

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 8 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K12026

研究課題名(和文) ナノ粒子を造影剤とする癌イメージングを目指す蛍光X線CTの開発

研究課題名(英文) X-Ray Fluorescent Computed Tomography Aiming at Cancer Imaging

研究代表者

湯浅 哲也 (Yuasa, Tetsuya)

山形大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：30240146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究グループでは、放射性同位元素を用いずに機能情報を取得できる断層撮像装置を開発を目指している。本研究では、がんイメージングのためのサンプルが入手できなかったため、脳イメージングを目標として添えた。脳イメージングのための予備的な実験を行い、その実現可能性を確認した後、実際のラット脳を撮像した。本結果により、特定の部位にヨウ素造影剤が集積することを確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子工学の進歩により、種々の疾患モデル小動物の作製が容易となり、これら小動物を用いて疾病の機序解明や治療薬の開発を目的とした前臨床研究が盛んに行われている。その際、対象臓器・器官の機能情報の定量的評価には、PETやSPECTなどの放射性同位元素をトレーサーとして用いる分子イメージング手法が用いられる。しかしながら、放射性同位元素を取り扱うための大規模な設備が必要であるという大きな制約がある。本研究により、放射性薬剤を必要としない本手法を代替できる可能性を示せた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to develop an imaging method to depict functional information of a variety of organs using non-radioactive imaging agent. For this, we proposed an CT imaging method for pre-clinical use using x-ray fluorescence emitted from non-radioactive agent. Although at first we aimed at cancer imaging, we changed our target to rat's brain imaging for some reasons. We constructed a prototype imaging system at beamline ARNE-7A, KEK, Japan. In this research, we performed several preliminary imaging experiments using different phantoms to affirm the feasibility of brain imaging. Finally, we perform an ex-vivo imaging experiment using rat's brain. We observed that imaging agent is accumulated in a specified region in a brain. The result demonstrates that our method can be an alternative or a complement of existing imaging method such as SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) or PET (Positron Emission Tomography), which uses radioactive agent.

研究分野：医用画像工学

キーワード：蛍光X線 CT 生体撮像 機能情報

1. 研究開始当初の背景

ナノメディスン分野では、ナノ粒子の医療応用が精力的に研究されている。近年のナノテクノロジーの発展により、様々な機能を持つナノ粒子が設計・開発されており、その用途は単なる造影剤に留まらず放射線治療・再生医療・DDS (drug delivery system) 製剤など多岐に亘る。とくに、金ナノ粒子は、抗ペプチドやペプチドに結合させることで、腫瘍に特異的に蓄積し、従来のヨウ素系造影剤よりも長く腫瘍内に留まるといった特性を持たせることができ、癌イメージングの造影剤として注目を集めている [J.F. Hainfeld, *et al. Bri. J. Radiol.* **79**(2006) 248]。さらに近年、X線放射線治療において、腫瘍組織の放射線に対する感受性・反応性を増大させる効果が明らかにされ、治療効果を高める薬剤としての用途も積極的に考えられている [J.F. Hainfeld, *et al. Phys. Med. & Biol.* **55**(2010) 3045]。それぞれの応用でナノ粒子が生体内でどのように分布しているかを可視化する技術が望まれている。これまでナノ粒子分布の可視化方法として、OCT (Optical Coherence Tomography) [K.M. Au, *et al. Adv. Mater.* **23**(2011) 5792] や小動物用 X線 CT [J.F. Hainfeld, *et al. Bri. J. Radiol.* **84**(2011) 526] などが報告されている。OCT は高い分解能を持つが、深達度が著しく低く、生体表面近傍(皮膚表面から数 mm 程度)の情報しか取得できない。また、X線 CT では、3次元情報を取得できるものの最小検出濃度は 2 mg/ml と高いため、腫瘍を識別するのは困難である。

深達度と分解能を両立する高感度イメージング方法として、蛍光 X線 CT (FXCT: Fluorescent X-ray Computed Tomography) が有力な手法として挙げられている [N. Manoharl, *et al. Sci. Rep.* **6**(2016) 22079]。FXCT は、対象外部から照射する単色 X線により生体内に分布する非放射性造影剤を励起後、脱励起する際に発生する蛍光 X線光子を系統的に捕捉し、計算機上で再構成することで、生体内の造影剤分布を推定する。しかしながら、従来の FXCT の撮像方式は第一世代型 CT、すなわちペンシルビームによる取得方式により、投影データを 1 点ごとに取得していたため、1 断面の撮像にも数時間を要するという問題があった。このため、これまでに得られている FXCT 画像は 2 次元断層像に限られる。第一世代型データ取得方式に拠っている限り高速撮像は到底望めない。また、*in vivo* 撮像においては、長時間計測により造影剤の生理学的減衰やモーションアーチファクトによる画質劣化は避けられない。ましてや、3 次元断層画像を取得することは到底望むべくもない。

2. 研究の目的

マルチピンホール FXCT によりヨウ素造影剤を含む生体を 3 次元撮像することが可能かを実証する。最終年度は、諸事情により生体サンプルを入手できなかったため、本研究では主に、ラット脳をターゲットとした。

3. 研究の方法

データ取得の高速化を図るために、ピンホールを用いたデータ取得方式を用いる。撮像対象は実験室座標系の原点近傍に設置される(図 1)。z 軸がピンホールの中心を通過するように、ピンホールを有するタンゲステン製薄板を z 軸に垂直に設置する。さらに、検出面が z 軸に垂直になるように 2 次元検出器を設置する。入射 X線は x 軸に平行な直方体状の体積ビームで、造影剤を含む対象全体を覆うように照射される。対象内の非放射性造影元素は、入射 X線が照射されると、光電効果により蛍光 X線を発生する。蛍光 X線は等方的に放射されるが、ピンホールを有する薄板が対象と 2 次元検出器の間に設置されているため、ピンホールを通過した蛍光 X線だけが 2 次元検出器により投影として取得される。この撮像方式により 3 次元対象からの投影を 1 回の照射で取得可能である。データ取得後、対象を y 軸のまわりに、あらかじめ決められた角度ステップごとに回転させ、360° にわたり投影取得を繰り返す。

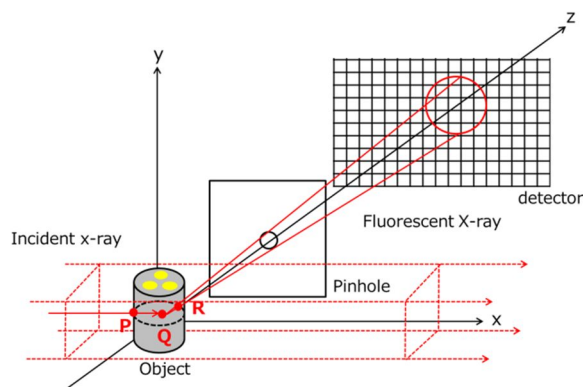


図 1: シングルピンホール FXCT の概念図

入射 X線が検出器に測定されるまでの過程は、(1) 入射 X線が受ける減衰 (P→Q)、(2) 蛍光 X線の発生 (Q)、(3) 蛍光 X線が受ける減衰 (Q→R) の 3 ステップに分けて考える(図 1)。対象空間をボクセルで分割すれば、対象内の造影剤濃度分布と検出器で計測される蛍光 X線光子数との量的な関係は、 $p = Cq$ という方程式で表される。ここで、 $p = (p_1, p_2, \dots, p_M)^t$ 、 $q = (q_1, q_2, \dots, q_N)^t$ である。 p_i は検出器の i 番目の位置で観測される蛍光 X線光子数、 q_j は j 番目のボクセル

ル内の造影剤濃度, M は全測定データ数, N はボクセル数である. また, 行列 C は $M \times N$ の行列であり, 各要素は, 対象内のボクセルと検出器のピクセル間の位置関係および測定過程を考慮することで計算できる. したがって, FXCT 再構成は, p と C が既知であるもとの q を求める線形逆問題に帰着される. 投影 p は低 S/N であるので, EM (Expectation-Maximization) アルゴリズムを用いて解く. これまでに, ヨウ素造影剤を用いた物理ファントム撮像実験により, 世界初の 3 次元 FXCT を得, 本提案手法の実現可能性を示した.

このアイデアをさらに推し進め, マルチピンホールにより複数の投影データを一挙に取得することで, 捕捉する蛍光 X 線光子を効率的に収集し, 計測時間を短縮することを試みた. マルチピンホール・コリメーターを用いて, 再構成画像を取得できることを, ヨウ素造影剤を用いた実験で示し, 単一ピンホールに比べ, 約 9 倍の高速化を実現した.

4. 研究成果

高エネルギー加速器研究機構 PFAR (加速電圧 6.5 GeV) の偏向電磁石ビームライン ARNE7A に撮像システムを構築した. 蓄積リングからの放射光白色 X 線は, 水平な偏光を持ち Si(111) 2 結晶モノクロメータにより単色化され, 断面積が横 35 mm × 縦 5 mm の立体ビームになるように X 線スリットを用いて成形した. 入射エネルギーは, ヨウ素造影剤の K 吸収端エネルギーである 33.17 keV の直上 33.4 keV に設定した. 被写体直前における入射光子数は約 9.3×10^7 photons/mm²/s である. サンプルは回転ステージ上に設置される. 回転ステージの回転中心からピンホール, およびピンホールから検出面までの距離は, それぞれ 20.0 mm, 20.0 mm とした. 2 次元検出器は DECTRIS 社製 PILATUS 100K (ピクセル数: 487×195, ピクセルサイズ: 0.172×0.172 mm²) を使用し, エネルギー閾値を 20-30 keV に設定した. 回転ステージと検出器は PC により制御された. ピンホールコリメータは厚さ 2 mm の硬鉛板 4 種 (HPbP4) 製のピンホール治具と, 直径 3.4 mm, 厚さ 0.5 mm のタングステン製のピンホールチップで構成されている. ピンホールの前面には, 散乱線を除去するための Sn フィルタを設置した. Sn の K 吸収端 (29.2keV) はヨウ素の蛍光 X 線エネルギー (28.5keV) よりわずかに高いため, Sn フィルタは高い確率で, 蛍光 X 線光子を通過させ, K 吸収端より高いエネルギーを有する散乱 X 線光子を光電効果により遮断する.

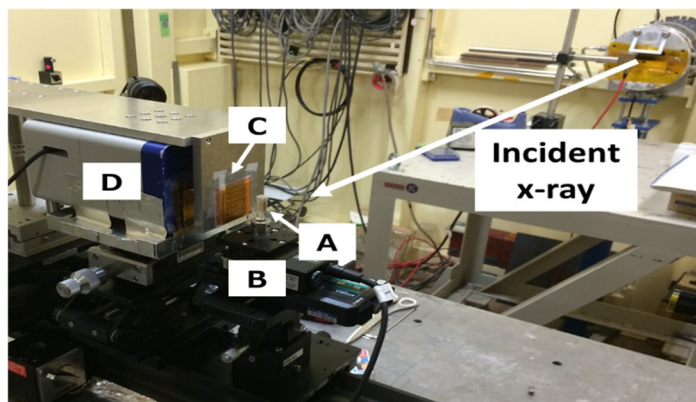


図 2: KEK ARNE7A に構築した FXCT

(1) 物理ファントム撮像実験

アクリル製円筒に穴をあけ, その中にヨウ素濃度の異なる造影剤を満した物理ファントムを作成した. さまざまな条件で撮像実験をして, ファントムの再構成画像から 0.05 mg/ml のヨウ素が描出でき, ヨウ素濃度と画素値に高い相関 (相関係数 0.97) を確認した. また, 空間分解能は約 0.3 mm であった.

(2) 生体模擬ファントム撮像実験

脳の撮像を行う場合, 関心領域である脳は高吸収体である頭蓋骨に囲まれている. 頭蓋骨のような高吸収体に囲まれていても微量濃度のヨウ素領域を描出できるかを検証するために, マウス頭蓋骨内にヨウ素溶液を封入した容器を埋設した模擬ファントムを作成し (図 3), 撮像した. ヨウ素溶液は, 0.4 および 0.2 mg/ml とした. 図 4 に FXCT 再構成画像 (Volume Rendering 表示) を示す.

実験結果より, ヨウ素領域は頭蓋骨に囲まれていても明瞭に描出されることが確認された.



図 3: マウス頭蓋骨内にヨウ素溶液容器を埋設したマウス脳模擬ファントム

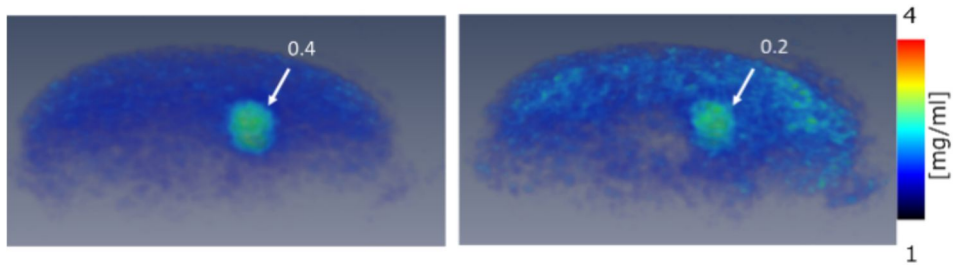


図 4: FXCT 再構成画像 (VR 表示). ヨウ素濃度は 0.4 mg/ml (左) および 0.2 mg/ml (右)

生体は骨のような高吸収体だけでなく軟組織も含む．両者が混在する場合にも微量ヨウ素領域を描出できるかを検証した．0.2 mg/ml のヨウ素造影剤濃度を封入した容器を骨付き鶏肉の肉の中に埋設した被写体を作成した (図 5)．比較のために吸収コントラスト X 線 CT を撮像した．図 6 に再構成画像を (Volume Rendering 表示) を示す．左は吸収コントラスト CT, 右は 0.2 mg/ml ヨウ素溶液を封入した FXCT である．ここで, 視点は同じ位置に設定している．図 6 左では骨は明瞭に描出されているものの, ヨウ素領域は描出されていない．一方, 図 6 右では骨はヨウ素を含まないため描出されていないが, ヨウ素領域は明瞭に描出されている．

この実験結果から, (1) 硬組織と軟組織が混在する中においても FXCT によりヨウ素領域を描出できる, (2) 0.2 mg/ml より薄いヨウ素領域は吸収コントラストでは描出できないことがわかった．改めて FXCT の高い微量濃度描出能が確認される．

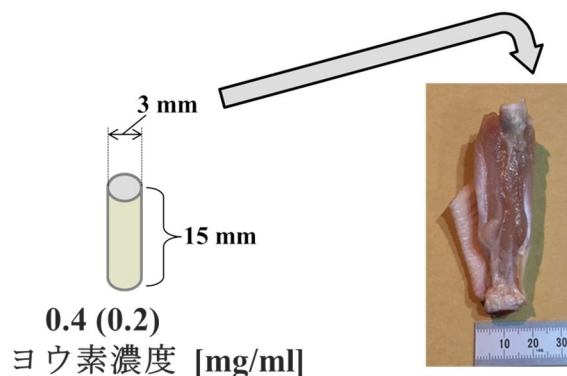


図 5: 骨付き鶏肉内にヨウ素造影剤を封入した容器を埋設した被写体

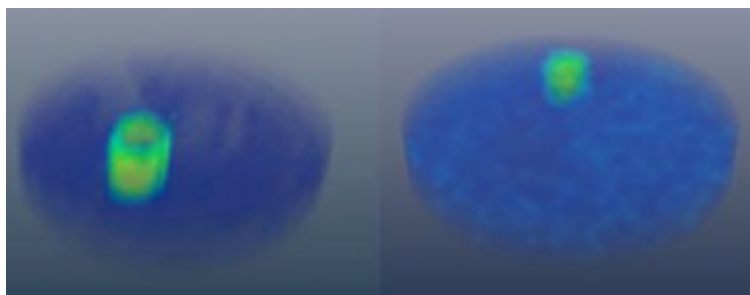


図6：同じ視点からVR表示した再構成結果．吸収コントラストCT（左）とFXCT（右）．

（3）ラット脳 ex vivo 撮像実験

実際に生きた生体が組織に取り込む微量ヨウ素を撮像できるかを確認するために，ラット脳の ex vivo 撮像実験を行った．5 週齢のオス ddY マウスに非放射性ヨウ素化合物 N-isopropyl-4-iodoamphetamine (iofetamine)76 mg を麻酔下で静注投与，5 分後に摘出、ホルマリン固定した脳を撮像した（図7左）．FXCT 再構成画像を図7右に示す．高さを変えながら再構成した16枚のスライス像である．再構成画像から大脳基底核にヨウ素造影剤の集積が確認できる．

実験結果より，マウス脳灌流3次元画像を描出することを確認した．

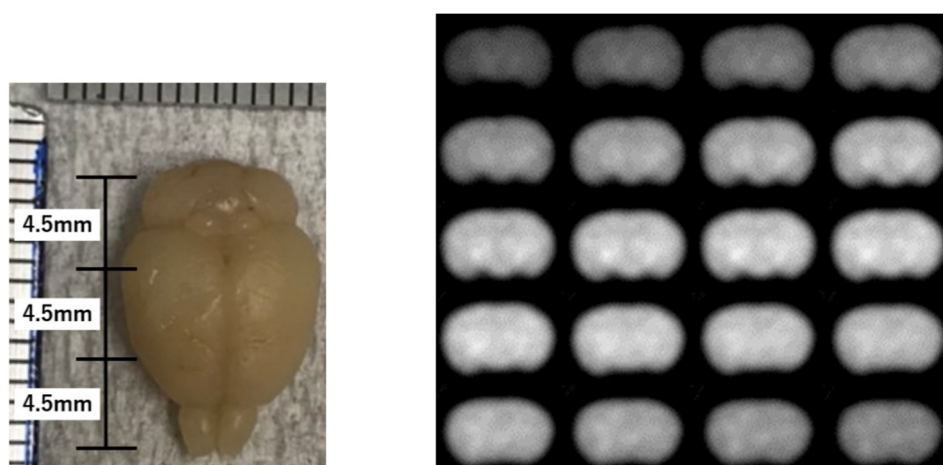


図7：ラット脳 ex vivo 撮像．被写体（左）とFXCT再構成画像（右）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Naoki Sunaguchi, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Kensaku Mori, Tetsuya Yuasa, Masami Ando	4. 巻 2054(1)
2. 論文標題 Three-dimensional reconstruction of human nipple using refraction-contrast x-ray computed Tomography	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PROCEEDINGS OF THE 13TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON SYNCHROTRON RADIATION INSTRUMENTATION	6. 最初と最後の頁 50010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5084628	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 Hirohisa Oda, Holger R Roth, Takaaki Sugino, Naoki Sunaguchi, Noriko Usami, Masahiro Oda, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Tetsuya Yuasa, Masami Ando, Toshiaki Akita, Yuji Narita, Kensaku Mori	4. 巻 10953
2. 論文標題 Scanning, registration, and fiber estimation of rabbit hearts using micro-focus and refraction-contrast x-ray CT	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging	6. 最初と最後の頁 1095311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/12.2512145	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 Tenta Sasaya, Tsuyoshi Oouchi, Tetsuya Yuasa, Seung-Jun Seo, Jae-Geun Jeon, Jong-Ki Kim, Naoki Sunaguchi, Kazuyuki Hyodo, Tsutomu Zeniya	4. 巻 N/A
2. 論文標題 Imaging Experiment of Multi-Pinhole Based X-Ray Fluorescence Computed Tomography Using Rat Head Phantoms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceeding of 2019 27th European Signal Processing Conference (EUSIPCO)	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.23919/EUSIPCO.2019.8903048	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 Hirohisa Oda, Holger R Roth, Takaaki Sugino, Naoki Sunaguchi, Noriko Usami, Masahiro Oda, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Tetsuya Yuasa, Masami Ando, Toshiaki Akita, Yuji Narita, Kensaku Mori	4. 巻 7
2. 論文標題 Cardiac fiber tracking on super high-resolution CT images: a comparative study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Medical Imaging	6. 最初と最後の頁 26001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/1.JMI.7.2.026001	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 Naoki Sunaguchi, Daisuke Shima, Tetsuya Yuasa, Shu Ichihara, Rieko Nishimura, Risa Oshima, Aya Watanabe, Kikuko Niwa, Masami Ando	4. 巻 180
2. 論文標題 Three-dimensional microanatomy of human nipple visualized by X-ray dark-field computed tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breast Cancer Research and Treatment	6. 最初と最後の頁 397-405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10549-020-05574-w	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 T. Sasaya, N. Sunaguchi, S.-J. Seo, T. Zeniya, K. Hyodo, J.-K. Kim, T. Yuasa	4. 巻 10884
2. 論文標題 Multi-Pinhole Based X-Ray Fluorescence Computed Tomography: A Comparison with Single Pinhole Case	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Lecture Notes in Computer Science	6. 最初と最後の頁 205-212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-319-94211-7_23	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

1. 著者名 T. Sasaya, N. Sunaguchi, S.-J. Seo, T. Zeniya, K. Hyodo, J.-K. Kim, T. Yuasa	4. 巻 886
2. 論文標題 Preliminary study on X-ray fluorescence computed tomography imaging of gold nanoparticles: Acceleration of data acquisition by multiple pinholes scheme	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment	6. 最初と最後の頁 71-76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nima.2017.12.055	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

1. 著者名 W.-S. Chang, N. Sunaguchi, S.-J. Seo, M. Ando, T. Yuasa, J.-K. Kim	4. 巻 124
2. 論文標題 Wave-propagation simulation and dark-field computed tomography imaging study to elucidate the contrast-loss problem in X-ray diffraction-based transcranial brain imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 234701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5063360	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

1. 著者名 N. Sunaguchi, D. Shima, S. Ichihara, K. Mori, T. Yuasa, M. Ando	4. 巻 2054
2. 論文標題 Three-dimensional reconstruction of human nipple using refraction-contrast x-ray computed Tomography	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 AIP Conference Proceedings	6. 最初と最後の頁 50010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5084628	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

1. 著者名 湯浅哲也	4. 巻 58
2. 論文標題 前臨床研究用分子イメージングのための蛍光X線CT	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 計測と制御	6. 最初と最後の頁 514-519
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11499/sicejl.58.514	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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 荒木啓史, 加藤晃輝, 大内剛, 笹谷典太, 砂口尚輝, 銭谷勉, 兵藤一行, 湯浅哲也
2. 発表標題 ピンホール蛍光 X 線 CT による小動物 in vivo イメージングのための基礎実験
3. 学会等名 センシングフォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 保科亮太, 金澤道和, 佐々木洸介, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 銭谷勉, 湯浅哲也
2. 発表標題 ラット脳ex vivoイメージングのためのピンホール型蛍光X線CTにおける入射強度補正
3. 学会等名 日本医用画像工学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 阿部智大, 保科亮太, 金澤道和, 佐々木洸介, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 湯浅哲也, 銭谷勉
2. 発表標題 3次元蛍光X線CTの開発: マウス脳灌流ex vivoイメージングの試み
3. 学会等名 日本核医学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 M. Ando, N. Sunaguchi, Y. Sung, D. Shima, J.-K. Kim, G. Li, Y. Suzuki, T. Yuasa, K. Mori, S. Ichihara, R. Gupta	4. 発行年 2018年
2. 出版社 World Scientific	5. 総ページ数 287
3. 書名 Synchrotron Radiation Applications	

〔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
---------	---------