

単色パルス光に対する明所視網膜電図応答

The Response of Photopic ERG by Monochromatic Pulsed Light

キーワード: 光受容器, ipRGC, 単色光, パルス光, 網膜電図(ERG)

人間生活工学研究室 12TM1145 野崎 翔大

■Abstract

This study shows the recorded activity of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs) by electroretinogram (ERG) and compared amplitude of Photopic negative response (PhNR). In early study, ipRGCs showed more effective response when it was stimulated by blue light (about 480 nm) and PhNR reacted similarly. So, we supposed ipRGC is one of the roots of PhNR.

Monochromatic lights and white light were provided individually from ganzfeld sphere. It had 5 types of LEDs (ultra blue =425 nm, blue =465 nm, green =525 nm, red =635 nm and Incandescent =3300 K). LEDs flashed 60 times every 2 s. The result indicated blue light influenced largest PhNR. So, we indicated the relation between ipRGC and PhNR.

■背景

近年、杆体や錐体に続き新たな光受容器が網膜上に発見された。その光受容器は ipRGC (内因性光感受性網膜神経節細胞) と名付けられ、波長 480 nm (青色光帯域) 付近にピーク感度を有し、体内時計や人の気分をはじめとした、非視覚的作用に関与していることが知られている¹⁾。

ipRGC は網膜内の細胞にも関わらず網膜電図(ERG)を用いて検証した実験は少ない。明所視測定時の波形に現れる PhNR とよばれる成分(図 1)は網膜神経節細胞に由来²⁾し、特に青色に曝露された時に大きく誘発される³⁾。このため、PhNR の誘発には ipRGC が関与する可能性がある。また、ERG の測定にはコンタクトレンズ電極を用いるが、その使用は専門知識を要するため、医療分野以外からのアプローチを難しくしている。

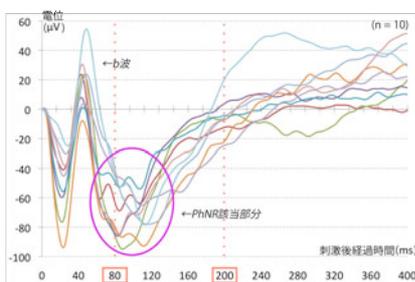


図 1 今回測定した波形内における PhNR の例 (青強条件における被験者毎の平均波形)

■目的

本研究の目的は、錐体と ipRGC それぞれのピーク感度に対応した波長の LED を用いて光の色と ERG の応答の関係性を比較する事だった。加えて、本研究では人間工学の分野では初めて ERG の測定に皮膚電極を用いる方法を取り入れた。

表 1 各LEDの波長と錐体の関係

色	ピーク波長(主な波長) 白色については色温度	対応する 光受容器
藍色	427 (420 - 430) nm	S 錐体
青色	465 (455 - 475) nm	ipRGC
緑色	525 (515 - 535) nm	M 錐体
赤色	625 (620 - 630) nm	L 錐体
電球色	2800 - 3300 K	

■方法

色覚正常な健康男性 10 名(22.3±1.7 歳)が参加した。光刺激は積分球(φ 45 cm, 開口径 11 cm)により供給した。内部に LED を設置し、それぞれ藍、青、緑、赤の単色 LED とコントロール条件として温白色 LED を条件毎に用いた(表 1)。単発の刺激光は分光放射照度計を用いて色毎に 8 (弱条件) or 16 (強条件) × 10¹⁴ photons/cm²/s の強度で発光するように調整し、条件毎の光量子量を統一するために発光時間を弱条件で 0.5 ms、強条件で 0.25 ms とした。

実験は暗室ブース内で行った。刺激光とは別に、背景光として 30 cd/cm² の強度で電球色 LED を点灯させ、10 分間の明順応を行った。その後 2 s 間隔で背景



図 2 実験風景

光の上からパルス刺激を与え条件毎に 60 回発光した。被験者は裸眼かつ右目を覆った上で積分級の開口部を覗き込む姿勢をとり、測定中は閉眼しないよう指示した。発光 10 回毎に瞬きのための短い休憩を挟んだ。



図 3 実験全体の流れ

網膜電図測定には PuREC(メイヨー)を用いた。皮膚電極を両目の下 5 mm 以内、アース電極は左耳朶に装着した。バンドパスフィルタを 0.3-300Hz とし、ノッチフィルタ(50Hz)を適用した。また、波形の概形を掴むため 0.3-40Hz に変換してデータを扱った。

ベースラインは-20~0 s の電位を平均して求めた。PhNR 振幅が最大になりやすい 65 ms から 120 ms の区間で 5 ms 間隔の電位と、b 波直後の最低値(PhNR_{min})、すなわち過分極の大きさを対象とした。

解析には SPSS を用いた。全体には「光の種類と発光強度」による 2 × 3 要因の 2 元配置反復測定分散分析を行い、色毎に「光強度」を要因とした対応のある t 検定、光強度毎に「色光の種類」を要因とした 1 元配置反復測定分散分析を行った。有意水準は 0.05 に設定し、事後比較検定は Bonferroni を用いた。

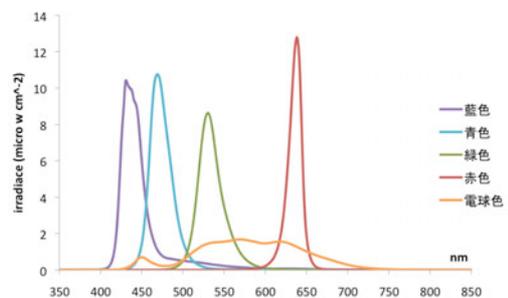


図 4 弱条件の分光分布

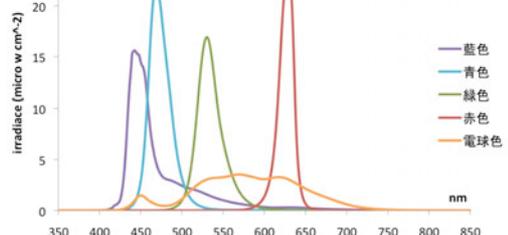


図 5 強条件の分光分布

■結果

(1)5 ms 毎の振幅変化

PhNR は今回設定した時系列において図 6, 7 のように変異した(図 6, 7 は視認性のために誤差バーは除いている).

弱条件では主効果が見られず、色の違いに PhNR の振幅が大きく変動する事は無かった($p>0.05$). 一方で、強条件の主効果は認められた($p<0.05$).強条件 65 ms の時点で既に青色が他の色と比べて大きな PhNR の誘発を示し、白色も最小の誘発を示し、どちらも 120 ms まで継続していた.

測定区間の各最大振幅を比較すると、青色は他の色に比べ有意に大きい影響を与えていた($p<0.05$). また、緑色も白色光との比較でのみ有意に大きい振幅を誘発していた.

同時時間帯の強度比較の結果は電球色のみ全ての時間で有意差は認められなかった($p>0.05$). 電休職以外の全ての色は強条件の方が有意な PhNR の誘発を示し、藍色は 90-120 ms の区間に有意差がみられ($p<0.05$), 65, 80, 85 ms においては有意傾向だった($p<0.1$). 同様に赤, 緑, 青条件は全ての時間で有意差が見られた($p<0.05$).

(2)最大振幅の比較

結果は図 8 に示した通りになった. (1)同様に、弱条件の主効果は認められず($p>0.05$), 白色を覗いて強条件の方が有意に大きい振幅を誘発した($p<0.05$). さらに、青色光と他の色の比較では、藍色のみ有意傾向($p<0.1$)で、他の色には有意だった($p<0.05$). また、緑色が白色に対して有意に大きい振幅を示した($p<0.05$).

■考察

弱条件郡では有意な主効果及び有意差は得られなかった. 一方で強条件郡ではいずれも大きな主効果($p<0.0005$)を得た. 強度間の比較において、ほとんどの光条件で”強条件”が有意に大きい振幅を得た事からも”短くとも強い発光が PhNR の誘発に有効”であり、青色の光がより大きく影響するようになることがわかる. この結果は ipRGC の応答を得るためには低強度の青色光では反応がおきず、高強度の青色光が必要という知見と一致する^{4,5)}. 今回の条件では弱条件の光は ipRGC に含まれるメラノプシンを刺激しづらくなった事が、このような結果を招いたのかもしれない.

強条件郡の PhNR 成分は青色が他の色よりも振幅が大きくなったが、藍色の条件に対しては有意傾向に留まった. この原因の一つとして本実験の条件数が多かった事が挙げられる. Bonferroni 法は、他の事後比較検定に比べ検出力が低いため、要因が増えると条件間の有意差が検出できなくなる. 参考までに、赤色と緑色の条件を除外して、他の3つの条件のみで全く同じ実験を行ったと仮定して解析を行うと、青色-藍色間で有意差($p<0.05$)が得られるようになる. または今回の条件に対して標本数をより増やす事で解決できると考えられる.

上記を考慮しても、強条件の青色光が誘発した PhNR は明らかに他の色より大きくなった. これは他の視細胞よりも、ipRGC と PhNR の間における可能性が大きい事を示唆している. しかし、他の色の条件でも強条件の方が PhNR の振幅は大きい傾向にあり、他の視細胞の関与の可能性も否定しきれない. 網膜はその名の通り細胞が網目のようにつながっている神経の集まりである. このため ipRGC が存在する網膜神経節細胞(RGC)と錐体や杆体といった視細胞は電気的な経路につながりを持っている. また、錐体や杆体といった視細胞は視神経の末端にあるのに対して、ipRGC を含む RGC は視細胞と脳へ向かう神経の間の経路上に位置している. このことから、他の視細胞の応答を受けて発生した電気信号が ipRGC を介する時に発生する副次的な信号から発現した可能性がある. さらに、網膜電図は各視細胞から発生する電気信号が合わさった融合波である. 視細胞毎の波形を完全な単体で取り出す方法は確立はされていないため、測定条件の設定をはじめ十分に注意をしなければならないだろう.

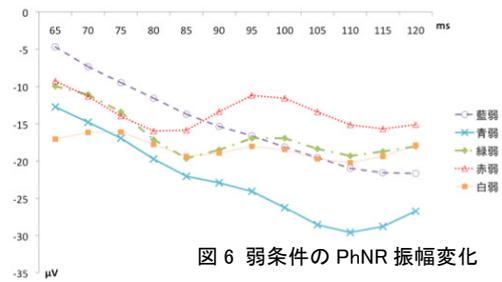


図 6 弱条件の PhNR 振幅変化

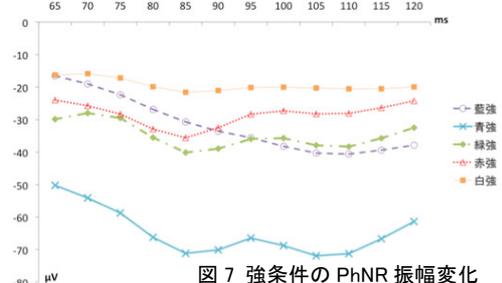


図 7 強条件の PhNR 振幅変化

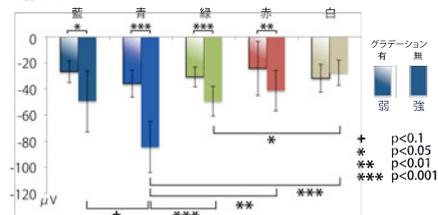


図 8 PhNR 最大振幅の比較(弱条件は主効果無し)

■まとめ

本研究では、ipRGC と ERG 上の成分の関係性を検討する事を目的に、経皮的な ERG の測定を行った. 青色と他 4 色(藍, 緑, 赤, 赤)の LED を刺激光源として、明所視 ERG 上に現れる成分 PhNR と ipRGC の関係に注目し測定を行った. 光強度は 2 条件と設定し、光量子量は統一していたにも関わらず、強条件において ipRGC のピーク感度に近い波長を持つ青色の光が他の色よりも有意に大きな PhNR の誘発を引き起こす結果が得られた.

以上より、本研究の結果は、高強度の青い光を眼に曝露する事で ipRGC が刺激され、PhNR を誘発した可能性がある. また各錐体に対応した LED を使用したにも関わらず、ipRGC のピーク応答波長に近い 470 nm の青色光が他の条件よりも大きく PhNR を誘発した事で、ipRGC と PhNR の間に強い関係をもつ事を示唆した.

また、本研究の副次的な目的として、ERG の皮膚電極による測定があった. 人間工学の分野ではあまり取り入れられていなかった ERG を取り入れ、以後の研究で医療従事者の指導の元でなくても測定ができるように、皮膚電極による経皮的測定を試みた. 従来のコンタクト電極などと統計的な比較は行なわなかったものの、データ内で有意差を得られた事は、人間工学的方法でのアプローチも十分可能であった.

■参考文献

1. Berson et al.: Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock, 295 (5557), pp.1070-1073, 2002
2. Machida et al.: Photopic negative response of focal electroretinogram in glaucomatous eyes, Invest Ophthalmol Vis Sci, 49: pp.5636-5644, 2008
3. Nalini et al.; Effects of Spectral Characteristics of Ganzfeld Stimuli on the Photopic Negative Response (PhNR) of the ERG, IOVS 48, pp.4818-4828, 2007
4. Dacey: Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN, Nature 433, pp.749-754, 2005
5. Michael et al.: Photon capture and signalling by melanopsin retinal ganglion cells, Nature 457, pp.281-287, 2009