

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07248

研究課題名(和文) ヒトとマウスにける概日リズムの光同調に関わる網膜内神経回路網と光応答特性の解明

研究課題名(英文) Study on light response properties of local retinal circuit mediating circadian photoentrainment

研究代表者

高雄 元晴 (Takao, Motoharu)

東海大学・情報理工学部・教授

研究者番号：90408013

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：概日リズムの光同調に関わる網膜内神経回路網と光応答特性に関してマウスおよびヒトで研究を行なった。その結果、マウス剥離網膜において新規な網膜電図成分を発見した。この網膜電図成分は内因性であるとともに特徴的な光反応特性から概日リズムの光同調に関わる内因性光感受性網膜神経節細胞(ipRGC)の機能を反映していることがわかった。またipRGCの主な投射先である視交叉上核のニューロンは短波長よりむしろ複数の波長を混色させたほうが同じ光量子束密度でも大きな光反応を生起させることがわかった。これはヒトの瞳孔反射において見られる現象と逆であった。

研究成果の概要(英文)：We performed the studies on retinal circuit mediating circadian photoentrainment in human and mouse. In a series of our study in mouse retina, we could find a novel retinogram response possibly demonstrating photorensposens of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGC). The behavior of this response was almost same as that of ipRGC. Neurons in suprachiasmatic nucleus responded to polychromatic light more than monochromatic light. However, it was reported that monochromatic light was more effective for pupillary light reflex than polychromatic light in human. These facts indicate that we are required to start a detailed comparative study on retinal circuits mediating circadian photoentrainment.

研究分野：神経科学 生理人類学

キーワード：網膜 概日リズム 波長 マウス ヒト 網膜電図 光瞳孔反射

1. 研究開始当初の背景

これまでの報告者らの研究^{1),2)}において、心理物理学的に視細胞を機能不全にしたヒトの眼球において、内因性光感受性網膜神経節細胞 (ipRGC) の機能を反映すると考えられる網膜電図成分を報告した。しかしながら、心理物理学的な技術の制約上、より直接的な網膜電図成分の同定が求められた。

2. 研究の目的

視細胞を物理的に損傷したマウスの剥離網膜標本を用いて、ipRGC の機能を反映する局所網膜電図成分を記録し、同定する。

3. 研究の方法

マウス眼杯から網膜を剥離した後、実体顕微鏡下において面相筆を用いて注意深く網膜色素上皮を除去することにより、視細胞外節を傷害し、視物質の再生を不可能にした。次に伸展標本にした剥離網膜をカバーガラスに貼り付け、電気生理学測定用正立顕微鏡のステージに固定した。なお実験中、網膜を栄養するために酸素・二酸化炭素混合ガスでバブリングした Ames 培養液で灌流した。網膜電図の記録に先立ち、顕微鏡に付属したハ口ゲン光源を用いて、強力な光を長時間照射し、視細胞の視物質を枯渇させた。

局所網膜電図は自作の silver-in-glass 電極を用いて行った。この電極の先端の直径は 500 μm で、これまで報告されてきた ipRGC の樹状突起野の直径とほぼ同じであった。顕微鏡下でマイクロマニピュレータを用いて注意深く、電極の先端を網膜の表面に軽く接着させた後、細胞外記録用差動アンプで網膜電図を増幅し記録した。

なおこれら一連の手続きは、ARVO のガイドラインに則るとともに、東海大学動物実験委員会の承認を得て行った。

4. 研究成果

局所網膜電図は 3 相性の非常に緩徐な光反応を示し、3 相すべての観察には 30 秒を必要とした (図 1)。特に ON 反応に引き続き現れる瘤状の成分の潜時や振る舞いからドミナントな ipRGC のサブタイプである M1 細胞の関与が考えられた。なおこの局所網膜電図から

時間はそれぞれのグラフで異なっている。求めた最大の視感度は 478nm であり、マウスに 3 種類ある視細胞ではなく ipRGC のそれと同じであった (図 2)。一方、閾値は高く、ipRGC とほぼ同じである一方で、暗順応を示さなかった (図 3)。フリッカー光に対する応答性は非常に高く、100Hz の光にも追従することができた (図 4)。

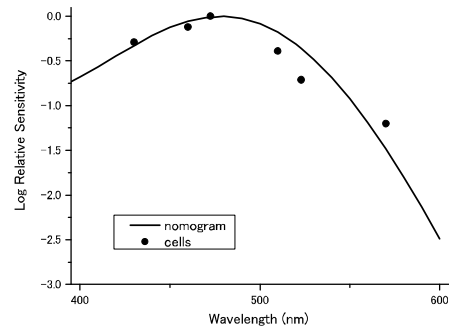


図 2 局所網膜電図から求めた分光感度曲線

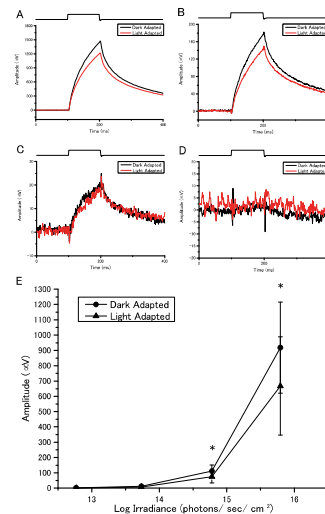


図 3 局所網膜電図の暗順応及び明順応

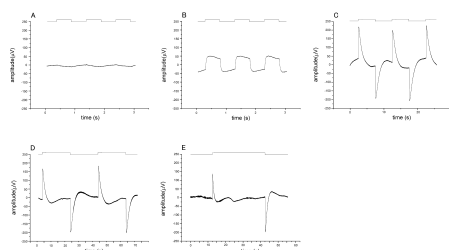


図 1 局所網膜電図の波形。視覚刺激の定時

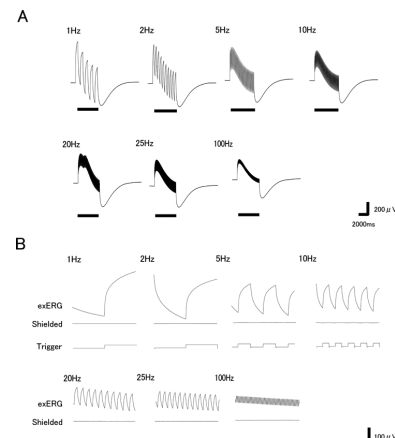


図4 局所網膜電図のフリッカー光に対する反応

通常、進行した網膜色素変性症患者の角膜から記録した網膜電図は光反応を示さない。また、晴眼者で同様に記録した網膜電図^{1),2)}でも数 μV の小さな成分しか記録されなかった。一方でヒトの網膜電図記録では使用されないかなり強い光刺激ではあるが、本研究で記録した局所網膜電図は数百 μV の電位波形を示した。ヒトの角膜から記録される網膜電図で非常に小さな電位波形しか得られないのは、ipRGCの光刺激に対する閾値が非常に高いことと眼球における電場電位の組織レベルの減衰によるものと考えられる(図5)。

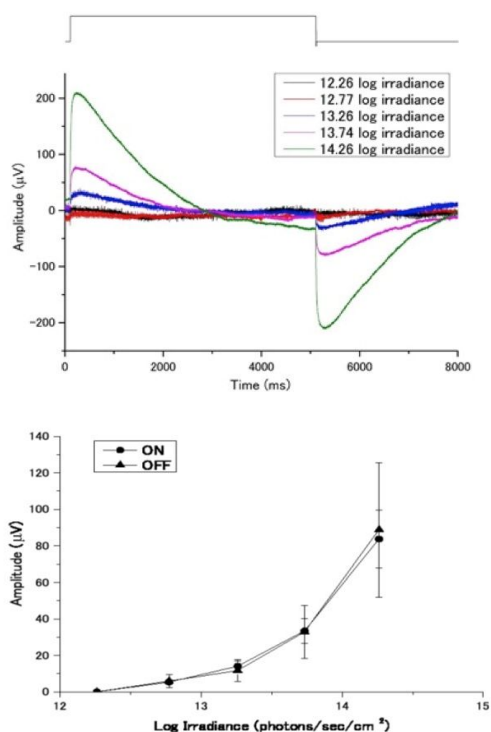


図5 局所網膜電図の照度に対する閾値

【参考文献】

- 1) Fukuda Y, Higuchi S, Yasukouchi A, Morita T. (2012) Distinct responses of cones and melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the human electroretinogram. *J Physiol Anthropol.* 26;31:20.
- 2) Fukuda Y, Tsujimura S, Higuchi S, Yasukouchi A, Morita T. (2010) The ERG responses to light stimuli of melanopsin-expressing retinal ganglion cells that are independent of rods and cones. *Neurosci Lett.* 479: 282-286.3)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

- 1) Takao M, Fukuda Y, Morita T. A novel intrinsic electroretinogram response in isolated mouse retina. *Neuroscience.* 2017;357:363-371.
- 2) J.Wieczorek, K.Blazejczyk, T.Morita. Changes in melatonin secretion in tourists after rapid movement to another lighting zone without transition of time zone. *Chronobiol Int.* 2016;33(2):220-233
- 3) Takao M, Miyajima H, Shinagawa T. Diurnal modulation of visual motion prediction. *Chronobiol Int.* 2015;32(7):1019-1023

〔学会発表〕(計34件)

- 1) Alhumaymis AS, Aschour AM, Takao M. (2018) Solar energy in Saudi Arabia. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 2) Aschour AM, Alhumaymis AS, Takao M. (2018) Lighting and electricity consumption in Saudi Arabia. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 3) Sity MM, Koga K, Takao M. (2018) An LED-ambient lighting system for investigation of suprachiasmatic nucleus in free-moving mouse. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 4) Ishiguro T, Takao M. (2018) Eye blink is a good physiological measure to evaluate immersive experience in virtual reality environment. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 5) Prasanseng P, Yamamoto S, Kawasaki T, Takao M. (2018) The effect of ambient lighting on devotion during video gaming on a tablet: an EEG study. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 6) Takao M. (2018) The effect of ambient lighting on visual motion prediction. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 7) Takao M. (2018) Current advancement in biological studies on circadian photoreception. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
- 8) Takao M. (2018) Eye blinking tells immersive experiences in virtually

- reality game. The 1st SAAN (Bangkok, Thailand)
- 9) Sakamoto H, Takao M. (2018) Hammock Pillow: development of stress-reducing pillow. The 1st SAAN (Bangkok, Thailand)
 - 10) Takao M. (2018) Evaluating User Experiences by Physiological Measures: Psychophysiology of Ergonomics. The 1st SAAN (Bangkok, Thailand)
 - 11) Koga Y. (2018) Designing Circadian Luminous Environment - From buildings to vehicles. Circadian Lighting: and Overview from Biology, Architecture and Industry. The 8th Lux Pacifica (Tokyo, Japan)
 - 12) Koga Y. Yamakawa M. (2018) Potential Non-Image-Forming Visual Effects of V-LED and B-LED White Light Sources. Balkan Light 2018 (Sofia, Bulgaria)
 - 13) Takao M. Fukuda Y. Morita T. (2017) An Intrinsic Electroretinogram Response of Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells in Isolated Mouse Retina. European Biological Rhythms Society XV Congress (Amsterdam, Netherland)
 - 14) Takao M. (2017) Discovery of photosensitive retinal ganglion cell -unveiling non-image forming vision- the 10th Asia Lighting Conference (Shanghai, China).
 - 15) Takao M. (2017) Time-dependent modulation of visual motion prediction in humans. The 20th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society. (Göttingen, Germany)
 - 16) Takao M. Ishiguri T. (2017) Immersive experience increases eye blinks in virtual reality games. the 10th Asia Lighting Conference (Shanghai, China).
 - 17) Peerapol Prasansieng, Koretake Shintaro, Sekiguchi Yuki, Matsumura Ryosuke, Tejima Takayuki, Miyahara Hirokazu, Yamamoto Sayaka, Kawabe Chisato, Kawasaki Takashi, Tateuchi Tomoko, Tsurui Ami, Ichikawa Jun, Takao Motoharu. (2016) The effect of illuminance on devotion during video gaming. The 9th Lighting Conference of China, Japan and Korea (Pukyong, South Korea)
 - 18) Takao M. (2016) Circadian preference and photoperiod at birth in Asian population. The 20th Congress of the European Anthropological Association (Zagreb, Croatia)
 - 19) Takao M. (2015) Diurnal time-of-day dependence of visual motion prediction. The 8th FAOPS (the Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) (Bangkok, Thailand)
 - 20) Takao M. (2015) Circadian modulation of visual motion prediction. The 8th Lighting Conference of China, Japan and Korea (Kyoto, Japan)
 - 21) T.Morita. M.Shibata, K.Mitagawa, Y.Fukuda (2015) The effect of light which stimulate melatonin expressing retinal ganglion cell independent of cone and rod on melatonin suppression during nighttime. 28th CIE Session (Manchester, UK)
 - 22) M.Sato, T.Wakamura, T.Morita, A.Okamoto, M.Akashi, T.Matsui, M.Sato (2015) Effects of light exposure during daytime on clock gene expression in hair follicular and root cells in humans. 14th European Biological Rhythms Society and 4th World Congress of Chronobiology (Manschester, UK)
 - 23) S.Nagashima, M.Yamashita, C.Tojo, M.Kondo, T.Morita, T.Wakamura (2015) Effect of tryptophan supplement intake at breakfast on nocturnal melatonin secretion under different light intensities in daytime in humans. 14th European Biological Rhythms Society and 4th World Congress of Chronobiology (Manschester, UK)
 - 24) Y.Fukuda, T.Morita (2015) Light-dark cycle induces circadian rhythms of diet induced thermogenesis. The 12th International of Physiological Anthropology (Chiba, Japan)
 - 25) 高雄 元晴 伊東 康志 Martina Meliana 韓 泰皓 太田 晟也 古賀 靖子 (2017) マウス視交叉上核ニューロンにおける混色光感受性に関する研究 日本生理人類学会 第76回大会 (京都)

- 26) 高雄 元晴 (2017) 内因性光感受性網膜神経節細胞の機能を反映する新奇な網膜電図成分の発見 第 13 回 総合医学研究所研修会 (神奈川)
- 27) 高雄 元晴 (2017) 光の非視覚作用の生理学的基盤に関する最近の研究動向 日本生理人類学会 2017 年度 照明研究会 (京都)
- 28) 古賀 靖子、宮下 和貴 (2018) 青色 LED 励起型白色光源と紫色 LED 励起型白色光源の光特性比較 - 非イメージ形成の視覚とイメージ形成の視覚 2018 年度日本建築学会大会 (仙台市、宮城県)
- 29) 西村 宇央、古賀 靖子 (2016) 瞳孔の対光反射の劣加法性について - 光の生理的效果の評価 福岡大学 (福岡県)
- 30) 高雄 元晴 久保寺 友也 西澤 俊浩 伊藤 安里紗 竹内 優介 (2016) 視覚運動刺激に対する時間予測精度の日内変動について 日本生理人類学会第 74 回大会 (七尾市、石川)
- 31) 高雄 元晴 (2015) もっと朝の光を夜の暗がりを - 脳の時計から考える夜の闇の大切さ 光害シンポジウム 2015 (東京)
- 32) 古賀靖子、渡邊亮、高雄元晴 (2015) 午後の覚醒水準に対する光色の効果 平成 27 年度(第 48 回)照明学会全国大会 (福井市、福井)
- 33) 古賀靖子 (2015) 照明空間の光色と昼食後の覚醒水準 日本建築学会 2015 年度大会 (関東) 学術講演 (平塚市、神奈川)
- 34) 古賀靖子 (2015) 光は薬にも毒にもなる - 光放射の非視覚的效果と照明応用 日本バウビオロギー研究会・第 44 回定例セミナー (世田谷区、東京)

〔図書〕(計 3 件)

- 1) Takao M. (2016) Health effects of occupational exposure to LED light: A special reference to plant cultivation works in pant factories. in Kozai et al ed. LED Lighting for Urban Agriculture (Springer, Singapore)
- 2) J.A. Veitch, F. Bisegna, S. Hubalek, M. Knoop, Y. Koga, H. Noguchi, C. Schierz, P. Thorns, A. de Vries (2016) Research Roadmap for Healthful Interior Lighting Applications. (Commission Internationale de l'Eclairage, France)

- 3) 高雄 元晴 (2016) 「メラノプシン」 光と生命の事典 (朝倉書店、東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高雄 元晴 (TAKAO, Motoharu)
東海大学・情報理工学部・教授
研究者番号: 90408013

(2) 研究分担者

森田 健 (MORITA, Takeshi)
福岡女子大学・国際文理学部・教授
研究者番号: 20326474

九州大学大学院・人間環境学研究院・准教授

古賀 靖子 (KOGA, Yasuko)
研究者番号: 60225399