

X線顕微鏡開発の歴史と今後の期待

青木 貞雄

History and Perspective of X-Ray Microscopes

Sadao AOKI

Introduction of X-ray optical property was described first. X-ray microscopy was started with simple contact microradiography. In the 1950s, projection X-ray microscopes became popular. In the early 1970s, several new developments such as synchrotron radiation sources, zone plates and grazing incidence mirrors emerged. High resolution and three dimensional images recently obtained were also introduced.

Key words: X-ray, microscope, resolution, computed tomography, mirror, zone plate

X線顕微鏡は、微細な組織構造を非破壊・ナノレベルで高分解能観察ができる手段として期待されている。2000年代に入り、その研究開発は加速し、10 nmに迫る光学素子の分解能、実験室光源に比べ10桁以上の放射光の高輝度化など、基本的な要素技術の進展が後押ししている。また、コンピューター関連技術の進歩により高速・大容量の画像処理も可能になり、CT (computed tomography) を利用した三次元X線顕微鏡動画撮影、いわゆる、四次元画像も可能になってきた。

こうしたX線顕微鏡の発展も、X線の発見から半世紀以上の間、光学顕微鏡の分解能を超えることができず、苦難の道を歩んできた。その大きな理由のひとつは、原理的な困難さにあった。X線領域におけるすべての物質の屈折率はほぼ1で、可視域における屈折レンズや直入射反射鏡が実現不可能であったことである。ふたつ目は、光学素子の加工精度にナノメートルレベルが要求され、当時の技術水準では遠く及ばなかったことである。

1980年代に入ると、半導体工業のリソグラフィー微細加工技術が光学素子製作にも取り入れられるようになり、ゾーンプレートをはじめとする高分解能素子も実現可能になり始めた。同じころ、放射光光源やプラズマX線源などの開発も進み、X線顕微鏡の実用化を促した。

本報告では、X線の発見から現在に至るX線顕微鏡開発の歴史を開発初期 (X線の発見から1960年代)¹⁾、開発拡

大期 (1970年代~1990年代)²⁻⁸⁾、展開期 (2000年代以降)⁹⁻¹²⁾に分けて振り返り、今後の期待を述べる。表1にX線顕微鏡開発のおもな歴史を示しておく。

なお、X線顕微鏡に関する国際会議が1984年から3年ごとに開かれ (2008年からは2年ごと)、2012年に第11回が上海で開催された。国際会議プロシーディング (文献3~12)はその時期のトピックスが網羅されているので、参照していただきたい。

1. X線の光学的性質と画像化信号

X線顕微鏡に利用されるおもな光学的性質について考えてみる。X線を物体に入射させると、図1に示すように入射X線が内殻電子との相互作用で変調を受け、同一波長のX線で観測される場合と、入射X線のエネルギーの一部が光電子や蛍光X線などに変換されて観察される場合がある。X線領域では物質の屈折率 n が1に近く、複素表示で

$$n = 1 - \delta - i\beta \quad (1)$$

と表わされる¹³⁾。ここで、

$$\delta = Nr_0\lambda^2 f_1 / 2\pi \quad (2)$$

$$\beta = Nr_0\lambda^2 f_2 / 2\pi \quad (3)$$

と表わされる。 $\delta (\propto f_1)$ は位相、 $\beta (\propto f_2)$ は吸収に関する。 N は単位体積中の原子数、 $r_0 = 2.82 \times 10^{-13}$ cm (古典電子半径)、 λ は波長で、 $f_1 + if_2$ は複素原子散乱因子とよばれ、元素に特有な値を示し、波長依存性がある¹⁴⁾。図2

表1 X線顕微鏡開発のおもな歴史.

年代	事項	研究者
1895	X線の発見	Röntgen
1948	直交クロス円筒ミラー結像光学系	Kirkpatrick and Baez
1948	ホログラフィーの発明	Gabor
1951	拡大投影型X線顕微鏡	Cosslett and Nixon
1952	二段軸対称ミラー光学系の理論	Wolter
1956	密着X線顕微鏡	W. Ladd, Hess, M. Ladd
1963	軟X線顕微鏡用ゾーンプレートの作製	Möllenstedt, Grote, Jönsson
1972	レンズレスフーリエ変換X線ホログラフィー	Kikuta, Aoki, Kosaki, Kohra
1973	コンピュータトモグラフィー (CT)	Hounsfield
1974	ゾーンプレート軟X線顕微鏡	Niemann, Rudolph, Schmahl
1974	X線ホログラフィー顕微鏡	Aoki, Kikuta
1978	軸対称トロイダルミラーX線顕微鏡	Sakayanagi, Aoki
1980	シュバルツシルト軟X線顕微鏡	Haelbich, Staehr, Kunz
1984	走査型軟X線顕微鏡	Rarback, Kenny, Kirz, Howells, Chang, Coane, Feder, Houzago, Kern, Sayre
1986	ブラッグ・フレネルゾーンプレート	Aristov, Snigirev, Basov, Nikulin
1987	スパッタースライスゾーンプレート	Bionta, Jankowski, Makowiecki
1987	三次元X線マイクロトモグラフィー	Flannery, Deckman, Roberge, D'Amico
1987	軟X線位相差顕微鏡	Schmahl, Rudolph, Guttman
1996	複合屈折レンズ	Snigirev, Kohn, Snigireva, Lengeler
1999	X線回折顕微鏡	Miao, Charalambous, Kirz, Sayer

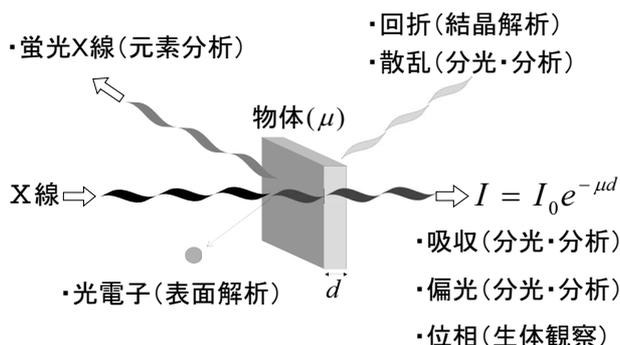


図1 X線顕微鏡で使われるおもな信号. μ は線吸収係数.

(a), (b) に軽元素の炭素と重元素の白金を例として, f_1 および f_2 の値を示す*1. 図に示したものは特定の元素の例であるが, 軽元素と重元素の特徴を表わしている. すなわち, 軽元素では波長の短い領域で, f_1 と f_2 の値の差が大きくなるが, 重元素ではその差はそれほど大きくない. この特徴は他の元素に関しても一般的にいえ, 短波長X線を使った軽元素の透過像では, f_1 , すなわち位相情報の画像化のほうが感度が上がることを示している. 図中の不連続な値を示す位置は吸収端とよばれ, 各元素固有の値である. この吸収端を挟む2つの波長で透過像を撮影し, その差分画像を得ると, 対応する元素のマッピングが可能になる. また, この吸収端より短いX線で物体を照射すると, 元素固有の蛍光X線 (特性X線と同じ波長) や光電子を発生させることができるので, 元素分析や電子状態分析に用

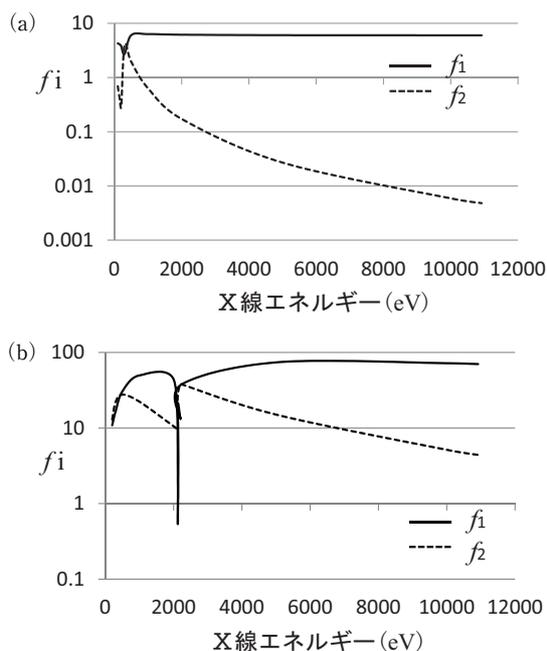


図2 複素原子散乱因子: $f_1 + if_2$. (a) 炭素, (b) 白金.

いられ, 画像化にも利用できる.

X線領域では, 屈折率が1よりわずかに小さいことから, X線が鏡面すれすれに入射 (斜入射) すると, ある臨界斜入射角 (θ_c) 以下で全反射が起こり, 有意な反射率を示す. この θ_c は近似的に

$$\theta_c = \sqrt{2\delta} = 1.6 \times 10^{-2} \lambda \sqrt{\rho} \quad (4)$$

*1 http://henke.lbl.gov/optical_constants/

と表わされる¹⁵⁾。ここで、 ρ は密度であり、 λ は nm 単位、 θ_c は rad で表わされる。例えば、白金 ($\rho = 21.37 \text{ g/cm}^3$) 面に銅の $K\alpha$ 線 ($\lambda = 0.154 \text{ nm}$) が入射する場合、 $\theta_c = 11.3 \text{ mrad}$ となる。全反射を利用する斜入射光学系では、この臨界斜入射角を参考にしてミラーが設計される。

2. X線顕微鏡開発の歴史

X線光学は、長い光学の歴史からみれば比較的新しい技術分野である。19世紀末のレントゲンのX線発見は、その後の物理学に大きな影響を及ぼし、また、医学分野では放射線医学の出発点となった¹⁶⁾。X線の発見直後、レントゲンが夫人の指輪をはめた左手の透過像を撮影し公開した事実は、その後のレントゲン写真の発展を示唆していた。

X線と光学の関係が密接に結びつき始めたのは、1912年、ラウエが結晶回折パターンを撮影し、X線が電磁波の一種であることを示した時期である¹⁷⁾。当時はX線が粒子線か波動であるかが不明であった。研究者らは波動性の証明のため、くさびスリットを用いて光学的な回折実験を進めた結果、回折によるぼけと仮定すると、使われた波長が0.04 nm程度ではないかと推定した。そのころ、結晶は固体の特別な形と考えられており、原子が規則的に並んでいるという明確な考えはなかったが、ラウエはX線の波長が上に述べた程度であれば、原子間距離に近いのではないかと想像し、結晶によるX線回折実験を試みて成功を取め、X線の波動性を証明した。

2.1 開発初期 (X線の発見から1960年代)

X線発見直後から透過力を生かして、歯や骨の組織構造・微細血管撮影アンジオグラフィー・工業材料の非破壊欠陥検査など、それまで不可能であった微細構造の顕微レントゲン写真撮影 (microradiography) が活発に行われた。当時のX線源は放電管に近く、X線源の大きさが試料の半影ぼけを生じてしまうため、試料と写真乾板を密着させて透過像を撮影した。この手法は密着法とよばれ、素朴な方法であるが、観察対象が比較的大きな小動物の撮影にも使えるので、今日でも多用されている。分解能は検出器 (乾板や蛍光板) の解像力で決まるが、当初は現像後の乾板を光学顕微鏡で拡大して観察していたため、原理的に光学顕微鏡の分解能を超えることはできなかった。この難点を解決するため、感光材としてポリビニール・クロロアセテートを用い、電子顕微鏡による読み出しも試みられたが、読み出し処理の煩わしさもあって、利用の広がりも限定的であった¹⁸⁾。一方で、直接拡大像を得ようという動きがあり、1939年、Ardenneは静電レンズ法により¹⁹⁾、ま

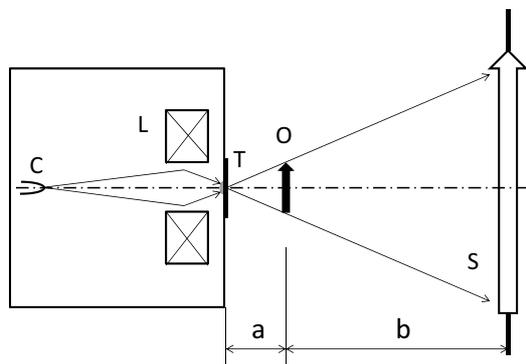


図3 投影拡大X線顕微鏡の模式図。

た1951年、CosslettとNixonは磁界レンズ法により²⁰⁾、電子線を微小に絞り、微小X線源を作って、幾何学的な拡大を試みた (投影拡大法)。後者の磁界レンズ法はその後の微小焦点X線発生装置の原型となり、今日に至っている。図3にその原理図を示す。電子銃Cから発生した電子線は、磁界レンズLによってターゲットTに微小焦点を結ぶ。ターゲットから発生したX線は球面波となり、物体Oを透過し拡大像を検出器Sに投影する。X線源と物体までの距離を a 、物体から検出器までの距離を b とすると、拡大率 $M = (a+b)/a$ と表わされ、数十倍から数百倍の像拡大が可能になり、検出器の解像力の問題が解決できる。しかしながら、図中に示したように、光源に大きさがあると、その大きさによる半影ぼけのため像の分解能が低下する。簡単な計算から、ぼけの大きさが光源の大きさに対応することがわかる。電子線はターゲット内で多重散乱を起し、10 keV以下の加速電圧でも10 nmの収束電子ビームがサブミクロンの大きさに広がってしまう。この問題を解決するために、Nixonは0.1 μm 厚の金の薄膜をターゲットにして、X線源の大きさを0.1 μm 程度に抑え、分解能の向上を図った²¹⁾。投影拡大法は試料回りの環境に自由度が大きく、現在、汎用X線装置を使ったマイクロCTの主流となっている。

上記2つのX線顕微鏡は単純な光学系であり、実用性に優れてはいたが、分解能が光学顕微鏡を大きく超えることが困難であることも明らかになった。この問題を解決しようとする動きは、X線斜入射ミラーの開発を促した。1948年、KirkpatrickとBaezは、図4(a)に示すように2つの凹面鏡 (図は円筒鏡) を直列に直交配置した斜入射光学系でX線結像を試みた (K-Bミラー)²²⁾。曲率半径 R の凹面鏡に斜入射角 θ で入射すると、入射面 (鏡面に垂直) 方向の焦点距離 f_m は $f_m = R \sin \theta / 2$ 、垂直方向の焦点距離 f_s は $f_s = R / 2 \sin \theta$ と表わされる²³⁾。一例として、 $R = 10 \text{ m}$ 、 $\theta = 10 \text{ mrad}$ として計算してみると、 $f_m = 50 \text{ mm}$ 、 $f_s = 500$

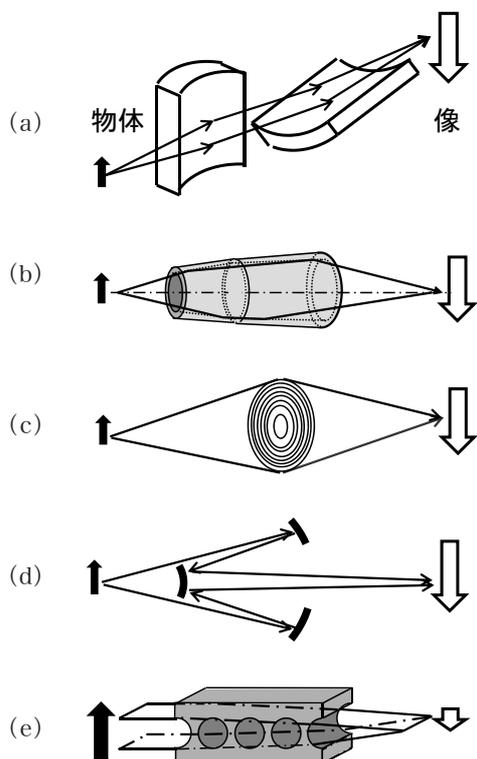


図4 X線顕微鏡で使われるおもなX線光学素子. (a) K-Bミラー, (b) Wolter ミラー, (c) ゾーンプレート, (d) シュバルツシルトミラー, (e) 複合屈折レンズ.

mとなり、著しい非点収差が生じる。このため、凹面鏡では通常一軸方向の結像に限られ、二次元的な結像には直交する2つのミラーが必要になる。凹面鏡の代わりに円筒鏡でも結像可能である。理論的な分解能は7 nmが期待されたが、当時の鏡面加工技術ではミクロンオーダーにとどまった。この非点収差の除去とコマ収差の減少を目的として、Wolterは、図4 (b) に示す回転双曲面と回転楕円面を組み合わせた軸対称斜入射ミラーを提案した²⁴⁾。この光学系は結像特性に優れ、理論分解能も数 nmが得られることが示されたが、当時の加工技術では非球面の加工は困難で、後年の技術の進展を待つことになった。

2.2 開発拡大期（1970年頃から1990年代）

X線の性質が明らかになり、光源の改良が進むにつれ、高分解能X線顕微鏡の実現の難しさが次第に明らかになっていった。一方で、1950年代に入って電子顕微鏡の性能が一段と増すにつれ、分解能の面でX線顕微鏡は完全に遅れを取ってしまった。

このような状況を大きく変える原動力になったのは、シンクロトロン放射光の高輝度化と半導体産業における微細加工技術の進展である。1970年代に入ると、半導体微細加工技術をX線顕微鏡分野に応用しようという動きが出てきた。検出器の解像力で分解能が制限されていた密着法で

は、X線源として放射光、記録材としてレジスト、読み出しに走査型電子顕微鏡を使うことによって高分解能像が得られることが示された²⁵⁾。密着法はX線リソグラフィーへの期待から一時的にブームを呼んだが、フレネル回折によるぼけが波長 λ と試料・レジスト間の距離 d によって $\sqrt{\lambda d}$ と表わされることから、距離 d が $1\ \mu\text{m}$ 以上では、分解能が50 nm程度にとどまるとの計算が示され²⁶⁾、次第に鎮静化していった。

一方で、フレネル回折を積極的に生かし、結像作用も示すX線ホログラフィーの研究も始まった。Gaborの提案したホログラフィーでは²⁷⁾、最初に物体のX線干渉縞を記録し、像再生を可視光で行うと、波長に比例した拡大像が得られるので、顕微鏡的な利用が期待された。有限な大きさをもつ光源（半径 r ）から距離 L 離れた位置における空間的にコヒーレントな領域（直径 D ）は、 $D = 0.16L\lambda/r$ （ツェルニケの式）で表わされる。ここで λ は波長を表わす。菊田ら²⁸⁾は、空間的にコヒーレントな領域を得るため微小焦点X線装置を用い、Winthropらが提案したレンズレス・フーリエ変換X線ホログラム²⁹⁾を炭素 $K\alpha$ （波長4.5 nm）で記録し、像再生をHe-Neレーザーで行い、幾何学的な倍率と合わせて223倍の拡大像を得た。また、同様な実験を放射光（波長6 nm）で初めて行い、像再生に成功した³⁰⁾。

この流れは、青木らの $\text{AlK}\alpha$ （波長0.83 nm）によるガボア型（in-line）X線ホログラム撮影とその三次元像再生の成功を導いた³¹⁾。X線ホログラフィーでは、原理的には波長に近い分解能が得られるが、ガボア型では分解能は光源の大きさか検出器の解像力程度になり³²⁾、レンズレス・フーリエ変換では参照光源の大きさに依存することが示された³³⁾。その後、ガボア型X線ホログラフィーの分解能は検出器にレジストを使うことにより40 nmまで改善し³⁴⁾、レンズレス・フーリエ変換型ではゾーンプレートで集光した参照光源を利用して60 nmまでの分解能を得た³⁵⁾。

リソグラフィー微細加工技術は、高分解能のゾーンプレートの製作を可能にした。X線用ゾーンプレートは、図4 (c) に示すような n 番目の半径 $r_n = \sqrt{n\lambda f}$ を境界にして透過率1と0の輪帯を交互に繰り返した板で、分解能はほぼ最外輪帯の幅に等しくなる。ここで f はゾーンプレートの焦点距離を表わす。Schmahlらは、レーザーホログラフィー技術を利用してゾーンプレートの製作を開始した³⁶⁻³⁸⁾。1980年、彼らはゾーンプレート利用の結像型軟X線顕微鏡を組み立て、放射光を使って初めて光学顕微鏡を超える分解能を得た³⁹⁾。その後、この技術は電子ビーム露光法に受け継がれ、X線結像素子の中心的役割を担う

ことになった。Rarbackらは、ゾーンプレートを集光素子とした初めての走査型軟X線顕微鏡を組み上げ、放射光を使って0.3 μm の分解能を得た⁴⁰⁾。結像型、走査型ともにゾーンプレートの改良に伴い性能も向上し、1990年代半ばには分解能も50 nmを超えるようになった⁷⁾。

一方で、全反射を利用したX線顕微鏡光学系の開発も1970年代後半から徐々に活発になり始めてきた。1978年、坂柳らは、Wolterのアイデアとは独立に軸対称2段のトロイダル面によるX線結像を提案し、斜入射X線顕微鏡の試作を行った^{41,42)}。内径10 mm、長さ50 mm程度のパイレックスガラス製トロイダルミラーは、非球面に研磨加工された金属を母材とし、真空レプリカ法によって製作された。この手法は後の高分解能ウォルター(Wolter)ミラー作製に引き継がれ、1990年代に入って、青木らはレーザープラズマ軟X線を使い、分解能50 nmを超える実験室系X線顕微鏡を構築した⁴³⁾。

反射光学系のもうひとつの流れとして、多層膜を利用した直入射光学系の開発が活発になってきたのもこの時期である。図4(d)に示す凹面鏡と凸面鏡を組み合わせたシュバルツシルト光学系は、古くから望遠鏡に使われてきたが、30 nm以下の短波長域では、直入射反射率の低下のため実用化が困難であった。より短波長域での直入射光学系実現のため、異なる屈折率の薄膜を交互に積み重ね、実効的な反射率を上げる多層膜の開発が進められた。多層膜は1周期の厚さを d とすると、波長 λ との間のブラッグの関係式、 $2d \sin \theta = \lambda$ を満たせば、特定の角度 θ で大きな反射率が得られる。直入射にこだわらなければ、短波長の硬X線領域までその利点が生かされるので、X線用の多層膜開発が一気に進んだ⁴⁴⁾。シュバルツシルト光学系は走査型X線顕微鏡として放射光施設で初めて組み立てられた⁴⁵⁾。その後いくつかのX線顕微鏡が作られたが^{46,47)}、いわゆる「水の窓」の波長域(炭素の吸収端波長4.4 nmから酸素の吸収端波長2.3 nm)では反射率が極端に低くなるため、開発はX線縮小露光リソグラフィ用13 nm近辺にシフトしていった。

1970年代から80年代にかけては、X線顕微鏡の研究が「水の窓」波長域に集中して行われてきたが、80年代後半になると、より短波長X線の結像素子研究への関心も高まってきた。Biontaらは、従来の軟X線用に比べ、厚みの大きいゾーンプレートをスパッタースライス法で試作し、CuK α 線(波長0.15 nm)の一次元的な集光に成功した⁴⁸⁾。また、齋藤らは、二次元スパッタースライスゾーンプレートによって放射光8 keV X線の集光を行った⁴⁹⁾。一方、Aristovらは、反射型ブラッグ・フレネル型ゾーン

プレートをリソグラフィによってシリコン単結晶上に形成し、CuK α 線を集光させた⁵⁰⁾。このような流れを受け、Snigirevらは、図4(e)に示すようなアルミニウムブロックに直径0.3 mmの多数(30個)の円柱状の穴を並べ、実効的なX線用屈折レンズを作った。焦点距離 f のレンズを N 個接して並べると、実効的な焦点距離は f/N となり、1個では極端に大きな焦点距離も、実用的な値に変化する⁵¹⁾。X線領域では凹レンズ形状が凸レンズの役割を果たすので、光軸付近の吸収も相対的に小さくなり、多数のレンズを重ねることができる。最近では、リソグラフィ加工技術を利用して、いろいろな種類のもので実用化されている。

光学素子の開発と並行して、三次元像再生技術の開発や位相情報の画像化研究も活発化した。1970年代初期、HounsfieldはCormackのアイデアを生かして⁵²⁾、物体のあらゆる方向からの透過像を使えば、元の物体の三次元像が再生できることを実験的に示した⁵³⁾。この手法はcomputed tomography (CT)とよばれ、発表当初からその有用性は注目され、医学診断法として急速に発展していった。顕微鏡的な最初の試みは80年代初めになされた。ここでは、ピンホールでビームをコリメートして試料に照射・走査し、透過像あるいは蛍光X線断層像を得た。この方法では、走査と回転を繰り返すため長時間の測定が必要となり、三次元像を得るには至らなかった^{54,55)}。80年代中頃になると、二次元CCD(charge coupled device)が実用化され、1投影の撮影が1回の露光で可能になった。その結果、比較的短時間の測定で三次元画像の取得ができるようになり、また、像面に蛍光板を使用し、その像を可視光レンズ系で拡大することによって、ミクロン程度の分解能も可能になった⁵⁶⁾。

X線顕微鏡は、軽元素を測定対象とした場合、短波長域では透過率が大きくなり、像コントラストが得られなくなってしまふ。第1章で示したように、短波長域になっても位相に関する原子散乱因子 f_1 の値は大きく変わらないので、位相コントラスト信号として画像化に利用することができる。Schmahlらは、この利点を生かすために、ツェルニケの位相差顕微鏡に倣った軟X線位相差顕微鏡を初めて構築した⁵⁷⁾。光学系は、コンデンサーおよび対物ゾーンプレート、4分の1波長位相板から構成される。位相板は対物ゾーンプレートの後焦平面に配置する。この配置では、直接光の位相を $\pi/2$ または $-\pi/2$ だけずらして回折光の位相に合わせ、像コントラストを強調させる。この方式は短波長のX線結像系でも適用可能で、1999年、渡辺らはウォルターミラー光学系を用いて波長0.14 nmの位相

差像を得た⁵⁸⁾。その後、短波長用ゾーンプレートの開発に伴い、位相差顕微鏡はツェルニケ型が一般的になっていった。一方で、Wilkinsらは、微小焦点多色X線源を使って位相コントラスト像が得られることを示した⁵⁹⁾。空間的コヒーレンスのよい光源を用いると、エッジ周辺が回折効果でコントラストが増大する。一種の投影拡大法で、医療分野で大きな関心を集めている。

2.3 展開期 (2000年頃から現在)

1997年に供用を開始したSPRing-8の利用は、それまでのX線顕微鏡の波長域が軟X線から硬X線に広がるきっかけになった。先行したヨーロッパのESRF (European Synchrotron Radiation Facility) と米国のAPS (Advanced Photon Source) は第三世代の放射光光源とよばれ、アンジュレーター装置を備えた高輝度X線源を提供するようになった。一方で、実験室系の光源として有望視されていたレーザープラズマ軟X線源は、EUV (extreme ultra violet) リソグラフィ用の波長域 (13nm 前後) と水の窓波長域 (2.3~4.3 nm) に開発の重点が移っていった。

このような流れから、2000年代に入るとX線顕微鏡装置開発は硬X線領域 (波長 ~0.2 nm 以下の短波長) が中心となり、軟X線顕微鏡は応用へと展開していった。この間、利用分野も生物・医学、環境・宇宙、地球・地質、材料・表面科学等に広がり、産業への結び付きも強くなり始めた。

X線光学素子の高分解能化も進み、2005年、Chaoらは高分解能軟X線用 (波長 0.7~5 nm) ゾーンプレートとして、15 nmの分解能に迫る素子を作製した⁶⁰⁾。一方で、硬X線用は、輪帯板の厚みを増すことによって使用可能な波長域を0.1 nm付近まで広げ、分解能は50 nmを超える水準に至った⁶¹⁾。より短波長用のゾーンプレートとK-Bミラーの開発を含めた詳細については、本特集の竹中氏および竹中氏の解説を参照されたい。

CTによりさまざまな局面でX線顕微鏡画像の三次元化が進んだ。Larabellらは、クライオ法で凍結したイースト菌のCT三次元像を水の窓領域の軟X線を用い、60 nmの分解能で撮影した⁶²⁾。実験室系軟X線顕微鏡では、比較的大きな開口数のウォルターミラーを用いれば、短い露光時間で数10 nmの分解能が得られるので、CTによる三次元像形成も可能になっている⁶³⁾。図5にトリ赤血球の軟X線顕微鏡像と断層像を示す。

蛍光X線顕微鏡は通常走査型が一般的であるが、通常、ひとつの三次元データを得るのに10時間前後の時間を要する。この撮影時間を大幅に短縮するためには、蛍光X線を直接二次元的に結像する結像型蛍光X線顕微鏡が望まし

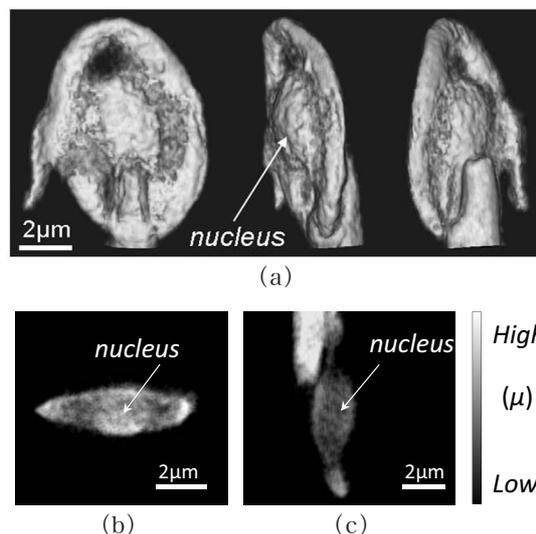
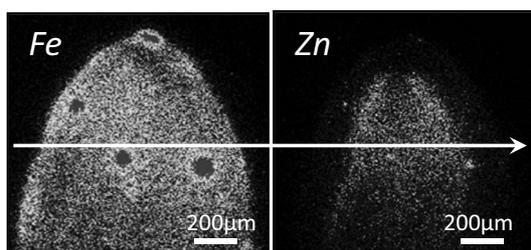


図5 トリ赤血球 CT 像. (a) 三次元像, (b) 横断層像, (c) 縦断層像. Nucleus: 核, μ : 線吸収係数.

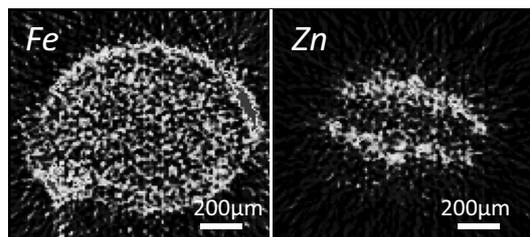
い。渡辺らは青木らが開発したウォルターミラー結像型蛍光X線顕微鏡を利用して、蛍光X線顕微鏡CTを実現した^{64,65)}。図6に、エネルギー分析可能なフォトンカウンティング法で得られたアルファルファ種子中の鉄および亜鉛の蛍光X線像 (a) と蛍光X線三次元分布の断層像 (b) を示す⁶⁶⁾。

位相コントラストX線顕微鏡にもいくつかの新しい進展がみられた。タルボ (Talbo) 効果⁶⁷⁾ (回折格子などの周期的な構造体の投影像が波長と周期の関数として特定の位置に自己像を形成する) を利用した位相コントラストイメージングは、医学診断分野の注目を集め、急速な広がりをみせているが、その光学系をX線顕微鏡に応用した研究も百生らのグループによって始められた⁶⁸⁾。タルボ効果は空間的にも時間的にもそれほど高いコヒーレンシーを要求しないので、実験室系での利用の広がりが期待される。

X線自由電子レーザーの実用化⁶⁹⁾ はコヒーレンシーを利用したホログラフィー顕微鏡や回折顕微鏡の研究を促している。回折顕微鏡はホログラフィー顕微鏡の分解能の制約である参照光源の大きさを克服するために、コヒーレントに照明された物体からの回折パターンを利用して位相を再生するという方法で、1952年にSayerによって提案されたオーバーサンプリング法が起点になっている⁷⁰⁾。この理論をもとに1999年、MiaoはKirz, Sayreらとともに初めて実験的にX線回折顕微鏡法を実証した⁷¹⁾。回折顕微鏡は回折パターンの最大空間周波数近くまで分解能を上げることが可能で、最近ではナノレベルの三次元像も得られるようになってきた。詳しくは本特集の西野氏の解説も参照されたい。



(a)



(b)

図6 アルファルファ種子中の蛍光X線像と断層像。(a)鉄および亜鉛の蛍光X線像、矢印は図(b)で示す断層面の位置を表わす。(b)鉄および亜鉛の蛍光X線三次元分布の断層像。

3. 今後への期待

X線顕微鏡は光源、光学素子、検出器の3要素の発展に伴って順調に開発が進んでいる。SPring-8では、放射光アンジュレーターと集光系の組み合わせによって、波長1 nm近辺で1 μm平方当たり毎秒 10^{10} 個、すなわち1 nm平方当たり毎秒100個程度のX線が利用できるので、1 nmを超える分解能の結像は可能である。実際にX線回折顕微鏡法ではナノレベルの三次元像が得られており、他の手法でも実現性は高い。

ゾンプレートをはじめ、斜入射ミラーなどの光学素子分解能向上に伴い、光学系の集光効率も増し、実験室系X線顕微鏡の実用化が進みつつある。特に、多層膜を応用した結像系は使用波長域の拡大と開口数の増大をもたらし、次世代X線顕微鏡の大きな柱になると期待されている。これまでのX線光学素子開発の歴史を振り返ると、関連する加工技術や制御技術の精度に対応して分解能の向上が図られた。今後もしばらくはこのトレンドが続くと思われる。

X線顕微鏡は光学顕微鏡の分解能を超え、計測対象の制約もないので、利用分野の拡大が見込まれる。特に、X線顕微鏡とCTの組み合わせによる三次元画像は、分解能の向上と画像解析手法の進展に伴い、多くの分野に革新をもたらすことが期待される。

X線顕微鏡の開発は、X線の発見からおおよそ1世紀の年月を経て実用化を迎えた。その間、電子顕微鏡の目覚ましい発展に押され、影の薄くなる時期もあったが、放射光という強力な光源の出現によって、一気に実用化が進んだ。

これまではハードウェア研究者の興味で開発が進められてきたが、今後はユーザーの利用に重点が移るとと思われる。

本報告では、2000年以前のX線顕微鏡開発の歴史を中心に述べてきた。その後の発展については、本特集の「解説」でさらに詳しく扱われているので、併せて参照していただきたい。

文 献

- 1) E. F. Kaelble, eds.: *Handbook of X-Rays* (McGraw-Hill, New York, 1967).
- 2) D. F. Parsons, eds.: *Ultrasoft X-Ray Microscopy: Its Application to Biological and Physical Sciences. Annals of the New York Academy of Sciences, 342* (New York, 1980).
- 3) G. Schmahl and D. Rudolph, eds.: *X-Ray Microscopy. Springer Series in Optical Sciences, 43* (Springer, Berlin, 1984).
- 4) D. Sayre, M. Howell, J. Kirz and H. Rarback, eds.: *X-Ray Microscopy II. Springer Series in Optical Sciences, 56* (Springer, Berlin, 1987).
- 5) A. G. Michette, G. R. Morrison and C. J. Buckley, eds.: *X-Ray Microscopy III. Springer Series in Optical Sciences, 67* (Springer, Berlin, 1990).
- 6) V. V. Aristov and A. I. Erko, eds.: *X-Ray Microscopy IV* (Bogorodskii Pechatnik, Moscow, 1993).
- 7) J. Thieme, G. Schmahl, D. Rudolph and E. Umbach, eds.: *X-Ray Microscopy and Spectromicroscopy* (Springer, Berlin, 1996).
- 8) W. Meyer-Ilse, T. Warwick and D. Attwood, eds.: *X-Ray Microscopy. AIP Conference Proceedings, 507* (Berkeley, 2000).
- 9) J. Susini, D. Joyeux and F. Polack, eds.: *Proceedings of the 7th International Conference on X-Ray Microscopy. J. Phys. IV, 104* (2003).
- 10) S. Aoki, Y. Kagoshima and Y. Suzuki, eds.: *X-Ray Microscopy. IPAP Conference Series 7* (2006).
- 11) C. David, F. Nolting, F. Pfeiffer, C. Quitmann and M. Stampanoni, eds.: *9th International Conference on X-Ray Microscopy. J. Physics Conference Series 186* (IOP Publishing, 2009).
- 12) I. McNulty, C. Eyberger and B. Lai, eds.: *The 10th International Conference on X-Ray Microscopy. AIP Conf. Proc., 1365* (2011).
- 13) A. Compton and S. K. Allison: *X-Rays in Theory and Experiment* (D. Van. Nostrand, New York, 1935) p. 279.
- 14) B. L. Henke, P. Lee, T. J. Tanaka, R. L. Shimabukuro and B. K. Fujikawa: "Low-energy X-ray interaction coefficients: Photoabsorption, scattering, and reflection $E = 100-2000$ eV $Z = 1-94$," *At. Data Nucl. Data Tables*, **27** (1982) 1-144.
- 15) 青木貞雄: "軟X線光学素子", *光学*, **13** (1984) 18-24.
- 16) W. C. Röntgen: "Ueber eine neue Art von Strahlen," *Ann. Phys. Chem.*, **64** (1898) 1-11.
- 17) W. Friedrich, P. Knipping and M. Laue: "Interferenzerscheinungen bei Röntgenstrahlen," *Ann. Phys.*, **41** (1913) 971-988.
- 18) W. A. Ladd, W. M. Hess and M. W. Ladd: "High-resolution microradiography," *Science*, **123** (1956) 370-371.
- 19) M. V. Ardenne: "Zur Leistungsfähigkeit des Elektronenschattenmikroskops und über ein Röntgenstrahlen-Schattenmikroskop," *Naturwiss.*, **27** (1939) 485-486.
- 20) V. E. Cosslett and W. C. Nixon: "X-ray shadow microscope," *Nature*, **168** (1951) 24-25.
- 21) W. C. Nixon: "High-resolution X-ray projection microscopy," *Proc. R. Soc. Lond. A*, **232** (1955) 475-485.
- 22) P. K. Kirkpatrick and A. V. Baez: "Formation of optical images

- by X-rays," *J. Opt. Soc. Am.*, **38** (1948) 766-774.
- 23) H. G. Beutler: "The theory of the concave grating," *J. Opt. Soc. Am.*, **35** (1945) 311-350.
 - 24) H. Wolter: "Spiegelsysteme streifenden Einfalls als abbildende Optiken für Röntgenstrahlen," *Ann. Phys.*, **10** (1952) 94-114.
 - 25) E. Spiller, R. Feder, J. Topalian, D. Eastman, W. Gudat, and D. Sayre: "X-ray microscopy of biological objects with carbon K α and with synchrotron radiation," *Science*, **191** (1976) 1172-1174.
 - 26) A. H. Hare and G. R. Morrison: "Near-field soft X-ray diffraction modeled by the multislice method," *J. Mod. Opt.*, **41** (1994) 31-48.
 - 27) D. Gabor: "A new microscopic principle," *Nature*, **161** (1948) 777-778.
 - 28) S. Kikuta, S. Aoki, S. Kosaki and K. Kohra: "X-ray holography of lensless Fourier-transform type," *Opt. Commun.*, **5** (1972) 86-89.
 - 29) J. T. Winthrop and C. R. Worthington: "X-ray microscopy by successive Fourier transformation," *Phys. Lett.*, **15** (1965) 124-126.
 - 30) S. Aoki, Y. Ichihara and S. Kikuta: "X-ray hologram obtained by using synchrotron radiation," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **11** (1972) 1857.
 - 31) S. Aoki and S. Kikuta: "X-ray holographic microscopy," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **13** (1974) 1385-1392.
 - 32) A. Baez: "A study in diffraction microscopy with special reference to X-rays," *J. Opt. Soc. Am.*, **42** (1952) 756-762.
 - 33) G. W. Stroke, R. Restrick, A. Funkhouser and D. Brumm: "Resolution-retrieving compensation of source effects by correlative reconstruction in high-resolution holography," *Phys. Lett.*, **18** (1965) 274-275.
 - 34) M. Howells, C. Jacobsen, J. Kirz, R. Feder, K. McQuaid and S. Rothman: "X-ray holograms at improved resolution: A study of zymogen granules," *Science*, **238** (1987) 514-517.
 - 35) I. McNulty, J. Kirz, C. Jacobsen, E. H. Anderson, M. R. Howells and D. P. Kern: "High-resolution imaging by Fourier transform X-ray holography," *Science*, **256** (1992) 1009-1012.
 - 36) G. Schmahl and D. Rudolph: "Lichtstarke Zoneplatten als abbildende Systeme für weiche Röntgenstrahlung," *Optik*, **29** (1969) 577-585.
 - 37) B. Niemann, D. Rudolph and G. Schmahl: "Soft X-ray imaging zone plates with large zone numbers for microscopic and spectroscopic applications," *Opt. Commun.*, **12** (1974) 160-163.
 - 38) B. Niemann, D. Rudolph and G. Schmahl: "X-ray microscopy with synchrotron radiation," *Appl. Opt.*, **15** (1976) 1883-1884.
 - 39) G. Schmahl, D. Rudolph, B. Niemann and O. Christ: "X-ray microscopy of biological specimens with a zone plate microscope," *Ultrasoft X-Ray Microscopy: Its Application to Biological and Physical Sciences. Annals of the New York Academy of Sciences*, **342** (New York, 1980) pp. 368-386.
 - 40) H. Rarback, J. M. Kenny, J. Kirz, M. R. Howells, P. Chang, P. J. Coane, R. Feder, P. J. Houzago, D. P. Kern and D. Sayre: "Recent results from the Stony Brook scanning microscope," *X-Ray Microscopy. Springer Series in Optical Sciences*, **43** (Springer, Berlin, 1984) pp. 203-216.
 - 41) Y. Sakayanagi: "Theoretical approach to X-ray imaging by toroidal mirrors," *Opt. Acta*, **23** (1976) 217-227.
 - 42) Y. Sakayanagi and S. Aoki: "Soft X-ray imaging with toroidal mirrors," *Appl. Opt.*, **17** (1978) 601-603.
 - 43) S. Aoki, T. Ogata, S. Sudo and T. Onuki: "Sub-100nm-resolution grazing incidence soft X-ray microscope with a laser-produced plasma source," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **31** (1992) 3477-3480.
 - 44) T. W. Barbee, Jr.: "Sputtered layered synthetic microstructure dispersion elements," *Low Energy X-Ray Diagnostics-1981, AIP Conference Series 75* (1981) 131-145.
 - 45) R. -P. Haelbich, W. Staehr and C. Kunz: "A scanning ultrasoft X-ray microscope with large aperture reflection optics for use with synchrotron radiation," *Ultrasoft X-ray Microscopy: Its Application to Biological and Physical Sciences. Annals of the New York Academy of Sciences*, **342** (New York, 1980) pp. 148-157.
 - 46) J. A. Trail and R. L. Byer: "Compact scanning soft-X-ray microscope using a laser-produced plasma source and normal-incidence multilayer mirrors," *Opt. Lett.*, **14** (1989) 539-541.
 - 47) K. Murakami, T. Oshino, H. Nakamura, M. Ohtani and H. Nagata: "Normal-incidence X-ray microscope for carbon K α radiation with 0.5 μ m resolution," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **31** (1992) L1500-L1502.
 - 48) R. M. Bionta, A. F. Jankowski and D. M. Makowiecki: "Sputtered-sliced linear zone plates for 8 keV X-rays," *X-Ray Microscopy II. Springer Series in Optical Sciences*, **56** (Springer, Berlin, 1987) pp. 142-145.
 - 49) K. Saitoh, K. Inagawa, K. Kohra, C. Hayashi, A. Iida and N. Kato: "Fabrication and characterization of multilayer zone plate for hard X-rays," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **27** (1988) L2131-L2133.
 - 50) V. V. Aristov, A. A. Snigirev, Yu. A. Basov and A. Yu. Nikulin: "X-ray Bragg optics," *Short Wavelength Coherent Radiation: Generation and Applications. AIP Conf. Proc. 147* (1986) pp. 253-259.
 - 51) A. Snigirev, V. Kohn, I. Snigireva and B. Lengeler: "A compound refractive lens for focusing high-energy X-rays," *Nature*, **384** (1996) 49-51.
 - 52) A. M. Cormack: "Representation of a function by its line integrals, with some radiological applications," *J. Appl. Phys.*, **34** (1963) 2722-2727.
 - 53) G. N. Hounsfield: "Computerized transverse axial scanning (tomography): Part 1. Description of system," *Br. J. Radiology*, **46** (1973) 1016-1022.
 - 54) L. Grodzins: "Optimum energies for x-ray transmission tomography of small samples: Applications of synchrotron radiation to computerized tomography I," *Nucl. Inst. Meth.*, **206** (1983) 541-545.
 - 55) L. Grodzins: "Critical absorption tomography of small samples: Proposed applications of synchrotron radiation to computerized tomography II," *Nucl. Inst. Meth.*, **206** (1983) 547-552.
 - 56) B. P. Flannery, H. W. Deckman, W. G. Roberge and K. L. D'Amico: "Three-dimensional X-ray microtomography," *Science*, **237** (1987) 1439-1444.
 - 57) G. Schmahl, D. Rudolph and P. Guttman: "Phase contrast X-ray microscopy: Experiments at the BESSY storage ring," *X-Ray Microscopy II. Springer Series in Optical Sciences*, **56** (Springer, Berlin, 1987) pp. 228-232.
 - 58) N. Watanabe, S. Aoki, H. Takano, K. Yamamoto, A. Takeuchi, H. Tsubaki and T. Aota: "Phase-contrast hard X-ray imaging microscope with Wolter mirror optics," *X-Ray Microscopy. AIP Conf. Proc. 507* (1999) pp. 84-91.
 - 59) S. W. Wilkins, T. E. Gureyev, D. Gao, A. Pogany and A. W. Stevenson: "Phase-contrast imaging using polychromatic hard X-rays," *Nature*, **384** (1996) 335-338.
 - 60) W. Chao, B. D. Harteneck, J. A. Liddle, E. H. Anderson and D. T. Attwood: "Soft X-ray microscopy at a spatial resolution better than 15 nm," *Nature*, **435** (2005) 1210-1213.
 - 61) Y. Kagoshima, Y. Yokoyama, T. Niimi, T. Koyama, Y. Tsusaka, J. Matsui and K. Takai: "Hard X-ray phase-contrast microscope for observing transparent specimens," *X-ray Microscopy. J. Phys. IV, Proc.*, **104** (EDP Sciences, 2003) 49-52.
 - 62) C. A. Larabell and M. A. Le Gros: "X-ray tomography generates 3-D reconstructions of the yeast, *saccharomyces cerevisiae*, at

- 60-nm resolution,” *Mol. Biol. Cell*, **15** (2004) 957–962.
- 63) M. Hoshino and S. Aoki: “Laboratory-scale soft X-ray imaging microtomography using Wolter mirror optics,” *Appl. Phys. Express*, **1** (2008) 067005.
- 64) S. Aoki, A. Takeuchi and M. Ando: “Imaging X-ray fluorescence microscope with a Wolter-type grazing-incidence mirror,” *J. Synchrotron Rad.*, **5** (1998) 1117–1118.
- 65) N. Watanabe, K. Yamamoto, H. Takano, T. Ohigashi, H. Yokosuka, T. Aota and S. Aoki: “X-ray fluorescence microtomography with a Wolter mirror system,” *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. A*, **467-468** (2001) 837–840.
- 66) M. Hoshino, T. Ishino, T. Namiki, N. Yamada, N. Watanabe and S. Aoki: “Application of a charge-coupled device photon-counting technique to three-dimensional element analysis of a plant seed (alfalfa) using a full-field X-ray fluorescence imaging microscope,” *Rev. Sci. Instrum.*, **78** (2007) 073706.
- 67) H. F. Talbot: “Facts relating to optical science,” *Philos. Mag.*, **9** (1836) 401–407.
- 68) Y. Takeda, W. Yashiro, T. Hattori, A. Takeuchi, Y. Suzuki and A. Momose: “Differential phase X-ray imaging microscopy with X-ray Talbot interferometer,” *Appl. Phys. Exp.*, **1** (2008) 117002.
- 69) J. Als-Nielsen and D. McMorrow: *Elements of Modern X-Ray Physics*, 2nd Edition. 雨宮慶幸, 高橋敏男, 百生 敦, 篠原佑也, 白澤徹郎, 矢代 航 (訳), X線物理学の基礎 (講談社, 2012) pp. 63–65.
- 70) D. Sayre: “Some implications of a theorem due to Shannon,” *Acta Cryst.*, **5** (1952) 843.
- 71) J. Miao, P. Charalambous, J. Kirz and D. Sayre: “Extending the methodology of X-ray crystallography to allow imaging of micrometre-sized non-crystalline specimens,” *Nature*, **400** (1999) 342–344.

(2013年3月1日受理)