

生物用電子線トモグラフィの画像再構成問題

岩間 尚文（核融合研, 新分野創成センター）

あと2つの講演の前座

§ 1 電子顕微鏡によるCT（概要）

§ 2 投影角欠損 (Missing Wedge) 問題

§ 3 生物用位相差電顕の特徴（生理研の功績）

§ 4 投影角欠損問題への我々の取り組み

§ 5 まとめ

Appendix 電顕CTの先進的な再構成法研究（review）

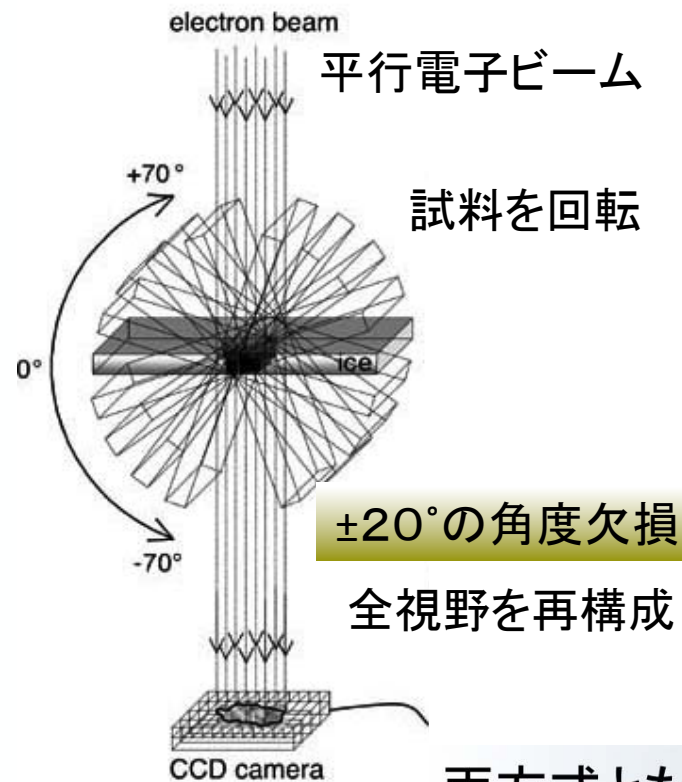
§ 1 電子顕微鏡によるCT (概要)

医用CTに負けずに有力。1960年代に始まり, 1990年代に普及。

(パソコンで3D画像を楽々と計算, 生物医学の強力な武器)

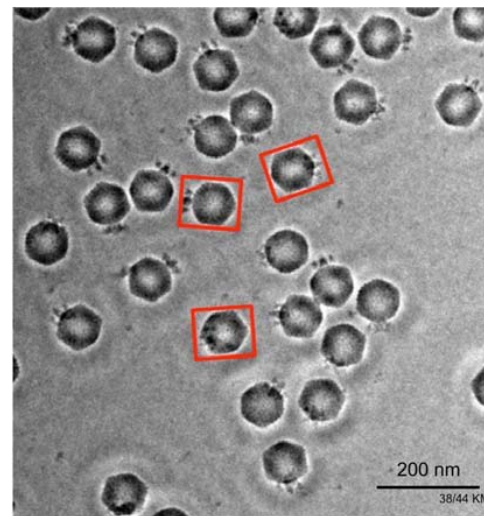
2方式あり

(1) 電子線トモグラフィ (Electron Tomography)



A. Steven et al.

(2) 単粒子解析 (Single Particle Analysis)



K. Murata, ε 15 phage

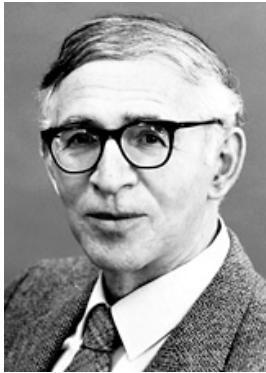
水平固定の電顕
画像から同一粒子
の画像□を切り出す。
(方向の違う投影
画像と同じ)

□を頑張って集め
れば, 角度欠損なし。

1粒子の画像
のみを再構成

両方式とも, 2D平行ビーム投影から3D画像再構成
(それぞれ投影角推定に成功して実現した)

最初の成功(医用CTと並行)

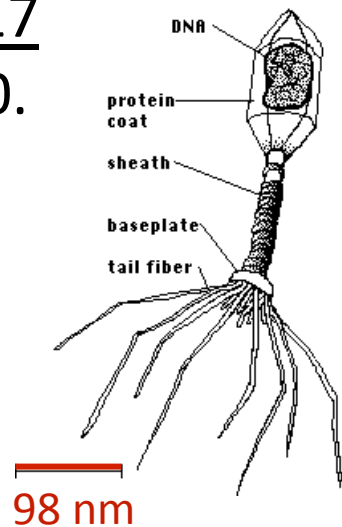


A. Klug
(Cambridge)
Nobel Prize 1982

Theory of A.M. Cormack (1963, 1964)
Medical CT by G.H. Hounsfield (1972)
Nobel Prize 1979

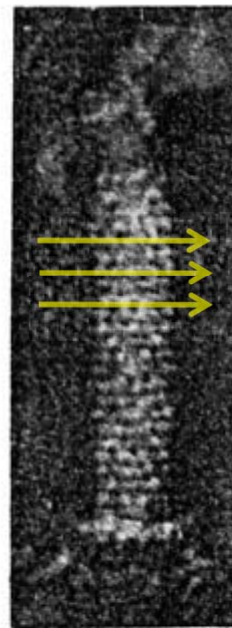
Helical構造を利用して, 1枚の電顕画像
像から多方向の投影を読み取った。
フーリエ断面定理で再構成。

De Rosier & Klug:
Nature, 217
(1968) 130.



透過型電顕画像

bacteriophage T4



scan

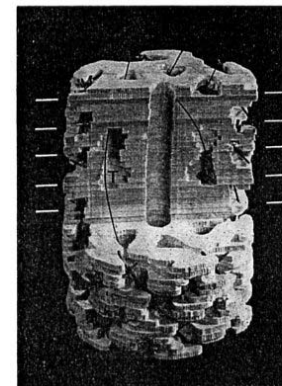
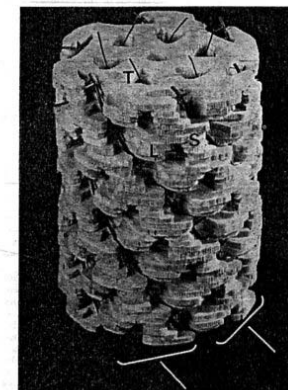
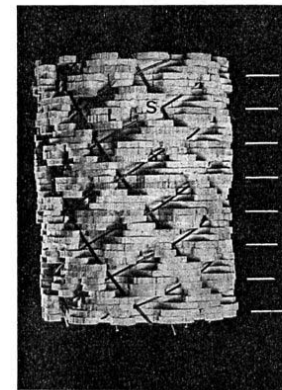


Fig. 5. Model of the phage tail in the extended state. The portion shown is about one-third of the actual length. The model was built from a series of sections in a three dimensional Fourier density map which includes data to spacings of 35 Å. a, Side view. The black wires lying in the prominent helical grooves on the surface serve to mark out the unit cells of the repeating structure. The horizontal lines at the side of the photograph mark the position of the annuli of subunits which can be seen in the electron micrograph in Fig. 1. b, Model tilted forward. The fine black wires T follow the path of the helical tunnels at an inner radius of about 60 Å. c, Same as b, but with part of the front half removed. The helical tunnels T lie between the tail core and the sheath. The six pronounced helical ridges on the surface which run at an angle of about 30° to the particle axis (marked by brackets in a) can be identified with the helical "windings" which have been revealed at the surface by shadowing with metal¹⁴. This identification fixes the absolute hand of this family of helices. The same family of helices can be seen as the stronger of the two sets of oblique lines in the filtered image in Fig. 3, but their apparent hand is reversed there because it is the filtered image corresponding to the far side which is shown.

3D再構成像
(模型で表示)³

電顕CTの標準的な画像再構成法

(1) ART, SIRT (ARTの最小2乗版と言うべきもの)

逆問題一般の基本解法。

そもそも電顕CTのために考案された。

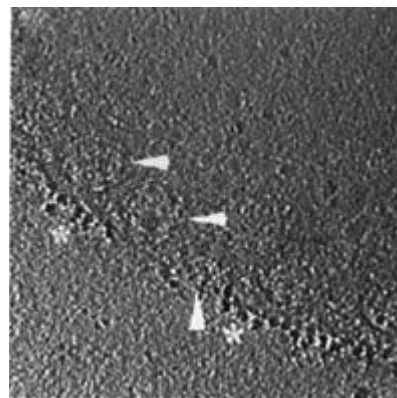
ART: G.T. Herman et al., J. Theoretical Biology, 29 (1970) 471.

SIRT: P. Gilbert, J. Theoretical Biology, 36 (1972) 105.

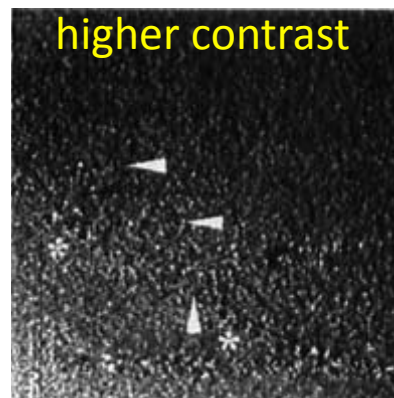
(2) FBP (医用CTの標準解法)

WBP ($\pm 20^\circ$ の投影角欠損を考慮したFBPの改良版)

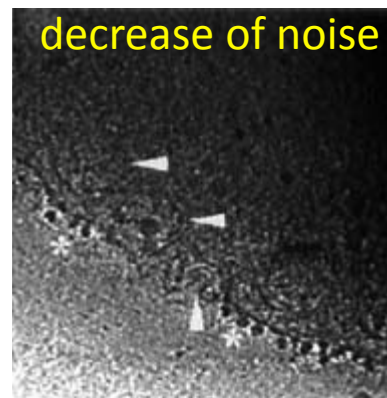
FBP (WBP) < ART < SIRT の順で良い。



WBP



ART



SIRT

Dictyostereum Neucleus
(Slice of Tomogram)

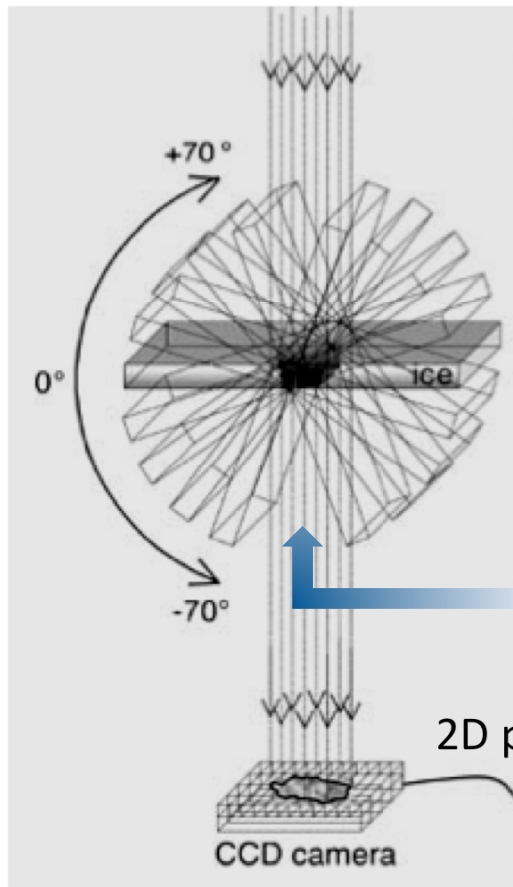
A.P. Leis et al.
IEEE Signal Process. Mag.
23(2006)95.

200nm

§ 2 投影角欠損 (Missing Wedge) 問題

重要な未解決問題：電子線トモグラフィの投影角欠損

parallel electron beam



試料を回転

傾斜が大きくなると電子線に対して厚くなる

(電子が透過できない)

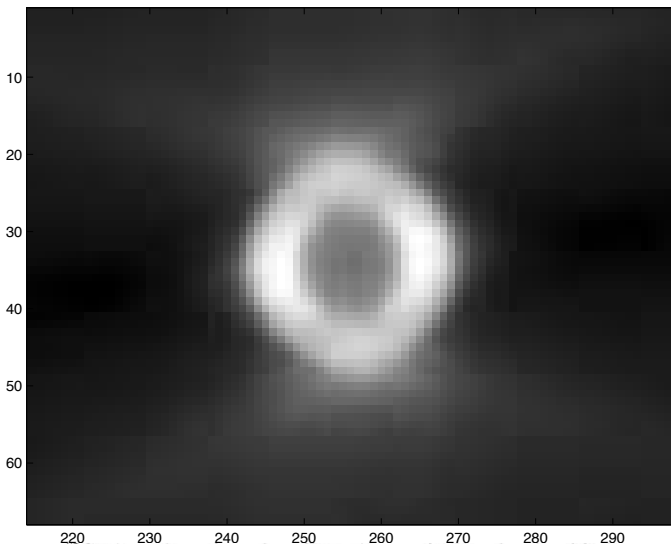
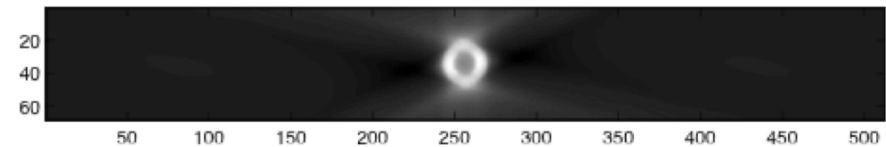
試料に平行な方向に $\pm 20^\circ$ ほど角度欠損

2D projection

2D投影からの3D再構成
(マルチスライスも可能)

再構成画像に、特徴あるArtifact
(水平方向の投影角欠損に起因)

平行電子線 $\downarrow \downarrow \downarrow \downarrow \downarrow \downarrow$ (試料全体に)



円環図形に関する2D-simulation
(SIRTによる再構成, 寺西)

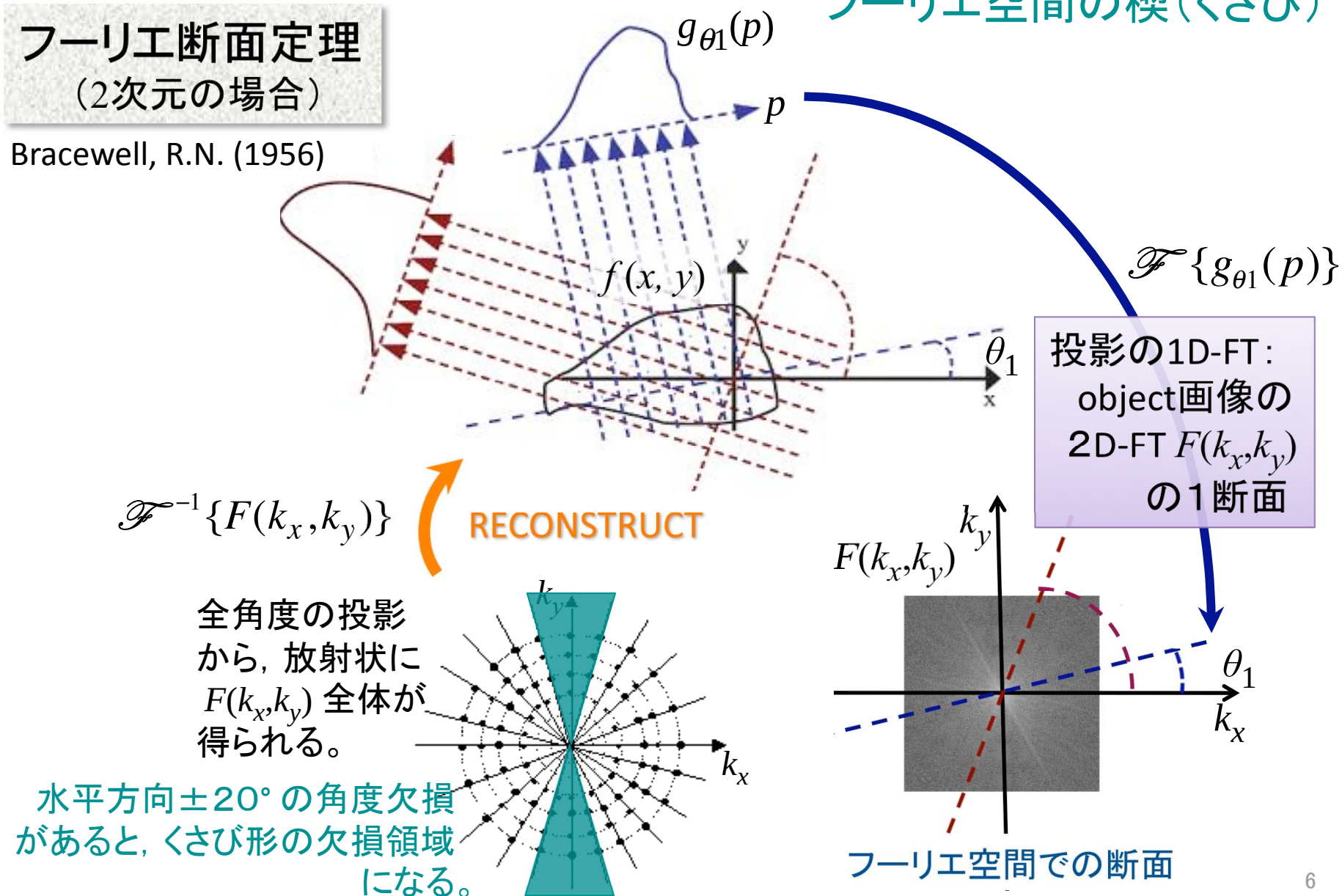
これを計算で修復したい

試料の角度欠損：なぜ Missing Wedge と言うか。

フーリエ空間の楔(くさび)

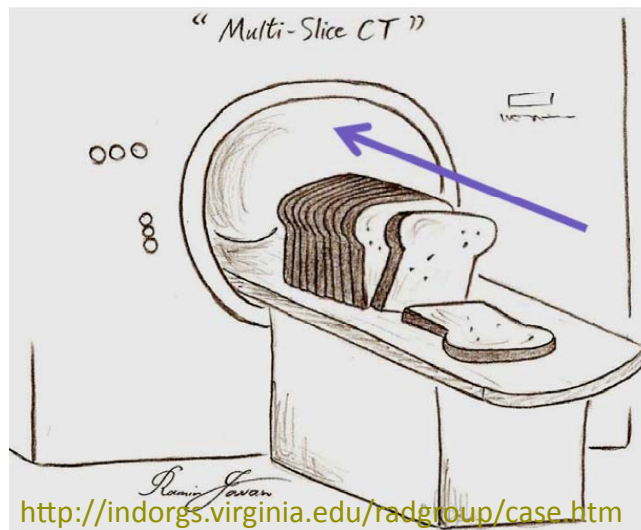
フーリエ断面定理 (2次元の場合)

Bracewell, R.N. (1956)

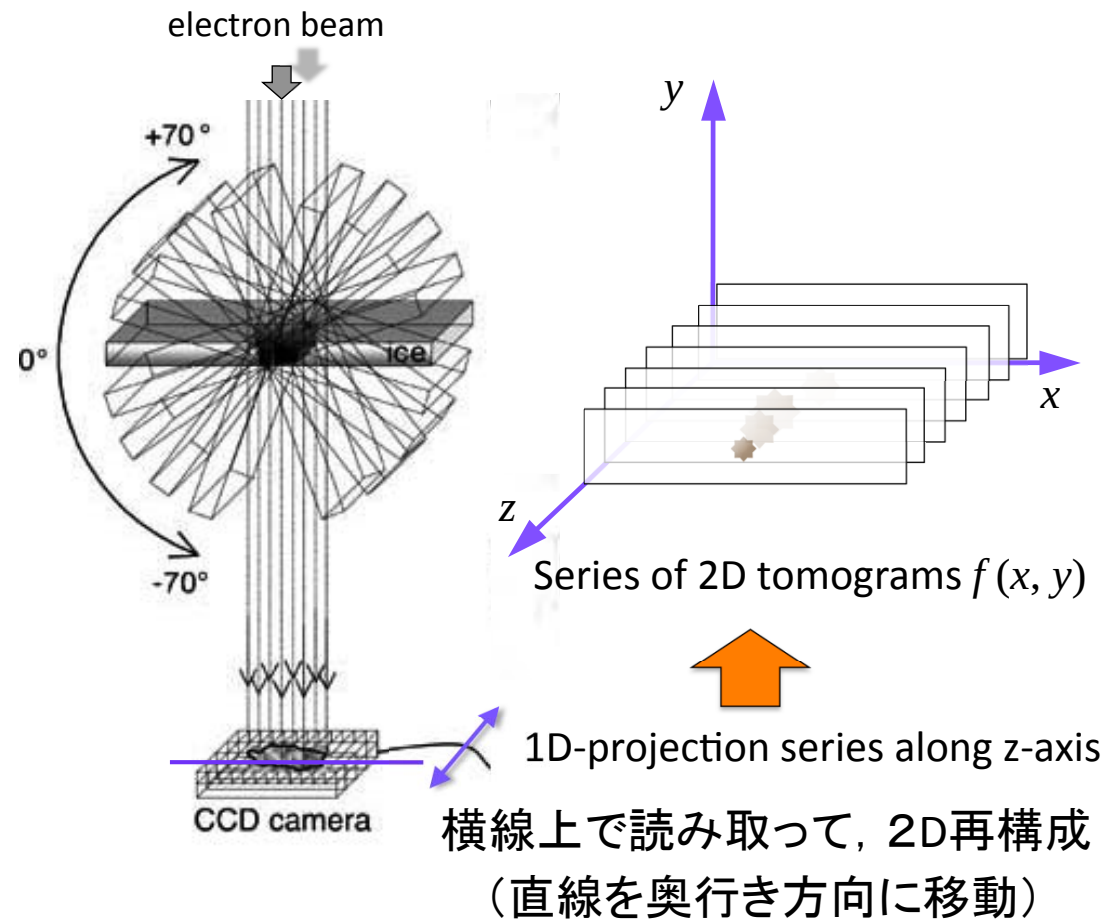


注意：電子線トモグラフィは Multi-slice方式を使える。
(試料回転方式)

Simple method of 3D CT:
“Multi-Slicing (輪切り)”
in medical CT



人体を動かしながら2D再構成。得られた画像系列を Graphics で3Dに合成



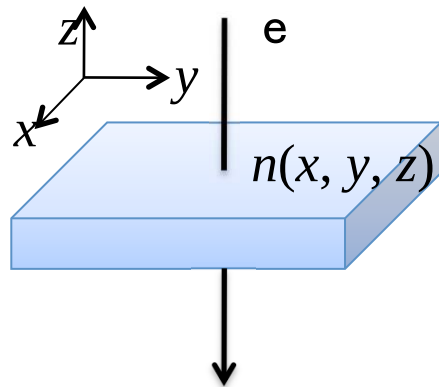
ただし、電顕画像はSN比が低いので、
3D一括再構成で精度を上げる試みがある。
(=>大規模計算)

§ 3 生物用位相差電顕の特徴

結像の原理

永山 et al. (生理研)

透過型の電顕： 電子波に位相差が発生，振幅変化なし。



$$\exp i\theta(x,y), \quad \theta(x,y) = \int_{path} n(x,y,z) dz$$

$n(x, y, z)$: ある種の密度

このままでは，画像は真っ白。

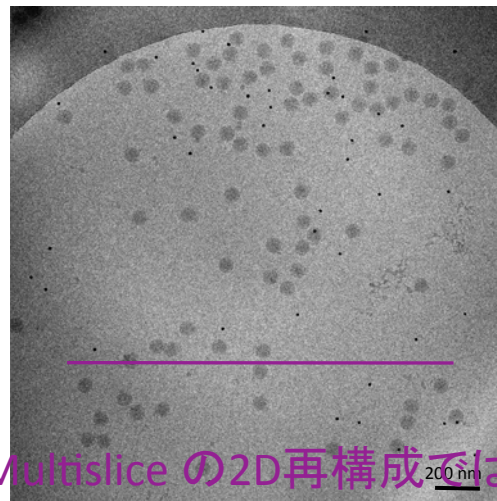
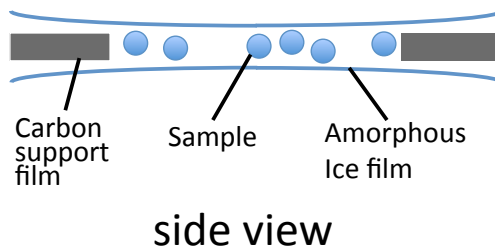
位相板 (Zernicke型etc.) を用いると，画像が現れる。

$$\text{画像 } g(x,y) \cong 1 + 2\theta(x,y) \quad \text{for } \theta(x,y) \ll 1$$

(入射波の振幅1，弱位相物体の近似)

生物試料は氷包埋

液体窒素で急冷(vitreous)
[真空中]



2D投影画像

Ice – embedded $\epsilon 15$ Phage

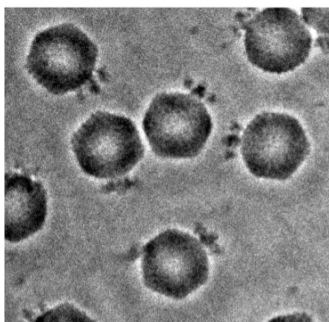
Black points: Gold particles

70 images obtained like this
every 2° are data for 3D
reconstruction.

Multislice の2D再構成では，決まった線分上の値を読み取る

by K. Murata $\epsilon 15$ ファージの氷包埋像

生物投影画像の様子(拡大すると)

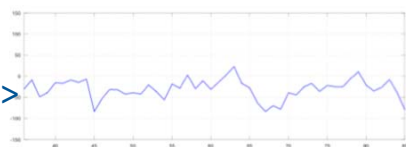
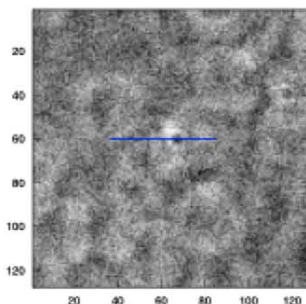


$\epsilon 15$ phage

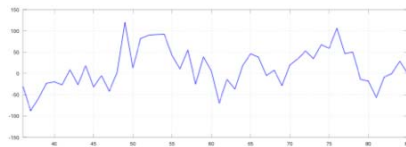
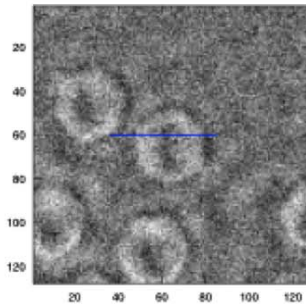
- 本来の画像(投影画像)は、このように鮮明。ただし、
- (1) 粒子の周辺に、位相板の作成限界によるフリンジ。
(背景に対して正負に振れる明暗)
 - (2) 背景の氷は値0ではない。理論式の初項 1 もある。

加えて、

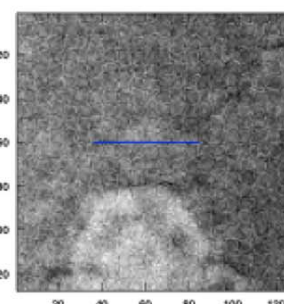
CT では傾斜 2° 毎に70回撮影, 1回のdoseを下げる。電子雑音のために SN比低下。



傾斜角: -69.62°



$\approx 0^\circ$



67.35°

平均値を規格化
した投影画像
(白黒を反転)

2D再構成のため
の1D投影データ

平均値=>

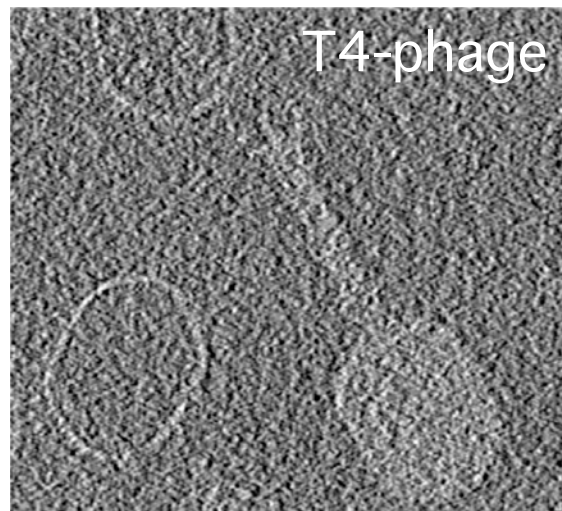
大きい傾斜角に対して、全体に暗くなり(平均値低下), contrastも狭まる。

位相差電顕の成功 (生理研 永山ら)

Many successes:
Influenza virus,
Polio virus,

電子線トモグラフィ
3D再構成像の一断面
(multislice, SIRT法)

従来の透過型電顕



位相差電顕(格段に鮮明)



表面表示

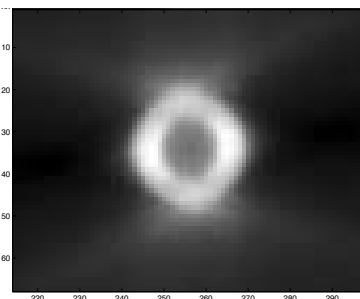


(1) ウィルスの頭が割れている。

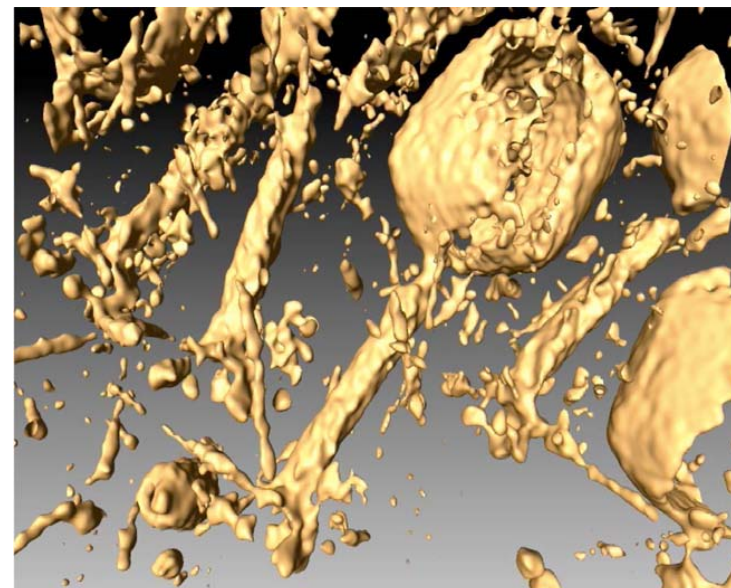
投影角欠損
の効果

電子線 ↓ ↓ ↓ ↓

simulation



(2) 至るところに雑音artifacts



§ 4 投影角欠損問題への我々の取り組み

電子線トモグラフィ: 典型的な「平行ビームの線積分」型
 $\pm 20^\circ$ の角度欠損, SN比が低い

- (1) フーリエ断面定理を使ったdeconvolution (=>永谷)
- (2) 「画像の線積分=投影」を離散近似して線形方程式
ART/SIRTの発展形(積極的な正則化) (=>細田)

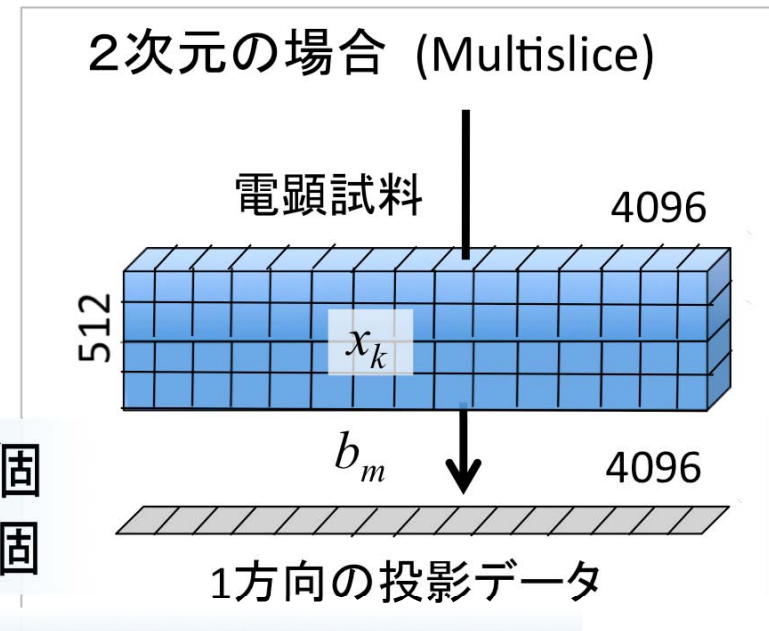
(2)の場合 $Ax = b$

投影データ b に良く合う画像 x は?

➡ 式不足(解不定)

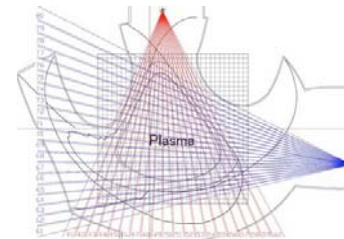
未知数の数(画素数) ≈ 200 万個
式(投影値 b_m)の数 ≈ 28 万個

A は大規模だが, 要素に 0 が非常に多い
(各行200万個の要素のうち 約 512個 のみ 0 でない)

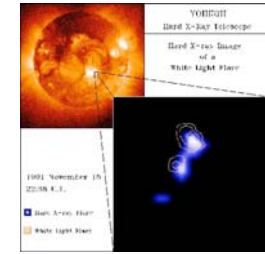


データ欠損あるときの画像再構成

核融合・天文の実績



CT in Fusion Research



Satellite Yohkoh HXT

最小2乗解の正則化

制約“2乗誤差がある値”のもとにペナルティ $P(x)$ を最小化

$\Rightarrow$ Lagrange関数 $\alpha P(x) + \|Ax - b\|^2$ の最小化

α : 未定乗数

(1) Tikhonov-Phillips線形正則化 $P(x) = \|Lx\|^2$ (L2ノルム)

(1-1) L : 単位行列 画素値の2乗和 $P(x) = \|x\|^2 = \sum_k x_k^2$

(1-2) L : 微分演算子 例えば Laplacian (2回微分の2乗和)
画像の粗さを直接評価, 雑音・データ欠損に強い

(2) 最大エントロピー法 $P(x) = \sum_k x_k \ln x_k$

正值を保証, 非線形最適化

大規模な電頭画像のためには, 全面的な反復解法化が必要。

(特異値分解など行列分解を使わない)

反復解法に関する数値計算法の発展

共役勾配法の改良: CGLS => GMRES

大規模・Sparseな線形方程式・最小2乗法の高速解法 (L2ノルム)

保國・速水(NII), SIAM J. Matrix Anal. Appl. 34 (2013) 1 (論文賞)

画像処理の発展(圧縮センシング)

Poisson尤度 (PET, SPECT) の最小化から

更に, L1ノルムの採用へ

(sparse画像, 輪郭に強い)

Total Variation

工藤et al.(筑波大),

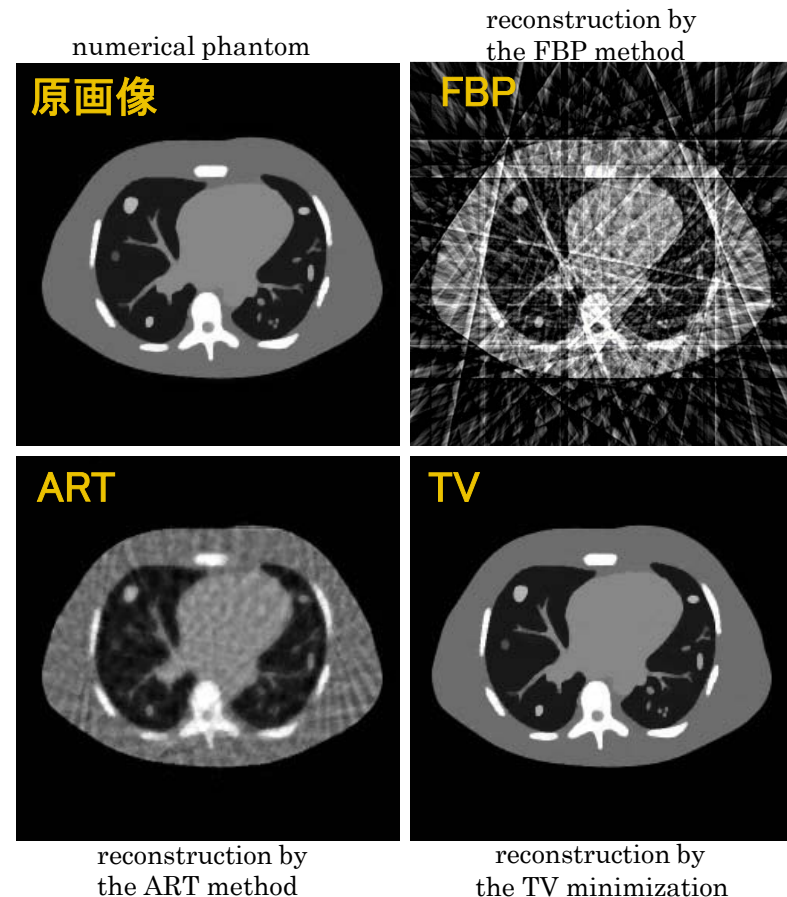
Quant. Imaging Med. Surg. 3 (2013)147.

$$\min_{\mathbf{x}} \left\{ \lambda_{TV} TV(\mathbf{x}) + \|\mathbf{Ax} - \mathbf{b}\|^2 \right\}$$
$$TV(\mathbf{x}) = \sum_k |\nabla x|_k$$

(1回微分をPenaltyとする正則化, 非線形)

Daubechies(2004)をベースにした反復解法

これらの発展を, 電顕CTの投影角欠損問題の解消へ。



鮮やかな再構成

材料用電顕CTの圧縮センシング論文が登場(今年7月)

R. Leary et al. (Univ. Cambridge),
“Compressed sensing electron tomography”,
Ultramicroscopy 131 (2013) 70-91.

$$\min_{\mathbf{x}} \left\{ \lambda_I \|\mathbf{x}\| + \lambda_{TV} TV(\mathbf{x}) + \|\mathbf{Ax} - \mathbf{b}\|^2 \right\}$$

Lustig, Donoho et al. (2007) を導入。
CS-MRIのソフトを使って, 画像 & 画像のgradient
双方のsparse性を生かす共役勾配アルゴリズム
-Nonuniform FFTを利用-

$\lambda_I=200, \lambda_{TV}=1$

Multislice for 3D reconstruction 512x512 (x512)

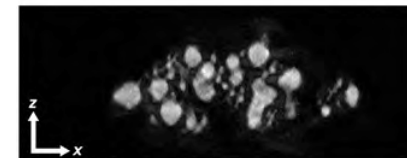
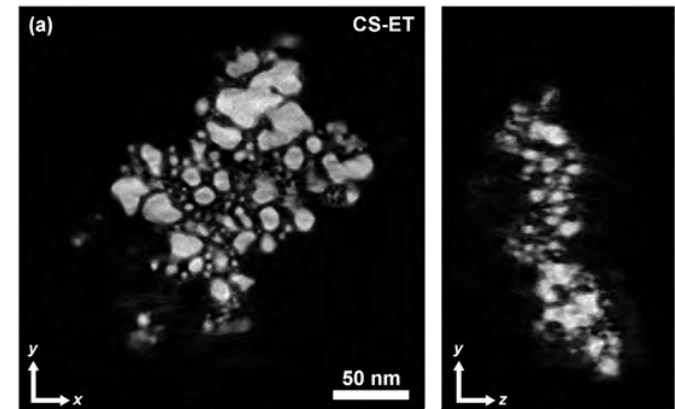
5-10 hours by Matlab

HAAD-STEM

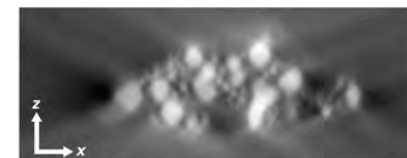
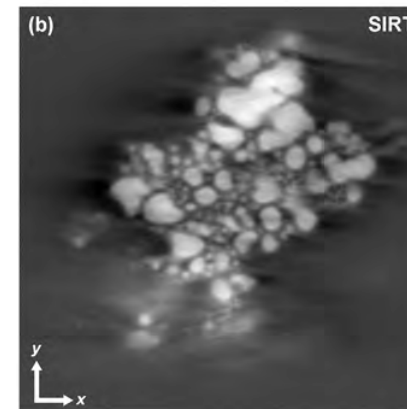
生物用电顕と違って, 背景が暗い。

“High-Angle Annular Dark-field”

Scanning Transmission Electron Microscopy



New method



従来法 SIRT

gallium-palladium nanoparticles 14

§ 5 まとめ

電顕CT: 2つの方式（電子線トモグラフィ, 単粒子解析）
先進的な画像再構成研究あり (Appendix)

電子線トモグラフィの未解決問題: 投影角欠損 ($\pm 20^\circ$)

生物用の位相差型電顕で得られる投影画像の特徴:
氷包埋 (背景が0でない), 低SN比, どこまで線積分か。

「新しい生物電顕」に「再構成の数理」を結びつけて成果を！

核融合: 3次元CTは大規模 (画素数1万以上)
画像は結構 sparse (波長分解, プラズマに構造)
数理研究に共通性

次の講演 ①細田 (最小2乗の正則化)
 ②永谷 (New deconvolution approach)

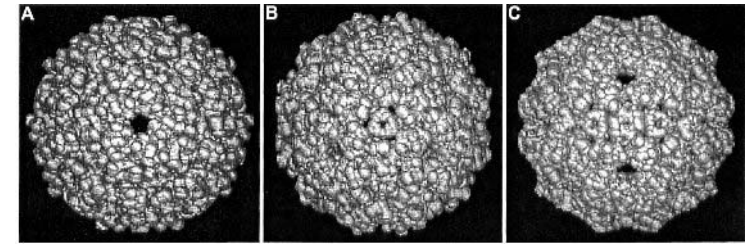
Appendix 電顕CTの先進的な再構成法研究

A. 1 単粒子解析の再構成

(S1) 3次元FBPの手順 と WBP

I.M. Orlov et al. (Sweden),
J. Struct. Biol. 154 (2006) 287.

phantom: Rice Dwarf Virus capsid



icosahedral symmetry

From 27 project. images

FS Theorem

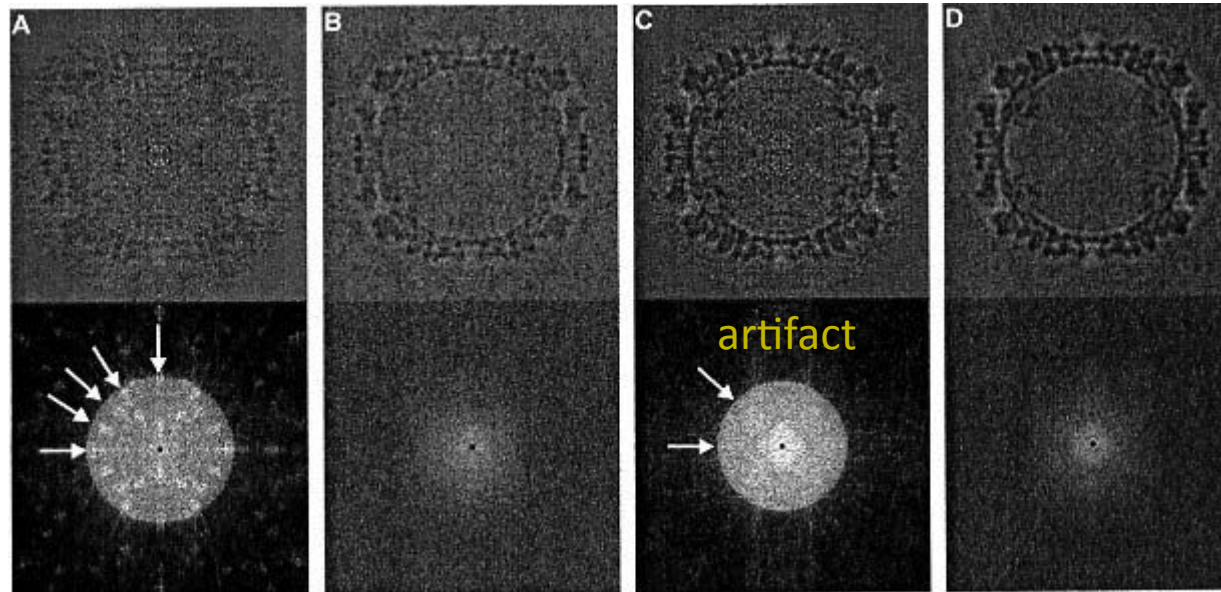
FBP

From 154 project. images

FS Theorem

FBP

Slice of 3D
Tomogram



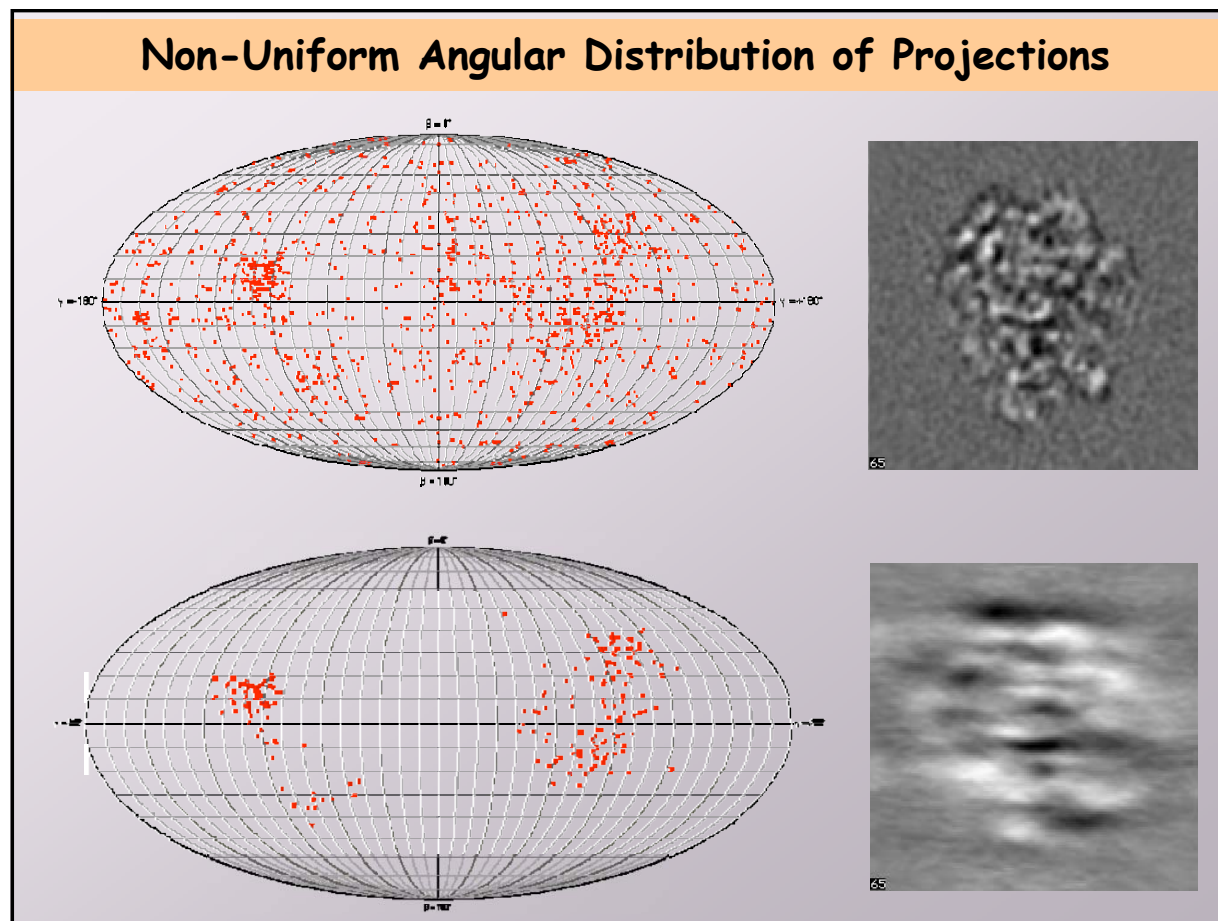
Spectrum of
Tomogram

FBP is better in imaging, even when Fourier-Bessel transform is used.

WBP(改良FBP): データ欠損に対する強さ

<http://www.lorentzcenter.nl/lc/web/2008/304/presentations/Orlov.pdf>

by I.M. Orlov



投影方向が十分なときの
FBP再構成像



Large Data Missing in
Single-Particle Analysis

投影データが欠けた
ときのFBP再構成像

WBPによる改善

(S2) 級数展開法

粒子の3次元対称構造に適した
級数展開モデル。

展開係数を投影データから決定。

J. Lee, P. Doerschuk et al. (Cornell):
IEEE Trans. Image Process., 16(2007)2865.

Simulation with
Spherical Bessel Series
(Sturm-Liouville)

AIC を使っていない

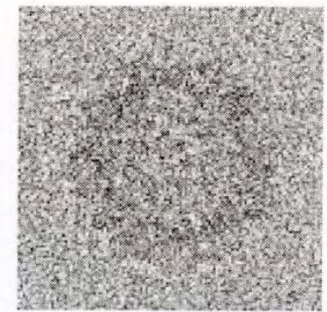
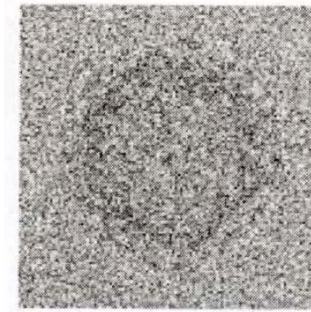
N: 項数

(S3) 期待値最大化法

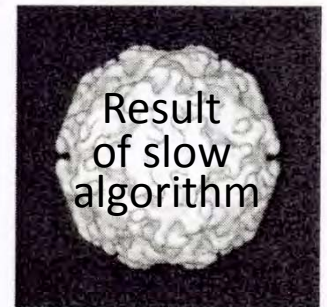
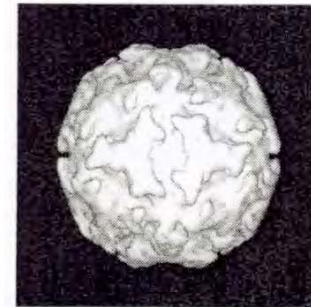
各投影画像の方向角も未知として,
3D画像と同時に最尤推定

H.D. Tagare, A. Barthel & F.J. Sigworth
(Yale): J. Struct. Biol. 171(2010)256.

← 55 nm →

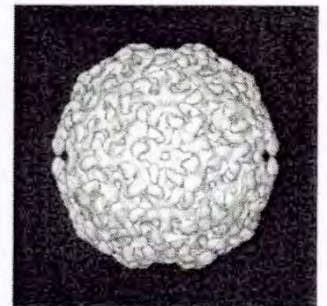
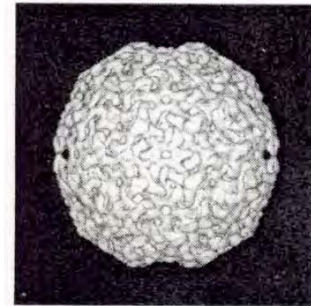


2 of 200 projection images



Result
of slow
algorithm

Reconstruction (N=720)



Reconstruction
(N=1100)

True object
(N=720)

Capcid of virus NoV

(S4) 最大エントロピー法 (MEM)

単粒子解析

U. Skoglund et al. (Sweden):
J. Struct. Biol., 117 (1996)
173.

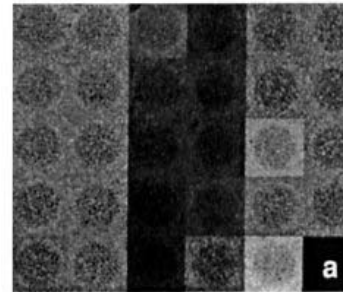
Capsid of
adenovirus T25
(icosahedral symmetry)



OIST-Okinawa

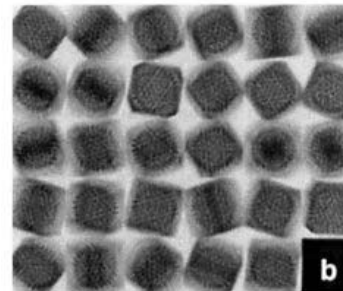
Data

projection
Images (150x
150 pixels)



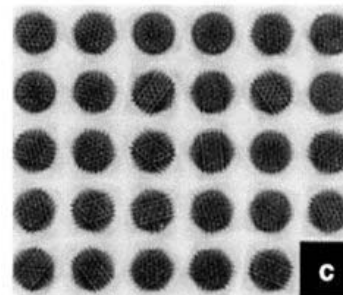
Recovered
(Fourier)

false halos

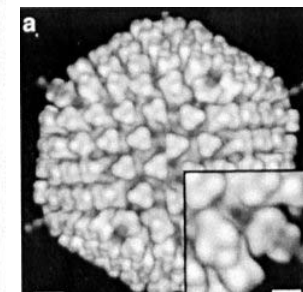


Recovered
(MEM)

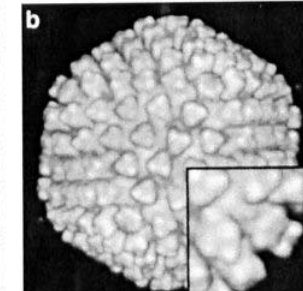
Much better
coincidence
to data by MEM



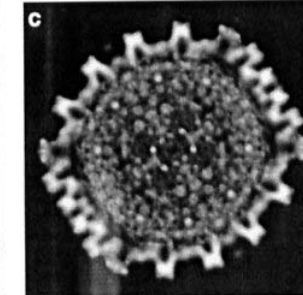
Reconstructed
image



Fourier-
based
method
false holes



MEM



Slice of
3D image
(MEM)

10nm

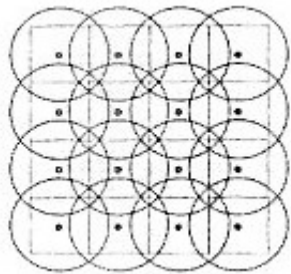
A.2 電子線トモグラフィの再構成

(E1) 3D一括の再構成

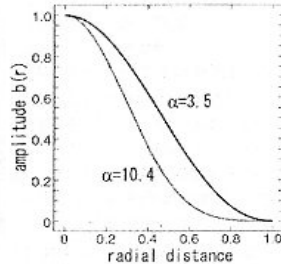
Wan et al. (Beijing), J. Struct. Biol. 175(2011)277.

緩和係数を非定常に変える Adaptive ART
with 3D-blob

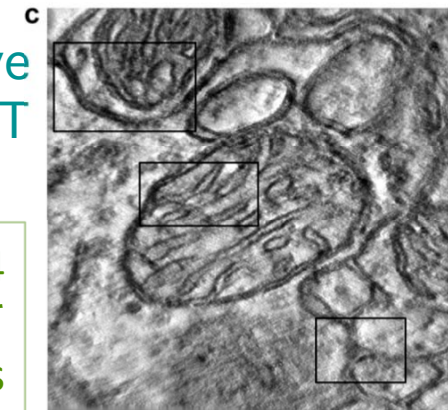
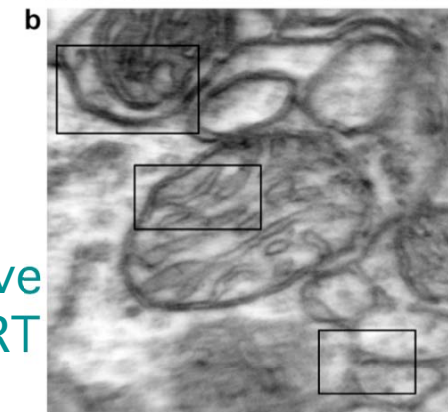
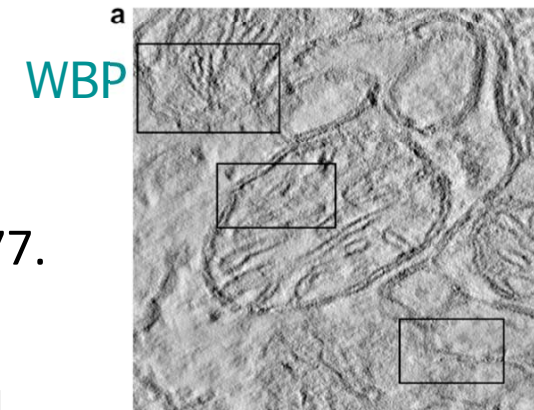
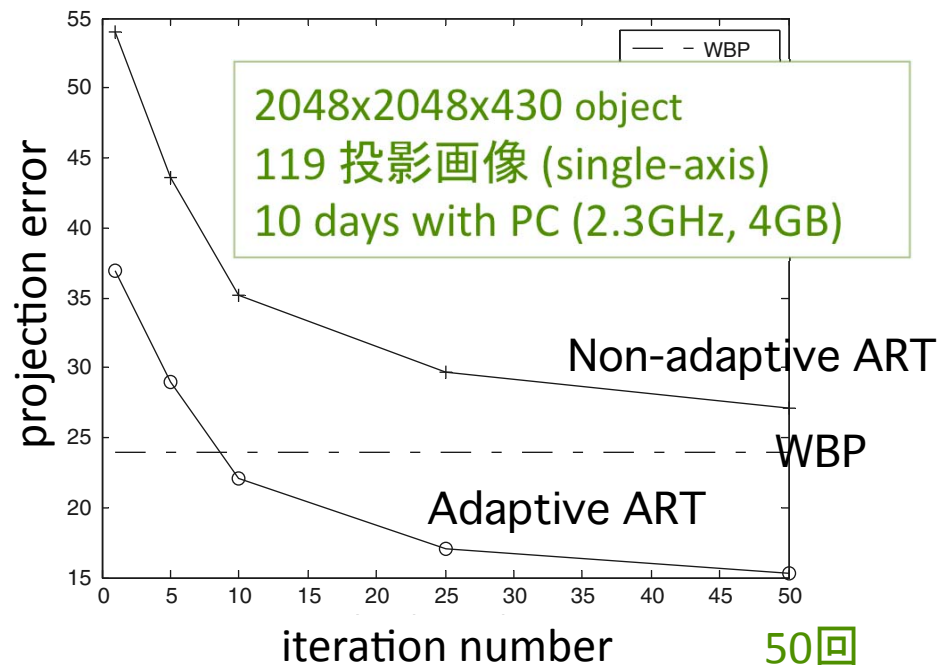
Blobの線形
和で画像を
表現



Kaiser-Bessel fun.



(カメラ各方向内
は同時修正,
方向の間は
Herman順序)



Non-adaptive
ART

Adaptive
ART

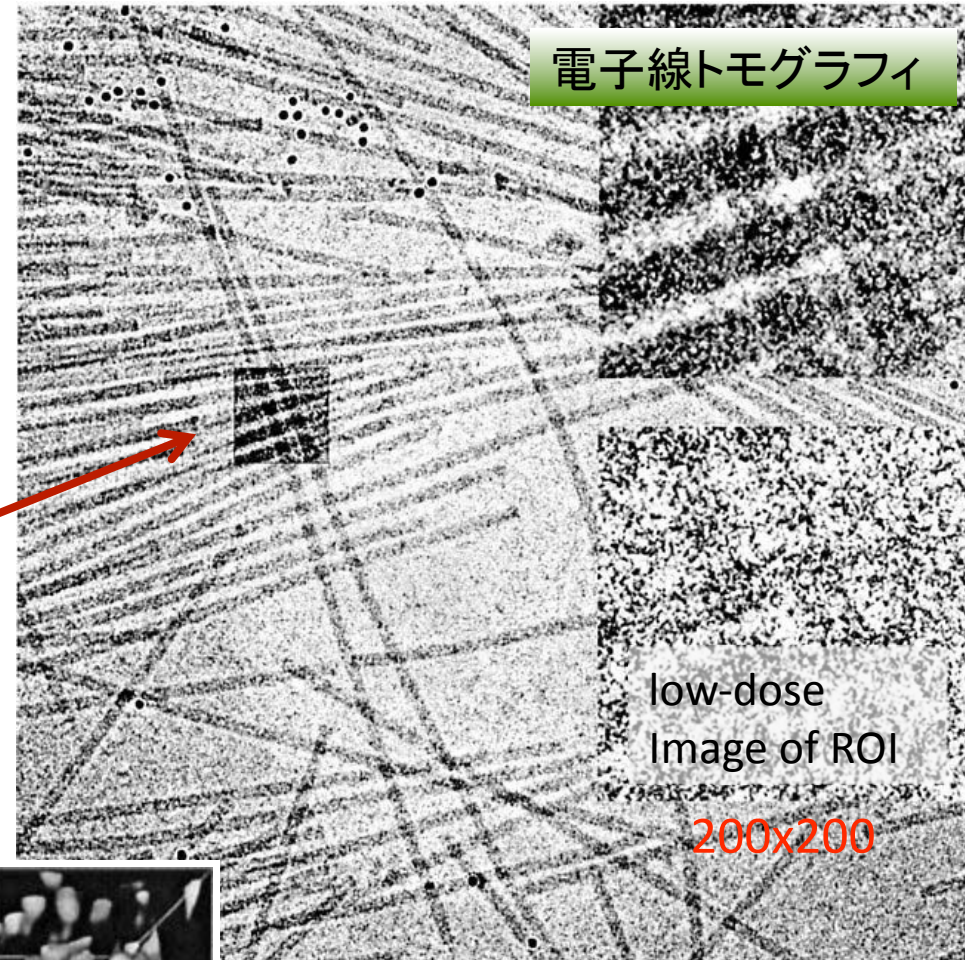
1024x1024
に縮小して
16 hours

Mitochondria membrane
(Slice of tomogram)₂₀

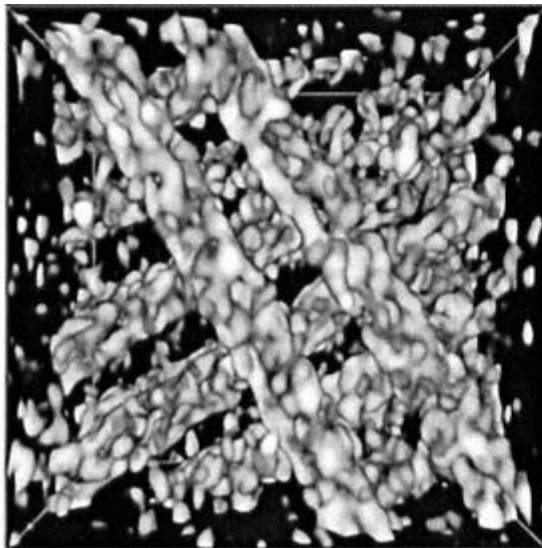
(E2) Local Tomography

E. T. Quinto et al. (Tuft),
“Electron Lambda Tomography”,
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 2009

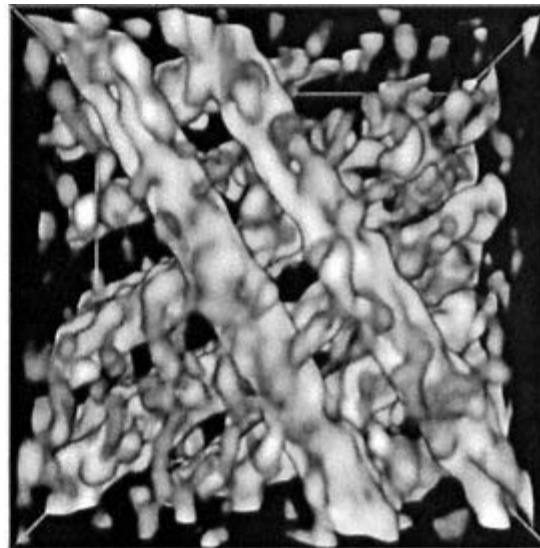
Image reconstruction of
“Region of Interest (ROI)”



FBP



new method



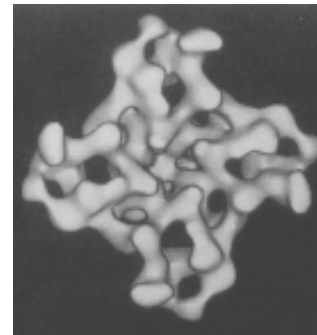
tabaco mosaic virus

$\pm 60^\circ$ single-axis rotation

(E3) POCS法 (Projection Onto Convex Sets)

フーリエ断面定理を用いて、実空間とフーリエ空間を往復しつつ、物理制約を挟み込んで、欠損データを回復する。

Radermacher et al. (Vermont):
J. Cell Biol., 127 (1994)411.



$\pm 30^\circ$ Missing

calcium release channel
(skeletal muscle)

再構成像

(E4) Discrete Tomography

画像の階調を少数にして、投影角欠損に対抗。

馬場 et al. (工学院), Ultramicroscopy 108(208)239.

K.J. Batenburg et al. (Antwerp), ibid 109(2009)730.

他に1～2, 新しい像再構成法を試みた最近の論文。