

G-014

電子顕微鏡トモグラフィのためのマーカーフリーアライメント手法の検討
 A study of marker-free alignment for electron tomography by trifocal geometry

御堂義博[†] 鷹岡昭夫[‡] 森 博太郎[‡] 中前幸治[†]
 Yoshihiro Midoh Akio Takaoka Hirotarō Mori Koji Nakamae

1. はじめに

生物試料の三次元微細構造解析のために、電子顕微鏡トモグラフィが広く用いられている[1]。電子顕微鏡トモグラフィでは、図1および図2に示すように、透過電子顕微鏡(TEM: Transmission Electron Microscope)によって傾斜角度を変えて撮影した投影像シリーズに対して、画像間の位置合わせ(アライメント)・再構成を行うことによって三次元構造を得る。より忠実な再構成像を得るためには、傾斜される試料と投影像とを関連付けるための傾斜機構の幾何学的パラメータを正確に計算する必要がある。ここで、幾何学パラメータとは、試料上の座標系から撮影されるデジタル画像に至るまでの座標系への変換係数(射影行列)であり、例えば、傾斜角度や倍率、光軸周りの回転などが挙げられる[2]。

投影像シリーズのアライメントには、マーカーアライメントとマーカーレスアライメントの2種類が存在する。前者は、試料に金粒子などの人工的な基準点(マーカー)を散布し、傾斜シリーズ全体を通して基準点を追跡する。基準点はほぼ真円で傾斜による変化が小さいことから追跡精度は高いが、観測前に余計な手間がかかってしまう。一方、後者は傾斜によるコントラストの変化から、自動化が困難であった。S. S. Brandtらは trifocal tensor を用いたアライメント手法を提案している [3]。彼らは傾斜画像間の特徴点検出、追跡において、それぞれコーナー検出、正規化相互相関によるテンプレートマッチングを用いていた。投影画像では傾斜によってコントラストが変化するため、再構成精度向上のためにはより頑健な特徴点追跡が求められる。

そこで本研究では、自動的なマーカーレスアライメント手法の構築を目指し、SIFT(Scale-Invariant Feature Transform) 特徴点のマッチング[4]と trifocal tensor による幾何学的拘束を組み合わせたアライメント手法を提案する。提案手法をマウス腎臓の糸球体の傾斜像シリーズに対して適用し、有効性について検討する。

2. 提案手法

提案手法の概要について述べる。まず、すべての傾斜シリーズに対して SIFT 特徴点を検出し、次に3つの連続した傾斜像(異なる視点から撮影した投影像)の SIFT 特徴点に関して、SIFT 特徴量に基づいたマッチングにより対応点を求める[4]。続いて、3つの視点における対応点に関して3重線形拘束から trifocal tensor を計算する。最後に、trifocal tensor に基づいて射影変換を行うことで疑似的に同じ視点から撮影した画像を生成する。SIFT 特徴点の検出

[†] 大阪大学情報科学研究科 Graduate School of Information Science and Technology, Osaka University

[‡] 大阪大学超高压電子顕微鏡センター Research Center for Ultra-High Voltage Electron Microscopy, Osaka University

とマッチングに関しては、文献[4]と同じ手法を用いた。ここでは、trifocal tensor に関して以下に説明する。

電子顕微鏡トモグラフィは一般的にアフィンカメラモデルを用いてよく近似される[2]。齊次座標系を用いて、3枚の視点(傾斜)の画像 $x=[x^1, x^2, x^3]^T$, $x'=[x'^1, x'^2, x'^3]^T$, $x''=[x''^1, x''^2, x''^3]^T$ は3次元空間中の点 $X=[X^1, X^2, X^3, X^4]^T$ と 3×4 のアフィンカメラ行列 P, P', P'' を用いて、それぞれ $x \sim PX, x' \sim P'X, x'' \sim P''X$ で与えられる。3つの傾斜画像における1組の対応点に関して、3重線形拘束より次式が成り立つ[5]。

$$x^i x'^j x''^k \epsilon_{rja} \epsilon_{skb} T_i^{rs} = 0_{ab}$$

ただし、 ϵ_{ijk} は (i, j, k) から $(1, 2, 3)$ が偶置換なら1、奇置換なら-1、 (i, j, k) に重複があれば0を示し、 T_i^{rs} は $3 \times 3 \times 3$ の行列で trifocal tensor と呼ばれる。 0_{ab} は a, b に関する成分がゼロである 2×2 の行列を示す。従って、上式は1組の対応点から4つの線形方程式が与えられることを表す。

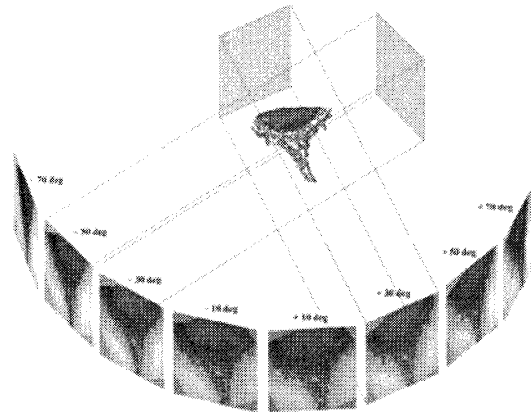


図1 TEMによる投影像シリーズの撮影

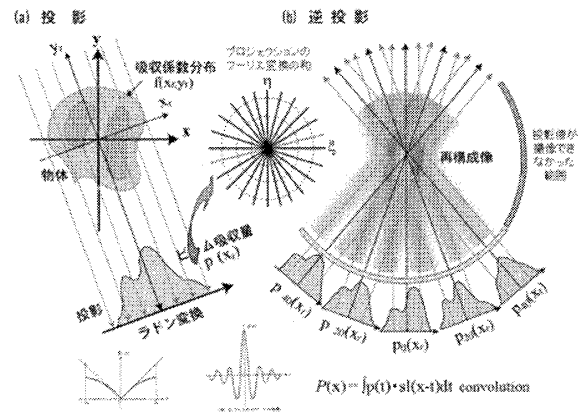


図2 電子線トモグラフィの概要

連続した傾斜像に対して SIFT 特徴点マッチングを適用すると、対応点が通常 20~30 点は求められるので、テンソルの計算を行うためには十分な線形方程式が得られる。ただし、少なからずマッチング誤差を含んでいるため、ここでは RANSAC 法による非線形解法を用いて外れ値を除去しながら、trifocal tensor の計算を行う[6]。今、テンソルを 3×3 のサブ行列を用いて $T_i^s = [T_1, T_2, T_3]$ で表すと、3つの傾斜像の射影行列はそれぞれ、 $P = [I|0]$, $P' = [[T_1, T_2, T_3] e''^T | e'']$, $P'' = [(e'' e''^T - I) [T_1, T_2, T_3] e''^T | e'']$ で与えられる。ここで、 I は 3×3 の単位行列、 e' , e'' はエピポールを表す。

以上より、3つの連続する傾斜画像に対して、 x' , x'' を x の座標系に変換するためには、それぞれ PP'^{-1} , PP''^{-1} なる射影変換を適用すればよいことがわかる。また、射影行列からカメラの内部パラメータや外部パラメータ（平行移動量、xyz 軸周りの回転）を求め、傾斜情報を算出することも可能である[6]。

3. 実験結果

図3のマウス腎臓の糸球体の傾斜像シリーズ 69 枚 (-68 ~ 68 度の間を 2 度間隔で傾斜、画像サイズ 512 x 512 [pixel]) に提案手法を適用した。図3(a), (c) はそれぞれ上から傾斜角度が -2, 0, 2 度の 3 枚、-68, -66, -64 度の 3 枚に対して SIFT 特徴点を検出した結果である。図3(b), (d) はそれぞれ図3(a), (c) に対して提案手法によるアライメントを適用した結果を示す。提案手法によって、原画像に含まれていたずれや光軸周りの回転が補正されていることがわかる。

4. まとめ

実験を通じて、提案したアライメントによって傾斜シリーズ間のずれや光軸周りの回転が補正されていることがわかった。今後さらに精度を向上させるために、得られた幾何学的拘束に基づいて特徴点位置を補正し、再度 trifocal tensor を計算するという手順を繰り返し、アライメント精度の向上を図る予定である。

なお、本研究は (独) 科学技術振興機構 先端計測分析技術・機器開発事業により得られた結果である。

参考文献

- [1] A. Takaoka, M. Cao, Y. Midoh et al., "Development of automatic system on electron microscopic tomography for 3D medical examination," Korean Journal of Microscopy, 38, 4, pp. 267-268 (2008).
- [2] J. Frank, "Electron Tomography Methods for Three-Dimensional Visualization of Structures in the Cell (2nd Edition)", Springer (2006).
- [3] S. S. Brandt, U. Ziese, "Automatic TEM image alignment by trifocal geometry," Journal of Microscopy, 222, 1, pp. 1-14 (2005).
- [4] D. A. Lowe, "Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints," International Journal of Computer Vision, 60, 2, pp. 91-110 (2004).
- [5] 佐藤 淳, "コンピュータビジョン—視覚の幾何学—" コロナ社 (1999).
- [6] R. Hartley et al., "Multiple View Geometry in Computer Vision", Cambridge University Press (200).

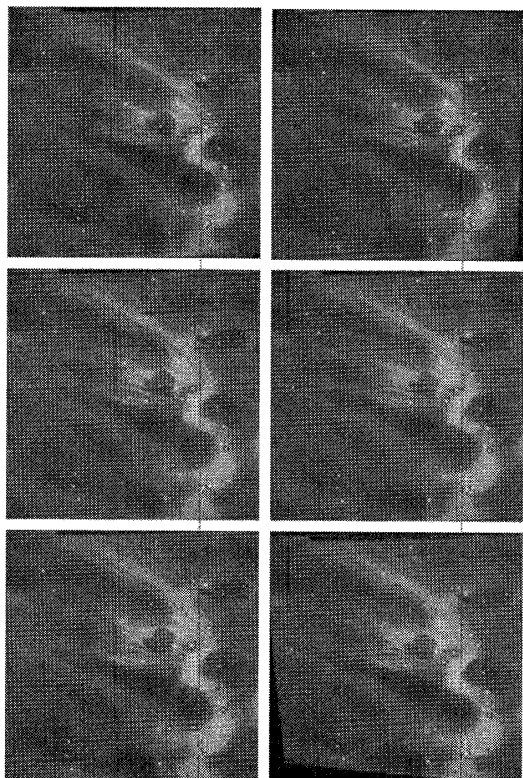
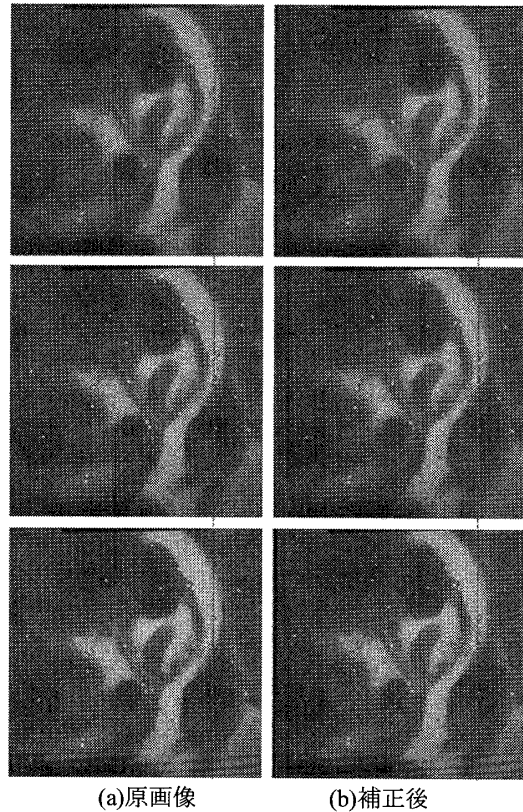


図3 アライメント適用結果 : (a)(b)は上から傾斜角-2,0,2度、(c)(d)は上から傾斜角-68,-66,-64度