

Title	パルス波レーザーを用いた Photodynamic Therapy における細胞応答性
Author(s)	梅林, 志浩
Citation	
Issue Date	1998-09
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10119/2573">http://hdl.handle.net/10119/2573</a>
Rights	
Description	Supervisor:西坂 剛, 材料科学研究科, 修士

# パルス波レーザー光を用いた Photodynamic Therapy における細胞 応答性

梅林 志浩 (西坂研究室)

[目的] Photodynamic Therapy(PDT) は、患者にあらかじめ腫瘍親和性の感光色素を投与し、病巣部に色素が蓄積したのを見はからいレーザー光の照射によって色素を励起し、光化学反応(光酸化作用)を介して癌を壊死させる方法である。PDTにおける励起光源は、連続波レーザーに比べ、組織深達性が高く、腫瘍破壊効果が優れるパルス波レーザーが主流を占めるようになった。しかしながら、実際の組織・細胞傷害にどのような影響を与えるのかについての具体的な実験例は少ないのが現状である。特に、細胞死に与える影響評価等の細胞レベルでの検討は全くなされていない。本研究の目的は、連続波およびパルス波レーザーを励起光源とした際の殺細胞効果を、アポトーシスを指標として比較し、パルス波特有の細胞傷害作用を検討することにある。

[試料および実験方法] 試料には、マウス由来白血病細胞である BCL1-B20 を用いた。光増感剤として 2,4-bis(1-decyloxyethyl)-Ga(III)-1,3,5,8,-tetramethylporphyrin-6,7-dipropionyl diaspartic acid (ATX-70) を用いた。レーザーは、連続波レーザーとして Ar イオンレーザー、パルス波レーザーには Nd:YAG-OPO レーザー (パルス半値全幅: 7-9 ns、繰り返し周波数: 10 Hz) を用い、波長は共に 514 nm とした。ATX-70 により光増感した細胞にレーザー光を照射し、照射後の細胞の傷害効果を (1)XTT assay による生存率の測定 (光増感剤濃度: 0.01 ~ 10ug/ml、光照射量: 0.53 ~ 5.28J/cm<sup>2</sup>) (2)flow cytometry(FCM) による細胞周期の解析 (3)FCM によるアポトーシス誘発の定量 (4) アクリルアミドゲル電気泳動による DNA 断片化の検出により評価した。また、同調培養後の細胞集団に対しても同様の実験を行なった。

[結果および考察] パルス波レーザー光照射細胞群において、(1)PDT 条件を変化させたところ、比較的低い光増感剤濃度 (0.1 ~ 1.0ug/ml) ・光照射量 (1.32J/cm<sup>2</sup>) での生存率は、連続波群に比べ有意に低下した。これは、パルス波励起の PDT では、膜の酸化によるネクローシスに加え、アポトーシスの誘発も細胞の活性低下に寄与するためと考えられる。(2) 照射後早期に S 期細胞集団の増大および G2/M 期細胞集団の減少が認められた。これより、細胞の DNA 合成阻害が示唆された。(3) アポトーシス誘発時期が早く、細胞周期を同調させることで連続波群との差は、より顕著に現れた。(4) 細胞周期の同調により、連続波群との差が明確に示された。(3)(4) の結果は、PDT による腫瘍細胞のアポトーシス誘発を目的とした研究の際、細胞周期を考慮に入れる必要性を示している。以上の結果から、パルス波レーザー光照射によるアポトーシス誘発率は、連続波を用いた場合に比べて高いことが示された。またアポトーシス誘発の際に、細胞周期上の G1 check point を介する可能性が示唆された。

図は 平成 9 年度修士論文研究発表要旨集参照

keywords

Photodynamic therapy, Pulsed laser light, Apoptosis

著者に無断でのコピー頒布はお控え下さい。