

顕微鏡映像のためのカメラブレ補正ソフトウェアの開発

○蟹屋敷祐介[#]

金沢大学 総合技術部情報部門

概要

顕微鏡映像ではカメラの振動が拡大され、撮像では大きなブレとして現れる問題が生じる。そこで撮影後にプログラムによってカメラブレを補正するソフトウェアを開発した。当該ソフトウェアでは、ブロックマッチング法を用いてブレ量を推定し、さらに小数画素精度のブレをパラボラマッチング法で推定する手法を採用している。実装はプログラミング言語の Python によって作成した。実際に開発ソフトウェアを用いて気道上皮線毛の高フレームレート顕微鏡映像に対してカメラブレ補正を行い、線毛運動周波数をより正確に測定可能となることを検証し、ソフトウェアの有用性を確認した。

1. はじめに

医療等の分野では顕微鏡を用いて映像を撮影し、それに基づいた画像解析が行われる[1, 2]。顕微鏡映像ではカメラの振動が拡大され、撮像では大きなブレとして現れる問題が生じる。防振台を利用することで機械的に抑制することができるが、使用環境によっては必ず利用できるとは限らない。そこで撮影後にプログラムによってカメラブレを補正するソフトウェアを開発する。

開発するソフトウェアでは、ブロックマッチング法[3]を用いて整数画素精度の位置ずれ量を推定し、パラボラマッチング法[3]により、さらにサブピクセル精度の位置ずれ量を推定する手法を用いる。

開発ソフトウェアの評価として、気道上皮線毛の高フレームレート顕微鏡映像に対して、実際にカメラブレ補正を行い、補正が正しく行われていることを検証、さらに線毛運動周波数を測定し、正確に測定可能となることを確認する。

2. 開発環境とブレ補正アルゴリズム

まず、開発環境について説明する。表1に開発環境の詳細を示す。カメラブレ補正ソフトウェアは、プログラミング言語の Python を用いて実装した。動画像を入出力のため、画像処理ライブラリの OpenCV[4]を使用している。

表 1. 開発環境

OS	Windows10
開発環境	PyCharm[5], Anaconda 3[6]
プログラミング言語	Python 3.8
ライブラリ	OpenCV 4.0.1

次にカメラブレ補正アルゴリズムについて説明する。処理対象が顕微鏡映像であることから、カメラブレが小さく、撮像対象に激しい動きが含まれないという条件下となるため、比較的簡単なブロックマッチングベースのアルゴリズムを採用している。また、アルゴリズムの主な流れは、先頭フレームを基準と

して、以降のフレームの位置ずれ量を推定し、位置合わせを行うというものである。

まず、映像の先頭フレームの中央から 512×512 画素の基準テンプレートを切り出す。処理画像と基準テンプレートの切り出し例を図1に示す。画像中央の注目領域 (ROI) に評価領域を限定することで、ブロックマッチング処理の高速化を図っている。

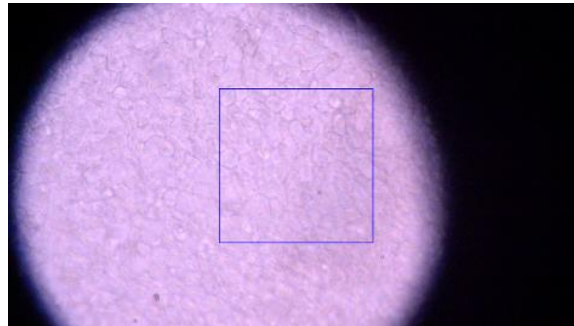


図 1. 入力映像と基準テンプレート

次に、2枚目以降のフレームに対して、切り出した基準テンプレートによるテンプレートマッチングで整数画素精度の位置ずれ量を推定する。評価関数は画素値の2乗誤差とし、評価範囲は $\pm n$ 画素とする。評価関数を式(1)に示す。

$$\arg \min_{i,j} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{M-1} \{I(x+i, y+j) - T(x,y)\}^2 \quad (1)$$

ここで、 $I(x,y)$ が対象フレームの画素値、 $T(x,y)$ が基準テンプレートの画素値、 N, M がテンプレートのサイズ、 i, j が位置ずれ量を表す。評価範囲の n は1フレームあたりの位置ずれ検出可能範囲となり、今回は3に設定した。

位置ずれ量は整数画素単位とは限らない。そのため、パラボラマッチングにより、サブピクセル精度の位置ずれ量を推定する。パラボラマッチングは、整数画素精度の評価関数値に2次の対象関数をフィッティングすることで、サブピクセル精度の最小値位置

を推定する手法である。概要図を図2に、サブピクセル位置の算出式を式(2)に示す。

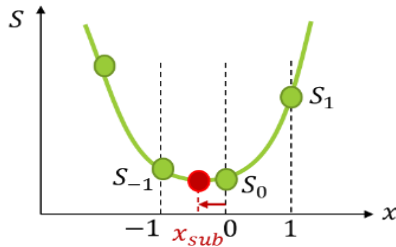


図2. パラボラマッチング

$$x_{sub} = \frac{S_{-1} - S_1}{2 \cdot S_{-1} - 4 \cdot S_0 + 2 \cdot S_1} \quad (2)$$

図2および式(2)において、 S_i が整数画素評価値であり、 x_{sub} が推定値である。得られた推定値により、サブピクセル精度の総合的な位置ずれ量 x_{diff} は、式で得られる。

$$x_{diff} = x_{min} + x_{sub} \quad (3)$$

x_{min} は先に推定された整数画素精度の位置ずれ量である。これを各座標軸方向に行うことで、2次元座標上のサブピクセル位置ずれ量の推定を行う。

サブピクセル位置ずれ量が得られた後、各フレームにずれの補正を適用する。補正はアフィン変換によりサブピクセル精度の平行移動により実現する。サブピクセル位置の画素値はバイリニア補間で算出し、平行移動により新たに生じる画素値はすべてゼロパディングした。

3. 動作検証・評価

3.1 撮影環境とテスト映像

まず評価に用いる映像について説明する。映像は細胞を加熱ステージ(37°C)上に置き、光学顕微鏡(IX73 ORYMPUS)の100倍油浸対物レンズを用いて観察したものである。ハイスピードビデオは、スローモーション機能付きデジタルカメラ(DSC-RX100M6 Sony)を使用し、レンズを顕微鏡接眼レンズに貼り付けて480fpsで記録した。記録された映像ファイルの仕様を表2に示す。

表2. 映像ファイルの仕様

フォーマット	MPEG4, RGB(24 bit)
フレームレート	30 [fps]
フレーム数	1770 [frame]
フレームサイズ	1920×1080 [pixel]

3.2 カメラブレ補正の定量評価

まず定量評価として、第1フレームを基準としたフレーム毎の位置ずれ量を図4に示す。整数画素精度とサブピクセル精度の位置ずれ量をX軸、Y軸それぞれで図示している。図4より、整数補正とサブピクセル補正の位置ずれ量を比較するとほぼ同じ数値となり、1以下の差であることが確認できた。また、整数補正では、グラフの変化が階段状になっているが、サブピクセル補正ではなめらかになっている。補正後の映像を主観的に確認すると、整数補正には細かいブレが生じていた。一方、サブピクセル補正の映像はブレがほぼなくなっていることが確認できた。

次に基準テンプレートより広く評価領域を設定し、先頭フレームと補正後の2乗誤差を測定した。その結果を図5に示す。また、MSEの全フレームの平均値による比較を表3に示す。図5および表3より、補正無しに比べ補正を行った方が、誤差が小さな値となっており、補正が適切に行われていることがわかる。整数補正とサブピクセル補正の比較ではサブピクセル補正がわずかに小さな値になっていることが確認でき、サブピクセル補正がより良好なブレ補正を実現していることが確認できる。

表3. 全フレームのMSE平均値の比較

	MSE 平均値
補正無し	1020.6
整数補正	883.7
サブピクセル補正	877.7

3.3 線毛運動周波数の測定による検証

次に気道上皮の培養線毛細胞を撮影した映像から線毛運動周波数を撮影してカメラブレ補正の効果を検証する。

気道上皮には、侵入した細菌等の異物を粘膜で捕らえ、図3のように線毛が運動することで粘液と共に気道から排出する機能がある。この粘液線毛輸送能は重要な身体機能の一つであり、遺伝的疾患である原発性線毛機能不全症(PCD)ではこの機能が低下するため、線毛運動の観測は疾患の診断上重要である。

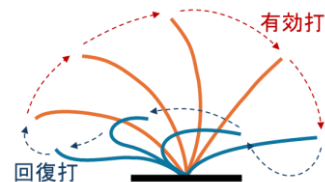


図3. 線毛運動

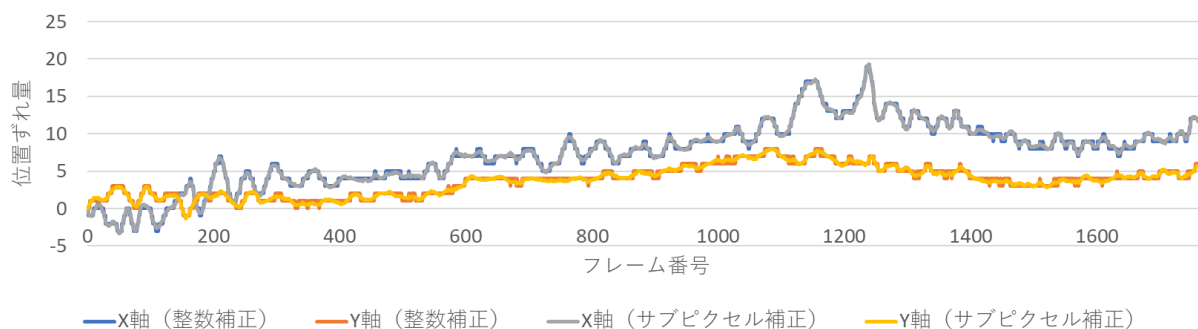


図 4. 推定された位置ずれ量

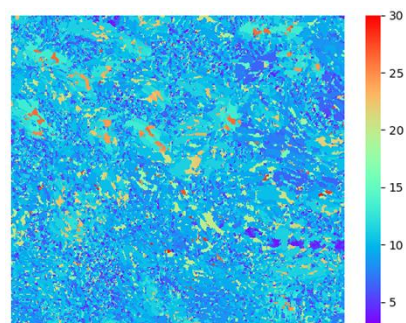


図 5. 先頭フレームとの誤差量

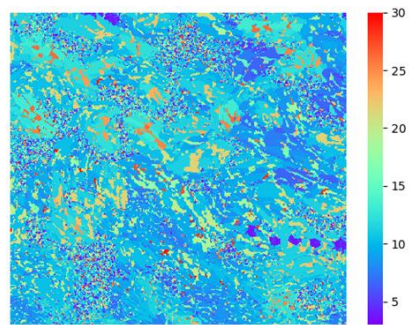
線毛運動周波数の測定は、一般的に時間的な輝度情報の変化により推定することができる[1, 2]。測定の具体的な手順は以下の通りである。

1. カラーをグレースケールに変換
2. 各位置に対して時間軸方向の輝度変化に離散フーリエ変換を適用
3. 線毛の周波数帯域である 3-50 Hz のバンドパスフィルタを適用
4. 最も高いパワースペクトルを持つ周波数をその位置の線毛運動周波数とする

検証として、カメラブレ適用前と適用後の映像に対して線毛周波数の測定を行い比較する。比較結果を図 5 に示す。図 5 より、カメラブレの影響により、誤った線毛周波数の測定を示す小領域の数が減少しており、より正確な測定が可能となったことが確認できる。



(a) ブレ補正なし



(b) ブレ補正あり

図 5. 線毛運動周波数の測定結果の比較

4. まとめ

高フレームレートで撮影する顕微鏡映像を対象にして、ブレを補正するソフトウェアを開発した。

推定されたブレ補正量と基準となる先頭フレームとの誤差の定量的な評価により、適切なカメラブレ補正が行われていることを確認した。また、実際に軌道上線毛運動を撮影した映像から線毛運動周波数を測定し、その有用性を確認した。

今回は顕微鏡映像という限られた条件下を想定して開発を行った。他の使用状況にも対応できるように開発を進める予定である。

謝辞

本ソフトウェアの開発やデータの提供にご協力いただいた金沢大学理工研究域電子情報通信学系の今村幸祐准教授に心より感謝いたします。

参考文献

- [1] Sedaghat M. H., Shahmardan M. M., Norouzi M., Heydari M.: “Effect of Cilia Beat Frequency on
- [2] Mucociliary Clearance,” J Biomed Phys Eng, 6(4), 2016.
- [3] Sylvain B., et. al, “Deep phenotyping, including quantitative ciliary beating parameters, and extensive genotyping in primary ciliary dyskinesia,” 57(4), 237-244, 2020.
- [4] デジタル画像処理委員会、“デジタル画像処理 改訂第二版”、画像情報教育振興協会、2020.
- [5] OpenCV, <https://opencv.org/>
- [6] PyCharm, <https://www.jetbrains.com/pycharm/>
- [7] Anaconda3, <https://www.anaconda.com/>