

1 研究目的、研究方法など

本研究計画調書は「小区分」の審査区分で審査されます。記述に当たっては、「科学研究費助成事業における審査及び評価に関する規程」（公募要領109頁参照）を参考にすること。  
 本欄には、本研究の目的と方法などについて、4頁以内で記述すること。  
 冒頭にその概要を簡潔にまとめて記述し、本文には、(1)本研究の学術的背景、研究課題の核心をなす学術的「問い」、(2)本研究の目的および学術的独自性と創造性、(3)本研究で何をどのように、どこまで明らかにしようとするのか、について具体的かつ明確に記述すること。  
 本研究を研究分担者とともに行う場合は、研究代表者、研究分担者の具体的な役割を記述すること。

**（概要）** 本研究の目的は、円偏光の散乱光を用いたがん検出技術に申請者が開発した円偏光発光ダイオードを適用することにより、無染色・非侵襲でかつ生体内その場観察が可能な新規がん検出技術の確立することである。このために、生体模型・生体組織に対する円偏光応答実験及びシミュレーションを用いて円偏光の散乱過程の解明、技術の適用範囲の検討に取り組み、最終的には、生体内に導入可能な複合がん検出素子の開発し、その機能実証を目指す（図1）。

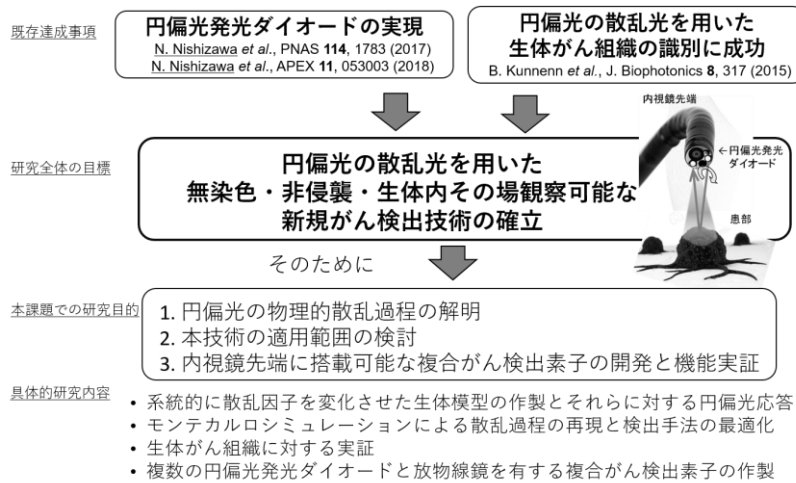


図1：本課題の骨子概要図

（本文）

（1）本研究の学術的背景、研究課題の核心をなす学術的「問い」

生体物質に偏光を照射した際の散乱光の偏光状態には、多くの情報が含まれており、近接組織の構造の差異や経時変化を観察するのに有効な手段であること、特に前癌病変の検出に有能であることが報告されている[W. S. Bickel *et al.*, PNAS 73, 486 (1976)]。このように生医学的検出において偏光の利用は有用であるが、一般的に用いられる直線偏光は、生体内での多体散乱によってすぐに偏光状態が失われてしまい、表皮や組織表面などに使用が限られてしまう。それに対し、円偏光は直線偏光に比べ深部まで偏光状態を維持することがわかっている[D. Bicout *et al.*, PRE 49 (1994) 1767]。近年、切除した腫瘍の組織片に円偏光を照射し、その後方散乱光の偏光状態に健常組織とがん組織で大きな差が生じたという実験的報告[B. Kunnen *et al.*, J. Biophotonics 8, 317-323 (2015)]がなされ、円偏光の実用性が示された。しかしながら、通常、円偏光はレーザーと偏光板の組み合わせで得られ、また湾曲した光ファイバなどを介すると偏光状態を維持するのが困難であるため、切除した組織に対して生体外で診断せざるを得ない。非侵襲的である光医療応用の特性を活かすためには内視鏡やカテーテルなどを用いて生体内で使用することが望ましく、それらの先端に搭載可能な単一で円偏光発光及び検出するデバイス、さらにはそれらを組み合わせた光集積デバイスが求められている。

一方、申請者はこれまで、磁性体と半導体を組み合わせた半導体スピントロニクス分野の中で円偏光発光ダイオードの開発に携わり、近年、以下の特徴を備えた素子の開発に成功し

【1 研究目的、研究方法など（つづき）】

た[PNAS 114, 1783-1788 (2017), APEX 11, 053003 (2018)他]。①室温で動作、②無磁場で動作、③円偏光度( $P_c$ )100% (図2)、④電氣的に偏光極性を切替可能、⑤小型化・集積化が可能⑥同一構造で円偏光検出素子としても使用可能。この円偏光発光ダイオードを内視鏡やカテーテル先端に搭載させることができれば、上記の円偏光がん検出技術の難点を克服し、体内でのその場観察を可能にすると考えられる。

申請者の長期の研究の目標は、現状の組織患部の切除もしくは蛍光剤の投与を伴わない、円偏光の散乱光を用いた新規がん検出技術を開発、確立とすることである。そのために、本研究では、そもそも健常組織とがん組織において散乱光の偏光状態に差を生じさせる物理的要因は何なのか、本技術は本当に実用可能なのか、可能であればその利点・難点は何かという“問い”の解明に挑む。

(2) 本研究の目的および学術的独自性と創造性

本研究の最終的な目的は、円偏光散乱を用いた無染色、非侵襲、その場観察可能ながん診断技術を確認すること(図2)である。本課題ではそのために段階に応じて以下の3つの目標を掲げる。

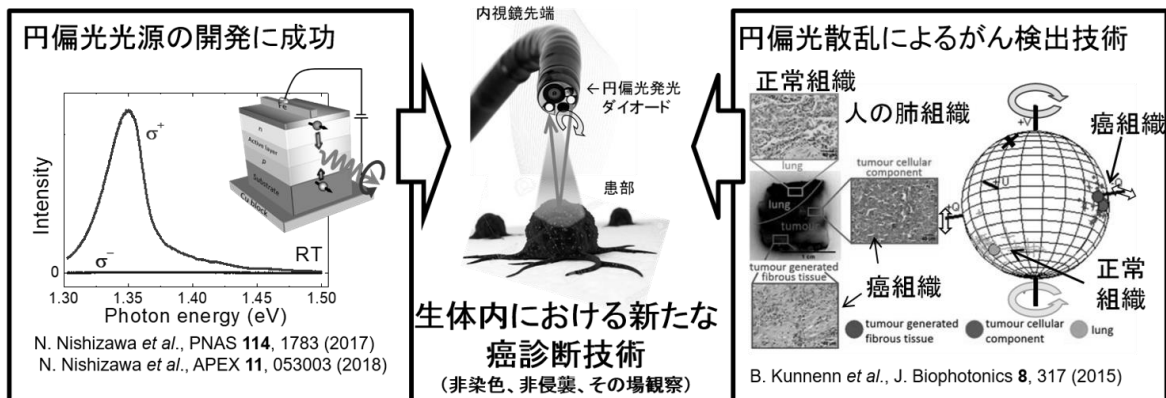


図2：研究目的

第一の目標は、①生体組織に対する円偏光の散乱光の偏光状態の変化プロセスを物理的に解明することである。光の散乱とは、粒子に照射された光が粒子表面に双極子を励起し、双極子から新たに光放射が生じる現象である。粒子が小さい場合には単一の双極子とみなせる (Rayleigh散乱) が、可視光～近赤外光の波長に対して細胞核のように数倍大きい場合、粒子表面の位置によって双極子の励起に若干の時間遅延が生じる (Mie散乱)。また、粒子間の密度や分布の異方性によって放射光の相互干渉が生じる。生体内の光散乱による偏光解消を生体内で応用するには、これら時間遅延および相互干渉の寄与、すなわち、散乱体の形状、大きさ、分布、密度などの散乱体パラメータの偏光解消への寄与を明らかにすることが重要である。本研究では、散乱体パラメータを系統的に変化させた生体模型と実際の生体試料に対する散乱光の偏光測定実験を行う。一方で、モンテカルロシミュレーションにより散乱の物理的メカニズムの主要因を検討し、実験結果と比較を行う。これら生体模型、生体試料、シミュレーションの3つの手法で“問い”の解明に挑む。また、これら3つの手法を用いて②本技術が適用可能な範囲 (空間・深さ分解能、適用可能ながんの部位) の明確化も並行して行う。これが本研究の第二の目標である。光の散乱経路がどの程度の領域まで広がっているのか、その領域と入射角・散乱角との関係などをシミュレーションにより明らかにすることで、角度に応じた深さ方向の情報を段階的に得ることが可能かどうかを検討する。それに

【1 研究目的、研究方法など（つづき）】

基づいて生体試料に対して散乱光の偏光測定実験を行い、検討した分解能の妥当性を検討する。最後にこれらを基に本技術の実現を目指し、③内視鏡先端に搭載可能な複合がん検出素子を作製し、その機能を実証する。

以上のような偏光の散乱光による生体組織の差異を識別する試みは1970年代を中心に多少は行われたが、生体組織では散乱光に対し系統的な結果が得にくく、また、一般の病理検査と比較しても利点が少なかったため、研究はほとんどされなかった。本研究では、円偏光発光ダイオードを用いることにより生体内で切除や染色を全く用いないで観察できる点において近年発達している生体イメージングと比較しても利点が大きいと考えられる。また、我々は半導体リソグラフィ技術を用いて作製した生体模型において系統的に散乱体パラメータを変化させることが可能である。この生体模型を用いることで物理的散乱過程を実験的に明らかにすることができると考えられる。これらが、本課題の学術的な独自性と創造性である。

（3）本研究で何をどのように、どこまで明らかにしようとするのか

① 円偏光の物理的散乱機構の解明

散乱による偏光解消の物理的メカニズムを明らかにするという“問い”に対して、(a)生体模型、(b)生体試料、(c)シミュレーションを通して解明する。(a)生体模型（phantoms）は半導体リソグラフィの技術を用いてガラス基板の上にAlドットを細胞核に見立てて形成し、核間物質として樹脂で埋めることにより層状構造を作製する（図3(a)）。ドットの大きさ、形状、分布などの散乱体パラメータを系統的に変化させ、がん化による細胞核の肥大化、異方化、組織の繊維状化をそれぞれ再現する。また、がん組織と正常組織を含む薄膜組織試料を研究分担者の口丸ががんモデルマウスから作製し（図3(b)）、これらに対して円偏光を照射し、その散乱光の偏光状態を検出する（図3(d)）。ここでは可能な限り細胞核の肥大化や繊維状化が顕著な検体を用意し、生体模型との比較を行う。入射光はこの段階ではハロゲンランプ（インコヒーレント光）から偏光子を通して円偏光にして使用し、検出には偏光計を用いる。並行してモンテカルロシミュレーションによる散乱過程の再現を行う（図3(c)）。多重散乱の過程にMie散乱による偏光解消の要素を取り込んだプログラムを組み、最初は生体模型に対する実験結果の再現をめざす。十分な再現が得られれば散乱体パラメータの変化に対する実験結果の再現に取り組み、どのパラメータが支配的な要因なのかを明らかにする。例えば、

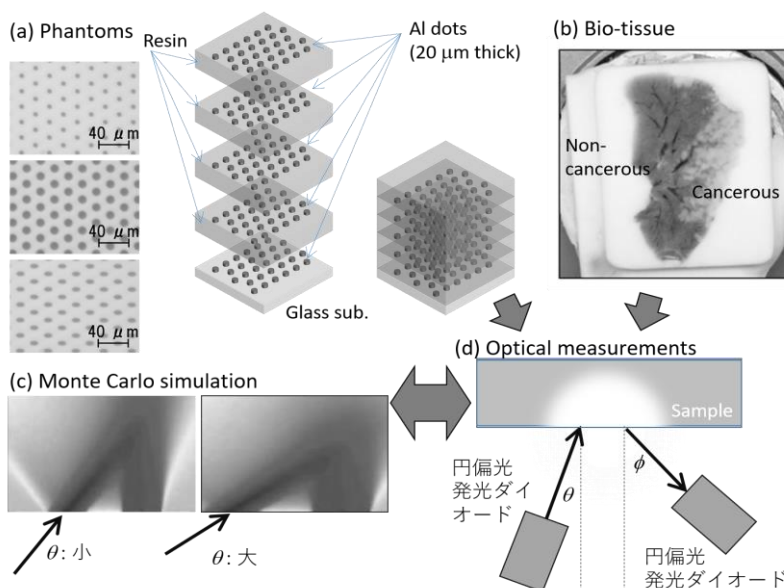


図3：実験手法 (a) 生体模型 (Phantoms) の模式図。左は散乱体パラメータの異なるパターン、中央・右は層状構造の模式図。(b) がん組織を有する生体試料。(c) モンテカルロシミュレーションの例。入射角を変えた場合の散乱領域を示す。(d) 光学実験の模式。円偏光発光ダイオードから円偏光を(a)(b)で作製した試料に照射し、その散乱光を円偏光発光ダイオードにより偏光状態を検出する。

【1 研究目的、研究方法など（つづき）】

光学実験において細胞核の大きさの寄与が大きいという結果が得られれば単一の散乱過程における時間遅延が、密度や分布の寄与が大きければ光の相互干渉が、光の入射方向と形状の異方性に関連があれば散乱方向に原因があると考えられる。それらの結果をシミュレーションにフィードバックすることによって、物理的散乱過程の主要因を特定することができると考えられる。

② 本技術の適用範囲の検討

本技術の狙いとする分解能は図4に示す領域である。上記①の結果を通して、散乱の主要因がわかれば本技術の適用可能な部位を判断することができる。細胞核の肥大化が顕著になる部位、細胞自体の肥大化が顕著になる部位、繊維状化が顕著な部位などにおいて分解能の差異が生じると考えられる。シミュレーションを通してそれぞれの部位における健常組織とがん組織での散乱光の偏光度の差、すなわち分解能を見積もり、図4を詳細なものとする。また、光の入射角や散乱角に応じて散乱領域が変化すると考えられ、図3(c)のように検出可能な領域をシミュレーションによって明らかにする。それに基づいてがん組織と健常組織からなる生体試料を準備しそれに対して散乱光実験を行い、検討した分解能が得られるかを確かめる。

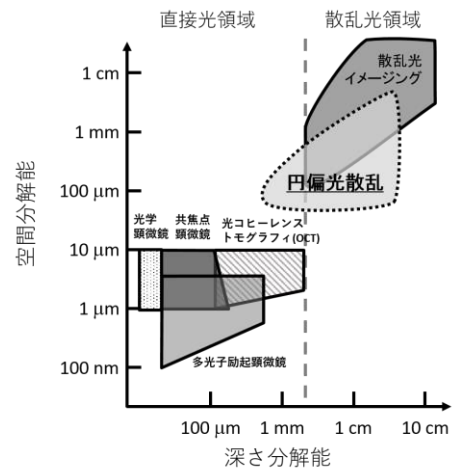


図4: 各種生体イメージング手法の空間および深さ分解能。本研究提案の円偏光散乱はイメージングではないが点線で示したような領域を狙ったものである。

③ 内視鏡先端に搭載可能な複合がん検出素子の開発と機能実証

図5に示すような複数の円偏光発光ダイオードと放物線鏡、プリアンプからなる複合検出素子を開発し、機能実証を行う。1 × 2 cm程度の基板上に照射用、検出用円偏光発光ダイオードを設置し、照射用ダイオードから1 cm離れた生体組織へ円偏光を照射する。散乱光を放物線鏡で反射させ、アレイ配置した検出用ダイオードで円偏光度差を検出する。散乱深さ（検出深さ）に応じて散乱角に差が生じると考えられ、深さに応じた素子で検出することにより深さ方向の情報を得る。また、照射用ダイオードからは左右円偏光を周期的に切り替えて照射し、制御用回路上で検出データと同期させることによりSN比を向上させる。アレイ配置する検出用ダイオードは、②の深さ分解能に応じて2個から5個程度とする。素子を作製した上で、生体模型、生体試料で機能実証を行う。

研究分担者である口丸は医学・生物学の視点から適切な疾患モデル動物より生体薄膜試料の作製を、研究責任者の西沢が物理的・工学的視点から試料・デバイス作製、光学実験および総括を担当する。

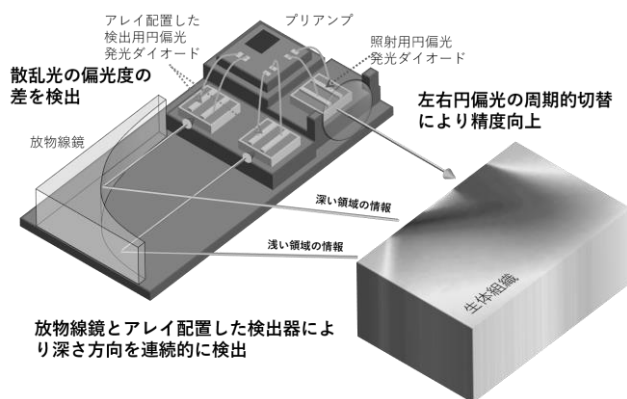


図5: 作製する複合がん検出素子の概要図（左側）照射用の円偏光発光ダイオードから数度の角度で生体組織に円偏光を照射する。散乱光を放物線鏡で反射させ、検出用ダイオードで円偏光度差を検出する。散乱領域（深さ）に応じて散乱角が異なると考えられ、それぞれの深さに応じた素子で検出することにより深さ情報を得る。また、円偏光発光ダイオードは左右円偏光を周期的に切り替えることができ、周期的なシグナルを制御用回路上で同期させることでSN比の向上を図る。

## 2 本研究の着想に至った経緯など

本欄には、(1)本研究の着想に至った経緯と準備状況、(2)関連する国内外の研究動向と本研究の位置づけ、について1頁以内で記述すること。

### (1) 本研究の着想に至った経緯と準備状況

円偏光発光ダイオードは強磁性体の電極を有するLEDである。この素子は半導体スピントロニクス分野において半導体中に注入された電子スピンの偏極度を検出するツールとして用いられてきたが、申請者らは「円偏光光源を作ろう」という目標を掲げて長らく研究を続けてきた。結果、2015年に室温でほぼ純粋な100%の円偏光発光を世界に先駆けて実証した。実用的光源という考えから外部磁場や外部光源を必要としない素子を追求したため、高円偏光度の実証により光源としてはほぼ完成したと言える。当初は素子の歩留まりに難点があったが、構造の堅牢化にも成功し、歩留まりも向上した。しかしながら、光通信や磁気記録用光源などの提案されている多くの円偏光応用では、インコヒーレント光であるLEDよりもコヒーレント光で高強度のレーザーが求められており、そのためには大電流注入に耐えるようにさらに堅牢な素子を作製するというもう一段階上のブレークスルーが必要である。一方で、生体応用においては、100%円偏光発光を実証した素子の発光波長は900 nm付近で、ヘモグロビンと水の両者の光吸収が少ない生体の光学的窓と呼ばれる領域に該当する。また、前述のKunnenらによる報告で円偏光の実用性が示されたことから、円偏光発光ダイオードの実用化の第一歩として本研究を開始した。

これまでに一層からなる2次元構造の生体模型の作製、円偏光応答については実験を実施した。図6に示すように、細胞核の肥大化を模した生体模型において散乱光の偏光状態に大きな差が生じ、これは前述のKunnenらによる報告と同じ傾向が得られた。また、研究分担者の口丸が作成したマウスの肝臓に形成された腫瘍組織検体に対しても同様の円偏光応答が得られており、素子準備、模型作製、生体試料準備に関して研究基盤は整いつつあると言える。

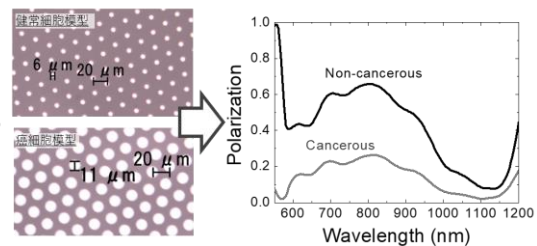


図6:細胞核の大きさの異なる2種の生体模型に対する円偏光応答実験の結果。左上が健全組織を、左下ががん組織を模した生体模型の顕微鏡像。細胞核に当たるドットの大きさがそれぞれ6 $\mu$ mと11 $\mu$ mの2次元構造。右はそれぞれに円偏光を照射したときの散乱光の偏光度スペクトル。健全組織の方が高い偏光度を示し、先行研究と同様の傾向を示した。

### (2) 関連する国内外の研究動向と本研究の位置づけ

円偏光発光ダイオードに関しては、100%に近い円偏光度を室温で実証しているのは申請者グループのみであり、当然その応用を検討する研究は国内外に他にない。一方、がん診断の研究においても主流はいずれも蛍光剤の投与および組織の切除を伴うものである。それらを要さない光のみの診断技術としてはNBI(Narrow Band Imaging)が挙げられるが、こちらは平面分解能が高い反面、深さ方向には吸収が大きく情報が得られないため、本研究の技術とは住み分けが可能であると考えられる。円偏光散乱の生体応用は前述のKunnenらNew Zealandのグループがあるが、現在は研究を行っていない。前述の本技術のコンセプトと準備段階の研究成果をもって2018年9月に行われた生体医工学シンポジウムでポスター発表を行ったところ、ポスターアワードを受賞することができ、生体医工学の分野においても本研究の新規性や有用性に対し、期待と共に一定の理解を得られたと考えている。本研究が成功すれば、停滞しつつある半導体スピントロニクス分野を打開するだけでなく、円偏光の医療応用という生体医工学の新たな研究分野を開拓し、その地盤を築く初手となると考えている。

### 3 応募者の研究遂行能力及び研究環境

本欄には応募者（研究代表者、研究分担者）の研究計画の実行可能性を示すため、(1)これまでの研究活動、(2)研究環境（研究遂行に必要な研究施設・設備・研究資料等を含む）について2頁以内で記述すること。

「(1)これまでの研究活動」の記述には、研究活動を中断していた期間がある場合にはその説明などを含めてもよい。

#### (1) これまでの研究活動

##### ①円偏光発光ダイオード関連

##### 1. 円偏光度向上のための結晶性絶縁膜の開発

強磁性体電極と半導体構造からなる円偏光発光ダイオードは注入スピンを効率的に半導体中に注入するために界面にトンネル絶縁膜が必要である。結晶性の高い極薄(1-nm)の酸化アルミナ層を半導体上に形成する手法を確立し、当時世界トップクラスの高効率なスピン注入を実証した。また、高い絶縁耐性も有することも示した。

- [査読有論文] “Efficient spin injection through a crystalline AlOx tunnel barrier prepared by the oxidation of an ultra-thin Al epitaxial layer on GaAs”, N. Nishizawa, and H. Munekata, *J. Appl. Phys.* **114**, 033507, (2013). 他、1件

##### 2. 円偏光極性の切替および変調機能の実証

円偏光発光ダイオードから発光する円偏光の極性（右回り/左回り）は注入するスピンの向きに依存することから、同一のLED上に反平行に磁化した1対の電極を作製し、電氣的に切り替えることにより同一素子から左右円偏光を任意に取り出すことに成功した。初期は極低温でのみ結果が得られたが、のちに室温でも実証した。

- [査読有論文] “A spin light emitting diode incorporating ability of electrical helicity switching”, N. Nishizawa, K. Nishibayashi, H. Munekata, *Appl. Phys. Lett.* **104**, 111102, (2014).
- [査読有論文] “Arbitrary helicity control of circularly polarized light from lateral-type spin-polarized light-emitting diodes at room temperature”, N. Nishizawa, M. Aoyama, R. C. Roca, K. Nishibayashi, H. Munekata, *Appl. Phys. Exp.* **11**, 053003, (2018).
- [特許] デュアル電極型スピン発光ダイオード及びレーザ, 宗片比呂夫, 西沢望, 特許(公開), 特願2012-276273(2012/12/18), 特開2014-120692(2014/06/30), 2012.

##### 3. 円偏光受光素子の実証

円偏光発光ダイオードと同一の構造を用いて円偏光の受光を実証した。

- [査読有論文] “Circularly polarized light detector based on ferromagnet/semiconductor junctions”, H. Ikeda, N. Nishizawa, K. Nishibayashi, H. Munekata, 他2件
- [受賞] “Circularly polarized light detectors based on ferromagnet / semiconductor junctions”, H. Ikeda, Nozomi Nishizawa, K. Nishibayashi, H. Munekata, MORIS2013 Best poster award.

##### 4. 室温100%円偏光発光の実証

上記の成果をもとに室温でほぼ100%円偏光発光を世界に先駆けて実証した。

- [査読有論文] “Pure circular polarization electroluminescence at room temperature with spin-polarized light-emitting diodes”, N. Nishizawa, K. Nishibayashi, and H. Munekata, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**, 1783-1788 (2017).
- [受賞] 手島精一記念研究賞(研究論文賞) (2018年2月). 他1件

##### ②がんモデルマウスを用いた腫瘍生物学研究及び生体イメージング材料開発関連

ヒト、マウス由来がん細胞の移植によって、肺がん、骨肉腫、大腸がん肝転移、肺がんおよ

【3 応募者の研究遂行能力及び研究環境（つづき）】

び乳がん骨転移といった、多種多様ながん関連疾患のモデルマウスを作成した。それらを用いて、がんの悪性を促す分子機構の解析や、生体深部のがんを高感度に検出する近赤外光イメージング材料を開発した。

- [査読有論文] “A novel injectable BRET-based in vivo imaging probe for detecting the activity of hypoxia-inducible factor regulated by the ubiquitin-proteasome system”, T. Kuchimaru, T. Suka, K. Hirota, T. Kadonosono and S. Kizaka-Kondoh, Sci. Rep. **6**, 34311 (2016).
- [査読有論文] “A luciferin analog generating near-infrared bioluminescence achieves highly sensitive deep-tissue imaging”, Kuchimaru T., Iwano S., Kiyama M., Mitsumata S., Kadonosono T., Niwa H., Maki S., Kizaka-Kondoh S., Nat. Comm. **7**, 11856 (2016).
- [受賞] 手島精一記念若手研究賞(藤野・中村賞) (2017年2月)
- [受賞] 日本癌学会 日本癌学会奨励賞 (2017年9月)
- [査読有論文] “A reliable murine model of bone metastasis by injecting cancer cells through caudal arteries”, T. Kuchimaru, N. Kataoka, K. Nakagawa, T. Isozaki, H. Miyabara, M. Minegishi, T. Kadonosono and S. Kizaka-Kondoh, Nat. Comm. **9**, 2981 (2018).
- [査読有論文] “Novelty lymphoid enhancer-binding factor 1-cytoglobin axis promotes extravasation of osteosarcoma cells into the lung”, Pongsuchart M., Kuchimaru T., Yonezawa S., Tran D.T.P., Kha N.T., Hoang N.T.H., Kadonosono T., Kizaka-Kondoh S., Cancer sci. **109**, 2746 (2018).

③円偏光がん検出関連

- [受賞] “円偏光散乱を用いた非染色・非侵襲ながん検出技術の開発”, 西沢 望, 高橋一真, 口丸高弘, 宗片比呂夫, 生体医工学シンポジウム2018ポスターアワード.

(2) 研究環境

研究機関	設備名	仕様	専用/共用	使用目的
東京工業大学	結晶試料作製装置	分子線エピタキシャル装置 (RIBER社)	専用	円偏光発光ダイオードの作製
東京工業大学	半導体MEMS支援センター (学内共有施設)	微細加工プロセス用の露光装置、蒸着装置の集合体	共用	生体模型の作製
東京工業大学	円偏光散乱実験用光学測定システム	高強度ハロゲンランプ, 分光器, 偏光計, ロックインランプ他 (自家製)	専用	生体模型、生体試料の円偏光測定
自治医科大学	がんモデルマウスの飼育施設	免疫不全マウス飼育環境	共用	がん組織検体の採取
自治医科大学	非侵襲的光イメージング装置	IVIS (PerkinElmer社)	共用	がん組織の成長レベルの定量測定
自治医科大学	凍結マイクロトーム	任意の厚さ(<50 um)の組織薄切り (LEICA社)	共用	がん組織薄膜検体の作成

#### 4 人権の保護及び法令等の遵守への対応（公募要領4頁参照）

本欄には、本研究を遂行するに当たって、相手方の同意・協力を必要とする研究、個人情報の取扱いの配慮を必要とする研究、生命倫理・安全対策に対する取組を必要とする研究など指針・法令等（国際共同研究を行う国・地域の指針・法令等を含む）に基づく手続が必要な研究が含まれている場合、講じる対策と措置を、1頁以内で記述すること。

個人情報を伴うアンケート調査・インタビュー調査・行動調査（個人履歴・映像を含む）、提供を受けた試料の使用、ヒト遺伝子解析研究、遺伝子組換え実験、動物実験など、研究機関内外の倫理委員会等における承認手続が必要となる調査・研究・実験などが対象となります。

該当しない場合には、その旨記述すること。

自治医科大学における動物実験は、自治医科大学の動物実験委員会の審査を受けた後、学長の承認を得て実施する。実験は、自治医科大学動物実験等管理規則を順守し、また「動物の愛護及び管理に関する法律」「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」「研究機関等における動物実験の実施に関する基本指針」等の関連法令を厳守し、可能な限り倫理面に配慮し、実験動物の尊厳を重視した実験をおこなう。遺伝子組換え実験は、自治医科大学遺伝子組換え実験等安全管理委員会の審査を受けた後、学長の承認を得て、自治医科大学遺伝子組換え実験等安全管理規則を順守して実施する。



**5 研究計画最終年度前年度応募を行う場合の記述事項**（該当者は必ず記述すること（公募要領24頁参照））

本欄には、本研究の研究代表者が行っている、平成31年度が最終年度に当たる継続研究課題の当初研究計画、その研究によって得られた新たな知見等の研究成果を記述するとともに、当該研究の進展を踏まえ、本研究を前年度応募する理由（研究の展開状況、経費の必要性等）を1頁以内で記述すること。  
 該当しない場合は記述欄を削除することなく、空欄のまま提出すること。

研究種目名	課題番号	研究課題名	研究期間
			平成 年 度～平成 31年度

当初研究計画及び研究成果

前年度応募する理由