



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0091515
(43) 공개일자 2022년06월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 23/223 (2018.01) A61K 49/04 (2006.01)
G01N 23/2202 (2018.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 23/223 (2013.01)
A61K 49/0423 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7017433
- (22) 출원일자(국제) 2020년10월23일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년05월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2020/079909
- (87) 국제공개번호 WO 2021/078950
국제공개일자 2021년04월29일
- (30) 우선권주장
10 2019 128 842.8 2019년10월25일 독일(DE)

- (71) 출원인
함부르크대학교
독일, 함부르크 미틀위그 177, 20148
- (72) 발명자
그뤼너 플로리안
독일, 22761 함부르크, 룰루퍼 쇼우세 149, 함부르크 대학교 전교
- (74) 대리인
김홍균

전체 청구항 수 : 총 27 항

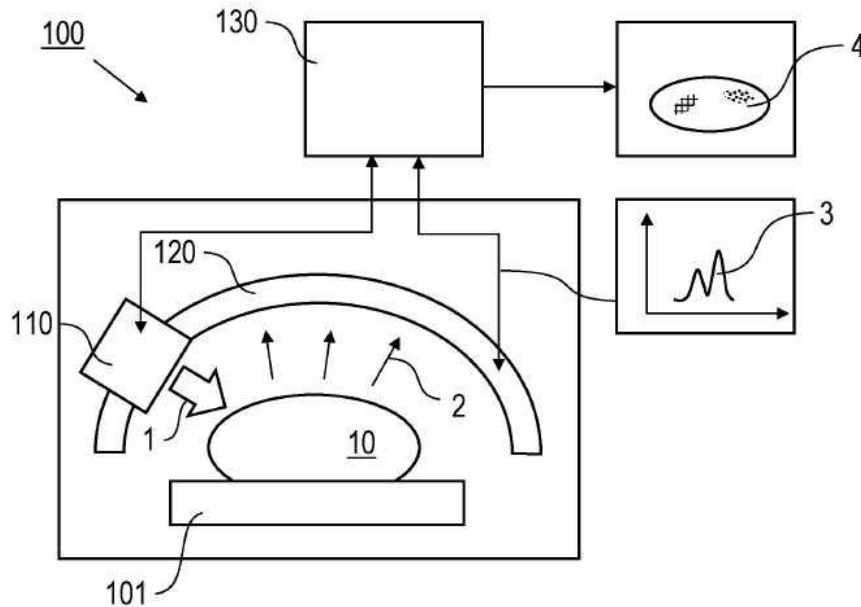
(54) 발명의 명칭 다중-파라미터 X선 형광 이미징을 위한 방법, 장치 및 마커 물질 키트

(57) 요약

제 1 마커 물질을 포함하는 생물학적/생체 샘플 (10)에 대한 검출 감도가 최대화되고 방사선량이 최소화된 다중-파라미터 X선 형광 이미징 방법은 샘플 (10)에 X선 방사선 (1)을 조사하는 단계를 포함하는데, 여기서 제 1 마커 물질의 X선 형광 (2)이 들뜨고, 제 1 마커 물질의 X선 형광 (2)의 공간 분해 감지(spatially resolved

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



detection) 및 제 1 마커 물질의 X선 형광 (2)으로부터 샘플 (10)의 제 1 마커 물질의 분포 결정, 여기서 샘플 (10)은 X-선 방사선 (1)에 의해 X선 형광 (2)로 들뜬 적어도 하나의 추가 마커 물질을 포함하고, 여기서 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 형광 라인들 (3)이 다르고, 추적 가능하도록 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질 중 적어도 하나는 샘플 (10)과의 특정한 상호작용을 위해 제공되거나 세포에 포함된 리간드 분자 및/또는 활성 성분 분자와 결합되는데, 검출은 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X선 형광 (2)의 스펙트럼상 분해된 검출로 이루어지며, 추가적으로 샘플 (10) 내의 하나 이상의 추가 마커 물질의 적어도 하나의 분포는 제1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X선 형광 (2)으로부터 결정된다. 여기서 다중-파라미터 X선 형광 이미징을 위한 이미징 장치 (100) 및 샘플 (10)에 마커 물질을 도입하기 위한 마커 물질 키트에 대한 최적화된 선택 방법이 또한 설명된다.

(52) CPC특허분류

G01N 23/2202 (2013.01)

G01N 2223/076 (2013.01)

G01N 2223/401 (2013.01)

G01N 2223/612 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

생물학적 유기체 바디의 적어도 일부를 포함하고 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질을 함유하는 샘플 (10)상에 다중-파라미터 X-선 형광 이미징을 위한 방법에 있어서, 적어도 하나의 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질은 샘플 (10)과의 특정한 상호작용을 위해 제공되는 리간드 분자 및/또는 활성 물질 분자에 결합되고, 다음 단계를 포함하고:

- 샘플 (10)에 대한 X-선 방사선 조사 (1) 단계, 이때 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)이 X-선 방사선 (1)에 의해 촉발되고, 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 마커 물질의 형광 라인들 (3)이 다르고,
- 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)의 스펙트럼상 분해된 검출을 포함하는, X-선 형광의 공간 분해 감지 단계, 및
- 샘플 (10)내의 제 1 마커 물질의 분포, 및 감지된 X-선 형광 (2)으로부터의 하나 이상의 추가 마커 물질의 추가의 하나 이상의 분포의 결정 단계,

이때 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질은 형광 확률, 샘플 (10) 내의 X-선 형광 (2)의 감쇠 및 샘플 (10)의 산란으로 인한 배경 노이즈 레벨을 나타내며, 이는 마커 물질의 동일한 농도에서 X-선 형광 (2)의 검출이 비고할만한 통계적으로 유의한 수준을 야기할 정도로 유사하거나 동일하며,

- X-선 방사선 (1)의 조사 광자 에너지 (1)는 모든 마커 물질의 흡수 엣지 이상인 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

마커 물질의 통계적으로 유의한 수준은 최대화되는데, X-선 방사선 (1)의 조사 광자 에너지가 선택되어 샘플에서 마커 물질의 최고 흡수 엣지 이상의 거리가 되도록 선택되고,

마커 물질의 배경 노이즈 레벨은 최소 및 동일 또는 대략적으로 동일하며, 동시에 형광 확률 및 샘플을 통한 것은 동일하거나 대략 동일하며 최대가 되는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)이 들뜨고, X-선 방사선 (1)의 공통 촉발 빔을 사용하여 동시에 검출되는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)이 들뜨고, 다른 에너지를 나타내는 X-선 방사선 (1)의 다른 촉발 빔을 사용하여 동시에 또는 순차적으로 검출되는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 5

전 항들 중 한 항에 있어서,

각각의 경우에 제 1 또는 하나 이상의 추가 마커 물질은 나노입자 (11, 12) 및 마커 분자 (15, 16)을 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서,

각각의 경우에 제 1 또는 하나 이상의 추가 마커 물질은 나노입자 (11, 12)를 포함하고,

- 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 나노입자 (11, 12)는 샘플 (10)에 대해 구별이 불가능한 표면을 포함하고, 나노입자 (11, 12)는 내부에 서로 다른 원소를 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 7

제 5항 또는 제 6항에 있어서,

- 제 1 마커 물질은 주로 제 1 X-선 형광 요소를 포함하는 제 1 유형의 나노입자 (11)를 포함하고,
- 하나 이상의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 주로 하나 이상의 추가 X-선 형광 원소를 포함하는 하나 이상의 추가 유형의 나노입자 (12)를 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 8

제 7항에 있어서,

각 유형의 나노입자 (11, 12)는 제 1 및 하나 이상의 추가 X-선 형광 원소의 하나를 독립적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 9

제 5항 내지 제 8항 중 한 항에 있어서,

- 제 1 유형의 나노입자 (11)는 샘플 (10)과의 화학적 및/또는 물리적 상호 작용을 위해 제공되는 제 1 유형의 활성 물질 분자 및/또는 리간드 분자를 운반하고,
- 각각의 경우에 하나 이상의 추가 유형의 나노입자(12)는 샘플 (10)과의 화학적 및/또는 물리적 상호작용을 위해 제공되는 다른 유형의 활성 물질 분자 및/또는 리간드 분자를 운반하거나, 어느 활성 물질 분자 또는 리간드 분자를 운반하지 않는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 10

제 9항에 있어서,

- 각 유형의 나노입자 (11, 12)는 하나의 특정 유형의 활성 물질 분자 및/또는 리간드 분자를 운반하는 것을 특징으로하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 11

제 5항 내지 제 10항 중 한 항에 있어서,

- 하나 이상의 제 1 및 하나 이상의 추가 유형의 나노입자 (11, 12)는 입자 코어 (13) 및 입자 덮개 층 (14)을 포함하는 코어-셸 (core-shell) 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서,

- 모든 나노입자 (11, 12)는 코어-셸 구조인 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 13

제 11항 내지 제 12항 중 한 항에 있어서,

- 입자 덮개 층 (14)은 금속, 특히 금, 비금속 물질, 특히 고분자, 리포솜 물질 또는 미셀 물질을 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 14

제 11항 내지 제 12항 중 한 항에 있어서,

모든 나노입자 (11, 12)의 입자 덮개 층 (14)은 활성 물질 분자 및/또는 리간드 분자가 결합할 수 있는 동일한 물질로부터 생성되는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 15

제 5항 내지 제 14항 중 한 항에 있어서,

- 각각의 경우에 나노입자 (11, 12)는 이리듐, 백금, 금, 비스무트, 은, 요오드, 팔라듐, 카드뮴 또는 인듐을 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 16

제 5항 내지 제 15항 중 한 항에 있어서,

- 각각의 경우에 나노입자 (11, 12)는 상이한 X-선 조영제 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 17

제 5항 내지 제 16항 중 한 항에 있어서,

각 유형의 나노입자 (11, 12)는 상이한 나노입자 크기인 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 18

제 5항 내지 제 17항 중 한 항에 있어서,

- 제 1 마커 물질은 제 1 X-선 형광 원소를 포함하는 제 1 유형의 마커 분자 (15)를 포함하고,
 - 하나 이상의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 하나 이상의 추가 X-선 형광 원소를 포함하는 하나 이상의 추가 유형의 마커 분자 (16)를 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 19

제 5항 내지 제 17항 중 한 항에 있어서,

- 제 1 마커 물질은 제 1 X-선 형광 원소를 포함하는 나노입자 (11)를 포함하고,
 - 하나 이상의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 하나 이상의 추가 X-선 형광 원소를 포함하는 마커 분자 (15)를 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 20

제 18항 또는 제 19항에 있어서,

마커 분자 (15, 16)은 활성 물질 및/또는 리간드 분자에 결합되고, 마커 분자 (15, 16)는 각각의 경우에 제 1 및 하나 이상의 추가 X-선 형광 원소의 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 21

제 18항 내지 제 20항 중 한 항에 있어서,

X-선 형광 원소는 은, 인듐, 팔라듐, 카드뮴, 요오드 또는 바륨을 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 22

진 항들 중 한 항에 있어서,

샘플 (10) 내의 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 공간 분포의 시간 함수가 결정되는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 23

진 항들 중 한 항에 있어서,

활성 물질은 생물학적 세포를 포함하고, 제1 및 하나 이상의 추가 마커 물질 중 하나 이상은 생물학적 세포에 결합되며,

제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 분포 결정은 샘플을 통한 생물학적 세포의 수송을 검출하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 24

진 항들 중 한 항에 있어서,

제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 상이한 방식으로 샘플 (10) 내로 도입된 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 25

진 항들 중 한 항에 있어서,

제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질은, 결합된 활성 물질 및/또는 리간드 분자 없이, 샘플에 대해 동일한 효과를 갖도록 형성되는 것을 특징으로 하는 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법.

청구항 26

진 항들 중 한 항에 따른 방법에 의해 샘플 (10)을 조사하기 위한 다중-파라미터 X-선 형광 이미징을 위해 구성된 이미징 장치 (100) 에 있어서,

샘플은 생물학적 유기체 바디 중 적어도 일부를 포함하며, 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질을 포함하고,

제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질 중 적어도 하나는 활성 물질 분자 및/또는 리간드 분자에 결합되는데,

이는 샘플 (10)과의 특정 상호작용을 위해 제공되는 것을 특징으로 하고 다음을 포함하는 이미징 장치:

- 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)은 들뜨고, 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)의 형광 라인 (3)은 상이한 것을 특징으로 하는, X-선 방사선 (1)을 샘플 (10)에 조사하기 위해 배치되는 X-선 방사선 소스 장치 (110),
- 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (2)을 공간적 및 스펙트럼상 분해된 검출을 위해 구성된 검출기 장치(120), 및
- 검출된 X-선 형광 (2)으로부터, 제1 마커 물질의 공간 분포 및 샘플 (10) 내의 하나 이상의 추가 마커 물질의 공간 분포를 결정하기 위해 구성된 평가 장치(130).

청구항 27

샘플(10) 상에 다중-파라미터 X-선 형광 이미징을 위해 샘플(10) 내로 마커 물질을 도입하도록 구성된 마커 물질 키트(200)에 있어서,

- X-선 방사선 (1) 조사시 X-선 형광 (2)을 방출하는 제 1 마커 물질, 및
- X-선 방사선 (1) 조사시 X-선 형광 (2)을 방출하는 하나 이상의 추가 마커 물질을 포함하고, 이때,
- 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 형광 라인은 상이하고,
- 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질은 샘플 (10) 의 산란으로 인한 배경 노이즈 레벨, 샘플 내의 X-선 형광 (2) 의 감쇠, 및 형광 확률을 나타내는데, 이는 마커 물질의 동일 농도에서 X-선 형광 (2)의 검출 (2)이 비교가

능한 통계적으로 유의한 수준을 야기할 정도로 동일하거나 유사하고, 조사 에너지의 선택에 의해 최대화될 수 있는 것을 특징으로 하는 마커 물질 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 샘플 내 마커 물질 분포가 검출되는 샘플에 대한 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 본 명세서에서, 발명의 기술적 배경을 나타내는 다음의 종래 기술을 참조한다.

[0003] [1] DE 10 2017 003 517;

[0004] [2] US 2012/0307962 A1;

[0005] [3] US 2016/0252471 A1;

[0006] [4] T. 펠레그리노 외. "Nano Lett." Vol. 4, No. 4, 2004, p. 703-707;

[0007] [5] H. D. 필들러 외 "Anal Chem." 2013, 85(21):10142-8;

[0008] [6] R. 장 외 "Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging" 2018, 8(3):169-188;

[0009] [7] F. 그뤼너 외 "Sci. Rep." Vol. 8, 2018, p. 16561;

[0010] [8] K. 크레니코프 외 "Phys. Rev. Lett." Vol. 114, p. 195003 (2015);

[0011] [9] M. 호세인 외 "Applied Physics Letters" Vol. 97, 2010, p. 263704-1-263704-3;

[0012] [10] D. P. 콘모드 외 "Contrast Media & Molecular Imaging" 2014, No. 9, p. 37- 52;

[0013] [11] Y. 리 외 "Contrast Media & Molecular Imaging" Vol. 2018, 2018, Article ID 8174820, p. 1-7 (보충자료 포함).

[0014] 약리학에서, 생리학적 작용 물질 (여기에서 활성 물질 또는 활성 물질 분자 또는 약리학적 활성 물질이라고도 지칭되는)의 국소 및/또는 시간적 분포, 특히 바이오 마커, 항체, 항체 단편, 생물학적 세포, 및/또는 환자의 신체 또는 시험 동물의 바디 (약리역학의 측정) 내의 약제 (약제 분자)를 측정하는 것은 흥미로운 것이다. 약리역학적 측정은, 특히 활성 물질의 효과가, 예를 들면, 세포 표면상의 수용체에 결합함으로써, 작용의 치료 부위에 결합되는 농도(및 시간)에 직접적으로 의존하기 때문에, 시간 중속적 방식으로 체내에서 적용되는 활성 물질의 국부적인 농도를 획득하는 것을 목표로 한다. 기존의 약리역학 방법은 결론이 제한적이다. 예를 들어, 약물의 투여 후, 혈액 내 약제의 농도를 측정하기 위해 혈액 샘플이 채취되는 경우, 체내 약제의 국부적인 분포는 획득되지 않으며, 특히 약제가 원하는 작용 지점에 도달했는지 여부, 언제 도달했는지, 어떤 농도로 도달했는지에 대한 정보는 획득되지 않는다. 여기에서 일반적으로 다중-의약품으로 지칭되는 복수의 활성 물질이 적용되는 경우, 힘든 방법 단계가 적용되는 경우에만 별도로 획득할 수 있다.

[0015] 보다 중요한 적용은 예를 들어 크론병 및/또는 궤양성 대장염 뿐만 아니라 추가적인 면역계-매개 염증성 질환에 대한 약제의 효과를 기록하기 위해 상이한 면역 세포 유형의 분포를 측정하는 것이다. 이 경우, 복수의 상이한 면역 세포 유형이 일반적으로 관련이 있기 때문에, 지금까지 해결되지 않은 과제는 체내의 다른 면역 세포 유형의 역학을 서로 별도로 하지만, 동시에 동일한 위치에서 측정하는 데 발생한다.

[0016] 양전자 방출 단층촬영 (PET)은 일반적으로 알려진 방법으로 예를 들어 체내 약제의 분포를 기록할 수 있다. 양전자 방출 단층촬영 (PET)는 약제 분자에 결합되는 방사성 추적자 분자 (radioactive tracer molecule)에 기초한다. 추적자 분자는 조사 중인 체내에서 양전자를 방출하고, 이는 전자와 함께 소멸되며, 그 결과로서 511 keV의 특성 에너지를 갖는 두 개의 X-선 광자가 생성된다. 이 두 개의 X-선 광자가 검출되고, 방출 위치에 대해 가능하고, 따라서 약제의 위치는 복수의 일치 측정(coincidence measurement)에 의해 결정된다. 하지만, 양전자 방출 단층촬영은 일련의 단점이 있고, 이는 신체의 방사선 노출, 복잡한 기기 테크닉 및 다중-약물의 경우에 제

한된 결론성으로 인해 발생한다.

[0017] 다중-약물의 경우, 하나의 측정 (복수의 활성 물질에 대한 동시 약리역학이 아닌) 에 의해 하나의 약제 분포만을 기록할 수 있기 때문에, PET는 제한된 정보를 전달한다. 복수의 약제가 동시에 적용되는 경우에도, 이들은 별도로 측정 할 수 없다. 모든 소멸 사건의 경우에, 511 keV 의 에너지를 갖는 광자만이 생성될 수 있기 때문에, 심지어 상이한 추적자 분자는, 각각의 경우에 상이한 약제 분자와 연계되어, 구별되지 않을 수 있으며, 따라서 약제-특정 방출 위치는 검출될 수 없다. PET는 순차적 측정 가능성을 제공하여, 처음에는 제 1 약제가 주사 및 검출된 후, 제 2 약제가 주사 및 검출되지만, PET의 경우에 추적자 분자의 빠른 붕괴때문에 진단 시간대가 매우 제한적이므로, 이는 비실용적이다. 따라서, 다중-약물의 경우에 PET 의 적용은 실행상으로는 배제된다.

[0018] 더 일반적으로 알려진 기능적 이미징 방법은 단일 광자 방출 전산화 단층 촬영(SPECT: Single-photon emission computerised tomography)이지만, 마찬가지로 다중-약물의 경우에 활성 에이전트 분포 검출에 사용할 수 없다. SPECT의 경우, 상이한 방출 에너지때문에 구별할 수 있는 상이한 추적자 분자가 사용될 수 있지만, 추적자 분자는 매우 복잡한 방식(방사 화학에 의해)으로만 생체 분자와 결합될 수 있다. 또한, SPECT를 위해 이용 가능한 추적자 분자는 매우 상이한 방출 에너지 및 반감기 기간을 갖고, 따라서 검출기의 효율이 들어오는 광자의 에너지에 크게 종속되고, 각각의 경우에 방출된 광자의 수는 반감기 주기에 따라 상이한 연장으로 감소한다. 마지막으로, 이용 가능한 추적자 분자는 제한된 진단 시간대만 제공하며, 이는 일반적으로 시간적 활성 물질 분포를 조사하기에는 너무 짧다. SPECT-기반 용액은 약제 분자에 SPECT 추적자 분자를 결합하는 것은, 특히 동시에 사용되도록 의도된 상이한 추적자 분자의 경우에 있어서 어렵기 때문에, 상당히 더 복잡할 것이다. 정량적 평가에 필수적인, 주입 바로 직전의 활성을 결정하는 것도 이 경우에는 어려울 것이다.

[0019] PET와 SPECT의 조합조차도 PET의 한계를 극복할 수 없었다. 왜냐하면, 두 가지 상이한 추적자 분자의 동시 사용의 경우에 두 개의 상이한 약제를 추적할 수도 있지만, 이것은, 각각의 반감기 기간에 의해 유의하게 제한되는 진단 시간대에 걸쳐서만 가능할 것이기 때문이다. 또한, 두 방법이 다르게 작동하기 때문에, 지금까지 PET와 SPECT를 동시에 허용하는 조합 장치는 알려진 것이 없다.

[0020] X-선 형광 이미징 (XFI)은 체내 약제의 분포를 검출하기 위한 추가적인 방법이다 (예 [1] 내지 [3], [9] 및 [11] 참조). 진단용 X-선 형광 이미징은, 예를 들어 복수의 나노입자를 포함하는 마커 물질을 조사 대상 체내에 적용하고, X-선 파장 범위내에서 유도된 형광을 이용하여 공간적으로 분해된 방법으로 검출을 수행하는 것에 기초한다. 리간드가 나노입자 (기능화된 나노입자)에 결합되고 리간드가 항체 또는 항체 단편, 생물학적 세포, 바이오 마커 또는 약제와 같은 활성 물질에 연결되거나 자체로 포함하면, 체내 활성 물질의 분포와 관련된 정보는 X-선 형광의 공간적으로 분해된 측정에 의해 얻어진다. XFI 연구에서는, 금 나노입자는 합성이 용이하고 잘 연구된 결합 화학에 기초하기 때문에 일반적으로 사용된다. 추가 나노입자는 [4], [5], [9], [10] (전산화 단층 촬영과 관련하여) 및 [11]에 기재되어 있다. [6]으로 부터, 유기체 내의 각각의 X-선 형광 때문에, 측정 이전에 이미 유기체 내에 존재하는 복수의 상이한 독성 금속을 XFI를 통해 검출하는 것이 알려져 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0021] 하지만, XFI 또는 침습적 방법을 사용한 연구에서 비기능화된 나노입자조차도 생물학적 유기체의 다른 기관에서 상이한 농도로 수집한다고 알려져 있다. 또한, 나노입자는 전형적인 약제 분자와 비교하여 강력하게 비대칭인 질량 비율을 가지고 있기 때문에, 체내의 약제 수송은 나노 입자의 그것에 의해 지배 될 수있다. 나노입자의 이러한 특성은 기존의 XFI 방법의 결정성을 제한한다: 특정 기관 내에서 약제로 기능화된 금 나노입자의 농도를 XFI를 이용하여 측정하는 경우, 측정된 농도 값에만 기초하여 약제에 의해 결정되었다고 단정할 수 없다. 금 나노입자는 결합된 약제 없이도 동일한 농도에 도달했을 수 있다.

[0022] 따라서 [7]에서는 비교 목적을 위해, 제 1 유기체에서 리간드를 가지고 나노입자를 측정하고, 제 2 별도의 유기체 (이 경우에서 쥐)에서 리간드 없이 나노입자를 측정하는 것이 제안된다. 하지만, 이 방법은 실험 동물에 대한 높은 요구 사항으로 이어지고, 개별 유기체 간의 개별적인 차이를 무시한다. 더욱이, 환자용 약물에서는 실용성이 없다. 따라서 하나의 단일 유기체에서 동시에 비교 측정을 수행하는 것이 관심 사항이 될 것이다. 이러한 비교 측정은 더욱이 타겟 영역에서의 비특이적, 생리학적 배경의 검출을 가능하게 할 것이다. 예를 들어 혈관 및 여기 안에서 결합되지 않은 나노입자가 여기에 위치한다면, 이 "배경 이미지"는 XFI 이미지에서 빼낼 수 있다. 그때 차이 이미지는 구체적으로 결합된 나노입자만을 보여준다. 기존 기술을 사용하여 수행할 수 없는,

이러한 비교 측정은 더욱이 타겟 영역에서 비특이적, 생리학적 배경을 검출할 수 있게 해줄 것이다. 예를 들어 혈관 및 여기 안에서 결합되지 않은 나노입자가 여기에 위치한다면, 이 "배경 이미지"는 XFI 이미지에서 빼낼 수 있다. 그때 차이 이미지는 구체적으로 결합된 나노입자만을 보여준다.

[0023] 기존 XFI의 또 다른 단점은 다중-약물의 경우에 복수의 상이한 약제 또는 바이오마커를 동시에 추적할 수 없다는 것이다. 이것은 또한 상이한 면역 세포 유형의 역학의 동시 이미징에 대해서도 적용된다. 하지만, 이러한 종류의 측정은 체내 염증 과정의 시각화 또는 복수의 항체를 사용한 종양 진단과 같은 일련의 의학 연구에서 중요하다. 예를 들어, 염증 과정의 경우, 상이한 면역 세포 유형이 기록되도록 의도되며, 이는 다른 시간에 염증 부위에 도달하여 염증의 진행에 영향을 미친다. 따라서 크론병의 경우 네 가지 상이한 면역 세포 유형을 동시에 추적하는 것이 흥미로운 것이다. 그러나, 기존의 XFI로는 다른 세포 유형을 구별 할 수 없다. 다중-약물의 경우 약리역학의 측정은 또한 의약품의 상호 작용을 조사하거나 약제의 효과를 비교하기 위해 흥미로울 수 있다. 일반적으로 새로운 약제는 시장에 출시된 후에야 실패하는 경우가 많은데, 이는 환자들은 동시에 여러가지 약제들을 복용해야하는데 약제는 체내에서 사러 결합 부위를 차단하기 때문이다. 지금까지, 기존의 기술로는, 동시에 측정되어야하는 모든 면역 세포 유형이 동일한 감도로 결정될 수 있는 것이 가능하지 않기 때문에, 이 목표는 달성가능하지 않다.

[0024] 기존의 XFI의 경우에 더 중요한 문제는 나노입자의 운동력이 그 크기에 따라 달라진다는 주지의 사실이다. 상이한 크기를 갖는 복수의 나노입자 유형의 운동력(동역학)을 함께 동일한 감도로 추적하고, 이들을 서로 직접 비교하기 위한 실용적이고 효과적인 방법은 현재 이용가능하지 않다.

[0025] 다중-약물의 경우 약리역학을 측정하는 목적을 위해, XFI의 경우에도 순차적 측정이 수행 될 수 있지만, 이는 허용할수 없을만큼 긴 측정 시간을 필요로 할 것이다. 상이한 약제들은 각각의 경우에 조사된 약제가 분해되고 배출된 후에만 연속적으로 조사될 수 있다. 따라서 실용적인 일상 조건하에서, 기존의 XFI를 통해 다중-파라미터 약리역학을 측정하는 것은 불가능하다.

[0026] [9]에는, 상이한 나노입자 유형의 X-선 형광에 의한 다중 바이오 마커 검출이 설명되어 있다. [9]의 저자들은 상이한 나노입자 유형이 상이한 스펙트럼 형광 특성에 기초하여 구별 될 수 있으며, 상이한 위치에서 상이한 나노입자 유형의 공간적으로 분해된 측정이 가능하다는 것을 확인했다. [9]에 따른 기술은 나노입자가 얇은 알루미늄 기관에서 들뜬 X-선 방사선의 높은 들뜸(excitation) 강도로 조사되는 모델 시스템에 기초하여 연구되었다. 높은 들뜸 강도는 X-선 형광의 충분히 높은 형광 강도를 생성하는 것을 가능하게 하고, 따라서 이를 민감하게 감지할 수 있게 한다. 알루미늄 기관을 사용하면 다중 산란으로 인한 간섭 산란 방사선 (배경 방사선)을 크게 회피할 수 있다.

[0027] 그러나, [9]에 따른 기술은 방사선 보호의 이유로, 이 기술에서 상당히 낮은 강도의 들뜬 X-선 방사선이 본 기술에서 요구되기 때문에 생의학 이미징에 적용되지 않고, (쥐와 같은)객체는 보다 많은(다중의) 산란이 일어나는 훨씬 더 많은 조직을 제공하기때문에, 상당히 더 강한 산란된 방사선이 생물학적 조직에서 생성된다. 이 문제를 극복하기 위해, [9]에서는 들뜸을 위해 단색 X-선 방사선을 사용하는 것이 제안되지만, 여기에서는 실제로 X-선 형광 검출의 충분한 감도를 달성하기에, 특히 [9]에서 사용된 기관보다 유의하게 큰 객체에 대해, 충분하지 않은 것으로 밝혀졌는데, 그 이유는 더 큰 부피로 인해 흩어진 방사선은 최소 방사선량에서 약한 XFI 신호가 더 이상 감지될 수 없도록, 감지된 스펙트럼에서 큰 배경을 초래하기 때문이다. 마커 키트의 타겟 선택은 [2]에서도 설명되지 않는다.

[0028] [2]에서, 전산화 단층 촬영 방법 XFI가 설명되며, 여기서 XFI는 원칙적으로 복수의 상이한 나노 입자 유형들의 조성을 사용하여 일어날 수 있다. 그러나, 이 경우, 검출된 X-선 형광의 평가에서 상이한 나노입자 유형의 스펙트럼적으로 상이한 배출은 살아있는 유기체에 대한 이미징에 사용되지 않는다.

[0029] X-선 형광 단층 촬영을 위한 나노입자 라이브러리는 [11]에 설명되어있다. [11]의 저자들은 [11]의 보충자료에서 서로 다른 원소로 구성된 나노입자의 경우, 각각의 경우에 서로 다른 나노입자가 동일한 수준의 감도에서 검출될 수 없도록 여러 등급에 걸쳐 다양한 산란 방사선의 강도가 발생한다는 것을 보여주었다. 나노입자의 농도를 적응시켜 생물학적 샘플에 대한 XFI의 문제를 극복하는것은, 배경이 높은 나노입자의 농도는 예를 들어 1000 인자에 의해 증가한다는 점에서 엄격한 생리학적 경계를 전제로 한다. 그러므로 [11]에서는 나노입자의 조합에 대한 선택 기준으로서, 나노입자의 방출 요소의 K 엠티는 X-선원의 (평균) 에너지에 가능한 한 가깝게되어야한다는 것이 제안된다. 그러나 배경의 최소화를 허용하지 않는 것은 바로 이것이다. 따라서, [11]에서, 연구된 마커 요소의 신호 범위의 배경은 매우 다르고 전반적으로 최소화되지 않는다. 따라서 매우 민감한 XFI는 가능하지 않다.

과제의 해결 수단

[0030] 본 발명의 목적은 기존 기술의 단점을 회피하는 수단으로, 샘플 상에 X-선 형광 이미징을 위한 개선된 방법을 제공하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은 샘플을 조사하기 위한 X-선 형광 이미징을 위한 개선된 이미징 장치를 제공하는 것으로, 이때 기존 기술의 단점은 이미징 장치에 의해 회피된다. 본 발명의 또 다른 목적은 샘플 상에 X-선 형광 이미징을 위해 샘플 내로 도입되도록 적응된 개선된 마커 물질 키트를 제공하는 것이다. 본 발명은 특히 결정성이 증가된 매우 민감한 XFI를 제공하고, 조사된 유기체의 체내에서 하나 또는 복수의 활성 물질의 공간적 및/또는 시간적 분포를 측정하도록 허용하며, 및/또는 특히 실용적인 적용 조건 하에서 XFI의 새로운 적용을 제공하기 위한 것이다. 이 경우, 예를 들어, 하나 또는 다중 활성 물질, 특히 바이오 마커, 항체, 항체 단편, 면역 세포와 같은 생물학적 세포 및/또는 약제의 검출을 포함하는 체내 이미징은 특히 흥미롭다. XFI는 특히 방법 복잡성이 감소된 다중-약물의 경우 연구를 허용하고, 및/또는 짧은 진단 시간대에 대한 제한을 방지하기 위한 것이다.

[0031] 이러한 목적은 각각의 경우 X-선 형광 이미징을 위한 방법, X-선 형광 이미징 장치, 및 마커 물질 키트에 의해 달성되고, 이는 독립 청구항들의 특징을 갖는다. 본 발명의 바람직한 실시예 및 적용은 종속 청구항들에서 찾을 수 있다.

발명의 효과

[0032] 본 발명의 첫 번째 일반적인 측면에 따르면, 상기의 목적은 샘플의 다중-파라미터 X-선 형광 이미징 방법에 의해 달성되며, 여기서 다음 단계들이 제공된다. 조사 대상 샘플은 X-선 방사선으로 조사하며, 바람직하게는 단색 또는 적어도 협대역 X-선 방사선 조사하며, 여기서 제 1 마커 물질의 X-선 형광이 들뜬다. 샘플은 일반적으로 형태를 유지하는 객체이며, 바람직하게는 생물학적 유기체의 신체 (또는 신체의 일부), 특히 바람직하게는 인간 또는 동물 피험자의 신체 (또는 신체의 일부)이다. 대안적으로, 임플란트 또는 스킨 모델과 같은 인공 기관 또는 합성 생물학적 객체와 같은 다른 비천연 객체들 또는 기술적 객체들도 조사할 수 있다. 제 1 마커 물질의 X-선 형광의 공간적으로 분해된 검출은 특히 샘플을 스캔함으로써 발생한다. 샘플내 제 1 마커 물질의 분포는 제 1 마커 물질의 검출된 X-선 형광으로부터 결정될 수 있다.

[0033] 본 발명에 따르면, 샘플은 제 1 마커 물질에 더하여, 하나 이상의 추가 마커 물질을 함유하는데, 이는 X-선 방사선에 의한 X-선 형광에 들뜬다. 하나 이상의 추가 마커 물질이 제 1 마커 물질과 동일한 조사 영역 (조사의 위치에서의 빔 부피, 스캔 위치)에 위치하는 경우, X-선 형광의 들뜸은 바람직하게는 동시에 발생한다. 마커 물질은 분자 또는 미립자 물질이며, 각각의 경우에 순수한 원소 또는 화학 화합물로서 하나 이상의 X-선 형광 원소를 함유한다. 마커 물질은 체내에 이질적인 물질이며, XFI 방법 이전에 샘플에 의도적으로 공급된 물질로, 물질별 체류시간이 경과한 후 다시 샘플을 떠나고, XFI 방법 이후에, 예를 들어 수송 공정에 의해 분리된다. 샘플과의 특정 생물학적 및/또는 화학적 상호 작용을 나타내는 활성 물질 분자 및/또는 리간드 분자는, 예를 들어 대사 또는 혈액 수송, 및/또는 그 안의 결합 같은 수송 과정에 의해 샘플의 특정 부분에서 수송되고, 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질 중 하나 이상에 결합된다. 바람직한 변이체에 따르면, 활성 물질이 예를 들어 면역 세포 요법에 대한 생물학적 세포를 포함하고, 특히 세포가 본 발명에 따른 방법에 의해 모니터링되도록 의도되는 적용에서, 결합된 마커 물질은 바람직하게는 세포 내에 함유되거나 그 표면에 결합된다. 제 1 및 각각의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 상이한 X-선 형광을 특징으로한다. 측정된 스펙트럼에서, 제 1 및 각각의 추가 마커 물질의 X-선 형광 원소의 형광 라인은 각각의 경우에 상이하며, 특히 상이한 에너지 및/또는 상이한 스펙트럼 폭에서 최대값을 갖는다. 본 발명에 따르면, 상기 검출은 제 1 및 각각의 추가 마커 물질의 X-선 형광 (X-선 형광 방출) 의, 바람직하게는 예를 들어 X-선 빔을 이용한 스캐닝에 의한 단일 측정 절차에서, 스펙트럼 및 공간적으로 분해된 획득을 포함한다. 제 1 마커 물질의 분포 이외에, 샘플에서 하나 이상의 추가 마커 물질의 하나 이상의 분포는 제 1 및 각각의 추가 마커 물질의 검출된 X-선 형광으로부터 결정된다.

[0034] 결과적으로, 이러한 다중-파라미터 방법은 샘플에서 제 1 및 각각의 추가 마커 물질의 다중 특정 분포를 전달한다. 결정된 분포는 전형적으로 진단 정보 그 자체를 구성하지 않는다. 샘플에 대한 의학적 진단은 결정된 분포가 사용되는 본 발명에 따른 방법을 따를 수 있다.

[0035] 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질은 바람직하게는 형광 확률, 샘플에서의 X-선 형광의 감쇠, 및 샘플에서의 배경 노이즈 레벨을 나타내는데, 이는 동일 농도의 마커 물질에서 X-선 형광의 검출이 비교가능한 통계적 유의 수준을 초래하는 정도로 동일하거나 유사하다. 또한, 들뜬 X-선 방사선의 조사 광자 에너지는 바람직하게는 모든 마커 물질의 흡수 엣지 위에 있다. "농도"라는 용어는 샘플의 (빔) 표면 당 (빔) 마커 물질의 질량, 즉, "면

적 밀도"를 나타낸다. "형광 확률"은 마커 물질의 개별 원자의 유효 단면을 나타낸다. 샘플을 통한 형광의 전송 후 검출 가능한 신호를 전달하는 마커 물질에 의해 생성된 형광 광자의 수는 면적 밀도의 생성물 및 관련 마커 물질의 형광을 위한 유효 단면에 의해 결정된다. 두 마커 물질의 유효 단면 및 전송이 동일하거나 유사하고 면적 밀도가 동일하거나 유사한 경우, 이는 마커 물질의 동일하거나 유사한 검출 가능한 신호를 유리하게 전달한다.

- [0036] 마커 물질은 바람직하게는 나노 입자를 포함한다. 나노입자는 특히 바람직하게는 샘플에 대해 구별할 수 없는 외부 표면을 포함하며, 바람직하게는 동일하며, 표적화된 기능화에 의해 단순히 다를 수 있으며, 그 내부는 각각의 특징적인 "형광 지문"을 갖는 다른 요소들로 구성된다. 이러한 나노입자는 기존의 나노입자 기반 XFI의 경우와 같이, 외부로부터 샘플 내로 도입되었을 수 있다.
- [0037] 특히, 마커 물질의 X-선 형광 원소의 표적화된 선택은 다중-파라미터 XFI에 유리하다. 이러한 선택은 바람직하게는 다음 기준을 충족한다:
- [0038] (a) 조사 광자 에너지는 모든 흡수 엣지 위에 있다.
- [0039] (b) X-선 형광 요소는 유사한 형광 확률을 나타낸다.
- [0040] (c) X-선 형광 요소의 각각의 형광 라인의 감쇠도 비슷해야 한다,
- [0041] (d) X-선 형광 요소의 형광 라인은 샘플에서 산란 (단일 및/또는 다중 산란)으로 인해 유사한 배경 노이즈 레벨을 가져야 한다. 예를 들어, (b) 및 (c)와 함께, 요소의 검출된 형광 라인의 각각의 통계적 유의성은, X-선 부피에 있어서 요소의 면적 밀도 (농도)가 동일하다면, 유사한 수준을 가져야 한다.
- [0042] 예를 들어, 기록된 형광 광자의 수와 배경 광자 수의 루트에 대한 비율 또는 이 비율을 정량적으로 대표하는 변수는 통계적 유의 수준, 특히, X-선 형광 검출의 감도에 대한 척도로서 사용될 수 있다. 배경 광자 수의 루트는 결국 통계적 배경 노이즈에 대한 척도이다. 형광 광자의 수와 배경의 수는, 이용 가능한 수치 방법을 사용하여 형광 라인의 영역에서 측정된 X-선 스펙트럼의 수학적 적합 함수들에 의해 결정될 수 있다.
- [0043] 상기 (b) 내지 (d) 기준은 발명자들의 특히 중요한 결론이며, 본 발명의 실시예들을 구현하는데 특히 유리하며, 예를 들어, 주기적 시스템에서 너무 멀리 떨어져 있는 두 개의 X-선 형광 요소들이 선택되어 그들의 형광 확률 (즉, 유효 단면들), 샘플에서의 감쇠, 배경 노이즈 레벨이 과도하게 상이하면, 그 둘은 X-선 부피에 있어서 두 요소의 면적 밀도가 동일하더라도, 유의하게 상이한 감도에서 검출될 것이다. 이로 인해 두 마커 물질 유형 중 하나만 효과적으로 검출될 수 있으며, 결과적으로 다중-파라미터 XFI를 달성 할 수 없다.
- [0044] 마커 물질의 원자의 유효 단면은 표준 측정 및 공개된 표를 통해 알려져 있으며, 샘플에서 X-선 형광의 감쇠는 기준 측정 및/또는 시뮬레이션에 의해 결정될 수 있다. 배경은 샘플에서 들어오는 광자의 산란 및 검출기 효과 모두에 의해 형성된다. X-선 형광 요소의 배경 거동은, 기준 (b) 내지 (d)에 따라 X-선 형광 요소를 최적 선택하기 위해, 수치 시뮬레이션 또는 측정(예를 들면, [7] 참조)에 의해 결정될 수 있다.
- [0045] 샘플 내로 마커 물질을 도입하는 것은, 도입이 주입과 같은 생물학적 물질로의 침습적 개입을 필요로 하는 한, 본 발명의 일부로 간주되지 않는다.
- [0046] 본 발명의 바람직한 실시예에 따르면, 마커 물질의 통계적으로 유의한 수준은 X-선 방사선의 조사 광자 에너지가 샘플에서 마커 물질의 가장 높은 흡수 엣지 보다 높은 간격을 갖도록 선택되어, 즉 마커 물질의 배경 노이즈 레벨이 최소이고 동일하거나 거의 동일하며, 동시에 유효 단면 및 샘플을 통한 X-선 형광 전송이 최대이고 동일하거나 거의 동일하게 된다. 언급된 변수들은, 전송 및 유효 단면 또는 배경 노이즈 레벨의 차이가 X-선 형광의 검출에 무시할 수 있을 정도로 작은 영향을 미치는 경우, 바람직하게는 대략 동일하다.
- [0047] X-선 방사선의 조사 광자 에너지의 선택 및 마커 물질의 선택은, 바람직하게는 최적화를 통해 수행되며, 여기서 조사 광자 에너지는, 들어오는 광자가 가능한 한 많이 되어야하고 X-선 형광 라인의 에너지 범위 내로 들어올 때까지 상응하는 에너지 손실을 겪게 하기 위하여, 샘플에서 마커 물질의 가장 높은 흡수 엣지와 비교하여, 가능한 한 큰 것으로 선택되는데, 이는 들어오는 광자가 가능한 한 많이 되어야하고 X-선 형광 라인의 에너지 범위에내로 들어올 때까지 상응하는 에너지 손실을 겪게 하기 위함이다 (필요한 다중 산란에 의한 배경 노이즈의 최소화로, 조사 에너지로부터 형광 에너지 범위로, 손실된 총 에너지에 대해 더 많은 산란이 필요할 가능성이 줄어든다). 동시에, 조사 광자 에너지는, 유효 단면이 너무 크게 감소되도록, 너무 높게 선택되어서는 안된다.
- [0048] 본 발명은 최초로 실제 적용에 적합한 샘플 상에 다중-파라미터 X-선 형광 이미지를 제공한다. [9]에서, 상기한

바와 같이, 두 개의 상이한 나노입자가 이미 사용되지만, 이들은 매우 얇은 기관상의 시험관 내에서만 사용된다. 대조적으로, 본 발명은 마커 물질의 선택에 의해 [9]에 기재되지 않은 마커의 선택에 의해, 적어도 쥐의 크기와 같은 객체와 같은 실제 객체에 대해 신뢰할 수 있는 XFI를 허용한다. 본 발명에 따르는 마커 물질의 선택은 [2] 또는 [11]에도 기재되어 있지 않으므로, 예를 들어 [11]에서 언급된 XFI 마커 물질은 매우 다른 이미징 감도를 가졌으며 효과적인 다중-파라미터 XFI는 배제된다.

- [0049] 본 발명은 [7]에 기재된, 상술된 방법의 경우와 달리, 단일 샘플에 대한 비교 측정을 가능하게 하는데, 이는 동시 비교 측정은 실제 측정과 동일한 영상 감도를 가지므로 명확한 결과를 얻을 수 있기 때문이다.
- [0050] 본 발명의 제 2 일반 양태에 따르면, 상기 목적은 샘플을 조사하기 위한 다중-파라미터 X-선 형광 이미징에 대해 구성되고 X-선 방사선 소스 장치, 검출기 장치, 및 평가 장치를 포함하는 이미징 장치에 의해 달성된다. X-선 방사선 소스 장치는 X-선 방사선으로 샘플을 조사하기 위해 구성되며, 여기서 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광이 샘플에서 들뜬다. 적어도 하나의 스펙트럼을 분해하는 X-선 검출기, 바람직하게는 복수의 스펙트럼을 분해하는 X-선 검출기를 포함하는 검출기 장치는 샘플에서 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광의 스펙트럼상 분해된 검출을 위해 구성되며, 여기서 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광은 각각의 경우에 상이한 형광 라인을 갖는다. 평가 장치는 감지된 X-선 형광 방출로부터 제 1 마커 물질의 공간 분포 및 샘플에서 적어도 하나의 추가 마커 물질을 결정하기 위해 구성된다. 이미징 장치는 본 발명의 제 1 일반 양태 또는 이의 실시예에 따른 방법을 수행하도록 구성된다.
- [0051] 본 발명의 제 3 일반 양태에 따르면, 상기 목적은 샘플상에 다중-파라미터 X-선 형광 이미징을 위한 샘플에 도입되도록 구성되고, X-선 형광 조사시 X-선 형광을 분출하는 두 개 이상의 마커 물질을 함유하는 마커 물질 키트에 의해 달성되는데, 여기서 마커 물질의 형광 라인은 각각의 경우에 상이하다. 마커 물질 키트는 본 발명의 제 1 일반 양태 또는 이의 실시예에 따른 방법, 특히 샘플에서의 적용에 사용하도록 제공된다. 마커 물질 키트는 액체 또는 고체 형태로 제공될 수 있다. 조사된 마커 물질 키트 (물질, 농도, 입자 크기)의 조성 및 조사된 X-선 방사선의 바람직한 광자 에너지는 테스트 또는 기준 측정 및/또는 수치 시뮬레이션에 의해 결정될 수 있다.
- [0052] 샘플에서 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광의 공간적으로 분해된 검출은 샘플에서 하나 이상의 공간적으로 제한된 영역에서 독점적으로 마커 물질의 X-선 형광의 검출, 예를 들어, 하나 이상의 기관의 영역에서 및/또는 유기체의 하나 이상의 다른 부분, 및/또는 전체 샘플에 걸쳐 마커 물질의 X-선 형광의 공간적으로 분해된 검출을 포함한다.
- [0053] 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 분포는, 각각의 경우에, 농도 (또는 면적 밀도), 절대 물질 양 및/또는 상이한 마커 물질의 상대 유병률과 같은 수량 값의 하나 이상의 공간적으로 제한된 영역 및/또는 체내의 위치 좌표에 대한 할당을 포함한다. 두 개 이상의 마커 물질의 분포는 샘플 내에서 예를 들어, 확산 및/또는 혈액과 같은 운반체 유체에 의한, 그것의 수송 및 샘플과의 생물학적/화학적 상호작용에서 발생한다. 수량 값은 마커 물질의 X-선 형광 배출의 진폭으로부터 직접 결정될 수 있는데, 이는 진폭은 검출되는 X-선 형광 요소의 수에 대한 척도이기 때문이다. X-선 형광 배출의 검출된 진폭은 샘플에서 배출된 형광 광자의 알려진 전송, 그 자체에 더 의존한다. 마커 물질의 공간 및/또는 시간적 분포가 결정될 수 있다.
- [0054] 각각의 경우에 샘플에서 마커 물질의 공간 분포는 마커 물질의 수량 값을 특정 시간에 신체의 하나 이상의 공간적으로 제한된 영역 및/또는 체내의 위치 좌표에 할당하는 것을 포함한다.
- [0055] 각각의 경우에 샘플에서 마커 물질의 시간적 분포는 마커 물질의 수량 값을 하나 이상의 공간적으로 제한된 영역 및/또는 체내의 위치 좌표로의 할당의 시간 의존성을 포함한다.
- [0056] 따라서, 분포는 특히 기관에서 평균 농도 값 (및/또는 그것의 시간 함수) 및/또는 특정 스캔 라인 또는 특정 스캔 표면 또는 특정 스캔 부피와 같은 특정 위치 좌표 상의 질량 값의 매핑을 포함한다.
- [0057] 본 발명은 XFI를 유리하게 확장하여, 각각의 경우에 약제 또는 항체, 또는 그것들을 함유하거나 또는 활성 물질 분자가 없는 전체 생물학적 세포와 같은 상이한 활성 물질 분자 (활성 물질)을 나르는 분자 마커 요소 또는 나노입자와 같은 복수의 상이한 마커 물질의 특정한 분포는 동시에, 동일한 감도로, 최소 방사선 용량으로, 생체 내에서 측정될 수 있다. 이것은, 원칙적으로, 기존의 XFI 또는 PET의 경우에서는 배제되었다. 단일 마커 물질을 포함하는 기존의 XFI 방법과 비교하여, 복수의 상이한 마커 물질의 분포를 바람직하게는 동시에 검출하는 것 ("다중-파라미터 X-선 형광 이미징")은 약동학 정보 및/또는 진단 평가 가능한 정보와 같은 조사된 샘플과 관련된 추가 정보를 제공한다. 따라서, 예를 들어, 다중-파라미터 약동학의 측정 및 다중-파라미터 종양 진단은 XFI

의 새로운 적용으로서 가능해진다. 최초로, 본 발명은, 비-기능화된 나노입자를 포함하는 적어도 하나 이상의 대조군이 동시에 측정되기 때문에, 예를 들어 마커 물질로 사용될 수 있는 나노입자의 동역학에 미치는 영향을 결정할 수 있다.

- [0058] 예를 들어, 처음으로, 샘플 내의 특정 위치에서 약제가 충분한 농도로 존재하는지 여부와 그와 상호 작용하는 (예를 들어 억제 효과를 갖는) 다른 약제가 또한 같은 위치에서 상당한 농도로 존재하는지 여부를 체내에서 결정하는 것이 가능하다.
- [0059] 추가적인 적용은 약제, 예를 들어 이미 승인된 새로운 약제 또는 대체 약제 또는 복제약 및 약제의 약동역학의 동시 측정이다.
- [0060] 본 발명에 따르면, 약제의 효과 뿐만 아니라 다중-약물의 경우에서, 즉 다중-약물이 동시에 투약된 경우에, 그들의 상호 작용을 연구할 수 있다. 상이한 약제의 분포는 상이한 마커 물질에 결합하고 그들의 분포를 검출함으로써 결정될 수 있다. 따라서 샘플 내에서 특정 농도가 상호 작용하는 상이한 약제들을 정확하게 감지하여, 서로에 대한 각각의 영향에 개입하는 것이 가능하다. 이것은 약제 개발에 유의한 장점이다.
- [0061] 연구된 종양의 하위 유형을 식별하기 위하여, 다중-파라미터 종양 진단에서의 적용 방법은 예를 들어, 상이한 마커 물질이 상이한 항체에 결합되어 각각의 경우에 상이한 항체에 결합되도록 수행될 것이다. 이는, 최적의 요법은 종양의 하위 유형에 의존하기 때문에, 후속 요법에 대해 큰 이점이다. 특히 생체검사가 불가능한 경우 (예, 뇌의 호흡기 중심내의 종양)에, 하위 유형이 알려진 경우에 후속 요법에 결정적인 이점이 될 것이다.
- [0062] 본 발명의 중요한 특징은, 여기에서 제 1 및 추가 마커 물질로 지칭되는, 상이한 마커 물질로 XFI를 적용하는 것으로 구성된다. 다양한 마커 물질은 본질적으로, 예를 들어 그 내부에서, 각각의 경우에 상이한 형광 요소 (X-선 형광 요소)에 의해 상이하며, 이는 상이한 형광 라인을 초래한다. 더 중요한 특징으로서, 비-기능화된 상태, 즉 결합된 활성 물질이 없이, 상이한 마커 물질들은 샘플에 대한 동일한 생물학적, 화학적, 생리학적 및/또는 물리적 효과를 갖도록, 즉 샘플에 대해 동일하도록 샘플과의 상호 작용과 관련하여 동일할 수 있다. 비-기능화된 상태에서, 따라서 마커 물질은 주변으로부터, 특히 생물학적 및/또는 화학적으로 구별할 수 없다.
- [0063] 또한, 마커 물질의 형광 라인은, 유한 스펙트럼 분해능(에너지 분해능)을 갖는 검출기가 마커 물질의 X-선 형광 배출의 측정된 X-선 스펙트럼내의 각각의 X-선 형광 요소를 구별할 수 있는 정도로 다르다. 마커 물질의 X-선 형광 요소는 바람직하게는, 측정된 X-선 스펙트럼 내의 이들 라인을 검출기 장치가 구별할 수 있도록, 상기 요소의 K- 및 L- 알파/베타 라인이 스펙트럼 간격을 갖도록, 선택된다. 또한, 마커 물질의 X-선 형광 요소는 바람직하게는 동일하거나 상호 유사한 형광 확률 (유효 단면) 및 샘플을 통한 전송 뿐만 아니라 비슷한 최소 배경 노이즈 레벨을 갖는다.
- [0064] 이러한 특징은 예시의 방법에 의해, 아래에 인용되는 요소에 대해 충족되며, 바람직하게는 사용되는데, 여기서 주기 시스템에 인접한 두 개 요소들의 K-알파 라인들이 전형적으로 중첩되지만 둘은 더 이상 그렇지 않으므로, 스펙트럼에서 별도로 나타난다. 네 개의 라인 모두 유사한 에너지를 갖고 따라서 샘플 내에서 유사하게 흡수되기 때문에, 네 개의 라인 모두 동일하거나 비슷한 정도의 정확도로 측정될 수 있다.
- [0065] X-선 형광의 스펙트럼상 분해된 검출은 마커 물질의 형광 라인의 부가적 중첩을 갖는 X-선 스펙트럼을 제공한다. 형광 라인의 개별적인 정량적 기여는 수치 디컨볼루션에 의한 및/또는 미리 정해진 기준 측정과의 비교에 의한, X-선 스펙트럼으로부터 결정될 수 있다. 마커 물질의 추구 수량 값 (예, 농도, 절대 물질 양 및/또는 상이한 마커 물질의 상대 유병률)은 형광 라인의 정량적 기여로부터 기인한다. 모든 유형의 마커 물질이 X-선 부피 내에 존재하더라도, 모든 X-선 형광 요소의 X-선 형광 라인이 스펙트럼 내에서 서로 명확하게 구별될 수 있기 때문에, 그것의 상대 유병률은 X-선 스펙트럼으로부터 결정될 수 있다.
- [0066] 실제로, 샘플에 대한 최적화는 X-선 방사선의 상이한 조사 광자 에너지에서 배경 노이즈의 수치 시뮬레이션 및/또는 시험 측정에 의해 수행될 수 있다.
- [0067] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시예에 따르면, 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 배출은 X-선 방사선의 공통 들뜸 빔 (또는 질의 빔)을 사용하여 들뜨고 동시에 검출된다. 유리하게는, 샘플의 방사선 노출 및 방법의 지속 시간이 그것에 의해서 최소화된다.
- [0068] 본 발명의 대안적인 실시예에 따르면, 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 X-선 형광 배출은 각각의 경우에 X-선 방사선의 상이한 들뜸 빔을 사용하여 동시에 또는 순차적으로 들뜨고 검출된다.
- [0069] 흥분되고 검출되고, 여기서 빔은 다른 에너지 (조사 광자 에너지)를 갖는다. 이러한 실시예의 경우, 예를 들어

샘플 상에 지시된 복수의 소스는 동시에 또는 순차적으로 (예, 직접 연속적으로) 상이한 에너지에서 작동한다는 점에서, X-선 방사선 소스 장치는 X-선 방사선의 다중 들뜸 빔을 생성하도록 구성된다. 각각의 경우에, 마커 물질의 X-선 형광 요소의 흡수에 들뜸 빔의 에너지를 적응함으로써 이점이 발생할 수 있다. 동시의 들뜸 및 검출은 방법의 지속 시간의 최소화와 관련하여 이점을 갖는다. 순차적 들뜸 및 검출은 상이한 마커 물질이 들뜨고, 관련 형광은 단계적인 방식으로, 바람직하게는 직접 연속적으로 검출된다. 이 변형에서, 마커 물질을 직접 검출하는 것에 대한 이점은 연속적으로 기록된 그것의 X-선 스펙트럼에 기인하다.

[0070] 본 발명의 추가 이점은, 나노입자 (또는 타겟 입자) 및 마커 분자를 포함하는, 상이한 유형의 마커 물질이 이용 가능하다는 것이다. 제 1 및 각각의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 복수의 나노입자 및/또는 복수의 마커 분자를 포함한다. 나노입자는 2 nm 로 부터 100 nm 이상으로의 범위 내의 전형적인 치수를 갖는 입자이며,

[0071] 그 표면은 리간드 및/또는 활성 물질 분자의 결합에 적합하거나 의도적으로 준비된다. 마커 분자는 X-선 형광 요소를 함유하고 활성 물질 분자의 결합에 적합한 단일 분자 또는 분자 응집체이다. 특정 X-선 형광 요소를 갖는 마커 물질의 모든 부분이 독점적으로 나노입자로 구성 또는 독점적으로 마커 분자로 구성되거나, 마커 물질은 동일하거나 상이한 X-선 형광 요소를 함유하는 나노입자 및 마커 분자를 포함하는 것이 가능하다.

[0072] 나노입자 형태의 마커 물질은 활성 물질의 결합에 대해 특별한 이점을 갖는다. 활성 물질 분자가 결합될 수 있거나 자체적으로 활성 물질로 사용되는 리간드는 나노입자의 표면 상에 결합된다. 활성 물질 분자는 나노입자의 표면에 위치한다. 선택적으로, 활성 물질 분자는 또한 입자의 내부에 배열될 수 있다. 이 경우, 나노입자는 기존의 약물 캐리어 기술에서와 같은 활성 물질 캐리어를 유리하게 형성한다. 따라서 상이한 마커 물질 (체내 어디에서 어떤 리간드 도킹하는지 연구할 수 있도록)을 제공하기 위하여, 상이한 리간드 분자가 표면에 결합하는 나노입자가 사용되는 것이 가능하고, 동시에 동일한 또는 다른 활성 물질 분자가 내부에 배열된다. 그러나, 대부분의 응용에서 입자 표면상의 리간드 분자는 동시에 활성 물질을 형성한다.

[0073] 상이한 나노입자로 구성된 마커 물질은 예를 들어, 기능화되지 않은 제 1 복수의 나노입자들 (또는 그룹 또는 유형의 나노 입자들) 및 각각의 경우에 조사될 하나 이상의 사전 결정된 약제가 결합된 하나 이상의 추가의 복수의 나노 입자를 포함한다. 동시에 또는 순차적으로 한 번의 측정으로, 상기 마커 물질을 갖는 다중-파라미터 XFI는 비-기능화된 나노입자의 국소 농도 및 기능화된 나노입자의 국소 농도를 얻고, 여기서 농도의 차이는 기능화된 나노입자가 결합된 약제에 기인할 수 있는데, 이는 두가지 유형의 나노입자들은 바람직하게는 샘플에 대해서 활성 물질 또는 리간드 분자에 의해서만 상이하기 때문이다. 또 다른 변형에서, 제 3 유형의 나노입자는 제 2 약제로 기기능화될 수 있다. 이러한 다중-파라미터 XFI 변형은, 비-기능화된 나노입자의 기본 분포가 기능화된 나노입자의 측정 된 농도로부터 제거되고, 심지어 두 가지 상이한 약제가 공정에서 구별되는 것을 가능하게 한다. 상응하는 방법은 또한 나노입자 대신 마커 분자를 포함하는 마커 물질을 사용하여 구현 될 수 있다.

[0074] 나노입자는 독점적으로 하나의 X-선 형광 요소 (선택적으로 화합물 내의) 또는 하나의 X-선 형광 요소 (선택적으로 화합물 내의) 및 하나 이상의 추가 요소의 조성으로 구성된 입자이다. 따라서, 본 발명의 변이에 따르면, 각 유형의 나노 입자는, 선택적으로 비 형광 요소를 갖는 조성물 내에 복수의 X-선 형광 요소들 중 하나를 독점적으로 함유할 수 있다. 본 발명의 대안적 변형에 따르면, 제 1 마커 물질은 제 1 유형의 나노입자를 포함할 수 있는데, 이 나노입자는 주로 제 1 X-선 형광 요소를 함유하고, 하나 이상의 추가 마커 물질은 하나 이상의 추가 유형의 나노입자를 포함할 수 있는데, 각각의 경우에 이 나노입자는 주로 하나 이상의 추가 X-선 형광 요소를 함유한다. 따라서, 나노입자는 각각의 경우에 둘 이상의 X-선 형광 요소를 함유할 수 있으며, 이 중에서 하나의 X-선 형광 요소는 각각의 경우에 형광 라인이 검출되기에 결정적이다. 이것은 아래에 언급된, 예를 들어 코어-셸 구조의 경우에서, 나노입자의 설계에 대한 장점을 가질 수도 있다.

[0075] 본 발명의 추가 유리한 실시예에 따르면, 제 1 유형의 나노입자는 샘플과 화학적 및/또는 물리적 상호 작용을 갖는 제 1 유형의 활성 물질 분자를 운반할 수 있지만, 각각의 경우에 각각의 추가 유형의 나노입자는 또 다른 유형의 활성 물질 분자를 운반하는데, 활성 물질 분자는 제 1 유형에서 벗어나거나 활성 물질 분자를 운반하지 않는 샘플과 화학적 및/또는 물리적 상호 작용을 가질 수도 있다. 특히 바람직하게는, 각각의 유형의 나노입자는 하나의 특정한 유형의 활성 물질 분자를 독점적으로 전달한다. 이것은 유리하게 XFI의 결정성을 증가시킨다. 유리하게도, 따라서 나노입자는 특정 XFI 조사 작업에 적응하는 경우 높은 수준의 유연성을 제공한다.

[0076] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시예에 따르면, 적어도 하나의 유형의 나노입자는 입자 코어 및 입자 덮개 층 (하이브리드 나노입자)을 포함하는 코어-셸 구조를 가질 수도 있다. 코어-셸 구조는 이롭게는 나노입자의 첫째 X-선 형광 배출에 관한, 둘째로 주변 환경과의 상호 작용에 관한, 두 기능을 분리할 수 있게 한다. 따라서, 입자 코어는 각 유형의 나노 입자의 원하는 형광 라인을 갖는 X-선 형광 요소로부터 생성될 수 있는 반면, 입자

덮개 층은 코어로부터 상이한 재료로부터 생성되고, 리간드 및/또는 활성 물질 분자를 결합하고 샘플과의 미리 정해진 생물학적 및/또는 화학적 상호 작용을 제공하기 위해 표면을 형성한다. 입자 덮개 층은 형광 또는 비-형광 요소로부터 생성될 수 있다.

[0077] 본 발명의 바람직한 변형들에 따르면, 입자 덮개 층은 금속, 특히 금, 비-금속 물질, 특히 중합체 또는 리포솜 물질 또는 미셀 물질로 형성된다. 나노 입자와 활성 물질의 결합 화학은 특히, 금속 나노입자, 특히 금 나노입자를 사용하여 지금까지 연구되어왔기 때문에, 코어-셸 구조를 갖는 나노입자는 바람직하게는 금과 유사한 원자 번호를 갖는 입자 코어에서 X-선 형광 요소를 갖으며 (샘플 밖에서, 높은 정도의 감도에서 이러한 광자를 측정하기 위하여, X-선 형광 요소는 유사하게 높은 에너지 범위 내에 있도록), 입자 코어는 활성 물질 (리간드)의 결합을 위해 바람직하게는 금속 레이어, 특히 금 레이어로 덮힌다. 입자 덮개 층의 두께는 바람직하게는 예를 들어 입자 직경의 1/4 또는 그 이하이다. 따라서, 다른 X-선 형광 요소와 비교하여 금의 부피율은 무시해도될 정도이므로, XFI 신호는 거기에 입자 코어의 X-선 형광 요소들만 있는 것처럼 보인다. 대안적으로 다양한 X-선 형광 요소로부터 나노입자를 생산하고, [5]에서 예를 들어 설명된 바와 같이, 덮개 층을 위해 금속 대신에 중합체를 사용하는 것이 가능하다. 그때 상응하는 리간드, 즉, 예를 들어 약제 또는 항체는, 상기 중합체 입자 덮개 층에 결합될 수 있다. 중합체 레이어 나노입자는 또한 특정한 적용 조건 (예, 연구된 약제의 크기 및 양)에 따라, 그 안에 사용된 모든 나노입자가 유사한 감도 (관련 배경의 신호 강도 대 통계적 노이즈 비율)를 갖는 다중-파라미터 XFI를 구현하기 위해, 적합한 내부 X-선 형광 요소와 결합될 수 있다.

[0078] 특히 바람직하게는, 다양한 마커 물질의 모든 나노입자는 코어-셸 구조를 가지며, 여기서 다양한 마커 물질의 입자 코어는 상이한 X-선 형광 요소로 만들어지고, 모든 마커 물질의 입자 덮개 층은 동일한 요소로 만들어지는데, 이는 활성 물질 분자 및 리간드 분자 중 하나 이상이 결합 될 수도 있다. 선택적으로, 복수의 마커 물질의 하나의 마커 물질의 입자는 나머지 마커 물질의 입자 덮개 층을 형성하는 요소로 완전히 형성될 수 있다.

[0079] 바람직한 설계에 따르면, 나노입자는 외부에서 구별할 수 없으며, 내부 상에 다른 요소를 포함하며, 여기서 바람직하게는 동일한 크기를 갖는다. 코어-셸 구조를 갖는 나노입자는 바람직하게는 외부 상에 입자 덮개 층을 갖는데, 이는 동일한 물질로 형성되고 바람직하게는 동일하다. 따라서 그것들은 다르게 기능화되지 않으면, 샘플에 의해, 특히 연구된 생물학적 유기체의 바디에 의해 구별될 수 없다. 내부에서, 상기 나노입자는 상이한 요소를 포함하는데, 그것의 X-선 형광 에너지는 다르다. 따라서 측정된 XFI 스펙트럼에서, 상이한 나노입자 유형들을 서로 구별하고, 동시에 각각의 농도를 결정하는 것이 가능하지만, 기능화를 제외하고는 샘플에 의해 구별할 수 없다.

[0080] 본 발명의 특히 바람직한 실시예에 따르면, 각각의 경우의 나노입자는 X-선 형광 요소로서, 특히 입자 코어 내에, 이리디움 또는 백금 또는 금 또는 비스무트를 함유한다. 유사하지만 구별가능한 X-선 형광 에너지 때문에, 이들 요소들은 비슷한 수준의 감도에서 유리하게 검출될 수 있다. 결과적으로, 예를 들면 생물학적 유기체의 체내에서 최대 네 개의 상이한 약제, (면역) 세포 유형 및/또는 서브-유형-특정 항체가 동시에 추적될 수 있다. 대체 변이에 따르면, 나노입자는 각각의 경우에 상이한 X-선 조영제 분자를 함유할 수 있다. 유리하게도, 요오드 또는 바륨 또는 가돌리늄과 같은 X-선 조영제 분자는 실제로 널리 사용 가능하고 흡수 거동과 관련하여 잘 연구되고 있다. 요오드와 바륨은 특히 작은 동물의 영상화에 선호된다. 은, 팔라듐 인듐, 카드뮴 또는 요오드로 만든 나노입자 또한 작은 동물에 대한 이미징에 유리하다.

[0081] 본 발명의 또 다른 바람직한 실시예에 따르면, 상이한 나노 입자, 즉, 상이한 X-선 형광 요소를 갖는 상이한 마커 물질이 각각의 경우에 상이한 나노입자 크기인 경우, 다중-파라미터 XFI에서 추가의 자유도가 제공된다. 결과적으로, 유리하게 XFI의 결정성이 더욱 증가하고, 및/또는 샘플에서 나노 입자의 거동이 조사되는 것이 가능하다. 예를 들어, 관례적으로 상이한 크기의 나노입자가 상이한 동역학을 가질 수 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 최대 네 가지 크기를 포함하는 나노입자의 분포는 X-선 형광을 통해 검출 될 수 있을 것이다. 이 경우에, 전형적인 크기는 직경 2 nm 내지 5 nm, 6 nm 내지 10 nm, 11 nm 내지 20 nm, 및 21 nm 내지 50 nm의 직경 간격이 되도록 선택된다. 상이한 크기의 나노입자는, 바람직하게는 단지 크기, 크기에 따라 상응하는 X-선 형광 요소는 단지 크기에 따라서만 변화되도록, 동일한 표면 유형을 갖는다.

[0082] 대안적으로 또는 추가로, 상이한 마커 물질의 나노입자는 샘플 안으로의 공급과 관련하여 상이할 수 있다. 예를 들어, 샘플 내의 마커 물질의 분포에 대한 다중-파라미터 XFI를 사용하여, 예를 들어 나노입자의 구강 및 정맥 공급과 같은 상이한 투여 경로의 효과를 사용하여 조사할 수 있다.

[0083] 마커 분자 형태의 마커 물질은 샘플의 수송에 특별한 이점을 갖는다. 마커 분자는 나노입자보다 유의하게 작으므로, 샘플에서의 그들의 수송은 샘플, 특히 생물학적 유기체에서 분자 질량 전달과 더 유사하다.

바람직하게는, 제 1 마커 물질은 제 1 X-선 형광 요소를 함유하는 제 1 유형의 마커 분자를 포함하고, 각각의 경우에 각각의 추가 마커 물질은 추가 유형의 마커 분자를 포함하며, 이는 각각의 경우에 하나 이상의 추가 X-선 형광 요소를 함유한다.

[0084] 본 발명의 또 다른 유리한 실시예에 따라서, 제 1 마커 물질이 제 1 X-선 형광 요소를 함유하는 나노입자를 포함하고, 하나 이상의 추가 마커 물질은 각각의 경우에 하나 이상의 추가 X-선 형광 요소를 함유하는 마커 분자를 포함하는 경우에, XFI의 새로운 응용에 대한 이점이 달성된다. 예를 들어, 상이한 나노입자를 갖는 복수의, 예를 들면 네 개의 마커 물질이 조영제 분자 형태로 마커 분자로 만들어진 하나 이상의 추가 마커 물질에 결합되는 것이 가능하다.

[0085] 예를 들어 세 개의 상이한 나노입자로 세 개의 상이한 유형의 면역 세포를 결합하고, 형광 마커 분자가 결합된 약제를 추가로 연구하는 것이 가능하다. 각각의 경우에 상이한 나노입자를 갖는 상이한 면역 세포 유형의 마킹은, 예를 들면 셀의 사전 제거 및 나노 입자의 후속 로딩 및 샘플 내로의 도입에 의해, 또는 각각의 경우에 체내에서 특정 상이한 면역 세포 유형에 결합하도록 기능화된 나노입자를 사용함으로써, 수행된다. 약제는 면역 세포와 다른 반면에, 면역 세포에 대한 나노입자는 세포 및 샘플에 대해 구별될 수 없어야 한다. 즉, 이러한 경우에 약제는 반드시 나노입자에 결합될 필요는 없다. 이러한 적용은 크론병과 같은 면역 기반 질환 연구에서 특별한 이점을 가질 수도 있다. 상이한 면역 세포 유형의 분포와 약제의 분포는, 체내에서 약제의 효과를 연구하기 위해, 동시에 측정될 수 있다. 이 경우에, 효과는 약제가 염증 영역에서 면역 세포 유형, 예를 들어 염증을 완화한 다음 더 자주 나타나는 면역 세포 유형의 유병률을 변화시킬 수도 있다.

[0086] 나노입자 및 마커 분자 모두가 각각의 경우에 상이한 마커 물질로 사용되는 본 발명의 또 다른 유리한 적용은 약물 캐리어로 알려진 것이다. 예를 들어, 각각의 경우에 상이한 나노 입자를 갖는 두 개의 상이한 마커 물질을 사용하는 것이 가능한데, 그 중 하나의 나노입자 그룹은 비-기능화되고, 다른 나노입자 그룹은 타겟 구조 상에 도킹하려는 소정의 리간드로 기능화된다. 이 경우, 두 나노입자 모두 약물 캐리어로서의 역할을 할 수 있으며, 즉, 내부에 분자 기반 마커가 현재 결합된 실제 약제를 갖는다. 다중-파라미터 XFI 에 의해서, 나노입자가 약물 캐리어로서 어디서 및 선택적으로 언제 부하를 방출하는 지를 결정하는 것이 가능하다. 예를 들어 약제의 분포가 나노입자의 분포와 상응하지 않는 경우, 조기 방출이 식별될 수 있다. 비-기능화된 나노입자의 분포와 리간드를 운반하는 것들을 비교하면 어떻게 리간드가 구체적으로 타겟 위치를 찾는지를 알 수 있다. 만약 두 분포가 모두 동일하다면, 약물 캐리어는 표적화된 방식이 아니라 오히려 우연하게 타겟 위치에 도착하는 것으로 밝혀질 것이며, 이는 실제로 리간드에 의해 달성되어야 하는 것이다.

[0087] 마커 분자는 바람직하게는 활성 물질 분자에 결합되며, 여기서 마커 분자는 각각의 경우에 제 1 및 하나 이상의 추가 X-선 형광 요소 중 하나를 포함한다. X-선 형광 요소는 배경 노이즈 레벨이 상당히 감소 될 수 있는 특히 지르코늄으로부터 세프까지 중간 정도의 무거운 원소 또는 이리듐, 백금, 금 및 비스무트와 같은 무거운 원소를 포함한다. 이 두 그룹의 요소는, 유사하고 이미 잘 연구된 형광 특성들로 인한 장점이 있으며, 약제 또는 리간드 분자에 쉽게 결합될 수 있다.

[0088] 본 발명에 따르면, 마커 물질의 공간적 및/또는 시간적 분포가 결정될 수도 있다. 이 경우, 측정이 공간적으로 및 시간적으로 분해되고, 샘플 내의 제 1 마커 물질 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 공간 분포의 시간 함수가 결정되는 본 발명의 바람직한 실시예는 특히 유리하다. 이 실시예는 샘플 내로의 도입으로부터 샘플 내의 결합에 이르기까지, 샘플 내에서 마커 물질의 수송에 관한 특히 높은 수준의 결정성을 갖는다.

[0089] 바람직하게 구현되는 추가 특징에 따르면, 마커 물질을 들뜨게하는 X-선 방사선의 조사 광자 에너지 및 마커 물질의 X-선 형광 특성은 바람직하게는, X-선 방사선의 조사 광자 에너지가 모든 마커 물질의 X-선 형광 요소의 흡수 엣지 위에 있도록 선택되고, 모든 마커 물질의 X-선 형광 요소는 형광 확률, 샘플 내의 X-선 형광의 감쇠 및 형광 확률 및 샘플 내의 신호-배경 노이즈 레벨을 나타내는데, 이는 동일한 농도에서 X-선 형광의 검출이 유사한 신호 강도를 야기하는 정도로 동일하거나 유사하다. 이 기능은 유리하게 검출된 X-선 스펙트럼으로부터 직접 상이한 마커 물질의 상대 유병률을 보다 쉽게 결정할 수 있게한다. 예를 들어, 복수의 마커 물질 중 하나가 다른 마커 물질보다 농도가 유의하게 낮아질 수 있는데, 이는 예를 들어, 이들 나노입자상의 리간드는 샘플 내의 타겟 구조들에만 어렵게 결합하기 때문이다. 이러한 거동은 검출된 X-선 스펙트럼으로부터 직접 비슷한 감도에서 X-선 형광을 검출하는 경우에 관찰될 수 있다. 모든 마커 물질이 동일하거나 비슷한 면적 밀도를 갖는 경우, 신호는 비슷한 강도를 갖는다.

[0090] 본 발명의 바람직한 적용에 따르면, 조사된 샘플은 인간 또는 동물 대상, 또는 그것의 신체 부분이다. 마커 물질은 사전에 예를 들면 구강 또는 다른 투여 또는 주입에 의해 피험자 내로 도입된다. 제 1 및 하나 이상의 추

가 마커 물질은 각각의 경우에 상이한 방식으로 샘플 내로 도입될 수 있다. 피험자의 신체 내로 주입에 의해 마커 물질의 도입을 포함하는 준비 단계는 본 발명의 일부가 아니다.

[0091] 본 발명의 또 다른 유리한 적용에 따르면, 활성 물질은 생물학적 세포, 생물학적 세포에 결합되는 제 1 및 하나 이상을 포함하고, 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질의 분포 결정은 샘플을 통한 생물학적 세포의 수송의 검출을 포함한다. 결과적으로, 예를 들어, 샘플을 통한 상이한 면역 세포의 수송이 결정되는 것이 유리하게 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0092] 본 발명의 본 발명의 추가적인 세부사항 및 이점은 첨부된 도면을 참조하여, 다음과 같이 설명될 것이다.

도 1 : 본 발명의 실시예에 따른 X-선 형광 이미징을 위한 이미징 장치의 개략도이다;

도 2 : 본 발명의 실시예에 따른 X-선 형광 이미징을 위한 방법의 흐름도이다;

도 3 : X-선 형광 이미징에 대한 본 발명에 따른 방법에 사용될 수 있는 마커 물질의 예를 보여준다;

도 4 : 본 발명의 실시예에 따른 마커 물질 키트의 개략도이다;

도 5 : 생물학적 세포에서 두 개의 상이한 X-선 형광 요소의 X-선 형광 배출을 설명하기 위한 측정된 X-선 스펙트럼을 보여준다;

도 6 : 샘플에서 네 개의 상이한 X-선 형광 요소의 X-선 형광 배출을 설명하기 위한 측정된 X-선 스펙트럼을 보여준다; 그리고

도 7 : 두 개의 상이한 에너지에 대한 샘플에서 X-선 형광 요소의 X-선 형광 배출을 설명하기 위한 시뮬레이션된 X-선 스펙트럼을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0093] 본 발명의 바람직한 실시예의 특징은, 예를 들어, 특정 X-선 형광 요소와 함께, 인간 피험자에 대한 XFI에 대해 아래에서 설명된다. 실제로 본 발명의 구현은 명시된 예에 국한된 것이 아니라, 오히려 인간 피험자의 일부, 합성 생물학적 객체, 동물 대상 또는 그것의 일부와 같은 다른 샘플을 사용하여 상응하는 방식으로 가능하다는 것이 강조된다. 본 발명의 실시예는 특히, 마커 물질의 구성의 중요한 특징, XFI의 실행 및 이미징 장치의 구조에 관하여 다음과 같이 기술된다. 이미징 장치의 추가 특징은 예를 들어 [1]에 기술된 바와 같이 구현될 수 있다. [1]은 이미징 장치의 구조 및 기능과 관련하여, 본 원 개시에 참조로 통합된다. 나노입자의 기능화, 나노입자와 활성물질의 결합, 리간드의 선택, 활성 물질과의 마커 분자의 결합, X-선 형광의 스펙트럼 및 공간적으로 분해된 검출, 및 복수의 형광 라인으로 구성된 중첩된 스펙트럼의 분석의 세부사항은, 종래 기술로부터 자체로 알려지는 한, 기술되지 않는다. 마커 물질의 농도는 종래의 XFI로부터 그 자체로 알려진 바와 같이 선택될 수 있다.

[0094] 도 1은 칩대와 같은, 샘플 홀더 101에 배열된 인간 피험자와 같은 샘플 10의 연구를 위한 X-선 형광 이미징을 위한 이미징 장치 100의 실시예의 특징을 개략적으로 보여준다. 도 2는, 마커 물질 공급 (S1), 샘플에 대한 X-선 방사선 조사 (S2), X-선 형광의 검출 (S3), 및 검출된 X-선 형광으로부터의 마커 물질 분포의 결정 (S4)을 포함하는 이미징 장치 100을 사용하여 본 발명에 따른 방법의 단계를 개략적으로 보여준다.

[0095] 또한, 도 2는 조사 광자 에너지 및 마커 물질의 선택을 포함하는 단계 S0을 보여준다. 단계 S0이 한 번 수행되는 것으로 충분한가, 예를 들어 특정한 종 및 크기의 작은 동물에 대해 동일한 산란 특성을 갖는 고려된 샘플 또는 샘플 그룹에 대해, 본 발명에 따른 방법의 구현과 별도로 수행되는 것이 충분한가. 대안적으로, 단계 S0은 본 발명에 따라 방법의 각각의 실행의 일부로서 제공될 수 있다.

[0096] 선택은 예를 들어 도 7의 예시에 의해 도시된 형광 스펙트럼에 기초하여, 다음의 고려 사항하에서 이루어진다. 세부적으로, 도 7은 단색 X-선으로 들뜸 후에, 첫 번째로 예를 들어 85 keV의 조사 에너지에 대한, 두 번째로 예를 들어 53 keV의 조사 에너지에 대한 두 개의 시뮬레이션된 스펙트럼의 직접 비교를 나타낸다. 첫 번째 경우, 예를 들어 금 나노입자가 들뜰 수 있지만 (약 81 keV에서 K 엡지), 약 65 keV 정도의 높은 피크 영역에서 형광 라인을 갖고, 피크는 단발성으로 산란된 광자에 기인한다. 이에 대조적으로, 53 keV 스펙트럼은 약 15 및 28 keV 사이의 범위에 있는 중간 정도의 중원소들의 형광 라인에서 현저한 배경 최소를 나타내는데, 이는 들어오는 광자는 일반적으로 5 배 이상 산란해야 하기 때문이다. 85 keV 스펙트럼은 또한 동일한 에너지 범위에서 최소값을 나타내지만, 이는 더 높고, 높은 조사 에너지는 중간 정도의 중원소의 형광에 대한 더 작은 수율을 의

미할 것이다.

- [0097] 따라서, 중간 정도의 중원소의 마커 키트의 경우, 낮은 조사 에너지가 더 효율적이고, 금의 중원소의 경우 더 높은 에너지가 선호된다. 빔 방향에 대한 검출기 위치의 변동 (이 경우 150°)은 배경 범위의 최소값이 약간 더 확장되게 할 수 있지만, 최소값의 레벨에 대한 결정적인 파라미터는 조사 에너지이다.
- [0098] 귀들에 대한 XFI의 특정예에서, 제 1 마커 물질에 대하여 요오드는 X-선 형광 요소로서, 53 keV 는 조사 광자 에너지로서 선택될 수 있다 (도 7 참조). 53 keV의 조사 광자 에너지는 33 keV의 요오드 엷기보다 상당히 높다. 다중 산란 후, 요오드의 X-선 형광의 에너지 범위 (약 29 keV)내로 떨어지는, 들어오는 광자는 복수의 연속적인 콤프턴(Compton) 산란, 특히 대략 5 개의 콤프턴 산란을 수행해야 한다. 앞의 산란 후에 각각의 추가 콤프턴 산란이 있을 때, 전체 확률이 감소하여 배경이 최소화된다. 동시에, 53 keV에서 들뜨면, 요오드는 충분히 높은 형광 확률을 갖는다. 이러한 예에서, 인듐과 같은 PTE의 요오드와 가깝게 인접한 요소는 추가 마커 물질로서 제공되며, 이는 53 keV의 동일한 조사 광자 에너지에서 들뜨다.
- [0099] 마커 물질 및 조사 광자 에너지의 선택은, X-선 방사선의 조사 광자 에너지가 샘플내의 모든 마커 물질의 가장 높은 흡수 엷기로부터 떨어져 있고, 동시에 마커 물질의 배경 노이즈 레벨이 최소화되고 유효 단면이 유사하도록, 예를 들어, 상기 언급된 최적화에 따라 샘플 및/또는 테스트의 산란 거동의 시뮬레이션에 의해 수행된다.
- [0100] 더 큰 샘플에 대한 XFI의 추가 예에서, 예를 들어 금 및 백금과 같은 PTE의 금과 인접한 요소는, X-선 형광 요소로서 사용될 것이며, 예를 들어 85 keV의 X-선 방사선의 조사 광자 에너지가 사용될 것이다.
- [0101] 단계 S1은 예를 들어, 마커 물질의 구강 전달 및/또는 주입을 포함하고, 만약 생물학적 바디에 대한 개입이 제공되는 경우, 본 발명의 일부가 아닌 것으로 간주 될 수 있다.
- [0102] 이미징 장치 100는 X-선 방사선 소스 장치 110를 포함하며, 이는 X-선 방사선 1 (단계 S2)으로 샘플 10을 조사하기 위해 구성되고, 예를 들어 50 keV 또는 100 keV의 광자 에너지를 배출한다. X선 방사선 소스 장치 110은, 예를 들면 [8]에 기재된 바와 같이, 콤팩트 레이저 기반 톰슨(Thomson) 소스 (상대론적 전자에서의 톰슨 산란에 근거해 X-선 방사선을 발생시키는 X-선 방사선원)인 것이 바람직하지만, 싱크로트론 소스 또는 일반적으로 X-선 소스, 예를 들면 X-선 튜브를 포함할 수도 있는데, 이는 특히 마커 물질의 X-선 형광 요소의 K 엷기 위의 에너지 범위에서 충분히 낮은 발산 및 높은 강도를 갖는 X-선 방사선을 발생시키며, 위에서 설명한 조사 에너지의 최적화 개선을 위해 가능한 한 단색이어야 한다.
- [0103] X-선 방사선 1은 조사될 샘플 10의 전체 단면을 덮는 직경을 갖는 평행 방사선 빔의 형태로 발생할 수도 있다. 이 경우, 샘플의 모든 영역은 동시에 조사되고, 그 안에 존재하는 마커 물질은 X-선 형광 2에 들뜨다. 대안적으로, X-선 방사선 1은, 특히 샘플의 단면보다 직경이 작고 빔 방향에 가로인, 펜슬 빔으로서 생성될 수 있으며, 샘플 10에 대해 X-선 광학 (표시되지 않음)에 의하여 움직일(스캔될) 수 있다. 이 경우, 샘플의 영역은 연속적으로 조사 ("스캔")되고 그 안에 존재하는 마커 물질은 X-선 형광 2에 들뜨다. 샘플 10에 대한 펜슬 빔의 스캐닝 움직임은 샘플 10에서 마커 물질의 전형적인 수송 시간과 비교하여 무시해도될 정도의 스캐닝 지속 시간 내에 발생할 수 있으므로, X-선 방사선 1의 스캐닝의 경우에 X-선 형광 2의 스냅 샷 또한 효과적으로 획득된다.
- [0104] 이미징 장치 100은 샘플 10에서 마커 물질의 X-선 형광 2의 스펙트럼상 및 공간적으로 분해된 검출을 위해 배치된 검출기 장치 120를 추가로 포함한다 (단계 S3). 검출기 장치 120는, 각각의 경우 X-선 형광 2의 X-선 스펙트럼을 획득하는 복수의 검출기 요소 (표시되지 않음)를 포함한다. 샘플 10에서 소정의 기하학적 부분을 덮는 상응하는 고체 각도 범위는, 개별 검출기 요소의 분광기 또는 검출기 요소 그룹에 의해 제한될 수 있다. 검출기 장치 120는 예를 들어 [1]에 기재된 바와 같이 구성된다. 분광기는 검출기 장치와 샘플 사이에 배열될 수 있으며, 이는 [7]에 기재된 바와 같이 분광기가 산란 된 방사선을 감소시킬 수 있다.
- [0105] 도 1로부터 벗어난 방식으로, 검출기 장치 120는 단지 하나의 검출기 요소가 제공될 수 있으며, 이는 샘플 10에 관하여 움직일 수 있고 샘플 10에서 마커 물질의 X-선 형광 2의 스펙트럼상 분해된 검출을 위해 배치된다. 분광기가 검출기 요소의 입체각 범위에서 샘플의 특정 영역만 잘라내는 경우, 마커 물질의 공간 분포를 얻기 위해 샘플 10은 이동식 검출기 요소를 통해 샘플링 (스캔) 될 수 있다. 추가적인 대안에 따르면, 단일 검출기 요소는 샘플 10에 관하여 제자리에 고정되도록 배치될 수 있고, 샘플 10의 특정 부분에서 마커 물질의 X-선 형광 2의 스펙트럼상 분해된 검출을 위해 배치될 수 있다. 이 경우에도, X-선 형광 2는, 분광기가 사용되는 경우, 샘플 10, 예를 들어 기관의 정의된 부분에 공간적으로 제한되는 방식으로 획득된다.
- [0106] 대안적으로, 마커 물질은, 예를 들면 [7]에 설명된 바와 같이, X-선 빔 1에 의해, 분광기 없이 위치될 수 있다.

- [0107] 샘플 10은 X-선 방사선 1에 의해, X-선 형광 2에 들뜨는 상이한 X-선 형광 요소를 각각 갖는 두 개 이상의 마커 물질을 함유한다. 검출기 장치 120은 샘플 10의 미리 결정된 부분(기하학적 위치)과 관련된 각각의 경우이며 X-선 형광 요소의 형광 라인 3의 중첩을 함유하는 X-선 스펙트럼의 형태로 출력 신호를 전달한다(도 1의 스펙트럼 개략도 및 도 5 및 도 6의 예시 측정 참조).
- [0108] 이미징 장치 100은 검출기 장치 120의 출력 신호 (공간적으로 분해된 X 선 스펙트럼) 수신 및 검출된 X-선 형광 2로부터 샘플 10의 마커 물질의 공간 분포 4 결정을 위한 평가 장치 (130)를 포함한다 (S4 단계). 평가 장치 130는 예를 들어 검출 장치 120에 결합된 컴퓨터 장치를 포함한다. 평가 장치 130은 컴퓨터 프로그램을 실행하도록 구성되어 있으며, 이것에 의해 샘플 10의 기하학적 위치에서 형광 라인의 강도 및 이들로부터 마커 물질의 탐색된 분포 4는 검출 장치 120의 출력 신호로부터, 바람직하게는 사전에 결정된 배경 스펙트럼을 고려하여 결정된다.
- [0109] 마커 물질의 분포 4 (도1의 개략도 참조)는 예를 들어 이미지 (맵) 또는 표 값으로 출력된다. 마커 물질의 시간적 분포를 획득하면, 일련의 움직이는 이미지, 예를 들면 비디오 시퀀스는 출력이 가능하며, 이는 샘플 10에서 마커 물질의 움직임 및/또는 기간과 같은 샘플 10의 일부분 내의 하나 이상의 마커 물질의 측적을 나타낸다.
- [0110] 컴퓨터 장치는 선택적으로 추가로 이미징 장치 100의 컨트롤러로서, 특히 X-선 방사선 소스 장치 110 및/또는 검출기 장치 120을 제어 및/또는 모니터링하기 위한 이미징 장치 100의 컨트롤러로 제공될 수 있다.
- [0111] 샘플 10은 제 1 및 하나 이상의 추가 마커 물질을 함유하고, 이는 형광 라인 3의 측면에서 상이하고 도 3을 참조하여 예를 들어 다음과 같이 설명될 것이다. 도 3A 내지 3C는 나노입자 11, 12 형태의 제 1 유형의 마커 물질을 나타내는 반면, 도 3D 내지 3E는 마커 분자 14, 15 형태의 제 2 유형의 마커 물질을 나타낸다. 나노입자 (11, 12)는 구형이 될 수 있으며 (예시에서 나타나는 바와 같이), 예를 들면, 복수의 측면을 갖는 각진 형상, 및/또는 막대 형상처럼 상이한 모양 일 수 있다.
- [0112] 도 3의 A에 따르면, 나노입자 11은 단일 X-선 형광 요소로부터 생성될 수 있으며, 특히 금 또는 백금과 같은 X-선 형광 요소만으로 구성될 수도 있으며, 예를 들어 10 nm의 직경을 가질 수도 있다. 도 3B에 따르면, 나노입자 12는 입자 코어 13 및 입자 덮개 층 14을 포함하는 코어-셸 구조를 가질 수 있다. 도 3A에 따른 나노입자 11과 마찬가지로, 입자 코어 13은 단일 X-선 형광 요소로부터 생성될 수 있으며, 특히 백금과 같은 X-선 형광 요소로만 구성될 수도 있다. 입자 덮개 층 14은 입자 코어 13으로 부터의 상이한 물질, 예를 들면 금 또는 중합체로 구성된다([5] 참조). 입자 덮개 층 14은 예를 들어 2 nm의 두께를 갖는다. 도 3C에 따르면, 코어-셸 구조 및/또는 입자 덮개 층을 갖는 나노입자 12는 기능화 될 수 있고, 즉, 그것의 표면에 리간드 및/또는 활성 물질 분자가 제공된다. 리간드 및/또는 활성 물질 분자는 삼각형에 의하여 도 3c에 개략적으로 설명되며, 특히 전체 생물학적 세포를 포함할 수 있다.
- [0113] 각각의 마커 물질은 복수의 나노입자 11, 12를 포함하며, 그것이 물질 양은 샘플에서의 원하는 농도 및 검출기 장치 120를 사용하여 X-선 스펙트럼의 측정에서 원하는 민감도에 따라 선택된다. 나노입자의 X-선 형광 요소의 선택 및 선택적으로 나노입자의 기능화는 다음 고려 사항을 고려하여 구현된다.
- [0114] 원소의 주기율표(PTE)에서, 서로 가까이 위치한 요소는 생산 확률 및 X-선 형광의 감쇠와 관련하여 물리적으로 매우 유사한 특성을 갖는다. 방사된 X-선 광자의 주어진 에너지에서, 제 1 변수는 요소에만 의존한다. 따라서, 나노 입자의 X- 선 형광 요소는 PTE에 직접 인접해 있거나 너무 가깝기 때문에 모든 X- 선 형광 요소의 X- 선 형광이 비슷한 감도로 측정될 수 있다. 상이한 나노입자의 X-선 형광 요소는 예를 들어 둘 이상의 이리듐, 백금, 금 및 비스무트를 포함하는데, 이는 상기의 네 개의 중원소들이 PTE에서 서로 가깝기 때문이다 (Ir, Pt 및 금은 사실 직접 인접해있다). 따라서 그들의 거동은 매우 유사하며, 네 개 모두 XFI를 위해 동시에 사용될 수 있다. 또 다른 편리한 변형은 지르코늄에서 세륨까지 적당히 무거운 X-선 형광 요소일 것이다. 대조적으로, 예를 들어 일부 나노입자가 내부에 금으로 금으로 구성되고, 다른 나노입자가 요오드 화합물로 구성되도록, 두 개의 상이한 마커 물질의 나노입자를 형성하는 것은 바람직하지 않을 것이다. 두 개의 요소, 금과 요오드는 PTE에서 서로 멀리 떨어져 있어 조사 에너지가 금 엷지라고 알려진 것보다 높은 경우에만 X- 선 형광을 동시에 배출할 수 있다-만약 에너지가 상기 엷지 아래에 있다면, 금 X-선 형광은 들뜨지 않을 것이다. 그러나, 요오드 엷지는 이것으로부터 멀리 떨어져 있기 때문에, 요오드 형광이 생성될 확률도 상당히 감소한다. 또한 XFI의 배경 문제도 있다 - (다중) 콤프턴 산란은 실제 형광 라인의 신호 영역에서 X-선 스펙트럼 내의 강한 배경을 초래할 수 있으며([1] 및 [7] 참조), 요오드의 경우보다 금의 경우에 보다 상당히 높을 것이며, 따라서 전체적으로 두 요소는 비슷한 수준의 민감도에서 한 번에 측정될 수 없다.

- [0115] 샘플, 특히 대상체의 바디가 금과 백금 나노 입자를 구별할 수 없는 경우에 이것은 이로운데, 이는 둘 다 동일한 크기이고, 동일한 표면(예, 동일한 중합체 입자 덮개 층)을 갖고 있고, 동일하거나 매우 유사한 질량을 갖기 때문이다. 그러나, 예를 들어, 금 입자 덮개 층을 포함하는 백금 나노입자만이 기능화되지만, 금 나노입자는 비-기능화되지 않은 상태로 유지되며, 둘 다 샘플 내로 도입되는 경우에, 국소 농도의 측정 차이는 리간드의 작용으로 다시 추적될 수 있는데, 이는 두 개의 나노입자 유형은 그렇지 않으면 바디에 의해 구별할 수 없기 때문이다. 리간드가 체내에서 의도적으로 결합하는 경우에만, 백금 나노입자의 결합부위에서의 국부적인 농도는 비-기능화된 금 나노입자의 국부적인 농도보다 높아지며, 이는 기준농도의 역할을 하게 된다. 이러한 국소 농도 차이는 본 발명에 따른 XFI에 의해서 유리하게 측정될 수 있다. 이를 위해, 둘 모두의 나노입자 내부 X-선 형광 요소의 측정 민감도가 충분히 높고, 바람직하게는 동일하거나 매우 유사한 것이 특히 유리하다 (검출기 출력 신호의 평가에 대한 가능한 차이는 무시해도 될 정도이다).
- [0116] 나노입자 사용의 또 다른 변형은 이들이 내부에 증원소를 함유하지 않고 오히려 X-선 형광 요소, 예를 들어, 전산화 단층 촬영 (CT)에 대해 아래에 언급된 두 개의 조영제를 포함하는 보다 가벼운 분자를 포함하고 입자 덮개 층으로서 중합체 셸을 갖도록 하는 것을 가능하게 한다.
- [0117] 도 3E 및 3D는 약제 분자와 같은 활성 물질이 트리요오도벤젠(triiodobenzene)고리 또는 바륨 원자 고리와 같은 X선 형광 원소를 포함하는 더 작은 복합체와 같은 마커 분자 15, 16에 직접 연결되는 본 발명의 변형과 관련이 있다. 트리요오도벤젠 및 바륨은 유리하게 이용가능한 CT 조영제이며, 여기서 두 요소, 요오드와 바륨은 PTE내에 가깝게 배열되어 있다. 따라서 마커 분자를 포함하는 다중-파라미터 XFI는 상이한 X-선 형광 요소를 포함하는 X-선 형광 요소 복합체를 사용하며, 여기에 예를 들어 상이한 약제 분자가 결합될 수 있다. 마커 분자는 바람직하게는 샘플에 화학적으로 동일하거나 매우 유사한 영향을 미치며, 샘플 내에서 약제의 동역학에 영향을 미치지 않거나, 측정에 미미한 방식으로만 영향을 미친다.
- [0118] 마커 물질로서 상이한 CT 조영제를 사용하는 것과 관련하여, 기존의 CT 방법은 다중-파라미터 측정을 허용하지 않을 것이라는 점에 유의하는데, 이는 조영제의 상이한 흡수의 측정 차이가 너무 작아 이들을 동시에 측정할 수 없기 때문이다. CT와 비교하여 본 발명의 중요한 장점은, XFI가 모든 요소가 고유한 특성 라인을 생성하는 분광 방법이며, 순전히 흡수 방법이 아니라는 점이다.
- [0119] 도 4는 예를 들어, 본 발명에 따른 X-선 형광 이미징을 위한 샘플 내로 마커 물질을 도입하기 위한 마커 물질 키트 200을 개략적으로 나타낸다. 마커 물질 키트 200은 마커 물질 현탁액 220으로 채워진 유연한 파우치와 같은 컨테이너 210를 포함한다. 마커 물질 현탁액 220은 생리학적인 용액과 같은 생리학적인 유체를 포함하며, 여기서 상이한 X-선 형광 요소를 포함하는 나노입자 11, 12가 배치된다. 나노입자 11, 12의 설계, 용기 210의 부피, 및 마커 물질 현탁액 220에서의 나노입자 11, 12의 농도는 특정 XFI 애플리케이션에 따라 선택된다. 마커 물질 키트 200을 사용하기 위해, 용기 210는 라인 및 주입용 바늘을 통해 피험자의 혈관에 연결되며, 나노입자 11, 12를 포함하는 마커 물질 현탁액 220은 혈관 내로 안내된다.
- [0120] 대안적으로, 도 4에 따른 마커 물질 키트 200은 경구 섭취를 위해 제공될 수 있다. 추가적인 대안에 따르면, 마커 물질 키트는 건조한 형태로, 나노입자 11, 12 및 생리학적인 결합제를 포함하는, 예를 들면 태블릿(tablet) 형태로 제공될 수 있다.
- [0121] 발명자에 의한 테스트 측정으로, 생물학적 세포에 소정의 농도로 금 및 백금 나노입자 둘 모두가 제공되고, 직경이 6mm 인 시약 용기 (Eppendorf vessel, 에펜도르프 용기)에 배치되었다. 그런 다음 시약 용기를 쥐와 비슷한 크기의 동물의 살조각 내로 밀어 넣었다. 삽입된 시약 용기를 갖는 살을 포함하는 샘플은 독일 전자 싱크로트론 (DESY) (DESY 함부르크)에 의해 단색 X-선 방사선으로 조사되었다. 추가 테스트 측정의 경우, 네 개의 상이한 형광 요소가 시약 용기내에 배치되고, DESY 싱크로트론의 X-선 방사선으로 조사되었다. 측정된 X-선 형광의 구별 가능한 특성 및 정량적 평가 가능성에 지향된 테스트 측정은 도 5 및 6에 나타나는 결과를 산출하였다. 공간 분해능을 갖는 해당 측정은 예를 들어 [1]에 기재된 기술을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0122] 도 5에 따르면, 높은 감도로 동시에 검출된 금 및 백금 형광 라인은 명확하게 구별될 수 있다. 중첩된 형광 라인들의 평가는, 금 및 백금 나노입자들의 농도에서, 미리 결정된 기준 또는 교정 데이터를 고려하는, 형광 라인의 개별 강도를 결정하기 위한 수치 계산적 디콘볼루션(deconvolution)을 포함한다.
- [0123] 도 6은 시약 용기의 경우에 측정된 X-선 스펙트럼을 나타내는데, 여기서 네 가지 요소 이리듐, 백금, 금 및 비스무트가 소정의 농도인 용액 내에 있다. 스펙트럼에서 네 가지 요소를 명확하게 식별하는 것이 가능하다. 사용된 것과 매우 잘 일치하는 각각의 농도는, 존재하는 모든 형광 라인으로부터 결정될 수 있다.

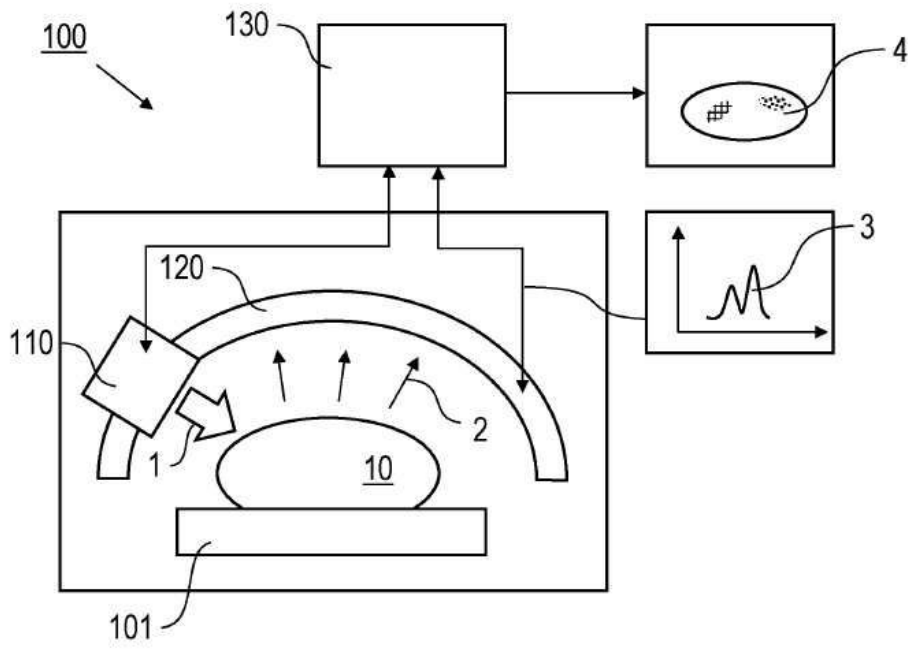
- [0124] 각각의 경우에 도 5 및 6은 또한 배경 스펙트럼을 나타내며, 이는 시약 용기에 물만 담고 있을때 측정되었다. 배경 스펙트럼의 측정은, 해당 형광 광자의 수를 결론지을 수 있도록, 스펙트럼의 개별 형광 라인의 정량적 평가를 위해 배경의 지식이 중요하다는 것을 보여준다. 배경은 각각의 사용에 따라 구체적으로 측정되거나, 또는 참조 또는 교정 데이터를 사용하여 결정될 수 있다. 특히, 배경은 모든 마커 요소에 대해 대략 동일하게 되도록, 또는 가급적 모두에게 동일하게 최소화되도록 선택될 수 있다.
- [0125] X-선 형광 요소를 선택할 때, 배경 곡선도 고려될 수 있다. 요소의 형광 광자의 흡수가 너무 강해서 형광 에너지의 위치에서 스펙트럼의 배경과 거의 구별이 안된다면, 이 요소는 사용 불가능하게 된다.
- [0126] 상기 설명에서 개시된 본 발명의 특징들, 도면들 및 특허 청구범위는, 그 다양한 실시예들에서 본 발명을 구현하기 위한 개별적이고 조합 또는 부-조합 모두에서 의의가 있을 수 있다.

부호의 설명

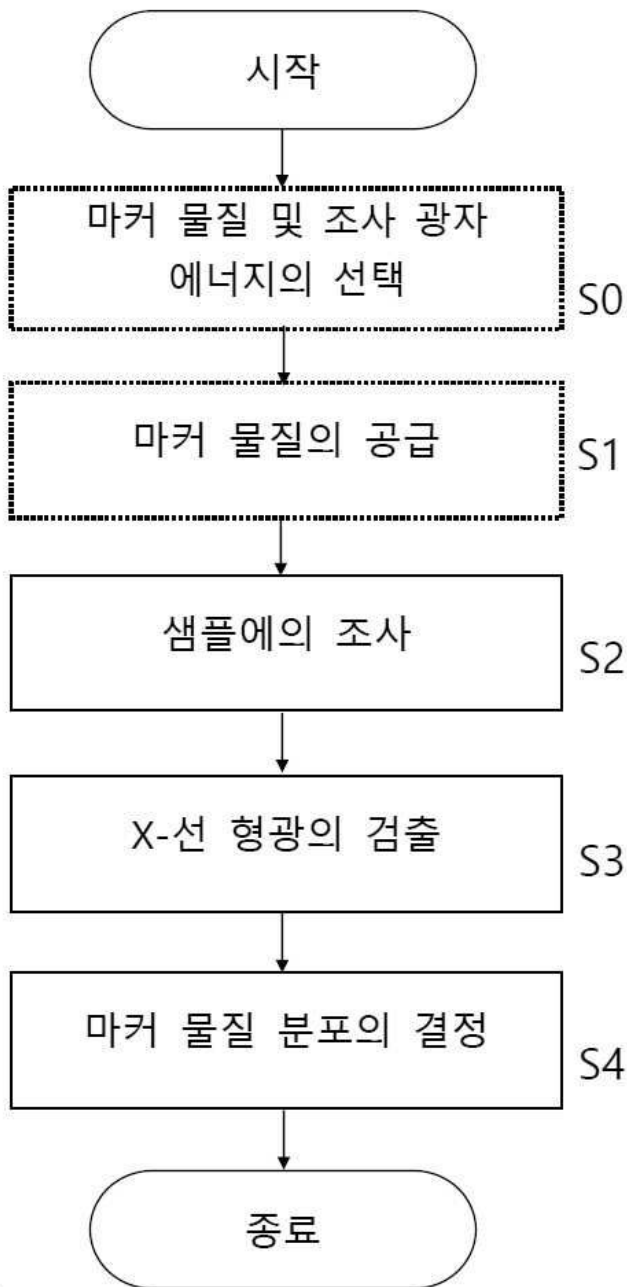
- [0127]
- 1 X-선 방사선
 - 2 X-선 형광
 - 3 마커 물질의 형광 라인
 - 4 마커 물질의 공간 분포
 - 10 샘플
 - 11, 12 나노 입자
 - 13 입자 코어
 - 14 입자 덩개 층
 - 15, 16 마커 분자
 - 100 이미징 장치
 - 101 샘플홀더
 - 110 X-선 방사원 (방사선 소스) 장치
 - 120 검출기 장치
 - 130 평가 장치
 - 200 마커 물질 키트
 - 210 용기
 - 220 마커 물질 현탁액

도면

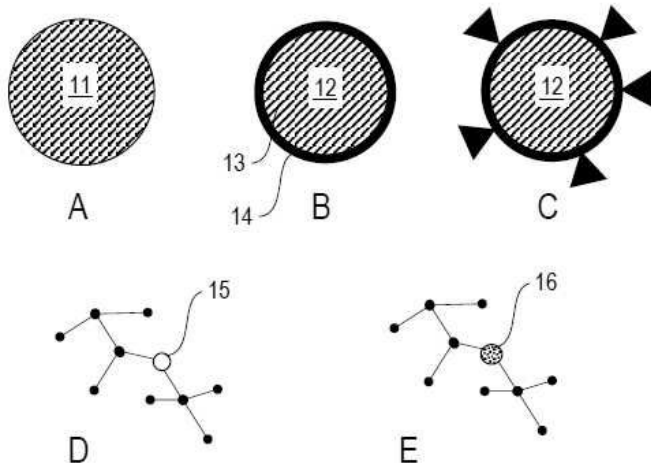
도면1



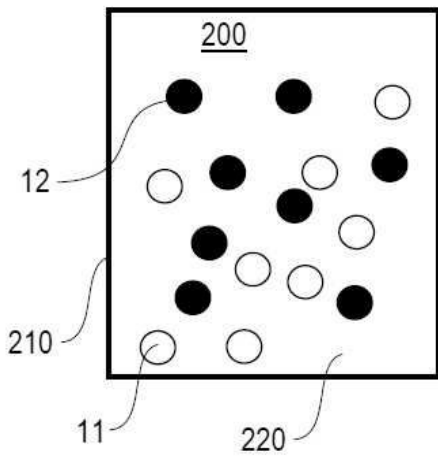
도면2



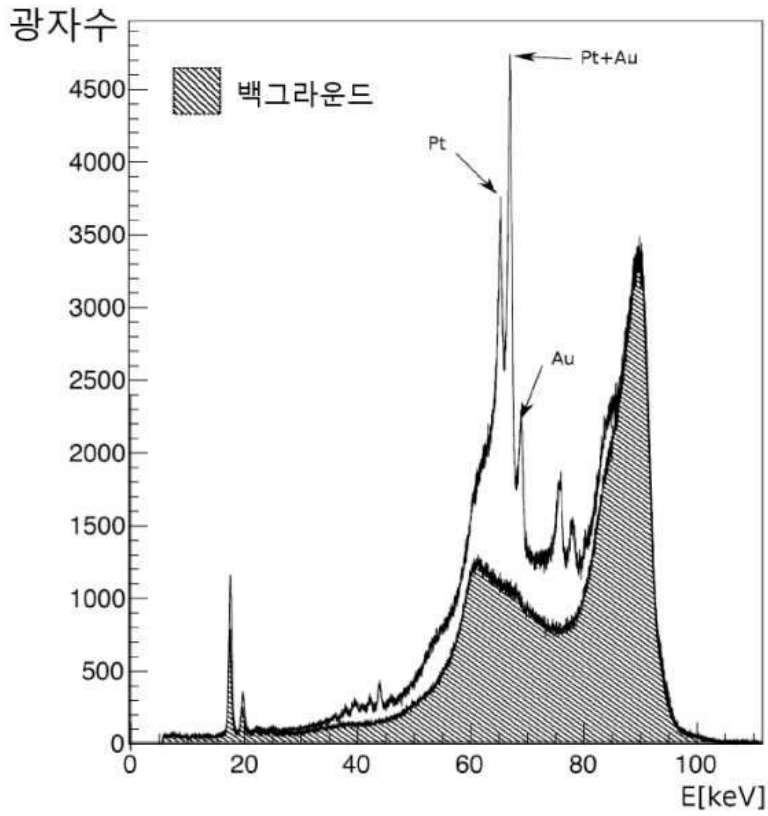
도면3



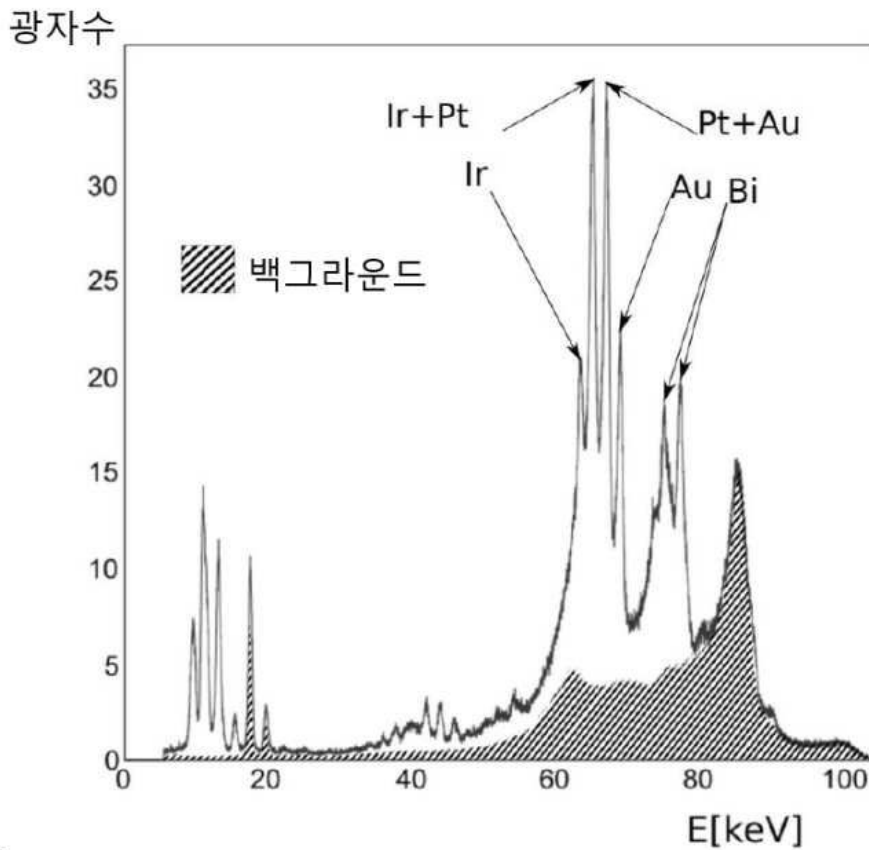
도면4



도면5



도면6



도면7

