質量分析イメージング法による PET 診断用低酸素イメージング剤の

腫瘍内集積機序の解明:薬物相互作用の探索、創薬への展開

京都大学 医学部附属病院 放射線部 志水 陽一

1. 緒言

固形腫瘍内では、がん細胞の増殖亢進による血管形成の遅延に伴い酸素供給の低下した低酸素領域が腫瘍の悪性化、薬物および放射線治療に対する抵抗性に関与しており、腫瘍内における本領域部位の存在および局在を同定することは、腫瘍の悪性度鑑別および放射線治療部位の決定・効果予測等の指標として有効であると考えられている[1]. がん組織内の低酸素領域を同定する手法として、放射性同位元素を標識した薬剤を用いた *in vivo* 分子イメージング手法である陽電子放射断層撮像法(Positron Emission Tomography、PET)などの核医学イメージング法が注目されている[2]. 核医学イメージング法による低酸素領域の同定には主に 2-nitroimidazole を母体骨格に有する F-18 (β*線放出核種)標識薬剤(以降,「2-NI 薬剤」と称する)が用いられてきた(図1). 2-NI 薬剤は細胞内に受動拡散等により移行した後、細胞内のニトロレダクターゼ等によりニトロイミダゾール環のニトロ基が還元されることが知られている. 通常酸素環境下においては、細胞内に存在する酸素により再酸化され、元の化学形態に戻り、再び細胞外に排泄されるが、低酸素環境下ではこの再酸化反応が抑制

されることにより還元反応がさらに進行し、最終的に生体内高分子と共有結合することにより、細胞内に滞留し、低酸素領域を描出していると考えられてきた.しかしながら、組織内における放射能分布評価に用いられているオートラジオグラフィー(ARG)法やPET イメージ

ング法など放射性同位元素を用いた従来の分析手 法では、投与された放射性同位元素に由来する放射 能の空間的分布を評価する手法であるため、得られ た画像から化合物の化学形態を区別することは極 めて困難であった.そのため、実際にどのような代 謝物が低酸素領域の描出に関与しているかについ て評価することは極めて難しく、その詳細な集積機 序は明らかとされていなかった.



図 1. [¹⁸F]FMISO (A)および[¹⁸F]DiFA (B)の化学構造.

近年,質量分析法(分子の質量を分析する手法)に基づく新たな分子イメージング手法と して質量分析イメージング法(Imaging Mass Spectrometry, IMS)が開発された[3]. IMS は 組織切片上における分子の分布を質量情報に基づき直接可視化できることから,脂質などの 内因性生体分子や薬物や薬物代謝物など様々な分子の分布評価に用いられている[4].また IMS は,薬物代謝領域で従来用いられてきている放射性同位元素を用いた分析手法とは異な り,測定対象分子に特異的な分子プローブを必要とせず,一度の測定で複数の分子の分布を 同時に評価することが可能であり,薬物およびその代謝物の分布をそれぞれ選択的に可視化 することができる[5].

そこで著者らは、放射性同位元素を用いた従来の分析手法に加えて IMS を用いることにより、腫瘍内低酸素領域における 2-NI 薬剤の化学形態およびその分布を評価し、本イメージン グ剤の低酸素領域への集積機序の解明を試みた[6-8].また、上述の検討にて明らかにした集 積メカニズムを基に、本薬剤の腫瘍内低酸素組織への集積における併用薬の影響の評価を行 うとともに[8-10],腫瘍低酸素領域の PET 診断により適した薬剤の設計・開発を行った[11]. 本稿では、上記の研究成果について紹介する.

2. 質量分析イメージング法を用いた 2-NI 薬剤の腫瘍低酸素領域への集積機序の解明

まず、固形腫瘍低酸素領域に集積した[¹⁸F]FMISO(代表的な 2-NI 薬剤)の化学形態を評価 するため、[¹⁸F]FMISO を投与した FaDu ヒト頭頸部がん細胞移植 BALB/c ヌードマウスの腫瘍 組織より作成した腫瘍ホモジネートについて、メタノール抽出した後、ラジオ高速液体クロ マトグラフィー(radio-HPLC)法により[¹⁸F]FMISO 由来成分を分析したところ、FMISO および 2-NI 骨格のニトロ基がアミノ基に還元された FMISO 代謝物(Amino-FMISO)に加え、未知の 化学形態を有する画分を存在比率 45%で検出した.このことより、[¹⁸F]FMISO を投与したマ ウスにおける腫瘍内の放射能分布像はこの未知の化学形態を有する画分の分布を強く反映し ている可能性が示唆された.そこで、FMISO および Amino-FMISO の分布を評価するため、FMISO 投与マウス腫瘍組織凍結切片について、超高質量分解能を有するフーリエ変換イオンサイク ロトロン共鳴質量分析装置を用いた IMS 測定を行ったところ、FMISO(図2A)および Amino-FMISO(図2B)は腫瘍内にて均一な分布を示し、その分布は ARG 法により同定した放 射能分布(図2F)および Pimonidazole(外因性低酸素マーカー)免疫組織染色の陽性領域

(図2G)とは一致しなかった. また, FMISO から Amino-FMISO に還元代謝される際の中間 代謝物と推測される分子(Nitroso-FMISO (図2C), Hydroxylamino-FMISO (図2D))も腫瘍 組織内に存在することを認めたが, これら中間代謝物の分布も FMISO と Amino-FMISO と同様 に腫瘍内にて均一であり, ARG および Pimonidazole 免疫組織染色とは一致しなかった. そこ で,低酸素領域には未知の FMISO 代謝物が分布していると考え, FMISO 投与による腫瘍内低 分子の変動分子を IMS 測定により探索したところ, ARG および pimonidazole 免疫組織染色の 陽性領域と類似した分布を示す未知分子 (m/z: 465.157) を見出した (図2E).



図2. [¹⁸F]FMISO 投与4時間後の担がんマウスより採取した腫瘍組織切片のIMS像(A: FMISO, B:Amino-FMISO, C:Nitroso-FMISO, D:Hydroxyamino-FMISO, E:未知代謝物 (m/z:465.157)), ARG像(F)およびPimonidazole免疫組織染色像(G).

この未知分子の化学形態を推定するため、超高質量分解能測定による組成解析を行ったと ころ、本未知分子の精密質量および同位体パターンは組成式が C16H26FN607S である化合物と一 致し、このような組成式を持つ FMISO 代謝物として Amino-FMISO のグルタチオン抱合体 (Amino-FMISO-GS)が推定された.次に、腫瘍中における Amino-FMISO-GS の生成を確認する ため、FMISO 投与マウス腫瘍ホモジネートについて、液体クロマトグラフィータンデム質量 分析 (LC-MS/MS 分析) による構造解析を行ったところ、Amino-FMISO-GS の標準物質と一致す るプロダクトイオンを複数検出したことから、腫瘍中に存在する FMISO 未知代謝物は推定通 り Amino-FMISO-GS であることを確認した. さらに、radio-HPLC により低分子画分における Amino-FMISO-GS 存在割合を再評価したところ、FMISO の存在比率は約 20%と低かったのに対 し、Amino-FMISO-GS の存在比率は約 50%であり、腫瘍組織中において FMISO は主に Amino-FMISO-GS として存在することが示された[6].

また, [¹⁸F]FMISOの水溶性向上を目指して開発された新規 2-NI 薬剤である[¹⁸F]DiFA につい ても同様の検討を行ったところ, [¹⁸F]FMISO と同様に[¹⁸F]DiFA 由来の腫瘍内放射能分布は DiFA の還元代謝物のグルタチオン抱合体 (Amino-DiFA-GS) と一致した (図3) [7].



図3. [¹⁸F]FMISO (A, C, E) あるいは[¹⁸F]DiFA (B, D, F) 投与2時間後の担がんマウスより採取した腫瘍組織切片のIMS像 (A: Amino-FMISO-GS、B: Amino-DiFA-GS), ARG像 (C, D) および Pimonidazole 免疫組織染色像 (E, F). G: Amino-FMISO-GS および Amino-FMISO-GS の化学構造.

グルタチオンはグルタミン酸,システイン,グリシンから成るトリペプチドであり,中で も還元型グルタチオン(Glutathione-SH, GSH)は細胞内に流入した低分子化合物と結合して グルタチオン抱合体を形成し,化合物の極性を上げることが知られている[12].よって,2-NI 薬剤も低酸素環境下の細胞内にてグルタチオン抱合体を形成することによりその極性が上昇 し,その結果細胞内に滞留しているものと推測された.以上の結果より,2-NI 薬剤の腫瘍組 織内低酸素領域への集積には,従来想定されていた生体内高分子への共有結合に加え,2-NI 還元代謝物のグルタチオン抱合体が大きく寄与していることを見出した. 3. [¹⁸F]FMISOの低酸素環境下細胞への集積と細胞内グルタチオン抱合因子発現・活性度との 関連性、および併用薬の影響に関する評価

上記の検討より、2-NI 薬剤は腫瘍組織内で還元代謝を受けた後、グルタチオン抱合体を形成することで低酸素領域に集積していることを明らかとした.ところで、グルタチオン抱合反応は、反応を触媒する酵素(Glutathione S-transferase, GST)の活性や細胞腫等により影響を受けることが知られている[13].また、細胞膜には ATP 依存的に様々なグルタチオン抱合体を細胞外に排出する ATP 結合カセットトランスポーターファミリー、多剤耐性関連タンパク質(Multidrug Resistance-associated Protein, MRP)が発現しており、中でも MRP1 は広い基質特異性を有するグルタチオン抱合体トランスポーターとして知られている[14].さらに、酸素濃度が一定の条件下においても細胞の種類により[¹⁸F]FMISO の集積量が異なるとの報告もある[15].そこで、がん細胞の種類と FMISO 集積量、グルタチオン抱合体生成量およびグルタチオン抱合体形成能との関連性について評価した.

まず、2 種類のがん細胞(FaDu 細胞:高 GST 活性および低 MRP 1 発現,T24 ヒト膀胱癌細胞: 低 GST 活性および高 MRP 1 発現)に[¹⁸F]FMISO を添加し、通常酸素環境下あるいは低酸素環境 下(酸素濃度:1%)で4時間インキュベートした.その結果、通常酸素条件下の各細胞にお ける放射能の集積量はいずれの細胞種とも低く、ほぼ同等であった.一方、低酸素環境下の 細胞における放射能集積量は、T24 細胞と比べて FaDu 細胞において有為に高い集積を認めた. また、各細胞をメタノール抽出し、低分子画分について LC-MS/MS 測定を行ったところ、FaDu 細胞および T24 細胞のいずれにおいても細胞内で Amino-FMISO-GS が生成していることを確認 するとともに、その生成量は放射能集積量と相関することを見出した(図4A)[9].以上の ことから、FMISO は同一低酸素環境下においても細胞種によりその集積量が異なり、その集 積量の変化には Amino-FMISO-GS の生成度合いが関与している可能性が示された.



図 4. A: FaDu 細胞, T24 細胞に[¹⁸F]FMISO を添加し,通常酸素あるいは低酸素(酸素濃 度:1%)環境下にて 4 時間培養後における細胞内放射能量(青),細胞溶解液の高分子画 分中の放射能量(黄),低分子画分中の FMISO 量(緑)および Amino-FMISO-GS 量(赤). B: MK-571 (MPR1 阻害剤), Tannic acid (GST 阻害剤)前処置あるいは未処置(Control) の FaDu 細胞に [¹⁸F]FMISO 添加し,低酸素(酸素濃度:1%)環境下にて 4 時間培養後にお ける細胞内放射能量(Control 細胞の放射能に対する比).

また, FaDu 細胞にあらかじめ MRP1 阻害剤(MK-531) あるいは GST 阻害剤(Tannic acid) を前処置した状態で[¹⁸F]FMISO を添加し,低酸素環境下(酸素濃度:1%)でインキュベート したところ, MRP1 阻害剤前処置群では集積量が有意に上昇し,他方 GST 阻害剤前処置群では 集積量が有意に低下した(図4B)[10].

さらに、FaDu 細胞移植マウスに[¹⁸F]FMISO を投与し、投与 4 時間後に PET/CT 撮像を行い (1stPET scan), 投与 2 日後に同一マウスに MRP1 阻害剤(Cyclosporine A, Lapatinib, MK-571) を前投与した後、[¹⁸F]FMISO を再投与し、PET/CT 撮像を行った(2ndPET scan). その結果, MRP1 未処置群では 1 回目の PET 撮像および 2 回目の PET 撮像において、腫瘍組織の放射能量はほ ぼ同等であったのに対し、MRP1 阻害剤投与群では、MRP1 阻害前の PET 撮像(1stPET scan) と 比べて、阻害後の PET 撮像(2ndPET scan) において、腫瘍組織内の放射能量が有意に増加し た[10].



図5.A:上段: [¹⁸F]FMISO 投与4時間後におけるFaDu 細胞移植マウスのPET/CT像(1stPET scan),下段: 1stPET scan の2日後にMRP1 阻害剤(Cyclosporine A, Lapatinib, MK-571)を前投与し,[¹⁸F]FMISO を再投与した際のPET/CT像(2nd PET scan).B: 1stPET scan および 2nd PET scan における腫瘍内放射能量(SUV_{mean})の比.

以上の結果より、2-NI 薬剤の細胞内集積には低酸素状態に加えて 2-NI 薬剤の還元代謝物 グルタチオン抱合体の生成亢進,排出低下の度合いが重要であることが示され、2-NI 薬剤を 用いた PET 診断により得られる画像は低酸素領域のみならず、グルタチオン抱合関連因子の 発現・活性度を反映していることを示した(図6). さらに、グルタチオン抱合関連因子の発 現・活性に関与する薬剤,特に MRP 1 阻害能を有する薬剤は 2-NI 薬剤による腫瘍低酸素状態 の PET 診断精度に影響することが示唆された.



図 6. 本研究で明らかにした 2-NI 薬剤の低酸素環境下の細胞への集積機序.

4. 集積機序に基づく⁶⁸Ga 標識新規 2-NI 薬剤の設計・開発

従来、PET 診断薬に標識する放射性同位元素として¹⁸F がもっとも使われているが、¹⁸F の 製造には大型設備(サイクロトロン)が必要など、薬剤の製造に制約があることが問題にな っている.近年、PET 診断薬用の放射性同位元素として⁶⁸Ga が注目されている.⁶⁸Ga はサイク ロトロンのみならず、小型⁶⁸Ge/⁶⁸Ga ジェネレータを用いた用時調製が可能であることから、 ¹⁸F と比べて汎用性に優れている[16].しかしながら、腫瘍低酸素診断のための⁶⁸Ga 標識 PET 診断薬の開発報告は限られている状況であった.そこで、上述の検討より明らかにした 2-NI の低酸素環境下細胞への集積機序において、2-NI は低酸素環境下においてグルタチオン抱合 化することにより、その水溶性が向上して細胞内に留まることに着目し、既報の薬剤(図7: [⁶⁸Ga]DN-2 [17]、[⁶⁸Ga]NN-2 [18])の 2-NI と⁶⁸Ga のキレート剤(DOTA、NOTA)を結ぶリン カーを長くすることにより、通常状態での疎水性を向上させ、細胞内外への受動拡散が起こ りやすくし、低酸素環境下では NI のグルタチオン抱合による親水化によって細胞内に留まる ように設計した新規⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤の開発を計画した.



図7. 既報([⁶⁸Ga]DN-2, [⁶⁸Ga]NN-2)および今回設計・開発した ⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤 ([⁶⁸Ga]DN-3, [⁶⁸Ga]DN-4, [⁶⁸Ga]NN-3, [⁶⁸Ga]NN-4).

まず, 既報の薬剤(図7:[⁶⁸Ga]DN-2, [⁶⁸Ga]NN-2)のリンカー(エチレン鎖)をプロピレ ン鎖(図7:[⁶⁸Ga]DN-3, [⁶⁸Ga]NN-3)およびブチレン鎖(図6:[⁶⁸Ga]DN-4, [⁶⁸Ga]NN-4)に 伸長した⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤を設計し, 放射化学的純度 95%以上で合成した. 得られた各薬剤 を FaDu 細胞に添加し, 通常酸素環境下あるいは低酸素環境下(酸素濃度:1%)で2時間イ ンキュベートした後, 細胞内の放射能を測定したところ, いずれの薬剤も通常細胞環境下の 細胞と比べて低酸素環境下の細胞に有意に高い集積能を示し, 低酸素環境下の細胞への集積 量は既報の薬剤と比べて有意に高かった(図8).



図8. FaDu 細胞に各⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤を添加し,通常酸素環境下(黒)あるいは低酸素 環境下(白)にて2時間培養した後の細胞内放射能量(A:[⁶⁸Ga]DN-2,[⁶⁸Ga]DN-3,[⁶⁸Ga]DN-4, B:[⁶⁸Ga]NN-2,[⁶⁸Ga]NN-3,[⁶⁸Ga]NN-4).

また,各⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤を FaDu 細胞移植マウスに投与し,投与 2 時間後に PET/CT 撮像 を行ったところ,いずれの薬剤を投与したマウスの腫瘍組織を描出した(図 9).以上の結果 より,今回開発した⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤([⁶⁸Ga]DN-3,[⁶⁸Ga]DN-4,[⁶⁸Ga]NN-3,[⁶⁸Ga]NN-4) は既報の薬剤よりもより低酸素環境下細胞に高集積し,腫瘍内低酸素領域の PET 診断に応用 できる可能性が示された[11].



図9. 各 ⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬剤を投与した FaDu 細胞移植マウスにおける, 投与 2 時間後の PET/CT 像. 赤矢印(白枠): 腫瘍.

5. まとめ、今後の展望

本研究では、IMS の手法を用いることによりこれまで未解明であった 2-NI 薬剤の腫瘍内低 酸素領域への集積機序を明らかにした.また解明した集積機序より、2-NI 薬剤を用いた PET 診断により得られる画像は低酸素領域のみならず、グルタチオン抱合関連因子の発現・活性 度を反映していることを示し、グルタチオン抱合関連因子の発現・活性に関与する薬剤、特 に MRP 1 阻害能を有する薬剤は 2-NI 薬剤による腫瘍低酸素状態の PET 診断精度に影響するこ とが見出した.さらに、本知見を基により腫瘍内低酸素領域により集積する ⁶⁸Ga 標識 2-NI 薬 剤の開発に成功した.

また、核医学イメージング手法と IMS の融合研究である本成果は、腫瘍低酸素の PET 診断 に限らず、今後の核医学診断用薬剤の開発における薬剤設計、Proof of Concept の取得、核 医学診断における併用薬の影響(薬物相互作用)の予測等の研究を行うための重要な研究基 盤を構築に結びつき、核医学研究・臨床診断の発展に大きく貢献するものと期待される.

6. 謝辞

本研究の遂行に際しましてご指導とご鞭撻を賜りました京都大学大学院医学研究科 画像 診断・核医学(医学部附属病院 放射線部)中本裕士 教授,京都大学大学院薬学研究科 病態 機能分析学分野 小野正博 教授,北海道大学 アイソトープ総合センター 久下裕司 教授に謹 んで感謝申し上げます.また,本研究の遂行にあたり多大なる貢献を頂きました塩野義製薬 株式会社 正木悠紀子 博士,京都大学薬学部 中井幸宏 学士をはじめ共同研究者の皆様に感 謝申し上げます.

参考文献

[1]. Horsman M R, Mortensen L S, Petersen J B, Busk M, Overgaard J. Imaging hypoxia to improve radiotherapy outcome. *Nat Rev Clin Oncol* 2012;9:674-87.

[2]. Troost E G, Laverman P, Philippens M E, Lok J, van der Kogel A J, Oyen W J, et al. Correlation of [18F]FMISO autoradiography and pimonidazole [corrected] immunohistochemistry in human head and neck carcinoma xenografts. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:1803-11.

[3]. Caprioli R M, Farmer T B, Gile J. Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS. *Anal Chem* 1997;69:4751-60.

[4]. Sugimoto M, Shimizu Y, Yoshioka T, Wakabayashi M, Tanaka Y, Higashino K, et al. Histological analyses by matrix-assisted laser desorption/ionization-imaging mass spectrometry reveal differential localization of sphingomyelin molecular species regulated by particular ceramide synthase in mouse brains. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851:1554-65.

[5]. Castellino S, Groseclose M R, Wagner D. MALDI imaging mass spectrometry: bridging biology and chemistry in drug development. *Bioanalysis* 2011;3:2427-41.

[6]. Masaki Y, Shimizu Y, Yoshioka T, Tanaka Y, Nishijima K, Zhao S, et al. The accumulation mechanism of the hypoxia imaging probe "FMISO" by imaging mass spectrometry: possible involvement of low-molecular metabolites. *Sci Rep* 2015;5:16802.

[7]. Shimizu Y, Zhao S, Yasui H, Nishijima K-I, Matsumoto H, Shiga T, et al. A Novel PET Probe "[¹⁸F]DiFA" Accumulates in Hypoxic Region via Glutathione Conjugation Following Reductive Metabolism. *Molecular Imaging and Biology* 2019;21:122-9.

[8]. Shimizu Y. Accumulation Mechanism of 2-Nitroimidazole-based Hypoxia Imaging Probes Revealed by Imaging Mass Spectrometry. *YAKUGAKU ZASSHI* 2018;138:1345-52.

[9]. Masaki Y, Shimizu Y, Yoshioka T, Nishijima K-I, Zhao S, Higashino K, et al. FMISO accumulation in tumor is dependent on glutathione conjugation capacity in addition to hypoxic state. *Annals of Nuclear Medicine* 2017;31:596-604.

[10]. Shimizu Y, Nakai Y, Watanabe H, Iikuni S, Ono M, Saji H, et al. Increased [¹⁸F]FMISO accumulation under hypoxia by multidrug-resistant protein 1 inhibitors. *EJNMMI Res* 2021;11:9.

[11]. Shimizu Y, Nakai Y, Iikuni S, Watanabe H, Nakamoto Y, Ono M. Synthesis and evaluation of gallium-68-labeled nitroimidazole-based imaging probes for PET diagnosis of tumor hypoxia. *Ann Nucl Med* 2021.

[12]. Hayes J D, Flanagan J U, Jowsey I R. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:51-88.

[13]. Townsend D M, Tew K D. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 2003;22:7369-75.

[14]. Ishikawa T, Kuo M T, Furuta K, Suzuki M. A new aspect on glutathione-associated biological function of MRP/GS-X pump and its gene expression. *Cytotechnology* 1998;27:81-93.

[15]. Rasey J S, Nelson N J, Chin L, Evans M L, Grunbaum Z. Characteristics of the binding of labeled fluoromisonidazole in cells in vitro. *Radiat Res* 1990;122:301-8.

[16]. Zhernosekov K P, Filosofov D V, Baum R P, Aschoff P, Bihl H, Razbash A A, et al. Processing of generator-produced 68Ga for medical application. *J Nucl Med* 2007;48:1741-8.

[17]. Hoigebazar L, Jeong J M, Hong M K, Kim Y J, Lee J Y, Shetty D, et al. Synthesis of 68Ga-labeled DOTA-nitroimidazole derivatives and their feasibilities as hypoxia imaging PET tracers. *Bioorg Med Chem* 2011;19:2176-81.

[18]. Hoigebazar L, Jeong J M, Choi S Y, Choi J Y, Shetty D, Lee Y S, et al. Synthesis and characterization of nitroimidazole derivatives for 68Ga-labeling and testing in tumor xenografted mice. *J Med Chem* 2010;53:6378-85.

低線量X動画イメージングによる新しい肺機能画像診断技術の創出

国立大学法人 金沢大学 医薬保健研究域 AI ホスピタル・マクロシグナルダイナミクス研究開発センター

田中 利恵

1. 緒言

フラットパネルディテクタ(Flat-panel detector: FPD)を用いて、呼吸状態を連続撮影 する胸部 X 線動態撮影(Dynamic chest radiography: DCR)は、その高い時間分解能と広い 撮像視野、さらに動画解析技術により、動的な画像所見にもとづく肺機能診断を可能にする [1,2]。X 線技術を用いた肺機能評価は、1960年頃から試みられてきた。1970年代には、 autofluoroscope ラインスキャンによる肺血流及び肺換気評価や、fluorodensimetryや videodensitmetoryによる局所肺換気及び横隔膜動態評価が行われた[3,4]。1980年代に入ると、 大口径 I.I.-X線 TV システムによる手法が主流になった[5]。しかしこれらは、リアルタイムに 動き情報を得る手段として期待されたが、画質や撮像視野に制約があり実用化には至らなかった。 その後、2000年頃に動画対応 FPD が開発されたことで、X線技術を用いた肺機能評の実現可能性 が高まった。我々は、動画対応 FPD による X 線動態検査の可能性にいち早く着目し、DCR の撮影 プロトコルや動画解析技術の開発に着手した[1,2,6-22]。そして、放射線技術科学、医学物理 学、画像診断学、呼吸器内科/外科学、臨床工学など、複数の学問領域の融合・多職種連携・ 産学官連携による臨床研究を経て、2018年11月に実用化に至った。現在、国内約 50 施設で 稼働しており、初期導入施設から呼吸器診断における DCR の有用性が数多く報告されている。

2. 撮影方法

DCR は、15 フレーム/秒程度のパルス X 線を連続照射できる X 線発生装置と、そのパルス X 線を受けて連続的に画像形成する FPD によって実施される[1,2]。図 1 に努力呼吸を 10 秒 間撮影するための撮影プロトコルの一例を示す[22]。特筆すべきは、高い X 線検出効率を誇 る FPD により、従来の胸部単純 X 線撮影と同程度の線量で X 線動態検査が可能なことである。 現在は、検出器表面の総入射線量が、胸部単純 X 線撮影 2 回分(正面+側面)(1.9 mGy)以 内となる設定がデフォルト値となっている(100 kV、0.2 mAs/pulse、15 fps、撮影距離 2.0 m、10 秒間の撮影で約 1.4 mGy)[23,24]。

3. 動的な画像所見と動画解析技術

呼吸状態を撮影した胸部 X 線動画像には、気管径や肺面積の変化、横隔膜・肋骨・心壁な どの動き、肺気量や肺循環にともなう肺野や縦隔部の濃度変化(=Δピクセル値)などが描 出されている(図 2)。しかし、これらの動的な画像所見を肉眼で評価するのは困難である。 そこで DCR による機能診断に必須となるのが、動画解析技術である。人の識別・処理能力を 超えるわずかな変化であっても、動画解析により可視化・数値化することで診断情報として 活用可能になる。



図1 撮影プロトコルの一例(努力呼吸10秒撮影バージョン)(文献22より引用)



図2 胸部X線動画像に投影されている動的変化/機能性変化

4.1 横隔膜運動

左右の横隔膜を同時に観察できる胸部 X 線動画像では、横隔膜運動の減少、遅延、左右逆 相など、横隔膜の様々な運動異常が検出される。また、撮影フレームの呼吸位相判定にも有 用である[10]。図 3 に横隔膜運動の計測点と計測結果を示す。1 フレーム目では、4 つの計 測点(左右の肺尖部の頂点および横隔膜ドームの一点)をエッジ検出により決定する。2 フ レーム目以降は、テンプレートマッチング等の技術を用いて計測点を自動追跡する[11]。肺 尖部-横隔膜間距離の最大変化量が、横隔膜移動量になる。このように定量化・可視化するこ とで、左右比較や経過観察が容易になり、効率化・診断能向上などの効果が期待される。

慢性閉塞性肺疾患(COPD)を対象とした最近の臨床研究において、努力呼吸時の横隔膜の移動量と呼吸機能検査の結果の間に相関がみら、かつ、COPD 重症症例では正常群に比べ、横隔 膜の移動量とピーク速度が有意に低下することが明らかになっている[25,26]。一方、安静呼 吸時には両者に相関はなく、COPD 症例では正常群に比べ、横隔膜の移動量とピーク速度が有 意に上昇することが明らかになっている[27,28]。安静呼吸時の COPD 症例にみられるこの現 象は、低下したガス交換機能への補償反応のあらわれと考えられる。このように肺機能を反 映する横隔膜の動的な画像所見は、COPD の重症度評価の新規指標として期待されている。



図3 横隔膜運動の定量化のための計測点と計測結果(文献22より引用)

4.2 肺面積変化

前述の横隔膜運動に関連するが、肺面積変化やその変化率も肺機能の重要な指標である。 例えば、最大吸気時と最大呼気時の肺面積の差として算出される変化量や、変化量を最大吸 気時の肺面積で除して得られる変化率が、呼吸機能検査の結果(残気率(RV/TLC)、予測1秒 量に対する%(%FEV1))や COPD アセスメントスコア(CAT score)と相関があることが報告 されている[29,30]。RV/TLC は air trapping の指標であり、一方、%FEV1 は気流制限の指標 であることから、それらと相関のある肺面積の変化量・変化率は、COPD の重症度評価に有用 な指標となる可能性がある。胸部 X 線動画像を対象とした肺面積計測は、U-net などの深層 学習を用いた肺セグメンテーションにより、迅速かつ高い再現性で計測される[21]。

4.3 肋骨動態

肋骨動態もまた、肺機能を理解するための重要な評価項目である。正常な肋骨動態は、左 右対称で横隔膜運動と同調することが知られており、その正常パターンからの逸脱を根拠に 異常な肋骨動態の検出が可能である。肋骨動態については、肋骨の移動ベクトルや移動量の 可視化や、左右対称性の定量評価などが試みられている[7,20]。また、通常のCT 画像と胸部 X線動画像との 2D/3D レジストレーションにより、肋骨運動を 4D で再現する技術も開発され ている[31]。肋骨の動態異常は、肺機能の低下につながることから、DCR による肋骨動態の 解析により、間接的な肺機能評価が可能になる。

4.4 肺野濃度の変化

胸部 X 線動画像の肺野で観測される濃度変化の変化は、単位容積あたりの肺血管・気管支 の密度変化や血液量の変化に起因する。肺野濃度の変化はピクセル値の変化として計測され、 呼吸生理・循環生理に矛盾しない変化を示すことが報告されている[1,12]。また、肺シンチ グラフィで計測される RI カウント数と肺野濃度変化量(=Δ肺野濃度)に高い相関があるこ とも確認されている(肺換気:r=0.81、肺血流:r=0.87)[32]。図4に、フレーム間差 分処理とカラーマッピング技術で作成される機能画像を示す[22]。基準画像からの差分値の 大きさ(例:呼吸性を青、血流性を赤)[33-37]や、フレーム間差分値の正負(例:増加を暖 色、減少を寒色)[13,14]に応じた色合い/強度で表現される。基準画像だが、呼吸性のΔ肺 野濃度を可視化する際は、肺内含気が最小である最大努力呼吸フレームとし、血流性のΔ肺 野濃度を可視化する際は、肺内血液が最小である拡張期末期や1心拍分のフレームから作成 される最小値投影像(白が0の場合は最大値投影像)とするなど、用途・目的に合わせて設定する[18]。また、1呼吸サイクルもしくは1心拍の平均画像を基準画像に採用することで、 平均的な状態からの増減が表現される。いずれにしても、肺野や縦隔部のわずかな濃度変化 の評価が可能になることから、造影剤や放射性医薬品(RI)を使用しない新しい機能画像と して期待されている。

これまでの動物実験ならびに初期臨床研究で、呼吸性のΔ肺野濃度については、①呼吸性 の △ 肺野濃度と 1 回吸気量の間に高い相関があること、②呼吸性の △ 肺野濃度の大小を可視 化した肺機能画像上で、肺換気障害をΔ肺野濃度の減少領域として検出できること、③気流 制限と Air trapping の鑑別や、過膨張の検出も可能であること、④換気の局所評価差異をと らえる計測能を有すること、⑤呼吸性のΔ肺野濃度計測について高い再現性を有することな どが明らかになっている[33,34]。一方、血流性のΔ肺野濃度については、①血流性のΔ肺野 濃度は呼吸性のΔ肺野濃度の約1/10程度であること、②血流性のΔ肺野濃度と循環パラメー タ(心拍出量、血圧、中心静脈圧、肺動脈圧)と間に相関があること、③血流性のΔ肺野濃 度の大小を可視化した肺機能画像上で、肺血流障害をΔ肺野濃度の減少領域として検出でき ることなどが明らかになっている[35-41]。これらの研究成果から、DCR で得られる △ 肺野濃 度は、肺機能ならびに循環機能の新規指標として、また、カラーマップ画像は新規機能画像 として期待されている。ただし、臨床応用に際しては、肺野や縦隔部の濃度変化から評価で きることは、肺胞レベルで行われているガス交換や肺血流そのものではなく、それらに関連 する相対的なパラメータであることに留意しなければならない。したがって、同一患者にお ける左右比較や経過観察、ならびに正常範囲からの逸脱を根拠とした異常検出など、間接的・ 相対的な機能診断としての用途が適切と考えられる。

4.5 V/Q study

呼吸性と血流性の肺濃度変化の比率にもとづく V/Q study の実現可能性も検討されている。 Δ肺野濃度の V/Q は、Δ肺野濃度と血流性のΔ肺野濃度の比として算出される。初期検討で は、Δ肺野濃度の V/Q の肺換気・血流ミスマッチに対する感度は 63.3%、特異度は 60.1%と、 臨床使用するには十分な性能とは言えない。算出アルゴリズムの改良による診断能向上を期 待したい [42,43]。

4.7 肺癌の動き

ビデオ胸腔鏡下手術は、開胸手術よりも小さな切開範囲で好成績が得られる術式として広 く普及している。しかし、肺がんに胸壁浸潤や胸膜癒着がある場合は、手術時間の延長や開 胸手術への切り替えへの備えが必要となるため、その有無を術前に把握することは極めて重 要である。その手段として、吸気/呼気 CT、4 次元 CT、シネ MRI、超音波検査などがあるが、 DCR もその選択肢の一つとして期待されている。例えば、肺癌に胸壁浸潤がある場合は、肺 癌と浸潤臓器や構造の呼吸性動態が類似すること、また、胸膜癒着は肺野内局所の動きの制 限として検出されることなどが報告されている[44-46]。広い撮像視野・高い時間分解能・低 被ばくで肺癌と周囲組織の動きを把握できる DCR は、肺癌の胸壁浸潤/胸膜癒着判定ツールと しても期待されている。



(a)



(b)



(c)

図4 肺濃度変化の可視化

(a) 呼吸性濃度変化の可視化アルゴリズム、(b) 豚の肺気腫モデルの解析結果、(c) 血流性濃度変化の可視化アルゴリズムと豚の肺塞栓モデルの解析結果

4. 将来展望

動的な画像所見から様々な生理現象をリアルタイムに理解できることから、術中支援や救 急医療での活用も考えられる。コロナウイルス感染症の世界的流行を背景に、非経口で実施 可能な画像ベースの肺機能検査法として、従来の呼吸機能検査の代替利用も見込まれる。胸 部 X 線検査は、世界中で最も頻繁に行われている医用画像検査であることから、世界規模の インパクトが予想される。DCR は呼吸器診断にパラダイムシフトをもたらす可能性がある。

謝辞

臨床研究にご協力いただいた、呼吸器内科/呼吸器外科/放射線科/放射線部の関係各位、 動物実験にご協力いただいた滋賀医科大学バイオメディカルイノベーションセンターの谷徹 先生、放射線科の新田哲久先生、救急・集中治療部の田畑貴久先生ならびに関係各位、画像 データ取得にご協力いただいたコニカミノルタ株式会社開発統括本部の米山努氏、村岡慎太 郎氏、松谷啓嗣氏、関係各位に心から感謝申し上げます。

さいごになりますが、ONSA協会関係者の皆様、推薦団体である(公社)日本放射線技術学会の 先輩諸兄姉、ならびにこれまでご指導・ご支援いただいた方々に深く感謝申し上げます。ONSA賞 の受賞を励みに今後も研究活動に精進していきたいと思います。

参考文献

- [1] Tanaka R. Dynamic chest radiography: flat-panel detector (FPD) based functional X-ray imaging. Rad Phys & Tech 2016;9(2):139-153.
- [2] 田中利恵, 笠原寿郎, 大倉徳幸, 松本勲, 田村昌也, 高田宗尚, 井上大, 出雲崎晃, 松 浦幸広, 堀井純清, 真田茂. 呼吸器診断のパラダイムシフト: 胸部 X 線動態撮影の現状 と将来展望. 日本放射線技術学会雑誌 77(11), 2021.
- [3] ToffoloRR, Beerel FR. The autofluoroscopeand 133-Xe in dynamic studies of pulmonary perfusion and ventilation. Radiology 1970;94:692-696.
- [4] George RB, Weill H. Fluorodensimetry. A method for analyzing regional ventilation and diaphragm function. JAMA 1971;217:171-176.
- [5] Silverman NR. Clinical video-densitometry. Pulmonary ventilation analysis. Radiology 1972;103:263-265.
- [6] 田中利恵, 真田茂, 鈴木正行, 他. 胸部動画像を対象とした呼吸性動態の定量化. 医用 画像情報学会誌 2003;20(1):13-19.
- [7] 田中利恵,真田茂,鈴木正行,他:新しいスクリーニング胸部 X 線撮影法による肺紋理の移動解析および肺野内局所の濃度解析.日放技学誌 2002;58(11):1489-1496.
- [8] 田中利恵, 真田茂, 鈴木正行, 他. 胸部動態画像診断のための X 線撮影法の開発:撮影時の合図の出し方についての検討. 日放技術誌 2003;59(8):423-431.
- [9] 田中利恵, 真田茂. 動画対応 FPD による新しい画像検査法の展望. 日放技学誌 2009;65(6):861-868.
- [10] Tanaka R, Sanada S, Kobayashi T, et al. Computerized methods for determining respiratory phase on dynamic chest radiographs obtained by a dynamic flat-panel detector (FPD) system. J Digi Imaging 2006;19(1):41-51.

- [11] Tanaka R, Sanada S, Suzuki M, et al. Breathing chest radiography using a dynamic flat-panel detector combined with computer analysis. Med Phys 2004;31:2254-2262.
- [12] Tanaka R, Sanada S, Okazaki N, et al. Detectability of Regional Lung Ventilation with Flat-panel Detector-based Dynamic Radiography. J Digit Imaging 2008;21(1):109-120.
- [13] Tanaka R, Sanada S, Okazaki N, et al: Evaluation of pulmonary function using breathing chest radiography with a dynamic flat-panel detector (FPD): Primary results in pulmonary diseases. Invest Radiol 2006;41(10):735-745.
- [14] Tanaka R, Sanada S, Tsujioka T, et al. Development of a cardiac evaluation method using a dynamic flat-panel detector (FPD) system: a feasibility study using a cardiac motion phantom. Rad Phys & Tech 2008;1(1):27-32.
- [15] 田中利恵,真田茂,藤村政樹,他.動画対応フラットパネルディテクタによる肺機 能画像診断法:肺シンチグラフィ所見との比較.日放技学誌 2009;65(6):728-737.
- [16] 田中利恵,真田茂,藤村政樹,他. 胸部 X 線動画像におけるピクセル値変化量計測 の有用性:放射性同位元素(RI)計数値の比較.医用画像情報学会誌 2009;26(1):13-16.
- [17] 川嶋広貴,田中利恵,真田茂. 胸部 X 線動態撮影の再現性の検証-ピクセル値の呼吸 性変化-.日放技学誌 2009;65(6):738-744.
- [18] 日本国特許 特許第 5093727 号 連続 X 線画像スクリーニング検査装置, プログラ ム及び記憶媒体 国立大学法人金沢大学 真田茂, 田中利恵. 取得日 2012 年 9 月 28 日
- [19] 田中利恵, 真田茂. 低コスト・低被ばくポータブル X 線肺機能イメージング(診る 聴診器)の開発. 医用画像情報会誌 2014;32(2):13-17.
- [20] Tanaka R, Sanada S, Sakuta K, et al: Quantitative analysis of rib kinematics based on dynamic chest bone images: preliminary results. J Med Imaging 2015;2(2):024002.
- [21] Kitahara Y, Tanaka R, Roth H, et al. Lung segmentation based on a deep learning approach for dynamic chest radiography. Proc. SPIE 10950, Medical Imaging 2019: Computer-aided diagnosis, 109503M-1-7.
- [22] 田中利恵.1.静止画システムの最新技術動向 1)動態解析技術の現状と将来展望.I.静止画編:静止画システムの最新技術動向と臨床応用.特集 DR System Update 2020. Digital Radiographyの最新技術動向と臨床応用. Innervision 2020;35(1):6-10.
- [23] International basic safety standards for protection against ionizing radiation and for the safety of radiation sources. In: IAEA Safety Series No. 115. Vienna: International Atomic Energy Agency (IAEA); 1996;279.
- [24] Annex IV. Schedule III. Guidance levels of dose, dose rate and activity for medical exposure. In: Radiological Protection for Medical Exposure to Ionizing Radiation. Safety Guide. IAEA Safety Standards Series No. SSG-46. Vienna: International Atomic Energy Agency (IAEA), 2018.
- [25] Hida T, Yamada Y, Ueyama M, et al. Decreased and slower diaphragmatic motion during forced breathing in severe COPD patients: Time-resolved quantitative analysis using dynamic chest radiography with a flat panel detector system. Eur J Radiol 2019;112:28-36.

- [26] Hida T, Yamada Y, Ueyama M, et al. Time-resolved quantitative evaluation of diaphragmatic motion during forced breathing in a health screening cohort in a standing position: dynamic chest phrenicography. Eur J Radiol 2019;113:59-65.
- [27] Yamada Y, Ueyama M, Abe T, et al. Time-resolved quantitative analysis of the diaphragms during tidal breathing in a standing position using dynamic chest radiography with a flat panel detector system ("dynamic X-ray phrenicography"): initial experience in 172 volunteers. Acad Radiol 2017;24:393-400.
- [28] Yamada Y, Ueyama M, Abe T, et al. Difference in diaphragmatic motion during tidal breathing in a standing position between COPD patients and normal subjects: time-resolved quantitative evaluation using dynamic chest radiography with flat panel detector system ("dynamic X-ray phrenicography"). Eur J Radiol 2017;87:76-82.
- [29] Ohkura N, Kasahara K, Watanabe S, et al. Dynamic-Ventilatory Digital Radiography in Air Flow Limitation: A Change in Lung Area Reflects Air Trapping. Respiration. 2020;99(5):382-388.
- [30] Ohkura N, Tanaka R, Watanabe S, et al. Chest Dynamic-Ventilatory Digital Radiography in Chronic Obstructive or Restrictive Lung Disease. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 2021 (In press)
- [31] Hiasa Y, Otake Y, Tanaka R, et al. Recovery of 3D rib motion from dynamic chest radiography and CT data using local contrast normalization and articular motion model. Medical Image Analysis 2019;51:144-156.
- [32] Tanaka R, Matsumoto I, Tamura M, et al. Comparison of dynamic flat-panel detector-based chest radiography with nuclear medicine ventilation-perfusion imaging for the evaluation of pulmonary function: a clinical validation study. Med Phys 2020;47(10):4800-4809.
- [33] Tanaka R, Tani T, Nitta N, et al. Pulmonary function diagnosis based on respiratory changes in lung density with dynamic flat-panel detector imaging: An animal-based study. Invest Radiol 2018;53(7):417-423.
- [34] Tanaka R, Sanada S, Fujimura M, et al. Ventilatory impairment detection based on distribution of respiratory-induced changes in pixel values in dynamic chest radiography: a feasibility study. Int J CARS 2011;6(1):103-110.
- [35] Tanaka R, Tani T, Nitta N, et al. Detection of pulmonary embolism based on reduced changes in radiographic lung density during cardiac beating using dynamic flat-panel detector: an animal-based study. Acad Radiol 2019; 26(10):1301-1308.
- [36] Tanaka R, Sanada S, Fujimura M, et al. Pulmonary blood flow evaluation using a dynamic flat-panel detector: Feasibility study with pulmonary diseases. Int J CARS 2009;4(5):449-454.
- [37] Tanaka R, Sanada S, Fujimura M, et al. Development of pulmonary blood flow evaluation method with a dynamic flat-panel detector (FPD): quantitative correlation analysis with findings on perfusion scan. Rad Phys & Tech 2010; 3(1):40-45.

- [38] Yamasaki Y, Abe K, Hosokawa K, et al. A novel pulmonary circulation imaging using dynamic digital radiography for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Eur Heeart J 2020; 41(26):2506. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa143
- [39] Hanaoka J, Yoden M, Hayashi K, et al. Dynamic perfusion digital radiography for predicting pulmonary function after lung cancer resection. World J Surg Oncol 2021;19(1):43.
- [40] Miyatake H, Fujino K, Tabata T, et al. Evaluation of pulmonary blood flow by using Dynamic Flat-panel Detector system in monkeys. Circulation Journal. 2021;85(4):361-368.
- [41] Tanaka R, Tani T, Yamada A, et al. Correlations between cardiovascular parameters and image parameters on dynamic chest radiographs in a porcine model under fluid loading. Rad Phys & Tech 2021. https://doi.org/10.1007/s12194-021-00626-2
- [42] 田中利恵,藤村政樹,安井正英,他.換気-血流 mismatch 症例を対象とした胸部 X 線動態撮影法による V/Q study の検証. 医用画像情報会誌 2009;26(3):68-72.
- [43] Tanaka R, Matsumoto I, Tamura M, et al. Dynamic chest radiography: Clinical validation of ventilation and perfusion metrics derived from changes in radiographic lung density by comparison to nuclear medicine imaging. Quantitative Imaging in Medicine and Surgery 2021. https://qims.amegroups.com/article/view/71723
- [44] Tamura M, Matsumoto I, Saito D, et al. Dynamic chest radiography: Novel and less-invasive imaging approach for preoperative assessments of pleural invasion and adhesion. Radiology Case Reports 2020;15(6):702-704.
- [45] Tamura M, Matsumoto I, Saito D, et al. Case report: uniportal video-assisted thoracoscopic resection of a solitary fibrous tumor preoperatively predicted visceral pleura origin using dynamic chest radiography. J Cardiothorac Surg 2020;15:166. doi.org/10.1186/s13019-020-01212-0
- [46] Tanaka R, Samei E, Segars WP, et al. Preoperative assessment of pleural invasion and adhesion of lung tumors with dynamic chest radiography: A virtual clinical trial. Med Phys 2020;48(4):1616-1623.

表面を一原子層単位の深さ精度で磁性探査できる新技術を開発

―鉄の磁石の「表面の謎」を解明!―

量子科学技術研究開発機構 放射光科学研究センター 磁性科学研究グループ 三井隆也

1. はじめに

近年、スピントロニクスが低消費電力電子デバイスを実現する新しい電子技術として注目 されている。スピントロニクスでは、磁気ヘテロ接合の磁気相互作用やスピン輸送特性に磁 性が重要な役割を果たすので、金属の表面や界面の磁性を一原子層単位で局所的に調べる技 術の重要性がますます大きくなっている。ところが、これまで様々な計測法が表面や界面の 磁性研究に適用されてきたが、表面/界面の磁性を一原子層毎に調べることはかなり難しい。 例えば、表面敏感な走査型トンネル顕微鏡では、表面情報は得られるが下地層の情報は観測 が困難である。また、透過力があるX線や中性子による分光では、内部の情報は得られるが、 表面の情報はバルクからの莫大な信号に埋もれて測定が難しい。このため、強磁性体の代表 である鉄の表面磁性についてさえも十分には解明されていない。その典型現象が、鉄の表面 付近に生じる磁気フリーデル振動である。

鉄表面の磁気フリーデル振動は、1981年にフリーマン達のグループが、Fe(001)の7層膜の表面磁性の理論研究で存在を指摘したもので、表面では並進対称性の破れが電子状態に大きなスピン不均衡を誘起して磁気モーメントが増加し、表面下で強度が層毎に振動するという現象である[1,2]。彼らは、Fe(001)の7層膜の原子核に働く内部磁場も調べており、表面では伝導電子が作る有効磁場の向きがバルクと反転して内部磁場が減少し、表面下で強度が磁気モーメントと逆の強弱パターンで層毎に振動することも指摘している[3]。彼らの「鉄の磁力が表面付近で増減する」という予言は磁性研究者の注目を集め、多くの検証実験が行われたが、スピン偏極低速電子線回折法により、最表面の磁気モーメント増加を示唆する報告例はあったが[4]、表面下で生じる磁気フリーデル振動についてはこれまで観測されなかった。

鉄表面の磁気フリーデル振動を観測する候補として、同位体プローブを用いたメスバウア ー分光で内部磁場を調べる手法がある。この手法では、非共鳴同位体 ⁵⁶Fe で作製した薄膜の 注目する部分に共鳴同位体 ⁵⁷Fe プローブ層を埋め込んだ試料のメスバウアースペクトルを測 定し、その解析で求めた ⁵⁷Fe 核の超微細相互作用(内部磁場、アイソマーシフト、電気四 極子分裂)から、表面磁性、核位置の s電子密度および電場勾配に関する情報が得られる。 この手法は、これまで主に多層膜に適用されてきており、界面磁性の有力な研究手法になっ ている[5]。W. Kiauka 達は、超高真空中で製作した ⁵⁷Fe プローブ層を埋め込んだ Fe(001)表 面を In-situ のメスバウアー散乱分光法で測定して、磁気フリーデル振動の検証を試みたが、 指向性の無い放射性同位体線源で真空装置内の薄膜を測定するには複雑な光学系が必要で、 薄膜中の極微量な ⁵⁷Fe 層のスペクトルを得るには一週間以上の長い測定を要した[6]。このた め、超高真空下でも残留ガスによる鉄の表面汚染が避けられず、Fe(001)表面に有意な内部 磁場の変化を検出することはできなかった。その後も検証実験は行われてきたが、この状況 は大きく改善されず、内部磁場の観点から鉄表面の磁気フリーデル振動を検証する試みは、 これまでは成功しなかった。

最近、筆者達は、⁵⁷Fe を富化した反強磁性体単結晶において電子散乱が禁制で核共鳴散乱 が許容となる回折現象を利用して放射光から高輝度(放射性同位体線源の10万倍以上)の⁵⁷Fe メスバウアーッ線を発生させ[7]、それを薄膜で全反射させることで、表面付近に埋め込んだ 一原子層の⁵⁷Fe プローブ原子の吸収スペクトルを迅速に測定できる技術を開発した[8]。更に、 薄膜試料の作製から測定までを超高真空中で一貫して行うことができる計測システムを開発 して、薄膜の清浄表面を一原子層毎に磁気構造解析できる In-situ 放射光メスバウアープロ ーブ分光法を実用化させた。本手法を用いて Fe(001)薄膜の清浄表面の磁性を一原子単位で 調べた所、表面下で内部磁場が層毎に振動する様子が明瞭に観測された。実験結果は、理論 で求めた超微細相互作用の層依存性と良い一致を示し、Fe(001)表面の磁気フリーデル振動 の観測に初めて成功した[9]。本稿では、この実験の詳細と今後の展開について紹介する。

2. In-situ 計測システムの開発および同位体置換鉄薄膜の作製・評価

Fe (001) 表面の磁気フリーデル振動を検証には、 超高真空中で作製した薄膜の清浄表面を 一原子層単位で磁気測定する必要がある。このため、成膜用の分子線エピタキシー装置 (MBE) と放射光装置の間で試料を In-situ で受け渡しできる計測システムを開発した。 本システム では、MBE の超高真空中 ($P \le 2 \times 10^{-8}$

Pa)で⁵⁶Fe/⁵⁷Fe同位体置換膜を作製し、 それを備え付けの超高真空測定チャ ンバーに移送する。超高真空測定チャ ンバーには、イオンポンプ、ゲッター ポンプ、試料冷却用の液体へリウムフ ロークライオスタットおよび光軸方 向に磁場を印可できる電磁コイルが 装備されている(図1a)。測定時には、 試料室を2×10⁻⁹ Pa以下の超高真空 に保った状態で MBE から取り外して、 それを放射光実験装置に取り付けて メスバウアー測定が行われる。

Fe (001) 薄膜は、⁵⁶Fe (99.94%)と ⁵⁷Fe (95.93%)を MgO (001) 基板 (10× 10×0.5 mm³) に交互に蒸着して作製 した。表面選択性のあるスペクトルを 得るため、0.1 nm (0.8 原子層) 厚の ⁵⁷Fe プローブ層を表面下 1-4、7 層目に 埋め込んだ 5 種類の試料を用意した。 蒸着法として、473K で ⁵⁶Fe (001) 下 地層を基盤に蒸着した後、300K で ⁵⁷Fe 層と ⁵⁶Fe 被覆層を蒸着することで ⁵⁷Fe



図 1 (a) 放射光実験用試料容器の概略図,(b) Mg0[100]および(c) [110]方向に沿って加速電 圧 24kV で測定した試料の RHEED パターン,(d) AFM 像(走査面積 800 × 800 nm²),(e) AFM 像の 青い線に沿った高さプロファイル

層付近の⁵⁷Fe と⁵⁶Fe 原子の混合を最小限に抑えた。膜厚制御には水晶振動子を用い、全ての 試料の膜厚を 5 nm に固定した。薄膜表面の構造は、In-situ 反射高速電子線回折(RHEED) と放射光実験後に行った原子間力顕微鏡(AFM)で評価した。全ての試料において強い RHEED 回折スポットを伴ったストリークが観測され、表面が高い平坦性を持つことが確認された。 典型的な結果を図1(下段)に示す。図1(b)と(c)は、それぞれ体心立方Fe(001)薄膜の[110] と[100]の方位角に沿った回折パターンを示しており、Fe(001)[100]//Mg0(001)[110]のエピ タキシャル関係があることがわかる。一方、図1(d)と(e)のAFM 像からは、表面がFe[100] に沿ったステップを伴った平坦なテラスで構成されていることが分かる。テラスの幅は 50-100 nm で、表面粗さ(RMS)は0.3 nm以下であった。

実験及び結果

3.1 実験

実験は、SPring-8 の量子科学技術研究開発機構の専用ビームライン BL11XU に設置された 放射光メスバウアー線源を用いて行った。図 2a に斜入射メスバウアー分光の実験配置を示す。 直線偏光した γ 線を楕円ミラーで縦集光した後、試料容器内の薄膜にビームサイズ 15 μ m(V) × 1.6 mm (H)、 強度 2.9 × 10⁴ photons/s、入射角 0.1°で入射して薄膜表面で全反射させ た (反射率~80%)。この時、入射 γ 線は、全反射条件での侵入長(数 nm)の領域に集中する。 さらに、面内の容易軸[110]に沿って外場 (300 0e)を印可して試料をビームと逆向きに磁化 させた。この配置で γ 線は、核共鳴散乱の偏光選択側に従い $\Delta m = \pm 1$ の 4 つの遷移だけに

吸収される。1つの試料の測定時間は、 1-2時間と短く、スペクトルに鉄表面 の残留ガス吸収や酸化による影響は なかった。同位体置換膜(*N*=1-4、7) の室温のメスバウアースペクトルを 図 2b に示す。

全ての試料で磁気分裂スペクトル が観測された。両外側の吸収線に線幅 の広がりが見られることから、内部磁 場に分布があると推論される。同位体 置換膜(N = 1-3)のスペクトルの吸 収ピークには非対称が見られること から、表面数層に内部磁場の異なる磁 気成分が存在することが分かる。この ため、スペクトル解析は、内部磁場の 分布 Δ H_{int} を考慮してフォークト関数 を使用して行った。フォークト関数は、 ローレンツ関数とガウス関数の畳み 込みで、後者の線幅が内部磁場分布に 対応する。ローレンツ関数の線幅には 自然鉄で作製したFe(001)薄膜の測定 で得た 0.47 mm/s を用いた。

解析結果に基づいてスペクトルの ⁵⁷Fe 層の埋め込位置依存性を考察す る。同位体置換膜(*N* = 1-3)のスペ クトルは、内部磁場の小さい成分(赤 線:*H*_{int}~28 T)、大きな成分(青線:*H*_{int}



図 2 (a) 実験配置。*e^π*: γ線の電場ベクトル、*H*_{ex}: 外場 (300 0e) 、検出器: NaI (T1) 検出器。(b) 表面から *N*番目の原子層に⁵⁷Fe プローブ層を埋め 込んだ試料の室温のメスバウアースペクトル。黒 の実線は、フィット曲線で、赤、青、緑の線は 3 つの異なる磁気成分を表す。M(*i*) は、表面から *i*番目の原子層に存在する⁵⁷Fe 原子に割り当てら れた磁気成分に対応する。

~36 T) およびバルクに近い成分(緑線: H_{int} ~32 T) の 3 つの磁気成分で構成されている。 各成分の占める割合は ⁵⁷Fe 層の埋め込み位置に依存した変化がみられ、特徴的な挙動として、 H_{int} が 28 T、36 T および 32 T の成分比(サブスペクトルの面積比)が、それぞれ表面から 1 層目、2 層目および 3 層目に ⁵⁷Fe 層を埋め込んだ試料において最大を示している。また、 ⁵⁷Fe 層の埋め込み位置を深くすると、バルク状の 32 T の成分が増加する一方で、28 T の成分は 減少する。この成分比の挙動については、試料を 40K まで冷却しても変化しないことが確認 されており、超常磁性などの熱効果によるものでない[9]。

3 つの磁気成分の成分比の変化は、薄膜に埋め込んだ ⁵⁷Fe 層が、MBE 成長過程での Fe 原子のランダムな堆積や表面拡散のため、図 2b (右) に示されるような僅かな分布を持つと考えることで理解できる。この場合、鉄の表面の第1層目、第2層目および第3層目が、それぞれ異なる内部磁場を持てば、スペクトルには複雑なプロファイルが観測される。実験で観測した3 つの成分の系統的な変化から判断すると、第1層目、第2層目および第3層目に固有の内部磁場には、それぞれ 28 T、 36 T および 32 T を割り当てることが妥当である。一方、表面下の第4層目と第7層目に ⁵⁷Fe 層を埋め込んだ試料のスペクトルでは、4本の吸収線を持つ単一の磁気成分しか観測されていない。これは、試料中の ⁵⁷Fe 層付近に僅かな分布があったとしても、これらの深さ領域では、隣接層の ⁵⁷Fe 原子の内部磁場がバルクに近い値を持つため、スペクトル的に区別ができないからである。以上の考察に基づいて決定した超微細相互作用(アイソマーシフト δ 、内部磁場 H_{int} 、電気四極子分裂(電気四極子シフト2 ϵ))の層依存性を図 3a および 3b に示す。

3.2 理論によるシミュレーション

実験で得られた超微細相互作用パラメーターの層依存性の起源を詳しく議論するために、 |測定試料に近い 30 層の厚さの Fe (001)薄膜表面の磁気モーメントと核の超微細相互作用パラ メーターの層依存性を第一原理計算で求めた。磁気モーメント M_e、有効磁場 H_{eff}およびアイ ソマーシフトδは、局所密度近似にコア状態の正確な交換ポテンシャル項を用いた最適化有 効ポテンシャル法を組み合わせて計算した[10,11]。ここで、実験で観測される内部磁場 H_{int} は、理論計算で得られる有効磁場 H_{eff}の絶対値に対応する。有効磁場 H_{eff}については、相対論 効果を考慮した非局所的な接触相互作用と軌道角運動量の寄与 Harbit の合計として計算した。 この取り扱いにより、古典(局所)的なフェルミ接触相互作用で計算された内部磁場のフリ ーデル振動プロファイル[1]の不正確さを改善できる[10]。⁵⁷Fe 原子核の有効磁場 H_{eff}への主 要な寄与となる接触相互作用は、1s、2sおよび3sの内殻電子からの寄与H_{core}と4sの伝導電 子の寄与 H_{cond} で構成される。アイソマーシフト δ は、式 $\delta = \alpha \times \rho(0)$ で求められる。係数 α には、-0.24 a₀³ mm/s を用いた[10]。ここで、a₀はボーア半径、ρ(0)は試料と標準物質(バ ルク a-Fe) 間の ⁵⁷Fe 核位置の電子の確率密度の差分を表す。電気四極子分裂(電気四極子シ フト2 ε)は、フルポテンシャル Korringa-Kohn-Rostoker 法で計算した電場勾配の値に基づ いて計算した[12]。電気四重極子シフト2 ϵ は、⁵⁷Feの核四極子モーメントQ、電場勾配の主 成分 V_{zz} および H_{int} と V_{zz} の方向のなす角 θ を用いて、近似的に 2 $\varepsilon = eQV_{zz} \times (3\cos^2 \theta - 1)/4$ で与 えられる。図 2a の配置において、Vzzの向きは、[001]軸に平行なので、角度 θは 90°となる。

計算で求めた Fe (001) 表面の層毎の電子状態密度、スピン密度および電荷密度の分布を それぞれ図 4a、4b および 4c に示す。また、実験との比較を考慮して、計算で求めた表面か ら一原子層毎の磁気モーメントと超微細相互作用パラメーターを図 3c と 3d にそれぞれ示す。

3.3 実験と理論の比較考察

実験と計算の比較考察からは、Fe(001)表面の電子・磁気状態に関する重要な知見を得る

ことができる。実験で観測した内部磁場 H_{int} は、最表面で顕著な減少を示し、表面下数層の 領域で強度を振動させてバルク値に近づく様子を明瞭に示している(図 3a)。この振る舞い は、最表面での理論値と実験値に有意な差があるもののよく一致している(図 3a および 3c)。 理論的には、Fe(001)表面で内部磁場が振動する現象は、磁気モーメントのフリーデル振動と 強い相関性を持つ。

理論計算(図 3c)からは、Fe(001)薄膜の磁気モーメント $M_{\rm fe}$ が表面で顕著な増加を示した後、表面下数層の領域で振動的に強度が変化してバルク状態に回復する様子を確認できる。ここで、最表面での磁気モーメントの増大は、表面電子構造の変化により生じる。これは、図 4aの最表面と7層目(バルクに対応)の電子の状態密度(DOS)を比較すると、最表面のDOSには、dバンドの狭まりが見られ、多数(\uparrow)スピンと少数(\downarrow)スピンの占有率の差がバルクより大きくなっていることから理解できる。一方、DOSは、内部に行くほどバルクの状態に近づくが、その過程で電子スピン密度が揺らぎを伴い変化する(図 4b)。これが Fe(001)表面に生じる磁気フリーデル振動の本質的な起源である。図 3cにおいては、理論で計算した有効磁場の絶対値 $|H_{\rm eff}|$ 、即ち内部磁場 $H_{\rm int}$ も表面から数層の領域で振動的な振る舞いを示している。この現象は、鉄表面の電子スピン密度の揺らぎをs電子の観点から観察していることに対応しており、表面数層での磁気モーメントの変化との相関性を考慮して以下のように理解できる。

通常、バルクの鉄(図 3c の N = 7 に対応)では、内殻電子が 57Fe 原子核 の位置に作る有効磁場は、大きな負の 寄与 ($H_{core} = -28.5 \text{ T}$) を与える。そ の絶対値は局所的な磁気モーメント に比例して逆方向を向く。一方、伝導 電子が作る有効磁場 H_{cond}は、隣接する Fe 原子との *s*-*d*混成による-符号の間 接スピン偏極と原子内の直接 s-d交換 相互作用によって生じる+符号のス ピン偏極で構成される。バルクの鉄で は、間接分極が支配的であり、H_{cond}は -5.8 T を持ち、H_{core} と同じマイナス の符号を持つ。ところが、表面ではバ ルクと異なり、上部に鉄原子が存在し ない低配位状態であるため、-符号の 間接分極は減少する。その一方で、最 表面層が大きな磁気モーメント(M_e= 3.07 µ) を持つため、+符号の直接分 極は増加する。このため、伝導電子の 寄与 H_{cond} は+10.9 T の大きな正の値を 持つ。この時、最表面の並進対称性の 破れと大きな磁気モーメントを持つ 鉄原子が、+符号の軌道電子の寄与 (H_{orbit}= 3.8T) と一符号のコア電子の



図3 実験と理論で得られた Fe (001) 表面近傍で の層別超微細相互作用パラメーターの比較。(a) H_{int} :内部磁場の実験値。(b) δ :アイソマーシ フトの実験値、2 ϵ :電気四極子シフトの実験値。 (c) M_{fex} $|H_{eff}|$ 、 H_{core} 、 H_{cond} 、 H_{orbit} は、それぞれ 理論計算された磁気モーメント、有効磁場の絶対 値、内殻電子からの H_{eff} への寄与、伝導電子から の H_{eff} への寄与および軌道角運動量を持つ電子か らの H_{eff} への寄与である。

寄与(H_{core} = -37.7 T)をそれぞれ増強させる。結果的に、全体の有効磁場の絶対値($|H_{eff}|$ = $|H_{core}+H_{cond}+H_{orbit}|$)はバルク値と比較して-9.5 T だけ減少する。対照的に、第2層目の鉄原子の磁気モーメントは、最表面層よりかなり小さいため(M_{e} = 2.18 μ_{b})、+符号の直接分極は減少するが、上部に大きな磁気モーメント(M_{e} = 3.07 μ_{b})を持つ最表面の鉄原子が隣接するため、第2層目の一符号の間接分極は増加する。従って、伝導電子の寄与 H_{cond} は、-9.9 T の大きな負の値を持つ。この時、軌道電子の寄与 H_{orbit} と内殻電子の寄与 H_{core} はバルク鉄と同等であるため、有効磁場 H_{eff} の絶対値は、バルクと比較して+3.2 T だけ増加する。このプロセスを繰り返すことで、有効磁場の絶対値 $|H_{eff}|$ 、即ち、内部磁場 H_{int} は、磁気モーメントと逆の強弱パターンで振動する。

一方、Fe(001) 最表面の内部磁場の実験と理論の相違の起源は明らかではないものの(図 3a 下段)、理論計算が考慮していない表面欠陥の存在が原因であると考えられる。実験に用 いた Fe(001) 薄膜の表面欠陥の存在は、AFM 像(図 1d) におけるステップの存在や内部磁場 の分布 ΔH_{int} が表面付近で増加することからも容易に推測できる(図 3b)。理論的には、Fe(001) 薄膜の表面欠陥(エッジ、ステップ、空孔など)にともなう原子の配位数の変化が磁性に 影響を与える可能性が指摘されている[13-15]。

理論計算は、鉄表面の構造不連続性に関連した超微細相互作用の他の重要な変化について も示唆している。図3dでは、最表面層において、アイソマーシフトδが顕著な増加を示して いるのに対して、電気四重シフト2εは急激な減少を示している。前者は表面における電荷 密度の減少によるもので、後者は表面における電荷密度の不連続な分布により引き起こされ たものである。表面での電荷密度の減少は、計算した電荷密度分布からも確認できる(図4c)。 電子スピン密度が表面からバルク方向に密度揺らぎを伴って変化するのに対して、電荷密度 は表面からすぐ下の層でもバルクに近い状態を回復することが分かる。これは、スピン密度

と異なり、電荷密度には強いクー ロン相互作用によるスクリーニン グ効果が働くからである。電荷密 度のこのような振る舞いは実験結 果(図 3b)を良く再現しており、実 験で観測したアイソマーシフト δ (s 電子密度に – 符号で比例す る。)は、最表面で大きな値(δ = 1.2 mm/s) を持つが、下部層では 全ての値がバルクに近い値(δ~0 mm/s)を示している。一方、電気 四極子シフト 2 ϵ については、実 験と理論計算の結果に明確な相違 が見られる。実験で観測した 2 ε は、表面で大きな負の値を示した 後、⁵⁷Fe 層の埋め込み位置を深く するにつれて大きさが減少して、 第7層目でバルク値のゼロになる。 これに対して、理想的な Fe(001) 表面を想定した理論計算で求めた



図4 厚さ30層のFe (001)薄膜の表面電子構造。(a) Fe (001) 表面の原子層毎の電子状態密度(DOS)。↑と ↓ の 矢 印 は 、 そ れ ぞ れ majority-spin と minority-spin を示す。(b) スピン密度の分布を示す 等高線図(単位: 10⁻⁴ electrons/a.u.³ on the (110) plane)。破線は負のスピン密度を表しており、原子間 の破線の等高線がフリーデル振動を示している。(c) 電 荷 密 度 の 分 布 を 示 す 等 高 線 図 (単位: 10⁻³ electrons/a.u.³ on the (110) plane)。

2 ε は、表面の 2 ε の急激な減少は再現しているが、表面下数層で 2 ε が小さな負の値を持つ ことについては再現できていない。現時点で我々は、実験で観測された小さな負の 2 ε 値の 起源は表面欠陥により引き起こされた僅かな格子歪みに関連するものと推論している[16]。 しかしながら、鉄表面の表面欠陥や格子歪などの外的要因が電子・磁気状態にどのような影 響を与えているかを正確に調べるには、表面の微視的構造と磁性を同時かつ局所的に評価し て、その結果をより精錬された理論と比較考察する必要があり、今後の測定法の高度化を進 める上での大きな課題である。

4. まとめと今後の展望

本稿では、超高真空中で作製した金属薄膜の表面を一原子層単位で磁気構造解析できる In-situ放射光⁵⁷Feメスバウアープローブ分光法とそれを用いたFe(001)表面の磁性研究につ いて概観した。特筆すべき成果として、Fe(001)表面下数層の領域で、原子核位置の内部磁場 の大きさが一原子層毎に振動的に強弱しつつバルク状態に回復する様子が初めて観測され、 理論との比較考察から、それが 40 年前にフリーマン達が予言した「鉄表面の磁気フリーデル 振動」であることを突き止めた (図 5 参照)。本研究に用いた分光法は薄膜表面だけでなく、 より深い領域にある界面も一原子層単位で In-situ 観察できるので、実材料開発に向けた応 用研究にも利用できる。スピントロニクスでは、多層膜に含まれる厚さ数 nm 程度の磁性層や 各層の界面付近の原子層スケールの磁性がデバイスの特性や機能に大きな影響を与えるので、 本手法で狙った領域の局所磁性を見極めることで、先進的スピントロニクス材料の開発が加 速することが期待される。



図5 鉄表面の磁気フリーデル振動。Fe(001)表面の並進対称性の破れが 磁気フリーデル振動を誘起すると、磁気モーメントは最面で最大を示し、 表面下数層の領域で層毎に振動しつつバルク状態に戻る。この時、原子 核位置の内部磁場は磁気モーメントと逆パターンで振動する。

参考文献

[1] C. S. Wang and A. J. Freeman, Phys. Rev. B 24, (1981)4364.
[2]A. J. Freeman, H. Krakauer, S. Ohnishi, D. S. Wang, M. Weinert, and E. Wimmer, J. de Physique 43, (1982) C7-167.

[3]S. Ohnishi, A. J. Freeman, and M. Weinert, Phys. Rev. B 28, (1983)6741.

[4] U. Gradmann, G. Waller, R. Feder, and E. Tamura, J. Magn. Magn. Mater. **31-34**, (1983)883.

[5] T. Shinjo, Surf. Sci. Rep. 12, (1991)49.

[6] W. Kiauka, K. Debusmann, W. Keune, R. A. Brand, N. Hosoito, and D. Liljequist, Solid State Commun. **58**, (1986)641.

[7] T. Mitsui, N. Hirao, Y. Ohishi, R. Masuda, Y. Nakamura, H. Enoki, K. Sakaki, and M. Seto, J. Synchrotron Rad. 16, (2009) 723.

[8] T. Mitsui, R. Masuda, M. Seto, E. Suharyadi, and K. Mibu, J. Synchrotron Rad. 19, (2012)198.

[9] T. Mitsui, S. Sakai, S. Li, T. Ueno, T. Watanuki, Y. Kobayashi, R. Masuda, M. Seto, and H. Akai, Phys. Rev. Lett. **125**, (2020)236806.

[10] H. Akai, M. Akai, S. Blügel, B. Drittler, H. Ebert, Kiyoyuki Terakura, R. Zeller, and P. H. Dederichs, Prog. Theor. Phys. Suppl. 101, (1990)11.

[11]H. Akai and T. Kotani, Hyperfine Interact. **120-121**, (1999)3.

[12] M. Ogura and H. Akai, J. Phys.: Condens. Matter 17, (2005)5741.

[13] A. Vega, A. Rubio, L.C. Balbas, J. Dorantes Davila, C. Demangeat, A. Mokrani, andH. Dreyssé, J. Magn. Magn. Mater. 104, (1992)1687.

[14] D. Stoeffler and F. Gauthier. J. Magn. Magn. Mater. 147, (1995)260.

[15] P. Parida, B. Ganguli, and A. Mookerjee, Superlatt. Microstruct. **86** (2015)173.

[16]Y. Saito, H. Uemura, and M. Uwaha, Phys. Rev. B 63, (2001)045422.