

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 4 日現在

機関番号：35303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650277

研究課題名（和文）エックス線位相差断層像を用いた生体機能評価法の確立

研究課題名（英文）Development of visualization of soft tissue morphology and protein concentration by X-ray phase-contrast computed tomography.

研究代表者

毛利 聡 (MOHRI SATOSHI)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：00294413

研究成果の概要（和文）：医療応用されている CT は、生体組織の X 線吸収率の違いを利用して、本研究では X 線が物体に衝突した際に生じる位相差という性質を用いて X 線吸収 CT では描出できない軟部組織の微細構造可視化に成功した。更に、X 線位相差 CT では組織密度を定量することが可能なため、眼球内に入射する光を調節する水晶体の密度勾配と形状評価を行うことが出来た。この新しい計測法の確立により、様々な生体機能評価が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Clinical X-ray computed tomography (CT) is based on the absorption of X-rays as they pass through the different parts of a patient's body. In this study, we developed phase-contrast X-ray CT that enables to visualize the fine texture of soft tissues that include similar X-ray absorbance materials. Moreover, we could firstly evaluate the concentration gradient of lens protein that enables to correct for spherical aberration. This method may provide new information about vital function.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・生体医工学・生体材料学

キーワード：位相差 CT、X 線、タンパク濃度

1. 研究開始当初の背景

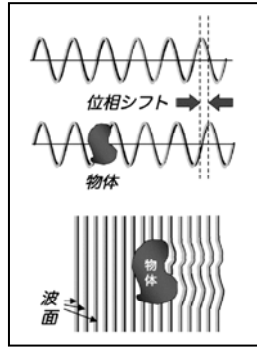
X 線は臨床分野でも単純 X 線写真やコンピュータ断層撮影 (CT) といった形で広範に応用されている。これは物質に X 線が照射されたときに吸収される量の差を利用して画像構成を行うものであり、骨のように X 線吸収率が高い組織と筋肉や血液など吸収率の低い組織の違いを利用して画像化するものである。従って、筋肉や血液など、主に炭素、水素、窒素、酸素の軽元素からなる X 線低吸収な生体軟部組織のコントラストを得ることは出来ず、内部構造を描出することは不可能である。

一方、X 線が物質を透過する際には吸収以外にも幾つかの現象が生じる。その一つが位

相のシフト (図 1) であり、これは衝突した物質の密度に相関して波としての X 線位相が変化するものである。X 線位相差 CT は、この X 線の位相変化を検出して画像化するものであり、軽微な密度差を検出出来るため、軟部組織をも詳細に画像化することが可能である。更に、得られた画像は位置情報とともに、密度の情報を併せ持つ。タンパク濃度など生体内の密度情報に関しては、過去には組織を切り出して行う生化学的手法によるタンパク濃度測定法などがあったが、組織内の精密な空間的濃度勾配評価は不可能であった。X 線位相差 CT による可視化技術をプロトタイプとして確立出来れば、新たな生体機能評価法として、様々な領域で貢献できる

可能性があり、大型放射光施設 SPring-8 の高輝度 X 線を利用して研究を行った。

図 1: X 線の位相シフト



2. 研究の目的

X 線位相差 CT を用いて、生体軟部組織の微細構造および密度情報を含んだ画像を取得出来るシステムを構築することを目的とした。そのために、組織密度が機能に直結している水晶体を計測対象として選んだ。光は通過する媒体の密度によって屈折率が変わるため、生体は水晶体の形状と共に内部密度を制御する必要がある。

水晶体はクリスタリンと呼ばれるタンパクで構成され、その生理機能は眼内に入射する光の網膜への結像である。高濃度のクリスタリンによる水晶体の高屈折率は、網膜までの焦点距離を短くして眼球のサイズを小さくするのに役立っている。小動物では更に焦点距離を短くするために水晶体を厚くして球体に近い形状となっている。しかしながら、曲率半径の小さな球状レンズでは、図 2 に示すように「球面収差」と呼ばれる内外側の層での入射角の違いによる焦点面の「ずれ」を生じさせてしまう。眼球のサイズに制約が無ければ扁平なレンズにすれば問題無いが、実際には生体内での眼球の占める割合には制限がある。この球面収差の問題を解決するた

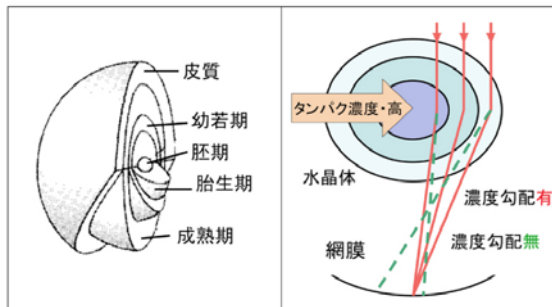


図 2: 水晶体内タンパク濃度勾配と光の屈折

めに、水晶体は内部に濃度勾配を作り出すことに成功した。水晶体はその発達において、図 3 に示すように前面に並ぶ水晶体上皮細胞が赤道面で延長し、クリスタリンを産生する水晶体繊維細胞として外側に新しく細胞を付け加える形で成長していく (図 2 右図中の矢印)。また、細胞内小器官である核やゴル

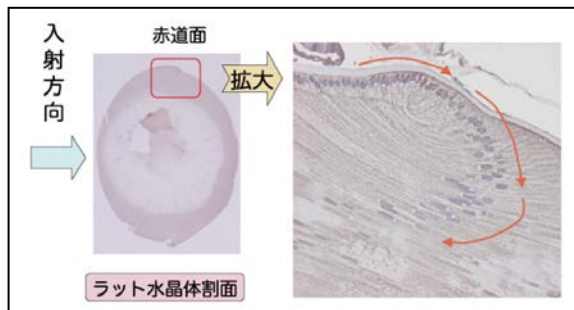


図 3: 水晶体上皮細胞の成長・移動と脱核

ジ体も順次消失して最終的には高濃度クリスタリンを含む袋となり、新たなタンパク合成も行われなくなる。この外側から幼弱な細胞が加わる成長形態は中心部に向かうほどクリスタリン濃度が高くなるという性質をもたらす。この性質は個体のサイズを大きくしながら進化してきたヒトにも保存されていることが、水晶体の中心部と周辺部のタンパク濃度を生化学的な手法により比較することで証明されている。しかしながら、水晶体内の空間的情報とタンパク濃度の情報を同時に得る方法はなく、白内障や老眼など一般的な疾患においても、タンパク濃度勾配の変化が病態生理にどのように関与しているか明らかになっていない。従って、密度情報と位置情報を併せ持つ新たな機能計測法を開発することで、病態生理の解明に繋げることが最終目的である。

3. 研究の方法

SPring-8 の Beam Line 20B2 に、Talbot 型干渉計を用いた位相差 CT 装置を組み立てた。(図 4) X 線エネルギーは試料の大きさに合わせて 15keV 程度とした。X 線プロジェクションイメージは phosphor スクリーンと中継レンズを組み合わせた冷却 CCD 検出器を用いて記録する。検体の微分位相マップを得る為に、5 段階辺縁走査法を用いた。

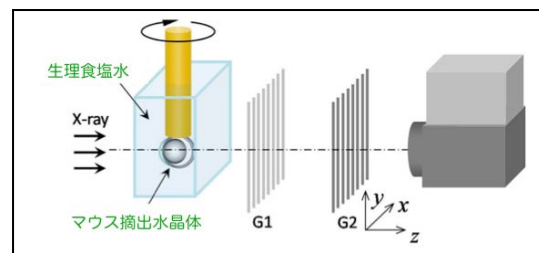


図 4: Talbot 干渉計を用いた X 線位相差

密度定量のために純水、生理食塩水と更に 3 点の濃度の食塩水そしてポリプロピレンにて密度のキャリブレーションを行った。撮影はパラホルムアルデヒドにて固定したマウス摘出眼球 (生後 1 週齢、2 週齢、4 週齢、8 週齢,)、および固定無し生後 8 週齢のマウス摘出眼球を用いた。また、魚類、両生類、は虫類の眼球やラットおよびカエルの心臓も画像化した。

4. 研究成果

キャリブレーションの結果を図 5 に示す。濃度既知の食塩水 4 種類と蒸留水、そしてポリプロピレンを用いたが、生体の軟部組織の密度が分布すると考えられる範囲で、理論値と計測値の間に非常に高い相関が得られ、計測系の信頼性を確認することが出来た。

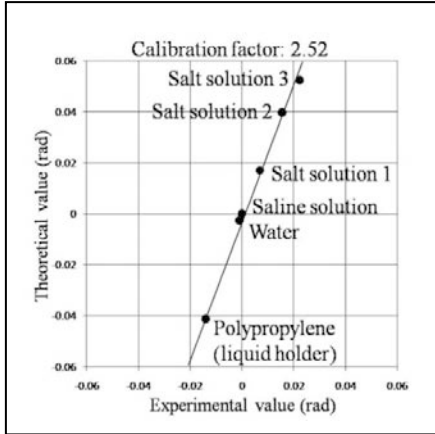


図 5：密度キャリブレーション

X 線位相差 CT を用いて、生後週齢による水晶体内部のタンパク濃度勾配の変化を位置情報も含めて評価することが出来た。また、X 線位相差 CT にて得られる画像は空間分解能 10 mm と微細であり、世界でも最高レベルを表現出来た。

生後 1 週では中心の高濃度部位と周辺部の低濃度部位、そしてその中間の濃度勾配のある部分が観察された。成長に伴って水晶体密度は増加し、勾配のグラフはドーム状に変化した。(図 6、7) 撮影時間は 1 検体当たり約 30 分となり、固定無し of 標本でも水晶体内密度および角膜や虹彩の微細構造を描出することが出来た。(図 8)

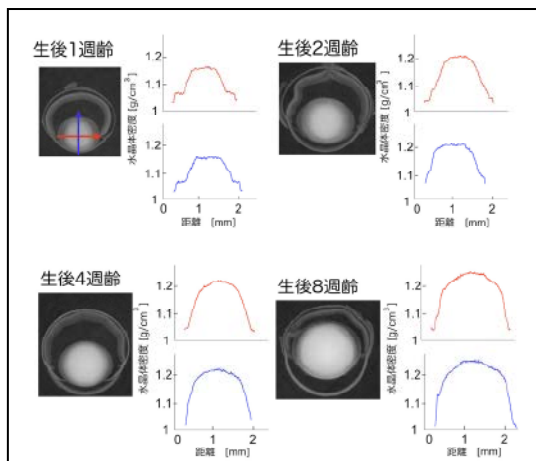
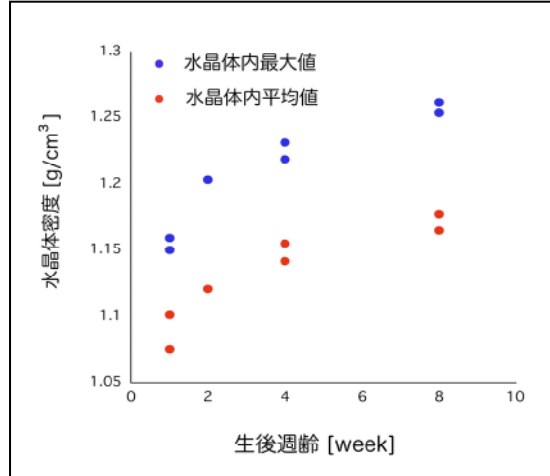


図 6：生後週齢と水晶体内タンパク濃度勾配。生後 1 週では中心部と周辺部に一定濃度の領域が観察される。成

長に伴って周辺部から中心に向かってドーム状に単調増加するようになる。青：光軸と平行な変化、赤：光軸



と垂直方向の変化

図 7：成長に伴う水晶体内タンパク濃度変化。青：水晶体内最大値、赤：水晶体内平均値。幼弱な程タンパク濃度の上昇が早い。

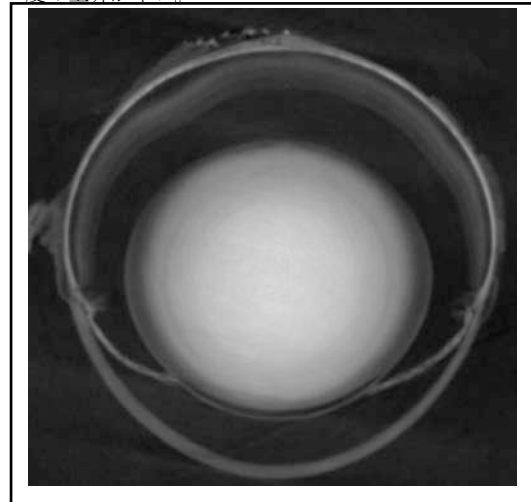


図 8：摘出後固定無しで撮影した 8 週齢マウス眼球。水晶体内密度分布のみでなく、角膜や虹彩の微細構造も観察することが出来る。

図 8 のマウス水晶体内密度分布と形態の情報に基づいて屈折率を求め、水晶体内密度を 11 段階に単純化してシミュレーションによるレイ・トレース (光線追跡) を行った。(図 9) レイ・トレースにするにより可視光の光路を検討し、X 線位相差 CT と組み合わせることで、網膜への焦点距離が問題となる近視、遠視などの疾患における病態生理解明が期待できる。

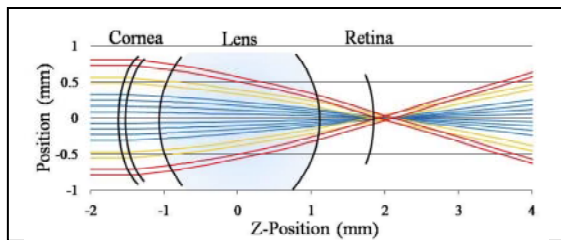
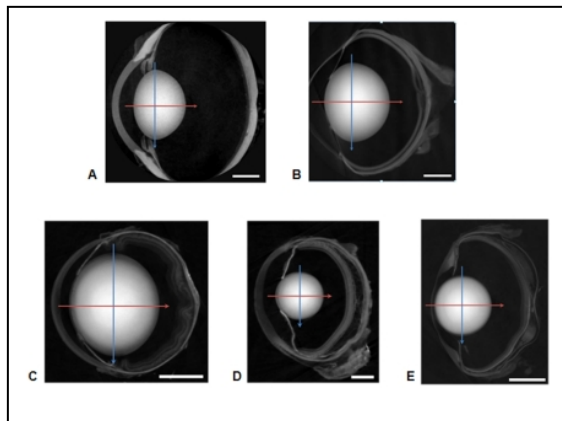


図 9: レイ・トレースによる眼内入射光の網膜への結像

また、開発した X 線位相差 CT を用いて、ブタ、イモリ、カエル、金魚の眼球を撮影した。眼球が大きくなると入射する光量も増え、網膜までの距離も余裕があるため、水晶体はいわゆるレンズ型をしている。小動物では球体に近い水晶体の形をしており、タンパク濃度勾配は、より重要な役割を果たしていると考



えられる。(図 10、発表論文参照)

図 10: 様々な動物の眼球と水晶体 a. ブタ、b. カエル c. マウス d. イモリ e. 金魚

眼球以外においても生体内でタンパク合成を調節している軟部組織は多い。例えば心臓では、過大なメカニカルストレスが掛かると心筋細胞は肥大して増大した仕事量に対応すると共に、心室の形態を変化させて心臓機械特性を制御して応答する。今後、本研究での X 線位相差 CT による形態と内部タンパク (アクチン・ミオシン) 評価法をモデルマウス心臓に応用して、心肥大のメカニズム解明に新たな視点から取り組むために、心臓の画像取得を行った。

同程度の大きさのラットとカエルから心臓を摘出し、パラホルムアルデヒドで固定して撮影を行った。ラットとカエルの心臓には血液供給システムに大きな違いがあり、ラットは冠循環を持ち多量の血液を供給できるため心筋細胞は密に存在し、心室壁は緻密である。一方、カエル心臓は血管構造を持たず、心室壁がスポンジ状で、心筋細胞も粗である。心筋細胞内の収縮タンパク (アクチン・ミオ

シン) もラットにおいてカエルよりも多い事が予想されたが、微細構造の描出とともに、密度を X 線位相差 CT で定量することが出来た。(図 11)

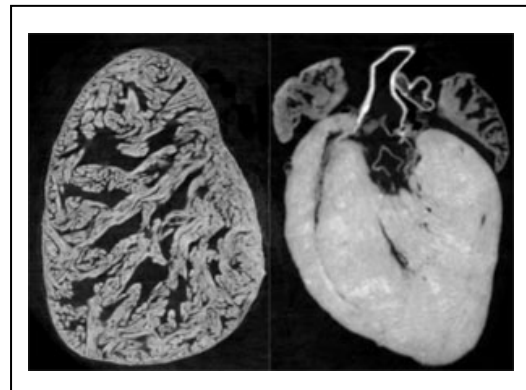


図 11: X 線位相差 CT によるカエル心臓とラット心臓輝度が高いほど組織内の密度が高い。

本研究で開発した X 線位相差 CT は、軟部組織の微細構造と密度位置情報を得ることが出来、疾患の病態生理解明が期待出来る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 1 件)

Hoshino M, Uesugi K, Yagi N, Mohri S, Regini J, Pierscionek B. Optical properties of in situ eye lenses measured with X-ray Talbot interferometry: a novel measure of growth processes. PLoS One. (査読有) 2011;6(9):e25140. doi: 10.1371

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

毛利 聡 (MOHRI SATOSHI)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号: 00294413

(2) 研究分担者

橋本 謙 (HASHIMOTO KEN)

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号: 80341080

氏原 嘉洋 (UJIHARA YOSHIHIRO)

川崎医科大学・医学部・助教

研究者番号: 80610021

(3) 連携研究者

上杉 健太郎 (UESUGI KENTARO)

(財) 高輝度光科学研究センター・研究員

研究者番号: 80344399