

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570260

研究課題名(和文)概日リズムの光同調に及ぼす混色光の効果 神経基盤を探る

研究課題名(英文)A Beneficial Effect of Polychromatic Light on 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) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトにマウスにおける内因性光感受性網膜神経細胞の混色光に対する光応答性について検討した。その結果、明順応下においたマウスでは、錐体視細胞からの間接的なシナプス入力による光反応の修飾が認められ、単色光に比べ混色光に強い光反応を示した。一方で、暗順応下にあるヒトでは桿体視細胞からの間接的なシナプス入力の存在が推定されたものの、マウスで見られたような混色光による光反応の増強は認められなかった。また、マウスの剥離網膜標本を用いて、網膜電図の記録を行った。この結果、視感度、フリッカー応答性および薬理的性質の点から、内因性光感受性網膜神経細胞の光反応性を反映すると考えられる波形成分の同定に成功した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the light response properties in human and mouse. In light adapted mouse, polychromatic light increases the response of neurons in suprachiasmatic nucleus more than monochromatic light. In contrast to mouse, such beneficial effect of polychromatic light could not be detected. We could identify the wave form which can reflect the intrinsic light response of retinal ganglion cell setting circadian rhythm in mouse.

研究分野：神経科学

キーワード：網膜 照明 サーカディアンリズム ヒト マウス 瞳孔反射 網膜電図

## 1. 研究開始当初の背景

現在、サーカディアン照明機器の分光波長の最適化は、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のみの分光波長感度を想定した数理モデルにもとづいてもっぱら行われている。しかし、申請者らは、内因性光感受性網膜神経節細胞への錐体視細胞からの経シナプス入力が存在し、錐体視細胞への光刺激によって同細胞の光反応の増強効果が存在することをマウスとヒトで見出している。これらの結果は、現在の数理モデルの再考を促すもので、本研究で得られる知見は、内因性光感受性網膜神経節細胞の神経回路の解明と、ヒトにおける同細胞の多波長光刺激にもとづく詳細な分光波長感度特性を明らかにすることにより、真にヒトの健康の増進に寄与する照明機器の開発に大きく貢献することが期待される。

ブラウン大学の Berson 教授と代表申請者らが、概日リズムの光同調に関わる新奇な網膜神経節細胞を発見し、報告したのは 2002 年のことであった (Berson et al., Science 2002: (295)1070-1073)。この細胞は、視物質様タンパク質 (メラノプシン: melanopsin) を含んでおり、光に対し光受容が可能であったことから、申請者らは内因性光感受性網膜神経節細胞 (intrinsic photosensitive retinal ganglion cell) と名付けた。この発見は、生物学分野のみならず、照明工学の分野にも大きなインパクトを与えた。すなわち、内因性光感受性網膜神経節細胞の生理学的な性質を明らかにすることは、概日リズムの適切な同調を促す光条件を解明することにつながる可能性を強く示唆していたのである。事実、居住者や労働者にとって概日リズムの乱れから発症リスクを高める乳がんや肥満といった身体的疾患、また季節性感情障害のような精神疾患を予防し、健康の維持を維持するため、適切な概日リズムの光同調を促す照明機器の研究開発が国内外を問わず行なわれ、標準化に向けて、欧州連合などによって国際規格の策定が進められている。

## 2. 研究の目的

これらの国際規格は、現在、内因性光感受性網膜神経節細胞の分光波長感度特性のみをもっぱら仮定して数理モデルが構築されている。一方、申請者らを含む 2 つのグループが、最近、マウスの網膜および視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus: 概日リズムの光同調を統御する神経核) における組織学的研究結果から、内因性光感受性網膜神経節細胞には錐体視細胞からの経シナプス入力の存在を確認している (Pickard et al., Plos One 2009: e4984; )。この事実は、国際規格の策定に錐体視細胞からの経シナプス入力を考慮しなければならないことを示唆している。

本研究は、内因性光感受性網膜神経節細胞における多波長光刺激にもとづく詳細な分光

波長感度特性を明らかにすべくヒトおよびマウスを対象に検討をおこなった。マウスは 2 種類の錐体視細胞を有することから、ヒト網膜における色覚の神経回路研究モデルとして、近年非常に注目され、精力的に研究がすすめられている。

## 3. 研究の方法

申請者らは、2 種類の波長の光を混色した光刺激 (混色光) に対する視交叉上核の神経細胞の活動性の変化について、転写因子 c-Fos の発現数を指標として組織学的に調べた。転写因子 c-Fos は、遺伝子の転写に関わるタンパク質で、神経細胞内において神経活動依存的に発現することから、神経細胞の活動の変化を鋭敏に検出可能な組織学手法として多用されている。

また、申請者らはマウスの剥離網膜において、内因性光感受性網膜神経節細胞に特有な網膜電図の波形成分の同定を試みた。網膜電図は非侵襲的に記録が可能であるだけでなく、網膜の機能を鋭敏に測定できる生理指標である。

一方、哺乳動物において、内因性光感受性網膜神経節細胞は、内因性の光信号と視細胞からの光入力信号を統合して、サーカディアンリズムの光同調や瞳孔の対光反射などを誘導することから、ヒトにおいて、波長の異なる単色光刺激、または、その組み合わせの混色光刺激を用いて、瞳孔の対光反射の分光特性を調べた。

## 4. 研究成果

実験の結果、図 2 および 3 に示したように、マウスの UV 錐体 (ヒトの S 錐体に相当) および内因性光感受性網膜神経節細胞が最も高い感度を示す波長である 360nm および 480nm の単波長光を、十分明順応させたマウスに同じ光量になるように照射したところ、ほぼ同数の c-Fos の発現が視交叉上核において認められた。一方、両波長の光量をそれぞれ半分にして混色させた光刺激 (総光量は上記単波長光と同一) を行った結果、単色光で刺激を行った場合より 1.8 倍の c-Fos の発現数が認められた (ANOVA:  $p < 0.001$ )。これらの結果は、網膜内において錐体視細胞からのシナプス入力によって内因性光感受性網膜神経節細胞の活動が増大するメカニズムの存在を示唆している (発表準備中)。

ところで、福岡女子大の森田ら (Fukuda et al., Neurosci. Lett. 479: 282-286, 2010) は視覚刺激の波長や時間周波数を巧妙に工夫することによって、正常なヒトにおいて錐体視細胞および桿体細胞の機能を心理物理学的に不能にした状態で網膜電図を記録したところ、内因性光感受性網膜神経節細胞の活動を反映する可能性のある成分を見出した。申請者らは、外科的・薬理学的操作が可能なマウス網膜を用いて、この網膜電図成分が内因性光感受性網膜神経節細胞の活動を

反映するものであるかどうか神経生理学的に検討をおこなった。外科的・薬理的にすべての錐体視細胞および桿体視細胞の機能を完全に損なったマウス網膜では通常網膜電図は消失すると考えられる。しかしながら、申請者らは容積伝導の少ない特殊な記録電極を用いて内因性光感受性網膜神経節細胞の活動を反映する網膜電図成分を最近同定することができた。本網膜電図はおよそ480nmの波長に最大分光感度を有すること、Wengら(2013)がパッチクランプ法で行った実験結果と同様に meclofenamic acid によって網膜電図を大きく減弱すること、そして、時間周波数に対する応答性がヒトとマウスではほぼ同じであることを見出している。これらの知見から、森田らが見出した網膜電図成分は内因性光感受性網膜神経節細胞の活動を反映していることを確認することができた(Weng et al., PloS One 8(6) e66480.; 発表準備中)。

一方、ヒトにおいて単色光刺激による対光反射実験を行った結果、光刺激中の縮瞳率(光刺激前と光刺激中の瞳孔径の差を、光刺激前の瞳孔径で除したもの)から求めた分光感度曲線は、個人差があり、481 nm~564 nmの範囲で極大を示した。また、視細胞から内因性光感受性網膜神経節細胞へ入力がある場合の対光反射に関する既往研究報告(Gamlin et al., Vision Research 47, 946-954, 2007)と同様に、単一の視物質の吸光度テンプレートとの相関は高くなく、複数の視物質の関与が示唆された。図1に、対光反射の分光感度曲線の例(22歳・女性)を示す。

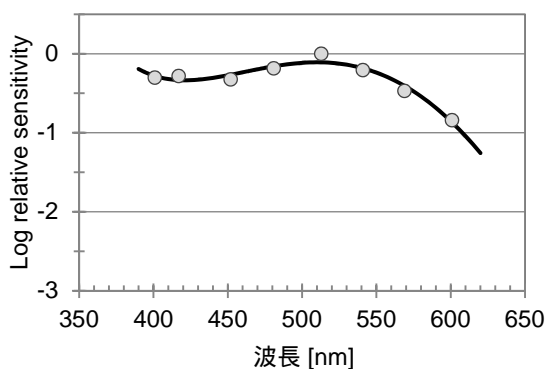


図1 瞳孔の対光反射の分光感度曲線例

混色光刺激による対光反射実験の結果、光刺激量の混合比に関係なく、混色光に関する刺激応答曲線は、ほぼ同じであった。瞳孔の反応が弱い600 nmの条件を除くと、単色光刺激と混色光刺激でも、刺激応答曲線に大きな違いはなかった。明るさ知覚と同様に、サーカディアンシステムの光応答における劣加法性が示されている(Rea et al., J. Circadian Rhythms, 8:2, 2010)。さらに、データの蓄積と検討が必要であるが、対光反射についても劣加法性が成立すると考える。

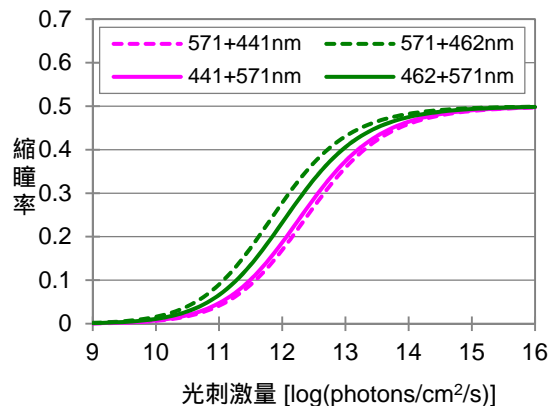


図2 混色光刺激に対する縮瞳率の刺激応答曲線(凡例 a+b nm: 波長 a nm の光刺激量を固定、波長 b nm の光刺激量を変化させた)

## 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6件)

1. Takao M, Umemoto T, Kuroki K. (2013) Improvement of Visual Attention by Background Noise Contrast. Lux Pacifica 7: 50-53. (査読有り)

2. 高雄元晴 (2013) 背景ノイズによる視覚的注意の向上 照明学会誌 97: 844 (査読有り)

3. 高雄元晴 (2012) マウスの視覚ニューロンの分光波長特性を測定するためのオープンフィールド型LED照明システム 照明学会誌 96: 819 (査読有り)

4. 高雄元晴 (2012) 生物時計に対する光の作用機構 照明学会誌 96: 694-699. (査読有り)

5. Nishiaki T, Myochin T, Sakamoto Y, Takao M (2012) An LED-Ambient Lighting System to Stimulate Brain's Visual Neurons in Freely Moving Mouse. The Proceedings of the 5th Lighting Conference of China, Japan and Korea. 5: 47-50. (査読有り)

6. 古賀靖子 (2012) 光の非視覚的効果に関する規格作成の瞳孔 照明学会誌 96: 708-712 (査読有り)

[学会発表](計18件)

1. Takao M (2015) Circadian Dependence of Time Prediction to Moving Images. International Symposium on Human Adaptation to Environment and Whole-body Coordination (Kobe Univ., Hyogo)

2. 古賀 (2015) 照明環境の設計・評価に関する国際標準化 CEREBA 研究会(秋葉原 UDX, 東京都)
3. 宮島・品川・高雄 (2014) 視覚的時間判断に及ぼす空間照度の影響 第 47 回照明学会全国大会(埼玉大, 埼玉県)
4. 品川・宮島・高雄 (2014) 背景輝度が運動刺激に対する時間予測に及ぼす影響 第 47 回照明学会全国大会(埼玉大, 埼玉県)
5. 山下・古賀 (2014) 非イメージ形成の視覚の分光感度に関する実験 2013 年度第 53 回日本建築学会九州支部研究発表会(佐賀大, 佐賀県)
6. 古賀 (2014) 非イメージ形成の視覚に関する基礎的研究 その 6 瞳孔の対光反射の分光特性 2014 年度日本建築学会大会(神戸大, 兵庫県)
7. 西秋・明珍・坂本・古賀・高雄 (2013) LED を用いたマウス視覚ニューロンの分光感度測定システム 第 46 回照明学会全国大会(名古屋大, 愛知県)
8. 宮島・高雄 (2013) 輝度が運動知覚の予測に及ぼす影響 第 46 回照明学会全国大会(名古屋大, 愛知県)
9. 高雄・梅本・宮島 (2013) 背景ノイズによる視覚的注意の向上効果に関する研究 第 46 回照明学会全国大会(名古屋大, 愛知県)
10. 明珍・坂本・西秋・古賀・高雄 (2013) LED アレイを用いた皮質下視覚神経核における分光波長感度特性評価システムの開発 '13 SAS インテリジェントシンポジウム(東海大, 神奈川県)
11. 坂本・明珍・西秋・古賀・高雄 (2013) プレパルスインヒビションに対する光環境の評価システムの開発 '13 SAS インテリジェントシンポジウム(東海大, 神奈川県)
12. 宮島・高雄 (2013) 運動刺激に対する時間予測に輝度は影響するのか? '13 SAS インテリジェントシンポジウム(東海大, 神奈川県)
13. 古賀 (2013) 非イメージ形成の視覚に関する基礎的研究 その 5 睡眠・覚醒に関わる背側縫線核の応答 2013 年度日本建築学会大会(北海道大, 北海道)
14. Takao M (2012) A postnatal photoenvironmental effect on moriness-eveningness in asian population. The 2nd ASEAN Sleep Congress (Bangkok,

Thailand)

15. 高雄 (2012) LED 時代の照明クオリティ ~ 視覚的影響とサーカディアンリズムの観点から ~ 第 45 回照明学会全国大会(山口大, 山口県)
16. 井手・御厨・古賀・高雄 (2012) 非イメージ形成の視覚の分光感度 - 覚醒喚起に関する行動学的実験 - 第 45 回照明学会全国大会(山口大, 山口県)
17. 高雄 (2012) サーカディアンリズム同調に関わる光 いまどこまでどうわかっているのか? 第 45 回照明学会全国大会(山口大, 山口県)
18. 山下・古賀 (2012) 非イメージ形成の視覚に関する基礎的研究 その 4 瞳孔の対光反射の測定 2012 年度日本建築学会大会(名古屋大, 愛知県)

〔図書〕(計 2 件)

1. 高雄元晴 (2014) 第 4 章 光受容細胞と神経経路「照明光のサーカディアンリズムへの作用と夜間屋内照明のあり方」17-18, (一社)照明学会

2. 古賀靖子 (2014) 第 6 章 照明指針の実例 6-1. 欧州の動向 ドイツにおける例、「照明光のサーカディアンリズムへの作用と夜間屋内照明のあり方」44-46, (一社)照明学会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

古賀 靖子 (YASUKO KOGA)  
九州大学・人間・環境学研究所  
(研究院)・准教授  
研究者番号: 60225399