

令和 2 年 7 月 3 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19926

研究課題名(和文) バイオソフトマテリアルの動的局所変形を捉える放射光位相差ダイナミックCTの確立

研究課題名(英文) 4D imaging of bio-soft material deformation based on phase-contrast CT using synchrotron light

研究代表者

松本 健志 (MATSUMOTO, Takeshi)

徳島大学・大学院社会産業理工学研究部(理工学域)・教授

研究者番号：30249560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：荷重負荷に対する生体のしなやかな応答は、血管、筋、関節軟骨などの軟組織が有する粘弾性によるところが大きく、その機能解明には動的試験による挙動解析が求められる。一方、生体軟組織は空間的不均質性を有し、マイクロダメージを起点とする疾患も少なくないことから、局所的な挙動を解析することの意義は大きい。本研究では、生体軟組織の時系列X線位相イメージングによって、反復的な局所変形の解析を可能とする“X線位相差ダイナミックCT”を確立した。これを動的負荷試験下の関節軟骨および血管試料の撮像に応用した結果、線維構造のをマーカーとした局所挙動解析の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈の解離や瘤の形成・破裂、軟骨の欠落・剥離など、生体軟組織の機能破綻には日常の力学的な負荷(血圧や運動時の衝撃など)に対する軟組織の変形機能が深く関わっている。重篤な病態の発症に先行する組織内の局所的な変形機能の異常とこれを起点とする発症メカニズムを明らかにすることは、QOLを脅かす病態の進行予測や発症の予防に役立つ。本研究で確立した手法による軟組織挙動の計測によって、軟組織疾患の発症メカニズムの解明に資する意義のある情報の提供が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Flexible response of soft biological tissues, such as blood vessels, muscle, and articular cartilage, to mechanical loading is largely attributed to their viscoelastic properties; thus, dynamic tests are essential to better understanding of mechanical functions of these soft tissues. Besides, the inhomogeneous tissue structures and the potential of micro-damage for catastrophic diseases indicate the importance of assessing regional dynamical tissue behaviors. In this study, we established the X-ray phase-contrast CT for quantitative imaging of cyclically deformed soft tissues. Applications of the present method to the porcine articular cartilage plug and canine femoral arterial segment subjected to cyclic loading and pulsatile pressure, respectively, showed its ability to visualize the time-to-time variations of regional fiber architecture in these tissues, and accordingly, its availability for the evaluation of regional dynamic deformation in bio-soft materials.

研究分野：生体医工学

キーワード：生体軟組織 粘弾性 位相CT 動的変形 線維構造

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大動脈の解離や瘤の形成・破裂、軟骨の欠落・剥離など、生体軟組織の機能破壊をもたらす生活習慣やリスク因子については、一定の理解が得られている。しかし、これら QOL を脅かすイベントに先行して発生する器質的・機能的な組織変化は十分に明らかにされていない。メカニカルストレスを受ける軟組織では、本来はしなやかである力学特性の異常がイベント発症の起点となる可能性があり、その解明は発症の予防に資する意義がある。

生体軟組織は不均質で異方性を特徴とし、その力学的特性の本質は粘弾性である。したがって、生体組織の力学特性を描出するためには、動的試験下における局所的な実測データに基づく変位場解析が求められる。また、数理モデルに基づくシミュレーションは、力学特性異常からイベント発症を推定する有効な手段であるが、その確からしさを改善するためにも、組織の歪み分布の実測データとの比較・検証が必要となる。

軟組織内部の変位場を求めるには、内部構造の特徴点を変位マーカーとして、X 線 CT が利用できる。試料の密度差に対する X 線の感度が高い位相情報に基づく X 線位相イメージングを利用すれば、周囲の間質と密度差が僅かな結合組織(コラーゲンやエラスチン線維)でも高分解能で検出可能であり、X 線吸収を利用するよりも 1000 倍程度高い感度で CT 像を取得できる。参考として、コラーゲンを構成する主要なアミノ酸の一つであるプロリン ($C_5H_9NO_2$, 比重 1.35) について、その複素屈折率 $1-\delta+i\beta$ (δ : 位相に関する項, β : 吸収に関する項) の δ および δ/β を Fig. 1 に示す(公開データベース: The Center for X-Ray Optics に基づいて計算)。

位相情報を利用した X 線 CT は軟組織試料の全体に渡るマイクロイメージングに適しているが、投影走査(試料回転)中の試料の変形は許されない。しかし、試料が反復的に変形する場合には、特定の変形時相の投影データを収集することにより、変形中の 3 次元スナップショットが得られる。さらに複数の変形時相の投影データから、4 次元 CT も可能となる。

2. 研究の目的

繰り返し変形を受ける生体軟組織の時系列 X 線位相イメージングによって、極めて高い密度分解能を担保しながらも、十分な時分割・高空間分解能で 4D データセットの取得を可能とする“X 線位相差ダイナミック CT”を確立する。さらに、これを関節軟骨の動的粘弾性試験下、血管の拍動圧負荷試験下での組織撮像に応用し、その有用性を確認する。

3. 研究の方法

実験は SPring-8 放射光施設の実験ハッチ 20B2 内に構築されたタルボ干渉計・位相差 X 線 CT システムを利用して行った (Fig. 2)。使用した X 線のエネルギーは 20 keV である。Fig. 3 に本実験システムの概要を示す。

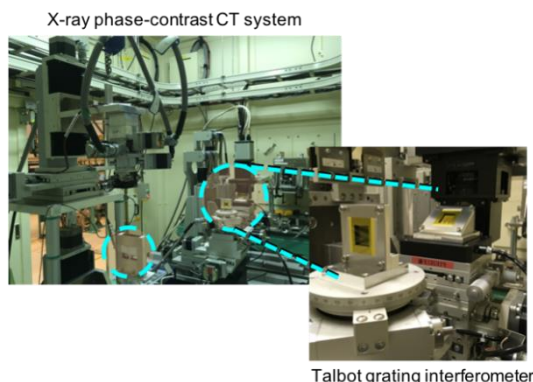


Fig. 2 X-ray phase-contrast CT system with a Talbot interferometer

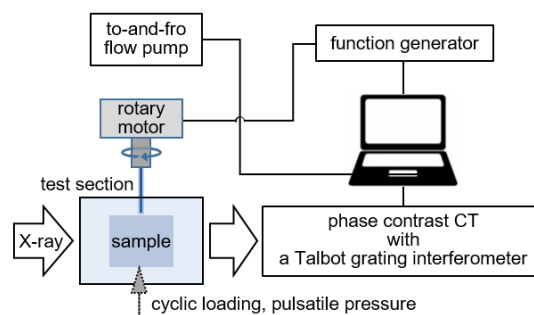


Fig. 3 Experimental setup

(1) 実験システム

実験システムは試験部、タルボ干渉光学系、撮像部より構成される。試験部において、試料は生理食塩水中にて X 線光軸に直交する回転軸のローターに固定される。軟骨の圧縮あるいは血管の拍動の 1 サイクルごとにトリガー信号を PC に送信し、試料変形サイクルとステップ角の同期、タルボ干渉光学系、撮像部の作動調和を実現する。

タルボ干渉計は同じ格子ピッチ ($2.6 \mu\text{m}$) の位相格子 (G1) と吸収格子 (G2) からなり、試料直後に G1、検出器直前に G2 を設置した (Fig. 4)。両者の距離は 758 mm (タルボ距離) である。

試料を通過したコヒーレントな X 線が G1, G2 と干渉するとモアレ像が形成される. G2 はピエゾ駆動ステージ上に搭載され, X 線光軸に直交 (水平) する方向にステップ走査される (フリンジスキャン). 本実験ではフリンジスキャン 1 枚の露光時間を 40 msec, ステップ走査を 50 msec とした.

X 線検出には, GAGG 単結晶蛍光板 (200 μm 厚), ビームモニター (BM2, 浜松ホトニクス), および sCMOS カメラ (ORCA Flash 4.0, 浜松ホトニクス) からなる可視光変換型検出器を用いた. 撮像視野サイズは, 5.5mm (H) \times 5.5mm (V), 画素サイズは 4.4 μm となるようにレンズシステムを構成した.

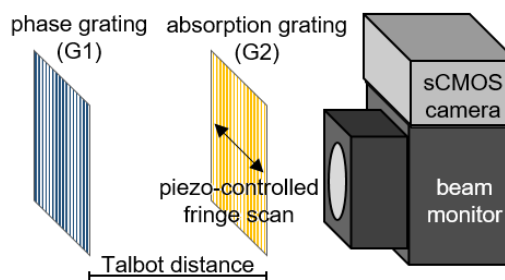


Fig. 4 Talbot grating interferometer

(2) 縞走査による位相計測

フリンジスキャンで取得される P 枚のモアレ像を $I^{(k)}(x, y)$ とし, 2 次以上のフーリエ成分を無視すれば, モアレ像の位相分布 $\Phi_{z_T}(x, y)$ が得られる (縞走査法).

$$\Phi_{z_T}(x, y) = \arg \left[\sum_{k=1}^P I^{(k)}(x, y) \exp \left(-2\pi i \frac{k}{P} \right) \right]$$

ここで, X 線光軸を z 軸とし, これに直交方向に x, y 座標軸をとった. 試料を撮像視野から外した場合についても同様にモアレ像を取得し, 試料挿入前後のモアレ像の位相差をとれば, 試料によるモアレ像の位相変化 $\Delta\Phi_{z_T}(x, y)$ を抽出できる. これより, 以下の式を積分すれば, 組織内の X 線位相シフト分布 $\Phi(x, y)$ が得られる.

$$\Delta\Phi_{z_T}(x, y) = \frac{\lambda}{d} z_T \frac{\partial\Phi(x, y)}{\partial x}$$

ここで, z_T はタルボ距離, d は格子ピッチ, λ は X 線の波長である.

$\Phi(x, y)$ と試料内の $\delta(x, y, z)$ 分布には以下の関係があり,

$$\Phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \int \delta(x, y, z) dz$$

投影角を変えながら複数の $\Phi(x, y)$ を求めれば, 画像再構成によって δ 分布を得ることができる. 本実験では投影数を 900 (0.2° 刻み, 180° 回転) とした. δ は物質の電子密度に比例し, 軽元素からなる軟組織の電子密度と質量密度はほぼ比例関係にあるため, δ 分布は密度分布に基づく血管壁の構造を表していると解釈できる. 密度分解能の較正は, 既知の濃度の NaCl 溶液: 1.006, 1.051, 1.110, 1.143 g/cm^3 および純水 (0.997 g/cm^3) の断層像を同手法で求めることにより行った.

(3) 撮像アルゴリズム

G2 走査による画像取得アルゴリズムを Fig. 5 に示す. 内圧上昇・下降をサイクルとした鋸波状電圧を G2 の圧電ステージに印加して G2 走査を行う. 1 サイクルで M 枚のモアレ像が取り込まれ, モアレ像 P 枚から位相像 1 枚が生成されると, 1 サイクルについて位相像 $N (=M-P+1)$ 枚が得られる. 周期的内圧負荷を与えながら 1 サイクル毎に試料の固定台を回転し, 投影角を変えて走査を繰り返せば, 1 サイクルを N 分割した CT 像が得られることになる. 本実験では $P=5$ とした. G1, G2 格子はラインアンドスペース (L&S) 1:1 の格子であるため, 本縞走査法による誤差の最低次のフーリエ成分は 9 次となる. n 次のフーリエ成分は n^2 に反比例して小さくなるため, 高次の成分の影響は非常に小さい.

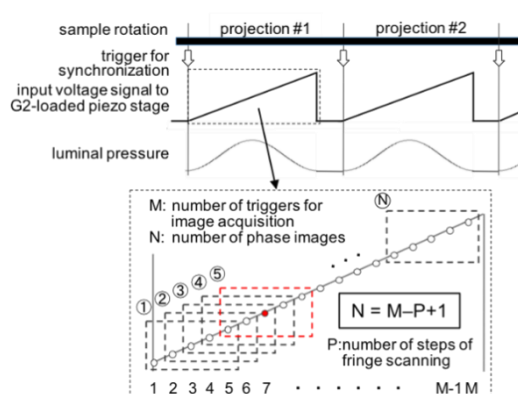


Fig. 5 Algorithm for fringe scanning

4. 研究成果

NaCl 溶液の断層イメージから求めた本手法の密度分解能は 2.8 mg/cm^3 であった. コラーゲンの線維密度 (1.41 g/cm^3) を考えれば, 密度分解能は軟組織線維構造の検出に十分である.

(1) 関節軟骨の動的圧縮試験

Fig. 6 に周波数 0.8 Hz で繰り返し圧縮を与えた非拘束ブタ関節軟骨の圧縮前および 10% (最大) 圧縮歪み時の投影位相像, CT 像を示す. CT 像は 900 位相投影像より再構成した. 他の組織成分より密度の高い線維構造が確認され, これまでの組織学的な知見と一致する線維配向の厚み方向依存性が確認できた. また, 密度変化から推測される繰り返し圧縮による含水量変化が深さによって異なることや,

その深さ方向依存性は静的圧縮の場合と異なることも確認され、線維配向構造と軟骨機能の関連を示唆された。

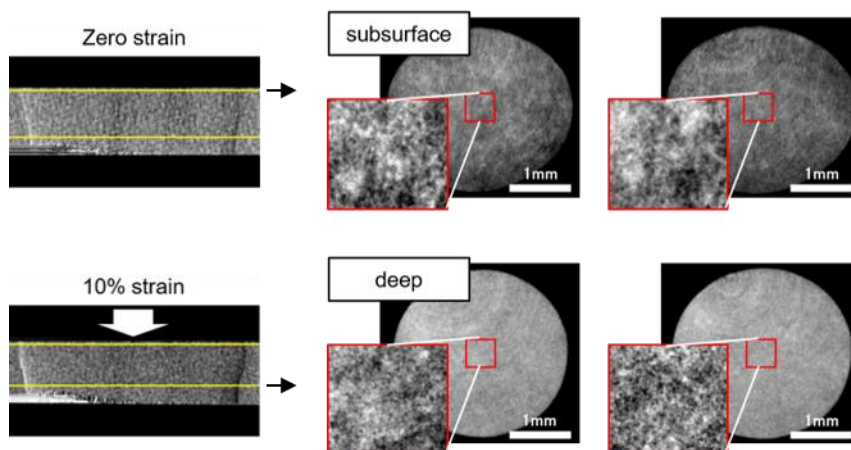


Fig. 6 Differential phase shift images (left column) and CT images (middle and right columns)

(2) 血管の拍動圧負荷試験

ビーグル犬の大腿動脈から摘出した試料に繰り返し内圧負荷をかけた時の血管短軸断面像を Fig. 7に示す. 本実験では、シリンジポンプを1秒吐出、1秒吸引、1秒停止の3秒周期で操作し、吐出・吸引行程を36時相に分割し、各々900位相投影像からCT像を得た. 内径は最小時2.47 mm (①:内圧30 mmHg), 最大時2.67 mm (④:内圧80 mmHg)であった. 平滑筋と弾性線維からなる血管中膜と膠原線維が豊富な血管外膜の密度差(約1.7倍)が明確に認められた.

Fig. 7中の①, ④におけるCT像および血管壁内の δ 分布をFigs. 8, 9に示す. 管内腔面には血管長軸に対して直交方向に縞様の濃淡パターンが認められ、血管壁内の線維構造を反映していると考えられるが、さらに組織学的検討を要する. δ 分布には血管壁中膜、外膜に相当するピークが検出され、血管内圧の増加に伴ってピークは右にシフトした. 内圧上昇によって血管壁は周方向に伸ばされるが、半径方向には内圧による圧縮が起こり、その結果、血管壁密度が上昇したと考えられる($\delta \propto$ 密度).

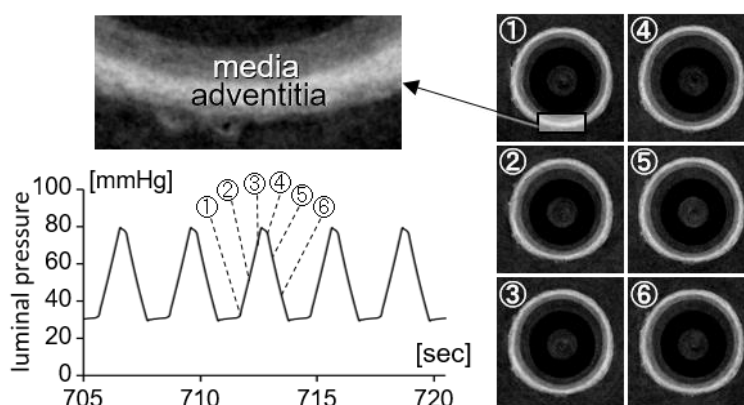


Fig. 7 Pulsatile pressure waveform and cross-sectional vessel images at different luminal pressures

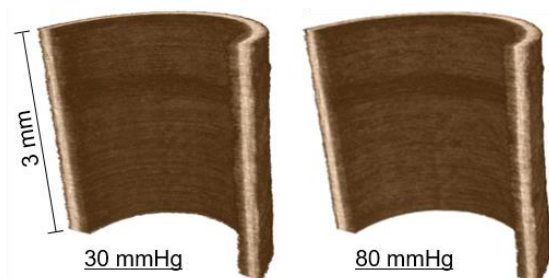


Fig. 8 3D images of vessels longitudinally halved

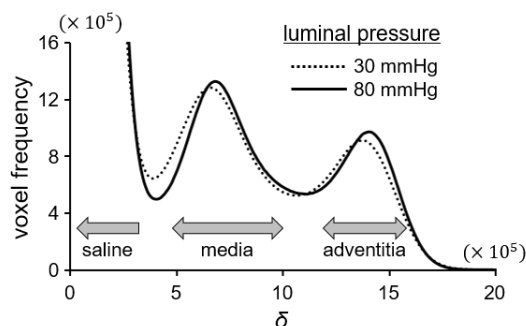


Fig. 9 δ -histogram through the vessel wall

本手法を繰り返し変形する生体軟組織に応用した結果、動的な局所変形解析に有用である可能性が示された. 本手法は、関節軟骨組織や血管、腱・靭帯など、メカニカルストレスを受ける生体線維組織の機能、病態の解明や発症予防、さらに再建組織や人工組織の機能評価への応用が期待できる.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大澤 恭子, 星野 真人, 松本 健志
2. 発表標題 繰り返し圧縮を受ける関節軟骨組織のX線位相差ダイナミックCT観察
3. 学会等名 第31回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野周作, 武田知朗, 松本健志
2. 発表標題 X線位相差CTによる関節軟骨のダイナミック3Dイメージング
3. 学会等名 MEとバイオサイバネティクス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野周作, 武田知朗, 大澤恭子, 松本健志
2. 発表標題 関節軟骨の機能解析を目的としたX線位相差CTによるダイナミック3Dイメージング
3. 学会等名 生体医工学シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takako Osawa, Tatsuhiro Aoki, Tomoya Konishi, Shinji Tatsumi, Masato, Hoshino, Takeshi Matsumoto
2. 発表標題 Dynamic 3D imaging of articular cartilage under repetitive compression measured by phase-contrast X-ray CT
3. 学会等名 17th Int. Conf. Biomed. Eng. (ICBME-2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野周作, 大澤恭子, 星野真人, 松本健志
2. 発表標題 X線位相差ダイナミック CTによる関節軟骨変形解析
3. 学会等名 第32回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野周作, 大澤恭子, 星野真人, 松本健志
2. 発表標題 関節軟骨変形解析のためのX線位相差ダイナミックCT
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2020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
研究分担者	大澤 恭子 (OSAWA Takako) (30638193)	近畿大学・生物理工学部・助教 (34419)	
研究分担者	長谷 栄治 (HASE Eiji) (50805512)	徳島大学・ポストLEDフォトンクス研究所・特任助教 (16101)	