

[原著]

放射光イメージングと3Dプリンターを組み合わせた 化石の高精細三次元再構成の試み

米山明男*・馬場理香**

Detailed three-dimensional modeling of paleontological samples using combination of
synchrotron-based fine imaging and 3D printing techniques

Akio Yoneyama* and Rika Baba**

Abstract

Aiming at detailed three-dimensional modeling of paleontological samples, we combined the synchrotron-based fine imaging and 3D printing techniques. Fine observation of microfossil was performed using synchrotron-based micro computed tomography (CT) system at the beamline 07 of Saga Light Source, and high-contrast observation of an insect embedded in amber was performed using phase-contrast X-ray imaging system at the same beamline. 3D models of microfossil and the insect created using commercial 3D printing machine with obtained fine data showed detailed surface and inner structures.

Key words: Synchrotron radiation, CT, phase-contrast, 3D printer

1. はじめに

放射光は光速に近い速度で周回する電子が円周に沿って曲げられる際に発生するX線のことで、従来のX線管球に比べて強度が3桁以上強く、かつ発散角が小さいという大きな特徴を持つ。このため、放射光を光源としたX線 Computed tomography (CT) では、密度差の小さな試料をミクロンオーダーの高い空間分解能で短時間に観察することができる。現在、SPring-8をはじめとする放射光施設で一般に利用できる計測器として整備が進められており、電池や半導体などの産業用各種材料 (Wolf et al. 2017など)、細胞や器官などの生体試料 (Matsuyama et al. 2017など)、及び隕石 (Yabuta et al. 2009など) 等様々な分野における高精細な三次元観察法として広く利用されている。

X線CTの分野では感度の向上を目的として、位相

コントラストX線イメージング法 (位相イメージング法) の開発も同時に進められている。本法はX線を波として捉え、試料を透過した際に生じた位相シフト (位相の変化) を画像化する高感度なイメージング法である。従来法に比べて1000倍感度が高いという特徴があり (Momose et al. 1996)、軽元素で構成された生体の軟部組織や有機材料など従来のX線CTでは観察が難しかった試料を高いコントラストで短時間に観察することができる。これまでに、ガンと正常組織の無造影識別など生体試料の観察 (Takeda et al. 1995) に加えて、南極古氷中のエアハイドレート (Takeya et al. 2006) や動作中の電池内部の観察 (Takamatsu et al. 2018) などにも適用されている。

上記の放射光を利用したイメージング (放射光イメージング) は古生物学や考古学においても利用されており、これまでに国内ではアンモナイト (竹田

2018年9月29日受付, 2018年11月30日受理

*九州シンクロトロン光研究センター 〒841-0005 佐賀県鳥栖市弥生が丘8-7
SAGA Light Source, 8-7 Yayoigaoka, Tosu, Saga 841-0005, Japan
E-mail: yoneyama@saga-ls.jp

** (株)日立製作所研究開発グループ 〒185-8601 東京都国分寺市東恋ヶ窪1-280
Research and Development Group, Hitachi Ltd., 1-280 Higashi-koigakubo, Kokubunji, Tokyo 185-8601, Japan

2017), 鳥類や微化石(上松ほか 2016)などの非破壊観察に加え, 仏像などの木材種類の同定(杉山 2016)などに応用されている。海外では応用例が多く(Tafforeau et al. 2006), 各種の骨(Sanchez et al. 2012), 歯(Chaimanee et al. 2003), 胚(Donoghue et al. 2006), 植物の種(Devore et al. 2006), 琥珀中の昆虫(Westneat et al. 2003, Lak et al. 2008)など多様な試料の高精細な観察が行われている。

本研究では, 上記の放射光イメージング(マイクロ X線 CT 及び位相イメージング)と 3D プリンターを組み合わせた高精細な三次元実体再構成(造形)を世界で初めて試みた。以下, 放射光イメージングの原理, 装置の概要, 微化石(有孔虫)及び琥珀に閉じ込められた昆虫の観察結果, 及び同三次元データを対象として光造形(SLA)型の 3D プリンターにより実体再構成した結果について報告する。

2. 計測原理と装置

2.1 マイクロ X線 CT システム

放射光を用いた高空間分解能の三次元計測法として一般には, (1) 平行ビームをそのまま試料に照射して空間分解能の高い画像検出器で検出する平行ビーム照射型, (2) 「ミラー」によりミクロン以下に集光した X線を試料上で走査して像を得る走査型, (3) 対物レンズを利用して試料を透過した像を拡大して検出する結像型, の 3 種類に大きく分類することができる。

(1) の平行ビーム照射型では空間分解能がサブミクロン程度に限定されるが, 数 mm 角以上の比較的広い観察視野を確保可能で, かつ X線の利用効率が高く計測時間が短いという特徴がある。そこで, 九州シン

クロトン光研究センター(佐賀 LS)ではビームライン 7 番(BL07)に本原理に基づいたマイクロ X線 CT システムの構築を進めている(Yoneyama et al. 2016)。

本システムは図 1 に示すように主に, X線スリット, 試料回転位置決めステージ, 及び高分解能 X線カメラから構成されており, 光源から放射された白色の放射光(X線)を単色器或いは金属フィルター(図 1 には未表示)によりエネルギーを選別し, X線スリットによりサンプルのサイズに合わせて整形(切り出し)し, サンプルに照射している。そして, サンプルを透過した X線を下流に配置した X線カメラにより像として検出している。本法における空間分解能は, X線カメラの分解能と, サンプルとカメラの距離(ワーキングディスタンス(WD))に主に依存しており, WD が短いほど高精細な観察を行うことができる。このため, 小型の回転ステージの採用や検出器先端の形状を工夫することで WD を最小 2 mm まで短縮し, ミクロンオーダーの三次元観察を実現している。

X線カメラには入射した X線を蛍光体により可視光に変換し, レンズ系により可視光カメラに拡大結像して検出するレンズカップリング型を採用している。拡大率は対物レンズを交換することで 2, 5, 10 倍に変更可能で, 5 倍レンズにおいて画素サイズは $1.3\mu\text{m}$, 観察視野は $3.3 \times 2.8\text{mm}^2$ である。三次元像の撮像方法は通常の工業用 X線 CT と同様で, 被写体を回転させながら様々な角度から多数の投影像(レントゲン像)を取得し, 再構成と呼ばれる計算により投影像から断面像を求め, 積み重ねることで三次元像を得ている。一般的な露光時間は, 準単色 X線の場合 0.1 秒/枚, 投

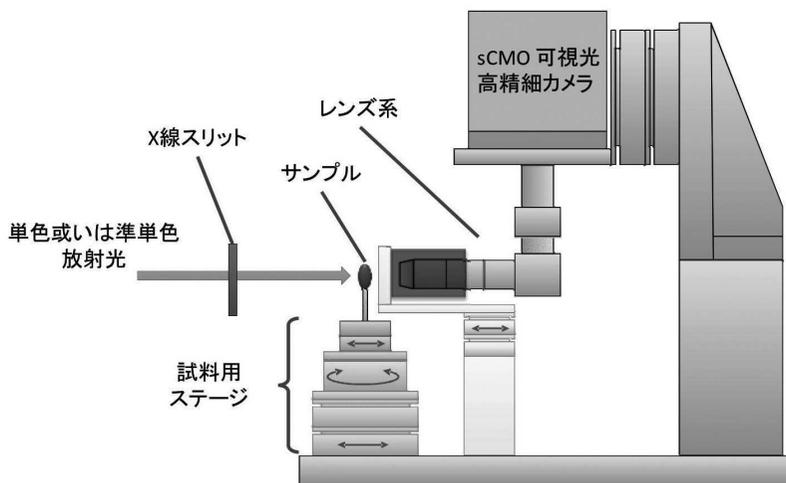


図 1. 佐賀 LS BL07 におけるマイクロ X線 CT システムの概要。

影数は1000枚で、合計の撮像時間は100秒である。

2.2 位相コントラストX線 CT システム

位相イメージング法において画像のコントラストとして検出している位相シフトは、現在の技術では直接的に検出することができない。このために、検出可能なX線の強度変化に変換して撮像を行う必要がある。変換方法として、(1) X線干渉計を用いたX線干渉法 (Momose et al. 1996) 及びタルボ干渉法 (Momose et al. 2003), (2) 屈折現象を利用した屈折コントラスト法 (Diffraction enhanced imaging (DEI)) (Chapman et al. 1997), (3) フレネル縞を利用した伝搬法 (Snigirev et al. 1995) など、様々な方法が開発されている。このうち、(2) のDEIは、最も高感度な干渉法に比べて1桁程度感度が低下するが、X線の利用効率が高く、かつ密度のダイナミックレンジが広いために多種多様なサンプルを高感度に検出することができる。そこで、佐賀LSでは本DEIに基づく撮像システムをマイクロX線CTと同じビームライン (BL07) に設置している (Sumitani et al. 2013)。

本システムは図2に示すように、非対称結晶 (回折格子面と表面が非平行な結晶)、サンプル回転位置決めステージ、アナライザー結晶、及びX線カメラから構成されている。入射X線を非対称結晶により縦方向に2~5倍程度に拡大・反射し、サンプルに照射している。サンプルを透過したX線はアナライザー結晶のX線回折により角度選別し、回折されたX線のみを高感度なX線カメラで検出している。X線がサンプルを透過する際、その伝搬方向がサンプル内の空間的な密度差 (位相シフトの微分) に比例して、僅かに屈折される (曲げられる)。そこで、本法ではアナライザー結晶のX線回折により僅かな屈折角の差を角度分解 (強度に変換) して検出し、積分することで位相シフトを求めている。

X線カメラには、ファイバーカップリング型を採用している。本カメラは入射したX線を蛍光体で可視光に変換しファイバーカップリングにより後段の可視光

用カメラに伝送・検出する方式で、倍率は1倍に固定されるが、高感度かつ高精細な撮像を行うことができる。本カメラの画素サイズは $6.5\mu\text{m}$ 、観察視野 $16.6\times 13.3\text{mm}^2$ で、毎秒100枚の撮像を行うことができる。DEI法における三次元観察では、サンプルの回転に加えて、アナライザー結晶の角度スキャンも行う必要がある。このため、一般的な撮像時間は3~4時間となる。なお、DEI法で取得した三次元像も通常のCTと同様にサンプルの密度を表すことになる。

2.3 3Dプリンターを用いた三次元再構成

三次元の立体再構成 (実体化) は、以下の手順により市販の3Dプリンターを用いて行った。

- (1) 取得した画像データ群について、位相マップ (位相シフトの空間分布) を算出した後に、FBP法 (フィルタードバックプロジェクション法) により断面像を算出 (Yoneyama et al. 2008)。
- (2) 画像処理ソフト (Image J) 上で大津法により閾値分けし (2~4分割)、プラグインソフト Bone Jによりスタックした断面像群から等閾値三次元データを抽出 (Isosurface)。
- (3) 3D編集・変換ソフト (MeshLab) により3Dプリンターの標準的なフォーマット (*.STL) に変換。
- (4) 三次元プリンターにより実体化。

本研究では3Dプリンターにレーザーを利用して光硬化樹脂を硬化させる光造形 (SLA) 型のプリンター (formlabs社製 Form 2, 最大造形サイズ $145\times 145\times 175\text{mm}$ 角, 最小積層ピッチ 0.025mm) を用いた。光硬化樹脂の色はグレーとし、製作時間短縮のために積層ピッチは 0.05mm で行った。なお、形状に大きく依存するが $50\text{mm}\times 50\text{mm}\times 50\text{mm}$ の立体像の製作には一般に6時間以上を要する。

3. 微化石及び昆虫の観察結果

3.1 微化石の観察結果

中心エネルギー 18keV に準単色化したX線を用いて、上記のマイクロX線CTシステムにより微化石

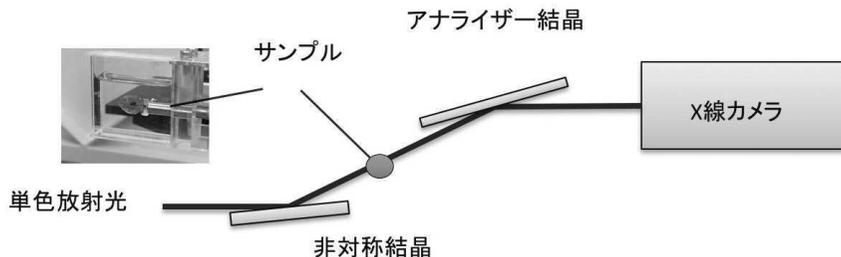


図2. 佐賀LS BL07における屈折コントラスト法を採用した撮像システムの概要。

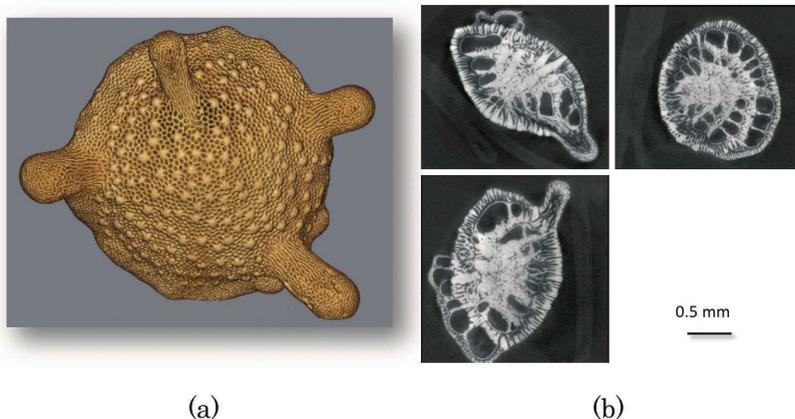


図3. 微化石（有孔虫）の観察結果。
 (a) 三次元ボリュームレンダリング像, (b) 各断面像。



図4. 琥珀に閉じ込められた昆虫の観察結果。
 (a) 三次元ボリュームレンダリング像, (b) 各断面像。

（有孔虫，産地：八重山列島，算出年代：現代）を観察した結果を図3に示す。各投影像の露光時間は100ms、投影数は1000、撮像時間は100秒である。また、X線カメラの対物レンズには5倍のレンズを利用した。左図が三次元ボリュームレンダリング像、右図が各断面像であり、放射光の大強度、及び平行性という特徴を活用することで、表面の形状に加えて、内部の構造まで非常に精細に可視化できている。なお、エッジ領域のラインプロファイルから空間分解能を評価した結果、2画素（ $2.6\mu\text{m}$ ）程度であった。

3.2 昆虫の観察結果

エネルギー25keVの単色X線を用いて上記DEIシステムにより琥珀（産地、算出年代とも不明）に閉じ込められた昆虫を観察した結果を図4に示す。露光時

間は3秒、投影数は1000、撮像時間は1時間である。なお、本測定ではアナライザー結晶の角度を固定して計測を行う簡易位相計測法を用いた。また、空気と琥珀との密度差に起因するアーチファクトを低減するために、琥珀を水中で回転して測定を行った。昆虫の全長は約3mmと小型であるが、腹節などを可視化できていることがわかる。

4. 三次元再構成（実体化）の結果

3. で取得したデータを用いて三次元再構成（造形）した微化石（有孔虫）の模型の写真（左：全体像、右：一部拡大像）を図5（a）に、昆虫の模型の写真を（b）に示す。（a）の全体像ではミクロンオーダーの表面の凹凸を、拡大像では内部の詳細構造まで高精度に再現できている。従来の画面上のレンダリング像

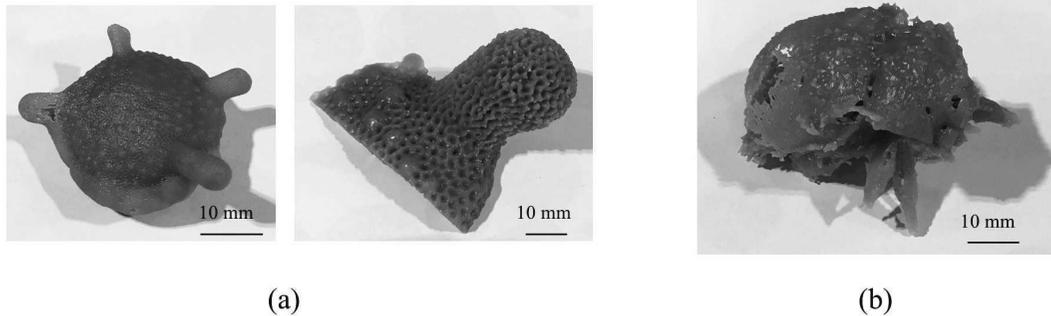


図5. 微化石 (a) と昆虫 (b) のモデリング結果 (模型).

では捕らえにくい複雑な構造を詳細に検討することができる。同様に (b) でも複雑な各器官の構造を実体化できており、位置関係を容易に把握可能なことがわかる。

5. 考察及びまとめ

一般的なX線CTの断面像はグレースケールで表現されるのに対して、3Dプリンターでは物体の有無という完全に2値化されたデータとなる。グレースケール像ではS/Nが多少低く濃淡(レベル)が変動していても元のレベルから大きく外れることは少ないが、2値化されたデータでは僅かな差が大きく強調されることになる。例えば255階調において、真値が127で取得データが124の場合、グレースケール像では差は数%でその影響は小さいが、2値化データでは閾値を125とした場合、真値1に対して取得データは0になってしまう。このため、三次元の実体化にはS/Nの良い(コントラスト分解能の高い)画像が不可欠である。放射光イメージングでは、大強度かつ平行という特徴を利用することで、図3及び4に示したように高い空間分解能、かつS/Nの良い画像を取得することができる。この結果として、図5に示したように三次元的にも高精細なモデルを再生することができた。以上から、高精細な三次元再構成を行うためには、放射光イメージングによる観察が適していると考えられる。

以上、放射光を光源とするマイクロX線CT及び位相イメージングと、3Dプリンターを組合せ、高精細な三次元再構成(実体化)を世界で初めて試みた。佐賀LSのBL07において微化石及び琥珀中の昆虫を対象とした試用観察を行い、光造形(SLA)型のプリンターにより再構成した結果、ミクロンオーダーの構造等を高精細に三次元的に再現することに成功した。本法はディスプレイ上のボリュームレンダリング像では把握が難しい複雑な三次元構造の詳細な検討、貴重

なサンプルの内部構造まで含めた完全なレプリカの作成、及び教材資料として有用であると考えられる。

謝辞

放射光を用いた計測は九州シンクロトン光研究センターの課題にて行った。

引用文献

- Chaimanee Y, Dominique J, Benammi M, Tafforeau P, Duzer D, Moussa I, Jaeger J (2003) A Middle Miocene Hominoid from Thailand and Orangutan Origins. *Nature* 422, 61-65
- Chapman D, Thomlinson W, Johnston R E, Washburn D, Pisano E, Gmür N, Zhong Z, Menk R, Arfelli F, Sayers D (1997) Diffraction Enhanced X-Ray Imaging. *Phys. Med. Biol.* 42, 2015-2025
- Devore M, Kenrick P, Pigg K, Ketcham R (2006) Utility of High Resolution X-Ray Computed Tomography (HRXCT) for Paleobotanical Studies: An Example Using London Clay Fruits and Seeds. *American Journal of Botany* 93, 1848-51
- Donoghue P, Bengtson S, Dong X, Gostling N, Hultdgren T, Cunningham J, Yin C, Yue Z, Peng F, Stampanoni M (2006) Synchrotron X-Ray Tomographic Microscopy of Fossil Embryos. *Nature* 442, 680-83
- Lak M, Néraudeau D, Nel A, Cloetens P, Perrichot V, Tafforeau P (2008) Phase Contrast X-Ray Synchrotron Imaging: Opening Access to Fossil Inclusions in Opaque Amber. *Microscopy and Microanalysis* 14, 251-59
- Matsuyama S, Yasuda S, Yamada S, Okada H, Kohmura Y, Yabashi M, Ishikawa T, Yamauchi K (2017) 50-nm-resolution full-field X-ray microscope without chromatic aberration using total-reflection

- imaging mirrors. *Scientific Reports* 7, 46358. DOI: 10.1038/srep46358
- Momose A, Takeda T, Itai Y, Hirano K (1996) Phase-contrast X-ray Computed Tomography for Observing Biological Soft Tissues. *Nature Medicine* 2, 473-75
- Momose A, Kawamoto A, Koyama I, Hamaishi Y, Takai K, Suzuki Y (2003) Demonstration of X-Ray Talbot Interferometry. *Japanese Journal of Applied Physics* 42, L866-68
- Sanchez S, Ahlberg P, Trinajstić K, Mirone A, Tafforeau P (2012) "Three-Dimensional Synchrotron Virtual Paleohistology: A New Insight into the World of Fossil Bone Microstructures". *Microscopy and Microanalysis* 18, 1095-1105
- Snigirev A, Snigireva I, Kohn V, Kuznetsov S, Schelokov I (1995) On the Possibilities of X-ray Phase Contrast Microimaging by Coherent High-energy Synchrotron Radiation. *Review of Scientific Instruments* 66, 5486-92
- 杉山淳司 (2016) 高分解能 CT でみる植物のミクロな構造 http://www.spring8.or.jp/ja/science/meetings/2016/2nd_cultural_ws/ct.html/
- Sumitani K, Ishiji K, Kawamoto M, Yoneyama A, Tabata M, Okajima T, Hirai Y (2013) Development of Diffraction Enhanced Imaging at Beamline BL07 at the SAGA Light Source and Its Application. *Journal of Physics: Conference Series* 425, 192013
- Tafforeau P, Boistel R, Boller E, Bravin A, Brunet M, Chaimanee Y, Cloetens P (2006) Applications of X-Ray Synchrotron Microtomography for Non-Destructive 3D Studies of Paleontological Specimens. *Applied Physics A* 83, 195-202
- Takamatsu D, Yoneyama A, Asari Y, Hirano T (2018) Quantitative Visualization of Salt Concentration Distributions in Lithium-Ion Battery Electrolytes during Battery Operation Using X-Ray Phase Imaging. *Journal of the American Chemical Society* 140, 1608-1611
- Takeda T, Momose A, Itai Y, Jin W, Hirano K (1995) Phase-Contrast Imaging with Synchrotron X-rays for Detecting Cancer Lesions. *Academic Radiology* 2, 799-803
- 竹田裕介 (2017) SPring-8 で化石を調べる～アンモナイトの顎から太古の生態系の解明に迫る～ http://www.spring8.or.jp/ja/news_publications/research_highlights/no_95/
- Takeya S, Honda K, Yoneyama A, Hirai Y, Okuyama J, Hondoh T, Hyodo K, Takeda T (2006) Observation of Low-Temperature Object by Phase-Contrast X-ray Imaging: Nondestructive Imaging of Air Clathrate Hydrates at 233 K. *Review of Scientific Instruments* 77, 053705
- 上松佐知子・上杉健太郎・佐野弘好・指田勝男 (2016) X線イメージングを用いたコノドント自然集合体の器官復元. 日本古生物学会第165回例会 B19
- Westneat W, Betz O, Blob R, Fezzaa K, Cooper W, Lee W (2003) Tracheal Respiration in Insects Visualized with Synchrotron X-Ray Imaging. *Science* 299, 558-60
- Wolf M, May B, Cabana J (2017) Visualization of Electrochemical Reactions in Battery Materials with X-ray Microscopy and Mapping. *Chemistry of Materials* 29, 3347-3362
- 藪田ひかる, Cody G, Alexander C, Kilcoyne D, 荒木 暢, Sandford S (2009) 走査型透過X線顕微鏡を用いた隕石・彗星塵有機物の μ -XANES 分析. *地球化学* 43, 155-168
- Yoneyama A, Wu J, Hyodo K, Takeda T (2008) Quantitative comparison of imaging performance of X-ray interferometric imaging and diffraction enhanced imaging. *Medical Physics* 35, 4724-4734
- Yoneyama A, Baba R, Hyodo K, Takeda T, Nakano H, Maki K, Sumitani K, Hirai Y (2016) Development of High-Resolution X-Ray CT System Using Parallel Beam Geometry. *AIP Conference Proceedings* 1696, 020007