー

を利用して LFI の小型化を実現している [10]。しかしながら複雑な光学設計を用いており可搬性は低い。

ハーバード大学医学部における LFI は、LED とピンホールを組み合わせて光源を作っており、構造はシンプルで汎用性が高い [13]。この LFI は機械シャッターなしで LED を常時点灯する構成であって静止状態の撮像向けである。LED 常灯は LED 温度を上昇させ発光波長を不安定にするため好ましくない。高速で移動するサンプルを撮影するためには構成改良が必要と考えられる。

4. LFI 画像キャプチャシステムの設計と実装

研究や工業用途向けにカメラやレーザーを制御するために市販機器を組み合わせることで、システム構築に要する時間を大きく短縮できるが、レーザーの発光のタイミングや発光時間を調整したり、カメラセンサとの正確な同期を行える高性能なものは、機器のサイズが大規模なものとなり、コストに見合わない。そこで我々は、組み込み技術を活用し、新規にハードウェアを設計することで、性能と可搬性、および最適なコストパフォーマンスを目指した。本章では、実用的な LFI システムの実現に向け、1 章で示した検討事項の中で、(1)~(4) に焦点をあて、可搬性を持つ画像キャプチャシステムを設計・構築し、各種パラメータの特定を試みる。

4.1 基本設計

図 6 に画像キャプチャシステムの構成を示す。キャプチャシステムは、レーザーダイオード (LD)、レーザーダイオードコントローラ (LDC)、カメラセンサおよびキャプチャデバイス、さらにキャプチャデバイスや LDC と USB を介して接続される PC からなる。キャプチャデバイスと LDC は、独立したモジュール構成をとることにより、レーザーダイオード光源とカメラセンサを自由に組み合わせることにより、検討事項 (1) に対応する。

撮影タイミング、レーザー出力などの諸設定、画像データの取得は、USB 経由でホスト PC から行う。撮影時の LDC

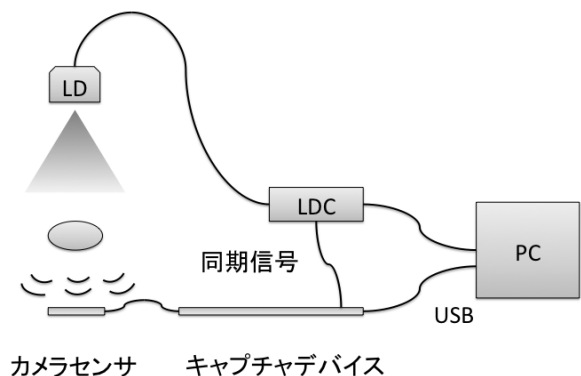


図 6 LFI キャプチャシステムの構成図

Fig. 6 LFI capturing system.

表 1 リコンストラクションの計算負荷

Table 1 Calculation times in reconstruction.

	実行時間	割合
FFT	1427 ms	19.8 %
伝達関数	2857 ms	39.6 %
行列積	519 ms	7.2 %
IFFT	1446 ms	20.1 %
その他	957 ms	13.3 %
合計	7206 ms	100.0 %

表 2 カメラセンサの仕様

Table 2 Specs of the camera sensor.

メーカ	東芝
型番	T4K37
ピクセルピッチ	1.12 μm
解像度@FPS	4,208 × 3,120 @30, 1,920 × 1,080 @60
インタフェース	MIPI CSI-2

とキャプチャデバイス間の同期は、ホスト PC を介さず、リアルタイム性を確保するためにモジュール間で行う。

また、リコンストラクションは、角スペクトル法を採用し、その実装には、オープンソースライブラリの fftw [14] を利用した。これより、リコンストラクションの実行時間は、キャプチャシステムと独立して計測が可能であり、ここでは FFT 実行時のゼロパディングなど、実行性能に関係する特別な実装は行っていない。

表 1 は Apple 社の MacBook Air (Mid 2012, 2 GHz Intel Core i7, 8 GB, OSX 10.10.5) において、リコンストラクション処理をシングルスレッドで実行し、図 2 中にある主要な計算の実行時間を計測したものである。

4.2 詳細設計と実装

4.2.1 カメラセンサ

カメラセンサの選択は、リコンストラクションによって得られる画像の質に大きく影響し、検討事項 (4) に対応するため、設計当時流通しているなかで最も画素ピッチが小さく、解像度の大きいカメラセンサを選択した。その仕様を表 2 に示す。

4.2.2 キャプチャデバイス

キャプチャデバイスは、LDC とカメラセンサを同期させ、取得した画像を PC に送る重要なモジュールである。近年のスマートフォンなどのモバイル機器用のカメラセンサは、ほぼすべてインタフェースが MIPI CSI-2 を採用しており、そこで、ARM コアと MIPI CSI-2 to USB3 ブリッジを搭載した Cypress 製の SoC CYUSB3065 を採用した。図 7 に CYUSB3065 とカメラセンサと LDC、さらに PC を接続した画像キャプチャのためのプロトタイプブロック図を示し、キャプチャデバイスを図 8 に示す。

正方形の基板に搭載したカメラセンサは上部中央に位置

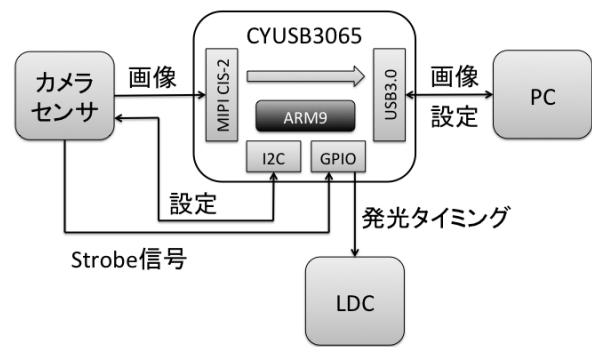


図 7 画像キャプチャ・プロトタイプブロック図

Fig. 7 Block diagram for the prototype for image capturing.

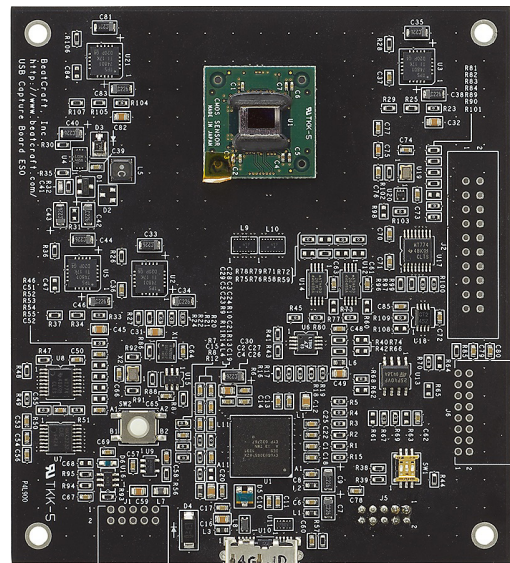


図 8 画像キャプチャシステム・プロトタイプの基板

Fig. 8 PCB of the prototype of image capturing system.

し、汎用コネクタによってキャプチャデバイスに接続される。この汎用コネクタ搭載基板にカメラセンサを実装し、初期化や設定など機種依存部分をファームウェアに追加することで、新たに接続するカメラセンサによる機能向上が可能になる。

提案する画像キャプチャシステムは、ホスト PC からは USB Video Class として認識できるようになっているため、ドライバは Windows の汎用ドライバを利用し、DirectShow の Filter でキャプチャデバイスを実装する。Video Control Interface を用いることで、解像度の設定と、撮影タイミングの伝達を行っており、PC からのキャプチャ命令が届くと、カメラセンサにグローバルリセットを行い、キャプチャを開始する。その際、ストロボ信号は専用ケーブルを用いて LDC に転送する。

CMOS カメラセンサは、CCD のように一度にすべての画素の読み取りを行うことができず、左上から 1 画素ずつ読み込んで右端に到達すると次段の左端から読み込んでいくこととなる。しかしながら、読み込みが始まって、後方の画素はその間も光エネルギーの蓄積を行っているた

め、上方よりも下方、左方よりも右方の画素の輝度が高くなってしまふ。これを回避するためにデジタルカメラなどでは、機械的なシャッタとグローバルリセットを組み合わせている。グローバルリセットがかかると、センサのすべての画素が初期化されて新たに光エネルギーの蓄積が始まり、その直後に機械シャッタを短時間開閉する。読み出しが始まる前に露光を終了することで、すべての画素が同じ時間だけ露光され、ぶれや露出過多・不均一を防ぐことができる。

本実装では、機械シャッタを持たない代わりに、露出開始後にレーザを点灯し、読み出し開始前に消灯することで画素に照射する光の偏りを軽減している。

4.2.3 レーザダイオード (LD) とレーザダイオードコントローラ (LDC)

図 9 に LDC のブロック図を示す。LD は、その特性によって、発光が始まるまで数ミリ秒から数十ミリ秒の遅延があり、発光が安定するまでにさらに数ミリ秒を要する。カメラセンサからのストロボ信号を発行してから、実際に発光を開始し、発光時間を細かくリアルタイムに近い制御ができるように、LDC には PIC を利用する。

LDC とホスト PC とは USB 2.0 で接続し、シリアル通信で発光のための電流と発光時間を設定するためのコマンドを送る。PIC でコマンドを解釈し、I2C で D/A コンバータ (DAC) を設定する。PIC の GPIO でキャプチャデバイスからのストロボ信号を受け取ると内蔵タイマを用いて設定された時間だけ LD に電流を流し、その電流は $1\mu\text{A}$ 、発光時間は 1 ミリ秒単位で設定可能である。

LD には、特殊なものを用いず、DVD プレーヤなど家電製品で使用され、応答性が高く設計されている Panasonic 製 LNCT22PK01WW を利用した。CD にも対応できるよう、660 nm と 780 nm の 2 つの波長の LD がウェーブガイドで 1 つにまとめられたパッケージになっているため、光ファイバを使わずにそのまま光源として利用可能である。LDC は 4 つの LD を切り替えて制御可能であるが、本シス

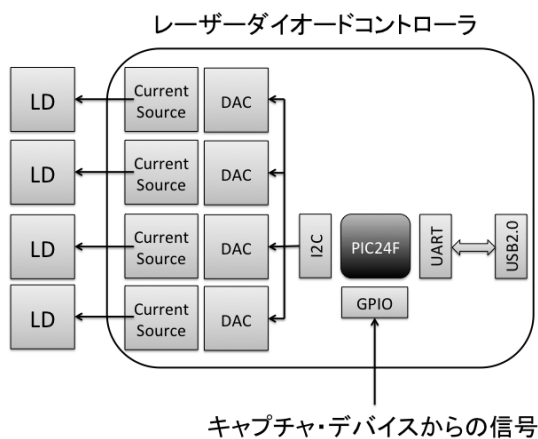


図 9 LDC のブロック図
Fig. 9 Block diagram of the LDC.

テムの評価では、660 nm 波長の LD のみを利用している。

5. LFI 画像キャプチャシステムの評価

図 10 にキャプチャシステムの全体像を示す。キャプチャデバイスは固定されており、サンプルの位置は手動三軸移動ステージで調節が可能である。レーザ光源は、金属支柱にネジで締め付けて固定するため、容易に上下に移動させることが可能であり、縦、横、高さとも 15 cm 以内に収まっている。

サンプルとして、一般的に顕微鏡の評価に用いられる 1951 USAF テストターゲット (図 11) のプレパラートを利用した。

5.1 位置パラメータの選定

レーザ光源をサンプルに近づけた場合、レーザ光が十分に拡散する前にサンプルに到達するため、リコンストラクションができない。逆に遠ざけるとレーザの出力を上げる

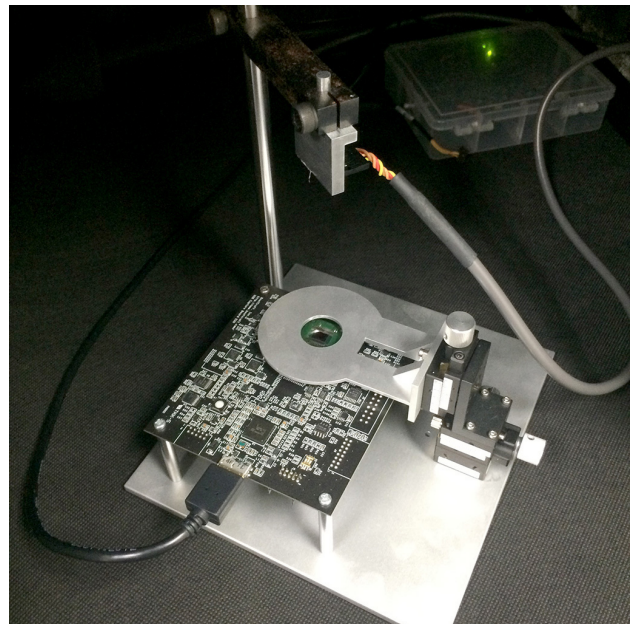


図 10 LFI キャプチャシステムの全体像
Fig. 10 Overall LFI capture system.

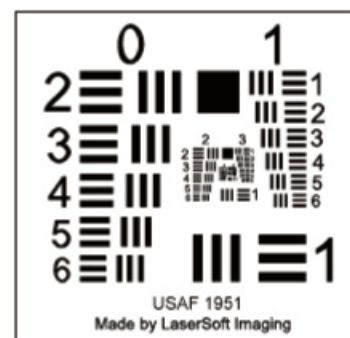


図 11 1951 USAF テストターゲット
Fig. 11 1951 USAF target.

か、露光時間を長くしないと十分なコントラストが得られず、リコンストラクションが困難となる。

そこでまず、撮影サンプルのない状態でレーザー光をカメラセンサに照射し、キャプチャ画像が全体にムラのないグレー色が広がるようにLDの位置を引き上げていったところ、得られた画質から、カメラセンサから光源の距離は100mmが妥当であると判断した。その際、撮影するサンプルの形状や透明度によって、レーザー光の出力を調整する必要が生じる場合を考慮し、LDの出力を最大値の6割とした。原理的には、距離が100mmである必要はないが、100mmに固定したうえで、レーザー光の出力と発光時間の細かい調整をLDCで行う方法が容易であると判断した。

また、光軸はカメラセンサに対して垂直に揃える必要があるが、精度は要求されず、センサでとらえた光が中心に位置するように目視で確認しながら、手で調整を行うだけでも十分であることが分かった。これより検討事項(2)については解決できたものと考えられる。

5.2 キャプチャデバイスの評価

東芝製 T4K37 とキャプチャデバイス CYUSB3065 を組み合わせた画像キャプチャシステムは、センサ全域 (4,208×3,120) で 22.5 FPS、領域部分指定 (1,024×1,024) では 60 FPS のフレームレートを画像を取得できた。またきわめて短時間でキャプチャサイズの変更が可能であるので、必要に応じて、全域、部分領域の2つのモードを切り替えながらサンプルを観察することも可能になった。

5.3 レーザダイオードコントローラ (LDC) の評価

LDに通電してから発光が安定するまでの時間を10ミリ秒以内にすることができた。キャプチャデバイスからLDCへのストロボ信号の遅延はレベル変換のみのため一定で、無視できるほどに小さい。PICの割り込み処理、タイマも1μ秒以下の精度で動作しているため、リアルタイムにも対応でき、より高いフレームレートへの適応も可能となると考えられる。これより、リコンストラクションの処理時間を除き、画像キャプチャに関して、検討事項(5)には対応できた。

5.4 リコンストラクションの精度

図12は、1951 USAFテストターゲットをリコンストラクションした画像である。拡大部分のパターンの間隔はおよそ1μmで、カメラセンサの画素ピッチと同程度まで再現が可能であることが分かる。これにより検討事項(3)が明確になった。

図13はリコンストラクションによって得られたUSAFターゲットの画像に、画像解析ツールImageJを用いてConvert to Maskという処理を施した画像である。Convert to Maskは、指定した画像に対して自動的にヒストグ

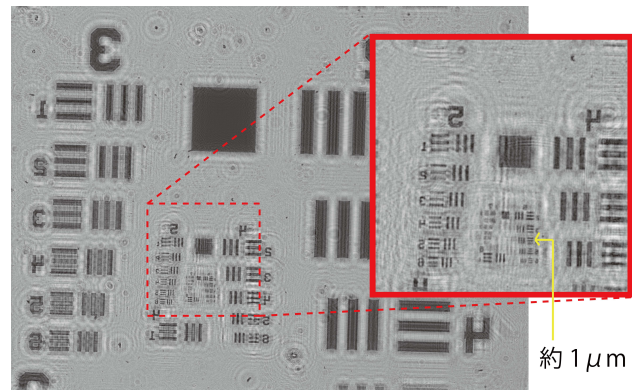


図12 1951 USAFテストターゲットのリコンストラクション
Fig. 12 Reconstruction of 1951 USAF target.

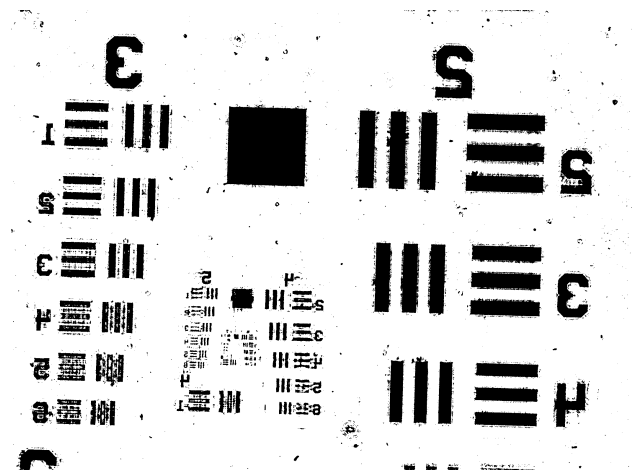


図13 ImageJによって処理された1951 USAFテストターゲット
Fig. 13 1951 USAF target processed by ImageJ.

ラムを解析し、計算した閾値を用いて画像を二値化する機能である。これにより、波紋状のノイズを除去し、テストターゲットに描かれたパターンを明確に描画できる。

人間による目視では、背景部分にノイズが現れるが、二値化した画像から点の集合を検出し、縦横比を用いたり、輪郭を検出してフィルタをかけるなどといった処理により観察対象を分離することができ、細胞の計数や形状分析が可能となる。

5.5 リコンストラクションのパラメータの画質への影響

5.5.1 画像の評価方法

検討事項(4)に対応するために、客観的な評価尺度として一般的であるMSE (Mean Square Error) に基づくPSNR (Peak Signal to Noise Ratio) を用いた。

MSEは式(2)により求められる。f(x, y)は原画像、f'(x, y)は比較する画像を表し、m, nは画像の大きさを表しており、画素の値の差の二乗の総和を画素数で割った値であり、値が小さいほど2つの画像の差は小さいものとなる。

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (f'(i, j) - f(i, j))^2}{m \cdot n} \quad (2)$$

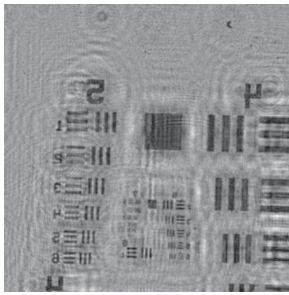


図 14 リコンストラクション後に切り出し (基準画像)
Fig. 14 Cropping after reconstruction (Reference).

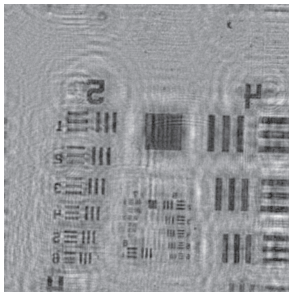


図 15 切り出した後にリコンストラクション
Fig. 15 Reconstruction after cropping.

PSNR は式 (3) によって求められる．画素の最大値を MSE の平方根で割り，対数をとった値である．標準的な値は 30~50 dB で，値が高い方が画質が良い．

$$PSNR = 20 \log \left(\frac{255}{\sqrt{MSE}} \right) \quad (3)$$

そこで，LFI によって得られる画像の評価方法として，USAF ターゲットを撮影し，最も格子がはっきりとリコンストラクションできた状態を基準画像とし，評価対象のパラメータを変化させて画像を比較する．

5.5.2 解像度の評価

LFI 画像キャプチャシステムで全域を撮影した場合と部分領域のみ撮影した場合，リコンストラクションによって生成される画像に変化があるか確認するため，全域画像をリコンストラクション後に 1,024 × 1,024 で切り出した画像 (図 14) を基準画像として，全域画像から 1,024 × 1,024 で切り出した後にリコンストラクションした画像 (図 15) と比較した．

PSNR の値は 27.3 dB であり，この値は画像の明るさの変化によるところが大きい．図 14 と図 15 の細部を見比べても，描かれているパターンの差異は目視では判断できず，情報は失われてはいないことが分かる．

5.5.3 画素ピッチの評価

カメラセンサの画素ピッチの差異がリコンストラクションの結果に与える影響を調べるために，4,208 × 3,120 でキャプチャした画像から，画素ピッチを 1.12 μm でリコンストラクションを施し，2,104 × 1,560 に縮小した画像を図 16 に示し，これを基準画像とする．次に，4,208 × 3,120

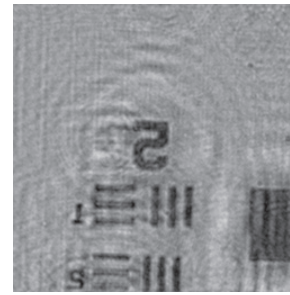


図 16 リコンストラクションの後にリサイズ (基準画像)
Fig. 16 Resizing after reconstruction (Reference).

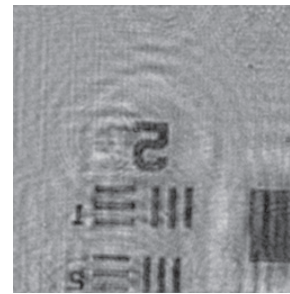


図 17 リサイズ後にリコンストラクション
Fig. 17 Reconstruction after resizing.

でキャプチャした画像において，1 画素ごとに間引いて 2,104 × 1,560 の画像に縮小し，画素ピッチを上記の倍の 2.24 μm でリコンストラクションを行った画像を図 17 に示し，2 つの画像を比較する．

目視ではほとんど差異が判断できず，PSNR は 48.4 dB と，変化が少ないことを示している．画素を 1 つ飛びにすることで，倍の画素ピッチのカメラセンサによるキャプチャ画像と同等であり，もとのピッチと比べて細部の情報は失われているものの，リコンストラクションは可能であることが確認できた．

5.5.4 焦点距離の影響

サンプルとカメラセンサの距離を 4,160 μm から，1 μm ずつ値を変えて，1,024 × 1,024 の Raw 画像に対しリコンストラクションを行い，図 19 (a) を基準画像として PSNR を計測した結果を図 18 のグラフに示し，サンプルとカメラセンサ間の距離 (5 μm ~ 200 μm) に対する実際の画像の変化を図 19 (b) ~ (f) に示す．

図 19 (a) から図 19 (c) まで変化が小さく視認が難しいが，図 19 (d)，図 19 (e)，図 19 (f) と徐々にフォーカスが失われているのが確認できる．これより，50 μm 程度の幅で焦点を定めれば十分に鮮明な画像が得られることが分かった．この機械精度の実現は容易であり，検討事項 (2) を解決できたと判断できる．

5.5.5 波長の変化の影響

ここでは，実際にレーザ光の波長を変化させることは困難であり，パラメータとして入力する波長の値は，リコンストラクションで用いる伝達関数に用いられるため，レー

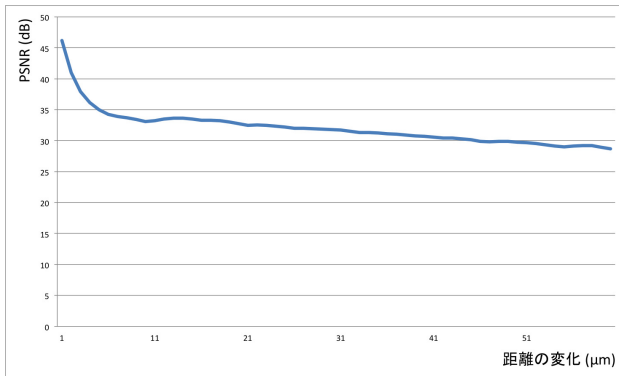


図 18 焦点距離の変化と画質

Fig. 18 Changing focal distance and image quality.

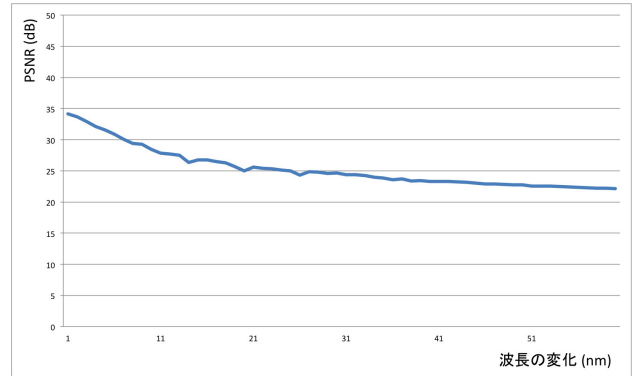
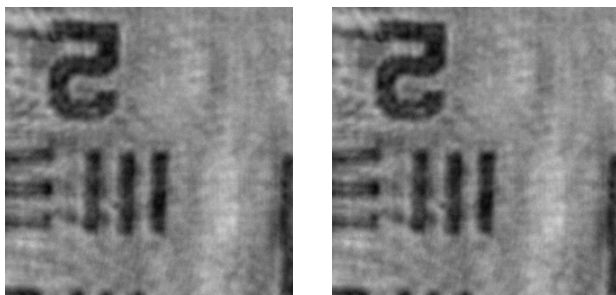


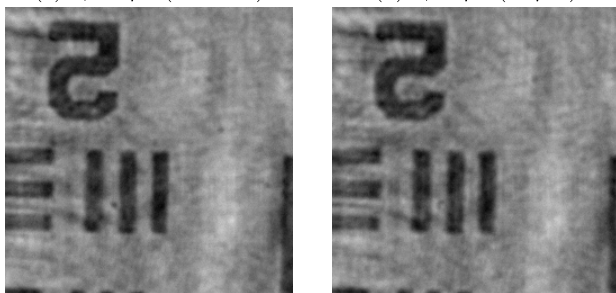
図 20 レーザの波長の疑似変化と画質

Fig. 20 Pseudo wave length and image quality.



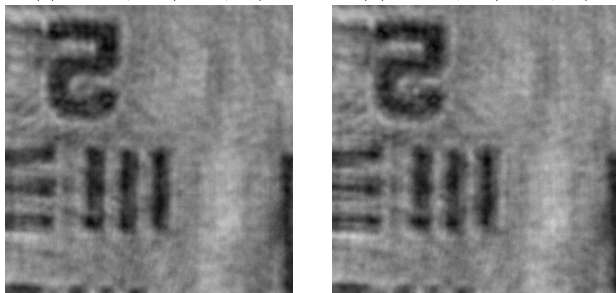
(a) 4,160 μm(基準画像)

(b) 4,165μm(+5μm)



(c) 4,210 μm (+50 μm)

(d) 4,260 μm(+100μm)

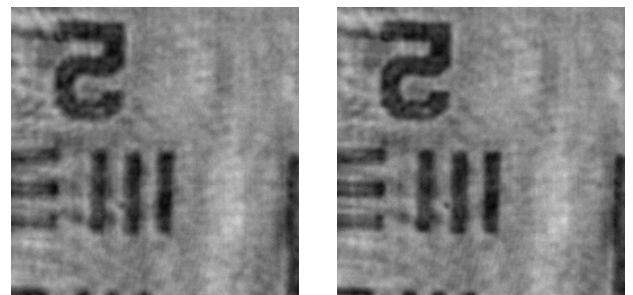


(e) 4,310μm(+150μm)

(f) 4,359 μm(+200μm)

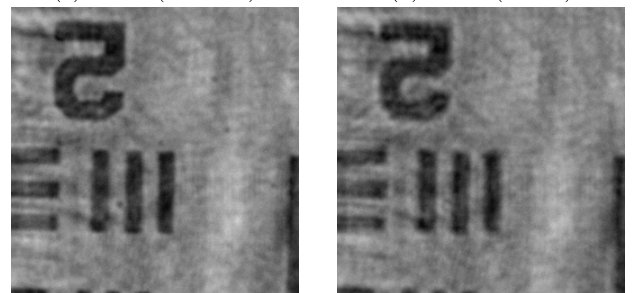
図 19 焦点距離の変化

Fig. 19 Change in focal distance.



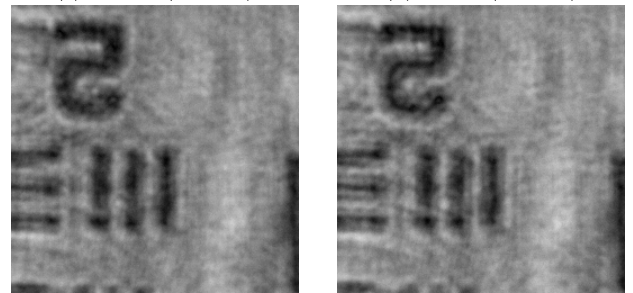
(a) 660nm(基準画像)

(b) 665nm(+5nm)



(c) 670nm (+10nm)

(d) 680nm(+20nm)



(e) 690nm(+30nm)

(f) 700nm(+40nm)

図 21 波長の疑似変化

Fig. 21 Change in wave length.

ザ光の波長を固定したままで、パラメータ値を変化させることで波長の増減をシミュレートできる。このように、レーザー光の波長を 660 nm から 1 nm ずつ疑似的に値を変えて実行した結果、図 21 (a) を基準画像として比較した PSNR を図 20 に示し、実際の画像の変化を図 21 (b)~(f) に示す。

この結果より、他のパラメータと比較して、レーザー光の

波長変化に対して、画質が敏感に変化していることが分かる。波長はレーザーの連続発光による温度上昇に影響を受け、連続発光には冷却などの措置が取られるのが一般的である。しかしながら、提案する画像キャプチャシステムでは、LD を点灯し続けることなく、撮影時に通電するのみである。その結果、温度変化によるレーザー光の波長の変化は微小であるものと考えられ、そのため、リコンストラク

表 3 距離と画像の変化

Table 3 Zooming by changing distance.

距離 (μm)	5800	6800	7800	8800	9800
ピクセル数	474	482	488	494	503
拡大率 (%)	-	1.69	1.24	1.23	1.82

ションによる画質の変化はほとんどないものと思われる。

5.6 サンプルとカメラセンサの距離

LFI は干渉縞をカメラセンサでキャプチャするため、サンプルとカメラセンサの距離に応じて画像が拡大・縮小される。キャプチャシステムを用いて、ステージ上のサンプルをカメラセンサに最も近づけた状態から 1 mm ずつ遠ざけて、同一のパターン幅におけるピクセル数を分析した結果を表 3 に示す。キャプチャシステムでは、1 mm 遠ざかるごとにおよそ 1.5 % 拡大されることが確認できた。

6. まとめ

本論文では、LFI の実用化に向け、多様な応用を可能にするための汎用コンポーネントとして、画像キャプチャシステムに焦点をあて、機械的精度、画像取得方式、リコンストラクション処理の相互関係を明らかにし、実用的かつ可搬性のある画像キャプチャシステムを提案し、LFI の応用の可能性を示した。

1 章で示した検討課題 (5) の画像取得速度とリアルタイム性について、リコンストラクションの処理時間に大きく影響されるものであり、その評価については SoC 上の FPGA によるハードウェア・アクセラレーションにより高速化を試み評価を行った [15]。

今後は、画像キャプチャシステムと高速化のための SoC を統合し、汎用 LFI モジュールとしての実装を進め、さらにそのモジュールを複数組み合わせ、リアルタイム処理を目指した RALFIE (Real-time Advanced LFI Evaluation system) [16] の検討を進めていく。

参考文献

[1] Stahl, R., Vanmeerbeeck, G., Lafruit, G., Huys, R., Reumers, V., Lambrechts, A., Liao, C. and Hsiao, C.: Lens-free digital in-line holographic imaging for wide field-of-view, high-resolution and real-time monitoring of complex microscopic objects, *SPIE 8947*, Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XII, 89471F (2014).

[2] Stahl, R., Vercruyse, D., Claes, T., Vanmeerbeeck, G., Mukund, V., Jansen, R., Song, J., Hoffman, L., Rottenberg, X., Lambrechts, A. and Lagae, L.: Microscope-on-chip: Combining lens-free microscopy with integrated photonics, *SPIE 9328*, Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XIII, 93281C (Mar. 2015).

[3] Pauwelyn, T., Reumers, V., Vanmeerbeeck, G., Stahl, R., Janssens, S., Lagae, L., Braeken, D. and Lambrechts,

A.: Label-free cardiac contractility monitoring for drug screening applications based on compact high-speed lens-free imaging, *SPIE 9328*, Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XIII, 932818 (2015).

[4] 竹本正志, 鈴木涼太, Techawattanagan, P., 梅野克彦, 矢代昌之, 龍池哲也, Stahl, R., Vanmeerbeeck, G., Reumers, V., 三好健文, 中條拓伯: Lens Free Imager の実用化のための設計と実装, 組込みシステムシンポジウム (ESS2015) 論文集, pp.2-9 (2015).

[5] Huaying, W., Baoqun, Z. and Wei, L.: Comparison of the reconstruction algorithms in digital micro-holography, *IEEE International Conference on Intelligent Computing and Intelligent Systems*, pp.838-842 (2009).

[6] Tahara, T., Ito, K., Kakue, T., Fujii, M., Shimozato, Y., Awatsuji, Y., Nishio, K., Ura, S., Kubota, T. and Matoba, O.: Parallel phase-shifting digital holographic microscopy, *Biomed. Opt. Express*, Vol.1, No.2, pp.610-616 (2010).

[7] Fujii, M., Tahara, T. and Xia, P.: A4-Sized Parallel Phase-Shifting Digital Holography System, *Journal of Display Technology*, Vol.10, No.2 (2014).

[8] 下馬場朋禄, 佐藤芳邦, 宮本康介: GPU を用いた実時間デジタルホログラフィック顕微鏡の基礎検討 (映像表現 & コンピュータグラフィックス立体映像技術), 映像情報メディア学会技術報告, Vol.31, No.40, pp.25-28 (2007).

[9] Huang, K., Su, T., Ozcanbcd, A. and Chiou, P.: Optoelectronic tweezers integrated with lensfree holographic microscopy for wide-field interactive cell and particle manipulation on a chip, *Lab Chip*, Vol.13, pp.2278-2284 (2013).

[10] Shi, E.C., J. Jeremiah Ng, Lim, C.M. and Qu, W.: Compact lensless digital holographic microscopy using a curved mirror for an enlarged working distance, *Appl. Opt.*, Vol.55, pp.3771-3775 (2016).

[11] Shimobaba, T., Taniguchi, Y., Shiraki, A., Masuda, N. and Ito, T.: Portable and low-cost digital holographic microscopy using web camera, point light source LED and open-source libraries, *Biomedical Optics and 3-D Imaging*, OSA Technical Digest, paper JM3A.50 (Optical Society of America, 2012).

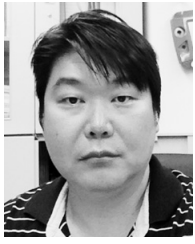
[12] Endo, Y., Itoi, J., Shimobaba, T., Sano, M., Kakue, T. and Ito, T.: Portable and Low-Cost Digital Holographic Microscope using RGB LED Illumination, *Digital Holography & 3-D Imaging Meeting*, OSA Technical Digest, paper DW2A.10 (Optical Society of America, 2015).

[13] Sobieranski, A.C., Inci, F., Tekin, H.C., Yuksekkaya, M., Comunello, E., Cobra, D., von Wangenheim, A. and Demirci, U.: Portable lensless wide-field microscopy imaging platform based on digital inline holography and multi-frame pixel super-resolution, *Light: Science & Applications* (Oct. 2015).

[14] FFTW, available from (<http://www.fftw.org/>).

[15] 鈴木涼太, 竹本正志, 梅野克彦, 矢代昌之, 龍池哲也, Stahl, R., Vanmeerbeeck, G., Reumers, V., Lambrechts, A., Roeland, H., 三好健文, 中條拓伯: 高性能 Lens Free Imager のためのハードウェア・アクセラレーション, 電子情報通信学会論文誌 (2017) (採録決定).

[16] Takemoto, M., Suzuki, R., Umeno, K., Yashiro, M., Ryuchi, T., Ohshima, K., Kitagawa, N. and Nakajo, H.: Design of Real-time Advanced Lens Free Imager, *Proc. 7th International Symposium on Information and Communication Technology (SoICT 2016)* (2016).



竹本 正志 (正会員)

1971 年生まれ。2000 年に株式会社 ビート・クラフトを設立し、代表取締役 役に就任。以降、同社にてコンシューマエレクトロニクス用ソフトウェアを開発。2006 年からはハードウェアの設計も手がけ、ソフトウェア・エンジニアのためのハードウェアプラットフォームの開発を続けている。現在、東京農工大学大学院に在籍。



鈴木 涼太 (学生会員)

2016 年東京農工大学工学部情報工学科卒業。現在、東京農工大学大学院工学府情報工学専攻に在籍。FPGA を用いたアクセラレータの研究に従事。



梅野 克彦

2000 年ビート・クラフト設立。以後、組み込みソフトウェアの開発に従事。



矢代 昌之

1969 年生まれ。2001 年に株式会社 ビート・クラフトに入社。以降、同社にてソフトウェア、ハードウェア等の開発業務に従事。現在、組み込みプラットフォーム向けソフトウェアの開発に従事。



龍池 哲也

1965 年生まれ。2002 年に株式会社 ビート・クラフトに入社。以降、同社にてソフトウェア、ハードウェア等の開発業務に従事。現在、組み込みプラットフォーム向けハードウェアの開発に従事。



Richard Stahl

2000 年 The Slovak University of Technology in Bratislava で Electrical Engineering degree を取得。2006 年 The University of Leuven で博士号を取得。現在、IMEC でデジタルホログラフィの研究に従事。



ヒアート バンミエールベック

1998 年 Hogeschool voor Wetenschap and Kunst で Master in Industrial Sciences を取得。同年より IMEC に在籍。画像解析システムの研究に従事。



三好 健文 (正会員)

2007 年東京工業大学物理情報システム専攻修了。博士 (工学)。2012 年に株式会社 イーツリーズ・ジャパンに入社、2014 年にわさらば合同会社を設立、現在に至る。FPGA を活用したアクセラレータ、HW/SW 協調設計に関する研究・開発に従事。Java を使った高位合成処理系 Synthesizer を開発中。



中條 拓伯 (正会員)

1985 年神戸大学工学部電気工学科卒業。1987 年同大学大学院工学研究科電子工学専攻修了。1989 年同大学工学部助手の後、1998 年より 1 年間 Illinois 大学 Urbana-Champaign 校 Center for Supercomputing Research and Development (CSR) にて Visiting Research Assistant Professor を経て、1999 年より東京農工大学大学院准教授。プロセッサアーキテクチャ、組み込みシステム、リコンフィギャラブルコンピューティングに関する研究に従事。電子情報通信学会、IEEE-CS、ACM 各会員。博士 (工学)。