

平成 22 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19360027

研究課題名（和文） X線タルボ干渉計を用いたX線位相微分顕微鏡の開発とその応用

研究課題名（英文） Development and application of X-ray differential phase microscopy with X-ray Talbot interferometer

研究代表者

百生 敦（MOMOSE ATSUSHI）

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：20322068

研究成果の概要（和文）：X線 Talbot 干渉計を含め、X線透過格子を用いる微分位相計測技術と、フレネルゾーンプレートを用いたX線結像顕微鏡を組み合わせることにより、位相敏感X線顕微鏡の開発し、高分子材料や生体組織などの弱吸収物体の高感度・高分解能観察技術を立ち上げた。さらに、試料を回転させて複数の投影方向で撮影を繰り返し、試料内部構造の三次元屈折率分布画像の再構成（X線位相トモグラフィ）も実現した。

研究成果の概要（英文）：Using the X-ray phase measurement techniques with X-ray transmission grating(s), including X-ray Talbot interferometry, in combination with an X-ray imaging microscope with a Fresnel zone plate, X-ray phase-sensitive imaging microscopy has been developed, enabling high-sensitive and high-resolution observation for weakly absorbing objects, such as polymers and biological tissues. In addition, by repeating the phase measurement at plural projection directions, three-dimensional image reconstruction of the refractive index (X-ray phase tomography) has also been demonstrated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
2008 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：X線光学

科研費の分科・細目：応用物理学・光学基礎、応用光学・量子光工学

キーワード：X線顕微鏡、シンクロトロン放射光、位相計測、トモグラフィ、CT、回折格子、Talbot 効果、Talbot 干渉計

## 1. 研究開始当初の背景

ナノメートルのスケールでの物質や生体の構造理解は、現代科学技術においてその重要性を益々高めている。それを支える計測技

術にも多岐にわたって高度なものが要求されていることは言うまでも無い。X線も様々な様式での計測技術に使われているが、近年のシンクロトロン放射光源の普及により、今

後もさらに顕著な発展が見込まれる技術分野である。

X線をナノスケールの世界を観察する方法の一つとしてX線顕微鏡がある。X線を用いることの利点は、厚い物体の内部を観察できること、CT技術を用いることにより三次元観察が可能であること、ウェットな試料を観察できる、などが挙げられる。X線領域では一般的なレンズが存在しないために、顕微鏡の構築は容易ではないが、フレネルゾーンプレートと呼ばれる光学素子が結像目的に多く用いられている。空間分解能はこの品質に依存するが、近年は良質なものが商業ベースで入手できるようになっている。現時点で数十nmの空間分解能が達成されている。フレネルゾーンプレートの高品質化とシンクロトロン放射光源の高度化により、X線顕微鏡の空間分解能は現在も向上し続けている。

ただ、X線顕微鏡の一つの欠点として、弱吸収物体による感度不足が挙げられる。試料に対する透過X線を拡大・結像する方式のX線顕微鏡では、生成されるコントラストはX線減衰の大小によって与えられるため、X線に対して透明な物体は原理的に観察できない。すなわち、生体軟組織やソフトマテリアルなど、X線をあまり吸収しない軽元素を中心に構成される物体は、X線顕微鏡の観察対象外にならざるを得ない。軟X線顕微鏡を使えば、生体組織に対して吸収コントラストを得ることができるが、軟X線は空気によって吸収されるため、基本的に真空環境を整える必要がある。これは観察できる試料を制限し、試料周りの環境も自由に制御できない。照射線量によるダメージも深刻である。

これを解決する方法として、硬X線の位相コントラストの利用が考えられる。まず、硬X線は空气中で扱うことができ、実験装置構成や試料作りにおいて、そのメリットは大きい。また、硬X線領域では、X線の吸収と位相シフトの相互作用に軽元素について約3桁の差があることが知られている。吸収コントラストを発生しない試料でも、十分な位相コントラストを得ることができる。

位相コントラストX線顕微鏡を用いれば、生体やソフトマテリアルの顕微観察が可能となる。位相シフトの定量計測を可能とすれば、さらにX線CT技術と融合することによる三次元観察（位相ナノトモグラフィ）が実現する。これはナノテクノロジーやライフサイエンスにおいて、魅力的な観察ツールになることは言うまでも無い。

## 2. 研究の目的

本研究は、X線位相イメージングのために我々が開発してきたX線 Talbot 干渉計をX線結像顕微鏡と融合させることにより、高感度と高空間分解能を兼ね備えたX線顕微手

法を実現し、位相トモグラフィによる三次元観察もこの手法下で可能とすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

Talbot 干渉計[1, 2]は2枚の透過格子を光軸に沿って特定の距離隔てて配置した構成を有しており、波面の傾きを計測するために使われる。X線 Talbot 干渉計をシンクロトロン放射光で用いる場合は単純な投影像において微分位相像を得ていた[3, 4]。このときの空間分解能は格子の周期で制限される。格子の周期は5 $\mu\text{m}$ 程度であり、さらに小さくするには技術的な問題が伴う。もちろん、より小さい構造の位相計測は望まれるところであり、空間分解能の改善は必要である。

これを解決する方法として、本研究においてX線結像顕微鏡と Talbot 干渉計、あるいは、格子光学系の融合を試みた。

## 4. 研究成果

X線 Talbot 干渉計は球面波で機能する。その時の光学配置（図1）は次の式を満たす。

$$Z = p \frac{d_1^2}{\lambda} \frac{R}{R - pd_1^2/\lambda} \quad (1)$$

ここで  $Z$ ,  $R$ ,  $d_1$ ,  $\lambda$  はそれぞれ2枚の格子間距離、光源から第一格子までの距離、第一格子の周期、光の波長である。 $p$  は第一格子のタイプに依存するが、我々は  $\pi/2$  位相格子を使用しており、この場合半整数である。第二格子は吸収格子であるが、その周期  $d_2$  は

$$d_1 : d_2 = R : (R + Z) \quad (2)$$

を満たす。ただし、上記は理想的な場合であり、これらの式から多少外れた設置であってもX線位相イメージングは十分に機能する。

さて、これをX線結像顕微鏡と組み合わせるために次のように考えた。図2(a)にもっともシンプルなX線結像顕微鏡を示した。シンクロトロン放射光をほぼ平行ビームであると近似できるとすると、フレネルゾーンプレート (FZP) を透過したビームはその下流  $f$  の位置で集光する。 $f$  は FZP の焦点距離であ

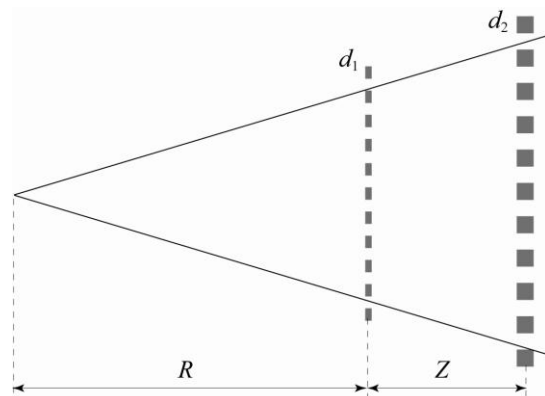


図1 球面波照射の Talbot 干渉計。

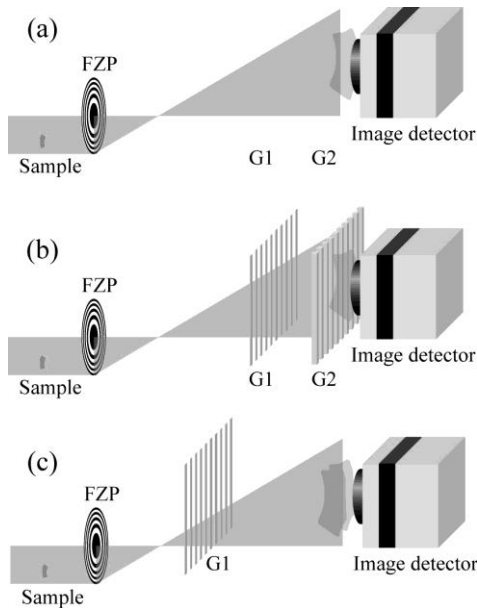


図2 FZPを用いたX線結像顕微鏡(a)と、それに格子光学系を組み合わせた位相微分X線顕微鏡(b)及び位相差X線顕微鏡(c)。

る。集光点以降は球面波として伝播してゆく。試料をFZPの上流aの位置に置くと、下式を満たすFZPの下流bの位置に像面が形成されるので、その位置に画像検出器を置く。

$$a^{-1} + b^{-1} = f^{-1} \quad (3)$$

ここで、集光点を図1における光源、画像検出器の位置（正確にはその少し上流）に第二格子を置くと考え、与えられた顕微鏡構成で(1)、(3)式を満たす解として

$$R = \frac{R'}{2} \left( 1 \pm \sqrt{1 - \frac{4pd_1^2}{\lambda R'}} \right) \quad (4)$$

が得られる。ここで、 $R' = R + Z = \text{const.}$ としている。すなわち、第一格子を置く位置には二つの解があり、我々はそれぞれの場合について図2(b)(c)に示す位相敏感X線顕微鏡を構成した。

#### ① 位相微分X線顕微鏡[5]

図2(b)に示した構成による実験をSPring-8, BL20XUにて行った。最外輪帯幅86nm、直径416 $\mu\text{m}$ のFZP（NTT-AT, ATN/FZP-S86/416）を用いた。使用したX線画像検出器は、蛍光スクリーンでX線を可視光に変換しCCD上に結像するものであり、実効的ピクセルサイズは4.34 $\mu\text{m}$ である。この画像検出器をFZPからおおよそ5.5mの位置に置くことにより、9keVのX線に対して倍率20.2の拡大光学系とした。

X線格子は厚さ70 $\mu\text{m}$ のガラス基板の上にリソグラフィにより金パターンを形成したものである。第一格子および第二格子の周期はそれぞれ8.0 $\mu\text{m}$ および8.3 $\mu\text{m}$ とした。まず、

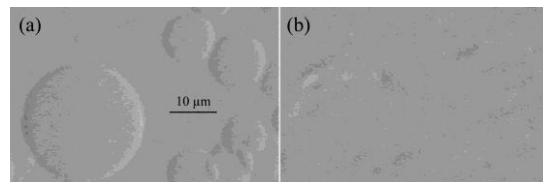


図3 位相微分X線顕微鏡で得た微分位相像(a)と吸収像(b)。試料はポリスチレン球。

格子が無い状態で顕微鏡のピントを合わせ、第二格子を画像検出器のすぐ前面に設置し、さらに24cmだけFZP側に第一格子を設置した。なお、FZPやビームラインのX線窓からのスペckルノイズが問題となったため、顕微鏡の上流に拡散板を配置してノイズ軽減を施した。

図3にこの顕微鏡で計測したポリスチレン球の画像を示す。一方の格子を並進させることによる縞走査法により生成した微分位相像と同じデータから計算した吸収像を示した。

図4にこの顕微鏡で計測した高分子ブレンドの位相CT画像を示す[6]。位相CTの説明は省略するが、一方の格子を併進させる縞走査法により微分位相像を計測し、試料を回転させてこれを繰り返すことにより位相CT像再構成のデータセットを得た。試料は、ポリスチレン、ポリメチルメタクリレート、および、ポリブタジエンを混合したものである。スピノーダル分解に基づく細かい相分離構造が可視化された。本手法により、高分子材料中のこのような分布が三次元的に初めて観察された。

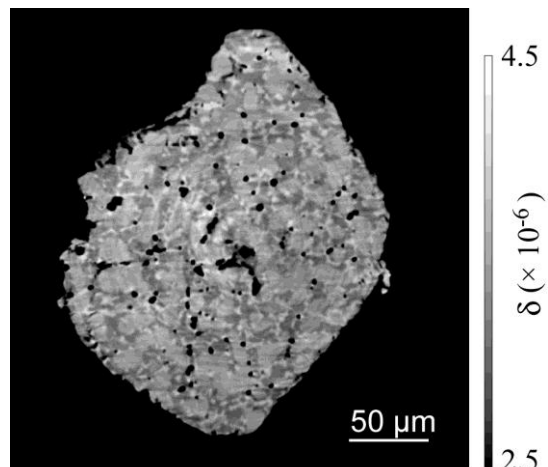


図4 位相微分X線顕微鏡（図2(b)）で計測したPS/PMMA/PBブレンドの位相CT像。

#### ② 位相差分X線顕微鏡[7]

上で示した位相微分X線顕微鏡は、X線Talbot干渉計での画像処理と同じ処理で画像が形成できるため、比較的簡単に実験が行えた。しかし、ここで示す位相差分X線顕微

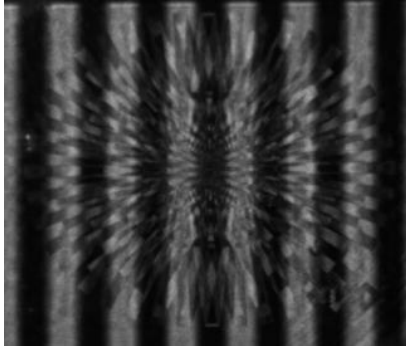


図5 位相差分X線顕微鏡(図2(c))による生画像。

鏡に比べれば、空間分解能および位相感度に

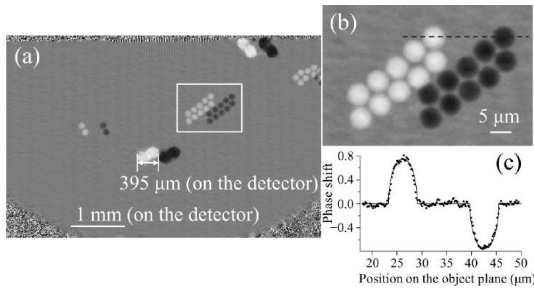


図6 縞走査法で処理した差分位相像。試料は直径5 $\mu\text{m}$ のポリスチレン球。

において共に劣ってしまうという原理的欠点がある。空間分解能については、顕微鏡としての限界分解能ではなく、格子の周期が制限している。位相感度については、微分位相検出に基づいているために、拡大率分だけ原理的に低下している。

図2(c)の構成では、この両者が原理的に改善され、加えて製作が難しい吸収格子(第二格子を必要としないので、多くのメリットが期待できる。その理由は実際に得られる画像を示して説明する。

図5は本手法によって得られる生画像である。位相格子がFZPの焦点から67.8mmの位置に配置し、その拡大された自己像が図5にのようにとらえられている。明らかに吸収格子を用いてモアレ縞を生成する必要が無いことがわかる。位相格子を並進させて縞走査法の演算を施すと、たとえば図6に示す特徴的な画像が得られる。試料は直径5 $\mu\text{m}$ のポリスチレン球である。このように、コントラストが逆転した二重像が現れる。それぞれ、位相格子による回折波のうち、0次と+1次の干渉、0次と-1次の干渉によるものである。言い換えれば隣り合う回折次数の干渉である。縞走査法の演算はこのような成分のみを抽出するものと言える。今、1:1の矩形位相格子を使っていると近似でき、すなわち0次以外の偶数次の回折が無いと考えれば、隣合う次数の干渉は上で述べた二つのみであり、図6が二重像であることが理解できる。

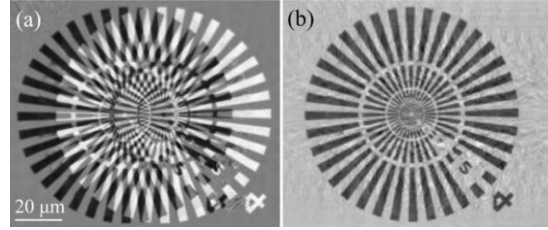


図7 シーメンステストチャートの観察結果。二重像(a)および回復像(b)。

二重像のずれが小さければ微分像になるわけだが、位相格子と画像検出器までの距離がここでは長く、このようにずれが顕著で、差分像と呼ぶべきものとなっている。すなわち、ずれより試料のサイズが小さければ、図6に個々のポリスチレン球が孤立して観察できているように、その像は位相像となっている。

ただし、試料が二重像のずれより大きい場合は像の重なりを解消する必要がある。図5ではテストチャートが観察されていたが、縞走査法による処理後の画像を図7(a)に示す。このように大きく重なり合っており、そのままでは試料構造の理解が難しい。ただし、二重像のずれの距離は幾何学的に予めわかっているため、像の回復は原理的に可能である。図7(b)は試料による位相シフト $\Phi(x,y)$ を

$$\Phi(x, y) = 2 \frac{-J_1 \sum_{j=-J_2}^{-1} P_j + J_2 \sum_{j=0}^{J_1-1} P_j}{J_1 + J_2} \quad (5)$$

で計算したものである。ただし、縞走査法で得られる画像 $S(x,y)$ に対して

$$P_j = S(x - (j + 1/2)d_2, y) \quad (6)$$

である。この例では画像の端には物体が無いという境界条件を使用しているが、このように良好な画像が回復できている。

この方法の空間分解能は、自己像の間隔ではなく顕微鏡自体の分解能で支配される。今回得られた画像の空間分解能は450nmであり、位相微分X線顕微鏡より確かに優れた結果が得られた。

図3(a)に示した微分位相像のように物体の表面(境界)が強調される画像より、位相シフトが直接観察される本方式によるものの方が感度的に優れていることが言える。詳しい議論は省略するが、吸収像に比べて約百倍の感度が達成できている。微分位相像の場合は倍率や空間分解能、構造のサイズに依存して感度が変わってくるが、吸収像に比べて数倍の感度と考えられ、本方式の有効性は明らかである。

しかしながら、二重像からの像回復の成否が本方式の実用性を左右する。比較的単純な

構造の画像についてはうまくいくが、複雑な構造になるとより高度な回復アルゴリズムが必要になりそうである。これに関しては今後の課題である。

以上、X線結像顕微鏡と回折格子光学系を組み合わせることによる高感度X線顕微技術開発の結果を述べた。このような光学系は光学顕微鏡や電子顕微鏡の分野においてもこれまでに無く、顕微鏡研究自体にとっても新しい試みであると言える。今後もこのような顕微光学系の改良は可能であろう。また、各種応用も開始できる段階にあり、既に生物試料（骨組織など）の三次元観察について共同研究へと発展している。今後の展開が期待される。

《参考文献》

- [1] S. Yokozeki and S. Suzuki, *Appl. Opt.* **10**, 1575-1579 (1971).
- [2] A. W. Lohmann and D. E. Silva, *Opt. Commun.* **2**, 413-415 (1971).
- [3] A. Momose, S. Kawamoto, I. Koyama, Y. Hamaisi, K. Takai, and Y. Suzuki, *Jpn. J. Appl. Phys.* **42**, L866-L868 (2003).
- [4] A. Momose, W. Yashiro, Y. Takeda, Y. Suzuki, and T. Hattori, *Jpn. J. Appl. Phys.* **45**, 5254-5262 (2006).
- [5] Y. Takeda, W. Yashiro, T. Hattori, A. Takeuchi, Y. Suzuki, A. Momose, *Appl. Phys. Express* **1**, 117002 (2008).
- [6] A. Momose, Y. Takeda, A. Takeuchi, Y. Suzuki, *J. Phys: Conf. Ser.* **186**, 012044 (2009).
- [7] W. Yashiro, Y. Takeda, A. Takeuchi, Y. Suzuki, and A. Momose, *Phys. Rev. Lett.* **103**, 180801 (2009).

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① W. Yashiro, Y. Takeda, A. Takeuchi, Y. Suzuki, and A. Momose, “Hard-X-Ray Phase-Difference Microscopy Using a Fresnel Zone Plate and a Transmission Grating”, *Phys. Rev. Lett.* **103** (2009) 180801 査読有
- ② A. Momose, Y. Takeda, A. Takeuchi, Y. Suzuki, “X-ray phase tomography with a Talbot interferometer in combination with an X-ray imaging microscope”, *J. Phys: Conf. Ser.* **186** (2009) 012044 査読有
- ③ H. Mizutani, Y. Takeda, A. Momose, A. Takeuchi, T. Takagi, “X-ray microscopy for neural circuit reconstruction”, *J. Phys: Conf. Ser.* **186** (2009) 012092 査読有
- ④ Y. Takeda, W. Yashiro, T. Hattori, A. Takeuchi,

Y. Suzuki, A. Momose, “Differential Phase X-ray Imaging Microscopy with X-ray Talbot Interferometer”, *Appl. Phys. Express* **1** (2008) 117002 査読有

[学会発表] (計 18 件)

- ① 矢代航、竹内晃久、鈴木芳生、百生敦、「X線結像顕微鏡における Talbot 効果の定式化とその応用」、日本物理学会、岡山大学、2010.3.20
- ② A. Momose, “X-ray phase imaging with gratings”, 3rd international bioimaging symposium, Okazaki, Japan, 20 Jan. 2010
- ③ 矢代航、竹内晃久、鈴木芳生、百生敦、「位相格子とフレネルゾーンプレートによる X線位相差分顕微鏡の開発」、日本放射光学学会、姫路、2010.1.9
- ④ A. Momose, “Various applications of Talbot interferometry to X-ray phase imaging”, The 2nd International Workshop on Imaging Techniques with Synchrotron Radiation (ITSR2009), Sanya, China, 8 Nov. 2009
- ⑤ 矢代航、武田佳彦、竹内晃久、鈴木芳生、百生敦、「X線結像光学系とX線透過格子の組み合わせによる位相差分顕微鏡」、X線結像光学シンポジウム、つくば、2009.11.7
- ⑥ W. Yashiro, A. Momose, A. Takeuchi, Y. Suzuki, “X-ray phase difference microscopy using a Fresnel zone plate and a transmission grating”, The 10th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation (SRI09), Melbourne, Australia, 28 Sep. 2009
- ⑦ A. Momose, “X-ray interferometry and phase imaging”, 2nd School and Workshop on X-ray Micro and Nanoprobes (XMNP 2009), Palinuro, Italy, 16 Jun. 2009
- ⑧ 矢代航、武田佳彦、竹内晃久、鈴木芳生、百生敦、「単一格子 X線位相差分顕微鏡による高解像度位相イメージングの試み」、応用物理学会、筑波大、2009.3.30
- ⑨ 百生敦、「X線位相イメージング」、日本顕微鏡学会 関西支部 特別企画講演会、岡崎、2008.12.20
- ⑩ A. Momose, “Recent Advances in X-ray Phase Imaging for Biomedical Applications”, Medical Sciences Congress 2008, Queenstown, New Zealand, 26 Nov. 2008
- ⑪ A. Momose, W. Yashiro, Y. Takeda, “X-ray Phase-Imaging with Talbot Interferometry”, The Huangguoshu International Interdisciplinary Conference on Biomedical Mathematics, Guizhou, China, 6 Nov. 2008
- ⑫ A. Momose, Y. Takeda, A. Takeuchi, Y. Suzuki, “X-ray phase tomography with a Talbot interferometer in combination with an X-ray imaging microscope”, 9th International Conference on X-Ray

Microscopy (XRM2008), Zurich, Switzerland,  
21 Jul. 2008

- ⑬ H. Mizutani, Y. Takeda, A. Momose, A. Takeuchi, T. Takagi, “X-ray microscopy for neural circuit reconstruction”, 9th International Conference on X-Ray Microscopy (XRM2008), Zurich, Switzerland, 21 Jul. 2008
- ⑭ 水谷治央、武田佳彦、百生敦、竹内晃久、高木利久、「神経回路網再構築のための新たな X 線イメージング法」、第 31 回日本神経科学大会、東京、2008.7.9
- ⑮ 武田佳彦、高倉樹、鈴木芳生、竹内晃久、百生敦、「微分位相 X 線結像顕微鏡を利用したポリマーブレンド相分離構造の観察」、応用物理学会、日本大学、2008.3.29
- ⑯ 武田佳彦、高倉樹、鈴木芳生、竹内晃久、百生敦、「タルボ効果を利用した高分解能 X 線位相イメージング」、P F 研究会、つくば、2008.1.17
- ⑰ 武田佳彦、高倉樹、矢代航、竹内晃久、鈴木芳生、百生敦、「X 線タルボ干渉計を用いた位相コントラスト X 線結像顕微鏡によるポリマーブレンド相分離構造の観察」、日本放射光学会、立命館大学、2008.1.14
- ⑱ 水谷治央、武田佳彦、百生敦、高木利久、「X 線マイクロ CT 技術を用いた脳神経細胞の 3 次元再構築」、第 30 回日本神経科学大会、横浜、2007.9.10

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

百生 敦 (MOMOSE ATSUSHI)  
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・  
准教授  
研究者番号：20322068

### (2) 研究分担者

矢代 航 (YASHIRO WATARU)  
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・  
助教  
研究者番号：10401233  
(H19→H20：連携研究者)