

# 高空間分解能型X線干渉計の開発およびそれによる 生体試料のマイクロ位相トモグラフィ

小山一郎<sup>1,3</sup>, 百生敦<sup>1,3</sup>, 濱石佳孝<sup>1</sup>, 吉川秀樹<sup>1</sup>, 武田徹<sup>2</sup>,  
呉勤<sup>2</sup>, 板井悠二<sup>2</sup>, 高井健吾<sup>3</sup>, 上杉健太郎<sup>3</sup>, 鈴木芳生<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院工学系研究科, <sup>2</sup>筑波大学臨床医学系, <sup>3</sup>JASRI

X線干渉計を用いた位相コントラストイメージングの高空間分解能化を目指し、BBB干渉計およびアナライザ厚 $40\mu\text{m}$ のLLL干渉計を開発した。さらに、これらの干渉計を用いて生体試料の位相コントラストイメージングおよびマイクロ位相トモグラフィを行った。

## 1. イントロダクション

シンクロトロン放射光施設の発展、普及に伴い、X線の位相情報を画像コントラストとする位相コントラストイメージングの研究が近年、活発に行われるようになってきた。X線が試料を通過する際、試料による吸収を受けると共に、試料の屈折率分布に応じてX線の位相がシフトする。硬X線の波長領域において試料が軽元素からなる場合、散乱断面積の位相シフト成分は吸収成分よりほぼ3桁程度大きく、位相コントラストイメージングは従来の吸収コントラストに比べて高い感度でのイメージングが可能となる。さらに、この位相コントラストイメージングをCTへ応用する(位相トモグラフィ)ことにより試料の屈折率分布を3次的に観察することが可能となる。これは、X線の位相シフト量の空間分布(位相マップ)が試料の屈折率分布の投影となっているためである。

位相トモグラフィを行うためにはX線の位相シフト量を定量的に測定することが必要である。しかし全ての手法でこれが可能な訳ではない。というのも位相シフト量と画像コントラストの関係が簡単な関数で書けず、画像コントラストは得られるものの、そこから逆に位相シフト量を求められない場合があるからである。現在までに開発された硬X線領域で位相シフト量の定量的測定が可能なる方法として、X線干渉計[1]を用いた干渉法[2]と試料によるフレネル回折を利用した伝播ベース法[3,4]がある。

干渉法は硬X線領域で最初に行われた位相マップ計測であり、他の手法に比べて高感度であるという特徴がある。そのため、動物や人間などの生体軟部組織(正常組織、ガン組織)を造影剤など使うことなく撮像することができる。干渉法による位相トモグラフィは、これらの試料を高感度で3次元撮像できる手法として、現在精力的に研究が行われている。一方、伝播ベース法は感度では干渉法に劣るものの、空間分解能は約 $1\mu\text{m}$ 程度と干渉法を上回る性能を持つ。これは試料と画像検出器との間に光学素子などが存在しないためである。反対に干渉法では次節で述べる理由により、X線干渉計自体による空間分解能悪化が避けられない。

## 2. X線干渉計による空間分解能悪化

干渉法による位相マップ計測では一般にLLL干渉計[1]が用いられる。これは他のタイプの干渉計に比べて広い波長範囲で機能し、また作成が容易であるという特徴がある。LLL干渉計はシリコン等の完全結晶から一体として切り出された3つ

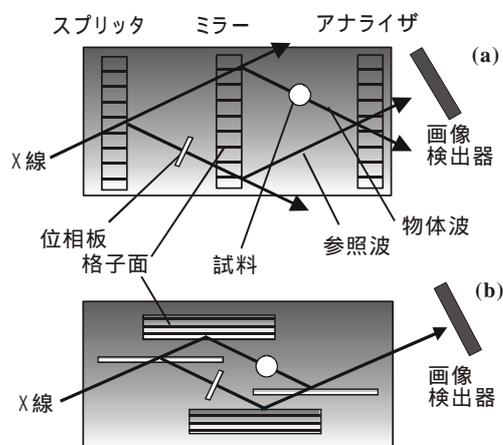


図1. (a) LLL干渉計と(b) BBB干渉計の模式図。

の結晶板から構成される(図1(a))。入射X線は1番目の結晶板(スプリッター)において Laue ケースの反射により2つに分割され、2番目の結晶板(ミラー)においてさらに2つに分割される。3番目の結晶板(アナライザ)で分割されたX線のうち2つが重ねあわせられ干渉光学系を形成する。

干渉光学系の一方の光路(物体波)に試料が挿入され、もう一方の光路(参照波)に位相板が挿入される。試料による位相シフトは、位相板により参照波の位相をシフトさせながら複数の干渉図形を撮影することにより計測される。これを縞走査法と呼ぶ。理想的な位相マップ計測においては、試料によって引き起こされた位相シフトは画像検出器のところまで値を保つべきである。しかし干渉法による位相コントラストイメージングでは、物体波がアナライザにより動力学的回折を受ける。動力学回折理論によれば、正確にブラッグ回折条件を満たして結晶に入射するX線は格子面に平行に伝播するが、試料による屈折のために $\Delta\theta$ だけブラッグ回折条件からずれた場合には、格子面から $\Delta\theta$ の約1万倍も傾いて伝播する。この結果、試料によって通常は無視できる大きさで屈折されたX線でも、アナライザ裏面から出射する位置が大きくなることになる。これが空間分解能悪化の原因である。

### 3. 高空間分解能型 X 線干渉計の開発

X 線干渉計による空間分解能悪化を防ぐために、新しいタイプの X 線干渉計の開発がいくつか試みられてきた。これらの試みは二つに分類することができる。一つは LLL 干渉計のアナライザを薄くするというもの[5]、もう一つは Bragg ケースの反射を利用するものである。

既に述べたように、LLL 干渉計における空間分解能悪化の原因は、試料で僅かに屈折した X 線でもアナライザ裏面からの出射位置が、正規の位置から大きくなることであるから、アナライザを薄くすれば空間分解能悪化を抑制することが可能である。このタイプの干渉計として最初に開発されたものはアナライザの中心部分のみをエッチングにより薄くすることにより、干渉計としての機械的安定性と高空間分解能を両立させるというものであった[5]。しかし、エッチングのみでアナライザを薄くすると結晶表面の滑らかさが損なわれ、それが画質に影響を与えてしまった。このため、この干渉計を用いて位相マップ計測を行うことはできなかった。

これに対して Bragg ケースの反射を利用する方法とは、アナライザの反射を Bragg ケースにして物体波と参照波を重ね合わせるというものである。Laue ケースと異なり Bragg ケースでは、アナライザに物体波が入射する面と出射する面が同じになる。このため、空間分解能悪化を原理的に防ぐことができる。このタイプの干渉計として3波回折型干渉計が開発された[6, 7]。しかし3波回折の角度幅は非常に狭いため、結晶表面のわずかな粗さが画質に大きく影響を与えた。このため、このタイプの干渉計もまた位相マップ計測に用いることができなかった。

今回、我々は新たに2種類の X 線干渉計を開発した。一つはアナライザの中心部分のみではなく全体を薄くした LLL 干渉計であり、もう一つは2波回折の Bragg ケースを用いる BBB 干渉計[8]である(図1(b))。これらの干渉計を用いて、位相マップ計測および生体試料のマイクロ位相トモグラフィを初めて行うことに成功したので、これについて報告を行う。

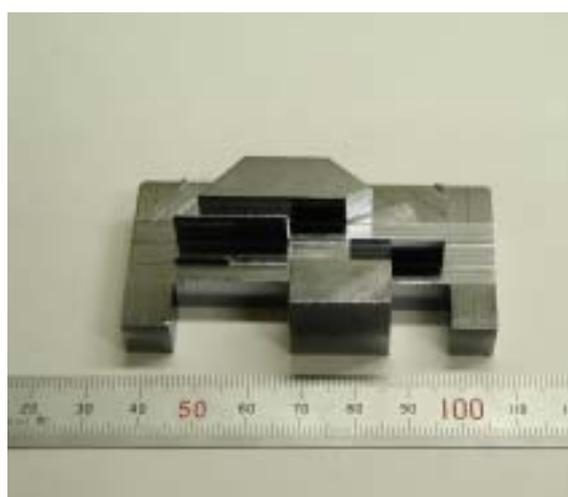


図2. 作製した BBB 干渉計。

#### 4 . BBB 干渉計による位相マップ計測

まず、BBB 干渉計による結果を紹介する。BBB 干渉計はスプリッタ、ミラー、アナライザにそれぞれ Bragg ケースの2波回折を用いる X 線干渉計である。3波回折に比べると2波回折の角度幅は広く、それに直交する方向では実質制限はない。したがって、結晶表面の粗さが画質に与える影響は小さい。これにより良好な画質を得られることが期待される。図2に我々が作成した BBB 干渉計の写真を示す。干渉計に用いた反射面は Si(440)、スプリッタおよびアナライザの厚さは250 $\mu\text{m}$  である。

我々は PF BL-14B において、この干渉計のテストを行った。入射 X 線の波長は0.71  $\text{\AA}$ 、干渉計の上流に X 線の発散を小さくするために、非対称角8.5度の Si(220)非対称結晶を配置した。画像検出器としてピクセルサイズ16.7 $\mu\text{m}$   $\times$  14.7 $\mu\text{m}$  に調整された X 線用サチコン管を使用した。得られた干渉図形を図3に示す。露光時間は170秒、サイズは3.7mm  $\times$  8.0mm であった。干渉図形下部における干渉縞の visibility は47%、上部における visibility は20%であった。我々はさらに、この干渉計を用いて位相マップ計測を行った。試料としてクローバーの葉を用い、5枚の干渉図形から縞走査法により位相マップを作成した(図4)。干渉図形一枚あたりの露光時間は170秒、合計の露光時間は約14分である。

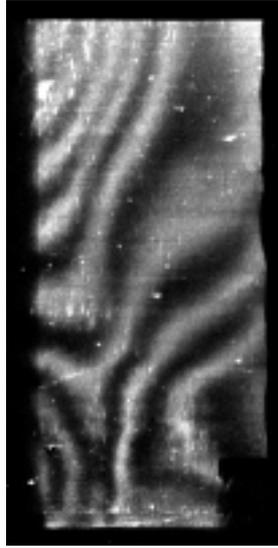


図3 . BBB 干渉計により得られた干渉図形。



図4 . BBB 干渉計により撮影されたクローバーの葉の位相マップ。

#### 5 . 40 $\mu\text{m}$ 厚アナライザの LLL 干渉計によるマイクロ位相トモグラフィ

次に、アナライザの薄い LLL 干渉計で得られた結果に移ろう。作製した X 線干渉計の写真を図5に示す。これはアナライザの中心部分のみでなく、全体を均一に薄くしたものである。まず機械的切削によりアナライザを200 $\mu\text{m}$  に加工し、エッチングによって表面加工層を取り除いた。使用したエッチング液は HF, CH<sub>3</sub>COOH, HNO<sub>3</sub> が1:1:5で混合されたもの、エッチング時間は約9分であった。干渉計の反射面は Si(220)、エッチング後のアナライザの厚さは40 $\mu\text{m}$  である。エッチングのみでアナライザを薄く加工する前述したタイプのものとは異なり、あらかじめ機械的切削によりアナライザを薄く加工することにより、エッチング時間を比較的短くすることが可能となり、結果としてアナライザ表面を滑らかに仕上げることができた。

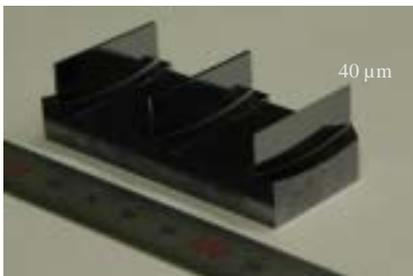


図5 . 作製したアナライザ厚 40 $\mu\text{m}$  の LLL 干渉計。

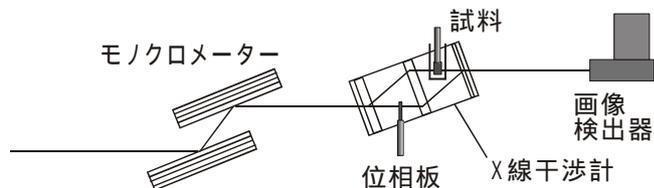
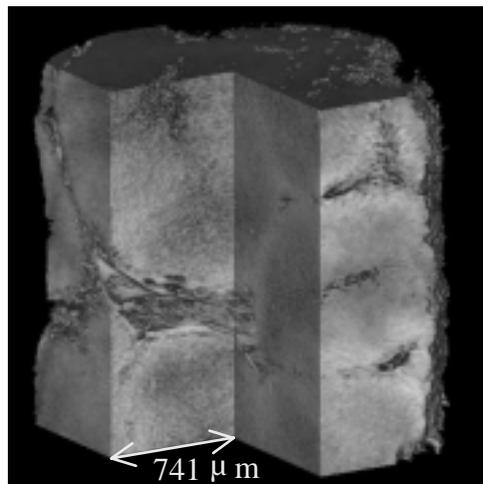


図6 . SPring-8 BL20XU における位相トモグラフィの実験配置。

我々はSPring-8 BL20XUにおいてこの干渉計を用いてマイクロ位相トモグラフィを行った。実験配置は図6に示す通りである。ビームラインモノクロメーターに合わせて、鉛直面内で光路が形成される方向に干渉計を設置した。入射 X 線の波長は 1  $\text{\AA}$ 、画像検出器には蛍光板とレンズが取り付けられた CCD を用いた。ピクセルサイズは  $6.5\mu\text{m} \times 6.5\mu\text{m}$  である。試料は回転軸に取り付けて、ホルマリンを満した試料セルに入れた。試料を  $0.72$  度ずつ回転させ、投影方向ごとに5枚の干渉図形を撮影して、縞走査法による位相マップ計測を行った。今回の実験では試料としてウサギの肝臓を用いた。再構成された3次元画像を図7に示す。



## 6. 考察および結論

X 線干渉計を用いた高空間分解能の位相マップ計測および位相トモグラフィを目指し、BBB 干渉計およびアナライザ厚  $40\mu\text{m}$  の LLL 干渉計を開発

図7. ウサギの肝臓のマイクロ位相トモグラフィ。

した。BBB 干渉計では Bragg ケースを用いた干渉計として初めて位相マップ計測に成功した。しかし BBB 干渉計のスループットが小さいため、露光時間が通常の実験条件に比べて約2桁長く、PF での実験では170秒にもなってしまった。スループット改善のためには、スプリッタおよびアナライザの厚さを最適化すること、非対称ジオメトリを取り入れることなど、BBB 干渉計の改良が必要である。今回は空間分解能に関する定量的な評価は行えなかったが、今後詳しく行う予定である。

アナライザ厚  $40\mu\text{m}$  の LLL 干渉計では、生体試料のマイクロ位相トモグラフィを実施することができた。アナライザ厚  $1\text{mm}$  の LLL 干渉計で同様の試料に対して行った結果[9]と比べ、今回得られた3次元画像では肝小葉が確認でき、肝細胞が層状に配列し周囲の類洞が暗いコントラストで示されているなど、格段に細かい構造まで解像できていることがわかる。本干渉計は既に様々な組織片の観察に使用しており、多くの観察例を蓄積している。ただし、この LLL 干渉計においてもまだ改善の余地があると考えており、より高い空間分解能の画像検出器の使用も含めて、パフォーマンス向上への努力は必要である。

## References

- [1] Bonse U. and Hart M., *Appl. Phys. Lett.* **6** (1965) 155.
- [2] Momose A., *Nucl. Instrum. & Methods A* **352** (1995) 622.
- [3] Gureyev T. E., Raven C., Snigirev A., Snigireva I., and Wilkins S. W., *J. Phys. D: Appl. Phys.* **32** (1999) 563.
- [4] Cloetens P., Ludwig W., Baruchel J., Van Dyck D., Van Landuyt J., Guigay J. P., and Schlenker M., *Appl. Phys. Lett.* **75** (1999) 2912.
- [5] Hirano K., and Momose A., *Jpn. J. Appl. Phys.* **38** (1999) L1556.
- [6] Fezzaa K., and Lee W. L., *Appl. Crystallogr.* **34** (2001) 166.
- [7] Yoneyama A., Momose A., and Koyama I., *Jpn. J. Appl. Phys.* **41** (2002) L161.
- [8] Bonse U., and Hart M., *Z. Physik.* **194** (1966) 1.
- [9] Momose A., Takeda T., Itai Y., Tu J., and Hirano K., *SPIE Proc.* **2659** (1999) 365.