

氏名(本籍)	とも なが さち ひこ 友永祥彦(東京都)
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博甲第130号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項
学位授与年月日	平成26年7月7日
学位論文題目	電子線トモグラフィにおける3次元断層像相関による高精度投影像自動位置合わせ法の開発
論文審査委員	主査 馬場 則 男 副査 於保 英 作 鷹野 一 朗 鷹岡 昭 夫(大阪大学名誉教授)

論文要旨

コンピュータトモグラフィ(Computed Tomography: CT)とは物体を様々な角度に投影してそれらを逆投影して積算することで物体の3次元構造を再構成する技術であり、電子線トモグラフィはCT技術を透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope: TEM)に応用したものである。直接ナノの分解能で3次元構造解析が出来ることから、今世紀に入り飛躍的に応用が行われるようになってきた。しかし、医療用に用いられているX線トモグラフィの定着した技術に比べ、電子線トモグラフィは分解能こそ極めて高いものの、TEM自体の構造や電子線と試料との相互作用に起因する問題点から汎用化には幾つか重要な課題が残っている。その一つが投影像の位置合わせである。電子線トモグラフィでは、X線トモグラフィと異なり、投影像を得るために電子銃を含む強固な電子光学結像系を必要とする。このため試料ホルダーに傾斜回転機能を施し、試料の連続傾斜によって投影像を記録する必要がある。従って、ナノオーダーの分解能をもつ投影像に対して、それに匹敵するように傾斜軸をメカニカルに固定することはもはや無理である。試料傾斜の際は当然観察視野が移動し、各投影像間の位置が不揃いになる。この不揃いを解消しない限り、再構成した断層像の分解能が大幅に劣化してしまう。このため、傾斜の度に視野の追跡を行わなければならない。加えて、再構成を正しく行うには傾斜軸の位置が正確にわかっている必要があり、その位置探索も必要である。また、傾斜シリーズ像を得るには一般的に $\pm 60^\circ$ から $\pm 70^\circ$ の範囲で傾斜させる必要があるが、十分な分解能を得るためには傾斜刻み角をなるべく小さくする必要があり、例えば 1° 刻みで撮影した場合、撮影枚数は120枚か

ら140枚にもなる。実際に撮影を行ってみるとこれらは大変な労力を要し、傾斜シリーズ像撮影の自動化は大きな研究テーマの一つとなっている。

上記のように電子線トモグラフィにおいて、各投影像の位置合わせと傾斜軸位置の探索は分解能を左右する非常に重要な処理である。現在、これらを行う手法として金微粒子を試料に付着して幾何学的にその位置を算出するマーカー法が広く普及しているが、特に材料系試料で、金微粒子を付着できない試料が多くあり、また一般に金微粒子を完全自動で追跡することは非常に難しい。もう一つ普及している画像相関法は完全自動が可能だが、試料が厚くなる、または傾斜角度が高くなるに従って精度が悪化する問題点があり、またこの手法では傾斜軸位置の計測が別に必要となる。試料のローカルな特徴点を追跡する手法も提案されており、こちらは傾斜軸位置の計測が同時に行える利点を持つ。しかしその精度は追跡する特徴点の形状や傾斜シリーズを通しての特徴点の一致度に依存する。このようにいずれの手法も自動化または精度に難点があり、これらに代わる新たな高精度自動化手法が望まれている。

一方でこのような処理が必要なため、傾斜シリーズ像を取得してから断層像を観察するまでに非常に手間と時間を要する。現行のTEMには試料を傾斜しながらでも観察視野を自動追跡する機能が付属しているが、これは画像相関に基づく位置合わせ法を用いているため精度に難点があり、こちらも改善が望まれている。

我々は最近、投影像に代わり断層ボリュームデータに基づく手法を考案した。その一つは、投影像の位置合わせに必要な x , y の並進移動成分や傾斜軸の位置と傾きをパラメータとして、これらを変えながらその都度断層像を再構成してその画質を定量評価し、その評価値が最

大を示したパラメータで位置合わせと傾斜軸探索を行う手法である。もう一つは、所謂“逆投影線像”を用いた3次元相互相関に基づき、傾斜シリーズ像取得中に自動視野追跡を行う手法である。逆投影線像とは再構成の計算中に積算される前の各々の方位からの断層像のことである。

これらの手法を、断層像モデルを用いたシミュレーションによって検証した結果十分な精度を有することを確認した。この結果を受け、生物切片試料（酵母細胞）と材料系試料（TiN-Ag複合ナノ粒子）に応用した。実験の結果、これらの手法が従来の画像相関法に基づく手法の欠点（前述）を克服し、高精度かつ完全自動でそれぞれ位置合わせ、傾斜軸探索、及び視野追跡を行えることを確認した。

本手法による位置合わせと傾斜軸探索は反復処理が多く処理時間が膨大であったが、通常の画像相関法とは異なり断層像から直接評価できるので信頼性が高い。また、パラメータを変えれば倍率補正や回転補正などへの応用が期待できる。自動視野追跡では逆投影線像の厚みと傾斜刻み角を適切に設定することで、従来の画像相関法に基づく手法の同様の欠点を克服し、構造物の3次元的位置を確実に追跡できた。加えて本手法は非常に容易であり、3-D FFT及びIFFTを用いるため処理を高速で行える。さらに、最後の視野追跡を終了した時点で3次元断層像も得られるため、この効率性はユーザーにとって非常に有利な点である。

以上のように、本研究によりこれまで果たせなかったオンライン電子線トモグラフィの実現が可能となり、断層像を得るまでに要していた労力を大幅に削減することができた。これにより様々な応用研究を促進できると考えている。

論文審査要旨

電子線トモグラフィ法（電子線CT）はナノの分解能で3次元構造を直接解析できることから今世紀に入り飛躍的に論文数が増加してきた。それまでの主に生物試料に限られていた応用範囲が、新たな投影像検出法（走査透過型電子顕微鏡）の採用により、金属、半導体など、応用範囲が大幅に広がったことが理由と考えられる。また構造生物学分野でも、クライオ電子顕微鏡法が発展し、生に近い形での3次元構造解析に応用されるなど電子線CTの応用分野はほぼ全物質材料に及んでいる。このように、広く実用に供されるまでに至ったが汎用性の観点からは重要な課題が幾つか残っており、医療用X線CTのような自動化、高速化に至るまでには大きな技術革新

が必要である。

これらの原因は電子線CTの投影像撮影の仕組みにある。電子線CTでは、X線CTと異なり、試料を傾斜回転させ（ $\pm 60\sim 70^\circ$ ）、電子光学レンズ系による結像によって投影像が撮られる。従って、ナノレベルの傾斜軸の固定は不可能なため連続試料傾斜シリーズ像の位置合わせが欠かせず、また焦点合わせも個々の傾斜ごとに必要となる。（ちなみに、X線CTではX線管が回転し、レンズ結像系はない。）中でも傾斜シリーズ像の位置合わせは自動化を妨げ高速化を困難にしている。投影像の撮影中に観察対象の視野追跡が自動では行えないことが多く、撮影だけで1時間程度を要し、その後の位置合わせ画像処理が必要なため更に数時間を要することもある。

本論文ではこうした課題を解決し、電子線CTの汎用化を目指す2つの重要な新手法が述べられている。その一つは、高精度で完全自動化を目指した3次元断層像相関位置合わせ法であり、いま一つは、オンラインCTを目指した所謂“3次元投影線像”の相関による視野追跡法である。両手法の共通点は、これまでの投影像を基本とした手法を根本から改変し、断層像の特性を活かしてこれを基本に据えたことである。投影像の位置合わせは何を最終目的として行うかといえば、当然ながら断層像の解像度・画質を最大にするためである。この考え方は、結局は正確な真の試料傾斜回転軸を見つけ出し、その回りで正確に傾斜位置合わせさせることにつながる。これに基づいて開発されたのが第1の手法である。断層像の画質を相関によって定量評価し、ほぼ完全自動化が成されている。ここでの位置合わせ法は次の2つの内容から構成される。一つは各投影像の位置合わせであり、いま一つは、傾斜軸探索である。前者では、個々の投影像のみの断層像とそれを除く全ての投影像で再構成した投影像との相関によって、その投影像の最適な位置合わせが行われる。全ての投影像に対して行うため、反復法となる。また後者の軸探索では奇異な方法が採られ、ある設定された軸に対して3次元断層像（ボリューム再構成）を、奇数番号と偶数番号の投影像の2組に分けたものに対して行い、それらの相関値の最大値が得られるように軸を探索する。一見奇異に感じられ、その相関値の値自体が通常より低いなどかわった印象を持たれるが、しかしシミュレーションや実験結果からは従来法よりもはるかに精度が高いことが実証され、評価できる。

本論文では、更に重要な発見が述べられている。すなわち、断層再構成演算中に生成される逆投影線像に、位置合わせに関する興味深い性質があることである。逆投影線像は、物体からの投影線像と一致する。つまり、断

層面で生成される逆投影線像を位置合わせのマッチングに使うのが最も精度が高いことを見出した。この精度の高さを試料傾斜ごとの観察視野追跡に応用している。条件はあるものの、実用的手法に仕上げている。そのアルゴリズムの要点は次のようである。任意の傾斜角度で観察視野を撮影し、その1枚の投影像から逆投影線像を生成（演算）する。次に、試料傾斜を行い、同様にその逆投影線像を生成する。それらの逆投影線像同士の相関演算を行い、最大値ピークを探し、後者の傾斜視野を最初の視野に引き戻し（装置内部のイメージシフト制御機能による）、視野追跡が行われる。これらの手続きを順次行う。これにより、オンライン視野追跡が達成され、更

に、全ての試料傾斜が完了した時点で再構成結果がその場で得られる。演算ではFFTを使うため、高速化が図られ、また、強みは大きな角度刻み（実験では 8° ）でも追跡精度が非常に高いことである。十分にオンラインCTが実現できる。

上述の2つの新手法を、シミュレーションと実験によって検証している。本論文の成果は、これまで電子線CTでは不可能とされていたオンラインCTを可能にし、更に、大幅な時間短縮を実現した。将来の必要な技術整備が達成されれば動的現象のCTが可能になり、4次元観察も夢ではない。よって本論文は、博士（工学）の学位請求論文として十分な価値があるものと認められる。