

青色レーザー光照射による光毒性の細胞周期依存性

Cell cycle dependence of phototoxicity caused by irradiation of blue laser light

阪府大院・工¹, 生環² ○金丸直弘¹, 山口樹也¹, 松山哲也¹, 和田健司¹, 岡本晃一¹

川喜多愛², 村田香織², 杉本憲治²

Engineering¹, Life and Environmental Sciences², Osaka Pref. Univ., N. Kanamaru¹, M. Yamaguchi¹,

T. Matsuyama¹, K. Wada¹, K. Okamoto¹, A. Kawakita², K. Murata², K. Sugimoto²

E-mail: kanamaru0617@pe.osakafu-u.ac.jp

1. はじめに

生体に対する多量の短波長光の曝露は、加齢黄斑変性症（AMD）や網膜傷害などの疾患の原因となることが知られている。そのため、細胞への短波長可視光照射によるダメージの発生病機構の解明が求められている。我々は、ライブセルイメージングにおいて LED と半導体レーザーを組み合わせた光源を用いて、青色光が生細胞に与える光毒性の定量評価を行っている。これまで、照射エネルギー、照射波長をパラメータとして光毒性の比較を行ってきた。今回は、細胞周期中の異なる時期の生細胞に対してレーザー光を照射し、光毒性の細胞周期依存性について調べたので報告する。

2. 実験系

蛍光顕微鏡の光学系を Fig. 1 に示す。バンドパスフィルターを用いて白色 LED 光から特定波長の光を切り出し、ダイクロイックミラーにより反射した後、対物レンズ(×60)で集光してシャーレ内の悪性黒色腫由来細胞に照射した。生細胞は、細胞核を mPlum-histoneH3 で、PCNA を EGFP で可視化している。生細胞からの蛍光は、対物レンズ、ダイクロイックミラーを通過し、蛍光フィルターで励起光と分離した後、レンズで集光して EMCCD カメラで観察した。レーザー光は、アテネーターで強度を調整した後、カバーガラスで反射させ顕微鏡に導入し、観察視野内にある生細胞の特定部位に照射した。

3. 実験結果

PCNA の分布から細胞周期を判別し、M 期、G1 期、S 期中期、S 期後期の細胞核中心に対して波長 405 nm、450 nm のレーザー光を照射した。405 nm レーザー光を照射した際の各細胞周期における照射エネルギー毎の 24 時間以内細胞生存率（生存細胞数 / 観察細胞数）を Table 1 に示す。照射時期によって細胞の生存率が異なり、S 期中期、S 期後期に比べ、M 期、G1 期において 24 時間以内の細胞生存率が低くなっているため、細胞周期中の時期により青色光照射による影響が異なることがわかった。

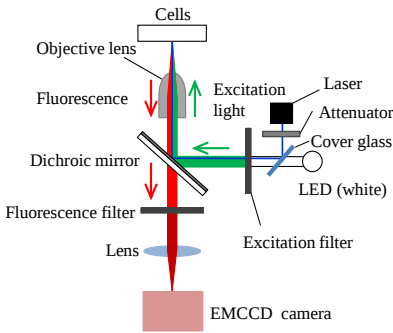


Fig. 1. Configuration of fluorescent microscope

Table 1. Cell viability test for different irradiation energy conditions

Irradiation energy (kJ/cm ²)	Cell viability (Live number / All number)				
	M	G1	MidS	LateS	Total(%)
0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	20 / 20 (100%)
12	3 / 5	2 / 5	4 / 5	3 / 5	13 / 20 (65%)
18	2 / 5	1 / 5	3 / 5	3 / 5	9 / 20 (45%)
24	1 / 5	0 / 5	2 / 5	3 / 5	6 / 20 (30%)