(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年8月8日(08.08.2019)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2019/150573 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/62 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2018/003757

(22) 国際出願日： 2018年2月5日(05.02.2018)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(71) 出願人: 株式会社島津製作所 (**SHIMADZU CORPORATION**) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 山口 真一 (**YAMAGUCHI, Shinichi**); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP).

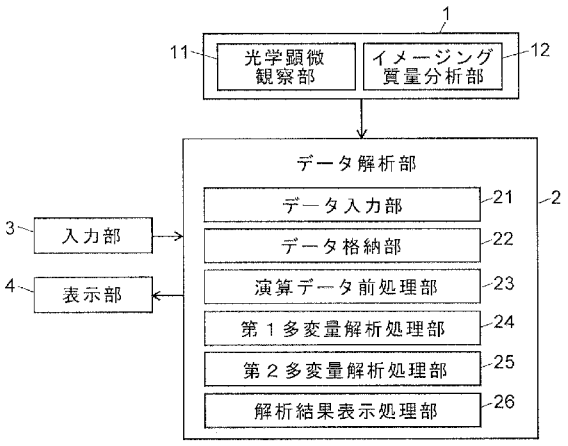
(74) 代理人: 特許業務法人京都国際特許事務所 (**KYOTO INTERNATIONAL PATENT LAW OFFICE**); 〒6008091 京都府京都市下京区東洞院通四条下ル元悪王子町３７番地 豊元四条烏丸ビル Kyoto (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) **Title:** DATA ANALYSIS DEVICE

(54) 発明の名称： データ解析装置

[図1]



2 Data analysis unit
3 Input unit
4 Display unit
11 Optical microscopic observation unit
12 Imaging mass spectrometry unit
21 Data input unit
22 Data storage unit
23 Calculation data preprocessing unit
24 First multivariable analysis processing unit
25 Second multivariable analysis processing unit
26 Analysis result display processing unit

(57) **Abstract:** According to the present invention, a first multivariable analysis processing unit (24) executes, for each sample, a first step PLS regression analysis by taking, as an explanatory variable, mass spectral data obtained for each of a plurality of measurement points in a measurement area and by taking, as an explained variable, a pixel value of a pixel corresponding to each measurement point in a fluorescent image obtained by fluorescence-labeling and capturing an image of a specific compound, and obtains a regression coefficient matrix. A second multivariable analysis processing unit

WO 2019/150573 A1

[続葉有]

SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(25) executes a second step PLS regression analysis by taking, as an explanatory variable, a result obtained by integrating a plurality of one-dimensional regression coefficient matrices obtained for a plurality of samples and by taking, as an explained variable, information indicating the severity of cancer in each sample as information indicating a state of each sample, and obtains a regression coefficient matrix again. Accordingly, new information, which is hard to obtain in a conventional manner, can be acquired, the new information including information that pertains to a compound or the like indicating a change in amount according to the severity of cancer among compounds indicating a distribution similar to that of the specific compound on the fluorescent image.

(57) 要約:第１多変量解析処理部（２４）は、一つの試料毎に、測定領域内の複数の測定点それぞれについて得られたマススペクトルデータを説明変数、特定の化合物を蛍光標識して撮影した蛍光画像において各測定点に対応する画素の画素値を被説明変数、とする一段階目のPLS回帰分析を実行し、回帰係数行列を求める。第２多変量解析処理部（２５）は、複数の試料について得られた複数の１次元回帰係数行列を集約して説明変数とし、各試料の状態を示す情報として各試料の癌の重症度を示す情報を被説明変数とした二段階目のPLS回帰分析を実行し、再び回帰係数行列を求める。これにより、蛍光画像上の特定の化合物に類似した分布を示す化合物の中で癌の重症度に応じた量の変化を示す化合物等、従来手法では得られにくい新たな情報を取得することができる。

明　細　書

発明の名称 ： データ解析装置

技術分野

[0001] 本発明は、試料や被検体に対し測定や観察を行うことで得られたデータを解析するデータ解析装置に関し、特に、様々な条件の下で得られた多数の試料についての測定データに基づいてそれら試料についての有用な情報を引き出したり、同じ試料に対して異なる測定手法や観察手法で得られた複数の多次元的な測定データに基づいて該試料についての有用な情報を引き出したりするのに好適なデータ解析装置に関する。

背景技術

[0002] 近年、質量分析装置、クロマトグラフ装置、光学分析装置といった様々な分析装置で得られたデータの解析に、統計的解析手法の一つである多変量解析が盛んに利用されるようになってきている。例えば異なる複数の試料についてそれぞれ分析を行うことで得られた膨大なデータに基づいて試料間の相違を見つけたり、そうした相違に関連する要因を見つけたりする際に、多変量解析は非常に有用な手法である。

分析装置で得られるデータの解析に多変量解析を用いた一例を簡単に説明する。

[0003] 近年、生体組織切片などの試料上の２次元的な測定領域内の多数の測定点それぞれについて質量分析を実行することが可能な質量分析装置が知られている。この種の質量分析装置はイメージング質量分析装置と呼ばれており、付設された光学顕微鏡によって試料の表面の微細な形態を観察しながら、同じ試料表面における特定の質量電荷比（m/z）を有するイオンの２次元的な強度分布を示す質量分析イメージング画像を取得することが可能である。

[0004] 特許文献１に記載のイメージング質量分析装置では、光学顕微鏡で得られた顕微画像を分析者が確認して着目する部位（関心領域）を特徴付ける色を指定すると、顕微画像においてその色を示す部位の分布に類似したイオン強

度分布を示す質量電荷比が相関分析や回帰分析によって抽出される。それにより、質量電荷比に基づく化合物の特定が可能であれば、試料上で分析者が着目する部位と類似した分布を示す化合物を特定することができる。

[0005] もちろん、顕微画像で観測される分布と類似した分布を示す質量分析イメージング画像だけでなく、イオン強度分布が互いに類似している複数の質量電荷比も比較的容易に見つけることができる。これにより、同じ動態を示す複数の化合物を見いだしたり、同じ化合物に由来する複数の部分構造を見つけて化合物の構造を推定したりすることもできる。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第２０１７／００２２２６号パンフレット

特許文献2：国際公開第２０１６／０９２６０８号パンフレット

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 上記のような従来の解析は一つの試料についてのみの解析であるが、多数の試料についての解析結果を適切に結び付けることが可能であれば、癌などの特定の疾病の原因の究明やより的確な診断の研究などに非常に有用な情報が得られる可能性がある。例えば、癌の進行度合いが様々である多数の試料についての分析結果から、癌が進行したあとでなくその初期段階で特異的に発現する化合物を見つけたり、或いは治療の効果の程度を反映した化合物を見つけたりすることができる可能性がある。しかしながら、こうしたことを目的としたデータ解析を簡便に実現することができる手法は従来存在しなかった。

[0008] また、そもそも一般に、多変量解析を行う従来のデータ解析装置により得られる解析結果は専門的な知識を有する者でないと把握することが難しく、十分に有用な情報をユーザに提供できていないという問題があった。

[0009] 本発明はこうした課題を解決するために成されたものであり、その主たる

目的の一つは、異なる種類の測定や観察などによって得られた複数のデータを比較したり関連付けたりする解析処理を行うことで、従来の解析手法では得られない有用な情報を取得することができるデータ解析装置を提供することである。

課題を解決するための手段

[0010] 上記課題を解決するために成された本発明に係る第１の態様のデータ解析装置は、複数の試料についてそれぞれ所定の測定を実行することで所定のパラメータ値毎に得られたデータを集約した第１のデータ群と、該複数の試料についてそれぞれ前記所定の測定とは別の手法による測定を実行することで得られたデータを集約した第２のデータ群と、に基づく解析処理により前記複数の試料全般に関する情報を求めるデータ解析装置であって、

a)第１のデータ群を説明変数、第２のデータ群を被説明変数（目的変数）とする所定の統計的解析処理を実施し、両データ群中のデータの類似性又は相違性を示す複数の指標値を算出する第１の統計的解析処理部と、

b)前記第１の統計的解析処理部で算出された複数の指標値を説明変数、前記複数の試料にそれぞれ関連する他の情報を被説明変数（目的変数）とする所定の統計的解析処理を実施し、前記指標値と前記他の情報との類似性又は相違性を示す複数の指標値を算出する第２の統計的解析処理部と、

c)前記第２の統計的解析処理部で算出された複数の指標値を用い、前記他の情報と前記第１のデータ群との関係、又は、前記他の情報と前記第２のデータ群との関係、を示すグラフを作成して表示する表示処理部と、

を備えることを特徴としている。

[0011] 本発明に係る第１の態様のデータ解析装置における典型的な実施形態として、

前記第１のデータ群は、複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析を行うことで得られた、２次元的な測定領域内の複数の測定点それぞれにおける、質量電荷比を前記所定のパラメータとしたマススペクトルデータであり、

前記第２のデータ群は、複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析とは異なる測定手法で得られた、２次元的な測定領域内の所定の信号強度の分布を示す画像データであり、

前記第１の統計的解析処理部は、試料毎に、前記第２のデータ群による一つ又は複数の画像と、前記第１のデータ群による各質量電荷比における信号強度の分布画像との類似性又は相違性を示す指標値を算出する構成とすることができる。

[0012] 上記「イメージング質量分析とは異なる測定手法」としては、ラマン分光測定、蛍光測定、様々な波長（テラヘルツ域、遠近赤外域、可視域、紫外域、Ｘ線域など）の電磁波の放出強度の測定や吸収測定、ＰＥＴ（Positron Emission Tomography）測定、ＭＲＩ（Magnetic Resonance Imaging）測定、ＥＳＲ（Electron Spin Resonance）測定、ＣＴ（Computed Tomography）測定、ＥＰＭＡ（Electron Probe MicroAnalyser）による表面分析などの各種の測定や分析、或いは、電子顕微鏡や光学顕微鏡による観察などのいずれかとすることができる。例えば第２のデータ群が上述したような光学的な測定手法で得られた画像データを含むものである場合、複数の波長それぞれにおいて異なる画像を構成する画像データであってもよいし特定の一つの波長における一つの画像を構成する画像データであってもよい。

[0013] いま例えば第２のデータ群が一つのカラー画像をモノクロ化した光学顕微画像を構成する画像データ、つまりは測定点に対応する画素の画素値を示すデータ群である場合、第１の統計的解析処理部は、試料毎に、その試料における画素値データと画像と、各質量電荷比の信号強度の分布を示す分布画像との類似性又は相違性を示す指標値を計算する。この第１の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は例えば、部分最小二乗回帰（ＰＬＳ回帰）分析とするとよい。

[0014] 上記データに対しＰＬＳ回帰分析を適用することにより、上記指標値として質量電荷比毎に回帰係数を求めることができる。一つの試料について求まる質量電荷比毎の回帰係数を係数行列とすれば、複数の試料について複数の

係数行列が求まる。

[0015] 本発明に係る第１の態様のデータ解析装置ではさらに第２の統計的解析処理部が、この複数の係数行列を説明変数、複数の試料にそれぞれ関連する他の情報を被説明変数とする所定の統計的解析処理を実施する。ここで、「複数の試料にそれぞれ関連する他の情報」とは数値化可能な状態であれば特にその内容を問わず、解析の目的等に応じて適宜の情報を用いることができる。また、第２の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は第１の統計的解析処理部による統計的解析処理と同じ手法でもよいし、それとは異なる手法でもよい。具体的には例えば、部分最小二乗回帰（ＰＬＳ回帰）分析又は主成分回帰分析を用いるとよい。

[0016] 例えば複数の試料が特定の疾病に罹患した被検体から採取された生体組織切片であり、試料毎にその疾病の進行度合や重篤度合などが他の情報として与えられている場合、第２の統計的解析処理部でＰＬＳ回帰分析を行うことで、第１の統計的解析処理部で得られた試料毎の回帰係数と疾病の進行度合との類似性を示す回帰係数を求めることができる。この場合、この回帰係数は、光学顕微画像に現れている特定の分布と類似した分布を示す質量電荷比、つまりは化合物と、疾病の進行度合いとの関連性を示している。表示処理部は例えばその関連性を示す適宜の形式のグラフを作成して表示部の画面上に表示する。これにより、ユーザは例えば、光学顕微画像に現れている特定の分布と類似した分布を示す特定の化合物が疾病の進行度合に関連しているか否かを簡便に且つ視覚的に確認することができる。

[0017] 上記本発明に係る第１の態様のデータ解析装置では、複数の試料についてそれぞれ所定の測定を実行することで所定のパラメータ値毎に得られたデータを集約した第１のデータ群と、同じ複数の試料についてそれぞれ別の手法による測定を実行することで得られたデータを集約した第２のデータ群と、について一段階目の統計的解析処理を実行し、その結果と同じ複数の試料にそれぞれ関連する他の情報である第３のデータとについて、二段階目の統計的解析処理を実施していた。これに対し、一段階目の統計的解析処理で得ら

れた結果を分かり易く或いはより大局的に表現するために二段階目の統計的解析処理を実施するようにしてもよい。

[0018] 即ち、本発明に係る第２の態様のデータ解析装置は、複数の試料についてそれぞれ所定の測定を実行することで所定のパラメータ値毎に得られたデータを集約した第１のデータ群と、該複数の試料についてそれぞれ前記所定の測定とは別の手法による測定を実行することで得られたデータ又は該複数の試料にそれぞれ関連する他の情報であるデータを集約した第２のデータ群と、に基づく解析処理により前記複数の試料全般に関する情報を求めるデータ解析装置であって、

a)第１のデータ群を説明変数、第２のデータ群を被説明変数（目的変数）とする所定の統計的解析処理を実施し、両データ群中のデータの類似性又は相違性を示す複数の指標値を算出する第１の統計的解析処理部と、

b)前記第１の統計的解析処理部で算出された複数の指標値を、より低次元の情報に集約するための所定の統計的解析処理を実施する第２の統計的解析処理部と、

c)前記第２の統計的解析処理部による結果に基づき、前記第２のデータ群と前記第１のデータ群における各パラメータ値との関係を示すグラフを作成して表示する表示処理部と、

を備えることを特徴としている。

[0019] 本発明に係る第２の態様のデータ解析装置では上記第１の態様のデータ解析装置と同様に、第１の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は例えば、部分最小二乗回帰分析とするとよい。一方、第２の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は、主成分分析、因子分析、クラスター分析などを用いることができる。

[0020] 本発明に係る第２の態様のデータ解析装置において、例えば試料は生体由来の試料であり、第１のデータ群は、複数の試料についてそれぞれ得られたマススペクトルデータ、第２のデータ群は試料毎の状態を示す情報であるものとする。こうしたデータに対し第１の統計的解析処理部によりＰＬＳ回帰

分析を実行すると、質量電荷比値とその試料毎の状態の関連性の強さの程度を示す指標値として、それぞれの回帰係数を算出することができる。そして、こうして得られた複数の回帰係数について主成分分析を行い、表示処理部がその結果に基づいてスコアプロット又はローディングプロットを作成すると、試料毎の状態と質量電荷比値との関係が俯瞰的に観察できるようになる。

発明の効果

[0021] 本発明に係るデータ解析装置によれば、例えば、異なる種類の測定や観察などによって得られた複数のデータを比較したり関連付けたりすることで、従来の解析手法では得られない有用な情報を取得することができる。具体的には例えば、癌などの特定の疾病が進行したあとでなくその初期段階で特異的に発現する化合物を見つけたり、或いはそうした疾病に対する治療の効果の程度を反映した化合物を見つけたりすることができる可能性がある。

図面の簡単な説明

[0022] [図1]本発明に係るデータ解析装置を用いたイメージング質量分析システムの一実施例の概略構成図。

[図2]本実施例のイメージング質量分析システムにおけるデータ解析処理の概念図。

[図3]本実施例のイメージング質量分析システムにおけるデータ解析の手順を示すフローチャート。

[図4]本実施例のイメージング質量分析システムにおけるデータ解析の変形例の説明図。

[図5]本発明に係るデータ解析装置を用いた質量分析システムの一実施例の概略構成図。

[図6]本実施例の質量分析システムにおけるデータ解析処理の概念図。

発明を実施するための形態

[0023] ［第１実施例］

本発明に係るデータ解析装置を用いたイメージング質量分析システムの一

実施例について、添付図面を参照して説明する。

図１は本実施例のイメージング質量分析システムの概略構成図である。

このシステムは、光学顕微観察部１１とイメージング質量分析部１２を含む測定部１、データ解析部２、入力部３、及び表示部４、を含む。

[0024] 光学顕微観察部１１は試料上の測定領域についての光学的な顕微観察画像を取得するものである。一方、イメージング質量分析部１２は、同じ試料上の測定領域を細かく区分した微小領域（測定点）毎にそれぞれ所定の質量電荷比範囲に亘る質量分析を実施し、それぞれマススペクトルデータを収集するものである。

[0025] データ解析部２は、光学顕微観察部１１で取得される光学顕微画像データ及びイメージング質量分析部１２で取得されるマススペクトルデータを受け取るデータ入力部２１と、受け付けられたデータを格納するデータ格納部２２と、演算データ前処理部２３と、第１多変量解析処理部２４と、第２多変量解析処理部２５と、解析結果表示処理部２６と、を機能ブロックとして備える。

なお、一般に、データ解析部２の実体はパーソナルコンピュータ又はより高性能なコンピュータであるワークステーションであり、そのコンピュータにインストールされた専用の解析ソフトウェアを該コンピュータで実行することにより各部の機能が実現されるものとすることができる。

[0026] 図２は本実施例のイメージング質量分析システムにおける特徴的なデータ解析処理の概念図、図３はそのデータ解析処理の手順を示すフローチャートである。

ここでは、多数の被検体（例えばマウス）の同じ生体組織（例えば肝臓）からそれぞれ切り出された切片を試料とする。この多数の試料は異なる被検体の同じ生体組織のほぼ同じ部位の切片である。被検体は癌を発症しているが、その癌の進行の程度（重症度）は様々であり、その重症度は予め数値化されて試料毎に既知であるものとする。

[0027] 測定部１では、各試料についてそれぞれ、イメージング質量分析部１２に

より、測定領域内の多数の測定点のマススペクトルデータ（これをＭＳイメージングデータという）を取得する。また、上記各試料とそれぞれ同じであるとみなせる試料（同じ被検体、同じ生体組織において連続した切片である試料）に対し特定のタンパク質についての蛍光標識を行ったうえで光学顕微観察部１１で撮影を行い、蛍光画像データを取得する。データ入力部２１はこうして取得された同じであるとみなせる試料についてのＭＳイメージングデータと蛍光画像データとをまとめ、さらに該試料の癌の重症度を示す情報を付加して、具体的には一つのデータファイルとしてデータ格納部２２に格納する。したがって、データ格納部２２には、試料の数（同じであるとみなせる二つの試料を一つとする）と同数のデータファイルが格納される。

[0028] 上述したように複数の試料についてのＭＳイメージングデータ及び蛍光画像データがデータ格納部２２に格納されている状態で、以下のようにして解析処理が実施される。

ユーザが入力部３から処理対象のデータ等を指示すると、データ解析部２において演算データ前処理部２３は、データ格納部２２から処理対象である一つの試料についてのＭＳイメージングデータ及び蛍光画像データを読み出す（ステップＳ１）。上述したようにそれらデータが一つのデータファイルに格納されている場合には、そのデータファイルを読み出せばよい。

[0029] 演算データ前処理部２３は、予め設定されている条件に従って蛍光画像の各画素のデータを単純な画素値データに変換する。例えばヘマトキリシン・エオジン（ＨＥ）等による蛍光画像ではその蛍光色の強度値が画素値としてデータ化される。また、演算データ前処理部２３は、必要に応じて、蛍光顕微画像上とＭＳイメージング画像上における同じ対象物の像の大きさ、向き、歪みなどを修正する位置合わせ処理と解像度を合わせる解像度調整処理を実行する（ステップＳ２）。

[0030] 位置合わせ処理では、具体的には、例えば顕微画像を基準としてＭＳイメージング画像について拡大・縮小、回転、さらには、所定のアルゴリズムに従った変形を行うことで両画像における試料上での位置関係をおおむね一致

させる。この位置合わせには例えば特許文献１に記載の手法を利用することができる。

[0031] また、光学顕微観察部１１における撮像の解像度（位置分解能）は通常、撮像用カメラの解像度で決まるのに対し、ＭＳイメージング画像の解像度はイオン化のために試料に照射されるレーザ光のスポット径によって決まる。そのため、ＭＳイメージング画像の解像度は光学画像の解像度に比べて低いことが多い。そこで、後述する画像の多変量解析を行うために、両画像の解像度を揃える解像度調整処理を実施する。解像度を揃える簡単な方法は、解像度が高いほうの画像の解像度を落として低解像である画像に合わせる方法である。こうした方法としては例えばビニング処理が有用である。また、解像度が低いほうの画像の解像度を上げることで高解像である画像に合わせるようにしてもよい。そのためには、低解像の画像に対しアップサンプリング処理を行って画素数をみかけ上合わせたあとに、或る画素に隣接する又は近接する複数の画素値を利用した補間処理によって、アップサンプリングによって新たに挿入された画素の画素値を算出して埋めればよい。

[0032] 上述した位置合わせ処理及び解像度調整処理によって、蛍光画像から求めた輝度値分布の画像とＭＳイメージング画像との間で、２次元的に同じ位置にある画素同士を対応付けることができる。そのあと、第１多変量解析処理部２４は、一つの試料についてのＭＳイメージングデータに基づいて作成された２次元行列を説明変数（Ｘ）、蛍光画像の画素値データに基づいて作成された１次元行列を被説明変数（Ｙ）としてＰＬＳ回帰分析を実行する。２次元行列は、質量電荷比値を一つの方向、測定点（画素）の位置を上記一つの方向に直交する他の方向にとり、信号強度値を要素とする行列である。ＰＬＳ回帰分析により、$Y = Bpis \cdot X + B_0$ で示される回帰モデルが作成される。ここで、Ｂpisは回帰係数である。回帰係数は質量電荷比毎に求まり、蛍光画像のパターン、つまりはタンパク質の空間分布と類似している質量電荷比又はその分布と反転した分布を示す質量電荷比では、回帰係数Ｂplsの絶対値が大きくなる。この回帰係数は１次元行列となる（ステップＳ３）。

[0033] データ解析部２では、処理対象である全ての試料についてのデータ処理を実施したか否かを判定し（ステップＳ４）、未処理の試料があればステップＳ４からＳ１に戻る。したがって、ステップＳ１～Ｓ４の処理を繰り返すことで、処理対象として指定された全ての試料についてのデータに基づく回帰係数行列が求まる。回帰係数行列の数は試料の総数と同数である。この回帰係数行列中の一つの回帰係数の値は、該当する質量電荷比におけるイオン強度の分布（つまりはその質量電荷比に対応する化合物の分布）と蛍光画像中で蛍光標識された化合物の分布の類似性を示している。したがって、一つの試料において蛍光標識された化合物の分布に類似した分布を示す化合物を調べたい場合には、ここまでの処理で十分である。

[0034] 本実施例のイメージング質量分析システムでは、さらに、図２に示すように、第２多変量解析処理部２５が、試料数と同数である回帰係数行列を説明変数（Ｘ）、各試料についての付随的な情報として与えられている癌の重症度を示す情報を被説明変数（Ｙ）としたＰＬＳ回帰分析を実行する。癌の重症度は、或る時点での癌の重症の程度を表す指標値である。試料毎に重症度の情報が与えられているので、この重症度合いの行列は要素数が試料数と同数の１次元行列である。このＰＬＳ回帰分析ではステップＳ３の処理と同様に、その要素数が試料数と同数の１次元行列である回帰係数行列が得られる（ステップＳ５）。この回帰係数行列中の回帰係数は、重症度合いと蛍光画像の分布に類似した化合物との関係性の程度を示している。即ち、このときの回帰係数の絶対値が大きくなる質量電荷比に対応する化合物は、癌の重症度合いとの関連性が強いと推定される。

[0035] 解析結果表示処理部２６は、ステップＳ５で求まった回帰係数行列に基づいて、予め決められた適宜のグラフを作成し、これを表示部４の画面上に表示する（ステップＳ６、Ｓ７）。例えば、最も簡単なグラフとしては、ステップＳ５で求まった回帰係数行列に基づき、横軸を質量電荷比、縦軸を係数値（ただし正負の極性あり）としたマススペクトル様のグラフを作成するとよい。これにより、蛍光標識された化合物と類似した２次元分布を示す化合

物の中で、癌の重症度と関連性の強い化合物（化合物に対応する質量電荷比）を一目で確認することができる。

[0036] なお、上記処理では、蛍光画像を単純な画素値データに変換していたが、蛍光画像がカラー画像又は複数の波長成分を含む画像であっても、同様の処理が可能である。この場合には、一つの試料に対して蛍光画像は一つではなく、波長の数だけ蛍光画像が存在することになる。蛍光画像が一つのみの場合には、ステップＳ３におけるＰＬＳ回帰分析の被説明変数（Ｙ）は一つ（１次元行列が一つ）のみであったが、蛍光画像が複数ある場合、ステップＳ３におけるＰＬＳ回帰分析の被説明変数（Ｙ）が複数になる。したがって、このときのＰＬＳ回帰分析はＰＬＳ２アルゴリズムを用いればよい。

[0037] このときに得られる回帰係数は図４（ａ）に示すような各波長における各質量電荷比の係数、つまりは２次元的な表形式のものとなる。そこで、これを図４（ｂ）に示すように、質量電荷比と波長とを合わせた１次元の配列に並び替え、ステップＳ５において、試料の数だけ用意した１次元配列の係数行列を説明変数（Ｘ）、癌の重症度を示す情報を被説明変数（Ｙ）としたＰＬＳ回帰分析を実行すればよい。

当然のことながら、こうして得られる回帰係数行列は、質量電荷比と波長との組に対する係数の行列である。

[0038] また、上記例において、蛍光画像に代えて、試料中の特定の化合物の分布が可視化されるような別の測定手法による画像を用いてもよい。

例えば、特定の波長を有する光やＸ線などの電磁波の吸収の度合いや放射強度の分布を示すデータ、ラマン散乱光や蛍光などの強度分布を示すデータや染色画像データ、ＰＥＴ（陽電子放出断層撮影）、ＣＴ（コンピュータ断層撮影）、ＭＲＩ（核磁気共鳴画像）、ＥＳＲ（電子スピン共鳴）などにより撮影された画像データ、放射線同位体標識を利用した画像データ、ＥＰＭＡやＳＰＭ（Scanning Probe Microscope）などで取得された表面凹凸画像データなどを２次元画像データとして用いることができる。

[0039] ［第２実施例］

第１実施例では、複数の試料からそれぞれ得られたＭＳイメージングデータ（測定領域内の複数の測定点それぞれで得られたマススペクトルデータ）について多変量解析を行っていたが、一つの試料から一つのマススペクトルデータが得られる場合にも本発明を適用することができる。この実施例による質量分析システムの概略構成図を図５に示す。このシステムは、イメージング質量分析部１００、データ解析部２００、入力部３００、及び表示部４００、を含み、データ解析部２００は、イメージング質量分析部１００で得られたマススペクトルデータを受け取るデータ入力部２０１と、受け付けられたデータを格納するデータ格納部２０２と、平均マススペクトル算出部２０３と、第１多変量解析処理部２０４と、第２多変量解析処理部２０５と、解析結果表示処理部２０６と、を機能ブロックとして備える。

[0040] 本実施例による質量分析システムにおける解析の例として、非アルコール性脂肪性肝炎と食事との関連について調べる場合の例について説明する。図６は本実施例の質量分析システムにおける特徴的なデータ解析処理の概念図である。

[0041] 試料は、特別な餌（以下「特別餌」という）を与えることで非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ＝Non Alcoholic SteatoHepatitis）を発症させたマウスの肝臓、及び、通常の餌（以下「通常餌」という）を与えたマウスの肝臓（コントロール試料）であり、それぞれ給餌期間が４週、８週、１６週と３段階に異なる、合計６種類である。なお、経験的に特別餌の給餌期間が長いほどＮＡＳＨの炎症の重症度は上がることが分かっているため、給餌期間４週、８週、１６週をそれぞれ重症度：１、２、３と記すこととする。また、ＮＡＳＨを発症していない状態を重症度：０と記すこととする。

[0042] 上記６種類の試料についてそれぞれイメージング質量分析部１００で質量分析を実行し、測定点毎にマススペクトルデータを取得する。データ解析部２００において平均マススペクトル算出部２０３は、試料毎に、全ての測定点におけるマススペクトルデータの平均を計算することで平均マススペクトルを算出する。これにより、試料数と同数の平均マススペクトルが得られる

。こうして得られた平均マススペクトルを構成するデータをＰＬＳ回帰分析の説明変数（Ｘ）とする。

[0043] 一方、重症度の進行に応じた化合量の変化のパターンを被説明変数（Ｙ）とするが、化合物量がどのように変化するのか不明であるため、ここでは、次の５種類のパターンを想定する。

Ｙ１＝（１，２，３）：重症度に比例して化合物量が増加又は減少

Ｙ２＝（１，２，１）：給餌期間の途中で一時的に化合物量が増加又は減少

Ｙ３＝（１，０，０）：給餌期間の初期にのみ化合物が存在する、又は給餌期間の初期にのみ化合物が存在しない

Ｙ４＝（０，１，０）：給餌期間の途中にのみ化合物が存在する、又は給餌期間の途中にのみ化合物が存在しない

Ｙ５＝（０，０，１）：給餌期間の末期にのみ化合物が存在する、又は給餌期間の末期にのみ化合物が存在しない

[0044] 複数の平均マススペクトル（Ｘ）に対してそれぞれＹ１～Ｙ５の特性値（Ｙ）を設定し、ＰＬＳ回帰のためのデータセットを作成する。そして第１多変量解析処理部２０４はこうして作成されたデータセット毎にＰＬＳ回帰分析を実行し、回帰係数Bplsを算出する。したがって、この回帰係数Bplsは、特性値毎で質量電荷比値毎に求まる。つまり、特性値毎に、質量電荷比毎の回帰係数を並べた１次元行列が求まる。ただし、この結果だけを見ても、特性値（Ｙ１～Ｙ５）と各質量電荷比との全体像を把握することは難しい。

[0045] そこで次に、第２多変量解析処理部２０５は、全ての特性値についての回帰係数行列を対象として主成分分析を実施する。よく知られているように、主成分分析を行うことで、解析結果としてスコアプロットとローディングプロットを求めることができる。この場合、スコアプロットでは、二つの主成分（通常は第１主成分及び第２主成分）を直交する軸とするグラフ上に、特性値Ｙ１～Ｙ５が位置付けられる。また、ローディングプロットでは、同じく二つの主成分を直交する軸とするグラフ上に、各質量電荷比値が位置付け

られる。解析結果表示処理部２０６はこうしたグラフを作成して表示部４００の画面上に表示する。これにより、ユーザは、特性値と特徴的な質量電荷比値との関係を俯瞰的に把握することができる。

[0046] なお、上記実施例はいずれも本発明の一例にすぎず、上記記載した以外の点において、本発明の趣旨の範囲で適宜変形、修正、追加などを行っても本願特許請求の範囲に包含されることは明らかである。

符号の説明

[0047] １…測定部

１１…光学顕微観察部

１２、１００…イメージング質量分析部

２、２００…データ解析部

２１、２０１…データ入力部

２２、２０２…データ格納部

２３…演算データ前処理部

２０３…平均マススペクトル算出部

２４、２０４…第１多変量解析処理部

２５、２０５…第２多変量解析処理部

２６、２０６…解析結果表示処理部

３、３００…入力部

４、４００…表示部

請求の範囲

[請求項1] 複数の試料についてそれぞれ所定の測定を実行することで所定のパラメータ値毎に得られたデータを集約した第１のデータ群と、該複数の試料についてそれぞれ前記所定の測定とは別の手法による測定を実行することで得られたデータを集約した第２のデータ群と、に基づく解析処理により前記複数の試料全般に関する情報を求めるデータ解析装置であって、

a)第１のデータ群を説明変数、第２のデータ群を被説明変数（目的変数）とする所定の統計的解析処理を実施し、両データ群中のデータの類似性又は相違性を示す複数の指標値を算出する第１の統計的解析処理部と、

b)前記第１の統計的解析処理部で算出された複数の指標値を説明変数、前記複数の試料にそれぞれ関連する他の情報を被説明変数（目的変数）とする所定の統計的解析処理を実施し、前記指標値と前記他の情報との類似性又は相違性を示す複数の指標値を算出する第２の統計的解析処理部と、

c)前記第２の統計的解析処理部で算出された複数の指標値を用い、前記他の情報と前記第１のデータ群との関係、又は、前記他の情報と前記第２のデータ群との関係、を示すグラフを作成して表示する表示処理部と、

を備えることを特徴とするデータ解析装置。

[請求項2] 請求項１に記載のデータ解析装置において、

前記第１のデータ群は、複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析を行うことで得られた、２次元的な測定領域内の複数の測定点それぞれにおける、質量電荷比を前記所定のパラメータとしたマススペクトルデータであり、

前記第２のデータ群は、複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析とは異なる測定手法で得られた、２次元的な測定領域内の所

定の信号強度の分布を示す画像データであり、

前記第１の統計的解析処理部は、試料毎に、前記第２のデータ群による一つ又は複数の画像と、前記第１のデータ群による一つの質量電荷比における信号強度の分布画像との類似性又は相違性を示す指標値を算出することを特徴とするデータ解析装置。

[請求項3] 請求項２に記載のデータ解析装置であって、

前記第１の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は部分最小二乗回帰分析であることを特徴とするデータ解析装置。

[請求項4] 請求項２に記載のデータ解析装置であって、

前記第２の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は部分最小二乗回帰分析又は主成分回帰分析であることを特徴とするデータ解析装置。

[請求項5] 複数の試料についてそれぞれ所定の測定を実行することで所定のパラメータ値毎に得られたデータを集約した第１のデータ群と、該複数の試料についてそれぞれ前記所定の測定とは別の手法による測定を実行することで得られたデータ又は該複数の試料にそれぞれ関連する他の情報であるデータを集約した第２のデータ群と、に基づく解析処理により前記複数の試料全般に関する情報を求めるデータ解析装置であって、

a)第１のデータ群を説明変数、第２のデータ群を被説明変数（目的変数）とする所定の統計的解析処理を実施し、両データ群中のデータの類似性又は相違性を示す複数の指標値を算出する第１の統計的解析処理部と、

b)前記第１の統計的解析処理部で算出された複数の指標値を、より低次元の情報に集約するための所定の統計的解析処理を実施する第２の統計的解析処理部と、

c)前記第２の統計的解析処理部による結果に基づき、前記第２のデータ群と前記第１のデータ群における各パラメータ値との関係を示す

グラフを作成して表示する表示処理部と、

を備えることを特徴とするデータ解析装置。

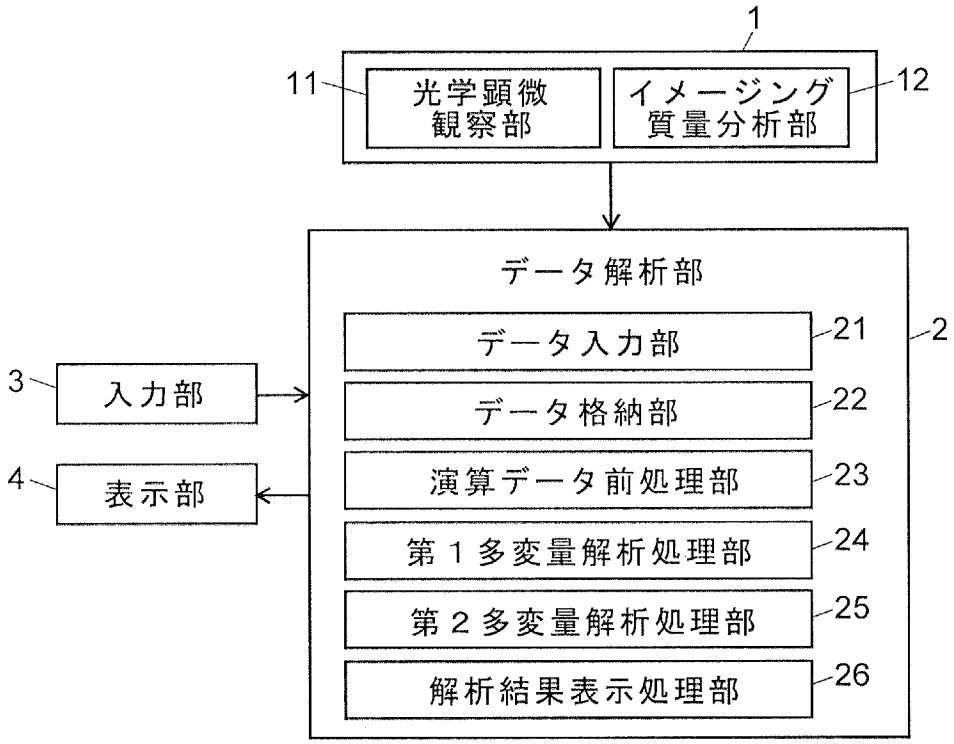
[請求項6] 請求項５に記載のデータ解析装置であって、

前記第１の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は部分最小二乗回帰分析であることを特徴とするデータ解析装置。

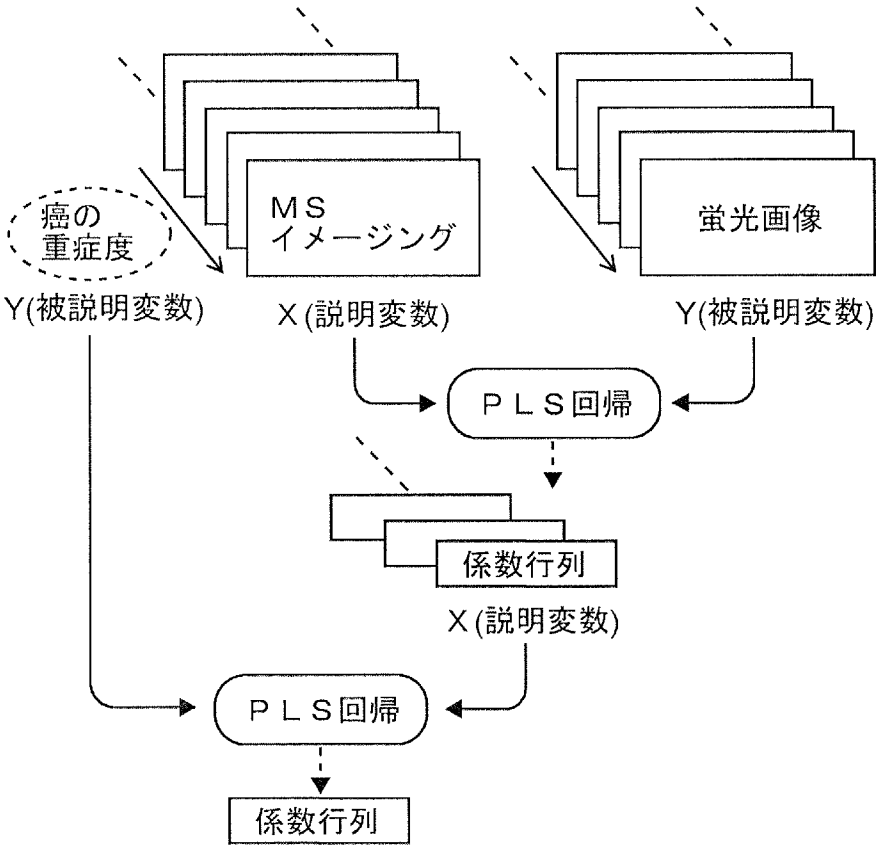
[請求項7] 請求項５に記載のデータ解析装置であって、

前記第２の統計的解析処理部による所定の統計的解析処理は主成分分析、因子分析又はクラスター分析であることを特徴とするデータ解析装置。

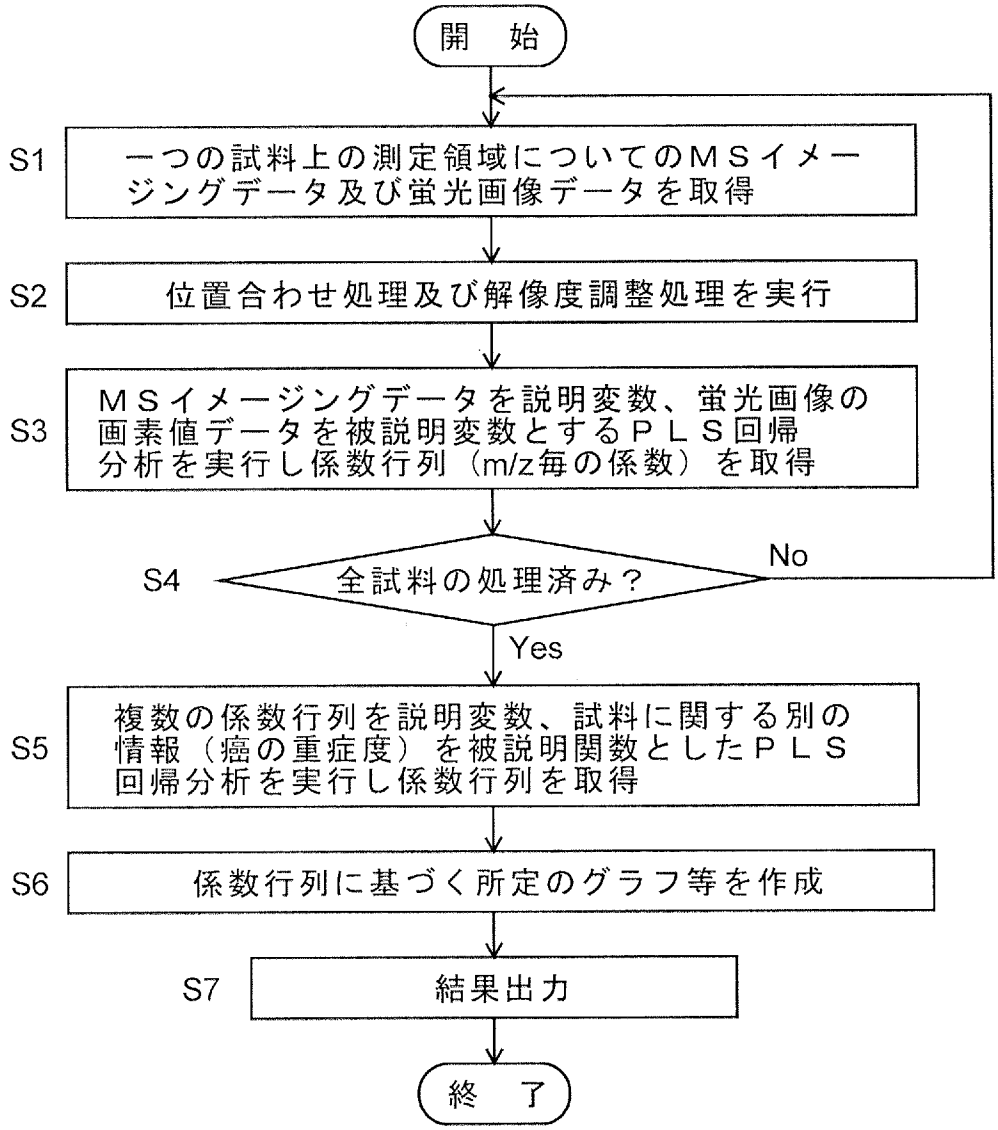
[図1]


1
11
光学顕微観察部
イメージング質量分析部
12
データ解析部
データ入力部
21
2
データ格納部
22
演算データ前処理部
23
第１多変量解析処理部
24
第２多変量解析処理部
25
解析結果表示処理部
26
3
入力部
4
表示部

[図2]


癌の重症度
Y(被説明変数)
MS イメージング
X(説明変数)
蛍光画像
Y(被説明変数)
ＰＬＳ回帰
係数行列
X(説明変数)
ＰＬＳ回帰
係数行列

[図3]



[図4]

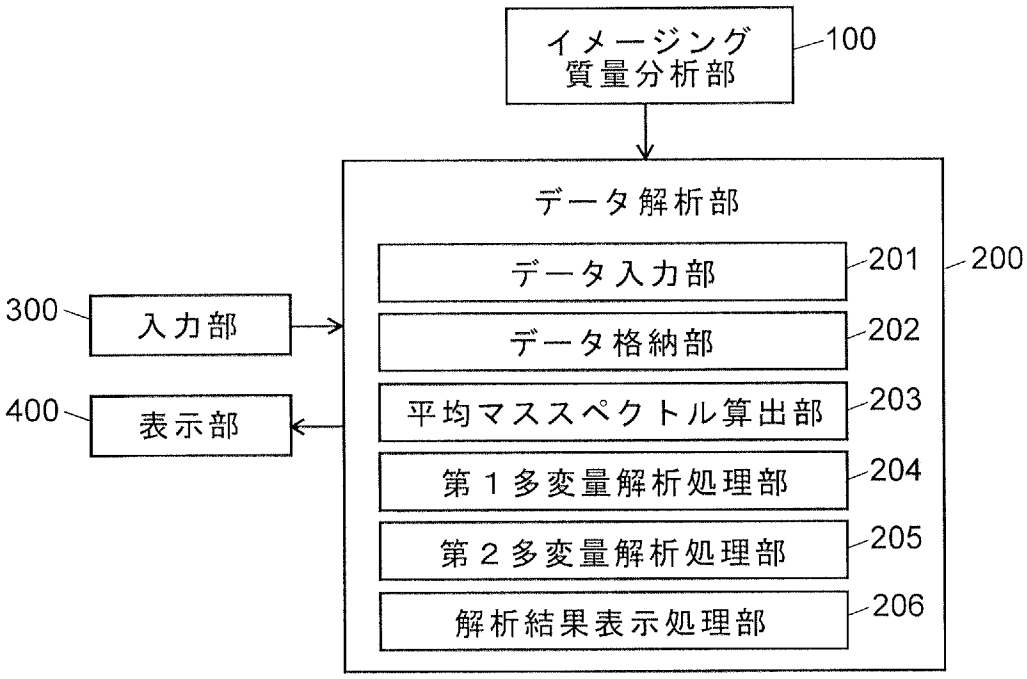
(a)

λ [nm] / m/z	400	401	402	----
100	0.31	0.62	0.89	----
101	0.38	0.46	0.57	----
102	0.33	-0.80	-0.88	----
103	0.31	0.93	-0.31	----
⋮	⋮	⋮	⋮	⋱

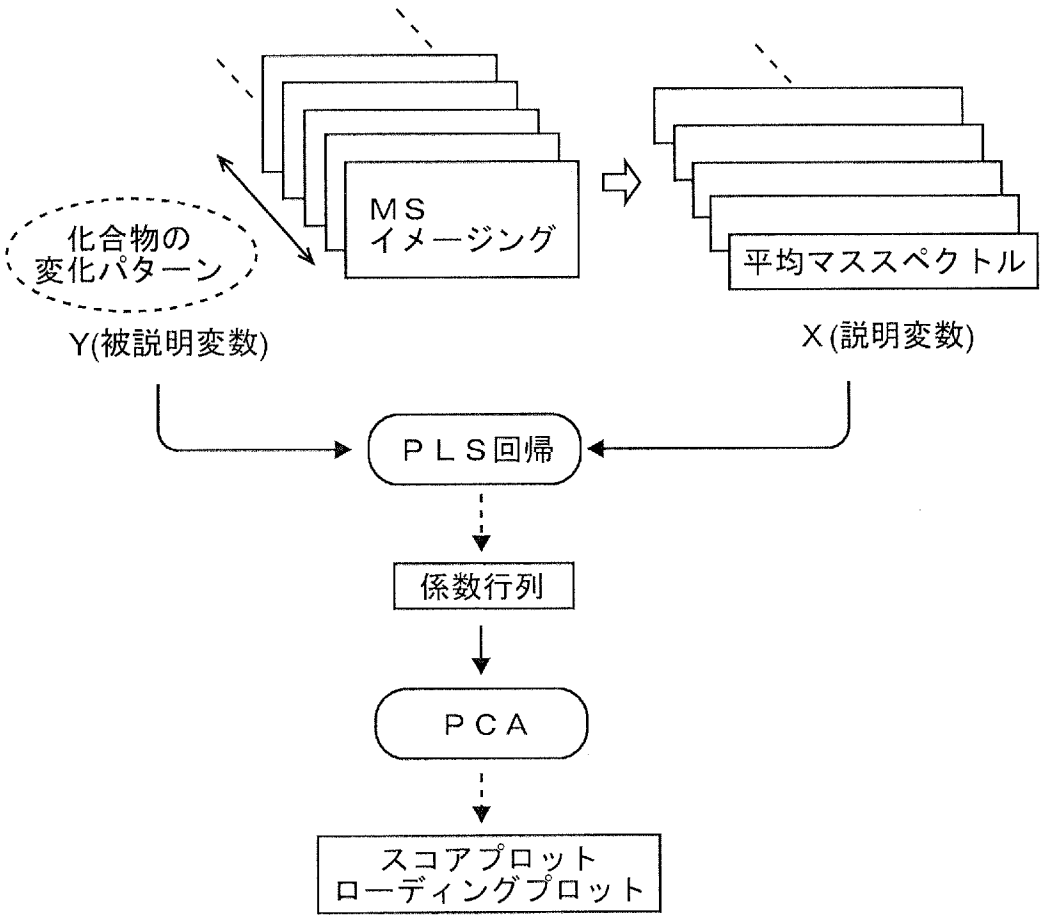
(b)

m/z, λ	Bpls
100, 400	0.31
101, 400	0.38
102, 400	0.33
103, 400	0.31
⋮	⋮

[図5]


イメージング
質量分析部
100
データ解析部
データ入力部
201
200
データ格納部
202
平均マススペクトル算出部
203
第１多変量解析処理部
204
第２多変量解析処理部
205
解析結果表示処理部
206
300
入力部
400
表示部

[図6]


MS
イメージング
化合物の
変化パターン
Y(被説明変数)
平均マススペクトル
X(説明変数)
ＰＬＳ回帰
係数行列
ＰＣＡ
スコアプロット
ローディングプロット

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2018/003757

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl. G01N27/62(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl. G01N27/62, H01G49/00-49/48, G06T1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2018
Registered utility model specifications of Japan 1996-2018
Published registered utility model applications of Japan 1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2017-224283 A (SHIMADZU CORPORATION) 21 December 2017 (Family: none)	1-7
A	WO 2017/02226 A1 (SHIMADZU CORPORATION) 05 January 2017 (Family: none)	1-7
A	WO 2014/175211 A1 (SHIMADZU CORPORATION) 30 October 2014 & US 2016/0071711 A1 & EP 2980579 A1 & CN 105190303 A	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
04.04.2018	24.04.2018
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2018/003757

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	新間秀一, イメージング質量顕微鏡を用いたがんの不均一性の解析, 実験医学, 01 February 2018, 36/2, 211-217 (SHINMA, Shuichi, Experimental Medicine), non-official translation (Analysis of cancer heterogeneity using imaging mass microscope)	1-7

Claims 1 and 5-7 include data groups of "a first data group in which data are aggregated, the data obtained respectively on the basis of predetermined parameter values by performing a predetermined measurement respectively for multiple samples" and "a second data group in which data are aggregated, the data obtained by performing a measurement respectively for the samples using a method that is different from that of the predetermined measurement. For these data groups, the types of samples, measurement means, and parameters are not limited. However, what is disclosed in the meaning of PCT Article 5 is "mass spectrum data obtained by performing imaging mass spectrometric analysis respectively on multiple samples, with mass-to-charge ratios at multiple measurement points in a two dimensional measurement region being respectively used as the predetermined parameter", and "image data respectively obtained on the samples by a measurement method that is different from the imaging mass spectrometric analysis, the image data showing the distribution of a predetermined signal strength in a two dimensional measurement region" alone, as the first data group and the second data group, respectively, and "biotissue pieces sampled from a test subject that suffers from a specific disease" alone as the samples; the data groups recited in these claims are not supported in the meaning of PCT Article 6.

In consequence, it has been determined that all of the "first data group" and "second data group" cannot be examined in a meaningful manner. Thus claims 1 and 5-7 have been examined only for data groups confined in "mass spectrum data obtained by performing imaging mass spectrometric analysis respectively on multiple samples, with mass-to-charge ratios at multiple measurement points in a two dimensional measurement region being respectively used as the predetermined parameter", and "image data respectively obtained on the samples by a measurement method that is different from the imaging mass spectrometric analysis, the image data showing the distribution of a predetermined signal strength in a two dimensional measurement region".

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１８／００３７５７

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N27/62(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N27/62, H01J49/00-49/48,　G06T1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１８年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１８年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１８年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580（JDreamIII）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	JP 2017-224283 A（株式会社島津製作所）2017.12.21, (ファミリーなし)	１－７
A	WO 2017/02226 A1（株式会社島津製作所）2017.01.05, (ファミリーなし)	１－７
A	WO 2014/175211 A1（株式会社島津製作所）2014.10.30, & US 2016/0071711 A1 & EP 2980579 A1 & CN 105190303 A	１－７

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
０４．０４．２０１８	２４．０４．２０１８

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　２Ｗ　９５１５
伊藤　裕美
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５８

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Ａ	新間秀一，イメージング質量顕微鏡を用いたがんの不均一性の解析，実験医学，2018.02.01，36/2，211-217	１－７

請求項１，５－７には、「複数の試料についてそれぞれ所定の測定を実行することで所定のパラメータ値毎に得られたデータを集約した第１のデータ群」「該複数の試料についてそれぞれ前記所定の測定とは別の手法による測定を実行することで得られたデータを集約した第２のデータ群」という、試料や測定手段、パラメータの種類を限定しないデータ群を包含するものであるが、PCT 第５条の意味において開示されているのは、明細書等に記載されているように、第１のデータ群、第２のデータ群が、それぞれ、「複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析を行うことで得られた、２次元的な測定領域内の複数の測定点それぞれにおける、質量電荷比を前記所定のパラメータとしたマススペクトルデータ」、「該複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析とは異なる測定手法で得られた、２次元的な測定領域内の所定の信号強度の分布を示す画像データ」のみ、試料は、「特定の疾病に罹患した被検体から採取された生体組織切片」である場合のみであって、PCT 第６条の意味での裏付けを欠いている。

そして、その結果、「第１のデータ群」「第２のデータ群」のすべてについては、有意義な調査を行うことができないと判断し、それぞれ、「複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析を行うことで得られた、２次元的な測定領域内の複数の測定点それぞれにおける、質量電荷比を前記所定のパラメータとしたマススペクトルデータ」「「該複数の試料についてそれぞれイメージング質量分析とは異なる測定手法で得られた、２次元的な測定領域内の所定の信号強度の分布を示す画像データ」のみである部分について、当該請求項１，５－７についての調査を行った。