

令和元年6月21日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05596

研究課題名(和文) X線マイクロCTによる放散虫3Dスキャン：新手法の確立に向けた実践的研究

研究課題名(英文) Three-dimensional scanning for radiolarian skeleton using X-ray microCT: A practical study toward establishment of the new technology

研究代表者

石田 直人 (ISHIDA, Naoto)

鳥取大学・工学研究科・助教

研究者番号：20534746

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：放散虫(ポリキスティナ)は古環境解析や生層序学的に重要であり、殻形質の記載は光学顕微鏡や走査型電子顕微鏡が使われてきた。高解像型X線マイクロCTによるスキャン技術の放散虫記載ツールとしての有用性に着目し、分類形質を3次元で描写する、第3の記載手段とすることを目的とした。その結果、解像度はナノメートルオーダーに達し、放散虫殻の全形質を描写可能となった。球状ナセルリアでの検討では、非破壊で球状殻内部のinitial spiculeを初めて記録した。これらの成果は国際放散虫研究集会の特設ブースで紹介し、国内外の専門家から大きな反響を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球史を解明する重要なツールである放散虫化石に対し、高解像型X線マイクロCTによる3Dイメージング技術を古生物学的記載手段とした。本研究で達成した解像度はナノメートルオーダーであり、放散虫の全形質を記録できる。これまで放散虫の観察は光学顕微鏡や走査型電子顕微鏡が使われてきたが、X線マイクロCTは第3の記載ツールとして確立され、専門家からもその有用性を称賛されている。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to establish the three-dimensional scanning using X-ray microCT as a practical description tool for taxonomic characters of radiolarians. As a result of this study, resolution capability of our device, that demonstrated the ability to reach under 1 micrometer, enable us to describe for all characters of radiolarian skeletons. On a practical analysis for spherical Nassellarian skeletons, initial spicules in closed-spherical shells were recorded for the first time, non-destructively. Responses for this new technology were terrific at the international association for radiolarian scientists.

研究分野：微古生物学

キーワード：放散虫化石 X線マイクロCT 3次元イメージング技術 古生物学的記載

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放散虫類の中で珪酸の殻を持つポリキスティナは、過去5億年以上、出現と絶滅の記録をたどれる分類群である(以下、‘放散虫’とはポリキスティナを指す)。放散虫殻は化石として残りやすく、地質時代の特定や古気候解析など、地球史解明に大きな役割を果たしてきた。

放散虫に基づく研究は、大きさ数10~数100 μm の殻に見られる微細な分類形質の記載に基づく種の同定が基本となる。これまで放散虫殻の記載には、1839年にEhrenbergがスケッチを残して以来、170年以上にわたり光学顕微鏡が用いられてきた。また、1970年代には走査型電子顕微鏡(SEM)が実用化され、光学顕微鏡と比べて圧倒的に高い解像力による微細構造の検討は、放散虫の分類体系構築に大きな進展をもたらした。但し、主にガラススライドに封入した透過像を観察する光学顕微鏡では殻表面の装飾が観察できず、金属を蒸着した個体の表面像を観察するSEMは内部構造が観察できない等の問題を有し、標本1個体のみで全ての形質の記載は事実上不可能という大きな問題を抱えていた。

近年、産業用X線マイクロCT(以下、マイクロCTとする)による3次元イメージング技術が飛躍的に向上している。この新たな技術は解像度こそSEMに劣るが、非破壊で内部の3次元形状の記録が可能である。光学顕微鏡・SEMによる記載の問題点を解決する可能性があることに着目し、研究代表者らはマイクロCTによる放散虫殻の3Dスキャン技術の確立に取り組み、放散虫研究では世界に先駆けて実用レベルに達したことを示した(Ishida et al., 2015)。

2. 研究の目的

高解像型マイクロCTによる3Dスキャン技術は、放散虫記載の観点からは実用レベルに達したものの、その性能を安定的に発揮するには難があった。また、公表されたデータは1種1個体に限られていた。よって本研究では、(1)3D形状データの解像度の検証とデータ取得の安定性向上、および(2)多数の放散虫化石の3Dデジタルデータの取得、また(3)放散虫生体殻の殻成長に伴う微細構造の機能と形成順序の解明、を実施することとした。これにより、放散虫殻の3次元形態データの古生物学的記載における有用性を示し、第3の放散虫記載ツールとして定着を目指す。成果公表の照準のひとつには、2017年日本開催の国際放散虫研究集会を定めた。専門家の集まる国際集会以CGや拡大模型等による、自国開催の優位性を生かした成果発表によって、手法の新規性と特長を世界にアピールする。

3. 研究の方法

本研究を進めるにあたり手順と項目を下記4項目に区分した。それぞれについて詳述する。

(1) 使用する機器

研究の根幹となるX線マイクロCT装置は研究代表者らがこれまでに使用し、連携研究者が管理するSkyScan社(現Bruker MicroCT社、ベルギー)製MicroCT in SEMを使用する。撮像前の検体の設置作業のフロー、撮像に最適なスキャン条件はすでに検討済みである(Ishida et al., 2015)。但し、撮像デバイスは高解像度型に交換されていることから、まずこの解像度を検証する。また、スキャン成功率向上ために失敗事例の原因を探る。

(2) 検体の保管状況と選別

本研究では新手法によるスキャン事例の蓄積が必須であり、それにはまず、良好な検体の選別が成否の重要な鍵となる。研究代表者は、これまでに中生代放散虫化石の群集構成や層位分布に関する研究成果を公表しており(Ishida, 2015など)、産出状況や保存状態が判明した標本を多く所持する。保管された標本を再観察し、3Dスキャンに用いる良好な標本を選別する。

(3) 検討する分類群

研究の端緒に、閉球状の *Nassellaria* 目の放散虫について特に着目する。閉球状放散虫は SEM では外側から内部構造を観察できないが、非破壊 3D スキャニングであればこれが可能になる。Ishida (2015) では中期ジュラ紀の放散虫群集の全容を図示したが、閉球状の *Nassellaria* には未記載種が多く含まれ、この分類群は細部構造を検討する学術的価値が高い。

(4) 殻構造の機能と形成順序

化石種は形態上の特徴によってのみ分類されるが、殻の構造には生態上の機能がある。放散虫殻の微細構造の検討には殻の破損のない現生の個体が適しており、現生種の生態観察から殻各部の構造と機能を対応させ、化石種の分類の裏付けとする。特に幼体は殻発達の初期段階の構造観察に適している。中生代の放散虫と現生の放散虫は同一種ではないが、機能的な形態の収斂もあるため十分に参考になる。研究代表者は日本海や東シナ海で放散虫生体の研究を続けており、本研究でも現生放散虫観察に基づき殻構造の機能や形成順序を検討する。

4. 研究成果

(1) スキャン成功率と 3D データの質の向上

X 線マイクロ CT による放散虫殻の 3D スキャニングの作業フローは既に確立していたが、最終的に 3D データ化できない事例も多く、改善の余地があった。放散虫殻をスキャンする際は、使用機器の拡大率を最大にまで上げるが、その際の視野幅は $315\ \mu\text{m}$ となる。このため、数 μm のわずかな像の‘ブレ’が最終的なデータの質を下げる。失敗事例の検討の結果、スキャン時の回転軸と検体をつなぐホルダの振動や滑りがブレの原因と考えられた。この対策として、高精度切削による独自設計のホルダを作製したところ、成功率が格段に向上した。また、作業の位置決め精度も向上し、検体を設置する際の手間が省かれ、円滑な作業が可能になった。

また、これまで 2 次元の透過像から 3D 形状データに構成するフローを装置付属のソフトウェアで半自動処理していたが、各種パラメーターを手動で調整することで、より精細な結果を得ることが可能になった。これに従い、これまで取得されていたデータの再処理を実施した。

(2) 高解像型撮像デバイスによる解像度の検証

研究初期に使用していた撮像デバイス (X 線カメラ) は 512×512 pixel だったが、その後、 1024×1024 pixel のものに交換されている (図 1)。交換後の撮像デバイスの理論分解能の限界値は $307\ \text{nm}$ であるが、放散虫 (非晶質シリカ) に対する実際の撮影ではどの程度の解像力を発揮するか検証した。検体として選んだ放散虫は *Callimitra* 属である。この分類群は、地球史上の全ての放散虫の中で最も繊細で精巧な 6 面のメッシュパネルを有しており、この構造を描写できれば放散虫の全形質の 3D データ化が可能である。

本研究では東シナ海で採取した放散虫生体群集から *Callimitra* 属を抽出して検体とした (図 2)。 *Callimitra* 属の 3D イメージ (CG) 像 (図 2 左) には微細な bar が縦横に交差して構成されたメッシュパネルの構造が写し取られている。1 本の bar に着目すると、端から端まで途切れることなく描写されていることがわかる。SEM によって bar の直径を計測したところ、 $0.6 \sim 0.8\ \mu\text{m}$ であった (図 2 右)。このことから放散虫に対する解像度は少なくとも $1\ \mu\text{m}$ 以下を達成しており、理論解像度に迫る数 $100\ \text{nm}$ レベルにあると判断した。

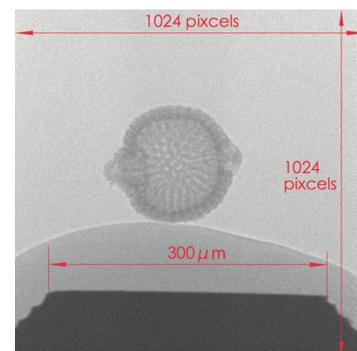


図 1 : 高解像型撮像デバイスによる閉球状 *Nassellaria* の X 線透過像。

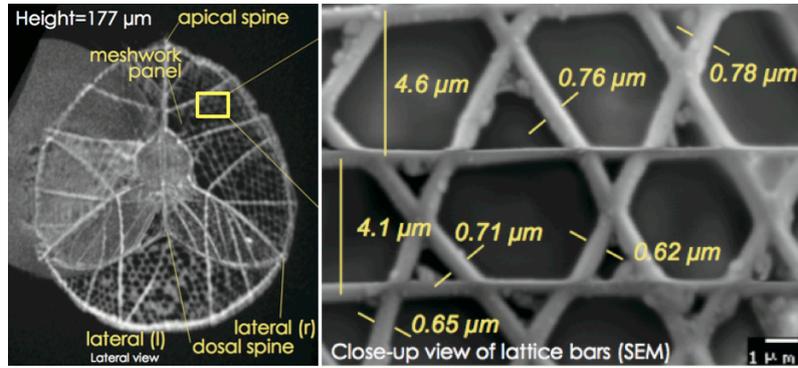


図 2 : *Callimitra* 属のメッシュパネルを用いた解像度試験.

(3) 閉球状 Nassellaria 目の 3D イメージングによる形質記載

本研究による閉球状 Nassellaria 目の検討事例の 1 例として, *Striatojaponocapsa conexa* (Matsuoka) の 3D イメージを図 3 に示す. この種は底部にごく小さな aperture があるのみで, ほぼ完全に閉じた球状であり, 非破壊のまま SEM で内部構造の詳細を観察することはできない. マイクロ CT による 3D イメージからは, 3 室構造や depression, aperture の配置が明瞭にわかる. 中でも, 閉じた殻上部の最も奥に配置された initial spicule には, collar ring と十字に配置された骨針構造が認められる. これは原記載にも記述がなく, 本研究が初めて明らかにしたものである.

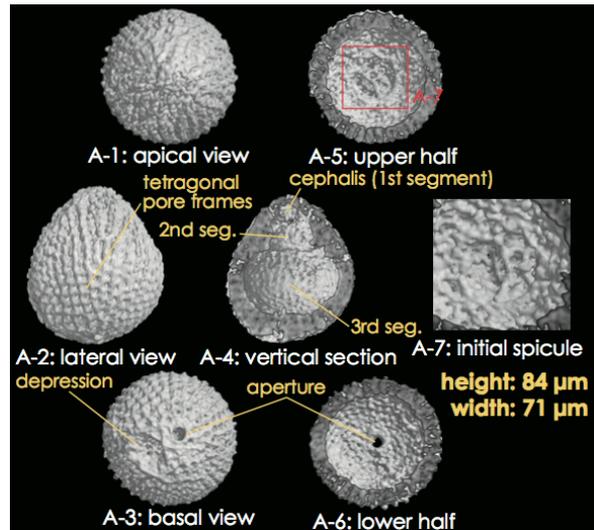


図 3 : 閉球状 Nassellaria のスキャン事例.

閉球状 Nassellaria 目に関する研究成果は, (1), (2) の技術的成果と合わせて, 2017 年新潟で開催された第 12 回国際放散虫研究集会 (InterRad XV) で公表した. ポスター展示に加え, 3D プリンタによる拡大模型やディスプレイでの CG 表示など多彩な展示ツールを用い, 国内外の専門家達の好評を博した.

(4) 現生放散虫殻の殻構造と形成順序

日本海および東シナ海の現生放散虫について研究初年度から観察を進めた. 中でも, 山形県沖の日本海で採取した放散虫生体群集についての検討では, この群集を優占する, Spumellaria 目の 1 種の *Spongosphaera streptacantha* Haeckel について殻の有する形質を記載し, 群集中の全個体の形態計測を実施した (図 4) .

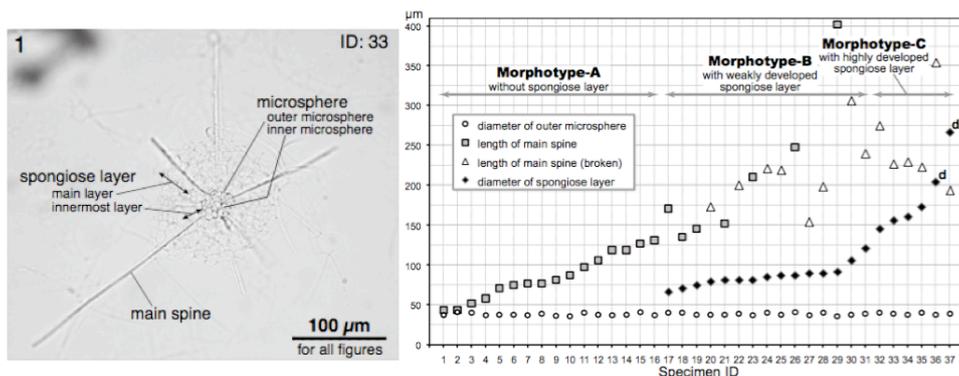


図 4 : *Spongosphaera streptacantha* の分類形質と殻成長過程.

その結果、殻の中心にある microsphere の直径は全ての個体でもほぼ一定で最初期に形成されたと考えられるのに対し、main spine や spongiöse layer は殻の中心から外側に向けて付加成長することがわかった（図 4 右）。この群集には幼体から成体まで含まれ、殻形成の過程を連続的にたどることができる。また採取時の水質データから、この種に適した生息環境が明らかになった。得られた新知見は論文としてまとめ、専門誌に公表した。

(5) 今後の発展性

本研究では、放散虫殻の微細構造を忠実に 3D デジタルデータ化することに注力した。今後の発展的課題として、3D データを基にした形状解析、特に応力に対する変形を想定した予察的検討を実施した。既存のソフトウェアを使用し、取得された 3 次元点群データをメッシュ化し、さらにボクセルモデルにすることで有限要素法での構造解析が可能になることを確認した。

<引用文献>

- ① Ishida, N., Kishimoto, N., Matsuoka, A., Kimoto, K., Kurihara, T., Yoshino, T., Three-dimensional imaging of the Jurassic radiolarian *Protunuma ? ochiensis* Matsuoka: an experimental study using high-resolution X-ray micro-computed tomography, *Volumina Jurassica*, Volume 13, 2015 年, 77-82
- ② Ishida, N., Late Middle Jurassic (Callovia) radiolarian assemblages from siliciclastic rocks in the Southern Chichibu belt, southeast Kanto Mountains, Japan, *News of Osaka Micropaleontologists*, Special Volume, no. 15, 2015 年, 181-205

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

- ① Ishida, N., Summer surface water polycystine radiolarians in the eastern margin of the Japan Sea, *Bulletin of the Geological Survey of Japan*, 査読有, Volume 70, 2019 年, 101-108, https://www.gsj.jp/data/bulletin/70_01_06.pdf.

〔学会発表〕（計 2 件）

- ① Ishida, N. and Kishimoto, N., Submicron order three-dimensional imaging for polycystine radiolarians using X-ray micro-computed tomography, *InterRad XV*, 2017 年.
- ② 石田直人・岸本直子, 放散虫殻の 3 次元微細構造観察, 日本地質学会第 124 年学術大会, 2017 年.

6. 研究組織

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：岸本 直子

ローマ字氏名：(KISHIMOTO, naoko)

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。