

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26291098

研究課題名(和文)単波長パルス光の非視覚作用に及ぼす錐体の影響に関する生理人類学的研究

研究課題名(英文)Physio-anthropological study on the effects of retinal cone to non-visual effects of monochromatic pulsed light exposure

研究代表者

勝浦 哲夫(KATSUURA, Tetsuo)

千葉大学・工学(系)研究科(研究院)・名誉教授

研究者番号：00038986

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：色覚正常な成人40名を対象にして、青色、緑色、赤色などの単波長パルス光を単独、2色同時照射したときの網膜電図、視覚誘発電位、瞳孔径等の生理反応測定、および主観評価を行った。その結果、青色パルス光によって生ずる縮瞳などの非視覚作用が緑色パルス光の同時照射によって抑制される、いわゆる劣加法性が確認できた。視覚誘発電位には劣加法性は認められないこと、錐体の反応を示す網膜電図a波には劣加法性が見られず、双極細胞などの働きを反映するb/|a|に劣加法性が示されたことから、錐体からの信号が双極細胞からipRGCに伝達される間に劣加法的反応が生じている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined visual evoked potential (VEP), pupil constriction and electroretinogram (ERG) during separate and simultaneous exposure to short pulses of monochromatic light. The pupil constriction during the simultaneous exposure to blue and green-pulsed light was lower than that during the blue-pulsed light despite the double irradiance intensity of the combination. The b/|a| wave of ERG during the simultaneous exposure to blue and green-pulsed light was lower than that during the blue-pulsed light exposure. However, the P100s of VEP during the blue-pulsed light were smaller than those during the simultaneous blue and green-pulsed light and green-pulsed light, indicating that the P100 amplitude might depend on the luminance level. The effects on intrinsically photosensitive retinal ganglion cells by the blue-pulsed light exposure are reduced by the simultaneous irradiation of green light. The blue versus yellow bipolar cells in the retina might be responsible for this phenomenon.

研究分野：生理人類学

キーワード：生理人類学 単波長パルス光 非視覚作用 網膜電図 視覚誘発電位 内因性網膜神経節細胞 錐体

1. 研究開始当初の背景

今世紀初頭、哺乳類の網膜内に錐体、桿体以外の第3の視細胞が発見された。これは内因性光感受性網膜神経節細胞(ipRGC)といい、メラトニン分泌の抑制、覚醒反応、縮瞳などの非視覚作用に重要な働きをしている。こうした非視覚作用は、青色光の作用が大きいことが認められている。

我々は、持続時間が短く、高い放射照度の青色パルス光が定常光よりも顕著な縮瞳を引き起こすことを明らかにした(Katsuura et al. 2012)。また、我々の研究で、放射照度 $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の青色と緑色のパルス光(パルス幅 1 ms)を用い、青色光単独、緑色光単独、青色光と緑色光同時照射時の瞳孔径を測定したところ、青色光の単独照射時より、2倍の放射照度である青色光と緑色光同時照射時の最大縮瞳率が有意に抑制されることを明らかにした。これらのことから、ipRGCの作用に錐体からの入力に関与している可能性が考えられ、網膜電図等を用いて、より詳細に検討することが必要であると考えた。

2. 研究の目的

本研究は、青色を含む単波長パルス光を単独、2色同時あるいは逐次照射したときのヒトの網膜電図、視覚誘発電位、瞳孔径等の生理反応測定、および主観評価を行い、単波長パルス光の非視覚作用を検討し、ipRGCの特性およびipRGCに対する錐体からの入力の影響を明らかにすることを目的とした。以上のことを検討するために4つの実験を行った。

3. 研究の方法

(1) 実験1: 十分な説明と同意の上(以下、同様)、色覚正常な青年男性12名(年齢 24 ± 1.3 歳)が実験に参加した。実験光は発光ダイオード(LED)を内部に設置した積分球(タカノ製)から照射した。被験者は積分球の開口部の正面に着座し、積分球内を注視した。背景光には白熱電球(色温度 2287 K, 輝度 $30 \text{ cd}/\text{m}^2$)を用い、刺激光には青色LEDパルス光(ピーク波長: 464 nm, 光量子密度 $1.6 \times 10^{15} \text{ photons}/\text{cm}^2/\text{s}$, パルス幅 2.5 ms), 緑色LEDパルス光(526 nm, $1.6 \times 10^{15} \text{ photons}/\text{cm}^2/\text{s}$, パルス幅 2.5 ms)を用いて、単独(青条件, 緑条件), および青色+緑色の2色同時(青+緑条件)に照射した。背景光は常時点灯した。

10分間の明順応の後に、赤外線瞳孔カメラ(nac Image Technology, EMR-8B)を用いて10s毎に3回のパルス光照射時の瞳孔径を計測し、最大縮瞳率[(基準瞳孔径-パルス光照射後の最小瞳孔径)/基準瞳孔径 $\times 100$], 縮瞳回復時間(パルス光照射から縮瞳が25%まで回復するまでの時間)を求めた。その後、10分間の基準光下の安静の後に、誘発反応記録装置(メイヨー, PuREC)と皮膚電極を用いて網膜電図を測定した。同時にパルス光に対する視覚誘発電位をFz, C3, Cz, C4, Pz, O1,

O2部位より求めた。パルス光はランダムな間隔(1.5~2.5s)で各条件210回照射した。網膜電図は90のアーチファクトフリーの波形を加算平均して求めた。視覚誘発電位は180以上のアーチファクトフリーの波形を加算平均して求めた。主観評価は「青み」「緑み」をVAS(visual analog scale)法で測定した。3条件の順番は被験者間でカウンターバランスをとった。統計解析は反復測定分散分析とBonferroni法による多重比較検定を行った。有意水準は0.05とした(以下、同様)。

(2) 実験2: 色覚正常な青年男女10名(年齢 23 ± 1.7 歳)が実験に参加した。光照射装置として、実験1と同様にLEDを内部に設置した積分球(タカノ製)を用いた。背景光には白色LED(色温度 3085 K, 輝度 $30 \text{ cd}/\text{m}^2$), 刺激光には青色LED(ピーク波長 465 nm), 緑色LED(ピーク波長 535 nm), 赤色LED(ピーク波長 630 nm)を光源として用いた。各色LEDを組み合わせることで、S, M, L錐体をそれぞれ比較的強く刺激する条件(単独照射条件)のS($682 \mu\text{W}/\text{cm}^2$), M($606 \mu\text{W}/\text{cm}^2$), L($1352 \mu\text{W}/\text{cm}^2$)条件を設定した。また、S, M, L条件を組み合わせて照射する条件(同時照射条件)のS+M($1290 \mu\text{W}/\text{cm}^2$), S+L($2041 \mu\text{W}/\text{cm}^2$)条件を設定し、刺激光は全5条件であった。背景光は常時点灯し、Task1および3においてはパルス幅2.5msのパルス光、Task2においては70sの定常光を用いた。

被験者は背景光下で10分間の明順応後、Task1, Task2においては赤外線瞳孔カメラを用いて瞳孔径を測定した。その後、Task3において誘発反応記録装置および皮膚電極を用いて網膜電図の測定を行った。実験条件の実験順序はカウンターバランスをとった。Task1では、最大縮瞳率や縮瞳回復時間を算出した。Task2では70sの照射時間を5つに区切り(0~14s, 14~28s, 28~42s, 42~56s, 56~70s), 各区間内の平均瞳孔径の変化率を算出した(瞳孔径変化率)。また、光照射前10s間の瞳孔径から照射開始から縮瞳最大時の瞳孔径を引いた値を100%とした時の79s後から80s後の平均瞳孔径の変化率を算出した(縮瞳回復率)。Task3では、90回の測定データからアーチファクトフリーの波形を加算平均処理を行った後、網膜電図のa波及びb波の振幅や明順応下陰性反応(PhNR)の最大振幅や、それぞれの潜時を算出した。統計解析として、光条件を要因とした一元配置分散分析等を行った。多重比較検定にはBonferroni法を用いた。

(3) 実験3: 色覚正常な成人男性被験者10名(年齢 27 ± 2.4 歳)が実験に参加した。青色光と緑色光の同時照射による非視覚的作用を詳細に検討するために、青色光と緑色光の放射照度の比率(B:G ratio)を1:0, 1:0.1, 1:0.5, 1:1, 1:2, 1:10の6水準、および青

色光の放射照度を $5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, $200 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の 3 水準に変化させ、さらに背景光を色温度 6500 K と 2700 K (照度はいずれも 50 lx) の 2 種類とした。青色光はピーク波長 464 nm, 緑色光はピーク波長 526 nm で、それぞれ照射時間 25 ms のパルス光を同時に照射した。各光条件で 3 回測定した。全 32 の光条件は 30 s の安静を挟み、ランダムな順序で照射した。実験中、被験者は着座し、正面に置かれた積分球 (タカノ製) の開口部から光が照射された。

測定項目は、瞳孔径、および主観評価であった。瞳孔径は、片眼を赤外線瞳孔カメラで計測し、最大縮瞳率、縮瞳回復時間を求めた。主観評価は「明るさ感」を VAS 法で計測した。統計解析には反復測定分散分析を用い、多重比較には Bonferroni 法を用いた。

(4) 実験 4: 色覚正常な成人女性被験者 8 名 (年齢: 22 ± 0.9 歳) が実験に参加した。本実験では、光を照射する視野の違いが網膜電図に及ぼす影響を検討した。視野条件として、錐体を強く刺激することを想定した中心視条件 (視角: $0^\circ \sim 3.5^\circ$, 光量子密度 $1.05 \times 10^{13} \text{ photons}/\text{cm}^2/\text{s}$), ipRGC を強く刺激することを想定した周辺視条件 (視角: $3.5^\circ \sim$, 光量子密度 $4.70 \times 10^{10} \text{ photons}/\text{cm}^2/\text{s}$), 全視野 (光量子密度 $4.60 \times 10^{10} \text{ photons}/\text{cm}^2/\text{s}$) の 3 条件を設定し、遮光板を用いて発光範囲を限定した。色条件は青 (ピーク波長 466 nm), 緑 (ピーク波長 527 nm), 赤 (ピーク波長 630 nm), 白 (相関色温度 6046 K) の 4 条件であった。全ての視野条件において CFD (発光面積と刺激光の強度の積) が一定となるように強度を上記のように設定した。刺激光呈示装置として、積分球 (タカノ製) を使用した。

$30 \text{ cd}/\text{m}^2$ の背景光の下で 10 分間の明順応を行った後、網膜電図の測定を行った。各条件においてパルス幅 2.5 ms の光刺激を提示間隔 2 s で、1 条件につき計 90 回照射した。実験中、皮膚電極を用いて左眼の網膜電図を誘発反応記録装置 (メイヨー, PuREC) を用いて測定した。網膜電図は 1 条件につき、90 回の光照射時のデータを加算平均して求めた。アーチファクトが混入した波形箇所は加算平均を行う前に解析対象から除外した。統計解析は、反復測定分散分析を用い、多重比較検定は Bonferroni 法を用いた。データに正規性がみられなかった場合は Kruskal-Wallis 検定を行ったのち、Wilcoxon の符号付順位和検定を行った。

4. 研究成果

(1) 実験 1: 視覚誘発電位の P100 (光刺激から 100 ms 程度にピークが見られる陽性波) 成分の振幅は Fz, C3, Cz および C4 で光条件の有意な主効果が認められた。多重比較の結果、Fz, C3, および Cz において青条件の P100 振幅が青+緑条件および緑条件より有意に小さい

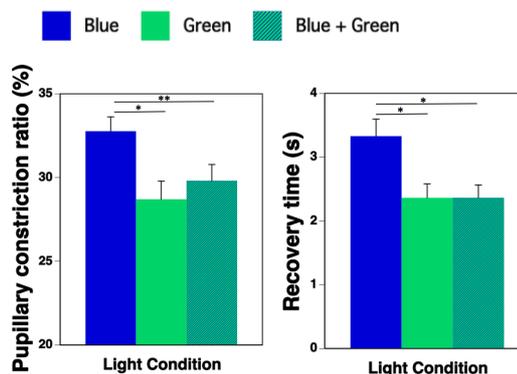


図 12. 各パルス光条件の最大縮瞳率 (左) と縮瞳回復時間 (右) * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

ことが示された。最大縮瞳率は青+緑条件で放射強度が 2 倍にもかかわらず有意に青条件より小さく、縮瞳回復時間も有意に短いことが示された (図 1)。網膜電図の a 波振幅、a 波に対する b 波振幅比 ($b/|a|$), 明所視陰性反応 (PhNR; photopic negative response) の最大振幅に光条件の有意な主効果が認められた。a 波振幅は青条件で青+緑条件より有意に小さくなった。 $b/|a|$ は青+緑条件で、青条件および緑条件より有意に小さいことが示された。また、PhNR 最大振幅は青+緑条件で青条件および緑条件より有意に大きいことが認められた。主観評価の「青み」「緑み」には、青+緑条件と青条件に有意差は認められなかった。以上のことより、青色光によって生ずる縮瞳などの非視覚作用は緑色光の同時照射によって抑制され、いわゆる劣加法性が生ずることが確認された。視覚誘発電位には劣加法性は認められないこと、網膜電図の結果より、錐体の反応を示す a 波には劣加法性が見られず、双極細胞などの働きを反映する $b/|a|$ に劣加法性が示されたことから、錐体からの信号が双極細胞から ipRGC に伝達される間に劣加法的反応が生じている可能性が示唆された。

(2) 実験 2: Task1 において最大縮瞳率と縮瞳回復時間において、同時照射条件と単独照射条件の間に有意差は認められなかったが、Task2 においては、縮瞳回復率において、L 条件と S+L 条件が S 条件より有意に回復率が大きく、縮瞳の回復が早かった。その他の指標では同時照射条件と単独照射条件の間に有意な差は見られなかった。Task3 において得られた網膜電図の a 波の振幅は同時照射条件において単独照射よりも有意に大きくなった。b 波の振幅は同時照射条件において単独照射よりも有意に大きくなった。PhNR の最大振幅は同時照射条件において単独照射よりも有意に大きくなった。

本研究の Task1, Task3 においては、瞳孔反応に見られる青色パルス光に緑色パルス光や赤色パルス光の劣加法的な作用は確認

されなかったが、Task2において、S+L条件にてS条件よりも有意に速く縮瞳が回復したことから、劣加法性が確認された。L錐体への刺激時にも劣加法性が生じる可能性が示された。また、先行研究において青色光と緑色光の同時照射時に劣加法性が確認されていることから、劣加法性にM錐体も関与していると考えられる。

以上より縮瞳などの非視覚作用にS錐体、M錐体、L錐体への入力に関与している可能性が示唆された。

(3) 実験3：最大縮瞳率は、青色光放射照度 $200 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の条件で $5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 、 $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ より有意に高いことが示された。B:G ratio が 1:0 から 1:1 までの条件では、青色放射照度 $5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の最大縮瞳率に対する B:G ratio の主効果は有意であった。特に背景光 6500 K 条件では、B:G ratio が 1:1 の最大縮瞳率は 1:0 や 1:0.1 より有意に高いことが示された。縮瞳回復時間は背景光 2700 K 条件で 6500 K 条件より有意に長いことが示された。青色光の放射照度 $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の縮瞳回復時間は $5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ より有意に長いことが認められた。また、B:G ratio が 1:0 から 1:1 までの条件では、縮瞳回復時間に対する B:G ratio の主効果は有意であった。主観評価の「明るさ感」に対する放射照度の主効果、B:G ratio の主効果、および両者の交互作用は共に有意であった。これらの結果より、高い放射照度の刺激光は縮瞳を促進すること、低い放射照度条件 ($5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) では、同時照射される青色光と緑色光の比率 (B:G ratio) によって縮瞳が影響されること、背景光の色温度が最大縮瞳率や縮瞳回復時間に影響することなどが示された。

(4) 実験4：網膜電図の a 波振幅について、視野条件と色条件を要因とした二元配置分散分析の結果、視野、色要因、交互作用すべてに有意な主効果は認められなかった。色ごとに視野を要因とした一元配置分散分析を行ったところ、緑色光条件にて有意な主効果が認められた。さらに多重比較検定を行ったところ、中心視条件にて全視野条件より有意に a 波振幅が大きくなることが示された。a 波潜時についても、緑色光条件の主効果において有意傾向が認められた。さらに多重比較検定を行ったところ、中心視条件にて全視野条件より有意に潜時が長くなる傾向がみられた。b 波振幅について、赤色光の周辺視条件にて中心視条件より有意に振幅が小さくなることを示された。b/|a| は、緑色光条件で視野要因の主効果に有意傾向が認められ、多重比較検定 (Wilcoxon の符号付順位検定) を行ったところ、全視野条件において中心視条件より有意に b/|a| が大きくなった。PhNR 最大振幅、および PhNR/b には有意な主効果は認められなかったが、PhNR 潜時において、緑色光条件にて中心視条件の潜時が短く

なる傾向がみられた。また、白色光条件においても Wilcoxon の符号付順位検定を行ったところ、中心視条件において全視野条件より有意に潜時が長くなることが示された。以上のように、視野の違いと網膜電図の反応には関係があることが示唆された。特に、光消灯時に起こる錐体の off 反応や ipRGC の反応と関係がある可能性が示された。

(5) 研究成果のまとめ：本研究期間内に色覚正常な成人男女 40 名を対象にして網膜電図、視覚誘発電位、瞳孔径等の生理反応測定、および主観評価を行った。その結果、青色パルス光によって生ずる縮瞳などの非視覚作用が緑色パルス光の同時照射によって抑制される、いわゆる劣加法性が確認できた。各色 LED パルス光を組み合わせる S、M、L 錐体をそれぞれ比較的強く刺激する条件と、それらを同時に照射した条件の縮瞳を比較した時には明確な劣加法性は認められなかったが、青色定常光照射時より青色と赤色定常光同時照射時に縮瞳が早く回復する劣加法性が確認され、L 錐体への刺激時にも劣加法性が生ずる可能性が示された。縮瞳に劣加法性が認められた時にも視覚誘発電位の P100 振幅には劣加法性は認められないこと、網膜電図の結果より、錐体の反応を示す a 波には劣加法性が見られず、双極細胞などの働きを反映する b/|a| に劣加法性が示されたことから、錐体からの信号が双極細胞から ipRGC に伝達される間に劣加法的反応が生じている可能性が示唆された。この他、背景光によって縮瞳が影響されること、視野によって網膜電図の反応が影響されることなどが明らかとなった。

引用文献

Katsuura, T., Ochiai, Y., Senoo, T., Lee, S., Takahashi, Y., Shimomura, Y. Effects of blue pulsed light on human physiological functions and subjective evaluation. *J Physiol Anthropol*, 31, 2012, 23. DOI:10.1186/1880-6805-31-23

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Dai, Q., Uchiyama, Y., Lee, S., Shimomura, Y., Katsuura, T. Effect of quantity and intensity of pulsed light on human non-visual physiological responses. *J Physiol Anthropol*, 査読有, 36, 2017, 22. DOI:10.1186/s40101-017-0137-7
Lee, S., Ishibashi, S., Shimomura, Y., Katsuura, T. Effect of simultaneous exposure to extremely short pulses of blue and green light on human pupillary constriction. *J Physiol Anthropol*, 査読有, 35, 2016, 20.

DOI:10.1186/s40101-016-0109-3

勝浦哲夫, 金信琴, 野崎翔大, 内山友里亜, 高橋良香, 李スミン, 下村義弘, 垣鐸直. 人工光環境に対する生理反応 -性格特性との関連及び青色パルス光の非視覚的作用(招待論文). 日本生理人類学会誌, 査読有, 20 巻, 2015, 9~17

[学会発表](計 10 件)

内海里咲, 勝浦哲夫, 李スミン, 下村義弘. 光照射時の視野の違いが明所視網膜電図に及ぼす影響. 2016 年度 日本生理人類学会研究奨励発表会(関東地区), 2016.12.17, 千葉大学(千葉県・千葉市)

Dai, Q., Lee, S., Shimomura, Y., Katsuura, T. Human Pupillary Constriction during Simultaneous Exposure of Blue- and Green-pulsed Light with Different Intensities. UNIST - JPA Joint Symposium, 2016.9.22-25, Ulsan National Institute of Science and Technology, Ulsan (Korea)

川崎萌子, 勝浦哲夫, 下村義弘. 青・緑・赤色光照射時の劣加法性. 2015 年度 日本生理人類学会研究奨励発表会(関東地区), 2015.12.19, 千葉工業大学(千葉県・習志野市)

Katsuura, T., Uchiyama, Y., Lee, S., Shimomura, Y. Visual and nonvisual effects of monochromatic pulsed light on physiological functions and subjective evaluations. 27th Annual Meeting Society for Light Treatment & Biological Rhythms, 2015, 6.27-28, Sanford Consortium, UCSD, San Diego (USA)

川崎萌子, 李スミン, 下村義弘, 勝浦哲夫. パルス光照射による縮瞳の個人内変動. 日本生理人類学会第 72 回大会, 2015.5.30-31, 北海道大学(北海道・札幌市)

Katsuura, T., Uchiyama, Y., Lee, S., Shimomura, Y. Subadditive Responses to Pulsed Light on Physiological Functions. International Symposium on Human Adaptation to Environment and Whole-body Coordination, 2015.3.14-16, 神戸大学(兵庫県・神戸市)

勝浦哲夫. 光がヒトの生理機能に及ぼす影響 -視覚的作用と非視覚的作用-平成 26 年度視覚科学技術コンソーシアム第 2 回メンバーイベント(招待講演), 2015.3.6, キャンパスイノベーションセンター東京(東京都・港区)

内山友里亜, 李スミン, 下村義弘, 勝浦哲夫. 単波長パルス光照射における光の劣加法性. 2014 年度日本生理人類学会研究奨励発表会(関東地区), 2014.12.13, 千葉大学(千葉県・千葉市)

内山友里亜, 李スミン, 下村義弘, 勝浦哲

夫. パルス光照射時の瞳孔径と網膜電図の関係. 日本人間工学会関東支部第 44 回大会, 2014.12.6-7, 早稲田大学(東京都・新宿区)

Katsuura, T., Shimomura, Y., Lee, S., Takahashi Y., Nozaki S., Uchiyama Y., Ishibashi, S. Physio-Anthropological study on non-visual effects of blue-pulsed light. 中国照明学会 光生物・光化学応用研究フォーラム, 2014.10.9-11, 合肥大学, 合肥市(中国)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝浦 哲夫 (KATSUURA, Tetsuo)
千葉大学・大学院工学研究科・名誉教授
研究者番号: 00038986

(2) 研究分担者

下村 義弘 (SHIMOMURA, Yoshihiro)
千葉大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 60323432

李 スミン (LEE, Soomin)
千葉大学・環境健康フィールド科学センター・助教
研究者番号: 90600429

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

戴 倩穎 (DAI, Qianying)
千葉大学・大学院工学研究科・特任研究員

川崎 萌子 (KWASAKI, Moeko)
千葉大学・大学院工学研究科・大学院生

内海 里咲 (UCHIUMI Risa)
千葉大学・工学部・学部生