

顕微鏡によるパンフォーカス画像の合成

山下憲親*, 矢島正男*, 周欣欣*, 大木真*, 橋口住久*

(平成6年8月31日受理)

Generation of a Pan-Focused Picture From Multiple Partially-Focused Images

by Norichika YAMASHITA*, Masao YAJIMA*,
Xinxin ZHOU*, Makoto OHKI* and Sumihisa HASHIGUCHI*

Abstract

A simple algorithm is proposed for synthesis of a pan-focused picture from the focused segments of partially-focused pictures taken along the depth. The procedure of discrimination of the focused segments consists of two steps. In the first step the local maximum of contrast is detected by applying a 3×3 differential mask. In the second step the maximum of intensity along the depth is detected. By arranging the intensity according to resulting map of the positions infocus a pan-focused picture is obtained. The whole process of obtaining a pan-focused picture from 60 frame images requires 60 minutes with a personal computer.

1 はじめに

光学顕微鏡で3次元構造物体を観察する際、光学系の焦点深度が試料の奥行きより浅いときには、試料の一部にしかピントが合わない。目視で観察する場合は、合焦位置をずらすことにより3次元構造を推定し視野内の全体像をつかむことができる。

画像処理によって焦点深度を伸ばすには、光軸方向に合焦位置をずらして得た複数枚の画像から“ピントの合った領域”のみを検出し、これらを1枚にまとめて全域にピントのあった画像を合成する。

光軸方向に等間隔に合焦位置をずらして撮影した複数の画像を処理する場合、“ピントの合った領域”を検出する方法には、輝度処理とフィルタ処理がある¹⁾²⁾。

輝度処理は、高速処理が可能であるが、ノイズに弱く、また、輝度変化の激しい部分では正しい合焦位置の検出が難しい。一方、フィルタ処理は、マスクサイズが大きいと、処理時間が長くなる。これまでは、ワークステーションを用いて処理を行なうのが普通であった。ここでは、光軸方向の輝度変化と、積演算を含まない差分型フィルタを用いた隣接画素間の輝度変化とから合焦位置を検出する単純なアルゴリズムを用いて、パーソナルコンピュータレベルでの処理の実現をはかった。

2 輝度変化による合焦部分検出

輝度処理は、合焦すると輝度が極値をとることを利用する。ある画素の光軸に沿う輝度の変化を調べ、図1のように極値をとる位置をその画素の合焦位置とする。輝度処理は画素単位の処理であるので、分解能

*電子情報工学科, Department of Electrical Engineering and Computer Science

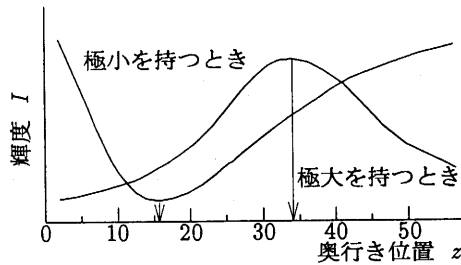


図 1 ある画素の z 方向の輝度変化
(↓: 合焦位置)

が高く、高速処理が可能である。しかし、画像の輝度変化が激しい領域では、隣接画素からの光がボケによって拡がってもれ込むので、輝度が比較的低い画素では、正しくピント位置を検出できないことがある。

差分型フィルタ処理は、一枚の画像の中の合焦部分で空間周波数の高周波成分が大きくなることを利用する。注目する画素近傍の明るさの変化(コントラスト)が光軸方向に極値をとるとき、その画素が合焦位置にあるとする。差分型フィルタ処理では、コントラストが高いエッジ部分の抽出を行なうことができるが、検出する周波数帯域を低周波数まで伸ばそうとしてマスクを大きくすると処理時間が長くなる。ここでは、まず、注目画素近傍の明るさの変化を最小の領域で検出できる積演算を含まない 3×3 画素のマスクを用いて、差分型フィルタ処理によって合焦検出を行ない、合焦位置が検出できなかった領域について、輝度処理を行なうことにして処理の高速化をはかった。

3 処理アルゴリズム

処理の対象は、光軸方向に等間隔に合焦位置をずらして撮影した複数 (N 枚) の画像である。図 2 は処理手順である。

3.1 差分型フィルタ処理

ステップ 1 コントラストの検出

コントラストの指標として、図 3 のように画素 (m, n) を中心にしてこの画素を挟む画素間で輝度の差の絶対値の和

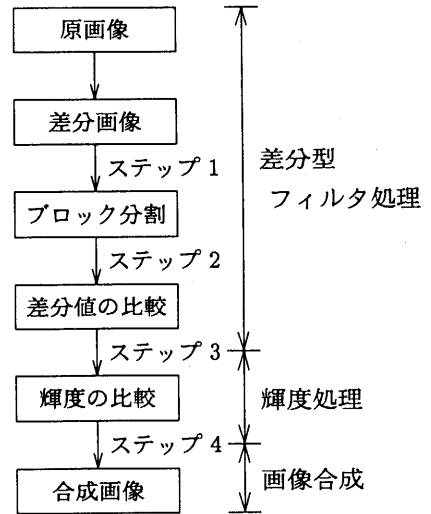


図 2 合焦位置検出手順

$I(m-1, n-1)$	$I(m, n-1)$	$I(m+1, n-1)$
$I(m-1, n)$	$I(m, n)$	$I(m+1, n)$
$I(m-1, n+1)$	$I(m, n+1)$	$I(m+1, n+1)$

図 3 画素 (m, n) の周辺画素の輝度分布

$$D(m, n) = |I(m-1, n-1) - I(m+1, n+1)| + |I(m+1, n-1) - I(m-1, n+1)| + |I(m, n-1) - I(m, n+1)| + |I(m-1, n) - I(m+1, n)| \quad (1)$$

を求める。

ここで、 $I(m, n)$ は画素 (m, n) の輝度である。この処理を全画像の全画素について行ない、差分画像を得る。

ステップ 2 ブロック化

処理を高速化するために、画素ごとに処理する代わりに差分画像をブロックに分割して、各ブロックで合焦位置の検出を行えば、処理時間の短縮をはかれるが、分解能の低下を招く。予備的な実験で、ブロックサイズが 2×2 画素であれば、分解能の低下は肉眼的にはわずかであることがわかったので、ここでは、ブロック分割による分解能の低下を最小限に抑えるために、ブロッ

クとしては最小である 2×2 画素とし、処理速度を4倍にする。各ブロック内で最も大きい差分値をそのブロックの差分値とする。

ステップ 3 光軸方向の比較

各ブロックの差分値の光軸方向の変化を調べ、差分値の最大値があらかじめ定めた閾値以上であるときには合焦位置とする。

3.2 輝度処理

ステップ 4 パターン化³⁾

差分型フィルタ処理により合焦位置の検出ができなかったブロック内の画素は、画素ごとに光軸(z軸)方向の輝度変化のパターンを調べ、次の基準によって合焦位置を決定する。輝度が極値を持つ位置を合焦位置とし、極値を求める目的でパターン化を行なう。画像は、z軸に沿ってN枚ある。

基準 1(a) 両端の輝度が平均値より低い場合(図4(a)), 輝度が最大となる位置で合焦していると判断する。

基準 1(b) 両端の輝度が平均値より高い場合(図4(b)), 輝度が最小となる位置で合焦していると判断する。

基準 2 最小値(最大値)が端付近にある場合(図4(c)), zの両端からあらかじめ定めた枚数内(k)にあるときには、輝度が最大(最小)となる位置で合焦しているとみなす。

基準 3 両端の輝度が平均値の両側にまたがる場合(図4(d)), 輝度の最大と最小のうち、平均値から離れている方が合焦位置にあると判断する。

3.3 閾値の決定法

ステップ3において、差分の閾値を0から10ずつ増やして画像合成を行ない、得られた合成画像の差分画像を作る。差分画像の全画素の差分値の和(差分値総和)を求める。各閾値の合成画像の差分値総和を閾値0の差分値総和で正規化する。図5は、クモの頭部を撮影した場合の相対差分値総和と閾値の関係である。この値の変化がゆるやかになる領域の閾値をステップ3の設定閾値とする。

4 画像の取り込み

4.1 システム

図6は、実験に用いたシステム構成図である。0.2 μm ピッチで制御可能なステップングモータを、パーソナルコンピュータPCで制御して、顕微鏡の焦点位置を光軸方向に移動させる。CCDカメラを用いて、640 \times 400画素8bitの白黒画像を得る。各

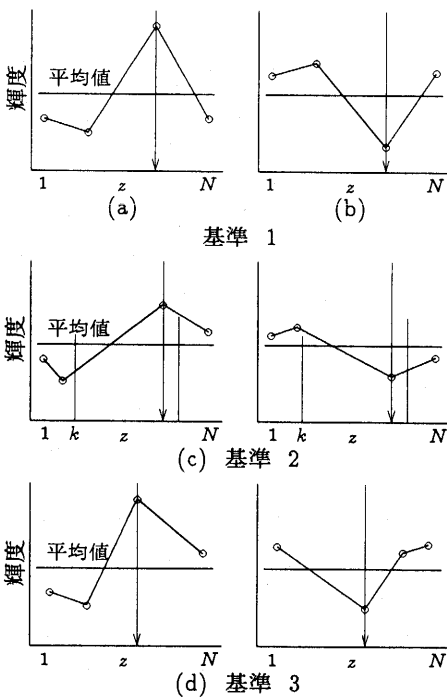


図4 極値判断基準 (↓: 合焦位置)

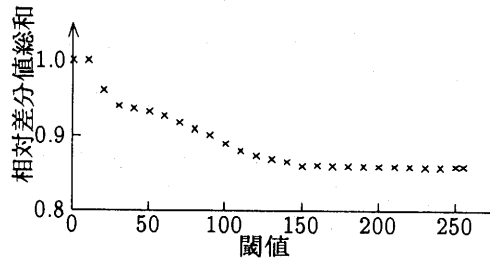


図5 相対差分値総和

位置の画像は、パーソナルコンピュータのハードディスクに保存される。

4.2 合成結果

サンプルとしてクモの頭部を用いて画像合成を行なった。10倍の対物レンズ(NA 0.25)を使用し、光学系の焦点深度の半分である $4.8\mu\text{m}$ のピッチで60枚の画像を取り込み、合成処理を行なった。合成画像を写真1と写真2に示す。写真1は輝度処理のみを用いた場合であり、写真2は差分型フィルタ処理と輝度処理を組み合わせた場合の合成画像である。写真1ではヒゲの輪郭部分や輝度変化の激しい(a)の部分で合焦位置が正しく抽出されていないが、写真2ではこれらの領域の画質の改善がみられる。

写真2のうち、差分型フィルタ処理による合成画素数が39.8%、輝度処理による合成画素数が60.2%を占めている。写真2のようなエッジ部分のはっきりした複雑でない画像については、輝度処理のみの場合に比べ画質の改善がみられた。コントラストの変化が激しいエッジ部分を多く含む画像であれば、閾値を低く設定した方が画質の改善がはかられる。

写真2を得るのにかかる処理時間はパーソナルコンピュータ(80486, 20MHz)を使用して60分程度である。処理時間は画像をハードディスクから読み出す時間もかなりの部分を占めている。

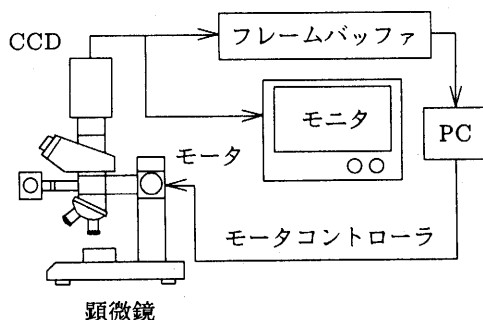


図6 システム構成

5 検討

差分型フィルタ処理では、差分画像をブロックに分割して、処理時間の短縮をはかっている。画像合成時間は、ブロックサイズを変化させていくと、ブロック分割しない場合100分、 2×2 画素では60分、 4×4 画素では50分程度となる。分解能については、ブロックサイズが 2×2 画素であれば、分解能の低下は肉眼的にはわずかであるが、 4×4 画素では分解能の低下が目立ってしまう。 2×2 画素のブロックに分割して処理を行なうことで、ブロック分割による分解能の低下を最小限に抑え、ブロック分割しない場合に比べ処理時間を約1/2に短縮できる。また、本アルゴリズムは、画像をハードディスクから呼び出しながら合成処理を行なっている。画像合成を高速化するには、ハードディスクへのアクセス時間を低減する必要がある。画像データをメモリに記憶させて処理を行なうことで、かなり処理時間を短縮できる。パーソナルコンピュータのCPUのクロック周波数の向上にともなうスピードアップが可能である。

差分型フィルタ処理の閾値を40に設定し、この値より差分値が大きい領域について合焦位置の検出を行なっている。閾値を小さくすると、輝度変化がゆるやかな領域でブロックノイズを生じる。差分型フィルタ処理と輝度処理を組み合わせることで、ノイズによる画質の低下を防ぎ、パーソナルコンピュータでの処理が実現できた。

6 おわりに

差分型フィルタ処理と輝度処理を組み合わせ、合焦位置の検出を行ないソフフォーカス画像を合成した。差分型フィルタ処理により、輝度処理に比べコントラストの高い領域の画質改善をはかるとともに、フィルタ処理にかかる処理時間を、ブロック化処理することによって時間短縮を実現した。コントラストの低い領域では、輝度処理による高速処理と高分解能を両立させた。

参考文献

- 1) 伊藤一良, 一岡芳樹 : 局所統計量による顕微鏡3次元画像処理, 光学, 第18巻, 第5号, pp.241-249, 1989.5.
- 2) R.J.Pieper and A.Korpel : Image processing for extended depth of field, Applied Optics, Vol.22, No.10, pp.1449-1453, May. 1983.
- 3) 山本義昌 : 顕微鏡画像の焦点深度伸長法の検討, 山梨大学卒業論文, 1993.

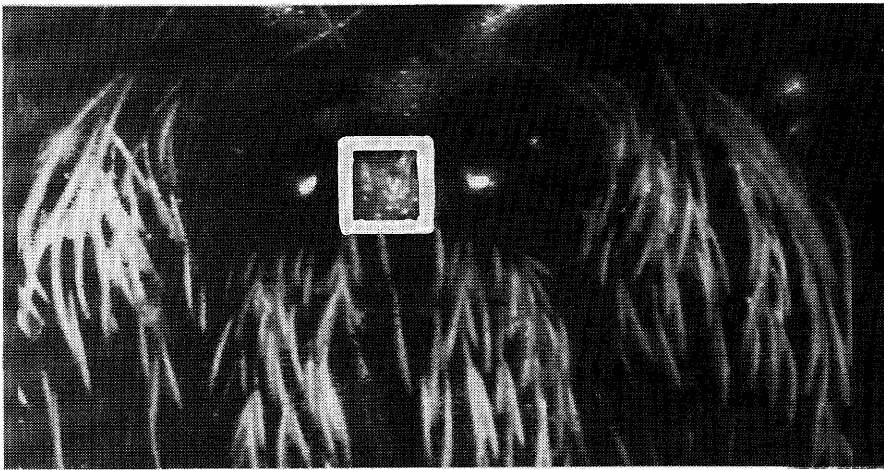


写真1 輝度処理による合成画像

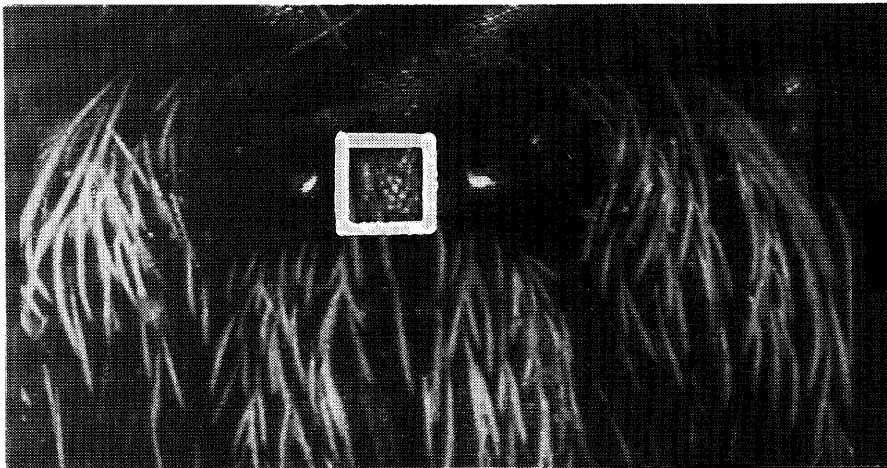


写真2 差分型フィルタと輝度処理による合成画像

□ : (a) 領域