

# KEK 放射光を用いた生体軟組織の平面・立体イメージング観察 Observation of plane and stereoscopic imaging of soft tissue using KEK synchrotron radiation

河野哲朗<sup>1</sup>, 高橋由美子<sup>2</sup>, 野田 一<sup>1</sup>, 平野馨一<sup>3</sup>, 早川恭史<sup>2</sup>, 寒河江登志朗<sup>1</sup>, 岡田裕之<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 日本大学松戸歯学部, 〒271-8587 千葉県松戸市栄町西 2-870-1

<sup>2</sup> 日本大学量子科学研究所, 〒274-8501 千葉県船橋市習志野台 7-24-1

<sup>3</sup> 高エネルギー加速器研究機構放射光科学研究施設, 〒305-0801 つくば市大穂 1-1

Tetsuro KONO<sup>1,\*</sup>, Yumiko TAKAHASHI<sup>2</sup>, Hajime NODA<sup>1</sup>, Keiichi HIRANO<sup>3</sup>, Yasushi HAYAKAWA<sup>2</sup>, Toshiro SAKAE<sup>1</sup>, and Hiroyuki OKADA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nihon University School of Dentistry at Matsudo,  
2-870-1 Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba, 271-8587, Japan

<sup>2</sup>Nihon University, Institute of Quantum Science, 7-24-1 Narashinodai, Funabashi, 274-8501, Japan

<sup>3</sup> Photon Factory, 1-1 Oho, Tsukuba, 305-0801, Japan

## 1 はじめに

現在、医療分野で用いられている吸収コントラスト X 線イメージングは、X 線が試料を透過する際に生じた強度の変化を利用しており、強度の変化は物質固有の X 線吸収係数に従う。しかし、人体の軟組織を構成する軽元素は質量吸収係数の差が乏しく、造影剤なしには明瞭な画像を描出することは困難である。一方、位相コントラスト X 線イメージングは位相シフトを利用しており、吸収コントラスト X 線イメージングでの軟組織描出の 1000 倍程度の高感度がある。したがって、過大な線量を投与することなく軽元素の組織を非造影で描出することが可能であることを意味する<sup>1,2)</sup>。

本研究で我々が用いた癒痕組織とは、生体組織の損傷後の治癒過程において、欠損した本来の組織部分がコラーゲン線維に置換された組織である。自己再生能力の高い器官では、経時的変化とともに癒痕組織は消失し、本来の組織に修復されていくが、自己再生能力が低い器官では、一度生じた癒痕組織は消失せずに残存する。癒痕組織に関する過去の文献検索では、癒痕組織の形成過程におけるコラーゲン線維は通常よりも太く、一方向に配列されることが報告されている<sup>3,4)</sup>。これまで、癒痕は主治医の触診や視診により主観的に判断され、経過観察が行われていた。しかし、近年 X 線イメージング技術の進展によりコンパクト線源による医療現場での診断への応用も検討されていることから、X 線画像から癒痕組織を客観的に観察する方法を確立できれば医療現場での診断においてさらに的確な病態の判断が可能になる。

本研究は今後発展する画像解析技術の医療現場への普及に際し、その特性を活用して生体に非侵襲的で明瞭な微細構造を得る方法を確立することを目標としており、悪性腫瘍が画像解析にて所見から判断されるのと同時に、癒痕組織もまた画像解析を用い

て判断されることは重要であると考えている。そこで本研究では放射光を用いた位相コントラストイメージング法で癒痕組織内部構造の詳細な画像を得ることを目的とする。

## 2 実験

本研究では位相コントラストイメージング法の 1 つである回折強調法(Diffraction Enhanced Imaging, DEI)を用いた。

DEI は干渉計や伝搬法に比べ比較的広い範囲の位相シフト(屈折角)を感度良く検出でき光学系の自由度も大きいので、今回の試料のように前例が無く測定条件を見積もり難い材料に対しても適応力が高いと判断した。

試料は、12 週齢の Wister 系雄性ラットの舌に欠損創を作製し、欠損創作製から 7 日経過した組織標本それぞれ 8 個用いた。サイズは 10×10×5 mm<sup>3</sup> 程度になるようにパラフィン包埋し、ブロックを作成した。また、ポリプロピレン製プッシュバイアル(1ml φ 10 mm × height 28.4 mm) (PP バイアル) 中に中性ホルマリン 10% 溶液を満たした中に舌を保存した舌を計 3 本用意した。イメージング実験に使用したパラフィンブロック標本は、後日比較のため 4 μm 厚の薄切切片を作製、HE 重染色を施し顕微鏡にて観察し、得られた画像との比較検討を行った。なお、実験を行うにあたり、日本大学松戸歯学部動物実験倫理に関する指針(第 AP16MD026 号)に従い実施した。

実験方法としては 1) 光学系の作製、測定条件の最適化。2) DEI 測定(2 次元)。3) DEI-CT 測定を行った。1)の光学系は高エネルギー加速器研究機構フォトンファクトリー(KEK-PF) BL-14B ステーションや日本大学量子科学研究所電子線利用研究施設(LEBRA)<sup>5)</sup>のパラメトリック X 線(PXR)<sup>6,7)</sup>で行われてきた

DEI 実験の方法を踏襲して行った。二結晶モノクロメータで単色化した X 線をスリットとコリメータ結晶で成形し、ゴニオメータ上にセットした試料に照射する。X 線エネルギーは 20keV、コリメータには非対称シリコン(Si)220 反射を用いた。非対称因子は 0.076 である。試料を透過した X 線はアナライザ結晶(Si(220))で回折され検出器に入る。検出器は X 線 CCD カメラ(XFDI, Photonic Science)を用いた。測定条件は文献調査・密度測定などの予備調査に加え、X 線エネルギーを変化させて試料透過率を観測するなど実測により最適な条件を探索し、これをもとに 2)の DEI 測定を全試料に対して行った。得られた画像は X 線照射面の投影になるので、必要に応じ X 線照射方向を変えて多方位の測定を行った。この結果から特徴的な試料数個について 3) DEI-CT 測定を行い 3 次元の画像を得た。撮影された画像は画像ソフト ImageJ (NIH) を使用して画像処理を行った。

### 3 結果および考察

#### 1) 画像結果

舌癒痕組織のパラフィン包埋したブロック試料外形及び PP バイアルに浸漬した舌を Fig. 1 に示す。

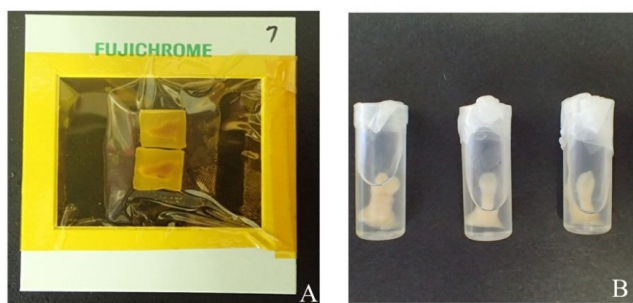


Fig.1 Preparation of specimens used for photography  
A: Paraffin-embedded block of rat tongue scar tissue prepared and mounted for photography.  
B: Tongue scar tissue immersed in neutral buffered formalin solution in polypropylene vial.

BL-14BにおいてX線エネルギー 20 keV、露光時間 0.5 sec/step x 550 stepで撮影を行った結果をFig. 2に示す。舌癒痕作成後、7日経過すると、肉眼では潰瘍部位が縮小し、傷口は上皮により覆われているのが確認できる (Fig.2-A)。組織像からも、再生上皮組織が傷口を覆っており、再生上皮組織の直下では、フィブリンは消失し、傷口は肉芽組織で満たされていることがわかる(Fig.2-B)。今回は吸収像(Fig.2-C)、USAX像(Fig.2-D)を提示する。この方法ではUSAX像において舌内の構造がよりクリアに観察することが出来たが、癒痕部位の詳細を観察することはできなかった。これらは、標本作製時にパラフィンに包埋しやすくするために舌組織を脱水し、キシレンに浸漬してからパラフィン包埋を行ったため、包埋時にパラフィンが組織内に浸潤したことにより、密度差

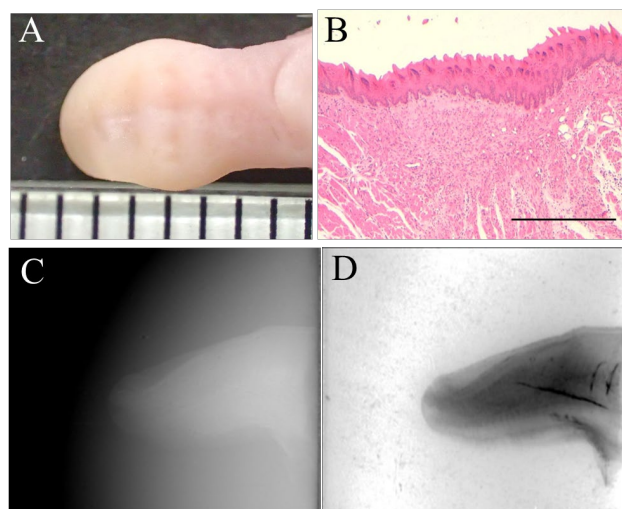


Fig.2 Sample of Paraffin-embedded block of rat tongue scar tissue  
A: Macroscopic findings of tongue wound healing.  
B: At day 7 after surgery, the regenerating epithelium covered the wound. Under the regenerating epithelium, the fibrin had disappeared and the wound was filled with granulated tissue.  
C: Apparent absorption image.  
D: Ultrasmall-angle X-ray scattering (USAX) image.

が均一化しX線の屈折に差がつかなくなったことで、舌の癒痕組織の構造が測定されにくくなったものと考えられる。

Fig. 3に PP バイアル内に中性緩衝ホルマリンを入れ浸漬した舌癒痕組織の DEI による吸収像、USAX像を示す。KEK-PF, BL-14B において X 線エネルギー 14.35 keV、露光時間 0.5 sec/step で撮影を行った。この方法では USAX 像では舌内部の構造がより明瞭に観察することができ、写真の点線に示すように、癒痕部位の特定も可能となった。これらは、前述のパラフィン包埋ブロックのサンプルとは異なり、密度差がある事により、X 線散乱や屈折に差が付き、舌の正常組織と癒痕組織を区別されるようになったと考えられる。

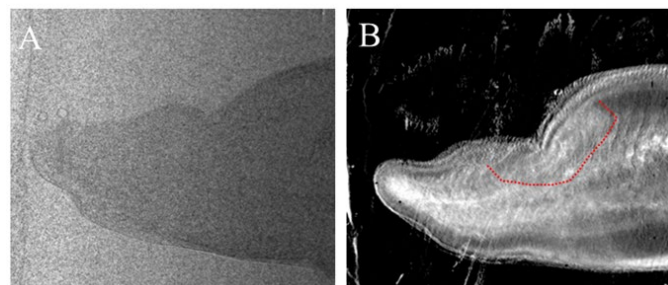


Fig.3 Tongue scar tissue in polypropylene vial.  
A: Apparent absorption image.  
B: Ultrasmall-angle x-ray scattering (USAX) image. The red dotted line indicates the area of the scar tissue.

#### 4 まとめ

放射光を用いて、舌癒痕組織という従来のイメージング手法では明瞭な画像が得られない試料に対し、位相コントラストイメージング法にて舌の観察を行ったところ、放射光を使うことでより鮮明な画像が得られことが分かり、試料の調製や照射強度を工夫すれば目的の癒痕組織の撮影も可能との手がかりを得た。また、本手法の確立はPXR実験での画質向上のヒントになると考えられる。今後のPXRの実用化、および位相コントラストイメージング法の臨床的普及にも貢献でき、画像診断において、患者に少ないX線量で有益な医療情報を提供できるものと示唆される。

#### 謝辞

This work was performed under the approval of the Photon Factory Program Advisory Committee (Proposal No. 2020G095).

#### 参考文献

- 1) Takeda T, Momose A, Itai Y et al: Phase-contrast imaging with synchrotron x-rays for cancer lesion. Acad Radiol 2: 799-803, 1995
- 2) Momose A, Fukuda J: Phase-contrast radiographs of non-stained rat cerebellar specimen. Med Phys 22: 375-379, 1995
- 3) 渋澤龍之. ラット口蓋粘膜癒痕組織の微細構造構築と力学的特性. Orthodontic Waves. 2000; 59: 237-246.
- 4) 安田幸雄. 肥厚性癒痕における線維芽細胞と膠原線維の光顕・電顕観察. 日外会誌. 1987; 7: 1-13.
- 5) 高橋由美子, 早川恭史, 桑田隆生, 寒河江登志朗, 田中俊成, 早川建, 佐藤勇: パラメトリックX線を用いた位相コントラスト法による生体軟組織イメージング, 生体医工学, 48 (6), 566-571, 2010.
- 6) Hayakawa Y, Hayakawa K, Inagaki M, Kaneda T, Nakao K, Nogami K, Sakae T, Sakai T, Sato I, Takahashi Y, Tanaka T: X-ray imaging based on small-angle X-ray scattering using spatial coherence of parametric X-ray radiation, J. Physics: Conference Series 517, 012017, 2014.
- 7) 早川恭史、高橋由美子：電子リニアックを用いたパラメトリック X 線源とその応用—回折強調イメージングと K 端差分法による元素検出—.放射光 33; 87-94, 2020

\* kono.tetsuro@nihon-u.ac.jp