

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-90612

(P2019-90612A)

(43) 公開日 令和1年6月13日(2019.6.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 3
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68	Z 2 G O 4 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B O 6 3
GO 1 N 33/50 (2006.01)	GO 1 N 33/50	P
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483	C

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-76222 (P2016-76222)
 (22) 出願日 平成28年4月5日 (2016.4.5)

(71) 出願人 000004112
 株式会社ニコン
 東京都港区港南二丁目15番3号
 (71) 出願人 592019213
 学校法人昭和大学
 東京都品川区旗の台1丁目5番8号
 (74) 代理人 110000877
 龍華国際特許業務法人
 (72) 発明者 匹田 宗彰
 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会
 社ニコン内
 (72) 発明者 瀧 優介
 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会
 社ニコン内

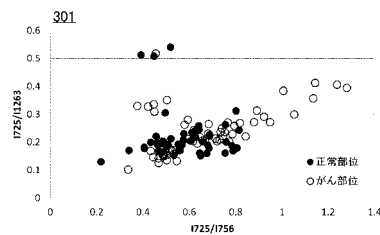
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん検査方法

(57) 【要約】

【課題】 検査作業者の熟度に依存しないがん検査方法。
 【解決手段】 がん検査方法であって、関心領域におけるアミノ酸またはタンパク質の量、および核酸の量を検出し、検出したアミノ酸またはタンパク質の量に対する検出した核酸の量の比を算出し、算出した前記比が予め定めた閾値を超えたか否かを調べるがん細胞を検査する。上記がん検査方法において、タンパク質の量の指標としてアミノ酸の量を検出し、前記核酸の量の指標として核酸塩基の量を検出し、前記比を、アミノ酸の検出量に対する核酸塩基の検出量の比としてもよい。

【選択図】 図4



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

関心領域におけるアミノ酸またはタンパク質の量、および核酸の量を検出し、
検出した前記アミノ酸またはタンパク質の量に対する検出した前記核酸の量の比を算出

し、
算出した前記比が予め定めた第 1 の閾値を超えたか否かに基づいてがん細胞の有無を検査するがん検査方法。

【請求項 2】

タンパク質の量の指標として前記関心領域におけるアミノ酸の量を検出し、前記核酸の量の指標として前記関心領域における核酸塩基の量を検出し、前記比を、アミノ酸の検出量に対する核酸塩基の検出量の比とする請求項 1 に記載のがん検査方法。

10

【請求項 3】

前記アミノ酸は芳香族アミノ酸を含み、前記核酸塩基は環状アミンを含み、前記比は、芳香族アミノ酸の検出量に対する環状アミンの検出量の比である請求項 2 に記載のがん検査方法。

【請求項 4】

前記アミノ酸はトリプトファンおよびフェニルアラニンの少なくとも一方を含み、前記環状アミンはシトシンおよびアデニンの少なくとも一方を含む請求項 3 に記載のがん検査方法。

【請求項 5】

前記アミノ酸またはタンパク質の量および前記核酸の量の少なくとも一方を、ラマン分光法で検出する請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載のがん検査方法。

20

【請求項 6】

前記アミノ酸またはタンパク質の量および前記核酸の量の少なくとも一方を、CARS 顕微鏡法で検出する請求項 5 に記載のがん検査方法。

【請求項 7】

前記核酸の量は、第 1 の種類の核酸の量と、前記第 1 の種類と異なる第 2 の種類の核酸の量とを含み、前記比は、前記アミノ酸またはタンパク質の量に対する前記第 1 の種類の核酸の量の比である第 1 の比と、前記アミノ酸またはタンパク質の量に対する前記第 2 の種類の核酸の量の比である第 2 の比とを含む請求項 2 から 4 のいずれか一項に記載のがん検査方法。

30

【請求項 8】

前記第 1 の閾値よりも大きい、予め定めた第 2 の閾値よりも、算出した前記比が大きい場合に、前記第 2 の種類の核酸の量の検出と、前記第 2 の比の算出とを省略する請求項 7 に記載のがん検査方法。

【請求項 9】

前記関心領域を、赤外帯域の光で光学観察する段階を含む請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のがん検査方法。

【請求項 10】

前記アミノ酸またはタンパク質の量、および、前記核酸の量の少なくとも一方を、前記関心領域の内側に位置し、前記関心領域よりも狭く、互いに離れた複数の小領域における測定値の平均値により検出する請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のがん検査方法。

40

【請求項 11】

前記アミノ酸またはタンパク質の量、および、前記核酸の量を、前記関心領域よりも広い対象領域に含まれる複数の関心領域の各々において、

検出した前記アミノ酸またはタンパク質の量に対する検出した前記核酸の量の比を算出し、

算出した前記比が予め定めた第 1 の閾値を超えたか否かに基づいてがん細胞の有無を検査する請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載のがん検査方法。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、がん検査方法に関する。

【背景技術】

【0002】

がん細胞存否の検査は、医師の目視によるか、腫瘍マーカを使用する（例えば特許文献1参照）。

特許文献1 特開2015-180212号公報

【発明の概要】

【0003】

目視による検査は医師の経験により精度が異なる。腫瘍マーカは、感度および臓器特異性に問題がある。

【0004】

本発明の一態様においては、関心領域におけるアミノ酸またはタンパク質の量、および核酸の量を検出し、検出したアミノ酸またはタンパク質の量に対する検出した核酸の量の比を算出し、算出した前記比が予め定めた閾値を超えたか否かを調べるがん細胞を検査するがん検査方法が提供される。

【0005】

上記の発明の概要は、本発明の特徴の全てを列挙したものではない。これらの特徴群のサブコンビネーションもまた発明となり得る。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】検査装置100の構造を説明する模式図である。

【図2】制御部170のブロック図である。

【図3】検査装置100における検査手順を示す流れ図である。

【図4】表示画像301における表示を例示する図である。

【図5】表示画像302における表示を例示する図である。

【図6】表示画像303における表示を例示する図である。

【図7】表示画像304における表示を例示する図である。

【図8】表示画像305における表示を例示する図である。

【図9】表示画像306における表示を例示する図である。

【図10】表示画像307における表示を例示する図である。

【図11】表示画像308における表示を例示する図である。

【図12】検出位置を示す表示画像309の一例である。

【図13】検出位置を示す表示画像310の一例である。

【図14】検査装置100における他の検査手順を示す流れ図である。

【発明を実施するための形態】

【0007】

以下、発明の実施の形態を通じて本発明を説明する。下記の実施形態は特許請求の範囲に係る発明を限定するものではない。実施形態の中で説明されている特徴の組み合わせの全てが発明の解決手段に必須であるとは限らない。

【0008】

発明者等は、細胞におけるアミノ酸またはタンパク質の量と塩基の量との比率に着目すると、がん細胞における当該比率と、正常細胞における当該比率とに相違があるとの知見を得た。そこで、本実施形態では、検査対象となる細胞においてアミノ酸またはタンパク質の量と塩基の量とを検出し、検出したアミノ酸またはタンパク質の量と塩基の量の比率を算出して予め用意した閾値と比較した場合に、閾値を超えた比率を有する領域にがん細胞が含まれることを判定するがん検査方法が開発された。

【0009】

図1は、上記のがん検査方法に使用できる検査装置100の全体的な構成を示す模式図

10

20

30

40

50

である。検査装置 100 は、ステージ 110、対物光学系 120、光源装置 130、照射光学系 140、前部検出系 150、後部検出系 160、および制御部 170 を備える。

【0010】

ステージ 110 は、検査装置 100 の検査対象となるサンプル 101 サンプル 101 を、サンプル 101 を収容した容器の周縁部で支持する。また、ステージ 110 は、サンプル 101 の図中下面を露出させる開口を有する。これにより、ステージ 110 に置かれたサンプル 101 を、図中下側からも観察できる。

【0011】

ステージ 110 は、ステージスキャナ 111 に結合される。ステージスキャナ 111 は、図中に矢印 $x - y - z$ で示すように、サンプル 101 が置かれた面と平行および垂直にステージ 110 を駆動する。これにより、検査装置 100 においては、光学系の光軸および励起光の光軸を固定したまま、サンプル 101 における立体的な領域を観察または検査の対象領域にすることができる。以下、観察または検査の対象となる領域を関心領域ということがある。

10

【0012】

対物光学系 120 は、ステージ 110 に対して互いに反対側に、サンプル 101 に対して対称的に配された前側対物レンズ 121 および後側対物レンズ 122 を有する。図示の検査装置 100 において前側対物レンズ 121 は、サンプル 101 に対して照射される励起光および照明光等を集光する役割も担う。

【0013】

光源装置 130 は、互いに異なる種類の照射光を発生する複数の光源 131、132 と、コンバイナ 139 とを有する。光源 131、132 の少なくとも一方は、サンプル 101 のラマン分光を測定する場合に使用する励起光、例えば、波長 532 nm のレーザ光を発生するレーザ光源であってもよい。また、複数の光源 131、132 のひとつは、サンプル 101 の顕微像を観察する場合に使用する照明光の光源であってもよい。

20

【0014】

なお、サンプル 101 に照射する照射光は、励起光であっても、照明光であっても、細胞を侵襲しにくい長波長の光であることが好ましい。また、より具体的には、波長 400 nm から 800 nm の範囲を例示できる。

【0015】

光源 131、132 から射出された照射光は、コンバイナ 139 により単一の光路を通過するビームとなる。これにより、複数の光源 131、132 が発生した照射光を、サンプル 101 の同じ位置に照射できる。

30

【0016】

照射光学系 140 は、ガルバノスキャナ 141 およびスキャンレンズ 142 を有する。ガルバノスキャナ 141 は、互いに平行ではない 2 つの揺動軸の周りを揺動する一対の反射鏡を備える。これにより、ガルバノスキャナに入射した励起光の光路は、光軸と交差する方向に二次元的に変位する。

【0017】

スキャンレンズ 142 は、ガルバノスキャナ 141 から射出された励起光を、予め定められた一次像面 143 上に合焦させる。これにより、光源装置 130 から射出された励起光を、サンプル 101 に設定された任意の関心領域に照射できる。

40

【0018】

前部検出系 150 は、ダイクロイックミラー 151、リレーレンズ 152、153、帯域通過フィルタ 154、および分光器 155 を有する。ダイクロイックミラー 151 は、サンプル 101 に向かって照射した励起光を高効率に透過させる。

【0019】

ダイクロイックミラー 151 は、サンプル 101 において発生したラマン散乱光を反射して、リレーレンズ 152、153 に導く。帯域通過フィルタ 154 は、励起光およびレイリー散乱光を吸収または反射しつつ、サンプル 101 から発生したラマン散乱光を透過

50

させて分光器 155 に入射させる。これにより、分光器 155 は、サンプル 101 に反射されたラマン散乱光を効率よく検出して分光像を出力する。

【0020】

後部検出系 160 は、反射鏡 161、リレーレンズ 162、163、帯域通過フィルタ 164、および分光器 165 を有する。反射鏡 161 は、サンプル 101 において発生したラマン散乱光を反射して、リレーレンズ 162、163、帯域通過フィルタ 164、および分光器 165 に導く。なお、反射鏡 161 に換えて、ラマン散乱光の波長を選択的に反射するダイクロイックミラーを設けてもよい。

【0021】

帯域通過フィルタ 164 は、レイリー散乱光および励起光を吸収または反射しつつ、サンプル 101 から発生したラマン散乱光を透過させて分光器 165 に入射させる。これにより、分光器 165 は、サンプル 101 の透過光によるラマン分光を効率よく検出する。

【0022】

制御部 170 は、処理装置 171、マウス 172、キーボード 173、および表示部 174 を有する。マウス 172 およびキーボード 173 は、処理装置 171 に接続され、処理装置 171 にユーザの指示を入力する場合に操作される。表示部 174 は、マウス 172 およびキーボード 173 によるユーザの操作に対してフィードバックを返すと共に、処理装置 171 が生成した画像または文字列をユーザに向かって表示する。更に、図示の検査装置において、表示部 174 は、サンプル 101 を光学的に観察した観察像、検査結果を表す文字または画像等も表示する。

【0023】

処理装置 171 は、光源装置 130、ステージスキャナ 111、およびガルバノスキャナ 141 の動作を制御する。また、処理装置 171 は、前部検出系 150 または後部検出系 160 の分光器 155、165 から取得した分光像に基づいてサンプル 101 の状態、すなわち、サンプル 101 ががん細胞を含むか否かを検査する。更に、処理装置 171 は、分光器 155、165 から取得したスペクトルを処理して、アミノ酸またはタンパク質および核酸の検出精度を向上させることができる。

【0024】

なお、サンプル 101 に対して照射光学系 140 と同じ側に配置された前部検出系 150 により検されるラマン散乱光は、恰もサンプル 101 により反射された、公報ラマン散乱光である。一方、サンプル 101 に対して照射光学系 140 と反対側に配置された後部検出系 160 により検出されるラマン散乱光は、恰もサンプル 101 を透過した、前方ラマン散乱光である。

【0025】

図 2 は、検査装置 100 における制御部 170 の処理装置 171 の内部構造を模式的に示すブロック図である。図示のように、処理装置 171 は、検出部 271 および情報出力部 276 を有する。更に、情報出力部 276 は、算出部 272、比較部 273、格納部 274、および出力部 275 を含む。

【0026】

検出部 271 は、分光器 155、165 から取得したスペクトルに基づいて、サンプル 101 におけるひとつの関心領域に存在するタンパク質の量および核酸の量をそれぞれ検出する。タンパク質の量および核酸の量は、それぞれ、サンプル 101 のスペクトルにおける特定のピークの高さとして検出できる。

【0027】

検査装置 100 においては、サンプル 101 の関心領域におけるタンパク質の量の指標として、関心領域におけるアミノ酸の量を検出してもよい。更に、後述するように、アミノ酸のうち芳香族アミノ酸、より具体的にはトリプトファンおよびフェニルアラニンの少なくとも一方を、タンパク質の量の指標として検出してもよい。また、検査装置 100 においては、サンプル 101 における核酸の量の指標として、核酸塩基の量を検出してもよい。更に、後述するように、核酸のうち、シトシンおよびアデニンの少なくとも一方を

10

20

30

40

50

検出してもよい。

【0028】

算出部272は、検出部271が検出したタンパク質の検出量と、核酸の検出量との比率を算出する。ここで算出された比率は、関心領域における細胞の状態を反映した値を有する。すなわち、細胞の核におけるタンパク質の量と核酸の量の比率は、正常な細胞とがん細胞とで異なっている。

【0029】

よって、算出部272が算出した比率の値を、予め定め閾値と比較することにより、検査対象のサンプル101にがん細胞が含まれているか否かを容易且つ確実に検査できる。なお、タンパク質の量および核酸の量をスペクトルにおけるピーク値により検出した場合、算出する比率は、スペクトルにおけるピーク値の比率として算出できる。

10

【0030】

なお、ひとつのサンプル101に対して、ひとつの関心領域よりも広い対象領域に含まれる複数の関心領域を設定して、その各々の関心領域においてサンプル101の検査を実行してもよい。これにより、局部的に発生したがん細胞を見逃す確率が低減される。

【0031】

比較部273は、算出部272が算出した比率の値を、閾値格納部274に予め格納された閾値と比較する検査を実行する。検査の結果は、出力部275を通じてユーザに伝えられる。具体的には、例えば、表示部174に文字列または画像として検査結果を表示してもよい。また、音声等により検査結果を出力してもよい。更に、検査結果を蓄積して、任意のタイミングでユーザに参照を許してもよい。このように、情報出力部276は、検出部271が取得したタンパク質の量に対する、検出部271が取得した核酸の量の比に応じた情報を出力する。

20

【0032】

図3は、検査装置100を用いた検査手順を示す流れ図である。まず、検査装置100の閾値格納部274に閾値を格納する(ステップS101)。格納する閾値は、例えば、状態が既知の細胞試料を検査装置100で検査することにより得られる。

【0033】

次に、検査対象となるサンプル101を用意して、検査装置100に装填する(ステップS102)。続いて、サンプル101を光学的に拡大した顕微像を観察して、検査の対象となる関心領域を設定する(ステップS103)。なお、ステップS103において観察した関心領域を含むサンプル101の顕微像を撮像して保存してもよい(ステップS104)。

30

【0034】

また、サンプル101における関心領域は、ひとつのサンプル101に対して複数設定してもよい。これにより、局部的に発生したがん細胞が検査で見逃される確率が減少する。

【0035】

次に、関心領域において、関心領域に励起光を照射して、分光器155、165においてサンプル101のスペクトルを得る(ステップS105)。更に、分光器155、165が検出したスペクトルを処理装置171により処理して、関心領域におけるタンパク質の量と核酸の量を、例えば、スペクトルにおける対応するピークの光量として検出する(ステップS106)。

40

【0036】

次に、処理装置171において、検出されたタンパク質の量と核酸の量との比率が、例えばピーク値の比として算出される(ステップS107)。次いで、算出された比率の値が、閾値格納部274に格納された閾値と比較される(ステップS108)。これにより、算出された比率の値が閾値を超えるか否かにより、対応する関心領域にがん細胞が含まれるか否かという検査結果が得られる。得られた検査結果は、検査装置100に記録されるか、ユーザに対して出力される(ステップS109)。更に、検査装置100の制御部

50

170は、ステップS103においてサンプル101に対して設定されていながら、まだ検査されていない関心領域が残っているか否かを調べる(ステップS110)。

【0037】

ステップS110において未だ検査されていない関心領域が残っている場合(ステップS110: YES)、制御部170は、検査装置100の処理をステップS105に戻して、再び検査を実行する。また、こうして、検査装置100により、サンプル101の関心領域にがん細胞が存在するか否かが検査される。ステップS110において検査されていない関心領域が残っていないことが判った場合(ステップS110: NO)、検査装置100における検査は終了する。

【0038】

なお、サンプル101のスペクトルは、サンプル101を染色せずに取得できる。しかしながら、サンプル101に含まれる細胞の核を染色して、顕微像をより明瞭することにより、関心領域の設定等の作業を容易にしてもよい。

【0039】

[実施例]

閾値を決定する実施例として、がん細胞を含むことが既知であるサンプル101を上記の検査装置100により検査して、閾値格納部274に格納する閾値の値について検討した。サンプル101は、ヒトの胃の未染色の切片から作成した。

【0040】

まず、倍率100倍の対物レンズを用いてサンプル101の顕微像を取得した。次に、励起光として波長532nmのレーザー光を関心領域に照射してラマン散乱によるスペクトルを検出した。

【0041】

なお、ラマン散乱の効率を向上させる目的で、励起光のビーム径を細胞よりも小さく、例えば1μm以下まで絞った。このため、サンプル101における10μm×10μmの関心領域の各々において、それぞれの関心領域内の121点の検出スポットに励起光を10秒ずつ照射して、121点のスペクトルを検出した。更に、121点のスペクトルから検出された検出値を平均して、その関心領域におけるタンパク質または核酸の量の検出値とした。これにより、検出値を空間的な広がりを持つ値とした。

【0042】

また、処理装置171において画像処理を実行して、検出したスペクトルから既知のガラスのピークを予め取り除き、サンプル101の容器の影響を排除した。また、5次の多項式で近似することにより、自家蛍光の影響を排除した。こうして得られたスペクトルから、下記の表1に示す核酸と、下記の表2に示すタンパク質とに対応するピークの光量を、核酸およびタンパク質の量として検出した。

【表1】

検出対象の核酸

ラマンシフト 波数 [cm ⁻¹]	
725	アデニン
782	シトシン

【0043】

【表2】

検出対象のアミノ酸

ラマンシフト 波数 [cm ⁻¹]	
620	フェニルアラニン (C-C振れモード)
756	トリプトファン (対称型)
1002	フェニルアラニン
1250	アミド (βシート)
1263	アミド (αヘリックス)

10

20

30

40

50

【 0 0 4 4 】

[実施例 1]

図 4 は、上記検査の結果として表示部 1 7 4 に表示された表示画像 3 0 1 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 2 7 2 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

【 0 0 4 5 】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の一例としてラマン分光像におけるラマンシフト 725 cm^{-1} のピーク光量から検出したアデニンの量と、同じくタンパク質の一例としてラマンシフト 756 cm^{-1} のピーク光量から検出したトリプトファンの量との比率である。また、縦軸の値は、アデニンの量と、ラマンシフト 1263 cm^{-1} のピーク光量から検出したヘリックス構造を指標としたタンパク質の量との比率である。

10

【 0 0 4 6 】

グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、アデニンとトリプトファンとの比率が 0.85 以上の範囲には、がん細胞のみが分布していることが判る。よって、図 3 に示したステップ S 1 0 1 において、アデニンの量とトリプトファンの量との比率について閾値 0.85 を設定することにより、ラマン分光像から検出したアデニンおよびトリプトファンの量の比率に基づいてがん細胞の存在を検査できる。なお、図 4 では、正常細胞とがん細胞とをドットの白黒により区別しているが、表示部 1 7 4 においては、ドットの色や形状などで区別して視認性を向上させることができる。

【 0 0 4 7 】

20

[実施例 2]

図 5 は、上記検査の結果として表示部 1 7 4 に表示された他の表示画像 3 0 2 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 2 7 2 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

【 0 0 4 8 】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の例であるアデニンの量と、アミノ酸の例であるトリプトファンの量との比率である。また、縦軸の値は、アデニンの量と、タンパク質の一例としてラマンシフト 1002 cm^{-1} のピーク光量から検出したフェニルアラニンの量との比率である。

【 0 0 4 9 】

30

グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、アデニンとトリプトファンとの比率が 0.85 以上の範囲には、がん細胞のみが分布していることが判る。よって、図 3 に示したステップ S 1 0 1 において、アデニンの量とトリプトファンの量との比率について閾値 0.85 を設定することにより、ラマン分光像から検出したアデニンおよびトリプトファンの量の比率に基づいてがん細胞の存在を検査できる。

【 0 0 5 0 】

[実施例 3]

図 6 は、上記検査の結果として表示部 1 7 4 に表示された表示画像 3 0 3 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 2 7 2 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

40

【 0 0 5 1 】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の一例としてラマン分光像におけるラマンシフト 782 cm^{-1} のピーク光量から検出したシトシンの量と、アミノ酸の一例であるトリプトファンの量との比率である。また、縦軸の値は、核酸の例であるシトシンの量と、タンパク質の例であるフェニルアラニンの量との比率である。

【 0 0 5 2 】

グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、横軸については、シトシンとトリプトファンとの比率が 1.2 以上の範囲には、がん細胞のみが分布していることが判る。また、縦軸については、シトシンとフェニルアラニンとの比率が 0.3 を超える範囲においては、がん細胞のみが分布していることが判る。

50

【 0 0 5 3 】

よって、図 3 に示したステップ S 1 0 1 において、シトシンの量とトリプトファンの量との比率について閾値 1 . 2 を設定し、シトシンの量とフェニルアラニンの量との比率については閾値 0 . 3 を設定することにより、ラマン分光像から検出したそれぞれの核酸の量とタンパク質の量との比率に基づいてがん細胞の存在を検査できる。

【 0 0 5 4 】

[実施例 4]

図 7 は、上記検査の結果として表示部 1 7 4 に表示された表示画像 3 0 4 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 2 7 2 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

10

【 0 0 5 5 】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の例であるシトシンの量と、タンパク質の例であるトリプトファンの量との比率である。また、縦軸の値は、核酸の例であるシトシンの量と、ラマンシフト 1250 cm^{-1} のピーク光量から検出したシートの 2 次構造をもったタンパク質由来のアミド結合の量（以下、単に「アミド結合の量」という。）との比率である。アミド結合の量は、タンパク質の量の指標となる。

【 0 0 5 6 】

グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、横軸については、閾値 1 . 2 によりがん細胞を判別できるが、縦軸については、がん細胞を判別できる閾値が 0 . 43 まで上昇していることが判る。よって、図 3 に示したステップ S 1 0 1 において、閾値 0 . 43 を設定することにより、シトシンの量とアミド結合の量との比率に基づいてがん細胞の存在を検査できる。

20

【 0 0 5 7 】

[実施例 5]

図 8 は、上記検査の結果として表示部 1 7 4 に表示された表示画像 3 0 5 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 2 7 2 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

【 0 0 5 8 】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の例であるシトシンの量と、タンパク質の例である対称型トリプトファンの量との比率である。また、縦軸の値は、核酸の例であるアデニンの量と、タンパク質の例である対称型トリプトファンの量との比率である。

30

【 0 0 5 9 】

グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、横軸については、閾値 1 . 3 によりがん細胞を判別でき、縦軸については閾値 0 . 9 でがん細胞を判別できることが判る。よって、図 3 に示したステップ S 1 0 1 において、閾値 1 . 3 を設定することにより、シトシンの対称型トリプトファンの量との比率に基づいてがん細胞の存在を検査でき、閾値 0 . 9 で、アデニンの量と、対称型トリプトファンの量との比率に基づいてがん細胞の存在を検査できる。

【 0 0 6 0 】

[実施例 6]

図 9 は、上記検査の結果として表示部 1 7 4 に表示された表示画像 3 0 6 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 2 7 2 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

40

【 0 0 6 1 】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の例であるサンプル 1 0 1 におけるシトシンの量と、ヘリックス構造を指標としたタンパク質の量との比率である。また、縦軸の値は、核酸の例であるアデニンの量と、ヘリックス構造を指標としたタンパク質の量との比率である。

【 0 0 6 2 】

グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、横軸については

50

、閾値 0.5 によりがん細胞を判別できるが、縦軸については、がん細胞が単独で分布する領域が存在しないことが判る。

【0063】

よって、図 3 に示したステップ S 101 においてがん細胞の存在を検査する上では、核酸であるアデニンの量と、ヘリックス構造を指標としたタンパク質の量との比率を算出するよりも、閾値 0.5 を設定して、核酸であるシトシンの量とヘリックス構造を指標としたタンパク質の量との比率に基づいて検査した方が好ましい。

【0064】

[実施例 7]

図 10 は、上記検査の結果として表示部 174 に表示された表示画像 307 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 272 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

10

【0065】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の例としてサンプル 101 におけるシトシンの量と、タンパク質の例としてアミド結合の量との比率である。また、縦軸の値は、核酸の例であるアデニンの量とタンパク質の例であるアミド結合の量との比率である。グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、横軸については、閾値 0.45 によりがん細胞を判別できるが、縦軸については、がん細胞が単独で分布する領域が存在しないことが判る。

【0066】

よって、図 3 に示したステップ S 101 において、閾値 0.45 を設定することにより、シトシンの量とアミド結合の量との比率に基づいてがん細胞の存在を検査できるが、アデニンの量と、アミド結合の量との比率を算出しても、がん細胞の存在を検査できない。

20

【0067】

[実施例 8]

図 11 は、上記検査の結果として表示部 174 に表示された表示画像 308 に含まれるグラフの一例を示す図である。図示のグラフには、算出部 272 が出力した、核酸のピーク値とタンパク質のピーク値との比率がプロットされている。

【0068】

図示のグラフにおいて、横軸の値は、核酸の例であるサンプル 101 におけるシトシンの量と、タンパク質の例であるフェニルアラニンの量との比率である。また、縦軸の値は、核酸の例であるアデニンの量と、タンパク質の例であるフェニルアラニンの量との比率である。グラフにプロットされた正常な細胞とがん細胞との分布に着目すると、横軸については、閾値 0.28 によりがん細胞を判別できるが、縦軸については、がん細胞が単独で分布する領域が存在しないことが判る。

30

【0069】

よって、図 3 に示したステップ S 101 において、閾値 0.28 を設定することにより、シトシンの量とアミド結合の量との比率に基づいてがん細胞の存在を検査できるが、アデニンの量と、フェニルアラニンの量との比率を算出しても、がん細胞の存在を検査できない。

40

【0070】

図 4 から図 11 までに示した検査結果の検討から、上記の例で用いたサンプル 101 においては、核酸であるシトシンの量とタンパク質であるフェニルアラニンの量との比率において、正常な細胞とがん細胞との相違が顕著に現れることが判った。また、各グラフに示したように、縦軸と横軸とに異なる比率を割り当てた場合、アデニンおよびフェニルアラニンのピーク比を一方の軸に、シトシンとフェニルアラニンのピーク比を他方の軸に割り当てた場合に、正常な細胞とがん細胞との相違が顕著に現れることが判った。

【0071】

[実施例 9]

図 12 は、がん細胞を含むサンプル 101 に対して、検査装置 100 による検査を実行

50

した結果を示す表示画像309を示す図である。図中の細胞の顕微像は、図3のステップS104において撮像して保存したものである。

【0072】

図中に示す数字の値は、検査を実行した順番に対応しており、数字の位置は、検査における関心領域の位置を示す。また、白抜きで示された数字は、該当箇所における検査結果が正常細胞であったことを示す。一方、黒字で示された数字は、該当箇所における検査結果ががん細胞であったことを示す。図示のように、がん細胞を含むことが判っているサンプル101においては、がん細胞に特有のピーク比が特定の関心領域において検出されていることが判る。

【0073】

[実施例10]

図13は、がん細胞が含まれないサンプル101に対して、検査装置100による検査を実行した結果を示す表示画像310を示す図である。図中の細胞の顕微像は、図3のステップS104において撮像して保存したものである。また、図中に示す数字の意味は、図12と共通である。

【0074】

図示のように、このサンプル101においては、がん細胞に特有のピーク比が検出されず、正常細胞のピーク比のみが検出されている。よって、サンプル101にがん細胞が含まれていないことが判る。

【0075】

なお、図12および図13において斜体で示された数字は、該当箇所における検査結果が、正常細胞であるともがん細胞であるとも判定し切れなかったことを示す。サンプル101全体におけるすべての関心領域がこのような検査結果になった場合は、ピーク値を検出する核酸およびタンパク質の種類の選択が適切ではなかったことを意味する。

【0076】

よって、その場合は、他の種類の核酸およびタンパク質を選択して分光波形のピーク値を検出すると共に、そのような核酸とタンパク質に適応した閾値を設定して検査を実行すればよい。また、サンプル101に照射する励起光の波長等の検出条件を変更して検査を実行することにより、有意な検出結果が得られる場合もある。

【0077】

図14は、他の検査手順を示す流れ図である。図14において、図3と同じ手順については、同じ参照番号を付して重複する説明を省く。

【0078】

図示の手順においては、ステップS111において、ステップS108において比較対象となる閾値の他に、算出結果と閾値との乖離の幅に関する第二の閾値を設定する。また、ステップS108の次に、検出結果がステップS101において設定された閾値を超えてはいるものの、第二の閾値を超えていない場合に、がん細胞検出の確実性を向上させる目的で、同じ関心領域に対して、検査条件を変更した他の再検査を実行する段階(ステップS112)が付加される。

【0079】

これにより、検査結果による判定が保留される関心領域が減少し、検査精度をより向上することができる。なお、ステップS112において変更する検査条件としては、例えば、ピーク比の算出する対象となる核酸およびタンパク質の種類の変更等を例示できる。また、更に手順を変更して、スペクトルを検出するための励起光の波長を変更してもよい。

【0080】

上記の検査方法は、スペクトルが取得できれば実行できるので、既存の分光測定装置に、上記検査方法を実行するプログラムとして組み込んでもよい。ここまで説明した例では、核酸およびタンパク質の量をラマン散乱のスペクトルから検出した。しかしながら、具体的な測定方法は、アミノ酸またはタンパク質の量を検出し、アミノ酸またはタンパク質の量に対する核酸の量の比として算出することができる測定方法から任意のものを選択

10

20

30

40

50

することができる。たとえば、CARS過程(Coherent Anti-Stokes Raman Scattering)により発生したCARS光からスペクトルを検出してよい。ラマン分光法やCARS光を用いることに代えて、またはそれに加えて、赤外線分光法を用いてもよい。

【0081】

また、既に説明した通り、検査に用いる核酸の量とタンパク質の量との比を算出する場合に、検出の対象となる核酸の種類およびタンパク質の種類に応じて判定し易さが異なる場合がある。よって、検査装置100は、量を検出する核酸およびタンパク質のそれぞれの種類をユーザの操作により切り換えられるようにしてもよい。

【0082】

更に、検査装置100においては、表示部174における検査結果の表示のしかたも、切り換えることができるようにしてもよい。表示形式は、例えば、図4から図11までに示したようにグラフ化してもよいし、図12、13に示したように顕微画像と重ねて表示してもよい。また、文字列、色、音等を組み合わせて表示するようにしてもよい。更に、それらの表示形式を、ユーザの操作により選択できるようにしてもよい。

【0083】

また更に、上記の検査装置100は、光学顕微鏡と分光器とを組み合わせ形成されているが、スペクトルは、例えば内視鏡により非侵襲的に検出できる。よって、分光測定ができる内視鏡と処理装置171とを組み合わせることにより、非侵襲的にがん検査を実行することもできる。

【0084】

また更に、上記の例では、関心領域をひとつずつ検査することを例にあげた。しかしながら、複数の関心領域に同時に励起光を照射して、複数の関心領域を並行して検査するように検査装置100を構成してもよい。これによりがん検査に要する時間が短縮できる。

【0085】

以上、本発明を実施の形態を用いて説明したが、本発明の技術的範囲は上記実施の形態に記載の範囲には限定されない。上記実施の形態に、多様な変更または改良を加えることが可能であることが当業者に明らかである。その様な変更または改良を加えた形態も本発明の技術的範囲に含まれ得ることが、特許請求の範囲の記載から明らかである。

【0086】

特許請求の範囲、明細書、および図面中において示した装置、システム、プログラム、および方法における動作、手順、ステップ、および段階等の各処理の実行順序は、特段「より前に」、「先立って」等と明示しておらず、また、前の処理の出力を後の処理で用いるのでない限り、任意の順序で実現しうることに留意すべきである。特許請求の範囲、明細書、および図面中の動作フローに関して、便宜上「まず」、「次に、」等を用いて説明したとしても、この順で実施することが必須であることを意味するものではない。

【符号の説明】

【0087】

100 検査装置、101 サンプル、110 ステージ、111 ステージスキャナ、120 対物光学系、121 前側対物レンズ、122 後側対物レンズ、130 光源装置、131、132 光源、139 コンバイナ、140 照射光学系、141 ガルバノスキャナ、142 スキャンレンズ、143 一次像面、150 前部検出系、151 ダイクロイックミラー、152、153、162、163 リレーレンズ、154、164 帯域通過フィルタ、155、165 分光器、160 後部検出系、161 反射鏡、170 制御部、171 処理装置、172 マウス、173 キーボード、174 表示部、271 検出部、272 算出部、273 比較部、274 格納部、275 出力部、276 情報出力部、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310 表示画像

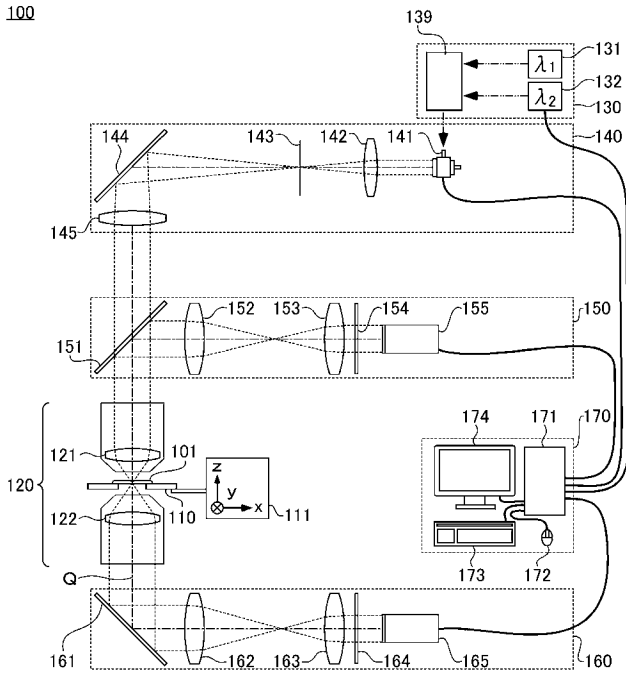
10

20

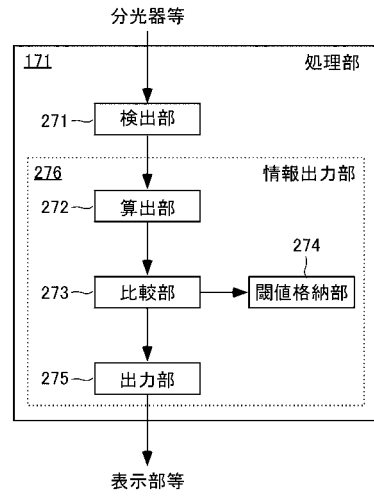
30

40

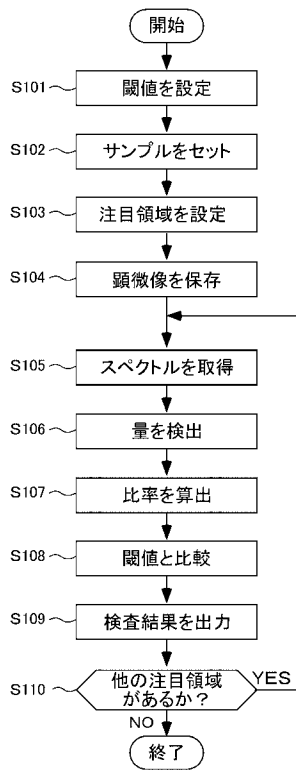
【図1】



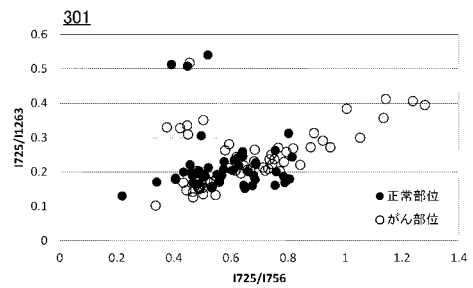
【図2】



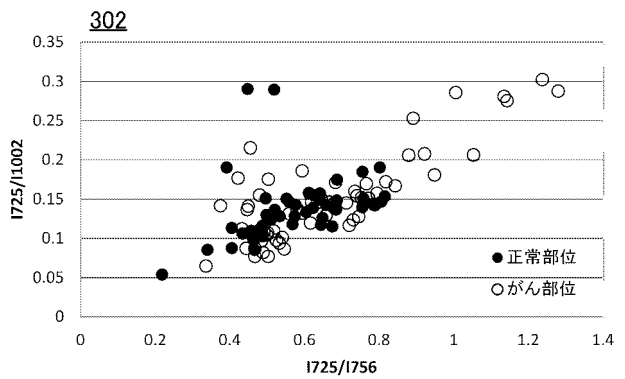
【図3】



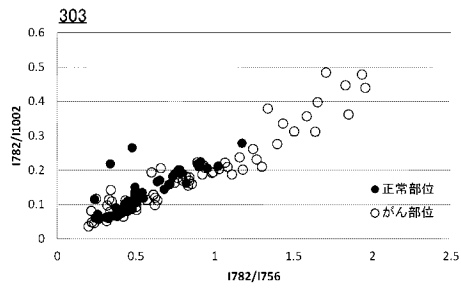
【図4】



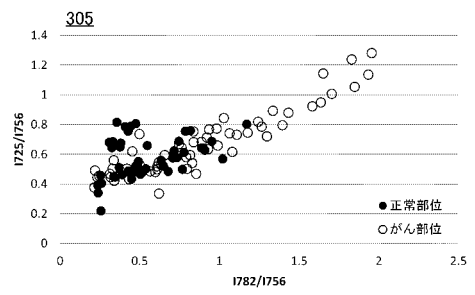
【図5】



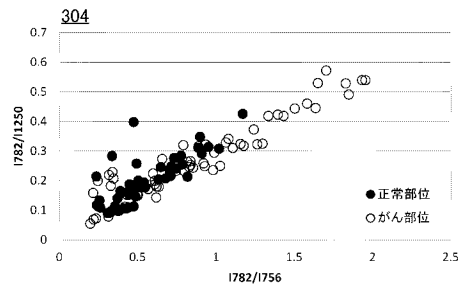
【 図 6 】



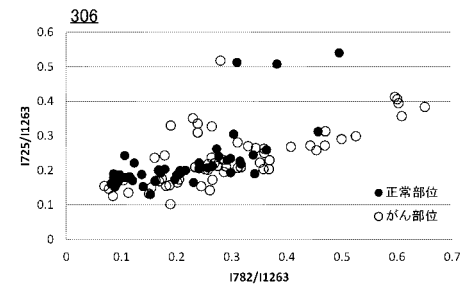
【 図 8 】



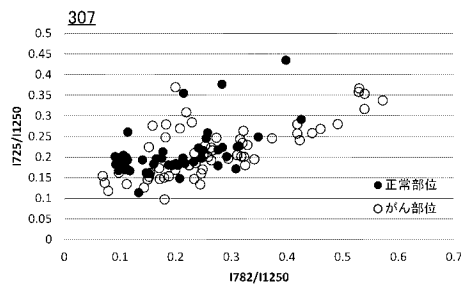
【 図 7 】



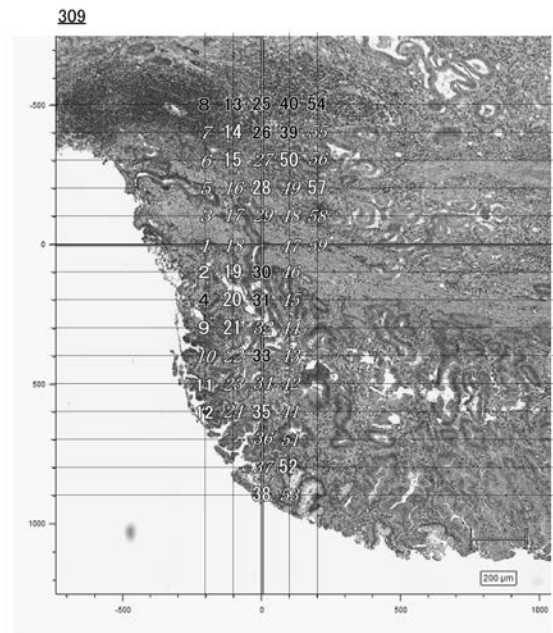
【 図 9 】



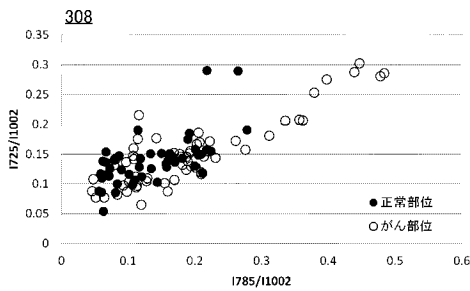
【 図 10 】



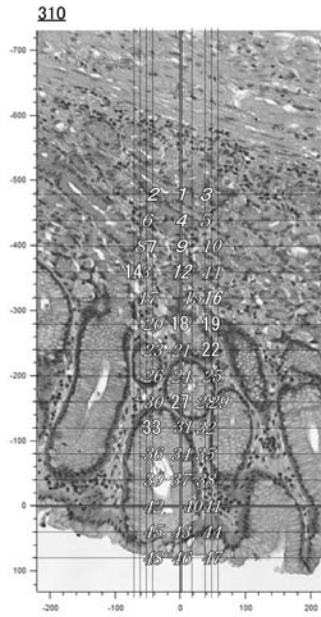
【 図 12 】



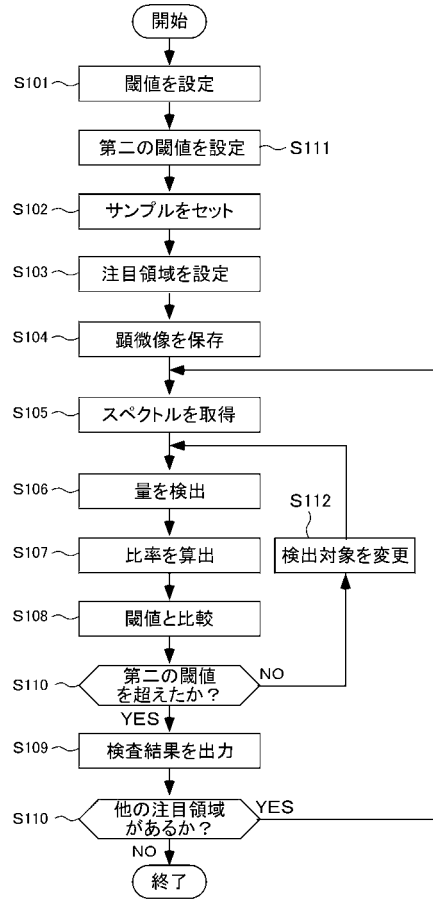
【 図 11 】



【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
G 0 1 N 21/65 (2006.01) G 0 1 N 21/65

(72)発明者 福武 直樹
 東京都港区港南二丁目 1 5 番 3 号 株式会社ニコン内

(72)発明者 横山 楓
 東京都港区港南二丁目 1 5 番 3 号 株式会社ニコン内

(72)発明者 伊藤 寛晃
 東京都品川区旗の台 1 丁目 5 番 8 号 学校法人昭和大学内

Fターム(参考) 2G043 AA03 CA05 DA05 DA06 EA03 FA01 FA02 FA06 HA01 HA02
 HA09 JA01 JA03 KA02 KA09 LA01 NA01
 2G045 AA26 DA13 DA35 DA36 FA25 FA28
 4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ41 QQ79 QQ80 QS39 QX01