



Title	Application of femtosecond ultrashort pulse laser to photodynamic therapy mediated by indocyanine green
Author(s)	沢, 美喜
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45331">https://hdl.handle.net/11094/45331</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	沢 美 喜
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18538 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Application of femtosecond ultrashort pulse laser to photodynamic therapy mediated by indocyanine green (フェムト秒レーザー照射下インドシアニングリーン光線力学療法への応用)
論文審査委員	(主査) 教授 田野 保雄  (副査) 教授 不二門 尚 教授 細川 互

#### 論文内容の要旨

〔目的〕血管新生黄斑症は近年増加傾向にあり、脈絡膜新生血管が中心窩に及んでいる場合には、社会的失明に至ることも少なくない。第Ⅱ世代の光感受性物質ベルテポルフィンと弱レーザー照射を組み合わせた光線力学療法（以下 PDT）は、血管新生黄斑症の治療法として、海外では眼科領域ですでに普及しているものの、日本ではいまだ一般臨床に使用できない。ベルテポルフィンを用いた PDT では、視力改善する例が少ないだけでなく、複数回の治療が必要であるため、海外では高価なベルテポルフィンによる医療経済上の問題も生じている。インドシアニングリーン（以下 ICG）は蛍光眼底造影検査で頻用され、最近では副作用の少ない光感受性物質として注目されている。ICG を用いた PDT では連続波である半導体レーザー装置が用いられているものの、連続波による熱作用が中心窩に及ぼす危険性がある。近年、超短パルスレーザーであるフェムト秒（ $10^{-15}$  秒）レーザーの開発が進んでいるが、チタニウムサファイアレーザーは ICG の吸収波長である近赤外領域に波長を有するフェムト秒レーザーである。チタニウムサファイアレーザーは熱作用が少なく、このレーザーと ICG の組み合わせが、新生血管に対する PDT に応用可能かどうかを検討した。

〔方法ならびに成績〕 ICG の吸収波長である 805 nm で、アルブミンを溶解した ICG 溶液（0.1-1.5 mg/dl）の吸光度を測定し、濃度と吸光度の相関関係を検討したところ、濃度依存性に吸光度は増加した。In vitro 実験として、角膜モデルに使用されるゼラチンを用い、波長 800 nm、照射面積 0.047 cm<sup>2</sup>、パルス幅 150 フェムト秒、繰り返し周波数 1 kHz、総照射時間 100 秒の条件で、ゼラチンに変性を生じるレーザー出力を検討した。ICG を含むゼラチンでは、変性閾値はピークパワー密度 39 W/cm<sup>2</sup> であったのに対し、ICG を含まないゼラチンでの閾値はピークパワー密度 53 W/cm<sup>2</sup> であった。In vivo 実験として、角膜新生血管モデルに対して PDT をおこなった。白色家兎 31 匹の片眼に、7-0 シルク縫糸糸を用いて角膜上方 11 時、12 時、1 時方向に 3 箇所縫合をおこない、角膜新生血管モデルを作成した。角膜新生血管の ICG 蛍光造影では、ICG 注入後 10 秒で角膜新生血管が描出され、30 秒前後で蛍光輝度が最大となり、その後時間経過とともに蛍光輝度は減衰した。この結果から、ICG 注入後のレーザー照射開始時間を 30 秒後と 5 分後に設定し、PDT をおこなった。ICG 10 mg/kg を耳静脈から注入し、波長 800 nm、照射面積 0.047 cm<sup>2</sup>、パルス幅 150 フェムト秒、繰り返し周波数 1 kHz、総照射時間 100 秒、ピークパワー密度 80 W/cm<sup>2</sup>、平均パ

ワー密度  $38 \text{ mW/cm}^2$ 、総照射エネルギー  $3.8 \text{ J/cm}^2$  の出力設定で、ICG 注入 30 秒後および 5 分後にレーザー照射を開始した。照射前、照射直後、照射後 1、3、10 日目に、フルオレセイン蛍光造影 (FAG) を施行し、血管閉塞を評価した。また、光学顕微鏡、および、電子顕微鏡を用いて血管閉塞を組織学的に検討した。30 秒後にレーザーを照射した 23 眼は全例とも、レーザー照射直後の FAG で血管閉塞がみられ、10 日目まで経過を追えた 12 眼すべてで血管は閉塞していた。5 分後に照射した 22 眼中 21 眼 (95%) で、レーザー照射直後に血管は閉塞していたが、10 日目では 13 眼中 6 眼 (46%) で血管が再開していた。光学顕微鏡では、角膜新生血管内に血栓形成が確認され、照射部位に相当する虹彩の血管には異常を認めなかった。電子顕微鏡でも血管腔内に詰まった血栓が認められ、血管内腔の狭細化も認められた。血管周囲組織の熱変性による変化は認められなかった。

〔総括〕フェムト秒超短パルスレーザーおよび ICG の組み合わせにより、PDT が可能であった。安価で安全性が確立し広く普及している ICG は、新しい PDT 用光感受性物質として臨床応用できる可能性がある。

### 論文審査の結果の要旨

加齢黄斑変性は中心視野を侵し、高齢者の QOL を著しく低下させる。欧米での社会的失明原因疾患の 1 位であり、日本でも食生活などの欧米化に伴って増加しつつある重要な疾患である。今のところ、光線力学療法 (以下、PDT) が唯一効果の認められた治療法であるが、複数回の治療を要する。眼科領域で用いられる光感受性物質ベルテポルフィン (BTP) は、高価でかつ光過敏症の副作用があるために、安価で副作用の少ない色素剤が待望されている。本研究ではこれらの問題を解決すべく、インドシアニングリーン (以下 ICG) を光感受性物質として用いる PDT の開発を意図したものである。ICG を光感受性物質として使用する場合には、ベルテポルフィンの場合と異なり、連続波レーザーの熱作用による正常周囲組織への障害が危惧されている。そこで本研究では、連続波レーザーに比べ熱作用が少ないパルス波レーザーのうち、近年開発され、熱拡散がほとんどないフェムト秒 ( $10^{-15}$  秒) の超短パルスレーザーを照射装置として用いることを検討した。チタニウムサファイアフェムト秒レーザーは、近赤外領域に波長を有し、ICG の吸収波長に類似している。本研究では、まず ICG 混和ゼラチンによる角膜モデルに対するレーザー照射による *in vitro* の検討から、角膜新生血管内に存在する ICG へのみ反応させ、周囲の透明組織には反応させない照射条件を見出した。また、家兎角膜新生血管モデルに対して、ICG 静注後のレーザー照射開始時期、照射エネルギー、照射時間の諸条件について検討を加え、諸条件下における ICG フェムト秒レーザー-PDT の新生血管に対する影響を検討し、ICG による PDT の至適条件を決定した。血管閉塞はフルオレセイン蛍光造影で評価し、ICG 注入開始 30 秒後の照射眼全てで 10 日目まで血管閉塞が維持されることを見出した。また正常周囲組織への熱作用による変性も見られなかった。本研究により、安価で光過敏症の副作用もなく、将来的には有望な治療法として期待される ICG による PDT の可能性が見出された。よって本研究は学位論文に値すると考える。