

令和 3 年 8 月 24 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09397

研究課題名（和文）イリジウム錯体を用いた脈絡毛細管板のりん光寿命マップ

研究課題名（英文）Phosphorescence Lifetime Map of Iridium-Complexed on choriocapillaris

研究代表者

秋山 英雄 (Akiyama, Hideo)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60359586

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：イリジウム錯体は有機エレクトロルミネセンス用発光素材として注目され、電気を通すと高効率でりん光を発する。さらにイリジウム錯体は通常の酸素分圧では発光せず、低酸素になると発光する性質を持つ。それに加えて低酸素化では定常状態と比べてりん光寿命が長くなる性質を持つ。連携研究者の飛田らとともに「ゲートICCDカメラを用いたりん光寿命計測に基づく2次元酸素濃度」を発表し、論文化することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イリジウム錯体のりん光寿命を用いて酸素分圧を測定する礎ができた。人体投与や光学系のハードルはまだまだ高いが、それらが解決できれば解明されていない脈絡毛細管板の循環動態に迫れる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Iridium complexes are attracting attention as luminescent materials for organic electroluminescence, and they emit phosphorescence with high efficiency when electricity is passed through them. Furthermore, iridium complexes do not emit light at normal oxygen partial pressures, but emit light at low oxygen levels. In addition, the phosphorescence lifetime of the iridium complex becomes longer under low oxygen than under steady state conditions. Together with our collaborator Tobita et al, we presented "Two-dimensional oxygen concentration based on phosphorescence lifetime measurement using a gated ICCD camera", which was published in the journal.

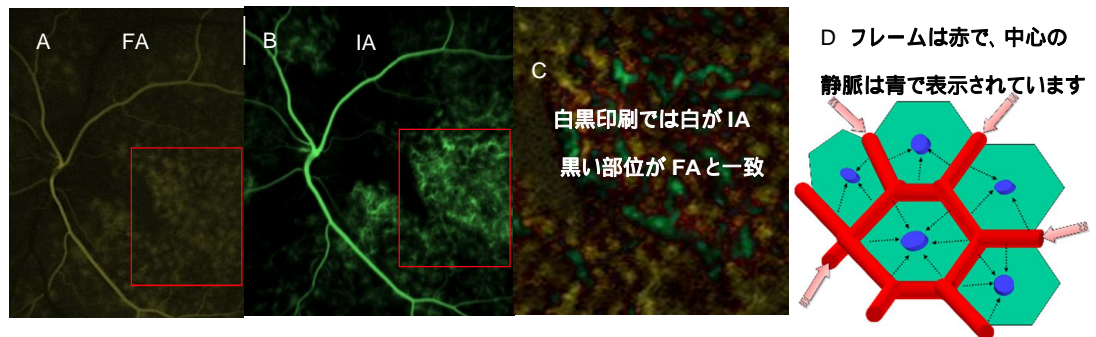
研究分野：網膜硝子体

キーワード：イリジウム錯体 りん光寿命 酸素分圧 眼底血流

## 1. 研究開始当初の背景

脈絡毛細管板は網膜外層を栄養する重要な役割を担っている。従来、脈絡毛細管板は中央に動脈があり周辺に静脈があるモザイク状の独立した循環単位からなると考えられていたが詳細は不明であった。脈絡毛細管板は中央に動脈があり周辺に静脈があるモザイク状の独立した循環単位からなると従来考えられてきた。一方で Fryczkowski は鋳型脈絡膜血管を走査型電子顕微鏡で観察して、脈絡毛細管板の中央に静脈があつて周辺に動脈があることを報告したが、広く受け入れられるまでに至らなかった。FA では網膜色素上皮のブロックによって、脈絡膜血管の観察は困難である。それに加えて脈絡毛細管板は有窓構造を有し、フルオレセインが速やかに漏出して血行動態の観察は極めて困難である。我々は、サル眼の高眼圧モデルを用いて FA と IA を施行し、脈絡膜毛細管板の循環動態を検討した。脈絡毛細管板の血行動態を観察するために以下のように実験系を構築した。まずアルコン社の硝子体手術機器 constellation の IOP コントロールを用いてサル眼を高眼圧(60mmHg)の状態にして得られた FA と IA の初期像を photoshop で黄色(図 1 A)と緑色(図 1 B)に変換してイメージの赤枠(白黒印刷では白)を merge させたところ(図 1 C)、それぞれが独立して分布していることがわかった。IA の脈絡毛細管板の動脈相は小葉のフレームを構成し、有窓構造から漏出してくるフルオレセインの深部に静脈が存在することを意味する。これは従来から言われてきた central arteriole theory ではなく、**central venule theory** (図 1 D)が正しいことを証明した。脈絡毛細管板の hemodynamics が明るみになり様々な病態を説明することができる可能性がある。

図 1



## 2. 研究の目的

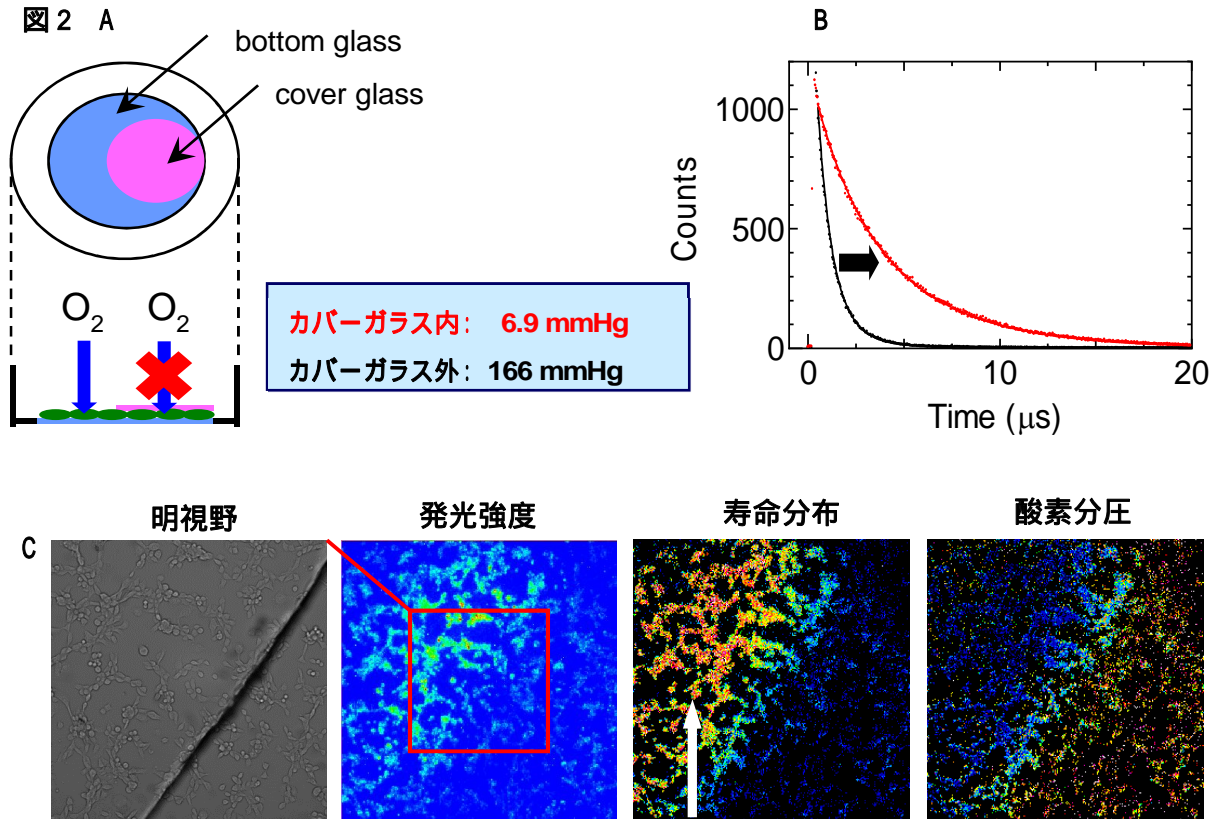
イリジウム錯体を投与したサル眼底を共焦点顕微鏡で観察し、りん光寿命マップを作成して脈絡毛細管板の酸素分圧を測定することによって、さらなる詳細な血行動態を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

連携研究者・飛田の教室にゲート ICCD カメラをさらに進化させた共焦点蛍光・りん光寿命イメージング装置 (Beckerand Hicki GmbH) が導入され、この装置を用いることにより細胞レベルでのりん光の検出、解析が可能となった。共焦点顕微鏡ゆえに眼底の任意の層にピントを合わせることができ、網膜、網膜色素上皮、脈絡膜の各層において en-face(正面像)りん光寿命マップを作製することが可能になる。本研究では、光干渉断層計や造影検査では血管構造や血行動態の解釈が困難であった脈絡毛細管板における発光強度画像を撮影し、さらにはりん光寿命マップを作成する。そのマップから眼底各層における酸素分圧、ひいては脈絡毛細管板の血行動態を検索する。

#### 4. 研究成果

連携研究者の飛田らとともに「ゲート ICCD カメラを用いたりん光寿命計測に基づく 2次元酸素濃度」を発表し、論文化することができた (Akiyama H, Takahashi I, Shimoda Y, Mukai R, Yoshihara T, Tobita S. Ir(iii) complex-based oxygen imaging of living cells and ocular fundus with a gated ICCD camera. Photochem Photobiol Sci. 2018 Jun 13;17(6):846-853.)。イリジウム錯体を添加した培養液中の細胞の一部にカバーガラスをかぶせるとその部位に一致して酸素分圧がさがり、りん光寿命が延びているのが確認できた (図 2)。

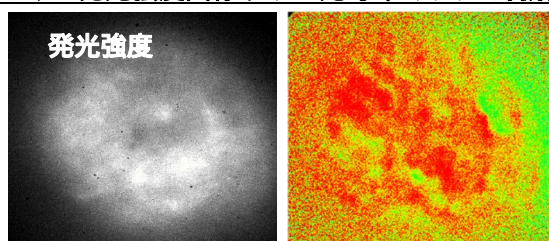


白黒印刷で白くみえる部位はカラーでは暖色で表示

酸素分圧画像でその部位は青で表示され白黒印刷では黒く表示

発光寿命はプローブの分布や励起光の不均一さに依存しないことを証明し、寿命分布は酸素分圧画像と相関していた。さらに動物実験において、前置レンズとゲート ICCD カメラを用いて、イリジウム錯体を静注したウサギの視神経乳頭における発光強度画像やりん光寿命マップを撮影できたことも合わせて報告した (図 3)。

**乳頭における発光強度画像やりん光寿命マップを撮影することに成功している (図 3)。**



Akiyama H, Takahashi I, Shimoda Y, Mukai R, Yoshihara T, Tobita S. Ir(iii) complex-based oxygen imaging of living cells and ocular fundus with a gatedICCD camera. Photochem Photobiol Sci. 2018 Jun 13;17(6):846-853.ゲート ICCD カメラをさらに進化させた共焦点蛍光・りん光寿命イメージング装置 (Beckerand Hicki GmbH) を用いることにより脈絡毛細管板の酸素分圧を計測することについては、光学系の問題で眼底に焦点を合わせることが困難であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akiyama H, Takahashi I, Shimoda Y, Mukai R, Yoshihara T, Tobita S.	4. 巻 17(6)
2. 論文標題 Ir(III) complex-based oxygen imaging of living cells and ocular fundus with a gated ICCD camera	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Photochem Photobiol Sci	6. 最初と最後の頁 846-853
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/c8pp00122g	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松本 英孝 (Matsumoto Hidetaka)  (30420178)	群馬大学・医学部附属病院・講師  (12301)	
研究分担者	向井 亮 (Mukai Ryo)  (70436327)	群馬大学・医学部附属病院・講師  (12301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	飛田 成史 (Tobita Seiji)  (30164007)	群馬大学・理工学府・教授  (12301)	
連携研究者	吉原 利忠 (Yshihara Toshitada)  (10375561)	群馬大学・理工学府・准教授  (12301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------