The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	光学顕微鏡トモグラフィー
Author(s)	河田, 聡
Citation	大阪大学低温センターだより. 1986, 56, p. 12-15
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/7722
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

光学顕微鏡トモグラフィー

工学部　河田　聡（吹田 4661）

1. はじめに

光学顕微鏡技術は、最近再び多くの技術者、研究者達に用いられるようになってきた。ひとつの需要は走査型レーザ顕微鏡を用いて能動的に、物質情報を光のエネルギーとの結合において引き出そうというものであるが、他方、特に生物試料等、バイオサイエンスにおいて受動的にその構造等を観察したいという需要も極めて高い。電子線等と比べ、分解能の点では劣るものの、試料にダメージを与えず、生きたままで、水を含んだままで、試料を計測できることの意義は大きい。

生きたまま、すなわち、*in vivo* な観察において、もうひとつ要求される技術は、3次元観測法の開発である。生物試料に関わらずとも、一般に試料は3次元構造をもっており、これを、従来のように何枚もの薄い切片にスライスしていては、*in vivo* な計測、特に動的観察は不可能である。Agard and Sedatは、1983年、Optical Sectioning と呼ぶ3次元観察法をNatureに発表し[1]、非常に大きな反響を得た。これは、焦点を少しずつずらせて撮影した顕微鏡写真群から、観測物体の3次元構造を再生しょうというもので、彼らは染色体の螢光顕微鏡観察への応用を試みた。

同じ頃、我々はX線CTで確立された数学的技術と、光学系の結像特性の知識を駆使した光学顕微鏡トモグラフィーの装置を試作し、最近完成した。ここでは、この方法の原理と実際の応用例を簡単に紹介しょう。[2-5]

2. 投影光学系

光学顕微鏡下でトモグラフィーを実現するためには投影系の装置化に工夫が必要である。我々の開発した方法は、基本的には通常の透過型光学顕微鏡を用い、照明光学系の光軸をずらすことにより、試料を斜め方向から観察するのと等価の投影像を得ようというものである。照射方向を顕微鏡軸に対して回転させると、異なる方向からの多数枚の投影像を得ることができる。図1にこの投影光学系の原理図を示す。この系の特徴は、顕微鏡本体やカメラ及び試料自身を一切動かすことなく、異なる方向からの投影像が得られる点にあり、また各投影像は面内（transaxial）分解能を高く保ちつつ長被写界深度を有する。

一方、問題点は観察角度が対物レンズとコンデンサーレンズの立体角で制限され、それにより軸方向（longitudinal）の分解能が再生結果において制限されること、2回以上の回折や散乱、及び吸収測定時における屈折率分布の影響が誤差として結果に現われることが挙げられる。

3. 3次元再構成法

図1.の光学系で得られたデータは、コンピュータに送られ、そこで3次元物体の分布が再構成される。いわゆるCT、コンピューティド・トモグラフィーである。しかし、図2を見れば明らかなように、通常の臨床用のX線CTと、顕微鏡CTは、原理的に投影方法が異なっており、顕微鏡CTは物体の上方からのみ観察するため奥行分解能が不十分となる。

このような不完全な測定データから元の信号を復元しょうという研究は、最近計測や信号処理の分野で活発に行なわれており、[6-9] 我々も、そのような概念を導入し、この問題を克服した。実際には、物体の空間的拡がりや光学的密度に関する先験情報を結像（投影）方程式に巧みに組み込んでやるのである。

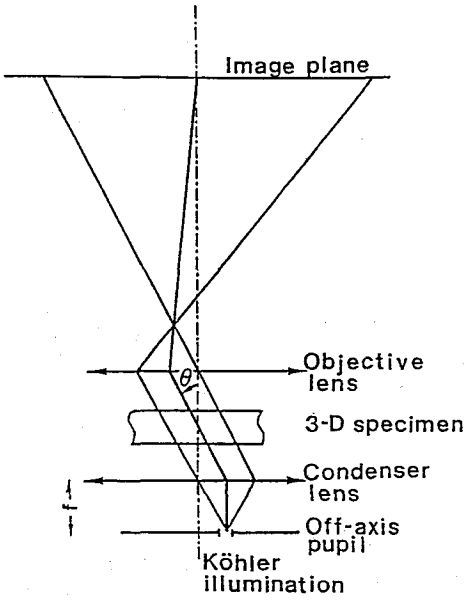

図1. 光学顕微鏡トモグラフィー：投影光学系の原理図[5]

4. 実 験 例

実験結果のうちから分かり易い例を示そう。図3は図1の投影光学系を用いて、照明方向を変えて観察したアオミドロの顕微鏡写真12枚である。[5,10] これらは互いに似通って見えるが、これらを結合して3次元再構成すると、図4の各断層像が求まる。[4] 上から順に、アオミドロの2重螺旋構造と、その中に核が存在している様子が実際に試料をスライスすることなく、観察できる。

現在、画像取込等の制御をパーソナルコンピュータに頼っているため、画素数（64×64×12画素）が少なく，計算はミニコンピュータで実行（8分程度）するため転送等のターンアラウンドタイムが長くなってしまう。しかし、近々、オンラインの処理システムが完成する予定で、それを用いれば高密度画像を高速に取り扱えるようになり、より微細な3次元構造の観察や、細胞分裂等の動的3次元観察も可能になるものと期待している。

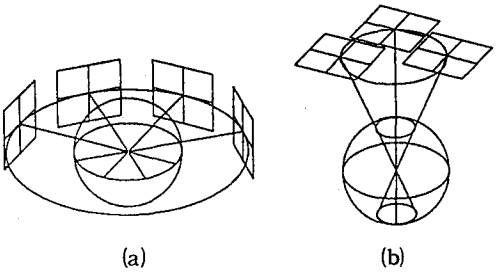

図2. (a)X線CTと(b)光学懸微鏡トモグラフィーにおける投影系の比較。[10]

紙面の埋め草にでもと原稿をお引受けしたが、低温センターだよりに馴じまない話題であったかも知れない。ご容謝いただきたい。終りにあたって、日頃御指導いただいており、このテーマの共同研究者である阪大工学部南茂夫教授に感謝いたします。

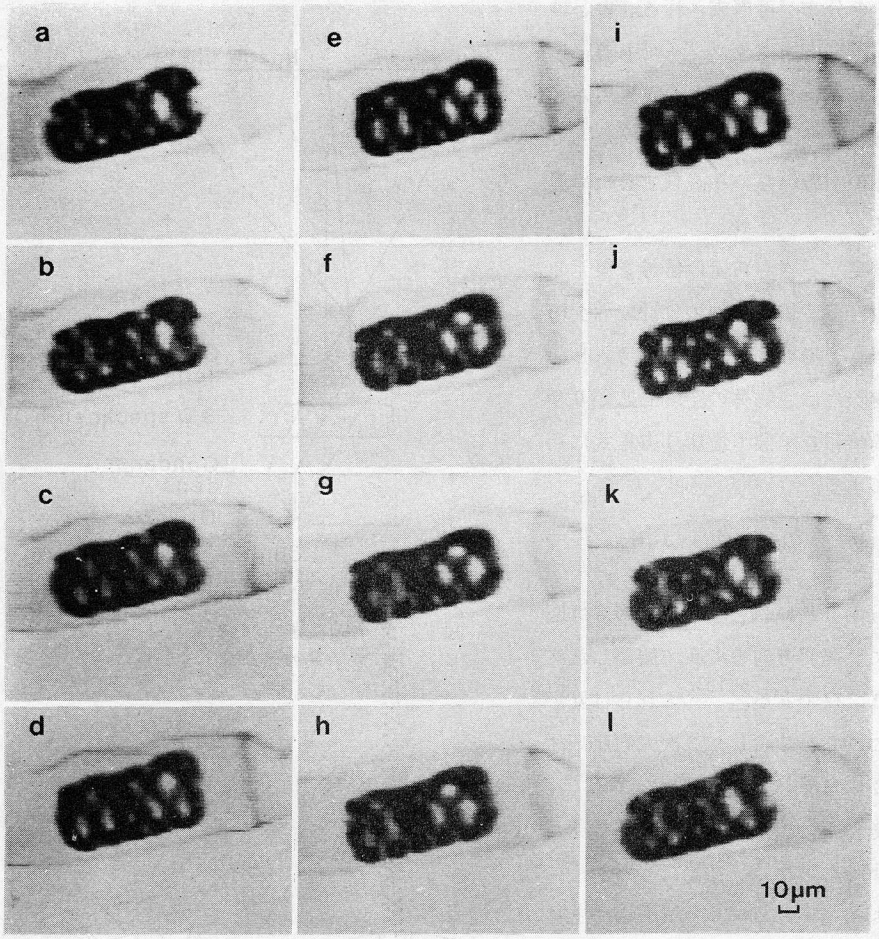

図 3.　アオミドロの１２方向からの照明による投影顕微鏡像。投影角度は顕微鏡軸から１８°、方向は３０°毎。[5,10]

図 4.　図３から求めた再構成断面像。空間拡がりと非負密度拘束下で gradient projection 法で求めた。[4]

参考文献

1) D.A.Agard and J.W.Sedat, Nature, **302**, 676 (1983).

2) S.Kawata, Y.Touki and S.Minami, Proc. SPIE, *Inverse Optics* II **558**, 15 (1985).

3) 河田 聡, 光学, **14**, 333 (1985).

4) S.Kawata, O.Nakamura, and S.Minami, Proc. IEEE-ICASSP 86, 1753(1986).

5) S.Kawata, O.Nakamura, and S.Minami, J.Opt. Soc.Am. **A4**, No1, (1987).

6) S.Kawata and O.Nalcioglu, IEEE Trans.Med.Imag. **MI-4**, 65 (1985).

7) S.Kawata and J.Sklansky, IEEE Trans. Med. Imag. **MI-4**, 153 (1985).

8) 河田 聡, 応用物理, **55**, 2(1986).

9) 河田 聡, 南 茂夫, 分光研究, **35**, 24 (1986).

10) S.Kawata and S.Minami, Acta. Histochem. Cytochem. **19**, 73 (1986).