

(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
2020年8月13日(13.08.2020)



(10) 国際公開番号

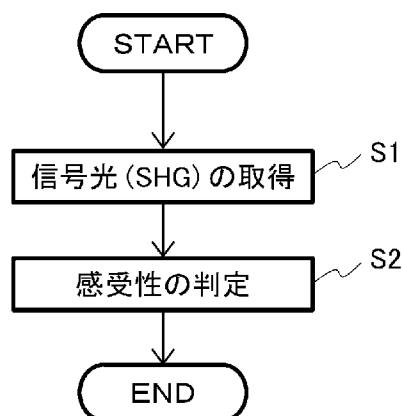
WO 2020/162595 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 45/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) *G01N 21/65* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2020/004819
- (22) 国際出願日: 2020年2月7日(07.02.2020)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2019-021932 2019年2月8日(08.02.2019) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人 筑波大学(**UNIVERSITY OF TSUKUBA**) [JP/JP]; 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 Ibaraki (JP). 株式会社片岡製作所(**KATAOKA CORPORATION**) [JP/JP]; 〒6018203 京都府京都市南区久世築山町140番地 Kyoto (JP).
- (72) 発明者: 加納 英明(**KANO Hideaki**); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立大学法人 筑波大学内 Ibaraki (JP). 岩村 拓海(**IWAMURA Takumi**); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立大学法人 筑波大学内 Ibaraki (JP). 松阪 諭(**MATSUSAKA Satoshi**); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立大学法人 筑波大学内 Ibaraki (JP). 沈 之為(**SHEN Tzu_Wei**); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立大学法人 筑波大学内 Ibaraki (JP). 松本 潤一(**MATSUMOTO Junichi**); 〒6018203 京都府

(54) **Title:** METHOD FOR DETERMINING SENSITIVITY TO TEST SUBSTANCE, DEVICE FOR DETERMINING SENSITIVITY TO TEST SUBSTANCE, ANTICANCER AGENT SCREENING METHOD, ANTICANCER AGENT CANDIDATE SUBSTANCE PRODUCTION METHOD, LEARNED MODEL PRODUCTION METHOD, LEARNED MODEL PRODUCTION DEVICE, AND SELECTION METHOD

(54) 発明の名称: 被検物質への感受性の判定方法、被検物質への感受性の判定装置、抗癌剤のスクリーニング方法、抗癌剤の候補物質の製造方法、学習済モデルの製造方法、学習済モデルの製造装置、および選抜方法

〔図3〕



S1 Acquire signal light (SHG)

S2 Determine sensitivity

(57) **Abstract:** Provided is a novel determination method capable of determining the sensitivity of a tumor cell to a test substance. The method for determining sensitivity to a test substance includes: an acquisition step of acquiring, for a tumor cell brought into contact with the test substance, second harmonics (SHG) acquired using a coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscope; and a determination step of determining the sensitivity of the tumor cell to the test substance, on the basis of the SHG.



WO 2020/162595 A1

京都市南区久世築山町 1 4 0 番地 株式
会社片岡製作所内 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 辻丸 光一郎, 外(TSUJIMARU Koichiro
et al.); 〒6008813 京都府京都市下京区中堂
寺南町 1 3 4 京都リサーチパーク 1 号
館 3 0 1 号室 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,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, 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))

(57) 要約: 腫瘍細胞の被検物質に対する感受性を判定できる新たな判定方法を提供する。本発明の被検物質への感受性の判定方法は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱 (CARS) 顕微鏡を用いて取得された第二高調波 (SHG) を取得する取得工程と、前記 SHG に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程とを含む。

明 細 書

発明の名称：

被検物質への感受性の判定方法、被検物質への感受性の判定装置、抗癌剤のスクリーニング方法、抗癌剤の候補物質の製造方法、学習済モデルの製造方法、学習済モデルの製造装置、および選抜方法

技術分野

[0001] 本発明は、被検物質への感受性の判定方法、被検物質への感受性の判定装置、抗癌剤のスクリーニング方法、抗癌剤の候補物質の製造方法、学習済モデルの製造方法、学習済モデルの製造装置、および選抜方法に関する。

背景技術

[0002] 抗癌剤のスクリーニングとしては、対象の腫瘍細胞と抗癌剤の候補化合物とを共存させ、前記腫瘍細胞の細胞死（生存率）を指標とする方法等が用いられている（非特許文献1）。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1：John G. Moffat et.al., "Phenotypic screening in cancer drug discovery - past, present and future", 2014, Nature Reviews Drug Discovery, volume 13, pages 588-602

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明は、腫瘍細胞の被検物質に対する感受性を判定可能な新たな判定方法の提供を目的とする。

課題を解決するための手段

[0005] 前記目的を達成するために、本発明の被検物質への感受性の判定方法（以下、「判定方法」ともいう）は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得され

た第二高調波（S H G）を取得する取得工程と、
前記S H Gに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程とを含む。

[0006] 本発明の被検物質への感受性の判定装置（以下、「判定装置」ともいう）は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（C A R S）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（S H G）を取得する取得手段と、
前記S H Gに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定手段とを含む。

[0007] 本発明の抗癌剤のスクリーニング方法（以下、「スクリーニング方法」ともいう）は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程と、
前記腫瘍細胞が感受性であると判定された被検物質について、抗癌剤の候補物質として選択する工程とを含み、
前記判定工程は、前記本発明の判定方法により実施される。

[0008] 本発明の抗癌剤の候補物質の製造方法（以下、「製造方法」ともいう）は、被検物質から抗癌剤の候補物質を選抜する選抜工程を含み、
前記選抜工程は、前記本発明のスクリーニング方法で実施される。

[0009] 本発明の腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造方法（以下、「学習方法」ともいう）は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（C A R S）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（S H G）を取得する取得工程と、
前記S H Gと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記S H Gから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習工程とを含む。

[0010] 本発明の腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造装置（以下、「学習装置」ともいう）は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（C A R S）顕微鏡を用いて取得された

第二高調波（S H G）を取得する取得手段と、
前記S H Gと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記S H Gから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習手段とを含む。

[0011] 本発明の被検物質の感受性判定用細胞の選抜方法（以下、「選抜方法」ともいう）は、被検腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（C A R S）顕微鏡を用いて第二高調波（S H G）を取得する取得工程と、前記S H Gに基づき、前記被検腫瘍細胞から、前記被検物質の感受性試験に用いる候補腫瘍細胞を選択する選択工程とを含む。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、腫瘍細胞の被検物質に対する感受性を判定できる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]図1は、実施形態1の判定装置の構成の一例を示すブロック図である。
[図2]図2は、実施形態1の判定装置のハードウェア構成の一例を示すブロック図である。
[図3]図3は、実施形態1の判定方法の一例を示すフローチャートである。
[図4]図4は、実施形態1において、腫瘍細胞における第二高調波のシグナルの分布を示す模式図である。
[図5]図5は、実施形態2の学習装置の構成の一例を示すブロック図である。
[図6]図6は、実施形態2の学習方法の一例を示すフローチャートである。
[図7]図7は、実施例1で用いたC A R S顕微鏡の光学系の構成の概略図である。
[図8]図8は、実施例1におけるS H G像を示す写真である。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明において、「細胞」は、例えば、単離された細胞、細胞から構成される細胞塊、組織、または臓器を意味する。前記細胞は、例えば、培養細胞でもよいし、生体から単離された細胞でもよい。また、前記細胞塊、組織または臓器は、例えば、前記細胞から作製した細胞塊、細胞シート、組織また

は臓器でもよいし、生体から単離した細胞塊、組織または臓器でもよい。

[0015] 以下、本発明について、図面を参照して詳細に説明する。ただし、本発明は、以下の説明に限定されない。なお、以下の図1～図8において、同一部分には、同一符号を付し、その説明を省略する場合がある。また、図面においては、説明の便宜上、各部の構造は適宜簡略化して示す場合があり、各部の寸法比等は、実際とは異なり、模式的に示す場合がある。また、各実施形態は、特に言及しない限り、互いにその説明を援用できる。

[0016] <判定方法および判定装置>

本発明の被検物質への感受性の判定方法は、前述のように、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（SHG）を取得する取得工程と、前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程とを含む。また、本発明の被検物質への感受性の判定装置は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（SHG）を取得する取得手段と、前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定手段とを含む。本発明の判定方法および判定装置は、被検物質と接触させた腫瘍細胞から得られたSHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定することが特徴であり、その他の構成および条件は、制限されない。

[0017] 本発明者らは鋭意研究の結果、CARS顕微鏡を用いて取得された信号光、具体的には、第二高調波が、腫瘍細胞の被検物質に対する感受性と相関することを見出し、本発明を確立するに至った。このため、本発明によれば、被検細胞についてCARS顕微鏡を用いて取得された信号光に基づき、腫瘍細胞の被検物質に対する感受性を判定できる。

[0018] （実施形態1）

図1に、本実施形態における判定装置のブロック図を示す。図1に示すように、本実施形態の判定装置10は、取得手段111および判定手段112

を含む。図1に示すように、取得手段111および判定手段112は、ハードウェアであるデータ処理手段（データ処理装置）11に組み込まれてもよく、ソフトウェアまたは前記ソフトウェアが組み込まれたハードウェアでもよい。データ処理手段11は、CPU等を備えてもよい。また、データ処理手段11は、例えば、後述のROM、RAM等を備えてもよい。

[0019] つぎに、図2に、判定装置10のハードウェア構成のブロック図を例示する。判定装置10は、例えば、CPU（中央処理装置）201、メモリ202、バス203、記憶装置204、入力装置206、ディスプレイ207、通信デバイス208等を有する。判定装置10の各部は、それぞれのインターフェース（I/F）により、バス203を介して接続されている。判定装置10のハードウェア構成は、例えば、後述の学習装置におけるハードウェア構成としても採用できる。

[0020] CPU201は、例えば、コントローラ（システムコントローラ、I/Oコントローラ等）等により、他の構成と連携動作し、判定装置10の全体の制御を担う。判定装置10において、CPU201により、例えば、本発明のプログラム205やその他のプログラムが実行され、また、各種情報の読み込みや書き込みが行われる。具体的には、例えば、CPU201が、取得手段111および判定手段112として機能する。判定装置10は、演算装置として、CPUを備えるが、GPU（Graphics Processing Unit）、APU（Accelerated Processing Unit）等の他の演算装置を備えてもよいし、CPUとこれらとの組合せを備えてもよい。なお、CPU201は、例えば、後述する実施形態2における記憶手段以外の各手段として機能する。

[0021] メモリ202は、例えば、メインメモリを含む。前記メインメモリは、主記憶装置ともいう。CPU201が処理を行う際には、例えば、後述する記憶装置204（補助記憶装置）に記憶されている本発明のプログラム205等の種々の動作プログラムを、メモリ202が読み込む。そして、CPU201は、メモリ202からデータを読み出し、解読し、前記プログラムを実行する。前記メインメモリは、例えば、RAM（ランダムアクセスメモリ）

である。メモリ 202 は、例えば、さらに、ROM（読み出し専用メモリ）を含む。

[0022] バス 203 は、例えば、外部機器とも接続できる。前記外部機器は、例えば、外部記憶装置（外部データベース等）、プリンター等があげられる。判定装置 10 は、例えば、バス 203 に接続された通信デバイス 208 により、通信回線網に接続でき、通信回線網を介して、前記外部機器と接続することもできる。また、判定装置 10 は、通信デバイス 208 および通信回線網を介して、端末等にも接続できる。

[0023] 記憶装置 204 は、例えば、前記メインメモリ（主記憶装置）に対して、いわゆる補助記憶装置ともいう。前述のように、記憶装置 204 には、本発明のプログラム 205 を含む動作プログラムが格納されている。記憶装置 204 は、例えば、記憶媒体と、前記記憶媒体に読み書きするドライブとを含む。前記記憶媒体は、特に制限されず、例えば、内蔵型でも外付け型でもよく、HD（ハードディスク）、FD（フロッピー（登録商標）ディスク）、CD-ROM、CD-R、CD-RW、MO、DVD、フラッシュメモリー、メモリーカード等があげられ、前記ドライブは、特に制限されない。記憶装置 204 は、例えば、前記記憶媒体と前記ドライブとが一体化されたハードディスクドライブ（HDD）であってもよい。

[0024] 判定装置 10 は、例えば、さらに、入力装置 206、ディスプレイ 207 を有する。入力装置 206 は、例えば、タッチパネル、トラックパッド、マウス等のポインティングデバイス；キーボード；カメラ、スキャナ等の撮像手段；ICカードリーダ、磁気カードリーダ等のカードリーダ；マイク等の音声入力手段；等があげられる。ディスプレイ 207 は、例えば、LEDディスプレイ、液晶ディスプレイ等の表示装置があげられる。本実施形態 1 において、入力装置 206 とディスプレイ 207 とは、別個に構成されているが、入力装置 206 とディスプレイ 207 とは、タッチパネルディスプレイのように、一体として構成されてもよい。

[0025] つぎに、本実施形態の判定装置 10 の処理の一例について、腫瘍細胞につ

いてCARS顕微鏡を用いて信号光を取得した場合を例に取り、図3のフローチャートに基づき、説明する。

[0026] 判定装置10の処理に先立ち、まず、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、CARS顕微鏡を用いて、信号光を取得する。前記被検物質と前記腫瘍細胞との接触は、例えば、in vitroでもよいし、in vivoでもよい。前記接触をin vitroで実施する場合、前記接触は、例えば、前記被検物質と前記腫瘍細胞との共存下で培養することにより実施できる。前記培養における条件は、特に制限されず、前記腫瘍細胞の種類に応じて適宜設定できる。具体例として、培養時間は、例えば、1～96時間、12～48時間である。培養温度は、例えば、25～40℃、35～38℃である。前記培養は、例えば、湿潤環境下で実施される。前記接触をin vivoで実施する場合、前記接触は、例えば、前記被検物質を、前記腫瘍細胞を有する被検体に投与することにより、実施できる。前記被検体は、例えば、ヒトまたは非ヒト動物があげられる。前記非ヒト動物は、例えば、サル、ゴリラ、チンパンジー、マーモセット等の霊長類、マウス、ラット、イヌ、ウサギ、ヒツジ、ウマ、モルモット等があげられる。前記被検物質の投与量、投与経路、投与条件等は、特に制限されず、前記被検物質の溶媒への溶解性、体内への吸収性等に応じて適宜決定できる。そして、前記接触後、腫瘍細胞を回収し、CARS顕微鏡による観察に供する。

[0027] 前記腫瘍細胞は、例えば、生体から単離された腫瘍細胞、すなわち、初代細胞またはその継代細胞でもよいし、馴化させた培養細胞でもよいし、ウイルス、変異原等により腫瘍化させた細胞でもよいが、単離された腫瘍細胞またはその継代細胞が好ましい。また、前記腫瘍細胞は、1細胞から構成されてもよいし、複数細胞から構成されてもよい。後者の場合、前記腫瘍細胞は、例えば、腫瘍細胞を含む組織、器官または臓器であってもよい。前記腫瘍細胞の由来は、特に制限されない。具体例として、前記腫瘍細胞は、例えば、肺がん、乳がん、大腸がん、肝臓がん、膵臓がん、胆道がん、食道がん、胃がん、卵巣がん、子宮頸がん、脳腫瘍、血液腫瘍、中皮腫、皮膚がん等に由

来する腫瘍細胞があげられる。前記腫瘍細胞は、例えば、前記被検物質に対して感受性の腫瘍細胞でもよいし、前記被検物質に対して耐性の腫瘍細胞でもよいし、前記被検物質に対する感受性が不明の腫瘍細胞でもよい。

[0028] 前記被検物質は、例えば、低分子化合物、ペプチド、タンパク質、核酸等があげられる。前記被検物質は、1種類を単独で用いてもよいし、複数種類を併用してもよい。前記被検物質は、抗腫瘍作用または腫瘍の転移を抑制することが知られている物質（いわゆる、抗癌剤または転移抑制剤）でもよいし、抗腫瘍作用または腫瘍の転移を抑制しないことが知られている物質でもよいし、抗腫瘍作用または腫瘍の転移を抑制するかが不明の物質でもよい。前記被検物質が抗腫瘍作用または腫瘍の転移を抑制することが知られている物質である場合、本発明の判定装置は、例えば、癌の抗癌剤または転移抑制剤に対する感受性の判定装置または試験装置とすることができる。また、本発明の判定方法は、例えば、癌の抗癌剤または転移抑制剤に対する感受性の判定方法または試験方法ということもできる。

[0029] そして、このように被検物質と接触させた腫瘍細胞についてCARS顕微鏡で観察し、信号光を取得する。前記CARS顕微鏡による信号光の取得は、前記腫瘍細胞全体または一部に対して実施する。後者の場合、前記CARS顕微鏡による信号光の取得は、例えば、前記腫瘍細胞の中心部において、腫瘍細胞の配置面に対して垂直方向を含む断面の信号光を取得することが好ましい。前記観察に供する腫瘍細胞は、1つでもよいし、複数でもよい。後者の場合、前記CARS顕微鏡による信号光の取得は、その一部または全部の細胞に対して実施する。前記CARS顕微鏡は、コヒーレント反ストークスラマン散乱を利用した顕微鏡であり、その構成は特に制限されず、例えば、後述の実施例の構成を参照できる。前記CARS顕微鏡では、CARS分光用の光照射手段を含み、前記光照射手段により、超広帯域光および励起光の混合光が腫瘍細胞に照射される。そして、前記CARS顕微鏡では、前記腫瘍細胞から出射された出射光から、回折格子等によりCARS光（信号光）が分光される。そして、前記CARS光のシグナル強度、空間位置等の情

報が、取得される。本発明において、前記信号光としては、第二高調波（SHG）のみを取得してもよいし、第三高調波（THG）、二光子励起蛍光等の他の信号光も取得してもよい。前記超広帯域光の波長は、例えば、400～2400nmである。また、前記励起光の波長は、例えば、750～1100nm、750～1064nmである。

[0030] つぎに、判定装置10による処理を開始する。まず、判定装置10の取得手段111が、前記CARS顕微鏡で取得された、信号光、より具体的には、信号光の情報を取得する（S1、取得工程）。前記取得工程において取得する信号光は、後述の判定工程で使用される信号光を含み、具体例として、第二高調波（SHG）の信号光を含むことが好ましい。前記SHGの信号光の波数は、入射レーザの波長を λ とすると $\lambda/2$ となる。

[0031] つぎに、判定手段112が、前記信号光、具体的には、SHGの信号光に基づき、前記腫瘍細胞の感受性を判定する（S2、判定工程）。S2工程では、前記腫瘍細胞が、前記被検物質に感受性であると判定してもよいし、前記被検物質に抵抗性であると判定してもよい。また、S2工程では、前記腫瘍細胞が、前記被検物質に感受性を有するか不明と判定してもよい。前記信号光において、各波数（Raman shift/cm⁻¹）は、その信号の由来となる腫瘍細胞内の物質が異なる。また、腫瘍細胞の状態が異なる場合、状態の異なる細胞ではその機能および代謝も異なるため、前記腫瘍細胞が含有する物質の種類、物質の含有率および物質の局在等も異なると推定される。そこで、本発明では、前記腫瘍細胞の状態の違いが、例えば、前記信号光の違いとして生じることを利用し、前記信号光に基づき、前記腫瘍細胞の感受性を判定する。以下、前記腫瘍細胞が、肺がん細胞である場合を例にあげて説明するが、本発明はこれに限定されず、他の腫瘍細胞の推定にも利用できる。

[0032] まず、S2工程において、SHGの信号から再構築されるSHG像におけるSHGのシグナルの位置（局在）に基づき、判定する方法について説明する。図4（A）に示すように、前記被検物質と未接触の肺がん細胞Cでは、SHGの信号から再構築されるSHG像において、SHGのシグナルSが、

肺がん細胞CのZ軸方向の両極、すなわち、上端側と下端側とに局在する。そして、前記被検物質と接触後の肺がん細胞Cであり、かつ肺がん細胞Cが被検物質に対して感受性を示す場合、図4（B）に示すように、SHG像において、SHGのシグナルSは、肺がん細胞CのZ軸方向の赤道周辺、すなわち、中央部に局在する。他方、前記被検物質と接触後の肺がん細胞Cであり、かつ肺がん細胞Cが被検物質に対して抵抗性を示す場合、図4（A）に示すように、前記被検物質と未接触の肺がん細胞Cと同様に、SHG像において、SHGのシグナルSが、肺がん細胞CのZ軸方向の両極、すなわち、上端側と下端側とに局在する。したがって、S2工程では、SHG信号光の位置、すなわち、SHGの信号から再構築されるSHG像におけるSHGのシグナルの位置に基づき、肺がん細胞Cが感受性か否かを判定できる。前記局在は、例えば、全SHGシグナルのうち、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上のSHGシグナルが所定の位置に存在することを意味する。前記上端側は、前記腫瘍細胞のZ軸方向において、上端と、上端からZ軸方向の長さ30%、25%、20%、15%、10%の位置との間の領域を意味する。前記下端側は、前記腫瘍細胞のZ軸方向において、下端と、下端から腫瘍細胞のZ軸方向の長さ30%、25%、20%、15%、10%の位置との間の領域を意味する。前記中央部は、例えば、前記上端側および下端側以外の領域を意味し、具体例として、前記腫瘍細胞のZ軸方向において、例えば、下端から腫瘍細胞のZ軸方向の長さ50%の位置を基準として、腫瘍細胞のZ軸方向の長さ±5%、±10%、+15%、±20%、±25%、±30%の範囲の領域を意味する。

[0033] つぎに、S2工程において、SHGの信号から再構築されるSHG像におけるSHGのシグナルの形状に基づき、判定する方法について説明する。図4（A）に示すように、前記被検物質と未接触の肺がん細胞Cでは、SHG像において、SHGのシグナルSは、滑らかな円弧を形成する。そして、前記被検物質と接触後の肺がん細胞Cであり、かつ肺がん細胞Cが被検物質に

対して感受性を示す場合、図4（B）に示すように、SHG像において、SHGのシグナルSは、境界がぼやけた粒を形成する。他方、前記被検物質と接触後の肺がん細胞Cであり、かつ肺がん細胞Cが被検物質に対して抵抗性を示す場合、図4（A）に示すように、前記被検物質と未接触の肺がん細胞Cと同様に、SHG像において、SHGのシグナルは、滑らかな円弧を形成する。したがって、S2では、SHG信号光の形状、すなわち、SHGの信号から再構築されるSHG像におけるSHGのシグナルの形状に基づき、前記肺がん細胞が感受性か否かを判定できる。

[0034] また、前述のように、前記肺がん細胞の被検物質に対する感受性の有無により、前記SHGのシグナルの形状の差異があり、特にその形状の外延の明瞭さが異なる。このため、S2工程では、SHGの信号光の分散値、すなわち、SHGの信号光のシグナル強度の分散値に基づき、前記肺がん細胞の被検物質に対する感受性を判定できる。具体的には、前記被検物質に感受性の肺がん細胞では、例えば、SHGのシグナルの境界がぼやけており、シグナル強度の分布が相対的に広くなるのに対して、前記被検物質に耐性の肺がん細胞では、SHGのシグナルの境界が明瞭であり、シグナル強度の分布が相対的に狭くなる。このため、S2工程では、前記腫瘍細胞のSHGの信号光の分散値、すなわち、SHGの信号光のシグナル強度の分散値を、基準値と比較して、SHGの信号の分散値が前記基準値より有意に大きい場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に感受性であると判定できる。他方、S2工程では、前記腫瘍細胞のSHGの信号光の分散値を、前記基準値と比較して、SHGの信号の分散値が前記基準値と同等（有意差がない）または有意に小さい場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に耐性であると判定できる。前記基準値は、例えば、前記被検物質と未接触の肺がん細胞におけるSHGの信号光の分散値としてもよいし、前記被検物質に感受性の肺がん細胞におけるSHGの信号光の分散値と、前記被検物質に耐性の肺がん細胞におけるSHGの信号光の分散値とに基づき、両者の間の数値としてもよい。

[0035] S2工程では、例えば、機械学習により生成された学習済モデルを用いて

実施してもよい。前記学習済モデルは、例えば、後述の前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルがあげられる。

[0036] このようにして、S2工程では、前記腫瘍細胞が、前記被検物質に対する感受性の有無を判定できる。なお、実施形態1において、S2工程では、1つの判定方法を用いる例をあげて説明したが、複数の判定方法を組み合わせてもよい。この場合、S2工程では、いずれか1つの判定方法により感受性と判定された場合に、前記腫瘍細胞は前記被検物質に対する感受性を有すると判定してもよいし、複数の判定方法により感受性と判定された場合に、前記腫瘍細胞は前記被検物質に対する感受性を有すると判定してもよい。

[0037] 実施形態1において、信号光として、SHGを用いる場合を例にあげて説明したが、他の信号光を用いてもよい。

[0038] 実施形態1において、被検物質に対する感受性を判定する被検細胞として、腫瘍細胞を例にあげて説明したが、本発明はこれに限定されず、腫瘍細胞以外の細胞、例えば、正常組織由来の細胞等を用いてもよい。

[0039] 実施形態1では、ハードウェア資源を用いて判定する場合を例にあげて説明したが、本発明はこれに限定されず、ハードウェア資源を用いなくてもよい。

[0040] <スクリーニング方法>

本発明の抗癌剤のスクリーニング方法は、前述のように、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程と、前記腫瘍細胞が感受性であると判定された被検物質について、抗癌剤の候補物質として選択する工程とを含み、前記判定工程は、前記本発明の判定方法により実施される。本発明のスクリーニング方法は、前記判定工程が本発明の判定方法により実施されることが特徴であり、その他の工程および条件は特に制限されない。本発明のスクリーニング方法によれば、抗癌剤をスクリーニングできる。本発明のスクリーニング方法は、前記本発明の判定方

法および判定装置の説明を援用できる。

[0041] 前記抗癌剤は、例えば、腫瘍の発生の停止もしくは抑制、腫瘍の増殖の停止もしくは抑制、腫瘍の進行の停止もしくは抑制、腫瘍の転移の停止もしくは抑制、または腫瘍の縮小を誘導する薬剤を意味し、いずれの意味で用いてもよい。

[0042] <抗癌剤の候補物質の製造方法>

本発明の抗癌剤の候補物質の製造方法は、前述のように、被検物質から抗癌剤の候補物質を選抜する選抜工程を含み、前記選抜工程は、前記本発明のスクリーニング方法で実施される。本発明の製造方法は、前記選抜工程が前記本発明のスクリーニング方法で実施されることが特徴であり、その他の工程および条件は、特に制限されない。本発明の製造方法によれば、抗癌剤の候補物質を製造できる。本発明のスクリーニング方法は、前記本発明の判定方法、判定装置、およびスクリーニング方法の説明を援用できる。

[0043] <学習済モデルの製造方法および製造装置>

本発明の腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造方法は、前述のように、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（SHG）を取得する取得工程と、前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習工程とを含む。また、本発明の腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造装置は、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（SHG）を取得する取得手段と、前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習手段とを含む。本発明の学習方法および学習装置は、CARS顕微鏡により取得されたSHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前

記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成することが特徴であり、その他の構成および条件は、特に制限されない。本発明の学習方法および学習装置によれば、前記本発明の判定方法および判定装置に使用可能な学習済モデルを製造できる。本発明の学習方法および学習装置は、前記本発明の判定方法、判定装置、およびスクリーニング方法の説明を援用できる。

[0044] (実施形態2)

図5に、本実施形態における学習装置のブロック図を示す。図5に示すように、本実施形態の学習装置20は、取得手段111および学習手段113を備える。図5に示すように、取得手段111および学習手段113は、ハードウェアであるデータ処理手段（データ処理装置）11に組み込まれてもよく、ソフトウェアまたは前記ソフトウェアが組み込まれたハードウェアでもよい。データ処理手段11は、CPU等を備えてもよい。また、データ処理手段11は、例えば、前述のROM、RAM等を備えてもよい。取得手段111は、実施形態1の判定装置10における取得手段111と同様であり、その説明を援用できる。

[0045] つぎに、図5の学習装置における処理の一例を、図6のフローチャートに基づいて説明する。

[0046] まず、実施形態1の判定方法のS1と同様に、取得手段111により、被検物質と接触させた腫瘍細胞について、CARS顕微鏡を用いて取得された信号光を取得する。前記腫瘍細胞の数は、特に制限されず、任意の数とできる。前記腫瘍細胞が複数の場合、各腫瘍細胞の由来は、同じでもよいし、異なってもよい。後者の場合、一部の腫瘍細胞は、由来が同じであることが好ましい。具体例として、肺がん細胞、乳がん細胞および大腸がん細胞かを判定可能な学習済モデルを生成する場合、前記腫瘍細胞としては、肺がん細胞、乳がん細胞および大腸がん細胞を用いることが好ましい。また、各腫瘍細胞は、複数用いることが好ましい。

[0047] つぎに、学習手段113は、前記信号光（例えば、SHG）と、前記腫瘍

細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記信号光から腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する（S 3、学習工程）。具体的には、各被検細胞について、S 1 工程で得られた信号光と、前記腫瘍細胞の感受性の有無とを関連付ける。関連付ける信号光は、S 1 工程で得られた信号光のスペクトル全体でもよいし、特定の信号光でもよいし、特定の信号光から得られる算出値でもよい。前記特定の信号光と関連づける場合、特定の信号光は、例えば、SHGの信号光があげられる。前記特定の信号光を関連付ける場合、本実施形態の学習方法は、例えば、S 1 工程後、検出手段により、得られた信号において、特定の信号光を検出する。前記検出手段は、例えば、特定の信号光のシグナル強度を検出してもよいし、特定の信号光を再構築して得られた信号像における信号光の形状および／または位置（局在）を検出してもよい。前記位置は、例えば、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在である。また、前記特定の信号光から得られる算出値と関連付ける場合、本実施形態の学習方法は、例えば、算出手段により、特定の信号光の分散値、すなわち、特定の信号光のシグナル強度の分散値を算出してもよい。

[0048] 学習済モデルの生成に用いる機械学習の方法は、特に制限されず、例えば、分類に用いる学習技法を用いることができる。具体例として、前記機械学習の方法としては、サポートベクターマシン、エクストリーム・ラーニング・マシン、表現学習（Feature learning）等があげられる。本実施形態において、前記機械学習は、教師あり学習を用いているが、半教師あり学習を用いてもよい。前記教師データの数は、複数であり、その上限は特に制限されない。

[0049] このようにして、S 3 工程では、学習済モデルを生成できる。

[0050] <選抜方法>

本発明の被検物質の感受性判定用細胞の選抜方法は、前述のように、被検腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて第二高調波（SHG）を取得する取得工程と、前記SHGに基づく

き、前記被検腫瘍細胞から、前記被検物質の感受性試験に用いる候補腫瘍細胞を選択する選択工程とを含む。本発明の選抜方法は、CARS顕微鏡を用いて得られたSHGに基づき、前記候補腫瘍細胞を選択することが特徴であり、その他の構成および条件は、制限されない。本発明の選抜方法によれば、前記本発明の判定方法に適した腫瘍細胞を選抜できる。本発明の選抜方法は、前記本発明の判定方法、判定装置、スクリーニング方法、学習方法および学習装置の説明を援用できる。

[0051] 前記取得工程は、前記本発明の判定方法における取得工程の説明を援用できる。前記被検腫瘍細胞は、例えば、前記腫瘍細胞の説明を援用できる。

[0052] 前記選択工程は、前記SHGに基づき、前記被検腫瘍細胞から、前記被検物質の感受性試験に用いる候補腫瘍細胞を選択する。前記選択工程は、例えば、前記SHGの有無、SHGの信号光のシグナル強度、SHGの信号光から再構築されるSHG像におけるSHGシグナルの形状および／またはSHG像におけるSHGシグナルの位置（局在）に基づき、実施できる。具体例として、前記選択工程は、例えば、前記被検腫瘍細胞において、SHGが取得される場合、SHGの信号光のシグナル強度が所定の値以上の場合、SHG像におけるSHGシグナルの形状が、境界が明瞭な円弧状の場合、および／またはSHG像におけるSHGシグナルの位置が、前記候補腫瘍細胞のZ軸方向において、上端側および／または下端側に局在している場合、前記被検腫瘍細胞を、前記候補腫瘍細胞として選択する。

[0053] <プログラム>

本発明のプログラムは、前記本発明の判定方法、スクリーニング方法、製造方法、学習方法、または選抜方法を、コンピュータ上で実行可能なプログラムである。または、本実施形態のプログラムは、例えば、コンピュータ読み取り可能な記録媒体に記録されてもよい。前記記録媒体は、例えば、非一時的なコンピュータ可読記録媒体（non-transitory computer-readable storage medium）である。前記記録媒体は、特に制限されず、例えば、ランダムアクセスメモリ（RAM）、読み出し専用メモリ（ROM）、ハードディスク

ク（HD）、光ディスク、フロッピー（登録商標）ディスク（FD）等があげられる。

実施例

[0054] 次に、本発明の実施例について説明する。ただし、本発明は、下記実施例により制限されない。市販の試薬は、特に示さない限り、それらのプロトコルに基づいて使用した。

[0055] [実施例 1]

CARS顕微鏡により取得した信号光に基づき、腫瘍細胞の被検物質に対する感受性を判定できることを確認した。

[0056] (1) CARS顕微鏡

実施例 1 で用いるCARS顕微鏡は、マルチプレックスCARS顕微分光装置を用いた。実施例 1 で用いたCARS顕微鏡の光学系の構成の概略図を図 7 に示す。

[0057] 光源は、発振波長 1064 nm、パルス幅 800 ps、繰り返し周波数 33 kHzのcw QスイッチマイクロチップNd:YAGレーザー（A）を用いた。パルス幅がサブナノ秒であり、 1 cm^{-1} 以下程度の線幅を持つ。この出力を二つに分け、一方は ω_1 光として基本波である中心波長 1064 nmのパルスレーザーを、他方はPCFに導入し、 ω_2 光としてスーパーコンティニュウム光を発生させた。 ω_1 光は、光源本体から出射されるレーザ光を $f=400.0\text{ mm}$ （AC254-400-C $f=400.0\text{ mm}$, $\phi 1''$ Achromatic Doublet, ARC: 1050-1700 nm; Thorlabs)の平凸レンズ（B）でコリメートし、 ω_2 光はPCFから出射された広帯域な波長成分を有するスーパーコンティニュウム光を非軸放物面鏡（Protected Silver Reflective Collimator, 450 nm-20 μm , $\phi 4\text{ mm}$, FC/APC; Thorlabs）（C）に導入することでコリメートし伝搬させた。

[0058] また、 ω_1 光は伝搬の途中でVariable Neutral Density Filter(VND Filter)（D）と1064 nm半波長板(S333-1064-2; 駿河精機社製)（E）を挟んだ。VND Filterは、試料に入射する ω_1 光の光量調整を、1064 nm半波長板は後述するSHGアクティブな分子の偏光依存性を確認するために用いた。

- [0059] さらに、 ω_1 光は中心波長1064 nm以外にもその短波長側に微弱な成分を含んでおり、検出するCARS光の以外の ω_1 光に含まれる余分なスペクトル成分を効率的にカットするために1064 nm narrow Band Pass Filter(1064.1-1 OD7 Ultra Narrow Bandpass; Alluxa) (F)を用いた。前記バンドパスフィルターは、中心波長1064.1 nm、半値幅1 nmのスペクトル成分のみを透過させる超狭帯域バンドパスフィルターを用いた。
- [0060] ω_2 光はPCFによって可視域から近赤外域まで緩やかに伸びるブロードなバンドを持っている。 ω_1 光の中心波長1064 nmに対してCARS光の測定に必要な ω_2 光の波長域は1064~1650 nm程度までである。そこで、 ω_2 光のコリメート直後に可視光の成分をカットする二つのフィルター1050 nm Long Pass Filter (G)、赤外透過フィルター(IR80N; ケンコー光学社製) (H)によって ω_2 光の近赤外域に広がるスペクトル成分のみを十分に透過させた。そして、 ω_1 光と ω_2 光の合波後、二つの光を顕微鏡へと伝搬させた。
- [0061] 顕微鏡としては、倒立顕微鏡(eclipse Ti-U、株式会社Nikon社製)をカスタムメイドした正倒立顕微鏡を使用した。顕微鏡の倒立側から対物レンズ(Water immersion, Plan, $\times 60$, 1.27NA; Nikon社製) (J)に入射し、試料に集光された ω_1 光と ω_2 光によりCARSやSHGといった非線形光学現象が発生する。対物レンズで絞られているため、これらの非線形光学現象は位相整合条件から前方方向に効率よく発生する。焦点で発生した信号光は顕微鏡正立側の対物レンズ(Dry, S Plan Fluor, $\times 40$, 0.60NA; Nikon社製) (K)によって集光、コリメートされた。
- [0062] 倒立側対物レンズにより試料面で集光された位置でパワーメーターを用いて測定した平均パワーはそれぞれ ω_1 光が最大55 mW、 ω_2 光が最大20 mWであった。実際の測定ではこのうちパワーの高い ω_1 光に前述のVND Filterを用いることでサンプル信号強度の調節を行った。
- [0063] 顕微鏡にはハロゲンランプが備え付けられており、試料の光学像をCCDカメラで撮影可能である。顕微鏡内では ω_1 光と ω_2 光がハロゲンランプの光と同軸に存在するため、倒立側対物レンズ直前のダイクロイックビームスプリッター

リッター（FF825-SDi01-25×36×2.0シングルエッジショートパスDichroicビームスプリッター；オプトライン社製）（L）と、正立側対物レンズの直後のダイクロイックミラー（TFMS-30C05-3/20超広帯域誘多膜平面ミラー；シグマ光機社製）（M）とを使用した。

[0064] 顕微鏡に設置したステージは二軸の微小位置決め装置によって制御されるステップモータ式MicroStage（Micro-Stage(2 axis)；Mad City Labs）（N）を利用した。さらに前記MicroStageの上に動作範囲75 μm ×75 μm ×50 μm のピエゾステージ（Nano-LPQ；Mad City Labs社製）（O）を設置し、ミリ単位での面内幅広いストロークに加え、さらに細かいストロークの面内ステージ制御と光軸Z方向、すなわち試料に対しての奥行方向のスキャンを可能とした。MicroStageは非常に高精度の駆動装置により最小ステップサイズ95 nm、最大速度2 mm/secの制御が可能である。

[0065] つぎに、検出器側の光学系は、以下の通りとした。顕微鏡の正立側対物レンズで集光された信号光は、直後のダイクロイックミラーによって反射され、その後ダイクロイックビームスプリッター（FF685-Di02-25×36 685 nm シングルエッジDichroicビームスプリッター；Semrock社製）（P）によって、近赤外域のCARS光を透過させ、可視域の光は反射させた。

[0066] 可視域の光について、633 nm short Pass Filter（Q）により可視域外の励起光由来のバックグラウンドを遮断し、その後f=65 mmの平凸レンズ（R）により分光器（Z-300 Series；LUCIR社製）（S）に集光させた。前記分光器を接続したPC上でソフトウェア（Ementool；Zolix社製）によって制御を行った。本実施例では、Grating Groove 300本/mm、Grating Blaze 500 nm、分光器の中心波長410 nmに設定した。SHGの検出には電子冷却CCDカメラ（iVac300；Andor社製）（T）を用いた。

[0067] 近赤外域の光はダイクロイックビームスプリッターを透過し、1064 nm notch Filter（1064 Narrow ノッチフィルター；Iridian社製）（U）と1050 nm short Pass Filter（3RD1050SP；Omega）（V）によって ω_1 光と ω_2 光を遮断し、CARS光のみを分光器へと導光した。

[0068] 1064 nm notch Filterと1050 nm short Pass Filterとを透過後、CARS光は $f=25$ mmの平凸レンズで分光器（Acton Series LS785; Princeton Instruments社製）（X）によって波長ごとに分光され、電子冷却CCDカメラ（PIXIS 100BR; Princeton Instruments社製）（Y）で検出した。PIXIS 100BR、iVac 316、およびiVac300は、それぞれPC上のソフトウェア（LightField; Princeton Instruments社製、Andor SOLIS; Andor社製）によって制御されている。

[0069] （２）腫瘍細胞

腫瘍細胞としては、肺腺がん細胞（PC-9）を使用した。前記PC-9は、ゲフィチニブに対して感受性を示すことが知られている肺がん細胞株である。前記腫瘍細胞は、24ウェルディッシュ内にプレパラートを配置し、プレパラート上で培養した。そして、被検物質として、ゲフィチニブを添加し、48時間培養した。

[0070] （３）測定

培養後の各腫瘍細胞を含むプレパラートをスライドグラスにマウントし、前記実施例1（1）のCARS顕微鏡で、信号光を取得した。そして、得られたSHGの信号光を再構築し、SHG像を作製した。また、コントロールは、ゲフィチニブを添加しなかった以外は同様にして実施した。これらの結果を図8に示す。

[0071] 図8は、SHG像を示す写真である。図8において、（A）は、ゲフィチニブ未添加のコントロールの結果を示し、（B）は、ゲフィチニブを添加したサンプルの結果を示す。図8（A）に示すように、ゲフィチニブ未添加の状態では、矢印で示すように、PC-9は、SHG像において上端側および下端側にSHGシグナルが局在していた。これに対して、図8（B）に示すように、ゲフィチニブ添加の状態では、SHG像において赤道周辺、すなわち、中央部に局在していた。これらのことから、CARS顕微鏡により取得した信号光を用いて、腫瘍細胞の感受性を判定できることがわかった。

[0072] 以上、実施形態および実施例を参照して本発明を説明したが、本発明は、

上記実施形態および実施例に限定されるものではない。本発明の構成や詳細には、本発明のスコープ内で当業者が理解しうる様々な変更をすることができる。

[0073] この出願は、2019年2月8日に提出された日本出願特願2019-021932を基礎とする優先権を主張し、その開示のすべてをここに取り込む。

[0074] <付記>

上記の実施形態および実施例の一部または全部は、以下の付記のように記載されうるが、以下には限られない。

(付記1)

被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて取得された第二高調波(SHG)を取得する取得工程と、

前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程とを含む、被検物質への感受性の判定方法。

(付記2)

前記判定工程において、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、付記1記載の判定方法。

(付記3)

前記判定工程において、前記SHGの信号光の分散値に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、付記1または2記載の判定方法。

(付記4)

前記判定工程において、前記SHGの信号光の分散値を基準値と比較し、前記SHGの信号光の分散値が、前記基準値より大きい場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定する、付記3記載の判定方法。

(付記5)

前記基準値は、前記被検物質と未接触の腫瘍細胞におけるSHGの信号光の分散値である、付記4記載の判定方法。

(付記6)

前記判定工程において、前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性の判定結果を出力する機械学習により生成された学習済みモデルを用いて、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、付記1から5のいずれかに記載の判定方法。

(付記7)

前記判定工程において、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、付記1から6のいずれかに記載の判定方法。

(付記8)

前記判定工程において、前記腫瘍細胞のZ軸方向における中央部にSHGの信号光が局在する場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定する、付記1から7のいずれかに記載の判定方法。

(付記9)

前記被検物質が、低分子化合物、ペプチド、タンパク質および核酸からなる群から選択された少なくとも1つである、付記1から8のいずれかに記載の判定方法。

(付記10)

前記腫瘍細胞が、肺がん細胞である、付記1から9のいずれかに記載の判定方法。

(付記11)

被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて取得された第二高調波(SHG)を取得する取得手段と、

前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定手段とを含む、被検物質への感受性の判定装置。

(付記 1 2)

前記判定手段では、前記 S H G の信号光の形状および位置の少なくとも一方に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、付記 1 1 記載の判定装置。

(付記 1 3)

前記判定手段では、前記 S H G の信号光の分散値に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、付記 1 1 または 1 2 記載の判定装置。

(付記 1 4)

前記判定手段では、前記 S H G の信号光の分散値を基準値と比較し、前記 S H G の信号光の分散値が、前記基準値より大きい場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定される、付記 1 3 記載の判定装置。

(付記 1 5)

前記基準値は、前記被検物質と未接触の腫瘍細胞における S H G の信号光の分散値である、付記 1 4 記載の判定装置。

(付記 1 6)

前記判定手段では、前記 S H G に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性の判定結果を出力する機械学習により生成された学習済みモデルを用いて、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、付記 1 1 から 1 5 のいずれかに記載の判定装置。

(付記 1 7)

前記判定手段では、前記腫瘍細胞の Z 軸方向における S H G の信号光の局在に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、付記 1 1 から 1 6 のいずれかに記載の判定装置。

(付記 1 8)

前記判定手段では、前記腫瘍細胞の Z 軸方向における中央部に S H G の信号光が局在する場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定される、付記 1 1 から 1 7 のいずれかに記載の判定装置。

(付記 19)

前記被検物質が、低分子化合物、ペプチド、タンパク質および核酸からなる群から選択された少なくとも1つである、付記11から18のいずれかに記載の判定装置。

(付記 20)

前記腫瘍細胞が、肺がん細胞である、付記11から19のいずれかに記載の判定装置。

(付記 21)

被検物質と接触させた腫瘍細胞について、前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程と、

前記腫瘍細胞が感受性であると判定された被検物質について、抗癌剤の候補物質として選択する工程とを含み、

前記判定工程は、付記1から10のいずれかに記載の判定方法により実施される、抗癌剤のスクリーニング方法。

(付記 22)

前記被検物質が、低分子化合物、ペプチド、タンパク質および核酸からなる群から選択された少なくとも1つである、付記21記載のスクリーニング方法。

(付記 23)

被検物質から抗癌剤の候補物質を選抜する選抜工程を含み、

前記選抜工程は、付記21または22記載のスクリーニング方法で実施される、抗癌剤の候補物質の製造方法。

(付記 24)

被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱 (CARS) 顕微鏡を用いて取得された第二高調波 (SHG) を取得する取得工程と、

前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出

力する学習済モデルを生成する学習工程とを含む、腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造方法。

(付記 2 5)

前記 S H G から、前記 S H G の信号光の形状および位置の少なくとも一方を検出する信号光検出工程を含み、

前記学習工程において、前記 S H G の信号光の形状および位置の少なくとも一方と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、付記 2 4 記載の製造方法。

(付記 2 6)

前記 S H G から、前記 S H G の信号光の分散値を算出する算出工程を含み、前記学習工程において、前記 S H G の信号光の分散値と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、付記 2 4 または 2 5 記載の製造方法。

(付記 2 7)

前記 S H G から、前記腫瘍細胞の Z 軸方向における S H G の信号光の局在を検出する局在検出工程を含み、

前記学習工程において、前記腫瘍細胞の Z 軸方向における S H G の信号光の局在と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、付記 2 4 から 2 6 のいずれかに記載の製造方法。

(付記 2 8)

被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱 (C A R S) 顕微鏡を用いて取得された第二高調波 (S H G) を取得する取得手段と、

前記 S H G と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記 S H G から腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習手段とを含む、腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造装置。

(付記 2 9)

前記SHGから、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方を検出する信号光検出手段を含み、

前記学習手段において、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、付記28記載の製造装置。

(付記30)

前記SHGから、前記SHGの信号光の分散値を算出する算出手段を含み、前記学習手段において、前記SHGの信号光の分散値と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、付記28または29記載の製造装置。

(付記31)

前記SHGから、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在を検出する局在検出手段を含み、

前記学習手段において、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、付記28から30のいずれかに記載の製造装置。

(付記32)

被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡における第二高調波(SHG)を取得する取得処理と、

前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習処理とを、コンピュータ上で実行可能であるプログラム。

(付記33)

被検物質と接触させた腫瘍細胞のコヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて取得された第二高調波(SHG)を取得する取得処理と、

前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習処理とを、コンピュータ上で実行可能であるプログラム。

(付記34)

被検腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて第二高調波(SHG)を取得する取得工程と、前記SHGに基づき、前記被検腫瘍細胞から、前記被検物質の感受性試験に用いる候補腫瘍細胞を選択する選択工程とを含む、被検物質の感受性判定用細胞の選抜方法。

(付記35)

前記選択工程において、前記SHGが検出された被検腫瘍細胞を前記候補腫瘍細胞として選択する、付記34記載の選抜方法。

(付記36)

付記32または33に記載のプログラムを記録している、コンピュータ読み取り可能な記録媒体。

産業上の利用可能性

[0075] 以上のように、本発明によれば、腫瘍細胞の被検物質に対する感受性を判定できる。このため、本発明は、化合物のスクリーニングを行なう等において、極めて有用である。

符号の説明

[0076]	10	判定装置
	11	データ処理手段
	111	取得手段
	112	判定手段
	113	学習手段
	20	学習装置

請求の範囲

- [請求項1] 被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（SHG）を取得する取得工程と、
前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程とを含む、被検物質への感受性の判定方法。
- [請求項2] 前記判定工程において、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、請求項1記載の判定方法。
- [請求項3] 前記判定工程において、前記SHGの信号光の分散値に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、請求項1または2記載の判定方法。
- [請求項4] 前記判定工程において、前記SHGの信号光の分散値を基準値と比較し、前記SHGの信号光の分散値が、前記基準値より大きい場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定する、請求項3記載の判定方法。
- [請求項5] 前記基準値は、前記被検物質と未接触の腫瘍細胞におけるSHGの信号光の分散値である、請求項4記載の判定方法。
- [請求項6] 前記判定工程において、前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性の判定結果を出力する機械学習により生成された学習済みモデルを用いて、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、請求項1から5のいずれか一項に記載の判定方法。
- [請求項7] 前記判定工程において、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する、請求項1から6のいずれか一項に記載の判定方法。
- [請求項8] 前記判定工程において、前記腫瘍細胞のZ軸方向における中央部にSHGの信号光が局在する場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定する、請求項1から7のいずれか一項に記載の

判定方法。

- [請求項9] 前記被検物質が、低分子化合物、ペプチド、タンパク質および核酸からなる群から選択された少なくとも1つである、請求項1から8のいずれか一項に記載の判定方法。
- [請求項10] 前記腫瘍細胞が、肺がん細胞である、請求項1から9のいずれか一項に記載の判定方法。
- [請求項11] 被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて取得された第二高調波（SHG）を取得する取得手段と、
前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性を判定する判定手段とを含む、被検物質への感受性の判定装置。
- [請求項12] 前記判定手段では、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、請求項11に記載の判定装置。
- [請求項13] 前記判定手段では、前記SHGの信号光の分散値に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、請求項11または12に記載の判定装置。
- [請求項14] 前記判定手段では、前記SHGの信号光の分散値を基準値と比較し、前記SHGの信号光の分散値が、前記基準値より大きい場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定される、請求項13に記載の判定装置。
- [請求項15] 前記基準値は、前記被検物質と未接触の腫瘍細胞におけるSHGの信号光の分散値である、請求項14に記載の判定装置。
- [請求項16] 前記判定手段では、前記SHGに基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性の判定結果を出力する機械学習により生成された学習済みモデルを用いて、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、請求項11から15のいずれか一項に記載の判定装置。

- [請求項17] 前記判定手段では、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在に基づき、前記腫瘍細胞の前記被検物質に対する感受性が判定される、請求項11から16のいずれか一項に記載の判定装置。
- [請求項18] 前記判定手段では、前記腫瘍細胞のZ軸方向における中央部にSHGの信号光が局在する場合、前記腫瘍細胞は、前記被検物質に対する感受性であると判定される、請求項11から17のいずれか一項に記載の判定装置。
- [請求項19] 前記被検物質が、低分子化合物、ペプチド、タンパク質および核酸からなる群から選択された少なくとも1つである、請求項11から18のいずれか一項に記載の判定装置。
- [請求項20] 前記腫瘍細胞が、肺がん細胞である、請求項11から19のいずれか一項に記載の判定装置。
- [請求項21] 被検物質と接触させた腫瘍細胞について、前記被検物質に対する感受性を判定する判定工程と、
前記腫瘍細胞が感受性であると判定された被検物質について、抗癌剤の候補物質として選択する工程とを含み、
前記判定工程は、請求項1から10のいずれか一項に記載の判定方法により実施される、抗癌剤のスクリーニング方法。
- [請求項22] 前記被検物質が、低分子化合物、ペプチド、タンパク質および核酸からなる群から選択された少なくとも1つである、請求項21記載のスクリーニング方法。
- [請求項23] 被検物質から抗癌剤の候補物質を選抜する選抜工程を含み、
前記選抜工程は、請求項21または22記載のスクリーニング方法で実施される、抗癌剤の候補物質の製造方法。
- [請求項24] 被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて取得された第二高調波(SHG)を取得する取得工程と、
前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師

データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習工程とを含む、腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造方法。

[請求項25] 前記SHGから、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方を検出する信号光検出工程を含み、
前記学習工程において、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、請求項24記載の製造方法。

[請求項26] 前記SHGから、前記SHGの信号光の分散値を算出する算出工程を含み、
前記学習工程において、前記SHGの信号光の分散値と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、請求項24または25記載の製造方法。

[請求項27] 前記SHGから、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在を検出する局在検出工程を含み、
前記学習工程において、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、請求項24から26のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項28] 被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて取得された第二高調波(SHG)を取得する取得手段と、
前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習手段とを含む、腫瘍細胞の感受性の判定に用いる学習済モデルの製造装置。

[請求項29] 前記SHGから、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方を検出する信号光検出手段を含み、

前記学習手段において、前記SHGの信号光の形状および位置の少なくとも一方と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、請求項28記載の製造装置。

[請求項30] 前記SHGから、前記SHGの信号光の分散値を算出する算出手段を含み、

前記学習手段において、前記SHGの信号光の分散値と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、請求項28または29記載の製造装置。

[請求項31] 前記SHGから、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在を検出する局在検出手段を含み、

前記学習手段において、前記腫瘍細胞のZ軸方向におけるSHGの信号光の局在と、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとする、請求項28から30のいずれか一項に記載の製造装置。

[請求項32] 被検物質と接触させた腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡における第二高調波(SHG)を取得する取得処理と、

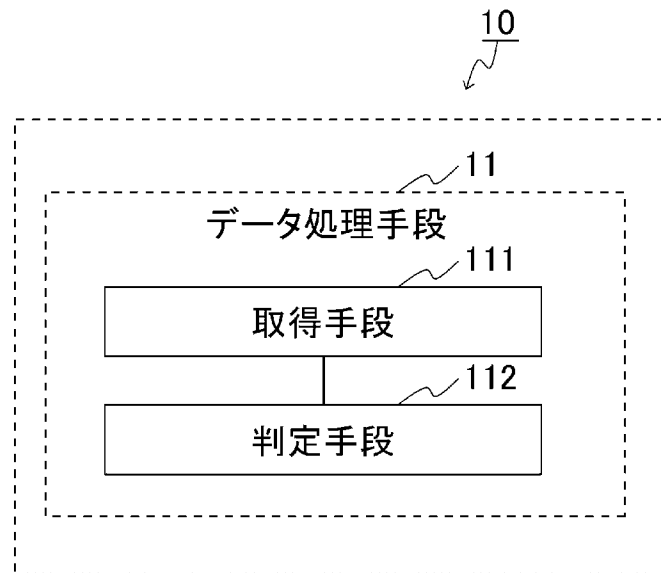
前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習処理とを、コンピュータ上で実行可能であるプログラム。

[請求項33] 被検物質と接触させた腫瘍細胞のコヒーレント反ストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡を用いて取得された第二高調波(SHG)を取得する取得処理と、

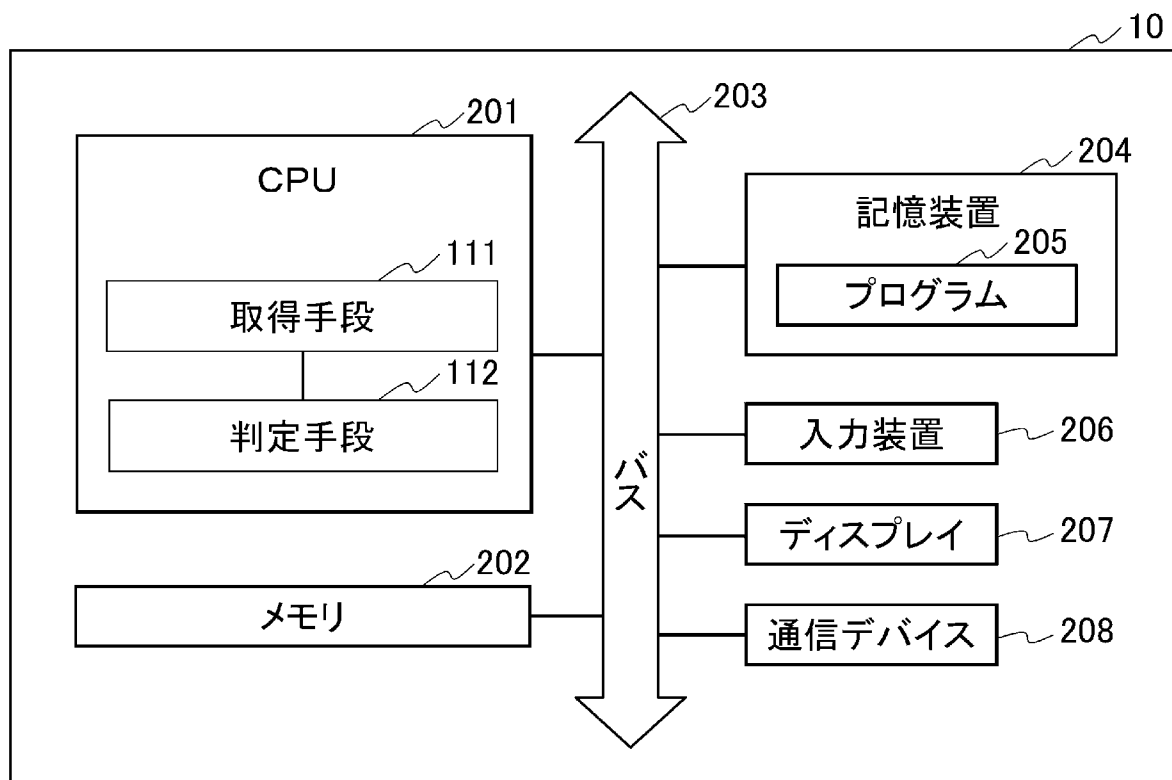
前記SHGと、前記腫瘍細胞の被検物質に対する感受性との組を教師データとして、前記SHGから腫瘍細胞の被検物質に対する感受性の判定結果を出力する学習済モデルを生成する学習処理とを、コンピュータ上で実行可能であるプログラム。

- [請求項34] 被検腫瘍細胞について、コヒーレント反ストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡を用いて第二高調波（SHG）を取得する取得工程と、前記SHGに基づき、前記被検腫瘍細胞から、前記被検物質の感受性試験に用いる候補腫瘍細胞を選択する選択工程とを含む、被検物質の感受性判定用細胞の選抜方法。
- [請求項35] 前記選択工程において、前記SHGが検出された被検腫瘍細胞を前記候補腫瘍細胞として選択する、請求項34記載の選抜方法。

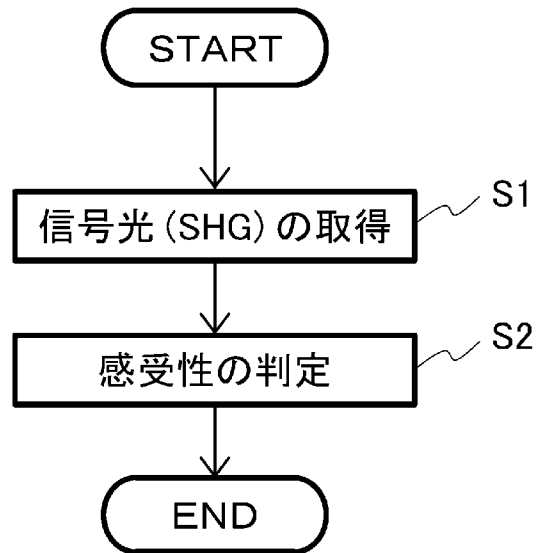
[図1]



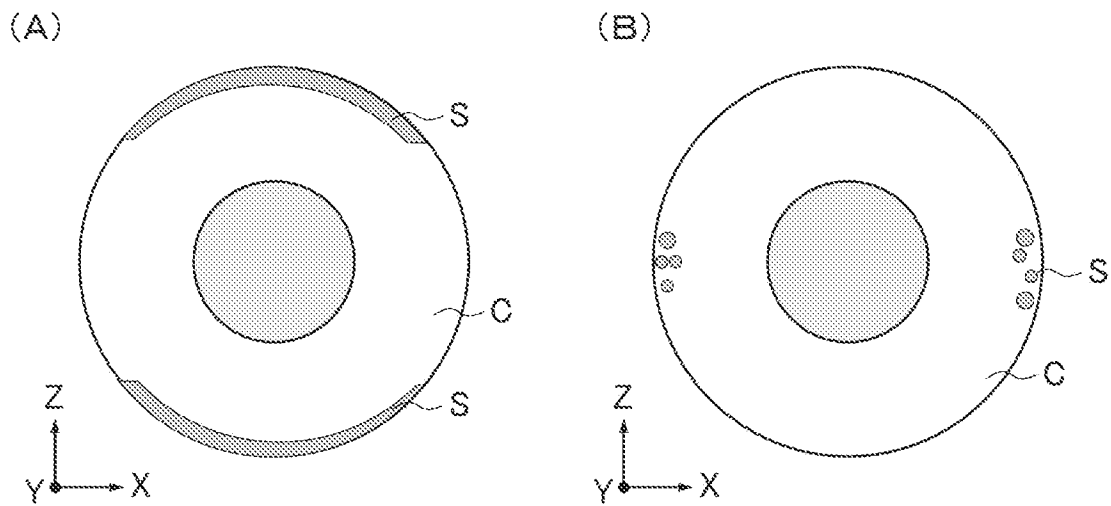
[図2]



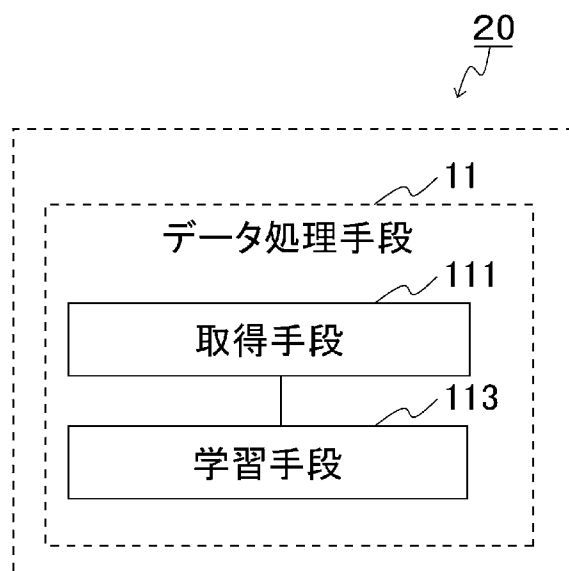
[図3]



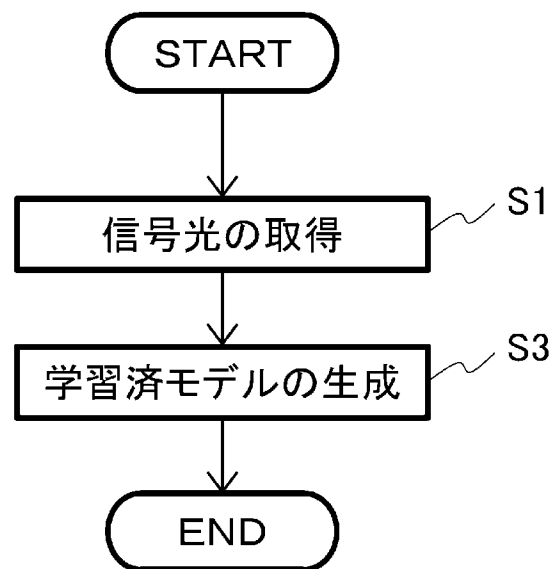
[図4]



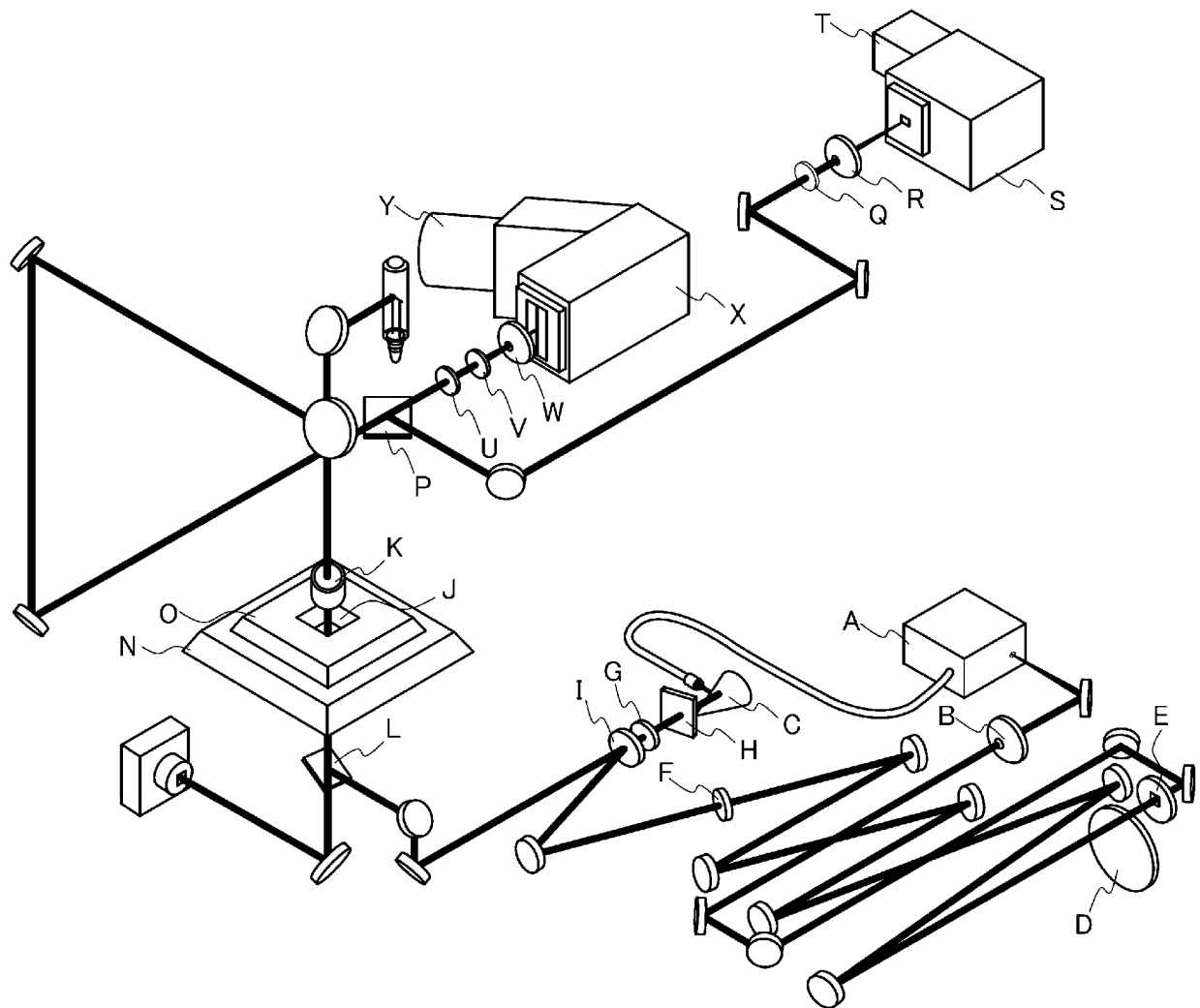
[図5]



[図6]

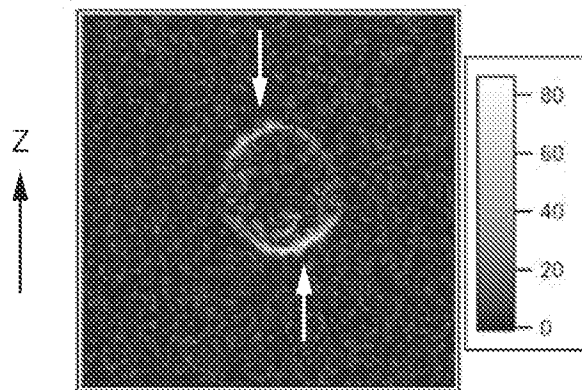


[図7]

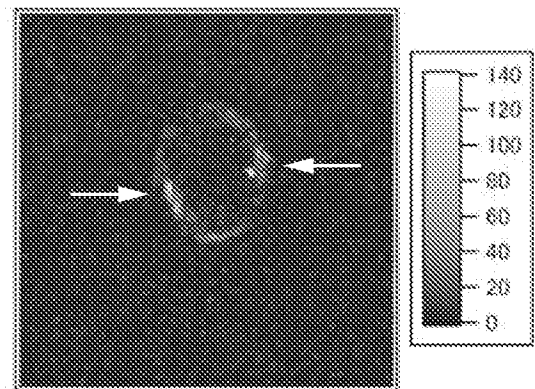


[図8]

(A)



(B)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/004819

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 45/00 (2006.01)i; A61P 11/00 (2006.01)i; A61P 35/00 (2006.01)i; G01N 21/65 (2006.01)i
FI: G01N21/65; A61K45/00; A61P35/00; A61P11/00

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)

A61K45/00; A61P11/00; A61P35/00; G01N21/65

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	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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	US 2017/0050045 A1 (PRASAD et al.) 23.02.2017 (2017-02-23)	1-35
A	US 2011/0282166 A1 (CHEN et al.) 17.11.2011 (2011-11-17)	1-35
A	US 2018/0286044 A1 (BOPPART et al.) 04.10.2018 (2018-10-04)	1-35



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

"I" 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
07 April 2020 (07.04.2020)

Date of mailing of the international search report
12 May 2020 (12.05.2020)

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/JP2020/004819

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SEGAWA, H. et al., "Label-free tetra-modal molecular imaging of living cells with CARS, SHG, THG and TSFG (coherent anti-Stokes Raman scattering, second harmonic generation, third harmonic generation and third-order sum frequency generation)", Optics Express, 11 April 2012, vol. 20, no. 9, 9551-9557, https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm/viewmedia.cfm?uri=oe-20-9-9551&seq=0 , doi:10.1364/OE.20.009551, abstract	1-35
A	APARNA, D. U. et al, "Types of advanced optical microscopy techniques for breast cancer research: a review", Lasers in Medical Science, 11 October 2018, 33, 1849-1858, abstract	1-35
A	加納 英明, 非線形分光を用いた非染色・細胞／生体組織イメージング, 光学, July 2017, vol. 46, no. 7, 268-276, fig. 4, (KANO, Hideaki, "Label-Free Live Cell/Tissue Imaging Using Nonlinear optical Spectroscopy", Japanese journal of optics)	1-35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2020/004819

Patent Documents
referred in the
ReportPublication
Date

Patent Family

Publication
Date

US 2017/0050045 A1

23 Feb. 2017

WO 2015/168080 A1

US 2011/0282166 A1

17 Nov. 2011

US 8582096 B2

US 2018/0286044 A1

04 Oct. 2018

US 10445880 B2

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 45/00(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; G01N 21/65(2006.01)i FI: G01N21/65; A61K45/00; A61P35/00; A61P11/00														
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）） A61K45/00; A61P11/00; A61P35/00; G01N21/65														
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2020年													
日本国実用新案登録公報	1996-2020年													
日本国登録実用新案公報	1994-2020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 (JDreamII)														
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	US 2017/0050045 A1 (PRASAD et al.) 23.02.2017 (2017-02-23)	1-35												
A	US 2011/0282166 A1 (CHEN et al.) 17.11.2011 (2011-11-17)	1-35												
A	US 2018/0286044 A1 (BOPPART et al.) 04.10.2018 (2018-10-04)	1-35												
A	SEGAWA, H. et al., Label-free tetra-modal molecular imaging of living cells with CARS, SHG, THG and TSFG (coherent anti-Stokes Raman scattering, second harmonic generation, third harmonic generation and third-order sum frequency generation), Optics Express, 2012.04.11, Vol.20, No.9, 9551-9557, https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm/viewmedia.cfm?uri=oe-20-9-9551&seq=0 , doi: 10.1364/OE.20.009551 abstract	1-35												
A	APARNA, D.U. et al, Types of advanced optical microscopy techniques for breast cancer research: a review, Lasers in Medical Science, 2018.10.11, 33, 1849-1858 abstract	1-35												
☒ 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。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>"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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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）</td> <td>"&" 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	"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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	"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	"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	"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	"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）	"&" 同一パテントファミリー文献	"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	
* 引用文献のカテゴリー	"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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	"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													
"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	"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													
"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）	"&" 同一パテントファミリー文献													
"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														
国際調査を完了した日 07.04.2020	国際調査報告の発送日 12.05.2020													
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 伊藤 裕美 2W 9515 電話番号 03-3581-1101 内線 3258													

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	加納英明, 非線形分光を用いた非染色・細胞/生体組織イメージング, 光学, 2017.07, Vol.46, No.7, 268-276 図4	1-35

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2020/004819

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
US	2017/0050045	A1	23.02.2017	WO	2015/168080	A1	
US	2011/0282166	A1	17.11.2011	US	8582096	B2	
US	2018/0286044	A1	04.10.2018	US	10445880	B2	