# 1 - 049

# 電子顕微鏡画像のための位相限定相関法を用いた倍率推定アルゴリズムの検討

A Study of Scale Estimation Algorithms Using Phase-Only Correlation for Electron Microscope Images

鈴木 絢子<sup>†</sup> Ayako Suzuki 伊藤 康一<sup>†</sup> Koichi Ito 青木 孝文 †

常田るり子‡

Takafumi Aoki Ruriko Tsuneta

#### はじめに

電子顕微鏡は、細胞、細胞小器官、生体膜の微細構 造, ウイルス構造などの観察を可能にし, 生命科学の発 展に大きな役割を果たしている.電子顕微鏡を用いた 計測においては,画像上の長さと実座標上の長さを対 応付ける倍率校正の精度が,計測精度に大きな影響を 与える.電子顕微鏡の倍率校正は,通常,実座標上での サイズが既知の標準試料を用いて行われている.標準 試料は,低倍率領域( $\mu m$  スケール)でカーボングレー ティングが用いられ,高倍率領域(*nm* スケール)で原 子格子が用いられる.しかし,その間の相対倍率にして 約 1,000 倍の領域においては,適切な標準試料が存在 しないため、直接的な倍率校正ができないという問題 がある.そこで本稿では,標準試料の存在しない領域間 の倍率を校正するため,位相限定相関法 (Phase-Only Correlation: POC) [1] を用いた倍率推定アルゴリズム を提案する、電子顕微鏡の倍率校正では、倍率校正さ れた領域の画像と、倍率校正されていない領域の画像 との相対倍率を倍率推定アルゴリズムで推定し,推定 結果に基づいて倍率を校正する. 本稿では, 共通領域 を抽出しながら繰り返し推定を行う従来法[2]に対し, より高精度な2つの倍率推定アルゴリズムを提案する. また、電子顕微鏡画像を用いて精度評価を行い、提案 した倍率推定アルゴリズムの有効性を示す.

## 2. 画像による電子顕微鏡の倍率校正

本節では,画像による電子顕微鏡の倍率校正につい て述べる.概要を図 $oxed{1}$ に示す.ここで,画像 $oxed{h}_0$ は標 準試料を用いて校正されており, 倍率が $m_0^{true}$ である とする.標準試料を用いて校正できない領域の画像  $h_L$ の倍率校正は,標準試料を用いて校正した倍率  $m_0^{true}$ との相対倍率 S を用いて行う. その領域は約 1,000 倍 程度の開きがあり、相対倍率が大きくなると直接倍率 を求めることが困難になる.そこで,標準試料を使って 校正された画像  $h_0$  を基準とし , 倍率推定可能な程度で 少しずつ拡大して最終的に画像  $h_L$  となる画像シーケ ンスを考える . 隣接する画像  $h_{i-1}$  と  $h_i$  の相対倍率  $s_i$ を推定し,全体の相対倍率 S を  $S = s_1 \times s_2 \times \cdots \times s_L$ として求める.ここで, $s_i$  は  $1 \sim 5$  程度の比較的小さ な値になるように画像シーケンスを生成することが重 要である. 最終的に, 得られた相対倍率 S と標準試料 を使って精密に校正された倍率  $m_0^{true}$  から , 校正した い画像  $h_L$  の倍率 m を  $m = m_0^{true} \times S$  より求める.

## 3. 倍率推定アルゴリズム

従来法 [2] と , 本稿で提案する 2 つの倍率推定アルゴリズムについて述べる .

# $S = s_1 \times s_2 \times \cdots \times s_L$ $h_0 \quad s_1 \quad h_1 \quad s_2 \quad h_2 \quad s_3 \quad \cdots \quad s_L \quad h_L$ $m_0^{\text{true}} \quad m$

図 1: 画像による電子顕微鏡の倍率校正の概要

#### 3.1 繰り返し推定アルゴリズム(従来法)

基準画像に対する入力画像の相似変形パラメータを高精度に推定する繰り返し推定アルゴリズムについて述べる.一般に,画像間の変形が大きくなると,非共通領域の影響が大きくなる.これは POC 関数においてノイズとして働き,画像マッチングの精度を低下させる原因となる.そこで,画像変形による共通領域抽出と,画像間の共通領域を利用したマッチングにより,倍率推定を高精度化している.

#### 3.2 画像縮小を用いた倍率推定アルゴリズム

画像縮小を用いた,より高精度な倍率推定アルゴリズムについて述べる.電子顕微鏡画像は,高倍率領域においては焦点距離が短くなるので,ぼけが発生する.このため,高倍率領域では推定精度が下がってしまう.これは,高周波領域の無効な情報が増えるためである.そこで,低周波領域の有効な情報を拡大させるため,画像を縮小し,ゼロ詰めを行う.このアルゴリズムでは,変形パラメータを推定する前に画像縮小とゼロ詰めを適用し,その後,繰り返し推定アルゴリズムを用いて変形パラメータを推定する.また,画像縮小とゼロ詰めは高倍率領域においてのみ行い,縮小率は実験的に求め,0.6 倍とした.

#### 3.3 対応点探索を用いた倍率推定アルゴリズム

対応点探索を用いた倍率推定アルゴリズムについて述べる。画像のぼけに対応するため,局所画像ブロックを高精度に対応付けることのできる POC を用いた対応点探索 [3] を利用する。まず,隣接する 2 枚の画像において,それぞれの指定倍率より与えられる相対倍率を用いて低倍率の方の画像を拡大する。次に,2 枚の画像の対応関係を対応点探索により求める。電子顕微鏡の画像が相似変換モデルで表せると仮定し,求めた対応関係から最小二乗法を用いて倍率を推定する。

#### 4. 実験・考察

本実験では,電子顕微鏡で撮影した画像を用いて,3 つの倍率推定アルゴリズムの精度を評価する.

使用した画像は , 走査透過電子顕微鏡 (HITACHI HD-2000) を用いて , 絶対倍率を 7,000 倍から 2,000,000 倍まで 41 段階に変化させて撮影した画像シーケンスで

<sup>†</sup>東北大学大学院情報科学研究科

<sup>‡</sup>株式会社日立製作所中央研究所

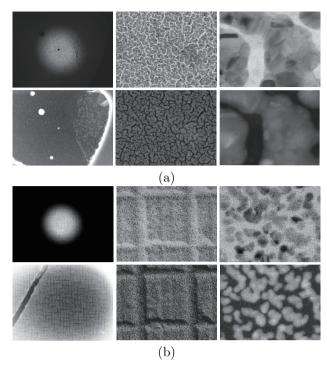


図 2: 電子顕微鏡画像: (a) カーボングラファイト, (b) カーボングレーティング ( それぞれ上段が TE, 下段が ZC, 左から順に 1 番目, 20 番目, 40 番目の画像)

ある。画像サイズは  $640 \times 480$  ピクセルで,各段階の 倍率変化は  $1.1 \sim 1.25$  倍である。実際の実験では,画像の中央部  $400 \times 400$  ピクセルを切り出して使用している。撮影対象はカーボングラファイトとカーボングレーティングである。また,2 種類の検出器(TE=透過電子線,ZC=散乱電子線)を用いて画像を取得している。このため,TE 像と ZC 像は,画像間の相対倍率が等しいことが保証されている。使用した画像を図 2 に示す。倍率の真値がわからないので,TE 像と ZC 像の相対倍率が等しいことを利用して精度評価を行う。TE 像と ZC 像で,それぞれ i 番目と i+1 番目の画像間の相対倍率を推定し,次式で誤差を評価する。

$$\epsilon_i[\%] = \left(\frac{s_i^{TE}}{s_i^{ZC}} - 1\right) \times 100 \tag{1}$$

ここで, $s_i^{TE}$ , $s_i^{ZC}$  はそれぞれ  $\mathrm{TE}$ , $\mathrm{ZC}$  の推定倍率である.図 3 にそれぞれの誤差を,表 1 に  $\mathrm{RMS}$  誤差を示す.図 3 より,従来法では高倍率領域において精度が低くなっていることがわかる.これに対し,画像縮小を用いたアルゴリズムでは,高倍率領域での精度が改善されている.また,一番精度が高くなったのは対応点探索を用いたアルゴリズムであった.従来法と回像縮小を用いたアルゴリズムは,画像全体を使ってのとと簡率を推定するため,画像のぼけによる影響が大きい.これに対し,対応点探索では画像を局所ブロックに分けて推定するため参照する点が多く,画質が多少悪くにも情報量がある程度保たれる.以上より,提案に任平ルゴリズムが,電子顕微鏡画像に対して高精度に倍率推定可能であると言える.

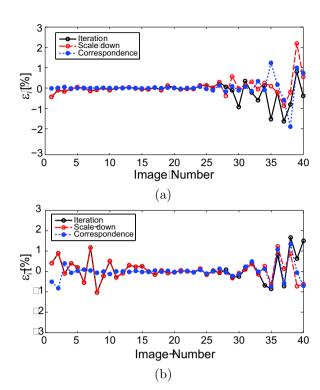


図 3: 相対倍率の誤差: (a) カーボングラファイト, (b) カーボングレーティング

表 1: RMS 誤差 : (a) カーボングラファイト , (b) カーボングレーティング

	繰り返し推定	画像縮小	対応点探索
(a)	0.4559 %	0.4180 %	0.3119 %
(b)	0.5648 %	0.4621~%	0.3848 %

#### 5. むすび

本稿では,電子顕微鏡画像のための POC を用いた 倍率推定アルゴリズムを提案し,電子顕微鏡画像を用 いた精度評価実験を通してその有効性を示した.

#### 参考文献

- K. Takita, T. Aoki, Y. Sasaki, T. Higuchi and K. Kobayashi: "High-accuracy subpixel image registration based on phase-only correlation", IE-ICE Trans. Fundamentals, E86-A, 8, pp. 1925– 1934 (2003).
- [2] 長嶋聖, 青木孝文, 常田るり子: "位相限定相関法に基づく電子顕微鏡画像の倍率推定アルゴリズムとその高精度化", 映像情報メディア学会技術報告, 30, 33, pp. 41-44 (2006).
- [3] K. Takita, M. A. Muquit, T. Aoki and T. Higuchi: "A sub-pixel correspondence search technique for computer vision applications", IEICE Trans. Fundamentals, E87-A, 8, pp. 1913–1923 (2004).