

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21899

研究課題名(和文)放射光X線位相差CTによる動脈壁線維構造の拍動下4Dイメージング

研究課題名(英文)4D imaging of arterial-wall fiber structure under pulsatile conditions by using synchrotron radiation phase-contrast CT

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) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：動脈血管の全周構造を拍動下でイメージングするために、タルボ干渉計を用いたX線位相差ダイナミックCT(PCT)を確立した。実験はSPring-8放射光施設で行い、イヌ頸動脈の摘出血管に拍動圧(0.5Hz、70-90mmHg)を負荷しながら、位相ステップング法によって複数の拍動周期時相においてPCTイメージを得た。時間、空間分解能は、各々、250ms、4.47 μ mであり、ファントム計測に基づく密度分解能は2.5mg/cm³であった。撮像後に試料をElastica van Gieson染色し、比較検討した結果、PCTが動脈壁の線維構造検出およびその変形トラッキングに有効であることが確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管壁の局所的な力学的特性の異常は、血管初期病変の発生に関わるとともに、大動脈の解離や瘤の形成・破裂など、カタストロフィックな事象発生の起点にもなる。本研究で確立したX線位相差ダイナミックCTは密度分解能に優れ、拍動下において血管壁の局所的な変形を観察するための新奇な手法として、血管研究にイノベーションをもたらすものである。本法を血管壁の動的力学試験に応用し、数値シミュレーションとの統合を図れば、血管破綻に進展するマイクロダメージを予測するフレームワークの作成が可能となり、従来の「血管内圧-内外径」関係に基づく血管バイオメカニクスの知見を大きく向上させることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Grating-based X-ray phase-contrast CT (PCT) was applied for visualizing the entire circumferential structure of pulsating arteries. The experiment was done at SPring-8. A specimen of canine carotid artery was filled with saline and exposed to the pulsatile luminal pressure (0.5 Hz, 70-90 mmHg). The X-ray phase shift induced by the specimen was visible as a Moire pattern through a grating interferometer and detected by a fiber-coupled sCMOS camera. Phase retrieval was achieved by the phase-stepping procedure, which synchronized with the projection angle increment. Tomographic snapshots of the specimen were reconstructed with time and spatial resolution of 250 ms and 4.47 μ m, respectively. The density resolution was 2.5 mg/cm³. Elastica van Gieson staining showed that the image contrast reflected the distribution of arterial wall components. The present PCT has the potential to promote a better understanding of structural dynamics of arterial walls.

研究分野：生理・生体工学

キーワード：ダイナミック位相CT 血管拍動下・全周囲観察 高密度分解能 放射光

1. 研究開始当初の背景

動脈解離や瘤の形成・破裂など、致命的な血管疾患を招く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、これらの破壊的な血管疾患に至る血管壁のメカニクスは明らかにされていない。血管壁の力学的機能は貫壁性に異なり、全周的にも必ずしも均一ではない。さらに、血管疾患の発症は局所的な力学的異常が起点となる可能性もあることから、内圧に応じた血管壁の変形を全周囲に渡って微視的に観察することは極めて重要である。特に血管組織は粘弾性的変形を示すため、動的圧負荷における変形計測が望まれる。血管壁の局所的かつ動的な変形についての実測データは、血管疾患の数値モデルの構築や確かさ、およびシミュレーションの妥当性の検証にも大いに役立つ。

血管壁の局所的な変形解析には、変位マーカーとなる内部構造の描出が必要である。X線CTは非破壊的な組織内部構造の3Dイメージングが可能であり、複数の時相で3Dスナップショットを取得することもできる。試料によるX線の位相変化に基づくCT(位相CT)を用いれば、血管組織のようにX線透過率が高い生体軟組織でも、内部構造要素の密度差に基づいた3Dイメージが取得できる。

2. 研究の目的

本研究では、血管組織構造のダイナミクスを全周的かつ微視的に可視化するための“X線位相差ダイナミックCT”を確立し、拍動圧を受ける摘出血管を対象にその有用性を検討する。

3. 研究の方法

(1) 実験システム

実験には、SPring-8放射光施設の実験ハッチ20B2に構築されたタルボ干渉計・位相差X線CTシステムを利用した。実験システムの概要を図1に示す。システムは血管試験部、タルボ干渉光学系、X線検出器より構成される。血管試料の一端はプラグで閉じ、他端はチューブ系に接続されるコネクタにマウントする。コネクタとプラグの間にポリプロピレン製の円筒外套を挟むことにより、血管に長軸方向の張力がかかる状態(自然長の約1.4倍)で固定し、血管試料は生理食塩水(25℃)を満たした計測セル中に保持した。なお、後述する位相算出に起因して発生する水平方向の縞状ノイズが血管長軸に直交する血管線維方向と重ならないよう血管長軸は回転軸に対して10度傾け、縞状ノイズ軽減のフィルタ処理による血管壁構造抽出への影響を軽減した。

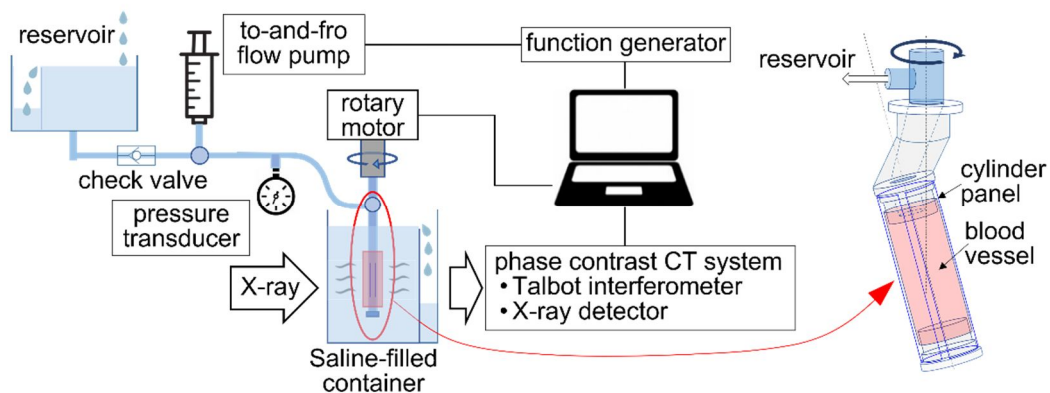


Fig. 1 Pulsatile pressure-loading apparatus

血管への拍動圧負荷は、シリンジポンプによるチューブ系への生理食塩水の流入・流出によって行い、シリンジポンプからトリガー信号を制御PCに送信することによって、タルボ干渉光学系の吸収格子走査、血管拍動、投影角変化、イメージ取込みを同期させた。生理食塩水の血管外滲出分の補充と拍動ピー

ク圧の維持は、オーバーフロー・リザーバとチェックバルブ機構により行った。

タルボ干渉計は X 線のエネルギー (20 keV) に最適化された格子ピッチ (2.4 μ m) の位相格子 (G1, ニッケル) と吸収格子 (G2, 金) から構成され、両者の距離 (タルボ距離) は 232 mm である (図 2)。G2 はピエゾ駆動ステージに搭載し、X 線光軸に対して直交 (水平) 方向にステップ走査しながら、試料を通過した X 線が G1, G2 と干渉して生成するモアレイメージを取得した。イメージ取得には、P43 蛍光板 (10 μ m 厚)、ビームモニター (BM2, 浜松ホトニクス)、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 (視野: 2048 [H] \times 704 [V] 画素) を使用し、画素サイズは 4.47 μ m となるようにレンズシステムを構成した。

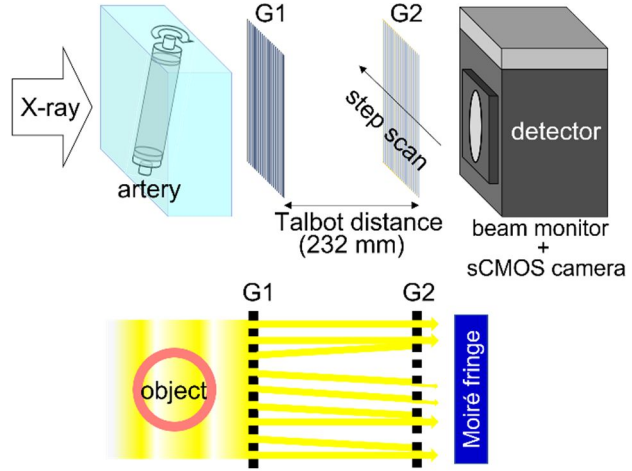


Fig. 2 Setup for the X-ray phase-contrast imaging

(2) 位相シフトイメージの生成

本実験ではステップ走査を 50 msec / ステップとし (露光時間は 40 msec)、5 枚のモアレイメージから位相シフトイメージを生成した。2 次以上のフーリエ成分を無視すれば、透過 X 線の位相分布 $\Phi_{z_T}(x, y)$ はモアレイメージ $I^{(k)}(x, y)$ ($k = 1 \sim 5$) から次式により与えられる。

$$\Phi_{z_T}(x, y) = \arg \left[\sum_{k=1}^5 I^{(k)}(x, y) \exp \left(-2\pi i \frac{k}{5} \right) \right]$$

ここで、X 線光軸を z 軸とし、これに直交する方向を x (水平)、 y (垂直) 軸とした。撮像視野から血管試料を外した場合についても同様にモアレイメージを取得すれば、血管試料の有無による $\Phi_{z_T}(x, y)$ の差 $\Delta\Phi_{z_T}(x, y)$ が求まる。さらに、以下の式を積分することにより、血管組織による位相シフト分布 $\Phi(x, y)$ が得られる。ここで、 z_T , d , λ はタルボ距離、格子ピッチ、X 線波長である。

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

なお、G1, G2 にはライン&スペース 1:1 の格子を利用しているため、5 枚のモアレイメージから生成される位相シフトイメージに含まれないフーリエ成分は 9 次以上となる。

物質の複素屈折率を $n = 1 - \delta + i\beta$ とすれば、 $\Phi(x, y)$ と血管壁内の $\delta(x, y, z)$ 分布には以下の関係がある。

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

投影角を変えながら $\Phi(x, y)$ 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。 δ は物質の電子密度に比例し、軽元素からなる血管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す。密度較正は、既知の濃度の NaCl 溶液: 1.007 (生理食塩水)、1.051, 1.110, 1.143 g/cm³ および純水 (0.997 g/cm³) の位相シフトイメージに基づいて行った。

4. 研究成果

ビーグル犬から摘出した頸動脈血管に繰り返し内圧負荷を与えた時の時系列 3D イメージを図 3 に示す。本実験では、シリンジポンプ操作を 1 秒吐出, 1 秒吸引, 1 秒停止の 3 秒周期とし, 吐出・吸引行程の 2 秒間を 36 時相に分割した ($M=40$)。また, 投影数は 900 (0.2° 刻み, 180° 回転)とした。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コントラストが明確に認められ, 中膜では層状のパターンが確認できる。なお, NaCl 溶液から求めた本手法の密度分解能は, 2.5 mg/cm^3 であった。膠原線維および弾性線維の密度が各々 $1.41, 1.31 \text{ g/cm}^3$ であることから, 密度分解能は血管壁線維構造イメージングに十分であると考えられる。

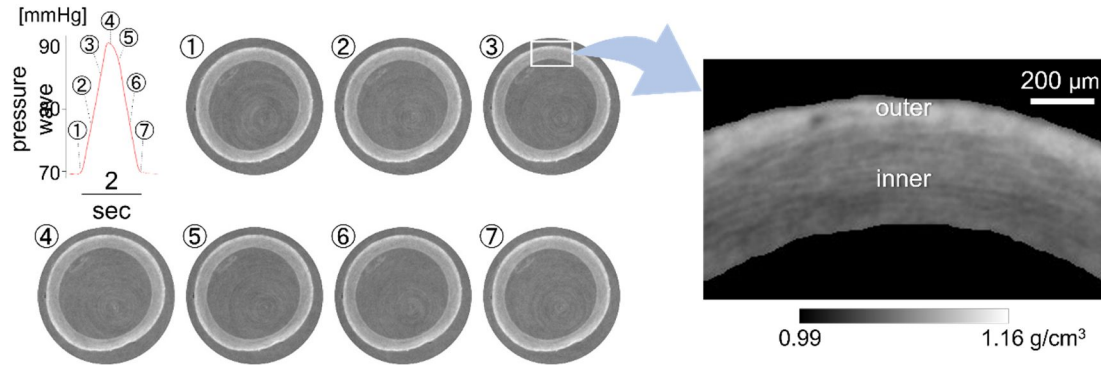


Fig. 3 Cross-section of the porcine carotid artery at seven time points during pulsation

図 4 に内圧 70 mmHg 時および 90 mmHg 時 (図 3 ,) の血管横断面, 縦断面を示す。血管壁領域は Otsu 法による閾値処理により決定した。この圧力増加に伴って, 平均内径は 2.81 mm から 2.88 mm, 平均外径は 3.63 mm から 3.69 mm に増加した。血管長 3.8 mm で両者の血管壁体積を比較すると, 圧力増加による変化率は -0.61% であったが, δ より求めた血管壁平均密度にほとんど変化は認められなかった。さらに, 内圧変化によらず密度分布もほぼ一致していることから (図 5), この内圧変動下においては, 大域的かつ微視的にも血管壁の力学挙動は非圧縮的であると推測できる。

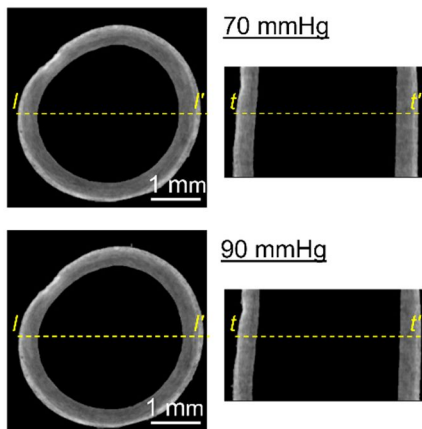


Fig. 4 Transverse and longitudinal csections

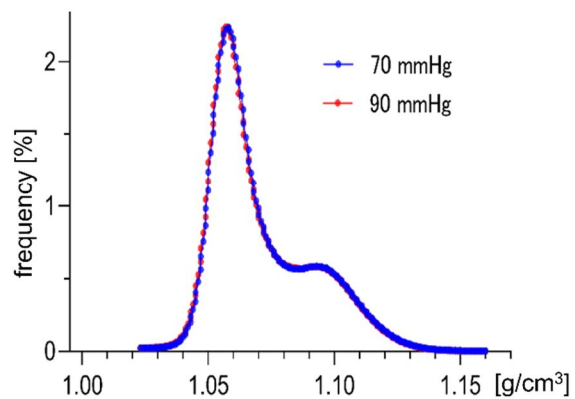


Fig. 5 Density distribution of arterial wall

血管試料の動きによる不鮮明化を軽減するには, ステップ走査当たりの露光時間を短くする必要があるが, トレードオフで S/N は低下する。内圧変動下 80 mmHg 時の血管スナップショットと静的内圧 80 mmHg 下の同血管イメージを図 6 に示す。位相シフトイメージ 1 枚 (モアレイメージ 5 枚の取得) に要する X 線露光時間は前者では 200 msec, 後者では 1,000 msec である。スナップショットでは S/N 低下および試料移動に起因する不鮮明化が認められるが, 静的 CT イメージと同様の層状パターンは捉えられている。組織学的には, 外膜は主に膠原線維, 中膜は弾性線維と平滑筋で構成され, 内腔側には膠原線維も認めるが (図 7, エラスチカ・ワンギーソン染色), これより CT イメージの血管中膜に見られる層状

パターンは、弾性線維と血管平滑筋の密度差に起因するものと推測される。血管線維が密集し、線維間隔が狭い中膜内腔側の構造を本手法で検出することは困難であった。

Fig. 6 Effect of exposure time on tomographic image quality

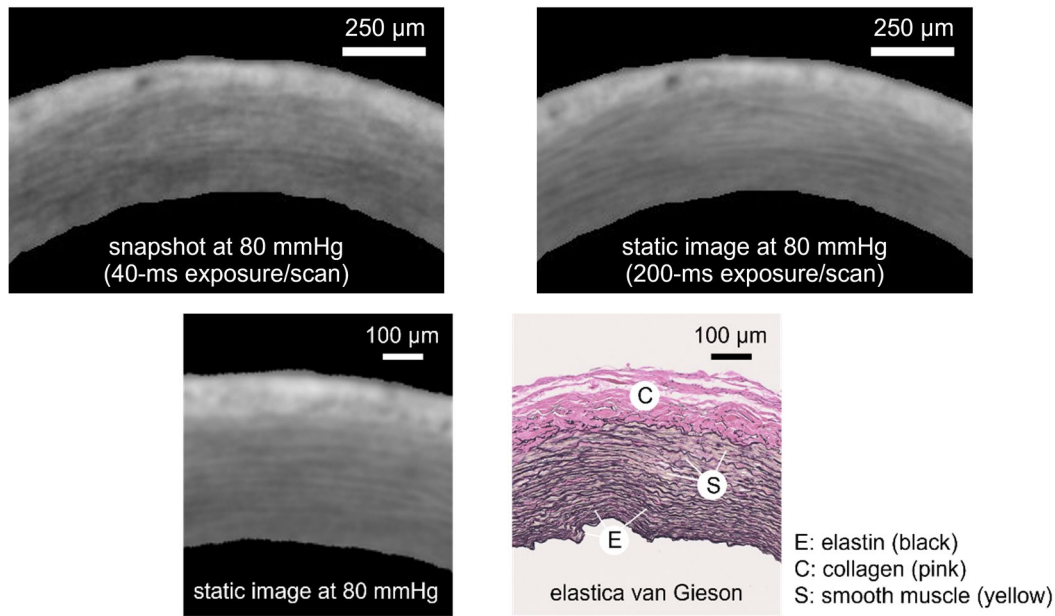


Fig. 7 Comparison between CT imaging and histological staining

タルボ干渉計を利用した本手法は高い密度分解能を有しており、拍動圧を受けて変形する血管壁内部構造の全周囲に渡る 3D スナップショットを取得することができた。今後、時間・空間解像度の向上が課題となるが、本手法で描出される内部構造パターンに基づく変形解析は、血管組織の局所的な変形異常を起点とする動脈疾患の解明や、数理モデル解析による致命的血管イベントの予測医学に貢献することが期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

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 関節軟骨局所変形解析のためのX線位相差ダイナミックCTの開発
3. 学会等名 第59回生体医工学会
4. 発表年 2020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CTに基づいたデジタルボリューム相関による関節軟骨の局所変形解析
3. 学会等名 日本機械学会・中国四国支部 第59期総会・講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takeshi Matsumoto, Hiroyuki Tachibana, Masato Hoshino
2. 発表標題 Time-series snapshots of the entire circumferential wall of arteries under pulsatile pressure condition captured by grating-based phase-contrast CT
3. 学会等名 ESCHM-ISCH-ISB 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takeshi Matsumoto, Hiroyuki Tachibana, Masato Hoshino
2. 発表標題 Phase contrast X-ray CT for imaging of the entire circumferential structure of arteries under pulsatile pressure condition
3. 学会等名 Physiology 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021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	星野 真人 (HOSHINO Masato) (30508461)	公益財団法人高輝度光科学研究センター・分光推進室・主幹 研究員 (84502)	

	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 協力者	立花 博之 (TACHIBANA Hiroyuki)	川崎医療福祉大学・医療技術学部・准教授 (35309)	

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
---------	---------