

# 顕微鏡撮影による複数の焦点画像を利用した全焦点画像生成手法の検討

環境リモートセンシング研究室 西海祥次  
指導教員 力丸 厚

## 1. はじめに

近年、画像合成処理において、焦点の異なる複数の画像により単一の光学系では実現困難な被写体全体に鮮明な全焦点画像を取得する手法について検討する研究や全焦点カメラなどの開発が進められている。また画質の精度は高まり、より鮮明なものになりつつある。生物分野や電子機器分野で用いられる微生物や半導体など対象の形状や奥行きが明確な物は比較的全領域の画像の取得が可能となっているが、自然物のような不明確な物の全領域の画像の取得は困難な場合が多い。顕微鏡や内視鏡などの拡大光学系は、倍率が高くなるほど被写界深度が浅くなるため、ある奥行きに位置に焦点を合わせると、異なる奥行きでは焦点が合わなくなる。そのため、複雑な3次元形状の全ての位置に被写界を合わせることは困難な場合が多く、全焦点画像を取得する技術が必要となる。

そこで、本研究では、同シーンの焦点の異なる複数の顕微鏡画像を利用して、レンジフィルタを用いた画像の比較によりレンジの値の明暗を判定し、それぞれの焦点の合っている鮮鋭領域（合焦領域）を選択抽出することで全焦点画像の取得を行う手法を提案する。レンジフィルタとは、局所領域内での最大値と最小値の差分値を領域の中心画素値に置き換える処理であり、局所領域内での変化の激しさとして出力されるものである。

本研究では、合焦領域と非合焦領域では隣接する画素間のコントラストに差が出て、この差が大きい領域が合焦領域の特徴であるという点に注目して最大値画素から最小値画素の差分であるレンジフィルタを用いた。

この処理により、対象領域全体の隅々まで鮮明な画像の取得が可能であると考えられる。さらに、実時間での処理が可能となれば、これらの機能を備えたカメラや顕微鏡などの更なる発展に繋がると考えられる。

## 2. 解析画像

県立歴史博物館により提供して頂いた遺物の模擬資料の顕微鏡画像（50倍：8枚，100倍：11枚，200倍：12枚）を用いた。（図1参照）これは、昔の人々が、どんぐりなどの木の実を挿り潰したり、石を叩いたりすることに使用したものであると言われている。

解析領域は、図1の青い丸の中である。解析に用いた画像のサイズは、1600(pixel) × 1200(line)のものを用いた。3×3(pixel)中の大きさは、50倍が1.5μm × 1.5μm，100倍が0.75μm × 0.75μm，200倍が0.375μm × 0.375μmである。本研究で用いた顕微鏡画像は、可視のRGB（R：Red，G：Green，B：Blue）の3バンドの波長帯域を用いてカラー合成した画像である。顕微鏡画像のビット数は8ビットであり、0～255の輝度値で表されている。

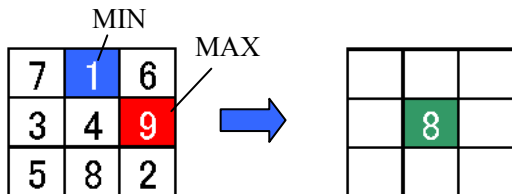


図1 遺物の模擬資料

### 3. 複数の焦点画像を用いた合焦判定の推定

#### 3.1 合焦判定の概要

本研究では、焦点の異なる複数の画像において、各原画像のレンジの値を算出して、比較を行うことで各原画像の焦点の合っている鮮鋭領域（合焦領域）を選択抽出して全焦点画像の取得を行う。仮に画像 A と画像 B を比較し、ある画素のレンジの値の明度が画像 A より画像 B の方が高ければ、その画素領域では画像 B は、画像 A より鮮鋭であり合焦されていたと判定される。従って、焦点の異なる全ての画像のレンジの値を比較すれば全焦点画像の取得ができる。レンジの値の明度が低いと周波数の振幅は穏やかであり、高いと激しく振れる。また、画像はレンジの値の明度が低いと粗く見え、高いと滑らかに見える。つまり、レンジの値が明るい部分が焦点の合っている領域で、暗い部分が焦点の合っていない領域である。



$$\text{レンジフィルタ} = \text{MAX} - \text{MIN} = 9 - 1 = 8$$

図2 レンジフィルタ

#### 3.2 合焦判定

解析には、50 倍の画像を用いた。解析に用いた焦点画像の例と解析の流れを図3、図4に示す。まず画像ごとにフィルタサイズ3×3のレンジの値を算出して、算出したレンジの値を比較する。比較の結果より合成画像を生成し、同様に3×3のレンジの値に最大値フィルタをかけたレンジの値を算出・比較・合成する。そして各々、累積ヒストグラムの高い割合に当たる鮮鋭領域（合焦領域）を選択抽出して全焦点画像が取得できるか判定する。このとき、3×3の閾値（DN値）は13で、閾値以上の領域を合焦、12以下の

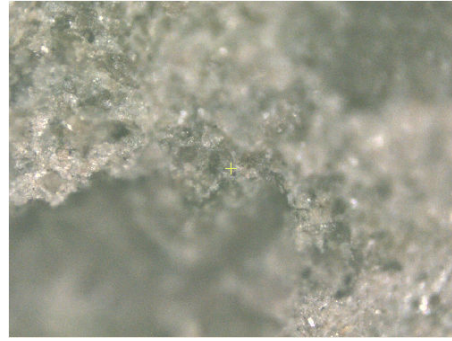


図3 焦点画像の例

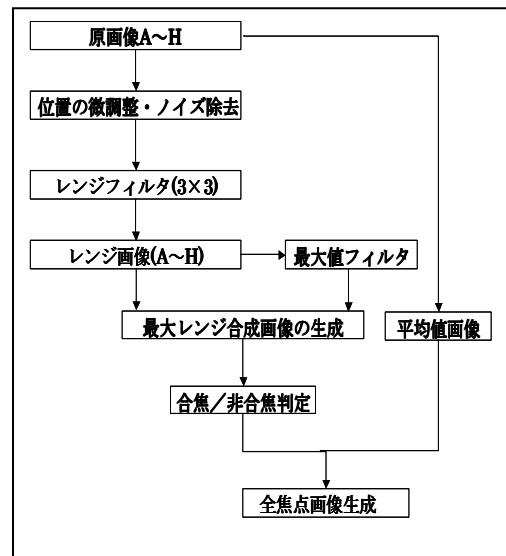


図4 解析の流れ

領域を非合焦にして bitmap 画像を生成した。また、3×3のレンジの値に最大値フィルタをかけたレンジの値の閾値は18で、3×3同様に bitmap 画像を生成した。しかし、これらの生成した bitmap 画像を合成しても1枚の画像中に複数の焦点を有するような全焦点画像の取得ができなかったため、全ての画像の平均値画像を埋まらなかった領域に用いた。図5に、原画像の断面のプロファイル（赤い線）に全焦点画像の断面のプロファイル（青い線）を重ねたものを示す。合成画像の断面のプロファイルが、原画像の合焦領域と重なっていることが確認できる。また、原画像では振幅が小さかった部分が大きくなっており、各原画像の合焦領域を選択抽出したために良好な全焦点画像になったと判断できる。図6に各々の

合焦領域を判定した結果を示す。青い部分が  $3 \times 3$  の合焦部分, 緑色の部分が最大値フィルタをかけた  $3 \times 3$  の合焦部分, 白い部分が全ての平均値画像の合焦部分である。

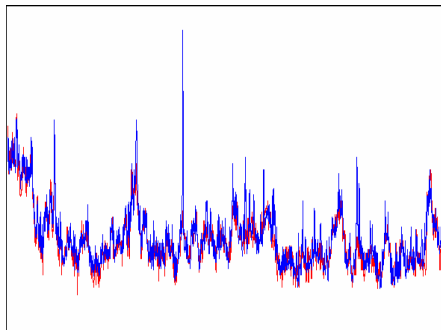


図5 画像断面のプロファイル

### 3.3 全焦点画像の取得

図6の判定結果を用いて全焦点画像の取得を行い, 図7に示す。

画像を見ても, その断面のプロファイルを見ても原画像の焦点の合っている鮮鋭領域(合焦領域)を選択抽出できていて, 良好な全焦点画像を取得できていることが確認できる。但し, 各原画像の合焦領域だけでは全焦点画像の取得をすることができなかった領域があった。その領域には, 全ての原画像の平均値画像を用いた。この領域は, 平滑なため各原画像におけるレンジの値の差はほとんどなかったため, 平均値画像を用いたことによる影響は極めて少なかった。そのため, 全ての画像の平均値画像を用いたことにより良好な全焦点画像の取得ができたと言える。

## 4. 全焦点画像取得の検討

### 4.1 倍率変化

50倍の画像を用いたとき, 良好な全焦点画像を取得することができた。そこで, 倍率の違う画像では全焦点画像を取得することができるか検討する。解析には, 100倍と200倍の画像を用いた。50倍同様に, 100倍と200倍の画像を各々図4の解析の流れにより, 全焦点画像の取得を

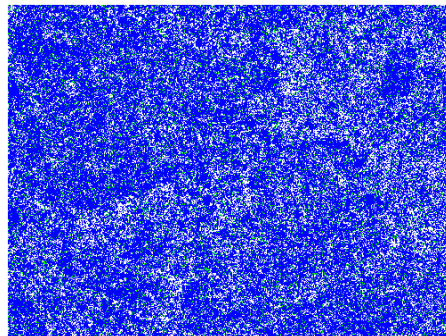


図6 判定結果

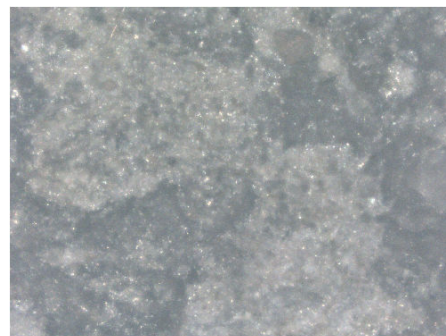


図7 全焦点画像

行った。しかし, どちらも良好な全焦点画像にはならなかった。これには, 2点の原因が考えられる。1つは, 解像度の性質によるものである。解像度が高いと対象物質は細かい部分まで鮮明に見ることができるため, 倍率が高くなることにより焦点の合っている鮮鋭領域と焦点の合っていない非鮮鋭領域の画素の差が大きくなってしまう。そのため, レンジの値を算出する際にフィルタサイズが小さかったために, 細かい部分に注目されることで, その部分の画素の激しい高低差や完全にノイズ除去できなかった部分などがレンジの値を変化させたためである。もう1つは, 累積ヒストグラムの高い割合に当たる鮮鋭領域を各原画像から選択抽出したことである。これは, 初めに最大レンジ合成画像が不十分に生成されても, その中の積ヒストグラムの高い割合に当たる鮮鋭領域累を選択抽出したためである。

### 4.2 フィルタサイズの変化

本研究で提案した手法では, 100倍と200倍の画像は全焦点画像を取得することができなかつ

たため、違う手法による検討する必要がある。そこで、累積ヒストグラムで求めた領域を選択抽出するのではなく、レンジフィルタのフィルタサイズを $3\times 3\rightarrow 5\times 5\rightarrow 7\times 7$ のように拡大させることで全焦点画像を取得できるか検討する。検討した結果、100倍は $31\times 31$ 、200倍は $63\times 63$ のフィルタサイズにしたときに、良好な全焦点画像を取得することができた。それぞれの全焦点画像を図8、図9に示す。また、50倍の画像でも検討した手法により全焦点画像を取得できるか試みたところ、図10のように、画像の左下と右側がぼやけてしまうことが確認でき、良好な全焦点画像とは言えない結果となった。

## 5. まとめ

本研究で提案した手法では、50倍の画像では、良好な全焦点画像を取得できるが、倍率を高くすると取得することが困難であることを確認できた。その原因としては、解像度の性質や累積ヒストグラムによる合焦判定の誤りによって、レンジの値に影響を与えてしまったと考えられる。また、100倍と200倍の画像では、レンジフィルタのフィルタサイズを拡大する手法により良好な全焦点画像を取得できた。この手法では、50倍の画像の全焦点画像の取得はできなかった。この原因としては、すでに小さいフィルタサイズのときに合焦領域を選択抽出できるのに、フィルタサイズを拡大させることで周辺の非合焦領域の情報まで混合してとらえてしまったことによりレンジの値に影響を与えてしまったと考えられる。

レンジフィルタを用いた手法には今後も検討していく余地がまだ残っていると考えられる。今後の展望として、1つの手法での全焦点画像取得、作業の短縮化、対象の奥行きの変化した場合、顕微鏡以外の画像を用いた場合などが挙げられる。

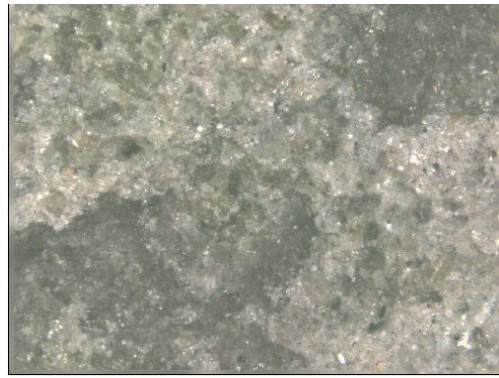


図8 100倍の全焦点画像

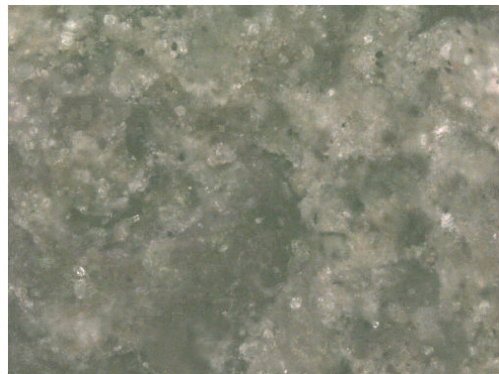


図9 200倍の全焦点画像



図10 50倍の全焦点画像

## 6. 参考文献

- 1) 内藤将彦, 児玉和也, 相沢清晴, 羽鳥光, 複数の異なる焦点画像からの焦点外れ画像の生成を利用した全焦点画像の強制的取得
- 2) 藤原至誠, 相沢清晴, 羽鳥光俊, 画像からの再構成による鮮鋭画像の取得