

(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  
2023年10月5日(05.10.2023)



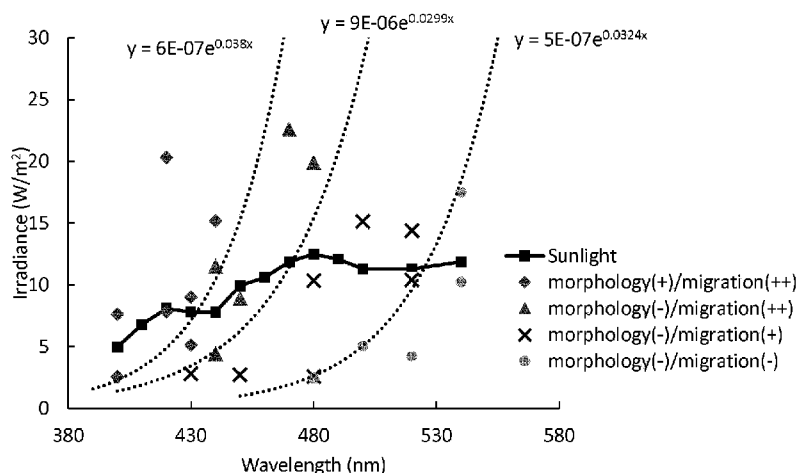
(10) 国際公開番号

WO 2023/189098 A1

- (51) 国際特許分類:  
CI2N 5/07 (2010.01) A61B 3/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2023/007185
- (22) 国際出願日: 2023年2月28日(28.02.2023)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2022-056705 2022年3月30日(30.03.2022) JP
- (71) 出願人: 東京都公立大学法人 (TOKYO METROPOLITAN PUBLIC UNIVERSITY CORPORATION) [JP/JP]; 〒1630926 東京都新宿区西新宿二丁目3番1号 Tokyo (JP). ホヤ レンズ タイランド リミテッド (HOYA LENS THAILAND LTD.) [TH/TH]; 12130 パトムタニ県タンヤブリ郡 プラチャティパット町ファホルヨティン ロード 8 5 3 Pathumthani (TH).
- (72) 発明者: 三好 洋美 (MIYOSHI Hiromi); 〒1920397 東京都八王子市南大沢一丁目1番地 東京都立大学 南大沢キャンパス内 Tokyo (JP). 井口 由紀 (IGUCHI Yuki); 〒1608347 東京都新宿区西新宿六丁目10番1号 H O Y A株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 福岡 昌浩, 外 (FUKUOKA Masahiro et al.); 〒1020072 東京都千代田区飯田橋四丁目6番1号 2 1 東和ビル3階 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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, 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,

(54) Title: METHOD FOR DETERMINING PROPERTIES OF LIGHT

(54) 発明の名称: 光の特性の決定方法



(57) **Abstract:** Provided is a method for determining the properties of light, the method having: a relationship acquisition step for obtaining, in advance, a relationship 1 between the wavelength and irradiance of light showing whether or not a morphological change is caused in ocular cells and a relationship 2 between the wavelength and irradiance of light showing whether or not migration of ocular cells is changed in a subject; a relationship selection step for selecting at least one of relationship 1 and relationship 2 in accordance with the degree 1 required for a morphological change and the degree 2 required for migration; and a determination step for determining the wavelength and irradiance of the light that should enter the eye of the subject on the basis of the selected relationship.



WO 2023/189098 A1

SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

---

(57) 要約: 対象者に対する、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1、及び、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性2を予め得る関係性取得工程と、形態変化に求められる度合い1、及び、遊走性に求められる度合い2に応じ、関係性1及び関係性2の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程と、選択された関係性に基づき、対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程と、を有する、光の特性の決定方法。を提供する。

## 明 細 書

発明の名称：光の特性の決定方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、光の特性の決定方法に関する。

### 背景技術

[0002] 特許文献1には、網膜色素上皮細胞（RPE）における光の影響について記載されている。RPEアポトーシスが、420、430、440及び450nm（415～455nm）を中心とする10nm帯域幅において極めて誘起されたことが記載されている。そして、有害な帯域の波長の光の透過を、選択的フィルタリング手段により阻止することが提案されている。

### 先行技術文献

#### 特許文献

[0003] 特許文献1：特許6773391号明細書

### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明者は、後発白内障等、水晶体上皮細胞の異常が原因で生じる症状、疾患等について研究した。なお、後発白内障とは以下の内容である。

[0005] 白内障発症後の患者の治療には白内障手術がある。一般的には濁った水晶体を切開した水晶体嚢内から除去し（超音波水晶体乳化吸引術）、代わりに眼内レンズを水晶体嚢内に挿入する。眼内レンズは一部切開された水晶体嚢により覆われる。

[0006] 術後は合併症が生じることがある。その一つとして術後、水晶体嚢に残っている水晶体上皮細胞等が、とくに眼内レンズの後面（眼内側の面であって眼前の物体側とは逆方向の面）と水晶体嚢との隙間において増殖することにより、水晶体嚢を濁らせ（後嚢混濁）更に進行して眼内への透光性を落とし視機能が低下することがあり、これを後発白内障という。その場合、代表的な治療法はYAGレーザーを用いて混濁を除去することである。

[0007] 日本においては2020年頃には白内障手術（水晶体再建術）の30%程度の件数の後発白内障治療のための手術が行われており、問題であると考えられている。また、水晶体上皮細胞の異常はそのほかの水晶体に関わる症状・疾患にも関連すると考えられる。

[0008] 後発白内障の一因である水晶体上皮細胞に関し、各個人（以降、対象者（Subject）ともいう。）の生活環境において、即ち対象者の眼にどのような特性の光が入射することによって水晶体上皮細胞に変化が起こるのか又はどのように変化するのか、を知ることは非常に有意であることを、本発明者は知見した。

[0009] この知見に基づき、本発明者は、眼に入る光の特性（例えば光の波長と放射照度）が水晶体上皮細胞に与える影響を調査した。その結果、眼に入る光の特性によっては、水晶体上皮細胞に形態変化や形態異常（Irregular morphology）をもたらし得ること、そして水晶体上皮細胞の遊走性（Migration）を変化させ（例えば低下させ）得ることを知見した。更に、水晶体上皮細胞以外の眼に係る細胞（以降、眼細胞（Ocular cells）と称する。眼細胞の具体例は後述。）に関しても該知見を適用可能であることを知見した。

[0010] 本発明の一実施例は、眼細胞の形態変化及び遊走性の変化と光の特性との関係に基づき、眼に入射させる光の特性を決定することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0011] どのような特性の光が眼に入ると眼細胞に形態変化をもたらされるのか、及び、どのような特性の光が眼に入ると眼細胞の遊走性が変化するかについて、対象者が予め把握しておくことは有意である。

[0012] 上記各知見に基づき鋭意検討を加えた結果、対象者の眼に対してどのような特性の光を入射させるべきかを決定する手法を想到した。この知見に基づき創出されたのが以下の各態様である。

[0013] 本発明の第1の態様は、  
対象者に対する、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と

放射照度との関係性 1、及び、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性 2 を予め得る関係性取得工程と、

前記形態変化に求められる度合い 1、及び、前記遊走性に求められる度合い 2 に応じ、前記関係性 1 及び前記関係性 2 の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程と、

前記選択された関係性に基づき、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程と、

を有する、光の特性の決定方法である。

[0014] 本発明の第 2 の態様は、

前記関係性 1 は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分けるプロット 1 であり、

前記関係性 2 は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分けるプロット 2 である、第 1 の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0015] 本発明の第 3 の態様は、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット 1 は前記プロット 2 の短波長側にあり、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット 1 によって、前記形態変化をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域 1 に区分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット 2 によって、前記遊走性の変化をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域 2 に区分けされ、

前記関係性選択工程においては、前記プロット 1 及び前記プロット 2 を選択し、

前記関係性選択工程後、前記領域 1 から一つの領域を選択し、且つ、前記領域 2 から一つの領域を選択する領域選択工程を更に有し、

前記領域選択工程においては、以下の (1) 及び (2) の少なくとも (1

)を行い、(1)前記形態変化をもたらさない側の領域を前記領域1から選択する。

(2)前記遊走性の変化をもたらさない側の領域を前記領域2から選択する。

前記決定工程においては、選択された各領域に共通して属する光の波長と放射照度とを、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度として得る、第2の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0016] 本発明の第4の態様は、

前記プロット2に加え、前記領域2における前記遊走性の変化をもたらす側の領域を、前記遊走性の変化の程度に応じて更に区分けするプロット3を、前記関係性取得工程にて更に得る、第3の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0017] 本発明の第5の態様は、

前記プロット1、2は、前記対象者が所在する地域情報に基づき作成される、第2～第4の態様のいずれか一つに記載の光の特性の決定方法である。

[0018] 本発明の第6の態様は、

前記眼細胞は、水晶体上皮細胞、網膜色素上皮細胞、角膜内皮細胞、角膜上皮幹細胞、又は結膜下線維芽細胞である、第1～第5の態様のいずれか一つに記載の光の特性の決定方法である。

[0019] 本発明の第7の態様は、

対象者に対する、

・眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1

・眼細胞の遊走性を变化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性2

・眼細胞の浸潤性を亢進させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性3

のうち少なくともいずれかを予め得る関係性取得工程と、

前記形態変化に求められる度合い 1、前記遊走性に求められる度合い 2、及び、前記浸潤性に求められる度合い 3 の少なくともいずれかに応じ、前記関係性 1、前記関係性 2 及び前記関係性 3 の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程と、

前記選択された関係性に基づき、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程と、

を有する、光の特性の決定方法である。

[0020] 本発明の第 8 の態様は、

前記関係性 1 は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分けるプロット 1 であり、

前記関係性 2 は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分けるプロット 2 であり、

前記関係性 3 は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の浸潤性を亢進させるか否かを分けるプロット 4 である、第 7 の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0021] 本発明の第 9 の態様は、

前記関係性取得工程では少なくとも前記関係性 3 を予め得、前記関係性選択工程では少なくとも前記関係性 3 を選択する、第 7 又は第 8 の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0022] 本発明の第 10 の態様は、

前記関係性取得工程では前記関係性 1～3 を予め得、前記関係性選択工程では前記関係性 1～3 を選択する、第 7 又は第 8 の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0023] 本発明の第 11 の態様は、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット 1 は前記プロット 2 の短波長側にあり、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット 1 によって、前記形態変化をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域 1 に区

分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット2によって、前記遊走性の変化をもたらす領域ともたらしめない側の領域とからなる複数の領域2に区分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット4によって、前記浸潤性の亢進をもたらす領域ともたらしめない側の領域とからなる複数の領域4に区分けされ、

前記関係性選択工程においては、前記プロット1、前記プロット2、及び前記プロット4を選択し、

前記関係性選択工程後、前記領域1から一つの領域を選択し、且つ、前記領域2から一つの領域を選択し、且つ、前記領域4から一つの領域を選択する領域選択工程を更に有し、

前記領域選択工程においては、以下の(1)～(3)のうち少なくとも(1)を行い、

(1) 前記形態変化をもたらさない側の領域を前記領域1から選択する。

(2) 前記遊走性の変化をもたらさない側の領域を前記領域2から選択する

。

(3) 前記浸潤性の亢進をもたらさない側の領域を前記領域4から選択する

。

前記決定工程においては、選択された各領域に共通して属する光の波長と放射照度とを、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度として得る、第10の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0024] 本発明の第12の態様は、

前記プロット2に加え、前記領域2における前記遊走性の変化をもたらす側の領域を、前記遊走性の変化の程度に応じて更に区分けするプロット3を、前記関係性取得工程にて更に得る、第11の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0025] 本発明の第13の態様は、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット4は前記プロット3の短波長側にあり且つ前記プロット2の長波長側にある、第12の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0026] 本発明の第14の態様は、

少なくとも前記プロット1、2、4は、前記対象者が所在する地域情報に基づき作成される、第10の態様に記載の光の特性の決定方法である。

[0027] 本発明の第15の態様は、

前記眼細胞は、水晶体上皮細胞、網膜色素上皮細胞、角膜内皮細胞、角膜上皮幹細胞、又は結膜下線維芽細胞である、第7～第14の態様のいずれか一つに記載の光の特性の決定方法。

### 発明の効果

[0028] 本発明の一実施例によれば、眼細胞の形態変化及び遊走性の変化と光の特性との関係に基づき、光の特性を決定できる。

### 図面の簡単な説明

[0029] [図1]図1は、水晶体前面における太陽光（AM1.5且つ角膜透過後）の分光放射照度（Spectral irradiance）（縦軸：単位は $W/m^2/nm$ ）と波長（横軸：単位は $nm$ ）を示すプロットである。

[図2]図2は、実験に用いた各LED光（半値幅20nm前後）の放射照度（縦軸：単位は $W/m^2$ ）と波長（横軸：単位は $nm$ ）を示すプロットである。同条件の帯域ごとの水晶体前面太陽光も参考として該プロットに掲載している。

[図3]図3は、定性的評価における観察結果を示す写真であり、(a)の光照射条件は波長430nm且つ放射照度 $9.0W/m^2$ 、(b)の光照射条件は波長430nm且つ放射照度 $5.1W/m^2$ 、(c)の光照射条件は波長450nm且つ放射照度 $4.6W/m^2$ である。

[図4]図4は、実験に用いた各LED光（半値幅20nm前後）の放射照度（縦軸：単位は $W/m^2$ ）と波長（横軸：単位は $nm$ ）との関係において、水晶体上皮細胞の形態変化の態様ごとにまとめたプロットである。同条件の帯域

ごとの水晶体前面太陽光も参考として該プロットに掲載している。

[図5]図5は、水晶体上皮細胞の円形度及びアスペクト比を説明する図である。面積を $S$ 、周長を $L$ としたとき、本明細書では円形度は $2\pi S/L^2$ とする。水晶体上皮細胞をImageJにて楕円近似したときの長軸を $a$ 、短軸を $b$ としたとき、本明細書ではアスペクト比を $a/b$ とする。

[図6]図6は、定量的評価の結果を示す棒グラフであり、(a)は面積 $S$ 、(b)は円形度、(c)はアスペクト比のグラフである。

[図7]図7は、多数の細胞を有する面上に所定幅のギャップ(傷)を形成するために使用したウェルの平面視概略図である。

[図8]図8は、波長430nm且つ放射照度9.0W/m<sup>2</sup>のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、(a)は0h(光照射開始直後)、(b)は光照射開始から24h後、(c)は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

[図9]図9は、波長430nm且つ放射照度5.1W/m<sup>2</sup>のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、(a)は0h(光照射開始直後)、(b)は光照射開始から24h後、(c)は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

[図10]図10は、波長430nm且つ放射照度2.7W/m<sup>2</sup>のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、(a)は0h(光照射開始直前)、(b)は光照射開始から24h後、(c)は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

[図11]図11は、波長470nm且つ放射照度2.5W/m<sup>2</sup>のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、(a)は0h(光照射開始直後)、(b)は光照射開始から24h後、(c)は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

[図12]図12は、ギャップのエッジ間の距離(単位:μm)と光照射開始からの時間(横軸:単位はh)との関係において、波長ごとにまとめたプロットである。該プロットの傾きは、距離/時間であり、水晶体上皮細胞の遊走

速度を表す。

[図13]図13は、ギャップ閉塞の際の遊走性の減少率の分布を示すヒストグラムである。

[図14]図14は、実験に用いた各光源（半値幅10nm）の放射照度（縦軸：単位は $W/m^2$ ）と波長（横軸：単位はnm）との関係において、水晶体上皮細胞の形態変化の態様と遊走性変化の態様とをひとまとめにしたプロットである。太陽光も参考として該プロットに掲載している。

[図15]図15は、光照射無しNCのときに眼細胞が開口部を通過する様子を示す平面図であり、(a)は0h（光照射開始直後）、(b)は光照射開始から10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後の様子を示す写真である。

[図16]図16は、光照射無しNCのときに眼細胞が浸潤（溝内）をする様子を示す平面図であり、(a)は0h（光照射開始直後）、(b)は光照射開始から10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後の様子を示す写真である。

[図17]図17は、光照射無しNCのときに眼細胞が不完全な浸潤挙動（浸潤失敗）をする様子を示す平面図であり、(a)は0h（光照射開始直後）、(b)は光照射開始から10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後、(g)は光照射開始から60分後、(h)は光照射開始から70分後の様子を示す写真である。

[図18]図18は、光照射無しNCのときに眼細胞が浸潤（溝から這い上がる）をする様子を示す平面図であり、(a)は0h（光照射開始直後）、(b)は光照射開始から10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後、(g)は光照射開始から60分後の様子を示す写真であ

る。

[図19]図19は、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4を示す図である。

[図20]図20は、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長430～460nmにおける結果を示す図である。

[図21]図21は、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長480nmにおける結果を示す図である。

[図22]図22は、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長500nmにおける結果を示す図である。

[図23]図23は、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長520nmにおける結果を示す図である。

[図24]図24は、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長540nmにおける結果を示す図である。

[図25]図25は、 $1.4 \sim 1.5 \text{ W/m}^2$ の低放射照度の場合の、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの結果を示す図である。

[図26]図26は、 $3.2 \sim 5.5 \text{ W/m}^2$ の中放射照度の場合の、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの結果を示す図である。

[図27]図27は、 $7.5 \text{ W/m}^2$ 以上の高放射照度の場合の、浸潤（溝内）を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの結果を示す図である。

[図28]図28は、通過数を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの結果を示す図である。

[図29]図29は、不完全な浸潤挙動（浸潤失敗）数を縦軸とし、溝の幅 $w$ （

$\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

[図30]図30は、浸潤（溝から這い上がる）数を縦軸とし、溝の幅 $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

[図31A]図31Aは、実験に用いた各光源（半値幅10nm）の放射照度（縦軸：単位は $\text{W}/\text{m}^2$ ）と波長（横軸：単位はnm）との関係において、水晶体上皮細胞の浸潤性変化の態様のプロットである。太陽光も参考として該プロットに掲載している。図31Aは、溝の幅 $w$ を8.9 $\mu\text{m}$ としたときの図である。

[図31B]図31Bは、実験に用いた各光源（半値幅10nm）の放射照度（縦軸：単位は $\text{W}/\text{m}^2$ ）と波長（横軸：単位はnm）との関係において、水晶体上皮細胞の浸潤性変化の態様のプロットである。太陽光も参考として該プロットに掲載している。図31Bは、溝の幅 $w$ を9.6 $\mu\text{m}$ としたときの図である。

### 発明を実施するための形態

[0030] {実施形態1}

[知見の詳細]

本発明の一実施例を創出のきっかけとなった知見は、以下の試験により得られた。

[0031] <使用した細胞>

以下の観点から、本発明の一実施例に使用する細胞を選択した。

[0032] 最初に、前記全工程において水晶体上皮細胞が変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度の関係性を調べるため、試験に使う水晶体上皮細胞の種類を決定する。なお以降、光の波長と放射照度の組み合わせを「照射条件」と呼ぶ。ヒトの水晶体上皮細胞に関係する症状・疾患の問題を解決するためには、ヒト初代水晶体上皮細胞を用いて関係性取得するのが好ましい。

[0033] しかし、ヒト初代細胞は、ドナーごとに性質が異なること、細胞分裂の回数が限られること、分裂回数ごとに性質が変化するために評価結果の再現性の担保が容易ではないという科学的な問題と、細胞そのもの、細胞の培養に

必要な試薬等全体的に高価で経済性が悪いという問題、更に入手が容易ではない、という欠点がある。

[0034] そのため、ヒト株化細胞を用いて関係性を取得するのが、次に好ましい。株化細胞にも種類があるため、初期データを得たのちは複数種類で妥当性検討するのがより好ましい。また、更にその際は、関係性の妥当性を、ヒト初代細胞を用いて最終確認するのが好ましい。この際は複数ドナー由来のヒト初代細胞を用いることが更に好ましい。更に好ましくは対象者の白内障手術の際に、対象者の水晶体上皮細胞を同時に取得し、その光に対する特性（耐性）を確認するのが好ましい。

[0035] より入手・扱いの容易さ、経済性を考慮する場合、動物細胞を使用することもできる。この場合も関係性取得後、ヒト細胞を用いて妥当性を検討するのが好ましい。動物細胞の種類を選択する場合、ヒトと近い性質を持つ種を選ぶのが好ましい。

[0036] 以上の観点に基づいて本発明の一実施例として選択された細胞の培養（Cell culture）に関する内容は、以下の通りである。

[0037] 細胞（Cell）は、ヒト水晶体上皮細胞SRA01/04（RCB1591, RIKEN BRC）を使用した。

[0038] 試薬（Reagents）は、以下の通りである。

・D-MEM（Low Glucose, 041-29775, Wako）  
+20%ウシ胎児血清（FBS, gibco, 10437028）+100 units/mL Penicillin and 100 $\mu$ g/mL Streptomycin（P/S, Gibco, 15140-122）（以降、単に「培養液」ともいう。）

・リン酸緩衝液（PBS（-）溶液, Nacalai Tesque, 07269-84）

・Trypsin/EDTA solution 0.25% 溶液（Sigma, T4049）

[0039] 細胞の継代（Sub-culturing）は80~100%コンフルエ

ントに達した段階で行った。60mmディッシュ内の培養培地をアスピレータで除去し、PBS(-)溶液を用いて洗浄した。その後、Trypsin/EDTA溶液を1mL添加し、37℃、5%CO<sub>2</sub>下で3分静置して細胞をディッシュから剥離させた。

[0040] 培養培地を添加することによって、Trypsin/EDTA溶液の反応を停止させ、5分間遠心分離させた(使用した装置はLY3690-A000, Kubota)。上清を、アスピレータを用いて除去し、培養培地を添加して細胞懸濁液を作製した。セルカウントを行った後、35mm又は60mmディッシュに細胞を5.0×10<sup>4</sup>Cells/mlで播種した。培地交換は2、3日毎に行った。

[0041] <使用した光源及び光照射条件>

光照射(Light irradiation)に関する内容は、以下の通りである。

[0042] 光照射に用いた機器を、以下に列挙する。

- ・LEDコントローラー(CL-1501, ASAHI SPECTRA)
- ・LEDヘッド 430-900B(CL-H1-430-9-1-B, ASAHI SPECTRA)
- ・LEDヘッド 450-900B(CL-H1-450-9-1-B, ASAHI SPECTRA)
- ・LEDヘッド 470-900B(CL-H1-470-9-1-B, ASAHI SPECTRA)
- ・LEDヘッド 505-900B(CL-H1-505-9-1-B, ASAHI SPECTRA)
- ・LEDヘッド 590-900B(CL-H1-590-9-1-B, ASAHI SPECTRA)
- ・LEDヘッドカバーガラス(CL-H1GCQ01, ASAHI SPECTRA)

[0043] 光照射条件(Irradiance condition)は、以下の通

りである。

[0044] 細胞培養環境下（気温 37℃、CO<sub>2</sub>の濃度を 5%とした大気雰囲気下）で細胞培養面 15cm 上部から光照射を行った。その際、光照射において、同じ波長であっても照射する光の強さによって細胞に与える影響が異なる予想された。そのため、複数の LED ヘッドを使用しつつコントローラーで強度で実験ごとに変化させ、各実験を行った。LED コントローラーの強度と各波長における放射照度との関係を表 1 に示す。

[表1]

Intensity setting 強度 (%)	波長 (nm) Wave length	放射照度 (W/m <sup>2</sup> ) Irradiance				
		430	450	470	505	590
5	0.6	1.3	0.6	0.5	0.2	
10	1.1	1.9	1.1	1	0.3	
25	2.7	4.6	2.5	2.4	0.8	
50	5.1	9	4.1	4.3	1.6	
75	7.2	12.4	5.7	5.9	2.2	
100	9.1	15.8	6.9	7.4	2.7	

[0045] 図 1 は、水晶体前面における太陽光（AM 1.5 且つ角膜透過後）の分光放射照度（縦軸：単位は W/m<sup>2</sup>/nm）と波長（横軸：単位は nm）を示すプロットである。

図 2 は、実験に用いた各 LED 光（半値幅 20 nm 前後）の放射照度（縦軸：単位は W/m<sup>2</sup>）と波長（横軸：単位は nm）を示すプロットである。同条件の帯域ごとの水晶体前面太陽光も参考として該プロットに掲載している。

AM はエアマスと呼ばれ、太陽光が地表に対して垂直に入射している場合を基準（AM 1）としたときの太陽光の経路に対する比であり、日本の緯度では通常だと AM 1.5 が採用される。

[0046] 複数回の試験のうち、一部の試験では、波長は 430 nm で統一し、放射照度のみを変えた。用いた放射照度は、LED コントローラー強度 100%（約 9 W/m<sup>2</sup>）、75%（約 7.2 W/m<sup>2</sup>）、50%（約 5.1 W/m<sup>2</sup>）

、25% (約2.7 W/m<sup>2</sup>) である。光照射時間は24時間とした。

[0047] 複数回の試験のうち、別の一部の試験では、放射照度を2.4~2.7 W/m<sup>2</sup>とし、波長のみを変えた。用いた波長は430 nm、450 nm、470 nm、505 nm、590 nmの5つである。光照射時間は波長430 nm、450 nmだと24時間とし、波長470 nm、505 nm、590 nmだと48時間とした。

[0048] <細胞外形評価 (Evaluation of cell peripheral shape) >

最初に、対象者に対する、眼細胞（以降、水晶体上皮細胞を例示）の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1を調査した。関係性1は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分けるプロット1であってもよい。関係性1は、プロットの形に具体化していることには限定されず、データとして入手してもよい。

[0049] 関係性1を得るべく、水晶体上皮細胞の形態変化について定性的評価及び定量的評価を行った。定性的評価及び定量的評価に係る試験においては、90~100%コンフルエントに達した細胞に光を照射した。

[0050] (定性的評価)

所定の波長且つ所定の放射照度での光照射後に細胞膜染色 (Cell membrane staining) を行った。アスピレータを用いて上清を取り除き、培養培地に0.1% CellMask Orange Plasma Membrane Stains (C10045, Life Technologies) を0.5 ml 添加し、37℃、CO<sub>2</sub>濃度を5%とした大気雰囲気下で10分間静置した。その後、アスピレータで上清を取り除いて培地を2 ml 添加し、同じく37℃、CO<sub>2</sub>濃度を5%とした大気雰囲気下で10分間静置するという操作を3回繰り返した。その後、細胞を観察した。

[0051] 細胞の観察には、蛍光顕微鏡法 (Fluorescent microscopy) を採用した。具体的には、染色した細胞を、倒立顕微鏡 (FSX

100, OLYMPUS) を用いて10倍 (NA=0.55, OLYMPUS) で撮影した。

[0052] 図3は、定性的評価における観察結果を示す写真であり、(a)の光照射条件は波長430nm且つ放射照度9.0W/m<sup>2</sup>、(b)の光照射条件は波長430nm且つ放射照度5.1W/m<sup>2</sup>、(c)の光照射条件は波長450nm且つ放射照度4.6W/m<sup>2</sup>である。

[0053] 図3(a)の水晶体上皮細胞は断片化及び収縮化している。図3(b)の水晶体上皮細胞は収縮化している。つまり、図3(a)及び図3(b)の水晶体上皮細胞ではアポトーシスが進行している。図3(c)の水晶体上皮細胞の形態は変化していない。

[0054] 図4は、実験に用いた各LED光(半値幅20nm前後)の放射照度(縦軸:単位はW/m<sup>2</sup>)と波長(横軸:単位はnm)との関係において、水晶体上皮細胞の形態変化の様態ごとにまとめたプロットである。同条件の帯域ごとの水晶体前面太陽光も参考として該プロットに掲載している。

[0055] (定量的評価)

定性的評価で使用した水晶体上皮細胞とは別に用意した水晶体上皮細胞に対し、定性的評価で観察用の水晶体上皮細胞を得たのと同じ条件で培養を行い、定量的評価用の水晶体上皮細胞を得た。この水晶体上皮細胞に対し、細胞外形の定量解析(Quantitative analysis of cell peripheral shape)を行った。

[0056] FSX100を用いて撮影した細胞の染色画像に対し、画像解析ソフト(ImageJ)を用いて形状を測定した。無作為に30個の細胞を選択し、手動でそれぞれの細胞膜の輪郭を抽出し、形状を測定した。

[0057] 測定される形状のパラメータとして、細胞膜の面積(Area)、円形度(Circularity)、アスペクト比(Aspect Ratio)を算出した。

[0058] 図5は、水晶体上皮細胞の円形度及びアスペクト比を説明する図である。面積をS、周長をLとしたとき、本明細書では円形度は $2\pi S/L^2$ とする。

水晶体上皮細胞を Image J にて楕円近似したときの長軸を a、短軸を b としたとき、本明細書ではアスペクト比を  $a/b$  とする。

[0059] 正常な細胞を示す図 3 (c) では円形度は 0.63、アスペクト比は 1.8、面積は  $4.0 \times 10^{-9} \text{m}^2$  だった。

その一方、形態変化が生じた細胞を示す図 3 (a) では円形度は 0.21、アスペクト比は 1.8、面積は  $2.1 \times 10^{-9} \text{m}^2$  だった。

形態変化が生じた細胞を示す図 3 (b) では円形度は 0.51、アスペクト比は 1.1、面積は  $2.4 \times 10^{-9} \text{m}^2$  だった。

[0060] 定量的評価に伴い、対象者に対する、水晶体上皮細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性を得るため、形態変化をもたらすか否か評価するための評価指標 (metrics) の決定を行う。ちなみに、試験に使用する細胞は種類によって形態が異なるため、形態変化の指標をその細胞の種類に合わせて評価し決定するのがよい。

[0061] 評価指標の決定の一具体例としては、下記のような測定項目の候補が考えられ、複数を組み合わせることも可能である。

<1>顕微鏡像の階調スケールリング

<2>細胞膜の蛍光染色と蛍光顕微鏡像のコンピュータソフトウェアによる画像判定

a. 細胞膜外周及び細胞伸展面積の自動計測による円形度判定

b. 細胞形状のアスペクト比判定

[0062] 顕微鏡像の階調のスケールリングでは、顕微鏡像等から 2-5 段階程度にスケールリングを行うのが現実的である。上記<2>のソフトウェアによる画像判定では、細胞部分と背景の差を認識させ、細胞の面積、外周長、各 2 点間の距離の測定を行う。このとき、細胞の形態のばらつきを考慮し、任意の複数視野の顕微鏡像に対して測定を行う。

[0063] 初期の光照射条件実験 (preliminary feasibility study) で得られた結果 (実験初期状態の結果) をもとに、使用する測定項目を選択する。その際は、一般的に知られている異常な状態におけ

る、初期のテスト光照射条件実験で得られた結果をもとに、変化を鋭敏にとらえられる測定項目を選択する。更にその選択した測定項目における、異常な状態を定義し、評価指標とする。なお初期の光照射条件実験の結果をもとに、形態変化を観察する光の照射時間、休止時間、観察を行うタイミング等も決定する。

[0064] 評価指標の決定の一例は以下の通りである。以下の表2は暗所での形態異常細胞の比率（ネガティブコントロール）を調べたものである。

[表2]

Negative control		N=10	
	All cells	Abnormal cells	Abnormal rate
1	97	8	8.25
2	111	6	5.41
3	187	7	3.74
4	115	4	3.48
5	194	7	3.61
6	185	3	1.62
7	136	9	6.62
8	214	5	2.34
9	170	5	2.94
10	176	10	5.68
Average	158.5	6.4	4.37
		Unbiased dispersion	4.26

表2を見ると、光を照射しない場合であってもアポトーシスあるいはアポトーシスに類する形態異常は発生していることがわかる。その比率はおおむね平均4.37% 不偏分散は4.26 (S2)であった。

[0065] そこで、本実施形態においては、形態異常の細胞が20%あるときは、暗所条件とは異なる状態、光毒性が発生している状態とみなすこととした。この値は5%優位水準 (t分布 (自由度 (n-1) : 9, のとき t = 1.833)) よりも十分大きい値である (t検定)。

[0066] 次にその評価指標を用い、水晶体上皮細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性 1 を明らかにする。そのためには、異なる光の波長と放射照度の条件で、決めたタイミングでの形態の変化を観察し、各ポイントにおいて形態異常が起こったか否かをプロットする。このようなプロットを作用スペクトル (Action spectrum) と呼ぶ。

[0067] そのプロットより、形態異常をもたらす範囲と、もたらさない範囲をおおまかに決定する。つぎにそれら範囲の境界線を仮に決め、境界に位置するポイント群から、境界線を決定する。決定方法としては最小二乗法等がある。この境界線が関係性 1 を示すプロットである。

[0068] なおこのように境界線を決定可能な理由は、通常、より短い波長の光（その波長の光子 1 個が持つエネルギーが大きく、低い放射照度でも物質の化学変化を引き起こす）、より高い放射照度の方がより強い異常を引き起こすという原理原則があるためである。

[0069] なお、ここでは無光照射の状態を比較対象（基準）に「形態異常をもたらすかどうか」という観点で評価の説明をしたが、この他に、無照射と比較して、形態がより良いと推定される状態（細胞の円形度が良い状態等）になる光照射条件があることがあり、異常をもたらさず、かつ、より望ましい状態が得られる関係性 1 もある。

[0070] 上記作用スペクトルを用いて定量的評価を行った。

図 6 は、定量的評価の結果を示す棒グラフであり、(a) は面積  $S$ 、(b) は円形度、(c) はアスペクト比のグラフである。

[0071] 図 6 に示すように、定量的評価の結果、放射照度を増加させるに従い、水晶体上皮細胞の面積は、ある複数のサンプルでは増加する一方、別の複数のサンプルでは減少していた。円形度は、放射照度の増加に従い、増加していた。

[0072] 一般的に、アポトーシスにより、細胞面積、円形度はいずれも減少する。アスペクト比は減少又は一定である。よって、上段落に記載の定量的評価に

おける面積、円形度の変化は、一般的に考えられているアポトーシスがもたらす挙動とは一線を画す。

[0073] 本発明者らは、放射照度の増加により、水晶体上皮細胞の能動的な伸展・収縮機能が低下しているという知見を得た。本発明者らは、更に検討を進め、放射照度と、水晶体上皮細胞の遊走性の変化との関係について調査した。

[0074] <遊走性評価 (Evaluation of cell migration) >

水晶体上皮細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性2についても関係性1と同様のステップで決定する。つまり最初に全工程で使用すると決定した細胞種を用い、はじめに評価指標を決定し、次に関係性を研究する。

[0075] 最初に遊走性に変化をもたらすか否か評価するための評価指標(metrics)を決定する。ここでは遊走性とは細胞が一定の時間のうちに上記培養液のなかで組織培養用ポリスチレン製の培養面上を移動（以降、「培地内を移動」ともいう。）するときの時間当たりの移動距離のことをいう。遊走性を決定するには、細胞の移動量を観察可能な細胞の培養条件や、移動距離の測定条件を決定し、次に細胞を経時観察して時間当たりの遊走性を決定する。移動量を観察可能な培養条件の例としては、上記培地内を仕切り等でブロックに分け、細胞が播種されている場所と播種されていない場所（ギャップ）をつくる。特定の幅の線状の非播種領域や、円形の非播種領域の形成等がある。この状態で仕切り等を除去し、測定開始時とし、その後細胞の動きを観察する。遊走性が適度であれば、細胞が移動し、細胞非播種領域（ギャップ）は減少し、その後閉塞する。非播種領域が減少・閉塞するまでの時間当たりの移動距離をその培養条件での遊走速度とよぶ。

[0076] なお初期実験における遊走性と光照射条件の研究により、遊走性についても通常より短い波長の光、より強い強度の照射の方がより強い異常を引き起こすという原理原則が観察された。よって、評価指標は、特定の細胞種で各光照射条件に対する遊走性（時間当たりの細胞移動距離）のプロット、また

無光照射と特定の光照射条件での遊走性の変化量（差分又は比率）のプロット等が考えられる。このようなプロットを取得することで関係性2を決定する。上記内容の一具体例は以下の通りである。

[0077] 水晶体上皮細胞の遊走性を評価すべく、多数の細胞を有する面上に所定幅の細胞非播種領域（ギャップ）を形成した。そして、このギャップの閉塞過程を基に、光照射が細胞の遊走性に与える影響を調べた。

[0078] 本実験で利用した細胞に関し、遠心分離までは<利用した細胞>と同様とした。そして、本実験では、 $10000\text{ cells/ml}$ の細胞懸濁液を作成した。その後、約 $500\mu\text{m}$ の幅のギャップを形成するために、 $60\text{ mm}$ ディッシュ内に接着させたカルチャーインサート2ウェル（i b 8 1 1 7 6, i b i d i）の各ウェル内に $700\text{ cells}$ ずつ播種した。

[0079] 図7は、多数の細胞を有する面上に所定幅のギャップ（傷）を形成するために利用したウェルの平面視概略図である。

[0080] 細胞を播種した1日後にカルチャーインサート2ウェルを取り除き、ギャップ形成確認後に光照射を開始した。光照射開始直後、6時間後、12時間後、24時間後、48時間後に上記倒立顕微鏡を用いて倍率4倍で撮影し、ギャップの観察を行った。撮影したギャップのエッジ間距離を、画像解析ソフト（Image J）を用いて測定した。光照射後の各時間において任意に10か所測定を行い、その平均値をとりギャップのエッジ間距離とした。

[0081] 図8は、波長 $430\text{ nm}$ 且つ放射照度 $9.0\text{ W/m}^2$ のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、（a）は0h（光照射開始直後）、（b）は光照射開始から24h後、（c）は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

図9は、波長 $430\text{ nm}$ 且つ放射照度 $5.1\text{ W/m}^2$ のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、（a）は0h（光照射開始直後）、（b）は光照射開始から24h後、（c）は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

図10は、波長 $430\text{ nm}$ 且つ放射照度 $2.7\text{ W/m}^2$ のときのギャップの

閉塞の様子を示す図であり、(a)は0h(光照射開始直前)、(b)は光照射開始から24h後、(c)は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

図11は、波長470nm且つ放射照度 $2.5\text{W}/\text{m}^2$ のときのギャップの閉塞の様子を示す図であり、(a)は0h(光照射開始直後)、(b)は光照射開始から24h後、(c)は光照射開始から48h後のギャップの様子を示す写真である。

図8～図11の写真内の縮尺(横線)の大きさは500nmである。

図12は、ギャップのエッジ間距離(単位: $\mu\text{m}$ )と光照射開始からの時間(横軸:単位はh)との関係において、波長ごとにまとめたプロットである。該プロットの傾きは、距離/時間であり、水晶体上皮細胞の遊走速度を表す。

図12が示すように照射する光の波長と遊走速度の間には相関関係があることがわかった。

[0082] また、各図においてギャップ閉塞の様子を観察すると、遊走性の減少率はいくつかのグループに分けられることが本発明者により知見された。

[0083] 図13は、ギャップ閉塞の際の遊走性の減少率の分布を示すヒストグラムである。

[0084] 図13に示す通り、減少率には2段階の変化が観察された。そのため、減少率が大きかったもの(減少率80%以上)を”Large effect”、減少率が中程度(減少率40-70%)を”Middle effect”と区別することとした。以降、遊走性の区分は、この2段階の変化を境界に基づいている。

[0085] <水晶体上皮細胞の形態変化と遊走性変化の評価結果から得られた知見>

図14は、実験に用いた各光源(半値幅10nm)の放射照度(縦軸:単位は $\text{W}/\text{m}^2$ )と波長(横軸:単位はnm)との関係において、水晶体上皮細胞の形態変化の態様と遊走性変化の態様とをひとまとめにしたプロットである。太陽光も参考として該プロットに掲載している。

[0086] 図14の最も左側の点線プロットが、対象者に対する、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1であり、具体的には、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分けるプロット1である。

図14の最も右側の点線プロットが、対象者に対する、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性2であり、具体的には、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分けるプロット2である。

[0087] 光の波長と放射照度との関係において、前記プロット1は前記プロット2の短波長側にあり、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット1によって、前記形態変化をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域1に区分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット2によって、前記遊走性の変化（一例としては低下）をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域2に区分けされる。

[0088] 図14の真ん中の点線プロットが、前記領域2における前記遊走性の変化をもたらす側の領域を、前記遊走性の変化の程度に応じて更に区分けするプロット3である。プロット1～3は各領域を分ける近似曲線である。隣接する各領域において境界に最も近い2点を各領域から選択して合計4点から境界となる近似曲線を作成してもよい。

[0089] 図14のプロットは本発明の一実施例を実施する前に予め得ておくのが好ましい。つまり、図14のプロットを一から作成する工程を、本発明の一実施例は含まなくてもよい。また、図14の各プロットは、縦軸を対数表示とすれば直線（近似直線）となる。

[0090] 図14からわかることは、ある人物（対象者）にとって、眼に入射する光がどの程度の波長且つどの程度の放射照度だと、眼細胞にいかなる影響を与えるか、ということである。図14が示すように、短波長側の光が眼に全く

入射しなければ眼細胞に与える影響は極めて少ない。その一方、短波長側の光が眼に全く入射しないということは、可視光における短波長側も眼に全く入射しないということも考えられる。

[0091] <知見から得られた本発明の一実施例>

以上の知見から、本発明の一実施例では、対象者に対する、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1、及び、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性2を得る関係性取得工程を（好適には予め）行う。そのうえで、前記形態変化に求められる度合い1、及び、前記遊走性に求められる度合い2に応じ、前記関係性1及び前記関係性2の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程を行う。そして、前記選択された関係性に基づき、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程を行う。この決定工程のことをスペクトル放射照度範囲決定工程と呼んでも差し支えない。

以上の各工程により、眼に入射させる光の特性を決定する。

[0092] 前記関係性選択工程について、以下、説明する。

[0093] 前記各工程により、細胞が何らかの異常な状態を引き起こす光照射条件がプロットされ、その関係性をあきらかにした。次に眼に入射させる光の特性を決定するため、どの関係性に基づくかを決定する。

[0094] 決定の基礎となる考えは、細胞に引き起こされる異常な状態が、対象者にとって有害であるかどうかである。一見すると、全く有害ではないこと、有害な照射条件の光は全てとりのぞくことが最も望ましいように思われる。しかし、現実には多様な広い波長幅の光の入射が必要であり、また、明らかに有害であることが明白でない限りは、未発見の別のリスクをとらないために、環境光を変化させない方がより望ましいという基本原則がある。

[0095] そもそも人体は光を外界の情報を認識するために使用しているため、多様な波長域の光の入射が必要であると考えられる。また、有害性は照射時間や、休止時間の長さによっても変化する。

[0096] 対象者個人に注目すると、年齢等に関係する眼光学系の個人差・疾患の有

無による細胞の耐性の強弱・またその時点での状態（例えば手術直後、ダメージを受けた直後である等）に左右される。そのため、必要ならば上記のような条件の変化にともない、どの程度関係性が変化するか、追加の研究が必要な場合がある。

[0097] 以上のような条件を考慮して、形態変化の度合い1、及び遊走性に求められる度合い2を考慮し、どの関係性のどの度合いに基づくのが望ましいかを決定する。そして、前記選択された関係性に基づき、前記被検者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する。この決定では、例えば図14のどの領域に属するようにするかを基準にしてもよい。

[0098] 通常、より短い波長の光、より強い強度の照射の方がより強い異常を引き起こすという原則が存在する。そのため、波長ごとの放射照度をプロットし、その放射照度以下にすべきである、という形式で入射すべき光を決定する。ここまでの本実施形態に記載の一具体例は、この方針に基づいている。

[0099] 形態変化に求められる度合い1が高く且つ遊走性に求められる度合い2が低い場合は、形態変化をもたらさない側の領域を前記領域1から選択しさえすればよい。プロット3がある場合、プロット3よりも遊走性の変化をもたらす側の領域と、領域1から選択された領域とが重複する領域内における波長及び放射照度を、眼に入射させる光の特性として決定すればよい。

[0100] 前記関係性選択工程においては、前記プロット1及び前記プロット2を選択するのが好ましい。また、前記関係性選択工程後、前記領域1から一つの領域を選択し、且つ、前記領域2から一つの領域を選択する領域選択工程を更に有するのが好ましい。

[0101] 前記領域選択工程においては、以下の(1)及び(2)の少なくとも(1)を行うのが好ましい。

(1) 前記形態変化をもたらさない側の領域を前記領域1から選択する。

(2) 前記遊走性の変化をもたらさない側の領域を前記領域2から選択する

。

そして、前記決定工程においては、選択された各領域に共通して属する光

の波長と放射照度とを、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度として得る。

[0102] 前記プロット1、2は、前記対象者が所在する地域情報に基づき作成されるのが好ましい。「地域情報」とは、例えば上記AM1.5のような緯度に関する情報であってもよいし、気候に関する情報であってもよい。「気候に関する情報」とは、例えば1日あたりの年間平均日照時間であってもよい。またこれらをあわせた年間平均全天日射量等であってもよい。

[0103] 前記眼細胞は、水晶体上皮細胞、網膜色素上皮細胞、角膜内皮細胞、角膜上皮幹細胞、又は結膜下線維芽細胞であってもよい。その中でも水晶体上皮細胞だと光毒性感度が高く、その結果、本発明の効果が特に顕著に得られる。

[0104] 本発明の技術的範囲は上記実施形態に限定されるものではなく、発明の構成要件やその組み合わせによって得られる特定の効果を導き出せる範囲において、種々の変更や改良を加えた形態も含む。

[0105] 対象者には限定は無く、白内障患者であってもよいし、白内障患者でなくともよい。

[0106] 前記プロット2に加え、前記領域2における前記遊走性の変化をもたらす側の代わりに、該変化をもたらさない側の領域を、前記遊走性の変化の程度に応じて更に区分けするプロット3を、前記関係性取得工程にて更に得てもよい。

[0107] {実施形態2}

以下の実施形態2に記載の無い内容は実施形態1の内容を援用する。

[0108] [知見の詳細]

実施形態2では、実施形態1で述べた、対象者に対する以下の2つの関係性

- ・眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1

- ・眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係

性2

に加え、

・眼細胞の浸潤性 ( i n v a s i o n ) を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性3

を、取得する関係性の候補に加える。

そして実施形態2では、前記関係性1～3のうち少なくともいずれかの関係性を得る関係性取得工程を（好適には予め）行う。前記関係性1～3のうち少なくとも二つの関係性を得るのが、より好適な光の特性を決定できるため、好ましい。

[0109] そのうえで、前記形態変化に求められる度合い1、前記遊走性に求められる度合い2、前記浸潤性に求められる度合い3の少なくともいずれかに応じ、前記関係性1、前記関係性2、及び前記関係性3の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程を行う。そして、前記選択された関係性に基づき、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程を行う。この決定工程のことをスペクトル放射照度範囲決定工程と呼んでも差し支えない。

[0110] 前記関係性3は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の浸潤性を亢進させるか否かを分けるプロット4であってもよい。

[0111] 前記関係性取得工程では少なくとも前記関係性3を予め得、前記関係性選択工程では少なくとも前記関係性3を選択してもよい。つまり、関係性3と関係性1とを採用してもよいし、関係性3と関係性2とを採用してもよい。

[0112] 前記関係性取得工程では前記関係性1～3を予め得、前記関係性選択工程では前記関係性1～3を選択してもよい。

[0113] 以下の態様も好ましい。

「光の波長と放射照度との関係において、前記プロット4によって、前記浸潤性の亢進をもたらす領域ともたらしめない側の領域とからなる複数の領域4に区分けされ、

前記関係性選択工程においては、前記プロット1、前記プロット2、及び

前記プロット4を選択し、

前記関係性選択工程後、前記領域1から一つの領域を選択し、且つ、前記領域2から一つの領域を選択し、且つ、前記領域4から一つの領域を選択する領域選択工程を更に有し、

前記領域選択工程においては、以下の(1)～(3)のうち少なくとも(1)を行い、

(1) 前記形態変化をもたらさない側の領域を前記領域1から選択する。

(2) 前記遊走性の変化をもたらさない側の領域を前記領域2から選択する

。

(3) 前記浸潤性の亢進をもたらさない側の領域を前記領域4から選択する

。」

[0114] 光の波長と放射照度との関係において、前記プロット4は前記プロット3の短波長側にあり且つ前記プロット2の長波長側にあってもよい。

[0115] 以下、実施形態2に特有の浸潤性について詳述する。実施形態1で説明した形態変化及び遊走性についての内容は、以下の浸潤性の内容と共に、関係性として把握、領域選択を行ってもよいし、その方が好ましい。

[0116] <使用した細胞> 細胞は、ヒト水晶体上皮細胞SRA01/04 (RCB1591, RIKEN BRC)を使用した。試薬は、実施形態1で使用した培養液である。細胞密度は $2 \times 10^4$  cells/dishとした。

[0117] <使用した光源及び光照射条件>

光照射に用いた機器はキセノン光源 (MAX-350, ASAHI SPECTRA) である。光照射条件は、以下の通りである。

[0118] 細胞培養環境下 (気温 $37^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{CO}_2$ の濃度を5%とした大気雰囲気下) で細胞培養面15cm上部から光照射を行った。その際、光照射において、同じ波長であっても照射する光の強さによって細胞に与える影響が異なる予想された。そのため、キセノン光源に複数のバンドパスフィルターを使用しつつ、光源のコントローラーで、強度を実験ごとに変化させ、各実験を行った。各波長における放射照度の条件を表3に示す。光照射時間は24時間とし

た。

[表3]

Wavelength $\lambda$ , mm	Irradiance E, W/m <sup>2</sup>
NC-1, NC-2, NC-3, NC-4	(~0)
460	7.60
460	4.85
460	1.49
480	1.52
500	5.47
500	9.84
500	1.52
520	7.53
520	9.17
520	1.43
540	7.51
540	10.00
540	1.51
540	4.97

[0119] なお、光照射無しの条件 (Negative Control: NC) の試験は各々同条件で4回行った。各々の試験のプロットはNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と称する。

[0120] <浸潤性評価 (Evaluation of invasion)>

水晶体上皮細胞の浸潤性を亢進させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性3について関係性1と同様のステップで決定する。つまり最初に全工程で使用すると決定した細胞種を用い、はじめに評価指標を決定し、次に関係性を研究する。

[0121] 最初に浸潤性に变化をもたらすか否か評価するための評価指標(metrics)を決定する。以下、本明細書における「浸潤性」について説明する。

[0122] まず、平面視直線の凸条がパターンニングされた鋳型を用意する。この鋳型

にポリジメチルシロキサン（PDMS）を注入し、鋳型の凸条に対応する溝を該PDMSに形成する。そして、鋳型からPDMSを離型し、溝が形成されたPDMS基板を得る。該PDMS基板における溝の手前に眼細胞を配置し、該眼細胞が溝の入口（以降、「開口部」と称する。）から溝の内部に侵入することを、本明細書では浸潤とみなす。後掲の図15～図18に示すように、該PDMS基板には、幅が等しい複数の溝が設けられる。

[0123] PDMS基板ごとに、以下のような溝の幅を用意した。溝の深さ及び溝配置間隔は以下の通りとした。

溝の幅：6.2  $\mu\text{m}$ ，7.2  $\mu\text{m}$ ，7.9  $\mu\text{m}$ ，8.9  $\mu\text{m}$ ，9.6  $\mu\text{m}$ ，  
10.6  $\mu\text{m}$ ，11.6  $\mu\text{m}$

溝の深さ：10.6  $\mu\text{m}$

溝配置間隔：200  $\mu\text{m}$

[0124] 溝の開口部における細胞挙動を10分間隔で撮影し、画像解析ソフト（ImageJ）を用いて眼細胞の浸潤性を解析した。

[0125] 浸潤性については、眼細胞を以下の4つに分類した。

- ・開口部を素通りした（通過挙動を示した）眼細胞（図15）
- ・溝に細胞全体が侵入した、浸潤（溝内）した眼細胞（図16）
- ・溝に細胞の一部が侵入したが、細胞全体が侵入する前に外側に這い出した不完全な浸潤挙動（浸潤失敗）を示した眼細胞（図17）
- ・溝に細胞全体あるいは一部が侵入したが、溝の側壁を登り溝の上部開口部から這い出した浸潤（溝から這い上がる）を示した眼細胞（図18）

図15は、光照射無しNCのときに眼細胞が開口部を通過する様子を示す平面図であり、（a）は0h（光照射開始直後）、（b）は光照射開始から10分後、（c）は光照射開始から20分後、（d）は光照射開始から30分後、（e）は光照射開始から40分後、（f）は光照射開始から50分後の様子を示す写真である。

図16は、光照射無しNCのときに眼細胞が浸潤（溝内）をする様子を示す平面図であり、（a）は0h（光照射開始直後）、（b）は光照射開始から

10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後の様子を示す写真である。

図17は、光照射無しNCのときに眼細胞が不完全な浸潤挙動（浸潤失敗）をする様子を示す平面図であり、(a)は0h（光照射開始直後）、(b)は光照射開始から10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後、(g)は光照射開始から60分後、(h)は光照射開始から70分後の様子を示す写真である。

図18は、光照射無しNCのときに眼細胞が浸潤（溝から這い上がる）をする様子を示す平面図であり、(a)は0h（光照射開始直後）、(b)は光照射開始から10分後、(c)は光照射開始から20分後、(d)は光照射開始から30分後、(e)は光照射開始から40分後、(f)は光照射開始から50分後、(g)は光照射開始から60分後の様子を示す写真である。

[0126] 評価に用いたパラメータは以下の通りである。

- ・ 通過数 = 通過挙動を示した細胞数 / 開口部数
- ・ 浸潤（溝内）数 = 溝に細胞全体が侵入した、浸潤を示した細胞数 / 開口部数
- ・ 不完全浸潤（浸潤失敗）数 = 不完全な浸潤挙動（浸潤失敗）を示した細胞数 / 開口部数
- ・ 浸潤（溝から這い上がる）数 = 浸潤挙動（溝から這い上がる）を示した細胞数 / 開口部数

[0127] 図19は、浸潤（溝内）数を縦軸とし、溝の幅 $w$ （ $\mu\text{m}$ ）を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4を示す図である。

[0128] 実施形態2では浸潤性を以下のように評価した。

各溝の幅 $w$ において、浸潤（溝内）数がNCの上限と下限の範囲内を「光照射の影響が少ない」とみなした。

浸潤（溝内）数と浸潤（溝から這い上がる）数の合計が、各NCプロット

のうち最大値よりも高値の場合を「浸潤亢進 (increase)」とみなした。

浸潤 (溝内) 数と浸潤 (溝から這い上がる) 数の合計が、各NCプロットのうち最小値よりも低値の場合を「浸潤抑制 (suppression)」とみなした。

それ以外のNCプロットを「low effect」とみなした。

[0129] 図20は、浸潤 (溝内) 数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長430~460nmにおける結果を示す図である。

図21は、浸潤 (溝内) 数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長480nmにおける結果を示す図である。

図22は、浸潤 (溝内) 数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長500nmにおける結果を示す図である。

図23は、浸潤 (溝内) 数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長520nmにおける結果を示す図である。

図24は、浸潤 (溝内) 数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの、プロットNC-1、NC-2、NC-3、NC-4と、波長540nmにおける結果を示す図である。

[0130] 波長430~460nm (図20) と、波長480nm (図21) においては、NCに比べて高い浸潤 (溝内) 数を示す傾向が認められた。その一方、波長500nm (図22)、波長520nm (図23)、波長540nm (図24) においては、浸潤 (溝内) 数のばらつきが大きく、浸潤 (溝内) 数が低い傾向が認められた。

[0131] 以下の図は、浸潤 (溝内) 数を放射照度に応じて整理した結果である。

[0132] 図25は、 $1.4 \sim 1.5 \text{ W/m}^2$ の低放射照度の場合の、浸潤 (溝内) 数

を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

図 26 は、 $3.2 \sim 5.5 \text{ W/m}^2$  の中放射照度の場合の、浸潤（溝内）数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

図 27 は、 $7.5 \text{ W/m}^2$  以上の高放射照度の場合の、浸潤（溝内）数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

[0133] 浸潤（溝内）数は、低放射照度であるほど低く、高放射照度であるほど高い傾向が認められた。

[0134] 以下の図は、光照射の影響について通過数と不完全浸潤数に着目して整理した結果である。

[0135] 図 28 は、通過数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

図 29 は、不完全な浸潤挙動（浸潤失敗）数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

図 30 は、浸潤（溝から這い上がる）数を縦軸とし、溝の幅  $w$  ( $\mu\text{m}$ ) を横軸としたときの結果を示す図である。

[0136] 通過数（図 28）においては、 $480 \text{ nm} - 7.6 \text{ W/m}^2$  のプロットは他のプロットに比べ高い値を示した。

「浸潤失敗」（図 29）及び「溝から這い上がる」（図 30）においては、光照射条件、溝の幅に関わらず浸潤（溝内）数に比べて極めて低値であった。

[0137] 以上の内容を鑑みると、 $480 \text{ nm}$  以下の波長帯の光は浸潤性を亢進させる可能性がある。そのため、浸潤亢進を阻害するためには、対象者の眼に入射する光のうち  $480 \text{ nm}$  以下の波長帯の光を放射照度が低くなるよう、光の特性を決定するのが好ましい。特に、波長  $460 \text{ nm}$  では  $1.49 \text{ W/m}^2$  という低い放射照度においても暗所よりも高い浸潤性を示したため、上記特性における波長  $460 \text{ nm}$  での照度を十分に低く決定することが好ましい。一方、 $480 \text{ nm}$  を超える光であっても、波長  $540 \text{ nm}$  では  $20.1 \text{ W/m}^2$  とやや低い放射照度において浸潤性を亢進しうるため、上記特性における

波長540nmの放射照度を低く決定することが好ましい。細胞が浸潤しやすい溝の幅 $w$  ( $\mu\text{m}$ )は細胞の大きさや固さ(変形のしやすさ)に応じて異なる。そのため、浸潤性を亢進させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性は、評価の対象とする細胞の変形を受けていない状態、例えば浮遊状態、の細胞の直径未満の複数の幅の溝に対して評価することが好ましい。

[0138] {実施形態3}

以下の実施形態3に記載の無い内容は実施形態1、2の内容を援用する。実施形態3では、実施形態1、2でのヒト株化細胞(LEC, Cell Line)に加え、ヒト初代水晶体上皮細胞(LEC, Primary)及び網膜色素上皮細胞(RPE)に対する試験結果を記載する。

[0139] 図31は、実験に用いた各光源(半値幅10nm)の放射照度(縦軸:単位は $\text{W}/\text{m}^2$ )と波長(横軸:単位はnm)との関係において、水晶体上皮細胞の浸潤性変化の態様のプロットである。太陽光も参考として該プロットに掲載している。図31Aは、溝の幅 $w$ を8.9 $\mu\text{m}$ としたときの図であり、図31Bは、溝の幅 $w$ を9.6 $\mu\text{m}$ としたときの図である。上記の図が示すように、関係性取得工程で関係性3を予め得、関係性選択工程では関係性3を選択しても、本発明は成立し、本発明の課題を解決できる。

[0140] 図31のV字の境界線の上側が浸潤亢進、下側は浸潤に変化をもたらさない又は浸潤抑制を示す。上記境界線は、各NCプロットにおける浸潤亢進(increase)とlow effectとの間の境界線であり、最小二乗法で得た線である。

## 請求の範囲

[請求項1] 対象者に対する、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性1、及び、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性2を予め得る関係性取得工程と、

前記形態変化に求められる度合い1、及び、前記遊走性に求められる度合い2に応じ、前記関係性1及び前記関係性2の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程と、

前記選択された関係性に基づき、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程と、

を有する、光の特性の決定方法。

[請求項2] 前記関係性1は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分けるプロット1であり、

前記関係性2は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分けるプロット2である、請求項1に記載の光の特性の決定方法。

[請求項3] 光の波長と放射照度との関係において、前記プロット1は前記プロット2の短波長側にあり、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット1によって、前記形態変化をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域1に区分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット2によって、前記遊走性の変化をもたらす領域ともたらない側の領域とからなる複数の領域2に区分けされ、

前記関係性選択工程においては、前記プロット1及び前記プロット2を選択し、

前記関係性選択工程後、前記領域1から一つの領域を選択し、且つ、前記領域2から一つの領域を選択する領域選択工程を更に有し、

前記領域選択工程においては、以下の（１）及び（２）の少なくとも（１）を行い、

（１）前記形態変化をもたらさない側の領域を前記領域１から選択する。

（２）前記遊走性の変化をもたらさない側の領域を前記領域２から選択する。

前記決定工程においては、選択された各領域に共通して属する光の波長と放射照度とを、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度として得る、請求項２に記載の光の特性の決定方法。

[請求項４] 前記プロット２に加え、前記領域２における前記遊走性の変化をもたらす側の領域を、前記遊走性の変化の程度に応じて更に区分けするプロット３を、前記関係性取得工程にて更に得る、請求項３に記載の光の特性の決定方法。

[請求項５] 前記プロット１、２は、前記対象者が所在する地域情報に基づき作成される、請求項２～４のいずれか一つに記載の光の特性の決定方法。

[請求項６] 前記眼細胞は、水晶体上皮細胞、網膜色素上皮細胞、角膜内皮細胞、角膜上皮幹細胞、又は結膜下線維芽細胞である、請求項１～４のいずれか一つに記載の光の特性の決定方法。

[請求項７] 対象者に対する、

- ・眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性１
- ・眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性２
- ・眼細胞の浸潤性を亢進させるか否かを分ける光の波長と放射照度との関係性３

のうち少なくともいずれかを予め得る関係性取得工程と、

前記形態変化に求められる度合い１、前記遊走性に求められる度合

い2、及び、前記浸潤性に求められる度合い3の少なくともいずれかに応じ、前記関係性1、前記関係性2及び前記関係性3の少なくともいずれかを選択する関係性選択工程と、

前記選択された関係性に基づき、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度とを決定する決定工程と、  
を有する、光の特性の決定方法。

[請求項8] 前記関係性1は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の形態変化をもたらすか否かを分けるプロット1であり、

前記関係性2は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の遊走性を変化させるか否かを分けるプロット2であり、

前記関係性3は、光の波長と放射照度との関係において、眼細胞の浸潤性を亢進させるか否かを分けるプロット4である、請求項7に記載の光の特性の決定方法。

[請求項9] 前記関係性取得工程では少なくとも前記関係性3を予め得、前記関係性選択工程では少なくとも前記関係性3を選択する、請求項8に記載の光の特性の決定方法。

[請求項10] 前記関係性取得工程では前記関係性1～3を予め得、前記関係性選択工程では前記関係性1～3を選択する、請求項8に記載の光の特性の決定方法。

[請求項11] 光の波長と放射照度との関係において、前記プロット1は前記プロット2の短波長側にあり、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット1によって、前記形態変化をもたらす領域ともたらしめない側の領域とからなる複数の領域1に区分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット2によって、前記遊走性の変化をもたらす領域ともたらしめない側の領域とからなる複数の領域2に区分けされ、

光の波長と放射照度との関係において、前記プロット4によって、

前記浸潤性の亢進をもたらす領域ともたらしめない側の領域とからなる複数の領域4に区分けされ、

前記関係性選択工程においては、前記プロット1、前記プロット2、及び前記プロット4を選択し、

前記関係性選択工程後、前記領域1から一つの領域を選択し、且つ、前記領域2から一つの領域を選択し、且つ、前記領域4から一つの領域を選択する領域選択工程を更に有し、

前記領域選択工程においては、以下の(1)～(3)のうち少なくとも(1)を行い、

(1) 前記形態変化をもたらさない側の領域を前記領域1から選択する。

(2) 前記遊走性の変化をもたらさない側の領域を前記領域2から選択する。

(3) 前記浸潤性の亢進をもたらさない側の領域を前記領域4から選択する。

前記決定工程においては、選択された各領域に共通して属する光の波長と放射照度とを、前記対象者の眼に入射すべき光の波長と放射照度として得る、請求項10に記載の光の特性の決定方法。

[請求項12] 前記プロット2に加え、前記領域2における前記遊走性の変化をもたらす側の領域を、前記遊走性の変化の程度に応じて更に区分けするプロット3を、前記関係性取得工程にて更に得る、請求項11に記載の光の特性の決定方法。

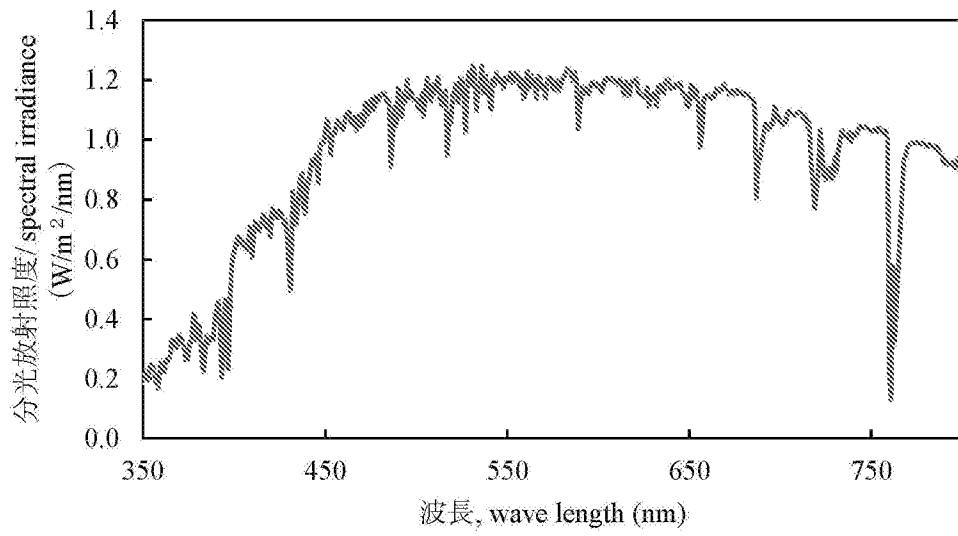
[請求項13] 光の波長と放射照度との関係において、前記プロット4は前記プロット3の短波長側にあり且つ前記プロット2の長波長側にある、請求項12に記載の光の特性の決定方法。

[請求項14] 少なくとも前記プロット1、2、4は、前記対象者が所在する地域情報に基づき作成される、請求項10に記載の光の特性の決定方法。

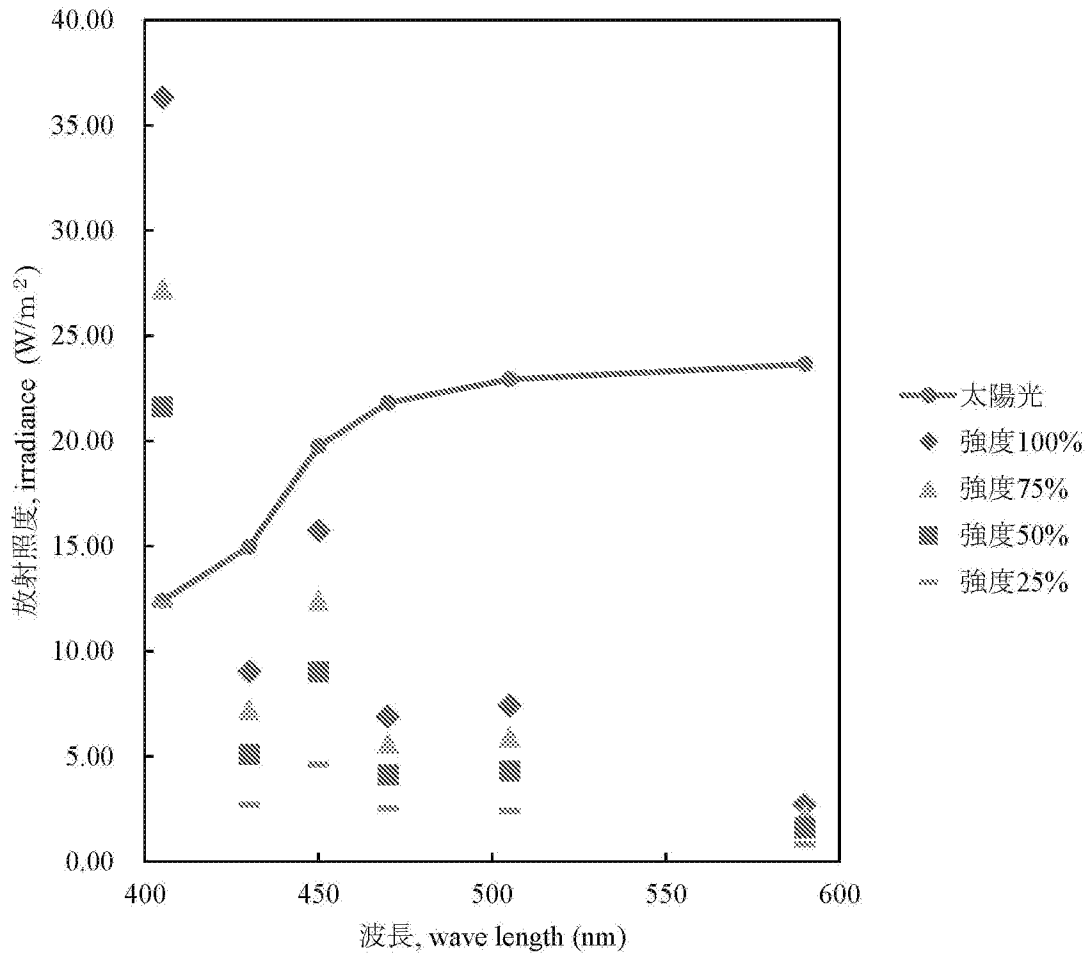
[請求項15] 前記眼細胞は、水晶体上皮細胞、網膜色素上皮細胞、角膜内皮細胞

、角膜上皮幹細胞、又は結膜下線維芽細胞である、請求項7又は8に記載の光の特性の決定方法。

[図1]

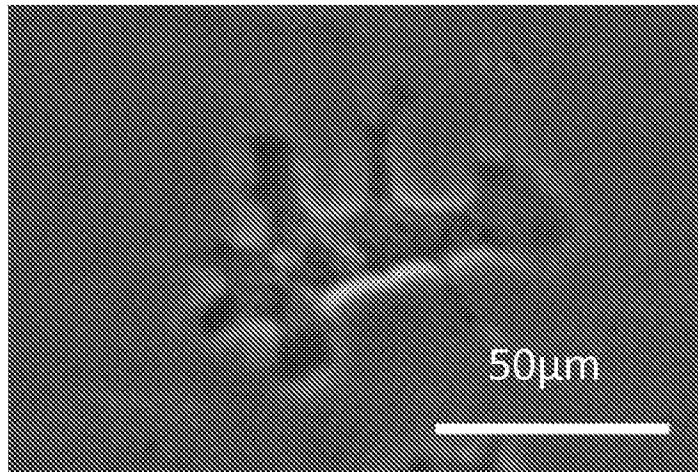


[図2]

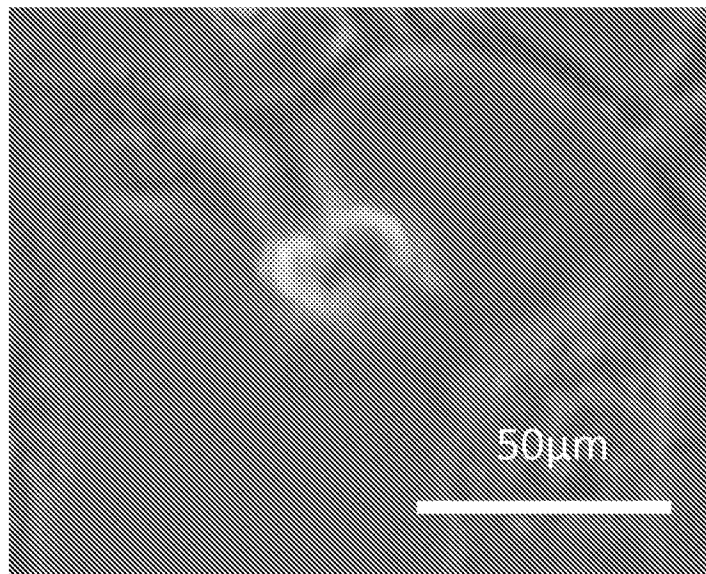


[図3]

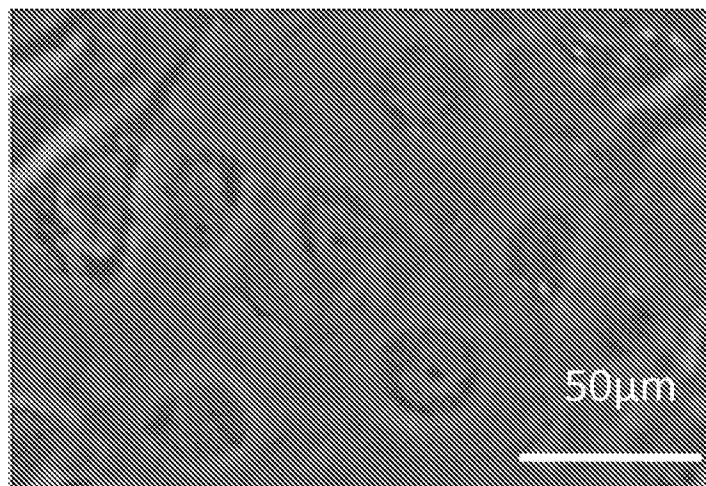
(a)



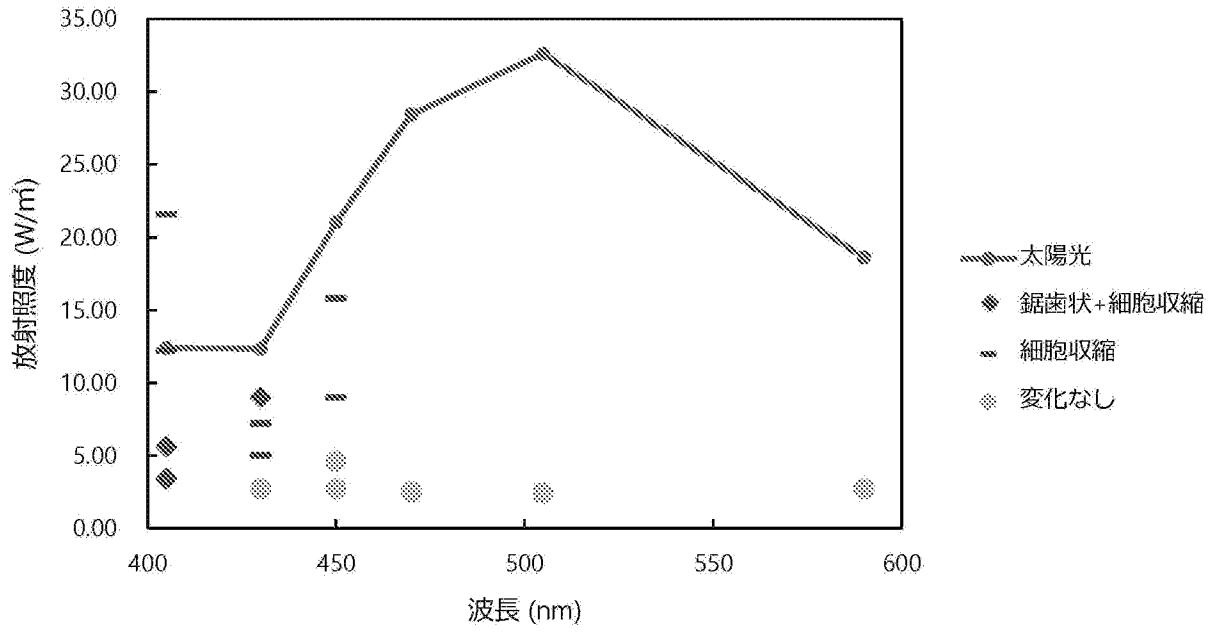
(b)



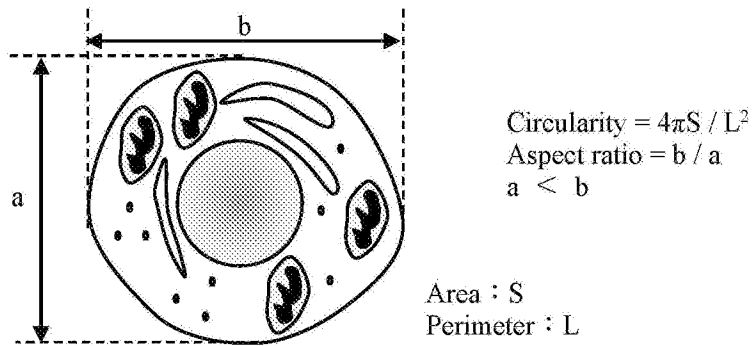
(c)



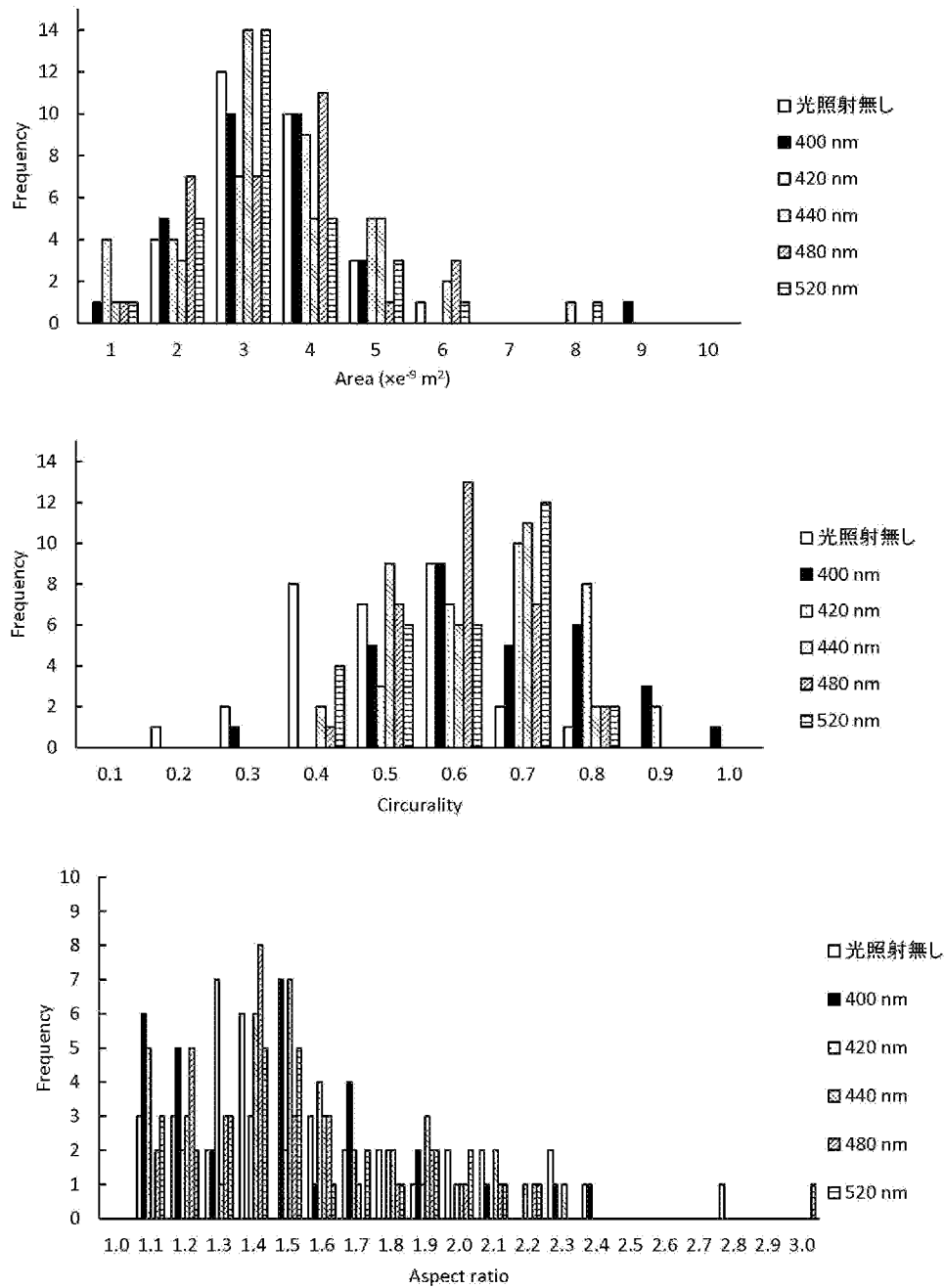
[図4]



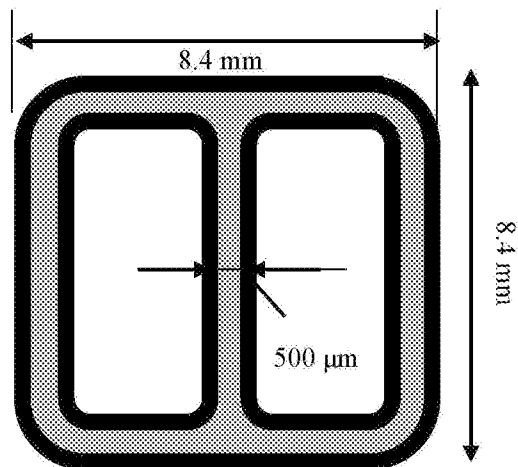
[図5]



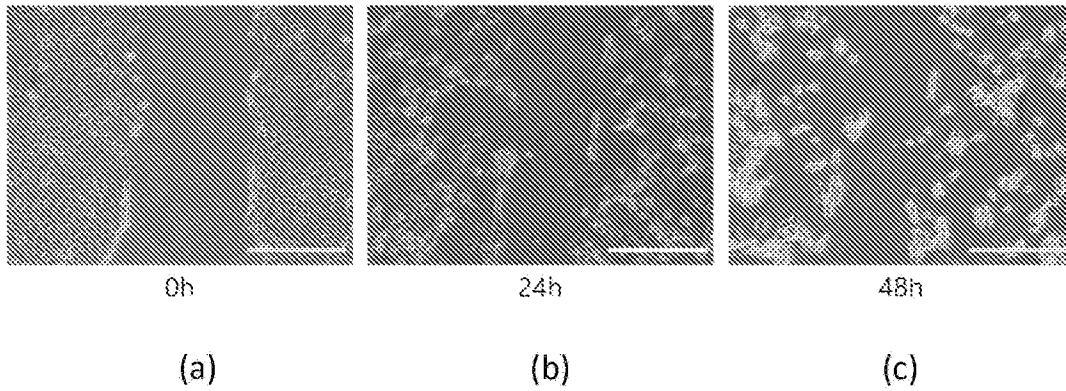
[図6]



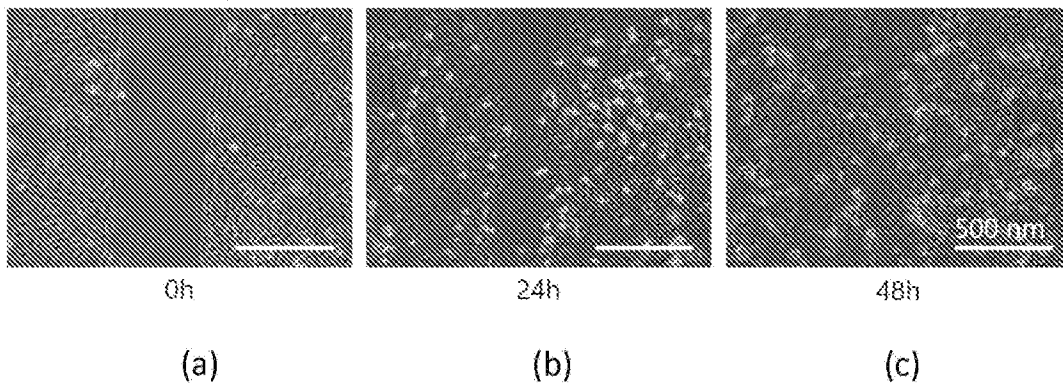
[図7]



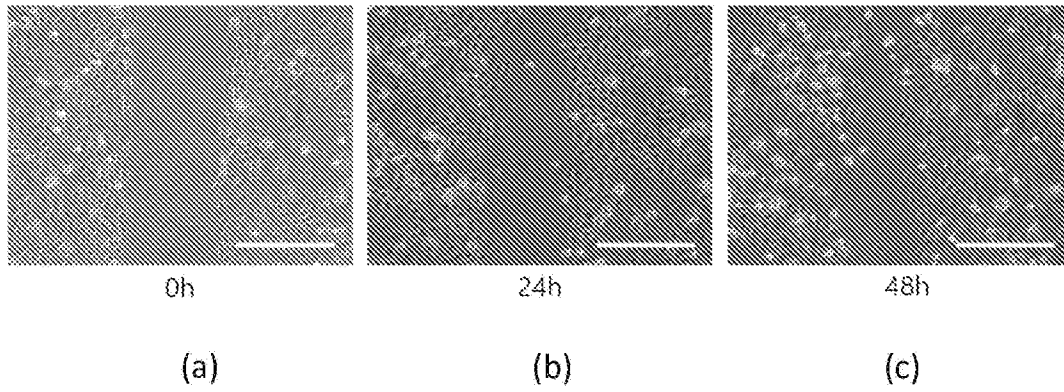
[図8]

・ 430 nm - 9.0 W / m<sup>2</sup>

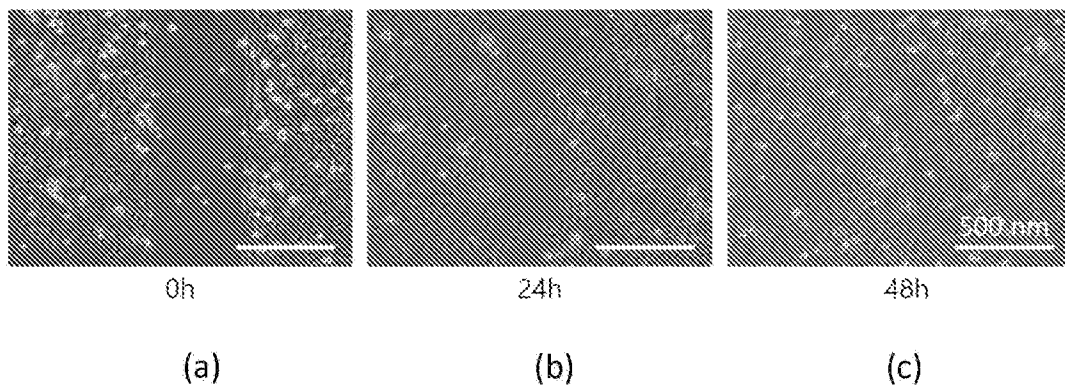
[図9]

・ 430 nm - 5.1 W / m<sup>2</sup>

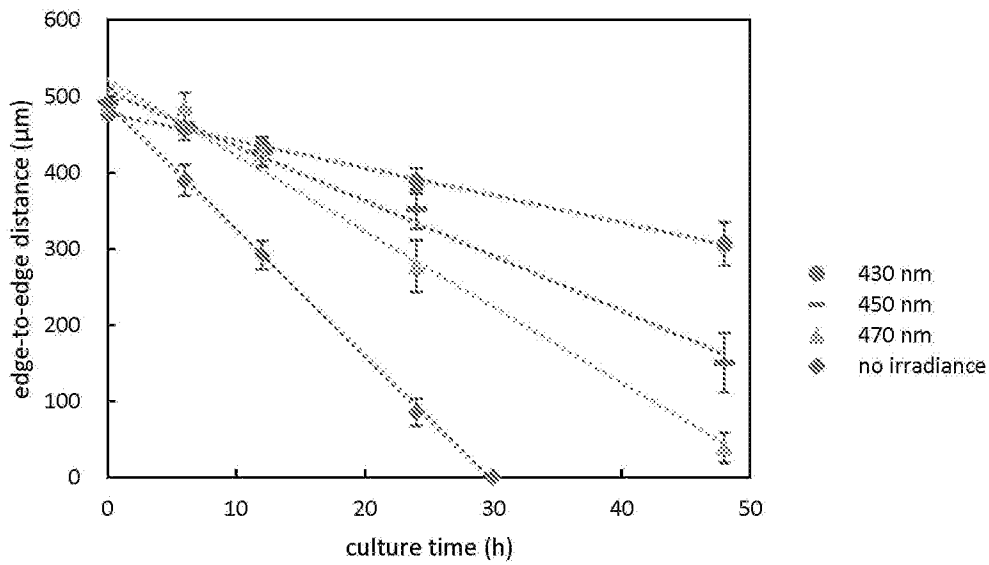
[図10]

・ 430 nm - 2.7 W / m<sup>2</sup>

[図11]

・ 470 nm - 2.5 W / m<sup>2</sup>

[12]

Irradiation 2.5 -2.8 W/m<sup>2</sup>

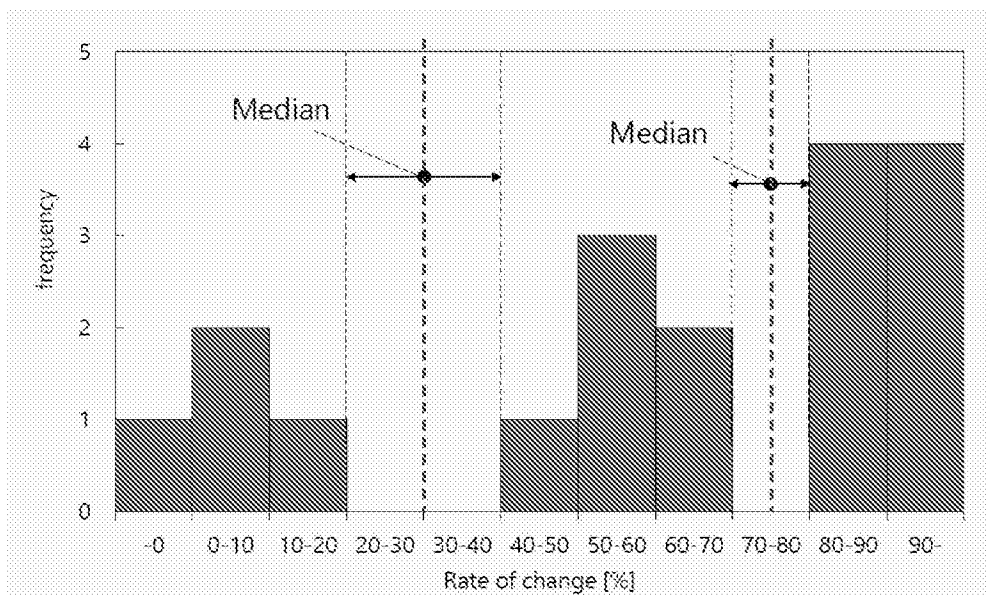
430 nm : about 3.5 μm/h

450 nm : about 7.2 μm/h

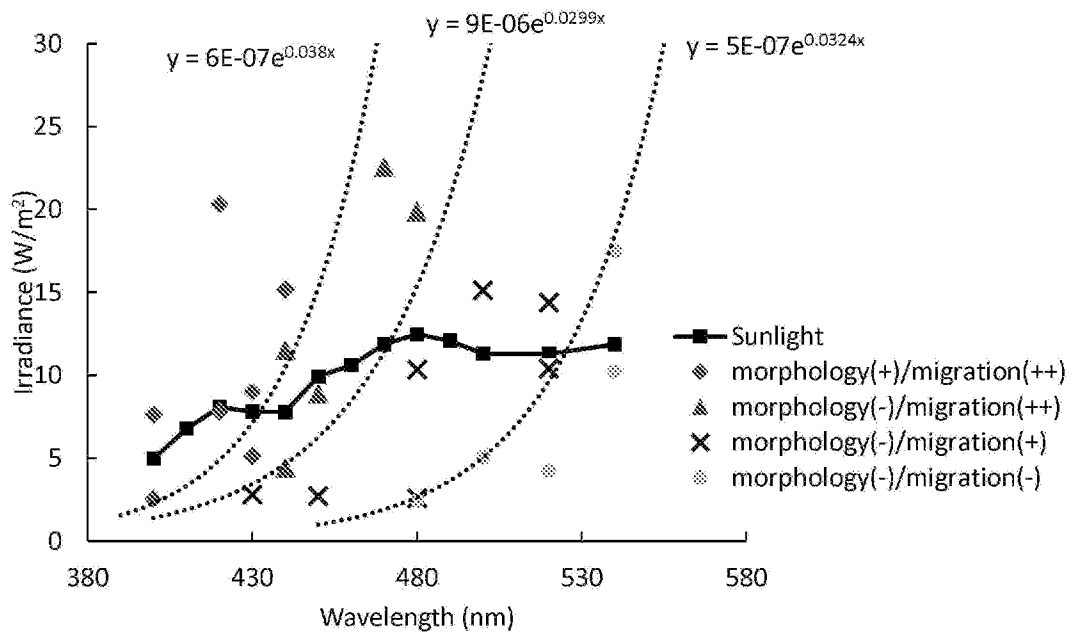
470 nm : about 10 μm/h

No irradiation: about 17 μm/h

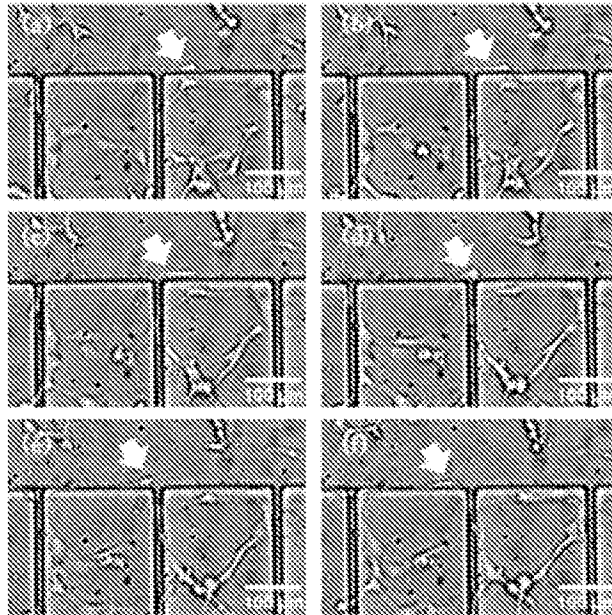
[13]



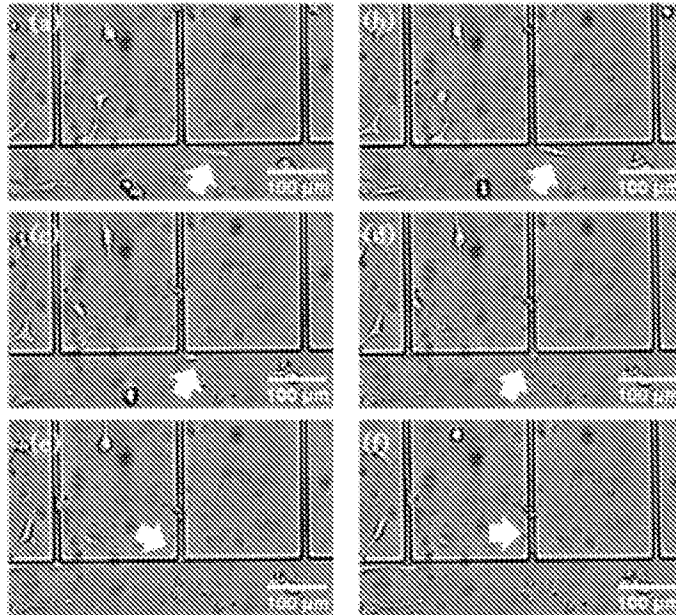
[図14]



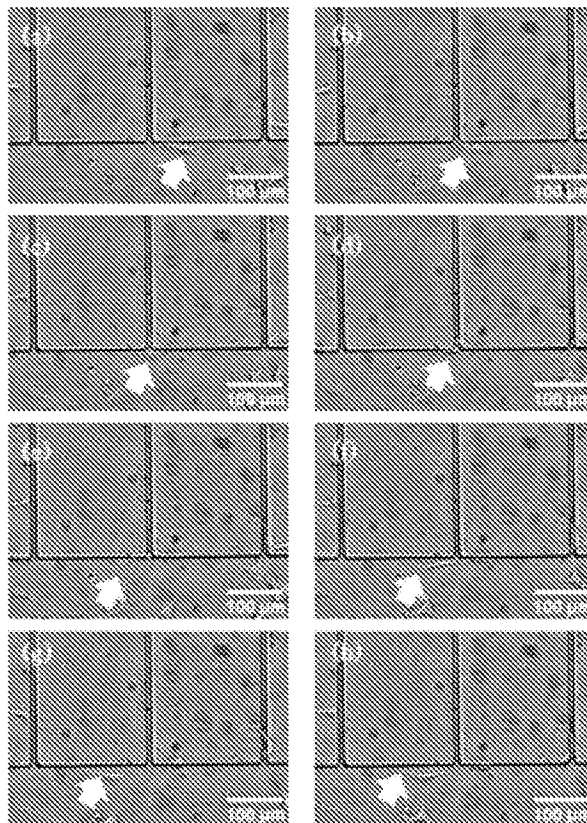
[図15]



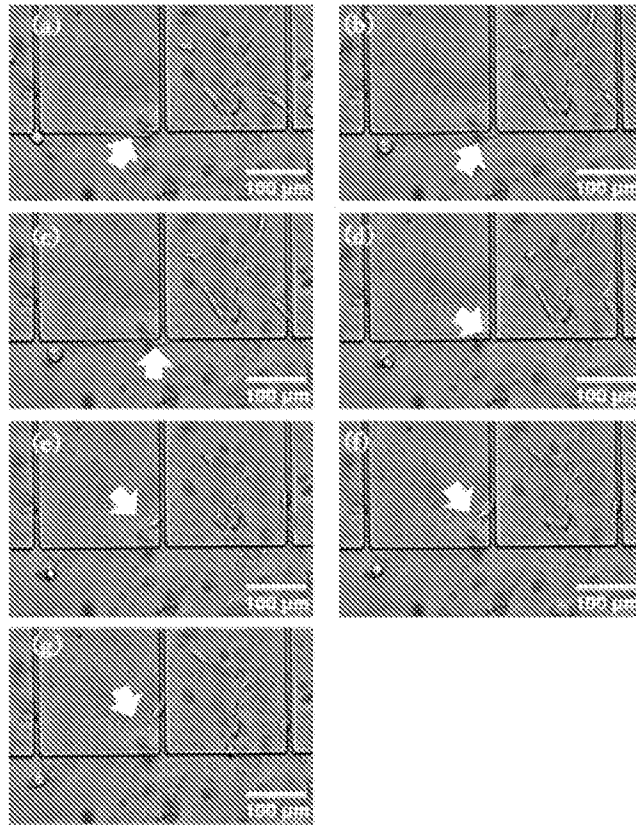
[図16]



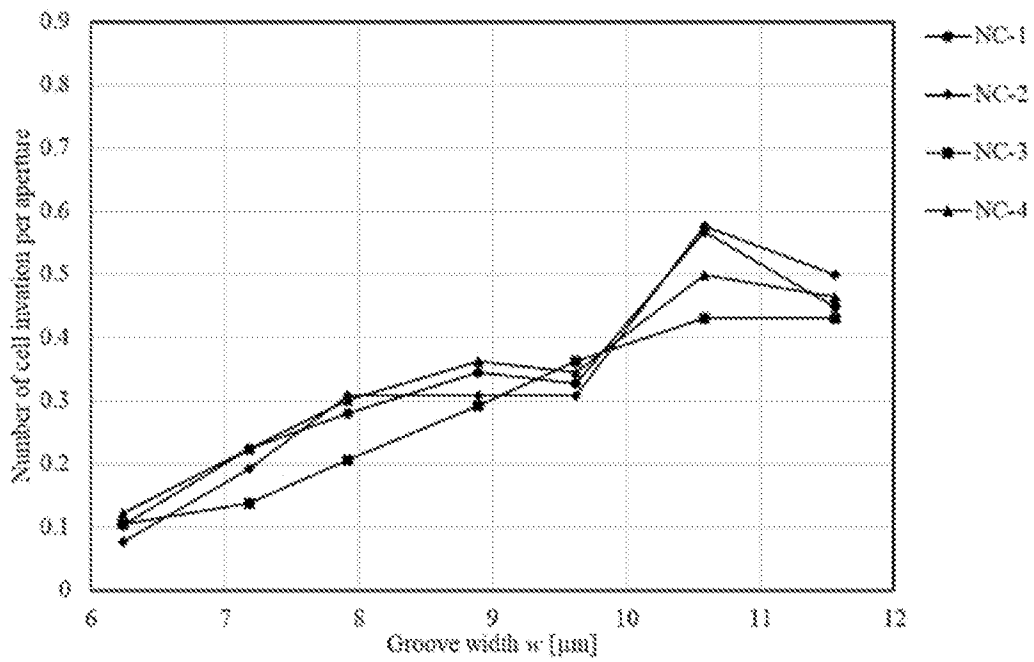
[図17]



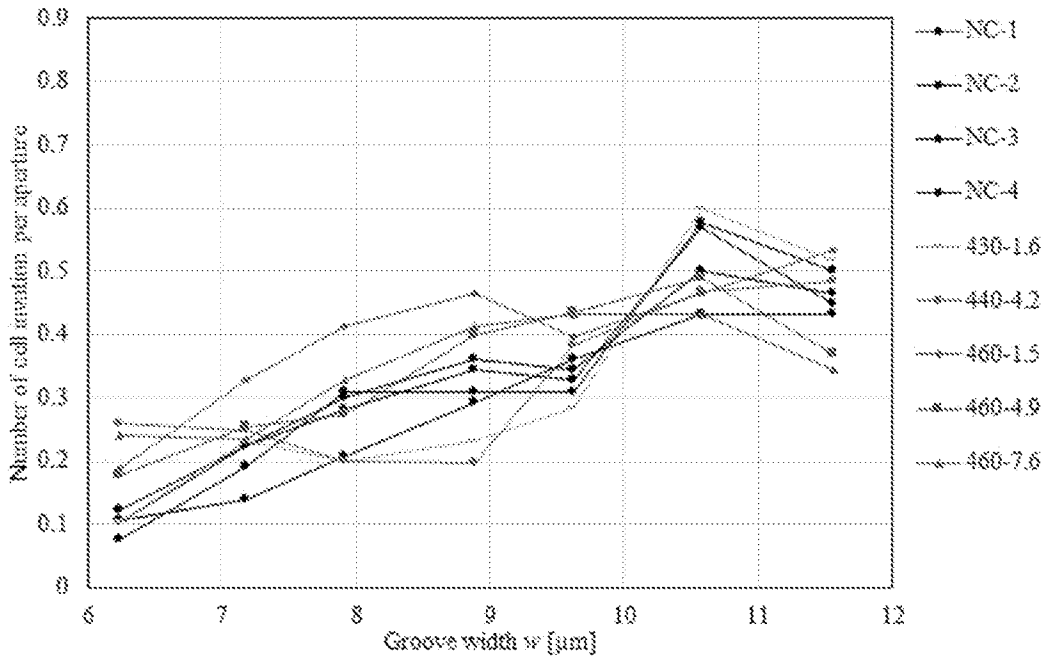
[図18]



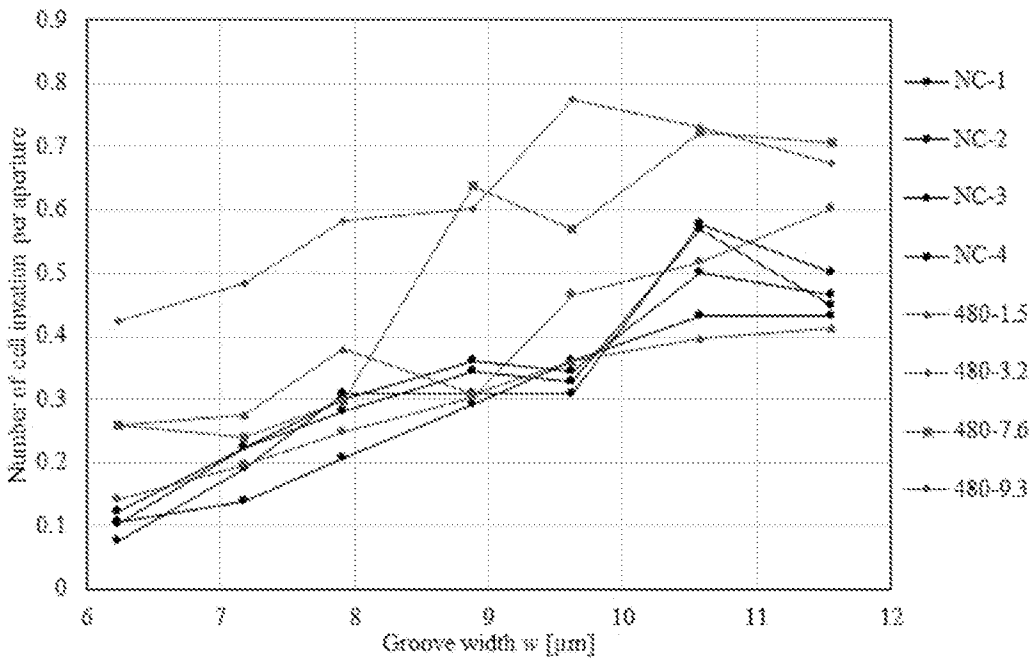
[図19]



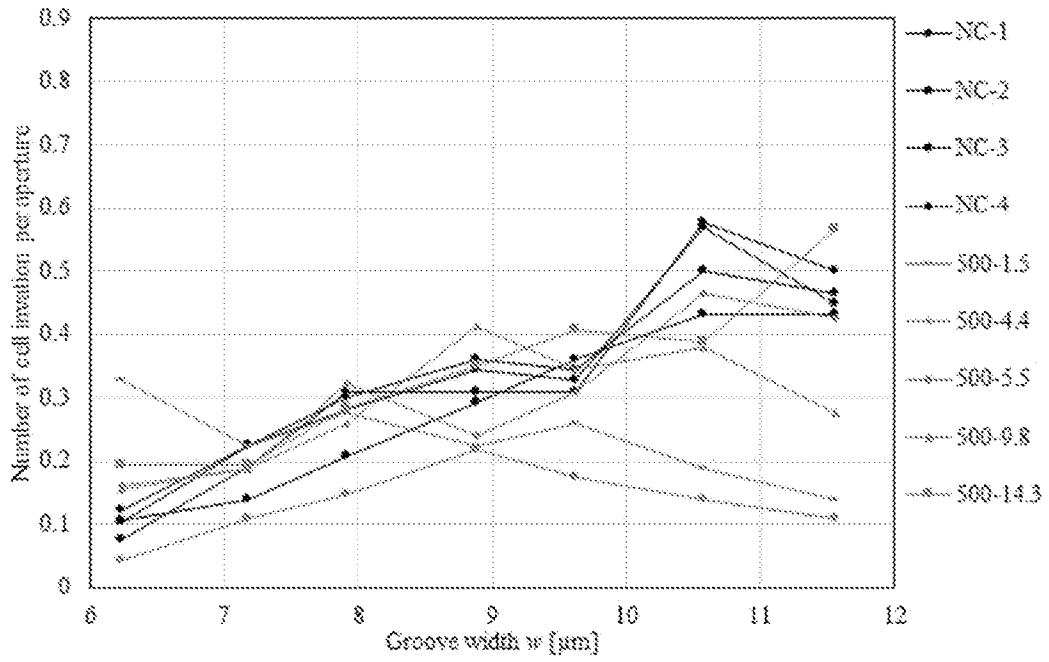
[図20]



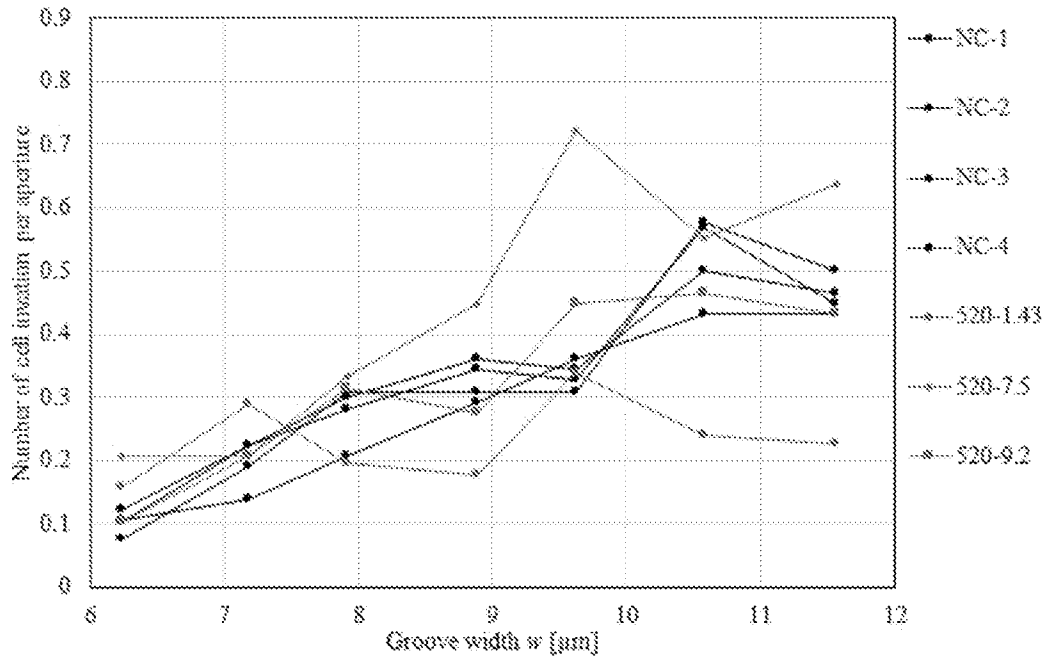
[図21]



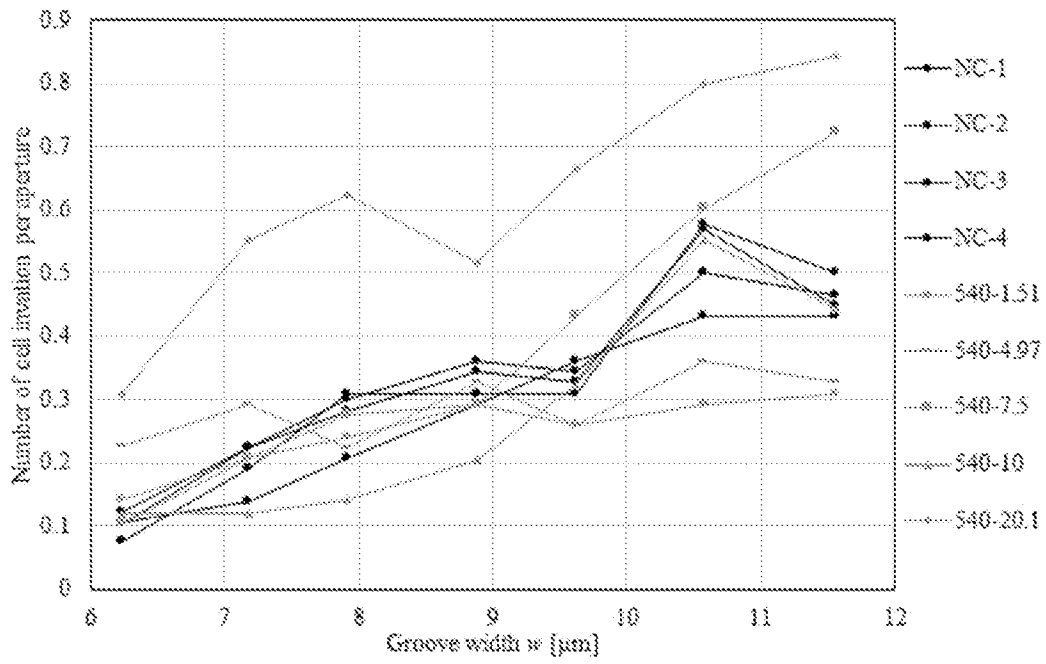
[図22]



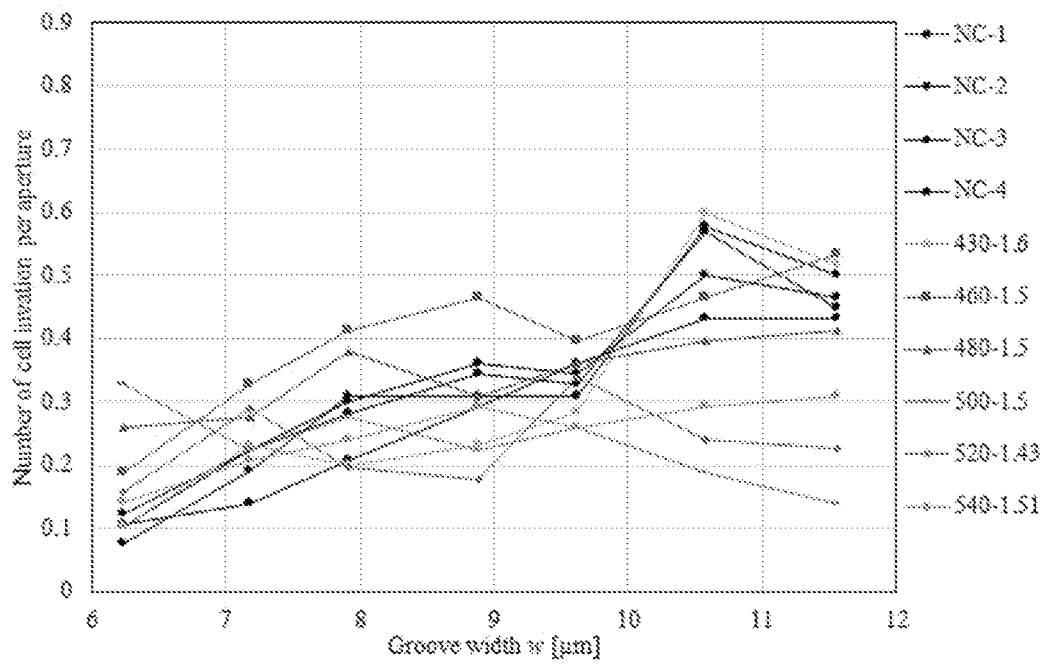
[図23]



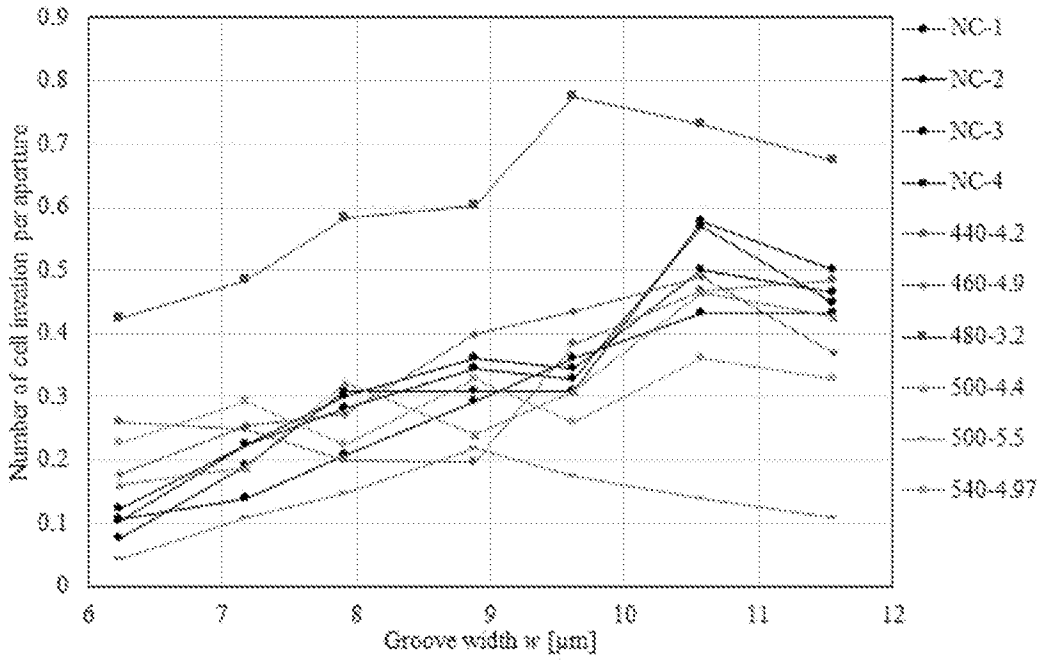
[図24]



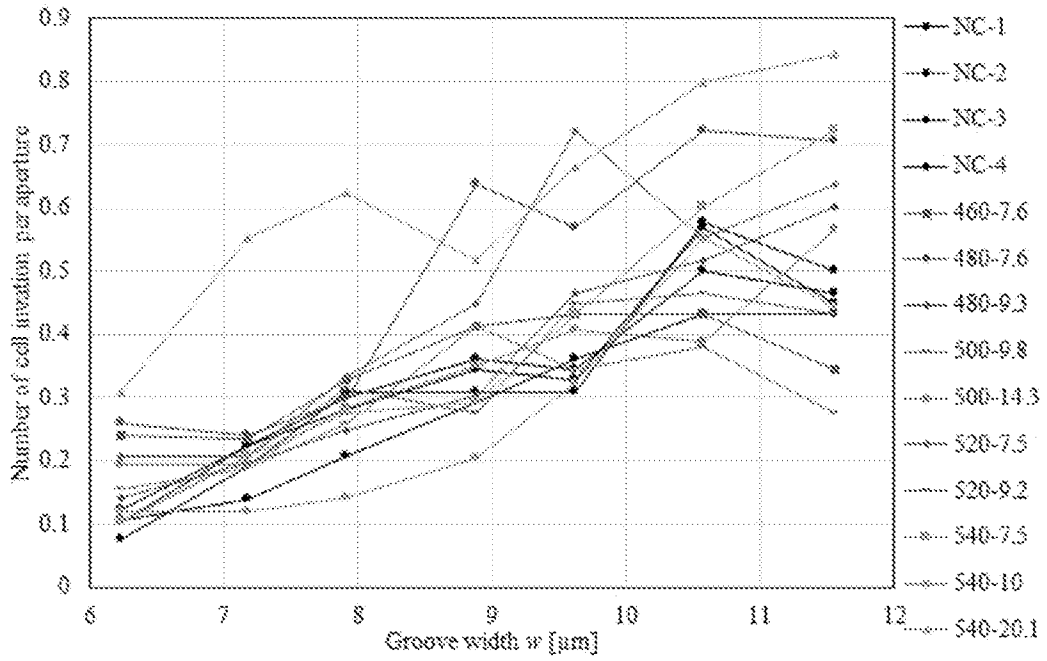
[図25]



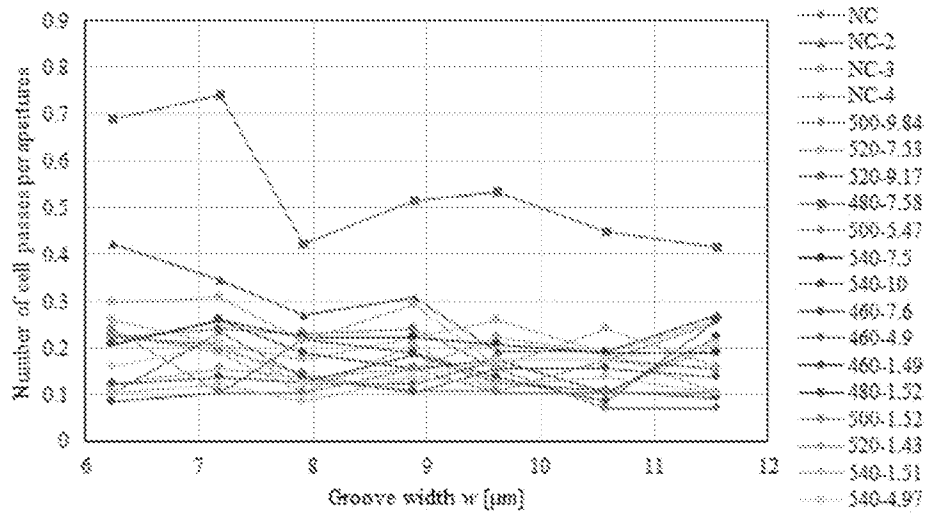
[図26]



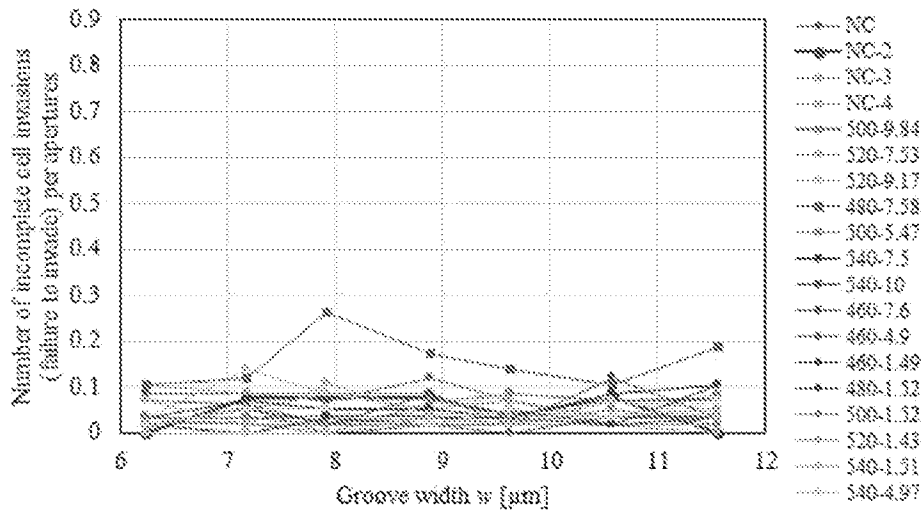
[図27]



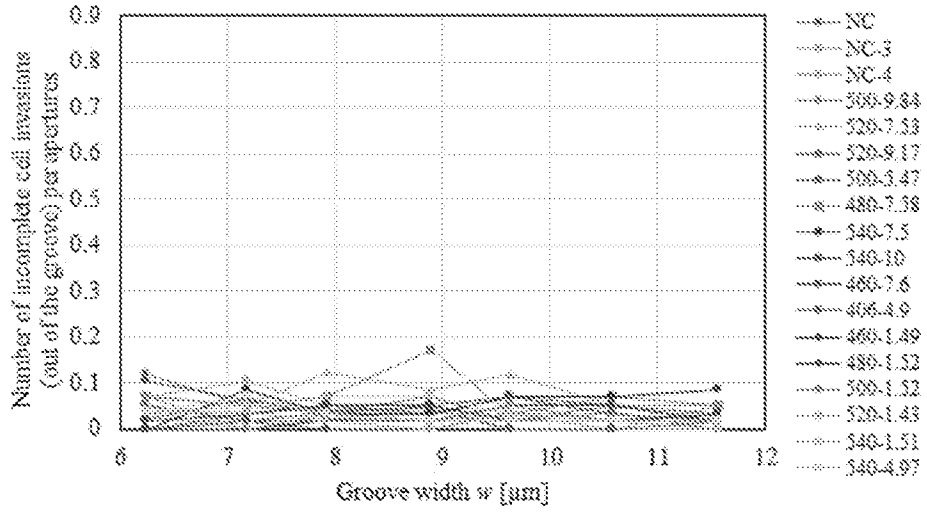
[図28]



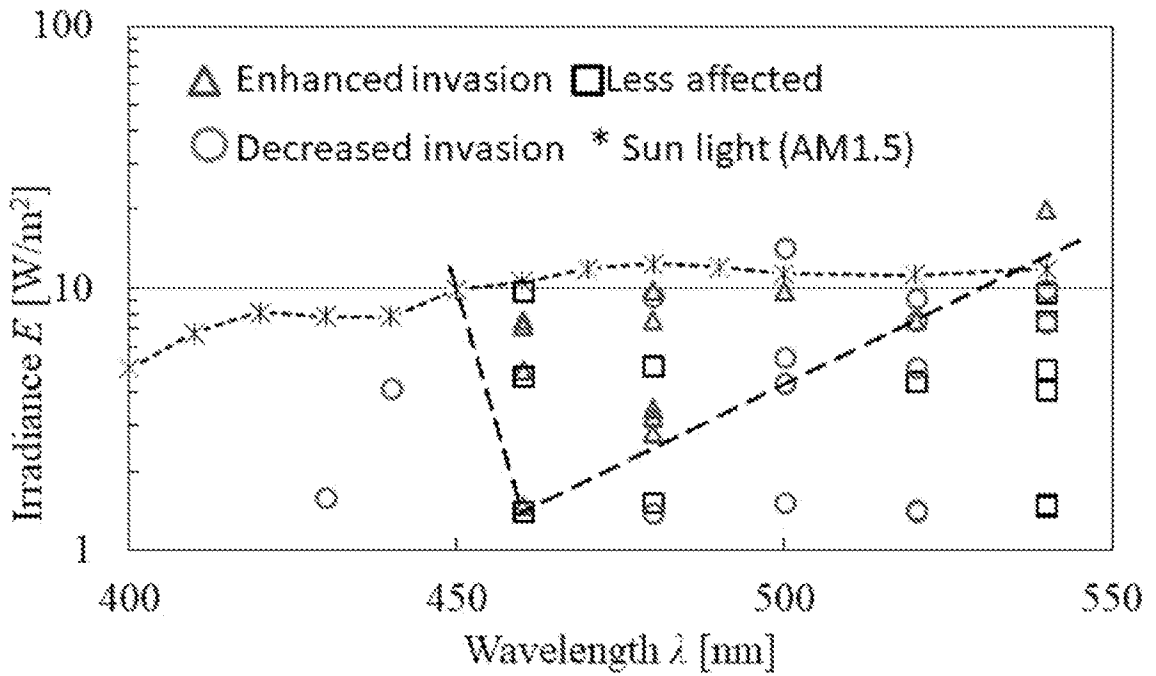
[図29]



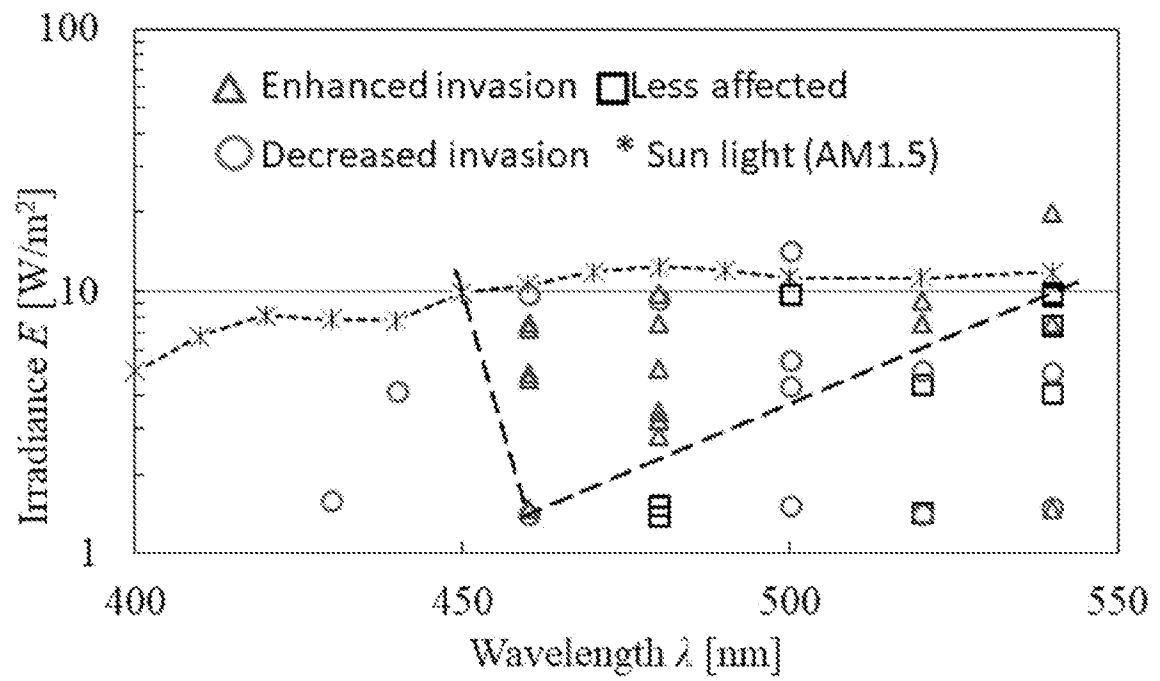
[図30]



[図31A]



[図31B]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/007185

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <i>C12N 5/07</i> (2010.01)i; <i>A61B 3/10</i> (2006.01)i FI: C12N5/07; A61B3/10  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N5/07; A61B3/10		
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 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2015-509742 A (ESSILOR INTERNATIONAL (COMPAGNIE GENERALE D'OPTIQUE)) 02 April 2015 (2015-04-02) entire text, all drawings	1-15
A	JP 2016-502682 A (UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID) 28 January 2016 (2016-01-28) entire text, all drawings	1-15
A	JP 2017-530774 A (LUMITHERA, INC.) 19 October 2017 (2017-10-19) entire text, all drawings	1-15
A	WO 2021/166996 A1 (IRIS COMMUNICATION KABUSHIKI KAISHA) 26 August 2021 (2021-08-26) entire text, all drawings	1-15
A	SHAHEEN, M. S. et al. Comparison between refractive outcomes of femtosecond laser-assisted cataract surgery and standard phacoemulsification. BMC Ophthalmology. 02 January 2020, 20:1, pp. 1-11, doi:10.1186/s12886-019-1277-9 entire text, all drawings	1-15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 <b>01 May 2023</b>		Date of mailing of the international search report <b>16 May 2023</b>
Name and mailing address of the ISA/JP <b>Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan</b>		Authorized officer  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/JP2023/007185**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2015-509742	A	02 April 2015	US 2014/0320806 entire text, all drawings	A1
				WO 2013/084176	A1
				EP 2602653	A1
				KR 10-2014-0104997	A
JP	2016-502682	A	28 January 2016	US 2015/0277003 entire text, all drawings	A1
				WO 2014/096475	A1
				EP 2937035	A1
JP	2017-530774	A	19 October 2017	US 2016/0067086 entire text, all drawings	A1
				EP 3838341	A1
				KR 10-2017-0058958	A
WO	2021/166996	A1	26 August 2021	US 2022/0400944 entire text, all drawings	A1
				EP 4108159	A1
				CN 115243603	A

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12N 5/07(2010.01)i; A61B 3/10(2006.01)i FI: C12N5/07; A61B3/10		
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）） C12N5/07; A61B3/10 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 - 2023年 日本国実用新案登録公報 1996 - 2023年 日本国登録実用新案公報 1994 - 2023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 (JDreamII); Cplus/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
A	JP 2015-509742 A (エシロール アンテルナショナル コムパニー ジェネラル ド ブテイク) 02.04.2015 (2015 - 04 - 02) 全文、全図	1-15
A	JP 2016-502682 A (ユニベルシダ コンプルテンセ デ マドリード) 28.01.2016 (2016 - 01 - 28) 全文、全図	1-15
A	JP 2017-530774 A (ルミセラ インク.) 19.10.2017 (2017 - 10 - 19) 全文、全図	1-15
A	WO 2021/166996 A1 (イリスコミュニケーション株式会社) 26.08.2021 (2021 - 08 - 26) 全文、全図	1-15
A	SHAHEEN, M. S., et al., Comparison between refractive outcomes of femtosecond laser-assisted cataract surgery and standard phacoemulsification, BMC Ophthalmology, 2020.01.02, 20:1, pp. 1-11, doi:10.1186/s12886-019-1277-9 全文、全図	1-15
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" 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抵 触するものではなく、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	01.05.2023	国際調査報告の発送日 16.05.2023
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官）  太田 雄三 4N 3959  電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

国際調査報告  
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/007185

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
JP	2015-509742	A	02.04.2015	US	2014/0320806	A1	
				全文、全図			
				WO	2013/084176	A1	
				EP	2602653	A1	
				KR	10-2014-0104997	A	
-----							
JP	2016-502682	A	28.01.2016	US	2015/0277003	A1	
				全文、全図			
				WO	2014/096475	A1	
				EP	2937035	A1	
-----							
JP	2017-530774	A	19.10.2017	US	2016/0067086	A1	
				全文、全図			
				EP	3838341	A1	
				KR	10-2017-0058958	A	
-----							
WO	2021/166996	A1	26.08.2021	US	2022/0400944	A1	
				全文、全図			
				EP	4108159	A1	
				CN	115243603	A	
-----							