

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：82110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21760714

研究課題名（和文）イオンマイクロビームによる微小アスベスト肺組織三次元診断技術の開発

研究課題名（英文）Development of three-dimensional diagnostic technique for minute asbestos in lung tissue using ion microbeam

研究代表者

佐藤 隆博 (SATOH TAKAHIRO)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・放射線高度利用施設部・研究副主幹

研究者番号：10370404

研究成果の概要（和文）：微小な生体試料中の微量元素の三次元分布を測定するために、マイクロ PIXE、円形ストリップ検出器を用いた On-off axis STIM 及び CT 技術を組み合わせた分析システムと、試料中での X 線の発生断面積の変化と吸収を考慮した画像再構成法を開発した。

研究成果の概要（英文）：The new analysis system has been developed to measure three-dimensional distributions of the trace elements in a minute biological sample. It consists of the technologies of micro-PIXE, on-off axis STIM with a circular strip detector, CT and an image reconstruction method taking account of cross section changes and absorption of X-rays in a sample.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：イオンビーム工学

科研費の分科・細目：総合工学・原子力学

キーワード：加速器、イオンビーム、元素分析

## 1. 研究開始当初の背景

マイクロ PIXE (particle induced X-ray emission) と STIM (scanning transmission ion microscopy) 及び CT (computed tomography) 技術を用いた PIXE/STIM-CT と呼ばれる三次元元素分布測定では、画像再構成で三次元像を構築するために 1 つの試料を複数回測定する必要があることに加えて、イオンマイクロビームによる試料の損傷を抑えるために、1 つの試料の測定に 10 時間以上かかっており、これが医療分野への応用の妨げとなっていた。この問題を解決するためには、測定に用いられるビームの強度が全く異なる

ために困難であったマイクロ PIXE と STIM の同時測定を実現する必要がある。このような同時測定の試みは、マイクロ PIXE 測定中の試料の損傷をモニターする目的で、Inomata らが、従来の STIM の検出器位置に金属薄膜を置き、5mm×5mm の検出器とコリメータを用いて検出器に入射する散乱ビームの角度を制限し、金属薄膜で散乱されたビームの角度とエネルギーから、散乱前のビームのエネルギーを検出する On-Off Axis STIM を行ったが(文献 1)、検出面積が小さいため検出効率が悪かった。

## 2. 研究の目的

本研究では、イオンマイクロビームを用いた三次元微量元素分析技術である PIXE-CT の、微小(100  $\mu\text{m}$  以下)な試料中の三次元微量元素分布測定法の空間分解能の向上と、測定時間の短縮を目的として、図1のような大面積の円形ストリップ検出器を用いた On-off axis STIM とマイクロ PIXE 同時測定可能な PIXE-CT 測定システムを開発するとともに、二次元の PIXE/STIM 測定データからイオンマイクロビームのエネルギー減弱、発生した特性 X 線の試料内での吸収を考慮した画像再構成計算コードを開発し、アスベスト肺などの生体試料中の微小領域の微量元素を高精度で測定手法を確立し、診断等に应用することを目的とした。

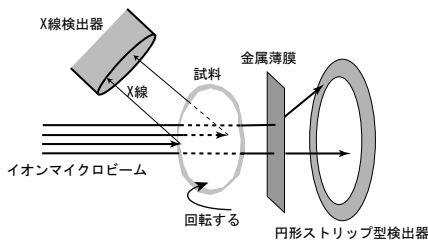


図1 開発した PIXE-CT 測定システムの概要

## 3. 研究の方法

平成 21 年度~23 年度の 3 年間で、マイクロ PIXE と On-off axis STIM と CT 技術を用いた微小な生体試料中の短時間かつ高空間分解能の PIXE/STIM-CT を実現するために、円形ストリップ検出器をマイクロ PIXE/STIM-CT 分析装置に組み込んで新しい分析システムを構築し、単細胞生物を試料として用いて、実際に分析を行うとともに、そのデータから三次元像を得る画像再構成コードの開発とその妥当性評価シミュレーションを行った。

### (1) PIXE/STIM-CT 測定システム開発

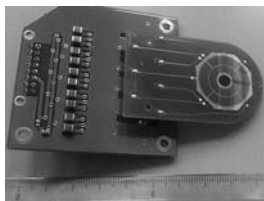


図2 円形ストリップ STIM 検出器の外観

円形ストリップ STIM 検出器(図2)を、独立行政法人日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所の軽イオンマイクロビーム形成装置に組み込み、3 MeV のプロトンビームを

$\phi 1 \mu\text{m}$  に集束させ、XY に  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  ( $128 \times 128$  ピクセル)の範囲を走査しながら試料に照射し、分析を行った。

試料には、風乾させたミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) を用いた。図3に試料の顕微鏡写真を示す。培養したミドリゾウリムシを固定液で固定し、純水で十分に洗浄し pH 7、0.05 mM の鉛水溶液に 24 時間導入した。その後、純水で十分に洗浄し風乾させたミドリゾウリムシの細胞 1 個を、外径 500  $\mu\text{m}$ 、内径 450  $\mu\text{m}$  のカプトンチューブの先端に酢酸ビニルで固定した。このカプトンチューブを自動回転ステージに固定し、 $18^\circ$  刻みで回転させ 20 個の二次元のマイクロ PIXE/STIM 画像(投影像)を得た。

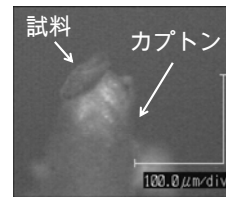


図3 三次元微量元素測定に用いた試料 (ミドリゾウリムシ)

従来 PIXE/STIM-CT では、主要元素の三次元的な密度分布の測定を STIM によって行い、画像再構成には FBP (filtered back projection) アルゴリズム(文献2)を用いて数 10  $\mu\text{m}$  の空間分解能を得ていたが、100  $\mu\text{m}$  以下の単一細胞を測定するためにはより高い空間分解能が必要である。今回、空間分解能を改善するために、画像再構成に ML-EM (maximum likelihood expectation maximization) アルゴリズム(文献3)を導入し定量性と空間分解能の向上を図った。ML-EM では、画像再構成に次の式を用いる。

$$\lambda_j^{(k+1)} = \frac{\lambda_j^{(k)} \sum_{i=1}^n y_i C_{ij}}{\sum_{i=1}^n C_{ij} \sum_{j=1}^m C_{ij} \lambda_j^{(k)}}$$

ここで、 $\lambda_j^{(k)}$ 、 $j$ 、 $i$ 、 $y$ 、 $C_{ij}$  はそれぞれ、 $k$  番目の画像、画素番号、シノグラム Bin 番号、測定されたシノグラム、検出確率である。本研究では、正しい再構成画像を得るために、STIM-CT の測定から主要元素の三次元密度分布を推定し、その結果からエネルギーの減弱や X 線の試料内での吸収を考慮して  $C_{ij}$  を計算し画像再構成に用いた。

### (2) 画像再構成法の妥当性評価のための計算シミュレーション

マイクロ PIXE の二次元画像からコンピュータによる画像再構成で三次元画像を構築するためには、イオンマイクロビームのエネ

ルギー減弱による特性X線発生断面積変化や、発生したX線の試料内での吸収を補正する必要がある。(1)で開発したコードはそれらを考慮し前補正を行った後、ML-EMで再構成を行う。この処理の妥当性評価のために、実際の試料を模した数値モデル(図4)と数値計算シミュレーションを行うコードを開発し、リン(P)と鉛(Pb)について検討した。

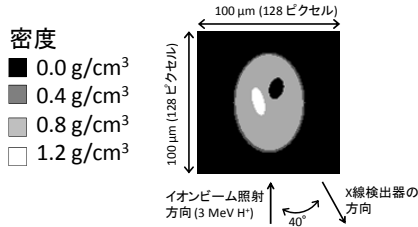


図4 数値計算シミュレーションに用いた数値モデル

(文献2) L. A. Shepp et al., IEEE Trans. Nucl. Sci. 21 (1974) 21.

(文献3) K. Lange et al., J. Compt. Assist. Tomogr. 8 (1983) 306.

#### 4. 研究成果

##### (1) PIXE/STIM-CT 測定システム開発

図3の試料を開発したシステムで測定したSTIM-CTの結果を図5に示す。

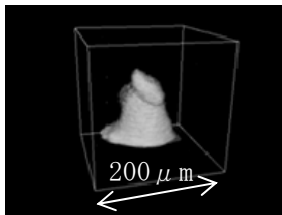


図5 STIM-CTで得た試料の三次元構造

STIM-CTでは試料の主要元素の三次元密度分布を得ることができる。この結果を元にX線の検出確率を算出しPIXE-CTの画像再構成をリン(P)と鉛(Pb)について行った。PとPbのPIXE-CTの結果を図6に示す。また、図6の矢印で示した位置の断面の分布を図7に示す。カラーバーは濃度を表し、最大値で規格化している。

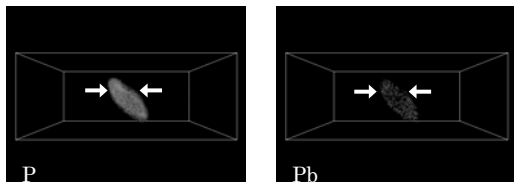


図6 PIXE-CTで得た試料中のPとPbの三次元分布  
矢印は図7で示した断面の位置

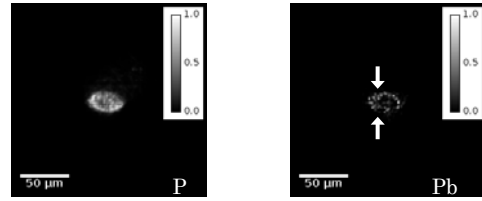


図7 図6中の矢印部分の断面のPとPbの二次元分布  
矢印は図8で示した断面プロファイルの位置

このように、細胞骨格を構成する元素であるPが細胞全体に分布しているのに対し、Pbは明らかに細胞表面にのみ吸着している様子を可視化することに成功した。図7の矢印で示した部分にの断面プロファイルを図8に示す。空間分解能を得るために、図8の断面プロファイルにガウス関数をフィットさせたところ、FWHMは $3.1 \mu\text{m}$ であった。この結果から、開発したシステムは、通常の生体細胞のサイズである数 $10 \mu\text{m} \sim 100 \mu\text{m}$ 程度の試料中の、微量元素の三次元分布を測定する十分な性能を有することが確かめられた。

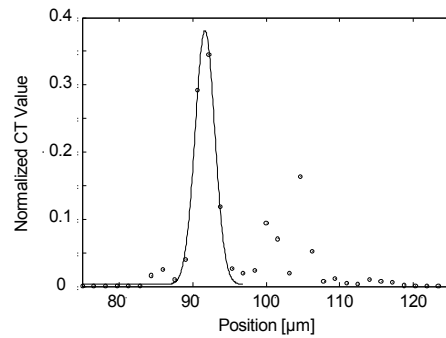


図8 図7の矢印部分の断面プロファイル  
ガウス関数をフィットさせた時のFWHMは $3.1 \mu\text{m}$

##### (2) 画像再構成法の妥当性評価のための計算シミュレーション

図4の数値モデルについて、X線の検出確率 $C_{ij}$ を、検出器の方向などの幾何条件のみ考慮した場合と、イオンビームの試料中でのエネルギー減弱によるX線発生断面積の変化と、発生したX線の試料中での吸収について考慮しない場合について、ML-EMによる画像再構成結果の比較を行った。図9に幾何条件のみの場合、図10にX線発生断面積変化や、吸収を考慮した場合を示す。

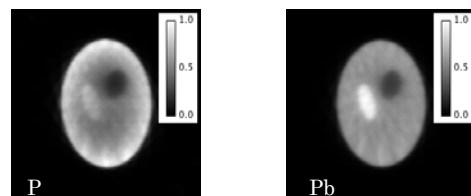


図9 幾何条件のみ考慮した場合のML-EMによる画像再構成結果( $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ )

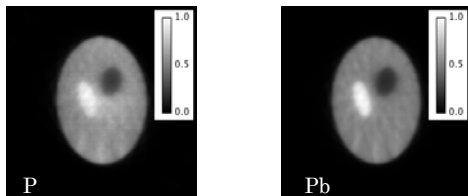


図10 イオンビームのエネルギー減弱によるX線発生断面積の変化と、発生したX線の試料中での吸収を考慮した場合のML-EMによる画像再構成結果  
(100  $\mu$ m  $\times$  100  $\mu$ m)

幾何条件についてのみ考慮した場合、本来試料中で一様であるはずの濃度分布が、試料の輪郭に沿って強調される。この影響はPbよりPの方が顕著である。一方、イオンビームのエネルギー減弱によるX線発生断面積の変化と、発生したX線の試料中での吸収について考慮した場合、PとPbのどちらに関する画像再構成であっても、表面が強調されることがなく元のモデルに近い結果を得ることができた。このことから、本研究で用いた画像再構成法が妥当であることが確認された。

以上、(1)及び(2)の成果から、3年間の研究目標であった、イオンマイクロビームを用いた微量元素の二次元分布測定方法であるマイクロPIXE分析とSTIM及びCT技術を組み合わせた三次元微量元素分布測定による100  $\mu$ m以下の微小な生体試料中の三次元微量元素分布測定技術を、ほぼ確立することができた。

#### 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1件)

- ① T. Satoh, M. Koka, W. Kada, A. Yokoyama, T. Ohkubo, A. Yamazaki, Y. Ishii, T. Kamiya and N. Kozai, Effectiveness of a Combination of ML-EM and STIM-CT in PIXE-CT for Biological Specimen, International Journal of PIXE、査読有、accepted

[学会発表] (計3件)

- ① T. Satoh, M. Koka, N. Kozai, Y. Shimizu, K. Dobashi, W. Kada, A. Yokoyama, T. Ohkubo, A. Yamazaki, Y. Ishii and T. Kamiya, Effectiveness of a combination of EL-EM and STIM-CT in PIXE-CT for biological specimen, 7<sup>th</sup> International Symposium on Bio-PIXE (2011)
- ② 佐藤 隆博、江夏 昌志、横山 彰人、加田 渉、大久保 猛、山崎 明義、石井 保行、神谷 富裕、ミドリゾウリムシ内の

微量元素の三次元分布測定、第27回PIXEシンポジウム、2010年

- ③ 佐藤 隆博、横山 彰人、江夏 昌志、大久保 猛、石井 保行、神谷 富裕、荒川 和夫、マイクロPIXEとSTIMを用いた微小試料の三次元分析、第26回PIXEシンポジウム、2009年

[図書] (計0件)

なし

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

なし

○取得状況 (計0件)

なし

[その他]

ホームページ等

[http://www.taka.jaea.go.jp/tiara/663/micropixe/index\\_j.html](http://www.taka.jaea.go.jp/tiara/663/micropixe/index_j.html)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

佐藤 隆博 (SATOH TAKAHIRO)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・放射線高度利用施設部・研究副主幹

研究者番号：10370404

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし