

## 生物学分野における中性子イメージングの新たな展開

——高分解能化と多様化——

松 嶋 卯 月

### 1 はじめに

中性子イメージングは、放射線の一種である中性子線を用いた可視化法であるが、水素をはじめとする軽原子に対して高い感度を持つ。これまでのところ、主として物質に対する中性子ビームの透過度の違いを利用し、物体の内部を透視する中性子ラジオグラフィーを中心に研究が進められ、工学、生物学、農学、考古学などで非破壊検査法として広く応用されている。生命科学の分野においては水素に対する高い感度を利用し、特に植物内の水分分布の可視化に用いられてきた。

近年、周囲を金属で覆われた燃料電池内における水の動きの可視化に対して中性子イメージング応用の機運が高まり、それに応じて可視化技術が急速に進歩している。その動きは画像分解能の向上、利用可能な中性子波長帯の拡大等へ新しい展開をみせており、生命科学の分野においても、動植物の組織レベルでの観察や、内部物質分布の可視化等が可能になってきた。ここでは、中性子イメージングの一般的な手法である中性子ラジオグラフィーの原理および方法、また、バイオイメージングとしての中性子利用について最近の応用例を紹介する。

### 2 中性子ラジオグラフィー

中性子イメージングは、中性子ラジオグラフィー、小角散乱を利用したイメージング、磁気位相イメージング、即発ガンマ線イメージング等の様々な原理、方法に展開している。ここでは、その中で最も一般的な透過画像撮影法である中性子ラジオグラフィーについて原理、方法等を述べる。

#### 2.1 原理

物質に中性子ビームが入射し透過するとき、その中性子ビームは、物質中の原子核と核反応を起こすため減衰する。減衰の程度は物質を構成する原子によって異なり、中性子ビームの透過度の違いとして現れる。図1に各原子の熱中性子ならびに100 keVのX線の質量吸収係数 $\mu$ を示す。 $\mu$ は原子によって中性子ビームが減衰される程度を表し、値が増えるほどビームの減衰は大きい。X線は、原子の質量が大きくなるにつれ $\mu$ が増加する傾向にあり、ビームが透過しにくくなるが、中性子

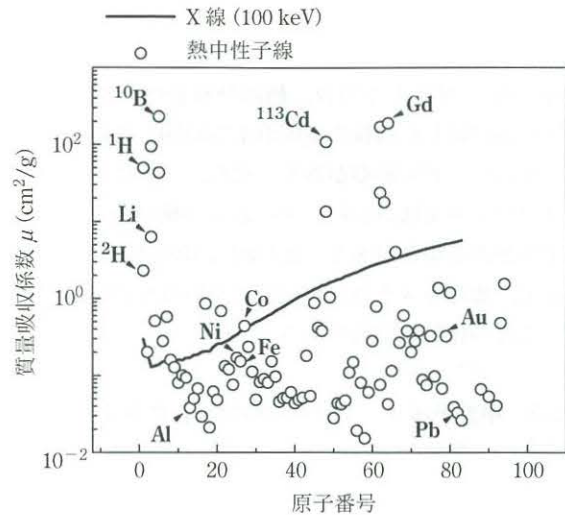
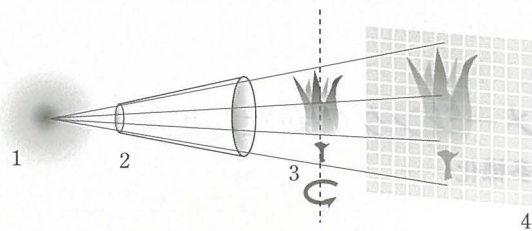


図1 熱中性子およびX線(100 keV)の質量吸収係数 $\mu^{(4)}$

の場合は、水素、リチウム、ホウ素など種類によっては軽原子でも質量吸収係数が大きく、したがってそれら原子の検出感度が高い。すなわちX線では写像が得られない水素でも、中性子ではビームの減衰が大きい濃い写像として可視化できる。また、水素( $^1\text{H}$ )と重水素( $^2\text{H}$ )といった同位体の間であっても、大きく質量吸収係数が異なる例もある。この性質が中性子ラジオグラフィーをX線ラジオグラフィーと相補的に用いることができるユニークな可視化法としている。

#### 2.2 撮像方法

中性子ラジオグラフィーの基本的な撮像システムは、試料を透過した中性子ビームをコンバーターと検出器で捉える方式である(図2)。コンバーターは中性子線を検出器で捉えられるX線や蛍光に変換し、イメージングプレート、CCDカメラなどの検出器で像を記録する。また、試料を $180^\circ$ 回転しながら複数枚写像をとることで三次元画像である中性子CT(computed tomography)が得られる。コリメーターでビームを絞ることで中性子ビームの平行度が良好になり、画像の空間分解能が高まる。得られる画像の空間および時間分解能は、中性子束およびビームの平行度、検出器の性能に依存するが、多くの場合、空間分解能と時間分解能は並び立たず、空間分解能を高める場合には時間分解能が低



1: 中性子源, 2: コリメーター, 3: 試料, 4: コンバーターおよび検出器。

図2 中性子ラジオグラフィーの基本撮像システム

下する場合が多い。しかし、状態変化しやすい生物試料を *in situ* で測定する場合、時間分解能は無視できず、研究目的に適した画像の空間および時間分解能をあらかじめ検討しておく必要がある。また、一般に中性子ラジオグラフィーではコンバーターおよび検出器と試料の間は余裕がある場合が多く、比較的大型の試料にも対応が可能で、またカメラや試料周囲にそのほかの装置を設置することも比較的容易である。

### 2.3 中性子イメージングが植物試料に与える影響

生体の非破壊計測を行う上で、第一に測定中の試料における生理的状態の安定が保障される必要がある。筆者らは、特に植物試料内の水の動態に関心を寄せているため、植物の蒸散に関連の深い光合成活性に対する中性子ビーム照射の影響について検討を行った。クロロフィル蛍光イメージングは、植物が行っている光合成の状態を示すパラメーター群である、光化学系 II の最大量子収率、電子伝達の量子収率、エネルギーの熱放散の効率などを簡便に画像化できる。特に、そのパラメーター群の中で、行われている光合成の効率と深く関連のある光化学系 II の最大量子収量を表すパラメーターである  $F_v/F_m$  は植物に与えられる水ストレスなどに敏感な反応を示す。そこでトマト苗試料に対し、60分間中性子ビームを照射し、照射期間中および照射後60分間の  $F_v/F_m$  の経時変化をクロロフィル蛍光イメージングを用いて測定した。なお、実験はドイツ、Helmholtz Center Berlin Materials and Energy (HZB) の冷中性子ラジオグラフ装置 CONRAD で行った。 $F_v/F_m$  は各照射状態で15分おきに4回測定し、照射前から照射中、照射後までその平均値は一貫して0.6であった。60分間の冷中性子ビームの照射は光化学系 II の最大量子収量に影響を及ぼさないことが確認された<sup>1)</sup>。

中性子ラジオグラフィーが対象となる生物試料に与える影響を検討した別のアプローチとして、山田らは、後述するスギ病変部における水分分布の可視化に際し、中性子が菌の生長に与える影響を調査したところ顕著な影響は見られなかったことを報告している<sup>2)</sup>。原子炉事故などを想定した人体へ中性子が与える影響についての研究は多く見られるが、中性子ラジオグラフィーが植物試

料に与える影響を評価した例はごくわずかで、今後の更なる研究が必要であろう。

## 3 中性子によるバイオイメージング

### 3.1 中性子ラジオグラフィーから中性子分光イメージングへ

これまで熱中性子ビームを利用したラジオグラフィーが一般的に使用されてきたが、近年、冷中性子あるいは単色中性子、さらにはエネルギーの高い核分裂中性子の利用が試みられている。それにより、生命科学へ応用する上で、その生体試料の厚さや含水量などを考慮し、対象となる試料により適したエネルギーの中性子イメージングを選択することが可能になってきた。

中性子ラジオグラフィーに一般的に利用されているのは熱中性子ビームである。熱中性子は周囲の物体と熱平衡にあり、そのエネルギーは常温 (300 K) で 25 meV である。1990年代から、中西らによって熱中性子ラジオグラフィーを用いて植物地上部および地下部における水分分布の観察方法に関する研究が進められた<sup>3)</sup>。一方で、動物科学や医学分野への応用においては、実験試料となる生体組織が厚く、かつ水分を多く含むため、中性子が透過しにくいなどの制約がある。しかし加藤らは、イメージングプレートを用いてマウスの気管支や肺を判別できる透過画像を得た<sup>4)</sup>。このように生物試料は一般に水分をはじめ水素の含有量が高いため、中性子ビームが透過できる試料の厚さが制限されることが多い。しかし、核分裂中性子を用いることで、厚い試料の中性子ラジオグラフィーを得ることが可能である。Bücherlらは、ミュンヘン工科大学の実験炉 FRM II に設置された核分裂中性子ラジオグラフ装置 NECTAR の開発を進めており、医療用目的を念頭にプラスチック容器に水を張り、ポリエチレン棒と大腿骨をその内部に置き中性子ラジオグラフィー画像を撮像した<sup>5)</sup>。その結果、水中の大腿骨やポリエチレン棒の像を確認することが可能であった。

また、近年、熱中性子よりエネルギーの低い中性子を用いたラジオグラフ装置が増加している。代表的な冷中性子ラジオグラフ装置の一つである CONRAD の照射スペクトルのピーク波長は約 3.1 Å であり、8 meV から 9 meV のエネルギーを持つ。冷中性子を用いたラジオグラフィーの利点は、高い画像コントラストを得られる点である。すなわち、生体試料中の水のわずかな変化を捉えることが可能である。筆者らは後述する重水トレーサーを用いた水移動の可視化をはじめ、キク切り花の真空予冷時における水分減少について検討した例<sup>6)</sup>など、主に冷中性子ラジオグラフィーを研究に用いている。本法の自然科学分野における興味深い応用では、Hammarlundらによる生物の軟組織が化石化する過程の解明が挙げられる<sup>7)</sup>。粘土に埋められたエビの腐朽あるいは

保存過程を中性子 CT で経過観察したが、試料中の軟組織および硬組織ともはっきり可視化することが可能であった。

さらに、特定の波長のみを取り出した単色中性子ビームを利用した中性子ラジオグラフィーも開発されている。単色中性子を用いる最大の利点は、波長による減衰係数の変化が各原子によって異なることを利用し、減衰の差が大きい二つの波長におけるイメージの差から、原子によってはその透過画像を上回る高コントラストでイメージングできる点であろう。本法の生命科学への応用にはスイス、Paul Scherrer Institut (PSI) の冷中性子ラジオグラフ装置、ICONを利用した乾燥した植物葉におけるホウ素分布の可視化の試みなどがある<sup>8)</sup>。すなわち、現在中性子ラジオグラフィーは中性子分光イメージングへと進歩しつつある。

### 3・2 器官レベルから組織レベルでの可視化へ

ここ数年の中性子ラジオグラフ装置の進歩により、その空間分解能は数年前の約 200  $\mu\text{m}$  から、現在約 30  $\mu\text{m}$  まで飛躍的に向上し、生体の構造や内部の水分分布を組織レベルで可視化することが可能となった。図 3A は、PSI の ICON にて 2008 年 11 月に撮影されたリンゴ果肉の柔組織の冷中性子 CT 画像である。画像中に見られる凹み(矢印)はリンゴ柔組織細胞間に見られる空隙くうげきと考えられる。また、図 3B は HZB の CONRAD にて 2007 年 9 月に撮影されたバラ (*Rosa hybrida* L. cv. Red Giant) 花柄部の冷中性子 CT 画像である。得られた画像上では髓の柔組織とその周囲の維管束、表皮の構造が区別でき、水分分布の違いが認められた。画像の空間分解能を高める試みは現在も続いており、コンバーターおよびカメラ光学系の改良を進めることなどで、さらに 10  $\mu\text{m}$  程度までの向上を目指している。

### 3・3 植物内の水の動きを可視化する

中性子ラジオグラフィーは、生体内部の水分分布および変化を明らかにするために用いられることが多い。しかし生体中には定常的な水の流れ、たとえば動物では血液等、植物では蒸散流等があり、体内の細胞に溶質である酸素や栄養等を供給する。このような水の流れを可視化することは、生体内での水利用や物質移動を理解する上で意味がある。しかし、試料による照射ビームの減衰によって濃淡が表れる中性子あるいは X 線ラジオグラフィーでは、試料中における血液や水など流体の定常的な流れを可視化することができない。また、植物の根にはカスバリー線という水やイオンを容易に透過させない層があり、植物は水やイオンを選択的に取り入れる。すなわち、なんらかの物質をトレーサーとして利用しても、植物の根は不必要なものは容易に受け入れない。水素の同位体である重水素と酸素の化合物である重水

( $\text{D}_2\text{O}$ ) は化学的性質が水によく似ているが、重水素は水素と比較して中性子の減衰係数が小さいため、水より中性子を透過しやすい。その結果、透過画像における影は、水が重水に置き換わったところほど薄くなる(図 4)。この重水の性質を利用し、冷中性子ラジオグラフィーと重水トレーサーを用いた植物内における蒸散流を可視化した。図 5 は、トウモロコシ苗内の重水トレーサーの移動を示した画像である。実験は CONRAD で行った。図 5 上のカラーバーで示される右側の色ほど、重水トレーサーが多いことを示す。時間経過に従ってトウモロコシの根が緑から黄色、赤に近い色に変化し、重水の吸収過程が可視化された。すなわち、重水は水に化学的性質がよく似ているため、植物にトレーサーとして十分取り込まれた。本方法と中性子 CT イメージングを組み合わせることで、三次元における水の動きも可視化できる<sup>9)</sup>。

また、生体内における水移動の方向と速度を定量することは、植物の水分生理を理解する上で大きな助けとなる。そこで筆者らは、重水トレーサーが植物内を移動する濃淡連続画像から、物体移動の計算手法であるオプティカルフローの一種であるブロックマッチング法を用いて、重水トレーサーの移動ベクトルを計算した(図 6)<sup>10)</sup>。図中のカラーバーは下方ほど流速が速いことを示す。図 6C の重水トレーサーの濃淡画像から、図 6D に示す重水の移動ベクトルが得られ、試料中の水移動速度の違いを可視化できる。現在、筆者らは本方法を図 3B 等による中性子 CT を用いた構造解析とともに、バラ切り花による吸水を阻害する病気であるバラベントネック症状の原因を解明する研究に活用している<sup>11)</sup>。以上のように、中性子ラジオグラフィーと重水トレーサーの組み合わせは、植物の水移動と代謝の関係を明らかにする技術として多様な目的に応用できると考えられる。

### 3・4 他のバイオイメージング法との併用

2・2 で述べたが、中性子ラジオグラフィーは、中性子ビームの軌道さえ確保できればその周囲に計測機器を置きやすい。その利点を利用し、例えば、中性子およびクロロフィル蛍光イメージングを組み合わせることで、植物の水分マップと光合成活性の関係を得ることができる。筆者らは、環境汚染ガスである  $\text{SO}_2$  がハイビスカス苗木に与える影響を光合成活性および水移動速度をパラメーターとして解明することを試みた<sup>12)</sup>。一定濃度の  $\text{SO}_2$  ガスに曝露ばくろするために、試料はアルミニウム容器で覆われ、その容器にはクロロフィル蛍光イメージングのための石英ガラス窓を設置した。アルミニウムは中性子の透過性が高いため、中性子イメージングにおいて試料台等によく使われる。また、クロロフィル蛍光イメージング装置も試料容器近傍に設置した。図 7 は、

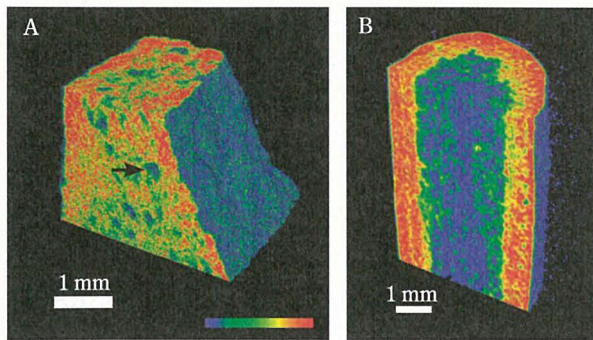


図3 リンゴ果肉の柔組織(A)およびバラ花柄部(B)の冷中性子 CT 画像

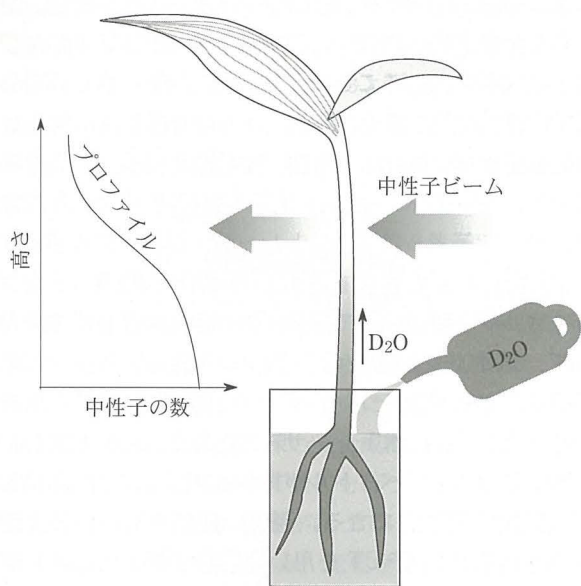
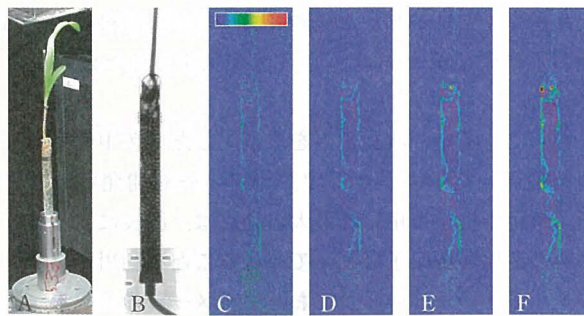


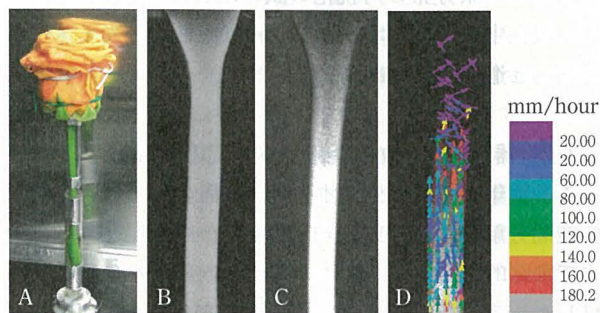
図4 重水トレーサーによる水移動の可視化方法

SO<sub>2</sub>に曝露前、曝露中、曝露後のクロロフィル蛍光イメージである。図の擬似カラーは  $F_v/F_m$  が大きいほどカラーバーの右方の、少ないほど左方の色で着色された。ハイビスカス葉の光化学系 II の最大量子収量  $F_v/F_m$  は減少し、SO<sub>2</sub> ガスが試料植物の光合成活性に影響を与えたことが確認された。その後、供給ガスは空気に切り替えられ、 $F_v/F_m$  は元の状態へと回復傾向を見せた。その間、重水トレーサーを用いた中性子ラジオグラフィも同時に撮像された(図8)。図8中において青で示した重水トレーサーの移動は、SO<sub>2</sub> 雰囲気下よりも、その後空气中に置かれたときのほうが速かった。光合成が活発であるほど葉は水を必要とするため、光合成活性が低下すると植物の蒸散流量は減少する。すなわち、クロロフィル蛍光イメージと重水トレーサーを利用した中性子ラジオグラフィによって、植物の光合成と蒸散流の関係を可視化が可能であった。このように、生体内の水移動や分布を中性子ラジオグラフィで可視化しながら、それに関係の深い他のイメージング法や計測法を組み合わせる本方法は、生体における水利用



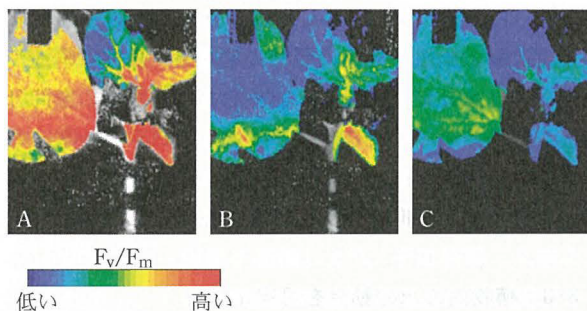
A: 植物試料, B: 中性子透過画像, C, D, E, F: 重水供給開始からそれぞれ 7, 10, 15, 25 分後。

図5 トウモロコシによる重水トレーサーの吸収



A: 植物試料, B: 冷中性子透過画像, C: 重水トレーサーを示す濃淡画像, D: 重水トレーサーの移動ベクトル画像。

図6 バラ切り花(品種: Milava)内部における重水トレーサーの移動ベクトル



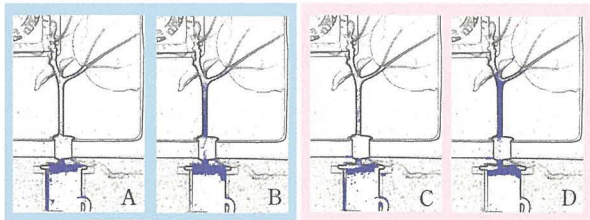
A: SO<sub>2</sub> ガス曝露前, B: 同試料を SO<sub>2</sub> ガス 2 ppm 環境下に置いてから 65 分後, C: 再び空気環境下に置いてから 120 分後。実験は HZB, CONRAD にて行われた。

図7 異なる SO<sub>2</sub> ガス環境に置かれたハイビスカス苗木のクロロフィル蛍光画像

の理解を深める上で有効な手段であろう。

### 3.5 中性子イメージングの多様化

これまで、中性子ラジオグラフィを中心に述べてきたが、近年、それと異なる原理で物体中の様々な要素を可視化できる中性子イメージング法が開発されている。その一つは、熱中性子による即発ガンマ線を用いた三元元素分析可視化技術である。即発ガンマ線分析は中性子を捕獲した原子核が放出するガンマ線が各元素で異なる



A: 試料を SO<sub>2</sub> ガス 2 ppm 環境下 38 分後, B: 84 分後, C: 再び空気環境下 38 分後, D: 同 84 分後。実験は HZB, CONRAD にて行われた。

図 8 異なる SO<sub>2</sub> ガス環境に置かれたハイビスカス苗木における重水トレーサの吸収

ることを利用した元素分析法で、非破壊で多元素を同時に定性、定量できる。またその検出分解能は質量%で 0.1% から ppb オーダーと高い。瀬川らは、即発ガンマ線分析を用いてイメージングを行う目的で、日本原子力研究開発機構の研究炉 JRR-3 に設置された実験ポート T1-4-1 を用い即発ガンマ線 CT 装置を開発し、長さ 10 mm のカドミウム棒を三脚型に組み合わせたサンプルの三次元 CT を得た<sup>13)</sup>。すなわち、即発ガンマ線分析が多く元素を高感度で検出可能であることを考慮すると、生物分野の新しいイメージング法として今後幅広い応用の可能性を持つ。そのほかに、誌面の都合で紹介できないが、熱外領域の共鳴吸収を利用した温度分布測定や小角散乱を利用したイメージングなどが、今後生命科学分野に広く応用できる可視化法として有望である。

#### 4 おわりに

以上、バイオイメージングに応用できる可視化法について、中性子ラジオグラフィーを中心に、その方法および最近の話題について述べた。中性子イメージングは、高分解能が得られるラジオグラフ装置、新たなイメージング方法、運転が始まった大強度陽子加速施設 (J-PARC) におけるパルス中性子源の利用など更なる発展が期待されている。本文が分析化学および生物科学の研究者の方々へ少しでも情報を提供できれば幸いである。最後に、中性子ラジオグラフィーの原理に関する図のご提供を頂いた HZB の Nikolay Kardjilov 博士、常に中性子科学についてお教えいただいている京都大学原子炉実験所の川端祐司教授をはじめとして、御協力いただ

た皆様にこの場を借りてお礼を申し上げます。ありがとうございました。

#### 文 献

- 1) U. Matsushima, N. Kardjilov, W. B. Herppich, A. Hilger : *BENSC Exp. Rep.* 2006, 138 (2007).
- 2) T. Yamada, Y. Aoki, M. Yamato, M. Komatsu, D. Kusumoto, K. Suzuki, T. M. Nakanishi : *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **264**, 329 (2005).
- 3) T. M. Nakanishi, S. Inagawa, H. Kobayashi : *Radioisotopes*, **40**, 126 (1991).
- 4) K. Kato, G. Matsumoto, N. Karasawa, Y and Niimura, M. Matsubayashi, A. Tsuruno : *Nucl. Instr. and Meth. A*, **377**, 123 (1996).
- 5) T. Bücherl, F. Wagner, C. L. v. Gostomski : *Nucl. Instr. and Meth. A*, (2009), in press.
- 6) U. Matsushima, Y. Kawabata, T. Horie : *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **264**, 2, 325 (2005).
- 7) E. Hammarlund, D. Canfield, S. Bengtson : *Proceedings of the eight world conference WCNR-8*, p. 448 (2008), Gaithersburg.
- 8) G. Kühne, E. Lehmann : *Conference CD of Int. workshop on neutron imagin using cold neutrons and related topics*, (2005).
- 9) U. Matsushima, W. B. Herppich, N. Kardjilov, A. Hilger : *BENSC Exp. Rep.* 2007, 183 (2008).
- 10) U. Matsushima, W. B. Herppich, N. Kardjilov, W. Graf, A. Hilger, I. Manke : *Nucl. Instr. and Meth. A*, **605** 146 (2009).
- 11) U. Matsushima, W. Graf, N. Kardjilov, W. B. Herppich : *Abstract of Postharvest unlimited 2008*, p.141 (2008), Berlin.
- 12) U. Matsushima, N. Kardjilov, A. Hilger, I. Manke, H. Shono, W. B. Herppich : *Nucl. Instr. and Meth. A*, **605**, 185 (2009).
- 13) M. Segawa, H. Matsue, M. Kureta : *Nucl. Instr. and Meth. A*, **605**, 54 (2009).
- 14) *Neutron News*, 3(3), Table 1. Neutron scattering lengths and cross-sections of the elements and their isotopes, (1992).

松嶋卯月 (Uzuki MATSUSHIMA)

岩手大学農学部 (〒020-8550 盛岡市上田 3-18-8)。山形大学大学院農学研究科修士課程修了。博士(農学)。《現在の研究テーマ》中性子および X 線イメージングの農学分野への応用。《趣味》旅行、写真撮影。

