



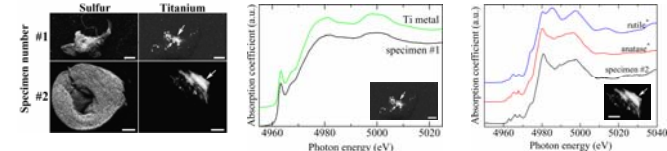
# X線集光用ポリキャピラリーを用いた金属含有生物試料の微小部XAFS測定

宇尾 基弘<sup>1</sup>・朝倉 清高<sup>2</sup> (1 北海道大学 大学院歯学研究科 生体理工学教室 2 北海道大学 触媒化学研究センター)

## 研究の背景と目的

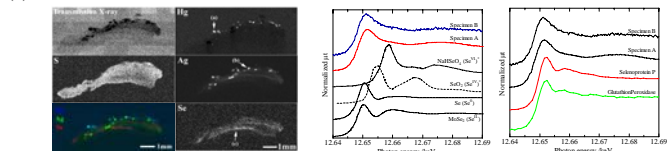
### ◎生物組織中の微量金属元素の蛍光XAFS法による状態分析例

(1) チタンインプラント周囲組織のチタンの状態分析<sup>1,2)</sup>



インプラント周囲の組織には金属(#1)及び酸化物(anatase:#2)のチタンが検出され、チタンの分布状態にも差がある。

(2) 歯科用アマルガム片周囲組織のセレンの状態分析<sup>3)</sup>



アマルガム片周囲にセレンが局在しており、その状態はセレンタンパク(Selenoprotein Pなど)に近いと推測される。

・生物組織中の溶出金属元素や金属・無機系異物は多くが局在

→現状では蛍光X線のイメージから局在が推定される領域を目視でXAFS測定

→正確な微小異物の状態分析には、より微小領域で位置特定をしながらXAFS測定をする必要がある。

→ポリキャピラリーによる集光と試料の二次元駆動による位置特異的XAFS測定

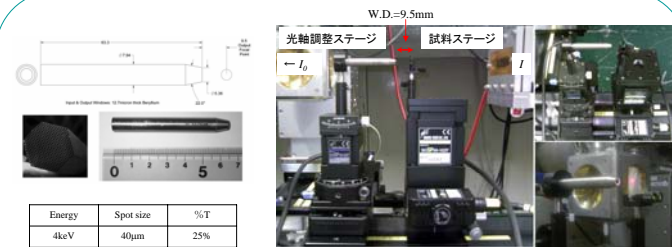


Fig. ポリキャピラリー光軸調整ステージと試料ステージ  
光軸調整:  $\theta$ , X, Z (電動),  $\alpha$  (手動)  
試料駆動: X, Z (電動) コントローラ: SHOT-202 (PF-BL-9A)

### ◎キャピラリー集光時のスポットサイズのエネルギー、working distance依存性

・10 $\mu$ m幅スリット(FSL-10; シグマ光機)を5 $\mu$ m間隔で移動し、透過光強度を測定(BL-9A)

・焦点位置でのスポットサイズは15keV時で40 $\mu$ m弱(半値巾)であり、エネルギーの減少とともにスポットサイズは広がり、5~7keVでは60 $\mu$ m程度であった。  
(スリット幅を考慮すると、設計スポットサイズをほぼ達成していると考えられる)

・焦点位置(working distance (W.D.))=9.5mmからW.D.が $\pm$ 5mm変化するとスポットサイズは200 $\mu$ m程度に広がる→W.D.を正確に規定する必要がある。

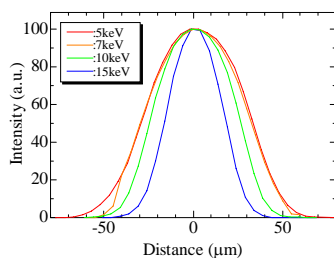


Fig. 焦点位置(W.D.=9.5mm)でのスポットサイズのエネルギー依存性

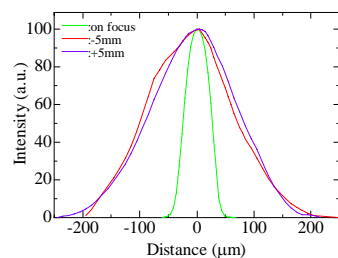


Fig. 10keV時のスポットサイズのW.D.依存性

### ◎ポリキャピラリーの透過率・スポットサイズ評価

#### ◎各エネルギーにおけるキャピラリーの透過率

(PF BL-9Aにて測定; 4.96keV時のみ高次光除去ミラーを使用)

keV	$\theta$	counts (normal)		counts (capillary)		gain		gas		%T
		$I_0$	$I$	$I_0$	$I$	$I_0$	$I$	$I_0$	$I$	
4.96	23.46	0.653	0.402	0.651	0.12	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	He(N <sub>2</sub> )	N <sub>2</sub>	29.9
7.1	16.14	0.252	0.631	0.255	0.166	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	N <sub>2</sub>	Ar(15)	26.0
10.4	11	0.38	2.426	0.389	0.616	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	N <sub>2</sub>	Ar(15)	24.8
12.6	9	0.646	1.326	0.64	0.261	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	Ar(25)	Ar(20)	19.9
15	7.6	1.095	2.461	1.087	0.336	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	Ar(30)	Ar	13.8

←透過率の実測値と設計時の予想値(上)の比較

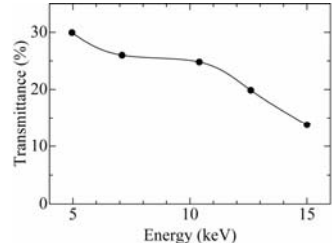


Fig. ポリキャピラリー透過率のエネルギー依存性

- ・Ti, Fe等、生物中の金属分析で頻りに使用するエネルギー域(5~10keV)で20%以上の透過率
- ・10keVを越えると透過率がやや低下
- ・ほぼ設計通りの透過率
- ・ポリキャピラリーの光軸調整に要する時間は30分以内

### ◎金属(Fe)含有生物試料の微小光学系による線・面分析

#### ◎線分析(濃度プロファイル測定)

・直径1mm $\phi$ の純鉄(ニラコ、99.995%)をラット皮下に埋入し、2週後に鉄を取り出して樹脂(PMMA)包埋し、0.5mmに薄切した試料<sup>4,5)</sup>

→100 $\mu$ m stepで横方向にスキャンし、各点でFe K-edge XANESスペクトルを透過法で測定

・X線分析顕微鏡(XSAM; 堀場製作所 XGT-2000V; 最小解像度=100 $\mu$ m)での線分析とほぼ同様の濃度プロファイルを与える。

・各点でのFeのXANESスペクトルはFeOOH様のスペクトルを示した。

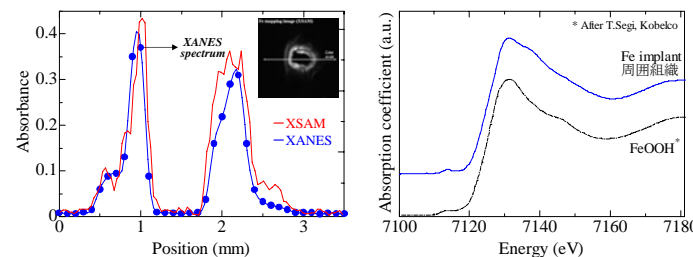


Fig. 組織中のFe濃度線分析(一および図中のFeマッピングイメージはXSAMによる)

Fig. Fe埋入皮下組織のFe K-edge XANESスペクトルとFeOOHとの比較

#### ◎面分析(濃度マッピング測定)

・同一試料を2次元(X-Z)方向に250 $\mu$ m stepでスキャンし、各点でXANES測定

[測定時間は5分/点, 測定点は8(X)×7(Z)=56点]

・各点での吸収端での吸光度プロット(=Fe濃度分布)はXSAMでの分布像とほぼ同じ

・各点でのXANESスペクトルも得られ、試料駆動は自動化可能

→最小40 $\mu$ m stepで濃度・状態の二次元分布を半自動的に測定可能

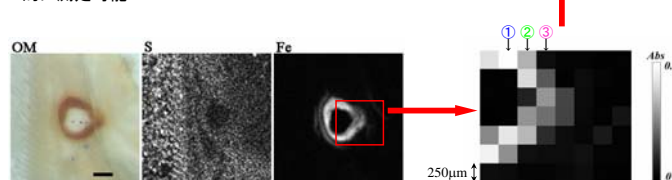


Fig. Fe埋入組織の光学顕微鏡およびXSAMによるS, Fe分布像(左)と□部分の微小部XANES測定による吸光度(=濃度)分布像(右下)、および①~③各点でのFe K-edge XANESスペクトル(右上)

## 結言

・ポリキャピラリーを用いた放射光集光系を作製し、最少40 $\mu$ m $\phi$ での微小部測定が可能であり、キャピラリーの透過率も10keV以下のエネルギー域では20%以上であった。

・集光系は既存のベンチに簡便に設置可能で、キャピラリー光軸調整を含めて30分程度で設置可能であった。

・試料の一次元、二次元駆動と組み合わせた元素濃度の線・面分析結果は、X線分析顕微鏡(XSAM)による測定と同様の濃度プロファイル、マッピング像が得られた。

・各点でのXANESスペクトル(透過)も得られ、状態分析が可能であった。

→以上より、ポリキャピラリーを用いた集光系により数十 $\mu$ m領域での微小部XAFS測定と濃度・状態マッピング測定が可能であることが判明した。

#### [References]

- 1) Uo M. et al.: Analysis of Titanium Dental Implants Surrounding Soft Tissue using X-ray Absorption Fine Structure (XAFS). *Chem Lett.*, 34, 776-777, 2005.
- 2) Uo M. et al.: X-ray Absorption Fine Structure (XAFS) Analysis of Titanium-Implanted Soft Tissue. *Dent Mater J.*, 26, 268-273, 2007.
- 3) Uo M. et al.: Selenium distribution in human soft tissue determined by using X-ray scanning analytical microscope and X-ray absorption fine structure analysis. *Chem Lett.*, 35, 66-67, 2006.
- 4) Uo M. et al.: Tissue reaction around metal implants observed by X-ray scanning analytical microscopy. *Biomater.*, 22, 677-685, 2001.
- 5) Uo M. et al.: Quantitative analysis of biological specimens by X-ray scanning analytical microscope. *J. Biomed Mater Res B.*, 70B, p.146-151, 2004.