

強度輸送方程式を用いた
オートフォーカシングおよび微弱光環境における
定量位相イメージングの実現

令和2年3月

和歌山大学大学院 システム工学研究科

小室 幸士

Numerical-Autofocus and Low-Light Quantitative
Phase Imaging Based on
Transport of Intensity Equation

March 2020

Graduate School of Systems Engineering, Wakayama University

Koshi Komuro

概要

生体・医療分野において、現行の細胞観察方法には、被写界深度が浅い、侵襲性があるという二つの問題がある。本研究では、定量位相イメージングの技術によるこれらの問題の解決を試みる。定量位相イメージングの中でも特に光学系が簡易な強度輸送方程式 (TIE: Transport of Intensity Equation) を用いた定量位相イメージングを採用し、以下の三つの手法を提案する。

はじめに、浅い被写界深度に対する解決方策として、強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングによる数値的オートフォーカシング、オートフォーカス TIE を提案する。オートフォーカス TIE により、薄い単一物体や同一平面内に存在する複数の薄い物体の光軸方向の移動に対応したフォーカシングが可能となる。物体光軸位置を特定するための 3 種類の統計量を導入し、シミュレーションおよび光学実験による特定精度の比較により、本手法に適したものを選定する。

次に、オートフォーカス TIE を発展させた適応的オートフォーカシングを提案する。適応的オートフォーカシングは画素ごとに物体光軸位置を特定可能なため、異なる深さ位置に存在する複数の物体や光学系の被写界深度よりも厚い 3 次元物体への視野全体でのフォーカシングが可能となる。生きた植物細胞を用いた光学実験により、適応的オートフォーカシングの有用性を示す。

最後に、侵襲性への解決方策として、強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングを計算ゴーストイメージング (CGI: Computational Ghost Imaging) に導入した、強度輸送計算ゴーストイメージング (TI-CGI) を提案する。TI-CGI により、微弱照明下において定量位相イメージングが実現でき、試料の非侵襲な定量観察が可能となる。シミュレーションによりランダムノイズ耐性を評価し、位相シフトデジタルホログラフィとの比較実験により、TI-CGI の有用性を示す。

本研究において提案する三つの手法は、現行の細胞観察方法の問題である浅い被写界深度および侵襲性の問題を解決することから、生体・医療分野の発展に寄与するものであると期待される。

Abstract

In a biomedical field, existent cell observation methods have problems of shallow depth of field and invasiveness. This study solves the problems by using quantitative phase imaging (QPI). The QPI based on the transport of intensity equation (TIE) is adopted because of its simple optical setup. This study proposes three methods as follows.

First, a numerical autofocusing method based on the TIE is proposed to solve the problem of shallow depth of field. The method, termed autofocus TIE, enables one to focus on a thin object or multiple thin objects in a single plane. Three kinds of statistics are introduced and evaluated by numerical and optical experiments. The suitable statistic is determined for the autofocus TIE.

Second, adaptive autofocusing is proposed, which expands the autofocus TIE to allow focusing on three-dimensional objects in different depth positions. The depth information can be determined pixel by pixel by the adaptive autofocusing. Therefore, focused complex amplitudes can be obtained in an entire field of view. The effectiveness of the adaptive autofocusing is confirmed by an optical experiment using living plant cells.

Third, the TIE-based QPI is applied to computational ghost imaging (CGI) to solve the problem of invasiveness. The method, termed transport-of-intensity CGI (TI-CGI) achieves the QPI under low-intensity illumination and allows noninvasive cell observation. A numerical experiment is performed to evaluate random noise tolerance of the TI-CGI. An optical experiment is carried out to compare the phase imaging quality of the TI-CGI and phase-shifting digital holography.

The three methods are expected to contribute to the development of a biomedical field by solving the problems of shallow depth of field and invasiveness.

目次

第 1 章	序論	1
1.1	研究背景	1
1.2	研究目的	3
1.2.1	現行の観察技術の課題	3
1.2.2	高分解能化に伴う課題の解決方策	4
1.2.3	侵襲性に対する解決方策	6
1.3	本論文の構成	9
第 2 章	強度輸送方程式を用いた定量位相イメージング	11
2.1	強度輸送方程式の概要	11
2.2	強度輸送方程式の導出と物理的意味	12
2.3	フーリエ変換による解法	14
第 3 章	オートフォーカス TIE	19
3.1	緒言	19
3.2	オートフォーカス TIE の原理	19
3.3	シミュレーションによるランダムノイズ耐性評価	22
3.4	オートフォーカス TIE の光学実験	27
3.5	結言	32
第 4 章	適応的オートフォーカシング	35
4.1	緒言	35
4.2	適応的オートフォーカシングの原理	35
4.3	適応的オートフォーカシングの光学実験	39
4.4	結言	43
第 5 章	強度輸送計算ゴーストイメージング	47
5.1	緒言	47
5.2	計算ゴーストイメージングの原理	47
5.3	TI-CGI の原理	50
5.4	TI-CGI のシミュレーション	51

5.5	TI-CGI の光学実験	53
5.6	結言	58
第 6 章	結論	59
謝辞		
参考文献		
研究業績		
付録		

第 1 章 序論

1.1 研究背景

光は波であり、振幅と位相の情報をもつ。振幅は物体を透過もしくは反射した光の明るさの情報であり、我々ヒトの目や一般的なカメラで捉えることが可能である。一方、物体の厚さ・表面形状・屈折率の情報をもつ位相は直接、観察することができない。位相を可視化する位相イメージングは生体医療分野で用いられる顕微鏡に応用され、光学の一大分野として数えられる。位相イメージングは振幅情報をもたない透明物体の内部構造を観察可能にする。すなわち、染色を施さずに生細胞やレンズなどの無色透明な光学素子の観察が可能である。位相イメージングを実現するために従来から、位相差顕微鏡^{1,2)}、微分干渉顕微鏡^{3,4)}が用いられてきた。位相差顕微鏡では、対物レンズの瞳面（フーリエ面）において回折光もしくは非回折光のいずれかに位相遅延を与えることにより、観察対象の位相を明暗のコントラストに変換し可視化する。この画期的な発明により Zernike は 1953 年にノーベル物理学賞を受賞した。一方、Nomarski は 1952 年に微分干渉顕微鏡を開発した。この顕微鏡は、光源からの光波を Nomarski プリズムによって互いに直交する二つの偏光に分波し、試料上のわずかに異なる 2 点を通過させ再び合波・干渉させることにより試料の位相勾配を可視化する。位相差顕微鏡および微分干渉顕微鏡は、蛍光顕微鏡と並んで現在でも主流な細胞観察法として用いられるが、どちらも位相分布の“定性”観察にとどまる。これに対し、位相分布を“定量”的に取得可能な定量位相イメージング手法は、従来までの主観的観察に頼らない新たな試料観察・評価手法として一般に普及しつつある。

定量位相イメージングとしておもな手法を表 1.1 に示す。干渉計測⁵⁾（ホログラフィ）は定量位相イメージングに最もよく用いられる手法である。他の手法と比較して計測物体を制限する近似の導入がなく高精度な計測をおこなうことが可能である一方、物体光路に加えて参照光路を必要とするため振動への耐性が低いといえる。物体光と参照光に角度差を設けて干渉させるオフ軸配置を用いる^{6,7)}、もしくは拡散板などの光学素子を追加する⁸⁻¹⁰⁾ ことにより単一露光での位相分布取得が可能であるが、空間分解能が低下する。角度差をつけないオン軸配置を採用し位相シフト法¹¹⁾を用いることにより分解能低下が防げるが、複数回の露光を必要とする。

強度輸送方程式は、1983 年に Teague によって提案された、強度分布と位相分布お

よび強度分布の光軸方向微分を関連づける偏微分方程式である¹²⁾。これを用いることにより試料強度の光軸方向変化（デフォーカス）に基づき、位相分布を算出することが可能である。強度輸送方程式は近軸近似に基づくため、光軸方向に変化の急峻な複素振幅分布をもつ物体に対して、計測精度は低下する。位相分布算出のためには、光軸方向の強度変化を計測、すなわち異なる光軸位置において強度分布を取得する。したがって光学系は一般の結像光学系（場合によっては不要）と撮像素子を走査するためのステッピングモータなどの機構のみにより構成されるため、比較的簡易であるといえ、従来の光学顕微鏡と親和性が高い¹³⁻¹⁶⁾。上述のように機械的走査をおこない複数回の露光が必要であるという短所があるが、光源および撮像素子をマルチスペクトル・マルチバンドなものに変更¹⁷⁾、もしくは空間光変調器 (SLM: Spatial Light Modulator) などの光学素子を追加する¹⁸⁻²⁰⁾ ことにより、単一露光による位相計測も可能である。

Shack-Hartmann 波面センサ²¹⁻²³⁾ はマイクロレンズアレイを撮像素子の前に配置し、撮像素子面上にあらわれる集光スポットの変位に基づき波面勾配（位相分布）を計測する機器である。マイクロレンズアレイと撮像素子により構成される簡易な光学系により実現されるが、得られる位相分布の空間分解能は撮像素子の1画素（数 μm ）ではなく、マイクロレンズの大きさ（数 $100\mu\text{m}$ ）に制限される。

Gerchberg-Saxton アルゴリズム²⁴⁾ に代表される反復位相回復アルゴリズム²⁵⁻²⁷⁾ は撮像素子を走査して光軸位置の異なる複数平面における強度分布を取得し、それらを拘束条件として反復的に位相分布を回復する。光学系は強度輸送方程式を用いる場合と同様、簡易であるが、解析的解法ではないため計測精度は他の手法と比較して劣り、長い計算時間を要する。また、解が所望の値とは異なる値に収束してそこから抜け出せなくなる停滞 (stagnation) と呼ばれる特有の問題を抱える²⁸⁾。

表 1.1 おもな定量位相イメージング手法

手法	計測精度	空間分解能	計算コスト	ロバスト性
干渉計測（ホログラフィ）	○	○	○	×
強度輸送方程式	△	○	○	○
Shack-Hartmann 波面センサ	○	×	○	○
反復位相回復アルゴリズム	△	○	×	○
微分位相コントラスト	△	○	○	○

微分位相コントラスト²⁹⁾は物体照明パターンを変化させる³⁰⁾、もしくは結像光学系の瞳面において物体フーリエスペクトルに振幅マスクを施す³¹⁾ことによって取得した複数の強度分布をもとに位相分布を算出する。簡易な結像光学系により実現されるが、弱回折近似^{32,33)} (weak object approximation) に基づくため計測対象が吸収が小さくかつ厚みの薄いものに制限される。一般的に照明もしくはマスクパターンを変化させながらの複数回露光が必要であるが、強度輸送方程式を用いる場合と同様、光源および撮像素子をマルチスペクトル・マルチバンド化することにより、単一露光による位相計測が可能となる^{34,35)}。

また近年、取得される情報のスパース性に着目した圧縮センシング^{36,37)}や、大量のデータセットを用意し、所望の解を出力するネットワークを構築する機械学習を用いた定量位相イメージング³⁸⁻⁴⁴⁾の研究が盛んにおこなわれている。これらの手法は、従来手法では不可能であった光学系の空間分解能⁴⁵⁾などの物理的制限を打破することができる新たな道筋を示す手法として注目されている。

1.2 研究目的

1.2.1 現行の観察技術の課題

定量位相イメージングの応用が最も期待されている分野は生体・医療分野である。当該分野における細胞観察には現在、蛍光観察がおもに用いられている。蛍光観察では2014年にノーベル化学賞を受賞したSTED (STimulated Emission Depletion) 顕微鏡法^{46,47)}やPALM^{48,49)} (PhotoActivated Localization Microscopy) に代表されるように、イメージングの高分解能化が積極的に研究されている⁵⁰⁻⁵⁵⁾。ただし、高分解能化および蛍光観察にはそれぞれ課題がある。高分解能化のためには高NA (Numerical Aperture) の対物レンズを用いる必要がある。そのため必然的に被写界深度は浅くなり、物体が光軸方向に移動した場合フォーカス位置から外れやすくなる。また、視野内に複数の物体が存在し、それらが異なる深さに位置する場合、すべての物体に同時にフォーカスを合わせることは困難となる。当該分野においては近年、高分解能化と広視野化の需要が高まっているが、被写界深度が浅くなることは、この広視野化を達成する上で大きな障害となる。さらに、蛍光観察をおこなう際は蛍光染色に起因する光毒性が原因となり、細胞が変質・死滅してしまうという問題が生じる^{56,57)}。特に、再生医療の分野ではiPS細胞 (induced Pluripotent Stem cells) の評価観察方法が必要とされている⁵⁸⁾。最終的に体内に移植されるiPS細胞には変質があるべきではない

め、蛍光観察は不適である。

1.2.2 高分解能化に伴う課題の解決方策

定量位相イメージングは上述の問題を解決する可能性を有する。物体の位相分布が計測可能であるため、フォーカスのはずれた光軸位置における位相分布を計測し、後に計算機内で伝搬計算をおこない物体にフォーカスした位相分布（および振幅分布）が取得可能である。すなわちフォーカスが可能である。ただし、一般に物体の光軸方向の移動距離は既知でないため、数値的オートフォーカシングを用いて物体の光軸位置を特定する必要がある。ここで「数値的」は、商業用のカメラでよく用いられているレンズの位置を物理的に動かすオートフォーカシングと対比して、像取得後に計算機内においてオートフォーカシングをおこなうという意味をあらわしている。以降、本論文では数値的オートフォーカシングを単にオートフォーカシングと呼ぶ。オートフォーカシングは、ホログラフィをイメージングに用いた顕微鏡であるホログラフィック顕微鏡の分野で盛んに研究されてきた⁵⁹⁾。振幅分布の鮮鋭度（シャープネス）を評価指標としたオートフォーカシング手法⁵⁹⁻⁶¹⁾が提案されているほか、フーリエスペクトルに基づく手法^{59,62)}など多くの手法⁶³⁾が提案されている。ホログラフィック顕微鏡は商用化されているものの、高価なためその使用は研究用途に限られ、細胞観察用の顕微鏡として広く一般に普及するには至っていない⁶⁴⁾。高価な理由はおもに二つある。一つ目は、図 1.1(a) に示すように干渉を得るため物体光路のほかに参照光路を必要とする点である。光路を分波するための素子が必要であり、一般の光学顕微鏡と比較して光学系を構成する素子数が増える。二つ目は、干渉に基づくため振動に弱いという点である。物体光と参照光が精度良く撮像素子面において重なり合わなければならないため、振動を抑制する機構を必要とする。そこで、本研究では図 1.1(b) に示すように光学系が比較的簡易である強度輸送方程式 (TIE: Transport of Intensity Equation) を用いた定量位相イメージング¹²⁾に着目した。強度輸送方程式は近軸近似に基づくが、光の吸収が大きくなく局所的な位相差が小さい薄い生細胞（大きさ：数 μm ～十数 μm ，位相差： $1\sim\pi$ rad 程度）を計測対象とした場合、位相計測精度は問題にならない^{13,16,66)}（近軸近似による物体の制限は第 2.2 節において議論する）。干渉を必要としないため、強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングは既存の光学顕微鏡に容易に組み込むことが可能である。その光学系の簡易さから強度輸送方程式は細胞観察だけでなく、トモグラフィ⁶⁷⁻⁷⁰⁾やホログラフィックメモリ⁷¹⁾への応用が

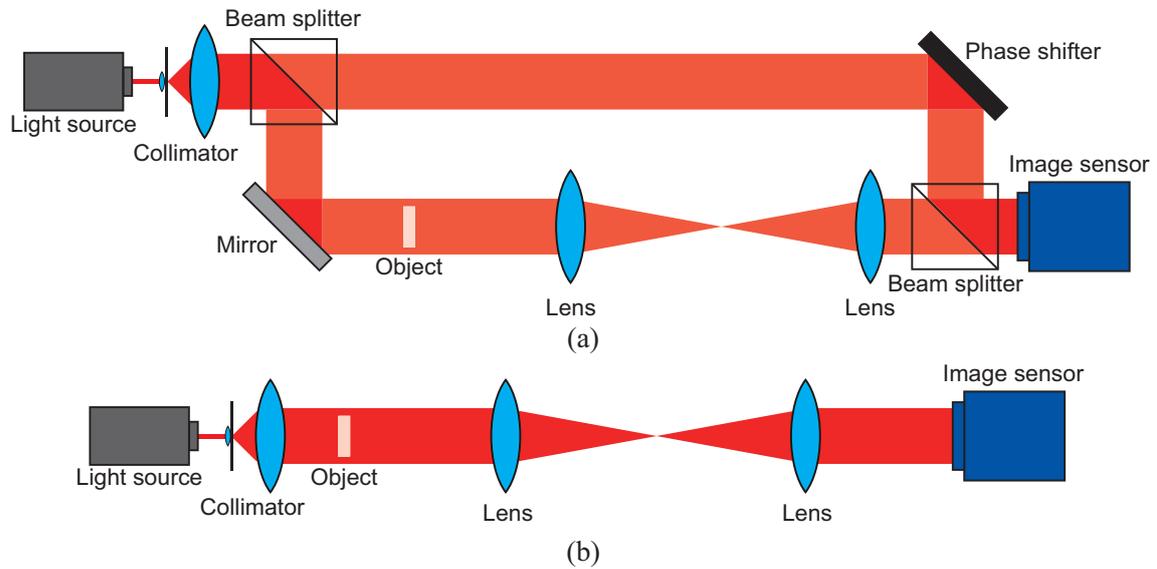


図 1.1 干渉計測および強度輸送方程式を用いる場合によく使用される光学系の比較. (a) 干渉計測に用いられる Mach-Zehnder 型干渉計, (b) 強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングに用いられるテレセントリック結像光学系 ($4-f$ 光学系ともよばれ⁶⁵⁾, ここで f はレンズの焦点距離をあらわす). 干渉計測には一般に物体光路とは別の参照光路が追加が必要とされる.

研究されている. ホログラフィック顕微鏡と比較して, 強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングにおいて, オートフォーカシングの研究はほとんどおこなわれていない (細胞固有の評価基準 (cellular duty ratio) を用いる特殊な手法⁷²⁾ や機械的オートフォーカシングを伴う手法⁷³⁾ は提案されている). 本研究ではホログラフィック顕微鏡において用いられる鮮鋭度の評価指標として代表的な分散, 勾配, 2 次微分に基づく方法^{59,74)} を強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングに応用したオートフォーカス TIE を提案する⁷⁵⁾. 振幅分布が一様もしくはほぼ一様な物体に対して, 三つの評価指標の物体光軸位置の特定精度をそれぞれ数値シミュレーションおよび光学実験により比較する.

オートフォーカシングでは, 1) 被写界深度よりも互いに大きく離れた光軸位置に複数の物体が存在する場合, すべての物体にフォーカスを合わせることは困難である. それに加えて, 2) 被写界深度よりも厚みのある物体 (3 次元物体) に対してはその物体の一部にしかフォーカスを合わせるができない. これらの問題を解決するため

に本研究ではオートフォーカス TIE を発展させた適応的オートフォーカシングを提案する⁷⁶⁾。適応的オートフォーカシングでは、従来のオートフォーカシング手法を局所的に用いることにより、画素ごとに（適応的に）物体の光軸位置を特定する。これにより、フォーカシング可能な光軸方向の範囲は被写界深度に制限されず、上述の 1), 2) 二つの状況に対応可能である。類似手法⁷⁷⁾が提案されているが、これには局所評価領域のサイズによって物体位置の特定精度が低下するという問題がある⁷⁸⁾。類似手法では経験則からこのサイズを決定しているが、適応的オートフォーカシングではそれを自動的に決定可能である。また評価領域のサイズは物体の部位によって異なることが示されているが、本手法ではそれを適応的に決定し用いることにより、物体光軸位置の特定精度を向上させる。植物学の分野においてモデル生物として広く使用されているヒメツリガネゴケ⁷⁹⁻⁸³⁾を計測対象として光学実験をおこない、適応的オートフォーカシングの有用性を実証する。

1.2.3 侵襲性に対する解決方策

定量位相イメージングは上述のように像取得後にフォーカシングが可能という利点だけでなく、蛍光染色を必要としないため、光毒性による細胞変質・死滅を軽減できるというメリットがある。さらに、細胞の厚さ・屈折率情報が反映された位相分布が定量的に取得可能なため、従来の定性的な細胞観察にとどまらず、細胞の状態を定量的に評価可能である。Popescu らは取得された定量位相から細胞の乾燥質量 (dry mass) が計測可能なことを示しており⁸⁴⁾、計測された乾燥質量から細胞の動態や増殖、分化状態が特定可能である。ただし、蛍光を用いないとしても、光源の強度によっては依然として細胞を傷つけるリスクがある。長時間の観察を続けた際は光量の影響が顕著にあらわれる。光の吸収による細胞の損傷を防ぐためには光源の強度を減光フィルタを用いて減光すればよいが、一方で撮像素子において電子が熱的にランダムに運動することにより生じる熱雑音⁸⁵⁾や、光の量子的ゆらぎによる量子雑音^{85,86)} (Poisson ノイズ, ショットノイズ) が所望の信号に対して支配的となって信号対雑音比 (SNR: Signal-to-Noise Ratio) が低下し、高品質なイメージングの妨げとなる。

そこで、本研究では SNR の低い環境においても高品質な強度イメージングを可能とする計算ゴーストイメージング^{87,88)} (CGI: Computational Ghost Imaging) に着目した。計算ゴーストイメージングは、点検知器とともに参照光波取得用のエリアセンサ (撮像素子の配置、もしくは点検知器の 2 次元走査により実現) を必要とするゴースト

イメージング^{89,90)}を、一つの点検知器のみで実現可能な手法である。ここで、点検知器は面積をもつが、一般的な撮像素子と比較して強度の分布ではなく0次元の強度値を計測する素子であることを強調するため、本論文ではその名称を用いる。従来のゴーストイメージングおよび計算ゴーストイメージングの光学系の比較を図1.2に示す。ゴーストイメージングは当初、量子論的立場から光子の量子もつれに関する研究として発表され^{89,90)}、その後、古典論的立場から参照光波をスペックルパターンに置き換えた議論がなされた^{91,92)}。ゴーストイメージングでは、物体に照射する参照光波のパターン（複数用いる）と、その都度点検知器により取得される物体透過もしくは反射後の強度値の総和との相関性に基づき、物体の相対的な2次元透過率分布もしくは反射率分布を再構成する。従来のゴーストイメージングでは磨りガラスや拡散板を回転させるなどして照明光波を変化させ、そのパターンをエリアセンサにより取得し

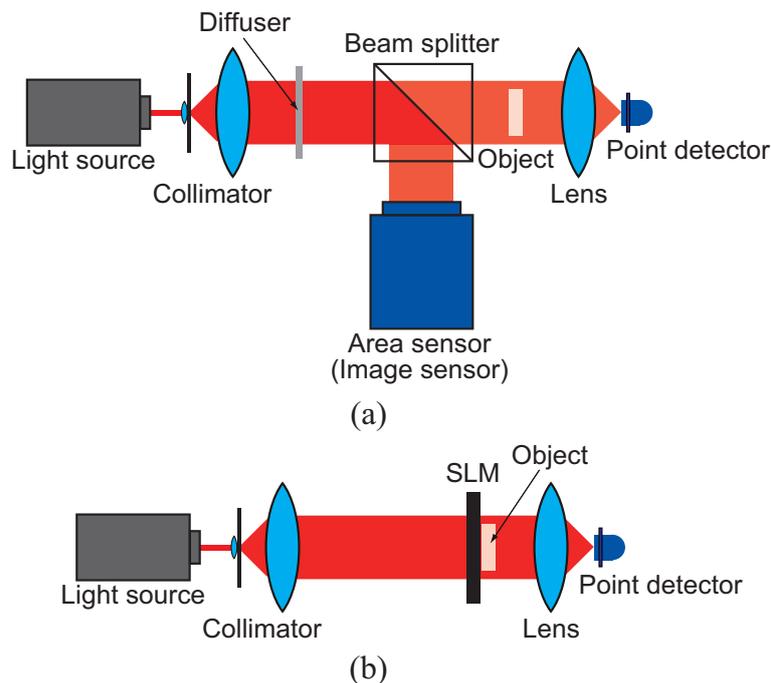


図 1.2 ゴーストイメージングおよび計算ゴーストイメージングに使用される光学系の比較。(a) ゴーストイメージング、(b) 計算ゴーストイメージング。従来のゴーストイメージングでは点検知だけでなく拡散素子を回転させて発生させたスペックルパターン（参照光波の強度分布）の計測が必要とされる。

ているが、その操作を SLM⁸⁸⁾ や DMD^{93,94)} (Digital Micromirror Device) による光波の振幅変調に置き換え任意の照明パターンを与えられるようにしたものが計算ゴーストイメージングである。以上のとおり、計算ゴーストイメージングは一つの点検知器を用いた強度計測により物体の2次元強度分布の再構成が実現可能なため、レンズにより集光した光強度を点検知することにより SNR を高めることができる。また、照明パターンを切り替えて繰り返し強度計測をおこなうことにより、ランダムに生じるノイズの影響を低減する効果(分光計測の分野では Fellgett 利得と呼ばれる)もある⁹⁵⁾。しかしながら、計算ゴーストイメージングで取得可能な情報は物体の強度(振幅)分布であり、細胞の厚さ・屈折率情報が反映された定量位相は取得できない。この問題を解決するために、位相シフトデジタルホログラフィを応用した計算ゴーストイメージング^{96,97)}が提案されているが、光学系が複雑になり、さらに強度の計測回数が4枚の位相がシフトされたホログラムを取得するために4倍になる。コアキシャル配置を採用することにより単一光路によりホログラムを取得する手法⁹⁸⁾も提案されているが、この手法も複数のホログラムの取得を必要とする。

本研究では、簡易な光学系を用いて従来の計算ゴーストイメージングと同じ計測回数により位相分布の取得を可能にするため、強度輸送方程式を導入した強度輸送計算ゴーストイメージング (TI-CGI: Transport-of-Intensity Computational Ghost Imaging) を提案する⁹⁹⁾。TI-CGI では、振幅分布が一様な物体を想定し、SLM の位置を変更した光学系を用いて計算ゴーストイメージングにより取得した1枚のデフォーカス像から物体の位相分布を強度輸送方程式により算出する。したがって、微弱な光を用いた生細胞の非侵襲かつ定量的な評価手法として用いることが期待される。本論文では、評価試料としてマイクロドットレンズ¹⁰⁰⁾を用いた光学実験により TI-CGI を実証する。

以下に、本論文において提案する手法をまとめる。

- 1) オートフォーカス TIE : 強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングにおいてオートフォーカシングが実現可能な手法
- 2) 適応的オートフォーカシング : オートフォーカス TIE を改良した、画素ごとに物体位置を特定可能な手法
- 3) 強度輸送計算ゴーストイメージング (TI-CGI) : 簡易な光学系を用いて微弱照明下において定量位相イメージングを実現可能な手法

1.3 本論文の構成

本論文の構成と内容を以下に記す。

第 2 章では強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングの原理を述べる。強度輸送方程式の導出の過程を概説し、その物理的意味を示す。さらに、フーリエ変換を用いた強度輸送方程式の位相分布に対する解法を述べる。

第 3 章ではオートフォーカス TIE の原理を述べる。鮮鋭度の評価のために用いる三つの関数を示し、それらのランダムノイズ耐性を数値シミュレーションにより評価する。ゾウリムシ (*P. multimicronucleatum*) の標本を試料として用いた光学実験をおこない、3 種類の評価関数の性能を比較するとともにオートフォーカス TIE の有用性を示す。

第 4 章では適応的オートフォーカシングの原理を述べる。ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) を用いた光学実験により適応的オートフォーカシングの有用性を示す。

第 5 章では TI-CGI の原理を述べる。微弱照明を想定してランダムノイズを付加したシミュレーションをおこない、TI-CGI のノイズ耐性を評価する。さらに、マイクロドットレンズを評価試料として用いた光学実験により位相シフトデジタルホログラフィと位相計測結果を比較し、TI-CGI の有用性を実証する。

最後に、第 6 章で本論文の総括を述べる。

第 2 章 強度輸送方程式を用いた定量位相イメージング

2.1 強度輸送方程式の概要

強度輸送方程式は近軸近似のもと、強度分布と位相分布が強度分布の光軸方向微分にしたがって変化することを記述する偏微分方程式である。強度輸送方程式は 1983 年に Teague によって導出され、それを用いた定量位相イメージング法が彼によって提案された¹²⁾。Teague は Dirichlet 問題として強度輸送方程式を解くことにより計測光波の位相分布がその境界上の位相とデフォーカス強度の取得により計測可能であることを示した。その後、Gureyev らが強度輸送方程式を Neumann 問題として解くことにより、境界上の位相計測が不要となった¹⁰¹⁾。すなわちデフォーカス強度分布の取得のみにより、対象の位相分布の計測が可能となった。強度輸送方程式に対して当初、Teague によって Green 関数による解法¹²⁾が示されたが、後年、Zernike 多項式^{101,102)}やフーリエ変換¹⁰²⁻¹⁰⁵⁾を用いる解法などさまざまなもの^{104,106,107)}が示された。文献¹⁰⁸⁾に基づき、表 2.1 に解法の比較をまとめる。一般的に、実装の容易さと計算速度の高速性から、フーリエ変換が用いられることが多い。フーリエ変換を用いるため周期的な境界条件が課されるという欠点があるが、symmetrized solution¹¹⁰⁾を用いることにより、ある程度境界付近の誤差を低減することもできる。実装の容易さと計算速度の高速性の観点から、本論文でもフーリエ変換を用いた解法を採用し、2.3 節ではそ

表 2.1 強度輸送方程式の解法の比較

解法	長所	短所
Green 関数 ^{12,109)}	理論的解析解	膨大な計算量
マルチグリッド ¹⁰⁴⁾	実装が容易	低周波ノイズ, 反復計算
Zernike 多項式 ^{101,102)}	高速, 収差計測に最適	円形開口にのみ適用可能, 実装が困難
フーリエ変換 ¹⁰²⁻¹⁰⁵⁾	高速, 正則化効果, 実装が容易	周期的な境界条件
コサイン変換 ^{106,107)}	高速, 境界条件の緩和	視野に制限

れについての議論をおこなう。また、Teague は強度輸送方程式を時間的にも空間的にもコヒーレントな光波について導出したが、現在では時空間的に部分的にコヒーレントな光波についても成り立つことが示されている。強度輸送方程式におけるコヒーレンシーの問題については、はじめに Streibl が 1984 年に相互強度関数 (mutual intensity function) に基づき解析し¹¹¹⁾、その後、Paganin らが Poynting ベクトルの時間平均に基づき解析した¹¹²⁾。2018 年には Zuo らが円環照明を用いた部分的にコヒーレントな環境において、弱回折近似に基づき導出される weak object transfer function³⁰⁻³²⁾ と強度輸送方程式を用いることにより、デフォーカス強度分布から高分解能に定量位相分布が計測可能なことを示している¹¹³⁾。あらゆるコヒーレンスの状態に対して成立するという点は、低コヒーレンスな光波を用いると干渉が得にくくなる干渉計測と比較して、強度輸送方程式の長所であるといえる。このように強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングには部分的にコヒーレントな光波を用いることが可能であるが、本論文では数値計算の実装の容易さのため、時空間的にコヒーレントな光波に対する強度輸送方程式を扱う。

本章では強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングの原理を述べる。2.2 節では、強度輸送方程式の導出を概説し、その物理的意味を述べる。2.3 節において強度輸送方程式のフーリエ変換による解法を示す。

2.2 強度輸送方程式の導出と物理的意味

時空間的にコヒーレントな光波に対する強度輸送方程式は均質媒質中における近軸 (放物型) の Helmholtz 方程式

$$\left(\nabla_{\perp}^2 + 2ik \frac{\partial}{\partial z}\right) u(x, y; z) = 0 \quad (2.1)$$

から導出される^{12,114)}。ここで、 $(x, y; z)$ は z を光軸とする近軸座標系、 $\nabla_{\perp} = (\partial/\partial x, \partial/\partial y)$ は光軸 z に垂直な平面 (x, y) に対する 2 次元微分作用素、 $k = 2\pi/\lambda$ は波数 (ただし、 λ は波長) をあらわす。 $i = \sqrt{-1}$ は虚数単位である。光波の複素振幅分布を

$$u(x, y; z) = \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \quad (2.2)$$

とおく。ここで、 $I(x, y; z)$ は強度分布、 $\phi(x, y; z)$ は位相分布である。式 (2.2) を式 (2.1) に代入し、その虚部を取るにより¹¹⁵⁾ 強度輸送方程式

$$\nabla_{\perp} \cdot [I(x, y; z) \nabla_{\perp} \phi(x, y; z)] = -\frac{2\pi}{\lambda} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \quad (2.3)$$

が導出される（詳細は付録 A-1 に示す）。

強度輸送方程式の物理的意味を考える．左辺の [...] 内の $I(x, y; z)\nabla_{\perp}\phi(x, y; z)$ は Poynting ベクトルをあらわす^{112,116)}（Born らの解説にしたがえば幾何光学における Poynting ベクトルと呼べる¹¹⁷⁾）． $I(x, y; z)$ がエネルギー密度の時間平均をあらわし、 $\nabla_{\perp}\phi(x, y; z)$ は Poynting ベクトルの方向をあらわす．すなわち、強度輸送方程式は Poynting ベクトルの発散が強度分布の光軸方向微分に比例することをあらわしている．また、Ichikawa らは式 (2.3) 左辺を

$$\nabla_{\perp} \cdot [I(x, y; z)\nabla_{\perp}\phi(x, y; z)] = \nabla_{\perp}I(x, y; z) \cdot \nabla_{\perp}\phi(x, y; z) + I(x, y; z)\nabla_{\perp}^2\phi(x, y; z) \quad (2.4)$$

と展開して強度輸送方程式の物理的意味を解釈している¹¹⁸⁾．右辺第 1 項を局所的な傾斜波面 $\nabla_{\perp}\phi(x, y; z)$ に起因する強度分布の横方向シフトによる強度変化をあらわすプリズム項、第 2 項を局所的な波面の曲率 $\nabla_{\perp}^2\phi(x, y; z)$ に起因する光波の発散・収束による強度変化をあらわすレンズ項と呼んでいる．本論文ではより直感的な理解のために Woods らの解析¹⁰⁹⁾ にしたがって、光軸位置 z において一様な強度分布 $I(x, y; z) = I$ (const.) をもつ光波（純位相物体を観察する場合）に対して成立する強度輸送方程式

$$\nabla_{\perp}^2\phi(x, y; z) = -\frac{2\pi}{\lambda I} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \quad (2.5)$$

の物理的意味を示す．式 (2.5) は式 (2.3) の左辺の強度分布を定数 I とみなし、両辺を I により割り算することによって導出される．式 (2.5) 左辺は位相（波面）の曲率、右辺は光軸方向の強度変化をあらわす．式 (2.5) が示す光波の振る舞いを図示すると、図 2.1 のようになる．図 2.1 は光軸位置 z において一様な強度分布 I をもつ光波が微小距離 Δz だけ伝搬した場合の強度変化をあらわしている．すなわち、位相の曲率（左辺）が正の場合は伝搬に伴い光波は発散し、局所的な強度は減少する（右辺）．反対に、位相の曲率が負の場合は伝搬に伴い光波は収束し、局所的な強度は増加する．以上のように近軸近似における光波に対して強度輸送方程式は明確な物理的意味をもち、顕微鏡を用いて位相物体を観察する際、デフォーカスによって強度変化を発生させ可視化する手法の理論的根拠を与える¹¹⁴⁾．ここで、近軸近似の条件は

$$|\lambda\mu_{\max}| \ll 1 \quad \text{and} \quad |\lambda\nu_{\max}| \ll 1 \quad (2.6)$$

である¹¹⁹⁾． μ , ν はそれぞれ x , y に対応する空間周波数であり、添え字 \max は最大の空間周波数をあらわす．この条件は伝搬計算における Fresnel 近似に相当する¹¹⁹⁾．

式 (2.6) から明らかなように，強度輸送方程式は波長の短い電子顕微鏡¹²⁰⁻¹²²⁾ や X 線顕微鏡^{103,123)} において真価を發揮する．また，可視光においても薄い細胞試料^{13,16,66)} やレンズ^{124,125)} など，局所的な位相差の小さい物体を計測する場合には最大の空間周波数が小さいため，十分な精度で位相計測が可能である．

2.3 フーリエ変換による解法

式 (2.3) に立ち戻り，これを位相分布 $\phi(x,y;z)$ について解く．ここで，Poynting ベクトルを Helmholtz 分解し，

$$I(x,y;z)\nabla_{\perp}\phi(x,y;z) = \nabla_{\perp}\psi(x,y;z) + \nabla_{\perp} \times \mathbf{V}(x,y;z) \quad (2.7)$$

とおく^{12,105,112,116)}．右辺第 1 項と第 2 項はそれぞれ，スカラーポテンシャル，ベクトルポテンシャルと呼ばれる． $\psi(x,y;z)$ は，最終的に $\phi(x,y;z)$ を求める過程で補助的に用いられる変数であるため，補助変数 (auxiliary variable) と呼ばれる．吸収が極端に大きい場合はベクトルポテンシャルを考慮に入れる必要がある¹¹⁶⁾ が，一般的な光

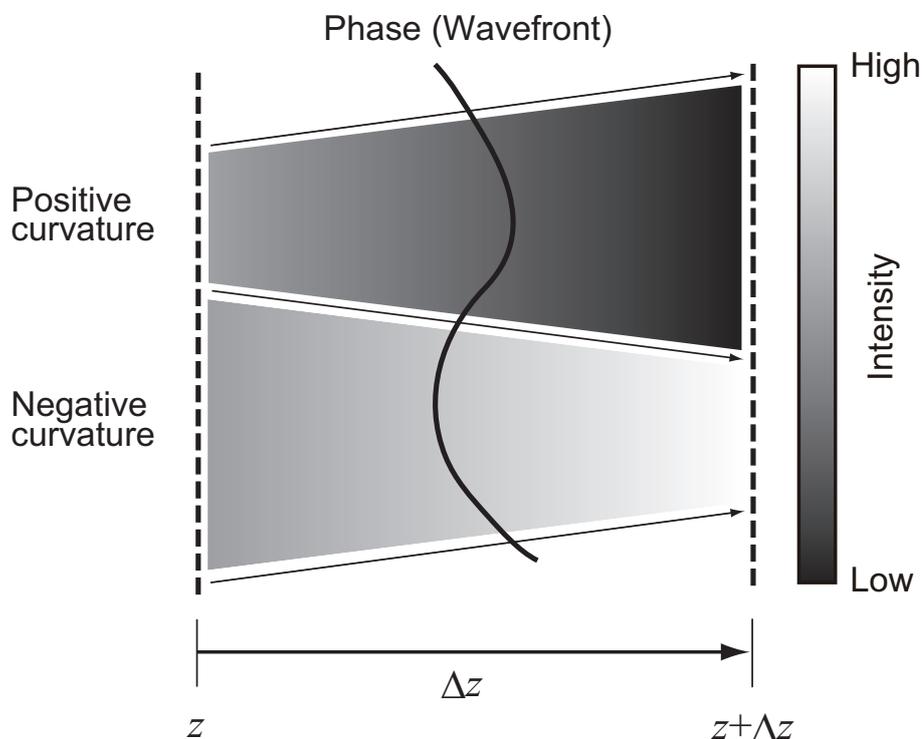


図 2.1 強度輸送方程式により記述される光波の振る舞い．微小距離 Δz だけ離れた 2 平面間における強度変化をあらわす．

波を扱う場合、ベクトルポテンシャルは無視できるため、式 (2.3) は補助変数 $\psi(x, y; z)$ を用いて

$$\nabla_{\perp}^2 \psi(x, y; z) = -\frac{2\pi}{\lambda} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \quad (2.8)$$

とあらわされる（ベクトルポテンシャルが無視できない場合に、その成分を反復的に回復する手法も提案されている¹¹⁶⁾）。式 (2.8) は補助変数 $\psi(x, y; z)$ に関する Poisson 方程式である。Poisson 方程式はフーリエ変換を用いて解けることが知られている。式 (2.8) の両辺を 2 次元フーリエ変換すると

$$\begin{aligned} -4\pi^2(\mu^2 + \nu^2)\Psi(\mu, \nu; z) &= -\frac{2\pi}{\lambda} \text{FT}\left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z}\right], \\ 4\pi^2(\mu^2 + \nu^2)\Psi(\mu, \nu; z) &= \frac{2\pi}{\lambda} \text{FT}\left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z}\right] \end{aligned} \quad (2.9)$$

となる。ここで、 $\Psi(\mu, \nu; z)$ は $\psi(x, y; z)$ の 2 次元フーリエ変換、 $\text{FT}[\dots]$ は 2 次元フーリエ変換演算子をあらわす。式 (2.9) を $\Psi(\mu, \nu; z)$ について解く場合に、 (μ, ν) は原点を含むため、単純に両辺を $4\pi^2(\mu^2 + \nu^2)$ で割り算することはできない（不良設定問題と呼ばれる）。したがって、式 (2.9) 左辺の $4\pi^2(\mu^2 + \nu^2)$ を $A(\mu, \nu)$ 、右辺を $B(\mu, \nu; z)$ とおいた際の最小化問題

$$\hat{\Psi}(\mu, \nu; z) = \min[\|A(\mu, \nu)\Psi(\mu, \nu; z) - B(\mu, \nu; z)\|_2^2 + \|\alpha\Psi(\mu, \nu; z)\|_2^2] \quad (2.10)$$

を設定する^{126,127)}。ここで、 $\|\dots\|_2$ は Euclid ノルム、 α は正則化パラメータである。式 (2.10) を Tikhonov の正則化を用いて解くと、

$$\hat{\Psi}(\mu, \nu; z) = \frac{2\pi}{\lambda} \frac{A(\mu, \nu)}{A^2(\mu, \nu) + \alpha^2} \text{FT}\left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z}\right] \quad (2.11)$$

となる^{67,126,127)}。右辺の $A(\mu, \nu)/\{A^2(\mu, \nu) + \alpha^2\} = W(\mu, \nu)$ は Wiener フィルタのようなはたらきをする。 $W(\mu, \nu)$ を単純に $1/\{A(\mu, \nu) + \alpha\}$ とおいた場合も同様の効果が得られる¹²³⁾ ため、本論文ではそれを採用する。 $\hat{\Psi}(\mu, \nu; z)$ を $\Psi(\mu, \nu; z)$ と書き改め、式 (2.11) の両辺を 2 次元逆フーリエ変換すると、

$$\psi(x, y; z) = \frac{2\pi}{\lambda} \text{IFT}\left[W(\mu, \nu) \text{FT}\left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z}\right]\right] \quad (2.12)$$

を得る。ここで、 $\text{IFT}[\dots]$ は 2 次元逆フーリエ変換演算子をあらわす。したがって、 $\psi(x, y; z)$ は撮像素子により取得した強度分布から強度分布の光軸方向微分の値を推定しそれを代入することにより算出可能である。推定の方法は後述する。

式 (2.7) においてベクトルポテンシャルを無視したのち、両辺を $I(x, y; z)$ で割り算すると、

$$\nabla_{\perp} \phi(x, y; z) = \frac{\nabla_{\perp} \psi(x, y; z)}{I(x, y; z)} \quad (2.13)$$

となり、さらに式 (2.13) の両辺の発散を取ると、式 (2.12) より

$$\begin{aligned} \nabla_{\perp}^2 \phi(x, y; z) &= \nabla_{\perp} \cdot \left[\frac{\nabla_{\perp} \psi(x, y; z)}{I(x, y; z)} \right] \\ &= \frac{2\pi}{\lambda} \nabla_{\perp} \cdot \frac{1}{I(x, y; z)} \nabla_{\perp} \text{IFT} \left[W(\mu, \nu) \text{FT} \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \right] \right] \end{aligned} \quad (2.14)$$

となる。式 (2.14) は位相分布 $\phi(x, y; z)$ に関する Poisson 方程式である。したがって、 $\psi(x, y; z)$ の場合と同様、フーリエ変換を用いて解くことが可能であり、

$$\phi(x, y; z) = -\frac{2\pi}{\lambda} \text{IFT} \left[W(\mu, \nu) \text{FT} \left[\nabla_{\perp} \cdot \frac{1}{I(x, y; z)} \nabla_{\perp} \text{IFT} \left[W(\mu, \nu) \text{FT} \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \right] \right] \right] \right] \quad (2.15)$$

を得る^{105,128)}。式 (2.15) において λ はイメージングに用いる光源の波長であり、 $W(\mu, \nu)$ は撮像素子により取得した強度分布の画素サイズ p および画素数 N_{image} から求められる値であり、実験条件により定まる。 μ, ν は $\mu = \nu = N/(pN_{\text{image}})$ より算出可能である（ただし、 N は原点からの距離 [pixel] である）。すなわち、式 (2.15) 内の未知変数は強度分布 $I(x, y; z)$ とその光軸方向微分 $\partial I(x, y; z)/\partial z$ であり、これらの値を実験的に取得することにより観察対象の位相分布 $\phi(x, y; z)$ が計測できる。ただし、 $\partial I(x, y; z)/\partial z$ は実験的に直接取得可能な物理量ではないため、異なる光軸位置において取得した複数の強度分布を用いて、前進差分近似¹²⁾

$$\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \approx \frac{I(x, y; z + \Delta z) - I(x, y; z)}{\Delta z} \quad (2.16)$$

や中心差分近似¹¹⁴⁾

$$\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \approx \frac{I(x, y; z + \Delta z) - I(x, y; z - \Delta z)}{2\Delta z} \quad (2.17)$$

を用いてその値を推定する。より多くのデフォーカス像を取得し、より高次の差分近似^{122,129)} や多項式近似^{129,130)}、Savitzky-Golay フィルタ¹³¹⁾、Gauss 過程回帰⁶⁶⁾、空間周波数マルチフィルタ¹³²⁾ などを用いることにより、さらに高精度な推定も実現できる。ここで、図 2.2(a) に示すように $\Delta z > 0$ はそれぞれの強度分布を取得する光軸位置間の距離である。これらの強度分布は一般的に撮像素子を光軸方向に走査して取

得られるが、シングルショットで同時取得する手法も複数提案されている¹⁷⁻²⁰。ただし、シングルショット手法では計測対象の制限や追加の素子が必要という問題が生じるため、本論文では撮像素子の走査を採用している。結像光学系を用いて $(x, y; z)$ に物体（計測対象）面を結像した場合、 $I(x, y; z)$ はインフォーカス像、 $I(x, y; z \pm \Delta z)$ はデフォーカス像となる。それらを式 (2.15) に代入して計測対象の位相分布 $\phi(x, y; z)$ が算出される。この定量位相イメージングのプロセスを図 2.2(b) に示す。あるいは、物体面から光軸方向に離れた平面を $(x, y; z)$ としてその平面における位相分布を式 (2.15) により算出して複素振幅分布 $u(x, y; z)$ を算出し、それに伝搬計算をおこなうことにより物体面の複素振幅分布を算出することが可能である。第 3 章と第 4 章ではこの操作に基づいて計測をおこなう。また特に、純位相物体についてはインフォーカス像が一樣 I となるため、デフォーカス像 $I(x, y; z + \Delta z)$ （もしくは $I(x, y; z - \Delta z)$ ）の平均や背景強度から I が算出可能なことが知られている^{99,133}。すなわち、式 (2.16) を用いるこ

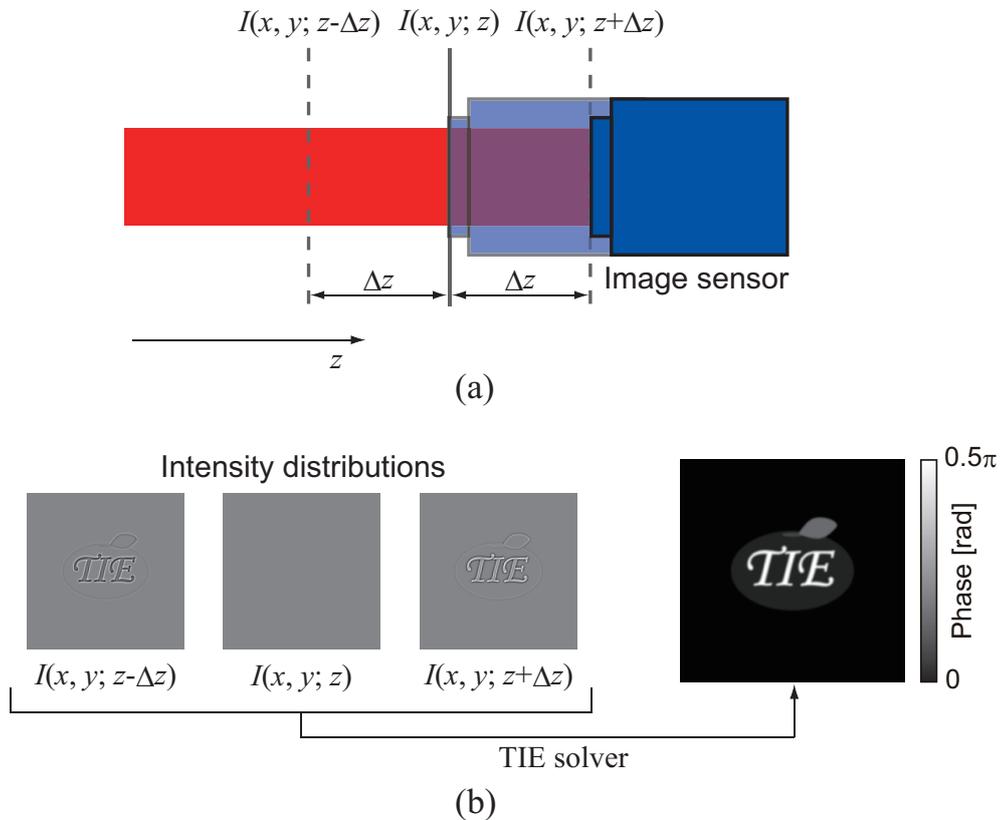


図 2.2 (a) 強度分布群の取得と (b) 強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングの概要。

とにより, 1枚のデフォーカス像のみの取得によって位相分布 $\phi(x, y; z)$ が算出可能である. 本論文において第3章と第4章では物体から離れた光軸位置において式 (2.17) を, 第5章ではインフォーカス像をデフォーカス像から算出して式 (2.16) をそれぞれ用いる.

差分近似の精度は位相計測精度に影響を与えるため, Δz の決定には注意を払う必要がある. Δz が小さいほど差分近似の精度は向上するものの, デフォーカスに伴う強度変化が微小となり, 撮像素子において生じる熱雑音などのノイズが所望の強度分布に対して支配的となる. この場合は上述した推定精度向上手法^{66,122,129,131,132)}を用いるか, Δz を長く取りノイズよりも強い強度変化を得, ノイズの影響を低減する必要がある. 低次の差分近似, 式 (2.16), (2.17) を用いる場合は, 差分近似の精度とノイズ低減のバランスを取るように Δz を決定する¹⁵⁾. また, 正則化パラメータ α はノイズの度合いや物体の空間周波数成分に応じて経験的に決定される⁶⁷⁾.

第3章 オートフォーカス TIE

3.1 緒言

本章では，強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングにおいて，単一の薄い物体や同一平面内に存在する複数の薄い物体の光軸方向の移動に追従してフォーカスの合った複素振幅分布を取得可能にすることを目的として，当該イメージング手法にオートフォーカシング技術を導入したオートフォーカス TIE を提案する⁷⁵⁾．3.2 節では強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングにおけるオートフォーカシングの原理を述べる．分散，勾配，2次微分に基づく3種類の振幅分布の鮮鋭度評価方法^{59,74)}を示す．3.3 節ではシミュレーションにより3種類の評価関数のランダムノイズ耐性を調査する．3.4 節において光学実験によりオートフォーカス TIE を実証する．最後に3.5 節において本章の結言を述べる．

3.2 オートフォーカス TIE の原理

オートフォーカス TIE に用いる光学系を図 3.1(a) に示す．オートフォーカス TIE は光学顕微鏡のような結像光学系においても使用可能であるが，位相計測後に数値的に物体面（物体光軸位置）を検出可能なため，イメージング対象に対して撮像素子の空間分解能が十分な場合，結像光学系を用いる必要はない．図 3.1(b), 3.1(c) に示すように，オートフォーカス TIE の原理を2段階に分けて説明する．

第1段階では，デフォーカス面における位相分布を計測する．デフォーカス面を $(x, y; z)$ と定め，撮像素子を光軸方向に走査して $(x, y; z)$ とその前後 $(x, y; z \pm \Delta z)$ の3平面において強度分布 $I(x, y; z)$, $I(x, y; \pm \Delta z)$ を取得する．式 (2.15) と式 (2.17) を用いてデフォーカス面 $(x, y; z)$ における位相分布 $\phi(x, y; z)$ を算出する．算出された位相分布と取得された強度分布から複素振幅分布 $u(x, y; z) = \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ を算出する．

第2段階でははじめに，この複素振幅分布に対して角スペクトル法による伝搬計算¹³⁴⁾

$$u(x, y; z + d) = \text{IFT} \left[\text{FT} [u(x, y; z)] \exp \left(i2\pi d \sqrt{\frac{1}{\lambda^2} - \mu^2 - \nu^2} \right) \right] \quad (3.1)$$

をおこなう．ここで d は伝搬距離であり， $u(x, y; z + d)$ は距離 d 伝搬後の複素振幅分布である．伝搬距離 d を $d_{\min} \leq d \leq d_{\max}$ と変化させ複素振幅分布 $u(x, y; z)$ を数値伝

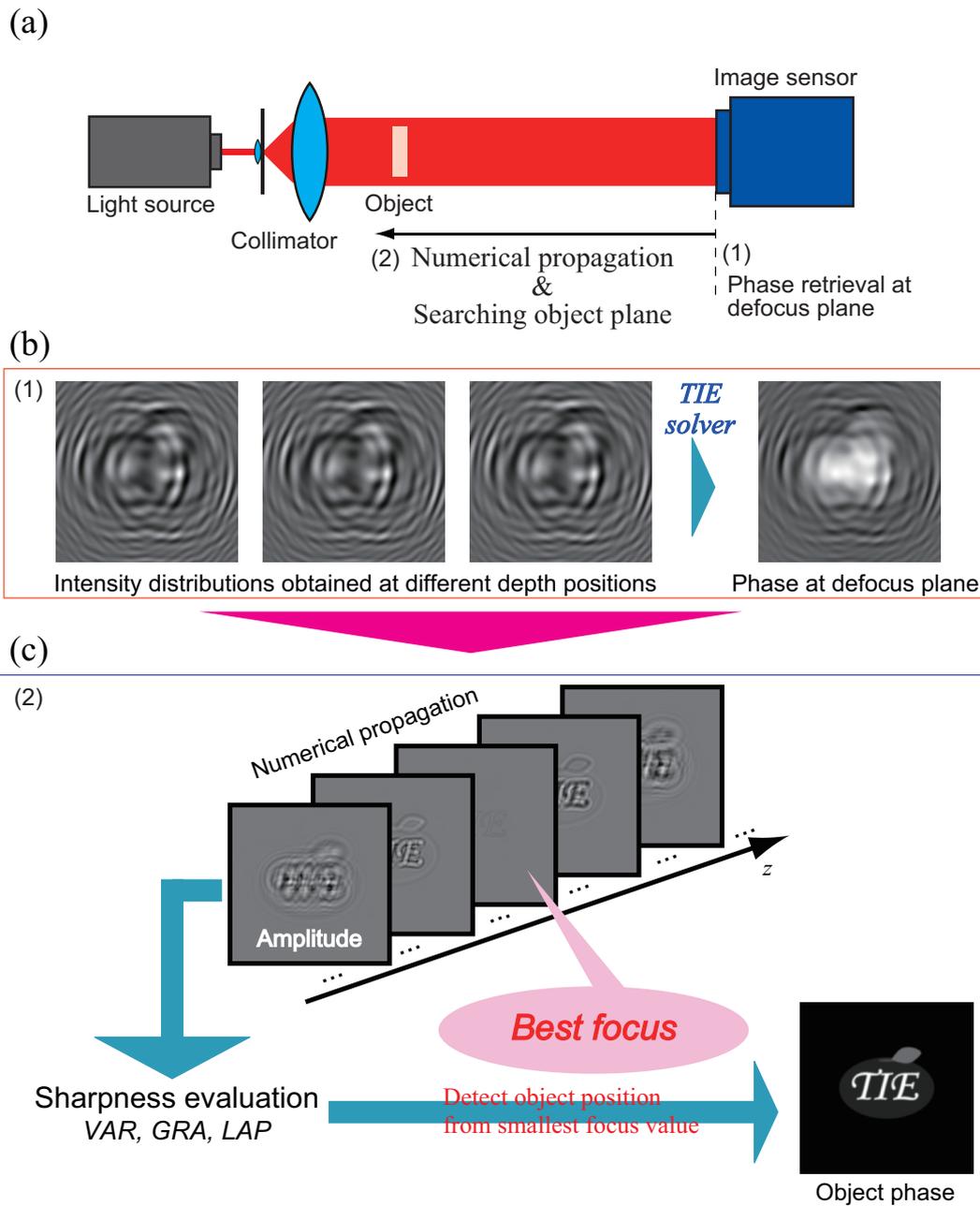


図 3.1 (a) オートフォーカス TIE に用いる光学系, (b) デフォーカス面における位相計測, (c) オートフォーカシングの概要.

搬し, 各伝搬距離において振幅分布

$$a(x, y; z + d) = |u(x, y; z + d)|, \quad (d_{\min} \leq d \leq d_{\max}) \quad (3.2)$$

を算出する. すなわち, 伝搬距離が異なる振幅分布の 3 次元スタックを得る. 3 次元

スタックの画素数は $N_{\text{image}} \times N_{\text{image}} \times |d_{\text{max}} - d_{\text{min}}|/d_{\text{step}}$ である．ここで， $d_{\text{step}} > 0$ は伝搬距離の刻みであり，被写界深度¹³⁵⁾

$$\text{DOF} = \frac{N_{\text{image}} p}{N_{\text{image}} p + p'} d \quad (3.3)$$

程度に定める． p' は伝搬後の画素サイズであり，角スペクトル法を用いる場合は $p = p'$ である．続いて，振幅分布の鮮鋭度を評価する．本論文では，分散

$$\text{VAR} = \frac{1}{N_{\text{image}}^2} \sum_{x,y=1}^{N_{\text{image}}} \{a(x,y;z+d) - \bar{a}(z+d)\}^2, \quad (3.4)$$

勾配（微分フィルタ， absolute gradient operator）

$$\begin{aligned} \text{GRA} &= \iint \sqrt{\left(\frac{\partial a(x,y;z+d)}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial a(x,y;z+d)}{\partial y}\right)^2} dx dy \\ &\approx \sum_{x,y=1}^{N_{\text{image}}-1} \sqrt{\{a(x,y;z+d) - a(x+1,y;z+d)\}^2 + \{a(x,y;z+d) - a(x,y+1;z+d)\}^2}, \end{aligned} \quad (3.5)$$

2次微分（Laplacian フィルタ）

$$\begin{aligned} \text{LAP} &= \iint \{\nabla_{\perp}^2 a(x,y;z+d)\}^2 dx dy \\ &\approx \sum_{x,y=2}^{N_{\text{image}}-1} \{a(x-1,y;z+d) + a(x+1,y;z+d) + a(x,y-1;z+d) + a(x,y+1;z+d) \\ &\quad - 4a(x,y;z+d)\}^2, \end{aligned} \quad (3.6)$$

に基づく3種類の評価方法^{59,74)}を導入する．ここで， $\bar{a}(z+d)$ は $a(x,y;z+d)$ の (x,y) 平面内の平均値である．式 (3.5) および式 (3.6) の2行目に示したものは離散表現のうちの一例である．光軸方向に評価値 (focus value) を比較することにより，物体光軸位置 z_{object} を特定する．特定方法は物体の特徴によって異なる．対象が吸収に分布をもつ物体の場合は，図 3.2(a) に示すように評価値が最大値を取る光軸位置を z_{object} とし採用する．これは，デフォーカス面と比較して物体面において振幅分布が最も鮮明になるためである．一方，図 3.2(b) に示すように，純位相物体や一様またはほぼ一様な吸収をもつ物体を対象とした場合は，物体面において鮮鋭度が最も低くなるため，評価値が最小値を取る光軸位置を採用する．これら二つの特徴をもつ物体が混在する

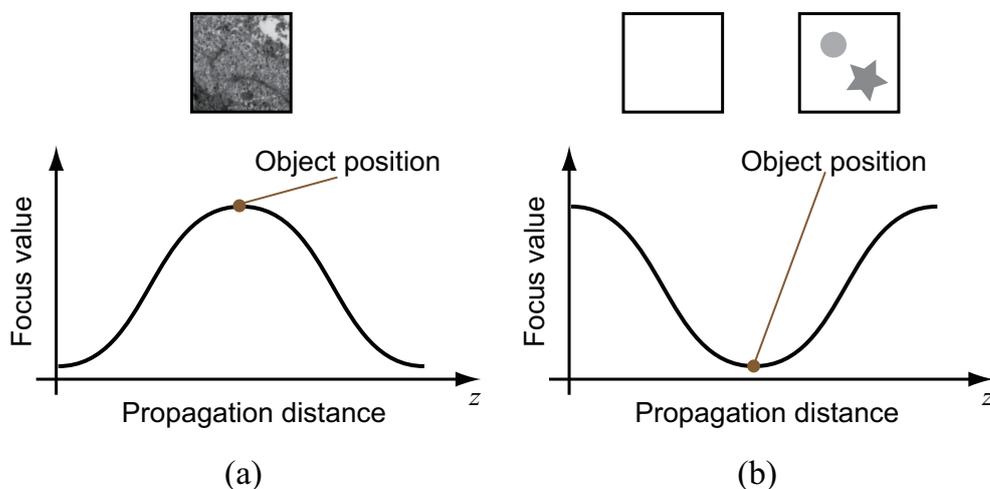


図 3.2 物体光軸位置の決定方法. (a) 吸収に分布をもつ物体の場合, (b) 純位相物体やほぼ一様な吸収をもつ物体の場合.

場合は, 物体光軸位置の特定は困難である. しかしながら, 4章において述べる適応的オートフォーカシングでは画素ごとに鮮鋭度を評価するため, 得られる曲線を最小二乗近似するなどして上に凸, 下に凸の判別をおこなうことにより, 物体の特徴に応じた光軸位置の特定が可能であると考えられる. なお, 図 3.1(c)の「Best focus」は純位相物体を計測した場合の特定位置をあらわしている. 最終的に, 決定された z_{object} において複素振幅分布 $u(x, y; z_{\text{object}})$ の偏角

$$\phi(x, y; z_{\text{object}}) = \text{argument}\{u(x, y; z_{\text{object}})\} \quad (3.7)$$

を取ることで, 物体の位相分布 $\phi(x, y; z_{\text{object}})$ を取得する.

3.3 シミュレーションによるランダムノイズ耐性評価

3種類の評価方法の性能をシミュレーションにより比較した. ノイズなしとランダムノイズありの2通りに対して, それぞれの評価方法を用いて物体光軸位置の特定をおこなった. 図 3.3(a)に示す位相分布を計測物体(イメージング対象)とし, その振幅分布は一律 $a(x, y; z_{\text{object}}) = 1$ とした. したがって, 各評価関数が最小値を取る光軸位置を物体位置として特定した. 物体の画素数は $256 [\text{pixel}] \times 256 [\text{pixel}]$, 画素サイズは $4.65 [\mu\text{m}] \times 4.65 [\mu\text{m}]$ である. 図 3.1(a)に示す光学系を想定し, 光源の波長は 685.2 nm とした. 物体から撮像素子面(TIEによる位相分布の算出面) $(x, y; z)$ までの距離 $d_{\text{true}} = z - z_{\text{object}}$ を 50 mm とし, 撮像素子の走査間隔は $\Delta z = 1 [\text{mm}]$ とした. 各

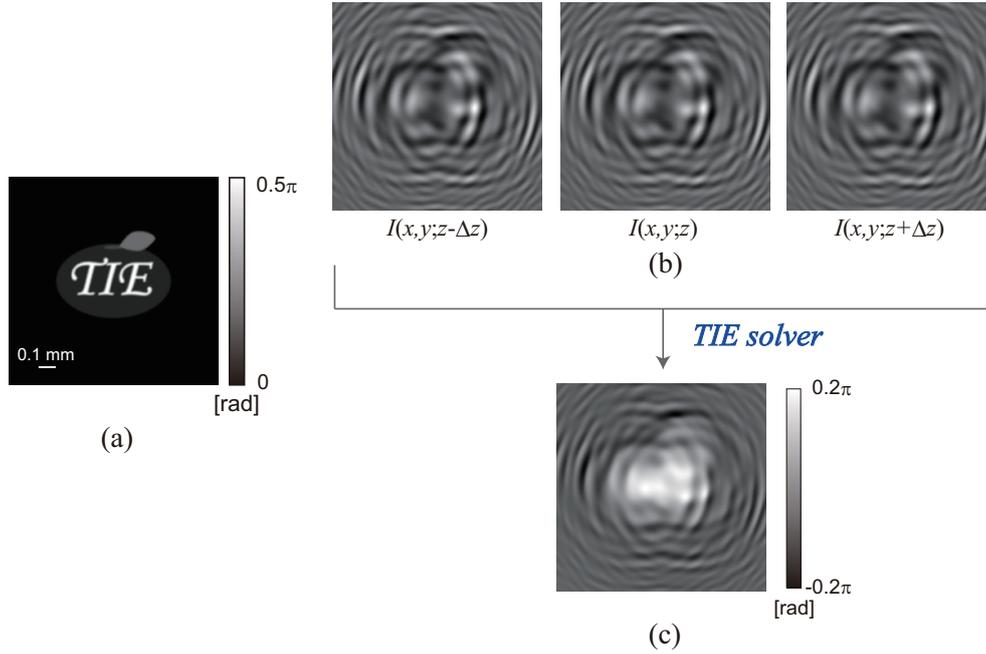


図 3.3 (a) 計測物体, (b) 取得された強度分布, (c) TIE により計測された位相分布.

評価関数の物体位置の特定精度を

$$e = |(-d_{\text{true}}) - d_{\text{focus}}| \quad (3.8)$$

により評価した. ここで, d_{focus} は各評価関数が最小値を取る際の伝播距離である. 本シミュレーションでは, 伝搬距離は負の値を取るため, d_{true} に負号を付与している.

はじめに, ノイズなしの場合のシミュレーション手順とその結果を示す.

i) 物体の複素振幅分布 $\exp\{i\phi(x, y; z_{\text{object}})\}$ に角スペクトル法による伝搬計算をおこなった. 伝搬距離を 50 mm, 50 ± 1.0 mm として数値伝搬し, 図 3.3(b) に示す異なる光軸位置における 3 枚の強度分布 $I(x, y; z)$, $I(x, y; z \pm \Delta z)$ を取得した. なお, 伝搬に伴う光波の回り込み (離散 Fourier 変換による円状畳み込み) を防ぐために, 物体の位相分布を 1024 [pixel] \times 1024 [pixel] までゼロ詰めして伝搬した¹³⁶⁾. ゼロ詰めした範囲の振幅は 1 である. 図 3.3(a), 3.3(b) には 1024 [pixel] \times 1024 [pixel] のうち, 256 [pixel] \times 256 [pixel] を抽出したものを示している.

ii) 3.2 節の第 1 段階に示すように, 取得された強度分布から式 (2.15) と式 (2.17) を用いて図 3.3(c) に示す位相分布を算出した. その後, 複素振幅分布 $u(x, y; z) =$

$\sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ を算出した。

- iii) 算出された複素振幅分布に対して、3.2 節の第 2 段階に示すように、角スペクトル法による伝搬計算をおこない、振幅分布の 3 次元スタックを取得した。ここで、 d_{\min} , d_{\max} , d_{step} はそれぞれ、 -60 mm, -40 mm, 0.10 mm とした。

3 種類の評価関数の振る舞いを図 3.4 に示す。図 3.4 中には、伝搬距離 -45 mm, -50 mm, -55 mm における振幅分布を示している。伝搬距離 -50 mm において、ほぼ一様な振幅分布が得られており、各評価関数はその伝搬距離において最小値を取っている。したがって、オートフォーカス TIE により物体位置が特定可能なことが示された。図 3.5 に、評価関数によって特定された伝搬距離 -50 mm において算出された位相分布を示す。計測対象と同様の位相分布が得られ、これによりオートフォーカス

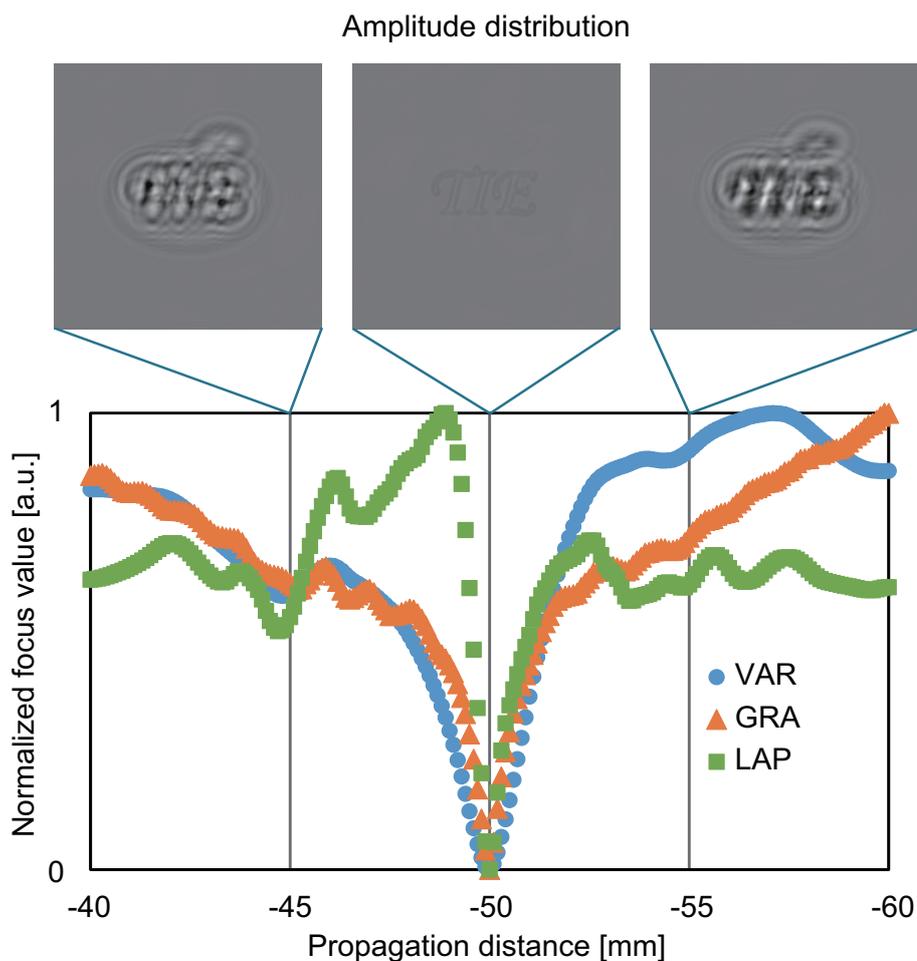


図 3.4 評価関数の振る舞い（ノイズなし）。

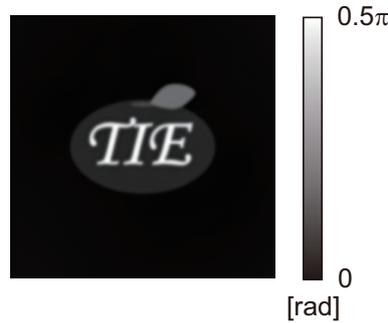


図 3.5 オートフォーカシングによる物体特定位置における位相分布（ノイズなし）。

TIE により定量位相イメージングが可能なが示された。

次に、ノイズありの場合のシミュレーション手順とその結果を示す。各評価関数のノイズ耐性を調査するために撮像素子において生じるランダムノイズを想定し、ノイズなしのシミュレーション手順の ii) において取得された強度分布すべてに Gaussian ノイズを付加した。入射光の平均強度 1 に対して、Gaussian ノイズの平均値は 0、標準偏差は 0.030 (SNR = 33 に相当) とした。再現性を確認するために、異なる Gaussian ノイズのパターンを用いて ii), iii) の操作を 30 回繰り返す、物体光軸位置の特定精度を比較した。式 (3.8) の算出結果を 30 回の計測に対して平均したものを表 3.1 に示す。表 3.1 から分散に基づく評価方法が、他の評価方法よりも特定精度が低いことがわかる。この原因を明らかにするため、30 回の計測のうちの評価関数の振る舞いの一部と取得された分布群の一部をそれぞれ図 3.6, 3.7 に示す。分散に基づく評価関数の振る舞いをノイズなしの場合と比較すると、ノイズありの場合はバレーの幅が広がっていることがわかる。一方、他の二つの評価方法では、ノイズなしの場合と比べてバレーの幅はほぼ変化していない。図 3.7 に示すように、ノイズを付加した場合は位相分布および振幅分布に雲が掛かったような誤差が生じている¹⁵⁾。強度輸送方程式を用

表 3.1 ノイズありの場合の物体位置特定精度の比較

評価方法	誤差の平均 [mm]
VAR	0.0806
GRA	0.0645
LAP	0.0645

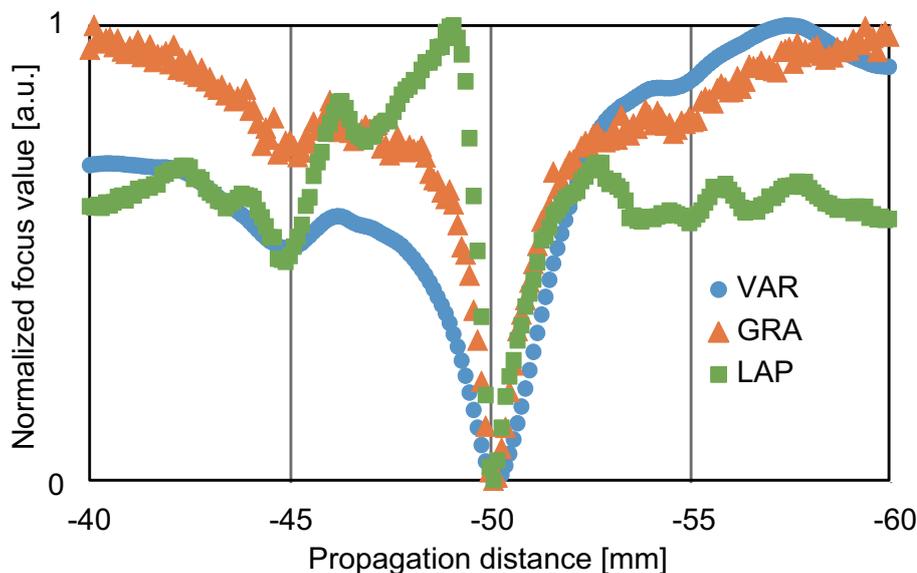


図 3.6 評価関数の振る舞い（ノイズあり）.

いた定量位相イメージングにおいて特有のこの誤差は *cloudy noise* と呼ばれている。この誤差は空間周波数フィルタ $W(\mu, \nu)$ に起因する。空間周波数フィルタ $W(\mu, \nu)$ は低空間周波数を強調するように作用する。そのため、 $\partial I(x, y; z)/\partial z$ のフーリエ変換に含まれるランダムノイズのうち低空間周波数が相対的に強調され、算出位相分布に雲のような低周波ノイズとしてあらわれる。分散を用いた場合は振幅分布の平均値と各画素値の差を取るため、この低周波ノイズが評価結果に悪影響を与えることが考えられる。一方、勾配と2次微分に基づく評価方法は隣接画素の差分を取るため、この低周

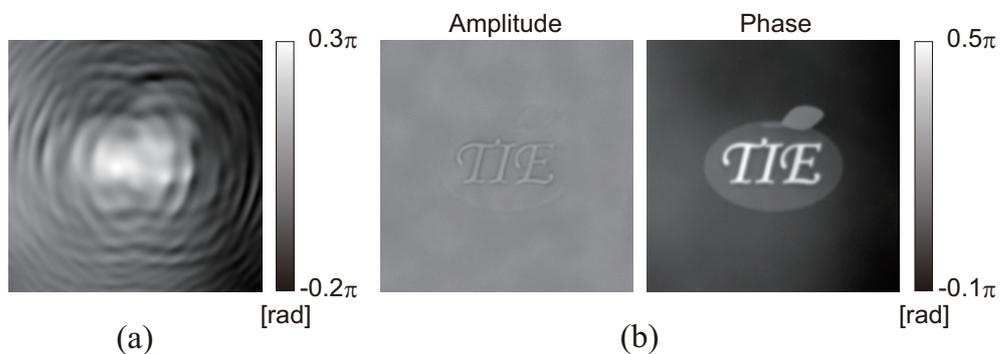


図 3.7 ノイズありの場合の (a) デフォーカス面における位相分布, (b) 物体面における計測された振幅分布と位相分布.

波ノイズの影響を低減することが可能である。

以上の結果から、ノイズなしの場合はいずれの評価方法を用いてもオートフォーカス TIE を用いて物体の光軸位置が特定可能なことが示された。また、ランダムノイズの影響が無視できないとき、振幅分布が一様な物体の光軸位置を特定する場合は勾配もしくは2次微分に基づく評価方法を用いることが適していることが示唆された。

3.4 オートフォーカス TIE の光学実験

光学実験により3種類の評価方法の性能を比較した。図 3.8 に示すゾウリムシ (*P. multimicronucleatum*) の標本を計測対象とした。図 3.8 は計測対象の一部を白色照明の下、光学顕微鏡を用いて拡大して取得した強度分布である。この標本はキシロールバルサムにより封入されて赤紫色に染色され、染色部はほぼ一様な振幅分布をもつ。図 3.1(a) に示す光学系を想定し、光源には中心波長 685.2 nm、半値全幅 8.3 nm のスーパーミネッセントダイオードを用いた。可干渉性の低い光源を用いた理由は、試料を構成するスライドガラスとカバーガラスにおける内部反射により生じる不要な干渉を避けるためである。半値全幅が 8.3 nm 程度であれば、コヒーレントな光波に対応する強度輸送方程式、式 (2.3) を用いた場合でも、単一波長の光源を用いた場合とほぼ同

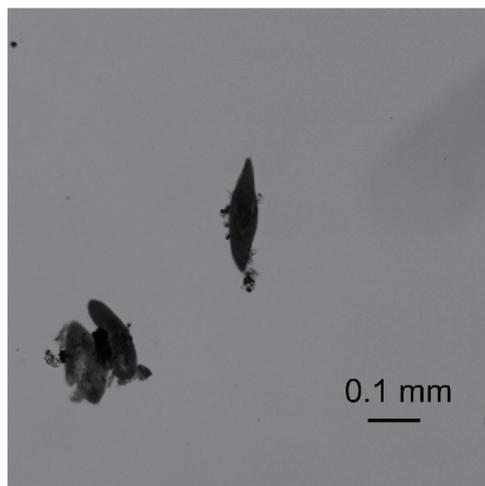


図 3.8 計測対象であるゾウリムシの標本の強度分布。透過型の光学顕微鏡を用いて白色照明の下で取得した。

等の計測精度で位相計測が可能であることが示されている¹³⁰⁾。撮像素子の画素サイズは $4.65\ [\mu\text{m}] \times 4.65\ [\mu\text{m}]$ である。標本内には複数のゾウリムシが散在しているが、それらと撮像素子の距離が等しく $65\ \text{mm}$ と一定になるように標本を光軸に垂直に配置した。すなわちすべてのゾウリムシは同一平面内に存在する。走査間隔 Δz を $1.0\ \text{mm}$ として自動ステージを用いて撮像素子を移動させ、物体からの距離が $65\ \text{mm}$, $65 \pm 1.0\ \text{mm}$ の光軸位置においてそれぞれ、強度分布 $I(x, y; z)$, $I(x, y; z \pm \Delta z)$ を取得した。ここで、物体と強度分布 $I(x, y; z)$ を取得するときの撮像素子までの距離 $65\ \text{mm}$ を基準距離とする。

取得された強度分布を図 3.9(a) に示す。図 3.9(a) 左の強度分布内の白い矩形で示した領域は、図 3.8 の視野に相当する。物体の移動に応じてその光軸位置が特定可能なことを示すために、手動ステージを用いて物体を光軸正方向に $1.0\ \text{mm}$ 移動させ、基準距離を $64\ \text{mm}$ とした。物体を移動させたのち、物体からの距離が $64\ \text{mm}$, $64 \pm 1.0\ \text{mm}$ の光軸位置においてそれぞれ、強度分布 $I(x, y; z)$, $I(x, y; z \pm \Delta z)$ を取得した。物体移動後に取得された強度分布を図 3.9(b) に示す。物体移動前後に取得された強度分布から

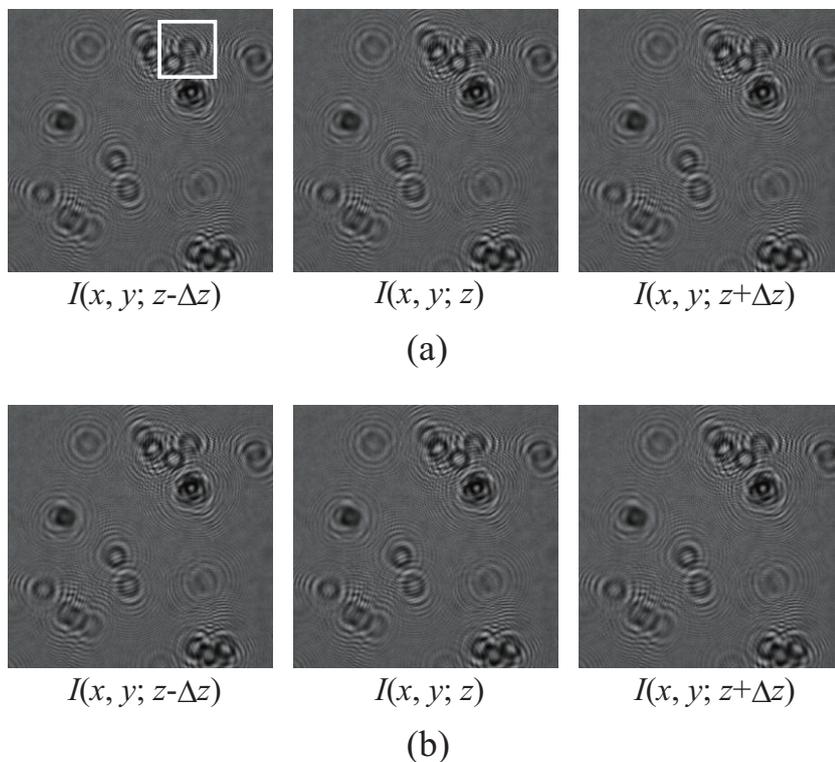


図 3.9 取得された強度分布。(a) 物体移動前、(b) 物体移動後。

式 (2.15), (2.17) を用いて算出した位相分布をそれぞれ, 図 3.10(a), 3.10(b) に示す. 算出された位相分布を用いて複素振幅分布 $u(x, y; z) = \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ を算出した. d_{\min} , d_{\max} , d_{step} をそれぞれ, -67 mm , -61 mm , 0.10 mm として伝搬計算をおこない, 物体光軸位置を特定した.

物体移動前後の評価関数の振る舞いをそれぞれ図 3.11(a), 3.11(b) に示す. 染色されたゾウリムシの振幅分布はほぼ一様であるため, 最小値を取る伝搬距離を物体光軸位置として特定した. 物体移動前の図 3.11(a) において 3 種類の評価関数は -63 mm から -65 mm の間で最小値を取っている. 一方, 物体移動後, 図 3.11(b) において 2 次微分に基づく評価関数 (LAP) は -67 mm において最小値を取っているが, 物体位置は -63 mm から -64 mm であると考えられるため, 最小値ではなく極小値を取る伝搬距離を LAP により特定された物体光軸位置とした. 物体移動前後に各評価方法によって特定された物体光軸位置 (伝搬距離) を表 3.2 に示す. VAR, GRA, LAP により物体移動前後に特定された物体光軸位置の差はそれぞれ, 0.8 mm , 1.1 mm , 1.2 mm である. 物体を移動させた距離は 1.0 mm であるため, 表 3.2 は GRA を用いた場合が最も高精度に物体光軸位置を特定可能であることを示している. 各評価方法によって物体移動前後に特定された伝搬距離における振幅分布と位相分布を図 3.12 に示す. 図 3.12(a), 3.12(b) はそれぞれ物体移動前後における伝搬後の複素振幅分布である. すべての振幅分布と位相分布において図 3.8 の視野に相当する領域を拡大して表示している. 算出された位相分布は $-\pi \sim \pi \text{ rad}$ の範囲で値が折り畳まれているが, 拡大された位相分布は当該領域でアンラップしたものを示している. ここでアンラップ処理は,

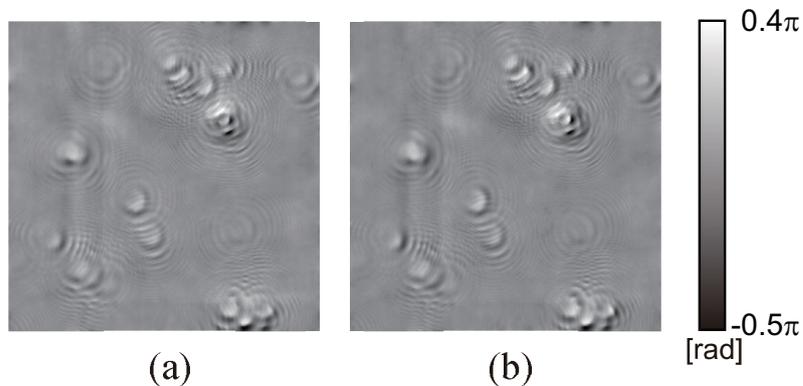


図 3.10 算出された位相分布. (a) 物体移動前, (b) 物体移動後.

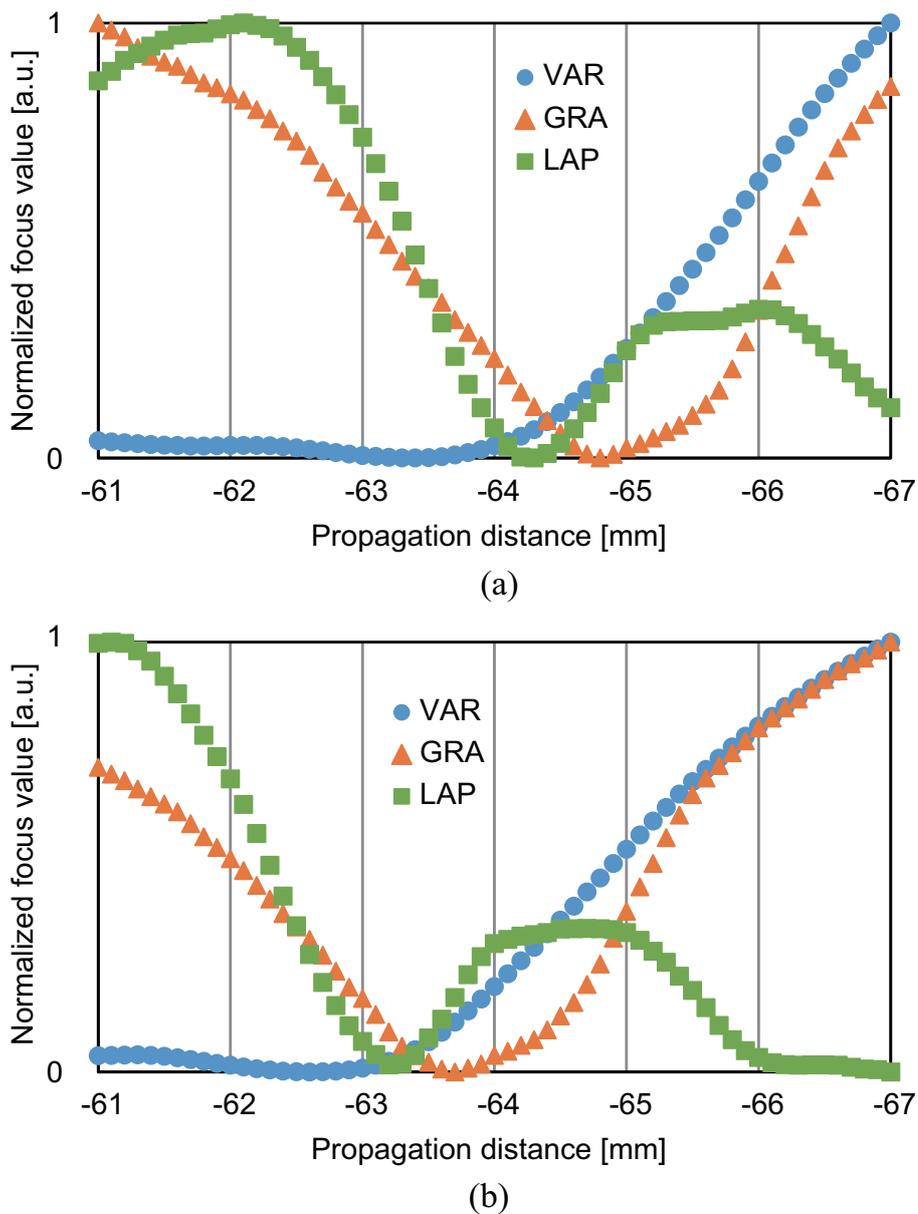


図 3.11 評価関数の振る舞い. (a) 物体移動前, (b) 物体移動後.

隣り合う画素の位相差が $\pm\pi$ を超えた場合, 2π を減算・加算するという最も簡単なものを用いた. VAR を用いて特定された光軸位置における振幅分布は物体移動前後どちらにおいても明らかにデフォーカスされている. また, LAP を用いた場合は, GRA を用いた場合と比較して振幅分布がわずかにデフォーカスされている. 続いて拡大して表示した位相分布に着目すると, 移動前後で試料は時間変化していないにもかかわらず, VAR, LAP を用いて特定された光軸位置では異なる位相値が得られている. 一

表 3.2 各評価方法により特定された物体移動前後の光軸位置とその差

評価方法	伝搬距離 (移動前) [mm]	伝搬距離 (移動後) [mm]	差 [mm]
VAR	-63.4	-62.6	0.8
GRA	-64.8	-63.7	1.1
LAP	-64.3	-63.1	1.2

方, GRA を用いた特定位置における位相分布の位相値は移動前後で変化していない。したがって, GRA を用いて物体の光軸位置が最も正確に特定されたといえる。

実験における評価関数の振る舞いを示す図 3.11 とシミュレーションにおける振る舞いを示す図 3.4, 3.6 を比較すると, 異なる変化を示している。いずれの評価関数のバレーもシミュレーションと比較してバレー幅が広がっている原因として, 光源に低コヒーレンス光源を用いたことが挙げられる。時間的に低コヒーレントな光源を用いた場合に強度輸送方程式を用いて得られる位相分布は, 光源の波長スペクトルに応じて重みづけされた一般化位相である^{17,112)}。すなわち, 位相分布には中心波長以外の波長に対応する位相分布が含まれる。これに対して中心波長を用いて伝搬計算をおこなうと, 物体面において中心波長に対する複素振幅分布は合焦するが, その他の波長に対する複素振幅分布は合焦しない。したがって, 中心波長以外に対応するデフォーカスされた複素振幅分布が重複するため, バレー幅を広げる結果を招いたと考えられる。さらにシミュレーションと比較して LAP の物体光軸位置の特定精度が低下した原因として, 物体の高空間周波数成分の欠落が考えられる。LAP は GRA と同様, エッジ検出に基づくが, 微分を 2 回適用することから GRA と比べ, エッジをより強調する。エッジ検出は振幅分布の高空間周波数成分を強調することに相当する。撮像素子の大きさに制限され, 物体の高空間周波数成分が取得できなかった可能性があり, これが LAP による物体光軸位置の特定精度を低下させたと考えられる。また, VAR と LAP について, シミュレーションとは異なる振る舞いを示している。これに対して, 高空間周波数の欠落のほか, 光学実験においては複数の物体が散在していることが考えられるが, 詳細な原因は明らかでない。振る舞いの変化を解明するためには, 種々の物体を用いて光学実験をおこなうことにより精査する必要があると考えられる。以上の結果から, オートフォーカス TIE を用いて振幅分布が一様な物体の光軸位置を特定する場合, 勾配に基づく評価関数 (GRA) を用いることが適切であることが実験的に示さ

れた。

3.5 結言

本章では，物体の光軸方向への移動に追従してその光軸位置を特定し，物体に合焦した複素振幅分布を取得可能な手法としてオートフォーカス TIE を提案した．シミュレーションおよび光学実験においてそれぞれ，実際の細胞観察で想定される純位相物体および振幅分布が一様な物体を用いてオートフォーカス TIE の原理検証をおこなった．シミュレーションと光学実験の結果から，物体の空間周波数成分を十分に取得可能な光学系においては GRA と LAP，高い空間周波数成分が取得できない光学系を用いる場合は GRA を用いることにより，比較的高精度に物体の光軸位置が特定できることが示された．本論文で示した強度取得方法では撮像素子を移動させることから強度分布の取得に数秒を要するため，応用例として動きの遅い植物細胞などの逐次観察が挙げられる．シングルショットを実現する光学系¹⁷⁻²⁰⁾を採用することにより，神経細胞などの動きの速い細胞への対応も可能であると期待される．

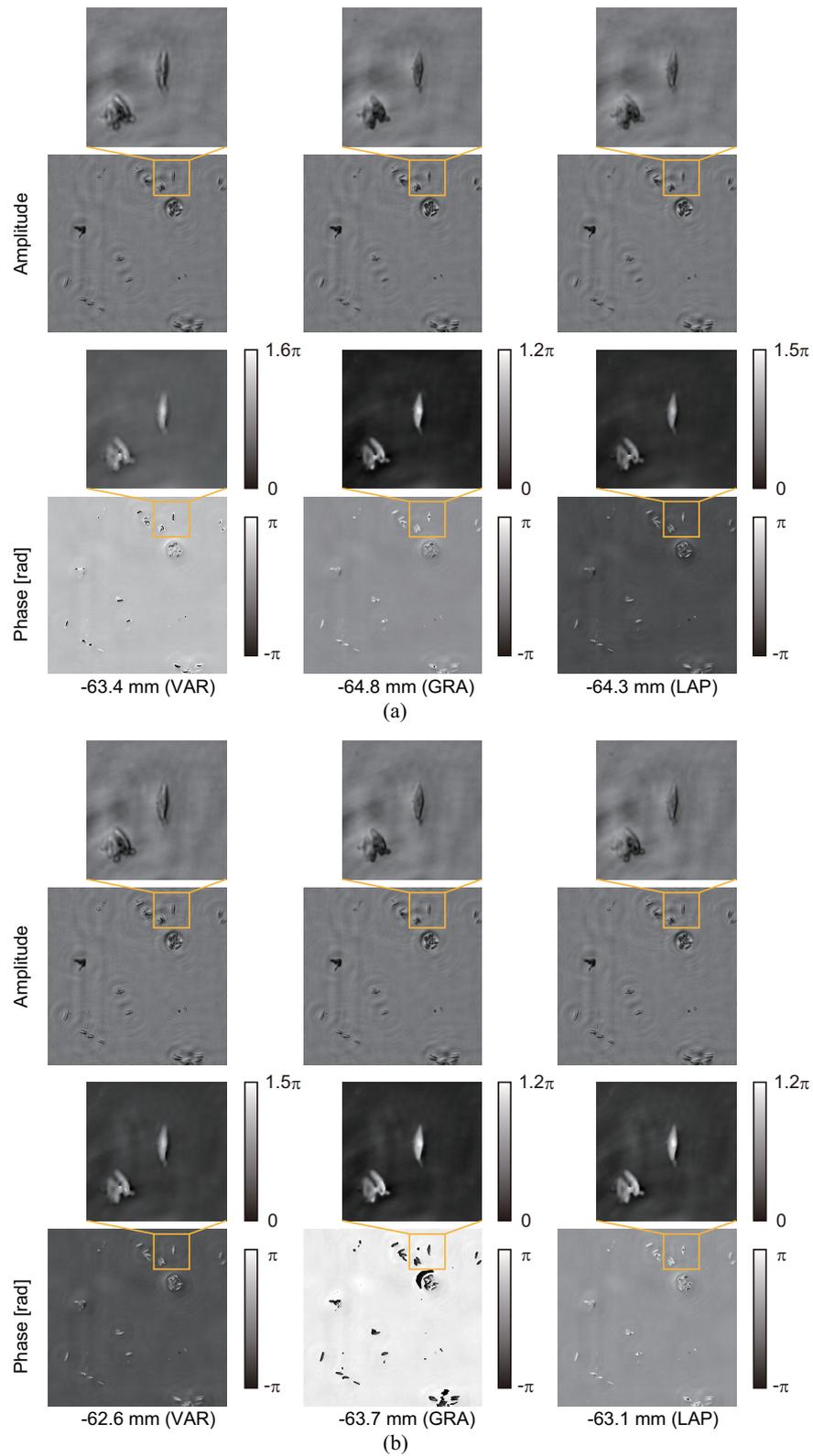


図 3.12 特定された物体光軸位置における振幅分布および位相分布。(a) 物体移動前, (b) 物体移動後.

第 4 章 適応的オートフォーカシング

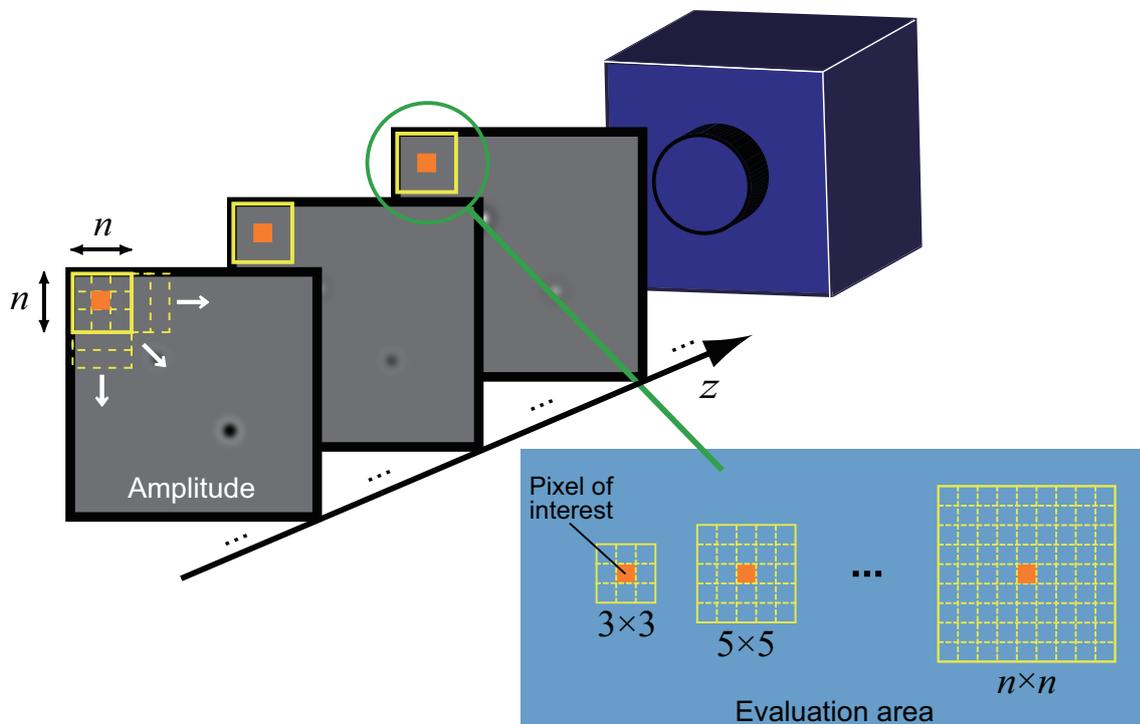
4.1 緒言

本章では、複数の物体が光学系の被写界深度に収まらない場合や、被写界深度よりも厚い 3 次元構造をもつ 3 次元物体をイメージングする場合に、すべての物体・構造に合焦した複素振幅分布を取得可能な手法として、適応的オートフォーカシングを提案する⁷⁶⁾。適応的オートフォーカシングは従来のオートフォーカシングを局所的に用い、画素ごとに適応的に物体光軸位置を特定する。また、類似手法⁷⁷⁾と異なり、光軸位置の特定精度に影響を及ぼす局所評価領域のサイズを変化させ適応的に用いることにより、特定精度を改善する。4.2 節では適応的オートフォーカシングの原理を示す。本研究では異なるサイズの局所評価領域における評価値を適切に比較するために、オートフォーカス TIE とは異なる評価関数として変動係数 (CV: Coefficient of Variation) を導入する。4.3 節では適応的オートフォーカシングの有用性を、生きたヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) を用いた光学実験により示す。最後に 4.4 節において本章の結言を述べる。適応的オートフォーカシングはオートフォーカス TIE では計測が困難であった観察対象の定量位相イメージングを可能にするが、その反面、計算コストが増大するという欠点もある。オートフォーカス TIE と適応的オートフォーカシングの使い分けの指針を 4.4 節の結言において示す。

4.2 適応的オートフォーカシングの原理

適応的オートフォーカシングの光学系は、オートフォーカス TIE と同様、光学顕微鏡のような結像光学系においても使用可能であるが、イメージング対象に対して撮像素子の空間分解能が十分な場合、図 3.1(a) に示したように結像光学系を用いる必要はない。適応的オートフォーカシングの原理を 2 段階に分けて述べる。第 1 段階ではオートフォーカス TIE 同様、3 枚のデフォーカス像取得後、強度輸送方程式を用いて位相分布 $\phi(x, y; z)$ を算出し、デフォーカス面における複素振幅分布 $u(x, y; z) = \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ を取得する。第 2 段階では図 4.1 に示す手順にしたがって物体の光軸位置を画素ごとに探索し特定する。まず、i) 取得された複素振幅分布に式 (3.1) を用いて伝搬計算をおこない、式 (3.2) を用いて異なる深さ位置における振幅分布の 3 次元スタックを算出する。ここまではオートフォーカス TIE と同様の手順である。次に、ii) 鮮鋭度を評価する。オートフォーカス TIE の場合は各振幅

i) Propagation of the obtained complex amplitude



ii) Evaluation of the sharpness for each pixel and depth while changing the size of evaluation area n

iii) Creation of a depth map

図 4.1 適応的オートフォーカシングの流れ.

分布の全面 $N_{\text{image}} [\text{pixel}] \times N_{\text{image}} [\text{pixel}]$ において鮮鋭度を評価したが，適応的オートフォーカシングでは振幅分布の各画素 (x, y) を中心とする $n [\text{pixel}] \times n [\text{pixel}]$ の局所領域に対して鮮鋭度を評価する．ここで，最適な n の大きさは物体の構造に依存し，類似手法⁷⁷⁾では経験的にこの大きさを決定している．さらに，物体が複雑な構造や形状をもつ場合（例えば，細かい構造と粗い構造が混在する場合），最適な n は物体の部位によって異なる⁷⁷⁾．そこで，適応的オートフォーカシングではこの n の大きさを変化させ，適応的に物体光軸位置の特定に用いる．すなわち，各画素 (x, y) とその周囲の鮮鋭度を n を変化させながら評価し，評価値を光軸方向に比較することによって，画素ごとに適応的に物体の光軸位置 $z_{\text{object}}(x, y)$ を特定する．得られた物体の光軸位置分

布 $z_{\text{object}}(x, y)$ を本論文では深さマップと呼ぶ。適応的オートフォーカシングでは、上述のように局所領域を設けることによって画素ごとに物体光軸位置を特定可能になるだけでなく、低空間周波数の分布は局所的に見ればほぼ一様とみなせるため、cloudy noise の影響を低減する効果も期待される。

評価領域の大きさ n を固定して用いる類似手法と適応的オートフォーカシングにより得られる、ある画素 (x, y) における評価値の振る舞いの比較を図 4.2 に示す。図 4.2 は物体光軸位置を評価関数が最大値を取る光軸位置として決定する場合の例を示す。図 4.2(a) に示すように、類似手法では評価領域の大きさ n が固定されており、 n に対する軸をもっていない。前述のとおり、最適な n は物体の部位によって異なる場合があるため、 n を一定として用いた場合、物体光軸位置の特定精度は低下する。一方、適応的オートフォーカシングでは評価領域の大きさ n を変化させるため、各画素に対して図 4.2(b) に示すような分布が得られ、この分布中から最大値（もしくは最小値）を探索し、それを光軸方向に比較することにより物体の光軸位置を特定する。すなわち最適な n の大きさは自動的に決定され、画素ごとに適応的に使用される。これにより物体光軸位置の特定精度が向上されることが期待される。

また本論文では、適応的オートフォーカシングの有用性を、振幅に分布をもつ物体であるヒメツリガネゴケを用いて示す。類似手法では振幅に分布をもつ物体を対象と

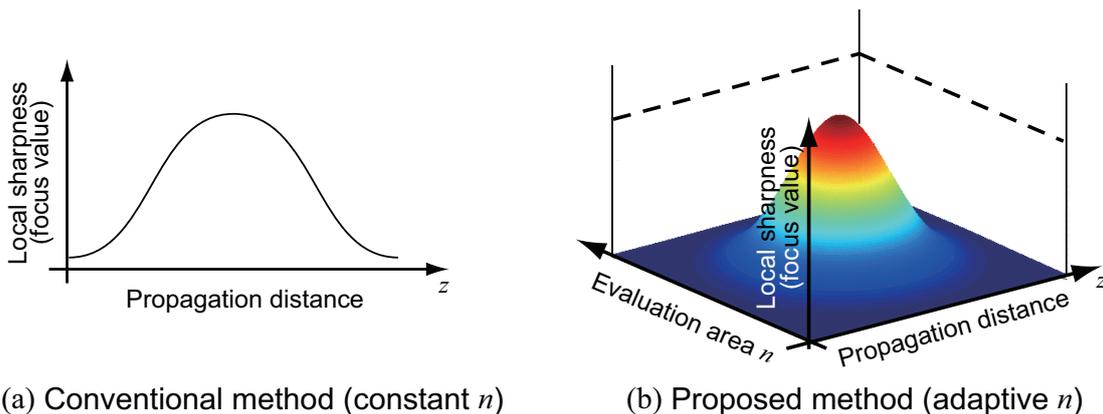


図 4.2 評価関数の振る舞いの比較。(a) 類似手法、(b) 適応的オートフォーカシング。最大値を取る伝搬距離を物体光軸位置として特定する場合の例を示す。

し、評価関数として分散を用いているが、さらなる物体光軸位置の特定精度向上のため、本論文では CV

$$CV = \frac{1}{\overline{a_{n \times n}}(z+d)} \sqrt{\frac{1}{n^2} \sum_{i,j=-(n-1)/2}^{+(n-1)/2} \{a(x+i, y+j; z+d) - \overline{a_{n \times n}}(z+d)\}^2}, \quad (4.1)$$

を用いる。ここで、 $\overline{a_{n \times n}}(z+d)$ は局所領域 $n \times n$ 内の振幅分布の平均値をあらわす。式 (4.1) 右辺の平方根は局所領域 $n \times n$ 内の標準偏差である。右辺の $1/\overline{a_{n \times n}}(z+d)$ により、標準偏差が規格化されるため、異なる n に対して適切に鮮鋭度の比較をおこなうことが可能である。評価値が最大値を取る光軸位置を z_{object} として採用する。さらに、第3章において振幅が一様な物体を対象とした場合に最も高精度な位置特定が可能であった GRA に対する CV の利点を図 4.3 を用いて述べる。図 4.3 は振幅値が 0 で一定の領域の中心に振幅値 1 の突出値をもつ画素が一つ存在する場合に GRA と CV の値を比較したものである。 n を 3 pixel から 5 pixel に変化させたとき、GRA の値は変化せず、CV の値は増加する。これは n の増加に伴い、GRA は突出値をノイズのように見なしてその影響を低減するのに対して、CV は突出値の影響を増幅していることを意味する。したがって、 n の大きさを変化させながら振幅分布にばらつきのある物体の光軸位置を特定する場合、GRA よりも CV が適していると考えられる。

最終的に得られた深さマップ $z_{\text{object}}(x, y)$ を参照し、対応する複素振幅を繋ぎ合わせるにより、全画素において物体に合焦した複素振幅分布 $u(x, y; z_{\text{object}}) = u(z_{\text{object}}(x, y))$ が取得される。ただし、伝搬距離に応じて算出される位相値にバイアスが付加される。バイアスが付加されたままの複素振幅を繋ぎ合わせた場合、物体の位相分布を得るこ

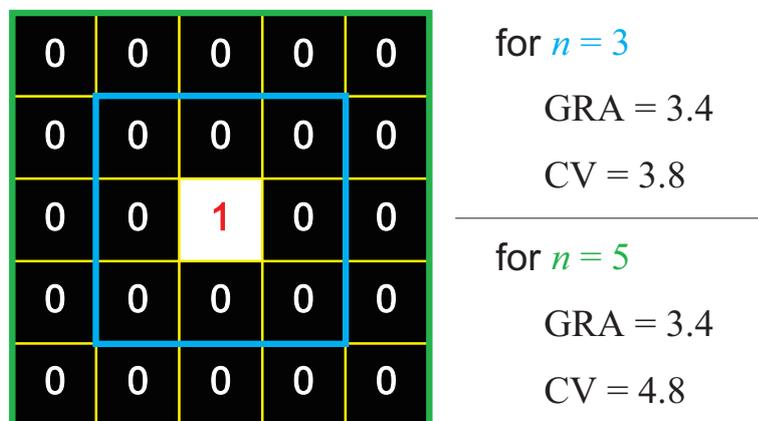


図 4.3 評価関数 CV と GRA の比較.

とはできない。そのため、複素振幅を繋ぎ合わせる際に、各画素においてバイアスの位相値 $kz_{\text{object}}(x, y)$ を減算する必要がある。類似手法ではこの議論が欠落しており、得られた実験結果について振幅分布の評価しかおこなっていない。

4.3 適応的オートフォーカシングの光学実験

適応的オートフォーカシングの原理を光学実験により検証した。実験に用いた光学系を図 4.4 に示す。計測物体にはヒメツリガネゴケ⁷⁹⁻⁸³⁾を用いた。ヒメツリガネゴケはその幹細胞形成能力が高いために、モデル生物として細胞生物学、発生生物学などの研究に広く用いられている。本研究ではヒメツリガネゴケの生きた葉を 2 枚用意し、それらを水とともにスライドガラスおよびカバーガラス間に封入しプレパラートを作製した。物体の光軸位置に差を設けるために、図 4.4 に示すように光軸に対して 60 deg. 傾けてプレパラートを配置した。撮像素子からプレパラートの中心までの距離、すなわち基準距離を 38 mm とした。光源の波長はヒメツリガネゴケの吸収が小さい緑色の波長帯域を使用し、532 nm とした。吸収が小さい波長帯域を用いた理由は、近軸近似の精度を向上させるためである。実験に用いた撮像素子の画素サイズは $4.65 [\mu\text{m}] \times 4.65 [\mu\text{m}]$ である。撮像素子の走査間隔 Δz を 1.0 mm とし、図 4.5(a) に示すように 3 枚の強度分布を取得した。取得された強度分布から式 (2.15), (2.17) を用いて算出した位相分布を図 4.5(b) に示す。 d_{min} , d_{max} , d_{step} をそれぞれ、-40 mm, -36 mm, 0.10 mm とし、適応的オートフォーカシングを用いた。なお、評価領域 n は $n_{\text{min}} = 3 [\text{pixel}]$ から $n_{\text{max}} = 155 [\text{pixel}]$ まで 2 pixel 刻みで変化させた。 n_{min} には

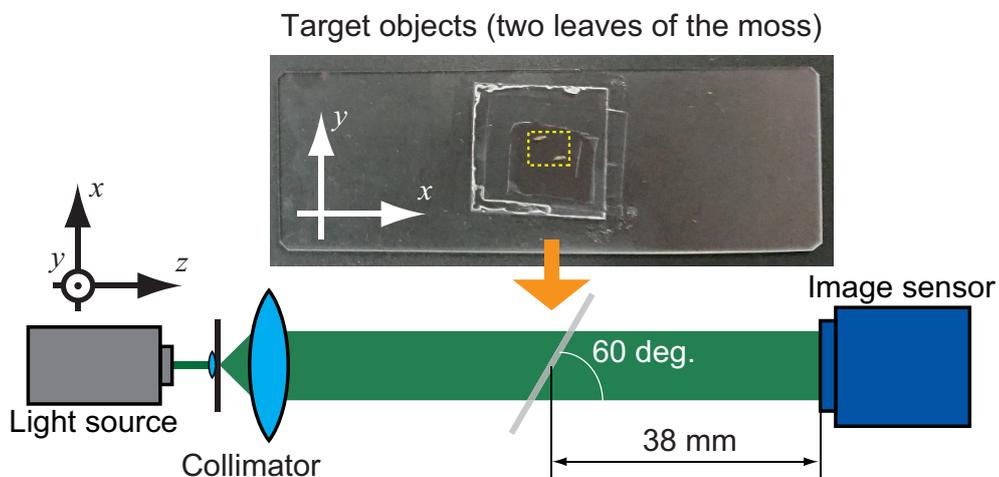


図 4.4 適応的オートフォーカシングの光学実験に用いる光学系。

使用可能な最小のサイズを用い、 n_{\max} は図 4.5(a) に示すように物体の厚い領域を十分覆うことが可能なサイズとした。CV が最大値を取る光軸位置を物体の光軸位置として決定した。適応的オートフォーカシングを用いる際に各画素において採用された評価領域 n のマップを図 4.5(c) に示す。図 4.5(c) に示すように、各画素において異なるサイズが採用されている。特に、図 4.5(c) の左に拡大して示した画像からわかるように、小さい幅をもつ葉の先端では小さい評価領域が採用されている。これにより物体光軸位置の特定精度が向上すると考えられる。図 4.5(d) に取得された深さマップを示す。ここで、物体の存在しない背景部分については光軸位置が不定であるので議論し

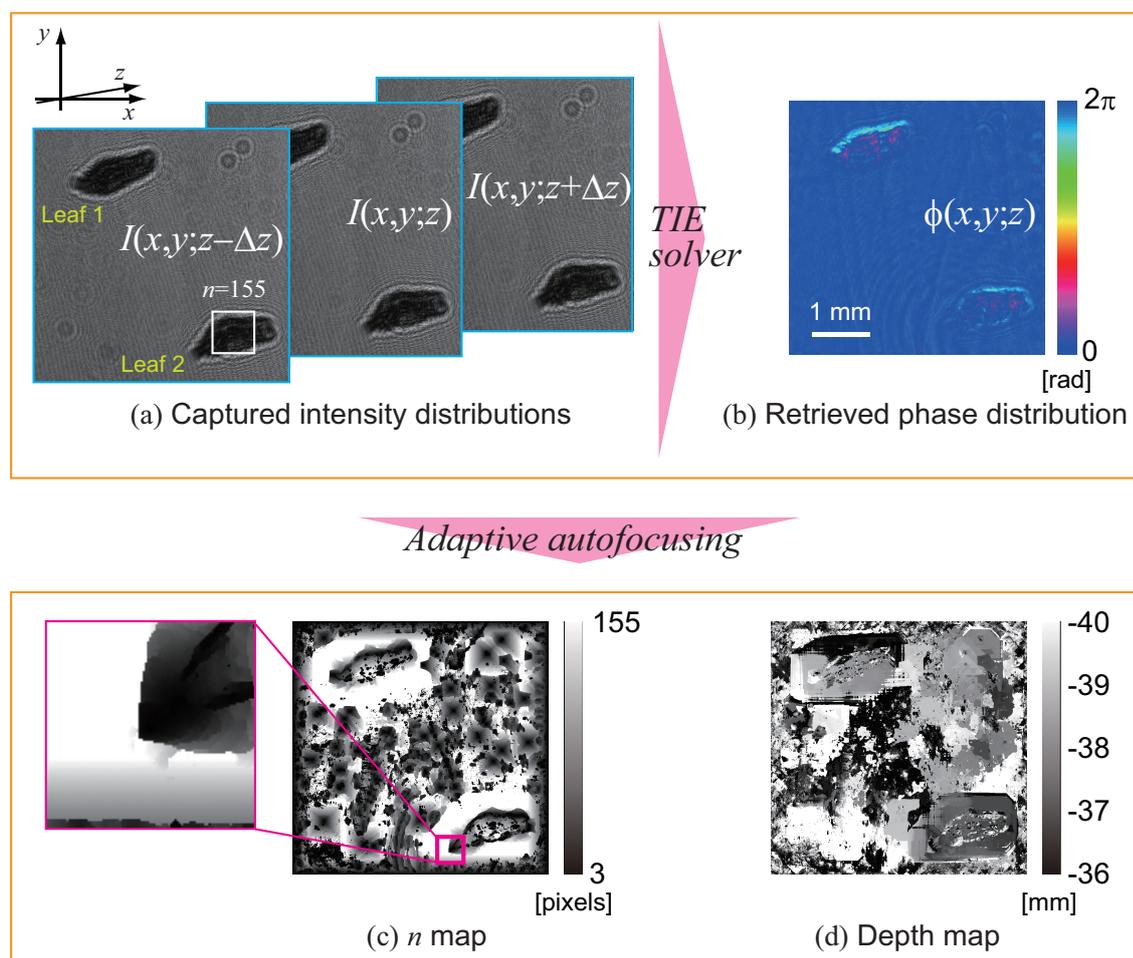


図 4.5 (a) 実験により取得された強度分布と (b) それらから回復された位相分布, (c) 適応的オートフォーカシングにおいて採用された評価領域の大きさ n のマップ, (d) 取得された深さマップ。

ない。深さマップから物体の光軸位置の特定精度を評価する。Leaf 1 の左端と Leaf 2 の右端の伝搬距離の差の絶対値は 1.9 mm である。それら 2 か所の x 軸方向の距離は 3.3 mm である。これらの値からプレパラートの光軸 z に対する傾きを算出すると、 $\arctan(3.3/1.9) = 60$ [deg.] である。これは設定した角度と一致するため、これにより適応的オートフォーカシングによって物体の光軸位置の特定が可能なが示された。

取得された深さマップを参照して、視野全体で物体に合焦した複素振幅分布を取得した。適応的オートフォーカシングにより取得された振幅分布と位相分布を図 4.6(a) に示す。位相分布中の π rad 付近の値（赤色であらわされる位相値）は葉緑体をあらわす⁸²⁾。比較のため、まず、図 4.6(b) に伝搬距離を 38 mm として取得した複素振幅分布を示す。振幅分布を比較すると、適応的オートフォーカシングを用いた場合には視野全体において合焦しているのに対し、単に伝搬計算をおこなった場合には拡大画像

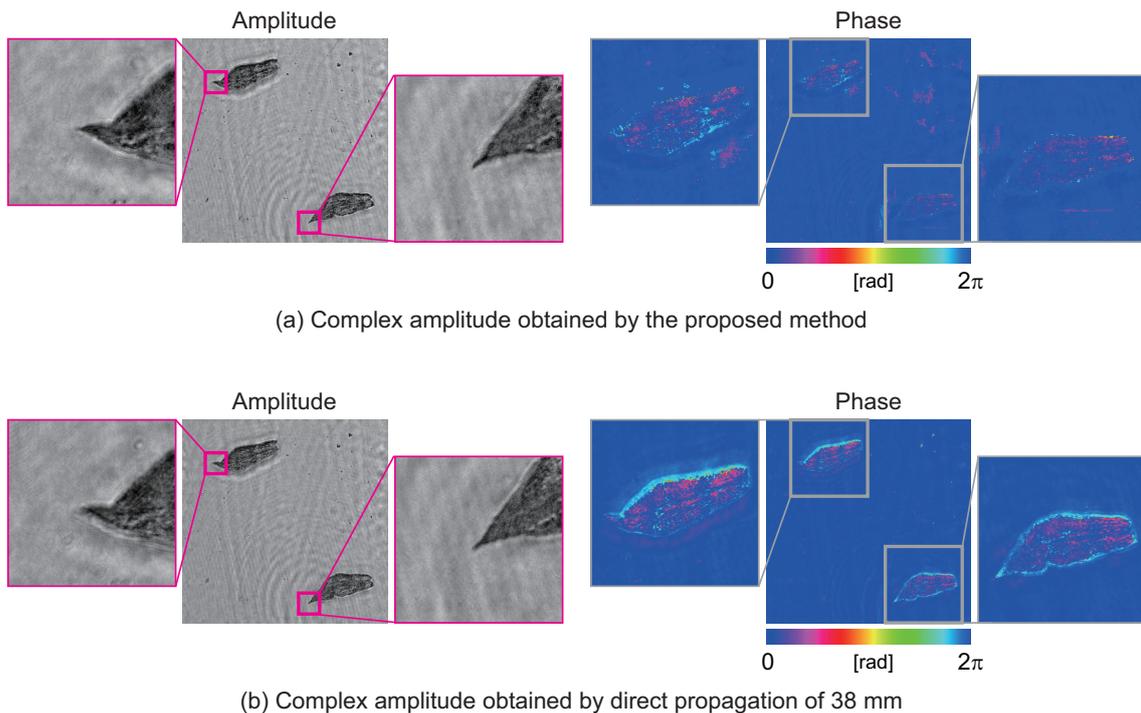


図 4.6 (a) 適応的オートフォーカシングにより取得された複素振幅分布、(b) 伝搬計算により直接取得された複素振幅分布。単に伝搬計算を用いた場合には振幅分布にぼけが生じており、位相分布では物体のエッジにおいてデフォーカス由来の位相誤差が生じている。

からわかるように合焦していない。特に葉の先端で顕著にデフォーカスされていることが確認できる。さらに位相分布を比較すると、伝搬計算した場合は物体のエッジにおいてデフォーカス由来の誤差が生じている（水色であらわされる位相値）のに対し、適応的オートフォーカシングにより得られた位相分布ではその誤差が低減されている。

次に、評価領域の大きさ n を固定した結果と深さマップおよび複素振幅分布を比較する。図 4.7 に深さマップの比較を示す。図 4.7(b), 4.7(c) に示す n を固定した場合の深さマップでは端の領域（黒枠状の領域）で深さ情報が得られていない。これは局所領域を設ける性質上、 $(n-1)/2$ [pixel] の領域で CV 値が算出できないためである。適応的オートフォーカシングでは、最小のサイズ 3 [pixel] \times 3 [pixel] を用いることが可能であるため、深さ情報が欠落するのは 1 pixel のみである。図 4.7(b) に示された $n = 77$ [pixel] で得られた深さマップの左側の拡大図では、黄色の破線で示した物体の幅が広い領域で誤った深さ情報が得られていることがわかる。これは評価領域の大きさがその幅に対して十分に大きくないためである。適応的オートフォーカシングでは適応的に評価領域の大きさを変化させ、物体の幅が広い領域にも対応可能なため、図 4.7(a) の左側の拡大図では物体の深さ情報が得られている。 $n = 155$ [pixel] と固定

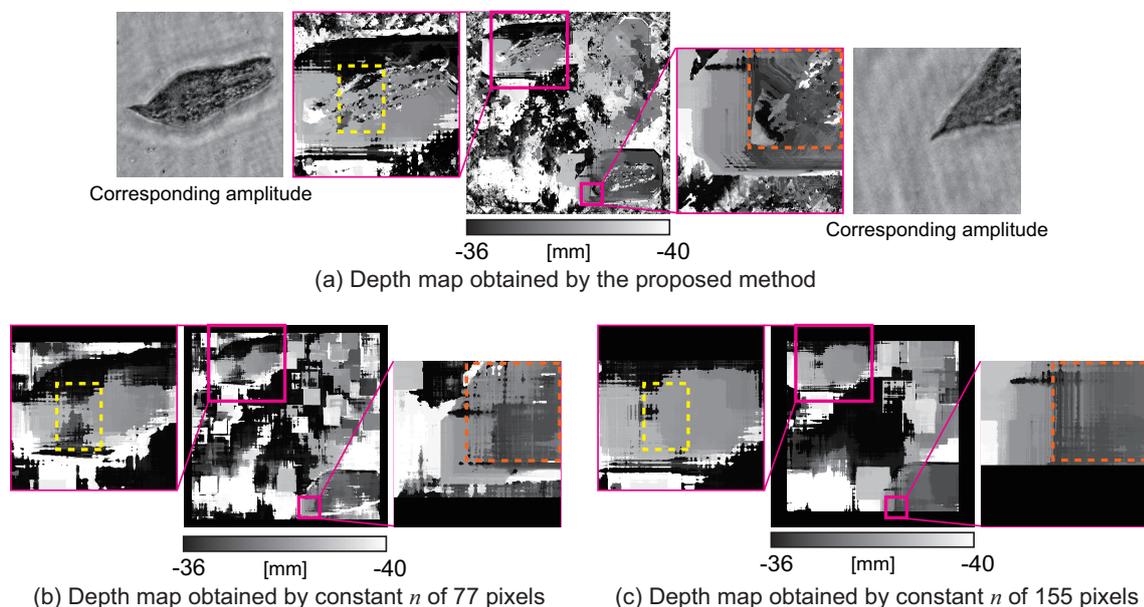


図 4.7 深さマップの比較。(a) 適応的オートフォーカシング, (b) $n = 77$ [pixel], (c) $n = 155$ [pixel]. 破線で示した領域で違いが顕著にみられる。

した場合の図 4.7(c) 右側の拡大図では、橙色の破線で示した領域において、物体に角度が付いているにもかかわらず、ほぼ一様な深さ分布が得られてしまっている。この領域では、小さい評価領域が用いられるべきであり、適応的オートフォーカシングではそれが可能であるため、より精度よく深さ分布が得られている。

n を固定した場合と比較して、適応的オートフォーカシングではより高精度に物体の光軸位置が特定可能であることが示された。ただし、適応的オートフォーカシングにおいても深さ位置の検出に誤差が生じている箇所がある。特に図 4.7(a) 左側の拡大図の破線内において顕著にあらわれているように、深さ情報が欠落している箇所がある。この誤差は物体の構造が細かい箇所において生じている。撮像素子の大きさなどの制限により光学系の空間分解能が十分でなかったために高空間周波数成分が欠落し、構造の細かい箇所において深さ情報の誤差が生じたと考えられる。

続いて複素振幅分布を比較する。図 4.8(a), 4.8(b) にそれぞれ、評価領域を $n = 77$ [pixel], $n = 155$ [pixel] と固定して取得した複素振幅分布を示す。図 4.6(a) に示す適応的オートフォーカシングにより取得された振幅分布と、図 4.8(a) に示す $n = 77$ [pixel] として取得された振幅分布を比較すると、定性的に同様のものが得られている。図 4.8(b) に示す $n = 155$ [pixel] として取得された振幅分布にはぼけが確認できる。特に、右側の拡大図における葉の先端においてぼけが顕著である。さらに、図 4.8(a), 4.8(b) に示す位相分布では、物体のエッジにおいてデフォーカス由来の位相誤差が生じている。これに対し、適応的オートフォーカシングではその誤差が低減されている。以上より、適応的オートフォーカシングを用いることにより、評価領域の大きさ n を固定する場合と比較して、高精度に物体の複素振幅分布が取得可能であることが示された。

4.4 結言

本章では物体の光軸位置を画素ごとに特定し、視野全体において合焦した複素振幅分布が得られる手法として、適応的オートフォーカシングを提案した。ヒメツリガネゴケの葉を計測対象として光学実験をおこなった。作製したプレパラートを (x, y) 平面から傾けて配置し、物体光軸位置に差を設けた。実験結果から、適応的オートフォーカシングを用いることにより、物体の光軸位置が画素ごとに特定可能であることが示された。また、類似手法に相当する評価領域を固定した場合と深さマップ、複素振幅分布を比較した。適応的オートフォーカシングは評価領域が一定である場合と比較し、

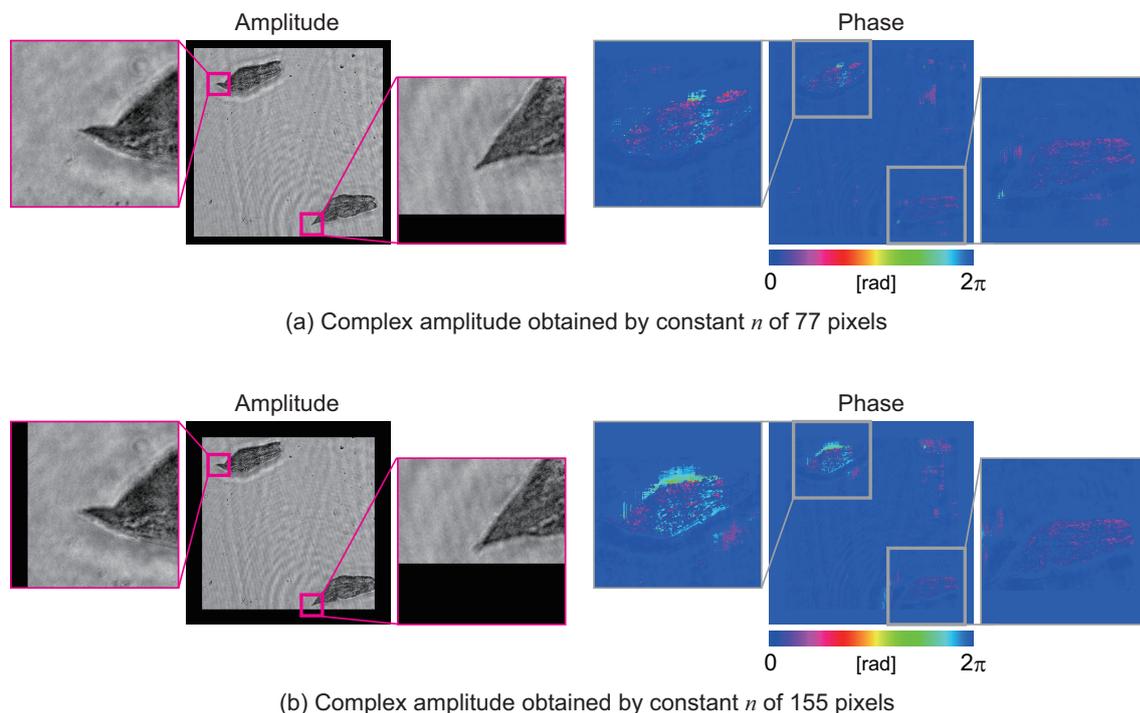


図 4.8 評価領域の大きさを固定して取得された複素振幅分布. (a) $n = 77$ [pixel], (b) $n = 155$ [pixel]. $n = 155$ [pixel] の場合は物体の幅が狭い領域において振幅分布にぼけが確認できる. 両者の位相分布には適応的オートフォーカシングと比較して, 物体のエッジにおいてデフォーカス由来の誤差が顕著にあらわれている.

より高精度に物体光軸位置を特定し, より高精度に複素振幅分布が計測可能であることが示された. 局所領域の大きさを変化させる性質上, 類似手法と比較して計算コストが膨大である (本実験条件の場合, Intel Core i5 2.8 GHz の性能のコンピュータを用いて二日を要する). ただし, GPU (Graphics Processing Unit) を用いて異なる n や異なる伝搬距離に対して並列処理をおこなうことにより, 計算時間の大幅な削減が可能である. 適応的オートフォーカシングは, 顕微観察において高 NA レンズを用いることにより被写界深度が浅くなってしまいう問題に対する解決方法として, 応用が期待される.

以下にオートフォーカス TIE および適応的オートフォーカシングの使い分けの指針を示す. 表 4.1 に示すとおり, オートフォーカス TIE を用いて計測可能な対象は適応

表 4.1 オートフォーカス TIE と適応的オートフォーカシングの比較

手法	計測対象	計算コスト
オートフォーカス TIE	単一の薄い物体 (同一平面内の複数の薄い物体)	低い
適応的オートフォーカシング	複数の 3 次元物体	高い

的オートフォーカシングのそれに内包される。したがって、適応的オートフォーカシングのほうが汎用性が高いといえる。一方、オートフォーカス TIE は計算コストが低く、上述したコンピュータの性能であれば、計算時間は数十秒である。適応的オートフォーカシングの計算時間を削減するためには GPU を搭載した高価なコンピュータが必要である。以上の議論から、光学系の被写界深度に収まる程度に厚みが薄くかつ単一の物体を計測する場合はオートフォーカス TIE、それ以外の場合は適応的オートフォーカシングを用いることが望ましい。

第 5 章 強度輸送計算ゴーストイメージング

5.1 緒言

本章では、SNR の低い環境において高品質な定量位相イメージングを実現することを目的として、計算ゴーストイメージングに強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングを導入した TI-CGI を提案する。TI-CGI はデジタルホログラフィを用いた手法⁹⁶⁻⁹⁸⁾と比較して、光学系が簡易、強度計測回数が少ないという特長をもつ。本章では強度輸送方程式を用いる過程において、振幅が一様である物体を計測対象とし、1枚のデフォーカス像から位相分布を回復する方法^{99,133)}を用いる。5.2節では計算ゴーストイメージングの基本原理を述べる。5.3節では強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングを計算ゴーストイメージングへ導入する原理を述べる。TI-CGI では、物体のデフォーカス像を計算ゴーストイメージングの原理に基づき取得するために光学系を変更する。5.4節においてシミュレーションにより TI-CGI の原理を確認し、ランダムノイズ耐性を評価する。5.5節では TI-CGI を用いて低 SNR 環境下において定量位相イメージングが可能であることを実験的に実証する。最後に、5.6節において本章の結言を述べる。

5.2 計算ゴーストイメージングの原理

ゴーストイメージングは物体に照射される参照光波と、物体透過・反射後の強度総和の相関性から物体の強度分布を再構成する手法である。従来のゴーストイメージングでは参照光波を撮像素子などにより取得する必要があるが、SLM などを用いて任意に与える手法が計算ゴーストイメージングである。そのため計算ゴーストイメージングでは撮像素子が不要であり、点検知器のみにより物体の強度分布が取得可能である。計算ゴーストイメージングに用いる光学系を図 5.1(a) に示す。図 5.1(a) は透過型の配置を示している。SLM や DMD などの光波の振幅分布を変調する素子が物体の前方または直前に配置される（実際に直前に配置することは困難であるため、変調素子に表示された参照光波を結像光学系を用いて投影する）。必ずしも点検知器の前方にレンズを配置する必要はないが、レンズを用いて光波を集光することにより単位面積あたりの光子数が増えるため、SNR を高めることができ、露光時間も短縮できる。

以下に強度の計測手順を示す。i) 任意の強度パターン $M_r(x, y)$ を変調素子に表示し、物体に照射する。添え字 $r = 1, 2, \dots, m$ は計測回数をあらわす。物体直前ではなく、前

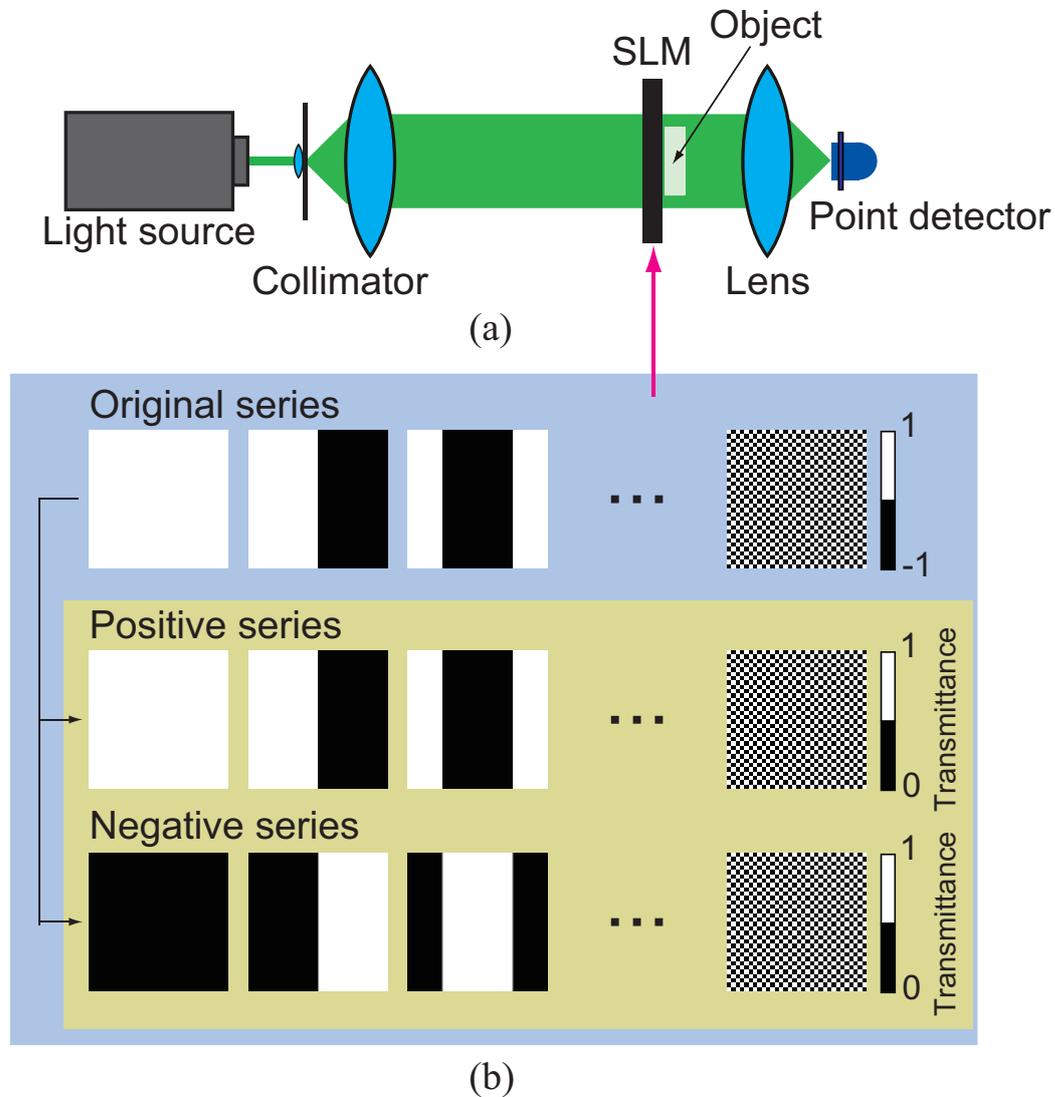


図 5.1 (a) 計算ゴーストイメージングの光学系, (b) Hadamard マスク.

方に変調素子を配置した場合は角スペクトル法¹³⁴⁾により物体面における参照光波の透過率分布 $M_r(x, y)$ を算出する. 変調パターンには当初, ランダムパターンが用いられていたが, Hadamard マスクを用いることによってより少ない計測回数で高品質なイメージングが可能であることが示されている⁹⁵⁾. ランダムパターンを用いる場合において, 低空間周波数なパターンを用いてノイズの影響を低減し, 計測回数を低減する手法も提案されている¹³⁷⁾. 以降は Hadamard マスクを用いることを前提に原理を述べる. イメージングに要求される画素数 $N_{\text{image}} \times N_{\text{image}}$ の Hadamard 行列を Walsh

順（1 と -1 の入れ替わりが少ない順）に並べ直し，各列と各行を全通り掛け算することにより $N_{\text{image}} \times N_{\text{image}}$ 枚の Hadamard マスクが算出される⁹⁵⁾．図 5.1(b) の Original series に示すように Hadamard マスクは -1 の値をもつ．-1 は光学的に実現できないため，図 5.1(b) の Positive series に示すように -1 を透過率 0 に置き換えて $M_r(x, y)$ として用いる．Positive series のみでも強度分布の再構成が可能であるが，図 5.1(b) の Negative series に示すように，Positive series の 0 と 1 を反転させたものも同時に用いる¹³⁸⁾，すなわち， $M_{r,\text{positive}}(x, y)$ と $M_{r,\text{negative}}(x, y)$ として二つのマスク群を用いることにより，SNR を向上させることが可能である．Hadamard マスクを用いることによって高品質なイメージングが可能となる理由は，ランダムに発生させたパターンと比較して，Hadamard マスクは数学的に各マスクの 1 の値同士が重り合う領域が全体の 50% と一定で相関性が低く，かつマスクを変化させた際に透過率が 0 と 1 を取る頻度が画素ごとに同一であるためである^{95,138)}．ただし，物体直前ではなく前方に変調素子を配置した場合は，自由伝搬後の物体面において各マスク同士の相関性は保たれず SNR は向上しないため Hadamard マスクを用いるメリットはない．ii) 物体透過後の強度総和

$$b_r = \iint M_r(x, y)I(x, y; z) dx dy \quad (5.1)$$

を点検知器により計測する．ここで，物体面を $(x, y; z)$ とした． $I(x, y; z)$ は物体の強度分布であり，強度総和 b_r は分布をもたない．分布をもたない計測“点”強度から物体の“2次元”強度分布が再構成されるという点が“ゴースト”イメージングと呼ばれるゆえんである．二つのマスク群を用いる場合は，

$$\begin{aligned} b_r &= \iint M_{r,\text{positive}}(x, y)I(x, y; z) dx dy - \iint M_{r,\text{negative}}(x, y)I(x, y; z) dx dy \\ &= b_{r,\text{positive}} - b_{r,\text{negative}} \end{aligned} \quad (5.2)$$

として後の計算に用いる．iii) i) と ii) をマスクを変更して m 回繰り返す．Positive series のみを用いる場合は，イメージングに要求される画素数 $N_{\text{image}} \times N_{\text{image}}$ が繰り返し数 m となる．二つのマスク群を用いる場合，計測回数は 2 倍 ($m = N_{\text{image}} \times N_{\text{image}} \times 2$) となる．本論文では，イメージング品質の向上のために二つのマスク群を用いる方法を採用する．

与えた参照強度 $M_r(x, y)$ と計測強度 b_r から相関関数

$$\begin{aligned} G(x, y) &= \frac{1}{m} \sum_{r=1}^m (b_r - \langle b \rangle) M_r(x, y) \\ &= \langle b M(x, y) \rangle - \langle b \rangle \langle M(x, y) \rangle \end{aligned} \quad (5.3)$$

を用いて物体強度分布 $I(x, y; z)$ を再構成する。ここで、 $\langle \dots \rangle$ は集合平均をあらわす。式 (5.3) はスペックル場の 2 次統計に基づき、スペックル強度分布の相関関数より導出され¹³⁹⁻¹⁴¹⁾、天文学や量子光学の分野では Hanbury Brown-Twiss 効果として知られる（導出の詳細は付録 A-2 に示す）。相関関数 $G(x, y)$ は強度計測回数 r の増加とともに物体強度分布 $I(x, y; z)$ に近づく。

5.3 TI-CGI の原理

TI-CGI では、計算ゴーストイメージングの光学系を変更し、物体のデフォーカス像を取得する。取得されたデフォーカス像から強度輸送方程式に基づき物体の位相分布を回復する。TI-CGI に用いる光学系を図 5.2 に示す。ここでは物体面を $(x, y; z)$ とし、計測物体を振幅分布が一様な物体 $u(x, y; z) = \sqrt{I} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ とする。図 5.1(a) に示す一般的な計算ゴーストイメージングの光学系と異なり、TI-CGI では SLM が物体後方に微小距離 Δz だけ離して配置されている。図 5.2 において、SLM 面では物体複素振幅分布が Δz 伝搬したデフォーカス分布があらわれる。そのデフォーカス分布に対

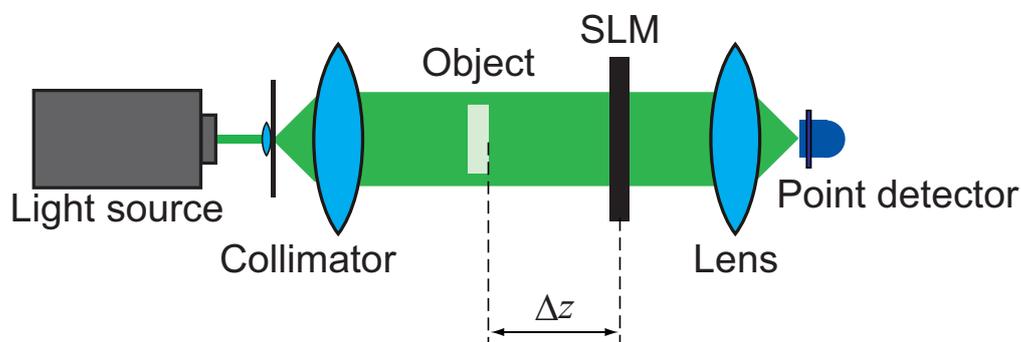


図 5.2 TI-CGI の光学系。物体後方に微小距離 Δz だけ離して変調素子を配置する。これにより物体のデフォーカス像が取得可能となる。

して SLM を用いてマスクをする。すなわち、式 (5.2) は

$$b_r = \iint M_{r,\text{positive}}(x, y) I(x, y; z + \Delta z) dx dy - \iint M_{r,\text{negative}}(x, y) I(x, y; z + \Delta z) dx dy \quad (5.4)$$

と書き改められる。したがって、式 (5.3) を用いて物体のデフォーカス像 $I(x, y; z + \Delta z)$ が再構成される。前進差分近似を用いるために、再構成されたデフォーカス像の平均値を取り物体のインフォーカス強度を推定する^{99,133)}。すなわち、

$$I(x, y; z) = I \approx \bar{I}(z + \Delta z) \quad (\text{const.}) \quad (5.5)$$

を計算する。最終的に、式 (2.15) および式 (2.16) を用いて物体の位相分布 $\phi(x, y; z)$ が算出可能である。

物体からの回折光が変調マスクで十分に覆える場合に、物体面 $(x, y; z)$ とデフォーカス面 $(x, y; z + \Delta z)$ において光のエネルギーが保存されるため、デフォーカス像からインフォーカス強度を近似的に算出できる。振幅に分布をもつ物体 $u(x, y; z) = \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ を計測する場合は、上述の近似を用いることができないため、 $(x, y; z + \Delta z)$ とは異なるデフォーカス面もしくは物体面における強度分布を計算ゴーストイメージングの原理にしたがい取得する必要がある。その場合は、変調素子を光軸方向に走査するか、もしくは二つ用いるなどして $I(x, y; z + \Delta z)$ と異なる強度分布を取得する。以降のシミュレーションおよび光学実験では、振幅分布が一様な物体を用いて TI-CGI の原理を実証する。

5.4 TI-CGI のシミュレーション

シミュレーションにより TI-CGI の原理を実証する。図 5.2 に示す光学系を想定し、光源の波長は 532 nm とした。SLM の画素サイズは $36 \mu\text{m} \times 36 \mu\text{m}$ とした。変調パターンとして、 $64 [\text{pixel}] \times 64 [\text{pixel}]$ の Hadamard マスクを用いた。なお、イメージング品質の向上のために Negative series も用いたため、強度計測回数は $m = 64 \times 64 \times 2 = 8192$ である。図 5.3 に示す二つの純位相物体を計測対象とした。図 5.3(b) は光学実験において計測するマイクロドットレンズ¹⁰⁰⁾を想定して与えた位相分布である。ランダムノイズ耐性を検証するため、ノイズなしとノイズありの 2 通りについて位相分布を計測した。ノイズありの場合は、微弱光照明を想定し、3.3 節よりも強い Gaussian ノイズ (標準偏差 0.083, SNR=6.0 に相当) を用いた。ここで入射光の平均強度は 1 である。一般的なイメージセンサでは露光時間を数秒から十数秒に

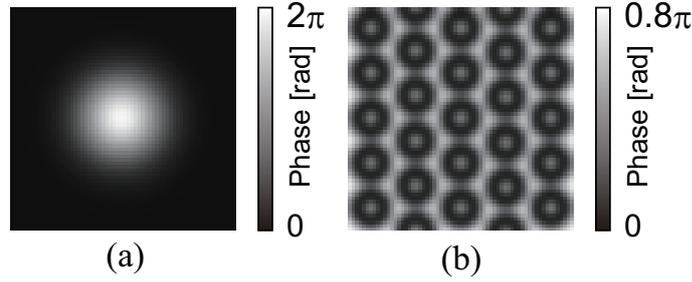


図 5.3 シミュレーションにおける計測対象. (a) ガウス状の位相分布, (b) マイクロドットレンズ状の位相分布.

しなければ物体像が取得できず, かつ計算ゴーストイメージングを用いて物体像が再構成可能な限界程度⁹⁵⁾のノイズを想定し, この標準偏差を与えた.

以下にシミュレーション手順を示す.

- i) 物体の複素振幅分布 $u(x, y; z) = \sqrt{I} \exp\{i\phi(x, y; z)\}$ を与え, SLM 面まで Δz の距離角スペクトル法を用いて数値伝搬した. 差分近似の精度とノイズの影響を低減することのバランスを考慮し, 伝搬距離 Δz は図 5.3(a), 5.3(b) に対してそれぞれ 30 mm, 10 mm とした.
- ii) Hadamard マスクの透過率分布を乗算した後, レンズにより集光することを想定して複素振幅分布をフーリエ変換した. その後, フーリエ変換後の強度の総和を算出し, 点検知器による計測強度 b_r とした. なお, ノイズありの場合は SLM 面と点検知器面の 2 面において Gaussian ノイズを付加した.
- iii) すべてのマスクに対して上の操作をおこない, 式 (5.3) によりデフォーカス像 $I(x, y; z + \Delta z)$ を再構成した. 再構成されたデフォーカス像の平均値 $\bar{I}(z + \Delta z)$ を算出してインフォーカス強度を推定し, 式 (2.15) および式 (2.16) を用いて物体の位相分布 $\phi(x, y; z)$ を算出した.

算出された位相分布の精度を二乗平均平方根誤差 (RMSE: Root Mean Squared Error)

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{N_{\text{image}}^2} \sum_{i,j=1}^{N_{\text{image}}} \{\phi_{\text{true}}(i, j; z) - \phi_{\text{ret}}(i, j; z)\}^2} \quad (5.6)$$

により評価した. $\phi_{\text{true}}(x, y; z)$ は与えた位相分布, $\phi_{\text{ret}}(x, y; z)$ は TI-CGI により回復された位相分布である.

シミュレーションにより得られたデフォーカス像およびその平均値、位相分布を図 5.4 に示す。図 5.4(a)~(c) はノイズなし、図 5.4(d)~(f) はノイズありでガウス状の位相分布を計測した結果である。図 5.4(g)~(i) はノイズなし、図 5.4(j)~(l) はノイズありでマイクロドットレンズ状の位相分布を計測した結果である。図 5.4(c), 5.4(i) に示す緑色の直線上の位相プロファイルの比較を図 5.5 に示す。いずれの計測結果においても、定性的に計測対象と同様の位相分布が得られている。位相プロファイルの比較から、特にマイクロドットレンズ状の位相分布を計測した場合に位相差が小さく計測されたが、これは Fourier 変換による解法を用いる際の境界条件^{106,107)} が原因であると考えられる。ガウス状の位相分布をノイズなし、ノイズありで計測した結果の RMSE はそれぞれ、0.055 rad, 0.26 rad であった。これらの値は与えた位相分布の最大の位相差 2π に対してそれぞれ、0.90%, 4.1% の値である。また、マイクロドットレンズ状の位相分布をノイズなし、ノイズありで計測した結果の RMSE はそれぞれ、0.21 rad, 0.22 rad であり、それぞれ最大の位相差 0.8π に対して 8.8%, 9.9% である。ただし、マイクロドットレンズ状の位相分布の計測精度を評価する場合は、境界条件による誤差の影響を低減するために、図 5.4 に黄色い破線で示す領域内部で RMSE を算出した。以上の結果より、TI-CGI を用いて定量位相イメージングが可能なが示され、強いノイズが想定される微弱照明下においても 10% 以下の誤差で位相計測が可能であることが明らかとなった。

5.5 TI-CGI の光学実験

微弱照明下における光学実験により TI-CGI の有用性を示す。図 5.2 に示す光学系を用いた。出力 50 mW、波長 532 nm のファイバレーザを光源として用い、透過率 1.0%, 0.10% の 2 枚の ND (Neutral Density) フィルタを光源の後方に配置し、光量を 10 万分の 1 にした。この光量は、一般の撮像素子では露光時間を数十秒にしなければ撮像が不可能なほどの極微弱光である。画素サイズが $36 [\mu\text{m}] \times 36 [\mu\text{m}]$ の SLM (LC2012, Holoeye Photonics AG) を Hadamard マスク表示用に用いた。Hadamard マスクの画素数は $64 [\text{pixel}] \times 64 [\text{pixel}]$ としたため、強度計測回数は $m = 8192$ である。点検知器の代わりに画素サイズ $4.65 [\mu\text{m}] \times 4.65 [\mu\text{m}]$ の CCD カメラを用いた。1.0 [mm] \times 1.0 [mm] の点検知器を想定し、撮像素子の画素数 $1280 [\text{pixel}] \times 960 [\text{pixel}]$ のうち、中央 $215 [\text{pixel}] \times 215 [\text{pixel}]$ の領域の強度総和を計算ゴーストイメージングの再構成に用いた。計測対象は図 5.6 に示すマイクロドットレンズ¹⁰⁰⁾ である。マイク

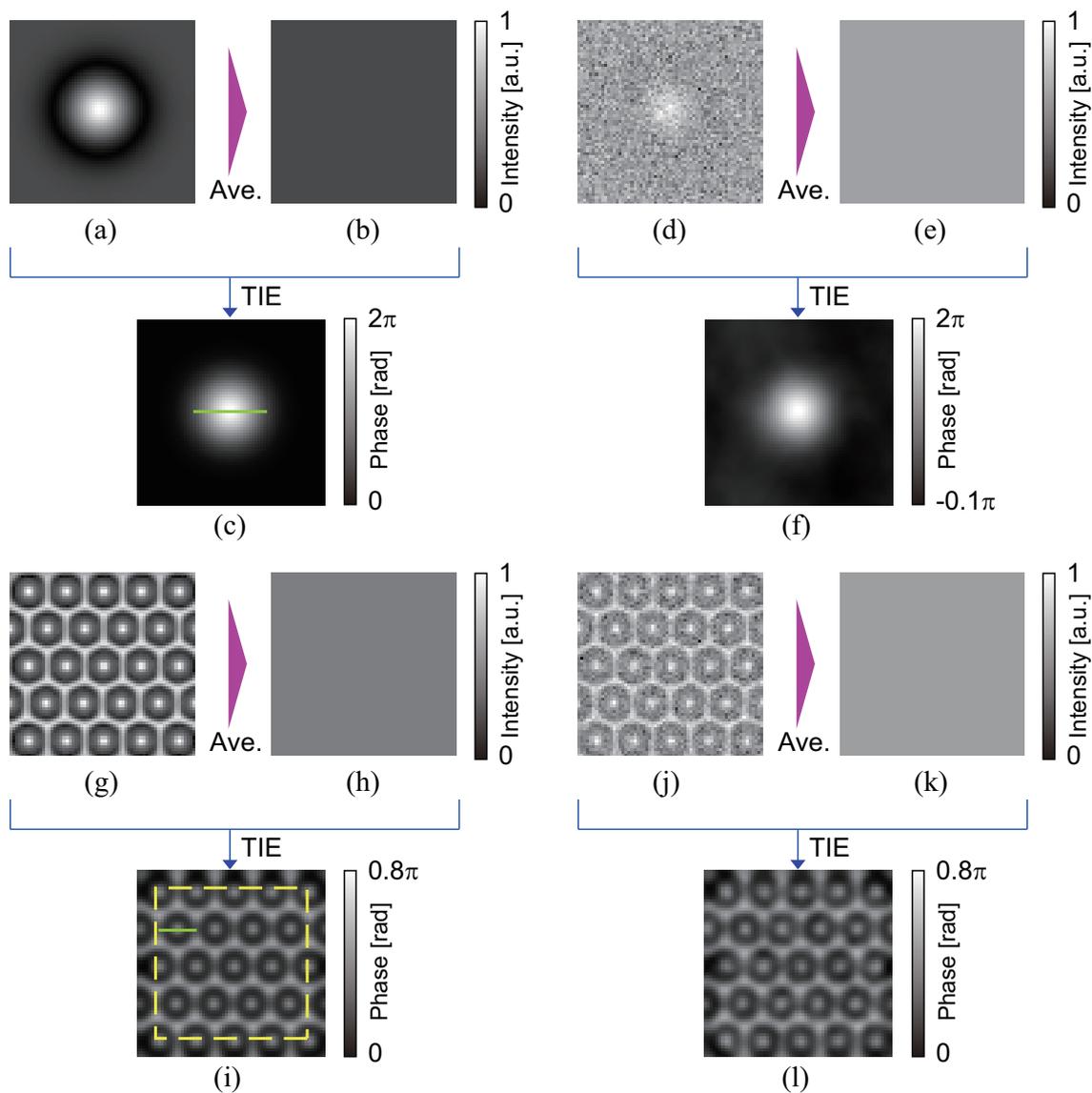


図 5.4 シミュレーションにおいて TI-CGI により取得されたデフォーカス像 [(a), (d), (g), (j)], インフォーカス強度 [(b), (e), (h), (k)] および位相分布 [(c), (f), (i), (l)]. (a)~(c) ノイズなし, (d)~(f) ノイズありの場合のガウス状の位相分布の計測結果. (g)~(i) ノイズなし, (j)~(l) ノイズありの場合のマイクロドットレンズ状の位相分布の計測結果. マイクロドットレンズ状の位相分布を計測した際は (i) 内の破線内部で RMSE を算出した.

ロドットレンズは図 5.6 中の拡大図に見られるように, ドット状の分布をもつ. ドット

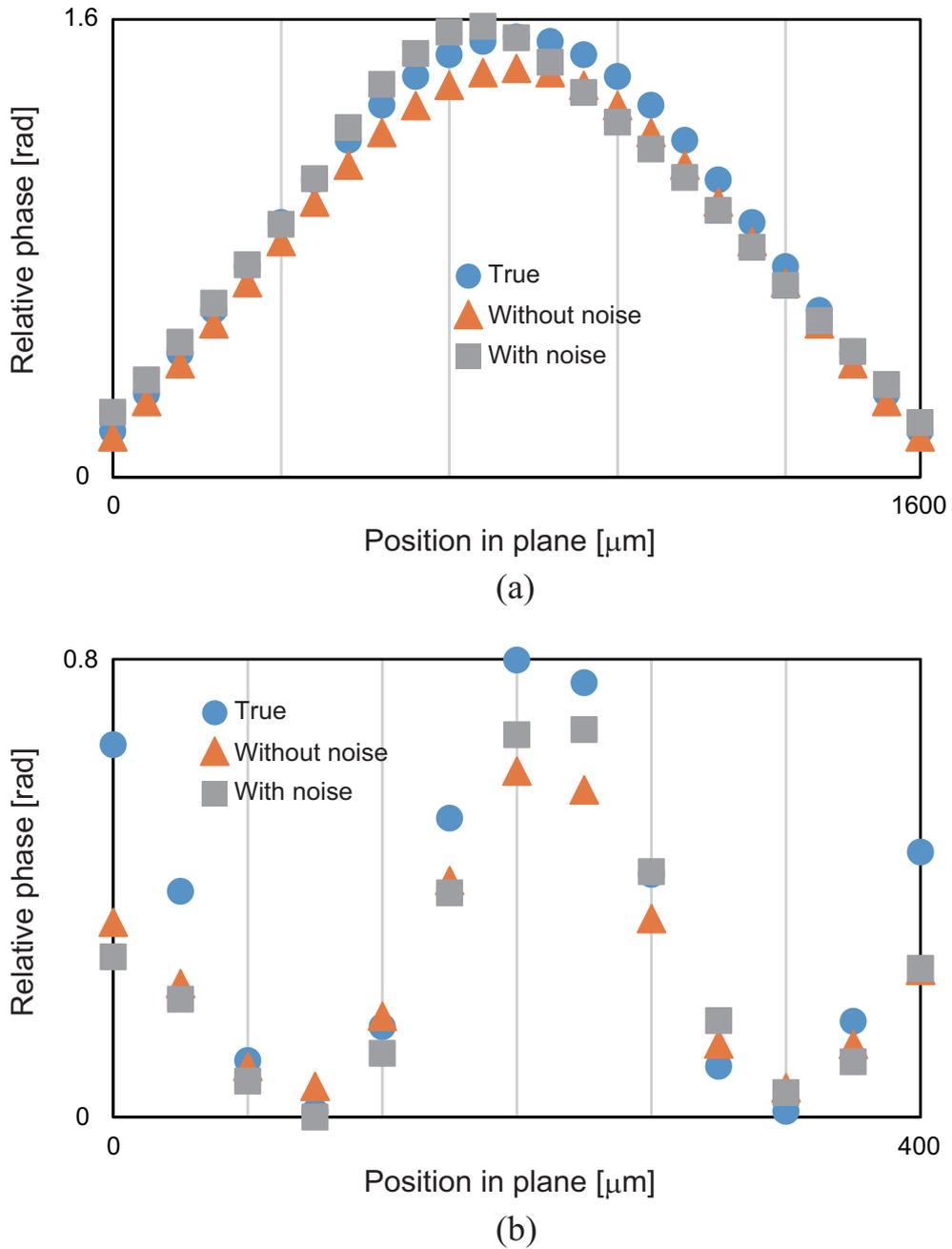
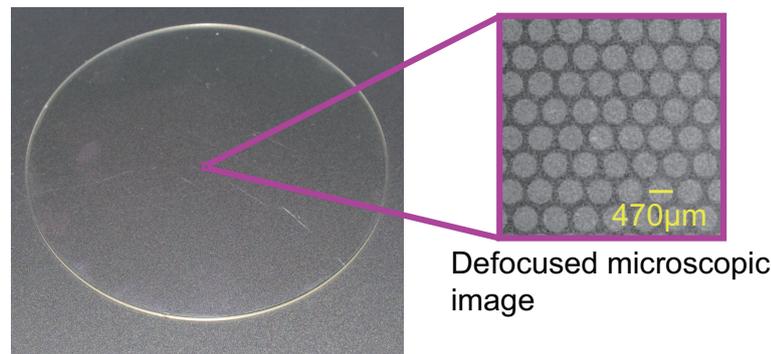


図 5.5 位相プロファイルの比較. (a) ガウス状の位相分布の計測結果, (b) マイクロドットレンズ状の位相分布の計測結果.

トの直径は $470 \mu\text{m}$ であり, ドットとそれ以外の領域で位相差がある. この拡大図はドット構造を可視化するために光学顕微鏡を用いてデフォーカスして取得した顕微画像であり, 合焦面ではほぼ一様な強度分布をもつ. マイクロドットレンズから SLM



※ Dots and gaps have different optical path lengths.

図 5.6 光学実験における計測対象．右側の拡大図は光学顕微鏡を用いてわずかにデフォーカスして取得した強度分布である．

までの距離はシミュレーションと同様， $\Delta z = 10$ [mm] とした．

TI-CGI により取得されたデフォーカス像とその平均値，位相分布をそれぞれ図 5.7(a), 5.7(b), 5.7(c) に示す．取得されたデフォーカス像と位相分布からドット構造が確認できる．また，横方向のストライプ状の模様が両分布に見受けられる．これは変調素子として液晶型の SLM を用いたため，ピクセル間のクロストークにより振幅変調にムラができたためであると考えられる．誤差が横方向にあらわれている原因としては，SLM が表示方向に特性をもつことが考えられる．変調素子として DMD を用いることにより，この誤差は解消可能である．

TI-CGI の計測精度を評価するために，定量位相イメージングとして最もよく用いられる手法である位相シフトデジタルホログラフィ¹¹⁾を用いて取得した位相分布と比較する．位相シフトデジタルホログラフィは現在，定量位相イメージングにおいて主流の手法であり高精度な位相計測が可能であるため，比較対象として用いた．位相シフトデジタルホログラフィでは，光学系は図 1.1(a) に示す Mach-Zehnder 型干渉計を用い，位相シフト量は $0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ rad とした．なおこのとき，TI-CGI の場合と同一の光源を用い，ND フィルタは挿入していない．位相シフトデジタルホログラフィを用いて取得した位相分布を図 5.7(d) に示す．図 5.7(c), 5.7(d) に示す黄線上の位相プロファイルの比較を図 5.8 に示す．TI-CGI の面内分解能は撮像素子でなく SLM の画素サイズに依存するため，位相シフトデジタルホログラフィよりもサンプリングが粗い．しかしながら，両者の位相プロファイルはほぼ一致している．TI-CGI

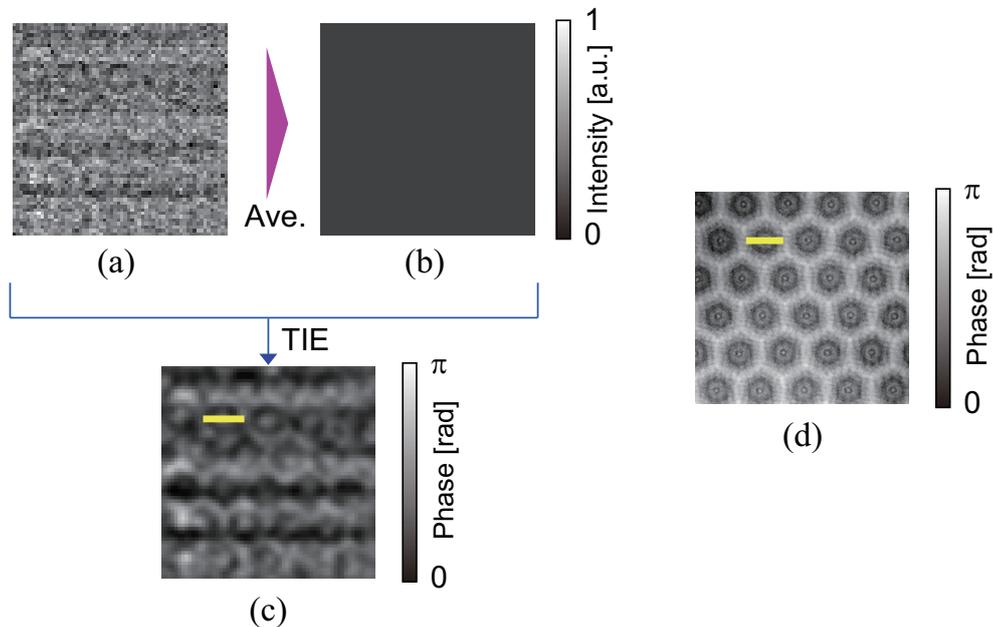


図 5.7 実験結果. TI-CGI により取得された (a) デフォーカス像, (b) インフォーカス強度, (c) 位相分布. (d) 計測精度の比較評価のために位相シフトデジタルホログラフィにより取得された位相分布.

を用いた場合は、位相差が小さく計測されているが、これはシミュレーションと同様の結果であり、境界条件が原因であると考えられる。本実験において TI-CGI を用いた場合の光量は、1 度の強度計測に対して通常の 10 万分の 1 であり、一連の 8192 回の強度計測に要する光の総量は通常の $8192/100000 \approx 1/12$ である。一般の撮像素子を用いる場合、50 mW 光源の光量を 10 万分の 1 にして撮像すると露光時間を数十秒にしなければならない。長い露光時間を要すると、生きた細胞の観察は困難であり、露光中に生じる振動によりイメージングの品質が劣化する。一方、TI-CGI の場合、本実験で用いたリフレッシュレートが 60 Hz の SLM では可能ではないが、10 kHz 以上の高速変調が可能である DMD を用いれば、1 秒未満のイメージングが可能である。したがって、生きた細胞の定量評価への応用が可能であると考えられる。以上の結果から、TI-CGI は微弱照明下において位相シフト法と同等の精度で定量位相イメージングが可能であることが示された。

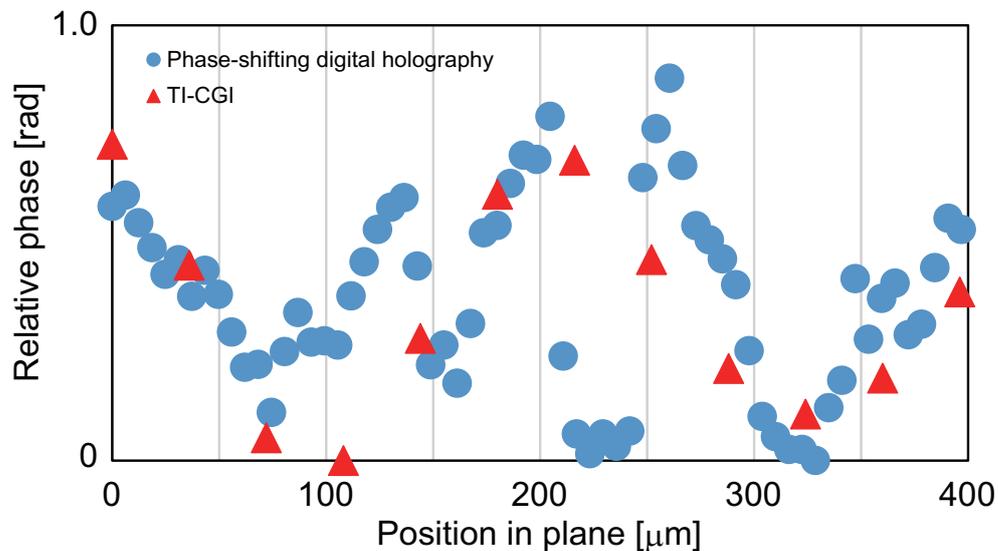


図 5.8 TI-CGI と位相シフトデジタルホログラフィにより取得した位相プロファイルの比較.

5.6 結言

本章では、簡易な光学系を用いて微弱照明下において定量位相イメージングを実現する手法として TI-CGI を提案した。TI-CGI は、干渉を用いる従来法⁹⁶⁻⁹⁸⁾と比較して光学系が簡易、強度計測回数が少ないという利点をもつ。シミュレーションにより、TI-CGI の原理を確認し、ランダムノイズ耐性を評価した。さらにマイクロドットレンズを評価試料として用いた光学実験により、微弱照明下において一般的な位相計測法である位相シフトデジタルホログラフィと同等の精度で定量位相イメージングが可能であることを示した。TI-CGI は、微弱照明を用いて吸収が小さく厚みの小さい生細胞を非侵襲に観察・評価する技術への発展が期待される。

第 6 章 結論

本論文では、現行の細胞観察において課題である高分解能化により被写界深度が浅くなる問題と、光毒性や強度の強いレーザ光による侵襲性に対する問題への解決方策として、オートフォーカス TIE、適応的オートフォーカシング、TI-CGI の三つの手法を提案した。オートフォーカス TIE は薄い単一の試料や同一平面内に存在する複数の物体に数値処理によりフォーカスを合わせることが可能な手法である。オートフォーカス TIE を発展させ、異なる深さ位置に存在する複数の物体や 3 次元構造をもつ物体（厚みのある物体）に視野全体においてフォーカスを合わせることが可能な手法が適応的オートフォーカシングである。これら二つの手法は高分解能化に伴う問題への解決方策として提案した。さらに侵襲性に対する問題の解決策として、光量が少ない環境においても簡易な光学系を用いて比較的高品質な定量位相イメージングを可能とする手法として TI-CGI を提案した。本論文の総括として、以下に各章の内容をまとめる。

第 1 章では、本研究の根幹的な技術である定量位相イメージングについて各手法の特徴を比較し、近年の研究動向をまとめた。さらに、生体・医療分野における研究動向と課題を示し、その課題に対する定量位相イメージングによる解決方策と指針を示した。

第 2 章では、本論文において提案するすべての手法に対する要素技術である強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングの概要を述べた。本論文の理解の一助となるよう、Woods らの解析にしたがい、強度輸送方程式の物理的意味を示した。さらに、強度輸送方程式の Fourier 変換による解法を示し、典型的な状況について強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングの具体的な実験操作を示した。

第 3 章では、強度輸送方程式を用いた単一平面に対するオートフォーカス技術としてオートフォーカス TIE を提案した。はじめに、オートフォーカス TIE の原理を述べた。分散、勾配、2 次微分に基づく 3 種類の統計量による評価方法を示し、物体光軸位置の特定方法を述べた。次に、振幅が一樣な物体に対して、シミュレーションによりオートフォーカス TIE の原理を確認するとともに、3 種類の評価方法のランダムノイズ耐性を評価した。ノイズなしの場合は、いずれの評価方法を用いても物体光軸位置が特定可能なことが示された。ノイズありの場合は、勾配もしくは 2 次微分を用いることにより高精度に光軸位置が特定可能なことが明らかとなった。分散を用いた場

合に特定精度が低下する原因として、強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングに特有な低空間周波数ノイズを挙げ、勾配・2次微分を用いることによりこの低周波ノイズの影響が低減可能であると考察した。最後に、ゾウリムシの標本による光学実験によりオートフォーカス TIE の有用性を示した。評価関数として勾配を用いることにより高精度に物体光軸位置が特定可能なことが示された。シミュレーションの結果と比較して2次微分による精度が低下した原因として、光学系の分解能が不十分なことによる高空間周波数情報の欠落を挙げた。オートフォーカス TIE は撮像素子を機械的に走査することから、動きの遅い植物細胞の逐次観察に応用可能であると考えられる。シングルショット手法を取り入れることにより、さらに動きの速い動物細胞への適用も期待される。

第4章では、被写界深度を超えて複数の物体が存在する場合や3次元構造をもつ物体に画素ごとにフォーカス可能な手法として適応的オートフォーカシングを提案した。はじめに、適応的オートフォーカシングの原理を述べた。局所評価領域の大きさを固定して使用する類似手法と比較して、局所評価領域の大きさを変化させることのメリットについて言及した。さらに、類似手法では述べられていなかった位相値を繋ぎ合わせる際の注意点を述べ、その解決方法を示した。次に、適応的オートフォーカシングの有用性をヒメツリガネゴケを試料として用いた光学実験により示した。局所評価領域の大きさを固定した実験結果と比較し、適応的オートフォーカシングを用いることにより、より高精度に物体の光軸位置を特定し、デフォーカスによる位相計測の誤差が低減可能であることが明らかとなった。適応的オートフォーカシングもオートフォーカス TIE と同様、シングルショット手法を取り入れることにより生きた細胞の逐次観察への応用が期待される。適応的オートフォーカシングは計算コストが高いという短所があるため、被写界深度が十分である場合は計算機の性能へのコスト削減を考えると、オートフォーカス TIE を用いることが望ましいといえる。このように、オートフォーカス TIE と適応的オートフォーカシングの使い分けが考えられる。また、実用化に際しては、両手法とも物体の空間周波数に応じた光学系の分解能の調整や、その分解能が物体光軸位置の特定に及ぼす影響をさらに精査する必要があると考えられる。

第5章では、SNR の低い微弱照明環境において定量位相イメージングを実現する手法として TI-CGI を提案した。デジタルホログラフィを応用した従来手法と比較して、TI-CGI は光学系が簡易かつ強度計測回数が少ないという長所をもつ。はじめに要

素技術である計算ゴーストイメージングの原理を述べた。本論文ではイメージング品質向上のために、Hadamard マスクを用いる方法を示した。続いて、TI-CGI の原理を述べた。TI-CGI では光波の振幅分布を変調する素子を物体後方に配置してデフォーカス像を取得することにより、強度輸送方程式を用いた定量位相イメージングを適用可能にした。次節でシミュレーションにより TI-CGI の原理確認とノイズ耐性の評価をおこなった。その結果、TI-CGI は一般的な撮像素子では像の取得が困難な環境においても、比較的高品質な定量位相イメージングが可能であることが示された。最後に、TI-CGI の有用性を光学実験により示した。ND フィルタを用いて光量を極限まで少なくした状況において、減光をおこなわずに位相シフトデジタルホログラフィにより取得した位相分布と計測精度を比較した。その結果、位相シフトデジタルホログラフィと同等の精度で定量位相イメージングが可能であることを示した。TI-CGI は、iPS 細胞などの生体試料の非侵襲観察および定量評価への応用が期待される。TI-CGI はインフォーカス像をデフォーカス像から仮想的に取得するため、実用化に際してはさらに物体の吸収の影響を精査する必要があると考えられる。

本論文では、いずれの手法においても比較的大きな物体を計測対象としてきたが、実際に μm オーダーの小さな細胞の観察に应用する場合は、対物レンズを物体の後ろに挿入して拡大するのみで理論的には回折限界程度の分解能で定量位相イメージングが可能である。また、既存の顕微鏡システムに組み込むことも可能である。本論文において提案した手法はすべて、生体・医療分野への応用を展望して提案したものである。初めは透明な細胞を可視化するために提案された位相イメージングも発展を遂げ、“定量”の2文字が冠され、位相分布が定量的に取得可能となった。さらには、回折トモグラフィ¹⁴²⁾を用いることにより、異なる物体回転角度や照明角度において取得された定量位相から3次元屈折率分布が得られることが示されており、提案手法をそれに応用することにより高精度かつ多次元な情報に基づく細胞の客観的な評価方法の確立が期待される。また近年では、定量位相イメージングによる病理診断¹⁴³⁻¹⁴⁵⁾の検討がなされており、生体・医療分野と定量位相イメージングは切っても切れない関係にある。互いの分野がともに発展していくために分野間の協力は必要不可欠であり、生体・医療分野の要求を満たしていくために新たな手法を創出することが、我々、応用光学に携わる研究者の醍醐味の一つではないかと思う。本論文において提案した三つの手法が、生体・医療分野の発展に寄与することを願う。

謝辞

本研究は和歌山大学大学院システム工学研究科情報フォトニクス研究室において、野村孝徳教授のご指導のもとにおこなったものである。研究の遂行から研究者としての在り方まで終始熱心なご指導，ご鞭撻を賜りました野村孝徳教授に深く感謝の意を表すとともに心から御礼申し上げます。学部3年生のとき，野村先生からのご助言がなければ，私は寮を出て勉学に専念できる環境を手に入れることができなかつたと思います。その頃から野村先生には生活面でのご助言も多く賜り，そのおかげで私の学生生活は彩りの多いものとなりました。

和歌山大学システム工学部 最田裕介 助教には，日々の議論を通して本研究に対し有益なご助言を賜りました。ここに，深く御礼申し上げます。最田先生とは趣味の面でも交流がありました。自転車を始めた頃，途中のトラブルを見事乗り越え，夜通し走って白浜までたどり着いたのは好い思い出です。

Prof. George Barbastathis kindly accepted my stay at Massachusetts Institute of Technology and gave me useful advice on optics and machine learning. I greatly appreciate his advice and help.

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 玉田洋介（現 宇都宮大学工学部）准教授には，ヒメツリガネゴケの提供に加え，適応的オートフォーカシングの研究を遂行するにあたって的確かつ明快なご助言を賜りました。ここに，深く御礼を申し上げます。

本論文の審査に際して，ご多忙にもかかわらず副査としての査読をご承諾くださり，貴重かつ有益なご意見，ご指摘を賜りました和歌山大学システム工学部 土谷茂樹教授，ならびに 松本正行 教授に厚く御礼申し上げます。

和歌山大学大学院システム工学研究科 博士後期課程卒業生 信川輝吉 博士（現 NHK 放送技術研究所）には，本研究に関して有益な情報をご提供いただきました。本研究室卒業後も学会の折に何度も食事に誘ってくださり，その度に研究だけでなくさまざまなことに対してご助言を賜りました。ここに，深く御礼申し上げます。

和歌山大学大学院システム工学研究科 博士後期課程卒業生 井邊真俊 博士（現 国立研究開発法人産業技術総合研究所）には，私が博士後期課程に進学するにあたり有益なご助言を賜りました。また，学会などでお会いした際は，近況や研究動向などにつ

いて楽しくお話をしました。ここに、深く御礼を申し上げます。

Dr. Alexandre Sydney Robert Goy helped my study at Massachusetts Institute of Technology. I greatly appreciate his kind help.

和歌山大学大学院システム工学研究科 博士後期課程 米田成 氏とは、研究について日々、活発な議論を交わしました。学会参加や下校時にともによく食事をし、さまざまな事柄について楽しくとりとめのない会話を交わしました。ここに、深く御礼申し上げます。

和歌山大学大学院システム工学研究科 博士前期課程卒業生 大江和沙 氏（現 日本電産株式会社）には、適応的オートフォーカシングの研究遂行にあたりプログラミングなどについて多くのご助言を賜りました。ここに、厚く御礼申し上げます。

和歌山大学大学院システム工学研究科 博士前期課程卒業生 山岸勇哉 氏（現 キヤノン株式会社）には在学時、ゴーストイメージングおよびその実装について多くのご助言を賜り、強度輸送計算ゴーストイメージングの研究遂行に関し多大なご助力を賜りました。ここに、厚く御礼申し上げます。

和歌山大学大学院システム工学研究科 博士前期課程卒業生 仁坂健一 氏（現 株式会社 SCREEN ホールディングス）には在学時、定量位相イメージングに限らず最新の研究動向について議論を交わし、さまざまなご助言を賜りました。特に、微分位相コントラストを実装する際に有益なご助言を賜りました。ここに、厚く御礼申し上げます。

研究遂行、研究発表、在外研究に対して助成していただきました、独立行政法人日本学術振興会、一般社団法人日本光学会、大学共同利用機関法人自然科学研究機構、和歌山大学システム工学部、和歌山大学システム工学部同窓会、公益財団法人 NEC C&C 財団、公益財団法人立石科学技術振興財団に厚く御礼申し上げます。

研究室に配属されてからの 6 年間、お世話になりました和歌山大学情報フォトンクス研究室の皆様には深く感謝いたします。

本研究は多くの方々のご支援のもとに遂行されました。そのご支援の一つでも欠けていれば、こうして論文を完成させることはかなわなかったと思います。ご支援をいただいた皆様、本当にありがとうございました。

終わりに、本当に長い間、私の研究生活を支援して下さった家族に、心より感謝の意を表します。

参考文献

- 1) F. Zernike, “Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent object,” *Physica* **9**, 974–980 (1942).
- 2) F. Zernike, “How I discovered phase contrast,” *Science* **121**, 345–349 (1955).
- 3) R. D. Allen, G. B. David, and G. Nomarski, “The Zeiss-Nomarski differential interference equipment for transmitted-light microscopy,” *Zeitschrift für Wissenschaftliche Mikroskopie und Mikroskopische Technik* **69**, 193–221 (1969).
- 4) C. Preza, D. L. Snyder, and J.-A. Conchello, “Theoretical development and experimental evaluation of imaging models for differential-interference-contrast microscopy,” *J. Opt. Soc. Am. A* **16**, 2185–2199 (1999).
- 5) D. Gabor, “A new microscopic principle,” *Nature* **161**, 777–778 (1948).
- 6) E. N. Leith and J. Upatnieks, “Reconstructed wavefronts and communication theory,” *J. Opt. Soc. Am.* **52**, 1123–1130 (1962).
- 7) M. Takeda, H. Ina, and S. Kobayashi, “Fourier-transform method of fringe-pattern analysis for computer-based topography and interferometry,” *J. Opt. Soc. Am.* **72**, 156–160 (1982).
- 8) Y. Awatsuji, M. Sasada, and T. Kubota, “Parallel quasi-phase-shifting digital holography,” *Appl. Phys. Lett.* **85**, 1069–1071 (2004).
- 9) T. Nomura and M. Imbe, “Single-exposure phase-shifting digital holography using a random-phase reference wave,” *Opt. Lett.* **35**, 2281–2283 (2010).
- 10) M. Imbe and T. Nomura, “Single-exposure phase-shifting digital holography using a random-complex-amplitude encoded reference wave,” *Appl. Opt.* **52**, A161–A166 (2013).
- 11) I. Yamaguchi and T. Zhang, “Phase-shifting digital holography,” *Opt. Lett.* **22**, 1268–1270 (1997).
- 12) M. R. Teague, “Deterministic phase retrieval: a Green’s function solution,” *J. Opt. Soc. Am.* **73**, 1434–1441 (1983).
- 13) A. Barty, K. A. Nugent, and A. Roberts, “Quantitative optical phase microscopy,” *Opt. Lett.* **23**, 1–3 (1998).
- 14) E. D. Barone-Nugent, A. Barty, and K. A. Nugent, “Quantitative phase-amplitude

- microscopy I: optical microscopy,” *J. Microsc.* **206**, 194–203 (2002).
- 15) D. Paganin, A. Barty, P. J. McMahon, and K. A. Nugent, “Quantitative phase-amplitude microscopy. III. The effects of noise,” *J. Microsc.* **214**, 51–61 (2003).
 - 16) S. S. Kou, L. Waller, G. Barbastathis, and C. J. R. Sheppard, “Transport-of-intensity approach to differential interference contrast (TI-DIC) microscopy for quantitative phase imaging,” *Opt. Lett.* **35**, 447–449 (2010).
 - 17) L. Waller, S. S. Kou, C. J. R. Sheppard, and G. Barbastathis, “Phase from chromatic aberrations,” *Opt. Express* **18**, 22817–22825 (2010).
 - 18) L. Waller, Y. Luo, S. Y. Yang, and G. Barbastathis, “Transport of intensity phase imaging in a volume holographic microscope,” *Opt. Lett.* **35**, 2961–2963 (2010).
 - 19) C. Zuo, Q. Chen, W. Qu, and A. Asundi, “Noninterferometric single-shot quantitative phase microscopy,” *Opt. Lett.* **38**, 3538–3541 (2013).
 - 20) Z. Yang and Q. Zhan, “Single-shot smartphone-based quantitative phase imaging using a distorted grating,” *PLoS ONE* **11**, e0159596 (2016).
 - 21) B. C. Platt and R. Shack, “History and principles of Shack-Hartmann wavefront sensing,” *J. Refractive Surgery* **17**, S573–S577 (2001).
 - 22) Y. Saita, H. Shinto, and T. Nomura, “Holographic Shack-Hartmann wavefront sensor based on the correlation peak displacement detection method for wavefront sensing with large dynamic range,” *Optica* **2**, 411–415 (2015).
 - 23) H. Shinto, Y. Saita, and T. Nomura, “Shack-Hartmann wavefront sensor with large dynamic range by adaptive spot search method,” *Appl. Opt.* **55**, 5413–5418 (2016).
 - 24) R. W. Gerchberg and W. O. Saxton, “A practical algorithm for the determination of phase from image and diffraction plane pictures,” *Optik* **35**, 237–246 (1972).
 - 25) J. R. Fienup, “Phase retrieval algorithms: a comparison,” *Appl. Opt.* **21**, 2758–2768 (1982).
 - 26) P. Almero, G. Pedrini, and W. Osten, “Complete wavefront reconstruction using sequential intensity measurements of a volume speckle field,” *Appl. Opt.* **45**, 8596–8605 (2006).
 - 27) J. Hu, Y. Shen, and X. Xie, “Quantitative phase and amplitude imaging with an efficient support constraint,” *Opt. Express* **27**, 17993–18004 (2019).
 - 28) J. R. Fienup and C. C. Wackerman, “Phase-retrieval stagnation problems and solu-

- tions,” *J. Opt. Soc. Am. A* **3**, 1897–1907 (1986).
- 29) S. B. Mehta and C. J. R. Sheppard, “Quantitative phase-gradient imaging at high resolution with asymmetric illumination-based differential phase contrast,” *Opt. Lett.* **34**, 1924–1926 (2009).
 - 30) L. Tian and L. Waller, “Quantitative differential phase contrast imaging in an LED array microscope,” *Opt. Express* **23**, 11394–11403 (2015).
 - 31) H. Lu, J. Chung, X. Ou, and C. Yang, “Quantitative phase imaging and complex field reconstruction by pupil modulation differential phase contrast,” *Opt. Express* **24**, 25345–25361 (2016).
 - 32) N. Streibl, “Three-dimensional imaging by a microscope,” *J. Opt. Soc. Am. A* **2**, 121–127 (1985).
 - 33) 渋谷真人, 大木裕史, “2.8 EPSF” 回折と結像の光学 (朝倉書店, 2005), pp. 68–73.
 - 34) Z. F. Phillips, M. Chen, and L. Waller, “Single-shot quantitative phase microscopy with color-multiplexed differential phase contrast (cDPC),” *PLoS One* **12**, e0171228 (2017).
 - 35) W. Lee, D. Jung, S. Ryu, and C. Joo, “Single-exposure quantitative phase imaging in color-coded LED microscopy,” *Opt. Express* **25**, 8398–8411 (2017).
 - 36) R. Horisaki, R. Egami, and J. Tanida, “Experimental demonstration of single-shot phase imaging with a coded aperture,” *Opt. Express* **23**, 28691–28697 (2015).
 - 37) R. Horisaki, R. Egami, and J. Tanida, “Single-shot phase imaging with randomized light (SPIRaL),” *Opt. Express* **24**, 3765–3773 (2016).
 - 38) A. Sinha, J. Lee, S. Li, and G. Barbastathis, “Lensless computational imaging through deep learning,” *Optica* **4**, 1117–1125 (2017).
 - 39) Y. Rivenson, Y. Zhang, H. Gnaedn, D. Teng, and A. Ozcan, “Phase recovery and holographic image reconstruction using deep learning in neural networks,” *Light: Science & Applications* **7**, 171415 (2018).
 - 40) G. Zhang, T. Guan, Z. Shen, X. Wang, T. Hu, D. Wang, Y. He, and N. Xie, “Fast phase retrieval in off-axis digital holographic microscopy through deep learning,” *Opt. Express* **26**, 19388–19405 (2018).
 - 41) S. Li and G. Barbastathis, “Spectral pre-modulation of training examples enhances the spatial resolution of the phase extraction neural network (PhENN),” *Opt. Express*

- 26**, 29340–29352 (2018).
- 42) A. Goy, K. Arthur, S. Li, and G. Barbastathis, “Low photon count phase retrieval using deep learning,” *Phys. Rev. Lett.* **121**, 243902 (2018).
 - 43) Y. Xue, S. Cheng, Y. Li, and L. Tian, “Reliable deep-learning-based phase imaging with uncertainty quantification,” *Optica* **6**, 618–629 (2019).
 - 44) G. Barbastathis, A. Ozcan, and G. Situ, “On the use of deep learning for computational imaging,” *Optica* **6**, 921–943 (2019).
 - 45) Y. Rivenson, Z. Göröcs, H. Günaydin, Y. Zhang, H. Wang, and A. Ozcan, “Deep learning microscopy,” *Optica* **4**, 1437–1443 (2017).
 - 46) S. W. Hell and J. Wichmann, “Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy,” *Opt. Lett.* **19**, 780–782 (1994).
 - 47) T. A. Klar and S. W. Hell, “Subdiffraction resolution in far-field fluorescence microscopy,” *Opt. Lett.* **24**, 954–956 (1999).
 - 48) E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, and H. F. Hess, “Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution,” *Science* **313**, 1642–1645 (2006).
 - 49) S. T. Hess, T. P. K. Girirajan, and M. D. Mason, “Ultra-high resolution imaging by fluorescence photoactivation localization microscopy,” *Biophys. J.* **91**, 4258–4272 (2006).
 - 50) M. G. L. Gustafsson, “Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy,” *J. Microsc.* **198**, 82–87 (2000).
 - 51) M. J. Rust, M. Bates, and X. Zhuang, “Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM),” *Nature Methods* **3**, 793–795 (2006).
 - 52) M. Bates, B. Huang, G. T. Dempsey, and X. Zhuang, “Multicolor super-resolution imaging with photo-switchable fluorescent probes,” *Science* **317**, 1749–1753 (2007).
 - 53) B. Huang, W. Wang, M. Bates, and X. Zhuang, “Three-dimensional super-resolution imaging by stochastic optical reconstruction microscopy,” *Science* **319**, 810–813 (2008).
 - 54) F. Chen, P. W. Tillberg, and E. S. Boyden, “Expansion microscopy,” *Science* **347**,

- 543–548 (2015).
- 55) 川田善正, “7.10 非線形光学顕微鏡,” *はじめての光学* (講談社, 2014), pp. 162–175.
 - 56) R. A. Hoebe, C. H. Van Oven, T. W. J. Gadella Jr., P. B. Dhonukshe, C. J. F. Van Noorden, and E. M. M. Manders, “Controlled light-exposure microscopy reduces photobleaching and phototoxicity in fluorescence live-cell imaging,” *Nature Biotechnol.* **25**, 249–253 (2007).
 - 57) S. Wäldchen, J. Lehmann, T. Klein, S. van de Linde, and M. Sauer, “Light-induced cell damage in live-cell super-resolution microscopy,” *Sci. Rep.* **5**, 15348 (2015).
 - 58) 清田泰次郎, “iPS 細胞製造のための画像品質評価技術,” *光学* **46**, 293–296 (2017).
 - 59) P. Langehanenberg, B. Kemper, D. Dirksen, and G. Bally, “Autofocusing in digital holographic phase contrast microscopy on pure phase objects for live cell imaging,” *Appl. Opt.* **47**, D176–D182 (2008).
 - 60) P. Memmolo, C. Distanto, M. Paturzo, A. Finizio, P. Ferraro, and B. Javidi, “Automatic focusing in digital holography and its application to stretched holograms,” *Opt. Lett.* **36**, 1945–1947 (2011).
 - 61) H. A. İlhan, M. Doğar, M. Özcan, “Digital holographic microscopy and focusing methods based on image sharpness,” *J. Microsc.* **255**, 138–149 (2014).
 - 62) S. Oh, C.-Y. Hwang, I. K. Jeong, S.-K. Lee, and J.-H. Park, “Fast focus estimation using frequency analysis in digital holography,” *Opt. Express* **22**, 28926–28933 (2014).
 - 63) J. Zheng, P. Gao, and X. Shao, “Opposite-view digital holographic microscopy with autofocusing capability,” *Sci. Rep.* **7**, 4255 (2017).
 - 64) K. Oe and T. Nomura, “Twin-image reduction method using a diffuser for phase imaging in-line digital holography,” *Appl. Opt.* **57**, 5652–5656 (2018).
 - 65) 早崎芳夫, “光学系構築 (基礎編) 私流の光学系アライメント,” *応用物理* **87**, 288–292 (2018).
 - 66) Z. Jingshan, R. A. Claus, J. Dauwels, L. Tian, and L. Waller, “Transport of intensity phase imaging by intensity spectrum fitting of exponentially spaced defocus planes,” *Opt. Express* **22**, 10661–10674 (2014).
 - 67) A. Groso, R. Abela, and M. Stampanoni, “Implementation of a fast method for high resolution phase contrast tomography,” *Opt. Express* **14**, 8103–8110 (2006).
 - 68) T. Nguyen, G. Nehmetallah, D. Tran, A. Darudi, and P. Soltani, “Fully automated,

- high speed, tomographic phase object reconstruction using the transport of intensity equation in transmission and reflection configurations,” *Appl. Opt.* **54**, 10443–10453 (2015).
- 69) T. Nguyen and G. Nehmetallah, “Non-interferometric tomography of phase objects using spatial light modulators,” *J. Imaging* **2**, 30 (2016).
- 70) A. Ikezaki and T. Nomura “Phase-unwrapping-free and iterative reconstruction methods for propagated refractive index tomography,” *Jpn. J. Appl. Phys.* **57**, 09SB03 (2018).
- 71) N. Yoneda, Y. Saita, K. Komuro, T. Nobukawa, and T. Nomura, “Transport-of-intensity holographic data storage based on a computer-generated hologram,” *Appl. Opt.* **57**, 8836–8840 (2018).
- 72) X. Tian, X. Meng, W. Yu, X. Song, L. Xue, C. Liu, and S. Wang, “In-focus quantitative intensity and phase imaging with the numerical focusing transport of intensity equation method,” *J. Opt.* **18**, 105302 (2016).
- 73) X. Meng, X. Tian, Y. Kong, A. Sun, W. Yu, W. Qian, X. Song, H. Cui, L. Xue, C. Liu, and S. Wang, “Rapid in-focus corrections on quantitative amplitude and phase imaging using transport of intensity equation method,” *J. Microsc.* **266**, 253–262 (2017).
- 74) 早崎芳夫 編, “4.3.4 再生位置の探索,” デジタルホログラフィ (朝倉書店, 2016), pp. 66–67.
- 75) K. Komuro and T. Nomura, “Object plane detection and phase-amplitude imaging based on transport of intensity equation,” *Opt. Rev.* **24**, 626–633 (2017).
- 76) K. Komuro, K. Oe, Y. Tamada, and T. Nomura, “Complex amplitude mapping based on adaptive autofocusing algorithm,” *Opt. Rev.* **26**, 342–348 (2019).
- 77) C. P. McElhinney, B. M. Hennelly, and T. J. Naughton, “Extended focused imaging for digital holograms of macroscopic three-dimensional objects,” *Appl. Opt.* **47**, D71–D79 (2008).
- 78) C. P. McElhinney, J. B. McDonald, A. Castro, Y. Frauel, B. Javidi, and T. J. Naughton, “Depth-independent segmentation of macroscopic three-dimensional objects encoded in single perspectives of digital holograms,” *Opt. Lett.* **32**, 1229–1231 (2007).

- 79) D. G. Schaefer and J.-P. Zryd, “Efficient gene targeting in the moss *Physcomitrella patens*,” *Plant J.* **11**, 1195–1206 (1997).
- 80) S. A. Rensing, D. Lang, A. D. Zimmer, A. Terry, A. Salamov, H. Shapiro, T. Nishiyama, P. Perroud, E. A. Lindquist, Y. Kamisugi, T. Tanahashi, K. Sakakibara, T. Fujita, K. Oishi, T. Shin-I, Y. Kuroki, A. Toyoda, Y. Suzuki, S. Hashimoto, K. Yamaguchi, S. Sugano, Y. Kohara, A. Fujiyama, A. Anterola, S. Aoki, N. Ashton, W. B. Barbazuk, E. Barker, J. L. Bennetzen, R. Blankenship, S. H. Cho, S. K. Dutcher, M. Estelle, J. A. Fawcett, H. Gundlach, K. Hanada, A. Heyl, K. A. Hicks, J. Hughes, M. Lohr, K. Mayer, A. Melkozernov, T. Murata, D. R. Nelson, B. Pils, M. Prigge, B. Reiss, T. Renner, S. Rombauts, P. J. Rushton, A. Sanderfoot, G. Schween, S.-H. Shiu, K. Stueber, F. L. Theodoulou, H. Tu, Y. Van de Peer, P. J. Verrier, E. Waters, A. Wood, L. Yang, D. Cove, A. C. Cuming, M. Hasebe, S. Lucas, B. D. Mishler, R. Reski, I. V. Grigoriev, R. S. Quatrano, and J. L. Boore, “The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants,” *Science* **319**, 64–69 (2008).
- 81) R. Kofuji and M. Hasebe, “Eight types of stem cells in the life cycle of the moss *Physcomitrella patens*,” *Curr. Opin. Plant Biol.* **17**, 13–21 (2014).
- 82) Y. Tamada, T. Murata, M. Hattori, S. Oya, Y. Hayano, Y. Kamei, and M. Hasebe, “Optical property analyses of plant cells for adaptive optics microscopy,” *Int. J. Optomechatronics* **8**, 89–99 (2014).
- 83) C. Li, Y. Sako, A. Imai, T. Nishiyama, K. Thompson, M. Kubo, Y. Hiwatashi, Y. Kabeya, D. Karlson, S.-H. Wu, M. Ishikawa, T. Murata, P. N. Benfey, Y. Sato, Y. Tamada, and M. Hasebe, “A Lin28 homologue reprograms differentiated cells to stem cells in the moss *Physcomitrella patens*,” *Nature Commun.* **8**, 14242 (2017).
- 84) G. Popescu, Y. Park, N. Lue, C. Best-Popescu, L. Deflores, R. R. Dasari, M. S. Feld, and K. Badizadegan, “Optical imaging of cell mass and growth dynamics,” *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **295**, C538–C544 (2008).
- 85) 森木一紀, “12.3 光検出の雑音,” *光工学入門* (数理工学社, 2015), pp. 140–141.
- 86) J. W. Goodman, “6.1.2 Approximate form for the probability density function of intergrated intensity,” *Statistical Optics* (John Wiley & Sons, 2000), pp. 244–250.
- 87) J. H. Shapiro, “Computational ghost imaging,” *Phys. Rev. A* **78**, 061802(R) (2008).

- 88) Y. Bromberg, O. Katz, and Y. Silberberg, “Ghost imaging with a single detector,” *Phys. Rev. A* **79**, 053840 (2009).
- 89) A. V. Belinsky and D. N. Klyshko, “Two-photon optics: diffraction, holography, and transformation of two-dimensional signals,” *Sov. Phys. JETP* **78**, 259–262 (1994).
- 90) T. B. Pittman, Y. H. Shih, D. V. Strekalov, and A. V. Sergienko, “Optical imaging by means of two-photon quantum entanglement,” *Phys. Rev. A* **52**, R3429–R3432 (1995).
- 91) A. Gatti, E. Brambilla, M. Bache, and L. A. Lugiato, “Ghost imaging with thermal light: comparing entanglement and classical correlation,” *Phys. Rev. Lett.* **93**, 093602 (2004).
- 92) F. Ferri, D. Magatti, A. Gatti, M. Bache, E. Brambilla, and L. A. Lugiato, “High-resolution ghost image and ghost diffraction experiments with thermal light,” *Phys. Rev. Lett.* **94**, 183602 (2005).
- 93) B. Sun, M. P. Edgar, R. Bowman, L. E. Vittert, S. Welsh, A. Bowman, and M. J. Padgett, “3D computational imaging with single-pixel detectors,” *Science* **340**, 844–847 (2013).
- 94) S. S. Welsh, M. P. Edgar, P. Jonathan, B. Sun, and M. J. Padgett, “Multi-wavelength compressive computational ghost imaging,” *Proc. SPIE* **8618**, 86180I (2013).
- 95) K. Shibuya, K. Nakae, Y. Mizutani, and T. Iwata, “Comparison of reconstructed images between ghost imaging and Hadamard transform imaging,” *Opt. Rev.* **22**, 897–902 (2015).
- 96) P. Clemente, V. Durán, E. Tajahuerce, V. Torres-Company, and J. Lancis, “Single-pixel digital ghost holography,” *Phys. Rev. A* **86**, 041803(R) (2012).
- 97) L. Martínez-León, P. Clemente, Y. Mori, V. Climent, J. Lancis, and E. Tajahuerce, “Single-pixel digital holography with phase-encoded illumination,” *Opt. Express* **25**, 4975–4984 (2017).
- 98) K. Ota and Y. Hayasaki, “Complex-amplitude single-pixel imaging,” *Opt. Lett.* **43**, 3682–3685 (2018).
- 99) K. Komuro, Y. Yamazaki, and T. Nomura, “Transport-of-intensity computational ghost imaging,” *Appl. Opt.* **57**, 4451–4456 (2018).
- 100) 井手武, 塩谷俊介, 久松良輔, 大林知央, 神田寛行, 伊東一良, 野村孝徳, 最田裕介,

- 戸田郁子, 坪田一男, 不二門尚, “マイクロドットレンズの視力とコントラスト感度に対する影響,” *あたらしい眼科* **33**, 1376–1380 (2016).
- 101) T. E. Gureyev, A. Roberts, and K. A. Nugent, “Phase retrieval with the transport-of-intensity equation: matrix solution with use of Zernike polynomials,” *J. Opt. Soc. Am. A* **12**, 1932–1941 (1995).
- 102) T. E. Gureyev and K. A. Nugent, “Phase retrieval with the transport-of-intensity equation. II. Orthogonal series solution for nonuniform illumination,” *J. Opt. Soc. Am. A* **13**, 1670–1682 (1996).
- 103) K. A. Nugent, T. E. Gureyev, D. F. Cookson, D. Paganin, and Z. Barnea, “Quantitative phase imaging using hard X rays,” *Phys. Rev. Lett.* **77**, 2961–2964 (1996).
- 104) T. E. Gureyev and K. A. Nugent, “Rapid quantitative phase imaging using the transport of intensity equation,” *Opt. Commun.* **133**, 339–346 (1997).
- 105) L. J. Allen and M. P. Oxley, “Phase retrieval from series of images obtained by defocus variation,” *Opt. Commun.* **199**, 65–75 (2001).
- 106) C. Zuo, Q. Chen, and A. Asundi, “Boundary-artifact-free phase retrieval with the transport of intensity equation: fast solution with use of discrete cosine transform,” *Opt. Express* **22**, 9220–9244 (2014).
- 107) C. Zuo, Q. Chen, H. Li, W. Qu, and A. Asundi, “Boundary-artifact-free phase retrieval with the transport of intensity equation II: applications to microlens characterization,” *Opt. Express* **22**, 18310–18324 (2014).
- 108) N. Chen, C. Zuo, E. Y. Lam, and B. Lee, “3D imaging based on depth measurement technologies,” *Sensors* **18**, 3711 (2018).
- 109) S. C. Woods and A. H. Greenaway, “Wave-front sensing by use of a Green’s function solution to the intensity transport equation,” *J. Opt. Soc. Am. A* **20**, 508–512 (2003).
- 110) V. V. Volkov, Y. Zhu, and M. De Graef, “A new symmetrized solution for phase retrieval using the transport of intensity equation,” *Micron* **33**, 411–416 (2002).
- 111) N. Streibl, “Phase imaging by the transport equation of intensity,” *Opt. Commun.* **49**, 6–10 (1984).
- 112) D. Paganin and K. A. Nugent, “Noninterferometric phase imaging with partially coherent light,” *Phys. Rev. Lett.* **80**, 2586–2589 (1998).
- 113) C. Zuo, J. Sun, J. Li, J. Zhang, A. Asundi, and Q. Chen, “High-resolution transport-

- of-intensity quantitative phase microscopy with annular illumination,” *Sci. Rep.* **7**, 7654 (2017).
- 114) 白井智宏, “強度分布に隠された位相情報,” *光学* **38**, 496–502 (2009).
- 115) M. Basunia, P. P. Banerjee, U. Abeywickrema, T.-C. Poon, and H. Zhang, “Recursive method for phase retrieval using transport of intensity and its applications,” *Appl. Opt.* **55**, 9546–9554 (2016).
- 116) A. Shanker, L. Tian, M. Sczyrba, B. Connolly, A. Neureuther, and L. Waller, “Transport of intensity phase imaging in the presence of curl effects induced by strongly absorbing photomasks,” *Appl. Opt.* **53**, J1–J6 (2014).
- 117) 草川徹 訳, “3.1.2 幾何光学における光線とその強度,” *光学の原理 第7版 I* (東海大学出版部, 2005), pp. 171–177.
- 118) K. Ichikawa, A. W. Lohmann, and M. Takeda, “Phase retrieval based on the irradiance transport equation and the Fourier transform method: experiments,” *Appl. Opt.* **27**, 3433–3436 (1988).
- 119) J. W. Goodman, “4.2.3 The Fresnel approximation and the angular spectrum,” *Introduction to Fourier Optics Second Edition* (McGraw-Hill, 1996), pp. 71–72.
- 120) S. Bajt, A. Barty, K. A. Nugent, M. McCartney, M. Wall, and D. Paganin, “Quantitative phase-sensitive imaging in a transmission electron microscope,” *Ultramicroscopy* **83**, 67–73 (2000).
- 121) M. Beleggia, M. A. Schofield, V. V. Volkov, and Y. Zhu, “On the transport of intensity technique for phase retrieval,” *Ultramicroscopy* **102**, 37–49 (2004).
- 122) K. Ishizuka and B. Allman, “Phase measurement of atomic resolution image using transport of intensity equation,” *J. Electron Microsc.* **54**, 191–197 (2005).
- 123) M. Krenkel, M. Bartels, and T. Salditt, “Transport of intensity phase reconstruction to solve the twin image problem in holographic x-ray imaging,” *Opt. Express* **21**, 2220–2235 (2013).
- 124) R. Shomalia, A. Darudia, and S. Nasiri, “Application of irradiance transport equation in aspheric surface testing,” *Optik* **123**, 1282–1286 (2012).
- 125) P. Soltani, A. Darudi, G. Nehmetallah, A. R. Moradi, and J. Amiri, “Accurate testing of aspheric surfaces using the transport of intensity equation by properly selecting the defocusing distance,” *Appl. Opt.* **55**, 10067–10072 (2016).

- 126) G. H. Golub, P. C. Hansen, and D. P. O’Leary, “Tikhonov regularization and total least squares,” *SIAM J. Matrix Anal. Appl.* **21**, 185–194 (1999).
- 127) L. Tian, J. C. Petrucci, and G. Barbastathis, “Nonlinear diffusion regularization for transport of intensity phase imaging,” *Opt. Lett.* **37**, 4131–4133 (2012).
- 128) H. Zhang, W.-J. Zhou, Y. Liu, D. Leber, P. Banerjee, M. Basunia, and T.-C. Poon, “Evaluation of finite difference and FFT-based solutions of the transport of intensity equation,” *Appl. Opt.* **57**, A222–A228 (2018).
- 129) L. Waller, L. Tian, and G. Barbastathis, “Transport of intensity phase-amplitude imaging with higher order intensity derivatives,” *Opt. Express* **18**, 12552–12561 (2010).
- 130) K. Komuro and T. Nomura, “Quantitative phase imaging using transport of intensity equation with multiple bandpass filters,” *Appl. Opt.* **55**, 5180–5186 (2016).
- 131) C. Zuo, Q. Chen, Y. Yu, and A. Asundi, “Transport-of-intensity phase imaging using Savitzky-Golay differentiation filter - theory and applications,” *Opt. Express* **21**, 5346–5362 (2013).
- 132) J. Martinez-Carranza, K. Falaggis, and T. Kozacki, “Multi-filter transport of intensity equation solver with equalized noise sensitivity,” *Opt. Express* **23**, 23092–23107 (2015).
- 133) D. Paganin, S. C. Mayo, T. E. Gureyev, P. R. Miller, and S. W. Wilkins, “Simultaneous phase and amplitude extraction from a single defocused image of a homogeneous object,” *J. Microsc.* **206**, 33–40 (2002).
- 134) 早崎芳夫 編, “4.1.2 角スペクトル伝搬計算,” *デジタルホログラフィ* (朝倉書店, 2016), pp. 50–51.
- 135) T. Kreis, “3.4.4 Comparison of reconstruction methods,” *Handbook of Holographic Interferometry* (Wiley-VCH, 2005), pp. 134–139.
- 136) K. Matsushima and T. Shimobaba, “Band-limited angular spectrum method for numerical simulation of free-space propagation in far and near fields,” *Opt. Express* **17**, 19662–19673 (2009).
- 137) Y. Yamazaki and T. Nomura, “Computational ghost imaging with designed low spatial frequency masks,” *Appl. Opt.* **57**, 9375–9380 (2018).
- 138) D. S. Davis, “Multiplexed imaging by means of optically generated Kronecker prod-

- ucts: 1. The basic concept,” *Appl. Opt.* **34**, 1170–1176 (1995).
- 139) J. W. Goodman, “6.1.1 Mean and variance of the intergrated intensity,” *Statistical Optics* (John Wiley & Sons, 2000), pp. 239–244.
- 140) F. Ferri, D. Magatti, V. G. Sala, and A. Gatti, “Longitudinal coherence in thermal ghost imaging,” *Appl. Phys. Lett.* **92**, 261109 (2008).
- 141) 仁田功一, “計算ゴーストイメージング—散乱光照射と 1 画素検出による画像化法—,” *レーザー研究* **41**, 996–1000 (2013).
- 142) P. Muller, M. Schurmann, and J. Guck, “The theory of diffraction tomography,” arXiv preprint arXiv:1507.00466 (2015).
- 143) Z. Wang, K. Tangella, A. Balla, and G. Popescu, “Tissue refractive index as marker of disease,” *J. Biomed. Opt.* **16**, 116017 (2015).
- 144) M. Takabayashi, H. Majeed, A. Kajdacsy-Balla, and G. Popescu, “Disorder strength measured by quantitative phase imaging as intrinsic cancer marker in fixed tissue biopsies,” *PLoS One* **13**, e0194320 (2018).
- 145) M. Takabayashi, H. Majeed, A. Kajdacsy-Balla, and G. Popescu, “Tissue spatial correlation as cancer marker,” *J. Biomed. Opt.* **24**, 016502 (2019).

研究業績

原著論文

[筆頭]

- 1) K. Komuro and T. Nomura, “Quantitative phase imaging using transport of intensity equation with multiple bandpass filters,” *Appl. Opt.* **55**, 5180–5186 (2016). [selected as Top Downloaded Articles on Image Processing from Applied Optics and Optics Letters (OSA)]
- 2) K. Komuro and T. Nomura, “Object plane detection and phase-amplitude imaging based on transport of intensity equation,” *Opt. Rev.* **24**, 626–633 (2017). [selected as 2018 年度光学奨励賞 (日本光学会)]
- 3) K. Komuro, Y. Yamazaki, and T. Nomura, “Transport-of-intensity computational ghost imaging,” *Appl. Opt.* **57**, 4451–4456 (2018).
- 4) K. Komuro, K. Oe, Y. Tamada, and T. Nomura, “Complex amplitude mapping based on adaptive autofocusing algorithm,” *Opt. Rev.* **26**, 342–348 (2019).

[共著]

- 1) N. Yoneda, Y. Saita, K. Komuro, T. Nobukawa, and T. Nomura, “Transport-of-intensity holographic data storage based on a computer-generated hologram,” *Appl. Opt.* **57**, 8836–8840 (2018).
- 2) S. Kakei, K. Komuro, and T. Nomura, “Transport-of-intensity phase imaging with polarization directed flat lenses,” *Appl. Opt.* **59**, 2011–2015 (2020).

学術講演（国際会議）

[筆頭]

- 1) K. Komuro and T. Nomura, “Quantitative phase retrieval using transport of intensity equation with multiple bandpass filters,” International Workshop on Hologra-

- phy and Related Technologies 2015, We5-P17 (2015).
- 2) K. Komuro and T. Nomura, “Application of autofocusing to numerical propagation-based transport of intensity phase imaging for dynamic phase objects,” International Symposium on Optical Memory 2016, Tu-J-20 (2016).
 - 3) K. Komuro and T. Nomura, “Object plane detection and phase imaging by transport of intensity equation with autofocus technique,” The Sixth Japan-Korea Workshop on Digital Holography and Information Photonics 2016, P20-03 (2016).
 - 4) K. Komuro and T. Nomura, “Optimization of polynomial order based on residuals of interpolation in higher-order transport of intensity phase imaging,” Information Photonics 2017, IP-19PM-2-5 (2017).
 - 5) K. Komuro and T. Nomura, “Phase object mapping based on a complex amplitude measurement by transport of intensity equation,” Digital Holography & 3-D Imaging 2017, W4A.4 (2017).
 - 6) K. Komuro, Y. Yamazaki, and T. Nomura, “Phase retrieval in computational ghost imaging by transport of intensity equation,” The 24th Congress of the International Commission for Optics, P3-24 (2017).
 - 7) K. Komuro and T. Nomura, “Effect of size of calculation area in phase object mapping algorithm based on local variance evaluation,” International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2017, Tu-J-02 (2017).
 - 8) K. Komuro, Y. Yamazaki, and T. Nomura, “Quantitative phase imaging based on transport of intensity equation in computational ghost imaging,” International OSA Network of Students Okinawa 2017, p. 58 (2017).
 - 9) K. Komuro, Y. Yamazaki, and T. Nomura, “Transport of intensity phase imaging for pure phase objects in computational ghost imaging,” SPIE/COS Photonics Asia 2018, 10816-16 (2018).
 - 10) K. Komuro, K. Oe, Y. Tamada, and T. Nomura, “Numerical autofocusing based on adaptive sharpness evaluation for complex amplitude imaging,” International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2018, We-L-04 (2018).

- 11) K. Komuro, A. Goy, T. Nomura, and G. Barbastathis, “Deep-learning-based phase retrieval for pure phase objects in computational ghost imaging,” 2018 Joint Symposia on Optics, 30pAJ5 (2018).
- 12) K. Komuro, A. Onishi, D. Kishiwaki, and T. Nomura, “Experimental verification of single-shot transport-of-intensity phase imaging with a glass plate,” Information Photonics 2019, IP-4-03 (2019).
- 13) K. Komuro, Y. Saita, Y. Tamada, and T. Nomura, “Numerical evaluation of transport-of-intensity phase imaging with oblique illumination for refractive index tomography,” Digital Holography & 3-D Imaging 2019, Th3A.37 (2019).
- 14) K. Komuro, T. Ito, and T. Nomura, “Single-pixel transport-of-intensity phase imaging,” International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2019, Tu-J-09 (2019).
- 15) K. Komuro, T. Nomura, and G. Barbastathis, “Phase retrieval for computational ghost imaging by deep learning,” 2019 Joint Symposia on Optics, 2pAJ4 (2019).

[共著]

- 1) N. Yoneda, Y. Saita, K. Komuro, T. Nobukawa, and T. Nomura, “Reconstruction of phase data page using transport of intensity equation for computer-generated-hologram-based holographic data storage,” International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2017, Tu-J-05 (2017).
- 2) N. Yoneda, Y. Saita, K. Komuro, T. Nobukawa, and T. Nomura, “Computer-generated-hologram-based holographic data storage using a transport of intensity equation,” Annual Joint Symposia on Optics 2018, 30pAJ7 (2018).
- 3) N. Yoneda, Y. Saita, K. Komuro, and T. Nomura, “Single shot higher order transport-of-intensity phase imaging using a computer-generated hologram,” The 8th Japan-Korea Workshop on Digital Holography and Information Photonics 2018, p. 60 (2018).
- 4) S. Kakei, K. Komuro, and T. Nomura, “Transport-of-intensity phase imaging us-

ing deep learning,” International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2019, We-K-02 (2019).

- 5) H. Goi, K. Komuro, and T. Nomura, “Deep-learning-generated binary hologram,” International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2019, We-K-03 (2019).

学術講演（国内会議）

[筆頭]

- 1) 小室幸士, 野村孝徳, “光学実験による干渉法と強度輸送方程式法の計測精度の比較,” 第 13 回関西学生研究論文講演会, pp. 5–6 (2015).
- 2) 小室幸士, 野村孝徳, “複数のバンドパスフィルタを用いた強度輸送方程式による位相計測,” 第 76 回応用物理学会秋季学術講演会, 15a-PA3-6 (2015).
- 3) 小室幸士, 仁坂健一, 野村孝徳, “微分位相コントラスト法の導入による計算ゴーストイメージングにおける定量位相イメージング,” 第 78 回応用物理学会秋季学術講演会, 5p-A413-8 (2017).
- 4) 小室幸士, 野村孝徳, “局所的な鮮鋭度評価による物体の深さ位置および複素振幅分布の同時取得,” Optics & Photonics Japan 2017, 1pB7 (2017).
- 5) 小室幸士 “強度輸送方程式を用いたオートフォーカス複素振幅イメージング,” Optics & Photonics Japan 2018, 2pES3 (2018). [招待講演（2018 年度光学奨励賞記念講演）]
- 6) 小室幸士, 野村孝徳, “強度輸送方程式を用いた定量位相計測,” 平成 30 年第 4 回ホログラフィック・ディスプレイ研究会, HODIC CIRCULAR 38(4) pp. 23–27 (2018). [招待講演]
- 7) 小室幸士, 野村孝徳, “微弱照明下における強度輸送定量位相イメージング,” 第 20 回情報フォトンクス研究グループ研究会（秋合宿）, Inv-s1 (2019). [招待講演]

[共著]

- 1) 仁坂健一, 小室幸士, 野村孝徳, “二分割された位相型回折格子を用いることによるシングルショット瞳変調微分位相コントラスト法,” レーザー学会学術講演会第 38 回年次大会, 24aIX6 (2018).
- 2) 筧駿介, 小室幸士, 野村孝徳, “強度輸送方程式を用いた位相計測の偏光ディレクトフラットレンズによる実現,” Optics & Photonics Japan 2018, 1pD5 (2018).
- 3) 大西葵, 岸脇大地, 小室幸士, 野村孝徳, “平行平面基板を用いた強度輸送方程式に基づくシングルショット位相計測,” 第 17 回関西学生研究論文講演会, pp. 13–14 (2019).
- 4) 米田成, 最田裕介, 小室幸士, 福井千明, 野村孝徳, “計算機ホログラムに基づくインラインデジタルゴーストホログラフィ,” 第 80 回応用物理学会秋季学術講演会, 20a-PA1-2 (2019).
- 5) 大西葵, 岸脇大地, 小室幸士, 野村孝徳, “平行平面基板を用いた強度輸送方程式に基づくシングルショット位相顕微鏡,” Optics & Photonics Japan 2019, 5pD2 (2019).

受賞

- 1) 小室幸士, コニカミノルタ光みらい学生奨励金, 日本光学会 (2017).
- 2) K. Komuro, The Student Paper Award ISOM'18 (International Symposium on Imaging, Sensing, and Optical Memory 2018), ISOM (2018).
- 3) 小室幸士, 2018 年度光学奨励賞, 日本光学会 (2018).
- 4) 小室幸士, 和歌山大学システム工学研究科長表彰, 和歌山大学 (2018).
- 5) 小室幸士, 和歌山大学学長表彰, 和歌山大学 (2019).

付録 A-1 強度輸送方程式の導出の詳細

以下に強度輸送方程式の導出を示す．均質媒質中における近軸の Helmholtz 方程式

$$\begin{aligned} \left(\nabla_{\perp}^2 + 2ik \frac{\partial}{\partial z} \right) u(x, y; z) &= 0 \\ \frac{\partial^2}{\partial x^2} u(x, y; z) + \frac{\partial^2}{\partial y^2} u(x, y; z) + 2ik \frac{\partial}{\partial z} u(x, y; z) &= 0 \end{aligned} \quad (\text{A.1})$$

から出発する．光波の複素振幅分布

$$u(x, y; z) = \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \quad (\text{A.2})$$

を式 (A.1) に代入する． x の微分に関する項を計算すると，

$$\begin{aligned} & \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{\partial}{\partial x} u(x, y; z) \right] \\ &= \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{1}{2\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \exp\{i\phi(x, y; z)\} + \sqrt{I(x, y; z)} i \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right] \\ &= \left[-\frac{1}{4I^{3/2}(x, y; z)} \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \right]^2 \exp\{i\phi(x, y; z)\} + \frac{1}{2\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial^2 I(x, y; z)}{\partial x^2} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \right. \\ & \quad \left. + \frac{1}{2\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} i \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right] \\ & \quad + \left[\frac{i}{2\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right. \\ & \quad \left. + \sqrt{I(x, y; z)} i \cdot i \exp\{i\phi(x, y; z)\} \left[\frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right]^2 + \sqrt{I(x, y; z)} i \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial x^2} \right] \\ &= \left[-\frac{1}{4I^{3/2}(x, y; z)} \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \right]^2 \exp\{i\phi(x, y; z)\} + \frac{1}{2\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial^2 I(x, y; z)}{\partial x^2} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \right. \\ & \quad \left. - \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \left[\frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right]^2 \right] \\ & \quad + i \left[\frac{1}{\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right. \\ & \quad \left. + \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial x^2} \right] \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

となる。 y の微分に関する項も同様である。 z の微分に関する項を計算すると、

$$\begin{aligned}
& 2ik \frac{\partial}{\partial z} u(x, y; z) \\
&= 2ik \left[\frac{1}{2\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \exp\{i\phi(x, y; z)\} + \sqrt{I(x, y; z)} i \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial z} \right] \\
&= i \frac{k}{\sqrt{I(x, y; z)}} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \exp\{i\phi(x, y; z)\} - 2k \sqrt{I(x, y; z)} \exp\{i\phi(x, y; z)\} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial z}
\end{aligned} \tag{A.4}$$

となる。式 (A.3), (A.4) を $\exp\{i\phi(x, y; z)\} / \sqrt{I(x, y; z)}$ で割り算すると (y の微分に関する項も x と同様に),

$$\begin{aligned}
& \frac{\partial^2}{\partial x^2} u(x, y; z) \cdot \frac{\sqrt{I(x, y; z)}}{\exp\{i\phi(x, y; z)\}} \\
&= \left[-\frac{1}{4I(x, y; z)} \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \right]^2 + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 I(x, y; z)}{\partial x^2} - I(x, y; z) \left[\frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} \right]^2 \right] \\
&\quad + i \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} + I(x, y; z) \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial x^2} \right],
\end{aligned} \tag{A.5}$$

$$\begin{aligned}
& \frac{\partial^2}{\partial y^2} u(x, y; z) \cdot \frac{\sqrt{I(x, y; z)}}{\exp\{i\phi(x, y; z)\}} \\
&= \left[-\frac{1}{4I(x, y; z)} \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial y} \right]^2 + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 I(x, y; z)}{\partial y^2} - I(x, y; z) \left[\frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial y} \right]^2 \right] \\
&\quad + i \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial y} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial y} + I(x, y; z) \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial y^2} \right],
\end{aligned} \tag{A.6}$$

$$\begin{aligned}
& 2ik \frac{\partial}{\partial z} u(x, y; z) \cdot \frac{\sqrt{I(x, y; z)}}{\exp\{i\phi(x, y; z)\}} \\
&= ik \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} - 2kI(x, y; z) \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial z}
\end{aligned} \tag{A.7}$$

となる。その後、式 (A.5), (A.6), (A.7) を用いて式 (A.1) をあらわし、その虚部を取ると、

$$\begin{aligned}
& \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} + I(x, y; z) \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial x^2} \right] \\
&+ \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial y} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial y} + I(x, y; z) \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial y^2} \right] + k \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} = 0, \\
& I(x, y; z) \left[\frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi(x, y; z)}{\partial y^2} \right] + \left[\frac{\partial I(x, y; z)}{\partial x} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial x} + \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial y} \frac{\partial \phi(x, y; z)}{\partial y} \right] \\
&= -k \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z}, \tag{A.8}
\end{aligned}$$

となる. 式 (A.8) を ∇_{\perp} を用いてあらわすと,

$$\begin{aligned} I(x, y; z) \nabla_{\perp}^2 \phi(x, y; z) + \nabla_{\perp} I(x, y; z) \cdot \nabla_{\perp} \phi(x, y; z) &= -k \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z}, \\ \nabla_{\perp} \cdot [I(x, y; z) \nabla_{\perp} \phi(x, y; z)] &= -\frac{2\pi}{\lambda} \frac{\partial I(x, y; z)}{\partial z} \end{aligned} \quad (\text{A.9})$$

強度輸送方程式, 式 (A.9) を得る.

付録 A-2 相関関数の導出の詳細

以下に相関関数の導出を示す．相関関数はスペックル場の二次統計に基づく解析により導出される．異なる3次元空間の座標において観測されるスペックル場 $S(x, y; z)$, $S(x', y'; z')$ の相互相関関数は

$$\begin{aligned} \langle S(x, y; z)S(x', y'; z') \rangle &= \langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle + |\langle s^*(x, y; z)s(x', y'; z') \rangle|^2 \\ &= \langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle [1 + |h(x, y, x', y'; z, z')|^2] \end{aligned} \quad (\text{A.10})$$

とあらわされる^{140,141)}．ここで， $s(x, y)$ はスペックル場の複素振幅分布， $h(x, y, x', y'; z, z')$ は

$$h(x, y, x', y'; z, z') = \frac{\langle s^*(x, y; z)s(x', y'; z') \rangle}{\sqrt{\langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle}} \quad (\text{A.11})$$

である．さらにフレネル領域では， $h(x, y, x', y'; z, z')$ が2点の座標間の距離にのみ依存するため，

$$h(x, y, x', y'; z, z') = h(x - x', y - y'; z - z') \quad (\text{A.12})$$

と書ける¹⁴⁰⁾．

図 1.2(a) に示すゴーストイメージングの光学系において，物体強度分布を $I(x, y; z)$ ，物体に照明されるスペックルパターンを $S_r(x, y; z)$ ，エリアセンサにより取得される強度分布を $S_r(x', y'; z')$ とおく．ここで， $r = 1, 2, \dots, m$ は測定回数である．スペックルパターン $S_r(x, y; z)$ により照明された物体 $I(x, y; z)$ を透過，もしくは反射した後の強度総和は，

$$b_r = \iint S_r(x, y; z)I(x, y; z) dx dy \quad (\text{A.13})$$

とあらわされる．異なるスペックルパターンで m 回照明した際の b_r の平均は，

$$\langle b \rangle = \iint \langle S(x, y; z) \rangle I(x, y; z) dx dy \quad (\text{A.14})$$

となる．ここで， $\langle \dots \rangle$ は m 回の集合平均をあらわす． b_r と $S_r(x', y'; z')$ の積を考えると，

$$\langle bS(x', y'; z') \rangle = \iint \langle S(x, y; z)S(x', y'; z') \rangle I(x, y; z) dx dy \quad (\text{A.15})$$

となる。式 (A.15) に式 (A.10) を代入すると、

$$\begin{aligned}
\langle bS(x', y'; z') \rangle &= \iint \langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle [1 + |h(x, y, x', y'; z, z')|^2] I(x, y; z) dx dy \\
&= \langle b \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle \\
&\quad + \langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle \iint I(x, y; z) |h(x, y, x', y'; z, z')|^2 dx dy
\end{aligned} \tag{A.16}$$

となる。式 (A.16) の 1 行目から 2 行目の変形において、スペックルパターンは十分にランダムかつ計測回数 m が十分多いとして

$$\langle S(x, y; z) \rangle = \langle S(x', y'; z') \rangle \approx \text{const.} \tag{A.17}$$

を用いた (Hadamard マスクを $S_r(x, y; z)$ および $S_r(x', y'; z')$ とした場合、集合平均は完全に定数となる)。式 (A.12) の関係を用いて、式 (A.16) 2 行目の積分をあらわすと、

$$\iint I(x, y; z) |h(x, y, x', y'; z, z')|^2 dx dy = \iint I(x, y; z) |h(x - x', y - y'; z - z')|^2 dx dy \tag{A.18}$$

となる。スペックルパターンが十分細かい場合、 $h(x - x', y - y'; z - z')$ は原点付近に鋭いピークをもつため、デルタ関数と近似できる。すなわち、式 (A.18) は、

$$\begin{aligned}
\iint I(x, y; z) |h(x - x', y - y'; z - z')|^2 dx dy &\approx \iint I(x, y; z) |\delta(x - x', y - y'; z - z')|^2 dx dy \\
&= I(x, y; z) \otimes \delta(x', y'; z') \\
&= I(x, y; z)
\end{aligned} \tag{A.19}$$

とあらわされる。ここで、 \otimes は畳み込み積分演算子である。したがって、式 (A.16) より

$$\begin{aligned}
\langle bS(x', y'; z') \rangle &= \langle b \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle + \langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle I(x, y; z), \\
I(x, y; z) &= \frac{\langle bS(x', y'; z') \rangle - \langle b \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle}{\langle S(x, y; z) \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle}
\end{aligned} \tag{A.20}$$

が得られる。再び、式 (A.17) を用いることにより、式 (A.20) 右辺の分母を定数とみなせるため、相関関数

$$I(x, y; z) = \langle bS(x', y'; z') \rangle - \langle b \rangle \langle S(x', y'; z') \rangle \tag{A.21}$$

が得られる ($I(x, y; z)$ を $G(x, y)$, $S(x', y'; z')$ を $M(x, y)$ とすることにより、式 (5.3) に一致する)。