

マウスの網膜に対する光の有害性の波長依存性

奥野 勉*1 海津 幸子*2 谷戸 正樹*3 大平 明弘*2

強い光（可視光）への眼のばく露は、網膜の障害を引き起こす。実際、適切な遮光をせずに溶接アークまたは太陽を見た場合に、多くの網膜障害が発生している。光による網膜障害を防止するための基礎データとして、さまざまな条件下における光の有害性の強さ（ハザード）を知る必要がある。本研究では、マウスを使用し、網膜に対する光の有害性の波長による違いを調べた。中心波長約 420, 440, 460, 500, 540, 580 nm, 半値幅約 20 nm, 網膜における照射量 170 J/cm² または 500 J/cm² の光をマウスの眼に照射した。照射後 14 日目に網膜電図を測定した。その後、眼球を摘出してパラフィン切片を作製、HE 染色を行った。網膜電図の a 波と b 波の振幅、および、切片における網膜外顆粒層の厚さを指標として、網膜の障害を評価した。波長 540 nm および 580 nm の光を照射した場合には、指標の変化は見られなかった。一方、波長 500 nm よりも短い波長の光を照射した場合には、網膜電図の a 波と b 波が減弱、網膜外顆粒層の厚さが減少する傾向が見られた。その傾向は、波長が短いほど強く、また、照射量が多い方が強かった。本研究の結果は、マウスの網膜に対する光の有害性は、いわゆるブルーライトの波長域（約 400 nm から約 500 nm）において強いこと、さらに、その波長域の中では、波長が短いほど強いことを示している。

キーワード: 光, 網膜障害, マウス, ブルーライト

1 はじめに

強い光（可視光）への眼のばく露は、網膜の障害を引き起こす。実際、適切な遮光をせずに溶接アーク（文献¹⁾の引用文献を参照）または太陽（文献²⁾の引用文献を参照）を見た場合に、多くの網膜障害が発生している。光による網膜障害では、通常、視力低下、霧視、暗点などの症状が、ばく露の直後または数時間以内に現れる。その後、症状は、数週間の間に徐々に改善するが、最終的に残る場合も多い³⁻⁷⁾。したがって、患者は、長期間にわたって不都合を強いられる可能性がある。

光による網膜の障害の研究は、ラットまたはマウス等のげっ歯類を用いて、広く行われているが、そのほとんどは、メカニズムの解明を目的とした定性的な研究である。これらの研究では、波長やばく露量などの光の条件を正確に把握または制御していないため、有害性の強さに関するデータは、ほとんど得られていない。

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) は、光による網膜障害の発生を防止するための許容基準を発表している⁸⁾。しかし、光の網膜に対する有害性の定量的データとしては、基本的に、Ham らのサル⁹⁾のデータ⁹⁾しかなく、ACGIH の許容基準は、この少ないデータを元に決められている。許容基準を信頼性の高いものにするため、光の有害性に関する定量的データをさらに蓄積する必要がある。

一般に、光の生体影響は、その波長とともに変化するが、光の網膜に対する障害作用も、同じであると考えられる。本研究では、マウスの眼にさまざまな波長の光を照射し、その影響を比較することによって、網膜に対する光の有害性の波長依存性を求めた。

なお、本実験は、島根大学総合科学研究支援センター

実験動物部門の承認を受けている。

2 方法

実験には、6 週齢の ICR 系 (CrI:CD1) 雄マウス (チャールスリバー) を使用した。飼育は、明期 12 時間 (7:00 AM - 19:00 PM), 暗期 12 時間 (19:00 PM - 7:00 AM) の周期および室温 23~24℃ の条件下で行った。波長と照射量の各条件について、6 匹ずつ使用した。ケタミン/キシラジン混合液 (120 mg/6mg/kg) を腹腔内投与し、全身麻酔下で、左眼に光を照射した (写真 1)。右眼は、医療用粘着テープを用いて閉鎖して光が当たらないようにし、対照眼とした。照射後 14 日目に、LED のフラッシュ光 (メイヨー) を刺激とし、網膜電図 (ERG) を記録した (LS-W, メイヨー)。そのデータから、a 波と b 波の振幅を求めた (図 1)。その後、ケタミン/キシラジン混合液 (120 mg/6mg/kg) による麻酔下で頸椎脱臼法により安楽死させた。眼球を摘出し、4%パラホルムアルデヒド、2%塩化亜鉛、2%トリクロロ酢酸、20%イソプ

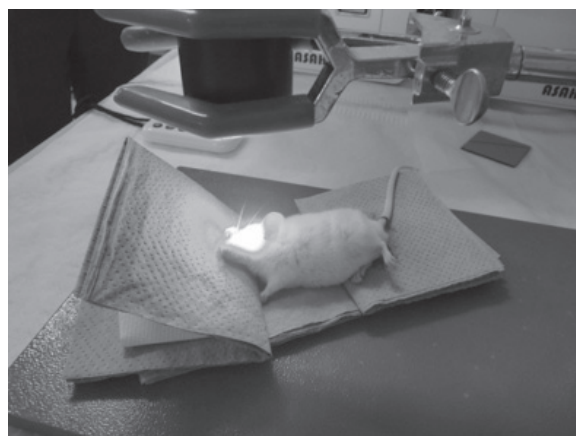


写真 1 マウスへの光の照射

*1 人間工学・リスク管理研究グループ

*2 島根大学医学部眼科学講座

*3 松江赤十字病院眼科

ロピルアルコールを含む固定液で24時間固定（室温、暗所）した。パラフィン切片を作製、HE染色を行った。切片における網膜外顆粒層（ONL）の厚さ（写真2）を、蛍光顕微鏡システム（VB-G25, キーエンス）およびソフトウェア（Image J 1.32, National Institute of

Health）を用いて測定した。測定位置は、視神経乳頭を中心に上下方向に、0.25 mm, 0.75 mm, 1.25 mm, 1.75 mm, 2.25 mm の位置と周辺部、合計12か所である（写真3）。

ERGのa波は、視細胞の受容器電位、b波は、網膜内のグリア細胞であるミュラー細胞が発生する電位である。網膜が障害を受けると、その程度に応じて、ERGのa波とb波の振幅が減衰する。一方、ONLは、網膜の断面において、視細胞の細胞体が存在する層である。視細胞が障害を受けると、その程度に応じて、ONLの厚さが減少する。したがって、ERGの波の振幅とONLの厚さは、網膜障害の指標と考えることができる。

光源としては、キセノンランプ光源装置（MAX-303, 朝日分光）に、照射する光の波長に対応するバンドパスフィルター（朝日分光）を装着して使用した。光源装置の光出力を、光ファイバーとロッドレンズを通して、マウスに照射した。照射光の中心波長は、約420 nm, 440 nm, 460 nm, 500 nm, 540 nm, 580 nm, 半値幅は約20 nmである。マウスへ光を照射する直前に、測定器（本体：IL1400A, International Light Technologies, シリコンフォトダイオードセンサー：SEL033, International Light Technologies）を用いて、マウスの眼の位置における光の放射照度を測定した。得られた放射照度とその



図1 網膜電図（説明図）

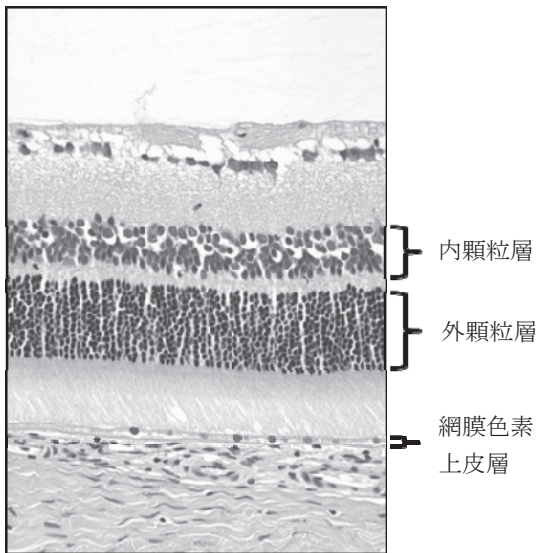


写真2 網膜の断面（説明図）

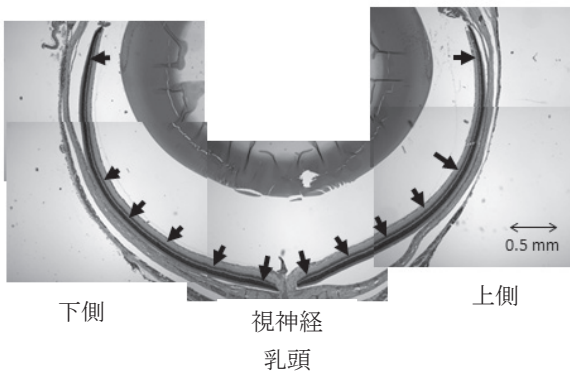
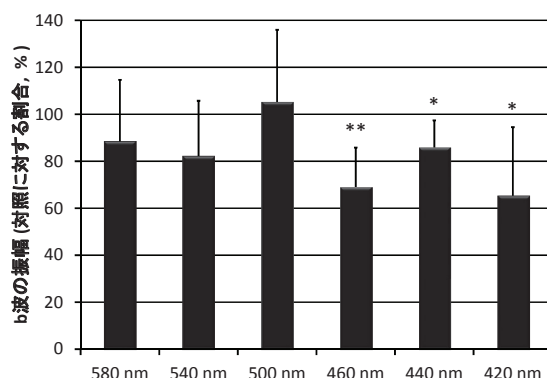
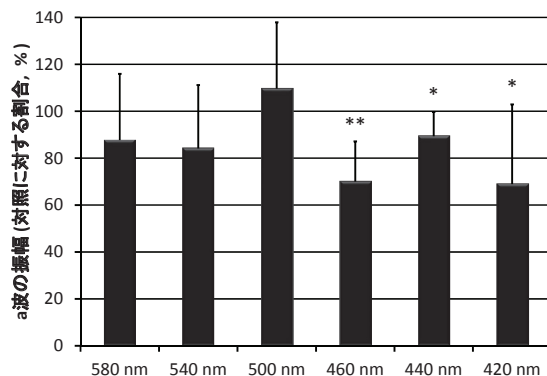


写真3 外顆粒層の厚さの測定位置（矢印）



対照眼に対して *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (paired-t 検定).

誤差棒は標準偏差を表す。

図2 網膜電図の結果（照射量 170 J/cm^2 ）

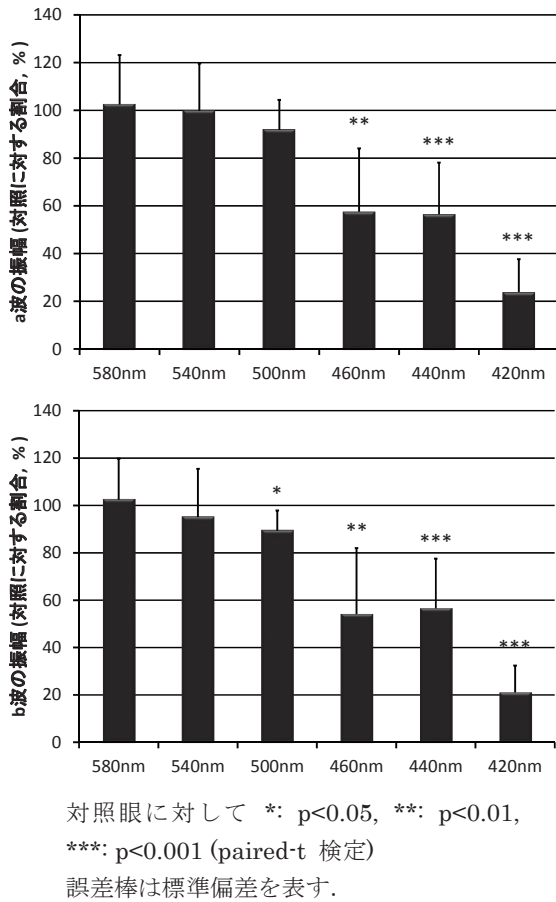


図3 網膜電図の結果 (照射量 500 J/cm^2)

波長におけるマウスの眼の透過率¹⁰⁾の積を、網膜がばく露される放射照度 (網膜放射照度) とした。網膜放射照度と照射時間の積が、網膜への照射量 (radiant exposure) となる。そこで、網膜照射量が、 170 J/cm^2 または 500 J/cm^2 となるように、照射時間を決定した。 500 J/cm^2 は、本実験系で実現できるほぼ最大の網膜照射量である。

光の測定器は、波長ごとの感度の較正を行った後、その有効期間内に使用した。

3 結果

図2, 図3に ERG の結果を、図4に ONL の厚さの測定の結果を示す。

波長 540 nm または 580 nm の光を眼に照射した場合、 170 J/cm^2 および 500 J/cm^2 のどちらの照射量においても、ERG, ONL のすべての指標について、対照眼と比較して有意な差は見られなかった。波長 500 nm の光を照射した場合、照射量 500 J/cm^2 において、ERG の b 波の振幅が、対照眼と比較して有意に減弱していたが、他の条件と指標では、有意な差は見られなかった。

波長 460 nm 以下の光を照射した場合、ERG の a 波と b 波の振幅が、 170 J/cm^2 および 500 J/cm^2 のどちらの照射量においても、有意に減弱しており、特に、照射量 500

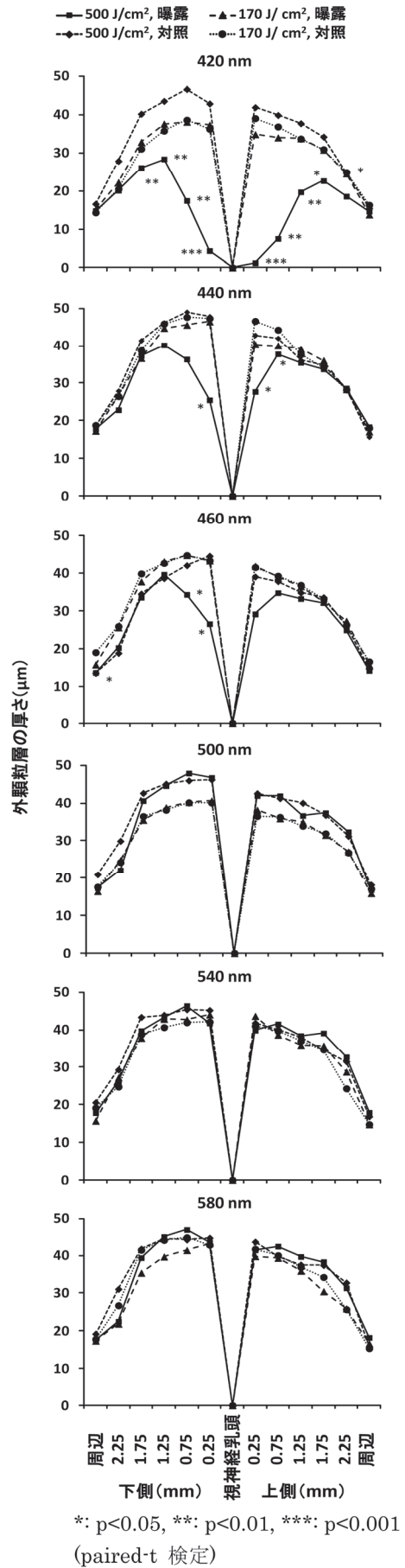


図4 外顆粒層の厚さの測定の結果

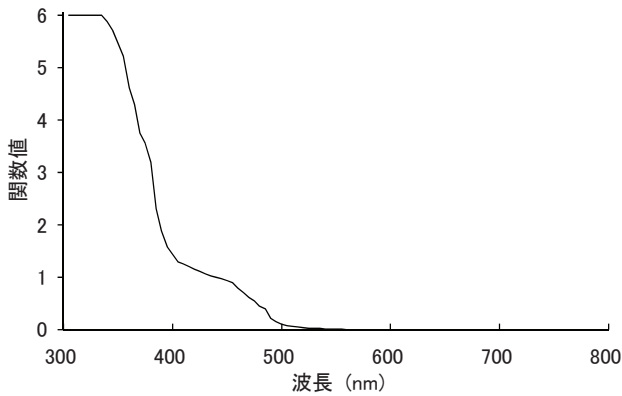


図5 無水晶体眼障害関数

J/cm²においては、波長が短いほど、振幅の減弱が大きい傾向が見られた。また、ONLの厚さは、照射量 500 J/cm²において、有意に減少しており、特に、波長 420 nm の場合には、それが最も顕著であった。また、視神経乳頭に近いほど、大きく減少していた。一方、照射量 170 J/cm²においては、対照眼と比較して有意な差は見られなかった。

4 考察

本研究の結果は、マウスの網膜に対する光の有害性は、いわゆるブルーライトの波長域（約 400 nm から約 500 nm）において強いことを示し、さらに、その波長域の中では、波長が短いほど強い傾向を示唆している。

我々は、ラットについても、同様な実験を行い、同様な結果を得ている¹¹⁾。一方、ACGIH⁸⁾は、無水晶体眼の場合の光の網膜に対する有害性を評価するため、有害性の波長依存性を表す関数（無水晶体眼障害関数、図5）を、Hamらのサル⁹⁾のデータを元に定義している。本研究で得られたマウスの網膜に対する光の有害性の波長依存性は、この関数が表す波長依存性の傾向とよく一致している。これらの事実から、マウス、ラット、サルでは、光による急性網膜障害のメカニズムが同じである可能性が考えられる。今後は、ヒトを含めた他の動物をも対象とし、そのメカニズムについて、詳細に調べることが望まれる。

現在のところ、光の網膜に対する有害性に関し、許容基準の基礎となる定量的なデータが少ない。これまでの結果から、光による急性網膜障害について、マウスとラ

ットが、ヒトの良いモデルとなりうることが考えられる。これらのげっ歯類を用い、光の網膜に対する有害性を定量的に調べることは、信頼性の高い許容基準を確立する上で、非常に有用であると考えられる。

参考文献

- 1) Okuno T, Ojima J, Saito H. Blue-light hazard from CO₂ arc welding of mild steel. *Ann. Occup. Hyg.* 2010; 54: 293-298.
- 2) Okuno T. Hazards of solar blue light. *Appl. Opt.* 2008; 47: 2988-2992.
- 3) Knudtzon K. The prognosis of scotoma helioclpticum. Follow-up examination of 47 patients injured on 9th July 1945. *Acta Ophthalmol.* 1948; 26: 469-494.
- 4) Hatfield EM. Eye injuries and the solar eclipse. Results of a survey. *Sight-saving Rev.* 1970; 40 (Summer): 79-85.
- 5) Atmaca LS, Idil A, Can D. Early and late visual prognosis in solar retinopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1995; 233: 801-804.
- 6) Solar retinopathy. A study from Nepal and from Germany.
- 7) Rai N, Thuladar L, Brandt F, Arden GB, Berninger TA. Solar retinopathy. A study from Nepal and from Germany. *Doc. Ophthalmol.* 1998; 95(2): 99-108.
- 8) ACGIH. Light and near infrared radiation. TLVs and BEIs, Cincinnati: ACGIH; 2013: CD-ROM.
- 9) Ham WT, Jr., Mueller HA. The photopathology and nature of the blue light and near-UV retinal lesions produced by lasers and other optical sources. Wolbarsht ML, ed. *Laser applications in medicine and biology*, Volume 4. New York: Plenum Press; 1989: 191-246.
- 10) Henriksso JT, Bergmanson JPG, Walsh JE. Ultraviolet radiation transmittance of the mouse eye and its individual media components. *Exp. Eye Res.* 2010; 90: 382-387.
- 11) 海津幸子, 奥野勉, 谷戸正樹, 大平明弘. 可視光によるラット網膜障害の波長依存性. 第30回日本光医学・光生物学会抄録集. 2008: 33.