

生きた細胞を観る3次元ミクロンCTの開発

石井慶造¹⁾, 松山成男¹⁾, 渡辺慶人¹⁾, 川村 悠¹⁾, 菊池洋平¹⁾, 山崎浩道²⁾
 神谷富裕³⁾, 佐藤隆博³⁾, 荒川和夫³⁾

¹⁾東北大学大学院工学研究科量子エネルギー工学専攻
 980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6

²⁾東北大学 CYRIC
 980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

³⁾日本原子力開発機構放射線高度利用施設部
 370-1292 群馬県高崎市綿貫町 1233

1 はじめに

陽子、 α 粒子などのイオンを数 MeV に加速して原子に衝突させると、原子内の内殻電子が電離し、特性X線が高い強度でもって発生する。図1は、図1は3 MeV の α 粒子を Ti ターゲットに照射して、発生したX線を半導体X線検出器で測定したものである。Ti の K-X 線だけが強く観測されていることが分かる。図中の小さなピークは Ti ターゲット中に含まれていた不純物金属元素のものである。

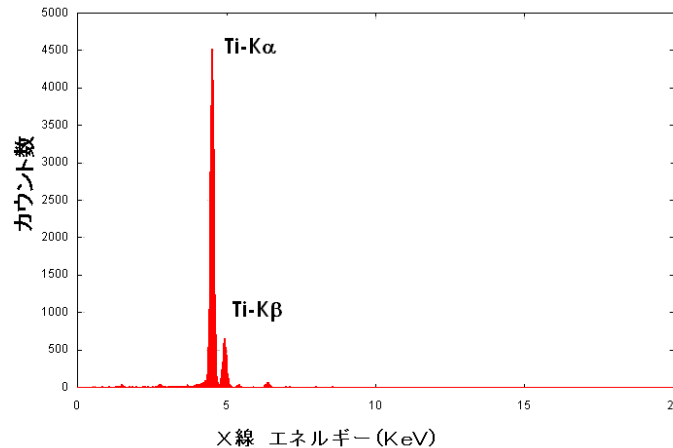


図1 3 MeV の α 粒子衝撃による Ti ターゲットからの X 線スペクトル

この現象を PIXE (Particle Induced X-ray Emission : 粒子線励起 X 線放出) と呼んでいる。PIXE 分析法はこの特性 X 線を利用したもので、 10^{-12} g の感度でもって同時に多くの元素を検出できる。一方、高純度の金属ターゲットを陽子などで衝撃すれば、その金属の特性 K-X 線が発生し、準単色の X 線源と見なせる。さらに、粒子ビームを1ミクロンに絞り込んで衝撃すれば、点線源が得られる。1 mm 径のポリカーボネイトチューブに生きた小動物を眠らせて入れ、チューブを回転させながら点 X 線源に曝露し、透過 X 線を X 線 CCD カメラで測定すれば、その2次元投影画像より、生きたままの小動物の3次元 CT

画像が得られる。本装置をマイクロ CT と呼ぶ。我々は、これまでに体長 3 mm の山蟻の 3 次元 CT 画像の撮影に成功した¹⁾。

2 マイクロビーム形成システム



図2 マイクロビーム形成システム

点 X 線源を得るためのマイクロビーム形成システムは、ビームスリット、強収束 4 極電磁石と防寝台が必要とされる。1 ミクロン径のビームスポットを得るためには、これらの装置を精度良く据付、また 4 極電磁石の磁極の加工もミクロンの精度を要する。スリットと強収束 4 極電磁石が 7 m と長いので防寝台も高い精度が必要とされる。

3 3次元マイクロ CT

図 3 に 3 次元マイクロ CT の概念図を示す。その体系は、中央部に細胞などの微小生体試料を封入したマイクロチューブがあり、X 線発生用のターゲットと X 線 CCD カメラは固定されている。陽子やヘリウムイオン等のマイクロ粒子ビームをターゲット上に照射すると、照射部を点線源としてターゲットの元素に応じたエネルギーの特性 X 線が発生する。そこから発生する準単色の X 線をマイクロチューブ内にある生体試料に照射し、試料の透過像を X 線 CCD によって測定することで、CT 画像のもととなる投影データを取得することができる仕組みとなっている。試料の入ったマイクロチューブを回転させることで、全方向の投影データを取得することが可能である。

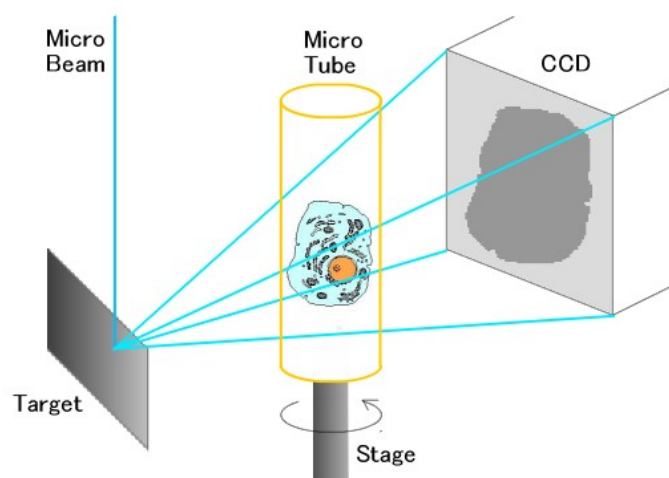


図3 試作 3 次元マイクロ CT の概念図

4 山蟻の頭部の3次元CT画像

我々の開発したマイクロンCTは、試料を回転させ、固定された点線源からのコーンビームX線をCCDカメラで検出するので、数学的に完全なデータが得られるのは、試料回転軸に垂直な断面だけである。そこで、この断面の再構成画像を基にして、逐次近似法で他の断面図を得る方法を開発した²⁾。

肉厚 $25\mu\text{m}$ ポリイミドチューブに体長 3mm の山蟻をホルマリンに浸けた後、マイクロンCTで測定した。図4に、山蟻の頭部の写真(中央)、マイクロンCTで撮れた3次元立体画像(左図)及び断層画像(右図)を示す。左図は、表面を強調した立体画像であるが、蟻の頭部の複雑な構造が良く観測できている。一方、右図の断層図は、山蟻の複眼、脳の断面図を良く表しているのが分かる。

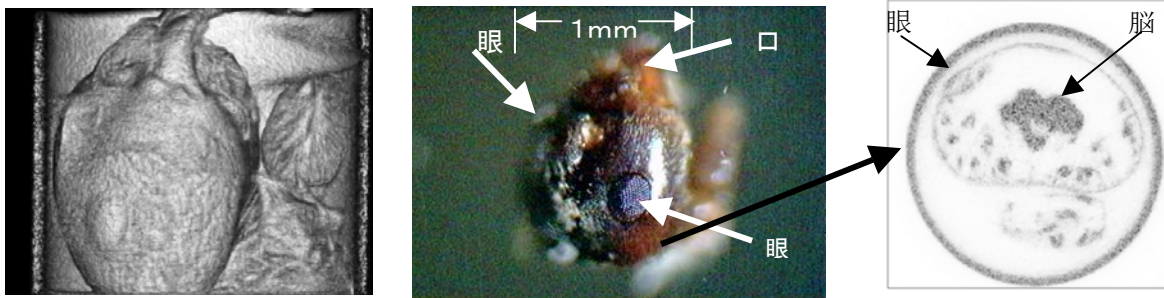


図4 山蟻の頭部のマイクロンCT画像：3次元立体画像(左)、写真(中央)、断層画像(右)

我々の開発したマイクロンCTの空間分解能は約 $4\mu\text{m}$ であり、この精度での微細構造が確認できた。本研究においては、マイクロンCTからのデータをいくつかの画像表現を行なうことができた。以下に、3つの3次元画像を示す。

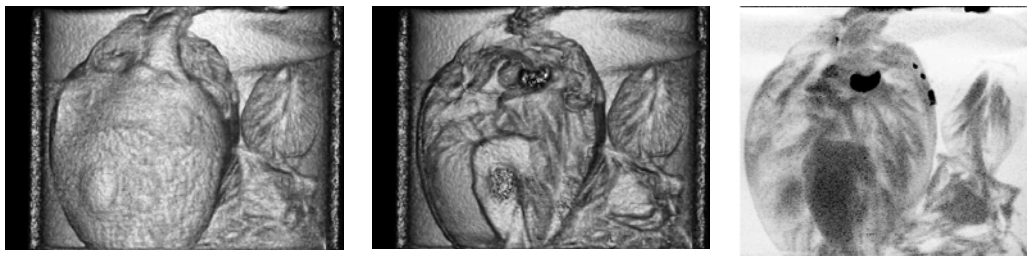


図5 山蟻の3次元CT画像：表面強調(左)、内部強調(中央)、透過強調(右)

右図の透過強調3次元CTでは、脳の位置が良く確認できる。また、口付近に吸収の高い部分が見られる。

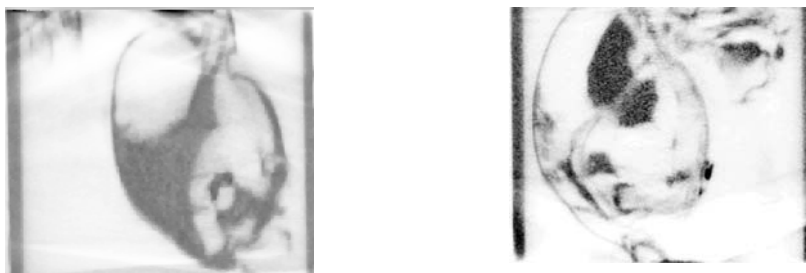


図6 生きた蟻の頭部のCT画像(左) ホルマリン漬けの蟻の頭部のCT画像(右)

図6は、生きた蟻の頭部のCT画像（左）とホルマリン漬けの蟻の頭部のCT画像（右）を比較したものである。両者は非常に異なっていることが分かる。一般に蟻の解剖図はホルマリン漬けものを解剖して写生したものなので、生きたものとは大変違うことが示された³⁾。

5 まとめ

PIXEの特長を利用して、蟻などの小動物の内部のCTを撮像できるミクロンX線CTを開発し、生きた蟻の頭部のCT画像を撮ることができた。今後、様々な微小動物のCT画像を撮影することにより、この分野での新たな発見を期待したい。

謝辞

本研究は、科学研究費補助金基盤研究（S）（平成13年度～16年度）の援助によって、主に行われた。

文献

1. Ishii K., Matsuyama S., Yamazaki H., Watanabe Y., Yamaguchi T., Momose G., Amartaivan T., Suzuki A., Kikuchi Y. and Galster W., Micron-CT using PIXE with Micro-beams, International Journal of PIXE 15 (.3&4), (2005) 111-124.
2. Yamaguchi T., Ishii K., Yamazaki H., Matsuyama S., Watanabe Y., Abe S., Inomata M., Ishizaki A., Oyama R. and Kawamura Y., Development of an image reconstruction method for Micron-CT using PIXET, International Journal of PIXE Vol.15, Nos. 3&4, (2005) 195-202.
3. Ishii K., Matsuyama S., Yamazaki H., Watanabe Y., Kawamura Y., Yamaguchi T., Momose G., Kikuchi Y., Terakawa A. and Galster W., 3D-CT imaging using characteristic X-rays and visible lights produced by ion micro-beam bombardment, Nuclear Instrument and Methods in Physics Research B249 (2006)726-729.

Development of 3D micron-CT for living cells

Keizo Ishii, Shigeo Matsuyama, Yoshito Watanabe, Yu Kawamura, Yohei Kikuchi,
*Hiromichi Yamazaki, **Tomihiro Kamiya, **Takahiro Satoh and **Kazuo Arakawa

Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University
Aoba-ku, Aramaki, Aza-Aoba 6-6-01, Sendai 980-8579, Japan

*Cyclotron and Radioisotope Centre, Tohoku University
Aoba-ku, Aramaki, Aza-Aoba 6-3, Sendai 980-8579, Japan

** Advanced Radiation Technology Center, JAEA
Watanuki machi, 1233, Takasaki 970-1292, Japan

Abstract

In Particle Induced X-ray Emission (PIXE), the production cross sections of characteristic X-rays are very large in comparison to those of continuous X-rays, which when integrated over the detector resolution are typically 3 orders of magnitude smaller. This feature is quite different from the case of electron bombardment, where the electron bremsstrahlung contributes predominantly to the X-ray spectrum. Due to this inherent advantage, X-rays from a pure metal target bombarded with micro-beams can be considered to constitute a monochromatic X-ray source.

We use this feature in an X-ray CT, which then provides the 3 dimensional structure of a small object with a resolving power of micron size. On the basis of this idea, we develop 3D imaging consisting of a micro-beam system and an X-ray CCD camera. A biological sample is placed in a tube with inside diameter 1000 μm and wall thickness 25 μm . This tube is rotated by a stepping motor and 2D transmission images of the sample are taken with characteristic K-X-rays produced from a metal target bombarded by 3MeV proton micro-beams. 3D images are reconstructed from these 2D projection images by using an iteration method. We applied our system to investigate an in-vivo sample, in this case being a very small ant. The ant was anaesthetized with chloroform and exposed to characteristic X-rays of Ti. The 3D image of the ant was obtained with a spatial resolution of 4 μm . In the usual X-ray CT, X-rays of $\sim 60\text{keV}$ are used and the images reflecting the density of object are obtained. In our case, due to absorption edge and the strong dependence on atomic number of photo ionization cross sections, we obtain images emphasizing the contribution from heavier element. The distribution of K in the gnathic glandula could be clearly imaged.

It is expected that our 3D imaging system could provide cross sectional images of in-vivo samples with high spatial resolution and may thus be applied to a wide range of researches in biology and medicine.

Acknowledgments

This study was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (S) No. 13852017 (K. Ishii) of the Ministry of Education, Culture, Science, Sports and Technology.