

4 核磁気共鳴によるイメージング

核磁気共鳴画像法 (MRI) は、強力磁石を用いて生体中の水素原子核に強い高周波を照射して、放出される高周波を受信することによるイメージングである。CTと同様に、MRIは生体スライスのような二次元の画像を生成するため、トモグラフィーである。昨今、複数の二次元画像から合成や三次元イメージを生成することも行われている。生体微量元素研究のイメージングの観点からMRIの利用を考えると生体微量元素の反応によって起こされる水分子のダイナミクス変化を評価する以外に、MRI用造影剤の利用や緩和時間の測定による金属元素の集積性を見ることも可能である。本稿では、詳しい原理や詳細な装置の説明は優れた総説などに譲り、ミネラルイメージングの観点から概説したい。

4.1 MRIの画像と測定

MRIは、生体中に含まれる水や脂肪の水素原子核由来の核スピンの用いて、画像を再構成している。 ^1H 以外の原子核 ^{13}C 、 ^{23}Na 、 ^{31}P なども同様にMRIで画像を得ることもできる。しかし、これらの原子核の検出感度は、 ^1H に比べはるかに低くなる。MRIにおける画像をつくる主要な要素は、各画素を構成する領域の観測スピン密度、緩和時間、拡散などの分子レベルにおけるスピンの状態や挙動である。MRI画像の画素当たりの強度は、その領域のスピン密度に比例する。緩和時間は、磁場で励起された核スピンの熱平衡状態へと戻る過程を表す時定数であり、スピンの属する分子の運動性や磁場環境を反映する。緩和時間には縦緩和時間 (T1) と横緩和時間 (T2) がある。T1はRFパルスによって励起されたスピンの熱平衡状態に戻る過程の時定数であり、T2は横磁化を構成する各スピン間の位相の時間依存的ずれであり、横磁化の強度減衰過程の時定数である。生体中では臓器や組織の構造や状態が各々の緩和時間を変化させ、その緩和時間の違いを画像のコントラストとしてイメージングできる。また、核スピンの属する分子の環境の粘性や運動異方性、分子の拡散係数もMRI画像に反映される。通常のMRI画像は、これらすべての環境を反映するが、撮像方法の選択によってどれか1つの因子を強調した画像を得ることができる。例えばT1値を反映させた画像はT1強調画像といい、T1値によるコントラストが最も強い画像である。このように強調したいパラメータを選択することにより、特定の組織や腫瘍細胞などを強調したイメージングを得ることができる。また、拡散係数の違いや物質のダイナミクスをイメージングすることもできる。

4.2 MRIによる生体計測

現在汎用されているMRIは、その測定対象や装置が多岐にわたっている。一概にその能力を

示すことはできないが、汎用される MRI を用いた生体計測についてご紹介しよう。

・時間分解能

MRI 本体のハードウェアやその計測アルゴリズムの開発によって、現在では数十ミリ秒オーダーでの超高速撮像が市販品で行えるようになった。脳科学研究で利用される fMRI (functional MRI) がよく知られているが、リアルタイム計測が可能な高い時間分解能が求められる研究で超高速撮像が用いられている。また、植物を用いた長時間にわたる連続観察も行われている。

・空間分解能

空間分解能は勾配磁場の強度、観測領域の設定とデータポイント数に依存する。実験動物の研究用に開発・市販されている高分解能な MRI 装置 (MR 顕微鏡, MRM: MR microscope と呼ばれる) を使った場合、生物試料の測定における実質的な最高分解能は $10\mu\text{m}$ 程度といわれている。蛍光タンパク質などを使った蛍光イメージングでは、試料の可視光透過性により観測できる深度に限界があるが、MRI ではその限界はない。

・コントラスト試薬・造影剤

MRI 撮像の際、そのままでは十分な画像コントラストが得られないことがある。このような場合、MRI 画像にコントラストを付与したり、強調したりする試薬を生体内に投与することがある。これらはコントラスト試薬、造影剤とよばれる。その効果は緩和時間の変調であり、T1 を短縮させる陽性造影剤と T2 を短縮させる陰性造影剤がある。陽性造影剤には Gd のほか、Mn、Fe の錯体があり、陰性造影剤は酸化鉄微粒子を主体とする SPIO (superparamagnetic iron oxide)、MION (monocrystalline iron oxide nanoparticles) などが知られている。

4.3 MRI の実際

近年、MRI 撮像は、生体構造の画像を得るだけにとどまらず、生体内反応をリアルタイムに MRI 画像に反映させ、生物学的に有益な情報を得るため、遺伝子導入や分子細胞生物学などの既存手法を組み合わせた研究が増えている。ここでは、最近報告された研究をいくつか紹介したい。

4.3.1 トランスフェリンレセプター遺伝子発現のイメージング

2000 年に Weissleder らのグループは、トランスフェリン受容体の遺伝子発現をイメージングすることに成功した³³⁾。トランスフェリンはトランスフェリン受容体を介して細胞内に取り込まれるが、野生型トランスフェリン受容体は、細胞中の鉄濃度によりその発現量を制御されている。彼らは発現量抑制が少ない変異トランスフェリン受容体遺伝子を腫瘍細胞に導入し、これにより、遺伝子導入後のトランスフェリン受容体発現量を通常の 5 倍以上とした。この腫瘍細胞をマウスに移植し、T2 短縮効果のある陰性造影剤の MION を結合したトランスフェリンをこのマウ

スに静脈注射し、24時間後にMRI測定を行った。この結果、トランスフェリン-MIONはトランスフェリン受容体を発現した腫瘍細胞に蓄積され、その部分のT2が有意に変化した。さらに、T2強調MRIシグナルの強度はトランスフェリン受容体のmRNAとよく相関することを示した。

4.3.2 β -ガラクトシダーゼのイメージング

2000年にLouieらのグループは、MRI陽性造影剤のGdを用い、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子(*lacZ*)の発現を*in vivo*イメージングした³⁴⁾。Gdは近傍に位置する¹Hの緩和時間を短縮することでその効果を発揮するが、単体では毒性を有するので、錯体化合物が使用されている。Louieらは、Gd錯体を糖でコーティングしたEgadMeを初期胚2細胞期のアフリカツメガエルの卵にマイクロインジェクションし、そのうち1グループの細胞に*lacZ*のmRNAを導入した。その後、成長に伴い細胞分裂をくりかえすことで、EgadMeは全細胞に分布するのに対し、*lacZ*は体の片側にのみ発現することを示した。体長約3mmまで成長した胚においてT1強調MRI画像を撮像したところ、*lacZ*が発現している部分はT1短縮効果によってMRIシグナルが増大し、*lacZ*のない部分と顕著に区別可能となった。

4.3.3 細胞障害性T細胞を使った腫瘍細胞イメージング

腫瘍抗原に特異的な細胞障害性T細胞(CTL: cytotoxic T lymphocyte)を使った細胞療法において、その効果や抗腫瘍活性の評価を行うため、CTL動態を*in vivo*でイメージングする方法が重要視されている。2003年にKircherらのグループは、CTL(CD8+T細胞)のマウス体内のダイナミクスをイメージングした³⁵⁾。彼らは¹HのT2を短縮する陰性造影剤として、強磁性ナノ粒子(酸化鉄)誘導体(CLIO-HD)をCTLに取り込ませてMR標識し、大腿部に黒色腫をもつマウスにこの標識CTLを腹腔内注射した。そのT2強調MRIにより、リアルタイムイメージングを行った。

4.4 今後の展望

MRIの欠点は、蛍光などの光イメージングに比べて感度をはるかに低いことである。これは、NMRの原理的な問題であり、飛躍的な感度の向上のためには大きなブレイクスルーが必要であろう。近年、励起されるスピン数を数万倍にする超偏極技術が進捗しているが、超偏極Xeガスによる肺の画像診断や超偏極¹³C化合物による血管や腫瘍の画像化が試みられている³⁶⁾。また、新しいMRIとして、AFM(atomic force microscopy)とNMRを融合させたMRFM(magnetic resonance force microscopy)が考案され、今後の発展が期待される。

5 粒子線励起 X 線放出 PIXE と放射光によるイメージング

種々の加速器による高エネルギーイオンビームを利用した分析手法は、材料物性や固体物理学の研究分野で盛んに行われてきた。その利用には加速器のある施設という物理的制約があるものの、近年、この手法の高感度性を利用し、環境科学や医学、生物学分野にわたる広範な応用研究が見られるようになってきた。これらの手法は ppm から、場合によっては ppt オーダーの感度で定量分析が可能であり、その分解能も数～数百オングストロームレベルの深度で観測できる。また、1997年に兵庫県播磨科学公園都市に建設された大型放射光施設 SPring-8 (Super Photon ring の略と加速エネルギーが 80 億電子ボルト (8 GeV) を意味する 8 を表している) や各地の加速器施設のイオンビームを利用した加速器質量分析法による微量元素分析や PIXE (Particle Induced X-ray Emission, 粒子線励起 X 線放出)、マイクロ PIXE などによる微量元素分析が積極的に研究に用いられている^{37, 38)}。本稿ではこれら加速器を用いたミネラルのイメージングに関して概説したい。

5.1 PIXE とイメージング

PIXE は 1970 年代から始まった元素分析法であり、その原理は、荷電粒子と原子との衝突によって発生する特性 X 線を測定して元素分析を行う手法である。荷電粒子は、陽子が主に使用されるが、これは、特性 X 線を強く出し、照射による試料の損傷が小さいためである。X 線の発生源は、静電加速器やサイクロトロンなどを用い、陽子を数 MeV 程度に加速して試料に当て、その軌道のエネルギー差を X 線として電子が放出され (K-X 線 (特性 X 線))、これを測定する。PIXE は S/N 比が EPMA (Electron Probe Micro Analysis: 電子線マイクロアナライザ) や XRF (X-Ray Fluorescence: 蛍光 X 線) 分析に比べよいことや分析に要する試料が数 mg 程度で、条件によっては 100 μ g でも分析可能であるといった特徴がある。さらに、最近の研究開発により、試料中の複数元素に対して平面分布を測定することも可能になってきた。また、標準物質を用いた規格化により正確な定量を行うことができるのもその特徴である。分析システムは、加速器 (試料に照射する陽子線や He イオンなどの発生装置) と Si(Li) 検出器との組み合わせによる方法が一般的である。粒子線は電子線と異なり制動放射 X 線によるバックグラウンドが非常に低く、高感度である。また、Si(Li) 検出器は多元素同時分析が可能なので、高感度分析に威力を発揮する。分析したい元素の濃度で 10^{-7} g/g、試料で μ g 程度の微量分析が可能とされている。また、試料が厚いものや未知成分の試料は PIXE に適している。

昨今は、粒子ビームを 1 μ m 以下にフォーカスしたマイクロビームを用いたマイクロ PIXE が開発され、細胞内の元素分布がイメージングできるようになっており、この開発により病因の解

明や診断などの医療への応用、生物や環境試料に含まれる微量元素の高感度分析などに利用されるようになってきた。マイクロPIXEは、微少領域の元素分布も測定でき、加速ビームを試料表面でスキャンすることにより、多元素同時2次元元素マッピングをイメージングできる。その位置分解能は、 $100 \times 200 \text{ nm}$ 程度で、細胞内元素分布の解明や構造解析等に利用できる。検出限界は平均的に1 ppm程度であり、方法や装置を工夫すれば1桁以上も感度を向上させることができる。しかし、一般的なPIXE法は軽元素の分析が不得手であり、分析できる元素はNa~Uまでが可能とされているが、Alより軽い元素の分析は実際には難しい。測定器として、スリットレスのSi(Li)検出器を用いることによりBやCまでの元素も分析可能である。応用は環境、生物、医学、鉱物、考古学などに利用されている。近年、マイクロビームと組み合わせたマイクロPIXEが開発され、 $1 \mu\text{m}$ の分解能で 10^{-6} の微量元素分析が可能で、生体試料^{39~40)}や考古学試料、隕石などの研究に応用されている。マイクロPIXEの装置開発は、放射線医学総合研究所、日本原子力研究開発機構と群馬大学、東北大学サイクロトロンセンターなどで精力的に開発研究が行われているが、一般的な共同利用機器としての確立は時間を要するであろう。これら装置の利用には、上述の研究機関、大学などの研究者との共同研究の形を取る以外には方法がない。

5.2 放射光による蛍光X線分析とイメージング

放射光とは、光速に近い速さで直進する電子が、その進行方向を磁石などによって変えられた際に、進路の接線方向に発生する電磁波であり、1947年に初めてシンクロトロン型電子加速器で観測された。この現象をシンクロトロン放射(synchrotron radiation)という。放射光は電子のエネルギーが高く、その進行方向の変化が大きいくほど、より細くしぼられた極めて明るい光となる。また、X線などの短い波長の光を含むようになる。

SPring-8は、日本原子力研究所と理化学研究所が共同で建設を開始し、1997年10月に完成し、研究を開始した大型放射光施設である。世界最高性能の放射光を発生することができる大型の基礎研究施設であり、国内外の研究者にも広く開かれた共同利用施設として、官公庁・民間企業・大学など国内外の諸機関が様々な研究開発に利用している。SPring-8で8 GeVに加速された電子は、速度が光速の99.9999998%であり、その質量は通常の電子の一万六千倍である。蓄積リングは真空配管からなり、加速電子をそこに走らせながら蓄積しておく。そのためには、その軌道を磁場によって曲げて、リング状にするが、この電子の磁石により、軌道が曲げられるときの接線の方向に電磁波である短波長の光が出る。その光が放射光であり、その特徴を活かして、X線回折、弾性・非弾性散乱、蛍光X線分光、電子分光、イメージング、吸収、マイクロマシンングなどの手法を通して多くの分野の研究に役立っている。特に読者の関心に注目すると、タンパク質巨大分子の3次元構造解析、非結晶生体材料の小角散乱、薬剤設計、新薬開発、生体試

料中の環境汚染微量元素の分析、環境浄化用触媒の分析などが挙げられ、医学分野では、微小血管造影法による腫瘍血管の観察、トモグラフィー、屈折コントラスト・映像法による呼吸器系疾患の観察、腫瘍の早期診断技術開発などが挙げられる。本稿では、紙面の都合もあり、詳細は参考文献をご参照いただきたい^{41)~43)}。ここでは、本稿の主旨から、特に放射光蛍光 X 線分析法による微量元素分析に注目してその応用例をご紹介します。

放射光は直線偏光特性があり、バックグラウンドとなる散乱 X 線が大幅に減少する。また、大強度の単色 X 線が得られるため、X 線管を用いた実験室レベルの装置を用いた分析に対して、放射光蛍光 X 線分析法による微量元素分析は、絶対検出下限で数十倍から一万倍近い高感度性が得られる。相対検出下限は試料に依存するが ppb オーダーで得られる。現在まで、生体組織中の元素分布と疾病との相関、隕石の元素組成や状態分析、考古学試料の分析、犯罪捜査⁴⁴⁾ など多様な分野において、高感度分析法として汎用されている。微量元素状態分析は、物質中の X 線吸収スペクトルには元素の化学状態や局所構造の情報が含まれ、XAFS 法 (X-ray Absorption Fine Structure) として、放射光利用実験の中でも大きく発展している分野である。特に X 線の吸収端近傍の微細構造は元素の化学状態に強く依存するため、吸収端近傍の X 線吸収スペクトルを測定することにより逆に測定元素の化学状態の分析が可能である。放射光蛍光 X 線分析では単色光励起を基本としているので、微量元素分析と同じ配置で目的元素の吸収端近傍で入射エネルギーを操作することにより、簡便に状態分析も可能になっている。これらを利用したある物質の化学状態を既知の標準試料とスペクトル比較を行う「指紋法」的利用が多く行われている。また、最近は吸収端のケミカルシフトを利用して化学状態別のイメージングも試料評価に使われており、隕石や考古学試料の分析、合成ダイヤモンド中の金属元素の状態分析などが行われてきた。今後、生体試料についての応用研究もなされていくであろう。

一方、放射光の特徴である高輝度特性は光源サイズが小さく、また角度発散が小さい。この高輝度放射光源の発展および高精度 X 線集光光学素子の開発により、X 線管球では不可能な微小領域分析が可能である。絶対検出下限はフェントグラムのレベルにある。この分野では毛髪中の微量金属元素の分析、海洋生物中の微量元素分析岩石の分析などが行われている。

文 献

- 1) 化学同人編集部編、別冊科学「分子イメージング 蛍光プローブが拓くライフサイエンスの未来」、(株)化学同人、(2007)、京都

- 2) Tsien R. Y. "New Calcium Indicators and Buffers with High Selectivity against Magnesium and Protons : Design, Synthesis, and Properties of Prototype Structure". *Biochemistry*, **19**, 2396-2403 (1980)
- 3) Grynkiewicz G, Poenie M, and R. Y. Tsien "A New Generation of Ca²⁺ Indicators with Greatly Improved Fluorescence Properties". *J. Biol. Chem.* **260**, 3440-3450 (1985)
- 4) Minta A, Kao J. P. Y, and Tsien R. Y. "Fluorescent Indicators for Cytosolic Calcium Based on Rhodamine and Fluorescein Chromophores". *J. Biol. Chem.* **264**, 8171-8178 (1989)
- 5) Frederickson C. J, Kasarskis E. J, Ringo D, and Frederikson R. E. "A quinoline fluorescence method for visualizing and assaying the histochemically reactive zinc (bouton zinc) in the brain". *J. Neurosci. Methods*, **20**, 91-103 (1987)
- 6) Coyle P, Zalewski P. D, Philcox J. C, Forbes I. J, Ward A. D, Lincoln S. F, Mahadevan L, and Rofe A. M. "Measurement of Zinc in Hepatocytes by Using a Fluorescent Probe, Zinquin : Relationship to Metallothionein and Intracellular Zinc". *Biochem. J.* **303**, 781-786 (1993)
- 7) Koike T, Watanabe T, Aoki S, Kimura E and Shiro M. "A novel biomimetic Zinc(II)-fluorophore, dansylamidoethyl-pendant macrocyclic tetraamine 1, 4, 7, 10-Tetraazacyclododecane (Cyclen)". *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 12696-12703 (1996)
- 8) Kikuchi K, Komatsu K, and Nagano T. "Zinc sensing for cellular application". *Curr. Opin. Chem. Biol.* **8**, 182-191 (2004)
- 9) Gee K. R, Zhou Z. L, Ton-That D, Sensi S. L, Weiss J. H. "Measuring zinc in living cells. A new generation of sensitive and selective fluorescent probes". *Cell Calcium*, **31**, 245-251 (2002)
- 10) Kitamura H, Morikawa H, Kamon H, Iguchi M, Hojyo S, Fukuda T, Yamashita S, Kaisho T, Akira S, Murakami M, Hirono T. "Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influence dendritic cell function". *Nature Immun.* **7**, 971-977 (2006)
- 11) Yamasaki S, Sakata-Sogawa K, Hasegawa A, Suzuki T, Kabu K, Sato E, Kurosaki T, Ymashita S, Tokunaga M, Nishida K, Hirono T. "Zinc is a novel intracellular second messenger". *J. Cell Biol.* **177**, 637-645 (2007)
- 12) Komatsu K, Kikuchi K, Urano Y, Kojima H, Nagano T. "Selective zinc sensor molecules with various affinities for Zn²⁺, revealing dynamics and regional distribution of synaptically released Zn²⁺ in hippocampal slices". *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 10197-10204 (2005)
- 13) Takeda A, Nakajima S, Fuke S, Sakurada N, Minami A, Oku N. "Zinc release from Schaffer collaterals and its significance". *Brain Res. Bull.* **68**, 442-447 (2006)
- 14) Minami A, Sakurada N, Fuke S, Kikuchi K, Nagano T, Oku N, Takeda A. "Inhibition of presynaptic activity by zinc released from mossy fiber terminals during tetanic stimulation". *J. Neurosci. Res.* **83**, 167-176 (2006)
- 15) Raju B, Murphy E, Levy L. A, Hall R. D, London R. R. "A fluorescent indicator for measuring cytosolic free magnesium". *Am. J. Physiol.* **256**, C540-548 (1989)

- 16) Suzuki Y, Komatsu H, Ikeda T, Saito N, Araki S, Citterio D, Hisamoto D, Kitamura Y, Kubota T, Nakagawa J, Oka K, Suzuki K. "Design and synthesis of Mg²⁺-selective fluoroionophores based on a coumarin derivative and application for Mg²⁺ measurement in a living cell". *Anal. Chem.* **74**, 1423-1428 (2002)
- 17) Komatsu H, Iwasawa N, Citterio D, Suzuki Y, Kubota T, Tokuno K, Kitamura Y, Oka K, Suzuki K. "Design and synthesis of highly sensitive and selective fluorescein-derived magnesium fluorescent probes and application to intracellular 3D Mg²⁺ imaging". *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 16353-16260 (2004)
- 18) Kubota T, Shindo Y, Tokuno K, Komatsu H, Ogawa H, Kudo S, Kitamura Y, Suzuki K, Oka K. "Mitochondria are intracellular magnesium stores : investigation by simultaneous fluorescent imaging in PC12 cells". *Biochim. Biophys. Acta.* **1774**, 19-28 (2005)
- 19) 特集「分子イメージング —現状と展望—」, 日本臨床, **65** (2), (株)日本臨床社, (2007) 東京
- 20) 渡辺恭良, 鈴木正昭, 尾上浩隆, 土居久志, 和田康弘, 片岡洋祐, 榎本秀一, 分子イメージング研究による創薬・疾患診断の革新, 最新医学, **63** (1), 116-138 (2008)
- 21) K. Ishii, Y. Kikuchi, S. Matsuyama, Y. Kanai, K. Kotani, T. Ito, H. Yamazaki, Y. Funaki, R. Iwata, M. Itoh, K. Yanai, J. Hatazawa, N. Itoh, N. Tanizaki, D. Amano, M. Yamada and T. Yamaguchi, First achievement of less than 1 mm FWHM resolution in practical semiconductor animal PET scanner, *Nucl. Inst. Methods Phys. Res. A*, **576**, 435-440 (2007)
- 22) Y. Kikuchi, K. Ishii, H. Yamazaki, S. Matsuyama, T. Yamaguchi, Y. Yamamoto, T. Sato, Y. Aoki, K. Aoki, Preliminary Report on the Development of a High Resolution PET Camera Using Semiconductor Detectors, *Nucl. Inst. Methods Phys. Res. B*, **241**, 727-731 (2005)
- 23) Y. Ishimaru, S. Kim, T. Tsukamoto, H. Oki, T. Kobayashi, S. Watanabe, S. Matsuhashi, M. Takahashi, H. Nakanishi, S. Mori, N. K. Nishizawa, Mutational reconstructed ferric chelate reductase confers enhanced tolerance in rice to iron deficiency in calcareous soil, *PNAS*, **104** (18), 7373-7378 (2007)
- 24) 松橋信平, 植物のカドミウム吸収・輸送 —植物ポジトロンイメージング技術による可視化—, *Isotope News*, **634**, 7-9 (2007)
- 25) T. Tsukamoto, H. Nakanishi, S. Kiyomiya, S. Watanabe, S. Matsuhashi, N. K. Nishizawa, S. Mori, ⁵²Mn translocation in barley monitored using a positron-emitting tracer imaging system, *Soil Science and Plant Nutrition*, **52**, 717-725 (2006)
- 26) 西村恒彦編, SPEC 機能画像 定量化の基礎と臨床, メジカルビュー社, (1999) 東京
- 27) S. Enomoto : "The Multitracer Technique : Manufacturing and Application on the Bio-trace Elemental Research" *Biomed. Res. Trace Elements*, **12** (1), 71-84 (2001)
- 28) Motomura S, Takeici H, Hirunuma R, Haba H, Igarashi K, Enomoto S, Gono Y, Yano Y., Gamma-ray Compton imaging of multitracer in bio-samples by strip germanium telescope, 2004 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record (IEEE Cat.

- No.04CH37604). IEEE. Part Vol.4, 2152-2154 (2004)
- 29) Motomura S, Enomoto S, Haba H, Igarashi K, Gono Y, Yano Y., Gamma-ray Compton imaging of multitracer in biological samples using strip germanium telescope. *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, **54**, 710-717 (2007)
- 30) Motomura S, Kanayama Y., Haba H., Igarashi K., Watanabe Y., Enomoto S., Development of multi-elemental molecular imaging on semiconductor Compton telescope. *J. Atom. Anal. Spect.*, submitted.
- 31) S. Watanabe, S. Takeda, S. N. Ishikawa, H. Odaka, M. Ushio, T. Tanaka, K. Nakazawa, T. Takahashi, H. Tajima, Y. Fukazawa, Y. Kuroda, M. Onishi, Development of Semiconductor Imaging Detectors for a Si/CdTe Compton Camera. *Nucl. Inst. Meth. A*, **579**, 871-877 (2007)
- 32) Shigeto Kabuki, Kaori Hattori, Ryota Kohara, Etsuo Kunieda, Atsushi Kubo, Hidetoshi Kubo, Kentaro Miuchi, Tadaki Nakahara, Tsutomu Nagayoshi, Hironobu Nishimura, Yoko Okada, Reiko Orito, Hiroyuki Sekiya Takashi Shirahata, Atsushi Takada, and Kazuki Ueno, Development of Electron Tracking Compton Camera using micro pixel gas chamber for medical imaging. *Nucl. Inst. Meth. A*, **580**, 1031-1035 (2007)
- 33) Weissleder, R., Moore, A., Mahmood, U., Borhade, R., Benveniste, H., Chioocca, E. A. and Basilion, J. P., In vivo magnetic resonance imaging of transgene expression. *Nature Medicine*, **6**, 351-355 (2000)
- 34) Louie, A. Y., Huber, M. M., Ahrens, E. T., Rothbacher, U., Moats, R., Jacobs, R. E., Fraser, S. E. and Meade, T. J. In vivo visualization of gene expression using magnetic resonance imaging. *Nature Biotech.*, **18**, 321-325 (2000)
- 35) Kircher, M. F., Allport, J. R., Graves, E. E., Love, V., Josephson, L., Lichtman, A. H. and Weissleder, R., In vivo High Resolution Three-Dimensional Imaging of Antigen-Specific Cytotoxic T-Lymphocyte Trafficking to Tumors. *Cancer Research* **63**, 6838-6846 (2003)
- 36) Rugar, D., Budakian, R., Mamin, H. J. and Chui, B. W., Single spin detection by magnetic resonance force microscopy. *Nature*, **430**, 329-332 (2004)
- 37) 渡辺誠, 佐藤繁編, 放射光科学入門, 東北大学出版会 (2004)
- 38) 渡辺巖, シンクロトロン放射光を用いた X 線吸収スペクトル測定, *ぶんせき*, 2005, 2, 67-71 (2005)
- 39) 日本微量元素学会編, *Biomed. Res. Trace Elements*, シンポジウム 放射光による微量元素分析と生命科学・医学への応用, **14**, 105-112 (2003)
- 40) K. Takagawa, S. Hayakawa, *SPRING-8 Research Frontier*, 2000/2001, 71-73 (2002)
- 41) S. Homma-Takeda, Y. Nishimura, Y. Terada, S. Ueno, Y. Watanabe and M. Yukawa, *Nucl. Inst. Meth. Phys. Res. B*, **231**, 333-337 (2005)
- 42) 日本放射光学会編, 放射光—生命科学特集—, 17, No.3, 99-160 (2004)
- 43) 千川純一, 山田耕作, 秋元利男, 桜井弘, 安井裕之, 山本仁, 江原正明, 福田裕之, 毛髪で分かる乳がんの前兆と発生, *放射光*, **18**, 84-92 (2005)
- 44) 中井泉, 犯罪と分析化学, *ぶんせき*, 2002, 10, 591-594 (2002)

半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発

本村信治¹、榎本秀一^{1,2}

1 独立行政法人理化学研究所 分子イメージング科学研究センター メタロミクスイメージング研究ユニット,

2 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 医薬品機能分析学分野

1. 複数分子同時イメージング法

分子イメージングの方法論が核医学検査に適用されるようになってきたことにより、現在わが国で深刻な問題となっている医療費の高騰やQOLの向上に対して革新的な解決をもたらす突破口が見出されるだろうと期待されている。分子イメージングとは、ヒトやその他の動物の体内における分子・細胞レベルの機能変化や反応過程を、生体を傷つけることなく定量的な画像情報として解析する手法であり、この情報を用いることで生化学・分子生物学の研究成果に基づいた正確な診断が可能になる。ある特定の機能変化や反応過程を観察するためのイメージング剤は「分子プローブ」と呼ばれるが、特に核医学で用いられる放射性同位元素 (RI) を標識した分子プローブは、感度・定量性が高く投与量が微量で済むなどの利点があり、ヒトに投与して体内の深部を観察するのに適している。そこで現在、陽電子放射断層撮像 (Positron Emission Tomography; PET) や単光子放射断層撮像 (Single Photon Emission Computed Tomography; SPECT) などの核医学検査技術を用いて、創薬・疾患診断法の革新を目指した分子イメージング研究が盛んに行われている。

さらに、近年の生命科学の進歩により、がんや生活習慣病など多くの疾患の発症機序や病態は1種類の関連分子だけで特徴付けられる訳ではなく、遺伝因子と環境因子が複合的に関与した多因子疾患であることが明らかになってきた。つまり、それら複数の因子それぞれを特異的に観察することのできる複数種の分子プローブを同時に投与して画像解析する「複数分子同時イメージング」の実現により、疾患の発症機序の個人差も考慮した病期等の正確な特定など、高度な診断も可能になると考えられる。しかしながら、PET では1つの波長 (エネルギー) の γ 線しか撮像できないため、異なる分子プローブを識別するために、異なるエネルギーの γ 線を放出するRIを標識して同時に撮像するということができない。また、 γ 線の撮像のために機械的なコリメータを必要とするSPECTでは、撮像可能な γ 線が低エネルギーの領域に限られるため、分子プローブの標識に利用可能なRIが制限される。そのため、これまでに核医学における複数分子同時イメージングの有用性を議論の対象とした研究はほとんど行われてこなかったのが現状である。

我々は、この複数分子同時イメージングを実現する装置として、半導体コンプトンカメラ「GREI」の開発を行って

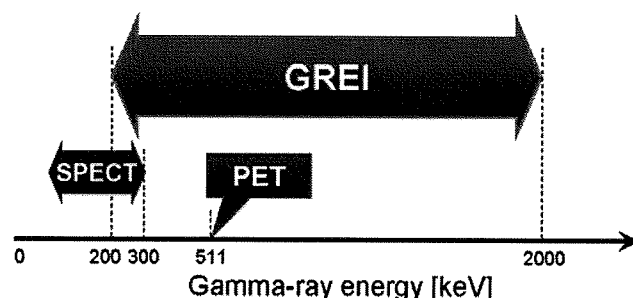


図 1.1 同時撮像可能な γ 線のエネルギー範囲

いる⁽¹⁾⁽²⁾。後述の通り、コンプトンカメラは機械的なコリメータを用いない γ 線撮像装置であり、特に現在の GREI はセンサーとしてエネルギー分解能が高い高純度ゲルマニウム半導体検出器を用いているため、広いエネルギー範囲の γ 線を識別した同時撮像が可能である (図 1.1)。そこで、それぞれの分子プローブ毎に異なるエネルギーの γ 線を放出するRIを標識することで、複数分子同時イメージングが可能になる。

2. γ 線の相互作用とイメージング

γ 線のイメージングを行うには、可視光線のように光学レンズを用いて結像させることは困難であるため、何らかの手段を用いて γ 線の到来方向の情報を取得し、収集した多方向の投影データを演算処理して γ 線源の分布像を生成する手法が用いられる。PET では、陽電子を放出する種類のRIを標識に用い、その陽電子が消滅する際に 180° の角度相関を持って放出される2本の511 keVの γ 線を、被検体の周囲に配置した対向する放射線検出器で検出することで到来方向が取得される。一方SPECTでは、位置感応型放射線検出器の前面に機械的コリメータを設置することで γ 線の入射方向を制限し、被検体の周囲の複数の方向から撮像して多方向の投影データが取得される。どちらの場合も検出器内で γ 線の光電吸収が高効率で起こることが鍵となるため、高密度で原子番号が大きなBGOなどのシンチレーション検出器が用いられている。

PETやSPECTにおいては、物質中で起こる γ 線のコンプトン散乱が、それらの性能を制限する大きな要因であると言える。図 2.1, 2.2 は、 γ 線が物質に入射したときに光電吸収およびコンプトン散乱が起こる確率を厚さに対してプ

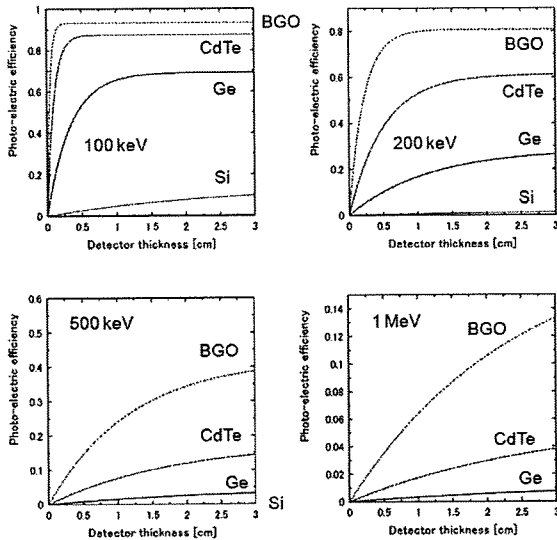


図 2.1 検出器内で γ 線の光電吸収が起こる確率

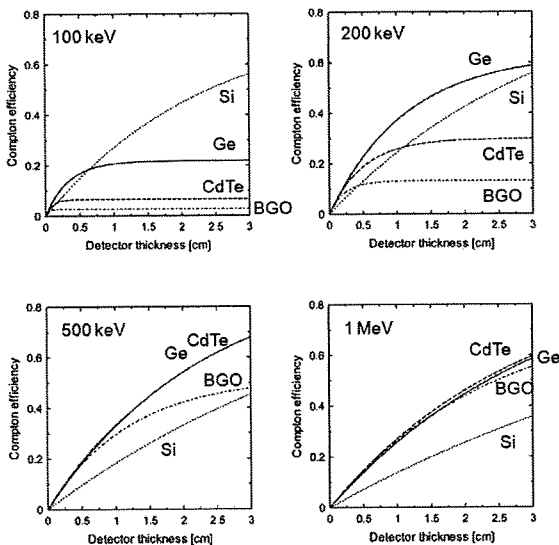


図 2.2 検出器内で γ 線のコンプトン散乱が起こる確率

ロットした累積分布関数である。BGO は、最も光電吸収の効率が低い部類の放射線検出器であり、100 keV の γ 線に対しては 5 mm 程度の厚さでも 90%以上の効率が得られ、このエネルギー領域での SPECT の有効性がうかがえる。しかしながら、 γ 線のエネルギーが高くなると共に光電吸収の効率は急激に低くなり、1 MeV では 2 cm の厚さでも 10%程度の効率しかない。また、コンプトン散乱の確率が高くなるため、散乱した γ 線が再び検出器内で相互作用を起こせば、位置検出の精度も悪化する。また、同じことがコリメータ物質中でも起こるため、 γ 線のエネルギーが約 300 keV 以上になると、SPECT の有効性の低下が顕著になる。PET は 511 keV の γ 線を撮像するが、このエネルギー領域でも光電吸収よりコンプトン散乱の方が優勢であるため、検出器内における散乱事象の影響は顕著である。それでも PET は機械的なコリメータを用いないため有効性が保たれている。

最も光電吸収の効率が低い部類の放射線検出器である

BGO を用いたとしても、機械的なコリメータを用いた撮像システムでは約 300 keV 以上のエネルギーの γ 線に対して有効性の低下が顕著で、また、PET では陽電子放出核種のみ撮像可能であるため、約 100 keV~2 MeV の広いエネルギー範囲の γ 線を識別して同時に撮像するには、従来とは異なる原理の γ 線撮像装置が必要である。そこで我々は、当該エネルギー範囲の全域に渡って高い効率を保つことが可能なコンプトン散乱を積極的に利用するのが得策であると考え、半導体検出器を用いたコンプトンカメラ「GREI」の開発に着手した。

3. コンプトンカメラ

コンプトンカメラのアイデアはすでに 1970 年代初頭に γ 線天文学用の観測装置として提案されており⁽³⁾、その後すぐに医用画像化診断装置としても提案されていた⁽⁴⁾。それから様々なタイプのコンプトンカメラが提案されたが⁽⁵⁾、未だに医用画像化診断装置として実用化された例はない。この理由としては、これまで既存の PET や SPECT に対して顕著な優位性を示すことができていなかったためであると考えられる。しかし、近年の生命科学の進歩により複数分子同時画像化解析の重要性が示唆され、また一方では放射線検出技術や情報処理技術の進歩がその要求に応えられるであろうという事が明らかになってきた。そこで医療用コンプトンカメラをいち早く実用化することで、医用画像化診断装置の分野にもブレイクスルーがもたらされるであろうという事が期待される。

コンプトンカメラの撮像原理は、センサーに入射した γ 線のコンプトン散乱現象をとらえることである (図 3.1)。コンプトン散乱後の γ 線はその運動学方程式に従ってエネルギーが連続的に変化するため、このエネルギーを精度よく測定することで γ 線の散乱角度を求めることができる。これは、 γ 線の到来方向を表す円錐を定めることに相当する。そして、検出した一つひとつのコンプトン散乱事象に対して決定された円錐の情報を多数集めて演算処理することで、 γ 線源の分布像を推定することが可能となる。

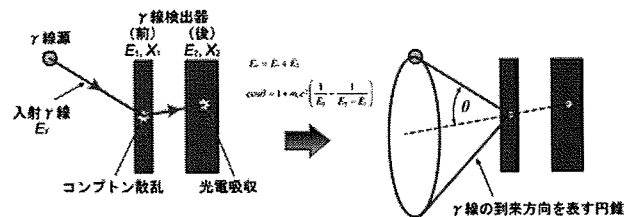


図 3.1 コンプトンカメラの撮像原理

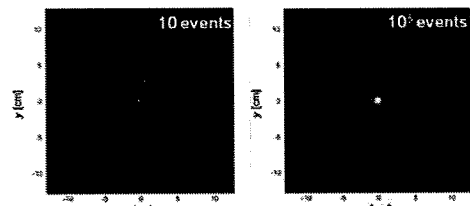


図 3.2 計数による単純逆投影画像の差違

元の分布画像を推定するための画像再構成法の1つとして、我々は単純逆投影 (SBP) の後に点広がり関数 (PSF) を逆重畳する方法を試行中である。この方法は PET などでも多用されるフィルタ補正逆投影法 (FBP) に類似した演算処理と言うことができ、定量性の良い画像再構成を期待している。SBP 画像はそれぞれの検出事象に対して定義した円錐を単純に足し合わせることで生成し、例えばその検出事象の計数による SBP の違いを図 3.2 に示している。ここで、計数が十分大きくなると、SBP 画像は元の分布画像に「ボケ」として PSF を重畳して生成されると見なせる様子がわかるため、これを画像再構成のためのモデルとして仮定する。このモデルを数式で表すと、

$$s_i = \sum_j p_{ij} g_j \dots \dots \dots (3.1)$$

ここで、 i および j は 3 次元位置座標を表す指数で、 s_i 、 p_{ij} および g_j はそれぞれ SBP 画像、PSF、およびトレーサ分布画像である。元の分布画像はこの方程式を g_j について解析的または反復計算的に解くことによって再構成が可能になる。

このように、コンプトンカメラは機械的コリメータが不要な γ 線撮像装置であり、コリメーションによる感度の低下がなく、既存の PET や SPECT に比べて格段に広いエネルギー範囲の γ 線を撮像することが可能である (図 2)。さらに、機械的なコリメータでは避けられない γ 線入射方向の制限がなく、1 台のカメラユニットに対してさまざまな角度で入射した γ 線を捉えることができる。このため、一方向からの固定撮像でも γ 線源の分布像を複数の方向へ投影した 3 次元の情報が得られるという特徴を有する。そして、エネルギー分解能が優れた半導体放射線検出器を用いれば、異なる因子に対する分子プローブそれぞれに対して異なるエネルギーの γ 線を放出する RI を標識することで、複数分子同時イメージングが実現する。

4. 生きたマウスで実証

我々は複数分子同時イメージングを実証するため、GREI の原理実証用プロトタイプを用いて生きたマウスの撮像実験を行った⁽²⁾。現在の GREI のプロトタイプは、両面直交ストリップ電極式の平板型ゲルマニウム検出器を 2 台平行に並べた構造のコンプトンカメラである (図 4.1)。検出器の電極面の寸法は 39 mm × 39 mm で、厚さは前段および後段がそれぞれ 10 mm および 20 mm である。それぞれの検出器の電極が陽極・陰極ともに 13 本のストリップ状に分割されており、分割の方向は陽極と陰極で互いに直交するようになっている。この電極の分割によって、 γ 線の検出器中での相互作用点の XY 方向の位置検出が可能になっている。また、厚さ方向の位置検出については、陽極と陰極間の信号の時間差を測定することによって、簡便に約 1 mm の精度で測定することが可能になっている。

撮像実験では、8 週齢・雄の正常な ICR 系統マウス 1 匹に

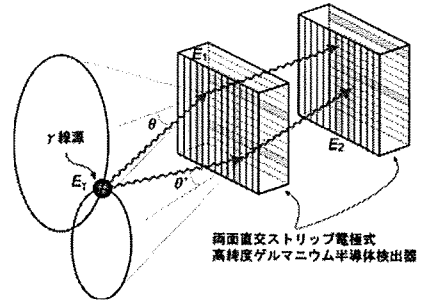


図 4.1 GREI の原理実証用プロトタイプ

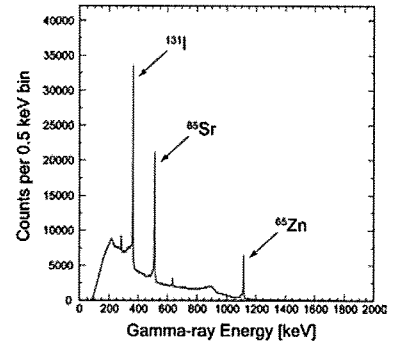


図 4.2 GREI で測定した γ 線エネルギースペクトル

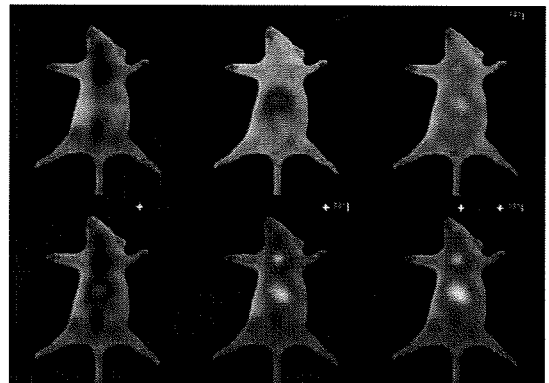


図 4.3 同時に投与した 3 種類の薬剤の撮像結果

3 種類の放射性薬剤を尾静脈投与した。まず、撮像の 5、4、および 3 日目の 3 回に分け、総量 18.7 MBq のヨウ化メチルノルコレステロール(¹³¹I)注射液 (¹³¹I-Adosterol) を投与した。この薬剤は、SPECT 等で副腎疾患の診断に用いられる放射性医薬品であり、副腎への集積と、解離した ¹³¹I の甲状腺への集積が期待された。次に、撮像の 24 時間前に塩化ストロンチウム(⁸⁵SrCl₂)生理食塩水溶液 2.0 MBq を投与した。ストロンチウムは骨親和性の高い元素として知られており、骨に沿った集積が期待された。そして撮像の 25 分前に塩化亜鉛(⁶⁵ZnCl₂)生理食塩水溶液 2.0 MBq を投与した。亜鉛は主に肝臓に集積することが期待された。これらの薬剤を投与したマウスを、体温維持装置を装備した撮像ステージに保定し、ネブタール麻酔下で 12 時間の撮像を行った。

図 4.2 は、この撮像実験で取得したデータから作成した、 γ 線のエネルギースペクトルである。投与した薬剤に含まれる RI に固有の γ 線がシャープなピークとして得られ、明

確に識別されていることが確認された。RI を識別するため、それぞれの γ 線ピークに ± 5 keV のエネルギーウィンドウを設定し、RI 毎の分布画像を再構成した。図 4.3 はそれぞれの薬剤毎の分布画像を再構成した結果であり、それぞれの薬剤がマウスの体内で期待通りに集積したことを示す分布画像が得られたことが確認される。さらに得られた複数の画像を組み合わせて、分布が重なった部分を異なる色で表示することも可能である。

5. GREI の実用化に向けた高度化開発

前述の通り、我々は複数分子同時イメージングの実証に成功したが、現在の GREI のプロトタイプを用いた典型的な撮像実験では、約 5 mm の空間解像度の画像を得るために 10 時間程度の撮像時間を要しており、まだ実用的とは言い難いのが現状である。そこで、現在さらなる画質の向上と撮像時間の短縮をめざし、GREI に実装される要素技術の高度化開発をおこなっている。具体的な開発項目には、(1) γ 線の相互作用位置検出法の開発、(2) γ 線トラッキング法の開発、(3) 高精度 3 次元画像再構成法の開発、(4) 低エネルギー γ 線撮像法の開発、などが含まれる。このような要素技術の高度化を達成し、1 時間以内の撮像でサブミリオーダーの空間解像度の画像化を可能にすることを目標にしている。

5.1 γ 線の相互作用位置検出法の開発

GREI のプロトタイプで使用している両面直交ストリップ電極式 Ge 半導体検出器に γ 線が入射して相互作用が起こると、その相互作用位置に依存して検出信号の波形が変化する。これを利用して、 γ 線相互作用位置検出の精度をストリップ電極の幅よりも更に向上させることができる。図 5.1 は、中央の電極ストリップの位置で相互作用が起こったときの、その両隣のストリップ電極に誘起される信号波形の変化を示している。そこで、例えばこれらの信号の大きさを比較することで、横方向の相互作用位置を検出することが可能になる。この位置検出のための信号処理回路を作

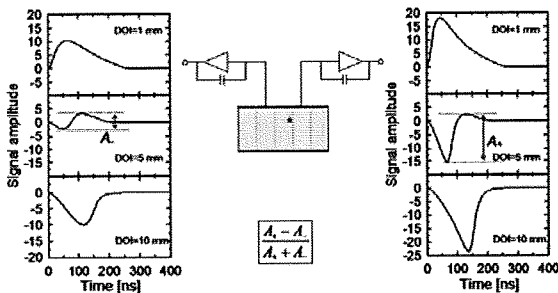


図 5.1 相互作用位置に依存した波形の変化

製し、実装試験を行った。その結果、横方向の位置に関しても 1 mm 以下の分解能が得られることが明らかになった。

5.2 γ 線トラッキング法の開発

GREI の前段の検出器で入射 γ 線が 1 回コンプトン散乱し、その散乱ガンマ線が後段の検出器で光電吸収されると、コンプトン散乱の運動学方程式から散乱角を直接求めることができる。しかしながら、実際には 1 つの検出器中で複数回の相互作用が起こり得るため、 γ 線の入射位置を定めて運動学方程式を適用するためには、その複数回の相互作用が起こった順序を定める必要がある。ただし、検出信号の時間差から直接これを定めることは、ピコ秒オーダーの時間分解能が必要であるため、現在のシステムでは不可能である。そこで、仮定した相互作用の順序、散乱 γ 線の平均自由行程、およびコンプトン散乱の微分断面積の情報から間接的に相互作用順序を推定するアルゴリズムを実装し、実際の撮像データに適用した。その結果、有効なデータ数がエネルギーに依存して約 3 から 5 倍に増加し、この手法で検出感度を向上させることが可能であることが明らかになった (図 5.2)。

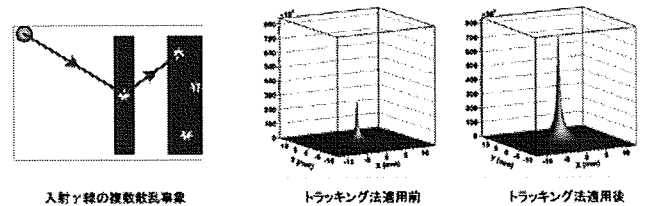


図 5.2 γ 線トラッキングによる感度の向上

5.3 3 次元断層画像再構成法の開発

コンプトンカメラは機械的なコリメータを用いないため、 γ 線の入射方向の制限が無く、単一のカメラによる 1 方向からの固定撮像でも複数の方向へ投影した 3 次元分布の情報を得ることが可能である。この情報を用いて 3 次元断層画像を生成するため、 γ 線源の位置に依存した 3 次元の PSF を用いて反復計算的に逆重畳を行う画像再構成法を実装した。まず最初の実装においては、下記の通りの反復計算式を用いた。

$$g_j^{(n+1)} = g_j^{(n)} + \sum_i \left(s_i - \sum_k g_k^{(n)} p_{ik} \right) p_{ij} \dots \dots \dots (5.1)$$

ここで、 $g_j^{(n)}$ は n 番目の反復計算画像である。しかしながら、この反復計算式は計算速度が遅く実用的ではなかったため、この計算式を改良して共役勾配法を実装した。その結果、最初の実装に比べて 60 倍以上の高速化を達成した。また、3 次元の位置依存型 PSF を実装する際の問題は、これを単純に実装すると PSF のマトリクスサイズが巨大になってしまう事である。そこで、あらかじめ用意した少数の PSF からその他の点の PSF を算出する補間法も実装した。この

方法を用いて再構成計算中に動的に PSF を算出することにより、実用的な画像マトリクスサイズでも 3 次元の位置依存型 PSF を実装することが可能となる。図 5.3 はこの 3 次元断層画像再構成法を、先に述べた複数分子同時イメージング実験のデータに適用した結果である。この実験は 1 台のコンプトンカメラによる 1 方向からの固定撮像であるが、それぞれの薬剤毎の 3 次元断層画像を得る事に成功した。

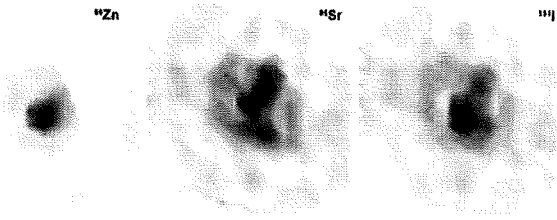


図 5.3 それぞれの薬剤毎の 3 次元断層画像

5.4 低エネルギーγ線撮像法の開発

現在の GREI のプロトタイプは、両面直交ストリップ電極式 Ge 半導体検出器を 2 台並べた半導体コンプトンカメラであり、約 200 keV 以上のγ線に対しては良好な撮像性能を有する。しかし、例えば図 XX に示した通り、100 keV のγ線に対しては、Ge 検出器の厚さをどれだけ増したとしても、コンプトン散乱の検出効率は約 20% 以上にはならず、感度が低下する。これは Ge 検出器内で光電吸収が高確率で起こってしまうためである。そこで、現在の GREI の前面に Si 検出器を追加し、低エネルギーγ線に対する感度を向上させた Si/Ge 半導体コンプトンカメラの開発を行っている (図 5.4)。Si を最前面の検出器として用いると、100 keV でも光電吸収の確率が Ge に比べて顕著に低いため、コンプトン散乱を高効率で生起させることが可能で、その散乱γ線を後続の Ge 検出器で検出することでコンプトンカメラとして機能させる。そして、より高エネルギーのγ線は Si の層を透過しやすいため、後続の 2 台の Ge 検出器がコンプトンカメラとして機能することにより、低エネルギーから高エネルギーまで高い感度が得られるという仕組みである。現在モンテカルロシミュレーションを行って詳細な検討を行っており、100 keV のγ線に対しては現在の 5 倍以上の感度が得られることが明らかになった。

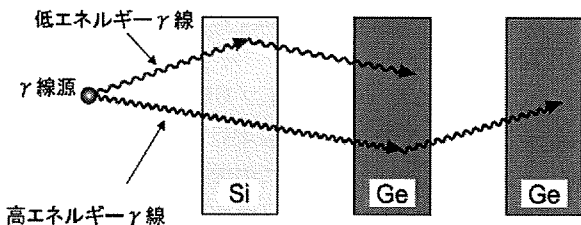


図 5.4 Si/Ge コンプトンカメラ

6. 今後の課題と展望

複数分子同時イメージング装置の技術開発に関しては上述の通り順調に高度化が進んでいるが、この手法が成功するためには、ある疾患の発症機序や病態を最も顕著に特徴づける複数の因子を探し出す必要がある。PET 用の分子プローブはそのまま GREI でも撮像可能であるため、我々はまず候補となる抗体やペプチドを用いたプローブの生体内動態を一つひとつ小動物用 PET で調べ、その後 GREI による撮像実験で検証する方法で検討を進めている。それらの候補物質の標識に GREI 用の RI を用いれば、複数分子同時イメージングが可能になるという訳である。ただし、それらの候補因子をシステムティックに探索する手法はまだ確立されていない。

近年、遺伝子・タンパク質・代謝物質などの網羅的解析 (オミックス) の成果をさらに統合し、生命現象を分子レベルのシステムとして解明することを目指す「統合オミックス」の研究が盛んに行われており、様々な多因子疾患の発症メカニズムが解明され制御することも可能になってくることが見込まれる。そこで、このような成果を利用し、分子イメージングに適した複数の因子の探索が可能になれば、これに複数分子同時イメージングを適用することで、革新的な創薬・疾患診断法の実現が期待される。2012 年には次世代スーパーコンピュータの完成も予定されており、システム的な研究がより活性化していくと期待され、複数分子同時イメージングの重要性もより明確になってくだろうと考えられる。

参考文献

- (1) Shinji Motomura, Shuichi Enomoto, Hiromitsu Haba, Kaori Igarashi, Yasuyuki Gono, and Yasushige Yano: "Gamma-Ray Compton Imaging of Multitracer in Biological Samples Using Strip Germanium Telescope," *IEEE Transactions on Nuclear Science*, Vol.54, pp.710-717 (2007).
- (2) S. Motomura, Y. Kanayama, H. Haba, Y. Watanabe, and S. Enomoto: "Multiple molecular simultaneous imaging in a live mouse using semiconductor Compton camera," *J. Anal. Atom. Spectrom.*, Vol.23, pp.1089-1092 (2008).
- (3) V. Schönfelder et al.: "A telescope for soft gamma ray astronomy," *Nucl. Instrum. Methods* Vol.107, pp.385-394 (1973).
- (4) R. W. Todd et al.: "A proposed γ camera," *Nature* Vol.251, pp.132-134 (1974).
- (5) G. W. Phillips: "Gamma-ray imaging with Compton cameras," *Nucl. Instrum. Methods* B 99, pp.674-677 (1995).

半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発

金山 洋介, 本村 信治, 榎本 秀一

1 はじめに

生命現象は体内の様々な分子や各種元素の複合的な活動によって機能している。ヒトゲノム解析以後生体内の分子機能の解析に重心が置かれるようになった近年、これらの分子ダイナミクスを生物が生きたまま可視化し、定量的な解析を可能にする分子イメージング技術の重要性が高まっている。特に、非侵襲的かつリアルタイムに、複数の分子ダイナミクスを同時に捉える「複数分子同時イメージング」が可能になれば、疾病に関与する複合的な要因も正確に識別し、その時点における最適な治療を選択可能な、より有用な診断情報を得ることが可能になると考えられる。言うまでもなく、その他の基礎医学、生物学など様々な研究領域においても、革新的なブレイクスルーがもたらされると期待される。

現在までに、光イメージング、PET (positron emission tomography) や SPECT (single photon emission computed tomography), MRI (magnetic resonance imaging) など様々な原理の技術が実用化されてきた。しかし、同時に複数の分子挙動の画像化を実現しているのは、現状では対象の大きさに制限のある光イメージング技術のみである。このことは、とくに臨床において問題と考えられる。細胞株や動物の実験環境であれば、ほぼ同一の条件下で対象分子を変えたイメージングを繰り返す、幾つかの分子の動きを捉えることは不可能ではないが、臨床においては全く同じ観察条件というは在り得ないためである。

筆者らは、複数分子同時イメージングを実現する新しい分子イメージング装置の有力な候補として、高純度 Ge 半導体検出器を用いた半導体コンプトンカメラ「GREI」(gamma-ray emission imaging) の開発を行っている。コンプトンカメラは PET や SPECT と同じく γ 線によって放射線源の空間分布を画像化する技術であるが、様々なエネルギーの γ 線を識別して同時に画像化できる特徴がある。これまでも、コンプトンカメラの医用画像診断法への応用を目指した機器開発は世界中で試みられているが、中でもわが国の研究は先んじて進捗している。そこで本稿では、GREI の開発経緯、撮像原理、実用化に向けた技術開発、プローブ探索などを中心に、コンプトンカメラ方式による複数分子同時イメージング法の実現について述べる。

2 GREI の開発経緯

GREI の開発はマルチトレーサーの分布を画像化する目的でスタートした。マルチトレーサー法とは 1991 年に理化学研究所の安部らによって考案され¹⁾²⁾、その後榎本らによって生体微量元素の同時代謝分析法として確立された技術である³⁾。マルチトレーサーはサイクロトロンによって加速した重イオンが引き起こす核破砕反応によって製造され、数から数十種類の複数の γ 線放出核種を同時に含有するトレーサーで、単一のトレーサーでは得られない、完全に同一条件下での異なるトレーサーの挙動を一時に分析可能となる。しかし、マルチトレーサーからは数百 keV から約 2 MeV までの広範囲にわたって多数の異なるエネルギーの γ 線が放出されるため、非破壊的なトレーサー分布の計測は不可能であった。これは、従来の γ 線イメージング装置である PET では陽電子放出核種のみが撮像対象となり、また、SPECT では撮像可能な γ 線が低エネルギーの領域に限られるためである。このため、非破壊的に核種ごとの代謝過程を同時に追跡できる新しい測定装置の開発が望まれていた。

一方、同時期に郷農らは原子核物理学実験における γ 線検出用に分割電極式平板型 Ge 半導体検出器を開発していた⁴⁾。これを受け、1998 年、この電極分割型 Ge 半導体検出器を 2 台並べることにより γ 線のコンプトン散乱を検出し、コンプトンカメラの原理を適用して γ 線源分布を画像化する多核種同時 γ 線イメージング装置が提案され開発が始まった。2000 年、開発された装置を用いて 3 種類の γ 線源 (^{60}Co , ^{137}Cs , ^{152}Eu) の位置を同時に測定することに成功し、マルチトレーサーの画像化が可能であることを実証した⁵⁾ (図 1)。この成功により、位置分解能の向上と測定時間の短縮、画像再構成法の検討によって高解像度・高感度の多核種同時 γ 線イメージング装置として実用化を目指した開発が進められることとなった。

こうして開発されたプロトタイプ GREI を用いて、本村らは世界で初めて植物と動物における複数核種同時 γ 線イメージングに成功した⁶⁾。この実験では、植物試料として水耕栽培によって ^{59}Fe (撮像に用いた γ 線エネルギー: 1099, 1291.6 keV), ^{65}Zn (1115.5 keV) および ^{137}Cs (661.7 keV) の 3 核種を取り込ませたダイズを用い、25 時間の撮像によって各元素の集積部位の違

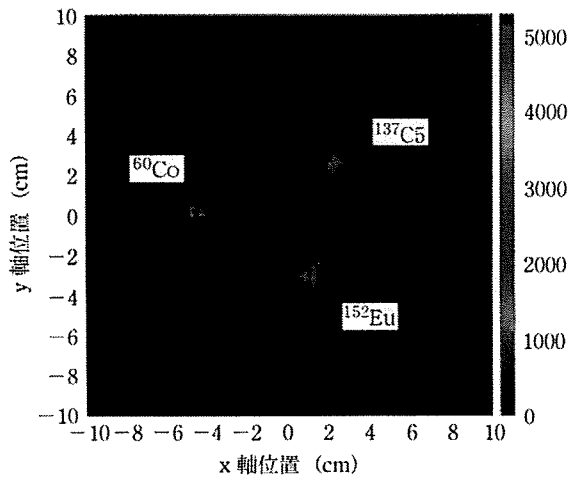


図1 初の3核種同時イメージング画像

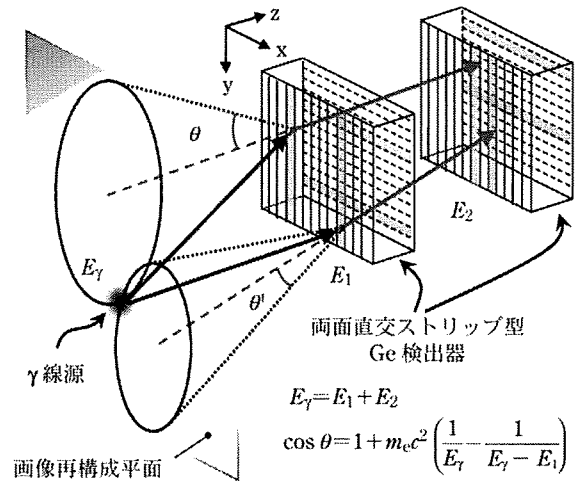


図3 GREIの撮像原理図

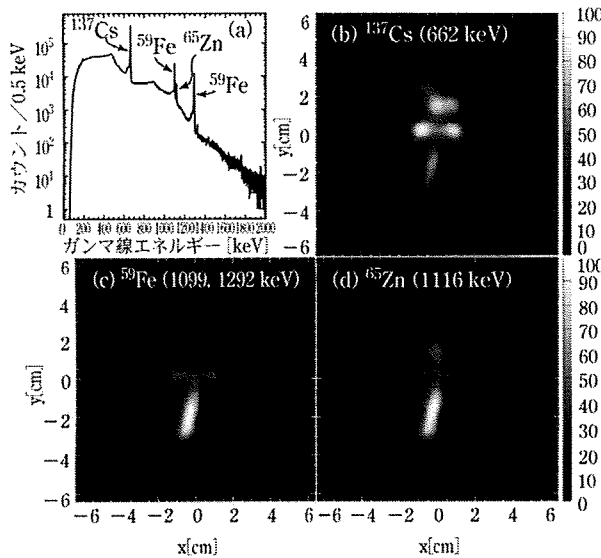


図2 ダイスの複数核種同時イメージング像



図4 GREI プロトタイプ (写真右側中央が本体部分)

いを観察した (図2)。また、動物試料としては左大腿部に Ehrlich 腹水がん細胞を移植した担がんマウスに ^{59}Fe 、 ^{65}Zn および ^{88}Y (898, 1836 keV) の3核種を投与したもので、95時間の撮像を行い画像化に成功している。

3 GREIによる複数分子同時イメージング法

GREIでどのようにして複数分子同時イメージングが可能となるのかを理解するため、まず撮像原理であるコンプトンカメラの原理について簡潔に説明する。コンプトンカメラの概念自体はγ線天文学用の装置として1973年に考案され⁷⁾、翌年には医学診断用装置としても提案されている⁸⁾。コンプトンカメラの撮像原理は、2台の位置感応型γ線検出器を並べることにより、γ線と物質の相互作用の一つであるコンプトン散乱事象を捉え、γ線の入射方向を特定することにある。図3に示したGREIにおける撮像原理図を例にとると、1段目の検

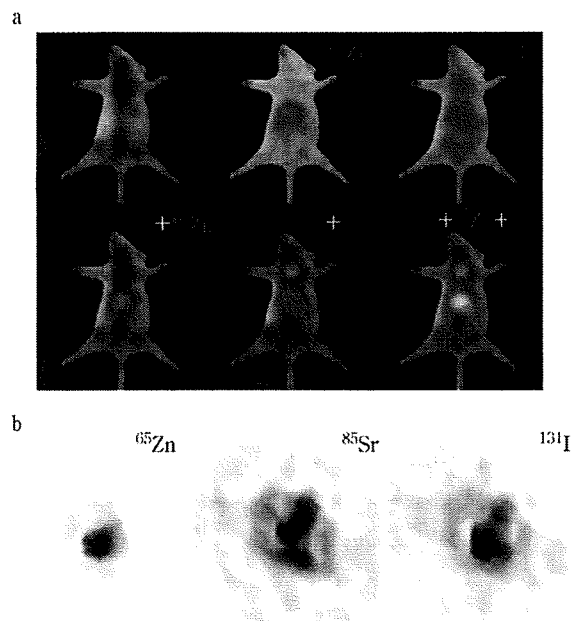


図5 実証実験の結果 (a: マウス写真との重ね合わせ, b: 位置依存型 PSF による三次元画像再構成像)

出器に入射した γ 線がコンプトン散乱され、その散乱 γ 線が2段目の検出器で全吸収された場合、 γ 線の散乱角 θ は次のコンプトン散乱の公式から求められる。

$$\cos \theta = 1 + m_e c^2 \left[\frac{1}{E_y} - \frac{1}{E_y - E_1} \right]$$

$$E_y = E_1 + E_2$$

ここで、 E_y は入射 γ 線のエネルギー、 E_1 は1段目の検出器で測定されたエネルギー、 E_2 は2段目の検出器で測定されたエネルギー、 $m_e c^2$ は電子の静止質量エネルギーである。この方程式から1段目と2段目で測定された γ 線の相互作用点を結ぶ直線を軸とし、1段目の検出器における相互作用点を頂点とした、散乱角 θ の2倍の開角を持つ一つの円錐面が定まる。その円錐面は γ 線源の位置を通るため、多数の測定から定められる円錐面の重ね合わせから、 γ 線源の位置の描出が可能となる。

このように、コンプトンカメラ方式の大きな特徴は、機械的なコリメーターを必要としない γ 線撮像装置であるということである。そのため、従来のSPECTに比べて格段に広いエネルギー範囲の γ 線イメージングが可能であり、また γ 線の入射方向の制限がないため、一つの方向からの固定撮像であっても複数の方向へ投影した三次元分布の情報を得ることが理論上可能となる。

現在のGREIのプロトタイプ(図4)は、両面直交ストリップ電極式の平板型Ge半導体を二つ平行に並べて一つの装置に組み込んでおり、各検出器の電極面の寸法は39 mm×39 mm、前段の厚さは10 mm、後段は20 mmである。それぞれの検出器は陽極・陰極が直交する方向に3 mm幅のストリップ状に分割されている。高純度Ge半導体検出器の持つ高いエネルギー分解能と、この電極分割による γ 線の検出器中での相互作用点の位置検出によって、コンプトンカメラの原理による γ 線源分布のイメージングが可能となっている。さらに、複数の核種から放出される γ 線をエネルギーによって識別して別々に線源分布を特定することが可能であるため、異なる分子プローブ(生体内分子機能のイメージング剤)ごとに異なる γ 線放出核種を標識し、それらを同時に投与して撮像することにより、複数分子同時イメージングが可能になる。

4 生きたマウスで複数分子同時イメージング実証

本村らは、GREIのプロトタイプを用いて生きたマウスの撮像実験を行い、世界で初めて複数分子同時イメージングの実証に成功した⁹⁾。この実験では特に、生体内で異なる反応を示す3種類の放射性薬剤を同時に投与して撮像し、それぞれの薬剤の分布の違いを明確に識別可能であることが示された。図5は、正常マウスに⁶⁵ZnCl₂、⁸⁵SrCl₂(514 keV)および副腎シンチグラム用

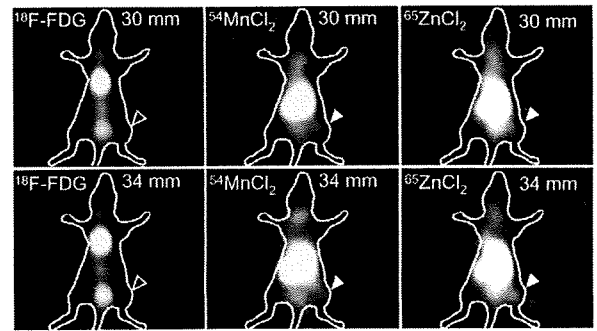


図6 担がんマウスの¹⁸F-FDG、⁵⁴Mn、⁶⁵Zn 3核種同時イメージング像

放射性医薬品アドステロール⁹⁰⁻¹³¹I注射液(364.5 keV、富士フィルムRIファーマ株式会社)を投与し、麻酔下で12時間連続撮像した結果である。Znが肝臓に、Srが骨に集積している様子や、アドステロールの副腎集積および遊離Iの甲状腺集積を明確に区別して捉えている。さらにこの実験で本村らは、撮像データから時系列画像の再構成にも成功し、装置の改良によりリアルタイムに撮像中の線源分布の変化を捉えられることを実証した。

また、PET用放射性医薬品を用いたイメージング実験として、担がんマウスにPET用放射性医薬品の¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG, 511 keV)、⁵⁴MnCl₂ (834 keV)、⁶⁵ZnCl₂を投与して12時間撮像した結果を図6に示す。BALB/c nu/nuマウスを用いてC6細胞株を右大腿部に移植して担がんマウスを作成した。⁵⁴MnCl₂ (0.9 MBq)、⁶⁵ZnCl₂ (2.0 MBq)を投与後12時間絶食し、¹⁸F-FDG (3.5 MBq)を投与し、40分間飼育してから撮像開始した。腫瘍部を捉えるため検出器からの距離30 mm、34 mmの位置での二次元画像再構成を行った結果、腫瘍部への⁵⁴Mn、⁶⁵Znの集積が観察できたが、¹⁸F-FDGの腫瘍部への集積は見られない。Mn、Znはともに腫瘍への集積性が高いことが報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。¹⁸F-FDGはグルコーストランスポーターによって細胞内に取り込まれるため、糖代謝の高い腫瘍に集積性があるが、すべての腫瘍において高い集積を示すとは限らない。複数分子同時イメージングによって、多様な機序による集積性を利用し、より高感度な診断を実現できる可能性を示している。

このように、GREIでは高いエネルギー分解能によって複数の γ 線を同時識別可能であるため、核種ごとの分布を画像化することができ、PET用プローブや一部のSPECT用プローブも撮像可能であることが実証された。

5 実用化のための技術開発

前述のとおり、筆者らは複数分子同時イメージングの実証に成功しているが、現在のGREIのプロトタイプを用いた典型的な撮像実験では、約4~5 mmの空間解

像度の画像を得るために10時間程度の撮像時間を要しており、まだ実用的とは言いがたいのが現状である。そこで、現在さらなる画質の向上と撮像時間の短縮をめざし、GREIに実装される要素技術の高度化開発を行っている。以下に示すような要素技術の高度化を達成し、1時間以内の撮像でサブミリオーダーの空間解像度の画像化を可能にすることを目標にしている。

5.1 空間解像度の向上

コンプトンカメラの原理上、 γ 線源の位置分解能（空間解像度）は検出器のエネルギー分解能と相互作用位置の検出分解能に依存する。GREIでは、高いエネルギー分解能を持つ高純度Ge半導体に、両面直交する方向に3mm幅の短冊状の電極ストリップを設置したものを検出器として用いている⁶⁾。深さ(Z)方向の相互作用位置の検出については、両面の陽極と陰極ストリップからの信号の検出時間差を解析することで、既に1mm以下での測定を実現している。また、縦横(XY)方向の相互作用位置検出については、通常は電極ストリップ幅が分解能となるが、電極分割型Ge半導体検出器の場合、信号波形を解析することにより電極分割の大きさよりも精密な相互作用位置の特定が可能となる。Ge結晶内で γ 線の相互作用により発生した電荷は隣接する電極内にも誘起信号を作るが、その信号の大きさ・形状は相互作用位置に依存する。したがって、相互作用が観測された電極ストリップの両側の電極ストリップの信号を解析することで相互作用位置の特定が可能である。計算機のシミュレーション結果により、この相互作用位置検出法を実装することで現在約4mmの空間解像度が約1mmにまで向上することが分かっている。

5.2 感度の向上

撮像時間の短縮に重要なのは、線源から放射した γ 線のうち、どれだけを有効なイベント（コンプトン散乱の方程式が適用可能となるような一連の相互作用）として画像再構成に利用できるか、という感度である。現在のGREIでは、入射した γ 線のうち、前段の検出器でコンプトン散乱し、後段検出器内で一度の相互作用により光電吸収されたイベントを選択的に収集しているが、モンテカルロシミュレーションの結果によれば、現在のプロトタイプでの後段検出器厚20mmに500keVの γ 線が入射した場合、光電吸収確率2.5%に対し、1回以上コンプトン散乱する確率は54%もある。つまり、後段検出器内で複数回散乱した後に全エネルギーを吸収されるイベントについても利用可能となれば、より検出感度は向上することが分かる。

このような複数回の相互作用を有効なイベントとして取り込むため、 γ 線トラッキング法の実装も進めている。 γ 線トラッキング法とは、電極分割型検出器で得られる

信号波形を解析することによって複数の相互作用点の位置を精度良く測定し、さらに相互作用の起こった順序も決定する技術で、GRETAプロジェクトによって大きく推進された¹²⁾。モンテカルロシミュレーション結果に基づきアルゴリズム開発を行い、これまでの実測データに適用した結果、 γ 線エネルギーに依存して3~5倍の感度向上を実証している。

ここで、上記の空間解像度向上と感度向上を同時実現する場合問題が生じる。相互作用点の位置を精度良く測定して解像度を向上させるためには隣接する電極の波形まで解析する必要があるが、トラッキング法が適用されるような複数回相互作用イベントでは、高い確率で信号波形が重なってしまう。現在実装されているアナログベースの信号処理系では、重なり合った信号を処理することは不可能であるため、解像度と感度の両方を同時に最大限向上させることは困難である。この問題の解決策として、デジタル波形処理による信号分解法を考案し、現在回路の試作段階である。デジタル回路導入により解像度と感度ともに大幅に向上したイメージングが可能になるであろう。

5.3 画像再構成法の高度化

前述したコンプトンカメラの原理によって求められる円錐面を多数のイベントについて重ね合わせた画像を単純逆投影画像と呼ぶが、実際に単純逆投影画像を生成してみると、元の線源分布像に「ボケ」を重ね合わせたような画像が得られる。そこで、この単純逆投影画像生成のモデルとして次の積分方程式を適用する。

$$s(x) = \int p(x, x')g(x')dx'$$

ここで、 x および x' は三次元の位置座標を表し、 $s(x)$ 、 $p(x, x')$ および $g(x')$ はそれぞれ単純逆投影画像、「ボケ」、元の線源分布画像である。「ボケ」は点広がり関数(point spread function: PSF)で表すことができ、元の線源分布はこの積分方程式を g について解析的または反復計算的に解くことによって再構成される⁶⁾¹³⁾。図2、図5aに示したGREIイメージング像は、位置に依存しない簡易的な二次元のPSFを用いた二次元再構成画像である。

実際にはPSFは三次元分布を持ち、また線源の位置によって測定可能な γ 線の入射角度やコンプトン散乱角が変化するため、一般にPSFは線源の位置によって変化する。このため正確な元の三次元線源分布を得るには、位置依存型の三次元PSFを実装する必要がある。しかし、再構成する三次元空間のあらゆる位置におけるPSFをそのまま実装するとデータサイズが膨大になり、現実的ではない。そこで、少数のPSFからその間の位置のPSFを計算的に補間する離散フーリエ変換を

利用した位置依存 PSF 導出法を開発し、高精度な三次元分布像をより現実的に得ることが可能となった。図 5b に位置依存型 PSF を適用した三次元画像再構成像を示す。さらに画質を向上させることは今後の課題であるが、それぞれの薬剤に特徴的な分布の違いを三次元的に観察することが可能となったことが分かる。

5.4 アレイ型コンプトンカメラの開発

前述のとおり、コンプトンカメラは機械的コリメーターを用いないため、コリメーションによる感度低下がなく、1 方向からの固定撮像でも多方向へ投影した三次元分布の情報を得ることができる。しかし、当然ながら複数の検出器を撮像対象の周囲に配置し多方向から撮像することで、感度が増加し、より広範囲の方向への投影情報を得ることができると考えられる。これは単純に複数の GREI での画像を加算したものだけではなく、複数の検出器の組み合わせによるコンプトン散乱事象の検出を行うことでより大きな感度増加が見込まれる。そこで筆者らは、現有のプロトタイプ GREI を 2 台組み合わせたアレイ型コンプトンカメラの開発に着手した。モンテカルロシミュレーションの結果、線源位置の深さ方向の分解能と検出感度の向上が見込まれている。

6 複数分子イメージング用プローブの開発

このようにコンプトンカメラ方式の複数分子同時イメージング装置開発は順調に進められている。しかし一方で、複数分子の利用を念頭に置いた新しいコンセプトのプローブ開発を行うことで、複数分子同時イメージングの有用性を明らかにしていくことも重要である。プローブ開発は装置開発と同時並行的に進める必要がある

が、開発途上の装置でプローブの機能評価を十分行うのは困難である。そこで、十分技術開発が成されている既存の分子イメージング機器を用いてプローブ開発を行い、複数分子イメージング用プローブへ転換することが望ましい。プロトタイプ GREI に適した条件として、長時間撮像に耐える長い生物学的半減期、より少ないイベント数で検出可能な局所集積性が挙げられる。そこで筆者らは、比較的長い物理的半減期を持つポジロン放出金属核種 ^{64}Cu によって標識した生体高分子プローブと、動物用 PET 装置を用いたプローブ探索を進めている。標識には様々な金属核種標識に利用可能な 1,4,7,10-tetraazacyclododecane- N,N',N'',N''' -tetraacetic acid (DOTA) をキレターとして採用しており、PET イメージングの後標識核種を他の γ 線放出核種に変えることで複数分子イメージング用プローブ化が可能となる。ここで、最近のプローブ探索において行った抗体プローブによる担がんマウスイメージング結果を一つ紹介したい。上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR) 高発現 A4314 細胞株を用いて担がんマウスを作成し、抗 EGFR 抗体である cetuximab を ^{64}Cu で標識した ^{64}Cu -DOTA-cetuximab を投与して実験を行った。また対象群として標識していない $^{64}\text{CuCl}_2$ を投与して同様に撮像した。図 7 は 23 時間後から 30 分間の PET イメージング像と 24 時間後から 12 時間の GREI イメージング像の比較である。同一個体を用いて、PET と GREI 両方で同様の腫瘍集積をイメージングすることに成功した。抗体医薬は悪性腫瘍の分子標的治療などに用いられるが、その適応の判断は難しく、抗原の発現を非侵襲的に検査可能な評価系が求められている。複数分子同時腫瘍イメージングは、非侵襲的に、複数の

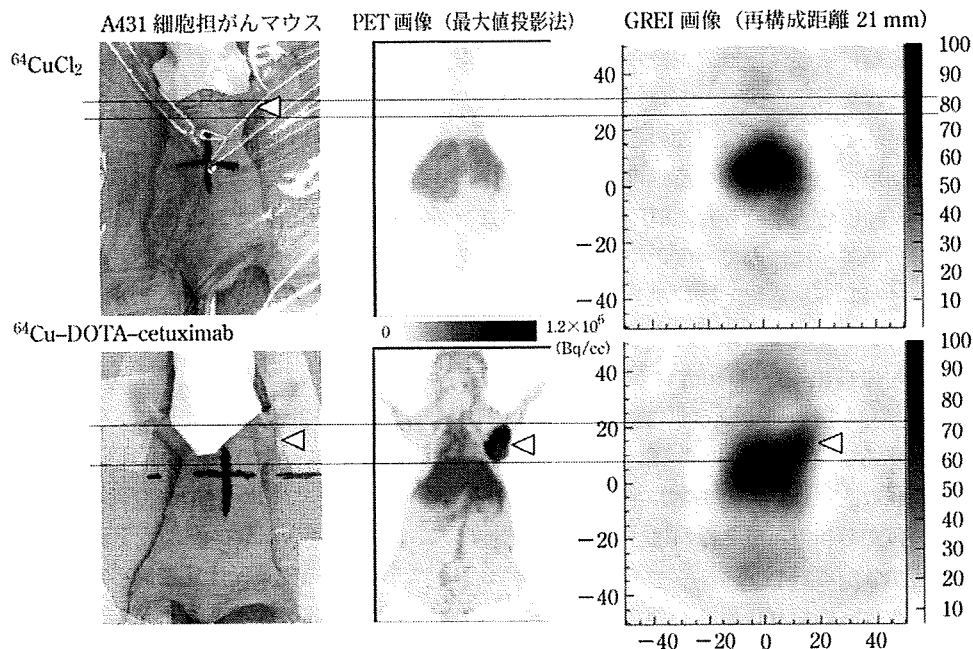


図 7 同一個体による PET および GREI による担がんマウスイメージング

抗原について一度に評価可能であり、有効な診断情報となる可能性がある。

7 わが国における医療用コンプトンカメラ開発

ここまで、筆者らの開発している GREI について述べてきたが、冒頭で触れたようにわが国では医療用コンプトンカメラの開発研究において世界をリードしている。以下に、わが国における他のコンプトンカメラ開発について紹介する。宇宙航空研究開発機構の高橋らは、GREI 同様に高いエネルギー分解能を持つ Si 検出器と CdTe 検出器を組み合わせた Si/CdTe コンプトンカメラを開発している¹⁴⁾。この Si/CdTe コンプトンカメラは宇宙 γ 線の観測を目的に、Si や CdTe 半導体素子を数十層に積層した半導体多層コンプトンカメラとして開発されてきた。80~662 keV の γ 線撮像に成功しており、Si と γ 線の相互作用生起確率から、プロトタイプ GREI に比べ低エネルギー γ 線の撮像に適しており、SPECT 用核種の撮像も可能である。現在、高橋らと筆者らはこの Si/CdTe コンプトンカメラによる小動物を用いた複数分子同時イメージングの実現を目指し共同研究を進めており、臨床や基礎医学研究で利用可能な Si/CdTe コンプトンカメラの開発を行っている。Si/CdTe コンプトンカメラは Ge 半導体検出器ほど低温度の冷却を必要とせず、センチネルリンパ腫などの術中モニタリングに応用可能なコンパクトサイズであり、高い検出効率を有している。GREI に比較して低価格なポータブルタイプの複数分子同時イメージング装置として期待されている。

一方、京都大学の谷森らは、コンプトンカメラの原理をガス増幅粒子検出器に応用した電子飛跡検出型コンプトンカメラの開発を行っている¹⁵⁾。谷森らも宇宙 γ 線観測用装置として開発を進めつつ、医療用のコンプトンカメラとしての開発も進めている。この検出器の大きな特徴は、1 段目の検出器であるガス増幅粒子検出器内で生じたコンプトン散乱で、 γ 線と衝突した散乱電子の飛跡を測定することにより、 γ 線入射方向を推定可能とすることである。このことから、より少ないイベント数で線源分布を描出することが可能となっている。また、ガス検出器のため半導体検出器より安価に大型化可能な利点がある。エネルギー分解能、感度について問題点が残っているものの、GREI や Si/CdTe コンプトンカメラと相補的な複数分子同時イメージング装置となることが予想される。

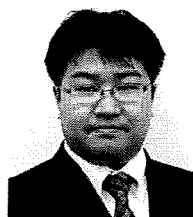
現在筆者らは、わが国におけるこれら複数分子同時イメージング装置開発グループと連携し、コンソーシアム化による研究の推進を図っている。

8 今後の展望

以上のように、コンプトンカメラ方式を採用した装置開発によって複数分子同時イメージングの実現は間近と言える。今後様々な疾患関連分子のプロープ開発を進めることにより、がんと炎症の区別、移植・再生医療における成功の判定など日常臨床における重要な診断基準のモニタリングに有用なツールとして、複数分子同時イメージングの果たす役割は大きいと考えられる。筆者らの開発している GREI が、近い将来、日本発の新しい診断装置として実用化されることを期待している。

文 献

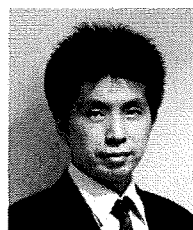
- 1) S. Ambe, S. Y. Chen, Y. Ohkubo, Y. Kobayashi, M. Iwamoto, M. Yanokura, F. Ambe: *Chem. Lett.*, **1991**, 149.
- 2) S. Ambe, S. Y. Chen, Y. Ohkubo, Y. Kobayashi, M. Iwamoto, M. Yanokura, F. Ambe: *Anal. Sci.*, **7**, 317 (1991).
- 3) 榎本秀一: *Biomed. Res. Trace Elements*, **12**, 71 (2001).
- 4) Y. Gono, T. Morikawa, T. Kishida, K. Morita, A. Odahara, E. Ideguchi, T. Murakami, M. Oshima, M. Sugawara, H. Kusakari, H. Kunagai, H. Tsuchida, M. Ogawa, M. Kidera, M. Shibata, K. Miyazaki, S. Mitarai, Y. H. Zhang, A. Ferragut, G. H. Liu, Y. Hatsukawa, J. C. Kim, S. A. Shin,



金山洋介 (Yousuke KANAYAMA)

独立行政法人理化学研究所神戸研究所分子イメージング科学研究センターメタロミクスイメージング研究ユニット (〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 6-7-3)。金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻博士後期課程修了。博士 (保健学)。《現在の研究テーマ》複数分子同時イメージング法の開発とプロープ探索。《趣味》映画鑑賞。

E-mail: ykana@riken.jp



本村信治 (Shinji MOTOMURA)

独立行政法人理化学研究所神戸研究所分子イメージング科学研究センターメタロミクスイメージング研究ユニット (〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 6-7-3)。九州大学大学院理学研究科博士後期課程単位取得退学。博士 (理学)。《現在の研究テーマ》半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングの実現。《趣味》車・バイク。

E-mail: motomura@riken.jp



榎本秀一 (Shuichi ENOMOTO)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬品機能分析学分野 (〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1)。及び理化学研究所兼務。北海道大学大学院薬学研究科博士後期課程修了。薬学博士。《現在の研究テーマ》マルチトレーサー法、複数分子同時イメージング、プロープ創薬、メタロミクス研究。《主な著書》“生命元素の事典”(分担執筆)(オーム社)。《趣味》ゴルフ、乗馬。E-mail: senomoto@pharm.okayama-u.ac.jp または semo@riken.jp