

# パターン照明顕微鏡による微細な半透明物体の計測

福森 悠真<sup>1</sup> 日浦 慎作<sup>1,a)</sup>

**概要：**能動型の三次元形状計測では投影した光が物体の表面のみで反射し、その直接反射光が観測されることを前提としている。しかし、微小な物体を顕微鏡下で拡大して計測した場合、表面下散乱や相互反射の影響により精度が悪化してしまう。そこで本研究では、双眼実体顕微鏡にプロジェクタを搭載しパターン光を照射することにより、対象物の直接反射光と間接反射光を分離するとともに、双眼実体顕微鏡の視差を利用して物体の三次元形状計測を行う手法について検討した。具体的には、Nayarらが提案した高周波パターンを用いた反射成分分離に加え、ランダムパターン光の投影と相関演算に基づく手法を実装し、その評価を行った。

## 1. はじめに

顕微鏡は微細な対象の観察に広く用いられている。光学顕微鏡は可視光線を、また電子顕微鏡は電子線を用いて観察を行うが、いずれの場合でも、可視光線や電子線が物体を透過することによる問題が生じる。電子線は絶縁体を透過しやすいため、観察に先立ち、蒸着等により試料の表面を薄い導電膜で覆う必要がある。それに対し、光学顕微鏡では一般に、光の透過を防ぐための前処理は行われない。そのため光学顕微鏡では、しばしば試料が透明または半透明に見える。例えば、光学顕微鏡を用いた観察の対象としてよく選ばれる生物は、その多くが半透明物質であり光を透過・散乱させてしまう。これは、物体内部を透過した光による表面下散乱の影響が、拡大して観察される領域や試料の大きさに比べて相対的に大きくなり、透明度が見かけ上大きくなってしまうことが原因と考えられる。物体の観察を容易にするためには、そのような透過光による表面下散乱を抑制したり、逆に、深部の状態を把握するために強調することができると良いと考えられる。

顕微鏡では対象の外観を単に観察するためにも広く用いられるほか、近年では対象の立体形状を求める三次元形状計測が行われるようになっている。三次元計測を行うことで、例えば寸法等を定量的に評価することが容易となり、主に工業製品の検査や構造解析において高い需要を持つ。このような顕微鏡観察下における三次元形状計測では主に三角測量が用いられるが<sup>\*1</sup>、三角測量では物体の表面に光

が到達し、その到達した点での反射光のみが観測されることを前提としている。しかし、顕微鏡下では上記の表面下散乱の影響により物体の透過率が上がって見えるため、直接反射光に対する間接反射光の強度比が大きくなりやすく、三次元形状計測の精度が悪化しがちである。

そこで本研究では、双眼実体顕微鏡にプロジェクタを搭載し、様々なパターン光を照射することにより、対象物による反射光を直接反射光と間接反射光を分離する手法と、双眼実体顕微鏡の視差を利用して物体の三次元形状計測を行う手法について検討した。具体的には、Nayarらが提案した高周波パターンを用いた反射成分分離や、従来型のスリット光投影法、グレイコード投影法に加え、ランダムパターン光の投影と相関演算に基づく手法を実装し、その評価を行った。

## 2. 関連研究

直接反射光とは光源から発せられた光のうち、物体表面で一回だけ反射して観測者に到達する光である。また、間接反射光は直接反射光以外の光であり、物体中や物体間で複数回の反射を経て到達する光である。表面下散乱や相互反射などがこれに当たる。

直接反射成分には鏡面反射(図1)のほか、樹脂等の2色性反射物体に広く見られる拡散反射成分が該当する。樹脂の主成分であるアクリル等の基材の多くは透明であるが、それに顔料が混入されることで不透明な樹脂として様々な製品に用いられている。この場合、樹脂の内部に進入した光が顔料で反射することで拡散反射が生じている。この現象における光の滲みが観察スケールに対して十分小さい場合、つまり巨視的には直接反射成分として取り扱うことが

<sup>1</sup> 兵庫県立大学

a) hiura@eng.u-hyogo.ac.jp

\*1 共焦点顕微鏡や Depth from Defocus も、光線の直進性に依拠しているという点で三角測量の一種とする

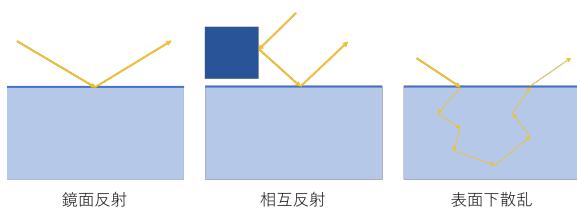


図 1 鏡面反射、相互反射、表面下散乱

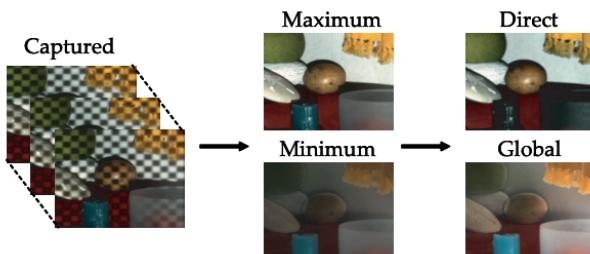


図 2 直接反射光と間接反射光の分離 [1]

できるが、顕微鏡による観察など微視的には表面下散乱として取り扱われるべき現象である。同様に、人の肌や細胞などの生体も微視的には光の透過が生じており、顕微鏡観察においては透明ないし半透明に見えることが多い。

## 2.1 高周波パターンを用いた直接反射光・間接反射光の分離

直接反射光はその定義から、光が照射されていない点では観察されないはずである。この原理に基づき、Nayarらは周期性を持つ複数の高周波パターンをシーンに投影することで直接反射成分と間接反射成分の分離を行う手法を提案した[1]。この手法では図2に示すように、明部と暗部を持つパターンを被写体に照射する。このとき、暗部において観察される反射光は間接反射成分のみであり、明部ではそれに加えて直接反射成分が重畳する。そこでパターンを少しずつずらしながら多数投影し、各画素において輝度値が最低のときの値を間接反射成分とし、それを明部の輝度から減じることで直接反射成分を得る。本研究ではまず、この方法を用いて顕微鏡下で直接反射光と間接反射光の分離を行い、顕微鏡観察における効果を評価する。

## 2.2 間接反射成分に対して頑健な三次元計測

前述したように、スリット光投影法やグレイコード法など多くの能動型三次元計測法は、対象物体に照射した光が直接反射により観察されることを前提としており、強い間接反射が生じる対象では計測が不安定になる。そこで吉瀬らはスリット光投影法[2]やグレイコード法[3]の各投影パターンをさらに高周波パターンで変調することで、間接反射成分に対し頑健な三次元計測法を提案した。さらに、住吉らは二次元ランダムパターンを用いることで、より少ない投影枚数で鏡面相互反射を含む間接成分に対し頑健な

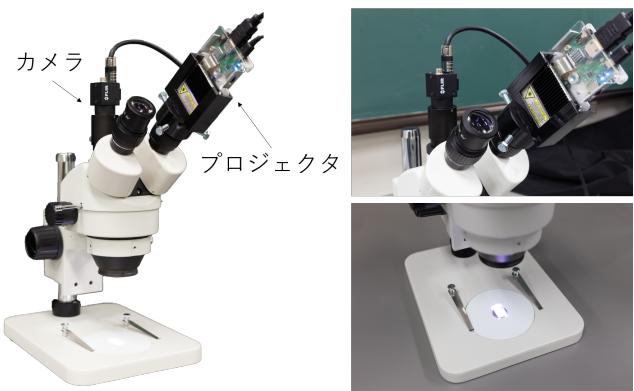


図 3 実験に使用した装置

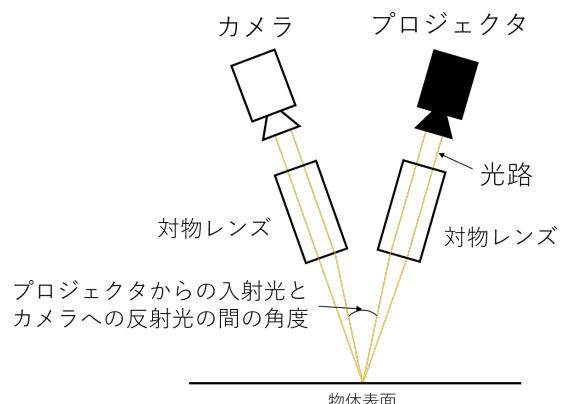


図 4 視差が発生する仕組み

三次元計測法を提案した[4]。ランダムパターンを用いる方法では、投影パターンと観測画像の間の相関値を求めるこによりライトトランスポートの近似値を得ることができ、三次元形状と同時に、透過率や深部構造などを光の伝播状況から推定することも可能であると考えられる。そこで本研究でも同様に、ランダムパターンの相関に基づく三次元計測を実装し評価した。

## 3. 提案手法

双眼実体顕微鏡は左右の接眼レンズを通して対象を立体的に観察することができる顕微鏡である。本研究では対物レンズを2個搭載した内斜型の双眼実体顕微鏡を用い、一方の接眼レンズにレーザプロジェクタを搭載した(図3)。もう一方の接眼レンズからは対象を観察することができるが、この光線は光路の切り替えによりカメラを搭載した撮影用鏡筒へ導くことができる。プロジェクタ側とカメラ側の光軸間に角度(内向角)が設定されているため、この視差により対象の立体形状を三角測量に基づき計測することができる(図4)。

### 3.1 顕微鏡下でのキャリブレーション

三次元計測に先立ち、カメラとプロジェクタの幾何学的関係をキャリブレーションする必要がある。キャリブレー

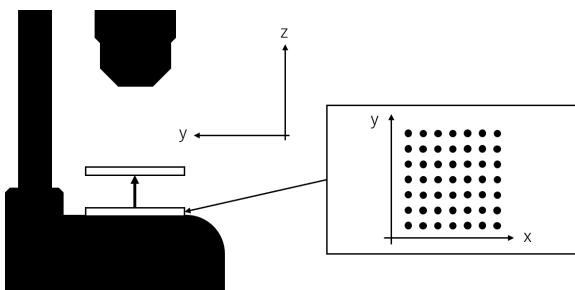


図 5 頂微鏡下でのキャリブレーション

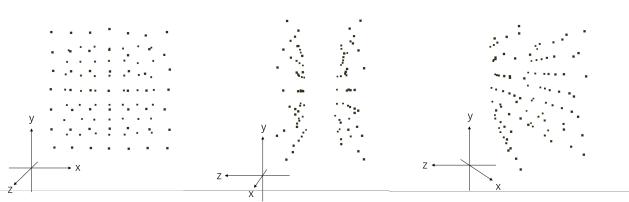


図 6 ドットパターンの再投影結果

	移動前			移動後		
	x座標	y座標	z座標	x座標	y座標	z座標
誤差平均[mm]	0.0020	0.0025	-0.034	0.0019	0.0025	-0.036
標準偏差[mm]	0.0018	0.0031	0.130	0.0020	0.0026	0.159

図 7 パターン移動前と後の再投影誤差

ションには、立体的な参照物体を用いる方法や、Zhang の手法のようにチェックーパターンを様々な角度から撮影した複数の画像を用いる方法が広く用いられている。しかし顕微鏡下では視野の大きさに比べ被写界深度が浅いため、参照物体の奥行きや角度が制約され、十分な精度でのキャリブレーションが難しい。そこで本研究では、図 5 のように平面パターンを奥行方向に既知の距離だけ動かすことによって、特徴点を三次元的に分布させてキャリブレーションを行った。

求めたパラメータを用いて、ドットパターンを三次元空間に再投影した結果を図 6 に示す。また、このときの再投影誤差を表 7 に示す。再投影誤差の平均値は使用したドットパターンの点の間隔よりも十分に小さく、ばらつきも少ないため、十分な精度でキャリブレーションを行うことができたと言える。

### 3.2 ランダムパターン光による相関値分布の計測

2.1 で述べた高周波パターンを用いる方法ではシーンの直接反射光と間接反射光を分離することができるが、その反射光がどのような現象に由来するものであるかを調べることは難しい。しかし、間接成分が表面下散乱によるものか、相互反射に起因するものかを判別することができれば、物体の深部構造等を評価する上で有効であると考えられる。そこで本研究では対象物体にランダムパターンを多数投影し、撮影画像の任意の 1 画素に対し、投影画像の全画素に

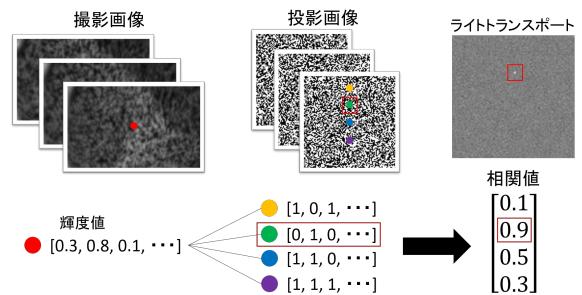


図 8 相関値分布の計測

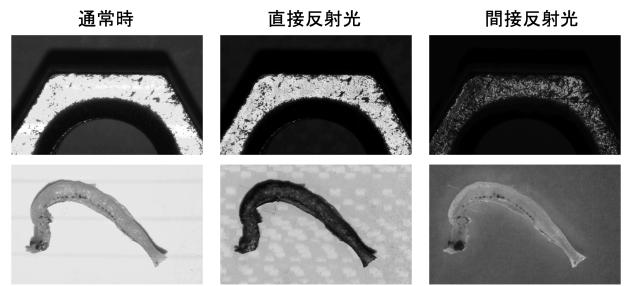


図 9 ナット(上)としらす(下)の直接反射光、間接反射光分離結果

ついて輝度値の時間変化の相関値を求める(図 8)。この相関値はライトトランスポートの近似値となり、この相関値が高い場合は、それらの画素間に光の伝搬があることを示す。相関値分布の様相から光学現象の種類を推定することができる。

## 4. 実験結果

### 4.1 高周波パターンを用いた直接反射光・間接反射光分離

Nayar らの方法を用いて直接反射光と間接反射光の分離を行った結果を図 9 に示す。金属製のナットの表面では主に直接反射光が観察されている。一方、表面下散乱特性を有するしらすでは強い間接反射成分が確認でき、しらす内部の目の部分が不透明であることもより明瞭に観察できる。

### 4.2 ランダムパターン光による相関値分布の計測

実験では、 $100 \times 100$  のランダムパターンを 200 枚投影し計測を行った。3.2 で述べたランダムパターンの投影による方法でライトトランスポートを推定した結果を図 10 に示す。すべての観測点について、全プロジェクタ画素に対する相関値分布を求めることが可能であるが、ここでは図中の赤丸で示した画素の相関値分布を求めた。また、この相関値分布のピークを通る縦線上の相関値の分布を図中右のグラフに示す。図 10 上より、ナットは強い相関のある領域が 1 点に集中しており、周辺の画素の相関は弱いことが確認できる。よって照射された光が鏡面反射により直接反射を起こしていることがわかる。一方、図 10 下のしらすは、弱い相関が比較的広い範囲にわたって分布しているのが確認できる。よって照射された光が表面下散乱により物

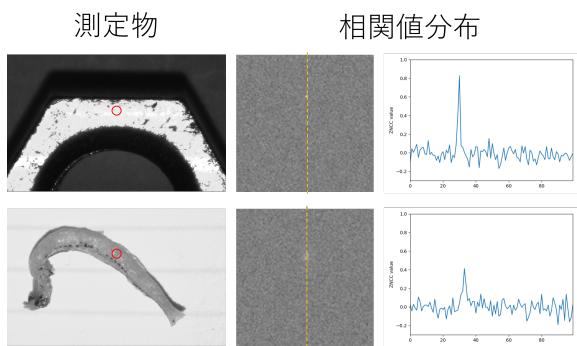


図 10 ナット(上)としらす(下)の相関値分布

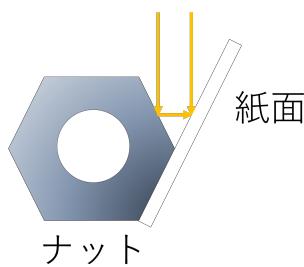


図 11 ナットとしらすの境界部分

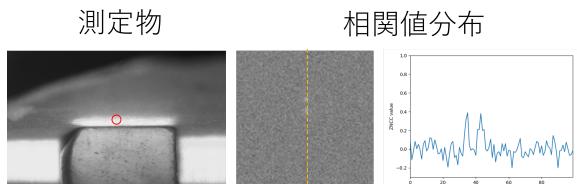


図 12 境界部分の相関値分布

体内部に透過していると考えられる。

また、図 11 のように紙面とナットで構成された対象について計測を行った結果を図 12 に示す。相関値に明確なピークが 2 つあることから、紙面とナットの間で相互反射が生じたと考えられる。

#### 4.3 パターン光投影による三次元形状計測

本研究で提案した装置に対し、グレイコード法、スリット光投影法を用いて三次元形状計測を行った結果を図 13 に示す。図からはおおむね正しく三次元形状計測を行うことができたことがわかるが、対応関係が正しく取得されていない部分があり、復元結果にノイズが発生した。ナットでは強い鏡面反射、しらすでは表面下散乱の影響によるものと考えられる。

#### 4.4 ランダムパターンを用いた三次元形状計測

ランダムパターンを用いて三次元形状計測を行った結果を図 14 に示す。ナットの鏡面反射や、しらすの表面下散乱の影響により、グレイコード法やスリット光投影法と同様に復元結果にノイズが発生したが三次元形状計測を行う

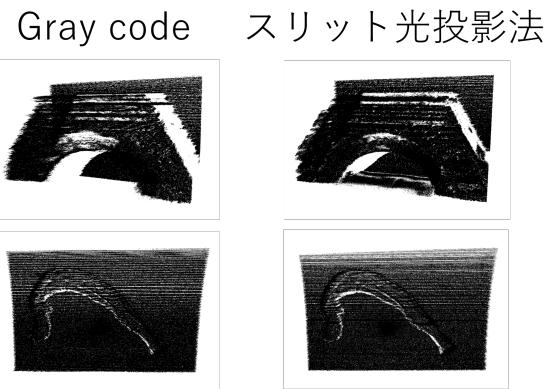


図 13 三次元形状計測結果

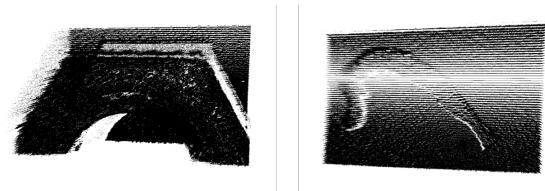


図 14 ランダムパターンを用いた三次元形状計測結果

ことができた。ここでは相関値のピーク位置を対応点とみなすことによって三次元計測を行っており、対応点付近の相関値の分布やエピポーラ拘束等を用いた高精度化 [4] は行っていない。よって、現段階ではスポット光投影法と同様の性質を有すると考えられる。

#### 5. まとめ

本研究では顕微鏡下で微小な物体のライトトランスポートや形状を計測する手法を提案した。ランダムパターンを用いることで、微小な物体の三次元形状計測を行うとともに、対象のライトトランスポートを求めることができた。今後は求めたライトトランスポートを解析することで正しい対応点を推定し、これにより三次元計測の精度を高めるとともに、透明度の推定、内部構造の解析などに応用することを考えている。

#### 参考文献

- [1] Nayar, S. K., Krishnan, G., Grossberg, M. D. and Raskar, R.: Fast separation of direct and global components of a scene using high frequency illumination, *ACM SIGGRAPH 2006 Papers*, pp. 935–944 (2006).
- [2] 古瀬達彦, 日浦慎作, 佐藤宏介: スリット光の変調による相互反射と表面下散乱に頑健な三次元形状計測, 計測自動制御学会論文集, Vol. 46, No. 10, pp. 589–597 (2010).
- [3] 古瀬達彦, 日浦慎作, 佐藤宏介: 投影光の 2 次元符号化による間接反射にロバストな三次元形状計測, 画像の認識・理解シンポジウム (MIRU2010), pp. 1428–1435 (2010).
- [4] 住吉信一, 吉田悠一, 石川康太, 安倍満, 日浦慎作: 少数の投影・撮影で鏡面相互反射光を抑制可能なアクティブ 3 次元計測, 画像の認識・理解シンポジウム (MIRU2019) (2019).