

X線結像光学ニューズレター

No. 49 2019年6月発行

X線位相トモグラフィ顕微鏡が牽引する骨科学

慶應義塾大学医学部 松尾光一

X線で骨が最初に撮影されたのは、1895年にRoentgenが妻の左手を撮影した時であると言われている。それから120年経過した現在の医療では、骨折や骨粗鬆症から希少な慢性骨系統疾患まで、X線の応用は骨疾患の診断に欠かせないものとなっている。しかし、骨を検査するための通常のX線装置は、吸収コントラストに依存するため、骨の観察には適しても、軟骨や軟部組織をみるには不向きである。X線位相変化量は、物質密度に比例するため骨密度を定量的に評価できるだけでなく、軟部組織も描出することができ、さらにトモグラフィ顕微鏡とすることで、骨の中や周囲の血管や細胞群を3次元的に解析できる。本稿では、放射光施設 SPring-8 の単色・高輝度 X 線を利用した X 線位相顕微鏡（東北大学百生敦研究室との共同研究）[1]を用いて、骨の形成のメカニズムを解析する基礎研究を紹介する。近年光学系の改良が進み、空間解像度の向上と視野の拡大が実現されると共に、生物試料作製法も改善され、骨以外の「軟らかい」組織や細胞の形態が以前よりも保てることになった。これまでに見えなかった細胞と高次形態との連関が見え始めたのである。

骨を形作る細胞群

骨は I 型コラーゲン線維を初めとする有機物の「鉄筋」と、カルシウムとリン酸からなるヒドロキシアパタイトという無機物 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ の「コンクリート」からできている「鉄筋コンクリート」であるため、引っ張りにも圧縮にも強い優れたマテリ

アルである。脊椎動物は、コラーゲンを産生するとともに、リン酸カルシウムを含む小胞も分泌できる 10 ミクロン程度のサイズの骨芽細胞（こつがさいぼう）という特殊な細胞に骨形成を担わせている。骨芽細胞は、骨基質の素材を骨表面で分泌した後、その一部は骨細胞（ブドウパンのブドウに相当）として骨基質（パンに相当）に埋まり、それぞれ骨小腔の中に収まる（図1）。骨細胞はまるで神経細胞のように無数の樹状突起を伸ばし、骨基質内の骨細管という径が数百ナノメートルのトンネル内で細胞間ネットワークを作っている（図1、下段）。

骨基質を吸収する（壊す）細胞は、破骨細胞（はこつがさいぼう）と呼ばれ、血球成分から分化する。破骨細胞は細胞融合によって多核になりタンパク質分解酵素を分泌してコラーゲン線維を分解し、塩酸を分泌してヒドロキシアパタイトを溶解する。特に閉経後の女性では、破骨細胞の骨吸収活性が骨芽細胞の骨形成活性をしばしば上回る。その結果、骨粗鬆症という骨折し易い状態に至ると、治療の対象になる。健康な成人では、破骨細胞と骨芽細胞の活性のバランスがとれており、骨吸収窩は骨基質で埋め戻される[2]、発生・成長過程でも、破骨細胞と骨芽細胞は協調して骨の形を成熟させていく[3]。破骨細胞や骨芽細胞などの細胞群がどのように骨を作り、生涯にわたりそれを維持しているのかを解明するのが本研究の目的であり、X線位相トモグラフィ顕微鏡が筆者らの研究を牽引している。

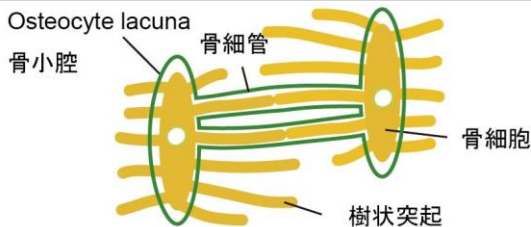
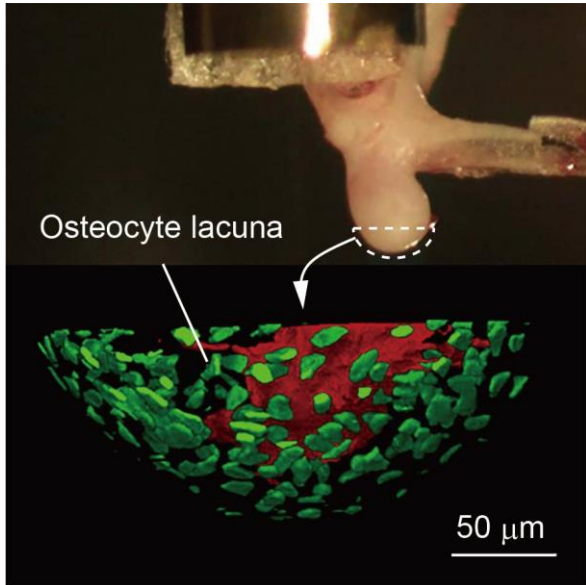


図1：骨小腔 Osteocyte lacuna。

(上段) マウスツチ骨短突起のX線位相トモグラフィ顕微鏡による観察。緑は骨小腔。赤は血管。骨基質や骨細管は見えていない。

(下段) 骨小腔の模式図。核をもつ骨細胞が入っており、樹状突起を伸ばしている。

「骨形成性血管」の発見

X線位相顕微鏡の視野は、当初直径 300 ミクロン程度であったので、そこに収まる骨（の一部分）を見つける必要があった。そこで研究材料として選んだのが、マウスの耳小骨であった[4]。耳小骨は中耳にあり、音を鼓膜から内耳に伝える骨で、耳小骨が3つあるのは哺乳類だけである。マウスの耳小骨は、胎仔期に大まかな形が軟骨で作られ、生後に内軟骨性骨化による骨形成が起こる。つまり生後に、それまで無血管だった軟骨原器に血管が侵入して軟骨基質を除去する一方、骨芽細胞が骨基質を分泌して軟骨基質を置き換えていき、骨芽細胞は骨細胞となって骨基質に埋まる。この過程で、骨芽細胞は空間的にどの方向を向いて骨基質を分泌するのか不明であ

った。X線顕微鏡による解析（この場合にはX線吸収コントラスト）により、日齢が進んだマウスほど、微小血管の直径が小さくなることが分かった（図2）。

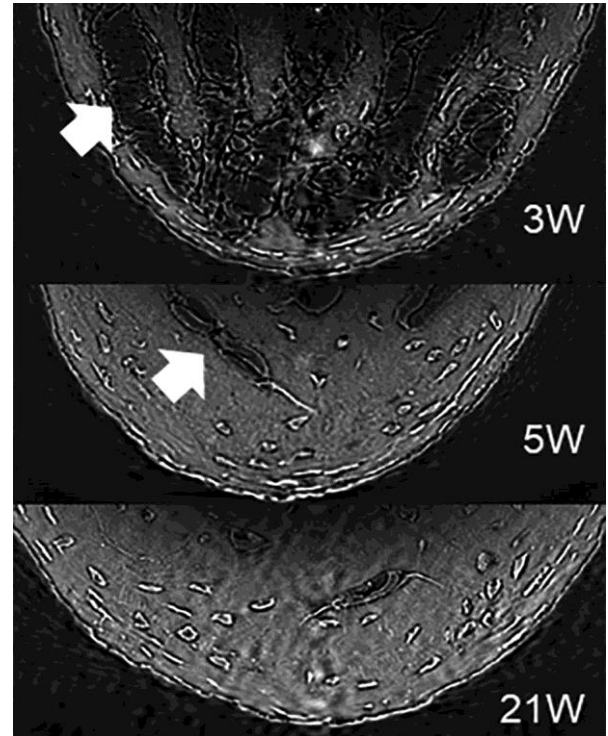


図2：骨形成性血管（矢印）。生後3、5、21週令マウスのツチ骨短突起。X線トモグラフィ顕微鏡による観察（吸収コントラストのデフォーカス画像）。図中矢印は微小血管を示す。

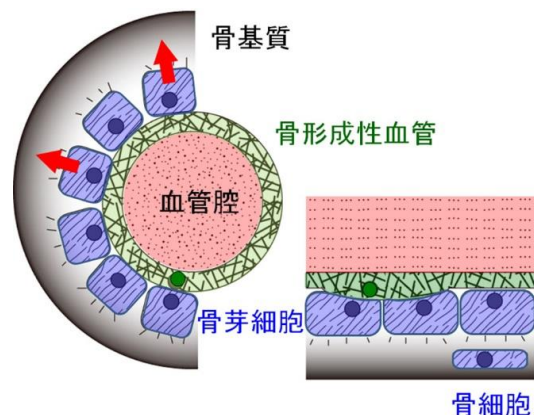


図3：骨形成性血管（模式図）。微小血管の周囲に配置した骨芽細胞が、血管と反対側（外側）に骨基質を分泌する（赤矢印）。骨が形成されるにつれて、血管の直径は徐々に小さくなっていく。

詳細な組織学的解析により、骨芽細胞が微小血管の外周に、血管に「背を向けて」配列しており、血管周囲に新しい骨基質を分泌し、血管腔が細くなっていくことが分かった(図3)。

X線位相顕微鏡による解析が発端になり、軟骨原器が骨に置き換わる過程で働く「骨形成性血管」が見出された[5]。耳小骨は、体中の骨の中で最も骨密度が高い骨である。耳小骨で骨形成性血管を構成する骨芽細胞が、通常の骨芽細胞より密度の高い骨を作る分子メカニズムの解明が現在進行しており、「超石灰化骨芽細胞」の姿もX線位相トモグラフィ顕微鏡で捉えられている[6]。

「骨細管による骨溶解」の可視化

骨を分解する細胞は破骨細胞だけであるとされていた。一方、骨中の無数の骨小腔に埋まっている骨細胞にも、骨を溶かす作用があるという考えは、長い間、ほとんど顧みられなかった。骨細胞による骨溶解が起これば、血中カルシウムの低下に迅速に対応して恒常性を維持できる一方で、骨が内側から壊されれば重篤な骨密度や骨量の低下を来しうる。実際に骨小腔周囲の骨溶解が起これば骨小腔の体積が増大するという報告がある。しかし、骨細胞が伸ばす無数の樹状突起が骨を溶かしているという証拠は得られていなかった。筆者らは、脛骨(膝から足首までの太い骨)の皮質骨を300ミクロンx300ミクロンx5ミリメートル程度のマッチ棒状に切り出し、風乾してX線位相トモグラフィ顕微鏡で観察した。骨基質の中に散在する、骨細胞が入っている骨小腔と、骨細胞同士をつなぐ無数の骨細管が認められた(図4)。

骨細管の直径は200ナノメートル程度であるが、X線位相トモグラフィ顕微鏡で、骨細管の周囲の直径4ミクロン程度の範囲で、骨密度の低下が観察された[7]。これは、骨細管周囲の骨溶解を捉えた最初の直接的なデータである。

X線顕微鏡のための生物試料作製法

マウスの組織片は、電子顕微鏡用の試料作製法を

応用して準備した。すなわち、グルタルアルデヒドとパラホルムアルデヒドで一晩固定した後、段階的に高い濃度のエタノール水溶液に浸漬して、脱水した。無水アルコールまで到達後、臨界点乾燥装置で乾燥した。臨界点乾燥法では、組織の微細構造が良く保たれるとされるものの、組織全体が2割以上縮むことがある。石灰化した骨基質を含む試料は、縮みに抗し、組織の構造が維持される一方、縮む部分と縮まない部分との食い違いを産む場合があり、留意が必要である。脱灰(カルシウムの除去)を行った対照試料との比較が有効である。

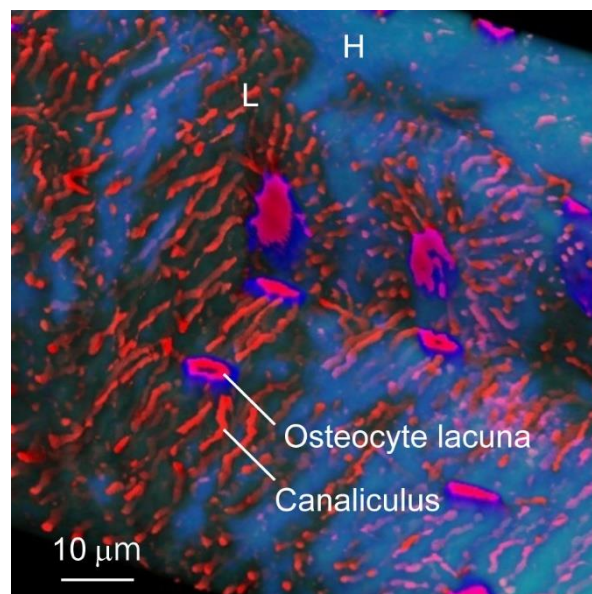


図4: 骨細管周囲の骨溶解。骨小腔(Osteocyte lacuna)から出る無数の骨細管(Canaliculus)。高い骨密度(H、青)と低い骨密度(L、黒)が区別できる。骨細管の周りの骨密度が低下していることがわかる。

X線位相トモグラフィ顕微鏡で、免疫組織化学の手法が使えるれば有用性が格段に高まる。これは、タンパク質などに対する特異的な抗体を用いて、そのタンパク質などの分布を可視化する方法であり、通常は組織切片で汎用されている。抗原抗体反応をホールマウントの組織片で行い、抗体の存在の可視化を銀などの析出反応で行うことを検討している。また、特定の遺伝子発現を可視化するin situハイブリダイゼーション法も、X線位相トモグラフィ相顕微

鏡と組み合わせることが可能であろう。これらは特定の細胞のマーキングや病態を反映する分子の検出などの幅広い応用が考えられる。

X線位相顕微鏡の改良

X線位相トモグラフィ顕微鏡が、基礎医学研究に威力を発揮するようになったのは、実用に向けて様々な改良が積み重ねられて来たからである。SPRING-8の9 keVの放射光を用い、結像型X線顕微鏡とX線格子干渉計を組み合わせることで、位相トモグラフィを行う。光学系をBL20XU(全長約5.5メートルで顕微鏡倍率20倍、空間分解能1ミクロン程度)からBL37XU(全長27メートルで顕微鏡倍率100倍、空間分解能500ナノメートル程度)へ変更することで空間分解能が向上した。また、レンズに相当するフレネルゾーンプレートの効率と直径を大きくすることで、視野が広がり明るくなった。さらに、X線格子の性能や測定精度が上がり画質が向上した。光学系の改善によりX線の利用効率が上昇しただけでなく、投影数の最適化により放射線の線量を下げることができ、試料へのダメージを抑制することができた。それでも放射線量は概算値で1000万Gy程度であると推察され、悪性腫瘍の放射線治療で例えば合計50Gy程度の線量が用いられることを考えると、線量の大きさが分かる。また生物学的試料は、個体差の検討が必要であり、サンプル数をこなさないといけない場合が多い。光学系他、画像データの取得・転送・処理の速度が大きくなったことが、論文化に実質的に後押ししている。

3次元解析ソフトウェア

再構成された画像の解析方法が、有意義な情報を引き出せるかどうかを左右する。基本的な解析は、画像のグレースケールと形状に基づく2値化(セグメンテーション)であり、3次元のレンダリングである。意義のある構造を抽出するためには、単純に2値化された画像をさらに編集することが必要な場合がほとんどである。筆者らは市販のソフトウェア(3DBonやImaris)を用いている。パブリックなもの

としては理化学研究所の画像情報処理研究チームにより開発されているVCAT5がある[9]。

今後の展望

医学生物学的研究において、実用段階に入ったX線位相トモグラフィ顕微鏡の応用範囲は広いと思われる。筆者らは、骨破壊を起こす腫瘍の解析も行っている。骨破壊のメカニズムの解明は治療法の開発に直結する可能性がある。その一方で、様々な実験動物を用いた基礎生命科学への応用も期待できる。いずれにせよ、X線位相トモグラフィ顕微鏡を様々な原理の解析手法と相補的に組み合わせることで、その威力を発揮するに違いない。

謝辞

本研究は、東北大学百生敦教授のグループ、特に高野秀和特任准教授や呉彦霖(Yanlin Wu)助教と慶應義塾大学医学部の筆者の研究室の黒田有希子助教、河合克宏助教らとの共同研究として進行しており、JST ERATO 百生量子ビーム位相イメージング(JPMJER1403)やSPRING-8の課題(2015A1377、2017A1195、2017B1284、2018B1216)、JSPS科研費基盤研究(B)(17H04015)の支援の下、遂行された。

引用文献

- [1] A. Momose, *Microscopy(Oxf)* **66** (2017) 155.
- [2] K. Matsuo, N. Irie, *Arch. Biochem. Biophys.* **473** (2008) 201.
- [3] M. Edamoto, Y. Kuroda, M. Yoda, K. Kawaai, K. Matsuo, *Sci. Rep.* **9** (2019) 1956.
- [4] A. Sakamoto, Y. Kuroda, S. Kanzaki, K. Matsuo, *J. Vis. Exp.* **119** (2017) 55054.
- [5] K. Matsuo, Y. Kuroda, N. Nango, K. Shimoda, Y. Kubota, M. Ema, L. Bakiri, E.F. Wagner, Y. Takeda, W. Yashiro, A. Momose, *Development* **142** (2015) 3912.
- [6] Y. Kuroda, K. Matsuo, *ASEMR 2018 Annual Meeting*, Sep 28–Oct 1, 2018, Montréal, Québec, Canada.
- [7] N. Nango, S. Kubota, T. Hasegawa, W. Yashiro,

- A. Momose, K. Matsuo, *Bone* **84** (2016) 279.
- [8] N. Nango, S. Kubota, A. Takeuchi, Y. Suzuki, W. Yashiro, A. Momose, K. Mastuo, *Biomed. Opt. Express* **4** (2013) 917.
- [9] <http://logistics.riken.jp/vcat/vcat/ja>

実験室 X 線顕微鏡を利用した位相トモグラフィの開発

東北大学多元物質科学研究所 高野秀和

X 線は透過力が高いため、物体の内部を透視できる。この透視像を試料のあらゆる投射角で取得し、内部構造を三次元で可視化する手法がトモグラフィ (CT) であり、X 線イメージングの非常に重要な応用である。X 線 CT の空間分解能は、通常の光源では光源の大きさに起因する半影ボケ、シンクロトロン放射光や微小焦点 X 線源では画像検出器あるいは試料による回折ボケが限界を決めており、1 ミクロン以下の空間分解能の達成は一般的に難しい。この限界を突破する重要な要素技術として X 線結像光学素子があり、対物結像素子として利用することにより、結像型 X 線顕微鏡を構成できる。X 線顕微鏡の空間分解能は、現在 50 nm を下回るようになっていくが、このような高分解能観察において良い画質の三次元像を得るためには、見分ける試料微小構造間の吸収差が十分大きい必要がある。生体試料やソフトマテリアル材料等、軽元素で構成される試料では、この吸収差が非常に小さい。

X 線の位相変化の相互作用は吸収のそれと比べ、特に軽元素に対して大きい。このため、X 線位相コントラスト法は軽元素試料に対して高感度なイメージング法として用いられている。吸収 CT では、試料透過率を定量計測した投影像から吸収係数の三次元分布を求めるが、試料による位相変化の定量像を計測できれば、吸収 CT と同じ原理を用いた場合、試料屈折率の三次元分布が得られる。これが X 線位相 CT であり、試料による位相変化を定量して画像化することを X 線位相イメージングと呼ぶ。

位相イメージングには様々な方法が用いられているが、X 線格子干渉法は簡単に構成でき、かつ様々な利点がある。透過回折格子に X 線を当てた時、隣り合う開口から X 線が干渉する場合、それらが格子から離れた位置で強め合うことで、格子と同じ像が

形成される。これがタルボ効果[1]であり、形成される像を自己像という。この途中に試料を挿入すると、位相変化により自己像が歪む。この歪みを抽出することで試料の位相変化を計測するのが格子干渉法である[2]。自己像を形成するために必要な X 線の空間コヒーレント長は格子の周期程度で良く、広いバンド幅で機能するため ($\Delta E/E=0.1$ 程度でも単色光と同等の鮮明度が得られる)、白色の微小焦点 X 線源で干渉計が動作する。さらに、もう 1 枚の格子を上流に追加し、スリット光源アレイとして機能させる Talbot-Lau 干渉計[3]を構成することで、高出力のインコヒーレント光源であっても干渉計が動作することが大きな利点である。

格子干渉法と結像型顕微鏡を組み合わせることで、高空間分解能の位相イメージングが可能となる。基本的には顕微鏡像面に Talbot 干渉計を構成する簡単な構成で実現可能である[4]。前稿の位相顕微鏡がこのタイプである。また、1 枚の位相格子のみで自己像が顕微鏡により拡大されるようにすると、吸収格子が不要な干渉計を構成できる[5]。さらに光源格子を追加した Lau 干渉計を構成することにより、インコヒーレント照明の X 線顕微鏡でも干渉計を構成できる[6]。

我々はこの光学系を踏襲し、市販の X 線顕微鏡 ZEISS Xradia 800 Ultra[7]に Lau 干渉計を組み合わせることにより、実験室規模で実用的な空間分解能をもつ位相トモグラフィ顕微鏡の開発を進めている。

装置構成

ベースとなる X 線顕微鏡 800 Ultra は、1.2 kW (40 kV, 30 mA) の回転陽極を X 線源とし、銅ターゲットからの特性線 (8.04 keV) を利用する。照明系はモノキャピラリー、対物素子にはフレネルゾーンプレー

ト (FZP) を用いている。二種類の倍率の異なる FZP を搭載しており、低倍率 (大視野モード: LFOV モード) と高倍率 (高分解能モード: HRES モード) の切り替えが可能となっている。像面の X 線像はシンチレータとリレーレンズを介して冷却 CCD で検出される。図 1 にテストチャートの LFOV 像と HRES 像 (いずれも吸収コントラスト像) を示す。LFOV 像の視野は 65 ミクロンで 200 nm 線幅の構造を解像する。HRES 像の視野は 16 ミクロンで、50 nm の構造を解像する。

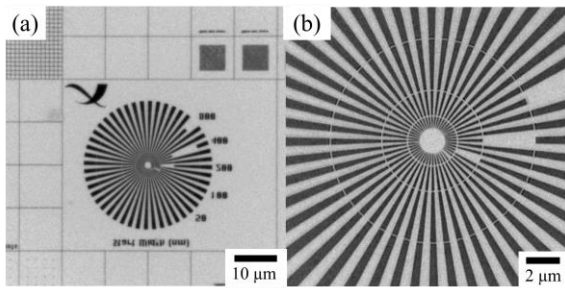


図 1: テストチャートの X 線顕微鏡像 (吸収コントラスト像)。LFOV モード (a)、HRES モード (b)。[8]

表 1: Lau 干渉計用 X 線格子と配置のパラメーター [8]

吸収格子 ピッチ (μm)	位相格子 ピッチ (μm)	大視野モード			
		a (mm)	b (mm)	c (mm)	d (mm)
3.0	2.4	136.7	113.2	19.4	559
吸収格子 ピッチ (μm)	位相格子 ピッチ (μm)	高分解能モード			
		a (mm)	b (mm)	c (mm)	d (mm)
3.0	2.9	36.0	36.2	28.3	677

図 2 に光学系の概要を示す。吸収格子を試料上流側に FZP より距離 a の位置に配置すると、FZP より下流の距離 b の場所で吸収格子像が結像される。これを光源アレイとして、そこから距離 c 離れた位置に配置した位相格子の拡大自己像を像面で形成する、Lau 干渉計を構築した。格子及び配置のパラメーターを表 1 に示す。LFOV モードにおいて顕微鏡像面で観察された拡大自己像を図 3 に示す。縞模様の鮮明度は 0.6 程度を達成しており、干渉計として良好に機能する。顕微鏡物面に試料を置くと試料拡大像が像面に重なり、試料の位相変化に応じ歪みが自己像に生じる。この歪みは自己像の位相を変化させる縞走査測定を行うことにより抽出され、試料の位相シフトが検出できる。

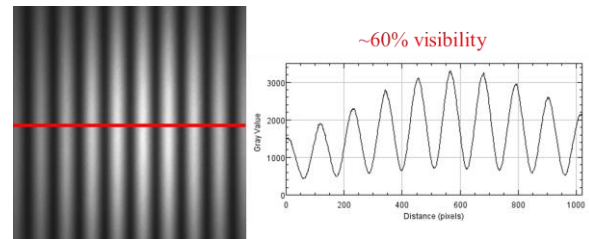


図 3: 像面で得られた拡大自己像 (左) 及び、画像中央部赤線に沿った強度プロファイル (右)。

ツイン位相像

X 線格子干渉計において、縞走査測定により得られる像は試料の微分位相であることが多い。これは、位相格子による回折 (主に ± 1 次) により位相反転

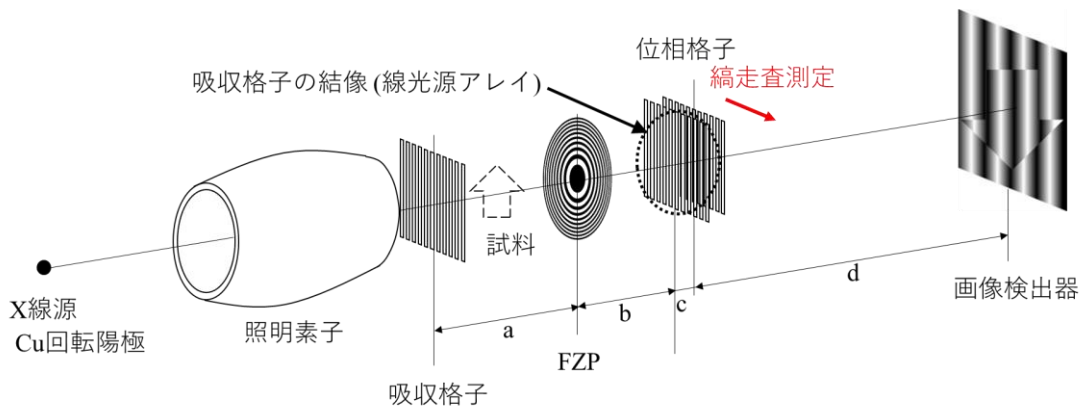


図 2: X 線位相トモグラフィ顕微鏡の光学系概要

した試料像が分離し、検出面で重なるためである。位相格子と検出器が近い場合、その分離距離が検出器の空間分解能程度がそれ以下となり、重なった像は微分位相像として取り扱うことができる。本光学系の場合、位相格子と像面との距離が離れているため位相格子で回折した像は像面で大きく分離する。この場合、得られる像は反転したコントラストの試料位相像がその分離距離離れて重なり合う、ツイン位相像となる。

図4に本光学系を用いて得られたツイン位相像を示す。試料は図1(b)で示したものと同一テストチャートである。HRESモードでの撮影により、50 nmの構造を解像しており、Lau干渉計による顕微鏡分解能への影響はない。

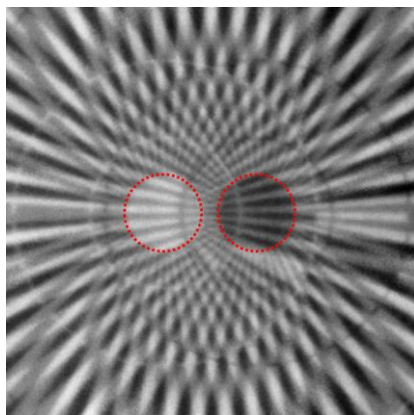


図4：テストチャートのツイン位相像（HRESモード）。赤点線に沿った構造は50 nmのライン&スペース。[9]

Zernike 位相差法との比較[9]

試料が単離して、大きさがツイン位相像の分離長より小さい場合、ツイン位相像で観測される試料像は重ならず、そのコントラストは試料の位相変化量に応じる。この位相検出感度を検証するため、顕微鏡 800 Ultra のオプションとして搭載される Zernike 位相差 (ZPC) 法との比較を行った。この ZPC 法では、照明系を専用のコンデンサーに切り替え、FZP の後焦点にリング状の位相板を挿入するが、同じ光源、FZP、光学倍率で両者の比較が可能である。試料にツイン位相像の分離長より小さい、サイズの異なるポリスチレン球（ほぼ位相物体）を用い、同

じ撮影時間で取得した結果を図5に示す。ZPC 像では手法に特有の構造のエッジ部分を強調するコントラストが観察される。ツイン位相像では、位相変化の定量計測が高い精度でできている。

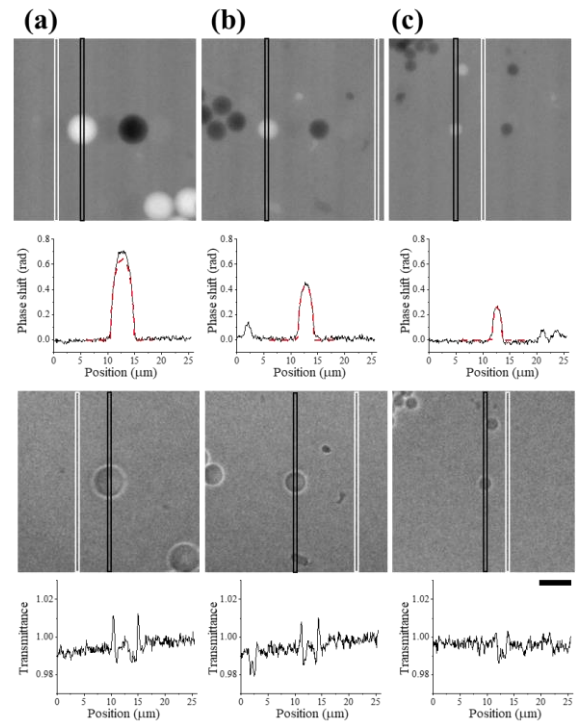


図5：ポリスチレン球のツイン位相像(上)とZPC像(下)。どちらもLFOVモードで撮影。ポリスチレン球の直径は(a):4.36 ミクロン、(b):2.93 ミクロン、(c):1.80 ミクロン（いずれも実測値）。それぞれの画像下のグラフは、画像中黒線内の縦方向強度プロファイル（横方向8ピクセル平均）を示している。ツイン位相像のプロファイルで表示している赤線は、理論的な位相プロファイル。スケールバー：5 ミクロン。[9]

表2：ツイン位相像とZPC像のS/N比の比較。上段はLFOVモード、下段はHRESモードの各撮影から得られた結果を示す。GI:ツイン位相差像。[9]

Diameter of sphere (μm)	1.80	2.93	4.36
LFOV-GI	12.9	20.0	30.1
LFOV-ZPC	3.6	5.1	5.3
SNR(GI)/SNR(ZPC):LFOV	3.6	3.9	5.7
HRES-GI	4.7	6.1	8.1
HRES-ZPC	2.6	3.2	3.1
SNR(GI)/SNR(ZPC):HRES	1.8	1.9	2.6

両手法を定量比較するため、画像のS/N比の評価

を行った。信号の大きさはツイン位相像ではプロファイルの最大値、ZPC 像では二点ある最大値と最小値の平均の差とし、ノイズの大きさは画像白線で示した領域内値ばらつきの標準偏差とした。表 2 に得られた結果を示す。全体的にツイン位相像が優れた S/N を示し、特に LFOV モードにおける優位性が高い結果が得られた。但し、ZPC 像において最も高い感度を示す構造サイズはこの測定で用いた試料構造よりかなり小さい (ZPC 像のエッジ強調でみられる縁取りの大きさ程度) であるため、試料構造によっては ZPC 差が高い感度を示すことに注意したい。

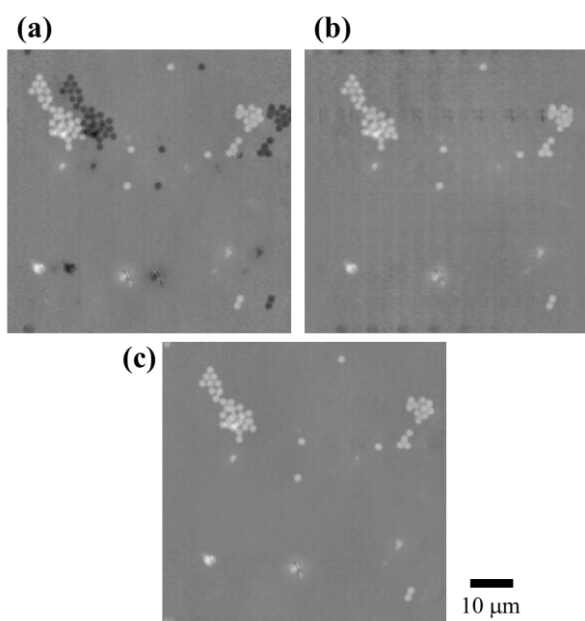


図 6: ポリスチレン球 (直径 2 ミクロン) のツイン位相像 (a)、デコンボリューションによる位相像 (b)、繰り返し演算アルゴリズムにより得られた位相像 (c)。LFOV モードで撮影。画像の濃度スケールは $-0.6 \text{ radian} \sim +0.6 \text{ radian}$ 。

デコンボリューションによる位相像の回復

ツイン位相像では、試料構造が大きい場合に像が重なる。この像が試料位相分布と分離長離れた正負の点像分布関数とのコンボリューションであると考えれば、デコンボリューションにより位相像を得ることができる。図 6 にポリスチレン球のツイン位相像 (a) と高次回折の影響も考慮して最適化した関数でデコンボリューションした結果 (b) を示す。ノイズ

や周期的なアーチファクトの影響が大きい、これはフーリエ空間で除算を行うデコンボリューション演算の特性である。これらの影響を低減するため、繰り返し演算を利用したアルゴリズムを開発した [10]。開発したアルゴリズムで得られた位相像を図 6 (c) に示す。アーチファクトが低減され、ノイズにおいてもツイン位相像に比べて高い S/N 比が得られた。このアルゴリズムによる空間分解能の劣化は無く、複雑な構造を有し、重なりのある大きな画像についても良好に機能することを確認している [10]。

位相トモグラフィへの応用

定量性の高い試料位相像計測は、位相 CT へ応用可能である。図 7 にプラスチックの極細繊維にポリスチレン球を付着させた試料の位相 CT 像を示す。測定条件は、露光時間 24 sec × 縞走査 5 step × 投影数 360 である。バックグラウンド (試料無し) 撮影等を含めた総計測時間は約 16 時間であるが、高分解能 X 線位相 CT を実験室で実現できた。

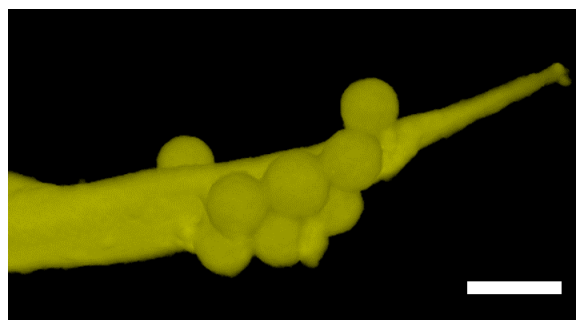


図 7: プラスチック繊維に付着させたポリスチレン球 (直径 3 ミクロン) の位相 CT 像 (ボリュームレンダリング)。スケールバー: 5 ミクロン。

今後の展開

実用的な空間分解能と感度を有する三次元内部計測を実験室で実現するため、X 線位相トモグラフィ顕微鏡の開発を行ってきた。結像型顕微鏡に Lau 干渉計を組み合わせた装置により、位相 CT のデモンストレーションまで漕ぎ付けた。繰り返し演算アルゴリズムにより、高感度の位相像を得ることが可能となったが、試料が視野の大きな領域を占める計測となる位相 CT 像への適用にはまだ最適化や改良が必

要である。その他、長時間測定における安定性や位相ラッピング等、実用に向けた位相 CT の画質改善のため、課題をクリアする必要がある。

本手法の実用により、これまでシンクロトロンを必要とした高分解能位相計測が実験室で可能となる。雰囲気中や応力、外因印加での測定も可能である。投影数が少ないデータを取り扱うスパース CT や、視野を超える大きさの試料を測定するインテリア CT 等、計算科学の手法を取り入れることで、測定時間の短縮や試料制約の緩和が可能であり、これらの取り組みも始めている。

装置技術において最も重要なのは、測定結果からいかに新たなサイエンスを議論できる情報を引き出せるかである。現在、複合材料や構造材料、生物試料や食品科学試料等への応用について、専門家との協議を進めており、将来的にキラーアプリケーションと結び付けられるべく、開発を進めていきたい。

謝辞

本研究は JST-ERATO 百生量子位相イメージングプロジェクト (JPMJER1403) の助成を受けて行われ、東北大多元研の百生敦研究統括、橋本康特任講師、呉彦霖助教、KEK 物構研の永谷幸則特別准教授が主な共同研究者である。また、本装置の Zernike 位相差顕微鏡法との比較研究は Carl Zeiss X-Ray Microscopy Inc. との共同研究として行われた。

引用文献

- [1] H. Talbot, *Philos. Mag.* **9** (1836) 401.
- [2] A. Momose *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **42** (2003) L866.
- [3] F. Pfeiffer *et al.*, *Nat. Phys.* **2** (2006) 258.
- [4] Y. Takeda *et al.*, *Appl. Phys. Express* **1** (2008) 117002.
- [5] W. Yashiro *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **103** (2009) 180801.
- [6] H. Kuwabara *et al.*, *Appl. Phys. Express* **4** (2011) 062502.
- [7] [https://www.zeiss.co.jp/microscopy/products/x-](https://www.zeiss.co.jp/microscopy/products/x-ray-microscopy/zeiss-xradia-800-ultra.html)

[ray-microscopy/zeiss-xradia-800-ultra.html](https://www.zeiss.co.jp/microscopy/products/x-ray-microscopy/zeiss-xradia-800-ultra.html)

- [8] H. Takano *et al.*, *Proc. SPIE* **10391** (2017) 1039110.
- [9] H. Takano *et al.*, *Appl. Phys. Lett.* **113** (2018) 063105.
- [10] H. Takano *et al.*, submitted.

会議報告「第 32 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム」

高輝度光科学研究センター 小山貴久

1月9日～11日にかけて第32回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウムが福岡国際会議場で開催された。本会議は放射光をキーワードとして光源、ビームライン、光学系、検出器、利用技術、応用研究、放射光利用エンドユーザーの成果まで幅広い分野をカバーした会議である。各放射光施設が運転停止期間である1月初旬に毎年開催されている。初日は午後開始のシングルセッションで、特別講演1件、学会総会、放射光科学賞受賞講演1件、学会奨励賞受賞講演3件が行われた。2日目、3日目は5～6つのパラレルセッションで行われた。内容は、口頭発表として招待講演10件、一般講演116件、ポスター発表は一般225件、施設報告20件、これらと並行して、特別企画公演1セッション、企画公演4セッションが行われた。筆者は主にビームライン、イメージング、XFELのセッションに参加したので、その報告を行う。

位相イメージング関連では、東北大学の百生氏から回折格子干渉計と高速CTとを組み合わせるポリマー材料のレーザー加熱の様子を観察した結果が報告された。SPring-8 BL28B2でW/Si多層膜ミラーを用いバンド幅10%程度のピンクビーム(X線のエネルギー25 keV)で試料を照明する。PMMA樹脂や炭素繊維強化樹脂にレーザー照射加熱を行い、試料が熔融しバブリングしている様子を視野50 mm×5 mmで三次元観察した結果が報告された。

同グループの呉氏(東北大)から回折格子干渉計とゾーンプレート(ZP)の拡大結像光学系を組み合わせた高分解能かつ比較的広い視野で骨の軟組織を観察した報告があった。これはSPring-8 BL37XUにおいて、試料と直径の大きなZPを上流側の実験ハッチに配置し画像検出器を下流側の実験ハッチに配置することで、視野と拡大倍率を大きくとったもので

ある。骨の軟組織を分解能600 nm、視野400 μmで観察した結果が報告された。

日立製作所の米山氏から分離型結晶干渉計を3Dサーモグラフィーに応用した結果が報告された。これは試料の温度変化を密度変化として捉えるものである。PF BL14Cに設置された分離型結晶干渉計の密度分解能は0.5 mg/cm³と高感度であり、ヒーターで加熱された液体試料(水、オイル)の三次元温度分布を温度分解能2°Cで観察した結果が報告された。ZPを用いた顕微鏡開発として、武市氏(KEK-PF)からXAFS CTを行った結果が報告された。PF-AR NW2AのX線顕微鏡装置はXradia Ultraベースでエネルギー範囲5～11 keV、二次元で50 nmの分解能を達成している。試料としてセラミックスコーティング材(Yb-Si-O系)を用い8980 eV付近においてXAFS CTを行い、生データから3値化のセグメンテーションを行うことにより価数の異なる材料の海領域、島領域およびポイドに分けられた構造として観察した結果が示された。同グループの渡邊氏(KEK 物構研)から、この顕微鏡装置に位相リングを組み込んだ位相差顕微鏡により、作製条件の異なる炭素繊維強化樹脂について荷重試験を行い、き裂の進展の様子をCT観察した結果が報告された。

ZP素子の新規提案として籠島氏(兵庫県立大)からPositive、Negative、Composite構造を組み合わせたディープフォーカスZPについて、ビームサイズ、焦点深度のシミュレーションを行った結果が報告された。空間分解能はあまり悪化させずに焦点深度を2倍にできることが示された。

コヒーレント回折イメージング関連では、下村氏(阪大院工)からマルチスライスタイコグラフィーと逐次近似再構成法を組み合わせたアルゴリズムを開発し、多層配線回路の3次元観察に適用した結果

が報告された。試料角度 ± 5 度(121投影)、 5×5 タイコグラフィースキャン、4マルチスライスで面内分解能12 nm、光軸方向分解能240 nmが報告された。広瀬氏(阪大院工)からタイコグラフィーEXAFSが報告された。MnO粒子を試料として用いタイコグラフィーで196点のエネルギーをスキャンを行い、 48×48 nm²領域の動径分布関数を導出し結合長を求めた結果が示された。測定時間は3日かかるということであったが、これを短縮するため限られたデータ点からEXAFSスペクトルを推定するアルゴリズムの改良を行うことで10点のエネルギーをスキャン、測定時間5 h程度に短縮できるとのことであった。東野氏(阪大院工)から非孤立物体をワンショットで位相回復することを目指して試料の照明を工夫した試みが報告された。ランダムアレイPtピラーを試料上流に配置し、回折強度パターン上でホログラムを形成することで試料像の再構成条件が緩和されるとのことであった。実験データからの像再生はまだ解析途中であったが、これが実現できれば試料調整や照明光の制限がかなり緩和され利用研究が大きく進展するものと期待される。

ホログラフィー関連では、鈴木氏(東大新領域)からナイフエッジを直交配置し疑似的に無限小点光源からの球面波を形成しGabor型の拡大投影ホログラフィーを行った結果が報告された。露光時間10 sでテストパターンのホログラムを取得し再構成像から分解能100 nm程度が示された。また、蛍光X線ホログラフィーでは、細川氏(熊本大)から温度変化によりYb³⁺とYb²⁺の割合が変化する価数揺動物質であるYbInCu₄の原子イメージを行った結果が報告された。

高精度ミラー開発関連では、竹尾氏(東京大学工)から回転楕円ミラーの評価についての報告があった。SPRING-8 BL25SUにおいて評価対象の回転楕円ミラーにより集光したビームを試料に照明する。タイコグラフィーにより試料と集光ビームの複素振幅を求めた上でミラー形状を評価するものである。再構成された試料像の分解能は300、400、500 eVで30 nm、1000 eVで100 nmであった。求めたミラー表面形状

誤差は ± 20 nmとのことであった。

回転楕円ミラーを用いた他の報告では、非磁性材料のCuで回転楕円ミラーを作製した結果と、それを使用しSACLA SXFELで磁性材料の観察に応用した例が報告された。

山田氏(阪大院工)から4枚の凹面、凸面を組み合わせた結像ミラーを用いた試料の高分解能観察結果が報告された。Wolter I型とIII型を組み合わせたハイブリッド型のAdvanced KB配置であり、鉛直方向結像ミラーはWolter I型で楕円・双曲面が一つの基板に形成された一体型である。水平方向結像ミラーはWolter III型で楕円・双曲面が分離型でそれぞれの基板を土台に接着したものであった。鉛直・水平ともに拡大倍率43倍である。平行照明配置で露光時間30 s、15 keVのX線で50 nm Line & Spaceパターンを解像。視野15 μ mで33.5 h以上安定しているとのことであった。色収差を確認した結果では9~15 keVで像質が変わらない結果が示された。さらにマウス耳小骨試料のCT観察を行った結果や高空間分解能化のためにW/Si多層膜でテストした結果も示された。

形状可変ミラーを使用したズームコンデンサーの開発状況の報告があった。これは虚像の焦点を共有した双曲・楕円面を利用することでコンパクトな光学系の設計ができるとのことであった。また、結像ミラーの評価として回折格子干渉計による波面計測結果とタイコグラフィーによる計測結果を比較した報告があった。XFEL用集光ミラーの高精度アライメント手法では、集光点付近に配置した微粒子のスペクトルを観察することでミラーの高精度アライメントが可能であることが報告された。

XFEL関連では、井上氏(理研)から蛍光X線の強度干渉を利用したXFELのパルス幅測定を行った結果が報告された。この手法は加速器の電子ビームパラメータを仮定する必要が無く、恣意性を排除した評価ができるとのことであった。測定したSACLAのXFELパルス幅は12 keVにおいて8 fsであることが示された。なお、井上氏は今回学会奨励賞を受賞した一人であり、今後の活躍が期待される。また、招

待講演として理研の玉作氏から 2 光子過程による X 線非線形分光の発表があった。

同一試料の施設間測定のために大気非暴露で測定可能な試料輸送システム開発の報告があった。先日(2/22)、小惑星探査機「はやぶさ2」が小惑星「リュウグウ」へタッチダウンし、試料の採取を実施したというニュースがあった。このような大気や有機物の汚染を嫌う試料の分析を、離れた施設間で実施するためには、大気非暴露試料輸送システムの開発は必要不可欠である。これまでグローブボックス内で試料をそれぞれの装置専用のホルダーに取り付けていたものを共通の試料輸送コンテナと試料ホルダーで受け渡しを行うことにより迅速に分析を行うことができる。

昼食の時間帯にはランチョンセミナーが4件開催された。その中で浜松ホトニクス株式会社の高耐久性単結晶蛍光面に関するセミナーに参加したので紹介する。前半で上杉氏(JASRI)からSPring-8で蛍光面を評価した結果が報告され、後半で浜松ホトニクス社から製造法や製品ラインナップが紹介された。蛍光面の材質はLuAG、GAGG単結晶であり、これら単結晶を10~100 μmに薄片化しアモルファスカーボン基板上に直接接合させたものである。通常は接着剤を使用し基板上に貼り付けるか、薄片化した結晶をフレームに取り付けるが、高密度X線を照射した場合、接着層にダメージが入ってしまうか熱応力により歪んでしまう。直接接合したものは接着材を使用したものに比べて耐久性は20倍以上とのことであった。なお、価格は約5倍とのことであった。

会場の様子を図1に示す。初日と企画公演等はメインホールで、口頭発表は各会議室で行われた。2日目の夜には懇親会が会場隣の福岡サンパレスで行われた。図2の写真は懇親会の様子である。懇親会では博多ラーメンや鉄板餃子、モツ鍋などの専門店屋台が出店され盛況であった。

次回は2020年1月にウイנקあいちで開催される予定である。



図1. 会場の様子



図2. 懇親会の様子



編集部より

今回、新たに編集を担当させていただきました、東北大学の高野秀和と申します。諸般の事情により発行が遅れましたことをお詫び申し上げます。専門の X 線顕微鏡関連に関する話題について提供させていただきましたが、こちらも諸般の事情により編集自ら筆を執る事となり、格子干渉計特集になってしまいました。昨夏に開催された X 線顕微鏡国際会議 (XRM2018) の会議報告も載せるべきと検討しましたが、タイミングを逃してしまい掲載できませんでした。放射光学会誌 (Vol. 22, No. 1) に私が寄稿したものがありますので、そちらをご参照ください。今後も本誌のご支援・ご協力をよろしくお願い申し上げます。

(文責・高野秀和)

【第十五回 X 線結像光学シンポジウム開催のご案内】

次回の X 線結像光学シンポジウムが下記の通り開催されます。今年の 10/20-10/24 に仙台国際センターにて開催する “International Conference on X-ray and Neutron Phase Imaging with Gratings (XNPiG2019)” : <https://www.xnpig2019.com> のサテライトミーティングとしての位置付けとなり、国際シンポジウムとして開催します。

記

会議名 : 15th symposium of Japanese Research Community on X-Ray Imaging Optics (XIO2019)
会期 : 令和元年 10 月 25 日 (金) ~26 日 (土)
場所 : トラストシティカンファレンス・仙台
URL : <http://mm1.tagen.tohoku.ac.jp/xio2019/index.html>.

以上

【メーリングリスト (登録メールアドレスの変更などについて)】

本ニュースレターは原則、メーリングリスト (xio-nl@prec.eng.osaka-u.ac.jp) によるメール配信となっております。メールアドレス変更などの際には、お手数ですが、編集部 (xioedit@prec.eng.osaka-u.ac.jp) までご連絡ください。メーリングリストは、研究会のお知らせなど、会員全員に情報を配信したいときなどにも便利なので、積極的にご活用ください。

X 線結像光学ニュースレター
No. 49 (2019 年 6 月)

発行 X 線結像光学研究会
(代表 兵庫県立大学 籠島靖)
編集部 山内和人 (大阪大)、齋藤彰 (大阪大)、矢代航 (東北大)、
松本浩典 (名古屋大)、東口武史 (宇都宮大)、
高野秀和 (東北大)
E-mail: xioedit@prec.eng.osaka-u.ac.jp

『令和元年度 X 線結像光学研究会運営組織』

- ・ 代表者 : 竈島 靖 (兵庫県立大)
- ・ 事務局担当者 : 高山 裕貴 (兵庫県立大)
- ・ 編集局責任者 : 山内 和人 (大阪大)
- ・ 編集局委員 :
齋藤 彰 (大阪大), 矢代 航 (東北大), 松本 浩典 (名古屋大),
東口 武史 (宇都宮大), 竈島 靖 (兵庫県立大), 豊田 光紀 (東京工芸大)
高野 秀和 (東北大)
- ・ 幹事 :
伊藤 敦 (東海大), 太田 俊明 (立命館大), 大東 琢治 (分子研),
竈島 靖 (兵庫県立大), 加道 雅孝 (原研), 木下 博雄 (兵庫県立大),
國枝 秀世 (名古屋大), 鈴木 芳生 (東京大), 竹内 晃久 (JASRI),
田原 謙 (名古屋大), 常深 博 (大阪大), 難波 義治 (中部大),
西野 吉則 (北海道大), 西村 博明 (大阪大), 羽多野 忠 (東北大),
兵藤 一行 (KEK), 牧村 哲也 (筑波大), 百生 敦 (東北大),
森田 繁 (核融合研), 矢橋 牧名 (理研), 山内 和人 (大阪大),
渡辺 紀生 (筑波大)
- ・ 特別顧問 :
波岡 武 (東北大名誉教授), 青木 貞雄 (筑波大名誉教授), 柳原 美廣 (東北大)