

## ヒト乳頭組織の3次元可視化のためのX線暗視野CTの開発： 単一乳腺葉内で進展する非浸潤性乳管癌の解析

砂口尚輝<sup>1</sup>，島雄大介<sup>2</sup>，市原周<sup>3</sup>，西村理恵子<sup>3</sup>，岩越朱里<sup>3</sup>，湯浅哲也<sup>4</sup>，安藤正海<sup>5</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学大学院医学系研究科，<sup>2</sup>北海道科学大学保健医療学部診療放射線学科，<sup>3</sup>名古屋医療センター病理診断科，  
<sup>4</sup>山形大学大学院理工学研究科，<sup>5</sup>総合科学研究機構

### Development of X-ray dark-field computed tomography for three-dimensional visualization of human nipple

Naoki SUNAGUCHI<sup>1</sup>, Daisuke SHIMAO<sup>2</sup>, Shu ICHIHARA<sup>3</sup>, Rieko NISHIMURA<sup>3</sup>, Akari IWAKOSHI<sup>3</sup>,  
Tetsuya YUASA<sup>4</sup>, Masami ANDO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Nagoya University, <sup>2</sup>Hokkaido University of Science, <sup>3</sup>Nagoya Medical Center, <sup>4</sup>Yamagata University,  
<sup>5</sup>Comprehensive Research Organization for Science and Society

#### Abstract

2016年までの4年間にKEK-PFのBL-14BおよびBL-14Cで進めてきたX線暗視野光学系を用いる屈折コントラストCT(XDFI-CT)の開発により、ヒト乳頭内乳管の3次元構造の明瞭な可視化および撮影時間短縮が可能となった。改良されたXDFI-CTを用いて、乳頭組織を約60症例撮影し、乳頭内乳管数、乳頭先端における乳管の合流、乳頭内乳管の3次元空間配置などを調査してきた。本稿では、XDFI-CTの撮像原理およびXDFI-CTを用いたヒト乳頭組織を高画質撮影するための取り組みを紹介する。さらに最近の研究で乳頭組織から得た解剖学に関する新しい発見について紹介する。

#### 1. はじめに

近年、乳癌手術や予防の際に、術前の状態にできるだけ近い外観を維持するため、乳頭、乳輪、皮膚を残して、乳腺組織を切除する乳頭温存乳腺全摘術(NSM: nipple-sparing mastectomy)が多く行われるようになった[1, 2]。この方法は、乳房再建手術で自然な形の乳房を再建するためにも有利と考えられる。ただし乳頭部に癌が存在すると、NSM後に癌が再発するリスクとなる。それゆえ、乳頭に癌がないことを術前に調べる必要がある。しかし、癌の有無を調べる以前に、乳頭内乳管の3次元構造に関する研究例は少なくまだよく分かっていない。例えば、乳頭内の主乳管同士の吻合の有無や3次元空間内における乳管配置などは数例のみ報告されているが[3-5]、我々の研究では個人差が非常に大きいことが分かっている。また近年、スウェーデンの病理学者であるTibor Totによって非浸潤性乳管癌(DCIS)が基本的に1つの乳腺葉を侵す疾患であるという仮説(sick lobe理論)が発表され[6]、各乳腺葉の乳管が一斉に集まる乳頭内を可視化し解析することは医学的にも意義がある。ここで、各医学用語については参考文献7を参照してほしい。

我々の研究グループでは、この背景のもと、乳頭内乳管の3次元構造を明瞭に可視化すること、撮影時間を短縮することを目的に、2012年～2016年に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およびBL-14Cで、X線暗視野光学系を用いる屈折コントラストCT(XDFI-CT: X-ray dark field computed tomography)[8, 9]の開発を進めてきた。また、2016年～2018年に乳頭組

織を約60症例撮影し、乳頭内乳管数、乳頭先端における乳管の合流、乳頭内乳管の3次元空間配置などを調査してきた。本稿では、XDFI-CTの撮像原理およびXDFI-CTを用いてヒト乳頭組織を高画質に撮影するための取り組みを紹介した後、最近の成果である51症例の乳頭組織から得た解剖学に関する新しい発見について紹介する。

#### 2. XDFI-CT 撮像システム

Fig. 1は試料撮影に利用されたXDFI-CT撮像システムの概要図である。入射X線には熱除去のための前置2結晶分光器で単色された放射光X線ビームが使用される。入射X線ビームはまず非対称Bragg-case Si単結晶モノクロリメータ(MC)で回折し、試料サイズよりも大きい視野を形成する。ビームは試料を伝搬する際、試料内の複素屈折率の実部 $1-\delta$ の値に従って屈折し、その後方に設置された薄いLaue-case Si単結晶アナライザー(LAA)に入射

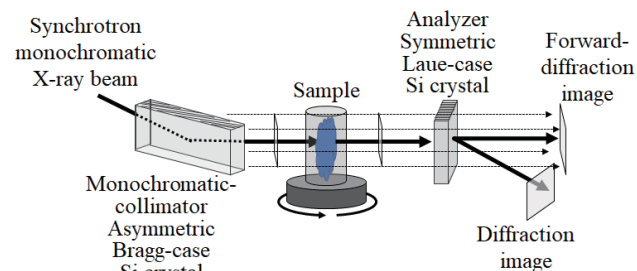
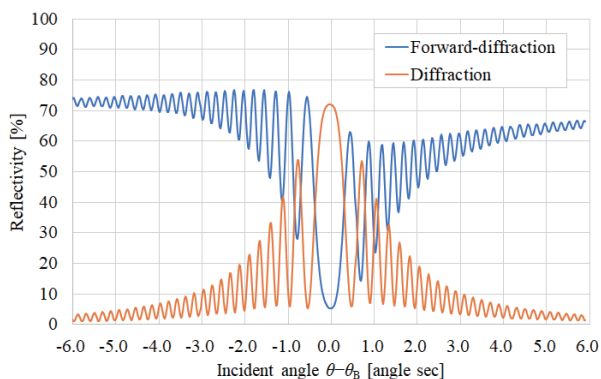
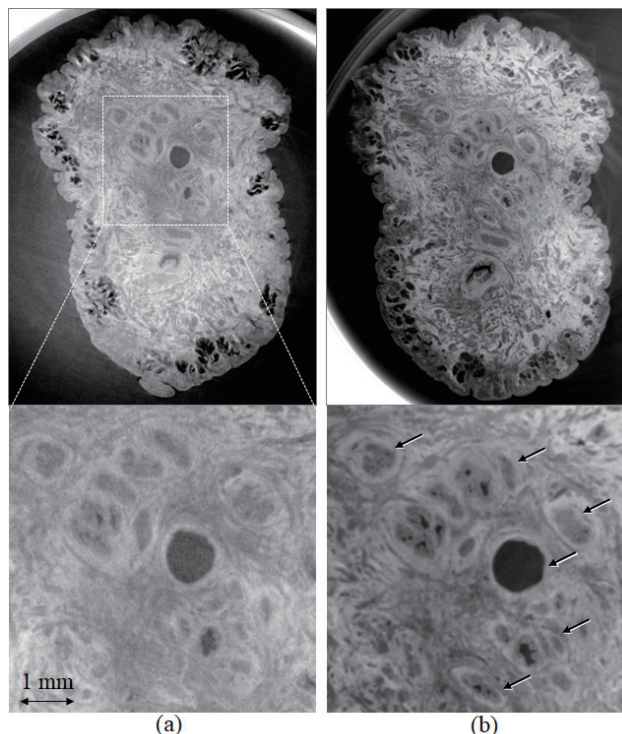


Figure 1 Schematic image of XDFI-CT measurement system.



**Figure 2** Rocking curves obtained in the forward-diffraction and diffraction directions behind Laue-case Si crystal.

する。ここで、ビーム方向とLAA表面のなす角がブラッグ角  $\theta_B$  近辺になるように設置すると、ビームはLAA後方で透過方向の前方回折ビームと、 $2\theta_B$  方向の回折ビームに分かれて伝搬する。それぞれのX線強度は、Fig. 2で示すLAA固有の回折強度曲線に従う。図中の曲線の振動成分はLAA特有のペンデル縞と呼ばれる振動であり、振動のようすはLAAの厚さに依存し、中心値も厚さによって極大、極小と大きく変化する。X線暗視野法は、ブラッグ角における前方回折X線強度が理論的に極小値になる条件、すなわち、暗視野条件を満たす厚さを持つLAAを利用する[7]。暗視野条件さえ満たされていれば、ペンデル振動は暗視野像に対して直接的な影響はない。X線の屈折角はLAAによりX線の回折強度に変換され、後方のX線カメラで測定される。サンプルによるX線の吸収が無視できない場合は、回折像も同時に撮影し数値計算により屈折角を推定するが[9]、本稿で紹介する乳頭試料は撮影時に水中で撮影されており、吸収コントラストはほぼ観測されないため前方回折像のみの投影セットからCTを再構成している。水中撮影では、水槽の中で試料だけが回転するような治具を用いている。



**Figure 3** Comparison of nipple CT images between 2012 and 2016.

### 3. ヒト乳頭組織のための撮像条件の検討

ヒト乳頭組織は2012年4月のKEK-PF BL-14Cのビームタイム内で初めて撮影された。その当時のX線暗視野光学系は安定性を欠き、適切な撮像条件が定まっていなかったことから撮影時間が長く、1症例を撮像するのも容易ではなかった。Fig. 3(a)はその当時撮影された乳頭のXDFI-CT像である。撮像条件はTable 1の左列に示す。厚さ170  $\mu\text{m}$ の薄いLAAを用いた効果で空間分解能は2012年以前よりも向上し、乳頭内の乳管をすべて描出することができた。一方で、CTを撮影するために要した時間は、画像転送やステージ移動の待機時間も含めておよそ9時間であり、多数の症例を用いた解析が困難であった。結果的に、この1

**Table 1** Differences of imaging conditions in nipple specimen before and after the improvement of the imaging system

| Beam line                        | PF BL-14C  | PF BL-14B                            |
|----------------------------------|--|--------------------------------------|
| Imaging date                     | 4/2012   | 11/2016                              |
| Double-crystal pre-monochromator | Si (220)   | Si (111)                             |
| Pre-monochromator                |  |                                      |
| X-ray energy                     | 35 keV   | 19.8 keV                             |
| Asymmetric Bragg-case            | Si (440) $\alpha=10.2\text{deg}$                                       | Si (111) $\alpha=5.4\text{deg}$      |
| Monochromator-collimator         | $\theta_B=10.6\text{deg}$  | $\theta_B=5.73\text{deg}$            |
| Symmetric Laue-case              | Si (440) 170 $\mu\text{m}$ thickness                                   | Si (111) 352 $\mu\text{m}$ thickness |
| Analyzer                         | $\theta_B=10.6\text{deg}$  | $\theta_B=5.73\text{deg}$            |
| X-ray camera                     | Photonics Science<br>X-ray FDI VHR 16M<br>Pixel size 7.4 $\mu\text{m}$ | Same as left                         |
| Binning                          | 1 $\times$ 1   | 2 $\times$ 2                         |
| Exposure time @ 1 projection     | 70 sec   | 4 sec                                |
| Projection number                | 360  | 600                                  |

症例から医学的に意義のある情報を得ることは難しかった。

ヒト乳頭組織に限らず生体組織のマイクロアナトミーを得るためには、少なくとも数10例～数100例のデータを解析する必要がある。限られたビームタイムの中で目標の症例数を達成するには、1症例1時間程度に短縮する必要があった。また、Fig. 3(a)の画質では乳管内の形状を得るには不十分であり縦横10 μm程度の空間分解能が必要になること、乳頭の直径および高さは平均で15 mmおよび20 mmであるため撮影視野は少なくとも縦横25 mm以上であることが撮像システムに要求される。2012年～2016年の4年間で、撮像システムの調整を繰り返し、Si(111)回折面を利用した新しい光学系の開発、X線エネルギーを下げることによるコントラスト改善、水槽内で試料を回転する撮影方式、試料からカメラまでの距離短縮による空間分解能向上、ビニングによる撮影時間短縮、投影数増加・再構成アルゴリズムの改良[10]による画質向上を行った(Table 1 右列)。2016年11月のKEK-PF BL-14Bで撮影された同試料のCTはFig. 3(b)のように画質が向上している。また、矢印で示した乳汁の通り道である乳頭内乳管も明瞭に描出できている。さらに、撮影時のPFの運転モードはTop-upではなく時間とともにビーム強度が減少したが、撮影時間を短縮したことにより、画質への影響は僅かなコントラストのムラ(左半分が暗い)だけである。

この時点で撮像システムの高スループット化を実現し、以降2年間をかけて、約60症例の乳頭組織を撮影した。

#### 4. 単一乳腺葉内で進展する非浸潤性乳管癌の解析

実際に解析に使用された乳頭は51症例であり、38歳～80歳の日本人女性で乳癌と診断され全摘出された乳房から得られている。各試料は10%の緩衝ホルマリン液で固定された後、エタノールに浸されて保存されており、撮像5～6時間前に、試料内部のエタノールを除去するために純水を入れた容器に移された。撮像時には試料は試料回転台に固定され、直方体の水槽容器内で投影撮影が行われた。本研究は、名古屋大学および名古屋医療センターの生命倫理審査で承認を受けている。

Fig. 4は、ヘマトキシリン・エオシン(HE)で染色された組織切片の顕微鏡像と対応するXDFI-CTのスライスを示す。組織切片で確認できる乳管(Lactiferous duct)はCT画像でも同様に明瞭に描出されている。また、組織切片とCT間の各乳管の空間配置はほぼ一致し、CTを用いて病理画像のような組織レベルの観察ができることを示す。CTからカウントされた乳管数は、51症例の合計で1428本、1症例あたりの平均で28本であった。標準偏差は9.14本であった[11]。本稿では詳細を省略するが、乳頭内乳管の3次元配置は大きく3つのタイプに分類できることが分かった[11]。

乳頭内乳管における3次元配置の観察を進めると、乳頭内で走行する複数の乳管が合流する様子が多数確認された。特に、乳頭の先端付近では頻りに乳管の合流が発生し

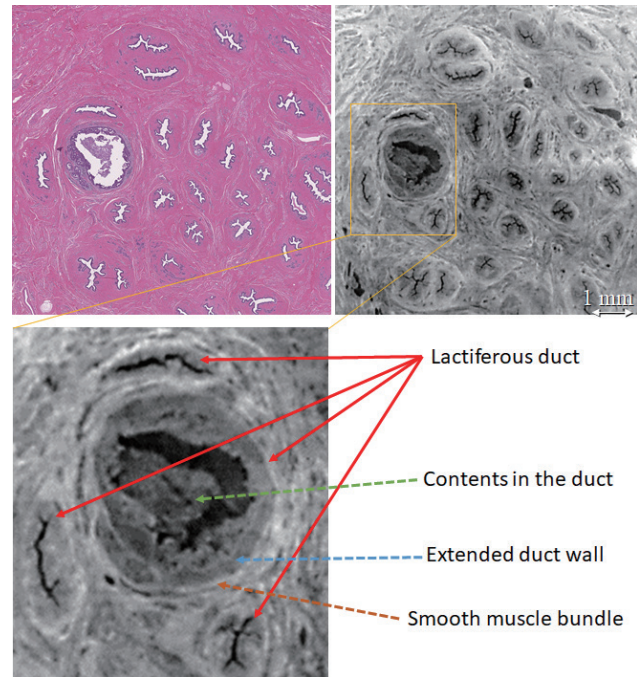


Figure 4 Histological section with HE staining and XDFI-CT image at the corresponding position of the section.

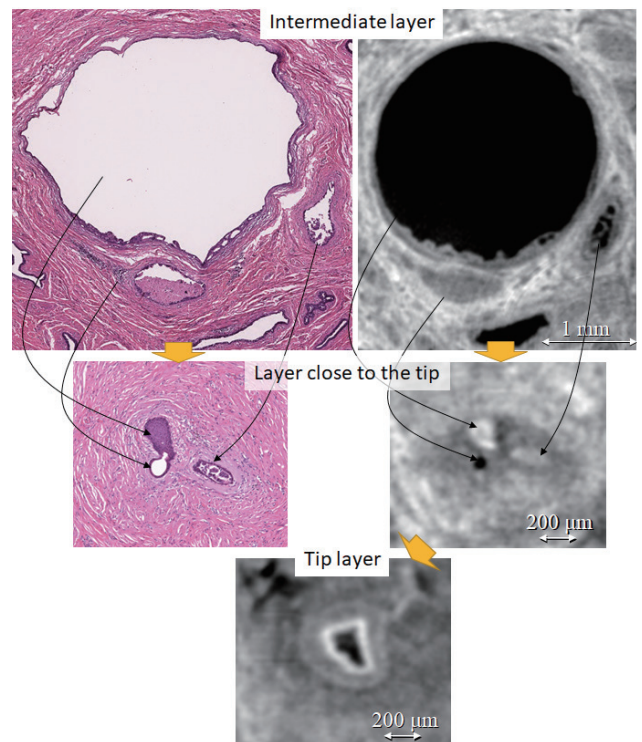


Figure 5 Three ducts with DCIS shown in arrows, merge at the tip of the nipple.

やすい。一般的に、乳腺の中には複数かつ大小の乳腺葉が存在し、1つの乳腺葉には、乳頭内の乳管から乳腺深部に向けて枝分かれした多数の乳管が存在する。そのため、今回確認された1か所に合流する乳管はすべて1つの乳腺葉に属すると考えられる。乳頭内のDCISが1つの乳腺葉にのみ存在するか否かを調査することは冒頭で述べた

sick lobe 理論を検証することに繋がり医学的に意義がある。今回の症例では、組織切片の観察により、51 症例のうち 9 症例 (18%) の乳頭内に癌が存在し、そのうち 6 症例は DCIS であった。乳頭基部における乳頭内の観察により、6 症例中 5 例は 1 本の乳頭内乳管のみに DCIS が存在し、sick lobe 理論と矛盾しない。残りの 1 例には 3 本の乳頭内乳管に DCIS が存在したが、それら 3 本の乳管は乳頭基部から乳頭先端部まで連続的な CT を観察してゆくと Fig. 5 のように先端で合流するため、1 つの乳腺葉に属すると考えられ、全ての症例において sick lobe 理論を支持する結果を得た [11]。

## 5. まとめ

本研究では、XDFI-CT を用いてヒト乳頭組織を高画質に撮影するための取り組みと近年の成果から抜粋した解析結果を紹介した。現在、システムのボトルネックは X 線カメラにあり、最新のシンチレータおよび高感度 CMOS カメラからなる新たな X 線カメラを導入し高解像度・短時間撮影を実現しようとしている。今後 DCIS の篩状構造やその他の生体組織などを XDFI-CT で撮影し多症例解析を行うことで新しい解剖学に関する情報が得られることが期待される。

## 謝辞

本研究の試料を準備していただいた名古屋医療センターの臨床検査科病理検査室に感謝を申し上げます。また、撮像システムで使用された LAA 結晶は KEK の PF 結晶加工室を利用して杉山弘助教および笹谷典太氏によって作製されました。ここで感謝を申し上げます。また、貴重な X 線 CCD カメラを貸していただいた KEK の平野馨一准教授および兵藤一行准教授に感謝申し上げます。本研究は JSPS 科研費 16K01369, 16K08654, 22591353, 15H01129, 26286079, 18K13765, 24601011, 平成 29 年度国立病院機構共同臨床研究 H29-NHO (癌般)-01, H29-NHO (多共)-02 および KEK 放射光実験課題 2008S2002, 2012G562, 2014G589, 2015G597, 2016G0625, 2017G697, 2018G669, 2019G598 の支援を受けています。

## 引用文献

- [1] W. A. Young, A. C. Degnim, T. L. Hoskin *et al.*, *Ann. Surg. Oncol.* **26**, 3115 (2019).
- [2] C. H. Lee, M. H. Cheng, C. W. Wu *et al.*, *Ann. Plast. Surg.* **82**, S95 (2019).
- [3] J. J. Going and D. F. Moffat, *J. Pathol.* **203**, 538 (2004).
- [4] J. E. Rusby, E. F. Brachtel, J. S. Michaelson *et al.*, *Breast Cancer Res. Treat.* **106**, 171 (2007).
- [5] F. Taneri, O. Kurukahvecioglu, N. Akyurek *et al.*, *Eur. Surg. Res.* **38**, 545 (2006).
- [6] M. P. Tan and T. Tot, *Gland Surg.* **7**, 611 (2018).
- [7] 市原周 新版乳腺病理学 細胞・組織・画像, 名古屋大学出版, ISBN:978-4-8158-0722-1, 2013 年

- [8] M. Ando, A. Maksimenko, H. Sugiyama *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **41**, L1016 (2002).
- [9] N. Sunaguchi, T. Yuasa, Q. Huo *et al.*, *Appl. Phys. Lett.* **97**, 153701 (2010).
- [10] N. Sunaguchi, T. Yuasa, R. Gupta *et al.*, *Appl. Phys. Lett.* **107**, 253701(2015).
- [11] N. Sunaguchi, D. Shima, T. Yuasa *et al.*, *Breast Cancer Res. Treat.* **180**, 397 (2020).

(原稿受付日: 2020 年 3 月 30 日)

## 著者紹介

砂口尚輝 Naoki SUNAGUCHI

名古屋大学大学院医学系研究科 准教授

〒461-8673 名古屋市東区大幸南一丁目1番20号

TEL: 052-719-1554

FAX: 052-719-1554

e-mail: sunaguchi@met.nagoya-u.ac.jp

略歴: 2006 年 山形大学大学院理工学研究科博士前期課程修了, 2006-2007 年 (株)日立メディコ, 2007-2010 年 山形大学大学院理工学研究科博士後期課程, 2010 年 同課程修了。博士 (工学), 2010-2012 年 高エネルギー加速器研究機構・学振特別研究員, 2012-2017 年 群馬大学大学院理工学府電子情報部門・助教, 2017 年 - 名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻・准教授 (現職)。X 線イメージングの研究に従事。

最近の研究: X 線暗視野 CT の高画質化のための研究および生体における微小解剖学的構造の解析。AichiSR BL8S2 ビームラインに X 線暗視野 CT の導入を進めている。

島雄大介 Daisuke SHIMAO

北海道科学大学保健医療学部診療放射線学科 教授

〒006-8585 北海道札幌市手稲区前田7条15丁目4-1

TEL: 011-688-7197

FAX: 011-688-2270

e-mail: shima-d@hus.ac.jp

略歴: 1999 年 茨城県立医療大学保健医療学部放射線技術科学科卒業, 1999-2001 年 筑波メディカルセンター病院・診療放射線技師。2001-2003 年 茨城県立医療大学大学院保健医療科学研究科放射線技術学専攻修士課程, 2003 年 同修了, 修士 (放射線技術科学), 2003-2005 年 国立スポーツ科学センタースポーツ医学研究部・診療放射線技師, 2005-2007 年 茨城県立医療大学保健医療学部・助手, 2003-2006 年 総合研究大学院大学高エネルギー加速器科学研究科博士課程, 2006 年 同修了, 博士 (学術), 2007-2013 年 茨城県立医療大学保健医療学部・助教, 2013-2015 年 福島県立医科大学先端臨床研究センター・講師, 2015 年 - 北海道科学大学保健医療学部診療放射線学科・教授 (現職)。診療画像技術学に関する研究に従事。

最近の研究: X 線暗視野光学系を用いる屈折コントラスト CT; XDFI-CT の高解像度化による X 線病理解剖学の確立。

市原周 Shu ICHIHARA  
名古屋医療センター病理診断科 シニア医師  
〒460-0001 愛知県名古屋市中区三の丸4丁目1-1  
TEL: 052-951-1111  
FAX: 052-951-1323  
e-mail: shu-kkr@umin.ac.jp

略歴: 1982年名古屋大学医学部卒業, 博士(医学)。1986年名古屋大学大学院医学研究科満了。1986年国立名古屋病院臨床検査科医師。現在, 名古屋医療センター病理診断科シニア医師。日本病理学会, 欧州病理学会, アメリカ・カナダ病理学会の各会員, Virchows Archiv 編集委員。  
最近の研究: 乳房温存術における全側面 shave margin の評価を可能にする断端検索法の確立 (Cancer Med. 2019 Jul;8(7):3359-3369.)

西村理恵子 Rieko NISHIMURA  
名古屋医療センター病理診断科 医長  
〒460-0001 愛知県名古屋市中区三の丸4丁目1-1  
TEL: 052-951-1111  
FAX: 052-951-1323  
e-mail: rnishimura-path@umin.ac.jp

略歴: 1988年関西医科大学医学部医学科卒業。医師免許, 1994年関西医科大学大学院医学研究科博士課程単位習得(病理学専攻), 1995年医学博士号。日本病理学会認定病理専門医, 1995-1997年国立がんセンター東病院臨床検査科・がん専門修練医, 1997-1998年同・非常勤医師, 1998-2001年大阪警察病院臨床病理科・副医長, 2001-2002年四国がんセンター臨床検査科・医師, 2002-2018年同・臨床検査科長, 2018-2020年名古屋医療センター病理診断科・医長(現職)。病理診断と乳腺病理の研究に従事。  
最近の研究: セルブロックを用いた乳腺細胞診断。前任地では, 乳癌転移巣細胞診検体セルブロックを用いたコンパニオン診断の方法を確立し, 多施設共同研究を主催した。現在は, 乳癌原発巣に対するセルブロックの有用性について検討中である。

岩越朱里 Akari IWAKOSHI  
名古屋医療センター病理診断科 医師  
〒460-0001 愛知県名古屋市中区三の丸4丁目1-1  
TEL: 052-951-1111  
FAX: 052-951-1323  
e-mail: akari@med.nagoya-u.ac.jp

略歴: 2006年名古屋大学医学部医学科卒業, 2006-2008年名古屋第二赤十字病院臨床研修医, 2008-2012年名古屋大学大学院医学系研究科(腫瘍病理学専攻)博士課程, 2012年同課程修了。博士(医学), 2013-2017年名古屋医療センター病理診断科, 2017-2019年愛知医科大学病院病理診断科, 2019年-名古屋医療センター病理診断科(現職)。日本病理学会および日本専門医機構認定病理専門医, 日本臨床細胞学会細胞診専門医。

最近の研究: 肺・縦隔腫瘍, 乳腺腫瘍の臨床病理学的研究

湯浅哲也 Tetsuya YUASA  
山形大学大学院理工学研究科 教授  
〒992-8510 山形県米沢市城南4丁目3-16  
TEL: 0238-26-3324  
FAX: 0238-26-3323  
e-mail: yuasa@yz.yamagata-u.ac.jp

略歴: 1991年東京大学大学院工学系研究科修士課程修了, 博士(工学)。同年山形大学工学部助手。2006年山形大学工学部応用生命システム工学科教授。現在, 同大学院理工学研究科教授。医用画像工学の研究に従事。計測自動制御学会, 応用物理学会, 電子情報通信学会, 日本医用画像工学会, IEEEの各会員。  
最近の研究: 医用画像工学

安藤正海 Masami ANDO  
一般財団法人 総合科学研究機構 特任研究員  
〒300-0811 茨城県土浦市上高津1601  
TEL: 090-4753-0124  
e-mail: ando@post.kek.jp

略歴: 1966年3月東京大学工学部物理工学科卒業, 同年4月同大学大学院工学系研究科物理工学修士課程入学, 1968年3月同修了, 同年4月東京大学物性研助手, 1979年4月-1985年3月高エネルギー物理学研究所助教授, 同年4月-2006年3月教授, 同年4月-2018年3月東京理科大学教授, 同年4月一般財団法人 総合科学研究機構 特任研究員, 応用物理学会, 日本物理学会, 日本放射光学会所属, X線光学系開発, 医用画像開発。  
最近の研究: 臨床応用装置開発