

(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2017-203637

(P2017-203637A)

(43) 公開日 平成29年11月16日(2017.11.16)

(51) Int.Cl.

G01N 21/359 (2014.01)

F I

G01N 21/359

テーマコード (参考)

2G059

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2016-93841 (P2016-93841)
 (22) 出願日 平成28年5月9日(2016.5.9)

(71) 出願人 000002130
 住友電気工業株式会社
 大阪府大阪市中央区北浜四丁目5番33号
 308038613
 公立大学法人和歌山県立医科大学
 和歌山県和歌山市紀三井寺811番地1
 (74) 代理人 100088155
 弁理士 長谷川 芳樹
 (74) 代理人 100113435
 弁理士 黒木 義樹
 (74) 代理人 100136722
 弁理士 ▲高▼木 邦夫
 (74) 代理人 100174399
 弁理士 寺澤 正太郎

最終頁に続く

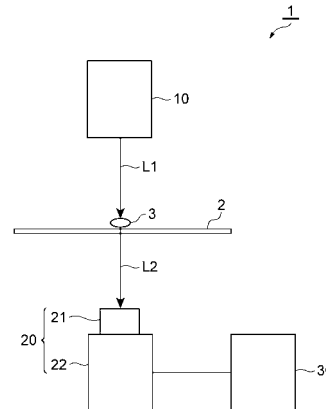
(54) 【発明の名称】 腫瘍細胞検出方法及び腫瘍細胞検出装置

(57) 【要約】

【課題】 試料に含まれる種々の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能な腫瘍細胞検出方法及び腫瘍細胞検出装置を提供する。

【解決手段】 腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法によれば、試料に含まれる細胞を測定することにより得られた当該細胞に係る分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する。したがって、試料に含まれる種類が未知の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能となる。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料に含まれる細胞を測定することにより得られた当該細胞に係る分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する分析工程を有する腫瘍細胞検出方法。

【請求項 2】

前記分光スペクトルは、近赤外光の波長帯域におけるスペクトルである請求項 1 に記載の腫瘍細胞検出方法。

【請求項 3】

前記細胞は、血液に含まれる細胞であって、

10

前記分析工程において、腫瘍細胞及びその他の血液中の細胞を測定することにより得られた複数の分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、腫瘍細胞であるか否かを判定するための境界条件を算出し、前記細胞を測定することにより得られた分光スペクトルと前記境界条件とに基づいて、前記細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する請求項 1 又は 2 に記載の腫瘍細胞検出方法。

【請求項 4】

試料に含まれる細胞に対して測定光を照射する光源部と、

前記光源部からの前記測定光の照射によって出射される前記細胞からの透過光又は反射光を受光することで当該細胞に係る分光スペクトルを取得する検出部と、

20

前記検出部において取得された前記分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する分析部と、

を有する腫瘍細胞検出装置。

【請求項 5】

前記検出部は、前記分光スペクトルとして近赤外光の波長帯域におけるスペクトルを取得する請求項 4 に記載の腫瘍細胞検出装置。

【請求項 6】

前記細胞は、血液に含まれる細胞であって、

前記分析部は、腫瘍細胞及びその他の血液中の細胞を測定することにより得られた複数の分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、腫瘍細胞であるか否かを判定するための境界条件を算出しておき、前記試料に含まれる細胞を測定することにより得られた分光スペクトルと前記境界条件とに基づいて、前記細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する請求項 4 又は 5 に記載の腫瘍細胞検出装置。

30

【請求項 7】

前記検出部は、前記細胞からの透過光又は反射光を分光する分光手段を有し、

前記分光手段は、波長選択フィルタ、干渉光学系、回折格子、又はプリズムである請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の腫瘍細胞検出装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、腫瘍細胞検出方法及び腫瘍細胞検出装置に関する。

40

【背景技術】

【0002】

固形がん患者においては、原発腫瘍組織から腫瘍細胞が遊離し、血液中を循環していることが知られている。この血中循環腫瘍細胞 (CTC: Circulating tumor cell) を血液中から分離・回収することで、患者の予後、腫瘍の分子生物学的特徴、および治療前後における腫瘍の性状変化の把握が可能となることがこれまでに数多く報告されている。細胞を光学的に分析する方法としては、例えば、特許文献 1, 2 等が示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

50

【特許文献1】特表2001-523334号公報

【特許文献2】特表平11-500832号公報

【特許文献3】特開2012-22002号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、特許文献1, 2等のような既存の検出方式では、顕微鏡下で細胞を観察するために血液にごくわずか(血液細胞 $10^8 \sim 10^9$ 個に対してCTC1個)しか存在しないCTCを見落とす可能性が高い。また、他の検出手法としてCTCの表面に発現した特定のマーカータンパク質に対する免疫反応を利用する生物学的手法が用いられることがある(特許文献3)。この場合、検出能力がマーカータンパク質の発現に依存するため、マーカータンパク質が発現している腫瘍細胞しか検出できない。また腫瘍細胞の集団は不均一であるために、マーカータンパク質発現量が一定でないことも知られており、検出能力が不安定となっている。さらに、EMT(Epithelial Mesenchymal Transition; 上皮間葉転換)を起こした腫瘍細胞ではマーカータンパク質が発現していない、または発現量が少ないため、検出が困難である。さらに回収後の細胞を培養する際の生存率の低下や、DNA解析又はタンパク質解析における精度の劣化が発生することが考えられる。

10

【0005】

本発明は上記を鑑みてなされたものであり、試料に含まれる種々の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能な腫瘍細胞検出方法及び腫瘍細胞検出装置を提供することを目的とする。

20

【課題を解決するための手段】

【0006】

本願発明は、

(1) 試料に含まれる細胞を測定することにより得られた当該細胞に係る分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する分析工程を有する腫瘍細胞検出方法。

(2) 試料に含まれる細胞に対して測定光を照射する光源部と、

前記光源部からの前記測定光の照射によって出射される前記細胞からの透過光又は反射光を受光することで当該細胞に係る分光スペクトルを取得する検出部と、

30

前記検出部において取得された前記分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する分析部と、

を有する腫瘍細胞検出装置、

である。

【発明の効果】

【0007】

本発明によれば、試料に含まれる種々の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能な腫瘍細胞検出方法及び腫瘍細胞検出装置が提供される。

【図面の簡単な説明】

40

【0008】

【図1】実施形態に係る腫瘍細胞検出装置の概略構成図である。

【図2】実施形態に係る腫瘍細胞検出装置における対象物の搬送例を説明する図である。

【図3】腫瘍細胞検出方法を説明する図である。

【図4】培養がん細胞(腫瘍細胞)、赤血球、及びリンパ球の近赤外光の波長帯域における分光スペクトルの例である。

【図5】細胞から取得した分光スペクトルを主成分分析により分類した例を示す図である。

【図6】細胞から取得した分光スペクトルを主成分分析により分類した例を示す図である。

50

【図7】細胞から取得した分光スペクトルを主成分分析により分類した例を示す図である。

【図8】細胞から取得した分光スペクトルを主成分分析により分類した例を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0009】

[本願発明の実施形態の説明]

最初に本願発明の実施態様を列記して説明する。

【0010】

本願の腫瘍細胞検出方法は、(1)試料に含まれる細胞を測定することにより得られた当該細胞に係る分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する分析工程を有する。

10

【0011】

上記の腫瘍細胞検出方法によれば、統計的手法、機械学習又はパターン認識を用いて、試料に含まれる細胞に係る分光スペクトルから当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定することができる。したがって、試料に含まれる種々の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能となる。

【0012】

(2)また、本願発明は上述の(1)に記載の腫瘍細胞検出方法において、前記分光スペクトルは、近赤外光の波長帯域におけるスペクトルである態様とすることができる。

20

【0013】

近赤外光の波長帯域におけるスペクトルを試料に含まれる細胞の分光スペクトルとして使用することで、試料に含まれる細胞が腫瘍細胞であるか否かを好適に判定することができる。

【0014】

(3)また、本願発明は上述の(1)、(2)に記載の腫瘍細胞検出方法において、前記細胞は、血液に含まれる細胞であって、前記分析工程において、腫瘍細胞及びその他の血液中の細胞を測定することにより得られた複数の分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、腫瘍細胞であるか否かを判定するための境界条件を算出し、前記試料に含まれる細胞を測定することにより得られた分光スペクトルと前記境界条件とに基づいて、前記細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する態様とすることができる。

30

【0015】

上記のように境界条件を予め求めておき、これに基づいて試料に含まれる細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する構成とすることで、試料に含まれる細胞が腫瘍細胞であるか否かを好適に判定することができる。

【0016】

本願の腫瘍細胞検出装置は、(4)試料に含まれる細胞に対して測定光を照射する光源部と、前記光源部からの前記測定光の照射によって出射される前記細胞からの透過光又は反射光を受光することで当該細胞に係る分光スペクトルを取得する検出部と、前記検出部において取得された前記分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する分析部と、を有する。

40

【0017】

上記の腫瘍細胞検出装置によれば、統計的手法、機械学習又はパターン認識を用いて、試料に含まれる細胞に係る分光スペクトルから当該細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定することができる。したがって、試料に含まれる種々の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能となる。

【0018】

(5)また、本願発明は上述の(4)に記載の腫瘍細胞検出装置において、前記検出部は、前記分光スペクトルとして近赤外光の波長帯域におけるスペクトルを取得する態様と

50

することができる。

【0019】

近赤外光の波長帯域におけるスペクトルを試料に含まれる細胞の分光スペクトルとして使用することで、試料に含まれる細胞が腫瘍細胞であるか否かを好適に判定することができる。

【0020】

(6)また、本願発明は上述の(4)、(5)に記載の腫瘍細胞検出装置において、前記細胞は、血液に含まれる細胞であって、前記分析部は、腫瘍細胞及びその他の血液中の細胞を測定することにより得られた複数の分光スペクトルに基づいて、統計的手法、機械学習又はパターン認識により、腫瘍細胞であるか否かを判定するための境界条件を算出しておき、前記細胞を測定することにより得られた分光スペクトルと前記境界条件とに基づいて、前記細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する態様とすることができる。

10

【0021】

上記のように境界条件を予め求めておき、これに基づいて試料に含まれる細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する構成とすることで、試料に含まれる細胞が腫瘍細胞であるか否かを好適に判定することができる。

【0022】

(7)また、本願発明は上述の(4)～(6)に記載の腫瘍細胞検出装置において、前記検出部は、前記細胞からの透過光又は反射光を分光する分光手段を有し、前記分光手段は、波長選択フィルタ、干渉光学系、回折格子、又はプリズムである態様とすることができる。

20

【0023】

検出部が波長選択フィルタ、干渉光学系、回折格子、又はプリズムから選ばれる分光手段を有することで、検出部において試料に含まれる細胞からの光を好適に分光した上で分光スペクトルを取得することができるため、光源部に用いることが可能な光源の選択肢を広げることができる。

【0024】

[本願発明の実施形態の詳細]

本発明に係る腫瘍細胞検出方法及び腫瘍細胞検出装置の具体例を、以下に図面を参照しつつ説明する。なお、本発明はこれらの例示に限定されるものではなく、特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲と均等の意味及び範囲内での全ての変更が含まれることが意図される。

30

【0025】

図1は、本発明の一実施形態に係る腫瘍細胞検出装置の概略構成図である。図1に示すように、腫瘍細胞検出装置1は、測定台2上の対象物3たる細胞について、光学測定に基づいて腫瘍細胞であるか否かを判定することを主な目的とした装置である。

【0026】

本実施形態に係る腫瘍細胞検出装置1は、血液中を循環する腫瘍細胞を検出することを目的としている。したがって、対象物3となるのは血液中に存在する細胞である。また、本実施形態では、検出対象となる腫瘍細胞が血中循環腫瘍細胞(CTC: Circulating tumor cell)である場合について説明するが、循環内皮細胞(CEC: Circulating Endothelial Cell)又は循環内皮前駆細胞(CEP: Circulating Endothelial Progenitor)等の他の細胞を検出対象とすることもできる。なお、血液中の細胞を直接評価する場合には、試料は血液である。また、対象物3となる細胞は、血液中から取り出された状態であってもよいし、血液又血液由来の液体中に対象物3が分散した状態で腫瘍細胞検出装置1による検出が行われてもよい。血液とは異なる液体中に対象物3が分散している場合には、試料は対象物3である細胞が分散している液体となる。図1では、対象物3の細胞が測定台2上に載置されている例を示している。

40

【0027】

腫瘍細胞検出装置1では、測定光を対象物3に対して照射することにより得られる透過

50

光のスペクトルを測定し、そのスペクトルに基づいて対象物 3 が腫瘍細胞であるか否かを判定する。このため、腫瘍細胞検出装置 1 は、光源部 10、検出部 20、及び分析部 30 を備える。

【0028】

光源部 10 は、測定光 L1 を対象物 3 が載置される領域に対して照射する。光源部 10 の光源としては、ハロゲンランプ等を用いることができる。また、種光源及び非線形媒質を備え、種光源から出射される光を非線形媒質に入力し、非線形媒質中における非線形光学効果によりスペクトルを広帯域に広げてスーパーコンティニウム (SC) 光として出力する SC 光源を光源部 10 の光源として用いることもできる。SC 光源を光源部 10 の光源として用いた場合、ハロゲンランプと比較して SC 光源による加熱が低減されるため、対象物 3 である細胞への影響を軽減させることができる。さらに、光源部 10 は強度を変調する機能を有していてもよい。

10

【0029】

なお、本実施形態において光源部 10 が照射する測定光 L1 の波長は特に限定されず、対象物 3 及び対象物 3 の周辺の液体等に応じて適宜選択される。測定光 L1 として、近赤外光を用いることができる。近赤外光とは、波長範囲が 800 nm ~ 2500 nm の波長帯域の光である。なお、測定光 L1 として、可視光を用いることもできる。可視光とは、波長範囲が 400 nm ~ 800 nm の波長帯域の光である。また、近赤外光と可視光とを組み合わせると測定光 L1 としてもよい。

【0030】

検出部 20 は、光源部 10 から照射される測定光 L1 が対象物 3 の表面で拡散反射された又は対象物 3 を透過した後に検出部 20 の配置される方向へ出力された光を受光し、対象物 3 に係る分光スペクトルとして検出する。なお、本実施形態における分光スペクトルとは、分光情報から任意の波長における強度値を抽出し、対応する波長と対にした一連のデータのことである。分光スペクトルには、波長と強度値との組み合わせが 5 つ以上含まれるが、波長と強度値との組み合わせの情報が多い方が、後述の分析の精度が向上する。また、分光情報とは、任意の波長における光強度情報の集合体である。具体的な例としては、反射光強度、透過光強度、吸光度などである。したがって、これを波長順に並べたものが反射光スペクトル、透過光スペクトル、吸光度スペクトルとなる。検出部 20 では、反射光スペクトル、透過光スペクトル及び吸光度スペクトルのいずれかを分光スペクトルとして取得する。なお、反射光には、拡散反射光、直接反射光等が含まれる。

20

30

【0031】

検出部 20 は、分光器 21 (分光手段) と検出器 22 とを含む。検出部 20 の分光器 21 は、透過光 L2 として入射した光を波長後に分光する機能を有する。分光器 21 としては、例えば、波長選択フィルタ、干渉光学系、回折格子、又はプリズムを用いることができる。分光器 21 を上記の手段から選択する構成とした場合、検出部 20 において対象物 3 からの光を好適に分光した上で分光スペクトルを取得することができるため、光源部 10 に用いることが可能な光源の選択肢を広げることができる。

【0032】

検出部 20 の検出器 22 としては、例えば、水銀、カドミウム及びテルルからなる MC T 検出器、InGaAs 検出器等を用いることができる。本実施形態では、対象物 3 からの透過光 L2 を受光し、分光器 21 によって分光した後に検出器 22 において透過光スペクトルを対象物 3 に係る分光スペクトルとして取得する構成を示している。この場合、検出部 20 は、対象物 3 を挟んで光源部 10 と対向する位置に設けられる。なお、対象物 3 からの拡散反射光スペクトルを分光スペクトルとして取得する場合には、光源部 10 及び検出部 20 は対象物 3 に対して同じ側に設けられる。検出部 20 で検出した分光スペクトルの情報は分析部 30 へ送られる。

40

【0033】

また、検出部 20 は、ハイパースペクトル画像を取得するハイパースペクトルセンサであってもよい。ハイパースペクトル画像とは、一画素が N 個の波長データにより構成され

50

ている画像であり、画素毎にそれぞれ複数の波長に対応した反射強度データからなるスペクトル情報が含まれている。すなわち、ハイパースペクトル画像は、画像を構成する画素毎に、それぞれ複数波長の強度データを持つという特徴から、画像としての二次元的要素と、スペクトルデータとしての要素をあわせ持った三次元的構成のデータである。なお、本実施形態では、ハイパースペクトル画像とは、1画素あたり少なくとも5つの波長帯域における強度データを保有している画素によって構成された画像のことをいう。

【0034】

なお、本実施形態では、検出部20では、対象物3からの透過光L2を分光した上で分光スペクトルを取得する構成について説明したが、検出部20において分光スペクトルを取得するための構成は上記に限定されない。例えば、光源部10の光源から出射する光の波長が可変である構成としてもよい。この場合、測定光L1の波長が変化するので、検出部20では測定光L1の波長変化に対応して対象物3の細胞から出射される透過光L2を順次検出することで対象物3の細胞に係る分光スペクトルを取得することができる。このように、対象物3の細胞に係る分光スペクトルを取得するための光源部10及び検出部20の構成は適宜変更することができる。

10

【0035】

分析部30は、検出部20から送られる対象物3に係る分光スペクトルの情報を受け取り、演算処理等を行うことで、対象物3が腫瘍細胞であるか否かを判定する機能を有する。分析部30により、吸収スペクトルの導出、測定スペクトルの2階微分スペクトルの導出、吸収スペクトルの2階微分スペクトルの導出等を行ってもよい。

20

【0036】

分析部30は、CPU (Central Processing Unit)、主記憶装置であるRAM (Random Access Memory) 及びROM (Read Only Memory)、検出ユニット等の他の機器との間の通信を行う通信モジュール、並びにハードディスク等の補助記憶装置等のハードウェアを備えるコンピュータとして構成される。そして、これらの構成要素が動作することにより、分析部30としての機能が発揮される。

【0037】

図2は、腫瘍細胞検出装置1の他の構成を説明する図である。図2では、対象物3である細胞が血液又は血液由来の液体中に分散した状態で腫瘍細胞検出装置1による検出を行っている。この場合、対象物3である細胞を含む液体(血液又は血液由来の液体)を収容した試料管5から、試料管5に接続された流路51に沿って細胞を含む液体が供給される。流路51においては対象物3である細胞が液体中に分散した状態となるように内径等が調整されることで、流路51に沿って細胞が1つずつ光源部10と検出部20との間に移動する。したがって、腫瘍細胞検出装置1では、液体中の細胞に係る測定を個別に行うことができる。

30

【0038】

図2に示す構成の場合には、流路51に沿って流れる液体中の対象物3に対して測定光L1を照射することにより対象物3から出射される透過光L2を検出部20で検出する。このように、対象物3に対して測定光L1を照射するための構成及び対象物3からの透過光L2を検出するための構成は適宜変更することができる。また、腫瘍細胞検出装置1では、複数の細胞に係る測定を同時に行う構成とすることもできる。この場合には、検出部20において、複数の細胞に係る分光スペクトルを同時に取得する構成とすることもできる。ただし、対象物3である細胞が腫瘍細胞であるか否かの判定は、細胞単位で行われる。このように、光源部10及び検出部20の構成は適宜変更することができる。

40

【0039】

次に、腫瘍細胞検出装置1による検査方法について、図3を参照しながら説明する。腫瘍細胞検出装置1では、検査の対象物3である細胞に対して測定光L1を照射することで、当該細胞に係る拡散反射スペクトル又は透過スペクトルを対象物3の分光スペクトル取得する工程(S01)と、取得工程で得られた分光スペクトルに基づいて、対象物3である細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定する工程(S02:分析工程)と、判定結果を出力

50

する工程（S03）と、を含む。分光スペクトルを取得する工程（S01）では、光源部10から対象物3に対して、測定光L1が照射される。光源部10から照射された測定光L1は、対象物3へ入射する。対象物3を透過した光のうち、検出部20の方向に進む透過光L2は、検出部20へ到達し、検出部20において、対象物3に係る分光スペクトルとしての透過スペクトルを取得される。そして、腫瘍細胞か否かの判定を行う工程（S02）では、検出部20で得られ分析部30へ送られた分光スペクトル（透過スペクトル）に基づいて、対象物3の細胞に係る処理が行われる。

【0040】

ここで、本実施形態に係る腫瘍細胞検出装置1による腫瘍細胞検出方法では、対象物3である細胞の分光スペクトルに基づいて腫瘍細胞であるか否かを判定する際に、統計的手法、機械学習又はパターン認識を用いることを特徴とする。この点について、具体的に説明する。

10

【0041】

図4は、培養がん細胞（腫瘍細胞）、赤血球、及びリンパ球の近赤外光の波長帯域における分光スペクトル（1000nm～2200nm）の例である。図4（A）は培養がん細胞の分光スペクトルであり、図4（B）は赤血球の分光スペクトルであり、図4（C）はリンパ球の分光スペクトル（吸光度スペクトル）である。なお、図4（A）～図4（C）に示す分光スペクトルは、それぞれ、光量100%の基準スペクトル及び光量0%の基準スペクトルを用いて、各波長での吸光度を変換した後にプロットしたスペクトルである。培養がん細胞、赤血球、及びリンパ球は、いずれも血液中に含まれる細胞であるが、図4（A）～図4（C）に示すように、分光スペクトルの形状や特定の波長での吸光度等に基づいてこれらを分類することは困難である。これに対して、統計的手法、機械学習又はパターン認識を用いることで、腫瘍細胞を他の細胞を分離する。

20

【0042】

統計的手法としては、例えば、主成分分析、因子分析等を用いることができる。また、機械学習としては、例えば、サポートベクトルマシン等を用いることができる。また、パターン認識としては、例えば、MT法等を用いることができる。

【0043】

本実施形態では、腫瘍細胞を特定するための解析手法として、主成分分析（PCA：Principal Component Analysis）を用いる場合について説明する。具体的には、図4（A）～図4（C）に示した3種類の細胞、すなわち、培養がん細胞（腫瘍細胞）、赤血球、及びリンパ球に係る吸光度スペクトルを複数取得し、これらの吸光度スペクトルを用いた主成分分析に基づいて腫瘍細胞を特定することが可能であることを確認した。

30

【0044】

具体的には、培養がん細胞（腫瘍細胞）及び血液細胞（赤血球及びリンパ球）の吸光度スペクトルに基づいた主成分分析を行うことで、各吸光度スペクトルの特徴に係る第1主成分及び第2主成分を求めた。さらに、各吸光度スペクトルにおける第1主成分のスコア値及び第2主成分のスコア値を算出し、プロットした。その結果を図5に示す。

【0045】

主成分分析に用いた各吸光度スペクトルから求められる第1主成分及び第2主成分のスコア値をプロットすると、図5に示すように、培養がん細胞（PC14）と、赤血球と、リンパ球とは互いに異なる群に分類することができる。なお、赤血球とリンパ球とは一部重複している部分があるが、培養がん細胞（腫瘍細胞）と血液細胞（赤血球及びリンパ球）とは明確に区別することが確認できた。このように腫瘍細胞と血液細胞とを明確に区別することができる、両者を分類するための境界条件を特定することができる。

40

【0046】

したがって、種類が未知の細胞について腫瘍細胞であるか否かの判定を行う際には、上記のように、種類が既知である複数の細胞の分光スペクトルを利用して主成分分析を行い、第1主成分及び第2主成分を特定すると共に腫瘍細胞であるか否かを判定するための境界条件を求めておく。その後、判定の対象となる細胞の分光スペクトルに係る第1主成分

50

と第2主成分に対応するスコア値を求め、境界条件との対比によってその細胞が腫瘍細胞であるか否かの判定を行う。

【0047】

このように、腫瘍細胞検出装置1及び腫瘍細胞検出方法によれば、対象物の細胞が腫瘍細胞であるか否かの判定を非接触的に行うことができる。すなわち、種類が未知の細胞の中から腫瘍細胞を非接触的に検出することが可能となる。

【0048】

なお、図5では、波長帯域1000nm～2200nmにおける分光スペクトルを利用してがん細胞と血液細胞とを区別した例について説明したが、分光スペクトルの波長帯域を変更した場合でも、主成分分析を利用してがん細胞と血液細胞とを区別することが可能である。図6～図8において他の分析例を示す。

10

【0049】

図6は、波長帯域1200nm～1500nmにおける分光スペクトルを利用してがん細胞と血液細胞とを区別した例である。また、図7は、波長帯域1500nm～1800nmにおける分光スペクトルを利用してがん細胞と血液細胞とを区別した例である。また、図8は、波長帯域1800nm～2100nmにおける分光スペクトルを利用してがん細胞と血液細胞とを区別した例である。図6～図8に示す分析例で使用した分光スペクトルは図5での分析例と同じであり、分析を行う対象とした波長帯域を変更したものである。いずれの分析例においても、腫瘍細胞と血液細胞（赤血球及びリンパ球）とは明確に区別することが確認できた。このように、主成分分析を行う際に利用する分光スペクトルの波長帯域は特に限定されず、適宜変更することができる。

20

【0050】

また、腫瘍細胞検出装置1及び腫瘍細胞検出方法による腫瘍細胞の検出は、腫瘍細胞における特定の波長における吸光度等を利用したものではなく、腫瘍細胞と他の細胞（血液細胞）との分光スペクトルの形状の違いを利用したものである。したがって、上記実施形態では主成分分析を行うことで、腫瘍細胞を検出した例について説明したが、分光スペクトルの形状の違いに基づいた分類を行うことができる他の手法、すなわち、統計的手法、機械学習又はパターン認識を用いても、腫瘍細胞の検出が可能である。

【0051】

例えば、サポートベクトルマシンを用いて血液細胞とそれ以外の細胞の2群に分離する場合には、種類が既知である細胞の分光スペクトルとして、血液細胞及び腫瘍細胞の分光スペクトルを予め取得する。そして、2種類の分光スペクトルを教師データとして、サポートベクトルマシンを用いて、判別関数及び判別閾値を作成する。その後、種類が未知である分析対象の細胞の分光スペクトルを取得し、解析を行う。このとき、分析対象の細胞の分光スペクトルと判別関数を掛け合わせた結果と、判別閾値とを比較することにより、その細胞が腫瘍細胞であるか否かを判定することができる。このように、分光スペクトルを用いて、統計的手法、機械学習又はパターン認識を用いて腫瘍細胞と血液細胞とを分離することができる。

30

【0052】

さらに、上記では近赤外光の波長域における分光スペクトルを利用した分析について説明したが、その他の波長域においても腫瘍細胞と他の細胞との間で分光スペクトルの形状は変化する。したがって、他の波長域の光に対する分光スペクトルを利用した場合でも、上記の例と同様に腫瘍細胞を検出することが可能である。

40

【0053】

上記の腫瘍細胞検出装置1及び腫瘍細胞検出方法による作用効果について説明する。従来は、血液中の種々の細胞から腫瘍細胞を検出するためには、特定のマーカータンパク質により腫瘍細胞を染色する必要があった。しかしながら、上記の腫瘍細胞検出装置1及び腫瘍細胞検出方法においては、主に両者の細胞骨格の違いから生じると考えられる分光スペクトルの差異に着目することでの区別を実現している。すなわち、特定のマーカータンパク質に依存しないことより、理論的にはすべての腫瘍細胞を検出することが可能となる。

50

【 0 0 5 4 】

また、従来の手法では抗体を使うため、対象となる細胞におけるマーカータンパク質の発現量に検出能力が依存する。このため細胞種によっては検出が困難なものがあることが明らかになっていた。これに対して、上記の腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法では、分光スペクトルにおける血液細胞と腫瘍細胞との違いを利用して両者を判別する。したがって、マーカータンパク質の発現が少ない腫瘍細胞も検出することが可能となる。

【 0 0 5 5 】

例えば、上記の図 5 ~ 図 8 の分析例で用いた分光スペクトルの取得に利用した培養がん細胞 (P C 1 4) は、培養細胞株の中でも従来から用いられている装置で抗体を使用した検出に利用するマーカータンパク質の発現量が少ない細胞株である。すなわち、従来の手法では検出が困難な細胞である。しかしながら、上記の腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法を用いることで、マーカータンパク質の多寡によらず血液細胞との分離が可能となることが確認された。このように、上記の腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法では、腫瘍細胞の種類によらず、検出精度が向上すると考えられる。

10

【 0 0 5 6 】

さらに、上記の腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法では、分光スペクトルを取得するのみで腫瘍細胞を検出できるため、非接触・非侵襲で腫瘍細胞を検出することが可能である。したがって、細胞にマーカータンパク質等の標識物質を付着する必要がないため、以降の検査、解析、研究において損傷の少ない細胞を使用することができる。

【 0 0 5 7 】

腫瘍細胞を非接触に検出することが可能となると、従来から行われている腫瘍細胞数の検出に限定されず、腫瘍細胞を用いた D N A 解析やタンパク質解析が大きく促進されることが予想される。また、上記実施形態で説明した手法を用いると、腫瘍細胞に関して、従来よりも信頼性の高いデータを得ることが可能となると考えられる。したがって、実地臨床でのがん診断におけるスタンダードである腫瘍組織を用いた診断の代替診断として、C T C 等の血中の腫瘍細胞を用いた診断の臨床応用の可能性が広がることが期待される。また血液中の細胞から腫瘍細胞を検出することが容易になると、回収した腫瘍細胞を用いてのがん基礎研究の発展やその成果としての新規治療標的の同定等も期待される。研究及び医療機器として上記の腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法が実用化された場合には、研究を実施している研究機関やがん診療における基幹病院への導入が期待できることより、大きな経済的効果が期待できると考える。

20

30

【 0 0 5 8 】

なお、本発明に係る腫瘍細胞検出装置 1 及び腫瘍細胞検出方法は上記実施形態に限定されない。例えば、上記実施形態のように腫瘍細胞検出装置 1 が光源部 1 0、検出部 2 0 及び分析部 3 0 を備えている構成には限定されず、その構成は適宜変更することができる。また、腫瘍細胞検出方法は、腫瘍細胞検出装置 1 のように光源部 1 0 及び検出部 2 0 を備えていない装置においても実施することができる。すなわち、他の装置で取得した分光スペクトルを利用して分析を行う構成であってもよい。

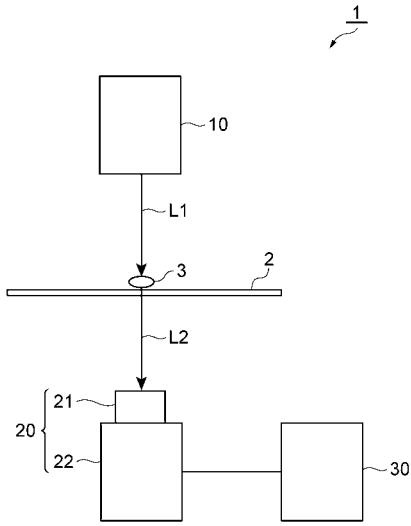
【 符号の説明 】

【 0 0 5 9 】

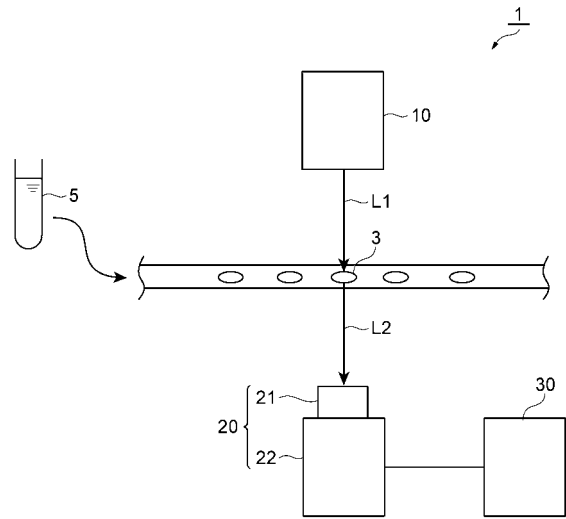
1 ... 腫瘍細胞検出装置、 2 ... 測定台、 3 ... 対象物、 5 ... 試料管、 1 0 ... 光源部、 2 0 ... 検出部、 3 0 ... 分析部。

40

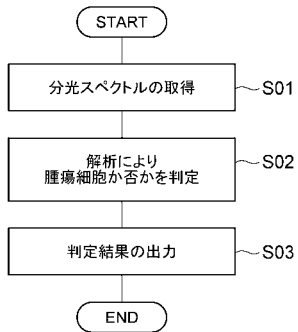
【 図 1 】



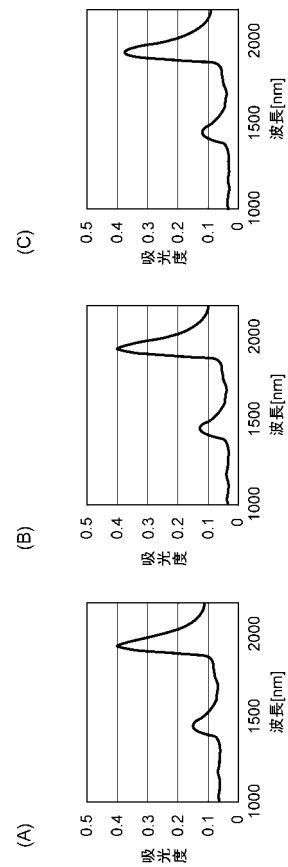
【 図 2 】



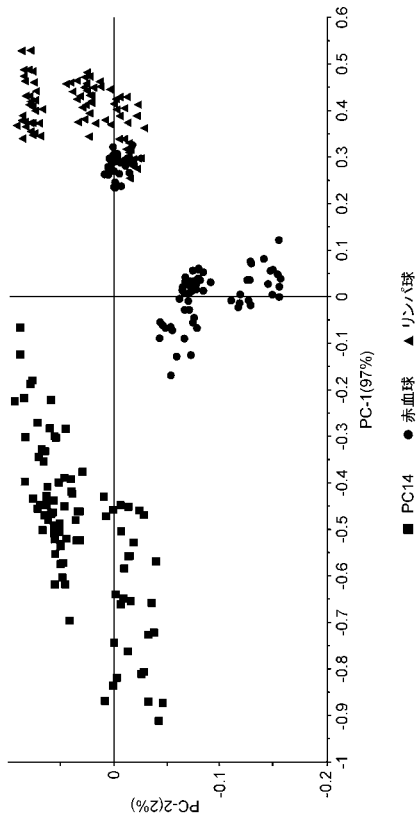
【 図 3 】



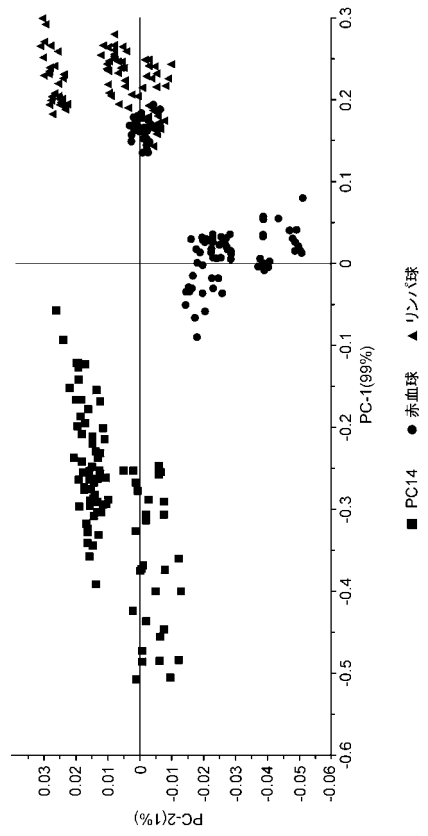
【 図 4 】



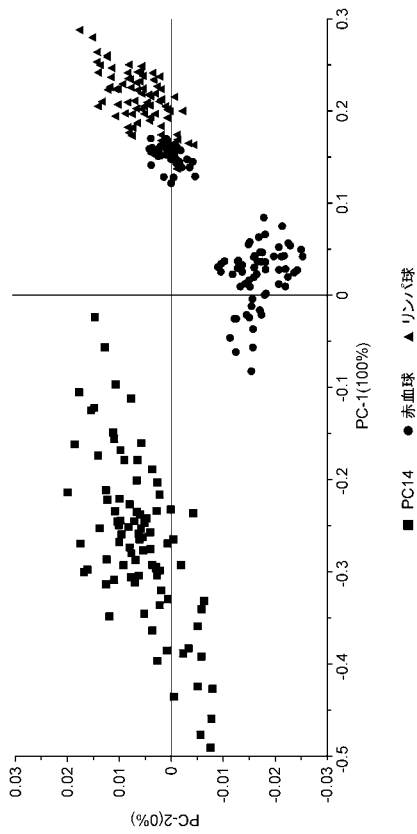
【 図 5 】



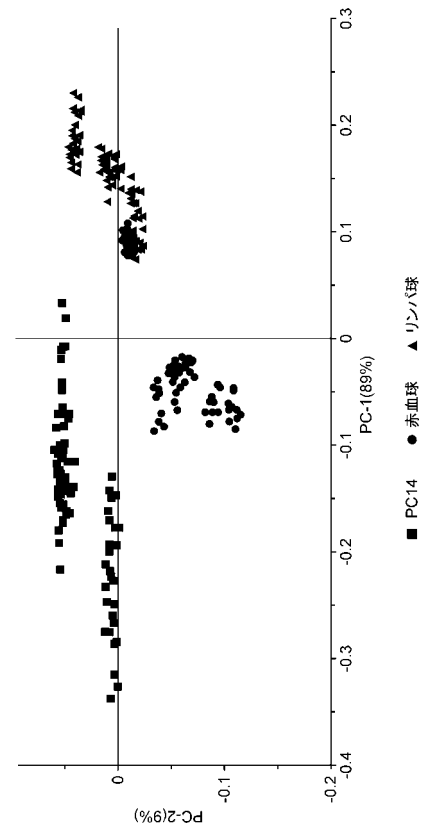
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



フロントページの続き

(72)発明者 祖川 伊知郎

神奈川県横浜市栄区田谷町1番地 住友電気工業株式会社横浜製作所内

(72)発明者 木村 彰紀

神奈川県横浜市栄区田谷町1番地 住友電気工業株式会社横浜製作所内

(72)発明者 洪 泰浩

和歌山県和歌山市紀三井寺8-1-1 公立大学法人和歌山県立医科大学内

Fターム(参考) 2G059 AA05 BB14 EE01 EE02 EE12 FF01 HH01 HH02 JJ02 JJ05

JJ06 KK01 KK04 MM01 MM02