
PIXE 法による生体内金属元素の微量分析の研究

Trace element analysis of bio-medical sample by PIXE method

代表研究者	大阪大学医療技術短期大学部教授 Prof., College of Bio-Medical Tech., Osaka Univ. Kenji KANOH	加納 憲二
協同研究者	大阪大学医療技術短期大学部教授 Prof., College of Bio-Medical Tech., Osaka Univ. Tetsuo YOSHINAGA	吉永 徹夫
	大阪大学医療技術短期大学部教授 Prof., College of Bio-Medical Tech., Osaka Univ. Shinichiro WATANABE	渡辺 信一郎
	大阪大学医療技術短期大学部助手 Res. Assoc., College of Bio-Medical Tech., Osaka Univ. Yoshihiro FUJITA	藤田 良博

緒 言

PIXE は陽子、 α 粒子などの加速された粒子を試料に照射し、試料中に含まれている元素に特有な特性 X 線のスペクトルを分析し、元素濃度を定量する方法である。この方法は約 10 年ほど前に T. B. Johansson ら^{1),2)} により提案され、近年、多くの大学、研究所において試みられるようになった。

この数年間に原理的方法および応用の面で多くの発展が見られ、分析方法として一応、完成したように思える。しかしながら、実際に個々の試料について測定を行なうとき、まだ、多くの問題点が残されているのに気づくのが現状である。PIXE は少量の試料についての分析に特に適していると思われる。そこで、わずかしかが得られない生体試料の分析に便利で比較的精确な方法を確立することが、医学病理学、環境問題などの試料分析に対して、特に必要なことと思われる。この場合、PIXE の方が他の化学的分析方法などより優れている点の一つは、多元素同時分析が行なえることである。

現在、PIXE の研究は主としてマイクロビーム

の研究がなされているが、我々は、医学、生理学の研究にしばしば必要となるケースとして「少量しか得られない試料の多元素同時分析による定量」の方法を研究した。

生体試料の定量方法としては、一般的に、内部標準元素添加法が便利である。この方法は一定量の標準試薬を試料に添加し、試料をホモジナイズして均等に分布させ、その元素からの特性 X 線により他の元素を定量する方法である。しかしながら、少量しか得られない試料については、この便利な方法を利用することが困難である。添加試薬を均一に分布させ、かつ定量することが困難な場合が多く、標的の上において試料内に均一に乾燥させることが意外に困難だからである。

内部標準元素を利用しないで、直接試料の重さ、測定の際までの距離、立体角、測定器の効率などから、試料中の元素濃度を測定する方法もあるが、簡便ではなく、精度も大きく下がるので、一様な膜の試料でない場合は實際上無理である。特に生体試料では不可能に近い。

我々は、PIXE 測定データの spectrum に現れる background に注目し、内部標準試薬を加え

ず、測定する「少量しか得られない試料」に類似の生体試料を用い、PIXE spectrum の background の比較から定量を行なう方法を試みた。このような方法は、数年前に、Y. J. Uemura, H. Koyama ら³⁾により、background を利用する方法として報告された。我々の方法は、それらにより精密化したものになっている。

これらの測定方法における精度を確かめるため、normal なラットの血漿、赤血球などを試料として、我々の方法の check を行なった。他に、ポリプロピレンやマイラー膜のように厚さが精密に知れているものを利用して、いくつかの check を行なった。

また、我々の方法により、健康なラットの臍のランゲルハンス島を染色し^{5)~7)}、顕微鏡下で注意深く摘出してフォルムバル薄膜上に固定し、3 MeV のプロトン照射を行ない、臍全体をホモジナイズした試料の spectrum と比較の上、Ca, Fe, Cu, Zn, Br などの元素濃度について測定した。

更に健康なラットの脳の各部を七つの微細な部分に分け、その試料について、上記と同じような元素についての比較測定を行なった。比較する物質としては、normal なラットの脳全体をホモジナイズした試料を用いた。

これらの実験での粒子加速は大阪大学の理学部原子核研究施設のサイクロトロンを用いた。

更に、昭和 58 年から筑波の高エネルギー物理学研究所で放射光施設の運転が始まり、共同利用の研究を行なうことができるようになった。この偏光した、指向性の強い、絶大な強度をもった X 線は単色光にしてもなお、十分な強度を持つので、これを用いて蛍光 X 線分析を行なうことは、非常に魅力ある方法である。PIXE より、更に強力な分析方法であると思われるので、PIXE と併用して元素分析の研究を始めた。我々が PIXE の研究題目を提出した時点では、まだ、放射光が何時から実際に利用できるようになるか分らなかったもので、PIXE だけを取り上げたわけである。初めの、2~3 年間は放射光施設が動き始めたばかりで、コンピューター処理などの点で不便なこ

とが多く、研究が十分に進んだとはいえなかったが、約 4 年間あまりにわたって、生体試料を用いて、検出下限、感度などを調べ、PIXE の検出下限と比較した。生体試料で、厚さ 1 mg/cm² の標的については PIXE より放射光を用いた方が、1 けた下の値となり、これは、世界的に見ても最も良い値となっている。ただし、PIXE と比較するため、測定時間を 1 時間として換算している。検出下限としては、放射光を用いて、ラットの血漿(しょう)において、10⁻¹³ g/g を得た。

1. 内部標準元素法

前述のように内部標準法では既知の濃度の標準元素を一定量添加し、試料濃度を決定する。よく使用される元素として、生体試料にはもともと含有されていない Y 元素(イットリウム)などが知られている。既知の Y 元素および求める未知の元素 X に対する、プロトンビーム照射の特性 X 線発生断面積⁸⁾を $\sigma(Y)$, $\sigma(X)$ と書き、元素 Y および元素 X の原子量をそれぞれ、 $A(Y)$, $A(X)$ と書くことにする。更に特性 X 線と試料ターゲットの間に X 線アブソーバーを挿入する。その X 線透過率をそれぞれ $Q(Y)$, $Q(X)$ と書く。そのとき、標準元素 Y を検出する感度と元素 X を検出する感度の比 $K_x(Y)$ は次式で与えられる。すなわち、

$$\begin{aligned} K_x(Y) &= \frac{\sigma(Y)}{\sigma(X)} \cdot \frac{A(X)}{A(Y)} \cdot \frac{Q(Y)}{Q(X)} \\ &= \frac{Y \text{ 元素の感度}}{X \text{ 元素の感度}} \end{aligned} \quad (1)$$

と書くことができる。内部標準元素の試料中の濃度を $C(Y)$ とすると

$$C(X) = C(Y) \cdot K_x(Y) \quad (2)$$

と書くことができる。ここに $C(X)$ は測定しようとする元素 X の試料中の濃度である。一般に $C(Y)$ は既知であり、 $\sigma(X)$, $\sigma(Y)$ は文献⁹⁾で知られている。実験においても check されている。

Fig. 1 においてサンプルの標的とビームが図示されており、Fig. 2 では $\sigma(Y)$, $\sigma(X)$ を用いて求めた $K_x(Y)$ の値と我々の実験値との比較が示されている。両者の比較は良い一致を示している。

プロトンエネルギー 2 MeV, 3 MeV, 4 MeV

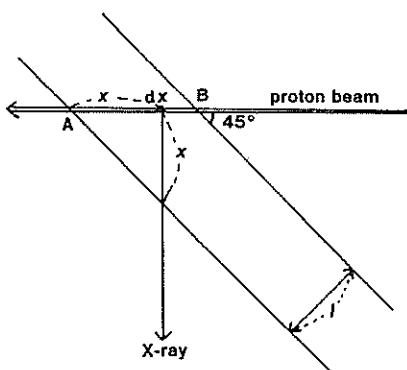


Fig. 1. 平行平板の target に 45° の角度でプロトンビームが当たったときの X-ray の自己吸収.

についての内挿した値の $K_x(Y)$ が Fig. 3 に示されている。検出器とターゲットの間のアブソーバーは 800 μm のマイラーを使用した場合、500 μm のマイラーを使用した場合、アブソーバーの存在しない場合に分けて示している。内挿法としては最小乗法を使用した。これらの結果はその目的に応じて便利に使用できる。

2. Background の比較

緒言で述べたように、生体物質の試料ではわずかしか得られない場合がしばしば起こる。このような場合、内部標準法を行なうことは多くの場合困難が伴うことがほとんどである。また、内部標準法を使用せず、サンプルターゲットから検出器までの距離、立体角、試料標的上のビーム強度、検出器の効率などを求めて、それらの値から元素濃度を決定する絶対測定の方法は、多くの誤差が重なり、めんどろな上に不精確さが伴う。したがって、緒言で述べたように、一様な膜などを除くと、この方法は良い結果は得がたい。したがって測定ルーティン化が容易で、ある程度まで精度が得られる方法を見いだすことが望ましい。我々は PIXE spectrum の background を利用して生体試料を簡単に求める方法を調べた。既に述べたように、これは Y. J. Uemura, H. Koyama ら³⁾の方法の精密化に当たる。

少量しか得られない試料 (1~100 mg) については、内部標準元素を添加せず直接 PIXE の spectrum を測定し、それとよく似た物質で構成

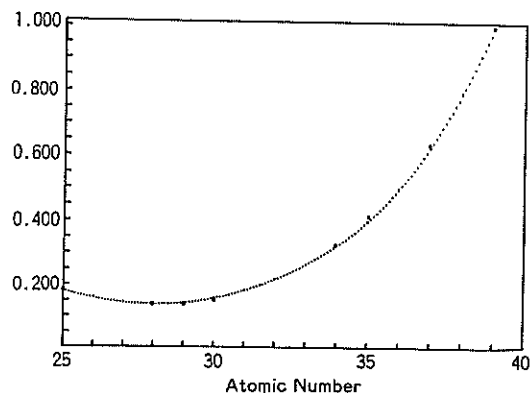


Fig. 2. 相対感度, 縦軸は K_x , 横軸は atomic number.
---理論曲線, •黒丸は実験値.

された比較的多量に得られる生体試料に対しては、内部標準法により PIXE spectrum を測定し、この両者の background を比較して、少量しか得られない試料の元素濃度を決定することを試みた。

前述の Y. J. Uemura, H. Koyama ら³⁾の方法で主張されていることは、spectrum の background と照射標的の測定試料物質が比例していることである。しかしながら、彼らの報告ではかなり大きな測定誤差が生ずることが報告されている。以下に述べる我々の方法をういた場合、どの程度の誤差が生ずるかを estimate するために、平均的構成をもった蛋白質を考え、詳細なコンピュータによる計算を行なった。

また、厚さの知っているポリプロピレンの膜やマイラーの膜についても同様の計算を行なった、以下それについて説明する。

Fig. 1 で示されるように、平行平板のサンプル標的を考え、真空中でプロトンビームと 45° の傾きで照射されている、プロトンビームの線束の強度を I_0 とするとき、Fig. 1 の dx の部分の標的物質から、それと直角方向に立体角 $d\Omega$ で発生する background X 線の強度を $Sd\Omega$ とすると、細いプロトンビーム線束について、

$$S \cdot d\Omega \cdot dx = R_0 \cdot I_0 \cdot \rho dx \cdot d\Omega \quad (3)$$

と書くことができる。ここに ρ は標的の照射時の密度であり、 I_0 は単位のプロトンビーム強度、

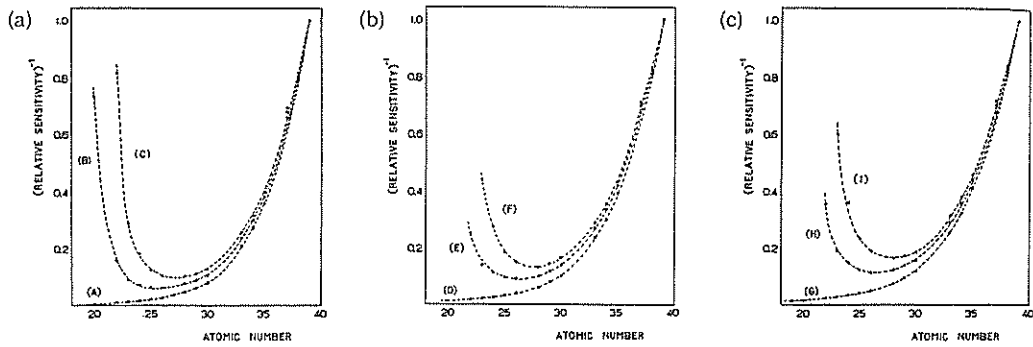


Fig. 3.

- (a) The reciprocal of the relative sensitivity for 2.0 MeV proton. (A), no filter; (B), the absorber is 500 μm mylar; (C), the absorber is 800 μm mylar.
 (b) The reciprocal of the relative sensitivity for 3.0 MeV proton. (D), no filter; (E), the absorber is 500 μm mylar; (F), the absorber is 800 μm mylar.
 (c) The reciprocal of the relative sensitivity for 4.0 MeV proton. (G), no filter; (H), the absorber is 500 μm mylar; (I), the absorber is 800 μm mylar.

単位の比重，に対するターゲット物質の background X 線の強度である。また， R_0 はプロトンビームの強度とする。標的内のプロトンビームの自己吸収を考えに入れ，background X 線を細いプロトンビーム線束に対して，X 方向に総和すると，次のようになる，

$$S = \int_0^{\sqrt{2}l} R_0 I_0 \rho \cdot \exp\{-\mu x\} \cdot dx \\ = R_0 I_0 \cdot \frac{1}{(\mu/\rho)} \\ \times \left[1 - \exp\left\{-\sqrt{2}\left(\frac{\mu}{\rho}\right) \cdot \rho l\right\}\right], \quad (4)$$

ここに， μ は標的物質の照射時の background X 線に対する線減弱係数であり， l は標的の厚さである。(4) 式で表現される試料を少量しか得られないサンプルの標的とし，次式に対応する試料を比較的多量に得られる比較試料として，次式の S' で現わすこととする。そこで，

$$S' = R_0 I_0' \frac{1}{(\mu'/\rho')} \\ \times \left[1 - \exp\left\{-\sqrt{2}\left(\frac{\mu'}{\rho'}\right) \cdot \rho' l'\right\}\right], \quad (4')$$

と書くことができる。 I_0' ， μ' ， ρ' はそれぞれ (4) 式の I_0 ， μ ， ρ に対応する量である。アブソーバーの効果は，この場合，両者の比を取る場合は，

S ， S' に対して，同じ効果を与えるので，両者の比を考える今の場合は省略する。Appendix で示されるように，蛋白質では μ/ρ の値はほとんど等しく，特に類似物質では 1~0.5% 以下の誤差の範囲内で等しいことがわかる。したがって，比較的多量に得られる類似生体物質について，

$$\mu/\rho = \mu'/\rho'$$

とすることにする。その近似内では (4') は，

$$S' = R_0 I_0' \cdot \frac{1}{(\mu/\rho)} \\ \times \left[1 - \exp\left\{\sqrt{2}\left(\frac{\mu}{\rho}\right) \cdot \rho' l'\right\}\right] \quad (6)$$

と書くことができる。ここに， I_0 と I_0' は類似の元素構成の場合

$$I_0 \sim I_0' \quad (7)$$

と考える。しかし，この場合の等号との誤差については，まだ，よく分かっていない。また，試料を挟む薄いフォルムーバル膜 (0.5 μm 以下) については考えないこととする。(4) と (5) より，

$$\frac{S}{S'} = (I_0/I_0')$$

$$\times \left[\frac{1 - \exp\left\{-\sqrt{2}\left(\frac{\mu}{\rho}\right) \rho l\right\}}{1 - \exp\left\{-\sqrt{2}\left(\frac{\mu}{\rho}\right) \rho' l'\right\}} \right] \quad (8)$$

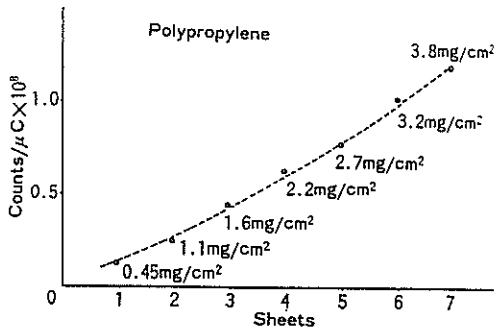


Fig. 4. The relation between the background and the thickness of polypropylene. The horizontal axis shows the thickness and the vertical axis shows the background counts between the energy of 3.3~3.7 keV.

と書くことができる。

照射ビームの断面積を Δs とし、照射部位の標的物質の質量をそれぞれ ΔM , $\Delta M'$ とすると、

$$\Delta M / \Delta M' = \rho l \Delta s / \rho' l' \Delta s = (\rho / \rho') (l / l') \quad (9)$$

となる。(8) 式の S/S' は μ , μ' がそれぞれ非常に小さい場合は

$$S/S' = (I_0/I_0') \cdot (\rho / \rho') \quad (10)$$

と書くことができる。然し、原子番号の小さい K, Ca などの原子の K_α 線のエネルギーに対する background X 線の場合や ρ , ρ' が大きな値をもつ場合は、(8) 式のまま計算しなければならない。

ここで試料中に含まれる主な元素の重量比率 P_i (i は i 番目の元素を示す。) が分かれば、よく知られた公式により、

$$\mu / \rho = \sum (\mu_i / \rho_i) \cdot P_i \quad (11)$$

と書くことができる。 μ / ρ は試料に対する質量減弱係数であり、 (μ_i / ρ_i) は試料に含まれる i 番目の原子の質量減弱係数である。まず、ポリプロピレン薄膜を考える。 l' と l がほぼ等しいとき、両者の小さい差を α とすると、

$$l' - l = \alpha \quad (12)$$

と書くことができる。 S と S' もほぼ等しいから、小さい β に対して、

$$S/S' = (l/l') \cdot (1 + \beta) \quad (12')$$

と書くことができる。

ここに α , β はともに小さいパラメーターであ

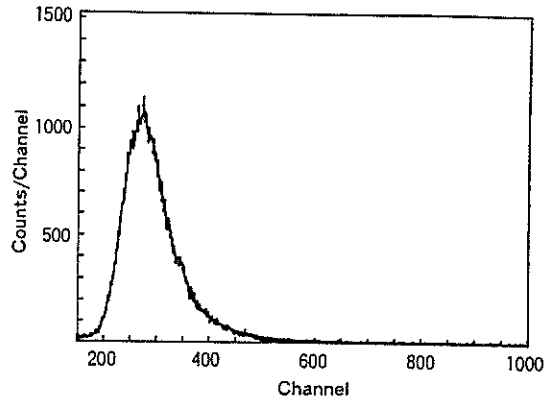


Fig. 5. 6 μm のポリプロピレンのデータ、ほとんど background のみである。

る。

厚さ $l \mu\text{m}$ のポリプロピレン膜 (厚さの精度は正確には分からないが、2枚の膜は重ねると干渉縞が見えるのでかなり正確なものと考えられる。そのような膜を用いて実験を行ない、理論計算の結果と比較した。) を用いて、元素 K, Ca, V などに対応する μ / ρ をそれぞれ (1) 式を用いて計算すると (l, l' も同じ物質として)、

$$\begin{aligned} \mu(\text{K}) / \rho &= 57.64 \text{ cm}^2 / \text{g} \\ \mu(\text{Ca}) / \rho &= 41.00 \text{ cm}^2 / \text{g} \\ \mu(\text{V}) / \rho &= 16.37 \text{ cm}^2 / \text{g} \end{aligned} \quad (13)$$

となる。ここに $\mu(\text{K})$, $\mu(\text{Ca})$, $\mu(\text{V})$ は各々 K, Ca, V 原子の K_α 線のエネルギーに対応するポリプロピレンの線吸収係数を示す。ここに、ポリプロピレンの比重 ρ は、 $\rho = 0.9$ とした。

一つの目安として、コンピューターを用いて、あらゆる場合について調べると、ポリプロピレン (C_2H_2) $_n$ に対して、(12') 式の β の大きさは、(12) 式の α を

$$\alpha = 3.57 \mu\text{m}$$

とすると、(8) 式により、

$$\left. \begin{aligned} \text{K 元素の } K_\alpha \text{ 線のエネルギーの X 線に対して,} \\ \beta \leq 0.016 \\ \text{Ca 元素の } K_\alpha \text{ 線のエネルギーの X 線に対して,} \\ \beta \leq 0.013 \\ \text{V 元素の } K_\alpha \text{ 線のエネルギーの X 線に対して,} \\ \beta \leq 0.005 \end{aligned} \right\}$$

(14)

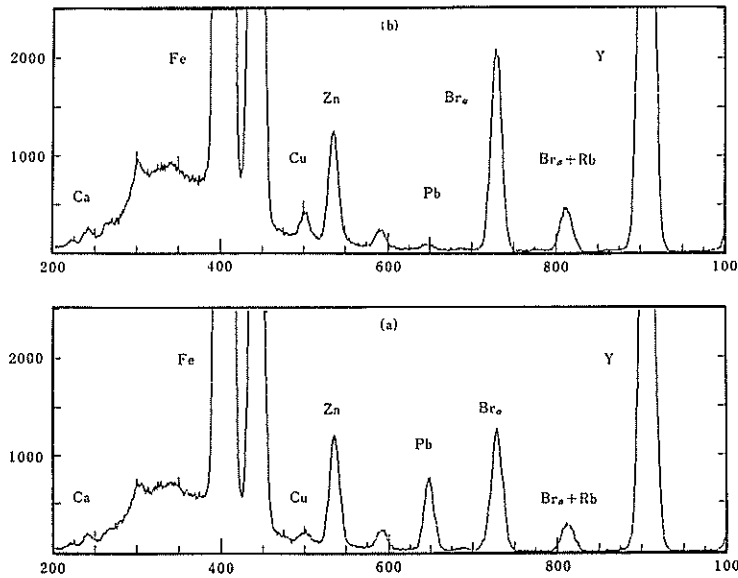


Fig. 6. 生後5日のラットの母親と子供の赤血球のスペクトルの比較。(a)は母親の赤血球のスペクトル。(b)は子供の赤血球のスペクトル。

となることが分かる。上式と (13), (9) の式を考えに入れると, (14) の誤差の範囲内において, ポリプロピレンの厚さ, あるいはプロトン照射部の質量は background X 線の強さに比例する。K の K_{α} 線のエネルギーの background 線に対しては, その比例の法則は 1.6% 以下の誤差で成り立ち, Ca の K_{α} 線のエネルギーの X 線に対しては, S/S' と l/l' の比例の法則は 1.3% の, V の K_{α} 線のエネルギーは 0.5% 以下の誤差で常に成り立つわけである。この場合 l, l' とともにポリプロピレンを測定するから, $\rho = \rho'$ と置いて, (9) 式により,

$$l/l' = \Delta M / \Delta M' \quad (15)$$

となり, ビーム照射部位の標的の質量の比が (14) の範囲内で background の X 線の強度比に等しいことになる。今の場合, (12) 式の α は $\alpha = 3.57 \mu\text{m}$ として計算しているので, 実際に測定する試料ターゲットの厚さを考えに入れて, $l = 7.14 \mu\text{m}$ と仮定してみることにする。そうすると (12), (15) より,

$$(l' - l)/l = (\Delta M' - \Delta M) / \Delta M = 1/2 \quad (15')$$

となり,

$$\Delta M' / \Delta M = 3/2 \quad (16)$$

となる。すなわち, 照射部位の重さの差が 1.5 倍の時, background X 線の強度比 S'/S は (14) の誤差の範囲内で

$$S'/S = 3/2 \quad (16')$$

となることが分かる。ここで, 実験的に $\alpha = 6 \mu\text{m}$, $\rho = 0.9$ の薄い膜を使用した。後述するように, 標的の生体試料の重量比をこの程度に近づけることは比較的容易である。Fig. 4 に示されるように, 実験的に求められた S'/S から, 実験誤差の範囲内で上記の比例性が確かめられた。Fig. 5 は $6 \mu\text{m}$ のポリプロピレンのスペクトルである。

次に蛋白質について考える。一般に蛋白質の構成原子は H, C, N, O, S などの元素よりなり, その含有率は次の範囲内にある。すなわち, H, 6~7%; C, 50~55%; N, 12~19%; O, 25~30%; S, 0~2.5% となる。これから計算すると蛋白質についての μ/ρ は, 1~2% の誤差を除いて, 同じ値を持つことが分かる。これらの理由は Appendix に示した。我々は蛋白質として, 真空乾燥した場合に比重 1 のものを仮定すると, 前と同様, コンピューターによるあらゆる場合の計算の

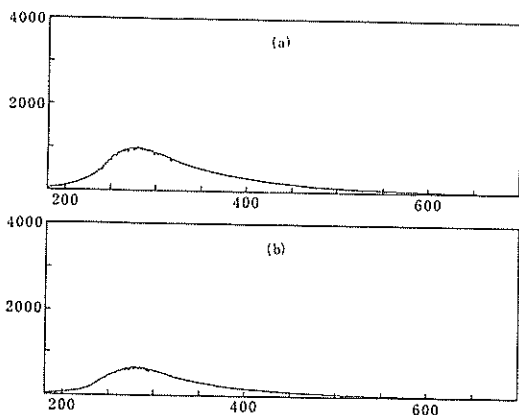


Fig. 7. ラット生後5日の母親と子供の血漿のPIXEスペクトルのbackgroundを示す。(a)は母親、(b)は子供の血漿のデータを示す。

結果は、次のようになる。

$$\begin{aligned} \mu(K)/\rho &= 97.06 \text{ cm}^2/\text{g} \\ \mu(\text{Ca})/\rho &= 69.41 \text{ cm}^2/\text{g} \\ \mu(\text{V})/\rho &= 28.25 \text{ cm}^2/\text{g}, \end{aligned} \quad (17)$$

ただし、 $\rho=1$ とした。ポリプロピレンの場合と同様に、

$$\Delta M'/\Delta M = 3/2, S'/S = 3/2$$

となる比例性について考える。 $\alpha=3.57 \mu\text{m}$ と仮定し、 $l=7.14 \mu\text{m}$ とする。この条件で $S'/S = \Delta M'/\Delta M = l'/l$ の比例性が成り立つ範囲は次のように計算される。

$$\left. \begin{aligned} \text{K元素の } K_{\alpha} \text{線のエネルギーのX線に対して,} \\ \beta \leq 0.030 \\ \text{Ca元素の } K_{\alpha} \text{線のエネルギーのX線に対して,} \\ \beta \leq 0.021 \\ \text{V元素の } K_{\alpha} \text{線のエネルギーのX線に対して,} \\ \beta \leq 0.009 \end{aligned} \right\} \quad (18)$$

となる。

我々は厚さが正確に知っている蛋白質の試料を持たなかったので、ポリプロピレンや次に述べるマイラーのような実験のチェックは行なえなかった。しかし、生後5日目のラットの母親と子供の血漿、赤血球についてのspectrumを比較し、そのbackgroundが非常によく比例していること

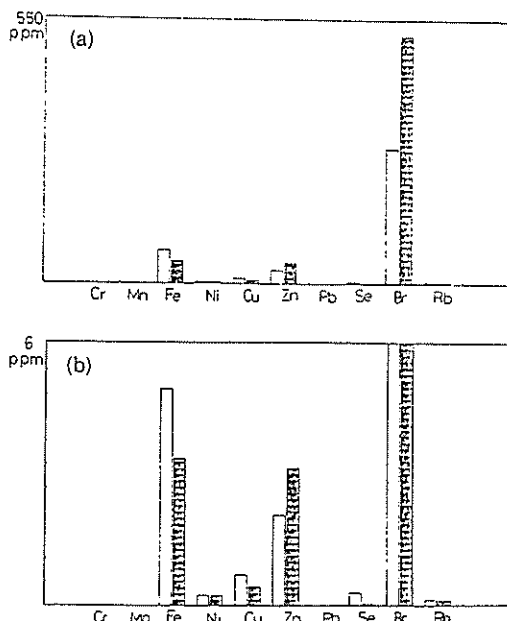


Fig. 8. 生後5日目のラットの母親と子供の血漿についての成分ヒストグラムの比較。白は子供、黒は母親。

を確認した。すなわち、各々の同じエネルギーに属するbackgroundの値は、それぞれ同じ割合になっていることを実験誤差の範囲で確かめた。それらの試料の標的上の分布はほぼ $1 \text{ mg}/\text{cm}^2$ である。Fig. 6において、ラットの血漿についての母親と子供のspectrumの比較を、Fig. 7において、backgroundの比較を示した。また、Fig. 8(a)とFig. 8(b)において、血漿の元素濃度の比較が示されている。また、Fig. 9において、ラットの赤血球のspectrumの比較、Fig. 10(a)とFig. 10(b)において、ラットの赤血球の成分比較が示されている。Zn, Cu, Feなどの元素について、生後5日目の母親のラットと子供のラットの元素濃度が、血漿と赤血球では逆転していることは興味深い。Pbについてはおそらく飼料中に含まれていたと考えられるが、母体の赤血球内には多く存在していて、子供の赤血球中には非常に少ないことも興味深い。

次に、マイラー $(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4)_n$ についても同様の計算を行なった。この場合、比重 ρ は、 $\rho=1.4 \text{ g}/\text{cm}^3$ とした。前と同じく

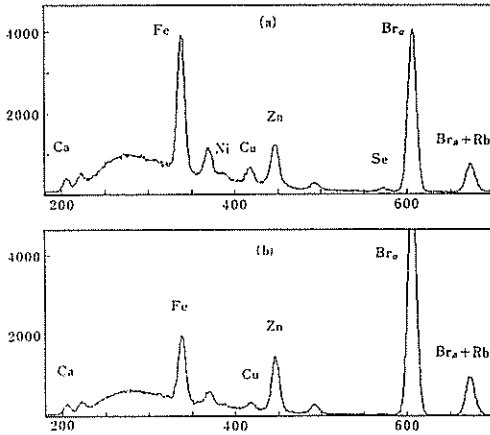


Fig. 9. ラット生後5日の母親と子供の血漿のPIXEスペクトルの比較。(a)は母親(ラット)のスペクトル,(b)は子供(ラット)のスペクトル, 3 MeVプロトンによるPIXEスペクトル,

$$\alpha = 3.57 \mu\text{m} \quad (19)$$

と仮定した。すると,

$$\mu(\text{K})/\rho = 98.64 \text{ cm}^2/\text{g} \quad (20)$$

$$\mu(\text{Ca})/\rho = 70.51 \text{ cm}^2/\text{g}$$

となる。そして、前と同じく、 $l = 7.14 \mu\text{m}$ と仮定すると,

$$\left. \begin{array}{l} \text{K元素の } K_{\alpha} \text{線のエネルギーのX線に対して,} \\ \beta \leq 0.041 \\ \text{Ca元素の } K_{\alpha} \text{線のエネルギーのX線に対して,} \\ \beta \leq 0.031 \end{array} \right\} \quad (21)$$

となる。前の二つの場合に比べて、やや誤差が大きい。

ポリプロピレンの場合と同様に,

$$\Delta M' / \Delta M = 3/2,$$

のとき、(21)の誤差の範囲で、プロトン照射部位の標的の質量と、そのbackgroundのX線強度とは比例する。

マイラーに対する比例性は Fig. 11 に PIXE spectrum は Fig. 12 に示した。更に、上記の比例性は実験誤差の範囲内で一致している。マイラーは $4 \mu\text{m}$ の厚さのもの、 $9 \mu\text{m}$ の厚さのものを使用した。

前述の比例性の実験の結果は Fig. 12 において示した。

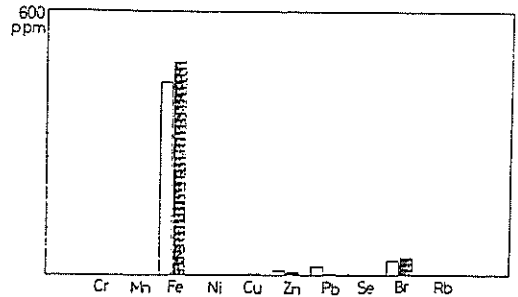


Fig. 10 (a) 生後5日のラット子供と母親の赤血球の成分のヒストグラムと比較。白は子供、黒は母親。

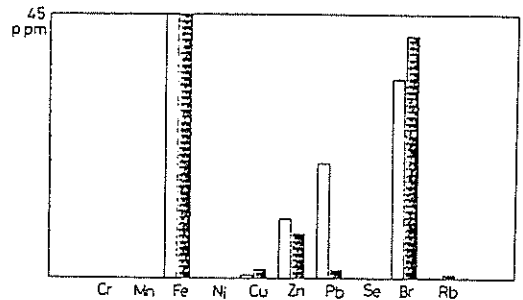


Fig. 10 (b) 生後5日のラットの子供と母親赤血球の成分のヒストグラムと比較。白は子供、黒は母親。

以上述べたように、ポリプロピレン、平均的蛋白質、マイラーにおいて、標的の厚さが、約 $7 \mu\text{m}$ より大きいとき、プロトン照射の標的部分の質量の比が特性X線のbackgroundの比に等しい。その誤差の範囲は理論的には(14)、(18)、(21)式で与えられる。このことは試料標的の自己吸収を計算に入れているので、数 mg/cm^2 程度まで、照射部の質量を増すことが可能となる。標的の厚さ l, l' を用いる代わりに、照射部位の質量 $\Delta M, \Delta M'$ を用いると、標的が完全には平行でない場合にも考え得る。しかし、標的が完全に平行でない場合は上記の理論的計算はある程度の誤差を生じることは止むを得ない。

3. 比較試料の作成

前述のように、測定しようとする「少量しか得られぬ生体試料」に対して、それによく似た分子構成をもち、かつ、比較的少量に得られる試料を用意する。その試料をあらかじめ真空中で乾燥し、全重量約 0.5 g 程度を天秤で測定する。それ

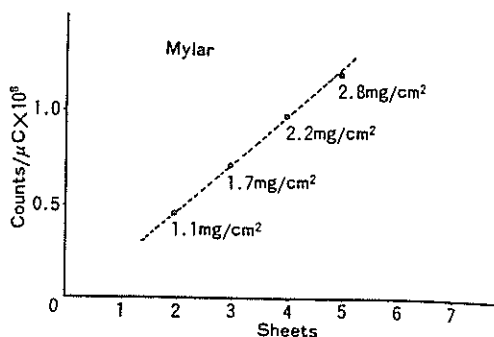


Fig. 11. The relation between the background and the thickness of mylar. The horizontal axis shows the thickness and the vertical axis shows the background counts between the energy of 3.3~3.7 keV.

に純水を加え、5倍~10倍程度に薄めて、小型の特製のホモジナイザーを用いてホモジナイズする。

それを、フォルムバールの薄膜の上に、直径約2~3 mm程度の円形に静かに滴下する。我々は通常10~20 μ l程度のマイクロピペットを固定し、静かに、ゆっくり回転するパルスモーターの回転卓上に試料を載せる枠を置き、ホモジナイズされた試料をマイクロピペットを用いて、フォルムバール薄膜上に滴下した。このようにすると、ほぼ、円状の様な液滴を膜上に作ることができる。滴下の際は顕微鏡で観察しながら、手でマイクロピペットを操作し、自動的に、試料枠を回転させる。その直後に、試料枠の薄膜上に試料を載せたままで、天秤で重さを測定する。試料滴下前の試料枠の重さ、試料滴下後の重さの差を計算すると、それが、純水でホモジナイズされた試料の重さである。ホモジナイズされる前の乾燥試料と、ホモジナイズする際の純水の重さの割合から、試料枠上の円形の滴下部分の試料の乾燥時の重さを知ることができる。ただし、ホモジナイズされた液滴を天秤で測定する場合は、水分の蒸発により、重さが減少してゆくの、できるだけ低い一定温度の室内で、すみやかに測定する必要がある。室温として約10°C以下で測定すれば蒸発はゆるやかで、測定値に大きな変動はない。我々は0.1 mgまでの目盛のある自動天秤を用いた。

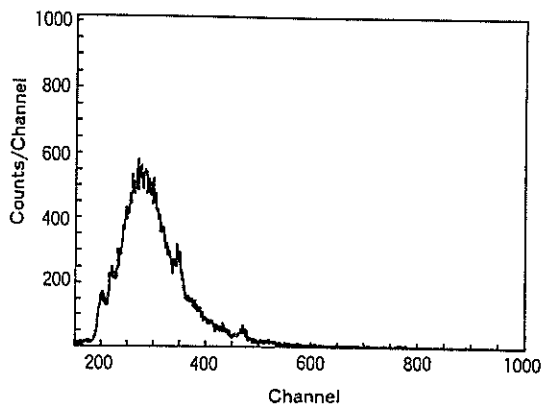


Fig. 12. 45 μ m のマイラーのデータ.

より精密な天秤も使用したが、短時間に、多小重さの変動する試料液を測定するにはやや不向きであった。前述の試料枠として、我々は3 cm 平方の、厚さ1.5 mmの純アルミ板の中央に直径約1.2 cmの孔をあけ、フォルムバール膜(厚さ0.5 μ m以下と思われる)を張り、液を滴下した。試料枠の高さは自由に変えられるように回転リングで左手で垂直距離を調節しながら、右手でホモジナイズした試料液を滴下する。その際、試料枠はゆっくり回転しつつ、水平方向から、マイクロピペットと膜面、滴下液の両者を観察しつつ枠面の高さを変える。

滴下後、直に平秤で試料枠の重さを測定する。更に、試料枠を冷凍乾燥することにより、試料をフォルムバール膜上に均等に、円形に分布させる。冷凍はすみやかに行なわなければならない。ホモジナイズ液を滴下する際に、液の表面張力により、わずかに凸レンズ状に盛り上ることは止むを得ない。試料枠上の試料の重さを直接精密天秤で測ってもよいが、滴下液の重さを測定する方が便利である。すなわち、試料と純水を加え、ホモジナイズするときの水の量の比率から滴下液中の乾燥時の試料の重さを測る方法が行ないやすい。

このようにして作成した試料枠上の乾燥時の重さを $\Delta M'$ とする。本来測定しようとする「少量しか得られぬ試料」は直接精密天秤で測定し、 ΔM とする。

前に述べたように、

$$\Delta M' / \Delta M \leq 3/2,$$

の条件では、非常に良い近似で、PIXE の spectrum の background の比が、試料の照射部の重さの比に等しいことが保証される。したがって、上の条件にほぼ合うように、すなわち、 $\Delta M'$ が上の条件に合うように試料標的を作成すれば、良い近似で background と標的の質量に対する比例性が得られる。 ΔM としては 0.1 mg 程度までの精度で考えているので、 ΔM の小さい方の極限で考えると、 $\Delta M'$ は 0.15 mg と 1 mg の間の重さに作成すればよい。 $\Delta M'$ の試料を作成するとき、前述のように、乾燥重量の約 10 倍程度まで、純水を加えてホモジナイズし、試料枠上で 1.5 mg と 1 mg の間の重量にマイクロピペットから滴下すればよい。これは普通の 0.1 mg まで目盛のある自動天秤を用いても容易に達成できる。 $\Delta M'$ を測定するホモジナイズ液は多量にあるので、何回かの試行錯誤の後、ホモジナイズ液を枠のフォルムバル膜上に 1.5 mg と 1 mg の間に滴下することは容易である。したがってその条件では、二つの background の比較の章で述べたような良い近似での比例性が得られる。すなわち、PIXE spectrum background とビーム照射部の重さが比例していることになる。スペクトルの background の比を用いて、両者の質量 ΔM と $\Delta M'$ が全く等しい場合の両者の、スペクトルをコンピューターを用いて、作成することができる。その両者のスペクトルを比較すればよいわけである。

4. Spectrum の規格化

PIXE の spectrum はマルチチャンネルアナライザーとコンピューターを接続し、ディスク上にデータを記録する。その際、コンピューター上でデータ解析するとき、 $\Delta M' / \Delta M$ の値に応じて、比較のための試料の spectrum の counts/channel の値を ($\Delta M' / \Delta M$) の値で割ったものを改めて、counts/channel とする spectrum を作ると、その spectrum は $\Delta M'$ と ΔM が等しい場合の spectrum になる。それは、比較のための spectrum を $\Delta M' = \Delta M$ になるように規格化することになる。このようにして規格化された、比較

のための spectrum を「少量しか得られない試料」の spectrum と比較することにより、両者の background をほぼ一致させることができる。その場合、ある元素の peak counts の比は、両者の試料に含有される元素の濃度比を与える。比較のための試料は、標準元素として、Y 元素などを添加しているので、各元素の濃度を知ることが可能である。その濃度と、上述の background の比較により、「少量しか得られない試料」の含有する元素濃度を知ることができる。両者の比較を行なう際問題となる点を挙げると、次のことがらを挙げる事ができる。すなわち、生体試料中の Fe, Ca, Zn などの含有量が多すぎて、元素のピークの下部が大きくなり、また、コンプトン効果の tail により、background を正確に知ることができない場合がある。我々の測定例では Fig. 10 のラットの赤血球のスペクトルなどがその例である。このような spectrum に対しては、Fe と Ca の間に escape peak が現れることが多く、また、ピークと間違えやすいフラクチュエーションもあるので、問題点が多い。更に、Zn~Br などの間の background も場合によって、以外に $\Delta M' / \Delta M$ と S' / S の比例性が良くない場合もある。その原因は明確ではないが、他の原因による background がある程度含まれており、それらが全体の background に対してかなりの weight をもっているからではないかと思われる。それに反し、K 元素あるいは Ca 元素の特性 X 線のエネルギーの付近の background はその付近のエネルギー値で非常に増大する。あまり増大しすぎて、それだけで検出器の容量を食ってしまい、より高エネルギーに対応する元素の検出効率が下るので、普通、検出器と標的の間に absorber を挿入し、広いエネルギー領域の元素について測定しやすいようにしている。一般にこの background の成因の大部分はプロトンビームによって放出された軌道電子の制動放射によるものであることが知られている²⁾。K 元素、Ca 元素のエネルギーの部分での background は非常に大きくなり、それを absorber の挿入によって、逆に小さく線量を低下させて、測定する。この際、制動放射による X 線が

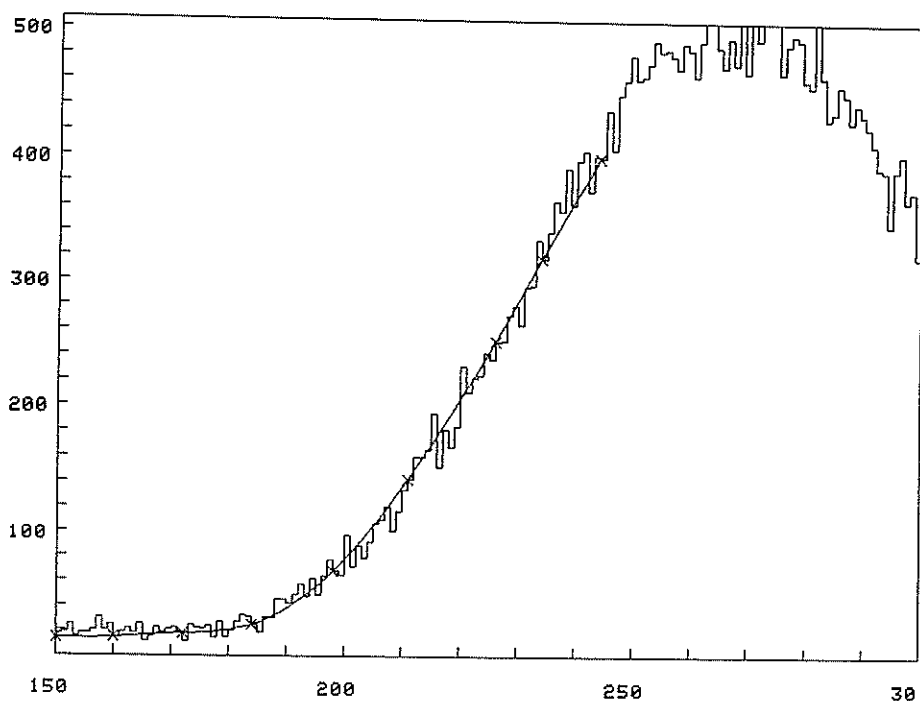


Fig. 13. スプライン法による background の近似.

非常に大きく、他の原因による background X 線はそれに比して、あまり大きくなりえないから、実測される background は（回路による background 以外は）ほとんど制動放射により生成されることになると考えられる。我々は absorber として、 $300\sim 800\mu\text{m}$ のマイラーを使用した。K, Ca のエネルギーの付近では他のエネルギー領域に比して、非常に安定した background が見られた。実験では、K, Ca のエネルギー領域での background が非常に安定し、フラクチュエーションが少なく、よい近似で background 比 S'/S が $\Delta M'/\Delta M$ に比例していることが観測された。したがって、我々は、しばしば、このエネルギー領域の background 比を利用しスペクトルの normalization を行なった。absorber は普通 $800\mu\text{m}$ を利用したが、K, Ca などの低エネルギー部分では background が減少しすぎる場合が多いので、その場合は $500\mu\text{m}$, $300\mu\text{m}$ の absorber を利用することがしばしばであった。後で述べるように、ラットのランゲルハンス島の測定

では $800\mu\text{m}$ のマイラーと $500\mu\text{m}$ のマイラーを absorber に採用した。この場合、ランゲルハンス島の試料は小さく、比較試料の標的が大きすぎたので $\Delta M'/\Delta M$ が $3/2$ より大きくなりすぎ、誤差が増大した。

Spectrum の background を定めるには、3 次式を用いたスプライン近似をコンピューターを用いて行なった。その様子を Fig. 13 に示す。

Spectrum の background は K, Ca, Fe などのピークの半値幅の下の background を採用する。しかし、spectrum の比を求めるので、適当なエネルギー範囲の background を用いても、誤差はそれほど大きくはならない。

5. 医学試料の測定結果

現在まで多くの生体試料に関する PIXE を用いた元素分析がなされている^{8)~12)}。我々は緒論で述べた手法を用いて、normal なラットの隣のランゲルハンス島を「少量しか得られない生体試料」として測定を行なった。また、ラットの脳を七つの部位に分け測定を行なった。

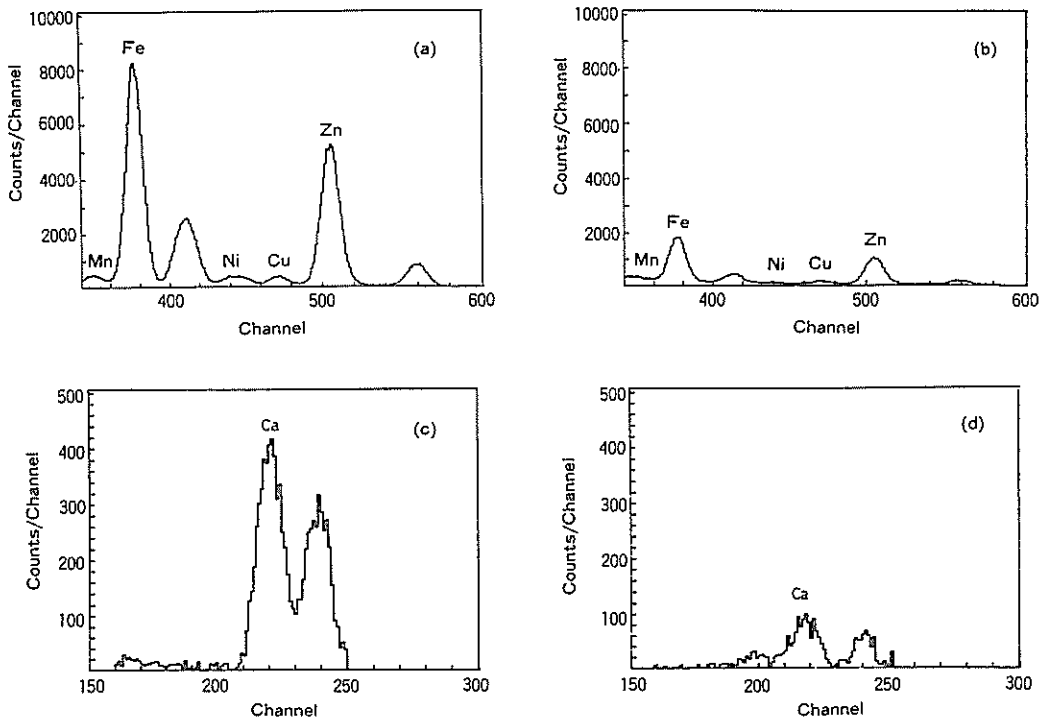


Fig. 14.
 (a) ランゲルハンス島の金属元素のピーク (rat).
 (b) 豚全体の金属元素のピーク (rat).
 (c) ランゲルハンス島の Ca のピーク (rat).
 (d) 豚全体の Ca のピーク (rat).

ラットのランゲルハンス島を顕微鏡下で注意深く摘出し、その数個と、豚全体をホモジナイズした試料を比較試料として用いた。

ランゲルハンス島には Zn 元素が多いことはよく知られており、かつ、その医学的意味もかなり明確になりつつあるが、しかし、まだ、よく分かっていない点が多い。我々は Zn のみならず Cu, Fe など測定した。Fig. 14 (a)~(d)において、それらの spectrum を示した。Ca の元素の場合 absorber を 500 μm と 800 μm を用いた。

筆者らの一人である吉永法により、ランゲルハンス島を染色し、その含有する金属元素を定量した。染色による効果は少ないことを確かめた^{5)~7)}。その結果は金属元素の働きを推測する上で重要な意味がある。例えば、Zn はラ氏島の中に多いが、Ca の代わりに細胞膜の透過に関係しているとい

う考えもあるが、我々の測定結果によれば、この考えは否定される。おそらく Zn はインシュリンの細胞のインシュリンをポリマーにする働きをしていると考えられる。Co についての議論があるが、PIXE による測定では、Co は Fe の κ_{β} が大きすぎその存在を知ることはできない。

ランゲルハンス島はあまり小さく、また、球状をしているので、前章で述べたように、我々の理論的计算より誤差が大きくなると考えられる。すなわち、平行平板に近いホモジナイズされた比較試料と異なり、摘出されたランゲルハンス島を数個並べても平行平板とはかなりの差が生ずる。また、Fe, Zn, Ca の含有量も非常に大きく、エスケープピークも現れ、真の background の位置も正確には測定できない恐れがある。これらの誤差のため、我々の測定結果は、ランゲルハンス島で

は、ホモジナイズされた試料中のそれに比べて、Zn, Fe, Cuなどの含有量は約3倍以上の濃度を

Table 1. ホモジナイズされたラットの脾の含有元素のうち、Mn, Fe, Cu, Znの乾燥濃度.

Mn	9.2 ₃ ppm
Fe	123.2 ₁ ppm
Cu	9.2 ₄ ppm
Zn	94.1 ₂ ppm

もつという結果が得られた。ホモジナイズされた脾の含有量は次のTable 1のとおりである。

ラットの脳については、ヒコカンボスにおいてZnの濃度が高いことが分かっており、脳における腫瘍の発生部位との関連でもZnについての興味を持たれている。我々は、ヒコカンボス以外にも6か所について測定を行なった。Znはヒコカンボス以外の二つの部位においても含有率が多い

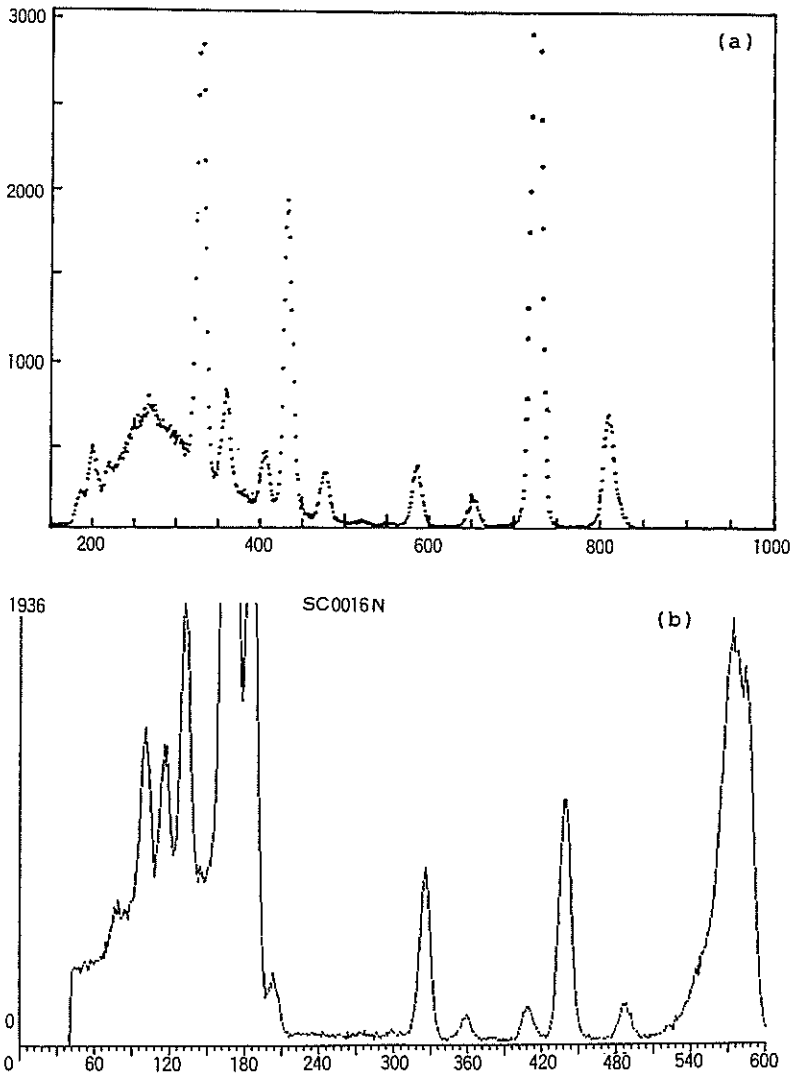


Fig. 15. (a) is a spectrum of cerebrum of normal rat by PIXE and (b) is the corresponding spectrum of the same target by SXRf.

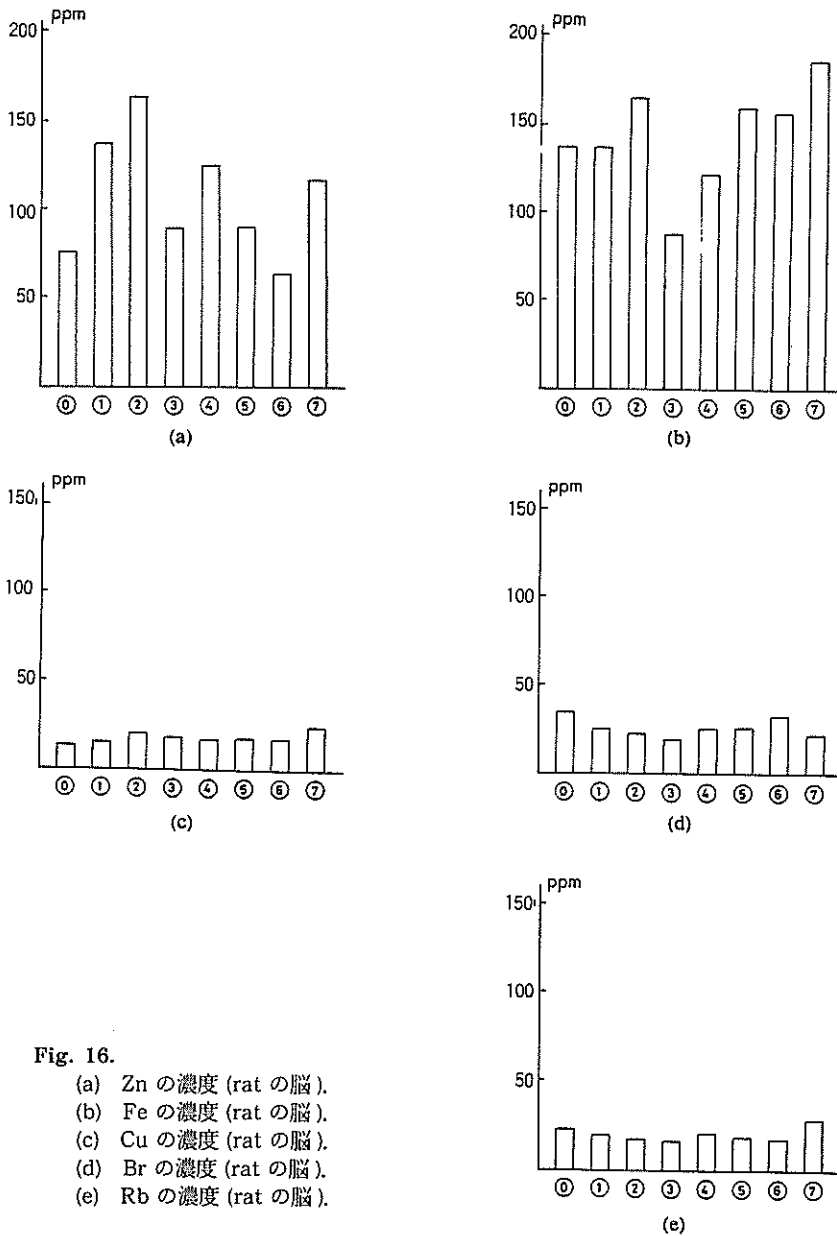


Fig. 16.
 (a) Zn の濃度 (rat の脳).
 (b) Fe の濃度 (rat の脳).
 (c) Cu の濃度 (rat の脳).
 (d) Br の濃度 (rat の脳).
 (e) Rb の濃度 (rat の脳).

ことが分かった。Zn の存在様式が、その部位により異なっていることが推測される。Zn 以外の金属では、Zn ほどの大きな分布差は見られなかった。Zn のみ分布差が大きかったことは、今後の研究課題としておもしろい問題点である。

Fig. 15 (a), (b) において、ラットの脳のスペクトルを示す。(a) は PIXE による cerebrum の

spectrum である。(b) は後述の放射光 (筑波の高エネルギー物理学研究所での synchrotron-radiation excited X-ray) をプロトンビームの代わりに用いたラットの cerebrum の spectrum である。

我々は、脳の各部位を七つの部位に分け、各々の部位からわずかの試料を抽出し、また、脳全体

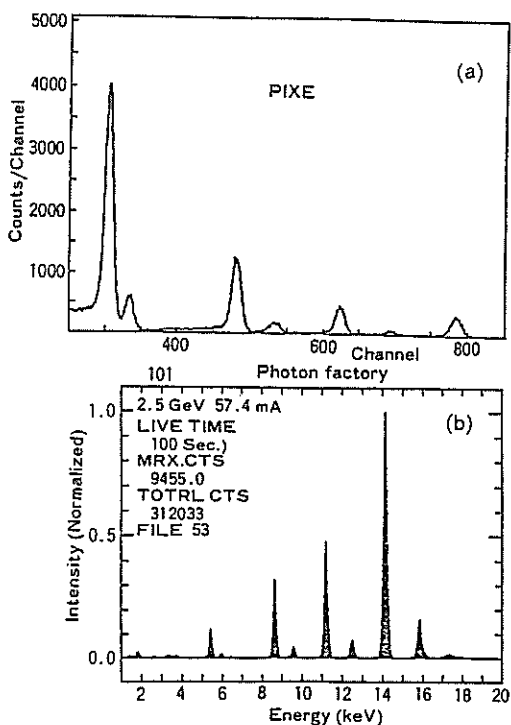


Fig. 17. (a) and (b) are the spectrum of the same target. (a) shows a PIXE spectrum and (b) is the corresponding spectrum by SXRF. From right hand side in (a), the peak of Sr, Se, Zn, Cr, are shown and in (b) the same elements are shown.

をホモジナイズした試料を 0 番目とし、その他の七つの部位を、次の表のように、1 番から 7 番まで名前をつけた。Fig. 16 において各部位の元素濃度が示されている。

(0)~(7) までの部位は次のとおりである。

- (0) 脳全体のホモジナイズ
- (1) Neo-cortex
- (2) Hippocampus
- (3) Corpus callosum
- (4) Paläo-cortex
- (5) Cerebellum (cortex)
- (6) Medulla oblongata
- (7) Bulbus olfactorius

上記の試料以外にも、ラットの末梢神経の測定を行なったが省略する。

6. PIXE と放射光による SXRF の比較

緒言で書いたように、本研究が始った翌年から、筑波の高エネルギー物理学研究所の放射光が初めて日本で利用できるようになった。放射光をプロトンの代わりに用いた生体物質の元素分析の実験が可能になった。実験を始めた初期は、放射光用のスペクトロメーターを製作していた東大工学部合志陽一教授および、現在の高エネルギー研究所助教授の飯田厚氏らの実験協力者として、次年度からは、筆者が実験責任者として、放射光による生体微量分析を行なった。放射光による蛍光 X 線分析を SXRF と書くことにする。

放射光は非常に強力な、偏向性をもつ X 線であり、PIXE の分析とよく似た点もあり、また相違している点も多い。分析方法としては最も進んだ方法であるので、我々は PIXE と併行して、SXRF も同時に研究を進める結果となった^{13)~23)}。

放射光の場合、その照射 X 線はもともと連続 X 線であるが、それを単結晶を用いて単色化したものを利用した。この単色 X 線は連続的に X 線のエネルギーを変え得ることが特長であり、単色化しても強い intensity が得られる。

PIXE と放射光利用の方法のいずれにも同一の標的を用いて spectrum および検出下限、感度曲線などの比較を行なった。少し前の文献で両者を比較したものが¹³⁾。しかし、この場合標的は全く別のものを PIXE と SXRF で使用しており標的の厚さも形状も異なっている。元素の検出下限は標的の厚さ、形状により大きく変化するので、これでは十分な比較とはいえない。我々は照射による damage に注意を拂いつつ、全く同一の標的を使用して、両者の結果の比較を行なった。Fig. 17 (a) と (b) はそれぞれ PIXE および SXRF で生体類似物質に既知の元素を混入し照射した試料である。Fig. 18 では検出下限を PIXE と SXRF で比較した。この場合、類似の標的物質を用い、PIXE では 3 MeV のプロトンビームで標的照射し、SXRF では、6 keV, 18 keV, 20.7 keV の放射光を用いた。これらは各元素毎にエネルギーを変えていないので、最も良い検出下限を与えることはできないが、前述の文献の比較に比

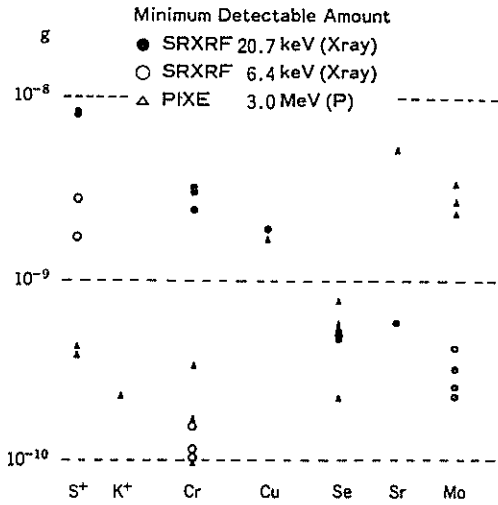


Fig. 18. The minimum detectable amounts of each elements (total target thickness is less than 0.5 μm).

して、かなり良い結果になっている。この場合、データにはばらつきが見えるが、ビームが細く、標的内の元素分布が一様でなかったことに起因している。この場合 SXRF においても内部標準元素として、Y, Zn などを使用したので、検出下限はだいぶ低くなってしまったが、測定の労力としては大きな利点がある。内部標準元素 Y, Zn などと測定する他の元素の相対感度はまだよく知られていないので、Fig. 19 (a), (b) にそれを示した。それと対比して、PIXE の場合の Y に対する相対感度を Fig. 19 (a), (b), (c), (d) に示した。

SXRF で放射光のエネルギーを測定する元素ごとに最適エネルギーで照射すると、各元素の検出下限はぐっと下る。Fig. 20 (a), (b), (c) において、ラットの血漿の Fe, Zn, Br に対して最適照射 X 線のエネルギーを求める実験を示している。MDL は検出下限であり、R.I. は各元素のピー

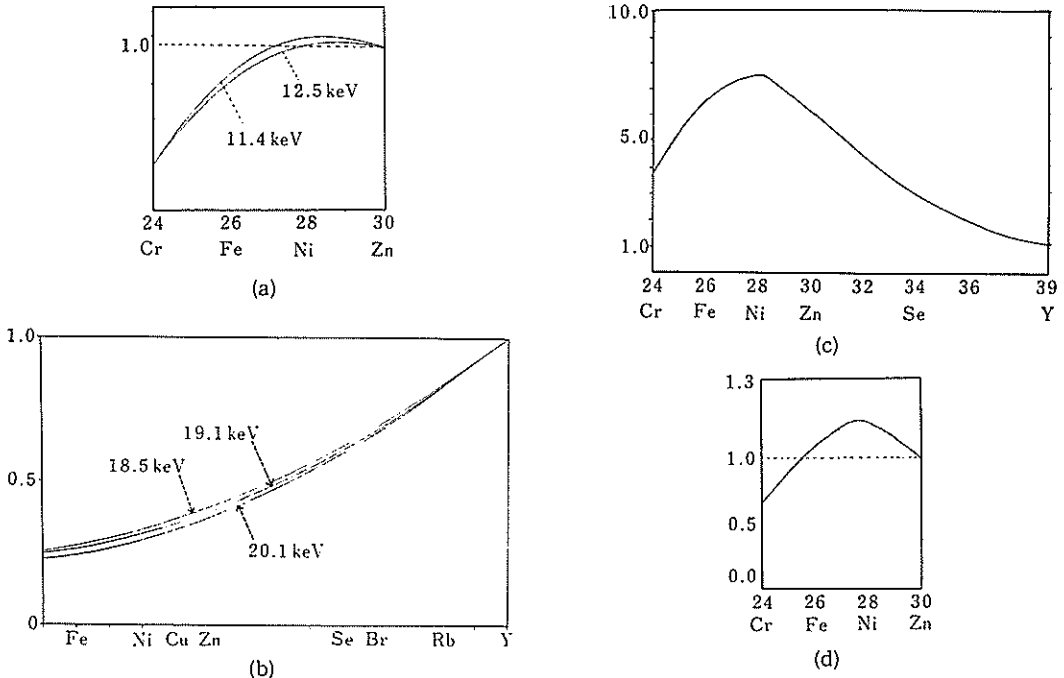


Fig. 19.

- (a) サイクロトロン放射光による相対感度曲線。縦軸は Y の感度を 1 としたときの各元素の相対感度曲線を示す。図のエネルギーは照射 X 線のエネルギーを示す。
- (b) 放射光による試料、Zn を標準とした相対感度曲線。シンクロトロン放射光によるデータ。
- (c) 3 MeV のプロトン PIXE による試料 Y を標準とした相対感度曲線。
- (d) 3 MeV のプロトン PIXE による試料、Zn を標準とした相対感度曲線。

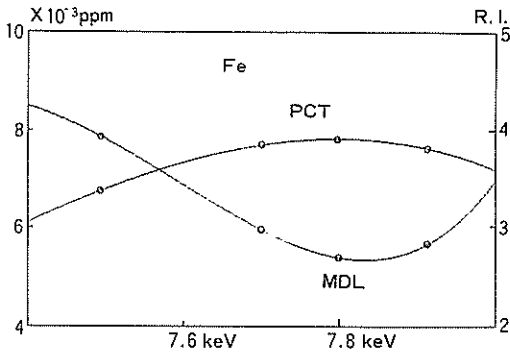


Fig. 20 (a). ラット血漿の標的での、最も有効な照射エネルギーを求める実験データ。

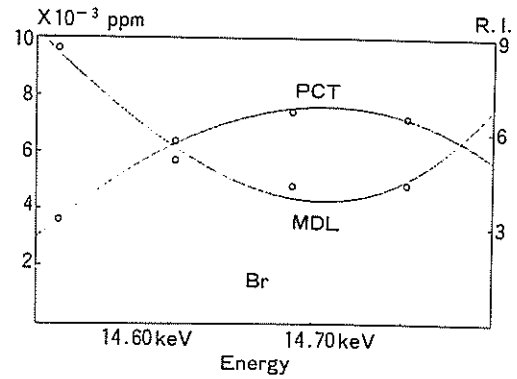


Fig. 20 (c). ラットの血漿の標的での、最も有効な照射エネルギーを求める実験データ。

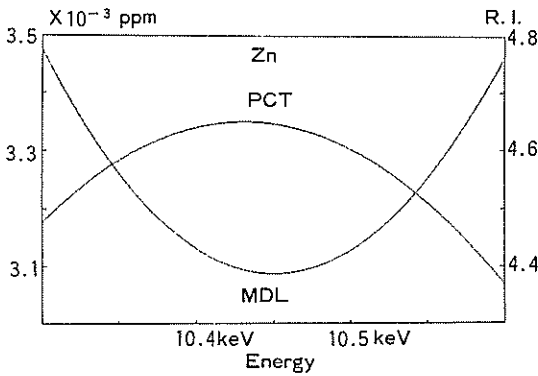


Fig. 20 (b). ラット血漿の標的での、最も有効な照射エネルギーを求める実験データ。

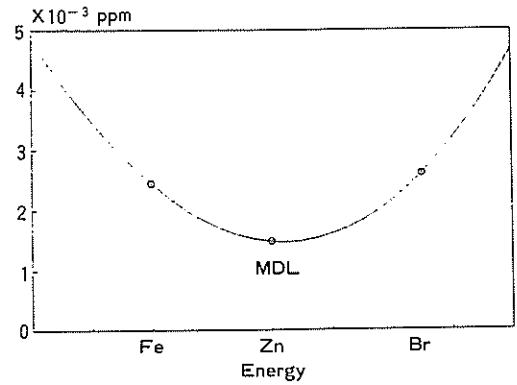


Fig. 21 (a). ラット血漿の標的に対する SXRF による検出下限。

ク値の incident beam による変化を示す。両者の最大、最小値に対応するエネルギーが照射 X 線の最も効率の良いエネルギーを示す。両者は一致している。この場合、PIXE と同じ標的で検出下限を比較するため、SXRF での測定時間を一時間に換算して検出下限を求めた。実際の SXRF の測定時間は 100 秒であった。標的のうち、最も検出下限が低いデータが、Fig. 21 (a), (b) に示される。これらの結果によれば SXRF の方が PIXE より、1 けた低い値を示している。標的をもっと薄くすれば、その差はもっと大きくなると思われる。我々の場合の標的の厚さは 1 mg/cm^2 程度であった。これは生体物質で比較的作成しやすい厚さである。Fig. 20 (a), (b), (c) において maximum と minimum が生ずるのはコンプトンピー

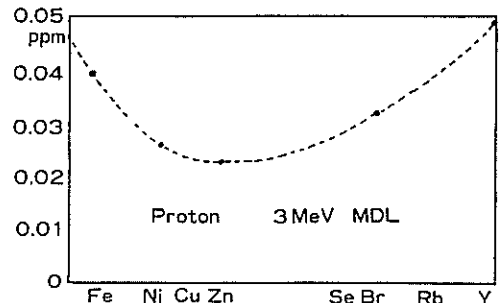


Fig. 21 (b). ラット血漿の標的に対する PIXE による検出下限。

クの background が大きく影響を与えている。ある限度以上の incident beam のエネルギーを測定元素の特性 X 線のエネルギーに近づけても、検出下限はもっと大きくなる結果になることを測定結果が示している。

Fig. 21 (a) の検出下限のデータは生体試料については世界的にも最もよい値になっていると考えられる。

7. Appendix

一般的構成の蛋白質は前述のように H (6~7%), C (50~55%), N (12~19%), O (25~30%), S (0~2.5%) などの含有比率である。これに対する trace element の K_a のエネルギーに対する X 線の質量吸収係数は例えば, Mn の特性 X 線のエネルギーの場合は,

$$\frac{\mu_{Mn}}{\rho} = 0.536 \cdot \lambda_H + 23.1 \cdot \lambda_S + 11.1 \cdot \lambda_C \\ + 19.3 \cdot \lambda_N + 29.5 \cdot \lambda_O$$

などとなる。 μ_{Mn} は Mn の特性 X 線に対する線吸収係数を示す。また, ρ は一般的蛋白質の比重(標的の)であり, $\lambda_H, \lambda_S, \lambda_N, \lambda_O, \lambda_C$ などそれぞれ, H, S, N, O, C 元素の蛋白質中の含有率を示している。係数としての数値は各々の元素の質量吸収係数であり, 分析化学便覧によっている。上式は本文の (11) 式を示している。他の元素についても Fe, Cu, Zn... などについて, 同様の式を書くことができる。これらの数式と前述の各元素の蛋白質中の含有率の % から, $\mu_{Cr}/\mu_{Mn}, \mu_{Fe}/\mu_{Mn}, \mu_{Ni}/\mu_{Mn}, \mu_{Cu}/\mu_{Mn}$ の比を計算することができて, それらは次に示すように, ほとんど, 同じ値になっており, その差は少ない。蛋白質構成元素に Ca, P などを加えても大きな変化はない。その値は次のようになる。

$$\mu_{Cr}/\mu_{Mn} = 1.330 \pm 0.02, \\ \mu_{Fe}/\mu_{Mn} = 0.792 \pm 0.002, \\ \mu_{Ni}/\mu_{Mn} = 0.491 \pm 0.017, \\ \mu_{Cu}/\mu_{Mn} = 0.385 \pm 0.02$$

などとなり, 蛋白質の構成にかかわらずほぼ一定した値が得られる。分母を μ_{Mn} にしたが, 他の μ を採用しても同じである。 μ/ρ の値も蛋白質の分子構成の差によっては変わらない値を持つ。このことは μ_K, μ_{Ca}, μ_V などについても同じことが言える。本文の (17), に示された質量吸収係数の値は蛋白質の分子構成によらない値を示しているわけである。ポリプロピレンやマイラーでは直接 (11) に基づいて計算した値である。

最後に, PIXE の測定において, 大阪大学理学部サイクロトロン施設の使用の便宜をいただいた, 施設長江尻宏泰教授に厚く感謝いたします。また, 放射光施設における実験にご援助いただきました, 飯田厚夫助教授に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) T. B. Johansson, R. Akselsson and S. A. E. Johansson: *Nucl. Instr. Meth.*, **84**, 141 (1940).
- 2) T. B. Johansson, R. Akselsson and S. A. E. Johansson: *Adv. X-Ray Anal.*, **15**, 373 (1971).
- 3) S. A. E. Johansson and T. B. Johansson: *Nucl. Instr. Meth.*, **137**, 473 (1976).
- 4) Y. J. Uemura, Y. Kuno, H. Koyama, T. Yamazaki and P. Kienle: *Nucl. Instr. Meth.*, **153**, 573 (1978).
- 5) T. Yoshinaga: *Acta Histochem.*, **2** (1974).
- 6) T. Yoshinaga: *Endokrinologie* (1974).
- 7) T. Yoshinaga: *Acta Histochem.*, **1** (1975).
- 8) F. C. Young, M. L. Roush and P. G. Berman: *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **24**, 153 (1973).
- 9) F. C. Jundt, K. H. Purser, H. Kubo and E. A. Schenk: *J. Histochem. Cytochem.*, **22**, 1 (1974).
- 10) V. Valkovic: *Nucl. Instr. Meth.*, **142**, 15 (1977).
- 11) R. D. Vis, P. I. Oe, A. J. J. Bos and H. Verheul: *Radiochem. Radionat. Lett.*, **41**, 245 (1979).
- 12) A. S. Lodhi and R. Khan: *J. Radionat. Chem.*, **48**, 89 (1979).
- 13) J. V. Gilfrich, E. F. Skelton, S. B. Oadri, J. P. Kirland and D. J. Nagel: *Anal. Chem.*, **55**, 187 (1983).
- 14) A. Knoechel, W. Ptersen and G. Tolkiehn: *Nucl. Instr. Meth.*, **208**, 659 (1983).
- 15) M. Prince, J. A. Van der Heide, A. J. Bos, K. Bowen and S. Davies: *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, **NS-30**, 1243 (1983).
- 16) T. Sasaki and K. Kohra: *Nucl. Instr. Meth.*, **208**, 23 (1983).
- 17) J. R. Chen and N. Martys, E. C. T. Chao, J. A. Minikin and C. L. Thompson, A. L. Hanson, H. W. Kraner, K. W. Jones, B. M. Gordon and R. E. Mills: *Nucl. Instr. Meth.*, **B3**, 241 (1984).
- 18) K. W. Jones, B. M. Gordon, A. L. Hanson, J. B. Hastings, M. R. Howells, H. W. Kraner and J. R. Chen: *Nucl. Instr. Meth.*, **B3**, 225 (1984).
- 19) A. J. J. Bos, R. D. Vis, H. Verfeul, M. Prins, S. T. Davies, D. K. Bowen, J. Makjanic and V. Valkomic: *Nucl. Instr. Meth.*, **B3**, 232 (1844).
- 20) M. Prins, S. T. Davies and D. K. Bowen: *Nucl. Instr. Meth.*, **324** (1984).
- 21) A. Iida, T. Matsushita and Y. Gohshi: *Nucl. Instr. Meth.*, **A235**, 597 (1985).
- 22) A. Iida, A. Yoshinaga, K. Sakurai and Y. Goh-

- shi: *Anal. Chem.*, 58, 2, 394 (1986).
23) A. Iida, K. Sakurai, T. Matsushita and Y. Gohshi: *Nucl. Instr. Meth.*, 228, 556 (1985).

発表論文

1. Measurement of Proton Induced X-Ray Fluorescence of Human Serum: *Lab. Nucl. Studies, Osaka Univ.*, 80, 24 (1979).
2. Trace Element Analysis of Diabetic Human Serum with PIXE: *Lab. Nucl. Studies, Osaka Univ.*, 81, 57 (1980).
3. Medical Application of Particle Induced X-Ray Emission: *Lab. Nucl. Studies, Osaka Univ.*, 82,

- 69 (1981).
4. An Attempt to Use Background for PIXE Quantitative Trace Element Analysis of Very Small Bio-Medical Samples: Proc. of the 7th International Congress of Radiation Research (Amsterdam) A5-04 (1983).
 5. Comparison between Proton (PIXE) and Photon (Synchrotron Radiation) Excited Fluorescence for Trace Element Analysis of Quasi-Biomedical Sample: Proc. of the 2nd Symposium on Ion Beam Technology, Hosei University, 125 (1983).