

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02018/021240

発行日 令和1年5月9日 (2019. 5. 9)

(43) 国際公開日 平成30年2月1日 (2018. 2. 1)

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)		
GO 1 N	33/48	(2006. 01)	GO 1 N	33/48	P	2 G O 4 5		
GO 1 N	1/30	(2006. 01)	GO 1 N	1/30		2 G O 5 2		
GO 1 N	1/28	(2006. 01)	GO 1 N	1/28	U			
			GO 1 N	1/28	F			
			GO 1 N	33/48	M			

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

出願番号	特願2018-529876 (P2018-529876)	(71) 出願人	503027931 学校法人同志社 京都府京都市上京区今出川通烏丸東入玄武町601番地
(21) 国際出願番号	PCT/JP2017/026690	(74) 代理人	110000475 特許業務法人みのり特許事務所
(22) 国際出願日	平成29年7月24日 (2017. 7. 24)	(72) 発明者	吉川 研一 京都府京田辺市多々羅部谷1-3 同志社大学内
(31) 優先権主張番号	特願2016-145435 (P2016-145435)	(72) 発明者	池川 雅哉 京都府京田辺市多々羅部谷1-3 同志社大学内
(32) 優先日	平成28年7月25日 (2016. 7. 25)	(72) 発明者	剣持 貴弘 京都府京田辺市多々羅部谷1-3 同志社大学内
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

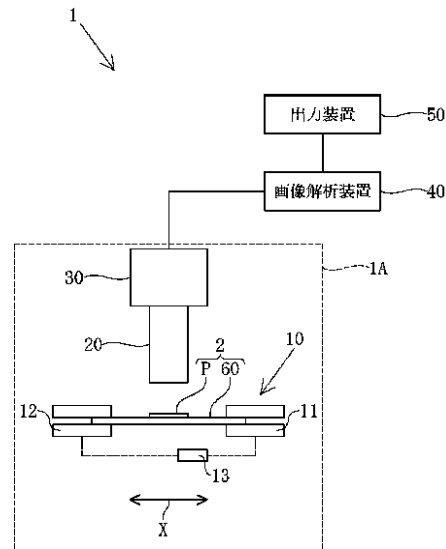
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 病態診断支援システム、病態診断データ生成システム、および病態診断支援方法

(57) 【要約】

信頼性の高い病態の診断を支援することが可能な病態診断支援システム、病態診断データ生成システム、および病態診断支援方法を提供する。

病態診断支援システム1は、細胞の組織切片Pを伸展する伸展装置10と、組織切片Pを撮影することで画像データを取得する撮影装置30と、画像データを解析することで、伸展により組織切片Pに生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する画像解析装置40と、算出された指標を出力する出力装置50とを備える。



40 Image analysis device
50 Output device

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞の組織切片を伸展する伸展装置と、
前記組織切片を撮影することで画像データを取得する撮影装置と、
前記画像データを解析することで、前記伸展により前記組織切片に生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する画像解析装置と、
算出された前記指標を出力する出力装置とを備える
ことを特徴とする病態診断支援システム。

【請求項 2】

前記伸展装置は、前記組織切片が設けられた伸縮シートを挟み、当該伸縮シートを引っ張ることで前記組織切片を伸展することを特徴とする請求項 1 に記載の病態診断支援システム。

10

【請求項 3】

前記伸縮シートは、ポリウレタンゲルにより形成されている
ことを特徴とする請求項 2 に記載の病態診断支援システム。

【請求項 4】

前記画像解析装置は、前記組織切片に含まれる細胞の面積と、当該組織切片に生じているひび割れ部分の面積とを算出し、前記細胞の面積と前記ひび割れ部分の面積とに基づいて、前記指標を算出することを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の病態診断支援システム。

20

【請求項 5】

前記画像解析装置は、前記組織切片に生じているひび割れ部分の面積と、当該ひび割れ部分の長さを算出し、前記ひび割れ部分の面積と長さに基づいて、前記指標を算出することを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の病態診断支援システム。

【請求項 6】

前記画像解析装置は、前記撮影装置で撮影した画像の少なくとも一部を空間周波数領域に変換し、当該空間周波数領域への変換結果として得られる周波数分布に基づいて、前記指標を算出することを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の病態診断支援システム。

30

【請求項 7】

前記画像解析装置は、前記撮影装置で撮影した画像上のひび割れの形状に基づいて、当該ひび割れの幾何学的形状の特徴を表す空間相関係数を算出し、前記空間相関係数に基づいて、前記指標を算出することを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の病態診断支援システム。

【請求項 8】

病態の診断を支援するための解析用データを生成する病態診断データ生成システムにおいて、
細胞の組織切片を伸展する伸展装置と、
前記組織切片を撮影することで前記解析用データとしての画像データを取得する撮影装置とを備える
ことを特徴とする病態診断データ生成システム。

40

【請求項 9】

細胞の組織切片を伸展する組織切片伸展工程と、
前記組織切片の画像データを撮影装置で取得する画像データ取得工程と、
前記画像データを画像解析装置に解析させることで、前記伸展により前記組織切片に生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する指標算出工程と、
前記指標を出力装置で出力する指標出力工程とを備える
ことを特徴とする病態診断支援方法。

【請求項 10】

50

伸縮シート上に前記組織切片を設けてプレパラートを作成するプレパラート作成工程をさらに備え、

前記組織切片伸展工程において、前記伸縮シートを引っ張ることで前記組織切片を伸展する

ことを特徴とする請求項 9 に記載の病態診断支援方法。

【請求項 11】

前記プレパラート作成工程において、前記組織切片を染色する

ことを特徴とする請求項 10 に記載の病態診断支援方法。

【請求項 12】

前記プレパラート作成工程において、前記伸縮シートとしてポリウレタンゲルシートを使用する

ことを特徴とする請求項 10 または 11 に記載の病態診断支援方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞の組織切片を用いた病態の診断を支援する病態診断支援システム、病態診断データ生成システム、および病態診断支援方法に関する。

【背景技術】

【0002】

被診断者の病態の診断方法としては、被診断者から得られた細胞の組織切片を光学顕微鏡で観察し、ミクロレベルでの細胞の形態に基づいて診断することが標準的な手法となっている。しかしながら、組織切片を顕微鏡で観察する場合であっても、例えば組織切片に含まれる腫瘍が良性であるか悪性であるかを判別することが困難な場合が多々ある。そのため、病態の診断を支援する病態診断支援システムおよび病態診断支援方法が求められていた。

【0003】

特許文献 1 には、X 線撮影装置により構成された診断支援装置が記載されている。この診断支援装置は、X 線撮影装置で撮影した画像に対して 2 次元の離散ウェーブレット変換処理を施すことにより周波数係数を算出し、周波数帯域毎に算出される周波数係数の平均値から腫瘍の客観的指標を算出して表示する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】特開 2005 - 21606 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

ところで、原発性の肝癌である肝細胞癌 (HCC : hepatocellular carcinoma) が発生する前段階として、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH : non-alcoholic steatohepatitis) が進行することが知られており、また、非アルコール性脂肪肝炎が発症する前段階として、単純性脂肪肝 (simple steatosis) となることが知られている。

【0006】

しかしながら、特許文献 1 の手法で算出された指標に基づいて病態を診断する際には、例えば上記の肝細胞癌が発生するまでの複数の病態を細かく判別することができないおそれがあるため、信頼性の高い病態の診断を支援することができないという問題がある。

【0007】

本発明は上記事情に鑑みてなされたものであって、その課題は、信頼性の高い病態の診断を支援することが可能な病態診断支援システム、病態診断データ生成システム、および病態診断支援方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

10

20

30

40

50

【0008】

上記課題を解決するために、本発明は、細胞の組織切片を伸展する伸展装置と、前記組織切片を撮影することで画像データを取得する撮影装置と、前記画像データを解析することで、前記伸展により前記組織切片に生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する画像解析装置と、算出された前記指標を出力する出力装置とを備えることを特徴とする。

【0009】

また、上記構成において、前記伸展装置は、例えば、前記組織切片が設けられた伸縮シートを挟み、当該伸縮シートを引っ張ることで前記組織切片を伸展する。

【0010】

また、上記構成において、前記伸縮シートは、例えば、ポリウレタンゲルにより形成されている。

【0011】

また、上記構成において、前記画像解析装置は、例えば、前記組織切片に含まれる細胞の面積と、当該組織切片に生じているひび割れ部分の面積とを算出し、前記細胞の面積と前記ひび割れ部分の面積とに基づいて、前記指標を算出する。

【0012】

また、上記構成において、前記画像解析装置は、例えば、前記組織切片に生じているひび割れ部分の面積と、当該ひび割れ部分の長さとを算出し、前記ひび割れ部分の面積と長さに基づいて、前記指標を算出する。

【0013】

また、上記構成において、前記画像解析装置は、例えば、前記撮影装置で撮影した画像の少なくとも一部を空間周波数領域に変換し、当該空間周波数領域への変換結果として得られる周波数分布に基づいて、前記指標を算出する。

【0014】

また、上記構成において、前記画像解析装置は、前記撮影装置で撮影した画像上のひび割れの形状に基づいて、当該ひび割れの幾何学的形状の特徴を表す空間相関係数を算出し、前記空間相関係数に基づいて、前記指標を算出する。

【0015】

また、上記課題を解決するために、本発明は、病態の診断を支援するための解析用データを生成する病態診断データ生成システムにおいて、細胞の組織切片を伸展する伸展装置と、前記組織切片を撮影することで前記解析用データとしての画像データを取得する撮影装置とを備えることを特徴とする。

【0016】

また、上記課題を解決するために、本発明は、細胞の組織切片を伸展する組織切片伸展工程と、前記組織切片の画像データを撮影装置で取得する画像データ取得工程と、前記画像データを画像解析装置に解析させることで、前記伸展により前記組織切片に生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する指標算出工程と、前記指標を出力装置で出力する指標出力工程とを備えることを特徴とする。

【0017】

また、上記構成において、例えば、伸縮シート上に前記組織切片を設けてプレパラートを作成するプレパラート作成工程をさらに備え、前記組織切片伸展工程において、前記伸縮シートを引っ張ることで前記組織切片を伸展する。

【0018】

また、上記構成において、例えば、前記プレパラート作成工程において、前記組織切片を染色する。

【0019】

また、上記構成において、例えば、プレパラート作成工程において、前記伸縮シートとしてポリウレタンゲルシートを使用する。

【発明の効果】

10

20

30

40

50

【0020】

本発明によれば、信頼性の高い病態の診断を支援することが可能な病態診断支援システム、病態診断データ生成システム、および病態診断支援方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】本発明の一実施形態に係る病態診断支援システムの概略構成図である。

【図2】同実施形態に係る病態診断支援方法の流れを示すフローチャートである。

【図3】マウスの肝細胞の組織切片を撮影することで得られた顕微鏡写真であって、(A)は正常状態の肝細胞、(B)は単純性脂肪肝、(C)は非アルコール性脂肪肝、(D)は肝細胞癌を示している。

10

【図4】(A)～(D)は、マウスの肝細胞の伸縮後の組織切片を撮影することで得られた顕微鏡写真である。

【図5】(A)は図4(A)の二値化画像であり、(B)は図4(B)の二値化画像であり、(C)は図4(C)の二値化画像であり、(D)は図4(D)の二値化画像である。

【図6】実施例1において算出された病態の指標を示すグラフである。

【図7】実施例2において算出された病態の指標を示すグラフである。

【図8】(A)～(C)は、実施例4に係る空間相関係数の算出方法を説明するための模式図である。

【図9】実施例5において算出された平均第1空間相関係数のグラフである。

【図10】実施例5に係る平均第1空間相関係数を表す近似式のグラフである。

20

【発明を実施するための形態】

【0022】

以下、添付図面を参照して、本発明の一実施形態について説明する。図1は、本発明に係る病態診断支援システム1の概略構成を示している。病態診断支援システム1には、病態診断データ生成システム1Aが含まれている。

【0023】

図1に示すように、病態診断支援システム1は、細胞の組織切片Pを含むプレパラート2を用いて、病態の診断を支援する。病態診断支援システム1は、伸展装置10と、顕微鏡20と、撮影装置30と、画像解析装置40と、出力装置50とを備えている。プレパラート2は、組織切片Pと、組織切片Pが載せられた伸縮シート60とにより構成されている。

30

【0024】

伸展装置10は、アクチュエータを備えた引張装置により構成されている。伸展装置10は、組織切片Pが設けられた伸縮シート60を挟み、伸縮シート60の面方向X(伸縮方向)に伸縮シート60を引っ張ることで組織切片Pを伸展する。伸展装置10は、伸縮シート60の一端部が固定される第1固定部11と、伸縮シート60の他端部が固定される第2固定部12と、第1固定部11および第2固定部12の間隔を変化させるリニアアクチュエータ13により構成されている。伸展装置10は、リニアアクチュエータ13で第1固定部11および第2固定部12の間隔を大きくすることで、伸縮シート60および組織切片Pを伸展する。また、組織切片Pの伸展完了後に、伸展装置10は、リニアアクチュエータ13で第1固定部11および第2固定部12の間隔を小さくすることで、伸縮シート60および組織切片Pを収縮する。リニアアクチュエータ13としては、バイオメタルヘリックスを採用することができる。バイオメタルヘリックスにより構成されるリニアアクチュエータ13は、バイオメタルヘリックスへの電流供給のオン/オフにより、伸縮シート60および組織切片Pの伸展/収縮を行うことができる。

40

【0025】

顕微鏡20は、光学顕微鏡により構成されており、撮影装置30は、顕微鏡用デジタルカメラにより構成されている。撮影装置30は、顕微鏡20を通して組織切片Pを撮影する。撮影装置30は、光電変換素子である撮像素子を備えており、撮像素子によって組織切片Pを撮影することで、組織切片Pの画像データを取得する。

50

【 0 0 2 6 】

病態診断データ生成システム 1 A は、上記の伸展装置 1 0、顕微鏡 2 0、および、撮影装置 3 0 により構成されており、病態の診断を支援するための解析用データを生成する。すなわち、撮影装置 3 0 が、組織切片 P を撮影することで解析用データとしての画像データを取得する。病態診断データ生成システム 1 A は、撮影装置 3 0 で生成した解析用データを、画像解析装置 4 0 に提供する。

【 0 0 2 7 】

画像解析装置 4 0 は、個人用の汎用計算機であるパーソナルコンピュータにより構成されている。画像解析装置 4 0 は、撮影装置 3 0 から組織切片 P の画像データを取得し、その画像データを解析することで、伸展により組織切片 P に生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する。具体的には、画像解析装置 4 0 は、下記 (A) ~ (D) の少なくとも 1 つを行うことによって病態の指標を算出する。

(A) 組織切片 P に含まれる細胞の面積 C と、組織切片 P に生じているひび割れ部分の面積 S とを算出し、細胞の面積 C とひび割れ部分の面積 S とに基づいて、病態の指標を算出する。

(B) 組織切片 P に生じているひび割れ部分の面積 S と、ひび割れ部分の長さ L とを算出し、ひび割れ部分の面積 S と長さ L とに基づいて、病態の指標を算出する。

(C) 撮影装置 3 0 で撮影した画像の少なくとも一部を空間周波数領域に変換し、空間周波数領域への変換結果として得られる周波数分布に基づいて、病態の指標を算出する。

(D) 撮影装置 3 0 で撮影した画像上のひび割れの形状に基づいて、ひび割れの幾何学的形状の特徴を表す空間相関係数を算出し、空間相関係数に基づいて、病態の指標を算出する。

【 0 0 2 8 】

出力装置 5 0 は、画像解析装置 4 0 で算出した指標を視覚的に提示するディスプレイにより構成されている。医師は、出力装置 5 0 で出力された病態の指標を参考にして、組織切片 P のひび割れの態様に応じた病態を診断することができる。

【 0 0 2 9 】

伸縮シート 6 0 は、透明で伸縮性を有する樹脂材料であるポリウレタンゲルにより構成されている。伸縮シート 6 0 は、自己吸着性を有しており、伸縮シート 6 0 に組織切片 P が載せられることで、組織切片 P は伸縮シート 6 0 とともに伸縮可能な状態となる。

【 0 0 3 0 】

図 2 を参照して、病態診断支援方法の流れを説明する。

図 2 に示すように、病態診断支援方法は、プレパレート作成工程 S 1、組織切片伸展工程 S 2、画像データ取得工程 S 3、指標算出工程 S 4、および、指標出力工程 S 5 を順に経て、病態の診断を支援する。

【 0 0 3 1 】

プレパレート作成工程 S 1 では、ポリウレタンゲルシートである伸縮シート 6 0 上に組織切片 P を設け、組織切片 P を染色してプレパレート 2 を作製する。次いで、組織切片伸展工程 S 2 では、伸展装置 1 0 に伸縮シート 6 0 を引っ張らせることで、弾性変形するように伸縮シート 6 0 とともに組織切片 P を伸展する。伸展された伸縮シート 6 0 および組織切片 P は、組織切片伸展工程 S 2 後に収縮する。

【 0 0 3 2 】

次いで、画像データ取得工程 S 3 では、撮影装置 3 0 により伸縮後の組織切片 P を撮影することで、組織切片 P の画像データを撮影装置 3 0 で取得する。次いで、指標算出工程 S 4 では、工程 S 3 で取得した画像データを画像解析装置 4 0 に解析させることで、伸展により組織切片 P に生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する。

【 0 0 3 3 】

そして、指標出力工程 S 5 では、工程 S 4 で算出された指標を出力装置 5 0 で出力する。医師は、工程 S 5 で出力された指標を参考にして、組織切片 P のひび割れの態様に応じた病態を診断することができ、以上のようにして本実施形態に係る病態診断支援方法は、

10

20

30

40

50

医師による病態の診断を支援する。

【0034】

本実施形態によれば以下の効果が得られる。

(1) 病態診断支援システム1は、組織切片Pを伸展する伸展装置10と、組織切片Pを撮影することで画像データを取得する撮影装置30と、画像データを解析することで、伸展により組織切片Pに生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する画像解析装置40と、算出された指標を出力する出力装置50とを備える。この構成によれば、組織切片Pを伸展することによって、組織切片Pに生じているひび割れを顕著なものとする事ができるため、ひび割れの態様に基づく病態の指標を、複数の病態に応じて区別化することが可能となる。したがって、算出され出力された指標に基づいて複数の病態を精確に判別することが可能となり、信頼性の高い病態の診断を支援することが可能となる。

10

【0035】

(2) 伸展装置10は、組織切片Pが設けられた伸縮シート60を挟み、伸縮シート60を引っ張ることで組織切片Pを伸展する。この構成によれば、組織切片Pを直接引っ張ることなく、組織切片Pを伸展させることができる。

【0036】

(3) 伸縮シート60は、ポリウレタンゲルにより形成されている。この構成によれば、伸縮シート60に組織切片Pを載せるだけで、組織切片Pが伸縮シート60とともに伸縮するように構成することができる。

【0037】

(4) 病態診断データ生成システム1Aは、組織切片Pを伸展する伸展装置10と、組織切片Pを撮影することで解析用データとしての画像データを取得する撮影装置30とを備える。この構成によれば、組織切片Pを伸展することによって、組織切片Pに生じているひび割れを顕著なものとする事ができるため、組織切片Pの画像データを画像解析装置40に提供することで、画像解析装置40が、画像データに基づいて、複数の病態に応じて区別化することが可能な指標を算出することが可能である。したがって、伸展された組織切片Pの画像データに基づいて複数の病態を精確に判別することが可能となり、信頼性の高い病態の診断を支援することが可能となる。

20

【0038】

(5) 病態診断支援方法は、細胞の組織切片Pを伸展する工程S2と、組織切片Pの画像データを撮影装置30で取得する工程S3と、画像データを画像解析装置40に解析させることで、伸展により組織切片Pに生じたひび割れの態様に基づく病態の指標を算出する工程S4と、算出された指標を出力装置50で出力する工程S5とを備える。この構成によれば、上記(1)と同様の効果を奏する。

30

【0039】

(6) 病態診断支援方法は、伸縮シート60上に組織切片Pを設けてプレパラート2を作成する工程S1を備え、工程S2において、伸縮シート60を引っ張ることで組織切片Pを伸展する。この構成によれば、上記(2)と同様の効果を奏する。

【0040】

(7) 病態診断支援方法は、工程S1において、伸縮シート60としてポリウレタンゲルシートを使用する。この構成によれば、上記(3)と同様の効果を奏する。

40

【実施例】

【0041】

[組織切片の作製]

高脂肪食を与えることで36週目に肝臓癌を発癌するマウスの肝臓を凍結し、凍結させた組織を組織薄切機でスライスすることで厚みが0.02mmの組織切片Pを作製した。組織切片Pとしては、高脂肪食を与える前のマウスの肝臓から得られる組織切片P1と、高脂肪食を与えて12週目のマウスの肝臓から得られる組織切片P2と、高脂肪食を与えて24週目のマウスの肝臓から得られる組織切片P3と、高脂肪食を与えて36週目のマウスの肝臓から得られる組織切片P4とを作製した。高脂肪食を与えて12週目のマウス

50

の病態は、単純性脂肪肝であり、高脂肪食を与えて24週目のマウスの病態は、非アルコール性脂肪肝である。

【0042】

[組織切片の観察]

上記の組織切片P1～P4を、それぞれ、スライドガラスに貼り付けて染色し、顕微鏡20で観察した様子を、図3に示す。図3(A)は、組織切片P1の顕微鏡写真であり、図3(B)は、組織切片P2の顕微鏡写真であり、図3(C)は、組織切片P3の顕微鏡写真であり、図3(D)は、組織切片P4の顕微鏡写真である。図3(A)～(D)に示すように、組織切片P1～P4のいずれにおいても多少のひび割れが発生していることが見て取れる。また、病態の悪化に伴って、染色されていない斑模様の部分が大きくなっていくことが見て取れる。

10

【0043】

(実施例1)

上記[組織切片の作製]により得られた組織切片P1～P4を、それぞれ、厚みが1mmであって直径が5cmの円盤状のポリウレタンゲルからなる伸縮シート60に貼り付けて染色することで、組織切片P1～P4が設けられた4種のプレパラート2を作製した。組織切片P1～P4が設けられた各伸縮シート60を、1つの直線方向である伸展方向において伸縮シート60の径が7cmとなるように(すなわち伸縮シート60が20mm伸展するように)、伸展装置10で伸展し、弾性により収縮した各伸縮シート60上の組織切片P1～P4を、顕微鏡20で観察した。伸縮後の組織切片P1～P4の様子を図4に示す。図4(A)は、伸縮後の組織切片P1の顕微鏡写真であり、図4(B)は、伸縮後の組織切片P2の顕微鏡写真であり、図4(C)は、伸縮後の組織切片P3の顕微鏡写真であり、図4(D)は、伸縮後の組織切片P4の顕微鏡写真である。図4(A)～(D)に示すように、伸縮後の組織切片P1～P4は、伸展されていない図3に示す組織切片P1～P4に比べて、ひび割れが顕著に表れていることが見て取れる。また、病態の悪化に伴って、ひび割れが細かくなっていくことが見て取れる。

20

【0044】

次いで、顕微鏡20を通して組織切片P1～P4を撮影装置30で撮影することにより、組織切片P1～P4の画像データを取得した。撮影装置30で取得した画像データを、画像解析装置40に入力し、画像解析の前処理として、組織切片P1～P4の画像データに対して二値化処理を画像解析装置40で施した。二値化処理を施した組織切片P1～P4の画像を図5に示す。図5(A)～(D)の二値化画像においては、黒色の部分がひび割れ部分である。

30

【0045】

次いで、組織切片P1～P4の各画像データを画像解析装置40で解析し、病態の指標を算出した。本実施例に係る画像解析装置40は、上記(A)を行うことで指標を算出した。具体的には、画像解析装置40は、組織切片P1～P4の二値化画像において、白色の部分のピクセル数を、細胞の面積Cとして算出し、黒色の部分のピクセル数を、ひび割れ部分の面積Sとして算出した。そして、画像解析装置40は、細胞の面積Cとひび割れ部分の面積Sとの総和に対するひび割れ部分の面積Sの割合 $[S / (C + S)]$ を、病態の指標として算出した。組織切片P1～P4の各画像データから算出された面積Sの割合を図6に示す。

40

【0046】

図6に示すように、病態の悪化に伴って、特に癌の組織において、ひび割れ部分の面積Sの割合が大きくなっていくことが見て取れる。そして、組織切片P3, P4の面積Sの割合の差は、組織切片P2, P3の面積Sの割合の差に比べて大きく、その差が顕著であることが見て取れる。したがって、ひび割れ部分の面積Sの割合により、組織切片P3の病態と組織切片P4の病態とを容易に判別することが可能である。

【0047】

(実施例2)

50

本実施例は、画像解析装置 40 による指標の算出方法を除いて、実施例 1 と同じである。本実施例に係る画像解析装置 40 は、上記 (B) を行うことで指標を算出した。具体的には、画像解析装置 40 は、組織切片 P 1 ~ P 4 の二値化画像において、黒色の部分のピクセル数を、ひび割れ部分の面積 S として算出し、輪郭線抽出処理により抽出される黒色の部分と白色の部分との境界部分の長さを、ひび割れ部分の長さ L とを算出する。そして、画像解析装置 40 は、下記の数式 (1) から算出される γ を算出し、組織切片 P 1 ~ P 4 の各画像データから算出した γ を組織切片 P 1 の画像データから算出した γ で割った相対値を、病態の指標として算出する。すなわち、組織切片 P 1 の画像データから算出される相対値は 1 であって、組織切片 P 2 ~ P 4 の画像データから算出される相対値は、組織切片 P 1 の γ を基準とする組織切片 P 2 ~ P 4 の γ の比の値である。組織切片 P 1 ~ P 4 の各画像データから算出された相対値を図 7 に示す。

10

【数 1】

$$\gamma = \frac{L}{2\sqrt{\pi \cdot S}} - 1 \quad \dots(1)$$

【0048】

図 7 に示すように、病態の悪化に伴って、相対値が大きくなっていくことが見て取れる。そして、組織切片 P 2 , P 3 の相対値の差は、組織切片 P 1 , P 2 の相対値の差に比べて大きく、かつ、組織切片 P 3 , P 4 の相対値の差に比べても大きく、その差が顕著であることが見て取れる。したがって、相対値により、組織切片 P 3 の病態と組織切片 P 4 の病態とを容易に判別することが可能である。

20

【0049】

(実施例 3)

本実施例は、画像解析装置 40 による指標の算出方法を除いて、実施例 1 と同じである。本実施例に係る画像解析装置 40 は、上記 (C) を行うことで指標を算出した。具体的には、画像解析装置 40 は、組織切片 P 1 ~ P 4 の画像データに対して高速フーリエ変換 (FFT: Fast Fourier Transform) 処理を施し、組織切片 P 1 ~ P 4 の画像を空間周波数領域に変換する。そして、画像解析装置 40 は、空間周波数領域への変換結果として得られる周波数分布に基づいて、周波数成分の平均値および標準偏差および最大値等を、病態の指標として算出した。

30

【0050】

組織切片 P 1 の画像から得られる低い空間周波数の周波数成分 (長い波長に対応する周波数成分) は比較的大きく、病態の悪化に伴って、その周波数成分が減衰する傾向にある。すなわち、病態の悪化に伴って、高い空間周波数の周波数成分 (短い波長に対応する周波数成分) が大きくなる傾向にある。したがって、周波数成分の平均値および標準偏差および最大値等により、病態を容易に判別することが可能である。

【0051】

(実施例 4)

本実施例は、画像解析装置 40 による指標の算出方法を除いて、実施例 1 と同じである。本実施例に係る画像解析装置 40 は、上記 (D) を行うことで指標を算出した。具体的には、画像解析装置 40 は、組織切片 P 1 ~ P 4 の二値化画像において、基準ピクセルと同色のピクセルが占める割合を空間相関係数として算出した。

40

【0052】

例えば、図 8 (A) に示すように、基準ピクセルがひび割れ部分を構成するピクセルであって半径 r が 1 ピクセルの場合には、図中の太枠で囲んだ 8 ピクセルにおいてひび割れ部分が占める割合が、空間相関係数として算出される。また、例えば、図 8 (B) に示すように、基準ピクセルがひび割れ部分を構成するピクセルであって半径 r が 2 ピクセルの場合には、図中の太枠で囲んだ 16 ピクセルにおいてひび割れ部分が占める割合が、空間

50

相関係数として算出される。また、例えば、図8(C)に示すように、基準ピクセルがひび割れ部分を構成するピクセルであって半径 r が3ピクセルの場合には、図中の太枠で囲んだ24ピクセルにおいてひび割れ部分が占める割合が、空間相関係数として算出される。図8(A)~(C)において算出される空間相関係数は、 $2/8 (= 1/4)$ 、 $6/16 (= 3/8)$ 、 $5/24$ である。

【0053】

次いで、画像解析装置40は、基準ピクセルを変更して空間相関係数を算出することを繰り返し、基準ピクセルの位置によって異なる複数の空間相関係数に基づいて、平均空間相関係数を算出した。さらに、画像解析装置40は、上記の半径 r の大きさを変更し、上記の平均空間相関係数の算出を繰り返した。すなわち、画像解析装置40は、画像に含まれる半径 r の異なる複数種の円周上において、空間相関係数を算出した。そして、画像解析装置40は、複数種の半径 r に応じた平均空間相関係数の分布に基づいて、平均空間相関係数の平均値および標準偏差および最大値等を、病態の指標として算出した。

10

【0054】

伸展後の組織切片P1に生じているひび割れは、直線状である部分が比較的多く、病態の悪化に伴ってぎざぎざの形状となることにより、半径 r の小さい部分での空間相関係数が減少する。したがって、平均空間相関係数の平均値および標準偏差および最大値等により、病態を容易に判別することが可能である。

【0055】

(実施例5)

本実施例は、画像解析装置40による指標の算出方法を除いて、実施例1と同じである。本実施例に係る画像解析装置40は、上記(D)を行うことで指標を算出した。具体的には、画像解析装置40は、組織切片P1~P4の二値化画像において、白色のピクセルの周囲において黒色のピクセルが占める割合を第1空間相関係数として算出し、さらに、第1空間相関係数に係る近似式の係数および定数を第2空間相関係数として算出した。

20

【0056】

具体的には、画像解析装置40は、白色の任意のピクセルを基準ピクセルとして、上記実施例4と同様にして、基準ピクセルから半径 R に相当するピクセル分だけ離れた位置でのひび割れ部分(黒色のピクセル)が占める割合を第1空間相関係数として算出した。そして、画像解析装置40は、基準ピクセルを変更して第1空間相関係数を算出することを繰り返し、400点での第1空間相関係数に基づいて、平均第1空間相関係数を算出した。さらに、画像解析装置40は、上記の半径 R の大きさを変更し、上記の平均第1空間相関係数の算出を繰り返した。組織切片P1~P4の各画像データから算出された平均第1空間相関係数のグラフを図9に示す。

30

【0057】

図9に示すように、組織切片P1~P4に係る平均第1空間相関係数は、いずれも、半径 R が0.19mm未満においては対数関数のように増加し、半径 R が0.19mm以上においては大きく変動しないことが見て取れる。同一の半径 R においてグラフを比較したとき、組織切片P4に係る平均第1空間相関係数は、組織切片P1~P3に係る平均第1空間相関係数に比べて大きい。半径 R が0.19mm以上においては、組織切片P4に係る平均第1空間相関係数が、組織切片P3に係る平均第1空間相関係数の約1.3倍であり、半径 R が0.01mm付近においては、組織切片P4に係る平均第1空間相関係数のグラフの傾きが、組織切片P3に係る平均第1空間相関係数のグラフの傾きの約1.3倍である。したがって、平均第1空間相関係数のグラフにより、組織切片P3の病態と組織切片P4の病態とを容易に判別することが可能である。また、平均第1空間相関係数のグラフにより、組織切片P1の病態と組織切片P2の病態とを容易に判別することが可能であることも見て取れる。

40

【0058】

次いで、画像解析装置40は、組織切片P1~P4に係る平均第1空間相関係数を表す近似式F1~F4を算出した。具体的には、画像解析装置40は、平均第1空間相関係

50

数 ε を表す近似式 F 1 ~ F 4 として、半径 R が 0 . 1 9 mm 未満においては対数関数を含んだ多項式となり、かつ、半径 R が 0 . 1 9 mm 以上においては定数となる近似式 F 1 ~ F 4 (下記の数式 (2) 参照) に含まれる係数 a、定数項 b、および、定数 α を第 2 空間相関係数として算出した。近似式 F 1 ~ F 4 の各々に係る係数 a、定数項 b、および、定数 α の算出結果を、下記の [表 1] に示す。また、半径 R が 0 . 1 9 mm 未満における近似式 F 1 ~ F 4 のグラフを図 1 0 に示す。図 1 0 に示すように、近似式 F 1 ~ F 4 のグラフは、組織切片 P 1 ~ P 4 に係る平均第 1 空間相関係数 ε のグラフ (図 9 参照) に近似している。

【数 2】

$$\begin{cases} \varepsilon = a \log_e \frac{R}{b} + \alpha & (R < 0.19) \\ \varepsilon = \alpha & (0.19 \leq R) \end{cases} \dots(2)$$

10

【表 1】

	a	b	α
近似式F1	0.0384	0.2549	0.1979
近似式F2	0.0605	0.1586	0.2468
近似式F3	0.0511	0.1583	0.2411
近似式F4	0.0699	0.1452	0.3234

20

【0059】

表 1 に示すように、近似式 F 4 の係数 a は、近似式 F 1 ~ F 3 の係数 a に比べて十分大きく、近似式 F 1 の係数 a は、近似式 F 2 ~ F 4 の係数 a に比べて十分小さいことが見て取れる。また、近似式 F 4 の定数項 b は、近似式 F 1 ~ F 3 の定数項 b に比べて十分小さく、近似式 F 1 の定数項 b は、近似式 F 2 ~ F 4 の定数項 b に比べて十分大きいことが見て取れる。さらに、近似式 F 3 , F 4 の定数 α の差は、近似式 F 2 , F 3 の定数 α の差に比べて大きく、その差が顕著であることが見て取れる。近似式 F 1 , F 2 の定数 α の差も、近似式 F 2 , F 3 の定数 α の差に比べて大きく、その差が顕著であることが見て取れる。したがって、本実施例では、組織切片 P 4 の病態 (癌) と組織切片 P 3 の病態とを容易に判別することが可能であり、かつ、組織切片 P 1 の病態と組織切片 P 2 の病態とを容易に判別することが可能である。

30

【0060】

本発明は、上記実施形態に限定されるものではなく、上記構成を適宜変更することもできる。例えば、上記実施例では、画像解析装置 4 0 は、上記 (A) ~ (D) のいずれか 1 つを行うことにより病態の指標を算出していたが、画像解析装置 4 0 が、上記 (A) ~ (D) の 2 つ以上を行うことにより、病態の指標を複数算出してもよい。また、信頼性の高い診断を支援することができるのであれば、指標の算出方法を変更してもよい。

40

【0061】

また、組織切片 P を伸展させることができるのであれば、伸展装置 1 0 の構成を変更してもよい。例えば、伸展装置 1 0 は、電気モータにより構成されるアクチュエータを用いて伸縮シート 6 0 および組織切片 P を伸展するように構成されていてもよい。

【0062】

50

また、組織切片 P を伸展させることができるのであれば、伸縮シート 60 の形成材料を変更してもよい。例えば、伸縮シート 60 は、シリコンハイドロゲルにより形成されたシリコンハイドロゲルシートであってもよい。

【0063】

また、上記実施形態の病態診断支援方法においては、組織切片伸展工程 S2 において伸展装置 10 で組織切片 P を伸展しているが、機械装置を使わずに手で伸縮シート 60 および組織切片 P を伸展してもよい。

【0064】

また、上記実施例では、1つの直線方向に組織切片 P を伸展させる構成であるが、複数の直線方向に組織切片 P を伸展させてもよい。すなわち、例えば、伸縮シート 60 の面方向 X に含まれる互いに直交する2つ直線方向に伸縮シート 60 を引っ張ってもよい。また、この場合、伸縮シート 60 を複数の方向から同時に引っ張ってもよく、伸縮シート 60 を引っ張る方向を順次変更してもよい。

10

【0065】

また、上記実施例では、伸縮後の組織切片 P の画像データを解析する構成であるが、組織切片 P が伸展を続けている伸展時、組織切片 P が伸展完了した状態で保持されている伸展完了時、または、伸展した組織切片 P の収縮時等に組織切片 P を撮影して得られた画像データを解析する構成を採用してもよい。

【0066】

また、算出された指標を出力することができるのであれば、出力装置 50 の構成を変更してもよい。例えば、出力装置 50 は、算出された指標を用紙上に印刷するプリンタにより構成されていてもよい。

20

【0067】

また、上記実施例では、マウスの病態の診断を支援する構成であるが、本発明は、マウスに限られず、ヒト、および、ヒト以外の生物の病態の診断を支援してもよい。また、上記実施例では、肝臓の病態の診断を支援する構成であるが、本発明は、肝臓に限られず、肝臓以外の内臓、および、皮膚等の他の器官の病態の診断を支援してもよい。特に、癌組織では、細胞間の接着力が弱化することは、従来 of 病理知見であるが、本手法を用いることで、定量的に細胞間の接着特性を評価できるようになる。さらに、本発明は、病態の診断の支援だけでなく、ヒト、および、ヒト以外の生物の細胞組織の状態の把握に利用することも可能である。

30

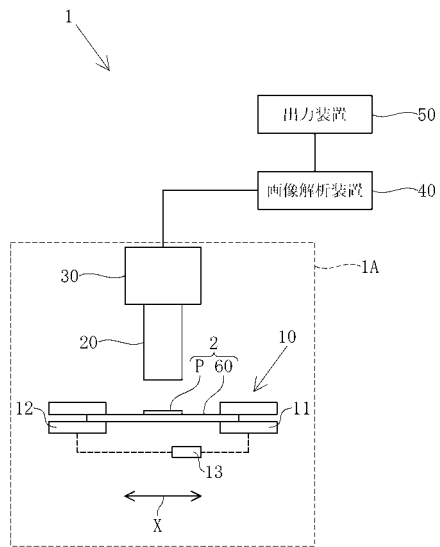
【符号の説明】

【0068】

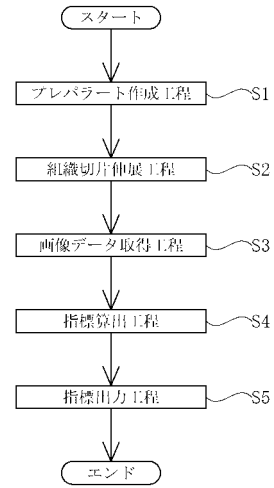
- 1 病態診断支援システム
- 1A 病態診断データ生成システム
- 2 プレパラート
- 10 伸展装置
- 20 顕微鏡
- 30 撮影装置
- 40 画像解析装置
- 50 出力装置
- 60 伸縮シート
- P 組織切片

40

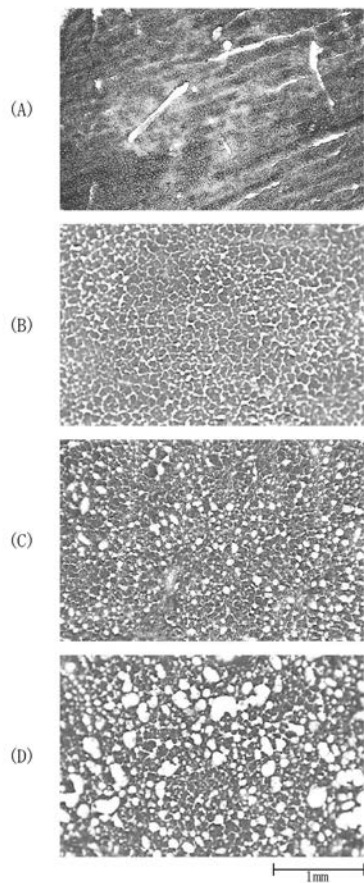
【 図 1 】



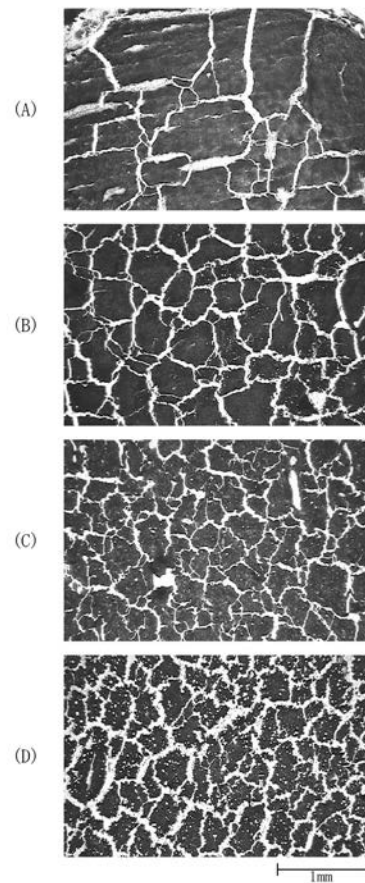
【 図 2 】



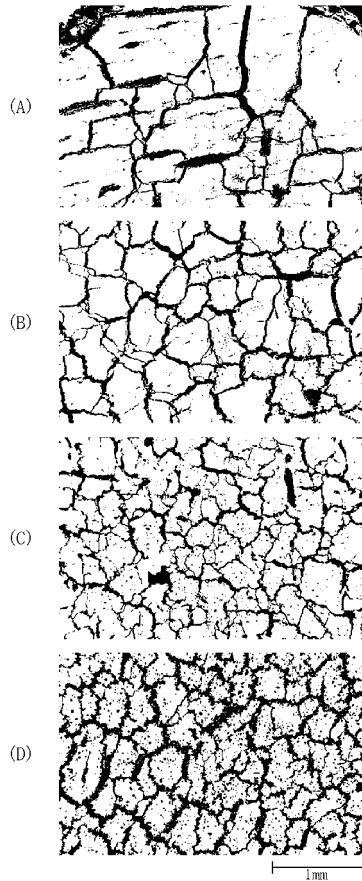
【 図 3 】



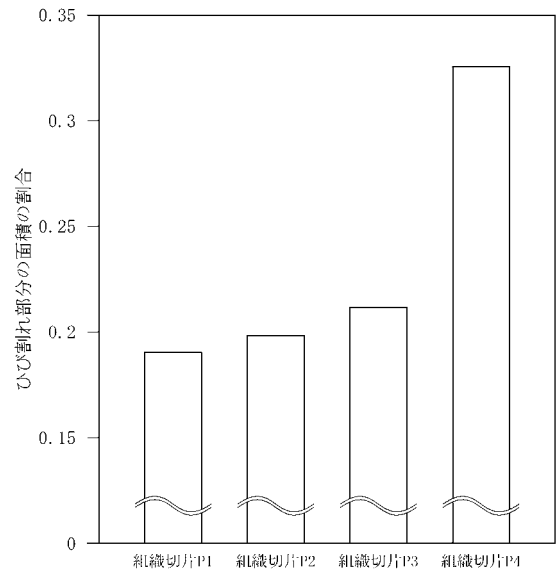
【 図 4 】



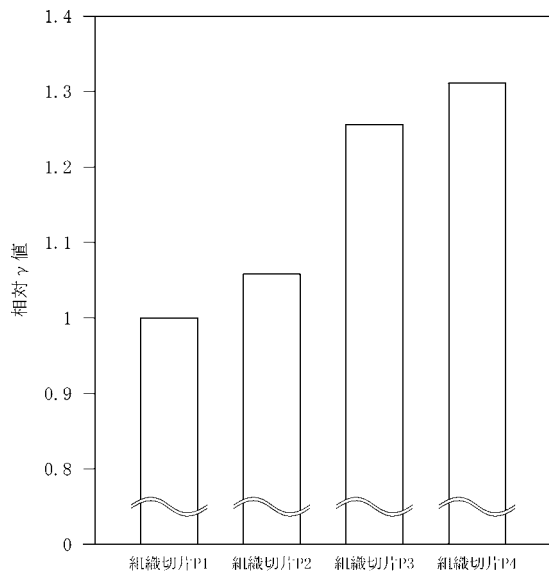
【 図 5 】



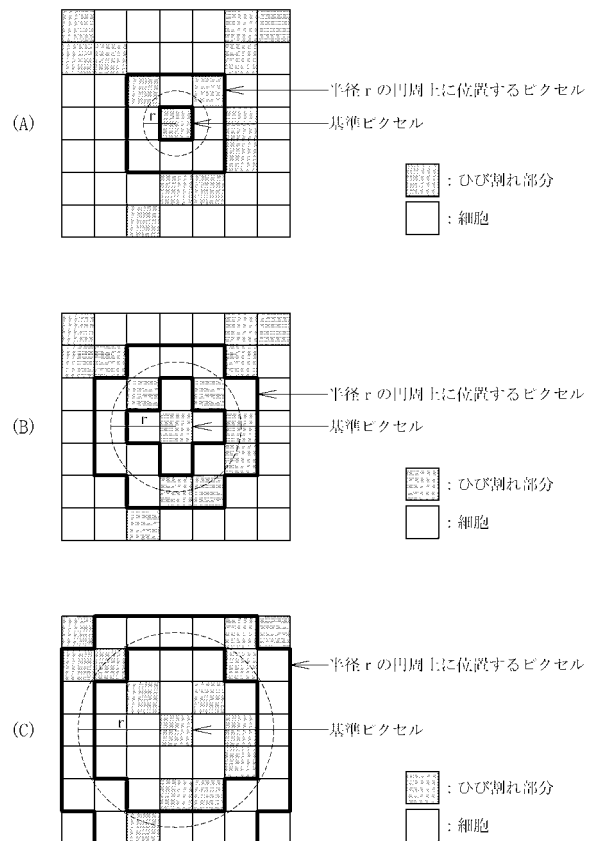
【 図 6 】



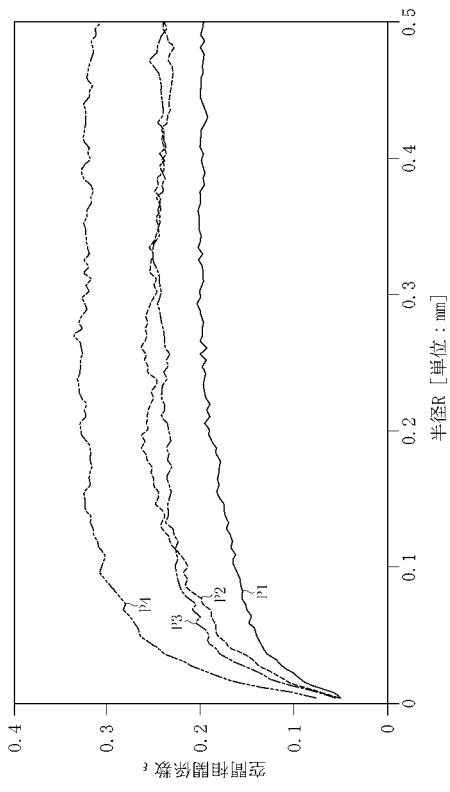
【 図 7 】



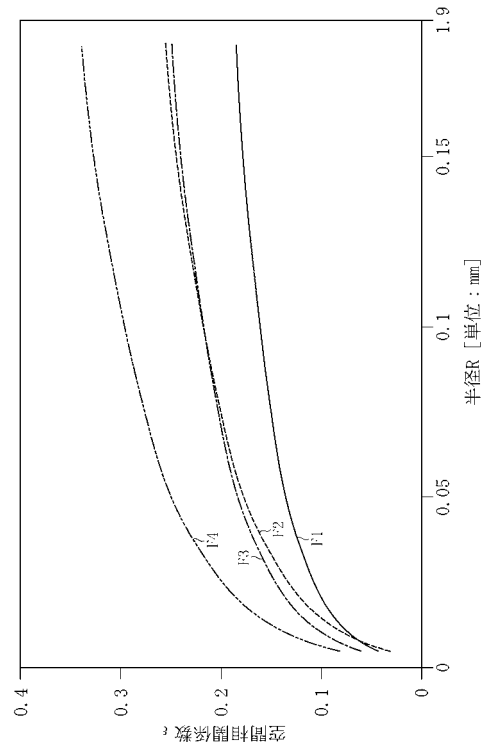
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 10 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2017/026690
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/48(2006.01)i, G01N1/28(2006.01)n 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) G01N33/48, G01N1/28 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2013/077337 A1 (Olympus Corp.), 30 May 2013 (30.05.2013), paragraphs [0001] to [0002], [0024] to [0061]; fig. 1 to 16 & US 2014/0255978 A1 paragraphs [0002] to [0003], [0037] to [0083]; fig. 1 to 16 & EP 2784473 A1 & CN 103959036 A	8 1-7, 9-12
A	JP 2014-178138 A (Olympus Corp.), 25 September 2014 (25.09.2014), (Family: none)	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 05 October 2017 (05.10.17)		Date of mailing of the international search report 17 October 2017 (17.10.17)
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/JP2017/026690

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Shinobu YOSHIMURA, "Artifact to be caused in tissue freezing. Crack / bending / insufficient extension / crush injury / scalpel injury of the samples", Modern Medical Laboratory, 01 February 2006 (01.02.2006), vol.34, no.2, pages 137 to 141	1-12
A	Dai YAMAGUCHI et al., "Byori Hyohon no Shinten Oyobi Kanso Joken ga Senshokusei ni Ataeru Eikyo", Modern Medical Laboratory, 01 August 2013 (01.08.2013), vol.41, no.8, pages 698 to 702	1-12

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 2 6 6 9 0	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/48(2006,01)i, G01N1/28(2006,01)n			
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. G01N33/48, G01N1/28			
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 1971-2017年 日本国実用新案登録公報 1996-2017年 日本国登録実用新案公報 1994-2017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) CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)			
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	
X A A	WO 2013/077337 A1 (オリンパス株式会社) 2013.05.30, [0001]-[0002], [0024]-[0061], [図1]-[図16] & US 2014/0255978 A1, [0002]-[0003], [0037]-[0083], FIG. 1-16 & EP 2784473 A1 & CN 103959036 A JP 2014-178138 A (オリンパス株式会社) 2014.09.25, (ファミリー なし)	8 1-7,9-12 1-12	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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、一般的な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 05.10.2017		国際調査報告の発送日 17.10.2017	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 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) 西浦 昌哉 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 5704

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 2 6 6 9 0
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	吉村忍, 組織凍結の際に生じるアーティファクト 標本のひび割れ ／折れ曲がり／伸展不足／メス傷, 検査と技術, 2006.02.01, Vol. 34/No. 2, pp. 137-141	1-12
A	山口大 他, 病理標本の伸展および乾燥条件が染色性に与える影 響, 検査と技術, 2013.08.01, Vol. 41/No. 8, pp. 698-702	1-12

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72) 発明者 角田 伸人

京都府京田辺市多々羅都谷 1 - 3 同志社大学内

(72) 発明者 中村 拓人

京都府京田辺市多々羅都谷 1 - 3 同志社大学内

(72) 発明者 檀野 圭右

京都府京田辺市多々羅都谷 1 - 3 同志社大学内

(72) 発明者 大社 奈摘

京都府京田辺市多々羅都谷 1 - 3 同志社大学内

(72) 発明者 中村 直彦

京都府京都市中京区守山町 1 5 6 - 3 ローレルコート御所南 6 0 2

(72) 発明者 井口 公太

京都府京都市左京区北白川山田町 1 - 3 レヴィア北白川 4 0 1

(72) 発明者 波多野 悦朗

奈良県奈良市左京 1 丁目 1 8 - 1 5

(72) 発明者 上本 伸二

滋賀県守山市欲賀町 1 2 3 5 - 2

F ターム(参考) 2G045 AA24 AA25 BB24 CB01 FA19 FB16 GB01 GB10 GC30 HA20

JA01

2G052 AA33 AD32 AD52 DA07 FA01

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。