

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02018/151223

発行日 令和1年12月26日 (2019.12.26)

(43) 国際公開日 平成30年8月23日 (2018.8.23)

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)	
G06T	7/00	(2017.01)	G06T	7/00	630	2G045	
C12M	1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A	4B029	
C12M	1/34	(2006.01)	C12M	1/34	B	4B063	
C12Q	1/04	(2006.01)	C12Q	1/04		5L096	
G01N	33/48	(2006.01)	G01N	33/48	M		

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 28 頁)

出願番号 特願2018-568608 (P2018-568608)
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2018/005303
 (22) 国際出願日 平成30年2月15日 (2018.2.15)
 (31) 優先権主張番号 特願2017-27247 (P2017-27247)
 (32) 優先日 平成29年2月16日 (2017.2.16)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国 (JP)

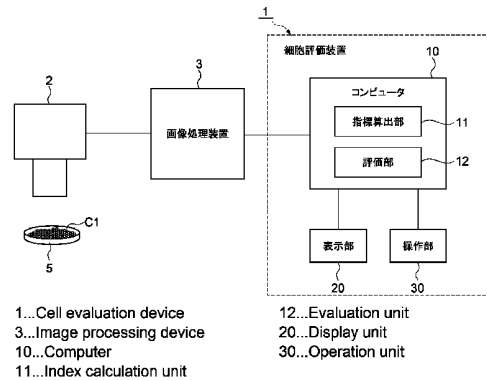
(71) 出願人 504132272
 国立大学法人京都大学
 京都府京都市左京区吉田本町36番地1
 (71) 出願人 509349141
 京都府公立大学法人
 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町465
 (74) 代理人 100088155
 弁理士 長谷川 芳樹
 (74) 代理人 100124800
 弁理士 諏澤 勇司
 (74) 代理人 100156395
 弁理士 荒井 寿王

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞評価方法、細胞評価装置、及び細胞評価プログラム

(57) 【要約】

細胞評価方法は、複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する。細胞評価方法は、細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出ステップと、指標算出ステップで算出した指標に基づいて、細胞集団を評価する評価ステップと、を含む。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価方法であって、

前記細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の前記細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の前記細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の前記細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出ステップと、

前記指標算出ステップで算出した前記指標に基づいて、前記細胞集団を評価する評価ステップと、を含む、細胞評価方法。

【請求項 2】

前記平均距離及び前記ばね定数は、ボルツマン分布を利用して得られた関数であって複数の前記細胞の動径分布関数に基づくポテンシャル関数に、二次曲線フィッティングを施して求められ、

前記六角格子秩序変数は、複数の前記細胞のうちの 1 つの細胞を中心にして当該細胞に最も近い 6 つの細胞で形成される六角形の 6 つの中心角に基づき求められる、請求項 1 に記載の細胞評価方法。

【請求項 3】

前記指標の値及びその誤差成分から定まるガウス分布の重なり度合いを表すオーバーラップ係数を算出するオーバーラップ係数算出ステップを含む、請求項 1 又は 2 に記載の細胞評価方法。

【請求項 4】

前記指標を変数として ROC 解析を行う ROC 解析ステップを含む、請求項 1 又は 2 に記載の細胞評価方法。

【請求項 5】

前記細胞は、六角格子の二次元最密充填構造を有する、請求項 1 ~ 4 の何れか一項に記載の細胞評価方法。

【請求項 6】

前記細胞は、角膜内皮細胞、上皮系細胞、肝細胞、又はこれらの何れかの培養細胞である、請求項 1 ~ 5 の何れか一項に記載の細胞評価方法。

【請求項 7】

前記評価ステップでは、前記指標算出ステップで算出した前記指標に基づいて、前記撮像画像を撮像した時点よりも将来においての前記細胞集団の品質を予測する、請求項 1 ~ 6 の何れか一項に記載の細胞評価方法。

【請求項 8】

薬剤候補物質における前記細胞集団の評価に用いられる、請求項 1 ~ 7 の何れか一項に記載の細胞評価方法。

【請求項 9】

前記指標は、前記平均距離、前記ばね定数、及び前記六角格子秩序変数の全てを含む、請求項 1 ~ 8 の何れか一項に記載の細胞評価方法。

【請求項 10】

複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価装置であって、

前記細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の前記細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の前記細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の前記細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出部と、

前記指標算出部で算出した前記指標に基づいて、前記細胞集団を評価する評価部と、を含む、細胞評価装置。

【請求項 11】

複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価プログラムであって、

前記細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の前記細胞が詰まっている程度を表す平均距

10

20

30

40

50

離、複数の前記細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の前記細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出処理と、

前記指標算出処理で算出した前記指標に基づいて、前記細胞集団を評価する評価処理と、をコンピュータに実行させる、細胞評価プログラム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の一側面は、細胞評価方法、細胞評価装置、及び細胞評価プログラムに関する。

【背景技術】

【0002】

従来、細胞集団の品質評価については、細胞マーカーによる識別又は位相差顕微鏡画像の目視に依拠している。また、例えば特許文献1には、拡大検体画像内における細胞のアスペクト比や配列等の特徴量を算出し、この特徴量に基づいて細胞集団を評価する技術が記載されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献1】特開2015-130806号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

上記従来技術では、前述のように、アスペクト比等を指標として細胞集団を評価する場合があるが、指標と品質との相関（裏付け）はなく、指標の定量的な意味付けは十分にされていない。そのため、細胞集団の品質を定量的に評価できない可能性がある。

【0005】

そこで、本発明の一側面は、細胞集団の品質を定量的に評価することが可能な細胞評価方法、細胞評価装置、及び細胞評価プログラムを提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明の一側面に係る細胞評価方法は、複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価方法であって、細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出ステップと、指標算出ステップで算出した指標に基づいて、細胞集団を評価する評価ステップと、を含む。

【0007】

本発明の一側面に係る細胞評価装置は、複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価装置であって、細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出部と、指標算出部で算出した指標に基づいて、細胞集団を評価する評価部と、を含む。

【0008】

本発明の一側面に係る細胞評価プログラムは、複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価プログラムであって、細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出処理と、指標算出処理で算出した指標に基づいて、細胞集団を評価する評価処理と、をコンピュータに実行させる。

10

20

30

40

50

【0009】

本発明の一側面では、小さい細胞が秩序良く配列されている（揃っている）ことが細胞集団で最終的に望まれる品質であることに鑑み、平均距離、ばね定数及び六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出し、その指標に基づいて細胞集団を評価する。これにより、集団秩序に基づく指標を評価に適用し、細胞集団において小さい細胞が秩序良く配列されているかどうかに関して数値化して把握することが可能となる。すなわち、細胞集団の品質を定量的に評価することが可能となる。

【0010】

本発明の一側面では、平均距離及びばね定数は、ボルツマン分布を利用して得られた関数であって複数の細胞の動径分布関数に基づくポテンシャル関数に、二次曲線フィッティングを施して求められ、六角格子秩序変数は、複数の細胞のうちの1つの細胞を中心にして当該細胞に最も近い6つの細胞で形成される六角形の6つの中心角に基づき求められていてもよい。

10

【0011】

本発明の一側面に係る細胞評価方法は、指標の値及びその誤差成分から定まるガウス分布の重なり度合いを表すオーバーラップ係数を算出するオーバーラップ係数算出ステップを含んでいてもよい。オーバーラップ係数によれば、指標の感度（つまり、指標が繊細な変数であるかどうか）を把握することができる。

【0012】

本発明の一側面に係る細胞評価方法は、指標を変数としてROC解析を行うROC解析ステップを含んでいてもよい。ROC解析を利用して指標を評価することができる。

20

【0013】

本発明の一側面に係る細胞評価方法において、細胞は、六角格子の二次元最密充填構造を有していてもよい。また、本発明に係る細胞評価方法において、細胞は、角膜内皮細胞、上皮系細胞、肝細胞、又はこれらの何れかの培養細胞であってもよい。なお、上皮系細胞としては、例えば、角膜上皮細胞、小気道上皮細胞、乳腺上皮細胞、もしくは網膜色素上皮細胞等が挙げられる。

【0014】

本発明の一側面に係る細胞評価方法において、評価ステップでは、指標算出ステップで算出した指標に基づいて、撮像画像を撮像した時点よりも将来における細胞集団の品質を予測してもよい。この場合、細胞集団の予後予測に対応できる。

30

【0015】

本発明の一側面に係る細胞評価方法は、薬剤候補物質における細胞集団の評価に用いられてもよい。例えば眼科治療薬の開発において、薬剤候補物質における細胞集団の評価に本発明を適用することで、薬剤候補物質の有効性及び安全性の検証時間を短縮することができる。

【0016】

本発明の一側面に係る細胞評価方法では、指標は、平均距離、ばね定数、及び六角格子秩序変数の全てを含んでいてもよい。

【発明の効果】

40

【0017】

本発明の一側面によれば、細胞集団の品質を定量的に評価することが可能な細胞評価方法、細胞評価装置、及び細胞評価プログラムを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】図1は、第1実施形態に係る細胞評価装置を示す構成図である。

【図2】図2(a)は、動径分布関数を説明する図である。図2(b)は、ポテンシャル関数を説明する図である。

【図3】図3は、六角格子秩序変数を説明する図である。

【図4】図4(a)は、低品位の細胞集団の撮像画像を示す写真図である。図4(b)は

50

、高品位の細胞集団の撮像画像を示す写真図である。

【図5】図5(a)は、OVLの比較評価を説明するためのグラフである。図5(b)は、OVLの比較評価を説明するための他のグラフである。

【図6】図6は、細胞評価プログラムを示す図である。

【図7】図7(a)は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度と良細胞率との関係を示すグラフである。図7(b)は、第1実施形態に係るin vitroにおけるばね定数と良細胞率との関係を示すグラフである。

【図8】図8(a)は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度とばね定数との関係を示すグラフである。図8(b)は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度のOVLとばね定数のOVLとを比較評価するグラフである。

10

【図9】図9(a)は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度と平均距離との関係を示すグラフである。図9(b)は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度のOVLと平均距離のOVLとを比較評価するグラフである。

【図10】図10は、第2実施形態に係る細胞評価装置を示す構成図である。

【図11】図11(a)は、低品位の細胞集団のスペキュラー画像を示す写真図である。図11(b)は、高品位の細胞集団のスペキュラー画像を示す写真図である。

【図12】図12は、表示部の表示の一例を示す図である。

【図13】図13(a)は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度と良細胞率との関係を示すグラフである。図13(b)は、第2実施形態に係るin vivoにおけるばね定数と良細胞率との関係を示すグラフである。

20

【図14】図14(a)は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度とばね定数との関係を示すグラフである。図14(b)は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度のOVLとばね定数のOVLとを比較評価するグラフである。

【図15】図15(a)は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度と平均距離との関係を示すグラフである。図15(b)は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度のOVLと平均距離のOVLとを比較評価するグラフである。

【図16】図16(a)は、密度と時間との関係を示すグラフである。図16(b)は、3か月時点の密度と3か月時点のばね定数との関係を示すグラフである。図16(c)は、24か月時点の密度と3か月時点のばね定数との関係を示すグラフである。図16(d)は、3か月時点の密度のOVLと3か月時点のばね定数のOVLとを比較評価するグラフである。図16(e)は、24か月時点の密度のOVLと3か月時点のばね定数のOVLとを比較評価するグラフである。

30

【図17】図17(a)は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度と良細胞率との関係を示すグラフである。図17(b)は、第1実施形態に係るin vitroにおけるばね定数と良細胞率との関係を示すグラフである。

【図18】図18は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度とばね定数との関係を示すグラフである。

【図19】図19は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度と平均距離との関係を示すグラフである。

【図20】図20(a)は、第2実施形態における密度と良細胞率との関係を示すグラフである。図20(b)は、第2実施形態に係るin vivoにおけるばね定数と良細胞率との関係を示すグラフである。

40

【図21】図21は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度とばね定数との関係を示すグラフである。

【図22】図22は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度と平均距離との関係を示すグラフである。

【図23】図23(a)は、第1実施形態に係るin vitroの密度と第2実施形態に係るin vivoの密度との関係を示すグラフである。図23(b)は、第1実施形態に係るin vitroのばね定数と第2実施形態に係るin vivoの密度との関係を示すグラフである。図23(c)は、第1実施形態に係るin vitroの密度を変数とし、第2実施形態に係るin vivoの

50

密度が2000を下回る場合を真として行ったROC解析の結果を示すグラフである。図23(d)は、第1実施形態に係るin vitroのばね定数を変数とし、第2実施形態に係るin vivoの密度が2000を下回る場合を真として行ったROC解析の結果を示すグラフである。

【図24】図24(a)は、密度と時間との関係を示すグラフである。図24(b)は、6か月時点のばね定数と24か月時点の密度との関係を示すグラフである。図24(c)は、6か月時点の密度と24か月時点の密度との関係を示すグラフである。図24(d)は、24か月時点の密度が1000以下となる症例を、6か月時点の密度で判定した場合のROC曲線のグラフである。図24(e)は、24か月時点の密度が1000以下となる症例を、6か月時点のばね定数で判定した場合のROC曲線のグラフである。

【図25】図25は、筋繊維の断面画像に自動抽出された細胞位置及び輪郭を重ねて表示した図である。

【発明を実施するための形態】

【0019】

以下、図面を参照しつつ実施形態について詳細に説明する。なお、以下の説明において同一又は相当要素には同一符号を付し、重複する説明を省略する。

【0020】

[第1実施形態]

図1は、第1実施形態に係る細胞評価装置1を示す構成図である。図1に示されるように、細胞評価装置1は、複数の細胞を含む細胞集団C1の品質を評価する装置である。細胞評価装置1は、例えば眼科治療薬の開発において、薬剤候補物質(化合物等)における細胞集団C1の評価に用いられる。特に細胞評価装置1は、角膜内皮の再生医療における細胞懸濁液注入法に用いられる培養細胞の品質管理に利用される。細胞集団C1は、角膜内皮細胞の培養細胞を複数含んでいる。細胞集団C1に含まれる細胞は、六角格子の二次元最密充填構造を有する。細胞評価装置1は、コンピュータ10、表示部20及び操作部30を少なくとも備えている。

【0021】

コンピュータ10は、オペレーティングシステム及びアプリケーションプログラム等を実行するプロセッサ(例えばCPU)と、ROM、RAM及びハードディスク等で構成される記憶部と、ネットワークカード又は無線通信モジュールで構成される通信制御部と、を有する。コンピュータ10は、後述する細胞評価プログラムをプロセッサ上に読み込ませて実行することによって細胞評価方法を実現する。コンピュータ10の記憶部内には、処理に必要なデータ又はデータベースが記憶される。コンピュータ10は、1台で構成されてもよいし、複数台で構成されてもよい。複数台で構成されている場合には、これらがインターネット又はイントラネット等の通信ネットワークを介して接続されることで、論理的に一つのコンピュータ10が構築される。

【0022】

コンピュータ10には、位相差顕微鏡2で撮像されて画像処理装置3で画像処理が施された、培養皿5上の細胞集団C1の撮像画像が入力される。位相差顕微鏡2としては、特に限定されず、種々の位相差顕微鏡を採用できる。画像処理装置3は、公知の画像処理手法により、撮像画像において細胞集団C1に含まれる複数の細胞の輪郭に関するエッジ情報を抽出する。画像処理装置3は、抽出したエッジ情報をコンピュータ10に出力する。コンピュータ10は、機能的構成として、指標算出部11及び評価部12を含む。

【0023】

指標算出部11は、細胞集団C1の撮像画像に基づいて、当該細胞集団C1を定量的に評価するための指標を算出する指標算出処理を実行する。具体的には、指標算出部11は、画像処理装置3から入力された撮像画像のエッジ情報に基づく演算処理を行い、「平均距離」、「ばね定数」及び「六角格子秩序変数」を少なくとも含む指標を算出する。

【0024】

平均距離は、複数の細胞が詰まっている程度を表す指標である。ばね定数は、複数の細

10

20

30

40

50

胞の間の距離が揃っている程度（均一性）を表す指標である。平均距離及びばね定数は、ボルツマン分布を利用して得られた関数であって複数の細胞の動径分布関数に基づくポテンシャル関数に、二次曲線フィッティングを施して求められる。平均距離が小さいほど、複数の細胞が密であると評価できる。ばね定数が大きいほど、複数の細胞の間の距離が揃っている（平均距離からの差異が小さい）と評価できる。例えば指標算出部 11 では、以下のように平均距離及びばね定数を算出できる。

【0025】

図 2 (a) は、動径分布関数 $g(r)$ を説明する図である。図 2 (b) は、ポテンシャル関数 $w(r)$ を説明する図である。図 2 (a) に示されるように、細胞集団 C1 では、ある細胞から距離 r の位置 d_r に他の細胞が存在する確率は、動径分布関数 $g(r)$ として表される。そして、動径分布関数 $g(r)$ は、下式 (1) に示されるボルツマン分布の関数として表すことができる。この動径分布関数 $g(r)$ の自然対数をとることで、下式 (2) に示されるポテンシャル関数 $w(r)$ を得る。

10

【数 1】

$$g(r) = e^{\frac{w(r)}{kT}} \quad \dots (1)$$

【数 2】

$$w(r) \propto -kT \ln g(r) \quad \dots (2)$$

【0026】

20

そこで、撮像画像の細胞集団 C1 に含まれる複数の細胞のエッジ情報から、これら複数の細胞の重心位置を算出する。複数の細胞の中から選択される一対の細胞の組合せの全てについて、その重心位置間距離を横軸としたヒストグラムを生成する。このヒストグラムから算出される重心位置間距離それぞれの頻度（度数）に基づいて、動径分布関数 $g(r)$ を取得する。取得した当該動径分布関数 $g(r)$ を、上式 (2) のポテンシャル関数 $w(r)$ に導入する。これにより、ポテンシャル関数 $w(r)$ のプロファイルを得ることができる。

【0027】

図 2 (b) に示されるように、ポテンシャル関数 $w(r)$ のプロファイルに対して、二次曲線フィッティングを施す。ここでは、最小二乗法を用いて二次曲線をフィッティングすることで、下式 (3) が求められる。その結果、下式 (3) において、 r_0 が平均距離として算出され、 k がばね定数として算出される。

30

【数 3】

$$w(r) \Big|_{r=r_0} \sim k(r-r_0)^2 + w_0 \quad \dots (3)$$

【0028】

六角格子秩序変数は、複数の細胞の配置が正六角形に近い程度を表す指標である。六角格子秩序変数は、複数の細胞のうち 1 つの細胞を中心にして当該細胞に最も近い 6 つの細胞で形成される六角形の 6 つの中心角に基づき求められる。六角格子秩序変数は、0 から 1 の値を有している。六角格子秩序変数が 1 に近いほど、複数の細胞の配置が正六角形に近いと評価できる。例えば指標算出部 11 では、以下のように六角格子秩序変数を算出する。

40

【0029】

図 3 は、六角格子秩序変数 Q_6 を説明する図である。下式 (4), (5) により、任意の細胞 i についての六角格子秩序変数 Q_6^i を算出する。そして、細胞集団 C1 に含まれる複数の細胞に関して六角格子秩序変数 Q_6^i の平均をとることで、六角格子秩序変数 Q_6 を算出する。図 3 に示されるように、 i_j は任意の細胞 i を中心にした中心角であり、 $N(i)$ は任意の細胞 i に最も近い 6 つの細胞である。

【数 4】

$$q_6^i = \frac{1}{6} \sum_{j \in N(i)} e^{i6\theta_j} \quad \dots (4)$$

【数 5】

$$Q_6^i = |q_6^i|^2 \in [0,1] \quad \dots (5)$$

【0030】

図 4 (a) は、低品位の細胞集団 C 1 の撮像画像を示す写真図である。図 4 (b) は、高品位の細胞集団 C 1 の撮像画像を示す写真図である。図 4 (a) 及び図 4 (b) に示されるように、細胞集団 C 1 において最終的に望まれる品質は、小さい細胞が秩序良く配列されている（揃っている）ことであることが見出される。平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 は、このような品質に立脚した、コロイド物理学及び結晶物理学の基礎学理に基づく指標であるといえる。

10

【0031】

図 1 に戻り、評価部 1 2 は、指標算出部 1 1 で算出した指標に基づいて、細胞集団 C 1 を評価する評価処理を実行する。評価部 1 2 は、指標に平均距離 r_0 が含まれる場合、平均距離 r_0 が小さいほど細胞集団 C 1 が高品位（複数の細胞が密である）と評価してもよいし、平均距離 r_0 が閾値以下のときに細胞集団 C 1 が高品位と評価してもよい。評価部 1 2 は、指標にばね定数 k が含まれる場合、ばね定数 k が大きいほど細胞集団 C 1 が高品位（複数の細胞の間の距離が揃っている）と評価してもよいし、ばね定数 k が閾値以上のときに細胞集団 C 1 が高品位と評価してもよい。評価部 1 2 は、指標に六角格子秩序変数 Q_6 が含まれる場合、六角格子秩序変数 Q_6 が 1 に近いほど細胞集団 C 1 が高品位（複数の細胞の配置が正六角形に近い）と評価してもよいし、六角格子秩序変数 Q_6 が閾値以上のときに細胞集団 C 1 が高品位と評価してもよい。

20

【0032】

評価部 1 2 は、指標の値及びその誤差成分から定まるガウス分布の重なり度合いを表すオーバーラップ係数（overlapping coefficient：以下、「OVL」という）を算出する OVL 算出処理を実行する。OVL は、0 以上 1 以下の値を有する。OVL が 0 の場合、当該ガウス分布が完全に分離していることを表し、OVL が 1 の場合、当該ガウス分布が完全に重なることを表す。以下、OVL 算出処理及び OVL による評価について、2 つの任意の指標であるパラメータ A、B の OVL を比較評価する場合を例示して具体的に説明する。

30

【0033】

図 5 (a) 及び図 5 (b) は、OVL の比較評価を説明するためのグラフである。図 5 (a) に示されるグラフでは、パラメータ A を横軸とし、パラメータ B を縦軸としている。このグラフ上において、複数のデータ点がプロットされている。例えば (A_1, B_1) について、その値 A_1, B_1 及び誤差成分から定まるガウス分布 G_{A_1}, G_{B_1} が得られる。また例えば (A_2, B_2) について、その値 A_2, B_2 及び誤差成分から定まるガウス分布 G_{A_2}, G_{B_2} が得られる。図中において、データ点を中心に広がる線分は、誤差成分を示すエラーバーである（他の図において同様）。なお、平均距離 r_0 及びばね定数 k の誤差成分は、フィッティングの際に生じる誤差（フィッティングエラー）を含む。六角格子秩序変数 Q_6 の誤差成分は、標準偏差及び標準誤差の少なくとも何れかを含む。

40

【0034】

ガウス分布 G_{A_1}, G_{A_2} の重なりから、パラメータ A の OVL である A_{OVL} がパラメータ差 A_{diff} ($= |A_2 - A_1|$) と関連付けて算出される。ガウス分布 G_{B_1}, G_{B_2} の重なりから、パラメータ B の OVL である B_{OVL} がパラメータ差 B_{diff} ($= |B_2 - B_1|$) と関連付けて算出される。このような A_{OVL} 及び B_{OVL} の算出を、グラフ上の複数のデータ点の全てに関して実施する。

【0035】

50

パラメータ A とパラメータ B とを同じ尺度で比較可能にするために、これらの間の線形関係を仮定し、その勾配から、パラメータ A が 1 変化したときにパラメータ B がいくつ変化するかを求める。パラメータ A が 1 変化したときに 1 変化するようパラメータ B を尺度補正してなるパラメータ # B ($\# B = B / \text{slope}$) を定義する。そして、図 5 (b) に示されるように、パラメータ差 A_{diff} , $\# B_{diff}$ を横軸とし、 A_{OVL} , B_{OVL} を縦軸としたグラフを作成したとき、例えば OVL が小さい一方 (図中では、差分が大きくなるにつれて OVL が急峻に低下するパラメータ B) が、誤差が重ならない繊細な指標であると評価できる。

【0036】

なお、3 つ以上のパラメータの OVL を比較評価する場合には、基準パラメータを定め、この基準パラメータに基づく尺度補正を当該 3 つのパラメータに行った上で、評価してもよい。例えば、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 の OVL を比較評価する場合、まず、これらそれぞれと細胞集団 C 1 の細胞の密度 (後述) との比較評価を行う。そして、その各比較評価結果に基づいて、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 の OVL を比較評価してもよい。

10

【0037】

あるいは、3 つ以上のパラメータの OVL を比較評価する場合には、これらのパラメータの OVL が小さい順位を算出することで評価してもよい。例えば平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 の OVL を比較評価する場合、まず、平均距離 r_0 及びばね定数 k の OVL を比較評価する。平均距離 r_0 及び六角格子秩序変数 Q_6 の OVL を比較評価する。六角格子秩序変数 Q_6 及びばね定数 k の OVL を比較評価する。これにより、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 について、OVL が小さい順位を算出して比較評価してもよい。

20

【0038】

図 6 は、細胞評価プログラム P 1 を示す図である。図 6 に示されるように、細胞評価プログラム P 1 は、細胞集団 C 1 の品質を評価するプログラムであって、コンピュータ 10 の記憶部 13 内に記憶されている。細胞評価プログラム P 1 は、指標算出モジュール P 11 及び評価モジュール P 12 を含む。指標算出モジュール P 11 は、上述した指標算出処理をコンピュータ 10 に実行させる。評価モジュール P 12 は、上述した評価処理及び OVL 算出処理をコンピュータ 10 に実行させる。

30

【0039】

細胞評価プログラム P 1 は、例えば、CD-ROM や DVD-ROM、半導体メモリなどの有形の記録媒体に固定的に記録された上で提供されてもよい。あるいは、細胞評価プログラム P 1 は、搬送波に重畳されたデータ信号として通信ネットワークを介して提供されてもよい。

【0040】

図 1 に示されるように、表示部 20 は、位相差顕微鏡 2 の撮像画像、指標算出部 11 による指標の算出結果、及び、評価部 12 による細胞集団 C 1 の評価結果の少なくとも何れかを表示させる。表示部 20 としては、例えばディスプレイ等を用いることができる。操作部 30 は、細胞評価装置 1 に対するオペレータの各種操作を行う。操作部 30 としては、例えばマウス又はキーボード等を用いることができる。

40

【0041】

次に、細胞評価装置 1 を用いて細胞集団 C 1 の品質を評価する細胞評価方法 (細胞評価装置 1 の作動方法) について説明する。

【0042】

まず予め、位相差顕微鏡 2 により、培養皿 5 上に載置された細胞集団 C 1 を撮像する。位相差顕微鏡 2 で撮像した撮像画像に画像処理装置 3 により画像処理を施し、撮像画像に含まれる各細胞のエッジ情報を取得する。

【0043】

続いて、細胞評価装置 1 において、画像処理装置 3 で取得した撮像画像のエッジ情報に

50

基づいて、細胞集団 C 1 の品質を評価する。すなわち、指標算出部 1 1 により、上述した指標算出処理を実行し、平均距離 r_0 とばね定数 k と六角格子秩序変数 Q_6 とを含む指標を算出する（指標算出ステップ）。算出した指標に基づいて、評価部 1 2 により、上述した評価処理を実行し、細胞集団 C 1 を評価する（評価ステップ）。また、算出した指標について、評価部 1 2 により、上述した O V L 算出処理を実行し、O V L を算出する（オーバーラップ係数算出ステップ）。そして、撮像画像、算出した指標、算出した O V L 及び細胞集団 C 1 の評価結果の少なくとも何れかを、表示部 2 0 に表示させる。

【 0 0 4 4 】

図 7 (a) は、密度 d と良細胞率との関係を示すグラフである。図 7 (b) は、ばね定数 k と良細胞率との関係を示すグラフである。密度 d は、細胞集団 C 1 における複数の細胞の粗密の度合いであって、1 つの細胞の面積の平均値を S_A とした場合に下式 (6) で表される指標である。良細胞率は、細胞集団 C 1 中における品質が良好である割合である。密度 d の誤差成分は、標準偏差、標準誤差及び細胞の面積 S_A の計測誤差の少なくとも何れかを含む。

$$d = 1 / S_A \quad \dots (6)$$

【 0 0 4 5 】

図 7 (a) 及び図 7 (b) に示されるように、密度 d 及びばね定数 k の双方は、良細胞率に対して正に相関する。特にばね定数 k にあっては、密度 d に比べて、誤差成分が少ない。このことから、細胞集団 C 1 の評価に際して、ばね定数 k は、感度が良く、指標としての信頼性が高いことが分かる。

【 0 0 4 6 】

図 8 (a) は、密度 d とばね定数 k との関係を示すグラフである。図 8 (b) は、密度 d の O V L とばね定数 k の O V L とを比較評価するグラフである。図 8 (b) の横軸は、密度差 d_{diff} 及びばね定数差 k_{diff} である。密度差 d_{diff} 及びばね定数差 k_{diff} の何れかには、上記の尺度補正が施されている。図 8 (a) に示されるように、ばね定数 k は、密度 d との対比において誤差成分が少ないことが分かる。図 8 (b) に示されるように、ばね定数 k は、密度 d との対比において O V L が非常に小さく、繊細な指標であることが分かる。これにより、細胞集団 C 1 の評価に際して、ばね定数 k は、感度が良く、指標としての信頼性が高いことが分かる。

【 0 0 4 7 】

図 9 (a) は、密度 d と平均距離 r_0 との関係を示すグラフである。図 9 (b) は、密度 d の O V L と平均距離 r_0 の O V L とを比較評価するグラフである。図 9 (b) の横軸は、密度差 d_{diff} 及び平均距離差 r_{0_diff} である。密度差 d_{diff} 及び平均距離差 r_{0_diff} の何れかには、上記の尺度補正が施されている。図 9 (b) に示されるように、平均距離 r_0 は、細胞集団 C 1 の評価に際して、密度 d との対比において O V L が小さい場合が多く、繊細な指標であることが分かる。

【 0 0 4 8 】

以上、本実施形態に係る細胞評価方法、細胞評価装置 1 及び細胞評価プログラム P 1 では、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 を含む指標を算出し、その指標に基づいて細胞集団 C 1 を評価する。細胞集団 C 1 において最終的に望まれる品質は、小さい細胞が秩序良く配列されている（揃っている）ことである。よって、本実施形態では、集団秩序に基づく指標を評価に適用し、細胞集団 C 1 において小さい細胞が秩序良く配列されているかどうかに関して数値化して把握できる。指標に品質との相関を持たせることができ、指標と品質との間に定量的な意味付けを与えることができる。

【 0 0 4 9 】

したがって、本実施形態によれば、細胞集団 C 1 の品質を定量的に評価することが可能となる。本実施形態によれば、撮像画像だけで細胞集団 C 1 の品質を非破壊的に評価でき、細胞集団 C 1 が高品位であるか低品位であるかを明確に識別でき、定量数値化も可能である。本実施形態によれば、統計物理学的手法を用いた 2 次元細胞集団の定量標準技術を提供できる。本実施形態は、眼科一般の診断における定量標準としての運用に期待される

10

20

30

40

50

。本実施形態に係る細胞評価プログラム P 1 は、移植細胞培養プラットフォームへの工程管理プログラムとして適用できる。

【 0 0 5 0 】

なお、一度減少した角膜内皮細胞は自然には回復しないために効果的な治療が必要であるところ、角膜内皮の機能不全に対する治療法として、角膜内皮細胞を懸濁液の状態に移植する「角膜内皮細胞移入療法」が近年提唱されている。本実施形態の細胞評価装置 1 によれば、当該治療法に用いられる培養細胞の品質管理工程において、細胞マーカーでの染色を行わずに顕微鏡観察だけで、移植前の品質管理ないし細胞選別が可能となる。

【 0 0 5 1 】

本実施形態では、指標の O V L を算出している。これにより、O V L を用いて指標の感度を把握することができる。指標に加えてその O V L に基づいて細胞集団 C 1 を評価することで、細胞集団 C 1 の定量的な品質評価をより精度よく行うことができる。

10

【 0 0 5 2 】

本実施形態においては、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 を指標として算出したが、これら全てを指標としなくてもよく、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 の少なくとも何れかを指標としてもよい。また、指標は、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 に限定されず、その他のパラメータを含んでもよい。例えば指標は、密度 d 、六角形率、アスペクト比、隣接細胞数及び膜厚（反射率）の少なくとも何れかを更に含んでもよい。六角形率、アスペクト比、隣接細胞数及び膜厚（反射率）は、公知手法により算出できる。さらにまた、指標として含む少なくとも何れかのパラメータを、適宜選択してもよい。

20

【 0 0 5 3 】

本実施形態は、例えば眼科治療薬の開発において、薬剤候補物質における細胞集団 C 1 の評価に用いることができる。このように、薬剤候補物質における細胞集団 C 1 の評価に本実施形態を適用することで、薬剤候補物質の有効性及び安全性の検証時間を短縮することができる。

【 0 0 5 4 】

[第 2 実施形態]

次に、第 2 実施形態を説明する。本実施形態の説明では、第 1 実施形態と異なる点を説明し、重複する説明は省略する。

30

【 0 0 5 5 】

図 1 0 は、第 2 実施形態に係る細胞評価装置 5 0 を示す構成図である。図 1 0 に示すように、本実施形態の細胞評価装置 5 0 は、例えば眼科用の眼検査装置として用いられる装置であり、スペキュラー顕微鏡 6 0、コンピュータ 7 0、表示部 2 0 及び操作部 3 0 を少なくとも備えている。

【 0 0 5 6 】

スペキュラー顕微鏡 6 0 は、患者 8 0 の眼の角膜内皮細胞を複数含む内皮組織である細胞集団を撮像し、スペキュラー画像を撮像画像として取得する。スペキュラー顕微鏡 6 0 は、スペキュラー画像をコンピュータ 7 0 へ出力する。

【 0 0 5 7 】

コンピュータ 7 0 は、物理的構成としては、上記コンピュータ 1 0（図 1 参照）と同様に構成されている。コンピュータ 7 0 は、機能的構成として、画像処理部 7 1、指標算出部 7 2 及び評価部 7 3 を含む。

40

【 0 0 5 8 】

画像処理部 7 1 は、公知の画像処理手法により、スペキュラー顕微鏡 6 0 で撮像されたスペキュラー画像において細胞集団に含まれる複数の角膜内皮細胞の輪郭に関するエッジ情報を抽出する。画像処理部 7 1 は、抽出したエッジ情報を指標算出部 7 2 に出力する。指標算出部 7 2 は、画像処理部 7 1 から入力されたスペキュラー画像のエッジ情報に基づき、上述した指標算出処理を実行する。これにより、指標算出部 7 2 は、「平均距離 r_0 」、「ばね定数 k 」及び「六角格子秩序変数 Q_6 」を少なくとも含む指標を算出する。評

50

価部 73 は、指標算出部 72 で算出した指標に基づき、上述した評価処理を実行し、細胞集団を評価する。また評価部 73 は、OVL 算出処理を実行し、指標の OVL を算出する。

【0059】

図 11 は、複数の角膜内皮細胞を含む細胞集団のスペキュラー画像を示す写真図である。図 11 (a) は低品位の細胞集団を示し、図 11 (b) は高品位の細胞集団を示す。図 11 (a) 及び図 11 (b) に示されるように、複数の角膜内皮細胞を含む細胞集団において最終的に望まれる品質は、第 1 実施形態と同様に、小さい細胞が秩序良く配列されている（揃っている）ことであることが見出される。

【0060】

次に、細胞評価装置 50 を用いて細胞集団の品質を評価する細胞評価方法（細胞評価装置 50 の作動方法）について説明する。

【0061】

まず、スペキュラー顕微鏡 60 により、患者 80 の角膜内皮細胞を含む細胞集団を撮像する。スペキュラー顕微鏡 60 で撮像したスペキュラー画像に画像処理部 71 により画像処理を施し、スペキュラー画像に含まれる各角膜内皮細胞のエッジ情報を取得する。取得したスペキュラー画像のエッジ情報に基づいて、指標算出部 72 により上述した指標算出処理を実行し、指標を算出する（指標算出ステップ）。算出した指標に基づいて、評価部 73 により上述した評価処理を実行し、細胞集団を評価する（評価ステップ）。また、算出した指標について、評価部 12 により上述した OVL 算出処理を実行し、OVL を算出する（オーバーラップ係数算出ステップ）。そして、スペキュラー画像、算出した指標、算出した OVL 及び細胞集団の評価結果の少なくとも何れかを、表示部 20 に表示させる。

【0062】

図 12 は、表示部 20 の表示の一例を示す図である。図 12 に示されるように、例えば表示部 20 上には、スペキュラー顕微鏡 60 で撮像したスペキュラー画像 61、指標の名称と値と OVL が互いに関連付けられたチャート 62、及び、各種のアイコンボタンが表示されている。ここでの指標は、ばね定数 k 、平均距離 r_0 、六角格子秩序変数 Q_6 、密度 d 、六角形率、アスペクト比、隣接細胞数及び膜厚を含んでいる。このような表示によれば、細胞集団を容易に評価ないし診断することができる。

【0063】

図 13 (a) は、密度 d と良細胞率との関係を示すグラフである。図 13 (b) は、ばね定数 k と良細胞率との関係を示すグラフである。本実施形態において、密度 d は、角膜内皮細胞を含む細胞集団における複数の細胞の粗密の度合いであり、良細胞率は、角膜内皮細胞を含む細胞集団中における品質が良好である割合である。図 13 (a) 及び図 13 (b) に示されるように、密度 d 及びばね定数 k の双方は、良細胞率に対して正に相関する。特にばね定数 k にあつては、密度 d に比べて、誤差成分が少ない。このことから、角膜内皮細胞を含む細胞集団の評価に際して、ばね定数 k は、感度が良く、指標としての信頼性が高いことが分かる。

【0064】

図 14 (a) は、密度 d とばね定数 k との関係を示すグラフである。図 14 (b) は、密度 d の OVL とばね定数 k の OVL とを比較評価するグラフである。図 14 (b) の横軸は、密度差 d_{diff} 及びばね定数差 k_{diff} である。密度差 d_{diff} 及びばね定数差 k_{diff} の何れかには、上記の尺度補正が施されている。図 14 (a) に示されるように、ばね定数 k は、密度 d との対比において誤差成分が少ないことが分かる。図 14 (b) に示されるように、ばね定数 k は、密度 d との対比において OVL が非常に小さく、繊細な指標であることが分かる。これにより、角膜内皮細胞を含む細胞集団の評価に際して、ばね定数 k は、感度が良く、指標としての信頼性が高いことが分かる。

【0065】

図 15 (a) は、密度 d と平均距離 r_0 との関係を示すグラフである。図 15 (b) は、密度 d の OVL と平均距離 r_0 の OVL とを比較評価するグラフである。図 15 (b)

10

20

30

40

50

の横軸は、密度差 d_{diff} 及び平均距離差 r_{0_diff} である。密度差 d_{diff} 及び平均距離差 r_{0_diff} の何れかには、上記の尺度補正が施されている。図 15 (b) に示されるように、平均距離 r_0 は、角膜内皮細胞を含む細胞集団の評価に際して、密度 d との対比において OVL が小さい場合が多く、繊細な指標であることが分かる。

【0066】

なお、評価部 73 は、指標算出部 72 で算出した指標に基づいて、撮像画像を撮像した時点よりも将来における細胞集団の品質を予測してもよい。すなわち、上述した評価ステップでは、上述した指標算出ステップで算出した指標に基づいて、スペキュラー画像を撮像した撮像時点よりも将来における細胞集団の品質を予測してもよい。これにより、細胞集団の予後予測に対応できる。本実施形態では、例えば以下に説明するように、特に眼の細胞を注入治療した後での予後予測にも対応できる。

10

【0067】

図 16 は、角膜移植後における 6 人の患者の角膜内皮細胞の状態を示す各図である。図 16 中においては、移植時を基準に (0 か月として) 示している。図 16 (a) は、各患者の角膜内皮細胞の密度 d と時間との関係を示すグラフである。図 16 (b) は、各患者の角膜内皮細胞についての 3 か月時点の密度 d と 3 か月時点のばね定数 k との関係を示すグラフである。図 16 (c) は、各患者の角膜内皮細胞についての 24 か月時点の密度 d と 3 か月時点のばね定数 k との関係を示すグラフである。図 16 (d) は、各患者の角膜内皮細胞についての 3 か月時点の密度 d の OVL と 3 か月時点のばね定数 k の OVL とを比較評価するグラフである。図 16 (e) は、各患者の角膜内皮細胞についての 24 か月時点の密度 d の OVL と 3 か月時点のばね定数 k の OVL とを比較評価するグラフである。図 16 (d) 及び図 16 (e) の横軸は、密度差 d_{diff} 及びばね定数差 k_{diff} である。密度差 d_{diff} 及びばね定数差 k_{diff} の何れかには、上記の尺度補正が施されている。

20

【0068】

図 16 (a) に示されるように、3 か月時点では、全患者の密度 d に差はみられないものの、24 か月時点では、数名の患者の密度 d が著しく低下している。図 16 (d) に示されるように、3 か月時点においては、密度 d は、OVL が高く、細胞集団の評価の感度が低いことがわかる。図 16 (e) に示されるように、密度 d は、その低下が実際に顕著化した 24 か月時点になって、OVL が低くなり、細胞集団の評価の感度が高まっている。これらにより、3 か月時点においては、密度 d を指標として細胞集団を評価した場合、長期予後の細胞品質及び組織品質の低下までは判断できないことがわかる。

30

【0069】

一方、図 16 (b) 及び図 16 (c) に示されるように、3 か月時点のばね定数 k は、3 か月時点及び 24 か月時点の密度 d に対して、誤差成分が少ない。図 16 (d) に示されるように、3 か月時点において、ばね定数 k は、OVL が十分に低く、細胞集団の評価の感度が高いことがわかる。つまり、3 か月時点において、ばね定数 k を指標として細胞集団を評価することで、密度 d からでは判断し得なかった長期予後の細胞品質及び組織品質の低下までを予測することができる。よって、ばね定数 k を指標として細胞集団を評価する場合、例えば 3 か月時点の経過観察にて、長期予後に低品位化する可能性が高い細胞集団を分離することが可能となる。なお、このような長期予後の細胞品質及び組織品質の予測に関して、対象となる細胞によっては、平均距離 r_0 及び六角格子秩序変数 Q_6 を指標としても同様な結果が得られることが想定できる。

40

【0070】

以上、本実施形態においても、第 1 実施形態と同様の効果、すなわち、細胞集団の品質を定量的に評価することが可能となる等の効果を奏する。また、本実施形態では、薬剤・眼科手術・コンタクトレンズ等による角膜内皮障害の発症・進展予測が可能になる。例えば眼科手術前のスクリーニング検査やコンタクトレンズ外来等の眼科一般における角膜内皮診断への応用が可能である。

【0071】

50

図17(a)は、第1実施形態に係るin vitro(培養細胞)における密度dと良細胞率との関係を示すグラフである。図17(b)は、第1実施形態に係るin vitroにおけるばね定数kと良細胞率との関係を示すグラフである。密度dは、角膜内皮細胞を含む細胞集団C1における複数の細胞の粗密の度合いである。良細胞率は、角膜内皮細胞を含む細胞集団C1中における品質が良好である割合である。図中において r^2 は、決定係数である。

【0072】

図17(a)及び図17(b)に示されるように、密度d及びばね定数kの双方は、良細胞率に対して正に強く相関する。このことから、細胞集団C1の評価に際して、ばね定数kは、指標としての信頼性が(密度と同程度に)高いことがわかる。

10

【0073】

図18は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度dとばね定数kとの関係を示すグラフである。図18に示されるように、密度dとばね定数kとは正に強く相関することから、細胞集団C1の評価に際して、ばね定数kは、密度dと同様に用いることができることがわかる。

【0074】

図19は、第1実施形態に係るin vitroにおける密度dと平均距離 r_0 との関係を示すグラフである。図19に示されるように、密度dと平均距離 r_0 とは正に強く相関することから、細胞集団C1の評価に際して、平均距離 r_0 は、密度dと同様に用いることができることがわかる。

20

【0075】

図20(a)は、第2実施形態に係るin vivo(再生角膜)における密度dと良細胞率との関係を示すグラフである。図20(b)は、第2実施形態におけるばね定数kと良細胞率との関係を示すグラフである。図20(a)及び図20(b)に示されるように、密度d及びばね定数kの双方は、良細胞率に対して正に相関する。このことから、細胞集団C1の評価に際して、ばね定数kは、感度がよく、指標としての信頼性が高いことがわかる。

【0076】

図21は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度dとばね定数kとの関係を示すグラフである。密度dとばね定数kとは正に強く相関することから、角膜内皮細胞を含む細胞集団C1の評価に際して、ばね定数kは、密度dと同様に用いることができることがわかる。

30

【0077】

図22は、第2実施形態に係るin vivoにおける密度dと平均距離 r_0 との関係を示すグラフである。図22に示されるように、密度dと平均距離 r_0 とは正に強く相関することから、角膜内皮細胞を含む細胞集団C1の評価に際して、平均距離 r_0 は、密度dと同様に用いることができることがわかる。

【0078】

図23は、第1実施形態に係るin vitroの結果と第2実施形態に係るin vivoの結果との関係を示す各図である。図23(a)は、第1実施形態に係るin vitroの密度dと第2実施形態に係るin vivoの密度dとの関係を示すグラフである。図23(b)は、第1実施形態に係るin vitroのばね定数kと第2実施形態に係るin vivoの密度dとの関係を示すグラフである。図23(c)は、第1実施形態に係るin vitroの密度dを変数とし、第2実施形態に係るin vivoの密度dが2000を下回る場合を真として行ったROC解析の結果を示すグラフである。図23(d)は、第1実施形態に係るin vitroのばね定数kを変数とし、第2実施形態に係るin vivoの密度dが2000を下回る場合を真として行ったROC解析の結果を示すグラフである。

40

【0079】

図23(a)~図23(d)に示される決定係数及びROC曲線下面積から分かるように、ばね定数kは、密度dと同等の成績を有することがわかる。このことから、第1実施

50

形態に係る *in vitro* においてはばね定数 k を用いれば、密度 d を用いるのと同等の精度で、第 2 実施形態に係る *in vivo* の密度 d を予測できることがわかる。つまり、ばね定数 k が有用であることがわかる。

【0080】

ROC (Receiver Operating Characteristics: 受信者操作特性) 解析とは、信号処理の概念である。ある変数を用いて正常と異常との二項分類を行うとき、その変数の分類精度の測度となる。例えば、ある検査の結果から得られる数値を用いて、被検査群を陽性と陰性とに二項分類する場合を考える。この検査数値に対してある閾値を導入すると、閾値以上を陽性、閾値未満を陰性と判定するとき、真の陽性者を正しく陽性として補足する割合(感度)、真の陰性者を正しく陰性として補足する割合(特異度)が得られる。閾値を媒介変数として単調に変化させながら、横軸に偽陽性率(=1-特異度)、縦軸に感度をプロットすると、曲線が得られる(ROC 曲線)。このとき、曲線下面積は 0 から 1 までの値をとり得るが、曲線下面積が 1 に近いほど、使用した変数が被検査群をより正確に二項分類する性能を有することを示す。

10

【0081】

評価部 12 は、平均距離 r_0 、ばね定数 k 及び六角格子秩序変数 Q_6 の少なくとも何れかを含む指標を変数として ROC 解析を行う ROC 解析処理を実行する。つまり、評価部 12 により、指標を変数として ROC 解析処理を実行し、ROC 解析を行う(ROC 解析ステップ)。これにより、ROC 解析を利用して指標を評価することができる。

20

【0082】

図 24 は、角膜移植後における 12 人の患者の角膜内皮細胞の状態を示す各図である。図 24 (a) は、密度 d と時間との関係を示すグラフである。図 24 (b) は、6 か月時点の密度 d と 24 か月時点の密度 d との関係を示すグラフである。図 24 (c) は、6 か月時点のばね定数 k と 24 か月時点の密度 d との関係を示すグラフである。図 24 (d) は、24 か月時点の密度 d が 1000 以下となる症例を、6 か月時点の密度 d で判定した場合の ROC 曲線のグラフである。図 24 (e) は、24 か月時点の密度 d が 1000 以下となる症例を、6 か月時点のばね定数 k で判定した場合の ROC 曲線のグラフである。図 24 (a) では、散布図及び箱ひげ図で密度 d の推移が表されている。

【0083】

図 24 (a) に示されるように、3 か月時点では、全患者の密度 d に差はみられないものの、24 か月時点では、数名の患者の密度 d が著しく低下している。図 24 (b) に示されるように、6 か月時点での密度 d と 24 か月時点での密度 d とは、互いに無相関である。図 24 (c) に示されるように、6 か月時点でのばね定数 k と 24 か月時点での密度 d とは、弱く相関している。つまり、6 か月時点では密度 d よりもばね定数 k を用いるほうが、24 か月時点での密度 d をより正確に予測できることがわかる。

30

【0084】

一方、ROC 解析の結果、図 24 (d) に示されるように、6 か月時点の密度 d を変数に用いた場合、曲線下面積は小さく、細胞集団の評価の感度が低いことがわかる。図 24 (e) に示されるように、6 か月時点のばね定数 k は、曲線下面積が大きく、細胞集団の評価の感度が高まっている。つまり、6 か月時点において、ばね定数 k を指標として細胞集団を評価することで、密度 d からでは判断し得なかった長期予後の細胞品質及び組織品質の低下までを予測することができる。よって、ばね定数 k を指標として細胞集団を評価する場合、例えば 6 か月時点の経過観察にて、長期予後に低品位化する可能性が高い細胞集団を分離することが可能となる。なお、このような長期予後の細胞品質及び組織品質の予測に関して、対象となる細胞によっては、平均距離 r_0 及び六角格子秩序変数 Q_6 を指標としても同様な結果が得られることが想定できる。

40

【0085】

図 25 は、筋繊維の断面画像に自動抽出された細胞位置及び輪郭を重ねて表示した図である。図 25 中の断面画像については、「Multiple Sclerosis Affects Skeletal Muscle Characteristics」、Inez Wens, et al., PLoS ONE 9, 9, e180158 (2014)、doi:10.1

50

371/journal.pone.0108158」を参照している。図25中の断面画像は、平滑筋繊維の断面の染色画像である。事前に自動抽出された細胞の位置の情報から、ばね定数 k が 0.00051、平均距離 r_0 が 72、六角格子秩序変数 Q_6 が 0.18 であることが求められた。筋繊維の断面のような構造に対しても、構成要素1つ1つの配置から同様に評価することもできる。このように、その種類に制限されず、多様な対象に対して構造を評価することができる。

【0086】

以上、実施形態について説明したが、本発明の一側面は、上記実施形態に限られるものではない。

【0087】

上記実施形態において、評価の対象となる細胞集団に含まれる細胞は、特に限定されるものではない。細胞としては、角膜内皮細胞、上皮系細胞、肝細胞、又はこれらの何れかの培養細胞であってもよい。なお、上皮系細胞としては、例えば、角膜上皮細胞、小気道上皮細胞、乳腺上皮細胞、もしくは網膜色素上皮細胞等が挙げられる。

【0088】

上記第1実施形態では、角膜内皮細胞の移植前の培養細胞における品質評価に適用され、上記第2実施形態では、移植後の角膜内皮細胞の品質評価及び予後予測に適用されているが、本発明の一側面は、術前及び術後の両方に適用可能なものである。すなわち、本発明の一側面によれば、術前及び術後の両方の細胞集団の定量的評価を、品質に基づく同じ指標により行うことができる。術前及び術後の両方に適用できる画像診断プラットフォームを確立できる。細胞移植治療における術前工程管理と予後診断と予後予測とに適用可能である。臨床眼科学における診断の定量標準化ないし細胞移植型再生医療における工程管理等、幅広い分野での応用が見込まれる。

【0089】

上記実施形態では、平均距離 r_0 及びばね定数 k を算出する際、複数の細胞の中から選択される一対の細胞の組合せ全てのうち、対象領域における最外周の細胞が含まれる組合せを除いたものについて、その重心位置間距離を横軸としたヒストグラムを生成しているが、これに限定されない。例えば、対象領域における最外周の細胞が含まれる組合せを除かずに、複数の細胞の中から選択される一対の細胞の組合せ全てについて、その重心位置間距離を横軸としたヒストグラムを生成してもよい。

【0090】

上記実施形態では、六角格子秩序変数 Q_6 を算出する際、上式(4)、(5)により、対象領域における最外周の細胞を除いた任意の細胞 i についての六角格子秩序変数 Q_6^i を算出しているが、これに限定されない。例えば、対象領域における最外周の細胞を除かずに、任意の細胞 i についての六角格子秩序変数 Q_6^i を算出してもよい。上記実施形態では、指標の感度は、OVLを利用して把握してもよいし、これに代えてもしくは加えて、ROC解析を利用して把握してもよい。上記において、ばね定数は、例えば「弾性ポテンシャル曲率」とも称される。

【0091】

上記実施形態では、細胞評価プログラムP1は、コンパクトディスク、フレキシブルディスク、ハードディスク、光磁気ディスク、デジタルビデオディスク、磁気テープ又は半導体メモリ等のコンピュータ読取可能な非一時的な記録媒体に記録することができる。つまり、本発明の一態様は、細胞評価プログラムP1を記録するコンピュータ読取可能な記録媒体であってもよい。

【0092】

本発明の一側面に係る細胞評価装置は、複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価装置であって、前記細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の前記細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の前記細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の前記細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出部と、前記指標算出部で算出した前記指標に基づいて

10

20

30

40

50

、前記細胞集団を評価する評価部と、を含み、前記平均距離及び前記ばね定数は、ボルツマン分布を利用して得られた関数であって複数の前記細胞の動径分布関数に基づくポテンシャル関数に、二次曲線フィッティングを施して求められ、前記六角格子秩序変数は、複数の前記細胞のうちの1つの細胞を中心にして当該細胞に最も近い6つの細胞で形成される六角形の6つの中心角に基づき求められていてもよい。

【0093】

本発明の一側面に係る細胞評価プログラムは、複数の細胞を含む細胞集団の品質を評価する細胞評価プログラムであって、前記細胞集団の撮像画像に基づいて、複数の前記細胞が詰まっている程度を表す平均距離、複数の前記細胞の間の距離が揃っている程度を表すばね定数、及び、複数の前記細胞の配置が正六角形に近い程度を表す六角格子秩序変数の少なくとも何れかを含む指標を算出する指標算出処理と、前記指標算出処理で算出した前記指標に基づいて、前記細胞集団を評価する評価処理と、をコンピュータに実行させ、前記平均距離及び前記ばね定数は、ボルツマン分布を利用して得られた関数であって複数の前記細胞の動径分布関数に基づくポテンシャル関数に、二次曲線フィッティングを施して求められ、前記六角格子秩序変数は、複数の前記細胞のうちの1つの細胞を中心にして当該細胞に最も近い6つの細胞で形成される六角形の6つの中心角に基づき求められていてもよい。

10

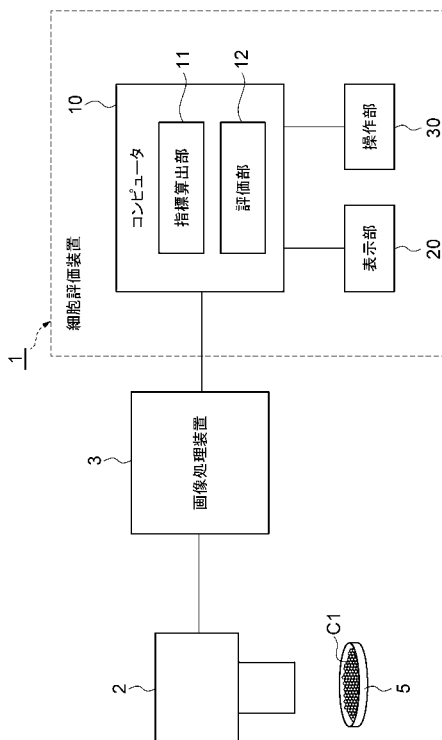
【符号の説明】

【0094】

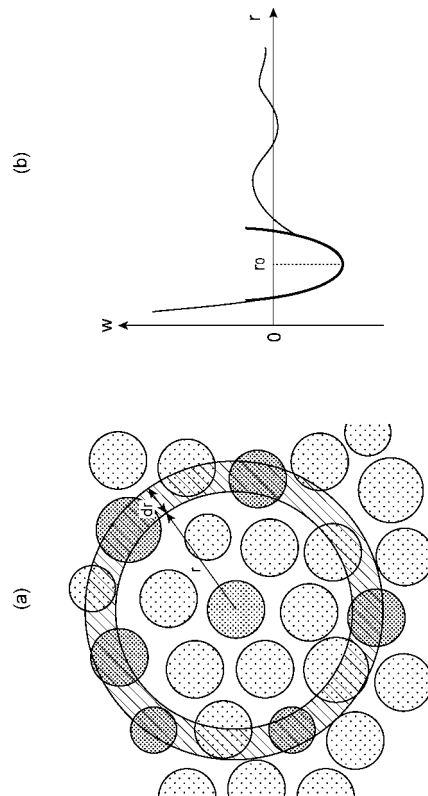
1、50...細胞評価装置、10...コンピュータ、11、72...指標算出部、12、73...評価部、61...スペキュラー画像（撮像画像）、C1...細胞集団、P1...細胞評価プログラム。

20

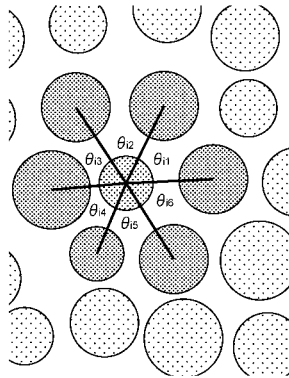
【図1】



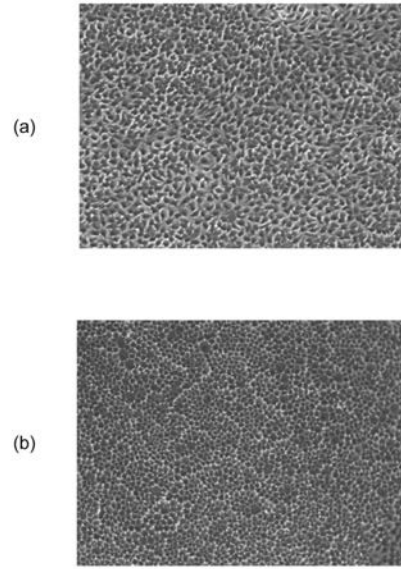
【図2】



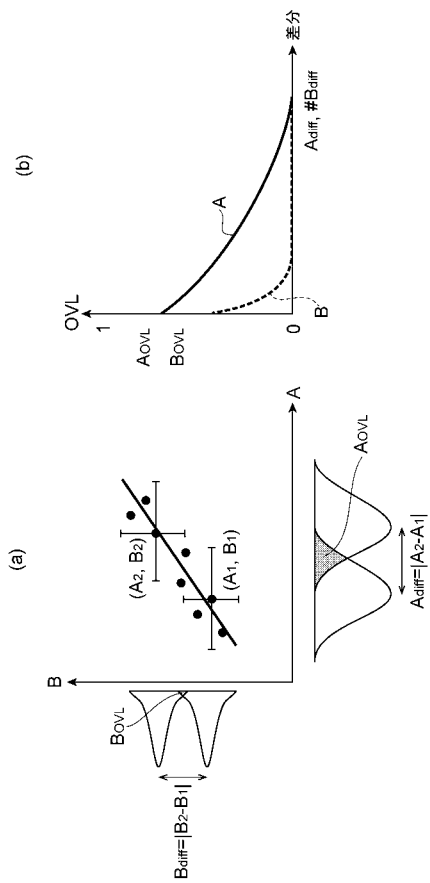
【 図 3 】



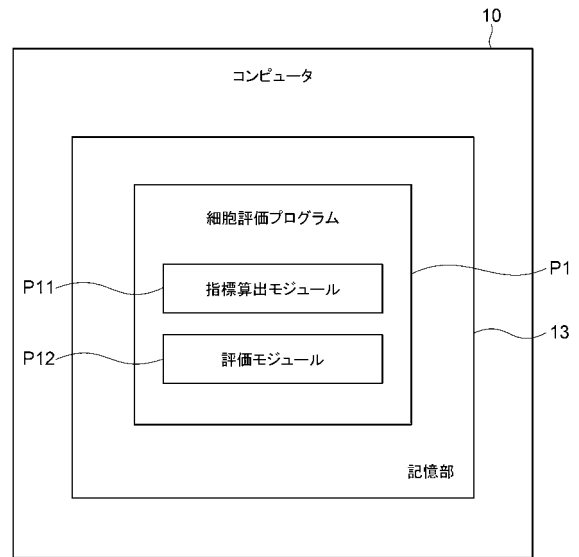
【 図 4 】



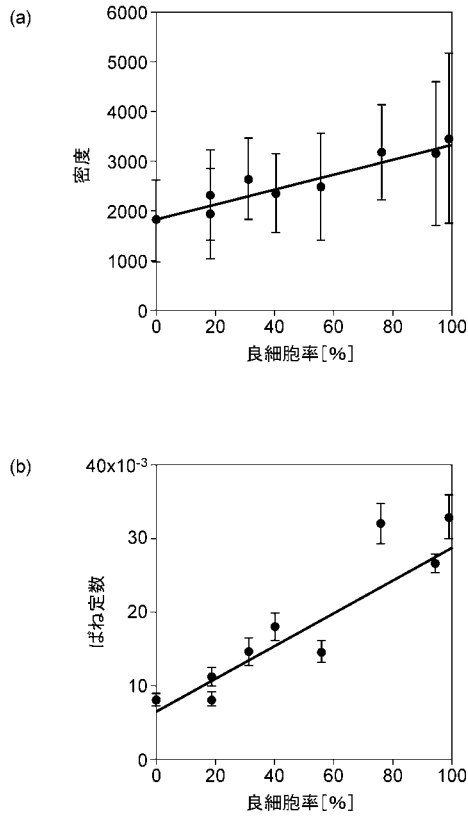
【 図 5 】



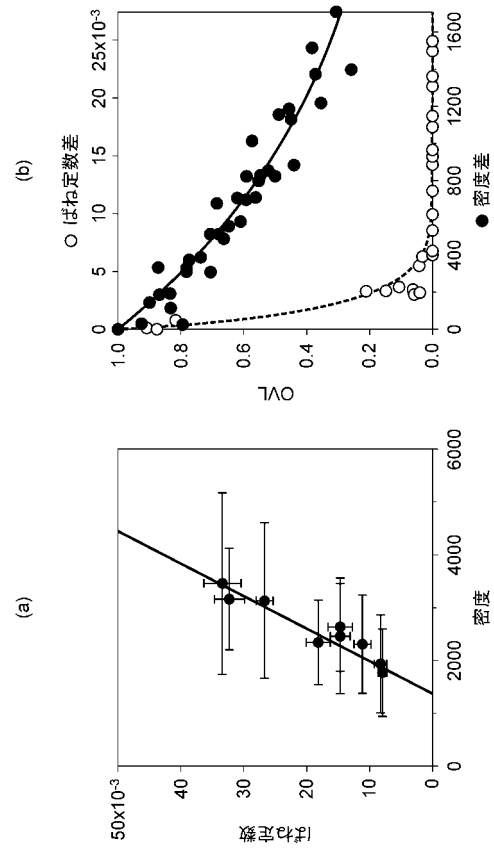
【 図 6 】



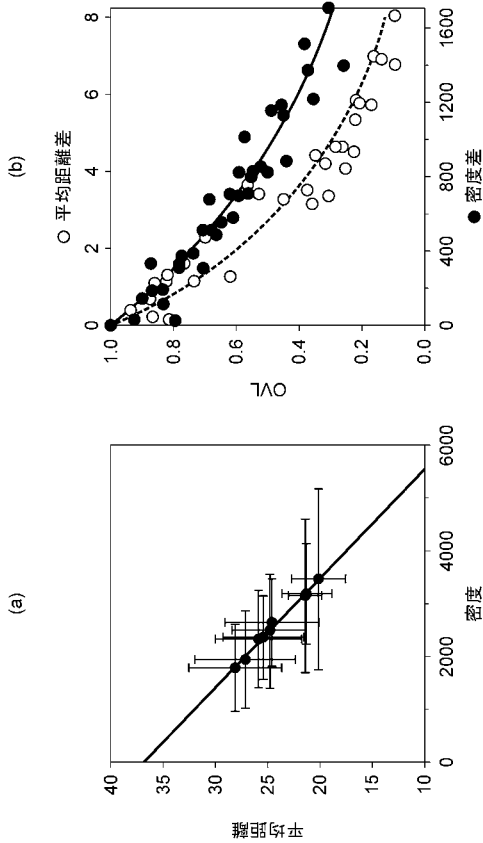
【 図 7 】



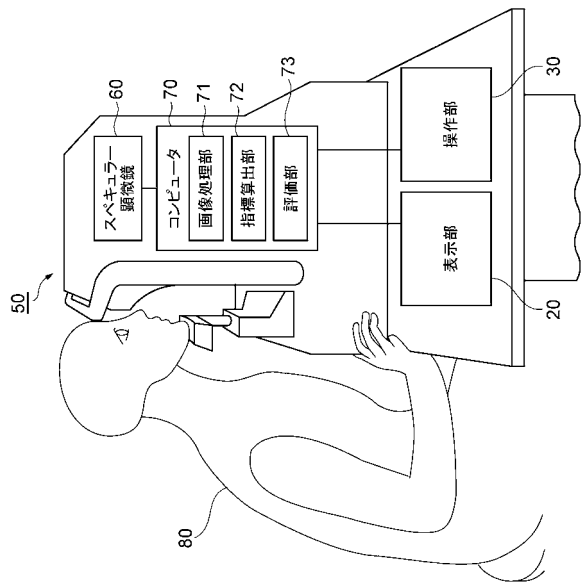
【 図 8 】



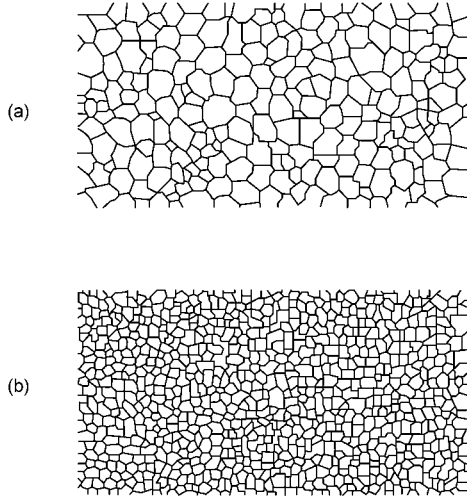
【 図 9 】



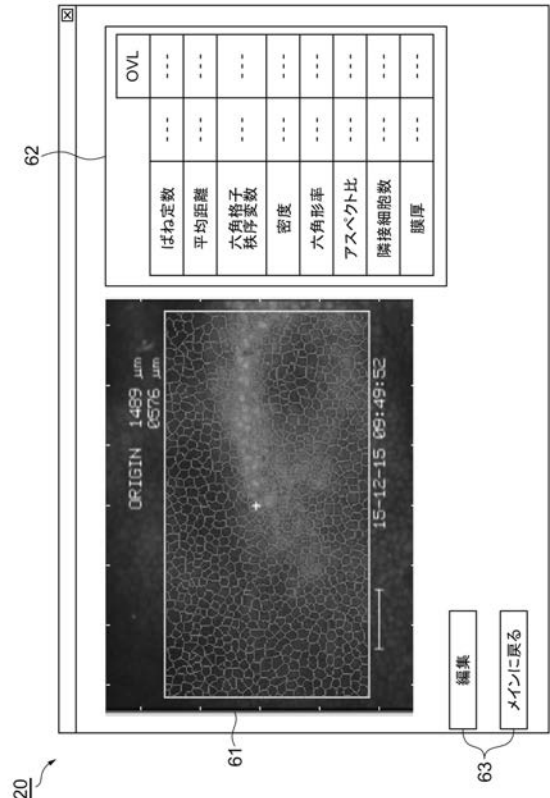
【 図 10 】



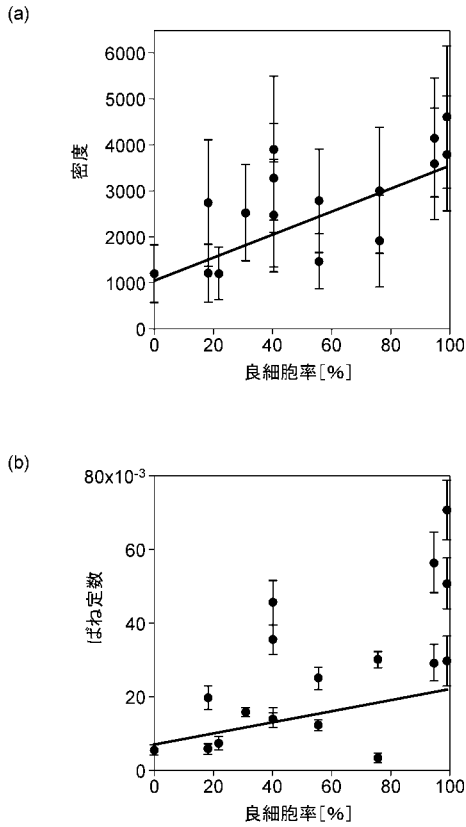
【 図 1 1 】



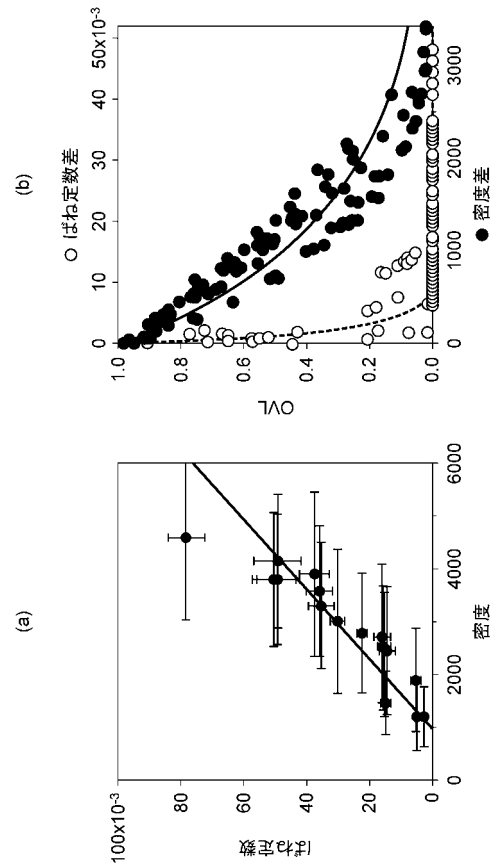
【 図 1 2 】



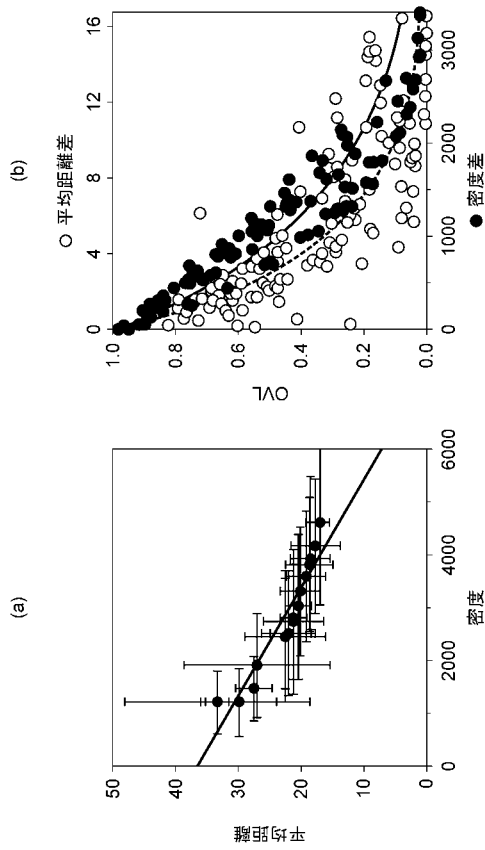
【 図 1 3 】



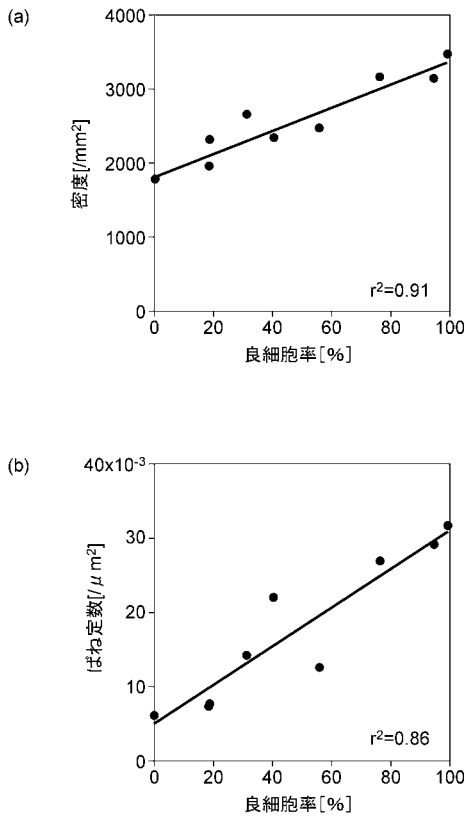
【 図 1 4 】



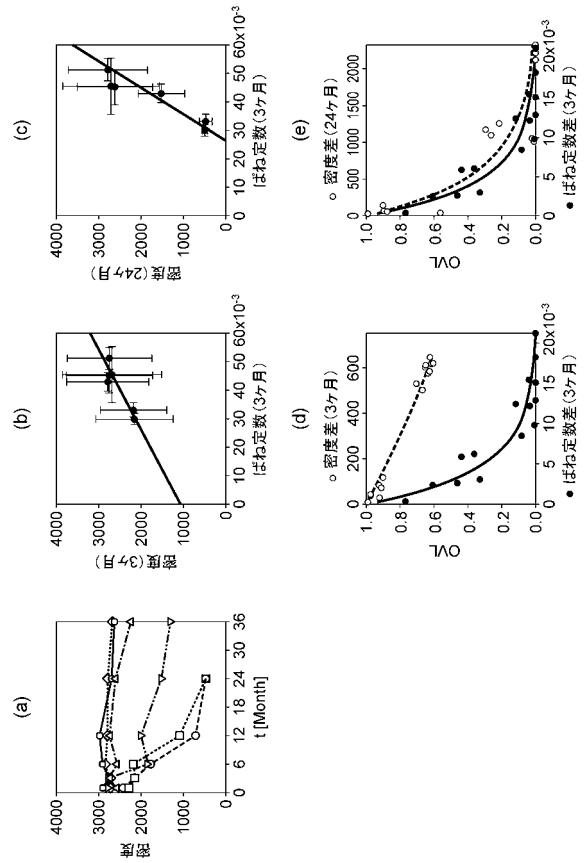
【 図 1 5 】



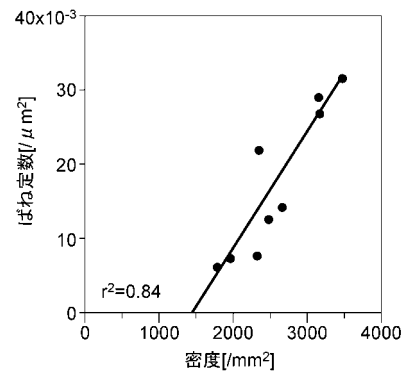
【 図 1 7 】



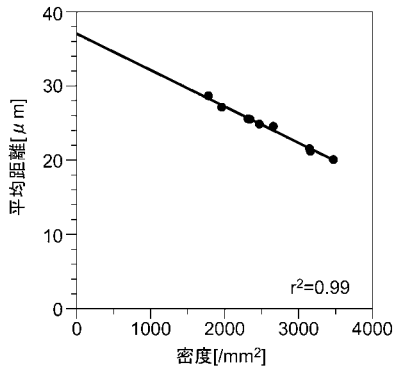
【 図 1 6 】



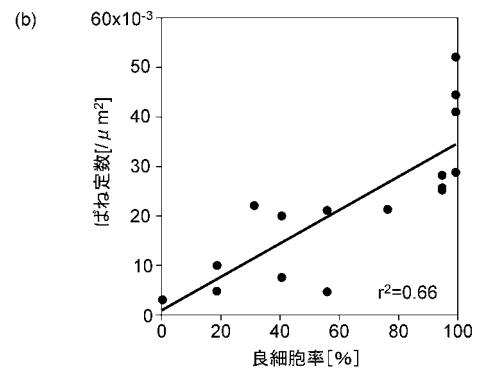
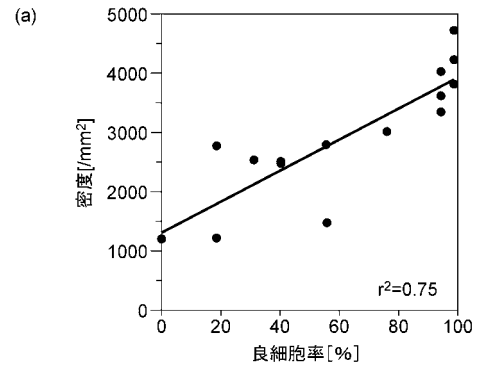
【 図 1 8 】



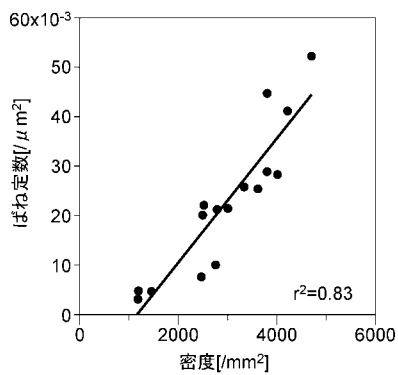
【 図 1 9 】



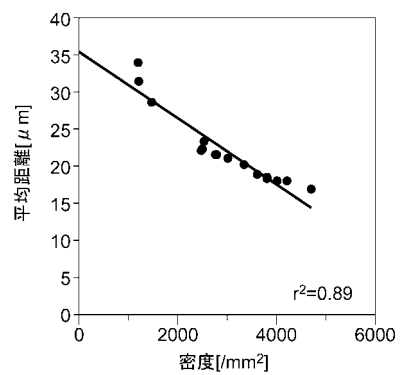
【 図 2 0 】



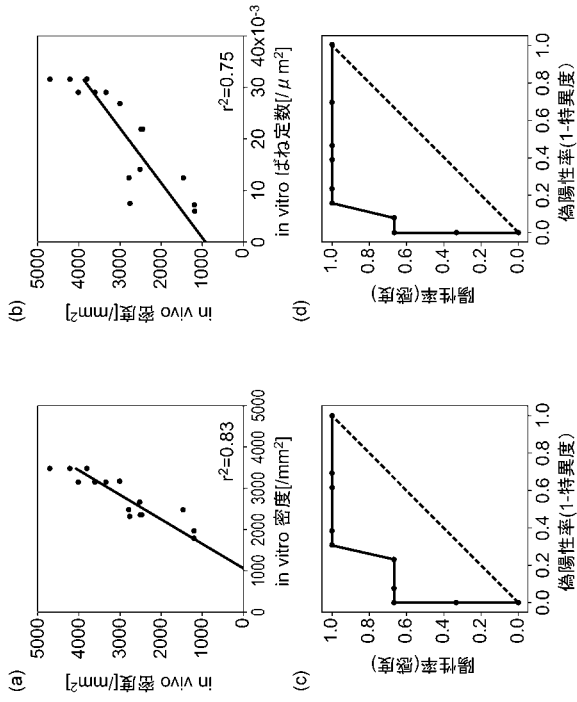
【 図 2 1 】



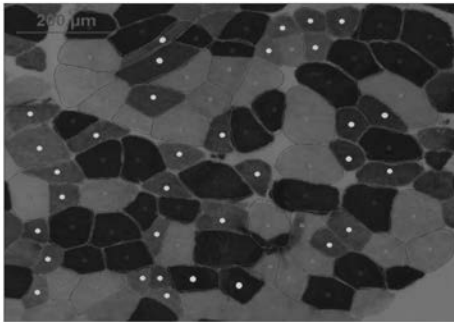
【 図 2 2 】



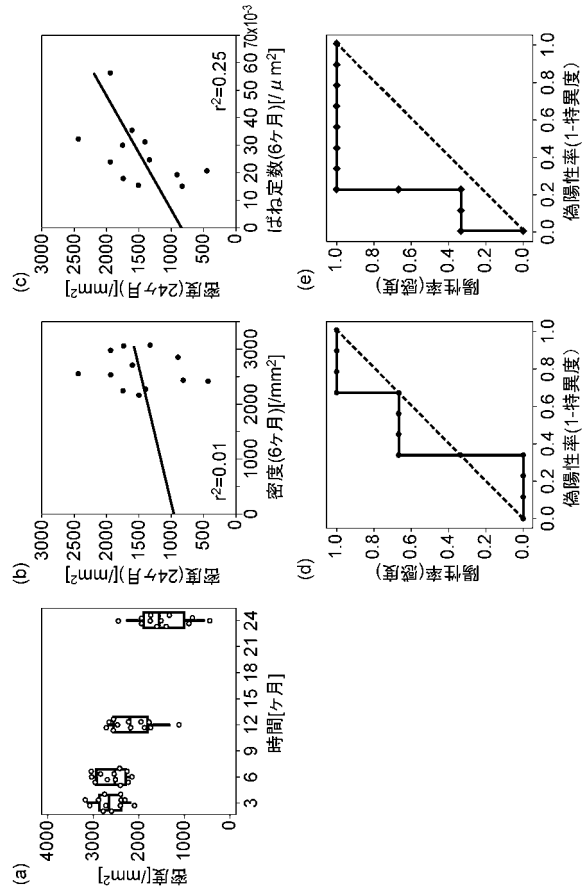
【 図 2 3 】



【 図 2 5 】



【 図 2 4 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2018/005303
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. G06T7/00(2017.01)i, C12M1/00(2006.01)i, C12M1/34(2006.01)i, C12Q1/04(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i, G01N33/483(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. G06T1/00, G06T7/00, C12M1/00, C12M1/34, C12Q1/04, G01N33/48, G01N33/483 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)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2016-59306 A (FUJIFILM CORPORATION) 25 April 2016, paragraphs [0048], [0049], [0075] (Family: none)	1, 3-8, 10-11 2, 9
Y A	JP 2006-238802 A (OLYMPUS OPTICAL CO.) 14 September 2006, paragraphs [0050], [0122] & WO 2006/092925 A1	1, 3-8, 10-11 2, 9
Y	JP 2013-529181 A (THE J. DAVID GLADSTONE INSTITUTES) 18 July 2013, paragraph [0260] & WO 2011/119842 A1, paragraph [0302]	3-8
<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 04.04.2018		Date of mailing of the international search report 17.04.2018
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/JP2018/005303

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2015-533210 A (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 19 November 2015, paragraph [0130] & WO 2014/025392 A1, page 38, line 14 to page 39, line 20 & CN 104350372 A & KR 10-2015-0043241 A	3-8
Y	JP 2014-521926 A (GENERAL ELECTRIC COMPANY) 28 August 2014, paragraphs [0037], [0061] & US 2012/0269418 A1, paragraphs [0072], [0096]	4-8
Y	JP 2013-502233 A (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 24 January 2013, paragraph [0140], fig. 7 & WO 2011/025736 A1, paragraph [0175] & CN 102576027 A	4-8
Y	WO 2015/016371 A1 (KYOTO PREFECTURAL PUBLIC UNIVERSITY CORPORATION; DOSHISHA; SENJU PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 05 February 2015, abstract & US 2016/0266114 A1, abstract	5-6, 8
Y	WO 2012/108069 A1 (ORGAN TECHNOLOGIES, INC.) 16 August 2012, paragraph [0021] & US 2014/0037592 A1, paragraph [0062] & CN 103476925 A	5-6, 8
Y	JP 2016-514968 A (ORGANOVO, INC.) 26 May 2016, paragraphs [0004], [0060], [0165]-[0168] & WO 2014/151921 A1, paragraphs [0004], [0096], [0201]-[0204] & CN 105209605 A	5-6, 8
Y	JP 2007-222073 A (YAMAGUCHI UNIVERSITY) 06 September 2007, abstract, paragraphs [0020], [0031] (Family: none)	8
Y	WO 2012/118049 A1 (SONY CORPORATION) 07 September 2012, paragraphs [0146]-[0153] & US 2013/0321459 A1, paragraphs [0167]-[0174] & CN 103380209 A	8
Y	JP 2013-517459 A (RIGEL PHARMACEUTICALS, INC.) 16 May 2013, paragraphs [0003], [0004] & WO 2011/087945 A1, page 1, lines 23-34	8
A	JP 2014-198223 A (CANON INC.) 23 October 2014, paragraph [0099] & US 2014/0185889 A1, paragraph [0102]	1-2, 9

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 8 / 0 0 5 3 0 3									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G06T7/00(2017.01)i, C12M1/00(2006.01)i, C12M1/34(2006.01)i, C12Q1/04(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i, G01N33/483(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. G06T1/00, G06T7/00, C12M1/00, C12M1/34, C12Q1/04, G01N33/48, G01N33/483											
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>1971-2018年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2018年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2018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	1971-2018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
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)											
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									
Y A	JP 2016-59306 A (富士フイルム株式会社) 2016.04.25, 段落 [0048] - [0049], [0075] (ファミリーなし)	1, 3-8, 10-11 2, 9									
Y A	JP 2006-238802 A (オリンパス株式会社) 2006.09.14, 段落 [0050], [0122] & WO 2006/092925 A1	1, 3-8, 10-11 2, 9									
Y	JP 2013-529181 A (ザ ジェイ. デヴィッド グラッドストーン インスティテューツ) 2013.07.18, 段落[0260] & WO 2011/119842 A1, 段落 [0302]	3-8									
<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 04.04.2018		国際調査報告の発送日 17.04.2018									
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) 山田 辰美	5H 8383								
		電話番号 03-3581-1101	内線 3531								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2018/005303
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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
Y	JP 2015-533210 A (ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ レランド スタンフォード ジュニア ユニバーシティー) 2015. 11. 19, 段落 [0130] & WO 2014/025392 A1, p. 38 14 行目 - p. 39 20 行目 & CN 104350372 A & KR 10-2015-0043241 A	3-8
Y	JP 2014-521926 A (ゼネラル・エレクトリック・カンパニー) 2014. 08. 28, 段落 [0037], [0061] & US 2012/0269418 A1, 段落 [0072], [0096]	4-8
Y	JP 2013-502233 A (ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ リーランド スタンフォード ジュニア ユニバーシティー) 2013. 01. 24, 段落 [0140], [図 7] & WO 2011/025736 A1, 段落 [0175] & CN 102576027 A	4-8
Y	WO 2015/016371 A1 (京都府公立大学法人, 学校法人同志社, 千寿製薬 株式会社) 2015. 02. 05, [要約] & US 2016/0266114 A1, [要約]	5-6, 8
Y	WO 2012/108069 A1 (株式会社オーガンテクノロジー) 2012. 08. 16, 段落 [0021] & US 2014/0037592 A1, 段落 [0062] & CN 103476925 A	5-6, 8
Y	JP 2016-514968 A (オルガノボ, インク.) 2016. 05. 26, 段落 [0004], [0060], [0165] - [0168] & WO 2014/151921 A1, 段落 [0004], [0096], [0201] - [0204] & CN 105209605 A	5-6, 8
Y	JP 2007-222073 A (国立大学法人山口大学) 2007. 09. 06, [要約], 段落 [0020], [0031] (ファミリーなし)	8
Y	WO 2012/118049 A1 (ソニー株式会社) 2012. 09. 07, 段落 [0146] - [0153] & US 2013/0321459 A1, 段落 [0167] - [0174] & CN 103380209 A	8
Y	JP 2013-517459 A (ライジェル ファーマシューティカルズ, イ ンコーポレイテッド) 2013. 05. 16, 段落 [0003] - [0004] & WO 2011/087945 A1, p. 1 23 行目 - 34 行目	8
A	JP 2014-198223 A (キヤノン株式会社) 2014. 10. 23, 段落 [0099] & US 2014/0185889 A1, 段落 [0102]	1-2, 9

フロントページの続き

(81) 指定国・地域 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 田中 求

京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内

(72) 発明者 山本 暁久

京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内

(72) 発明者 上野 盛夫

京都府京都市上京区河原町通広小路 梶井町4番地5 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内

(72) 発明者 羽室 淳爾

京都府京都市上京区河原町通広小路 梶井町4番地5 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内

(72) 発明者 木下 茂

京都府京都市上京区河原町通広小路 梶井町4番地5 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内

(72) 発明者 田中 寛

京都府京都市上京区河原町通広小路 梶井町4番地5 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内

(72) 発明者 戸田 宗豊

京都府京都市上京区河原町通広小路 梶井町4番地5 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内

(72) 発明者 外園 千恵

京都府京都市上京区河原町通広小路 梶井町4番地5 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内

Fターム(参考) 2G045 AA24 CB01 FA19 JA01

4B029 AA07 BB11 CC02 FA03 FA04 FA15 GA01 GB06

4B063 QA18 QQ08 QR77 QX01

5L096 BA06 BA13 FA06 FA32 FA33 FA35 FA60 FA66 FA76 GA32

(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。