

小角 X 線散乱と Cryo-TEM を用いた物性測定と非経験的粗視化シミュレーションによる脂質膜構成メカニズムの解明

○新庄 永治¹、奥脇 弘次²、土居 英男²、望月 祐志^{2,3}、古石 誉之¹、
福澤 薫^{1,3}、米持 悦生¹

¹星薬大薬、²立教大理、³東大生研

【背景・目的】 ドラッグ・デリバリー・システムにおけるナノ微粒子設計の効率化のために、分子シミュレーションによる物性予測や原子レベルでのメカニズム解明が望まれている。本研究では、散逸粒子動力学 (DPD) シミュレーションによって、小角 X 線散乱 (SAXS) および透過型電子顕微鏡 (Cryo-TEM) の実験結果を再現し、シミュレーション結果の可視化により詳細な脂質膜微細構造の解明を目的とした。

【方法】 モデル脂質としてリン脂質の DPPC 及び DOPC、正電荷脂質の DOTAP を用いた。また、薄膜法により組成比が DOTAP/(DPPC+DOTAP) (%) = 0 から 100% となるようにベシクルを調製した。DPD シミュレーションに用いる相互作用パラメータは、フラグメント分子軌道 (FMO) 法 を用いて高精度に算定した (FMO-DPD 法)

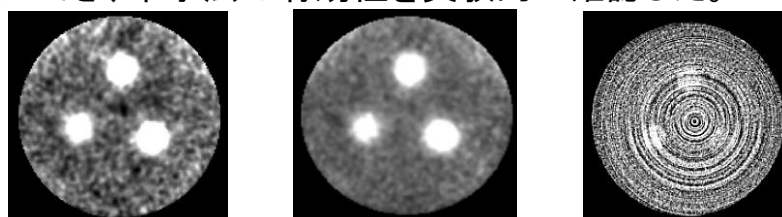
【結果】 最初に FMO-DPD シミュレーションによって脂質単成分の膜面積を算出したところ、DPPC では $67.8 \text{ \AA}^2$ 、DOPC では $69.5 \text{ \AA}^2$ であり、文献値から得られた実験値と同様の傾向であった。次に Cryo-TEM 及び SAXS によるベシクル形状の評価を行った。Cryo-TEM の結果から DPPC のベシクルは球状、DOTAP のベシクルは扁平球状であることが分かった。また、SAXS 測定より、混合脂質組成中の DOTAP の比率が増加するにつれて、ベシクルの形状は球状から扁平球状に変化しており、FMO-DPD シミュレーションでも同様の傾向を示した。また、ベシクル中の親水基頭部間の距離を SAXS によって評価した。組成比 DOTAP/(DPPC+DPPC)=50% のベシクルでは親水基頭部間距離由来のピークが単峰ではなく、DOTAP 由来のピークと DPPC 由来のピーク、二峰性のピークに分かれており、ベシクル中では DOTAP と DPPC 分子が相分離していることが示唆された。次に混合二重膜及びベシクルのシミュレーション結果の可視化を行ったところ、それぞれの分子種はクラスターを形成していた。さらに、脂質二重膜の表面形状の評価をした結果、DPPC の単成分の二重膜では表面の高さが揃っていたのに対して、DOTAP/(DPPC+DOTAP) = 50% では二重膜の中心に対して外側に DPPC 分子、内側に DOTAP 分子が配列していることが分かった。以上のように FMO-DPD 法によるベシクル形成シミュレーションによって、実験結果を定性的に再現しつつ、シミュレーション結果を可視化することでベシクルの詳細な構造解析が可能となった。

マルチピンホール蛍光 X 線 CT における画質改善 Improvement of image quality by multi-pinhole fluorescent x-ray computed tomography

○荒木啓史¹、加藤晃輝¹、大内剛¹、笹谷典太¹
砂口尚輝²、銭谷勉³、兵藤一行⁴、湯浅哲也¹

1 山形大学、2 名古屋大学、3 弘前大学、4 KEK

本研究グループでは、 ^{127}I などの非放射性造影剤を用いるピンホール蛍光 X 線 CT (FXCT: Fluorescent X-ray CT) を、治療や創薬の前臨床的研究のための小動物 in vivo イメージングへ応用することを目指している。本手法の最大の利点としては、放射性の造影剤を用いる必要がないことが挙げられる。放射性同位元素を利用する必要がないことにより、利用環境の制約が格段に緩和される。これまでに、物理ファントムや生体試料の計測を通して、サブミリメートルの空間分解能や生体に集積する造影剤濃度を計測できるに十分な濃度分解能を有することを実証してきた。現在、検出光子数を増やすため、複数のピンホールを使用するマルチピンホール型 FXCT について開発を行っている。マルチピンホール FXCT は従来のシングルピンホールに比べてより多くの光子数を検出することが可能だが、複数の投影像を用いて画像再構成を行うため、ボクセル、ピンホール、検出器画素の 3 つの位置関係を、正確に係数行列に反映させ把握しなければ、再構成画像の画質は大幅に劣化する。そこで本研究では、検出器の傾き等を考慮したキャリブレーション法を提案した。図 1 に直径 25mm の円筒アクリルファントムの再構成結果を示す。ファントムは濃度の異なるヨウ素溶液を満たした 3 つの穴を有している。(a) および (b) はそれぞれ、シングルピンホールおよび 3 ピンホールによる FXCT であり、(c) は透過 CT (TXCT: Transmission X-ray CT) である。ヨウ素濃度 0.2 mg/ml 領域での CNR を比較したところ、TXCT よりもシングルピンホールは約 18 倍、マルチピンホールは約 49 倍であった。また、生体試料を用いた撮像実験でも、TXCT では撮像できなかった 0.2 mg/ml のヨウ素濃度領域を FXCT により 3 次元的に描出することができ、本手法の有効性を実験的に確認した。



(a) FXCT (single) (b) FXCT (multi) (c) TXCT

図 1: アクリルファントム(ヨウ素濃度 0.4, 0.3, 0.2 mg/ml)の再構成画像

X線イメージング法の医学応用について X-ray imaging for medical applications at BL-14C and NE7A

兵藤一行^{1,2}、亀沢知夏^{2,1,3}、三木宏美^{2,1}、米山明男⁴、松下昌之助⁵

1 KEK・IMSS・PF、2 総研大、3 東北大、4 佐賀 LS、5 筑波技術大

現在まで、非対称反射光学素子(シリコン結晶)を用いて、得られる放射光単色X線ビームの一軸方向を幾何学的に拡大して二次元照射面を形成し、二次元X線検出器(CCD、CMOS、HARP、FPD、PILATUS)を利用して二次元動画像を得ることができる医学X線イメージングシステムの開発と応用研究をBL-14C、NE7Aで推進してきた。

BL-14Cでは、主に Diffraction enhanced imaging (DEI)、Dark field imaging (DFI)、DEI-CT、DFI-CT、干渉計によるイメージングなどの位相コントラストイメージング法を用いた研究、NE7Aでは、主に微小血管造影法などの吸収コントラストイメージング法、蛍光X線イメージング法を用いた研究が実施されている。BL-14Cは、ビームライン光学系として大型の分離型結晶干渉計の製作を考慮して、Si(220)の二結晶分光器により、15-50 keV 程度のエネルギーの単色X線を利用した医学X線イメージング応用研究が実施されている。図1に平面図を示す。実験ハッチの下流側には分離型結晶干渉計が常設されている。BL-14は、縦偏光、縦長ビームであることが特徴であり、このことにより世界最大の分離型結晶干渉計を重力に対して安定に設置できている。NE7Aは、表面をSiC(砥粒 2000 番)で研磨したSi(111)の二結晶分光器により、30-50 keV 程度のエネルギーの単色X線を利用した医学X線イメージング応用研究が実施されている。表面を研磨した光学素子を利用することで、分光結晶からの単色X線積分反射強度を数倍程度向上させることが実現できている。両実験ステーションで実施されている高エネルギーX線による数 cm 程度の大きさの試料を対象としたX線イメージング法の医学応用に関して現状を報告する。

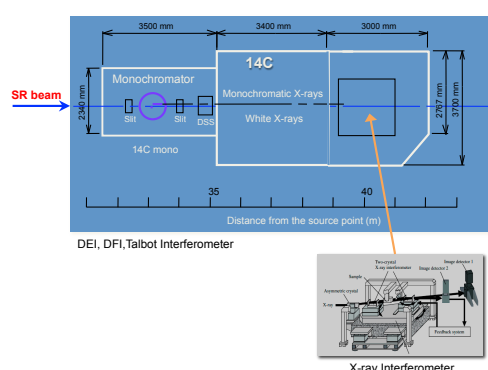


図1. BL-14C 平面図

屈折コントラスト CT を用いた 非浸潤性乳管癌篩状構造の観察

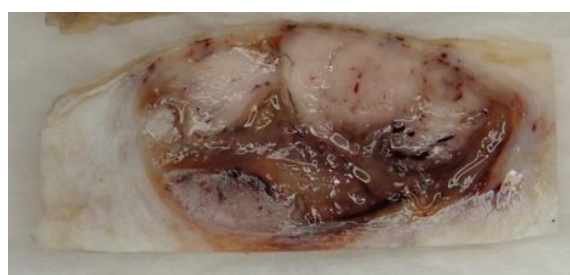
3-D Visualization of cribriform pattern in ductal carcinoma in situ using refraction-contrast computed tomography

砂口尚輝・名古屋大学, 黄 卓然・名古屋大学, 島雄大介・北海道科学大学,
市原周・名古屋医療センター, 西村理恵子・名古屋医療センター, 湯浅哲也・
山形大学, 安藤正海・総合科学研究機構

病理形態学の源泉は、ミクロームにより数ミクロンに薄切された人体組織の平面像である。これまで 2 次元組織像で得られてきた膨大な形態学情報により、今日の病理診断における正常組織、良性腫瘍、悪性腫瘍の鑑別が行なわれる。一方で、乳腺非浸潤癌における篩状構造や微小乳頭状構造など平面では見分けが付きにくい構造も多数あり、近年では 3 次元的な観察の重要性が指摘されている。しかし、現在、病理組織レベルの 3 次元像を再構築するための体系的方法が確立されておらず、3 次元組織像に関する情報は 2 次元組織像に比べて極端に乏しい。

我々のグループでは、高感度・高空間分解能を特徴とする X 線暗視野法に基づく屈折コントラスト CT を用いて、様々な生体組織を撮像し、3 次元組織像に関する形態学的情報を収集している。その中でも、本研究では、非浸潤性乳管癌(DCIS)の篩状構造に着目し、癌組織に存在する腺腔の 3 次元構造を可視化し解析する。

図 1 は、PF-BL14B で撮影された非浸潤性乳管癌試料(a)およびその屈折コントラスト CT の 1 断面である。図1(b) 状の破線は乳管を表しており、その内部の濃いグレーの領域は乳管内に増殖した乳癌組織である。その内部存在する黒い孔が腺腔である。この腺腔を 3 次的に観察したところ、それぞれの腺腔は互いに繋がっておらず独立であった。DCIS で生じる腺腔は、3 次元的に見ると互いに独立という報告があり、それを世界で初めて CT を用いて確認できた。



(a)



(b)

図1 (a)非浸潤性乳管癌試料, (b)屈折コントラスト CT