

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：34450

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12709

研究課題名（和文）病理標本のメゾスコピック領域での3次元屈折コントラスト画像撮影システムの開発

研究課題名（英文）Development of a three-dimensional refraction-contrast imaging system in the mesoscopic region of pathological specimens.

研究代表者

島雄 大介（SHIMAO, Daisuke）

大阪物療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：20404907

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：生体軟部組織の描出に優れる屈折コントラスト画像法はX線の屈折角を弁別するアナライザの厚さが薄いほど空間解像度が向上する。現行システムでは350 μ m厚が限界であるため、一定の視野サイズを確保しつつ更なる薄化の可能性がある新発想のアナライザを開発して現行システムの改造を行った。アナライザの上部にスリットを設け、これを利用してアナライザの自重で鉛直にぶら下げるタイプの開発に成功し、100 μ m厚で視野サイズ15mm \times 20mmにて均一視野とCT撮影を可能とする長時間安定性を実現した。病理標本（前立腺）を撮影したところ、腺管、腺腔、尿道、微小結石が描出され、染色した病理像に迫る画像が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顕微鏡下での2次元的な観察による現状の病理診断は、病変の3次元的な把握や病変の存在が不明確な場合に観察領域の選定が困難となるという問題を抱えている。X線の屈折を画像コントラストとする屈折コントラスト画像法は軟部組織の描出に優れるため、10 μ mを切る空間解像度をもつ屈折コントラストCT像が得られるようになれば、現状の病理診断の弱点を補完するものとなることが期待される。

また、本研究で開発した手法により各種の病理標本の屈折コントラストCT像を集積することで「3次元X線病理診断学」の提唱や「メゾスコピック解剖生理学」なる新たな研究領域の創生が期待される。

研究成果の概要（英文）：Refraction contrast imaging, which excels in the delineation of biological soft tissue, improves spatial resolution as the thickness of the analyzer, which discriminates the angle of refraction of X-rays, becomes thinner. Since the current system is limited to a thickness of 350 μ m, we modified the current system by developing an analyzer based on a new concept that offers the possibility of further thinning while maintaining a certain field of view size.

We have succeeded in developing a type of analyzer with a slit in the upper part of the analyzer that hangs vertically under its own weight, achieving a uniform field of view and long-term stability that enables CT imaging with a field of view size of 15 mm \times 20 mm and a thickness of 100 μ m. When the pathology specimen (prostate) was tested, glandular ducts, glandular cavity, urethra, and micro calculi were delineated, and the image approached the stained pathology image.

研究分野：診療画像技術学

キーワード：屈折コントラスト CT 病理標本

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

病理診断では患者から得られた組織をブロック状の病理標本にし、これをミクロトームというスライサで3~5 μm 厚の切片にしてスライドガラスにのせた後、染色して顕微鏡で2次元的に観察する。この手法では、病変の3次元的な把握や病変の存在が不明確な場合の観察領域の選定が困難となるという問題をはらんでいる。複数の2次元組織の顕微鏡像を積み重ねて3次元像を構築する試みもあるが、時間と労力が膨大であり観察領域選定という目的には不向きである。

これを解決するためには、病理標本のような軟組織を高空間解像度かつ3次元で自動的に画像化する技術が求められる。生体の3次元での画像化というとX線CT装置の利用が想定される。しかし現状のX線CT撮影では、被写体を構成する物質のX線の吸収差をコントラストとしている(吸収コントラスト画像法)ため、X線吸収の差が小さい生体軟組織やその内部構造、さらには軟組織内に存在する腫瘍にコントラストをつけるのは困難である。

一方で、X線吸収の差が小さい生体軟組織の描出に向けては、X線の‘吸収’の約1000倍の感度が得られるとされるX線の‘屈折’の差をコントラストとする屈折コントラスト画像法が開発され、さらにはその応用研究が国内外を問わず盛んに行われている。現在、屈折コントラスト画像法のCT化(屈折コントラストCT)も実現しており生体軟組織の3次元画像化に成功しているが、空間解像度は30 μm 程度に留まっている。病理学の分野で本手法の応用を提言するには少なくともまずは10 μm を切る空間解像度の達成が必要となる。これが可能となれば、生体軟組織からなる病理標本の高空間解像度非破壊検査が実現し、‘3次元X線病理診断学’の提唱に向けた足がかりとなるであろう。

2. 研究の目的

本研究で採用する屈折コントラスト画像法の空間解像度を左右する最大の要素は、X線の屈折角をX線の強度に変換するシリコンウエハ(アナライザ)の厚さであり、薄いほど空間解像度が向上する。現状のシステムでは350 μm 厚程度のものを使用し、30 μm 程度の空間解像度を達成している。しかし、現状のシステムではこれ以上アナライザを薄くするとアナライザの設置時に治具との接触により歪が生じ画像コントラストを歪めるとともに不安定となる。

そこでアナライザの上部にスリットを設け、スリット上部を支柱で支え、アナライザを自重で鉛直に吊り下げるタイプのものを提案する。スリットを設けることでアナライザと支柱との接触領域に起因する歪が排除されることを見込んでいる。現状で入手(利用)可能なX線カメラの解像度(画素サイズ)が7.4 μm であるため、本研究課題ではアナライザ厚100 μm 程度にて歪による斑の無い数cm 角の視野サイズのもと、10 μm を切る空間解像度を達成できる屈折コントラストCT撮影システムの開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) スリット付きアナライザの作製

手持ちの4枚の55 mm(縦)×50 mm(横)×500 μm(厚さ)のシリコンウエハ上部の両端に2つのスリット、その下部中央に1つのスリットを入れる加工を専門加工業者(SE TECH INTERNATIONAL LLC; 埼玉)に依頼した。このうち2枚のシリコンウエハを両面鏡面研磨により100 μm 厚まで薄化する加工を研磨業者(日本エクシード株式会社; 茨城)に依頼した。同様に残りの2枚のシリコンウエハを60 μm 厚までの薄化を依頼した。これにより、それぞれ2セットのスリット付き100 μm 厚、60 μm 厚アナライザを用意した。

(2) アナライザ治具の作製

スリット付きアナライザの上部両端のスリットにステンレスの薄板を通すことで、アナライザを吊り下げる形式のアナライザ設置用治具を作製した。このステンレスの薄板とは100 μm 幅もしくは60 μm 幅の線状構造でぶら下げる形式のため、許容を超える揺れの発生を抑制する目的でクッションテープを介してスリット上部の両端を前後から挟む構造を追加した。

(3) 放射光X線による動作実験

スリット付きアナライザを組み込んだ屈折コントラスト撮影システムの動作チェックを高エネルギー加速研究機構の放射光実験施設のビームラインBL14Bにて行った。評価項目は回折強度曲線測定、視野の均一度の定性評価、長時間安定性の3項目とした。

(4) 病理標本の屈折コントラストCT撮影

スリット付き100 μm 厚アナライザによる病理標本(前立腺)の屈折コントラストCT撮影を行い、CT撮影に耐える長時間安定性と得られるスライス像において描出される構造の検証を行った。

4. 研究成果

(1) スリット付きアナライザと治具

55 mm (縦) × 50 mm (横) × 500 μm (厚さ) のシリコンウエハの上部両端に 2 つのスリットとその下部中央に 1 つのスリットを入れたスリット付きアナライザを図 1 に示す。

また、このアナライザを 100 μm 厚まで両面鏡面研磨したスリット付き 100 μm 厚アナライザを治具に吊り下げて設置した様子を図 2 に示す。



図 1. スリット付きアナライザ

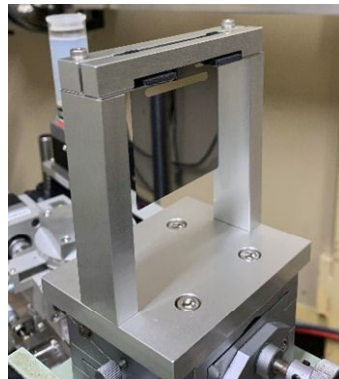


図 2. 治具に設置したアナライザ

(2) 放射光 X 線による動作実験

スリット付き 100 μm 厚アナライザのうちの 1 つを動作チェックの対象とし、回折条件の詳細を探索したところ、最適 X 線エネルギーは 19.6 keV であった。この入射 X 線エネルギーにてアナライザをブラッグ回折条件付近にて 0.02 arcsec (角度秒) ステップで回転させながら、前方回折 (FD) 強度と回折 (F) 強度 (図 3) を測定した。これにより得られた回折強度曲線を図 4 に示す。図 4 中、青色プロットが前方回折強度曲線で緑色プロットが回折強度曲線である。ペンデル縞による振動が平均化により平滑化されているが理論通りの回折強度曲線が得られている。また、歪による 2 次元視野内の濃度斑は見られず、少なくとも 3 時間程度の安定性があった。一方で、スリット付き 60 μm 厚アナライザは鏡面研磨斑に起因する斑が視野一面に発生しているため使用不能であった。本法によるアナライザの薄化は 100 μm 厚が限界かもしれない。

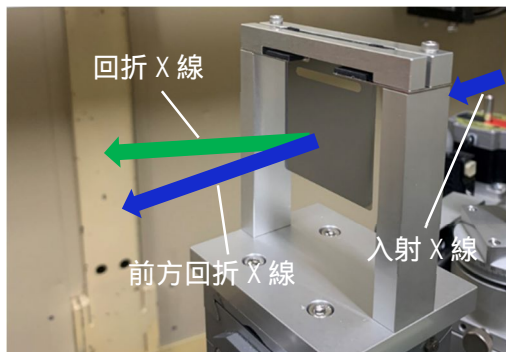


図 3. 前方回折と回折

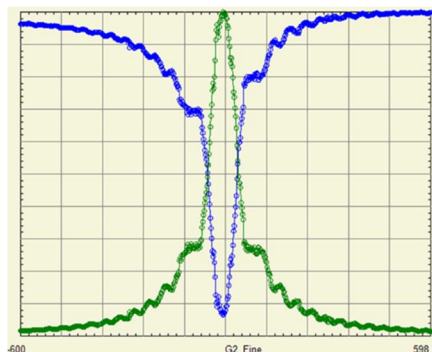


図 4. 回折強度曲線

(3) 病理標本の屈折コントラスト CT 撮影

高エネルギー加速研究機構の放射光実験施設のビームライン BL14B にスリット付き 100 μm 厚アナライザを利用した屈折コントラスト CT 撮影システムを構築した (図 5)。

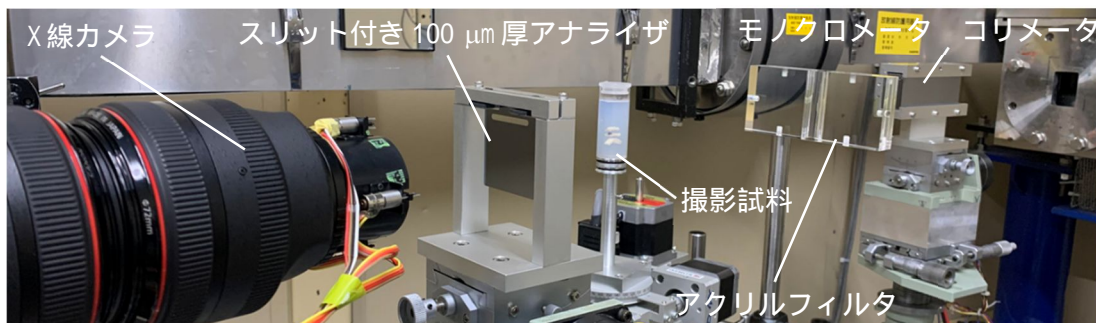


図 5. スリット付き 100 μm 厚アナライザを利用した屈折コントラスト CT 撮影システム

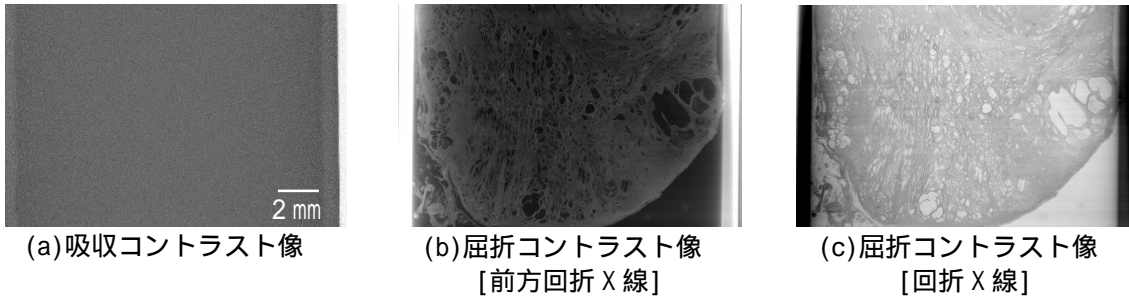


図 6 . 正常前立腺組織の各種 CT スライス像

図 6 に本システムで得られた正常前立腺組織の各種 CT スライス像を示す。吸収コントラスト (a) では何も描出されていないが、屈折コントラスト (b, c) では軟組織から成る構造が明瞭に描出されている。尿道、腺腔、腺管などの主要な構造と組織内に生じた微小結石が描出されると推定されるが、今後、染色病理像との比較による確定を行っていく予定である。

(4) 今後の展望

我々の成果を目にした病理医や画像工学を専門とする研究者らから、10 μm を切る空間解像度が達成できれば屈折コントラスト画像は 3 次元 X 線病理診断学やメゾスコピック解剖生理学の確立への基盤技術となり得るとの提言が寄せられている。

本研究にて、一定の視野サイズを確保しつつアナライザを薄化できるシステムの開発に成功し、空間解像度の向上が見込めるようになった。今後は治具の配置を改良して、空間解像度を向上させるもう一つの要素である「被写体 - カメラ間距離」の最短化を図る。これにより本手法による空間解像度の限界までを追求できる。このような改良の後に各種病理試料の屈折コントラスト CT 像を蓄積していくことで、3 次元 X 線病理診断学やメゾスコピック解剖生理学の確立に向けた道筋をつけることができるであろう。

< 引用文献 >

- Alberto Bravin, Paola Coan and Pekka Suortti. X-ray phase-contrast imaging: from pre-clinical applications towards clinics. *Phys. Med. Biol.* 58 (2013) R1-R35.
- Daisuke Shima, Naoki Sunaguchi, Tetsuya Yuasa, Masami Ando, Kensaku Mori, Rajiv Gupta, Shu Ichihara. *Mol. Imaging Biol.* 23 (2021) 481-494.
- 砂口尚輝、湯浅哲也 . X-ray Dark-Field imaging (2) CT の再構成手法 . *Med. Imaging Tech.* 40 (2022) 144-147.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Eunjue Yi, Naoki Sunaguchi, Jeong Hyeon Lee, Seung-Jun Seo, Sungho Lee, Daisuke Shimao, Masami Ando	4. 巻 16
2. 論文標題 Synchrotron Radiation Refraction-Contrast Computed Tomography Based on X-ray Dark-Field Imaging Optics of Pulmonary Malignancy: Comparison with Pathologic Examination	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 806 ~ 806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers16040806	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 市原 周、岩越 朱里、西村 理恵子、大岩 幹直、佐久間 貴彦、島雄 大介、砂口 尚輝	4. 巻 40
2. 論文標題 X-ray Dark-Field Imaging (3) X-ray Dark-Field Imaging CTによる仮想病理組織学	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Imaging Technology	6. 最初と最後の頁 190 ~ 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11409/mit.40.190	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Naoki Sunaguchi, Zhuoran Huang, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Rieko Nishimura, Akari Iwakoshi, Tetsuya Yuasa, Masami Ando	4. 巻 12
2. 論文標題 Crystal optics simulations for delineation of the three-dimensional cellular nuclear distribution using analyzer-based refraction-contrast computed tomography	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-24249-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Naoki Sunaguchi, Tetsuya Yuasa, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Rajiv Gupta, and Masami Ando	4. 巻 122
2. 論文標題 Superimposed wavefront imaging of diffraction-enhanced x-rays: A method to achieve higher resolution in crystal analyzer-based x-ray phase-contrast imaging	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Applied Physics Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0139199	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Naoki Sunaguchi, Daisuke Shimao, Rieko Nishimura, Akari Iwakoshi, Tetsuya Yuasa, Masami Ando, Shu Ichihara	4. 巻 16
2. 論文標題 Usefulness of X-ray dark-field imaging in the evaluation of local recurrence after nipple-sparing mastectomy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery	6. 最初と最後の頁 P1915, P1923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11548-021-02472-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhuoran Huang, Naoki Sunaguchi, Daisuke Shimao, Atsushi Enomoto, Shu Ichihara, Tetsuya Yuasa, Masami Ando	4. 巻 16
2. 論文標題 Ring artifact removal for differential phase-contrast X-ray computed tomography using a conditional generative adversarial network	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery	6. 最初と最後の頁 P1889, P1900
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11548-021-02500-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 黄卓然、砂口尚輝、島雄大介、市原周、Jong-Ki Kim、Rajiv Gupta、安藤正海
2. 発表標題 SWIDeX-CTのストリーク状アーチファクトを除去するためのDeep image priorに基づく画像処理法の開発
3. 学会等名 2023年度量子ビームサイエンスフェスタ (水戸)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 猪飼辰太郎、砂口尚輝、黄卓然、湯浅哲也、島雄大介、安藤正海
2. 発表標題 X線回折波2重撮影法を用いた屈折コントラストCTの動力学的回折理論に基づく撮像シミュレーション
3. 学会等名 第37回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (姫路)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 黄卓然、砂口尚輝、島雄大介、湯浅哲也、市原周、 Jong-Ki Kim、 Rajiv Gupta、 安藤正海
2. 発表標題 X線回折波2重撮影法によるマウス頭蓋ファントムの屈折コントラストCT撮像実験
3. 学会等名 第37回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム（姫路）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 本庄悠人、砂口尚輝、吉田 魁真、島雄大介、湯浅哲也、安藤正海
2. 発表標題 X線管球による単色X線イメージングの撮像シミュレーション
3. 学会等名 第40回センシングフォーラム計測部門大会（高知）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 砂口尚輝、湯浅哲也、島雄大介、黄卓然、市原周、西村理恵子、岩越朱里、 Jong-Ki Kim、 Rajiv Gupta、 安藤正海
2. 発表標題 X線回折波2重撮影法に基づく屈折コントラストCTの再構成理論
3. 学会等名 第40回センシングフォーラム計測部門大会（高知）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 砂口尚輝、湯浅哲也、島雄大介、黄卓然、市原周、西村理恵子、岩越朱里、 Jong-Ki Kim、 Rajiv Gupta、 安藤正海
2. 発表標題 高空間分解能位相コントラストCTを得るためのX線回折波2重撮影法の開発
3. 学会等名 第42回日本医用画像工学会大会（大阪）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 天野遥菜、砂口尚輝、黄卓然、岩越朱里、末永雅也、市原周、西村理恵子、島雄大介、湯浅哲也、安藤正海
2. 発表標題 X線暗視野法を用いた膵管内乳頭粘液性腫瘍における乳頭状構造の3次元解析
3. 学会等名 第42回日本医用画像工学会大会（大阪）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ichihara S, Gupta R, Iwakoshi A, Nishimura R, Murakami Y, Ooiwa M, Sunaguchi N, Shimao D, Yuasa T, Ando M.
2. 発表標題 A novel high resolution and high contrast X-ray Dark-Field Imaging technique: a powerful tool to verify the sick lobe theory.
3. 学会等名 16th International workshop on Breast Imaging (Leuven, Belgium) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田匠、砂口尚輝、谷口華奈、黄卓然、島雄大介、西村理恵子、岩越朱里、市原周、湯浅哲也、安藤正海
2. 発表標題 X線暗視野撮像法で描出される篩状型非浸潤性乳管癌の悪性度に着目した腺腔の解析
3. 学会等名 第41回日本医用画像工学会大会（JAMIT2022）(名古屋)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nagisa Komatsu, Naoki Sunaguchi, Zhuoran Huang, Shu Ichihara, Masami Ando, Daisuke Shimao
2. 発表標題 Images of the Prostate gland by Using Refraction-Contrast X-ray CT Based on X-ray Dark-Field Imaging Method
3. 学会等名 第124回日本医学物理学会学術集会（長崎）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Haruna Amano, Naoki Sunaguchi, Akari Iwakoshi, Masaya Suenaga, Shu Ichihara, Rieko Nishimura, Daisuke Shimao, Tetsuya Yuasa, Masami Ando
2. 発表標題 Three-dimensional structure of human pancreatic intraductal tumor tissue using X-ray dark field imaging technique
3. 学会等名 第124回日本医学物理学会学術集会（長崎）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nagisa Komatsu, Naoki Sunaguchi, Zhuoran Huang, Shu Ichihara, Masami Ando, Daisuke Shimao
2. 発表標題 Images of the Prostate gland by Using Refraction-Contrast X-ray CT Based on X-ray Dark-Field Imaging
3. 学会等名 The 14th Asian Meeting on Synchrotron Radiation Bio-Medical Imaging (Kyungju, Korea) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daisuke Shimao
2. 発表標題 Development Status of Hanging Type Laue Case Analyzer for X-ray Dark-Field Imaging
3. 学会等名 The 14th Asian Meeting on Synchrotron Radiation Bio-Medical Imaging (Kyungju, Korea) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 砂口尚輝、島雄大介、黄卓然、湯浅哲也、市原周、西村理恵子、岩越朱里、安藤正海
2. 発表標題 X線暗視野法に基づく高空間分解能屈折コントラストCTのための被写体とカメラ間距離の検討
3. 学会等名 第36回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム（滋賀）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小松渚、砂口尚輝、黄卓然、市原周、安藤正海、島雄大介
2. 発表標題 X線暗視野法による前立腺組織の屈折コントラストX線CT像
3. 学会等名 2022年度量子ビームサイエンスフェスタ（第14回MLFシンポジウム / 第40回PFシンポジウム）（つくば）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 砂口尚輝、黄卓然、島雄大介、湯浅哲也、市原周、西村理恵子、岩越朱里、安藤正海
2. 発表標題 X線暗視野法に基づく屈折コントラストCTの高空間分解能化および癌組織内の3次元細胞核分布の描出
3. 学会等名 2022年度量子ビームサイエンスフェスタ（第14回MLFシンポジウム / 第40回PFシンポジウム）（つくば）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Daisuke Shimao, Naoki Sunaguchi, Nampei Otsuka, Shu Ichihara, Rieko Nishimura, Akari Iwakoshi, Tetsuya Yuasa, Masami Ando
2. 発表標題 Three-dimensional and mesoscopic scale fine structures of human upper abdominal organs revealed by micro refraction-contrast X-ray CT.
3. 学会等名 3d European Congress of Medical Physics (Torino, Italy [Virtual]) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島雄大介、砂口尚輝、谷口華奈、黄卓然、湯浅哲也、安藤正海、岩越朱里、西村理恵子、榎本篤、市原周
2. 発表標題 X線暗視野法による上腹部臓器摘出試料の屈折コントラストCT
3. 学会等名 第17回日本病理学会カンファレンス（新潟）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 砂口尚輝, 谷口華奈, 黄卓然, 島雄大介, 岩越朱里, 西村理恵子, 湯浅哲也, 安藤正海, 市原周
2. 発表標題 3次元病理学のための X 線暗視野法に基づく屈折コントラスト CT の開発および乳癌診断への応用
3. 学会等名 第17回日本病理学会カンファレンス(新潟)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口華奈, 砂口尚輝, 市原周, 西村理恵子, 岩越朱里, 村上善子, 島雄大介, 湯浅哲也, 安藤正海
2. 発表標題 X 線暗視野法を用いた乳腺における乳管内腺腔の自動抽出および3次元解析手法の開発
3. 学会等名 第40回日本医用画像工学会大会(横浜)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黄卓然, 砂口尚輝, 島雄大介, 市原周, 湯浅哲也, 安藤正海
2. 発表標題 生体軟組織の屈折コントラスト CT に適用するための機械学習によるリングアーチファクト除去法の開発
3. 学会等名 第40回日本医用画像工学会大会(横浜)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------