

(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
2021年3月11日(11.03.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/044627 A1

- (51) 国際特許分類:
A61N 5/06 (2006.01) *A61K 41/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/035255
- (22) 国際出願日: 2019年9月6日(06.09.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: オリンパス株式会社 (OLYMPUS CORPORATION) [JP/JP]; 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 吉野真広 (YOSHINO Masahiro); 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP). 恩田

伸彦(ONDA Nobuhiko). 山下 迪(YAMASHITA Susumu). 小島 美穂(KOJIMA Miho).

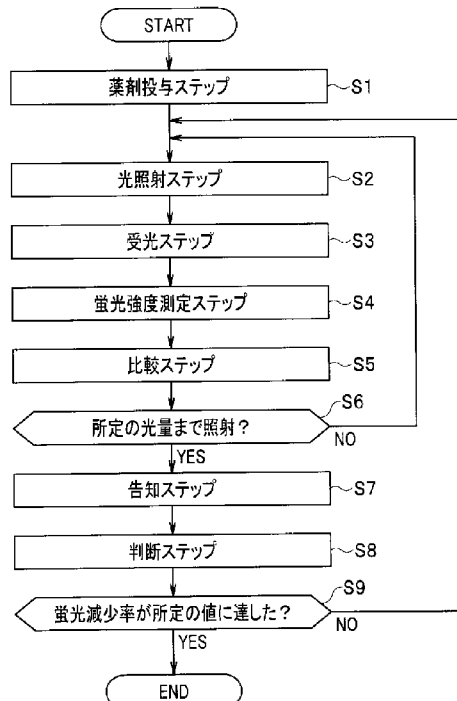
(74) 代理人: 特許業務法人イトーシン国際特許事務所 (ITO-SHIN PATENT OFFICE); 〒1600023 東京都新宿区西新宿七丁目4番4号 武蔵ビル Tokyo (JP).

(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,

(54) Title: METHOD FOR IRRADIATING CELLS WITH LIGHT

(54) 発明の名称: 細胞に光を照射する方法

【図3】



- S1 Drug administration step
S2 Light irradiation step
S3 Light receiving step
S4 Fluorescent intensity measurement step
S5 Comparison step
S6 Has predetermined amount of light been emitted?
S7 Notification step
S8 Determination step
S9 Has fluorescent light reduction rate reached predetermined value?

(57) Abstract: The present invention comprises a drug administration step S1 and a light irradiation step S2 of irradiating cells C with therapeutic light L to at least 1 J/cm², the therapeutic light L having an intensity of more than 0 mW/cm² and 50 mW/cm² or less.

(57) 要約: 薬剤投与ステップ S1 と、細胞 C に光強度が 0 mW/cm² より大きく 50 mW/cm² 以下の治療光 L を、少なくとも 1 J/cm² まで照射する光照射ステップ S2 と、を有する。

[続葉有]

WO 2021/044627 A1

QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, 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))

明 細 書

発明の名称：細胞に光を照射する方法

技術分野

[0001] 本発明は、細胞に蛍光薬剤を投与して所定の光を照射するステップを有する細胞に光を照射する方法に関する。

背景技術

[0002] 体内に腫瘍親和性光感受性物質を有する薬剤を投与し、腫瘍親和性光感受性物質にレーザー光を照射することにより癌細胞を破壊する手法、所謂Photo dynamic Therapy (P D T) が周知である。

[0003] P D Tにおいては、体内に投与した腫瘍親和性光感受性物質が、正常な細胞よりも癌細胞に集まる性質や、レーザー光を照射すると活性化して活性酸素を出す性質を利用して、癌細胞に集まった腫瘍親和性光感受性物質にレーザー光を照射することによって発生する化学反応により、癌細胞を選択的に破壊する。

[0004] しかしながら、P D Tにおいては、腫瘍親和性光感受性物質が正常な細胞に集まる場合もあるため、正常な細胞までも破壊してしまう可能性があるといった問題があった。

[0005] このような問題に鑑み、日本国特開2017-71654号公報には、体内にヒト型抗体 (E G F R抗体医薬品ベクティビックス) に、蛍光色素 (I R D y e 7 0 0) を、抗体1分子につき3分子標識 (結合) させた蛍光薬剤 (P a n - I R 7 0 0) を投与し、近赤外光を照射することにより癌細胞を死滅 (破壊) させる手法、所謂Photo immunotherapy (P I T) が開示されている。

[0006] P I Tにおいては、体内に投与した蛍光薬剤が、癌細胞のタンパク質に特異的に結合する性質を利用して、660~710nmの波長を有する近赤外光を、蛍光薬剤に対して少なくとも1J/cm²まで照射する。

[0007] その結果、蛍光色素が光を吸収して抗体の分子を振動させることにより、

癌細胞膜に傷を付けて癌細胞を破裂させ、該破裂に伴い飛散した細胞を周囲の正常な細胞により活性化させるといった正常な細胞による免疫反応の誘発によって癌細胞のみを選択的に死滅させる。尚、P I Tの詳細な原理、方法、各種条件に関しては、日本国特開2017-71654号公報に開示されている。

[0008] しかしながら、P I Tにおいて、生体への影響を少なくして、より確実に癌細胞を死滅させるための効果的な方法が望まれていた。

[0009] 本発明は上記事情に鑑みてなされたものであり、P I Tにおいて、光照射により確実に癌細胞を死滅させることができる細胞に光を照射する方法を提供することを目的とする。

発明の開示

課題を解決するための手段

[0010] 上記目的を達成するため本発明の一態様による細胞に光を照射する方法は、細胞に蛍光薬剤を投与する薬剤投与ステップと、前記細胞に光強度が0 mW/cm²より大きく50 mW/cm²以下の所定の光を、少なくとも1 J/cm²まで照射する光照射ステップとを有する。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]本実施の形態の細胞に光を照射する方法に用いる光照射システムを示す図

[図2]図1の細胞に投与される蛍光薬剤の構成の概略を示す図

[図3]図1の光照射システムを用いた治療光の照射方法を示すフローチャート

[図4]細胞に対し、光強度50 mW/cm²以下の治療光と、光強度100 mW/cm²以上の治療光とを照射した場合における蛍光減弱割合と細胞傷害割合との関係を示した図表

[図5]細胞に対し、光強度25 mW/cm²の治療光と、光強度50 mW/cm²の治療光と、光強度100 mW/cm²の治療光と、光強度300 mW/cm²の治療光とを照射した場合における光強度と細胞傷害割合との関係を示した図表

[図6]図3の蛍光強度測定ステップを、治療光を所定の光量まで照射した後に
行う変形例を示すフローチャート

発明を実施するための最良の形態

[0012] 以下、図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。

[0013] 図1は、本実施の形態の細胞に光を照射する方法に用いる光照射システム
を示す図、図2は、図1の細胞に投与される蛍光薬剤の構成の概略を示す図
である。

[0014] 図1に示すように、上述したP I Tに用いる光照射システム100は、内
視鏡1とプロセッサ50とにより主要部が構成されている。

[0015] 内視鏡1は、被検体内に挿入される挿入部10を有している。挿入部10
の先端面10sに、被検体内を観察範囲Hにおいて観察する対物光学系4と
、被検体内に照明光Iを供給する照明光学系2とが先端面10sに臨むよう
に設けられている。

[0016] また、挿入部10内において、対物光学系4の結像位置に、撮像素子5が
設けられている。

[0017] さらに、挿入部10内に、照明光学系2に照明光Iを供給するライトガイ
ド3が設けられている。尚、被検体内に照明光Iを供給する構成に、LED
等の発光素子が用いられても構わない。

[0018] また、挿入部10に、先端面10sに開口するチャンネル6が設けられて
おり、該チャンネル6に対し、治療光照射装置7が挿抜自在となっている。

[0019] 治療光照射装置7は、チャンネル6の図示しない基端側挿入口から挿入さ
れ、チャンネル6の先端から被検体内に突出させた状態において、被検体内
の蛍光薬剤20が投与された癌細胞（以下、単に細胞と称す）Cに対し、所
定の光となる治療光Lを照射するものである。

[0020] 尚、治療光Lとしては、近赤外光が挙げられる。また、蛍光薬剤20とし
ては、図2に示すように、ヒト型抗体（EGFR抗体医薬品ベクティビックス）
22に、蛍光色素（IRDye700）21を、抗体1分子につき3分子
標識（結合）させたPan-IR700が挙げられる。尚、蛍光薬剤20

は、P a n - I R 7 0 0 に限定されない。

[0021] また、細胞Cへの治療光Lの照射は、治療光照射装置7を用いずに、ライトガイド3、照明光学系2が用いられて行われる構成であっても構わない。

[0022] プロセッサ50は、照明光源部51と、治療用光源部52と、画像処理部53とを具備している。

[0023] 照明光源部51は、ライトガイド3に照明光Iを供給することにより、照明光学系2に照明光Iを供給するものである。

[0024] また、治療用光源部52は、治療光照射装置7に治療光Lを供給するものである。さらに、治療用光源部52は、画像処理部53に電氣的に接続されており、画像処理部53の後述する画像判断に基づいて治療光照射装置7に治療光Lを供給する。

[0025] さらに、画像処理部53は、撮像素子5に電氣的に接続されている。また、画像処理部53は、撮像素子5によって撮像された細胞Cの画像を用いて、細胞Cへの治療光Lの照射に伴う蛍光薬剤20からの蛍光の強度データを測定し、該強度データを所定の値と比較した後、治療用光源部52に治療光Lの継続照射を行うかどうかを判断する。

[0026] 尚、治療用光源部52は、プロセッサ50に内蔵されていても、外付けであってもどちらであっても構わない。

[0027] また、治療用光源部52が外付けの場合、図示しないモニタに蛍光強度データを表示し、術者は、モニタに表示された蛍光強度データから、治療光Lの継続照射を行うかどうか判断してもよい。

[0028] 次に、図1の光照射システム100を用いた、P I Tの際の細胞Cに投与された蛍光薬剤20への治療光Lの照射方法について、図3を用いて説明する。

[0029] 図3は、図1の光照射システムを用いた治療光の照射方法を示すフローチャートである。

[0030] P I Tを行う際は、図3に示すように、先ず、ステップS1において、細胞Cに、図2に示す蛍光薬剤20を投与する薬剤投与ステップを行う。

[0031] 具体的には、被検体における細胞Cの位置に応じて、局所経路、注射、経口経路、眼経路、舌下経路、直腸経路、経皮経路、鼻腔内経路、膣経路、吸入経路等によって蛍光薬剤20を、例えば内視鏡1の対物光学系4の観察範囲Hにおいて投与する。尚、蛍光薬剤20の投与は、内視鏡1を用いた手法に限定されない。

[0032] 次いで、ステップS2において、対物光学系4の観察範囲Hかつ被検体内の細胞Cに照明光学系2から照明光Iを供給した状態において、細胞Cに対し、光強度（照射パワー密度）が $0\text{ mW}/\text{cm}^2$ より大きく $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ 以下の治療光Lを、治療用光源部52から治療光照射装置7を用いて、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射する光照射ステップを行う。

[0033] 尚、治療光Lを、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射するのは、日本国特開2017-71654号公報に開示された治療効果が発揮される最小照射総量条件に基づく。また、光強度が $0\text{ mW}/\text{cm}^2$ より大きく $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ 以下とする理由は後述する。

[0034] 尚、以下、ステップS3以下において、細胞Cに対する死滅割合である傷害発生割合（以下、細胞傷害割合（cellular cytotoxicity）と称す）を推定する手法を説明する。

[0035] これは、治療光Lである近赤外光を蛍光薬剤20の蛍光色素21に照射すると、蛍光色素21は、光を吸収した際、抗体22の分子を振動させるだけでなく上述したように蛍光を発する。尚、蛍光は、一定時間経過後、消滅する。よって、PITの最中またはPIT後に、蛍光消滅後の蛍光減少率をモニタリングすることによって、細胞傷害割合を推定することができるためである。

[0036] その後、ステップS3において、治療光Lが照射された後に、細胞Cから蛍光薬剤20への治療光Lの照射に伴って蛍光色素21から発生した蛍光を、対物光学系4を用いて撮像素子5が受光する受光ステップを行う。

[0037] 次いで、ステップS4において、治療光Lの照射を開始した後に、画像処理部53が、受光した蛍光の強度データを測定する蛍光強度測定ステップを

行う。

[0038] 尚、本実施の形態においては、蛍光強度測定ステップにおいて、蛍光の強度データの取得は、治療光Lを細胞Cに照射する治療中に行われる。

[0039] その後、ステップS5において、画像処理部53は、蛍光の強度データを所定の値と比較する比較ステップを行う。

[0040] 具体的には、画像処理部53は、取得した蛍光の強度データから、蛍光減弱割合（蛍光減少率）が、所定の値である、例えば約70%を超えたか比較する比較ステップを行う。

[0041] 次いで、ステップS6において、治療用光源部52から細胞Cに対して治療光Lが、所定の光量、具体的には、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射されたかを画像処理部53は判定する。

[0042] 一方、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射されていなければ、ステップS2～ステップS6を繰り返す。

[0043] 他方、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで治療光Lが照射されていれば、ステップS7に移行して、治療光Lが、 $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射されたことを術者に告知する告知ステップを行う。尚、具体的な告知方法としては、既知の音、光、表示等が挙げられる。

[0044] 続くステップS8では、画像処理部53は、治療光Lの照射後、一方、強度データから得た蛍光減少率が約70%よりも小さいときに約70%となるまで治療光Lを継続して照射すると判断して、治療用光源部52に指示を行い、他方、蛍光減少率が約70%に達したときは、更なる治療光Lの照射を不要と判断する判断ステップを行う。

[0045] 続くステップS9において、一方、蛍光減少率が約70%に達していなければ、治療効果が低いとして、ステップS2に戻り、ステップS2～ステップS9を繰り返す。

[0046] 他方、蛍光減少率が、約70%に達していれば、細胞Cに対する治療効果があった。即ち、細胞Cは死滅したと判断し、治療終了とみなし、治療光Lの照射を終了する。

[0047] 以上のように、取得した蛍光減少率から、細胞Cの死滅割合を推測できる。即ち、蛍光減少率のモニタリングにより、細胞Cの死滅割合をモニタリング出来る。

[0048] 次に、図3のステップS2の光照射ステップにおいて、細胞Cに対して光強度が 0 mW/cm^2 より大きく 50 mW/cm^2 以下とする理由と、図3のステップS5の比較ステップ及びステップS8、ステップS9の判断ステップにおいて、比較に用いる蛍光減少率を、約70%とした根拠を、図4、図5を用いて示す。

[0049] 図4は、細胞に対し、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光と、光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光とを照射した場合における蛍光減弱割合と細胞傷害割合との関係を示した図表、図5は、細胞に対し、光強度 25 mW/cm^2 の治療光と、光強度 50 mW/cm^2 の治療光と、光強度 100 mW/cm^2 の治療光と、光強度 300 mW/cm^2 の治療光とを照射した場合における光強度と細胞傷害割合との関係を示した図表である。

[0050] 先ず、図4における実験データの図表は、A431胆癌マウスに、蛍光薬剤20であるPan-IR700を投与し、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光Lと、光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光とを照射した場合の比較を示している。

[0051] 尚、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光Lを照射する場合でも、光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光Lを照射する場合でも、照射総量は同じである。即ち、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光Lを照射する場合は、光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光Lを照射する場合よりも細胞Cへの照射時間が長くなる。

[0052] また、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光Lを照射する場合と光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光Lを照射する場合とでは、蛍光発生量と、抗体22の振動量が異なることが分かっている。

[0053] 尚、抗体22の振動量とは、PITにおいて、治療光Lを、体内に投与した蛍光薬剤20に対して少なくとも 1 J/cm^2 まで照射した後、蛍光色素2

1 が光を吸収することによって抗体 2 2 の分子が振動する量を指す。

[0054] 細胞 C への治療光 L の照射後、蛍光減少率（蛍光減弱割合）と、細胞傷害割合とが比例関係にあれば、図 4 の 1 点鎖線 A に示すように、蛍光減少率が 100% であれば、細胞傷害割合は 100% となり、蛍光検出が出来なくなれば、細胞 C は全て消滅したと判断できるはずである。

[0055] しかしながら、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光 L を照射した場合を実線 B で示し、光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光 L を照射した場合を実線 D で示すが、実際は、蛍光減少率が、約 70%（70% 強）となれば、照射後、例えば内視鏡 1 を用いた観察の結果、細胞傷害割合は、100% となることが出願人の実験の結果分かった。

[0056] これが、図 3 のステップ S 5 の比較ステップ及びステップ S 8、ステップ S 9 の判断ステップにおいて、比較に用いる蛍光減少率を、約 70% とした根拠である。即ち、蛍光減少率が 70% となるまでモニタリングすれば、細胞 C は、死滅したと推測することができる。即ち、細胞 C の死滅割合をモニタリング出来る。

[0057] また、図 4 の実線 D に示すように、光強度 100 mW/cm^2 以上の治療光 L を照射した場合は、細胞傷害率が低い場合においても蛍光消失が見受けられ、蛍光減少率を測定しただけでは細胞傷害割合をモニタリングすることは出来ない。即ち、治療効果の指標として適さない。

[0058] しかしながら、図 4 の実線 B に示すように、光強度 50 mW/cm^2 以下の治療光 L を照射した場合は、1 点鎖線 A に示すような、蛍光消失と細胞傷害割合に線形関係が見られる。このため、蛍光減少率のモニタリングをすれば、細胞傷害割合をモニタリングできる、即ち、治療効果の指標として用いることができると考えられる。

[0059] これが、図 3 のステップ S 2 の光照射ステップにおいて、細胞 C に対して光強度が 0 mW/cm^2 より大きく 50 mW/cm^2 以下とする根拠である。

[0060] また、図 5 における実験データの図表は、A 4 3 1 胆癌マウスに、蛍光薬剤 20 である Pan-IR 700 を $300 \mu\text{g/mouse}$ にて投与し、投

与後、1日後に、図5に示す各照射強度で、それぞれ同じ総量（ $100\text{ J}/\text{cm}^2$ ）まで細胞Cに光照射し、さらに1日後に、腫瘍組織を摘出し、腫瘍断面の病理像から組織傷害割合を算出したものを示している。

[0061] 結果、図5に示すように、同一の照射エネルギー密度で比較すると、光強度が高い場合よりも光強度が低い場合のほうが、細胞傷害割合が大きいことが出願人の実験の結果分かった。

[0062] 具体的には、光強度 $25\text{ mW}/\text{cm}^2$ 、 $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ にて光照射をしたほうが、光強度 $100\text{ mW}/\text{cm}^2$ 、 $300\text{ mW}/\text{cm}^2$ にて光照射をするよりも、一定総量の場合、細胞傷害割合が大きいことが出願人の実験の結果分かった。

[0063] ここで、日本国特開2017-71654号公報に開示された内容を参酌すると、治療効果は、光強度に関係なく光照射総量に依存すると記載されているが、出願人の実験の結果では、光照射総量が一定でも、光強度が高いほど、細胞傷害割合が低くなることが分かった。

[0064] これが、図3のステップS2の光照射ステップにおいて、細胞Cに対して光強度が $0\text{ mW}/\text{cm}^2$ より大きく $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ 以下とする根拠である。

[0065] このように、本実施の形態においては、PITにおいて、細胞Cに治療光Lを照射する際、治療光Lの光強度は、 $0\text{ mW}/\text{cm}^2$ より大きく $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ 以下であるとし、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで細胞Cに光照射すると示した。

[0066] このことによれば、図4、図5に示すように、治療光Lの光強度を $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ 以下として、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで治療光Lを細胞Cに照射すれば、細胞傷害割合を、ほぼ100%とすることができることから、PITにおいてより高い細胞殺傷効果を期待できる。

[0067] また、従来よりも低い強度の治療光Lを細胞Cに照射したとしても、強度が低い分、生体への影響を小さくして、確実に細胞Cを死滅させることができる。

[0068] 以上から、PITにおいて、光照射により確実に癌細胞を死滅させること

ができる細胞に光を照射する方法を提供することができる。

- [0069] 尚、従来におけるPITにおいて、細胞Cが死滅されたか否かの確認は、後日、例えば内視鏡を用いた観察により行われ、治療効果が見られない場合は、再度PITを行っていた。
- [0070] PITにおいては、細胞Cに対して治療効果を十分発揮するためには、強度の大きな光を蛍光薬剤20に対して照射する必要がある。
- [0071] この際、細胞Cは、該細胞Cに結合した蛍光薬剤20が上述したように光を吸収するが、癌細胞周囲の正常細胞は光を反射してしまう。
- [0072] このため、治療光Lを照射している状態では、ハレーションが発生してしまい、蛍光薬剤20に対する治療光Lの照射位置を確認し難いばかりか、光照射と蛍光減少率のモニタリングとを同時に行うことは難しく、さらには蛍光減少率も検出し難いといった問題があった。
- [0073] このような問題は、光照射後の蛍光減少率の観察では発生しないが、上述した日本国特開2017-71654号公報において開示されているPITを行う際の条件では、蛍光減少割合と、細胞傷害割合、即ち治療効果とに相関関係がないことが分かっており、蛍光減少割合のモニタリングにより、治療効果をモニタリングすることは現状では困難であることも分かっている。
- [0074] さらには、上述した日本国特開2017-71654号公報には、治療効果は、光の照射総量に依存すると記載されているが、光照射総量を増やしただけでは、治療効果が上がらない、即ち、細胞傷害割合が増えないことが実験の結果、分かっている。
- [0075] よって、従来では、PIT後に、内視鏡等を用いて治療効果を観察せざるを得なかった。ところが、本実施の形態の構成によれば、従来よりも低い強度の治療光Lを細胞Cに照射できるため、対物光学系4、撮像素子5、画像処理部53を用いた蛍光強度測定を、治療光Lの照射に伴うハレーションの影響なくリアルタイムで行うことができる。
- [0076] このため、治療光Lの照射による細胞Cの治療と蛍光強度測定とを同時に行うことができる。さらには、細胞Cにおいて蛍光薬剤20が集積している

部位が視認しやすく、該部位に確実に治療光Lを照射できるため、確実な細胞Cに対する光治療を実施することができる。

[0077] さらに、図4に示すように、治療光Lの光強度を 50 mW/cm^2 以下とすれば、上述したように、蛍光減少率をモニタリングすれば、細胞傷害割合をモニタリングすることができる。

[0078] また、一定総量の照射後、モニタリングの結果、蛍光減少率が所定の値に達しない場合は、治療中において即座に、再度、細胞Cに治療光Lの照射を行うことが可能となる。

[0079] 以上から、上述の本実施の形態の効果に加え、さらに、PITにおいて、確実な光照射により癌細胞を死滅させることができるとともに、蛍光減少率のモニタリングにより治療効果のモニタリングが可能で、PIT再実施も即座に行える細胞に光を照射する方法を提供することができる。

[0080] 尚、以下、変形例を、図6を用いて示す。図6は、図3の蛍光強度測定ステップを、治療光を所定の光量まで照射した後に行う変形例を示すフローチャートである。

[0081] 上述した本実施の形態においては、蛍光強度測定ステップにおいて、蛍光の強度データの取得は、治療光Lを細胞Cに照射する治療中に行われると示した。

[0082] これに限らず、蛍光強度測定ステップにおいて、蛍光の強度データは、治療光Lを所定の光量まで照射した後、即ち、細胞Cの治療後に取得しても構わない。

[0083] 具体的には、図6に示すように、PITを行う際は、先ず、ステップS1において、細胞Cに、図2に示す蛍光薬剤20を投与する薬剤投与ステップを行う。

[0084] 次いで、ステップS2において、対物光学系4の観察範囲Hかつ被検体内の細胞Cに照明光学系2から照明光Iを供給した状態において、細胞Cに対し、光強度（照射パワー密度）が 0 mW/cm^2 より大きく 50 mW/cm^2 以下の治療光Lを、治療用光源部52から治療光照射装置7を用いて、少なく

とも $1 \text{ J} / \text{cm}^2$ まで照射する光照射ステップを行う。

[0085] その後、ステップ S 1 6 において、細胞 C に対して治療光 L が、所定の光量、具体的には、少なくとも $1 \text{ J} / \text{cm}^2$ まで照射されたかを画像処理部 5 3 は判定する。

[0086] 一方、少なくとも $1 \text{ J} / \text{cm}^2$ まで照射されていなければ、ステップ S 2、ステップ S 1 6 を繰り返す。

[0087] 他方、少なくとも $1 \text{ J} / \text{cm}^2$ まで治療光 L が照射されておれば、治療は終了し、ステップ S 1 7 に移行して、治療光 L が、 $1 \text{ J} / \text{cm}^2$ まで照射されたことを術者に告知する告知ステップを行う。尚、具体的な告知方法としては、既知の音、光、表示等が挙げられる。

[0088] その後、ステップ S 3 に移行し、細胞 C から蛍光薬剤 2 0 への治療光 L の照射に伴って蛍光色素 2 1 から発生した蛍光を、撮像素子 5 が受光する受光ステップを行う。

[0089] 次いで、ステップ S 4 において、画像処理部 5 3 が、蛍光の強度データを測定する蛍光強度測定ステップを行う。

[0090] その後、ステップ S 5 において、画像処理部 5 3 は、蛍光の強度データを所定の値と比較する比較ステップを行う。具体的には、画像処理部 5 3 は、蛍光の強度データから、蛍光減弱割合（蛍光減少率）が、所定の値である約 7 0 % を超えたか比較する比較ステップを行う。

[0091] 次いで、ステップ S 8 において、画像処理部 5 3 は、治療光 L の照射後、一方、強度データから得た蛍光減少率が約 7 0 % よりも小さいときに約 7 0 % となるまで治療光 L を再度照射すべきと判断して、治療用光源部 5 2 に指示を行い、他方、蛍光減少率が約 7 0 % に達したときは、更なる治療光 L の照射を不要と判断する判断ステップを行う。

[0092] 続くステップ S 9 において、一方、蛍光減少率が約 7 0 % に達していなければ、治療効果が低いとして、ステップ S 2 に戻り、ステップ S 2、ステップ S 1 6、ステップ S 1 7、ステップ S 3、ステップ S 4、ステップ S 5、ステップ S 8、ステップ S 9 を繰り返す。即ち、治療光の再照射を行う。

[0093] 他方、蛍光減少率が、約70%に達していれば、細胞Cに対する治療効果があった。即ち、細胞Cは死滅したと判断し、治療光Lの再照射は行わない。

[0094] 以上のように、蛍光の強度データは、細胞Cの治療後に取得しても、蛍光減少率から、細胞Cの死滅割合を推測できる。

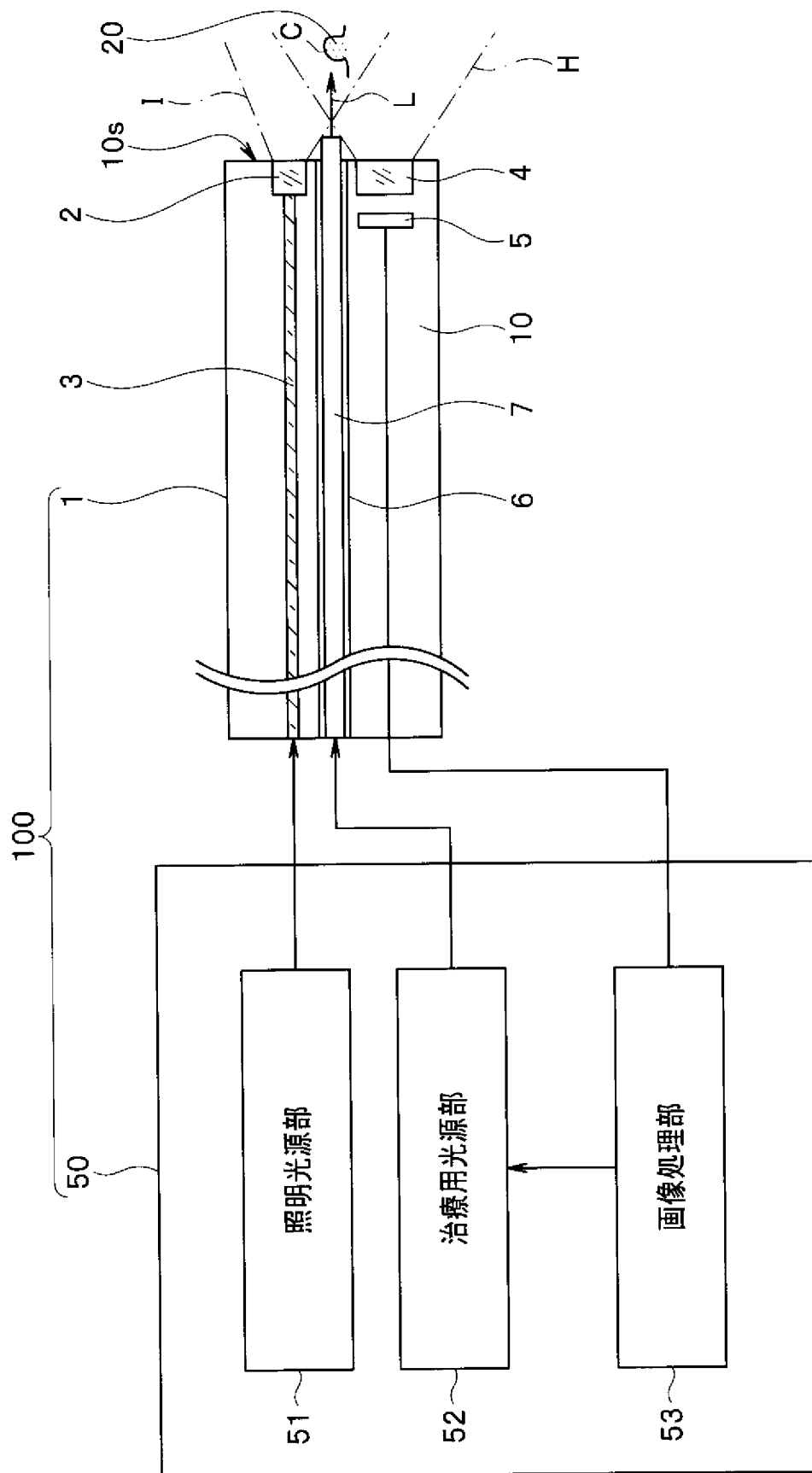
[0095] 即ち、蛍光減少率のモニタリングにより、細胞Cの死滅割合をモニタリング出来ることから、上述した本実施の形態と同様の効果を得ることができる。尚、その他の効果は、上述した本実施の形態と同じである。

[0096] なお、治療光Lは照射開始と同時に所定の光強度にする態様を記載したが、このような態様に限らず、たとえば照射開始から1分後に所定の光強度になるように徐々に光強度を増していく光照射方法でもよい。また、光照射を終えるときは照射終了1分前から徐々に光強度を低減させる光照射方法でもよい。徐々に光を増減させるほうが、正常細胞に対する傷害が少ないことが期待できる。

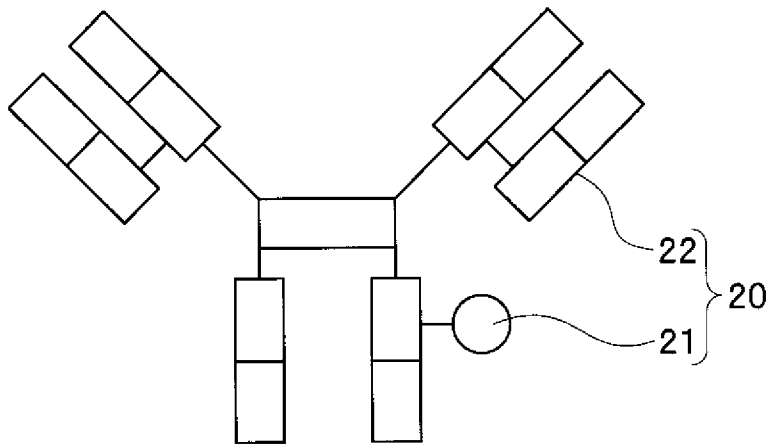
請求の範囲

- [請求項1] 細胞に蛍光薬剤を投与する薬剤投与ステップと、
前記細胞に光強度が $0\text{ mW}/\text{cm}^2$ より大きく $50\text{ mW}/\text{cm}^2$ 以下の所定の光を、少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射する光照射ステップと、
を有することを特徴とする細胞に光を照射する方法。
- [請求項2] さらに、前記生体に前記所定の光を少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで照射したことを告知する告知ステップを有することを特徴とする請求項1に記載の細胞に光を照射する方法。
- [請求項3] 前記所定の光が照射された後に、前記細胞から発生した蛍光を受光する受光ステップと、
前記所定の光の照射を開始した後に、前記蛍光の強度データを測定する蛍光強度測定ステップと、
前記蛍光の前記強度データを所定の値と比較する比較ステップと、
少なくとも $1\text{ J}/\text{cm}^2$ まで前記所定の光を照射後、前記強度データから得た蛍光減少率が前記所定の値よりも小さいときに前記所定の値まで前記所定の光を継続して照射すると判断し、前記蛍光減少率が前記所定の値に達したときに更なる前記所定の光の照射を不要と判断する判断ステップと、
をさらに有することを特徴とする請求項1に記載の細胞に光を照射する方法。
- [請求項4] 前記蛍光強度測定ステップにおいて、前記強度データは、前記所定の光を照射する治療中に取得することを特徴とする請求項1に記載の細胞に光を照射する方法。
- [請求項5] 前記蛍光強度測定ステップにおいて、前記強度データは、前記所定の光の照射を終了した治療後に取得することを特徴とする請求項1に記載の細胞に光を照射する方法。

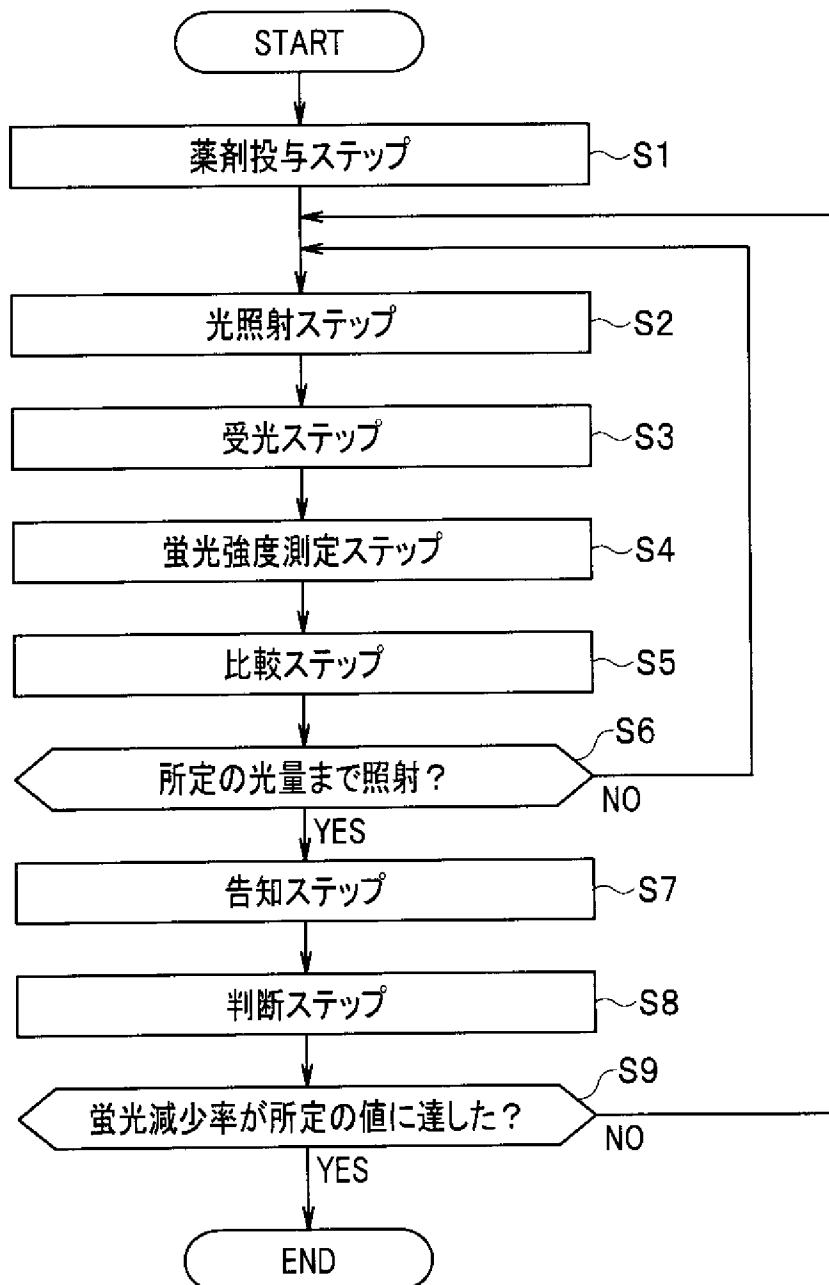
[図1]



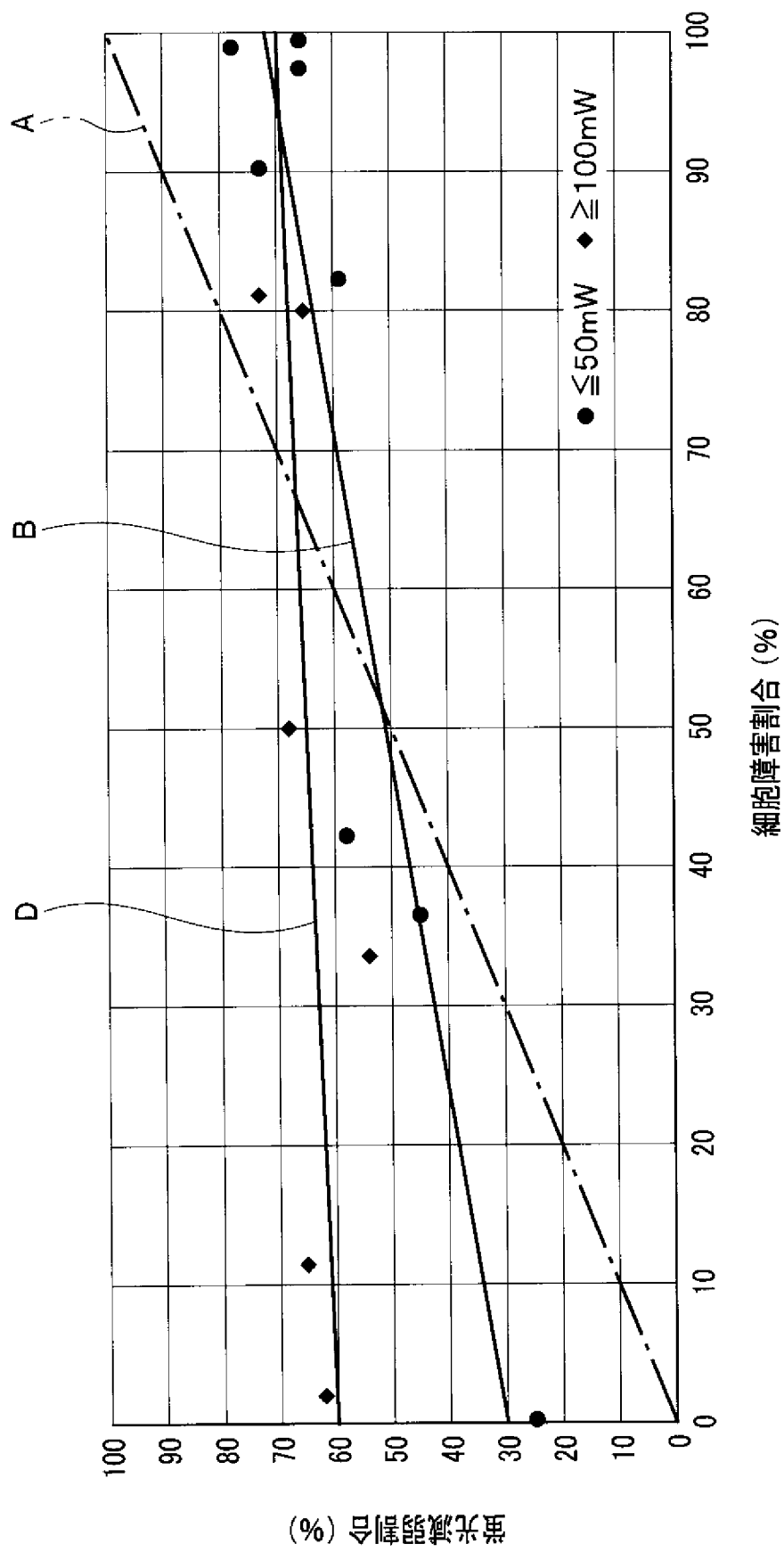
[図2]



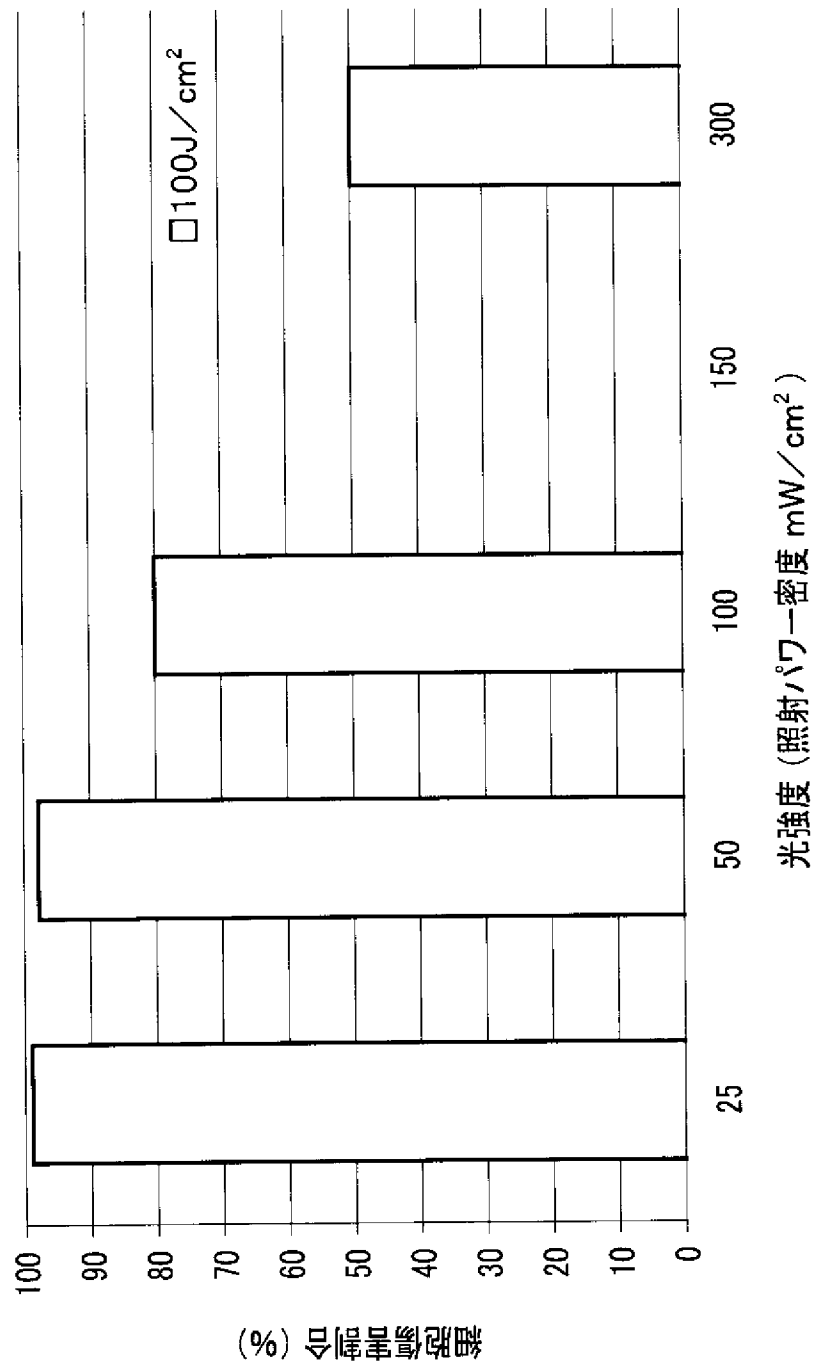
[図3]



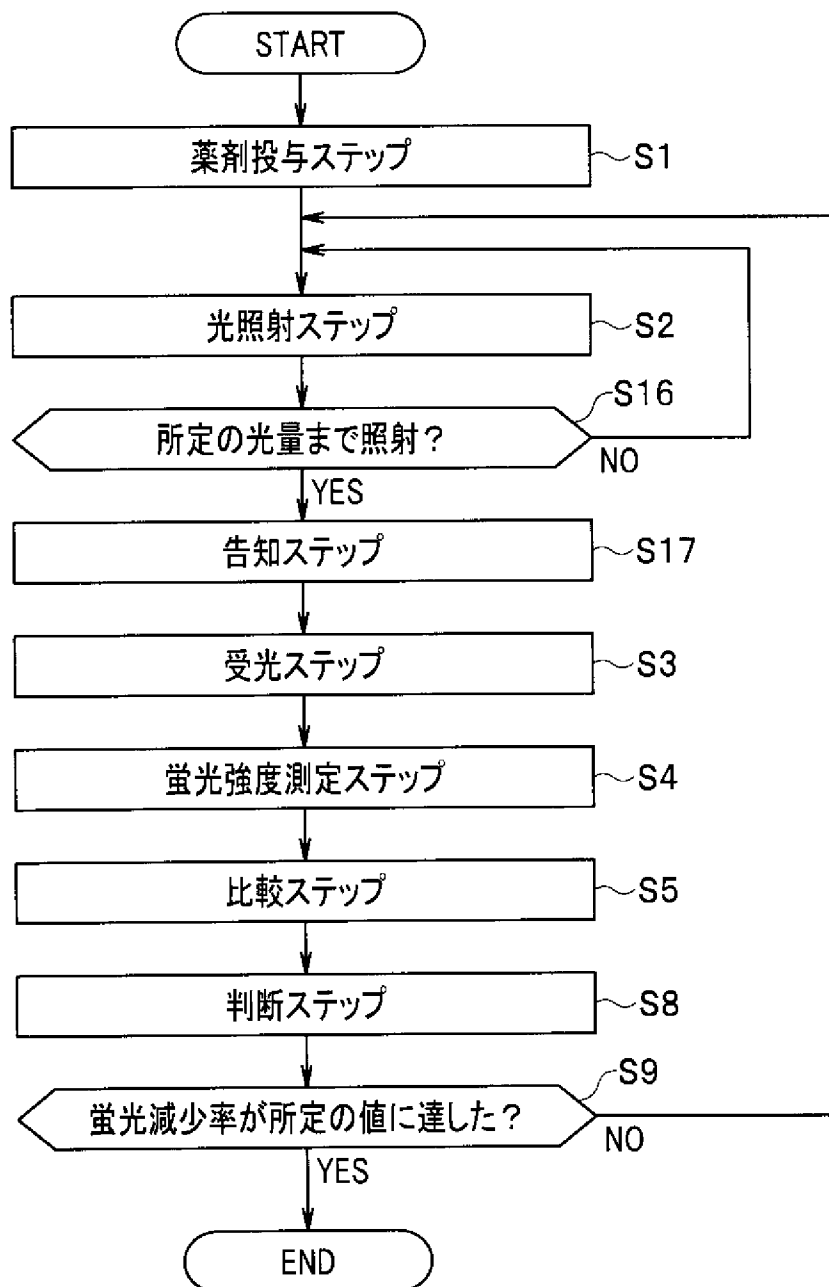
[図4]



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/035255

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61N5/06(2006.01) i, A61K41/00(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. A61N5/06, A61K41/00, A61M31/00, A61M37/00

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	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

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.
X Y	JP 2015-531619 A (CERCA SOLUTIONS, LLC.) 05 November 2015, paragraphs [0001], [0015]-[0101], fig. 1-35 & US 2014/0039322 A1, paragraphs [0003], [0177]-[0263], fig. 1-35 & WO 2014/022792 A1 & CN 104736044 A	1 2-5

☒ 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

"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
15 October 2019 (15.10.2019)

Date of mailing of the international search report
21 October 2019 (21.10.2019)

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/JP2019/035255

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 2000-515779 A (THERATECHNOLOGIES R & D INC.) 28 November 2000, page 6, lines 4-6, page 12, line 3 to page 25, line 4, fig. 1-13 & US 5798523 A, column 1, lines 7-10, column 4, line 54 to column 12, line 22, fig. 1-13b & WO 1998/003224 A1	2-5
Y	JP 2001-259057 A (TOSHIBA MEDICAL SUPPLY CO., LTD.) 25 September 2001, paragraphs [0001], [0007]-[0023], fig. 1-8 (Family: none)	2-5
A	JP 2013-208331 A (KEIO GIJUKU) 10 October 2013, entire text, all drawings (Family: none)	1-5
A	WO 2016/080096 A1 (SHARP CORP.) 26 May 2016, entire text, all drawings & JP 2018-65058 A & US 2017/0312537 A1 & CN 106999722 A	1-5
A	JP 2001-198230 A (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) 24 July 2001, entire text, all drawings (Family: none)	1-5

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. A61N5/06(2006.01)i, A61K41/00(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. A61N5/06, A61K41/00, A61M31/00, A61M37/00

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	1971-2019年
日本国実用新案登録公報	1996-2019年
日本国登録実用新案公報	1994-2019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
X Y	JP 2015-531619 A（セルカ ソリューションズ，エルエルシー） 2015.11.05，段落[0001]，段落[0015]－[0101]， [図1]－[図35] & US 2014/0039322 A1，段落[0003]，段落[0177] －[0263]，FIG.1－35 & WO 2014/022792 A1 & CN 104736044 A	1 2-5

☒ 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。

* 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

15.10.2019

国際調査報告の発送日

21.10.2019

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）

安田 昌司

31

4486

電話番号 03-3581-1101 内線 3386

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
Y	JP 2000-515779 A (セラテクノロジーズ アール アンド ディー インコーポレーテッド) 2000.11.28, 第6頁4-6行目, 第12頁 3行目-第25頁4行目, [図1] - [図13] & US 5798523 A, 第 1欄7-10行目, 第4欄54行目-第12欄22行目, FIG. 1- 13b & WO 1998/003224 A1	2-5
Y	JP 2001-259057 A (東芝医療用品株式会社) 2001.09.25, 段落 [0 001], 段落 [0007] - [0023], [図1] - [図8] (フ ァミリーなし)	2-5
A	JP 2013-208331 A (学校法人慶應義塾) 2013.10.10, 全文, 全図 (フ ァミリーなし)	1-5
A	WO 2016/080096 A1 (シャープ株式会社) 2016.05.26, 全文, 全図 & JP 2018-65058 A & US 2017/0312537 A1 & CN 106999722 A	1-5
A	JP 2001-198230 A (松下電器産業株式会社) 2001.07.24, 全文, 全 図 (ファミリーなし)	1-5