

逐次精密切削による試料内部3次元情報取得システム —生物試料及び金属試料—

古 城 直 道*

Three-dimensional Internal Information Acquisition System
—Metallurgical and Biological Specimen—

Naomichi FURUSHIRO

概 要

生物試料及び金属試料に対し、試料内部の3次元情報を取得するシステムについて述べる。このシステムは、精密切削による試料断面の創成と、断面からの情報取得を繰り返し、コンピュータ内で仮想的に積み重ねることで、試料を3次元的に再構築し、内部情報の解析を可能とするものである。試料断面の創成は、単結晶ダイヤモンド工具による正面フライス切削によって行った。また、断面からの情報取得には、光学顕微鏡を用いた。

このシステムを用いることで、ダイカスト合金試料中の欠陥、及び硬組織を含む生物試料内部の微細構造を、3次元的に解析することが可能となった。

1. はじめに

近年、ものづくりの分野では、コンピュータ上での3次元モデルを用いた設計・解析が欠かせないものとなっている。それに伴い、試作・製造された現物と、設計・解析データとを比較する工程の必要性が高まっている。比較すべき項目には、主として形状、物性、内部欠陥がある。現在、形状の取得には3次元計測器、物性測定には試験片による検査、内部欠陥の取得にはX線CTが用いられている。しかし、その分解能はミリメートルオーダと高くないため、破壊の原因となる

ような微小な欠陥の検出は難しい。

一方、医学・生物学の分野では、診断技術として、MRIやX線CTが欠かせないものとなっている。生体は、骨・歯などの硬組織と、筋肉・臓器・血管などの軟組織とが互いに入り組み、構成されている。そこで現在でも、詳細な検査では、摘出した組織の切片観察が行われている。しかし、摘出することで軟組織は変形するとともに、3次元的な位置情報が失われるという欠点がある。

我々はこれまでに、主に生物試料を対象として、サブミクロンオーダの分解能で試料内部の3次元構造を記録する3次元内部構造顕微鏡の開発を進めてきた^{1)~9)}。このシステムは、凍結、または樹脂包埋された試料を微量ずつ上昇させ、端部をカミソリ状の平刃によって切断し、その断面を観察・記録する工程を繰り返すものである。また、記録された画像からの組織抽出法¹⁰⁾、及びシミュレーションモデルの開発¹¹⁾も合わせて行ってきた。このシステムは、試料の破壊を伴うが、自動的かつ高速に、色情報を含む試料内部の3次元情報を取得することができる。しかし、3次元内部構造顕微鏡では、刃の剛性が低く、硬度が高い骨などを含む試料の連続切断は困難であった。

本トピックスでは、これらの問題を解決すべく開発された、逐次精密切削による試料内部3次元情報取得システムについて述べる。

2. システム概要¹²⁾

図1は、開発したシステムの概略である。各工程は、

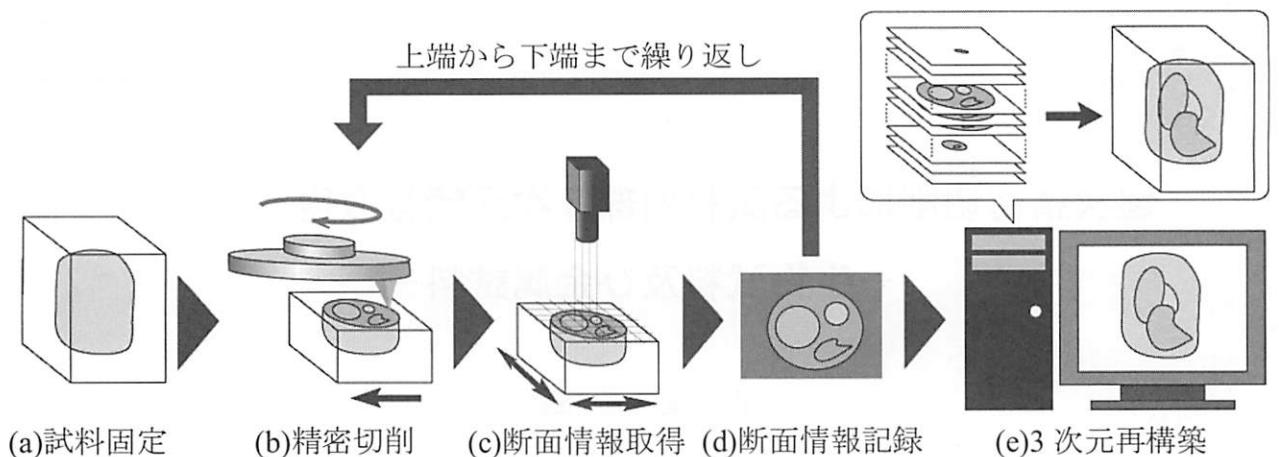


図1 システム概略

(a)試料の固定、(b)試料の精密切削、(c)試料断面の観察、(d)試料断面画像の記録、(e)連続断面画像からの3次元再構築、であり、(b)～(d)工程を試料上端から下端まで繰り返す。

図2に開発した3次元内部構造観察システムRMSS-003 (Riken Micro Slicer System-003) の外観および軸構成を示す。本システムは、試料の精密切削を行う精密加工部、試料断面の観察を行う試料観察装置、試料断面画像の記録を行う画像記録装置、これらを制御する制御装置から構成され、試料内部の3次元構造を自動的に観察・記録することができる。

本システムの精密加工部は、数値制御精密立形加工機（東芝機械製 UVM-350(J)）を基に開発した。前記加工機は、直線軸として、水平面（XYテーブル）を移動させる2軸（X・Y軸：超精密V-V有限ころがり軸受案内）、XYテーブル面と直交する1軸（Z軸）およびZ軸を回転軸とする主軸（スピンドル：超精密空気静圧軸受、最高回転速度30000min⁻¹）を有している。制御装置はNC（東芝機械製 TOSNUC 888）であり、直線軸のフィードバックスケールは0.1 μmである。

試料切削には単結晶ダイヤモンドR刃工具を用い、所定の切り込み位置で回転させ、試料を送り込み、試料断面をドライ切削する。切削後、試料を直ちに試料観察装置下に移動し、断面を観察・記録する。

図3に本システムの動作概略を示す。加工部では、工具を所定の切り込み位置で回転させ、試料を送り、切削を行う。指定厚さ分の切削終了後、試料を観察装置下まで移動させ断面を撮影する。加工・観察の工程はGコードで設定する。断面画像の取得には、撮影装置の外部トリガ入力機能を利用する。制御装置出力部からXYZ位置情報を元に記録トリガ信号を出力する

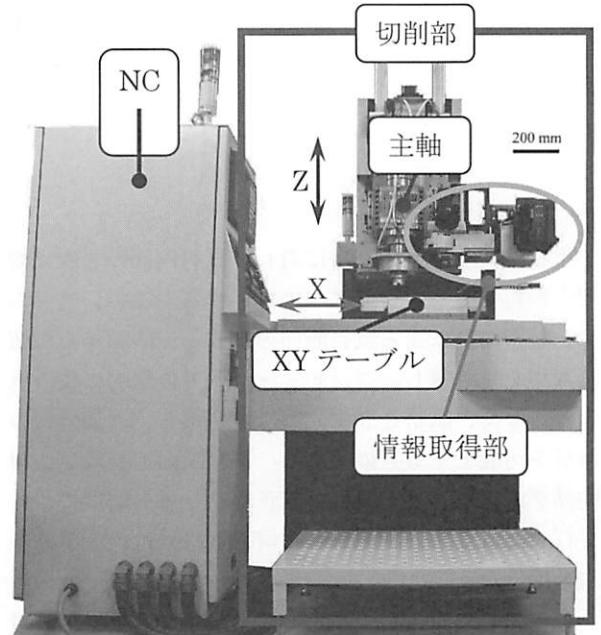


図2 システム外観

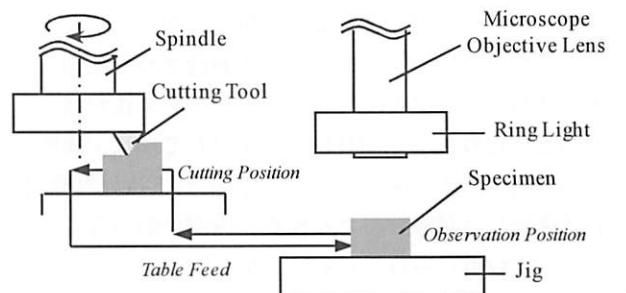


図3 精密切削及び断面情報取得

ことで、断面画像を取得し、画像記録装置（ハードディスク）にデジタルデータとして記録する。

加工精度については、無酸素銅試料に対し、1分以内に $Rz100\text{nm}$ 以下の断面を創成することが可能であった。また、断面画像間の位置決め精度については、 $\pm 1\text{ }\mu\text{m}$ 以下の精度を確保できることを確認した。

本システムを用いて、 $10\times 10\times 10\text{mm}$ 程度の試験片に対し、分解能 $10\text{ }\mu\text{m}$ (Z 方向)、 $4.2\text{ }\mu\text{m}$ (XY 方向) で内部 3 次元情報の取得が可能であった。得られた 3 次元再構築像における形状精度は、元の形状に対し、約 0.3% が得られた。また、X 線マイクロ CT により取得された、同一試料の 3 次元情報との比較から、本システムは密度の異なる物質の同時観察、分解能、アーチファクトの有無などの観点から、優れた性能を有していることを確認した。

3. 生物試料¹³⁾

生物試料として、従来の 3 次元内部構造顕微鏡では連続切断が困難であった生体硬組織試料を用いた。図 4 に樹脂包埋したブタ大腿骨皮質骨試料を示す。試料は、ブタ大腿骨から皮質骨を摘出後ホルマリン固定し、PBS 置換の後アルコール上昇脱水系列によって脱水し、樹脂に浸漬させ包埋した。

図 5 に、試料を本システムで切削した断面写真を示す。また、切削断面の表面粗さを測定した結果を図 6 に示す。試料切削断面全体 ($6\times 15\text{mm}$) において、算術平均粗さ $Ra0.06\text{ }\mu\text{m}$ 、最大高さ $Rz1.0\text{ }\mu\text{m}$ であった。従って、生体硬組織試料に対しても、本システムは十分な精度を有する。

図 7 に、切削断面の顕微鏡画像を積み重ね、3 次元再構築した後、内部の血管を抽出した立体像を示す。立体像の大きさは $4\times 3\times 3\text{mm}$ 、分解能は $10\text{ }\mu\text{m}$ (Z 方向)、 $6.2\text{ }\mu\text{m}$ (XY 方向) である。血管部の抽出には輝度値による二値化を用いた。

以上のように、生体硬組織試料に対し、観察に適した切削断面の創成及び連続断面画像からの 3 次元内部情報の取得が可能であった。

本稿には記述していないが、生体軟組織試料及び生体硬組織試料を含む試料に対しても本システムは有効であることを確認している。具体的には、試料を凍結し、XY テーブルに設置した冷却空間内で保持し、切削及び断面情報取得を行う。このとき、試料は生体硬組織を含むため、生きている状態に近い形状で、生体軟組織を観察することができる。

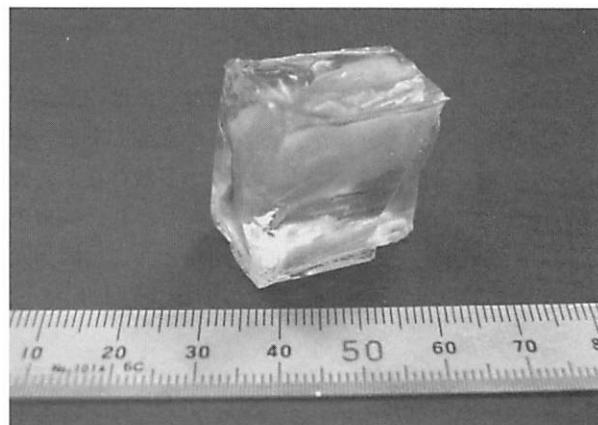


図 4 ブタ大腿骨皮質骨試料

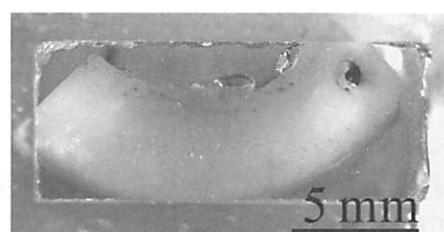


図 5 ブタ大腿骨皮質骨試料切削断面

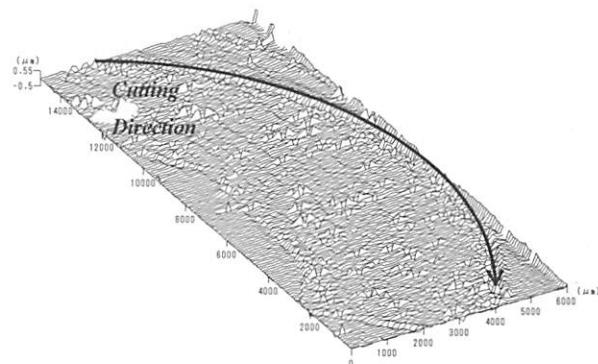


図 6 ブタ大腿骨皮質骨試料切削断面表面粗さ

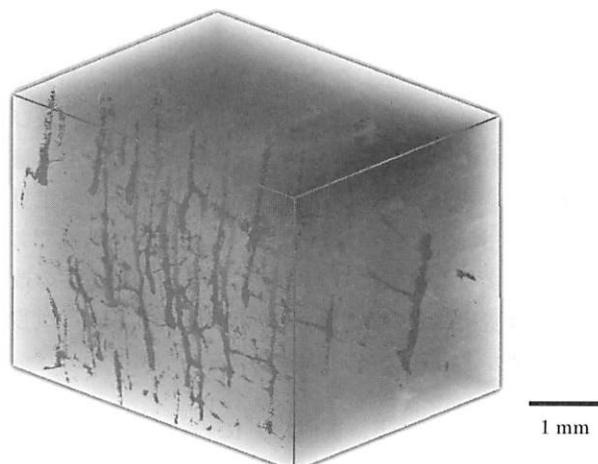


図 7 ブタ大腿骨皮質骨試料内部血管の 3 次元再構築像

4. 金属試料^[14]

金属材料試料において、寿命予測などには内部に存在する欠陥の形状・分布を知ることが重要である。特に鋳造製品では内部に巣などの欠陥が多数存在し、破壊の起点となることが知られている。しかし、従来のX線CT装置では、空間分解能の制約と共に、同一元素である組織境界の観察が困難であるという問題があった。

そこで、本トピックスでは近年自動車部品等で軽量化のために使用量が増加しているアルミニウム合金ダイカストを試料として用いた観察例を示す。

図8に、試料として用いた、鋳巣等の鋳造欠陥を含有するADC12材の外観及びX線透過像を示す。X線透過像から、試料内部に最大数mm程度の欠陥が存在することがわかる。

図9に、本システムを用いて切削し、記録された断面の様子を示す。それぞれの図の下に、切削開始時からのZ方向の切削深さを示す。図9から、試料内部の欠陥が、形状・分布共に複雑に変化する様子が分かる。形状については、図中□枠で示すように、比較的球状に近いものや、複雑な輪郭形状を持つものがある。

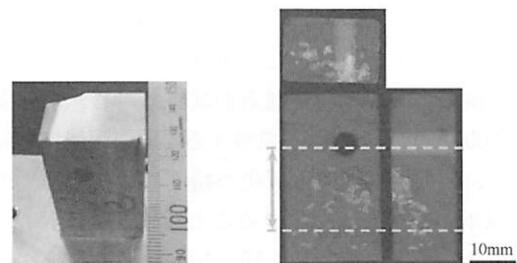
図10に、全断面画像から鋳造欠陥領域を抽出した3次元再構築像を示す。本システムを用いることで、切削領域 $20 \times 15 \times 19\text{ mm}$ に対し、分解能 $10\text{ }\mu\text{m}$ (Z方向)、 $4.2\text{ }\mu\text{m}$ (XY方向)で取得可能であった。最小直径 $30\text{ }\mu\text{m}$ 程度の欠陥から、切削領域全体にわたる 20 mm 程度の欠陥を検出可能であった。

本稿には示していないが、同一の試料に対するX線CT画像の分解能は $500\text{ }\mu\text{m}$ (Z方向)、 $400\text{ }\mu\text{m}$ (XY方向)であった。本システムは、従来検出が困難であった、数十 μm オーダの欠陥を観察可能であるという優位点がある。

また、本システムは従来の研磨工程と比較し、観察に要する時間が短い。本システムに適用可能な試料としては、アルミニウム合金・銅合金等の、単結晶ダイヤモンド工具で鏡面加工が可能な非鉄金属材料、及び樹脂等がある。これらの材料の複合体に対しても、適用可能である。一方、鉄系材料等のダイヤモンド工具を著しく損耗させる材料に対しては、適用が困難である。このような試料に対しては、工具・切削方法の改良または変更、及び試料断面を切削に適するよう改良する必要があり、今後の課題である。

5. おわりに

本稿では、高精度な試料断面作製と、断面からの情報取得を繰り返し行うことで、試料全体の3次元内部



(a) ADC12 specimen (b) X-ray transfer image of the specimen

図8 アルミニウム合金ダイカスト試料

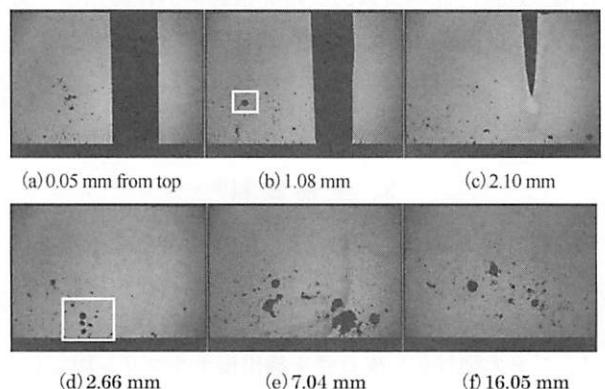


図9 アルミニウム合金ダイカスト試料切削断面

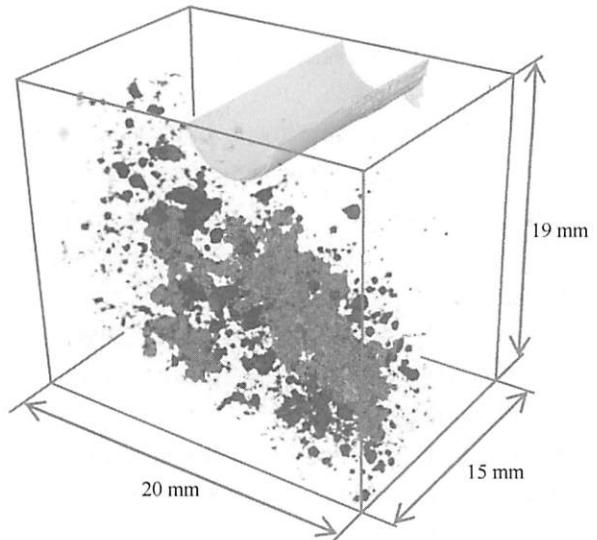


図10 アルミニウム合金ダイカスト試料内部欠陥の3次元再構築像

情報を取得可能な自動化システムを紹介した。本システムにより、生きている状態に近い形状の生物試料内部構造情報の取得や、工業製品の内部欠陥情報の解析が可能である。

本システムは、金属材料、生体試料以外にも、樹脂を含む工業製品をはじめとする多くの人工物の検査等の幅広い分野に応用可能であると考えられる。

参考文献

- 1) 小林賢知、樋口俊郎、青木勇、工藤謙一：三次元内部構造顕微鏡の開発、精密工学会誌、Vol.61, No.1, pp.100-106, 1995.
- 2) 横田秀夫、工藤謙一、樋口俊郎、佐藤嘉平：発現遺伝子観察用3次元内部構造顕微鏡の開発、医用電子と生体工学、Vol.36, No.3, pp.244-251, 1998.
- 3) Y. Ogawa, J. Sugiyama, H. Kuesting, T. Ohtani, S. Hagiwara, M. Kokubo, K. Kudoh and T. Higuchi: Development of Visualization Technique for Three-Dimensional Distribution of Protein and Starch in a Brown Rice Grain Using Sequentially Stained Sections, Food science and technology research, Vol.6, No.3, pp.176-178, 2000.
- 4) J. Kimura, A. Tsukise, H. Yokota, Y. Nambo and T. Higuchi: The Application of Three-Dimensional Internal Structure Microscopy in the Observation of Mare Ovary, Anatomia, Histologia, Embryologia, Vol.30, No.5, pp.309-312, 2001.
- 5) 小久保光典、樋口俊郎、工藤謙一、福田祥慎、大友明宏、南都寛、石田尚志：病理組織診断用薄切片試料作製システムの開発（第1報）：静電気を利用した薄切片試料作製装置、精密工学会誌、Vol.68, No.12, pp.1605-1610, 2002.
- 6) 都甲洙、相良泰行、田畠みづほ、工藤謙一、樋口俊郎：生牛肉試料内3次元氷結晶構造計測システムの開発、日本冷凍空調学会論文集、Vol.19, No.4, pp.375-380, 2002.
- 7) S. Ueno, G. S. Do, Y. Sagara, K. Kudoh and T. Higuchi: Three-dimensional Measurement of Ice crystals in Frozen Dilute Solution, International Journal of Refrigeration, Vol.27, No.3, pp.302-308, 2004.
- 8) 工藤謙一、木下泰希、都甲洙、内ヶ崎万歳、佐藤嘉兵、樋口俊郎：リニアマイクロスライサを用いた生体内部観察システムの開発、生体医工学、Vol.43, No.1, pp.103-108, 2005.
- 9) 前田竜郎、都甲洙、杉山純一、相良泰行、葛瑞樹：パン生地における気泡形状の計測法、日本冷凍空調学会論文集、Vol.23, No.3, pp.321-328, 2006.
- 10) 竹本智子、平野悠子、横田秀夫、中村佐紀子、木村順平、南保泰雄、津曲茂久、姫野龍太郎、三島健稔：生体フルカラー連続断面画像からの組織抽出法の検討：ウマ卵巣内構造物の可視化、画像電子学会誌、Vol.34, No.6, pp.770-777, 2005.
- 11) 孫智剛、牧野内昭武：超弾性体と静止液体の連成解析FEMプログラムの開発及び眼球網膜剥離手術のシミュレーションへの応用、日本機械学会論文集（A編）、Vol.68, No.666, pp.357-363, 2002.
- 12) 古城直道、横田秀夫、藤崎和弘、山形豊、小久保光典、姫野龍太郎、牧野内昭武、樋口俊郎：逐次精密切削加工による試料内部3次元情報取得システムの開発、精密工学会誌、Vol.74, No.6, pp.587-592, 2008.
- 13) 古城直道、横田秀夫、中村佐紀子、山形豊、大森整、姫野龍太郎、樋口俊郎：精密切削加工による生体試料内部構造の観察－骨切削条件の選定－、2005年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集、pp.765-766, 2005.
- 14) 古城直道、横田秀夫、藤崎和弘、山形豊、小久保光典、姫野龍太郎、牧野内昭武、樋口俊郎：試料内部3次元情報取得システムによるアルミニウム合金ダイカスト内部の鋳巣観察、精密工学会誌、Vol.74, No.9, pp.991-996, 2008.