

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：82502

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12886

研究課題名(和文)生細胞マイクロRI動態イメージングへの挑戦

研究課題名(英文)Development of a micro RI dynamic imaging system for living cells

研究代表者

山谷 泰賀(Yamaya, Taiga)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 計測・線量評価部・チームリーダー(定常)

研究者番号：40392245

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文):近年、細胞内の遺伝子発現メカニズムや細胞周期といった個々の細胞特性の解明が求められている。本研究では、放射性同位核種をトレーサーとする細胞単位での核医学イメージング装置を開発した。具体的には、線と150 μ m厚CsIシンチレータの相互作用で生まれた光をCMOSカメラで撮影した。さらに、CsIよりも密度と発光量が高く、潮解性の無いIGPSについても検討した。シミュレーションの結果、シンチレータ厚による半値幅の変化は小さいものの、1/10幅では厚くなるほど大きく広がり、低出力な成分が増えていくことが分かった。また、10 μ m厚のGPSであっても全体の9割程度の感度を持つことがわかった。

研究成果の概要(英文): Studies on cell regulation are attracting worldwide attention in order to realize regenerative medicine. Therefore, a nuclear medicine imaging method, which can use tracers having substantially the same composition as a target biomolecule, is required. In this research, we developed a nuclear medicine imaging system for dynamic cell observation. Specifically, in order to prevent broadening of the scintillation position because of scintillation light spreading in the scintillator, beta-rays are detected by a thin scintillator plate. A scientific CMOS camera with low readout noise and high resolution was used to detect scintillation light. The scintillator plate was a CsI crystal (150 micron thick) connected to an optical fiber (6 micron diameter) array. The scintillation light generated from the scintillator plate was extracted through optical fibers. Imaging results showed that our system has sufficient sensitivity for imaging uptake of fluorodeoxyglucose by single cells.

研究分野：核医学物理

キーワード：核医学 PET

1. 研究開始当初の背景

患者由来の人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) から成熟細胞へ分化させて病態をモデル化し、治療法開発・創薬とつなげる研究が注目されている。しかし、この病態再現ヒト細胞の様々な注目分子動態を、定量的に評価する方法はまだ確立していない。非侵襲的に分子動態を画像化する手法の一つに核医学診断法がある。核医学診断法では、ごく微量の放射性同位元素で目印をつけた注目薬剤 (RI トレーサ) を投与することで、その体内分布をポジトロン CT (PET) 等で画像化することが可能である。そこで、本研究では、核医学の最先端技術を、ミクレベルが要求される培養単細胞実験に応用することを目指した。

一方で、PET 観察では、その解像度は数ミリ単位であることから、細胞の観察を行うことは不可能である。また、オートラジオグラフィは細胞の核医学イメージングで用いられているが、X線フィルムに類似した手法であり、線源位置の分布を感光デバイスに転写し、励起光の照射による反応を読取ることでイメージングするため、得られた画像上には転写時に蓄積された後の情報のみが残り、動態観察には適さない。

2. 研究の目的

本研究では、細胞単位の非侵襲的検査法であるマイクロ RI 動態イメージングの実現にチャレンジする。具体的には、マイクロベータイメージャの試作装置の開発とその評価を行う。加えてシミュレーションを用いることで、本手法の理論的な限界の見積もりを行う。

3. 研究の方法

(1) 試作マイクロベータイメージャ

はじめに、開発を行うマイクロベータイメージャの原理について説明を行う (図 1)。まず、細胞の入ったスライドチャンバーなどに核種 RI トレーサを流し込み、細胞にトレーサを取り込ませる。トレーサからは線が放出されるため、それを検出することでトレーサの時間・位置分布を得ることが可能となる。線を検出するために、線が入射するとシンチレーション光を発生させるシンチレータを利用する。線の飛行距離は非常に短いため、トレーサからの線がシンチレータに入射するよう、シンチレータと観察対象を接触させておく。線がシンチレータに入射することで、シンチレーション光が生成され、イメージング用のカメラレンズを用いて集光を行うことで、デジタルイメージングセンサ上にこれを結像する。このように、本装置は、放射線から光に変換するシンチレータと、光から電気信号へと変換するイメージングセンサで構成されており、一般的なシンチレーション検出器と似た構造をとっている。

試作装置では、150 μm 厚の CsI (ヨウ化セシウム) シンチレータを用いた。このシン

チレータ後部には、直径 6 μm の光ファイバアレイが光学接着されており、シンチレーション光はこれを介して出力される。また、イメージングセンサには、蛍光観察等に特化した scientific-CMOS (ORCA-Flash 4.0 V2、浜松ホトニクス) を採用した。カメラレンズには、明るさの優れたハイスピードイメージングレンズ (1-22130、NAVITOR) を採用し、作動距離や倍率を調整し、且つ感度の向上を図った。図 2 に試作装置の写真を示す。

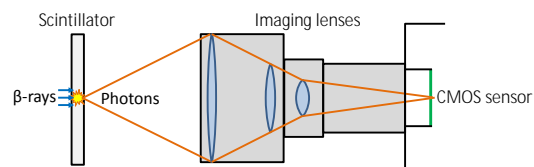


図 1 提案手法の概略図

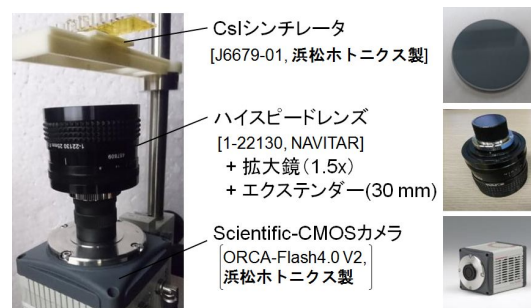


図 2 試作装置

撮影用のサンプル線源には、陽電子放出核種である ^{18}F で標識された放射性薬剤 (^{18}F 溶液、半減期 110 分) を用いた。測定では定量解析を行うため、0.4 mm の均一な厚みを持つスライドチャンバーに ^{18}F 薬剤を封入した。また、線源強度による画像上における出力強度の違いを比較するため、供給された ^{18}F 溶液そのままの濃度 (23.4 MBq / mL) と、それを約 2 倍希釈した濃度 (11.8 MBq / mL) の 2 液を用意した。これらの薬剤を、マイクロピペットで 70 μL 計りとり、前述したスライドチャンバーの隣り合う 2 チャンセルにそれぞれ封入したこのとき、サンプルとシンチレータの接触面は、厚さ 7.5 μm のポリイミドフィルムで覆った。カメラの画素サイズは 6.5 μm × 6.5 μm に設定し、露光時間 10 秒の画像 6 枚を重ね合わせることで、60 秒間のイメージングを行った。

(2) GEANT4 を用いたシミュレーション

本手法の理論的な限界の見積りために、放射線相互作用のモンテカルロシミュレーションコードである GEANT4 を用いて、シミュレーションを行った。本手法の性能は、線を検出するシンチレータに大きく左右されるため、材質や厚さなどを変えて計算を行い、画像化性能の比較を行った。CsI よりも

高密度かつ高出力であり、潮解性を持たない長所も併せ持つ、GPS (Gadolinium pyro silicate: Ce:Gd₂Si₂O₇)に着目し、CsIと比較した。

シミュレーションでは、まずシンチレータに 10⁶個の線源を照射し、シンチレータ内部でエネルギーが付与された位置と、そこでのエネルギー付与量を記録した。次に、このエネルギー付与の分布を用いて、実際のイメージングに対応する画像を計算した。シンチレータの厚みは、レンズの焦点深度に比べて十分に小さいため、エネルギー付与分布を厚み方向へ投影し、シンチレータの出力性能の比 (CsI : GPS = 1 : 1.65)を掛け合わせたものが、実際のイメージング結果と対応する。シミュレーションでは画素サイズは 1 μm として計算を行った。

4. 研究成果

(1) 試作装置を用いた評価実験

図3にCMOSカメラで得られた¹⁸Fのイメージング結果を示す。図中に2本の灰色の領域が見えるが、この部分が放射性薬剤の存在する領域である。図は左側の放射性薬剤領域の線源強度が約3.5 MBq/mLとなった330分の時点での画像である。図4は図3の中央部分の断面であるが、こちらの結果においても、放射性薬剤の領域における応答をバックグラウンドから切り離すことのできる程度の差が保たれていることがわかる。加えて、2つの放射性薬剤の濃度の違いも測定できていることが見て取れる。

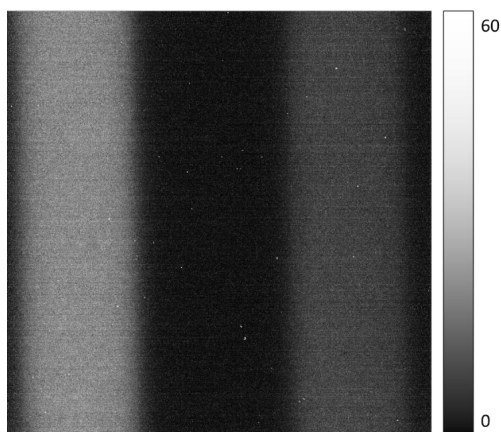


図3 イメージング結果

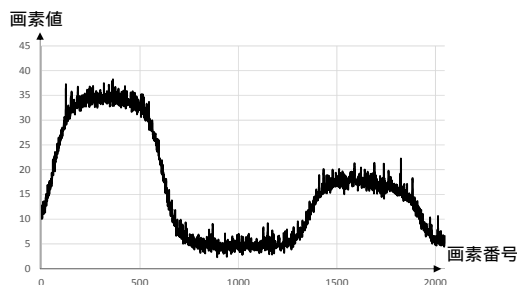


図4 図3の中央部の断面図

次に図中の放射性薬剤に関心領域を取り、観察する対象の線源強度によってイメージング後の応答の強弱がどのように変化していくのかを確かめた。図5は、22.5分刻みに全40回取得したイメージング結果の画像における平均画素値(イメージングにおける応答の強さ)を、時間経過に沿って並べたものである。理論的に予想される曲線と、ほぼ同じ形をした曲線が描かれており、線源の減弱をイメージングにおいても動態計測することができると考えられる。図6に、横軸に線源強度、縦軸に平均画素値をとったグラフを示す。図中の点線は実験で得られた出力値群に対する近似直線を表している。この結果から、今回測定した線源強度領域では、十分な線形性が得られることを確認できた。

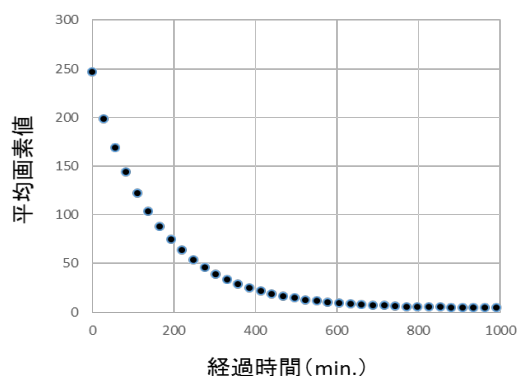


図5 応答強度の時間変化

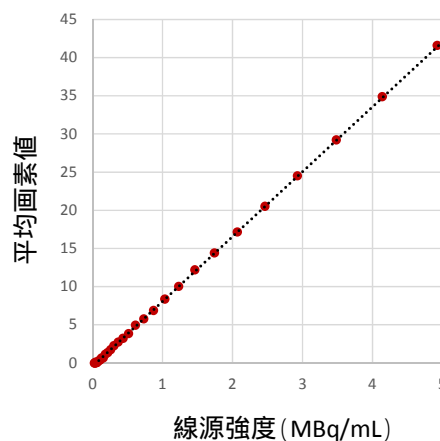


図6 イメージングの線形性

ここで、試作装置で得られた結果から、提案する手法が実際の細胞イメージングでも十分な画像が得られるかの検討を行う。細胞が薬剤を取り込める量には限界があり、細胞の直接観察を目的とした提案手法においても、これに注意する必要がある。例えば、 2×10^5 個の細胞群に対して、4MBq/mL程度のFDG薬剤を加えたとする。その場合の取り込み率は、約0.2から1.0% (減衰補正後)であるため、単純計算では0.2 Bq、つまり5秒に1度だけ起こる線放出イベントを検出することになる。試作装置のイメージング条

件を考慮すると、画素あたり 3.5 MBq/mL(単細胞あたりで 0.2 Bq 程度)ほどの強度になると見積もることができる。

図 3 や図 4 でも想定している 3.5 MBq/mL 付近でも十分な画像が得られている。また、図 6 から、想定した 3.5 MBq/mL 付近においても直線が描かれていることから、想定強度であっても十分に応答の線形性が保たれていたことがわかる。以上から、本実験では、想定していた線源強度においても十分なイメージング性能を有するが示されたといえる。

(2) シミュレーション結果

図 7(a)に、CsI と GPS 双方について、厚みごとの空間分解能の変化を示す。半値幅 (FWHM) と 1/10 幅 (FWTM) のどちらの評価指標においても、シンチレータ厚が薄くなるに従い分解能が改善していることがわかる。最終的に半値幅で 5 μm の空間分解能が得られることが予想されている。また、厚さを 20 μm 以下にすることにより 1/10 幅も 20 μm 以下にまで改善することも示唆されている。図 7(b)に、CsI と GPS 双方の厚みによるイメージング時に得られる出力の変化を示す。これは実際の実験での画素値に対応する。GPS が CsI の約 2.5 倍の応答を示しており、シンチレータ自身の発光量の比による 1.65 倍よりも高い結果となった。これは、シンチレータの密度の違いから、線の飛程が抑えられ、単位面積当たりの発光量が増えたためだと考えられる。また、どちらのシンチレータにおいても、20 μm から 40 μm の厚みでも出力の低下はほとんど見られていない。

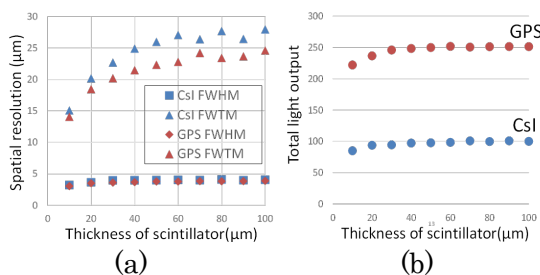


図 7 シミュレーション結果

(3) まとめ

試作装置から得られた結果から、実際に使用する線源強度においても十分なイメージが得られることが示された。加えて、シミュレーションの結果からも、高い性能が得られることが予想されている。これらの結果から、提案する手法を用いることで、動態マイクロ RI 動態イメージングを実現可能であることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

[学会発表](計 3 件)

[1] 蛭海 元貴、錦戸 文彦、樋口 隆弘、羽石 秀昭、山谷 泰賀、 β 線による細胞

機能イメージングに向けたシンチレータ評価、第 78 回応用物理学会秋季学術講演会、2017-09-05

[2] 蛭海 元貴、錦戸 文彦、脇坂 秀克、樋口 隆弘、羽石 秀昭、山谷 泰賀、シンチレータと CMOS カメラを用いた β 線細胞イメージングシステムの開発、第 64 回応用物理学会春季学術講演会、2017-03-16

[3] 蛭海 元貴、錦戸 文彦、田島 英朗、脇坂 秀克、樋口 隆弘、羽石 秀昭、山谷 泰賀、Development of a dynamic micro RI imaging system for single cells、IEEE NSS/MIC 2017、2017-11-25

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山谷 泰賀 (YAMAYA Taiga)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・チームリーダー

研究者番号：40392245

(2) 研究分担者

金子 純一 (KANEKO Junichi)

北海道大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90333624

(3) 連携研究者

錦戸 文彦 (NISHIKIDO Fumihiko)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・研究員

研究者番号：60367117

中西 貴之 (NAKANISHI Takayuki)

北海道大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30609855