

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 10 月 2 日 (02.10.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/155869 A1

- (51) 国際特許分類 :
GO1N 21/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号 : PCT/JP2013/083927
- (22) 国際出願日 : 2013 年 12 月 18 日 (18.12.2013)
- (25) 国際出願の言語 : 日本語
- (26) 国際公開の言語 : 日本語
- (30) 優先権データ :
特願 2013-072782 2013 年 3 月 29 日 (29.03.2013) JP
- (71) 出願人 : 浜松ホトニクス株式会社 (HAMAMATSU PHOTONICS K.K.) [JP/JP]; 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 Shizuoka (JP).
- (72) 発明者 : 平澤 和勝 (HIRAWAKE Kazumasa); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP).
三輪 光春 (MIWA Mitsuharu); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP).
- (74) 代理人 : 長谷川 芳樹, 外 (HASEGAWA Yoshiaki et al); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目 1 番 1 号丸の内 M Y P L A Z A (明治安田生命ビル) 9 階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).

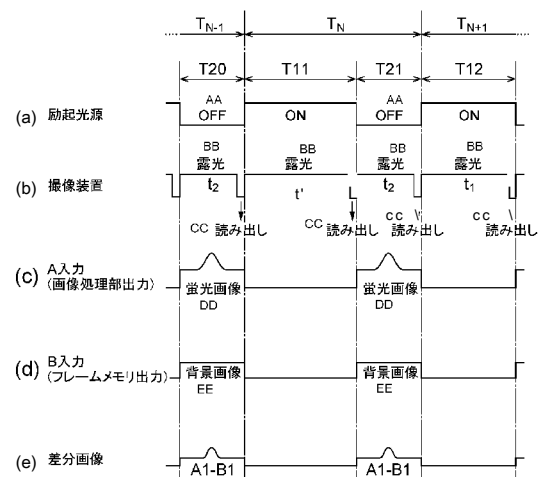
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, ML, 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, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, ML, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロシヤ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: FLUORESCENCE VIEWING DEVICE AND FLUORESCENCE VIEWING METHOD

(54) 発明の名称 : 蛍光観察装置及び蛍光観察方法



(a) Excitation light source
(b) Imaging device
(c) A input (image processing unit output)
(d) B input (frame memory output)
(e) Difference image
AA OFF
BB Exposure
CC Reading
DD Fluorescence image
EE Background image

(57) Abstract: In a fluorescence viewing device (1A), a clear observation image $fiOm$ which the effect of background light has been removed can be acquired by taking the difference between one of a first frame image and a second frame image outputted $fiOm$ an imaging device (12) and the other of the first frame image and second frame image which is stored in an image storage means. In the fluorescence viewing device (1A), the exposure time for a fluorescence image acquisition period and the exposure time for a background image acquisition period are different from each other. By thus making the exposure time for the fluorescence image acquisition period and the exposure time for the background image acquisition period asymmetric, the observation image is endowed with good smoothness. Since the ON/OFF time of excitation light is also asymmetric in accordance with the asymmetry of the exposure times, discomfort to a user due to flickering of the excitation light can be reduced.

(57) 要約 : 蛍光観察装置 1A では、撮像装置 12 から出力された第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像の一方と、画像記憶手段に記憶された第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像の他方との差分とをすることで、背景光の影響を除いた鮮明な観測画像を取得できる。また、蛍光観察装置 1A では、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっている。このように、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを非対称にすることにより、観測画像の平滑性が良好なものとなる。また、露光時間の非対称性に応じて励起光の ON/OFF の時間も非対称となるので、励起光の点滅によるユーザへの違和感を低減できる。

WO 2014/155869 A1

明 細 書

発明の名称 : 蛍光観察装置及び蛍光観察方法

技術分野

[0001] 本発明は、蛍光観察装置及び蛍光観察方法に関する。

背景技術

[0002] 従来、観測対象物に対して所定波長の励起光を供給・照射し、観測対象物で発生した蛍光の観測画像を撮像装置で取得する蛍光観察装置が知られている。かかる蛍光観察装置は、例えば医療分野において、リンパ管やリンパ節といった生体組織の同定などに用いられている。蛍光観察において、観測対象物の状態の時間変化等を観測する場合には、所定のフレームレートで時系列に画像を取得し、観測対象物の動画画像を観測する方法が用いられている（例えば特許文献1，2参照）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1 : 特開平10—151104号公報
特許文献2 : 特開平7—155292号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 蛍光観察装置は、微弱な蛍光の観測画像を撮像するため、室内光や太陽光などの赤外波長成分が背景光として存在すると、観測画像のS/N比が低下するおそれがある。そこで、背景光の影響を除くため、励起光の供給をONにしたときの画像（ON画像）と、励起光の供給をOFF（OFF画像）にしたときの画像との差分を取る手法が検討されている。しかしながら、背景光の影響を除く一方で、短時間で高いS/N比の観測画像を取得できることが望まれている。露光時間を長くすればS/N比の向上が見込まれるが、単純に露光時間を長くすると、対象物の画像（動画画像）の平滑性が失われるおそれがある。また、ON画像の露光時間とOFF画像の露光時間との関係に

よっては、観測画像を視認するユーザに対して励起光の点滅による違和感を生じさせてしまうおそれがある。

- [0005] 本発明は、上記課題の解決のためになされたものであり、鮮明で視認性に優れた観測画像が得られる蛍光観察装置及び蛍光観察方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

- [0006] 上記課題の解決のため、本発明に係る蛍光観察装置は、観測対象物に対して蛍光観測のための励起光を供給すると共に、励起光の供給のON/OFFを切り替え可能な励起光供給手段と、観測対象物からの光像を撮像すると共に、得られた観測対象物の画像データとして、第1フレームの画像及び第2フレームの画像を時系列で交互に出力するプログレッシブ読み出し型の撮像手段と、撮像手段から出力された第1フレームの画像又は第2フレームの画像を記憶する画像記憶手段と、撮像手段から出力された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の一方と、画像記憶手段に記憶された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の他方との差分を取った差分画像を生成する差分画像生成手段と、を備え、励起光供給手段は、撮像手段による第1フレームの画像取得期間及び第2フレームの画像取得期間の一方が励起光の供給をONにした蛍光画像取得期間となり、他方が励起光の供給をOFFにした背景画像取得期間となるように励起光の供給を切り替え、撮像手段において、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっていることを特徴としている。

- [0007] この蛍光観察装置では、観測対象物の画像データをプログレッシブ読み出しによって時系列に取得する。また、第1フレームの画像取得期間及び第2フレームの画像取得期間の一方が蛍光画像取得期間となり、他方が背景画像取得期間となるように、フレーム画像の取得と励起光のON/OFFとを同期させる。これにより、撮像手段から出力された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の一方と、画像記憶手段に記憶された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の他方との差分とを取ることで、背景光の影響を除

いた鮮明な観測画像を取得できる。また、この蛍光観察装置では、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっている。このように、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを非対称にすることにより、観測画像の平滑性が良好なものとなる。また、露光時間の非対称性に応じて励起光のON/OFFの時間も非対称となるので、励起光の点滅によるユーザへの違和感を低減できる。

[0008] また、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間との比に基づいて、蛍光画像の輝度及び背景画像の輝度を補正する画像処理手段を更に備えたことが好ましい。露光時間の違いによる蛍光画像と背景画像との間の輝度の違いを補正することにより、差分を取ったときに背景光の影響を効果的に除去でき、より鮮明な観測画像を取得できる。

[0009] また、画像処理手段は、第1の補正值を用いて蛍光画像の輝度を補正する第1の補正と、第2の補正值に基づいて背景画像の輝度を補正する第2の補正とを、励起光の供給の切り替えに同期して実行することが好ましい。この場合、各画像取得期間内に輝度の補正が行われるので、処理の迅速化が図られる。

[0010] また、励起光供給手段は、蛍光画像取得期間が背景画像取得期間よりも長くなるように励起光の供給を切り替えることが好ましい。これにより、蛍光画像において観測対象物の蛍光強度を一層十分に確保できる。したがって、より鮮明な観測画像を得ることが可能となる。

[0011] また、背景画像取得期間の露光時間又は蛍光画像取得期間の露光時間が30 msec未満に設定されていることが好ましい。この場合、蛍光画像取得期間又は背景画像取得期間が人体における網膜の時間分解能以下に設定されるため、励起光の点滅によるユーザへの違和感を一層効果的に低減できる。なお、背景画像取得期間の露光時間が30 msec未満に設定される場合、蛍光画像取得期間が相対的に長くなるので、蛍光画像において観測対象物の蛍光強度を一層十分に確保できる。したがって、より鮮明な観測画像を得ることが可能となる。

- [001 2] また、蛍光画像取得期間及び背景画像取得期間の合計時間が 6 0 m s e c 以下に設定されていることが好ましい。こうすると、観測画像の平滑性を一層確保できる。
- [001 3] また、観測対象物に白色光を供給する白色光供給手段と、白色光供給手段による観測対象物の光像を撮像する撮像手段と、差分画像生成手段によって生成された差分画像に、撮像手段によって撮像されたカラー画像を重畳させる重畳画像生成手段と、を更に備えたことが好ましい。白色供給手段による観測対象物のカラー画像を差分画像に重畳させることで、カラーで表示された観測対象物に蛍光が表示されるので、観測画像の視認性を一層高められる。
- [0014] また、画像記憶手段から差分画像生成手段に出力される蛍光画像又は背景画像に対し、これらの画像に含まれる各画素の輝度について、対象画素にその近傍の所定範囲内にある画素を加えた複数の画素での最大輝度を対象画素の輝度とする最大フィルタ処理、又は、対象画素にその近傍の所定範囲内にある画素を加えた複数の画素での最小輝度を対象画素の輝度とする最小フィルタ処理を行うフィルタ処理手段を更に備えたことが好ましい。
- [001 5] 第 1 フレームの画像と第 2 フレームの画像との差分画像において、例えば明るい画像部分と暗い画像部分との境界で偽の差分画像成分が抽出される場合がある。また、観測対象物に動きがある場合にも、偽の差分画像成分が抽出される場合がある。これに対し、最大フィルタ処理及び最小フィルタ処理を背景画像と蛍光画像とに適用することで、偽の差分画像成分の抽出を抑制できる。
- [001 6] また、本発明に係る蛍光観察方法は、観測対象物に対して蛍光観測のための励起光を供給すると共に、励起光の供給の ON / OFF を切り替える励起光供給ステップと、観測対象物からの光像を撮像すると共に、得られた観測対象物の画像データとして、第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像を時系列で交互にプログレッシブ読み出しを行う撮像ステップと、撮像ステップで得られた第 1 フレームの画像又は第 2 フレームの画像を記憶する画像記

憶ステップと、撮像ステップで得られた第1フレームの画像及び第2フレームの画像の一方と、画像記憶ステップで記憶された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の他方との差分を取った差分画像を生成する差分画像生成ステップと、を備え、励起光供給ステップでは、撮像ステップにおける第1フレームの画像取得期間及び第2フレームの画像取得期間の一方が励起光の供給をONにした蛍光画像取得期間となり、他方が励起光の供給をOFFにした背景画像取得期間となるように励起光の供給を切り替え、撮像ステップでは、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とを互いに異ならせることを特徴としている。

[001 7] この蛍光観察方法では、観測対象物の画像データをプログレッシブ読み出しによって時系列に取得する。また、第1フレームの画像取得期間及び第2フレームの画像取得期間の一方が蛍光画像取得期間となり、他方が背景画像取得期間となるように、フレーム画像の取得と励起光のON/OFFとを同期させる。これにより、撮像ステップで取得された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の一方と、画像記憶ステップで記憶された第1フレームの画像及び第2フレームの画像の他方との差分とを取ることで、背景光の影響を除いた鮮明な観測画像を取得できる。また、この蛍光観察方法では、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっている。このように、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを非対称にすることにより、観測画像の平滑性が良好なものとなる。また、露光時間の非対称性に応じて励起光のON/OFFの時間も非対称となるので、励起光の点滅によるユーザへの違和感を低減できる。

発明の効果

[001 8] 本発明に係る蛍光観察装置及び蛍光観察方法によれば、鮮明で視認性に優れた観測画像が得られる。

図面の簡単な説明

[001 9] [図1] 本発明の第1実施形態に係る蛍光観察装置を示すブロック図である。

[図2] 図1に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法を示すタイ

ミングチャートである。

[図3]比較例における画像の一例を示す図であり、(a)は蛍光画像、(b)は背景画像、(c)は差分画像である。

[図4]実施例における画像の一例を示す図であり、(a)は蛍光画像、(b)は背景画像、(c)は差分画像である。

[図5]本発明の第2実施形態に係る蛍光観察装置を示すブロック図である。

[図6]図5に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法を示すタイミングチャートである。

[図7]図5に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法の変形例を示すタイミングチャートである。

[図8]本発明の第3実施形態に係る蛍光観察装置を示すブロック図である。

[図9]図8に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法を示すタイミングチャートである。

[図10]図8に示した蛍光観察装置における画像の一例を示す図であり、(a)は背景画像、(b)は蛍光画像である。

[図11]図10の例において偽の差分画像成分の除去の様子を示す図であり、(a)は通常の差分を取る場合、(b)(c)は、最大フィルタ処理を行った場合である。

[図12]図8に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法の変形例を示すタイミングチャートである。

[図13]図8に示した蛍光観察装置における画像の一例を示す図であり、(a)は蛍光画像、(b)は背景画像である。

[図14]図13の例において偽の差分画像成分の除去の様子を示す図であり、(a)は通常の差分を取る場合、(b)(c)は、最大フィルタ処理を行った場合である。

[図15]図8に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法の別の変形例を示すタイミングチャートである。

発明を実施するための形態

[0020] 以下、図面を参照しながら、本発明に係る蛍光観察装置及び蛍光観察方法の好適な実施形態について詳細に説明する。

[第1実施形態]

[0021] 図1は、本発明の第1実施形態に係る蛍光観察装置を示すブロック図である。同図に示す蛍光観察装置1Aは、所定のフレームレートで時系列に観測対象物Pについての観測画像を取得することで、ユーザが観測対象物Pを動画で観察できるように構成されている。観測対象物Pは、例えば生体組織であり、予めインドシアニンググリーンなどの蛍光色素が導入されている。蛍光観察装置1Aは、例えば励起光源11と、撮像装置12と、画像処理部13と、フレームメモリ14と、差分演算器15と、表示装置16と、制御装置17とを備えている。

[0022] 励起光源11は、観測対象物Pに対して蛍光観測のための励起光を供給する装置である。励起光源11としては、例えば近赤外のLEDやSLDが用いられる。励起光源11は、制御装置17の制御によって励起光の供給のON/OFF切り替えが可能となっている。励起光源11は、より具体的には、撮像装置12の動作と同期して観測対象物Pへの励起光の供給がなされるように制御される。励起光源11は、撮像装置12による第1フレームの画像取得期間及び第2フレームの画像取得期間の一方が励起光の供給をONにした蛍光画像取得期間となり、他方が励起光の供給をOFFにした背景画像取得期間となるように励起光の供給を行う。なお、励起光の供給のONとは、例えば励起光源11を点灯させた状態であり、励起光の供給のOFFとは、例えば励起光源11を消灯させた状態である。また、励起光の供給のOFFには、励起光の供給を完全に停止する場合のみに限られず、励起光の強度をONの場合に比べて小さくすることも含む。

[0023] 撮像装置12は、制御装置17の制御によって観測対象物Pからの光像を撮像する装置である。撮像装置12は、観測対象物Pの画像データとして、第1フレームの画像及び第2フレームの画像を時系列で交互に出力するプログレッシブ型の撮像装置である。プログレッシブ型の撮像装置は、撮像素子

の信号読み出し方式としてプログレッシブ読み出しを採用した装置である。プログレッシブ読み出しは、撮像素子の信号読み出し方式の一つであるインターレース読み出しとは異なり、ラスタ走査中に飛び越し走査を行わず、順次信号を読み出す方式である。撮像装置 12 は、励起光波長域の光をカットすると共に蛍光波長域の光を透過させるフィルタ等の分光手段（不図示）を備え、分光手段からの光を CCD イメージセンサや CMOS イメージセンサといったエリアイメージセンサによって撮像する。

[0024] この撮像装置 12 において、1 フレームの画像取得期間は、露光時間と画像データの読み出し時間とによって構成されており、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とは、互いに異なるように設定されている。したがって、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とは等しくなく、いずれか一方が他方に比べて長くなるように設定されている。本実施形態では、蛍光画像取得期間の露光時間が背景画像取得期間の露光時間に対して長くなるように設定されており、その比は例えば 5 : 1 程度となっている。なお、蛍光画像取得期間を背景取得期間よりも短くなるように設定してもよい。

[0025] 第 1 フレームの画像取得期間の露光時間及び第 2 フレームの画像取得期間の露光時間は、例えば 100 msec 以下に設定されており、好ましくは 60 msec 以下に設定されている。プログレッシブ型の撮像装置では、一般にフレームレートが 30 fps 程度であり、1 フレームの画像取得期間は 33.3 msec 程度である。したがって、蛍光画像と背景画像との差分を取った差分画像（後述）の取得には 2 フレーム分の画像を取得する必要があるため、第 1 フレームの画像取得期間の露光時間及び第 2 フレームの画像取得期間の露光時間の合計時間としては 60 msec 程度の時間が必要となり、差分画像のフレームレートは 16.7 fps 程度となる。

[0026] 一般に、人体における網膜の時間分解能は、50 msec ~ 100 msec 程度の範囲であり、これを超える時間分解能である場合（対応するフレームレートよりも小さいフレームレートである場合）、差分画像を動画で表示

するときの平滑性が失われるおそれがある。したがって、第 1 フレームの画像取得期間及び第 2 フレームの画像取得期間を 100 msec 以下、好ましくは 60 msec 以下とすることで、差分画像の平滑性を担保できる。

[0027] また、蛍光画像取得期間の露光時間は、30 msec 以上に設定される一方で、背景画像取得期間の露光時間は、30 msec 以下に設定されている。このように、蛍光画像取得期間を十分に確保することで鮮明な蛍光画像を取得することができる。一方、背景画像取得期間の露光時間は、蛍光画像取得期間の露光時間に比べて短くても背景画像の取得に問題はなく、10 msec 程度でも十分である。なお、読み出し時間は、通常数十 μ sec ～数百 μ sec 程度であり、露光時間に比べて非常に小さい。したがって、露光時間の設定を調整すれば、十分に鮮明な蛍光画像を取得できる。

[0028] さらに、蛍光画像取得期間の露光時間及び背景画像取得期間の露光時間のいずれか一方が人体における網膜の時間分解能以下に設定されていることが好ましい。本実施形態では、蛍光画像取得期間と背景画像取得期間との切り替えに合わせて、励起光源 11 の励起光の ON/OFF も切り替えられる。すなわち、蛍光画像取得期間の露光時間中に励起光が ON となるように制御装置 17 が励起光源 11 を制御し、背景画像取得期間の露光時間中に励起光が OFF となる（励起光の強度が小さくなるように）制御装置 17 が励起光源 11 を制御する。網膜の時間分解能には個人差があるが、概ね 50 msec ～ 100 msec の範囲である。したがって、蛍光画像取得期間の露光時間及び背景画像取得期間の露光時間のいずれか一方が 30 msec 未満であれば、観測画像を視認するユーザに対し、励起光の点滅による違和感を効果的に低減できる。

[0029] 画像処理部 13 は、制御装置 17 による制御に基づいて撮像装置 12 で撮像された画像データの輝度を調整する部分である。画像処理部 13 は、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間との比に基づいて、蛍光画像の輝度及び背景画像の輝度を補正する。画像処理部 13 は、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間との比に基づく補正值

を入力される画像の切り替えに合わせて切り替え、蛍光画像の輝度及び背景画像の輝度を補正する。すなわち、画像処理部 13 は、励起光源 11 の励起光の ON/OFF の切り替えに合わせて補正値を切り替える。

[0030] 本実施形態のように、蛍光画像取得期間の露光時間が背景画像取得期間の露光時間に対して長くなるように設定されている場合、画像処理部 13 は、例えば蛍光画像取得期間の露光時間を t_1 とし、背景画像取得期間の露光時間 t_2 とした場合、蛍光画像が入力されると蛍光画像の輝度をそのまま維持する（第 1 の補正値）一方で、背景画像が入力されると背景画像の輝度を (t_1 / t_2) 倍する（第 2 の補正値）。なお、入力される画像の切り替えに関する信号は、制御装置 17 から画像処理部 13 に入力される。

[0031] このように、露光時間の違いによる蛍光画像と背景画像との間の輝度の違いを補正することにより、差分を取ったときに背景光の影響を効果的に除去でき、より鮮明な観測画像を取得できる。なお、画像処理部 13 に入力された輝度をそのまま維持して出力する場合についても、補正値が 1 倍の補正と考えればよい。また、画像処理部 13 は、背景画像の輝度をそのまま維持する（第 2 の補正値）一方で、蛍光画像の輝度を (t_2 / t_1) 倍（第 1 の補正値）にしてもよい。

[0032] フレームメモリ 14 は、撮像装置 12 から出力された第 1 フレームの画像又は第 2 フレームの画像を記憶する部分である。フレームメモリ 14 は、画像処理部 13 で補正された蛍光画像又は背景画像を記憶する。

[0033] 差分演算器 15 は、撮像装置 12 から出力された第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像の一方と、画像記憶手段に記憶された第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像の他方との差分を取った差分画像を生成する部分である。より具体的には、差分演算器 15 には、画像処理部 13 から出力された蛍光画像又は背景画像の一方と、フレームメモリ 14 に記憶された蛍光画像及び背景画像の他方が入力され、その差分の演算がなされる。

[0034] 差分演算器としては、例えば演算論理装置（ALU: Arithmetic Logic Unit）が用いられる。差分演算器 15 の A1 入力端子には、画像処理部 13 の

出力が出力され、差分演算器 15 の B 1 入力端子には、フレームメモリ 14 の出力が接続されている。また、差分演算器 15 の Y 1 出力端子からは、演算結果である差分画像が表示装置 16 に出力される。なお、差分演算において、演算結果が負となる場合には 0 出力となる。

[0035] 表示装置 16 は、差分演算器 15 で生成された差分画像を表示する装置である。蛍光観察装置 1A には、表示装置 16 以外の画像出力装置を設けてもよく、表示装置 16 を設けずに、得られた差分画像の画像データを外部に出力する構成としてもよい。

[0036] 図 2 は、図 1 に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法を示すタイミングチャートである。このタイミングチャートでは、(a) 励起光源の ON/ OFF、(b) 撮像装置における第 1 フレームの画像取得期間及び第 2 フレームの画像取得期間、(c) 差分演算器の A 1 入力、(d) 差分演算器の B 1 入力、(e) 生成される差分画像をそれぞれ示している。

[0037] 図 2 のタイミングチャートにおいて、1 つのフレームの差分画像を取得するためのフレーム取得期間 T_N は、第 1 フレームの画像取得期間 T_{11} と第 2 フレームの画像取得期間 T_{21} とによって構成されている。同図の例では、画像取得期間 T_{11} が蛍光画像取得期間であり、励起光の供給が ON となっている。また、画像取得期間 T_{21} が背景画像取得期間であり、励起光の供給が OFF となっている。

[0038] 上述したように、蛍光画像取得期間の露光時間 t_1 は、背景画像取得期間の露光時間 t_2 よりも長くなるように設定されている。図 2 の例では、露光時間 t_1 は例えば 50 msec、露光時間 t_2 は例えば 10 msec となっている。したがって、画像取得期間 T_{11} における励起光の ON 時間も約 50 msec、画像取得期間 T_{21} における励起光の OFF 時間も約 10 msec となっている。なお、これらの励起光の ON 時間及び OFF 時間には、撮像装置の読み出し時間も加算されている。

[0039] 画像取得期間 T_{11} で取得された蛍光画像は、画像取得期間 T_{21} において、画像処理部 13 での第 1 の補正值に基づく輝度補正を経て差分演算器 1

5 の A 1 入力端子に入力される。また、1 つ前のフレーム取得期間 T_{N-1} の画像取得期間 T_{20} で取得された背景画像は、画像取得期間 T_{11} において、画像処理部 13 での第 2 の補正值に基づく輝度補正を経てフレームメモリ 14 に入力され、画像取得期間 T_{21} において差分演算器 15 の B 1 入力端子に入力される。そして、画像取得期間 T_{21} では、A 1 入力の蛍光画像と B 1 入力の背景画像との差分を取る $A_1 - B_1$ 演算が実行され、蛍光が抽出された差分画像が生成される。

[0040] 励起光の供給、撮像装置 12 での撮像、画像処理部 13 での輝度補正、及び差分演算器 15 での差分画像の生成は、各フレーム取得期間における第 1 フレームの画像取得期間及び第 2 フレームの画像取得期間で繰り返し実行される。これにより、生成された差分画像が Y 1 出力から表示装置 16 に時系列に出力され、観測対象物 P の観測画像が動画像として表示される。

[0041] 以上説明したように、蛍光観察装置 1A では、観測対象物 P の画像データをプログレッシブ読み出しによって時系列に取得する。また、第 1 フレームの画像取得期間及び第 2 フレームの画像取得期間の一方が蛍光画像取得期間となり、他方が背景画像取得期間となるように、フレーム画像の取得と励起光の ON/OFF とを同期させている。これにより、撮像装置 12 から出力された第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像の一方と、画像記憶手段に記憶された第 1 フレームの画像及び第 2 フレームの画像の他方との差分とを取ることで、背景光の影響を除いた鮮明な観測画像を取得できる。

[0042] また、この蛍光観察装置 1A では、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間が互いに異なっている。このように、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを非対称にすることにより、観測画像の平滑性が良好なものとなる。また、露光時間の非対称性に応じて励起光の ON/OFF の時間も非対称となるので、励起光の点滅によるユーザへの違和感を低減できる。

[0043] この蛍光観察装置 1A では、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間との比に基づいて、蛍光画像の輝度及び背景画像の輝度を補

正している。このように、露光時間の違いによる蛍光画像と背景画像との間の輝度の違いを補正することにより、差分を取ったときに背景光の影響を効果的に除去でき、より鮮明な観測画像を取得できる。

[0044] 本実施形態では、蛍光画像取得期間が背景画像取得期間よりも長くなるように励起光の供給を切り替えており、これに伴って、蛍光画像取得期間の露光時間が背景画像取得期間の露光時間よりも長くなるように設定されている。これにより、蛍光画像を十分な露光時間で取得することができ、蛍光画像において観測対象物の蛍光強度を一層十分に確保できる。したがって、より鮮明な観測画像を得ることが可能となる。

[0045] 図3は、比較例における画像の一例を示す図であり、(a)は蛍光画像、(b)は背景画像、(c)は差分画像である。また、図4は、実施例における画像の一例を示す図であり、(a)は蛍光画像、(b)は背景画像、(c)は差分画像である。

[0046] 図3に示す比較例では、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間との比が1:1(30 msec:30 msec)とされている。一方、図4に示す実施例では、フレーム取得期間を比較例と同一に設定した上で、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間との比が5:1(50 msec:10 msec)とされ、背景画像の輝度を5倍に補正して蛍光画像との差分を取っている。この結果から、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを異ならせる蛍光観察装置1Aの蛍光観察方法においても、背景光の影響を効果的に除去して鮮明な観測画像を取得可能であることが確認できる。

[第2実施形態]

[0047] 図5は、本発明の第2実施形態に係る蛍光観察装置を示すブロック図である。同図に示すように、第2実施形態に係る蛍光観察装置1Bは、観測対象物Pに白色光を供給する白色光源21と、白色光源21による観測対象物Pの光像を撮像する撮像装置22と、差分演算器15によって生成された差分画像に、撮像装置22によって撮像されたカラー画像を重畳させる重畳演算

器 2 3 とを更に備える点で第 1 実施形態と異なっている。

[0048] 白色光源 2 1 は、例えば白色 L E D などの照明光源である。また、撮像装置 2 2 は、可視域の光を透過させるフィルタ等の分光手段（不図示）を備え、分光手段からの光を C C D イメージセンサや C M O S イメージセンサといったエリアイメージセンサによって、観測対象物 P のカラー画像を撮像する。なお、励起光源用の撮像装置 1 2 と白色光源用の撮像装置 2 2 とは、同軸に分光された光像を撮像するように配置されることが好ましい。この場合、例えばプリズムやビームスプリッタといった分光手段（不図示）によって複数の光路に分光された光像をそれぞれ撮像できるようにエリアイメージセンサを配置すればよい。また、複数の光路に分光された光像が 1 つのエリアイメージセンサで受光される構成としてもよい。

[0049] 重畳演算器 2 3 は、差分演算器 1 5 と同様の演算論理装置である。重畳演算器 2 3 の A 2 入力端子には、撮像装置 2 2 で取得されたカラー画像データが入力され、重畳演算器 2 3 の B 2 入力端子には、差分演算器 1 5 の Y 1 出力端子からの差分画像データが入力される。そして、重畳演算器 2 3 は、差分画像データにカラー画像を重畳して Y 2 出力端子から表示装置 1 6 に出力する。

[0050] 図 6 は、図 5 に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法を示すタイミングチャートである。このタイミングチャートでは、（a）励起光源の O N / O F F、（b）白色光源の O N / O F F、（c）励起光源用の撮像装置における第 1 フレームの画像取得期間及び第 2 フレームの画像取得期間、（d）白色光源用の撮像装置における第 1 フレームの画像取得期間及び第 2 フレームの画像取得期間、（e）生成される差分画像、（f）生成される重畳画像をそれぞれ示している。

[0051] 図 6 のタイミングチャートにおいて、励起光源 1 1 及び励起光源 1 1 用の撮像装置 1 2 の動作、及び生成される差分画像は、図 2 の場合と同様である。白色光源 2 1 は、蛍光画像取得期間及び背景画像取得期間のいずれの期間においても O N 状態のままとなっており、白色光源 2 1 用の撮像装置 2 2 は

、励起光源 1 1 用の撮像装置 1 2 の動作と同期して、カラー画像の露光及び読み出しを実行する。そして、画像取得期間 T_{21} では、A 2 入力のカラー画像と B 2 入力の差分画像との重畳を取る $A_2 + B_2$ 演算が実行され、これにより、カラー画像に差分画像が重畳された観察画像が生成される。

[0052] 以上のような蛍光観察装置 1 B においても、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっている。このように、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを非対称にすることにより、観測画像の平滑性が良好なものとなる。また、露光時間の非対称性に応じて励起光の ON/OFF の時間も非対称となるので、励起光の点滅によるユーザへの違和感を低減できる。また、白色光源 2 1 による観測対象物 P のカラー画像を差分画像に重畳させることで、カラーで表示された観測対象物 P に蛍光が表示されるので、観測画像の視認性を一層高めることができる。

[0053] なお、図 6 のタイミングチャートでは、白色光源 2 1 を常に ON (点灯) の状態としているため、白色光源 2 1 の白色光の波長領域と励起光源 1 1 の励起光の波長領域が重複 (一部重複を含む) しても、蛍光画像と背景画像とに白色光によって励起された蛍光が含まれ、差分画像ではその影響が排除される。ただし、図 7 に示すように、励起光源 1 1 の ON/OFF の切り替えと反転するように、白色光源 2 1 の ON/OFF を切り替えてもよい。なお、図 6 で示したタイミングチャートの場合でも、白色光源 2 1 からの白色光の波長領域から励起光の波長領域の光をカットするように、バンドパスフィルタなどの分光手段 (不図示) を白色光源 2 1 の白色光の光路上に配置することで、蛍光画像が白色光源によって影響を受けてしまうことを回避できるので、カラーで表示された観測画像を好適に得ることができる。

[第 3 実施形態]

[0054] 図 8 は、本発明の第 3 実施形態に係る蛍光観察装置を示すブロック図である。同図に示すように、第 3 実施形態に係る蛍光観察装置 1 C は、フレームメモリ 1 4 の後段に MAX/MIN フィルタ 3 1 を更に備えている点で第 1

実施形態と異なっている。

[0055] このMAX/MINフィルタ31は、フレームメモリ14から差分演算器15に出力される蛍光画像又は背景画像に対し、これらの画像に含まれる各画素の輝度について、対象画素にその近傍の所定範囲内にある画素を加えた複数の画素での最大輝度を対象画素の輝度とする最大フィルタ処理、又は、対象画素にその近傍の所定範囲内にある画素を加えた複数の画素での最小輝度を対象画素の輝度とする最小フィルタ処理を行うフィルタである。

[0056] 図9は、図8に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法を示すタイミングチャートである。同図に示す例では、画像取得期間T11で取得された蛍光画像は、画像取得期間T21において、画像処理部13での第1の補正值に基づく輝度補正を経て差分演算器15のA1入力端子に入力される。また、1つ前のフレーム取得期間 T_{N-} の画像取得期間T20で取得された背景画像は、画像取得期間T11において、画像処理部13での第2の補正值に基づく輝度補正を経てフレームメモリ14に入力され、画像取得期間T21において、MAX/MINフィルタ31で最大フィルタ処理された後、差分演算器15のB1入力端子に入力される。そして、画像取得期間T21では、A1入力の蛍光画像とB1入力の背景画像との差分を取るA1-MAX(B1)演算が実行され、蛍光が抽出された差分画像が生成される。

[0057] 以上のような蛍光観察装置1Cにおいても、蛍光画像取得期間の露光時間と、背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっている。このように、蛍光画像取得期間の露光時間と背景画像取得期間の露光時間とを非対称にすることにより、観測画像の平滑性が良好なものとなる。また、露光時間の非対称性に応じて励起光のON/OFFの時間も非対称となるので、励起光の点滅によるユーザへの違和感を低減できる。

[0058] また、蛍光観察装置1Cでは、フレームメモリ14から差分演算器15に出力される背景画像に対し、MAX/MINフィルタ31による最大フィルタ処理がなされている。第1フレームの画像と第2フレームの画像との差分画像において、例えば明るい画像部分と暗い画像部分との境界で偽の差分画

像成分が抽出される場合がある。また、観測対象物 P に動きがある場合にも、偽の差分画像成分が抽出される場合がある。これに対し、最大フィルタ処理を背景画像に適用することで、偽の差分画像成分の抽出を抑制できる。

[0059] MAX/MIN フィルタ 3 1 の最大フィルタ処理による偽の差分画像成分の抽出の抑制効果について説明する。図 10 は、図 8 に示した蛍光観察装置における画像の一例を示す図であり、(a) は背景画像、(b) は蛍光画像である。これらの背景画像及び蛍光画像は、輝度補正済みであり、背景画像を取得してから蛍光画像を取得するまでに、観測対象物 P が 2 画素分だけ上側に移動した状態を示している。また、図 11 は、図 10 の例において偽の差分画像成分の除去の様子を示す図であり、(a) は通常の差分を取る場合、(b) (c) は、最大フィルタ処理を行った場合である。

[0060] 図 11 (a) の X は、図 10 (a) の線 L1 に沿った輝度分布であり、Y は、図 10 (b) の線 L2 に沿った輝度分布を示している。輝度分布 X では、図中の上側の画素から順に「暗→明→暗→明→暗→暗→明→明→明→暗→暗」となっているのに対し、輝度分布 Y では、観測対象物 P が移動した結果、図中の上側から順に「暗→明→暗→暗→明→明→明→暗→暗→明→明」となっている。このとき、 $Y - X$ 演算による差分画像では、本来、蛍光信号以外はすべての画素で輝度分布が「暗」にならなくてはならないが、輝度分布 Y が「明」で且つ輝度分布 X が「暗」である画素において、偽の差分画像成分 Z1, Z2 が発生している。

[0061] このような偽の差分画像成分に対し、図 11 (b) では、フィルタ処理の画素数を $n = 2$ として最大フィルタ処理を行い、対象画素に垂直方向で時間的に前の 1 個の画素を加えた 2 個の画素での最大輝度を対象画素の輝度としている。また、図 11 (c) では、フィルタ処理の画素数を $n = 3$ として最大フィルタ処理を行い、対象画素に垂直方向で時間的に前の 2 個の画素を加えた 3 個の画素での最大輝度を対象画素の輝度としている。

[0062] 図 11 (b) に示すように、 $n = 2$ の最大フィルタ処理では、背景画像の輝度分布 MAX (X) において、1 つ前の画素の輝度が「暗」から「明」に

置き換えられ、暗→明→明→明→明→暗→明→明→明→明→暗」となっている。これにより、 $Y - MAX(X)$ 演算による差分画像では、偽の差分画像成分 Z_1, Z_2 が除去されている。一方、 $Y - MAX(X)$ 演算による差分画像では、輝度分布 $MAX(X)$ における6番目の画素が依然として「暗」であるため、偽の差分画像成分 Z_3 が発生している。

[0063] これに対し、図11(c)に示すように、 $n = 3$ の最大フィルタ処理では、背景画像の輝度分布 $MAX(X)$ において、2つ前及び1つ前の画素の輝度が「暗」から「明」に置き換えられ、暗→明→明→明→明→明→明→明→明→明→明」となっている。これにより、 $Y - MAX(X)$ 演算による差分画像では、全ての偽の差分画像成分が除去されている。

[0064] 図12は、図8に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法の変形例を示すタイミングチャートである。同図に示す例では、画像取得期間 T_{11} で取得された蛍光画像は、画像取得期間 T_{21} において、画像処理部13での第1の補正值に基づく輝度補正を経てフレームメモリ14に入力される。フレームメモリ14に入力された蛍光画像は、画像取得期間 T_{12} において、 MAX/MIN フィルタ31で最小フィルタ処理された後、差分演算器15のB1入力端子に入力される。また、画像取得期間 T_{21} で取得された背景画像は、画像取得期間 T_{12} において、画像処理部13での第2の補正值に基づく輝度補正を経て差分演算器15のA1入力端子に入力される。そして、画像取得期間 T_{12} では、B1入力の蛍光画像とA1入力の背景画像との差分を取る $MIN(B1) - A1$ 演算が実行され、蛍光が抽出された差分画像が生成される。

[0065] MAX/MIN フィルタ31の最小フィルタ処理による偽の差分画像成分の抽出の抑制効果について説明する。図13は、図8に示した蛍光観察装置における画像の一例を示す図であり、(a)は蛍光画像、(b)は背景画像である。これらの蛍光画像及び背景画像は、輝度補正済みであり、蛍光画像を取得してから背景画像を取得するまでに、観測対象物Pが2画素分だけ下側に移動した状態を示している。また、図14は、図13の例において偽の

差分画像成分の除去の様子を示す図であり、(a) は通常の差分を取る場合、(b) (c) は、最小フィルタ処理を行った場合である。

[0066] 図 14 (a) の X は、図 13 (a) の線 L 3 に沿った輝度分布であり、Y は、図 13 (b) の線 L 4 に沿った輝度分布を示している。輝度分布 X では、図中の上側の画素から順に 暗→明→暗→暗→明→明→明→暗→暗→明→明」となっているのに対し、輝度分布 Y では、観測対象物 P が移動した結果、図中の上側から順に 暗→明→暗→明→暗→暗→明→明→明→暗→暗」となっている。このとき、X − Y 演算による差分画像では、輝度分布 X が「明」で且つ輝度分布 Y が「暗」である画素において、偽の差分画像成分 Z 4 , Z 5 が発生している。

[0067] このような偽の差分画像成分に対し、図 14 (b) では、フィルタ処理の画素数を $n = 2$ として最小フィルタ処理を行い、対象画素に垂直方向で時間的に前の 1 個の画素を加えた 2 個の画素での最小輝度を対象画素の輝度としている。また、図 14 (c) では、フィルタ処理の画素数を $n = 3$ として最小フィルタ処理を行い、対象画素に垂直方向で時間的に前の 2 個の画素を加えた 3 個の画素での最小輝度を対象画素の輝度としている。

[0068] 図 14 (b) に示すように、 $n = 2$ の最小フィルタ処理では、蛍光画像の輝度分布 M I N (X) において、1 つ前の画素の輝度が「明」から「暗」に置き換えられ、暗→暗→暗→暗→暗→明→明→暗→暗→暗→明」となっている。これにより、M I N (X) − Y 演算による差分画像では、偽の差分画像成分 Z 4 , Z 5 が除去されている。一方、M I N (X) − Y 演算による差分画像では、輝度分布 M I N (X) における 6 , 7 番目の画素が依然として「明」であるため、偽の差分画像成分 Z 6 が発生している。

[0069] これに対し、図 14 (c) に示すように、 $n = 3$ の最小フィルタ処理では、蛍光画像の輝度分布 M I N (X) において、2 つ前及び 1 つ前の画素の輝度が「明」から「暗」に置き換えられ、暗→暗→暗→暗→暗→暗→明→暗→暗→暗→暗」となっている。これにより、M I N (X) − Y 演算による差分画像では、全ての偽の差分画像成分が除去されている。

[0070] なお、上述した最大フィルタ処理及び最小フィルタ処理を組み合わせることも可能である。図15は、図8に示した蛍光観察装置において実行される蛍光観察方法の別の変形例を示すタイミングチャートである。同図に示す例では、画像取得期間T11で取得された蛍光画像は、画像取得期間T21において、画像処理部13での第1の補正值に基づく輝度補正を経てフレームメモリ14に入力され、かつ差分演算器15のA1入力端子に入力される。また、画像取得期間T20で取得された背景画像は、画像取得期間T21において、画像処理部13での第2の補正值に基づく輝度補正を経てMAX/MINフィルタ31で最大フィルタ処理された後、差分演算器15のB1入力端子に入力される。そして、画像取得期間T21では、A1入力の蛍光画像とB1入力の背景画像との差分を取る $A1 - MAX(B1)$ 演算が実行され、蛍光が抽出された差分画像が生成される。

[0071] 一方、フレームメモリ14に入力された蛍光画像は、画像取得期間T12において、MAX/MINフィルタ31で最小フィルタ処理された後、差分演算器15のB1入力端子に入力される。また、画像取得期間T21で取得された背景画像は、画像取得期間T12において、画像処理部13での第2の補正值に基づく輝度補正を経て差分演算器15のA1入力端子に入力され、かつフレームメモリ14に入力される。そして、画像取得期間T12では、B1入力の蛍光画像とA1入力の背景画像との差分を取る $MIN(B1) - A1$ 演算が実行され、蛍光が抽出された差分画像が生成される。

[0072] MAX/MINフィルタ31での最大フィルタ処理及び最小フィルタ処理において、フィルタ処理を適用する対象画素の近傍の画素数nを大きく設定すると、偽の差分画像成分の除去能力を向上できる。一方、画素数nを大きく設定すると、フィルタ処理実行のための回路規模の像体といった問題が生じ得る。また、大きい画素数nでのフィルタ処理の実行は、例えば差分画像自体を小さくしてしまう効果もある。

[0073] このような点を考慮すると、最大フィルタ処理及び最小フィルタ処理における対象画素の近傍の画素数nは、3以上50以下の整数に設定することが

好ましい。また、フィルタ処理回路、メモリの構成等に応じ、対象画素に対して垂直方向に時間的に後となる画素についてフィルタ処理に用いる構成としてもよい。さらに、同様のMAX/MINフィルタを水平方向に適用する構成としてもよく、MAX/MINフィルタを垂直方向及び水平方向に組み合わせて適用する構成としてもよい。

符号の説明

[0074] 1A～1C…蛍光観察装置、11…励起光源（励起光供給手段）、12…撮像装置（撮像手段）、13…画像処理部（画像処理手段）、14…フレームメモリ（画像記憶手段）、15…差分演算器（差分画像生成手段）、21…白色光源（白色光供給手段）、22…撮像装置（撮像手段）、23…重量演算器（重量画像生成手段）、31—MAX/MINフィルタ（フィルタ処理手段）、P…観測対象物。

請求の範囲

[請求項1]

観測対象物に対して蛍光観測のための励起光を供給すると共に、前記励起光の供給の○N／○FFを切り替え可能な励起光供給手段と、

前記観測対象物からの光像を撮像すると共に、得られた前記観測対象物の画像データとして、第1フレームの画像及び第2フレームの画像を時系列で交互に出力するプログレッシブ読み出し型の撮像手段と、

前記撮像手段から出力された前記第1フレームの画像又は前記第2フレームの画像を記憶する画像記憶手段と、

前記撮像手段から出力された前記第1フレームの画像及び前記第2フレームの画像の一方と、前記画像記憶手段に記憶された前記第1フレームの画像及び前記第2フレームの画像の他方との差分を取った差分画像を生成する差分画像生成手段と、を備え、

前記励起光供給手段は、前記撮像手段による前記第1フレームの画像取得期間及び前記第2フレームの画像取得期間の一方が前記励起光の供給を○Nにした蛍光画像取得期間となり、他方が前記励起光の供給を○FFにした背景画像取得期間となるように前記励起光の供給を切り替え、

前記撮像手段において、前記蛍光画像取得期間の露光時間と、前記背景画像取得期間の露光時間とが互いに異なっていることを特徴とする蛍光観察装置。

[請求項2]

前記蛍光画像取得期間の露光時間と前記背景画像取得期間の露光時間との比に基づいて、前記蛍光画像の輝度及び前記背景画像の輝度を補正する画像処理手段を更に備えたことを特徴とする請求項1記載の蛍光観察装置。

[請求項3]

前記画像処理手段は、第1の補正值を用いて前記蛍光画像の輝度を補正する第1の補正と、第2の補正值に基づいて前記背景画像の輝度を補正する第2の補正とを、前記励起光の供給の切り替えに同期して

実行することを特徴とする請求項 2 記載の蛍光観察装置。

[請求項4]

前記励起光供給手段は、前記蛍光画像取得期間が前記背景画像取得期間よりも長くなるように前記励起光の供給を切り替えることを特徴とする請求項 1 ～ 3 のいずれか一項記載の蛍光観察装置。

[請求項5]

前記背景画像取得期間の露光時間又は前記蛍光画像取得期間の露光時間が 3 0 m s e c 未満に設定されていることを特徴とする請求項 1 ～ 4 のいずれか一項記載の蛍光観察装置。

[請求項6]

前記蛍光画像取得期間及び前記背景画像取得期間の合計時間が 6 0 m s e c 以下に設定されていることを特徴とする請求項 1 ～ 5 のいずれか一項記載の蛍光観察装置。

[請求項7]

前記観測対象物に白色光を供給する白色光供給手段と、
前記白色光供給手段による前記観測対象物の光像を撮像する撮像手段と、
前記差分画像生成手段によって生成された前記差分画像に、前記撮像手段によって撮像されたカラー画像を重畳させる重畳画像生成手段と、を更に備えたことを特徴とする請求項 1 ～ 6 のいずれか一項記載の蛍光観察装置。

[請求項8]

前記画像記憶手段から前記差分画像生成手段に出力される前記蛍光画像又は前記背景画像に対し、これらの画像に含まれる各画素の輝度について、対象画素にその近傍の所定範囲内にある画素を加えた複数の画素での最大輝度を前記対象画素の輝度とする最大フィルタ処理、又は、対象画素にその近傍の所定範囲内にある画素を加えた複数の画素での最小輝度を前記対象画素の輝度とする最小フィルタ処理を行うフィルタ処理手段を更に備えたことを特徴とする請求項 1 ～ 7 のいずれか一項記載の蛍光観察装置。

[請求項9]

観測対象物に対して蛍光観測のための励起光を供給すると共に、前記励起光の供給の ON / OFF を切り替える励起光供給ステップと、
前記観測対象物からの光像を撮像すると共に、得られた前記観測対

象物の画像データとして、第1フレームの画像及び第2フレームの画像を時系列で交互にプログレッシブ読み出しを行う撮像ステップと、

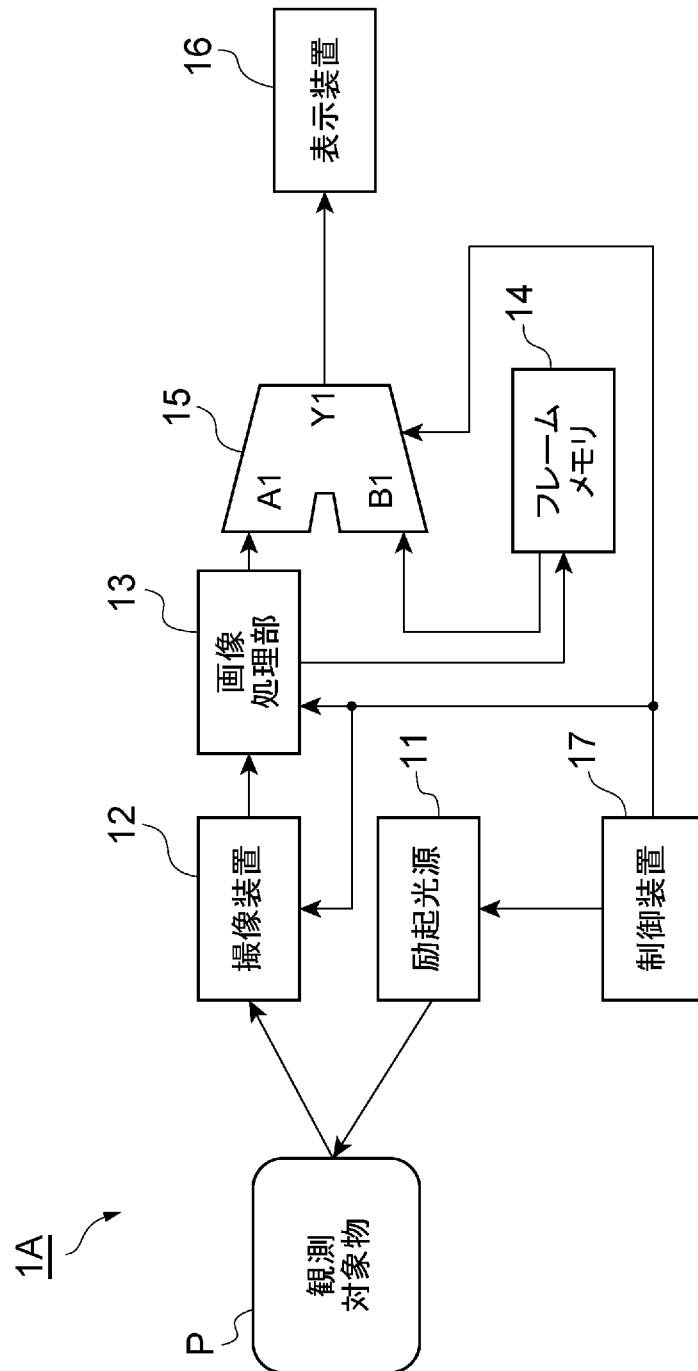
前記撮像ステップで得られた前記第1フレームの画像又は前記第2フレームの画像を記憶する画像記憶ステップと、

前記撮像ステップで得られた前記第1フレームの画像及び前記第2フレームの画像の一方と、前記画像記憶ステップで記憶された前記第1フレームの画像及び前記第2フレームの画像の他方との差分を取った差分画像を生成する差分画像生成ステップと、を備え、

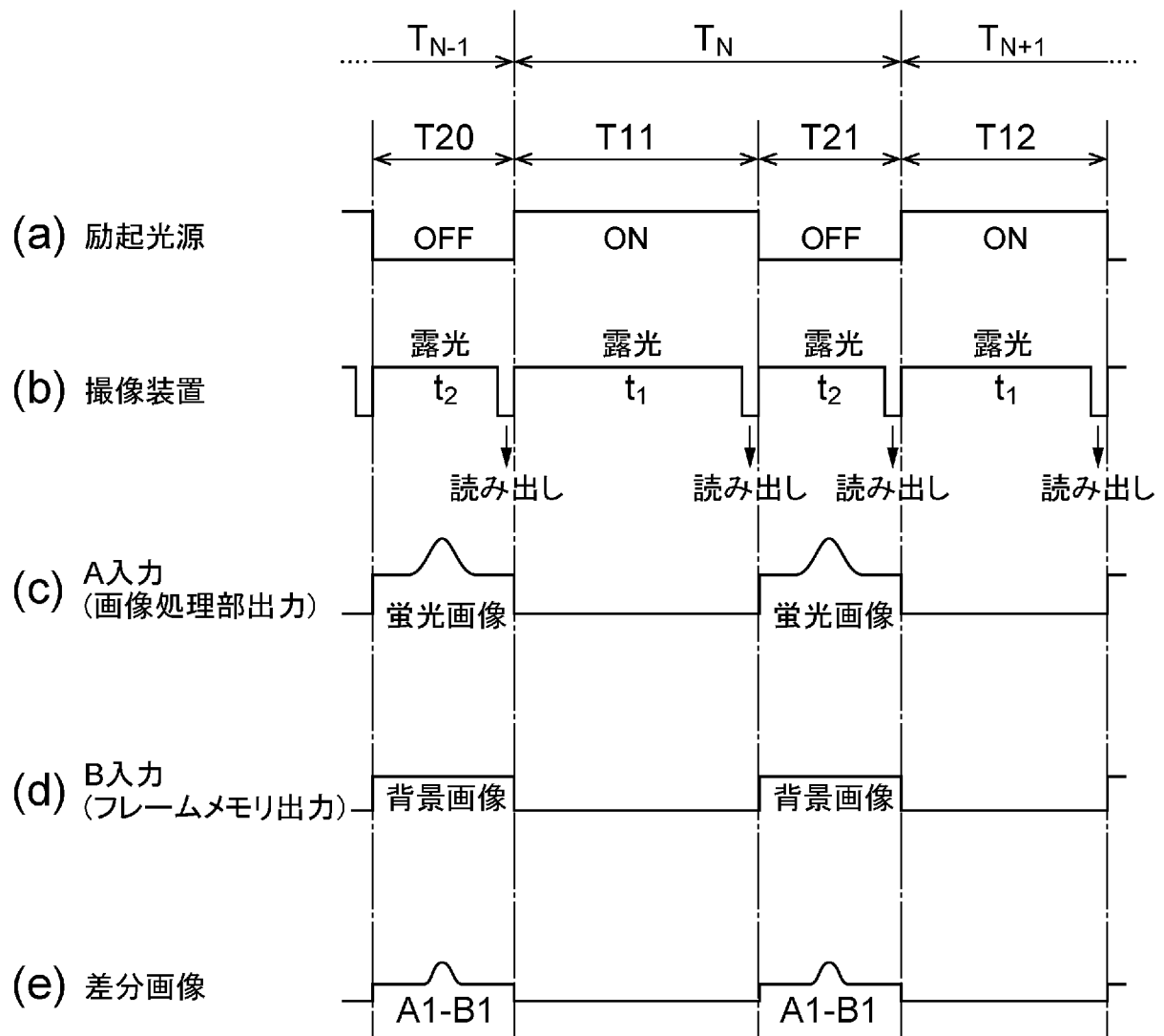
前記励起光供給ステップでは、前記撮像ステップにおける前記第1フレームの画像取得期間及び前記第2フレームの画像取得期間の一方が前記励起光の供給をONにした蛍光画像取得期間となり、他方が前記励起光の供給をOFFにした背景画像取得期間となるように前記励起光の供給を切り替え、

前記撮像ステップでは、前記蛍光画像取得期間の露光時間と、前記背景画像取得期間の露光時間とを互いに異ならせることを特徴とする蛍光観察方法。

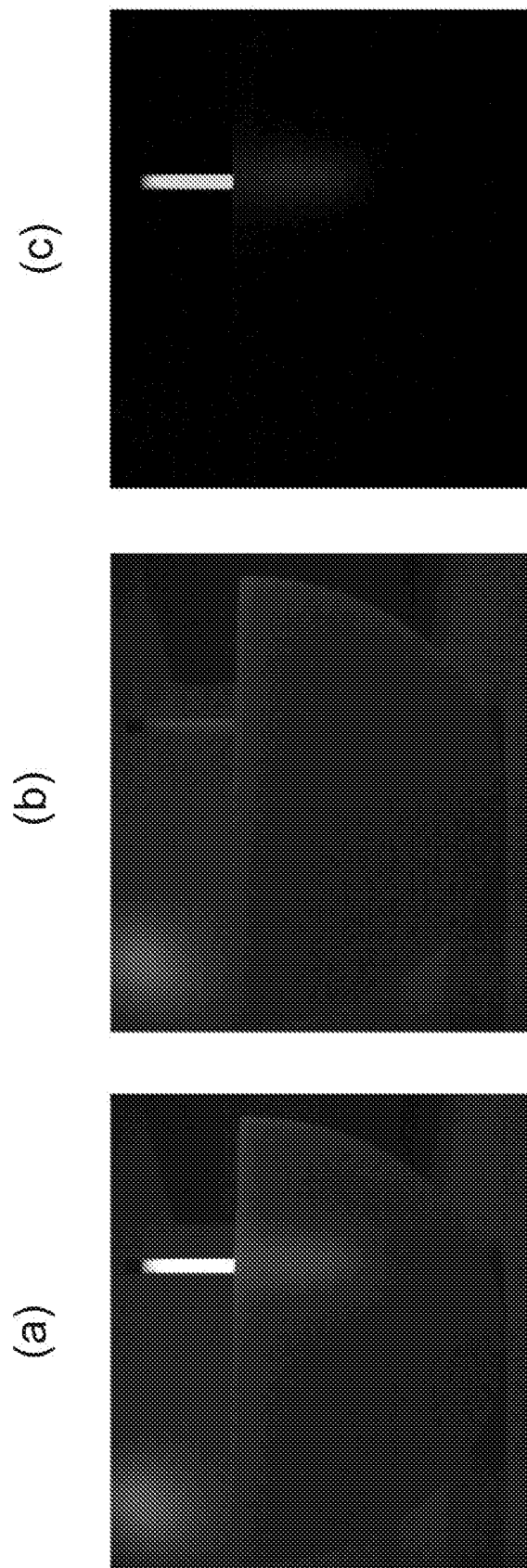
[図1]



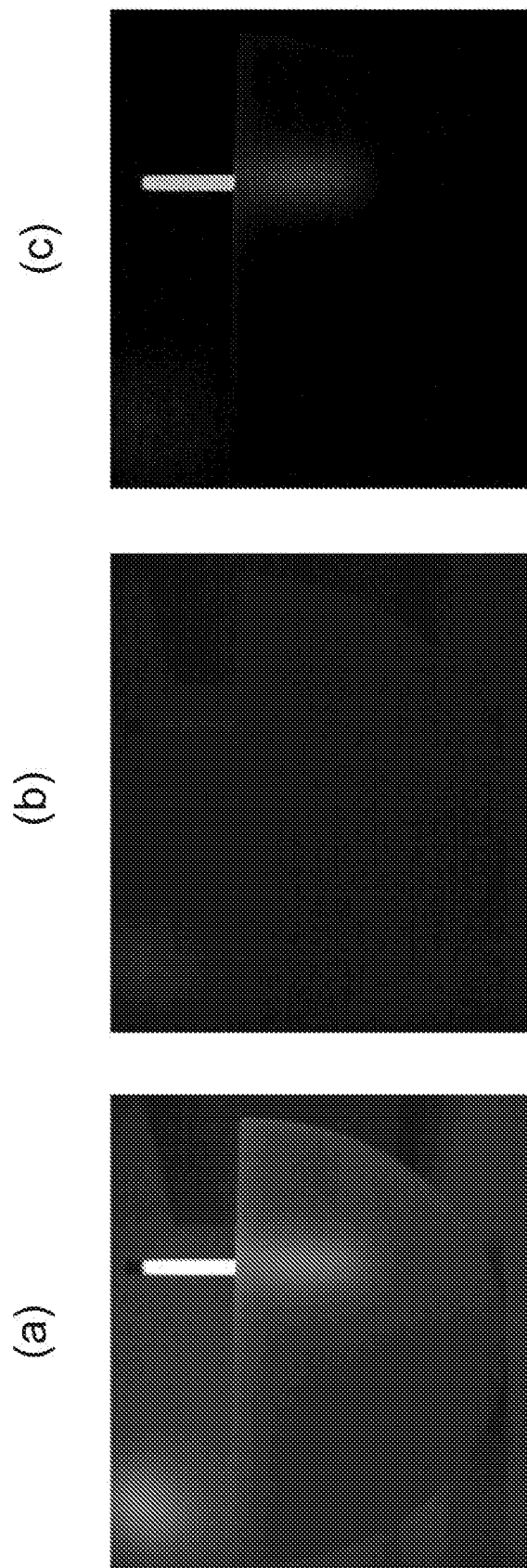
[図2]



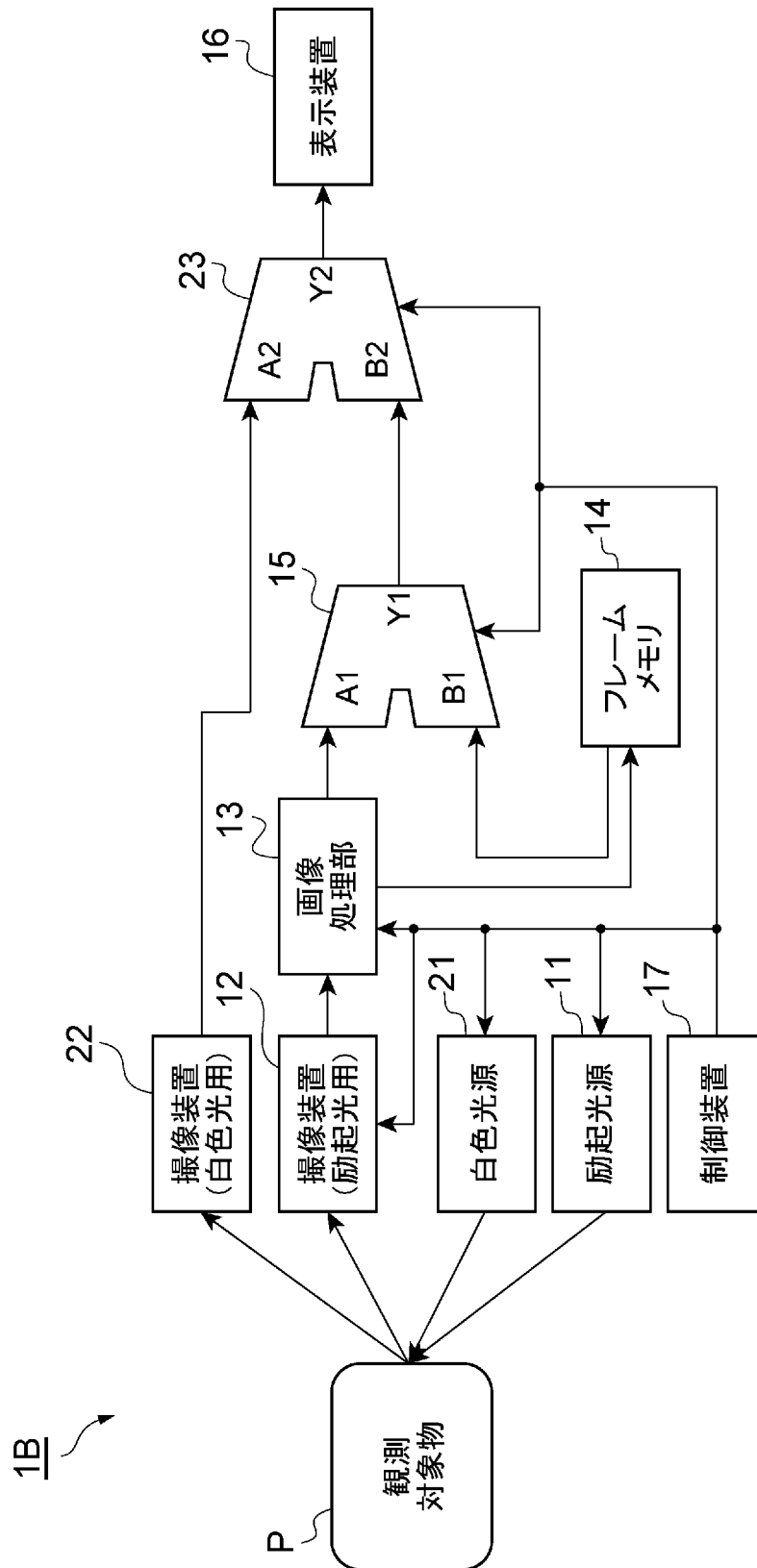
[図3]



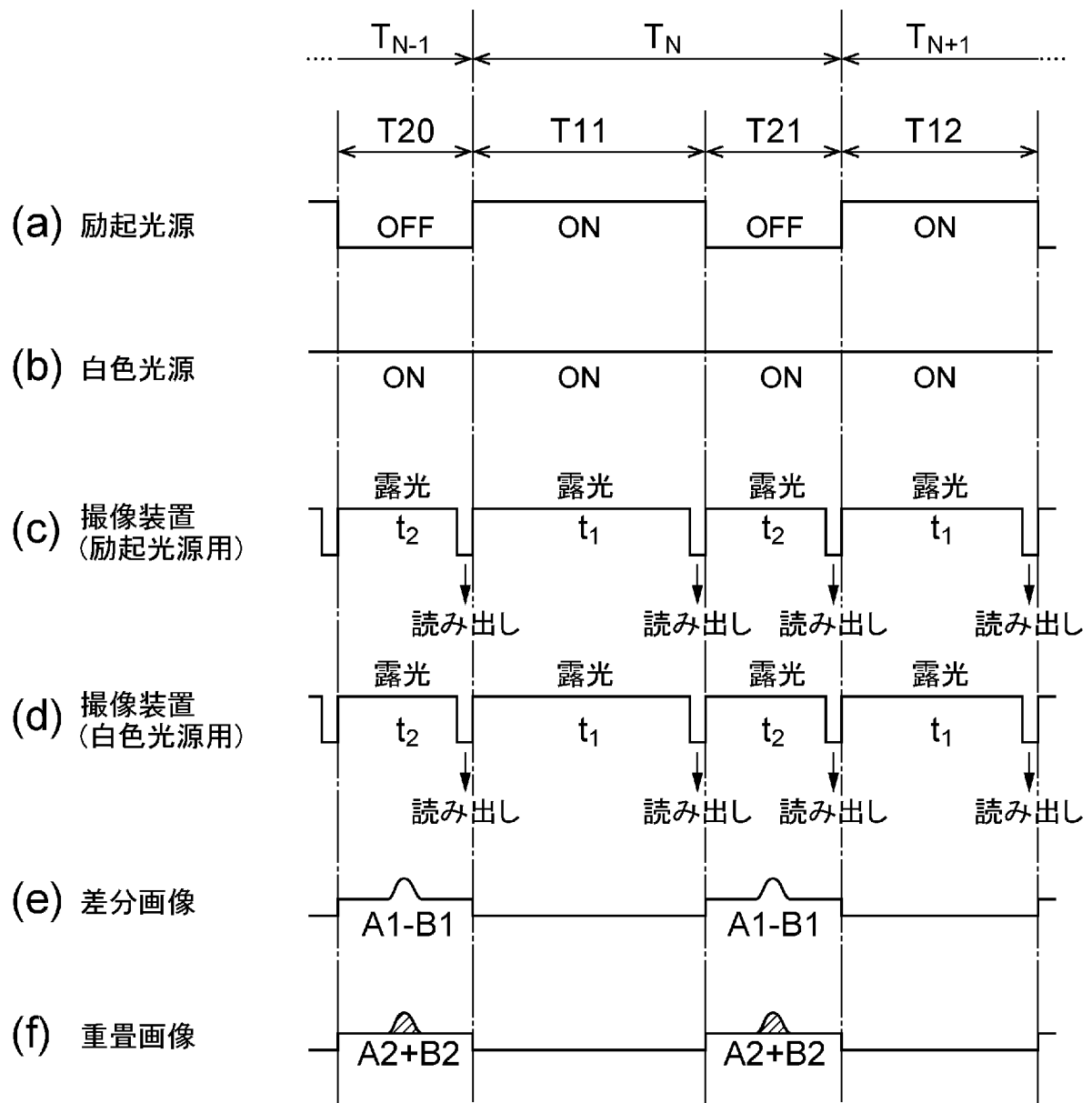
[図4]



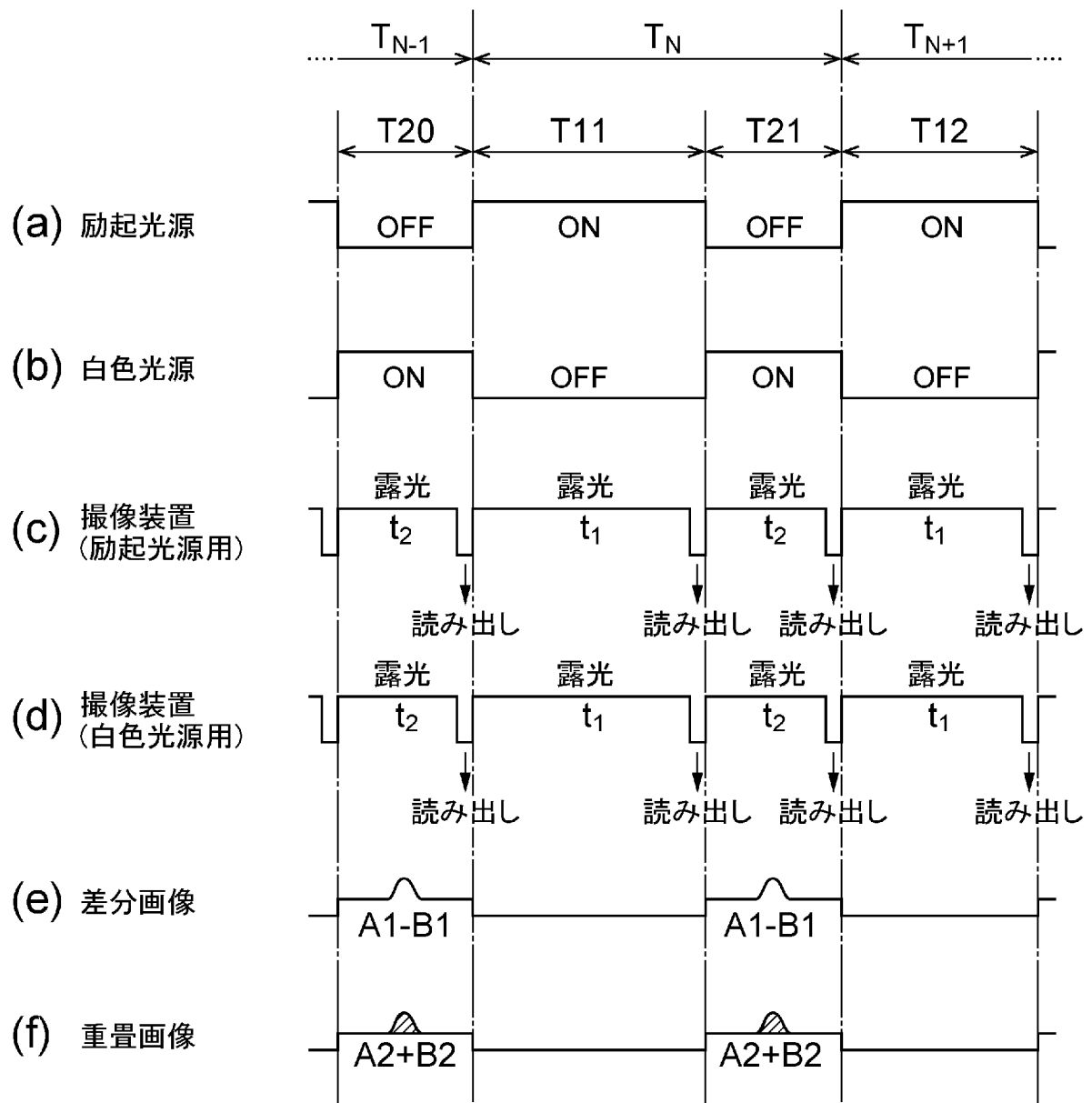
[図5]



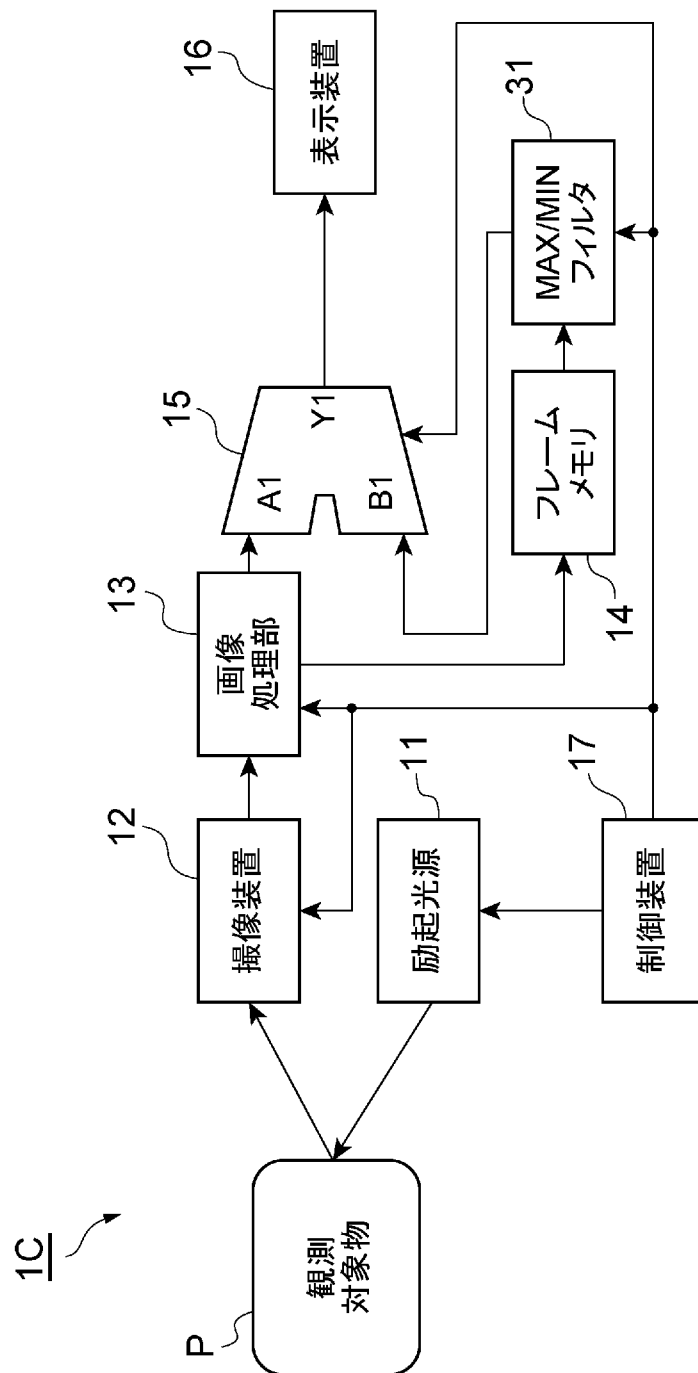
[図6]



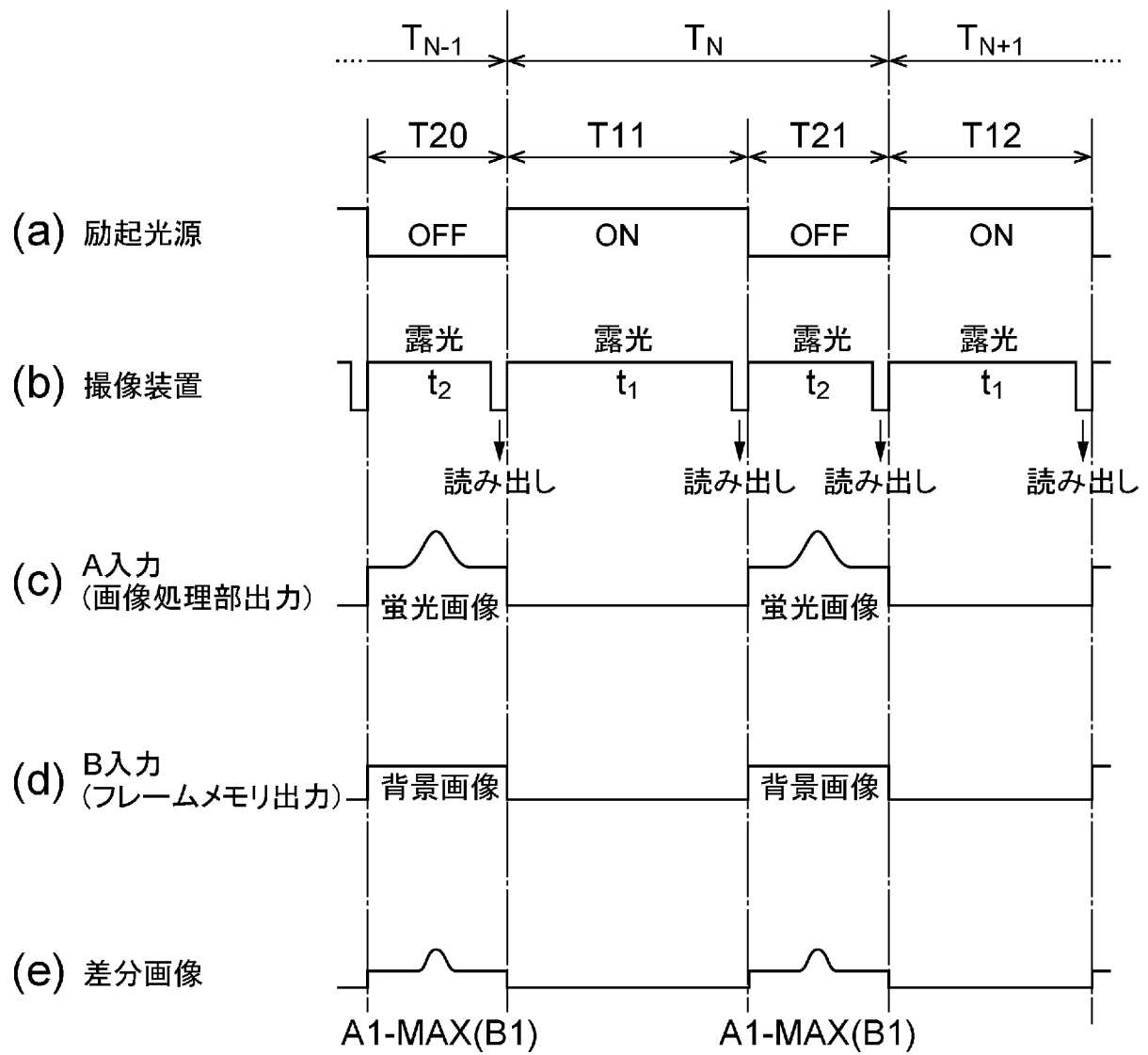
[図7]



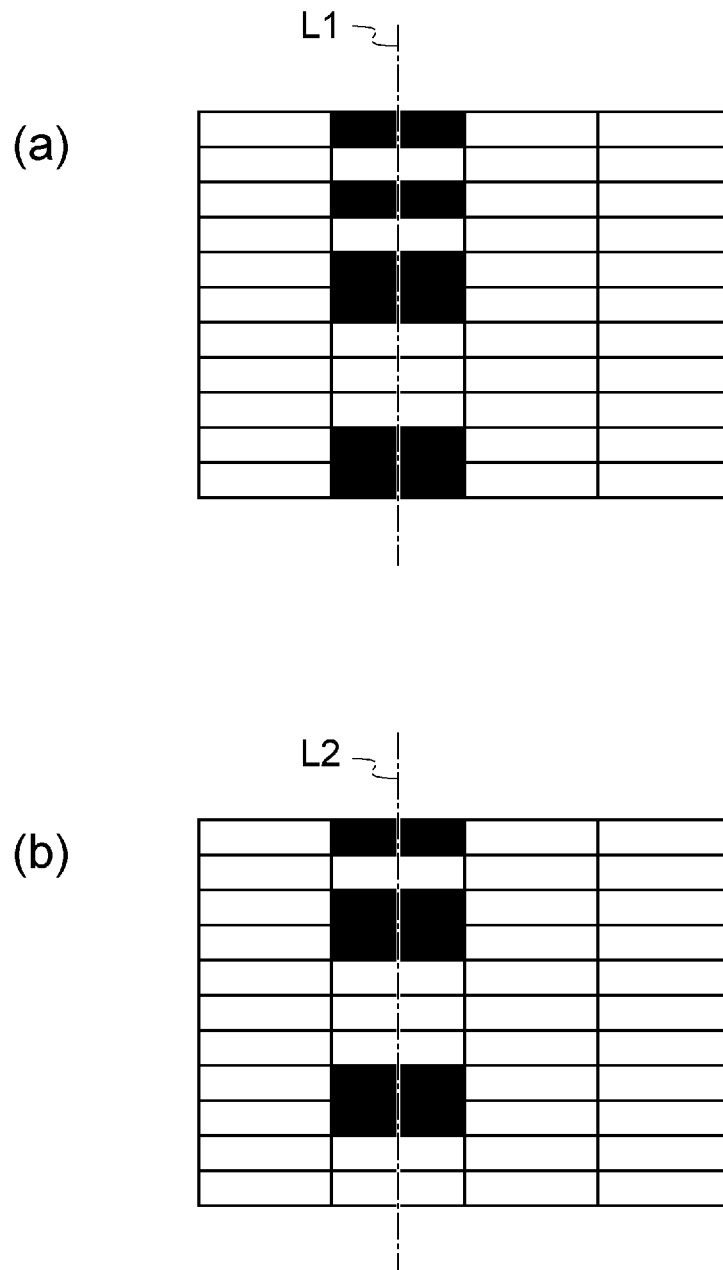
[図8]



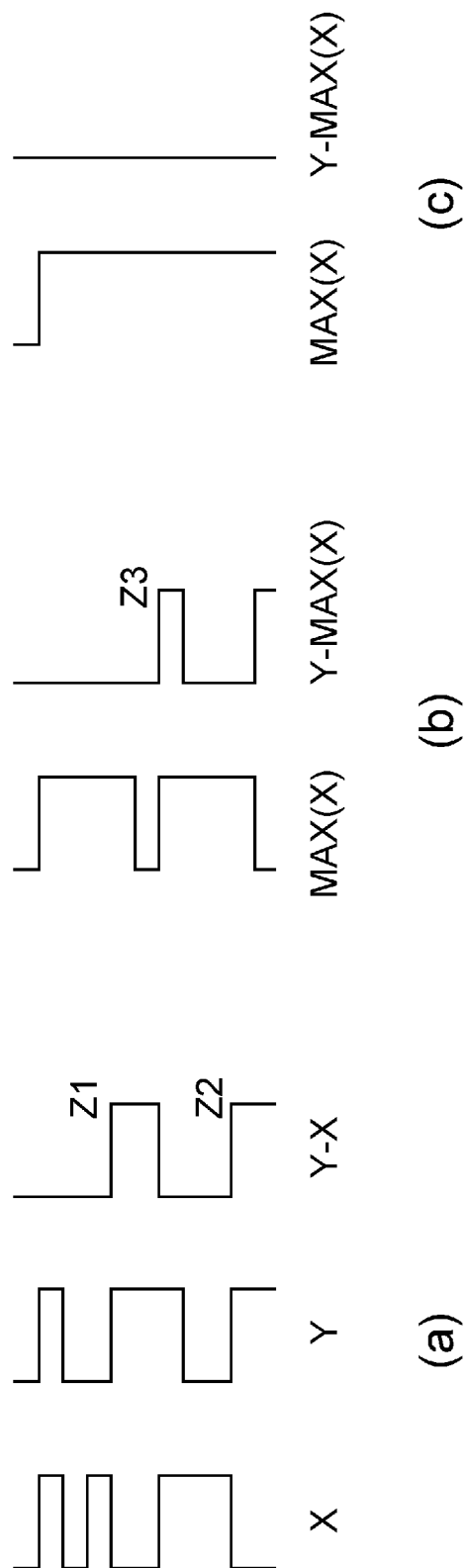
[図9]



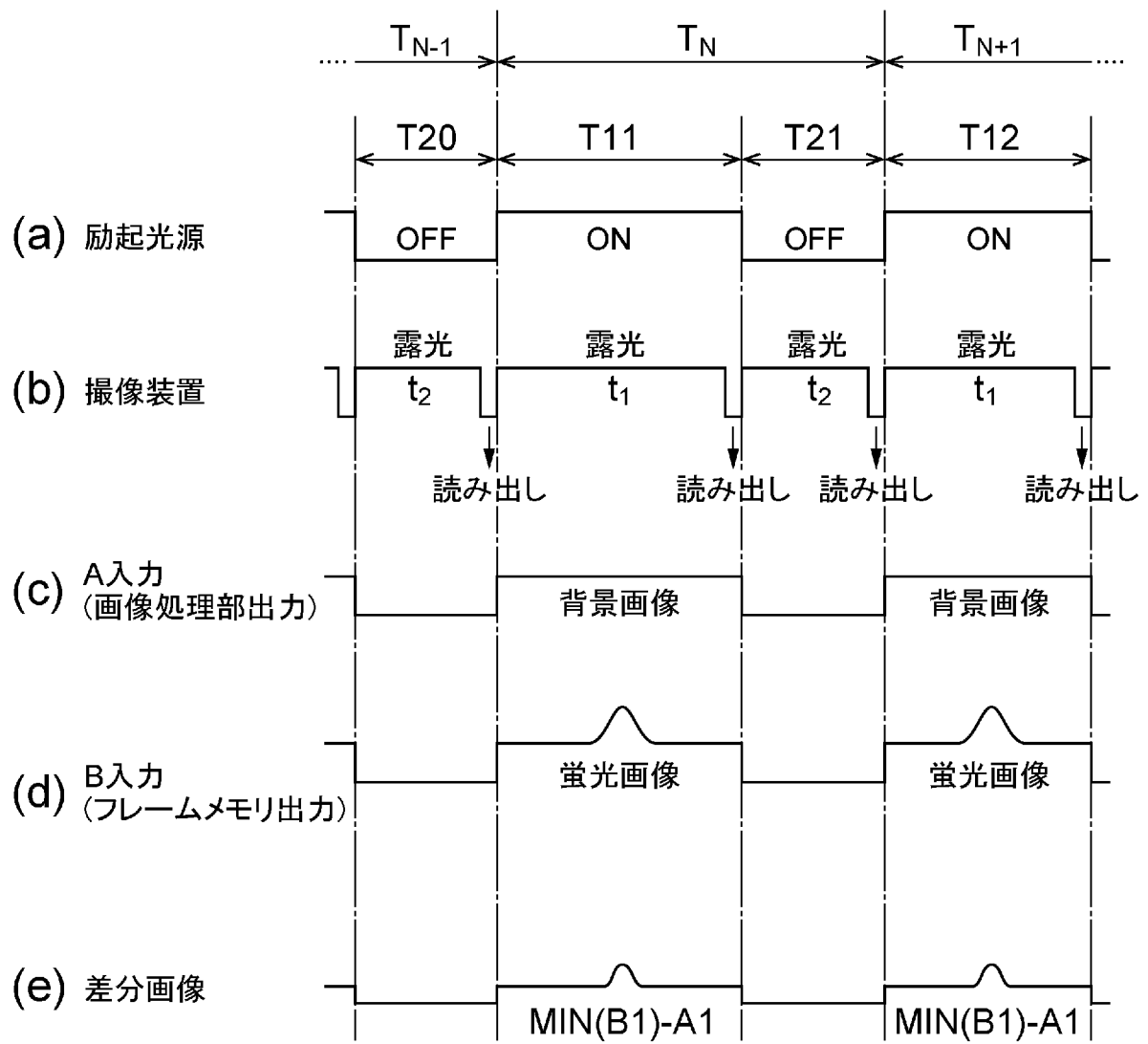
[図10]



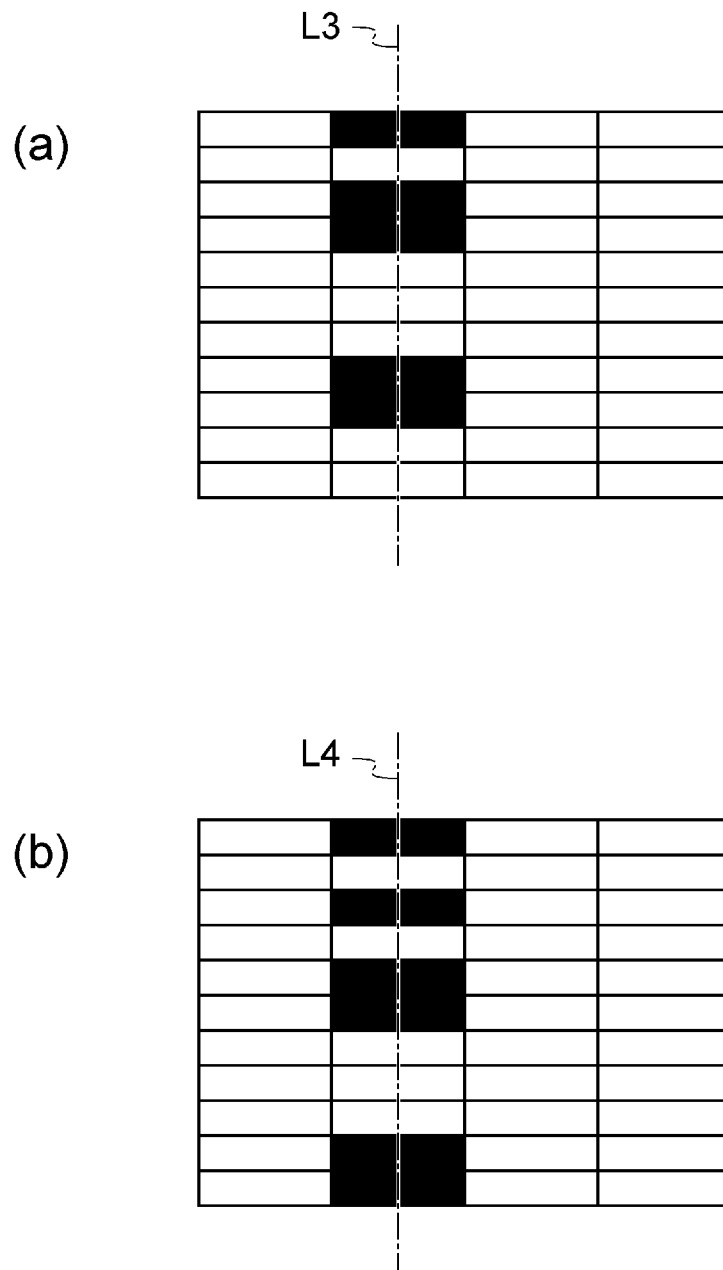
[図11]



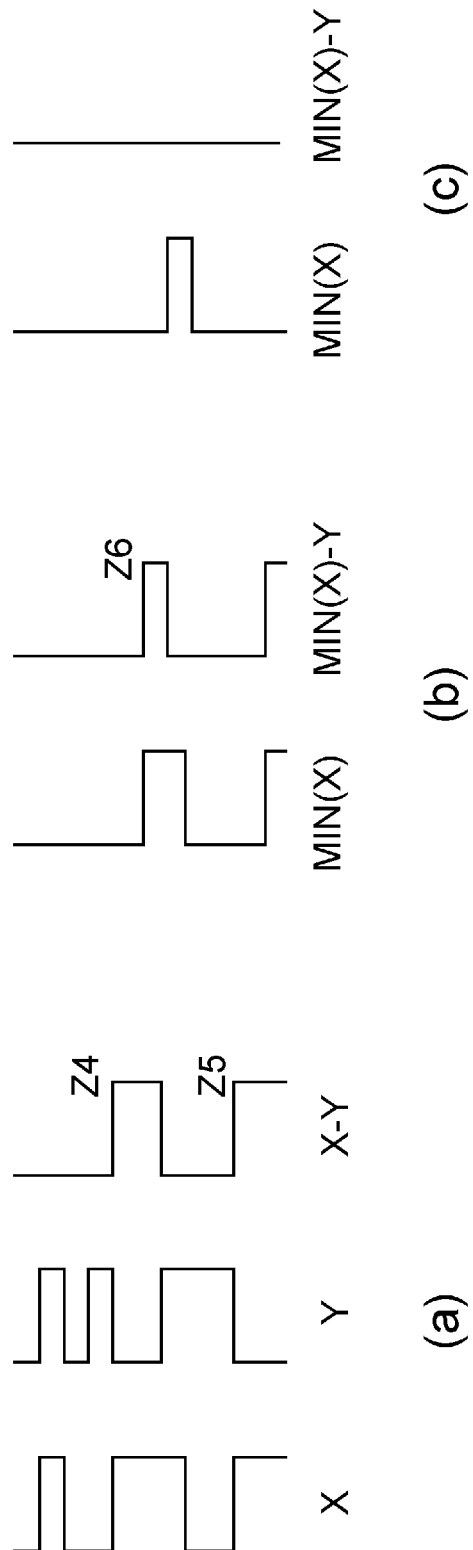
[図12]



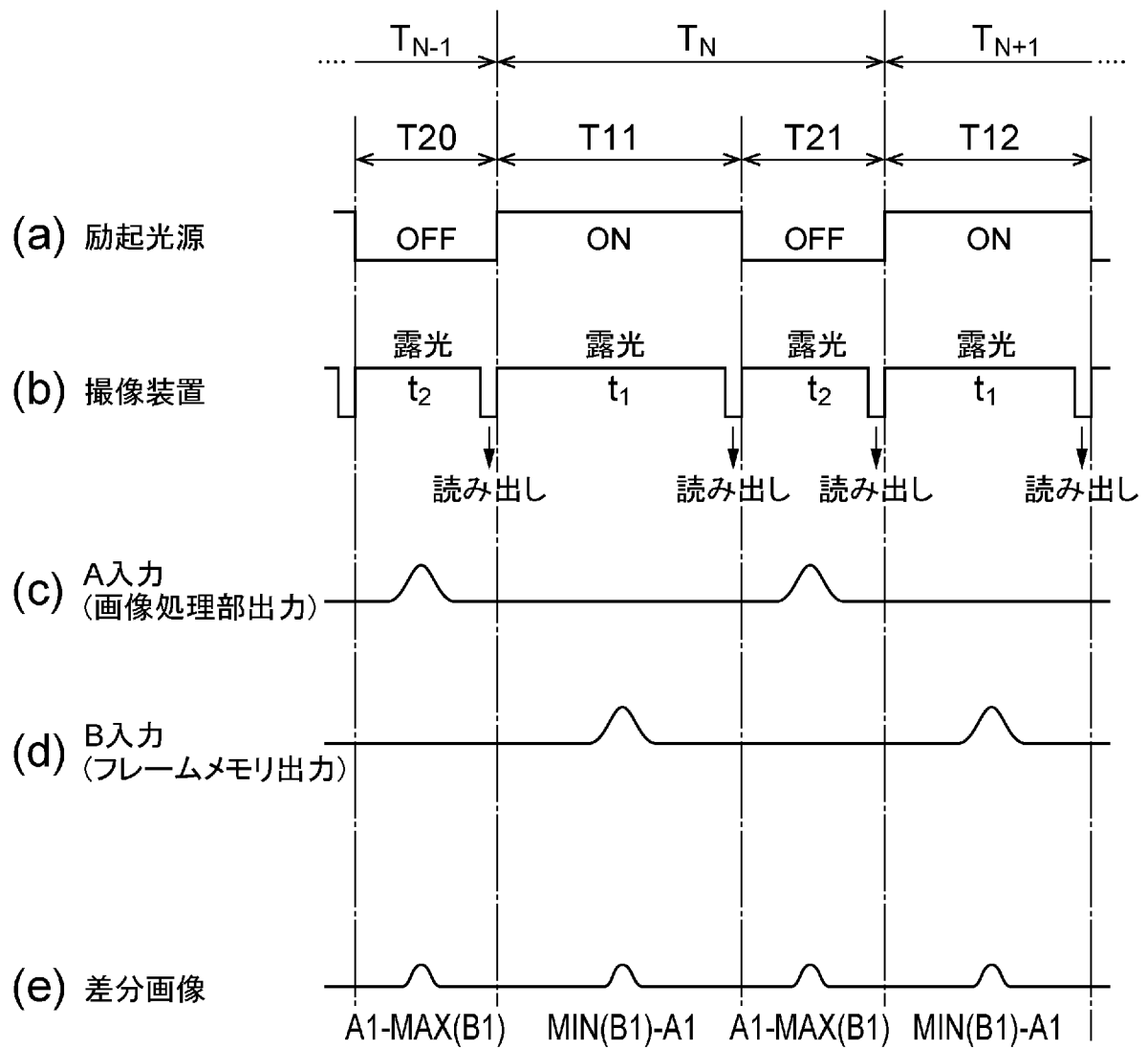
[図13]



[図14]



[図15]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2013/083927

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G 0 1 N 2 1 / 6 4 (2 0 0 6 . 0 1) 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)

G 0 1 N 2 1 / 6 4 , A 6 1 B 1 / 0 0 - 1 / 3 2

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	1996-2014
Kokai	Jitsuyo	Shinan	1971-2014	Toroku	Jitsuyo	Shinan	Koho	1994-2014

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	J P 2 0 0 6 - 5 0 9 5 7 3 A (Ietomede Ltd .) , 2 3 March 2 0 0 6 (2 3 . 0 3 . 2 0 0 6) , paragraphs [0 0 3 0] t o [0 0 5 1] ; F i g . 1 t o 4 & U S 2 0 0 6 / 0 0 0 4 2 9 2 A 1 & E P 1 5 8 5 4 3 9 A & W O 2 0 0 4 / 0 5 4 4 3 9 A 2 & A U 2 0 0 3 2 8 8 4 9 1 A	1 - 9
A	J P 2 0 0 6 - 3 4 9 5 7 4 A (Hitachi High-Technologies Corp .) , 2 8 December 2 0 0 6 (2 8 . 1 2 . 2 0 0 6) , paragraphs [0 0 5 3] t o [0 0 5 4] (Family : none)	1 - 9
A	J P 2 0 1 0 - 1 9 7 2 5 1 A (Fujitsu Ltd .) , 0 9 September 2 0 1 0 (0 9 . 0 9 . 2 0 1 0) , paragraphs [0 0 7 1] t o [0 0 8 3] (Family : none)	1 - 9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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

1 8 March , 2 0 1 4 (1 8 . 0 3 . 1 4)

Date of mailing of the international search report

0 1 April , 2 0 1 4 (0 1 . 0 4 . 1 4)

Name and mailing address of the ISA/
Japan e Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 013 / 083927

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2008/0239070 A1 (Paul We stwick), 02 October 2008 (02.10.2008), paragraphs [0041] to [0057] ; fig . 7 to 8 (Family : none)	1 - 9
P, A	JP 2013-79841 A (Hamamat su Photoni cs Kabushi ki Ka i sh a) , 02 May 2013 (02.05.2013), paragraphs [0034] to [0054] ; fig . 1 to 2 & WO 2013/051317 A1	1 - 9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

IntCl. G01N21/64 (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 (I P C))

IntCl. G01N21/64, A61B1/00-1/32

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

日本国実用新案公報	1 9 2 2 -
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 1
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 1
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 9 1

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
年

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	JP 2006-509573 A (イエトメド リミテッド) 2006. 03. 23, 【0 0 3 0】 - 【0 0 5 1】、図 1 - 図 4 & US 2006/0004292 AI & EP 1585439 A & WO 2004/054439 A2 & AU 200328849 1 A	1 - 9
A	JP 2006-349574 A (株式会社 日立ハイテクノロジーズ) 2006. 12. 28, 【0 0 5 3】 - 【0 0 5 4】 (ファミリーなし)	1 - 9

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ 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

の日の後に公表された文献

- F 「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

1 8 . 0 3 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

0 1 . 0 4 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

ヨ本 国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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)

波多江 進

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 9 2

2 W

9 5 0 8

C (続き) . 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	JP 2010-197251 A (富士通株式会社) 2010. 09. 09 , 【0071】— 【0083】 (ファミリーなし)	1—9
A	US 2008/0239070 A1 (Paul Westwick) 2008. 10. 02 , [0041]- [0057] , Fig. 7—Fig. 8 (ファミリーなし)	1—9
P , A	JP 2013-79841 A (浜松ホトニクス株式会社) 2013. 05. 02, 【0034】— 【0054】、図1—図2 & Wo 2013/051317 A1	1—9