

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02014/054776

発行日 平成28年8月25日 (2016. 8. 25)

(43) 国際公開日 平成26年4月10日 (2014. 4. 10)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
G03H 1/00 (2006.01)	G03H 1/00	2H052
G02B 21/00 (2006.01)	G02B 21/00	2K008

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁)

出願番号 特願2014-539842 (P2014-539842)	(71) 出願人 513099603
(21) 国際出願番号 PCT/JP2013/077059	公立大学法人兵庫県立大学
(22) 国際出願日 平成25年10月4日 (2013. 10. 4)	兵庫県神戸市西区学園西町8-2-1
(31) 優先権主張番号 特願2012-223690 (P2012-223690)	(74) 代理人 100084375
(32) 優先日 平成24年10月5日 (2012. 10. 5)	弁理士 板谷 康夫
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(74) 代理人 100121692
	弁理士 田口 勝美
	(74) 代理人 100125221
	弁理士 水田 慎一
	(74) 代理人 100142077
	弁理士 板谷 真之
	(72) 発明者 佐藤 邦弘
	兵庫県姫路市書写2167 兵庫県立大学
	姫路書写キャンパス内

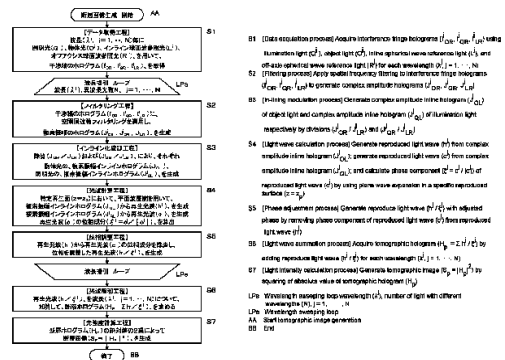
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ホログラフィック断層顕微鏡、ホログラフィック断層画像生成方法、およびホログラフィック断層画像用のデータ取得方法

(57) 【要約】

ホログラフィック断層顕微鏡、ホログラフィック断層画像生成方法、およびホログラフィック断層画像用のデータ取得方法において、断層画像を正確かつ高速に生成可能とする。本方法は、データ取得工程(S1)と、断層画像生成工程(S2乃至S7)とを備える。データ取得工程では、照明光Q、オフアクシス球面波参照光R、インライン球面波参照光Lの波長を変えて各波長 j の光毎に物体光O等のホログラム I^j_{OR} 、 I^j_{QR} 、 I^j_{LR} を取得する。断層画像生成工程では、これらのホログラムから、再生面 $z = z_p$ における物体光 O^j の再生光波 h^j と照明光 Q^j の再生光波 c^j とを求める。位相を調整した再生光波 $h^j / (c^j / |c^j|)$ を各波長($j = 1, \dots, N$)について加算して断層ホログラム H_p を求める。これから、焦点の合った無歪で正確な断層画像 $S_p = |H_p|^2$ が得られる。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ホログラフィック断層顕微鏡であって、
 波長掃引光を用いて物体のホログラムを取得するデータ取得部と、
 前記データ取得部によって取得されたホログラムから前記物体の断層画像を生成する断層画像生成部と、を備え、
 前記データ取得部は、
 コヒーレント光を放射する波長掃引型の光源と、
 前記光源が放射する光から照明光 (Q)、オフアクシス球面波参照光 (R)、およびインライン球面波参照光 (L) を構成し、これらの光と前記照明光 (Q) によって照明される物体から放たれる物体光 (O) とを伝播させる光学系と、
 光強度を電気信号に変換して出力する受光素子と、
 前記物体光 (O) と前記オフアクシス球面波参照光 (R) との干渉縞 (I_{OR})、前記照明光 (Q) と前記オフアクシス球面波参照光 (R) との干渉縞 (I_{QR})、および、前記オフアクシス球面波参照光 (R) と前記インライン球面波参照光 (L) との干渉縞 (I_{LR}) を、前記光源が波長を変えて放射する各波長 ($\lambda^j, j = 1, \dots, N$) の光毎に、前記受光素子から出力される電気信号に基づいてホログラム ($I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j, j = 1, \dots, N$) として記録する記録部と、を備え、
 前記断層画像生成部は、
 前記記録部によって記録された前記ホログラム ($I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j$) に空間周波数フィルタリングを適用して、それぞれ、前記物体光 (O^j) を記録した複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}^j)、前記照明光 (Q^j) を記録した複素振幅オフアクシスホログラム (J_{QR}^j)、および前記オフアクシス球面波参照光 (R^j) を記録した複素振幅オフアクシスホログラム (J_{LR}^j)、を生成するフィルタリング部と、
 前記フィルタリング部によって生成された前記各複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}^j, J_{QR}^j) のデータを、前記フィルタリング部によって生成された前記複素振幅オフアクシスホログラム (J_{LR}^j) のデータでそれぞれ除算することにより、参照光 (R^j) 成分を除去した複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j, J_{QL}^j) を生成するインライン化変調部と、
 特定の再生面 ($z = z_p$) において、前記変調部によって生成された前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j, J_{QL}^j) の各々から、物体光 (O^j) の再生光波 (h^j) と、照明光 (Q^j) の再生光波 (c^j) と、前記照明光の再生光波 (c^j) に含まれる位相成分 ($\phi^j = c^j / |c^j|$) とを求め、前記各波長の光毎に前記物体光の再生光波から前記位相成分を除去した位相調整再生光波 (h^j / ϕ^j) を求め、それらを前記各波長 ($\lambda^j, j = 1, \dots, N$) について加算して前記特定の再生面 ($z = z_p$) におけるホログラムである断層ホログラム ($H_p = h^j / \phi^j$) を求め、前記断層ホログラム (H_p) から、前記特定の再生面 ($z = z_p$) における断層画像 ($S_p = |H_p|^2$) を生成する断層画像計算部と、を備えることを特徴とするホログラフィック断層顕微鏡。

【請求項 2】

前記断層画像生成部は、
 前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j, J_{QL}^j) の空間サンプリング間隔を細分化し、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大部と、
 前記画素数増大部によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j, J_{QL}^j) に対し、前記インライン球面波参照光 (L^j) の予め求めた位相 (ϕ_L^j) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波参照光 (L^j) 成分を除去してホログラム面における複素振幅インラインホログラム (g^j, b^j) を生成する空間変調部と、
 前記複素振幅インラインホログラム (g^j, b^j) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G^j, B^j) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および

前記変換関数 (G^j, B^j) を用いて前記物体光 (O^j) と照明光 (Q^j) とを平面波展開する平面波展開部と、を備え、これらを用いて前記再生光波 (h^j, c^j) を生成することを特徴とする請求項 1 に記載のホログラフィック断層顕微鏡。

【請求項 3】

前記断層画像生成部は、

前記複素振幅インラインホログラム (g^j, b^j) を複数枚の微小ホログラム ($g^{j_i}, b^{j_i}, i = 1, \dots, n$) に分割する分割部と、
前記分割部によって得られた各微小ホログラム (g^{j_i}, b^{j_i}) を互いに重ね合わせで合成微小ホログラム (g^j, b^j) を生成する合成部と、をさらに備え、
前記平面波展開部は、前記合成部によって生成された合成微小ホログラム (g^j, b^j) をフーリエ変換することにより前記変換関数 (G^j, B^j) を求めることを特徴とする請求項 2 に記載のホログラフィック断層顕微鏡。

10

【請求項 4】

前記断層画像生成部は、

前記特定の再生面 ($z = z_p$) を複数設定し、それらの各再生面 ($z = z_p, P = 1, \dots, m$) について前記断層画像 ($S_p, P = 1, \dots, m$) を生成し、それらの集合を 3 次元体積画像 ($V = \{S_p, P = 1, \dots, m\}$) として記録することを特徴とする請求項 1 乃至請求項 3 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層顕微鏡。

【請求項 5】

ホログラフィック断層画像生成方法であって、

照明光 (Q) により物体を照明し、オフアクシス球面波参照光 (R) を用いて、前記物体から放たれる物体光 (O) のオフアクシスホログラム (I_{OR}) と前記照明光 (Q) のオフアクシスホログラム (I_{QR}) とを記録し、インライン球面波参照光 (L) を用いて、前記オフアクシス球面波参照光 (R) のオフアクシスホログラム (I_{LR}) を記録し、前記オフアクシスホログラム (I_{LR}) を用いて、前記オフアクシスホログラム (I_{OR}, I_{QR}) から、物体光 (O) の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) と前記照明光 (Q) の複素振幅インラインホログラム (J_{QL}) とを求める処理を、前記照明光 (Q)、前記オフアクシス球面波参照光 (R)、および前記インライン球面波参照光 (L) の波長を変えた各波長 ($Q^j, R^j, L^j, j = 1, \dots, N$) を用いて行い、各波長毎の複素振幅インラインホログラム ($J_{OL}^j, J_{QL}^j, j = 1, \dots, N$) を求め、

20

特定の再生面 ($z = z_p$) において、前記複素振幅インラインホログラム ($J_{OL}^j, J_{QL}^j, j = 1, \dots, N$) の各々から、前記物体光 ($O^j, j = 1, \dots, N$) の再生光波 ($h^j, j = 1, \dots, N$) と、前記照明光 ($Q^j, j = 1, \dots, N$) の再生光波 ($c^j, j = 1, \dots, N$) と、前記照明光の再生光波 ($c^j, j = 1, \dots, N$) に含まれる位相成分 ($\phi^j = c^j / |c^j|, j = 1, \dots, N$) とを求め、

30

前記各波長毎に前記物体光の再生光波から前記位相成分 (ϕ^j) を除去した位相調整再生光波 ($h^j / \phi^j, j = 1, \dots, N$) を求め、それらを前記各波長について加算して前記特定の再生面 ($z = z_p$) におけるホログラムである断層ホログラム ($H_p = h^j / \phi^j$) を求め、

40

前記断層ホログラム (H_p) から、前記特定の再生面 ($z = z_p$) における断層画像 ($S_p = |H_p|^2$) を生成して記録することを特徴とするホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 6】

前記物体光の再生光波 (h^j) と前記照明光の再生光波 (c^j) とは、前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j, J_{QL}^j) のサンプリング間隔を細分化して実質的にサンプル数を増やす処理を行ったホログラムを用いて求めることを特徴とする請求項 5 に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 7】

前記特定の再生面 ($z = z_p$) を複数設定し、それらの各再生面 ($z = z_p, P = 1, \dots, m$) について前記断層画像 ($S_p, P = 1, \dots, m$) を生成し、それらの集合を 3 次元体積画像 ($V = \{S_p, P = 1, \dots, m\}$) として記録することを特徴とする請求項 1 乃至請求項 3 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層顕微鏡。

50

・ ・ , m) について前記断層画像 (S_p , $P = 1$, ・ ・ , m) を生成し、それらの集合を 3 次元体積画像 ($V = \{ S_p , P = 1$, ・ ・ , m }) として記録することを特徴とする請求項 5 または請求項 6 に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 8】

前記物体光の再生光波 (h^j) と前記照明光の再生光波 (c^j) とは、それぞれ前記物体中の光路を含む光路における光の屈折率を考慮して求めることを特徴とする請求項 5 乃至請求項 7 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 9】

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j , J_{QL}^j) のそれぞれから前記インライン球面波参照光 (L^j) の位相 (ϕ_L^j) を除去した物体光複素振幅インラインホログラム (g^j) および照明光複素振幅インラインホログラム (b^j) を求め、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g^j) を分割して複数の微小ホログラム (g_{i1}^j , $i = 1$, ・ ・ , n) を生成し、これらを互いに重ねて合成した合成微小ホログラム (\tilde{g}^j) を求め、

前記照明光複素振幅インラインホログラム (b^j) を分割して複数の微小ホログラム (b_{i1}^j , $i = 1$, ・ ・ , n) を生成し、これらを互いに重ねて合成した合成微小ホログラム (\tilde{b}^j) を求め、

前記合成微小ホログラム (\tilde{g}^j , \tilde{b}^j) を用いて、前記物体光の再生光波 (h^j) と前記照明光の再生光波 (c^j) とを求めることを特徴とする請求項 5 乃至請求項 8 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 10】

前記物体光の再生光波 (h^j) と前記照明光の再生光波 (c^j) とを求める際に、屈折率の空間変化による光収差を補正するように構成した位相シフト関数 ($\exp(i\phi(x, y))$) を用いることを特徴とする請求項 5 乃至請求項 9 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 11】

前記物体光の再生光波 (h^j) と前記照明光の再生光波 (c^j) とを求める際に、前記物体中の光路を含む光路における平均的な光の分散特性に基づいて色収差を補正することを特徴とする請求項 5 乃至請求項 10 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 12】

前記物体における自由空間との境界に物質によって平面境界を構成し、その平面境界に向けて前記照明光 (Q^j , $j = 1$, ・ ・ , N) を照射し、前記平面境界を通過した光による照明によって前記物体から放たれる光を前記物体光 (O^j , $j = 1$, ・ ・ , N) のホログラムとして記録し、前記平面境界からの反射光を前記照明光 (Q^j , $j = 1$, ・ ・ , N) のホログラムとして記録して、これらのホログラムを用いて前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}^j , J_{QL}^j , $j = 1$, ・ ・ , N) を求めることを特徴とする請求項 5 乃至請求項 11 のいずれか一項に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 13】

ホログラフィック断層画像用のデータ取得方法であって、
照明光 (Q) により物体を照明し、その物体から放たれる物体光 (O) をオフアクシス球面波参照光 (R) を用いてオフアクシスホログラム (I_{OR}) に記録し、

前記オフアクシス球面波参照光 (R) を用いて前記照明光 (Q) をオフアクシスホログラム (I_{QR}) に記録し、

インライン球面波参照光 (L) を用いて前記オフアクシス球面波参照光 (R) をオフアクシスホログラム (I_{LR}) に記録する処理を、

前記照明光 (Q) 、前記オフアクシス球面波参照光 (R) 、および前記インライン球面波参照光 (L) の波長を変えた光 (Q^j , R^j , L^j , $j = 1$, ・ ・ , N) を用いて行い、各波長毎のホログラム (I_{OR}^j , I_{QR}^j , I_{LR}^j , $j = 1$, ・ ・ , N) を求めこれらのデータをホログラフィック断層画像用として記録することを特徴とするホログラフ

10

20

30

40

50

ック断層画像用のデータ取得方法。

【請求項 14】

ホログラフィック断層画像用のデータ取得方法であって、

照明光 (Q) により物体を照明し、その物体から放たれる物体光 (O) を参照光 (R) を用いてホログラム (I_{OR}) に記録し、

前記参照光 (R) を用いて前記照明光 (Q) をホログラム (I_{QR}) に記録し、

インライン参照光 (L) を用いて前記参照光 (R) をオフアクシスホログラム (I_{LR}) に記録する処理を、

前記照明光 (Q)、前記参照光 (R)、および前記インライン参照光 (L) の波長を変えた光 ($Q^j, R^j, L^j, j = 1, \dots, N$) を用いて行い、各波長毎のホログラム ($I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j, j = 1, \dots, N$) のデータをホログラフィック断層画像用として取得することを特徴とするホログラフィック断層画像用のデータ取得方法。

10

【請求項 15】

前記物体の手前に透過鏡を配置し、

前記透過鏡を通して前記照明光 (Q) により前記物体を照射し、

前記透過鏡を透過した物体光 (O) と、前記透過鏡によって反射された照明光 (Q) とを、1枚の共通ホログラム (I_{OQR}) に同時に記録することにより、前記物体光 (O) のホログラム (I_{OR}) のデータと前記照明光 (Q) のホログラム (I_{QR}) のデータとを取得することを特徴とする請求項 14 に記載のホログラフィック断層画像用のデータ取得方法。

20

【請求項 16】

前記照明光 (Q) と前記参照光 (R) とを、互いに直交する偏光状態とし、

前記物体光 (O) と前記照明光 (Q) の反射光とを偏光板を透過させることにより前記照明光 (Q) の反射光を減衰させた状態で、前記共通ホログラム (I_{OQR}) のデータを取得することを特徴とする請求項 15 に記載のホログラフィック断層画像用のデータ取得方法。

【請求項 17】

前記透過鏡の奥方で集光する光を前記照明光 (Q) として用いて前記共通ホログラム (I_{OQR}) を取得し、

前記照明光 (Q) の反射光が集光する位置において、前記共通ホログラム (I_{OQR}) から再生光を生成し、その再生光を前記照明光 (Q) とそれ以外とに分離することにより、前記物体光 (O) のホログラム (I_{OR}) のデータと前記照明光 (Q) のホログラム (I_{QR}) のデータとを取得することを特徴とする請求項 15 または請求項 16 に記載のホログラフィック断層画像用のデータ取得方法。

30

【請求項 18】

ホログラフィック断層画像生成方法であって、

互いにコヒーレントな照明光 (Q) および参照光 (R) の波長を変えた光 ($Q^j, R^j, j = 1, \dots, N$) を用いて、前記照明光 (Q^j) により物体を照明し、前記参照光 (R^j) を用いて記録した、前記物体から放たれる物体光 (O^j) のホログラム (I_{OR}^j) と前記照明光 (Q^j) のホログラム (I_{QR}^j) と、各波長 ($j, j = 1, \dots, N$) 毎に与えられ、

40

前記ホログラムに記録された物体光 (O^j) は前記物体内部の各点で前記照明光 (Q^j) が反射して生じる反射光が重なり合った光であり、該物体光 (O^j) を構成する前記反射光が発生する位置における該反射光の位相とその位置における該反射光を生成する前記照明光 (Q^j) の位相とが同じであることに基づいて、特定の再生面 ($z = z_p$) において物体光 ($O^j, j = 1, \dots, N$) の位相を調整したものを加算して構成したホログラムである断層ホログラム (H_p) を求め、その断層ホログラム (H_p) を用いて、前記特定の再生面 ($z = z_p$) における断層画像 ($S_p = |H_p|^2$) を生成することを特徴とするホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 19】

50

前記断層ホログラム (H_p) を用いて、前記特定の再生面 ($z = z_p$) から離れた、異なる波長 (λ_j , $j = 1, \dots, N$) を有する光波を重ね合わせたときに現れるパルス列のパルスの幅 (Δz) 内の近傍再生面 ($z = z_p + d z$, $d z < \Delta z$) における近傍ホログラム (H_{p_d}) を求め、その近傍ホログラム (H_{p_d}) を用いて、近傍断層画像 ($S_{p_d} = |H_{p_d}|^2$) を生成することを特徴とする請求項 18 に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

【請求項 20】

前記断層ホログラム (H_p) を用いて、前記特定の再生面 ($z = z_p$) から、異なる波長 (λ_j , $j = 1, \dots, N$) を有する光波を重ね合わせたときに現れるパルス列の周期 (Δz) の倍数だけ離れた超周期再生面 ($z = z_p + k \Delta z$, k は整数) における超周期ホログラム (H_{p_k}) を求め、その超周期ホログラム (H_{p_k}) を用いて、超周期断層画像 ($S_{p_k} = |H_{p_k}|^2$) を生成することを特徴とする請求項 18 に記載のホログラフィック断層画像生成方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、光干渉断層撮像技術に係り、ホログラフィによる、断層顕微鏡、断層画像生成方法、および断層画像用のデータ取得方法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来から、光干渉断層撮像法 (OCT: オプティカル・コヒーレンス・トモグラフィ) の技術が、人体に無害で非侵襲な最先端の医療診断技術として注目されており、装置開発や生体計測への応用研究が精力的に進められている。OCT は、物体の表面から光が進入可能な深さまでの、物体の光応答構造の情報を得る技術であり、眼底検査などに応用されている。当初から提案され実用化された OCT は、光ビームのスポットサイズを絞ったレーザ光を用いるものである。そのレーザ光を照明光と参照光とに分離し、物体中に照明光を入射させ、物体中から反射して戻ってくる光を参照光との干渉によって観測する。観測された干渉から物体中の光の反射位置や反射強度の情報すなわち光の進行方向 (縦方向すなわち深さ方向) における物体中の構造の情報が導出される。レーザ光を入射させる物体表面上の位置を 1 次元的に移動させれば 1 面の断層画像が得られ、2 次元的に移動させれば物体の 3 次元構造データが得られ、そのデータから任意断層面における断層画像を再生できる。なお、断層画像は、有限厚みを有する層の厚み方向の平均的な光反射強度の面分布である。その有限厚みを有する層を 1 面 (例えば層の中心面) で代表させる場合、その代表面を断層面または再生面と称する。

20

30

【0003】

OCT は、縦方向の情報を導出する方法の違いにより 2 つに大別される。1 つは光パルスの飛行時間を直接求める時間領域 OCT (TD-OCT) であり、他の 1 つは縦方向の距離の違いを干渉縞の空間周波数から求めるフーリエ領域 OCT (FD-OCT) である。前者の TD-OCT は光波の干渉を実空間 (時間領域) で処理する。TD-OCT は、最初に実用化された OCT であり、照明光の 1 回の照射によって深さ方向の 1 点の情報しか得られない。従って、TD-OCT によって深さ方向の各点の情報を得るには、参照光の光路長を変化させる必要があり、そのために光路上の参照ミラーを機械的に移動させる。後者の FD-OCT は光波の干渉をフーリエ空間 (周波数領域または波長領域) で処理する。FD-OCT は、さらに、波長固定光源と分光器を用いるスペクトル領域 OCT (SD-OCT) と、光源の発信波長を変化させる波長掃引型 OCT (SS-OCT) とに大別される。これらの FD-OCT は、参照ミラーの機械的移動が不要であり、撮像の高速化が実現される。

40

【0004】

しかしながら、いずれの FD-OCT においても、ビームスポットサイズを絞ったレーザ光を用いるので、2 次元または 3 次元のデータを得るにはガルバノ走査したり、参照ミ

50

ラーおよび光干渉計からなる可動ヘッドを物体表面に沿って機械的に1次元または2次元に走査したりする必要があり、撮像の高速化が制限される。これに対し、光学系の機械的走査が不要な撮像法として、結像レンズと光波長掃引レーザ光を用いたデジタルホログラフィによる断層撮像方法が提案されている（例えば、非特許文献1参照）。また、この断層撮像方法を生物組織に適用した例が報告されている（例えば、非特許文献2参照）。これらの非特許文献1, 2に記載された断層撮像方法では、波長掃引平面波光を照明光として用いて、物体光を各波長毎にホログラムに記録する。記録した各波長のホログラムについて、共通の再生位置で各波長毎に物体光の位相を求め、求めた物体光の各位相で各ホログラムを規格化して各ホログラムを互いに加算することにより、その再生位置における断層画像を再生するためのホログラムが求められる。他の位置における断層画像は、その断層画像用のホログラムに記録された光波を伝搬させることによって求められる。

10

【0005】

デジタルホログラフィは、画像を高速撮像して記録する方法として開発が進められている。例えば、オフアクシスホログラフィに空間ヘテロダイン変調と空間周波数フィルタリングを適用して広帯域複素振幅ホログラムを高速かつ正確に記録できるワンショットデジタルホログラフィが提案されている（例えば、特許文献1参照）。また、従来の光学顕微鏡の問題を解決するため、このワンショットデジタルホログラフィを用いて、ホログラフィック顕微鏡、微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、および画像再生方法が提案されている（例えば、特許文献2参照）。この顕微鏡は、透過型および反射型の顕微鏡であり、結像レンズを用いないレンズレスホログラフィック顕微鏡であり、従来の媒質や結像レンズの影響を受ける光学顕微鏡の問題を解決することができる。すなわち、この顕微鏡は、結像レンズを用いないことにより、大開口数の物体光を正確にワンショットで記録し無歪で正確な高分解能3次元動画像を計算機を用いて再生することができる。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】リンフォン・ユー（Lingfeng Yu）、ミユン・ケイ・キム（Myung K. Kim）著「ウエイブレングス - スキャニング デジタル インターファレンス ホログラフィ フォー トモグラフィック スリー - ディメンショナルイメージング バイ ユース オブ ジ アンギュラースペクトラム メソッド（Wavelength-scanning digital interference holography for tomographic three-dimensional imaging by use of the angular spectrum method）」、オプティクス レターズ（Optics Letters）、Vol . 30 , No . 16 , pp . 2092 - 2094 (2005)

30

【非特許文献2】リンフォン・ユー（Lingfeng Yu）、ミユン・ケイ・キム（Myung K. Kim）著、「ウエイブレングス スキャニング デジタル インターファレンス ホログラフィ フォー パリアブル トモグラフィック スキャニング（Wavelength scanning digital interference holography for variable tomographic scanning）」、オプティクス エクスプレス（Optics Express）」、Vol . 13 , No . 15 , pp . 5621 - 5627 (2005)

40

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】国際公開第2011/089820号

【特許文献2】国際公開第2012/005315号

【発明の開示】

【0008】

しかしながら、上述の非特許文献1, 2に示されるようなデジタルホログラフィによる断層撮像方法は、従来のOCTにおける光学系の機械的走査を不要とするものの、実用上の問題がある。これらの非特許文献1, 2に記載された方法における断層画像用のホログラムは、物体光の位相に基づいて導出されている。従って、物体光の発生位置が限定さ

50

れているコインなどの非透明物体の断層画像生成には有効と考えられる。言い換えれば、半透明物体の断層画像取得の場合、物体光は、一般に半透明物体中の各点から放出されるので、物体光の位相を一意的に決めることができず、物体光の位相のみに基づいて導出した断層画像は誤差を含み、また、S/N比の悪い画像となる。特に、物体中で生じた反射光が深さ方向において連続的に重なり合う場合に、このような断層撮像方法による実用的な断層画像を導出することが困難になる。また、上述した特許文献2に示されるようなホログラフィック顕微鏡は、無歪で正確な高分解能3次元動画像を再生することができるものの、断層画像の取得と観察用に開発されたたものではない。

【0009】

断層画像の取得と観察の技術は、主に生体画像診断に用いられ、医療技術として大きな役割を担っている。医療現場において、細胞レベルの病変を診断するには $1\mu\text{m}$ 以下の分解能が要求される。ビームスポットサイズを絞ったレーザ光を用いるOCTは、現在広く実用化されているが、照明光のスポットサイズによって横分解能、すなわち光の伝搬方向に直交する方向の分解能が決まるので、その高分解能化は難しく横分解能は光学顕微鏡と比べて1桁以上低い値に留まっている。また、従来のOCTは、例えば、癌の早期診断を初め、より多くの疾患の診断に対応するには、依然として解像度が低く、また高速撮像ができないので、動く被写体の断層画像の実時間撮像も難しい。

【0010】

本発明は、上記課題を解消するものであって、簡単な構成により、培養液中細胞や生体組織などの内部構造を観察するために、任意媒質中の半透明物体の3次元体積画像を精度良く生成することができるホログラフィック断層画像生成方法を提供し、高分解能の平面断層画像を作成するデータを高速に取得することができるホログラフィック断層画像用のデータ取得方法を提供することを目的とする。さらに、本発明は、高速に無歪のホログラムを記録して被写体の内部の動きを観察することができるホログラフィック断層顕微鏡を提供することを目的とする。

【0011】

上記課題を達成するために、本発明は、ホログラフィック断層顕微鏡であって、波長掃引光を用いて物体のホログラムを取得するデータ取得部と、データ取得部によって取得されたホログラムから物体の断層画像を生成する断層画像生成部と、を備え、データ取得部は、コヒーレント光を放射する波長掃引型の光源と、光源が放射する光から照明光(Q)、オフアクシス球面波参照光(R)、およびインライン球面波参照光(L)を構成し、これらの光と照明光(Q)によって照明される物体から放たれる物体光(O)とを伝搬させる光学系と、光強度を電気信号に変換して出力する受光素子と、物体光(O)とオフアクシス球面波参照光(R)との干渉縞(I_{OR})、照明光(Q)とオフアクシス球面波参照光(R)との干渉縞(I_{QR})、および、オフアクシス球面波参照光(R)とインライン球面波参照光(L)との干渉縞(I_{LR})を、光源が波長を変えて放射する各波長(λ_j , $j=1, \dots, N$)の光毎に、受光素子から出力される電気信号に基づいてホログラム($I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j, j=1, \dots, N$)として記録する記録部と、を備え、断層画像生成部は、記録部によって記録されたホログラム($I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j$)に空間周波数フィルタリングを適用して、それぞれ、物体光(O^j)を記録した複素振幅オフアクシスホログラム(J_{OR}^j)、照明光(Q^j)を記録した複素振幅オフアクシスホログラム(J_{QR}^j)、およびオフアクシス球面波参照光(R^j)を記録した複素振幅オフアクシスホログラム(J_{LR}^j)、を生成するフィルタリング部と、フィルタリング部によって生成された各複素振幅オフアクシスホログラム(J_{OR}^j, J_{QR}^j)のデータを、フィルタリング部によって生成された複素振幅オフアクシスホログラム(J_{LR}^j)のデータでそれぞれ除算することにより、参照光(R^j)成分を除去した複素振幅インラインホログラム(J_{OL}^j, J_{QL}^j)を生成するインライン化変調部と、特定の再生面($z=z_p$)において、変調部によって生成された複素振幅インラインホログラム(J_{OL}^j, J_{QL}^j)の各々から、物体光(O^j)の再生光波(h^j)と、照明光(Q^j)の再生光波(c^j)と、照明光の再生光波(c^j)に含まれる位相成分($\phi_j = c$

10

20

30

40

50

$c^j / |c^j|$)とを求め、各波長の光毎に物体光の再生光波から位相成分を除去した位相調整再生光波 (h^j / c^j)を求め、それらを各波長 ($\lambda^j, j = 1, \dots, N$)について加算して特定の再生面 ($z = z_p$)におけるホログラムである断層ホログラム ($H_p = h^j / c^j$)を求め、断層ホログラム (H_p)から、特定の再生面 ($z = z_p$)における断層画像 ($S_p = |H_p|^2$)を生成する断層画像計算部と、を備えることを特徴とする。

【0012】

このホログラフィック断層顕微鏡において、断層画像生成部は、複素振幅インラインホログラム (J^j_{OL}, J^j_{QL})の空間サンプリング間隔を細分化し、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大部と、画素数増大部によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J^j_{OL}, J^j_{QL})に対し、インライン球面波参照光 (L^j)の予め求めた位相 (ϕ^j_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波参照光 (L^j)成分を除去してホログラム面における複素振幅インラインホログラム (g^j, b^j)を生成する空間変調部と、複素振幅インラインホログラム (g^j, b^j)をフーリエ変換した結果である変換関数 (G^j, B^j)を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w)および変換関数 (G^j, B^j)を用いて物体光 (O^j)と照明光 (Q^j)とを平面波展開する平面波展開部と、を備え、これらを用いて再生光波 (h^j, c^j)を生成するようによしてもよい。

【0013】

このホログラフィック断層顕微鏡において、断層画像生成部は、複素振幅インラインホログラム (g^j, b^j)を複数枚の微小ホログラム ($g^j_i, b^j_i, i = 1, \dots, n$)に分割する分割部と、分割部によって得られた各微小ホログラム (g^j_i, b^j_i)を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g^j, b^j)を生成する合成部と、をさらに備え、平面波展開部は、合成部によって生成された合成微小ホログラム (g^j, b^j)をフーリエ変換することにより変換関数 (G^j, B^j)を求めるようによしてもよい。

【0014】

このホログラフィック断層顕微鏡において、断層画像生成部は、特定の再生面 ($z = z_p$)を複数設定し、それらの各再生面 ($z = z_p, P = 1, \dots, m$)について断層画像 ($S_p, P = 1, \dots, m$)を生成し、それらの集合を3次元体積画像 ($V = \{S_p, P = 1, \dots, m\}$)として記録するようによってもよい。

【0015】

また、本発明は、ホログラフィック断層画像生成方法であって、照明光 (Q)により物体を照明し、オフアクシス球面波参照光 (R)を用いて、物体から放たれる物体光 (O)のオフアクシスホログラム (I_{OR})と照明光 (Q)のオフアクシスホログラム (I_{QR})とを記録し、インライン球面波参照光 (L)を用いて、オフアクシス球面波参照光 (R)のオフアクシスホログラム (I_{LR})を記録し、オフアクシスホログラム (I_{LR})を用いて、オフアクシスホログラム (I_{OR}, I_{QR})から、物体光 (O)の複素振幅インラインホログラム (J_{OL})と照明光 (Q)の複素振幅インラインホログラム (J_{QL})とを求める処理を、照明光 (Q)、オフアクシス球面波参照光 (R)、およびインライン球面波参照光 (L)の波長を変えた各波長 ($\lambda^j, j = 1, \dots, N$)の光 ($Q^j, R^j, L^j, j = 1, \dots, N$)を用いて行い、各波長毎の複素振幅インラインホログラム ($J^j_{OL}, J^j_{QL}, j = 1, \dots, N$)を求め、特定の再生面 ($z = z_p$)において、複素振幅インラインホログラム ($J^j_{OL}, J^j_{QL}, j = 1, \dots, N$)の各々から、物体光 ($O^j, j = 1, \dots, N$)の再生光波 ($h^j, j = 1, \dots, N$)と、照明光 ($Q^j, j = 1, \dots, N$)の再生光波 ($c^j, j = 1, \dots, N$)と、照明光の再生光波 ($c^j, j = 1, \dots, N$)に含まれる位相成分 ($\phi^j = c^j / |c^j|, j = 1, \dots, N$)とを求め、各波長毎に物体光の再生光波から位相成分 (ϕ^j)を除去した位相調整再生光波 ($h^j / \phi^j, j = 1, \dots, N$)を求め、それらを各波長について加算して特定の再生面 ($z = z_p$)におけるホログラムである断層ホログラム ($H_p = h^j / \phi^j$)

10

20

30

40

50

)を求め、断層ホログラム (H_p) から、特定の再生面 ($z = z_p$) における断層画像 ($S_p = |H_p|^2$) を生成して記録することを特徴とする。

【0016】

このホログラフィック断層画像生成方法において、物体光の再生光波 (h^j) と照明光の再生光波 (c^j) とは、複素振幅インラインホログラム (J^j_{oL}, J^j_{qL}) のサンプリング間隔を細分化して実質的にサンプル数を増やす処理を行ったホログラムを用いて求めるようにしてもよい。

【0017】

このホログラフィック断層画像生成方法において、特定の再生面 ($z = z_p$) を複数設定し、それらの各再生面 ($z = z_p, P = 1, \dots, m$) について断層画像 ($S_p, P = 1, \dots, m$) を生成し、それらの集合を3次元体積画像 ($V = \{S_p, P = 1, \dots, m\}$) として記録するようにしてもよい。

10

【0018】

このホログラフィック断層画像生成方法において、物体光の再生光波 (h^j) と照明光の再生光波 (c^j) とは、それぞれ物体中の光路を含む光路における光の屈折率を考慮して求めるようにしてもよい。

【0019】

このホログラフィック断層画像生成方法において、複素振幅インラインホログラム (J^j_{oL}, J^j_{qL}) のそれぞれからインライン球面波参照光 (L^j) の位相 (ϕ^j_L) を除去した物体光複素振幅インラインホログラム (g^j) および照明光複素振幅インラインホログラム (b^j) を求め、物体光複素振幅インラインホログラム (g^j) を分割して複数の微小ホログラム ($g^j_i, i = 1, \dots, n$) を生成し、これらを互いに重ねて合成した合成微小ホログラム (\tilde{g}^j) を求め、照明光複素振幅インラインホログラム (b^j) を分割して複数の微小ホログラム ($b^j_i, i = 1, \dots, n$) を生成し、これらを互いに重ねて合成した合成微小ホログラム (\tilde{b}^j) を求め、合成微小ホログラム (\tilde{g}^j, \tilde{b}^j) を用いて、物体光の再生光波 (h^j) と照明光の再生光波 (c^j) とを求めるようにしてもよい。

20

【0020】

このホログラフィック断層画像生成方法において、物体光の再生光波 (h^j) と照明光の再生光波 (c^j) とを求める際に、屈折率の空間変化による光収差を補正するように構成した位相シフト関数 ($\exp(i\phi^j(x, y))$) を用いるようにしてもよい。

30

【0021】

このホログラフィック断層画像生成方法において、物体光の再生光波 (h^j) と照明光の再生光波 (c^j) とを求める際に、物体中の光路を含む光路における平均的な光の分散特性に基づいて色収差を補正するようにしてもよい。

【0022】

このホログラフィック断層画像生成方法において、物体における自由空間との境界に物質によって平面境界を構成し、その平面境界に向けて照明光 ($Q^j, j = 1, \dots, N$) を照射し、平面境界を通過した光による照明によって物体から放たれる光を物体光 ($O^j, j = 1, \dots, N$) のホログラムとして記録し、平面境界からの反射光を照明光 ($Q^j, j = 1, \dots, N$) のホログラムとして記録して、これらのホログラムを用いて複素振幅インラインホログラム ($J^j_{oL}, J^j_{qL}, j = 1, \dots, N$) を求めるようにしてもよい。

40

【0023】

また、本発明は、ホログラフィック断層画像用のデータ取得方法であって、照明光 (Q) により物体を照明し、その物体から放たれる物体光 (O) をオフアクシス球面波参照光 (R) を用いてオフアクシスホログラム (I_{OR}) に記録し、オフアクシス球面波参照光 (R) を用いて照明光 (Q) をオフアクシスホログラム (I_{QR}) に記録し、インライン球面波参照光 (L) を用いてオフアクシス球面波参照光 (R) をオフアクシスホログラム (I_{LR}) に記録する処理を、照明光 (Q)、オフアクシス球面波参照光 (R)、および

50

インライン球面波参照光 (L) の波長を変えた光 ($Q^j, R^j, L^j, j = 1, \dots, N$) を用いて行い、各波長毎のホログラム ($I_{O_R}^j, I_{Q_R}^j, I_{L_R}^j, j = 1, \dots, N$) を求めこれらのデータをホログラフィック断層画像用として記録することを特徴とする。

【0024】

また、本発明は、ホログラフィック断層画像用のデータ取得方法であって、照明光 (Q) により物体を照明し、その物体から放たれる物体光 (O) を参照光 (R) を用いてホログラム (I_{O_R}) に記録し、参照光 (R) を用いて照明光 (Q) をホログラム (I_{Q_R}) に記録し、インライン参照光 (L) を用いて参照光 (R) をオフアクシスホログラム (I_{L_R}) に記録する処理を、照明光 (Q)、参照光 (R)、およびインライン参照光 (L) の波長を変えた光 ($Q^j, R^j, L^j, j = 1, \dots, N$) を用いて行い、各波長毎のホログラム ($I_{O_R}^j, I_{Q_R}^j, I_{L_R}^j, j = 1, \dots, N$) のデータをホログラフィック断層画像用として取得することを特徴とする。

10

【0025】

このホログラフィック断層画像用のデータ取得方法において、物体の手前に透過鏡を配置し、透過鏡を通して照明光 (Q) により物体を照射し、透過鏡を透過した物体光 (O) と、透過鏡によって反射された照明光 (Q) とを、1枚の共通ホログラム ($I_{O_{QR}}$) に同時に記録することにより、物体光 (O) のホログラム (I_{O_R}) のデータと照明光 (Q) のホログラム (I_{Q_R}) のデータとを取得するようにしてもよい。

20

【0026】

このホログラフィック断層画像用のデータ取得方法において、照明光 (Q) と参照光 (R) とを、互いに直交する偏光状態とし、物体光 (O) と照明光 (Q) の反射光とを偏光板を透過させることによって照明光 (Q) の反射光を減衰させた状態で、共通ホログラム ($I_{O_{QR}}$) のデータを取得するようにしてもよい。

【0027】

このホログラフィック断層画像用のデータ取得方法において、透過鏡の奥方で集光する光を照明光 (Q) として用いて共通ホログラム ($I_{O_{QR}}$) を取得し、照明光 (Q) の反射光が集光する位置において、共通ホログラム ($I_{O_{QR}}$) から再生光を生成し、その再生光を照明光 (Q) とそれ以外とに分離することにより、物体光 (O) のホログラム (I_{O_R}) のデータと照明光 (Q) のホログラム (I_{Q_R}) のデータとを取得するようにしてもよい。

30

【0028】

また、本発明は、ホログラフィック断層画像生成方法であって、互いにコヒーレントな照明光 (Q) および参照光 (R) の波長を変えた光 ($Q^j, R^j, j = 1, \dots, N$) を用いて、照明光 (Q^j) により物体を照明し、参照光 (R^j) を用いて記録した、物体から放たれる物体光 (O^j) のホログラム ($I_{O_R}^j$) と照明光 (Q^j) のホログラム ($I_{Q_R}^j$) と、各波長 ($\lambda^j, j = 1, \dots, N$) 毎に与えられ、ホログラムに記録された物体光 (O^j) は物体内部の各点で照明光 (Q^j) が反射して生じる反射光が重なり合った光であり、該物体光 (O^j) を構成する反射光が発生する位置における該反射光の位相とその位置における該反射光を生成する照明光 (Q^j) の位相とが同じであることに基

づいて、特定の再生面 ($z = z_p$) において物体光 ($O^j, j = 1, \dots, N$) の位相を調整したものを加算して構成したホログラムである断層ホログラム (H_p) を求め、その断層ホログラム (H_p) を用いて、特定の再生面 ($z = z_p$) における断層画像 ($S_p = |H_p|^2$) を生成することを特徴とする。

40

【0029】

このホログラフィック断層画像生成方法において、断層ホログラム (H_p) を用いて、特定の再生面 ($z = z_p$) から離れた、異なる波長 ($\lambda^j, j = 1, \dots, N$) を有する光波を重ね合わせたときに現れるパルス列のパルスの幅 (Δz) 内の近傍再生面 ($z = z_p + \Delta z, \Delta z < \lambda^j$) における近傍ホログラム ($H_{p,d}$) を求め、その近傍ホログラム ($H_{p,d}$) を用いて、近傍断層画像 ($S_{p,d} = |H_{p,d}|^2$) を生成するようにしてもよ

50

い。

【0030】

このホログラフィック断層画像生成方法において、断層ホログラム (H_p) を用いて、特定の再生面 ($z = z_p$) から、異なる波長 (λ_j , $j = 1, \dots, N$) を有する光波を重ね合わせたときに現れるパルス列の周期 (λ) の倍数だけ離れた超周期再生面 ($z = z_p + k \lambda$, k は整数) における超周期ホログラム ($H_{p,k}$) を求め、その超周期ホログラム ($H_{p,k}$) を用いて、超周期断層画像 ($S_{p,k} = |H_{p,k}|^2$) を生成するようにしてもよい。

【0031】

本発明のホログラフィック断層画像用のデータ取得方法によれば、光学系の機械的な走査を行うことなく波長掃引のみによって3種類のホログラムを各波長について取得するだけで断層画像用のデータを取得することができるので、より高速に短時間でデータを取得して記録できる。本発明のホログラフィック断層画像生成方法によれば、波長掃引される照明光 Q と参照光 R, L とを用い取得されたホログラムを用いて断層画像を生成するので、光学系の機械的な走査が不要であり、また、物体光 O と照明光 Q の両方のホログラムを用いるので、断層面において断層面以外からの物体光による擾乱を受けることなく断層を切り出して S/N 比の大きな断層画像を生成でき、それらの集合によって3次元体積画像を生成できる。本発明のホログラフィック断層顕微鏡によれば、球面波参照光 R, L を用いるので、結像レンズを用いることなく正確に無歪の断層画像を生成でき、また、機械的な走査が不要であるので、高速に撮像データを取得し記録できる。従って、本断層顕微鏡によれば、低エネルギー照明の下で生きた生体組織の高速連続断層撮像が可能になり、装置の低価格化と小型化を容易に実現できる。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】本発明の一実施形態に係るホログラフィック断層画像生成方法を示すフローチャート。

【図2】同断層画像生成方法の実施時にオフアクシス球面波参照光 R のデータをインライン球面波参照光 L によって取得する装置の模式的構成図。

【図3】同断層画像生成方法の実施時に照明光 Q のデータをオフアクシス球面波参照光 R によって取得する装置の模式的構成図。

【図4】同断層画像生成方法の実施時に物体光 O のデータをオフアクシス球面波参照光 R によって取得する装置の一例を示す模式的構成図。

【図5】図2の要部詳細図。

【図6】図3の要部詳細図。

【図7】図4の要部詳細図。

【図8】同断層画像生成方法で用いる異波長光の重ね合わせを説明する概念図。

【図9】異波長光の重ね合わせによって発生するパルス列を説明する概念図。

【図10】同断層画像生成方法における高分解能化処理のフローチャート。

【図11】(a) はホログラムの部分図、(b) は同ホログラムにおける空間サンプリング間隔を増やす様子を示すホログラムの部分図。

【図12】(a) はホログラムの概念図、(b) は同ホログラムを分割して重ね合わせた概念図、(c) は(b)のホログラムを合成したホログラムの概念図。

【図13】(a) は単一の再生用ホログラムと再生像の概念図、(b) は複数の再生用ホログラムと再生された複数の像とを示す概念図。

【図14】同断層画像生成方法における高速化処理のフローチャート。

【図15】本発明の一実施形態に係るホログラフィック断層画像用のデータ取得方法を示すフローチャート。

【図16】同データ取得方法の変形例を示すフローチャート。

【図17】同データ取得方法を光路によって説明する模式図。

【図18】同データ取得方法の他の変形例を光路によって説明する模式図。

10

20

30

40

50

【図 19】他の実施形態に係るホログラフィック断層画像生成方法を示すフローチャート。

【図 20】同断層画像生成方法の変形例を示すフローチャート。

【図 21】同断層画像生成方法の他の変形例を示すフローチャート。

【図 22】本発明の一実施形態に係るホログラフィック断層顕微鏡を示すブロック構成図。

【図 23】同断層顕微鏡を用いて照明光の波長を変えて取得した USAF テスタターゲットの複数枚のホログラムのうち 1 枚のホログラムの画像を示す図。

【図 24】(a) (b) (c) は、図 23 に示したホログラムと共に取得された複数枚のホログラムを用いて、それぞれ再生位置を変えて再生した断層画像を示す図。

【図 25】再生光の平均光強度の測定値および理論値のターゲット面位置からの距離依存性を示す図。

【図 26】図 24 (c) の画像とその部分拡大画像を示す図。

【図 27】(a) (b) (c) は、それぞれ図 24 (a) (b) (c) に示した断層画像の再生位置において、図 23 に示した 1 枚のホログラムから比較例として再生した画像を示す図。

【図 28】(a) は同断層顕微鏡を用いて断層画像を取得する対象物の断面構成図、(b) は (a) の断面構成を説明する断面分解図。

【図 29】(a) (b) (c) は、同断層顕微鏡を用いて照明光の波長を変えて図 28 (a) (b) に示した対象物の複数枚のホログラムを取得し、それぞれ再生位置を変えて再生した断層画像を示す図。

【図 30】(a) (b) (c) は、それぞれ図 29 (a) (b) (c) に示した断層画像の再生位置において、1 枚のホログラムから比較例として再生した画像を示す図。

【図 31】(a) (b) は同断層顕微鏡を用いて、それぞれ再生位置を変えて取得したタマネギ鱗葉の断層画像を示す図。

【図 32】(a) (b) は図 31 (b) からさらに、それぞれ再生位置を変えて取得したタマネギ鱗葉の断層画像を示す図。

【図 33】(a) (b) は図 32 (b) からさらに、それぞれ再生位置を変えて取得したタマネギ鱗葉の断層画像を示す図。

【発明を実施するための形態】

【0033】

以下、本発明の一実施形態に係るホログラフィック断層画像生成方法、ホログラフィック断層画像用のデータ取得方法、およびホログラフィック断層顕微鏡について、図面を参照して説明する。

【0034】

(ホログラフィック断層画像生成方法)

図 1 乃至図 12 は、ホログラフィック断層画像生成方法を示す。ホログラフィック断層画像生成方法は、図 1 に示すように、データ取得工程 (S1) と、その後のデータ処理によって断層画像を生成する断層画像生成工程 (S2 乃至 S7) とを備えている。データ取得工程 (S1) では、照明光 Q、オフアクシス球面波参照光 R、およびインライン球面波参照光 L の波長を変えた各波長 λ_j , $j = 1, \dots, N$ のコヒーレントな光 Q^j , R^j , L^j , $j = 1, \dots, N$ を用いる。これらの波長掃引光によって生成される光の干渉縞が、ホログラム $I_{O_R}^j$, $I_{Q_R}^j$, $I_{L_R}^j$ として、各波長 λ_j 毎に取得される。各波長 λ_j は、一定周波数間隔で変えてもよく、一定波長間隔で変えてもよく、また、任意間隔で変えてもよい。

【0035】

ホログラム $I_{O_R}^j$ は、照明光 Q により半透明物体を照明し、その半透明物体から放たれる物体光 O を、オフアクシス球面波参照光 R を用いて記録したオフアクシスホログラムである。半透明物体における半透明とは、照明光 Q に対して半透明ということであり、この半透明性により、物体内部の断層情報が得られる。ホログラム $I_{Q_R}^j$ は、照明光 Q を

10

20

30

40

50

オフアクシス球面波参照光 R を用いて記録したオフアクシスホログラムである。ホログラム $I^j_{L_R}$ は、オフアクシス球面波参照光 R をインライン球面波参照光 L を用いて記録したオフアクシスホログラムである。これらのホログラム $I^j_{O_R}$ 、 $I^j_{Q_R}$ 、 $I^j_{L_R}$ は、オフアクシス球面波参照光 R およびインライン球面波参照光 L という球面波の参照光を用いるものであり、このことから、これらのホログラムは大開口数（大 NA 数）のホログラムとなる。そして、これらの大開口数ホログラム $I^j_{O_R}$ 、 $I^j_{Q_R}$ 、 $I^j_{L_R}$ から、下記の如く、大開口数複素振幅インラインホログラム $J^j_{O_L}$ 、 $J^j_{Q_L}$ が得られる。

【0036】

断層画像生成工程（S2乃至S7）は、波長掃引ループ LPs - LPe において各波長 j について一連の処理を行う工程（S2乃至S5）と、波長掃引ループで得られた結果を統合して断層画像を生成する工程（S6, S7）とを備えている。波長掃引ループ LPs - LPe は、フィルタリング工程（S2）、インライン化変調工程（S3）、光波計算工程（S4）、位相調整工程（S5）を備えている。フィルタリング工程（S2）では、ホログラム $I^j_{O_R}$ 、 $I^j_{Q_R}$ 、 $I^j_{L_R}$ に空間周波数フィルタリングを適用して、それぞれ、物体光 O^j を記録した複素振幅オフアクシスホログラム $J^j_{O_R}$ 、照明光 Q^j を記録した複素振幅オフアクシスホログラム $J^j_{Q_R}$ 、およびオフアクシス球面波参照光 R^j を記録した複素振幅オフアクシスホログラム $J^j_{L_R}$ を生成する。インライン化変調工程（S3）では、フィルタリング工程によって生成された各複素振幅オフアクシスホログラム $J^j_{O_R}$ 、 $J^j_{Q_R}$ のデータを、同じくフィルタリング工程によって生成された複素振幅オフアクシスホログラム $J^j_{L_R}$ のデータでそれぞれ除算することにより、参照光 R^j 成分を除去した複素振幅インラインホログラム $J^j_{O_L}$ 、 $J^j_{Q_L}$ を生成する。

【0037】

光波計算工程（S4）では、特定の再生面 $z = z_p$ において、複素振幅インラインホログラム $J^j_{O_L}$ 、 $J^j_{Q_L}$ の各々から、物体光 O^j の再生光波 h^j と、照明光 Q^j の再生光波 c^j と、照明光の再生光波 c^j に含まれる位相成分 $\phi^j = c^j / |c^j|$ とを求める。再生面 $z = z_p$ は、例えば、ホログラムを取得する際に用いられた CCD などの受光素子の受光面に平行な面である。この場合、z 軸は、その受光面に直交する軸として設定される受光面の光軸であり、z 軸上の位置を特定することによって、z 軸に直交する 1 つの平面を指定できる。また、z 軸は、物体光 O を放つ物体の深さ方向に合理的に設定された光軸であり、断層画像は、この z 軸に垂直な断層面について生成される。

【0038】

位相調整工程（S5）では、各波長の光毎に物体光の再生光波から位相成分を除去した位相調整再生光波 h^j / ϕ^j を求める。位相調整再生光波 h^j / ϕ^j を求める操作は、各波長 j に対する再生光波 h^j の位相を互いに規格化するものである。物体光 O は物体内部の各点で生じる反射光が重なり合った光であり、各反射光の位相は、その反射光が発生する位置において、その反射光を生成する照明光 Q の位相と同じになる。言い換えると、物体内部の各点で生じる各物体光は、その物体光が発生する各位置において、各物体光を発生させる各照明光と同相である。そこで、この除算による位相調整の操作によって、再生面 $z = z_p$ において、各波長の物体光の位相が 0 に調整される。

【0039】

光波総和工程（S6）では、位相調整再生光波 h^j / ϕ^j を各波長 j 、 $j = 1, \dots, N$ について加算して再生面 $z = z_p$ におけるホログラムである断層ホログラム $H_p = \sum h^j / \phi^j$ を求める。物体光 O を構成する反射光の位相は、その反射光が発生する位置において、物体光 O の位相と照明光 Q の位相とは一致しているので、光波総和工程（S6）の加算により、断層内部で発生する物体光は加算されて強くなり、断層外部で発生する物体光は互いに打ち消されて弱くなる。個数 N の物体光 O^j を再生面で加算することにより、物体光の振幅が N 倍になり、再生される断層画像の光強度は N^2 倍になる。また、概念的に表現すれば、再生面以外の物体光は N^2 分の 1 になる。従って、S/N 比（ノイズに対する信号の割合）に優れた断層画像を生成することができるので、焦点の合った鮮明な断層画像を生成でき、断層外部の物体光に埋もれた断層内部の弱い光であっても再生する

ことができる。

【0040】

光強度計算工程(S7)では、断層ホログラム H_p から、再生面 $z = z_p$ における断層画像 $S_p = |H_p|^2$ が生成される。断層画像 S_p は、モニタ画面に画像として表示することができる。再生面 $z = z_p$ は、通常、受光面(ホログラム面)に平行な面とされるので、ホログラム面に平行(光学的な意味で平行)な表面を有する半透明物体のその表面を照明光 Q で照明した場合に、半透明物体の表面に平行な断層画像が得られる。ここで、2面が光学的な意味で平行とは、その2面がいずれも光軸に対して直交するという意味であり、途中で鏡が存在することなどにより、実空間で2面が平行とは限らない。

【0041】

再生面 $z = z_p$ の位置を変えて上述の光波計算工程(S4)以降の工程を繰り返すことにより、半透明物体中の光軸に垂直な任意の再生面における断層画像 S_p が得られる。そこで、再生面 $z = z_p$ を複数設定し、それらの各再生面 $z = z_p, P = 1, \dots, m$ について断層画像 $S_p, P = 1, \dots, m$ を生成し、それらの集合を3次元空間の各点において焦点の合った3次元体積画像 $V = \{S_p, P = 1, \dots, m\}$ として記録することができる。3次元体積画像 V を再生できるデータとして、断層ホログラム H_p の集合による3次元体積データ $V_h = \{H_p, P = 1, \dots, m\}$ を記録してもよい。なお、受光面(ホログラム面)に平行でない再生面においても、同様に、焦点の合った断層画像 S_p を得ることもできる。上述の位相調整工程(S5)と、この光波総和工程(S6)とは、波長掃引光とデジタルホログラフィとを用いて、機械的な走査をすることなく、半透明物体中の特定の再生面における物体光の再生を可能とするための、重要な処理である(図8、図9参照)。以下では、上記の各工程を詳述する。

【0042】

(データ取得工程S1)

データ取得工程(S1)は、図2、図3、図4に示すデータ取得装置10を用いて実行される。オフアクシスホログラム I^j_{LR} は、図2に示すデータ取得装置10を用いて取得される。データ取得装置10は、コヒーレント光を放射する光源2と、光の伝搬を行う光学系3と、光強度を検出して電気信号を出力する受光素子4と、受光素子4からの信号をホログラム $I^j_{OR}, I^j_{QR}, I^j_{LR}$ として記録する記録部5と、を備えている。光源2は、光波長掃引レーザである。光学系3は、2つの球面波参照光 R, L を生成するために、光源2からのレーザ光を、直進光と、これに直交する方向に向きを変えた光(90°偏向光)との2つに分けるビームスプリッタBSを備えている。直進光の光路上には、レーザ光のビーム径を広げる2つのレンズ31, 32、および拡径したレーザ光を球面波参照光 R に変換する集光レンズ33を備えている。集光レンズ33の前方面には、受光素子4が配置されている。集光レンズ33からの光は、 z 軸から光軸を傾けたオフアクシス球面波参照光 R として、広がりながら受光素子4に入射する。

【0043】

ビームスプリッタBSで90°偏向された光の光路上には、90°反射鏡M1、拡径用のレンズ34, 34、90°反射鏡M2、拡径したレーザ光を球面波参照光 L に変換する集光レンズ36、および90°偏向用のハーフミラーHMとを備えている。集光レンズ36からの光は、ハーフミラーHMによって反射した後、 z 軸に対する光軸の傾きのないインライン球面波参照光 L として、広がりながら受光素子4に入射する。なお、参照光 R は、ハーフミラーHMを通過して受光素子4に入射する。受光素子4に入射した球面波参照光 R, L は、互いに干渉して受光素子4の受光面に干渉縞を生成する。受光素子4は、その干渉縞の光強度に応じた電気信号を出力し、記録部5が、その出力を、オフアクシスホログラム I^j_{LR} として記録する。ホログラム I^j_{LR} は、オフアクシス球面波参照光 R をインライン球面波参照光 L によって記録するホログラムである。

【0044】

照明光 Q のオフアクシスホログラム I^j_{QR} は、図3に示すデータ取得装置10を用いて取得される。データ取得装置10は、図2に示した光学系3の構成において、インライ

10

20

30

40

50

ン球面波参照光 L を伝搬させる構成に替えて、照明光 Q を伝搬させる構成としたものである。オフ軸球面波参照光 R の光学系は上記と同じである。ビームスプリッタ B S で 90° 偏向された光の光路上には、90° 反射鏡 M 3、拡径用のレンズ 37, 38、90° 反射鏡 M 4、拡径したレーザ光のビームスポットを絞るためのレンズ 39、カバーガラス 61、および 90° 偏向用のハーフミラー H M とを備えている。カバーガラス 61 を通過した先には断層撮像のターゲットである半透明物体 6 の存在が想定されている。カバーガラス 61 に入射する光は、照明光 Q を構成する。カバーガラス 61 の表面で後方に反射した光は、照明光 Q を記録するための光として、90° 偏向用のハーフミラー H M で反射した後、受光素子 4 に入射する。受光素子 4 に入射する光（照明光 Q）は、オフ軸球面波参照光 R と干渉して受光素子 4 の受光面に干渉縞を生成する。その干渉縞は、照明光 Q を記録するオフ軸ホログラム I^j_{QR} として記録部 5 に記録される。レンズ 39 は、半透明物体 6 に入射する照明光 Q のビームスポットの大きさを調整するためのものである。照明光 Q は、半透明物体 6 における注目部位を照明して物体光 O を発生させることができる光として構成されていればよく、収束光に限らず発散光でもよい。また、照明光 Q の情報だけを取得する場合には、カバーガラス 61 に替えて、反射鏡を用いることができる。

10

20

30

40

50

【0045】

物体光 O のオフ軸ホログラム I^j_{OR} は、図 4 に示すデータ取得装置 10 を用いて取得される。この図 4 のデータ取得装置 10 は、図 3 に示した光学系 3 の構成において、カバーガラス 61 の背後に半透明物体 6 を配置した構成になっている。カバーガラス 61 を透過して半透明物体 6 に達した照明光 Q が、半透明物体 6 の表面や内部で反射（後方散乱）する光が物体光 O となる。物体光 O は、半透明物体 6 における個々の反射点から放たれ、カバーガラス 61 を透過し、ハーフミラー H M で反射されて受光素子 4 に入射する。受光素子 4 に入射した物体光 O は、オフ軸球面波参照光 R と干渉して受光素子 4 の受光面に干渉縞を生成し、オフ軸ホログラム I^j_{OR} として記録される。

【0046】

図 5、図 6、図 7 は、それぞれ、図 2、図 3、図 4 におけるハーフミラー H M と受光素子 4 の周辺の光伝搬の様子を示す。図 5 に示すように、球面波参照光 R は受光素子 4 に対して、光軸を傾けたオフ軸配置とされており、球面波参照光 L は受光素子 4 に対して光軸を合わせたインライン配置とされている。図 6 に示す照明光 Q のホログラムの取得は、図 7 における物体光 O のホログラムの取得と同時に行うことができる。照明光 Q のホログラム I^j_{QR} は、半透明物体 6 において物体光 O が発生する位置に到達する照明光 Q の情報を取得することを目的としている。このような照明光 Q の情報は、物体光 O から断層画像を生成するために使用される。すなわち、断層画像の作成には、物体光 O の情報だけでなく、物体光 O が発生する位置（断層画像を作成する位置）での照明光 Q の位相を用いるので、その位相のデータが必要になる。

【0047】

半透明物体 6 の表面における凹凸は、光を乱反射させるので、物体光 O の正確な測定に対する障害要因となる。断層画像を生成するには、媒質中の物体光だけでなく照明光の位相も正確に再生する必要があるが、物体表面に凹凸がある場合、平面波展開を用いて物体光や照明光を再生すると凹凸に起因した誤差が生じ、正確な光波面再生ができなくなる。そこで、照明光 Q や物体光 O を正確に記録し、再生するために、図 6、図 7 に示すカバーガラス 61 の平面が効果的に用いられる。この平面の平坦度は、その表面の凹凸変化が照明光 Q の波長程度以下であればよい。これを言い換えれば、光の伝搬解析ができる照明光 Q と物体光 O が得られる平坦度が必要である。照明光 Q の情報と物体光 O の情報を別々のホログラムに記録する場合、カバーガラス 61 に替えて、例えば、エレクトロクロミズムの原理に基づく調光ミラーデバイスを用いることができる。これにより、カバーガラス 61 や半透明物体 6 の配置を操作することなく、調光ミラーデバイスによる反射と透光とを電氣的に切り替えて、照明光 Q の反射光だけを、物体光 O と分離して効率的に記録することができる。また、後述の偏光と偏光板を用いる方法（図 17 参照）と組み合わせて、

物体光 O を、照明光 Q と分離して効率的に記録することができる。

【 0 0 4 8 】

カバーガラス 6 1 の平面は、半透明物体 6 の内部と外界との境界を平面に保つことができる。また、図 7 に示すように、カバーガラス 6 1 と半透明物体 6 との間に、液体やゼリー状の半透明物質 6 2 を充填することにより、例えば、磨りガラスを水で濡らすときのように、半透明物体 6 の表面の凹凸の問題を解消することができる。すなわち、半透明物体 6 における自由空間との境界に半透明物質 6 2 によって平面境界を構成し、照明光 Q と物体光 O をそのような平面境界を通過させてホログラムを取得する。この場合、半透明物質 6 2 の屈折率は、半透明物体 6 の表面の屈折率に合わせるのが好ましい。また、カバーガラス 6 1 の上面には、例えば、光を通さない金属蒸着膜層などによって形成した、ピンホールマスク 6 3 を設けることが好ましい。マスク 6 3 の開口は、例えば、照明光 Q を通過させる大きさに制限する。マスク 6 3 により、半透明物体 6 の内部で発生する多重反射光などの擾乱光（バックグラウンド光）が受光素子 4 に入射するのを防止することができ、高品質のホログラムを取得できる。

10

【 0 0 4 9 】

（断層画像生成工程の詳細）

以下では、ホログラムの処理等について、数式表現を用いて説明する。各式中の係数、引数、添え字などは、一般的な表現と意味に解釈される。また、以下の各式において、位置座標 (x, y) の明示、各波長 λ_j , $j = 1, \dots, N$ を区別する添え字 j などは、適宜省略される。ホログラムの取得には、参照光 R , L 、物体光 O 、照明光 Q などが関与する。そこで、受光素子 4 の受光面における位置座標 (x, y) を用いて、参照光 $R(x, y, t)$, $L(x, y, t)$ 、物体光 $O(x, y, t)$ 、および照明光 $Q(x, y, t)$ を、それぞれ一般的な形で、下式 (1) ~ (4) のように表す。これらの光は、互いにコヒーレントな角周波数 ω の光である。受光素子 4 の表面における干渉縞の光強度 $I_{LR}(x, y)$, $I_{OR}(x, y)$, $I_{QR}(x, y)$ は下式 (5) (6) (7) となり、これらがホログラムとして記録される。

20

【 0 0 5 0 】

【数 1】

$$R(x, y, t) = R_0(x, y) \exp[i(\phi_R(x, y) - \omega t)] \quad (1)$$

30

$$L(x, y, t) = L_0(x, y) \exp[i(\phi_L(x, y) - \omega t)] \quad (2)$$

$$O(x, y, t) = O_0(x, y) \exp[i(\phi_O(x, y) - \omega t)] \quad (3)$$

$$Q(x, y, t) = Q_0(x, y) \exp[i(\phi_Q(x, y) - \omega t)] \quad (4)$$

$$I_{LR}(x, y) = L_0^2 + R_0^2 + L_0 R_0 \exp[i(\phi_L - \phi_R)] + L_0 R_0 \exp[-i(\phi_L - \phi_R)] \quad (5)$$

$$I_{OR}(x, y) = O_0^2 + R_0^2 + O_0 R_0 \exp[i(\phi_O - \phi_R)] + O_0 R_0 \exp[-i(\phi_O - \phi_R)] \quad (6)$$

$$I_{QR}(x, y) = Q_0^2 + R_0^2 + Q_0 R_0 \exp[i(\phi_Q - \phi_R)] + Q_0 R_0 \exp[-i(\phi_Q - \phi_R)] \quad (7)$$

40

【 0 0 5 1 】

（フィルタリング工程 S 2）

上式 (5) (6) (7) に空間周波数フィルタリングを適用して各式の右辺第 3 項のみを取り出す。空間周波数フィルタリングは、上式 (5) (6) (7) を空間周波数空間における表現にするフーリエ変換と、バンドパスフィルタによるフィルタリングと、その後の、逆フーリエ変換とによって行われる。この工程により、参照光 R を記録した複素振幅ホログラム J_{LR} 、物体光 O を記録した複素振幅ホログラム J_{OR} 、および照明光 Q を記録した複素振幅ホログラム J_{QR} が、下式 (8) (9) (10) に得られる。参照光 R , L として球面波を用いると、空間周波数空間において、光強度成分および共役像成分から、直接像成分を分離することが、特に容易となる。なお、受光素子 4 における画素が画素

50

ピッチ d で 2 次元配列されているとすると、受光素子 4 を用いて記録可能なホログラムの最大空間周波数は、 $f_s = 1/d$ となる。

【 0 0 5 2 】

【 数 2 】

$$J_{LR} = L_0 R_0 \exp[i(\phi_L - \phi_R)] \quad (8)$$

$$J_{OR} = O_0 R_0 \exp[i(\phi_O - \phi_R)] \quad (9)$$

$$J_{QR} = Q_0 R_0 \exp[i(\phi_Q - \phi_R)] \quad (10)$$

10

【 0 0 5 3 】

(インライン化変調工程 S 3)

得られた J_{LR} によって J_{OR} 、 J_{QR} を割ると、式 (9) (10) から参照光 R の振幅 R_0 と位相 ϕ_R を取り除くことができる。この除算処理により、像再生に用いる物体光 O の複素振幅ホログラム J_{OL} 、および照明光 Q の複素振幅ホログラム J_{QL} が、下式 (11) (12) に得られる。この割り算の処理は、空間ヘテロダイン変調の処理であり、かつ、強度に対する処理でもあり、複素振幅ホログラム J_{OR} 、 J_{QR} から、参照光 R の成分 (強度と位相の両方) を除去する処理である。

20

【 0 0 5 4 】

【 数 3 】

$$J_{OL} = (O_0 / L_0) \exp[i(\phi_O - \phi_L)] \quad (11)$$

$$J_{QL} = (Q_0 / L_0) \exp[i(\phi_Q - \phi_L)] \quad (12)$$

【 0 0 5 5 】

上式 (1) (2) において、参照光 R をオフアクシス球面波参照光 R、参照光 L をインライン球面波参照光 L とすると、オフアクシスホログラム I_{LR} 、オフアクシスホログラム I_{OR} 、 I_{QR} が得られ、これらから、それぞれ、インラインホログラム J_{OL} 、 J_{QL} が得られる。この場合のホログラムは、参照光 R、L が球面波であることから、大開口数を有する。すなわち、上記の除算処理により、像再生に用いる物体光 O の大開口数複素振幅インラインホログラム J_{OL} 、および照明光 Q の大開口数複素振幅インラインホログラム J_{QL} が得られる。以下では、当面、このようなオフアクシス球面波参照光 R とインライン球面波参照光 L とを用いる場合について述べる。その後、一般化した場合についても述べられる (図 15、図 16、図 19 等)。

30

【 0 0 5 6 】

(光波計算工程 S 4)

光波計算工程 (S 4) では、まず、複素振幅インラインホログラム J_{OL} 、 J_{QL} に対し、インライン球面波参照光 L の位相 ϕ_L を用いて空間ヘテロダイン変調を行う。インライン球面波参照光 L の受光素子 4 の受光面における位相 $\phi_L(x, y)$ は、光が球面波であることを用いて容易に関数式の形に求めることができる。位相 ϕ_L を用いる空間ヘテロダイン変調は、上式 (11) (12) に、 $\exp(i\phi_L(x, y))$ を乗じることで実施される。この空間ヘテロダイン変調の結果、下式 (13) (14) に示す物体光 O の複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ 、および照明光 Q の複素振幅インラインホログラム $b(x, y)$ が得られる。球面波の位相 $\phi_L(x, y)$ が数学的に正確に求められるので、得られるホログラム $g(x, y)$ 、 $b(x, y)$ も数学的に正確なものとなる。

40

【 0 0 5 7 】

【数 4】

$$g(x,y) = (O_0(x,y)/L_0(x,y)) \exp(i\phi_0(x,y)) \quad (13)$$

$$b(x,y) = (Q_0(x,y)/L_0(x,y)) \exp(i\phi_0(x,y)) \quad (14)$$

【0058】

この複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ は、受光素子 4 の受光面における物体光 O の波面、すなわち、受光面の法線方向にとられた z 軸における受光面の位置を $z = 0$ としたときの $z = 0$ における物体光の光波分布を表す。同様に、複素振幅インラインホログラム $b(x, y)$ は、受光素子 4 の受光面における照明光 Q の光波分布を表す。球面波参照光 R, L を用いて大開口数でホログラムを記録することにより、非球面波参照光を用いる場合よりも、空間周波数帯域を狭くすることができる。開口数が大きくなればなるほど、物体光や照明光を表すホログラム $g(x, y), b(x, y)$ の空間周波数帯域は広くなる。ホログラム $g(x, y), b(x, y)$ の空間変化は、凸レンズによるニュートンリングのごとく、ホログラム中心から離れるにつれて大きくなりホログラムの端で最大になる。ホログラムの開口数 NA および光波長 λ を用いると、ホログラム $g(x, y), b(x, y)$ の最大空間周波数は NA/λ で表される。

【0059】

(平面波展開)

z 軸上の任意位置での波面は、以下に示す平面波展開法によって、受光面上のホログラム $g(x, y), b(x, y)$ から再生することができる。平面波展開法は、各複素振幅インラインホログラム g, b をフーリエ変換した結果である変換関数 G, B を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 G, B を用いて物体光 O 、および照明光 Q を、平面波の重ね合わせによって再生する方法である。電磁波に関するヘルムホルツ方程式の厳密解として球面波と平面波がある。この厳密解である平面波を用いて物体光 O や照明光 Q を記録したホログラムを展開すると、それらの光の正確な光波面を再生できる。そこで、まず、上式 (13) (14) の $g(x, y), b(x, y)$ をフーリエ変換して、 $z = 0$ における変換関数 G, B を、下式 (15) (16) のように求める。この変換関数 G, B は、それぞれ、物体光 O および照明光 Q の空間周波数スペクトルである。

【0060】

【数 5】

$$G(u,v) = \iint g(x,y) \exp[-i2\pi(ux+vy)] dx dy \quad (15)$$

$$B(u,v) = \iint b(x,y) \exp[-i2\pi(ux+vy)] dx dy \quad (16)$$

【0061】

次に、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および上記の変換関数 G, B を用いて、下式 (17) (18) に示すように、 $z = z_p$ における x, y 平面上の物体光 O と照明光 Q の光波 $h(x, y), c(x, y)$ を再生する。これらの再生光波、例えば、光波 $h(x, y)$ は、物体光 O の空間周波数スペクトルである変換関数 G の重み付けによって平面波を重ね合わせることににより求められる。光波 $c(x, y)$ についても同様である。 z_p は任意の値とすることができる。ここで、 (u, v, w) における u, v はそれぞれ x, y 方向の空間周波数である。また、 z 方向の空間周波数 w は、下式 (19) に示すように、平面波の分散式から求められる。式 (19) における λ は光波長であり、 n は、半透明物体 6 中の光路を含む光路における光の屈折率である。

【0062】

【数 6】

$$h(x, y) = \iint G(u, v) \exp[i2\pi w(u, v)z_p] \exp[i2\pi(ux + vy)] dudv \quad (17)$$

$$c(x, y) = \iint B(u, v) \exp[i2\pi w(u, v)z_p] \exp[i2\pi(ux + vy)] dudv \quad (18)$$

$$w(u, v) = \sqrt{(n/\lambda)^2 - u^2 - v^2} \quad (19)$$

【0063】

10

式(17)の光波 $h(x, y)$ は、受光素子4の受光面における境界条件 $g(x, y)$ を満たすヘルムホルツ方程式の厳密解である。光波 $c(x, y)$ についても同様である。ここで、光波 $c(x, y)$ の位相成分を、 $\phi = c/|c|$ によって求めておく。再生光波のうち、例えば、物体光0の光波 $h(x, y)$ は、その絶対値の2乗 $|h(x, y)|^2$ によって求めた画素毎の光の強度を電子ディスプレイに表示することにより、無歪の画像を見ることができる。無歪の画像は、物体光0と受光素子4との間に結像レンズを設けないことによって実現される。式(17)における $z = z_p$ の値を変えることにより、記録された3次元画像中の任意の位置の画像を表示することができる。

【0064】

20

(位相調整工程S5)

この工程は、断層画像を生成するための重要な工程である。位相調整工程(S5)は、物体光0の光波 $h(x, y)$ から、照明光Qの光波 $c(x, y)$ の位相成分を除去する工程である。位相成分の除去は、光波 $h(x, y)$ を位相成分によって除算して、位相調整再生光波 h/ϕ 、すなわち、 $h/(c/|c|)$ を求めることで実施される。上述の各工程(S1乃至S5)の処理は、各波長 λ^j , $j = 1, \dots, N$ の光について行われる。このことを明示して位相調整再生光波 h/ϕ を表示すると、 h^j/ϕ^j , $j = 1, \dots, N$ となる。

【0065】

30

物体光0^jの再生光波 h^j を求める際に、屈折率の空間変化による光収差を補正するように構成した位相シフト関数 $\exp(i\phi^j(x, y))$ を用いるようにしてもよい。例えば、断層画像撮像の対象である半透明物体6の事前の測定、撮像条件、蓄積された情報等に基づいて、補正用の関数 $\phi^j(x, y)$ を求めておき、位相シフト関数 $\exp(i\phi^j(x, y))$ を再生光波 h^j に乗算すればよい。必要ならば、照明光Q^jの反射光に基づく再生光波 c^j についても、同様の補正を行うことができる。また、物体光の再生光波 h^j と照明光の再生光波 c^j とをそれぞれ求める際に、半透明物体6中の光路を含む全光路における平均的な光の分散特性に基づいて、それぞれ色収差を補正するようにしてもよい。このような分散特性は、半透明物体6の事前の測定、撮像条件、蓄積された情報等に基づいて求めることができ、この色収差の補正により、画像品質を、より高めることができる。

【0066】

40

(光波総和工程S6と光強度計算工程S7)

これらの工程において、再生面 $z = z_p$ におけるホログラムである断層ホログラム H_p および断層画像 S_p が、下式(20)(21)のように生成される。位相成分による位相調整を経て再生面上の画像のみを切り出すことができるので、他の位置からの物体光による擾乱のない、高画質の断層画像を得ることができる。また、座標 z_p を変えながら作成した断層画像を蓄積すると、3次元体積画像 $V = \{S_p(x, y, z_p), P = 1, \dots, m\}$ のデータや3次元体積データ $V_h = \{H_p, P = 1, \dots, m\}$ を得ることができ、これらの体積画像データを使って任意位置や任意方向の断層画像を作成することができる。

【0067】

50

【数 7】

$$H_p(x, y, z_p) = \sum_{j=1}^m \frac{h^j}{c^j / |c^j|} \quad (20)$$

$$S_p(x, y, z_p) = |H_p(x, y, z_p)|^2 \quad (21)$$

【0068】

(光波の重ね合わせについて)

ここで、図 8、図 9 を参照して、各波長 λ_j , $j = 1, \dots, N$ の光波の重ね合わせ (合成) について説明する。図 8 に示すように周波数掃引間隔 (分割幅) f で互いに周波数値が異なる有限個 (N 個) の z 方向に伝搬する光波を重ねる。空間周波数帯域幅 f は、最大波長 λ_{max} と最小波長 λ_{min} とを用いて $f = (1/\lambda_{min} - 1/\lambda_{max}) = (N-1) \Delta f$ となる。最大波長 λ_{max} を対応する最小空間周波数 $f_{min} = 1/\lambda_{max}$ で表わす。ここで、重ね合わせる光波として物質中で照明光の反射波として発生する物体光を考える。すなわち、照明光の周波数を、周波数 f_{min} から掃引間隔 Δf ずつ増加させながら、 N 回、物体光の波面を記録して重ね合わせたとする。有限個の物体光を合成した合成波の強度分布は、図 9 に示すように、パルス間隔 $z = 1/(2 \Delta f)$ 、パルス幅 $z = z/N$ のパルス列となる。空間周波数帯域幅 f が狭い場合は、周波数掃引と波長掃引とが、互いに近似的に線形関係になる。

10

20

【0069】

この物体光の合成波を数式で説明するために、各波長の物体光を定式化する。一般に、 z 軸方向の空間周波数 f の照明光を位置 z_p の物体と位置 z の物体とに照射して反射による物体光が発生したとき、 z 軸と反対の方向に反射する 2 つの物体光の位相差は $4 \pi f (z - z_p)$ になる。一方、照明光と反射光とは、物体光の発生位置で同位相になる。従って、位置 z の物体からの反射光と照明光の位相差は位置 z_p において $4 \pi f (z - z_p)$ となる。物体光が反射光であることにより、その位相変化量は $2 \pi f (z - z_p)$ の 2 倍になる。物体光は照明光を用いて位相調整した後の位置 z の物体中からの反射光と仮定し、また、物体光の発生効率と振幅が一定であると仮定する。すると、合成される各反射光は、下式 (22) のように定式化される。下式 (22) の物体光を重ね合わせた合成波は、等比級数の和の公式を用いて和を求めて変形すると、下式 (23) で与えられる。下式 (24) (25) は、式 (23) の右辺の 2 項を分離したものであり、それぞれ、振幅と位相を表す。下式 (26) (27) は、それぞれパルス間隔 (周期) z 、パルス幅 z を表す。

30

【0070】

【数 8】

$$\exp[i4\pi\{f_{\min} + (j-1)\delta f\}(z - z_p)], \quad j=1, \dots, N \quad (2.2)$$

$$\sum_{j=1}^N \exp[i4\pi\{f_{\min} + (j-1)\delta f\}(z - z_p)] \\ = \frac{\sin[2\pi N \delta f (z - z_p)]}{\sin[2\pi \delta f (z - z_p)]} \exp[i4\pi\left\{f_{\min} + \frac{\Delta f}{2}\right\}(z - z_p)] \quad (2.3)$$

$$\frac{\sin[2\pi N \delta f (z - z_p)]}{\sin[2\pi \delta f (z - z_p)]} \quad (2.4)$$

$$\exp[i4\pi\left\{f_{\min} + \frac{\Delta f}{2}\right\}(z - z_p)] \quad (2.5)$$

$$\Delta z = \frac{1}{2\delta f} \quad (2.6)$$

$$\delta z = \Delta z / N \quad (2.7) \quad 20$$

【0071】

上式(2.4)はディリクレ核と呼ばれる関数であり、この関数の2乗のグラフは、図9に示すように、パルス列を表し、Nを大きくとれば周期的なデルタ関数、くし形関数に近づく。図9は、N=20の場合の例である。上式(2.5)の位相の式において、 $\{f_{\min} + f/2\}$ (これを f_c とする)は、掃引周波数の中央値である。従って、上式(2.3)で表される合成波のホログラムである断層ホログラム H_p から得られる物体光の位相分布は、この周波数 f_c を中央値として持つパルス波の光を用いて記録した物体光の位相分布と等しくなる。言い換えれば、断層ホログラム H_p は、照明光と参照光が周波数の中央値として f_c を有するパルス光であり、かつ、そのパルス光のパルス幅(またはコヒーレント長)が $2/z$ であるという光を用いて記録したホログラムと同等である。この特徴に関して、さらに後述する(図20、図21参照)。

30

【0072】

上式(2.6)のパルス間隔 z は、上式(2.4)の2乗の関数の周期である。上式(2.7)のパルス幅 z は、通常行われるように、上式(2.4)の2乗の関数が最大値をとる点と最初に最小値をとる点の間隔として求めている。パルス幅 z は、断層画像として表される断層の厚さに対応しており、深さ方向に試料(半透明物体6)の構造を分離できる z 方向分解能(縦分解能)を表す指標となる。断層画像は、深さ方向にパルス間隔 z だけ離れた位置 $z = z_p + k z$ (k は整数)に周期的に現れる。従って、ある深さの断層画像を周期的に現れるその他の深さの断層画像と完全に分離して観察する場合には、試料の厚さをパルス間隔 z 未満にすればよい。

40

【0073】

図9について、さらに説明する。パルス(光強度のピーク)は、各波長の光の位相が揃った位置に発生する。逆に、任意の位置で、位相を揃えることにより、その位置にパルスを発生させることができる。位相を揃えてパルスを発生させることは、そのパルスの位置以外の光強度を抑制することを意味する。そこで、この原理に基づいて、 z 軸上の任意の位置 z_p において断層ホログラム H_p が求められる。位相を合わせる手段として、物体光 O が発生する位置における照明光 Q の位相情報が用いられる。これにより、他の位置で発生した物体光による擾乱を除くことができる。位置 z_p からパルス間隔 z ずつ離れた位置に、他のパルスが現れるが、それらのパルス位置における像は焦点の合っていないだけ

50

た像となる。このような物体光の合成波の周期性の結果、パルス間隔 z 内で、パルス幅 z の間隔 $z_{(P+1)} - z_P = z$ で、断層ホログラム $H_P(x, y, z_P)$, $P = 1, \dots, m$ を取得すると、この場合 $m = N$ であり、この 1 周期分の断層ホログラム H_P によって、記録されたホログラムに含まれる全空間の断層画像が得られる。

【0074】

さらに述べると、空間を伝搬する平面波パルスレーザー光または球面波パルスレーザー光は波長の異なる多数の平面波または球面波に展開できる。逆に、波長の異なる多数の平面波または球面波の重ね合わせによって空間伝搬するパルスレーザー光を合成することができる。そこで、上述のように、ある平面上で位相が同期した多種波長の光を重ね合わせると、その平面上で光強度がピークになるような周期的なパルス波が形成される。このようなピークを生成する操作により、特定の断層に注目した断層画像が得られる。パルスの空間周期であるパルス間隔 z は $z = 1 / (2f)$ であり、周波数掃引間隔(分割幅) f が狭いほど広くなる。また、パルス幅 z は、 $z = z / N$ であり、異波長光波の数 N が多いほど、狭くなる。パルス幅 z は、半透明物体 6 の深さ方向における断層画像の厚さに相当すると考えることができる。厚さが薄いほど、深さ方向について高分解能となる。波長可変レーザー光を用いて多種波長のホログラムを記録することにより、多種波長再生光の計算機合成によってホログラムからパルス幅 z で切り取られた断層画像が再生される。

10

【0075】

上述したように、パルス波の分解と合成という相補的な考えに基づいて、例えば、パルス幅(コヒーレント長)が $2z$ のパルス光からなる参照光 R, L 、および照明光 Q を用いて、反射光である物体光 O を取得することにより、縦方向の測定精度が z の断層画像 S_P が得られる。測定精度がパルス幅 $2z$ の半分になるのは、ある物体の長さを巻き尺で測定する場合、その物体の一端に巻き尺の端を固定し、その物体の他端まで行って折り返すことにより物体の 2 倍の長さを測定し、その測定値の半分の長さを物体の長さとして求めると、測定精度は往復しない場合の 2 倍に向上することに例えられる。これは、2 倍に拡大された物体の両端間の長さの測定値の半分の長さを物体の長さとして求める場合と同じである。いずれにしても、物差しとしてのパルス光による測定精度がパルス幅 $2z$ である場合、往復パルス光(行きは照明光 Q 、帰りは反射光 O)による測定精度は 2 倍に向上して z となる。

20

30

【0076】

(画像の高分解能化)

図 10、図 11(a)(b) は画像の横方向の分解能の高分解能化、すなわち、断層画像の面内分解能の向上について示す。この高分解能化は、複素振幅インラインホログラム J_{OL}^j, J_{QL}^j のサンプリング間隔を細分化して実質的にサンプル数を増やすことで実現される。上述した複素振幅インラインホログラム J_{OL}^j, J_{QL}^j は、球面波参照光 R, L を用いて、また、結像レンズを用いることなく求められている。従って、空間サンプリング間隔を細分化して光波長程度まで小さくするように画像を拡大しても歪みは発生しない。そこで、図 10 に示すように、この高分解能化の処理工程は、実質的に画素数を増やす画素数増大工程(S11)と、空間変調工程(S12)と、変換関数生成工程(S13)と、平面波展開工程(S14)と、を備えている。これらの工程(S11乃至S14)は、図 1 に示した光波計算工程(S4)に対する分解能についての改良版になっている。

40

【0077】

画素数増大工程(S11)では、図 11(a)(b) に示すように、受光素子 4 の画素ピッチ d に対応する空間サンプリング間隔 d を有する複素振幅インラインホログラム J_{OL}^j, J_{QL}^j に対して、空間サンプリング間隔 d を細分化して空間サンプリング間隔とする。その後、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす。データ補間の方法として、画像処理における周知の 3 次式によるデータ補間や sinc 関数によるデータ補間を用いることができる。データ補間とし

50

て sinc 補間を用いれば、3次式を用いた補間に比べて数値計算に時間がかかるが、より正確な結果を得ることができる。複素振幅インラインホログラム J^j_{OL} , J^j_{QL} に対してデータ補間によって画素数を増やした結果を複素振幅インラインホログラム K^j_{OL} , K^j_{QL} と表すことにする。なお、受光素子4の画素ピッチ d は、画素の配列方向 (x, y 方向) で互いに異なってよく、空間サンプリング間隔も画素の配列方向で互いに異なるものとするができる。

【0078】

空間変調工程 (S12) では、複素振幅インラインホログラム K^j_{OL} , K^j_{QL} に対し、インライン球面波参照光 L^j の予め求めた位相 ϕ^j_L を用いて空間ヘテロダイン変調を行う。これにより、インライン球面波参照光 L^j 成分を除去してホログラム面 (受光素子4の受光面、 $z=0$) における複素振幅インラインホログラム g^j , b^j を生成する。

10

【0079】

変換関数生成工程 (S13) では、複素振幅インラインホログラム g^j , b^j をフーリエ変換した結果である変換関数 G^j , B^j を求める。平面波展開工程 (S14) では、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 G^j , B^j を用いて物体光 O^j と照明光 Q^j とを平面波展開し、再生光波 h^j , c^j を生成する。これらの再生光波 h^j , c^j を用いて再生される画像は、分解能が d/λ 倍に高められた画像であり、歪みなしで倍率 d/λ 倍に拡大された像を得ることができる。画像の大きさ (絶対寸法) は、画素ピッチ d を物差しとして計測される。

20

【0080】

(画像再生の高速化)

図12(a)(b)(c)、図13(a)(b)、図14は、断層画像生成方法において計算量を削減できる高速化処理について示す。上述のように、複素振幅インラインホログラム J^j_{OL} , J^j_{QL} から高分解能な再生光を再生することができるので、平面波展開を用いて高分解能画像を再生するために、空間サンプリング間隔を光波長程度まで狭くする。このとき、例えば、高速フーリエ変換 (FFT) を用いて、妥当な計算時間のもとで数値計算が可能となる範囲に、サンプリングデータ数を抑える必要がある。逆に、計算時間の短縮が図られるならば、サンプリングデータ数をさらに増加させることができ、より高分解能で無歪画像を再生することができる。ところで、互いに周波数帯域の異なるデータは、波の重ね合わせの原理によると、互いに足し合わせた状態で計算処理をすることができ、すなわち、異なる周波数帯域に記録されたそれぞれの情報は空間的に重ねても失われずに保存され、このことを利用することにより、周波数帯域の広いホログラムを重ねて広帯域でコンパクトな「微小ホログラム」を作成することができる。また、複素振幅インラインホログラム J^j_{OL} , J^j_{QL} や複素振幅インラインホログラム $g^j(x, y)$, $b^j(x, y)$ は、これらを分割しても、その分割した各領域に画像を再生するための情報を保持している。

30

【0081】

そこで、図12(a)に示すように、例えば、物体光複素振幅インラインホログラム $g^j(x, y)$ を幅 D の数枚の微小ホログラム g^j_i に分割し、図12(b)(c)に示すように、各微小ホログラム g^j_i を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム g^j を生成する。この合成微小ホログラム g^j に対して、上述の式 (15) (17) (19) に基づく計算を行えば、計算時間の短縮が図られる。図13(a)は、幅 D の物体光複素振幅インラインホログラム $g^j(x, y)$ を幅 d の微小ホログラム g_1, g_2, g_3 に分割する様子を示す。この物体光複素振幅インラインホログラム $g^j(x, y)$ は、1枚で再生像60を再生する。このような物体光複素振幅インラインホログラム $g^j(x, y)$ を、図13(b)に示すように、幅 d だけずらしながら重ねたホログラムは、幅 D の周期を有する周期的なホログラムになり、多数の同じ再生像60を幅 D の間隔ごとに再生することができる。計算点数は、重ね合わせた微小ホログラム g^j_i の枚数の逆数分に圧縮される。つまり、 n 枚重ねると、計算量は、 $1/n$ になる。照明光複素振幅インラインホログラム $b^j(x, y)$ についても同様である。

40

50

【 0 0 8 2 】

図 1 4 に示す分割工程 (S 2 1)、合成工程 (S 2 2)、変換関数生成工程 (S 2 3) の全体は、図 1 0 に示した変換関数生成工程 (S 1 3) に対する計算速度についての改良版である。分割工程 (S 2 1) では、物体光複素振幅インラインホログラム g^j を分割して複数の微小ホログラム $g^j_{i_1}$, $i = 1, \dots, n$ を生成し、照明光複素振幅インラインホログラム (b^j) を分割して複数の微小ホログラム $b^j_{i_1}$, $i = 1, \dots, n$ を生成する。合成工程 (S 2 2) では、微小ホログラム $g^j_{i_1}$, $i = 1, \dots, n$ を互いに重ねて合成した合成微小ホログラム g^j を求め、微小ホログラム $b^j_{i_1}$, $i = 1, \dots, n$ を互いに重ねて合成した合成微小ホログラム b^j を求める。変換関数生成工程 (S 2 3) では、合成微小ホログラム g^j , b^j をそれぞれフーリエ変換して変換関数 $G^j(u, v)$, $B^j(u, v)$ を求める。フーリエ変換による変換関数 $G^j(u, v)$, $B^j(u, v)$ を一度求めておけば、任意の距離 $z = z_p$ における光波 $h^j(x, y, z_p)$, $c^j(x, y, z_p)$ は式 (1 7) (1 8) より求められる。

10

【 0 0 8 3 】

このような画像再生方法によると、FFT を用いた数値計算により、自由焦点画像を容易かつ精度良く、高速に再生することができる。微小ホログラム $g^j_{i_1}$, $b^j_{i_1}$ の幅は、複素振幅インラインホログラム $g^j(x, y)$, $b^j(x, y)$ の大きさ (幅 D) や形状とは無関係に再生画像の大きさに合わせて設定することができる。分割の幅が、再生画像の大きさより小さくなると、再生像が隣同士で重なって再生される。従って、例えば、被写体の寸法が 0.5 mm ならば、幅は 0.5 mm より大きな寸法にする。

20

【 0 0 8 4 】

(高分解能化と計算高速化の他の方法)

上記では、図 1 0 の画素数増大工程 (S 1 1)、空間変調工程 (S 1 2) の後に、図 1 4 の分割工程 (S 2 1)、合成工程 (S 2 2)、変換関数生成工程 (S 2 3) を実施する方法を示した。これらの実施順番はこれに限定されるものではなく、例えば、画素数増大工程を合成工程の後に実施するように変更することができる。すなわち、空間変調工程、分割工程、合成工程、画素数増大工程、変換関数生成工程の順番に実施して、 $(J^j_{O_L}, J^j_{Q_L})$ から順番に (g^j, b^j) , $(g^j_{i_1}, b^j_{i_1})$, (g^j, b^j) , (K^j, K^j) , (G^j, B^j) を生成することができる。ここで、 (K^j, K^j) は、 (g^j, b^j) の画素数を実質的に増大したホログラムである。

30

【 0 0 8 5 】

(ホログラフィック断層画像用のデータ取得方法)

図 1 5 乃至図 1 8 は、一実施形態に係るホログラフィック断層画像用のデータ取得方法を示す。図 1 5 に示すように、このデータ取得方法は、照明光 Q 、参照光 R 、およびインライン参照光 L の波長を変えた光 Q^j , R^j , L^j , $j = 1, \dots, N$ を用いて、波長掃引ループ $L P_s - L P_e$ を実行する。波長掃引ループ $L P_s - L P_e$ の中で、各波長毎に、物体光のホログラム $I^j_{O_R}$ を記録する工程 (# 1)、照明光のホログラム $I^j_{Q_R}$ を記録する工程 (# 2)、参照光をオフアクシスホログラム $I^j_{L_R}$ に記録する工程 (# 3) を、実行する。工程 (# 1) では、照明光 Q^j により物体を照明し、その物体から放たれる物体光 O^j を参照光 R^j を用いてホログラム $I^j_{O_R}$ に記録する。工程 (# 2) では、参照光 R^j を用いて照明光 Q^j をホログラム $I^j_{Q_R}$ に記録する。工程 (# 3) では、インライン参照光 L^j を用いて参照光 R^j をオフアクシスホログラム $I^j_{L_R}$ に記録する。各波長毎のホログラム $I^j_{O_R}$, $I^j_{Q_R}$, $I^j_{L_R}$, $j = 1, \dots, N$ のデータがホログラフィック断層画像用として取得される。

40

【 0 0 8 6 】

図 1 6 は、上述の図 1 5 に示したデータ取得方法の変形例を示す。この変形例によるデータ取得方法は、上述の工程 (# 1) と工程 (# 2) に替えて、これらの工程を同時に実行する工程 (# 1 2) を備えている。すなわち、工程 (# 1 2) では、物体の手前に透過鏡を配置し、透過鏡を通して照明光 Q^j により物体を照射し、透過鏡を透過した物体光 O^j と、透過鏡によって反射された照明光 Q^j とが、1 枚の共通ホログラム $I^j_{O_Q_R}$ に同

50

時に記録される。物体光 O^j のホログラム $I^j_{O_R}$ のデータと照明光 Q^j のホログラム $I^j_{Q_R}$ のデータは、後処理によって共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ から互いに分離される。

【0087】

図17は、共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ を記録する際に、受光素子4が受光する物体光 O と照明光 Q の両者の光強度を光の偏光を用いて調節することについて示す。半透明物体6から放たれる物体光 O は一般に広い指向性を持ち、また、発生効率が低いので、受光素子4に到達する物体光 O の強度は照明光 Q に比べて小さくなる。透明度の高い試料を記録する場合には、物体の内部から反射して来る物体光 O はさらに弱くなる。このような弱い物体光 O を照明光 Q と同時に記録するためには、受光素子4に到達する照明光 Q を大幅に減衰させて物体光 O と同じ程度になるまで光強度を小さくする必要がある。

10

【0088】

そこで、照明光 Q を方向 P_q に偏光させ、参照光 R を方向 P_r に偏光させ、受光素子4に入射する照明光 Q と参照光 R とを互いに直交する偏光状態とする。受光素子4の前方には、偏光板 PP を配置する。共通ホログラム $I_{O_{Q_R}}$ の記録は、物体光 O と照明光 Q の反射光とを偏光板 PP を透過させることによって照明光 Q の反射光を減衰させた状態で行う。偏光板 PP は方向 P_p に偏光した光を透過させるものとする。偏光板 PP の配置した位置において、方向 P_p と照明光 Q の偏光の方向 P_q との角度を直角に近づけることにより、参照光 R は減衰させずに、照明光 Q だけを大きく減衰させることができる。また、物体光 O は、その発生時にランダムな偏光状態になると考えられるので、偏光板 PP の影響を受けないと考えられる。参照光 R は、本来、独立にその強度を調整できる。従って、参照光 R と物体光 O に対して照明光 Q の強度を適切に調整した状態の光を、受光素子4に入射させることができる。このような偏光と偏光板 PP とを用いるデータ取得方法により、物体光 O の光強度を保ちながら、受光素子4のダイナミックレンジを確保することができ、鮮明なホログラムを記録することができる。

20

【0089】

図18は、共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ を取得し、その共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ から物体光 O^j のホログラム $I^j_{O_R}$ のデータと照明光 Q^j のホログラム $I^j_{Q_R}$ のデータとを分離して取得するデータ取得方法を示す。共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ は、例えば、カバーガラス61を半透明物体6の表面に配置し、カバーガラス61の奥方で集光する光を照明光 Q として用いて取得される。カバーガラス61は、透過鏡として用いられる。照明光 Q は、 z 軸方向に伝搬し、一部はカバーガラス61の表面で反射して照明光 Q' となり、残りの照明光 Q は半透明物体6の内部に侵入し、カバーガラス61の表面位置 $z = z_m$ から距離 F の位置 $z = z_m + F$ で集光し、その後、発散しながら物体6の内部を伝搬する。内部の照明光 Q は、物体6の各位置で反射されて物体光 O となる。図中の物体6中の2つの三角領域では、互いに逆向きに伝搬する照明光 Q と物体光 O とが存在する。位置 $z = 0$ に配置した受光素子に伝搬してきた照明光 Q' と物体光 O とは、参照光との干渉によって、共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ として記録される。

30

【0090】

共通ホログラム $I^j_{O_{Q_R}}$ には、位置 $z = z_m - F$ で集光する反射による照明光 Q' と、位置 $z = z_m - F$ で広く分散している物体光 O とが重なって記録されている。そこで、共通ホログラム $I_{O_{Q_R}}$ から、位置 $z = z_m - F$ において再生光を生成することにより、その再生光を点状に集まった照明光 Q' とそれ以外の広がった物体光 O とに分離することができる。分離した照明光 Q' と物体光 O とを用いて、照明光 Q' のホログラム I_{Q_R} のデータと物体光 O のホログラム I_{O_R} のデータとを取得できる。点状となった照明光 Q' を位置 $z = z_m$ まで伝搬させ、さらにカバーガラス61を通過させ、物体6中に伝搬させると、カバーガラス61の表面における反射による照明光 Q' 、および、物体6の内部に伝搬する照明光 Q を計算できる。その表面の反射率を ρ とすると、照明光 Q が、 $Q = Q' / \rho$ により求まる。このようにして、照明光 Q' のデータから、照明光 Q の情報、すなわち、物体光 O が生成された位置における内部の照明光 Q の情報が得られる。物体内部の照明光 Q のデータは、物体光 O の位相調整に用いられる。

40

50

【0091】

(一般化したホログラフィック断層画像生成方法)

図19、図20、図21は、一般化したホログラフィック断層画像生成方法を示す。図19に示すように、入力工程(#100)において、所定のホログラムデータが与えられ、次の生成工程(#200)において、与えられたデータを用いて断層ホログラム H_p を求め、その断層ホログラム H_p を用いて特定の再生面 $z = z_p$ における断層画像 $S_p = |H_p|^2$ を生成する。工程(#100)では、互いにコヒーレントな照明光 Q 、および参照光 R の波長を変えた光 $Q^j, R^j, j = 1, \dots, N$ を用いて、照明光 Q^j により物体を照明し、参照光 R^j を用いて記録した、物体から放たれる物体光 O^j のホログラム I^j_{OR} と照明光 Q^j のホログラム I^j_{QR} と、が各波長 $\lambda^j, j = 1, \dots, N$ 毎に与えられる。

10

【0092】

工程(#200)では、物体光 O^j が発生する位置における物体光 O^j の位相と照明光 Q^j の位相とが同じであることに基づいて、ホログラム $I^j_{OR}, I^j_{QR}, \lambda^j, j = 1, \dots, N$ を用いて、特定の再生面 $z = z_p$ における物体光 $O^j, j = 1, \dots, N$ の加算によるホログラムである断層ホログラム H_p が求められる。この断層ホログラム H_p は、次の基本原理に基づく。物体光 O^j は、物体内部の各点で生じる反射光が重なり合った光であり、物体光 O^j を形成する各反射光の位相は、その反射光が発生する位置において、その反射光を生成する照明光 Q^j と同位相になる。求められた断層ホログラム H_p を用いて、特定の再生面 $z = z_p$ における断層画像 $S_p = |H_p|^2$ が生成される。

20

【0093】

図20は、上述の図19に示した断層画像生成方法の変形例を示す。この断層画像生成方法は、断層ホログラム H_p を生成した工程(#200)の後に、断層ホログラム H_p を用いて、再生面 $z = z_p$ から離れた近傍位置における近傍ホログラム H_{pd} を求めて近傍断層画像 $S_{pd} = |H_{pd}|^2$ を生成する工程(#300)を実行する。近傍ホログラム H_{pd} は、特定の再生面 $z = z_p$ から離れた、異なる波長 $\lambda^j, j = 1, \dots, N$ を有する光波を重ね合わせたときに現れるパルス列のパルスの幅 Δz 内の近傍再生面 $z = z_p + \Delta z, \Delta z < \lambda^j$ におけるホログラムである。パルス幅 Δz については、式(27)参照。

【0094】

断層ホログラム H_p は、上述の光波の重ね合わせの式(23)に関連して述べたように、照明光と参照光が掃引周波数の中央値 f_c の周波数を持つパルス光であり、かつ、そのパルス光のパルス幅(コヒーレント長)が $2\Delta z$ である、という光を用いて記録したホログラムと同等である。断層ホログラム H_p がこのような性質を有するホログラムであるので、断層ホログラム H_p を用いて、再生面 $z = z_p$ の前後におけるホログラムである近傍ホログラム H_{pd} を導出できる。近傍ホログラム H_{pd} は、上述の図1に示した波長掃引ループ $LPS - LPE (S2 \sim S5)$ や光波総和工程 $S6$ を行うことなく、従って、位相調整工程 $S5$ を行うことなく、導出することができる。近傍ホログラム H_{pd} の導出は、断層ホログラム H_p に、上述の式(15)(17)に示された平面波展開を適用することによって実現される。このようなホログラフィック断層画像生成方法によると、3次元体積データ $V_h = \{H_p, P = 1, \dots, m\}$ や3次元体積画像 $V = \{S_p(x, y, z_p), P = 1, \dots, m\}$ のデータを補間した高密度のデータを、効率的に得ることができる。

30

40

【0095】

図21は、上述の図19に示した断層画像生成方法の他の変形例を示す。この断層画像生成方法は、断層ホログラム H_p を生成した工程(#200)の後に、断層ホログラム H_p を用いて、再生面 $z = z_p$ からパルス列の周期 λ^j の倍数だけ離れた超周期位置における超周期ホログラム H_{pk} を求めて超周期断層画像 $S_{pk} = |H_{pk}|^2$ を生成する工程(#400)を実行する。超周期ホログラム H_{pk} は、特定の再生面 $z = z_p$ から、異なる波長 $\lambda^j, j = 1, \dots, N$ を有する光波を重ね合わせたときに現れるパルス列の周期

50

z の整数倍だけ離れた超周期再生面 $z = z_p + k z$ (k は整数) におけるホログラムである。周期 (パルス間隔) z については、式 (26) 参照。

【0096】

超周期ホログラム $H_{p,k}$ は、上述の近傍ホログラム $H_{p,d}$ の場合と同様に、位相調整工程 S5 や光波総和工程 S6 を行うことなく、断層ホログラム H_p に、上述の式 (15) (17) に示された平面波展開を適用することによって、効率的に導出される。この断層画像生成方法は、半透明物体 6 の厚さが周期 z より厚い場合の記録ホログラムに有効的に適用される。このようなホログラフィック断層画像生成方法によれば、断層ホログラム H_p から超周期ホログラム $H_{p,k}$ を求めて、3次元体積データ $V_h = \{H_p, P = 1, \dots, m\}$ や3次元体積画像 $V = \{S_p(x, y, z_p), P = 1, \dots, m\}$ のデータを周期外に補外した大域データを、効率的に得ることができる。なお、この超周期ホログラム $H_{p,k}$ の導出は、上述の近傍ホログラム $H_{p,d}$ の導出と組み合わせて実行することができる。このホログラフィック断層画像生成方法は、半透明物体だけでなく非透明物体についても適用できる。非透明物体の場合、照明光 Q で照射された表面、すなわち外形の断層画像が得られる。

10

【0097】

(ホログラフィック断層顕微鏡)

図22は本発明の一実施形態に係るホログラフィック断層顕微鏡 (以下、断層顕微鏡1という) を示す。断層顕微鏡1は、波長掃引光を用いて半透明物体6のホログラムを取得するデータ取得部10と、データ取得部10によって取得されたホログラムから断層画像を生成する断層画像生成部11と、を備えている。データ取得部10は、光源2と、光学系3と、受光素子4と、記録部5とを備えている。光源2は、コヒーレント光を放射する波長掃引型のレーザであり、波長を、例えば、一定周波数間隔で変えて、各波長 $\lambda_j, j = 1, \dots, N$ の光を放射する。データ取得部10は、図2乃至図7に例示されている。

20

【0098】

光学系3は、光源2が放射する光から照明光 Q 、オフアクシス球面波参照光 R 、およびインライン球面波参照光 L を構成し、これらの光と照明光 Q によって照明される半透明物体6から放たれる物体光 O とを伝搬させる。受光素子4は、光強度を電気信号に変換して記録部5に出力する。記録部5は、物体光 O とオフアクシス球面波参照光 R との干渉縞 I_{OR} 、照明光 Q とオフアクシス球面波参照光 R との干渉縞 I_{QR} 、および、オフアクシス球面波参照光 R とインライン球面波参照光 L との干渉縞 I_{LR} を、光源2が放射する各波長 $\lambda_j, j = 1, \dots, N$ の光毎に、受光素子4を用いてホログラム $I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j, j = 1, \dots, N$ として記録する。記録用のホログラムのデータは、データベースDT1に保存される。

30

【0099】

断層画像生成部11は、フィルタリング部11aと、インライン化変調部11bと、断層画像計算部11c (12) と、表示部11dと、を備えている。フィルタリング部11aは、記録部5によって記録されたホログラム $I_{OR}^j, I_{QR}^j, I_{LR}^j$ に空間周波数フィルタリングを適用して、それぞれ、物体光 O^j を記録した複素振幅オフアクシスホログラム J_{OR}^j 、照明光 Q^j を記録した複素振幅オフアクシスホログラム J_{QR}^j 、およびオフアクシス球面波参照光 R^j を記録した複素振幅オフアクシスホログラム J_{LR}^j を生成する。

40

【0100】

インライン化変調部11bは、フィルタリング部11aによって生成された各複素振幅オフアクシスホログラム J_{OR}^j, J_{QR}^j のデータを、フィルタリング部11aによって生成された複素振幅オフアクシスホログラム J_{LR}^j のデータでそれぞれ除算することにより、参照光 R^j 成分を除去した複素振幅インラインホログラム J_{OL}^j, J_{QL}^j を生成する。断層画像計算部11c (12) は断層ホログラム H_p と断層画像 S_p を求める (下記に詳述)。表示部11dは、液晶表示装置などのFPDであり、画像を表示する。

【0101】

50

断層画像計算部 1 1 c (1 2) は、光波計算部 1 2 a (1 3) と、位相調整部 1 2 b と、光波総和部 1 2 c と、光強度計算部 1 2 d と、を備えている。光波計算部 1 2 a (1 3) は、特定の再生面 $z = z_p$ において、変調部 1 1 b によって生成された複素振幅インラインホログラム J^j_{oL} 、 J^j_{qL} の各々から、物体光 O^j の再生光波 h^j と、照明光 Q^j の再生光波 c^j と、照明光の再生光波 c^j に含まれる位相成分 $\phi^j = c^j / |c^j|$ とを求める。

【 0 1 0 2 】

位相調整部 1 2 b は、各波長の光毎に物体光の再生光波から位相成分を除去した位相調整再生光波 h^j / ϕ^j を求める。光波総和部 1 2 c は、位相調整再生光波 h^j / ϕ^j を各波長 λ^j 、 $j = 1, \dots, N$ の光の全てについて加算して特定の再生面 $z = z_p$ におけるホログラムである断層ホログラム $H_p = \sum h^j / \phi^j$ を求める。光強度計算部 1 2 d は、断層ホログラム H_p から、再生面 $z = z_p$ における断層画像 $S_p = |H_p|^2$ を生成する。生成された断層画像 S_p は、それらの集合により 3 次元体積画像 ($V = \{ S_p, P = 1, \dots, m \}$) を構成し、3 次元体積画像データとしてデータベース DT 2 に保存される。

10

【 0 1 0 3 】

上述の光波計算部 1 2 a (1 3) は、画素数増大部 1 3 a と、空間変調部 1 3 b と、分割部 1 3 c と、合成部 1 3 d と、平面波展開部 1 3 e と、を備えている。画素数増大部 1 3 a は、複素振幅インラインホログラム J^j_{oL} 、 J^j_{qL} の空間サンプリング間隔を細分化し、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす。空間変調部 1 3 b は、画素数増大部 1 3 a によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム J^j_{oL} 、 J^j_{qL} に対し、インライン球面波参照光 L^j の予め求めた位相 ϕ^j_L を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波参照光 L^j 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム g^j 、 b^j を生成する。

20

【 0 1 0 4 】

分割部 1 3 c は、物体光複素振幅インラインホログラム g^j 、 b^j を複数枚の微小ホログラム g^j_i 、 b^j_i 、 $i = 1, \dots, n$ に分割する。合成部 1 3 d は、分割部 1 3 c によって得られた各微小ホログラム g^j_i 、 b^j_i を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム \tilde{g}^j 、 \tilde{b}^j を生成する。

30

【 0 1 0 5 】

平面波展開部 1 3 e は、空間変調部 1 3 b が生成したホログラム g^j 、 b^j をフーリエ変換し、その結果である変換関数 G^j 、 B^j を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 G^j 、 B^j を用いて物体光 O^j と照明光 Q^j とを平面波展開して、再生光波 h^j 、 c^j を生成する。また、平面波展開部 1 3 e は、合成部 1 3 d によって生成された合成微小ホログラム \tilde{g}^j 、 \tilde{b}^j をフーリエ変換することにより変換関数 G^j 、 B^j を求め、これを用いて上記同様に再生光波 h^j 、 c^j を生成する。

【 0 1 0 6 】

断層顕微鏡 1 は、さらに、データ取得部 1 0 および断層画像生成部 1 1 を制御する制御部 1 4 と、FFT 等の計算用プログラム、制御用データ等を記憶するメモリ 1 5 とを備えている。断層画像生成部 1 1 とその各部は、表示部 1 1 d とデータベース DT 2 を除いて、コンピュータ上で動作するプログラムとそのサブルーティン群を含むソフトウェアを用いて構成されている。

40

【 0 1 0 7 】

(実施例)

図 2 3 乃至図 2 7 はホログラフィック断層顕微鏡、ホログラフィック断層画像生成方法、およびホログラフィック断層画像用のデータ取得方法の実施例を示す。参照光 R 、 L の記録は、図 2、図 3、図 5、図 6 に示した構成の装置を用いて行い、物体光 O の記録には、図 4、図 7 に示した構成の装置を用いた。被写体となる半透明物体 6 として、空気中に配置した USAF テストターゲットを用いた。USAF テストターゲットと受光素子 4 と

50

は、それらの表面が光路上で互いに平行になるように配置されている。光源 2 には L i t t m a n 型波長可変レーザを用い、受光素子 4 には C C D カメラ（有効画素数 4872×3248 p i x e l、画素ピッチ $7.4 \mu\text{m}$ ）を用いた。開口数 0.1 のレンズ（レンズ 39）を通過させた光ビーム（照明光 Q）を U S A F テストターゲットに照射した。レーザ光源 2 の波長を 755 nm から 785 nm まで約 1.5 nm 間隔で掃引して波長の異なる、多種光波長大開口数ホログラムである 20 枚のホログラムを記録した。本実施例の条件では、この波長掃引は、一定周波数間隔で行うものと見做すことができる。これらのホログラムから、異なる光波長の再生物体光 20 枚を生成し、断層画像を求めた。図 23 は、断層顕微鏡 1 を用いて照明光 Q の波長を変えて取得した U S A F テストターゲットの複数枚のホログラムのうちの 1 枚のホログラムの画像を示す。ホログラム上のスポット状の光はターゲット面で反射された光ビームを表す。

10

【0108】

図 24 (a) (b) (c) はそれぞれ、受光面からの距離 40.410 mm 、距離 40.415 mm 、距離 40.420 mm の位置における断層画像を示す。画像は受光素子 4 の前方のハーフミラー HF によって左右反転されている。距離 40.420 mm の位置は U S A F テストターゲットの表面（ターゲット面という）の位置であり、明るい断層画像が得られている。この光はターゲット面における反射によって生じた物体光を表している。ターゲット面から手前に離れると、ターゲットの画像は急速に暗くなる。これらの断層画像には薄い断層内で生じた物体光のみが表示されている。距離 40.410 mm では反射光の発生はない。距離 40.415 mm では縦方向の分解能の範囲内で観測される物体光が僅かに見える。

20

【0109】

図 25 は、ターゲット面の位置を原点として、ターゲット面から手前方向に順次離れる方向において得られた断層画像の平均光強度の距離依存性を示す。すなわち、上述の図 24 (c) の画像の位置が原点であり、図 24 (c) から図 24 (a) に向かう方向に距離が設定されている。点線で示した測定値は、各位置における断層画像の平均光強度を、図 24 (c) の画像の平均光強度で規格化した値である。実線で示した理論値は、 $N = 20$ として、上述の式 (24) の関数を 2 乗して求めた値である。式 (27) で定義したパルス幅 z は、波長 $m i n = 755 \text{ nm}$ 、 $m a x = 785 \text{ nm}$ 、 $N = 20$ 、から $z = 9.4 \mu\text{m}$ と求められる。この値は、図 24 (a) (b) (c) の画像の変化から予想される断層の厚さと符合する。測定値の曲線は、理論値の曲線とよく一致しており、距離が $10 \mu\text{m}$ の近くでゼロ近くまで減少している。平均光強度は原点で最大となっており、物体光が生じる反射面であるターゲット面を含む断層において明るい断層画像が得られることを示している。

30

【0110】

図 26 は受光面からの距離 40.420 mm の位置における断層画像のターゲット中心部の拡大断層画像を示す。一般に、波長の異なる多数の物体光の重ね合せによって、ランダムノイズは減少する。このことに加え、本方法の断層顕微鏡は、結像レンズを用いていないので、無歪の正確な拡大画像を得ることができる。図 26 の断層画像から、断層画像の横分解能は約 $1.3 \mu\text{m}$ と見積もられ、この値は記録ホログラムの開口数 0.29 と光波長 770 nm から求めた理論値 $1.33 \mu\text{m}$ とよく一致する。

40

【0111】

図 27 (a) (b) (c) に示す比較例は、それぞれ図 24 (a) (b) (c) に示した断層画像の再生位置において、図 23 に示した 1 枚のホログラムから再生した画像である。これらの再生画像は非断層画像であり、反射によって生じたすべての物体光が再生されて表示されている。従って、画像再生位置までの距離によらず、いずれの画像も明るい画像となっている。また、リング状のノイズが重畳されている。このようなノイズは、上述の断層画像には見られない。

【0112】

（他の実施例）

50

図28、図29、図30は、上述の実施例におけるUSAFテストターゲットに、さらに2枚のガラスを重ねた場合の実施例を示す。図28(a)(b)に示すように、USAFテストターゲットの上に厚さ0.15mmのカバーガラスを重ね、その上にガラス厚1mmのマイクロメータを裏返して重ねて、断層撮像用の半透明物体6とした。レーザ光源の波長を755nmから約0.9nm間隔で掃引して波長の異なる32枚のホログラムを記録し、ガラス中を伝搬している各波長の再生物体光32枚を使ってガラス中の断層画像を求めた。

【0113】

図29(a)(b)(c)はそれぞれ受光面からの距離39.800mmの位置(マイクロメータの目盛り面の位置)、距離39.875mmの位置、距離39.950mmの位置(USAFパターン面の位置)において再生した断層画像である。図29(a)に示す断層画像には、マイクロメータの画像とカバーガラス表面からの反射光の画像が表示されている。図29(b)に示す断層画像は、カバーガラス中の断層画像であり、その断層面では反射光が生じないので、真黒の断層画像となっている。図29(c)に示す断層画像には、ターゲット面の画像とカバーガラスの下面からの反射光の画像が表示されている。

10

【0114】

図30(a)(b)(c)に示す比較例は、それぞれ図29(a)(b)(c)に示した断層画像の再生位置において、1枚のホログラムから再生した画像である。これらの再生画像は、ターゲット面の画像、マイクロメータの画像、およびカバーガラスの両面で反射された光の画像が重なって表示されており、ターゲットとマイクロメータとを識別することは難しい。

20

【0115】

(さらに他の実施例)

図31、図32、図33は、水分を含んだ半透明のタマネギ鱗葉の断層撮像を取得した実施例を示す。タマネギの鱗葉から、その表面に平行に厚さ約50 μ mにスライスした試料を切り出して水中に浸し、その表面に平行な断層画像を得るため、表面にカバーガラスを配置した。光波長を755nmから785nmまで約0.5nm間隔で変化させながら、64枚のホログラムを記録し、これらのホログラムを使って断層画像を再生した。この光波長の条件から、パルスの周期 z 、および断層画像の縦分解能の指標となるパルス幅 z は、それぞれ $z = 640 \mu\text{m}$ 、 $z = 10 \mu\text{m}$ となる。

30

【0116】

照明光は、カバーガラスを通して照射し、カバーガラスによる照明光の反射光とカバーガラスを透過した物体光とを同時に1枚のホログラムに記録し、後処理によって照明光と物体光を分離してそれぞれの複素振幅ホログラムを得た。媒質中の照明光と物体光の伝搬計算は、ガラス、水、および試料の各々の屈折率を考慮して行った。

【0117】

図31(a)(b)、図32(a)(b)、図33(a)(b)の画像は、それぞれ順番に、受光素子(CCD)からの距離40.39mmを起点として、0.01mm間隔で、距離40.44mmまでの各深さ位置における断層画像を示す。画像中で斜めの白い筋は、照明光を反射して物体光を放射するタマネギ鱗葉の細胞壁の位置を示す。このような断層画像によって断層中にある細胞壁を画像として観察できる。断層画像の再生位置によって、幅20 μ m程度の小さい細胞や幅50 μ m程度の大きな細胞を確認できる。これらの断層画像から、半透明な生体組織の内部構造を知ることができ、断層画像データを集積することにより、生体組織内部の3次元体積画像データが得られる。

40

【0118】

以上の結果は、媒質中で再生した多種光波長物体光の重ね合せにより再生面上の横方向における高分解能な断層画像が作成できることを示している。この断層画像の横分解能は、光波長と開口数から決まる値になる。従って、再生面の位置を変えながら断層画像データを蓄積していくと、被写体内部を3次元表示するために必要な3次元体積画像データを得ることができる。

50

【0119】

上記のように、本発明は、光波長を変化させながら半透明物体の表面および内部または非透明物体の表面で発生する物体光を多数枚のホログラムに記録し、被写体表面や被写体内部の3次元体積画像情報を取得するものである。本発明によると、光波長の異なる条件でホログラムを記録し、記録した各ホログラムから再生した物体光を重ね合わせることで、浮遊物体や点在物体が存在する媒質の断層画像や、半透明物体内部の断層画像を、縦横両方向について高分解能で生成することができる。また、個々の断層画像を重ねて3次元体積画像データを求めることができ、その体積画像データを用いて、任意位置と任意角度の再生面における断面画像を生成することができる。

【0120】

本発明は、生体組織のような体積のある半透明物体を断層撮像する際の対応として、以下のようなことが挙げられる。

(レーザの光波長可変幅による縦分解能の制限への対応)

断層画像の縦分解能はレーザの光波長可変幅によって制限され、高い縦分解能を達成するためには可変幅の広いレーザ光源が必要になる。ところが、所望の広い波長幅に亘って連続的变化できるレーザ光源が存在するとは限らない。しかしながら、本発明によれば、光波長を変えながらホログラムを記録するので、互いに光波長帯の異なる複数のレーザ光源を組み合すことによって可変幅を広げることができる。これにより、高い縦分解能を達成することが可能になる。

【0121】

(被写体の光分散による分解能の低下への対応)

結像レンズを用いた撮像装置では、光分散で生じる色収差のために画質が劣化し分解能が低下する。本発明の一実施形態に係る、結像レンズを使用せずに記録した多種光波長ホログラムから各光波長毎に画像再生する方法および断層顕微鏡によれば、前もって測定した媒質の光分散を用いて、光分散に起因する色収差の問題を回避することができる。また、結像レンズを用いないことにより、無歪の断層画像を得ることができる。

【0122】

(被写体中の光吸収や反射によって生じる影や陰への対応)

被写体中で部分的な光吸収や反射が大きくなると、影や陰が生じ、断層画像の理解が難しくなる。この影や陰の影響は、照明光の方向を変えながら複数枚の断層画像を作成してこれらの画像を合成することによって取り除くことができる。

【0123】

(屈折率の空間変化による光収差への対応)

断層顕微鏡の効果的な利用として、眼球内各部の検査が挙げられる。眼球では角膜や水晶体、ガラス体、および網膜の境界面は球面状形状であり、各部の屈折率は空間的に変化している。このために、平面波展開を適用して物体光再生を行うと屈折率の空間変化によって光収差が生じてしまう。この収差を補正する方法として、補正用レンズを通した照明光を使用する方法、複数枚の理想板レンズ(位相シフト関数)を用いた物体光再生の方法を用いることができる。

【0124】

また、本発明は、結像レンズを用いて、結像レンズを通した照明光 Q と物体光 O とに基づいて断層画像を生成することができる。しかしながら、結像レンズを用いて得られる断層画像はなにがしかの歪みを有する。結像レンズを用いる構成にするか否かは、そのような断層画像における歪みの許容程度と断層画像を使用する目的等に応じて、適宜選択すればよい。光学系における結像レンズの存在を、計算機ホログラフィにより正しく反映させることができれば、より歪みの少ない断層画像を生成することができる。また、本発明において、参照光 R 、 L に球面波光を用いるか否かは、断層画像に許容される誤差の程度と断層画像を使用する目的等に応じて、適宜選択することができる。

【0125】

なお、本発明は、上記構成に限られることなく種々の変形が可能である。例えば、ホロ

10

20

30

40

50

グラム $I_{L,R}^j$ は、ホログラム $I_{Q,R}^j$, $I_{O,R}^j$ とは独立に取得される。この場合、ホログラム $I_{L,R}^j$ は、各波長 j , $j = 1, \dots, N$ の光の全てについて取得することに替えて、代表点となるように選択した複数の波長の光に対して取得し、それらの波長の間のホログラムは、計算機による補間によって生成するようにしてもよい。また、受光素子の受光面に平行ではない傾いた断層画像は、斜めの光波再生面における傾いた断層ホログラム $H_{P'}$ を線形変換によって生成することにより、生成することができる。この場合、平面波展開における空間周波数ベクトル $|k\rangle = (u, v, w)$ を回転したベクトル $|k'\rangle = (u', v', w')$ を求める。次に、上述した式 (15) (16) における G , B を、このベクトル $|k'\rangle$ に対応した G' , B' に変換して平面波展開を行えばよい。この方法により、3次元体積画像 $V = \{S_P, P = 1, \dots, m\}$ を求めることなく、傾いた再生面における断層画像を、直接、生成することができる。しかしながら、光軸に平行な断層面に近づくと誤差が大きい断層画像となる。これに対して、3次元体積画像 V からは、傾けることによる誤差を発生することなく、斜めの断層画像を生成することができる。本発明は、任意の物体に対して適用でき、半透明物体に対してだけでなく、内部が見えない非透明の物体に対しても表面観察用として適用することができる。

【産業上の利用可能性】

【0126】

本発明は、再生医療、医療診断、医療機器、内視鏡、バイオテクノロジー、光工業計測、などの分野で使われる3次元体積画像データの記録と高分解能断層画像の表示に適用することができる。特に、生体組織のような3次元構造を持つ半光透過性被写体の体積画像を細胞レベルの分解能で作成する用途に適用できる。本発明の高分解能なホログラフィック断層顕微鏡は、X線、CT、MRI、超音波診断、従来のOCTに続く、非侵襲・非破壊かつ高速に高分解能3次元断層画像が得られる計測機器であり、医療診断機器に求められる要素を多く備えた新しい生体光計測技術として発展する可能性を有する。生体計測に用いられる近赤外光は生体を透過しやすく、生体に無害である。また、光学限界に達する高分解能化も可能になり、これまでの医療診断機器では不可能であった細胞レベルでの生体組織の微細構造や病変を検出できる。

【0127】

医療用CTの空間分解能が300~600 μ m程度、MRIが800 μ m程度、超音波が200 μ m程度、従来のOCTが15 μ m程度であることを考えると、本断層顕微鏡の空間分解能は突出しており解像度が高い鮮明な光断層イメージングが可能になる。さらに、従来のOCTにおける光の機械的走査が不要であり、波長掃引レーザ光源と高速イメージセンサを用いて低エネルギー照射の下で高速連続撮影が可能である。加えて、必要光学部品の少ない構造の簡単な計測機器にできるので、装置の低価格化と小型化が容易である。したがって、CTやMRIのような高価で大きな設備が必要でなく、チェアサイドですぐに撮像が可能であり、その場で計測結果が画像として描出されるので、患者への説明やインフォームド・コンセントにも活用でき、安価に医療現場に提供できる。

【符号の説明】

【0128】

- 1 ホログラフィック断層顕微鏡
- 10 データ取得装置、データ取得部
- 11 断層画像生成部
 - 11a フィルタリング部
 - 11b インライン化変調部
 - 11c, 12 断層画像計算部
- 13a 画素数増大部
- 13b 空間変調部
- 13c 分割部
- 13d 合成部
- 13e 平面波展開部

10

20

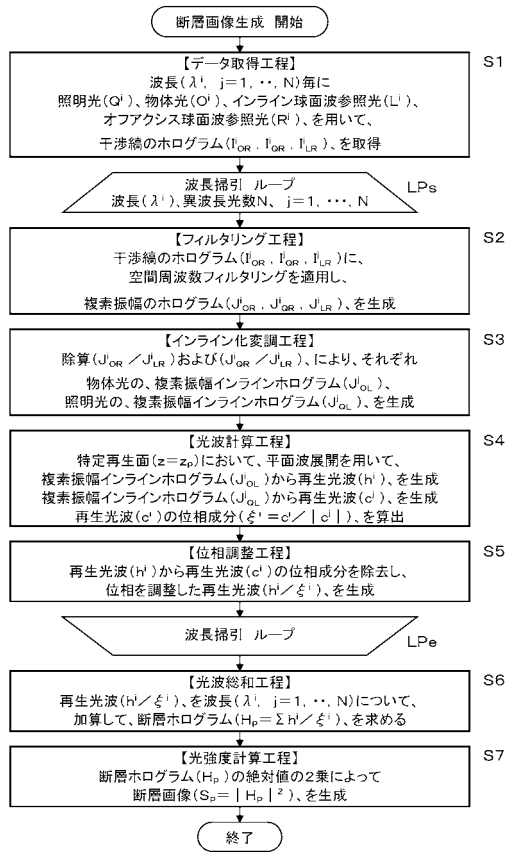
30

40

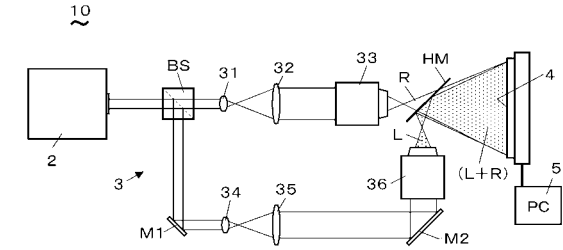
50

2	光源	
3	光学系	
4	受光素子	
5	記録部	
6	物体 (被写体)	
6 1	透過鏡 (カバーガラス)	
6 2	半透明物質	
B ^j	照明光の変換関数	
D T 1	ホログラムデータ	
D T 2	3次元体積画像データ	10
G ^j	物体光の変換関数	
H _P	断層ホログラム	
H _{P d}	近傍ホログラム	
H _{P k}	超周期ホログラム	
I ^j _{L R}	参照光のオフアクシスホログラム	
I ^j _{Q R}	照明光のホログラム	
I ^j _{O R}	物体光のホログラム	
I _{O Q R}	共通ホログラム	
J ^j _{L R}	参照光 R の複素振幅オフアクシスホログラム	
J ^j _{Q R}	照明光 Q の複素振幅ホログラム	20
J ^j _{O R}	物体光 O の複素振幅ホログラム	
J ^j _{Q L}	照明光 Q の複素振幅インラインホログラム	
J ^j _{O L}	物体光 O の複素振幅インラインホログラム	
L, L ^j	インライン参照光	
N	異波長光の数	
O, O ^j	物体光	
P	断層面を識別する整数変数	
P P	偏光板	
Q, Q ^j	照明光	
R, R ^j	参照光	30
S _P	断層画像 (光強度)	
S _{P d}	近傍断層画像 (光強度)	
S _{P k}	超周期断層画像 (光強度)	
V	3次元体積画像	
b ^j	照明光複素振幅インラインホログラム	
c ^j	照明光の再生光波	
g ^j	物体光複素振幅インラインホログラム	
h ^j	物体光の再生光波	
j	掃引波長を識別する整数変数	
Z _P	再生面	40
(u, v, w)	空間周波数 (波数ベクトル)	
Z	パルス周期 (パルス間隔)	
j	照明光の合成微小ホログラム	
j	物体光の合成微小ホログラム	
Z	パルス幅	
j	波長	
j	照明光の再生光波に含まれる位相成分	
j _L	インライン球面波参照光の位相	

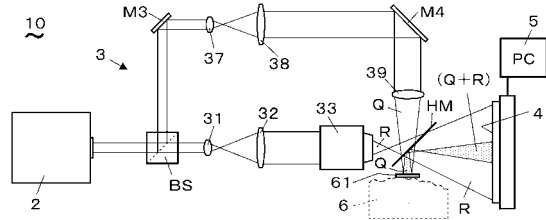
【 図 1 】



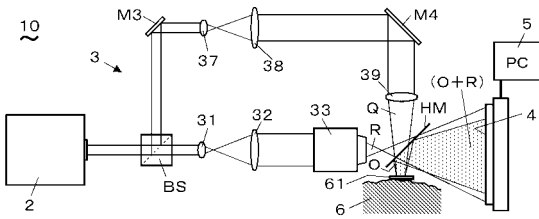
【 図 2 】



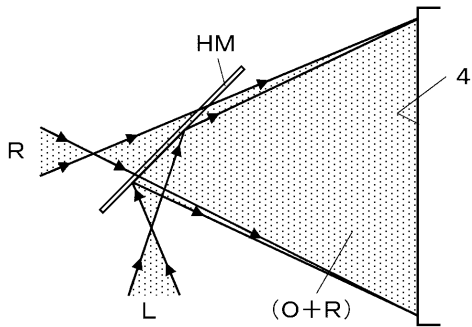
【 図 3 】



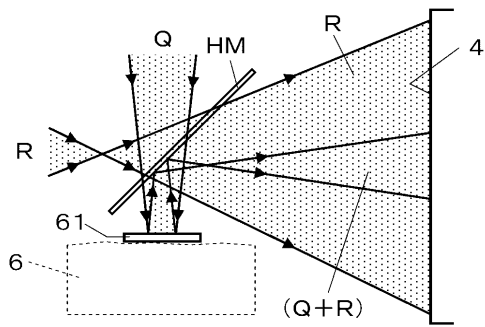
【 図 4 】



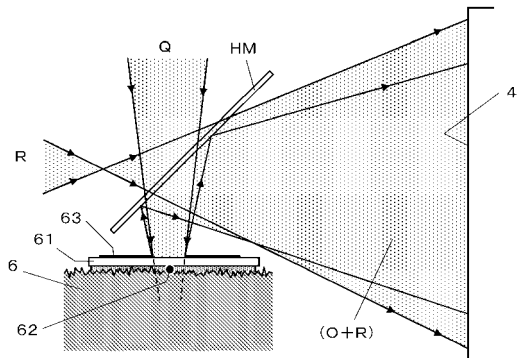
【 図 5 】



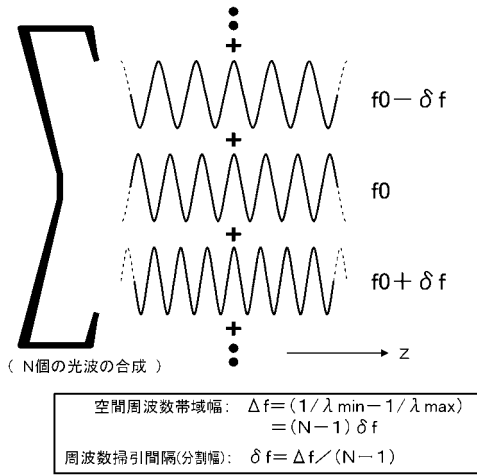
【 図 6 】



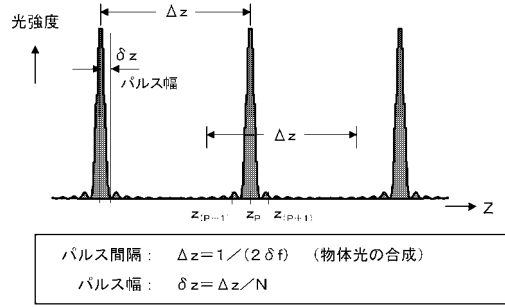
【 図 7 】



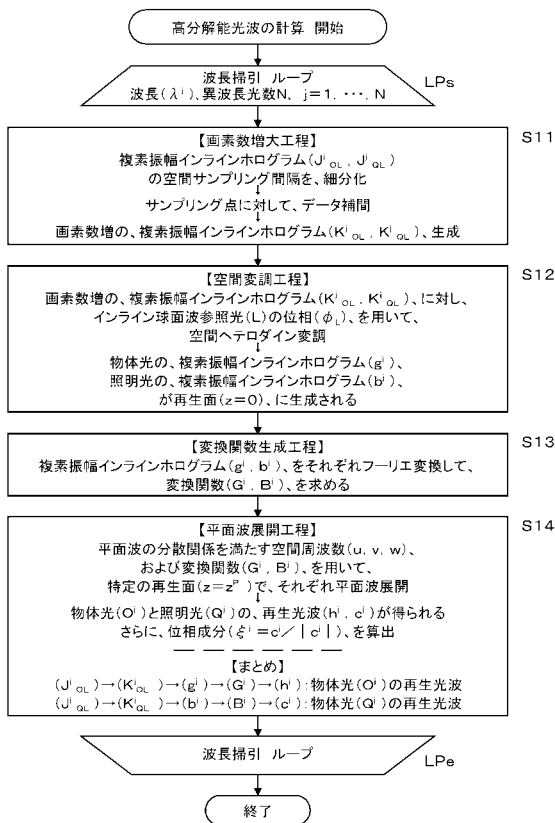
【 図 8 】



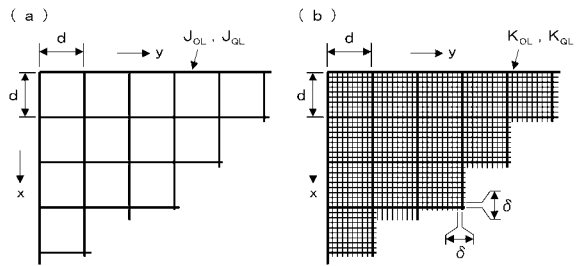
【 図 9 】



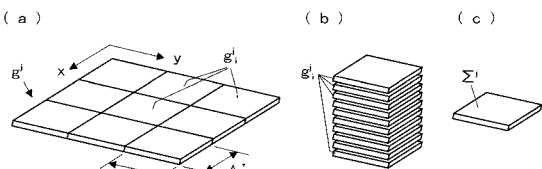
【 図 1 0 】



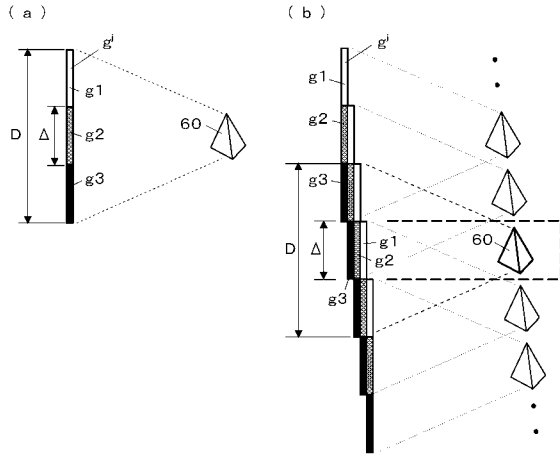
【 図 1 1 】



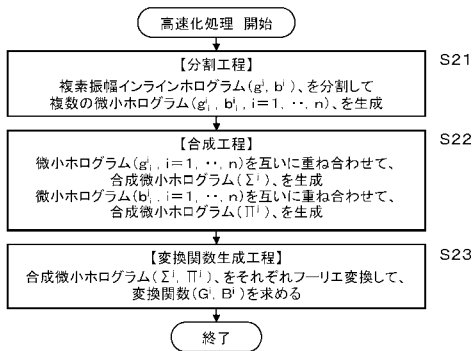
【 図 1 2 】



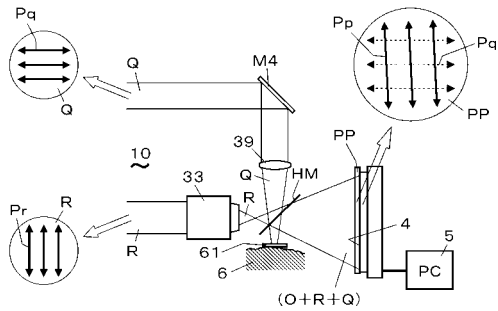
【図 13】



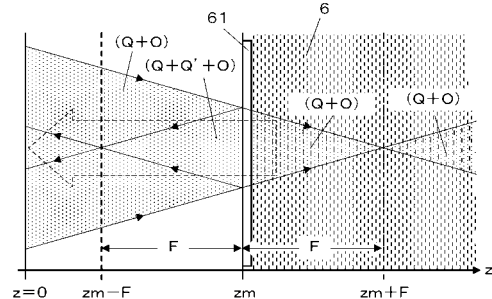
【図 14】



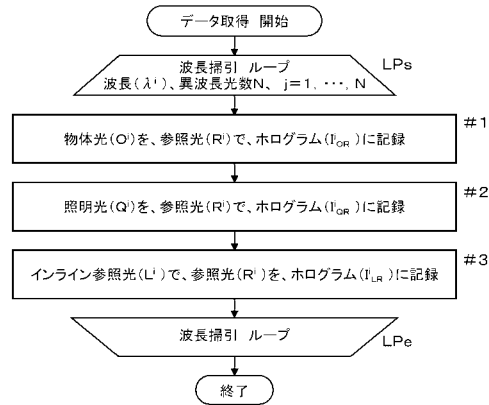
【図 17】



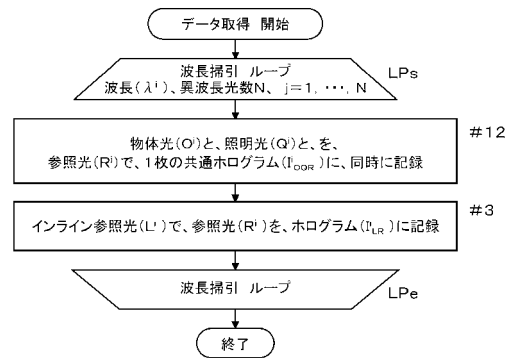
【図 18】



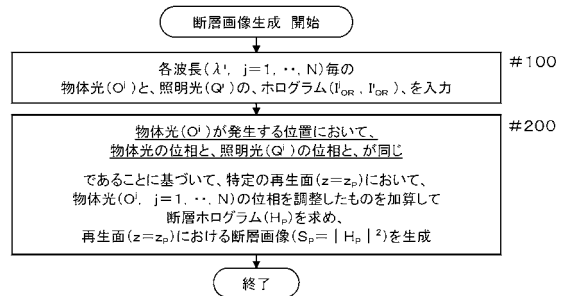
【図 15】



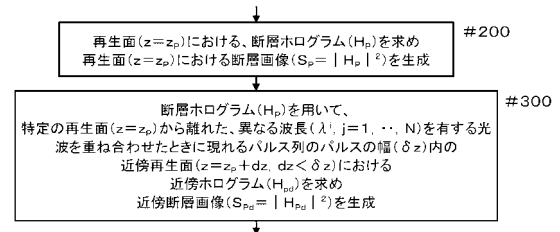
【図 16】



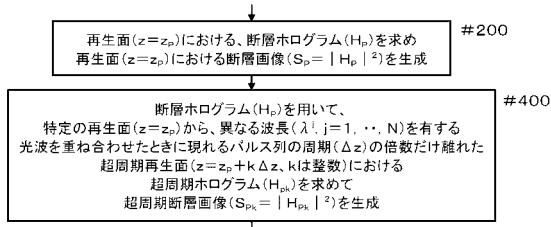
【図 19】



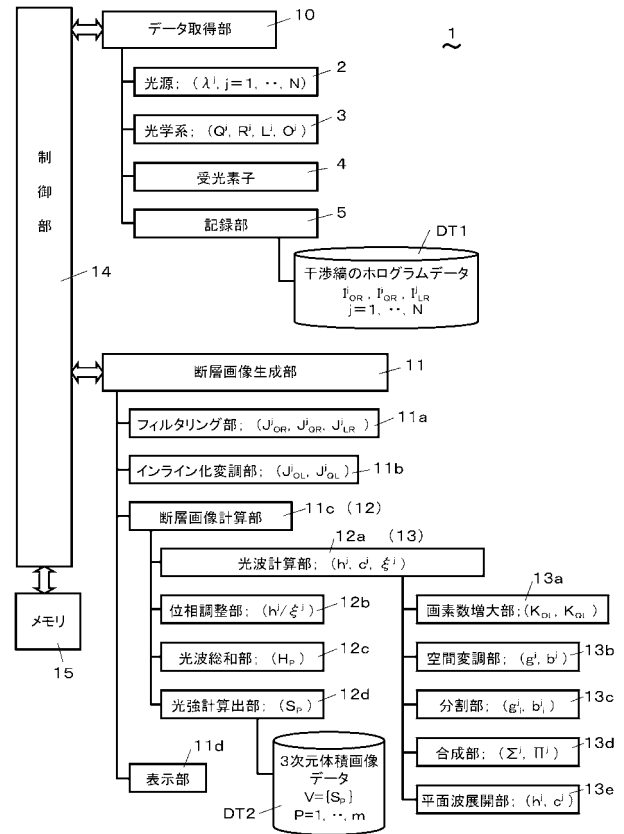
【図 20】



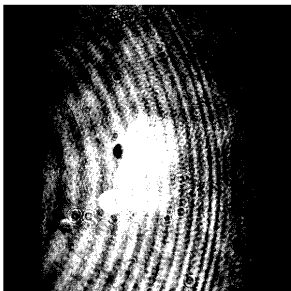
【図 2 1】



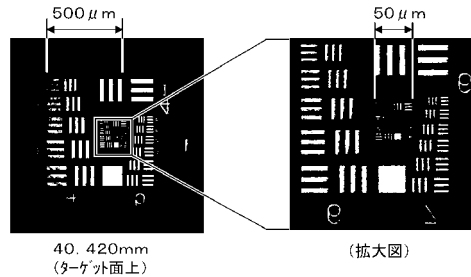
【図 2 2】



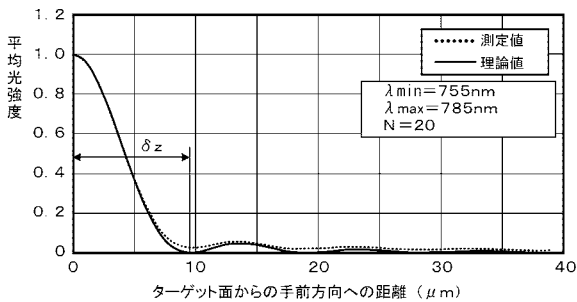
【図 2 3】



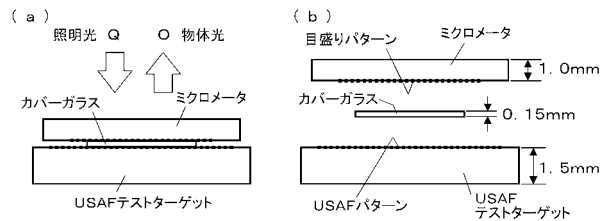
【図 2 6】



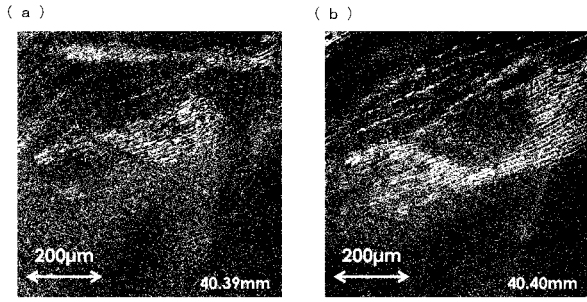
【図 2 5】



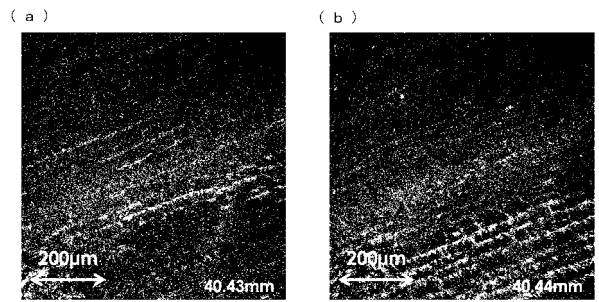
【図 2 8】



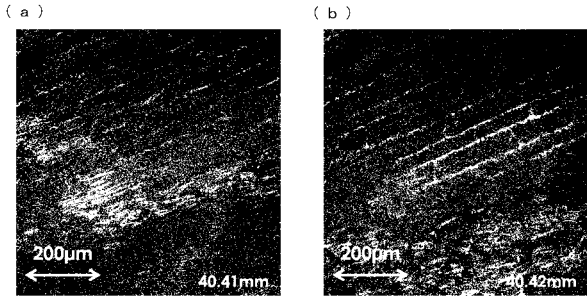
【 図 3 1 】



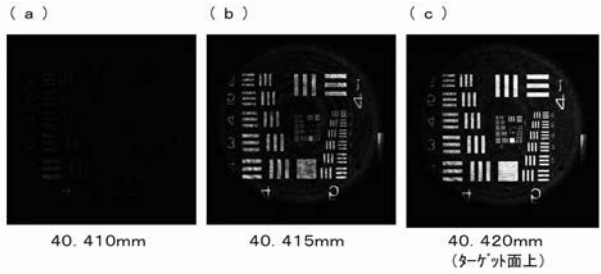
【 図 3 3 】



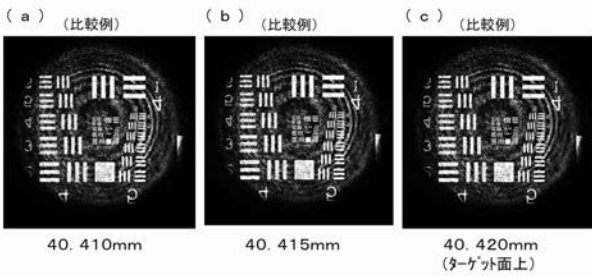
【 図 3 2 】



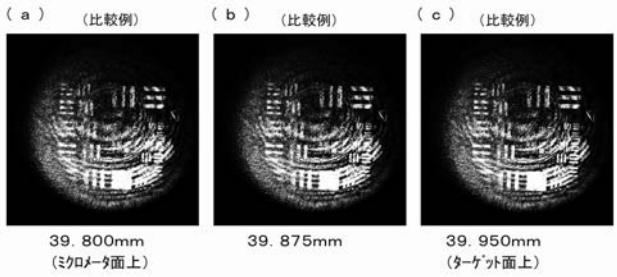
【 図 2 4 】



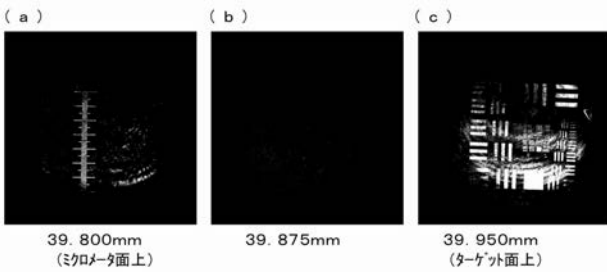
【 図 2 7 】



【 図 3 0 】



【 図 2 9 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2013/077059
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G02B21/06(2006.01)i, G03H1/04(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G02B21/06, G03H1/04 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2013 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2013 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2013 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2012/005315 A1 (Hyogo-Ken), 12 January 2012 (12.01.2012), entire text; all drawings & US 2013/0100241 A1 & EP 2592459 A	1-20
A	JP 08-050795 A (Hamamatsu Photonics Kabushiki Kaisha), 20 February 1996 (20.02.1996), paragraphs [0013] to [0022], [0051], [0052] (Family: none)	1-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 29 October, 2013 (29.10.13)		Date of mailing of the international search report 12 November, 2013 (12.11.13)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 7 7 0 5 9									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G02B21/06(2006.01)i, G03H1/04(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G02B21/06, G03H1/04											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2013年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2013年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2013年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2013年	日本国実用新案登録公報	1996-2013年	日本国登録実用新案公報	1994-2013年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2013年										
日本国実用新案登録公報	1996-2013年										
日本国登録実用新案公報	1994-2013年										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用了用語)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
A	WO 2012/005315 A1 (兵庫県) 2012.01.12, 全文、全図 & US 2013/0100241 A1 & EP 2592459 A	1-20									
A	JP 08-050795 A (浜松ホトニクス株式会社) 1996.02.20, 【0013】 - 【0022】、【0051】、【0052】 (ファミリーなし)	1-20									
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。									
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 29.10.2013		国際調査報告の発送日 12.11.2013									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 薄井 義明	20 3816 電話番号 03-3581-1101 内線 3271								

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

Fターム(参考) 2H052 AA04 AC04 AC09 AC27 AC34 AF21 AF25
2K008 AA06 BB04 FF27 HH12 HH28

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。