X線の干渉で見る 位相コントラストイメージング

X-ray, interferometer, phase-contrast, imaging, biomedical study

武田 徹

呉 勁

米山 明男

1. はじめに

Roentgen により 1895 年に発見された X 線は、人体を含め種々の物体内部を画像化するための重要な技術として広く用いられている。この X 線画像のコントラスト形成の原理は、今日に至るまで変わらず、物質内部に含まれる元素の線吸収係数により決まり、物質透過後の吸収強度の変化を検出してなされている。しかし、この物理現象を用いた手法は、生体を構成している軽元素物質に対する感度が低いため、人の軟部組織病変を細かく描出するためには、重元素であるヨウ素元素等を含む造影剤を用いることが必要である。

ところで、X 線は光と同様に波の性質を有しており、波の進み方の違い「位相シフト」を検出すると、物理的に従来の吸収 X 線を用いた手法に比べ約 1,000 倍高感度な計測を行うことが可能である。この高感度特性を生かした新しい画像化技術を確立するため、X 線干渉計を用いた位相イメージングの研究を 1994 年ごろより行っている。研究開始時に使用した干渉計は、サイズが小さく撮影視野が 5 mm 角しかなかった。しかし、位相 X 線 CT により造影剤を用いず^{がん}に癌組織の鮮明な画像化に成功し、世界中で本法が注目を浴びるようになった⁽¹⁾。1997 年より文部科学省科学技術振興調整費の補助を受け、干渉計を用いた大視野生体イメージング装置の開発研究を開始した。本稿では、

たけだ・とほる 1985 年筑波大学大学院博士課程修了（医学博士）。同年、同大学放射線科医員を経て、1987 年筑波大学臨床医学系講師。1994 年より位相 X 線イメージングの研究に従事。1996 年日本生体医工学会（荻野賞）。日本核医学会（評議員）、日本医用画像工学会（幹事）。

う・じん 1984 年中国西安医科大学医療系卒業、1996 年筑波大学大学院博士課程修了（博士（医学））。核医学診断学及び放射光の医学応用に関する基礎研究に従事。1999 年筑波大学臨床医学系ポスドク研究員を経て、2004 年より同大学大学院人間総合科学研究科講師。1999 年日本核医学会賞。

よねやま・あきお 1994 年 3 月東京農工大学大学院工学研究科修士課程修了。同年 4 月（株）日立製作所入社、現在に至る。2006 年博士（学術）（総合研究大学院大学）。

X 線干渉計を用いた位相 X 線イメージングの原理、技術、現在得られている成果を概説する。

2. 位相型 X 線イメージング

X 線は非常に波長の短い波で、物質を透過すると、相互作用して吸収による振幅（強度）の減少と、波の進み方の違い（位相シフト）が生じる（図 1）。

物質の屈折率 n は、

$$n = 1 - \delta + i\beta \dots\dots\dots (1)$$

で表され、 δ は位相シフトを、 β は吸収を与え、以下の式で記載される。

$$\delta = (\lambda^2 r_e / 2\pi v_c) \Sigma (Z_j + f'_j) \dots\dots\dots (2)$$

$$\beta = (\lambda^2 r_e / 2\pi v_c) \Sigma (-f''_j) \dots\dots\dots (3)$$

ここで、 λ は X 線の波長、 r_e は古典電子半径、 v_c は結晶の単位格子体積、 Z_j は単位格子中の電子数、 f'_j および f''_j は原子散乱因子の異常分散項の実部と虚部である。式（2）、（3）から分かるように、 δ と β は電子密度と元素の種類により変化する。原子 1 個に対する位相シフトの散乱断面積の値は、X 線の波長により変わるが、生体構成元素 H、C、N、O に対して従来の吸収信号の散乱断面積より 1,000 倍ほど高い⁽²⁾⁽³⁾（図 2）。そのため、生体軟部組織の微妙な密度変化を非常に高い感度で弁別でき、X 線を用いた新しい生体イメージングが可能となる^{(1)~(3)}。

図 1 X 線と物質との相互作用

図2 位相X線画像における感度と原子番号との関係

図3 X線干渉計の構造と、試料を透過した後に得られる干渉縞

高エネルギー領域で、この位相シフトを画像化する位相X線イメージングとして、(1)干渉計法、(2)アナライザ法(DEI)、(3)Talbot干渉計法、(4)SPRING-8やESRF(European Synchrotron Radiation Facility)等の大型放射光施設で得られる平行度の高いX線を用いた屈折法が試みられている⁽⁴⁾⁽⁵⁾。密度差の大きな試料の観察には屈折法が、密度差の非常に小さい試料の観察には干渉計法が、これら中間の密度差の試料観察にはDEIやTalbot干渉計法が適している。我々は、物理的に最も感度が高く、試料内に含まれる物質の微妙な密度変化を計測することが可能なX線干渉計を利用した技術の開発を行っている。

3. X線干渉計を用いた位相X線イメージング

BonseとHartにより1965年に発明されたX線干渉計⁽⁶⁾(図3)は、3枚のシリコン単結晶でできた格子面(ハーフミラー)上でのLaue回折を利用して、位相シフト量を強度変化に変換するデバイスである。X線が最初のハーフミラーに入射しLaue回折し、位相のそろった二つのX線ビームに分離される、次のミラーでさらに二つのX線ビームに分離され、内側に収束するX線ビームの一方に試料を挿入すると、試料の位相シフト情報を有するX線ビーム(強度 I_0)と参照波(強度 I_r)とが3番目のミラーの中で重なり合い干渉縞が生じる。波の重ね合わせの原理によ

図4 一体型干渉計と分離型干渉計の模式的構造図

り、干渉波の強度(I_i)は、位相シフト量 Δp の時、以下の式で表される。

$$I_i = I_0 + I_r + 2(I_0 I_r)^{1/2} \cos(\Delta p) \dots\dots\dots (4)$$

この干渉縞から位相シフト量を計測し、物質内の密度変化を求めることができる。試料を回転させると、X線CT像⁽⁷⁾が得られ、回転させなければ胸部レントゲンのような投影像⁽²⁾⁽³⁾⁽⁸⁾が得られる。

X線干渉計法は、他の位相検出法に比べ高感度なため、試料内に密度差の非常に大きい構造物、例えば骨、石灰化病変や空気が含まれると、位相シフト量が大きすぎて、干渉縞の間隔が狭くなり干渉縞が重なり合う。そのため、位相シフト量を計算できず、画像再構成が不可能になってしまう。この問題を解決するには、非常に空間分解能の高い検出器を用いるか、感度が多少低下するが高エネルギーX線で撮影することが必要となる。研究開始時点では、X線エネルギー17.8 keVで撮影していたが、検出器の空間分解能を高くすると試料の被曝量が増えるので、現在は感度を多少犠牲にして干渉縞の間隔を2倍に広げることが可能な35 keVでの撮影を行っている⁽⁹⁾。

4. 位相X線イメージング装置

本イメージング技術実現の鍵は、大視野が得られる大型のX線干渉計を実際に作製できるかにかかっていた。X線干渉計は、半導体ウェハに使用する高純度シリコン単結晶のインゴットから作製し、6インチのインゴットを使用すると3 cm角程度の画角を得ることができる。さらに、図3の干渉計を2個の結晶ブロックに分離した干渉計を用いると上記一体型の4倍の視野が得られる(図4)。これまでに結晶加工方法や干渉計用位置決めステージの開発等を行い⁽¹⁰⁾、また、高エネルギー加速器研究機構の特別研究推進課題による実験ビームラインの改造(BL14C)により、撮影X線エネルギー17.8 keVでは、一体型で30 mm角、分離型で30 mm×60 mmの視野が現在のところ得られるようになっている。

位相X線イメージング装置は、面ビームを得るための非対称ミラー、干渉計、干渉計制御用常磐システム、試料駆動系、X線CCDカメラ、計算機システムから構成されている⁽¹⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。現在使用しているX線CCDカメラのピク

図 5(a) ノードマウスの臀部に移植した大腸癌の位相 X 線 CT 画像
(水平断面画像；皮膚，癌は高密度で白く表示され，壊死部はグレーに表示されている。腫瘍の最大長径は 10 mm である。)
(b) 大腸癌の 3 次元画像
(c) 4.74 T MRI により得られた画像

セルサイズは 0.018 mm である。また，被射体の透過性が良く，密度差が多少大きい被射体でも画像化できる 35 keV の X 線エネルギーで試料の撮影を行っている。

5. 位相 X 線 CT による生体試料観察

X 線干渉計を用いた位相 X 線 CT は，世界初の撮影方法なので実際にどのような画像が得られるか調べる必要があった。このために，ホルマリン固定した種々の生体標本，ウサギの肝臓癌⁽¹⁾，人の肝臓腫瘍⁽¹³⁾，乳癌，ラットやマウスの脳⁽¹⁴⁾，心臓，腎臓や肝臓，ヌードマウスに移植した大腸癌⁽¹⁵⁾，アルツハイマー病モデルマウス脳⁽¹⁶⁾等の撮影実験を行った。さらに，2004 年からは，生きた小動物のイメージングも可能となってきた。

5.1 固定標本の観察

5.1.1 癌のイメージング

ヌードマウス臀部に移植した大腸癌を摘出し，ホルマリン固定した試料の位相 X 線 CT 画像を示す(図 5(a))。臨床でも利用するエタノール腫瘍壊死療法を試みた例である。腫瘍の摘出 1 日前に，エタノールを腫瘍内に注入し壊死性変化を生じさせた後に残存している大腸癌部，癌周囲の薄い筋層，皮膚等が明瞭に描出されている。3 次元画像では，腫瘍と壊死の広がりを立体的に観察することができる(図 5(b))。現在，magnetic resonance imaging (MRI) は，その高感度特性ゆえに軟部組織病変の検出に X 線 CT 以上に広く用いられている。そこで 4.74 T の MRI 装置で上記の標本を撮影し，本技術と画像的にどのような差異があるか検討を行った。その結果，固定標本において位相 X 線 CT 画像は，MRI に比べはるかに高感度・空間分解能な画像が得られることが示された(図 5(c))。撮影時のボクセルの大きさを同一とすると S/N 比が 100 倍以上高いことが実験的に示された⁽¹⁵⁾。

図 6 生きたヌードマウスの臀部に移植した大腸癌部位を麻酔下で撮影した位相 X 線 CT 画像⁽²⁰⁾

5.1.2 アミロイド斑^{はん}のイメージング

アルツハイマー病モデルマウス脳標本では，脳内に斑点状に蓄積したアミロイド斑を描出することに成功した⁽¹⁶⁾。描出された大きさ 0.04 ～ 0.08 mm のアミロイド斑は，免疫染色で A β 40 という特定のアミロイドたんぱく質であることが示された。また，個々のアミロイド斑の体積と密度の定量的な解析にも成功し，詳細な病的加齢変化を捉えることも可能であった。

このように，干渉計を用いた位相 X 線 CT では，造影剤を用いず腫瘍や種々の臓器内の構造，脳内に蓄積した個々のアミロイド斑を高い空間分解能で 3 次元的に可視化できる。また，1,000 倍以上高い X 線強度が得られる SPring-8 での撮影実験では，空間分解能 0.01 mm 程度の詳細な組織画像が得られている⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。

5.2 生きた生体試料の観察

5.2.1 生きたマウスに移植した大腸癌の位相 X 線 CT 像

2004 年に生きたマウス臀部に移植した直径約 10 mm の大腸癌の画像化に世界で初めて成功⁽¹⁹⁾し，次に行った癌に対する抗癌剤の効果を調べる実験で得られた画像を図 6 に示す⁽²⁰⁾。皮膚，薄い筋層，その内側の癌と壊死部が描

出されている。固定標本像より画像が多少ぼけているが、これは麻酔下で約1時間におよぶ撮影の間に生じたマウスの体動が影響している。生きたマウスの実験では、体温による放射熱が干渉計に影響する。そのため干渉計ミラーと被射体の距離を15 cmほど広げることができる分離型X線干渉計システムの利用が、生体からの放射熱を除去する必要のあるin-vivo撮影に不可欠であった。現在、本手法をさらに進めて、癌に対する抗癌剤の効果を経時的に調べる研究を行っている。

6. 位相X線CTイメージングの将来展望

位相X線イメージングにより、ホルマリン固定標本、さらには生きた小動物の撮影にも成功した。現在の視野は約30 mm程度であるが、2004年秋の改造で入射ビームの高さが70 mmとなりさらに大視野の画像が得られるようになっている。本稿では、位相X線イメージング法による生体試料撮影の結果を紹介したが、本法による南極の氷の観察等⁽²¹⁾⁽²²⁾も可能で応用の用途は広がりを見せている。現時点での最大の問題は、検出器として使用している蛍光体・レンズカップリング型のCCDカメラでは感度が低く、かつ画像データの計算への転送が遅い点である。ブレのない鮮明な生体試料画像を撮影するために、現在の5～10倍の高速撮像ができるカメラ系の開発等を進めている⁽²³⁾。

7. おわりに

干渉計を用いた位相X線CT像では、生体を構成する軟部組織に対する感度が非常に高いため、癌組織や脳内のアミロイド蛋白等を無造影で描出できる。また、生きた小動物のイメージングも行えるようになってきた。これらの技術を21世紀の新しいX線画像技術として利用するためには、高速データ収集技術の確立が急務になってきている。この新しいイメージング技術が、癌やアルツハイマー病等の組織レベルでの病理観察や医薬品開発等に応用されることを期待している。

謝辞 本研究は、文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(A)(B)(C)、特定領域研究、萌芽研究）、文部科学省科学技術振興調整費等の補助を、また、高エネルギー加速器研究機構S型課題の承諾を得て行った。実験は、九州シンクロトロン光研究センターの平井康晴、東京大学の百生敦、小山一郎、アステラス製薬の森政道、志鷹義嗣、網野伸明、齊田恭子、工藤雅文、高エネルギー加速器研究機構の兵藤一行、平野馨一、筑波大学の南学の協力により得られた。試料容器の作製等をしていただいた筑波大学の小林浩三、川田由貴子に感謝します。動物実験に関しては、筑波大学動物実験倫理委員会の承諾を得ている。

(平成19年10月11日受付)

文献

- (1) A. Momose, et. al.: "Phase-contrast x-ray computed tomography for observing biological soft tissues", *Nature Med*, 2, pp.473-475 (1996)
- (2) A. Momose, J. Fukuda: "Phase-contrast radiographs of unstained rat cerebellar specimen", *Med. Phys*, 22, pp.375-379 (1995)
- (3) T. Takeda, et al.: "Phase-contrast imaging with synchrotron x-rays for cancer lesion", *Acad. Radiol*, 2, pp.799-803 (1995)
- (4) R. Fitzgerald: Phase-sensitive X-ray imaging; New approaches that can detect X-ray phase shifts within soft tissues show promise for clinical and biological applications, *Physics Today*, 53, pp.23-28 (2000)
- (5) A. Momose: "Recent advances in X-ray phase imaging", *Jpn. J. Appl. Phys*, 44, pp.6355-6364 (2005)
- (6) U. Bonse, M. Hart: "An X-ray interferometer", *Appl. Phys. Lett*, 6, pp.155-156 (1965)
- (7) A. Momose: "Demonstration of phase-contrast X-ray computed tomography using an X-ray interferometer", *Nucl. Instrum. Meth*, A352, pp.622-628 (1995)
- (8) T. Takeda, et al.: "Interferometric X-ray imaging of breast cancer specimens at 51 keV X-ray energy", *Jpn J Appl Phys*, 43, pp.5652-5656 (2004)
- (9) T. Takeda, et al.: "Interferometric phase-contrast X-ray CT image of VX2 rabbit cancer at 35keV x-ray energy", *AIP Conf. Proc*, 705, pp.1328-1331 (2004)
- (10) A. Yoneyama, et al.: "Operation of a separated-type x-ray interferometer for phase-contrast imaging", *Rev. Sci. Instrum*, 70, pp.4582-4586 (1999)
- (11) A. Yoneyama, et al.: "A phase-contrast X-ray imaging system-with a 60x30mm field of view-based on a skew-symmetric two-crystal X-ray interferometer", *Nucl. Instrum. Meth*, A 523, pp.217-222 (2004)
- (12) 米山明男, 他: 「分離型X線干渉計を用いた位相コントラスト型イメージングシステムと生体観察への応用」, *PF News*, 24, pp.28-33 (2006)
- (13) T. Takeda, et al.: "Human carcinoma: Early experience with phase-contrast x-ray CT with synchrotron radiation-Comparative specimen study with optical microscopy", *Radiology*, 214, pp.298-301 (2000)
- (14) F. Beckmann, et al.: "X-ray microtomography (mCT) using phase contrast for the investigation of organic matter", *J. Computer Assisted Tomography*, 21, pp.539-553 (1997)
- (15) T. Takeda, et al.: "Interferometer-based phase-contrast X-ray CT of colon cancer specimens: Comparative study with 4.74 T MRI and optical microscopy", *J. Computer Assisted Tomography*, 31, pp.214-217 (2007)
- (16) K. Noda-Saita, et al.: "Quantitative analysis of amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease by phase-contrast X-ray computed tomography", *Neuroscience*, 138, pp.1205-1213 (2006)
- (17) A. Momose, et al.: "Phase-contrast microtomography using an x-ray interferometer having a 40-um analyzer", *J. Phys*, 104, pp.599-602 (2003)
- (18) J. Wu, et al.: "Micro-phase-contrast X-ray computed tomography for basic biomedical study in SPring-8", *Proc. SPIE*, 5535, pp.740-747 (2004)
- (19) T. Takeda, et al.: "In-vivo imaging of cancer implanted in nude mice by two-crystal interferometer-based phase-contrast x-ray CT", *Jpn J Appl Phys*, 43, pp.L1144-L1146 (2004)
- (20) A. Yoneyama, et al.: "Non-invasive and time-resolved observation of tumors implanted in mice by using phase-contrast X-ray computed tomography", *Jpn. J. Appl. Phys*, 45, pp.1864-1868 (2006)
- (21) S. Takeya, et al.: "Observation of low-temperature object by phase-contrast x-ray imaging: Nondestructive imaging of air clathrate hydrates at 233 K", *Review of Scientific Instruments*, 77, pp.053705-1-4 (2006)
- (22) S. Takeya, et al.: "Imaging and density mapping of tetrahydrofuran clathrate hydrates by phase-contrast x-ray computed tomography", *Applied Physics Letter* 90, pp.81920-1-3 (2007)
- (23) A. Yoneyama, et al.: "Fast X-ray Digital Imager for High-Speed Phase-Contrast X-ray Imaging", *Jpn. J. Appl. Phys*, 46, pp.1205-1207 (2007)